

적조 *Cochlodinium polykrikoides* 노출에 따른 양식산 참돔과 넙치의 생리학적 반응

김효원^{1*} · 길현우¹ · 최영재² · 신윤경¹

¹국립수산과학원 남해수산연구소 양식산업과
²중앙내수면연구소

Physiological Responses of Cultured Red Seabream *Pagrus major* and Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* During Exposure to the Red Tide Dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*

Hyo-Won Kim^{1*}, Hyun Woo Gil¹, Young Jae Choi², Yun Kyung Shin¹

¹Aquaculture Industry Research Division, South Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Yeosu 59780, Korea

²Inland Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Geumsan 32762, Korea

Corresponding Author

Hyo-Won Kim

Aquaculture Industry Research Division,
 South Sea Fisheries Research Institute,
 National Institute of Fisheries Science,
 Yeosu 59780, Korea

E-mail : khw0047@korea.kr

Received : November 16, 2022

Revised : November 16, 2022

Accepted : December 06, 2022

본 연구는 양식산 참돔과 넙치를 *Cochlodinium polykrikoides* 적조에 노출시켜 노출 시간에 따른 생존율, 호흡수, 혈중 스트레스 지표 및 조직학적 변화를 비교 조사하였다. 대조구는 자연해수를 사용하였고, 실험구는 *C. polykrikoides* 밀도를 5,500±200 cells/ml로 설정하였다. 그 결과, 참돔은 적조 노출 1시간 이내, 넙치는 적조 노출 5시간 이내 전량 폐사하였다. 생리학적 반응을 분석한 결과, 참돔은 적조 노출 후 혈중 Glucose 농도가 감소하였으며, 혈중 GOT 및 GPT 농도는 증가하였고, 혈중 SOD 농도는 감소하고, CAT 및 GPx 농도는 증가하는 경향을 보였다. 넙치는 적조 노출 후 혈중 Cortisol 및 GOT, GPT 농도가 증가하였고, 혈중 Glucose 농도는 적조 노출 1시간째 증가한 이후 감소하였으며, 혈중 SOD, CAT, GPx 농도는 노출 1시간째 감소한 이후 증가하였다. 조직학적 분석 결과, 참돔과 넙치의 아가미에 구조적인 손상이 발생하였다. 결론적으로 5,500 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조 노출은 양식산 참돔과 넙치에게 산화적 스트레스로 작용하여 체내 항산화 방어 기작을 활성화하고, 간과 아가미의 손상을 발생시키는 것으로 나타났다.

The present study investigated the survival rate, respiration rate, plasma stress index, and histological changes according to exposure time of cultured red seabream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to *Cochlodinium polykrikoides* red tide. Fish cultured in natural seawater were used as the control group. *Cochlodinium polykrikoides* density was set to 5,500±200 cells·ml⁻¹ in the experimental groups. All red seabreams died within 1 hour of exposure to red tide, whereas all olive flounders died within 5 hours of exposure. Analysis of physiological response revealed that in red seabream, plasma glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) concentrations were increased; plasma glucose and superoxide dismutase (SOD) concentration were decreased. Meanwhile, in olive flounders, plasma cortisol, GOT, and GPT concentrations were increased; plasma glucose concentrations were increased during the first hour of exposure, followed by decrease after 5 hours; and plasma SOD, CAT, and GPx concentrations decreased during the first hour of exposure. Histological analysis revealed structural damage to the gills of both red seabream and olive flounder. In conclusion, the exposure of red seabream and olive flounder to *Cochlodinium polykrikoides* red tide at the density of 5,500 cells·ml⁻¹ induces oxidative stress, which activates antioxidant defense mechanisms, ultimately leading to liver and gill damage.

Keywords: *Cochlodinium polykrikoides*, Physiological response(생리적 반응), Red tide(적조), Reactive oxygen(활성산소), Survival rate(생존율)

서론

우리나라 연안에서 적조를 일으키는 적조 생물은 60여종이 보고되었으며(Lim et al., 2020), 이중 우리나라 수산생물 피해를 발생시킨 유해성 적조생물 중은 *Cochlodinium polykrikoides*, *Karenia* sp. 그리고 *Karenia mikimotoi* 등이 있다. 이중 *C. polykrikoides*에 의한 적조는 우리나라 뿐만 아니라 일본, 캐나다, 말레이시아 등 전 세계적으로 출현하고 있고(Yuki and Yoshimatsu, 1989; Whyte et al., 2001), 국내에서는 1993년에 최초로 *C. polykrikoides* 적조 피해가 발생한 이후로 1995년 764억원, 2003년 215억원, 2013년 247억원 등 막대한 경제적 손실을 발생시켰으며, 연안의 수질오염 및 부영양화 등으로 인해 적조 발생 빈도와 규모가 지속적으로 커지고 있어 양식산업에 어려움을 주고 있다(Kim et al., 2001a; Lim et al., 2020; NIFS, 2021). *C. polykrikoides* 적조로 경제적 피해가 발생한 이후 적조 예찰, 발생 및 제어와 관련된 연구의 중요성이 대두되었고, 많은 연구진들로부터 적조 발생 기작(Kim et al., 2001c; Lee et al., 2001), 적조생물의 생리생태(Kim et al., 2001b; Oh et al., 2006; Kim et al., 2007), 적조 피해 예방 및 대책(Choi et al., 1998; Sohn, 2005) 등 다양한 연구가 수행되고 있는 실정이다.

*C. polykrikoides*는 길이 20~30 μm , 폭 20~30 μm 의 세포들이 8개 이하의 체인을 형성하며 존재하는 무각의 점액성 와편모조류이며, 어류 폐사를 유발하는 대표적인 적조생물 종이다(Lee, 1996). *C. polykrikoides* 적조로 발생하는 어류의 폐사 원인 및 메커니즘으로 다양한 연구들이 수행되어져 왔다. Lee (1996)는 적조생물이 생성 및 분비하는 점액질 또는 아가미와 직접적인 부착을 통한 가스교환 능력 저하, Kim et al. (2000b)는 적조생물 노출이 어류 아가미의 이온 전달에 관여하는 Na^+/K^+ -ATPase 및 탄산탈수효소(carbonic anhydrase)의 활성 억제제를 통한 가스교환 능력 저하로 인한 혈중 산소분압 및 pH 감소, Kim et al. (2001a)은 적조생물이 생성 및 분비하는 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)에 의한 아가미의 비정상적인 점액분비, Shin et al. (2019)는 적조생물로 인한 아가미의 항산화 시스템 반응과 DNA 손상 증가를 폐사에 주된 원인으로 보고하였다. 그 외에 세포독성(Kim et al., 2002), 신경독성 및 용혈성 독성(Onoue, 1989) 등 다양한 원인들이 보고되고 있으나, 아직까지 *C. polykrikoides* 적조 노출에 의한 어류 폐사 원인 및 메커니즘은 명확하게 구명되어지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 적조생물 노출에 따른 어류의 생리학적 영향을 알아보고자, 양식산 어류(넙치와 참돔)를 대상으로 *C. polykrikoides* 노출 시간에 따른 생존율, 호흡수, 아가미와 피부의 조직학적 관찰, 혈중 스트레스 호르몬 및 항산화 효소 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

실험어 참돔(전장 22 ± 1 cm, 체중 245 ± 33 g)은 경남 통영시 해상가두리, 넙치(전장 26 ± 1 cm, 체중 205 ± 22 g)는 전남 완도군 옥상양식장에서 사육 중인 개체를 구입하여 남해수산연구소 생물사육실로 수송한 후 수온 $24.0\pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 2주일 동안 순치하여 실험에 사용하였다. 순치기간 동안 먹이는 상업용 EP 부상사료(Jeil feed Co., Korea)를 1일 1회 만복으로 공급하였고, 실험시작 전 24시간 동안 절식시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 실험 디자인 및 호흡수 측정

실험 적조생물은 경남 통영 연안에서 분리하여 국립수산물과학원에서 보유하고 있는 *C. polykrikoides* (NIFS CP001)를 배양하여 사용하였다. 대조구는 자연해수를 사용하였고, 실험구의 적조생물 *C. polykrikoides* 밀도는 $5,500\pm 200$ cells/ml로 설정하였다. 실험수조는 100 l 원형 아크릴 수조를 사용하였고, 참돔은 수조당 7마리, 넙치는 수조당 10마리씩 수용하여 실험하였다. 실험기간 동안 수온과 DO는 각 $24.0\pm 0.5^\circ\text{C}$ 및 6.3 ± 1.0 mg/l로 유지하였다. 실험어의 스트레스 호르몬, 항산화 효소 반응 및 조직학적 변화를 비교 조사하기 위해 실험개시 시(initial), 노출 1시간, 3시간, 및 5시간째에 샘플링(sampling)하였으며, 실험어가 폐사할 경우 추가로 샘플링을 실시하였다. 실험어의 폐사판정은 유영능력을 상실하고 복부가 뒤집어진 상태가 되었을 때 폐사로 간주하였다. 호흡수는 1분 동안 실험어의 아가미 개폐를 육안으로 측정하였으며, 무작위로 실험구별 3마리씩 추출하여 각 개체마다 3회씩 측정 후 평균을 산출하였다. 실험은 실험어가 모두 폐사할 경우 또는 최대 5시간까지 진행하였고, 2 반복으로 실시하였다.

3. 혈중 스트레스 및 항산화 효소 분석

적조생물 노출에 따른 실험어의 혈중 스트레스 호르몬과 항산화 효소 반응을 조사하기 위하여 샘플링 시 실험구마다 실험어를 2~3마리씩 무작위로 2-phenoxyethanol (200 ppm, Sigma, USA)에 마취시키고, 항응고제(heparin) 처리된 주사기를 이용하여 미부혈관에서 1 ml씩 채혈하였다. 채혈한 혈액은 원심분리(8,000 RPM, 10 min, 4°C) 후 혈장을 분리하고, 분석 전까지 -70°C 에서 보관하였다.

혈중 cortisol (EIA-1887, DRG, USA)과 항산화 관련 효소인 Superoxide dismutase (SOD, CSB-E15929Fh, Cusabio biotech, China), Catalase (CAT, CSB-E15928Fh, Cusabio biotech, China), Glutathione peroxidase (GPx, CSB-E15930Fh, Cusabio biotech, China)는 ELISA kit를 사용하여 매뉴얼에 따라 분석하였고, microplate reader

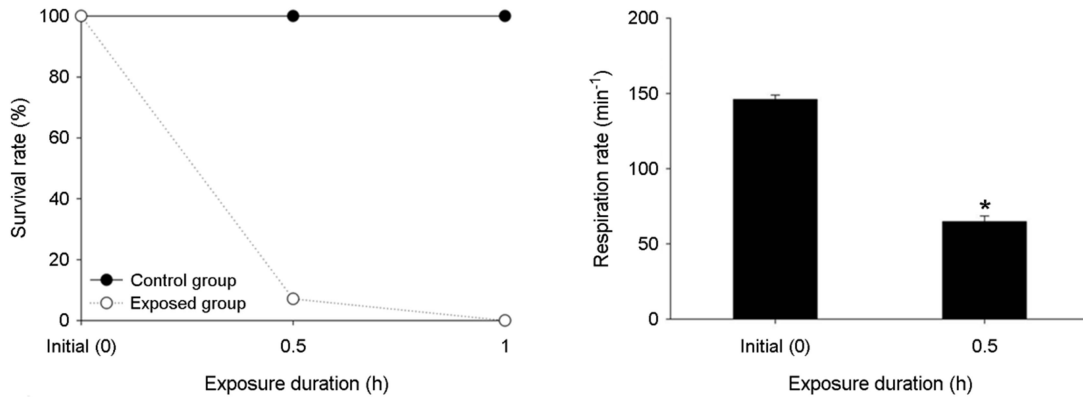


Fig. 1. Effect of exposure to *C. polykrikoides* on survival and respiration rates among Red seabream *Pagrus major*: These data represent mean \pm SEM (n=3). *indicates statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

(sunrise, Tecan, Switzerland)로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 Magellan (v17.2, Tecan, Switzerland)으로 결과 값을 계산하였다.

혈중 Glucose, Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 그리고 Glutamic pyruvate transaminase (GPT)는 자동혈액분석기(DRI-CHEM 4000i, Fuji film Co., Japan)와 DRI-CHEM slide (Fuji film Co., Japan)를 사용하여 측정하였다.

4. 조직학적 분석

적조생물 노출에 따른 아가미와 피부의 반응을 조사하기 위해 조직학적 분석을 수행하였다. 실험어의 아가미와 피부 일부를 절취하여 10% 중성 포르말린에 고정한 후 paraffin으로 포매하고, microtome (RM 2135, Leica, Germany)을 이용해 5 μ m로 박절하였다. 절편은 H-E (hematoxylin-eosin)염색법으로 대비 염색하였고, 광학현미경(BX50, Olympus, Japan)으로 조직 상태를 검경하였다.

5. 통계 처리

모든 결과 값은 평균 \pm 표준오차로 나타냈고, 통계 처리는 SPSS statistics program (v19.0)을 사용하여 독립변인 *t*-test와 일원분산 분석(one-way ANOVA) 후 Tukey test로 유의성을 검증하였다($p < 0.05$).

결 과

1. 적조생물 노출이 양식산 참돔에 미치는 영향

1) 생존율 및 호흡수

적조생물 노출에 따른 참돔의 생존율 및 호흡수를 조사한 결과,

대조구는 실험기간 동안 폐사가 발생하지 않았으나, 실험구는 노출 1시간 이내 전량 폐사하였다. 실험구의 호흡수는 실험개시 시 146.0 ± 2.9 /분에서 노출 30분째에 64.8 ± 3.7 /분으로 실험개시기보다 유의하게 감소하였다($p < 0.05$, Fig. 1).

2) 스트레스 반응 및 항산화 효소 분석

실험개시기 혈중 Glucose, GOT, GPT, SOD, CAT 및 GPx 농도는 각각 63.3 ± 7.9 mg/dl, 15.7 ± 2.0 U/l, 7.3 ± 0.3 U/l, 181.9 ± 16.4 ng/ml, 45.7 ± 3.6 U/ml 및 149.9 ± 7.9 U/ml로 나타났다.

스트레스 반응을 분석한 결과, 적조생물 노출 30분째 대조구와 실험구의 혈중 glucose 농도는 79.3 ± 12.3 및 39.5 ± 9.1 mg/dl로 실험구에서 유의하게 감소하였고, 혈중 GOT 농도는 16.3 ± 1.2 및 26.8 ± 1.8 U/ml로 실험구에서 유의하게 증가하였다($p < 0.05$, Fig. 2). 혈중 GPT 농도는 각 7.7 ± 0.9 및 9.0 ± 0.4 U/ml로 증가하는 경향을 보였다($p > 0.05$, Fig. 2).

항산화 효소 반응을 분석한 결과, 적조생물 노출 30분째 대조구와 실험구의 혈중 SOD 농도는 각 226.2 ± 26.0 및 213.0 ± 21.5 mg/ml로 실험구에서 감소하는 경향을 보였고, 혈중 CAT 농도는 43.9 ± 4.7 및 45.9 ± 6.5 U/ml, GPx 농도는 145.4 ± 25.9 및 172.5 ± 11.2 U/ml로 실험구에서 증가하는 경향을 보였다($p > 0.05$, Fig. 3).

3) 조직학적 반응 분석

적조생물 노출에 따른 참돔 아가미의 조직학적 변화가 관찰되었는데, 노출 30분째 새변 말단을 포함한 아가미 조직 내 새변 전체가 팽창되었고 팽창된 새변 사이에 적조생물이 관찰되었다. 반면, 피부 조직은 적조생물 노출에 따른 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4).

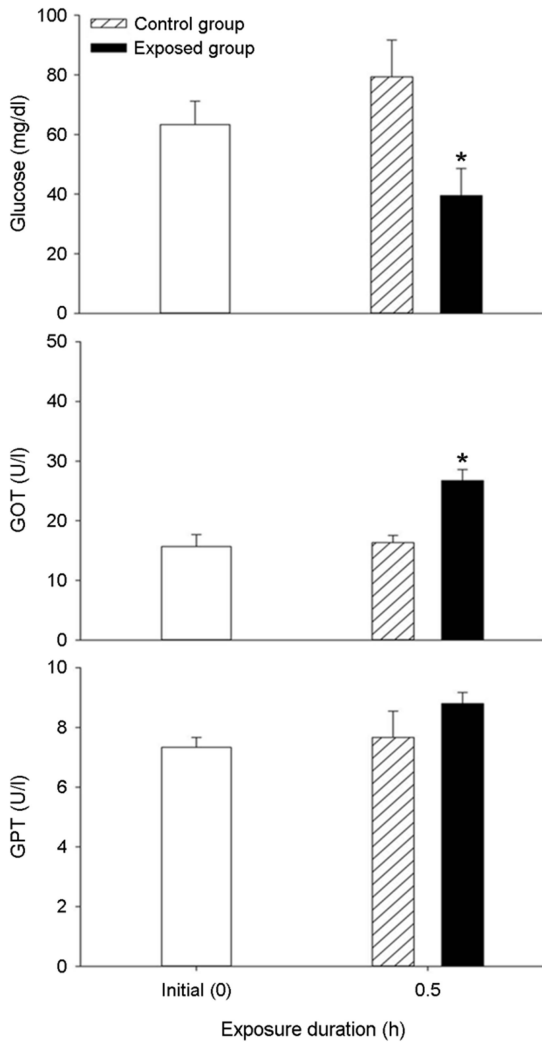


Fig. 2. Effects of exposure to *C. polykrikoides* on plasma Glucose, GOT, and GPT among Red seabream *Pagrus major*. These data represent mean \pm SEM (n=3). *indicates statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

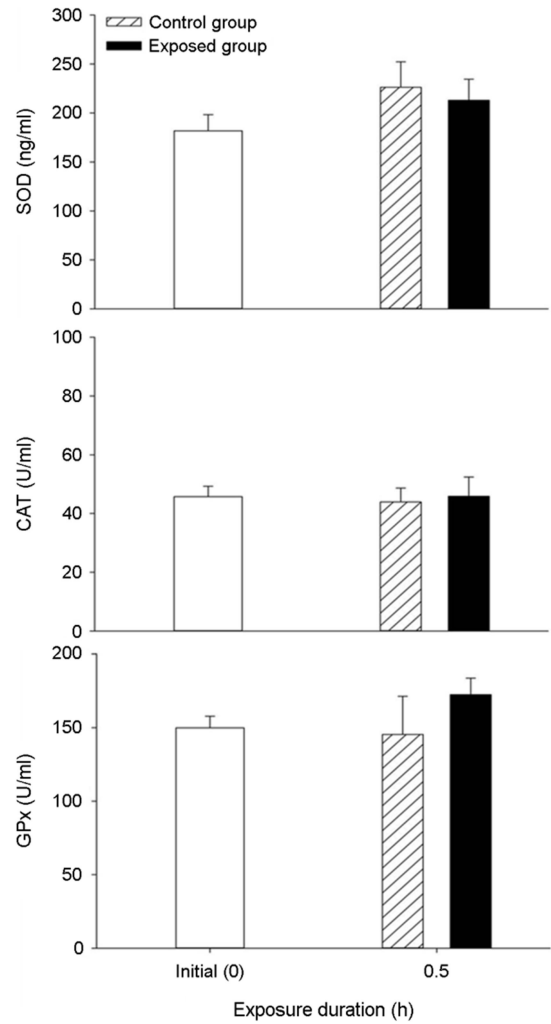


Fig. 3. Effects of exposure to *C. polykrikoides* on plasma SOD, CAT, and GPx among Red seabream *Pagrus major*. These data represent mean \pm SEM (n=3).

2. 적조생물 노출이 양식산 넙치에 미치는 영향

1) 생존율 및 호흡수

대조구는 실험기간 동안 폐사가 발생하지 않았으나, 적조생물 노출구는 노출 5시간 이내 전량 폐사하였다. 실험구의 호흡수는 실험개시 시 99.3 \pm 3.3/분에서 노출 30분째 50.7 \pm 1.8/분, 노출 1시간째 57.0 \pm 4.1/분, 노출 2시간째 52.6 \pm 8.9/분으로 유의하게 감소하였고, 노출 3시간째 74.5 \pm 5.0/분, 노출 5시간째 92.7 \pm 0.7/분으로 실험개시 시 수준으로 회복하였다($p < 0.05$, Fig. 5).

2) 스트레스 반응 및 항산화 효소 분석

실험개시 시 혈중 Cortisol, Glucose, GOT, GPT, SOD, CAT 및 GPx 농도는 각각 59.3 \pm 4.7 ng/ml, 36.3 \pm 2.8 mg/dl, 22.0 \pm 3.6 U/l, 6.3 \pm 0.3 U/l, 115.59 \pm 34.9 ng/ml, 48.1 \pm 10.2 U/ml 및 140.6 \pm 49.9 U/ml로 나타났다(Fig. 6).

스트레스 반응을 분석한 결과, 대조구와 실험구의 혈중 Cortisol 농도는 노출 1시간째 25.0 \pm 9.4 및 350.1 \pm 36.1 ng/ml, 노출 3시간째 18.1 \pm 5.2 및 280.2 \pm 109.4 ng/ml, 노출 5시간째 20.9 \pm 5.2 및 551.0 ng/ml로 노출 1시간째 실험구에서 유의하게 높게 나타났고($p < 0.05$), 혈중 Glucose 농도는 노출 1시간째 24.0 \pm 4.9 및 137.0 \pm 42.8 mg/dl, 노출 3시간째 22.7 \pm 2.9 및 37.3 \pm 18.4 mg/dl, 노출

5시간째 30.0±4.0 및 3.5 mg/dl로 노출 1시간째부터 3시간째 까지 실험구에서 높은 경향을 보였다($p>0.05$). 혈중 GOT 농도는 노출 1시간째 21.3±0.7 및 31.7±9.9 U/ml, 노출 3시간째 23.7±8.7 및 136.7±60.1 U/ml, 노출 5시간째 28.0±9.6 및 106.5 U/ml로 노출 1시간째부터 3시간째까지 실험구에서 높은 경향을 보였고 ($p>0.05$), 혈중 GPT 농도는 노출 1시간째 7.0±0.6 및 20.3±2.7 U/ml, 노출 3시간째 8.3±1.9 및 53.7±29.9 U/ml, 노출 5시간째 6.0±0.6 및 29.0 U/ml로 노출 1시간째 대조구보다 실험구에서 유의하게 높게 나타났다($p<0.05$, Fig. 6).

항산화 효소 반응을 분석한 결과, 대조구와 실험구의 혈중 SOD 농도는 노출 1시간째 각 160.8±25.6 및 95.5±49.0 mg/ml, 노출 3시간째 76.1±17.5 및 126.9±48.6 mg/ml, 노출 5시간째 105.3±6.6 및 102.7 mg/ml로 노출 1시간째와 5시간째에는 실험구에서 낮고, 노출 3시간째에는 실험구에서 높은 경향을 보였고($p>0.05$), 혈중 CAT 농도는 노출 1시간째 54.5±9.3 및 36.6±11.5 U/ml, 노출 3시간째 40.0±7.9 및 35.9±11.7 U/ml, 노출 5시간째 37.7±3.7 및 30.2 U/ml로 노출 1시간째부터 노출 5시간째까지 실험구에서 낮은 경향을 보였으며($p>0.05$), 혈중 GPx 농도는 노출 1시간째 138.7±20.9 및 74.1±19.2 U/ml, 노출 3시간째 127.3±32.3 및 123.1±39.1 U/ml, 노출 5시간째 105.5±6.6 및 103.3 U/ml로 노출 1시간째부터 노출 5시간째까지 실험구에서 낮은 경향을 보였다($p>0.05$, Fig. 7).

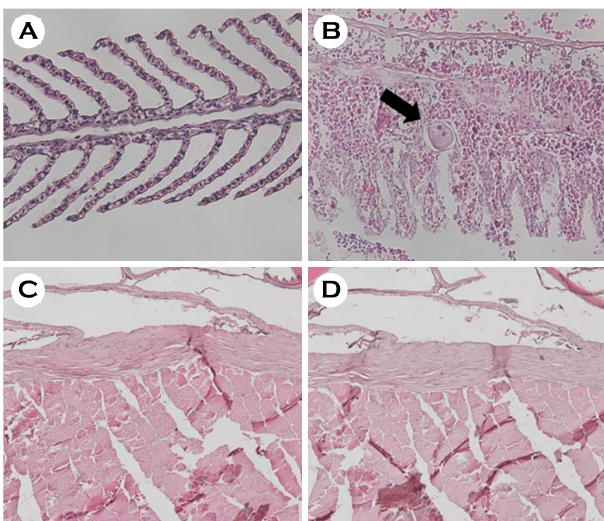


Fig. 4. Photomicrographs of histological sections of gill and skin in Red seabream *Pagrus major* exposed to *C. polykrikoides*. ×400. A, Gill (Initial); B, Gill (post-exposure); C, Skin (Initial); D, Skin (post-exposure). Arrow: *Cochlodinium poly krikoides*.

3) 조직학적 반응 분석

적조생물 노출에 따른 넙치의 아가미 및 피부 조직 변화를 조사한 결과, 적조생물 노출 30분째 아가미 새변 말단과 새엽 전체가 팽창되었고, 새변 사이에 적조생물이 관찰되었다. 반면, 피부 조직은 적조생물 노출에 따른 차이를 보이지 않았다(Fig. 8).

고 찰

본 연구는 양식산 참돔과 넙치를 5,500±200 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조에 노출시키고, 그에 따른 생리학적 반응을 비교 조사하였다.

양식산 참돔과 넙치를 *C. polykrikoides* 적조에 노출 시킨 결과, 참돔은 노출 30분째 폐사가 발생하기 시작하여 노출 1시간 이내 전량 폐사하였고, 넙치는 노출 1시간째 폐사가 발생하여 노출 5시간 이내 전량 폐사하였다. 쥐치 *Thamnaconus septem-*

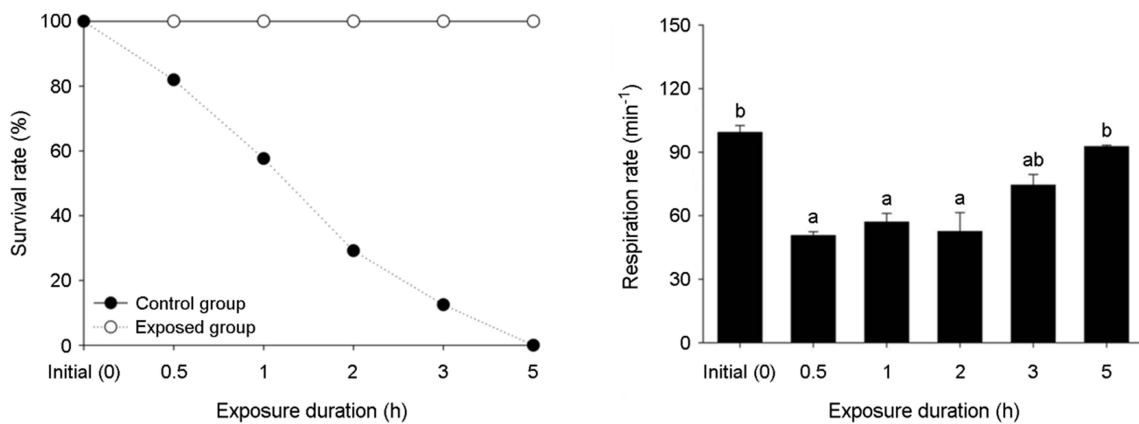


Fig. 5. Effect of exposure to *C. polykrikoides* on survival and respiration rates among Olive flounder *Paralichthys olivaceus*. These data represent mean ± SEM (n=3). The different letters indicate statistically significant differences between groups ($p<0.05$).

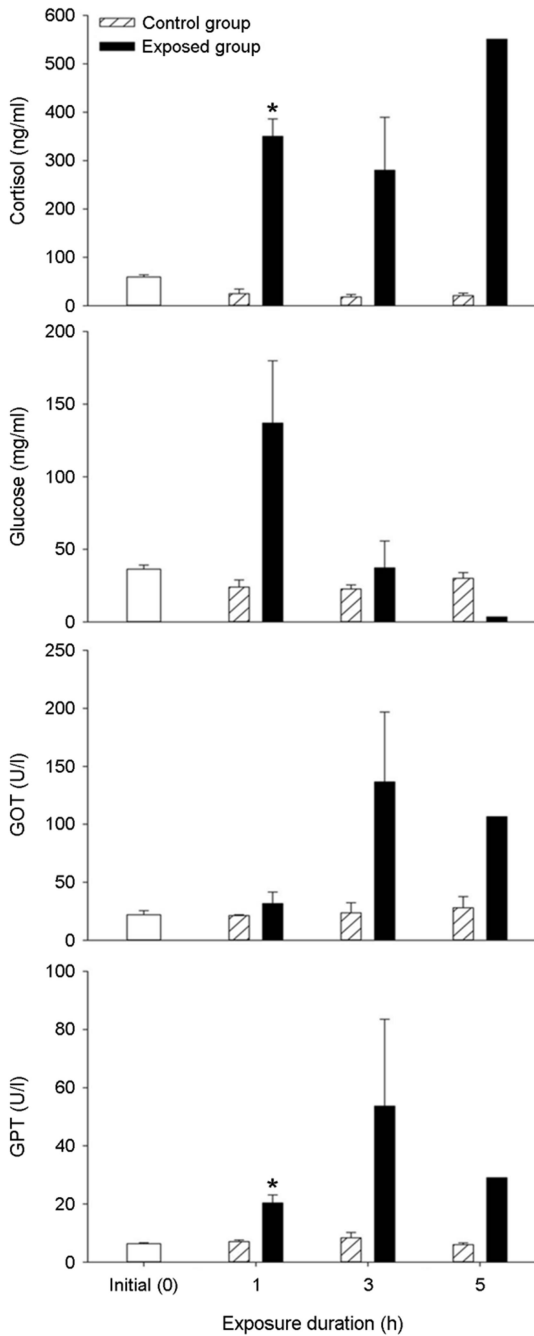


Fig. 6. Effects of exposure to *C. polykrikoides* on plasma Cortisol, Glucose, GOT, and GPT among Olive flounder *Paralichthys olivaceus*. These data represent mean \pm SEM (n=2~3). *indicates statistically significant differences between groups ($p < 0.05$).

trionalis, 참돔 *Pagrus major*, 돌돔 *Oplegnathus fasciatus*, 볼락 *Sebastes inermis*, 조피볼락 *Sebastes schlegelii* 및 넙치 *Paralichthys olivaceus* 등을 대상으로 수행한 이전의 연구에서도 넙치 및 볼락

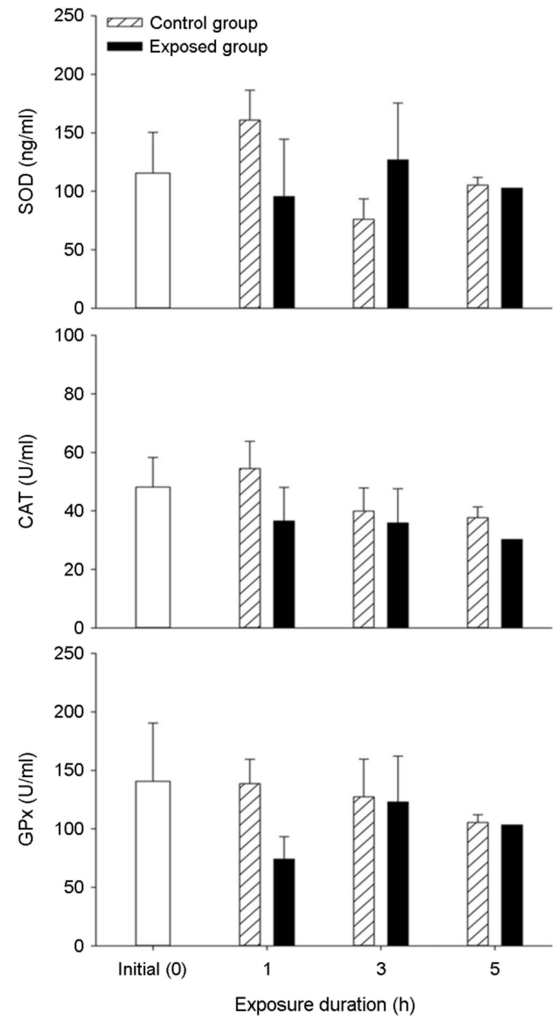


Fig. 7. Effects of exposure to *C. polykrikoides* on plasma SOD, CAT, and GPx among Olive flounder *Paralichthys olivaceus*. These data represent mean \pm SEM (n=2~3).

같은 저서성(정착성) 어종보다 참돔 및 쥐치 같은 유영성(활동성) 어종에서 짧은 임계 치사 시간(Threshold lethal time)과 높은 폐사율을 보여 본 연구 결과와 일치하였다(Kim et al., 2000a, 2000b; Lee et al., 2003).

어류의 호흡수와 산소 소비는 수온, 광주기 및 스트레스 등 다양한 원인에 의해 영향을 받으며(Barton and Schreck, 1987; Brett and Glass, 1973; Withey and Saunders, 1973), 적응이 불가능한 수준의 환경 변화는 어류에게 극심한 스트레스로 작용하여 대사 불안정, 호흡수 감소 및 폐사율 증가 등을 야기한다고 알려져 있다(So et al., 2008; Lee et al., 2008). *C. polykrikoides* 적조 노출과 호흡수의 상관관계에 대한 이전 연구에서 *C. polykrikoides* 적조 밀도 및 노출 시간에 의존적으로 참돔의 호흡수가 감소하여 본 연구와

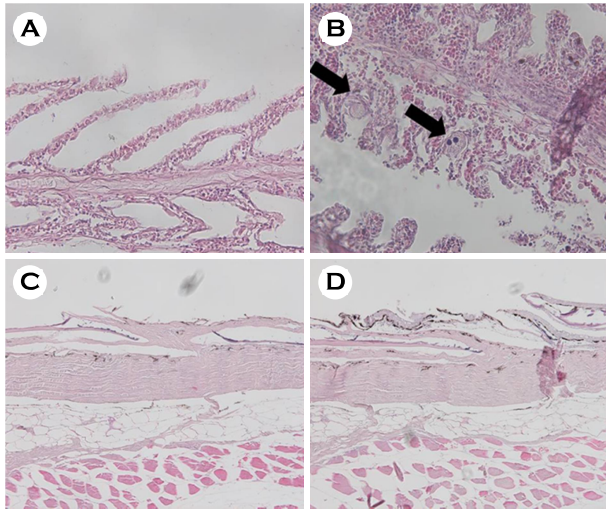


Fig. 8. Photomicrographs of histological sections of gill and skin in Olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to *C. polykrikoides*. $\times 400$. A, Gill (Initial); B, Gill (post-exposure); C, Skin (Initial); D, Skin (post-exposure). Arrow: *Cochlodinium polykrikoides*.

유사한 결과를 보고하였다(Shin et al., 2019). 즉, *C. polykrikoides* 적조 노출이 참돔과 넙치에게 적응하기 어려운 수준의 스트레스로 작용하는 것으로 판단된다. 한편, 참돔과 넙치에서 *C. polykrikoides* 적조 노출에 따른 아가미의 구조적 손상이 발생하였다. Kim et al. (1999, 2000b)은 *C. polykrikoides*가 생산 및 분비한 활성산소가 아가미의 구조적·기능적 저하를 유발한다고 보고하였고, Shim et al. (2009)의 연구에서도 5,000 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조에 노출된 쥐치의 아가미에 구조적인 손상이 발생했으며, 이를 *C. polykrikoides*의 점액질에 의한 기계적인 영향이거나 산소 차단에 의한 감염으로 추정하였다. 따라서 *C. polykrikoides* 적조 노출은 어류 아가미의 구조적 손상과 직접적으로 연관이 있으나, 이러한 손상 원인은 추후 구체적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

어류의 스트레스 반응에 대한 생리학적 지표로 다양한 혈액학적 요인들이 이용되고 있으며, 대표적인 지표로는 스트레스에 대한 1차적인 반응으로 증가하는 Cortisol (Mommsen et al., 1999)과 2차적인 반응으로 간에서 포도당의 신생합성(gluconeogenesis)을 통해 증가하는 Glucose 등이 있다(Davis and Parker, 1990). 그 외에 간 세포의 손상에 의해 증가하는 아미노기 전이효소(GOT, GPT)도 어류의 스트레스 지표로 이용되고 있다(Huang and Chen, 2002; Kim et al., 2018). 본 연구에서 참돔 실험구는 적조 노출 30분째에 혈중 Glucose가 감소하였고, 혈중 GOT와 GPT는 증가하였다. 넙치 실험구의 혈중 cortisol 농도는 노출 1시간째부터 증가하였고, 혈중 Glucose 농도는 적조 노출 1시간째에 대조구보다 증가한 후 노출 시간에 따라 감소하였으며, 혈중 GOT와 GPT는 노출

1시간째부터 대조구보다 증가하였다. 적조 노출에 따른 혈액학적 성상을 분석한 연구들로 Kim et al. (2000a)은 *C. polykrikoides* 적조 노출 이후 적조 노출에 의한 스트레스 반응으로 참돔의 혈중 cortisol 농도가 증가하였다고 보고하였고, Kim et al. (2018)은 2,400~4,750 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조 노출 이후 스트레스 반응 및 간 기능 손상으로 참돔의 혈중 Glucose, AST (GOT) 및 ALT (GPT)의 농도가 증가하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 즉, 적조 노출은 어류에게 스트레스로 작용하여 혈중 Cortisol과 Glucose 농도를 증가시키고, 이후 간 손상을 야기시켜 혈중 Glucose 감소 및 혈중 GOT 및 GPT 농도를 증가시키며, 이러한 반응의 민감도는 어중에 따라 차이를 보이는 것으로 판단된다.

스트레스는 어류를 포함하는 생물의 체내에서 활성산소를 생성시키고, 생성된 활성산소는 세포의 기능을 손상시키는 산화적 스트레스로 작용한다(Dalton et al., 1993). 체내에서는 활성산소에 대한 방어를 위해 항산화 반응으로 SOD, CAT 및 GPx 등과 같은 효소가 작용하며, 1차적인 항산화 반응으로 SOD는 슈퍼옥사이드(O_2^-)을 산소(O_2)와 과산화수소(H_2O_2)로 전환시켜 체내 활성산소를 제거하고, CAT는 과산화수소를 물(H_2O)과 산소로 전환시키며, GPx는 glutathione (GSH) 산화 환원 반응을 통해 과산화수소를 물로 전환시켜 조직 내 활성산소를 감소 및 제거하는 역할을 한다(Imai and Nakagawa, 2003; Madeira et al., 2013). 본 연구에서 참돔은 노출 30분째 대조구보다 실험구의 혈중 SOD 농도가 감소하고, 넙치는 노출 1시간째 대조구보다 실험구의 혈중 SOD, CAT 및 GPx 농도가 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. Shin et al. (2019)은 참돔을 3,000 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조에 노출시킨 결과, 노출 24시간째에 아가미 조직 내 SOD, CAT, GPx 및 glutathione reductase (GR)의 활성이 유의하게 증가하였으나, 적조 노출 3시간째까지 SOD, CAT 및 GPx 활성은 유의한 변화를 보이지 않아 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 따라서 *C. polykrikoides* 적조 노출에 의한 어류의 생리학적 반응은 적조 노출 밀도 및 시간에 따라 차이를 보이는 것으로 보여지며, 본 연구에서 5,500 cell/ml 밀도의 적조 노출은 참돔과 넙치에게 산화적 스트레스로 작용하고, 체내 생성된 활성산소 감소 및 제거를 위해 혈중 항산화 효소 농도가 감소한 것으로 추정된다. 그러나 적조 노출에 따른 어류의 산화적 스트레스 반응에 대한 구체적인 이해를 위해서는 추후 실험 개체 수 증가, 분석 조직 및 적조 노출 밀도 등을 달리하여 추가적인 실험이 수반되어야 할 것으로 판단된다.

이는 본 연구에서 사용된 5,500 cell/ml 밀도 적조 노출이 참돔과 넙치에게 산화적 스트레스로 작용하여, 체내 활성산소 감소 및 제거를 위해 항산화 효소가 이용된 결과로 보여진다. 결론적으로 양식산 참돔과 넙치에게 5,500 cells/ml 밀도의 *C. polykrikoides* 적조 노출은 산화적 스트레스로 작용하여 체내 항산화 방어 기작을 활성화하고, 간과 아가미의 손상을 발생시키며, 최종적으로 폐사를 유발하는 것으로 나타났다. 향후, 적조 밀도 및 노출 시간을 달리하고 GR 및 항산화 방어 관련 유전자 등을 추가하여 조사한

다면, 적조 노출에 의한 어류 폐사 메커니즘 구명에 유용한 자료로 활용될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2022년 국립수산과학원 수산과학연구사업(R2022004)의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Barton BA, Schreck CB. 1987. Influence of acclimation temperature on interrenal and carbohydrate stress responses in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 62: 299-310.
- Brett JR, Glass NR. 1973. Oxygen consumption and critical swimming speeds of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in relation to size and temperature. *J Fish Res Bd Can* 30: 379-287.
- Choi HG, Kim PJ, Lee WC, Yun SJ, Kim HG, Lee HJ. 1998. Removal efficiency of *Cochlodinium polykrioides* by yellow loess. *Korean J Fish Aquat Sci* 31: 109-113.
- Davis KB, Parker NC. 1990. Physiological stress in striped bass: effect of acclimation temperature. *Aquaculture* 91: 349-358.
- Dalton DA, Langeberg L, Treneman NC. 1993. Correlations between the ascorbate-glutathione pathway and effectiveness in legume root nodules. *Physiol Plant* 87: 365-370.
- Huang CY, Chen JC. 2002. Effects on acid-base balance, methaemoglobinemia and nitrogen excretion of European eel after exposure to elevated ambient nitrite. *J Fish Biol* 61: 712-725.
- Imai H, Nakagawa Y. 2003. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med* 34: 145-169.
- Kim CS, Lee SG, Lee CK, Kim HG, Jung J. 1999. Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides*. *J Plankton Res* 21: 2105-2115.
- Kim CS, Bae HM, Yun SJ, Cho YC, Kim HG. 2000a. Ichthyotoxicity of a harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides*: aspect of hematological responses of fish exposed to algal blooms. *J Fish Sci Tech* 3: 111-117.
- Kim CS, Lee SG, Kim HG. 2000b. Biochemical responses of fish exposed to a harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides*. *J Exp Mar Biol Ecol* 254: 131-141.
- Kim CS, Lee SG, Kim HG, Lee JS. 2001a. Screening for toxic compounds in the red tide *Cochlodinium polykrioides*: is it toxic plankton?. *Algae* 16: 457-462.
- Kim HC, Lee CK, Lee SG, Kim HG, Par CK. 2001b. Physico-chemical factors on the growth of *Cochlodinium polykrioides* and nutrient utilization. *Korean J Fish Aquat Sci* 34: 445-456.
- Kim HG, Jung CS, Lim WA, Lee CK, Kim SY, Youn SH, Cho YC, Lee SG. 2001c. The spatio-temporal progress of *Cochlodinium polykrioides* blooms in the coastal waters of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 34: 691-696.
- Kim DK, Oda T, Muramatsu T, Kim D, Matsuyama Y, Honjo T. 2002. Possible factors responsible for the toxicity of *Cochlodinium polykrioides*, a red tide phytoplankton. *Comp Biochem Physiol Part C* 132: 415-423.
- Kim CJ, Kim HG, Kim CH, Oh HM. 2007. Life cycle of the ichthyotoxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrioides* in Korean coastal waters. *Harmful Algae* 6: 104-111.
- Kim WJ, Lee JY, Shin YK, Won KM. 2018. Growth and blood characteristics of red sea bream *Pagrus major* by starvation and stocking density during red tide. *J Ichthyol* 30: 194-204.
- Lee CH, Han SW, Hur JW, Lee JY. 2008. Oxygen consumption, operculum movement number and ammonia excretion of cultured Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) by salinity changes. *J Environ Biol* 26: 138-144.
- Lee JS. 1996. Bioactive components from red tide plankton, *Cochlodinium polykrioides*. *Korean J Fish Aquat Sci* 29: 165-173.
- Lee SG, Kim HG, Cho ES, Lee CK. 2003. Mortality of fishes and shellfishes to harmful algal blooms. *J Fish Sci Tech* 6: 160-163.
- Lee YS, Park YT, Kim YS, Kim KY, Park JS, Go WJ, Jo YJ, Park SY. 2001. Countermeasure and outbreak mechanism of *Cochlodinium polykrioides* red tide 1. Environmental characteristics on outbreak and disappearance of *C. polykrioides* bloom. *J Korean Soc Oceanogr* 6: 259-264.
- Lim WA, Go WJ, Kim KY, Park JW. 2020. Variation in harmful algal blooms in Korean coastal waters since 1970. *J Korean Soc Mar Environ Saf* 26: 523-530.
- Madeira D, Narciso L, Cabral HN, Vinagre C, Diniz MS. 2013. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Cop Biochem Physiol Part A* 166: 237-243.
- Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW. 1999. Cortisol in teleosts: dynamic, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fish* 9: 211-268.
- NIFS. 2021. Harmful algal blooms in the Korean coastal waters in 2020. National Institute of Fisheries Science 21-23.
- Oh SJ, Yoon YH, Kim DI, Shimasaki Y, Oshima Y, Honjo T. 2006.

- Effects of light quantity and quality on the growth of the harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (*Dinophyceae*). *Algae* 21: 311-316.
- Onoue Y. 1989. Separation of toxins from harmful red tides occurring along the coast of Kagoshima Prefecture. Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (ed.). In: Red tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology. Elsevier Science Publ, New York, pp 371-374.
- Shim JM, Lee C, Lee YH, Kim BS. 2009. Response of oxygen consumption and gill tissue of fish exposed to red tide organism *Cochlodinium polykrikoides*. *J Environ Sci* 18: 1283-1289.
- Shin YK, Nam SE, Kim WJ, Seo DY, Kim YJ, Rhee JS. 2019. Red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* induces significant oxidative stress and DNA damage in the gill tissue of the Red sea bream *Pagrus major*. *Harmful Algae* 86: 37-45.
- So SY, Hur JW, Lee JY. 2008. Variation of oxygen consumption, Operculum movement number and hemoglobin by water temperature change in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J Ichthyol* 20: 239-247.
- Sohn JH. 2005. The effects of ammonium ion and salts on the killing of red tides organism; *Cochlodinium polykrikoides* and *Gymnodinium sanguieum*. *J Life Sci* 15: 578-583.
- Whyte JNC, Haigh N, Gnther NG, Keddy LJ. 2001. First record of blooms of *Cochlodinium* sp. (*Gymnodiniales*, *Dinophyceae*) causing mortality to aquacultured salmon on the west coast of Canada. *Phycologia* 40: 298-304.
- Withey KG, Saunders RL. 1973. Effect of reciprocal photoperiod regime on standard rate of oxygen consumption of postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J Fish Res Bd Can* 30: 1898-1900.
- Yuki K, Yoshimatsu S. 1989. Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (ed.). In: Red tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology. Elsevier Science Publ, New York, pp 451-454.