

TBT의 노출에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 생존, 성장 및 산소소비의 변화

강 주 찬, 황 운 기*, 지 정 훈

부경대학교 수산생명의학과

Changes of Survival, Growth and Oxygen Consumption in the Oliver Flounder, *Paralichthys olivaceus* Exposed to TBT

Ju-Chan Kang, Un-Gi Hwang* and Jung-Hoon Jee

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to examine the effects of bis (tributyltin)oxide (TBT), endocrine disrupting compounds (EDCs), on the changes of survival, growth and oxygen consumption rate in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*. Oliver Flounders were exposed to sublethal concentration of TBT (0, 1.67, 3.20, 6.30 and 12.50 µg/L) during 6 weeks. Survival rate was decreased in a concentration and exposure period-dependent way and suddenly the reduction of more than 20% occurred at TBT concentration greater than 3.20 µg/L after exposure 6 weeks. Growth rate and feed efficiency significantly decreased at concentration greater than 3.20 µg/L. Oxygen consumption rate was also decreased in a concentration-dependent way and significantly decreased to 17, 48 and 67% than that of the control at the TBT concentration of 3.20, 6.32 and 12.50 µg/L, respectively. This study revealed that high TBT concentration (≥ 3.20 µg/L) reduced growth and oxygen consumption rates of the juvenile oliver flounder suggesting potential influence on the natural mortality of *Paralichthys olivaceus* in the coastal areas.

Key words : Oliver flounder, TBT, EDCs, Survival rate, Growth rate, Oxygen consumption rate

서 론

최근 눈부신 합성 화학기술의 발전에 의해 실용화되어 사용되어지고 있는 합성 화학물질만도 10만 종류에 이르고, 이들 물질 중 70여 종이 환경 중에서 내분비 장애물질 (endocrine disrupting compounds, EDCs)로 행동하는 것으로 알려지고 있다

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: 051-620-6146, E-mail: ungi2222@yahoo.co.kr

(宮崎, 1999). EDCs는 동물체내에서 estrogen receptor와 결합해 생물이 본래 가지고 있는 호르몬과 유사한 작용을 함으로서 생식행동이나 생식기 등의 이상을 유발하는 물질 (Fingerman *et al.*, 1998; Steinmetz *et al.*, 1998; Hwang, 2002)로 야생동물은 물론 인간의 내분비에도 위협이 될 수 있다는 경각심으로부터 오존층파괴, 지구온난화 문제와 더불어 세계 3대 환경문제로 깊은 관심의 대상이 되고 있다. 합성 화학물질의 일종으로 선박, 그물 및 해양구조물의 부착생물 방지제로 널리 사용되고 있는

Tributyltin (TBT)는 산업활동이나 생활하수로부터 유입되는 다른 어떤 오염원보다도 해양생물에 미치는 영향이 클 것으로 사료된다. 실제로, TBT는 참굴, *Crassostrea gigas*의 폐각 기형 (Stephenson *et al.*, 1986)과 성장억제 (Stephenson *et al.*, 1991)를 유발하며 진주담치, *Mytilus edulis*의 성장속도 (Stephenson *et al.*, 1986)와 생존 (Beaumont and Budd, 1984)을 억제하는 것으로 보고될 뿐만 아니라 고등과 달팽이 등의 복족류에서 imposex를 유발하는 EDCs로 보고되고 있다 (Oehlmann *et al.*, 1998; Shim *et al.*, 2000). 패류는 어류나 다른 무척추동물에 비해 활동범위가 제한적이라는 면에서 연안 환경오염에 대한 지표종으로 널리 이용되어 왔지만, 최근의 급격한 연안 환경오염은 패류이외의 다른 생물에게도 큰 영향을 줄 것으로 사료되며, 생물종에 따라 오염원에 대한 독성의 영향은 차이가 있어 (De Listle and Roberts, 1988; Birregaard, 1990) 생물종에 따른 영향의 정도를 조사하는 연구가 시급하게 이루어져야 할 것으로 사료된다.

따라서, 본 연구는 연안정착 저서성 어류이며, 운동성이 적어 연안 환경오염에 쉽게 노출될 수 있을 뿐만 아니라, 우리나라의 대표적 양식어종으로 경제적 가치가 큰 넙치, *Paralichthys olivaceus*를 대상으로 TBT 노출에 따른 생존, 성장, 사료효율 및 산소 소비율의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

넙치, *Paralichthys olivaceus*를 남해안 소재의 양어장에서 분양 받아 실험실로 운반한 후, 300 L의 순환 여과식 수조에서 시중에서 판매되는 넙치용 부상사료(부상 2호, 제일사료 주식회사)를 공급하며, 30일간 순응시킨 후, 외관상 질병의 증세가 나타나지 않고 먹이 불임이 좋은 어류(전장 8.33 ± 0.05 cm, 체중 5.09 ± 0.11 g)를 선발하여 실험어로 사용하였다.

실험은 PVC 수조 ($52 \times 36 \times 30$ cm)를 이용해 순환식 방법으로 실시하였으며, 실험해수의 환수는 2일을 원칙으로 하였으나, 수질의 오염상태에 따라 수시로 교환하여 TBT 독성 이외의 다른 요인에 의한 영향을 최대한 배제하였다. TBT (bis(tributyltin) oxide, $C_{24}H_{54}OSn_2$, Fluka CO.)에 대한 노출농도는 예비 시험을 바탕으로 0, 1.67, 3.20, 6.30, 12.50

Table 1. Chemical components of the seawater used in the experiment of TBT exposure

Item	Value
Temperature (°C)	20 ± 0.3
Salinity (‰)	32.7
pH	8.2
Dissolved oxygen (mg/L)	7.1
NH ₄ ⁺ -N (μg/L)	88.1
NO ₂ ⁻ -N (μg/L)	1.4
NO ₃ ⁻ -N (μg/L)	25.2
PO ₄ ³⁻ -P (μg/L)	5.1
COD (mg/L)	0.98
SS (mg/L)	9.4
Fe (μg/L)	5.2
TBT (μg/L)	N.D.

N.D.: not detected

μg/L의 5 농도를 선정하였으며 대조구에는 용매인 아세톤과 희석수인 증류수의 일정량을 첨가해 6주간 노출하였다. 실험 기간동안 공급해수의 수온은 20 ± 0.3 °C를 유지하였으며, 실험에 사용한 해수의 성분은 Table 1과 같다. 사료의 공급은 상업용 넙치 사료를 하루에 두 번 체중의 3%를 2회로 나누어 공급하였다.

넙치의 생존, 성장, 사료효율 및 산소소비에 대한 TBT의 독성 영향은 6주간의 노출동안 1주일마다 조사하였다. 생존은 매 24시간을 기준으로 사망한 개체를 계수하였으며, 성장은 실험수조에 수용하기 전 실험어의 체중을, 사료효율은 체중과 섭취한 사료량을 측정하여 Kang *et al.* (1997)이 사용한 계산식에 의해 1주일마다 성장률과 사료효율을 계산하였다. 산소 소비율은 각 실험농도별로 6주간의 실험기간동안 매주 1회 생존한 5개체를 선별하여 측정하여, 단위건중당 산소소비량으로 나타내었다 (Kang *et al.*, 1995). TBT에 대한 넙치의 성장, 사료효율 및 산소소비의 변화는 1주일 간격으로 6번 측정된 평균값으로 나타내었으며, 실험결과는 one-way ANOVA (Fisher PLSD test)를 실시하여 Fisher's *r*-test를 행하였으며 $P < 0.05$ 에서 통계적 유의성을 판단하였다.

결 과

넙치는 6주간의 실험기간 동안 TBT를 첨가하지

않은 대조구에서는 사망개체가 전혀 나타나지 않아 100%의 생존율을 나타내었지만, TBT 노출 실험구에서는 농도와 노출기간이 증가할수록 생존율이 감소하는 경향을 나타내었다. 저농도인 1.67 µg/L의 농도구에서 6주간 노출된 넙치의 생존율은 90%로 비교적 높은 생존율을 나타내었지만 3.20, 6.30 및 12.5 µg/L의 농도구에서는 노출기간의 증가와 더불어 생존율이 6주 후에는 각각 79, 73 및 52%로 급격히 감소했다(Fig. 1).

성장율은 TBT가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 1.67 µg/L의 농도에서 대조구에 비해 4% 감소해 성장률이 16.0%를 나타내었지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 3.20, 6.30 및 12.50 mg/L의 농도구에서는 대조구에 비해 각각 30, 23 및 69% 감소해, 성장률이 각각 11.5, 12.7 및 5.0%를 나타내 유의적으로 감소하였다 ($P < 0.01$, Fig. 2).

사료효율은 TBT가 증가할 수록 감소하는 경향을 나타내고 있으며, 1.67 µg/L의 농도구에서 사료효율이 41.5%로 대조구에 비해 7% 감소하였지만 유의성은 없었다. 그러나, 3.20 µg/L에서는 35.1%의 사료효율을 나타냈으며 ($P < 0.05$), 6.30과 12.50 µg/L의 농도구에서는 대조구에 비해 각각 41과 57% 감소해, 사료효율이 26.3과 25.5%로 대조구에 비해 유의적으로 감소하였다 ($P < 0.01$, Fig. 3).

TBT 노출에 의해 변화된 넙치의 산소 소비율은

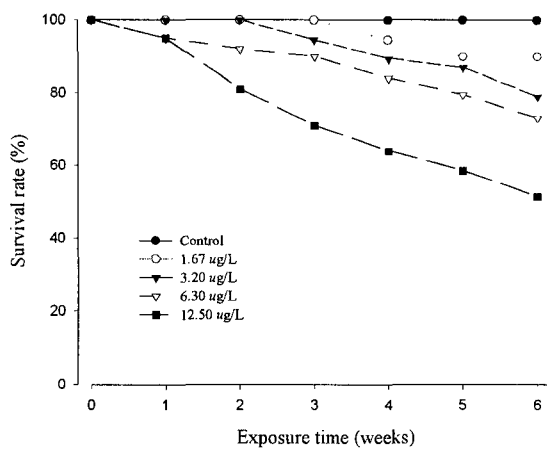


Fig. 1. Changes of survival rate in the Oliver Flounder exposed to sublethal concentrations of TBT for 6 weeks.

성장 및 사료효율과 비슷하게 TBT가 증가 할수록 감소하는 경향을 나타냈으며, 1.67 µg/L의 농도구에서 대조구에 비해 2% 감소해, 산소 소비율이 5.9 µl O₂/h/mg/dry weight를 나타내 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나, 3.20, 6.32 및 12.50 µg/L의 농

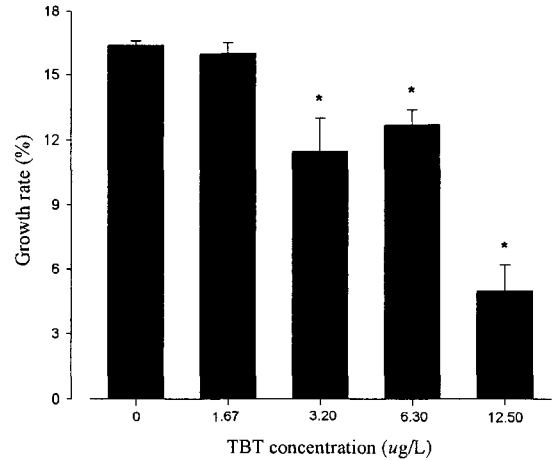


Fig. 2. Changes of growth rate in the Oliver Flounder exposed to sublethal concentrations of TBT for 6 weeks. Vertical bars represent the SE of the mean for five fish. * $P < 0.01$ for control (0 µg/L TBT).

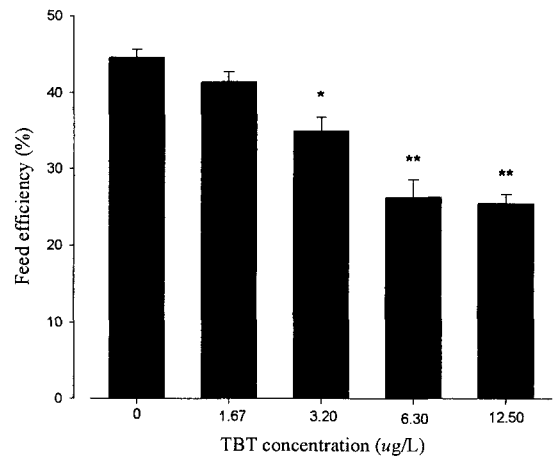


Fig. 3. Changes of feed efficiency in the Oliver Flounder exposed to sublethal concentrations of TBT for 6 weeks. Vertical bars represent the SE of the mean for five fish. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ for control (0 µg/L TBT).

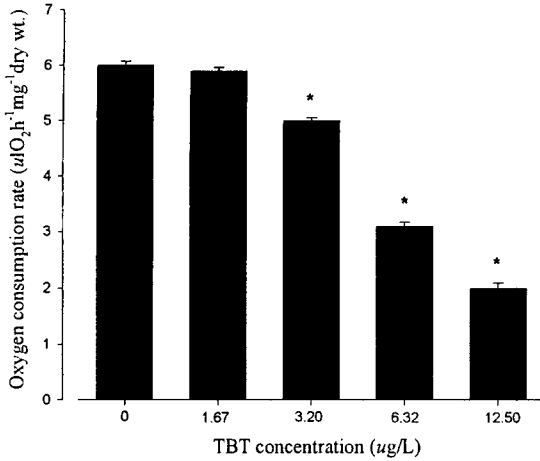


Fig. 4. Changes of oxygen consumption rate in the Oliver Flounder exposed to sublethal concentrations of TBT for 6 weeks. Vertical bars represent the SE of the mean for five fish. * $P < 0.01$ for control (0 $\mu\text{g/L}$ TBT).

도구에서는 대조구에 비해 각각 17, 48 및 67% 감소해, 5.0, 3.1 및 $2 \mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$ dry weight를 나타내 유의적으로 감소하였다 ($P < 0.01$, Fig. 4).

고 찰

TBT는 아주 낮은 농도(ppb)에서도 해양생물에 미치는 독성이 클 뿐만 아니라 어체 내에 빠르게 축적되어 폐사를 유발하는 것으로 알려져 있으며 (Jeffrey and Frank, 1987), 송사리, *Fundulus grandis*의 경우에는 1 ppm의 농도에서도 면역 및 생화학적 생체리듬이 파괴되 생존율이 감소되는 것으로 알려져 있다 (Rice and Xing, 2000). 독성에 대한 생물의 영향은 생물의 종과 생리적인 상태에 따라 차이가 있지만 (De Lisle and Roberts, 1988; Birregaard, 1990), 대부분 노출농도와 기간에 의존적으로 사망률이 증가하는 것으로 알려져 있다 (Cho *et al.*, 2001; Tak and Kim, 2001). 본 연구에서도 노출 6주 후 대조구에서는 100%의 생존율을 나타내었지만 노출농도와 기간이 증가할수록 생존율이 감소해 3.20 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 대조구에 비해 20% 이상의 생존율 감소를 나타냈으며, 가장 고농도인 12.5 $\mu\text{g/L}$ 에서는 48%의 감소를 나타내 노출

농도와 기간에 의존적으로 사망률이 증가하는 것을 알 수 있었다.

일반적으로 중금속 노출에 의한 어류의 사망 원인으로서는 상피조직의 손상으로 인한 호흡과 이온 조절 능력의 저하에 의한 것으로 알려져 있으나 (Wicklund-Glynn *et al.*, 1992; Waring *et al.*, 1996), 합성화학물질에 의한 어류의 사망 원인은 체내 축적을 통한 생체리듬의 파괴에 의한 것으로 알려져 있다 (Jeffrey and Frank, 1987; Rice and Xing, 2000). 산소 소비율은 외부 환경변화에 대한 대사율의 변동을 나타낼 뿐만 아니라 생체리듬의 변동을 나타내는 생리적 지표의 하나로 널리 사용되어지고 있다 (Kang *et al.*, 1995; Kim and Chin, 1995). 본 연구에서 산소 소비율은 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타냈으며, 6주 후 생존율이 대조구에 비해 21% 감소하는 3.20 $\mu\text{g/L}$ 에서 유의적인 차이를 나타내었다.

또한, 노출 농도의 증가에 의해 산소 소비율이 더욱 감소해 가장 고농도인 12.50 $\mu\text{g/L}$ 에서는 대조구에 비해 67%의 감소를 나타내었다. 따라서, 본 연구에서도 TBT 노출에 의한 넘치의 생존율 감소는 산소 소비율과 같은 생리적 기능 저하에 의한 것으로 사료된다.

Tak and Kim (2001)에 의하면 4개월 간 해수와 배합사료에 TBT를 처리한 모든 실험 군에서 넘치의 체중 및 전장은 느린 증가율을 나타냈다고 보고하였다. 본 연구에서도 유사하게 TBT 농도가 증가된 실험 구에서 성장률이 감소하는 경향을 나타냈으며 3.20 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구에서 유의적으로 감소했다. 본 결과에서 3.20 $\mu\text{g/L}$ 의 TBT에 노출된 넘치의 성장률보다도 고농도인 6.30 $\mu\text{g/L}$ 농도의 실험구에서 성장률이 다소 높게 나타났으나 이 둘 간은 통계적 차이가 없으므로 노출된 TBT 양의 증가에 따른 일시적인 증가로는 보여지지는 않는다. 성장과 밀접한 관련을 가지고 있는 사료효율 또한, TBT 농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며, 3.20 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에는 유의적인 차이를 나타내었다. 일반적으로 성장과 사료효율은 대사율과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려지고 있으며 (Kim and Chin, 1995), 본 연구에서도 성장과 사료효율은 산소 소비율과 비슷한 경향으로 TBT 농도가 증가할수록 감소하는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 넘치는 TBT에 의해 산소 소

비율과 같은 생리적 기능 저하로 생존 및 성장이 감소되는 것을 알 수 있었다. 6주간 노출된 모든 농도의 실험구에서 생존율이 감소하는 것으로 보아 TBT 독성은 낮은 농도일지라도 만성적으로 노출되었을 때 해양에서 다른 어떤 오염물질 보다는 해양생물에 미치는 영향이 클 것으로 사료된다. 따라서, 넙치 치어는 TBT 농도 3.20 µg/L 이상에 6주 이상 노출될 때, 성장 및 산소 소비율의 저하 등으로 인해 자연 사망률이 증가될 것으로 예상된다.

결 론

합성 화학물질의 일종으로 선박, 그물 및 해양구조물의 부착생물 방지제로 널리 사용되고 있는 Tributyltin (TBT)의 만성적 독성이 운동성이 거의 없으며 연안정착성 저서 어류인 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 생존, 성장 및 산소소비의 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 넙치는 0, 1.67, 3.20, 6.30 및 12.50 µg/L의 아치사 TBT 농도에서 6주간 노출되었다. TBT 농도와 노출기간이 증가할수록 생존율은 감소했으며 3.20 µg/L 이상의 농도에서 20% 이상의 급격한 생존율 감소를 나타내었다. 성장률과 사료효율도 TBT 농도가 증가할수록 감소해 3.20 µg/L 이상의 농도에서 현저하게 감소하였다 ($P < 0.05$). 또한, 산소 소비율도 TBT 농도가 증가할수록 감소 3.20, 6.32 및 12.50 µg/L 농도구에서 각각 대조구에 비해 17, 48 및 67%로 유의적인 차이를 나타내었다 ($P < 0.01$).

이 연구로부터 넙치의 성장과 산소 소비율을 감소시킨 TBT 농도 (3.20 µg/L)가 연안으로 유입될 경우, 연안지역에 서식하는 넙치 치어의 자연 사망률에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

Beaumont AR and Budd MD. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentration of tributyltin. *Mar. Poll. Bull.* 1984; 15 : 402-405.
 Birregaard P. Influence of physiological condition on cadmium transport from haemolymph to hepatopancreas in *Carcinus maenas*. *Mar. Biol.* 1990; 106 : 199-206.
 Cho KS, Min EY, Jee JH, Kim JW, Ahn CM and Kang JC.

Changes of inorganic matter and enzyme activity in the hemolymph of oyster, *Crassostrea gigas* Exposed to TBTO. *J. F. Pathol.* 2001; 14 (2) : 65-70.
 De Lisle PE and Roberts MH. The effects of salinity on cadmium toxicity to the estuarine mysid *Mysidopsis bahia* : role of chemical speciation. *Aquat. Toxicol.* 1998; 12 : 357-370.
 Fingerman M, Jackson NC and Nagabhushanam R. Hormonally-regulated function in crustaceans as biomarkers of environmental pollution. *Comp. Biochem. Physiol.* 1998; 120C : 343-350.
 Huggett RJ, Huger MA, Seligman PE and Valkirus OA. The marine biocide tributyltin : Assessing and managing the environmental risk. *Environ. Sci. Tech.* 1992; 26 : 232-237.
 Hwang UG. Effect of 2, 4-Dichlorophenoxy acetic acid on vitellogenin synthesis and E₂-ER binding affinity of hepatocytes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. of Aquacult.* 2002; 15 (1) : 31-37.
 Jeffrey WS and Frank P. Toxicity of tri-n-butyltin to chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, adapted to seawater. *Aquacult.* 1987; 61 : 193-200.
 Kang JC, Kim HY and Chin P. Toxicity of copper, cadmium and chromium on survival, growth and oxygen consumption of the mysid, *Neomysis awatschenis*. *J. Korean Fish. Soc.* 1997; 30 : 874-881.
 Kang JC, Matsuda O and Chin P. Combined effects of hypoxia and hydrogen sulfide on survival, feeding activity and metabolic rate of blue crab, *Portunus trituberculatus*. *J. Korean Fish. Soc.* 1995; 28 : 549-556.
 Kang SH. Bioaccumulation and stress effects of persistent toxic organic contaminants in marine bivalves and gastropods in Chinhae Bay. Ph.D. thesis, Seoul National University, 1995.
 Kim CH and Chin P. The effects of dietary energy/protein ratio and oxygen consumption, ammonia nitrogen excretion and body composition in juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.* 1995; 28 (4) : 412-420.
 Oehlmann J, Stroben E, Schulte-Dehlmann U and Bauer B. Imposex development in response to TBT pollution in *Hinia incassata*. *Aquat. Toxicol.* 1998; 43 : 239-260.
 Rice CD and Xing Y. Immune function, hepatic CYP1A and reproductive biomarker responses in the gulf killifish (*Fundulus grandis*), during dietary exposure to endocrine disrupters. *Mar. Environ. Res.* 2000; 50 : 163-168.
 Shim WJ, Kahng SH, Hong SH, Kim NS, Kim SK and Shim JH. Imposex in the rock shell (*Thais clavigera*), as evidence of organic contamination in the marine envi-

- ronment of Korea. Mar. Environ. Res. 2000; 49 : 435-451.
- Steinmetz R, Brown NG, Allen DL, Bigsby RM and Ben-Jonathan N. The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *vivo*. Endocrinol. 1998; 138 : 1780-1786.
- Stephenson MD. A field bioassay approach to determining tributyltin toxicity to oysters in California. Mar. Environ. Res. 1991; 32(1) : 51-59.
- Stephenson MD, Smith DR, Goetzl J, Ichikawa G and Martin M. Growth abnormalities in mussels and oysters from areas with high levels of tributyltin in San Diego Bay. Ocean '86 Conference Record, Science-Engineering-Adventure. Organotin Symposium, 1986.
- Tak KT and Kim JK. The effect of TBT toxicity on survival and growth of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Korean Fish. Soc. 2001; 34(2) : 103-108.
- Waring CP, Brown JA, Collins JE and Prunet P. Plasma prolactin, cortisol and thyroid responses of the brown trout, *Salmo trutta*, exposed to lethal and sublethal aluminium in acidic soft waters. Gen. Comp. Endocrinol. 1996; 102 : 377-385.
- Wicklund-Glynn A, Norrgren L and Malmberg O. The influence of calcium and humic substances on aluminium accumulation and toxicity in the minnow, *Phoxinus phoxinus*, at low pH. Comp. Biochem. Physiol. 1992; 102C : 427-432.
- 宮崎 泰之. 内分泌かく亂化學物質データ集. 東京都立衛生研究所, 1992.