

담수 물벼룩 *Daphnia magna*의 자외선 B 적응이 자외선과 중금속의 동시노출에 따른 독성반응에 미치는 영향

김정곤 · 이민정 · 오소린 · 최경호[†]
서울대학교 보건대학원 환경보건학과

Effect of Ultraviolet-B Radiation Acclimation to Fresh Water *Daphnia magna* Simultaneously Exposed to Several Heavy Metals and UV-B Radiation

Jungkon Kim · Minjung Lee · Sorin Oh · Kyungho Choi[†]
School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-799, Korea
(Received March 9, 2007/Accepted April 23, 2007)

ABSTRACT

Many environmental contaminants including several metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals, have been identified to be phototoxic in the water environment. Concerns regarding photo-enhancement of toxicity of several environmental contaminants have been increasing because of the increased level of ultraviolet irradiation on the earth surface. However, there exist arguments that there might be certain defense mechanisms taking place in the aquatic ecosystem, which may include behavioral characteristics or genetic acclimation. This study was conducted to understand the potential responses of aquatic receptors to several phototoxic metals in the real environment, where long-term acclimation of such organisms to low dose UV-B may take place. For this purpose, water flea *Daphnia magna* was acclimated to environmentally relevant dose of UV-B (12 to 18 uW/cm²) for >11 generations. The differences in developmental and life history characteristics, and toxicity responses were evaluated. Acclimation did not affect the daphnids' growth, longevity, and reproduction characteristics such as time to first brood, and brood size: After 21 d, survival of *D. magna* was not influenced by UV-B acclimation. When the number of young per female was compared, the daphnids acclimated for 11 generations tend to produce less number of neonates than the un-acclimated individuals but with no statistical significance ($p>0.05$). Four metals that were reported to be phototoxic elsewhere were employed in this evaluation, that include As, Cd, Cu, and Ni. UV-B level being applied in acclimation did increase the toxicity of Cd and Cu, significantly ($p<0.05$). However, the toxicities of As and Ni were not affected by irradiation of UV-B. Phototoxic responses were evaluated between the acclimated and the un-acclimated daphnids. For Cu, UV-B acclimation led to reduction of the photo-induced toxicity ($p\approx 0.1$) in daphnids. Non-acclimated *Daphnia* were affected by 50% at 4.18 ug/l Cu, but UV-B acclimated individuals exhibited EC₅₀ of 5.89 ug/l. With Cd, UV-B acclimation appeared to increase phototoxicity ($p>0.05$). With As and Ni, UV-B acclimation did not influence photo-induced toxicity. This observation may be in part explained by the type of reactive oxygen species that were generated by each metal. Similar to UV-B light, Cu is known to generate superoxide anion by acting as redox cycling toxicant. This is one of the first studies that employed laboratory based UV-B acclimated test species for photoenhanced toxicity evaluation.

Keywords: *Daphnia magna*, ultraviolet-B, acclimation, photoenhanced toxicity, reactive oxygen species

I. 서 론

환경 중에 존재하는 독성물질은 물 환경의 pH, 알칼

리도, 경도물질, 용존유기물질 등 다양한 이화학적 조건에 의해서 독성이 달라질 수 있다. 물환경의 pH와 경도 등은 용존 유해물질의 생체이용률(bioavailability)에 영향을 미쳐 독성에 영향을 미친다. 용존유기물질은 독성물질과 결합하여 마찬가지로 생체이용률에 영향을 미칠 수 있다.

물환경을 중심으로 볼 때, 오염물질에 대한 수용체

[†]Corresponding author : School of Public Health, Seoul National University
Tel: 82-2-740-8898, Fax: 82-2-745-9104
E-mail : Kyungho@snu.ac.kr

의 반응에 영향을 미치는 자연계의 중요한 이화학적 요인의 하나로 자외선을 들 수 있다. 자외선은 직접적 유해인자로 작용하여, 생체에 산화적 손상을 일으킬 수도 있다. 자외선을 이용한 생태독성학적 연구는 DNA,¹⁾ 단백질²⁾ 혹은 지질³⁾ 등의 분자수준에서 시작하여 세포,⁴⁾ 조직,⁵⁾ 장기,³⁾ 개체⁶⁾ 그리고 군집⁷⁾에 이르기까지 여러 단계, 다양한 생물종에서 이루어져왔다. 또한 노출방법,⁸⁾ 시간,⁹⁾ 자외선의 종류¹⁰⁾를 비롯하여 수많은 요인을 고려하여 연구되어왔고 지금도 진행되고 있다는 것은 환경 중 자외선의 중요성을 대변한다고 할 수 있다. 자외선은 수심이 깊어질수록 투과도가 감소되기 때문에⁷⁾ 저서 생물종은 표층부의 생물종보다 유해한 자외선의 영향을 덜 받게 된다. 용존 유기물질은 다환방향족탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)와 결합한 형태가 되면, PAH가 자외선에 의해 수중에서 독성이 강한 형태로 전환되는 것을 막아주기 때문에 물환경에서 자외선의 독성을 감소시킨다.¹¹⁾

한편 일부 환경오염물질은 자외선 조사에 의해 세포막 손상, 생물학적 영구손상, 종감소, 치사 등 수서생물에 미치는 독성이 유의하게 증가한다.¹²⁾ 이러한 광독성을 나타내는 환경오염물질은 일부 PAHs, 금속, 살충제, 항생제 등이 보고되었다.¹³⁾ Oris와 Giesy¹²⁾는 어린 sunfish를 96시간 동안 anthracene과 자외선에 동시노출시키는 실험을 통하여 아카미의 상피세포층 감소, 등지느러미 피부층 침식을 관찰하였다. Arfeten 등¹⁴⁾은 물벼룩을 자외선과 anthracene에 21일 동안 동시노출시켰을 때 번식 능력이 감소함을 보고하였다.

지금까지 보고된 광독성 오염물질에 대한 연구는 대부분 태양 자외선의 조사강도와 일치하지 않는 자외선 강도를 사용하였거나, 자외선이 존재하지 않는 실험실 조건에서 배양한 생물독성시험종을 이용하여 실험을 수행하였다. 물생태계와 그곳에 서식하는 수용체는 자외선을 포함한 다양한 물리화학적 조건에 의해서 영향을 받으며 이러한 조건들은 오염물질의 독성반응에도 영향을 미칠 수 있다. 따라서 실험실의 고도로 제어된 조건에서 얻은 독성시험 결과에 근거하여 복잡한 실제 환경에서의 반응을 정확하게 예측하기가 어려운 것이다. 한편 생물의 유전적 적응 또는 자연선택에 의한 저항성 획득의 가능성도, 실제 환경에서의 독성반응을 정확하게 예측하기 어렵도록 하는 요인이다.¹⁵⁾ 이러한 이유로 동일 개체종이라도 다른 환경에서 서식하는 개체는 같은 오염물질에 노출되더라도 다른 독성반응이 나타날 수 있는 것이다. 광독성 증폭 특성을 갖는 오염물질이 높게 존재하는 환경에서 자외선이 강하게 존재하

는 경우에도 생물종이 풍부하게 존재하고 있다는 관찰은,¹⁶⁾ 생물종이 UV-B와 일부 광독성 물질의 동시노출에 대한 적응 또는 방어기전을 가지고 있을 가능성도 암시한다.

중금속은 사람의 활동에 의해서뿐만 아니라 자연적으로도 존재하는 대표적인 환경오염물질이다. 특히 As, Cd, Cu, Ni 등 일부 중금속은 태양광 혹은 태양광에 존재하는 자외선 영역에 노출되었을 때 생물독성에 영향을 미칠 수 있다는 보고^{10,17,18)}도 있다. 이들 중금속은 우리나라 환경에서도 비교적 빈번하게 높은 농도로 관찰된다. 국내 주요 고속도로 노면 유출수에서 Cu, Cd 그리고 Ni의 농도가 각각 최고 4781 ug/l, 18.2 ug/l 그리고 182.4 ug/l로 나타나¹⁹⁾ 수질오염이 우려된다. 또한, 2004년 시화호 지표수의 중금속 농도는 Cd 0.010~0.079 ug/l, Cu 3.76~98.6 ug/l, Ni 4.27~15.0 ug/l의 범위²⁰⁾로 중금속 오염 가능성을 완전 배제할 수 없으며, Cu의 경우 오염수준 범위 내에서 수생태종들에게 광독성을 나타낼 수 있다. 고속도로 노면 유출수는 직접적으로 상수원수의 수질에 영향을 끼칠 수 있고, 강우에 의해 유출유량과 수질농도의 변화가 매우 빠르게 나타나기 때문에 미국을 비롯하여 여러 선진국에서는 우선관리대상으로 분류하여 연구 및 관리하고 있다.

이 연구는 태양광에 의해 독성이 증가될 수 있다고 보고된 일부 중금속을 대상으로, 장기간 자외선에 적용된 생태독성시험종이 광독성 중금속과 자외선의 동시노출에 어떻게 반응하는지를 파악하고자 수행되었다. 이를 위하여, 본 연구에서는 표준독성시험종²¹⁾인 *D. magna*를 환경 중 UV-B와 유사한 강도로 장시간(>11 세대) 노출시켜 UV-B에 적용된 개체를 생산하고, 이 개체가 UV-B와 중금속의 동시노출에 대해 보이는 민감도의 변화를 관찰하였다. 이 연구의 결과는 실험실에서 관측된 독성시험의 결과와 실제 자연환경에서 관찰되는 결과 사이의 차이를 이해하고 이를 설명하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

II. 연구재료 및 방법

1. 재료

독성시험을 위해 As(AsNaO₂: Wako pure chemical industries, Ltd., Osaka, Japan), Cd(CdCl₂·5H₂O: Kanto chemical Co., Inc., Tokyo, Japan), Cu(CuSO₄·H₂O: Shinyo pure chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan)와 Ni(NiCl₂·6H₂O: Shinyo pure chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan)을 사용하였다.

2. 물벼룩 배양과 유지

본 연구에서 사용된 *Daphnia magna*(*D. magna*)는 2003년 이후로 서울대학교 보건대학원 환경독성학교실에서 배양해 온 것을 사용하였다. 미국 환경청(US Environmental Protection Agency)의 물벼룩 급성독성 지침서²²⁾에서 권고하는 배양수(Moderately hard water, MHW)(total hardness of 80-90 mg/l CaCO₃)를 7리터 유리용기에 6리터를 채워 물벼룩을 배양하였으며, 배양수는 주 2회 교체하였다. 먹이로는 0.2 ml의 조류(*Selenastrum capricornutum*)와 0.1 ml의 yeast, alfalfa, Tetramin 혼합액[®](혼합비율=1:1:1)을 공급하였다. 배양기(Precision 30MR refrigerated incubator, Thermo Fisher Scientific, Inc. USA)의 온도는 21±1°C를 유지하였고, 광주기는 매일 16시간씩 조사하였다. *D. magna* 배양조건과 유지에 관련된 일반 사항들은 미국 환경청의 지침²²⁾을 따랐다.

3. UV-B 조사 조건과 *D. magna* 적응

*D. magna*를 UV-B에 장시간 적응시키기 위한 조사 강도를 결정하기 위해, 환경 중 UV-B의 강도를 측정하였고, 물벼룩에 대한 UV-B의 급성 반수영향농도(EC₅₀ = 35 uW/cm²)를 구하였다. 독성시험을 통해 파악된 EC₅₀의 절반 수준이 외부 환경에서 관찰되는 UV-B 조사강도와 비슷함을 알 수 있었고, 따라서 이 값을 UV-B 적응 조사 강도로 선택하였다. 실제 조사 범위는 12-15 uW/cm² 이내였다. UV-B 조사는 하나의 형광등과 4개의 UV-B 램프(model RPR-3000, Southern New England Ultraviolet Co. USA)를 이용하였으며, 조사 강도는 cellulose acetate 필터를 사용하여 조절하였다.

선택된 UV-B 조사강도에서 물벼룩을 배양하여, 세 배(brood)째 태어난 산자(neonate)를 다음 세대 배양을 위해 사용하였고 이러한 과정을 11대 이상 지속하였다. *D. magna* 배양조건과 유지에 관련된 일반 사항들은 미국 환경청의 지침²²⁾을 따랐다. UV-B에 *D. magna*를 적응시키기 위해 향온기(Precision 30MR refrigerated incubator, Thermo Fisher Scientific, Inc. USA)에 하나의 형광등과 4개의 UV-B 램프를 설치하였으며, 형광등은 16시간:8시간(광:암) 조건을 유지하였고 UV-B는 계속 조사하였다. UV-B의 강도는 VLX3W radiometer (Cole-Parmer Instrument Co., IL, USA)를 사용하여 매일 측정하여 강도가 일정하게 유지되도록 조정하였다.

4. UV-B 적응이 *D. magna*의 생활사 특성에 미치는 영향 평가

UV-B 적응이 *D. magna*의 생식에 미치는 영향을 알

아보기 위해 *D. magna* 생식능 시험²³⁾을 응용하여 생식능 시험을 수행하였다. 생식능 시험은 UV-B에 11세대 이상 적응시킨 *D. magna*를 사용하여 21일 동안 수행하였고, UV-B를 조사하지 않고 표준조건에서 배양한 *D. magna*의 결과와 비교하였다. UV-B 적응 *D. magna*와 비적응 *D. magna* 각각 10마리를 배양수가 담긴 비이커에 1개체씩 투여하였다. 배양수는 일주일에 3회 이상을 교환하고, 매일 모체로부터 태어난 산자수와 시험 종료 후에 모체의 체장(anal spine을 제외한 몸통 길이)을 측정하여 기록하였다.

5. *D. magna* 급성독성 시험

급성독성시험은 미국 환경청의 급성 방류수 독성 시험²²⁾에 따라 수행하였고, 독성 종말점으로 48시간 EC₅₀를 사용하였다. 급성독성시험을 위한 *D. magna*는 태어난지 24시간 이내의 새끼를 사용하였다. 다섯 개의 농도(대조군 제외)를 대수등간격으로 제조하여 사용하였고, 한 농도 당 20개체(5마리씩 4개의 반복군 배치)의 *D. magna*를 노출시켰다. 독성시험 전과 후에 대조군과 처리군에서의 수온, pH, 용존산소를 측정하였다. 시험 기간은 48시간이며, 24시간마다 *D. magna*의 유영저해를 관찰하여 기록하였다. 시험기간 동안에는 먹이를 주지 않고, 공기는 공급하지 않았다.

6. 자료의 처리와 통계분석

급성반수영향농도와 신뢰구간을 구하기 위해 TOXSTAT(West Inc., Cheyenne, WY, USA) 프로그램의 Probit analysis, Spearman-Kärber 또는 Trimmed Spearman-Kärber method²⁴⁾를 사용하였다. 집단간 산자수(Number of young per female)와 첫 배 새끼의 생산에 소요되는 시간(Time to first brood)을 비교하기 위하여 One-way ANOVA와 *t*-test를 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. UV-B 적응이 *D. magna*의 생활사 특성에 미치는 영향

장시간 UV-B 적응이 성장과 생식 등 *D. magna*의 생활사 특성에 부정적 영향을 미치는지 확인하였다. Table 1에서 볼 수 있는 것처럼 *D. magna*의 UV-B 적응은 성장(body length)이나 수명(longevity)에는 영향을 주지 않았다. 한 배에 태어난 새끼의 수도 11세대 이상 누대배양된 적응 개체(14.3 ± 1.2 neonates/brood/individual)는 적응되지 않은 개체(14.5 ± 1.3 neonates/brood/individual)와 비슷한 수준을 보였다. 첫 배 새끼를 생산하는데 소요된 시간 역시 두 개체가 비

Table 1. Comparison of developmental and life history characteristics observed from UV-B acclimated and non-acclimated *D. magna*

Culture	Length (mm)	Longevity ^{a)} (d)	Time to 1st brood ^{b)} (d)	Num. of young per female	Brood size ^{c)}
Non-UV-B Acclimated <i>D. magna</i>	3.38 ± 0.06	20.8 ± 0.6	9.9 ± 1.4	61.7 ± 9.8	14.5 ± 1.3
UV-B Acclimated <i>D. magna</i>	3.23 ± 0.14	21.0 ± 0	10.1 ± 0.2	58.8 ± 6.6	14.3 ± 1.2

Values are means ± S.D.

^{a)}Life span of the surviving daphnids of the end of the exposure (21 d) is considered to be 21 d for the calculation of the average longevity.

^{b)}Time to first brood is defined as the day *D. magna* produced its first offsprings.

^{c)}Brood size is defined as the mean number of live offsprings produced by an individual *D. magna*.

Table 2. Intrinsic rate of increase ($\ln R_0/T_c$) estimated for non-acclimated or acclimated *D. magna* population with or without UV-B exposure during 21 d of observation

Cultures	UV-B exposure	$\Sigma l_x m_x (R_0)$	$\Sigma x l_x m_x$	T_c	$\ln R_0/T_c$
Non-UV Acclimated	No	58.4	865.2	14.8	1.4
<i>D. magna</i>	15 uW/cm ²	57.6	862.3	15.0	1.3
UV Acclimated	No	50.0	737.3	14.7	1.2
<i>D. magna</i>	15 uW/cm ²	60.0	779.7	13.0	1.5

x = the unit of age (d); l_x = age-specific survival, i.e., number of individuals in a cohort that are alive at day x ; m_x = the mean number of neonates reproduced by a female of that age class; R_0 = net reproductive rate, i.e., the expected number of females to be produced by a newborn female during the lifetime; T_c = the mean generation time estimated by dividing the sum of $x l_x m_x$ with R_0 .

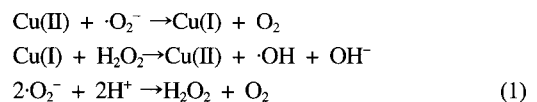
숫하여, 적응 *D. magna*는 10.1일이 걸렸고, 비적응 개체는 9.9일이 걸렸다. 총 21일의 관찰기간 동안 생산된 *D. magna*의 산자수는 비적응 개체의 경우 61.7마리, 적응된 개체의 경우 58.8마리로 비적응 *D. magna*의 산자수가 많았지만 통계적으로 유의하지 않았다. 결론적으로 따라서 15 uW/cm² 수준의 UV-B에 장기적으로 노출되어도, 성장과 생식 등 *D. magna*의 생활사에는 유의한 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

Table 2는 장기적 UV-B 적응이 *D. magna* 개체종의 증식에 부정적인 영향을 미치는지를 평가한 결과를 요약한 것이다. 시간의 경과에 따른 개체군의 증감을 예측하는 증식속도(Intrinsic rate of increase, $\ln R_0/T_c$) 이 UV-B 적응 개체나 비적응 개체에서 모두 1.2~1.5 사이의 범위로 관찰되어, 두 집단 모두 큰 차이 없이 개체종이 증식하고 있는 것으로 판단되었다.

2. UV-B에 의한 중금속 독성 증폭 영향

Fig. 1에 나타난 것처럼, Cd와 Cu의 경우, 48시간 *D. magna* EC₅₀가 84.9와 6.61 ug/l이었으나, UV-B 조사에 의해 53.9와 4.18 ug/l로 관찰되어 자외선 조사에 의해 두 중금속의 독성이 증가함을 알 수 있었다. Cd 은 노출 직후 조직의 지질과산화물을 증대시키는 것으로

알려져 있다.²⁵⁾ 따라서, Cd과 UV-B의 동시노출로 인한 독성 증폭은 Cd에 의해 발생한 지질과산화가 UV-B 조사로 더 가속화되어 나타난 현상으로 생각된다. UV-B에 의한 Cu의 독성 증폭은 동일한 활성산소 종의 생성에 의한 상승 작용으로 생각된다. UV-B가 조사된 피부세포에서는 superoxide anion ($\cdot O_2^-$)의 생성이 촉진된다.²⁶⁾ Cu도 마찬가지로 superoxide anion을 비롯한 다양한 활성산소의 생성에서 촉매제 역할을 하고 이로 인하여 생체막의 지질과산화가 촉진된다(식 1).



where, $\cdot O_2^-$: superoxide anion
 H_2O_2 : hydrogen peroxide
 $\cdot OH$: hydroxyl radical

환경에서 검출되는 중금속 중에는 산화적 손상을 일으키는 예들을 많이 찾을 수 있다. Stohs와 Bagchi (1995)는 Fe, Cu, Cd, Cr, Pb, Hg, Ni 그리고 V 등의 금속들은 지질과산화, DNA 손상, 그리고 칼슘 항상

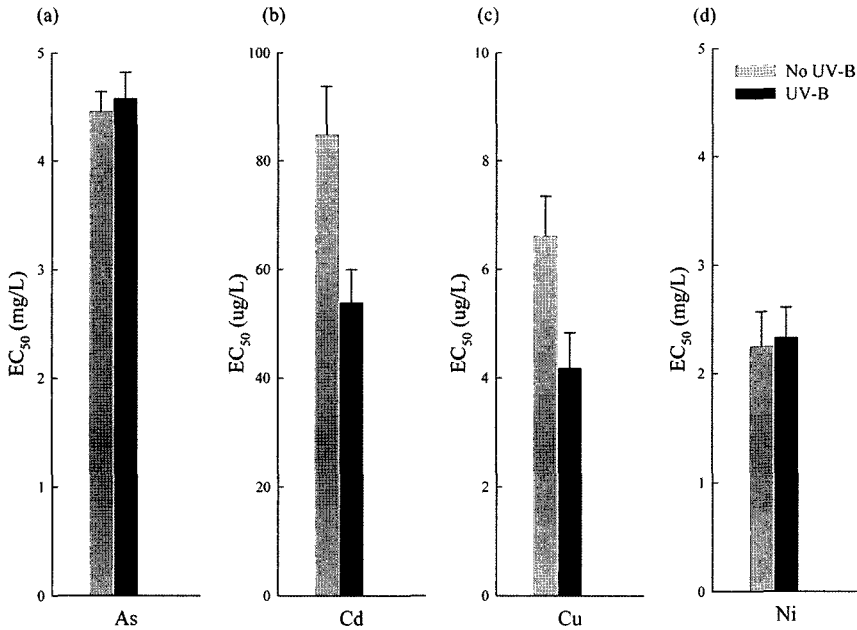


Fig. 1. EC₅₀ values of metals, i.e., (a) As, (b) Cd, (c) Cu, and (d) Ni. Non-acclimated *D. magna* was employed for the toxicity test with or without UV-B radiation. Error bars represent 95% confidence intervals.

성(homeostasis) 변화 등을 일으키는 활성산소종(Reactive oxygen species)을 생성할 능력이 있다고 보고하였다.²⁷⁾ 한편 UV-B의 주요 독성반응도 활성산소종의 생산 등 산화적 손상과 관련을 맺고 있다. UV-B는 생체에 조사되었을 때 세포 내 핵막을 투과하여 DNA 염기가 인접한 염기와 이량체(dimer)를 형성함으로써 직접적으로 독성영향을 일으킬 수 있고, 체내에서 활성산소종의 생산을 초래하여 생체막의 지방산 산화를 유도하고 궁극적으로 지질과산화, 단백질 산화 및 DNA 손상을 일으키는 방식으로 독성반응을 초래할 수도 있다.²⁸⁾ 이런 사실로 미루어 볼 때 활성산소종 생성을 유발하는 중금속과 UV-B에 동시에 노출된 *D. magna*에서는 독성의 부가효과(additive effect) 혹은 상승효과(synergy effect)를 예상할 수 있다. Hansen 등¹⁰⁾은 *C. dubia*를 이용한 실험에서 As와 UV 조사가 상승효과가 있다는 것을 보고하였고, Hartmann과 Hartwig는 Ni이 자외선 조사에 의한 세포독성을 증대시킨다는 것을 증명하였다.¹⁸⁾

본 연구에서는 As과 Ni은 UV-B 조사에 의해 독성 증폭 현상이 발견되지 않았다(Fig. 1). 그 이유는 사용한 시험 생물종이 다르다는 것 이외에도 몇 가지로 설명될 수 있다. 첫째, 지역적인 차이는 있을 수 있으나 지표면에 도달하는 태양광 중에는 UV-B보다 약 10배 많은 UV-A가 존재한다. 여름 중 태양광이 수심 1 m

깊이에 도달하는 평균 UV-A와 UV-B는 49.5 ± 1.0 과 $4.2 \pm 0.4 \text{ uW/cm}^2$ 이다.⁵⁾ Hansen 등¹⁰⁾의 연구뿐만 아니라 대다수의 As과 자외선의 광증폭을 유도한 실험에서 사용된 자외선은 태양광이거나 이를 모방한 인공태양광을 사용하였다. 따라서 자외선에 의한 As의 광독성은 본 연구에서 사용한 UV-B의 조사량보다 약 10배 이상 많은 양이 존재하는 UV-A에 의한 광독성일 가능성이 크다. 한편 Hartmann과 Hartwig은 UV-C 영역이 Ni의 세포독성을 증가시킴을 관찰하였다. 둘째, 자외선에 조사되었을 때 생체는 자외선 종류에 따라 다양한 활성산소를 생성하는데 UV-A에 의해 생성되는 활성산소종은 UV-B 조사에 의해 생성되는 superoxide anion ($\cdot\text{O}_2^-$)²⁶⁾과는 다르며, 생성된 활성산소종의 생체내 제거 기전도 다르다. Tyrrell과 Pidoux²⁹⁾는 UV-A 및 가시광선 근처의 파장에 의해 생성되는 활성산소종 singlet oxygen ($^1\text{O}_2$)이 배양된 사람 섬유아세포의 자외선에 의한 손상에 관여한다고 보고하였다. 자외선 파장에 따른 독성기전과 각 자외선에 의해 생성된 활성산소의 종류, 생성 후 전환 및 제거기전에 관해 다양한 이론이 보고되고 있지만 아직까지는 이견이 분분하다. 마지막으로 본 연구에서 사용된 전이금속들은 활성산소종을 생성하여 산화손상을 일으킬 수 있으나 그 독성 정도는 용해도(solubility), 피흡수성(adsorbability), 이동(transport), 화학 반응성(chemical reactivity) 그리고 체

내에서 형성된 복합체 등의 차이에 의해 금속마다 독성 정도가 다르게 나타난다는 점을 지적할 수 있다.²⁷⁾

본 실험에서 중금속의 광독성 영향을 평가하기 위해 사용된 농도는 실제 환경중 중금속 오염수준과 거리가 있다. 국내 음용수, 상수원 그리고 주요 하천의 중금속 (Cd, As, Cu) 노출수준은 하천 수질 기준치 이하이다. 그러나 Kim 등³⁰⁾은 화학물질의 배출을 개별적 수치기준으로 규제하고 있는 현행 수질배출허용기준으로는 수서생태계를 보호하기에 적합하지 않다고 강조한 바 있다. 그러나 이 연구 또한 실험실 내의 독성평가에 근거한 보고로, 아직까지 국내에서 환경시료의 광독성을 평가한 연구는 아직 미미한 수준이어서 그 영향을 예측하기가 어렵다.

3. UV-B에 적응이 광독성에 미치는 영향

UV-B에 적응됨에 따라 물벼룩의 중금속에 대한 민감도의 변화를 Table 3에 정리하였다. UV-B 적응에 따라 *D. magna*의 중금속에 대한 민감성은 다양하게 변화하였다. Cu의 경우 UV-B 동시노출에 의해 독성이 증가되었지만, UV-B 적응에 의해 독성이 감소하였다 ($p<0.1$)(Table 3). 자외선 적응에 의해 Cu 노출에 대한 저항성이 증가된 이유는 UV-B와 Cu의 산화적 손상 기전이 유사하기 때문으로 보인다. Cu와 UV-B는 모두 superoxide anion을 생성시킨다. 장기간의 UV-B 적응에 의해 *D. magna*는 superoxide anion의 산화적 자극에 대처하기 위한 항산화 방어기전을 획득했을 것으로 생각되며, 이렇게 형성된 방어기전은 동일한 산화적 독성을 갖는 Cu 노출에 대한 방어기전도 제공하는 것으로 판단된다. 유전적 적응에 의해 환경오염물질에 대한 저항성이 증가한 사례는 많이 보고되어 있다. 자연환경

에서 수집한 어린 sunfish가 자외선과 anthracene의 동시노출에 대한 저항성이 상대적으로 크다는 보고,¹²⁾ 실험실조건에서 3주 가량 자외선에 적응된 물벼룩 *C. dubia*가 적응되지 않은 물벼룩에 비해 광독성종류에 의한 치사율이 상대적으로 낮게 나타났다는 보고,⁷⁾ 저서 생물인 *Hyaella azteca*의 PAH 광독성 저항성이 유전적 요인과 관련을 맺고 있음에 대한 보고³¹⁾ 등이 있다.

두 번째로, Cd와 UV-B 동시노출의 경우 UV-B에 적응된 *D. magna*에서 독성이 증가하였다. 일반적으로 환경오염물질에 적응된 개체는 적응되지 않은 개체에 비해 동일한 오염물질에 대하여 높은 수준의 내성을 보인다. 그러나 적응하는 과정에서 유전적인 다양성이 줄어들 수 있고 따라서 새롭게 환경이 바뀌거나 스트레스가 달라지면 적응된 개체의 생존능력이 떨어진다.³²⁾ *D. magna*가 UV-B에 적응하는 동안 획득되었을 수도 있는 스트레스에 대한 방어기전 혹은 회복기전이 Cu 이외의 다른 중금속에는 잘 작동되지 않았을 수도 있다. 따라서, 비록 *D. magna*가 장시간 UV-B에 적응하여 UV-B에 대해 저항성을 가졌을지라도 다른 종류의 독성기전을 갖는 Cd의 영향에 대한 저항성을 획득하지는 못할 수도 있다. As과 Ni의 경우에는 UV-B 적응이 독성변화에 영향을 주지 못하였다.

지표면에 도달하는 태양광³³⁾ 중에서 UV-B가 수생동물에 가장 많은 해를 끼칠 수 있는 것으로 알려져 왔다.⁷⁾ UV-B는 환경 중에 항상 존재하므로 수서 생물의 성장과 생육에 치명적인 피해를 야기할 것으로 예상되나 실제 환경에서 나타나는 현상은 이와 다르다. Oris와 Giesy¹²⁾는 현장에서 수집한 물고기 치어를 PAHs와 자외선에 동시노출시켰을 때 실험실에서 배양한 물고기보다 광독성에 대한 저항력이 더 높아진 것을 관찰하였다. 또한, Calfee 등⁷⁾의 실험에서는 UV-B에 적응되지 않은 *C. dubia*를 이용한 실험에서 자외선을 조사한 모든 처리군에서 높은 치사율을 보여 이 개체종이 자외선 노출에 민감함을 보여주었으나 2.0 uW/cm² UV-B에 3주 동안 노출시킨 후 같은 실험조건으로 수행했을 때 높은 생존률을 보였다. 즉, 실험실에서 배양된 생물종의 독성물질에 대한 민감도는 일정하게 유지되는 반면 실제 환경에서 수집한 개체는 같은 생물종이라고 할지라도 UV와 PAHs 노출에 대한 반응을 달리 보인다. 이는 자연 환경 조건에서 누대 번식한 생물종의 유전자 조성이 변화하기 때문일 가능성도 있다.³⁴⁾ 자연환경 중 생물집단은 유전적 진화 또는 적응에 의해 환경 내에 존재하는 유해요인에 대처하는 능력을 획득하게 되고, 따라서 실제 환경에 존재하는 생물종과 실험실에서 계대배양된 생물종을 비교할 때 특정

Table 3. Calculated EC₅₀ values with 95% confidence intervals for the chemicals tested^{1), 2)}

	Non-acclimated <i>D. magna</i>		Acclimated <i>D. magna</i>
	No UV-B	UV-B	UV-B
As	4460 (4280-4640)	4580 (4340-4820)	4470 (4290-4650)
Cd	84.9 (76.0-93.8)	53.9 (47.9-60.0)	45.8 (38.9-54.1)
Cu	6.61 (5.87-7.35)	4.18 (3.53-4.83)	5.89 (4.82-6.95)
Ni	2250 (1930-2570)	2330 (2050-2610)	2410 (2030-2790)

¹⁾Tests were carried out in duplicates.

²⁾Unit is ug/l.

유해요인에 대한 감수성이 다를 가능성이 존재한다는 것이다.

유해한 자외선에 대한 방어기전은 유전적인 측면 이외에도 다양하다. 많은 수서 생물들은 유해한 자외선으로부터 자신을 방어하기 위해서 도피(avoidance), 차단 흡수(screening-absorbing), 억제(quenching), 회복(repair) 등의 방법을 이용한다. Leech와 Williamson³⁵⁾은 물벼룩이 자외선을 피하기 위해 주간에는 수심 깊은 곳으로 이동하고 야간에는 수면 가까이로 수직 이동한다는 것을 밝혔다. 자외선을 차단하기 위해 멜라닌(melanin), MAAs(mycosporine-like amino acids), scytonemin 등을 합성하는 생물도 있다.³⁶⁾ 표서동물(epifauna)은 자외선에 대한 방어 기전으로 표피를 불투명하게 하거나 착색시키기도 한다.⁹⁾ Ankley 등³⁷⁾은 일부 chironomid와 copepod 종은 PAH의 광독성으로부터 보호하기 위해 껍질(배갑)을 이용할 수도 있음을 보고하였다. 어류는 비늘에 구아닌 색소가 침착되어 있어 자외선을 반사시키는 역할을 한다.

현재까지 수행된 대부분의 연구들은 개체 수준의 처사 등과 같은 급성 반응만을 지표로 살펴본 것들이며, 인위적으로 유전적 적응을 시킨 개체가 환경에서 포획한 개체를 이용한 UV-B와 일부 PAHs의 독성 적응 및 방어수준을 분자 또는 생화학적 수준에서 살펴본 연구는 찾아보기 어렵다. 환경 중에서 UV-B에 적응된 생물체가 어떤 기전으로 UV-B와 일부 광독성증폭 오염물질의 동시노출에 대해 반응하는지를 정확하게 이해하기 위해서는 개체의 적응이 분자생화학적 수준에서 어떤 영향을 미치는지를 평가하는 연구가 필요하다.

IV. 결 론

물환경 중에 존재하는 일부 중금속이 UV-B와 동시에 노출되었을 때 중금속의 독성이 증폭된다는 보고는 있지만, 실제 환경에 서식하는 생물종에도 마찬가지로의 영향이 기대되는지에 대해서는 논란이 있다. 실제 환경 중에서 오랫동안 서식하면서 태양광에 적응된 물생태계 수용체가 실험실에서 배양된 개체보다 중금속의 광독성에 더 저항성을 가진다는 보고도 일부 있으나 저항성의 획득이 어떤 기전에 의한 것인지 정확하게 밝혀지지 않았다. 본 연구에서 *D. magna*를 환경 중과 유사한 강도의 UV-B에 장기간(11세대 이상) 조사시켜 적응된 개체를 생산하고, 일부 중금속과 UV-B의 동시노출에 따른 독성변화를 평가함으로써 UV-B 적응으로 인한 *D. magna*의 광독성 민감도 변화를 관찰하였다. 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

연구대상 중금속으로 선정된 As, Cd, Cu, Ni 중 UV-B 조사에 의해 독성이 증가된 물질은 Cd과 Cu이었다. UV-B에 장기간 적응된 물벼룩은 Cu의 광독성에 대한 저항성을 획득하였다. 그러나 Cd의 경우에는 UV-B 적응종에서 오히려 그 독성이 증가되는 양상을 보였다. UV-B 적응이 Cu에 대한 저항성을 증가시킨 이유는 UV-B와 Cu의 산화적 손상 기전이 동일하기 때문으로 보인다. 즉 UV-B 적응에 의해 형성된 산화적 손상에 대한 방어기전이 Cu의 독성에 대해서도 방어적으로 작용하였기 때문으로 생각된다. UV-B의 산화적 손상 기전과 다른 독성기전을 갖는 Cd의 경우에는 UV-B 적응이 방어효과를 제공하지 못했다. 오히려 적응과정에서 유전적 다양성이 소실되어 Cd의 독성영향에 대한 대처능력이 오히려 줄어들었을 가능성도 배제할 수 없다.

이 연구에서는 환경조건 중의 하나인 UV-B가 생태계 수용체의 광독성 민감도에 미치는 영향을 *D. magna*의 급성독성 반응을 이용하여 관찰하였다. 자외선이 환경오염물질에 미치는 생태계 영향을 정확하게 파악하기 위해서는 자외선에 대한 개체의 적응이 분자생화학적 수준에서 어떤 영향을 미치는지 평가하는 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2004-003-D00156)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lynn, S., Lai, H. T., Kao, S. M., Lai, J. and Jan, K. Y. : Cadmium inhibits DNA strand break rejoining in methyl methanesulfonate-treated CHO-K1 cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* **144**, 171-176, 1997.
2. McCloskey, J. T. and Oris, J. T. : Effect of anthracene and solar ultraviolet radiation exposure on gill ATPase and selected hematologic measurements in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Aquatic Toxicology*, **24**, 207-218, 1993.
3. Choi, J. and Oris, J. T. : Evidence of oxidative stress in Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) liver microsomes simultaneously exposed to solar ultraviolet radiation and anthracene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 1795-1799, 2000.
4. Choi, W.-H., Ann, H.-S., Choi, T.-Y., Jin, S.-Y. and Ahn, R.-M. : Effects of natural extracts on UVB-induced pigmentation and inflammation in C57BL/6 mouse skin. *Korean Journal of Environmental*

- Health*, **32**, 492-498, 2006.
5. Weinstein, J. E., Oris, J. T. and Taylor, D. H. : An ultrastructural examination of the mode of action of UV-induced toxic action of fluoranthene in the fat-head minnow. *Pimephales promelas*. *Aquatic Toxicology*, **39**, 1-22, 1997.
 6. Little, E. E., Cleveland, L., Calfee, R. and Barron, M. G. : Assessment of the photoenhanced toxicity of a weathered oil to the tidewater silverside. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 926-932, 2000.
 7. Calfee, R. D., Little, E. E., Cleveland, L. and Barron, M. G. : Photoenhanced toxicity of a weathered oil on *Ceriodaphnia dubia* reproduction. *Environmental Science & Technology*, **6**, 207-212, 1999.
 8. Huovinen, P. S., Soimasuo, M. R. and Oikari, A. O. J. : Photoinduced toxicity of retene to *Daphnia magna* under enhanced UV-B radiation. *Chemosphere*, **45**, 683-691, 2001.
 9. Ahrens, M. J., Nieuwenhuis, R. and Hickey, C. W. : Sensitivity of juvenile *Macomona liliiana* (bivalvia) to UV-photoactivated fluoranthene toxicity. *Environmental Toxicology*, **17**, 567-577, 2002.
 10. Hansen, L. J., Whitehead, A. and Anderson, S. L. : Solar UV radiation enhances the toxicity of arsenic in *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology*, **11**, 279-287, 2002.
 11. Chin, Y.-P., Aiken, G. and Danielsen, K. : Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: the role of molecular weight and aromaticity. *Environmental Science & Technology*, **31**, 1630-1635, 1997.
 12. Oris, J. T. and Giesy, J. P. : Photoenhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp.). *Aquatic Toxicology*, **6**, 133-146, 1985.
 13. Ankley, G. T., Tietge, J. E., DeFoe, D. L., Jensen, K. M., Holcombe, G. W., Durhan, E. J. and Diamond, S. A. : Effects of ultraviolet light and methoprene on survival and development of *Rana pipiens*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**, 2530-2542, 1998.
 14. Arfsten, D. P., Schaeffer, D. J. and Mulveny, D. C. : The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **33**, 1-24, 1996.
 15. Klerks, P. L. and Weis, J. S. : Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: A review. *Environmental Pollution*, **45**, 173-205, 1987.
 16. McDonald, B. and Chapman, P. : PAH phototoxicity-an ecologically irrelevant phenomenon? *Marine Pollution Bulletin*, **44**, 1321-1326, 2002.
 17. Baud, A. R. and Beck, M. L. : Interactive effects of UV-B and copper on spring peeper tadpoles (*Pseudacris crucifer*). *Southwestern Naturalist*, **4**, 15-22, 2005.
 18. Hartmann, M. and Hartwig, A. : Disturbance of DNA damage recognition after UV-irradiation by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. *Carcinogenesis*, **19**, 617-621, 1998.
 19. Lee, E.-J., Ko, S.-O., Kang, H.-M., Lee, J.-K., Lim, K.-H., Lee, B.-S. and Kim, L.-H. : Washoff characteristic of metal pollutants in highways. *Journal of Korean Society on Water Quality*, **22**, 128-133, 2006.
 20. Kim, K. T., Kim, E. S., Cho, S. R., Chung, K. H. and Park, J. K. : Distribution and pollution of heavy metals in the environmental samples of the lake Shihwa. *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering*, **8**, 148-157, 2005.
 21. Nam, S. H. : A study on evaluation technique of biotoxicity by *Daphnia magna* to heavy metal in wastewater. *Korean Journal of Environmental Health*, **15**, 25-31, 1989.
 22. US-EPA : Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, In: EPA-821-R-02-012, Office of Research and Development. Washington DC, USA: US EPA, 2002.
 23. OECD : OECD guidelines for testing of chemicals (*Daphnia magna* reproduction test), In: Guideline 211. Paris, France : Organization for Economic Cooperation and Development, 1998.
 24. Hamilton, M. A., Russo, R. C. and Thurston, R. V. : Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, **11**, 714-919, 1977.
 25. Barata, C., Varo, I., Navarro, J. C., Arun, S. and Porte, C. : Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **140**, 175-186, 2005.
 26. Horio, T. and Okamoto, H. : Oxygen intermediates are involved in ultraviolet radiation-induced damage of Langerhans cells. *Journal of Investigative Dermatology*, **88**, 699-702, 1987.
 27. Stohs, S. J. and Bagchi, D. : Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*, **18**, 321-336, 1995.
 28. Perrin, S. and Lean, D. R. S. : The effects of ultraviolet-B radiation on freshwater ecosystems of the Arctic: influence from stratospheric Ozone depletion and climate change. *Environmental Reviews*, **12**, 1-70, 2004.
 29. Tyrrell, R. M. and Pidoux, M. : Singlet oxygen involvement in the inactivation of cultured human fibroblasts by UVA (334nm, 365nm) and near-visible (405nm) radiations. *Photochemistry and Photobiology*, **49**, 407-412, 1989.
 30. Kim, Y., Lee, M., Choi, K., Eo, S. and Lee, H. : Assessment of Korean water quality standards for effluent discharged from the dye industry based on acute aquatic toxicity tests using microbes and macroinvertebrates. *Korean Journal of Environmental Health*, **30**, 185-190, 2004.

31. Duan, Y., Guttman, S., Oris, J., Huang, X. and Burton, G. : Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: II. Acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 1422-1426, 2000.
32. Schlueter, M. A., Guttman, S. I., Duan, Y., Oris, J. T., Huang, X. and Burton, G. A. : Effects of acute exposure to fluoranthene-contaminated sediment on the survival and genetic variability of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 1011-1018, 2000.
33. Cadet, J. and Vigny, P. : The photochemistry of nucleic acids, In: Morrison, H. (ed) Bioorganic Photochemistry, volume 1, Photochemistry and the Nucleic Acids. New York, Wiley Interscience, 1-120, 1990.
34. Guttman, S. : Population genetic structure and ecotoxicology. *Environmental Health Perspectives*, **102**, 97-100, 1994.
35. Lecch, D. M. and Williamson, C. E. : In situ exposure to ultraviolet radiation alters the depth distribution of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, **46**, 416-420, 2001.
36. Perin, S. and Lean, D. R. S. : The effects of ultraviolet-B radiation on freshwater ecosystems of the Arctic: Influence from stratospheric ozone depletion and climate change. *Environmental Reviews*, **12**, 1-70, 2004.
37. Ankley, G., Erickson, R., Phipps, G., Mattson, V., Kosian, P., Sheedy, B. and Cox, J. : Effects of light intensity on the phototoxicity of fluoranthene to a benthic macroinvertebrate. *Environmental Science & Technology*, **29**, 2828-2833, 1995.