



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

넙치, *Paralichthys olivaceus*의 초기
생활사에 미치는 중금속의 영향



2007년 8월

부경대학교 대학원

수 산 생 명 의 학 과

김 광 섭

이 학 석 사 학 위 논 문

넙치, *Paralichthys olivaceus*의 초기
생활사에 미치는 중금속의 영향

지도교수 강주찬

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2007년 8월

부경대학교 대학원

수 산 생 명 의 학 과

김 광 섭

김광섭의 이학석사 학위논문을 인준함

2007년 8월 30일



주 심 약 학 박사 정 준 기 印

위 원 이 학 박사 김 기 홍 印

위 원 이 학 박사 강 주 찬 印

목 차

목차	i
<i>Abstract</i>	iii
<i>I</i> 서론	1
<i>II</i> 재료 및 방법	5
1. 실험어 및 실험환경	5
2. 중금속 노출실험	7
2. 1. 실험물질	7
2. 2. 수정란 실험	7
2. 3. 부화자어 실험	11
2. 4. 후기자어 실험	14
2. 5. 통계분석	17
<i>III</i> 결과	18
1. 수정란	18
1. 1. 생존율	18
1. 2. 부화율	18
1. 3. 기형을	19
2. 부화자어	27
2. 1. 생존율	27
2. 2. 기형을	27
3. 후기자어	33
3. 1. 생존율	33
3. 2. 기형을	33

IV. 고찰 39

V. 요약 46

VI. 감사의 글 48

VII. 참고문헌 49



Effect of heavy metal on early life stage of
olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Kim KwangSub

Department of Fish Pathology, Graduate School
Pukyong National University

Abstract

This study was conducted to investigate effects on the early life stage of the fertilized egg, embryo and larvae of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed copper and chrome for 40hour in egg and 60hour in embryo-larvae and 20hour in post-larvae. Copper and chrome concentration were 10, 20, 40 and 80 $\mu\text{g L}^{-1}$; 50, 100, 500, 1000 and 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. Fertilized egg stages, the survival rate, hatching rate and malformation rate was investigated. For embryo-larvae and post-larvae stages, the survival rate and malformation rate were only investigated, in this test. Short term toxicity about hatching rate, the survival rate and the malformation rate of olive flounder, *P. olivaceus* fertilized egg and survival rate, malformation rate of *P. olivaceus* embryo-larvae and post-larvae by copper and chrome exposure.

After fertilized egg that expose copper and chrome begins an experiment, the survival rate looked dwindling tendency before end. In the case of control group, showed the survival rate of average 86.38% to experiment end, but significantly decreased in 20, 40 and 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ in the case of copper exposure. Fertilized egg that expose to chrome significantly decreased in 500, 1000 and 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ than control group. LC_{50} was the copper 44.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 1318.73 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about survival rate of the fertilized egg.

In the case of control group, showed hatching rate of average 89.02% to experiment end, but significantly decreased in 10, 20, 40 and 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ concentration in copper exposure. In the case of chrome exposure, significantly decreased in all exposure. LC_{50} was the copper 33.95 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 905.35 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about hatching rate of the fertilized egg. Significantly increased in all concentration in copper exposure than control group (5.29%) in the malformation rate of fertilized egg that expose copper and chrome. Significantly increased in all concentration in group's case which expose chrome. EC_{50} was the copper 37.58 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 955.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about malformation rate of the fertilized egg.

After embryo-larvae that expose copper and chrome begins an experiment, the survival rate looked dwindling tendency before experiment end. Showed the survival rate of 89.81% to experiment end in case of group's control group that expose copper, but significantly decreased in 10, 20, 40 and 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ concentration in the case of copper exposure. Also, significantly decreased in all concentration to experiment end in group's case which expose chrome. LC_{50} was the copper 37.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 1129.74 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about survival rate of the embryo-larvae. Showed the malformation rate of 7.62% to experiment end in case of control group that expose copper in embryo-larvae the malformation rate that expose copper and chrome, but displayed significantly increase in all concentration in the case of exposure. Significantly increased in all concentration in group's case which expose chrome. EC_{50} was the copper 16.79 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 684.48 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about malformation rate of the embryo-larvae.

After post-larvae that expose copper and chrome begins an experiment, the survival rate looked dwindling tendency before end. Showed the survival rate of 99.34% to experiment end in case of group's control that expose copper, but significantly decreased in all concentration in the case of exposure, and significantly decreased in all concentration in case of group's that expose chrome. LC_{50} was the copper 34.81 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 980.64 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about survival rate of the post-larvae. Showed the malformation rate of 8.91% to experiment end in case of group's control that expose copper in post-larvae's the malformation rate that expose copper and chrome, but displayed significantly increase in all concentration in the case of exposure, and exposure significantly increased in all concentration in chrome exposure

group. EC₅₀ was the copper 36.25 $\mu\text{g L}^{-1}$ and the chrome 933.59 $\mu\text{g L}^{-1}$ in about malformation rate of the post-larvae.



I. 서론

생태계는 보통 각종 금속 및 오염물질에 노출되어 있다. 미량의 금속이 생태계에 배출되면 이는 먹이사슬을 경유해서 결국 최종소비자인 인간에게 섭취되고 원만한 배설이 이루어지지 않는 한 축적된다 (최와 木杣, 1994).

중금속은 비중이 4~5 이상인 모든 금속류의 총칭으로, 생체내로 흡수되면 생체 내 물질과 결합하여 잘 분해되지 않는 유기복합체를 형성하기 때문에 몸 밖으로 빨리 배출되지 않고 간장, 신장 등의 실질 장기나 뼈에 축적되는 성질이 강한 물질이다. 특히 비소(As), 납(Pb), 베릴륨(Be), 카드뮴(Cd), 크롬(Cr), 불소(F), 셀레늄(Se), 수은(Hg) 등은 낮은 농도에서도 건강장해를 유발할 가능성이 있는 물질이다. 중금속은 비록 미량일지라도 수중생물에 농축, 축적이 가능하며 먹이연쇄를 통해 인체에까지 영향을 미치므로 중금속에 의한 수서생물의 오염은 인류의 공중보건에 직결되는 심각한 문제이다 (Friberg and Vostal, 1972). 우리나라에서는 수산식품의 수요가 많으므로 중금속에 오염된 어패류의 섭취는 인체건강에 직접적인 위해요인이 되므로 어류에 있어 중금속의 농축정도를 연구함은 시급하고도 중요한 문제라 할 수 있다 (김과 강, 1995.). 중금속에 의한 환경오염의 가능성과 그 심각성을 일깨운 사건은 1950년대 일본에서 발생한 수은중독 증인 미나마타병과 1960년대 카드뮴으로 의한 이따이이따이병을 들 수 있다(WHO, 1976(1); Conor, 1980.). 이러한 중금속을 해양생물에 미치는 독성의 정도가 큰 순서로 나열을 하면 수은, 카드뮴, 구리, 아연, 니켈, 납 등의 순서가 된다 (Abel, 1989).

구리는 자연계에서는 자연동으로서 산출된다. 구리는 아연을 첨가한 황

동, 주석을 첨가한 청동, 주석과 알루미늄을 첨가한 알루미늄청동 등 합금으로도 많이 쓰인다. 특히 구리는 전선에 많이 쓰이고, 구리의 우수한 열전도성과 내식성을 이용하여 냄비와 일반 용기를 만드는 데도 사용되며, 청동은 동전을 만들 때 사용된다 (Clark RB, 1992.).

구리는 어류를 포함하여 모든 생명체에 정상적인 성장과 대사에 없어서는 안 될 물질이다 (Owen 1981; Maage et al. 1989). 구리는 혈액소 형성, 약물과 이물질 대사, 탄수화물 대사, 카테콜아민 합성, 콜라젠, 엘라스틴, 모발 케라틴의 cross-linking, 황산화 방어기전 등에 작용한다고 알려져 있다. 또한, 구리는 발육, 특히 신경계의 발육에 필요한 원소이다. 양어지와 부화장의 질병을 치료하기 위한 효과적인 조절 방법으로도 널리 알려져 양어장에서 종종 사용되고 있다 (Tucker and Boyd. 1985). 황산구리는 담수어류의 비늘 장애와 꼬리부식 억제에 폭넓게 사용되어진다 (Gratzek et al., 1992; Leitritz and Lewis, 1980; Davis, 1953). 또한 해양 수족관에서 어류의 외부 기생물 억제에 사용된다 (Cardeilhac and Whitaker, 1988; Gratzek and Blasiola, 1992). 구리는 대부분의 살아있는 생물체에 대하여 필수적인 원소로 분류되는 미량금속이나, 높은 농도에서는 독성물질이 된다 (Wanee et al. 2007). 중금속이 존재하는 연안에 서식하는 어류는 중금속에 의한 많은 저해 영향 및 체내축적이 일어나며, 생리적 장애로 이어져 심한 경우 폐사한다 (Hutchinson *et al.*, 1994).

크롬은 비교적 희소한 금속으로 지각(Crust)중에 조성원소로서 평균 100ppm정도 존재하며, 토양중에 약 20ppm 농도로 존재하는 것으로 알려져 있다. 크롬(chromium)과 크롬 염(salts)은 페인트, 살균제, 촉매 제조, 크롬 도금 및 부식제어 등에 사용되고 있다. 지표수 중에는 거의 존재하지 않고, 광산배수, 공장배수 등에서 혼입되어 존재한다. 지표수 중의 크롬은 통상 3가와 6가 두 가지 형태로 존재하며 함유하는 화합물의 분포는

산화, 환원 전위, pH, 산화 환원 화합물의 존재 등에 의존한다. 수중에서 3가 크롬은 양이온으로 존재하고 사람의 필수미량원소의 하나이며, 당과 지방의 대사에 관여하는 것으로 알려져 있지만, 6가 크롬은 크롬산이온 (CrO_4^{2-})이나 중크롬산이온 ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$)과 같은 음이온으로 존재하며 유독성이고 다량으로 섭취하면 구토, 설사, 갈증을 일으킨다 (정 등, 2005). 주요 오염원인은 금속광산으로부터 용출되어 오염되는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 다양한 중금속의 용도는 많은 양의 중금속이 수중으로 유입되게 하여 많은 수생동물에 영향을 미치게 하였다. 어류에 미치는 중금속이온의 영향에 관한 연구 (김과 이, 1980; Jackim *et al.*, 1970), 중금속의 담수생물에 대한 생체축적에 대한 연구 (Memmert, 1987), 구리 노출에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 만성독성 (강 등, 2003), 납 및 구리화합물이 *Carassius auratus* (goldfish)에 미치는 독성에 관한 연구 (김과 강, 1995), 은대구에서 구리의 영향 (Wanee *et al.*, 2007) Micropollutants가 연안 생물에 미치는 독성효과에 관한 연구 (최와 木杣, 1994), 등의 어류의 성체에 대한 연구가 많이 진행되었으나, 구리와 같은 중금속에 대하여 성체보다 내성이 약한 수정란이나 자어를 이용한 중금속 실험은 비교적 미비하다.

넙치, *Paralichthys olivaceus*는 가자미목 넙치과의 바닷물고기로 우리나라 전 연근해, 일본 연근해, 동중국해, 발해만에 분포하며, 우리나라의 대표적인 양식어종이다. 다른 어종에 비하여 이동범위가 좁기 때문에 연안 또는 내만 지역에서 중금속에 노출시 많은 저해 영향을 받을 것으로 예상된다 (강 등, 2003). 따라서 국내에서 널리 양식되고 사육기술이 보편화되어 있는 저서성 어류인 넙치의 수정란과 부화자어 및 후기자어에 대한 중금속의 영향, 일반적 자료, 지역적 차이를 알아보기 위하여, 본 실험은 구리 및 크롬 노출에 따른 넙치 수정란의 부화율, 생존율, 기형율과 부

화자어 및 후기자어의 생존율과 기형율을 검토하였다.



II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

본 실험에 사용된 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 수정란은 제주도 남 제주군, 전남 여수, 충남 태안의 부화장에서 구입하였다 (Fig. 1). 구입한 수정란은 공기를 주입하면서 실험실에 운반하여, 0.5 ton의 유리수조에 순치하였다. 수정란의 사육환경은 항온실에서 수온 20 ± 0.5 °C를 유지하였고, 광도는 50 lux, 모든 실험의 광주기는 12시간 간격(light : 12 hour, dark : 12 hour)으로 조절하였다. 실험에 사용한 해수의 성분은 Table 1과 같다.

Table. 1. Chemical components of seawater used in the copper and chrome exposure. Values indicate mean \pm S.E.

Parameter	Value
Temperature (°C)	20.0 ± 0.5
pH	8.1 ± 0.2
Salinity (‰)	32.7 ± 0.4
NO_2^- -N ($\text{mg} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$)	12.7 ± 1.4
NO_3^- -N ($\text{mg} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$)	1.4 ± 0.2
NH_4^+ -N ($\text{mg} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$)	9.6 ± 0.8
PO_4^{3-} -P ($\text{mg} \cdot \text{P} \cdot \text{L}^{-1}$)	5.2 ± 0.6
Suspended solids ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	4.8 ± 0.4
Dissolved oxygen ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	6.9 ± 0.3
COD ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	1.2 ± 0.1

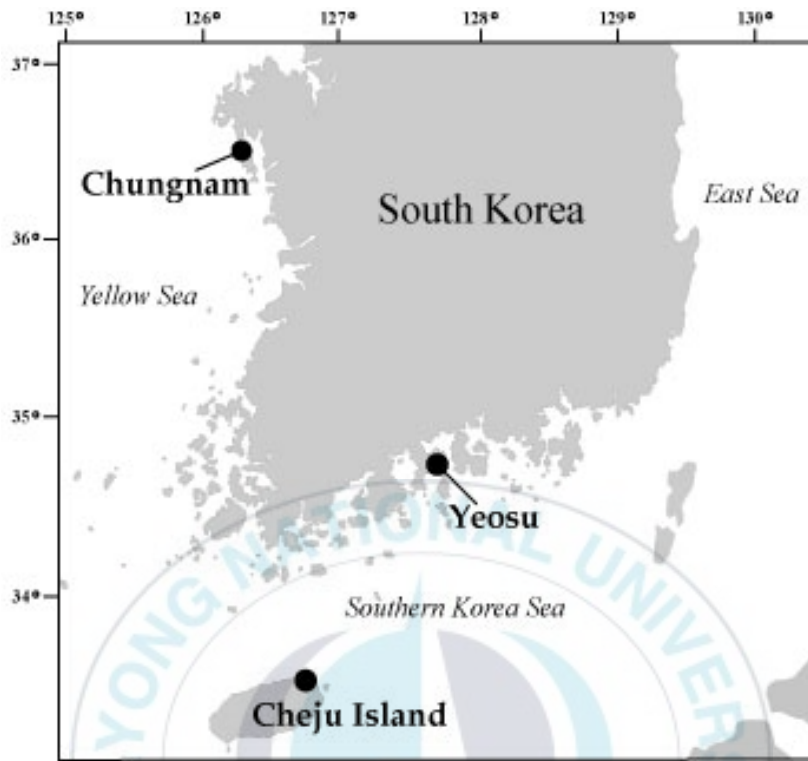


Fig. 1. Geographic location of the hatchery (●) offering fertilized *Paralichthys olivaceus* eggs.

2. 중금속 노출실험

2. 1. 실험물질

실험에 사용한 독성물질은 Copper(II) sulfate, minimum 99% (Sigma Co., USA) 및 Potassium dichromate, 99+%, A.C.S. reagent (Sigma-Aldrich Co. USA)를 사용하였다. 사육수는 GF/C 유리섬유여지(47mm, $\Phi 1.2\mu\text{m}$, Whatman, England)로 여과한 후, 살균을 목적으로 자외선을 조사한 해수에 copper(II) sulfate 및 potassium dichromate를 녹여 각기 $1000\ \mu\text{g L}^{-1}$ stock solution과 $1000\ \text{mg L}^{-1}$ stock solution을 만들어 사용하였다. 노출농도는 대조구를 포함하여 구리의 경우 0, 5, 10, 20, 40, $80\ \mu\text{g L}^{-1}$ 이었고, 크롬의 경우 0, 50, 100, 500, 1000, $2000\ \mu\text{g L}^{-1}$ 이었다.

2. 2. 수정란 실험

수정란에 대한 독성실험은 각 지역에서 구입하여 수정 후 8~10시간 지난 수정란을 각각 50개체씩 농도 5, 10, 20, 40 그리고 $80\ \mu\text{g L}^{-1}$ 의 copper(II) sulfate 및 50, 100, 500, 1000, $2000\ \mu\text{g L}^{-1}$ 의 potassium dichromate가 담긴 100 ml 유리용기에 넣어 수정란의 부화율, 생존율 그리고 기형율을 조사하였다.

각 실험은 3반복으로 하였으며, 매 12시간마다 물을 절반씩 환수하였다. 수정란은 발생과정 중에 흰색 또는 불투명한 색이 되어 용기 바닥에 가라앉으면 죽은 것으로 간주하고, 사망한 개체는 즉시 제거하였다. 죽은 수정란의 총수에는 미수정란의 수도 포함하였다. 부분적으로 부화한 부화자어는 부화한 것으로 세어 부화율에 포함하였다. 실험종료 후 수정란의 생존율, 부화율, 기형율을 계산하였다.

수정란의 생존율

$$\text{Egg survival rate (\%)} = \frac{S_1}{S_0} \times 100$$

S_1 = Number of live egg

S_0 = Total number of egg

수정란의 부화율

$$\text{Egg hatching rate (\%)} = \frac{H_1}{H_0} \times 100$$

H_1 = Number of embryo-larvae hatched

H_0 = Total number of egg

수정란의 기형율

$$\text{Egg malformation rate (\%)} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

M_1 = Number of egg malformation

M_0 = Total number of egg

수정란의 성장은 수정 후 약 48시간이 지나 부화될 때까지 매 6시간마다 모니터링하였다. 수정란의 생존율과 부화율, 기형율은 현미경($\times 400$)에 연결된 카메라를 통하여 체크하였다. 예비실험에서 기형 수정란은 정상 수정란과 비교하였을 때, 꼬리가 두 갈래로 나뉘어지거나 몸체 및 꼬리가 휘어있는 것, 난막이 찌그러져 있는 것을 기형으로 간주하였다. 구리와 크롬 노출구에서의 수정란에서 기형을 확인하였고, 각각의 한 개 이상의 특징적인 기형을 기록하였다 (Fig. 2, 3).

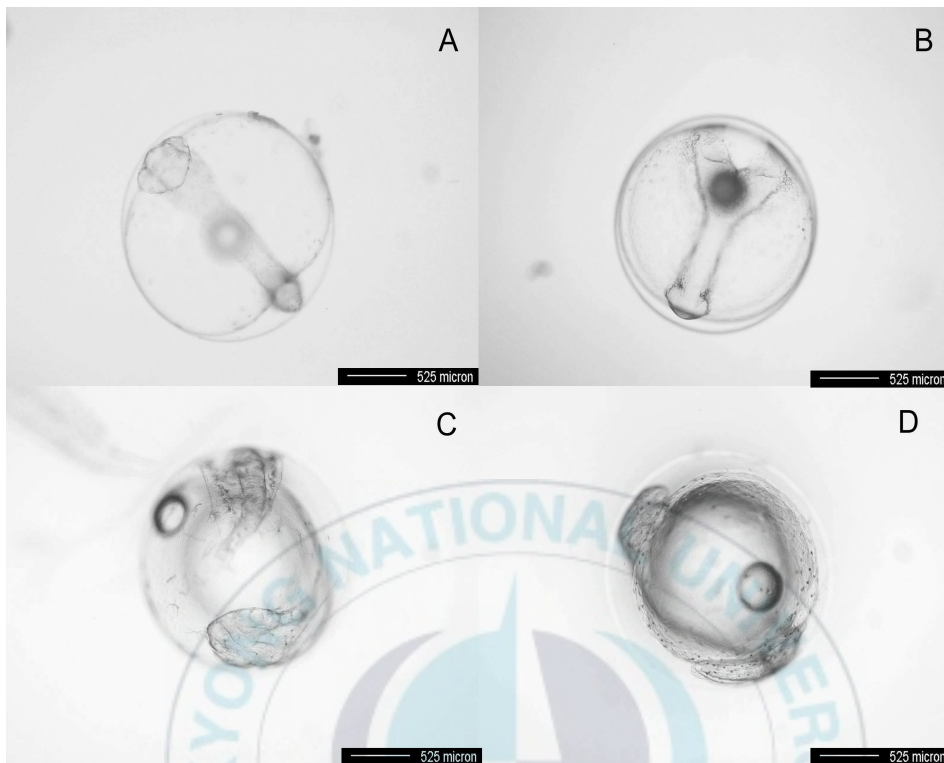


Fig. 2. *P. olivaceus* eggs : 40 hour post fertilization (hpf) exposed to different copper concentration. A: Eggs of control group (normal), B~ D : Eggs of copper exposure group.

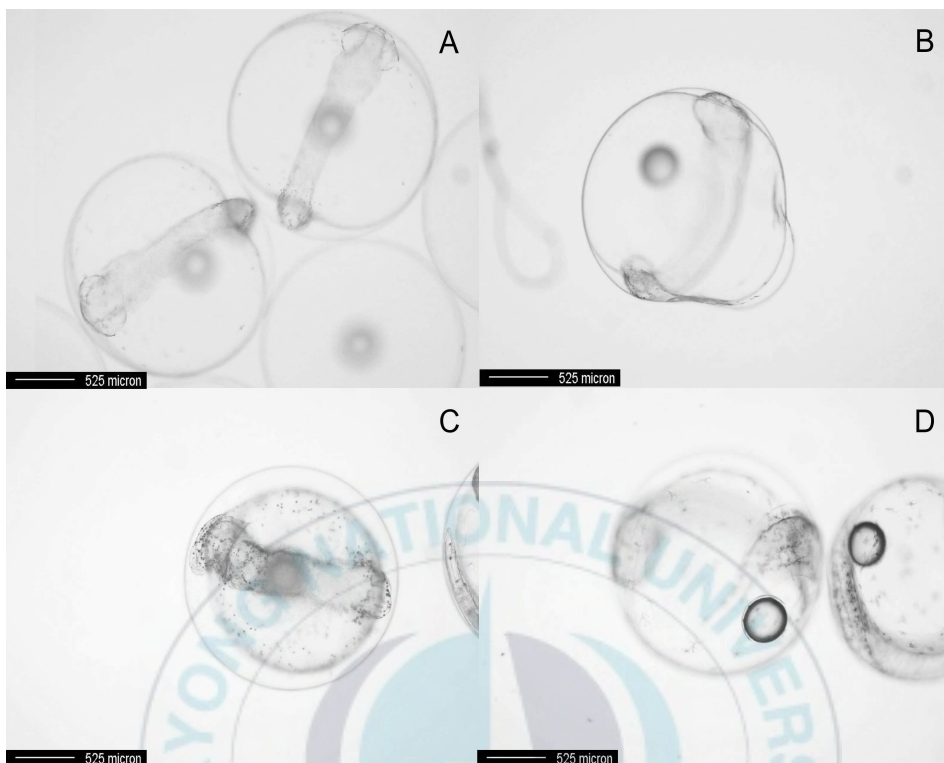


Fig. 3. *P. olivaceus* eggs : 40 hpf exposed to different chrome concentration. A: Eggs of control group (normal), B~D : Eggs of chrome exposure group.

2. 3. 부화자어 실험

수정한 지 약 48시간이 지나 부화된 부화자어를 수정란 독성실험과 같이 동일한 구리 농도와 크롬 농도에 노출하였다. 100 ml의 유리 용기에 각각 30마리씩 넣고, 3반복 실험하였다. 실험은 부화 후 60시간까지 6시간마다 관찰하였다. 부화자어는 몸의 움직임이 없거나, 전체적으로 색깔이 있고 용기 밑바닥에 가라앉아 있는 것을 죽은 것으로 간주하였고, 매 6시간마다 제거하였다. 생존율과 기형율의 계산은 수정란 독성실험의 경우와 동일한 방법으로 산출하였다.

부화자어의 생존율

$$\text{Embryo-larvae survival rate (\%)} = \frac{S_1}{S_0} \times 100$$

S_1 = Number of live embryo-larvae

S_0 = Total number of embryo-larvae

부화자어의 기형율

$$\text{Embryo-larvae malformation rate (\%)} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

M_1 = Number of embryo-larvae malformation

M_0 = Total number of embryo-larvae

부화자어의 생존율과 기형율은 현미경($\times 400$)에 연결된 카메라를 통하여 체크하였다. 예비실험에서 정상 부화자어와 비교하였을 때, 기형 부화자어는 척추 및 꼬리가 구부러지거나, 난황에 이상이 있는 것, 정상 부화자어에 비해 체장이 짧은 개체를 기형으로 간주하였다. 구리와 크롬 노출구의 부화자어에서 기형을 확인하였고, 각각의 한 개 이상의 특징적인 기형을 기록하였다 (Fig. 4, 5).

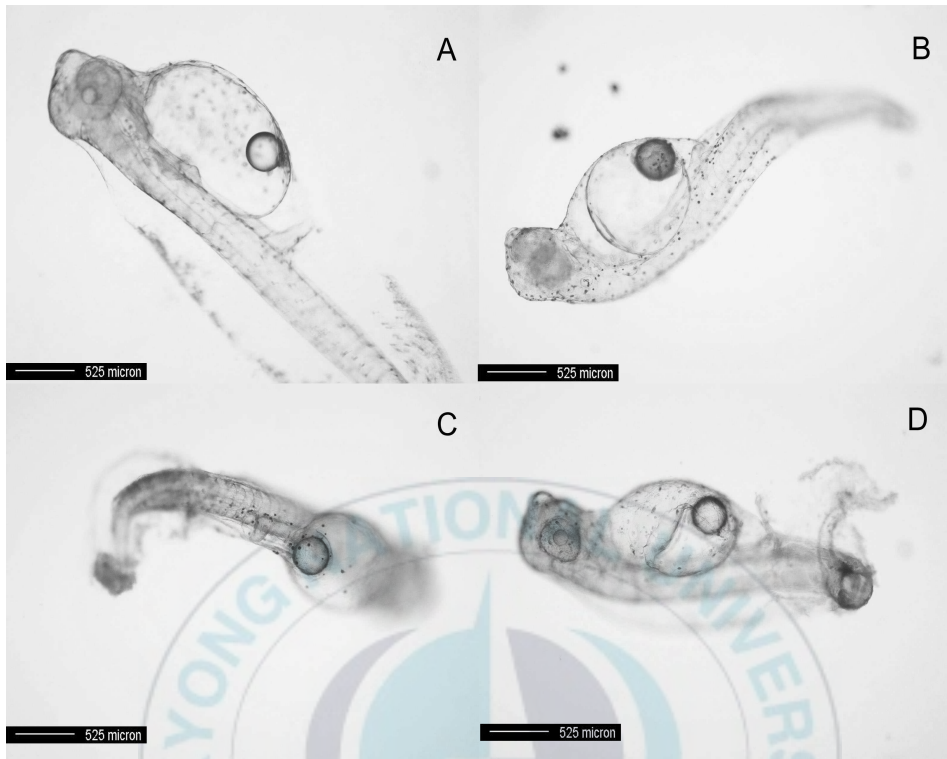


Fig. 4. *P. olivaceus* embryo-larvae : 60 hour post hatch(hph) exposed to different copper concentration. A: Embryo-larvae of control group (normal), B~D : Embryo-larvae of copper exposure group.

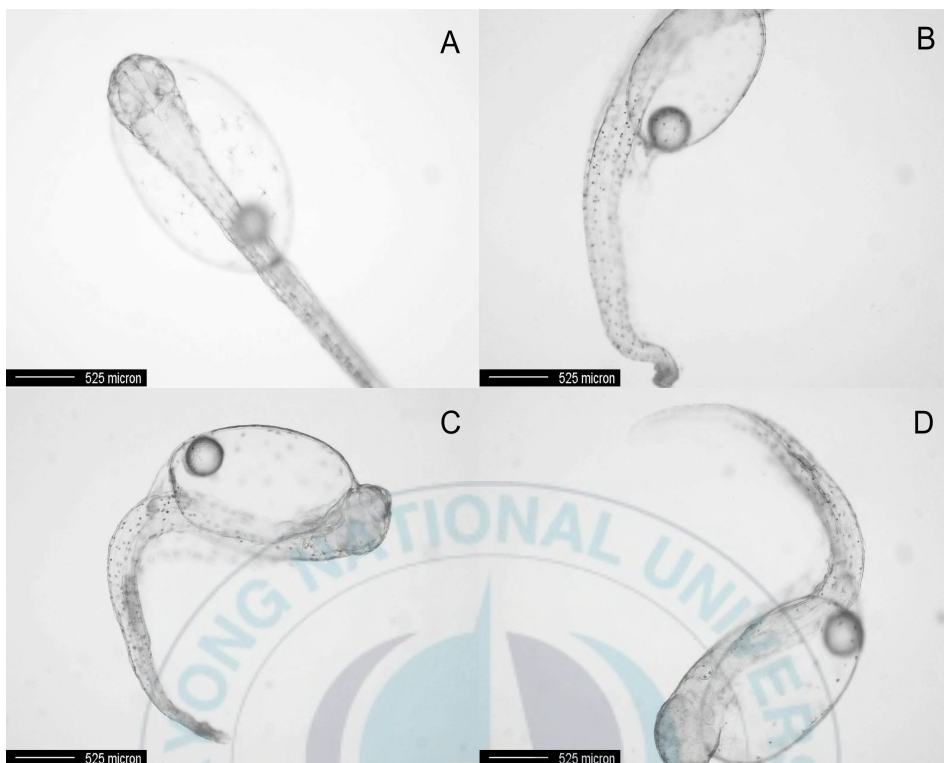


Fig. 5. *P. olivaceus* embryo-larvae : 60 hph exposed to different chrome concentration. A: Embryo-larvae of control group (normal), B~ D : Embryo-larvae of chrome exposure group.

2. 4. 후기자어 실험

부화한지 60시간된 후기자어를 이전의 부화자어 독성실험과 같이 대조구 및 동일한 구리 농도 및 크롬 농도에 노출하였다. 후기자어는 100 ml의 유리 용기에 각각 30마리씩 넣고, 3반복 실험하였다. 후기자어는 부화 후 80시간까지 8시간마다 관찰하였다. 후기자어는 몸의 움직임이 없거나, 심장이 움직이지 않고 용기 밑바닥에 가라앉아 있는 것을 죽은 것으로 간주하였고, 매 6시간마다 제거하였다. 생존율과 기형율의 계산은 부화자어 독성실험의 경우와 동일한 방법으로 산출하였다.

후기자어의 생존율

$$\text{Post-larvae survival rate (\%)} = \frac{S_1}{S_0} \times 100$$

S_1 = Number of live post-larvae

S_0 = Total number of post-larvae

후기자어의 기형율

$$\text{Post-larvae malformation rate (\%)} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

M_1 = Number of post-larvae malformation

M_0 = Total number of post-larvae

후기자어의 생존율과 기형율은 현미경($\times 400$)에 연결된 카메라를 통하여 체크하였다. 부화자어와 같이 척추와 꼬리가 휘어있거나 정상 후기자어와 비교하였을 때 체장이 짧은 개체를 기형으로 간주하였다. 구리와 크롬 노출구의 후기자어에서 기형을 확인하였고, 각각의 한 개 이상의 특징적인 기형을 기록하였다 (Fig. 6, 7).

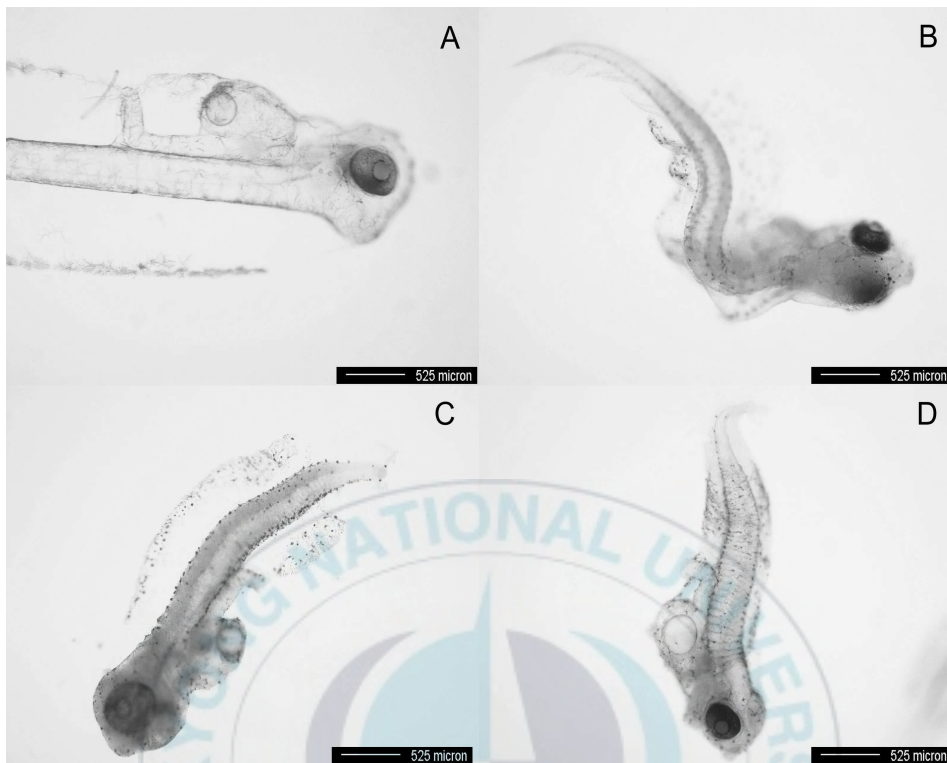


Fig. 6. *P. olivaceus* post-larvae : 80 hph exposed to different copper concentration. A: Post-larvae of control group (normal), B~D : Post-larvae of copper exposure group.

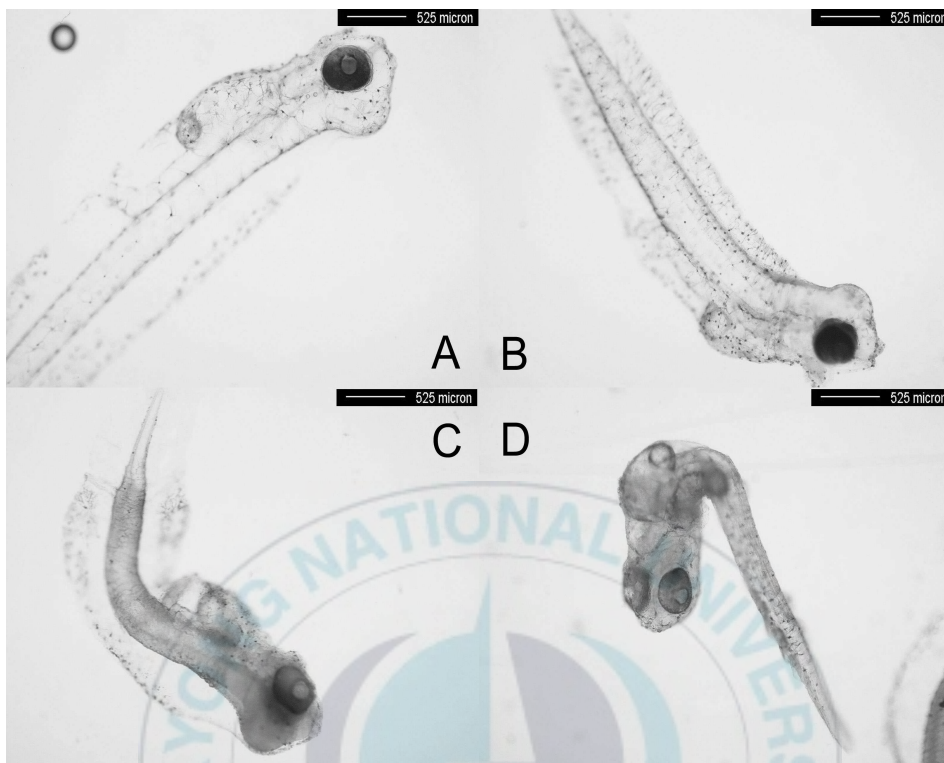


Fig. 7. *P. olivaceus* post-larvae : 80 hph exposed to different chrome concentration. A: Post-larvae of control group (normal), B~D : Post-larvae of chrome exposure group.

2. 5. 통계분석

데이터는 Mean \pm S.E로 나타내었다. 결과의 통계적 처리는 SPSS version 10 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA, 1997)을 이용하여 ANOVA test를 실시하였고, 사후 다중비교는 Duncan's multiple range test를 이용하여 평균간의 유의성을 검정하였다. LC₅₀ 및 EC₅₀은 probit analysis를 사용하여 계산하였다.



III. 결과

1. 수정란

1. 1. 생존율

Fig. 8과 9에 도식한 생존율은 각 실험구에서 구리와 크롬에 노출된 수정란 전체 개체를 100%로 환산하여 산출하였다. 구리와 크롬에 노출한 수정란은 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 구리의 생존율은 Fig. 8에 나타내었고, 크롬의 생존율은 Fig. 9에 나타내었다. 대조구의 경우 실험종료까지 평균 86.38%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 각각 78.26, 44.05, 20.48%로 유의하게 감소하였다. 크롬에 노출한 수정란은 대조구에 비하여 500, 1000 그리고 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 평균 72.00, 52.17, 33.99%로 유의하게 감소하였다.

구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 2와 같이 나타내었다. 구리에 노출한 실험구에서의 반수치사농도 (LC_{50})은 44.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95% confidence limits Lower : 39.20, Upper : 50.36)으로 나타났다. 또한 크롬을 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 1318.73 (95% confidence limits Lower : 1215.40, Upper : 1439.01)로 나타났다.

1. 2. 부화율

구리와 크롬에 노출한 수정란은 실험을 시작한 후 종료 전까지 부화율이 점차 감소하였다. 구리의 부화율은 Fig. 10에 나타내었고, 크롬의 생존율은 Fig. 11에 나타내었다. 대조구의 경우 실험종료까지 평균 89.02%의 부화율을 보였으나, 구리에서 노출구의 경우에는 10, 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 각각 77.92, 73.49, 34.05 그리고 7.14%로 유의하게 감소하였다. 크롬에서 노출구의 경우, 전 농도구간에서 각각 85.66, 77.92,

47.63, 36.92, 23.23%로 유의하게 감소하였다. 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 3와 같이 나타내었다. 구리를 노출한 실험구에서의 LC₅₀은 33.95 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95% confidence limits Lower : 31.88, Upper : 36.19)으로 나타났다. 또한 크롬을 노출한 실험구에서의 LC₅₀은 905.35 (95% confidence limits Lower : 727.92, Upper : 1124.39)로 나타났다.

1. 3. 기형율

구리와 크롬에 노출한 수정란은 실험을 시작한 후 종료 전까지 기형율이 점차 증가하였다 (Fig. 12, 13). 구리와 크롬에 노출한 수정란의 기형율에서 대조구 (5.29%)에 비해 노출구의 경우 전 구간에서 각각 8.65, 13.58, 43.42, 62.56, 85.90%로 유의하게 증가하였다 (Fig. 12). 크롬을 노출한 그룹의 경우, 노출구는 대조구에 비하여 전 농도구간에서 각각 7.12, 18.40, 32.26, 62.20, 85.85%로 유의하게 증가하였다 (Fig. 13).

구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 4와 같이 나타났다. 기형에 미치는 반수영향농도 (EC₅₀)은 구리를 노출한 그룹에서 37.58 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 32.17, Upper : 44.11)로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 955.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 846.56, Upper : 1080.45)으로 나타났다.

Table. 2. LC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for egg survival of test group.

exposure group	LC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	44.27	39.20	50.36
Chrome	1318.73	1215.40	1439.01

Table. 3. LC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for egg hatch of test group.

exposure group	LC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	33.95	31.88	36.19
Chrome	905.35	727.92	1124.39

Table. 4. EC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for egg malformation of test group.

exposure group	EC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	37.58	32.17	44.11
Chrome	955.12	846.56	1080.45

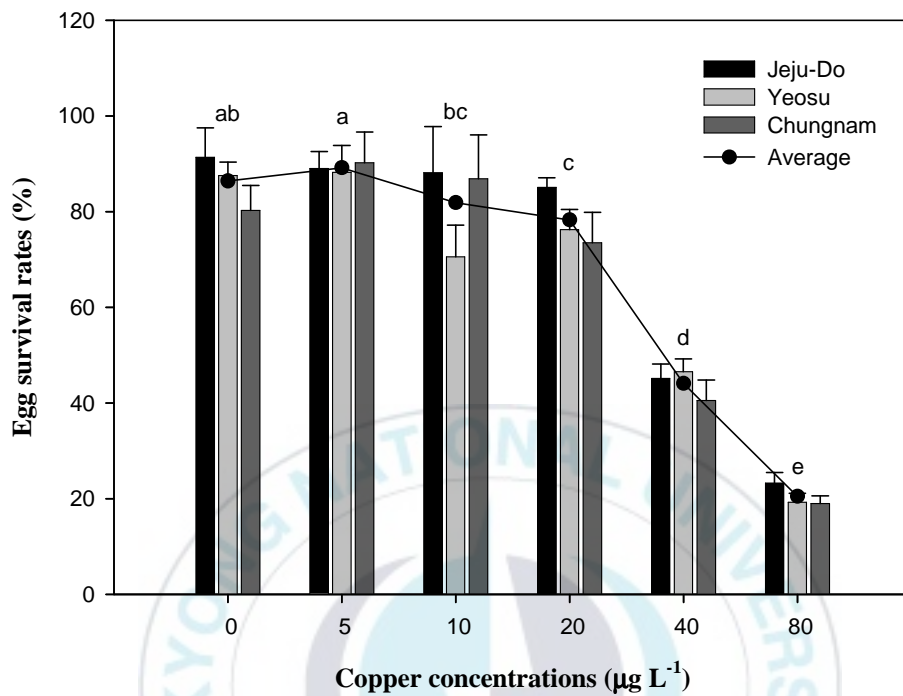


Fig. 8. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various copper concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

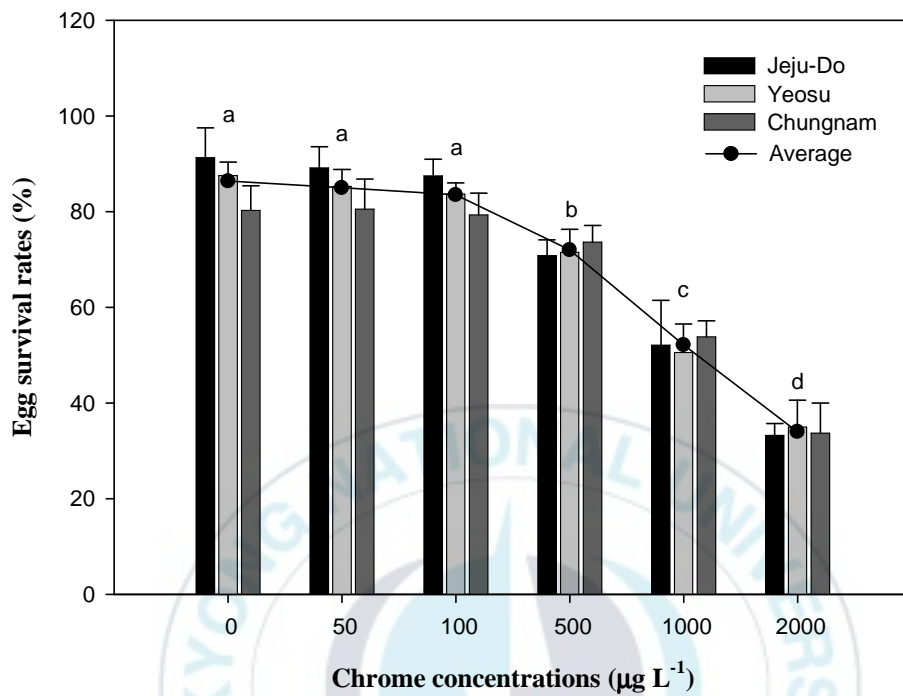


Fig. 9. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various chrome concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

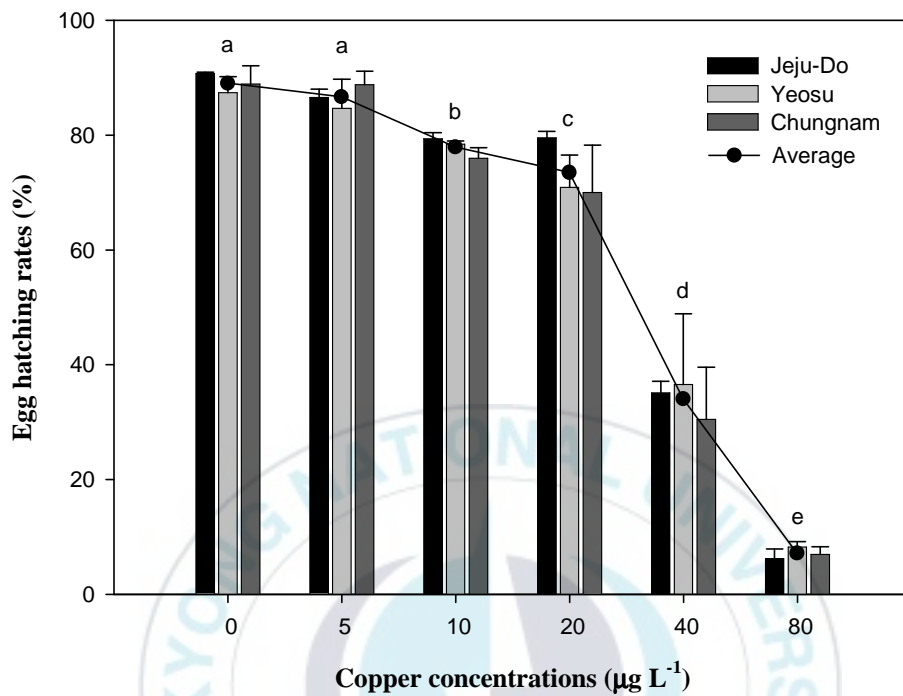


Fig. 10. Hatching rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various copper concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

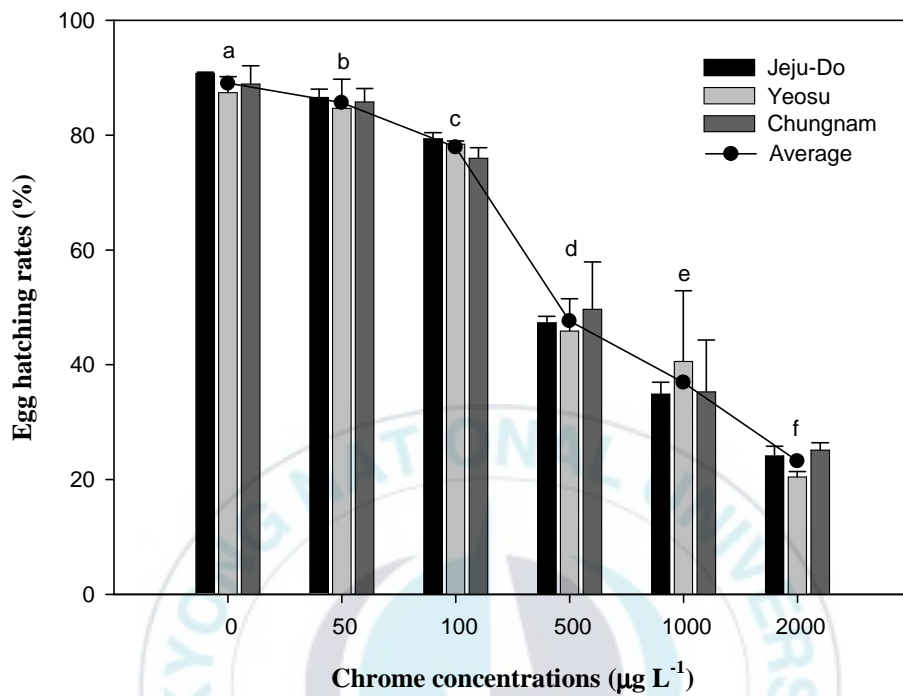


Fig. 11. Hatching rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various chrome concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

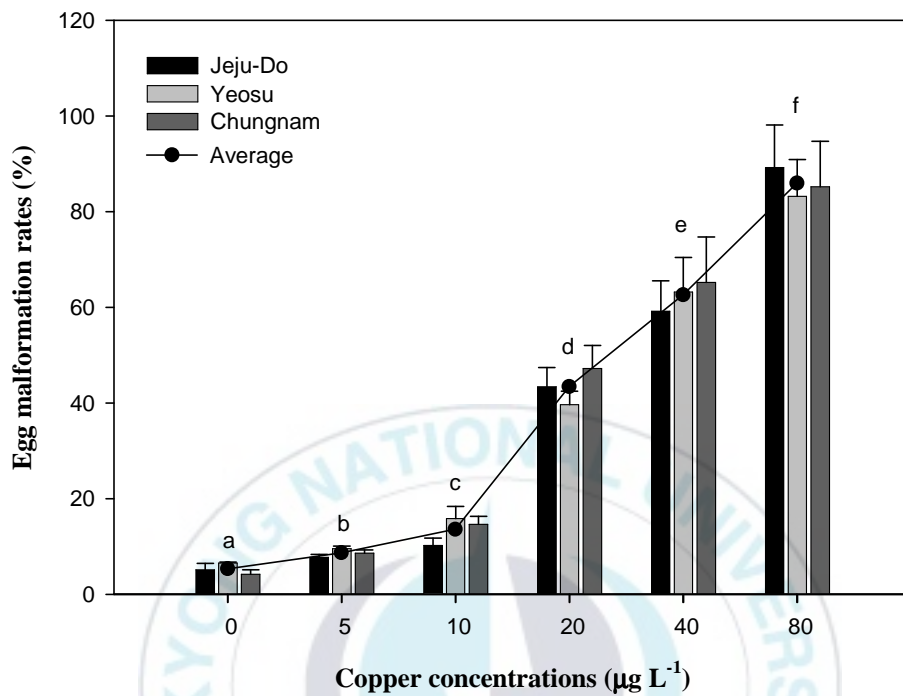


Fig. 12. Malformation rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various copper concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

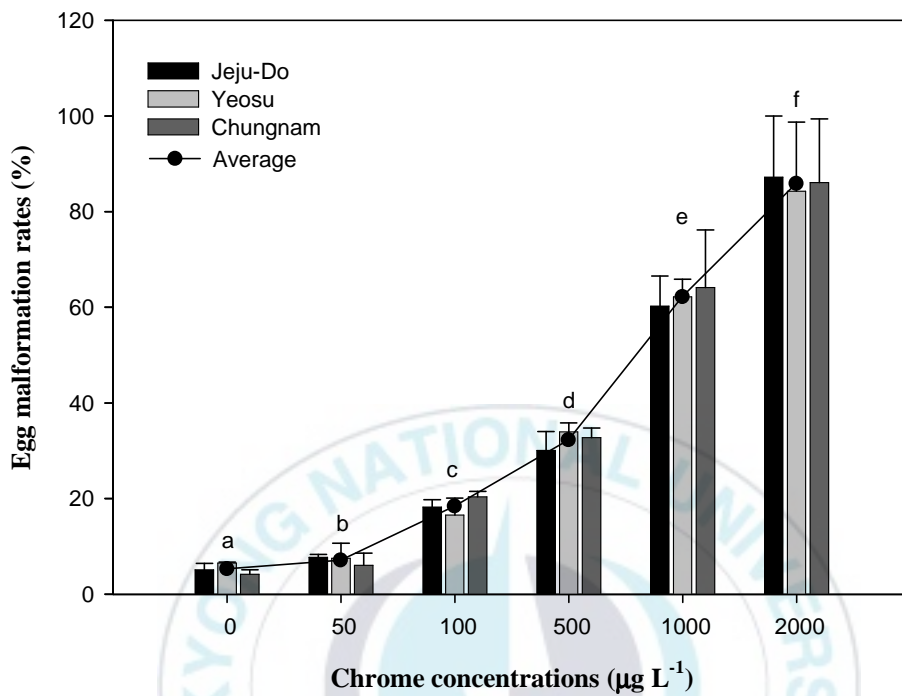


Fig. 13. Malformation rate of *Paralichthys olivaceus* eggs exposed to various chrome concentrations for 40 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

2. 부화자어

2. 1. 생존율

구리와 크롬에 노출한 부화자어는 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 89.81%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 10, 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 각각 85.96, 50.70, 42.83, 14.24%로 유의하게 감소하였다 (Fig. 14). 또한 크롬을 노출한 그룹의 경우 실험종료까지 전 농도구에서 각각 85.66, 75.63, 60.62, 48.47, 29.01%로 유의하게 감소하였다 (Fig. 15). 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 5와 같이 나타났다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 37.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 31.52, Upper : 43.91)이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 1129.74 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 978.59, Upper : 1318.09)이었다.

2. 2. 기형율

구리와 크롬에 노출한 부화자어는 실험을 시작한 후 종료 전까지 기형율이 점차 증가하였다 (Fig. 16, 17) 구리와 크롬에 노출한 부화자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 7.62%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 각각 13.58, 60.75, 77.75, 88.69, 91.36%로 유의하게 증가를 나타내었다 (Fig. 16). 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 각각 11.49, 32.30, 52.23, 72.01, 90.97%로 유의하게 증가하였다 (Fig. 17). 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 6과 같이 나타났다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 16.79 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 4.78, Upper : 28.19)로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 684.48 $\mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 547.18, Upper : 843.33)으로 나타났다.

Table. 5. LC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for embryo-larvae of test group.

exposure group	LC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	37.12	31.52	43.91
Chrome	1129.74	978.59	1318.09

Table. 6. EC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for embryo-larvae malformation of test group.

exposure group	EC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	16.79	4.78	28.19
Chrome	684.48	547.18	843.33

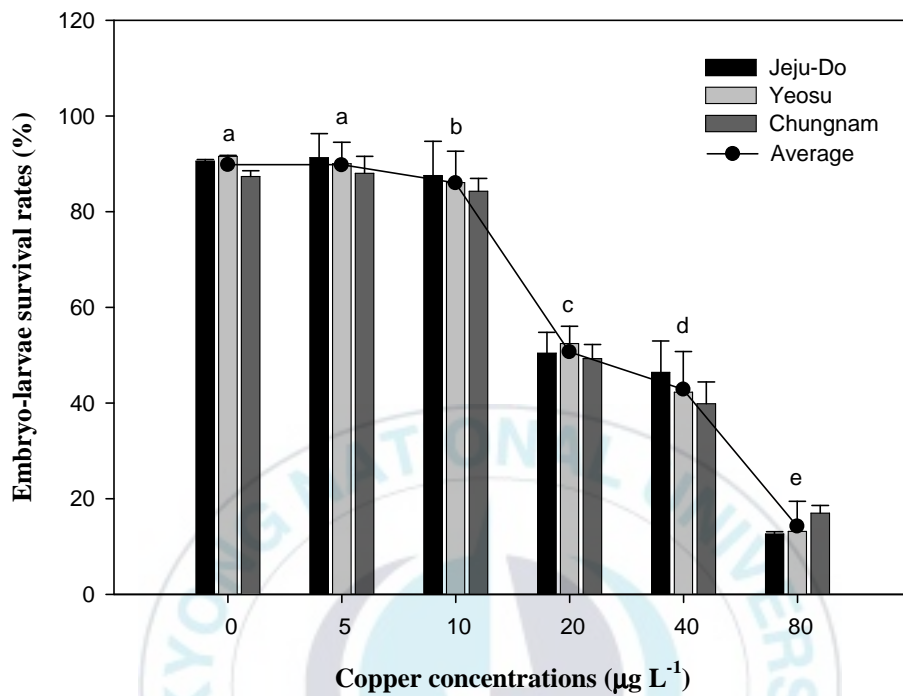


Fig. 14. Survival rate of *P. olivaceus* embryo-larvae exposed to various copper concentrations during 60 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

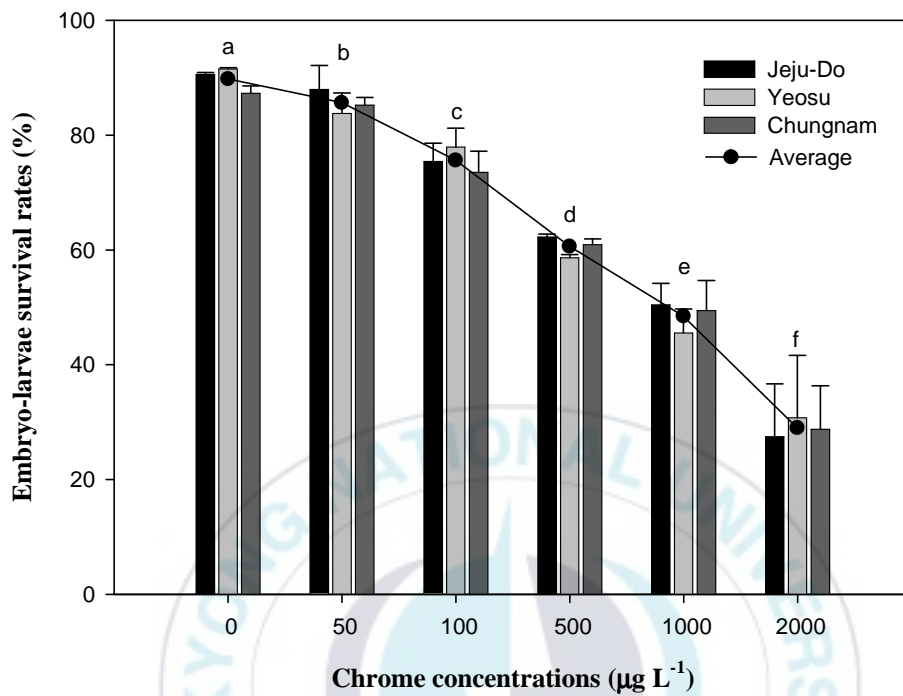


Fig. 15. Survival rate of *P. olivaceus* embryo-larvae exposed to various chrome concentrations during 60 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

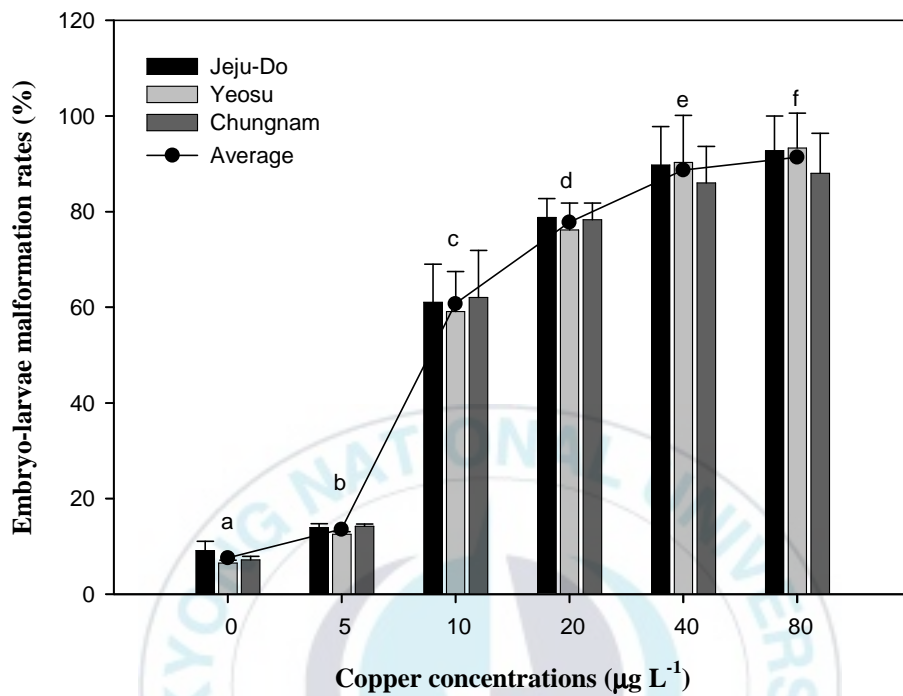


Fig. 16. Malformation rate of *P. olivaceus* embryo-larvae exposed to various copper concentrations during 60 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

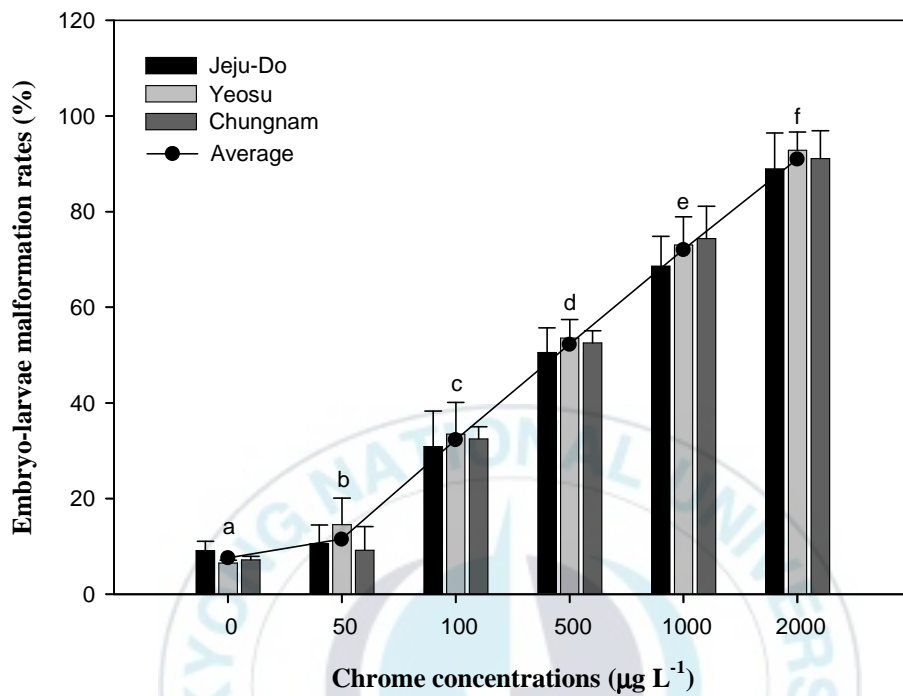


Fig. 17. Malformation rate of *P. olivaceus* embryo-larvae exposed to various chrome concentrations during 60 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

3. 후기자어

3. 1. 생존율

구리와 크롬에 노출한 후기자어는 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 99.34%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 각각 83.03, 77.69, 47.59, 26.34, 21.17%로 유의하게 감소하였다 (Fig. 18). 또한 크롬을 노출한 그룹의 노출구의 경우 전 농도구간에서 각각 84.90, 76.35, 56.54, 46.92, 18.16%로 유의하게 감소하였다 (Fig. 19). 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 7과 같이 나타났다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $34.81 \mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 26.35, Upper : 45.66)이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $980.64 \mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 814.77, Upper : 1188.51)이었다.

3. 2. 기형율

구리와 크롬에 노출한 후기자어는 실험을 시작한 후 종료 전까지 기형율이 점차 증가하였다 (Fig. 20, 21) 구리와 크롬에 노출한 후기자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 8.91%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 각각 24.74, 33.12, 46.66, 58.66, 77.26%로 유의하게 증가를 나타내었다 (Fig. 20). 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 각각 21.66, 37.44, 51.06, 60.20, 69.84%로 유의하게 증가하였다 (Fig. 21). 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과는 Table. 8과 같이 나타났다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 $36.25 \mu\text{g L}^{-1}$ (95 % confidence limits Lower : 30.16, Upper : 43.54)로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 $933.59 \mu\text{g L}^{-1}$ (95% confidence limits Lower : 693.24, Upper : 1258.46)으로 나타났다.

Table. 7. LC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for post-larvae of test group.

exposure group	LC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	34.81	26.35	45.66
Chrome	980.64	814.77	1188.51

Table. 8. EC₅₀ values and 95% confidence limits of copper and chrome for post-larvae malformation of test group.

exposure group	EC ₅₀ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Copper	36.25	30.16	43.54
Chrome	933.59	693.24	1258.46

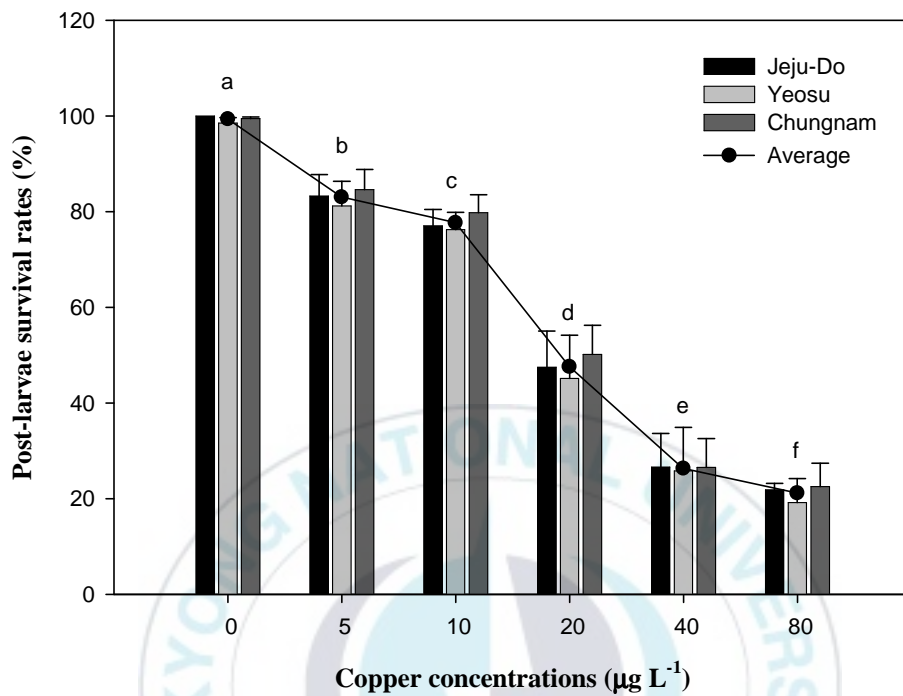


Fig. 18. Survival rate of *P. olivaceus* post-larvae exposed to various copper concentrations during 20 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

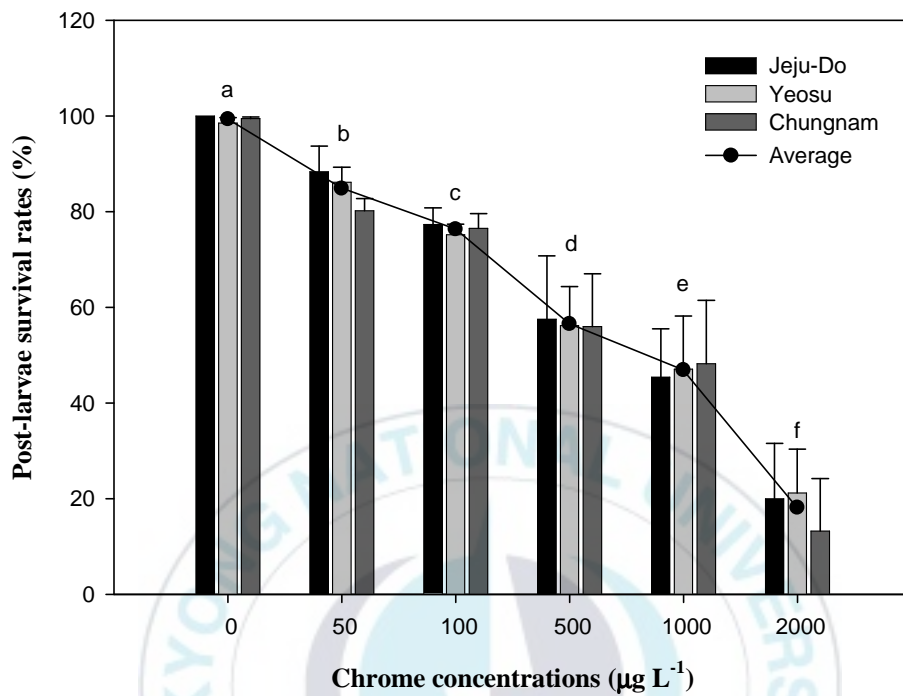


Fig. 19. Survival rate of *P. olivaceus* post-larvae exposed to various chrome concentrations during 20 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

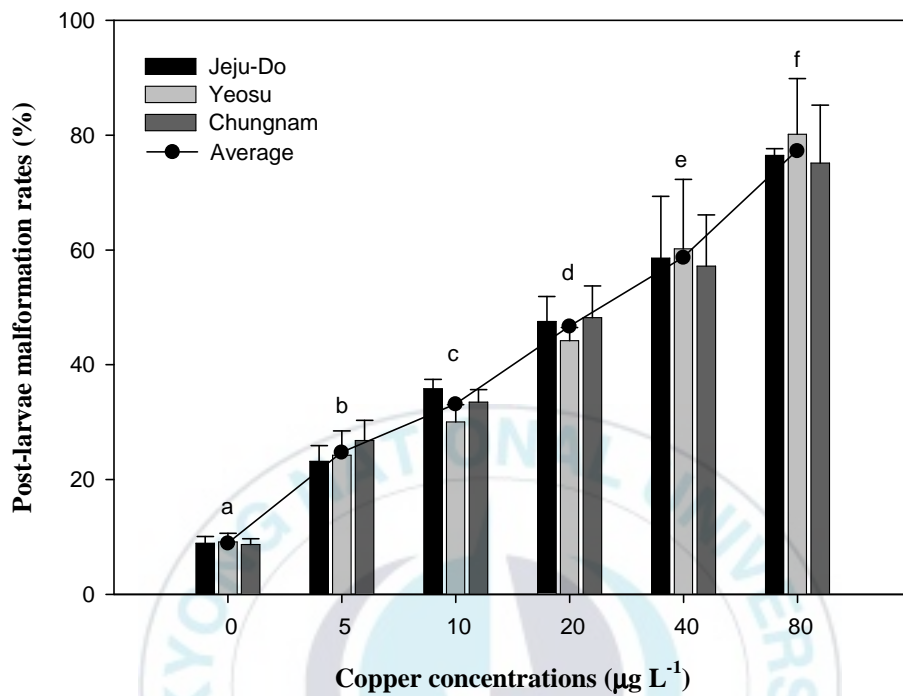


Fig. 20. Malformation rate of *P. olivaceus* post-larvae exposed to various copper concentrations during 20 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

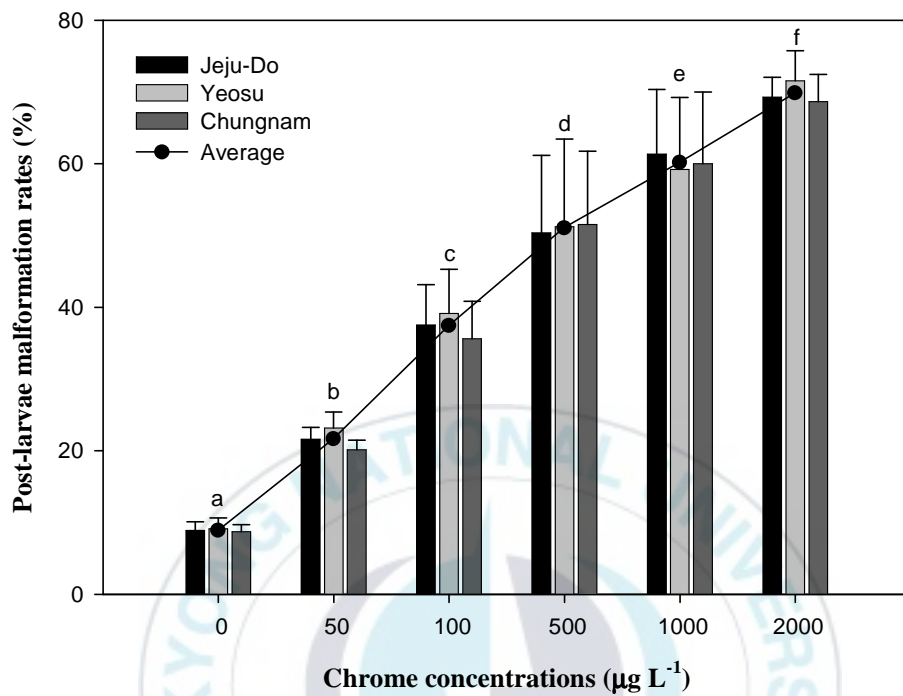


Fig. 21. Malformation rate of *P. olivaceus* post-larvae exposed to various chrome concentrations during 20 hours. Alphabet indicates significant difference from control ($P < 0.05$).

IV. 고찰

일반적으로 사육중인 어류가 주로 받는 스트레스로는 크게 물리적 요인과 화학적 요인이 있다. 이 중에서 물리적 요인으로는 수온 및 염분 등의 요인이 있으며, 화학적 요인으로는 formalin이나 copper sulfate와 같은 소독약제 투여 (허강준, 1997) 등이 있다. 구리와 같은 금속은 생물체에 필수물질이지만, 과량으로 흡수 또는 섭취하게 되면 생물체에 독성이 나타나게 된다 (Wannee *et al.* 2007). 실험에서 전체적으로 생존율과 부화율은 유의하게 감소하였고, 기형율은 유의하게 증가하였다. 지역적 차이는 나타나지 않았다.

1. 넙치 수정란

구리와 크롬에 노출한 수정란은 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율과 부화율이 점차 감소하고, 기형율이 증가하는 경향을 보였다. 대조구의 경우 실험종료까지 평균 86.38%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의하게 감소하였다. 크롬에 노출한 수정란은 대조구에 비하여 500, 1000 그리고 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의하게 감소하였다. 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과에서 구리를 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 44.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 1318.73 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다. 부화율에서 대조구의 경우 실험종료까지 평균 89.02%의 부화율을 보였으나, 구리에서 노출구의 경우에는 10, 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 크롬의 노출구의 경우, 전 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 33.95 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 905.35 $\mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났다. 구리와 크롬에 노출한 수정란의 기형율은 구리를 노출한 그룹에서 대조구 (5.29%)에 비해 노출구의 경우 전 구간에서

유의하게 증가하였다. 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 $37.58 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 $955.12 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

한국산 송사리(*Oryzias latipes*)의 수정란에 구리를 노출하였을 때, 농도가 증가하고, 시간이 지남에 따라 생존율의 감소를 보였으며, 24, 48, 96시간 LC_{50} 값이 각각 67, 65, $65 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다 (최 등, 1992). Nguyen과 Janssen (2001)의 실험에서 크롬, 구리 등의 중금속에 노출시킨 메기, *Clarias gariepinus*의 부화는 독성물질 어느것도 영향을 주지 않았고, 부화자어 생존은 단지 크롬 $36000 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서만 영향을 주었으며, 후기자어의 성장은 크롬 $11000 \mu\text{g L}^{-1}$, 구리 $630 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 유의하게 감소하였다. 구리에 노출된 유령명게는 농도가 진할수록 부화률의 감소를 보였다 (BELLAS *et al*). 탁과 김 (1999)의 실험에서 상실기의 넙치수정란에 유기주석산화합물의 한 종류인 TBTO를 노출시켰을때의 반수치사시간은 TBTO의 농도가 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, 0.100 및 $0.200 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 각각 68.0, 41.0, 21.0, 13.0, 7.7 및 4.7시간으로 구해졌으며, 이때 48h- LC_{50} 값은 $0.008 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었다. 배체형성기에 TBTO를 각 농도별로 처리하였을때 각 농도구에서의 반수치사시간은 각각 33.0, 12.5, 3.5, 1.3, 0.5 및 0.2시간이었으며, 48h- LC_{50} 값은 $0.004 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었다. 부화직전의 수정란에 TBTO를 노출시켰을때의 반수치사시간은 각 농도구의 반수치사시간은 각각 17.0, 11.0, 6.2, 4.0, 2.6 및 1.7시간으로 구해졌으며 48h- LC_{50} 값은 $0.001 \mu\text{g L}^{-1}$ 이하였다. 부화직전의 넙치수정란에 TBTO를 처리하여 부화가 완료된 이틀후에 그 부화율을 조사한 결과 0.025, 0.050, 0.100, 0.250 및 $0.500 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 TBTO농도에서 각각 46.2, 20.6, 21.9, 20.6 및 13.2%가 부화하였으나 부화 완료후 모두 죽었고, 0.001, 0.005 및 $0.010 \mu\text{g L}^{-1}$ 농

도에서는 각각 80.5, 70.0 및 44.1 %가 부화했으며, 그 중 80.0, 63.3 및 9.1 %가 실험종료시인 2일후까지 계속 생존하였다.

또한 탁과 김 (2000)의 염화수은과 염화카드뮴 $10 \sim 5000 \mu\text{g L}^{-1}$ 범위의 농도에서 독성도를 조사한 결과 넙치 수정란에 대한 염화수은의 독성영향을 살펴보면 24시간 만에 $350 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 반수 이상이 죽었으며, 처리후 48시간 및 72시간 후에는 각각 24 및 $17 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 반수가 죽었다. 96시간 후에는 처리한 모든 농도군에서 모두 죽었다. 염화카드뮴의 넙치 수정란의 대한 독성영향은 염화수은에 비해 그 독성 민감도가 낮게 나타났다. 부화가 완료되는 24시간 후에 $400 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 염화카드뮴 농도에서 반수 이상이 죽었으며, 처리 후 48시간 및 72시간 후에 각각 110 및 $29 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 반수가 치사하여, 각각 2500 및 $600 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 모두 죽었고, 처리 후 96시간 후에는 처리한 모든 농도에서 모두 죽었다. 염화수은이 넙치 수정란의 부화율에 미치는 영향은 $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 10% 미만이 부화하였으나, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 70% 정도가 부화하였고, 염화카드뮴에 대해서는 $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 10% 미만이 부화하였으나, $2000 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 70%정도가 부화하였다. 넙치 수정란에 독성물질을 처리하였을 때의 부화율은 처리 농도에 의존적인 경향을 나타내었으며, 높은 처리 농도에서 부화하여 기형으로 발생한 개체는 곧 죽었다. 구리에 노출한 bring shrimp의 부화율을 보면 대조구에서 100% 부화하였고, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg L^{-1} 에서 유의하게 감소한것을 볼 수 있었다 (Liu and Chen, 1987). 따라서 어종 또는 중금속 종류에 따라 영향 받는 정도가 서로 다른 것으로 사료된다. 또 일반적으로 어류의 초기생활사에서 부화 직전이 가장 감수성이 예민한 시기라고 알려져 있다 (Newman and McIntosh, 1991). 본 실험에서 관찰한 바에 따르면 수정란 실험이 종료되기 전에, 생존율과 부화율이 실험시작 직후

와 비교하였을 때 더 감소하였고, 기형율의 경우에도 실험시작 직후와 비교하였을 때 증가하였다. 실험 도중에는 수정란에서 난막이 찢그러지거나, 울퉁불퉁하고, 난막 안쪽 부화자어의 꼬리가 휘어있는 것을 발견하였으며, 모두 기형율에 포함하였다.

2. 부화자어

구리와 크롬에 노출한 부화자어는 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 89.81%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 10, 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 또한 크롬을 노출한 그룹의 경우 실험종료까지 전 농도구에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 37.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 1129.74 $\mu\text{g L}^{-1}$ 이었다. 구리와 크롬에 노출한 부화자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 7.62%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 증가를 나타내었다. 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 16.79 $\mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 684.48 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

최와 차(1983)의 실험에서 부화자어의 잉어에 대하여 구리를 노출하였을 때 LC_{50} 값은 48h-0.032 mg L^{-1} 의 값을 나타내었다.

조 등 (2004)의 실험에서 구리에 노출시킨 붕어와 돌고기의 부화자어의 LC_{50} 값은 붕어에서 48시간 LC_{50} 이 100.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타나 96시간 LC_{50} 인 84.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ 와 시간에 따른 상대적인 감수성 차이는 크지 않게 나타났고, 돌고기의 24시간 LC_{50} 은 123.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ 인 반면에 96시간에는 33.1 μg

L^{-1} 으로 조사되었다. 다섯 개의 화합물(크롭, 카드뮴, 아연, NaPCP, malathion)을 노출한 아프리카 메기와 zebra fish에서의 부화자어 독성실험에서 5일간 LC_{50} 값의 비율은 크롭 $400 \mu g L^{-1}$, 아연 $8900 \mu g L^{-1}$ 의 범위였다 (Nguyen and Janssen. 2001(2)). 탁과 김 (2000)의 실험에서 염화수은에 대한 독성영향을 살펴보면 처리 후 24시간만에 $197 \mu g L^{-1}$ 이상의 농도에서 반수 이상이 죽었으며, 처리 후 48시간 및 72시간 후에는 각각 15.7 및 $197 \mu g L^{-1}$ 에서 반수가 치사하여, 100 및 $120 \mu g L^{-1}$ 이상의 처리 농도에서 모두 죽었다. 처리 후 96시간에는 처리한 모든 농도에서 모두 죽었으며, 난황이 흡수되어지는 24시간부터 48시간까지 급격히 죽었다.

염화카드뮴의 독성영향을 살펴보면, 처리 후 24시간만에 $355 \mu g L^{-1}$ 이상의 농도에서 반수 이상이 죽었다. 처리 후 48시간과 72시간에는 처리 농도 74 와 $15 \mu g L^{-1}$ 에서 각각 반수가 치사하였고, $2900 \mu g L^{-1}$ 과 $500 \mu g L^{-1}$ 이상의 농도에서 모두 죽었는데, 넙치 수정란에 대한 독성과 비교하면 그 정도가 덜 민감하게 나타난 것이며, 수정란의 처리 경우와 마찬가지로 부화와 난황흡수시기에 따른 유의한 치사 빈도는 나타나지 않았다. 부화자어의 경우 구리의 농도가 진할수록 기형율이 유의하게 증가하였으며, 대부분 꼬리나 척추의 만곡현상이 나타났다.

3. 후기자어

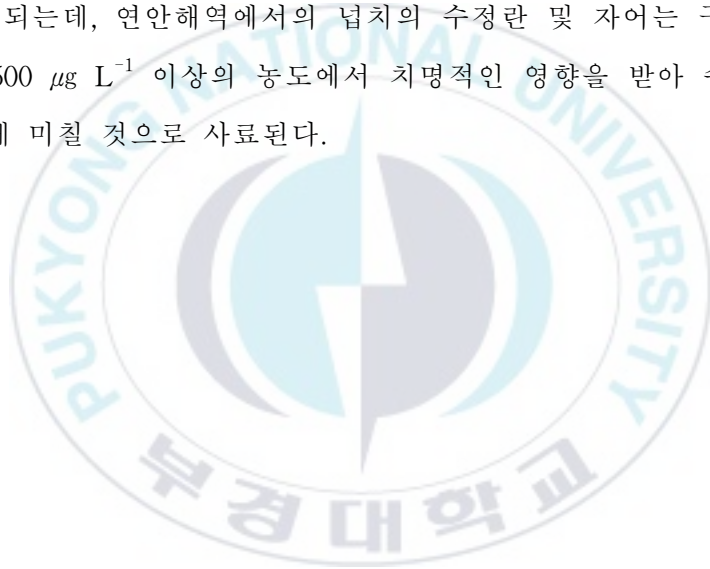
구리와 크롬에 노출한 후기자어는 실험을 시작한 후 종료전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험 종료까지 99.34%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 감소하였고, 크롬을 노출한 그룹의 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $34.81 \mu g L^{-1}$ 이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $980.64 \mu g L^{-1}$ 이었다.

구리와 크롬에 노출한 후기자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 8.91%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 증가를 나타내었고, 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 $36.25 \mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 $933.59 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

Chen 등 (2006)의 실험에서 부화한지 25일된 white seabass의 생존율은 구리이온의 농도가 높아질수록 감소하였다. Nguyen과 Janssen (2002)의 실험에서 메기 후기자어의 생존은 Cu와 NaPCP가 높은 농도라도 영향이 없던 반면에, Cr, Cd 그리고 malathion의 농도가 증가할수록 생존은 감소하였다. 기형율의 경우 Cr, Cd, Cu, NaPCP 그리고 malathion 농도가 각각 36000, 500, 600, 300 그리고 $1250 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상에서 유의하게 증가하였다.

본 실험에서 구리에 노출한 넙치의 수정란 단계부터 독성물질을 처리한 것보다 부화직후의 자어에 처리한 것이 더 민감한 독성 영향을 나타내었다. 이는 수정란의 경우 배체를 둘러싸고 있는 장막 (chorion)이 생물체내와 독성 외부 환경 사이를 막아주는 장벽의 역할을 함으로써 자어에 비해 상대적으로 적은 독성물질이 흡수될 뿐만 아니라, 수정란 내의 난황과 유구 (oil globule)에 독성물질이 축적되어 상대적으로 신경계와 기관에는 영향을 적게 미치게 되기 때문인 것으로 사료된다 (Hall et al. 1982; 탁과 김. 2000). 또한, 실험 중 자어기에서 대조구에 비해 노출구의 자어의 크기가 작은 것을 볼수 있었다. 일반적으로 구리농도가 증가할수록 어류의 성장은 감소된다고 알려져 있다 (Drummond et al. 1973; Collvin. 1985). 구리는 생리적 항상성을 유지하기 위하여 단백질, 특히 효소 ligands (배위자)와 서로 작용하는데, 이들의 활성을 감소시키는 것으로 알려져 있다

(Passow et al. 1961). 이에 대한 어류의 방어기작으로서, 생리적 항상성과 생존을 위하여 중금속 결합단백질인 metallothioneins와 결합하는 방법으로 유독한 구리를 무독성화 시킬 것이다 (Noël-Lambot et al. 1978). 이와 같은 과정들은 추가적인 에너지를 요구하게 됨으로써 체중감소의 원인이 되는 것이라고 하였으며 (Collvin. 1985), 성장으로 들어가는 에너지를 구리에 대한 생체 반응의 에너지를 소비함에 따라 성장이 느리다고 보고하였다 (De Boeck et al. 1997). 이와 같이 개체에 대한 오염원의 영향은 성장과 대사 등의 감소로 인해 개체군 변동을 초래하게 되어 생태계에 영향을 주게 되는데, 연안해역에서의 납치의 수정란 및 자어는 구리 $30 \mu\text{g L}^{-1}$, 크롬 $500 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 치명적인 영향을 받아 수산자원에 영향을 크게 미칠 것으로 사료된다.



V. 요약

연안지역의 환경오염과 양식장에서의 살균소독약제의 이용과정에 파생될 수 있는 구리의 오염과 주로 금속광산과 공장폐수로부터 용출되어 오염되는 크롬에 따른 넙치 수정란의 생존율, 부화율, 기형율과 부화자어 및 후기자어의 생존율, 기형율에 미치는 구리 및 크롬의 영향을 알아보았다. 수정란은 수정 후 48시간까지, 부화자어는 부화 후 60시간까지, 후기자어는 부화 후 80시간까지 구리 0, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 및 크롬 0, 50, 100, 500, 1000, 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도에 노출하여 실험하였다. 구리와 크롬에 노출한 수정란은 실험을 시작한 후 종료 전까지 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다. 대조구의 경우 실험종료까지 평균 86.38%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의하게 감소하였다. 크롬에 노출한 수정란은 대조구에 비하여 500, 1000 그리고 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 유의하게 감소하였다. 구리와 크롬에 대한 급성 독성 효과에서 구리를 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 44.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 1318.73 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다. 부화율에서 대조구의 경우 실험종료까지 평균 89.02%의 부화율을 보였으나, 구리 노출구의 경우에는 10, 20, 40 그리고 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 크롬 노출구의 경우, 전 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 33.95 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출한 실험구에서의 LC_{50} 은 905.35 $\mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났다. 구리와 크롬에 노출한 수정란의 기형율에서는 구리를 노출한 그룹에서 대조구 (5.29%)에 비해 노출구의 경우 전 구간에서 유의하게 증가하였다. 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 37.58 $\mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났고, 크롬을 노출

한 그룹에서는 $955.12 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

구리와 크롬에 노출한 부화자어는 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 89.81%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 10, 20, 40 그리고 $80 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 또한 크롬을 노출한 그룹의 경우 실험종료까지 전 농도구에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $37.12 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $1129.74 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었다. 구리와 크롬에 노출한 부화자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 7.62%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 증가를 나타내었다. 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 $16.79 \mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 $684.48 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

구리와 크롬에 노출한 후기자어는 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 99.34%의 생존율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 감소하였고, 크롬을 노출한 그룹의 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 감소하였다. 구리를 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $34.81 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었고, 크롬을 노출한 그룹에서의 LC_{50} 은 $980.64 \mu\text{g L}^{-1}$ 이었다. 구리와 크롬에 노출한 후기자어의 기형율에서 구리를 노출한 그룹의 대조구의 경우 실험종료까지 8.91%의 기형율을 보였으나, 노출구의 경우 전 농도구간에서 유의하게 증가를 나타내었고, 크롬을 노출한 그룹의 경우 노출구는 전 농도구간에서 유의하게 증가하였다. 기형에 미치는 EC_{50} 은 구리를 노출한 그룹에서 $36.25 \mu\text{g L}^{-1}$ 로 나타났고, 크롬을 노출한 그룹에서는 $933.59 \mu\text{g L}^{-1}$ 으로 나타났다.

VI. 감사의 글

지난 석사 과정을 되돌아보며, 학교생활을 하면서 저에게 많은 도움을 주신 분들께 감사의 마음을 전하고자 합니다. 2005년 처음 실험실 생활부터 지금까지 늘 아낌없는 조언과 사랑으로 지도해 주시고 돌보아주신 강주찬 교수님께 진심으로 감사드립니다. 부족한 저를 학문의 깊이에 대해 가르쳐주시고 격려해주신 박수일 교수님, 정준기 교수님, 정현도 교수님, 허민도 교수님, 김기홍 교수님께 진심으로 감사드립니다.

실험실 매행이자 많은 조언을 준 석우형, 논문 쓸 때 곁에서 많이 돌보아준 은영 누나, 일본에서 돌아오자마자 도움을 주신 상규형, 대학원 동기이자 지금은 공무원 시험을 준비하는 희주, 힘을 북돋아준 봉환이, 멀리 영국에서 박사과정을 하며 고생하는 옥현이, 공무원 생활과 석사과정을 모두 하면서도 열심히 하는 미영이, 이제 고생하실 상우형, 실험실 들어온지 얼마 안 되어 배울게 많을 경진이에게 모두 감사드립니다. 수산생명의학과 학부생이자 모든 일에 열심히 동재, 실험실 막내인 태영이에게도 고마운 마음을 전합니다. 사회생활을 하시면서 실험실 생활에 조언을 주신 정훈선배님, 성길선배님, 규석선배님, 자근선배님, 문규형, 승조누나께도 감사의 말씀 올립니다. 같은 98학번이자 실험실 선배인 승엽이, 가끔 실험실에 찾아오던 영주형, 군생활을 하고 있을 용찬이, 성민이에게도 고마운 마음을 전합니다.

또, 제가 이 곳에 오기 전 많은 충고와 도움, 힘을 주신 순천향대학교 해양생명공학과 마채우 교수님, 신현웅 교수님, 방인철 교수님, 이종화 교수님, 배평암 교수님께도 감사드리며, 이곳에 오지 않았으면 대학원 동기가 되었을 순천향대에서 동문수학한 대선이, 일로, 용길이, 한수 모두에게 고맙다는 말을 전하고 싶습니다.

마지막으로 저를 믿어주시고 고생하시며 돌보아주신 부모님, 동생에게 사랑한다는 말을 전하며, 이 조그마한 논문을 바칩니다.

VII. 참고문헌

- Abel, P. D., 1989. Water pollution biogy, Horwood E. (Ed.), Chichester, 235 pp.
- Cardeilhac, P., Whitaker, B., 1988. Copper treatments: uses and precautions. Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract. 18, 435 - .448.
- Clark RB. 1992. Marine pollution. Oxford university press, New York.
- Collvin L. 1985. The effect of copper on growth, food consumption and food conversion of perch *Perca fluviatilis* L. offered maximal food rations. Aquatic Toxicol. 6:105-113.
- Davis, H.S., 1953. Culture and Diseases of Game Fishes. University of California Press, Berkeley. 331 pp.
- Drummond RA, WA Spoor and GF Olson. 1973. Some short-term indicators of sublethal effects of copper on brook trout, *Salvelinus fontinalis*. J. Fish Res. Board Can. 30:698-701.
- Friberg I. and J. Vostal. 1972. Mercury in the environment. CRS Press (develand), ISI
- Gratzek, J.B., Blasiola, G.C., 1992. Checklists, Quarantine Procedures and Calculations of Particular Use in Fish Health Management. In: Gratzek, J.B., Matthews, J.R. (Eds.), Aquariology: The Science of Fish Health Management. Tetra Press, Morris Plains, NJ, pp. 301 - .315.
- Gratzek, J.B., Shotts Jr., E.B., Dawe, D.L., 1992. Infectious diseases and parasites of freshwater ornamental fish. In: Gratzek, J.B., Matthews, J.R. (Eds.), Aquariology: The Science of Fish Health Management. Tetra Press, Morris Plains, NJ, pp. 227 - .274.
- Hall, L. W. Jr., W. C. Graves, D. T. Burton, and B. S. Roberson. 1982. A comparison of chlorine toxicity to three life stages of striped bass

- (*Morone saxatilis*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 29: 631-636.
- Hutchinson T.H., T.D. Williams and G.J. Eales. 1994. Toxicity of cadmium, Hexavalent chromium and copper to marine fish larvae and copepods. Mar. Environ. Res. 38, pp. 275-290.
- Jackim E., J.M. Hamlin and S. Sons. 1970. Effects of metal poisoning on five liver enzymes in the Killifish (*Fundulus heteroclitus*). J. Fisheries Research Board of Canada., 27, pp. 383-390.
- Jiraungkoorskul Wanee, Sahaphong Somphong and Kangwanrangsan Niwat. 2007. Toxicity of copper in butterfish (*Poronotus triacanthus*): Tissues accumulation and ultrastructural changes. Environmental toxicology. 22(1):92-100.
- JUAN BELLAS, ELSA VÁLZQUEZ and RICARDO BEIRAS. 2001. TOXICITY OF Hg, Cu, Cd, AND Cr ON EARLY DEVELOPMENTAL STAGES OF *Ciona intestinalis* (CHORDATA, ASCIDIACEA) WITH POTENTIAL APPLICATION IN MARINE WATER QUALITY ASSESSMENT. Wat. Res. Vol. 35, No. 12, pp. 2905 - 2912, 2001
- Leitritz, E., Lewis, R.C., 1980. Trout and Salmon Culture (Hatchery Methods): California Fish Bulletin Number 164. University of California Agricultural and Natural Resources Publications, Oakland, CA. 197 pp.
- Lien T. H. Nguyen, Colin R. Janssen. 2001. Embryo-Larval Toxicity Tests with the African Catfish (*Clarias gariepinus*): Comparative Sensitivity of Endpoints. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 42 : 256-262.
- Lien T. H. Nguyen, Colin R. Janssen. 2001. Comparative Sensitivity of Embryo-Larval Toxicity Assays With African Catfish (*Clarias gariepinus*) and Zebra Fish (*Danio rerio*). Environmental Toxicology [Environ. Toxicol.]. Vol. 16, no. 6, pp. 566-571.
- Martin F. Chen a, Jaye A. Apperson, Gary D. Marty, Yuk W. Cheng. 2006. Copper sulfate treatment decreases hatchery mortality of larval white

- seabass *Atractoscion nobilis*. *Aquaculture* 254: 102 - 114.
- Maage, A., Sveir, H. and Julshamn, K. 1989. A comparison of growth rate and trace element accumulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry four different commercial diets. *Aquaculture*. 79:267-273.
- Memmert U. 1987. Bioaccumulation of zinc in two freshwater organism (*Daphnia magna*, Crustacea and *Brachydanio*, pisces). *Wat. Res.* 1, pp. 99-106.
- Owen, C. A. 1981. Copper Deficiency and Toxicity. New York, NY, USA: John Wiley and Sons.
- Ping-Chung Liu and Jiann-Chu Chen. 1987. Effects of heavy metals on the hatching rates of brine shrimp *artemia salina cysys*. *Journal of the world aquaculture society*. 18(2): 78-83.
- Tucker CS and CE Boyd. 1985. Water quality. pp. 135-227. In development in aquaculture and fisheries science, 15. Channel catfish culture (Tucker Eds.) Elsevier, Amstersam
- WHO. Environmental health criteria : Mercury Geneva, 1976(1) Conor, R. 1980. Metal contamination of food. Applied Science publishers, pp. 116-122.
- 강주찬 · 김재원 · 김성길 · 황운기. 2003. 구리 노출에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 만성독성. *한국환경생물학회지*. 21(1): 36-41.
- 김남예 · 강희양. 1995. 납 및 구리화합물이 *Carassius auratus* (Goldfish)에 미치는 독성에 관한 연구. *한국환경위생학회지*. 21(2): 27-35.
- 김덕만 · 이춘구. 1980. 메기의 조직에 미치는 cadmium의 영향에 관한 연구. *한국육수학회지* 13: 17-23.
- 최문술 · 木杵直秀. 1994. Micropollutants 가 연안 생물에 미치는 독성효과에 관한 연구 1 . 어류에 미치는 독성. *한국수산학회지*. 27(5):529-534
- 최충길 · 차성식. 1983. 전기 자어기의 잉어에 대한 중금속이온의 급성 독성 비교. *전남대학교 기초과학연구지*. 14(1): 1-7.

- 최충길 · 황영진 · 위인선. 1992. 송사리 수정란에 미치는 중금속의 영향. 한국물환경학회. pp 135-140.
- 탁건태 · 김중균. 1999. 납치 수정란에 미치는 bis(tributyltin) Oxide의 영향. 1999년도 춘계수산관련학회 공동학술대회 발표요지집. 한국수산학회
- 탁건태 · 김중균. 2000. 납치의 초기 생활사에 미치는 해양 독성물질들의 급성독성 영향. 한국생명과학회지. 10(3): 247-253.
- 허강준. 1997. 양식 어류에 있어서 황산동(copper sulfate pentahydrte)의 안전성과 살균효과에 대한 연구. 대한수의학회지. 37(1): 203-212.

