Korean J. Environ. Biol. 22(3) : 376~380(2004)

불가사리 알을 이용한 연안해수의 수질 평가

유춘만* · 이종빈 · 박종천[1] · 주현수[1]

전남대학교 생물학과, [1]서남대학교 의과대학

Evaluation of Offshore Seawater Quality using Gametes and Embryos of Starfishes (*Asterina pectinifera*)

Chun Man Yu*, Jong Bin Lee, Jong Cheon Park[1] and Hyun Soo Joo[1]

Department of Biology, Chonnam National University, Kwangju, Korea
[1]College of medicine, Seonam University, Namwon, Korea

Abstract - In August 2003, the water quality of offshore waters along the Incheon coast of Korea was evaluated by biological evaluation using gametes, embryos and early development systems of a starfish species (*Asterina pectinifera*).
As the result of performing biological evaluations on seawater samples from a total thirteen sites, the formation rate of normal larva was 16-68%. At seawater sample from site 5 and 13, formation rate of normal larva averaged 16%, the most abnormal rate hindering the early embryo development of the experimental animal, while that of site 3 averaged 68%, the highest formation rate of normal larva.
At seawater sample from site 2, 4, 7, 9, 10, 11, 12, formation rate of normal larva averaged 33-54%, those which damage the development of early embryos slightly. At seawater sample from site 1, 5, 6, 8, 13, formation rate of normal larva averaged 16-28%, those which damage the development of early embryos strongly.

Key words : biological evaluation, *Asterina pectinifera*

서 론

현재에 이르기까지 수(水)환경과 대기환경 등, 환경오염의 정도와 상태를 파악하는 데 있어서 이화학적 조사방법이 주로 사용되어 왔으나 환경에 영향을 미치는 유해화학물질도 수많은 종류가 개발되어 이들이 환경 내에 복합된 요소로 구성되어 있을 경우, 이를 이화학적 방법을 통해 환경에 미치는 요인물질을 정확히 파악하기가 힘들 뿐 만 아니라 환경요인을 복합적이고 종합적으로 파악하기엔 많은 시간과 경제적인 비용이 소요된다.

또한 유해화학물질의 농도가 환경에 극 저농도로 존재할 경우, 이를 이화학적 방법으로는 생물체에 미치는 영향을 파악하기는 지극히 어려우며 배출된 유해화학물질의 환경 중에서의 이동과 변환으로 인하여 광역적이고 장기간에 걸친 오염도의 축적을 파악하기가 힘들다(위 등 1995).

한편 국내연안의 수질평가기준은 대개 이화학적 지표인 COD, SS, T-N, T-P 등을 기준으로 한 해수수질 등급을 현재까지 적용하고 있어 이러한 결과를 토대로 해수수질

* Corresponding author: Chun Man Yu, Tel. 062-530-3390, Fax. 062-530-3409, E-mail. ycm0023@hanmail.net

을 종합적으로 평가한다는 것은 많은 어려움이 따르며, 특히 오염원에 따라 각기 다른 결과를 나타낼 수 있는 해양생물상과 연안생태계 전반에 미치는 영향을 종합적으로 파악하는 것은 불가능한 일이다(위 등 1995).

그러므로 오염요인을 복합적으로 판정할 수 있고 연안생태계의 변화를 포괄적으로 파악할 수 있는 생물학적 수질판정 및 생물검정의 적용이 이화학적 조사와 병행되어져야 할 것이다.

환경오염의 정도와 상태를 파악하는 데 있어 이러한 이화학적 방법의 단점을 보완코자 근래에 들어 동·식물플랑크톤, 미생물, 원생생물, 강장동물, 극피동물, 선형동물, 다모류, 연체동물, 갑각류, 어류 등을 이용하여 종합적이고 광역적으로 오염정도를 확인하는 생물학적 조사방법인 생물검정법 또는 지표생물을 이용한 생물학적 환경감시가 요구되고 있다.

생물학적 수질판정에 이용되어지는 생물은 대단히 다양하나 연안해수를 대상으로 할 경우에는 해산 무척추동물의 일종인 성게와 불가사리의 배우자나 발생계의 배아를 이용한 생물검정이 널리 이용되어지고 있다. 성게와 불가사리를 실험동물로 적용한 생물검정의 범위는 해수수질의 오염도 판정을 비롯하여(위 등 1995; 유 1997), 중금속에 대한 생물의 영향(Kobayashi 1981, 1984; Pagano *et al.* 1983, 1986), 각종 유해화학물질(Norman *et al.* 1988; Pagano *et al.* 1988a,b), 기름, 유처리제 및 농약에 관한 독성연구(Greenwood *et al.* 1983; Dinnel *et al.* 1989) 등 성게와 불가사리의 초기 배발생계를 이용한 생물검정을 통해 환경오염 및 독성실험에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

이러한 견지에서 본 연구는 해양수질의 상태와 오염정도를 파악하는 데 있어서 이화학적 방법의 문제점을 보완하고 해양오염상태를 종합적으로 판정하고자 해산무척추동물의 하나인 불가사리의 배우체(gametes) 및 배아(embryos)의 초기 발생계를 이용한 생물검정을 통하여 인천연안해역의 수질을 평가하고 해양오염지도(marine pollution map)를 작성하여 그 실태와 정도를 파악하고자 한다.

재료 및 방법

1. 조사정점 및 채수

본 연구는 2003년 하계(8월), 인천연안해역 일대 지리학적 특성을 고려해 총 13개 조사정점을 선정하였다(Fig. 1).

채수는 채수기를 이용, 각 조사정점의 표층수, 즉 수표면으로부터 0.5 m에서 시료를 각각 채수하였다. 채취된

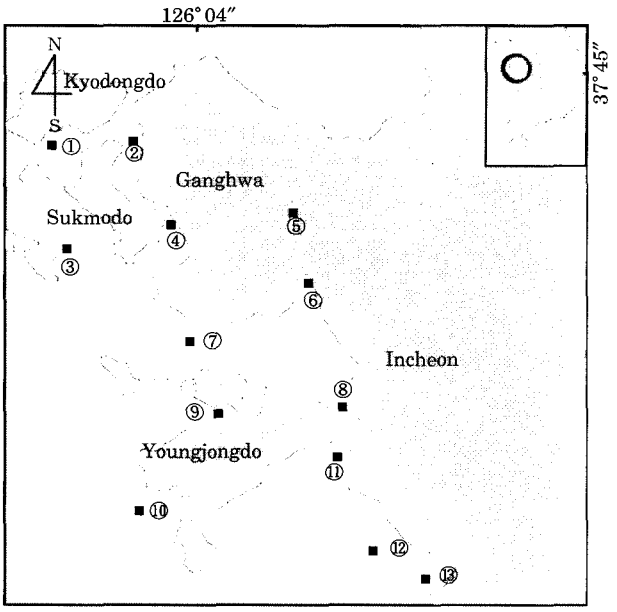

Fig. 1. A map showing the sampling stations in Incheon coastal area

시료는 4°C를 유지하는 저온상자에 넣어 실험실로 운반하여 실험동물의 생물검정에 이용하였다.

2. 생물검정

1) 실험동물 및 채집

본 연구에 사용되는 실험동물은 분류학적으로 극피동물문의 하나인 별불가사리(*Asterina pectinifera*)로써 연안해역의 암반이나 사질성 연안이 주 서식처이며, 전라남도 여수시 오동도 연안에서 채취, 서식처와 유사한 환경조건을 조성하여 운반하였다(Fig. 2).

2) 방정과 방란

실험동물의 방정과 방란에 사용하기 위한 자연해수는 GF/C (pore size 1.2 μm)로 여과한 후 2조의 활성탄충진 칼럼(Φ 25 cm × 100 cm)으로 처리하여 GF/C로 반복 여과한 것을 이용하며, 이 여과된 자연해수를 100 mL의 비이커에 가득 채운 후 불가사리의 생식공이 충분히 잠기게 한 다음 1×10^{-4} M의 1-Methyladenine 용액을 5개의 arm에 0.5~1 mL를 주입시킨 후, 30~90분 동안 방정, 방란을 시켰다. 방정·방란을 유도하여 얻은 배우자를 자연해수로 정자는 1회, 난자는 3회 반복 세정하여 실험에 사용하였다(Kanatani 1973; Kuraishi and Osanai 1992, 1994; Mita 1993, 1994; Benzie and Dixon 1994; Johnson and Babcock 1994).

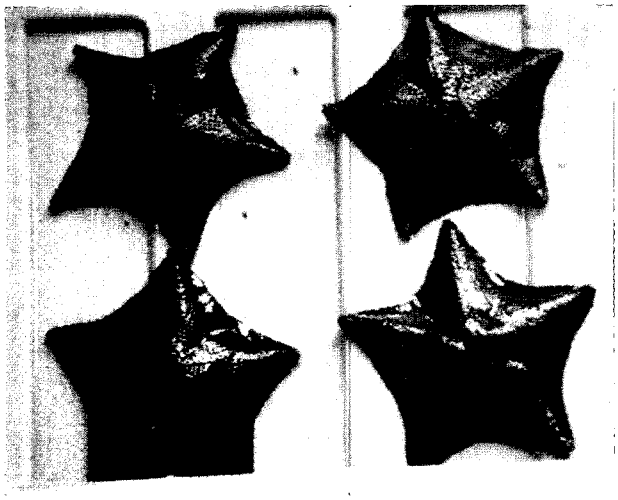

Fig. 2. Testing animals.

3) 배양조건

실험동물로부터 채취한 난자와 정자의 첨가비율은 1:1,000로 조절하였으며, 시수에 정자를 노출시키기 위한 정자의 수는 5×10^6/50 mL가 되게 조정하였다. 배양용기는 borosilicate 재질의 100 mL 배양병을 사용하여 배양액의 용량을 50 mL로 하였다. 배양기간동안에 유지되어진 배양온도는 20°C의 어두운 장소에서 정체 배양하였다(Pagano *et al.* 1985; Dinnel *et al.* 1987; Benzie and Dixon 1994; Johnson and Babcock 1994).

4) 배우자를 이용한 생물검정

각 조사정점의 채수시료에 60분 동안 정자를 노출시킨 후 난자를 첨가, 52시간 동안 배양한 후 시험액의 5 mL를 시험관에 분주하여 10%의 acetic acid로 고정, 광학현미경(200~600×)으로 검경하였다(Kobayashi 1981, 1984; Dinnel *et al.* 1987; Benzie and Dixon 1994; Johnson and Babcock 1994).

5) 시료의 관찰 및 자료의 처리

시료의 관찰은 정상적인 유생 형성율에 중점을 두어 관찰하며, 대조군(여과된 자연해수 처리군)과 비교하여 normal과 abnormal(정상크기의 1/2 이하인 것, laval malformation)으로 구분하여 관찰한다

또한 본 실험의 생물검정은 모두 3회 이상의 동일한 실험을 실시하고, 관찰에 있어 배아를 100개 이상 계수하여 나타난 결과를 백분율로 환산·처리한다(Fujisawa 1989; Benzie and Dixon 1994; Johnson and Babcock 1994).

6) 생물검정 결과에 의한 해수수질 판정 기준

본 실험에서 나타난 결과를 토대로 Table 1의 수질등급 판정기준에 따라 분류하였다(Yu 1997).

Table 1. Ranking of sea water quality upon normal larva formation ratio of test animals

Inhibitory degree	Grade	Test animals		
			A. pectinfea	Remarks
Non-inhibitory ordinary sea water	I	Nor. Lar. Form. (%)	66~100	Normal development
Moderately inhibitory sea water	II	Nor. Lar. Form. (%)	32~65	Development delayed or deformed
Violently inhibitory sea water	III	Nor. Lar. Form. (%)	0~31	Development stoped in early stage

Nor. Lar. Form.: normal larva formation.

결과 및 고찰

별불가사리는 수정 후 20°C의 배양조건에서 52시간이 지나면 bipinnaria 유생 시기에 도달하게 된다. 해수 중에 존재하는 오염물질의 농도에 따라 bipinnaria 유생의 발생율에 차이를 나타내게 되며, 또한 유생시기에 도달한 발생배아에서도 오염물질의 영향으로 인해 개체크기, 비정상적인 형태 등을 보이기 때문에 현미경을 이용한 검경을 통해 정상적인 배아의 형태와 수를 비교하여 이를 해수의 오염도에 대한 지표로 활용할 수 있다(Kobayashi 1981, 1984; Yu 1997)

본 연구는 해수수질의 정도와 상태를 파악하는 데 있어 이화학적 방법의 문제점을 보완하고 해양오염상태를 종합적으로 판정하고자 해산무척추동물의 하나인 불가사리의 배우체(gametes) 및 배아(embryos)와 초기 발생계를 이용한 생물검정을 통하여 인천연안해역의 수질을 평가하고 해양오염지도(marine pollution map)를 작성하였다.

그 결과, 전체 13개의 조사정점에서 정상적인 bipinnaria 유생 발생율은 16~68%이였고, 이 중 주문도 앞바다의 조사정점 3에서 정상적인 bipinnaria 유생 발생율이 68%로 실험동물의 초기 배발생에 별다른 영향을 미치지 않은 I 등급 수질로 판명되었다.

반면, 조사정점 1, 5, 6, 8, 13의 5개의 조사정점에서는 정상적인 bipinnaria 유생 발생율이 16~28%로 실험동물의 초기 배발생에 큰 저해를 받은 III 등급 수질로 판명되었으며, 이 중 조사정점 5의 경우 실험동물의 초기 배발생에 가장 심한 저해을 받은 16%의 정상적인 bipinnaria 유생 발생율을 보임으로써 이 일대해역의 오염이 가장 심각한 것으로 판명되었다.

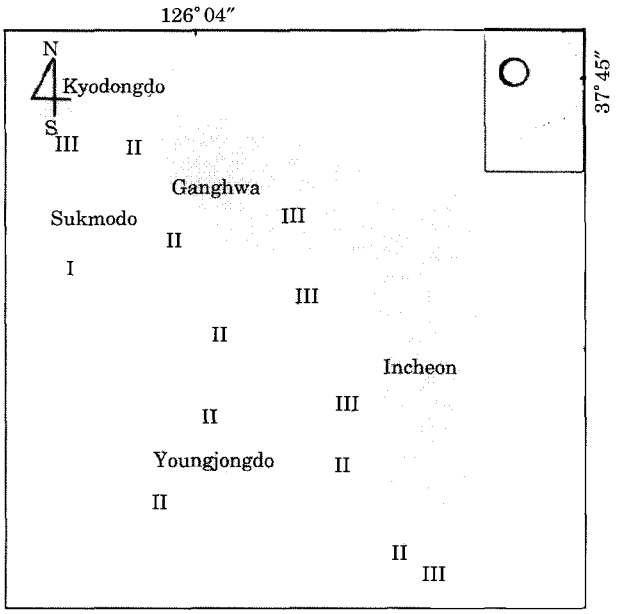

Fig. 3. Marine pollution map by normal larva formation ratio in Incheon coastal area.

Table 2. Ranking and normal larva formation ratio in each coastal station

Station	Nor. Lar. Form. (%) (Average)	Ranking
1	28	III
2	40	II
3	68	I
4	33	II
5	16	III
6	22	III
7	43	II
8	20	III
9	54	II
10	52	II
11	49	II
12	44	II
13	16	III

Nor. Lar. Form.: normal larva formation.

또한, 조사정점 2, 4, 7, 9, 10, 11, 12에서 정상적인 bipinnaria 유생 발생율은 33~54%로 II 등급 수질로 판명되었다(Fig. 3, Table 2).

우리나라 서해안은 지형적인 여건상 동해안에 비해 폐쇄형 생태계를 유지하고 있으며, 중국 및 국내 내륙으로부터 유입되는 오염물질의 영향을 많이 받는 해역이다. 본 실험의 결과 하천의 담수 및 오염물질의 유입이 심한 곳, 육지 및 섬에 인접한 곳 등의 조사정점 1, 5, 6, 8, 13의 5개 정점에서 오염에 약한 생물의 산란 및 번식 그리고 서식이 부적합한 낮은 등급 수질을 유지하였다. 하지만 조사정점 3에서 보듯이 내륙으로부터 멀리 떨어져 담수 및 하천의 오염물질 유입의 영향이 적은 곳에서는 생물의 산란 및 서식처로서 적합한 등급을 유지하고 있다. 이는 원할한 해류의 영향으로 생각된다.

1997년 Yu의 보고에 의하면, 현재 해양수질의 등급화에 사용되는 지표인 COD (화학적 산소요구량)와 성게와 불가사리의 초기 배발생율에는 밀접한 상호관련성이 있음을 보고한 바 있다. 화학적 산소요구량(COD)을 기준으로 I 등급(1 mg L^{-1} 이하), II 등급(2 mg L^{-1} 이하), III 등급(4 mg L^{-1} 이하)으로 분류하는 획일적인 평가방법은 수질환경의 종합적인 평가방법이라 할 수 없을 것이다. 특히 오염원에 따라 각기 다른 결과를 나타낼 수 있는 해양생물상과 연안생태계 전반에 미치는 영향을 종합적으로 파악하는 것은 불가능한 일이다.

그러므로 오염요인을 복합적으로 판정할 수 있고 연안생태계의 변화를 포괄적으로 파악할 수 있는 생물학적 수질판정 및 생물검정의 적용이 이화학적 조사와 병행되어져야 할 것이다.

결 론

인천 연안해역의 총 13개 정점을 선정, 별불가사리 (*Asterina pectinifera*)의 초기 배발생계를 이용한 생물학적평가법에 의해 인천해역 연안해수 수질의 정도와 상태를 파악하여 이를 등급화, 해양오염지도를 작성하였다.

그 결과, 주문도 앞 바다의 조사정점 3에서 68%의 정상적인 bipinnaria 유생의 발생율을 보여 I 등급의 수질로 판명되었다.

또한, 조사정점 2, 4, 7, 9, 10, 11, 12에서는 별불가사리의 초기 배발생계에 약간의 저해를 미치는 33~54%의 정상적인 bipinnaria 유생의 발생율을 보임으로서 II 등급의 수질로 판명되었다. 조사정점 1, 5, 6, 8, 13의 경우에는 실험동물의 초기 배발생계에 심한 저해를 미치는 해역으로, 정상적인 bipinnaria 유생의 발생율이 16~28%로 III 등급의 수질로 판명되었다

참 고 문 헌

위인선, 이종빈, 유춘만. 1995. 성게를 이용한 생물검정에 의한 우리나라 서남해역 연안의 수질평가. 한국수질보전학회지. 11:61-67.

유춘만. 1997. 한국산 해산무척추동물을 이용한 생물학적 평가

법에 의한 우리나라 해역 연안해수의 환경평가. 전남대학교 박사학위논문. 124pp

Benzie JAH and P Dixon. 1994. The effects of sperm concentration, sperm:egg ratio and gamete age on fertilization success in grown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) in the laboratory. Biol. Bull. 186:139-152.

Dinnel PA, JM Link and QJ Stober. 1987. Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine water. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16:23-32.

Dinnel PA, JM Link, QJ Stober, MW Letourneau and WE Roberts. 1989. Comparative sensitivity of sea urchin sperm bioassays to metals and pesticides. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18:748-755.

Fujisawa H. 1989. Differences in temperature dependence of early development of sea urchins with different growing season. Ref. Biol. 176:96-102.

Greenwood PJ. 1983. The influence of an oil dispersant chemserve ose-dh on the viability of sea urchin gametes. combined effects of temperature, concentration and exposure time on fertilization. Aquatic Toxicol. 4:15-29.

Johnson GL and RC Babcock. 1994. Temperature and the larval ecology of the crown of thorns starfish, acanthaster planci. Biol. Bull. 187:304-308.

Kanatani H. 1973. Maturation inducing substance in starfish. Int. Rev. Cytol. 35:253-298.

Kobayashi N. 1981. Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant extracts to canadian and japanese sea urchin eggs. Publ. Seto. Mar. Biol. Lab. 26:123-133.

Kobayashi N. 1984. Marine ecotoxicological testing with echinoderms. pp. 341-405 in Ecotoxicological Testing for The Marine Environment. Vol. I. G. Persoone, E. Jaspers, and C. Claus (Eds). State Univ. Ghent and Inst. of Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium.

Kuraishi R and K Kenzi. 1992. Cell movements during gastrulation of starfish larvae. Biol. Bull. 183:258-268.

Kuraishi R and K Osanai. 1994. Contribution of maternal factors and cellular interaction to determination of archenteron in the starfish embryo. Development. 120: 2619-2628.

Mita M. 1993. 1-Methyladenine production by ovarian follicle cells responsible for spawning in the starfish asterina pectinifera. Invertebr. Reprod. and Dev. 24: 237-242.

Mita M. 1994. Effect of Ca^{2+}-free seawater treatment on 1-methyladenine production in starfish ovarian follicle cell. Development 36:389-395.

Norman MT, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, E Ragucci, GG Giordano, V Sadagopa, N Ramanujam, L David and G Pagano. 1988. Aroclor 1254 toxicity in sea urchin embryos and gametes. Exp. Oncol. (Life Science Adv.) 7:57-64.

Pagano G, A Esposito, P Bove, MD Angelis, A Rota and G Giordano. 1983. The effects of hexavalent and trivalent chromium on fertilization and development in sea urchins. Environ. Res. 30:442-452.

Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, E Ragucci and G Giordano. 1985. pH-induced Changes in mitotic and developmental patterns in sea urchin embryogenesis. II. Exposure of sperm. Teratog. Carcinog. Mutagen. 5:113-121.

Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, E Ragucci, GG Giordano and NM Trieff. 1986. The sea urchin: Bioassay for the assessment of damage from environmental contaminants. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 66-92.

Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, GG Giordano, E Ragucci and NM Trieff. 1988a. Comparative toxicities of benaene, chiorbenzene, and dichiorobenzenes to sea urchin embryos and sperm. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 40:481-488.

Pagano G, M Cipollaro, G Corsale, A Esposito, A Mineo, E Ragucci, GG Giordano, N Kobayashi and NM Trieff. 1988b. Effects of sodium azide on sea urchin embryos and gametes. Teratog. Carciog. and Mutagen. 8:363-376.

Manuscript Received: February 19, 2004
Revision Accepted: July 1, 2004
Responsible Editorial Member: Gi Hoon Song
(Korea Naval Academy)