

무당개구리 배아를 이용한 탄천 수계 수질에 대한 생물학적 평가

박찬진[†] · 송상하[†] · 김대한 · 계명찬*

한양대학교 자연과학대학 생명과학과

Evaluation of Water Quality Using Fire-bellied Toad (*Bombina orientalis*) Embryos in Tancheon Basin

Chan Jin Park[†], Sang Ha Song[†], Dae Han Kim and Myung Chan Gye*

Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 04763, Korea

Abstract - Pollution in the fresh water system in urban area has the adverse effect on the amphibians population. Restoration activity of amphibian in the urban stream has been growing in Korea as well as western country. For successful restoration water quality of urban stream should be sufficient for survival and normal development of amphibian. To monitor the biological safety of surface water in the Tancheon basin, the capital area of Korea, a 6-day exposure *Bombina orientalis* embryo developmental toxicity assay was examined. The toxicity of surface water of Tancheon mainstream were lower than those of tributaries of Tancheon. The survival rate of embryos negatively correlated with total dissolved solid, turbidity and electrical conductivity whereas the developmental abnormality and growth retardation of embryos was positively correlated with total dissolved solid, turbidity and electrical conductivity. An amphibian developmental toxicity assay would be helpful for the selection of point for construction of habitat and reintroduction of amphibian in interrupted urban stream.

Key words : amphibian, embryo, toxicity, teratogenicity, Tancheon

서 론

도시화는 대규모 주거지 건설과 도로, 하천정비 활동을 수반한다. 이 과정에서 하천이나 논, 자연습지의 훼손이 발생하여 양서류의 서식지가 축소되고 있다. 양서류는 환경변화에 민감한 동물로서 수생태계와 육상생태계 중 어느 한쪽이라도 훼손될 경우 생존에 심각한 영향을 받는다. 최근, 전 세계적으로 양서류의 급감 현상이 보고되고 있으며, 그 원인으로서는 도시화에 따른 서식지 파괴, 오염, 질병, 오존층 파괴,

지구온난화 등이 지목되고 있다(Alford and Richards 1999; Houlihan *et al.* 2000; Davidson 2004). 도심하천에서는 홍수 예방 및 수자원 활용을 위한 하천 구조의 변형이 빈번하고 하천 주변의 인구밀도가 증가함에 따른 간섭으로 서식 양서류의 개체 수가 급감하고 있다(Park *et al.* 2014; Eterovick *et al.* 2015). 특히, 양서류 개체군에 직접적인 영향을 미칠 수 있는 도심하천으로 유입되는 생활하수 및 다양한 비점오염원에서 기원한 환경독성 물질들은 양서류의 비정상적인 초기발생을 유발한다(Sowers *et al.* 2009; Ruiz *et al.* 2010; Park *et al.* 2014). 양서류는 수정과 초기발생, 변태과정을 수중에서 진행하므로 수체의 오염물질에 직접 노출된다. 또한 대부분의 양서류 유생은 하상의 바이오매스를 섭식하므로 침전물 속의 독성물질과 영양소를 함께 흡수하는 특성이

[†] The first two authors contributed equally to this work.

* Corresponding author: Myung Chan Gye, Tel. 02-2220-0958, Fax. 02-2298-9646, E-mail. mcgye@hanyang.ac.kr

있다(Lutz and Kloas 1999; Kloas *et al.* 1999; Kloas 2002). 성체 이후에도 피부의 투과성이 높아 오염물질에 직접 노출될 수 있어 전생활사를 통틀어 수계의 오염에 취약하다(Icochea *et al.* 2002). 어류와 물벼룩보다 인간과 진화적으로 더 가까운 양서류는 수중 노출실험이 가능한 생물들 중 가장 진화된 동물이다. 따라서 양서류를 이용한 독성평가는 특정 화학물질이나 혼합물이 인간에게 미칠 수 있는 영향을 간접적으로 확인할 수 있는 도구로서 활용되고 있다(Kloas and Lutz 2006). Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX)는 화학물질 또는 환경시료의 발생독성, 최기형성 분석을 위한 표준시험법으로 사용되고 있다(ASTM 1998). 최근 양서류를 활용한 독성평가는 국가마다 다른 종 분포, 산업구조, 환경오염특성을 반영하기 위해 자국에 서식하는 양서류 종을 이용하는 사례가 증가하고 있다. 본 연구는 탄천 수계 수질의 생물학적 안전성을 자생 양서류인 무당개구리(*Bombina orientalis*) 배아를 이용해 분석함으로써 이러한 정보를 이후 도심하천의 양서류 군집 복원 계획 수립 시 활용할 수 있도록 하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 조사지점 및 채수

탄천은 경기도 용인시에서 서울시 강남구에 이르는 준용하천으로 총 길이 35.62 km이며, 유역 면적은 360 km²이다. 탄천의 도심구간을 중심으로 본류와 지류 12지점의 하천수를 채수하였다. 채수지점 중 최상류는 운중천 매송교 하부(경기 성남시 분당구 이매동 130)이며, 최하류는 성남하수처리장 배출수가 합류되는 대왕교 하부(서울 강남구 세곡동 507)로 설정하였다. 각각의 채수지점은 1~12번으로 구분하였다 이들 중 채수지점 1, 3, 5, 7, 10번은 탄천의 지류, 2, 4, 6, 9, 12번은 탄천의 본류이며, 8번은 생활하수 유입수, 11번은 하수처리장 배출수이다(Fig. 1). 이화학적 수질 측정에는 다항목수질측정기(Multi-parameter Water Quality Meter, U-52; Horiba, Kyoto, Japan)를 이용해 채수직전에 수행되었으며, 수온, pH, 용존산소(dissolved oxygen; DO), 총고형물질(total dissolved solids; TDS), 염도(salinity), 전기전도도(electrical conductivity), 탁도(turbidity) 등 총 7개 항목을 측정하였다. 2015년 10월 12일에 직접 채수를 하였고, 독성평가를 위한 샘플을 확보하기 위해 표층수를 채수하여, 채수용 유리병에 이물질 및 부유물이 유입되지 않도록 하였다. 채수한 하천시료는 즉시 실험실로 운반하였으며, 여과지(Cat No. 1001-185; Whatman, Kent, UK; pore size: 11 µm)를 이용하여 여과한 후 즉시 독성평가에 사용하였다.

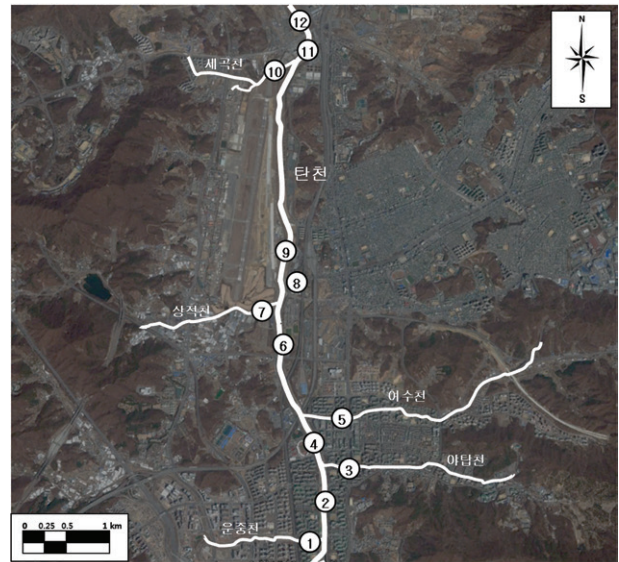


Fig. 1. Map of sampling sites in Tancheon stream. (1) Unjungcheon, (2) Joining point of Unjungcheon and mainstream of Tancheon. (3) Yatapcheon, (4) Joining point of Yatapcheon and mainstream of Tancheon, (5) Yeosucheon, (6) Joining point of Yeosucheon and mainstream of Tancheon, (7) Sangjukcheon, (8) Wastewater, (9) Joining point of wastewater and mainstream of Tancheon, (10) Segokcheon, (11) Treated wastewater effluent, (12) Joining point of treated wastewater effluent and mainstream of Tancheon.

2. 무당개구리(*Bombina orientalis*) 배아 획득 및 전 처리

실험에 사용된 무당개구리는 한양대학교 내 양서류 사육실에서 사육하였다. 먹이는 밀웜과 귀뚜라미를 각각 주 3회 먹였으며, 사육수조(24 cm×42 cm×28 cm)의 사육수는 주 1회 환수하였다. 사육실의 빛 조건은 12시간 조명/12시간의 소등으로 설정해 주었으며, 온도 조건은 20~22°C로 설정해 주었다. 양서류 개체를 사용한 모든 실험은 “Guideline for the Use of Live Amphibians and Reptiles in Field and Laboratory Research (<http://www.asih.org/files/hacc-final.pdf>) (ASIH 2004)”에 따라 수행되었다. 실험에 사용할 배아를 얻기 위해서 인간 융모성 생식선 자극호르몬(human chorionic gonadotropin; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)을 사용하였다. 암컷에게 hCG 100 IU를 1차 주사하고 24시간 후 500 IU hCG를 2차 주사를 하였다. 수컷에게는 암컷이 2차 주사를 맞는 시기에 300 IU hCG를 주사하였다. 암컷과 수컷 모두 등쪽 림프낭(dorsal lymph sac)에 주사하여 각각 난자와 정자의 성숙을 유도하였다. 마지막 주사 후 18시간이 경과하면 암컷의 복부를 압박하여 난자를 얻었으며, 이때 수컷의 총배설강에 유리모세관을 삽입함으로써 정자가 포함된 소변을 획득하여 FETAX 용액(NaCl 625 g, NaHCO₃ 96 mg,

KCl 30 g, CaCl₂ 15 mg, MgSO₄ 75 mg 및 CaSO₄ · 2H₂O 60 mg in 1 liter, pH 7.6~7.8)과 동일 비율로 혼합 후 난자에 고르게 뿌려주었다. 23°C의 조건에서 정자 처리 후 1시간 경과했을 때 동물극이 위로 올라온 것을 확인하였으며, FETAX 용액이 담긴 수조로 옮겨주었다. 수정란은 23°C의 배양기(MIR550, Sanyo, Japan)에서 배양하였으며, 23°C의 배양조건에서 8시간이 경과한 배아는 후기 포배 단계에 들어서게 되며, 후기 포배 단계에 도달한 배아는 2% L-cysteine 용액(pH 8.1)을 약 2분간 처리하여 젤리층을 제거한 후 실험에 사용하였다. 배아의 발생단계는 Rugh (1962)와 Nieuwkoop와 Faber (1956)을 참고하였다.

3. 발생독성평가

발생독성 실험은 FETAX (ASTM 1998)에서 제안하는 포배기 단계의 무당개구리의 배아를 사용하였으며, 직접 채수한 12지점의 탄천 지류 표층수와 대조군인 FETAX 용액 포함 총 13개의 시료를 대상으로 무당개구리 배아의 발생독성을 평가하였다. 실험에 사용한 무당개구리 배아는 하나의 시료 well (5 mL) 당 5개의 배아를 배양하여 총 25개의 배아를 사용하여 총 325개의 배아가 독성평가에 사용되었다. 실험에 사용된 무당개구리 배아의 배양용기는 6 well-plate을 사용하였고, 포배기 단계 배아는 무작위 선별하여 배치하였다. 대조군은 FETAX 용액으로 설정하였다. 6 well-plate에 무작위 배치된 배아는 23°C 배양기(MIR550, Sanyo, Japan)에서 144시간 동안 배양하였다. 배아는 24시간 단위로 관찰하였으며, 관찰 시마다 실험물질 첨가된 배양액 교체 및 사멸한 개체를 제거하였다. 또한, 관찰 시마다 생존 및 기형 개체의 유무를 기록하였다. 23°C에서 144시간 무당개구리 배아의 계측분석을 위해 해부현미경(SD30, Olympus, Japan) 및 디지털카메라(C-5050z, Olympus, Japan)를 이용하여 촬영하였다. 무당개구리 배아는 0.02% Ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate salt (MS-222) 용액을 이용하여 마취하였으며, 촬영 시 2% agarose gel을 이용하여 제작한 분석 촬영

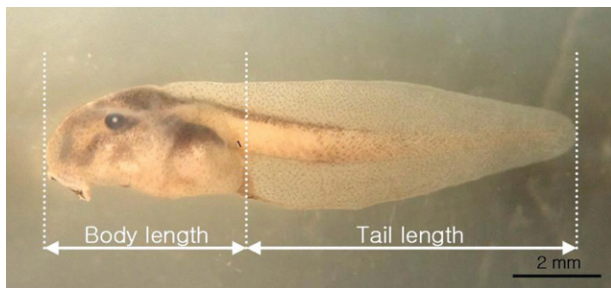


Fig. 2. Measurement of tadpole growth.

용 고정 장치를 사용하였다. 계측분석용 무당개구리 배아의 사진은 정측면 및 정 정상위면을 촬영하였으며, 계측분석 프로그램(IMT iSolution Lite, version 9.1, Technology, Vancouver, British Columbia, Canada)을 이용하여 체장(body length; BL), 꼬리 길이(Tail length; TL)의 총 2부분을 계측하였다(Fig. 2).

4. 통계처리

탄천 수계 12지점의 시료와 대조군인 FETAX 용액이 배아의 생존율에 미치는 영향에 대한 통계학적 유의성 분석은 chi-square test와 Fisher's exact test를 사용하였다. 이때, 유의수준은 p -value 0.05 이하로 설정하였다. 또한, 무당개구리 배아의 기형분석을 위해 촬영한 사진을 이용하여 암맹테스트(blind test)를 하였으며, 유발된 기형의 종류는 Rugh (1962), FETAX (ASTM 1998) 및 무당개구리 기형 유형(Park *et al.* 2014)을 참고하였다. 이를 통해 얻은 기형 자료에 대해 chi-square test와 Fisher's exact test로 기형유발의 유의성을 판별하였으며, 유의수준은 p -value 0.05 이하로 설정하였다. 무당개구리 배아 계측을 통해 얻은 개체 길이 데이터의 각 실험군 별 통계적 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하여 분석하였으며, 유의수준은 p -value 0.05 이하로 설정하였다. 수질측정항목과 독성 값 간의 상관관계수 및 유의도 분석은 MVSP 3.1 (Kovach Computing Services, Anglesey, Wales, UK)를 이용하여 대응일치분석(Canonical correspondence analysis; CCA)을 수행하였으며, Pearson correlation (Statistics 17.0 program; SPSS) 분석을 수행하였다.

결 과

1. 하천시료의 이화학적 특성

대조군으로 설정한 FETAX 용액을 제외한 12곳의 하천수의 수온의 범위는 14.99~22.83°C를 나타내었고, 채수지점 3번에서 가장 낮았고 채수지점 1번에서 가장 높았다. pH는 6.68~9.2 범위로 평균 7.87로 확인되었다. 하수처리장이 배출수가 나오는 11번 지점의 pH가 6.68로 가장 낮았고 하수처리장 배출수가 탄천 본류로 유입되는 12번 지점이 6.8로 그 다음으로 낮았다. 가장 pH가 높은 곳은 지점 7번으로 pH 9.2로 확인되었다. 용존산소량은 9.57~1.36 mg L⁻¹의 범위로 나타났다, 지점 3번이 9.59 mg L⁻¹로 가장 높았고 지점 8번이 1.36으로 가장 낮았다. 각 하천시료의 염도는 0.2~0.3 ppt로 비슷하였다. 고형물과 전기전도도는 0.264~0.409 g L⁻¹, 0.406~0.639 ms cm⁻¹으로 두 가지 모두 지점 12가 가

Table 1. Physicochemical characteristics of water samples

Criteria	Site No.												
	FETAX	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temp. (°C)	22.36	22.83	20.43	14.99	20.51	16.72	18.7	18.83	21.26	19.07	16.65	22.63	21.92
pH	7.8	7.65	7.84	8.57	8.08	7.75	8.35	9.2	7.45	8.49	7.63	6.68	6.8
DO (mg L ⁻¹)	9.52	5.16	5.02	9.57	4.38	6.88	5	8.25	1.36	5.64	5.46	5.39	5.58
TDS (g L ⁻¹)	1.1	0.344	0.324	0.304	0.323	0.348	0.315	0.325	0.409	0.305	0.308	0.337	0.264
Salinity (ppt)	0.9	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2
EC (mS cm ⁻¹)	1.71	0.538	0.506	0.468	0.504	0.544	0.484	0.5	0.639	0.469	0.474	0.526	0.406
Turbidity (NTU)	1.4	15.5	30.4	9	13.6	10.6	17	17.6	83.8	15.7	11.6	13.5	13

Temp, water temperature; DO, dissolved oxygen; TDS, total dissolved solid; EC, electrical conductivity.

Table 2. Survival rates of *Bombina orientalis* embryos exposed to water samples

Site No.	No. of embryos	Surviving embryos (%)					
		Time after fertilization					
		24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
FETAX	25	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)
1	25	22 (88)	20 (80)	19 (76)	19 (76)	19 (76)	19 (76)*
2	25	22 (88)	22 (88)	22 (88)	22 (88)	22 (88)	22 (88)
3	25	21 (84)	19 (76)	19 (76)	19 (76)	19 (76)	19 (76)*
4	25	25 (100)	23 (92)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)
5	25	21 (84)	19 (76)	19 (76)	19 (76)	19 (76)	19 (76)*
6	25	22 (88)	22 (88)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)
7	25	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)
8	25	23 (92)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)	21 (84)
9	25	20 (80)	19 (76)	18 (72)	18 (72)	18 (72)	18 (72)*
10	25	22 (88)	22 (88)	20 (80)	20 (80)	20 (80)	20 (80)
11	25	22 (88)	20 (80)	20 (80)	20 (80)	20 (80)	20 (80)
12	25	23 (92)	22 (88)	21 (84)	20 (80)	20 (80)	20 (80)

significantly different from control by Fisher's exact test ($p < 0.05$).

장 낮았고 지점 8번이 가장 높았다. 탁도는 9~83.8 NTU의 범위를 나타냈고 지점 3번이 가장 낮았으며 생활하수 유입수인 지점 8번의 탁도가 가장 높았다(Table 1).

2. 하천시료 처리에 의한 무당개구리 배아의 생존율 변화

실험 종료 후, 대조군인 FETAX 용액 처리군의 생존율은 100%였으며, 운중천, 야탑천 보들1교, 여수천, 상적천하류인 Site No. 1, 3, 5, 9 처리군의 생존율은 각각 76%, 76%, 76%, 72%로 나타났으며, 대조군(100%)과 비교 시 유의적으로 생존율이 감소한 것으로 확인되었다. 채수지점 9번인 상적천 지류가 탄천 본류와 합류한 지점의 시료 처리군에서 생존율이 가장 낮았다(Table 2). 해당 실험군에서는 시료 처리 후 24시간 동안 포배(blastula) - 신경주름형성단계(neural fold) 단계에서 대부분 사멸하였고 나머지는 아가미순환단계(gill circulation)인 72시간 경과 시 사멸하였다.

3. 하천시료 처리에 의한 무당개구리 배아의 기형발생

하천시료 처리 후 144시간 경과 시 대조군인 FETAX 용

액 처리군의 경우 전체 생존 개체 중 4%가 기형으로 확인되었다. 생활하수 유입수인 8번 시료를 처리한 군에서 기형 발생률이 유의적으로 증가하였다. 그리고 대조군과의 유의적인 차이는 없었지만 상적천과 하수처리장 배출수인 채수지점 3, 5, 7, 11번 시료 처리군에서 기형개체 출현 빈도는 16%, 16%, 19%, 20%로 나타나, 비교적 기형발생률이 높은 것으로 확인되었다(Table 3). 발생한 주된 기형 패턴으로는 장기형(abnormal gut coiling), 꼬리 기형(bent tail), 척추 휨 기형(bent trunk), 복부 수포 형성(ventral blister) 및 두부 기형(head malformation)이 관찰되었다. 그 중에서도 장기형(abnormal gut coiling)이 가장 많은 것을 확인하였다(Fig. 3).

4. 하천시료 처리에 의한 무당개구리 배아의 성장률 변화

실험개시 후 6일(144 h) 경과 시 하천시료 처리에 의한 각 개체의 특정 부위를 이미지 분석 프로그램을 이용하여 측정된 결과 대조군인 FETAX 용액 처리군의 무당개구리 배아의 성장률은 몸길이는 0.42 ± 0.03 cm, 꼬리길이는 0.62 ± 0.06 cm로 확인하였다. 생활하수가 유입되는 8번 지점에서

Table 3. Frequency of malformation in embryos grown for 144 h in water samples

Main abnormalities	Site No.												
	FETAX	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Abnormal gut coiling	1	2	2	3	3	3	2	3	6	1	3	3	2
Bent tail	1	0	1	0	0	1	3	1	3	1	1	2	2
Bent trunk	1	1	2	2	1	1	2	3	2	1	1	3	2
Head malformation	1	2	1	1	2	2	2	2	2	1	3	2	3
Ventral blister	1	1	1	1	2	2	2	3	2	1	3	3	2
Sum	5	6	7	7	8	9	11	12	15	5	11	13	11
No. abnormal tadpoles	1 ^a	2 ^a	2 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a	3 ^a	4 ^a	7 ^a	1 ^a	3 ^a	4 ^a	3 ^a
Surviving embryos	25	19	22	19	21	19	21	21	21	18	20	20	20
Frequency of abnormality (%)	4	11	9	16	14	16	14	19	33*	6	15	20	15

*Significantly different from control by Fisher's exact test ($p < 0.05$).

^aDue to individuals having more than abnormality.

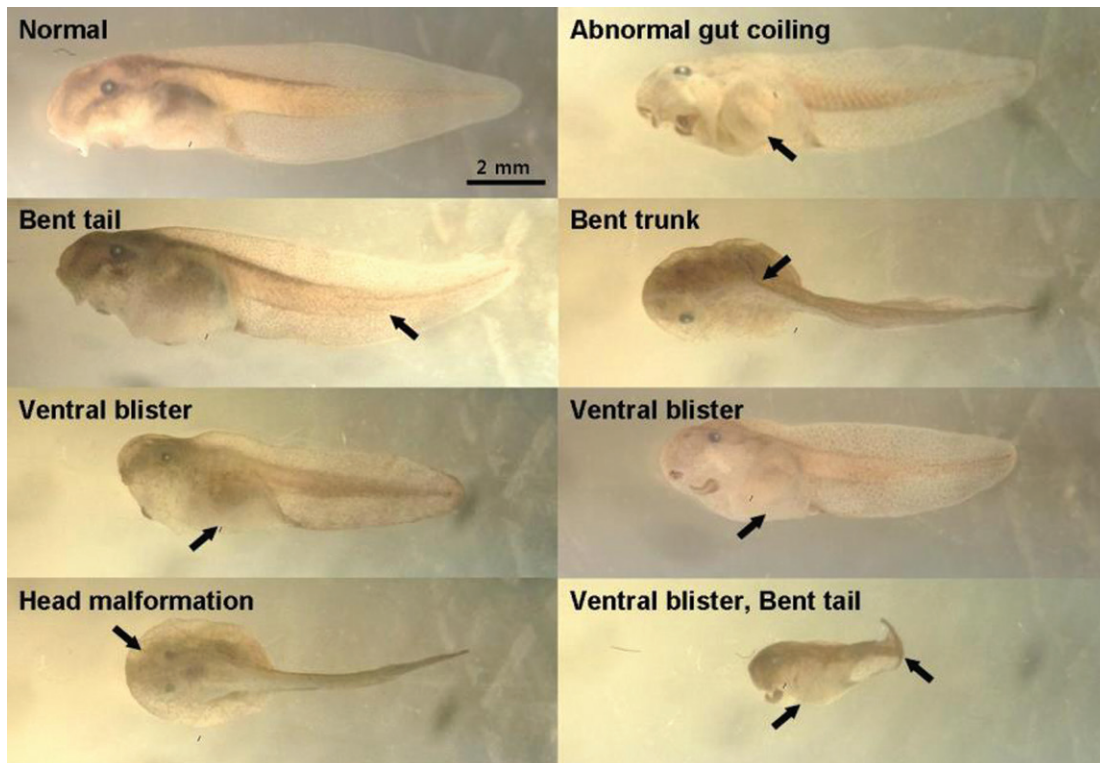


Fig. 3. Abnormal development of *Bombina orientalis* embryos exposed to water samples. Arrows indicate the abnormal parts of tadpoles.

몸길이, 꼬리길이가 대조군에 비해 각각 평균 0.80배, 0.79배로 나타났으며, 통계분석결과 유의적으로 감소한 것이 확인되었다. 야탑천 지류인 3번 지점에서는 몸의 길이만 대조군에 비해 0.83배로 나타났으며, 통계분석결과 유의적으로 감소한 것이 확인되었다(Fig. 4).

5. 발생독성과 이화학적 수질의 상관관계

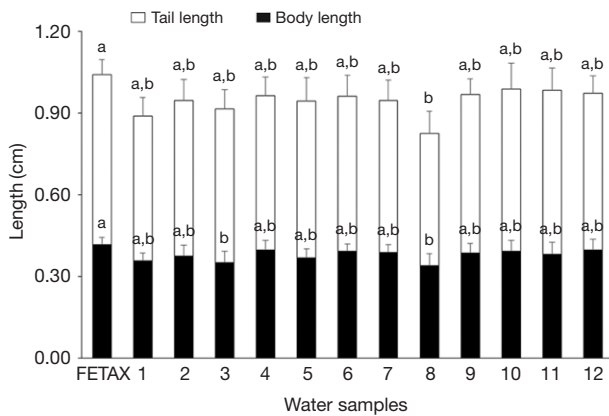
대응일치분석을 수행한 결과, 무당개구리 배아의 생존율

과 성장률이 탁도, 전기전도도, 총고형물질, 염도와 음의 상관관계를 갖고, 반대로 기형발생률은 앞의 4가지 인자들과 양의 상관관계가 있었다(Fig. 5). 이를 Pearson correlation 분석한 결과, 기형발생률은 총고형물질 ($r = 0.665$), 전기전도도 ($r = 0.650$), 탁도 ($r = 0.713$)와 유의적인 ($p < 0.05$) 양의 상관관계를 나타냈다. 배아의 성장률을 나타내는 몸길이, 꼬리길이를 포함한 부화한 유생의 전체길이는 총고형물질 ($r = -0.755$), 전기전도도 ($r = -0.749$), 탁도 ($r = -0.768$)와 유의적인 ($p < 0.05$) 음의 상관관계를 보였다(Table 4).

Table 4. Pearson correlation coefficients between Physicochemical characteristics of water samples and Toxicological end-point in embryos grown for 144 h in water samples

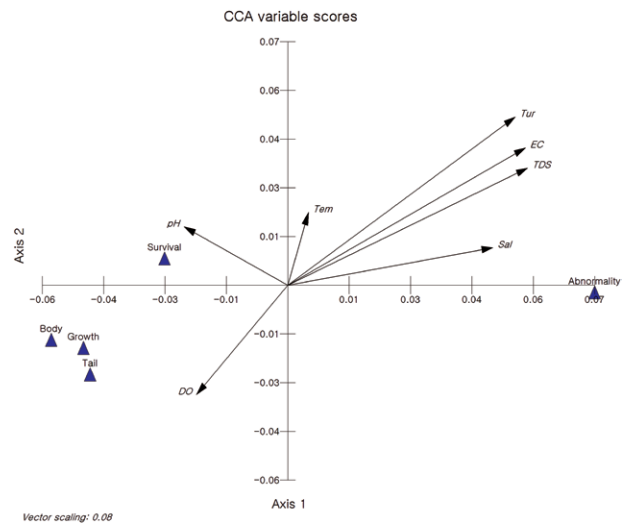
Criteria	Correlations coefficient (significance, 2-tailed)						
	Temp	pH	DO	TDS	Salinity	EC	Turbidity
Survival rate	0.247 (0.439)	-0.007 (0.983)	-0.367 (0.240)	0.201 (0.532)	-0.211 (0.510)	0.203 (0.528)	0.401 (0.197)
Abnormality	0.117 (0.716)	-0.240 (0.453)	-0.370 (0.237)	0.665* (0.018)	0.476 (0.118)	0.650* (0.022)	0.713** (0.009)
Growth rate	-0.171 (0.595)	-0.003 (0.992)	0.365 (0.243)	-0.755** (0.005)	-0.547 (0.066)	-0.749** (0.005)	-0.768** (0.004)
Body length	0.073 (0.823)	0.042 (0.897)	0.111 (0.732)	-0.680* (0.015)	-0.565 (0.055)	-0.679* (0.015)	-0.579* (0.048)
Tail length	-0.263 (0.410)	-0.060 (0.852)	0.430 (0.163)	-0.675* (0.016)	-0.415 (0.180)	-0.668* (0.018)	-0.778** (0.003)

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed). **Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed). Temp, water temperature; DO, dissolved oxygen; TDS, total dissolved solid; EC, electrical conductivity.

**Fig. 4.** Body length and Tail length in tadpoles of *Bombina orientalis* exposed to FETAX or water samples for 6 days.

논의 및 결론

하수 유입수(지점 8번)의 경우 pH가 7.45로 하천수들의 평균 pH 7.87보다 낮았으며, 총용존고형물(g L^{-1})과 전기전도도(mS cm^{-1})는 0.409 g L^{-1} , 0.639 mS cm^{-1} 로 하천시료들 중 가장 높았다. 그리고 탁도의 경우 83.8 NTU로 다른 하천시료들과 비교하여 2.8~9.3배 높았다. 그 이유로는 채수지점 8의 경우 생활하수가 하수처리장으로 유입되기 때문에 생활하수와 오염물질이 시료 내에 많이 포함되었기 때문으로 사료된다. 전기전도도와 TDS 값은 비례관계에 있으며, 인구밀집 지역에서 부유 상태의 오염물질이 존재하는 생활하수 유입으로 인해 TDS 값이 증가된다(Lee *et al.* 2002). 양서류 배아에 미치는 탁도의 영향에 관한 연구로, 높은 탁도는 개구리 배아의 부화와 생존을 저해시키는 것으로 보고되었다(Harris *et al.* 1998). 본 연구에서 조사구간 내에 탄천의 상류에 연결

**Fig. 5.** Scatter plots of canonical correlations between physicochemical properties of water samples and developmental toxicity (embryonic survival, malformation, and growth rate of tadpole body parts). Tur, turbidity; EC, electrical conductivity; TDS, total dissolved solids; Sal, salinity; DO, dissolved oxygen.

되어 있는 지류 하천시료는 1(운중천), 3(야탑천), 5(여수천), 7(상적천), 10(세곡천)으로 총 5가지이며, 탄천 본류에서 채수한 시료는 2, 4, 6, 9, 12로 본류도 총 5가지 시료가 있다. 본류와 지류의 생존율을 비교해보았을 때, 본류의 경우 평균 생존율이 81.6%로 78.4%의 지류 평균 생존율보다 더 높았다. 지류들 중에서는 채수지점 7(상적천)이 84%, 10(세곡천)이 80%로 대조군인 FETAX 용액 처리군과 비교했을 시 유의적 차이가 없었다. 그러나 상적천은 물의 흐름이 거의 없으므로 미세입자들이 하상에 침전되었음을 고려하면 지점 10(세곡천)의 수질이 더 좋은 것으로 사료된다. 하천시료 처

리에 의한 기형발생률은 채수지점 8번에서 33%로 유의적으로 증가하였으며, 나머지 다른 지점의 시료들은 6~14%로 비슷한 수준이지만 지점 7과 11에서는 각각 19%, 20%로 비교적 높았다. 상적천(지점 7)은 하천의 유속이 낮아 미세입자는 적었지만 용존물질의 독성이 강한 것으로 판단된다. 탄천 하수처리장 배출수(지점 11)는 강우량이 적은 3월 봄엔 독성이 낮았지만 장마철인 7월에는 무당개구리(*Bombina orientalis*) 독성효과가 급격히 증가한다(Park *et al.* 2014). 본 조사 시기가 강우량이 적은 가을철이기 때문에 봄철과 유사한 결과가 나온 것으로 보인다. 지점 2, 4, 6, 9, 12는 지류들이 탄천 본류와 합류되는 지점이다. 하지만 생존율과 기형발생률에는 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서 지류에서 유입되거나 하수처리장에서 유입된 하천수의 오염 정도는 본류의 수질에 영향을 미치는 수준 이하로 사료된다. 무당개구리 배아로 분석한 탄천 수계 하수처리장 배출수의 독성은 강수량이 많은 장마철에 기형발생률이 증가되었으며, 주된 기형으로는 장기형(abnormal gut coiling)이 대표적으로 많이 발생하였다(Park *et al.* 2014). 본 연구의 결과에서도 채수지점 8(하수 유입수)에서 장기형(abnormal gut coiling)이 가장 많이 발생하였다. 따라서 장마철에는 생활하수 속에 포함되어 있는 양서류 배아의 정상적인 장 발생을 교란하는 인자가 완전히 처리되지 않은 채 하수처리장 배출수로 탄천에 유입되는 것으로 사료된다. 배아의 성장율은 지점 8(하수 유입수)에서 급격히 감소하였다. 배아의 성장율은 용존산소량과 양의 상관관계를 갖고 있으며, 화학적산소요구량(COD)과 질소(N)는 음의 상관관계를 가진다(Park *et al.* 2014). 지점 8은 다른 하천수들과 비교하였을 때 용존산소량(DO)이 4.15배 적었으며, 탁도는 4배 높았다. 이러한 인자들이 배아의 성장을 저해한 것으로 판단된다. 무당개구리의 독성 분석 종말점과 수질인자간의 상관성 분석한 결과 무당개구리 배아의 생존율 및 성장률은 총용존고형물, 전기전도도, 탁도와 음의 상관관계를 갖고, 기형발생률은 총용존고형물, 전기전도도, 탁도와 양의 상관관계를 갖는 것으로 확인되었다. 이는 시료 내에 존재하는 무기/유기 입자들이 무당개구리 배아의 정상적인 발생을 저해할 수 있음을 의미한다. 미국 미네소타주에서 수행된 연구에서 높은 탁도와 질소, 인 등은 해당 습지에서 서식하는 양서류들의 번식을 저하를 유발하였다(Knutson *et al.* 2004). 또한, 미국 테네시주에서 수행된 연구에서 소 축사의 영향을 받아 탁도와 전기전도도가 높은 습지에서 양서류 종 다양성과 풍부도가 감소하였다(Schmutzer *et al.* 2008). 높은 탁도는 어류의 생식 효율을 저하시키는 것으로 알려졌다(Seehausen *et al.* 1997; Moyaho *et al.* 2004). 이러한 현상은 양서류에서도 보고되었으며, 높은 탁도에 의해 *Palmate newt* 수컷의 성적 특징(꼬리의 채고, 물갈퀴 크기)이 감소하

는 것이 확인되었다(Secondi *et al.* 2007). 어류는 높은 탁도 조건에서 미립자가 배아에 접촉되며, 이로 인해 배아의 발생에 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Belsky *et al.* 1999). 양서류의 배아 역시 어류와 마찬가지로 물속에서 초기발생을 진행하기 때문에 비슷한 영향을 받을 것으로 사료된다.

결론적으로 탄천 본류의 수질이 지류보다 무당개구리 배아의 성장과 발생에 유리한 것으로 사료된다. 그러나 탄천 본류의 경우 유량이 많고, 빠른 유속, 깊은 수심 등의 물리적인 요건이 양서류가 생존하고 번식하기에는 불리한 환경을 가지고 있다. 따라서 지류들 중에서도 용존산소가 가장 높고 탁도값이 가장 낮은 야탑천이나 기형발생률이 비교적 낮은 운중천, 생존율이 가장 높은 세곡천 등이 양서류를 입식하기에 적절하다고 사료된다. 탄천과 같은 도심하천에 양서류를 재입식함에 있어 위의 생물학적 분석 결과와 해당 서식지의 물리적 특성을 복합적으로 고려하여 최종 양서류 입식지점을 선정해야 할 것이다. 본 연구는 양서류 입식에 앞서 양서류 배아를 이용해 수질의 생물학적 안전성을 검증한 첫 사례로서, 향후 이러한 방법이 도심하천에 대한 양서류 서식지 및 재입식지 선택에 있어 유용하게 사용될 것이다.

적 요

도심의 인구증가에 따른 수질오염은 양서류의 개체군에 악영향을 준다. 급감하는 양서류 개체군을 보호 또는 복원하기 위해 도심하천에서 양서류 입식이 진행되고 있다. 본 연구는 탄천수계에서 양서류의 입식을 목표로 본류 및 지류의 수질의 생물학적 안전성을 검증하고자 하수처리장 유입수 및 하수처리장 배출수를 포함한 12개 지점의 표층수를 채수하여 무당개구리 포배기 배아에 처리하고 생존율, 기형발생률, 성장률 등을 분석하였다. 탄천 본류의 생물학적 안전성이 지류보다 높았으며, 상관분석 결과 무당개구리 배아의 생존율은 총용존고형물(total dissolved solid), 탁도(turbidity), 전기전도도(electrical conductivity)와 음의 상관관계를 보인 반면, 기형발생률과 성장률은 양의 상관관계를 보였다. 본 연구는 양서류 입식에 앞서 양서류 배아의 발생에 미치는 수질의 생물학적 안전성을 검증한 첫 사례로서, 향후 이러한 방법이 도심하천에 대한 양서류 서식지 및 재입식지 선택에 있어 유용하리라 사료된다.

사 사

본 연구는 환경부 차세대에코이노베이션 환경기술개발사

업 (2015년) 지원으로 수행되었음.

REFERENCES

- Alford RA and SJ Richards. 1999. Global amphibian declines: A problem in applied ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 30: 133-165.
- American Society of Ichthyologists and Herpetologists. 2004. Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field and laboratory research. Herpetological Animal Care and Use Committee of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Lawrence, KS, USA.
- ASTM International. 1998. Standard guide for conducting the frog embryo teratogenesis assay-*Xenopus* (FETAX). E 1439-12. pp. 826-836. In Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.05. Philadelphia, PA, USA.
- Belsky AJ, A Matzke and S Uselman. 1999. Survey of livestock influences in stream and riparian ecosystems in the western United States. *J. Soil Water Conserv.* 54:419-431.
- Cherry DS and RK Guthrie. 1978. Mode of elemental dissipation from ash basin effluent. *Water Air Soil Pollut.* 9:403-412.
- Davidson C. 2004. Declining downwind: Amphibian population declines in California and historical pesticides use. *Ecol. Appl.* 14:1892-1902.
- Eterovick PC, LF Bar, JB Souza, JF Castro, FS Leite and RA Alford. 2015. Testing the relationship between human occupancy in the landscape and tadpole developmental stress. *PLoS One* 10:e0120172.
- Harris ML, CA Bishop, J Struger, B Ripley and JP Bogart. 1998. The functional integrity of northern leopard frog (*Rana pipiens*) and green frog (*Rana clamitans*) populations in orchard wetlands. II. Effects of pesticides and eutrophic conditions on early life stage development. *Environ. Toxicol. Chem.* 17:1351-1363.
- Houlahan JE, CS Findlay, BR Schmidt, AH Meyer and SL Kuzmin. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature* 404:752-755.
- Icochea J, E Quispitupac, A Portilla and E Ponce. 2002. Framework for assessment and monitoring of amphibians and reptiles in the Lower Urubamba Region, Peru. *Environ. Monit. Assess.* 76:55-67.
- Kloas W. 2002. Amphibians as a model for the study of endocrine disruptors. *Int. Rev. Cytol.* 216:1-57.
- Kloas W and I Lutz. 2006. Amphibians as model to study endocrine disruptors. *J. Chromatogr. A.* 1130:16-27.
- Kloas W, I Lutz and R Einspanier. 1999. Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro and in vivo. *Sci. Total Environ.* 225:59-68.
- Knutson MG, WB Richardson, DM Reineke, BR Gray, JR Parmelee and SE Weick. 2004. Agricultural ponds support amphibian populations. *Ecol. Appl.* 14:669-684.
- Lee SE, KH Kim, JS Lee and HT Chon. 2002. Hydrogeochemical Characteristics and Contamination of Dissolved Major ions and Heavy Metals in Waters and Sediments from the Tancheon River. *Econ. Environ. Geol.* 35:25-41.
- Lutz I and W Kloas. 1999. Amphibians as a model to study endocrine disruptors: I. Environmental pollution and estrogen receptor binding. *Sci. Total Environ.* 225:49-57.
- Moyaho A, C Macías Garcia and E Ávila-Luna. 2004. Mate choice and visibility in the expression of a sexually sexually dimorphic trait in a goodeid fish (*Xenotoca variatus*). *Can. J. Zool.* 82:1917-1922.
- Nieuwkoop PD and J Faber. 1994. Normal Table of *Xenopus laevis*, Garland Publishing, New York and London.
- Park CJ, HM Ahn, SC Cho, TH Kim, JM Oh, HK Ahn, SH Chun and MC Gye. 2014. Developmental toxicity of treated municipal wastewater effluent on *Bombina orientalis* (Amphibia: Anura) embryos. *Environ. Toxicol. Chem.* 33: 954-961.
- Rugh R. 1962. Experimental embryology, 3rd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN.
- Ruiz AM, JC Maerz, AK Davis, MK Keel, AR Ferreira, MJ Conroy, LA Morris and AT Fisk. 2010. Patterns of development and abnormalities among tadpoles in a constructed wetland receiving treated wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 44:4862-4868.
- Schmutzer AC, MJ Gray, EC Burton and DL Miller. 2008. Impacts of cattle on amphibian larvae and the aquatic environment. *Freshw. Biol.* 53:2613-2625.
- Secondi J, A Aumjaud, O Pays, S Boyer, D Montebault and D Violleau. 2007. Water turbidity affects the development of sexual morphology in the palmate newt. *Ethology* 113:711-720.
- Seehausen O, JJM van Alphen and F Witte. 1997. Cichlid fish diversity threatened by eutrophication that curbs sexual selection. *Science* 277:1808-1811.
- Sowers AD, MA Mills and SJ Klaine. 2009. The developmental effects of a municipal wastewater effluent on the northern leopard frog, *Rana pipiens*. *Aquat. Toxicol.* 94:145-152.

Received: 17 November 2015

Revised: 8 December 2015

Revision accepted: 9 December 2015