

송사리(*Oryzias latipes*)를 이용한 고염해수의 생태독성 및 단기적 행동변화에 관한 연구

윤성진 · 박경수*
인양대학교 해양생명공학과

Toxicity and Behavioral Changes of Medaka (*Oryzias latipes*) by Brine Exposure

SUNG JIN YOON AND GYUNG SOO PARK*

Department of Marine Biotechnology, Anyang University, Incheon 417-833, Korea

본 연구는 해수담수화 부산물인 고염해수에 대한 어류의 단기적인 영향을 평가하기 위하여 해양생태독성평가용 표준시험종인 송사리(*Oryzias latipes*)를 이용하여 급성독성평가 및 행동패턴의 변화를 관찰하였다. 30.0 psu 해수에 순치된 송사리를 7일 동안 고염수에 노출하여 급성독성평가를 수행한 결과, 40.0~80.0 psu에 노출된 송사리의 사망률은 농도-반응의 선형관계가 뚜렷하였다. 반면 40.0 psu 이하의 염분에서는 송사리의 독성반응이 관찰되지 않았으나 50.0 psu 보다 높은 농도에서는 뚜렷한 독성 반응이 나타났다(7-day LC_{50} =51.4 psu). 송사리의 행동 변화 분석은 카메라를 통해 투시된 실시간 배경 영상을 추출하여 현재의 프레임과 차영상을 추출하는 기법을 이용하였다. 고염수 노출에 따른 송사리의 행동변화를 분석한 결과, 40.0 psu와 50.0 psu에 노출되고, 각각 3.1시간과 4.6시간 동안 초기 염분 스트레스를 받은 후에는 안정된 활동패턴을 보였다. 그러나 60.0 psu 보다 높은 농도에 노출된 송사리의 활동량은 염분노출 초기에 급격히 증가하였으며, 50% 가량 사망하였다. 70.0 psu 보다 높은 농도에서 실험생물의 활동량은 노출 후 급격히 증가하였으며, 행동패턴은 심각하게 교란되었고, 12시간 이내에 모든 개체가 사망하였다. 본 연구 결과, 고염해수에 대한 급성독성평가와 행동변화 모니터링 결과는 유의한 연관성이 나타났으며, 따라서 해수담수화에 따른 고염해수의 해양배출은 확산후 최종농도가 50.0 psu 이하로 배출될 수 있도록 조절하여야 한다. 또한 카메라 관찰을 통한 영상 분석 기법은 시험생물의 행동변화에 따른 영향을 실시간으로 모니터링할 수 있으므로 조기경보시스템으로 활용 가치가 높은 것으로 판단된다.

Acute toxicity test and behavioral change analysis of seawater acclimated Japanese medaka were conducted to identify the brine effects on fish by seawater desalination. 7 day acute toxicity test of brine revealed linear concentration-response relationship from 40.0~80.0 psu treatment groups. There was no significant brine effect for 30-40 psu groups and mass mortality was observed from >50 psu exposure (7-day LC_{50} =51.4 psu). Images from the real time camera system were analyzed to observe the changes in behavioral patterns of medaka exposed to various salinity. 40.0 and 50.0 psu exposed groups were stabilized in behavioral patterns after 3.1 and 4.6 hours, respectively and 60.0 psu group showed sharp increase in activity during first 12 hours and 50% mortality thereafter. Similar patterns were observed to 70 and 80 psu groups and both experimental groups showed 100% mortality within 12 hours. Acute toxicity test and behavioral patterns showed very similar toxicity results which revealed the increases in mortality and behavioral activities from 50.0 psu. This critical salinity for fish impacts must be implemented to brine discharge strategy by seawater desalination into the coastal area. Also, we recommend that real time camera monitoring system must be a useful tool for early warning of fish toxicity for other applications. This research was funded by Ministry of Land, Transport and Maritime Affairs, Korea.

Key words: Brine, Desalination, Toxicity, Behavioral Pattern, *Oryzias latipes*

*Corresponding author: gspark@anyang.ac.kr

서론

염분은 생물의 생식, 자원량 및 이동 경로를 결정하는 측면에서 수온과 더불어 해양의 중요한 환경요인 중 하나이다. 일부 연구자들은 염분농도의 분포에 따른 어획량이나 종의 산란분포를 추정하기도 하였으며(김과 주, 2001; 윤 등, 2006; 추, 2002; 황 등, 2008), 해조류나 어패류 등과 같은 연안 양식생물의 먹이, 생산량 증대 및 성장에 적절한 환경을 규명하기 위한 주요 항목으로써 염분을 포함하고 있다(이 등, 2005; 허 등, 2006). 그러나 이와 같은 연구들은 대부분 염분에 따른 생물 분포, 담수유입에 따른 저염분 환경에 대한 생물의 피해를 최소화하기 위한 방안으로 이루어졌기 때문에(신 등, 2007; 양 등, 2008) 해양의 고염분 환경(>40.0 psu)에서 발생하는 생물의 생태-생리적 반응에 대한 연구는 거의 이루어지지 않은 상태이다. 해양에서의 고염분 환경은 지중해의 일부 해역을 제외하고는 대부분 간조 시 물이 고인 지역에 나타나지만 주기적인 조류의 흐름에 의해 자연적으로 희석되기 때문에 해양 생태계에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 판단된다. 그러나 최근 들어 전 세계적으로 담수의 수요량이 증가함에 따라 물부족 국가에서는 해수를 담수화하기 위한 시설이 연안지역에 집중적으로 건설되어 가동되고 있기 때문에 해당 지역은 담수화 부산물질인 고염 농축수에 의한 영향으로 인해 인위적인 고염분 환경이 지속될 것으로 판단된다. 이에 일부 연구자들은 고염수(44.0-90.0 psu) 배출에 의한 배출구 주변의 소금사막화(salt desert) 및 해양생태계의 심각한 피해를 우려하고 있다(Fernández-Torquemada et al., 2005). 기존의 해수담수화 플랜트는 대부분 육상 내륙지역에 위치하고 있어 해수담수화 공정 및 부산물질의 처리비용에 많은 비용을 소비하였으며, 특히 시설 가동 후 염분에 의한 주변의 오염상태가 심각한 것으로 조사되었다(Höpner and Windelberg, 1996; Hoepner, 1999; Miri and Chouikhi, 2005). 이에 일부 국가에서는 해결책으로써 공정의 효율성, 부산물 처리비용 절약 및 해수담수화시설의 상업성 등을 고려하여 친환경적이고 지속 가능한 플랜트를 연안 지역에 건설하고, 공정 중 발생한 부산물질은 해양배출을 통해 희석시키는 방안을 모색하고 있다(Ahmed et al., 2000; Bremere et al., 2001; Darwish, 2001; Humphries and Wood, 2004). 해수담수화 플랜트가 해양에 미치는 영향은 분자나 세포단계를 넘어서 개체, 개체군, 군집 및 생태계에 이르는 광범위한 영향을 미칠 수 있을 뿐만 아니라 주변 해역의 양식 및 수산업 활동에도 큰 영향을 미칠 수 있다. 따라서 해수담수화 플랜트의 영향을 종합적으로 파악하기 위해서는 먹이사슬을 고려한 생태계 수준의 영향 평가가 고려되어야 한다. 해양생물에 미치는 담수화 부산물질의 영향을 파악하기 위한 방법은 생물검정을 통한 독성평가 방법과 생물을 이용한 배출물질의 연속적인 생태-생리적 모니터링이 필요하다. 해양에서 생물검정을 통한 잠재적인 독성 평가는 박테리아, 동식물플랑크톤 및 어류를 대상으로 해양생태독성평가를 수행하고 있으며, 생존율, 성장률 및 생식율 등을 측정요소(endpoint)로 판단한다(박 등, 2008; NIWA, 1998; USEPA, 2002). 이와 같은 독성평가 방법은 실험물질에 대한 생물의 반수치사농도(LC₅₀ 또는 EC₅₀), 무영향농도(NOEC) 및 최소영향농도(LOEC)를 산출하여 시료별 생물의 독성 민감도를 비교할 수 있는 장점이 있는 것으로 평가되고 있다(윤 등, 2006; Codina et al., 1993; Forget et al.,

1998). 그러나 생물독성실험은 실험기간, 실험종 및 실험방법이 표준화 되어 있기 때문에 일정시간이 경과한 후 실험자의 육안으로 판단한 결과를 근거로 평가되기 때문에 실제 생물이 스트레스를 받는 과정(process)을 정확히 관찰할 수 없는 단점이 있다. 해양생물을 이용한 연속적인 독성평가기술의 중요성은 이미 국내에서도 널리 인식되고 있음에도 불구하고 실험생물의 행동이나 대사패턴을 연속적으로 측정할 수 있는 장치나 관련 센서 개발이 미흡하여 연속흐름을 이용한 독성평가에 어려움이 있었다. 그러나 최근에는 국내 기술을 이용한 연속적인 측정기법을 개발함으로써 생물의 연속적인 생태-생리적 반응을 모니터링 할 수 있는 단계에 접어들었다(윤 등, 2007, 2008; Kwak et al., 2002). 생물을 이용한 수질모니터링은 주로 소형 연체동물, 갑각류 및 어류 치어와 같은 분류군을 대상으로 수행되었으며, 이들의 대사활동(Kim et al., 1999; Vijayavel et al., 2004) 및 행동(김 등, 2003; Fernández-Casalderrey et al., 1994; Saglio et al., 2001; Szulkin et al., 2006)을 장기간 연속적으로 관찰함으로써 원인물질 노출에 따른 생태-생리적 스트레스 반응을 분석하였는데, 이러한 측정방법은 기존의 전통적인 평가방법보다 독성에 대한 생물의 아치사 반응을 세밀히 관찰할 수 있는 장점이 있어 새로운 독성평가의 지표(indicator)로서 사용 가능성이 제시되었다(Hurst et al., 2007; Vijayavel et al., 2004).

해양으로 배출되는 다양한 물질들의 독성을 연속적으로 파악하기 어려운 점은 연속적인 모니터링 시스템에 적용할 수 있는 실험생물의 개발이 충분하지 않았기 때문으로 판단된다. 송사리(*Oryzias latipes*)는 사육이 용이하고 생활사(germination time)가 짧아서 분자생물학을 포함한 담수 생물검정용 시험생물로서 널리 활용되고 있다(Chen and Cooper, 1999; Sakamoto et al., 2001). 또한 본 종은 하천이나 산업시설의 배출수에 대한 독성을 연속적인 생물모니터링을 통해 감시하는데 사용되기도 하였다. 한편 송사리류 어류는 문헌상 광염성 어종으로 분류되고 있으나(Yanagishima and Mori, 1975; Haruta et al., 1991) 일부 종을 제외하고는 담수에 주로 분포하므로 해양생태독성실험보다는 담수계 독성실험으로 제한되어 왔으며(Bhattacharyya et al., 2003; Chen et al., 2001; Gerhardt et al., 2002), 국내에서도 담수 독성 및 화학물질 독성실험에 많이 이용되고 있다(박 등, 1996; 최 등, 1992). 그러나 박 등(2005)은 송사리류 어류를 일정기간 염분에 순치시킬 경우, 체내 염세포의 증가로 인해 30.0 psu 이상의 해수에서도 생존이 가능하며, marine receiving water, 공극수 또는 해양투기물질 등을 대상으로 한 해양생태독성평가용 생물로도 사용가능성이 높은 것으로 보고하였다.

해수담수화 공정에서 배출되는 고염 농축수에 대한 생물 영향은 저서생물을 대상으로 환경변화에 따른 서식종의 분포, 생물량의 변화 등과 같은 생태학적 측면에서 다루어져 왔다(Oren et al., 2004; Fernández-Torquemada et al., 2005). 그러나 어류와 같은 부유생물을 대상으로 급작스런 고염분 노출에 따른 생물의 생존 가능성 및 생태-생리적 특성변화를 파악하고 이에 대응하기 위한 방안을 마련할 필요가 있음에도 불구하고 이와 관련된 연구는 전혀 이루어지지 않은 상태이다. 이에 본 연구에서는 해수담수화로 인해 생성되는 부산물 중 고염 농축수의 급작스런 노출에 따른 부유생물의 생존 가능성 및 생태-생리적 특성 변화를 평가하기 위한 방법으로

써 해수에 순치시킨 송사리(*O. latipes*)를 이용하여 고염해수에 대한 해양생태독성평가와 연속적인 측정기법을 이용한 실험생물의 아치사 반응을 관찰하여 해양 부유생물에 미치는 고염 농축수의 영향을 파악하기 위한 기초자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

실험생물 염분 적응 및 사육

본 연구에 사용된 송사리(*O. latipes*)는 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소에서 사육된 종으로써 알에서 부화한 후 3개월이 지난 성어를 분양받아 실험전까지 염분 30.0 psu 가량의 해수에서 사육하였다. 송사리는 담수환경에서 사육되었기 때문에 30.0 psu 해수에 노출될 경우 심한 염분스트레스를 받아 사망하게 된다. 박 등(2005)은 해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서 송사리를 연구한 결과, 송사리는 일정기간 염수에 적응하면서 아가미 조직에 염세포가 형성되고, 고염분에서 염세포 출현이 급증하여 해수에 대한 염분적응력이 높은 것으로 보고된 바 있다. 이에 따라 본 연구에 사용된 실험생물은 해수에 적용할 수 있는 환경을 조성하기 위해 10.0 psu 이하의 저염분에서 10일간 적응시킨 후 다시 30.0 psu 해수에서 10일간 순화(acclimation)시키는 과정을 거쳐 해수에 대한 염분 스트레스를 최소화 시켰다. 송사리의 사육 환경은 수온 22~25 °C를 유지 하였으며, 조도는 실험실 환경(5000 Lux), 광주기는 12시간 조명 12시간 무 조명을 유지 하였다. 먹이는 1일 2회 부화시킨 알테미아 유생을 투여하였다. 사육용수는 실험실 주변에서 채수한 해수를 모래 여과하여 부유물질을 제거하고, 0.5 µm 필터로 재여과한 후 사용하였다. 사육용수의 수질은 수온, 염분, 용존 산소 및 pH의 경우, 수질측정기(YSI, 556MPS, USA)를 이용하여 매일 측정하였으며, 증발에 의한 사육수조(40 L) 내의 염분 증가를 방지하기 위하여 윗부분에 덮개를 설치하였다.

송사리를 이용한 고염해수의 해양생태독성평가

송사리의 고염해수에 대한 해양생태독성실험은 교환 정수방식(static renewal test)으로 실시하였으며, 실험조건에 대한 상세한 내용은 Table 1에 기술하였다. 실험은 항온실 내에서 수행하였으며, 실험구의 수온 변화를 최소화하기 위하여 실험용액이 포함된 비이커를 무작위로 배치하여 실험하였다. 염분 조질은 관상용으로 사용되는 인공해수(OCEAN FISH, Prodac, Italy)를 이용하여 해수에 용해시킨 후 각각의 실험농도별로 조제하였다. 실험해수의 농도는 가장 낮은 염분인 30.0 psu를 기준으로 10 psu 간격씩 높여 40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 80.0 psu로 조절하였다. 실험수온은 항온실 내에서 사육수온과 유사하게 20.3±0.1 °C 범위를 유지하였다. 실험은 총 7일 동안 수행하였으며, 조도는 실험실 환경 상태를 유지 하였다. 실험용수는 2,000 mL 유리용기에 농도별로 1,800 mL를 채웠으며, 각각의 유리용기에 송사리 10개체씩을 넣고 실험하였다. 각각의 처리구에 대한 반복수는 3개를 배치하였으며, 먹이는 1일 1회 부화 후 12시간 이내의 알테미아 유생을 공급하였다.

실험기간 동안 광주기는 12시간 마다 밤과 낮으로 조절하였다. 실험용수는 실험시작 후 2일 마다 교환하였으며, 실험용수의 수온, 염분, pH 및 용존산소는 매일 1회 측정된 후 기록하였다. 각각의 처리구에서 관찰된 생물의 고염해수 노출 영향은 실험 중 발생하

Table 1. Test conditions for the definitive acute toxicity test with the japanese medaka *Oryzias latipes*. Values are means ± SD

Test conditions	Static acute
Test type	Static renewal
Test duration (d)	7
Endpoint	Mortality
Temperature (°C)	20.3 ± 0.1
pH	7.8 ± 0.1
Dissolved oxygen (mg/L)	6.5 ± 0.1
Total length (mm)	18.75 ± 0.27
Body length (mm)	15.73 ± 0.29
Wet weight (gWWt)	0.09 ± 0.01
Dilution water	Filtered seawater (0.5 µm mesh)
Photoperiod (Light : Darkness)	12L : 12D
Test chamber volume (mL)	2,000
Test solution volume (mL)	1,800 mL
Age of test animals	3 months after hatched
Renewal period	twice a day
Number of test animals per chamber (n)	10
Number of replicates (n)	3
Feeding regime	Nauplius of brine shrimp
Test concentration	Control and 5 treatment
Test acceptability criterion	90% or greater survival in control

는 사망개체를 계수하여 사망률로 환산하였다.

고염해수 노출에 따른 송사리의 행동반응 실험

송사리의 행동 관찰은 윤 등(2008)과 Kwak *et al.*(2002)이 연구한 방법과 유사하게 카메라를 통해 투시된 실시간 배경 영상을 추출하여 현재의 프레임과 차영상을 추출하는 기법을 이용하였다. 본 측정방법은 생물의 3가지 행동변수를 통해 활동성을 연속적으로 측정하고 분석할 수 있는 방법으로써 연속적인 행동추적이 가능하다. 송사리의 행동을 관찰하기 위한 변수는 생물의 이동거리, 이동속도 및 프랙탈 차원 분석 값으로 구분되며, 각각의 변수는 0.05초 마다 측정되며, 10초 동안 모은 자료를 평균하여 제시해 준다. 송사리의 이동거리와 속도는 기존의 SI 단위가 아닌 pixel 단위를 사용하였다. 프랙탈 차원 분석은 box counting method를 사용하여 아래 식 (1)을 이용하였다.

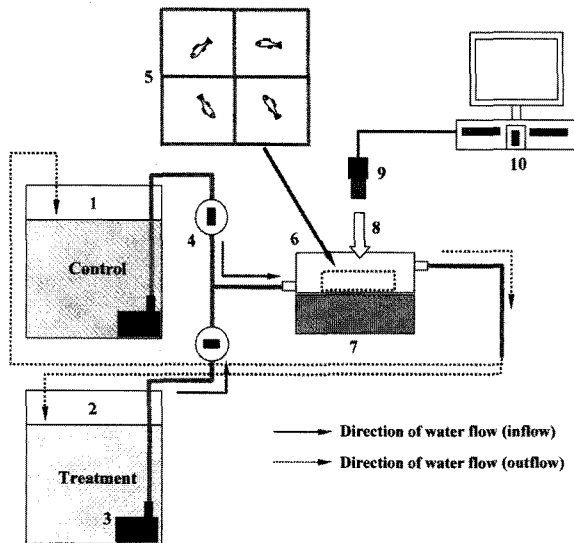
$$N = \left(\frac{1}{r}\right)^D, D = \frac{\log N}{\log(1/r)} \quad (1)$$

여기서, N은 케적을 포함하고 있는 상자의 개수이고, r은 축소율이다.

이 두 변수의 관계는 이중로그 그래프(log(1/r), logN)로 나타낼 때 선형관계가 된다. 케적을 포함하고 있는 상자의 개수와 축적 사이의 관계는 멱 관계이며, 멱함수의 지수가 프랙탈 차원이 된다. 케적이 직선을 이루면 프랙탈 차원은 1 내지 1에 가까운 값을 보인다. 면을 이룰 시에는 2가 되고 측정되는 케적에 대해서는 1과 2 사이 중간의 차원이 실수로 나타나게 된다. 본 연구에서는 생물의 3가지 행동변수를 이용하여 독성 값을 얻을 수 있는 방법을 고안해하였는데, 각각의 측정변수별로 구간으로 나누어 점수를 매긴 후 이를 독성지수(toxic unit)로 환산하고 최종적으로는 3개의 변

Table 2. Relationships of between three behavior parameters and application scores (toxic unit)

Score	Factor	Distance (pixel)	Speed (pixel/sec)	Fractal dimension
0.00		0.0	0.0	0.0
0.10		0.4	4.0	0.2
0.20		0.8	8.0	0.4
0.30		1.2	12.0	0.6
0.40		1.6	16.0	0.8
0.50		2.0	20.0	1.0
0.60		2.4	24.0	1.2
0.70		2.8	28.0	1.4
0.80		4.0	35.0	1.6
1.20		5.0	40.0	1.7
2.00		6.0	45.0	1.8
4.00		7.0	50.0	1.9
6.00		8.0	55.0	2.0

**Fig. 1.** Schematic (not to scale) of apparatus used to observe behavior pattern in the Japanese medaka *Oryzias latipes*. 1: Reservoir container (control); 2: reservoir container (treatments); 3: aqua pump; 4: open/closing valve; 5: test chamber; 6: water support chamber; 7: light emitting diode (LED); 8: camera tracking direction; 9: web-camera; 10: computer for control and data storage.

수가 조합된 하나의 지수를 산출하는 방법이다(Table 2).

생물개체간의 생태-생리적 특성변화는 실험수조를 4개의 행동 관찰 영역으로 구분하여 각각의 분할영역에서 개체의 행동자료를 수집한 후 이를 하나의 독성지수를 산출하는 방법(4+1 method)을 적용하였다. 송사리의 행동관찰은 실험수조 하부에 백색 조명장치로써 발광다이오드(LED, light-emitting diode)를 설치하고, 상부에는 웹카메라를 설치하여 각각의 분할영역에서 움직이는 개체의 행동패턴을 추적하였다(Fig. 1). 실험 시 조명은 밝은 상태를 유지하였으며, 먹이는 생물의 행동 및 대사활동의 변화를 최소화하기 위하여 실험기간 내내 공급하지 않았다(Widdows and Hawkins, 1989; Kim *et al.*, 1999). 고염해수 노출에 따른 생물의 행동변화는 20.0±1 수온범위에서 총 3회에 걸쳐 수행하였는데(Table 3), 사육농도인 30.0 psu를 대조구(control)로 설정하여 12시간 동안 행동을 관찰한 후 12시간 동안 고염해수(40.0, 50.0, 60.0, 70.0, 80.0 psu)를 행동관찰수조로 공급하여 고염해수에 노출되기 전과 후 송사리의 행동변화를 관찰하였다. 실험생물의 행동은 행동추적프로그램을 이용하여 메인컴퓨터와 실시간으로 추적하며, 실험결과는 모니터 상에서 직접 확인할 수 있다. 또한 생물의 3가지 행동변수 및 독성지수 값은 텍스트 파일 형태로 자동 저장되어 차후 행동 분석을 위한 자료로 활용하였다.

자료분석

고염해수 노출에 따른 송사리의 사망률에 대한 유의성은 SPSS 프로그램(SPSS 10, SPSS Inc., USA)을 이용한 분산분석법(ANOVA)을 사용하여 검증하였으며, 생물의 빈수치사농도(lethal concentration, LC₅₀), 무영향농도(no observed effective concentration, NOEC) 및 최저영향농도(lowest observed effective concentration, LOEC) 값은 USEPA(2002)에서 제공하는 안내서에 따라 Dunnett's test와 maximum likelihood probit analysis 과정을 거쳐 산출하였다. 시료의 독성값 산출은 Toxcal 5.0(Toxicalc 5.0, Tidepool Scientific Software, USA) 프로그램을 사용하였으며, 실험생물의 행동분석은 실험종료 후 저장된 자료를 이용하여 실험시간별 행동 자료를 도식화 하였다. 생물의 연속적인 행동패턴 변화는 2% weighted smooth curve를 통해 분석하였으며, 대조구와 농도별 처리구의 행동변화에 대한 유의성 검증은 student's t-test를 통해 처리하였다(KaleidaGraphy custom program for Window, Synergy Software).

Table 3. Experimental parameters, mean body length (mm), and wet weight (gWWt) for the medaka *Oryzias latipes* groups. Values are means ± SD

	Treatment ranges of salinity (psu)				
	30.0 → 40.0	30.0 → 50.0	30.0 → 60.0	30.0 → 70.0	30.0 → 80.0
Temperature (°C)	20.3 ± 0.1	20.4 ± 0.1	20.2 ± 0.1	20.3 ± 0.1	20.4 ± 0.1
pH	7.9 ± 0.4	7.8 ± 0.3	7.8 ± 0.5	7.7 ± 0.4	7.8 ± 0.5
Dissolved oxygen (mg/L)	6.5 ± 0.7	6.3 ± 0.5	6.7 ± 0.3	6.5 ± 0.7	6.4 ± 0.3
Chamber volume (L)	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
Volume of test material (L)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Total length (mm)	21.81 ± 0.90	22.25 ± 0.60	23.03 ± 0.86	22.60 ± 0.56	22.80 ± 0.74
Body length (mm)	19.01 ± 0.86	19.13 ± 0.79	19.45 ± 0.33	19.60 ± 0.39	19.08 ± 0.44
Wet weight (gWWt)	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01
Number of experiments (n)	3	3	3	3	3
Number of individuals (n)	12	12	12	12	12

결 과

송사리를 이용한 고염해수의 해양생태독성평가

각각의 염분농도별 처리구에 노출된 송사리(*O. latipes*)의 생존율은 실험시간이 경과함에 따라 뚜렷하게 구분되었다. 실험기간 동안 대조구(30.0 psu)의 사망률은 10% 이내로 나타나 일반적인 독성실험의 유효범위(<10%)에 포함되어 실험의 신뢰성을 확보하였다. 실험기간 중 대조구를 제외한 고염해수 각각의 처리구에서 송사리의 개체수는 실험시작 후 1일이 경과하였을 때 40.0 psu 농도에서 총 실험생물의 90% 이상 생존하였으며, 50.0 psu 농도에서는 70.0% 보다 높은 개체가 생존하였다. 그러나 60.0 psu 이상 농도에서 송사리의 사망 개체수는 급격히 증가하여 전 개체가 사망함으로써 60.0 psu 보다 높은 농도에서는 실험생물의 염분내성 능력이 현저히 감소하였다(Fig. 2). 고염해수 농도별 송사리의 민

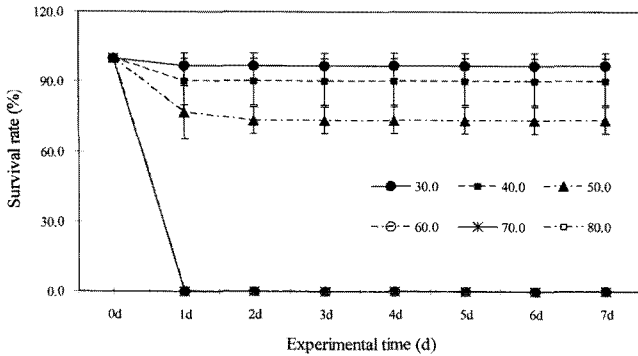


Fig. 2. Relationship of concentration-response of Japanese medaka *Oryzias latipes* in each salinity concentrations during experiment.

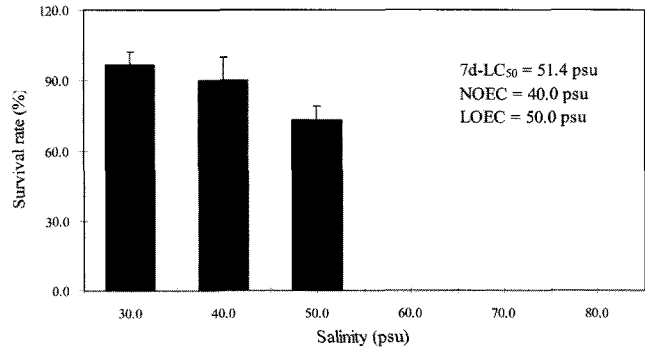


Fig. 3. Mortality of Japanese medaka *Oryzias latipes* exposed to high brine water.

감도는 고농도에서 뚜렷하게 증가하였으며, 특히 60.0 psu 보다 높은 농도에서 실험생물의 생태-생리적 영향은 50.0 psu 이하의 농도보다 뚜렷하게 관찰되었으며, 대부분의 반복 실험구 내 분산은 10.0% 이내로 크지 않았다($p < 0.05$).

실험종료 시 송사리의 사망률은 대조구와 뚜렷한 차이를 보였는데, 40.0~50.0 psu 구간에서 사망률은 30.0% 이하였으며, 60.0 psu 보다 높은 농도에서는 100.0% 사망하였다. 본 연구에서 고염해수에 대한 송사리의 염분 독성은 실험시작 후 2일 이내에 뚜렷하게 나타났으며, 이후 노출시간이 경과함에 따른 추가적인 독성 영향은 관찰되지 않았다. 고염해수 노출 실험결과를 이용하여 고염해수에 대한 송사리의 생물독성을 통계적으로 분석한 결과, 7일 동안 고염해수에 대한 송사리의 반수치사농도(LC₅₀)는 51.4 psu로 산출되었으며, 최저영향농도는 50.0 psu, 무영향농도는 40.0 psu로 산출되어 최소 50.0 psu 이하에서는 고염해수에 대한 생물독성이

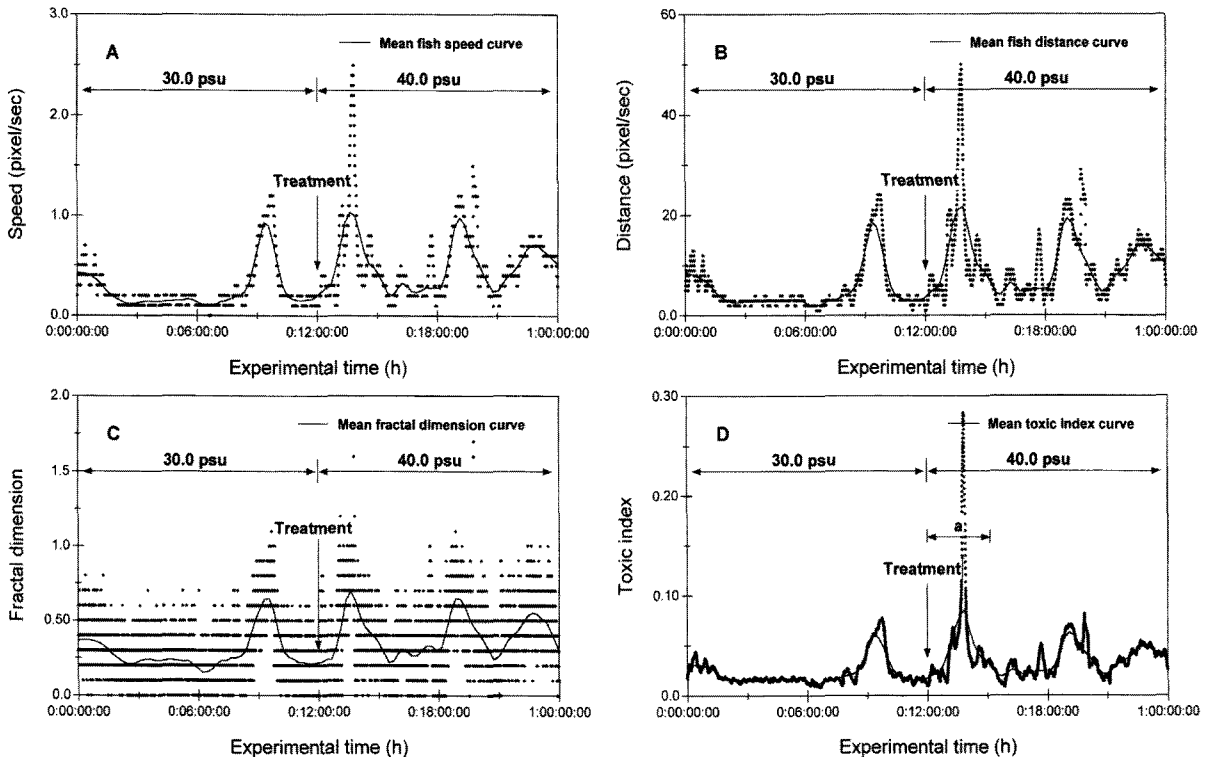


Fig. 4. Behavior patterns by four Japanese medaka *Oryzias latipes* at 30.0 psu and after transfer to 40.0 psu salinity.

크지 않은 것으로 나타났다(Fig. 3).

고염해수 노출에 따른 송사리의 행동반응

고염해수 노출전과 후 실험생물의 행동반응을 관찰한 결과, 송사리의 행동은 대조구(30.0 psu)에서 실험초기 handling에 의한 생물의 스트레스에 의해 일시적으로 증가하는 현상을 보였으며, 이후 활동량이 많지 않았으나 실험시작 9시간 이후부터 움직임이 증가하여 행동변수의 진폭변화가 관찰되었다(Fig. 4). 송사리의 이동거리, 속도 및 프랙탈 차원 값은 상하의 진폭변화를 보였는데, 대조구인 30.0 psu에서 실험초기와 실험시작 9시간 후 두 번이 정점(peak)에 도달하였으며, 40.0 psu에 노출된 후 12시간 동안에도 진폭변화가 관찰되었다. 실험기간 중 행동변수 값이 최대 측정된 시간은 40.0 psu에 노출된 후 3.1시간 이내로서 노출 후 활동량이 일시적으로 증가하는 현상을 보였으나 이후에는 대조구에 비해 활동량이 증가하였으나 사망 개체는 발생하지 않았으며, 염분 노출에 대한 뚜렷한 행동반응은 관찰되지 않았다(Fig. 4a). 실험생물의 3가지 행동변수와 이를 조합한 독성지수 값의 변화를 분석한 결과, 이동속도, 거리, 프랙탈 차원 값은 40.0 psu 노출 후 3.1시간 동안 대조구보다 평균 48.3~150.0% 높게 나타났으며, 초기 염분 반응 후 37.9~88.5% 범위로 감소하였다. 행동변수를 독성지수로 환산하여 분석한 결과, 염분노출 초기 송사리의 평균 독성지수 값은 대조구에 비해 400.0% 증가하였으며, 이후 서서히 감소하기 시작하여 본래의 행동패턴으로 회복하는 양상을 보였다(Table 4).

고염해수(50.0 psu) 노출에 따른 실험생물의 행동반응은 40.0 psu 노출결과와 다소 차이를 보였다. 대조구에서 송사리의 활동량은 초기 일시적인 증가 후 서서히 감소하였으나 감소폭은 크지 않았다. 그러나 50.0 psu에 노출된 실험생물의 활동량은 일시적으로 증가하여 최대 정점에 도달한 후 움직임이 감소하기 시작하였다. 송

사리의 경우, 50.0 psu에 노출된 후 최대 4.6시간 동안 활동량이 높게 관찰되었으며, 이후 대조구와 유사한 수준으로 회복하였다(Fig. 5).

이와 같은 결과는 3가지 행동변수 값의 변화를 통해 뚜렷하게 관찰할 수 있었는데, 이동속도와 거리는 50.0 psu에 노출된 후 대조구에 비해 각각 평균 385.0%와 378.7% 증가하였으며, 프랙탈 차원 값은 92.3% 높게 산출되었다. 그러나 염분에 대한 스트레스 반응 후 모든 행동변수 값은 대조구보다 낮게 측정되어 활동성이 감소한 것으로 나타났다(Table. 4). 송사리의 행동패턴을 독성지수 값을 통해 분석한 결과, 30.0 psu 농도에서의 지수 값은 0.01~0.04 범위로 산출되었으나 50.0 psu에 노출된 후 4.6시간 동안 0.01에서 최대 0.12까지 독성지수가 상승하여 대조구보다 평균 200.0% 높은 증가율을 보이면서 심한 염분 스트레스 반응이 관찰되었다. 그러나 독성지수 값은 염분 스트레스 과정을 겪은 후 대조구와 유사한 수준을 유지하였으며, 이 때 사망한 개체는 관찰되지 않았다(Fig. 5a).

60.0 psu 농도에 노출된 송사리의 행동반응은 노출 전과 후 뚜렷한 차이를 보였다. 대조구에서 송사리의 행동변수 값은 실험초기 일시적으로 상승하였으나 이후 8시간까지 서서히 감소하였다(Fig. 6). 송사리의 움직임은 60.0 psu에 노출되기 전 비교적 일정한 수준을 유지하였으나 고염해수(60.0 psu)에 노출된 후 3.7시간 동안 심각한 염분 스트레스 반응을 보였다(Fig. 6a). 실험생물의 3가지 행동변수 값의 변화를 살펴보면, 기존의 40.0 psu와 50.0 psu에 노출된 경우 노출초기에 변수 값이 정점에 도달하였는데, 60.0 psu에 노출된 송사리의 행동변수는 단계적으로 상승한 후 감소하는 양상을 보였다. 또한 송사리는 60.0 psu에 노출된 후 실험이 종료될 때 까지 총 7개체가 사망하였다. 실험생물의 활동량 변화는 독성지수 값의 변화로도 판단이 가능한데, 60.0 psu에 노출되기 전

Table 4. Comparison of the behavior change pattern of adapted saline water medaka *Oryzias latipes* before and after sudden changes in salinity 30.0 psu to 40.0 psu and 50.0 psu. Values are means \pm SD

	30.0 psu \rightarrow 40.0 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	Variation rate (%) = [(B-A)/A] \times 100	Variation rate (%) = [(C-A)/A] \times 100
Speed (pixel/sec)	0.00 ~ 1.20 (0.26 \pm 0.24)	0.10 ~ 2.50 (0.65 \pm 0.54)	0.10 ~ 1.50 (0.49 \pm 0.08)	0.0 ~ 108.3 (150.0 \uparrow)	0.0 ~ 25.0 (88.5 \uparrow)
Distance (pixel)	1.00 ~ 24.00 (5.17 \pm 4.44)	1.00 ~ 50.00 (12.84 \pm 10.81)	2.00 ~ 29.00 (9.70 \pm 31.92)	0.0 ~ 108.3 (148.4 \uparrow)	20.8 ~ 100.0 (87.6 \uparrow)
Fractal dimension	0.00 ~ 1.10 (0.29 \pm 0.19)	0.00 ~ 1.60 (0.43 \pm 0.27)	0.00 ~ 1.80 (0.40 \pm 0.05)	0.0 ~ 45.5 (48.3 \uparrow)	0.0 ~ 63.6 (37.9 \uparrow)
Toxic index	0.01 ~ 0.08 (0.02 \pm 0.01)	0.01 ~ 0.28 (0.05 \pm 0.05)	0.01 ~ 0.08 (0.04 \pm 0.01)	0.0 ~ 250.0 (400.0 \uparrow)	0.0 ~ 0.0 (300.0 \uparrow)
Death individuals (n)	0	0	0	0	0
	30.0 psu \rightarrow 50.0 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	Variation rate (%) = (B-A)/A	Variation rate (%) = (C-A)/A
Speed (pixel/sec)	0.10 ~ 0.50 (0.20 \pm 0.07)	0.00 ~ 1.90 (0.97 \pm 0.52)	0.00 ~ 0.40 (0.14 \pm 0.07)	-100.0 ~ 28.0 (385.0 \uparrow)	-100.0 ~ -20.0 (-30.0 \downarrow)
Distance (pixel)	1.00 ~ 9.00 (4.04 \pm 1.26)	1.00 ~ 38.00 (19.34 \pm 10.37)	1.00 ~ 7.00 (2.82 \pm 1.39)	0.0 ~ 322.2 (378.7 \uparrow)	-22.0 ~ 0.0 (-30.2 \downarrow)
Fractal dimension	0.00 ~ 0.90 (0.26 \pm 0.17)	0.00 ~ 1.80 (0.50 \pm 0.27)	0.00 ~ 1.00 (0.21 \pm 0.14)	0.0 ~ 100.0 (92.3 \uparrow)	0.0 ~ 11.1 (-19.2 \downarrow)
Toxic index	0.01 ~ 0.04 (0.02 \pm 0.01)	0.01 ~ 0.12 (0.06 \pm 0.03)	0.01 ~ 0.03 (0.02 \pm 0.01)	0.0 ~ 200.0 (200.0 \uparrow)	-25.0 ~ 0.0 (0.0 \downarrow)
Death individuals (n)	0	0	0	0	0

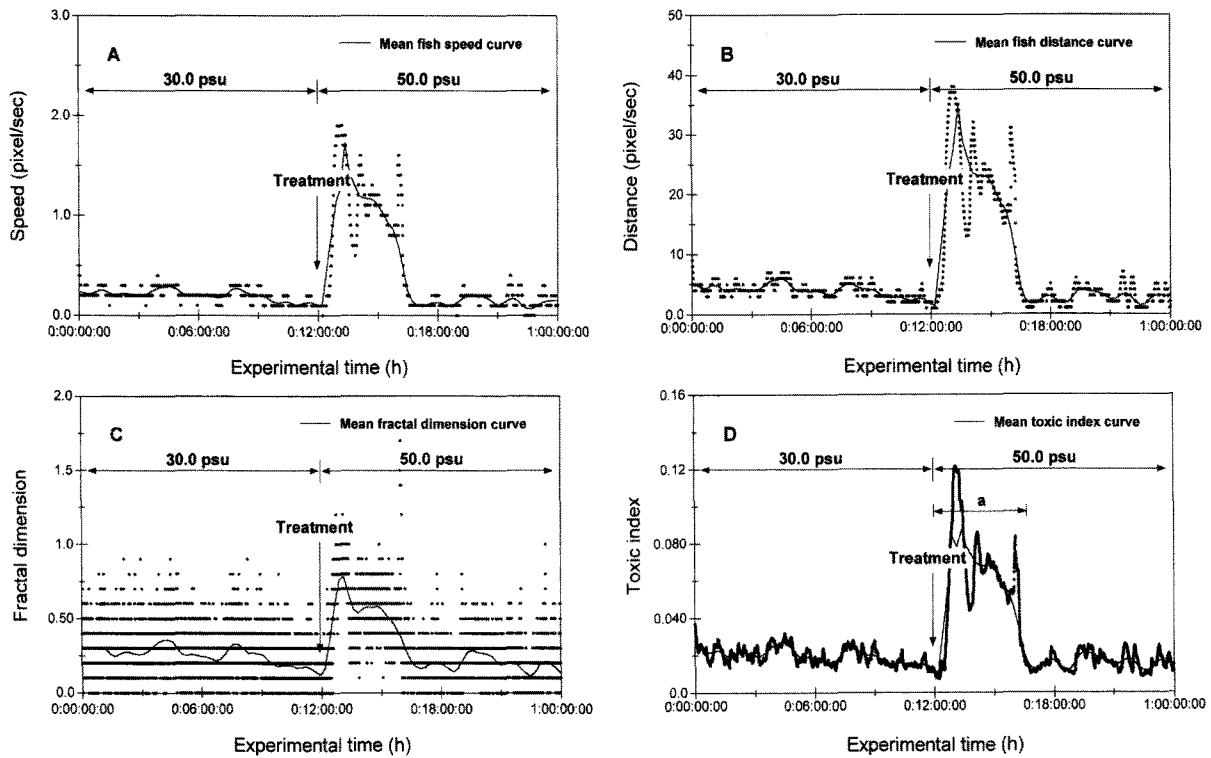


Fig. 5. Behavior patterns by four Japanese medaka *Oryzias latipes* st 30.0 psu and after transfer to 50.0 psu salinity.

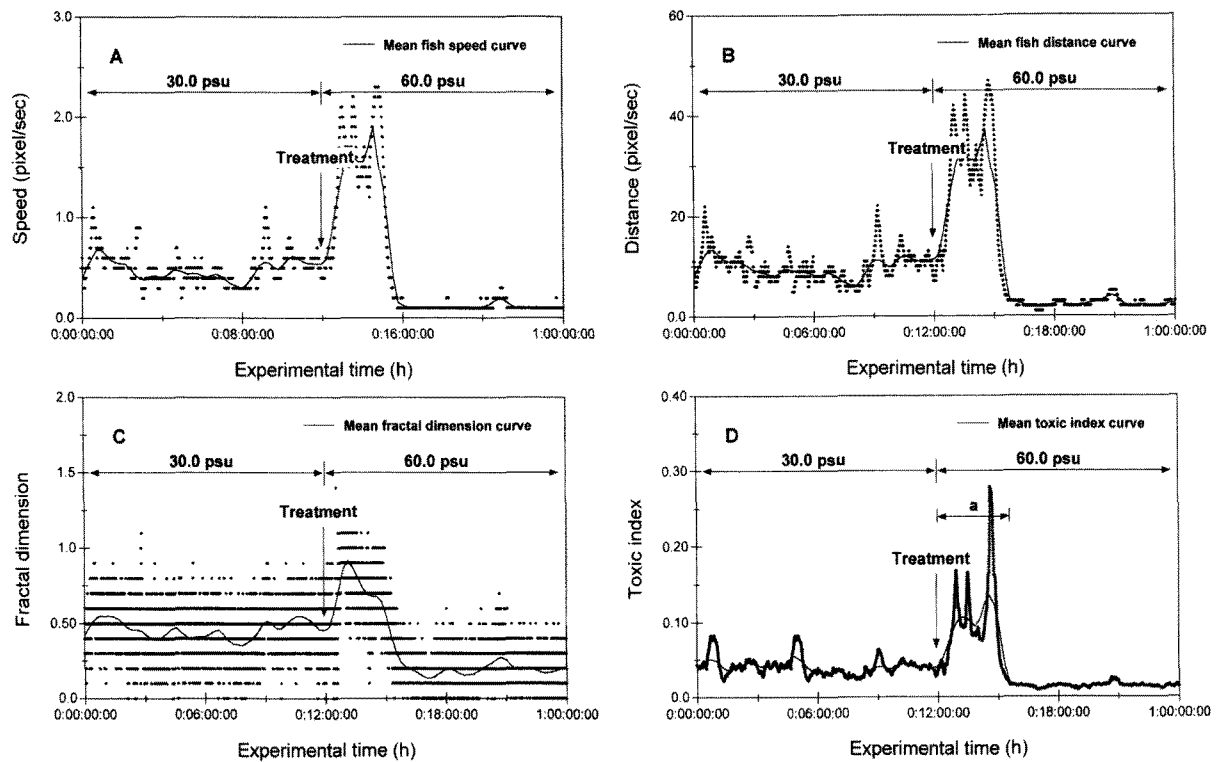


Fig. 6. Behavior patterns by four Japanese medaka *Oryzias latipes* st 30.0 psu and after transfer to 60.0 psu salinity.

송사리의 독성지수는 0.02~0.08 범위로 분석되었으며, 염분 노출에 의해 행동 패턴의 교란된 3.7시간 동안의 지수 범위는 0.02~0.28로서 대조구에 비해 평균 100.0% 증가하였다. 그러나 교란과정을

겪은 이후 독성지수 값의 기울기는 급격히 감소하였고, 대조구보다 실험종류 시까지 낮은 값(평균 50.0% 감소)을 유지하였으며, 일부 개체는 염분적응에 실패하여 사망한 것으로 관찰되었다(Table 5).

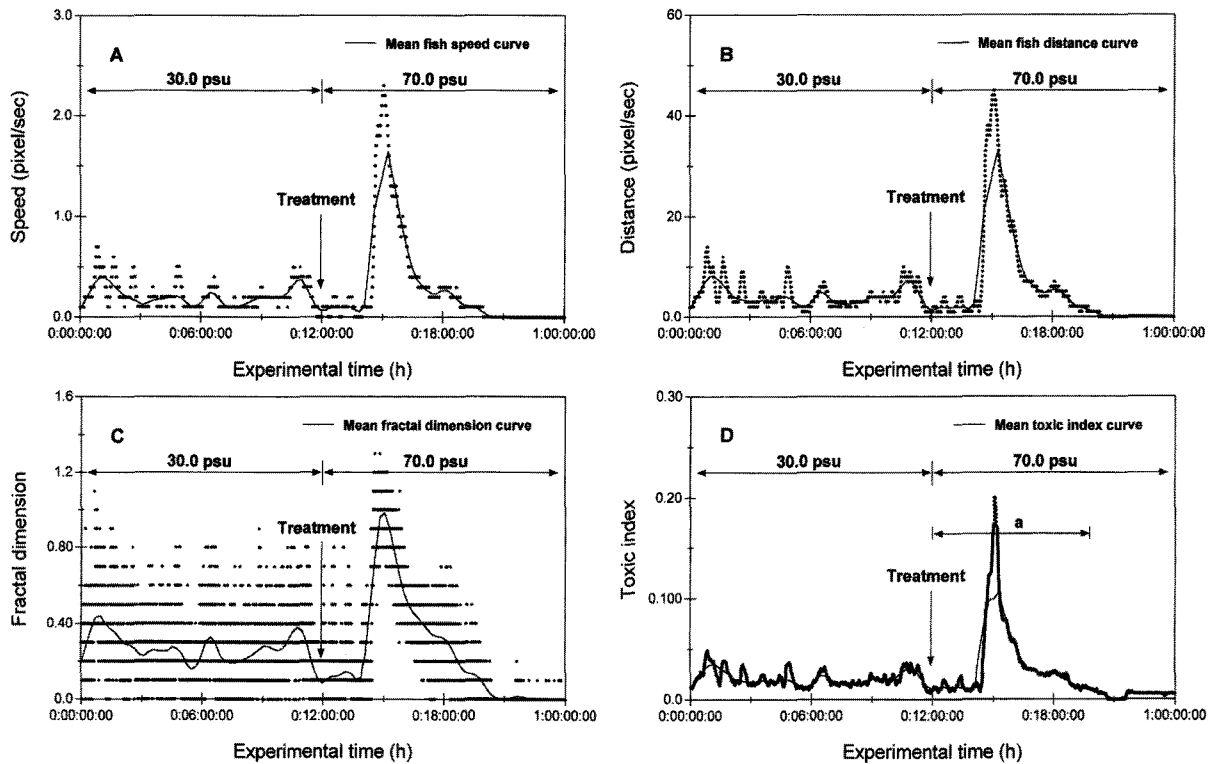


Fig. 7. Behavior patterns by four Japanese medaka *Oryzias latipes* st 30.0 psu and after transfer to 70.0 psu salinity.

Table 5. Comparison of the behavior change pattern of adapted saline water medaka *Oryzias latipes* before and after sudden changes in salinity 30.0 psu to 60.0 psu and 70.0 psu. Values are means \pm SD

30.0 psu \rightarrow 60.0 psu					
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	Variation rate (%) = (B-A)/A	Variation rate (%) = (C-A)/A
Speed (pixel/sec)	0.20 ~ 1.10 (0.50 \pm 0.16)	0.20 ~ 2.30 (1.45 \pm 0.64)	0.10 ~ 0.30 (0.12 \pm 0.04)	0.0 ~ 109.1 (190.0 \uparrow)	-72.7 ~ -50.0 (-76.0 \downarrow)
Distance (pixel)	5.00 ~ 22.00 (10.00 \pm 3.05)	3.00 ~ 47.00 (29.00 \pm 12.68)	1.00 ~ 5.00 (2.59 \pm 0.77)	-40.0 ~ 113.6 (190.0 \uparrow)	-80.0 ~ -77.3 (-74.1 \downarrow)
Fractal dimension	0.00 ~ 1.10 (0.50 \pm 0.16)	0.00 ~ 1.50 (0.70 \pm 0.27)	0.00 ~ 0.70 (0.22 \pm 0.11)	0.0 ~ 36.4 (40.0 \uparrow)	-36.4 ~ 0.0 (-56.0 \downarrow)
Toxic index	0.02 ~ 0.08 (0.04 \pm 0.01)	0.02 ~ 0.28 (0.08 \pm 0.06)	0.01 ~ 0.03 (0.02 \pm 0.01)	0.0 ~ 250.0 (100.0 \uparrow)	-62.5 ~ -50.0 (-50.0 \downarrow)
Death individuals (n)	0	0	7		
30.0 psu \rightarrow 70.0 psu					
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	Variation rate (%) = (B-A)/A	Variation rate (%) = (C-A)/A
Speed (pixel/sec)	0.00 ~ 0.70 (0.22 \pm 0.13)	0.00 ~ 2.30 (0.45 \pm 0.57)	0.00 ~ 0.10 (0.00 \pm 0.02)	0.0 ~ 228.6 (104.5 \uparrow)	-85.7 ~ 0.0 (-100.0 \downarrow)
Distance (pixel)	0.00 ~ 14.00 (4.35 \pm 2.50)	1.00 ~ 45.00 (9.02 \pm 11.34)	0.00 ~ 1.00 (0.11 \pm 0.31)	0.0 ~ 221.4 (107.4 \uparrow)	-92.9 ~ 0.0 (-97.5 \downarrow)
Fractal dimension	0.00 ~ 1.10 (0.29 \pm 0.19)	0.00 ~ 1.30 (0.37 \pm 0.31)	0.00 ~ 0.20 (0.01 \pm 0.03)	0.0 ~ 18.2 (27.6 \uparrow)	-81.9 ~ 0.0 (-96.6 \downarrow)
Toxic index	0.01 ~ 0.05 (0.02 \pm 0.01)	0.01 ~ 0.20 (0.04 \pm 0.04)	0.00 ~ 0.01 (0.00 \pm 0.00)	0.0 ~ 300.0 (100.0 \uparrow)	-100.0 ~ -80.0 (-100 \downarrow)
Death individuals (n)	0	0	12		

대조구에서 실험생물의 행동변수는 타 실험과 유사하게 일정수준을 이하에서 진폭변화를 보이며 유지되었다(Fig 7). 그러나 70.0 psu 농도에 노출된 후 송사리의 활동량은 일시적으로 감소하여 2.3시간 동안 낮은 값을 유지하였으며, 이후 5.6시간 동안 행동패턴이 갑자기 교란되는 현상을 보여 활동량이 최대 정점에 도

달하였으며 이 후 감소하는 양상을 보였다. 또한 이 시기에 실험생물의 사망률은 급격히 증가하여 실험종료 후 모든 개체가 사망하였다(Fig 7a). 이와 같은 현상은 생물의 행동변수에서 뚜렷하게 나타났는데, 70.0 psu 농도에 노출된 후 송사리의 이동속도와 거리는 각각 평균 104.5%와 107.4% 증가하였으며, 프랙탈 차원 값

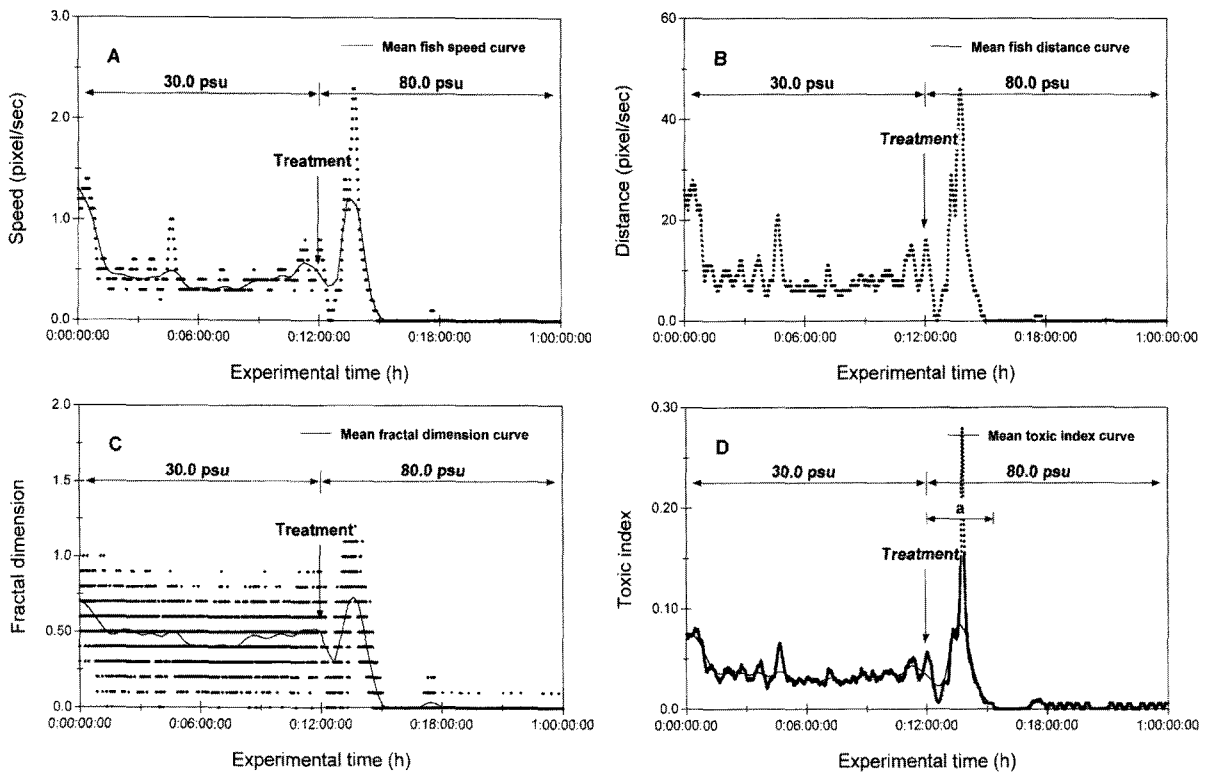


Fig. 8. Behavior patterns by four Japanese medaka *Oryzias latipes* at 30.0 psu and after transfer to 80.0 psu salinity.

Table 6. Comparison of the behavior change pattern of adapted saline water medaka *Oryzias latipes* before and after sudden changes in salinity 30.0 psu to 80.0 psu. Values are means \pm SD

	30.0 psu \rightarrow 80.0 psu			Variation rate (%) = (B-A)/A	Variation rate (%) = (C-A)/A
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)		
Speed (pixel/sec)	0.20 ~ 1.40 (0.48 \pm 0.24)	0.00 ~ 2.30 (0.60 \pm 0.64)	0.00 ~ 0.10 (0.00 \pm 0.01)	-100.0 ~ 64.3 (250.0 \uparrow)	-100.0 ~ -92.9 (-100.0 \downarrow)
Distance (pixel)	5.00 ~ 28.00 (9.62 \pm 4.85)	0.00 ~ 46.00 (12.04 \pm 12.68)	0.00 ~ 1.00 (0.04 \pm 0.20)	-100 ~ 64.3 (25.2 \uparrow)	-100.0 ~ -96.4 (-99.6 \downarrow)
Fractal dimension	0.00 ~ 1.00 (0.48 \pm 0.17)	0.00 ~ 1.20 (0.39 \pm 0.34)	0.00 ~ 0.20 (0.00 \pm 0.02)	0.0 ~ 20.0 (-18.8 \uparrow)	-80.0 ~ 0.0 (-100.0 \downarrow)
Toxic index	0.02 ~ 0.08 (0.04 \pm 0.01)	0.00 ~ 0.28 (0.05 \pm 0.05)	0.00 ~ 0.01 (0.00 \pm 0.00)	-100.0 ~ 25.0 (25.0 \uparrow)	-100.0 ~ -87.5 (-100.0 \downarrow)
Death individuals (n)	0	0	12		

은 평균 27.6% 높게 산출되었다. 그러나 교란과정을 거친 후 3가지 행동변수 값은 모두 평균 90% 이하로 감소하였으며, 12개체 모두 사망하였다. 또한 독성지수는 대조구에서 0.01~0.05 범위였으나 70.0 psu 농도에 노출된 후 0.01~0.20으로 상승하였으며, 이후 0.01 이하로 산출되어 실험종료 시까지 개체의 움직임은 추적되지 않았다(Table 5).

80.0 psu 노출 실험결과, 실험초기 12시간 동안 생물의 행동변수 값은 handling에 의한 스트레스로 인해 일시적으로 상승하였으나 시간이 지남에 따라 일정수준을 회복하였다(Fig. 8). 송사리의 활동성은 80.0 psu에 노출된 후 70.0 psu에서 나타난 결과와 유사하게 1시간 가량 일시적인 감소 패턴을 보였으며, 이후 2.3시간 동안 심각한 염분 스트레스에 의해 행동변수 값이 급격히 상승한 후 최대 정점을 지나 기울기가 감소하였다(Fig. 8a). 송사리의 움직임은 기울기 감소 후 거의 감지되지 않았으며, 모든 개체가 사

망하였다. 실험기간 동안 측정된 3가지 행동변수 값의 변화를 보면, 고염해수에 노출된 후 송사리의 이동속도가 평균 250.0% 상승하여 가장 큰 변화를 보였으며, 이동거리와 프랙탈 차원 값은 각각 25.2%와 18.8% 증가하였다. 행동지수 값은 대조구의 경우 0.02~0.08, 80.0 psu 농도에 노출된 후에는 0.00~0.28 범위로 산출되어 평균 25.0% 가량 상승하였다. 그러나 3가지 행동변수와 행동지수 값은 교란과정을 거친 후 99% 이하로 감소하였으며, 전 개체가 사망하였다(Table 6).

토 의

본 연구는 해수(30.0 psu)에 순치된 송사리(*O. latipes*)를 실험생물로 사용하여 40.0~80.0 psu 범위의 고염해수가 생물에 미치는 영향을 평가하기 위하여 해양생태독성평가 및 고염해수 노출에 따

른 실험생물의 연속적인 행동반응을 관찰하였다. 고염해수에 대한 해양생태독성실험을 수행한 결과, 대조구 생물의 사망률은 실험초기에 사망한 소량의 개체를 제외하면 10% 이내로 조사되어 독성 실험의 유효수준 범위(<10%)를 넘지 않았다. 또한 각각의 염분농도별 처리구에 노출된 송사리의 생존율은 50.0 psu 농도에서 70.0% 보다 높게 산출되어 일부 실험생물을 제외하면 송사리는 50.0 psu 농도까지 염분에 의한 내성이 존재하는 것으로 판단되었다. 그러나 염분이 60.0 psu 보다 높은 경우, 실험생물은 전 개체가 사망하여 염분에 의한 영향이 뚜렷하게 구분되었다. 일반적으로 어류에 대한 급성 및 만성독성실험에서는 대조군의 유효 치사율을 10% 미만으로 허용하며, 실험 후 대조군에서 사망한 개체의 치사율이 측정값(endpoint) 이하인 경우에는 해당 시험에 문제가 없는 것으로 판단하고 있다(NIWA, 1998; OECD, 1992; USEPA, 2002). 본 연구에 사용된 송사리는 문헌상 담수나 기수역에서 서식하는 것으로 알려져 있으나(Haruta *et al.*, 1991), 주로 담수환경에서 생태독성시험종으로 제한되어 왔다(박 등, 1996; Bhattacharyya *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2001). 그러나 박 등(2005)은 해수에서 부화시킨 자어의 아가미에서 염세포가 형성과정을 통해 송사리가 해양생태독성시험종으로서 가능성이 높음을 입증하였다. 본 연구에는 담수에서 부화하고 성장한 송사리 성어를 저염분에서 30.0 psu까지 단계적으로 염분농도를 조절하여 적응시킨 결과 해수에서도 생존 가능한 개체를 확보할 수 있었다. 고염해수에 대한 실험생물의 생물독성은 반수치사농도의 경우(LC₅₀), 51.4 psu로 산출되었으며, 40.0 psu 이하 농도에서는 염분 스트레스에 의한 생리-생태적 영향을 전혀 받지 않는 것으로 분석되었다(NOEC=40.0 psu). 또한 생물의 염분 스트레스를 유발할 수 있는 최저영향농도(LOEC)는 50.0 psu로 산출되어 실험생물은 50.0 psu의 고염분 환경에서도 생존가능성이 있는 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과는 본 연구에서 실험생물의 70.0%가 50.0 psu 농도에서 관찰된 결과를 통해 확인할 수 있었는데, 이는 30.0 psu에 적응된 송사리의 경우 최대 50.0 psu 농도까지 고염분에 대한 내성을 유지할 가능성이 있음을 시사해 준다. 해양에서 염분과 관련된 생물독성평가는 주로 생물의 초기생활사에 있어 생물의 적응력을 평가하기 위하여 수행하는데, 대부분 생물의 민감도를 고려하여 실험 개체가 풍부한 알이나 치어(또는 치패)를 대상으로 저염분 노출에 따른 부화율, 성장률 및 사망률을 측정기준(endpoint)으로 설정하여 실험되었다. 이와 같은 연구는 대부분 양식생물을 대상으로 담수유입에 따른 생물의 영향을 파악하기 위한 목적으로 수행되었으나 본 연구와 같이 해양에서 인위적으로 발생하는 고염분 환경에 조성에 따른 실험생물의 생리-생태적 특성을 연구한 사례는 거의 찾아볼 수 없는 상황이다. 본 연구에서는 해수에 적응된 어류의 최대 염분내성한계를 50.0 psu로 판단하였다. 이와 같은 결과는 고염해수 노출 실험을 수행한 사례를 찾기 어려워 자료 비교가 어렵지만 기수역을 포함한 해양의 염분범위를 5.0-35.0 psu로 가정할 경우, 송사리는 상당히 높은 농도에서도 생존할 수 있는 것으로 분석되었는데, 이는 대부분의 해양성 어류에도 적용하여도 큰 무리가 없을 것으로 판단된다.

본 연구에서는 해수담수화시설의 주요 부산물인 고염 농축수에 대한 생물 반응을 연속적으로 모니터링 할 수 있는 방법으로써 수조 내로 유입되는 다양한 고염해수에 대한 생물의 이동거리, 속도,

프랙탈 차원 값 및 이들 세 가지 행동변수를 조합한 독성지수(toxic unit)를 산출하여 고염해수 노출 전과 후 실험생물의 연속적인 행동 패턴의 변화를 비교하였다. 실험결과, 고염분에 노출되기 전 30.0 psu에서 송사리의 활동량은 실험초기 일시적으로 증가하였으나 이후 안정된 행동패턴을 보였다. 이와 같은 실험초기 행동패턴은 생물을 운반하는 과정에서 발생하는 handling에 의한 스트레스(Reubush and Heath, 1996; Waring *et al.*, 1996)나 생물이 실험수조 내 환경에 적응하기 위해 초기의 불안정한 상태(non-steady-state effects)에서 나타나는 현상(Follum and Gray, 1987; Jobling, 1981)인 것으로 해석할 수 있으며, 이를 해결하기 위해서는 실험수조 내에 생물을 넣은 후 일정기간 적응 기간을 거친 후 실험을 진행하는 것이 적합할 것으로 판단된다. 본 연구에서는 30.0 psu에 순치된 생물을 40.0 psu와 50.0 psu에 각각 노출시켰는데, 송사리는 고염해수 노출 후 3.1시간과 4.6시간 동안 일시적으로 활동량이 증가하여 최대 정점에 도달한 후 움직임이 감소하였다. 이와 같은 현상은 실험생물의 이동거리, 속도, 프랙탈 차원값 및 독성지수 값의 진폭변화를 통해 명확하게 관찰할 수 있었는데, 송사리는 40.0~50.0 psu에 노출된 후 일시적인 염분 반응을 보였으나 이후 사망한 개체없이 대조구와 유사한 수준을 유지하였다. 실험생물의 연속적인 생리-생태적 특성 변화는 호흡패턴(Kim *et al.*, 1997; Yoon *et al.*, 2003)이나 행동변화(윤 등, 2007; Charoy *et al.*, 1995) 등을 관찰하는 방법을 이용하여 수행되어져 왔다. 생물의 행동패턴 변화와 관련된 연구로서 일부 어류들은 생물의 내성한계를 초과하는 서식처 주변의 이화학적 환경변화가 발생할 경우, 일시적인 회피행동을 보이거나 일부 종들은 서식처를 떠나 다른 곳으로 이동하는 것으로 보고되었다(윤 등, 2007; Astrup, 1999). 또한 실험생물의 염분 스트레스 반응은 실험종 및 서식환경에 따라 뚜렷한 차이를 보였는데, 점농어(*Lateolabrax sp.*)의 경우, 31.5 psu에서 0.0 psu 농도에 노출되었을 때 산소소비패턴이 급격하게 떨어지는 현상을 보였으며(Kim *et al.*, 1998), 바지락(*Ruditapes philippinarum*)은 저염분 노출 시 패각을 닫은 상태에서 일정기간 견디다가 결국 삼투조절에 실패하여 사망하였다(Kim *et al.*, 2001). 그러나 해수와 담수를 이동하는 왕복성 어류의 경우, 염분적응력이 뛰어나 해수에서 담수로 이동할 때 일정기간 기수역에서 삼투조절을 거친 후 담수환경에 가입하는 것으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2006). 염분과 생물의 적응과정을 규명한 연구는 주로 상업적으로 유용한 어종을 대상으로 고염분에서 저염분으로 농도를 낮추었을 때 발생하는 생물의 행동이나 생리적 반응을 조사하기 위하여 0.0-40.0 psu의 염분 범위에서 이루어져 온 반면 해수담수화 부산물인 고염 농축수와 같이 40.0 psu 보다 높은 고염수에 노출된 생물의 연속적인 행동이나 대사과정의 변화를 관찰한 연구는 전무한 상태이다. 본 연구에서는 비록 해양에 서식하는 생물은 아니지만 해양생태독성실험종으로서 가능성이 높은 송사리의 행동패턴변화를 관찰하여 고염분(>40.0 psu)에 노출된 실험생물의 염분 내성한계를 실험하였다. 실험결과, 송사리는 50.0 psu 이하의 농도에서 염분 스트레스에 의한 행동의 교란현상이나 사망한 개체가 발생하지 않았다. 이러한 현상은 해양생태독성평가 결과와 큰 차이가 없는 것으로 나타났으며, 본 실험생물이 50.0 psu 이하의 농도에서도 행동이나 대사활동에 심각한 영향을 받지 않는 것으로 판단할 수 있다. 한편 60.0 psu 농도에 노출된 송사리는 노출 후 실험이 종료될

때 까지 50%가 넘게 사망하였으며, 70.0 psu 보다 높은 농도에서는 노출 초기 급격한 행동의 교란과정을 거친 후 실험생물 전 개체가 사망하여 염분적응에 실패한 것으로 나타났다. 또한 본 연구는 송사리의 단기적인 염분 영향을 평가하기 위해 노출시간(12시간)을 짧게 설정하여 실험생물의 급성반응만을 판단할 수 있었는데, 결과적으로 송사리를 포함한 대부분의 어류는 50.0 psu 이상의 고염분 환경(60.0 psu)에서 염분 적응한계를 초과하며, 70.0 psu의 고농도에서는 생물의 서식이나 새로운 생물종의 가입이 불가능할 것으로 판단된다.

일반적으로 해양의 평균 염분농도는 35.0 psu로 알려져 있으며, 담수 및 일부 증발량이 많은 고염분 지역을 제외하면 저염수가 존재하는 모든 지역에 해양생물의 서식이 가능할 것으로 판단된다. 그러나 이러한 환경에 인위적으로 고염수가 유입될 경우 주변에 서식하는 생물의 생존여부를 규명한 연구는 미흡한 상태이다. 인위적인 고염수 유입원으로써 대표적인 시설은 최근 육상의 담수 부족을 해결하기 위해 건설되고 있는 해수담수화플랜트 시설일 것이다. 해수담수화플랜트는 1990년대 이후 중동국가를 비롯하여 일부 선진국에서 운영중이며, 초기에는 육상에서 운영되었으나 부산물의 처리문제와 역삼투방식과 같은 처리기술의 발달로 인해 최근에는 연안시설이 증가하는 추세이며(Humphries and Wood, 2004), 일부 연구자들은 부산물의 처리방법으로써 해양배출을 통해 해수와 희석하는 방법을 제안하고 있다(Ahmed *et al.*, 2000; Mahi, 2001). 이러한 배출방법은 해수담수화플랜트 배출물이 주변의 수질이나 서식생물에 대해 직·간접적인 영향을 미칠 수 있음을 제시하고 있는데, Fernández-Torquemada *et al.*(2005)은 고염 농축수(68.0 psu) 배출전과 후 배출구 주변 해역과 대조구 해역을 대상으로 해조류(*Posidonia oceanica*)와 극피동물의 분포를 조사한 결과, 고염 농축수 배출 후 표층의 염분농도는 37.5~38.0 psu 정도로 희석되었으나 저층의 경우 38.5 psu로 다소 높은 편이었으며, 고염 농축수가 배출되고 일정기간이 경과한 후 배출구 주변의 생물은 거의 서식하지 않는 반면 대조구 지역의 생물량이 증가한 것으로 보고하였다. Oren *et al.*(2004)은 고염 농축수 배출과 Dead Sea의 희석과정에서 발생할 수 있는 영향을 모의 실험한 결과, Dead Sea 주요 생물인 단세포 녹조류 *Dunaliella*와 붉은 오염성 고세균(red halophilic Archaea)은 고염수에 따른 표층과 저층 해수의 성층화로 인해 영양염 공급이 원활하지 못해 생물량이 감소할 것으로 예측하였다. 또한 고염 농축수의 해양배출은 해수의 밀도를 증가시켜 해저면으로 침강하고, 주변 해수와의 혼합을 방해하여 배출구 주변이 소금사막(salt desert)으로 되어 결국 주변 생태계에 손상을 입힐 수 있음을 지적하고 이에 대한 해결방안을 제시하였다(Miri and Chouikhi, 2005; Talavera and Ruiz, 2001). 본 연구에서는 해수에 순치시킨 송사리를 이용해 고염수 노출에 따른 표염생태계의 영향을 간접적으로 평가하고, 생물에게 미치는 영향을 최소화 할 수 있는 방안으로써 실험생물의 연속적인 행동 변화 모니터링을 통해 고염수의 배출 가능성 여부를 판단할 수 있는 방법을 제시하고자 한다. 이와 같은 방법은 주로 담수환경에 적용되었는데, 일부 선진국에서 물벼룩, 패류, 어류 등의 생물을 이용하여 행동반응을 관찰하는 연속수질모니터링 장치를 운영함으로써 상수원이나 국가의 주요 하천을 관리하고 있으며, 국내에서도 주요 하천에 측정소를 설치하여 물벼룩이나 어류를 이용한

연속적인 수질모니터링을 수행하고 있다(임 등, 1996; 환경부, 2004; Blaise *et al.*, 2003). 이와 반면 해양환경의 경우, 범위가 넓기 때문에 유입원을 고려한 생물을 이용한 연속적인 수질모니터링이 어려운 상황이다. 그러나 해수담수화플랜트와 같이 고정된 시설에서 배출되는 물질에 대해서는 해양배출 전 해수담수화 공정 중에 발생하는 다양한 물질들에 대해 생물 모니터링을 통한 배출 가능성 여부를 판단할 수 있다면 주변 해역의 생태계 손상을 최소화 할 수 있는 대응 수단으로써 충분한 가치가 있는 것으로 판단된다. 해수 담수화 부산물에 대한 문제점은 이미 선진국에서 공론화되었으며, 최근에는 해양생태계를 보존하기 위해 해수담수화시설 건설 전과 초기 가동에 따른 문제점을 예측하고 이를 해결하려는 노력을 하고 있다(Höpner and Windelberg, 1996; Tsiourtis, 2001). Miri and Chouikhi (2005)는 해양으로 배출되는 해수담수화 부산물에 대한 환경 영향을 저감할 수 있는 평가방법 및 체계 개발, 해수담수화 부산물 영향을 예측하고 정량화하기 위한 국가적, 지역적 모니터링 프로그램 개발, 환경영향을 최소화 할 수 있는 요인을 근거로 한 부지선정, 해수담수화 공정 기술 개선 및 부산물질을 상업적으로 활용할 수 있는 방안 등을 제안하였다. 그러나 이와 같은 노력에도 불구하고 시설 가동 시 발생하는 부산물의 해양으로 유입에 따른 환경 및 생태계 피해를 예측하고 이를 사전에 예방할 수 있는 체계적인 시스템은 완벽하게 갖추어져 있지 않은 상태이다.

따라서 이를 사전에 예방하기 위해서는 담수화 공정과정에서 발생하는 농축수의 배출농도를 최소화하는 것이 바람직할 것이다. 이에 본 연구에서 수행한 생물을 이용한 연속적인 모니터링 방법은 급작스런 고염 농축수 배출에 따른 해양생태계의 교란 및 파괴의 위험성을 미연에 방지할 수 있는 실시간 경보시스템으로써 고염해수에 대한 생물모니터링을 통해 배출여부를 결정할 수 있는 예비 시스템으로 이용 가능하며, 더불어 해양생태계의 피해를 최소화하여 사후 해양환경 관리 대책을 수립하기 위한 효율적인 평가방법인 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 국토해양부의 지원으로 해양환경기술개발사업으로 수행되었습니다.

참고문헌

- 김동수, 주찬순, 2001. 여수 연안 승망 어장의 환경요인과 어획변동에 관한 연구(I). 수온·염분과 어획량과의 관계. 한국양식기술학회지, **37**(2): 71-77.
- 김철기, 김광배, 차의영, 2003. 다층 퍼셉트론을 이용한 유해물질 유입에 따른 송사리의 행동 반응 분석 및 인식. 멀티미디어학회지, **6**: 1062-1069.
- 박경수, 강주찬, 윤성진, 이승민, 황윤기, 2008. 어류 자어의 사망률을 이용한 해양생태독성시험 방법에 관한 연구. 바다, **13**(2): 140-146.
- 박경수, 윤성진, 이승민, 김에향, 박승윤, 강덕영, 2005. 해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서의 송사리(*Oryzias latipes*)에 관한 연구. 환경생물학회지, **23**: 293-303.

- 박배경, 박석순, 캐런 어스트펠드, 키이스 쿠우퍼, 1996. 송사리 알의 초기 발생과정을 이용한 매립지 침출수 독성도 평가. 환경생물학회지, **14**: 55-61.
- 신윤경, 최낙중, 허영백, 한형균, 박정흠, 김윤, 2007. 염분변화에 따른 명게 *Halocynthia roretzi*의 생존과 생리적 반응. 한국양식학회지, **20**(4): 226-231.
- 양현성, 박경일, 홍충희, 최광식, 염분 스트레스가 등근전복 *Haliotis discus discus*의 유리아미노산 조성에 미치는 영향. 한국양식학회지, **21**(4): 218-225.
- 임병진, 박수영, 변명섭, 이철우, 임은숙, 윤승모, 1996. 수질오염 조기감시를 위한 물벼룩독성경보장치 활용. 한국육수학회지, **29**(2): 421-427.
- 윤성진, 박경수, 오정환, 박승윤, 2006. 저서성 해산 요각류 harpacticoid *Tigriopus japonicus* 유생을 이용한 해양생태독성 평가. 한국해양환경공학회지, **9**(3): 160-167.
- 윤성진, 염동혁, 김우근, 윤홍길, 이성규, 2007. 초음파가 잉어 *Cyprinus carpio*의 성장 및 단계적 행동에 미치는 영향. 한국육수학회지, **40**(2): 244-253.
- 윤성진, 이성규, 박한오, 2008. 국내산 물벼룩 *Daphnia* sp.를 이용한 연속적인 수질모니터링 장치 개발. 한국물환경학회지, **24**(1): 36-43.
- 윤호섭, 서대철, 최상덕, 2006. 서해안 민어, *Micthys miuy*의 산란 특성과 부화에 미치는 염분의 영향. 한국환경생물학회지, **24**(1): 53-59.
- 추효상, 2002. 하계 남해의 해황 변동과 멸치 초기 생활기 분포 특성. 한국수산학회지, **35**(1): 77-85.
- 최충길, 황영진, 위인선, 1992. 송사리 수정란에 미치는 중금속의 영향. 한국물환경학회지, **8**: 135-140.
- 황형규, 김대현, 박민우, 윤성종, 이윤호, 2008. 고등어 *Scomber japonicus* 난발생 및 자어에 미치는 수온, 염분의 영향. 한국양식학회지, **21**(4): 234-238.
- 환경부, 2004. 위해성평가-관리요소기술-수체에서 유해물질관리를 위한 Aqualarm 개발. 160 pp.
- 허준욱, 이정열, 김용호, 박인석, 장영진, 2006. 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 혈액학적 변화 및 생존율에 미치는 염분의 영향. 한국환경생물학회지, **24**(4): 380-386.
- Ahmed, M., W.H. Shayya, D. Hoey, A. Mahendran, R. Morris and J. Al-Handaly, 2000. Use of evaporation ponds for brine disposal in desalination plants. *Desalination*, **130**: 155-168.
- Astrup, J., 1999. Ultrasound detection in fish-a parallel to the sonar-mediated detection of bats by ultrasound-sensitive insects?. *Comp. Biochem. Physiol.*, **124A**: 19-27.
- Bhattacharyya, S., P.L. Klerks and J.A. Nyman, 2003. Toxicity to freshwater organisms from oil and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. *Environ. Poll.*, **122**: 205-215.
- Blaise, C., F. Gagne, M. Salaza, S. Salazar, S. Trottier and P.-D. Hansen, 2003. Experimentally-induced feminisation of freshwater mussels after long-term exposure to a municipal effluent. *Freshwater Environmental Bulletin*, **12**(8): 865-870.
- Bremere, I., M. Kennedy, A. Stikker and J. Schippers, 2001. How water scarcity will effect the growth in the desalination market in the coming 25 years. *Desalination*, **138**: 7-15.
- Charoy, C.P., C.R. Janssen, G. Persoone and P. Clément, 1995. The swimming behaviour of *Branchionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress. I. The use of automated trajectometry for determining sublethal effects of chemicals. *Aquat. Toxicol.*, **32**: 271-282.
- Chen, C.M. and K.R. Cooper, 1999. Developmental toxicity and EROD induction in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) treated with dioxin congeners. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **63**: 423-429.
- Chen, C.M., S.C. Yu and M.C. Liu, 2001. Use of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in toxicity tests on different industrial effluents in Taiwan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **40**: 363-370.
- Codina, J.C., A. Pérez-García, P. Romero and A. De Vicente, 1993. A Comparison of microbial bioassays for the detection of metal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **25**: 250-254.
- Darwish, M.A., 2001. On electric power and desalted water production in Kuwait. *Desalination*, **138**: 183-190.
- Fernández-Casalderrey, A., M.D. Ferrando and E. Andreumoliner, 1994. Effect of sublethal concentrations of pesticides on the feeding behavior of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **27**(1): 82-89.
- Fernández-Torquemada, Y., J.L. Sánchez-Lizaso and J.M. González-Correa, 2005. Preliminary results of the monitoring of the brine discharge produced by the SWRO desalination plant of Alicante (SE Spain). *Desalination*, **182**: 395-402.
- Follum, O.A. and J.S. Gray, 1987. Nitrogenous excretion by the sediment-living bivalve *Nucula tenuis* from the Oslofjord, Norway. *Mar. Biol.*, **96**: 355-358.
- Forget, J., Pavillon, J.F., Menasria, M.R. and Bocquené, G. 1998. Mortality and LC50 values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to the metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos, and malathion. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **40**: 239-244.
- Gerhardt, A., L.J. De Bisthoven, S. Mo, C. Wang, M. Yang, and Z. Wang, 2002. Short-term response of *Oryzias latipes* (Pisces: Adrianichthyidae) and *Macrobrachium nipponense* (Crustacea: Palaemonidae) to municipal and pharmaceutical waste water in Beijing, China: survival, behaviour, biochemical biomarkers. *Chemosphere*, **47**: 35-47.
- Haruta, K., T. Yamashita and S. Kawashima, 1991. Changes in arginine vasotocin content in the pituitary of the medaka (*Oryzias latipes*) during osmotic stress. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 327-336.
- Hoepner, T., 1999. A procedure for environmental impact assessments (EIA) for seawater desalination plants. *Desalination*, **124**: 1-12.
- Höpner, T. and J. Windelberg, 1996. Elements of environmental impact studies on coastal desalination plants. *Desalination*, **108**: 11-18.
- Humphries, J.R. and M.S. Wood, 2004. Reverse osmosis environmental remediation. Development and demonstration pilot project. *Desalination*, **168**: 177-184.
- Hurst, T.P., B.H. Key, P.A. Ryan and M.D. Brown, 2007. Sublethal effects of mosquito larvicides on swimming performance of larvivor fish *Melanotaenia duboulayi* (Atheriniformes: Melanotaeniidae). *J. Econ. Entom.*, **100**(1): 61-65.

- Jobling, M., 1981. the influence of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review. *J. Fish Biol.*, **18**: 385-400.
- Kim, W.S., J.M. Kim, S.K. Yi and H.T. Huh, 1997. Endogenous circadian rhythm in the river puffer fish *Takifugu obscurus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **153**: 293-298.
- Kim, W.S., J.M. Kim, M.S. Kim, C.W. Park and H.T. Huh, 1998. Effects of sudden changes in salinity on endogenous rhythms of the spotted sea bass *Lateolabrax sp.*. *Mar. Biol.*, **131**: 219-225.
- Kim, W.S., H.T. Huh, J.H. Lee, H. Rumohr and C.H. Koh, 1999. Endogenous circatidal rhythm in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). *Mar. Biol.*, **134**: 107-112.
- Kim, W.S., H.T. Huh, S.H. Huh and T.W. Lee, 2001. Effects of salinity on endogenous rhythm of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae). *Mar. Biol.*, **138**: 157-162.
- Kim, W.S., S.J. Yoon, J.W. Kim, J.A. Lee and T.W. Lee, 2006. Metabolic response under different salinity and temperature conditions for glass eel *Anguilla japonica*. *Mar. Biol.*, **149**: 1209-1215.
- Kwak, I.S., T.S. Chon, H.M. Kang, N. Chung, J.S. Kim, S.C. Koh, S.K. Lee and Y.S. Kim, 2002. Pattern recognition of the movement tracks of medaka (*Oryzias latipes*) in response to sub-lethal treatments of an insecticide by using artificial neural networks. *Environ. Pollut.*, **120**: 671-681.
- Mahi, P., 2001. Development environmentally acceptable desalination projects. *Desalination*, **138**: 167-172.
- Miri, R. and A. Chouikhi, 2005. Ecotoxicological marine impacts from seawater desalination plants. *Desalination*, **182**: 403-410.
- NIWA, 1998. Marine fish (*Rombosolea plebeia*). Acute toxicity test protocol. National Institute of Water and Atmospheric Research, pp. 29.
- Oren, A., I. Gavrieli, J. Gavrieli, M. Kohen, L. Lati and M. Aharoni, 2004. Biological effects of dilution of Dead Sea brine with seawater: Implications for the planning of the Red Sea-Dead Sea "Peace Conduit", *J. Mar. Syst.*, **46**: 121-131.
- OECD, 1992. Guideline for the testing of chemicals: Fish, acute toxicity test. Organisation for Economic Cooperation and Development, No. 203.
- Reubush, K.J. and A.G. Heath, 1996. Metabolic responses to acute handling by fingerling inland and anadromous striped bass. *J. Fish Biol.*, **49**: 830-841.
- Sakamoto, T., T. Kozaka, A. Takahashi, H. Kawauchi and M. Ando, 2001. Medaka (*Oryzias latipes*) as a model for hypoosmoregulation of euryhaline fishes. *Aquaculture*, **193**: 347-354.
- Sagloi, P., K.H. Olsén and S. Bretaud, 2001. Behavioral and olfactory responses to prochloraz, bentazone, and nicosulfuron-contaminated flows in goldfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **41**: 192-200.
- Szulkin, M., P. Dawidowicz and S.I. Dodson, 2006. Behavioural uniformity as a response to cues of predation risk. *Ani. Behev.*, **71**: 1013-1019.
- Talavera, J.L.P. and J.J.Q. Ruiz, 2001. Identification of the mixing processes in brine discharges carried out in Barranco del Toro Beach, south of Gran Canaria (Canary Islands). *Desalination*, **139**: 277-286.
- Tsiourtis, N.X., 2001. Desalination and environment. *Desalination*, **138**: 1
- USEPA, 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms. United States Environment Protection Agency, pp. 122.
- Vijayavel, K., R.D. Gomathi, K. Durgabhavani and M.P. Balasubramanian, 2004. Sublethal effect of naphthalene on lipid peroxidation and antioxidant status in the edible marine crab *Scylla serrata*. *Mar. Poll. Bull.*, **48**: 429-433.
- Waring, C.P., R.M. Stagg and M.G. Poxton, 1996. Physiological responses to handling in the turbot. *J. Fish Biol.*, **48**: 161-173.
- Widdows, J. and A.J.S. Hawkins, 1989. Partitioning of rate of heat dissipation by *Mytilus edulis* into maintenance, feeding and growth components. *Physiol. Zool.*, **62**: 764-784.
- Yasumasu, S. and S. Mori, 1975. Studies on the variation and adaptation of fishes. I. Adaptation of killfish (*Oryzias latipes* T&S) to saline water. 1. Field study. *Zool. Mag.*, **66**: 351-358.
- Yoon, S.J., C.K. Kim, J.G. Myoung and W.S. Kim, 2003. Comparison of oxygen consumption patterns between wild and cultured black rockfish *Sebastes schlegeli*. *Fish. Sci.*, **69**: 43-49.

2010년 7월 29일 원고접수

2010년 12월 29일 수정본 채택

담당편집위원: 박명길