

포스터 1. 자주달개비 미세핵 분석법을 이용한 청주공단주변 토양침출수의 유전독성 평가

Study on the genotoxicity of soil leachate from two polluted sites in Cheongju with *Tradescantia*-micronucleus assay

김진규, 이병현, 신해식*, 이진홍*
한국원자력연구소, *충남대학교 환경공학과

Abstract

Soil contaminants are common in industrialized sites. They can affect directly soil and indirectly ground water and food. Soil mutagens and carcinogens are of great interest due to their potentially hazardous effects on human health. The aim of this study was to monitor the genotoxicity of contaminated soils. Soil leachates were collected from two polluted sites and one control site in Cheongju. *Tradescantia* BNL 4430 clone was used as experimental materials. Chromosomal damages induced by soil leachates were detected by the *Tradescantia*-micronucleus assay. It is known from the result that *Tradescantia*-micronucleus assay is an excellent botanical tool for detection of biological risk due to environmental toxicants.

I 서 론

경제성장과 산업기반의 발달 과정에서 발생하는 환경오염물질은 대기, 수질 및 토양 환경을 더욱 악화시키는 원인이 되고 있다. 토양오염은 직접적인 오염원 배출에 의한 국지적 오염과 수자원의 오염, 대기강하 먼지의 침적 및 산성우와 합성화학물질에 기인하는 간접적 광역적 오염으로 크게 나눌 수 있다. 토양은 대기환경 및 수질환경오염의 완충 작용을 하면서 부분적으로 환경의 자정작용을 담당하고 있다. 그러나 대기나 수질환경의 오염 속도가 급속한 경우 더 이상 완충 작용을 해 내지 못하고 토양체가 심각하게 오염되고 만다. 토양오염의 원인물질로는 유기물, 무기염류, 합성화학물질, 중금속류를 들 수 있으며, 특히 중금속류는 다른 오염물질과는 달리 비분해성으로 장기간에 걸쳐 잔류하는 축적성 오염원이다. 토양오염에 의한 영향은 오염물질의 먹이 연쇄를 통한 인간으로의 유입, 특정유해물질에 의한 농작물의 생육저해, 산성비에 의한 토양 내 산도증가와 이에 따른 식물의 생육저해 등을 포함하고 있다. 자주달개비 미세핵 분석법과 자주달개비 수술털을 이용한 체세포 돌연변이 분석법은 수질, 대기, 토양, 슬러지 그리고 침전시료와 같은 복합 혼

합물에 대한 현장감시 및 복합 혼합물의 들연변이 유발력 감시를 위한 생물학적 분석법으로서 광범위하게 이용되어 왔다 (Kong & Ma 1999; Monarca *et al.* 1998; Sadowska *et al.* 1994). 본 연구는 자주달개비 미세핵 분석법을 적용하여 공단지역 주변 토양에 함유되어 있는 들연변이원의 생물학적 영향을 평가하는 한편, 토양 오염 물질의 증장기적 위해성을 평가하기 위한 기법을 제시하고자 수행되었다.

II 재료 및 방법

실험용 식물체는 방사선에 민감하게 반응하면서도 자발들연변이율이 낮은 *Tradescantia* BNL 4430 클론을 사용하였다. 온실에서 생육된 식물체로부터 화서를 절취하여 실험군별로 20개 이상의 화서를 성장상에서 24시간 순치시킨 다음 실험에 사용하였다. 토양침출수는 공단지역과 공단지역으로부터 거리가 먼 도로 인접지역, 그리고 공단과 도로로부터 영향이 없을 것으로 판단되는 지역에서 30 cm의 깊이에 토양침출수 채취공을 설치한 후 1개월간 집수하였다. 각각의 실험군을 토양 침출수 50 ml에 담근 후 24시간 동안 흡수처리하였다. 흡수처리가 끝난 화서는 24시간의 회복기간중 Hougland's solution No.2 6배 희석액에 침지하여 성장상 내에서 폭기를 실시하였다. 배양조건은 명기 14시간, 습도 70%, 온도 25°C, 조도 290 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$, 암기 10시간, 습도 70%, 온도 25°C를 유지하였다. 화분모세포에 생성된 미세핵을 분석하기 위해서는 화서의 고정, 저장 및 염색과정을 거쳤다. 일련의 처리과정은 Ma (1981)의 절차를 따랐다. 토양침출수의 처리가 끝난 시료는 양액에 침지하여 성장상 내에서 약 24시간의 분열 염색체 회복시간이 경과한 다음 분석용 화서를 aceto-alcohol (1:3)로 고정시켰다. 고정액에 침지하여 24시간이 지나면 70% 에탄올에 담구어 냉장하였다. 미세핵 검경을 위한 프레파라트의 제작은 'aceto-carmine squash method'에 따라 이뤄졌다. 전처리가 끝난 후 실험군별로 10 여개의 슬라이드 프레파라트를 제작하고, 광학현미경 (Nikon) 하에서 배율 400 배로 검경하여 미세핵을 계수하였다. 하나의 프레파라트에서 약 300개 이상의 4분자 염색체를 검경하여 100사분자당 미세핵 숫자로서 각 실험조건별 미세핵 생성률로 환산하였다.

III 결과 및 고찰

공단지역, 도로인접지역, 그리고 대조군지역의 자주달개비 미세핵생성률은 상이한 결과를 나타내었다. 공단지역, 도로인접지역, 대조군지역의 자주달개비 미세핵생성률은 각각 10.60 ± 0.64 ($p < 0.001$), 7.93 ± 0.85 ($p < 0.001$), 그리고 4.80 ± 0.28 MCN/100 tetrads를 나타내었다 (Table 1). 공단지역 침출수에 의한 높은 미세핵

생성빈도는 공단지역에서 발생하는 모든 들연변이원이 상당기간 축적되어 나타난 결과로 예상된다. 도로인접지역은 차량으로부터 발생하는 다양한 들연변이원의 영향이 지배적일 것으로 판단되며, 대조시료로서 공단지역과 도로로부터 영향을 적게 받는 지역에서 채취한 침출수는 미세핵생성물에 거의 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

Table 1. Results of the *Tradescantia*-micronucleus assay on soil leachates from 3 sites in Cheongju. For each treatment, 1500 tetrads were scored

Site	Sampling duration	MCN / 100 tetrads (means \pm S. E)	Significance (p value)
Industrial complex	1 month	10.60 \pm 0.64	0.001
Motor vehicles	1 month	7.93 \pm 0.85	0.001
Control site	1 month	4.80 \pm 0.28	-

대조지역과 공단지역, 도로인접지역의 토양침출수에 대한 자주달개비 미세핵생성물은 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내었다. 자주달개비 화분모세포 미세핵의 자연생성물의 범위는 최대 4 MCN/100 tetrads인 것을 감안할 때 (Kim *et al.* 1999) 공단중심지역의 토양침출수 중에는 자주달개비의 염색체 변이를 유발하는 들연변이원이 포함되어 있음을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과에 비추어 볼 때 자주달개비를 이용한 분석법은 환경오염 원인물질의 규명 및 생태계에 대한 중장기적 위해성 평가를 위한 생물학적 감시모델로서 활용 가능하다.

참 고 문 헌

- Kim JK, HS Song and SH Hyun. 1999. Dose-response relationship of micronucleus frequency in pollen mother cells of *Tradescantia*, *J. Kor. Assoc. Radiat. Prot.*, 24:187-192.
- Kong MS and TH Ma. 1999. Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassay. *Mut. Res.* 426:221-228.
- Ma TH. 1981. *Tradescantia* micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for *in situ* monitoring and mutagen screening, *Environ. Health Prospect.* 37:85-90.
- Monarca S, A Zanardini, D Feretti, A Dalmiclio, E Falistocco, P Manica and G Nardi.

1998. Mutagenicity of extracts of lake drinking water treated with different disinfectants in bacterial and plant tests. *Wat. Res.* 32:2689-2695.
- Sadowska A, E Pluygers, M Narkiewicz, A Pawelczak and B Lata. 1994. Environmental genotoxicity and cancer risk in humans: a combined evaluation correlating the results of the *Tradescantia* micronucleus assay in the field and human biomarker assessments in serum I. The TRAD-MCN assay. *Eur. J. Cancer Prev. Jar.* 3:69-78.