

동물플랑크톤에 대한 지속성 유기오염물질 PAHs와 TBT의 독성 및 생존능력에 미치는 영향

장풍국 · 신경순* · 장민철 · 박동원 · 장 만

한국해양연구원 남해연구소 남해특성연구본부

Toxicity of Persistent Organic Pollutants, PAHs and TBT, in Zooplankton and Influence on Their Viability

Poong-Guk Jang, Kyoungsoon Shin*, Min Chul Jang, Dong-Won Park and Man Chang

Southern Coastal Environment Research Division, South Sea Institute, KORDI 656-834, Korea

Abstract - We conducted three experiments to estimate the toxicity of POPs (persistent organic pollutants) on two copepod species (*Acartia erythraea* and *A. omorii*) and *Artemia* sp.; (1) 48 h-LC₅₀ of *A. omorii* with the five PAHs [polycyclic aromatic hydrocarbons anthracene, benzo[a]pyrene, fluoranthene, phenanthrene, pyrene] which were often detected in the Gwangyang Bay, (2) toxicity of benzo[a]pyrene and TBT on *Artemia* in different temperatures (10°C, 15°C, 20°C), (3) effects of benzo[a]pyrene and TBT on egg production rate, hatching rate and fecal pellet production of two copepod species (*A. erythraea* and *A. omorii*) fed on *Heterocapsa triquetra* (dinoflagellate) exposed in benzo[a]pyrene. Toxic chemicals which were most effective to *A. omorii* were fluoranthene (48 h-LC₅₀ 19.20 µg L⁻¹) and benzo[a]pyrene (48 h-LC₅₀ 29.89 µg L⁻¹). The toxicity of chemicals to *Artemia* increased when temperature increased. The toxicity of TBT was about 100 times higher than that of benzo[a]pyrene at 15°C. Food materials (*Heterocapsa triquetra*) exposed in benzo[a]pyrene, affected negatively the rate of egg production, hatching rate and the fecal pellet production of the copepods at the high concentration. It is suggested that an increase in the concentration of benzo[a]pyrene might effect the production of copepods in marine ecosystems. This study suggests that copepods may be used as a indicator for early warning of the risk of POPs in marine ecosystems.

Key words : PAHs, TBT, LC₅₀, copepod, indicator

서 론

사회가 발전하면 할수록 수많은 유기화합물들이 환경

중으로 방출되고 있으며, 지금 현재에도 새로운 화학물질이 만들어져 환경 중에 노출되어 진다. 이러한 물질 중에서 지속성 유기오염물질 (persistent organic pollutants, POPs)과 유기주석계 (organotin)물질은 환경이나 인간에게 해로운 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 POPs는 지용성이기 때문에 생물농축이 일어나고, 반 휘

* Corresponding author: Kyoungsoon Shin, Tel. 055-639-8510, Fax. 055-639-8509, E-mail. ksshin@kordi.re.kr

발성이라 대기 중에도 존재하고 토양이나 수중에도 존재하는 특성이 있다(Breivik and Alcock 2002). 이러한 물질 중 대부분은 암을 유발하는 물질이거나 호르몬에 심각한 부정적 영향을 미쳐서 내분비계 장애를 일으킨다. 대개 이러한 물질은 몇 가지 경로를 통해서 인간에게 들어오게 되는데, 90% 이상이 인간의 음식물 섭취활동으로 몸에 들어오며, 이 중에서 동물성 음식물에 의한 것이 90% 이상 차지한다(Binelli and Provini 2003). 지속성 유기오염물질 중에서 다환 방향족탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 2가지 이상의 방향족 고리가 융합된 유기 화합물을 말한다. 실온에서 PAHs는 고체상태이며, 비점과 융점이 높으나 증기압이 낮고, 분자량의 증가에 따라 극히 낮은 수용해도를 나타내는 것이 일반적 특징이다. 이 물질은 자연 상태에서 유래한 경우가 있으나 대부분은 인간의 경제활동의 결과로 나타나는 것으로 산업화된 대도시 부근 해역에서 사용한 유류 물질의 부산물, 기름 유출 사고, 자동차 배출가스, 담배연기 등에서 발견된다. 또한 대기에 노출된 PAHs는 대부분 소수성이라 물에 대한 친화도가 낮지만 낮은 해리상수를 가지고 있어 수권에 쉽게 유입된다(Neff 1979). PAHs는 생물 내에 들어와서 내분비장애, 생리적 변화, 발암성을 일으키는 것으로 보고 되었다(Klumpp *et al.* 2002; Graciela *et al.* 2002; Witt 2002). 또한 이 물질은 지방 용해성이 높기 때문에 수생 생물이나 포유동물 또는 인간의 장관에 매우 쉽게 흡수되어 독성을 유발하는 것으로 알려져 있다(Neff 1979). 특히 이러한 물질이 해양생물체에 노출되는 경우 생물의 PAHs 농도가 주변 해수농도의 비해 100~10,000배 이상 높게 나타나는 생물농축이 일어나는 것으로 알려져 있다(Varanasi 1989; 황 등 2000). 실제 광양만 퇴적물내의 간극수보다 담치류와 대수리에서 훨씬 더 높은 PAHs 농도가 보고 되었다(황 등 2000; 한국해양연구소 2002).

TBT (tributyltin)을 비롯한 유기주석화합물은 PVC 안정제, 각종플라스틱 첨가제, 상업용 촉매, 살충제, 살균제, 목재 보존제 등으로 널리 사용되고 있다. 특히 선박용 페인트 속에는 부착생물이 달라붙지 못하도록 부착방지제로서 첨가되어 있다. TBT는 1936년부터 상용화되어 현재까지 널리 사용되어지고 있다. 특히 TBT의 경우 0.05 ng L⁻¹에서도 굴 유생의 성장저해 및 치사를 일으키고, 복족류에 대해서 암컷이 수컷 화되는 imposex를 일으키는 독성이 강한 물질로 알려져 있다(Lawler and Aldrich 1987; Gibbs *et al.* 1991; Sidharthan *et al.* 2002). 전 세계적으로 사용이 억제 및 금지되어지는 추세로 나가고 있지만, 아직 까지도 규제를 하고 있지 않은 개발도상국에서 사용되어 지고 있으며 이에 대한 영향이 나타나고 있

다(Evans *et al.* 1995). 국내 연안에서도 TBT에 대한 오염이 심각한 상태인데, 대부분 연안지역의 항구에서 고등류의 imposex가 나타난 것으로 보고 되었다(Shim *et al.* 2000).

오염물질에 대한 생태계의 유해성을 평가하기 위해서 biomarker를 이용하는 연구가 지난 20년간 해양 생태계, 육상 생태계 그리고 담수 생태계에서 증가하고 있다(Fossi *et al.* 1996; Waker 1998). 해양 환경에서는 어류, 새, 그리고 해양 포유류에서 성공적인 접근이 이루어 졌으며(Goksoyr *et al.* 1992; Kang and Fang 1997; Walker 1998; Reynolds *et al.* 2003), 또한 많은 무척추 동물에 대한 논문들이 보고되었다(Large *et al.* 2002; Cruz-rodriguez and Chu 2002; Wootton *et al.* 2003). 무척추 동물을 해양 생태계를 평가하는데 이용할 수 있는 장점은 전체 동물 종중에서 95%를 차지하고 있으며, 모든 생태계에서 주된 구성 요소를 이루고, 또한 밀도가 높기 때문에 시료의 확보가 용이하다(Fossi *et al.* 2001). 그리고 무척추 동물에 대한 생화학적 자료의 증가로 인해 생태학적 유해성을 평가하는 지표생물(indicator)로 이용이 가능해졌다. 하지만 동물플랑크톤 중에서 요각류를 이용한 연구는 제한적인데, Fossi *et al.* (2001)가 *Acartia mar-galefi*, *Acartia latisetosa*, 그리고 *Siriella clausi*의 acetylcholinesterase activity를 생체지표(biomarker)로 이용한 연구를 하였고, Lotufo (1998^{a, b})가 저서성 요각류인 *Schizopera knabeni*와 *Coullana sp.*을 이용한 독성실험을 하였다. 동물플랑크톤은 해양에 있어서 중요한 먹이사슬의 구성 성분이기 때문에 생태학적 유해성을 평가하는데 있어서 지표생물로서 해양생태계의 건강상태를 알려주는 조기 경보 신호로 이용할 수 있지만 여기에 대한 연구는 아직 미흡하다.

본 연구는 해양생태계의 먹이사슬에서 중요한 역할을 하는 동물플랑크톤 중에서 현존량의 70% 이상을 차지하는 요각류를 지표생물로 이용하기 위해서 해양으로 유입되는 POPs에 대한 사망임계농도 및 생산 활동에 미치는 영향을 밝히고자 하였다. 또한 *Artemia* 유생을 이용하여 오염물질에 노출되었을 때 온도 변화가 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 요각류 *Acartia omorii*와 *A. erythraea*는 한국해양연구원 남해연구소가 위치한 장목만의 marine station에서 채집하였다. 장목만에서 *A. omorii*는 늦가을부터 다음해 봄까지 우점하며, *A. erythraea*는 늦

여름부터 초가을까지 우점하는 종이다. *Artemia* 유생은 상업적으로 판매(EG-artemia cyst, Inve aquaculture, Belgium)되는 건조 난에서 부화시켜 사용하였다. 반수치 사농도(LC₅₀)을 구하는 실험은 US. EPA (Environmental Protection Agency)에서 정한 생물을 이용한 급성독성 실험방법을 토대로 하였다(Weber 1993).

1. PAHs에 대한 *Acartia omorii*의 48 h-LC₅₀ (48시간 동안의 반수치사 농도)

광양만에서 주로 나타나는 5가지 PAHs인 anthracene, benzo[a]pyrene, fluoranthene, phenanthrene, pyrene (한국해양연구원 2002)을 사용하여 *Acartia omorii*의 48 h-LC₅₀을 구하였다. 실험은 배양기내에서 수행되었으며, 온도는 실제 현장 온도인 7°C로 맞추고, 광 조건은 L/D (light/dark) 12시간씩 주었다. 멸균된 해수 100 ml을 비커에 넣은 다음 적당한 농도구배가 되도록 PAHs를 첨가하였다. PAHs가 들어있는 비커에 현장에서 채집한 *A. omorii* 20마리 정도를 넣고 48시간 후 살아있는 것과 죽은 것의 수를 확인하였다. 48 h-LC₅₀은 EPA의 통계처리 프로그램을 사용하여(EPA probit analysis program used for calculating LC/EC values, version 1.5) 계산하였다.

2. *Artemia*를 이용한 온도변화에 따른 benzo[a]pyrene과 TBT의 독성 변화

*Artemia*의 휴면포자를 24시간 동안 폭기를 시킨 다음 부화한 유생을 가지고 10°C, 15°C 그리고 20°C에 노출시켜 48 h-LC₅₀을 구했으며, 광주기는 16시간 동안 명 조건을 주었고, 8시간 동안은 암 조건에서 실험하였다. 멸균된 해수 100 ml을 비커에 넣은 다음 적당한 농도구배가 되도록 benzo[a]pyrene과 TBT를 첨가하였다. 각각의 비커에는 부화한지 24시간 이내의 *Artemia* 유생을 20마리 정도를 넣고 48시간 후 살아있는 것과 죽은 것의 수를 확인하였다. 48 h-LC₅₀은 EPA의 통계처리 프로그램(EPA probit analysis program used for calculating LC/EC values, version 1.5)을 사용하여 계산하였다.

3. Benzo[a]pyrene에 노출된 먹이가 *Acartia erythraea*와 *A. omorii*의 난 생산, 부화율, 고형화된 배설물 양에 미치는 영향

요각류의 먹이로 와편모조류인 *Heterocapsa triquetra* (일련번호: HtTq01)를 사용하였으며, 농도는 3000 cells ml⁻¹로 일정하게 공급하였다. 이 종은 현재 남해연 구조 유독식물플랑크톤 연구단 적조원인생물 배양실에서

배양 중이며, 실험에는 지수성장 상태의 것을 사용하였다. 실험에는 30 ml 용량의 petri-dish를 사용하였으며 여기에 3쌍의 *Acartia erythraea*와 먹이를 넣고 오염물질로 benzo[a]pyrene을 농도별(5, 10, 50 µg L⁻¹)로 처리한 후 매일 난 생산과 고형의 배설물 양을 관찰했다. 생산된 난은 계수 후 별도의 petri-dish로 옮겨서 48시간 이내의 부화율을 측정하였다. 실험은 배양기내에서 6일 동안 지속되었으며, 배양액과 먹이는 매일 교체하였고, 3회 반복하였다. 실험온도는 *A. erythraea*를 채집했을 때 현장 온도와 같게 20°C로 유지시켰으며, 광주기는 12시간씩 명, 암 상태를 주었다. *A. omorii*를 이용한 실험에서 benzo[a]pyrene의 농도는 1 µg L⁻¹, 10 µg L⁻¹, 30 µg L⁻¹을 사용하였으며, 실험 처음부터 3일 동안은 오염물질에 노출되지 않은 먹이를 공급하였고, 실험 후 4일째부터 오염물질에 농도별로 노출된 먹이를 주어 실험하였다. 실험온도는 현장의 온도를 고려하여 7°C로 유지하였다. 이외의 실험방법은 *A. erythraea*와 동일하게 하였다.

결과 및 고찰

1. PAHs에 대한 *Acartia omorii*의 48 h-LC₅₀

PAHs는 물에 잘 녹지 않으므로 DMSO (dimethyl sulfoxide)라는 유기용매를 사용하여 녹였다. US. EPA에서는 난분해성 물질을 녹이기 위해 사용하는 유기용매의 농도를 0.05%로 권장하고 있다(이 2001). 광양만에서 주로 발견되는 5종의 PAHs와 실험에 사용한 유기용매 0.05% DMSO에 대한 *Acartia omorii*의 48 h-LC₅₀은 Table 1에 정리하였다. 본 실험에 사용된 유기용매에 대한 *A. omorii*의 48 h-LC₅₀은 5,316 µg L⁻¹ 농도로 나타났으며, 이는 다른 독성 물질보다 약 20~100배 이상 낮은 농도이다. 또한 0.05%의 유기용매에 노출된 *A. omorii*는 유기용매를 첨가하지 않은 실험구와 마찬가지로 생존율이 90% 이상으로 대조구 유효 범위의 값을 나타내었

Table 1. 48 h-LC₅₀ of *A. omorii* for the main five PAHs in Gwangyang Bay

Chemicals	LC ₅₀ unit (µg L ⁻¹)	95% Confidence limits	
		low	high
Fluoranthene	19.20	14.40	24.96
Benzo[a]pyrene	29.89	19.92	38.48
Anthracene	59.17	48.37	73.96
Pyrene	48.22	42.19	53.04
Phenanthrene	315.8	170.3	454.4
DMSO	5,316	5,000	1,000

Table 2. LC₅₀ of brine shrimp exposed benzo[a]pyrene and TBT in the different temperatures

Chemical	Temp (°C)	Exposed time (hour)	LC ₅₀ unit (µg L ⁻¹)	95% confidence limits	
				low	high
Benzo[a]pyrene	10	48 h	6,398	4,643	9,983
	15	24 h	1,173	825	1,733
	20	24 h	10.15	6.162	12.123
TBT	10	48 h	3,260	2,930	3,675
	15	24 h	9.98	8.184	11.786
	20	24 h	8.43	6.832	10.153

다. *A. omorii*는 상대적으로 fluoranthene (19.20 µg L⁻¹)과 benzo[a]pyrene (29.89 µg L⁻¹)에 매우 민감한 반응을 보였다. 해양 생물 중에서 갯지렁이에 대한 96 h-LC₅₀은 fluoranthene (500 µg L⁻¹), phenanthrene (600 µg L⁻¹), benzo[a]pyrene (> 1000 µg L⁻¹)순으로 독성이 강한 것으로 보고 되었다(황 2000). 또한 Vinggaard *et al.* (2000)은 본 실험에서 사용한 것과 같은 5가지 종류의 PAHs에 대한 독성 (inhibition concentration, IC₅₀)을 human androgen receptor (hAR)를 이용하여 비교 분석 하였는데, 본 실험결과와 마찬가지로 benzo[a]pyrene과 fluoranthene이 다른 3가지 PAHs 보다 더 높은 독성을 나타내었다. 또한 fluoranthene의 경우 UV에 노출된 경우와 암 조건에 있는 경우 60배 까지 독성의 차이가 나타나는 것으로 보고 되어지고 있다(Weinstein *et al.* 2003).

2. 온도변화에 대한 benzo[a]pyrene과 TBT의 독성변화

PAHs 중에서 강한 유전독성과 발암성 및 내분비 장애를 일으키는 물질로 알려진 benzo[a]pyrene과 유기주석계 물질 중에서 독성이 강한 TBT (Lowler and Aldrich 1987; Gibbs *et al.* 1991; Evans *et al.* 1996; Shim *et al.* 2000; Gravato and Santos 2001, 2002; Bonacci *et al.* 2002; Garry *et al.* 2003)가 *Artemia*에 미치는 영향을 몇 개의 서로 다른 온도변화에 따라 측정하였다. 그 결과 benzo[a]pyrene의 경우 20°C에서의 독성이 가장 강하게 나타났고, 온도가 내려 갈수록 독성이 낮게 나타났다 (Table 2). 특히 온도가 10°C가 될 경우 현저하게 독성이 감소하여 48 h-LC₅₀이 6,398 µg L⁻¹로 나타났는데, 이는 20°C에서 24 h-LC₅₀(10.147 µg L⁻¹)과 단순히 농도로 비교하여도 약 600배 정도로 큰 차이가 났으며, 15°C의 것 (24 h-LC₅₀ 1,173 µg L⁻¹)과 비교하면 약 5배의 농도 차이가 났다. 15°C와 20°C 사이의 독성을 비교해보면 약 100배의 LC₅₀의 차이를 나타냈다.

TBT의 경우도 온도가 올라갈수록 독성이 강하게 나타

나는 것은 benzo[a]pyrene과 유사하지만 온도에 대한 민감도가 더 크게 나타났다 (Table 2). 48 h-LC₅₀이 10°C에서 3,266 µg L⁻¹인데 비해서 15°C에서 24 h-LC₅₀ 9.98 µg L⁻¹로서 10°C에 비해 농도로만 비교하여도 약 300배 정도의 독성이 강하게 나타났다. 15°C와 20°C에서의 독성도의 차이는 거의 없었다.

*Artemia*에 대한 benzo[a]pyrene과 TBT의 독성을 비교해 보면, 20°C에서는 별 다른 차이를 보이지 않았고, 10°C에서는 약 2배 정도로 TBT의 독성이 PAHs의 독성보다 강하게 나타났다. 하지만 15°C에서는 TBT (9.982 µg L⁻¹)의 독성이 benzo[a]pyrene (1,173 µg L⁻¹)의 독성보다 약 100배 정도 독성이 강하게 나타났다. 이는 PAHs나 TBT가 생물체 내로 들어 왔을 때 오염 물질에 대한 생물의 물질 대사 과정이 차이가 있고, 특히 이를 이차산물로 바꾸어 독성을 낮추는 기작의 정도가 오염 물질에 따라 다르게 나타날 수 있음을 보여준다 (Devaux *et al.* 1997; Sepic *et al.* 2003).

대부분 실험실 내에서의 독성 실험을 할 경우 20°C에 맞추어서 실험하도록 EPA에서 권장하고 있지만, 실제 연구하고자 하는 대상생물은 자연 상태에 존재하고 있고 주로 배양하기가 어렵고, 또한 배양을 할 경우 독성에 대한 민감도가 떨어질 수도 있기 때문에 샘플을 현장에서 채취하여 독성을 실험하는 것이 필요하다. 이 경우 같은 종을 가지고 실험하더라도 그 때의 환경 조건에 따라서 다른 결과를 가지고 올 수 있기 때문에 기초 자료로서 온도에 따른 동물플랑크톤의 독성을 비교할 필요가 있다. 특히 PAHs는 도심지와 해수 중에서 다른 계절보다 겨울철에 높은 농도를 나타낸다 (Sikalos *et al.* 2002; Witt 2002). 일반적으로 생물에게 영향을 미치는 환경요소는 pH, 온도, 염분 등 여러 가지가 있지만, 특히 온도에 의한 생물의 생리적인 변화에 의해서 독성이 증가할 수 있으며, 대부분의 오염물질은 온도가 올라갈수록 독성이 증가하는 것으로 알려져 있다 (Sprague 1970; Fry 1971; Rathore and Khangarot 2002).

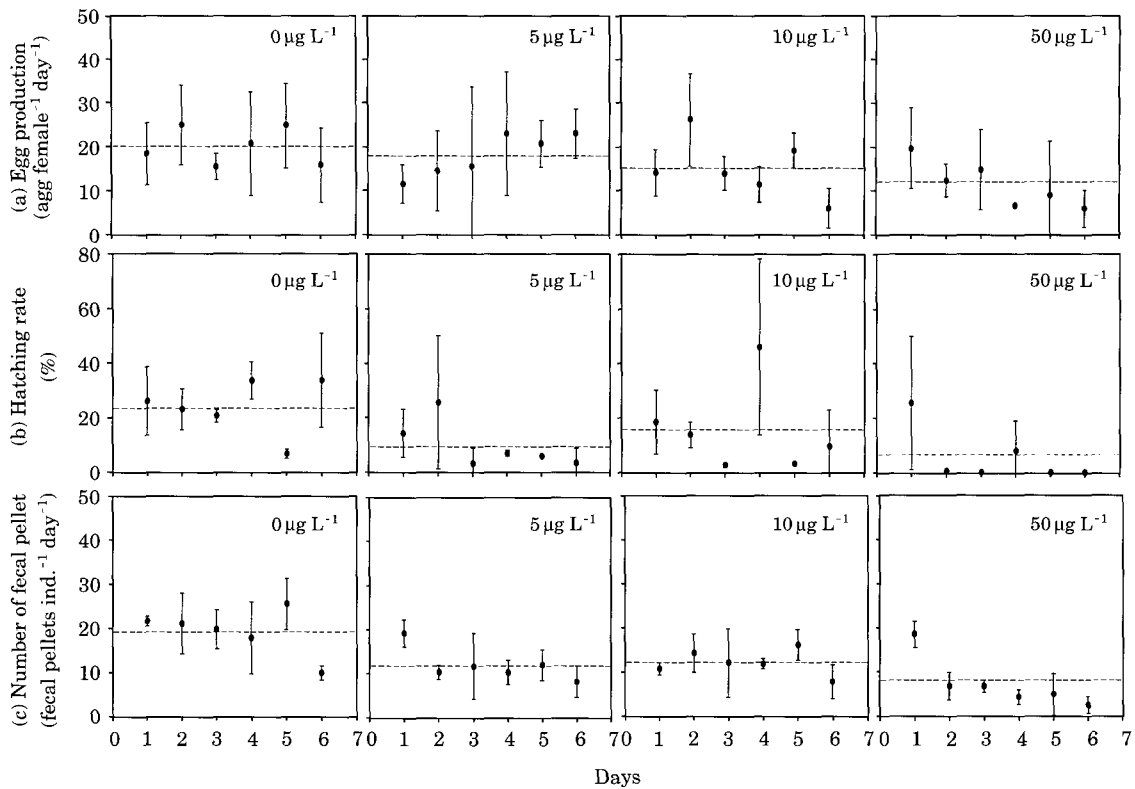


Fig. 1. Egg production, hatching rate and fecal pellet production of *Acartia erythraea* in concentrations of benzo[a]pyrene.

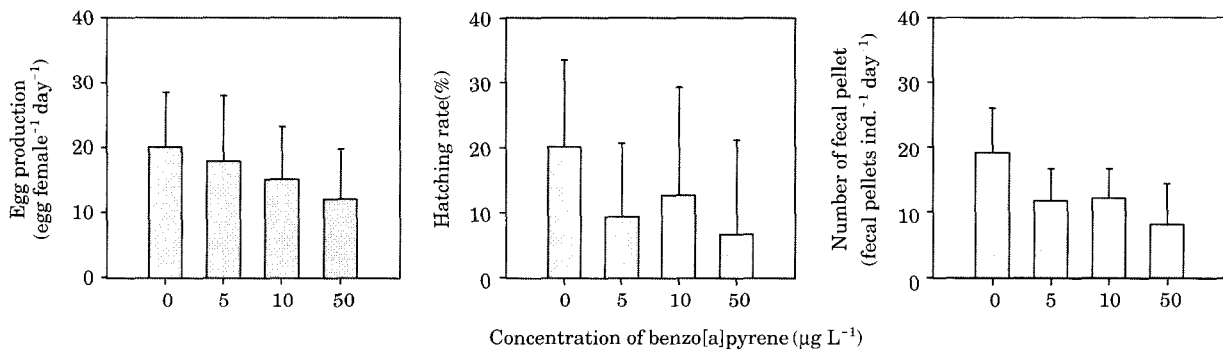


Fig. 2. Average values and standard deviation of egg production, hatching rate and fecal pellet production about *Acartia erythraea* in concentrations of benzo[a]pyrene.

3. Benzo[a]pyrene에 노출된 먹이에 대한 요각류의 난 생산, 부화율, 고형화된 배설물량의 변화

실험에 사용할 benzo[a]pyrene의 농도를 정하기 위해 우선 임의로 0.005~1,000 µg L⁻¹ 사이의 농도 구배를 만들고 여기에 *Heterocapsa triquetra*를 주입하고 성장상태와 활동성을 관찰하였다. *H. triquetra*는 운동성을 갖고 있으므로 광학 현미경하에서 그들의 움직임을 관찰할 수 있었다. 그 결과 *H. triquetra*는 benzo[a]pyrene 100 µg

L⁻¹부터 활동성과 성장이 떨어지기 시작했다. 본 실험은 먹이의 상태를 고려해서 benzo[a]pyrene 농도를 50 µg L⁻¹ 이하로 사용하였다.

*Acartia erythraea*의 난 생산은 benzo[a]pyrene이 첨가되지 않은 대조구에서 시간경과에 따른 변동이 거의 없었으며, 오히려 5 µg L⁻¹ 농도에서 다소 증가하는 경향을 보였다(Fig. 1a). 그러나 난 생산은 benzo[a]pyrene 10, 50 µg L⁻¹ 농도에서 시간경과에 따른 감소경향을 보였으

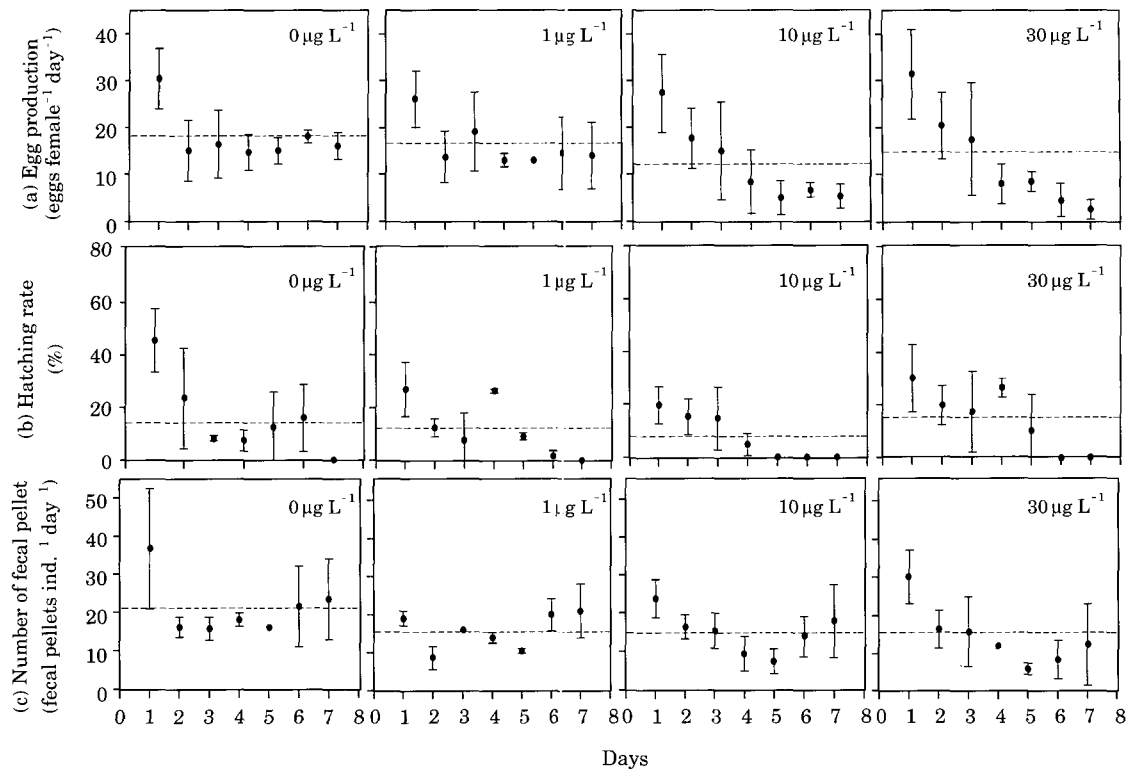


Fig. 3. Egg production, hatching rate and fecal pellet production of *Acartia omorii* in concentrations of benzo[a]pyrene (*H. triquetra* did not expose to benzo[a]pyrene during from the first 3 day, but expose to benzo[a]pyrene during the rest day).

며, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도에서 더욱 뚜렷한 감소를 나타냈다. 실험기간동안 평균 난 생산량은 benzo[a]pyrene 첨가농도의 증가에 따라 다소 낮아졌다(Fig. 2). 부화율은 benzo[a]pyrene 첨가 유, 무에 따라 비교적 큰 차이를 보였다(Fig. 1b). Benzo[a]pyrene이 첨가되지 않은 실험에서 부화율은 실험 5일의 것을 제외하고는 평균적으로 20% 이상을 유지하였지만 benzo[a]pyrene이 첨가된 실험들에서는 거의 20% 이하를 보였다. 특히 화학물이 첨가된 실험들에서 난 부화율은 2~3일부터 거의 10% 이하였으며($10 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 실험에서 4일의 결과를 제외할 경우), $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도에서 난의 부화가 거의 이루어지지 않는 경우도 나타났다. 배설물량은 전반적으로 benzo[a]pyrene이 첨가된 실험구에서 낮았으며, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도에서 가장 낮았고 실험 후 1~2일 사이에 비교적 큰 폭의 감소를 보인 후 안정된 값을 보였다(Fig. 1c). 배설물량은 모든 농도에서 난 생산과 부화율보다 시간경과에 따른 변화가 적었다. 실험기간동안 측정된 난 생산, 부화율과 배설물량은 평균적으로 benzo[a]pyrene 첨가의 영향을 받고 있으며, 첨가농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 특히 난 부화율은 benzo[a]pyrene에 매우 민감한 영향을

받는 것으로 나타났다. 이는 현장에서 benzo[a]pyrene 농도에 따라 *A. erythraea*의 재 가입률에 매우 중요한 영향을 줄 수 있음을 시사한다.

*Acartia omorii*의 실험에서 난 생산은 대조구와 $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 실험구에서 비슷한 경향을 보였는데, 실험 2일까지 난 생산이 감소하다가 그 후로 실험 끝까지 비교적 일정한 값을 유지하였다(Fig. 3a). 그러나 $10, 30 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 실험구에서 난 생산은 시간경과에 따라 계속해서 감소하는 경향을 보였다. 부화율은 대조구와 실험구 사이에 차이를 보였다(Fig. 3b). 특히 오염물질이 첨가된 4일부터 부화율의 감소는 현저하게 나타났다. 고정화된 배설물량은 대조구와 $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 실험구, 그리고 10과 $30 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 실험구에서 각각 비슷한 변화양상을 보였다(Fig. 3c). 전체적으로 배설물량은 실험초기에 감소하다가 5일 후부터 다소 증가하는 경향을 보였다. *A. omorii*의 난 생산은 $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도의 benzo[a]pyrene 첨가에 영향을 받지 않는 것으로 나타났지만, 이 보다 더 높은 농도인 10과 $30 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 영향을 받는 것으로 보이지만 전체적으로 감소하는 경향을 보여 benzo[a]pyrene의 영향이 어느 정도인지는 판단할 수 없었다. 그러나 간단하게 benzo[a]pyrene 첨가

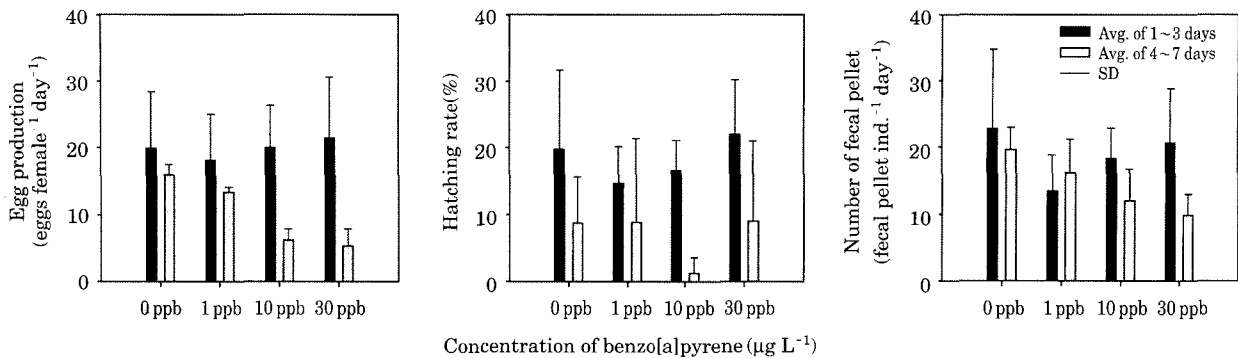


Fig. 4. Difference between the first 3 days and the rest in the Average values of the egg production, hatching rate and fecal pellet production of *Acartia omorii*

전, 후의 난 생산 값들을 평균해 보면 높은 농도에서 큰 차이가 있음을 보였다(Fig. 4). Benzo[a]pyrene의 영향은 부화율에서 가장 현저하게 나타났다. 모든 실험구에 benzo[a]pyrene이 첨가된 4일 이후부터 부화율은 급격하게 감소하여 6일 이후부터는 거의 부화되지 않는 상태를 보였다. 그러나 배설물량은 다른 실험과 달리 실험 후 5일부터 서서히 증가하는 경향을 보여 benzo[a]pyrene의 영향을 덜 받는 것처럼 보였다.

요각류의 먹이로 사용된 *Heterocapsa triquetra*는 난 생산과 먹이 섭취율이 매우 좋은 종으로 보고되었으며 (Shin *et al.* 2003), 먹이농도(3000 cells ml⁻¹)는 본 실험에 사용된 종과 비슷한 크기의 요각류 *Acartia tonsa*에 대한 먹이 포화농도(Kjørboe *et al.* 1985)와 비슷한 수준이었다. 요각류의 배설물량은 먹이를 얼마나 잘 동화시켰는가를 판단할 수 있는 척도로 사용할 수 있다(Shin *et al.* 2003). 또한 요각류 배설물량은 먹이 섭취율과 직선적인 상관관계를 갖는 것으로 알려져 있다(Gamble 1978; Peterson 1988; Ayukai 1990; Tsuda and Nemoto 1990; Nejstgaard *et al.* 2001). 본 실험에서 benzo[a]pyrene은 요각류의 먹이 섭취율보다 재생산과 관련된 난 생산과 부화율에 더 나쁜 영향을 주는 것으로 나타나 생산력 변동에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

실제 광양만에서 나타나는 PAHs의 농도를 보면, 퇴적물 내에서는 평균 0.227 µg L⁻¹이며, 생체 내에서는 생물 농축이 잘 일어나는 것으로 알려진 이매패류에서 평균 250 µg L⁻¹이고, 해수 내에서는 평균 0.076 µg L⁻¹ 정도 존재한다. 광양만 해수 중에 녹아 있는 benzo[a]pyrene의 경우 조간대에서 최고 0.0583 µg L⁻¹ 보고되고 있고, 광양만 해수 중에는 평균 0.0018 µg L⁻¹로 보고되었다(해양수산부 2001; 한국해양연구원 2002). 광양만의 해수 중에 존재하는 benzo[a]pyrene 농도는 본 실험에 사용한 농도보다 매우 낮으며, 아직까지 요각류의 생산량에 영향을

미칠 수 있는 수준으로 보이지 않는다. 그러나 퇴적물에 존재하고 있는 오염물질이 태풍과 같은 자연적 현상 혹은 준설과 같은 인위적인 현상에 의해서 재 부유되어 식물플랑크톤과 요각류에 접촉하였을 때 생물농축도 일어날 수 있으며, 또한 높은 오염물 농도에 의해서 즉각적인 영향을 받을 수 있음을 시사할 수 있다. 일반적으로 급성 독성실험은 기름유출과 같은 인위적인 사고가 일어날 경우에 발생할 수 있는 높은 농도에 대해서 실험하는 방법이다. 본 실험도 PAHs 농도를 실제 해수 중에 존재하는 농도보다 더 높여서 급성 독성실험을 하였다. 앞으로 해양환경에 존재하는 농도에 대한 생물의 영향을 연구하기 위해서는 만성독성 실험과 효소 실험 등이 병행되어야 할 것이다.

본 실험들은 먹이 사슬에 있어 중요한 위치를 점하고 있는 동물플랑크톤 중에서 요각류의 생리적인 활동을 생체지표로 이용하는 것이 가능한지 판단하기 위한 기초 실험이다. 하지만 현장에서 적용되는 여부를 판단하기 위해서는 낮은 오염물질 농도에서의 반응을 볼 수 있는 만성 독성 실험 조건 하에서 생리적인 변화 및 효소의 변화, DNA의 변화 등 여러 가지 연구가 병행되어야 한다. 이러한 연구는 현장에서 지속성 유기오염물질에 대한 해양생태계의 위험성을 조기에 알릴 수 있는 지표생물로서 요각류 이용의 가능성을 더욱 강하게 뒷받침 할 것이다.

적 요

인간이나 환경에 해로운 영향을 주는 지속성 유기오염물질의 독성을 평가하기 위해서 염분과 온도에 대해 내성이 강한 *Acartia* 종들과 *Artemia*를 대상으로 실험하였다. 지속성 유기오염물질인 PAHs와 TBT에 대한 요각류의 독성을 평가하기 위해 3가지의 실험을 실시하였다. 1)

광양만에서 주로 나타나는 5가지 PAHs (anthracene, benzo[a]pyrene, fluoranthene, phenanthrene, pyrene)에 대한 *A. omorii*의 48 h-LC₅₀을 구하였다. 2) *Artemia*를 이용하여 온도에 따른 benzo[a]pyrene과 TBT의 독성의 변화를 측정하였다. 3) PAHs 중에서 독성이 강한 benzo[a]pyrene에 노출된 먹이를 섭취한 *A. erythraea*와 *A. omorii*의 난 생산, 부화율, 고형화된 배설물 양의 변화를 측정하였다. *A. omorii*에 대한 5가지 PAHs 중에서 fluoranthene (48 h-LC₅₀ 19.20 µg L⁻¹)과 benzo[a]pyrene (48 h-LC₅₀ 29.89 µg L⁻¹)의 독성이 강하게 나타났다. 온도실험에서는 동일한 유해물질을 가지고 실험을 하더라도 온도의 변화에 따라 급격한 독성의 차이가 나타날 수 있고, 유해물질 간에도 온도에 따라서 나타나는 독성에 대한 특성이 다르게 나타났다. 특히 15°C에서는 TBT (9.982 µg L⁻¹)의 독성이 benzo[a]pyrene (1,173 µg L⁻¹)의 독성보다 약 100배 정도 더 독성이 강하게 나타났다. Benzo[a]pyrene에 노출된 먹이는 요각류의 난 생산, 부화율, 고형화된 배설물 양의 변화에 영향을 주었다. 특히 benzo[a]pyrene의 농도 증가는 요각류의 생산력 변동에 영향을 미칠 수 있는 것으로 사료된다. 본 연구는 요각류를 이용하여 해양생태계에 유입되는 지속성 유기오염물질에 대한 위험성을 알리는 지표생물로서 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 “남해 특별관리해역의 환경오염 관리모델 연구(1) 광양만 중심 연구”(PE836-00)의 일부이며, 실험실 및 현장에서 도움을 준 이재도, 이우진, 김선주, 최은석, 김소정, 황청희 연구원께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 이성규. 2001. 난용성/휘발성 물질의 유해성 시험방법. pp. 1-7. 환경오염물질 독성평가 기법에 관한 workshop.
- 한국해양연구원. 2002. 남해 특별관리해역의 환경오염 관리모델 연구 - 광양만 중심 연구. 한국해양연구원. BSPE 819-00-1407-7, pp. 380-381.
- 해양수산부. 2001. 전국연안의 지속성 유기물질 오염실태 조사 연구. 해양수산부. BSPM 00070-1336-3.
- 황인영, 박관하, 김정상, 이종협. 2000. PAHs의 환경독성과 환경오염 실태-PAHs에 대한 해양오염-인제대학교 부설환경연구소 제9회 심포지움, 환경연구노트 9:42-58.
- Ayukai T. 1990. Fecal pellet production by two species of planktonic calanoid copepods fed on naturally occurring particles. Bull. Plankton Soc. Jpn. 37:167-169.
- Binelli A and A Provini. 2003. POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk. Mar. Pollut. Bull. 46:879-886.
- Bonacci S, I Corsi, R Chiea, F Regoli and S Focardi. 2003. Induction of EROD activity in European eel (*Anguilla anguilla*) experimentally exposed to benzo[a]pyrene and β-naphthoflavone. Environ. Int. 29:467-473.
- Breivik K and R Alcock. 2002. Emission impossible? The challenge of quantifying sources and releases of POPs into the environment, article in press. Environ. Int. 28: 137-138.
- Cornelius W. 1993. Acute toxicity test procedures. Section 9:37-58. Method for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms (4th ed.). U.S Environmental Protection Agency. Ohio.
- Cruz-rodriguez LA and FE Chu. 2002. Heat-stock protein (HSP70) response in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, exposed to PAHs sorbed to suspended artificial clay particles and to suspended field contaminated sediment. Aquat. Toxicol. 60:157-168.
- Devaux A, M Pesonen and G Monod. 1997. Alkaline comet assay in rainbow trout hepatocyte. Toxicol. in vitro 11:71-79.
- Evans SM, M Dawson, J Day, CJ Frid, JM Gill, LA Pattisina and J Porter. 1995. Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambon island. Mar. Pollut. Bull. 30(2):109-115.
- Fossi MC, L Lari, S Casini, N Mattei, C Savelli, JC Sanchez-Hernandez, S Castellani, M Depledge, S Bamber, C Walker, D Savva and O. Sparagano. 1996. Biochemical and genotoxic biomarker in the Mediterranean crab *Carcinus aestuarii* experimentally exposed to polychlorobiphenyls, benzopyrene and methyl-mercury. Mar. Environ. Res. 42:29-32.
- Fossi MC, R Minutoli and I Guglielmo. 2001. Preliminary results of biomarker responses in zooplankton of brackish environments. Mar. Pollut. Bull. 42:745-748.
- Fry FJ. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. vol. 6. In Fish Physiology. Academic Press, New York.
- Gamble JC. 1978. Copepod grazing during a declining spring phytoplankton bloom in northern. North Sea. Mar. Biol. 49:303-315.
- Garry S, F Nesslany, E Aliouat, JM Haguenoer and D Marzin. 2003. Hematite (Fe₂O₃) enhances benzo[a]pyrene genotoxicity in endotracheally treated rat, as determined by comet assay. Mutat. Res. 538:19-29.

- Gibbs PE, PL Pascoe and GW Bryan. 1991. Tributyltin-induced imposex in stenoglossan gastropods: Pathological effects on the female reproductive system. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Compar. Pharmacol. Toxicol.* 100:231–235.
- Goksoyr A, J Beyer and HE Larsen. 1992. Cytochrome P450 in seals: monooxygenase activities, immunochemical cross-reactions and response to phenobarbital treatment. *Mar. Environ. Res.* 34:113–116.
- Graciela GR, CM Gomez-Gotierrez and FJ Marquez-Rocha. 2002. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on the pallial fluid buffering capacity of the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C.* 132:171–179.
- Gravato C and MA Santos. 2002. Juvenile sea bass liver P450, EROD induction, and erythrocytic genotoxic responses to PAH and PAH-like compounds. *Ecotox. Environ. Safe.* 51:415–427.
- Gravato C and MA Santos. 2003. Genotoxicity biomarkers' association with B(a)p biotransformation in *Dicentrarchus labrax* L. *Ecotox. Environ. Safe.* 55:352–358.
- Kang JJ and HW Fang. 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbon inhibit the activity of acetylcholinesterase purified from electric eel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 238:367–369.
- Kjørboe T, F Mohlenberg and K Hamburger. 1985. Bioenergetics of the planktonic copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration and composition of specific dynamic action. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 26:85–97.
- Klumpp DW, C Humphrey, H Hong and T Feng. 2002. Toxic contaminants and their biological effects in coastal waters of Xiamen, China. II. Biomarkers and embryo malformation rates as indicators of pollution stress in fish. *Mar. Pollut. Bull.* 44:761–769.
- Large AT, JP Shaw, LD Peters, AD McIntosh, LA Mally and JK Chipman. 2002. Different levels of mussel (*Mytilus edulis*) DNA strand breaks following chronic field and acute laboratory expose to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mar. Environ. Res.* 54:493–497.
- Lawler IF and JC Aldrich. 1987. Sublethal effects of bis (tri-n-butyltin)oxide on *Crassostrea gigas* spat. *Mar. Pollut. Bull.* 18:274–278.
- Lotufo GR. 1998a. Bioaccumulation of sediment-associated fluoroanthene in benthic copepods: uptake, elimination and biotransformation. *Aquat. Toxicol.* 44:1–15.
- Lotufo GR. 1998b. Lethal and sublethal toxicity of sediment-associated fluoroanthene to benthic copepods: application of the critical-body-residue approach. *Aquat. Toxicol.* 44:17–30.
- Neff JM. 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. 262pp. Applied Science Publishers, London.
- Nejstgaard JC, LJ Naustvoll and A Sazhin. 2001. Correcting for underestimation of microzooplankton grazing in bottle incubation experiments with mesozooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 221:59–75.
- Peterson WT. 1988. Rates of egg production by the copepod *Calanus marshallae* in the laboratory and in the sea off Oregon. USA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 47:229–237.
- Rathore RS and BS Khangarot. 2002. Effect of temperature on the sensitivity sludge worm *Tubifex tubifex* muller to selected heavy metals. *Ecotox. Environ. Safe.* 53:27–36.
- Reynolds WJ, SW Feist, GJ Jones, BP Lyons, DA Sheahan and GD Stentiford. 2003. Comparison of biomarker and pathological responses in flounder (*Platichthys flesus* L.) induced by ingested polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination. *Chemosphere* 52:1135–1145.
- Sepic E, M Bricelj and H Leskovsk. 2003. Toxicity of fluoranthene and its biodegradation metabolites to aquatic organism. *Chemosphere* 52:1125–1133.
- Shim WJ, SH Kahng, Sh Hong, NS Kim, SK Kim and JH Shim, 2000. Imposex in the rook shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Mar. Environ. Res.* 49: 435–451.
- Shin K, MC Jang, PK Jang, SJ Ju, TK Lee and M Chang. 2003. Influence of food quality on egg production and viability of the marine planktonic copepod *Acartia omorii*. *Prog. Oceanogr.* 57:265–277.
- Sidharthan M, SY Kim, HW Lee, KS Park and WS Hyun. 2002. TBT toxicity on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Mar. Pollut. Bull.* 45:177–180.
- Sikalos TI, EK Paleologos and MI Karayannis. 2002. Monitoring of time variation and effect of some meteorological parameters in polynuclear aromatic hydrocarbons in Ioannina, Greece with the aid of HPLC-fluorescence analysis. *Talanta* 58:497–510.
- Sprague JB. 1970. Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Res.* 4:3–32.
- Tsuda A and T Nemoto. 1990. The effect of food concentration on the fecal pellet size of the marine copepod *Pseudocalanus newmani*. *Frost. Bull. Plankton Soc. Jpn.* 37: 83–90.
- Varanasi U. 1989. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. CRC Press, Boca Raton, FL. 341pp.
- Vinggaard AM, C Hnida and JC Larsen. 2000. Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons affect andro-

- gen receptor activation in vitro. *Toxicol.* 145:173-183.
- Walker CH. 1998. The use of biomarkers to measure the interactive effects of chemicals. *Ecotox. Environ. Safe.* 40:65-67.
- Weinstein JE, DM Sanger and AF Holland. 2003. Bioaccumulation and toxicity of fluoroanthene in the estuarine oligochaete *Monopylephorus rubroniveus*. *Ecotox. Environ. Safe.* 53:278-286.
- Witt G. 2002. Occurrence and transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water bodies of the Baltic Sea. *Mar. Chemist.* 79:49-66.
- Wootton EC, EA Dyrinda, RK Pipe and NA Ratcliffe. 2003. Comparisons of PAH-induced immunomodulation in three bivalve molluscs. *Aquat. Toxicol.* 65:13-25.

Manuscript Received: October 17, 2003

Revision Accepted: January 26, 2004

Responsible Editorial Member: Saywa Kim
(Yongin Univ.)