

수은, 납 및 구리에 대한 붕어(*Carassius auratus*)와 돌고기(*Pungtungia herzi*) 자어의 급성독성

조규석 · 박종호 · 강주찬*

충청북도내수면연구소

*부경대학교 수산생명의학과

Acute Toxicity of *Carassius auratus* and *Pungtungia herzi* Larva on Mercury, Lead and Copper Exposure

Kyu-Seok Cho[†] · Jong-Ho Park · Ju-Chan Kang^{*}

Department of Inland Fisheries Research Institute, Chung Cheong Buk-Do

^{*}Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University

(Received 23 February 2004, Accepted 1 April 2004)

Abstract : Larva of *Carassius auratus* and *Pungtungia herzi* were exposed to mercury (HgCl₂), lead (PbCl₂) and copper (CuSO₄) to determine acute toxicity. The toxicity tests were conducted triplicate and the LC₅₀ values (24, 48, 72 and 96 hours) were determined for two species. Data obtained from the toxicity tests were evaluated using the probit analysis. Although sensitivities of two species to mercury were relatively similar, *C. auratus* was more susceptible than *P. herzi* to the exposure of lead but *P. herzi* was more sensitive than *C. auratus* on copper. The sensitivity on three metals tested may be ranked in the following order from highest to lowest toxicity on larval stage of these fish: mercury > copper > lead. It is suggested that acute toxic test at the larval stage of *C. auratus* and *P. herzi*, indigenous species in Asia area, is an important part of the ecotoxicological assessment of some heavy metals.

keywords : *Carassius auratus*, *Pungtungia herzi*, Larval stage, Heavy metals, LC₅₀

1. 서 론

산업사회의 발달과 함께 각종 공장에서 유출되는 산업폐수와 생활수준의 향상으로 증가되고 있는 생활하수로 인해 생태계의 오염이 날로 가속화되고 있다. 이들 오염물질은 표면수로 흘러 들어와 생태계에서 순환하게 되고 먹이연쇄를 통하여 결국 인간에게까지 축적되어 여러 가지 피해를 유발시킨다(Hickey and Anderson, 1968).

오염물질 가운데 중금속은 철, 구리 등과 같은 생체 내 필수원소도 있지만 납, 수은 및 카드뮴과 같은 독성금속들도 있으며 이들 대부분은 생체내에서 다양한 유해작용을 유발시키게 된다(Lee et al., 2001).

따라서 수생생태계로 유입된 중금속의 독성적 영향을 평가하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있지만, 수질에 대한 이화학적 분석만으로는 여러 가지 한계가 있다. 그 이유는 다양한 물질이 용존되어 있는 수질의 정확한 분석이 쉬운 일이 아니며 이들 물질의 혼합에 따른 상호작용 측면을 고려해야 하기 때문이다.

따라서 어류, 패류, 물벼룩 및 박테리아 등 다양한 생물

학적 지표를 사용하여 오염의 수준을 파악하기 위한 연구가 많이 시행되고 있다(Bitton et al., 1996; 박, 2003; 박 등, 2004). 이 가운데 어류를 이용한 생물검정시험에 관한 연구는 많으며 이에 이용되는 주요 담수어종은 송사리(*Oryzias latipes*), 잉어(*Cyprinus carpio*), 붕어(*Carassius auratus*), fathead minnow(*Pimephales promelas*) 및 무지개송어(*Salmo gairdneri*) 등 다양하다(Johaason-Sjobeck and Larsson, 1979; Flik et al., 2002; Ling et al., 1993; Sippel et al., 1983; Grindley, 1964).

잉어목(Order Cyprinidae) 잉어과(Family Cyprinidae)에 속하는 붕어(*Carassius auratus*)와 돌고기(*Pungtungia herzi*)는 한국, 중국 및 일본 등 아시아권에 널리 분포하고 개체수도 풍부한 대표적인 담수어종이다(Choi et al., 2002). 또한, 실험실에서 순화가 잘 될 뿐만 아니라 채집에도 용이한 점이 있기 때문에 생물검정시험에 적합한 재료로 활용될 가능성이 크다. 그러나 기존 실험어종에 대한 독성시험은 주로 성어기(adult stage), 미성어기(immature stage) 및 치어기(juvenile stage)에서 실시되어 왔으며, 상대적으로 독성물질에 대한 내성이 상대적으로 민감한 것으로 알려진 자어기(larval stage)에 대한 연구는 미비한 실정이다(Choi et al., 1992). McKim(1977)은 장기간의 부분생활사 독성시험(Long term partial life-cycle toxicity test) 또는 완전생활사

[†] To whom correspondence should be addressed.

jkang@pknu.ac.kr

독성시험(Complete life-cycle toxicity test)를 실시하지 않고 초기생활사 단계에서 실시한 독성시험 결과만으로도 최대 허용독성농도(Maximum Acceptable Toxic Concentration)를 설정할 수 있을 만큼 어류의 초기생활사는 독성물질에 민감하다고 주장하였다. 또한 Buhl(1997)은 카드뮴, 크롬 및 수은을 *Ptychocheilus lucius*, *Gila elegans* 및 *Xyrauchen texanus*의 각 생육단계에 노출시킨 결과 자어기가 치어기나 배기 (embryo stage) 보다도 더 민감한 것으로 조사하여 이 시기를 중금속 독성평가에 활용할 가치가 크다고 보고하였다.

따라서, 본 연구에서는 중금속 오염에 대한 생물검정의 표준공시어종 설정을 위해서 아시아권에 널리 분포하는 잉어과 어류인 붕어와 돌고기의 자어를 이용하여 중금속 가운데 자연 방출량이 큰 수은, 납 및 구리에 대한 급성독성 실험을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

붕어(*Carassius auratus*)와 돌고기(*Pungtungia herzi*)는 충청북도내수면연구소에서 분양받아 실험실내의 300 ℓ 순환 여과식 수조에서 잉어용 부상사료를 공급하면서 10일간 순치시킨 후 외관상 질병의 증세가 나타나지 않고 먹이 붙임이 좋은 어류(붕어, 185±18 g; 돌고기, 21±3 g)를 선발하여 각각 친어로 사용하였다. 이 친어는 산란을 위해 광주기 L12 : D12(조도 2000 Lux 이상), 수온 25-26℃ 및 용존산소 7.5 mg/ℓ로 유지되는 수조로 옮겨졌으며, 1일 후에 각 암컷으로부터 얻어진 난(eggs)을 인공어소에 부착시킨 후 정자(sperms)로 수정시켜 12 ℓ 폴리에틸렌 수조에 넣어 부화시켰다.

3일 후 부화되어 나온 난황을 가진 자어는 1 ℓ 유리비이커에 30마리씩 수용하여 지수식방법으로 실험을 실시하였다. 각 실험용수는 1일을 원적으로 환수하여 중금속의 독성 이외에 다른 요인에 의한 영향을 최대한 배제시켰다. 본 연구에서 사용한 수은(HgCl₂), 납(PbCl₂) 및 구리(CuSO₄)는 Junsei Chemical Co.에서 제조된 특급시약을 사용하였다. 각 중금속의 급성독성 농도범위를 설정하기 위하여 실시된 예비실험은 본 연구와 같은 방법으로 실시되었으며 이에 설정된 농도범위는 수은이 5~30 µg/ℓ 이었고, 납은 250~4,000 µg/ℓ 이었다. 구리는 붕어의 경우 50~250 µg/ℓ 이고 돌고기의 경우는 5~200 µg/ℓ 이었으며, 각 중금속 농도는 설정범위를 6 농도구로 나누어 실시하였다.

실험은 22±1℃로 유지되는 항온실에서 96시간동안 실시하였으며 24시간마다 LC₅₀ (50% Lethal Concentration)을 구하였다. 실험용수의 수질분석 결과는 Table 1과 같다. 그 외의 실시한 실험방법은 US EPA (2002)에서 추천한 'Short-term Method for Estimating the Chronic Toxicity of Effluent and Receiving Waters to Freshwater Organism'의 조건을 따랐다. 급성독성의 결과로서 LC₅₀은 24시간마다 치사한 개체를 관찰하여 US EPA에서 제공한 Probit Program(version 1.5)에 의해 산출되었다.

Table 1. Experimental conditions of the water used in the acute toxicity test

Parameter	Ranges
Temperature	22 ± 1℃
pH	7.0 ± 0.7
Dissolved oxygen	7.5 ± 0.54 mg/ℓ
Ammonia-nitrogen	0.3±0.1 mg/ℓ
Nitrite-nitrogen	0.01±0.008 mg/ℓ
Nitrate-nitrogen	2.10±1.05 mg/ℓ
Chemical oxygen demand	2.04±0.33 mg/ℓ
Total hardness as CaCO ₃	1.88±0.09 mg/ℓ
Hg	ND*
Cu	ND*
Pb	ND*

*ND: Not Detected

3. 결과 및 고찰

각 중금속에 대한 붕어와 돌고기의 급성독성 결과는 Table 2~4에 제시하였다. 그 결과 수은에 대한 독성은 두 어종이 상대적으로 비슷한 경향을 보였으며, 납독성에 대해서는 붕어가 돌고기보다 더 민감한 것으로 조사되었고 구리독성에 대해서는 돌고기가 붕어에 비해 더 민감한 것으로 나타났다. 또한, 수은과 납에 대한 두 어종간의 감수성은 상대적으로 비슷한 경향을 보였으나 구리에 대해서는 붕어가 돌고기에 비해 약 2.5배정도 더 강한 것으로 나타나 감수성 차이가 큰 것으로 나타났다. 그러나 이들 두 어종의 중금속에 대한 민감도는 수은 > 구리 > 납으로 조사되어 동일한 독성양상을 보였다.

중금속 노출에 대한 시간과 독성의 상관관계를 조사한 결과, 수은의 경우 붕어의 24시간 LC₅₀은 15.8 µg/ℓ 인 반면에 돌고기에 대해서는 16.0 µg/ℓ 으로 나타나 감수성이 비슷한 것으로 조사되었으나, 48시간 이후에는 돌고기의 감수성이 조금 더 높게 나타났다. 납의 경우 실험기간 전반에 걸쳐 붕어가 돌고기에 비해 더 감수성이 강한 것으로 조사되었다. 구리의 실험결과에서는 실험기간 전반에 걸쳐 돌고기가 붕어에 비해 더 독성에 약하게 나타났다. 24시간째 붕어에 대한 구리의 LC₅₀은 통계 프로그램 상의 에러로 인해 산출되지 않았다. 48시간 LC₅₀이 100.8 µg/ℓ 로 나타나 96시간 LC₅₀인 84.3 µg/ℓ 와 시간에 따른 상대적인 감수성 차이는 크지 않게 나타났다. 그러나 구리에 대한 돌고기의 24시간 LC₅₀은 123.2 µg/ℓ 인 반면에 96시간에는 33.1 µg/ℓ 으로 조사되어 약 73%정도로 크게 감소된 것으로 조사되었다.

특정 화학물질에 대한 수생생물의 급성독성을 실시할 경우 수온, pH, 경도 및 용존산소 같은 화학적인 측면뿐만 아니라 빛, 유속 및 수조공간 등의 물리적인 측면과 성(sex), 성장시기 및 건강상태 등 생물학적 측면에 따라 상당한 차이를 나타낼 수 있다(Crompton, 1997). 또한, 연구방법에 따라서 감수성 차이를 나타낼 수 있는데 본 연구에서는 붕어와 돌고기의 산란장이 유속이 완만하고 수조가

Table 2. LC₅₀ values and 95% confidence limits of mercury for larva of test species

Species	Time (hour)	LC ₅₀ (μg/l)	95% confidence limits	
			Lower	Upper
<i>Carassius auratus</i>	24	15.8	13.9	17.6
	48	12.5	10.8	14.0
	72	11.2	9.4	12.7
	96	10.1	8.3	11.4
<i>Pungtungia herzi</i>	24	16.0	14.8	17.0
	48	11.9	9.0	14.0
	72	9.2	5.8	11.3
	96	8.3	6.9	9.3

Table 3. LC₅₀ values and 95% confidence limits of lead for larva of test species

Species	Time (hour)	LC ₅₀ (μg/l)	95% confidence limits	
			Lower	Upper
<i>Carassius auratus</i>	24	1457.3	227.1	2190.0
	48	1115.8	811.8	1372.4
	72	807.6	558.9	1019.1
	96	572.4	357.2	726.1
<i>Pungtungia herzi</i>	24	1637.7	1279.8	1938.1
	48	1019.0	783.7	1231.7
	72	806.3	628.8	963.2
	96	603.9	450.3	724.9

Table 4. LC₅₀ values and 95% confidence limits of copper for larva of test species

Species	Time (hour)	LC ₅₀ (μg/l)	95% confidence limits	
			Lower	Upper
<i>Carassius auratus</i>	24	-	-	-
	48	100.8	91.1	110.3
	72	91.2	82.7	99.2
	96	84.3	75.5	91.3
<i>Pungtungia herzi</i>	24	123.2	104.4	137.2
	48	73.4	34.8	112.0
	72	43.8	34.2	53.1
	96	33.1	27.0	38.7

- : Not Calculated

많은 곳에 위치해 있음을 감안하고(Choi et al., 2002), US EPA(2002)에서 어류 초기생활사 연구 방법으로 추천하고 있는 반지수식 방법으로 실시하였다.

이 가운데서도 생물의 생육단계에 따른 급성독성 결과는 많은 차이를 낼 수 있는데, 실제로 갑각류(Crustacea)와 연체동물(Molluscs)의 구리에 대한 48시간 LC₅₀값은 성어의 경우 30,000 μg/l 인 반면에 치어의 경우에는 300 μg/l 수준으로 큰 감수성 차이가 나는 것으로 알려져 있고 이러한 경향은 어류에서도 적용될 수 있다고 보고되었다(Crompton, 1997).

특히 환경변화에 민감한 어류의 초기생활사(난기, 자어기 및 치어기)에 대한 중금속의 독성연구는 수생태계의 생산력에 직접적인 영향을 미칠 뿐만 아니라 향후 군집 전체

에 대한 피해양상을 예측하는데 중요하게 활용될 수 있다. 그러나 이 중 오염물질에 대해 가장 민감한 생육단계라고 볼 수 있는 자어기에 대한 연구는 상대적으로 미비한 실정이다(Bae, 1998).

중금속 독성실험은 여러 가지 환경조건이 다르기 때문에 직접 비교하기는 어려우나, Choi 등 (1992)의 잉어 자어기에 대한 실험에서 중금속의 96시간 LC₅₀을 비교해 본 결과 수은의 독성이 구리보다 더 약한 것으로 보고되어 본 연구와 다른 결과를 보였다.

또한, 수은을 무지개송어의 미성어기에 노출시킨 결과 24시간 LC₅₀이 360 μg/l, 96시간 LC₅₀이 16 μg/l로 조사되어 시간에 따라 값의 차이가 크게 나타났다. 본 연구에서 수은은 붕어와 돌고기 자어에 강한 독성을 보였으며 24시간과 96시간 사이의 LC₅₀ 차는 각각 5.769와 7.738 μg/l로 나타나 무지개송어 만큼 큰 차이는 보이지 않았다.

Hodson 등(1978)에 따르면 *Cyprinus carpio*의 치어에 대한 납의 급성독성 실험 결과 96시간 LC₅₀ 값이 440 μg/l로 나타났으며, 미성어기에 대한 실험결과는 800 μg/l로 조사되어 생육단계에 따라 2배 정도의 독성차이가 나타난다고 보고하였다. 본 연구에서 붕어 자어기의 납독성은 96시간 LC₅₀ 값이 572.4 μg/l로 나타났고, 돌고기에서는 603.9 μg/l로 나타나 위의 실험결과와 어느 정도 비슷한 결과를 보였으나, Bae(1998)가 수은 27°C에서 납을 매기치어(*Silurus asotus*)에 노출시킨 결과, 72시간과 96시간 LC₅₀ 값이 각각 24.3 및 13.2 mg/l로 조사되어 매기가 잉어과 어류에 비해 납 독성에 상당히 강한 것으로 생각된다.

구리를 한국산 송사리(*Oryzias latipes*)의 수정란에 노출시킨 후 24, 48 및 96시간 LC₅₀을 측정된 결과, 각각 67, 65 및 65 μg/l로 나타나 시간에 따른 독성차이는 거의 보이지 않았다(Choi et al., 1992). 반면에 본 연구에서 두 어종의 자어기에 구리를 노출시킨 결과, 시간에 정비례하여 독성 영향이 강하게 미치는 것으로 조사되어 수정란에 대한 실험결과와는 다른 양상을 보였다. 또한 실험조건에 따라 상대적이긴 하지만 본 연구에서 붕어 자어기의 48~96시간에 따른 LC₅₀ 범위는 84.3~100.8 μg/l로 나타나 송사리의 수정란보다 민감하지 않은 것으로 보이며, 돌고기의 경우 LC₅₀ 범위가 33.1~123.2 μg/l로 72시간 이후에는 송사리의 수정란보다 더 민감한 경향을 보였다.

어류의 자어기에 대한 만성독성 연구는 상당히 미비한 실정이지만, 치어기나 성어를 중심으로 한 연구는 활발히 시행되어 왔다. Crompton(1997)에 따르면 수은의 경우 10 μg/l를 가물치(*Channa punctatus*) 성어에 120일 정도 노출시킨 결과 생식선(gonad)의 성장 장애가 유발되어 본 연구결과에서 도출된 자어의 급성독성 결과와 유사한 경향을 보였다. 또한, 구리 100 μg/l를 30일 동안 연어과 어류의 치어에 노출시킨 결과 성장 감소가 발생되었고, 성어의 경우 140 μg/l에서 40일간 노출시킨 결과 생식기관의 손상이 유발되었다. 따라서 붕어와 돌고기의 자어에 대한 급성독성 결과는 어류의 치어와 성어에 영향을 미치는 만성독성 농도를 예측할 수 있는 유용한 방안으로 활용될 수 있

다고 제안되었다.

그러나 납의 경우, 무지개송어의 치어를 만성독성농도인 201 $\mu\text{g}/\ell$ 에 29일간 노출시켰을 때 성장감소가 유발되었다고 보고되어 본 연구결과의 96시간 LC_{50} 값과 비교해 볼 때 약 3배정도 더 낮은 경향을 보였다.

자연수계의 강이나 호수에서 측정된 중금속 농도는 수은 0.009~1.3 $\mu\text{g}/\ell$, 납 0.13~60 $\mu\text{g}/\ell$ 및 구리 0.11~200 $\mu\text{g}/\ell$ 으로 조사되었다(Crompton, 1997).

따라서 자연수계의 수은과 납 농도는 본 연구에서 도출된 자어의 LC_{50} 값보다 낮은 경향을 보였지만 장기간 노출에 대한 자어의 영향에 관해서는 좀더 연구되어야 할 것으로 사료된다. 그러나 구리의 경우는 자연수계라고 할지라도 오염지역의 농도는 자어기에 독성적 영향을 줄 수 있으며 이는 수생생태계의 자연생산력에 상당한 영향을 끼칠 수 있을 것으로 예상된다.

4. 결 론

붕어, 돌고기의 중금속 독성노출에 따른 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 96시간 LC_{50} 값을 기준으로 각 어종의 자어기가 수은이 노출되었을 때 붕어는 10.1 $\mu\text{g}/\ell$, 돌고기는 8.3 $\mu\text{g}/\ell$ 이상일 때, 납의 경우 붕어는 572.4 $\mu\text{g}/\ell$, 돌고기는 603.9 $\mu\text{g}/\ell$ 이상일 때, 구리의 경우 붕어는 84.3 $\mu\text{g}/\ell$, 돌고기는 33.1 $\mu\text{g}/\ell$ 이상일 때 생존 가능성이 낮다고 볼 수 있다.
- 2) 두 어종의 중금속에 대한 민감도는 수은 > 구리 > 납으로 조사되어 동일한 독성양상을 보였다.
- 3) 자연수계의 구리 농도(0.11~200 $\mu\text{g}/\ell$)이며 본 연구결과 도출된 LC_{50} 과 비교해 볼 때 높은 오염지역에서는 붕어와 돌고기의 자어에 대해 독성적 영향을 줄 수 있으나 수은과 납에 대해서는 자연수계의 농도와 자어의 LC_{50} 사이에 농도 차가 큰 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Bae Y. S. *Study on the Acute Toxicity of Heavy Metal to Catfish*, The thesis of Kyonggi University, (1998).
2. Bitton, G., Rhodes, K., and Koopman, B., CerioFast : an acute toxicity test based on *Ceriodaphnia dubia* feeding behavior. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, pp. 123-131 (1996).
3. Buhl, K. J., Relative sensitivity of three endangered fishes, Colorado squawfish, bonytail, and razorback sucker, to selected metal pollutants, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **37**(2), pp. 186-192 (1997).
4. Choi C. G., Hwang Y. J., and Wui I. S., Effects of

- Heavy Metal Ions on the Fertilized Eggs of Killifish, *Oryzias latipes*, *J. KSWPRC*, **Sep.** pp. 135-140 (1992).
5. Choi K. C., Jeon S. R., Kim I. S., and Son Y.M., *Coloured Illustrations of The Freshwater Fishes of Korea*, (2002).
6. Crompton T. R., *Toxicants in the Aqueous Ecosystem*, John & Sons Ltd, (1997).
7. Flik, G., Stouthart, X. J. H. X., Spanings, F. A. T., Lock, R. A. C., Fenwick, J. C. and Wendelaar Bonga, S. E., Stress response to waterborne Cu during early life stages of carp, *Cyprinus carpio*, *Aquacult. Toxicol.*, **56**, pp. 167-176 (2002).
8. Grindley, J., Toxicity to rainbow trout and minnow of some substances known to be present in wastewater discharge to rivers, *Ann. Appl. Biol.*, **33**, pp. 103-112 (1964).
9. Hickey, J. J. and Anderson, D. W., Chlorinated hydrocarbons and eggshell changes in raptorial and fish-eating birds, *Science*, **252**, pp. 520-521 (1968).
10. Hodson, P. V., Blunt, B. R., and Spry, D. J., Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout *Salmo gairdneri* in lake Ontario water, *Wat. Res.*, **12**, pp. 869-878 (1978).
11. Johansson-Sjoberg, M. L., and Larsson, A., Effects of inorganic lead on delta-aminolevulinic acid dehydratase activity and hematological variables in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **8**, pp. 419-431 (1979).
12. Lee J. S., Kang, J. C., and Shin, Y. K., Histological Responses of the Flounder, *Paralichthys olivaceus* Exposed to Copper, *J. Fish Pathol.*, **14**(2), pp. 81-90 (2001).
13. Ling K. H., Sin Y. M., and Lam T. J., Effect of copper sulphate on ichthyophthiriasis(white spot disease) in goldfish(*Carassius auratus*), *Aquaculture*, **18**(2), pp. 23-25 (1993).
14. McKim, J. M., Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity, *J. Fish. Res. Board Can.*, **34**, pp. 1148-1154 (1977).
15. Sippel, A., Geraci, J., and Hodson, P., Histopathological and physiological responses of rainbow trout(*Salmo gairdneri*) to sublethal levels of lead. *Wat. Res.*, **17**, pp. 1115-1121 (1983).
16. US EPA, Short-term Method for Estimating the Chronic Toxicity of Effluent and Receiving Waters to Freshwater Organism, EPA-821-R-02-013, Fourth Edition, Washington. D.C. U.S. EPA, (2002).
17. 박종호, *Ceriodaphnia dubia*를 이용한 단기급성독성조사법 개발 및 응용, 충북대학교박사학위논문, (2003).
18. 박종호, 이상일, 조영옥, *Ceriodaphnia dubia*의 먹이섭생 기작과 온도조절에 근거한 급성독성조사법의 비교, *한국물환경학회지*, **20**(1), pp. 48-54 (2004).