

잘피의 광합성에 대한 중금속 및 TBT의 독성 영향과 중금속 흡수에 대한 연구

최태섭 · 김광용 · 이병권 · 이정석^{1*}

(전남대학교 해양학과 · ¹(주) 네오엔비즈 부설 환경안전연구소)

Preliminary Study on the Toxicity and Transfer of Heavy Metals and Tributyltin to Seagrass *Zostera marina*

Tae Seob Choi, Kwang Young Kim, Byeong-Gweon Lee and Jung-Suk Lee^{1*}

Department of Oceanography, Chonnam National University, Kwangju 500-757 and

¹Institute of Environmental Protection and Safety, NeoEnBiz Co., Byeoksan Digital Valley II-904, 481-10, Kasan-dong, Kumcheon-gu, Seoul 153-783, Korea

Uptake kinetics of Cd and Zn by leaves and rhizome of the seagrass *Zostera marina* were examined in controlled laboratory radiotracer experiments. Subsequently, acute toxicity of Cd, Cu and TBT on photosynthetic quantum yield ($\Delta F/F_m'$) of *Z. marina* were determined, and the differential sensitivities of rapid light curve (RLC) to those harmful substances were also compared. All measurements on photosynthetic activity were determined by chlorophyll a fluorescence method using pulse amplitude modulation (PAM). Metal uptake by *Z. marina* was saturated with increasing exposure time in leaves and rhizomes. Uptake of Zn by *Z. marina* was faster than that of Cd. Metal uptake rates in *Z. marina* decreased with the increase of dissolved metal concentrations and also with the increase of biomass. The adverse effect of TBT on effective quantum yield was stronger than other pollutants. Average acute toxicity on the RLC of the seagrass exposed to TBT and two heavy metals (Cd and Cu) was going to decrease as follows: TBT > Cd > Cu. Our preliminary results in this study suggested that *Z. marina* potentially can be used as a biomonitor of harmful substances contamination in coastal waters.

Key Words: chlorophyll a fluorescence, heavy metals, TBT, toxic effect, uptake, *Zostera marina*

서 론

유해물질로 인한 연안환경의 오염은 기본적으로 인간의 활동에 의한 산업폐수 및 도시하수의 유입으로부터 발생한다(Batley 1987; Haynes and Johnson 2000; Clark 2001). 특히, 연안환경에 유입되는 미량금속(trace metals) 중에서 특히 문제가 되는 것은 Ag, Cd, Cu, Hg, Pb, Zn 등이다. 이들 미량 금속은 모두 자연적으로 존재하는 물질로서 일정 농도 이하에서는 독성이 나타나지 않을 뿐만 아니라 Cu나 Zn과 같은 일부 미량 금속은 생물체에게 필수적인 영양소이다(Lyngby and Brix 1982; Lobban and Harrison 1997). 이에 반해 Ag,

Cd, Hg은 필수영양소가 아니면서 그 독성은 매우 강하다(Ralph and Burchett 1998). 산업화 이후 지나치게 많은 양의 금속들이 연안환경으로 유입되면서 생태계의 자연 정화 능력을 초과하게 되고, 결과적으로 많은 연안 생태계를 훼손하는 원인으로 주목 받게 되었다(Rainbow *et al.* 1990). 또한 국내 연안환경에서도 산업시설이나 항만 부근에서 심각한 중금속 오염이 보고되어 관심이 증가하고 있다(Lee *et al.* 1998; Kang *et al.* 2000; Shim *et al.* 2000). 금속의 한 종류인 주석은 그 자체로서는 환경적인 문제를 크게 유발하지 않지만, 주석에 부틸기나 페닐기와 같은 작용기가 결합된 유기주석화합물(TBT 또는 TPhT)은 강력한 생물 독성 때문에 선박의 하부나 수중 구조물 등의 표면에 생물의 부착을 방지하는 방오도료(antifouling paint)나 biocide로 널리 활용되어 왔다(Huggett *et al.* 1992; Pflugmacher *et al.* 2000; Terlizzi *et al.* 2001). 방오도

*Corresponding author (bioassay@paran.com)

료로서 유기주석화합물의 사용이 점차 제한되는 추세지만 아직 환경에 잔존하는 상당량의 TBT는 국내에서도 환경적인 문제를 야기하고 있는 것으로 알려져 있다(Shim *et al.* 2000).

해산 현화식물 군락은 생물 다양성이 높고, 생태적, 경제적 가치가 높은 생물들의 산란장이나 보육장으로 이용되는 등 보존가치가 높다(Hemminga and Durate 2000). 또한 이들은 연안 및 하구생태계를 지탱할 수 있는 일차생산력을 가지고 있으며, 밀도 높은 이들의 군락은 저층 퇴적물을 안정하게 하고, 해일이나 파도와 같은 자연재해로부터 생태계를 보호하는 역할까지 수행하고 있다(Hemminga and Duarte 2000; Duarte 2002). 그러나 이들 해산 종자식물의 분포와 생물량은 지난 수십 년 동안 꾸준히 감소하는 추세에 있다(Larkum and West 1990; Hall *et al.* 1999). 연안환경에서 현화식물 군락의 감소는 부영양화, 준설에 의한 퇴적물의 유입(siltation) 또는 양식 등과 같은 인간의 영향이 가장 크게 작용하고 있는 것으로 알려져 있다(Hemminga and Duarte 2000; Duarte 2002). 저서조류와 식물플랑크톤의 광합성에 대해 일부 중금속과 TBT의 매우 낮은 농도(ng L^{-1} - $\mu\text{g L}^{-1}$) 수준에서의 저해효과가 일부 연구에서 보고된 바 있다(Molander *et al.* 1992; Petersen and Gustavson 2000). 하지만 현화식물 군락 감소에 대한 이들 중금속이나 유기주석화합물 같은 인공적인 오염물질의 영향에 대해서는 거의 알려지지 않았다(Short and Wyllie-Echeverria 1996; Peters *et al.* 1997; Duarte 2002).

해조류 중 일부(예를 들면, 갈조류 *Fucus vesiculosus*와 *Laminaria digitata*, 녹조류 *Ulva lactuca*와 *Enteromorpha sp.*)는 세계 여러 연안에서 중금속 오염에 대한 생물학적 지시자로서 이용되어왔다(Phillips 1990, 1993; Rainbow and Philips 1993). 이들 해조류는 연안해안과 하구에서 흔하게 서식하고, 중금속 분석을 위해 상대적으로 쉽게 채집하여 이용할 수 있다는 장점 때문이었다. 하지만 해산식물을 생물학적 지시자로 사용하기 위해서는 중요한 가정이 있다. 즉 이들 해산식물에서 중금속의 농도가 해수 중에 존재하는 생물학적으로 이용가능한 중금속 농도와 비례해서 증가해야 한다는 것이다(Wang and Dei 1999). 현장에서 이루어진 많은 연구들은 이들 식물 조직 내 중금속 농도가 환경에 존재하는 중금속 농도를 상대적으로 정확히 반영하고 있음을 보였다(Barreiro *et al.* 1993; Haritonidis and Malea 1995). 이것은 해산식물이 흡수한 중금속은 전부 해수로부터 온 것이며, 이들 해산식물 조직 내 중금속 농도는 용존태 중금속의 생물 이용가능 수준을 의미한다(Wang and Dei 1999). 이처럼 생물학적 지시자로서 잠재적인 가능성을 갖고 있는 해산식물의 중요성에도 불구하고, 연안환경 오염의 생물학적 지시자로서 광범위하게 이용되고 있는 저서 무척추동물인 담치류에 비한다면 이들에 의한 중금속 농축과 효과에 대한 연구는 상대적으로 빈

약하다(Goldberg *et al.* 1983; O'Connor 1992).

연안 환경으로 유입된 미량금속이나 유기주석화합물 등 지속성이 강한 유해물질은 여러 경로를 통해 연안 생태계의 생물 체내로 흡수되어 해로운 영향을 미칠 수 있는 잠재성을 갖고 있다(Phillips 1993). 이들 유해물질이 생물에 미치는 잠재적인 악영향을 예측하고 평가하는데 있어 가장 중요한 단계는 생물 체내 농도수준과 생물에 미치는 독성효과 사이의 관계를 규명하는 것이다(Clark 2001). 또한 중금속이나 유기주석화합물로 오염된 연안 환경에 서식하는 대형 저서식물에 대한 영향을 연구하는데 있어 그들의 흡수기작과 속도를 이해하는 것은 생태독성학적 측면에서 뿐만 아니라, 오염된 환경의 규제와 관리에서도 매우 중요할 것이다. 특히 중금속 흡수에 대한 kinetics와 이에 영향을 미치는 요인들에 대한 연구는 중금속 오염의 다양성에 대해 잘피가 생물학적 지시자로서 역할을 평가하기 위해서는 반드시 연구되어야 한다.

본 연구에서는 방사능 추적 기법을 이용하여 잘피에 의한 중금속의 흡수 kinetics를 측정하고, 중금속에 의한 연안환경 오염을 구분하거나 평가하기 위해 생물학적 지시자로서 잘피의 이용여부를 평가하고자 하였다. 또한 잘피의 광합성에 미치는 중금속 및 유기주석화합물의 독성효과를 엽록소 형광을 이용하여 측정함으로써 이들 독성물질에 대한 보다 빠르고 정확하며 효과적인 지시자로서 양자수율($\Delta F/F_m'$)의 정확도를 평가하고자 하였다.

재료와 방법

시료의 채집과 준비

거머리말 또는 잘피(*Zostera marina*, 이하 잘피)는 2004년 10월에 경상남도 거제군 영북($128^{\circ}30'E$, $34^{\circ}50'N$) 조간대에서 엽장(total length) 크기 50 cm 정도의 개체만을 대상으로 채집하였다. 채집된 잘피는 직사광선을 피하여 아이스박스에 담은 후 실험실로 옮겼다. 잘피는 여과된 해수를 이용하여 부드럽게 세척하였으며, 특히 잘피 잎에 부착하여 서식하는 부착생물을 잘피 잎이 상하지 않게 주의하여 제거하였으며, 지하경의 경우 뿌리가 상하지 않도록 여과된 해수를 뿌려가며 퇴적물만을 주의하여 제거하였다. 그리고 계획한 실험을 시작하기 전 2-3일 동안 30 psu, $15^{\circ}C$, $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 16시간 명주기 하에서 실험실 조건에 순응시켰다.

중금속 흡수 실험

잘피에 의한 카드뮴(Cd)과 아연(Zn)의 흡수 실험은 잎과 지하경을 분리하여 측정하였으며, 잘피 잎 간의 연령차에 따른 오차를 줄이기 위하여 건강한 잘피를 선택하여 3번 잎만을 골라냈으며, 선택한 3번 잎에서는 sheath로부터 약 15-18 cm 부위를 기준으로 잎의 정단부 쪽으로 약 15 cm 길이로 잘

라내어 실험에 이용하였다. 그리고 지하경의 경우에는 잘피의 생장점(meristem)을 기준으로 4마디 정도를 잘라내어 사용하였다. 이때 상처로 인한 호흡의 증가를 피하기 위해 회복될 때까지 하루정도 암 상태로 방치하였다. 또한 실험에 이용된 잘피 잎은 Diving-PAM(Walz, Germany)을 이용하여 양자수율을 측정하여 초기 건강상태를 확인하였으며, 그 결과 잘피 잎의 평균 양자수율은 평균 0.74 ± 0.03 (S.E)로 매우 건강함을 확인하였다. 잘피 잎과 지하경은 용존태의 중금속에 노출시켰으며, 약 400 mL의 배양액에 습중량을 기준으로 5 g 정도를 각 처리구에 넣었으며, 다른 처리구와의 교차오염을 방지하기 위하여 통기(aeration)는 하지 않았다. 잘피에 의한 중금속의 흡수를 측정하는 24시간 동안 모든 처리구는 15°C , $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건 하에서 배양되었으며, 지하경의 경우는 모든 처리구를 호일을 이용하여 빛이 들어가지 않도록 처리하였다.

중금속 흡수를 24시간 동안 실시간으로 추적하기 위하여 방사선 동위원소를 사용하였으며, 카드뮴은 반감기 462일에 0.1 N 염산에 희석된 ^{109}Cd 를 사용하였으며, 아연은 반감기 244일에 0.1 N 염산에 희석된 ^{65}Zn 을 추적자로 이용하였다. 또한 농도에 따른 중금속 흡수의 영향을 측정하기 위하여 중금속 시약을 이용하여 1 mg L^{-1} 농도의 표준용액을 만들고, 이를 희석하여 카드뮴은 0.5, 2, 10, 30, $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 을, 아연은 1, 5, 10, 30, $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 농도구배를 만들었다. 방사선 동위원소의 방사능 측정은 노출된 후 2, 3, 9, 9.4, 12.7, 24.1 시간째에 각각 측정되었으며, 각 처리구에 오염시킨 방사선 동위원소의 세기는 두 개의 중금속 모두 46.3 kBq L^{-1} 수준이었다.

방사능 측정을 통한 중금속 흡수는 dpm값으로 환산되었으며, 최종적으로 dpm g dry wt^{-1} 로 표시되었다. 농도에 따른 중금속 흡수의 kinetics를 계산하기 위하여 kinetic 모델을 변형하여 이용하였으며(Warnau et al. 1996), 그 식은 다음과 같다.

$$U_t = U_{\text{equil}}(1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

여기서, U_t 는 시간 t에서 흡수율을 의미하며, U_{equil} 은 화학 평형이 일어났을 때의 흡수율, k는 흡수상수(hr^{-1})를 의미한다.

광합성에 대한 중금속 독성효과

잘피의 광합성에 대한 유기주석화합물(TBT)과 카드뮴(Cd), 구리(Cu)의 독성효과를 파악하기 위하여 96시간 급성 독성실험을 수행하였다. 먼저 건강한 잘피를 선택하여 생장점을 기준으로 지하경을 제거하였으며, 이 또한 상처로 인한 스트레스로부터 회복하기까지 암 상태로 하루 동안 방치하

였다. 잘피에 대한 중금속의 96시간 독성 측정은 잎만을 대상으로 광합성 형광을 이용한 광양자수율(quantum yield) 측정을 통해 이루어졌다. 하지만 중금속 흡수 실험과는 달리 잘피의 엽조(shoot) 전체를 이용하였으며, 광양자수율은 엽조 중 3번 잎만을 골라 sheath를 기준으로 정단부 쪽으로 약 10 cm 되는 위치를 매 측정시마다 반복하여 측정하였다. 중금속 흡수 실험과 같이 농도에 대한 영향을 측정하기 위해 유기주석화합물과 카드뮴, 구리의 1 mg L^{-1} 표준용액을 만들고, 이를 희석시켜 0.03, 0.3, 1 mg L^{-1} 의 농도 구배를 만들었다. 잘피의 엽조는 2 L 크기의 비이커에 TBT와 중금속으로 오염시킨 1.8 L의 배양액($0.2 \mu\text{m}$ 로 여과한 해수와 영양염을 첨가한 것)에 넣고, 15°C , $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 16시간 명주기 하에서 96시간 동안 배양하면서 1, 3, 6, 9, 30, 47, 54, 70, 96 시간째에 광양자수율을 측정하였으며, 또한 1 mg L^{-1} 농도 처리구는 30, 54, 96시간째에 빠른 광반응곡선(rapid light curve; RLC)을 함께 측정하였다. TBT의 경우는 표준용액을 아세톤(acetone)을 이용해 만들었기 때문에 TBT로 오염시킨 처리구는 동일한 양의 아세톤이 들어갈 수 있도록 하였으며, 또한 순수하게 아세톤만을 넣은 아세톤 대조구(acetone control)를 설정하였다.

엽록소 형광 측정법(Pulse amplitude modulation; PAM fluorometry)은 식물의 광합성 효율을 측정하는 데 있어서 민감하고, 비파괴적인 기술로서 최근에 널리 이용되고 있다(Schreiber et al. 1994; Macinnis-Ng and Ralph 2002). 잘피에 대한 TBT, 카드뮴, 구리의 96시간 독성실험은 잘피를 배양하면서 일정한 시간 간격으로 엽록소 형광 측정법을 이용해 측정하였다. 광양자수율(quantum yield)은 광합성 명반응의 반응중심 중 하나인 광계 2(photosystem II, PS II)의 광화학 반응에 대한 양자수율 또는 양자효율(quantum efficiency; Φ_p)을 의미하며(Schreiber et al. 1994), 다음 식 (2)을 통해 계산하였다.

$$\Phi_p = (Fm' - F) / Fm' = \Delta F / Fm' \quad (2)$$

여기서, Fm' 은 명적응(light-adapted) 상태에서 포화광에 의해 유도된 최대형광을 의미하며, F 는 명적응 후 매우 낮은 광도에서의 초기형광을 의미한다. 또한, 30, 54, 96시간째에 측정된 빠른 광반응곡선은 광양자수율을 바탕으로 전자 전달속도(electron transport rate; ETR)를 계산하고, 이를 이용해 광합성-광 곡선을 추정하여 상대적인 광합성 변수들($rETR_{\text{max}}$ 또는 initial slope; α)을 구하였다(Schreiber et al. 1994). 빠른 광반응곡선의 측정의 광량 $0-1000 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 범위 내에서 총 9개의 광조건 하에서 측정하였다. 엽록소 형광을 이용하여 측정된 광도에 따른 전자전달속도는 비선형 회귀법으로 적합하여 다양한 광합성 매개변수들을 구하였

다. 광저해가 없는 경우는 식 (3)을, 광저해가 있는 경우는 식 (4)을 사용하였다(Webb *et al.* 1974; Platt *et al.* 1980).

$$rETR = rETR_{max}(1 - e^{-(\alpha Ed/rETR_{max})}) \quad (3)$$

$$rETR = rETR_s(1 - e^{-(\alpha Ed/rETR_{max})}) e^{-(\beta Ed/rETR_s)} \quad (4)$$

여기서 $rETR$ 는 구하고자 하는 전자전달률이며, $rETR_{max}$ 은 포화광에서 단위 엽록소당 최대 전자전달률을 의미하며, α 는 광합성의 최대 양자수율과 관련된 매개변수로서 광합성-광도 모델의 초기 기울기를 나타낸다. E_d 는 조사된 광량을 의미하며, 또한 식 (4)의 β 는 광저해 정도를 나타내는 매개변수이고, 광저해가 없을 때 $\beta = 0$ 이 되면서 $rETR_s$ 와 $rETR_{max}$ 은 동일하게 된다. 광저해가 있는 경우, $rETR_{max}$ 은 식(5)을 이용하여 구하였다.

$$rETR_{max}(rETR_{max}) = rETR_s [\alpha/(\alpha + \beta)] / [\beta/(\alpha + \beta)]^{\beta/\alpha} \quad (5)$$

또한 초기 기울기와 최대전자전달율을 이용하여 광적응 매개변수인 E_k 를 Talling의 정의를 이용하여 구하였다(Cullen 1991).

$$E_k = rETR_{max} / \alpha \quad (6)$$

방사능의 측정

잘피에 의한 중금속의 흡수 효율을 측정하기 사용한 방사선 물질의 방사능은 well 타입의 NaI 크리스탈 감지기가 장착된 감마 카운터를 이용하여 측정하였다. ^{109}Cd 에 의한 광전자의 방출(photon emission)은 22 keV 대역에서, ^{65}Zn 에 의한 광전자 방출은 1,115 keV 대역에서 측정되었다. 광전자 방출을 통해 방사능 세기에 대한 측정시간은 5분 동안이었으며, 얻어진 값들은 표준 방사능 세기와 반감기 교정을 통해 disintegration per minute(dpm)으로 전환하였다.

결 과

중금속의 흡수

잘피 잎과 지하경에 의한 카드뮴과 아연의 흡수는 노출시간과 함께 증가하였으며, 잘피 잎과 지하경 모두 일정 시간이 지나면서 포화되는 경향을 보였다(Fig. 1). 하지만 잘피의 중금속 흡수에 대한 포화 속도는 잎과 지하경에서 약간의 차이를 보였다. 잘피 부위별 시간에 따른 포화 패턴의 차이는 용존태의 중금속이 식물 조직 내로 흡수될 때 보여주는 금속 특이성이나 종 특이성 때문인 것으로 추측된다(Wang and Dei 1999). 흡수상수(k , hr^{-1}) 값은 잘피 잎의 경우 아연은 0.343, 카드뮴은 0.302로, 상대적으로 카드뮴보다는 아연에

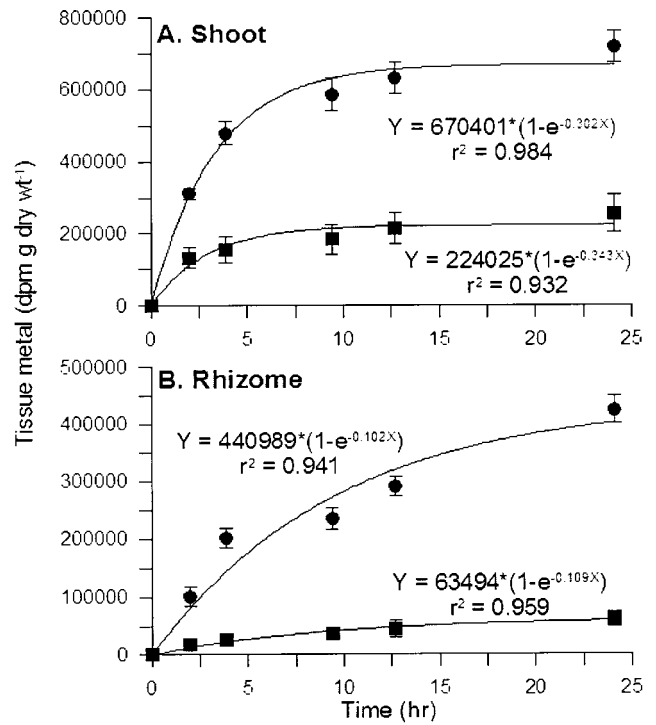


Fig. 1. Uptake kinetics of ^{109}Cd (●) and ^{65}Zn (■) in (A) shoot and (B) rhizome of the seagrass *Zostera marina* (mean \pm SE, $n = 3$).

대한 흡수속도가 약간 빠른 것으로 보이며, 지하경에서도 아연에 대한 흡수상수 값이 0.109이며, 카드뮴은 0.102로 잘피 잎에서와 마찬가지로 아연이 약간 더 빠른 속도로 흡수되는 것으로 보인다. 아연은 구리, 철, 망간과 같이 식물의 대사 작용과정 중에 요구되는 필수 미량금속인데 반해 카드뮴은 식물에게는 필요하지 않은 비필수 금속에 속한다(Lobban and Harrison 1997; Ralph and Burchett 1998). 그래서 상대적으로 카드뮴보다 아연에 대한 흡수속도가 빠른 것으로 보인다.

중금속 농도와 잘피에 의한 흡수율 사이의 상관관계를 알아보기 위해 계산된 값들을 로그 전환 후 멱함수를 이용하여 표현하였다(Fig. 2). 이때 사용한 함수 식 (7)은 다음과 같다.

$$I_w = k_u C_w^b \quad (7)$$

여기서, I_w 는 잘피의 조직 내로의 중금속 흡수율($\mu\text{g metal g}^{-1} [\text{dry wt}] \text{d}^{-1}$)을 의미하며, k_u 는 용존태 중금속으로부터 잘피 조직 내로 흡수되는 효율에 대한 상수, C_w 는 해수 중에 들어있는 중금속의 농도, b 는 상수로 로그 변환된 I_w 와 C_w 사이의 상관관계의 경사도를 의미한다. 위 식은 이때패류를 포함한 저서 무척추 동물의 중금속 흡수를 평가하는데 많이 사용되는 식이다(Lee *et al.* 1998).

이 식을 이용해서 얻은 결과에 따르면 카드뮴과 아연 모두

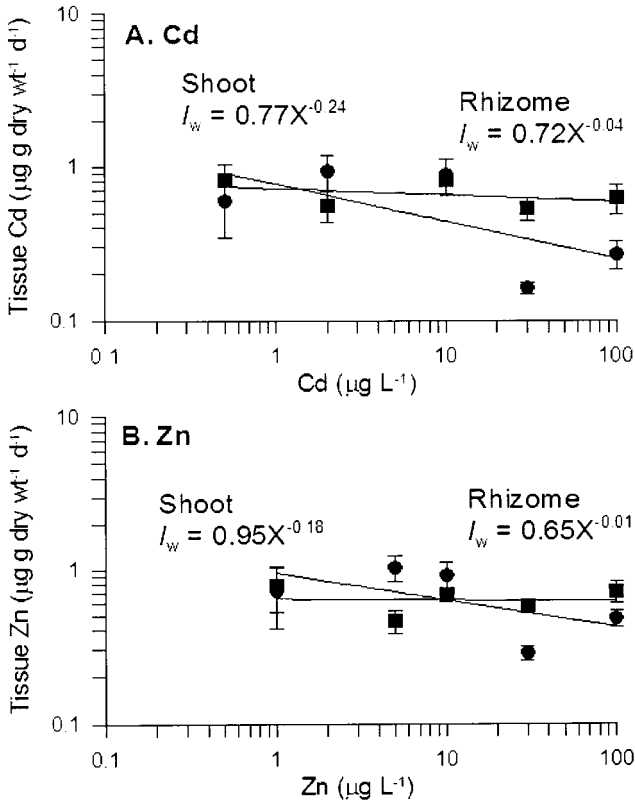


Fig. 2. Relationship between uptake rate ($\mu\text{g g}^{-1}[\text{dry wt}] \text{d}^{-1}$) of (A) Cd and (B) Zn in shoot (●) and rhizome (■) of *Zostera marina* and dissolved metal concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$). Values and error bars represent a mean of 3 replicates and standard error. Log transformed metal uptake (I_w) was linearly regressed in a power function.

중금속 농도에 대한 잘피의 흡수율은 역 상관관계를 보였다 (Fig. 2). 카드뮴의 경우 잘피 잎에서의 상관관계 경사도는 -0.24 로 농도가 증가함에 따라 흡수율은 감소하는 것으로 나타났다. 지하경은 -0.04 로 잘피 잎에 비해 해수 중의 중금속 농도와는 상관없이 일정한 속도로 흡수하는 것으로 보인다 (Fig. 2A). 아연에 대해서도 카드뮴과 유사한 역 상관관계의 결과를 얻었다 (Fig. 2B). 잘피 잎의 흡수율과 아연 농도의 상관관계는 카드뮴보다는 약간 작지만 -0.18 로 뚜렷한 역 상관관을 보였으며, 지하경은 -0.01 로 잎에 비해 아연의 농도와 관계없이 일정한 속도로 중금속을 잘피의 조직 내로 흡수한다는 결과를 보였다. 또한 중금속 흡수 효율에 대한 상수는 카드뮴의 경우 잎과 지하경에서 0.77 과 0.72 로 유사한 값을 보인 반면, 아연에 대해서는 잎에서 0.95 , 지하경에서 0.65 로 잎에서의 흡수 효율 상수가 약간 높은 값을 보였다.

잘피의 생물량과 중금속 흡수와의 상관관을 살펴보기 위하여 멱함수인 다음 식(8)을 이용하여 분석하였다.

$$I_i = aW^c \quad (8)$$

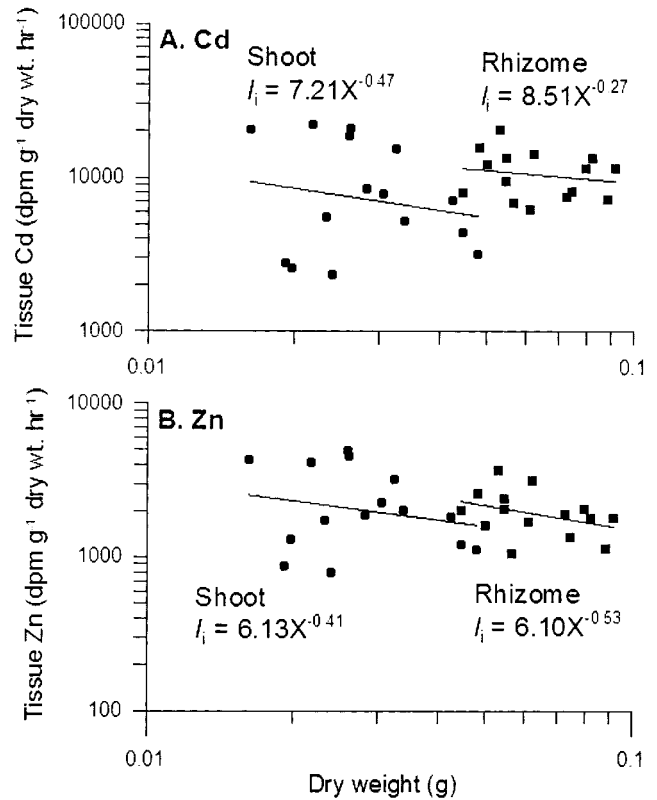


Fig. 3. Relationship between uptake rate of (A) ^{109}Cd and (B) ^{65}Zn ($\text{dpm g}^{-1}[\text{dry wt}] \text{d}^{-1}$) in shoot (●) and rhizome (■) of *Zostera marina* and dry weight (g) of pooled all samples. Log transformed isotope uptake rate (I_i) was linearly regressed in a power function.

여기서, a 는 절편상수이며, c 는 로그로 전환된 $I_i(\text{dpm g}^{-1}[\text{dry wt.}] \text{hr}^{-1})$ 와 생물량(W) 사이의 상관에서 경사도를 의미한다. 이 함수 또한 저서 무척추 동물에 의한 중금속 흡수와 생물 크기 사이의 상관관을 평가하는데 가장 많이 이용되고 있는 식이다 (Nicholas and Thompson 1982).

잘피의 생물량과 조직 내로의 중금속 흡수 사이의 관계는 카드뮴이나 아연 모두 역 상관임을 보였다 (Fig. 3). 카드뮴에 대한 잘피 잎 무게 사이의 상관에서 경사도는 -0.47 , 지하경과의 상관에서 경사도는 -0.27 이었으며 (Fig. 3A), 아연에 대해서는 잘피 잎과 지하경에 대해서 각각 -0.41 과 -0.53 의 경사도 값을 보였다 (Fig. 3B). 즉 이는 잘피의 생물량과 관계없이 잘피가 생육하는 곳이라면 지속적으로 해수 중의 중금속이 잘피에 의해 제거될 수 있음을 보여주는 결과라 할 것이다.

광합성에 대한 중금속의 효과

잘피의 광양자수율에 대한 TBT, 카드뮴(Cd), 구리(Cu)의 효과를 측정하기 위해 세 개의 농도구배에서 96시간 동안 잘피 엽조를 노출시켜 일정한 시간간격으로 잘피 엽조의 양자

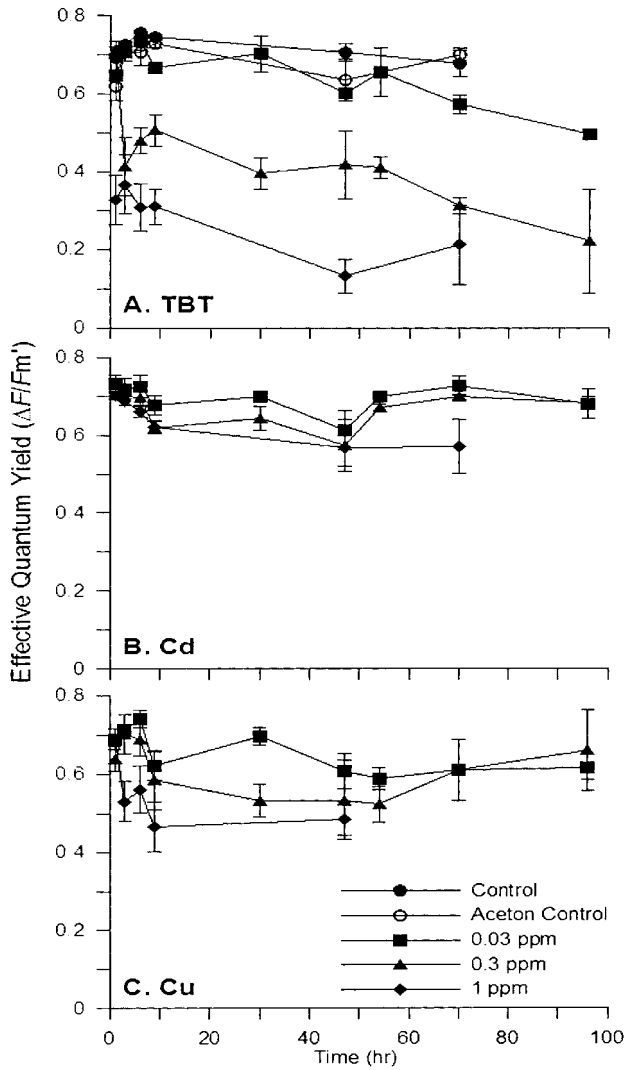


Fig. 4. Time course of the quantum yield ($\Delta F/F_m'$) up to 96 h exposure of *Zostera marina* to (A) TBT, (B) Cd and (C) Cu. Control (●), Aceton control (○), 0.03 ppm (■), 0.3 ppm (▲), and 1 ppm (◆). Error bars indicate a standard error of the mean (n = 3 - 5).

수율($\Delta F/F_m'$)을 측정하였다(Fig. 4). TBT는 농도 증가와 노출시간에 따라 양자수율이 급격하게 감소하였다(Fig. 4A). 특히, 0.3과 1 mg L^{-1} 농도로 오염시킨 처리구는 96시간 뒤에 회복할 수 없는 수준의 양자수율 값을 보였으며, 잘피 엽조는 색소의 파괴로 인하여 완전히 탈색되어 버렸다. TBT 0.3과 1 mg L^{-1} 농도 처리구는 잘피 엽조를 넣은 후 1시간째부터 급격하게 양자수율이 감소하였으며, 이후 약간 회복되는 경향을 보이다 24시간에서 48시간 사이에 잘피의 양자수율은 두드러지게 감소하였다. 카드뮴의 경우에는 노출 후 초기 10 시간까지 양자수율의 감소를 보이다가 10시간 이후 96시간 까지 약간의 회복과 함께 뚜렷한 변화 없이 일정수준으로 지속되었다. 하지만 카드뮴 1 mg L^{-1} 농도 처리구는 노출 초기 10시간까지 양자수율이 감소한 후, 회복 없이 일정수준을 유

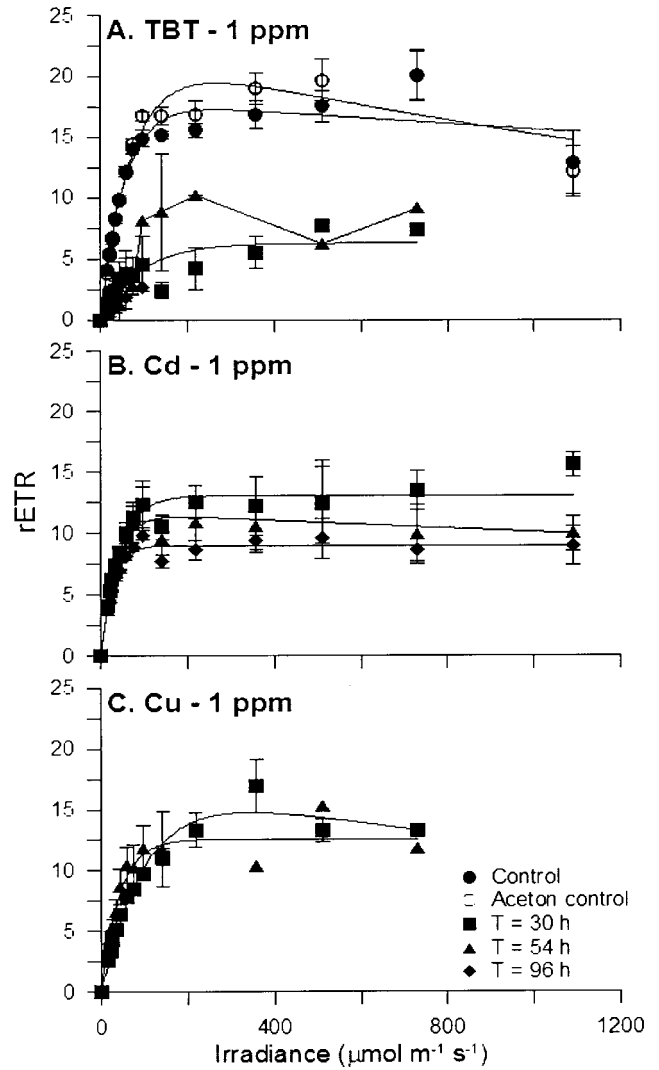


Fig. 5. A series of rapid light curves collected during the exposure of *Zostera marina* to (A) TBT, (B) Cd and (C) Cu. Control (●), Aceton control (○), 30 h (■), 54 h (▲), and 96 h (◆). Error bars indicate a standard error of the mean (n = 3 - 5).

지하였으며, 70시간째에는 다른 처리구에 비해 뚜렷한 차이를 보였다(Fig. 4B). 구리도 카드뮴과 유사한 반응을 보였으며, 노출 초기 10시간 내에 가장 큰 독성 효과를 발휘하였으며, 그 이후 96시간까지 일정한 수준의 양자수율을 유지하였다(Fig. 4C). 하지만 카드뮴보다는 구리 농도가 증가하면서 이와 함께 독성효과도 분명하게 나타났다.

잘피 광합성에 대한 TBT, 카드뮴, 구리의 독성효과는 최대전자전달율($rETR_{max}$)을 기준으로 TBT > Cd > Cu 순으로 나타났다(Fig. 5 and Table 1). 세 가지 유해물질에 대해서 96 시간 급성 독성을 실험하는 동안 30, 54, 96시간째 측정된 빠른 광반응곡선(RLCs)에서 계산된 매개변수인 최대전자전달율 또한 시간이 경과하면서 감소하였다(Table 1). TBT의 경우 54, 96시간째, 구리는 96시간째에 강력한 독성효과로

Table 1. Comparison of characteristic photosynthetic parameters for *Zostera marina* exposed to TBT, Cd and Cu. Two different equations were used for fitting rapid light curves

Treatment	Photosynthetic Parameters			
	$rETR_{max}$	Initial slope(α)	E_k	r^2
Control ^a	18.63	0.327	53.98	0.940
Aceton Control ^a	23.71	0.301	78.68	0.948
TBT				
30 h ^b	6.30	0.070	90.63	0.750
54 h ^a	-	-	-	-
96 h ^a	-	-	-	-
Cd				
30 h ^b	13.03	0.317	41.10	0.945
54 h ^a	11.94	0.327	36.53	0.943
96 h ^a	9.03	0.347	26.02	0.962
Cu				
30 h ^a	18.89	0.167	113.06	0.972
54 h ^b	12.56	0.301	41.70	0.928
96 h ^a	-	-	-	-

^aRapid light curve had fitted using equation with photoinhibition

^bRapid light curve had fitted using equation without photoinhibition

인하여 빠른 광반응곡선을 측정하였지만 광합성-광도 모델을 이용하여 설명할 수 없었다. 그래서 다양한 광합성 매개변수들을 구하지 못했다(Table 1). TBT의 경우, 이미 30시간째의 빠른 광반응곡선은 대조구에 비해 두드러지게 낮아졌으며(Fig. 5A), 카드뮴은 시간이 경과할수록 단계적으로 감소하는 경향을 보였다(Fig. 5B). 하지만 구리 처리구의 경우 30시간과 54시간째에 뚜렷한 차이가 없었으나, 96시간째에는 빠른 광반응곡선의 측정도 불가능하였다(Fig. 5C). 광합성 매개변수 중 초기경사(α)는 TBT를 제외하고 대조구와 카드뮴, 구리 처리구 간에 뚜렷한 차이가 없었으며, 광적용 매개변수 또한 분명한 값의 차이를 보여주진 않았다(Table 1). 하지만 카드뮴 처리구에서는 시간이 경과하면서 감소하는 경향을 보였다.

고 찰

잘피에 의한 중금속의 흡수를 측정된 본 연구 결과는 해조류를 이용하여 측정된 다른 연구와는 차이를 보였지만(Wang and Dei 1999), 다른 해산 현화식물의 연구결과와 유사한 경향을 보였다(Warnau et al. 1996). 해산식물에 의한 중금속 흡수는 기본적으로 노출 농도와 노출 시간에 따라 달라지며(Fabris et al. 1982, Malea et al. 1995), 수동적인 흡수와 식물 엽체 표면적에 따라 조절된다(Ward 1989). 녹조(*Ulva*

lactuca)와 홍조(*Gracilaria blodgettii*)에 대한 카드뮴(Cd)과 아연(Zn), 크롬(Cr), 셀레늄(Se) 연구에서, 해조류에 의한 중금속 흡수는 노출 시간에 따라 직선으로 증가하는 경향을 보였다(Wang and Dei 1999). 하지만 본 연구에서 잘피의 잎과 지하경 모두 일정한 노출시간이 지난 뒤에 포화되는 경향은 해산식물에 의한 중금속의 흡수가 능동적인 흡수에 의해 조절되고 있음을 보여준 것이다(Warnau et al. 1996). 해산 현화식물 *Posidonia oceanica*의 엽조(잎)를 대상으로 다섯 종류(Zn, Ag, Cd, Cs, Am)의 중금속 흡수 연구의 결과, 은(Ag)과 세슘(Cs)은 노출시간이 지나면서 포화되는 경향을 보였다(Warnau et al. 1996). 해조류에 의한 중금속 농축은 세포벽에 존재하는 다당류와 함께 초기흡수 경향이 조절되며, 그 뒤를 이어 고농도 조건 하에서는 폴리페놀(polyphenol)을 함유하고 있는 세포막 기낭(membrane vacuoles)에 의한 흡수가 일어난다(Philips 1990). 그러나 중금속 흡수 기작은 중금속에 따른 금속 특이성 그리고 서로 다른 생태적 조건에 따라서 달라질 수 있다(Wang and Dei 1999).

아연에 대한 잘피 잎과 지하경의 흡수 상수(k)가 카드뮴에 비해 상대적으로 약간 높은 값을 보인 것은, 아연이 알코올 탈수소효소, RNA 중합효소, 호흡효소 활성, 식물 성장호르몬의 생합성 등과 관련된 필수 영양염이므로 좀 더 능동적으로 잘피 조직 내로 흡수된 결과로 보인다(Wahbeh 1984; Lobban and Harrison 1997). 또한 중금속 농도에 따른 흡수율의 차이가 역 상관관계를 보이거나 아니면 상관관계가 없는 결과를 보인 것도 잘피에 의한 중금속의 흡수가 수동적이지만은 않다는 것을 보여준 것이다. 잘피의 생물량과 중금속 흡수율 사이의 관계에서도 상관관계가 없거나 약간의 역 상관관계를 보인 것은 다른 연구 결과와도 일치하고 있다(Price and Coles 1992).

잘피의 광합성에 대한 유해물질 독성 효과를 측정된 본 연구의 결과는 TBT가 가장 강력한 독성효과를 발휘하였으며, 카드뮴(Cd)과 구리(Cu)는 서로 비슷한 독성 효과를 갖는 것으로 보였다. 본 연구에서 양자수율($\Delta F/F_m$)을 기준으로 한다면 카드뮴보다는 구리의 독성이 강하게 나타났으며, 최대 전자전달율($rETR_{max}$)에서는 카드뮴의 독성이 구리보다 강하였다. TBT는 강력한 독성효과 때문에 국내에서 사용이 금지되었다. 하지만, 사용금지 이전까지 유입되어 해양퇴적물이 농축된 TBT는 앞으로도 지속적인 공급원으로 작용할 수 있다(Shim et al. 2000). 즉, 해수에서 TBT의 반감기는 수일에서 수주 정도에 농도 수준은 $ng L^{-1} - \mu g L^{-1}$ 수준이지만, 퇴적물에서 반감기는 수개월에서 수년 이상이며 농도 수준도 $\mu g kg^{-1} dw - mg kg^{-1} dw$ 로 무시할 수 없는 수준이며(Fent 1996; Jensen et al. 2004), 해수에서 TBT의 공급원이 차단된다 하더라도 TBT를 함유한 해양퇴적물이 공급원으로 작용하여 주변에 서식하는 생물들에게 지속적으로 영향을 줄 수 있다(de Mora et al. 1995; Evans et al. 1995; Fent 1996). 특히 잘피

와 같은 해산 종자식물은 퇴적물에 지하경을 두고 해조류와는 달리 지하경의 뿌리를 통해 많은 양의 영양분을 흡수하는 생태 특성 때문에 치명적인 손상을 초래할 것이다.

중금속의 해산식물에 대한 독성효과는 금속의 결합 위치, 결합 위치에 대한 경쟁, 중금속 이온의 speciation, 화학적 상호작용(complexing 또는 chelating), 그리고 이동성 등에 의해 조절된다(Ward 1989; de Filippis and Pallaghy 1994). Lynby와 Brix(1984)에 의하면 잘피에 대한 중금속 독성은 $Hg > Cu > Cd > Zn > Cr > Pb$ 과 같은 순서로 약해진다고 한다. 또 해양식물과 동물에 대한 중금속의 상대적인 독성을 평가한 Kennish(1992)의 리스트는 $Hg > Cd > Cu > Zn > Ni > Pb > Cr > Al > Co$ 의 순서를 보여주었다. 본 연구에서 사용된 구리(Cu)와 카드뮴(Cd) 중 카드뮴은 비록 식물 대사 작용에서 비교적 중요하지 않은 미량금속이지만, 구리는 이를 함유한 플라스토시아닌이 있으며, 시토크롬 *f*와 광계 2 사이의 전자전달에 중요한 금속으로 알려져 있다(Govindjee 1995). 또한 해산식물의 광합성은 구리의 독성에 상당히 민감한 것으로 알려져 있는 반면에(Ouzounidou 1994), 두 가지 독성 강도 순서에서 구리와 카드뮴의 순서가 약간의 차이를 보여준 것처럼 본 연구 결과에서도 뚜렷한 구분을 짓기는 어려웠다. 하지만 엽록소 형광측정법을 이용하여 해산식물 *Halophila ovalis*에 대한 중금속의 영향을 측정하고, 이를 통해 중금속에 대한 스트레스 반응이 특정 중금속에 따라 달라질 수 있음을 보여준 Ralph와 Burchett(1998)의 연구에서 광합성에 영향을 미치는 중금속들은 Cu나 Zn이며, 최소한의 영향을 미치는 것은 Cd이나 Pb인 것으로 보고 하였다. 중금속은 여러 단계에서 식물의 이산화탄소 고정을 교란하는 것을 통해 식물의 광합성 기구에 영향을 미친다(Clijsters and van Assche 1985). 특히, 광계 2(photosystem II, PS II) 안에서 광호흡 또는 효소의 활성을 중금속에 의해서 저해 받을 수 있으며, 광계 2의 산화활동이 일어나는 위치 또한 저해 받을 수 있다(Macinnis-Ng and Ralph 2002). 또한 Zn, Cd, Hg, Pb, Cu 등의 중금속 들은 색소 합성을 저해함으로써 엽록소의 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Clijsters and van Assche 1985; Prasad and Strzalka 1999). 하지만 중금속은 광합성 기구의 전반적인 기능을 교란하는데 반해 영구적인 손상은 입히지는 않는 것으로 알려져 있다(Prasad and Strzalka 1999).

TBT나 중금속과 같은 유해물질에 의해 손상을 입는 것으로 제안되는 기작들 중에는 효소의 저해(Stobart et al. 1985), 광합성 기구 중 광계 반응중심의 다양한 곳에서의 저해(Clijsters and Van Assche 1985; Baron et al. 1995), 광저해 현상의 상승(Vavilin et al. 1995) 그리고 산화스트레스(Luna et al. 1994; Okamoto et al. 1996; Weckx and Clijsters 1996; Clijsters et al. 1999), 플라스토시아닌(plastocyanin) 기능의 장애

(Kimimura and Katoh 1972), 지질 대사 작용의 변화(Jones and Harwood 1993), 중요한 미량원소 흡수기작의 교란(Zolotukhina 1995) 등이 있다. 특히 광합성은 모든 연안 생태계의 에너지를 공급하는 가장 기본적인 생리기작으로 이에 대한 유해물질의 저해는 연안 생태계의 생산성을 감소시킬 뿐만 아니라 생태계 전체의 에너지 수지에 막대한 영향을 미침으로써 생태계 구조와 기능에 치명적인 손상을 가져올 수 있다. 또한 실내 연구를 바탕으로 한 연구결과들의 현장 적용에서 다양한 유해물질들이 복잡한 환경 하에서 실제로는 독성의 발현이 강해지거나 약해질 수 있음을 고려하여 현장에서의 독성연구가 병행되어야 할 것이다.

본 연구는 생태적 보존가치가 높은 잘피에 대한 유해오염물질의 영향을 파악하는 새로운 평가 기법을 개발하기 위한 목적의 일환으로 수행되었다. 비록 현실적인 수준보다 높은 유해물질 농도에 대한 급성 영향만을 평가하였지만, 본 연구는 유해물질과 광합성간의 뚜렷한 농도-영향 관계를 파악하였고, 독성 중금속의 체내 전이에 대한 생체 역학적 모델(biokinetic model) 수립을 위한 생리적 상수를 파악함으로써, 향후 현실적인 농도 수준에서 장기적인 만성 영향을 평가하는 연구를 위한 기반 연구로서 큰 의미를 갖고 있다. 특히 해양 환경 내 유해물질의 영향 연구가 어류 등 동물 위주로 진행되고 있는 바, 생리적인 특성이 매우 다른 해산 식물에 대한 유해 물질의 생리적 독성 영향에 대해서는 아직 많은 연구가 진행되지 못하고 있는 것이 사실이다. 따라서 해양 환경 내 다양한 유해오염물질, 특히 제초제와 같이 식물에 특이적인 독성영향을 미칠 수 있는 오염물질에 대해서는 보다 체계적인 평가와 연구가 지속될 필요가 있고, 그러한 연구 결과는 해산식물 보호를 위한 안전기준 설정과 관리방안 도출에 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부의 수산특정연구개발사업의 지원을 받아 이루어졌습니다.

참고문헌

- Baron M., Arellano J.B. and Gorge J.L. 1995. Copper and photosystem II: a controversial relationship. *Physiol. Plant* **94**: 174-180.
- Barreiro R., Real C. and Carballeira A. 1993. Heavy-metal accumulation by *Fucus ceranoides* in a small estuary in North-West Spain. *Mar. Environ. Res.* **36**: 39-61.
- Batley G.E. 1987. Heavy metals speciation in water, sediments and biota from Lake Macquarie, New Souther Wales. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* **38**: 591-606.
- Clark R.B. 2001. *Marine Pollution*. 5ed. Oxford University Press,

- New York.
- Clijsters H. and Van-Assche F. 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosyn. Res.* **7**: 31-40.
- Clijsters H., Cuypers A. and Vangronsveld J. 1999. Physiological response to heavy metals in higher plants-defence against oxidative stress. *Z. Naturforsch.* **C54**: 730-734.
- Cullen J.J. and Lesser M.P. 1991. Inhibition of photosynthesis by ultraviolet radiation as a function of dose and dosage rate: results for a marine diatom. *Mar. Biol.* **111**: 183-190.
- de Filippis L.F. and Pallaghy C.K. 1994. Heavy metals: sources and biological effects. In: Rai L.C., Caur J.P. and Soeder C.J. (eds), *Algae and water pollution: Advances in Limnology Series*, Vol. 42. Schweizerbart, Stuttgart, pp 32-77.
- de Mora S.J., Stewart C. and Phillips D. 1995. Sources and rate of degradation of tri(*n*-butyl)tin in marine sediments near Auckland, New Zealand. *Mar. Pollut. Bull.* **30**: 50-57.
- Duarte C.M. 2002. The future of seagrass meadows. *Environ. Cons.* **29**: 192-206.
- Evans S.M., Leksono T. and McKinnell P.D. 1995. Tributyltin pollution: a diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. *Mar. Pollut. Bull.* **30**: 14-21.
- Fabris G.J., Harris J.E. and Smith J.D. 1982. Uptake of cadmium by the seagrass *Heterozostera tasmnica* from Corio Bay and Wester Port, Victoria. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* **33**: 829-836.
- Fent K. 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* **26**: 1-117.
- Goldberg E.D., Koide M., Hodge V., Flegal A.R. and Martin J. 1983. U.S. mussel watch: 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. *Estuar. Cont. Shelf Sci.* **16**: 69-93.
- Govindjee R. 1995. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll a fluorescence. *Austr. J. Plant Physiol.* **22**: 131-160.
- Hall M.O., Durako M.J., Fourqurean J.W. and Zieman J.C. 1999. Decadal changes in seagrass distribution and abundance in Florida Bay. *Estuaries* **22**: 445-459.
- Haritonidis S. and Malea P. 1995. Seasonal and local variation of Cr, Ni, and Co concentrations in *Ulva rigida* C. Agardh and *Enteromorpha linza* (Linnaeus) from Thermaikos Gulf, Greece. *Environ. Pollut.* **89**: 319-327.
- Haynes D. and Johnson J.E. 2000. Organochlorine, heavy metal and polyaromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the Great Barrier Reef (Australia) environment: a review. *Mar. Pollut. Bull.* **41**: 267-278.
- Hemminga M.A. and Duarte C.M. 2000. *Seagrass ecology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hugget R.J., Seligman P.F. and Valkiers A.O. 1992. The marine biocide tributyltin. Assessing and managing the environmental risks. *Environ. Sci. Technol.* **26**: 232-237.
- Jensen H.F., Holmer M. and Dahllöf I. 2004. Effects of tributyltin (TBT) on the seagrass *Ruppia maritima*. *Mar. Pollut. Bull.* **49**: 564-573.
- Jones A.L. and Harwood J.L. 1993. Lipid metabolism in the marine brown algae *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. *J. Exp. Bot.* **44**: 1203-1210.
- Kang S.G., David A.W. and Koh C.H. 2000. Baseline metal concentration in the Asian periwinkle *Littorina brevicula* employed as a biomonitor to assess metal pollution in Korean coastal waters. *Sci. Total Environ.* **263**: 143-153.
- Kennish M.J. 1992. *Practical handbook of estuarine and marine pollution*. CRC Press, Boca Raton pp 524.
- Kimimura M. and Katoh S. 1972. Studies on electron transport associated with photosystem I. I. Functional site of plastocyanin, inhibitory effects of HgCl₂ on electron transport and plastocyanin in chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta* **283**: 279-292.
- Larkum A.W.D. and West R.J. 1990. Long-term changes of seagrass meadows in Botany Bay, Australia. *Aqua. Bot.* **37**: 55-70.
- Lee B.-G., Wallace W.G. and Luoma S.N. 1998. Uptake and loss kinetics of Cd, Cr and Zn in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: effects of size and salinity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **175**: 177-189.
- Lee K.W., Kang H.S. and Lee S.H. 1998. Trace elements in the Korean coastal Environment. *Sci. Total Environ.* **214**: 11-19.
- Lobban C.S. and Harrison P.J. 1997. *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Luna C.M., Gonzalez C.A. and Trippi V.S. 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.* **35**: 11-15.
- Lyngby E. and Brix H. 1982. Seasonal and environmental variation in cadmium, copper, lead and zinc concentrations in eelgrass (*Zostera marina* L.) in the Limfjord, Denmark. *Aquat. Bot.* **14**: 59-74.
- Lyngby J.E. and Brix H. 1984. The uptake of heavy metals in eelgrass *Zostera marina* and their effect on growth. *Ecol. Bull.* **36**: 81-89.
- Macinnis-Ng C.M.O. and Ralph P.J. 2002. Towards a more ecologically relevant assessment of the impact of heavy metals on the photosynthesis of the seagrass, *Zostera capricorni*. *Mar. Pollut. Bull.* **45**: 100-106.
- Malea P., Haritonidis S. and Kevrekidis T. 1995. The short-term uptake of copper by the two parts of the seagrass *Halophila stipulacea* (Forsk.) Ashers. and leaf-cells viability. *Fresenius Environ. Bull.* **4**: 117-122.
- Molander S., Dahl B., Blanck H., Jonsseon J. and Sjström M. 1992. Combined effects of tri-n-butyl tin (TBT) and duron on marine periphyton communities detected as pollution-induced community tolerance. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **22**: 419-427.
- Nicholas F.H. and Thompson J.K. 1982. Seasonal growth in the bivalve *Macoma balthica* near the southern limit of its range. *Estuaries* **5**: 110-120.
- O'Connor T.P. 1992. Recent trends in coastal environmental quality: results from the first five years of the NOAA mussel watch project. US Department of Commerce, NOAA, National Ocean Service, Washington DC.
- Okamoto O.K., Asano C.S., Aidar E. and Colepicolo P. 1996. Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilis* (Prasinophyceae). *J. Phycol.* **32**: 74-79.
- Ouzounidou G. 1994. Copper-induced changes on growth

- metal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plant. *Environ. Exp. Bot.* **34**: 165-172.
- Peters C.E., Grassman J.J., Firman J.C., Richmond R.H. and Power E.A. 1997. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. *Environm. Toxicol. Chem.* **16**: 12-40.
- Petersen S. and Gustavson K. 2000. Direct toxic effects of TBT on natural enclosed phytoplankton at ambient TBT concentrations of coastal waters. *Ecotoxicology* **9**: 273-285.
- Pflugmacher S., Schwarz S., Pachur H.J. and Steinberg C.E.W. 2000. Effects of tributyltin chloride (TBTCl) on detoxication enzymes in aquatic plants. *Environ. Toxicol.* **15**: 225-233.
- Phillips D.J.H. 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metal levels in estuaries and coastal waters. In: Furness R.W. and Rainbow P.S. (eds), *Heavy metals in the marine environment*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 81-99.
- Phillips D.J.H. 1993. Macrophytes as biomonitors of trace metals. In: Kramer K.J.M. (ed), *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 85-103.
- Platt T., Gallegos C. & Harrison W.G. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblage of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* **38**: 687-701.
- Prasad M.N.V. and Strzalka K. 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis. In: Prasad M.N.V. and Hagemeyer J. (eds), *Heavy metal stress in plants*. Springer, Berlin, pp. 177-138.
- Price A.R.G. and Coles S.L. 1992. Aspects of seagrass ecology along the western Arabian Gulf-Coast. *Hydrobiologia* **234**: 129-141.
- Rainbow M.H.J., Phillips D.J.H. and Depledge M.H. 1990. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates: a need for laboratory investigation of accumulation strategies. *Mar. Pollut. Bull.* **21**: 321-324.
- Rainbow P.S. and Philips D.J.H. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metal. *Mar. Pollut. Bull.* **26**: 593-601.
- Ralph P.J. and Burchett M.D. 1998. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environ. Pollut.* **103**: 91-101.
- Schreiber U., Bilger W. and Neubauer C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze E.D. and Caldwell M.M. (eds), *Ecophysiology of photosynthesis*. Springer, Berlin, pp. 49-70.
- Shim W.J., Kahng S.H., Hong S.H., Kim N.S., Kim S.K. and Shim J.H. 2000. Imposex in the rock shell *Thais clavigera* as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Mar. Environ. Res.* **49**: 435-451.
- Short F.T. and Wyllie-Echeverria S. 1996. Natural and human-induced disturbances of seagrasses. *Environ. Cons.* **23**: 17-27.
- Stobart A.K., Griffiths W.T., Ameen-Bukhari I. and Sherwood R.P. 1985. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant.* **63**: 293-298.
- Terlizzi A., Grascetti S., Gianguzza P., Faimal M. and Boero F. 2001. Environmental impact of antifouling technologies: state of the art and perspectives. *Aquatic Conservation: Mar. Freshw. Ecosys.* **11**: 311-317.
- Vavilin D.V., Polynov V.A., Matorin D.N. and Venediktov P.S. 1995. Sublethal concentrations of copper stimulate photosystem II photoinhibition in *Chlorella pyrenoidosa*. *Plant Physiol.* **146**: 609-614.
- Wahbeh M.I. 1984. Levels of zinc, manganese, magnesium, iron and cadmium in three species of seagrasses from Aqaba (Jordan). *Aquat. Bot.* **20**: 179-183.
- Wang W.-X. and Dei R.C.H. 1999. Kinetic measurements of metal accumulation in two marine macroalgae. *Mar. Biol.* **135**: 11-23.
- Ward T.J. 1989. The accumulation and effects of metals in seagrass habitats. In: Larkum A.W.D., McComb A.J. and Shepherd S.A. (eds), *Biology of seagrasses: a Treatise on the biology of seagrass with special reference to Australian Region*. Elsevier, New York, pp. 797-820.
- Warnau M., Fowler S.W. and Teyssie J.-L. 1996. Biokinetics of selected heavy metals and radionuclides in two marine macrophytes: the seagrass *Posidonia oceanica* and the alga *Caulerpa taxifolia*. *Mar. Environ. Res.* **41**: 343-363.
- Webb W.L., Newton M. and Starr D. 1974. Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*: a mathematical model. *Oecologia* **17**: 281-291.
- Weckx J.E.J. and Clijsters, H.M.M. 1996. Oxidative damage and defence mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiol. Plant.* **96**: 506-512.
- Zolotukhina E.Y. 1995. Change of microelement balance and photosynthesis of seaweeds under the action of heavy metals. *Vest. Moskovsk. Univ. Ser. XVI Biol.* **71**: 46-54.

Received 31 May 2005

Accepted 20 June 2005