

기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂,
DO)에 대한 해양저서무척추동물의 반응 및
상호작용 연구

2015. 2

한국해양과학기술원

제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 “기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂, DO)에 대한 해양 저서 무척추동물의 반응 및 상호작용 연구”과제의 (연차,최종)보고서로 제출합니다.

2015. 2 . 27

총괄연구책임자 : 김 태 원

참 여 연 구 원 : 이정아, 공승희, 유채영

보고서 초록

과제고유 번호	PE99247	해당단계 연구기간	2014.1.1. ~2014. 12. 31.	단계 구분	1단계
연구사업명	중사업명	주요사업			
	세부사업명	신진연구자 지원과제			
연구과제명	대과제명	기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO ₂ , DO) 에 대한 해양 저서 무척추동물의 반응 및 상호작용 연구			
	세부과제명				
연구책임자	김태원	해당단계 참여연구원수	총 : 3 명 내부: 1 명 외부: 2 명	해당단계 연구비	정부: 48,000 천원 기업: 천원 계 : 천원
		총연구기간 참여연구원수	총 : 3 명 내부: 1 명 외부: 2 명	총 연구비	정부: 48,000 천원 기업: 천원 계 : 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국해양과학기술원, 생물연구 본부		참여기업명		
국제공동연구					
위탁연구					
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	
<p>기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂, DO)의 복합적 영향 연구를 위하여, 각 단일 인자 중 해양산성화에 직접적 영향을 미치는 CO₂의 영향을 우선적으로 진행함. IPCC 제5차 평가보고서의 대표농도경로(RCP) 시나리오를 이용하여 제시된 잠정적 미래 대기 CO₂수준 중, RCP2.6에서 2012-2100년 동안의 누적 CO₂배출량이 평균 990 GtCO₂ (범위 510-1505)로 예상하는 것에 착안, 대략 현재 CO₂수준(대략 400ppm)을 감안한 수준들에서 진행. 바지락 <i>Venerupis philippinarum</i>, 성체는 pCO₂구 400, 800, 1000 uatm, 어린개체는 900, 1300, 2000 uatm 수준에서 각각 48, 39일간 노출 사육함. 성체는 1000 uatm의 높은 수준에서도 대사, 생존 그리고 서식지 잠입에 부정적 영향이 없었으나, 어린개체의 경우는 모든 실험 수준에서 생존 및 서식지 잠입에 저해 영향을 보이고 생존하고 있는 개체의 대사반응은 고농도인 1300과 2000 uatm에서 개체간 변이가 크거나 대사저해를 유의하게 받으며, 이들의 생리적 저해로 인해 사망으로 가는 반응 양상이 잠입에서 서식지 이탈을 보이는 저질 밖으로의 출현과 상관성이 매우 높음을 발견함.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	이산화탄소, 온도, 용존산소, 바지락, 행동, 생리			
	영 어	CO ₂ , temperature, DO, manila clam, behavior, physiology			

요 약 문

I. 체 목

기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂, DO)에 대한 해양저서 무척추동물의 반응 및 상호작용 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

세계적으로 기후변화와 관련된 해양의 3대 악재인 지구온난화(global warming), 해양산성화(ocean acidification), 탈산소화(deoxygenation)는 해양생태계를 위협하는 주범으로 그 영향에 대한 연구들이 진행이 되고 있다. 여러 가지 스트레스 요인은 독립적으로 생물에 작용하게 될 수도 있지만 이들이 복합으로 가져올 수 있는 시너지 효과(synergistic effect)도 고려해 볼 필요가 있다. 따라서 다중인자가 생물에 미치는 영향에 대해 연구해 볼 필요가 있다. 현재 이러한 다중 스트레스 요인이 생물에 미치는 영향에 대해 연구하기 위해서는 기본적으로 연구실내 요인을 독립적으로 제어할 수 있는 시스템과 기술이 우선적으로 필요하다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂, DO)에 대한 해양저서 무척추동물의 반응 및 상호작용 연구는 다양한 환경 인자들, 다양한 대상종을 아우르는 종, 개체군, 군집을 포함하는 해양생태계 전반을 파악하는 기본이 되는 광범위한 연구이다. 현재 연구는 이를 위한 시발점으로, 해양산성화에 직접적인 영향을 미치는 CO₂의 영향을 파악을 가진 연체동물인 바지락을 대상으로 연구하고자 하였다. 생물 반응은 생존, 대사, 잠입능력 및 성장 등과 같이 생리 및 행동적 반응에 초점을 두었다. 특히 이번 연구는 이미 선진국에서는 상급 언급한 다양한 환경 인자들에 대한 동시적인 복합영향 연구를 위해, 그리고 해양산성화를 연구하기 위한 시스템으로써, 이미 갖춘 자동농도 조절이 가능한 사육시스템을 본 연구에서도 갖추고자 시도한 면이 있다.

기후변화에 관한 정부 간 협의체(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)의 제5차 평가보고서에 의해 제시된 새 시나리오, 대표농도경로(Representative Concentration Pathways, RCP)를 이용하여 기후변화 대응 정책과 연계하여 잠정적 미래 대기 CO₂ 수준들이 제시되었고, 이 연구는 지구 시스템 모델 RCP2.6에서 2012-2100년 기간 동안의 누적 CO₂배출량이 평균 990 GtCO₂ (범위 510-1505 GtCO₂)로 예상하는 것에 착안하여, 대략 현재 CO₂수준

(대략 400ppm)에서 이를 감안한 수준범위들에서 생물 반응 연구가 의미 있을 것으로 판단하여 진행하였다.

IV. 연구개발결과

실험종은 패각을 가지고 있는 연체동물인 바지락 *Venerupis philippinarum*을 사용하였으며, 성체(개체수 = 96, 평균 \pm 표준편차: 각장 25.32 ± 1.66 mm, 총습중 3.12 ± 0.54 g)는 pCO_2 구 400, 800, 1000 uatm, 어린개체(개체수 = 240, 평균 \pm 표준편차: 각장 16.71 ± 0.96 mm, 총습중 0.70 ± 0.13 g)는 pCO_2 구 900, 1300, 2000 uatm 수준에서 각각 48일과 39일간 노출 사육실험을 진행하였다.

pCO_2 농도 조절은 소형 기액평형기(small vapor-liquid equilibrium system)와 비분산적외선 분광분석장치(non-Dispersive Infrared, NDIR)를 이용한 CO_2 농도 조절기를 이용한 자동조절과, 그리고 MFC를 이용한 가스농도제어장치 시스템을 이용한 수동적 조절을 이용하였다.

성체는 1000 uatm의 높은 CO_2 수준에서도 대사, 생존 그리고 서식지 잠입에 부정적 영향이 없었으나, 어린개체의 경우는 모든 실험 CO_2 수준에서 생존 및 서식지 잠입에 저해 영향을 보였으며 생존하고 있는 개체의 대사반응은 고농도인 1300과 2000 uatm에서 개체간 변이가 크거나 대사저해를 유의하게 받는 양상을 보여주었다. 이들의 생리적 저해로 인해 사망으로 가는 반응 양상이 잠입 모드에서 서식지 이탈을 보이는 저질 밖으로의 출현과 상관성이 매우 높음을 발견하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

결과는 국제논문에 투고할 계획이며 실험을 위해 만들어진 이산화탄소, 온도 조절 장치는 계속 활용하고 보완하여 차후 실험에 활용할 계획이다.

목 차

제 1 장 서론	7
제 2 장 국내외 기술개발 현황	9
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	11
1절 연구개발 수행내용	11
2절 연구개발 결과	18
3절 논의 및 결론	26
제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	27
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	27
제 6 장 참고문헌	27

제 1장 서론

전세계는 인간의 활동으로 배출한 이산화탄소로 인해 기후변화의 문제에 직면해 있다. 지구표면의 70%를 차지하는 바다 역시 이로 인하여 여러 가지 영향을 받고 있는데 그 중 온난화(warming), 탈산소화(deoxygenation), 산성화(ocean acidification)는 기후변화와 관련된 대표적인 3대 악재이다. 대기 중의 온도가 올라감으로 바다 역시 온도가 올라가는 현상은 매우 당연하며 IPCC(Intergovernmental Panel on Climate Change)의 4차 보고서에 따르면 해양의 온도는 2100년까지 평균 0.6-4도가 올라갈 것으로 예측하고 있다. 바다의 온도가 올라감과 동시에 바닷물에 녹을 수 있는 산소의 양도 줄어들어 탈산소현상이 발생하게 되는데(Keeling et al. 2010) 이는 산소호흡을 해야 하는 대부분의 해양생물에게 치명적인 문제를 일으킬 수 있다(Doney et al. 2012). 또한 대기 중 배출된 이산화탄소의 1/3은 바다에 흡수되는데 이 때 녹아들어난 이산화탄소는 해수의 pH를 떨어뜨림으로써 탄산칼슘으로 몸을 이루고 있는 생물들 비롯한 기타 해양생물들에게 위협이 되는 것으로 알려져 있다(Orr et al. 2005, Doney et al. 2009, Kroeker et al. 2010). 이러한 현상은 광대한 해역뿐만 아니라 실질적으로는 국지적으로 더 심각한 문제들을 유발할 수 있게 되는데 연안 개발과 연안에 양식업이 발달한 우리나라도 여기서 예외가 될 수 없다.

실제 해양환경은 다양한 환경 요소가 복합적으로 얽혀 변화한다. 그러나 육상과는 달리 해양연구의 접근적인 어려움과 한계에 의해 그동안 진행되어온 연구는 대체로 온도, 산소농도, pH와 같은 환경 요소의 단일 영향에 더 집중해왔다. 이로 인해 이들 요소가 실제 환경에서 서로 유기적으로 얽혀 있다는 것을 간과하고 이들 개별적 요소에 대한 생물 영향을 전체 생물 영향으로 다룬 경우가 많았다. 하지만, 현재는 이러한 환경 요소의 개별적인 영향은 물론이거니와 유기적으로 연결된 복합 영향에 대해서 심도 깊게 고려해야 할 필요가 있다. 예를 들면 국지적으로 해역의 온도가 높아지고 육지로부터 유기물이 유입이 되면 부영양화(eutrophication)가 발생하게 되는데 이로 인해 해조류(algae)가 급격히 번성을 하게 되고 이들이 며칠이 지나 사멸하게 되면서 이들을 분해하는 미생물이 산소를 급격히 소모함에 따라 해역의 산소농도는 낮아지게 된다. 이 때 산소호흡이 증가하게 되면 이산화탄소의 배출이 늘어나게 됨으로 해수의 pH는 상대적으로 낮아질 수밖에 없다(Cai et al. 2011). 또한 용승(upwelling)에 의해 심해의 물이 올라오는 경우(예: 캘리포니아, 페루의 용승해류), 낮은 pH와 낮은 산소농도, 낮은 온도의 특성을 지닌 심해의 해수가 올라와 연안의 생태계에 영향을 미칠 수 있다(Feely et al. 2008). 국지적으로 벌어지는 해역의 온도, pH, 산소농도의 변화는 전 지구적이고 장기적인 변화에 비해 상대적으로 짧은 기간이고 간헐적이지만 최근 연구에 의하면 전지구적 기후변화가 이러한 국지적 변화의 빈도와 지속시간을 늘인다는 보고들이 계속적으로 되고 있어서(Garcia-Reyes and Largier, 2010, Melzner et al. 2013), 이와 같은 간헐적, 단기적인 변동에 대해 집중적인 실험이 필요하다(Kim et al. 2013).

또한 이전까지는 스트레스 인자의 영향을 한 종이 속한 특정 개체군, 또는 전체 군집에 대해 다루는 연구가 주로 수행되었으나 개체군과 군집의 중간 단계인 포식과 피식(predation), 종간경쟁(competition), 상호공생(symbiosis) 등 종과 종 사이의 상호작용(species interaction)에 관한 연구가 미진하여 이에 대한 연구가 절실히 요구되는 상황이다(Zarnetske et al. 2012). 이 분야의 연구는 생태계 전체의 구조, 먹이망, 에너지 흐름 등을 정확히 파악하고 예측하기 위해서 반드시 필요한 핵심 연구이다. 이에 본 연구자가 지원하는 이 과제에서는 궁극적으로 복합적인 환경변화에 대해 종간 상호작용 변화를 이해하여 전체적인 생태계의 변화를 판단하는 기초 자료를 얻고자 한다.

제 2장 국내외 기술개발 현황

미국에서는 국가적인 투자로 NSF와 같은 기관은 해양산성화에 관한 별도 예산을 투입 (연 1100만불 규모) 하여 해양산성화 연구를 지원하고 있으며 이를 통해 개체군의 유전, 생리, 생태에 관한 연구를 하고 있다. 또한 유럽에서는 유럽연합공동체(EU)에서 공공기금으로 EPOCA를 만들어 해양산성화 연구를 하고 있으며 이 중 대표적으로 야외에서 이산화탄소를 조절하는 대규모 메조코즘 실험을 중심으로 생태계의 영향을 파악 중이다. 현재 세계에 있는 선도 해양연구소 (Scripps 해양연구소, MBARI, Plymouth Marine Lab 등)에서는 고이산화탄소 및 저산소 복합스트레스 인자의 중요성에 대해 인지하고 CO₂와 DO가 해양생물에 미치는 복합적인 영양에 대해 알아보기 위한 다양한 실험을 진행 중이다. 이러한 세계적인 추세에 맞추어 우리나라도 해양산성화와 빈산소화가 생태계에 미칠 수 있는 영향에 대해 광범위한 연구가 필요한 실정이다. 현재까지 진행이 되어온 관련 연구들은 국내 연구는 다음과 같다.

먼저 기후변화에 대한 해양생태계 반응 연구는 다음과 같은 과제를 들 수 있다.

- **기후변화에 따른 남해(동중국해 북부)의 해양환경 및 생태계 변동 연구 (연구책임자: 김철호):** 기후변화와 관련한 해양의 이산화탄소 분압 변화를 측정하고 예측하였으며 이에 따른 하위 영양단계 생태계 변동특성을 분석하고 동중국해 살오징어 유생의 수송과정과 연변동성을 규명하였으며 미래 해양환경 변화를 예측하였다.
- **장기 해양생태계 연구: 환경변화와 생태계 반응 (1615004997, 2012 해양환경 기술개발 강창근):** 기후변화와 연안 해양생태계의 장기적인 변화를 파악하여 미래 변화를 예측하기 위해 해양물리화학적 환경요인과 개체군 생리생태, 생물 다양성 변동, 먹이망 변동 역학에 대한 연구를 진행하고 있다.

해양산성화와 관련해서 우리나라에서 수행되었거나 진행 중인 과제들은 다음과 같다.

- **해양 산성화와 해양 기초생산자(해조류, 잘피류, 생물막, 일반연구자지원 최한길)**
- **해양산성화가 어류 및 패류의 성장에 미치는 영향 연구 (1545003735, 2012, 2013 수산시험연구, 심정희)**
- **해양산성화가 Dungeness crab의 행동 및 생태와 외래종(green crab)과의 경쟁에 미치는 영향 (1345138754: 2010 기초연구역량강화, 김태원)**
위 세 과제는 해양산성화가 해조류, 어패류, 갑각류 등 주요 수산자원에 미치는 영향에 대해 연구한 것으로 차후 대상 후보 수산자원으로 발전시켜 지속적인 연구를 할 필요가 있다.
- **해양산성화 및 해양생물의 산성화 적응 예측기술 개발 (1345200763, 2013 중견연구자 지원 이기택)**
- **해양산성화에 의한 연안생태계 영향 진단과 예측 (1525003497, 2013; 한국해양과학기술원연구운영비지원 김동성)**

위의 해양산성화관련 생물연구는 대부분 플랑크톤을 포함한 생태계에 미치는 영향이나 개체에 미치는 생리적 영향에 대해 주로 연구하였다. 그러나 아직까지 생물의 행동변화나 종간 상호작용에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

빈산소화에 대한 생물 및 생태계 반응연구는 해양산성화에 비해 최근의 연구가 더딘 실정이다. 최근 연구로는 다음의 과제를 예로 들 수 있다.

- **남해안 빈산소 해역의 관리를 위한 생태계 반응 연구 (1345165923 한국해양연구원연구운영비지원 염승식)** 우리나라 남해안에서 빈번하게 일어나는 빈산소현상에 대한 생태계 반응을 연구하였으며 본 과제에서 현실적 문제를 접목하기 위한 시나리오 개발을 위한 좋은 사전연구이다.

이외에도 우리나라에서 해양산성화 및 빈산소화와 관련된 연구들이 진행된 사례가 있으나 해양산성화와 함께 일어나는 빈산소화의 복합문제를 다룬 연구사례는 없었다.

또한 본 연구의 내용에서 언급한 무척추동물, 특히 수산양식자원으로서 가치가 높은 전복, 바지락, 게 등의 생물종의 해양산성화-빈산소화에 의한 피해를 최소화하기 위하여 생리적 특성 및 유전적 다양성을 연구하여 적응 개체군을 육종 또는 유전자 조절 및 치환 기술을 이용해 이를 자원화 하는 사례가 전무하다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 내용

해양저서생물에 미치는 기후변화관련 3가지 스트레스 인자(온도, CO₂, DO)의 복합적 영향을 연구하기 위하여, 각 단일 인자 중 해양산성화에 직접적 영향을 미치는 CO₂의 생물영향을 우선적으로 진행하였다.

1. 실험종 확보

가. 실험종

패각을 가지고 있는 연체동물인 바지락 *Venerupis philippinarum*을 대상으로 하였다.

나. 실험종 확보

성체와 어린개체 두 그룹으로 실험을 실시하기 위하여 성체의 경우, 2014년 5월 16일 충청남도 홍성군 남당리에서 약 500미를 확보하여 저온상태로 아이스박스에 잘 포장한 후 승용차로 2시간 30분 내에 실험실로 이동시켰고, 어린개체의 경우는 2014년 6월 충청남도 홍성군 주교리에서 약 700미를 확보하여 같은 방식으로 실험실로 이동시켰다.

2. 실험생물 순치

가. 순치환경조건

해양연체동물은 변온동물로 환경수의 수온에 매우 많은 영향을 받는다. 확보한 생물은 현장 수온 및 염분 조건을 고려하여 실험실로 옮겨진 후 실험에 들어가기 전까지 일정기간동안, 확보 당시 현장조건과 실험 환경 조건을 모두 고려하여 순환여과식 수조시스템에서 순치과정을 거쳤다.

(1) 수온

23℃

(2) 염분

34psu

(3) 광

실험실 자연광 주기

나. 순치기간동안 먹이 공급

(1) 먹이 공급은 대량 배양한 *Isochrysis galbana* 생물, micro-blast, Shellfish Diet 1800® (Reed Mariculture Inc., USA)을 순치 생물에 일간 1회씩 충분히 공급하였다.

(2) Shellfish Diet 1800®는 4종의 해양미세조류 *Isochrysis* sp.(40%), *Pavlova* sp(15%), *Tetraselmis* sp.(25%) 그리고 *Thalassiosira pseudonana*(20%)로 구성된 혼합액이며, 이 구성종들은 oysters, clams, mussels, 그리고 scallops를 포함하는 다양한 패류의 먹이로 유용한 것이 입증되어왔다.

다. 실험에 사용한 개체

성체와 어린개체는 각각 96미와 240미로 일정한 크기로 건강이 양호한 개체를 선별하여 실험에 사용하였음. 성체의 평균 크기(평균 ± 표준편차)는 각장 25.32 ± 1.66 mm, 총습중 3.12 ± 0.54 g이다. 어린개체의 평균 크기 (평균 ± 표준편차)는 각장 16.71 ± 0.96 mm, 총습중 0.70 ± 0.13 g이다.

나. 순치기간

실험개시 전까지 시행하였다.

3. 실험 시스템 및 관리

가. 실험 시스템

(1) 성체 실험

소형 기액평형기(small vapor-liquid equilibrium system)와 비분산적외선 분광분석장치(non-Dispersive Infrared, NDIR)로 구성된 자동 CO₂농도 조절기를 이용하였다. 소형 기액 평형기는 평형기에 도입시킨 시료 해수에 가스를 버블링하는 것으로 기액 평형에 도달한 가스를 발생시킬 수 있으며, 기액 평형에 도달한 가스를 이산화탄소 측정 장치에 공급하여 해수중의 이산화탄소 분압을 측정하도록 한다. 이산화탄소 측정은 가스 센서인 NDIR을 사용하여 측정한다. 연구에 사용된 시스템은 습식 가스 라인을 8라인과 건식 가스 라인을 4라인(표준가스 3라인, 희석가스 1라인)으로 하여 총 12라인을 절환하면서 시퀀스 설정에 의해 각각의 라인의 측정이 가능하도록 되어있다. 노출 사육 수조의 근본 원리는 순환여과시스템으로 이루어져 있으며, 각 실험구의 시수는 근본적으로 하나의 시스템으로 순환하면서 농도 수준이 차별화된 시수가 각 실험구에 배분되는 형태로 이루어져 있다. 아래의 그림 1은 성체 실험에 이용된 pCO₂ 농도 조절시스템과 실험 노출 사육수조의 모습을 담은 사진들이

다.



그림 1. 성체 실험에 이용한 실험시스템 전경.

(2) 어린개체 실험

MFC를 이용한 가스농도제어장치 시스템을 이용하였다. 이 시스템은 표준가스로 30% CO₂ 가스(나머지 70%는 질소로 구성)와 희석가스로 100% Air를 이용하여 가스농도제어장치(MFC 내장)를 통과하면서 일정한 가스량과 흐름으로 혼합된 후 실험 수조에 공급되는 방식이다. 설정한 이산화탄소 농도 수준을 맞추기 위해 평형점에 도달한 실험수의 pH 값과 총알칼리도(Total Alkalinity)를 측정하고, 실험수의 수온과 염분으로 보정한 후 $p\text{CO}_2$ 와 용존무기탄소(DIC)를 계산식으로 산출하고, 이러한 작업을 수동으로 반복 시행하여 비교하면서 실험농도를 조정하였다. 노출 사육 수조의 근본 원리는 순환여과시스템(실험 시수는 25 μm 와 10 μm 필터를 순차적으로 거침)으로 이루어져 있으며, 각 실험구의 시수는 분리되어 개별적으로 순환하면서 농도 수준을 유지하였다. 아래의 그림 2는 어린개체 실험에 이용된 $p\text{CO}_2$ 농도 조절시스템과 실험

노출 사육수조의 모습을 담은 사진들이다.



그림 2. 어린개체 실험에 이용한 실험시스템 전경.

나. 실험구

(1) 실험 농도구

(가) 실험농도설정 배경

기후변화에 관한 정부 간 협의체(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)의 제5차 평가보고서에 의해 제시된 새 시나리오, 대표농도경로(Representative Concentration Pathways, RCP)를 이용하여 기후변화 대응 정책과 연계하여 잠정적 미래 대기 CO₂ 수준들이 제시되었고, 이 연구는 지구 시스템 모델 RCP2.6에서 2012 - 2100년 기간 동안의 누적 CO₂ 배출량이 평균 990 GtCO₂ (범위 510-1505 GtCO₂)로 예상하는 것에 착안하여, 대략 현재 CO₂ 수준(대략 400ppm)에서 이를 감안한 수준의 범위를 크게 벗어나지 않는 수준에서 연구를 진행하였다.

(나) 실험 농도구 및 복제구

① 성체실험: pCO₂구 400, 800, 1000 uatm로 각 4복제구로 시행하였다.

② 어린개체 실험: pCO₂구 900, 1300, 2000 uatm로 각 8복제구로 시행하였다.

(2) 실험에 사용한 저질 채집 및 유형분석

(가) 저질 채집

바지락은 주서식지인 갯벌에서 펄 속에 일정깊이로 잠입한 후 입수공과 출수공으로 이루어진 촉수를 펄 표면에 뻗쳐서 해수속의 영양분을 취득하고 노폐물을 배출하는 형태로 서식한다. 따라서 이 연구는 이들의 생리 및 행동반응 연구를 위하여 각 실험 용기(500 mL)에 평균 4cm 정도의 저질을 깔아서 실험을 진행하였다. 저질은 다음과 같이 채집되었으며, 아래의 그림 3은 저질 분석용으로 수집한 샘플 사진이다.

① 성체실험: 충청남도 홍성군 남당리 갯벌에서 채집한 고운 펄과 모래를 1:1로 섞어 청정해수를 사용하여 행구고 가라앉히는 작업을 반복 후 가라앉은 퇴적물을 실험에 사용하고 일부 저질 분석용으로 준비하였다.

② 어린개체 실험: 일반 모래를 청정해수를 사용하여 여러 차례 행구고 가라앉히는 작업을 반복 후 햇볕에 건조시킨 후, 직경(ϕ) 1 mm 체로 선별한 후 실험에 사용하고 일부 분석용으로 준비하였다.



그림 3. 분석용으로 수집된 실험 저질 샘플.

(나) 저질 구성성분 및 유형분석

실험에 사용한 저질의 구성성분과 유형을 분석하기 위하여 실험초기에 일정량 저질을 채취하여 실험실로 옮긴 후 약 5 g을 1000 mL 비이커에 담아 10% 과산화수소 (H_2O_2)를 24시간 이상 반응시켜 유기물을 제거하였다. 이후 조개껍데기 등의 탄산염 성분 물질에 의한 오차를 없애기 위해 0.1 N 염산(HCl)으로 반응시켜 탄산염을 제거하였다. 입도 분석이 준비된 시료는 4 ϕ 체를 이용하여 습식체질에 의해 조립질과

세립질 퇴적물로 분리하였다. 4 ϕ 이하의 사질시료는 0.5 ϕ 간격으로 Gradex 2000 입도분석기로 약 10분간 체질한 후 입도 등급별로 무게 백분율을 구하였다. 4 ϕ 이상의 니질 시료는 전체를 대표할 수 있는 시료 2 g을 취해 0.1% calgon 용액을 80 mL 넣고 초음파 분쇄기와 자기진동기로 시료를 균일하게 분산시킨 후, X-Ray monitored gravity sedimentation 원리로 입도무게 백분율을 구하였다. 입도별 무게 백분율은 Inclusive Graphic Method (Folk and Ward, 1957)에 의하여 평균입도, 분급도, 왜도, 첨도 등의 통계적인 변수들을 구한 후 분석되었다. 입도분석을 위한 통계처리프로그램으로는 SediGraph3 V1.04을 이용하였다.

다. 노출 사육

(1) 먹이공급

(가) 성체 실험

먹이 공급은 실험개시 후, 3일째 첫 공급하기 시작하였으며 실험종료 2일전까지 Shellfish Diet 1800® (Reed Mariculture Inc., USA)을 각 실험구에 2억 cell씩 일간 1회 공급하였다. 공급시간 동안 실험 시수의 흐름은 대략 45분간 중지시킴으로써 제공된 먹이를 최대한 유실 없이 실험생물이 충분히 섭취하도록 하였다.

(나) 어린개체 실험

먹이공급은 실험개시 후, 5일째 첫 공급하기 시작하였으며 실험종료 2일전인 37일째 까지 Shellfish Diet 1800® (Reed Mariculture Inc., USA)을 각 실험구에 60억cell씩 일간 1회 공급하였다. 공급시간 동안 실험수의 흐름은 1시간동안 중지시킴으로써 제공된 먹이를 최대한 유실 없이 생물이 섭취하도록 하였다.

(2) 노출 사육기간

(가) 성체 실험

48일 동안 시행하였다.

(나) 어린개체 실험

39일 동안 시행하였다.

(3) 사육수 유량

(가) 성체 실험

각 실험 jar에 75 mL/min를 유지하였다.

(나) 어린개체 실험

각 실험 jar에 77 mL/min를 유지하였다.

(4) 실험구 용기 및 용기 당 실험 개체수

(가) 성체 실험

각 실험 jar는 500 mL 용량의 유리 용기이며, jar당 8미를 넣었다.

(나) 어린개체 실험

각 실험 jar는 500 mL 용량의 유리 용기이며, jar당 10미를 넣었다.

4. 생리 및 행동 반응

가. 생존

실험기간 동안 매일 2~3회 실험 개체의 생사유무를 체크하여 일수 경과별 누적사망 개체수를 구하고, 총 실험 개체수에서 누적사망 개체수를 제하고 남은 생존 개체수를 개시 시 투입한 총 실험 개체수로 나눈 후 백분율(%)로 나타내었다.

나. 출현

실험기간 동안 매일 1회 실험 개체 개시 시점을 기준으로 실험개체의 위치(저질 밖, 저질 중간, 저질 안)를 파악하여 기록한 후, 저질 밖으로 기록된 개체수를 생존해 남은 개체수로 나눈 후 백분율(%)로 나타내었다.

다. 산소소비

실험생물의 대사 상태를 파악하기 위하여 각 실험 수준에서 소모하고 있는 산소소비를 측정하였다. 성체 실험에서는 개시 시점, 16일경과 시점, 30일경과 시점, 48일경과(종료) 시점에 진행하였고 어린개체 실험에서는 개시 시점, 20일경과 시점, 39일경과(종료) 시점에 진행하였다. 산소소비 측정은 각 실험구에 노출되어진 개체를 측정시점에 같은 수준의 실험수로 채워진 산소병으로 옮겨 측정에 들어갔다. 측정기기는 용존산소측정기 YSI 5000과 YSI 5010 BOD Probe이며, 이를 이용하여 시험 개체가 소모한 산소량을 구한 뒤, 산소소비율을 단위시간당 실험개체의 육질 단위 건조중량(g)에 대한 소비산소량으로 나타내었다. 산소소비율의 단위는 $\text{mlO}_2/\text{g DW/hr}$ 이다. 측정은 성체의 경우 개체 1미씩 4복제구로 동시 진행하였으며, 어린개체는 3~5미씩 3복제구로 동시 진행하였다. 산소소비 측정에 이용된 실험개체는 개시 시 사용한 개체를 계속 사용하였으며, 사망으로 측정이 불가능한 경우는 최대한 비슷한 크기의 개체를 선택하여 같은 방식으로 사용하였다. 실험생물의 산소소비 측정 전 1일간은 먹이 공급을 중단시켰다.

라. 성장

각 실험 수준에 노출된 개체 중 실험종료 시점까지 생존한 개체의 성장 상태를 보기 위하여 실험개시 시점과 실험종료 시점에 개체의 각장(mm)과 총습중량(g)을 측정 한 후 계산과정을 거쳐서 총 실험기간동안 성장률(%)로 나타내었다. 총 실험기간동안 성장률은 총 실험기간동안 성장량(종료 시점 크기에서 개시 시점의 크기를 공제 함)을 개시 시점의 크기로 나누어 구하며 백분율(%)로 표시하였다. 실험생물의 크기 측정 전과 후 각 1일간은 먹이 공급을 중단시켰다.

제 2 절 연구개발 결과

1. 성체 실험

가. 환경조건

전체 실험기간동안 각 실험구의 시수 환경 조건을 아래 표 1에 나타내었다. 용존 무기 탄소(DIC)는 총알칼리도(TA)와 $p\text{CO}_2$ 에 의해 계산된 값이며, 모든 값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

표 1. 각 CO_2 수준에서 실험시수의 환경조건들

Parameter	CO_2 (uatm)		
	400 (A)	800 (B)	1000 (C)
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	23.1 ± 0.7	23.1 ± 0.7	23.1 ± 0.7
Salinity (psu)	33.9 ± 0.8	33.9 ± 0.8	33.9 ± 0.8
Dissolved oxygen (mgL^{-1})	6.79 ± 0.21	-	6.72 ± 0.26
pH	8.062 ± 0.025	7.865 ± 0.015	7.773 ± 0.015
Total alkalinity (μmolkg^{-1})	2398.32 ± 54.85	2397.11 ± 56.05	2393.57 ± 55.06
$p\text{CO}_2$ (uatm)	438.6 ± 13.1	738.3 ± 12.5	932.9 ± 90.9
Dissolved inorganic carbon (μmolkg^{-1})	2122.53 ± 41.02	2226.30 ± 44.40	2261.50 ± 45.44

DIC는 계산 값이며, 모든 값은 평균 \pm 표준편차임.

나. 저질 구성성분과 유형

성체 실험에 사용된 저질의 구성성분과 유형을 아래 표 2에 나타내었으며, 참고로 주요 토성 등급을 표 3에 나타내었다.

표 2. 성체 실험에 사용된 저질의 구성성분과 유형

Composition (%)	Gravel	0.00
	Sand	73.07
	Silt	19.13
	Clay	7.80
Statistical Parameters	Mean(ϕ)	2.66
	Sorting	2.75
	Skewness	0.70
	Kurtosis	1.04
Sediment Type by Folk (1957)		zS

표 3. 주요 토성 등급

약자	내용
S:	Sand
mS:	muddy Sand
sC:	sandy Clay
sZ:	sandy Silt
C:	Clay(>67%)
Z:	Silt (>67%)
mG:	muddy Gravel
sG:	sandy Gravel
qmS:	gravelly muddy Sand
(g)M:	slightly gravelly Mud
(g)mS:	slightly gravelly muddy Sand
cS:	clayey Sand
zS:	silty Sand
sM:	sandy Mud
M:	Mud
G:	Gravel
msG:	muddy sandy Gravel
qM:	gravelly Mud
qS:	gravelly Sand
(g)sM:	slightly gravelly sandy Mud
(g)S:	slightly gravelly Sand

다. 생존

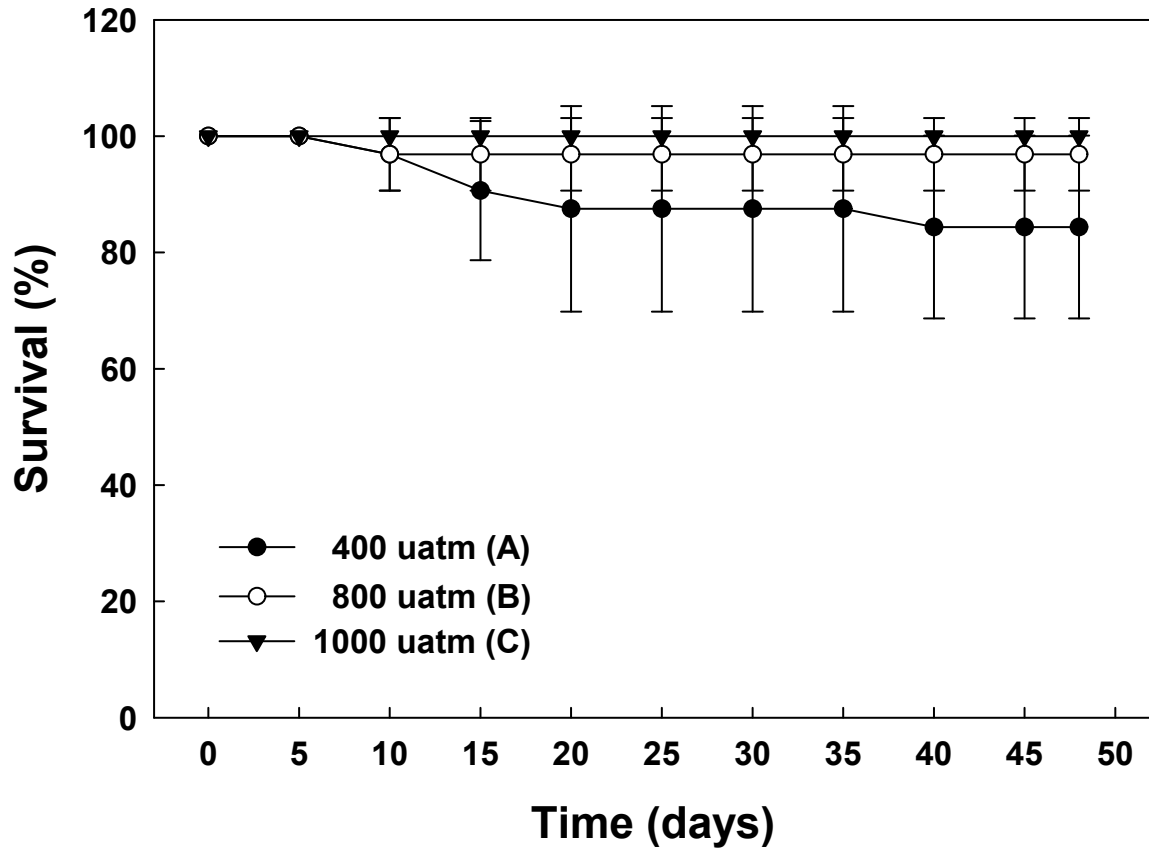


그림 4. 각 실험수준에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 성체의 48일 동안 생존율(%)의 변화 양상. 각 실험수준에 해당하는 심볼 문자는 표시된 경과 일수에서의 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 4임.

라. 출현

출현율은 각 실험구간 유의한 차이를 보이지 않는다 (그림5).

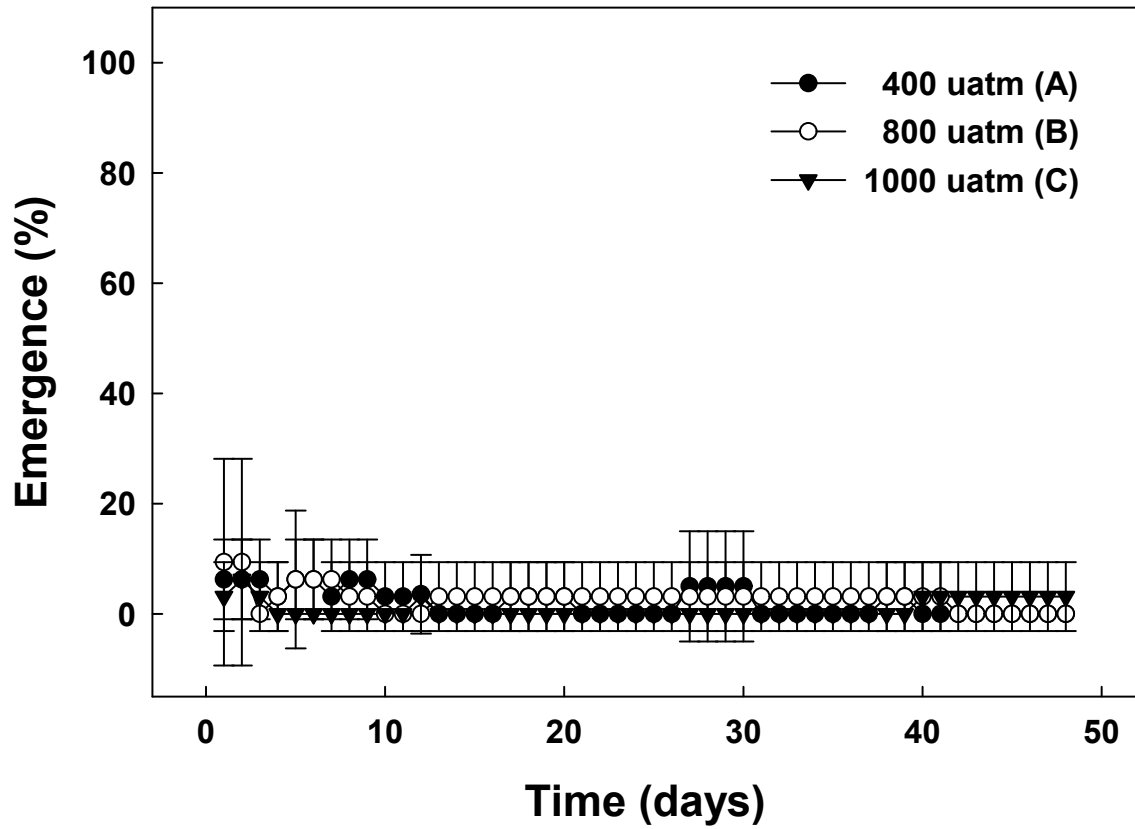


그림 5. 각 실험수준에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 성체의 48일동안 출현율(%)의 변화 양상. 각 실험수준에 해당하는 심볼 문자는 표시된 경과일수에서의 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 4임.

마. 산소소비

$p\text{CO}_2$ 400 uatm과 1000 uatm 간에 산소소비율은 각 경과시점에서 크게 유의한 차이를 보이지 않는다. 실험경과에 따라 30일째 산소소비율이 전반적으로 두 실험구 모두에서 약간 낮은 값을 보이지만 유의하지는 않다 (그림 6).

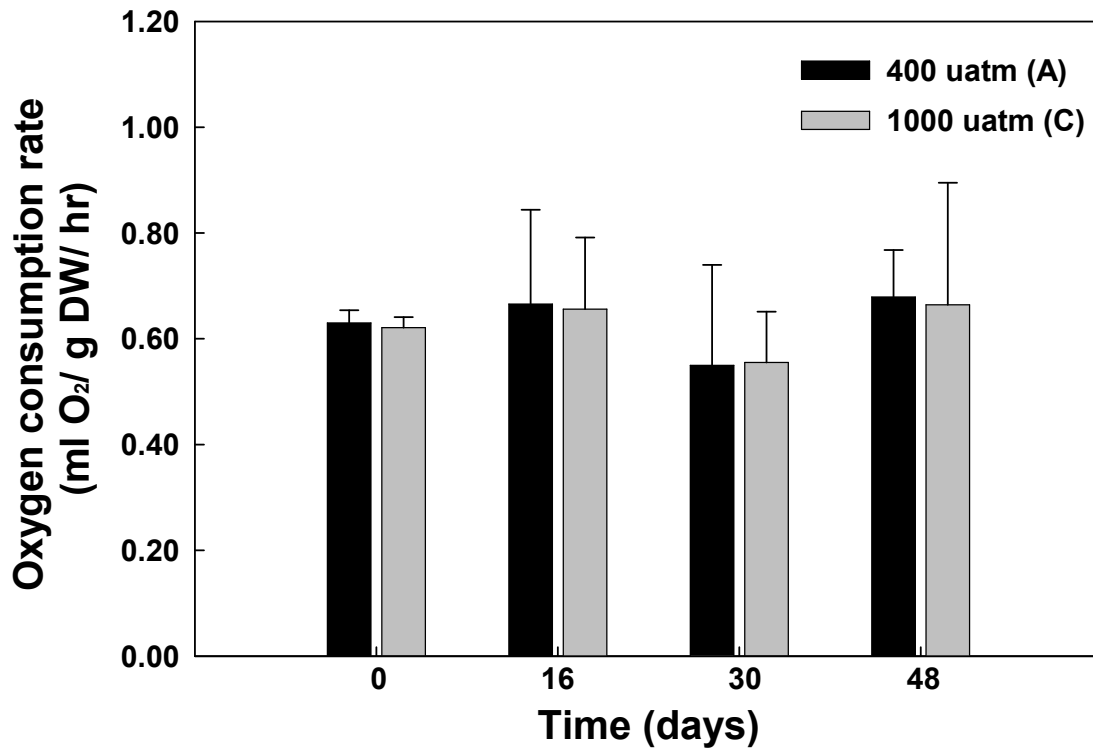


그림 6. $p\text{CO}_2$ 400 uatm과 1000 uatm에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 성체의 48일동안 개시 시점, 16일경과 시점, 30일경과 시점, 종료시점에서의 산소소비율($\text{ml O}_2/\text{g DW/hr}$). 각 막대그래프는 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 4임.

바. 성장

전체 노출 사육기간 동안 대체로 성체의 각장과 총습중은 평균적으로 미미한 성장을 보이거나, 특히 각장에서는 높은 $p\text{CO}_2$ 수준에서 평균적으로 음의 성장을 보였다. 각 실험수준에서 400 uatm을 제외한 800 uatm과 1000 uatm은 비슷한 양상을 보였다 (표 4).

표 4. 각 CO_2 수준에서 48일 노출 사육 전체기간 동안의 성장률(%)

크기(%)	CO_2 (uatm)		
	400 (A)	800 (B)	1000 (C)
각장	0.38 ± 2.54	-0.15 ± 0.26	-0.19 ± 0.27
총습중	0.03 ± 4.88	0.86 ± 1.28	0.97 ± 1.89

모든 값은 평균 \pm 표준편차임.

2. 어린개체 실험

가. 환경조건

전체 실험기간동안 각 실험구의 시수 환경 조건을 아래 표에 나타내었다. $p\text{CO}_2$ 는 pH와 총알카리도(TA)에 의해 그리고 용존 무기 탄소(DIC)는 $p\text{CO}_2$ 와 TA에 의해 계산된 값이며, 모든 값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었다 (표 5).

표 5. 각 CO_2 수준에서 실험시수의 환경조건들

Parameter	CO_2 (uatm)		
	900 (D)	1300 (E)	2000 (F)
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	22.6 \pm 0.3	22.6 \pm 0.3	22.6 \pm 0.3
Salinity (psu)	33.9 \pm 0.4	33.9 \pm 0.4	34.0 \pm 0.4
Dissolved oxygen (mgL^{-1})	6.64 \pm 0.35	6.10 \pm 0.34	6.24 \pm 0.34
Dissolved oxygen (%)	93.6 \pm 4.9	85.9 \pm 4.7	87.8 \pm 4.8
pH	7.798 \pm 0.098	7.688 \pm 0.078	7.467 \pm 0.103
Total alkalinity (umolkg^{-1})	2486.17 \pm 1.38	2554.21 \pm 2.31	2726.10 \pm 4.72
$p\text{CO}_2$ (uatm)	883.2 \pm 66.6	1320.9 \pm 1.9	1978.8 \pm 92.8
Dissolved inorganic carbon (umolkg^{-1})	2334.7 \pm 13.8	2460.9 \pm 1.1	2680.0 \pm 11.6

$p\text{CO}_2$ 와 DIC는 계산 값이며, 모든 값은 평균 \pm 표준편차임.

나. 저질 구성성분과 유형

어린개체 실험에 사용된 저질의 구성성분과 유형을 아래 표 6에 나타내었으며, 주요 토성 등급은 표 3에 나타내었다.

표 6. 어린개체 실험에 사용된 저질의 구성성분과 유형

Composition (%)	Gravel	0.00
	Sand	99.75
	Silt	0.25
	Clay	0.00
Statistical Parameters	Mean(ϕ)	1.19
	Sorting	0.76
	Skewness	0.10
	Kurtosis	0.98
Sediment Type by Folk (1957)		S

다. 생존

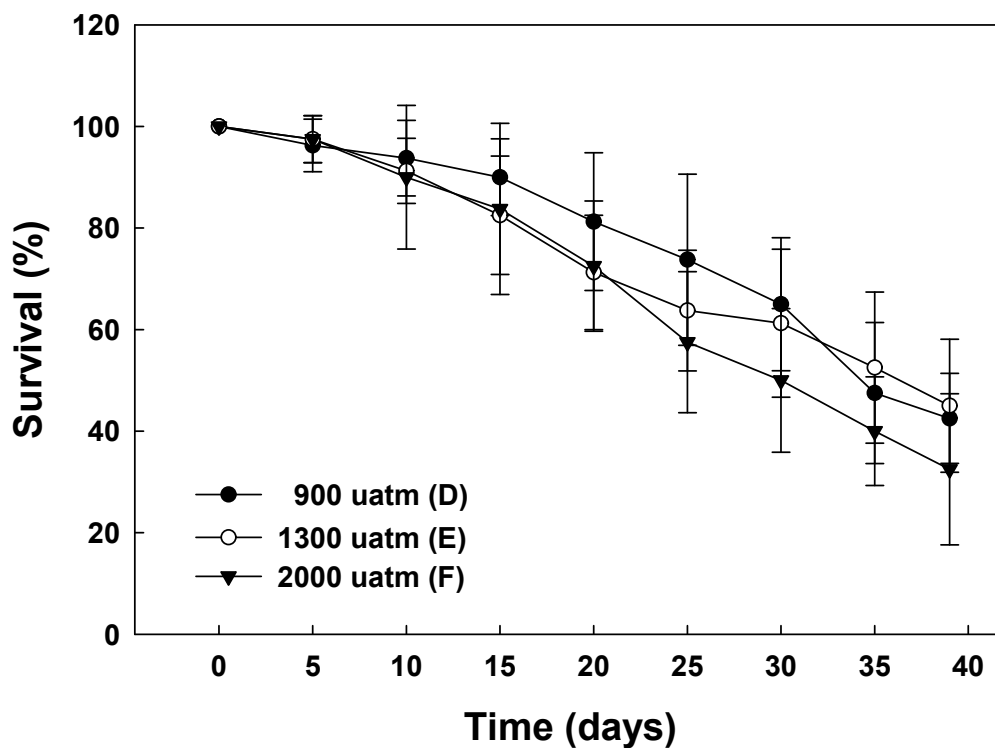


그림 7. 각 실험수준에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 어린 개체의 39일동안 생존율(%)의 변화 양상. 각 실험수준에 해당하는 심볼 문자 표시된 경과 일수에서의 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 8임.

라. 출현

출현율은 모든 실험구에서 일수경과에 따라 의미있는 출현을 보였고, 각 실험구간에도 유의한 차이를 보이며 특히 1300 uatm과 2000 uatm에서 일수 경과에 따라 지속적으로 상승경향을 보였다. 이 출현양상은 실험구에서의 생존율과 상관이 있는 것으로 보이며, 생리 상태가 악화되면서 사망으로 가는 과정에서 저질 밖으로 개체가 이동하는 양상을 추정하게 한다. 즉 생리적 저해로 인해 사망으로 가는 반응 양상이 잠입 모드에서 서식지 이탈을 보이는 저질 밖으로의 출현과 상관성이 매우 높음을 발견하였다 (그림 8).

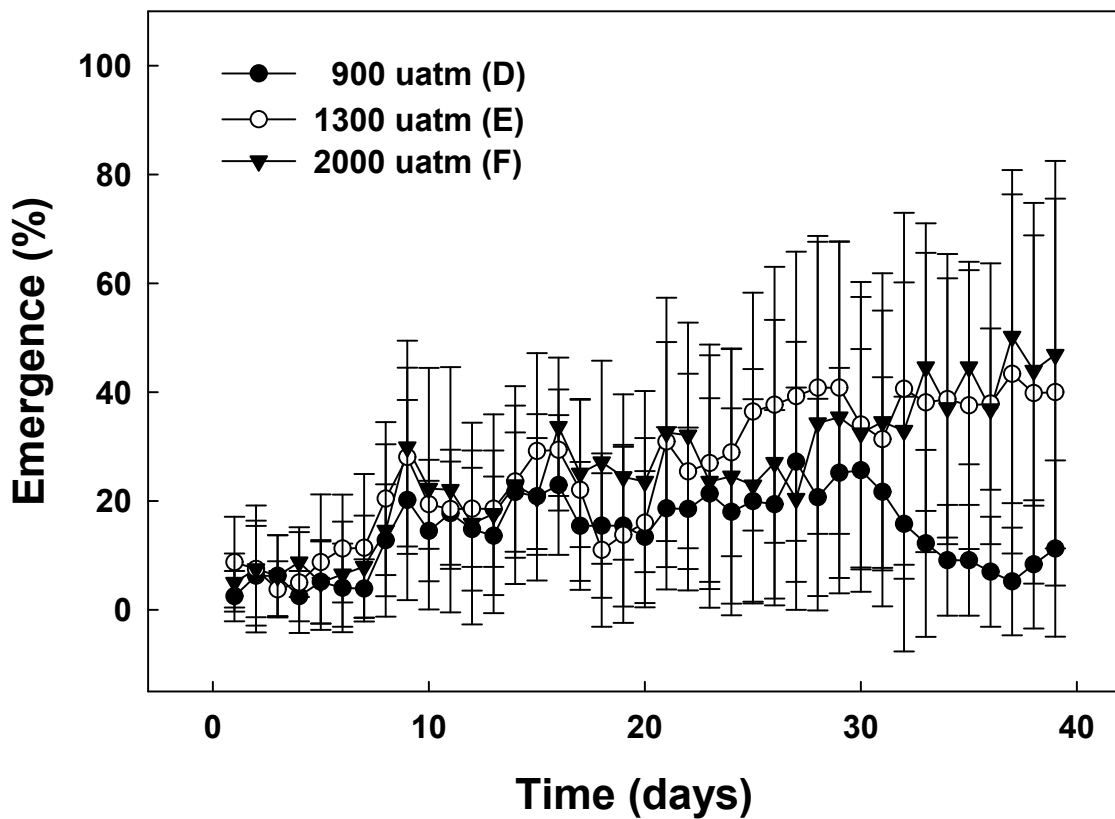


그림 8. 각 실험수준에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 어린개체의 39 일동안 출현율(%)의 변화 양상. 각 실험수준에 해당하는 심볼 문자는 표시된 경과 일수에서의 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 8임.

마. 산소소비

실험 초기에는 처리간 산소소비율에 차이가 없었으나 39일 경과 후 2000 uatm의 농도에서 호흡률이 다른 구에 비해 상대적으로 낮아지는 결과가 나타났다 (그림 9).

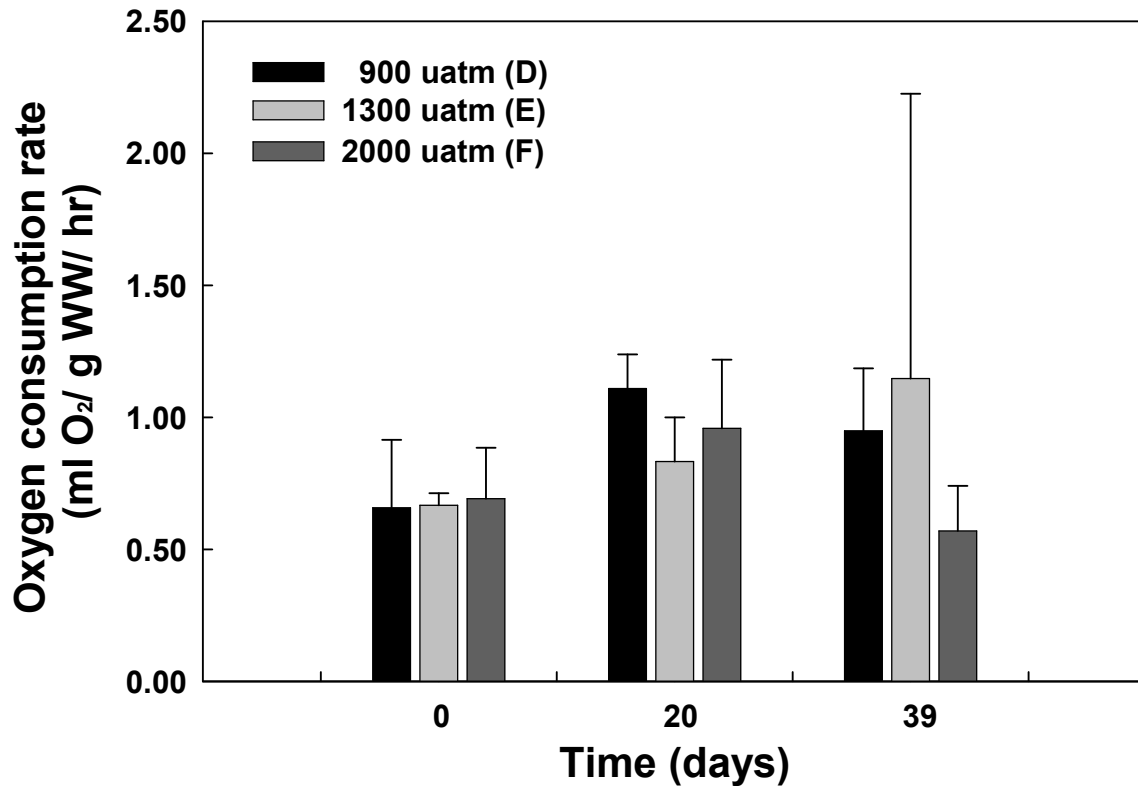


그림 9. $p\text{CO}_2$ 900 uatm, 1300 uatm, 2000 uatm에서 노출 사육된 바지락 *Venerupis philippinarum* 어린개체의 39일동안 개시 시점, 20일경과 시점, 종료시점에서 산소소비율($\text{ml O}_2/\text{g DW}/\text{hr}$). 각 막대그래프는 평균값을, Error bars는 표준편차를 나타내며 복제 수는 3임.

바. 성장

어린 개체의 경우 생존률이 전반적으로 60% 미만으로 성장률을 반영하지 않았으며 추후 분석을 요한다.

제 3 절 논의 및 결론

해양저서 무척추동물의 골격과 패각을 구성하는 물질은 calcium-carbonate minerals이며 이들은 CO_2 의 해양 유입 증가로 인한 carbonate ion 농도의 변화에 의해 직간접적으로 영향을 받게 되는 것으로 인지된다. 실제적으로 이런 특정 물질의 영향뿐만 아니라, CO_2 의 해양 유입 증가로 인한 pH의 하락은 해양생물의 생리 및 행동 전반에도 다양한 영향을 미치는 결과가 여러 연구자들에 의해 입증되고 있다.

성체는 1000 uatm의 높은 CO₂수준에서도 대사, 생존 그리고 서식지 잠입에 부정적 영향이 없었으나, 어린개체의 경우는 모든 실험 CO₂수준에서 생존 및 서식지 잠입에 저해 영향을 보였으며 생존하고 있는 개체의 대사반응은 고농도인 1300과 2000 uatm에서 개체간 변이가 크거나 대사저해를 유의하게 받는 것으로 판단되며, 이들의 생리적 저해로 인해 사망하게 되는 반응 양상이 잠입에서 서식지 이탈을 보이는 저질 밖의 출현과 매우 상관성이 있음을 발견하였다.

제 4 장 연구개발 목표달성도 및 대외기여도

- 본 연구는 3편의 관련 국제논문 출판 및 5편의 국제학회 발표로 목표를 달성하였다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 본 연구의 결과는 추가적으로 국제저널에 투고할 예정이다.
- 본 연구를 통해 온도와 이산화탄소를 조절할 수 있는 장비를 개발하였으며 차후 산소의 요인까지 조절할 수 있는 복합실험을 할 수 있는 장비를 개발할 예정이다.
- 개발된 장비를 사용해 계속 차후 연구를 수행할 예정이다.

제 6 장 참고문헌

- Cai, W., Hu, X., Huang, W., Murrell, M., Lehrter, J., Lohrenz, S., Chou, W., Zhai, W., Hollibaugh, J., Wang, Y., Zhao, P., Guo, X., Gundersen, K., Dai, M., and Gong, G. (2011) Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nature Geoscience* 4, 766-770.
- Doney, S., Fabry, V., Feely, R., and Kleypas, J. (2009) Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annual Review of Marine Science* 1, 169-192.
- Doney, S., Ruckelshaus, M., Duffy, J., Barry, J., Chan, F., English, C. *et al.* (2012) Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Review of Marine Science* 4(4), 11-37.
- Feely, R., Sabine, C., Hernandez-Ayon, J., Lanson, D., and Hales, B. (2008) Evidence for upwelling of corrosive "acidified" water onto the continental shelf. *Science* 320, 1490-1492.
- Folk, R.L. and Ward, W.C., 1957. Brazos River bar: Study in the significance of grain size parameters. *J. Sedimentary Petrol.*, 27, 3-27.
- Garcia-Reyes, M. and Largier, J. (2010) Observations of increased wind-driven coastal upwelling off central California. *J. Geophys. Res.-Oceans* 115, C0411, doi:10.1029/2009JC005576,

- Keeling, R., Kortzinger, A., and Gruber, N. (2010) Ocean Deoxygenation in a Warming World. *Annual Review of Marine Science* 2, 199-229.
- Kim, T. W., Barry, J. P., and Micheli, F. (2013) The effects of intermittent exposure to low pH and oxygen conditions on the mortality and growth of juvenile red abalone. *Biogeosciences* 10, 7255-7262 (Special Issue for The Ocean in a high- CO₂ world III).
- Kroeker, K., Kordas, R., Crim, R., and Singh, G. (2010) Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecology Letters* 13, 1419-1434.
- Melzner, F., Thomsen, J., Koeve, W., Oschlies, A., Gutowska, M., Bange, H., Hansen, H., and Körtzinger, A. (2013) Future ocean acidification will be amplified by hypoxia in coastal habitats. *Mar. Biol.*, 160, 1875 - -1888, doi:10.1007/s00227-012-1954-1, 2013.
- Orr, J., Fabry, V., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S., Feely, R., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joow, F., Key, R., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R., Plattner, G., Rodgers, K., Sabine, C., Sarmiento, J., Schlitzer, R. Slater, R., Totterdell, I., Weirig, M., Yamanaka, Y., and Yool, A. (2005) Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437, 681-686.
- Zarnetske, P. L., Skelly, D. K., and Urban, M. C. (2012) Biotic multipliers of climate change. *Science* 336, 1516-1518.
- 기상청, 2013. 기후변화 2013 과학적 근거: 정책결정자를 위한 요약보고서 (제1실무그룹, IPCC 제5차 평가보고서-번역본). 발간등록번호 11-1360000-000951-14. pp28.

주 의

1. 이 보고서는 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.