

16. 환경생체지표를 이용한 광양만 주변해역의 환경모니터링 및 퇴적물 독성실험 연구

신영범, 오재룡, 심원준, 임운혁, 홍상희, 이동호
한국해양연구원 환경기후본부

요 약

광양만 및 주변해역의 참굴을 대상으로 환경생체지표를 측정하여 환경독성을 조사하였다. 광양만에서는 세포치사독성은 나타나지 않았으며, 라이소솜의 안정성은 남해도 주변정점은 70%내외 인데 반해서, 기준정점의 50% 내외의 상대적으로 낮은 안정성을 보인다. 에스테라제 활성은 광양내만 및 태인교 부근의 정점과 남해도의 정점 8, 9 들은 63-88 FU 정도로 낮아서 활성이 저해 받고 있음을 알 수 있다. 이중나선 DNA의 함량은 남해도의 정점들은 150 FU 내외의 값을 보이고, 광양만은 130 FU 내외로 함량이 낮고, 정점간의 차이가 크지 않다. 전체적으로 기준정점 및 외양역의 정점 10은 독성물질에 의한 영향이 적은 데 반해서, 광양만은 독성물질에 의해서 특히 라이소솜 온전성, 에스테라제 활성 등에 영향을 받고 있는 것으로 사료된다. 그리고 남해도 주변의 인근해역은 광양만에 비해서는 적은 영향을 받고있는 것으로 사료된다. 다른 측정자료와 비교하여 볼 때 광양만지역은 거제도과 같은 청정해역보다는 독성물질의 영향을 더 받았고, 마산과 같은 극심하게 오염된 지역보다는 독성물질의 영향을 적게 받았다. 인접한 가막만과 유사하거나 조금 더 독성물질의 오염에 의한 영향을 나타내는 것으로 사료된다.

퇴적물 독성실험에서 200 mg /ml(이하 mg)이상의 농도에서 전정점에서 100 mg에서 부분적인 세포치사독성이 나타났으며, 라이소솜 안정성은 50 mg에 노출 했을 때에는 정점, 12, 20, 26, 42에서는 25% 내외의 낮은 값을 보이고, 대부분의 정점에서 50% - 70% 내외의 온전성을 보인다. 에스테라제 활성은 100 mg에 노출했을 때 표도와 광양제철 인근에 위치한 정점 10, 12, 16, 22에서는 50% 내외의 값을 보였고(정점 22: 36%로 최저), 내만에 위치한 정점들에서는 60% 내외의 활성을 보였다. 양식장이 있는 정점 2, 외양의 영향을 많이 받는 정점 46, 51, 54 등은 활성 값이 70% 이상으로 퇴적물 독성이 상대적으로 낮았다. 이중나선 DNA 함량은 28.4% - 49%로 대조군에 비해서 감소가 크다. 대부분의 정점이 대조군의 30% 내외로 정점 간의 차이는 크지는 않다. 그러나 다른 측정자료와 같이 정점 22에서 18%로 최소치를 나타내고, 정점 2, 12에서 20% 내외의 값을 보인다. 종합적으로 볼 때 오염물질의 유입이 크고, 광양제철 인근 정점 들이 모두 다른 정점에 비해서 낮아서, 퇴적물 독성이 높은 정점으로 조사되었다.

서 론

산업혁명 이후 급속히 진행된 산업화 과정에 부산물로 등장한 환경오염의 정도는 더해가고 있으며 그 영향은 더 심각하고 복잡해져가고 있다. 특히 해양환경은 인간활동의 부산물인 다양한 폐기물들의 최종 수용체이다. 특히 연안환경은 다양한 화학물질들로 오염되고, 이 지역에 서식하고 해양생물들은 중금속, 유기독성물질 등에 의하여 독성영향을 받고 있다(Moore, 1992). 해양생물에서 나타나는 독성영향은 분자 및 세포수준에서 행동, 그리고 개체와 군집의 수준에 이르기까지 다양하다. 환경독성학은 다양한 독성물질의 영향을 치사농도, 영향농도, 생리·생화학·유전학·면역 및 내분비학 등의 생물학적영향 및 위해성 등을 연구조사한다. 환경독성학에서는 90년 대 이후에 환경생체지표를 이용한 독성영향에 대한 측정과 평가방법이 각

광을 받으며 개발되고 있다. 환경생체지표(biomarker)란 물리, 화학적인 환경변화를 포함한 모든 환경스트레스에 기인하여 생물체에 발생하는 분자, 세포, 생리, 면역, 신경 및 행동 수준의 변화를 지시할 수 있으며, 그 변화를 정성적 혹은 정량적으로 측정할 수 있는 것을 말한다. 이들은 환경독성물질과 생물에 나타난 영향에 대한 직접적인 연관성을 연관성을 밝혀내고, 그 생물학적인 영향을 직접 조사해낼 수 있으며, 또한 반복적인 측정을 통한 재현성 등의 장점을 가지고 있다. 환경생체지표를 이용한 접근방법은 환경에 직접 노출되어있는 생물시료에서 직접 측정할 수 있다. 따라서 대표성(casual link, environmental reality)이 크고, 생물이용성(bioavailability)를 보다 정확히 조사할 수 있는 장점을 가지고 있다(Depledge, 1993). 그리고 고전적인 환경독성학적인 방법에 비해서 측정이 저렴하여, 환경화학적인 분석 등의 사전검색 혹은 비용절감을 위한 간접측정기법으로 응용될 수 있다. 현대에 들어와서는 환경파괴 후에 대처할 경우에 막대한 경제적인 피해, 복원에 드는 어려움 등으로 인하여 환경에 대한 사전주의원리(precautionary principle)가 강조되고 있다. 환경생체지표는 높은 민감도와 용이한 현장적용성으로 인하여 환경생체지표는 사전주의 원리를 과학적으로 적용할 수 있는 조기경보지시자(early warning signal)로서 이용될 수 있다. 좋은 환경생체지표(biomarker)는 높은 민감도, 신속성, 직접적인 연관성, 재현성, 그리고 측정의 경제성을 갖추어야 한다. 이러한 특성을 지닌 환경생체지표들은 이미 개발되었고, 또한 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그런데 환경생체지표를 이용한 환경평가를 위해서 다양한 환경생체지표를 동시에 적용하는 방법이(multiple biomarker approach) 권고되고 있다.

본 연구에서는 최근에 건설된 한국의 연안환경에서 현장적용이 용이하고, 상업적으로도 중요한 이매패류의 세포수준에서 측정할 수 있는 환경생체지표가 개발 혹은 적용되었다. 본 연구에서 개발 혹은 적용된 환경생체지표들은 에스테라제의 활성, 이중나선 DNA의 함량, 막의 미소점도, 라이소좀 활성 및 안정성의 변화 등이다. 그리고 본 연구에서 적용한 기법은 다양한 생물의 간 및 아가미 등의 다양한 세포에서 적용할 수 있으며, 본 연구에서는 참굴(*Crassostrea gigas*)의 혈구세포(haemocyte)를 채집하여 환경생체지표를 측정하였다. 참굴은 한국의 서해안과 남해안에 조간대와 조하대에 광범위하게 분포하여 한다. 또한 두 종류의 이매패류 모두 상대적으로 오염된 환경에 내성이 강하다. 광양만 주변해역에는 참굴이 광범위하게 서식하여 참굴을 대상생물로 선정하였다. 또한 혈구세포는 현재의 환경영향을 잘 반영하는 것으로 알려져 있다.

연구방법 및 재료

연구지역 및 대상생물

본 연구의 대상지역으로 한국의 남해안에 위치한 광양만 지역의 10개 정점(Fig. 1)에서 참굴(oyster, *Crassostrea gigas*)을 2001년 가을에 채집하였다. 채집정점은 기준정점으로 여수의 무슬목(정점1), 광양만 지역의 묘도(정점2), 애양원(정점3), 울촌산단(정점 4), 광양의 초남공단(정점 5), 태인대교(정점 6), 하동과 남해도

의 수문(정점 7), 갈화(정점 8), 예계(9), 가천(정점 10) 등의 10개 정점에서 채집하였다.

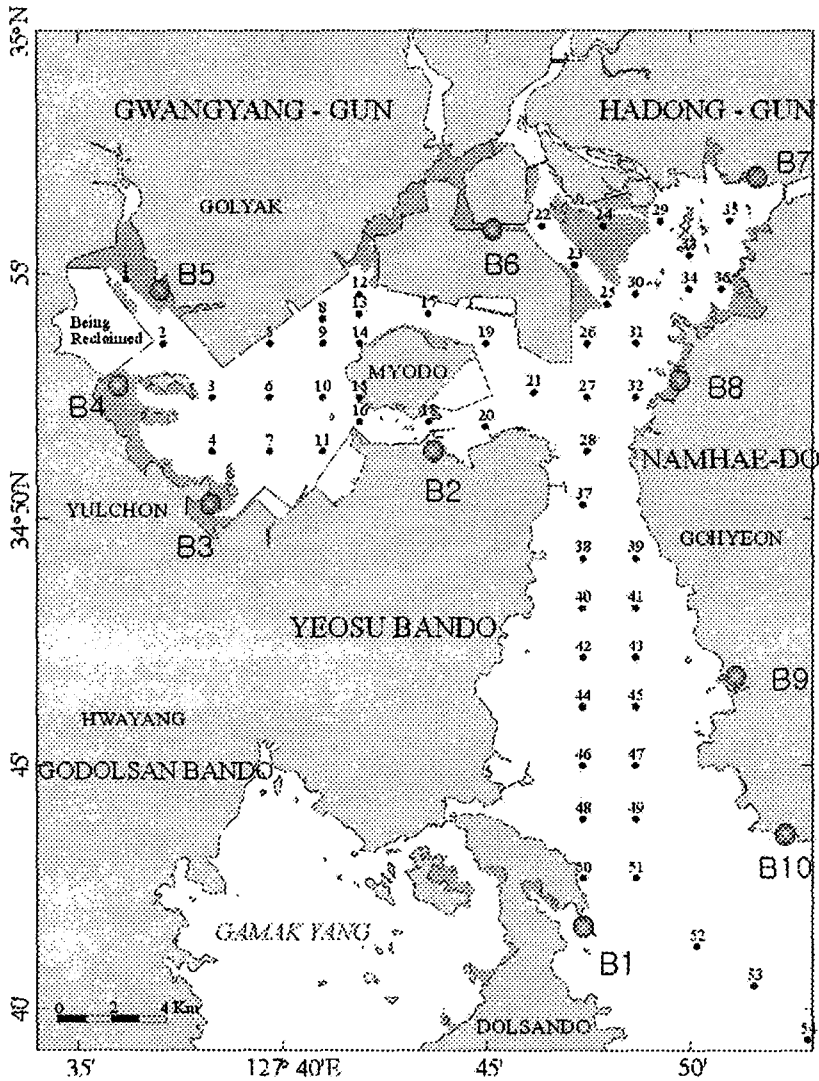


Fig. 1. Location map of sampling station for sediment and bivalve species. B#: bivalve sampling sites

연구생물채집

참굴은 현장에서 끌 등의 채집기구로 패각이 상하지 않도록 채집한 다음, 플라스틱 용기(20L)에 담아서 공기를 공급하여 실험실로 이동하여, 이동에 의한 영향을

제거하기 위해서 1일간 순치시킨 다음에 실험에 사용하였다.

혈체액의 채집 및 처리

형광 분자측정법의 경우에 20개체의 굴과 담치류를 실험에 사용하였고, Neutral red assay의 경우에는 각기 8 -12 개체를 실험에 사용하였다. 이때패류의 혈체액(haemolymph)은 복근부위의 부분의 패각에 주사기가 들어갈 수 있는 홈을 만든후, 복근 옆 심장 옆에서 주사기(1 ml)를 이용하여 1 개체 당 약 1 ml 내외의 혈액을 채집하여, 6-well plastic culture plates (Corning, USA)에 모두 담아서 20-22 ° C 에서 바닥에 세포층이 형성되게 하였다(1시간). 그런 후에 혈체장을 제거하고, 혈구세포층을 hank's solution (pH 7.5, Sigma)으로 세 번 세척하였다. 이렇게 얻은 혈구세포들을 세포긁개(cell scraper)로 긁어서 모아 비이커에 담았다. 혈구세포의 생존율은 Trypan blue(Sigma) 염색을 통하여 확인하고, 세포의 농도를 haemocytometer를 이용하여 현미경에서 검정. 계수하여 세포농도를 0.25×10^6 cells/ml로 하여 실험에 사용하였다.

환경생체지표의 측정

형광성 분자탐지시약(fluorescent molecular probe)을 이용한 측정법을 사용하여 생물의 생화학적, 생리학적인 변화값들을 측정할 수 있다. 본 연구에서는 이 측정기법을 이용하여 환경변화를 반영하는 세포의 생화학적, 생리학적인 변화를 측정하는 개발하고, 현장에 적용하였다.

여기서 소개하는 방법은 혈구세포 내의 esterase의 활성측정, lysosomal activity, 이중나선 DNA의 양, 칼슘이온의 농도, 생체막의 미소점성(microviscosity)의 변화, lysosomal stability의 변화 등이다. 본 연구에서 정량분석에는 Fluorescence Spectrophotometer는 Hitachi F-2000 (Japan)을 사용하였다.

에스테라제의 효소활성(esterase activity)

비특정작용성 효소인 에스테라제의 활성은 일반적으로 세포액에 다량 존재하고 있는 이 효소의 수와 세포의 생존(viability)을 반영한다. 이 연구에서는 Fluorescin Diacetate (FDA, sigma)을 이용하여 에스테라제의 활성을 측정하였다(Dolbear 1979). 측정은 아세톤에 녹여있는 FDA 시약 50 μ l을 세포현탁액에 넣고 잘 흔들어 혼합하고(FDA농도: 50 mg/ml) 실온에서 40분간 배양한다. 그리고 cuvette으로 옮긴 다음 형광분석하여 녹색형광의 양을 측정한다(ex=490nm, em=520nm).

라이소솜의 활성(lysosomal activity)

라이소솜의 활성은 세포의 생리적인 변화를 반영한다(Etxeberria, 1994, Svendsen et al. 1995, Moore 1994, Grundy et al., 1995). 본 연구에서는 아크

리딘 오렌지를 이용하여 라이소솜 활성을 측정하였다(Lowe et al. 1992). 아크리딘 오렌지는 라이소솜에 반응해서 red-orange 색을 띠게 만들며, 이 형광을 측정하면 활성을 측정할 수 있다. 측정은 아크리딘 오렌지(sigma)를 1 ml 의 상기한 세포현탁액에 넣어서 잘 섞어서 30분간 실온(20-22. C)에서 배양한다. 배양된 세포혼합액을 원심분리법을 이용하여 세포를 분리하고(1500 rpm, 5 min), Hank's solution(pH 7.5)으로 씻어서 세포현탁액을 만든다. 마지막으로 형광분석기로 아크리딘 오렌지의 활성을 측정한다(red-orange, ex=488nm, em=532nm).

이중나선 DNA 함량(ds DNA contents)

다수의 오염물질 들이 DNA의 이중나선구조를 파괴해서 안정성을 감소시키거나, 생합성을 감소시킨다. Hoechst 33342는 안정적인 DNA이중나선구조를 가진 것과 결합되고, 단일나선 구조에는 결합하지 않으므로 이 것을 이용해서 이중나선구조를 측정, 정량화할 수 있다(Morasca. et al. 1986). 측정은 증류수에 녹인 Hoechst 33342 용액을 세포현탁액(1ml)에 섞어서(10 μ M) 실온에서 20 분간 배양한다. 그리고 배양된 세포혼합액을 형광분석하여(ex=350nm, em = 450nm) 정량한다.

생체막 미소점성(Biomembrane microviscosity)

생체막의 미소점성은 세포의 생체막의 온전성 및 투과성(cell biomembrane integrity)에 대한 중요한 지표이다. 이 미소유동성을 pyrene(sigma)을 이용해서 측정할 수 있다(Boldirev et al. 1986). 측정은 세포혼합액(1 ml)에 에탄올에 녹인 pyrene을 넣어서(최종농도 20 μ M) 잘 섞은 다음 1 분 동안 배양한다. 그 다음 형광분석을 통하여 단일체의 강도(I_m)는 ex=336, em= 372 nm, 복합체의 강도(I_e)는 ex=336, em = 470 nm에서 측정한다. 그리고 I_e/I_m 비율로서 미소점성을 정량한다(I_e/I_m=1/S; S: microviscosity).

Lysosomal Neutral red retention assay

라이소솜은 막을 가지고 있으며, 이 막의 온전성이 라이소솜의 활성을 보장한다. 많은 독성오염물질은 라이소솜 효소의 활성을 저해하고, 막에 손상을 가하는 역할을 한다. 따라서 라이소솜의 막의 온전성(intactness)과 활성의 변화에 대한 정량적인 측정을 통하여 오염도를 측정할 수 있다. 염색시약 Neutral red는 세포내에서 라이소솜에만 특별하게 염색되며, 이 성질을 이용해서 라이소솜 반응을 현미경을 이용해서 Neutral red retention time assay를 써서 정량화시킬 수 있다(Lowe et al. 1992). 여기서 적용한 neutral red retention time 측정은 10-12 마리의 꿀 혹은 담치류에서 syringe를 사용하여서 파괴적/비파괴적인 방법으로 혈액을 심장부근에서 각기 0.2 - 0.5 ml를 채취하여 ependorf tube에 넣는다. 그리고 채취된 혈액을 마이크로 피펫을 이용하여 슬라이드 위에 15분 정도 놓아두어 세포부착을 유도한다. 부착된 세포 위에 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹인 Neutral red 염색약을

생리적 식염수에 희석하여 가하고, 커버글라스를 덮는다. 그리고 이 슬라이드를 실온(15 - 20. C 내외)의 암상자에서 15분간 배양한다. 배양된 세포를 0, 15, 30 분, 그리고 180분까지 30분 간격으로 광학현미경(Zeiss) 하에서 검경한다. 검경하여, 확대된 라이소솜이나 막이 파괴된 라이소솜을 가진 손상된 세포가 50% 이상이 될 경우에는 검경을 멈추고 이 시간을 Neutral red lysosome retention time으로 산정하였다.

통계분석

이 연구결과들은 동일시기에 채집 혹은 조사된 화학자료나 시료의 화학자료와 비교하여 분석되었다. 그리고 통계분석은 Student t-test, Turkey t-test와 선형회귀(linear regression analysis)를 사용하였다.

퇴적물 독성실험

광양만의 각 정점에서 채집된 퇴적물을 25 g 내외를 Soxhlet 추출법으로 하루 밤(overnight) 동안 추출하여, dichromethane 용매에 추출된 퇴적물은 용매를 질소가스로 증발시켜 농축시킨 다음, DMSO(dimethylsulfoxide) 용액으로 치환하였다. 추출된 유기독성물질은 각기 1 sediment g d.w./ml 농도로 희석하여 퇴적물 독성 실험에 이용하였다. 모든 독성실험에 사용한 운반용액(carrier solvent)은 DMSO를 사용하였다. 퇴적물 독성실험에 사용한 굴의 혈구세포는 대부도의 부흥리의 양식장에서 채집하였다. 현장에서 채집된 굴은 실험실로 이동하여 1-2일 순치시키고, 혈액액을 채집하여 혈구세포를 상기 서술한 방법으로 분리한다. 분리한 혈구세포는 최소영양배지용액(minimal essential medium, sigma)에 보관하였으며, 보관 및 배양 시에 5 % FCS와 penicillin 100 unit/ml, streptomycin 1 mg/ml(sigma)를 공급하였다. 분리된 혈구세포는 분리한 후 하루 혹은 이틀 배양이 된 것으로 7일 이내의 것 만을 사용하였다. 노출실험은 교반기능이 있는 배양기에서 20 도의 온도에서 시행하였다.

연구결과 및 토의

환경생체지표를 이용한 환경독성연구

광양만 주변의 10개 정점에서 이매패류인 굴(*Crassostrea gigas*)을 채집하여 환경생체지표들을 측정 한 결과는 세포치사독성(cytotoxicity)은 일어나지 않았으며, 다음과 같은 세포생리독성을 띠었다.

라이소솜의 안정성과 활성화 측정(lysosomal integrity and activity)

라이소솜의 안정성은 기준정점인 정점 1의 무슬목 정점이 130 이상으로 높은 안정성을 보이며, 인접해역인 정점 8, 9, 10 들이 기준정점의 90분 내외의 온전성

을 보인다(75% 내외, Fig. 2 (a)). 이에 반하여 광양만의 정점인 2 - 6, 그리고 하동의 정점 7이 모두 51에서 75 사이의 값을 보인다(50 % 내외). 광양만 지역의 정점 간에 오염도의 차이는 크지 않다. 따라서 광양만 지역은 기준정점에 비해서 낮고, 인근해역인 남해도의 비해서는 조금 낮은 온전성을 보여서, 독성물질 등에 의하여 영향을 받고 있음을 알 수 있다. 라이소솜 활성의 경우에는 기준정점인 무슬목의 경우에 $565 \text{ FU}/0.25 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ (이하 FU)의 높은 활성을 보인다. 이에 반해서 광양만의 정점은 131- 194 FU 사이의 낮은 활성값을 보이고, 정점 간의 차이는 크지 않다(Fig. 2 (b)). 정점 7의 경우는 광양만 정점에 비해서 다소 높은 활성을 보인다. 이 라이소솜 활성도는 라이소솜의 안정성은 정점 간의 차이가 더 적지만, 경향은 유사하다.

에스테라제 활성(Esterase Activity)

에스테라제 활성은 기준정점인 정점 1에서 193 FU의 값을 보인다(Fig. 2.(c)). 광양만의 정점들 중에서 정점 2는 148 FU로 가장 높은 값을 보이고, 다른 정점들은 63 - 88 FU 사이로 낮은 값을 보이고, 정점간의 차이는 적다. 그리고 섬진강 유입지역에 정점 7은 132 FU로 광양만의 정점에 비해서 높다. 그리고 남해도 해역의 정점 8, 9에서는 각각 55, 77 FU로 광양만의 정점과 유사한 경향을 보이고, 외양의 영향을 많이 받는 정점 10에서 188 FU로 기준정점과 유사하게 높은 활성을 보인다. 따라서 광양내만 및 태인교 부근과 남해도의 정점 8, 9 들은 활성이 낮은 값을 보여서 이 지역의 굴이 독성물질에 의하여 에스테라제 활성을 저해 받고 있고, 정점 2, 7 은 독성물질에 활성저해가 적고, 외양역의 영향을 받는 기준정점 및 정점 10 등은 독성물질에 의한 활성저해가 없는 것으로 사료된다.

이중나선 DNA함량

이중나선 DNA의 함량은 Fig. 2.(d)와 같이 기준정점인 정점 1에서 159 FU, 외양역의 영향을 받는 정점 10이 270 FU를 보여서 건강한 굴의 DNA함량을 보인다. 광양만의 정점 들 중에서 정점 2에서는 200 FU으로 기준정점보다도 높은 값을 보이고, 정점 3 - 6까지는 130FU 값을 보이며, 정점간의 차이는 크지 않다. 이들 값은 기준정점에 비해서 낮은 값을 보인다. 남해도의 정점인 정점 7 - 9사이의 정점들은 150 내외의 값을 보여서, 광양만의 정점에 비해서 조금 높으며, 기준정점에 비해서 조금 낮은 값을 보인다. 따라서 광양만의 이중나선 DNA에 대한 독성물질의 영향은 적은 것으로 사료된다.

막의 미소점성

막의 미소점성의 변화는 Fig. 2 (e)와 같이 광양만과 남해도 지역의 정점간의 차이는 거의 보이지 않는다. 단지 기준정점인 정점 1과 정점 2, 그리고 정점 10 등이 미소점성이 1 이상을 보임에 비해서 미소점성이 1 이하로 조금 감소하는 경향

을 보인다. 따라서 광양만 지역의 미소점성에 대한 영향은 인접해역과 큰차이를 띠지는 않는다.

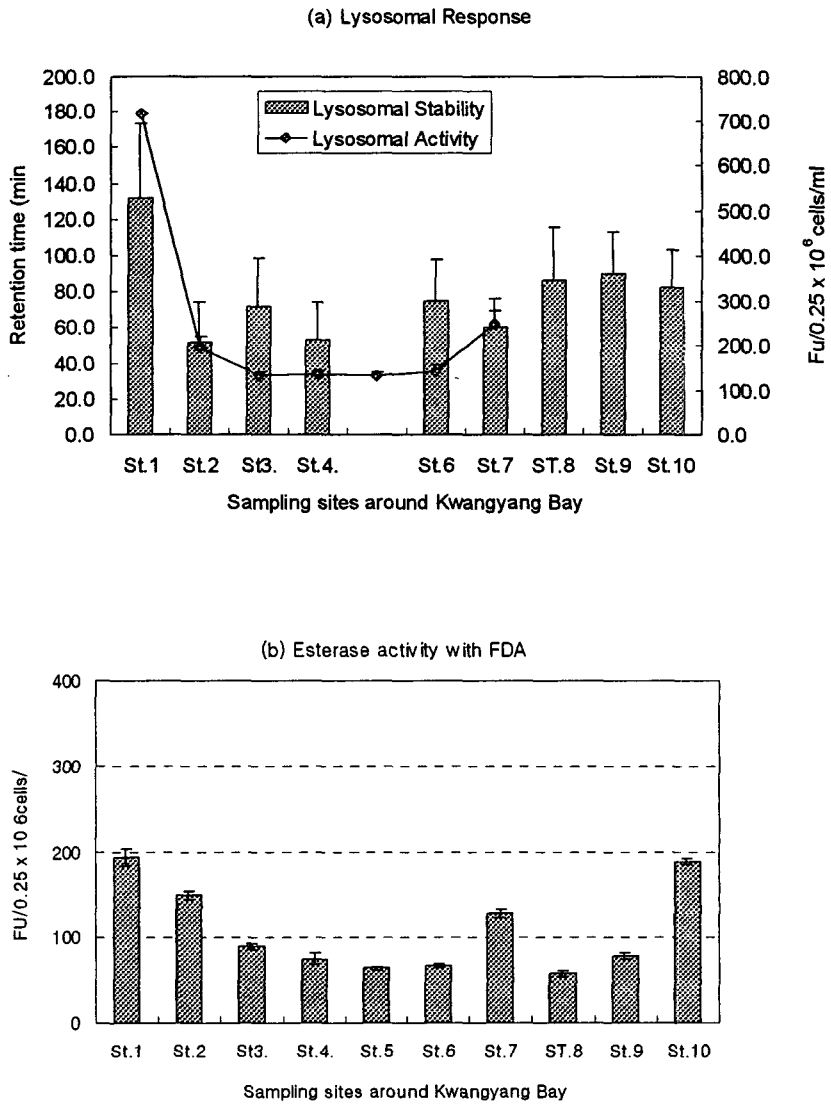


Fig. 2. Environmental toxicity with multiple biomarkers around Gwangyang Bay

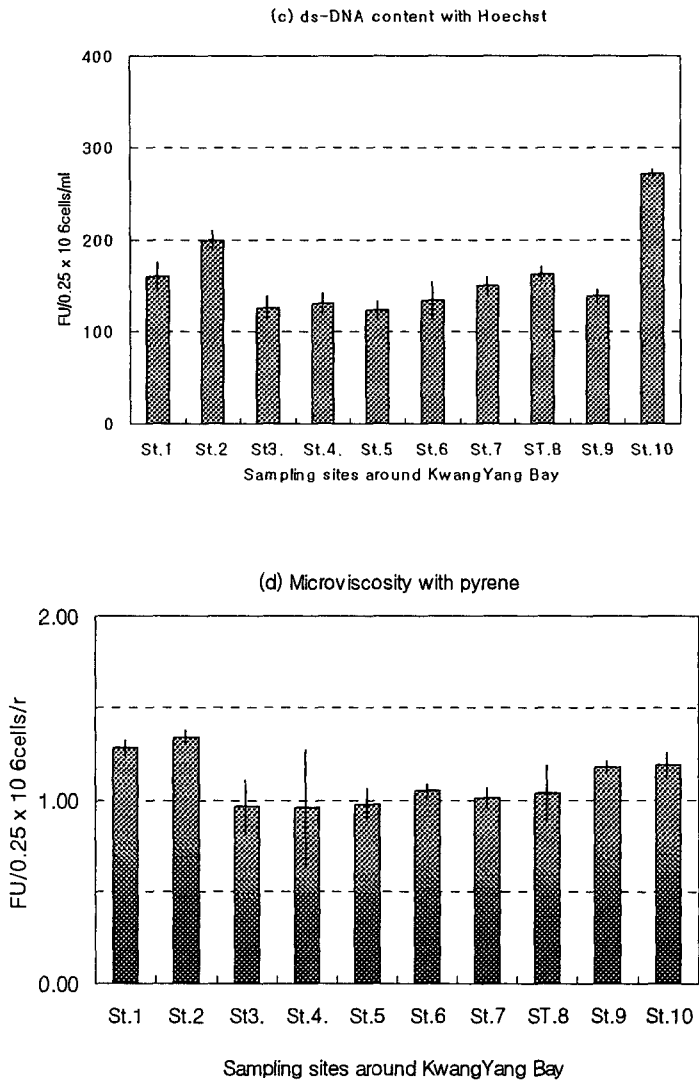


Fig. 2. Continued

환경생체지표를 이용한 퇴적물독성실험

광양만 주변의 17개 정점에서 채집된 퇴적물을 유기용매로 추출하여 퇴적물 독성실험을 수행한 결과는 다음과 같다. 본 연구에서 수행한 독성노출 조건은 노출기간은 1시간에서 24시간 동안이며, 온도는 20℃를 유지하며, 교반을 해주었고, 모든

독성실험에 사용한 운반용액(carrier solvent)은 DMSO를 사용하였다. 퇴적물 독성 실험에 사용한 굴의 혈구세포는 대부도의 부흥리의 양식장에서 채집한 굴의 건강도는 양호하였다. 혈구세포의 영양공급은 단기노출 시험인 3시간 이내일 경우에는 영양을 공급하지 않았으며, 12시간 이상의 노출기간이 될 경우에는 최소영양배지용액(minimal essential medium, sigma)과 5% FCS를 주었다. 본 실험에 적용을 시도하였던 환경생체지표는 라이소솜의 안정성, 라이소솜의 활성화, 에스테라제 활성화, 이중나선 DNA함량, 막의 미소점성 등 이었다. 이중에서 라이소솜의 활성화는 현장조사연구와는 달리 독성의 차이에 따른 변별력이 보이지 않았다. 이 것은 라이소솜 자체에 방어기작으로 인하여 상승과 손상작용이 동시에 발생하기 때문으로 사료된다. 막의 미소점성은 농도의 차이에 따른 독성의 차이는 보이고 있으나 변별력은 크지 않은 것으로 사료된다. 본 광양만 퇴적물 독성실험에서는 라이소솜의 온전성, 에스테라제의 활성화, 이중나선 DNA 함량 등에서는 정점간의 차이와 독성물질에 노출하였을 때 농도에 따른 차이를 보였다.

라이소솜의 안정성

퇴적물독성은 Fig. 3. 에는 나타낸 바와 같이 50, 100 50 mg d.w./ml 퇴적물 등가(sediment equivalent)치에서 시행하였다. 100 mg 노출 시에는 전 정점에서 세포의 치사율이 60 - 100 %은 높은 치사율을 보였으며, 50 mg 노출 시에는 치사율은 30 % 미만이었다. 라이소솜의 온전성은 대조군에서 120분 이상임에 반해서 정점, 12, 20, 26, 42 에서는 30분의 낮은 온전성을 보였으며, 나머지 정점들은 60 분 내외의 온전성을 보였다. 정점 16, 22, 38, 51, 54 등은 90분의 온전성을 보였다. 현재까지 유기독성물질 중에서 라이소솜의 온전성에 대한 독성실험은 TBT, PAHs, Nonylphenol 등에 독성노출시험에서 모두 확인되었으며, 각 정점에서 EC50 값이나, 독성 값을 이해하기 위해서는 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

에스테라제의 활성화

에스테라제 활성화가 경우에는 10 mg 미만의 독성실험에서는 활성화저해는 작았다. 그러나 10 mg 이상의 노출농도에서 저해가 관찰되며 Fig. 4. 와 같이 100 mg d.w./ml의 노출농도에서 36 %에서 98 % 사이의 정점간의 활성화저해가 차이가 남을 알 수 있다. 50 %이하의 활성화값을 보이는 정점은 정점 10, 12, 16, 22 였고, 이들은 묘도와 광양제철 근처에 위치한 정점들이다. 정점 22에서 36%로 가장 낮은 활성을 보였는데, 이는 태인태교 정점으로 광양제철에 인접한 정점들이다. 다음 60 % 이하의 활성을 보이는 정점은 5, 7, 10, 17 등의 내만에 위치한 정점들과 정점 28 이었다. 양식장이 있는 정점 2, 외양의 영향을 많이 받는 정점 46, 51, 54 등은 활성화값이 70% 이상으로 퇴적물 독성이 낮았다.

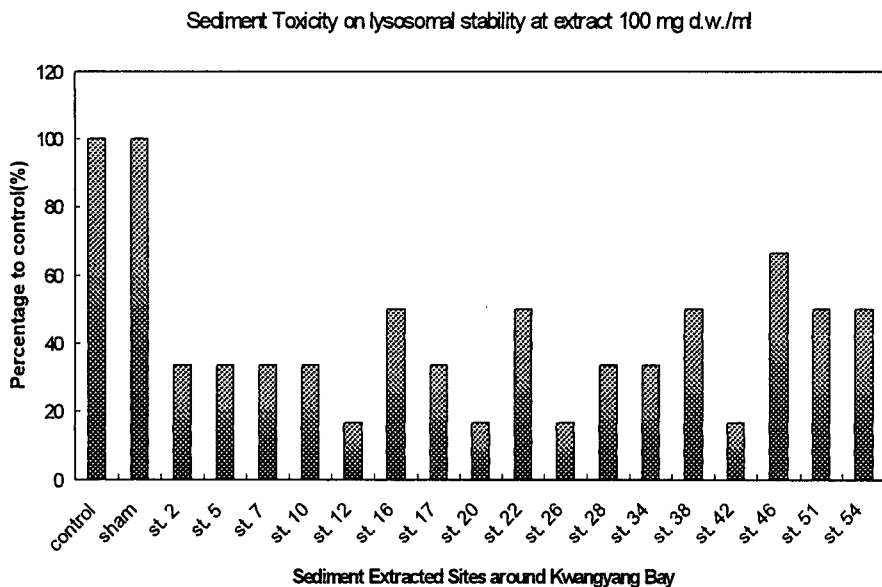


Fig. 4. Sediment toxicity on lysosomal integrity with sediment extracts around Kwangyang Bay

이중나선 DNA 함량

이중나선 DNA 함량의 경우에는 10 mg 미만의 독성실험에서는 정점간의 차이는 보이지만 대조군의 70 % 이상으로 이중나선 DNA 손상은 작았다(Fig. 5). 100 mg/ml의 노출농도에서는 28.4 % - 49%로 이중나선 DNA 함량의 감소가 크다. 정점 22가 18.4 %로 가장 낮으며 정점 10에서 49%로 가장 높고, 모두 50% 이하의 함량을 보인다. 그러나 대부분의 정점이 대조군의 30% 내외로 정점간의 차이는 크게 보이지는 않는다. 그러나 최소인 정점 22를 비롯하여 정점 2, 12, 22에서 30 %이하의 이중나선 DNA 함량을 보인다. 특히 광양제철 인근에 위치한 정점 12, 22의 경우에는 라이소솜 온전성, 에스테라제 활성 등이 모두 다른 정점에 비해서 낮은 곳이다.

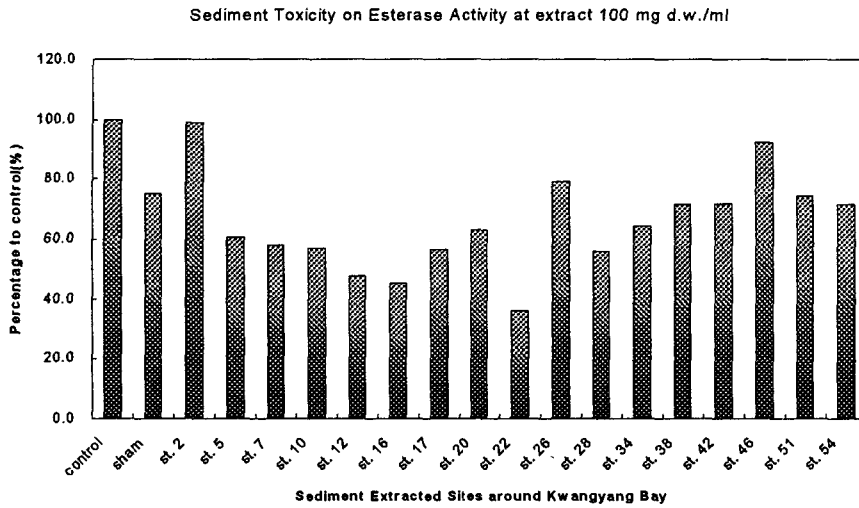


Fig. 5. Sediment toxicity on esterase activity with sediment extracts around Gwangyang Bay

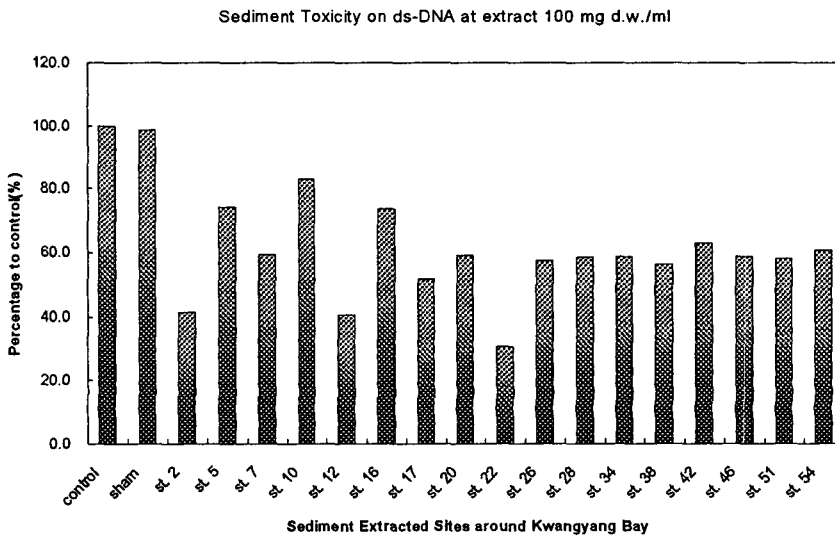


Fig. 6. Sediment toxicity on ds-DNA with sediment extracts around Gwangyang Bay.

결 론

광양만 및 주변해역의 참굴을 대상으로 환경생체지표를 측정하여 환경독성을 조사에서 광양만에서는 세포치사독성은 나타나지 않았다. 이는 참굴의 경우에는 환경오염에 의한 생물의 스트레스를 기존의 치사독성실험 방법으로의 접근이 용이하지 않다는 것을 의미한다. 따라서 이매패류에 대한 환경독성의 측정은 환경생체지표나 조직학적인 방법 및 퇴적물 독성실험이 유용하다는 의미이다. 본 연구에서 조사된 환경생체지표의 결과들을 종합해 볼 때 기준정점 및 외양역의 정점 10은 독성물질에 의한 영향이 적은 데 반해서, 광양만은 독성물질에 의해서 특히 라이소솜온전성, 에스테라제 활성 등에 영향을 받고 있는 것으로 사료된다. 그리고 남해도 주변의 인근해역은 광양만에 비해서는 적은 영향을 받고있는 것으로 사료된다. 이는 동시에 유사한 시기에 분석된 환경화학자료와도 일치하는 결과 이다. 본 연구에서 조사된 환경생체지표 결과를 다른 측정자료와 비교하여 볼 때 광양만의 4개 정점의 평균치와 다른 지역에서 조사된 자료를 비교하여 본 것이다. 에스테라제 활성의 경우에는 광양은 거제도보다는 낮고, 마산보다는 높은 활성은 보이는 가막만과 유사한 값을 보인다. 그리고 이중나선 DNA 함량의 경우에는 거제도와 가막만의 자료에 비해서 낮고, 마산의 값보다는 조금 높은 값을 보여준다. 그리고 라이소솜 활성의 경우에는 광양만은 활성값이 상대적으로 작은 값을 보여준다. 막의 미소점성은 마산지역이 미소점도가 낮은 것을 보이고, 나머지 지역은 유사한 값을 보인다. 전체적으로 볼 때 마산과 같은 극심하게 오염된 지역보다는 독성물질의 오염의 영향을 적게 받았고, 거제도와 같은 청정해역에 비해서는 독성물질의 영향을 받았으며, 인접한 가막만에 비해서는 조금 더 독성물질의 오염에 의한 영향을 나타내는 것으로 사료된다.

퇴적물 독성실험에서 200 mg/ml(이하 mg)이상의 농도에서 세포치사독성이 나타났는데, 이는 패류독성 혹은 어독성실험으로 퇴적물 독성실험을 진행하여 치사독성을 결과치로 할 경우 경험적으로 1000 - 2000 mg 이상의 독성노출농도를 예상할 수 있다는 것을 의미한다. 이는 현장의 환경독성농도보다 고농도로 농축하여 실험을 진행하여야 하고, 또한 이 독성실험을 통해서 얻은 독성치가 현실적으로 현장의 환경독성을 해석하는 데, 그 의미가 격감된다는 것을 의미한다. 본 연구에서 라이소솜 안정성은 50 mg, 에스테라제 활성은 100 mg, 이중나선 DNA는 100 mg 내외에서 50% 내외의 저해영향이 나타났고, 정점 간의 차이를 보였다. 이는 이 지역의 퇴적물 독성을 판별하는 데, 환경생체지표를 이용한 퇴적물 독성실험이 유용하다는 것을 의미한다. 전체적으로 볼 때 기준정점 및 외양역의 정점이 영향이 적고, 남해도 주변의 정점에서는 영향이 나타나고, 정점, 12, 20, 20, 22 등 광양제철 및 광양시 인근의 정점에서는 저해정도가 타 정점에 비해서 크게 나타난다. 따라서 광양제철 및 광양시 주변의 정점, 특히 정점 12와 22의 경우 모든 환경생체지표의 값이 낮아서 특별히 관심을 갖고 조사하고, 관리해야될 정점으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Boldirev, A.A., P.D. Kuin, and V.I. Lucshak. 1986. Mechanism of thermo-induced functional disorganization of Ca-pump of sarcoplasmic reticulum of muscles. *Biokhimia.*, 51:150-159.
- Depledge, M.H., 1993. The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. In *Non-destructive biomarkers in vertebrates* (M.C. Fossi & C. Leonzio, eds), pp. 261-285. Lewis Publishers, Boca Raton, Fl. USA.
- Dolbear F. 1979. Dynamic assay of enzyme activities in single cells by flow cytometry. *J. Histochem. Cytochem.*, 27, 1644-1646.
- Ettxeberria M., Sastre, I., Cajarvaville, M.P. and Marigomez, I., 1994. Digestive lysosome enlargement induced by experimental exposure to metals (Cu, Cd and Zn) in mussels collected from a zinc-polluted site. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27, 338-345.
- Grundy M.M., Moore, M.N., Howell, S.M., Ratcliffe, N.A., 1995, Phagocytic reduction and effects on lysosomal membranes by polycyclic aromatic hydrocarbons, in haemocytes of *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology* 34 (1996) 273-290.
- Lowe, D.M. and Pipe, R.K., 1994, Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells: an *in vitro* study. *Aquat. Toxicol.* 30, 357-365
- Lowe, D.M., M.N. Moore, and B.M. Evans. 1992. Contaminant impact on interaction of molecular probes with lysosomes in living hepatocytes from dab *Limanda limanda*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 19:1-6.
- Moore, M.N. 1994. Pollutant-induced cell injury in fish liver: use of fluorescent molecular probes in live hepatocytes. *Marine Environmental Research*, 34:25-31.
- Morasca, L., and E. Erba. 1986. Flow Cytometry. In: R.I. Freshney ed., *Animal cell culture. A practical approach.* IRL Press Ltd.
- Svendsen C. and Weeks, J.M., 1995. The use of a lysosome assay for the rapid assessment of cellular stress from copper to the freshwater snail *Viviparus contectus* (Millet). *Mar. Poll. Bull.* 31, (1-3), 139-142.