

# CO<sub>2</sub>환경에서의 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 심기능의 경시적 변화

이경선\*

목포해양대학교 환경생명공학과

## Time-course Response of the Heart Function in Flounder *Paralichthys olivaceus* to CO<sub>2</sub>

Kyoung-Seon Lee\*

Department of Environmental Engineering and Biotechnology, Mokpo National Maritime University, Mokpo 530-729, Korea

Cardiorespiratory variables were measured in flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to acidified seawater equilibrated with a gas mixture containing 5% CO<sub>2</sub> gas for 72 h at 20 °C. It was found that CO<sub>2</sub> produced a significant increase in arterial PCO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) and significant decreases in arterial pH (pHa). CO<sub>2</sub> transiently increased heart rate within 30 min of exposure. After cardiac output was elevated by the increase in heart rate within 30 min, was then reduced by the decrease in both stroke volume and heart rate. The heart responses of flounder differ from those of yellowtail to high CO<sub>2</sub> environment.

Key words: Flounder, CO<sub>2</sub>, Heart function, Cardiac output

### 서 론

유엔정부간 기후변화위원회(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)의 2007년 보고서에 의하면 지구평균 기온은 지난 100년간 0.5-1 °C 증가하였으며, 현재와 같은 속도로 CO<sub>2</sub>가 증가한다면 향후 100년간 지구평균기온은 1.4-5.8 °C 까지 증가할 것으로 예상하고 있다. 국제사회에서는 기후변화 협약을 통하여 지구온난화로 야기되는 기후변화를 예방하기 위한 공동대응을 시작하였고, 교토의정서를 채택하여 CO<sub>2</sub> 감축 목표를 달성하기 위한 각국의 노력을 강조하고 있으며, CO<sub>2</sub>를 대량으로 처리할 수 있는 CCS (Carbon capture & storage) 등의 연구개발을 추진하고 있다. CCS란 지구온난화를 야기하는 CO<sub>2</sub>의 대기내 유입을 방지하기 위하여 대규모로 CO<sub>2</sub> 화석에너지를 사용하는 발전소나 공장에서 대기중으로 배출되는 CO<sub>2</sub>를 고압처리하여 액화 CO<sub>2</sub>로 만든 다음, CO<sub>2</sub> 흡수 능력이 무한대인 2,000 m 이상의 심해에 선박이나 파이프 등을 이용하여 인위적으로 처리하는 기술로, 중·단기적으로 온실가스 배출을 줄이고 지구온난화를 막을 수 있는 가장 현실적인 대안으로 꼽고 있다(Yoo et al., 2007; Kim, 2009). CCS의 실현을 위해서는 환경적 타당성 연구에 대한 세밀한 검토가 요구되고 있으며, 격리 저장된 CO<sub>2</sub>가 여러 원인에 의해 해양 및 대기로 누출될 경우

에 여러 환경적인 피해를 고려할 때 해양의 영향평가를 면밀히 검토할 필요가 있다.

CO<sub>2</sub>는 수중생물들에게 마취효과를 나타내며, 행동이상, 스트레스, 폐사와 같은 치명적인 영향을 미칠 수 있다(Post, 1979). 해수 CO<sub>2</sub> 증가에 의한 어류의 반응에 대해서는 Ishimatsu et al. (2004, 2008)에 의하여 잘 정리되어 있다. 고농도의 CO<sub>2</sub> 환경에서 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 혈액의 pH가 회복된 후에 폐사하였고(Hayashi et al., 2004), 방어는 심기능 손상이 현저하게 나타났다(Lee et al., 2003). 이러한 결과로부터 고농도의 CO<sub>2</sub> 환경에서 일어나는 어류의 폐사 원인으로 심기능의 부전이 중요한 역할을 하는 것으로 지적하였다(Ishimatsu et al., 2004, 2008). 넙치는 저서성의 어류로 유영성이 큰 방어(*Seriola quinqueradiata*)와는 환경에 대한 민감도가 다르다. 넙치의 심근은 in vitro 조건에서 CO<sub>2</sub>에 의하여 음성 변력성작용(negative inotropic effect)이 나타나는 것으로 보고되어 있으나(Gesser and Poupa, 1983; Höglund and Gesser, 1987), in vivo 조건에서의 효과는 확인된 적이 없다. 따라서 본 연구에서는 고 CO<sub>2</sub>환경에서 넙치의 심기능을 in vivo 조건에서 측정해 보았으며, 이를 통하여 고 CO<sub>2</sub>환경에서의 넙치 폐사원인에 대해서 검토해 보고자 한다.

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0869>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Kor J Fish Aquat Sci 47(6) 869-873, December 2014

Received 6 August 2014; Revised 26 September 2014; Accepted 28 November 2014

\*Corresponding author: Tel: +82. 61. 240. 7317 Fax: +82. 61. 240. 7321

E-mail address: kslee@mmu.ac.kr

## 재료 및 방법

실험생물로 사용한 넙치는 인근 어시장에서 구입하여 실내 FRP원형수조에 넣어 20℃로 온도순치 시킨 후 실험에 사용하였으며, 온도 순치 중에는 사료를 급이 하지 않았다. 실험에 사용한 넙치의 평균체중은  $657 \pm 48$  g (N=9)을 나타내었다.

실험은 Lee et al. (2003), Hayashi et al. (2004)의 실험조건 및 방법에 따라 실시하였으며, 간략히 설명하면 다음과 같다. 넙치는 50 mg/L의 벤조카인용액으로 충분히 마취시킨 후에 냉각기가 부착된 수술대에서 관류 마취 상태로 수술을 시행하였다. 심박출량을 측정하기 위하여 복부대동맥에 도플라 전극(aperture size 2.0-2.4 mm, type ES, Iowa Doppler Product, USA)을 장착하였으며, 혈압측정 및 혈액채취를 위하여 미부동맥에 혈관 삽입용 폴리에틸렌튜브( $\phi 0.58 \times 0.965$  mm, Becton Dickinson & Co., USA)를 장착하였다(Fig. 1). 수술이 끝난 개체는 호흡실에서 48 h 동안 충분히 회복시킨 후 5% 농도의 CO<sub>2</sub>로 폭기된 해수에서 노출실험을 실시하였다. CO<sub>2</sub>는 가스혼합장치(MB2C, Koflock, Japan)를 이용하여 압축공기와 CO<sub>2</sub>를 5% 농도가 되도록 혼합시켜 header tank에 폭기 되도록 하였으며, Header tank의 CO<sub>2</sub>의 농도변화는 pH를 측정하여 간접적으로 확인하는 방법을 사용하였다. 해수의 pH는  $8.15 \pm 0.05$ 에서 5%-CO<sub>2</sub> 혼합가스 폭기 후 30 min 이내에  $6.27 \pm 0.04$ 로 감소한 후 일정하게 유지되었다.

실험기간 동안, 혈압(blood pressure)은 넙치의 혈관에 삽입한 케뉴라를 혈압 측정용 transducer (DPT-6003, Kawasumi Laboratories, Japan)에 연결하고, 심박출량(cardiac output)은

Doppler flowmeter (545C-4, Bioengineering, USA)에 연결한 뒤, 각각의 신호는 PowerLap Multi system (PowerLab/8sp, ADInstruments, USA)을 거쳐 디지털신호로 컴퓨터에 기록하였다. 심박출량의 기록으로부터, 심박수(heart rate) 및 박동량(stroke volume)을 구했으며, 심박수는 혈압기록과 비교하여 서로 상이함이 없는 것을 확인하였다. 혈액분석을 위하여 CO<sub>2</sub> 노출 전 2회에 걸쳐 혈액을 채취, 분석하여 대조구(0 h)의 측정치로 사용하였다. CO<sub>2</sub> 노출 개시 후 0.5, 1, 3, 8, 24, 48, 72 h의 시간간격으로 측정을 행했다. 혈액의 pH는 혈액가스분석시스템(Blood Gas meter, Cameron Instrument Company, USA)을 사용하여 측정하였으며, 혈장 CO<sub>2</sub> 농도는 Capni-Con5 (Cameron Instrument Company, USA)를 사용하였다. 혈액의 pH (pHa)와 혈장 CO<sub>2</sub> 농도값으로부터 혈장 CO<sub>2</sub> 분압(PaCO<sub>2</sub>) 및 중탄산이온농도[HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]p를 아래의 계산식에 의하여 구하였다.

$$\begin{aligned} PaCO_2 &= TCO_2 / \alpha CO_2 \times (1 + 10^{pH-pK'}) \\ [HCO_3^-]p &= TCO_2 - \alpha CO_2 \times PaCO_2 \\ \alpha CO_2 &= 0.0869 - 0.0028 \times t + 4.6143 \times 10^{-5} \times t^2 - 2.8889 \times 10^{-7} \times t^3 \\ pK' &= 6.125 - \log(1 + 10^{pH-8.7}) - 0.0026 \times (t-37) + 0.00012 \times (t-37)^2 \end{aligned}$$

(t: 온도)

결과값은 평균값 ± 표준편차(SD)로 표기했다. 통계처리프로그램 SPSS (version 22.0)를 사용하여 0시간의 측정치와 CO<sub>2</sub> 노출후의 각 측정치를 비교하기 위하여, one-way ANOVA 분석을 한 후에 Dunnett's test를 행했다. 폐사가 일어나 개체수가 감소된 측정치에 대해서는 통계처리하지 않았다.



Fig. 1. Photograph of flounder *Paralichthys olivaceus* showing position of the Doppler flow probe (DP) secured around the ventral aorta and caudal aortic cannular (C).

## 결과 및 고찰

5%-CO<sub>2</sub> 환경에 노출된 넙치는 8 h 이후에 폐사가 발생하여, 24 h에 22.2%, 72 h에 77.8%의 누적폐사율을 나타내었다. 넙치의 누적폐사율은 Hayashi et al. (2004)의 보고보다 낮게 나타났는데, 72 h에도 생존한 개체가 존재하였으며 시간별 폐사율도 감소하는 경향이였다(Table 1). 본 연구에서는 넙치의 미부동맥에 케뉴라만을 장착하여 실험한 Hayashi et al. (2004)의 개체보다 미부동맥에 케뉴라 뿐만 아니라 복부대동맥에 도플라진극을 장착하여 수술이 가중된 개체가 사용되었기 때문에 수술에 의한 스트레스는 더욱 컸을 것으로 생각되어지나 시간에 따른 넙치의 폐사율은 낮게 나타났다. 본 연구와 유사한 수술이 이루어진 방어를 대상으로 한 연구에서 1%-CO<sub>2</sub> 환경은 72 h 이내에 폐사를 유발하지 않았으며(Lee et al., 2003), 방어는 넙치보다 CO<sub>2</sub>에 대한 내성이 약한 것으로 알려져 있다(Hayashi et al., 2004). 따라서 수술에 의해 나타날 수 있는 스트레스가 실험기간 동안 개체의 폐사율에는 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

혈액의 pH는 혈장 CO<sub>2</sub>농도상승에 따라 유의하게 감소하였다가 혈장 중탄산이온의 농도증가에 의해 상승하기 시작하여 24 h 이내에 대조구의 수준으로 회복하였다(Fig. 2). 심박수는 CO<sub>2</sub> 노출 30 min에 대조구보다 유의하게 증가하였다가 점차 감소하여 노출 3 h안에 대조구 수준으로 회복하였으며, 박동량은 CO<sub>2</sub>노출에 의해 점차 감소하는 경향이였지만 통계적 유의성은 없었다. 이러한 결과 심박출량은 비록 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 일시적으로 증가하였다가 감소하는 경향이였다. 혈압은 CO<sub>2</sub> 노출에 의하여 대조구에 비해 현저하게 증가하다가 시간 경과에 따라 점차 감소하며 대조구 수준으로 회복하는 경향을 보였다.

심박출량은 심박수와 박동량의 곱으로 산출되며, 심박출량의 조절은 어종에 따라 달리 나타난다. 어류는 주로 박동량 변화에 의하여 심박출량을 조절하지만, 가다랭이와 같이 심박수 증가에 의해 심박출량을 증가시키는 어종도 있다(Nanba, 2002). 또한, 심박출량의 조절은 환경변화에 따라 종 의존성이 크게 나타나는 것으로 알려져 있다(Höglund and Gesser, 1987). 넙치의 CO<sub>2</sub>에 의한 심반응은 심박수의 증가에 의해 심박출량이 일시적으로 증가하는 것으로 나타났다. 넙치와 유사하게 담수어 종인 유럽산 잉어(*Tinca tinca*)는 고 CO<sub>2</sub> 환경에서 빈맥(tachycardia)을 보였다(Randall and Shelton, 1963). 한편 대서양연어(*Salmo salar*)는 pH 5.2의 산성수에서 심박수가 증가되었으

나 박동량의 감소에 의하여 심박출량은 변화가 없었다(Brodeur et al., 1999). 철갑상어(*Acipenser transmontanus*)는 20 mmHg CO<sub>2</sub> 환경에 노출직후 빈맥이 나타났고 심박출량 및 박동량이 증가하였는데(Crocker et al., 2000), CO<sub>2</sub>에 의하여 심장의 변시성작용(chronotropic effects) 및 변력성작용(inotropic effects)이 동시에 항진되었다고 보았다. 한편, 본 연구와 같은 조건(5%-CO<sub>2</sub>, 20°C)에서 방어는 박동량의 감소에 의해 심박출량이 유의적으로 감소하며 폐사에 이르렀다(Lee et al., 2003).

어류에 있어서 심박수의 증가는 심장 수축력 및 심장 충만시간 감소에 의한 박동량 감소를 야기하기 때문에 심박출량을 상승시키기 위한 방법으로는 비효율적이다(Farrell and Jones, 1992). 그러나 CO<sub>2</sub>에 의한 산혈증은 교감신경활동성을 증가시키고, 아드레날린이 분비되어 심박수가 증가하면서 심박출량의 증가를 유발할 수 있다(Randall and Perry, 1992; Crocker et al., 2000). 그 결과 조직으로의 산소 공급도 증가되는데, CO<sub>2</sub> 환경에서 넙치는 심박수를 증가시켜 심박출량을 증가시킴으로써 산소운반능력을 유지하기 위한 적응으로 보이며, CO<sub>2</sub> 환경에 노출 후 넙치의 동맥혈의 산소분압(PaO<sub>2</sub>)과 산소함량(CaO<sub>2</sub>)은 큰 변화를 보이지 않았다(미발표 결과).

동물에 있어서 호흡성 산성화가 심장의 수축성을 약하게 하는 것으로 알려져 있으며(Gesser and Poupa, 1983; H 1983; and Gesser, 1987; Vandenberg et al., 1994), CO<sub>2</sub>에 의한 산혈증은 어류의 심근에 음성 변력성작용을 일으킨다(Farrell and Jones, 1992). CO<sub>2</sub>에 의하여 심근세포내액의 pH가 감소하고 이는 수소이온과 칼슘이온과의 길항작용에 의해서 심근의 수축력이 감소된다(Gesser and Poupa, 1983). 그 결과 CO<sub>2</sub>환경에 노출된 어류의 심근 수축력 감소는 박동량 감소로 나타나게 된다(Lee et al., 2003). 넙치의 경우 in vitro조건에서 음성 변력성작용이 나타난 것처럼(Gesser and Poupa, 1983; H 1983; and Gesser, 1987) in vivo조건에서도 음성 변력성 작용에 의하여 박동량이 감소한 것으로 생각되어지나 그 세기는 방어보다 미약한 것으로 여겨진다.

결론적으로 CO<sub>2</sub>환경에서 나타난 넙치의 심반응은 CO<sub>2</sub>환경에서 박동량 감소에 의해 심박출량이 감소하고 결국 폐사에 이르는 방어의 심반응과는 다르게 나타났으며, 이러한 심반응은 CO<sub>2</sub> 환경에서 넙치의 직접적인 폐사원인으로 작용하지는 않은 것으로 판단된다. 본 연구와 관련하여 CO<sub>2</sub>에 의한 넙치의 폐사 원인규명을 위해서는 CO<sub>2</sub> 환경에서 심장을 포함하여 순환호흡 기능에 관여하는 신경계 및 호르몬과 같은 조절 인자들이 어떻게 작용하고 상호 영향을 미치고 있으며, 조직학적 혹은 면역학

Table 1. Cumulative percent mortality of flounder *Paralichthys olivaceus* subjected to 5%-CO<sub>2</sub> environment at 20°C

N	Surgical apparatus	Elapsed time (h)					Reference
		3	8	24	48	72	
6	Cannula	0%	17%	33%	100%		Hayashi et al. (2004)
9	Cannula+ probe	0%	0%	22%	78%	78%	Present study

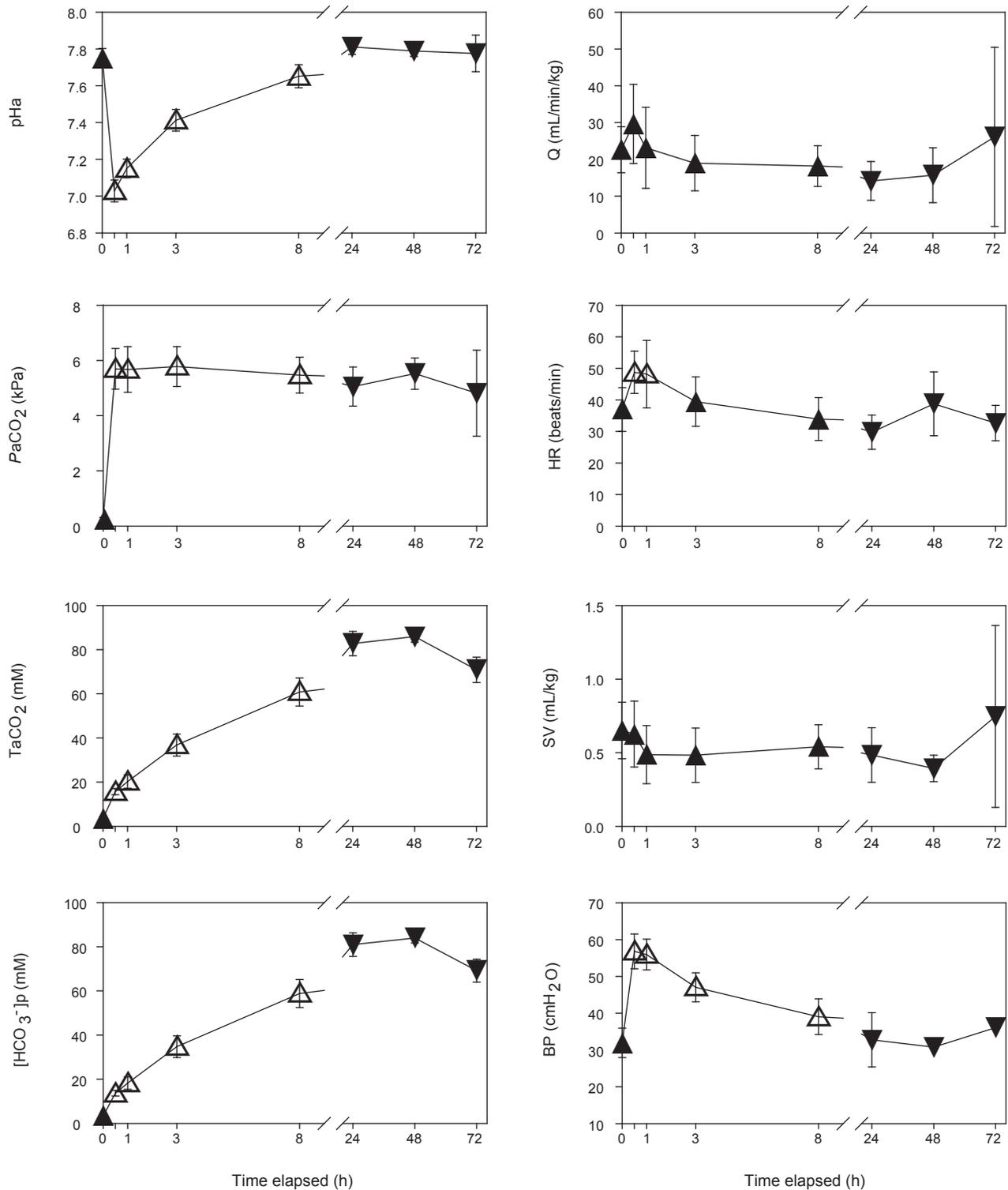


Fig. 2. Time-dependent changes in arterial blood pH (pHa),  $PCO_2$  ( $PaCO_2$ ), total  $CO_2$  concentration (Ta $CO_2$ ), plasma bicarbonate concentration ( $[HCO_3^-]_p$ ), cardiac output (Q), heart rate (HR), stroke volume (SV) and arterial blood pressure (BP) in flounder *Paralichthys olivaceus* subjected to 5%-CO<sub>2</sub> environment. Triangles (▲) represent data from 5% CO<sub>2</sub>. Open symbols (△) indicate significant differences from 0 h values ( $P < 0.05$ ; Dunnett's test). Down-triangles indicate that N was decreased due to mortality, to which no statistical comparison was applied. Means  $\pm$  SD.

적 측면에서 일어나는 반응 등에 대해서 조사하여 CO<sub>2</sub>환경에서 나타날 수 있는 넙치의 생리적 반응에 대한 종합적인 검토가 이루어져야 할 것이다. 본 연구에서 사용한 CO<sub>2</sub>의 농도 수준은 해양에 CO<sub>2</sub> 저장이나 심해 투기되는 조건에서 제한적으로 존재할 수 있는 농도 수준일 것이다. 고농도의 CO<sub>2</sub>환경에서의 급성 생리적 반응은 저농도 CO<sub>2</sub>환경에서 만성적으로 일어나는 생리적 반응과 다른 양상을 보일 수 있으므로 저농도 CO<sub>2</sub> 환경에서의 생리적 적응에 대한 검토가 필요하며, 또한 다양한 생물종에 대한 영향연구가 필요할 것으로 보인다. 이러한 연구를 통하여, 정량적인 생태위해성 평가가 가능하고 CCS 사업의 실용화 가능성이 높아질 것이다.

## References

- Brodeur JC, Ytrestoyl T, Finstad B and McKinley S. 1999. Increase of heart rate without elevation of cardiac output in adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to acidic water and aluminium. *Can J Fish Aquat Sci* 56, 184-190.
- Crocker CE, Farrell AP, Gamperl AK and Cech JR JJ. 2000. Cardiorespiratory responses of white sturgeon to environmental hypercapnia. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 279, 617-628.
- Farrell AP and Jones DR. 1992. The heart. In: Fish physiology vol 12A. Hoar WS, Randall DJ and Farrell AP, eds. Academic Press, New York, USA, 1-88.
- Gesser H and Poupa O. 1983. Acidosis and cardiac muscle contractility: comparative aspects. *Comp Biochem Physiol* 147A, 123-128.
- Hayashi M, Kita J and Ishimatsu A. 2004. Comparison of the acid-base responses to CO<sub>2</sub> and acidification in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Mar Pollut Bull* 49, 1062-1065.
- Höglund L and Gesser H. 1987. Electrical and mechanical activity in heart tissue of flounder and rainbow trout during acidosis. *Comp Biochem Physiol* 87A, 543-546.
- IPCC. 2007. Climate Change (2007), The Physical Science Basis. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Ishimatsu A, Kikkawa T, Hayashi M, Lee KS and Kita J. 2004. Effects of CO<sub>2</sub> on Marine Fish: Larvae and Adults. *J Oceanography* 60, 731-741.
- Ishimatsu A, Hayashi M and Kikkawa T. 2008. Fishes in high-CO<sub>2</sub>, acidified oceans. *Mar Ecol Prog Ser* 373, 295-302.
- Kim JM. 2009. Status and prospect of carbon dioxide storage technologies. *KIC News* 12, 31-41.
- Lee KS, Kita J and Ishimatsu A. 2003. Effects of lethal levels of environmental hypercapnia on cardiovascular and blood-gas status in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Zoo Sci* 20, 417-422.
- Nanba KJ. 2002. Respiration-Circulation. In: Elementary of fish physiology, Aida KM ed. Kouseisha-kouseikaku Co. Tokyo, Japan, 45-66.
- Post G. 1979. Carbonic acid anesthesia for aquatic organisms. *Pro Fish Cult* 41, 12-144.
- Randall DJ and Perry SF. 1992. Catecholamines. In: Fish physiology vol 12A, ed. Hoar WS, Randall DJ and Farrell AP, eds. Academic Press, New York, USA, 255-300.
- Randall DJ and Shelton G. 1963. The effects of the changes in the environmental gas concentrations on the breathing and heart rate of a teleost fish. *Comp Biochem Physiol A* 9, 229-239.
- Vandenberg JJ, Metcalfe JC and Grace AA. 1994. Intracellular pH recovery during respiratory acidosis in perfused heart. *Am J Physiol* 266, C489-C497.
- Yoo DG, Kim GY, Park YC, Huh DG and Yoon CH. 2007. Feasibility study for CO<sub>2</sub> geological sequestration in offshore Korean Peninsula. *JKSMER* 44, 572-585.