

## 넙치, *Paralichthys olivaceus* 자어의 생존과 성장에 미치는 암모니아의 영향

김형수 · 김흥윤\* · 진 평  
부경대학교 해양생물학과 · \*국립수산진흥원 여천수산종묘배양장

### Effects of Ammonia on Survival and Growth of the Flounder Larva, *Paralichthys olivaceus*

Hyung-Soo KIM, Heung-Yun KIM\* and Pyung CHIN

Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*Yochun Fisheries Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute, Chunnam 556-905, Korea

The effects of ammonia on survival and growth of the flounder larva, *Paralichthys olivaceus*, were examined by a static renewal bioassay method. The 96 hr-LC<sub>50</sub> with the developmental stages during the period from 1 day to 23 day-old larvae ranged 0.273 to 1.023 mg NH<sub>3</sub>/ℓ. Tolerance of the larvae to ammonia toxicity was much sensitive at the early larval stage, and increased with the growth of the larvae. Threshold 96hr-LC<sub>50</sub> in 1, 3 and 5 day-old larvae after hatching were 0.293, 0.248 and 0.379 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, respectively.

Survival rate and growth in body weight and body length of the larva were reduced with increase of ammonia concentration in the range of 0.055 and 0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ. The no-observable-effect concentration (NOEC) and lowest-observable-effect concentration (LOEC) of the flounder larva were 0.102 and 0.174 mg NH<sub>3</sub>/ℓ for body length, and 0.151 and 0.198 mg NH<sub>3</sub>/ℓ for body weight, respectively. Chronic value (ChV), which is the geometric mean of the NOEC and LOEC to body length of the larvae were 0.124 mg NH<sub>3</sub>/ℓ. The coefficient of variation (CV) for body length was higher at high concentration than at low concentration.

Key words : *Paralichthys olivaceus* larvae, ammonia toxicity, survival, growth, LC<sub>50</sub>, NOEC, LOEC

### 서 론

암모니아는 도시하수, 산업폐수 및 축산폐수 등과 같은 여러 경로에서 오염원으로 배출되고, 어패류나 갑각류 등이 질소대사의 최종산물로서 배설한다. 수중의 암모니아는 이온화된 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>와 이온화되지 않은 NH<sub>3</sub>의 두 형태로 존재하면서 NH<sub>3</sub>+H<sub>2</sub>O ⇌ NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+OH<sup>-</sup>와 같이 평형상태를 이룬다. 이러한 평형상태는 수온과 염분에 비해 pH에 많은 영향을 받으며, pH가 상승하면 NH<sub>3</sub>의 양이 증가한다 (Bower and Bidwell, 1978). NH<sub>3</sub>는 비극성이고 지질에 가용성을 띠는 반면, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>는 극성을 띠면서 수화되어 원형질막에 대한 투과성이 낮다 (Milne et al., 1958). 따라서 수중 NH<sub>3</sub>의 증가는 어체의 삼투조절에 영향을 주게 되며 그 양이 일정농도 이상이 되면 개체의 성장과 생존에 치명적인 영향을 주게 된다. 그러므로 고밀도 사육하는 육상수조식 양식장에서 수중 암모니아 농도의 갑작스런 증가는 주의해야 할 요인으로 인식되어 있으며, 용존산소 저하가 동반되면 대량폐사하는 원인의 하나로 알려져 있다 (Tarazona et al., 1987; Wajsbro et al., 1991).

암모니아 독성은 환경요인의 영향을 받으면서 어류의

생활사, 어체 크기 및 종의 적응력 등에 따라 그 영향은 다르고 (Bower and Bidwell, 1978; Calamari et al., 1981), 체표면적으로 볼 때 환경수와 가장 광범위하게 접촉하는 어체 부위는 아가미이기 때문에 독성에 의해 일차적으로 영향을 받는 것은 호흡기관이다 (Heath, 1987).

암모니아 독성에 관한 연구는 담수어종과 해산어종에 대하여 성장, 생존 및 아가미 구조에 미치는 영향을 중심으로 다수의 보고를 찾아 볼 수 있다 (Smart, 1976; Colt and Tchobanoglous, 1978; Alderson, 1979; Mitchell and Cech, 1983; Thurston et al., 1984; Miller et al. 1990). 그러나 현재까지 암모니아 급성 및 만성 독성에 관한 연구는 해산과 담수산 모두 주로 치어단계 이상을 대상으로 수행되어 있으며, 초기 자어에 대해서는 담수산 메기류 (Bader and Grizzle, 1992)와 red drum (Holt and Arnold, 1983)에 관한 보고 외에는 희소하다.

수산물 수요가 증가하고 일부 어종에 대한 완전양식 기술이 일반화되면서 해산어류 양식은 급속도로 늘어나는 추세에 있고, 최근에는 양식품종을 다양화하려는 노력이 집중되고 있다. 그러나 넙치를 비롯한 유용 양식어종의 초기 사육시 사육수의 수질은 생존율 향상과 직결되고 특히, 고밀도 사육을 위해서는 자치어 성장에 미치

**Table 1. Ammonia concentration used chronic toxicity test of the flounder larvae, *Paralichthys olivaceus***

Experimental chambers	Ammonium salt	Total ammonia (mg/ℓ)	NH <sub>3</sub> (mg/ℓ)	Number of larvae
1	NH <sub>4</sub> Cl	2.487 ± 0.360	0.055 ± 0.008	10
2		4.580 ± 0.201	0.102 ± 0.004	10
3		6.793 ± 0.193	0.151 ± 0.004	10
4		8.904 ± 0.836	0.198 ± 0.019	10
5		10.798 ± 1.087	0.240 ± 0.024	10
6		13.512 ± 1.671	0.300 ± 0.037	10
7		15.354 ± 0.294	0.341 ± 0.006	10

는 암모니아의 영향에 관한 연구는 선행되어야 할 과제이다. 자치어에 대한 오염원의 독성이나 내성을 파악하기 위해서는 급성독성 연구와 더불어 실제 양식현장에서 빈발할 수 있는 만성독성 연구가 더욱 중요하다고 생각된다.

최근, 순수 화합물이나 특정 배출물의 안전농도를 단기에 설정하고 해양 및 하구생물에 대한 오염원의 만성독성을 추정하기 위한 단기 독성시험법을 미국환경보호국에서 제시하였다(Horning and Weber, 1988). 이 방법은 오염물질에 대한 생물의 반응은 생활사의 초기에 민감할 뿐만 아니라 발생과 생존에 미치는 환경요인에 대한 생리적 반응이 명확하므로 이 시기에 오염원의 만성적 안전농도를 규명한 결과는 전생활사에 대해 실시한 만성독성 시험결과에 근접한다는 사실이 보고되었다(Degraeve et al., 1988; Degraeve et al., 1991).

본 연구는 국내에서 널리 양식되고 사육기술이 보편화되어 있는 넙치자어를 재료로 암모니아에 대한 급성 및 만성독성 영향을 단기 독성시험법에 준하여 생물검정 시험을 실시하여, 자어의 성장단계별 암모니아 내성 및 성장에 영향을 미치는 암모니아농도를 구명하는데 목적이 있다.

### 재료 및 방법

시험에 사용한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 자어는 1993년 9월부터 1994년 12월에 걸쳐 국립수산진흥원 거제수산종묘배양장에서 수정란을 분양받아 실험실의 200ℓ 원형수조에 옮겨 부화시켰다. 사육수조의 수온은 19 ± 0.5°C, 광주기는 16L : 8D로 조절하였으며, 해수는 공경 10 μm 필터로 걸러서 사용하였다. 자어의 먹이는 부화 후 2일부터 15일까지 rotifer를 자어에게 ml당 2~10개체 공급하였으며 같은 기간 동안 *Chlorella*를 사육수조에 넣어서 수질안정 및 rotifer의 영양상태를 유지시켰다. 그리고 12일부터 29일까지는 매일 갯 부화한 *Artemia nauplii*를 먹이로 공급하면서 사육한 자어를 시험에 사용하였다.

시험용액은 시약용 NH<sub>4</sub>Cl을 탈이온수에 녹여 1,000 ppm의 표준용액을 만든 다음 해수를 희석하여 제조하였다. 자어의 성장단계별 반수치사농도(LC<sub>50</sub>) 측정은 부화 후 1일된 개체의 경우 300 ml 비이커에 0.148, 0.293, 0.586, 1.172 및 2.344 mg NH<sub>3</sub>/ℓ의 시험용액을, 15일된 개체는 1ℓ 비이커에 0.220, 0.430, 0.879, 1.758, 3.516 mg NH<sub>3</sub>/ℓ의 시험용액을 넣고 자어를 10마리씩 투입하였다.

넙치 자어의 생존과 성장에 미치는 암모니아의 만성독성 영향을 조사하기 위하여 대조구와 0.055~0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ범위의 8개 농도구(용량, 2ℓ)를 설정하고 부화 후 16일된 개체를 각각 10마리 투입하여 7일간 사육하였다. 만성 독성시험의 암모니아 최대농도(0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ)는 예비시험에서 구한 96시간 LC<sub>20</sub>을 기준하였다. 암모니아는 휘발성이 있으므로 농도변화를 최대한 줄이기 위해 PE(Polyethylene)박막으로 비이커를 덮고 처음의 암모니아 농도와 시험용액을 교환하기 직전 암모니아 농도를 정량하여 그 평균값을 표시하였다(Table 1). 대조구와 실험구내의 배설물이나 저면의 먹이 여분은 매일 제거한 후 용액을 교환하였다.

모든 실험은 3회 반복구를 설정하여 실시하였고, 실험용액의 용존산소는 산소검량기(YSI 58형)를 사용하여 실험수는 및 염분에서 포화산소의 60% 이상 유지되도록 수시 점검하였으며, 암모니아 농도는 phenolhypochlorite법(Solorzano, 1969)으로 정량하였다. 총암모니아량에서 비이온성 암모니아(NH<sub>3</sub>)의 농도는 Bower and Bidwell(1978)이 제시한 환산식을 적용하여 구하였다. 자어의 전장은 얼음에 마취시킨 후 즉시 측정하였으며, 건중은 70°C에서 24시간 건조시켜서 칭량하였다.

실험결과와 LC<sub>50</sub> 계산은 SAS-probit분석을, 그리고 만성독성 시험에서 농도별 암모니아에 7일간 노출시킨 자어의 체장과 체중 측정치를 대조군과 비교하고 성장에 유의한 영향을 미치지 않는 암모니아 농도, NOEC(No observable effects concentration)와 영향을 미치는 최소농도, LOEC(Lowest observable effects concentration)의 산출에는 Dunnett's one-tailed t-test를 적용하였다. 한

Table 2. 96 hr-LC<sub>50</sub> to total ammonia and unionized ammonia of *Paralichthys olivaceus* larvae with days after hatching

Days after hatching	96 hr-LC <sub>50</sub> (mg/ℓ)		pH	salinity (‰)
	Total ammonia	NH <sub>3</sub>		
1	31.821	0.273	7.76	33.4
3	39.960	0.343	7.79	32.7
5	49.950	0.428	7.96	32.5
7	34.987	0.300	7.86	32.9
9	47.558	0.408	7.85	33.5
11	25.169	0.216	7.77	33.7
13	48.651	0.483	7.89	31.5
15	53.347	0.529	8.01	32.1
17	42.791	0.424	7.94	33.3
19	42.691	0.423	8.03	32.6
21	57.709	0.572	8.05	32.5
23	103.163	1.023	7.95	32.1
25	98.735	0.979	7.99	32.6
27	122.644	1.217	7.88	33.6
29	132.601	1.315	8.06	33.4

편, 생존율은 비율이므로 모든 자료는 arcsine 변환하여 통계량을 구하였으며, 시험결과와 암모니아 농도는 비이온성 암모니아 (NH<sub>3</sub>)로 나타내었다.

## 결 과

### 1. 성장단계별 암모니아의 급성독성

넙치자어의 성장단계별 총암모니아 및 비이온성 암모니아에 대한 96시간 반수치사농도 (96 hr-LC<sub>50</sub>)는 Table 2에 나타내었다. 96 hr-LC<sub>50</sub>은 부화 후 경과일수에 따라 다소 변동을 보였으나 성장할수록 높아지는 경향이 뚜렷하였다. 부화 후 7일이 경과한 자어의 96 hr-LC<sub>50</sub>은 0.300 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 21일된 자어는 0.572 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 높아지다가 23일 이후에는 1 mg NH<sub>3</sub>/ℓ 이상으로 증가하여, 넙치 자어는 성장단계의 초기에 암모니아에 민감하고 성장하면서 강한 내성을 가지는 것으로 나타났다.

한편, 부화 후 1, 3, 5일이 경과한 자어의 비이온성 암모니아에 대한 96 hr-LC<sub>50</sub>은 각 암모니아 농도별로 1, 3, 6, 12, 24, 48 및 72시간 노출시켜 구한 LC<sub>50</sub>을 외삽하여 Fig. 1에 표시하였다. 부화 후 경과일수(X)에 따른 96 hr-LC<sub>50</sub>(Y)사이의 관계식은  $Y = 0.052 + 0.034 \cdot X$  ( $r = 0.854$ ,  $P < 0.01$ )와 같았으며, 자어가 성장할수록 암모니아에 대한 반수치사농도는 현저하게 높은 값을 보였다.

부화 후 1, 3, 5일 경과한 자어의 노출시간에 따른 반수치사농도는 Fig. 2와 같다. 부화후 1일된 자어가 암모니아에 1시간 노출된 후 반수치사농도는 3.43 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 3일된 것은 3.31 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 그리고 5일된 자

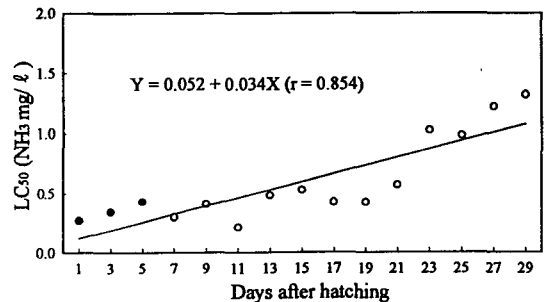


Fig. 1. 96 hr-LC<sub>50</sub> of the flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, exposed to ammonia with days after hatching (●, data extrapolated).

어는 3.97 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로서 부화 후 경과 시간이 길어질수록 높은 값을 보였다. 24 hr-LC<sub>50</sub>은 각각 0.411, 0.460 및 0.502 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이었으나 48시간 이후에는 노출이 지속되어도 LC<sub>50</sub>은 X축에 거의 평행하는 현상을 나타내었다. 이러한 평행이 시작되는 농도 즉, threshold LC<sub>50</sub>은 부화 후 1일된 자어가 0.293 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 3일된 것은 0.248 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 5일된 자어는 0.379 mg NH<sub>3</sub>/ℓ였다.

### 2. 생존과 성장에 미치는 암모니아의 만성독성

부화 후 16일이 경과한 넙치 자어를 0.055~0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ범위의 8개 농도구에 7일간 노출시켜 생존율을 측정하였다 (Fig. 3). 대조구의 생존율은 96.7%였으며, 암모니아 농도 0.055 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에서는 93%, 0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에서 83.3%로 감소하였는데, 암모니아 농도 (X)와 폐

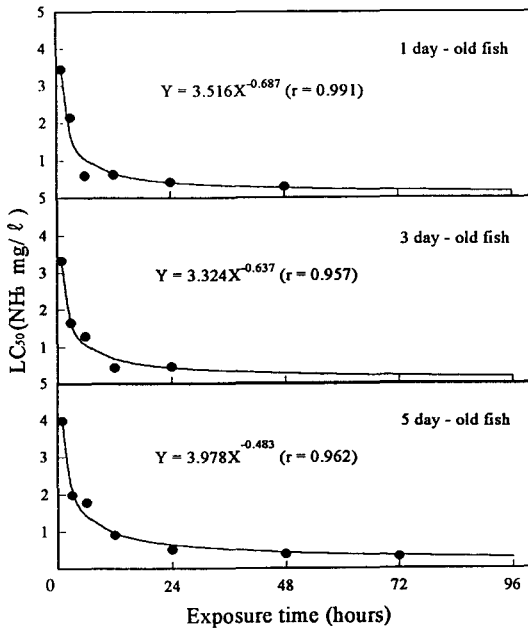


Fig. 2. Changes in  $LC_{50}$  of 1, 3 and 5 day-old flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, with exposure time.

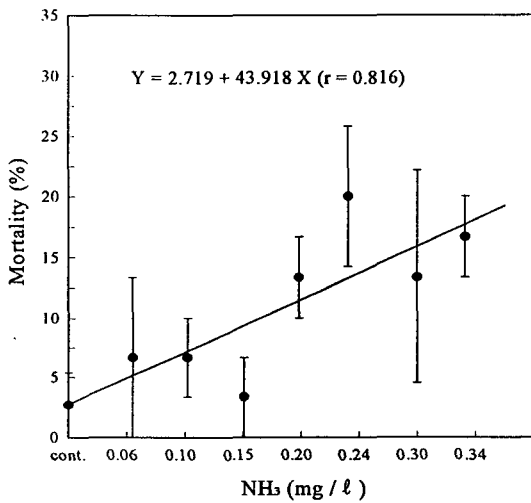


Fig. 3. Mortality of 16 day-old flounder larvae, *Paralichthys olivaceus* exposed for 7 days with ammonia concentrations.

사율 (Y)간의 회귀식은  $Y = 2.719 + 43.918 \cdot X$  ( $r = 0.816$ ,  $P < 0.01$ )였다.

부화 후 16일째의 자어를 암모니아 농도별로 7일간 폭로시켜 자어의 체장과 건중을 측정 한 결과는 Table 3에 나타내었다. 각 실험구의 평균체장은 대조구에서 9.49 mm, 암모니아 농도  $0.055 \text{ mg NH}_3/\ell$ 에서 9.38 mm이던

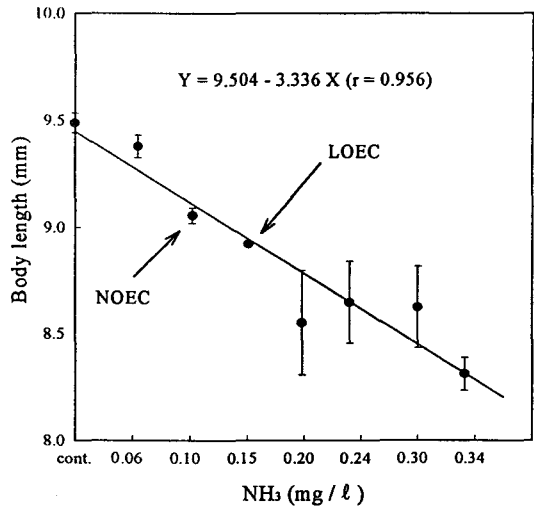


Fig. 4. Growth in body length of 16 day-old flounder, *Paralichthys olivaceus*, exposed for 7 days with ammonia concentrations. NOEC and LOEC are no-observable-effect concentration and lowest-observable-effect concentration, respectively.

것이  $0.341 \text{ mg NH}_3/\ell$ 에서는 평균체장이 8.31 mm로 작아지는 경향을 보였다. 그리고 평균건중은 대조구에서 24.73 mg이었으며, 암모니아 농도  $0.055 \text{ mg NH}_3/\ell$ 에서 25.13 mg이던 것이  $0.341 \text{ mg NH}_3/\ell$ 에서는 17.20 mg으로 감소하였다.

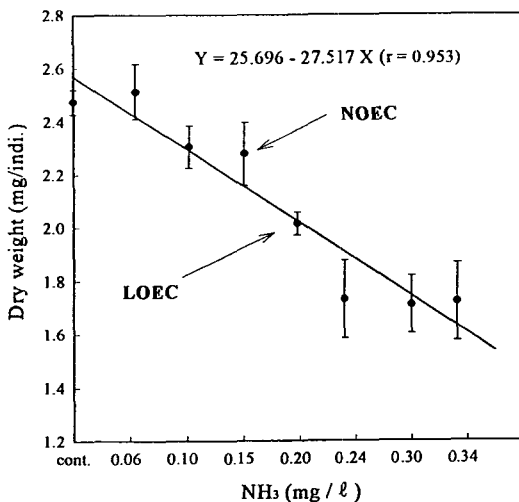
암모니아농도별로 7일간 노출시킨 넙치자어의 체장과 체중을 측정 한 결과는 Dunnett's one-tailed t-test를 적용하여 대조구과 비교하고 통계적으로 유의하게 영향을 미치지 않는 농도, NOEC와 영향을 미치는 최소농도, LOEC를 산출하여 체장에 대한 것은 Fig. 4에, 체중에 대한 것은 Fig. 5에 각각 표시하였다.

암모니아 농도가 높은 실험구일수록 체장 및 체중은 대조구에 비하여 낮은 값을 보였는데 체장의 경우 NOEC는  $0.102 \text{ mg NH}_3/\ell$ , LOEC가  $0.151 \text{ mg NH}_3/\ell$ 였고, 체중에 대한 분석치는 NOEC가  $0.151 \text{ mg NH}_3/\ell$ , LOEC는  $0.198 \text{ mg NH}_3/\ell$ 으로 체장과 체중에 대한 영향농도는 약간의 차이를 보였다. 체장과 체중에 대한 NOEC와 LOEC의 기하평균, 즉 chronic value (ChV)는 각각  $0.124$  및  $0.173 \text{ mg NH}_3/\ell$ 였다.

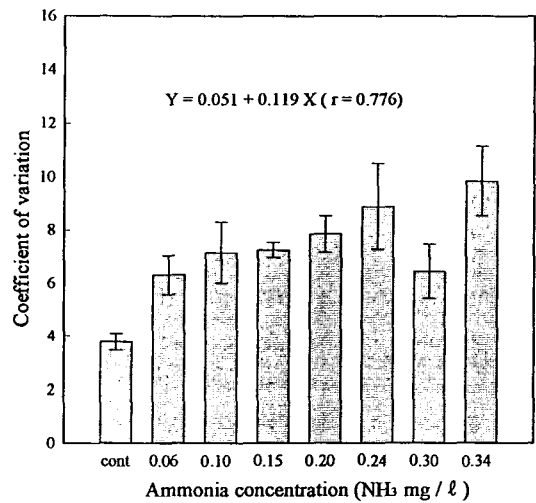
암모니아 농도별로 노출시킨 넙치자어의 체장 측정치로부터 일정농도의 암모니아가 개체의 체장차이에 영향을 미쳤는지 여부를 판별하기 위하여 산포도의 상대적 척도로 사용되는 변동계수 (CV, coefficient of variation)

**Table 3. Mean survival rate, body length, dry weight and coefficient of variation for body length of 16 day-old flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, exposed for 7 days with ammonia concentrations**

Ammonia concentration (mg NH <sub>3</sub> /ℓ)	Number of larvae	Survival rate (%)	Body length (mm)	Dry weight (mg)	Coefficient of variance
Control	10	96.7 ± 3.3	9.49 ± 0.12	24.73 ± 0.47	3.78 ± 0.31
0.055 ± 0.008	10	93.3 ± 6.7	9.38 ± 0.20	25.13 ± 1.03	6.30 ± 0.73
0.102 ± 0.004	10	93.3 ± 3.3	9.07 ± 0.21	23.03 ± 0.80	7.07 ± 1.16
0.151 ± 0.004	10	96.7 ± 3.3	8.92 ± 0.21	22.77 ± 1.19	7.24 ± 0.28
0.198 ± 0.019	10	86.7 ± 3.3	8.76 ± 0.24	20.13 ± 0.44	7.65 ± 0.70
0.240 ± 0.024	10	80.0 ± 5.8	8.64 ± 0.27	17.30 ± 1.45	8.82 ± 1.62
0.300 ± 0.037	10	86.7 ± 8.8	8.62 ± 0.19	17.10 ± 1.07	6.48 ± 1.03
0.341 ± 0.006	10	83.3 ± 3.3	8.31 ± 0.28	17.20 ± 1.46	9.83 ± 1.32



**Fig. 5. Growth in dry weight of 16 day-old flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, exposed for 7 days with ammonia concentrations. NOEC and LOEC are no-observable-effect concentration and lowest-observable-effect concentration, respectively.**



**Fig. 6. Coefficient of variation for body length of 16 day-old flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*, exposed for 7 days with ammonia concentrations.**

를 구한 결과는 Fig. 6과 같다.

변동계수는 암모니아 농도가 높을수록 크게 나타났고 암모니아 농도(X)와 변동계수(Y)의 회귀직선식은  $Y = 0.051 + 0.119 \cdot X$  ( $r = 0.776$ ,  $P < 0.01$ )였다. 암모니아 농도가 낮은 실험구에서는 자어의 체장성장이 빠르면서 비교적 균일하게 성장하여 변동계수가 낮은 값을 보이는 반면, 암모니아의 농도가 높아질수록 체장성장은 느리고 개체 간에 체장차이가 커져 변동계수는 높은 값을 보였다.

### 고 찰

온도와 pH의 증가는 암모니아의 이온화에 영향을 미쳐 강한 독성을 띠는 비이온성 암모니아(NH<sub>3</sub>)의 비율

을 증가시키므로 암모니아 독성은 환경요인의 영향을 받으면서 동물의 생활사, 크기 및 종의 적응력에 따라 그 영향은 다르게 나타나고 (Calamari et al., 1981), 용존산소와 칼슘, 이산화탄소 등도 암모니아 독성에 간접적인 영향을 미친다 (Rice and Stokes, 1975; Tomasso et al., 1980).

넙치자어의 96 hr-LC<sub>50</sub>은 부화초기에 비해 일령이 많을수록 증가함으로써 성장함에 따라 암모니아에 대한 내성은 높은 것으로 나타났다 (Fig. 2). 이것은 대부분의 수서생물이 생활사의 초기에 온도와 염분 등의 환경변화에 민감하며, 생육단계별로 삼투조절능과 같은 내적 특성의 차이로 다르게 반응한다는 점 (Sprague, 1990)으로 보아 일반적 경향으로 생각된다. 어류의 아가미는 외부와 내부환경 사이의 가스교환, 이온조절 및 산-염기 평형유지와 아가미의 기능에 적응적 변화를 보이는 중요한 역할

**Table 4. Values of chronic toxicity of ammonia for freshwater and marine fish**

Species	Ammonia levels (NH <sub>3</sub> /ℓ)	Indicator	Exposure duration	Effect	Source	
Freshwater fish	channel catfish	0.219	gill damage	83 days	No effect on gill epithelium	Mitchell & Cech (1983)
	rainbow trout	0.25	gill damage	35days	No effect on gill epithelium	Smart (1976)
	rainbow trout	0.423	gill damage	90days	MATC*	Daoust & Ferguson (1984)
	rainbow trout	0.04	gill damage	parental, F <sub>1</sub> fish	Effect on gill epithelium	Thurston et al. (1984)
	channel xatfish (larvae)	0.082	growth	7days	No effect on growth	Bader and Grizzle (1992)
Marine fish	Dover sole (juvenile)	0.066	growth	42days	No effect on growth	Alderson (1979)
	Turbot (jvenile)	0.11	growth	11days	No effect on growth	Alderson (1979)
	Red drum (larvae)	0.3	survival	14days	Reduced survival	Holt & Arnold (1983)
	flounder (larvae)	0.102	growth	7days	No effect on growth	Present study

\* MATC : Maximum Acceptable Toxicant Concentration

을 하며, 아가미 기능의 보상적 조절은 형태적 변화에 기인한다고 하였다 (Perry and Laurent, 1993). 본 실험의 넙치 자어는 성장함에 따라 아가미 기능이 발달되어 이온조절을 단순한 확산 뿐만아니라 능동적 삼투조절능이 확대됨으로써 환경변화에 항상성을 유지할 수 있는 능력이 향상되어 암모니아 독성에 대한 내성이 강해지는 것으로 생각된다.

부화 후 1, 3, 5일이 경과한 자어의 24 hr-LC<sub>50</sub>은 부화후 시간이 경과함에 따라 0.411~0.502 mg NH<sub>3</sub>/ℓ 범위로 증가 하였지만 48시간 이후에는 노출시간이 지속되어도 LC<sub>50</sub>은 가축에 거의 평행하는 현상을 나타내었다 (Fig. 3). 이러한 평행이 시작되는 농도 즉, threshold LC<sub>50</sub>은 부화 후 1일된 자어가 0.293 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 3일된 것은 0.248 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 5일된 자어는 0.379 mg NH<sub>3</sub>/ℓ였다. 초기자어는 삼투 조절 능력과 적응력은 약하지만 흡수된 암모니아를 배설하거나 무독성화시켜서 급성노출에 대처하는 것으로 여겨지는때, 사육수의 암모니아 농도가 급격하게 높아지면 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli* 치어의 산소소비량은 감소하지만 호흡수는 증가하였고 (Kwon, 1994), 보리새우는 1.3 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에서 아가미의 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase 활성이 증가하였다고 (Lin et al., 1993) 보고한 바 있다.

시험어류의 종류, 크기 및 노출기간과 측정지표 등이 상이하지만 해산어류의 암모니아 독성연구에서 성장에

유의하게 영향을 미치지 않는 농도, NOEC는 0.05~0.3 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 비교적 좁은 농도범위를 보이고 있다 (Table 4). 본 실험에서 부화후 16일이 경과한 넙치자어의 체장에 대한 NOEC는 0.102 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이고, 유의한 영향을 미치는 최소농도, LOEC는 0.151 mg NH<sub>3</sub>/ℓ (P<0.05)였다. 이 값은 해산어류에 대하여 기초사된 결과와 비교하면 중간에 해당하며, 본 시험과 동일하게 단기시험법을 적용하여 조사한 담수산 메기류의 0.082 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에 비하면 약간 높은 값을 보였다.

Mayes et al. (1986)은 담수산 파랑볼우럭, walleye 및 fathead minnow의 암모니아 최대 안전허용농도는 0.206~0.316 mg NH<sub>3</sub>/ℓ 범위이고, Haywood (1983)는 해산어류의 최대 안전허용농도를 0.05 mg NH<sub>3</sub>/ℓ으로 보고한 반면 Thurston et al. (1986)은 fathead minnow를 두세대에 걸쳐 시험한 결과 최대안전 허용농도를 0.134 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 보고하였다. 또한 Wickens (1981)은 어패류에 대한 최대 허용농도는 0.1 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이라고 제안하였다. 이상의 결과를 종합하면 제시한 최대 안전농도는 측정지표 및 어종별로 그 농도에 상당한 차이를 보이고 있다.

넙치자어의 체장에 대한 NOEC와 LOEC의 기하평균, ChV는 0.124 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이고 총암모니아량으로는 5.57 mg/ℓ였다. 단기 독성시험법을 적용하여 산출한 각각의 영향 농도는 비록 실측한 자어기 전범위가 신뢰구간에 포함되

지만 ChV 값은 다소 높은 농도로 생각된다. 양식현장에서 암모니아 최대안전 허용농도의 적용은 여과시스템의 효율, 어류의 영양상태, 대사산물량 및 내성의 정도에 따라 다를 수 있으며, 사육해수의 물리·화학적 성질이 암모니아 독성을 변화시킨다는 복합적인 요인이 게재되므로 일괄적으로 적용하기는 어렵지만 넙치 초기자어는 후기자어에 비해 암모니아에 대한 내성이 약한 것으로 나타났다. 그리고 독성물질에 대한 아치사 영향을 측정하는 지표로서는 성장외에 아가미 조직 괴사여부가 이용되는데, 무지개송어가 90일 동안 0.348 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에 노출되더라도 병원균이나 다른 독성물이 없다면 괴사가 일어나지 않지만 (Mitchell and Cech, 1983; Daoust and Ferguson, 1984), 0.013~0.022 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에서 아가미 조직이 괴사한다는 상반되는 결과도 보인다 (Thurston et al., 1984). 그러므로 자어의 정상적인 생육을 위한 비이온성 암모니아의 최대 안전농도는 ChV 값인 0.124 mg NH<sub>3</sub>/ℓ 보다는 NOEC인 0.102 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이하로 설정하는 것이 타당하리라 보여진다.

한편, 부화 후 16일째의 자어를 암모니아 농도별로 7일간 노출시킨 다음 체장 및 건중을 측정하여 대조구와 비교한 바, 암모니아 농도가 높을수록 감소하는 현상을 보였으며, 일정농도의 암모니아에 노출된 자어의 체장차이에 기인한 변동계수 (CV)는 암모니아 농도가 높을수록 높은 값을 보였다. Kim (1994)은 넙치 부화자어가 치어로 변태하는 기간동안 섭식 에너지의 이용유형은 자어가 성장함에 따라 성장에 이용되는 에너지 비율은 높다고 하였다. 암모니아에 노출된 넙치자어는 독성환경에서 생존하기 위한 생리적 전략의 한 방법으로 성장에너지의 상당한 부분이 삼투조절이나 질소배설 등과 같은 대사적 조절에 사용됨으로써 대조구에 비하여 체장 및 체중증장에 현저한 저하가 있었을 뿐만 아니라 개체간의 성장차이에도 그 영향이 가중되었을 것으로 판단된다.

## 요 약

넙치, *Paralichthys olivaceus*의 자어의 생존과 성장에 미치는 암모니아의 급성 및 만성독성 영향을 단기 독성시험법에 준하여 생물검정시험을 실시하고 자어의 성장단계별 암모니아 내성 및 성장에 미치는 영향농도를 산출하였다.

96 hr-LC<sub>50</sub>은 부화후 7일이 경과한 자어가 0.300 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 21일된 것은 0.572 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 증가하다가 부화후 23일째에는 1.023 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 증가하여 넙치 자어는 성장단계의 초기에 암모니아의 독성에 민감하고 성장하면서 강

한 내성을 보이는 것으로 나타났다. 부화후 경과일수와 비이온성 암모니아의 농도(X)에 대한 96 hr-LC<sub>50</sub>(Y)과의 관계식은  $Y = 0.0516 + 0.034 \cdot X$  ( $r = 0.854$ )였다. 부화 후 1, 3, 5일째의 자어에서 24 hr-LC<sub>50</sub>은 부화후 경과일수가 길어질수록 높았으나, 노출시간이 지속되어도 LC<sub>50</sub>은 매우 완만하게 감소하여 threshold LC<sub>50</sub>은 각각 0.293 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 0.248 mg NH<sub>3</sub>/ℓ 및 0.379 mg NH<sub>3</sub>/ℓ이었다.

부화 후 16일째의 자어를 암모니아 농도별로 7일간 노출시킨 후의 생존율은 대조구의 경우 96.7%, 0.341 mg NH<sub>3</sub>/ℓ에서는 83.3%였으며, 자어의 체장과 체중은 암모니아 농도가 높을수록 유의하게 감소하였다. 체장에 대한 NOEC와 LOEC는 각각 0.102 및 0.151 mg NH<sub>3</sub>/ℓ, 체중에 있어서는 각각 0.151 및 0.198 mg NH<sub>3</sub>/ℓ로 체장증장에 미치는 영향이 큰 것으로 추정되었다. 자어의 체장측정에 대한 변동계수 (CV, coefficient of variation)는 암모니아 농도가 증가할수록 높아져서 고농도일수록 체장증상은 느리고 개체간 체장변이가 많았다.

## 참 고 문 헌

- Alderson, R. 1979. The effect of ammonia on the growth of juvenile Dover sole, *Solea solea* (L.) and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquaculture*, 17, 291~309.
- Bader, J.A. and J.M. Grizzle. 1992. Effects of ammonia on growth and survival of recently hatched channel catfish. *J. Aquat. Anim. Health*, 4, 17~23.
- Bower, C.E. and J.P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 35, 1012~1016.
- Calamari, D., R. Marchetti and G. Vailati. 1981. Effects on long-term exposure to ammonia on the developmental stages of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.*, 178, 81~86.
- Colt, J. and G. Tchobanoglous. 1978. Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to ammonia: effects on growth and survival. *Aquaculture*, 8, 209~224.
- Daoust, P.Y. and M.D. Ferguson. 1984. The pathology of chronic ammonia toxicity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Dis.*, 7, 199~205.
- Degraeve, G.M., J.D. Cooney, T.L. Pollock, N.G. Reichenbach, J.H. Dean, M.D. Marcus and D.O. McIntyre. 1988. Interlaboratory study to determine the reproducibility of the seven-day fathead minnow larval survival and growth test. Publication No. 4468. American Petroleum Institute, Washington, DC.
- Degraeve, G.M., J.D. Cooney, D.O. McIntyre, T.L. Pollock,

- N.G Reichenbach, J.H Dean and M.D. Marcus. 1991. Variability in the performance of the seven-days fathead minnow (*Pimephales promelas*) larval survival and growth test: an intra- and interlaboratory study. Environ. Toxicol. Chem., 10, 1189~1203.
- Haywood, G.P. 1983. Ammonia toxicity in teleost fishes: a review. Can. Tech. Rep. Fish. Aqua. Sci. No. 1177. 39 pp.
- Heath, A.G. 1987. Water pollution and fish physiology. CRC Press, 245 pp.
- Holt, G.P. and C.R. Arnold. 1983. Effect of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. Trans. Am. Fish. Soc., 12, 314~318.
- Horning, W. B. and C. I. Weber. 1988. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to marine and estuarine organisms. U.S. Environmental Protection Agency, EPA 600/4-88/028, Cincinnati, Ohio, 416 pp.
- Kim, H.Y. 1994. Metabolism, energy budget and nitrogen balance of the left-eye flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. Ph.D. Thesis Nat'l. Fish. Univ. Pusan, 78 pp.
- Kwon, J.Y. 1994. Influence of ammonia and salinity on physiological conditions of the black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*. M.S. Thesis. Nat'l. Fish. Univ. Pusan, 54 pp.
- Lin, H.P., P. Thuet, J.P. Trilles, R.M. Guillaume and G. Charmantier. 1993. Effects of ammonia on survival and osmoregulation of various development stages of the shrimp *Penaeus japonicus*. Mar. Biol., 117, 591~598.
- Mayer, M.A., H.C. Alexander and D.L. Hopkins. 1986. Acute and chronic toxicity of ammonia to freshwater fish: a site-specific study. Environ. Toxicol. Chem., 5, 437~442.
- Miller, D.C., S. Poucher, J.A. Cardin and D. Hansen. 1990. The acute and chronic toxicity of ammonia to marine fish and mysid. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 19, 40~48.
- Milne, M.D., B.H. Scribner and M.A. Crawford. 1958. Non-ionic diffusion and the excretion of weak acids and bases. Am. J. Med., 24, 709~729.
- Mitchell, S.J. and J.J. Cech. 1983. Ammonia-caused gill damage in channel catfish, *Ictalurus punctatus*: confounding effects of residual chlorine. Can. J. Fish. Aqua. Sci., 40, 242~247.
- Perry, S.F. and P. Laurent. 1993. Environmental effects on fish gill structure and function. In Fish Ecophysiology, J.C. Rankin and F.B. Jensen, ed., Chapman and Hall, London, pp. 231~258.
- Rice, S.D. and R.M. Stokes. 1975. Acute toxicity of ammonia to several developmental stages of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. U.S. Nat'l. Mar. Fish. Ser. Fish. Bull., 73, 207~211.
- Smart, G.R. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol., 8, 471~475.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. Limnol. Oceanogr., 14, 799~801.
- Sprague, J.B. 1990. Aquatic Toxicology. In *Methods for fish biology*. Schreck C.R. ed., American Fisheries Society Bethesda, Maryland, 510 pp.
- Tarazona, J.V., M.J. Muñoz, J.A. Ortiz, M.O. Nuñez and J.A. Camargo. 1987. Fish mortality due to acute ammonia exposure. Aqua. Fish. Manag., 18, 167~172.
- Thurston, R.V., R.C. Russo, R.J. Luedtke, C.E. Smith and J.D. Brown. 1984. Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc., 113, 56~73.
- Thurston, R.V., R.C. Russo, R.J., Meyn, E.L, Zajdel, R.K. and C.E. Smith. 1986. Chronic toxicity of ammonia to fathead minnows. Trans. Am. Fish. Soc., 115, 196~207.
- Tomasso, J.R., C.A. Goudie, B.A. Simco and K.B. Davis. 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc., 109, 229~234.
- Wajsbrodt, J., A. Gasith, M.D. Krom and D.M. Popper. 1991. Acute toxicity of ammonia juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. Aquaculture, 92, 277~288.
- Wickens, J.F. 1981. Water quality requirements for intensive aquaculture: a review. In Proc. World Symposium on Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems, Stavenger. Vol. 1. West Germany, K. Tiews, ed. 17~37.

1996년 10월 12일 접수

1997년 5월 2일 수리