

해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서의 식물플랑크톤에 관한 연구

박 경 수 · 이 상 희 · 이 승 민 · 윤 성 진 · 박 승 윤
국립수산과학원 서해수산연구소
(2005년 7월 26일 접수; 2005년 11월 28일 채택)

Phytoplankton as Standard Test Species for Marine Ecotoxicological Evaluation

Gyung-Soo Park, Sang-Hee Lee, Seung-Min Lee,
Sung-Jin Yoon and Soung-Yun Park

West Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Incheon 400-420, Korea

(Manuscript received 26 July, 2005; accepted 28 November, 2005)

A series of experiments was conducted to identify the potential of five phytoplankton species as standard test species for marine ecotoxicological tests. The candidate phytoplankton species are *Skeletonema costatum*, *Heterosigma akashiwo*, *Prorocentrum micans*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis suecica*. Salinity tolerance and sensitivity on potassium dichromate as a reference material were identified. Toxicity of eleven ocean-dumped sewage sludges and four red tide expellent extracts were estimated by the inhibition of population growth rates (PGR) of marine diatom *S. costatum*. While most species revealed relatively weak tolerance on salinity, *T. suecica* demonstrated the highest salinity tolerance ranged from 5~35 psu and the others 15~35 psu. *H. akashiwo* revealed the highest sensitivity as 72h IC₅₀=0.76mg/L and *T. suecica* the lowest as 72h IC₅₀=8.89mg/L on potassium dichromate. Sludge extracts from industrial waste, domestic sewage and livestock farm waste sludge showed high toxicity as 72h IC₅₀<2% and lowest toxicity from filtration bed sludge as 72h IC₅₀=30.50%. NOEC (No Observed Effective Concentration) of sludge extract ranged from <0.4% to 1.6% and this indicated high phytotoxicity of ocean dumped sewage sludge. The test sensitivity of phytoplankton PGR inhibition was much higher than those of marine rotifer *Brachionus plicatilis* mortality test and bioluminescent inhibition test by marine bacteria *Vibrio fischeri*, and comparable with the sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*) fertilization test. As a result the phytotoxicity test using phytoplankton PGR inhibition (IC₅₀) must be a useful tool for marine phyto-toxicological evaluation of ocean dumped materials.

Key Words : Phytoplankton, Ecotoxicity, Bioassay, Salinity tolerance, Sewage sludge, *Skeletonema costatum*, *Heterosigma akashiwo*, *Prorocentrum micans*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*

1. 서 론

환경오염물질이 생태계에 미치는 영향은 오염물질에 대한 화학적 분석과 오염물질이 유출된 생태계의 생물군집 분석 및 오염물질에 대한 생물검정 등으로 평가될 수 있다^{1~4)}. 생태독성평가는 화학적

분석으로는 평가될 수 없는 미지의 독성물질을 감지하고, 물질 간의 상호 작용으로 발생하는 독성 상승효과(synergism)를 측정할 수 있으며, 또한 유해물질이 생물에 미치는 영향을 직접적으로 평가할 수 있다는 장점이 있어 화학적 분석과 상호 보완적으로 이용되는 독성 평가 방법이다⁵⁾. 그러나 환경영향 평가 시 가장 보편적으로 이루어지는 평가 방법은 화학분석 및 생물군집 분석에 편중되어 있고, 생물검정 등과 같은 생태독성 평가는 잘 이루어지

Corresponding Author : Gyung-Soo Park, West Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Incheon 400-420, Korea
Phone: +82-32-745-0530
E-mail: gspark@momaf.go.kr

지 않고 있다. 이와 같은 가장 큰 이유는 생태독성 평가를 일관성 있게 수행할 수 있는 공정시험방법의 부재에 있다. 따라서 상기 문제를 해결하기 위하여 현재 개발 중인 해양생태독성평가를 위한 공정시험방법중^{6~8)} 식물플랑크톤을 이용한 독성 평가방법의 일환으로 식물플랑크톤 5종에 대한 생태독성 표준시험생물로서의 가능성을 구명하기 위한 일련의 연구를 수행하였다.

일반적으로 생태독성평가 시 해양생태계를 대표하는 분해자, 생산자 및 소비자 그룹 중 생태계 내에서의 영양학적 역할, 경제성 및 종의 유용성 등을 고려하여 표준시험생물을 선정하게 된다^{5,9)}. 따라서 해양생태계의 기초 생산자인 식물플랑크톤은 생태독성평가 시 반드시 포함되어야 할 생물군이다. 현재 가장 보편적으로 이용되는 해양식물플랑크톤은 *Skeletonema costatum*¹⁰⁾, *Dunaliella tertiolecta*¹¹⁾이며, 상기 두 종은 이미 공정시험법이 개발되어 상용되고 있다. 또한 담수생태계에서는 개구리밥(*Lemna minor*), *Selenastrum capricornutum*, *Microcystis aeruginosa*¹²⁾ 등이 이용되며, 해조류인 *Ulva fasciata*의 유주자(zoopore)를 이용한 독성실험방법도 정립되어 있다¹³⁾. 특히 해산 규조류인 *S. costatum*은 퇴적물 독성평가^{14~15)} 및 중금속 등을 포함하는 유해물질 독성평가에 다양하게 이용되고 있으며^{16~20)}, 국내 해양생태계에서도 매우 광범위한 분포를 보이는 종이다²¹⁾.

본 실험에서 선택된 시험생물 5종은 국제적 이용도와 국내 해양생태계 내에서의 중요성 및 종의 유용성 등을 고려하여 선정하였으며, 표준시험생물로서의 가능성을 구명하기 위하여 염분내성, 표준독성물질에 대한 민감도 및 해양유입 오염물질에 대한 현장 적용 실험 등을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

본 실험에 이용된 식물플랑크톤은 해산 규조류인 *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, 라피도조류인 *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada, 와편모조류인 *Prorocentrum micans* Ehrenberg, 착편모조류인 *Isochrysis galbana* Parke, 담녹조류인 *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher이며, *S. costatum*은 한국해양미세조류은행(KMCC)에서 나머지 종은 국립수산과학원(NFRDI) 해양환경부 유해생물팀에서 분양받아 항온실에서 6개월 이상 계대 배양하였다. 배양 온도는 23~24℃를 유지하였으며, 조도는 형광등을 이용하여 3000~4000Lux (연속명기)를 유지하였고, f/2 배지를 이용하여 배양하였다. 식물플랑크톤의 정량 분석을 위해서는 SR chamber를 이용하여 Inverted microscope (Olympus IX70)으로 계수하였으며, 클로로필은 Fluorometer (Tuner Designs Model 10-AU, USA)를 이용하여 측정하였다.

각각의 시험생물은 국내 해양생태계에서의 중요성, 국제적 이용도, 분류군 및 유용성 등을 고려하여 선정하였다.

각각의 식물플랑크톤 종별 독성물질에 대한 민감도를 검증하기 위하여, ISO¹⁰⁾에서 제시한 표준독성물질인 Potassium dichromate (CAS# 7778509, K₂Cr₂O₇, Merck 4864.1000)를 이용하였으며, 각 노출 농도별 개체군성장률을 측정하였다. 노출 농도는 0~10 mg/L이며, 실험조건은 Table 1과 같다.

식물플랑크톤의 개체군성장률을 이용한 해양투기 하수오니의 독성실험을 위하여 총 11개 하수처리장에서 하수오니를 채취하여 냉동 보관하였다. 각각의 하수오니는 해양 배출 이전에 탈수된 상태이나 함유율이 약 70~80%에 이른다. 하수오니는 생활하수, 공장폐수 및 축산 폐수 등을 포함하는 다양한 처리

Table 1. Test conditions for the definitive chronic toxicity and salinity tolerance test with 5 phytoplankton species

Test parameters	conditions
Test type	static non-renewal
Duration	72 h
Endpoint	IC ₅₀ (population growth inhibition)
Temperature	23±0.1 °C
Dilution water	filtered seawater/DI water
Photoperiod	continuous
Test chamber size	50ml
Test solution volume	30 ml
culture media	f/2
Renewal of test solution	none
Number of replicates per concentration	3
Test solution aeration	none
Test concentrations	5-7 and control
Test acceptability criterion	r=0.04 or greater growth rates in control

장으로부터 채취하였다. 하수오니를 해수로 추출하기 위하여 본 연구소 전면 수역(인천광역시 중구 을왕동)에서 채취된 해수를 고압 모래 여과기에 통과시킨 후 카본 필터로 재여과 하였다. 재여과된 해수는 다시 0.45 μ m membrane filter (Advantec MFS Inc)로 여과한 후 고압, 멸균하여 사용하였다. 하수오니의 추출은 환경오염공정시험법²²⁾을 따랐으나, 실험대상 물질이 해양생물에 미치는 영향을 구명하는데 목적이 있으므로 추출용매를 증류수 대신 해수(30.0 psu)를 사용하였다. 추출액의 부유물질 농도가 높은 경우에는 침전시켜 상등액을 사용하였다. 적조구체물질은 총 4종으로 하수오니와 동일한 방법으로 추출하여 독성실험에 이용하였다.

식물플랑크톤의 개체군성장률(specific population growth rate)은 형광량을 이용한 클로로필 농도를 식물플랑크톤 종별로 회귀방정식(형광량-세포밀도)을 이용하여 세포밀도로 환산한 후 $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$ (r =개체군성장률, N_t = 실험 종료 후의 세포밀도, N_0 = 초기세포밀도, t =배양시간)의 식으로 개체군성장률을 계산하였다. 독성실험에 대한 end points는 대조구의 개체군성장률 대비 50%에 이르는 성장저해율(IC₅₀, 50% population growth inhibition concentration)을 계산하였다. 계산 방법은 각각의 실험구에서의 개체군성장률을 위의 식에 따라 계산한 후 Linear interpolation 방법으로 IC₅₀을 산정하였다. 성장률 자료는 변환하지 않았으며, Shapiro-Wilk's test²³⁾로 자료의 정규분포(data normality)를 그리고 Bartlett's test²⁴⁾로 분산의 동일성(variance homogeneity)을 검증하였고, NOEC (No observed effective concentration)와 LOEC (Lowest observed effective concentration)의 산출은 Dunnett's test²⁵⁾를 이용하여 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 검증하였다. 상기 모든 자료 분석은 TOXCALC 5.0 program (Tidepool Scientific Software, USA)을 이용하였다.

각 식물플랑크톤 종별 염분 내성 실험은 염분범위를 0~35 psu까지 5 psu 구간으로 나눈 후(반복수=3) 각각의 실험구별로 72h 동안 개체군 성장률을 측정하여 대조구(배양 염분, 약 30 psu)와 비교하여 평균 개체군성장률의 차이에 대한 유의성을 검증하였다.

하수오니 추출액을 이용한 독성실험은 희석수(평균해수)와 추출액의 비율을 0, 6.25, 12.5, 25, 50 및 100%로 하여 각 실험 농도마다 3 반복으로 실험하였으며, 실험 조건은 Table 1과 같다.

또한 염록소농도와 세포밀도간의 회귀방정식을 구하기 위하여(단순직선회귀-simple linear regression) 세포밀도는 Log₁₀으로 그리고 형광량에 의한 염록소 농도는 double square root 변환으로 자료를

정규분포화 하였다.

3. 결 과

3.1. 개체군성장률 및 염분내성실험

식물플랑크톤 5종에 대한 시간당 개체군성장률을 측정한 결과, $r=0.028\sim 0.042$ 의 범위를 보였으며, *H. akashiwo*가 가장 낮은 성장률을 보인 반면, *S. costatum*이 가장 높은 성장률을 보였다(Fig. 1). ISO¹⁰⁾에서 제시한 *S. costatum*의 대조구 성장률은 $r=0.04$ 이상이다. 그러나 식물플랑크톤의 개체군성장률은 생물종에 따라 다르므로, 독성실험의 최소 조건을 만족시키는 대조구 개체군성장률을 *S. costatum*과 *I. galbana*는 $r=0.04$ 이상, *T. suecica*, *H. akashiwo* 및 *P. micans*는 $r=0.03$ 이상으로 설정하는 것이 타당할 것으로 생각된다(Fig. 1).

또한 생물검정 실험은 염분의 영향으로 인하여 실험생물을 선정하는데 많은 어려움이 있다. 특히 실험생물이 혐염성(stenohaline)일 경우, 독성 실험 대상 물질의 염분을 인위적으로 조절하여야 하며, 이 경우 실험 대상물질이 가지는 본래의 독성이 변하게 되므로 일반적으로 염분을 조절하지 않고 실험을 수행하게 된다. 따라서 각 종별 염분 내성을 구명하기 위하여 염분에 따른 개체군성장률을 비교한 결과, 모든 종이 염분에 따른 성장률 차이가 뚜렷하였으며($p<0.0001$), 대부분의 종이 15 psu 이하에서는 대조구와 유의적 차이를 보였다(Fig. 1). 분산분석을 이용한 염분별 평균 개체군성장률의 차이에 대한 유의성 검정 결과, *S. costatum*, *I. galbana*, *H. akashiwo*, *P. micans*는 15 psu 이하에서, 그리고 *T. suecica*는 5 psu 이하에서 대조구와 유의한 성장률의 차이를 보였다. 따라서 *T. suecica*가 가장 염분에 대한 내성이 높았으며, 나머지 종은 독성실험 대상물질이 20 psu 이상일 경우에만 실험이 가능할 것으로 판단된다.

식물플랑크톤의 개체군성장률을 산정하기 위해서는 각 노출 농도별 세포밀도를 산정하여야 한다. 그러나 세포수를 계수하여 개체군성장률을 측정하기에는 많은 시간과 노력이 필요하므로 형광량을 이용한 염록소 농도와 세포밀도에 관한 상관관계를 이용하여 직접 계수하지 않고 세포밀도를 환산할 수 있는 회귀방정식을 구하였다. 우선 모든 종에서 염록소농도-세포밀도의 상관관계가 $r=0.98$ ($p<0.0001$) 이상으로 매우 높았으며, 선형관계 또한 뚜렷하였다. 따라서 단일종을 이용한 독성실험에서 세포수를 현미경하에서 계수하기보다는 형광량을 이용한 염록소 농도 측정으로 세포수를 환산할 수 있을 것으로 판단된다(Fig. 2).

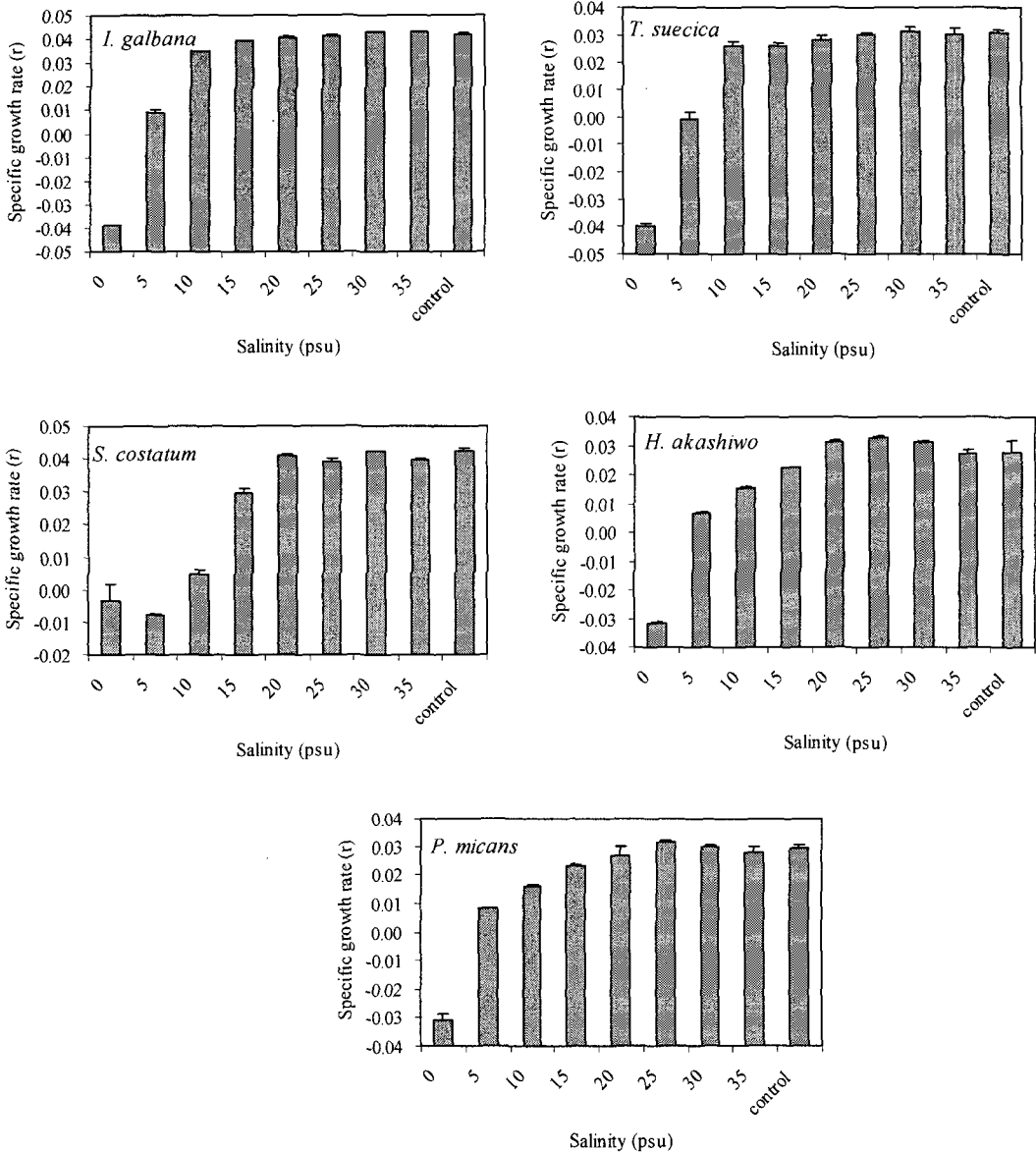


Fig. 1. Salinity tolerance in five phytoplankton species estimated by specific population growth rates on various salinity ranges.

3.2. 표준독성물질에 대한 식물플랑크톤의 민감도 생물검정용 표준시험생물은 배양 상태 및 생활사에 따라 독성물질에 대한 민감도가 달라질 수 있다. 따라서 평가 대상 물질의 독성실험과 병행하여 표준독성물질을 이용한 민감도 실험을 병행하게 된다. 일반적으로 식물플랑크톤을 이용한 독성실험용 표준물질은 Potassium dichromate를 이용하게 되며¹⁰⁾, 본 실험에서도 동일한 물질을 이용하여 민감도 실험을 수행하였다. 72h 개체군성장률을 이용한 Po-

tassium dichromate에 대한 반수개체군성장률저해농도(IC₅₀)를 산출한 결과, *H. akashiwo*가 72h IC₅₀=0.76ppm으로 가장 민감하였으며, *T. suecica*는 IC₅₀=8.89ppm으로 독성물질에 가장 둔감한 것으로 나타났다(Table 2, Fig. 3). 따라서 독성실험시 각 실험생물별 민감도 평가를 위한 Potassium dichromate에 대한 72h IC₅₀의 범위는 Table 2에 표기된 95% 신뢰구간 이내에 포함되어야만 독성실험용 표준생물로서 사용 가능할 것으로 판단된다.

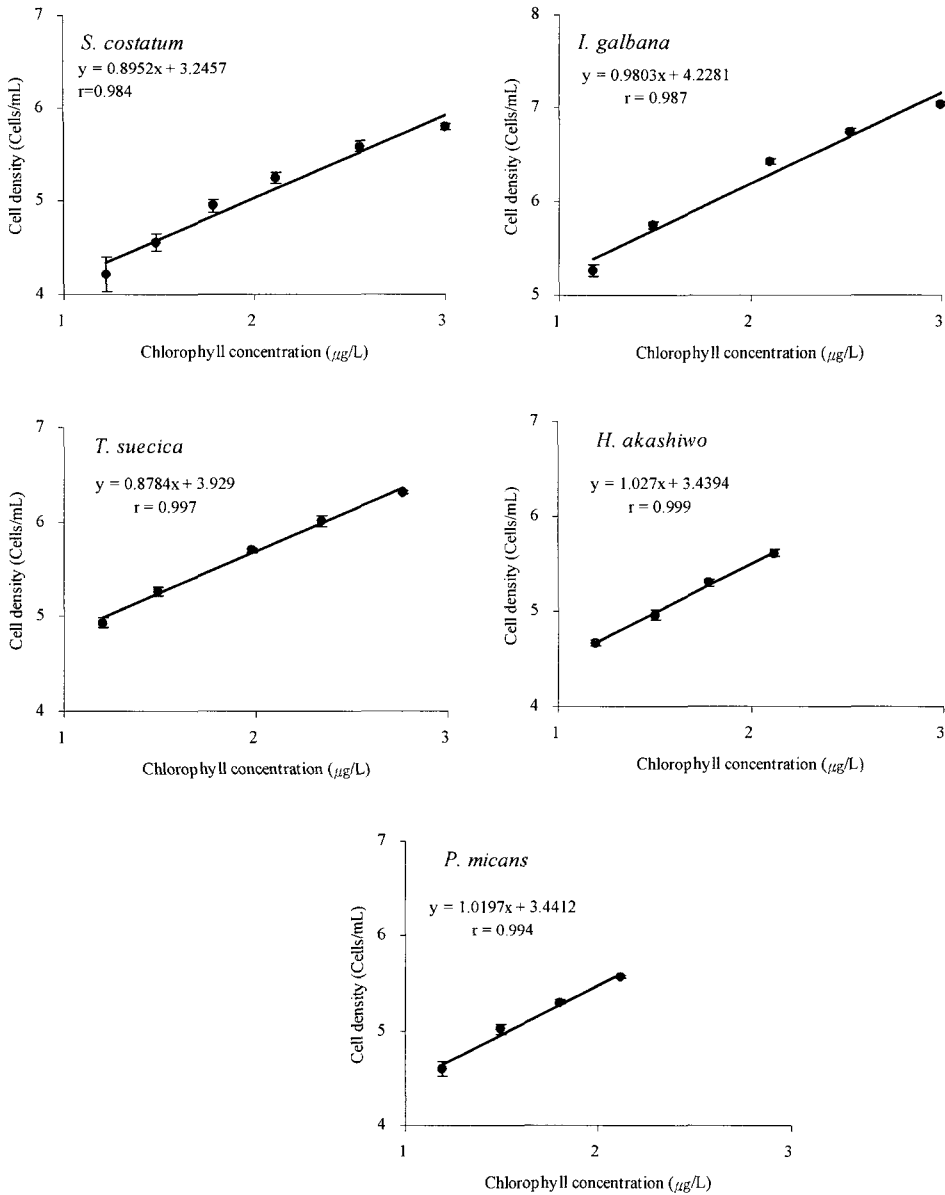


Fig. 2. Simple linear regression between cell density (log₁₀ scale) and chlorophyll concentration (double square root transformed) estimated by fluorescence in five marine phytoplankton species.

Table 2. Comparison of IC₅₀'s using potassium dichromate as a reference material with 5 phytoplankton species (unit=mg/L)

Species name	IC ₅₀ (ppm)	95% CI	NOEC	LOEC	Normality	Equal variance
<i>H. akashiwo</i>	0.76	0.53-1.00	0.34	0.63	confirmed	confirmed
<i>P. micans</i>	1.32	0.87-1.90	0.63	1.25	confirmed	confirmed
<i>I. galbana</i>	3.31	3.21-3.41	0.34	0.63	confirmed	confirmed
<i>S. costatum</i>	4.64	4.31-4.92	2.50	5.00	confirmed	confirmed
<i>T. suecica</i>	8.89	8.65-9.14	2.50	5.00	confirmed	confirmed

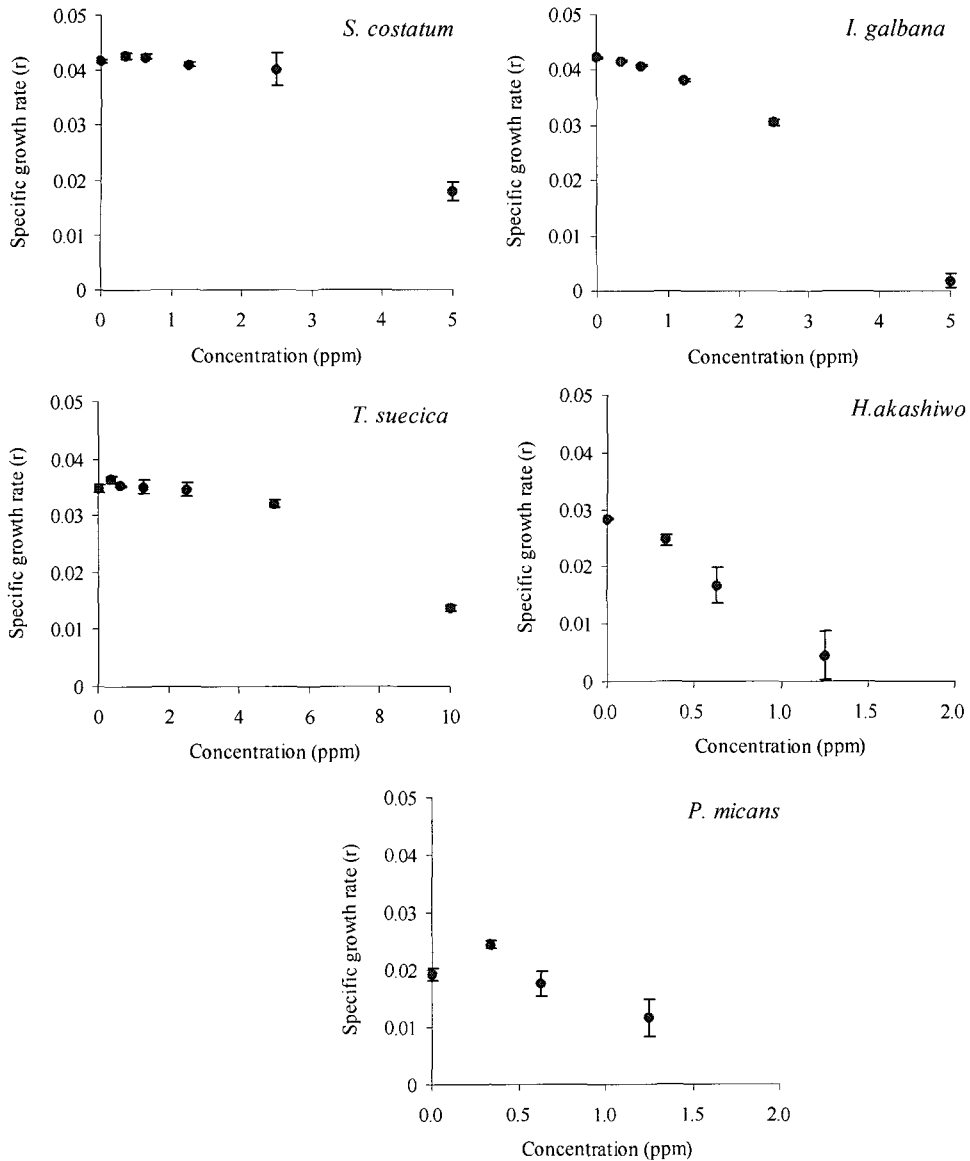


Fig. 3. Specific population growth rates of five phytoplankton species exposed to potassium dichromate as a reference material for the comparison of species sensitivity on toxic substance.

3.3. 해양 유입 오염물질을 이용한 독성평가

식물플랑크톤의 개체군성장률을 이용한 독성실험을 현장 오염물질에 실제 적용하였다. 우선 해양투기 되는 하수오니 11종과 적조구제물질 4종으로 *S. costatum*에 대한 72h 식물플랑크톤 개체군성장률에 대한 독성 실험을 수행하였다. 우선 하수오니 추출물을 이용한 독성실험 수행결과, 피혁공장폐수오니가 가장 독성이 강하였으며($IC_{50}=0.44\%$), 정수장 오니가 가장 약하였다($IC_{50}=30.50\%$, Table 3, Fig 4). 대부분의 하수오니가 해수 추출액(10:1) 기준으로

2% 이하에서 매우 심각한 식물플랑크톤독성 (phytotoxicity)을 보였다. 특히 무영향농도(NOEC, No Observed Effective Concentration)가 0.4% 이하로서 하수오니 추출액에 대한 식물플랑크톤의 개체군 성장 저해가 심각한 것으로 나타났다. 반면 적조구제물질로 개발되어 있는 황토, 적철석, 석회개선제 및 세프레마를 이용한 *S. costatum*의 개체군 성장저해 실험결과, 석회개선제를 제외하고는 독성이 나타나지 않았다. 석회개선제는 $IC_{50}=2.9\%$ 로 가장 독성이 강하였으며, 황토 및 적철석은 IC_{50} 이 71.6%

Table 3. Phytoplankton bioassay using 11 sludge extracts with marine diatom, *S. costatum* population growth inhibition (Unit=%)

Sludge	IC ₅₀ (%)	95% CI	NOEC	LOEC	Normality	Equal variance
Dyeing plant waste	1.94	1.88-1.99	0.4	0.8	confirmed	confirmed
Industrial waste	0.80	0.64-0.96	0.4	0.8	confirmed	confirmed
Livestock farm waste	0.54	0.49-0.58	<0.4	0.4	confirmed	confirmed
Leather processing waste	0.44	0.36-0.51	<0.4	0.4	confirmed	confirmed
Urban domestic sewage	0.59	0.57-0.61	<0.4	0.4	confirmed	confirmed
Food processing waste	3.58	2.55-4.64	1.6	3.13	confirmed	confirmed
Textile industry waste	5.90	5.14-6.79	1.6	3.13	confirmed	confirmed
Mixed sewage	0.58	0.53-0.63	<0.4	0.4	confirmed	confirmed
Industrial sewage	5.80	4.77-6.95	1.6	3.13	confirmed	confirmed
Rural domestic sewage	1.10	1.01-1.19	0.4	0.8	confirmed	confirmed
Filtration plant waste	30.50	22.48-34.73	12.5	25	confirmed	confirmed

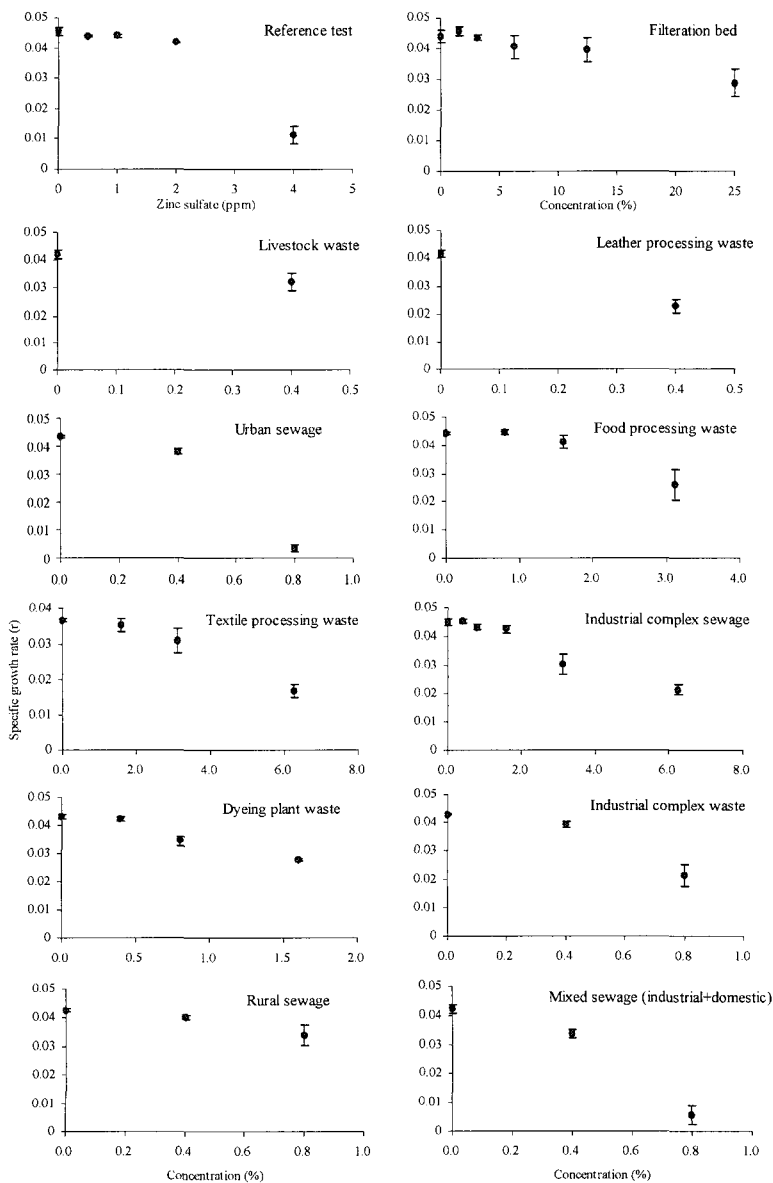


Fig. 4. Specific population growth rates of *S. costatum* exposed to various sludge extracts.

및 72.8%로 나타났다. 세프레마는 농도-반응 선형 관계가 뚜렷하지 않을 뿐더러 해수 추출액 100%에서도 반수성장저해농도가 나타나지 않아 IC₅₀이 계산되지 않았다(Table 4, Fig. 5).

4. 고 찰

생물검정용 표준시험생물은 국제적 이용도, 생태적 중요도 및 유용성 등을 고려하여 선정한다^{5,9)}. 그러나 표준시험 생물종을 단순화할 경우 시험생물의 부재로 인하여 독성실험이 제한되므로 가능한 한 다수의 실험종을 선정하여 제공하는 것이 바람직하다. 따라서 본 실험 결과에서 제시된 바와 같이 상기 5종의 경우 중의 민감도, 유용성 및 생태적 중요도를 고려할 때 해양생태독성용 표준시험생물로서 이용 가능할 것으로 판단된다. 그러나 *S. costatum*의 경우, ISO¹⁰⁾에서 제시한 Potassium dichromate

의 96h IC₅₀이 2.5±1.1 mg/L인 반면, 본 실험에서는 72h IC₅₀=4.64±0.08 mg/L로 ISO에서 실시한 9개 실험실 결과의 평균값 보다 낮은 민감도를 보였다. 상기 차이는 실험기간이 72~96h으로 가변적이기 때문으로 사료되며, 96h으로 연장하여 재실험한 결과 IC₅₀=1.87 mg/L로 ISO에서 제시한 신뢰구간에 포함되었다. 그러나 식물플랑크톤을 이용한 만성독성실험 시 96h 보다는 72h으로 실험하는 것이 세포의 성장 및 수질 악화 등에 의한 실험 오차를 줄일 수 있을 것으로 판단된다¹¹⁾.

Ravail and Robert (1985)²⁶⁾에 따르면 기수역(1~26 psu)에서 채집한 *S. costatum*의 염분 적응 하한선은 8 psu로 보고하였으며, 본 연구에서도 10 psu에서 성장은 이루어졌으나, 대조구와 성장률에 유의적 차이가 있었다. 따라서 *S. costatum*의 염분 내성은 매우 큰 것으로 사료되나²⁷⁾, 실험 대상 물질이

Table 4. Phytoplankton bioassay using 4 red tide expellants with marine diatom, *S. costatum* population growth rate (unit=%)

Red tide expellants	IC ₅₀ (%)	95% CI	NOEC	LOEC	Normality	Equal variance
Lime	2.9	2.7-3.0	0.8	1.6	confirmed	confirmed
Loess	71.6	63.4-73.5	12.5	25	confirmed	confirmed
Hematite	72.8	72.5-73.2	25	50	confirmed	confirmed
Seprema	NE	NE	NE	NE	-	-

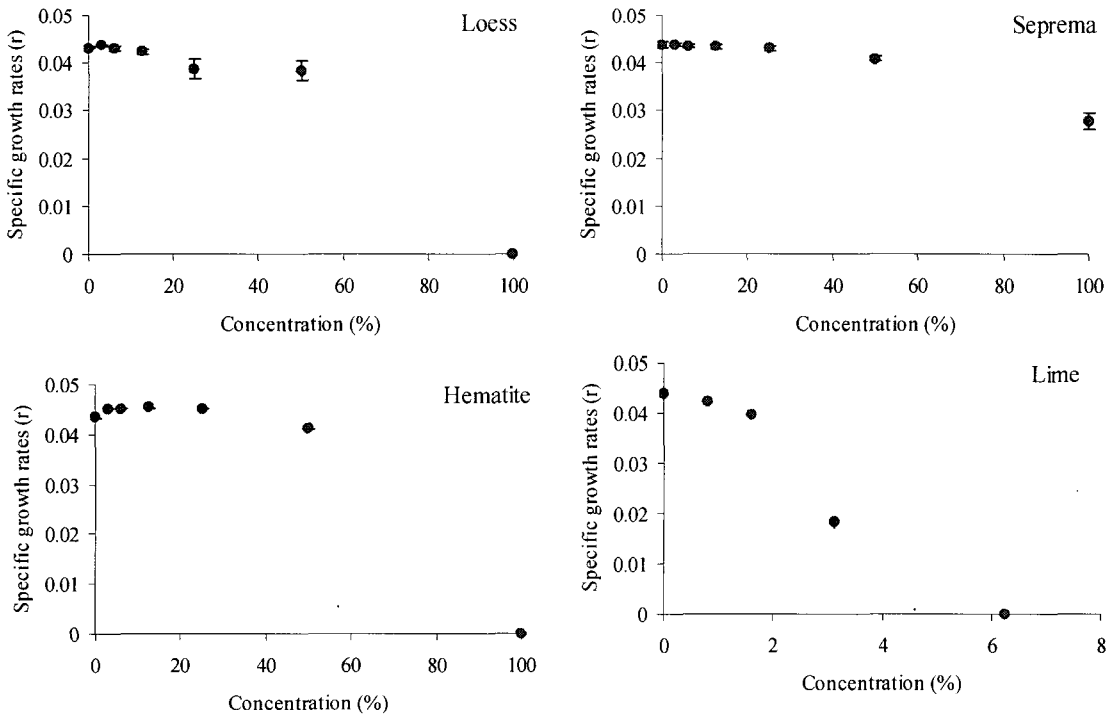


Fig. 5. Specific population growth inhibitions by four red tide expellants on marine diatom, *S. costatum*.

Table 5. Comparison of toxicity end points estimated by various species using 11 sludge extracts. Sea urchin and amphipod toxicity data are cited from MOMAF (2004)³²⁾ produced by Dr. Lee and Choi at KORDI. Seaweed toxicity data are provided by Dr. Han at Incheon University.

Sludge sources	Bacteria	Rotifer	Sea urchin*		Sea weed**	phytoplankton
	Bioluminescent	Mortality	Fertilization	Development	Sporulation rates	Specific growth rate
	IC ₅₀ (%)	LC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (%)	IC ₅₀ (%)
Dyeing plant waste	21.84	2.9	1.82	0.024	12.88	1.94
Industrial waste	22.31	37.7	0.02	0.004	10.66	0.80
Livestock farm waste	34.78	95.7	5.34	0.040	12.28	0.54
Leather processing waste	44.02	80.9	0.16	0.014	13.48	0.44
Urban domestic sewage	44.62	74.9	0.17	0.005	9.66	0.59
Food processing waste	48.71	88.5	1.65	0.005	10.97	3.58
Textile industry waste	67.25	>100.0	8.06	0.088	61.52	5.90
Mixed sewage	68.13	>100.0	0.25	0.022	11.15	0.58
Industrial sewage	76.50	>100.0	0.32	0.003	6.56	5.80
Filtration plant waste	78.41	67.7	5.49	0.113	29.29	30.50
Rural domestic sewage	>100.00	64.0	1.33	0.033	13.17	1.10

20 psu 이하인 경우에는 해당 염분에 순치된 strain 을 사용하는 것이 타당할 것으로 판단된다.

하수오니 추출물을 이용한 타 실험생물과의 생물 검정 비교 평가에서 식물플랑크톤의 개체군 성장률은 타 생물검정 시험방법에 비하여 민감도가 매우 높았다. 우선 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)의 발광 저해율이나 윤충류(*Brachionus plicatilis*) 신생개체(부화 2시간 이내의 neonates)의 사망률 및 해조류(*Ulva pertusa*)의 생식률(sporulation) 실험 결과보다도 매우 높은 민감도를 보였으며, 특히 성게(*Strongylocentrotus intermedius*)를 이용한 수정률 결과와 유사한 민감도를 보였다⁸⁾(Table 5). 개체군 변동이 개별 종에 대한 end point보다 민감도가 높은 이유는 단일종의 개체별 노출에 의한 사망률 보다는 개체군에 미치는 영향이 더 민감함을 보여 주며, 단일종에 의한 생물검정과 더불어 multiple species를 이용한 실험을 병행하는 것이 바람직하다¹⁸⁾.

본 실험 결과 대부분의 하수오니 추출액의 72h IC₅₀은 1~6%의 범위를 보였으나, 해양 오염 퇴적물의 추출액을 이용한 실험에서 96h IC₅₀은 40~80% 정도로 나타나 하수오니 추출액의 독성이 해양 오염 퇴적물 보다 훨씬 높았다¹⁵⁾. 하수오니를 이용한 본 실험과 동일한 종을 이용한 실험결과, *I. galbana*는 48h IC₅₀이 1.0%²⁸⁾, 그리고 *S. costatum*을 이용한 96h IC₅₀=0.77~42.0%로 본 실험과 유사한 결과를 보였다²⁹⁾.

일반적으로 하수오니의 해양투기 시 투기 후 30분 이내에 약 1000배, 그리고 1시간 이내에 약 10,000배로 희석된다³⁰⁾. 본 실험 결과 식물플랑크톤 5종에 대한 NOEC는 <0.4~12.5%로 나타나 하수오니의 해양투기에 따른 식물플랑크톤에 대한 급성 독성은

나타나지 않을 것으로 판단된다. 그러나 실제 동해 병 투기해역에서 해양투기에 따른 급성독성실험결과, 퇴적물의 공극수(윤충류 및 발광박테리아 생물 검정) 및 퇴적물(저서성 단각류 생물검정)을 이용한 생물검정 결과, 투기수역과 비투기수역 간의 뚜렷한 차이는 없었으나, 두 수역간의 저서생물 군집 구조는 매우 상이하여³¹⁾, 투기에 따른 군집구조 변화가 심각하였으며, 따라서 오염물질의 장기 노출에 따른 만성독성의 가능성이 매우 높았다.

동일한 하수오니 추출물을 이용한 생물검정 end point 간의 상관분석 결과, 15개 조합 중(Table 5 참조) 성게 수정률과 발생률(r=0.77 p=0.0051) 및 성게 발생률과 해조류 생식률(r=0.86, p=0.0008)의 조합에서만 유의성이 있을 뿐 나머지 3개 조합에서는 유의성이 없었다(p>0.05). 이와 같은 결과는 동일한 물질에 대하여 실험생물별로 상이한 반응을 보이고 있음을 의미한다. 따라서 단일종을 이용한 생물 검정은 대상 물질의 독성을 오관 할 수 있으므로 해양 생태계의 주요 구성 요소인 생산자, 분해자 및 소비자를 대표하는 최소 3종을 이용한 실험이 이루어져야 할 것으로 사료된다(personal communication with Dr. Persoone at Ghent University in Belgium). 현재 개발 중인 6종의 해양생태독성평가를 위한 공정 시험법(동·식물플랑크톤, 해조류, 발광박테리아, 어류 및 저서생물)이 완성되는 2006년에는 다양한 해양생물을 이용한 통합적 독성평가가 가능할 것으로 생각된다.

요 약

해양 생태계의 기초생산자인 식물플랑크톤 5종을

이용한 생물검정용 표준시험생물로서의 가능성을 구명하기 위하여 염분내성, 표준독성물질에 대한 민감도 및 해양 투기 물질인 하수오니와 목적성 해양 유입물질인 적조구제제를 이용한 생물검정 실험을 수행하였다. 실험에 이용된 생물은 *Skeletonema costatum*, *Heterosigma akashiwo*, *Prorocentrum micans*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* 이다. 염분 내성실험 결과, 대부분의 실험종이 15 psu 이하에서 대조구에 비하여 개체군성장률이 현저히 저하되었으며, *T. suecica* 만이 5 psu 이하에서 개체군성장률이 감소하여, 염분 내성이 가장 큰 것으로 나타났다. Potassium dichromate를 이용한 표준독성물질에 대한 중별 민감도 실험 결과, *H. akashiwo*의 반수개체군성장저해농도인 72h IC₅₀=0.76mg/L로 가장 민감하였으며, *T. suecica*가 IC₅₀=8.86mg/L로 가장 둔감하였다. 해양투기물질인 하수오니와 적조구제제의 해수 용출액에 대한 *S. costatum*을 이용한 독성실험 결과, 산업폐수오니, 생활하수오니 및 축산폐수오니 등은 72h IC₅₀이 2% 이내로 매우 강한 독성을 보였으며, 정수장 오니가 72h IC₅₀=30.50%로 식물독성(phytotoxicity)이 가장 적었다. 해양 투기 하수오니 추출액의 식물플랑크톤에 대한 NOEC (no observed effective concentration)는 <0.4~1.6%로 해양 투기 하수오니의 식물독성이 강한 것으로 나타났다. 하수오니 용출액을 이용한 다양한 실험생물의 생물검정 결과, 식물플랑크톤의 개체군성장저해율을 이용한 독성실험 방법은 윤충류(*Brachionus plicatilis*) neonate의 사망률(LC₅₀), 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)의 발광저해율(IC₅₀), 해조류(*Ulva pertusa*)의 생식률(EC₅₀)을 이용한 생물검정보다 민감도가 매우 높았으며, 성게(*Strongylocentrotus intermedius*)의 수정률(EC₅₀)과는 유사한 민감도를 보여, 식물플랑크톤의 개체군성장저해율을 이용한 생물검정 방법은 유해물질의 해양식물독성평가에 매우 유용한 실험 방법으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원 R&D과제로 수행되었으며, 식물플랑크톤 시료 제공 및 배양 등에 관해 조언해주신 국립수산과학원의 임월에 박사님께 감사드립니다. 또한 하수오니 시료를 제공해 주신 한국해양연구원의 정창수 박사님과 생태독성실험에 관해 조언해 주신 벨기에 겐트대학교의 Persoone 교수님께도 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Chapman, P. M., 1992, Pollution status of North Sea sediments- an international integrative study, Mar. Ecol. Prog. Ser., 91, 313-322.
- 2) Ghirardini, A. V., T. Birkemeyer, A. A. Novelli, E. Delaney, B. Pavoni and P. F. Ghatti, 1999, An integrated approach to sediment quality assessment: the Venetian lagoon as a case study, Aquat. Ecosyst. Health Manage., 2, 435-447.
- 3) Anderson, B. S., J. W. Hunt, B. M. Phillips, R. Fairey, C. A. Roberts, J. M. Oakden, H. M. Puckett, M. Stephenson, R. S. Tjeerdema, E. R. Long, C. J. Wilson and J. M. Lyons, 2001, Sediment quality in Los Angeles Harbor, USA: A triad assessment, Environ. Toxicol. Chem., 20, 359-370.
- 4) Silvia, S., A. Re, P. Pestana, A. Rodrigues and V. Quintino, 2004, Sediment disturbance off the Tagus Estuary, Western Portugal: chronic contamination, sewage outfall operation and runoff events, Mar. Pollut. Bull., 49, 154-162.
- 5) Rand, G. M. and S. R. Petrocelli, 1985, Fundamentals of Aquatic Toxicology, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 666pp.
- 6) Lee, J. S., K. T. Lee, D. H. Kim, C. K. Kim, J. H. Lee, K. H. Park and G. S. Park, 2005a, Application of indigenous benthic amphipods as sediment toxicity testing organisms, Ocean Science Journal, 40, 17-24.
- 7) Lee, J. S., K. T. Lee and G. S. Park, 2005b, Acute toxicity of heavy metal tributyltin, ammonia and polycyclic aromatic hydrocarbons to benthic amphipod *Grandidierella japonica*, Ocean Science Journal, 40, 61-66.
- 8) Park, G. S., C. S. Chung, S. H. Lee, G. H. Hong, S. H. Kim, S. Y. Park, S. J. Yoon and S. M. Lee, 2005, Ecotoxicological evaluation of sewage sludge using bioluminescent marine bacteria and rotifer, Ocean Science Journal, 40, 91-100.
- 9) Burton, G. A., 1992, Sediment Toxicity Assessment, Lewis Publishers Inc., Chelsea, 457pp.

- 10) ISO, 1995, Water quality- marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricorutum*. the International Organization for Standardization, ISO 10253, 7pp.
- 11) NIWA, 1998, Marine Algae (*Dunaliella tertiolecta*) Chronic Toxicity Test Protocol, National Institute of Water and Atmospheric Research, New Zealand, 30pp.
- 12) APHA, AWWA and WEF, 1995, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, D.C., pp. 1-47
- 13) Hooten, R. L. and R. S. Carr, 1997, Development and application of a marine sediment pore-water toxicity test using *Ulva fasciata* zoospores, Environ. Toxicol. Chem., 17, 932-940.
- 14) Cheung, Y. H., A. Neller, K. H. Chu, N. F. Y. Tam, C. K. Wong, Y. S. Wong and M. H. Wong, 1997, Assessment of sediment toxicity using different trophic organisms, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 32, 260-267.
- 15) Wong, Y. S., N. F. Y. Tam, P. S. Lau and X. Z. Xue, 1995, The toxicity of marine sediments in Victoria Harbour, Hong Kong, Mar. Pollut. Bull., 31, 4-12.
- 16) Weideborg, M., E. A. Vik, G. D. Ofjord and O. Kjonno, 1997, Comparison of three marine screening tests and four Oslo and Paris commission procedures to evaluate toxicity of offshore chemicals, Environ. Toxicol. Chem., 16, 384-389.
- 17) Rao, M. U. and V. Mohanchand, 1990, Toxicity of zinc smelter wastes to some marine diatoms, Indian J. Marine Sciences, 19, 181-186.
- 18) Walsh, G. E. and S. V. Alexander, 1980, A marine algal bioassay method: results with pesticides and industrial waste, Water Air Soil Pollut., 13, 45-55.
- 19) Overnell, J., 1976, Inhibition of marine algal photosynthesis by heavy metals, Mar. Biol., 38, 335-342.
- 20) Jensen, A., B. Rystad and S. Melsom, 1974, Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. I. the tolerance of three algal species to zinc in coastal sea water, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 15, 145-157.
- 21) 문성기, 최철만, 2003, 국내 해양식물플랑크톤의 주요종과 분포에 대한 조사, 한국환경과학회지, 12, 725-733.
- 22) 환경교육연구회, 2000, 환경오염공정시험법(폐기물 토양오염분야), 대학서림, 564pp.
- 23) Shapiro, S. S. and M. B. Wilk, 1965, An analysis of variance test for normality (complete samples), Biometrika, 52, 591-611.
- 24) Snedecor, G. W. and W. G. Cochran, 1989, Statistical Methods, 8th Edition, Iowa State University Press, 502pp.
- 25) Dunnett, C. W., 1964, New table for multiple comparisons with a control, Biometrics, 20, 482.
- 26) Ravail, B. and J. M. Robert, 1985, Influence of salinity on the growth of *S. costatum* (Greville) Cleve in the waters of the Loire Estuary, Cryptogramie: Algol., 6, 51-60.
- 27) Shimura, S., H. Shibuya and S. Ichimura, 1979, Growth and photosynthesis properties of some planktonic marine diatoms at various salinity regimes, Umi/la mer, Tokyo, 17(3), 149-155.
- 28) Chapman, D. V., 1985, Preliminary observations on the interaction between plankton and sewage dumped at sea, Marine Environmental Quality Committee, Int. Co. Explor. Sea CM 1985/E, 26, 11pp.
- 29) Santoro, E. D. and T. J. Fikslin, 1987, Chemical and toxicological characteristics of sewage sludge ocean dumped in the New York Bight, Mar. Pollut. Bull., 18, 394-399.
- 30) Costello, M. J. and P. Read, 1994, Toxicity of sewage sludge to marine organisms: a review, Mar. Environ. Res., 37, 23-46.
- 31) 해양수산부, 2005, 폐기물 해양배출 종합관리 시스템 구축(I), 해양수산부, 1057pp.
- 32) MOMAF, 2004, Development of Assessment Framework on the Sewage Sludge for Ocean Disposal, Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Korea, 390pp.