

## 미세조류, *Skeletonema costatum*의 성장에 미치는 유기주석 화합물들의 급성 및 만성 독성효과

함경훈 · 김무상 · 이형호\*  
부경대학교 생물공학과

## The Acute and Chronic Toxicity Effects of Triorganotins on the Growth of Microalgae, *Skeletonema costatum*

Kyung-Hoon HAHM, Moo-Sang KIM and Hyung-Ho LEE\*  
Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University,  
Busan 608-737, Korea

The use of triorganotins as insecticides, bacteriocides, and antifouling agents has increased dramatically over the past 30 years. In this paper, to evaluate the acute and chronic toxicity effects of various triorganotins (TBTO, TBTF, CTPT, TBTCI) on the growth of microalgae, *Skeletonema costatum*, we carried out the short term and long term experiments, respectively. In the short-term experiments, the growth of *S. costatum* was inhibited by the various triorganotins in the dose dependent manners, but recovered by the time laps. The growth inhibition of triorganotins were decreased in the groups with higher initial cell density. These data were resulted from the dilution effect and the biodegradation of triorganotins by the microalgae. In the long-term experiments, *S. costatum* died completely at the 1 µg/L of TBTF and CTPT, but didn't in short-term experiments. The facts suggest that the toxicity of the chronic exposure of triorganotins should be increased in the natural sea water with low phytoplankton density.

Key words: Triorganotins

### 서 론

유기주석화합물은 polymer 합성시 radical을 가지는 촉매제, 안정제 등의 중간 반응물 등으로 산업계에 널리 사용되고 있으며, biocide로써도 잘 알려져 있다. 이러한 유기주석화합물은 1960년대 이후부터 선박 및 해양 가두리 양식장의 방오제로 광범위하게 사용되어 왔다 (Wong et al., 1982). 비교적 독성이 낮은 화합물이나 중치환 유기주석화합물 보다는 훨씬 독성이 큰 것으로 알려져 있는 삼중치환 유기주석화합물이 방오도로에 많이 이용되고 있으며, 여기에는 bis (tributyltin) oxide (TBTO), tributyltin fluoride (TBTF), chlorotriphenyltin (CTPT), tributyltinchloride (TBTCI) 등이 있다 (Cooney and Wuretz, 1989).

Tributyltin (TBT)에 의한 해양오염의 예는 여러 가지가 있는데, 영국 동부해안이나 항만에서의 TBT농도가 0.1~2.0 µg/L에까지 이르는 것으로 밝혀진바 있으며 (Waldock and Miller, 1983), Ebdon et al. (1985)의 보고에 의하면 Plymouth항에서의 TBT농도는 0.5 µg/L 정도인 것으로 나타났다. 유기주석화합물은 그 특성상 해양 퇴적물과 부유입자에 강하게 결합하는데 (Maguire, 1984; Maguire et al., 1982), 그 농도가 높을 경우 저서생물에 끼치는 영향은 심각하다고 할 수 있다. 그 예로 고농도의 TBT는 굴 종류에서 느린 성장과 껍질의 기형을 유발한다는 보고도 있다 (Waldock and Thain, 1983). 또한 Beaumont and Budd (1984)의 보고에 의하면 홍합류인 *Mytilus edulis*의 veliger 유생을 0.3 µg/L TBTO에서 15일 처리한 결과에서 높은 치사율을 보였으며, U'ren

(1983)은 0.4 µg/L의 TBTO에서 요각류인 *Acartia tonsa*가 6일 경과 후에 증대한 영향을 받음을 보고하였다.

하지만 이러한 굴이나 홍합, 요각류 등이 직접적으로 유기주석 화합물에 노출되었을 때뿐만 아니라, 이들이 이용하는 가장 주요한 먹이 자원이 식물성플랑크톤이라는 점에 주목할 때 유기주석 화합물에 의한 성장을 감소에 따른 먹이량의 감소 또한 고려하여야 한다. 또한, 더욱 중요한 점은 식물성플랑크톤이 해양 먹이망의 기초를 이루고 있음을 감안할 때 저농도의 유기주석화합물이 먹이 연쇄를 통해 그 함량이 늘어가는 것에 대한 연구가 요구되며, 궁극적으로 인간에게 미치는 영향까지를 고려하여야 한다.

실제로 여러 배양 동물세포 등에서 유기주석화합물의 독성이 보고된 바가 있는데, human lymphocyte에서 방추사 기능에 영향을 주어 염색체수 이상의 위험성을 증가시키는 경우와 (Jensen et al., 1991a; Jensen et al., 1991b), CHO K1 세포에서 염색체의 이상을 일으키는 경우가 관찰되었다 (Sasaki et al., 1993). 배양된 생쥐비장세포에서는 DNA합성이 저해되고, 세포생육력 (cell viability)이 낮아지는 현상이 관찰되었다 (Al-Imara et al., 1993). 또한 배양된 V79 chinese hamster 세포에서는 DNA와 상호작용하여 돌연변이를 일으키며 (Westendorf and Marquardt, 1986), trimethyltin이 설치류와 사람의 중추신경계에 신경독성물질 (neurotoxicant)로 작용할 수 있다는 보고도 있었다 (Toggas et al., 1992). 그 외에도 쥐의 흉선, 골수, 적혈구에 세포독성을 끼친다는 보고 (Snoeij et al., 1986c) 등, 많은 종류의 유기주석화합물이 여러 가지 방식으로 생물에 영향을 끼친다는 사실이 알려져 있다.

방오도로에 포함되는 유기주석화합물은 직접 해수와 접촉하여 서서히 녹아나오기 때문에 공장 등에서 방출되는 폐수와는 달리

\*Corresponding author: hyunghl@pknu.ac.kr

중간 정화가 불가능하며, 사용즉시 해양을 오염시킨다는데 큰 문제가 있다. 따라서 그 해결책은 그 유독성을 밝혀 규제하거나, 독성이 없거나 낮은 대체물질을 개발하는 것이다.

프랑스, 영국 등지에서는 여러 지역을 대상으로 해양생태계의 TBT의 독성을 조사하여 환경오염의 한계를 정해 법률적으로 사용을 제한하고, 실제로 해양환경에서 지속적으로 감시를 통하여 TBT감소의 효과를 보았다 (Waite et al., 1991; Valkirs et al., 1991).

이러한 유기주석화합물의 유독성에도 불구하고 국내에서는 아직 이에 대한 기초 연구가 많이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 그래서 여기서는 몇 가지 triorganotin이 식물성 플랑크톤의 한종인 *Skeletonema costatum*에 끼치는 영향을 단기 그리고 장기 독성실험으로 수행하여 급성 및 만성 독성효과를 조사하였다. 또한 접종 세포 농도의 변화에 따라 나타나는 여러 triorganotin의 독성의 차이에 대해서도 고찰하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 사용균주

*Skeletonema costatum* NFUP D-24를 사용하였는데, 부경대학교 미세조류은행에서 분양 받았다.

### 2. 독성물질

Tributyltin fluoride (TBTF), tributyltin chloride (TBTCI), bis(tributyltin) oxide (TBTO), chlorotriphenyltin (CTPT)을 사용하였으며, Aldrich chemical company로부터 구입하였다.

### 3. 배지의 조제

사용된 배지는 'F/2' 배지이다 (Guillard and Ryther, 1962). 이때 배지에 사용된 해수는 Whatman filter paper로 여과 처리하였고, 각 배지 성분들은 stock solution으로 준비해두었다가 배지 조제 직전에 해수에 첨가하여 filter로 제균하여 사용되었다. 또한 배양 시 미생물의 과도한 번식을 억제하기 위하여 ampicillin, streptomycin 그리고 penicillin G를 각각 20 µg/mL, 10 µg/mL, 10 µg/mL의 농도로 첨가하였다.

### 4. 배양 방법

배양은 50 mL tube에 20 mL의 배양액을 채워 사용하였으며, rotary incubator로 약 60 rpm으로 회전시켜 혼합시켜 주었다. 조도는 5,000 lux, 온도는 20 ± 1°C로 고정시켰고, 접종밀도는 1 mL당 1 × 10<sup>3</sup>, 1 × 10<sup>4</sup>, 그리고 1 × 10<sup>5</sup> 세포가 되도록 하였으며, 각 실험군은 3배수로 행하였다.

### 5. Triorganotin의 처리 농도

Triorganotin의 처리농도는 배양액 내에서 단기 독성실험의 경우 0.1, 0.5, 2.5 µg/L가 되도록 처리하였으며, 장기 독성실험의 경우 0.1 µg/L, 1.0 µg/L로 하여 처리하였다. Methanol을 용매로 하여 1 mg/mL (w/v)의 stock solution을 만들었고, 이것을 증류수로

1 µg/L로 다시 희석시킨 후 배양액에 첨가하여 사용하였다. Stock solution은 -20°C에서 보관하였다.

### 6. 성장 측정

성장의 측정은 optical density, chlorophyll a 함량 그리고 Neubauer 혈구 계산판으로 계수하여 측정하였다. Optical density의 측정은 시료하여 즉시 750 nm의 파장에서 행하였다. Chlorophyll a의 측정은 2 mL의 시료를 채취하여 neutral formalin에 고정한 후 12,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 상층액을 제거한다. 동량 (2 mL)의 90% acetone을 넣어 24시간 보관 후 다시 12,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액만을 채취한 후 665, 645, 그리고 630 nm에서 색소의 흡광도를 측정하였다. Chlorophyll a의 함량은 Parsons and Strickland (1963)의 방법에 따라 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll a} = 11.6D_{665} - 1.31D_{645} - 0.14D_{630} \quad (\text{mg/m}^3)$$

세포수의 계산은 채취된 시료를 즉시 동량의 Lougol 용액으로 고정한 후 각각을 4회에 걸쳐 계수하여 평균을 구하였다.

### 7. 급성 독성실험-단기 독성실험

접종농도가 1 × 10<sup>5</sup> cells/mL, 1 × 10<sup>4</sup> cells/mL, 1 × 10<sup>3</sup> cells/mL이 되게 접종한 후, 접종세포군이 정지기 (stationary phase)가 될 때까지 1일 1회 성장을 측정하였다. 실험에 사용한 균주의 경우 접종 6일째 이전에 정지기에 이르렀으므로, 6일째까지의 결과를 급성 독성효과로 처리하였다. 실험 중간에 다른 부가적인 배지의 첨가는 이루어지지 않았다.

### 8. 만성 독성실험-장기 독성실험

TBTF와 CTPT 0.1 µg/L, 1.0 µg/L의 농도에서 접종농도 1 × 10<sup>5</sup> cells/mL로 수행하였다. 매일 기존의 세포가 포함된 배양액 5 L을 새로운 배지 15 mL에 접종하여 총 20 mL의 배지에서 배양하였으며, 1일 1회 새로운 배지 첨가전에 성장을 측정하였다. 실험군 균주의 생존율을 계속 측정하였을 경우 16일째에 이르기 전에 완전히 회복되거나 완전히 사멸하였으므로, 이때까지의 결과를 만성 독성효과로 처리하였다. 새로운 배양액에는 이전 배양에서 처리한 것과 동일한 triorganotin을 동일한 농도로 처리하였다.

## 결 과

### 1. Optical Density, Chlorophyll a 함량 그리고 세포수 사이의 상관관계

Optical Density와 Chlorophyll a 함량 그리고 세포수 사이에는 이것들을 세포수로 환산하였을 때 뚜렷한 상관관계를 보여주었고, 따라서 이후의 실험에서는 성장정도를 OD 값만으로 나타내었다 (Fig. 1).

### 2. 급성 독성효과-화학물질 종류별 및 접종세포 농도별 효과

Fig. 2는 CTPT를 농도별로 처리하였을 때 나타나는 전형적인

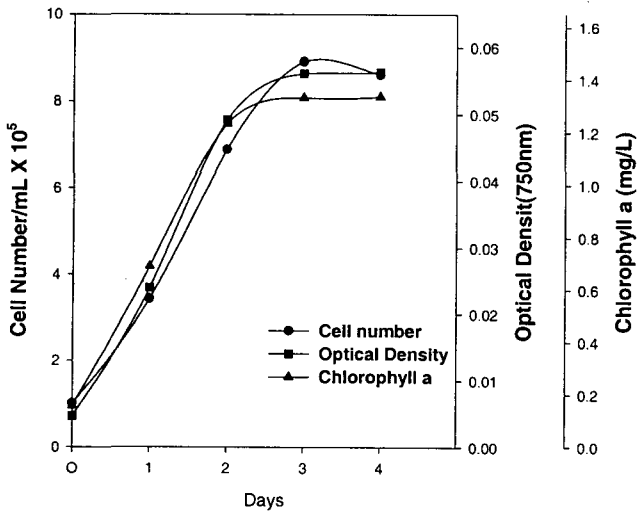


Fig. 1. Relationship among the cell number, chlorophyll a content and optical density. The growth of cells was monitored by the counting of cell number and the measuring an absorbance at 750 nm. The content of chlorophyll a was calculated from the following equation. Chlorophyll a = 11.6OD<sub>665</sub> - 1.31OD<sub>645</sub> - 0.14OD<sub>630</sub> (mg/m<sup>3</sup>). All experiments were done in triplicate (Fig. 1~Fig. 7).

성장곡선을 보여준다. Fig. 2의 결과를 포함한 모든 결과들은 3일째부터의 대조군에 대한 상대적인 성장률로 표시하여 나타내었다.

접종농도  $1 \times 10^5$  cells/mL에서는 성장을 완전히 저해한 농도는 없었다 (Fig. 3, 4, 5, 6).  $2.5 \mu\text{g/L}$  처리군에서 CTPT에서는 3일째까지 77% 성장저해가 있었고, 6일째까지 85%의 성장저해로 강한 독성을 보여준 반면 (Fig. 3-C), TBTO, TBTCI, TBTF에서는 3일째까지는 대조군 성장률에 비하여 20~40% 미만의 성장률을 보이는 상당한 성장저해가 나타났지만, 6일째에서는 대부분 약 80% 이상의 성장 회복을 보여, 약간의 성장저해만을 보였다 (Fig. 4-C; Fig. 5-C; Fig. 6-C).  $0.5 \mu\text{g/L}$  처리군과  $0.1 \mu\text{g/L}$  처리군은 3일째와 6일째 모두에서 별다른 성장의 저해가 나타나지 않았고, TBTF의  $0.5 \mu\text{g/L}$  처리군에서만 대조군 성장률에는 못 미치는 약 90% 만큼의 성장을 보였으나, 나머지 처리군에서는 오히려 대조군보다 높게 나타났다 (Fig. 3-A, B; Fig. 4-A, B; Fig. 5-A, B; Fig. 6-A, B).

접종농도  $1 \times 10^4$  cells/mL에서는  $2.5 \mu\text{g/L}$  처리군 모두에서 성장을 완전히 저해하였으며,  $0.5 \mu\text{g/L}$  처리군에서는 TBTF와 CTPT 처리군에서 3일째까지 대조군 성장률에 비하여 약 70% 미만의 성장률을 보여 상당한 성장저해 효과를 본 반면, 6일째에는 모든 처리군의 성장이 대조군보다 오히려 높게 나타났다 (Fig. 3, 4, 5, 6).

접종농도  $1 \times 10^3$  cells/mL에서는  $2.5 \mu\text{g/L}$  처리군에서는  $0.5 \mu\text{g/L}$  처리군과 동일하게 모든 triorganonion 처리군에서 성장저해를 보였으나, 6일째에서는 TBTO와 TBTCI의 경우에는 상당한 성장 회복이 나타나, 17%와 31%의 성장 저해를 보였다 (Fig. 5, 6). 반면에 CTPT와 TBTF에서는 6일째까지 59%와 70%의 높은 성장저해가 나타났다 (Fig. 3, 4).  $0.1 \mu\text{g/L}$  처리군의 경우 TBTCI과 TBTF에서 3일째까지의 경우 약 10% 미만의 성장을 보여, 상당한

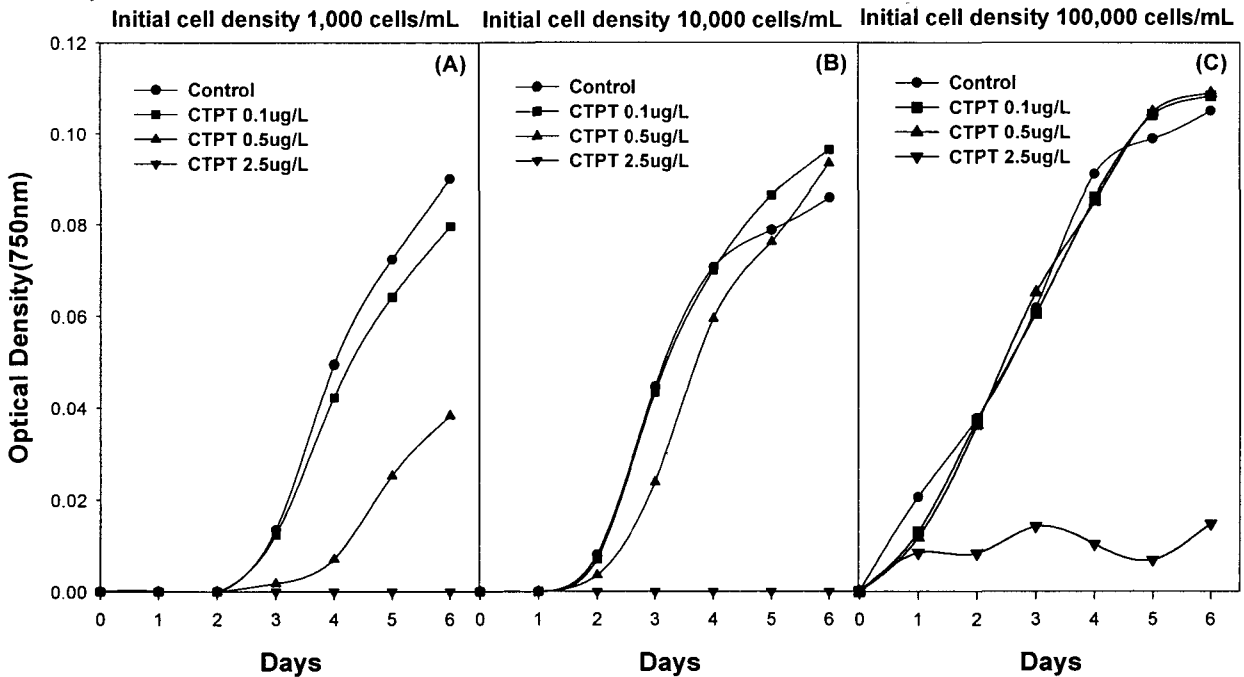


Fig. 2. Relation between CTPT concentration and growth inhibition as function of initial cell density. The cells with various cell density were incubated with each concentration of CTPT as  $0.1 \mu\text{g/L}$  (■),  $0.5 \mu\text{g/L}$  (▲),  $2.5 \mu\text{g/L}$  (▼) or absence (Control, ●) for 6 days. (A), initial cell density 1,000 cells/mL; (B), initial cell density 10,000 cells/mL; (C), initial cell density 100,000 cells/mL. The growth of cells was monitored by measuring an absorbance at 750 nm and determined by using the same conditions as described in Materials and Methods (Fig. 2~Fig. 7).

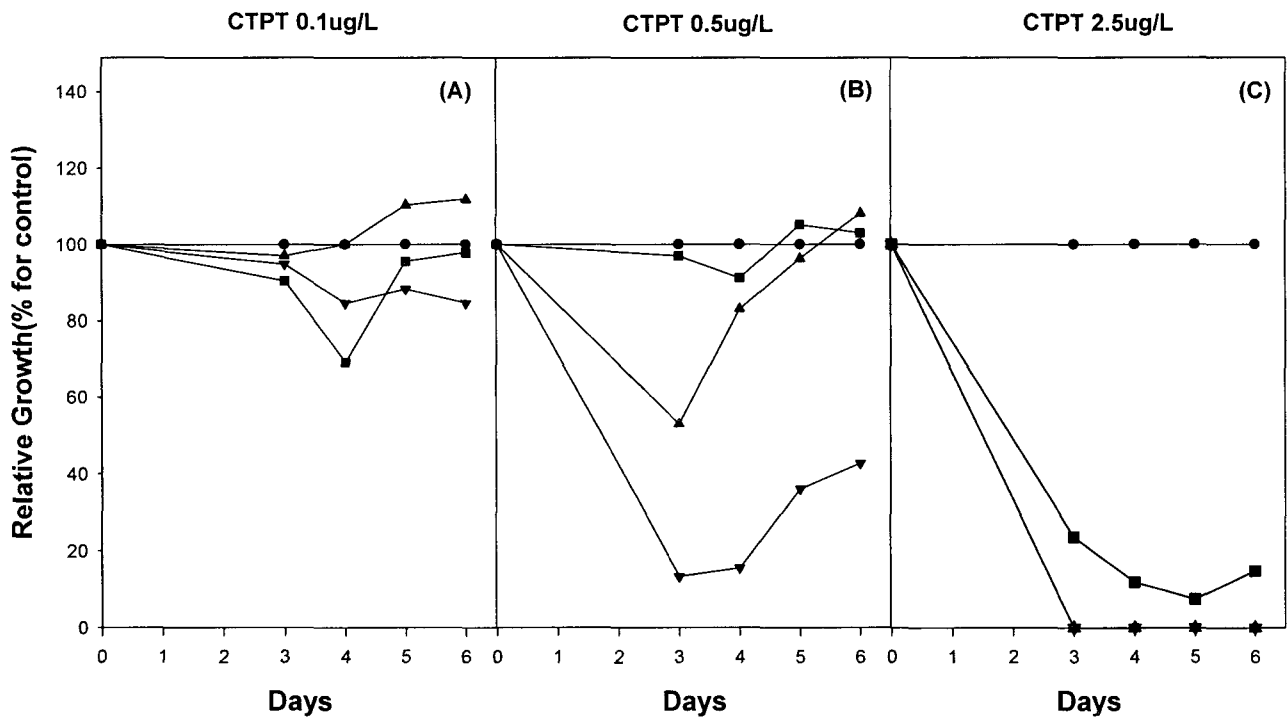


Fig. 3. Effects of CTPT on the growth of *S. costatum* at various initial cell density. *S. costatum* cells were incubated with each concentration of CTPT as 0.1 µg/L (A), 0.5 µg/L (B) or 2.5 µg/L (C) for 6 days. The relative growth was calculated from the following equation (Fig. 3~Fig. 7). The relative growth (%)=(the OD of experimental group/the OD of control)×100. Control as ●, 100,000 cells/mL as ■, 10,000 cells/mL as ▲, 1,000 cells/mL as ▼, are shown.

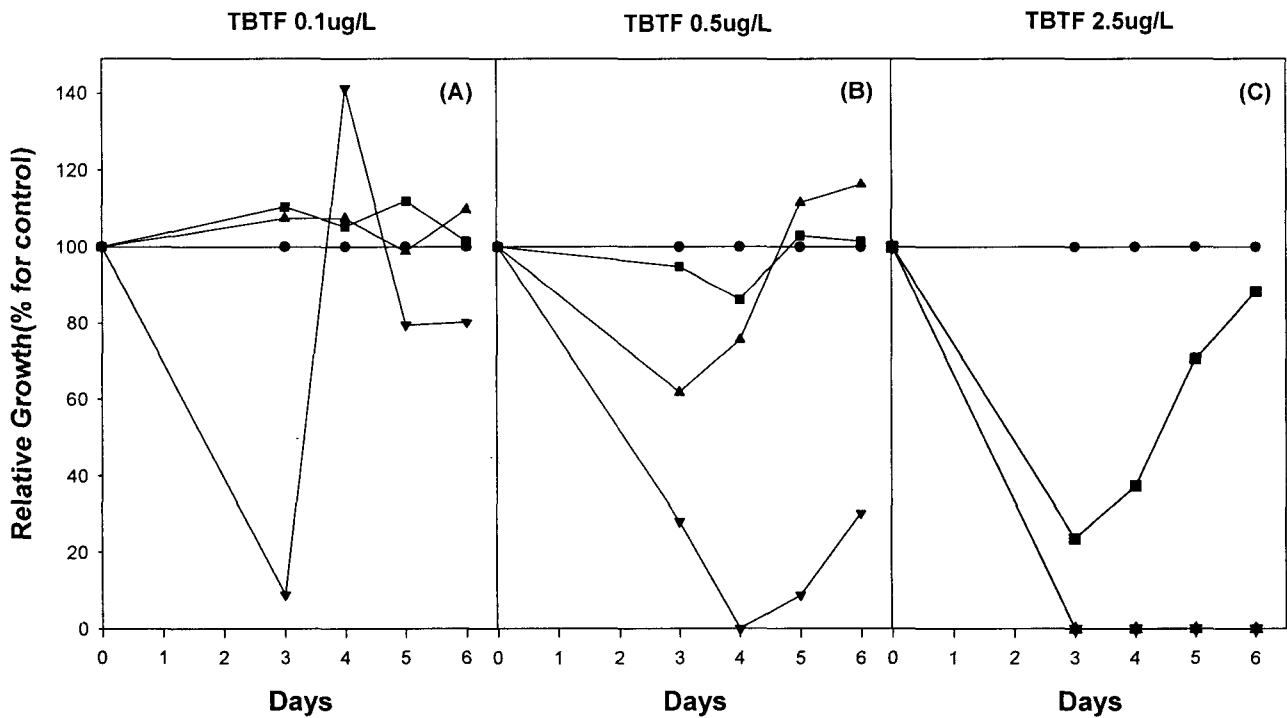


Fig. 4. Effects of TBTF on the growth of *S. costatum* at various initial cell density. *S. costatum* cells were incubated with each concentration of TBTF as 0.1 µg/L (A), 0.5 µg/L (B), or 2.5 µg/L (C) for 6 days. Control as ●, 100,000 cells/mL as ■, 10,000 cells/mL as ▲, 1,000 cells/mL as ▼, are shown.

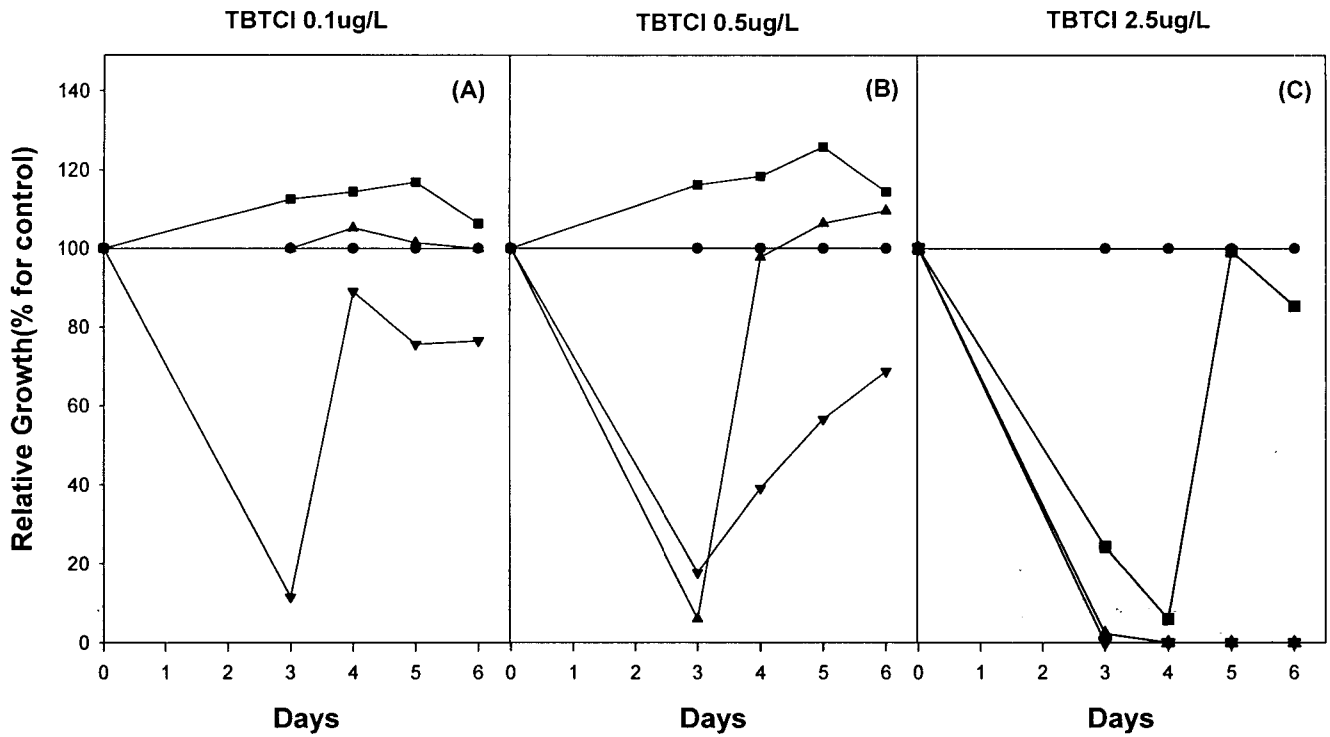


Fig. 5. Effects of TBTCI on the growth of *S. costatum* at various initial cell density. *S. costatum* cells were incubated with each concentration of TBTCI as 0.1 µg/L (A), 0.5 µg/L (B), or 2.5 µg/L (C) for 6 days. Control as ●, 100,000 cells/mL as ■, 10,000 cells/mL as ▲, 1,000 cells/mL as ▼, are shown.

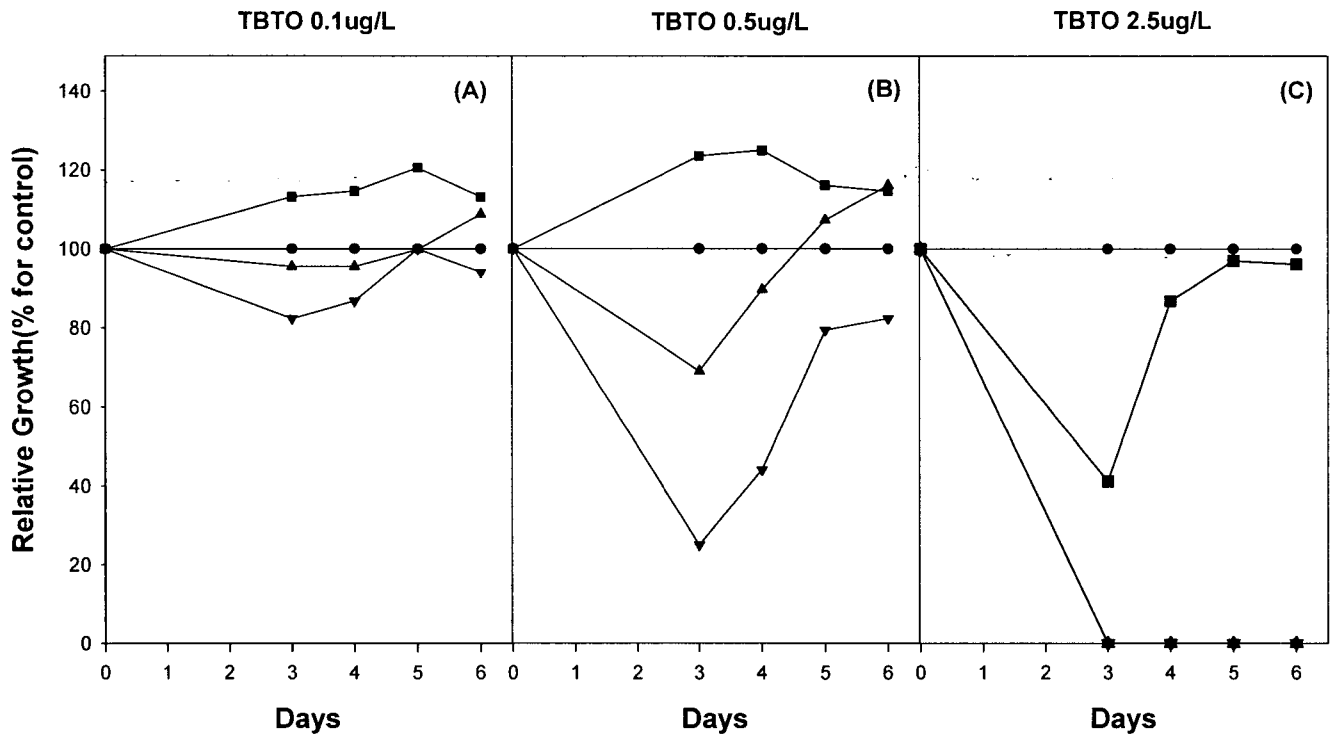


Fig. 6. Effects of TBTO on the growth of *S. costatum* at various initial cell density. *S. costatum* cells were incubated with each concentration of TBTO as 0.1 µg/L (A), 0.5 µg/L (B), or 2.5 µg/L (C) for 6 days. Control as ●, 100,000 cells/mL as ■, 10,000 cells/mL as ▲, 1,000 cells/mL as ▼, are shown.

성장저해가 일어났지만, 6일째에서는 상당한 회복을 보여 대조군의 성장률과 비교하여 4~24%의 성장저해가 일어났음을 보여준다 (Fig. 4, 5).

대조군에 대한 상대적인 백분율로 나타낸 상대적 성장에 대한 그래프는 동일처리 농도에서 접종세포농도가 바뀌었을 때 나타나는 독성효과의 차이를 명확하게 보여주었다. 동일한 유기주석화합물 처리농도에서 플랑크톤의 접종농도가 낮을수록 초기 성장저해가 많이 일어났다. 성장을 완전히 저해되지 않을 정도의 농도 초기성장 저해 이후 대략 3일째 이후부터 뚜렷한 성장의 회복을 보여주었다.

3. 만성 독성효과

매일 배지를 갈아주는 장기 독성실험 결과, TBTF와 CTPT 0.1 µg/L 처리군에서는 눈에 띄는 성장의 저해가 나타나지 않았다. 1.0 µg/L 처리군에서는 처리후 1일째부터 성장의 저해가 나타나기 시작했으며, 3일 이후부터는 지속적인 성장의 감소를 보여 약 13일에서 완전히 사멸하였다. 단기 독성 실험에서 1 µg/L를 처리하였을 때 나타나는 급격한 성장의 회복은 관찰되지 않았다 (Fig. 7).

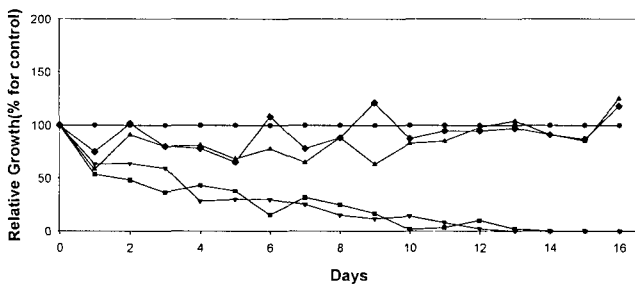


Fig. 7. Long-term effect of TBTF and CTPT on the growth of *S. costatum*. The cells were incubated with TBTF (1.0 µg/L, 0.1 µg/L) or CTPT (1.0 µg/L, 0.1 µg/L) for 16 days and the growth of cells was determined by using the conditions as described in Materials and Methods. Control as ●, TBTF 1.0 µg/L as ■, TBTF 0.1 µg/L as ▲, CTPT 1.0 µg/L as ▼, CTPT 0.1 µg/L as ◆, are shown.

고 찰

Triorganotin에 의한 미세조류의 성장 저해에 대한 연구는 여러 차례 보고된바 있다. Walsh et al. (1985)에 의하면 *S. costatum*과 *Thalassiosira pseudonana*가 각각 TBTO 0.33 µg/L와 1 µg/L의 농도에서 그 성장이 저해되었으며, 48hLC<sub>50</sub>은 TBTO농도 14.2 µg/L로 나타났다. Beaumont and Newman (1986)에 의하면 0.1 µg/L의 TBTO에 의해 *Pavlova lutheri*, *Dunaliella tertiolecta* 그리고 *S. costatum*의 성장이 저해되었으며, 5 µg/L에서는 2일 안에 사멸되었다. Thain (1983)의 보고에서는 TBTO 18 µg/L 이상의 농도에서 5일 이내에 *S. costatum*을 사멸시켰다.

본 연구의 결과에서 TBTO에 의한 성장의 저해는 접종농도 1×10<sup>5</sup> cells/mL에서는 2.5 µg/L 처리군에서도 3일째까지는 59%의 성

장저해가 일어났다. 반면 6일째에서는 거의 저해효과를 가지지 못했다 (Fig. 3-C). 하지만, 접종농도를 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 하였을 때는 100%의 성장저해를 일으켰다 (Fig. 3-C). 0.5 µg/L 이하의 농도에서는 오히려 대조군보다 높은 성장을 보였다. 이는 Beaumont and Newman (1986)의 보고에서 보다는 다소 높은 농도에서 저해되는 것으로 나타났으나, Thain (1983)이나 Walsh et al. (1985)의 보고에 비해서는 오히려 더 낮은 농도에서 성장저해가 관찰되었다. 하지만 접종농도 1×10<sup>4</sup> cells/mL 이하에서는 Beaumont and Budd (1984)이 보고한 5 µg/L에서 완전 사멸되었다는 보고에 비하여 더욱 낮은 농도인 2.5 µg/L에서 *S. costatum*이 사멸되었으며, 이는 해수 중에 존재하는 플랑크톤의 밀도가 독성물질의 작용농도에 얼마나 중요한가를 보여준다. 이처럼 여러 보고에서 식물성 플랑크톤의 triorganotin에 대한 민감성의 차이가 나타나는 가장 큰 이유는 실험적인 조건의 변화에 따라 나타나는 현상일 가능성이 가장 높다.

본 연구에서 나타나는 또 하나의 특이한 현상은 저농도 즉, 식물성 플랑크톤이 완전히 사멸되지 않는 triorganotin의 농도에서는 성장이 회복되면서 오히려 대조군보다 약간 높은 정도의 최대세포밀도를 보여주는 현상인데, 이는 많은 다른 독성물질에서와 같이 저농도의 triorganotin이 growth hormesis를 일으킨 것으로 보여지며 (Stebbing, 1985), 이러한 현상은 Beaumont and Newman (1986)의 보고에서도 관찰되었다.

본 연구에서는 TBTO뿐만 아니라 TBTCI, TBTF, CTPT의 독성이 측정되었는데, CTPT의 경우 접종농도 1×10<sup>5</sup> cells/mL, 2.5 µg/L 처리군에서 6일째에 85%의 성장저해를 일으켰으며, 이는 본 연구에서 나타난 다른 triorganotin에 비하여 비교적 높은 독성정도를 보여주었다 (Fig. 3-C). 이는 Wong et al. (1982)에 의해 보고된 바와 같이 유기주석화합물의 독성과 구조와의 관계에 대한 결과와도 일치함을 보여준다.

*S. costatum*의 triorganotin에 대한 민감성이 접종농도에 따라 차이가 나타나는 가장 큰 이유는 triorganotin의 소수성 성질이 크게 작용할 수 있을 것이다. 앞에서 언급했던 것처럼 여러 유기주석화합물은 수중의 퇴적물이나 부유입자에 강하게 부착한다 (Maguire, 1984; Maguire et al., 1982). 그리고 짧은 시간 내에 식물성 플랑크톤에 소수적으로 부착되어 축적된다는 보고도 있었다 (Chiles et al., 1989). 이것으로 보아 triorganotin의 소수적 결합이 이 연구에서 나타난 것과 같이 접종농도가 높으면 분산되는 효과를 나타낸다고 생각되며, 이러한 사실은 단기 독성실험 후반기에 상당한 성장저해를 받았던 처리군에서 성장이 회복되는 양상도 설명이 가능하다.

유기주석화합물 특히 triorganotin은 생체막에 손상을 주는 것으로 보고되고 있다 (Snoeij et al., 1986a, b). 이러한 성질은 human lymphocyte를 저장액처리에 민감하게 하여 aneuploidy를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 뿐만아니라, 유기주석화합물이 미세조류와 fungi의 미토콘드리아 (mitochondria)와 엽록체 (chloroplast)에 미치는 영향은 이미 알려져 있다. 그 작용양식은 막의 투과성을 높이는 ionophore로 작용하여 세포의 팽창을 일으키며, ATP synthase와 hydrolase system 등에 작용하여 에너지 합성경로를 차단

하는 것으로 알려져 있는데, 이 또한 유기주석화합물의 소수적 성질이 크게 작용하는 것으로 생각된다 (Cooney and Wuretz, 1989).

식물성 플랑크톤의 triorganotin에 대한 민감성이 집종농도에 따라 다르게 나타나는 것에 대한 또 다른 하나의 이유가 될 수 있는 것은 식물성 플랑크톤에 의해 triorganotin이 생분해된다는 여러 보고에서 찾을 수 있다. 햇빛의 존재하에서 규조나 와편모조류가 triorganotin을 주로 hydroxybutyltin과 dibutyltin 등과 같은 독성이 적은 물질로 바꾼다는 보고도 있었으며 (Lee et al., 1989), 또한 green alga, *Ankistrodesmus falcatus*가 TBT를 di-n-butyltin과 적은 양의 butyltin으로 변환시킨다는 연구결과도 있었다 (Maguire et al., 1984). 이와 같이 세포의 밀도가 높아짐에 따라 독성이 낮아지는 효과는 희석효과 및 대사분해 효과라고 설명할 수 있다.

이것으로 보아 여러 다른 중금속을 비롯한 오염독성물질들에서도 이와 유사한 양상의 성장저해가 나타날 것으로 생각되며, 실제로 copper와 TBT에 대하여 집종농도에 따른 성장변화에 대한 몇몇 보고가 있었다 (Stemann-Nielsen and Wium-Andersen, 1970; Florence and Stauber, 1986; Thomas and Robinson, 1987). 하지만 부분적인 결과였을 뿐이고, 특히 여기에서 나타난 바와 같은 실험 후반기의 급격한 성장회복에 대해서는 언급되지 않았다. 이러한 성장회복은 *S. costatum*과 같은 식물성 플랑크톤에서 TBT 계열의 화합물들을 좀 더 독성이 낮은 물질로 분해하는데 관여하는 효소계가 TBT에 의해 유도됨을 의미한다 (Fig. 3-6). 그러나 이렇게 유도된 효소계가 할지라도 실제 해양환경에서 자주 관측되는 1 µg/L 농도의 유기주석화합물을 분해하는데는 부족하다는 것을 알 수 있다 (Fig. 7).

단기 독성실험에서는 독성물질의 부가적인 첨가가 이루어지지 않았다. 그러므로 배양액내의 독성 물질의 농도는 세포들에 소수적으로 부착되거나, 분해되어 계속적으로 낮아지게 된다. 하지만 본 논문에서의 장기 독성실험에서는 매일 일정량의 독성물질을 함유한 새배양액을 첨가하여 부분적으로 독성물질의 농도를 유지시킨 상태로 실험을 행하였다. 장기 독성실험에서는 단기 독성실험에 사용된 triorganotin중 비교적 독성이 강한 것으로 나타난 TBTF와 CTPT의 농도 0.1 µg/L와 1.0 µg/L에서 행하였다. 결과에서 TBTF와 CTPT 모두에서 0.1 µg/L 농도로 처리한 경우에는 별다른 성장저해 효과가 나타나지 않았다. 이는 낮은 농도의 triorganotin들은 식물성 플랑크톤에 의해 대사분해됨을 시사한다. 하지만, 1 µg/L 처리군에서는 약 1일째부터 성장의 저해가 나타난 후 3일째부터 지속적인 성장의 저해 효과가 나타나기 시작했고 약 13일경에는 모두 사멸하였다 (Fig. 7). 이는 단기 독성실험에서 나타난 결과 즉, 집종농도  $1 \times 10^5$  cells/mL인 경우, TBTF와 CTPT 농도 2.5 µg/L 처리군에서도 완전한 사멸이 나타나지 않은 결과 (Fig. 3, 5-C)에 비교해 보면 확실한 차이를 보여준다. 이 결과는 독성물질의 농도가 일정정도 유지되고 식물성 플랑크톤이 독성물질에 노출되는 시간이 길어지면 단기 독성실험에 비해 훨씬 높은 정도의 영향을 받음을 보여준다.

결론적으로 여러 triorganotin이 *S. costatum*의 성장에 미치는 급성 및 만성 독성효과를 조사한 결과를 종합하면, 이 화합물들은 점중세포농도가 낮아수록 그 독성이 더욱 크게 나타나며, 단기 독

성실험에서 세포사멸을 유도하지 않는 낮은 농도라도 세포사멸을 유도할 수 있음을 이 논문은 보여준다. 따라서 triorganotin을 포함한 화학물질들의 독성효과를, 다양한 미세조류를 대상으로 실험실에서 조사할 때는, 실제 해양환경에서의 세포수를 고려하여 수행된 장기 독성실험 결과들이 반드시 포함되어야 그들의 독성효과를 더욱 정확하게 알 수 있다고 판단된다.

## 요 약

살충제, 살균제 그리고 antifouling 약품 등으로써의 triorganotin의 사용은 지난 30년간 놀라울 정도로 증가해왔다. 이 보고에서는 미세조류 *Skeletonema costatum*의 성장에 미치는 여러 triorganotin (TBTO, TBTF, CTPT, TBTCI)들의 급성 및 만성 독성효과를 조사하기 위하여, 단기 및 장기 독성실험을 각각 수행하였다. 단기 독성실험에서, 여러 triorganotin들의 *S. costatum*에 대한 성장저해 효과는 처리농도에 비례하여 증가하였으며, 이 성장저해는 시간 경과에 따라 회복되었다. 그러나 여러 triorganotin의 독성의 성장저해 효과가 집종한 *S. costatum*의 세포밀도에 따라 차이를 보였다. 집종 세포농도가 높을수록 triorganotin의 독성효과는 감소하였다. 이러한 결과는 triorganotin의 *S. costatum*에 의한 분해에 의한 것이라고 판단된다. 장기 독성실험에서는 단기 독성실험에서와는 달리 1 µg/L의 triorganotin의 농도에서도 *S. costatum*이 사멸하였다. 이러한 사실은 낮은 밀도의 식물성 플랑크톤이 존재하는 해수에서 지속적으로 존재하는 triorganotin의 독성은 훨씬 더 강하게 나타날 수 있음을 보여준다.

## 감사의 글

본 연구에 사용한 식물성 플랑크톤은 부경대학교 미세조류은행으로부터 분양 받았으며, 이를 제공해주신 허성범 교수님께 감사드립니다. 또한 본 연구는 1996년도 동원학술연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Al-Imara, L., M.R. Salaman, V.S. Sljivic and R.C. Poller. 1993. Inhibition of mouse spleen cell activity by organotin compounds: effect of attachment of a maltose residue to the organotin group. *Int. J. Immunopharmacol.*, 15, 287~291.
- Beaumont, A.R. and M.D. Budd. 1984. High mortality of the larvae of the common mussel at low concentration of tributyltin. *Mar. Poll. Bull.*, 15, 402~405.
- Beaumont, A.R. and P.B. Newman. 1986. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae. *Mar. Poll. Bull.*, 17, 457~461.
- Chiles, T.C., P.D. Pendoley and R.B. Jr. Laughlin. 1989. Mechanisms of tri-n-butyltin bioaccumulation by marine phyto-plankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46, 859~862.
- Cooney, J.J. and S. Wuretz. 1989. Toxic effect of tin compound on

- microorganisms. *Journal of Industrial Microbiology*, 4, 375~402.
- Ebdon, L., S.J. Hill and P. Jones. 1985. Speciation of tin in natural waters using coupled high-performance liquid chromatography flame atomic-absorption spectrometry. *Analyst.*, 110, 515~517.
- Florence, T.M. and J.L. Stauber. 1986. Toxicity of copper complex to the marine diatom *Nitzschia closterium*. *Aquatic Toxicol.*, 8, 11~26.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (Clev) Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229~239.
- Jensen, K.G., A. Onfelt, M. Wallin, V. Lidums and O. Andersen. 1991 a. Effects of organotin compounds on mitosis, spindle structure, toxicity and in vitro microtubule assembly. *Mutagenesis*, 6, 409~416.
- Jensen, K.G., O. Andersen and M. Ronne. 1991b. Organotin compounds induce aneuploidy in human peripheral lymphocytes in vitro. *Mutat. Res.*, 246, 109~112.
- Lee, R.F., A.O. Valkirs and P.F. Seligman. 1989. Importance of microalgae in the biodegradation of tributyltin in estuarine water. *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1515~1518.
- Maguire, R.J. 1984. Butyltin compounds and inorganic tin in sediments in Ontario. *Environ. Sci. Technol.*, 18, 698~702.
- Maguire, R.J., P.T.S. Wong and J.S. Rhamey. 1984. Accumulation and metabolism of tri-n-butyl tin cation by a green alga, *Ankistrodesmus falcatus*. *Can. J. Fish. Sci.*, 41, 537~540.
- Maguire, R.J., Y.K. Chau, G.A. Bengert, E.J. Hale, P.T.S. Wong and O. Kramer. 1982. Occurrence of organotin compound in Ontario lakes and rivers. *Environ. Sci. Technol.*, 16, 698~702.
- Parsons, T.R. and J.D.H. Strickland. 1963. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *J. Mar. Res.*, 21, 155~171.
- Sasaki, Y.F., H. Yamada, C. Sugiyama and N. Kinae. 1993. Increasing effect of tri-n-butyltins and triphenyltins on the frequency of chemically induced chromosome aberrations in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, 300, 5~14.
- Snoei, N.J., H.J.M. Van Rooijen, A.H. Penninks and W. Seinen. 1986 a. Effects of various inhibitors of oxidative phosphorylation on energy metabolism, macromolecular synthesis and cyclic AMP production in isolated rat thymocytes. *Biochem. Biophys. Acta.*, 852, 244~253.
- Snoei, N.J., P.M. Punt, A.H. Penninks and W. Seinen. 1986b. Effect of tri-n-butyltin chloride on energy metabolism, macromolecular synthesis, precursor uptake and cyclic AMP production in isolated rat thymocytes. *Biochem. Biophys. Acta.*, 852, 234~243.
- Snoei, N.J., A.A. van Iersel, A.H. Penninks and W. Seinen. 1986. Triorganotin-induced cytotoxicity to rat thymus, bone marrow and red blood cells as determined by several in vitro assays. *Toxicology*, 39, 71~83.
- Stebbing, A.R.D. 1985. Organotins and water quality-some lessons to be learned. *Mar. Poll. Bull.*, 16, 383~390.
- Stemann-Nielsen, E. and S. Wiium-Andersen. 1970. Copper ions poison in the sea and in freshwater. *Marine Biology*, 6, 93~97.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1965. A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Bd. Canada. Ottawa. Bull.*
- Thain, J.E. 1983. The acute toxicity of bis (tributyltin)oxide to the adults and larvae of some marine organism. *IEES Paper CM 1983, E: 13* (mimeograph) International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen.
- Thomas, T.E. and M.G. Robinson. 1987. Initial characterization of the mechanisms responsible for the tolerance of *Amphora coffeaeformis* to copper and tributyltin. *Bot. Mar.*, 30, 47~53.
- Toggas, S.M., J.K. Krady and M.L. Billingsley. 1992. Molecular neurotoxicology of trimethyltin: identification of stannin, a novel protein expressed in trimethyltin-sensitive cells. *Mol. Pharmacol.*, 42, 44~56.
- U'ren, S.C. 1983. Acute toxicity of bis (tributyltin) oxide to a marine copepod. *Mar. Poll. Bull.*, 14, 302~306.
- Valkirs, A.O., B. Davidson, L.L. Kear, R.L. Fransham, J.G. Grovhaug and P.F. Seligman. 1991. Long-term monitoring of Tributyltin in San Diego bay California. *Marine Environment Research*, 32, 151~167.
- Waite, M.E., M.J. Waldock, J.E. Thain, D.J. Smith and S.M. Milton. 1991. Reduction in TBT concentrations in UK estuaries following legislation in 1986 and 1987. *Marine Environmental Research*, 32, 89~111.
- Waldock, M.J. and D. Miller. 1983. The determination of total and tributyltin in seawater and oysters in areas of high pleasure craft activity. *ICES Paper CM 1983/E:12M* (mimeograph). International Council for the Exploitation of the sea, Copenhagen.
- Waldock, M.J. and J.E. Thain. 1983. Shell thickening in *Crassostrea gigans*: Organotin antifouling or sediment induced? *Mar. Poll. Bull.*, 14, 411~415.
- Walsh, G.E., L.L. McLaughlan, E.M. Lores, M.K. Louie and C.H. Deans. 1985. Effects of organotin on growth and survival of two marine diatoms *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*. *Chemosphere*, 14, 383~392.
- Westendorf, J. and H. Marquardt. 1986. DNA interaction and mutagenicity of the plastic stabilizer di-n-octyltin dichloride. *Arzeimittelforschung*, 36, 1263~1264.
- Wong, P.T.S., Y.K. Chau, O. Kramer and G.A. Bengert. 1982. Structure-toxicity relationship of tin compounds on algae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 483~488.

---

2002년 6월 18일 접수

2002년 9월 30일 수리