

포스터 2. 몇 가지 PBTs (Persistent, Bioaccumulative, Toxic Chemicals)가 생태계 곤충에 미치는 영향

이선영, 김용균
안동대학교 생명자원과학부

Abstract

Pollutants that are persistent, bioaccumulative, and toxic have been linked to numerous adverse effects in human and animals. PBTs include heavy metals, polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins, polycyclic aromatic compounds (PACs) in addition to pesticides. This study focuses on toxic effects of the PBTs except pesticides on insects. Eight PBTs were selected from subgroups: three heavy metals (Pb, Hg, and Cd), two PCB mixtures (Aroclor mixtures 1 and 2), 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, two monophenols (4-octylphenol and 4-nonylphenol), and tetrabutyltin. Beet armyworm, *Spodoptera exigua*, was used as test target insect species. Three physiological markers (metamorphosis, immune reaction, and follicle patency) were assessed in each exposure to different doses of the PCBs. Heat-shock proteins as molecular markers were also analyzed in response to the PCBs. All tested PBTs were toxic to metamorphosis from larvae to pupae when they were applied with diet. Two PCB mixtures were the most toxic compounds in this assay by giving significant toxicity at 0.005 ppm, while others had from 10 to 1000 ppm. Dioxin (0.1 ppb), tetrabutyltin (0.1 ppb), Pb (10 ppb), and Hg (0.01 ppb) were potent to inhibit immune reactions analyzed by inducing phenoloxidase activity and blocked phospholipase A₂ enzyme. Tetrabutyltin and dioxin significantly induced follicle cell patency, but their effects were lower than that of endogenous juvenile hormone. Dioxin, Pb, Hg, and Cd could induce the expression of heat shock proteins that were detected by immunoblotting against human HSP70 monoclonal antibody. HSP78 and HSP80 were upregulated in response to the PBTs. This expression was detected from the fat body and epidermis at as fast as 4h after injection. All these results clearly suggest that PBTs give significant ecotoxicity to insects that are valuable organisms in our environment.

I. 서 론

전체 동물계는 30개 이상의 문 (phylum)으로 분류되는 데, 이중 척추동물은 단 1개의 문을 구성하고 나머지 모두 무척추동물이 차지하게 된다. 전체 종수에서도 무척추동물은 95% 이상을 차지하여 환경오염물질의 생태계 평가에서 무척추동물에 대한 영향 평가는 가

장 중요한 영역을 차지하여야 된다 (김, 2000). 이러한 이유는 난분해성 생체축적 환경오염물질 (persistent, bioaccumulative toxic chemicals: PBTs)은 먹이사슬을 통하여 생태적 지위가 다른 여러 생물군간 이동이 가능하게 되며 이를 통해 이들 영향이 증폭된다는 것은 잘 알려진 사실이다. 즉, 다양한 무척추동물의 생물종은 생태계내 하부 영양단계를 구성하여 산업적으로 유용한 척추동물의 생산에 직결될 뿐만 아니라, 소형 무척추동물의 경우 부식자로서 생태계 순환에 중요한 역할을 담당하게 되어 척추동물을 포함한 생태계 전반에 영향을 주게 된다. 또한 무척추동물들이 갖는 짧은 생활사와 대량증식의 용이성 및 척추동물과의 유사한 내분비계 특성 등은 기존의 척추동물을 중심으로 한 내분비계 교란 물질 연구에서 명확한 해답을 찾기가 곤란했던 생체축적 분석 또는 세대를 거듭한 장기간의 피해분석이 더욱 효과적으로 진행될 수 있다. 이러한 무척추동물의 다양성과 중요성은 이들을 이용한 유해성 화학물질의 생태독성 검정 (ecotoxicological testing) 뿐만 아니라 생태계 영향 평가 (monitoring environmental conditions)에 중요한 생물군으로 이용될 수 있음을 의미한다.

본 연구는 농약을 제외한 몇 가지 PBT 환경오염 물질을 중심으로 이들이 생태계에 미치는 영향을 곤충을 대상으로 분석하는 데 목적을 두었다. 이를 위해 이들 물질이 곤충의 변태, 생식 및 면역에 미치는 영향을 분석하였으며, 아울러 이러한 물질에 대한 곤충의 분자 수준의 반응성을 조사하여 궁극적으로 환경오염물질에 대한 생리지표와 분자지표와 같은 생체지표를 개발하는 데 기초 연구로서 활용하고자 한다.

II. 재료 및 방법

선발 곤충의 증식

본 연구에 사용된 곤충은 개발된 인공사료로 실내 사육이 용이하고 세대 기간이 비교적 빠른 파밤나방 (*Spodoptera exigua*)을 이용하였다. 이 곤충은 비교적 크기도 커서 다양한 생리적 연구에 대상이 되어왔다.

환경오염물질

농약을 제외한 PBT 계통의 화학물질을 중심으로 선발되었다. 중금속 (Pb, Hg, Cd), PCB 혼합체 (Aroclor 혼합체 1과 2), 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, monophenol류 (4-octylphenol과 4-nonylphenol)와 tetrabutyltin을 주요 환경오염 물질로 선발하여 분석되었다.

곤충 발육 독성분석

다양한 농도로 제조된 화학용액에 파밤나방의 인공사료를 10분간 침지한 후 곤충에게 섭식시켰다. 처리 기간은 파밤나방 2령충부터 전용단계까지 섭식시켰다. 유충은 개체 사육되었으며, 처리된 인공사료는 2일 마다 새롭게 처리된 먹이로 교체시켰다. 이때 곤충의 발육 상황을 조사하였다. 이후 번데기가 될 때 까지 사망률과 용화율을 측정하였다.

면역 독성분석

곤충의 세포성 면역이 기내조건에서 (*in vitro*) 분석되었다. 소정의 환경오염물질이 포함된

10 μ l의 혈액에 항원으로서 1 μ g의 laminarin을 첨가하였다. 이후 DOPA를 첨가한 후 phenoloxidase의 효소 활성을 490nm에서 측정하였다. 이러한 면역 억제제가 PLA₂ (phospholipase A₂)의 단계에서 일어나는 지 확인하기 위해 대조구에는 arachidonic acid (AA)를 처리하여 비교하였다.

생식 독성 분석

파밤나방의 성충 난소를 적출하고 이를 기내조건에서 난포세포의 개방화 (follicular epithelium patency)를 분석하였다. 이는 곤충의 생식선촉진호르몬인 유약호르몬에 의해 이뤄지는 데, 이러한 곤충의 생식기작을 환경오염물질이 어떠한 방향으로 영향을 주는 지가 본 연구에서 분석되었다.

열충격단백질 (heat-shock protein: HSP) 분석

각 환경오염물질 1 μ l를 파밤나방 5령충의 혈강에 주입시켰다. 이후 시간별로 조직을 적출하여 HSP의 존재를 분석하였다. HSP의 항체는 인체의 HSP70에 대한 단일 항체 클론 (Sigma, MO, USA)을 이용하였다. SDS-PAGE로 분리된 단백질을 Western blotting 방법으로 단백질을 nitrocellulose paper로 옮긴 후 alkaline phosphatase가 부착된 HSP70 항체를 붙인 후 기질을 이용하여 곤충의 HSP를 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

곤충 발육 독성분석

조사된 모든 환경오염물질은 파밤나방의 발육에 섭식독 저해 작용을 나타내었다. 그러나 이들이 영향을 주는 농도에서는 차이가 있었다. 일반적으로 중금속의 경우는 10-1000 ppm의 농도, monophenol류, TBT, 다이옥신은 10-100 ppm 농도에서 보인 반면, PCB의 경우 0.005 ppm의 농도에서 치사 효과를 나타내어 가장 독성이 높은 것으로 나타났다.

면역 독성분석

수은, 납, 다이옥신과 TBT에서만 면역 억제 효과가 나타났다. 이들의 억제농도는 0.01-0.1 ppb의 매우 낮은 농도에서도 이러한 억제 효과가 감지되는 것을 알 수 있었다. 또 이러한 면역억제가 모두 면역의 중개 역할 로서 중요한 PLA₂ 단계에서 억제 작용을 보이는 것으로 분석되었다.

생식 독성 분석

조사된 3종의 중금속과 다이옥신, 그리고 TBT중에서 다이옥신과 TBT가 곤충의 유약호르몬과 유사하게 작용하는 것으로 나타났다. 그러나 중금속의 경우는 전혀 촉진 작용이 없어서 이에 대한 생식 억제 효과의 검토가 필요하다.

열충격단백질 (heat-shock protein: HSP) 분석

인체의 HSP70 항체에 대해 곤충은 HSP80와 HSP78가 각각 나타났다. 이러한 스트레스 단백질은 환경오염물질에 노출되었을 때 특별히 발현이 높아진다는 것이 본 연구에서 밝혀졌다. 그리고 발현 부위는 지방체와 표피세포에서 낮은 반면, 혈림프와 소화관에서는 비교적 낮았다. 발현시간도 처리후 4시간부터 뚜렷하게 나타나, 분자지표로서의 활용 가능성이 높아지고 있다.

IV. 결 론

분석된 8종의 PBT 물질은 모두 곤충의 발육에 독성을 주었다. 그러나 이들이 발휘하는 독성은 환경오염물질에 따라 유효 농도와 억제 생리 작용점에서 달랐다. 일부 물질은 곤충의 면역을 억제시키는 반면, 일부는 곤충의 생식 작용에 관여를 하고 있었다. HSP은 이러한 환경물질에 대해서 곤충의 체내에서 빠르게 발현되는 특성을 가져서 앞으로 분자지표로서 활용 가능성을 제시하고 있다.

참 고 문 헌

김용균. 2001. 무척추동물 내분비계 교란물질의 작용기작. 환경연구. 1: 35-48.

Hopkin SP (1989) Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science, London, England.

Sipes IG, Schnellmann RG (1987). Biotransformation of PCBs: Metabolic pathways and mechanism. Environ. Toxin. Ser. 1: 97-110.