

용존산소의 변화에 따른 바지락 (*Ruditapes philippinarum*)의 생리적 반응

신윤경·김 윤*·정의영**·허성범***
국립수산진흥원 남해수산연구소, *국립수산진흥원 증식부
군산대학교 해양생명과학부, *부경대학교 양식학과

Effects of the Dissolved Oxygen Concentration on the Physiology of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*

Yun-Kyung SHIN, Yoon KIM*, Ee-Yung CHUNG**
and Sung-Bum HUR***

South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Yosu 556-820, Korea

*National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-900, Korea

**School of Marine Life Science, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

***Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

To investigate the effects of the dissolved oxygen concentration (DO) on Scope for growth (SFG) of the manila clam, *Ruditapes philippinarum*, we measured LC₅₀, filtration, respiration, ammonia excretion, and assimilation rates under 23±0.5°C as a function of DO. The LC₅₀ of DO for *R. philippinarum*, was 2.4 mgDO L⁻¹. With decreasing DO, filtration and respiration rates of *R. philippinarum* decreased, while ammonia excretion rate increased. The assimilation rate was 68.2% at 6.5 mgDO L⁻¹, decreased to 29.8~39.3% at 3.5 mgDO L⁻¹. *R. philippinarum* had positive SFG's at the DO≥2.5 mgDO L⁻¹.

Key words: Dissolved oxygen, *Ruditapes philippinarum*, Scope for growth

서 론

산소가 고갈된 환경속에서는 폐각의 폐쇄가 일어나게 되며, 종에 따라 생리적 반응은 차이가 있을지라도, 대체로 저산소에 대한 생리적 보상 기작으로서 수류의 펌프작용과 환기 및 혈중내에서의 산소 수송능력이 증가된다 (Herreid, 1980). 저산소 상태의 환경속에서는 혐기성 대사가 증가되는 대신, 호기성 대사가 억제되므로서 보유하고 있는 에너지의 사용을 최소화하여 제한된 시간동안 저산소 및 무산소 상태에서도 생존할 수 있다 (Shick et al., 1986; Widdows et al., 1989; Wang and Widdows, 1993). 산소가 감소된 수중에서의 서식지별 대사 조절 능력은 여러 종류의 패류에서 잘 알려져 있으나 (Bayne, 1967; Hamwi and Haskin, 1968; Brand and Roberts, 1973; Taylor and Brand, 1975; Shumway, 1983; Widdows and Wang, 1991; Sobral and Widdows, 1997), 산소소비율을 조절할 수 있는 능력에 관한 생태학적 복합관계는 아직 불분명하다. 대부분의 연구들은 산소소비율의 변화와 환경내의 산소감소에 대한 대사반응에 관한 것으로서, 노출시간과 개체크기, 먹이 이용 및 생식주기와 같은 생물학적 요인에 영향을 받는다고 보고되어 있다 (Taylor and Brands, 1975; Widdows and Wang, 1991). 저산소 및 무산소 상태에 노출된 패류의 생리·생화학적 적응 및 행동적응현상에 관한 연구는 *Ruditapes decussatus* (Sobral

and Widdows, 1997), *Abra tenuis* (Wang and Widdows, 1993) 및 *Glycymeris glycymeris* (Brand and Morris, 1984) 등에서 일부 연구되어 있는데, 조직내에 산소가 고갈된 때에는 혐기성대사를 이용하는 것으로 알려져 있다. 특히, SFG (Scope for growth)는 생물의 순수에너지의 획득을 알 수 있는 총체적인 생리학적 지표로서, 환경으로부터 오는 스트레스에 대처할 수 있는 능력을 알 수 있게 하는 요소이다.

많은 조건대 생물들은 조석주기 중에 규칙적으로 수온변화와 저산소에 노출되어, 결국 먹이를 이용할 수 있는 시간에 제한을 받게 된다. 따라서 본 연구는 바지락을 대상으로 용존산소의 저하에 따른 대사변화를 조사하여 저산소상태에서 인내할 수 있는 바지락의 생태생리학적 특성을 알아보았다.

재료 및 방법

실험동물인 바지락, *Ruditapes philippinarum* (크기, 23~26 mm)은 전북 부안의 곰소만에서 채집하여 실험실로 옮긴 후 0.5 t 수조에서 실내 사육하면서 실험에 사용하였다. 이때 먹이는 시판되고 있는 혼합 규조류를 제공하였으며, 수온은 23±0.5°C, 염분은 32±0.5‰, 그리고 명암은 12L : 12D로 조절하였다.

실험해수는 수온 23±0.5°C, 염분 32±0.5‰에서 용존산소 농도

본 연구는 1998~2001년도 해양수산부 수산특정연구개발과제의 연구비지원에 의한 연구결과의 일부입니다.

6.5±0.2, 3.5±0.2, 2.5±0.2, 1.5±0.2 및 0.5±0.2 mgDO L⁻¹로 설정하였으며, 실험해수의 용존산소 농도는 N₂ 가스와 공기를 주입시키면서 산소검량기 (YSI 5000)를 사용하여 설정된 실험 농도를 조절하였다.

실험방법은 실험해수는 각각의 용존산소의 농도하에서 지수식으로 하였으며, 수질악화를 고려하여 12시간 간격으로 실험용액을 교환하였고, 사망률, 여수율, 산소소비율, 암모니아 질소배설률 및 동화효율 등을 측정하였다.

사망률은 12시간 간격으로 점검하여 사망개체를 선별하여 구하였으며, 6일 동안의 반수치사농도는 probit분석 (Finney, 1971)에 의하여 산출하였다. 바지락의 산소소비율은 산소검량기 (YSI 5000형)를 사용하여, 실험전·후의 용존산소값의 차이로 계산하였으며, 암모니아 질소배설률은 Solorzano (1969)의 phenolhypochloride법, 여수율은 Cole and Hepper (1954)의 방법 그리고 동화효율은 Conover (1966)의 방법을 이용하였다.

$$\text{Assimilation efficiency (\%)} = \frac{F - E}{(1 - E)F} \times 100$$

E: ash-free dry weight : dry weight ratio in faeces

F: ash-free dry weight : dry weight ratio in food

SFG (Scope for growth)은 용존산소의 각 실험농도에 4일 동안 노출시킨 후 측정된 여수율, 호흡률, 암모니아질소배설률 및 동화효율로부터 에너지 값으로 전환하여 산출하였다. 섭취율은 4종 혼합규조류 (*Thalassiosira pseudonana*, *Skeletonema* sp., *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*)를 이용하였으며, 에너지량은 5516.8 cal/g (23×10⁸ 개체)였으며, 호흡률의 에너지 전환계수는 1 mL O₂ = 19.9 J (Elliott and Davison, 1975), 암모니아 질소배설률은 1 mg NH₄-N = 24.8 J (Elliott and Davison, 1975)을 사용하였다.

실험을 마친 후 건조중량은 바지락의 패각을 열어 육질만을 선별하여 증류수로 행군 후 80°C에서 24시간 건조시킨 후 측정하여 이용하였다. 자료분석에 사용한 통계처리 방법은 SPSS-통계패키지를 이용한 ANOVA 및 Duncan's multiple range test였다.

결 과

바지락의 생존에 미치는 수중내 용존산소의 영향을 알아보기 위하여 각 실험농도에 6일간 노출시켰을 경우, 1.5 mgDO L⁻¹ 이하의 농도에서는 모두 폐사하였고 2.5 mgDO L⁻¹에서는 72%의 생존율을 보여, 6일동안의 반수치사농도 (LC₅₀)는 2.40 mgDO L⁻¹를 나타내었다 (Table 1).

수중내 용존산소의 농도에 따른 여수율은 6.5 mgDO L⁻¹에서는 0.7 L/g Dw/h.였으며, 2.5 mgDO L⁻¹에서는 다소 증가한 후 용존산소의 감소에 따라 현저히 감소하는 경향을 나타내었다 (Fig. 1).

용존산소의 농도에 따른 호흡률의 변화는 6.5~3.5 mgDO L⁻¹에서 호흡률의 변화를 나타내지 않은 반면, 3.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 여수율의 경우와 마찬가지로 용존산소의 감소에 따라 호흡률이 감소하기 시작하여 0.5 mgDO L⁻¹에서 최저치를 보였으며, 1.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 호흡률의 변화를 나타내지 않았다 (Fig. 2).

Table 1. Survival (%) of *Ruditapes philippinarum* exposed to different dissolved oxygen concentrations for 6 days

DO conc. (mg/L)	Water quality			Survival (%)	LC ₅₀ and 95% confidence limit (mg/L)
	pH	Temp. (°C)	Sal. (‰)		
0.5	7.98			0	
1.5	8.03			0	
2.5	8.01	23±0.5	32±0.5	72	2.4046 (1.2888~3.2157)
3.5	7.88			92	
6.5	7.95			100	

LC₅₀ was calculated by the probit scale

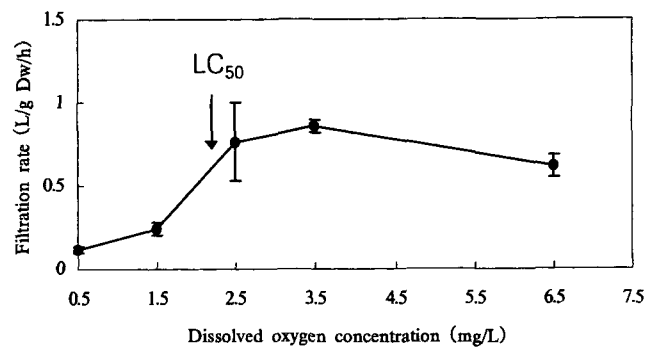


Fig. 1. The filtration rate of *Ruditapes philippinarum* exposed to different dissolved oxygen concentration. Symbols represent treatment means±SE.

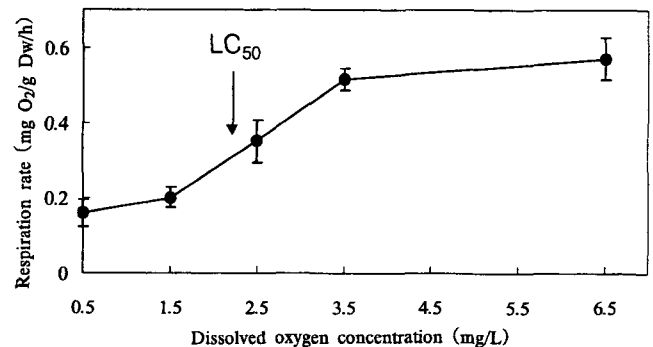


Fig. 2. The respiration rate of *Ruditapes philippinarum* exposed to different dissolved oxygen concentration. Symbols represent treatment means±SE.

용존산소 농도의 감소에 따른 바지락의 암모니아 질소배설률의 변화는 호흡률의 양상과는 달리, 용존산소의 감소에 따라 증가하여 0.5 mgDO L⁻¹의 저산소 상태에서 가장 높은 배설률을 나타내었으며, 용존산소 농도 3.5 mgDO L⁻¹ 이상에서는 거의 유사한 암모니아 질소배설률을 나타내었다 (Fig. 3).

바지락의 산소소비율과 질소배설률로부터 구한 O : N 원자값은 수중내 용존산소의 저하에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 2.5 mgDO L⁻¹ 이상의 산소농도에서는 30 이상의 값을 나타내었으며, 1.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 20 이하의 값을 나타내어 체내 에너지원이 사용되는 것으로 나타났다 (Fig. 4).

Table 2는 각 용존산소의 농도하에서 4일 동안 노출시킨 후 생존한

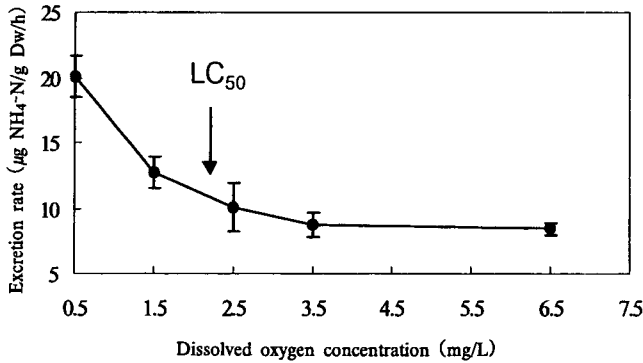


Fig. 3. The ammonia excretion rate of *Ruditapes philippinarum* exposed to different dissolved oxygen concentration. Symbols represent treatment means±SE.

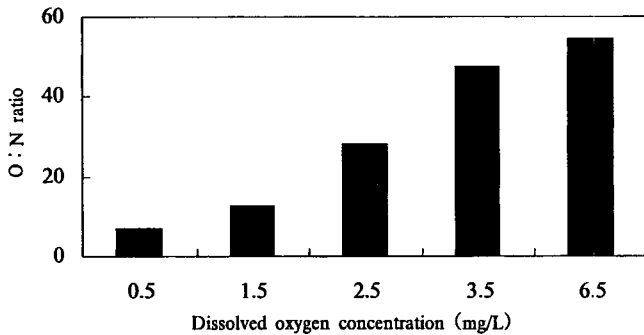


Fig. 4. Variations in atomic O : N ratios of *Ruditapes philippinarum* under different dissolved oxygen concentrations.

Table 2. Components of energy budget of *Ruditapes philippinarum* exposed to different dissolved oxygen concentrations for 4 days

DO conc. (mg/L)	C (J/h)	AE (%)	A (J/h)	R (J/h)	U (J/h)	SFG (J/h)
0.5	5.99	38.50	2.31	3.18	0.50	-1.37
1.5	10.33	39.27	4.06	3.98	0.32	-0.24
2.5	38.19	29.80	11.38	6.96	0.25	+4.17
3.5	51.03	33.67	17.18	10.15	0.22	+6.81
6.5	38.47	68.20	26.24	11.34	0.21	+14.69

C, energy consumed; AE, assimilation efficiency; A, energy absorbed; R and U, energy loss through respiration and excretion; SFG, scope for growth

개체를 선별하여 호흡률, 암모니아질소배설률 및 동화효율로부터 측정된 값들을 이용하여 구한 바지락의 에너지수지를 나타낸 것으로 동화효율은 용존산소농도 0.5~3.5 mgDO L⁻¹에서 29.8~39.3%를 차지하여 3.5 mgDO L⁻¹이하에서는 각 농도간 유의한 차이를 보이지 않았으며 (P>0.05), 6.5 mgDO L⁻¹에서는 68.2%로서 높게 나타났다. 또한 각 용존산소 농도별 SFG는 1.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 음의 값을 나타내었으며, 2.5 mgDO L⁻¹ 이상에서는 양의 값을 나타내었다.

고 찰

일반적으로 정착성이고 저서성인 패류는 활동성이 적고 에너지 이용이 적으므로 무산소에 대한 저항력이 크며 (Theede et al. 1969), 서식환경에 따라 내성이 다르게 나타난다.

바지락, *R. philippinarum*의 6일 동안의 용존산소에 대한 LC₅₀은 2.4 mgDO L⁻¹으로 복족류인 *Theora fragilis*는 1.3~1.4 mgDO L⁻¹에서 4일간 대부분 생존하여 바지락에 비해 다소 내성이 강한 반면, *Ruditapes decussatus* (Sobral and Widdows, 1997)의 임계산소농도는 7~12 kPa으로 본 실험종인 바지락보다는 임계산소 농도가 높았으며, 부드러운 켈지역에 서식하는 coot clam, *Mulinz lateralis* (Shumway and Scott, 1983)은 2~11일 동안 무산소 상태에서 생존하여 생물의 서식지에 따라 내성 농도가 다르게 나타났다.

대부분의 패류는 용존산소농도, 12 kPa와 공기중 포화도의 50% 감소까지는 정상적인 대사를 유지할 수 있으며 (Bayne and Newell, 1983), 호흡조절 능력이 없는 경우 패류의 호흡률은 외부산소농도에 의존하여 변화한다 (Wilbur and Yonge, 1966).

Herreid (1980)에 의하면 임계산소농도는 대사가 정상상태와 비교하여 상당히 감소하였을 때를 의미하며, 그들의 대사요구와 ventilation에 의해 조직내 산소를 공급할 수 있는 능력에 의존하여, 그 동물의 생리적 상태와 환경조건에 따라 변화한다.

바지락의 호흡률과 여수율은 0.5~6.5 mgDO L⁻¹에 노출되어 있는 동안 3.5 mgDO L⁻¹ 이상에서는 일정하게 유지되었으나, 이하에서는 용존산소의 감소에 따라 감소하였으며, 특히 호흡률의 경우에는 대조구에 비해 1.5 mgDO L⁻¹의 농도에서 67.3%가 감소하여 현저히 낮게 유지된 후 모두 사망하였다. 이는 반수치사농도 이하에서는 외부농도에 의존한 후 호흡조절 능력이 없이 일시생존 후 사망할 것으로 추정된다. 한편 암모니아 배설률의 경우에는 여수율 및 호흡률과는 달리 상반되는 경향으로 용존산소의 농도증가에 따라 배설양이 감소하였는데 이는 환경변화에 따른 바지락의 대사요구에 부응하여 체내 에너지원의 이용에 의한 것으로 여겨진다.

특히 O : N 원자값이 2.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 6.9~28.2으로 대조구와는 차이를 나타내었는데, Bayne (1973)에 의한 50이상의 O : N 원자값은 건강한 개체를 나타내는 것이며, 반면 30 이하의 값은 일반적으로 스트레스를 받은 동물의 지표로서 이용한다는 보고와 비교하여 보면, 2.5 mgDO L⁻¹ 이하의 환경에서 바지락은 SFG가 positive한 값을 나타내고 있어도, 그 기간이 오래 지속되면 상당히 스트레스를 받을 것으로 여겨진다.

SFG는 생물의 에너지 분배를 알 수 있는 것으로 생물의 모든 생활을 수행하는데 스트레스나 혹은 환경적 영향을 측정하는데 이용 가능한 생리학적 지표이다 (Widdows, 1985). 바지락의 SFG는 2.5 mg DO L⁻¹ 이상에서 양의 값을 나타낸 반면 1.5 mgDO L⁻¹ 이하에서는 섭이율이 적고 호흡과 배설에 의해 소모되는 에너지의 양이 높아 음의 SFG값을 나타내어 용존산소의 감소에 영향을 받는 것으로 나타났다. 이러한 것은 *Ruditapes decussatus* (Sobral and Widdows, 1997)의 경우 1.2~11 kPa의 농도에서 SFG의 값이

2.6~21.3으로 용존산소의 조건에서도 체내 에너지 보유물을 이용하지 않아 본 연구의 바지락과는 다소 차이를 보였다. 이러한 현상은 *Ruditapes decussatus* (Sobral and Widdows, 1997)는 각 용존산소의 농도에 2일간 순응시킨 반면, 본 실험의 바지락은 4일간 순응시킨 개체이므로 순응시킨 경과일수에 따라 용존산소의 감소에 따른 바지락의 생리적 저해 영향과 그에 따른 보상정도의 차이에 의해 SFG의 차이가 있을 것으로 여겨진다.

따라서 본 연구를 종합하여보면, 전복 품소만에서 서식하는 바지락은 반수치사농도가 2.4 mgDO L⁻¹이며, 2.5 mgDO L⁻¹에서 SFG 값이 positive한 값을 나타내고 있어 바지락의 용존산소에 대한 임계농도는 2.5 mgDO L⁻¹일 것으로 추정되며, 임계농도 이하에서는 생리적으로 저해 및 체내에너지 보유물의 고갈로 인해 생존 및 성장에 치명적인 영향을 미치는 것으로 여겨진다.

요 약

바지락의 용존산소 농도에 따른 SFG (Scope for growth)의 변화를 알아보기 위하여 수온 23±0.5°C와 일반해수에서 반수치사농도, 여수율, 호흡률, 암모니아 질소배설률 및 동화효율 등을 측정하였다. 바지락의 용존산소 농도의 감소에 따른 LC₅₀은 2.4 mgDO L⁻¹였다. 여수율과 호흡률은 실험용액의 용존산소의 감소에 따라 대체로 감소하는 경향을 보인 반면, 암모니아 질소 배설률은 용존산소의 감소에 따라 증가하였다. 동화효율은 6.5 mgDO L⁻¹에서는 68.2%였으며, 3.5 mgDO L⁻¹ 이하의 농도에서는 29.8~39.3%로 차이를 나타내지 않았다. 용존산소의 농도에 따른 SFG는 2.5 mgDO L⁻¹ 이상에서는 양의 값을 나타내어 생존 및 성장이 가능한 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Bayne, B.L. 1973. The responses of three species of bivalve mollusc to declining oxygen tension at reduced salinity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45A, 793~806.
- Bayne, B.L. 1967. The respiratory responses of *Mytilus perna* L. (Mollusca: Lamellibranchia) to reduced environmental oxygen. *Physiol. Zool.*, 40, 307~313.
- Bayne, B.L. and R.C. Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. In *The Mollusca*, Vol. 4. K.M. Wilbur and A.S. Saleuddin, ed. Academic Press, New York, pp. 407~515.
- Brand, A.R. and D. Roberts. 1973. The cardiac responses of the scallop *Pecten maximus* (L.) to respiratory stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 13, 29~43.
- Brand, A.R. and D.J. Morris. 1984. The respiratory responses of the dog cockle *Glycymeris glycymeris* (L.) to declining environmental oxygen tension. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 83, 89~106.
- Cole, H.A. and B.T. Hepper. 1954. The use of neutral red solution for the comparative study of filtration rate of *Lamelli branches*. *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, 20, 197~203.
- Conover, R.J. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 11, 338~345.
- Elliott, J.M. and W. Davison. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia (Berl.)*, 19, 195~201.
- Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*, 3rd ed. London: Cambridge University Press.
- Hamwi, A. and H.H. Haskin. 1968. Oxygen consumption and pumping rates in the hard clam *Mercenaria mercenaria*: a direct method. *Science*, 163, 823~824.
- Herreid, C.F. 1980. Hypoxia in invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 67A, 311~320.
- Shick, J.M., E. Gnaiger, J. Widdows, B.L. Bayne and De Zwaan. 1986. Activity and metabolism in the mussel *Mytilus edulis* L. during intertidal hypoxia and aerobic recovery. *Physiol. Zool.*, 59, 627~642.
- Shumway, S.E. 1983. Factors affecting oxygen consumption in the coot clam *Mulinia lateralis* (Say). *Ophelia*, 22, 143~171.
- Shumway, S.E. and T.M. Scott. 1983. The effects of anoxia and hydrogen sulphide on survival, activity and metabolic rate in the coot clam, *Mulinia lateralis* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 71, 135~146.
- Sobral, P. and J. Widdows. 1997. Influence of hypoxia and anoxia on the physiological responses of the clam *Ruditapes decussatus* from southern Portugal. *Mar. Biol.*, 127, 455~461.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochloride method. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 799~801.
- Taylor, A.C. and A.R. Brand. 1975. Effects of hypoxia and body size on the oxygen consumption of the bivalve *Artica islandica* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 19, 187~196.
- Theede, H., A. Ponat, K. Hiroki and C. Schlieper. 1969. Studies on the resistance of marine bottom invertebrates to oxygen deficiency and hydrogen sulphide. *Mar. Biol.*, 2, 325~337.
- Wang, W.X. and J. Widdows. 1993. Calorimetric studies on the energy metabolism of an infaunal bivalve, *Abra tenuis*, under normoxia, hypoxia and anoxia. *Mar. Biol.*, 116, 73~79.
- Widdows, J. 1985. Physiological procedures. In: *The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals*, Bayne, ed. Academic Press, New York and London, pp. 161~178.
- Widdows, J. and W.X. Wang. 1991. Physiological responses of mussel larvae *Mytilus edulis* to environmental hypoxia and anoxia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 70, 223~236.
- Widdows, J., R. Newell and R. Mann. 1989. Effects of hypoxia and anoxia on survival, energy metabolism and feeding of oyster larvae (*Crassostrea virginica*, Gmelin). *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab, Woods Hole*, 177, 154~166.
- Wilbur, K.M. and C.M. Yonge. 1966. *Physiology of mollusca*. Academic press, New York and London, Volume II, pp. 201~203.

2001년 1월 22일 접수

2001년 3월 24일 수리