

해양오염 평가를 위한 빨강따개비(*Megabalanus rosa*)의 생리생화학적 오염지표의 개발

이장원* · 진 평
부경대학교 자원생물학과

Development of Physiological and Biochemical Bioindicators of Barnacle, *Megabalanus rosa* for Marine Pollution Assessment

Jang-Won LEE* and Pyung CHIN
Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Using *Megabalanus rosa*, a sessile filterfeeder, its scope for growth (SFG) by analysis of energy budget were examined, and free amino acids composition of whole body tissue were analyzed under the exposure to different concentrations of Hg, Cu and Cd. The 96 hr-LC₅₀ of the barnacle after 96 hr exposure to Hg, Cu, and Cd were 0.220, 0.269 and 1.380 mgL⁻¹, respectively. Hg and Cu showed stronger toxicity than Cd, while Hg and Cu had similar influence on the survival of the barnacle. SFG of the barnacles exposed to sublethal concentrations of mercury was 18.936 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ in control group and as increase of mercury concentration the SFG remarkably reduced to 0.041 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ at 0.1 mgL⁻¹ concentration of Hg. In the case of Cu, the SFG was 29.841 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ in control group and as increase of concentration, the SFG remarkably reduced to -8.304 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ at 0.1 mgL⁻¹ concentration. In Cd, the SFG was 15.852 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ in control group, and as increasing concentration, the SFG remarkably reduced to -19.490 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ at 0.4 mgL⁻¹. Content of free amino acid (FAA) of whole body tissue of the barnacle was 45,084 mgkg⁻¹ in control group, but it was reduced remarkably to 28,130, 37,500 and 37,106 mgkg⁻¹ at 0.1 mgL⁻¹ concentration of Hg and Cu, and 0.4 mgL⁻¹ of Cd, respectively. Sum of threonine + serine was 1,334 mgkg⁻¹ in control but reduced remarkably to 1,223, 849 and 888 mgkg⁻¹ at 0.1 mgL⁻¹ of Hg and Cu, and 0.4 mgL⁻¹ of Cd, respectively.

Key words: *Megabalanus rosa*, Barnacle, Scope for growth, Free amino acid, Heavy metal, Energy budget

서 론

해양오염을 생물학적으로 평가하는데 있어서 생물학적 군집구조의 조사는 생태적으로 적절하다고 할 수 있으나, 오염의 영향이 느리게 나타나 사전에 오염의 진행을 예측하기 어렵고 따라서, 오염초기에 이를 진단할 수 있는 효율적인 생물학적 지표의 개발이 필요하다.

생물별 서식장소가 다르고 오염물질의 흡수경로의 차이 및 종특이성이 있으므로 오염도를 제대로 반영하기 위해서 여러 생물을 이용해서 오염을 초기에 발견하고 모니터링할 수 있는 생물학적 지표를 발전시키고 개발하기 위한 많은 연구들이 계속 진행되고 있다 (Vernberg and Vernberg, 1974; Viarengo et al., 1985; Widdows et al., 1997; Sherwood et al., 2000). 특히 근래에는 유전학적 (Rand, 1995), 생화학적 내분비 지표 (Lucas, 1996)에 대한 연구가 많이 이루어지고, 개체수준과 군집수준에서 그 영향이 어떻게 나타나는지에 대한 연구가 과제로 되고 있다.

국내에서는 중금속이나 유기독성화합물의 생물지표에 대한 연구는 오염지역에 서식하는 도다리 (*Pleuronichthys cornutus*)의 생화학적 지질성분의 조사 (Choir et al., 1997), 그리고 곤쟁이 (*Neomysis awatschensis*)의 PCBs에 의한 에너지 수지의 변화

(Chin et al., 1998) 등을 찾아 볼 수 있다.

따개비는 굴이나 진주담치와 같은 지표생물과 달리 오염평가의 지표종으로서는 비교적 잘 알려져 있지 않다. Powell and White (1990)에 의하면, 진주담치는 종특이성으로 인해 Cu, Mn, Ag, Zn 등 몇몇 오염물질의 모니터링에는 적합하지 않는 것으로 생각되고 굴은 중금속 농도의 계절적 변화가 너무 커서 많은 샘플이 필요하다는 점을 지적하고 있다.

따개비는 우리나라를 비롯한 세계 전 해안에 널리 분포하고, 고착성 부유물 섭이자로서 일반적인 환경변화에 대해 높은 항상성을 유지하는 능력을 가지고 있어 (Powell and White, 1990) 생물학적 오염지표종으로서 개발이 주목되고 있으나 개체의 생리반응에 관한 연구는 아직 미미한 편이다.

따라서 본 연구는 해양에서 오염을 일으키는 오염물질의 감지와 식별, 정량화를 위해 중금속에 노출된 *Megabalanus rosa*의 생리반응을 측정하여 개체의 체내상태인 에너지흐름과 체내 아미노산 조성의 변화를 파악함으로써 생물학적 오염지표종으로서 따개비의 사용에 관한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

*Corresponding author: wintrelove@daum.net

실험에 사용한 빨강따개비, *Megabalanus rosa*는 1999년 4월부터 1999년 9월에 걸쳐 부산광역시 영도에서 스킨다이빙을 통해 수심 2-3 m 해저 암반에 부착하고 있는 것을 부착부를 떼어 손상된 개체는 버리고 온전한 것을 채집하여 실험에 사용하였다. 채집한 동물은 2-3시간 내에 실험실로 운반하여 외부기생생물들을 제거한 뒤 사육수조에서 7일간 순응시켜 실험에 사용하였다.

사육 및 실험에 사용한 해수의 염분은 31-33 psu의 범위였으며 사육시 먹이로는 갯 부화한 *Artemia*의 nauplii를 공급하였다.

방 법

실험용액은 시약용 $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$, $CuSO_4$ 및 $HgCl_2$ 를 탈이온수에 녹여 $1000 mgL^{-1}$ 의 수은, 구리 및 카드뮴의 표준용액을 만든 후 이것을 해수에 희석하여 각 실험농도구를 만들어 사용하였다. 실험에 사용한 모든 해수는 미공여과 (공경: $0.45 \mu m$)한 해수를 사용하였다. 7일간의 폭로실험을 위한 농도는 예비폭로실험을 통해 7일간 폭로시 5% 미만의 사망률을 보이는 농도로 설정하였다. 96시간 - 반수치사농도 ($96 hr-LC_{50}$)는 probit 분석에 의하여 산출하였다. 모든 실험은 수온 $20^\circ C$, 염분 32 psu의 여과해수에서 행하였다. 그리고 실험결과에 대한 대조구와 실험구 사이의 통계학적 유의성은 Student's t-test로 검정하였다.

순성장에너지 (Scope for growth, SFG)

SFG는 IBF방정식 (Winberg, 1960)을 이용해 산출하였다.

$$C = P + R + F + U$$

$$P (SFG) = (C - F) - (R + U)$$

여기서 C는 섭이에너지, F는 분배출에너지 그리고 U는 요소써 배출된 에너지이고 R은 호흡으로 소모한 에너지이다.

산소소비량은 500 mL 용량의 산소검량병에 포기시킨 해수를 넣고 개체를 투입한 후 1시간 안정시킨 후 1시간 동안 실험한 후 산소검량기 (YSI 58형)를 사용해 용존산소량을 측정하여 구하였으며, 초기의 용존산소량과 차이를 이용해 단위건중당, 시간당 산소소비율을 구하였다. 이때 용존산소량이 임계산소농도 이하로 떨어지지 않는 시간내에 실험을 마쳤다.

호흡에 사용한 에너지는 호흡계수 (Bayne et al., 1985)를 이용하여 호흡 산소소비량을 호흡에 사용한 에너지로 변환하였다.

섭이량 측정은 용량 1.4 L 등근 유리병에 일정량의 *Artemia*의 유생을 넣고 실험개체를 투입하여 포기를 시키면서 섭이를 시킨 뒤 실험 전후의 *Artemia* nauplii의 개체수 차이를 이용해 단위건중당, 시간당 섭이율을 구하였다.

섭이에너지는 먹이로 제공한 *Artemia*의 nauplii의 에너지 함량을 oxygen bomb calorimeter (OSK 150형)를 사용하여 측정하였으며, 건중당 에너지 함량은 약 $0.029 Jgdrywt^{-1}hr^{-1}$ 였다.

질소배설량은 용량 500 mL의 검량병에 미공여과된 해수를

넣고 실험개체를 투입하여 2-3시간 방치한 다음 실험 전후의 용존 질소량의 차이를 비색정량하여 단위건중당, 단위시간당 질소배설률을 구하였다. 암모니아는 Solorzano (1969)의 phenol-hypochlorite법으로 분석하였다.

배설질소량에 따른 에너지는 배설질소 mg당 4.06 cal (Brafeld and Solomon, 1972)의 변환치를 적용하였으며, 분의 에너지함량은 섭이에너지 함량에서와 같은 방법으로 측정하였다.

동화량은 실험동물을 미공여과된 해수에 6시간 이상 방치해 장내용물을 배출시킨 후 포기장치가 있는 1.4 L 등근 유리병에 갯 부화한 *Artemia*의 유생을 먹이로 주어 섭이시킨 뒤 분을 받아서 건조 후 $450^\circ C$ 에서 회화하여 Conover (1966) 회분법으로 따개비의 먹이와 분에 있는 유기물의 함량을 비교해 동화효율 (Durbin and Durbin, 1981)을 산출하였다.

$$\% \text{ assimilation} = (\text{Food N} - \text{Faeces N} / \text{Food N}) \times 100$$

동화에너지는 총섭취에너지에 동화율을 곱한 값으로 환산하였다.

그리고 건중은 실험동물의 각피를 조직으로부터 제거한 후 조직을 증류수로 행군 뒤 항온건조기에 넣고 $70^\circ C$ 에서 72시간 건조시켜 유리 건조기에서 안정시킨 후 칭량하였다.

유리아미노산 (Free amino acid)

실험동물의 각피를 제거한 조직을 동결건조시킨 후 마쇄하여 $C_2H_5Cl_2O_2$ 로 전처리하여 원심분리시키고 상등액을 표품으로 하였다. 유리아미노산은 아미노산분석기 (S433, Sykam)로 분석하였다.

결 과

빨강따개비, *Megabalanus rosa*에 미치는 중금속 (수은, 구리 및 카드뮴)의 생리적 저해영향을 파악하기 위하여 96시간 동안 폭로농도에 따른 폐사율을 구한 결과로부터 probit회귀식을 이용해 96시간 - 반수치사농도를 구한 결과를 Table 1에 나타내었다. 이 자료로부터 빨강따개비에 대한 실험 중금속의 생리적 검정에는 아치사농도를 각각 다르게 설정하여 반응을 측정하였다.

순성장에너지 (SFG)

중금속 수은, 구리 및 카드뮴의 각 실험농도에 7일간 폭로시킨 따개비의 각 생리반응과 순성장에너지를 Table 2-4 및 Figs. 1-3에 나타내었다. 오염원에 노출된 따개비의 순성장에너지는 섭이, 호흡, 질소배설, 및 먹이와 분의 에너지함량 측정치로써 계산하였다.

수은에 폭로된 따개비가 $0.01-0.1 mgL^{-1}$ 농도 범위에서 저농도 구로부터 고농도로 갈수록 섭이율은 감소하였고, 호흡률과 암모니아배설률은 증가하는 경향을 나타내었다. 대조구 및 $0.01, 0.04, 0.07, 0.1 mgL^{-1}$ 농도구에서 각각의 동화에너지는 33.394, 22.068, 24.455, 24.271, 및 16.928 Jgdry wt.⁻¹hr⁻¹였으며, 각각의 호흡과 요소 배설된 에너지 (R+U)는 14.458, 17.461,

Table 1. The values of 96 hr.-LC₅₀ of *Megabalanus rosa* exposed to Hg, Cu, and Cd

Pollutants	Experimental temperature (°C)	Salinity (psu)	pH	96 hr.-LC ₅₀ (mgL ⁻¹)
Hg	20 ± 1	32 ± 1	7.70 ± 0.08	0.220 (0.159-0.330)
Cu				0.269 (0.227-0.322)
Cd				1.380 (1.131-1.576)

Table 2. Components of the energy budgets of *Megabalanus rosa* after 7 days exposure to various concentrations of Hg, Cu and Cd (unit: Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹)

Pollutants	Concentration (mgL ⁻¹)	Feeding rate	Assimilation rate (%)	Oxygen consumption rate	Ammonia excretion rate	Scope for growth
Hg	0.00	53.260	0.627	13.501	0.958	18.936
	0.01	49.041	0.450	16.175	1.286	4.607**
	0.04	50.423	0.485	19.924	1.566	2.965**
	0.07	41.991	0.578	21.421	1.368	1.481**
	0.10	33.991	0.498	15.687	1.200	0.041**
Cu	0.00	74.681	0.644	17.760	0.524	29.841
	0.04	66.702	0.511	19.508	0.637	13.953**
	0.06	44.253	0.433	22.092	0.958	-3.870**
	0.08	42.178	0.565	23.424	1.206	-0.817**
	0.10	32.158	0.422	20.656	1.093	-8.304**
Cd	0.00	60.813	0.650	22.938	0.763	15.852
	0.10	56.380	0.565	27.291	0.822	3.737*
	0.20	57.234	0.567	26.181	1.534	4.720*
	0.30	52.927	0.524	31.272	1.034	-4.572*
	0.40	38.136	0.440	34.705	1.546	-19.490*

* P ≤ 0.05 ** P ≤ 0.01

21.490, 22.789 및 16.886 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹를 나타내었다. 따라서 순성장에너지는 대조구에서 18.936 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹의 가장 높은 값을, 0.01 mgL⁻¹에서 4.607 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹, 0.04 mgL⁻¹에서 2.961 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹, 0.07 mgL⁻¹에서 1.481 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹ 그리고 실험 최고농도인 0.1 mgL⁻¹에서 0.041의 최저값을 보이면서 실험군은 유의 (P ≤ 0.01)한 감소현상을 나타내었다 (Table 2 및 Fig. 1).

구리 실험구에서는 대조구와 0.04, 0.06, 0.08 및 0.1 mgL⁻¹의 구리 농도구에서 각각 48.125, 34.098, 19.179, 23.814 및 13.558

Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹의 동화에너지값을 나타내었고, 또 각 농도구에서 18.283, 20.145, 23.050, 24.630 및 21.749 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹의 소비에너지값을 보임으로서 순 성장에 돌아가는 에너지는 각각 29.841, 13.953, -3.870, -0.817 및 -8.304 Jgdrywt.⁻¹hr⁻¹으로서 실험군은 유의 (P ≤ 0.01)한 감소를 보였다. 이것은 실험농도 범위에서 고농도 폭로구로 갈수록 흡수된 에너지에 비해서 산소소비에너지를 포함하는 소비 에너지가 크게 증가하여, 0.06 mgL⁻¹ 이상의 농도구에서 순 성장에너지가 음의 값을 나타

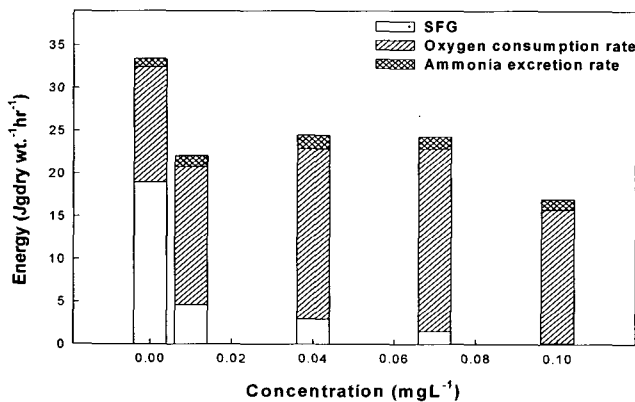


Fig. 1. Energy components of *Megabalanus rosa* after 7 days exposure to various concentration of Hg.

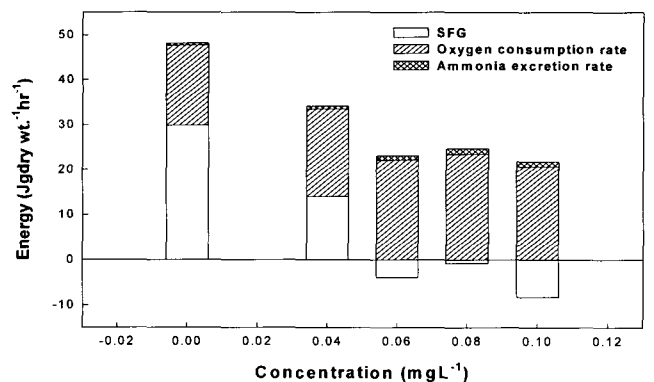


Fig. 2. Energy components of *Megabalanus rosa* after 7 days exposure to various concentration of Cu.

- Bryan, G.W. and L.G. Hummerstone. 1977. Indicators of heavy metal contamination in the Looe Estuary (Cornwall) with particular regard to silver and lead. J. Mar. Biol. Ass. UK. 57, 75-92.
- Bryan, G.W., W.J. Langston, L.G. Hummerstone and G.R. Burt. 1985. A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. Mar. Biol. Ass. UK. (occ. publ. 4), 92 pp.
- Chin, P., Y.K. Shin and E.M. Jeon. 1998. Effects of PCBs (Polychlorinated Biphenyls) on energy budget in mysid, *Neomysis awascathensis*. J. Kor. Fish. Soc. 31, 104-108 (in Korean).
- Choi, J.H., D.W. Kim, C.K. Park, J.I. Kim and D.B. Yang. 1997. Study on biochemical pollutant markers for diagnosis of marine pollution. IV. Changes in lipid components of Flounder (*Pleuronichthys cornutus*) in the Yellow Sea. J. Kor. Fish. Soc. 30, 601-607. (in Korean)
- Clarke, G.L. 1947. Poisoning and recovery in barnacles and mussels. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole. 92, 73-91.
- Clarke, R.C., Jr. and J.S. Finley. 1975. Uptake and loss of petroleum hydrocarbons by the mussels *Mytilus edulis* in laboratory experiments. Fish. Bull., 73, 508-515.
- Conover, R.J. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. Limnol. Oceanogr. 11, 338-354.
- Davies, I.M. and J.M. Pirie. 1980. Evaluation of a 'mussel watch' project for heavy metals in Scottish coastal waters. Mar. Biol., 57, 87-93.
- Durbin, E.G. and A.G. Durbin. 1981. Assimilation efficiency and nitrogen excretion of a filterfeeding planktivore, the Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus* (Pisces: Clupeidae). Fish. Bull., 79, 601-616.
- Elliott, J.M. and W. Davison. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. Oecologia (Berl.), 19, 195-201.
- Goldberg, E.D., M. Koide, V. Hodge, A.R. Flegal and J. Martin. 1983. US mussel watch: 1977-1978: Report on trace metals and radionuclides. Estuar. Coast. Shelf. Sci., 16, 69-93.
- Grace, A.L. and L.F. Gainey, Jr. 1987. The effects of copper on the heart rate and filtration rate of *Mytilus edulis*. Mar. Pollut. Bull., N.S., 18, 87-91.
- Hummel, H., C. Amiard-Triquet, G. Bachelet, M. Desprez, J. Marchand, B. Sylvand, J.C. Amiard, H. Rybarczyk, R. H. Bogaards, J. Sinke and L. De Wolf. 1996. Free amino acids as a biochemical indicator of stress in the estuarine bivalve *Cacoma balthica*. Sci. Total Environ., 188, 233-241.
- Hummel, H., R. Bogaards, L. de Wolf, J. Sinke and T. Poortvliet. 1994. Evaluation of free amino acids as a biochemical indicator of metal pollution. Mar. Environ. Res., 38, 303-312.
- Krishnakumar, P.K., P.K. Asokan and V.K. Pillai. 1990. Physiological and cellular response to copper and mercury in the green mussel, *Perna viridis* (Linnaeus). Aqua. Toxicol., 18, 163-174.
- Lucas, A., J.J. Watson and I.G. Priede. 1996. Bioenergetics of Aquatic Animals. Taylor & Francis, London, 169 pp.
- Murray, A.J. 1982. Trace metals and organochlorine pesticide and PCB residues in mussels from England and Wales. Chem. Ecol., 1, 33-45.
- O'Hara, J. 1973. The influence of temperature and salinity on toxicity of cadmium to the fiddler crab, *Uca pugilator*. Fish. Bull., 71, 149-153.
- Phillips, D.J. H. 1978. The common mussel, *Mytilus edulis*, as an indicator of trace metals in Scandinavian waters. II. Lead, iron and manganese. Mar. Biol., 46, 147-156.
- Powell, M.I. and K.N. White. 1990. Heavy metal accumulation by barnacles and its implications for their use as biological monitors. Mar. Environ. Res., 30, 91-118.
- Qin, Xu. 1995. The effects of exposure to zinc and cadmium separately and jointly on the free amino acid pool of *Gammarus pulex* (L.). Toxicol. Environ. Chem., 50, 183-196.
- Rand, G.M. 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology 2nd ed. Taylor & Francis, Washinton D.C., 1125 pp.
- Rand, G.M., P.G. Wells and L.S. McCary. 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology, Rand, G.M., 2nd ed. Taylor & Francis, Washington D.C., pp. 3-70.
- Riisgard, H.U. and A. Randlov. 1981. Energy budgets, growth and filtration rates in *Mytilus edulis* at different algal concentrations. Mar. Biol., 61, 227-234.
- Riisgard, H.U. and E. Poulsen. 1981. Growth of *Mytilus edulis* in net bags transferred to different localities in a eutrophicated Danish fjord. Mar. Poll. Bull., 12, 272-276.
- Sherwood, G.D., J.B. Rasmussen, D.J. Rowan, J. Brodeur and A. Hontela. 2000. Bioenergetic costs of heavy metal exposure in yellow perch (*Perca flavescens*): in situ estimates with a radiotracer (¹³⁷Cs) technique. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 57, 441-450.
- Solorzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method, Limnol. Oceanogr., 14, 799-801.
- Vernberg, F.J. and W.B. Vernberg. 1974. Pollution and Physiology of Marine Organisms. Academic Press, New York, 492 pp.
- Viarengo, A., M. Pertica, and G. Mancinelli. 1984. Possible role of lysosomes in the detoxication of copper in the digestive gland cells of metal-exposed mussels. Mar. Environ. Res., 14, 469-470.
- Viarengo, A., S. Palmero, G. Zanicchi, R. Capelli, R. Vaissiere and M. Orunesu. 1985. Role of metallothioneins in Cu and Cd accumulation and elimination in the gill and digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* Lam. Mar. Environ. Res., 16, 23-36.
- Widdows, J. and P. Donkin. 1995. Scope for growth and contaminant levels in North sea mussels *Mytilus edulis*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 127, 131-148.
- Widdows, J., C. Nasci and V.U. Fossato. 1997. Effects of

pollution on the scope for growth of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Venice Lagoon, Italy. Mar. Environ. Res., 43, 69-79.

2002년 11월 25일 접수
2003년 6월 10일 수리