

환경독성

*Daphnia magna*의 자외선 B 적응이 자외선과 일부 독성물질의 혼합노출 독성반응에 미치는 영향

이민정 · 김정곤 · 오소린 · 최경호

서울 종로구 연건동 서울대학교 보건대학원 환경보건학과

〈초록〉

본 연구는 물벼룩을 환경 중 UV-B와 유사한 강도에 노출시켜 8세대 이상 적응시킨 후 *Daphnia magna*의 UV-B 적응이 광독성 오염물질의 독성 민감도에 미치는 영향을 관찰하였다. UV-B에 적응된 *D. magna*는 UV-B와 Cu 동시 노출 시 자외선에 적응되지 않은 *D. magna*에 비해 높은 저항성을 보였다($p < 0.1$). 그 이유는 *D. magna*가 UV-B에 적응되는 과정에서 oxidative stress에 대한 방어/회복 능력이 증가하여 동일한 ROS를 생성하는 Cu에 노출되었을 때 효과적으로 저항할 수 있었기 때문으로 해석된다. Pyrene, fluoranthene, anthracene, As, Cd, Ni은 독성이 증가하거나 동일하게 나타났다.

1. 서론

일부 환경오염물질은 자외선 조사에 의해 세포막 손상, 생물학적 영구손상, 종감소, 치사 등 수서생물에 미치는 독성이 유의하게 증가한다[1,2]. 이러한 광독성을 나타내는 환경오염물질은 일부 다환방향족 탄화수소(PAHs), 금속, 살충제, 항생제 등이 있다[3-5].

Oris와 Giesy(1985)¹⁾는 어린 bluegill sunfish를 96시간 동안 anthracene과 자외선에 동시 노출시키는 실험을 통하여 아가미의 상피세포층 감소, 등지느러미 피부층 침식을 관찰하였다. Arfeten 등(1996)²⁾은 물벼룩을 자외선과 anthracene에 21일 동안 동시 노출시켰을 때 번식 능력이 감소함을 보고하였다.

그러나 보고되어진 광독성 오염물질에 대한 연구는 대부분 태양 자외선의 조사강도와 일치하지 않는 자외선강도를 사용하였거나, 자외선을 조사하지 않는 상태에서 배양된 생물독성시험종을 이용하여 실험을 수행하였다.

본 연구는 *D. magna*를 환경 중 UV-B와 유사한 강도로 장시간(>8세대) 노출, 적응시킨 후 적응된 *D. magna*의 UV-B + 광독성오염물질 노출에 대한 민감도 변화를 관찰하기 위해 수행되었다.

2. 재료 및 방법

Anthracene(Fluka, 99%), fluoranthene(Sigma, 98%), pyrene(Acros, 98%)과 As(AsNaO₂), Cd(CdCl₂·5H₂O), Cu(CuSO₄·H₂O), Ni(NiCl₂·6H₂O)을 시험 시료로 선정하였다. *D. magna*의 급성독성 평가는 US EPA의 표준시험법(2002)에 따라 시행하였다.

*D. magna*를 UV-B에 장시간 적응시키기 위한 조사 강도는 UV-B 조사 독성(ED₅₀ = 35 uW/cm²)의 절반값을 선택하였고, 실제 조사 범위는 12-15 uW/cm²로써 용량-반응평가 결과 치사율이 관찰되지 않는 강도였다. UV-B의 투과량을 조정하기 위하여 cellulose acetate 필터를 사용하였다. 자외선 인큐베이터에는 하나의 형광등과 4개의 UV-B lamp(model RPR-3000, Southern New England Ultraviolet Co. USA)를 설치하였으며, UV-B 강도는 VLX3W radiometer(Cole-Parmer Instrument Co, IL, USA)를 사용하여 매일 측정하였다.

실험 데이터 처리는 TOXSTAT과 Microsoft[®] Excel 을 사용하였다. EC₅₀를 구하기 위하여 Probit analysis, Spearman-Kärber 또는 Trimmed Spearman-Kärber method를 사용하였고, 산자수와 첫 번째 개체의 출생날짜를 계산하기 위하여 One-way ANOVA와 t-test를 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

*D. magna*의 UV-B 적응이 생식능력에 미치는 영향을 알아보기 위하여 어미 당 한 배의 평균 새끼수와 첫 번째 새끼를 낳는데 까지 걸리는 시간을 관찰하였다.

Table 1 Average brood sizes and time to first brood of *D. magna* with or without UV-B acclimation

	Non-acclimated <i>D. magna</i>	Acclimated <i>D. magna</i>	
		2 nd generation	10 th generation
Average brood size ¹⁾	12.9	13.6	14.3
(SD)	(6.9)	(8.9)	(6.0)
Time to first brood (day) ²⁾	8.2	8.2	8.9
(SD)	(0.64)	(0.53)	(1.57)

1) Brood size is defined as the mean number of live offsprings produced by an individual *D. magna* each brood.

2) The time to first brood is defined as the day *D. magna* produced its first offsprings.

어미 당 한 배의 평균 새끼수는 UV-B 적응종과 비적응종 사이에 통계학적 차이가 없었다. 그러나 어미가 처음 새끼를 낳는데 까지 걸리는 시간은 자외선에 적응되지 않은 물벼룩보다 (8.2일) UV-B 적응종(8.9 일)이 더 소요되는 것을 관찰하였다(P<0.1) (Table 1).

UV-B에 적응되지 않는 *D. magna*를 이용한 광독성 물질과 UV-B의 동시 노출 실험결과, anthracene, As, Ni는 광독성이 나타나지 않았다. 또한 fluoranthene, pyrene, Cd의 경우, UV-B에

적응되지 않은 *D. magna*와 비교하였을 때 UV-B 적응으로 인해 독성이 증가하는 경향이 관찰되었지만, 통계적으로 유의하지는 않았다. 따라서 *D. magna*의 UV-B 적응 여부는 광독성 민감도에 영향을 주지 못하는 것으로 나타났다. 하지만 Cu의 경우 UV-B에 적응된 *D. magna*가 적응되지 않은 *D. magna*보다 광독성에 덜 민감하였다($p < 0.1$) (Table 2).

Table 2. Calculated EC50 values with 95% confidence intervals for the chemicals tested¹⁾

		Non-acclimated <i>D. magna</i>		Acclimated <i>D. magna</i>
		No UV-B	UV-B	UV-B
PAHs	Anthracene (ug/L)	>70	>70	55.6 (51.8-59.4)
	Fluoranthene (ug/L)	348 (239-457)	39.9 (35.0-44.8)	30.8 (27.0-34.5)
	Pyrene (ug/L)	>100	23.5 (18.6-28.5)	18.8
Metals	As (mg/L)	4.46 (4.28-4.64)	4.58 (4.34-4.82)	4.47 (4.29-4.65)
	Cd (ug/L)	84.9 (76.0-93.8)	53.9 (47.9-60.0)	45.8 (38.9-54.1)
	Cu (ug/L)	6.61 (5.87-7.35)	4.18 (3.53-4.83)	5.89 (4.82-6.95)
	Ni (mg/L)	2.25 (1.93-2.57)	2.33 (2.05-2.61)	2.41 (2.03-2.79)

1) Tests were carried out in duplicates except for the pyrene.

4. 결론

본 연구에서 *D. magna*의 UV-B 적응이 광독성에 미치는 영향은 두 가지 방식으로 나타났다.

첫 번째로, UV-B와 Cu에 동시 노출 시 UV-B에 적응된 물벼룩은 광독성에 대한 저항성이 증가하였다. 이러한 실험 결과는 UV-B와 Cu의 독성 mode of action이 동일하기 때문으로 해석할 수 있다. UV-B가 조사된 생체내에서는 활성산소 중 superoxide anion ($\cdot O_2^-$)이 주로 생산되고[6], UV-B에 적응된 *D. magna*는 superoxide anion에 대하여 효율적인 방어/회복능력을 갖는 것 같다. 또한 redox cycling contaminant 중 하나인 Cu도 superoxide anion을 생성하는 것으로 알려져 있어[7], UV-B 적응에 의해 획득된 방어기작의 강화는 Cu의 독성을 저감시키는 작용하였을 것이다.

한편 anthracene, fluoranthene, pyrene, Cd은 UV-B 적응중에서 광독성이 증가하였다. 이것은 *D. magna*이 UV-B에 적응하는 동안 UV-B의 독성에 대한 방어기작을 획득하였지만 이에 대

한 반대급부로 유전적 다양성 감소 그리고 energy allocation 측면에서 생체 에너지 소모 등의 이유로 독성기전이 다른 stressor(PAHs, Cd)에 노출되었을 때 더 민감하게 반응하여 독성이 증가하였을 가능성이 있다.

이 연구에서는 환경조건 중의 하나인 UV-B가 생태계 수용체의 광독성 민감도에 미치는 영향을 *D. magna*의 급성독성 반응을 이용하여 밝혔다. 또한 널리 이용되고 있는 표준독성시험종인 *D. magna*를 UV-B에 8세대 이상 인위적으로 적응시킨 후 광독성물질에 대한 민감성 변화를 평가한 최초의 연구로서 의의가 있다.

〈참고문헌〉

1. Oris JT, Giesy JP. 1985. Photoenhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis spp.*). *Aquat. Toxicol.* 6: 133-146
2. Arfsten DP, Schaeffer DJ, Mulveny DC. 1996. The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: a review. *Ecotox. Environ. Safe.* 33: 1-24
3. Ankley GT, Tietge JE, DeFoe DL, Jensen KM, Holcombe GW, Durhan EJ, Diamong SA. 1998. Effects of ultraviolet light and methoprene on survival and development of *Rana Pipiens*. *Environ Toxic Chem.* 17(12): 2530-2542
4. Diamond SA, Mount DR, Burkhard LP, Ankley GT, Makynen EA, Leonard EN. 2000. Effect of irradiance spectra on the photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 1389-1396
5. Hansen LJ, Whitehead A, Anderson SL. 2002. Solar UV radiation enhances the toxicity of arsenic in *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology* 11: 279-287
6. Kelly SA, Havrilla CM, Brady TC, Abramo KH, Levin ED. 1998. Oxidative Stress in Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems. *Environ. Health Perspect.* 106: 375-384
7. Horio T, Okamoto H. 1987. Oxygen intermediates are involved in ultraviolet radiation-induced damage of Langerhans cells. *J. Invest Dermatol.* 88: 699-702