

## 생태 건강성 평가로서 분자지표에서 군집지표 수준까지의 다양한 변수분석

이 재 훈 · 안 광 국\*

(충남대학교 생명과학과)

**Analysis of Various Ecological Parameters from Molecular to Community Levels for Ecological Health Assessments. Lee, Jae Hoon and Kwang-Guk An\* (Department of Bioscience and Biotechnology, College of Biological Science and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)**

This study was carried out to analyze some influences on ecological health conditions, threaten by various stressors such as physical, chemical and biological parameters. We collected samples in 2008 from three zones of upstream, midstream and downstream, Gap Stream. We applied multi-metric fish assessment index (MFAI), based on biotic integrity model to the three zones along with habitat evaluations based on Qualitative Habitat Evaluation Index (QHEI). We also examined fish fauna and compositions, and analyzed relations with MFAI values, QHEI values, and various guild types. Chemical parameters such as organic matter (BOD, COD), nutrients (TP, NH<sub>3</sub>-N), coliform number (as MPN), and suspended solids (SS) were analyzed to identify the relationship among multiple stressor effects. Using the sentinel species of *Zacco platypus*, the population structures and condition factors were analyzed along with DNA damages related with genotoxicant effects by comet assay. This study using all these parameters showed that stream condition was degraded along the longitudinal gradient from upstream to downstream, and the downstream, especially, was impacted by nutrient enrichment and toxicant exposure from the point source, wastewater treatment plant. Overall results indicated that our approaches applying various parameters may be used as a cause-effect technique in the stream health assessments and also used as a pre-warning tool for diagnosis of ecological degradation.

**Key words : fish indicator, molecular level, community level, water quality, biological integrity**

### 서 론

현재 우리나라는 1960~70년대의 중화학 공업육성으로 인한 고도성장에 힘입어 고도의 경제적 성장을 이루어 왔다(김 등, 2004). 하지만 이러한 성장을 뒷받침하기 위한 공업화, 산업화와 대도시중심의 사회육성은 환경에 대한

소홀로 이어져 수많은 부작용이 파생되어 왔고, 이로 인해 수계는 이수 치수 중심의 획일화된 수계 관리와 오염 물질들의 무분별한 수계 유입으로 인해 생태계가 급격히 파괴되며 악화되어 왔다(An and Park, 2002; Lee and An, 2007). 최근 환경에 대한 관심이 증가하고, 사람들의 생활수준이 높아지면서 친환경적 의식이 강화되고 비로소 웰빙(Well-being), 로하스(LOHAS, Lifestyles of Health

\* Corresponding author: Tel: 042) 821-6408, Fax: 042) 822-9690, E-mail: kgan@cnu.ac.kr

and Sustainability) 등의 개념으로 발전하여 건강한 생활을 영위하기 위해 오염된 주변 환경에 대해 되돌아보기 시작했다. 이에 따라 이화학적인 수질 평가 등으로 이수 및 치수 중심의 수자원 관리가 하천내에 서식하는 생물 중심으로 변화하면서 오염된 하천을 복원하거나 복구하여 건강성을 회복시키는 일에 대한 관심이 증가하고 있다(이 등, 2007).

Karr (1981)에 의해 발표된 IBI (Index of Biological Integrity) 기법은 생물군 중 어류 군집(Fish assemblage)를 이용하여 수생태계를 진단하고 평가하는 방법으로서 현재 미국을 비롯한 수많은 환경 선진국에서 이용하고 있다(안 등, 2001a, b). 우리나라에서는 염 등(2000)에 의해 최초로 도입된 이래, 현재까지 한강 수계(안 등, 2001b), 금강 수계(안 등, 2001a; 배와 안, 2006), 영산강 수계(최와 안, 2008), 섬진강 수계(이 등, 2007) 및 낙동강 수계(염 등, 2000; 권과 안, 2006) 등 우리나라 5대 수계에 대해 적용하여 평가한 바 있다. 이 기법은 기존의 하천 평가기법인 이화학적 분석만을 이용한 수질관리에서 벗어나 수환경에 서식하는 생물을 평가함으로써 수질과 생물을 상호보완적으로 이용하는 효율적 수자원 관리법에 따른 수생생물에 대한 통합적 생태건강성 평가방식이다. 그러나 이러한 IBI는 군집수준(Community level)에서의 분석을 통해 건강성을 평가하기 때문에 수 환경 오염에 대한 반응성이 느리며 오염이 어느 정도 진행된 상태에서만 반응하는 특징이 있다. 따라서 이를 보완하기 위한 오염물질에 대한 즉각적인 반응을 설명할 수 있는 기법 확립이 절실하다.

DNA는 거의 모든 생물들이 가지고 있는 유전물질로서, 오염물질이 수계로 유입될 경우 직·간접적으로 생물체에서 가장 먼저 손상을 입히는 것 중 하나이다. 이러한 DNA 손상은 RNA 전사 및 DNA 합성을 방해하여 극단적인 경우 치사에 이르게 한다(김 등, 2005). 따라서 이러한 현상을 조기에 파악하는 것은 수계 관리에 있어서 매우 중요하다. 일반적으로 Comet assay로 알려진 단일세포 젤 전기영동법(Alkaline single cell gel electrophoresis assay)은 다양한 오염물질 특히 유전독성물질의 노출여부를 판단하는 생물 검정법 중 하나이다(김 등, 2003). Comet assay는 적은 양의 시료만으로도 분석이 가능하고, 분석방법이 비교적 간편하고 용이할 뿐만 아니라  $10^{10}$  dalton당 1개의 DNA 단일 손상을 측정할 수 있을 정도로 감별력이 우수한 특징이 있다(Gedik et al., 1992; 김 등, 2003; Bony et al., 2008). 따라서 해외에서는 어류나 이매패류를 통하여 오염노출을 진단하는 해양오염 모니터링 기법으로 널리 알려져 있으며(Shaw et al., 2000,

2003; Bombail et al., 2001; Pavlica et al., 2001), 국내에서도 해산어류 및 진주담치를 이용한 해양생물의 생물 검정법으로 소개된 바 있다(김과 배, 2003; 김 등, 2003, 2005). 그러나 하천을 대상으로 유전물질에 의한 교란 유무를 연구한 바는 미미한 실정이며 특히 오염이 진행되기 전 조기 경보장치로서의 기법적용은 수계관리에 있어서 매우 중요하다. 따라서 본 연구는 담수 어류를 이용하여 하천생태계 내에서 작용하는 다양한 물리·화학적 스트레스들의 영향을 생태 건강성 평가 및 물리적 서식지 평가를 통해 규명하고, 또한 comet assay를 이용하여 DNA 수준에서의 영향을 파악하는 Pre-warning System으로서의 기능을 평가하기 위한 사례연구로서 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 조사기간 및 조사지점

조사지점은 갑천 수계를 대상으로 상류, 중류, 하류지점 등 3개의 조사지점을 선정하고, 2008년 5월, 수계안정기에 조사를 실시하였다(Fig. 1). 상류지점(Upstream)은 비교적 도심으로부터 벗어나 인위적 영향을 최소로 받고 있으며, 하천 주위로 자연식생이 잘 발달되어 있는 전형적인 자연하천이며, 중류지점(Midstream)은 인근에 병원

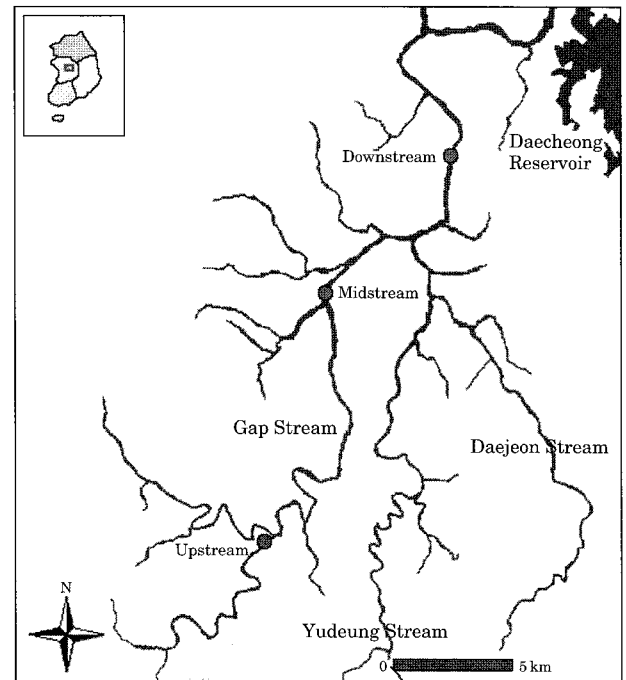


Fig. 1. The map showing the sampling sites in the Gap Stream.

및 교각, 그리고 도심 생활하수 등이 유입되어 하천에 대한 인위적 영향을 받고 있으며, 인공제방으로 형성된 천변을 따라 둔치가 개발되어 있지만 자연식생이 잘 발달되어 덮고 있었다. 하류지점(Downstream)은 지점으로부터 3 km 상류에서 대전시를 관통한 유등천이 합류하고, 2.5 km 상류에서 발생하는 점 오염원(대전 1, 2공단)과  $9 \times 10^5 \text{ m}^3 \text{ day}^{-1}$  규모의 하수종말처리장의 영향을 받는 지점이다. 모든 조사지점은 행정구역상 대전광역시에 속하며, 세부적인 조사지점과 Strahler(1957)에 의거한 하천차수는 다음과 같다.

상류(Upstream): 서구 봉곡동 봉곡2교(3차 하천)

중류(Midstream): 서구 월평동 만년교 상류(4차 하천)

하류(Downstream): 대덕구 전민동 갑천교(5차 하천)

## 2. 조사방법

### 1) 어류 채집방법

어류의 채집은 Ohio EPA(1989)에서 제시한 Wading method를 국내실정에 맞게 수정, 적용한 안 등(2006)의 방법에 의거하였고, 정량적인 채집을 위하여 Catch Per Unit of Effort (CPUE)를 적용하여 지점으로부터 상, 하류 각각 100 m 구간을 60분간 실시하였다. 채집시 서식지의 특성을 고려 반영하기 위하여 조사지점 내의 여울(Riffle), 소(Pool), 유속이 느린 구간(Run)을 모두 포함하였다. 채집된 어류는 김과 박(2002)에 의거하여 분류 동정한 후, 피라미(*Zacco platypus*)를 제외하고 바로 하천으로 방류하였고, 종 목록은 민감종, 중간종, 내성종의 순서로 기술하여 종 특성을 쉽게 파악할 수 있도록 기존의 체계와 달리 길드체계 중심으로 서술했다. 개체군 분석 및 Comet assay를 위해 피라미는 살아있는 상태로 실험실로 운반하여 체장(Total length) 및 체중(Total weight)을 측정하고, 이를 토대로 Anderson and Neumann(1996)의 방법에 의거하여 비만도(Condition factor, CF)를 산정하였고, Comet assay를 위해 혈액을 채취하였다. 채집도구로는 투망(망목 5×5 mm)과 족대(망목 4×4 mm)를 이용하여 큰 사이즈의 성어(Adult fish)뿐만 아니라 어린 유어(Juvenile fish)까지 채집하였다. 투망은 여울, 소 및 유속이 느린 구간에서 장애물이 없는 개방된 곳에서 주로 사용하였으며, 장애물이 많거나 유속이 빨라 투망이 용이하지 않은 곳에서는 족대를 이용하였다. 본 조사에서는 이 화학적 수질분석을 위해 조사지점과 동일한 위치의 환경부 수질측정망 자료(<http://water.nier.go.kr/weis>)를 이용하였고, 수질자료는 장마전(Premonsoon)의 수체안정기를 반영하는 조사시기의 특성상 최근 5년간의 3~5월 자

료를 이용하였다. 지점별 특성을 분석하기 위해 생물학적 산소요구량(BOD)과 화학적 산소요구량(COD), 총인(TP), 암모니아성 질소( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), 그리고 총대장균군수(MPN, 총대장균군/100 mL), 부유물질(SS)의 6개 항목을 이용하였다.

### 2) 다변수 어류 평가 지수 (Multi-metric Fish Assessment Index, MFAI) 모델

현장 채집된 어류를 기반으로 한 다변수 어류 평가지수(MFAI) 산정은 Karr(1981)에 의해 제안되고, 미환경부(US EPA)와 Barbour *et al.*(1999)에 의해 재정립된 Rapid Bioassessment Protocol (RBP) 모델로 재정립된 12개 메트릭 모델을 모체로, 안 등(2005)에 의하여 국내 환경에 맞게 수정 보완된 10개 다변수 메트릭 모델(Multi-metric model)을 이용하였다. 본 연구에서 이용된 각각의 메트릭 속성, 모델의 세부적 특성 및 점수 부여방법 등은 안 등(2001a, 2005)의 연구에서 자세히 기술되었다. 총 10개 메트릭에 대해서 각각 “5”, “3”, “1”의 점수를 부여한 뒤 각 메트릭 값을 합산하여 최적상태(Excellent, 50~46), 양호상태(Good, 40~36), 보통상태(Fair, 30~26), 악화상태(Poor, 20~16), 최악상태(Very Poor, ≤10)의 5개 등급으로 구분하였다.

### 3) 물리적 서식지 평가 모델 (Quantitative Habitat Evaluation Index, QHEI)

물리적 서식지 평가는 안 등(2001a, b)의 모델을 기초로 안과 김(2005)에 의하여 보정된 11개의 다변수 메트릭 모델을 이용하였다. 각 메트릭 속성은 안 등(2001a, b) 및 안과 김(2005)의 연구에 자세히 서술되어 있다. 각 변수값의 등급구분은 US EPA(1993)의 기준에 의거하여 각 메트릭으로부터 얻어진 값을 합산하여 최종적으로 최적상태(Excellent, 220~182), 양호상태(Good, 168~124), 보통상태(Fair, 110~66), 악화상태(Poor, 52~8)의 4개 등급으로 구분하였다.

## 3. Comet assay

### 1) 혈액 샘플 제작

혈액 샘플은 상류, 중류, 하류에서 채집된 서로 크기와 무게가 비슷한 피라미 3개체의 꼬리지느러미 앞부분(Caudal peduncle)을 절개하여, 꼬리 동맥(Caudal artery)으로부터 모세관(Capillary tube)을 이용하여 각각 50  $\mu\text{L}$ 를 채혈하였다. 채혈된 피라미 혈액 50  $\mu\text{L}$ 는 HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) 450  $\mu\text{L}$ 와 섞어 Tube에 넣은 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액을 제거한 후

Comet assay를 실시하였다.

2) Comet assay 실험방법

DNA 손상정도를 측정하기 위한 Comet assay는 Singh *et al.* (1988)과 Sasaki *et al.* (2002)을 기초로 장 등(2003)과 김 등(2005)의 방법을 참고하여 실시하였다. 분리해낸 시료는 0.75% Low Melting Agarose gel (LMA)과 섞은 후, 0.5% Normal Melting Agarose gel (NMA)로 코팅처리한 Slide glass위에 시료가 골고루 분산되도록 도포하였다. Cover glass로 덮고 4°C에서 약 3분간 냉장보관하여 gel을 굳힌 후, Cover glass를 벗기고 다시 0.75% LMA로 도포하였다. Cover glass를 덮고 다시 냉장보관하여 gel이 완전히 굳게 만든 후, 냉장보관한 Lysis buffer solution (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris)과 1% Triton X-100, 10% DMSO의 혼합액을 넣은 Coplin jar에 Cover glass를 제거한 Slide glass를 담구어 60분간 압실에서 냉장보관하여 DNA의 나선구조를 풀어주었다. Lysis가 진행되는 동안 전기영동 Buffer (300 mM NaOH, 10 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH)를 준비하고 Lysis가 끝난 Slide를 전기영동탱크에 배열시키고, 전기영동 Buffer를 채워 40분 동안 Unwinding하여 Alkali labilesite가 드러나게 한 후 25 V, 300 mA에서 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동한 Slide glass를 중성화(Neutralization)시키기 위

해 0.4 M Tris 완충용액 (pH 7.4)에 5분간 3회씩 반복하여 세척하고, 에탄올(95%)에 5분간 담근 후에 40분 이상 실온에서 건조시켰다. 건조된 Slide glass를 Ethidium bromide (ETBR)로 핵을 염색하고 Cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany)으로 세포수를 측정하고 Komet 4.0 comet image analyzing system (Kinetic Imaging, UK)을 이용하여 분석하였다. 샘플 DNA 손상정도는 핵으로부터 이동한 DNA fragment의 거리(Tail length, TL), Tail DNA (%) 또는 Tail extent moment (Tail length (μm) × Tail 내에 함유된 DNA의 비율(%)/100)를 측정하여 나타냈으며 Slide당 각각 25개의 핵을 분석하여 DNA 손상정도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 이화학적 수질 분석

최근 5년간 조사시기에 직접적으로 영향을 준 것으로 판단되는 3~5월의 수질자료 중에서 유기물(Organic matter) 오염과 관계되는 수질지표인 생물학적 산소요구량(BOD)과 화학적 산소요구량(COD), 영양염(Nutrient) 지표인 총인(TP), 암모니아성 질소(NH<sub>3</sub>-N), 그리고 총대

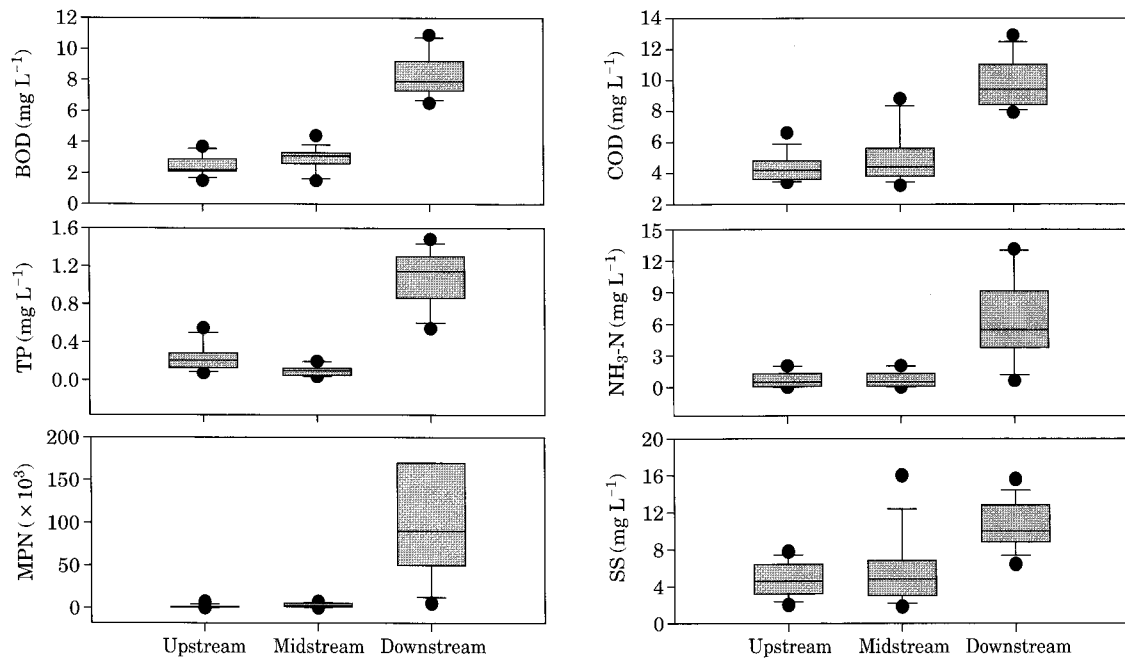


Fig. 2. Water quality at each sampling site, based on data of March~May in the recent 5 years (BOD: biochemical oxygen demand, COD: chemical oxygen demand, TP: total phosphorus, NH<sub>3</sub>-N: ammonia nitrogen, MPN: most probable number of coliform, SS: suspended solids).

**Table 1.** Fish fauna and compositions, based on tolerance, trophic, and habitat guilds in the Gap stream.

Species	Tolerance guild	Trophic guild	Habitat guild	Us	Ms	Ds	Total	RA (%)
1 <i>Coreoleuciscus splendidus</i> *	S	I	RB	0	35	0	35	10.90
2 <i>Odontobutis platycephala</i>	S	C	RB	12	0	0	12	3.74
3 <i>Pungtungia herzi</i>	S	I	RB	1	4	0	5	1.56
4 <i>Iksookimia koreensis</i> *	S	I	RB	2	4	0	6	1.87
5 <i>Pseudobagrus koreanus</i>	S	I	RB	0	3	0	3	0.93
6 <i>Iksookimia choii</i> *+	S	I	RB	0	1	0	1	0.31
7 <i>Hemibarbus longirostris</i>	S	I	-	4	3	0	7	2.18
8 <i>Acheilognathus lanceolatus</i>	S	O	-	3	3	0	6	1.87
9 <i>Zacco temminckii</i>	S	I	-	7	0	0	7	2.18
10 <i>Odontobutis interrupta</i> *	I	C	RB	7	13	0	20	6.23
11 <i>Microphysogobio yaluensis</i> *	I	O	RB	0	9	0	9	2.80
12 <i>Rhinogobius brunneus</i>	I	I	RB	0	7	0	7	2.18
13 <i>Cobitis lutheri</i>	I	I	RB	0	1	0	1	0.31
14 <i>Pseudogobio esocinus</i>	I	I	-	3	3	1	7	2.18
15 <i>Acheilognathus koreensis</i> *	I	O	-	8	0	0	8	2.49
16 <i>Gnathopogon strigatus</i>	I	I	-	0	7	0	7	2.18
17 <i>Squalidus gracilis majimae</i> *	I	I	-	7	0	0	7	2.18
18 <i>Rhodeus uyekii</i> *	I	O	-	1	0	0	1	0.31
19 <i>Sarcocheilichthys nigripinnis morii</i> *	I	I	-	0	1	0	1	0.31
20 <i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	I	C	-	0	1	0	1	0.31
21 <i>Zacco platypus</i>	T	O	-	60	47	7	114	35.51
22 <i>Hemibarbus labeo</i>	T	I	-	0	0	30	30	9.35
23 <i>Carassius auratus</i>	T	O	-	1	2	4	7	2.18
24 <i>Pseudorasbora parva</i>	T	O	-	5	0	0	5	1.56
25 <i>Cyprinus carpio</i>	T	O	-	0	0	4	4	1.25
26 <i>Micropterus salmoides</i>	T	C	-	0	2	0	2	0.62
27 <i>Misgurnus mizolepis</i>	T	H	-	0	4	0	4	1.25
28 <i>Carassius cuvieri</i>	T	O	-	0	4	0	4	1.25
Total Number of Species				14	20	5	28	
Total Number of Individual				121	154	46	321	

\*: Endemic species, +: Endangered species and natural monument, Tolerance guild (S: Sensitive, I: Intermediate, T: Tolerance), Trophic guild (I: Insectivore, O: Omnivore, C: Carnivore, H: Herbivore), Habitat guild (RB: Riffle Benthic), Us: Upstream, Ms: Midstream, Ds: Downstream, RA: Relative abundance

장균군수(MPN, 총대장균군/100 mL), 부유물질(SS) 등의 항목을 분석하였다(Fig. 2). BOD는 평균 4.54 mg L<sup>-1</sup>로서 환경부 수질기준(2007년 1월의 환경부 기준고시), III 등급의 보통상태를 보이고 있다. 그러나 상류와 중류는 각각 평균 2.48, 2.9 mg L<sup>-1</sup>로서 유사하게 나타난 반면, 하류에서는 평균 8.24 mg L<sup>-1</sup>로 높게 나타나 상류와 하류 간에 약 3.3배 정도 차이를 보였다. 한편, COD의 경우도 BOD와 유사한 경향을 보였으며 상·하류 간 차이가 약 2.2배 정도로 하류에서 높게 나타났다. 이는 상대적으로 하류지점 인근에 위치한 하수종말처리장 및 산업공단에서의 유입수와 같은 점오염원으로부터의 유기물 유입에 의한 교란을 받고 있음을 나타낸다. TP 및 NH<sub>3</sub>-N의 경우도 상·하류 간의 차이는 뚜렷하게 나타나 하류에서 수질이 악화되었음을 알 수 있었다. 그러나 중류보다 상류

에서 다소 높은 값을 보이고 있는데, 이는 상류지역에 위치한 농경지들로부터 유입되는 무기영양염류가 다량 함유된 유출수에 의한 영향으로 사료된다. 한편 MPN은 평균 34,103(총대장균군/100 mL)으로 환경부 수질기준(5,000 이하)보다 높게 나타나고 있으며, 특히 공간적인 변이가 심하여 상류(1,424)에 비해 하류(98,133)가 월등히 높게 나타나고 있었다. 이는 하류에서 하천에 직접적으로 영향을 주는 오염물질의 노출뿐만 아니라 간접적으로 서식생물에 대한 세균에 의한 피해까지 고려할 수 있기 때문에 점오염원에 대한 관리가 더욱 절실하다고 판단된다. SS는 평균 6.96 mg L<sup>-1</sup>로서 환경부 수질기준 25 mg L<sup>-1</sup>에 비해 낮게 나타나 양호한 상태를 보였다. 전체적으로 상류에 비해 하류에서 수질이 악화되는 전형적인 도심 하천의 특징을 보이며, 이는 하류부의 점오염원으로 작용

하는 대규모 하수종말처리장에서 유입되는 무기영양물질 및 유기물질이 다량 함유된 유출수와 인근 아파트단지로부터의 생활하수 유입에 의한 것으로 사료되며 하류지점이 상대적으로 오염에 직접 노출되어 있음을 뜻한다.

2. 어류상 및 개체군 분석

본 조사에서 채집된 어류는 전체 28종 321개체로서, 피라미가 114개체 (35.51%)로서 우점하고 있었고, 쉬리 (*Coreoleuciscus splendidus*) 등 9종 (27.41%)이 고유종 (Endemic species)으로 출현하였다 (Table 1). 본 조사에서 고유종은 상류와 중류에서 각각 17.4%, 13%로 출현하였지만, 하류에서는 고유종이 채집되지 않았고, 상류에서 하류로 갈수록 고유종의 상대풍부도가 낮아졌다. 최등 (2000)에 따르면 서식지 상태가 악화되면 고유종은 급격히 감소하게 되는데 본조사의 경우, 도심하천의 특성에 따라 하류로 갈수록 서식지가 인위적 영향을 많이 받아서 급감한 것으로 사료된다. 또한 중류지점에서는 외래종인 배스 (*Micropterus salmoides*)와 떡붕어 (*Carassius cuvieri*)가 각각 4개체씩 채집되었는데 (Fig. 3), US EPA (1993)에서는 외래종에 의해 하천의 생태학적 특성이 변화되고 교란될 수 있다고 보고한 바 있으며, 특히 배스는 환경부에서 1998년 이래로 생태계 교란 야생동식물로 지정되어 관리할 만큼 국내 하천생태계에 미치는 영향이 큰 어종이기 때문에 지속적인 모니터링을 통해서 관리할 필요가 있으며 분포 및 개체군 수준의 변이양상에 대한 추후연구가 필요하다고 사료된다. 본 조사에서 출현한 외형적 비정상성 어종 (DELT: Deformity, Erosion, Lesion, Tumor)은 상류에서 피라미 1개체 (RA 2.17%), 중류에서 줄몰개 (*Gnathopogon strigatus*) 2개체 (RA 1.35%), 하류에서 누치 (*Hemibarbus labeo*) 1개체 (RA 2.17%)가 출현하였고 (Fig. 3), 하류로 가면서 증가하는 경향을 보였으며 상류의 경우 형태적 기형어종 (Deformity)이 출현한 반면, 중·하류에서는 체벽의 출혈을 동반한 피부 진무름 (Erosion)에 의한 비정상종이 출현하였다. 따라서 하류로 갈수록 점오염원으로부터 유입되는 영양물질의 증가와 MPN의 증가에 의해 외부손상이 생길 경우 회복되지 않고, 미생물 등에 의한 2차 감염 등의 이유로 비정상종이 증가하는 경향을 보이는 것으로 사료된다. 한편 중류지점에서 미호종개 (*Iksookimia choii*)가 1개체 출현하였다. 미호종개는 서식분포역이 매우 좁고, 지속적인 환경의 변화에 의해 개체수가 급감하고 있기에 환경부 멸종위기종 1급 및 천연기념물 454호로 지정되어 보호되고 있는 어류로서 (홍, 2004), 서식지 복원 및 개체수 증식을 위한 연구

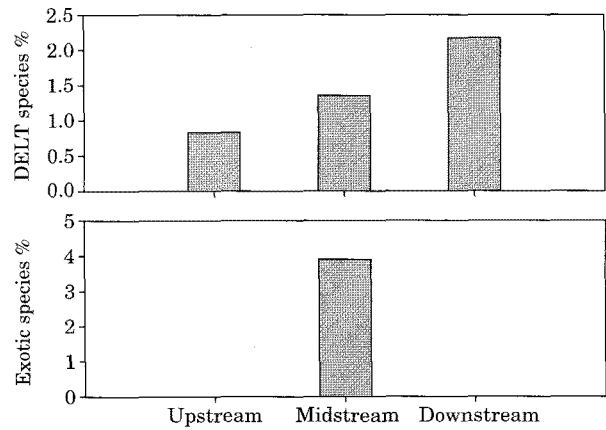


Fig. 3. Relative abundance of anomalies (DELT: Deformity, Erosion, lesion, Tumor) and exotic species in the Gap Stream.

가 다각적으로 진행되고 있다. 따라서 자연서식지로 확인된 중류지역의 서식 환경을 유지하기 위해 오염원의 유입을 최대한 저감해야 하며, 지속적인 모니터링을 통한 후발적인 연구도 필요하다고 사료된다.

본 조사에서 채집종에 따른 종풍부도 분석 결과, 상류 14종, 중류 20종이 각각 출현하였지만 하류에서 5종만이 출현하여 상대적으로 낮게 나타났다. 대조하천 (Reference stream) 조사에 의거한 하천차수에 따른 최대 종풍부도선 (Maximum species richness line)에 따르면 (안 등, 2001a), 3차 하천에서 9종, 4차 하천에서 12종, 5차 하천에서 15종이 최대 출현하는 것으로 나타났다. 따라서 상류 및 중류의 경우 대조하천에 비해 더 많은 종들이 출현하고 있지만, 하류에서는 대조하천의 33% 정도의 종들만 출현하였다 (Fig. 4). 또한 개체수에 있어서도 상류와 중류 (각각 121개체, 154개체)에 비해 하류가 46개체로 낮게 나타나고 있으며, 하천차수에 따른 대조하천의 최대 개체수가 각각 183개체 (3차 하천), 229개체 (4차 하천), 321개체 (5차 하천)와 비교할 때 (안 등, 2001a), 상류 및 중류의 경우 개체수가 대조하천의 65% 이상 출현하고 있지만 하류는 14% 정도로 출현하였다 (Fig. 4). 종합적으로 종수의 경우 대조하천에 비하여 상류와 중류지역에서 풍부하게 나타나고 있지만, 개체수에서는 대조하천에 비해 비교적 낮게 나타나고 있었다. 특히 하천차수가 늘어난 하류지역의 특성상 종수 및 개체수가 다양하고 풍부하게 나타나야 하지만, 오염 및 인위적 하천간섭 등과 같은 생태적 교란에 의해 직접적인 영향을 받는 도심하천의 하류지역은 종수 및 개체수에 직접적으로 영향을 미치기 때문에 인간의 자발적인 서식지 보존 및 유지를 위한 노

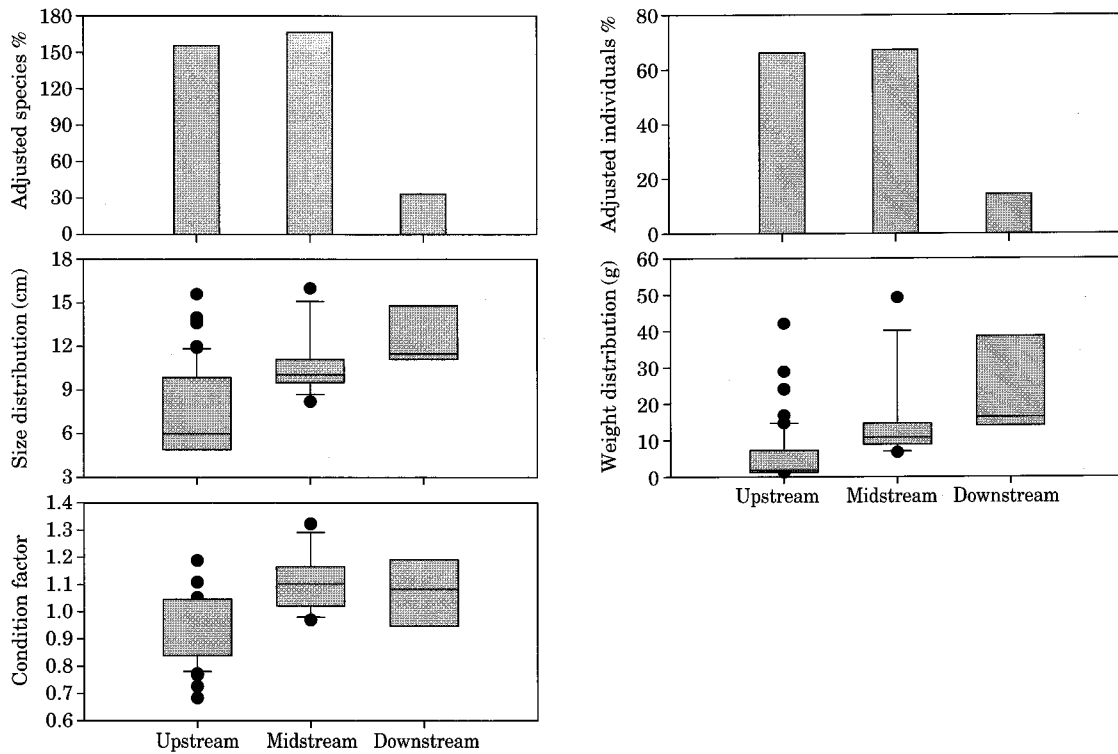


Fig. 4. Adjusted species and individuals based on maximum species richness number and population analysis of sentinel species, *Zacco platypus* in the Gap Stream.

력이 필요하다고 사료된다.

본 조사에서 채집된 피라미 개체군에 대한 체장 및 체중 분포를 살펴보면 상류에서 하류로 갈수록 평균 전장과 무게는 높아지는 반면 그 분포 범위는 좁아지고 있다 (Fig. 4). 즉 상류는 비록 평균적인 체장과 무게는 낮게 나타나지만, 크기가 큰 개체와 작은 개체 사이의 분포 범위가 넓어 훨씬 다양한 출현 양상을 보이고 있는 반면, 하류는 상류에 비해 체장이 크고, 따라서 체중도 무거운 개체가 출현하여 체장분포 범위가 제한적으로 나타났다. 주어진 서식 환경에서의 어류 영양 상태를 비롯한 건강 상태를 파악하는 중요한 지표로 이용되는 비만도 (Condition Factor, CF) 분석에서는 체장, 체중과 비슷한 결과를 보이며 상류에 비해 하류가 높게 나타나고 있었다 (Fig. 4). 또한 하류는 상류에 비해 분포가 제한적이기 때문에 하류지역의 유기 오염물질에 집중적으로 영향을 받아 CF가 높게 나타나고 있음을 알 수 있었다. 전체적으로 체장, 체중 및 CF 등을 통한 피라미 개체군 분석에서는 상류지점에 비해 중류 및 하류에서 유의한 증가를 보였으며 ( $P < 0.01$ ), 특히 하류부는 인근에 위치하는 하수종말처리장의 영향으로 하류 수체내 질소(N) 및 인(P) 등 영양물질 유입에 의한 수체교란이 발생한 상태를 잘 반영한다

고 사료된다.

### 3. 생태 지표종 길드 특성 분석

어류의 오염내성도에 따른 길드분석 결과, 전체적으로 내성종이 52.96% (170개체)로 비교적 높게 나타났으며, 민감종은 16.49% (82개체)로 낮게 나타났다 (Fig. 5). 내성종과 잡식종의 개체수 및 종수는 유기물 오염, 서식지 파괴 등의 서식지의 물리·화학적 질적 하강에 의해 증가한다는 기존 보고 (Karr, 1981; US EPA 1991)와도 일치하며, 이는 조사하천인 갑천이 대전광역시를 흐르는 도심하천이며 상류에 비해 하류로 갈수록 인위적인 하천 간섭 및 도심에서 유입되는 생활하수 등 점오염원에 의해 영향을 많이 받고 있기 때문이다. 또한 하루 900,000t의 하수를 처리하는 대규모 하수종말처리장으로부터 유출수 및 하안 공사 등 물리적 서식지 교란에 노출된 유등천의 합류에 의한 영향을 직접적으로 받고 있는 하류지점의 경우 내성종이 97% (45개체)로 나타났고, 민감종이 출현하지 않아 갑천의 하류지역 생태계가 오염에 직접적으로 노출되어 있음을 시사한다.

섭식길드 분석 결과, 전체적으로 잡식종 (158개체, 49.22%)이 충식종 (124개체, 38.62%)에 비해 우세하게 나타나

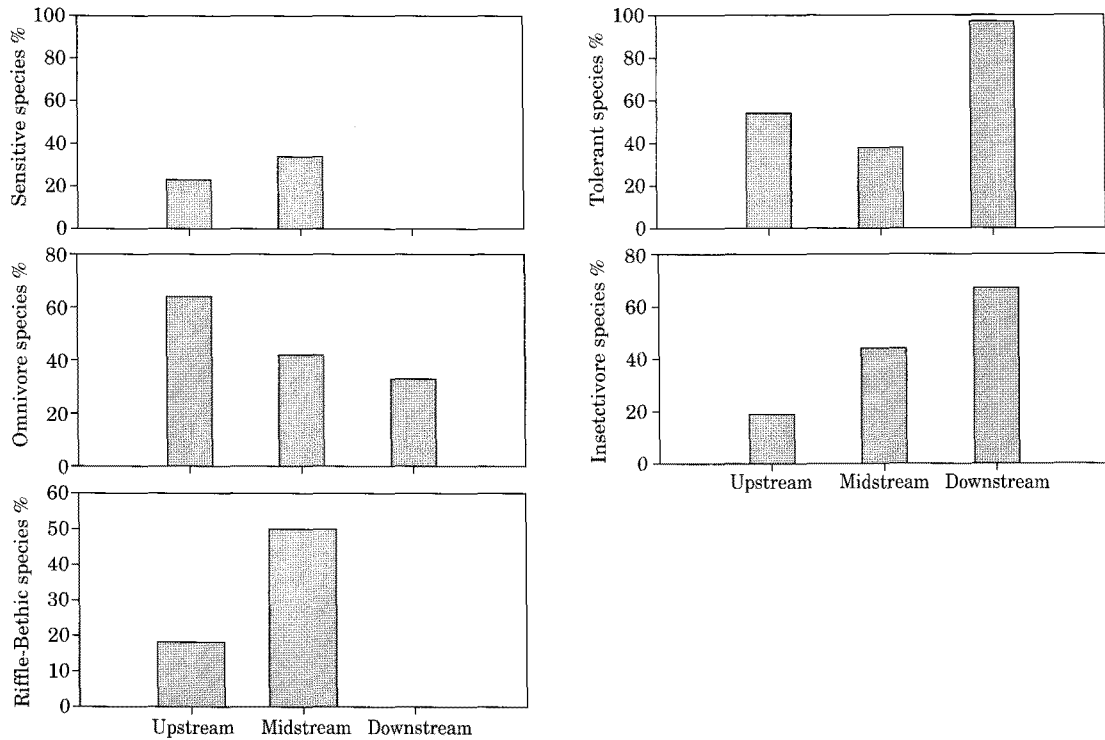


Fig. 5. Variations of tolerance, trophic and habitat guild along the gradient of upstream to downstream in the Gap Stream.

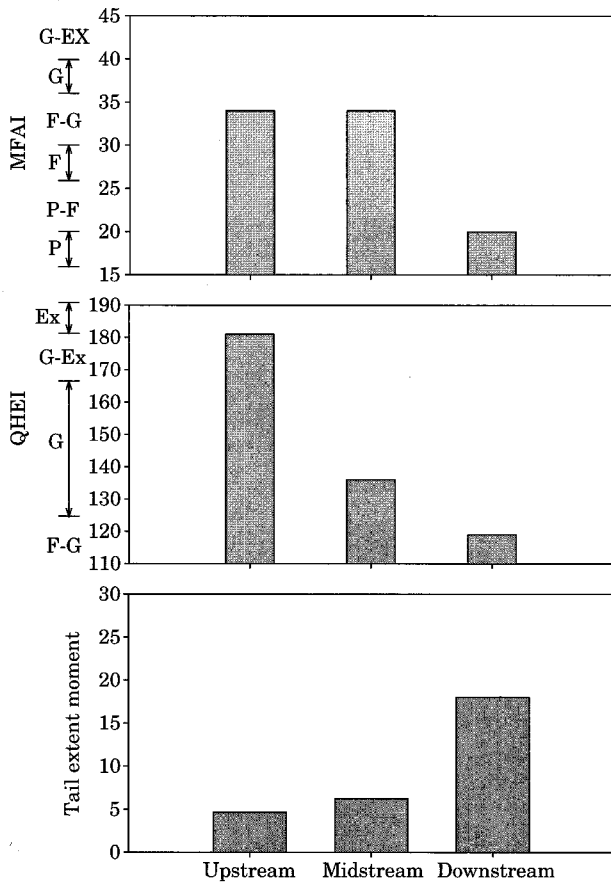
서식지의 물리·화학적인 질적 저하현상을 반영하는 도심하천의 특성을 나타내고 있으나 오염내성도 분석에서와 같은 상, 하류 간의 특징적 차이는 보이지 않았고, 오히려 하류부에서 잡식종이 줄고, 충식종이 늘어나는 현상을 나타냈다(Fig. 5). 이는 하천차수가 증가함에도 불구하고 하류에서 채집된 종수 및 개체수가 상류 및 중류에 비해 훨씬 적게 나타났고, 전체 46개체 중 누치가 30개체로 65% 정도 차지하면서 충식종 비율에 영향을 미친 것으로 사료된다. 한편, 서식지 길드 분석에서는 상류 및 중류지역에서 18%, 50% 정도 출현한 여울성 저서어종(Riffle-Benthic species)이 하류지점에서는 출현하지 않았고, 이는 내성도 길드분석과 같이 하류지역의 서식지 상태가 교란 및 오염에 의해 영향을 받고 있는 것으로 나타났다(Fig. 5).

4. MFAI 및 QHEI 분석

어류를 이용한 다변수 평가 지수 분석에서 갑천은 평균 29.3 (n=3)으로 보통상태 (Fair)를 보이고 있으나, 상류(34, 양호~보통상태)에서 하류(20, 악화상태)로 갈수록 하천상태가 악화되고 있는 전형적인 도심하천의 특징을 보이고 있었다(Fig. 6). 이는 하천차수가 증가할수록 또는 하류로 갈수록 하천 오염원의 증가에 의해서 생물학적 건

강도가 떨어진다는 US EPA (1993)의 보고와 일치하며 특히 기존의 갑천에 대한 보고(안 등, 2001a; 배와 안, 2006)와도 유사한 결과를 보이고 있었다. 메트릭별 특징에서 전체적으로 내성종(M<sub>4</sub>)의 비율이 52.96%로 높게 나타나 가장 낮은 메트릭 점수가 부여되었으며, 전체적으로 가장 낮은 생태 건강상태를 보인 하류부에서 여울성 저서종(M<sub>2</sub>) 및 민감종(M<sub>3</sub>)이 전혀 출현하지 않았고, 하천차수에 비해 종수(M<sub>1</sub>) 및 개체수(M<sub>6</sub>)가 부족하며 높은 비정상종 출현(M<sub>10</sub>)에 의해 최하 메트릭점수가 부여되었다. 물리적 서식지 평가모델 분석 결과에서 평균 145.3 (n=3)으로 양호~보통상태를 보이고 있으며, 전체적으로 보통상태 이상의 서식지 상태를 보이고 있었다. 비교적 도심으로부터 떨어져 있어 인위적 영향을 최소로 받고 있는 상류지점에서의 QHEI 값은 181로서 건강도 등급에서 최적~양호상태를 나타내고 있었다(Fig. 6). 그러나 중류지점(136, 양호)과 하류지점(119, 양호~보통)은 도심의 영향을 직접적으로 받고 있으며, 인공제방이 형성되어 있어 천변식생피복이 상대적으로 상류에 비해 낮게 분포하고 있었다. 저질(Substrate)의 조성 및 상태 분석에서는 상류가 90% 이상 자갈로 이루어져 있고, 여울이 많이 분포하는 반면, 하류로 갈수록 모래 및 진흙으로 하상이 구성되고, 검은색 유기물 부식으로 인한 심한 악취 및 기





**Fig. 6.** Ecological Health assessment, based on Multi-metric Fish Assessment Index and Qualitative Habitat Evaluation Index with the result of tail extent moment from Comet assay.

포 등이 발생하고 있어 저질오염이 심각하게 진행되고 있었다.

**5. Comet assay 분석**

상류, 중류 및 하류의 각 조사지점에서 채집된 피라미 3개체의 혈구세포를 분석하여 나타난 DNA fragmentation의 양상을 살펴보면, Tail extent moment, Tail DNA % 및 Tail length 분석 모두 상류에서 하류로 갈수록 증가하고 있으며, 특히 상류와 하류지점사이에 유의한 차이( $P < 0.01$ )가 있는 것으로 나타났다(Table 2, Fig. 6). 수중생태계에서 생물의 DNA를 손상시키는 것으로는 UV 및 각종 방사선과 제초제, 농약, 중금속 등 수계로 유입될 수 있는 여러 가지 유전독성물질(Genotoxicant) 등이 알려져 있고(김 등, 2003; 서 등, 2006; 박 등, 2007; Lee and Steinert, 2003), 그중에서 환경 오염물질로 대표적인 것은 PAHs 등이 보고된 바 있다(김과 배, 2003; 김 등, 2005). 하류로 갈수록 DNA 손상이 증가함은 하류지점이 이들 오염물질에 의해 노출되어 있음을 의미한다. 또한 Ladeira *et al.* (2005)은 세균감염의 정도와 DNA 손상과의 상관관계로부터 세균에 의한 산물이 DNA strand break까지 유도한다고 보고 한 바에 따라 하류지역의 높은 MPN 수치와도 유전적 오염노출이 연관될 수 있음을 시사한다.

종합적으로 갑천의 상류에서 하류까지의 이화학적 수질분석, 물리적 서식지 분석 및 어류를 이용한 다양한 생물학적 분자지표 및 군집 지표 분석 등을 통하여 살펴본

**Table 2.** Summary of DNA damage, assessed by Comet assay from sentinel species, *Zacco platypus* along with up to downstream in the Gap Stream.

Site	Sample (n=25)	Tail extent moment		Tail DNA (%)		Tail length (μm)	
		Average	Range	Average	Range	Average	Range
Us	1	4.79	0~19.71	13.47	0.02~44.06	22.59	0~112.2
	2	4.50	0~22.99	15.14	0.62~46.86	22.49	0~64.63
	3	4.68	0~24.24	11.52	1.07~42.12	25.98	0~75.61
	Total	4.66	0~24.24	13.38	0.02~46.86	24.02	0~112.2
Ms	1	6.16	0~24.66	17.65	0.98~52.43	25.36	0~64.63
	2	5.73	0~27.74	16.00	0.01~56.01	25.37	0~64.63
	3	6.88	0~29.21	18.26	0.02~54.44	29.07	0~57.32
	Total	6.25	0~29.21	17.30	0.01~56.01	26.60	0~64.63
Ds	1	29.49	0~118.31	31.72	0.44~69.80	61.17	0~169.51
	2	13.02	0~61.62	22.33	0.65~50.03	50.34	10.98~123.17
	3	11.54	0~40.76	29.00	4.2~60.98	35.66	0~107.32
	Total	18.02*	0~118.31	27.68*	0.44~69.80	49.06*	0~169.51

Us: Upstream, Ms: Midstream, Ds: Downstream, n=observed nucleus number in each sample. Asterisk means  $P < 0.01$ .

결과, 비교적 자연식생이 발달하고 인근에 점오염원이 존재하지 않는 상류에 비해서 인위적 간섭이 시작되는 중류 및 뚜렷한 점오염원으로부터 지속적으로 영향을 받고 있는 하류로 갈수록 오염에 대한 노출이 뚜렷하게 증가하고 있으며, 특히 유기물 및 무기영양염류에 의한 직접적인 노출이 발생하고 있는 것으로 나타났다. 또한 유기물 및 영양염뿐만 아니라 수체내 세균 등이 급격히 증가하는 하류지점에서는 이러한 복합적인 영향이 어류상 및 생태적 지표종 길드구조의 변화를 야기시키고 또한 서식지 저질의 심각한 질적 저하를 일으키고 있었다. 분석에 이용된 다양한 지표들은 이런 질적저하 현상을 잘 반영하고 있으며, 특히 Comet assay를 이용한 분석은 환경오염물질을 포함한 유전독성물질에 대한 노출 및 세균노출에 의한 유전적 오염여부까지 감지하고 있다. 개체군 분석은 어류의 체장, 체중 분포 양상 변화 및 영양물질의 유입으로 인한 CF의 변화 등을 통하여 중류지역의 영양염 오염에 의한 생태적 영향을 제시하고 있고, 군집 분석은 전체적인 갑천 수계의 상태와 하류의 수질악화를 잘 반영하고 있는 것으로 나타났다. 따라서 다양한 변수를 이용한 평가기법 반영은 조기진단을 위한 총체적인 수환경 평가를 효과적으로 수행할 수 있고 또한 오염에 의한 노출여부를 민감하게 판단 할 수 있는 핵심기법으로 이용할 수 있다.

사 사

본 연구는 환경부의 차세대 핵심환경기술개발 사업(세부 과제명: 수중생태계에서 어류개체 및 군집수준의 생물학적, 화학적, 물리적 서식지 스트레스 평가모델 개발 및 최적 스트레스 분석)에 의해 수행되었음.

인 용 문 헌

권영수, 안광국. 2006. 금호강 수계에서 생물학적 하천 건강도 및 이화학적 특성. 한국육수학회지 39(2): 145-156.  
 김기범, 배세진. 2003. Pyrene과 Benzo(a)pyrene에 노출된 글의 혈구세포와 아가미 세포에서의 DNA 손상 측정을 위한 Comet assay의 이용. 한국양식학회지 16(3): 196-201.  
 김기범, 안준진, 김재원. 2005. 유전독성물질로 오염된 해양생물의 생물검정법으로서 Comet assay 이용. 한국환경과학회지 14(11): 1071-1079.  
 김기범, R.F. Lee, and K.A. Maruya. 2003. 어류혈구세포에 있어서 Single Cell Gel Electrophoresis를 응용한 DNA

Single Strand Break의 측정. 한국어류학회지 36(4): 346-351.  
 김익수, 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사. 서울.  
 김형철, 윤춘경, 정광국, 장재호. 2004. 하구담수호에 유입되는 하천에서 수질오염물질간의 상관관계 분석. 한국물환경학회 2004 학술발표회 논문집. p. 62-71.  
 박선영, 서대영, 서광선, 이선영. 2007. 대두 함유 방사선 조사 식이를 섭취한 Mouse의 산화적 스트레스. 한국영양학회지 40(2): 138-146.  
 배대열, 안광국. 2006. 생물학적 다변수 모델 적용 및 수화학분석에 의거한 갑천생태계 평가. 한국육수학회지 39(2): 198-208.  
 서대영, 박선영, 강명희, 서광선, 이선영. 2006. 방사선 조사된 고분포화지방산 식이를 섭취한 Mouse의 산화적 스트레스. 한국영양학회지. 39(7): 599-609.  
 안광국, 김자현. 2005. 물리적 서식지평가기법 및 어류 다변수 평가모델에 의거한 대전천의 생태학적 건강도 진단. 한국육수학회지 38(3): 361-371.  
 안광국, 염동혁, 이성규. 2001a. 생물보전지수(Index of Biological Integrity)의 신속한 생물평가 기법을 이용한 갑천수계의 평가. 환경생물 19(4): 261-269.  
 안광국, 이재연, 배대열, 김자현, 황순진, 원두희, 이재관, 김창수. 2006. 우리나라 주요하천 수계에서 다변수모델을 이용한 생태학적 수환경 평가. 한국물환경학회지 22(5): 796-804.  
 안광국, 이재연, 장하나. 2005. 유등천에서의 생태학적 건강성 평가 및 수질양상. 한국육수학회지 38(3): 341-351.  
 안광국, 정승현, 최신석. 2001b. 생물보전지수(Index of Biological Integrity) 및 서식지 평가지수(Qualitative Habitat Evaluation Index)를 이용한 평창강의 수환경 평가. 한국육수학회지 34(3): 153-165.  
 염동혁, 안광국, 홍영표, 이성규. 2000. 어류군집을 이용한 금호강의 생물보전지수(Index of Biological Integrity) 평가. 환경생물 18(2): 215-226.  
 이의행, 최지웅, 이재훈, 안광국. 2007. 어류모델 메트릭, 물리적 서식지 변수 및 수질특성 분석에 의한 섬진강의 생태건강성 평가. 한국육수학회지 40(2): 184-192.  
 이재훈, 홍영표, 안광국. 2007. 낙동강 상류 수계의 어류 군집 구조 분석 및 생태건강도 평가. 한국육수학회지 40(3): 403-411.  
 장현희, 강명희, 양재승, 이선영. 2003. 방사선 조사 사료를 섭취한 Mouse의 혈장, 간, 소장 점막의 과산화지질과 림프구 DNA의 산화적 손상. 한국영양학회지 36(3): 255-261.  
 최준길, 변화근, 석형근. 2000. 원주천의 어류군집동태. 한국육수학회지 33(3): 274-281.  
 최지웅, 안광국. 2008. 다각적 수환경지표를 이용한 영산호의 생태영향 평가. 한국하천호수학회지 41(2): 155-165.  
 홍영표. 2004. 멸종위기종 미호종개의 현황 및 보존. 2004년 한국어류학회 추계학술발표대회 심포지움 발표요약집. p. 59-75.

- An, K-G. and S.S. Park. 2002. Indirect influence of the summer monsoon on chlorophyll-total phosphorus models in reservoirs: a case study. *Ecological Modelling* **152**: 191-203.
- Anderson, O.R. and R.M. Neumann. 1996. Length, weight, and associated structural indices, p. 447-482. *In*: Fisheries techniques (Nielsen L.A. and D.L. Johnson, eds.). Bethesda, American fishery society.
- Barbour, M.T., J. Gerritsen, B.D. Snyder and J.B. Stribling. 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish, 2nd Ed, EPA 841-B-99-002. US EPA Office of Water, Washington, D.C., USA.
- Bombail, V.D., A.E. Gordon and J. Batty. 2001. Application of the comet and micronucleus assay to butterfish (*Pholis gunnelus*) erythrocytes from the fifth of forth, *Chemosphere* **44**: 383-339.
- Bony, S., C. Gillet, A. Bouchez, C. Margoum and A. Devaux. 2008. Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: Field and mesocosm survey. *Aquatic toxicology* **89**: 197-203.
- Gedik, C.M., S.W.B. Ewen and A.R. Collins. 1992. Single-cell gel electrophoresis applied to the analysis UV-C damage and its repair in human cells. *International Journal of Radiation Biology* **62**: 313-320.
- Karr, J.R. 1981. Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries* **6**: 21-27.
- Ladeira, M.S.P., M.A.M. Rodrigues, D.V.F. Maia and D.M.F. Salvadori. 2005. Use of comet assay to assess DNA damage in patients infected by *Helicobacter pylori* comparisons between visual and image analysis. *Mutation Research* **586**: 76-86.
- Lee, J.H. and K-G. An. 2007. Seasonal dynamics of fish fauna and compositions in the Gap stream along with conventional water quality. *Korean Journal of Limnology* **40**: 503-510.
- Lee, R.F. and S. Steinert. 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine/freshwater) animals. *Mutation Research* **544**: 43-64.
- Ohio EPA. 1989. Biological criteria for the protection of aquatic life. Vol.III, Standardized biological field sampling and laboratory method for assessing fish and macroinvertebrate communities. U.S.A.
- Pavlica, M., G.I.V. Klobučar, N. Mojaš, R. Erben and D. Papeš. 2001. Detection of DNA damage in hemocyte of zebra mussel using comet assay. *Mutation Research* **490**: 209-214.
- Sasaki, Y.F., S. Kawaguchi, A. Kamaya, M. Ohshita, K. Kabasawa, K. Iwama, K. Taniguchi and S. Tsuda. 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research* **519**: 103-119.
- Shaw, J.P., A.T. Large, D.R. Livingstone, A. Doyotte, J. Renger, J.K. Chipman and L.D. Peters. 2002. Elevation of cytochrome P450-immunopositive protein and DNA damage in mussel (*Mytilus edulis*) transplanted to a contaminated site. *Marine Environmental Research* **54**: 505-509.
- Shaw, J.P., A.T. Large, J.K. Chipman, D.R. Livingstone and L.D. Peters. 2000. Seasonal variation in mussel *Mytilus edulis* digestive gland cytochrome P4501A- and 2E immunoidentified protein levels and DNA strand breaks (Comet assay). *Marine Environmental Research* **50**: 405-409.
- Singh, P.N., M.T. McCoy, R.R. Tice and E.L. Schneider 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* **175**: 184-191.
- Strahler, A.N. 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions, American Geophysical Union* **38**: 913-920.
- US EPA. 1991. Technical support document for water quality-based toxic control. EPA 505-2-90-001. US EPA, Office of Water, Washington D.C., USA.
- US EPA. 1993. Fish field and laboratory methods for evaluating the biological integrity of surface waters. EPA 600-R-92-111. Environmental Monitoring systems Laboratory - Cincinnati office of Modeling, Monitoring systems, and quality assurance Office of Research Development, US. EPA, Cincinnati, Ohio 45268, USA.

(Manuscript received 6 February 2010,  
Revision accepted 16 March 2010)