

해양생물에 대한 CO₂의 영향을 실험하기 위한 문어의 이용

이경선*

*목포해양대학교 해양시스템공학부

Experimental Design of Octopus for CO₂ Effects on Marine Organisms

Kyoung-Seon Lee*

*Faculty of Ocean System Engineering, Mokpo National Maritime University, Mokpo 530-729, Korea

요 약 : CO₂를 해양에 격리·처리하기 위해서는 CO₂가 해양생태계에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구가 선행되어야 한다. 이 연구에서는 CO₂의 해양생물영향실험에 있어 연체동물의 이용가능성을 모색하기 위한 연구로, 먼저 문어에 적합한 마취농도를 확립하고, 혈액을 채취하기 위한 케뉴레이션 방법 및 문어가 케뉴라를 탈착시키는 것을 방지하기 위한 구속 방법에 대해서 검토하였다. 그 결과 1) 문어에 적합한 마취제는 5.25% MgCl₂·6H₂O인 것으로 나타났다. 2) 문어로부터 혈액채취를 위한 케뉴라 삽입 부위는 배대동맥이 적합한 것으로 나타났다. 3) 케뉴라 보호를 위하여 플라스틱 넷으로 만든 구속 챔버를 이용하는 것이 유용한 것으로 나타났다.

핵심용어 : CO₂, 해양격리·처리, 해양생물영향, 문어, MgCl₂·6H₂O, 배대동맥,

ABSTRACT : CO₂ impacts on marine ecosystems must be elucidated before implementation of CO₂ ocean sequestration. This study was performed for the purpose of applying the use of a cephalopod, *Octopus vulgaris* to the evaluation of CO₂ impacts on marine organisms. 1) 5.25% MgCl₂·6H₂O is an effective anaesthetic for octopus. 2) Cannula implantation into the abdominal aorta is effective for octopus. 3) A restraint chamber made out of the plastic net is suitable to permit the exit of cannula from the body.

KEY WORDS : CO₂, Ocean sequestration, Biological impacts, Octopus, MgCl₂·6H₂O, Abdominal aorta

1. 서 론

온실효과가스의 하나인 CO₂의 대기중 농도는 화석연료소비의 증대에 따라 계속해서 증가하고 있기 때문에 지구온난화 방지를 위해서는 CO₂와 같은 온실가스의 배출을 저감시키거나 배출된 온실가스를 효율적으로 처리할 수 있는 대책이 필요하다. 해양이 가지는 거대한 CO₂ 흡수능력을 유용하게 활용하여 이산화탄소를 인위적으로 해양의 중심대에 용해시켜, 대기로부터 CO₂를 격리시키는 해양격리·처리방안은 지구온난화를 완화시킨다는 측면에서 긍정적으로 생각할 수 있으나 CO₂ 해양격리·처리에 의하여 발생할 수 있는 피해에 대한 우려가 커지고 있다 (Handa and Ohsumi, 1995). 따라서 해양에 격리·처리된 CO₂로 인해 해양생태계 및 해양생물이 받는 영향 정도는 이 방안이 실제로 구현될 수 있는지를 최종 진단하는데 상당히 중요한 변수가 될 것이다.

CO₂의 해양생물에 대한 영향에 대해서는, 현재 주로 어류

(방어 *Seriola quinqueradiata*, 넙치 *Paralichthys olivaceus*, 별상어 *Mustelus manazo*)를 대상으로 하여 연구가 이루어지고 있으며(Lee et al., 2003; Hayashi et al., 2004) 연체동물에 대한 CO₂ 영향을 조사한 연구는 전무한 상태이다.

연체동물 중에서 두족강 팔완목류는 조간대에서 수심 6,000m 이상의 심해까지 가장 폭넓게 생식 가능하고 전 세계에 걸쳐 분포하고 있어 해양격리·처리에 있어서 중요한 지표생물이 될 것이다. 특히 두족강 팔완목류 중에서도 연중 구입이 용이하고 생체 크기도 적당하며 사육도 가능한 문어 (*Octopus vulgaris*)의 이용가능성에 대하여 검토하였다.

지금까지 수행된 어류의 연구에서는, CO₂가 미치는 생리학적 영향의 지표로서 주로 혈액성상 및 심기능에 대해서 조사하고 있다(Lee et al., 2003; Hayashi et al., 2004). 따라서 이와 같은 실험을 실시하는 것을 최종 목표로 해서 우선 문어에 적합한 케뉴레이션 및 케뉴라 보호 방법에 대해서 검토하여, 문어에 있어서의 반복 채혈법 확립을 목표로 했다.

* 대표저자 : 정희원, kslee@mmu.ac.kr 061)240-7245

2. 재료 및 방법

2.1 실험어 및 사육관리

실험어는 약 1Kg 정도 되는 문어(*Octopus vulgaris*)를 인근 어시장으로부터 구입하여 실험 개시 전까지 적정 50cm되는 통발에 1개체씩 넣어 실내의 순환식수조(1.5톤)에서 사육하며 실험에 사용하였다. 실험 기간 동안 온도 순치는 행하지 않았으며, 용존산소는 실험 수조 내 에어레이션을 통해 충분히 포화되도록 하였다. 먹이는 매일 소형 어류를 작게 썰어서 주었다.

2.2 마취 농도의 확립

마취제로서 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 를 사용했다(Messenger et al., 1985). 실험어에 적합한 마취 농도를 확립하기 위하여 4.0, 5.0, 5.25, 5.5 및 7.5% 에서 실험을 실시하였다.

먼저 $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 를 각 농도가 되도록 해수에 녹여 마취액 3L를 만들었다. 마취액은 충분히 에어레이션을 실시한 후 문어를 한 마리씩 넣고 뚜껑을 덮은 후 침지 마취를 시켰다. 색소포의 수축, 호흡의 흡착력 저하 및 호흡 운동이 없어진 것을 마취 진행의 판단 기준으로 했다. 침지 마취 후, 마취액의 1/2 농도에서 1시간 동안 관류마취를 실시하였다. 이 때 관류 마취액은 산소로 충분히 에어레이션시켜 마취상태에서 저산소증이 일어나는 것을 방지하였다. 1시간 동안 관류마취를 실시한 후 신선한 해수로 교환하여 관류시켜 회복의 정도를 관찰하였다. 회복은 색소포의 이완, 호흡 운동의 안정 및 호흡의 흡착력 회복을 기준으로 했다.

2.3 혈액채취용 혈관 선정 및 케뉴레이션

문어를 침지 마취 시킨 후, 수술대 위에 복부가 위를 향하도록 반듯하게 놓은 후 관류 마취를 실시하였다. 외투막을 모스키토 겹자로 고정시킨 후, 혈관을 노출시켰다. 문어의 해부도(池田·葉昭, 1971)와 대조하여 검토한 결과, 배대동맥을 케뉴라 장착 부위로 정했다(Fig. 1).

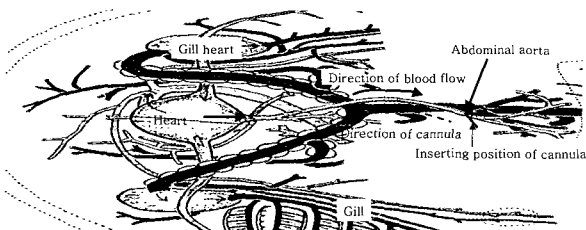


Fig. 1. The position of the vessel for cannulation on octopus.

1) 케뉴라 제작법

혈관삽입용 케뉴라는 약 80cm의 폴리에틸렌 튜브(히비키 No.3, 외경 1mm)로 제작했다. 케뉴라 제작 방법은 아래와 같다.

- ① 500mL 비이커에 물을 증탕하여 준비한다.
- ② 준비한 폴리에틸렌 튜브를 약 5cm 부분이 완곡되도록 증탕수에 넣어 구부린다.
- ③ 케뉴라는 혈관 삽입이 용이하게 하기 위하여 선단을 약간 늘린 후 면도칼을 사용하여 선단의 길이가 2mm 길이로 경사지도록 절단한다.
- ④ 혈관에 삽입되는 부분을 확인하기 위하여 케뉴라 선단에서부터 1cm 및 2.5cm 부분에 유성매직으로 표시를 해둔다.
- ⑤ 케뉴라 한쪽 끝은 22G 주사바늘을 연결한 1mL 플라스틱 주사기에 연결해 둔다. 주사기 내부는 문어용 링겔 용액(Table 1)으로 채워 둔다.

Table 1. The buffer solution of Octopus (Loe and Florey, 1965)

compositions	Concentration (mmol/L)
NaCl	115.0
KCl	2.4
CaCl ₂	1.2
NaHCO ₃	33.6
pH	7.4

2) 케뉴라 장착법

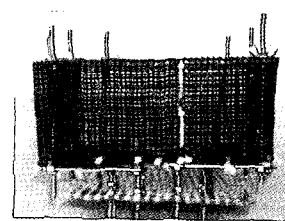
- ① 물통에 침지 마취액을 준비하고 산소로 충분히 에어레이션 시켜 둔다. 문어를 넣고 뚜껑을 씌워 외투막의 호흡 운동이 정지할 때까지 침지시킨다.
- ② 수술대는 관류 마취액으로 충분히 적신 타올을 깔은 후 관류용 마취액을 순환시켜 둔다.
- ③ 마취된 문어를 수술대에 복면이 위로 가게 하여 직선이 되도록 올려놓은 후 완부를 타올로 가리듯이 씌웠다. 수술용 고무장갑의 손가락끝 부분에 구멍을 뚫은 것을 실리콘 튜브의 선단에 장착하여 외투막내에 삽입해 관류시킨다.
- ④ 배대동맥을 보기 쉽게 하기 위해 외투막을 모스키토 겹자로 고정시킨 후 실체 현미경(OLYMPUS, SZ-STU2)을 사용하여 수술부위가 잘 보이도록 조절한 후, 마이크로 겹자를 이용해 배대동맥 주변에 있는 결합 조직의 가죽을 찢어, 배대동맥을 노출시킨다.
- ⑤ 배대동맥의 상류부와 하류부를 각각 수술용 봉합사로 느슨하게 묶은 후 배대동맥이 일직선이 되도록 한다.

- ⑥ 하류에서 상류로 향해 하류부의 절속부에 가까운 곳을 마이크로가위로 절단면을 만든 후 케뉴라를 심장 근처까지 삽입한다. 삽입한 케뉴라를 먼저 묶어두었던 봉합사로 혈관과 케뉴라를 함께 묶어 둔다.
- ⑦ 18G 주사바늘(18G×1½)을 외피로부터 외투막 내쪽으로 관통시켜 놓은 후, 케뉴라를 미리 찢러 둔 18G 주사바늘을 통해, 바늘을 천천히 외투막으로부터 뽑는다. 외투막 밖으로 빼낸 케뉴라에 생리식염수가 들어있는 주사기를 연결해 둔다.
- ⑧ 케뉴라가 나와 있는 외투막 부위를 수술용 봉합사로 매듭을 만들면서 고정시켜 둔다. 주사기내의 생리식염수를 혈관에 주입하고, 케뉴라가 파손되지 않은지, 또 림프액이 나오는지 확인한다.

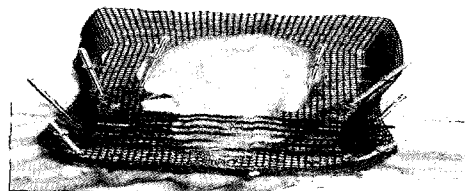
3) 구속 방법

문어에 장착한 케뉴라는 외투막에 고정시키지만 문어의 완부에 의해 케뉴라가 탈착되기 때문에 케뉴라를 문어로부터 보호할 필요가 있다. 따라서 케뉴라 보호를 위한 방법을 검토해 보았다.

- ① 머리 부분과 완부의 사이가 분리되어 몸통부의 외투막에 장착한 케뉴라가 탈착되는 것을 막기 위하여 머리부분과 완부사이를 분리시키기 위한 방법을 모색했다. 분리시키기 위한 재료로 스타킹과 세탁망을 사용했다.
 - a. 스타킹내에 팔을 거두어 완부 밑으로 스타킹을 결속 밴드로 고정했다.
 - b. 세탁망(폴리에스테일) 내에 팔을 넣어 구속 부위의 조절에 결속 밴드 및 지퍼를 이용했다.
- ② 몸통부분을 세탁망으로 감아, 주머니 모양으로 외투막을 가리도록 꿰매었다. 그 안에 케뉴라를 넣어 채혈의 수시간전에 케뉴라를 꺼내, 채혈을 실시했다.
- ③ 메스를 이용해 외투막의 표피만을 잘라, 표피와 근육의 사이에 공극을 만들어 케뉴라를 감아 넣어 표피를 봉합했다. 채혈의 수시간전에 케뉴라를 꺼내, 채혈을 실시했다.
- ④ 두께 4mm의 실리콘판을 표피와 근육의 공극에 넣어 표피 위에 두께 2mm의 실리콘판을 두어, 근육질마다 꿰매었다. 케뉴라를 실리콘판에 관통시킨 후 고정했다.
- ⑤ 플라스틱 넷트와 결속 밴드를 이용해 20×17×7cm의 상자를 만들었다. 20×17cm의 플라스틱 넷트는, 8.5×9.5cm의 부위를 중심으로 직경 5.5cm의 원을 뚫었다. 원 주위에 비닐 튜브를 씌웠다. 원 주위에 균등하게 8개의 나사를 세워 고정했다. 넷트의 원 밑으로 완부가 오도록 문어를 넣은 후 완부가 1개씩 분리되도록 고정된 나사로 단락지었다. 나사의 아랫부분은 염화비닐 판으로 고정했다(Fig. 2).



(a) Plastic net



(b) Restraint of Octopus

Fig. 2. Restraint chamber for Octopus. Plastic net was used for securing the cannula (a). The head was fixed firmly into a plastic plate and tentacles were sandwiched with plastic tube (b).

3. 결과 및 고찰

3. 1 마취 실험

실험에 사용된 문어는 MgCl₂·6H₂O 4.0 및 5.0%의 농도에서 1시간 동안의 관류 마취 중에 회복하였으며, 5.25 및 5.5% 농도에서는 관류마취 후 순조롭게 회복했다. 그러나 7.5% 농도에서는 개체가 사망했다(Table 2).

마취제로서 MgCl₂·6H₂O를 사용한 결과, 마취중에 먹물 토하는 경우는 나타나지 않았으며, 회복도 순조로웠다.

일찍이, *Ocutopus dofleini* 에 대해 수온 7~9℃의 냉수

Table 2. Concentrations of anesthetic agent and recovery

concentration (%)	recovery
4	fast
5	fast
5.25	normal
5.5	normal
7.5	dead

에 의한 마취(Johansen, 1964), 또, *Octopus vulgaris* 및 *Sepia officinalis*에 대해 에탄올 (Houlihan *et al.*, 1982; Johansen *et al.*, 1982) 또는 우레탄용액 (Young, 1971; Messenger, 1968)을 이용하여 마취를 실시하였다. 그러나 이러한 방법에서는 근육이 수축하고, 상처가 생기며, 먹물 토한다고 하는 문제점이 있었다 (Messenger *et al.*, 1985). 그러나 MgCl₂·6H₂O로 마취를 실시하는 것으로, 외상이 없고 먹물을 토하지 않게 되었다 (Messenger *et al.*, 1985). 이 연구에서도 문어의 마취제로 MgCl₂·6H₂O가 유효한 것으로 나타났다.

마취 농도의 경우 처음에는 7.5%로 설정하고 케뉴레이션

을 실시했지만 회복하지 못하고 사망했다. 과거에 *Octopus vulgaris*, *Loligo pealei*를 대상으로 7.5% 농도에서 마취를 실시한 보고가 있다 (Messenger *et al.*, 1985; Portner *et al.*, 1991). 그런데 두 실험은 마취 시간이 10~20분으로, 본 실험에서 소요된 약 1시간의 마취시간과 비교하여 상당히 짧은 시간으로, 마취소요시간의 차이를 고려하지 않았던 것이 7.5%로 마취를 실시한 개체가 사망한 원인이라고 생각할 수 있다.

또, 마취 실험에 대해 5.25% 및 5.5%가 유효했지만, 보다 농도가 낮은 마취 쪽이 개체에의 영향이 적을 것으로 판단되어 연속채혈을 위한 케뉴레이션작업에는 5.25% MgCl₂·6H₂O 해수용액을 개체마취에 사용하였다.

3. 2 케뉴레이션

케뉴라는 폴리에틸렌 튜브 선단으로부터 약 5cm의 부위를 구부린 후, 열탕에 몇 초 넣어 제작한, U자형의 것이 최적이었다.

케뉴라의 장착부위는 외투막의 절개가 불필요하여 개체의 부담이 적고, 내장기관에 매몰되어 있지 않기 때문에 혈관의 노출이 비교적 용이한 배대동맥이 적합한 것으로 판단되었다.

외투막은 혈관의 노출 및 케뉴라 장착 시에 확실하게 고정시킬 필요가 있어 외투막 및 배대동맥 주변의 조직을 모스키토 겜자로 각각 역방향으로 고정시키고, 모스키토 겜자를 실로 고정했다.

케뉴라 장착 부위는 배대동맥의 하류보다 상류측이 적합한 것으로 나타났다. 또, 이 부위는 2.5~3 cm 거리에서 심장과 단났다. 따라서 케뉴라의 길이가 짧을 경우에는 혈관에 케뉴라를 장착한 후 주변 조직과 혈관부위가 쉽게 떨어져서 케뉴라가 혈관 내에서 안정되기 어렵고, 케뉴라의 선단이 혈관벽에 부착하면 채혈이 어려워진다. 따라서 삽입하는 케뉴라의 길이는 심장 근처까지 달하는 2.5cm로 했다.

이 연구로 케뉴라를 장착한 문어를 구속 챔버에 포속시킨 상태에서 96시간까지 채혈이 가능해졌다. 완부 밑의 구속 부위를 넓게 했기 때문에 완부 밑에 직접 부담이 가지 않게 된 것, 또한 덮개나 팔에 구분을 만들어 행동 가능한 공간을 줄

채혈시 개체에 주는 자극을 완화하기 위해, 장착한 케뉴라는 외투막을 관통시켜 고정했다.

3. 3 케뉴라 보호

케뉴라 보호 방법에 대한 각 실험의 결과를 Table 3에 나타내었다. 검토결과 구속 챔버를 이용한 것이 가장 유효했다. 플라스틱 넷트로 만든 상자에 의해 머리 부분과 완부를 나눌 수 있었으며 구속부위에 뚫은 구멍은, 문어의 완부 밑 부분보다 넓기 때문에 완부 밑에 직접 부담이 가지 않게 되었다. 또한 완부를 1개씩 나누어 염화비닐판으로 고정한 것에 의해 문어는 아래쪽에 갈 수 없게 되었다. 머리 부분 위에 결속 밴드를 이용하고 덮개를 하는 것으로 위에도 갈 수 없게 되었다. 마지막으로 뚜껑을 하는 것으로 케뉴라에 팔이 닿는 것을 방지할 수 있었다.

실제로 케뉴레이션을 실시한 후 이 장치에 넣어 마취로 24시간 회복시켰다. 그 후, 3일 동안 24시간 마다 채혈을 시도했는데 케뉴라의 파손없이 채혈이 가능했다.

케뉴라 보호를 위하여 사용한 구속부는 개체와의 접촉강도에 따라 쉽게 개체의 탈출 또는 사망이 일어난다. 완부 구속의 실험에 있어서, 개체의 사망이 일어난 것은 구속부가 완부를 너무 단단히 조인 것이 원인으로 생각된다. 8개의 완부에는 3억 5천만 개의 신경이 달리고 있어(奥谷, 1994), 완부 밑을 강하게 구속하는 것은 신경계에 영향을 줄 것으로 생각되며, 구속부와 문어피부와와의 접촉에 의해 피부손상이 일어나서 결국 사망에 이른 것으로 생각된다.

케뉴라를 출납하기 위해서, 세탁망을 몸통에 꿰매었을 경우에는, 그 망을 당겨 뜯으려고 하는 움직임이 보였다. 8개의 완부 흡반상에는 약 2억 4천만의 감각세포가 위치하고 있어(奥谷, 1994), 외부자극에 대한 감각이 발달한 것으로 생각되며, 이렇게 발달한 감각세포 및 신경에 의해 케뉴라와 같은 이물질의 감지가 가능할 것으로 생각된다.

임으로써, 문어에 대한 극소적인 스트레스를 경감할 수 있었던 것으로 생각된다.

Table 3. Survival time relating with securing method of the cannula (N; individual numbers)

tentacles secure		cannula secure		
stocking	wash net	cannula secure	cannula insert	plastic net
N=2	N=10	N=5	N=2	N=4
32h	0-12h (N=2) 24-72h (N=1) 72h (N=2)	48h (N=1) 72h (N=2) cannula fail (N=2)	cannula fail	72h (N=2) 96h (N=2)

4. 결 론

해양생물에 대한 CO₂의 영향평가 대상종목으로 연체동물의 이용방안을 모색하기 위하여 문어에 적합한 마취농도, 혈액채취를 위한 케뉴레이션 방법 및 케뉴라 보호방법, 문어 구속방법에 대하여 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 문어에 적합한 마취제는 5.25% MgCl₂·6H₂O 인 것으로 나타났다.

2) 문어로부터 혈액채취를 위한 케뉴라 삽입 부위는 배대동맥이 적합한 것으로 나타났다.

3) 케뉴라 보호를 위하여 구속 챔버를 이용하는 것이 유용한 것으로 나타났다.

이 연구를 통하여 마취 농도의 설정, 케뉴레이션 기술, 케뉴라 보호방법을 확립했지만, 현재의 구속 방법은 처치시간이 걸리는 결점이 있다. 따라서 앞으로 구속 챔버를 개량해 나갈 필요가 있다. 또한 케뉴라를 장착한 문어를 사용하여 고농도의 CO₂ 환경에서의 생리학적 영향에 관한 연구가 필요하다.

참 고 문 헌

[1] Handa, N. and T. Ohsumi (1995), Direct ocean disposal of carbon dioxide. Terra Scientific Publishing Company, Tokyo. viii, pp. 274.

[2] Hayashi, M., J. Kita and A. Ishimatsu (2004), Acid-base responses to lethal aquatic hypercapnia in three marine fish. Marine Biology, Vol. 144, pp. 153-160.

[3] Houlihan, D.F., A.J. Innes, M.J. Wells and J. Wells (1982), Oxygen consumption and blood gases of *Octopus vulgaris* in hypoxia condition. Journal of Physiology, Vol. 148, pp. 35-40.

[4] Johansen, K. (1964), Cardiac output in the large cephalopod *Octopus dofleini*. Journal of Physiology, Vol. 42, pp. 475-480.

[5] Johansen, K., O. Brix and G. Lykkeboe (1982), Blood gas transport in the cephalopod, *Sepia officinalis*, Journal of Experimental Biology, Vol. 99, pp. 331-338.

[6] Lee, K.S., J. Kita and A. Ishimatsu (2003), Effects of lethal levels of environmental hypercapnia on cardiovascular and blood-gas status in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. Zoological Science, Vol. 20, pp. 417-422.

[7] Loe, P.R. and E. Florey (1965), The distribution

of acetylcholine and cholinesterase in the nervous system and in innervated organs of *Octopus dofleini*. Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. 17, pp. 509-522.

[8] Messenger, J.B. (1968), The visual attack of the cuttlefish, *Sepia officinalis*. Animal Behavior, Vol. 16, pp. 342-357.

[9] Messenger, J.B., M. Nixont, and K.P. Ryan (1985), Magunesium chloride as an anaesthetic for cephalopods. Biochemistry and Physiology, Vol. 82(1), pp. 203-205.

[10] Portner, H.O., D.M. Webber, R.G. Boutilier, and R.K. O'Dor (1991), Acid-base regulation in exercising squid (*Illex illecebrosus*, *Loligo pealei*). American Journal of Physiology, Vol. 261, pp. R239-R246.

[11] Young, J.Z. (1971), The anatomy of the nervous system of *Octopus vulgaris*. Clarendon Press, Oxford, pp. 690.

[12] 池田嘉平 · 葉昭彦(1971), マダコ 「日本動物解剖図説」 (廣島大學生物學會 編), 森北出版株式會社, pp. 79-82.

[13] 奥谷喬司(1994), タコの能力と感覺 「タコはなぜ元氣なのか」, 株式會社 草思社, 東京都, pp. 91-102.

원고접수일 : 2006 년 7월 11일

원고채택일 : 2006 년 8월 14일