

Review

해역 건강도 평가를 위한 다매체 바이오마커 적용

정지현 · 류태권 · 이택건*

한국해양연구원 남해연구소
(656-830) 경상남도 거제시 장목면 장목리 391

Application on Multi-biomarker Assessment in Environmental Health Status Monitoring of Coastal System

Jee-Hyun Jung, Tae-Kwon Ryu, and Taek Kyun Lee*

South Sea Research Institute, KORDI
Geoje 656-830, Korea

Abstract : Application of biomarkers for assessing marine environmental health risk is a relatively new field. According to the National Research Council and the World Health Organization, biomarkers can be divided into three classes: biomarkers of exposure, biomarkers of effect, and biomarkers of susceptibility. In order to assess exposure to or effect of the environmental pollutants on marine ecosystem, the following set of biomarkers can be examined: detoxification, oxidative stress, biotransformation products, stress responses, apoptosis, physiological metabolisms, neuromuscular responses, reproductions, steroid hormones, antioxidants, genetic modifications. Since early 1990s, several biomarker research groups have developed health indices of marine organisms to be used for assessing the state of the marine environment. Biomarker indices can be used to interpret data obtained from monitoring biological effects. In this review, we will summarize Health assessment Index, Biomarker Index, Bioeffect Assessment Index and Generalized Linear Model. Measurements of biomarker responses and development of biomarker index in marine organisms from contaminated sites offer great a lot of information, which can be used in environmental monitoring programs, designed for various aspects of ecosystem risk assessment.

Key words : biomarker, ecosystem risk assessment, marine ecosystem health, biomarker index

1. 서 론

연안역은 물리, 화학 및 생물학적 과정에 의해 조절되는 복잡한 생태계로서, 연안역에 서식하고 있는 생물들은 다양한 자연적·인위적 스트레스에 노출되어 있다(Adams *et al.* 1993). 일반적으로 연안 환경 악화는 서식생물의 건강도 저하를 유발하여 서식 생물의 다양성과 생산량의 현저한 감소를 초래할 수 있으므로 서식생물의 건강도는 연안 생태계의 건강을 반영하는 중요한 요인으로 알려져 있다.

1990년대 이후 미국을 비롯한 선진 국가에서는 연안 관

리법을 제정하여 연안생태계의 오염 총량 등을 법적으로 관리할 뿐 아니라, 물리·화학적 영향에 민감한 조기경보자(early warning system) 등을 환경 영향 지수 등에 적용하여 연안 건강도에 대한 질적인 평가를 시도하고 있다. 성장 또는 생식 등에 연관된 분자·생화학적 수준의 바이오마커들은 특이적이고 민감한 특징을 가지고 있어 현재의 생태학적 단계에서는 인지할 수 없는 미세한 영향까지도 반영할 수 있으므로, 보다 민감한 수준에서 해역의 건강도를 평가할 수 있는 유용한 정보를 제공할 수 있다. 그러나 국내에서 이루어진 연안에 관한 연구들은 대부분이 기본적인 생태조사나 오염물질의 생체축적 여부를 밝힌 생물영향평가에 한정되어 있을 뿐, 국내연안의 실정에 맞

*Corresponding author. E-mail : tklee@kordi.re.kr

는 바이오마커를 선정하고, 이를 연안 해역 건강도 평가에 적용한 사례는 매우 드물다.

바이오마커를 이용한 해양생물의 건강도 평가 연구는 1990년대 초부터 시작되었고, 각 국가별 연안의 특성을 고려한 건강평가지수(Adams *et al.* 1993), 바이오마커지수(Narbonne *et al.* 1999; Chevre *et al.* 2003), 통합 바이오마커 반응지수(Beliaeff and Burgeot 2002), 생물영향평가지수(Broeg *et al.* 2005; Broeg and Lehtonen 2006), 일반화된 선형모델(Napierska and Podolska 2005) 등이 보고되고 있다. 그러나 상기된 바이오마커를 적용하여 해양생물의 건강도를 평가함에 있어 ‘어떤 적절한 바이오마커를 적용할 것인지’, 또한 ‘각 바이오마커로부터 제공되는 정보를 어떠한 통계학적인 방법으로 해석할 것인지’에 대한 논란은 여전히 남아 있다. 특히 연안 해역에 대한 연구가 미진한 국내 실정을 감안할 때 다음과 같이 고려해야 할 몇 가지 과제를 안고 있다. 첫째, 국내 연안생물의 건강을 최대한 반영할 수 있도록 서식환경에 따른 대표생물의 선정, 둘째, 대상생물의 특성에 따른 적절한 바이오마커의 선정, 그리고 마지막으로 국내 연안실정에 맞는 건강도 평가지수의 적용성 검토 등을 들 수 있다.

따라서 본 논문에서는 국내의 해양생물의 위해성영향평가에 적용 빈도가 높은 각 생물 단계에 따른 바이오마커와 이들의 장단점에 대해 정리하고, 이를 이용한 연안평가의 사례를 분석하여 국내 해양건강성평가에 적용가능성을 살펴보고자 하였다.

바이오마커

생태위해성 또는 환경위해성 평가(ecological or environmental risk assessment, ERA)는 생태계에 대한 오염물질 및 다른 인위적인 활동의 악영향을 생태계 수준에서 과학적으로 측정하는 방법이다(Depledge and Fossi 1994). 오염물질로 인한 스트레스에 대한 반응은 생물계내의 영양 단계에 따라 다양하게 나타나며 개체 수준에서부터 생태

계 수준으로 높아질수록 오염에 대한 반응을 확인하는데 오랜 시간이 소요되며, 때로는 생물체내에서 화학적 방법으로 검출되지 않는 수준에서부터 과도한 오염영향에 대하여 변형된 생물반응을 보이는 경우도 있다. 따라서 각각의 오염 또는 악화된 환경변화에 따라 더욱 특이적이고 민감한 검출기법이 요구되면서, 조기경보신호 또는 바이오마커에 관한 연구가 활발하게 되었다(Bucheli and Kent 1995). 바이오마커는 인위적인 환경요인에 의해 유도되는 생화학, 분자생물학 또는 생리학적인 반응을 특이적으로 반영하며(Peakall 1994), 개체, 집단뿐만 아니라 생태계에서의 생물학적 영향과도 밀접하게 연관되어 있다(McCarty and Munkittrick 1996). 생화학적 반응은 개체 또는 군집 수준의 반응보다 훨씬 민감하고 짧은 시간에 일어나므로 초기에 생물학적 영향을 감지할 수 있으나, 실제 이러한 반응이 군집수준의 변화와 생태학적인 변화에 대하여는 낮은 상관성을 보인다(Fig. 1). 그러나 Table 1에서와 같이 외인적으로 주어지는 스트레스 중 일부는 종류와 특성 그리고 강도에 따라 생화학적 반응이 상쇄 또는 소멸되거나 개체수준으로 증폭되기도 하므로 각각의 바이오마커를 건

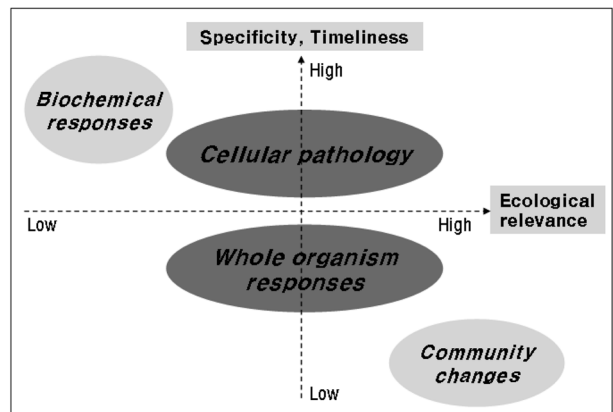


Fig. 1. Response level and ecological correlation (modified from McCarty and Munkittrick 1996).

Table 1. Responses of biomarker on biochemical stresses (modified from Sherry 2003)

	Parameter	Inducing pollutants	Exposure indicator	Population impact	Field	Laboratory
Exposure	CYP1A	PAHs, PCBs, HAHs	+	-	+	+
	Bile metabolites	PAHs, Chromophenolics	+	-	+	+
	Apoptosis	PCB, Cd	+	-	+	+
	Stress responses	Multiple stressors	+	-	+	+
	Metallothionein	Heavy metals	+	-	+	+
	Metabolic parameters	Multiple stressors	+	-	+	+
Effect	Cholinesterase	OP & carbamate pesticides	+	+?	+	+
	Oxidative stress	HAHs, PCBs	+	-	+	+
	Steroid hormones	Multiple stressors	+	-	+	+
	Vg	Environmental Estrogen	+	-	+	+
	DNA breakage	Multiple stressors	+	-	-	+

강도 평가에 적용하는 의미는 다르다.

지금까지 국내에서 이루어진 대부분의 생태계 건강성 평가는 집단이나 군집수준에서의 생물량 및 생물다양성 분석을 통하여 평가하는 전통적인 방법이 활용되고 있다. 그러나 성장 또는 생식 등에 연관된 분자·생화학적 수준의 특이적이고 민감한 평가가 없다면, 현재 군집 수준에서는 인지할 수 없지만, 향후 상위단계에까지 영향이 증폭될 가능성을 가지고 있는 스트레스(과거에 진행되었거나 현재 진행 중인)를 간과할 수 있는 오류를 초래할 수 있으므로(Cairns *et al.* 1993), 생태계의 건강도를 조사하기 위해서는 생화학적 수준의 민감한 '조기경보자'를 이용한 평가는 중요한 요소임을 알 수 있다.

바이오마커의 장점

인위적으로 유도된 반응에 대한 신뢰할 만한 결과를 들 수 있다. 즉, 대부분의 바이오마커의 발현 기작은 생물에 영향을 주는 요인에 대한 반응 특이성을 가지므로, 바이오마커를 이용하여 개체군의 건강도를 반영하는 동시에 인위적인 스트레스의 정정도 추적할 수 있다(Giesy and Graney 1988; Holdway *et al.* 1995). 두번째로는 민감도를 들 수 있는데, 개체수준 이하에서 기관계 고유의 일련의 반응에 따라 아주 낮은 수준의 반응이나 오염에 대하여도 민감한 변화를 볼 수 있으므로, 군집수준으로 영향으로 확대되기 이전에 이를 감지하여 해양 생태계 보전과 복원에 투여될 수 있는 엄청난 비용을 조기에 절감할 수 있다.

바이오마커의 단점

바이오마커는 동일한 영향에 대하여 개체 또는 종에 따라 반응의 감도가 다를 수 있다. 즉 바이오마커는 다양한 생체대사과정 중 생성되는 생화학 산물이므로 생물 종 특성에 따라 민감성에 차이가 있을 수 있다. 또한, 다양한 바이오마커들 중 효소활성이나 호르몬 분비 등과 연관된 지표들이 많으므로 성별과 연령 뿐 아니라 수온, 계절, 날씨 등을 포함한 일반적인 환경요인들과 채집 중에 일어나는 스트레스와 서식환경의 변이 등에 의하여도 영향을 받을 수 있다. 따라서 바이오마커를 생태계 건강도 평가에 적절히 적용하기 위하여서는 이들의 생화학적 기작을 충분히 이해하는 것이 무엇보다 중요하며, 적절한 바이오마커를 선정하거나, 생물서식 환경의 특성이 충분히 고려된 물리적 보정도 필요하다. 또한, 환경 중에는 다양한 외인적 스트레스가 복합적으로 존재하므로 바이오마커 반응이 이러한 복합적인 요인에 대하여 어떠한 기작으로 반응하는지는 지속적으로 연구되어야 할 과제이다.

바이오마커의 선택

바이오마커는 노출(exposure)에 대한 지표와 영향(effect)

에 대한 지표 2가지 카테고리로 분류할 수 있다. 이러한 인위적인 카테고리가 절대적인 것은 아니며, 영향에 대한 지표는 노출에 대한 지표를 의미적으로 포괄할 수 있다(Table 1). '어떠한 바이오마커를 이용해야 하는가?' 하는 것은 평가하고자 하는 생태계가 어떠한 잠재적 오염원이 존재할 수 있으며 '무엇을 평가하고자 하는가?'라는 의도에 따라 달라질 수 있다. 대부분의 바이오마커는 비용절감과 측정의 용이성, 민감성과 특이성이라는 큰 이점을 가지고 있으므로, 사용빈도와 현장에서의 검증여부에 따라 조사 목적에 적절한 바이오마커를 선택하는 것이 중요하다.

해독효소: 동물의 간은 주요 해독기관으로 다양한 오염물질에 대한 대사와 흡수에 관여하는 것으로 알려져 있다. 방향족 환 구조를 가지고 있는 할로겐화합물들이 생체내로 유입되면 생물의 간장 세포막에 있는 수용체(Ah-receptor)와 반응하여 Cytochrome P450 1A(CYP1A) 효소계를 통해 체외로 배출되는 일련의 대사과정을 거친다. 외인성 유해물질을 해독하는 간장의 해독효소(xenobiotics metabolizing enzymes)는 본래 내인성의 지방산이나 스테로이드 호르몬 등의 합성이나 불활성화에 관여를 하는 것인데, 이들 효소를 이용하여 대상생물이 얼마나 영향을 받았는지를 평가할 수가 있다. CYP1A 계는 산화환원 가수분해가 이루어지는 Phase I 해독효소계의 대표적인 효소로 polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs), Dioxin, coplanar 구조의 PCB 등 매우 독성이 높은 오염물질에 노출되었을 때 높게 유도되므로(Ankley *et al.* 1986; Arukwe *et al.* 1997), 최종산물인 ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD)나 arylhydrocarbon hydroxylase(AHH)를 바이오마커로 이용하여 영향을 평가할 수 있다. 지금까지 어류 (Stegeman and Hahn 1994; Vaccaro *et al.* 2005; Yuan *et al.* 2006), 무척추동물인 담치류(Binelli *et al.* 2005, 2006), 지렁이(Brown *et al.* 2004), 말미잘(Heffernan and Winston 2000) 등에서 이용되어 왔다. 일반적으로 CYP1A 계는 계절별 변화, 성별, 수온, 중금속 등의 오염에 대해 다른 반응 패턴을 가질 수 있으므로(Levine *et al.* 1995; Machala *et al.* 1997), 이를 이용하여 해양생태계의 건강도를 평가하기 위해서는 시료채취의 표준화, 효소계에 영향을 미칠 수 있는 요인의 보정 작업이 필요하다. 현장에 잔류하고 있는 다양한 요인들 간의 상호작용을 통해 그 영향이 상쇄되거나 과유도될 수 있으므로 대상생물과 환경의 특성을 충분히 고려하여 중간단계 또는 상위단계의 지표들을 함께 측정하는 것이 중요하다.

쓸개즙 대사물질: 세포내로 유입된 PAHs나 방향족 아민 등과 같은 난분해성 물질은 해독효소들에 의해 분해산물로 변화하게 되고, 변화된 대사물질 및 대사물질과 세포내 분자와의 결합으로 쉽게 검출이 가능한 바이오마커가 된다(Melancon *et al.* 1992). 쓸개에서의 대사물질의 농도

는 형광방향성화합물(fluorescent aromatic compounds)의 형태로 변환된 PAH 대사물질의 농도를 측정하거나 전체 PAH 대사를 나타내는 하나의 대사물질을 선택함으로써 분석할 수 있다(Krahn et al. 1987; Ariese et al. 1993). PAH 대사물질은 형광분석기나 HPLC 등으로 측정한다(Aas et al. 2000).

Apoptosis: Apoptosis는 세포사멸 프로그램으로 광범위한 외인성 화합물들에 대한 노출을 암시해 주는 비특이적 바이오마커이다. PCB나 카드뮴에 노출된 가자미류의 간조직에서 apoptosis가 유도되었음이 보고되었으며(Piechotta et al. 1999), Janz et al.(1997)은 폐쇄된 공장 배출수에 노출된 어류의 난소 크기의 감소, apoptosis 증가는 오염지역과 상관관계를 가질 수 있다고 소개하였다. 반응 자체의 특이성이 낮은 반면 개체나 군집수준의 증폭 반응이 반영할 수 있는 바이오마커라 할 수 있다.

스트레스반응: 주변 환경에 대한 생물의 불안정성을 나타내 주는 스트레스는 비특이적인 바이오마커 중의 하나이다. 생물이 인식할 만한 수준의 스트레스는 혈중의 스트레스 호르몬인 코티졸 등을 상승 또는 억제시키며, 이는 장기적으로 체내 항상성의 파괴와 스테로이드 호르몬 대사의 장애를 유발할 수 있다. 그러나 현장에서 생물을 채집하는 과정에 의해서도 이 반응은 유도될 수 있으므로, 실험 과정 중에 일어날 수 있는 반응을 고려해서 사용하는 것이 중요하다. Hontela et al.(1995)은 유기오염물질에 노출된 어류가 노출되지 않은 어류와 비교하여 채집 스트레스 등에 대한 코티졸 생성이 낮음을 보여주었다. 또한, 중금속 등에 노출된 어류도 코티졸 생성기작에 장애가 있음이 보고된바 있다(Brodeur et al. 1997). 스트레스 반응 호르몬의 저하는 생물의 생존과도 밀접한 연관성을 보여주는 결과이나 스트레스 반응 바이오마커와 생태학적 연관성에 관하여는 더욱 깊이 있는 연구가 뒷받침되어야 할 것이다.

또 다른 세포수준의 스트레스 반응지표로 heat shock protein이 있다. 이 단백질은 화학적인 물질뿐만 아니라 열 충격, 조직 손상 등으로 인하여 변화하므로 비특이적인 바이오마커로 분류되고 있다. Hsp90나 Hsp70 등은 절지동물이나 어류 등에서 신호 전달과 관련된 호르몬 수용체와의 기작에 영향을 주는 독성물질에 대한 바이오마커로 가능성이 제기된 상태이나, 정확한 작용기작이 밝혀져 있지 않으며 개체나 군집수준 건강과의 연관성도 검증되어야 할 과제이다(Janz et al. 1997).

Methallothionein(MT): MT는 중금속 노출에 의해 유도되는 시스테인이 풍부한 저분자량 단백질(6000-7000 Da)로서 아연, 구리, 카드뮴 등 중금속과 결합하여 무독화시키는 기능을 가지고 있다. 일반적으로 생체내 필수 금속 흡수에 반응하는 단백질이나, 동물체내에 과발현된 MT

단백질은 생물이 과다한 중금속에 노출되고 있음을 알리는 지표로 이용되고 있다(Klaverkamp et al. 1984; Garvey 1990). MT 단백질은 포유류를 비롯하여 생물 종간뿐만 아니라 같은 개체의 조직간 즉, 신장, 간, 뇌, 비장, 소장 등 기관 간에도 특성의 차이를 보인다. Hylland et al. (1996)은 각각의 기관에서 발현된 MT 단백질이 다른 이동도를 가지고 있음을 증명하였고, 생물의 기관마다 MT 단백질이 발현되는 중금속이 다름도 보고된 바 있다(Kammann et al. 1996). 또한, 어류에서 아연과 여성호르몬을 동시에 투여하였을 때 그 발현 농도가 증가한 결과들을 통해 MT 단백질 역시 생식적 단계나 계절 등에 영향을 받아 다른 스트레스 반응을 보일 수 있다는 것을 예측할 수 있다(Overnell et al. 1987). 따라서 중금속 노출 등을 감지할 수 있는 바이오마커로서 MT를 이용할 때에는 앞서 밝힌 바와 같이 지역 간의 서식하는 생물의 생식 단계에 따른 보정과 시료채취에 대한 표준화가 고려되어야 할 것이다.

Metabolic and Physiological Parameter: 일반적인 대사 생리적 지표들을 나열하면 다음과 같다. 어류에서 아가미조직의 ATPase 활성(De la Torre et al. 2000), 혈중 포도당과 글루코스와 젖산 수치 역시 일반적인 스트레스에 반응하는 지표들이다. 성장률의 지표로서 RNA/DNA의 비와 생물의 영양 상태와 지질 대사 장애와 관련한 혈중 트리글리세라이드와 지질 분석(Adams et al. 1990), 혈장의 세포손상의 지표인 aspartate transaminase(Van der Oost et al. 1996), 조직과 세포손상을 예측할 수 있는 lactate dehydrogenase(Escher et al. 1999) 등이 있다. 이러한 지표들은 생물종 내에서도 개체간 차이가 심한 단점이 있으나, 오염이 극심하게 진행되지 않은 지역을 판별하는데 유용하게 이용될 수 있다고 보고되고 있다(Konradt and Braunbeck 2001).

콜린에스터라아제(Cholinesterase: ChE): ChE는 생물체내 불필요한 아세틸콜린을 가수분해시키는 효소로서 카바메이트나 유기인계 농약류 등의 화학적 오염에 대하여 비교적 빠르고 민감한 반응을 보여 최근 효소학적 바이오마커로 활용도가 매우 높다. 일반적으로 유기인계 농약 등은 ChE의 수용체 부위와 결합하여 활성의 저해를 초래하고 신경전달물질인 아세틸콜린의 가수분해를 억제한다고 알려져있다. 지금까지 어류를 비롯하여 이매패류(Galgani et al. 1992) 등에서 ChE의 활성을 이용한 생물영향이 연구되어 왔으며, 농약류나 살충제뿐 아니라 일부 중금속 등으로 인한 저해 효과도 보고되고 있다(Sturm et al. 1999). 생체내 ChE는 acetyl-과 butyl-cholinesterase로 분류되는데, 근육조직에서 측정된 butyl-cholinesterase는 acetyl-cholinesterase 보다 더 민감하게 농약류에 반응한다고 알려져 있다(Sturm et al. 2000). 콜린에스터라아제 역시 생

물체의 종류에 따라 그 민감도의 차이를 보이므로 바이오마커로서 대상생물과 조직의 선정에 충분한 논의가 있어야 할 것이다.

생식계 관련 지표: 일반적으로 개체수준의 영향이 개체군집으로 이어지는 가장 큰 영향으로 생식계 손상을 들 수 있다. 생식계는 생물이 스트레스를 장시간 받을 때 손상되기도 하며, 독성물질에 의해 선택적으로 손상되기도 한다.

해양척추동물의 생식내분비계는 시상하부-뇌하수체-생식소로 이어지는 일련의 반응기작을 가지고 있으며, 뇌하수체에서 분비된 gonadotrophin 호르몬은 난소를 자극하여 여성호르몬인 17β-estradiol을 분비하게 한다. 17β-estradiol로 유도된 난황단백전구체인 비텔로제닌은 난소로 이동하여 배 발생에 영양분인 난황단백질을 형성하는데, 성숙한 암컷에서만 특이적으로 간에서 생성되는 단백질로서 유사여성호르몬 계열의 오염물질이나 중금속 등에 노출된 수컷에서도 비정상적으로 발현되는 것이 밝혀지면서 생식계의 위해성을 평가하기 위해 현장에서 널리 이용되고 있다. 난황단백전구체의 유전자나 단백질 수준에서 발현 기작에 대하여 많은 데이터베이스가 구축되어 있어 활용이 용의한 장점이 있으나, 때때로 자연계에 존재하는 식물계 에스트로겐 등으로 인한 자연발생적인 난황단백전구체의 발현이나 광주기, 수온이나 생식주기 등 자연적인 반응과 스트레스나 오염으로 인한 영향을 구별하는 데 있어 주의가 필요하다.

조직학적 수준의 생식소 중량지수(gonadosomatic index: GSI), 간 중량지수(hepatosomatic index), 비만도(fatness) 또한 생식계 영향과 밀접한 연관을 가지고 있다. 해양생물은 생식주기에 따라 생식소와 간이 전체 체중에 차지하는 비율에 변화를 가지게 되며, 생물이 서식하고 있는 환경의 영향과 생식주기에 따른 생리적 상태를 그대로 반영할 수 있으므로, 비정상적인 영향에 장기간 노출되었을 때 본 지수들은 비정상적인 패턴을 보인다. 일부 산란습성이 다른 어종들은 본 지수들을 적용하기에 어려움이 따르기도 하나, 국내연안에 서식하는 해산어종들은 비교적 일정한 주기를 나타내므로 난황단백전구체 등을 포함한 상위바이오마커와 함께 이용된다면 생태계를 올바르게 이해하고 평

가하는데 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다.

DNA breaks: PAH를 비롯한 해양으로 배출되는 화합물 중 일부는 생물체의 DNA 손상을 유발하기도 하는데 (Fernández-Alba *et al.* 2002; Hagger *et al.* 2002), 이러한 DNA 손상이 심각한 경우 DNA 복제억제, 돌연변이 유발 및 불완전한 전사로 이어지거나, 특정 대사산물의 발현 저해로 이어질 수 있으며 결국 생태계 전체에 심각한 문제를 일으킬 수 있다(Kurelec 1992). DNA breaks는 최근 돌연변이나 유전적 손상을 검출할 수 있는 바이오마커로 널리 이용되고 있으며, 특정 영향에 대한 반응 지표라기보다는 물리적이고 비특이적인 스트레스에도 반응하여 상관관계를 보이고 있다.

생물학적 건강도 평가지수와 바이오마커의 적용

연안 환경의 건강을 모니터링하는 작업에는 인간으로부터 비롯된 인위적인 영향을 증명할 수 있는 신뢰할 만한 도구들이 필요하다. 연안 환경의 건강성 평가를 위해 국내외에서 다양한 연구가 수행되고 있는데, 본 장에서는 연안생물의 건강도를 평가한 다양한 생화학적 결과들을 어떠한 기준으로 활용하여 이를 평가하고, 해석해 왔는지를 보여줄 수 있는 일부 평가지수의 예(Table 2)를 소개하고자 한다.

건강평가지수(Health Assessment Index, HAI)

Adams *et al.*(1993)에 의해 제시된 HAI는 어류 건강에 대한 정량적지수를 제시하기 위하여 환경 스트레스에 의한 기관 또는 조직에서 유도된 손상을 측정할 수 있는 바이오마커를 선택하고, 이를 통계학적인 비교 수치로서 정량화한 지수이며, 여러 연구자에 의해 수정·보완되고 있다(Coughlan *et al.* 1996; Schleiger 2004). 정상상태를 0로 하고, 손상 정도에 따라 각각 10, 20 및 30의 가중치를 두었으며 각 바이오마커 측정 결과 얻어진 값의 합을 대상집단의 건강을 평가하는 지수로 제시하였다.

바이오마커 지수(Biomarker Index, BI)

BI는 Chevre *et al.*(2003)에 의해 고안되었으며, 시공간

Table 2. Reported biomarker indices and classification of values of biomarkers

Biomarkers	Class	Index	Reference
HAI	EROD, intracellular chemicals, population growth	10, 20, 30, 40	Sum of biomarker values Adams <i>et al.</i> 1993, 1996
BI	MT, DNA, LPO, Vn, PHAG, NsPE	1, 2, 3, 4, 5	Sum of each biomarker values Chevre <i>et al.</i> 2003
BAI	Lysosomal stability, Lipid, Acid phosphatase	10, 20, 30, 40	Sum of each biomarker values Broeg <i>et al.</i> 2005 Broeg and Lehtonen 2006
GLM	EROD, ChE, GST, biological parameters, year, age	Analysis using Genstat program	In(y) = LT + CF + age + sex + gon + year + area + error Napierska and Podolska 2005

에 따른 해양생물의 오염으로 인한 생태계 건강도 변화를 반영할 수 있다. Metallothionein(MT), DNA strand breakage (DNA), lipid peroxidation(LPO), vitellin-like protein(Vn), phagocytosis(PHAG) 및 non-specific esterase activity(NspE) 등 6종류의 바이오마커를 적용했으며, 얻어진 측정치를 오염되지 않은 지역과 비교하여 등급을 나누고 이를 더하여 지수화하였다. 그러나 다른 바이오마커 지수와는 달리 바이오마커 각각에 가중치를 두어 등급을 결정하였다.

생물영향평가 지수(Bioeffat assessment index, BAI)

BAI는 1993년 Adams 등에 의해 제안된 HAI 방법에서 유래되었다(Broeg et al. 2005). BAI는 독성반응에 민감한 바이오마커를 이용하여 건강지수를 어류에 유해한 환경적 요인 중 독성학적 영향과 건강도에 집중하도록 고안하였다. BAI는 다양한 화학적 영향에 반응하는 선택적인 바이오마커를 이용하여 일반적인 정보를 제공하고 있으며, 다양한 종류의 오염에 의한 독성영향에 반응하는 생물계의 장애를 진단할 수 있다. BAI의 산출은 바이오마커 측정값의 정도에 따라 10, 20, 30, 40의 점수를 부과하게 되고, 이를 합산하여 BAI를 얻게 된다.

일반화된 선형모델(Generalized Linear model, GLM)

GLM은 해역에 서식하는 생물로부터 측정된 다양한 생화학지표의 결과를 채집한 연도나 생물학적 요인들, 예를 들면 성별, 생식소 발달단계, 비만도, 간 중량지수 등 인위적 요인이 아닌 생물학적 요인을 보정하여, 더욱 정확히 연안환경에 대한 생물의 건강도를 알 수 있도록 고안된 방법이다(Napierska and Podolska 2005).

$$\ln(y) = LT + CF + \text{age} + \text{sex} + \text{gon} + \text{year} + \text{area} + \text{error}$$

y 는 측정된 생화학지표들의 값(ChE, EROD, GST 등)이 될 수 있으며 실험자의 선택에 따라 LT(전장), HSI(간중량지수), CF(비만도) 등이 고려될 수 있다. age는 채집한 어류의 연령을, gon는 계절적 요인으로 인한 생화학적 변화를 판단할 수 있도록 생식소의 발달단계를, sex는 생물학적 성별의 차이로 있을 수 있는 요인을 고려할 수 있도록 구성되어 있다. area는 측정된 생물학적 지표가 채집한 연안의 환경적으로 주어지는 비정상적 요인에 의해 유의한 차이를 보이는지를 알 수 있다. 결과에서는 식에 첨가된 각각의 정보들과 생물학적 지표 간에 유의한 관계가 있는지를 수치로 보여주어, 실제 연안건강에 대한 자료로 사용할 수 있다.

앞서 소개한 세포학적 수준의 다양한 바이오마커들은 대부분이 생물의 생식단계와 생리적 특성, 계절적 요인에 의해 자연적으로 변화할 수 있으며, 때때로 이러한 특성으

로 인하여 경제적이고 더욱 명확한 “조기경보자”의 사용을 회피하여 감도 높은 평가를 하지 못하는 경우가 많다. 그러나 GLM을 이용하여 생물 자체의 다양한 생리적 요인을 보정하고, 오염이나 생물의 건강도에 민감한 지표들을 선별하여 사용한다면, 연안의 건강도를 객관화할 수 있는 좋은 도구로 사용될 것으로 생각된다. 그러나 GLM을 이용하여 합산된 값을 지수화함에 있어 먼저 국내 연안 생물의 실정에 맞는 지표의 선정, 지표에 대한 합리적인 가산점의 적용 등이 앞으로의 과제로 남아 있으며, 무엇보다도 국내 건강한 해역을 평가한 기초적 데이터베이스 구축이 절실히 요구된다.

2. 바이오마커를 이용한 연안생태계 건강도 평가를 위한 검토

개체수준 이하의 바이오마커는 일시적으로 생물에 주어지는 비정상적인 스트레스에 민감하게 반응하는 특이성 높은 지표이다. 따라서 장점에 비해 적절하게 이용하지 못했을 때 큰 오류를 범할 수도 있다. 따라서 생태계 군집수준이 아닌 세포 수준 이하의 민감한 지표를 연안건강성 평가에 적용하기 위해서는 다음과 같은 점들이 반드시 고려되어야 할 것이다. 첫째, 각 해역의 다양한 수계 생태계 특성에 맞는 바이오모니터의 선정이다. 먹이사슬에 따른 단계별 선정이 중요하며, 연안을 구성하는 다양한 수준에서 서식하는 적절한 대표 생물의 선정도 필요하다. 예를 들어 해양생물 중 가장 상위척추동물인 어류의 경우에서도 같은 연안 어종으로 분류되고 있으나, 저층에 서식하는 가자미류는 해양 퇴적물 등의 건강성을 반영할 수 있는 종이며, 중층에 서식하는 조피볼락 등은 연안 수계를 보다 적극적으로 반영할 수 있다. 따라서 평가하고자 하는 연안의 특성과 생물의 서식형태를 고려하여 목적에 맞는 바이오모니터를 선정하는 작업은 성공적인 연안건강도 평가를 위하여 중요한 첫걸음이라 할 수 있다. 둘째, 대표 바이오모니터가 결정되면 생물의 특성과 앞서 기술한 특이적인 바이오마커의 선정이다. 바이오마커는 생물의 생화학적 반응에 기초하므로 생리적 대사과정에 따라 하나의 메커니즘에 관여하는 유전자나 단백질 등 다양한 수준의 평가가 요구된다. 특히 생식단계와 생리적 특성, 계절적, 자연적 요인 등의 물리 환경적 요인으로 인한 정상적인 생리적 반응 여부를 확인하여 비교하고자 하는 지역 간의 특성을 보다 명확히 검증하는 작업이 요구된다. 또한, 총체적이고 정확한 건강도 평가를 위하여서는 내분비계, 신경계, 해독효소계 등 다양한 기관계와 기작을 반영할 수 있는 지표를 골고루 선정해야 하며, 이때 개체수준의 영향 여부가 보고된 지표를 사용하는 것이 중요하다. 건강도 평가에서 어떠한 바이오마커를 선정하였는지는 가장 핵심이

되는 사항이다. 셋째, 연안 생물을 적절한 바이오마커로 평가한 후 이를 어떠한 지수를 이용하여 해석할 것인가 하는 문제이다. 앞서 저자는 몇 가지 국외에서 이용되고 있는 지수들을 소개하였다. 각각의 지수들은 평가하고자 하는 해역의 특성에 맞게 구성된 것이다. 연안생태계 건강도 평가에 바이오마커를 적용한 예가 거의 없는 국내 실정을 고려하여 볼 때, 국내에서는 다양한 해역에서 건강도 평가가 먼저 시도되어야 할 것으로 생각된다. 특수한 연안인 마산만이나 광양만 등을 제외하면 이러한 생체지표를 이용한 건강도 평가는 거의 이루어진 바 없으므로 건강도가 악화되거나 개선된 것을 비교할 만한 연구조차 부족한 상황이다. 먼저 건강하지 못한 극단적인 해역과 매우 건강한 해역에 대한 자료들을 조사하여 국외에서 시도된 다양한 평가지수에 적용하여 장기적으로 이를 적용 보완해야 할 것이다.

3. 적 요

해양환경 건강성 평가에서 바이오마커의 적용은 상대적으로 새로운 분야이다. 국립학술원 및 세계보건기구에 따르면 바이오마커는 노출바이오마커, 영향바이오마커 및 민감바이오마커 등 3가지로 나누어진다. 해양생태계에 대한 환경오염물질의 노출 및 영향을 평가하기 위하여 다음과 같은 바이오마커들이 시험되고 있다: 해독, 산화스트레스, 분해산물, 스트레스 반응, 세포사멸, 물질대사, 신경 반응, 생식, 스테로이드 호르몬, 항산화물질, 유전적 변형. 1990년대 초부터 여러 바이오마커 연구그룹들은 해양생물의 건강지수를 개발하여 해양환경의 상태를 평가하기 위한 수단으로 활용해 왔다. 바이오마커 지수는 생물학적 효과에 대한 모니터링활동으로부터 얻어진 자료의 해석에 사용될 수 있다. 본 총설에서는 이제까지 보고된 바이오마커 지수 관련 연구 중 대표적인 건강평가지수(Health assessment Index), 바이오마커 지수(Biomarker Index), 생물영향평가지수(Bioeffect Assessment Index) 및 일반화된 선형모델(Generalized Linear Model) 등의 연구를 요약하였다. 오염된 지역에 서식하는 해양생물의 바이오마커 반응 측정 및 바이오마커 지수 개발은 다양한 측면의 해양생태계 위해성 평가를 위해 고안된 환경모니터링 프로그램에 공헌할 수 있는 정보를 제공해 줄 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 2007년도 한국해양연구원 정책사업 “연안해역 건강도 평가를 위한 기반구축연구(PE97904)” 사업의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고문헌

- Aas, E., T. Baussant, L. Balk, B. Liewenborg, and O.K. Andersen. 2000. PAH metabolites in bile, cytochrome P4501A and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: A laboratory experiment with Atlantic cod. *Aquat. Toxicol.*, **51**, 241-258.
- Adams, S.M., A.M. Brown, and R.W. Goede. 1993. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **122**, 63-73.
- Adams, S.M., K.D. Ham, M.S. Greeley, R.F. LeHew, D.E. Hinton, and C.F. Saylor. 1996. Downstream gradients in bioindicator responses: Point source contaminant effects on fish health. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **53**(10), 2177-2187.
- Adams, S.M., L.R. Shugart, G.R. Southworth, and D.E. Hinton. 1990. Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. p. 333-353. In: *Biomarkers of environmental contamination*, ed. by J.F. McCarthy and L.R. Shugart. Lewis, Boca Raton.
- Ankley, G.T., V.S. Blazer, R.E. Reinert, and M. Agosin. 1986. Effects of Aroclor 1254 on cytochrome P-450-dependent monooxygenase, glutathione-S-transferase, and UDP-glucuronosyltransferase activities in channel catfish liver. *Aquat. Toxicol.*, **9**, 91-103.
- Ariese, F., S.J. Kok, M. Verkaik, C. Gooijer, N.H. Velthorst, and J.W. Hofstraat. 1993. Synchronous fluorescence spectrometry of fish bile: A rapid screening method for the biomonitoring of PAH exposure. *Aquat. Toxicol.*, **26**, 273-286.
- Arukwe, A., L. Förlin, and A. Goksøyr. 1997. Xenobiotic and steroid biotransformation enzymes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) liver treated with an estrogenic compound, 4-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**(12), 2576-2583.
- Beliaeff, B. and T. Burgeot. 2002. Integrated biomarker response: A useful tool for ecological risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**(6), 1316-1322.
- Binelli, A., F. Ricciardi, C. Riva, and A. Provini. 2005. Screening of POP pollution by AChE and EROD activities in Zebra mussels from the Italian Great Lakes. *Chemosphere*, **61**, 1074-1082.
- Binelli, A., F. Ricciardi, C. Riva, and A. Provini. 2006. New evidences for old biomarkers: Effects of several xenobiotics on EROD and AChE activities in Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Chemosphere*, **62**, 510-519.

- Brodeur, J.C., C. Girard, and A. Hontela. 1997. Use of perfusion to assess in vitro the functional integrity of interrenal tissue in teleost fish from polluted sites. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**(10), 2171-2178.
- Broeg, K., H.V. Westernhagen, S. Zander, W. Körting, and A. Koehler. 2005. The "bioeffect assessment index" (BAI): A concept for the quantification of effects of marine pollution by an integrated biomarker approach. *Mar. Pollut. Bull.*, **50**(5), 495-503.
- Broeg, K. and K.K. Lehtonen. 2006. Indices for the assessment of environmental pollution of the Baltic Sea coasts: Integrated assessment of a multi-biomarker approach. *Mar. Pollut. Bull.*, **53**, 508-522.
- Brown, P.J., S.M. Long, D.J. Spurgeon, C. Svendsen, and P.K. Hankard. 2004. Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon. *Chemosphere*, **57**(11), 1675-1681.
- Bucheli, T.D. and K. Kent. 1995. Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **25**(3), 201-268.
- Cairns, J., P.V. McCormick, and B.R. Niederlehner. 1993. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia*, **263**(1), 1-44.
- Chevre, N., F. Gagne, P. Gagnon, and C. Blaise. 2003. Application of rough sets analysis to identify polluted aquatic sites based on a battery of biomarkers: A comparison with classical methods. *Chemosphere*, **51**(1), 13-23.
- Coughlan, D.J., B.K. Baker, D.G. Cloutman, and W.M. Rash. 1996. Application and modification of the fish health assessment index used for largemouth bass in the Catawba River, North Carolina-South Carolina. p. 73-84. In: *Multidimensional approaches to reservoir fisheries management: Proc. 3rd national reservoir fisheries Symp.*, Chattanooga, Tennessee, USA, June 12-14, 1995.
- De la Torre, F.R., A. Salibián, and L. Ferrari. 2000. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Eviron. Pollut.*, **109**(2), 277-282.
- Depledge, M.H. and M.C. Fossi. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. *Ecotoxicology*, **3**(3), 161-172.
- Escher, M., T. Wahli, S. Buettner, W. Meier, and P. Burkhardt-Holm. 1999. The effect of sewage plant effluent on brown trout (*Salmo trutta fario*): A cage experiment. *Aquat. Sci.*, **61**(2), 93-110.
- Fernández-Alba, A.R., M.D. Hernando, L. Piedra, and Y. Chisti. 2002. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays. *Anal. Chim. Acta*, **456**(2), 303-312.
- Galgani, F., G. Bocquene, and Y. Cadiou. 1992. Evidence of variation in cholinesterase activity in fish along a pollution gradient in the North Sea. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, **91**, 77-82.
- Garvey, J.S. 1990. Metallothionein: A potential biomonitor of exposure to environmental toxins. p. 267-287. In: *Biomarkers of environmental contamination*, ed. by J.F. McCarthy and L.R. Shugar. Lewis, Boca Raton.
- Giesy, X.P. and R.L. Graney. 1988. A review of selected clinical indicators of stress-induced changes in aquatic organisms. p. 160-201. In: *Toxic contaminants and ecosystem health: A great lakes focus*, ed. by M.S. Evans. John Wiley & Sons, New York.
- Hagger, J.A., A.S. Fisher, S.J. Hill, M.H. Depledge, and A.N. Jha. 2002. Genotoxic, cytotoxic and ontogenetic effects of tri-*n*-butyltin on the marine worm, *Platynereis dumerilii* (Polychaeta: Nereidea). *Aquat. Toxicol.*, **57**(4), 243-255.
- Heffernan, L.M. and G.W. Winston. 2000. Distribution of microsomal CO-binding chromophores and EROD activity in sea anemone tissues. *Mar. Environ. Res.*, **50**, 23-27.
- Holdway, D.A., S.E. Brennan, and J.T. Ahokas. 1995. Short review of selected fish biomarkers of xenobiotic exposure with an example using fish mixed-function oxidase. *Aust. J. Ecol.*, **20**(1), 34-44.
- Hontela, A., P. Dumont, D. Duclos, and R. Fortin. 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. *Environ. Toxicol. Chem.*, **14**(4), 725-731.
- Hylland, K., M. Sandvik, J.U. Skåre, J. Beyer, E. Egaas, and A. Goksøyr. 1996. Biomarkers in flounder (*Platichthys flesus*): An evaluation of their use in pollution monitoring. *Mar. Environ. Res.*, **42**, 223-227.
- Janz, D.M., M.E. McMaster, K.R. Munkittrick, and G. van der Kraak. 1997. Elevated ovarian follicular apoptosis and heat shock protein-70 expression in white sucker exposed to bleached kraft pulp mill effluent. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **147**(2), 391-398.
- Kammann, U., M. Friedrich, and H. Steinhart. 1996. Isolation of a metal-binding protein from ovaries of dab (*Limanda limanda* L.) distinct from metallothionein: Effect of cadmium exposure. *Ecotox. Environ. Safe.*, **33**(3), 281-288.
- Klaverkamp, J.F., W.A. Macdonald, D.A. Duncan, and R. Wagemann. 1984. Metallothionein and acclimation to

- heavy metals in fish: A review. p. 99-113. In: *Contaminant effects on fisheries*, ed. by V.W. Cairns, P.V. Hodson and J.O. Nriagu. Wiley. New York.
- Konradt, J. and T. Braunbeck. 2001. Alterations of select metabolic enzymes in fish following long-term exposure to contaminated streams. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov.*, **8**, 299-318.
- Krahn, M.M., D.G. Burrows, W.D. MacLeod, and D.C. Malins. 1987. Determination of individual metabolites of aromatic compounds in hydrolyzed bile of English sole (*Parophrys vetulus*) from polluted sites in Puget Sound, Washington. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **16**, 511-522.
- Kurelec, B. 1992. The multixenobiotic resistance mechanism in aquatic organisms. *Crit. Rev. Toxicol.*, **22**, 23-43.
- Levine, S.L., X.T. Oris, and T.E. Wissing. 1995. Influence of environmental factors on the physiological condition and hepatic ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity of gizzard shad (*Dorosoma cepedianum*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **14**, 123-128.
- Machala, M., K. Nezveda, M. Petrivalsky, A.B. Jarosova, V. Piacka, and Z. Svobodova. 1997. Monooxygenase activities in carp as biochemical markers of pollution by polycyclic and polyhalogenated aromatic hydrocarbons: Choice of substrates and effects of temperature, gender and capture stress. *Aquat. Toxicol.*, **37**, 113-123.
- McCarty, L.S. and K.R. Munkittrick. 1996. Environmental biomarkers in aquatic toxicology: Fiction, fantasy or functional? *Human Ecol. Risk Assess.*, **2**(2), 268-274.
- Melancon, M.J., R. Alscher, W. Benson, G. Kruzynski, R.F. Lee, H.C. Sikka, and R.B. Spies. 1992. Metabolic products as biomarkers. p. 87-124. In: *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*, ed. by R.J. Huggett, R.A. Kimerly, P.M. Mehrle and H.L. Bergman. Lewis, Boca Raton.
- Napierska, D. and M. Podolska. 2005. Biomarkers of contaminant exposure: Results of a field study with flounder (*Platichthys flesus*) from the southern Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **50**(7), 758-767.
- Narbonne, J.M., M. Daube, C. Clerandau, and P. Garrigues. 1999. Scale of classification based on biochemical markers in mussels: Application to pollution monitoring in European coasts. *Biomarkers*, **4**(6), 415-424.
- Overnell, J., R. McIntosh, and T.C. Fletcher. 1987. The level of liver metallothionein and zinc in plaice, *Pleuronectes platessa* L., during the breeding season, and the effect of estradiol injection. *J. Fish Biol.*, **30**, 539-546.
- Peakall, D.W. 1994. Biomarkers: The way forward in environmental assessment. *Toxicol. Ecotoxicol. News*, **1**, 55-60.
- Piechotta, G., M. Lacorn, T. Lang, U. Kammann, T. Simat, H.S. Jenke, and H. Steinhart. 1999. Apoptosis in dab (*Limanda limanda*) as possible new biomarker for anthropogenic stress. *Ecotox. Environ. Safe.*, **42**(1), 50-56.
- Schleiger, S.L. 2004. Fish health assessment index study of four reservoirs in West-Central Georgia. *North Am. J. Fisheries Manage.*, **24**(4), 1173-1188.
- Sherry, J.P. 2003. The role of biomarkers in the health assessment of aquatic ecosystems. *Aquat. Ecosyst. Health Manage.*, **6**(4), 423-440.
- Stegeman, J.J. and M.E. Hahn. 1994. Biochemistry and molecular biology of monooxygenase: Current perspective on forms, functions, and regulation of cytochrome P450 in aquatic species. p. 87-206. In: *Aquatic toxicology: Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*, ed. by D.C. Malins and G.K. Ostrander. Lewis, Boca Raton.
- Sturm, A., H.C. da Silva de Assis, and P.D. Hansen. 1999. Cholinesterases of marine teleost fish: Enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. *Mar. Environ. Res.*, **47**(4), 389-398.
- Sturm, A., J. Wogram, H. Segner, and M. Liess. 2000. Different sensitivity to organophosphates of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): Application in biomonitoring. *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**(6), 1607-1615.
- Vaccaro, E., V. Meucci, L. Inotore, D. Soldani, D. Di bello, V. Longo, P.G. Gervasi, and C. Pretti. 2005. Effects of 17- β -estradiol, 4-nonylphenol and PCB 126 on the estrogenic activity and phase 1 and 2 biotransformation enzymes in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Toxicol.*, **75**(4), 293-305.
- Van der Oost R., A. Goksøyr, M. Celander, H. Heida, and N.P.E. Varneulen. 1996. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*), II. Biomarkers: Pollution-induced biochemical responses. *Aquat. Toxicol.*, **36**, 189-222.
- Yuan, Z., S. Courtenay, and I. Wirgin. 2006. Comparison of hepatic and extra hepatic induction of cytochrome P4501A by graded doses of aryl hydrocarbon receptor agonists in Atlantic tomcod from two populations. *Aquat. Toxicol.*, **76**, 306-320.

Received Nov. 1, 2007

Revised Jan. 16, 2008

Accepted Feb. 19, 2008