

아므로불가사리(*Asterias amurensis*)의 배우자를 이용한 남해해역 연안해수의 생물학적 수질평가

유 춘 만 · 박 지 인* · 조 기 안** · 주 현 수*** · 박 종 천*** · 나 명 석
전남대학교 생물학과 · 한국수자원공사 · 초당대학교 환경공학과 · 서남대학교 생물학과
(1998년 5월 20일 접수)

Biological Evaluation of off-shore Water Quality in Southern Coastal Waters with *Asterias Aurensis* Gametes

Chun-Man Yu, Ji-In Park^{*}, Ki-An Cho^{**}, Hyun-Soo Joo^{**}
Jong-Cheon Park^{**}, and Myung-Suk Ra

Dept. of Biology, Chonnam National University, Kwangju, Korea

Korea Water Resources Corporation

^{*}Dept. of Env. Engineering, Cho Dang University, Mu An Gun, Korea

^{**}Dept. of Biology, Seonam University, Namwon, Korea

(Manuscript received 20 May 1998)

This study was carried out to evaluate off-shore water quality and to draw marine pollution map to Southern sea in Korea by bioassay using gametes and early development system of *Asterias amurensis*. From the bioassay, it was determined that the water qualities of Southern sea maintained the grade II, because development of *A. amurensis* were moderately inhibited. However, Sunchon, Kwangyang, and Jinhae Bay belonged to grade III, because development of *A. amurensis* were strongly inhibited. This could be due to the inflows of several river systems and poor water circulation.

The water quality at Yosu island was the grade I, because *A. amurensis* were not inhibited in its early development.

Key words : marine pollution map, Southern sea, *Asterias amurensis*

1. 서 론

생물을 이용한 수환경오염의 판정법은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 하나는 장기간의 영향(만성 유해도)을 조사하는 것으로 실제로 그 장소에 오래 살고 있는 생물, 특히, 그다지 이동하지 않는 저서생물 등의 종류, 개체수 등을 조사하는 것이다. 또 다른 하나는 그 장소의 어떤 시점에서의 환경이 특정생물에 대해 끼치는 비교적 단시간의 영향(급성 유해도)을 조사하는 것으로서 무엇이 얼마만큼, 어떠한 상태로 포함되어 있는지 잘 모르는 때라도 생물에 대한 영향을 알 수 있는 방법이다.

생물학적 수질판정에 이용되어지는 생물은 연안해수를 대상으로 한 경우에는 해산 무척추동물의 일종인 성게와 불가사리의 배우자나 발생계의 배아를 이용한 생물검정이 널리 이용되어지고 있다.

해산무척추동물 중, 분류학적으로 극피동물문, 불가사리 아문, 불가사리강으로 분류되는 불가사리의 배우체와 배아는 성게와 더불어 발생학과 세포학 분야에서 좋은 연구재료로 사용되어 왔다. 발생 중의 세포의 이동

과 세포 상호간의 작용에 관한 연구¹⁾, 성숙 유도물질에 관한 연구^{2~4)}, 여러 화학물질이 배발생에 미치는 영향에 관한 연구⁵⁾ 등, 세계적으로 그 생식분포가 광범위하므로 많은 연구가 진행되었다.

또한, 별불가사리의 일종인 *Acanthaster planci*의 머이와 서식형태에 관한 연구 및 수정에 있어서 난자와 정자의 비율에 관한 연구^{6~9)}, 유화제가 불가사리의 배아에 미치는 영향에 관한 연구¹⁰⁾ 등, 외국의 경우에는 불가사리를 이용한 생물검정에 관한 연구가 활발히 진행 중에 있으나 국내에서는 아직까지 불가사리의 배우체 및 배아와 초기 발생계를 이용한 생물검정에 관한 연구가 전무한 실정이다.

이러한 견지에서 본 연구는 이화학적 방법에 의한 수질의 등급화의 단점을 보완하고자 아므로불가사리를 이용하여 생물학적 방법을 통해 보다 종합적이고 복합적인 남해해역 연안해수 수질오염의 정도를 파악, 이를 등급화하여 해양오염지도를 작성하고자 한다.

Table 1. Position and water quality ranking of the coastal stations in the south coast of Korea

Region	Station No.	Position		Normal Larva Average (%)	Water quality Ranking
		Lat.(N)	Long.(E)		
South Coast	1	35° 22' 40"	126° 27' 30"	47	II
	2	34° 46' 30"	126° 33' 01"	49	II
	3	34° 45' 05"	126° 38' 50"	40	II
	4	34° 40' 00"	127° 05' 00"	42	II
	5	35° 11' 05"	127° 25' 10"	38	II
	6	35° 08' 59"	127° 20' 01"	39	II
	7	34° 55' 40"	127° 01' 50"	85	I
	8	35° 01' 02"	127° 48' 04"	40	II
	9	35° 25' 00"	127° 10' 30"	29	III
	10	35° 11' 25"	127° 48' 30"	43	II
	11	35° 20' 00"	127° 51' 45"	87	I
	12	35° 17' 05"	127° 50' 00"	88	I
	13	35° 17' 30"	127° 49' 40"	38	II
	14	35° 07' 21"	127° 36' 20"	19	III
	15	35° 15' 01"	127° 37' 10"	39	II
	16	35° 16' 30"	127° 03' 45"	41	II
	17	35° 27' 00"	127° 48' 40"	79	I
	18	35° 04' 45"	128° 17' 25"	85	I
	19	35° 05' 30"	128° 13' 30"	80	I
	20	35° 19' 05"	128° 09' 20"	60	II
	21	35° 27' 55"	128° 14' 01"	52	II
	22	35° 02' 55"	128° 33' 30"	40	II
	23	35° 36' 40"	128° 53' 20"	11	III

2. 재료 및 방법

2.1 조사정점 및 채수

본 연구는 1995년 1월과 2월 동계에 걸쳐 남해안의 육지주변에 위치한 주요 섬과 만을 중심으로 총 23개 정점을 선정하였다(Fig. 1, Table 1).

채수는 van Dorn 채수기를 이용하여 각 조사정점의 표층수를 수표로부터 0.5 m에서 각각 채수하였다. 채취된 시료는 4°C의 저온상자에 넣어 실험실로 운반, 실험동물의 배양에 이용하였다.

2.2 생물검정

2.2.1 실험동물 및 채집

본 연구에 사용된 실험동물은 분류학적으로 극피동물문의 하나인 아므로불가사리(*Asterias amurensis*)로써 연안해역의 암반이나 사질성 연안이 주 서식처이며, 전라남도 여천군 돌산면 방죽포와 여수시 오동도연안에서 채취, 서식처와 유사한 환경조건을 조성하여 운반하였다.

2.2.2 방정과 방란

실험동물의 방정과 방란에 사용하기 위한 자연해수는 GF/C(pore size 1.2 μm)로 여과한 후 2조의 활성탄 충진 칼럼(Φ 25 cm × 100 cm)으로 처리하여 GF/C로 반복 여

과한 것을 이용하였으며, 이 여과된 자연해수를 100 ml의 비이커에 가득채운 후 불가사리의 생식공이 충분히 잠기게 한 다음 1×10^{-4} M의 1-Methyladenine 용액을 5개의 arm에 0.5-1ml를 주입시킨 후, 30-90분 동안 방정, 방란을 시켰다. 방정·방란을 유도하여 얻은 배우자를 자연해수로 정자는 1회, 난자는 3회 반복 세정하여 실험에 사용하였다^{11,12)}.

2.2.3 배양조건

실험동물로부터 채취한 난자와 정자의 첨가비율은 1:1000으로 조절하였으며, 시수에 정자를 노출시키기 위한 정자의 수는 $5 \times 10^6 / 50 \text{ ml}$ 가 되게 조정하였다. 배양용기는 borosilicate 재질의 100 ml 배양병을 사용하여 배양액의 용량을 50 ml로 하였다. 배양기간동안에 유지되어진 배양온도는 16°C의 어두운 장소에서 정체 배양하였다^{13,14)}.

2.2.4 배우자를 이용한 생물검정

각 조사정점의 채수시료에 60분동안 정자를 노출시킨 후 난자를 첨가하여 배양하고 각 발생시기별로 시험액의 5 ml를 시험판에 분주하여 10%의 acetic acid로 고정, 광학현미경(200~600×)으로 검정하였다^{12,14,15)}.

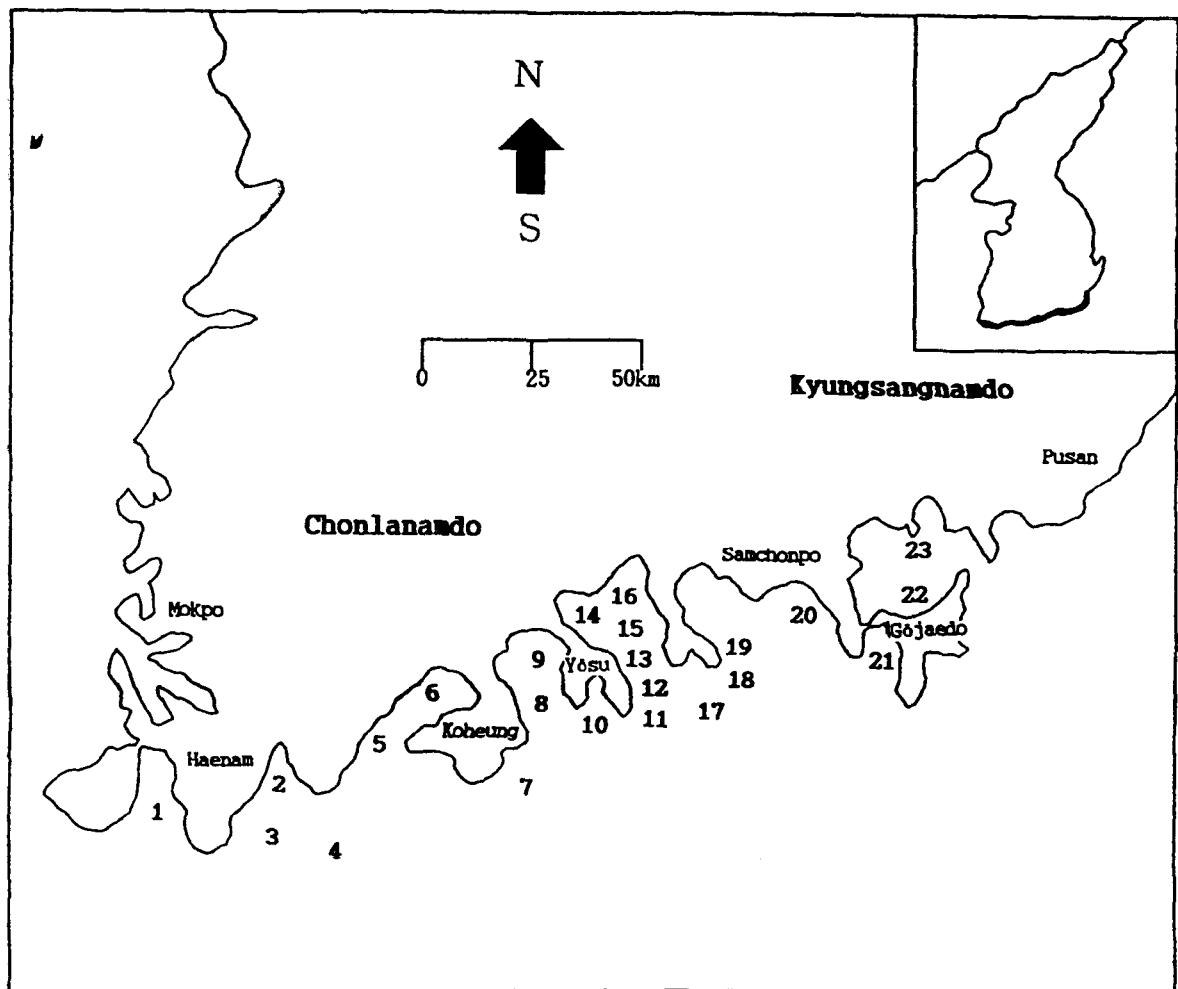


Fig. 1. A map showing sampling stations.

2.2.5 시료의 관찰 및 자료의 처리

시료의 관찰은 정상적인 유생 형성율에 중점을 두어 관찰했으며, 대조군(여과된 자연해수 처리군)과 비교하여 normal과 abnormal(정상크기의 1/2이하인 것, larval malformation)으로 구분하여 관찰하였다. 또한 본 실험의 생물검정은 모두 3회이상의 동일한 실험을 실시하였고, 관찰에 있어 배아를 100개이상 계수하여 나타난 결과를 백분율로 환산·처리하였다^{12,14,15)}.

2.2.6 생물검정 결과에 의한 해수수질 판정 기준

본 실험에서 나타난 결과를 Table 2에 제시된 수질등급 판정기준에 따라 분류하였다¹⁶⁾.

3. 결과 및 고찰

남해해역 일대의 연안해수에 대한 환경오염정도를 평가하기 위해 생물학적 조사방법인 아므로불가사리를 이용한 생물검정을 실시하였다.

아므로불가사리는 수정 후 20°C의 배양조건에서 52시간이 소요 지나면 *bipinnaria* 유생 시기에 도달하게 된다. 해수중에 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 검정을 통해 정상적인 배아의 형태와 수를 비교하여 이를 해수의 오염도에 따른 지표로 활용할 수 있다^{12,14,15)}.

총 23개 정점의 해수시료의 판정결과, 정상적인 *bipinnaria* 유생 형성률은 11-88%의 범위를 보였으며, 진해만의 정점23의 해수시료의 경우 최소의 정상적인 유생형성률인 11%로 실험동물의 초기 배발생에 가장 큰 저해를 미쳤다. 반면, 여수 연안의 정점12의 해수시료의 경우 88%의 가장 높은 정상적인 유생 형성률을 보였다.

해수의 순환이 원활하지 못하거나 반폐쇄적인 만을

Table 2. Ranking of inhibitory degrees of the polluted water upon early development of the gamete of *Asterias amurensis*

Inhibitory degree	Stage Grade	Test Animals	Remarks
<i>Asterias amurensis</i>			
Non-inhibitory ordinary sea water	I	NLF(%) 67-100	Normal development
Moderately inhibitory sea water	II	NLF(%) 38-66	Development delayed or deformed
Violently inhibitory sea water	III	NLF(%) 0-37	Development stopped in early stage

NLF: normal larva formation

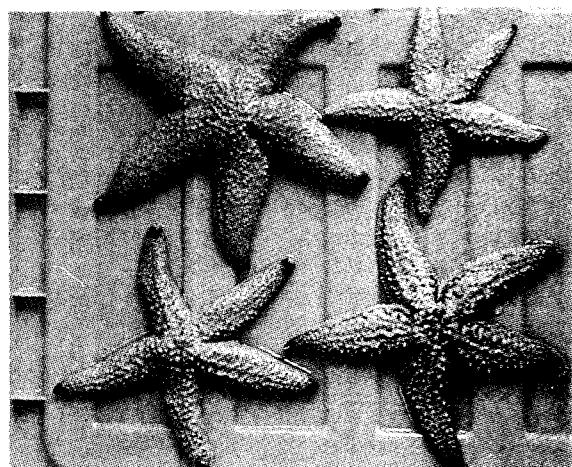
형성하고 있는 연안해역의 정점, 즉, 순천만의 정점9, 광양만의 정점14, 진해만의 정점23, 총 3개 정점에서 실험동물이 초기 배발생을 하는 데 있어 큰 저해를 받은 III등급의 수질로 나타났다.

반면, 해수의 순환이 원활하고 해안으로부터 먼 거리에 있는 연안해역의 정점, 즉, 고흥 연안의 정점7, 여수와 남해 연안의 정점 11, 12, 17, 18, 19, 총 6개 정점에서는 실험동물이 초기배발생을 하는 데 있어 해수의 저해를 받지 않은 I등급의 수질이었으며, 그외 14개 정점에서는 초기배발생에 약간의 저해를 받은 II등급의 수질로 판명되었다(Fig. 2, Table 1).

1996년 환경부의 조사결과에 의한 남해연안의 수질 오염현황을 보면, 대부분의 연안수질이 양호한 편으로 평가하고 있으며 마산만, 진해만등 반폐쇄성 해역은 오염정도가 심한 상태이며 특히, 마산만의 경우, 매년 오염도가 증가하여 1994년에는 화학적 산소요구량이 5.6mg/l으로 III등급(COD 4mg/l 이하)을 초과하는 수질을 나타내고 있다.

현재 국내의 해역별 수질관리는 이화학적 방법을 통한 분석결과를 기초로하여 해역별 수질기준을 I등급, II등급, III등급으로 구분 관리하고 있다. I등급 해역은 수산생물의 서식, 양식 및 산란에 적합한 수질을 유지하거나 유지하고자 하는 해역을 말하며 II등급 해역은 오염이 우려되는 수준은 아니나 주변에 중소도시 및 공단등이 위치하고 있는 해역으로서 해수욕, 관광 및 여가선용에 적합한 수질을 유지하고자 하는 해역이고 III등급 해역은 현재 III등급 수질을 초과하거나 대규모 임해공단으로부터 폐수가 유입되어 오염우려가 있는 해역으로 공업용 냉각수 및 선박정박에 이용되는 수질을 유지하고자 하는 해역의 기준을 말한다^[7].

현재, 국내의 경우에는 해역별 수질의 등급화는 단지 이화학적 방법에 의한 화학적 산소요구량이라는 한가지 요인만을 가지고 등급화하고 있는 실정이다. 그러나 과학의 발달과 기술혁신등으로 인하여 해수환경에 유입되

Fig. 2. Test animals (*Asterias amurensis*).

는 유해화학물질이 다양하여 이들이 환경 내에 복합된 요소로 구성되어 있을 경우, 이를 이화학적 방법을 통해 해수환경에 미치는 요인물질을 정확히 파악하기가 힘들뿐만 아니라 해수환경을 종합복합적으로 파악하기엔 많은 시간과 경제적인 손실이 야기된다. 또한, 유해화학물질의 농도가 해수환경에 극저농도로 존재 할 경우, 이를 이화학적 방법으로는 생물체에 미치는 영향을 인지 할 수가 없으며 화학물질의 환경 중에서의 이동과 변환으로 인하여 광역적이고 장기간에 걸친 오염도의 축적을 파악하기가 힘들다는 단점을 지니고 있다. 그러므로 해양환경오염의 정도와 상태를 파악하는 데 있어서는 이화학적 조사방법과 생물학적인 조사방법이 병행됨으로서 종합적이고 복합적인 해양 수질오염의 정도와 실태를 파악 할수 있다.

4. 결 론

아므로불가사리의 배우체와 배아를 이용한 생물학적

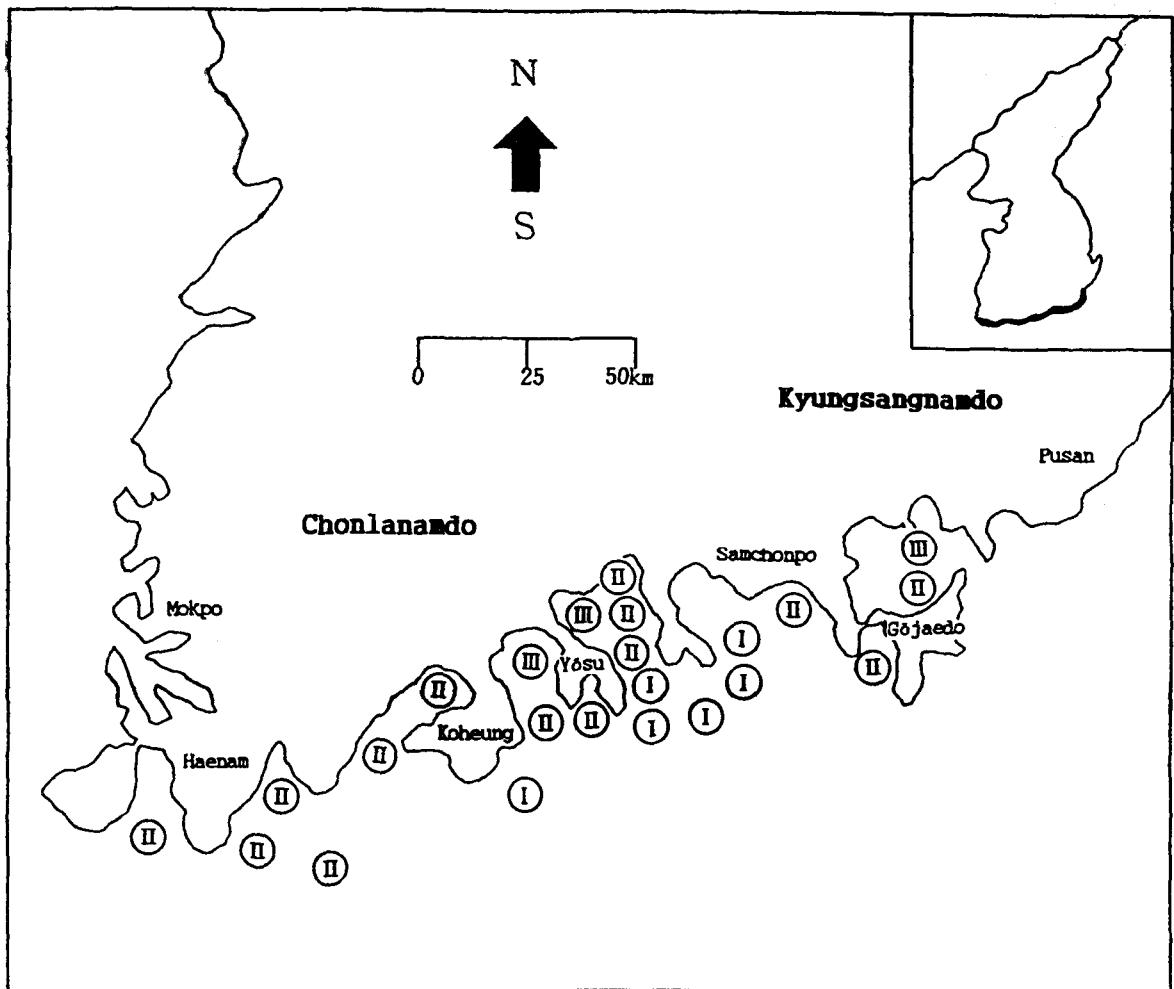


Fig. 3. Marine pollution map by the degree of embryo formation of *Asterias amurensis*.

① : First grade, ② : Second grade, ③ : Third grade

방법을 통해 우리나라 남해해역 연안해수를 등급화, 해양오염지도를 작성하였다. 그 결과 대부분의 연안수질이 약간 악화된 편으로 총 23개 정점 중, 3개 정점에서 실험동물이 초기 배 발생을 하는 데 있어 큰 저해를 받은 III등급의 수질을 보였고, 6개 정점에서는 실험동물이 초기배발생을 하는 데 있어 해수의 저해를 받지 않은 I등급의 수질이었으며, 그외 14개 정점에서는 초기배발생에 약간의 저해를 받은 II등급의 수질로 판명되었다.

참 고 문 헌

- 1) 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.
- 2) Mita, M., 1993. 1-Methyladenine production by

ovarian follicle cells responsible for spawning in the starfish *Asterina pectinifera*. Invert. Reprod. Dev., 24(3): 237-242.

- 3) Mita, M., 1994. Effect of Ca^{2+} -free seawater treatment on 1-methyladenine production in starfish ovarian follicle cell. Develop. Growth Differ., 36(4): 389-395.
- 4) Kanatani, H., 1973. Maturation inducing substance in starfish. Int. Rev. Cytol. 35: 253-298.
- 5) Shimizu, T., K. Hamada, H. Isomura, Y. Myo-toishi, S. Ikegami, H. Kaneko and M. Dan-Sohkawa, 1995. Selective inhibition of gastrulation in the starfish embryo by albuside B, an inosine analogue. FEBS Letters 369: 221-224.

- 6) Ayukal, T., 1994. Ingestion of ultraplankton by the planktonic larvae of the crown of thorns starfish, *Acanthaster planci*. Biol. Bull. 186: 90-100.
- 7) Benzie, J.A.H. and P. Dixon, 1994. The effects of sperm concentration, sperm:egg ratio and gamete age on fertilization success in crown-of-thorns starfish(*Acanthaster planci*) in the laboratory. Biol. Bull. 186: 139-152.
- 8) Benzie, J.A.H., K.P. Black, P.J. Moran and P. Dixon, 1994. Small-scale dispersion of eggs and sperm of the crown of thorns starfish (*Acanthaster planci*) in a shallow coral reef habitat. Biol. Bull. 186: 153-167.
- 9) Black, K., P. Moran, D. Burrage and G. Deeth, 1995. Association of low-frequency currents and crown of thorns starfish outbreaks. Mar. Ecol. Prog. Ser. 125: 185-194.
- 10) Davis, P.H., T.W. Schultz and R.B. Spies, 1981. Toxicity of Santa Barbara seep oil to starfish embryos: PART2-The growth bioassay. Mar. Environ. Res. 5: 287-294.
- 11) Fujisawa, H., 1989. Differences in temperature dependence of early development of sea urchins with different growing season. Ref. Biol. 176: 96-102.
- 12) Wui, I.S., J.B. Lee and S.H. Yu, 1992. Studies on quality of sea waters by using sea urchin gametes and embryos in the inland sea of Korea. (The Yellow and Southern sea). Korean J. Environ. Biol. 10(2): 92-99.
- 13) Pagano, G., M. Cipollaro, G. Corsale, A. Esposto, E. Ragucci and G.G. Giordano, 1985. PH-induced changes in mitotic and developmental patterns in sea urchin embryogenesis. II. exposure of sperm. Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 5: 113-121.
- 14) Dinnel, P.A., J.M. Link and Q.J. Stober, 1987. Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine water. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16: 23-32.
- 15) 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(1/3): 123-133.
- 16) Yu, C.M., 1997. Quality evaluation of off-shore water in Korea by bioassay using Korean marine invertebrates (sea urchins, sea stars). Ph. D. thesis, Chonnam National University, 89pp.
- 17) Environment Information Center, 1996, Environment A Yearbook, Env. In. Cen., 6: 533-586.