

납과 아연이 말뚝성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 수정 및 배아 발생에 미치는 영향

황운기 · 허 승 · 박종수 · 강한승*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터

Effects of Lead and Zinc on the Fertilization and Embryo Development of the Sea Urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*)

Un-Ki Hwang, Seung Heo, Jong-Soo Park and Han Seung Kang*

National Fisheries Research & Development Institute, West Sea Fisheries Research Institute,
Marine Ecological Risk Assessment Center, Incheon 400-420, Korea

Abstract - The individual toxicity of lead (Pb) and zinc (Zn) has been investigated by using the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*) germ cell and pluteus-larvae. The gametotoxic and embryotoxic effects of Pb and Zn on *H. pulcherrimus* were each investigated at 31, 63, 125, 250, 500 ppb and 16, 31, 63, 125, 250 ppb, respectively. Spawning was induced by 0.5 M KCl solution and the fertilization and normal embryogenesis rates test were performed for 10 min and 64 h after fertilization, respectively. In exposure to Pb, the fertilization rate was not significantly changed compared with control but normal embryogenesis rate was significantly decreased with concentration dependent manner. Fertilization and normal embryogenesis rates showed a significant decreased with concentration dependent manner in exposed to Zn. The normal embryogenesis rates were significantly inhibited in exposed to Pb ($EC_{50}=45.13$ ppb, 95% CI=40.12~50.05 ppb) and Zn ($EC_{50}=19.82$ ppb, 95% CI=18.26~21.31 ppb). In exposure to Pb and Zn, the NOEC of normal embryogenesis rate was <31.25 and <15.63 ppb, respectively. The LOEC showed each 31.25 and 15.63 ppb in exposed to Pb and Zn. These results suggest that the early embryo development of *H. pulcherrimus* is highly sensitive to heavy metals such as Pb and Zn, *H. pulcherrimus* can be used as a test organism for risk assessment in marine ecosystems.

Key words : *H. pulcherrimus*, fertilization, embryogenesis, Pb, Zn, EC_{50} , 95% CI, NOEC, LOEC

서 론

산업화와 도시화에 따른 경제성장 및 인구증가는 중금속 등의 오염물질을 증가시켜 환경오염을 유발하고

있으며, 이들 중금속은 다양한 농도로 육상뿐만 아니라 수서생태계에 존재하여 생물들에게 독성을 일으킨다. 특히 수서생태계에 서식하는 생물들은 육상에 서식하는 생물들에 비해 영향을 많이 받는다. 해양에 유입된 중금속은 퇴적물과의 결합에 따라 축적률이 높으며, 기타 오염물질보다 상대적으로 긴 반감기를 갖고 있어 미량일 지라도 생리적 장애를 일으키며 먹이사슬을 통해 상위 포식자인 인간에게까지 영향을 미친다(Martin and Whit-

*Corresponding author: Han Seung Kang, Tel. 032-745-0684,
Fax. 032-745-0686, E-mail. kanghs@nfrdi.go.kr

field 1983; Phillips and Segar 1986).

인체의 물질대사에 불필요한 유해금속물질 (toxic and non-essential metal)인 납(lead, Pb)은 화학공업의 각종 장치, 총탄, 축전지의 극판, 페인트의 계면활성제, 자동차 윤활유 및 납시재료 등에 포함되어 있으며, 미량이지만 장기간 노출 시 체내에 축적되어 다양한 종류의 급, 만성 비 발암성 독성 (non-carcinogenic toxicity)을 유발한다 (Mahaffey *et al.* 1981; Mahaffey 1983; Park *et al.* 2006; Lee *et al.* 2009). 인체에의 납의 노출 경로는 산업체 근로자의 경우 호흡기계로 노출되나 일반적으로는 오염된 물과 토양, 농축산물 및 식품 등을 통한 소화기계가 주된 경로이다 (Park *et al.* 2006). 이렇게 흡수된 납은 약 90%가 뼈에 축적되며, 혈액에서는 대부분 적혈구와 결합한다 (Smith *et al.* 1992; Fonia 1995). 특히 납 중독 시에는 신경계에 작용하여 뇌 발달을 저해하며 생식독성 물질로 정소의 기능 저하 및 정자생산에 영향을 미친다 (Sokol 1989; Nava-Ruiz *et al.* 2012).

생체필수금속인 아연 (zinc, Zn)은 DNA와 단백질의 구성요소 및 세포분화의 주기 등 다양한 생체 반응에 관여하고 있다 (Wu and Wu 1987; King *et al.* 2000). 사람의 경우 아연의 결핍 시 소화기계 질환 및 생식소 발육의 저하를 유발한다 (Prasad 1996; Cui *et al.* 1999). 아연 농도가 적정 이상 높으면 세포의 구조적 이상 및 생화학적 인 기능 장애로 인한 생리적인 불균형을 나타내어 생물에게 나쁜 영향을 미치게 된다 (Viarengo 1985). 지속적인 아연 노출은 어류에서 아가미 염세포의 증식 및 새판의 피사를 일으키며 혈구를 증가시킨다 (Skidmore 1970; Matthiessen and Brafield 1973; Wong *et al.* 1977).

중금속인 납과 아연 등의 독성 정도를 연구하기 위해서는 자극에 민감하게 반응하는 생물을 이용하여 이들의 생체 내 손상 정도를 평가하는 연구가 선행되어야 함은 물론, 효과적인 생물검정기술의 확립이 필요하다. 이러한 필요성에 따른 연구 동향은 생물학적 영향을 근거로 하여 많은 연구가 진행되었으며 연구 범위도 점차 확대되고 있다 (Han *et al.* 2009).

최근 시료 확보 및 실험실 배양의 용이성, 세포의 난할 과정 및 기관 형성 등의 배아 발달과정 관찰 용이성 등의 장점으로 인해 성게는 환경오염이나 독성 연구의 시험 생물로서 자주 이용되고 있다 (Kobayashi 1973, 1977, 1981; Greenwood 1983; Monroy 1986; Wui *et al.* 1992; Davidson *et al.* 1998; Yu 1998; Hwang *et al.* 2008, 2009a, b, 2010, 2011, 2012).

본 연구는 유용 수산생물로서 조간대 암반 지역에서 서식하는 말뚝성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 수정란 및 정상 배아 발생률을 이용하여 납과 아연이 생태계에

위해성을 나타내는 농도의 평가 및 시험생물로서의 가치를 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험에 사용된 *H. pulcherrimus*는 2011년 3월에 전라북도 부안군 변산면 격포리 인근 해역의 조간대 암반지역에서 채집하여 국립수산물품질관리원 서해수산연구소 해양생물배양실에서 1~2주간 순치 후 실험에 이용하였다. 해양생물배양실의 수조환경은 자연채광 상태의 유수식으로 $9 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 수온을 유지하였다.

2. 방정 및 방란 유도

*H. pulcherrimus*는 암, 수 각 6개체로, 크기는 직경 3.5 cm 이상을 사용하였으며, 표면의 원생동물 및 이물질을 제거하기 위하여 멸균된 해수를 이용하여 표면을 세척한 후, 실험에 이용하였다. 배양액으로 사용된 해수는 membrane filter (pore size $0.45 \mu\text{m}$)로 여과된 자연해수를 멸균하여 사용하였다. *H. pulcherrimus*에 0.5 M KCl 용액 1 mL을 체강내로 주입시킨 후, 여과 및 멸균한 자연해수가 담긴 100 mL 용량의 비이커에 넣고 생식공이 충분히 잠기게 하였다. 30분 동안 방정, 방란을 유도시켜 얻은 배우자를 정자용액은 1회, 난자용액은 3회 세정하여 실험에 사용하였다.

3. 중금속 노출

실험에 사용한 중금속 Pb (Lead Nitrate)과 Zn (Zinc Oxide)은 Sigma (St. Louis, MO) 제품을 사용하였다. 실험동물의 수정 및 배아 발생률에 미치는 Pb와 Zn의 영향을 살펴보기 위하여 멸균된 해수를 이용하여 1 ppm 농도로 조성한 stock solution을 준비한 후, 희석하여 사용하였다. Pb 및 Zn 노출에 의한 *H. pulcherrimus*의 수정률 및 배아 발생률을 조사하기 위한 실험 농도는 각각 Pb (0, 31, 63, 125, 250, 500 ppb), Zn (0, 16, 31, 63, 125, 250 ppb)로 설정하였다.

4. 배양조건

실험에 사용된 중금속 농도를 조성한 멸균 해수 배양액의 pH는 7.8~8.2, 배양 온도는 $16 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. 인공수정 (artificial insemination)시 적정한 정자 접종을 위하여 정자는 2,000~2,500배 희석하였으며, 멸균

해수 배양액 1 mL에 수정란 1,500~2,000개를 준비해 Table 1의 조건으로 배양하였다.

5. 수정 및 배아 발생 관찰

방정 유도를 통해서 얻은 정자는 각각의 Pb 및 Zn 실험 농도에 30분간 노출시킨 후, 방란 유도를 통해 얻은 정상 난자와 인공수정을 시켰다. 수정 10분 경과 후 수정막의 형성 유·무로 수정률을 관찰하였다(Fig. 1). 발생률은 pluteus 유생기인 수정 후 64시간째 정상 및 비정상 발생으로 나누어 관찰하였다(Pagano *et al.* 1985a, b)(Fig. 1).

실험은 농도별로 3회 반복 실시하였으며 100개 이상의 배아를 3회 반복 계수하여 고정된 배아 수에 대한 정상적인 배아 수의 백분율을 산출하였다. 이들 결과를 이용하여 수정 및 배아 발생률에 대한 반수영향농도(50% Effective Concentration, EC₅₀)와 95% 신뢰구간(95% Confidence Limit, 95% CI)를 probit 통계법을 이용하여 분석하였다. 또한, 무영향농도(No Observed Effective Concentration, NOEC), 최소영향농도(Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)는 Dunnett's test를 이용하여 분석

하였다.

6. 통계학적 분석

대조군과 실험군과의 유의성 검정은 Student's *t*-test로 비교하였으며, *p*가 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. Pb과 Zn 처리에 따른 말뚝성게의 수정율

H. pulcherrimus 정자를 중금속인 Pb (0, 31, 63, 125, 250, 500 ppb)과 Zn (0, 16, 31, 63, 125, 250 ppb)에 30분간 노출 및 정상 난자와 10분간 수정시킨 후 수정률을 관찰한 결과 Pb 처리 시 수정률은 처리 농도에 유의적인 영향을 받지 않았다(Fig. 2). 그러나 Zn을 처리했을 경우 대조군이 97.84%를 보였으며, Zn 농도 16, 31, 63, 125, 250 ppb 처리군에서의 수정률은 각각 85.77%, 88.22%, 84.24%, 80.97%, 51.05%를 나타내어 농도 증가에 따라 농도 의존적으로 수정률이 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 2).

2. Pb과 Zn 처리에 따른 말뚝성게의 정상 배아 발생율

*H. pulcherrimus*의 배 발생률에 Pb (0, 31, 63, 125, 250, 500 ppb)과 Zn (0, 16, 31, 63, 125, 250 ppb)이 미치는 영향을 살펴보았다. Pb을 처리하였을 경우 수정 후 64시간째인 pluteus 유생기의 정상 배아 발생률은 대조군이 93.67%를 보였으며, 처리 농도 31, 63, 125, 250, 500 ppb 처리군에서의 정상 배아 발생률은 각각 58.53%, 34.33%, 17.62%, 3.04% 및 0.00%를 나타내었다. Pluteus 유생기의 정상 배아 발생률은 Pb 처리농도가 증가할수록 농도 의존적으로 유의적인 감소를 나타내었으며 500 ppb에서는

Table 1. Experimental culture conditions using the sea urchin, *H. pulcherrimus*

Test parameters	Conditions
Culture type	Static non-renewal 10 min-64 h toxicity test
Photoperiod	Ambient light condition and 8L : 16D periods
Temperature	16±0.5°C
pH	7.8~8.2
Salinity	32±1.0
Culture dish	6 well plate culture dish
Solution	Filtered (0.45 µm) and sterilized seawater
Solution exchange	None
Experiment period	10 min-64 hr
Investigation item	Fertilization, larval development rates
Acceptability criterion	> 90% fertilized eggs and pluteus larvae at control

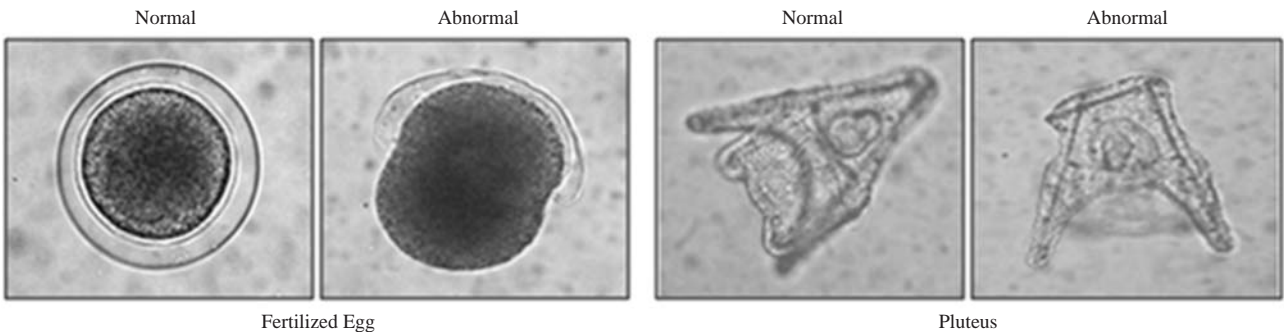


Fig. 1. Normal and abnormal forms in fertilized egg and pluteus of sea urchin (*H. pulcherrimus*).

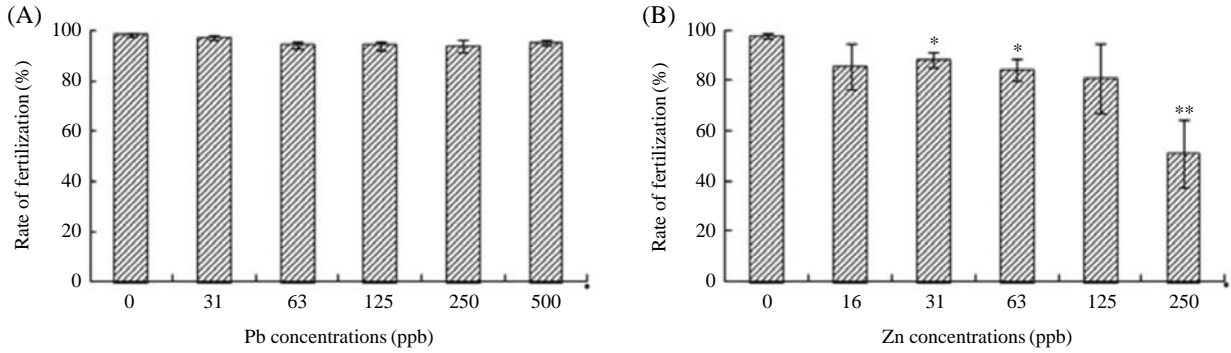


Fig. 2. Fertilization rates of *H. pulcherrimus* eggs exposed to heavy metals as Pb and Zn. All the points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's *t*-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

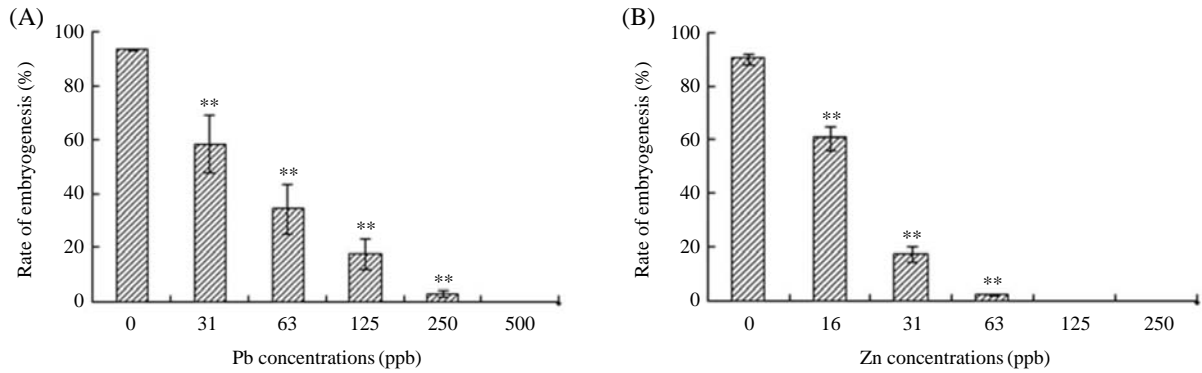


Fig. 3. Normal embryogenesis rates of *H. pulcherrimus* embryos exposed to Pb and Zn. All the points showed a statistically significant difference from the control group according to Student's *t*-test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

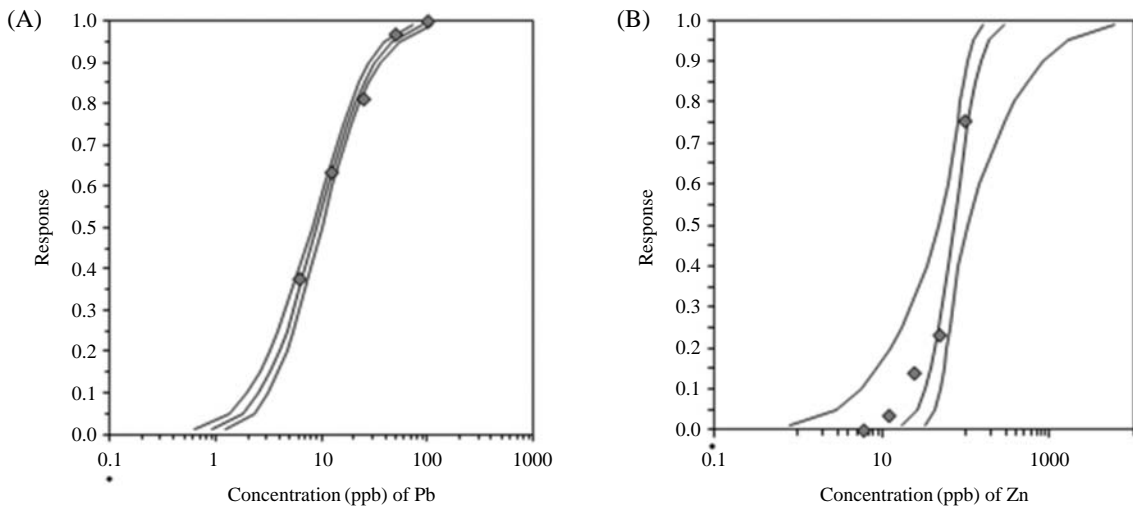


Fig. 4. Concentration-response by heavymetals treatment.

모두 치사하였다(Fig. 3). Zn을 처리했을 경우 *pluteus* 유생기의 정상 배아 발생률은 대조군이 90.00%를 나타냈으며, 처리 농도 16, 31, 63, 125, 250 ppb 처리군에서의 정

상 배아 발생률은 각각 60.52%, 17.33%, 2.33%, 0.00% 및 0.00%를 나타내었다. Zn 농도가 증가할수록 정상 *pluteus* 유생은 유의적으로 급격히 감소하는 경향을 나

Table 2. Toxicological estimation using the form of a fertilization membrane and normal pluteus in the *H. pulcherrimus* exposed to Pb and Zn

Items	Toxicity (End-points)	Pb (ppb)	Zn (ppb)
EC ₅₀	Normal pluteus	45.13	19.82
95% CI	Normal pluteus	40.12~50.05	18.26~21.31
NOEC	Normal pluteus	<31.25	<15.63
LOEC	Normal pluteus	31.25	15.63

EC₅₀: 50% Effective concentration, 95% CI: 95% Confidence limit, NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration.

타내었으며 Zn 농도 125 및 250 ppb 농도에서는 정상 pluteus 유생을 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

3. 수정 및 배아 발생률을 이용한 독성평가

Pb와 Zn이 *H. pulcherrimus*의 수정 및 배아 발생률에 미치는 영향에 대한 실험결과를 바탕으로, probit 통계법을 이용해 EC₅₀과 EC₅₀에 95% CI를 산출하였고, Dunnett's test를 이용하여 NOEC와 LOEC 값을 산출하였다.

배아 발생률은 Pb와 Zn 농도가 증가할수록 감소하는 농도의존성을 보였으며, 농도반응 관계식은 표준독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타냈다(Fig. 4). *H. pulcherrimus*의 배아 발생률에 대한 Pb의 영향을 독성치로 나타냈을 때, EC₅₀는 45.13 ppb를 나타냈고, EC₅₀에 대한 95% CI는 40.12~50.05 ppb를 나타냈다. 배아 발생률에 대한 NOEC는 <31.25 ppb로 나타났고, LOEC는 31.25 ppb로 나타났다(Table 2). 배아 발생률에 대한 Zn의 독성치는 EC₅₀의 경우 19.82 ppb를 나타냈고, EC₅₀에 대한 95% CI는 18.26~21.31 ppb를 나타냈다. 배아 발생률에 대한 NOEC는 <15.63 ppb로 나타났고, LOEC는 15.63 ppb로 나타났다(Table 2).

고찰

산업화와 도시화에 따른 환경오염물질의 증가는 사람을 포함한 생태계에 서식하는 생물의 생존 및 건강에 위해 요인으로 작용한다. 따라서 이들 물질의 오염에 따른 위해 정도의 판단에 관한 연구는 매우 중요하다. 중금속 등의 독성물질 노출에 따른 위해 연구는 이화학적 분석에 따른 농축 정도의 파악 연구를 비롯하여 주로 포유류 등의 동물에 직접 노출 후 현상을 관찰하는 연구 중심으로 이루어져 왔다. 이화학적 분석 방법은 육상 및 수생태계를 포함한 생물서식지에 존재하는 유해물질에 대한 개별 정보를 제공한다는 점에서는 매우 유용하나, 서식지에 존재하는 생물에 미치는 직접적인 영

향을 판단할 수 없으며, 이들 물질의 상호작용에 의해 발생하는 독성의 상승(synergism), 부가(addition) 및 길항(antagonism) 작용에 대해서는 어떤 정보도 얻을 수 없다는 단점이 있다(Ahlf *et al.* 2002; Chu and Chow 2002). 따라서 이들 유해물질의 위해 정도를 파악하는 연구는 이화학적 분석 방법과 더불어 생물 노출 실험에 따라 나타나는 여러 가지 현상을 분석하는 연구가 필수적이라 생각된다. 또한 이들 유해물질은 육상 생태계 생물보다 해양을 포함한 수생태계 생물에 직접적으로 영향을 미치는 경우가 많으므로 이러한 연구의 시험 생물종은 수생태계 생물이 적합하다.

최근 해양생물 종을 이용하여 해양에 유입되는 독성물질에 대한 생물 반응 연구가 활발히 진행되고 있을 뿐만 아니라 연구의 범위도 점차 넓어지고 있다. 그러나 시험생물 및 독성물질 노출시기 등의 방법의 차이로 인해 독성물질에 대한 생체 내 미치는 영향이 다양하게 나타날 수 있는 문제점이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 시험방법의 표준화 및 유용 시험생물 종을 선정하는 연구는 매우 중요하다. 시험생물로서 성체는 세계 전역의 바다에 서식하며 산란기가 길고 생식세포인 정자, 난자를 쉽게 얻을 수 있으며 실험실에서 배아 발생을 관찰하기 용이한 장점으로 인해 생태독성학적 연구에도 활발하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 조간대 암반지역에 서식하며 실험실에서 인공 배란, 방정 및 수정을 유도할 수 있으며 배아 배양에 용이한 *H. pulcherrimus*를 시험종으로 선정하였다.

본 연구 결과 Pb (31, 63, 125, 250, 500 ppb)을 노출시킨 5개 실험구 정자와 Pb를 노출시키지 않은 난자와의 인공수정 시 수정률은 대조구에서 98.26%로 나타났으며 실험구 고농도인 500 ppb에서는 95.00%로 나타나 수정률에 유의적인 영향을 미치지 않았다(Fig. 2). 그러나 정상적인 배아 발생률은 Pb 농도가 증가할수록 농도의존적으로 유의적인 감소를 나타내었다(Fig. 3). Zn (0, 16, 31, 63, 125, 250 ppb)을 처리한 경우 수정률은 대조군 97.84%이고, 고농도 63 및 250 ppb에서 각각 84.24 및 51.05%로 나타나 농도에 따라 유의적인 감소를 보였다(Fig. 2). 또한 배아 발생률에 있어서도 농도에 따른 급격한 유의적 감소를 나타냈다(Fig. 3). 이상의 결과로 보아 Pb와 Zn은 민감하게 성체 배아의 정상적인 발생과정을 저해시키는 것을 알 수 있다. Pb 및 Zn 처리 농도가 증가할수록 배아 발생률이 농도 의존적 감소하는 연구 결과는 *Hydroides elegans*를 이용한 연구 결과와 유사하게 나타났다(Gopalakrishnan *et al.* 2007, 2008). 이러한 특성은 Pb와 Zn 등의 노출에 따른 성체 배아의 발생률을 비

교 평가하여 위해성 평가에 이용할 수 있다. 그러나 수정률에 있어서 Pb는 영향을 미치지 않았고 Zn은 반응하여 영향을 미쳤다. Fathallah *et al.* (2010)이 유럽 산 조개류 일종인 *Ruditapes decussatus*을 이용한 연구결과에 따르면 중금속인 구리(Cu), 수은(Hg), Zn을 정자에 30분간 노출시킨 후 인공수정 시켰을 때 Cu는 수정률에 영향을 미치지 않았으나 Hg 및 Zn은 각각 256 및 512 ppt에서 수정율이 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과들로 보아 중금속은 종류에 따라 남성생식 세포인 정자의 활성에 영향을 미쳐 수정률의 감소를 유발시키는 것으로 사료된다. 따라서 수정률을 이용한 위해성 평가는 중금속의 종류에 따라 적용하는 것이 필요하다고 생각된다.

노출에 따른 위해 정도의 평가에 있어서 동일한 독성 물질에 대한 영향이 수정률보다 배아 발생률에서 유의적으로 크게 나타나는 것은 배아가 pluteus 유생시기에 도달 시까지 독성물질에 더 오랫동안 노출됨으로 인해 발달 저해가 증가되었을 것으로 생각된다(Wui *et al.* 1992; Hwang *et al.* 2008, 2011). 이와 같은 결과를 증명하는 연구 결과로서 *R. decussatus*의 경우 정자에 Cu, Zn 및 Hg을 노출하는 시간이 길어질수록 수정률이 유의적으로 감소하였으며 Zn의 경우 30분 노출 시 512 ppb에서 수정률이 유의적으로 감소하다 1시간 노출하면 보다 낮은 농도인 64 ppb부터 수정률이 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다(Fathallah *et al.* 2010). 따라서 중금속의 위해성은 중금속의 종류 뿐만 아니라 노출되는 시간도 중요한 요인으로 작용한다고 사료된다. 이들 연구 결과로부터 Pb 및 Zn 등의 중금속은 종류에 따라 정도의 차이는 있지만 *H. pulcherrimus* 초기 배아 발생에 있어서 유해한 작용을 한다는 것을 알 수 있으며, *H. pulcherrimus*를 이용한 생태독성 시험법은 연안해역에 대한 생물영향을 평가하기 위하여 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

*H. pulcherrimus*의 배아 발생률에 대한 Pb의 영향을 독성치로 나타냈을 때, EC₅₀는 45.13 ppb를 나타냈고, EC₅₀에 대한 95% CI는 40.12~50.05 ppb를 나타냈다. 배아 발생률에 대한 NOEC는 <31.25 ppb로 나타났고, LOEC는 31.25 ppb로 나타났다. 또한 Zn의 영향을 독성치로 나타낼 때 EC₅₀는 19.82 ppb를 나타냈고, EC₅₀에 대한 95% CI는 18.26~21.31 ppb를 나타냈으며, NOEC는 <15.63 ppb로 나타났고, LOEC는 15.63 ppb로 나타났다. 이전 보고한 *H. pulcherrimus*를 시험종으로 독성 평가를 한 결과 구리(Cu)의 EC₅₀는 10.32 ppb, NOEC는 <6.25 ppb, LOEC는 12.50 ppb로 나타났으며, 카드뮴(Cd) EC₅₀는 244.04 ppb, NOEC는 <125 ppb, LOEC는 125 ppb로 나타났다(Hwang *et al.* 2009a). 코발트(Co(II))의 경우 EC₅₀는

71.84 ppb, NOEC는 <10 ppb, LOEC는 10 ppb로 나타났으며(Hwang *et al.* 2011) 니켈(Ni) EC₅₀는 34.19 ppb, NOEC는 <10 ppb, LOEC는 25 ppb로 나타났다(Hwang *et al.* 2012). 이상의 결과를 바탕으로 *H. pulcherrimus*를 시험종으로 배아 발생률에 의한 중금속의 독성평가에서 EC₅₀을 비교 평가 시 독성 영향은 Cu>Zn>Ni>Pb>Co(II)>Cd 순으로 나타났다. Kobayashi(1995)는 중금속이 성체의 초기 배아 발생에 미치는 영향에 관한 연구 보고에서 중금속 중 Hg가 가장 큰 독성을 보였으며, Cu>Zn>Ni>Cd의 순으로 독성치를 보고하였다. 이들 결과를 종합해보면 Zn과 Pb는 Cu보다는 독성이 약하나 Co(II)나 Cd보다 독성이 큰 것으로 생각된다.

성체는 먹이연쇄에서 기초생산자인 해조류를 섭식하는 제1차 소비자 단계의 생물이다. 따라서 상위 소비자 및 분해자 등의 주요 먹이생물로서 중요한 위치를 갖는다. 따라서 환경오염에 의한 문제는 단순히 연안 생태계의 문제일 뿐만 아니라 먹이연쇄의 상위단계인 인간에게는 섭식에 따른 위험한 경우가 생길 수 있다.

본 연구결과 Pb 및 Zn이 연안 해역에 유입되어 31.25 및 15.63 ppb를 초과할 경우 연안 생태계 내에 서식하는 생물의 재생산에 유해한 영향을 미칠 것으로 판단된다. 또한 해양생태계 위해성을 평가하고자 할 때 동, 식물플랑크톤 중심의 연구에서 유용 수산생물자원으로의 연구가 유도되는 상황에서 *H. pulcherrimus*는 발생학적인 장점과 함께 오염물질에 대한 반응이 민감한 시험 생물로 유용하게 이용될 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 말뚝성게(*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 생식세포 및 pluteus 유생을 이용하여 중금속인 납(lead, Pb)과 아연(zinc, Zn)의 독성을 조사하였다. *H. pulcherrimus* 배우자 및 배아에 미치는 Pb와 Zn의 독성은 각각 31, 63, 125, 250, 500 ppb 및 16, 31, 63, 125, 250 ppb의 농도에서 조사하였다. 0.5 M KCl 용액을 이용하여 방란 및 방정을 유도하였고, 수정률 및 정상 배아발생률의 조사는 수정 후 각각 10분 및 64시간째 관찰하여 시행하였다. Pb 노출 시 수정률은 대조군과 비교하여 유의적인 변화가 없었다. 그러나 정상 배아발생률은 농도가 높을수록 농도의존적으로 유의적인 감소를 보였다. Zn을 노출시켰을 경우 수정률과 정상 배아발생률은 농도가 높을수록 농도의존적인 유의적 감소를 나타냈다. *H. pulcherrimus*의 정상 배아 발생에 대한 독성치는 각각 Pb(반수 영향농도(EC₅₀) 45.13 ppb, 95% CI 40.12~50.05 ppb), Zn

(반수영향농도 (EC₅₀) 19.82 ppb, 95% CI 18.26~21.31 ppb)로 나타났다. 또한 Pb와 Zn의 무영향농도 (NOEC)는 각각 <31.25 ppb 및 <15.63 ppb로 나타났고, 최소영향농도 (LOEC)는 31.25 및 15.63 ppb로 나타났다. 본 연구 결과, *H. pulcherrimus*의 초기 배아발생 과정은 Pb와 Zn 등의 중금속에 높은 민감성을 보인다. 따라서 *H. pulcherrimus*는 해양생태계 위해 평가를 위한 시험생물로서 사용이 가능하다고 사료된다.

사 사

본 연구는 2012년도 국립수산과학원 경상과제연구비 지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해 평가센터에서 수행하였다.

참 고 문 헌

- Ahlf W, H Hollert, H Neumann-Hensel and M Ricking. 2002. A guidance for the assessment and evaluation of sediment quality: A German approach based on ecotoxicological and chemical measurements. *J. Soils Sediments* 2:37-42.
- Chu KW and KL Chow. 2002. Synergistic toxicity of multiple heavy metals is revealed by a biological assay using a nematode and its transgenic derivative. *Aquat. Toxicol.* 61:53-64.
- Cui L, Y Takagi, M Wasa, K Sando, J Khan and A Okada. 1999. Nitric oxide synthase inhibitor attenuates intestinal damage induced by zinc deficiency in rats. *J. Nutr.* 129:792-798.
- Davidson EH, RA Cameron and A Ransick. 1998. Specification of cell fate in the sea urchin embryo: Summary and some proposed mechanisms. *Development* 125:3269-3290.
- Fathallah S, MN Medhioub, A Medhioub and MM Kraiem. 2010. Toxicity of Hg, Cu and Zn on early developmental stages of the European clam (*Ruditapes decussatus*) with potential application in marine water quality assessment. *Environ. Monit. Assess.* 171:661-669.
- Fonia O. 1995. Down-regulation of hepatic peripheral-type benzodiazepine receptors caused by acute lead intoxication. *Eur. J. Pharmacol. Environ. Toxicol. Pharmacol. Section* 293:335-339.
- Gopalakrishnan S, H Thilagam and PV Raja. 2007. Toxicity of heavy metals on embryogenesis and larvae of marine sedentary polychaete *Hydroides elegans*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52:171-178.
- Gopalakrishnan S, H Thilagam and PV Raja. 2008. Comparison of heavy metal toxicity in life stages (spermiotoxicity, egg toxicity, embryotoxicity and larval toxicity) of *Hydroides elegans*. *Chemosphere* 71:515-528.
- Greenwood PJ. 1983. The influence of an oil dispersant chem-serve OSE-DH on the viability of sea urchin gametes. Combined effects of temperature, concentration and exposure time on fertilization. *Aqua. Toxicol.* 4:15-29.
- Han M, KM Hyun, M Nili, IY Hwang and JK Kim. 2009. Synergistic effects of ionizing radiation and mercury chloride on cell viability in fish hepatoma cells. *Korean J. Environ. Biol.* 27:140-145.
- Hwang UK, CW Lee, SM Lee, KH An and SY Park. 2008. Effects of salinity and standard toxic metals (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*). *J. Environ. Sci.* 17:775-781.
- Hwang UK, CW Rhee, KS Kim, KH An and SY Park. 2009a. Effects of salinity and standard toxic metals (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *J. Environ. Toxicol.* 24:9-16.
- Hwang UK, CW Rhee, KS Kim, HC Kim, KH An and SY Park. 2009b. Toxicity assessment of ocean dumping wastes using fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*). *J. Environ. Toxicol.* 24:25-32.
- Hwang UK, HM Ryu, SG Kim, JS Park and KH An. 2010. Toxicity assessment of ocean dumping wastes using fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *J. Environ. Toxicol.* 25:11-18.
- Hwang UK, HM Ryu, YH Choi, SM Lee and HS Kang. 2011. Effect of cobalt (II) on the fertilization and embryo development of the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *Korean J. Environ. Biol.* 29:251-257.
- Hwang UK, JS Park, JN Kwon, S Heo, Y Oshima and HS Kang. 2012. Effect of nickel on embryo development and expression of metallothionein gene in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 57:145-149.
- King JC, DM Shames and LR Woodhouse. 2000. Zinc homeostasis in humans. *J. Nutr.* 130:1360-1366.
- Kobayashi N. 1973. Studies on the effects of some agents on fertilized sea urchin eggs, as a part of the bases for marine pollution bioassay I. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.* 21:109-114.
- Kobayashi N. 1977. Preliminary experiments with sea urchin pluteus and metamorphosis in marine pollution bioassay. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.* 24:9-21.
- Kobayashi N. 1981. Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant to Canadian and Japanese sea urchin eggs. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.* 27:76-84.
- Kobayashi N. 1995. Bioassay data marine pollution using echinoderms. *Encyclopedia of Environmental Control Technology* 9:539-609.
- Lee HH, MJ Cheong, J Huh, SY Song and HO Boo. 2009. Effects of *Momordica Charantia* L. water extracts on the rat liver and kidney with acute toxicated by lead. *Korean J.*

- Microscopy 39:355-363.
- Mahaffey KR, SG Capar, BC Gladen and BA Fowler. 1981. Concurrent exposure to lead, cadmium, and arsenic. Effects on toxicity and tissue metal concentrations in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 98:463-481.
- Mahaffey KR. 1983. Biototoxicity of lead: influence of various factors. *Fed. Proc.* 42:1730-1734.
- Martin JM and M Whitfield. 1983. The significance of river input of chemical elements to the ocean. In *Trace Metals in Sea Water*. New York. pp. 265-296.
- Matthiessen P and AE Brafield. 1973. The effect of dissolved zinc on the gills of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *J. Fish. Res. Board Can.* 30:607-613.
- Monroy A. 1986. A centennial debt of developmental biology to the sea urchin. *Biol. Bull.* 171:509-519.
- Nava-Ruiz C, M Méndez-Armenta and C Ríos. 2012. Lead neurotoxicity: effects on brain nitric oxide synthase. *J. Mol. Histol.* Epub ahead of print.
- Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, E Ragucciand and GG Giordano. 1985a. Ph-induced changes in mitotic and development patterns in sea urchin embryogenesis, I. Exposure of embryos. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 5: 101-112.
- Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, E Ragucciand and GG Giordano. 1985b. Ph-induced changes in mitotic and development patterns in sea urchin embryogenesis, II. Exposure of sperm. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 5:113-121.
- Park SW, KY Kim, DW Kim, SJ Choi, HS Kim, BS Choi, MK Choi and JD Park. 2006. The relation between blood lead concentration, epidemiologic factors and body iron status. *J. Environ. Toxicol.* 21:153-163.
- Phillips DJH and DA Segar. 1986. Use of bioindicators in monitoring conservative contaminants: programme design imperatives. *Mar. Pollut. Bull.* 17:10.
- Prasad AS. 1996. Zinc deficiency in women, infants and children. *J. Am. Coll. Nutr.* 15:113-120.
- Skidmore JF. 1970. Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulfate. *J. Exp. Biol.* 52: 481-494.
- Smith DR, JD Osterloh, S Niemeier and AR Flegal. 1992. Stable isotope labeling of lead compartments in rats with ultralow lead concentrations. *Environ. Res.* 57:190-207.
- Sokol RZ. 1989. Reversibility of the toxic effect of lead on the male reproductive axis. *Reproductive Toxicology* 3:175-180.
- Viarengo A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 16:153-158.
- Wong MH, KC Luk and KY Choi. 1977. The effects of zinc and copper salts on *Cyprinus carpio* and *Ctenopharyngodon idellus*. *Acta. Anatomica.* 99:450-454.
- Wu FYH and CW Wu. 1987. Zinc in DNA replication and transcription. *Ann. Rev. Nutr.* 7:251-271.
- Wui IS, JB Lee and SH Yoo. 1992. Bioassay on marine sediment pollution by using sea urchin embryo culture in the south-west inland sea of Korean. *J. Environ. Biol.* 10:92-99.
- Yu CM. 1998. A study on the effect of heavy metals on embryos formation of sea urchins. *Kor. J. Env. Hlth. Soc.* 24:6-10.

Received: 5 June 2012

Revised: 8 June 2012

Revision accepted: 11 June 2012