

639.2  
31740

최 종  
연구보고서

GOVP1200103176

# 연안어업 손실평가를 위한 생물검정 시험의 기준확립방안 연구

주관연구기관 : 부 경 대 학 교

해 양 수 산 부



# 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “연안어업 손실평가를 위한 생물검정 시험의 기준 확립방안 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001 년 2 월

주관연구기관명 : 부경대학교

총괄연구책임자 : 진 평

연 구 원 : 강 주 찬

연 구 원 : 이 정 식

# 요 약 문

## I. 제목

연안어업 손실평가를 위한 생물검정 시험의 기준확립방안 연구

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

현재 개발되는 유해화학물질은 날로 그 종류가 증가하고 있으며, 이들 물질은 직접 혹은 간접적으로 연안에 유입되어 생태계 및 인체에 저해영향을 미치고 있다. 해양의 생물자원 또는 수산생물에게 저해영향을 미치는 오염물질의 농도를 결정하는 수단으로서 현재 전세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 것은 표준실내생물검정시험을 들 수 있다. 연안에 방출되는 오염물질에 대한 허용한계농도를 정하기 위하여 급성독성결과를 기준으로 하여 ASTM과 OECD에서는 생육초기 독성시험을, USEPA에서는 생육초기 독성시험과 만성독성을 채택하고 있다. 그러나 우리 나라의 환경청에서는 단지 급성독성만을 채택하고 있어 연안의 오염물질에 따른 어업손실평가가 제대로 이루어지지 않고 있는 실정이다.

생물검정시험법은 체제를 갖추고 있으나 어업생물을 공시재료로 이용하는 데는 적용에 한계가 있다. 따라서 수산생물에 대한 오염원의 생물검정을 위해서는 표준공시재료의 설정과 오염원에 따른 실험방법의 확립이 필요하다. 따라서 공시재료의 설정을 위하여 그 대상 종의 생태생리 및 생식생물학적 조사를 실시하고, 독성시험방법을 개발하기 위하여 기존의 방법과 개발된 방법을 비교하여 그 타당성을 조사하였다. 또한, 공시재료에 대한 오염원의 급성 및 만성독성을 실시하여 그 반응과 상호 상관성을 비교 분석하여 오염원에 의한 급성 및 만성독성 자료를 기준으로 각각의 시험생물 및 시험물질에 대한 영향농도를 설정한다.

### Ⅲ. 연구개발내용 및 범위

#### 1. 독성시험방법의 설정

##### 가. 독성시험 방법

독성시험방법은 실험용액의 설정농도의 유지를 위한 시험방법, 실험동물의 특성 등에 따라 일반적으로 정수식 (static system), 환수식 (renewal system) 및 유수식 (continuous flow system) 방법이 있다. 그러나 본 연구에서는 상기의 3가지 방법과 순환식(recirculation system) 방법을 추가 제작하여 시험하였다.

##### 나. 독성시험방법에 따른 환경평가 및 독성수준

4가지의 독성시험방법은 각각의 특성에 따라 실험용액 및 기타환경조건이 시험기간 동안 상이할 수 있다. 본 연구에서는 유수식 방법을 기준으로 하여 이를 변형한 환수식 방법을 개발하여 오염물질을 대상으로 농도 및 기타 수질의 변화를 검토하였다. 또한 각 시험방법에 따른 독성정도를 파악하기 위하여 급성독성시험을 실시하였다.

##### 다. 표준시험방법의 설정

상기의 4가지 독성시험 방법에 의한 환경 변화, 독성수준 및 실험조건 등을 고려하여 표준방법을 설정하였다.

#### 2. 표준공시재료의 설정

##### 가. 공시재료의 선택

본 과제의 연구수행에 필요한 공시 대상 종은 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*, 넙치, *Paralichthys olivaceus*, 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*을 선택하였다.

#### 나. 공시재료의 적합성 검토

공시재료의 적합성을 검토하기 위하여 곤쟁이, 넙치, 날개망둑에 대한 생태생리, 생식생물학적 조사 및 염분과 수온에 대한 내성조사를 실시하였다.

#### 다. 공시재료의 설정

곤쟁이, 넙치 및 날개망둑에 대한 생태생리, 생식생물학조사 및 염분과 수온에 대한 내성조사를 바탕으로 독성시험 조건에 필요한 사항을 검토하여 공시재료를 설정하였다.

### 3. 급성독성시험의 평가

공시재료에 대한 급성독성의 수준을 평가하고, 독성물질에 대한 반응성을 파악하기 위하여 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*, 넙치, *Paralichthys olivaceus*, 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*에 대한 반수치사 농도 (LC<sub>50</sub>)를 산출하였다.

### 4. 만성독성시험의 평가

독성물질에 대한 급성독성결과를 바탕으로 만성독성 농도를 설정하여 시험하였다. 만성독성의 결과는 피해영향을 산출하는데 이용되며, 이때 만성독성은 42일 동안 독성물질에 대한 생존, 성장, 대사 및 조직학적 변화를 바탕으로 평가하였다.

### 5. 피해영향농도 설정

공시재료 및 독성물질에 대한 만성독성의 결과에 바탕으로 공통관찰 항목을 설정하고, 피해영향을 산출하였다.

## IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 연구개발결과

#### 가. 독성시험방법의 설정

##### (1) 독성시험방법

독성시험방법은 실험용액의 농도 유지방법 및 실험동물의 특성 등에 따라 일반적으로 다음과 같이 정수식(static system), 환수식(renewal system) 및 유수식(continuous flow system) 방법이 있다.

● 정수식 (static system) 방법 : 노출기간 동안 시험용액을 교환하지 않고 독성시험을 실시하는 방법.

● 환수식 (renewal system) 방법 : 일정기간 마다 시험용액을 교체하면서 시험을 실시하는 방법으로 보통 24시간 혹은 48시간마다 새로운 실험용액으로 교환하는 방법.

● 유수식 (continuous flow system) 방법 : 노출기간 동안 계속적으로 시험용액을 교체하는 방법이다. 따라서 본 연구개발에서는 순환식 장치를 제작하여 그 타당성을 조사하였다.

##### (2) 독성시험 방법에 따른 환경변화 및 독성수준

실험기간 동안 정수식 방법에서는 시간의 경과함에 따라 수질의 악화되는 현상을 나타냈으나, 그 외의 시험방법, 특히 유수식 방법과 환수식 방법에서는 시험기간 동안 수질 거의 변화가 관찰되지 않았다.

4가지 독성시험 방법에 따른 시험어의 96시간 반수치사농도(96hr-LC<sub>50</sub>)는 정수식방법에서 가장 높은 값을 보였고, 다음은 환수식 방법에서 높은 값을 보였다. 유수식 및 순환식 방법에서는 대체로 유사하게 나타났다. 따라서 동일 오염물질에 대해서도 시험방법에 따라 독성정도는 다르게 나타나고 있고, 유수식 및 순환식 방법에서 가장 강한 독성을 나타냈다.

### (3) 표준시험방법의 설정

급성독성 시험은 시험물질의 안정성 및 시험동물의 특성에 따라 정수, 환수 및 유수식 방법이 사용될 수 있고, 만성독성 시험은 일반적으로 환수식 및 유수식 방법이 사용되고 있다. 그러나 이들 방법은 시험기간 동안의 시험용액의 유지, 시험생물의 특성에 따라 장단점을 가지고 있어 최근 독성정도를 보다 정확히 구명할 수 있는 유수식 방법을 국제적으로 권장하고 있다. 그러나, 유수식 방법은 시험장치가 복잡하고, 시험비용도 많이 들기 때문에 본 연구에서는 이들 단점들을 고안하여 저 비용으로 독성정도를 명확히 구명할 수 있는 순환식(recirculation system) 장치를 설정하였다.

### 나. 표준공시재료의 설정

#### (1) 공시재료의 적합성 검토

공시대상 종을 선택한 이유는 넙치를 제외하고는 채집이 용이하고, 사육이 쉬우며, 세대기간의 짧은 이유 등을 들 수 있고, 넙치는 시험재료로 고비용의 단점을 가지고 있으나, 시기에 따라 언제든지 구입할 수 있는 장점이 있기 때문에 선택하였다. 공시재료에 대한 염분의 내성의 시험결과, 곤쟁이와 넙치는 염분에 대한 내성이 낮은 것으로 나타났다. 온도에 대한 내성에 있어서는 수온상승에 따른 상한 치사온도는 1℃/day 및 3℃/day에서 날개망둑이 35℃로 가장 높았으며, 시간에 따른 온도상승에 따라서도 40℃까지 생존하여 곤쟁이와 넙치에 비해 수온에 대한 높은 내성을 보였다.

#### (2) 공시재료의 결정

공시재료는 생태, 생리, 생식생물학 및 염분과 온도에 대한 내성 실험을 바탕으로 곤쟁이와 넙치로 설정하였다. 이들은 실험실 사육이 용이하고, 염분과 온도에 대한 민감성이 뛰어나며, 독성물질에 대하여 민감성을 나타냈다.



## 다. 급성독성 평가

중금속, phenol 및 TBTO에 대한 급성독성 실험 결과 곤쟁이의 96시간 반수치사 농도(96hr-LC<sub>50</sub>)는 Hg 0.52 mg/ℓ, Cd 2.21 mg/ℓ, Cu, 1.58 mg/ℓ, phenol 6.25 mg/ℓ 및 TBTO 0.46 μg/ℓ 이었으며, 넙치의 96hr-LC<sub>50</sub>는 Hg 1.2 mg/ℓ, Cd 3.18 mg/ℓ, Cu 8.93 mg/ℓ, phenol 9.93 mg/ℓ 및 TBTO 245.23 μg/ℓ 이었고, 날개망둑의 96hr-LC<sub>50</sub>는 Hg 3.42 mg/ℓ, Cd 6.2 mg/ℓ, Cu 16.23 mg/ℓ, phenol 12.72 mg/ℓ 및 TBTO 26.12 μg/ℓ 이었다.

## 라. 만성독성 평가

### (1) 성장

곤쟁이의 성장률은 수은 0.015 mg/ℓ, 카드뮴 0.22 mg/ℓ, 구리 0.04 mg/ℓ, phenol 0.40 mg/ℓ 및 TBTO 1.15 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타냈다. 넙치의 성장률은 수은 0.03 mg/ℓ, 카드뮴 0.21 mg/ℓ, 구리 0.08 mg/ℓ, phenol 0.96 mg/ℓ 및 TBTO 3.20 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타냈다.

### (2) 대사

곤쟁이의 대사율은 수은 0.032 mg/ℓ, 카드뮴 0.22 mg/ℓ, 구리 0.08 mg/ℓ, phenol 0.82 mg/ℓ 및 TBTO 1.15 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타냈다. 넙치의 대사율은 수은 0.05 mg/ℓ, 카드뮴 0.21 mg/ℓ, 구리 0.18 mg/ℓ, phenol 0.96 mg/ℓ 및 TBTO 6.32 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타냈다.

### (3) 조직학적 변화

#### (가) 수은 (Hg)

Hg 0.012ppm/7일에 노출시킨 넙치의 아가미는 새판 모세혈관의 팽창과 혈구의 증가가 관찰되었고, 간체장은 간세포의 팽창으로 인하여 간세포삭의

구분이 뚜렷하였으며, 신장은 사구체의 팽창과 혈구가 증가되므로 신장기능의 활성화를 의미하는 조직상의 변화가 관찰되었다.

(나) 카드뮴 (Cd)

Cd에 노출시킨 넙치는 아가미 0.21 ppm/7일에서 새엽 기저부에서 염세포와 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하는 점액세포들의 증가가 현저하였다. 간체장은 0.09 ppm/7일 농도구에서는 간세포삭 사이의 모세혈관내에서 다수의 혈구가 관찰되었으며, 신장은 0.21 ppm/21일에서는 실험 경과 2주에 관찰되었던 조직상 이외에 세뇨관 내강의 축소 및 세뇨관 주위에 다수의 호산성 세포들이 출현하였다.

(다) 구리 (Cu)

Cu 0.05 ppm/7일에 노출된 개체들의 아가미 조직상은 새엽 상피층에서 염세포의 증가 및 활성화가 관찰되었고, 간체장 조직은 간세포의 활성화와 체장 효소원과립의 감소를 나타냈다. 신장은 혈구의 대량증가와 흑색 대식세포군의 다량 출현이 관찰되었다.

(라) Phenol

Phenol 0.58 ppm/7일에 노출된 넙치의 아가미 조직상은 새판의 만곡과 새엽 기저부의 점액세포와 염세포의 증가였고, 간체장은 혈구의 증가, 간세포세포질의 팽창 및 체장조직에서의 효소원 과립의 감소였다. 신장은 간질조직에서 혈구의 증가와 흑색 대식세포군으 출현이었다.

(마) TBTO

TBTO 0.60 ppb/7일에 노출된 넙치의 아가미 조직상에서는 주로 AB-PAS

(pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하는 다수의 점액세포들이 관찰되었다. 간체장은 TBTO 0.36 ppb/7일에서 주로 간세포의 활성화와 혈구의 증가가 관찰되었다. 신장은 TBTO 0.06 ppb/14일 농도구의 신장조직에서는 일부 간질세포의 핵응축, 세뇨관 상피층에 호산성 세포의 출현, 세뇨관 장막의 비후 및 세뇨관 상피층의 분리, 그리고 세뇨관 상피층 자유면의 alcian blue 양성반응이 관찰되었다. TBTO 3.20 ppb/21일에 노출된 암컷 개체에서 난소박판의 형성을 비롯한 전체적인 난소조직상은 대조구와 유사하였으며, 난소박판 내부에서는 다수의 혈구들이 관찰되었으나 난원세포들은 관찰하기 힘들었다.

#### 마. 영향농도

본 실험결과에서 나타난 곤쟁이의 영향농도는 만성독성 시험을 기준으로 하여 수은 0.015 ppm, 카드뮴 0.10 ppm, 구리 0.04 ppm, Phenol 0.40 ppm, TBTO 1.15 ppb이었고, 넙치의 영향농도는 수은 0.012ppm, 카드뮴 0.09 ppm, 구리 0.05 ppm, phenol 0.58 ppm 및 TBTO 0.60 ppb이었다.

## 2. 활용에 대한 건의

본 연구결과 현재까지 주로 사용되어 왔던 시험방법에서 새로운 순환식시스템을 개발하여 이를 연안어업평가를 위하여 사용될 수 있다. 또한 공시재료로 설정된 곤쟁이는 채집이 용이하고, 세대기간의 짧으며, 환경에 대한 반응성이 뛰어나 공시재료로 적합하며, 넙치는 양식대상 종으로 고비용의 단점을 갖고 있으나 언제든지 구입이 가능하고, 반응성이 뛰어나 공시재료로 적합할 것이다. 따라서 연안어업 손실 평가를 위한 기준에 있어 상기의 시험방법과 공시재료를 선택하여 평가를 할 수 있을 것으로 생각되나, 보다 정확히 평가하기 위해서는 다양한 생물시험에 대한 고려가 필요하다.

# S U M M A R Y

## I . Title

Studies on Basic Establishment of Bioassay for Loss Estimation in the Costal Fishery.

## II . Objective and Background

### 1. Objective

- Establishment of standard toxicity test for loss estimation in the costal Fishery.

- Establishment of standard organisms for loss estimation in the costal Fishery.

- Estimation of acute and chronic toxicity

- Estimation of effect concentration in pollutants

### 1. Objective

- Increase of costal pollution.

- Increase of loss in the costal Fishery.

- Increase of social friction

- No standard toxicity test method and standard organism

### III. Contents and Scope

#### 1. Establishment of toxicity test method

##### 가. Toxicity test method

Toxicity test are static system, renewal system and continuous system according to test solution maintenance and test organism character, however in present study was add to recirculation system.

##### 나. Environmental estimation and toxicity level according toxicity test

In order to estimate environmental change and toxicity level according to 4 toxicity test methods, water quality and acute toxicity test was investigated during 4 days.

##### 다. Establishment of standard test method

Standard toxicity test was establish by environmental change, toxicity level and experimental condition.

#### 2. Establishment of standard organism

##### 가. Selection of organism

Mysid, *Neomysis awatschensis*, olive flounder, *Paralichthys olivaceus* and goby, *Favonigobius gymnauchen* was selected.

##### 나. Suitability investigation of organism

In order to estimate suitability of organism, Mysid, olive flounder and goby were investigated physiological factor, reproduction and, tolerance experiment toward to salinity and water temperature.

#### 다. Establishment of standard organism

Standard organism was established by investigation of physiological factor, reproduction and, tolerance experiment toward to salinity and water temperature.

### 3. Establishment of acute toxicity

In order to establish acute toxicity level, 50% lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of pollutants was calculated toward to *Neomysis awatschensis*, *Paralichthys olivaceus* and *Favonigobius gymnauchen*.

### 4. Establishment of chronic toxicity

In order to establish chronic toxicity, standard organism were investigated survival, growth, respiration and histological change.

### 5. Establishment of effect concentration

Effect concentration was established by result of chronic toxicity.

## IV. Results and conclusion

### 1. Results

#### 가. Establishment of toxicity test method

##### (1) Toxicity test method

- A static test : the organism are exposed in still water
- A renewal test : this method is similar to static test because

it is conducted in still water.

● A continuous flow test : the test solution and control water flow into and out of the chambers in which the test organisms are maintained.

● A recirculation test : in present study

(2) Environmental estimation and toxicity level according toxicity test

● A static test and renewal test : This test was occurred change of water quality and high lethal concentration of pollutants.

● A continuous flow test : This test was maintained water quality constantly and low lethal concentration of pollutants.

● A recirculation test : This test is similar to continuous flow test.

(3) Establishment of standard test method

Standard test method was establish recirculation system.

ㄱ. Establishment of standard organism

Mysid : easiness of collection and laboratory culture, short of generation period, sensibility against salinity, temperature and pollutants.

Olive flounder : aquaculture fish, sensibility against salinity, temperature and pollutants, anytime possible purchase.

#### 다. Estimation of acute toxicity

The 96hr-LC50 values of mysid against Hg, Cd, Cu, phenol and TBTO were 0.52, 2.21, 1.58, 6.25 ppm and 0.46 ppb, respectively. The 96hr-LC50 values of olive flounder against Hg, Cd, Cu, phenol and TBTO were 1.2, 3.18, 8.93, 9.93 ppm and 245.23 ppb, respectively.

#### 라. Estimation of chronic toxicity

##### (1) Growth rate

The growth rate of mysid was significantly reduced Hg 0.015 ppm, Cd 0.22 ppm, Cu 0.04 ppm, phenol 0.40 ppm and TBTO 1.15 ppb. The growth rate of olive flounder was significantly decreased Hg 0.03 ppm, Cd 0.21 ppm, Cu 0.08 ppm, phenol 0.96 ppm and TBTO 3.20 ppb.

##### (2) metabolic rate

The metabolic rate of mysid was significantly decreased Hg 0.032 ppm, Cd 0.22 ppm, Cu 0.08 ppm, phenol 0.82 ppm and TBTO 1.15 ppb. The metabolic rate of olive flounder was significantly decreased Hg 0.05 ppm, Cd 0.21 ppm, Cu 0.18 ppm, phenol 0.96 ppm and TBTO 6.32 ppb.

##### (3) Histological change

###### (가) Mercury (Hg)

Histological changes of gill exposed to Hg 0.012ppm/7days was noted the expended lamella. Hepatopancreas was noted the increment of hemocytes and the cloudy swelling of hepatic cell. Kidney was noted the activated glomerulus and abundant hemocytes.



(ㄴ) Cadmium (Cd)

Histological changes of gill exposed to Cd 0.21ppm/7days was noted the activated chloride cell and mucous cell. Hepatopancreas was noted the increment of hemocytes and the swelling of hepatic cell in 0.09 ppm/7days. Kidney exposed to Cd 0.09 ppm/14days was noted the activated glomerulus and free surface of alcian blue positive in the renal tubules.

(다) Copper (Cu)

Histological changes of gill exposed to Cu 0.05ppm/7days was noted the activated chloride cell. Hepatopancreas was noted the swelling of hepatic cells and the degeneration of zymogen granules. Kidney was noted the melano macrophagocytotic cells.

(라) Phenol

Histological changes of gill exposed to phenol 0.58 ppm/7days was noted the curvature of gill lamellae and the numerous chloride cells. Hepatopancreas was noted the increment of hemocytes. Kidney was noted the section showing the increment of hemocyte and melano macrophagocytotic.

(마) TBTO

Histological changes of gill exposed to TBTO 0.60 ppb/7days was noted the increment of mucous cell of PAS positive. Hepatopancreas was noted the increment of hemocytes and the swelling of hepatic cell

in 0.09 ppm/7days. Kidney exposed to TBTO 0.36 ppb/7days was noted the increment of hemocytes.

#### ㄷ. Effect concentration

The effect concentration of mysid were Hg 0.015 ppm, Cd 0.10 ppm, Cu 0.04 ppm, Phenol 0.40 ppm and TBTO 1.15 ppb. The effect concentration of olive flounder exposed to Hg, Cd, Cu, Phenol and TBTO were 0.012, 0.09, 0.05, 0.58 ppm and 0.60 ppb, respectively.

## 2. Conclusion

● In present study, recirculation system can use for loss estimation of costal fishery.

● Standard organism in the present study can use for loss estimation of costal fishery.

● The correct estimation for loss estimation of costal fishery is necessary experiment toward to the other organism.

# CONTENTS

|  |    |
|--|----|
| Chapter 1. Introduction .....  | 1  |
| Section 1. Background .....  | 1  |
| Section 2. Research status .....   | 3  |
| Section 3. Objective .....   | 5  |
| <br>   |    |
| Chapter 2. Establishment of toxicity test .....                                | 6  |
| Section 1. Kind of toxicity test .....   | 6  |
| Section 2. Environmental estimation according to toxicity<br>test method ..... | 7  |
| Section 3. Establishment of standard method .....                              | 9  |
| <br>   |    |
| Chapter 3. Establishment of standard organism<br>.....                         | 11 |
| Section 1. Selection of organism .....   | 11 |
| Section 2. Ecology of organism .....   | 11 |
| Section 3. Reproduction organism .....   | 13 |
| Section 4. Suitability investigation of organism .....                         | 43 |

|   |     |
|---|-----|
| Section 5. Establishment of standard organism ..... | 63  |
| Chapter 4. Estimation of acute toxicity .....       | 64  |
| Section 1. Toxicity material .....                  | 64  |
| Section 2. Estimation of acute toxicity .....       | 66  |
| Chapter 5. Estimation of chronic toxicity .....     | 70  |
| Section 1. Selection of pollutant .....             | 70  |
| Section 2. Estimation of chronic toxicity .....     | 72  |
| Chapter 6. Conclusion .....                         | 131 |
| Section 1. Toxicity level .....                     | 131 |
| Section 2. Effect concentration .....               | 131 |
| Chapter 7. Proposal for application .....           | 132 |
| Chapter 8. Reference .....                          | 133 |

# 목 차

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 제1장 서론 .....              | 1  |
| 제1절 연구개발의 필요성 .....       | 1  |
| 제2절 국·내외 관련연구 현황 .....    | 3  |
| 제3절 연구개발 목표 .....         | 5  |
| <br>                      |    |
| 제2장 독성시험방법의 설정 .....      | 6  |
| 제1절 독성시험방법 종류 .....       | 6  |
| 제2절 독성시험방법에 따른 환경평가 ..... | 7  |
| 제3절 표준방법의 설정 .....        | 9  |
| <br>                      |    |
| 제3장 표준공시재료의 설정 .....      | 11 |
| 제1절 공시대상 종의 선택 .....      | 11 |
| 제2절 공시대상 종의 생태 .....      | 11 |
| 제3절 공시대상 종의 생식생물 .....    | 13 |
| 제4절 공시대상 종의 적합성 검토 .....  | 43 |
| 제5절 공시재료의 설정 .....        | 63 |

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| 제4장 급성독성 시험의 평가 ..... | 64  |
| 제1절 독성물질의 선택 .....    | 64  |
| 제2절 급성독성 평가 .....     | 66  |
| <br>                  |     |
| 제5장 만성독성 평가 .....     | 70  |
| 제1절 만성독성 물질의 선정 ..... | 70  |
| 제2절 만성독성평가 .....      | 72  |
| <br>                  |     |
| 제6장 결론 .....          | 131 |
| 제1절 독성수준 .....        | 131 |
| 제2절 영향농도 .....        | 131 |
| <br>                  |     |
| 제7장 활용에 대한 건의 .....   | 132 |
| <br>                  |     |
| 제8장 참고문헌 .....        | 133 |

# 제 1 장 서 론

## 제1절 연구개발의 필요성

현재 세계에서 개발되는 화학물질은 날로 그 종류가 증가하고 있으며, Chemical Abstracts Service에 등록되어 있는 화학물질의 종류는 1960년대 부터 1987년까지 기간만으로도 약 800만종을 넘어 이 중 약 10만 종류의 화학물질이 새로운 상업루트를 통해 국내에 유입되고 있다. 이들 화학물질은 직접 혹은 간접적으로 수산환경에 유입되어 생태계 및 인체에 저해영향을 미치는 물질들이 포함되어 있다. 또한, 1992년 이후 우리 나라 연안 해역에서는 기름 유출사고가 매년 300여건 발생하여 왔으나 최근 들어서는 400여건을 훨씬 상회하고 있으며, 점차 대형화되어 가고 있을 뿐만 아니라 육상으로부터 오염물질들이 대량 유입됨으로서 연안오염은 날로 가속화되어가고 있는 실정이다. 이에 따라 연안오염은 급속히 악화되어 패류 및 어류 등의 양식생물들과 같은 유용수산자원은 큰 타격을 받고 있으나 원인규명이나 오염의 상태 및 추세를 파악하기 위한 장기적인 현장조사자료의 미비로 피해저감을 위한 적절한 대책 수립이 어려운 것이 우리의 현실이다. 특히 연안생물의 급·만성 독성을 가지고 있는 중금속과 유류 및 유기독성 물질들은 연안해역으로 유입된 후 장·단기적으로 해양생태계에 여러 가지 악영향을 미치게 된다. 최근에는 일부 해역에서 각종 독성 물질에 의한 수산자원 피해가 가시화 되고 있음에도 불구하고 오염의 영향과 피해를 파악하고 추정할 수 있는 체계적이고 종합적인 연구가 미비한 실정이다.

해양의 생물자원 또는 수산생물에게 저해영향을 미치는 오염물질의 농도

를 결정하는 수단으로서 현재 전세계적으로 가장 널리 사용되고 있는 것은 표준실내생물검정시험(Standard Laboratory Bioassay)을 들 수 있다. ASTM(American Society for testing and Materials), OECD(Organization for Economic Cooperation and Development), USEPA(Unated States Environmental Protection Agency)와 같은 단속기관에서는 연안에 방출되는 오염물질에 대한 허용한계농도를 정하기 위하여 급성독성결과를 기준으로 하여 ASTM과 OECD에서는 생육초기 독성시험을, USEPA에서는 생육초기 독성 시험과 만성독성을 채택하고 있다. 따라서 만성독성 시험결과는 관찰항목에 대한 무영향농도(NOEC, No-Observed-Effect-Concentration)와 최저영향농도(LOEC, Lowest-Observed-Effect- Concentration)로 나타낸다. 또한 MATC(Maximum Acceptable Toxicant Concentration)는 LOEC보다는 작고 NOEC보다는 큰 것으로 나타낸다. 이같이 외국의 각 기관에서는 연안에 존재하는 독성물질에 대하여 생물검정법이 사용되고 있으나, 우리나라의 환경청에서는 단지 급성독성만을 채택하고 있어 연안의 오염물질에 따른 어업손실평가가 제대로 이루어지지 않고 있는 실정이다.

어업생물에 대한 오염물질의 저해성 시험에 관한 평가는 1972년 전남 광양시 광양만 원유유출로 인하여 해양이 오염됨으로써 유류오염에 대한 생물검정을 기초로 어업손실 평가가 이루어진 이후 현재까지 부尼奥염 및 기타 유기화합물의 저해성으로 인한 생물검정이 이루어져 왔으나, 표준공시어종 및 표준시험방법 등이 설정되어 있지 않아 문제가 되고 있다. 또한, 생물검정시험의 공시생물은 공통기준의 범주가 있으며, 어업생물의 경우 단기간의 생물검정으로 장기적인 아치사 영향을 예측하기는 매우 어려워 피해발생시점의 사망뿐만 아니라 이후의 생산량감소 및 재생산에 미치는 영향을 제대로 파악하기 힘들다. 따라서 생물검정 시험을 위하여 표준공시어종 및 표준 시험방법에 대한 조사항목을 규정하여 어업피해 손실평가에 대한 항목으로



서 객관성과 과학성을 도모하기 위하여 필요하며, 생물검정시험은 돌발적이거나 또는 지속적으로 해양환경오염이 발생한 후에 오염물질에 기인한 피해 영향을 구명하거나 해양간척 및 매립시에 사전에 부尼奥탁의 수산생물에 대한 피해영향을 예측하여 어업손실 평가를 위한 피해범위 및 피해영향을 추정하는 기초자료로서 필요하다.

일반적으로 생물검정시험법은 체제를 갖추고 있으나 어업생물을 공시재료로 이용하는데서 시험법의 적용에 한계성이 있다. 즉, 시간과 노력과 경비 등을 감안할 때 합리적인 실험설계가 되어야 한다. 따라서 수산생물에 대한 오염원의 생물검정을 위해서는 표준공시재료의 설정과 오염원에 따른 실험방법의 확립이 필요하다. 각종 오염원에 대한 생물검정은 이들 오염원을 효과적으로 사용·관리하는 방안의 기초자료를 제공하는데 필요하며, 또한 환경보존의 일환으로 연안의 청정 해역화를 통하여 보다 질 높은 생태계 공간을 형성하는데 필요하다.

## 제2절 국내·외 관련연구 현황

### 1. 국 내

우리 나라에서 어업손실 평가를 위한 생물검정 시험에 관한 사례는 1972년 전남광양시 광양만 원유유출 해양오염을 비롯하여 오염물질에 대한 생물검정으로서는 1995년 곤쟁이, *Archaeomysis kokuboi*에 미치는 phenol의 급성 및 만성독성, 1997년 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*의 생존, 성장 및 산소소비에 미치는 구리, 카드뮴, 크롬의 독성 및 1998년 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*의 에너지수지에 미치는 PCBs의 영향 등 해양오염물질에 대한 부분적인 생물검정이 이루어지고 있으나, 이들 대부분의 내용은 유오염, 화

학폐수오염 및 해양매립 간척시 일어나는 오염 등의 영향으로 인한 피해영향을 추정하는 자료가 되었으며, 이는 최근까지 어업손실 평가를 위한 기초 항목이었으나 어업생물을 대상으로 할 경우 공통기준에 적합치 않아 단기간의 생물검정으로 장기적인 아치사 영향을 예측하기 어려워 피해발생 시점의 사망뿐만 아니라 이후의 생산량 감소 및 재생산에 미치는 영향을 제대로 파악하기가 힘들다.

## 2. 국 외

1960년대 말부터 세계적으로 굴이나 홍합과 같은 지표생물을 이용하여 해양환경오염을 본격적으로 연구하기 시작하였으며(Sprague, 1970; Butler et al., 1971), 1976년 미국에서 처음으로 홍합감시프로그램(Mussel Watch Program)이 시작되어 전국연안의 홍합과 굴을 지표생물로 하여 그 속의 중금속, PCB, 석유탄화수소 및 초우라늄원소 등에 대한 오염조사를 계속 실시해오고 있다(Goldberg et al., 1983; NOAA, 1987; 1989). 그리고 1978년 12월에는 스페인의 바르셀로나에서 그동안 축적된 홍합감시 연구에 대한 정보교환을 위하여 처음으로 워크숍을 개최하였다. 그 내용은 오염현황에 관한 실제적인 정보를 얻으며, 인간이 배출하는 오염물질에 의한 오염정도를 전지구자료와 비교하여 세계연안에 대한 기초과학적인 지식을 얻는 것이었다(森田, 1989). 호주에서는 빅토리아주의 Port Phillip Bay에서 1970년대부터 계속 지표생물을 이용한 해역의 오염감시 활동을 펴 오고 있다(Phillips et al., 1992). 그밖에도 국제적으로 지표생물을 이용한 해역의 오염측정에 대한 공동 노력은 계속되고 있으며, 오염지표생물을 이용한 오염도 측정에 관해서도 활발한 연구들이 지속적으로 진행되고 있다.

### 제3절 연구개발 목표

상기의 필요성에 따라 공시재료의 설정을 위하여 그 대상 종의 생태생리 및 생식생물학적 조사를 실시하고, 독성시험방법을 개발하기 위하여 기존의 방법과 개발된 방법을 비교하여 그 타당성을 조사한다. 또한, 공시재료에 대한 오염원의 급성 및 만성독성을 실시하여 그 반응과 상호 상관성을 비교 분석하여 오염원에 의한 급성 및 만성독성 자료를 기준으로 각각의 시험생물 및 시험물질에 대한 영향농도를 구한다.

대규모의 공공사업 및 산업폐수 등으로 인한 TBT, Phenol 및 중금속의 해수유입 등 지속적으로 해양의 오염은 발생하고 있으므로 이에 따른 생물저해성을 예측하여 어업손실 평가를 위한 피해범위 및 피해영향을 추정한다. 우리 나라에서 발생했던 해양오염 및 전국연안의 대규모 공공 사업에 따른 어업손실 평가시 시행되었던 생물검정 시험의 어업생물과 시험방법 등의 내용을 비교·분석하여 수산어업생물의 피해영향을 구명하는 효율적이며, 합리적인 생물검정시험의 기준을 확립한다.

## 제 2 장 독성시험방법의 설정

### 제1절 독성시험방법 종류

독성시험방법은 실험용액의 농도 유지방법 및 실험동물의 특성 등에 따라 일반적으로 다음과 같이 정수식(static system), 환수식(renewal system) 및 유수식(continuous flow system) 방법이 있다.

- 정수식 (static system) 방법

노출기간 동안 시험용액을 교환하지 않고 독성시험을 실시하는 방법.

- 환수식 (renewal system) 방법

일정기간 마다 시험용액을 교체하면서 시험을 실시하는 방법으로 보통 24시간 혹은 48시간마다 새로운 실험용액으로 교환.

- 유수식 (continuous flow system) 방법

노출기간 동안 계속적으로 시험용액을 교체하는 방법이다.

급성독성 시험에는 시험물질의 안정성 및 실험동물의 특성에 따라 상기의 3가지 모든 방법이 사용될 수 있고, 만성독성 시험에는 일반적으로 환수식 및 유수식 방법이 사용되고 있다. 그러나 이들 방법은 시험기간 동안의 시험용액의 농도유지, 시험생물의 특성에 따라 각각의 장단점을 가지고 있어 급성 및 만성독성시험에서 최근 독성정도를 보다 정확히 구명할 수 있는 유수식 방법을 국제적으로 권장하고 있다. 그러나, 유수식 방법은 시험장치가 복잡하고, 시험비용도 많이 든다는 단점이 있기 때문에 본 연구에서는 상기의 모든 단점들을 고안하여 저 비용으로 독성정도를 구명할 수 있는 순환식(recirculation system) 방법 개발에 초점을 맞추었다.

## 제2절 독성시험 방법에 따른 환경평가

### 1. 재료 및 방법

독성시험방법은 정수식, 환수식 및 유수식 방법이 있으나, 본 연구에서는 순환식(recirculation system) 방법을 추가하여 시험하였다(Fig. 2-1). 독성시험 방법에 따른 오염원농도 및 기타 환경변화를 파악하기 위하여 구리 농도  $100 \mu\text{g}/\ell$  을 기준으로 4일간 시험하였고, 이때 환수식 방법에서는 시험용액을 24시간마다 교환하였다. 수질측정은 수온(봉상 온도계  $0.1^\circ\text{C}$ ), 염분(U-10, HORIBA사), pH(Model-250A, ATI Orion사), 용존산소(DO), 암모니아성질소( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), 아질산성 질소( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), 질산성질소( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), 인산성 인( $\text{PO}_4\text{-P}$ ), 및 화학적 산소요구량(COD)에 대하여 측정하였다(APHA, 1985).

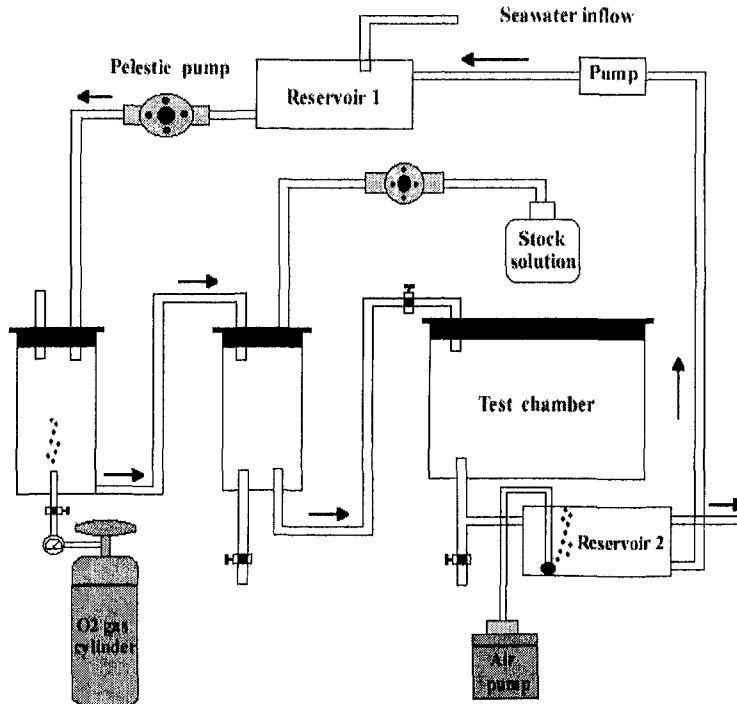


Fig. 2-1. Scheme of recirculation system

## 2. 결 과

시험결과를 Table 2-1에 나타냈다. 실험기간 동안 정수식 방법에서는 시간의 경과함에 따라 수질의 악화되는 현상을 보였으며, 4일 후 구리농도는 85.3  $\mu\text{g}/\ell$  까지 감소하였다. 그러나 유수식 및 환수식 방법에서는 시험기간 동안 수질변화가 거의 관찰되지 않았고, 구리농도도 4일 후 95.0  $\mu\text{g}/\ell$  이상을 유지하였다. 또한, 본 연구에서 개발하여 사용한 순환식 방법은 유수식 및 환수식 방법보다는 약간의 수질변화가 있었으나, 4일 후 실험종료시 구리농도는 96.8  $\mu\text{g}/\ell$  으로 설정농도가 거의 유지되었다.

Table 2-1. Water quality according to test method for 4 days

| Test method            | Item                                     | Days  |      |       |      |
|------------------------|--|-------|------|-------|------|
|                        |  | 1     | 2    | 3     | 4    |
| Static system          | Temperature(°C)                          | 20.2  | 20.3 | 20.1  | 20.3 |
|                        | Salinity(‰)                              | 32.8  | 32.5 | 32.9  | 33.0 |
|                        | pH                                       | 7.9   | 8.0  | 7.8   | 7.9  |
|                        | DO(mg/l)                                 | 6.3   | 6.1  | 6.2   | 6.0  |
|                        | NH <sub>4</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 1.89  | 1.93 | 2.02  | 2.15 |
|                        | NO <sub>2</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.12  | 0.13 | 0.18  | 0.21 |
|                        | NO <sub>3</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.67  | 0.72 | 0.79  | 0.85 |
|                        | PO <sub>4</sub> -P( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.29  | 0.31 | 0.33  | 0.37 |
|                        | COD(mg/l)                                | 1.6   | 1.6  | 1.8   | 2.0  |
|                        | Cu ( $\mu\text{g}/\ell$ )                | 100.0 | 92.4 | 88.2  | 85.3 |
| Renewal system         | Temperature(°C)                          | 20.4  | 20.3 | 20.2  | 20.3 |
|                        | Salinity(‰)                              | 32.9  | 32.8 | 32.7  | 32.8 |
|                        | pH                                       | 7.7   | 7.9  | 7.8   | 7.7  |
|                        | DO(mg/l)                                 | 6.4   | 6.3  | 6.3   | 6.2  |
|                        | NH <sub>4</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 1.90  | 1.91 | 1.89  | 1.93 |
|                        | NO <sub>2</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.12  | 0.11 | 0.13  | 0.11 |
|                        | NO <sub>3</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.65  | 0.70 | 0.67  | 0.69 |
|                        | PO <sub>4</sub> -P( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.27  | 0.29 | 0.25  | 0.23 |
|                        | COD(mg/l)                                | 1.7   | 1.6  | 1.7   | 1.8  |
|                        | Cu ( $\mu\text{g}/\ell$ )                | 100.0 | 95.4 | 94.6  | 95.0 |
| Continuous flow system | Temperature(°C)                          | 20.3  | 20.4 | 20.2  | 20.4 |
|                        | Salinity(‰)                              | 32.7  | 32.5 | 32.9  | 32.8 |
|                        | pH                                       | 7.8   | 8.0  | 7.8   | 7.8  |
|                        | DO(mg/l)                                 | 6.4   | 6.3  | 6.2   | 6.3  |
|                        | NH <sub>4</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 1.82  | 1.83 | 1.86  | 1.79 |
|                        | NO <sub>2</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.12  | 0.13 | 0.12  | 0.11 |
|                        | NO <sub>3</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.67  | 0.66 | 0.65  | 0.71 |
|                        | PO <sub>4</sub> -P( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.29  | 0.27 | 0.23  | 0.27 |
|                        | COD(mg/l)                                | 1.6   | 1.6  | 1.8   | 1.7  |
|                        | Cu ( $\mu\text{g}/\ell$ )                | 100.0 | 99.8 | 100.0 | 99.3 |
| Recirculation system   | Temperature(°C)                          | 20.2  | 20.3 | 20.2  | 20.3 |
|                        | Salinity(‰)                              | 32.9  | 32.5 | 32.7  | 33.0 |
|                        | pH                                       | 7.7   | 8.0  | 7.8   | 7.9  |
|                        | DO(mg/l)                                 | 6.3   | 6.1  | 6.3   | 6.3  |
|                        | NH <sub>4</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 1.87  | 1.91 | 1.89  | 1.95 |
|                        | NO <sub>2</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.13  | 0.14 | 0.16  | 0.20 |
|                        | NO <sub>3</sub> -N( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.69  | 0.71 | 0.73  | 0.78 |
|                        | PO <sub>4</sub> -P( $\mu\text{g-at/l}$ ) | 0.28  | 0.30 | 0.31  | 0.34 |
|                        | COD(mg/l)                                | 1.6   | 1.7  | 1.8   | 1.9  |
|                        | Cu ( $\mu\text{g}/\ell$ )                | 100.0 | 99.2 | 98.5  | 96.8 |

## 제3절 표준방법의 설정

### 1. 재료 및 방법

상기 4가지의 시험방법에 따른 표준시험방법을 설정하기 위하여 시험방법에 따른 환경변화를 바탕으로 날개망둑에 대한 구리의 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)를 Probit 법에 의해 산출하여 독성시험 방법에 따른 독성정도를 파악하였다. 또한 본 연구개발에서 제작된 순환식 방법의 타당성을 비교하였다.

### 2. 결과

각 시험방법에 따른 48시간 반수치사농도(48hr-LC<sub>50</sub>)는 정수식, 환수식, 유수식 및 순환식에서 각각 338.9, 305, 276.9 및 283  $\mu\text{g}/\ell$  이었고, 96시간 반수치사농도(96hr-LC<sub>50</sub>)는 각각 220.5, 195.3, 170.5 및 172.3  $\mu\text{g}/\ell$  으로 정수식 방법에서 가장 높은 값을 보였고, 유수식 방법에서 가장 낮은 값을 보였다. 한편, 급성독성 수준은 유수식 및 순환식 방법에서는 대체로 유사한 값을 나타냈다. 즉, 동일 오염물질에 대한 날개망둑의 독성정도는 시험방법에 따라 다르게 나타나고 있으며, 순환식 및 유수식 방법에서 가장 독성이 강하게 나타났다(Table 2-2).

독성시험에는 시험물질의 안정성에 따라 정수, 환수 및 유수식방법을 사용할 수 있다. 즉, 시험기간 동안 시험물질이 안정하고, 농도가 일정하게 유지되면 정수식 방법을 사용할 수 있으며, 시험기간 동안 시험물질 농도가 조금씩 감소하면 환수식 및 유수식을 사용하여야 한다. 그러나, 시험물질 농도가 빠르게 감소하면 유수식 방법을 사용하여야 하는데 유수식 방법은 시험장치가 복잡하고 비용이 많이 들며, 환경오염을 유발할 수 있다.

본 연구개발에서는 적은 양의 시험용액으로 상기의 단점을 보완하기 위하여 순환식장치를 제작하여 비교·검토한 결과, 시험용액의 안정성, 시험용

액의 농도유지 및 독성반응 측면에서 우수식과 유사한 결과를 얻었다. 따라서, 시험기간 동안의 시험동물의 스트레스 및 경제성 등을 고려할 경우 본 연구에서 제작된 순환식 방법이 효율적이라고 생각된다.

**Table 2-2. Lethal concentration of *Favonigobius gymnauchen* for copper ( $\mu\text{g}/\ell$ )**

| Test method            | Lethal concentration(LC <sub>50</sub> ) |                        |                        |                        |
|------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|
|                        | 24hr                                    | 48hr                   | 72hr                   | 96hr                   |
| Static system          | 408.3<br>(373.4~428.9)                  | 338.9<br>(307.7~378.4) | 286.3<br>(262.6~312.3) | 220.5<br>(192.4~246.4) |
| Renewal system         | 378.2<br>(342.3~394.2)                  | 305.6<br>(265.4~328.3) | 245.7<br>(221.6~273.9) | 195.3<br>(173.3~228.5) |
| Continuous flow system | 301.5<br>(279.4~338.5)                  | 276.9<br>(243.7~306.8) | 210.6<br>(175.4~235.7) | 170.5<br>(153.6~208.9) |
| Recirculation system   | 310.4<br>(268.7~342.8)                  | 283.2<br>(253.6~312.5) | 215.6<br>(173.5~228.6) | 172.3<br>(149.7~201.6) |



## 제 3 장 표준공시재료의 설정

### 제1절 공시대상 종의 선택

본 과제의 연구수행에 필요한 실험 대상종의 선정 타당성에 관한 기초 조사의 일환으로 이들의 생태 및 생식생물학적인 기초자료를 검토하여 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*, 넙치, *Paralichthys olivaceus*, 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*을 일차 선정하였다. 이 동물들을 선택한 이유는 넙치를 제외하고는 채집이 용이하고, 사육이 쉬우며, 세대기간의 짧은 이유 등을 들 수 있다. 넙치는 시험재료로 고비용의 단점을 가지고 있으나, 시기에 따라 언제든지 구입할 수 있는 장점이 있기 때문에 선택하였다. 날개망둑은 1년생이라는 점이 앞 세대로부터 그리고 만성적인 독성물질의 축적이 적다는 점이 공시어로서 선정될 경우 장점을 가진다.

### 제2절 공시대상 종의 생태

#### 1. 재료 및 방법

본 과제의 연구수행에 필요한 실험대상 종의 선정 타당성에 관한 기초 조사의 일환으로 이들의 생태적인 기초자료를 검토하여 곤쟁이, 넙치 및 날개망둑을 선정하여 기 보고된 자료를 토대로 검토하였다.

생태학적인 결과에 사용된 자료는 곤쟁이류의 경우, Murano (1964), Lee and Chin (1971), Chin (1971, 1972, 1974), Choi (1980), Toda et al.

(1983), Kim (1987), Ma (1988, 1996), Carieno and Roa (1989), Murtaugh (1989), Kim (1993), Kang et al. (1997) 등의 보고가 이용되었다. 넙치는 Tanaka (1987), Chang et al. (1988), Min (1988), Won et al. (1988), Lee and Lee (1990), Kim et al. (1997), Lee et al. (1999) 등의 보고를 이용하였다. 망둑어류는 Healey (1971), Kim (1975), Chung (1979), Beak (1985a, b), Kim and Lee (1986), Kim et al. (1986), Im and Lee (1990) 등의 보고를 이용하였다.

## 2. 결 과

### 가. 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*

곤쟁이류는 소형 갑각류로서 주로 하구역이나 내해, 내만의 얕은 바다에 주로 분포하는 근저서성 동물플랑크톤이다. 곤쟁이류는 세계적으로 800여종이 알려져 있으며, 해양에 대부분이 서식하며 일부는 담수 또는 기수지역에 서식한다. 곤쟁이류는 하구 및 연안 생태계에서 어류와 대형 갑각류 등의 주요 먹이로서 하구 및 연안 생태계에서 중요한 위치를 차지한다. 이 가운데 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*는 갑각綱 (Class Crustacea), 곤쟁이목 (Order Mysidacea), 곤쟁이과 (Family Mysidae), 부새우屬 (Genus *Neomysis*)에 속한다. 크기는 평균 체장 11~13mm 정도이나, 동일 연령군일 경우 수컷 보다 암컷이 다소 큰 경향을 보인다.

### 나. 넙치, *Paralichthys olivaceus*

넙치는 가자미목 (Order Pleuronectiformes), 가자미과 (Family Pleuronectidae)에 속하는 경골어류로 성어는 100~200mm 내외의 사니질에 주로 서식하지만, 미성어 이전 단계에서는 내만의 천해에 주로 서식한다. 먹이활동은 주간보다는 야간에 활발하며, 작은 갑각류를 주로 먹는다. 성장

은 1세군은 전장 30cm 내외이며, 2세군은 45cm 내외이나 수컷 보다 암컷이 빠른 경향을 보인다.

#### 다. 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*

망둑어류는 농어목 (Order Perciformes), 망둑어과 (Family Gobiidae)에 속하는 소형 경골어류들로서 크기는 대부분 전장 100mm 내외이며, 세계적으로 약 2,000종이 보고되고 있다. 이 가운데 날개망둑은 주로 내만의 모래질 및 펄질에 주로 서식하는데, 특히 모래질의 쇄파대에 많이 분포한다. 또한 하구나 염분도가 낮은 기수지역에서도 서식한다. 먹이는 작은 갑각류를 주로 먹는다. 천해역에서의 출현정도는 저질에 따라 다소 차이가 있어서 펄질에서는 4월, 모래질에서는 6월에 최대값을 보인다.

날개망둑 수컷 성어는 암컷에 비하여 등지느러미 기조가 길며, 특히 제 1 등지느러미 제 2가시가 연장되어 암컷과의 구분이 가능하다. 성장은 0세군은 체장 31~35mm, 1세군은 체장 46~65mm으로, 대부분이 1년생이며 수컷이 암컷 보다 일찍 사망하는 경향을 보인다. 산란은 이매패의 빈 껍질에다 모래를 띄운 후 그 안에 알을 낳는다.

### 제3절 공시대상 종의 생식생물

#### 1. 재료 및 방법

본 과제의 연구수행에 필요한 실험대상 종의 선정 타당성에 관한 기초 조사의 일환으로 이들의 생식생물학적인 기초자료를 검토하여 곤쟁이, 넙치 및 날개망둑을 선정하였다. 생식생물학적인 결과는 기존의 자료 검색과 직접 조사 및 연구에 의한 것이다.

생식생물학적인 직접 조사방법은 주로 조직학적인 방법을 이용하여 이를 통계처리하는 방법을 사용하였다. 조직학적인 방법은 채집된 재료를 측정자와 전자식저울을 이용하여 전장 0.1 mm, 체중 0.1 g까지 측정하였다. 측정이 끝난 개체는 생식소를 절취하여 이들의 중량을 0.01 g까지 측정한 후, Bouin's solution에 일정시간 고정하여 파라핀절편법에 의해 4~6  $\mu$ m 두께로 연속절편하여 조직표본을 만들었다. 염색은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색과 Mallory 삼중염색을 실시하였다.

생식소중량지수 (gonadosomatic index: GSI)는 “생식소중량  $\times$  100 / 체중”의 식으로 구하였다. 생식생물학적최소형(군성숙도)은 1.0 cm 간격으로 같은 크기에 속하는 개체 가운데 성적으로 성숙한 조직상을 나타내는 빈도가 50.0 % 이상인 최소 크기로 정하였다. 포란수는 완숙한 난소를 절취하여 고정한 후 난소외막을 제거한 다음 Gilson's solution에서 24시간 교반한 다음 전체를 계수하였다.

## 2. 결 과

### 가. 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*

#### (1) 생식생물학

곤쟁이의 난소는 심장 바로 아래, 위 (胃) 뒤쪽의 제 2흉지에서 제 6, 7 흉지부 사이에 위치한다. 미숙한 난소는 H자 형태로서 복측 중앙부에서는 난원세포가 활발히 분열 증식되고, 여기서 성장한 초기 난모세포들은 난소의 측면 가장자리에 전후로 긴 관 구조로 위치한다. 성숙 난소는 좌우의 각엽이 완전히 합일되고 점차 두부쪽으로 신장되면서 서양배 모양을 취한다. 배란은 생식소의 등쪽 후부에서 뺀어 나온 한 쌍의 수란관을 통해 보육낭내로 들어가 제 6흉지 기저부에서 개구된다. 난소 복측 중앙부위는 분열증식구이며, 양측은 성숙구의 기능을 수행하게 된다.

정소는 난소와 동일한 위치에 존재한다. 정소의 구조는 복측에 U자형의 정소 본체가 있으며, 배측에는 전방의 만곡부로 부터 양측으로 갈수록 크기가 커진 4쌍의 낭상돌기물인 정소낭 (spermatidic pouch)을 가진다. 여기에서 연결된 한 쌍의 수정관은 각 저정낭에 연결되고 이들 저정낭은 사정관을 통해 제 8흉지 기저부에 있는 교접기에 연결된다.

곤쟁이의 생식생물학적최소형 (균성속도)은 암·수 모두 전장 6.5 mm로 나타났다. 이들은 월동균과 당년균으로 구분되는데 산란수는 월동균의 경우 20~40개 정도이고, 당년균은 12개 내외이다.

이들은 1년을 주기로 월동균에 의한 한 번의 산란 (3~4월)과 당년균에 의한 두 번의 산란 (6~7월, 8~9월), 모두 세 번의 산란을 한다.

## (2) 보육낭내의 난과 유생의 발달

보육낭내 배와 유생 형태는 크게 3단계로 나누어 설명할 수 있는데, 첫 번째 단계는 배의 단계로 난막을 가진 구형의 모양을 말하며, 두 번째 단계는 배가 부화한 후 생기는 코마 (,) 모양의 노플리우스 단계를 말한다. 마지막으로 세 번째 단계는 노플리우스 단계를 탈피한 후의 노플리우스후 단계이다.

### (가) 배 단계 (embryonic stage)

배 단계의 발달 기간은 총 4일이 경과하였으며, 이때 사육 수온은 평균 20℃ (18~21℃)였다. 배단계는 보육낭내에서 수정된 후부터 난막이 없어지기 전까지를 말한다. 이때 배는 매우 얇고 부서지기 쉬운 난황막 (vitelline membrane)에 싸여 있고, 무색 투명한 난황을 가진다. 구조는 거의 모두가 비슷한 모양을 하며 난막 안쪽은 난황 물질로 가득하다. 배의 모양에서 약간의 차이는 있으나 거의 구형이며, 난막내에서 차츰 발달하기 시

작한다. 일반적으로 수정된 직후 난막을 형성한 배의 평균 크기는 장경이 0.64mm, 단경이 0.54mm이다. 배 발달의 후반부에서는 복부 형성의 전초 단계인 만입이 일어난 흔적이 보인다. 이 현상은 차츰 발달되어 갈수록 뚜렷하여 난막이 소실되기 전에 거의 만입되어 복부가 형성되며, 차츰 앞쪽에서 뒤쪽으로 형성되기 시작한다.

#### (나) 노플리우스 단계 (nauplioid stage)

노플리우스 단계의 발달 기간은 총 5일이 경과하였으며, 이때 사육 수온은 평균 20℃ (18~21℃)였다. 이 단계는 난막이 소실된 직후부터 거의 모든 부속 기관이 형성되기 전까지를 말한다. 이 단계 유생의 모양은 코마(,) 형태이며 첫 번째 안테나와 두 번째 안테나가 미분화된 모양으로 형성되기 시작하며, 차츰 자라 한 쌍을 이룬다. 또 몸통전체는 아직 발달되지 않았고 체내는 아직 난황 물질로 가득차 있다. 복부를 형성하게 되는 돌기는 앞으로 발달하게 될 작은 강모나 가시들이 형성되기 시작하며, 돌기의 끝은 아직 윗쪽으로 치우치지 않는 것이다. 그 후 발달을 계속하여 흉부나 복부의 체절이 약간씩 나타나기 시작하며, 이러한 형태는 그 후 더욱 뚜렷해진다. 아직도 등쪽에는 난황 물질이 남아 있는 것을 볼 수 있다. 이러한 체절과 부속지의 발달은 상피내에서 일어난다. 소화기관과 생식기관 등의 내부 기관은 아직 발달하지 않았지만, 발달 흔적이 제 1·2 안테나 측면에 둥근 모양으로 나타나기 시작한다. 노플리우스 단계의 후반부에 들어가면 상피내에서의 발달이 빨라져 흉부에 흉지 8쌍이 나타나기 시작하며 복부끝에는 미절과 미각이 형성되기 시작한다. 특히, 미각은 내지와 외지의 구분이 뚜렷하게 나타난다. 노플리우스 단계의 후반부는 전형적인 노플리우스의 모습은 차츰 사라진다. 이때, 난황 물질은 차츰 흡수되어 등쪽 뒷부분에서는 많이 사라지며 흔적으로 나타나 있던 둥근 모양의 내부 기관은 차츰 그 크기가 줄어

든다. 전체적으로 노플리우스 단계의 후반부에 이르면 모든 기관의 체절화와 분화가 빨리 일어나며 복부와 흉부의 발달이 진행되고 두흉갑의 흔적이 나타나기 시작한다.

(다) 노플리우스후 단계 (postnauplioid stage)

노플리우스후 단계의 발달 기간은 총 4일이 경과하였으며, 이때 사육 수온은 평균 20℃ (18~21℃)였다. 노플리우스 단계에서 탈피한 곤쟁이는 노플리우스후 단계에 이른다. 이 단계에서는 난황 물질이 이들의 등쪽 앞 부분에 약간 남아 있으며 이 단계가 끝나는 시점에 이르면 난황 물질들은 거의 흡수되고 완전한 두흉갑을 형성한다. 난황 물질이 흡수되면서 두흉갑과 호흡기관이 발달한다. 이 단계에서 위 (stomach)와 장 (intestine)이 나타나며, 거의 어린 개체의 모양에 가깝게 내부 기관이 발달한다. 또 이 단계에서 눈 (eye)은 배쪽으로부터 등쪽으로 뒤집혀 나타나기 시작하며, 또 눈자루 (eyestalk)도 형성되기 시작한다. 안테나는 강모와 가시가 나타나기 시작하며, 마디가 형성된다. 흉지는 길게 자라 잘 발달된 모양을 보인다. 또 복지는 한 개의 돌기가 생기며, 미절과 미각도 거의 완전한 모습을 갖춘다. 이 단계에서 유생은 탈피하여 어린 개체로 되며, 이때 비로소 보육낭에서 밖으로 방출한다.

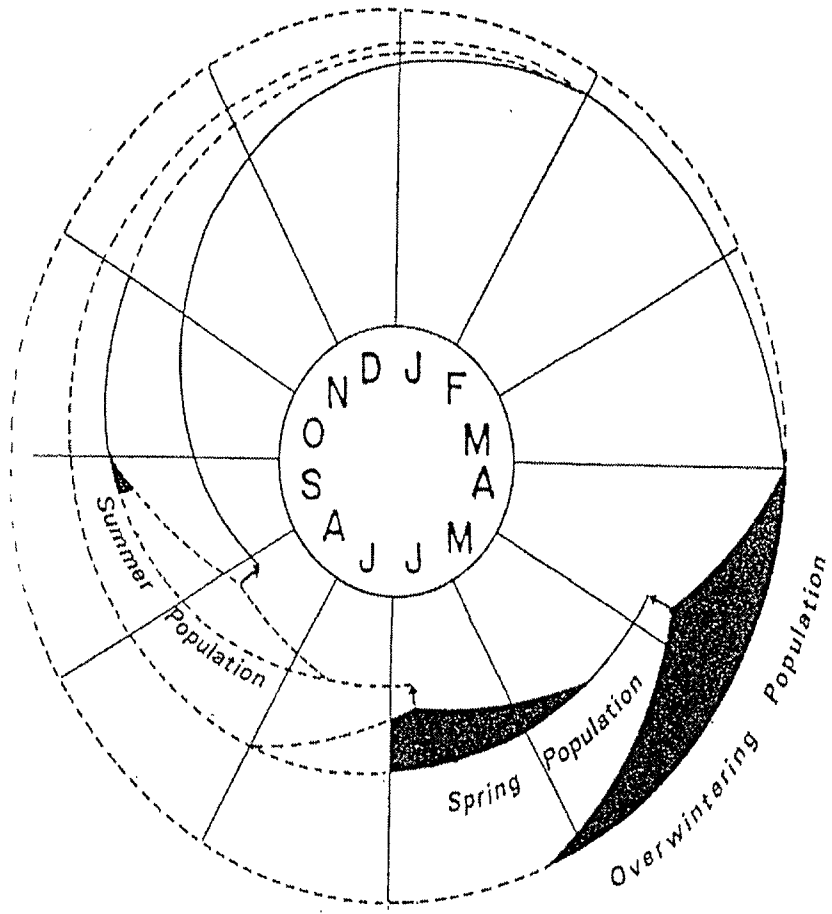


Fig. 3-1. Reproductive cycle of *Neomysis awantschensis*.



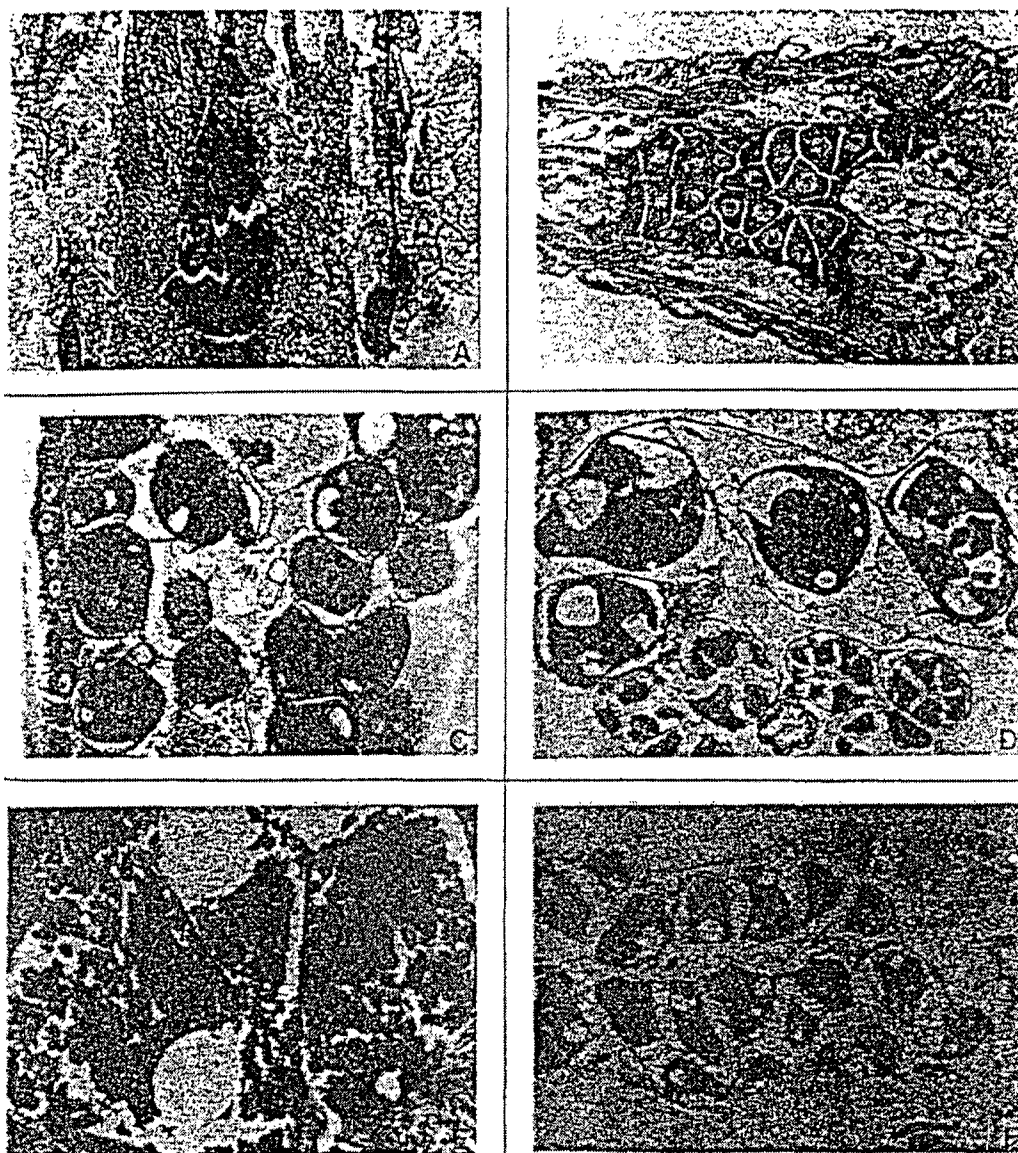


Fig. 3-2. Photomicrographs of developmental stage of ovary in Mysidae. A. Multiplication stage ( $\times 400$ ). B. Early growing stage ( $\times 100$ ). C. Late growing stage ( $\times 100$ ). D. Mature stage ( $\times 100$ ). E. Ripe stage ( $\times 100$ ). F. Spawning stage ( $\times 100$ ).

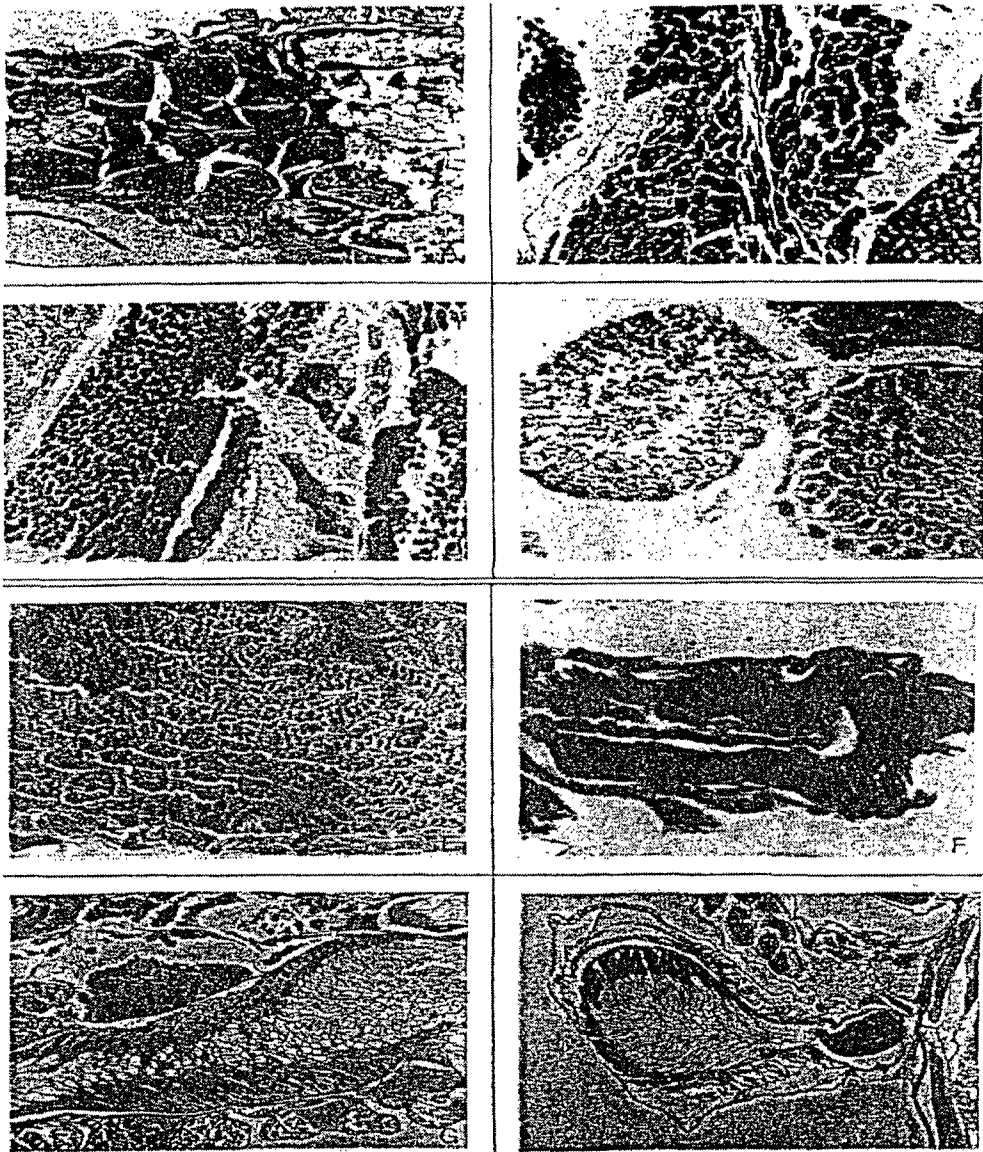
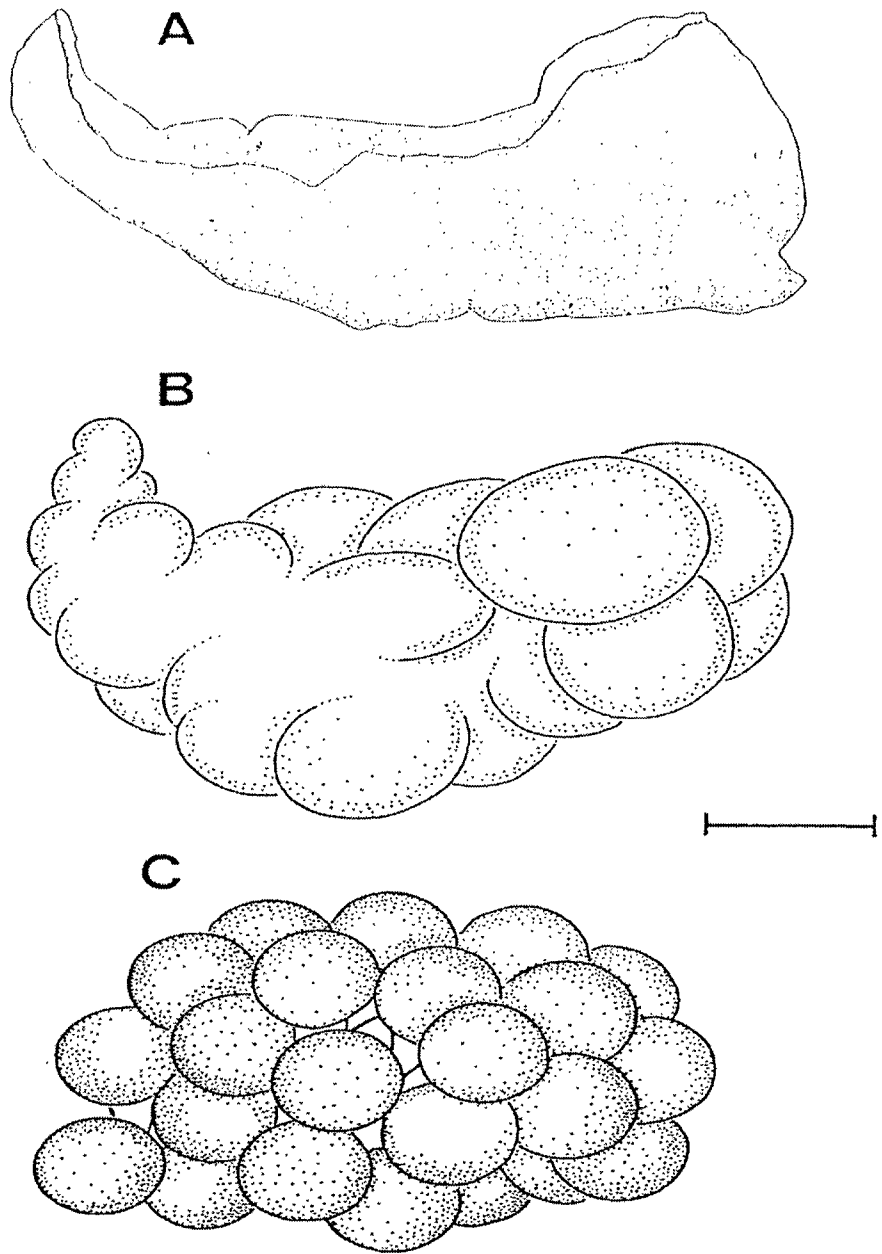
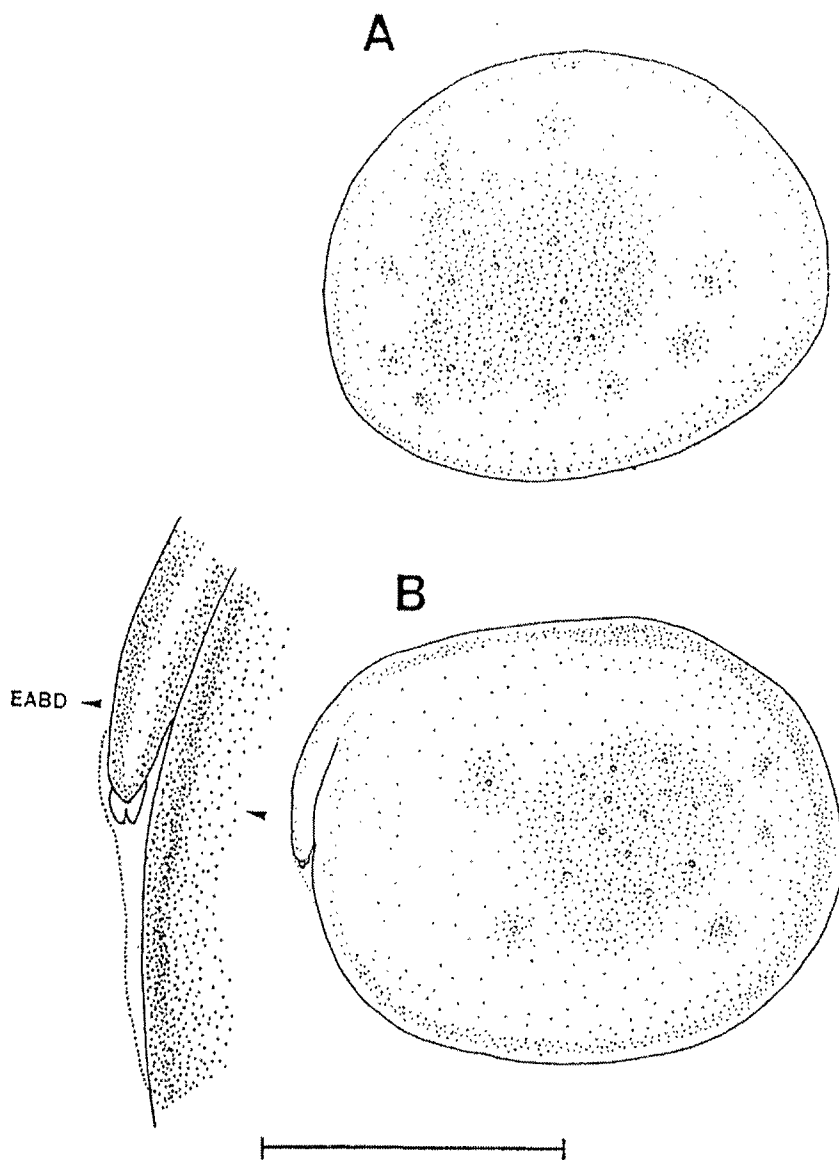


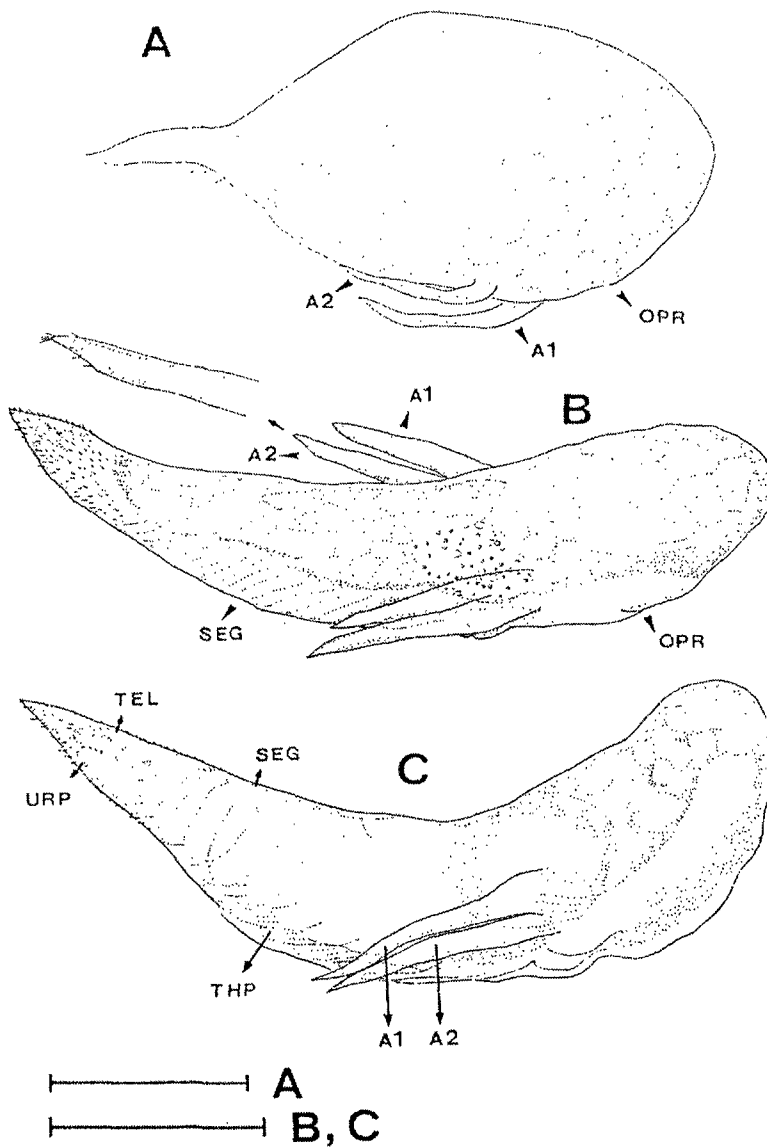
Fig. 3-3. Photomicrographs of developmental stage of testis in Mysidae. A. Internal structure of testis ( $\times 40$ ). B. Early growing stage ( $\times 400$ ). C. Late growing stage ( $\times 400$ ). D. Section of spermatidic pouch ( $\times 200$ ). E. Section of spermatidic pouch ( $\times 400$ ). F. Section of vas deferens ( $\times 200$ ). G. Section of seminal vesicle ( $\times 100$ ). H. Section of copulatory organ ( $\times 100$ ).



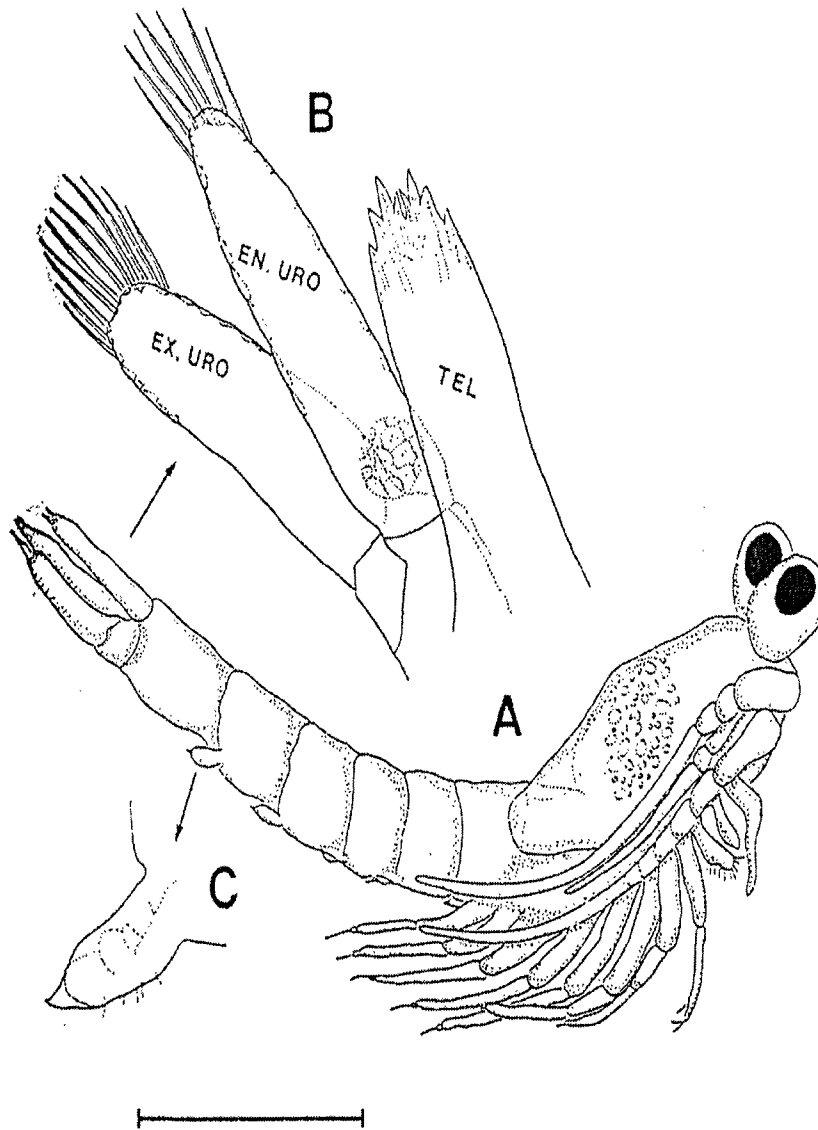
**Fig. 3-4.** The newly-laid egg mass within the marsupium of the ovigerous female of the mysidae. A: Unfertilized egg mass within the marsupium; B: Fertilized egg mass within the marsupium after 24 hours of copulation; C: Eggs mass within the marsupium. (Scale bar 0.5mm)



**Fig. 3-5.** Marsupial development of the embryonic stage of the mysidae. A: The early embryonic stages; the egg is already surrounded by a continuous blastoderm; B: The late embryonic stage; stretching of the embryonic abdomen starts, in this way hatching is initiated. (EABD: embryonic abdomen). (Scale bar 0.3mm)



**Fig. 3-6.** Marsupial development during the nauplioid stage of the mysidae. A: The early nauplioid stages; a short period after hatching; the larval abdomen is already strongly bent dorsally; B: Nauplioid stage; the body segmentation is already clearly visible ventrally but not dorsally; C: The late stage; the larval abdomen is well-segmented over all of its parts; the thoracopods and uropods appear; the old cuticle starts to separate from the body at the terminal tip of the abdomen. (A1: antennule, A2: antenna, OPR: optical rudiment, SEG: segmentation of body, THP: thoracopod, URP: uropod, TEL: telson). (Scale bar 0.3mm)



**Fig. 3-7.** Marsupial development of the postnauplioid stage of the mysidae. A: Postnauplioid stage; all appendages of the adult stage are present and already free but less specialized; there is still the large dorsal yolk mass; B: Telson and uropods of postnauplioid stage; telson is not differentiated and endopod of uropod presented undevelopmental statocyst; C: Unspecialized pleopod. (TEL: telson, EN.URO: endopod of uropod, EX.URO: exopod of uropod). (Scale bar 0.3mm)

## 나. 넙치, *Paralichthys olivaceus*

### (1) 생식생물학

넙치의 난소는 한 쌍으로 복강의 후방에 위치한다. 발달하면서 난소는 담홍색을 나타내며, 복강의 후방으로부터 뒷지느러미의 위쪽 내부의 혈관극을 따라 꼬리지느러미 부분까지 신장된다. 암컷의 생식수관은 수노관과 말단부에서 합일되어 항문 뒤쪽에 위치한 비노생식공으로 이어진다. 난소내부는 난소외막으로부터 시작된 여러 겹의 난소박판 (ovarian lamella)으로 구성되며, 이곳에서 난원세포가 유래한다. 조직학적인 관찰의 결과 산란기 동안 산란 회수로 다회로 판단되었다.

넙치의 정소는 난소와 마찬가지로 복강의 후방에 위치하지만, 발달되어도 난소처럼 후방의 체벽사이로 발달하지 않고 복강 후방부에서만 유백색을 띠면서 삼각형의 형태로 확장된다. 수컷의 생식수관은 암컷과 마찬가지로 수노관과 말단부에서 합일되어 항문 뒤쪽에 위치한 비노생식공으로 이어진다. 정소의 내부조직상은 소엽형 (lobular type)이며, 각각의 소엽에서 생식세포들은 같은 단계의 발달상태를 보인다. 조직학적인 결과로부터 방정기는 연중 1회이나, 방정기 동안 방정 회수는 다회로 판단된다.

넙치의 생식생물학적최소형 (군성숙도)은 암컷은 전장 40 cm, 수컷은 전장 30 cm로 나타났다. 자연산 넙치의 경우 산란기는 5~6월이지만, 최근에는 광주기 및 온도의 인위적인 조절을 통하여 연중 산란이 가능하다.

### (2) 성숙란의 형태 및 난발생

넙치의 성숙란은 투명한 구형의 분리부성란으로 알의 크기는 0.90~0.94mm (평균 0.92mm, n=60)였다. 1개의 유구를 가지며, 유구의 크기는 0.16~0.18mm (평균 0.17mm, n=60)이고, 난황 위에 많은 색소포가 산재

해 있다.

수정 후 1시간 20분이 경과하여 제 1분열이 일어나 2세포기가 되고, 2시간 후에는 제 2분열이 일어나 4세포기, 2시간 40분 후에는 8세포기가 된다. 수정 후 3시간 30분에 16세포기가 되며, 4시간 후에는 32세포기가 되고, 5시간 45분 후에는 상실기에 달한다. 그 후 계속 분열하여 수정 후 8시간에는 포배기, 10시간 30분 후 배피는 난황의 3/4 정도를 덮어 내려와 낭배기에 달하며, 24시간 30분 후에는 배순이 자라 올라가 배체가 형성되기 시작한다. 수정 후 30시간 15분에는 배체가 분화하여 뚜렷하게 형성되며, kupffer씨포가 출현하고, 안포와 5~6개의 근절이 생긴다. 수정 33시간 45분에는 근절은 10~11개로 증가하고, 안포가 거의 완성되어 렌즈가 분화하며, 꼬리부분에 kupffer씨포가 소실 직전에 있었고, 이포가 형성되기 시작한다. 수정 37~39시간 후에는 배체에 약간의 색소포가 나타나며, 심장이 분화하기 시작하고, 근절은 14~15개로 증가한다. 수정 후 43시간이 지나면 심장이 형성되어 심장박동이 시작되며, 배체의 색소포가 증가하고, 배체에 막상의 지느러미가 분화하기 시작한다. 근절은 19~20개이다. 수정 47시간 후에는 비공이 형성되기 시작하고, 꼬리부분이 난황에서 분리되며, 배체는 심하게 꿈틀거린다. 근절은 30개이다. 이어 계속 발생이 진행되어 수정 후 50시간이 지나면 근절은 32개에 달하고, 난황을 뚫고 머리부터 부화하기 시작하며 (Fig. 3-10). 수정 후 52시간만에 완전히 부화한다.

### (3) 부화 소요시간

사육 수온 16.5~18.5℃ (평균 17.6℃)에서 수정 후 50시간만에 최초의 부화가 시작되어 52시간 25분에는 완료되었다. 또한, 14.0~16.5℃ (평균 15.2℃)에서 수정 후 64시간만에 부화하기 시작하여, 68시간에 모두 완료하였다.



#### (4) 자치어의 발달

##### (가) 부화자어

부화직후의 자어는 전장 2.40~2.52mm (평균 2.49mm, n=10)로 입과 항문은 열려있지 않고, 큰 난황을 가진다. 유구는 난황의 뒷 부분에 위치하며, 일부는 표면에 돌출되어 있다. 몸의 등쪽과 배쪽 막지느러미 위에는 나뭇가지 모양의 흑색소포와 황색소포가 분포한다. 개체에 따라 흑색소포의 수는 차이가 있고, 이때의 자어의 근절은 12~13+22~23=34~36개이다. 부화후 2일째의 자어는 전장 3.30~3.40mm (평균 3.35mm, n=10)로 눈에 약간의 흑색소포가 착색되기 시작하고, 몸 표면의 색소포는 등과 배쪽으로 분리되어 감소되며, 막지느러미위의 색소포는 꼬리 중앙부근에 집중 분포한다. 난황은 거의 흡수되고, 유구는 앞쪽으로 이동되어 소화관과 연결되어 있으며, 막상의 가슴지느러미와 부레의 원기가 나타난다. 아직 입과 항문은 열리지 않았고 근절은 12~13+26=38~39개이다.

##### (나) 후기자어

부화 후 5일째의 자어는 전장 3.84~4.50mm (평균 4.20mm, n=10)로 난황은 완전히 흡수되어 후기자어기로 접어들었다. 유구는 흡수되었고, 몸은 가늘고 길며, 척색의 말단은 아직 직선이다. 입과 항문이 열리며, 항문은 몸의 중앙보다 약간 앞쪽에 위치하고, 소화관이 발달함에 따라 rotifer를 왕성하게 섭이 하기 시작하였다. 막지느러미 위에 색소포가 산재되어 분포하고, 부레가 퇴화하기 시작한다.

부화 후 7~8일째의 자어는 전장 4.42~5.30mm (평균 4.94mm, n=10)로 약간의 체형변화를 관찰할 수 있으며, 척색말단은 아직 위로 굽어지지 않는 않지만, 하미추골 기저부가 조금 부풀어오름을 관찰할 수 있다. 소화관은 조금씩 회전하기 시작하고 팽대 되어 있으며, 항문은 몸의 중앙보다 앞쪽에

열려 있고, 아가미가 열리기 시작한다. 흑색소포는 몸의 등쪽과 배쪽에 다수 분포하며, 배쪽의 흑색소포는 소화관에서 꼬리부분으로 연속적인 점으로 연결되어 있다. 막지느러미위의 색소포는 감소하며, 아래턱 부분, 아가미 뚜껑부분의 흑색소포는 증가한다. 각 지느러미는 막상이고, 이 때의 자어는 부유생활을 하며, 근절은 38개이다.

부화 후 13~14일째 되는 자어는 전장이 5.60~6.90mm (평균 6.47mm, n=10)로 몸은 약간 측편되기 시작하고, 복부의 체고는 증가한다. 소화관은 앞부분에서부터 1회전하며, 등지느러미 앞부분에는 4개의 줄기가 신장하고, 척색말단의 배쪽에는 꼬리지느러미 줄기가 3~4개 나타난다. 흑색소포의 분포는 막지느러미 위에는 감소하고, 머리부분과 배부분에서는 증가한다.

부화 후 18일째의 자어는 전장이 7.15~8.60mm (평균 7.85mm, n=10)로 체고는 높아지고 몸은 현저하게 측편되어 있으며, 오른쪽 눈이 조금씩 이동하는 변태전기에 해당된다. 등지느러미 앞쪽에는 6~7개의 줄기가 뚜렷하게 신장되어 있고, 제 1~4줄기에는 흑색소포가 밀도높게 분포하며, 제 4줄기가 가장 길어 눈 크기의 약 3.5~4배에 달한다. 흑색소포는 등지느러미의 신장된 줄기와 꼬리지느러미 기저부 등에 새로이 출현하며, 소화관 위에는 증가한다.

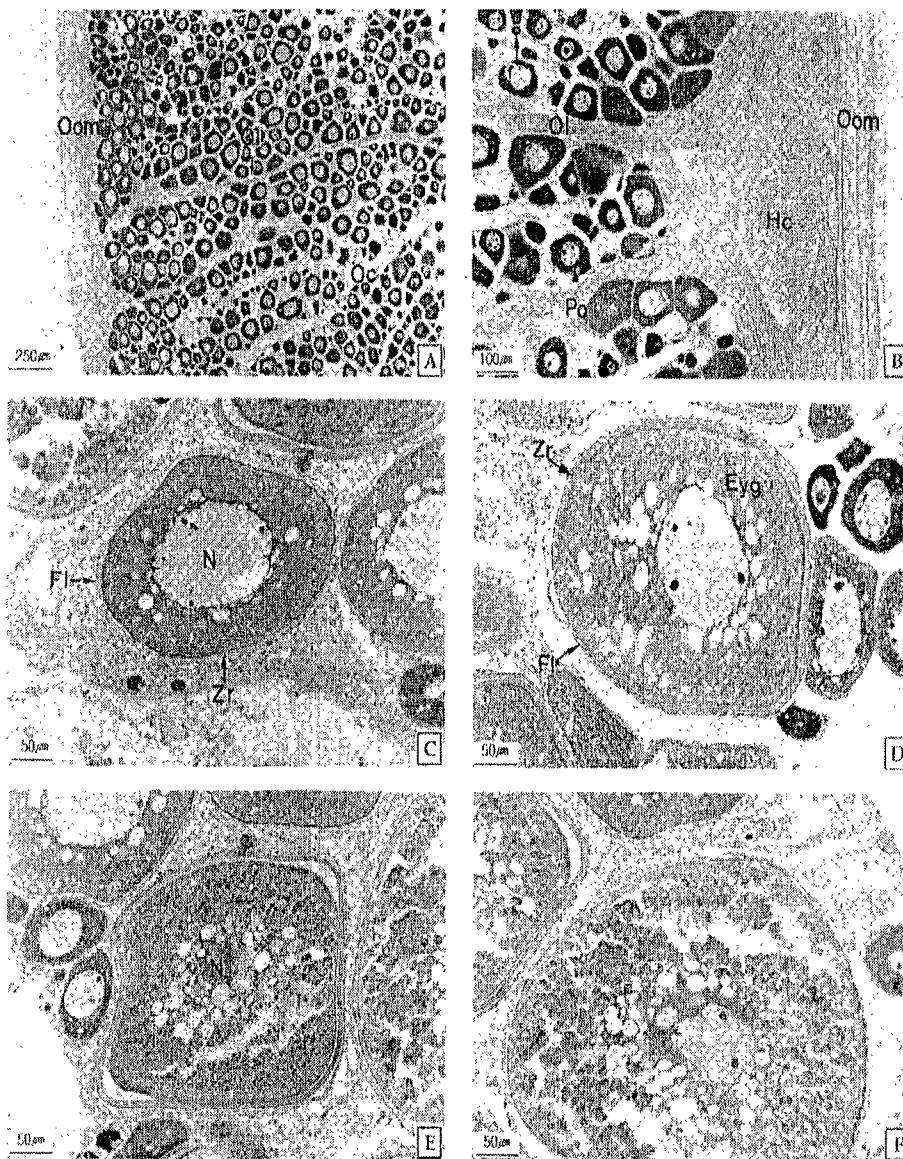
부화 후 20일째의 자어는 전장이 7.95~9.65mm (평균 8.30mm, n=10)로 체고는 현저하게 높아지고, 몸은 측편되어 있다. 척색말단은 뚜렷하게 위로 굽어져 있으며, 꼬리지느러미에 11개의 줄기가 형성되어 있다. 등지느러미에 40~50개, 뒷지느러미에 35~40개의 줄기가 분화하며, 그 수는 증가하나 가슴지느러미와 배지느러미는 아직 막상이다. 담기꽂이 발달하며, 근절은 W자 모양이다. 소화계가 발달하여 복부가 현저하게 돌출되어 진다. 흑색소포의 분포에는 특별한 변화가 없지만 머리 꼭대기 부분에서 다소 증가하고, 꼬리 뒷부분에는 약간의 색소포가 나타날 정도이다.

부화 25일 후의 자어는 전장이 9.85~11.20mm (평균 10.60mm, n=10)로 몸의 형태는 좌우상칭을 상실하여 오른 쪽 눈이 등쪽으로 이동하여 변태중기에 달한다. 등지느러미는 신장된 줄기 앞쪽에 다시 1개의 지느러미 줄기가 나타나기 시작하고, 각 지느러미는 발달하여 등, 뒷, 꼬리지느러미의 줄기가 정수에 달하며, 가슴지느러미에 6~7개, 배지느러미에 1~2개의 줄기가 분화되기 시작한다. 등, 뒷지느러미를 지지하는 담기골이 골화되며, 소화관의 말단부는 몸의 축과 거의 직각으로 되고, 아가미 역시 현저하게 발달되어 진다.

#### (다) 치어기

부화 후 30일째의 개체들은 전장이 11.40~13.25mm (평균 12.30mm, n=10)로 오른쪽 눈은 등쪽 전방으로 이동하며, 머리는 약간 비뚤어진 모양을 하고 있어 변태후기에 속한다. 등지느러미줄기는 76~83개, 가슴지느러미 14~16개, 뒷지느러미 60~65개, 꼬리지느러미 18~19개 그리고 배지느러미 6개로 모든 지느러미 줄기수는 정수에 달하여 저서생활로 이행하는 치어기에 달한다. 흑색소포의 분포는 유안측의 몸의 표면에서 증가하고, 등 뒷지느러미 담기골 대에 산재되어 있으며, 무안측에는 퇴색되는 경향이 있다.

부화 후 40일째의 치어는 전장이 14.60~18.90mm (평균 16.09mm, n=10)로 변태가 완료되어 체형은 성어에 유사하고, 오른쪽 눈은 완전히 머리의 왼쪽으로 이동하여 그 일부는 등쪽 정중선에 접하고있으며, 등지느러미의 신장된 줄기는 퇴축되어 있다. 흑색소포의 분포상태는 유안측의 몸의 표면에 반문이 형성되기 시작하며, 무안측의 몸의 표면에는 퇴색하여 백색이 되며, 비늘이 형성되기 시작한다. 수정 후 50일째의 치어는 전장이 19.20~21.30mm (평균 20.00mm, n=10)로 몸의 형태와 반문이 완전하게 성어에 닮아 있고, 옆줄이 완성되어 미성어기에 달한다.



**Fig. 3-8.** Photomicrographs of ovarian development of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. A. Cross section of ovary. Note the ovarian outer membrane and ovarian lamellae. B. Previtellogenic stage. C. Initial vitellogenic stage. D. Active vitellogenic stage. Note the eosinophilic yolk granule in the cytoplasm. E. Mature stage. F. Ripe stage. Eyg: eosinophilic yolk granule, Fl: follicle layer, Hc: hemocytes, N: nucleus, Oc: ovarian cavity, Og: oogonium, Ol: ovarian lamella, Olm: ovarian outer membrane, Po: previtellogenic oocyte, Zr: zona radiata

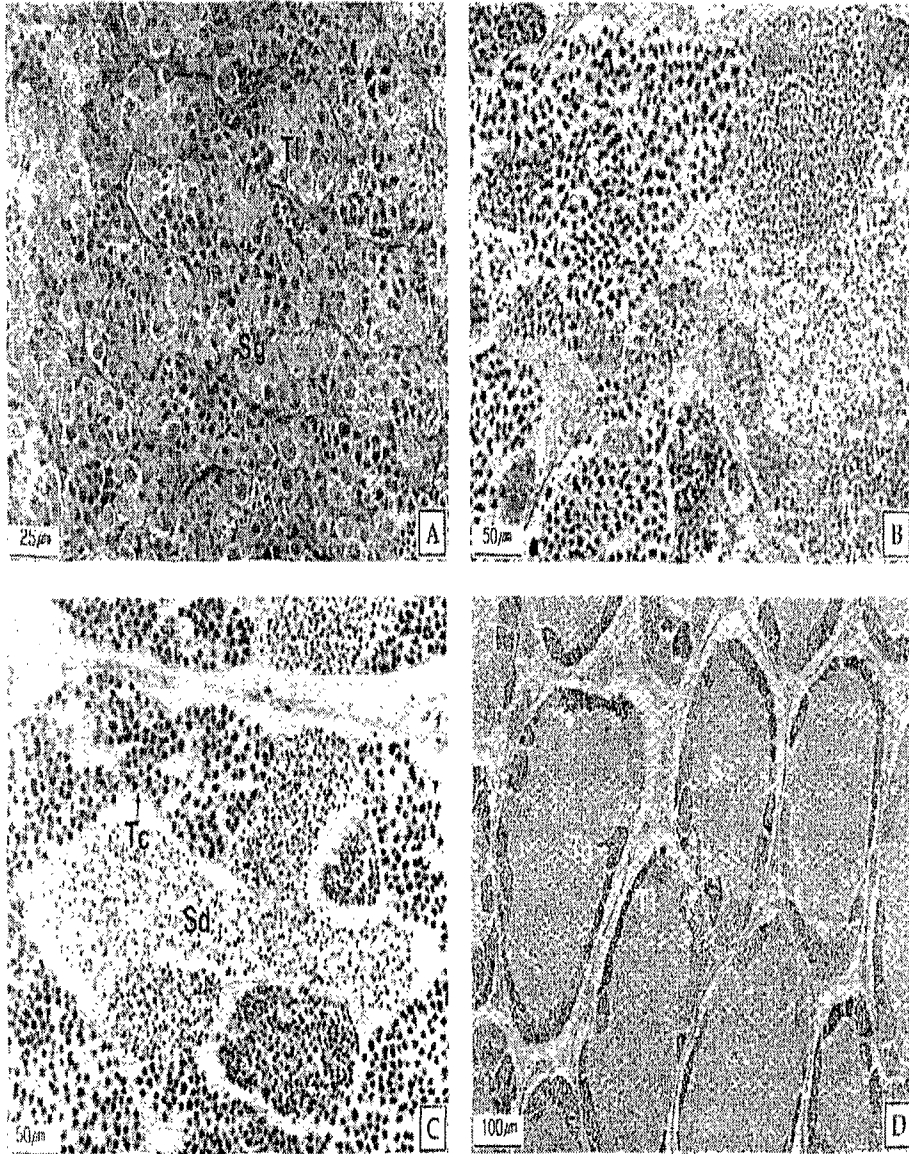


Fig. 3-9. Photomicrographs of testicular development of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. A. Spermatogonia in the testicular cyst. B. Spermatocytes in the testicular cyst. C. Spermatids in the lumen of testicular lobule. D. Spermatozoa in the lumen of testicular lobule. Sc: spermatocytes, Sd: spermatids, Sg: spermatogonia, Sz: spermatozoa, Tc: testicular cyst, Tl: testicular lobule.

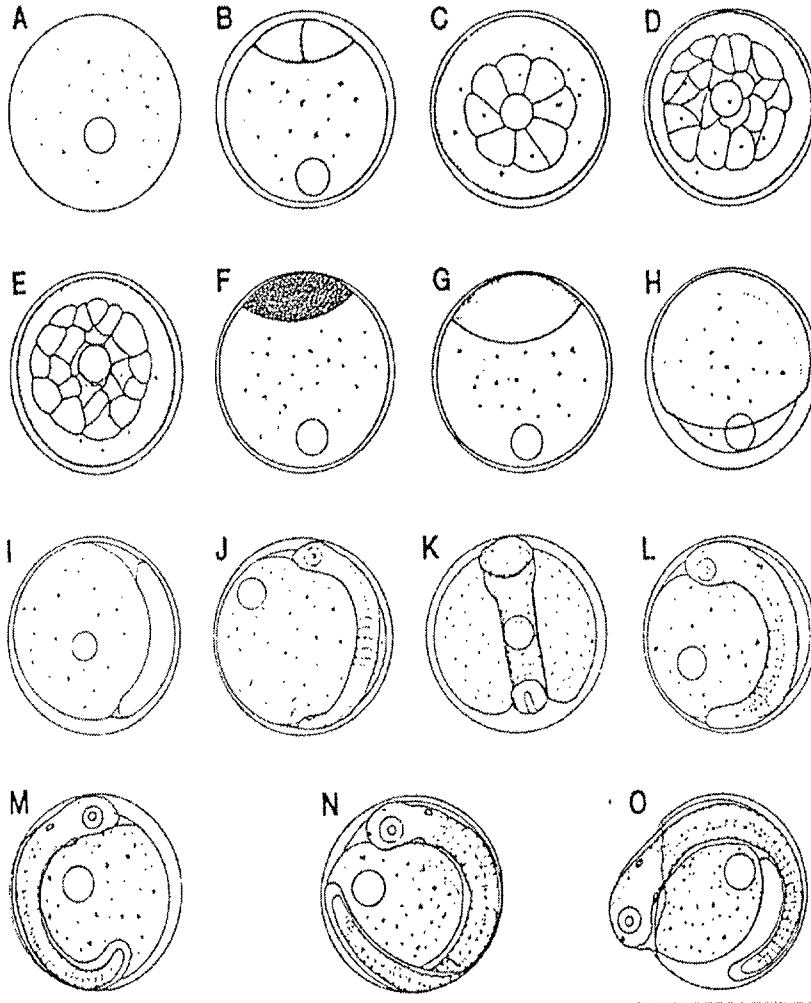


Fig. 3-10. Egg developmental stages of *Paralichthys olivaceus* reared in the laboratory. A. Mature eggs newly spawned; B. 2 cell stage, 1 hrs. 20 mins. after fertilization; C. 8 cells stage, 2 hrs. 40 mins.; D. 16 cells stage, 3 hrs. 30 mins.; E. 32 cells stage, 4 hrs.; F. Morula stage, 5 hrs. 45 mins.; G. Blastula stage, 8 hrs.; H. Gastrula stage, 10 hrs. 30mins.; I. Embryo formation, 14 hrs. 30 mins.; J. 5~6 myotomes stage, appearance of Kupffer's vesicles, 30 hrs. 15mins.; K. Formation of eye lens, 33 hrs. 45 mins.; L. Melanophores appeared on the embryo, 37~39 hrs.; M. Formation of heart, 43 hrs.; N. Formation of nostrils, 47 hrs.; O. Embryo just before hatching, 50 hrs. Scale indicate 1mm.

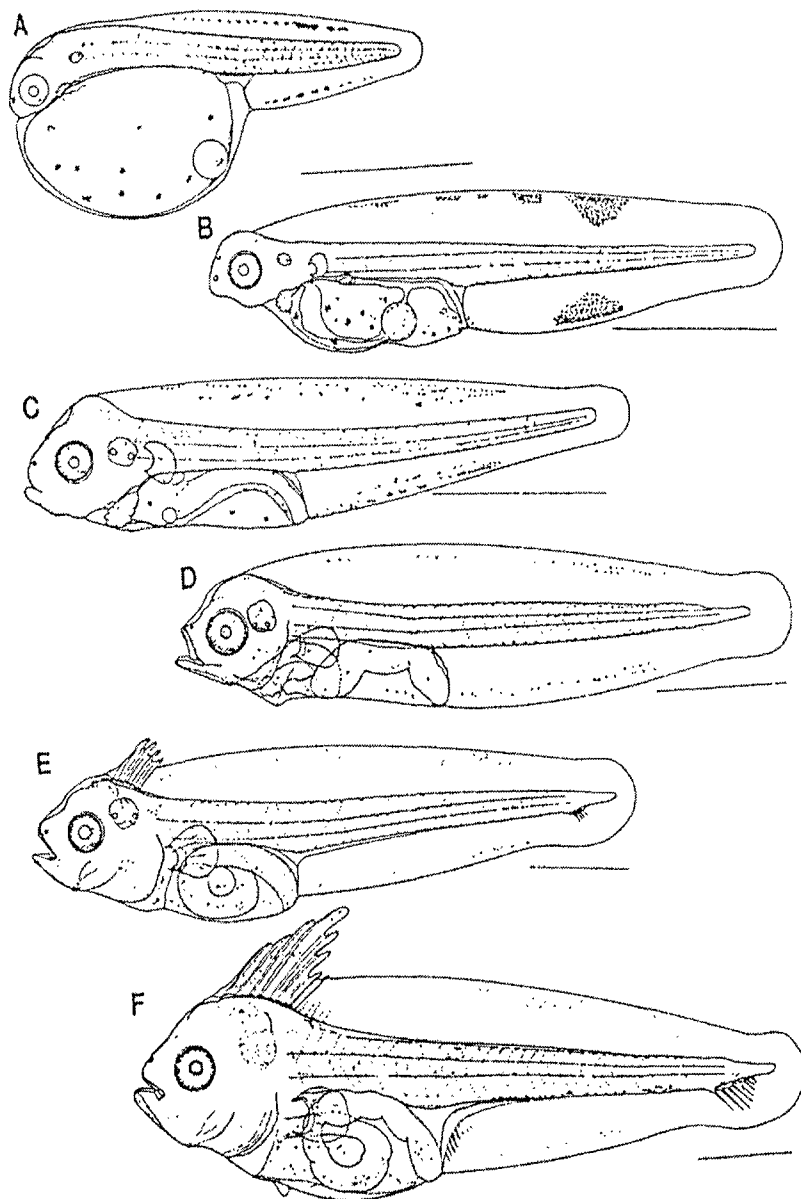
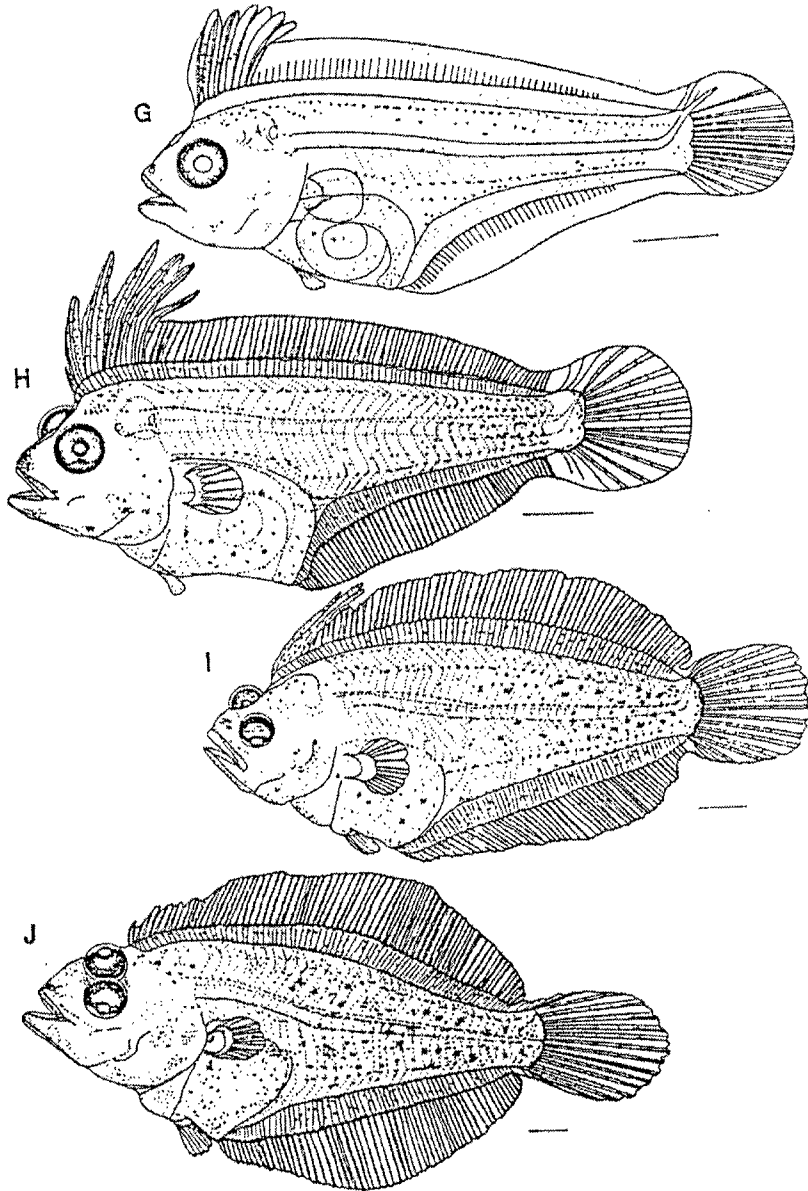


Fig. 3-11. Larvae developmental stages of *Paralichthys olivaceus* reared in the laboratory. A: 2.49mm in total length(TL), newly-hatched larva; B: 3.35mm in TL, 2 days after hatching; C: 4.20mm in TL, 5 days after hatching; D: 4.94mm in TL, 7~8 days after hatching; E: 6.47mm in TL, 13~14 days after hatching; F: 7.45mm in TL, 18 days after hatching. Scale bars indicate 1.0mm.



**Fig. 3-12.** Larvae and juveniles developmental stages of *Paralichthys olivaceus* reared in the laboratory. G: 8.30mm in TL, 20 days after hatching; H: 10.60mm in TL, 25 days after hatching; I: 12.30mm in TL, 30 days after hatching; J: 16.09mm in TL, 40 days after hatching. Scale bars indicate 1.0mm.



## 다. 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*

### (1) 생식생물학

날개망둑의 난소는 각각 한 쌍의 원주형으로 소화관과 등쪽 체벽사이에서 후방으로 신장되어 있다. 암컷의 생식수관은 수노관과 말단부에서 합일되어 항문 뒤쪽에 위치한 비노생식공으로 이어진다. 난소내부는 난소외막으로부터 시작된 여러 겹의 난소박판 (ovarian lamella)으로 구성되며, 이곳에서 난원세포가 유래한다. 조직학적인 결과로부터 산란은 연중 1회이며, 산란기 동안 산란회수는 1회로 판단된다.

날개망둑의 생식생물학적최소형 (군성숙도)은 조사 결과 암컷은 전장 4.5 cm, 수컷은 전장 3.5 cm로 나타났다. 암컷의 생식소중량지수 (GSI)는 12월에는 0.41로 조사되었으며, 7월에 최고치를 나타낸다. 수컷의 생식소중량지수는 11월에는 0.20으로 최저치를 나타냈으며, 7월에 최고치를 나타낸다. 생식주기는 암·수 모두 성장기(2~4월), 성숙기(5~6월), 완숙 및 산란기(7~8월) 그리고 회복 및 휴지기(9~1월)로 나눌 수 있을 것이다. 포란수는 전장 60.1~70.0mm 구간에서 4758개 (n=10)로 조사되었다.

### (2) 성숙란 및 난발생과정

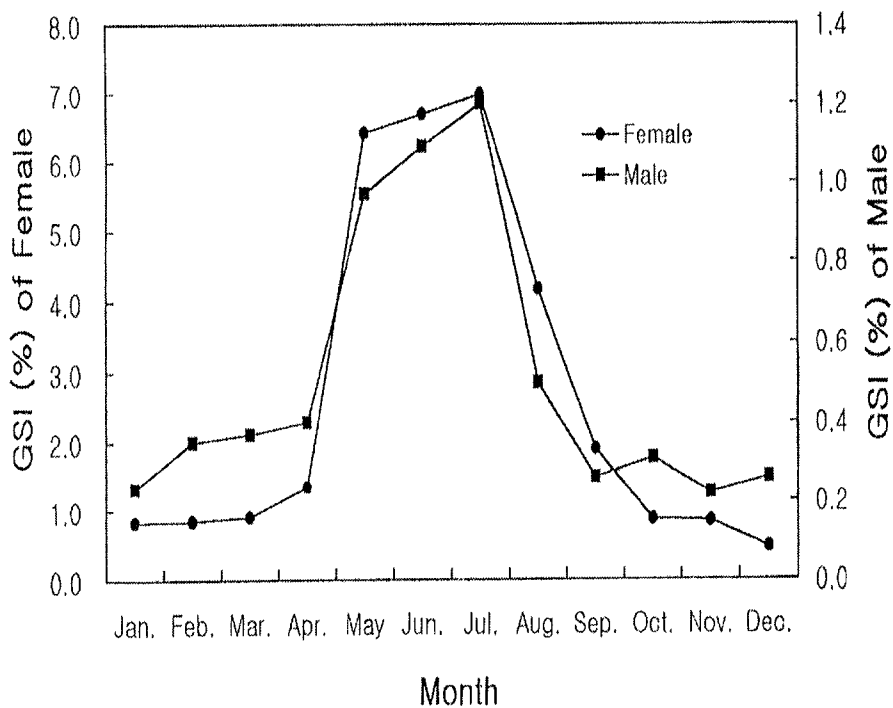
미수정란의 난경은 0.46~0.65mm로 부착사를 지니고 있는 점착성 침성란이며, 모양은 원형에 가깝고 많은 수의 소형 유구를 가진다. 수정란의 난경은 수정 직후 부터 변하기 시작하여 상실배 이후에는 장경 3.40~4.04mm, 단경 0.50~0.78mm의 투명한 부착사에 의해 부착하는 분리부착란으로 다수의 작은 유구를 가진다.

그 후 4시간 30분 후에는 난막이 최대로 커지면서 상실배가 된다. 6시간 후에는 배반이 난황의 1/3을 덮어 내려오며, 9시간 40분 후에는 난황의 2/3를 덮어 배체가 형성되며, 13시간 30분 후에는 원구가 폐쇄된다. 19시간 50

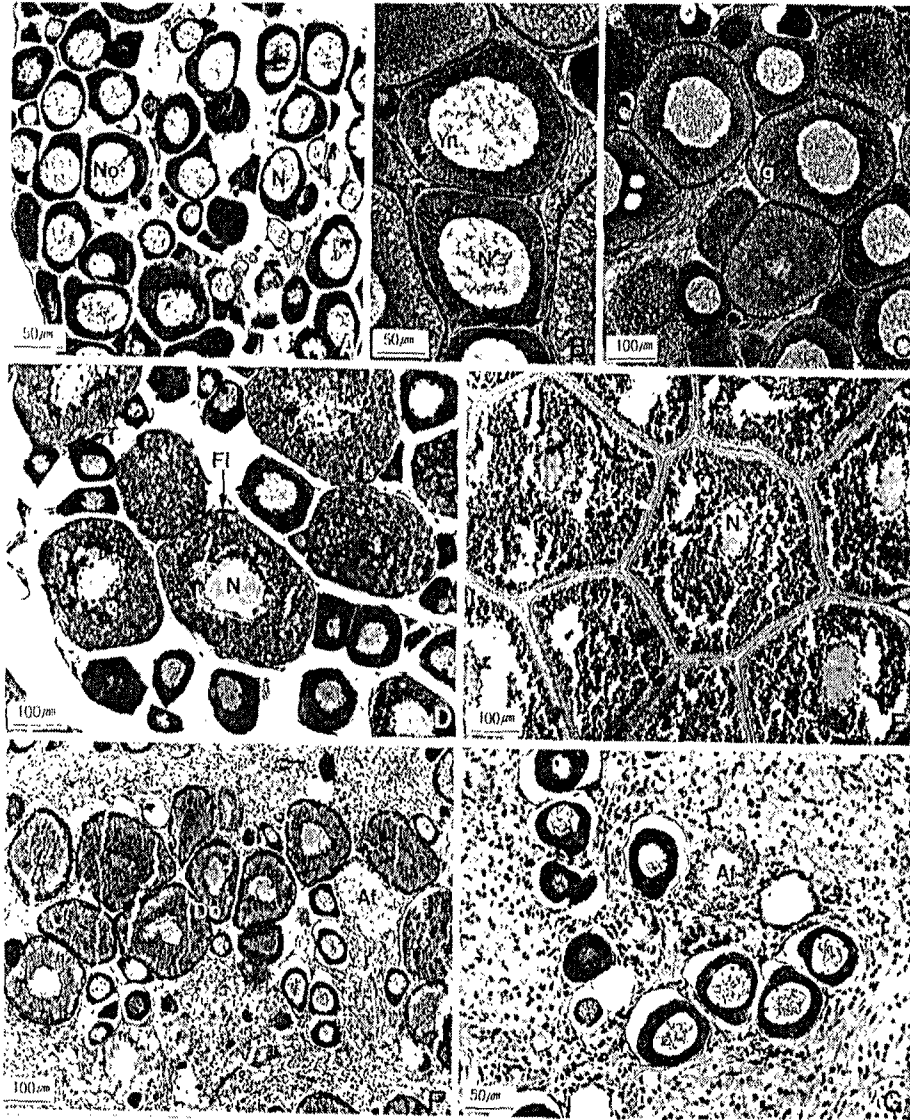
분 후에는 배체에 안포가 형성되고, 근절이 3~4개 정도 형성된다. 22시간 후에는 미부가 난황에서 일부 분리되고, Kupper's vesicle이 출현한다. 25시간 후에는 이포가 형성되기 시작하고, 미부에 막지느러미가 형성된다. 42시간 후에는 심장의 박동이 관찰되며, 눈에는 렌즈가 형성되며, 근절은 20~21개가 관찰된다. 47시간 후에는 미부가 현저히 발달하며, 체측에 흑색소포가 출현하며, 근절은 26~27개이다. 67시간 후에는 처음으로 막상의 가슴지느러미와 부레의 원기가 출현하며, 근절은 28~30개이다. 113시간 후에는 눈에 흑색소포가 나타나고 근절수는 32~33개이다.

### (3) 자치어의 발달

부화직후 자어는 전장 3.90~4.20mm로 입과 항문이 열려있다. 부화후 1일째의 자어는 전장 4.10~4.30mm로 복부와 미부 중앙에 흑색소포가 나뭇가지 모양으로 나타난다. 난황은 일부 존재한다. 부화 후 4일째의 자어는 전장 4.75~5.00mm로 막지느러미의 등쪽과 항문 뒤쪽이 융기하기 시작하며, 꼬리지느러미에 4개의 연조가 출현한다. 부화 후 8일째의 자어는 전장이 5.75mm로 등지느러미와 뒷지느러미에 각각 2개, 4~5개의 연조가 출현하고 가슴지느러미는 부채모양으로 되고, 꼬리지느러미에 5~6개의 연조가 형성된다. 부화 후 11일째 전장은 6.25~6.35mm로 복부에 막상의 배지느러미가 형성되고, 가슴지느러미에 5~6개의 연조가 형성된다. 부화 후 17일째의 자어는 전장이 6.65mm로 제 1등지느러미가 융기하기 시작하고, 제 2등지느러미 연조, 뒷지느러미, 꼬리지느러미, 가슴지느러미의 연조가 형성된다. 부화 후 25일째 자어의 전장은 10.50mm로 제 1, 2등지느러미와 꼬리지느러미 및 가슴지느러미에 가시가 형성된다. 부화 후 33일째 개체의 전장은 11.25mm로 각 지느러미가 정수에 달하며 치어기로 이행되면서 저서생활로 들어가기 시작한다.



**Fig. 3-13.** Monthly change of gonadosomatic index (GSI) of *Favonigobius gymnauchen*.



**Fig. 3-14.** Photomicrographs of developmental stage of ovary in the naked-headed goby, *Favonigobius gymnauchen*. A. Section of resting stage showing the oogonia and oocytes of chromatin nucleolus stage. B. Early growing stage. Note the yolk nucleus. C. Growing stage. Note the yolk granules in cortical cytoplasm of oocyte. D. Section of maturing oocyte showing the breakdown of germinal vesicle and well-developed follicle layer. E. Ripe stage. Note the well-developed zona radiata of ripe oocytes. F. Degenerating stage after spawning. G. Recovery stage. Af: atretic follicle, Do: degenerating oocytes, Fl: follicle layer, N: nucleus, No: nucleolus, Yn: yolk nucleus, Yg: yolk granules, Zr: zona radiata.

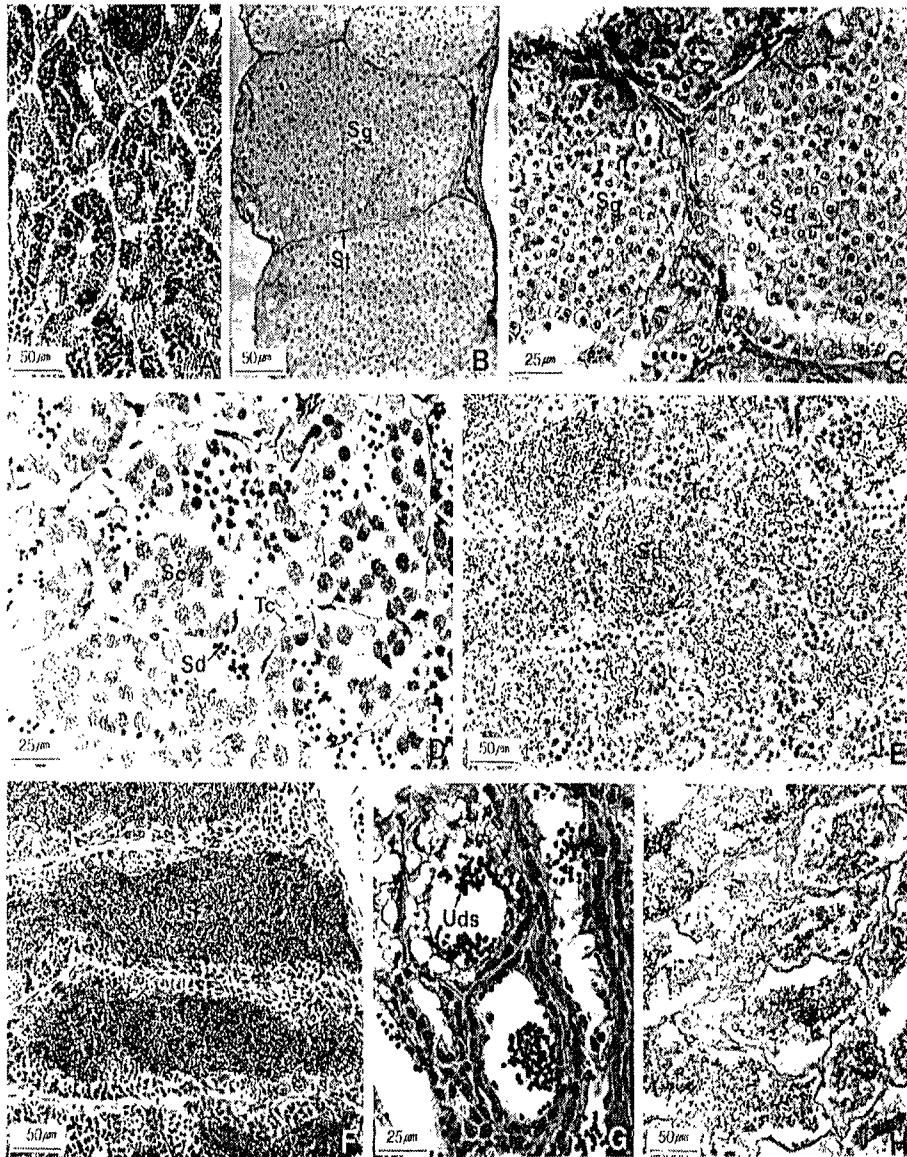
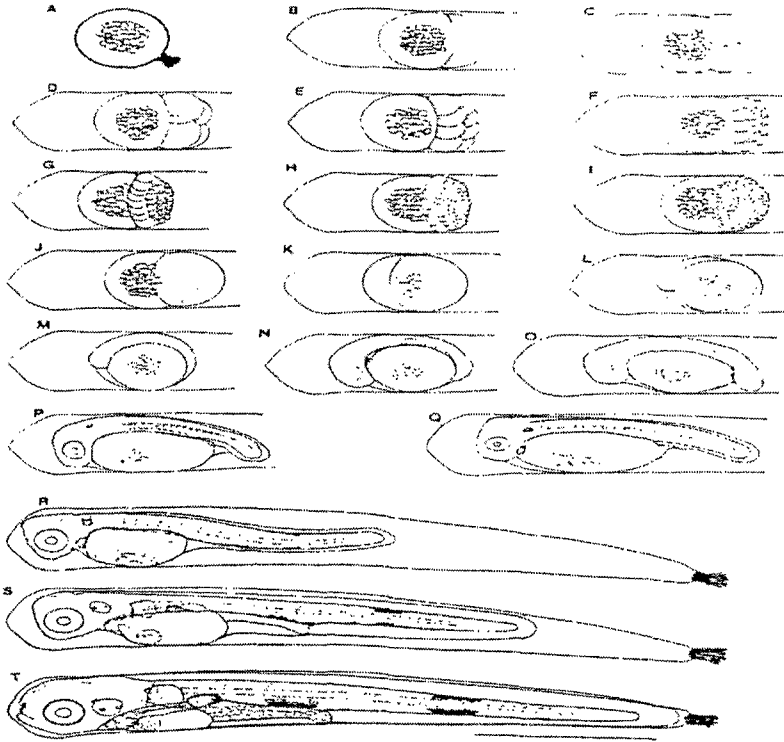


Fig. 3-15. Photomicrographs of developmental stage of testis in the naked-headed goby, *Favonigobius gymnauchen*. A. Section of testis showing the internal structure of tubule type. B. Resting stage filled with spermatogonia of interphase. C. Section of multiplicative stage showing the spermatogonia of mitotic division. D. Growing stage. E. Maturing stage. Note the disappearance of testicular cyst. F. Ripe stage. G. Undischarged spermatozoa within the efferent duct. H. Degenerating stage. Sc: spermatocytes, Sd: spermatids, Sg: spermatogonia, St: Seminiferous tubule, Sz: spermatozoa, Tc: testicular cyst, Uds: undischarged spermatozoa.



**Fig. 3-16.** The egg development and larvae of the gobidae. A: Unfertilized egg; B: Formation of blastodisc, 50 mins. after fertilization; C: 2 cell stage, 1 hrs. 30 mins. after fertilization; D: 4 cell stage, 2 hrs. after fertilization; E: 8 cell stage, 2 hrs. 40 mins. after fertilization; F: 16 cell stage, 3 hrs. after fertilization; G: 32 cell stage; H: 64 cell stage, 3 hrs. 30 mins. after fertilization; I: Morula stage, 4 hrs. 30 mins. after fertilization; J: Beginning of gastrulation, 6 hrs. 40 mins. after fertilization; K: Middle-gastrula stage, 9 hrs. 40 mins. after fertilization; L: Post-gastrula stage, 13 hrs. 30 mins. after fertilization; M: Formation of embryonic shield, 18 hrs. after fertilization; N: 4 myotome stage, 19 hrs. 50 mins. after fertilization; O: 7~8 myotome stage, appearance of Kuffer's vesicle, 22 hrs. after fertilization; P: 15~16 myotome stage, formation of membranous fin and auditory vesicle, 25 hrs. after fertilization; Q: 20~25 myotome stage, formation of eye lens, and beating of heart appearance, 42 hrs. after fertilization; R: 26~27 myotome stage, 47 hrs. after fertilization; S: 28~30 myotome stage, 67 hrs. after fertilization; T: 32~33 myotome stage, 113 hrs. after fertilization. (Scale bae 1mm)

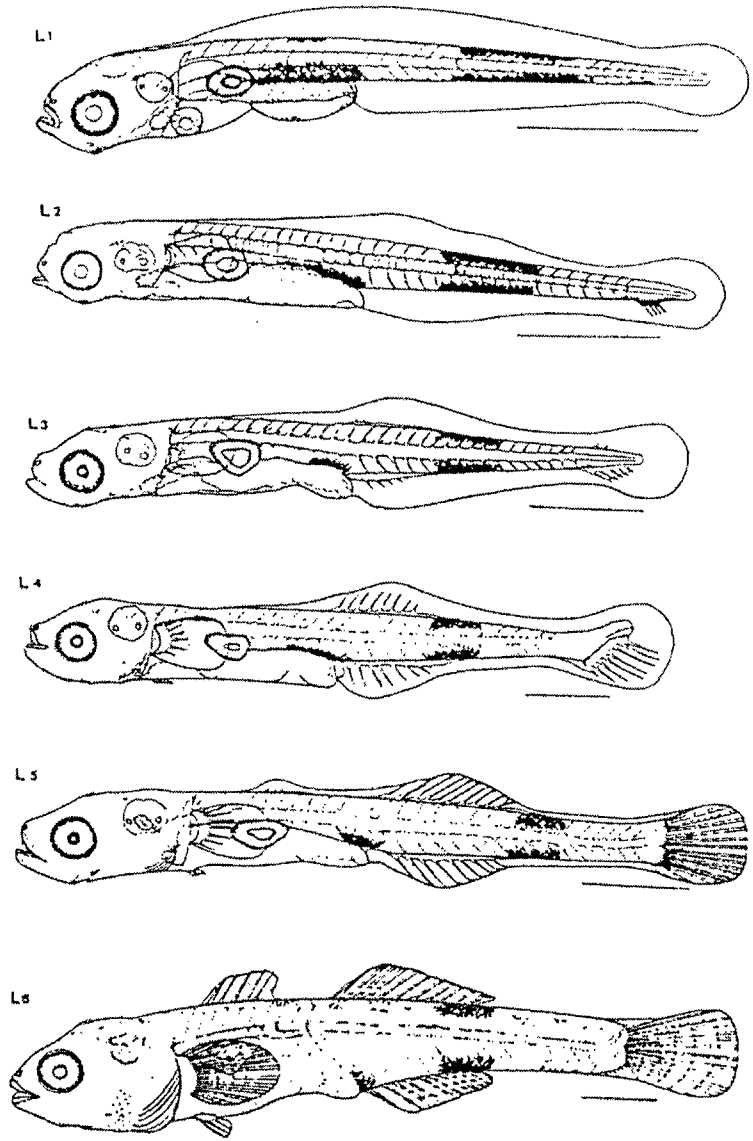


Fig. 3-17. The larval development of the gobidae. L1: Hatchling larva, 113 hrs. after fertilization, 3.9~4.2mm in total length; L2: Prelarva, 4 days after hatching, 4.7~5.0mm in total length; L3: Postlarva, 8 days after hatching, 5.7mm in total length; L4: Postlarva, 11 days after hatching, 6.2~6.3mm in total length; L5: Postlarva, 17 days after hatching, 6.8~6.9mm in total length; L6: Postlarva, 25 days after hatching, 10.5mm in total length. (Scale bar 1mm)

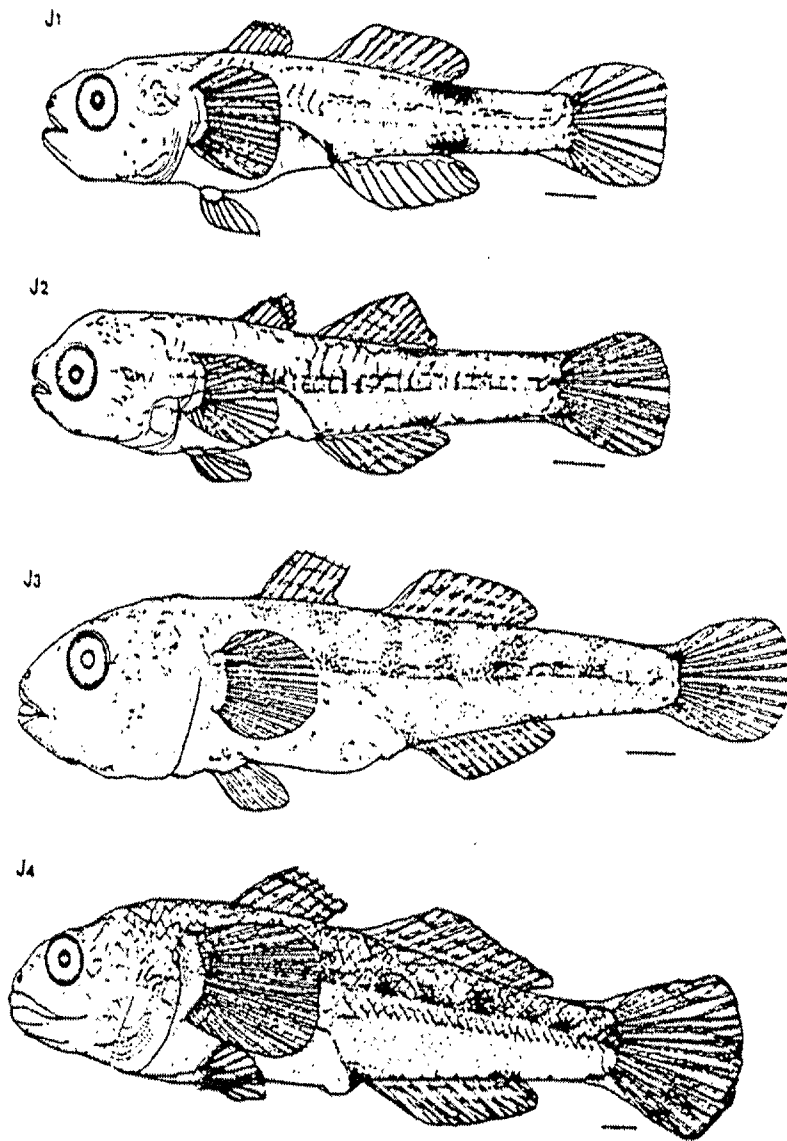


Fig. 3-18. The juvenile development of the gobidae. J1: Juvenile, 33 days after hatching, 11.2 mm in total length; J2: Juvenile, 41 days after hatching, 12.2 mm in total length; J3: Juvenile, 50 days after hatching, 15.3 mm in total length; J4: Juvenile, 70 days after hatching, 20.1 mm in total length. (Scale bar 1mm)



## 제4절 공시대상 종의 적합성 검토

### 1. 염분에 대한 적합성 검토

염분은 해양생태계에서 해양생물의 생리적 변화에 영향을 미치는 환경요인 중의 하나이다. 어류에 있어 염분은 대사활동, 삼투조절 및 생체리듬 등에 영향을 주기 때문에 연어와 같은 회유성 어류 및 기수지역에 서식하는 광염성 어류의 생활사에 있어서 대단히 중요한 요인으로 작용한다. 따라서 염분에 대한 어류의 내성 및 적응기구 등을 구명하기 위하여 광염성 어류를 대상으로 이들의 삼투조절 및 기타 생리학적인 관점에서 많은 연구들이 수행되어 왔다(Handeland et al., 1998; Mortensen and Damsgard, 1998; Claireaux and Audet, 2000; Handeland et al., 2000). 그러나, 이들 연구는 연어나 송어와 같이 경제성이 높은 어류에 대부분 한정되어 있으며, 넙치류 및 망둑어류와 같은 천해역의 중요한 생태적 지위에 있는 어류에 대한 연구는 극히 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 넓은 범위의 염분에 대한 곤쟁이, 넙치 및 날개망둑의 내성범위를 파악하기 위한 일환으로 이들의 생존, 성장 및 산소소비율에 미치는 염분의 영향을 검토하였다.

#### 가. 곤쟁이

##### (1) 재료 및 방법

실험재료인 곤쟁이, *Neomysis awatschensis*은 1999년 3월 부산 다대포의 인근해역에서 손 그물로 채집하여 1시간 이내 실험실로 운반하여 400 ℓ 순환식 여과수조에서 10일 이상 순치 시켰다. 이때 수온, pH, 염분 및 용존산소는 각각 19.7~21.2℃, 7.9~8.2, 32.8~33.2‰, 7.2~7.5 mg/ℓ의 범위였고, 먹이는 *Artemia*를 공급하였다.

실험은 PVC수조를 사용하여 본 연구개발에서 제작된 순환식 방법에 의하여 실시하였다. 염분농도는 33.6% 해수를 100%로 하여 각각 80(27.4%), 60(20.2%), 40(13.4%), 30(10.1%), 20(6.7%) 및 10%(3.4%)를 천연담수와 혼합하여 조제하였고, 0%는 담수만을 사용하였다. 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다. 모든 실험은 수온 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 산소발생기에 의해 지속적으로 산소를 공급하였다.

염분농도별 생존 및 성장에 대한 실험은 유사한 크기의 곤쟁이를 20마리씩 선별하여 40일간 동시에 2회의 반복구를 설정하였다. 생존은 24시간마다 사망한 개체를 계수하여 생존율로 나타내었고 유의성은  $\chi^2$ -test로 검정하였다. 성장은 실험수조에 곤쟁이를 수용하기 전에 체장 및 체중을 측정하였다. 먹이는 실험종료 1일전에는 공급하지 않았으며, 실험도중에 사망한 개체가 관찰되는 경우, 사망개체는 평균값의 개체가 사망한 것으로 판단하여 계산하였다.

곤쟁이의 산소소비율 대한 실험은 생존과 성장실험과는 별도로 2개의 반복실험을 실시하였다. 산소소비율은 실험구별 10일 단위로 5개체씩을 무작위로 선별하여 산소소비를 측정한 후, 건중량을 측정하였다. 평균 산소소비율은 단위건중량당 산소소비량으로 표시하였다. 이들 결과에 대한 유의성 검정은 SPSS 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA에 의해 최소유의차 검정으로 평균간의 차이를 검정하였다.

## (2) 결 과

### (가) 생 존

염분에 따른 40일간 곤쟁이의 생존율을 Fig. 3-19에 나타내었다. 곤쟁이의 생존율은 염분 20.2%이상에서 실험종료시 95%이상을 나타내었고, 13.

4%에서는 90%의 생존율을 나타냈다. 그러나, 6.7%와 3.4%의 염분에 노출시킨 곤쟁이의 생존율은 실험기간 동안 계속적으로 감소하여 실험종료시 각각 60.5% 및 12.5로 27.4%의 염분 100%에 비해 유의한 감소를 나타냈다 ( $P < 0.05$ ). 한편, 담수에 노출시킨 곤쟁이는 계속적으로 감소하기 시작하여 40일째 0%의 생존율을 보였다.

#### (나) 성 장

곤쟁이를 염분농도에 따라 사육하면서 성장에 대하여 체장의 증가를 Fig. 3-20에 나타내었다. 곤쟁이는 염분 13.4~33.6%의 범위에서 실험개시시 체장 4.5~4.7 mm에서 40일 후에 7.8~8.2 cm로 성장하여 유사한 체장의 증가를 나타냈다. 또한, 10.1%의 염분에서 곤쟁이의 체장은 감소하는 경향을 나타냈으나, 가장 많은 증가를 보인 27.4%의 염분에 비해 유의한 차이는 인정되지 않았다. 한편, 염분 6.7%이하에서 곤쟁이의 체장은 염분농도가 감소할수록 감소하는 경향을 보여 유의한 차이가 인정되었다 ( $P < 0.05$ ). 곤쟁이 체장의 증가를 기준으로 하여 일일성장률을 Table 3-1에 나타내었다. 곤쟁이 일일성장률은 염분 13.4% 이상에서는 유사한 값을 나타내었으나, 6.7%이하에서는 유의한 감소가 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ).

#### (다) 산소소비

각 염분에 노출시킨 곤쟁이의 산소소비의 변화를 Fig. 3-21에 나타내었다. 곤쟁이의 산소소비는 염분 13.4~33.6%에서 유사한 값을 나타내었다. 그러나 염분 6.7%이하에서는 염분이 감소함에 따라 감소하는 경향을 보여 정상적인 산소소비율을 보인 33.6%의 염분에 비해 유의한 감소를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

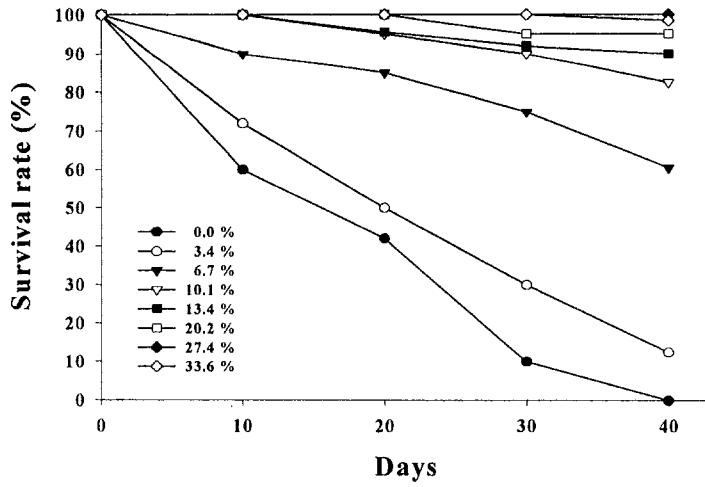


Fig. 3-19. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various salinity for 40 days.

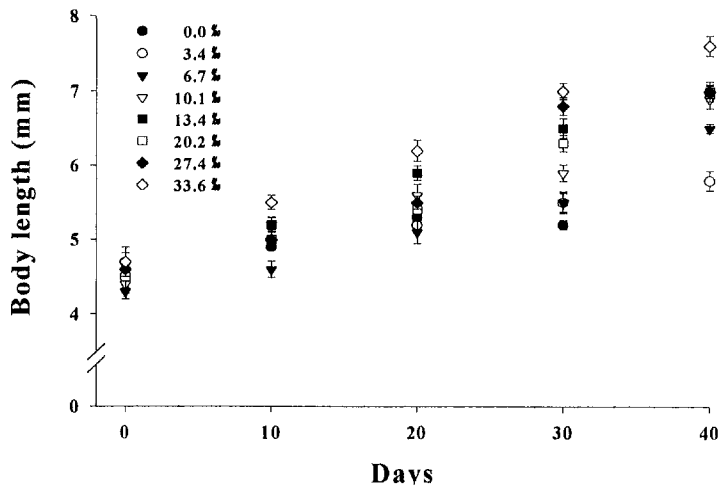


Fig. 3-20. Growth of body length in juvenile *Neomysis awatschensis* exposed to various salinity for 40 days.

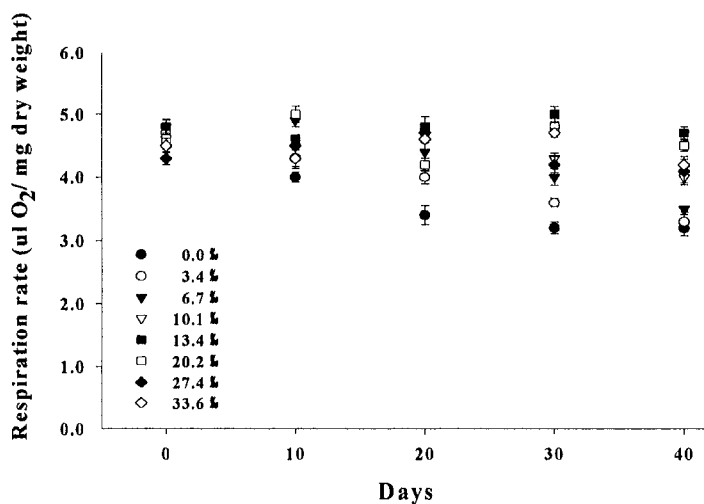


Fig. 3-21. Oxygen consumption rate of juvenile *Neomysis awatschensis* exposed to various salinity for 40 days.

Table 3-1. Daily growth rates of juvenile *Neomysis awatschensis* exposed to various salinity concentrations

| Salinity (%) | Water quality |           |         | Body length (mm) |          | Mean growth rate (g/day) |
|--------------|---------------|-----------|---------|------------------|----------|--------------------------|
|              | Temp. (°C)    | DO (mg/ℓ) | pH      | Initial          | Final    |                          |
| 0            | 20±0.8        | 6.7±0.8   | 7.9±0.6 | 4.5±0.12         | 5.8±0.11 | 0.029                    |
| 3.4          | 20±0.5        | 6.8±0.6   | 8.0±0.5 | 4.7±0.11         | 6.2±0.10 | 0.033                    |
| 6.7          | 20±0.7        | 6.9±0.3   | 7.9±0.3 | 4.3±0.13         | 6.8±0.20 | 0.056                    |
| 10.1         | 20±0.3        | 6.8±0.5   | 8.1±0.2 | 4.4±0.09         | 7.2±0.12 | 0.062                    |
| 13.4         | 20±0.5        | 6.6±0.4   | 8.0±0.7 | 4.5±0.18         | 7.8±0.19 | 0.073                    |
| 20.2         | 20±0.6        | 6.8±0.3   | 7.9±0.6 | 4.5±0.08         | 7.9±0.11 | 0.076                    |
| 27.4         | 20±0.2        | 6.7±0.2   | 8.0±0.5 | 4.6±0.10         | 8.2±0.22 | 0.080                    |
| 33.6         | 20±0.3        | 6.5±0.7   | 8.1±0.4 | 4.7±0.17         | 8.0±0.11 | 0.073                    |

## 나. 넙치

### (1) 재료 및 방법

실험재료인 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어는 1999년 6월 남해안 소재의 양식장에서 분양 받아 실험실의 400 ℓ 순환식 여과수조에서 10일 이상 순치 시켰다. 이때 수온, pH, 염분 및 용존산소는 각각 19.9~21.5℃, 7.9~8.1, 32.8~33.2‰, 6.9~7.2 mg/ℓ의 범위였고, 먹이는 넙치용 부상사료를 공급하였다. 실험에는 외관상 건강한 체장 14.2~16.2 cm, 체중 69.8~79.5 g의 개체를 실험구별로 같은 크기를 선별하여 사용하였다.

실험은 PVC수조를 사용하여 순환식 방법에 의하여 실시하였고, 염분농도는 33.6‰ 해수를 100%로 하여 각각 80(27.4%), 60(20.2%), 40(13.4%), 30(10.1%), 20(6.7%) 및 10%(3.4%)를 천연담수와 혼합하여 조제하였고, 0%는 담수만을 사용하였다. 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다. 모든 실험은 수온±1℃의 조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 산소발생기에 의해 지속적으로 산소를 공급하였다.

염분농도별 생존 및 성장에 대한 실험은 유사한 크기의 넙치를 20마리씩 선별하여 40일간 동시에 2회의 반복구를 설정하였다. 생존은 24시간마다 사망한 개체를 계수하여 생존율로 나타내었고 유의성은  $\chi^2$ -test로 검정하였다. 성장은 실험수조에 실험어를 수용하기 전에 체장 및 체중을 측정하였고, 10일 단위로 이들을 측정하였다. 이때, 먹이는 실험수조에 수용한 다음 날부터 시판용 넙치사료를 1일 2회, 각각 9시, 17시에 걸쳐 포식량 이상을 공급하였다. 또한, 먹이는 실험종료 1일전에는 공급하지 않았으며, 실험도중에 사망한 개체가 관찰되는 경우, 사망어는 평균값의 개체가 사망한 것으로 판단하여 계산하였다.

넙치의 산소소비율 대한 실험은 생존과 성장실험과는 별도로 2개의 반복 실험을 실시하였다. 산소소비율은 실험구별 10일 단위로 5개체씩을 무작위로 선별하여 산소소비를 측정 한 후, 실험어는 건중량을 측정하였다. 평균 산소소비율은 단위건중량당 산소소비량으로 표시하였다. 이들 결과에 대한 유의성 검정은 SPSS 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA에 의해 최소유의차 검정으로 평균간의 차이를 검정하였다.

## (2) 결 과

### (가) 생 존

염분에 따른 40일간 넙치 치어의 생존율을 Fig. 3-22에 나타내었다. 넙치의 생존율은 염분 27.4%에서 실험종료시 100%을 나타내었고, 20.2%에서는 82.5%의 생존율을 나타냈다. 그러나, 13.4%이하의 염분에 노출시킨 넙치의 생존율은 실험기간 동안 계속적으로 감소하여 염분 6.7%이하의 염분에서는 실험종료시 0%를 나타냈다.

### (나) 성 장

넙치 치어를 염분에 따라 사육하면서 성장에 대하여 체장 및 체중의 증가를 Fig. 3-23과 Fig. 3-24에 나타내었다. 넙치는 27.4~33.6%의 염분 범위에서 실험개시시 체장 14.3~14.4 cm, 체중 73.8~74.0 g에서 40일 후에 각각 18.2~18.4 cm, 82.0~83.5 g로 성장하여 유사한 체장 및 체중의 증가를 나타냈다. 또한, 20.2%의 염분에서 넙치의 체장 및 체중은 감소하는 경향을 나타냈으나, 가장 많은 증가를 보인 27.4%의 염분에 비해 유의한 차이는 인정되지 않았다. 한편, 염분 10.1%이하에서 넙치의 체장 및 체중은 염분 농도가 감소할수록 감소하는 경향을 보여 체장 및 체중의 증가가 가장 양호한 27.4%에 비해 유의한 차이가 인정되었다 ( $P < 0.05$ ). 넙치의 체중의

증가를 기준으로 하여 일일성장률을 Table 3-2에 나타내었다. 넙치의 일일 성장률은 염분 27.4% 이상에서는 유사한 값을 나타내었으나, 13.4%이하에서는 유의한 감소가 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ).

(다) 산소소비

각 염분에 노출시킨 넙치의 산소소비의 변화를 Fig. 3-25에 나타내었다. 넙치의 산소소비는 염분 27.4~33.6%에서 유사한 값을 나타내었다. 그러나 염분 13.4%이하에서는 염분이 감소함에 따라 산소소비율이 감소하는 경향을 보여 정상적인 산소소비율을 보인 33.6%의 염분에 비해 유의한 감소를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ).

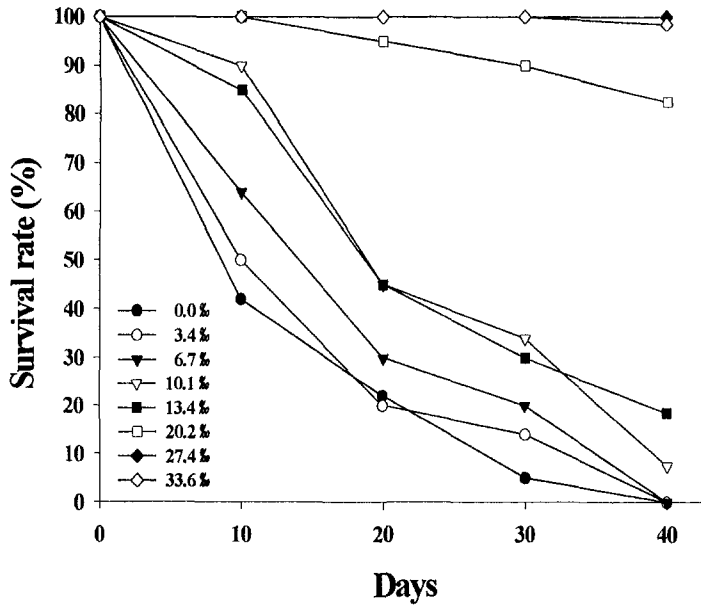


Fig. 3-22. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various salinity for 40 days.



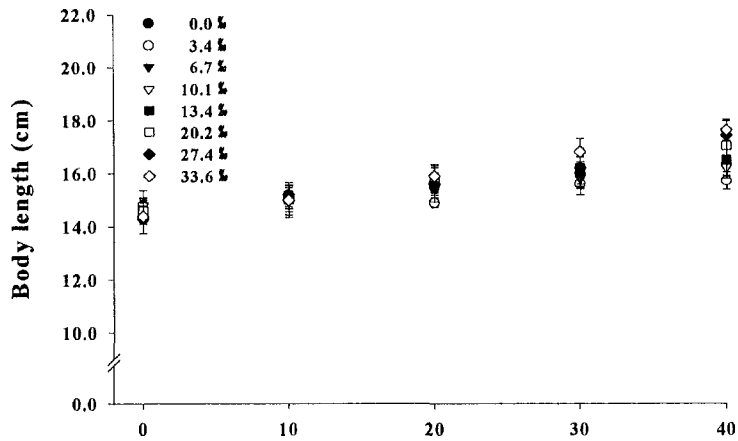


Fig. 3-23. Growth of body length in juvenile *Paralichthys olivaceus* exposed to various salinity for 40 days.

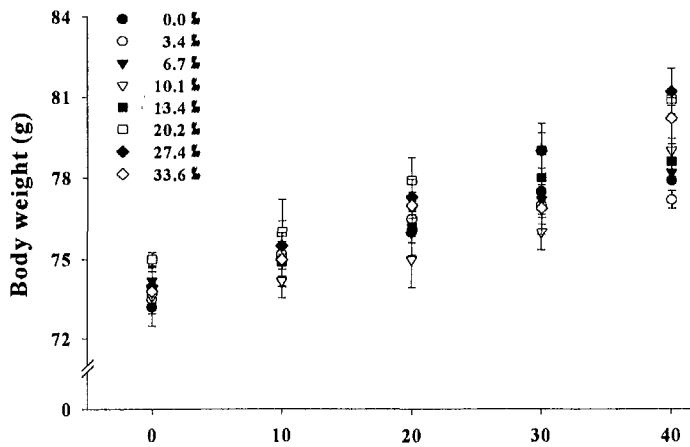


Fig. 3-24. Growth of body weight in juvenile *Paralichthys olivaceus* exposed to various salinity for 40 days.

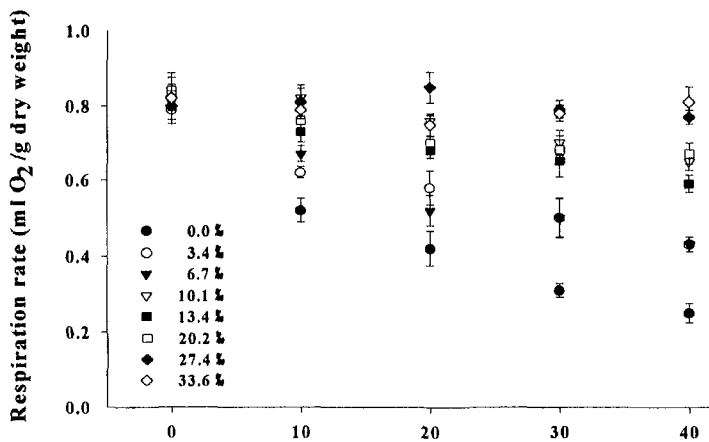


Fig. 3-25. Oxygen consumption rate of juvenile *Paralichthys olivaceus* exposed to various salinity for 40 days.

Table 3-2. Daily growth rates of juvenile exposed to various salinity concentrations

| Salinity (%) | Water quality |           |         | Body weight (g) |           | Mean growth rate (g/day) |
|--------------|---------------|-----------|---------|-----------------|-----------|--------------------------|
|              | Temp. (°C)    | DO (mg/l) | pH      | Initial         | Final     |                          |
| 0            | 20±0.8        | 6.7±0.8   | 7.9±0.6 | 73.2±1.22       | 77.9±0.67 | 0.104                    |
| 3.4          | 20±0.5        | 6.8±0.6   | 8.0±0.5 | 73.5±0.16       | 77.2±0.54 | 0.082                    |
| 6.7          | 20±0.7        | 6.9±0.3   | 7.9±0.3 | 74.2±0.62       | 78.2±0.27 | 0.089                    |
| 10.1         | 20±0.3        | 6.8±0.5   | 8.1±0.2 | 73.6±0.19       | 79.2±0.34 | 0.124                    |
| 13.4         | 20±0.5        | 6.6±0.4   | 8.0±0.7 | 73.9±0.45       | 79.5±0.29 | 0.124                    |
| 20.2         | 20±0.6        | 6.8±0.3   | 7.9±0.6 | 75.0±0.21       | 81.3±0.31 | 0.140                    |
| 27.4         | 20±0.2        | 6.7±0.2   | 8.0±0.5 | 74.0±0.23       | 83.5±0.22 | 0.211                    |
| 33.6         | 20±0.3        | 6.5±0.7   | 8.1±0.4 | 73.8±0.26       | 82.9±0.41 | 0.202                    |

## 다. 날개망둑

### (1) 재료 및 방법

실험재료인 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen*은 1999년 3월 부산 다대포의 인근해역에서 손그물로 채집하여 1시간 이내 실험실로 운반하여 400 ℓ 순환식 여과수조에서 10일 이상 순치 시켰다. 이때 수온, pH, 염분 및 용존산소는 각각 19.7~21.2℃, 7.9~8.2, 32.8~33.2‰, 7.2~7.5 mg/ℓ의 범위였고, 먹이는 *Artemia*와 넙치용 사료를 혼합하여 공급하였다. 실험에는 외관상 건강한 체장 21.2~25.1mm, 체중 0.25~0.32g의 개체를 실험구별로 같은 크기를 선별하여 같은 비율로 사용하였다.

실험은 PVC수조 (52×36×30 cm)를 사용하여 순환식 방법에 의하여 실시하였고, 실험해수의 교환은 2일을 원칙으로 하였고, 염분농도는 33.6‰ 해수를 100%로 하여 각각 80(27.4%), 60(20.2%), 40(13.4%), 30(10.1%), 20(6.7%) 및 10%(3.4%)를 천연담수와 혼합하여 조제하였고, 0%는 담수만을 사용하였다. 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다. 모든 실험은 수온±1℃의 조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 산소발생기에 의해 지속적으로 산소를 공급하였다.

염분농도별 생존 및 성장에 대한 실험은 유사한 크기의 날개망둑을 20마리씩 선별하여 40일간 동시에 2회의 반복구를 설정하였다. 생존은 24시간마다 사망한 개체를 계수하여 생존율로 나타내었고 유의성은  $\chi^2$ -test로 검정하였다. 성장은 실험수조에 실험어를 수용하기 전에 체장 및 체중을 측정하였고, 10일 단위로 이들을 측정하였다. 이때, 먹이는 실험수조에 수용한 다음날부터 시판용 넙치사료를 1일 2회, 각각 9시, 17시에 걸쳐 포식량 이상을 공급하였다. 또한, 먹이는 실험종료 1일전에는 공급하지 않았으며, 실험

도중에 사망한 개체가 관찰되는 경우, 사망어는 평균값의 개체가 사망한 것으로 판단하여 계산하였다.

날개망둑의 산소소비율 대한 실험은 생존과 성장실험과는 별도로 2개의 반복실험을 실시하였다. 산소소비율은 실험구별 10일 단위로 5개체씩을 무작위로 선별하여 산소소비를 측정 한 후, 실험어는 건중량을 측정하였다. 평균 산소소비율은 단위건중량당 산소소비량으로 표시하였다. 이들 결과에 대한 유의성 검정은 SPSS 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA에 의해 최소유의차 검정으로 평균간의 차이를 검정하였다.

## (2) 결 과

### (가) 생 존

염분에 따른 40일간 날개망둑 치어의 생존율을 Fig. 3-26에 나타내었다. 날개망둑의 생존율은 염분 33.6%에서 실험종료시 95%을 나타내었고, 10.1% 이상에서는 90% 이상의 생존율을 나타냈다. 그러나, 6.7%와 3.4%의 염분에 노출시킨 날개망둑의 생존율은 실험기간 동안 계속적으로 감소하여 실험종료시 각각 80% 및 70%로 27.4%의 염분 97.5%에 비해 유의한 감소를 나타냈다 ( $P < 0.05$ ). 한편, 담수에 노출시킨 날개망둑은 노출 다음날부터 계속적으로 감소하기 시작하여 40일째 5%의 생존율을 보였다.

### (나) 성 장

날개망둑 치어를 염분에 따라 사육하면서 성장에 대하여 체장 및 체중의 증가를 Fig. 3-27과 Fig. 3-28에 나타내었다. 날개망둑은 20.2~33.6%의 염분 범위에서 실험개시시 체장 23.29~23.31 mm, 체중 0.298~0.311 g에서 40일 후에 각각 32.81~33.50 mm, 0.445~0.457 g로 성장하여 유사한 체장 및 체중의 증가를 나타냈다. 또한, 13.4%의 염분에서 날개망둑의 체장 및

체중은 감소하는 경향을 나타냈으나, 가장 많은 증가를 보인 27.4%의 염분에 비해 유의한 차이는 인정되지 않았다. 한편, 염분 10.1%이하에서 날개망둑의 체장 및 체중은 염분 농도가 감소할수록 감소하는 경향을 보여 체장 및 체중의 증가가 가장 양호한 27.4%에 비해 유의한 차이가 인정되었다 ( $P < 0.05$ ). 담수에 노출시킨 날개망둑의 체장 및 체중은 각각 23.28 mm, 0.295 g에서 25.29 mm, 0.328 g으로 성장을 나타내어 이들의 증가는 거의 관찰되지 않았다. 날개망둑의 체중의 증가를 기준으로 하여 일일성장률을 **Table 3-3**에 나타내었다. 날개망둑의 일일성장률은 염분 20.2% 이상에서는 유사한 값을 나타내었으나, 10.1%이하에서는 유의한 감소가 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ).

#### (다) 산소소비

각 염분에 노출시킨 날개망둑의 산소소비의 변화를 **Fig. 3-29**에 나타내었다. 날개망둑의 산소소비는 염분 20.2~33.6%에서 유사한 값을 나타내었다. 그러나 염분 13.4%이하에서는 염분이 감소함에 따라 산소소비율이 감소하는 경향을 보여 정상적인 산소소비율을 보인 33.6%의 염분에 비해 유의한 감소를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ). 또한, 날개망둑의 산소소비는 염분 13.4, 10.1, 6.7 및 3.4%에서 33.6%의 염분에 비해 실험종료시 각각 15.8, 19.3, 18.6 및 24.1%가 감소하였고, 담수에서는 28.2%의 감소를 나타냈다.

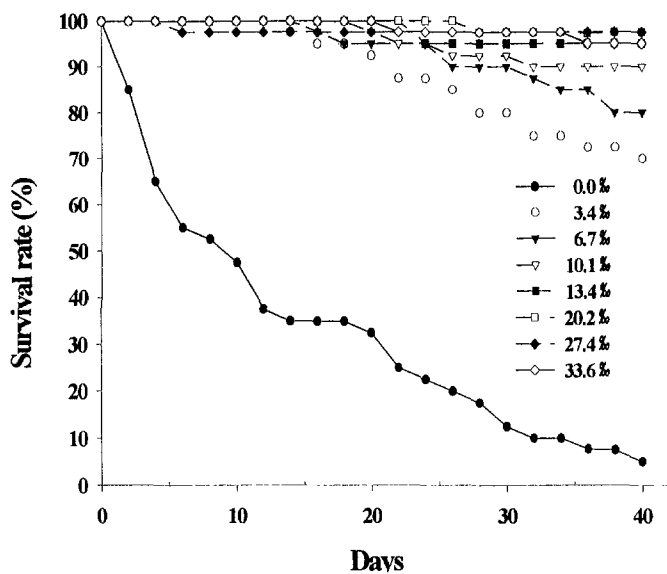


Fig. 3-26. Survival rate of juvenile *Favonigobius gymnauchen* exposed to various salinity for 40 days.

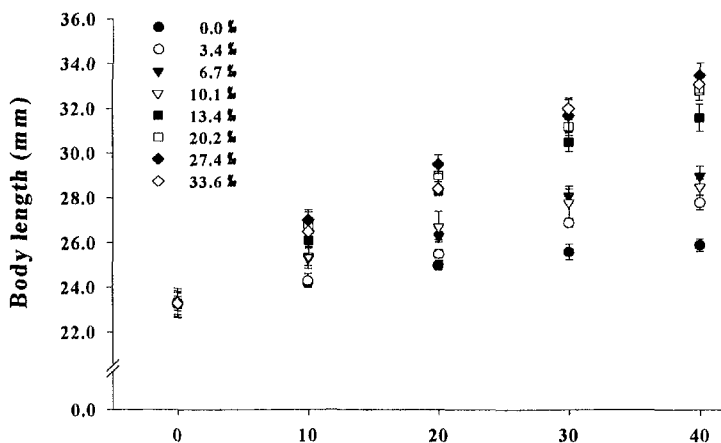


Fig. 3-27. Growth of body length in juvenile *Favonigobius gymnauchen* exposed to various salinity for 40 days.

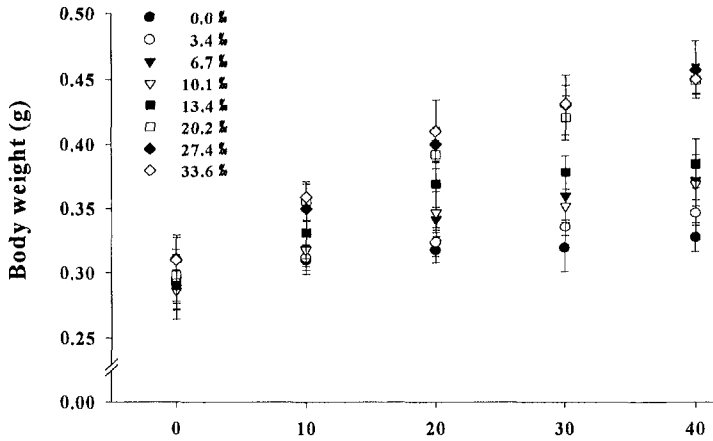


Fig. 3-28. Growth of body weight in juvenile *Favonigobius gymnauchen* exposed to various salinity for 40 days.

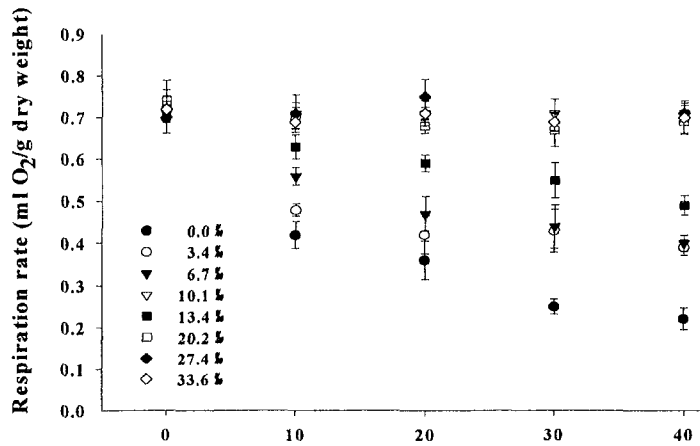


Fig. 3-29. Oxygen consumption rate of juvenile *Favonigobius gymnauchen* exposed to various salinity for 40 days.

**Table 3-3.** Daily growth rates of juvenile exposed to various salinity concentrations

| Salinity (%) | Water quality |           |         | Body weight (g) |             | Mean growth rate (g/day) |
|--------------|---------------|-----------|---------|-----------------|-------------|--------------------------|
|              | Temp. (°C)    | DO (mg/ℓ) | pH      | Initial         | Final       |                          |
| 0            | 20±0.8        | 6.7±0.8   | 7.9±0.6 | 0.295±0.019     | 0.328±0.011 | 0.0008                   |
| 3.4          | 20±0.5        | 6.8±0.6   | 8.0±0.5 | 0.292±0.021     | 0.340±0.010 | 0.0012                   |
| 6.7          | 20±0.7        | 6.9±0.3   | 7.9±0.3 | 0.284±0.013     | 0.372±0.020 | 0.0022                   |
| 10.1         | 20±0.3        | 6.8±0.5   | 8.1±0.2 | 0.286±0.022     | 0.369±0.012 | 0.0021                   |
| 13.4         | 20±0.5        | 6.6±0.4   | 8.0±0.7 | 0.290±0.018     | 0.414±0.019 | 0.0031                   |
| 20.2         | 20±0.6        | 6.8±0.3   | 7.9±0.6 | 0.311±0.020     | 0.445±0.011 | 0.0038                   |
| 27.4         | 20±0.2        | 6.7±0.2   | 8.0±0.5 | 0.298±0.018     | 0.457±0.022 | 0.0037                   |
| 33.6         | 20±0.3        | 6.5±0.7   | 8.1±0.4 | 0.310±0.017     | 0.450±0.011 | 0.0035                   |

## 2. 온도에 대한 적합성 검토

수온은 염분과 더불어 해양생태계에서 해양생물의 생리적 변화에 중요한 영향을 미치는 환경요인 중의 하나이다. 해양생물에 있어 수온은 대사활동 및 생체리듬 등에 영향을 미치며, 특히 독성물질의 독성정도에 많은 영향을 미친다. 따라서, 본 연구는 수온에 대한 공시 대상 종의 내성을 파악하기 위하여 이들의 생존 및 대사에 미치는 수온의 영향을 검토하였다.

### 가. 재료 및 방법

실험재료인 곤쟁이, 넙치 및 날개망둑은 염분실험에서 사용하고 남은 개체를 사용하였다. 수온 조절은 히타와 수온조절기를 사용하여 원하는 온도로 조절하였다. 실험은 정수식 방법에 의하여 실시하였고, 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다. 수온에 대한 실험은 유사한 크기



의 개체를 20마리씩 선별하여 동시에 2회의 반복구를 설정하였다. 실험구별 5개체씩을 무작위로 선별하여 산소소비를 측정 한 후, 건중량을 측정하였고, 평균 산소소비율은 단위건중량당 산소소비량으로 표시하였다.

#### 나. 결 과

20℃에 순화시킨 날개망둑, 곤쟁이 및 넙치의 수온상승에 따른 상한 치사 온도는 1℃/day 및 3℃/day에서 날개망둑이 35℃로 가장 높았으며, 시간에 따른 온도상승에 따라서도 40℃까지 생존하여 곤쟁이와 넙치에 비해 수온에 대한 높은 내성을 보였다(Table 3-4). Fig. 3-30는 각 실험생물에 대한 수온상승에 따른 산소소비율의 변화를 나타낸 것으로 실험생물 모두 수온상승에 따라 산소소비율은 증가하는 경향을 보였다. Fig. 31~32은 20℃와 24℃에 순화시킨 각 실험생물의 산소소비율의 변화를 나타낸 것으로 20℃에 비해 24℃에 순화시킨 실험생물에서 산소소비율의 변동경향이 크게 나타났으며, 24℃에 순화시킨 넙치의 경우는 26℃이상의 수온에서 산소소비율은 감소하는 경향을 보여 날개망둑과 곤쟁이에 비해 수온변화에 민감한 반응을 보였다.

**Table 3-4.** The upper lethal temperature for *Favonigobius gymnauchen*, *Neomysis awatschensis* and *Paralichthys olivaceus* acclimated at 20℃

|                                  | Rate of temperature Increase |         |         |         |         |
|----------------------------------|------------------------------|---------|---------|---------|---------|
|                                  | 1℃/day                       | 3℃/ day | 3℃/hour | 4℃/hour | 5℃/hour |
| <i>Favonigobius gymnauchen</i> , | 35                           | 35      | 38      | 40      | 45      |
| <i>Neomysis awatschensis</i>     | 33                           | 35      | 35      | 36      | 35      |
| <i>Paralichthys olivaceus</i>    | 31                           | 32      | 35      | 36      | 35      |

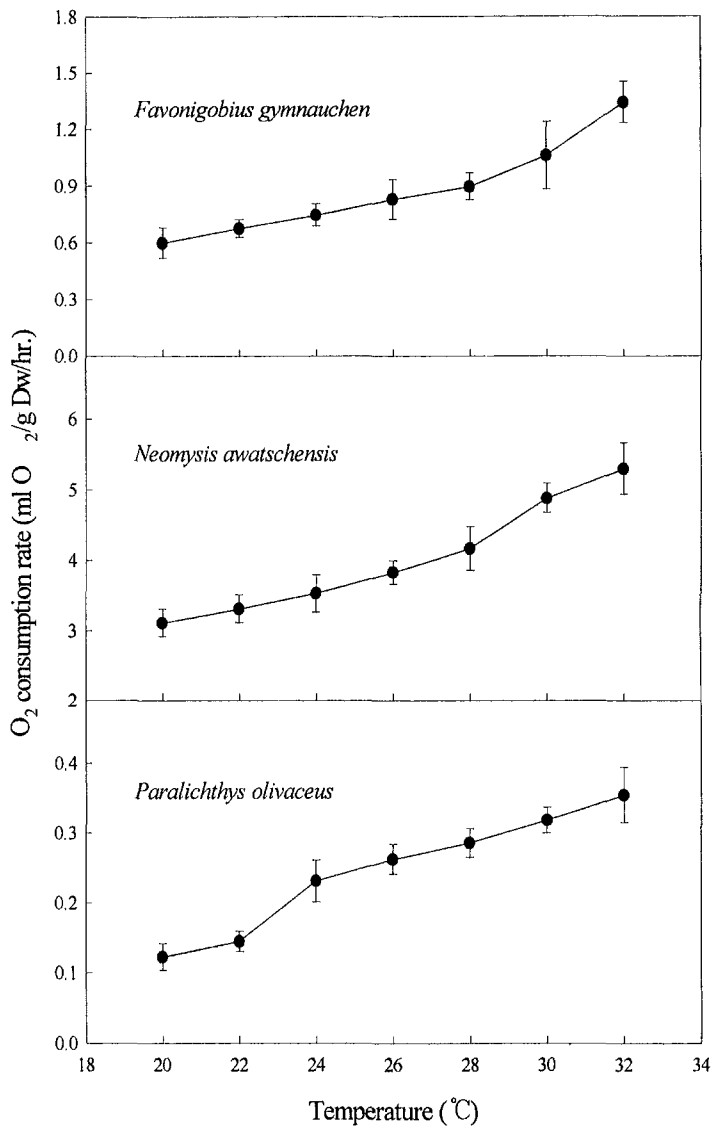


Fig. 3-30. Changes of Oxygen consumption rate with temperature at *Favonigobius gymnauchen*, *Neomysis awatschensis* and *Paralichthys olivaceus*.

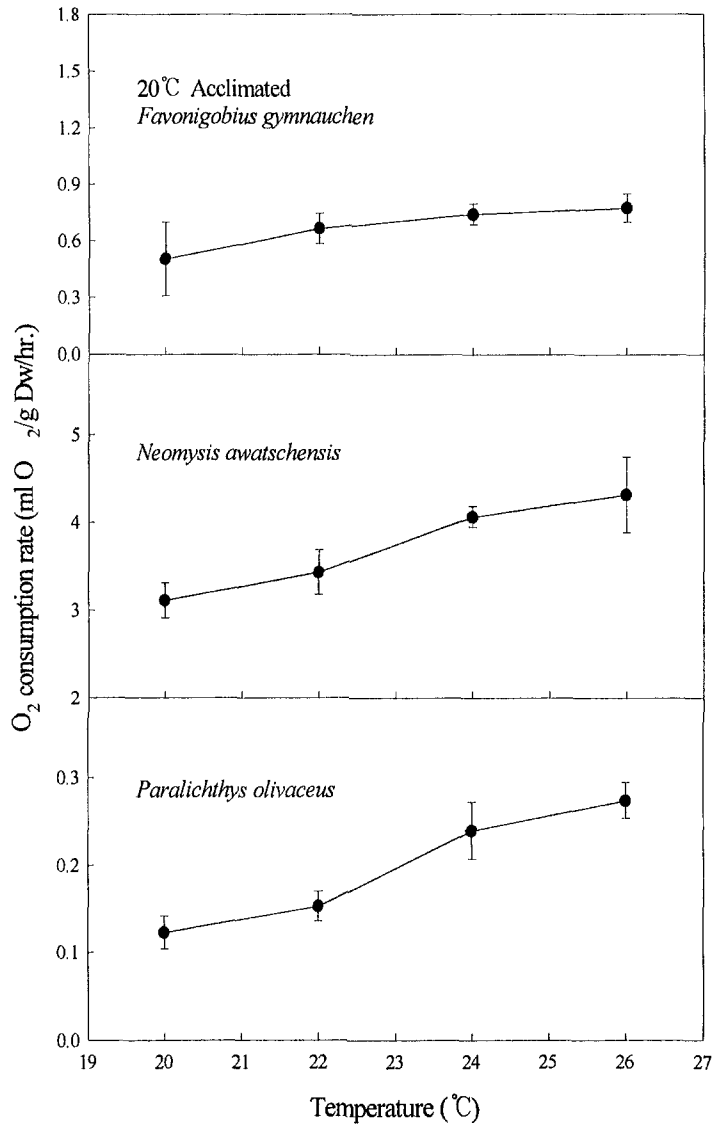


Fig. 3-31. Changes of Oxygen consumption rate with temperature acclimated at 20°C for *Favonigobius gymnauchen*, *Neomysis awatschensis* and *Paralichthys olivaceus*.

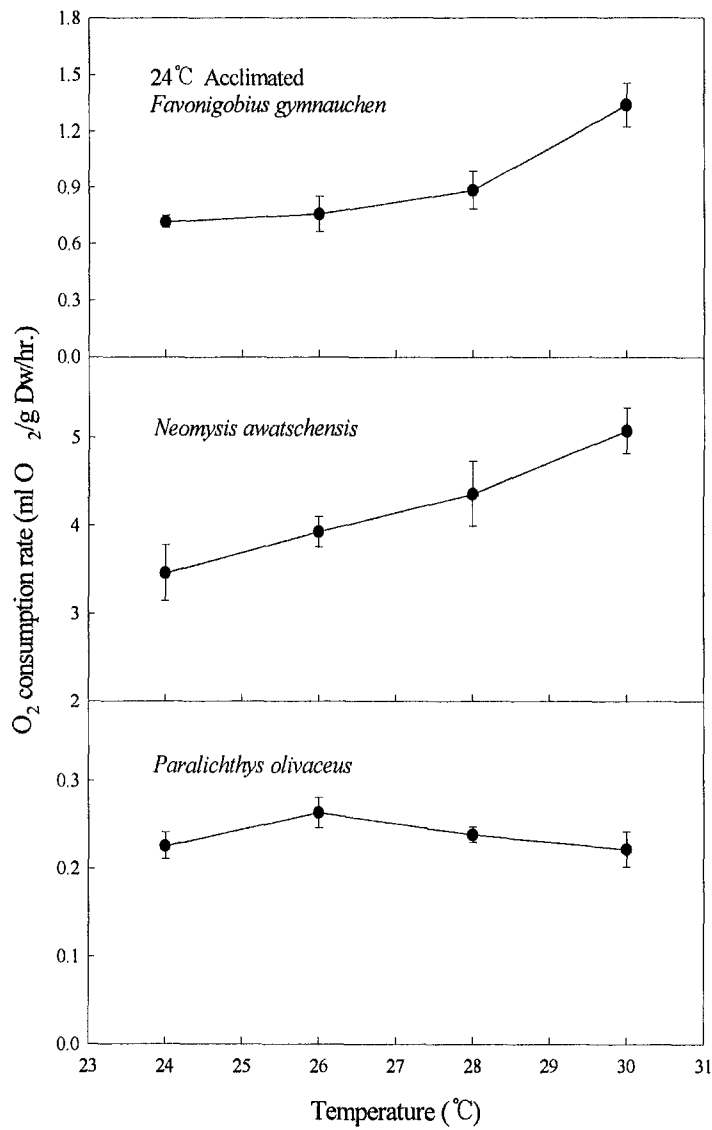


Fig. 3-32. Changes of Oxygen consumption rate with temperature acclimated at 24°C for *Favonigobius gymnauchen*, *Neomysis awatschensis* and *Paralichthys olivaceus*.

## 제5절 공시재료의 설정

공시 대상종 곤쟁이 *Neomysis awatschensis*, 넙치 *Paralichthys olivaceus* 및 날개망둑 *Favonigobius gymnauchen*에 대한 생태 및 생식생물학적인 자료와 실험을 바탕으로 염분와 온도에 대한 실험결과 및 공시 대상종에 대한 급성독성의 결과(제4장)로부터 다음과 같은 이유로 인해 곤쟁이 *Neomysis awatschensis*와 넙치 *Paralichthys olivaceus*를 공시어로 선정하였다. 한편 날개망둑은 많은 장점을 갖고 있으나, 환경 및 독성물질에 대한 민감성이 너무 떨어져 공시 대상종에서 제외시켰다. 따라서, 만성독성 실험에는 공시어로 채택된 곤쟁이와 넙치에 대하여 검토하였다.

| 공시 대상종                         | 장 점  | 단 점   | 선 정 유 무 |
|--------------------------------|--|---|---------|
| <i>Neomysis awatschensis</i>   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 채집이 용이</li> <li>2. 세대기간이 짧음</li> <li>3. 실험실 사육이 용이</li> <li>4. 염분에 대한 민감성</li> <li>5. 수온에 대한 민감성</li> <li>6. 중요한 생태적 위치</li> <li>7. 독성물질에 대한 민감성이 뛰어남</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 순치기간의 공식 행동의 발생</li> <li>2. 먹이문제</li> </ol>                 | ○       |
| <i>Paralichthys olivaceus</i>  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 시기에 따라 언제든지 구입 가능</li> <li>2. 실험실 사육이 용이</li> <li>3. 염분에 대한 민감성</li> <li>4. 수온에 대한 민감성</li> <li>5. 독성물질에 대한 민감성이 뛰어남</li> </ol>                                  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 고비용</li> <li>2. 실험수조의 크기</li> </ol>                         | ○       |
| <i>Favonigobius gymnauchen</i> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 채집이 용이</li> <li>2. 세대기간이 짧음</li> <li>3. 실험실 사육이 용이</li> <li>4. 1년생</li> <li>5. 중요한 생태적 위치</li> </ol>   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 염분 및 수온에 대한 민감성이 떨어짐</li> <li>2. 독성물질에 대한 반응성 저하</li> </ol> | ×       |

## 제4장 금성독성시험의 평가

### 제1절 독성물질의 선택

수중오염원은 항상 문제가 될 수 있는 중금속 및 최근 내분비 교란물질로 그 피해가 심각한 환경호르몬 물질을 선택하였다.

#### 1. 중금속

금속과 금속염은 현대사회에서는 없어서는 안될 요소들이다. 이들은 또한 자연상태로 존재하기도하고, 생물의 필수적인 기능을 수행하기 위하여 이용되기도 하며, 체조직 구성분의 대사와 합성에도 관여한다. 중독성 중금속은 일정한 조직 내에 축적 저장된다. 납은 뼈에 고농도로 축적되고, 혈장 단백질이나 피부까지 확산되어 있을 수 있다. 그리고 체내에 축적되는 중금속이라 할지라도 그 자체가 중독성과 일치하지 않으며, 이는 어떤 장기는 독성학적으로 비활성을 갖기 때문이다. 본 연구에서는 중금속 중에서 그 독성이 정도가 강하다고 생각되는 수은, 카드뮴, 구리 및 납을 선택하였다.

#### 가. 수은 (Mercury)

수은은 어떤 형태로든 공기, 토양 및 다른 것에서 강력하게 변환될 수 있으며, 메틸수은 혹은 에틸수은의 형태로 수생동물이 섭취할 수 있다. 암석이나 토양에 존재하고 있으며, 수은은 온도계, 압력계, 의약, 수은등, 아밀감 및 인주의 재료 등에 사용되며, 휘발유, 무연탄, 타르 등의 연료 등에서 검출되기도 한다. 수은은 유기와 무기의 형태로 다양하게 존재하며, 특히

메틸과 에틸유기수은화합물은 높은 독성을 나타낸다. 또한, 메틸과 에틸같은 알킬형태는 독성이 아주 강하며, 이런 형태의 수은은 지연성으로 축적작용이 일어난다.

#### 나. 카드뮴 (Cadmium)

카드뮴은 독성 금속류의 일종이다. 카드뮴은 위장으로부터 쉽게 흡수되고 조직에 잔류한다. 신장과 간장에 축적되며, 간에서는 신장보다 적게 축적된다. 카드뮴의 독성은 보통 만성적이며, 빈혈 및 성정장애 등으로 나타난다. 아연보다 낮은 비등점인 것을 이용하여 아연과 분리하거나 아연전해에 의해 생기는 함카드뮴 침전물을 원료로 하여 다시 전해에 의해 카드뮴을 추출한다. 보통 공업적으로 얻어지는 것은 순도가 99.98%정도, 청색을 띤 은백색의 부드러운 금속. 연성 전성이 풍부하고 가공하기 쉬우며, 공기중에서는 표면만 산화되어 산화피막이 생기고 내부는 침해되지 않는다.

#### 다. 구리 (Copper)

구리는 많은 수생동물에 독성을 가지며, 채광이나 산업활동, 구리합유 비료의 유입, 수생식물이나 연체동물구제를 위한 구리염 살포 등으로 인해 많은 양이 구리가 수중에 존재할 수 있다. 또한, 산업활동에서는 전선, 건축재료, 이화학기계, 여러 가지 일용기구의 제조 및 각종합금 등에 사용된다. 또한 구리의 가용성염은 유독하며, 구리의 독성은 수생동물의 종류와 연령, 광물질과 유기물질의 농도, 수온과 같은 환경조건 및 구리의 이온상태 등에 따라 다르게 나타날 수 있다.

## 2. 환경호르몬 물질

TBT 및 Phenol 등의 약 80종류의 환경호르몬으로 통칭되는 유해화학물질

은 육상동물은 물론 수산생물의 생리생태는 물론, 생리현상 가운데 특히 생식에 관련된 기관에 크나큰 저해영향을 미치고 있어 이에 대한 유해물질을 중심으로 환경평가의 기준을 마련하고자 한다.

#### 가. TBT

흔히 선박이나 어망 등에 사용되는 페인트 중에 많은 포함되어 있으며, 이로 인해 연안에 많은 양이 TBT가 존재하고 있다. 수생생물에 미치는 지금까지의 밝혀진 결과에 의하면, 암컷고둥을 수컷화 하는 imposex 현상 등이 있으며, 독성이 매우 강하다.

#### 나. Phenol

페놀은 석탄산이라고도 하며, 히드록시벤젠에 해당하며, 페놀류의 대표적인 것이다. 소량의 물을 함유하면 융점은 훨씬 내려가며, 유독하다.

## 제2절 금성독성 평가

### 1. 재료 및 방법

근쟁이 및 날개망둑은 부산 다대포 주변에서 손 그물을 사용하여 채집하였고, 넙치 치어는 남해안 소재의 양식장에서 분양 받아 실험실로 운반하여 400ℓ 순환식 여과수조에서 10일 이상 순치 시켰다. 이때 수온, pH, 염분 및 용존산소는 각각 19.9~21.5℃, 7.9~8.1, 32.8~33.2‰, 6.9~7.2 mg/ℓ의 범위였다. 실험에는 외관상 건강한 개체를 실험구별로 같은 크기를 선별하여 사용하였다.

실험은 PVC수조 (52×36×30 cm)를 사용하여 순환식 방법에 의하여 실시



하였고, 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다.

급성독성실험은 3종류의 공시대상 종에 대하여 96시간 동안 실시하였고, 실험기간 동안 먹이는 공급하지 않았다. 시험구별 시험재료의 상황에 따라 20~40개체를 사용하여 2~3회의 반복실험을 실시하였다(Table 4-1). 급성독서의 결과로서 곤쟁이, 넙치 및 날개망둑에 대한 반수치사 농도(LC50)는 24시간마다 사망개체를 관찰하여 Probit 법에 의해 산출하였다.

**Table 4-1.** Summary of bioassay tests conducted with heavy metals, phenol and TBTO for marine animals

| Pollutants | Species                        | Number of test animal | Number of test | Test period (hr) |
|------------|--------------------------------|-----------------------|----------------|------------------|
| Mercury    | <i>Neomysis awatschensis</i>   | 40                    | 2              | 96               |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | 20                    | 3              | 96               |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | 20                    | 2              | 96               |
| Cadmium    | <i>Neomysis awatschensis</i>   | 40                    | 2              | 96               |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | 20                    | 2              | 96               |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | 20                    | 2              | 96               |
| Copper     | <i>Neomysis awatschensis</i>   | 40                    | 2              | 96               |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | 20                    | 2              | 96               |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | 20                    | 3              | 96               |
| Phenol     | <i>Neomysis awatschensis</i>   | 40                    | 2              | 96               |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | 20                    | 2              | 96               |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | 20                    | 2              | 96               |
| TBTO       | <i>Neomysis awatschensis</i>   | 40                    | 4              | 96               |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | 20                    | 2              | 96               |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | 20                    | 2              | 96               |

## 2. 결 과

### 가. 시험환경

시험기간 동안 수온은 항온실에서 시험한 관계로 인하여  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 범위 내에서 일정하게 유지되었다. 또한 염분, pH는 거의 일정하게 유지되었으며, 용존산소도  $6.7 \text{ mg/}\ell$  이상으로 조절되었다(Table 4-2).

Table 4-2. Water quality in each experimental chambers during test periods

| Pollutants | Species                        | Water quality                       |                 |               |                            |
|------------|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------|---------------|----------------------------|
|            |                                | Temperature<br>( $^\circ\text{C}$ ) | Salinity<br>(‰) | pH            | DO<br>( $\text{mg/}\ell$ ) |
| Mercury    | <i>Neomysis awatschensis</i>   | $20.1 \pm 0.4$                      | $32.1 \pm 0.2$  | $8.1 \pm 0.3$ | $7.1 \pm 0.4$              |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | $20.3 \pm 0.7$                      | $32.6 \pm 0.4$  | $8.2 \pm 0.4$ | $6.8 \pm 0.2$              |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | $19.9 \pm 0.4$                      | $32.4 \pm 0.5$  | $8.0 \pm 0.5$ | $7.2 \pm 0.5$              |
| Cadmium    | <i>Neomysis awatschensis</i>   | $20.5 \pm 0.6$                      | $32.3 \pm 0.7$  | $8.1 \pm 0.1$ | $7.0 \pm 0.4$              |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | $20.3 \pm 0.5$                      | $32.7 \pm 0.4$  | $8.2 \pm 0.3$ | $7.1 \pm 0.2$              |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | $19.8 \pm 0.2$                      | $32.2 \pm 0.3$  | $8.3 \pm 0.4$ | $6.9 \pm 0.1$              |
| Copper     | <i>Neomysis awatschensis</i>   | $20.1 \pm 0.5$                      | $32.4 \pm 0.5$  | $8.0 \pm 0.5$ | $6.8 \pm 0.4$              |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | $20.3 \pm 0.3$                      | $32.5 \pm 0.4$  | $8.1 \pm 0.2$ | $7.0 \pm 0.2$              |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | $20.2 \pm 0.6$                      | $32.3 \pm 0.6$  | $8.2 \pm 0.2$ | $7.1 \pm 0.1$              |
| Phenol     | <i>Neomysis awatschensis</i>   | $20.3 \pm 0.8$                      | $32.4 \pm 0.7$  | $7.9 \pm 0.3$ | $6.9 \pm 0.4$              |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | $20.1 \pm 0.4$                      | $32.5 \pm 0.4$  | $8.1 \pm 0.3$ | $7.0 \pm 0.2$              |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | $19.9 \pm 0.3$                      | $32.2 \pm 0.5$  | $8.2 \pm 0.4$ | $6.8 \pm 0.5$              |
| TBTO       | <i>Neomysis awatschensis</i>   | $20.2 \pm 0.4$                      | $32.2 \pm 0.3$  | $7.8 \pm 0.4$ | $7.0 \pm 0.3$              |
|            | <i>Paralichthys olivaceus</i>  | $20.0 \pm 0.5$                      | $32.3 \pm 0.4$  | $8.1 \pm 0.2$ | $6.7 \pm 0.2$              |
|            | <i>Favonigobius gymnauchen</i> | $20.2 \pm 0.4$                      | $32.1 \pm 0.8$  | $8.0 \pm 0.3$ | $7.1 \pm 0.3$              |

### 나. 반수치사농도

공시대상 종에 대한 급성독성 시험계획을 바탕으로 중금속, phenol 및 TBTO에 대한 급성독성 실험 결과 곤쟁이의 96시간 반수치사 농도

(96hr-LC<sub>50</sub>)는 Hg 0.52 mg/ℓ, Cd 2.21 mg/ℓ, Cu, 1.58 mg/ℓ, phenol 6.25 mg/ℓ 및 TBTO 0.46 μg/ℓ 이었으며, 넙치의 96hr-LC<sub>50</sub>는 Hg 1.2 mg/ℓ, Cd 3.18 mg/ℓ, Cu 8.93 mg/ℓ, phenol 9.93 mg/ℓ 및 TBTO 245.23 μg/ℓ 이었고, 날개망둑의 96hr-LC<sub>50</sub>는 Hg 3.42 mg/ℓ, Cd 6.2 mg/ℓ, Cu 16.23 mg/ℓ, phenol 12.72 mg/ℓ 및 TBTO 26.12 μg/ℓ 이었다(Table 4-3). 또한 이들 독성물질에 대한 독성순위를 보면 곤쟁이는 TBTO > Hg > Cu > phenol > Cd, 넙치는 TBTO > Hg > Cd > Cu > phenol, 그리고 날개망둑은 TBTO > Hg > Cd > phenol > Cu로 나타나 생물에 따라 독성물질에 대한 독성이 정도가 다르게 나타나고 있으나, 이들 동물에 있어 TBTO가 가장 강한 독성을 나타내었다. 또한, 이들 생물에 대한 독성정도는 곤쟁이가 가장 강한 독성을 나타냈고, 날개망둑이 가장 낮은 독성을 나타내었다.

**Table 4-3.** LC<sub>50</sub> values and 95% confidence limits of heavy metals, phenol and TBTO on marine animals

| Pollutants        | Time<br>(hr) | Species             |                     |                     |
|-------------------|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                   |              | <i>Neomysis</i>     | <i>Paralichthys</i> | <i>Favonigobius</i> |
|                   |              | <i>awatschensis</i> | <i>olivaceus</i>    | <i>gymnauchen</i>   |
| Mercury<br>(mg/ℓ) | 48           | 0.98 (0.64~1.25)    | 2.67 (1.21~2.05)    | 4.02 (1.66~2.57)    |
|                   | 96           | 0.52 (0.39~0.87)    | 1.20 (0.98~1.86)    | 3.42 (1.02~2.12)    |
| Cadmium<br>(mg/ℓ) | 48           | 3.72 (17.8~30.6)    | 6.35 (28.6~55.5)    | 10.34 (28.9~65.5)   |
|                   | 96           | 2.21 (10.9~25.4)    | 3.18 (28.4~35.5)    | 6.20 (22.4~52.3)    |
| Copper<br>(mg/ℓ)  | 48           | 2.33 (42.3~72.5)    | 10.22 (88.7~135.0)  | 28.61 (82.4~135.5)  |
|                   | 96           | 1.58 (18.5~35.9)    | 8.93 (29.9~64.5)    | 16.23 (32.7~65.9)   |
| Phenol<br>(mg/ℓ)  | 48           | 9.72(78.4~112.5)    | 12.75 (189.3~221.1) | 19.34 (200.3~301.5) |
|                   | 96           | 6.25 (48.2~65.3)    | 9.92 (88.4~121.3)   | 12.72 (90.6~135.5)  |
| TBTO<br>(μg/ℓ)    | 48           | 0.63 (42.3~72.5)    | 315.26 (88.7~135.0) | 50.62 (82.4~135.5)  |
|                   | 96           | 0.46 (18.5~35.9)    | 245.23 (29.9~64.5)  | 26.12 (32.7~65.9)   |

## 제 5 장 만성독성 평가

### 제1절 만성독성 물질의 선정

공시대상 종에 대한 만성독성을 평가하기 위하여 수중오염원은 중금속 및 최근 내분비 교란물질로 그 피해가 심각한 환경호르몬 물질을 선택하였다.

#### 1. 중금속

금속과 금속염은 현대사회에서는 없어서는 안될 요소들이다. 이들은 또한 자연상태로 존재하기도하고, 생물의 필수적인 기능을 수행하기 위하여 이용되기도 하며, 체조직 구성분의 대사와 합성에도 관여한다. 중독성 중금속은 일정한 조직 내에 축적 저장된다. 납은 뼈에 고농도로 축적되고, 혈장 단백질이나 피부까지 확산되어 있을 수 있다. 본 연구에서는 중금속 중에서 그 독성이 정도가 강하다고 생각되는 수은, 카드뮴, 구리 및 납을 선택하였다.

##### 가. 수은 (Mercury)

수은은 어떤 형태로든 공기, 토양 및 다른 것에서 강력하게 변환될 수 있으며, 메틸수은 혹은 에틸수은의 형태로 수생동물이 섭취할 수 있다. 메틸과 에틸같은 알킬형태는 독성이 아주 강하며, 이런 형태의 수은은 지연성으로 축적작용이 일어난다. 만성독성에 사용한 농도는 급성독성시험을 바탕으로 0.130, 0.050, 0.028 및 0.012 ppm을 설정하였다.

##### 나. 카드뮴 (Cadmium)

카드뮴은 독성 금속류의 일종이다. 카드뮴은 위장으로부터 쉽게 흡수되고

조직에 잔류한다. 신장과 간장에 축적되며, 간에서는 신장보다 적게 축적된다. 만성독성에 사용한 농도는 급성독성시험을 바탕으로 0.99, 0.45, 0.21 및 0.09 ppm을 설정하였다.

#### 다. 구리 (Copper)

구리는 많은 수생동물에 독성을 가지며, 채광이나 산업활동, 구리함유 비료의 유입, 수생식물이나 연체동물구제를 위한 구리염 살포 등으로 인해 많은 양이 구리가 수중에 존재할 수 있다. 만성독성에 사용한 농도는 급성독성시험을 바탕으로 0.32, 0.18, 0.08 및 0.05 ppm을 설정하였다.

## 2. 환경호르몬 물질

TBT 및 Phenol 등의 약 80종류의 환경호르몬으로 통칭되는 유해화학물질은 육상동물은 물론 수산생물의 생리생태는 물론, 생리현상 가운데 특히 생식에 관련된 기관에 크나큰 저해영향을 미치고 있어 이에 대한 유해물질을 중심으로 환경평가의 기준을 마련하고자 한다.

#### 가. TBT

흔히 선박이나 어망 등에 사용되는 페인트 중에 많은 포함되어 있으며, 이로 인해 연안에 많은 양이 TBT가 존재하고 있다. 수생생물에 미치는 지금까지의 밝혀진 결과에 의하면, 암컷고둥을 수컷화 하는 imposex 현상 등이 있으며, 독성이 매우 강하다. 만성독성에 사용한 농도는 급성독성시험을 바탕으로 6.32, 3.20, 1.67 및 0.60 ppb를 설정하였다.

#### 나. Phenol

페놀은 석탄산이라고도 하며, 히드록시벤젠에 해당하며, 페놀류의 대표적

인 것이다. 소량의 물을 함유하면 용점은 훨씬 내려가며, 유독하다. 만성독성에 사용한 농도는 급성독성시험을 바탕으로 2.80, 1.61, 0.96 및 0.58 ppm을 설정하였다.

## 제2절 만성독성 평가

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 실험재료

곤쟁이 *Neomysis awatschensis*는 부산 다대포의 인근해역에서 손 그물로 채집하여 1시간 이내 실험실로 운반하였고, 넙치 *Paralichthys olivaceus* 치어는 남해안 소재의 양식장에서 분양 받아 실험실로 운반하여 순환식 여과수조에서 10일 이상 순치 시켰다. 이때 수온, pH, 염분 및 용존산소는 각각 19.8~21.3℃, 7.8~8.3, 32.6~33.3‰, 7.1~7.4 mg/ℓ의 범위였고, 먹이는 *Artemia*와 넙치용 부상사료를 공급하였다. 실험에는 외관상 건강한 개체를 실험구별로 같은 크기를 선별하여 같은 비율로 사용하였다.

#### 나. 실험방법

실험은 PVC수조 (52×36×30 cm)를 사용하여 순환식 방법에 의하여 실시하였고, 실험기간 중의 염분 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)을 비롯하여 수온 (봉상온도계), pH (pH meter, 250A, Orion Research Inc.) 및 용존산소 (Model-250A, ATI Orion, Co., USA)는 1일 2회 측정하였다. 모든 실험은 수온±1℃의 조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 산소발생기에 의해 지속적으로 산소를 공급하였다.

염분농도별 생존 및 성장에 대한 실험은 유사한 크기의 개체를 20마리씩

선별하여 42일간 동시에 2회의 반복구를 설정하였다. 생존은 24시간마다 사망한 개체를 계수하여 생존율로 나타내었고 유의성은  $\chi^2$ -test로 검정하였다. 성장은 실험수조에 실험어를 수용하기 전에 체장 및 체중을 측정하였다. 이때, 먹이는 실험수조에 수용한 다음날부터 곤쟁이는 *Artemia*, 넙치는 시판용 넙치사료를 1일 2회, 각각 9시, 17시에 걸쳐 포식량 이상을 공급하였다. 실험도중에 사망한 개체가 관찰되는 경우, 평균값의 개체가 사망한 것으로 판단하여 계산하였다.

산소소비율은 실험구별 5개체씩을 무작위로 선별하여 산소소비를 측정 한 후, 실험어는 건중량을 측정하였다. 평균 산소소비율은 단위건중량당 산소 소비량으로 표시하였다. 이들 결과에 대한 유의성 검정은 SPSS 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA에 의해 최소유의차 검정으로 평균간의 차이를 검정하였다.

각 실험구의 어류는 매주 5개체씩 채집하여 조직표본을 제작하여 광학현미경으로 관찰하였다. 채집된 어류는 전장, 체장, 전중을 측정한 후 해부하여 조직표본 제작에 필요한 기관을 절취하였다. 각 절취한 기관은 10 % 중성포르말린에 고정하여 파라핀 절편법에 의하여 4~6  $\mu$ m 두께의 연속절편을 제작하였다. 표본은 Mayer's hematoxylin-0.5 % eosin (H-E) 비교염색, Mallory 삼중염색, AB-PAS (pH 2.5) 및 PAS 반응을 실시하였다.

## 2. 결 과

### 가. 생 존

#### (1) 곤쟁이

독성물질에 따른 42일간 곤쟁이의 생존율을 Fig. 5-1~5-5에 나타내었다. 곤쟁이의 생존율은 대조구에서 95.0%를 나타내었다. 각각의 오염원에 노출시킨 곤쟁이의 생존율은 오염원의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향

을 나타내었다. 곤쟁이의 생존율은 수은 0.015 mg/ℓ, 카드뮴 0.05 mg/ℓ, 구리 0.04 mg/ℓ, phenol 0.40 mg/ℓ 및 TBTO 0.56 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타내었다(P<0.05).

(2) 넙치

독성물질에 따른 42일간 넙치의 생존율을 Fig. 5-6~5-10에 나타내었다. 넙치의 생존율은 대조구에서 100%를 나타내었다. 각각의 오염원에 노출시킨 공시대상 종의 생존율은 오염원의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 넙치의 생존율은 수은 0.028 mg/ℓ, 카드뮴 0.98 mg/ℓ, 구리 0.18 mg/ℓ, phenol 1.61 mg/ℓ 및 TBTO 3.20 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타내었다(P<0.05).

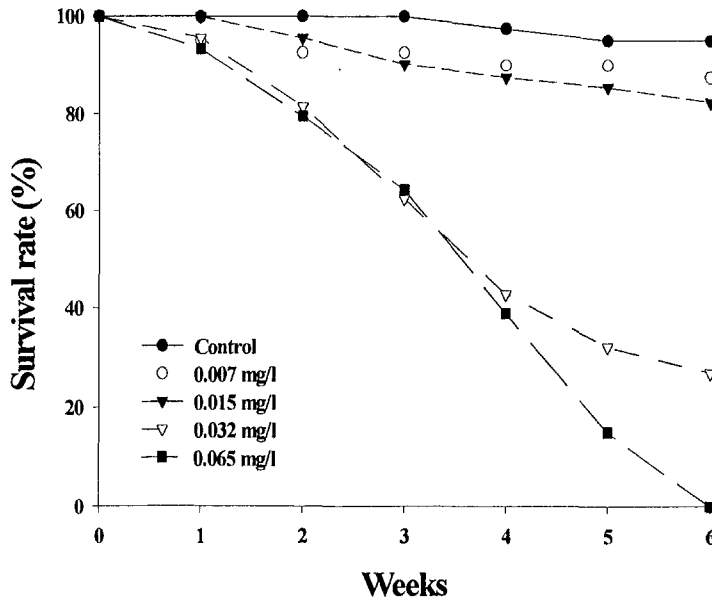


Fig. 5-1. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various mercury for 6 weeks.



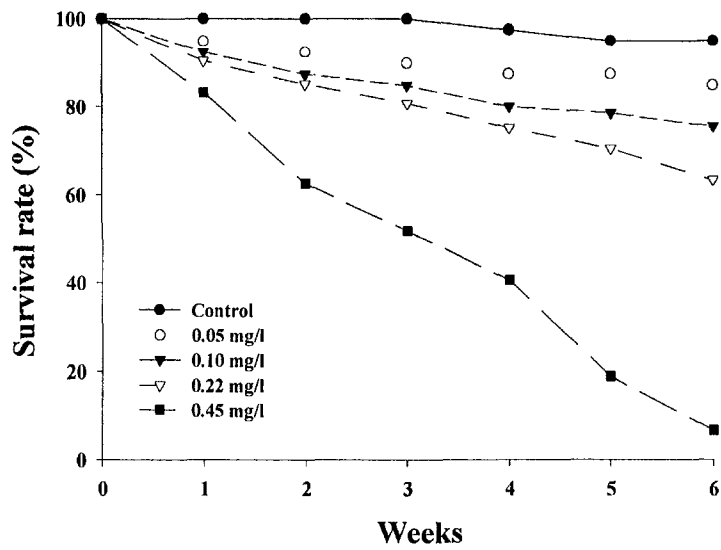


Fig. 5-2. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various cadmium for 6 weeks.

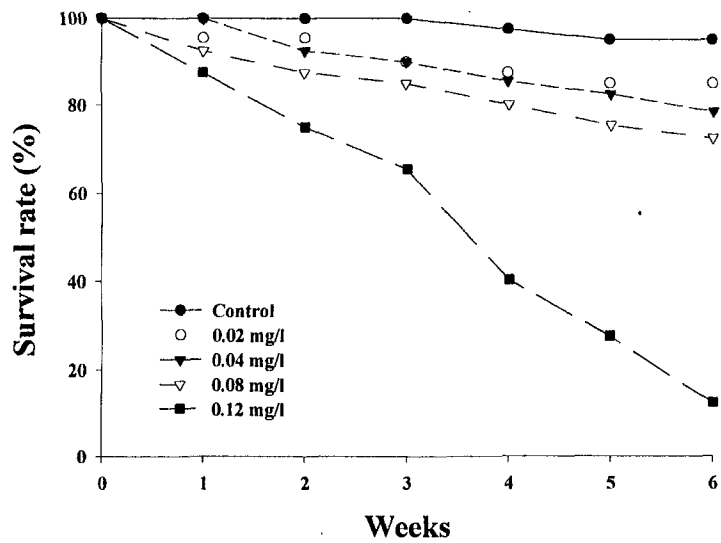


Fig. 5-3. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various copper for 6 weeks.

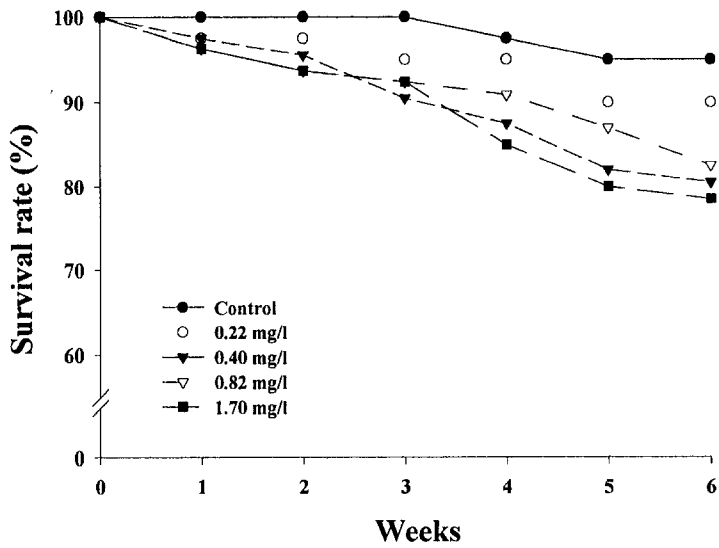


Fig. 5-4. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various phenol for 6 weeks.

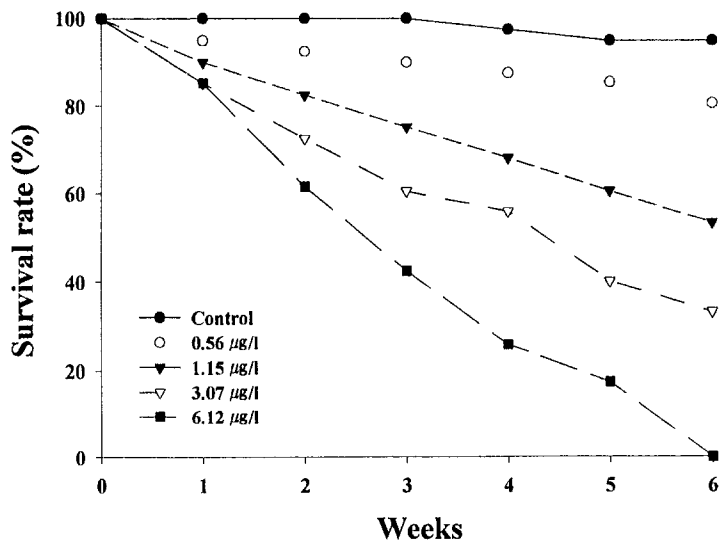


Fig. 5-5. Survival rate of *Neomysis awatschensis* exposed to various TBTO for 6 weeks.

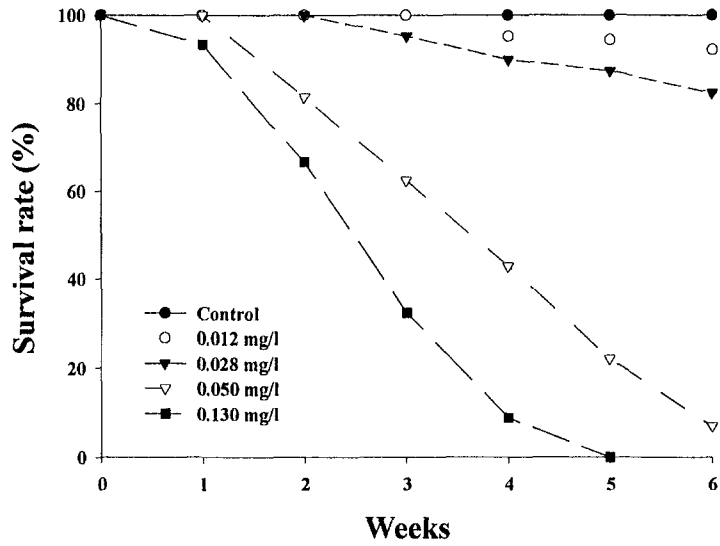


Fig. 5-6. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various mercury for 6 weeks.

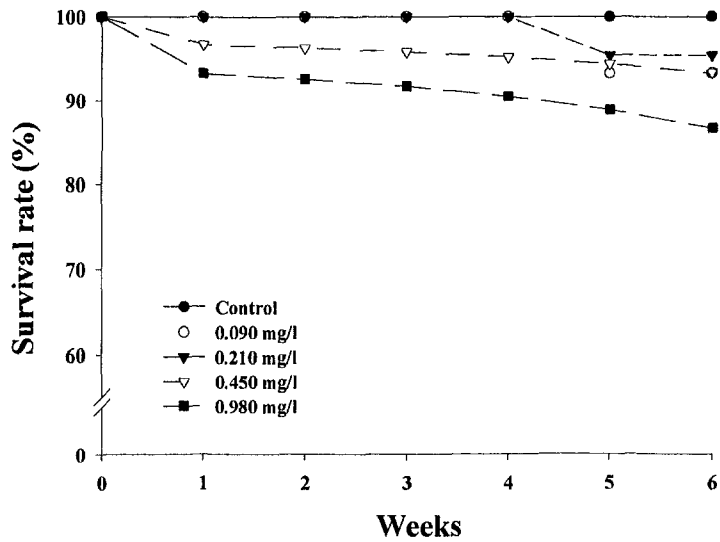


Fig. 5-7. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various cadmium for 6 weeks.

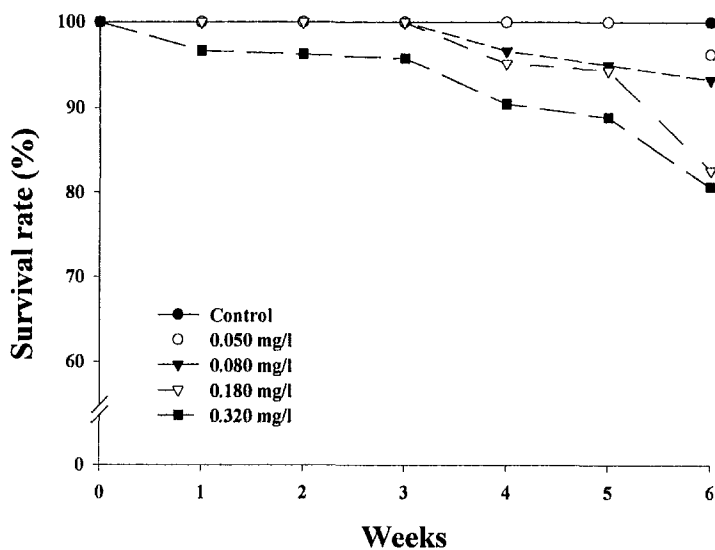


Fig. 5-8. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various copper for 6 weeks.

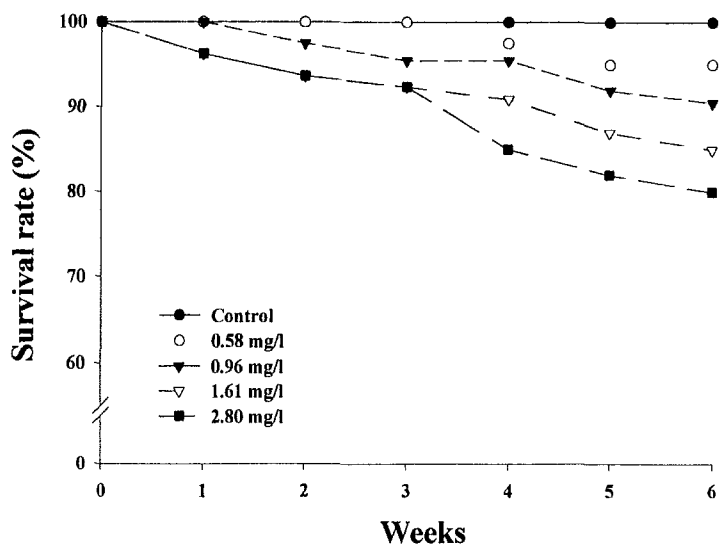


Fig. 5-9. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various phenol for 6 weeks.

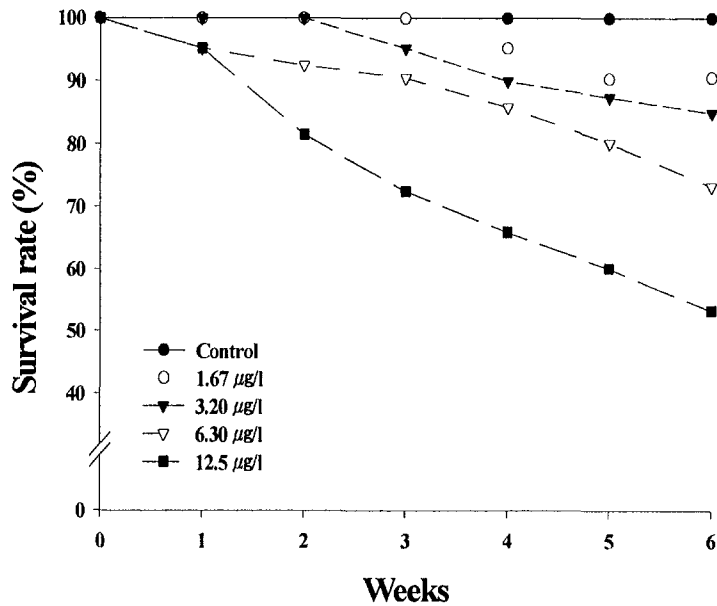


Fig. 5-10. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to various TBTO for 6 weeks.

## 나. 성장

### (1) 곤쟁이

곤쟁이의 성장에 미치는 중금속, phenol 및 TBTO의 영향을 Table 5-1과 Fig. 5-11~5-15에 나타내었다. 곤쟁이의 성장률은 대조구에서 12.22%를 나타냈다. 각각의 독성물질에 노출시킨 곤쟁이의 성장률은 독성물질 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었고, 곤쟁이의 성장률은 수은 0.015 mg/l, 카드뮴 0.22 mg/l, 구리 0.04 mg/l, phenol 0.40 mg/l 및 TBTO 1.15 µg/l 이상에서 유의한 감소를 나타내었다( $P < 0.05$ ).

(2) 넙치

넙치의 성장에 대한 중금속, phenol 및 TBTO의 영향을 Table 5-2와 Fig. 5-16~5-20에 나타내었다. 대조구에서 넙치의 성장률은 16.82%이었고, 각각의 오염원에 노출시킨 넙치의 성장률은 오염원의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 넙치의 성장률은 수은 0.03 mg/ℓ, 카드뮴 0.21 mg/ℓ, 구리 0.08 mg/ℓ, phenol 0.96 mg/ℓ 및 TBTO 3.20 μg/ℓ 이상에서 유의한 감소를 나타내었다(P<0.05).

Table 5-1. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to heavy metals, phenol and TBTO for 42 days.

| Test animal                  | Pollutant Concentration | Growth rate (%) | Feed efficiency (%) |       |
|------------------------------|-------------------------|-----------------|---------------------|-------|
| <i>Neomysis awatschensis</i> | Control                 | 12.22           | 33.65               |       |
|                              |                         | 0.065           | 8.89                |       |
|                              | Mercury (mg/ℓ)          | 0.032           | 11.38               | 28.34 |
|                              |                         | 0.015           | 10.09               | 30.12 |
|                              |                         | 0.007           | 12.08               | 32.13 |
|                              | Cadmium (mg/ℓ)          | 0.45            | 9.20                | 15.56 |
|                              |                         | 0.22            | 10.03               | 19.12 |
|                              |                         | 0.10            | 12.01               | 29.48 |
|                              |                         | 0.05            | 11.96               | 32.12 |
|                              | Copper (mg/ℓ)           | 0.12            | 5.35                | 15.97 |
|                              |                         | 0.08            | 10.42               | 17.78 |
|                              |                         | 0.04            | 10.83               | 22.14 |
|                              |                         | 0.02            | 11.26               | 31.05 |
|                              | Phenol (mg/ℓ)           | 1.70            | 5.35                | 12.97 |
|                              |                         | 0.82            | 10.42               | 17.78 |
|                              |                         | 0.40            | 10.83               | 23.14 |
|                              |                         | 0.22            | 11.06               | 31.05 |
|                              | TBTO (μg/ℓ)             | 6.12            | 5.35                | 12.97 |
|                              |                         | 3.07            | 10.42               | 17.78 |
|                              |                         | 1.15            | 9.83                | 30.14 |
|                              | 0.56                    | 11.29           | 31.05               |       |

Table 5-2. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to heavy metals, phenol and TBTO for 42 days.

| Test animal                     | Pollutant         | Concentration | Growth rate (%) | Feed efficiency (%) |
|---------------------------------|-------------------|---------------|-----------------|---------------------|
| <i>Paralichthys olivaceus</i> , | Control           |               | 16.82           | 43.65               |
|                                 |                   | 0.130         | 13.89           | 29.32               |
|                                 | Mercury<br>(mg/ℓ) | 0.050         | 12.38           | 25.19               |
|                                 |                   | 0.028         | 13.09           | 38.34               |
|                                 |                   | 0.012         | 15.86           | 40.12               |
|                                 |                   | 0.98          | 9.20            | 30.56               |
|                                 | Cadmium<br>(mg/ℓ) | 0.45          | 13.03           | 39.12               |
|                                 |                   | 0.21          | 14.91           | 37.48               |
|                                 |                   | 0.09          | 16.16           | 41.12               |
|                                 |                   | 0.32          | 5.35            | 25.97               |
|                                 | Copper<br>(mg/ℓ)  | 0.18          | 12.42           | 32.78               |
|                                 |                   | 0.08          | 10.83           | 37.14               |
|                                 |                   | 0.05          | 15.26           | 40.05               |
|                                 |                   | 2.80          | 5.35            | 25.97               |
|                                 | Phenol<br>(mg/ℓ)  | 1.61          | 14.42           | 32.78               |
|                                 |                   | 0.96          | 10.83           | 37.14               |
|                                 |                   | 0.58          | 16.26           | 39.05               |
|                                 |                   | 12.5          | 5.35            | 25.97               |
|                                 | TBTO<br>(μg/ℓ)    | 6.30          | 14.42           | 30.78               |
|                                 |                   | 3.20          | 10.83           | 32.14               |
| 1.67                            |                   | 16.26         | 40.05           |                     |

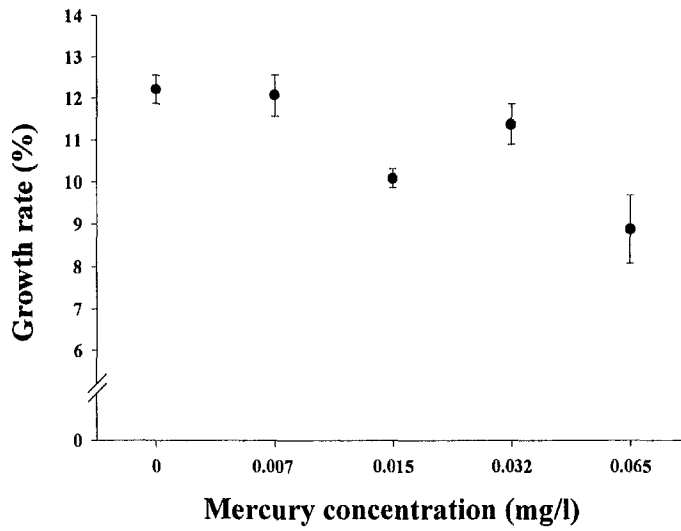


Fig. 5-11. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to mercury for 42 days.

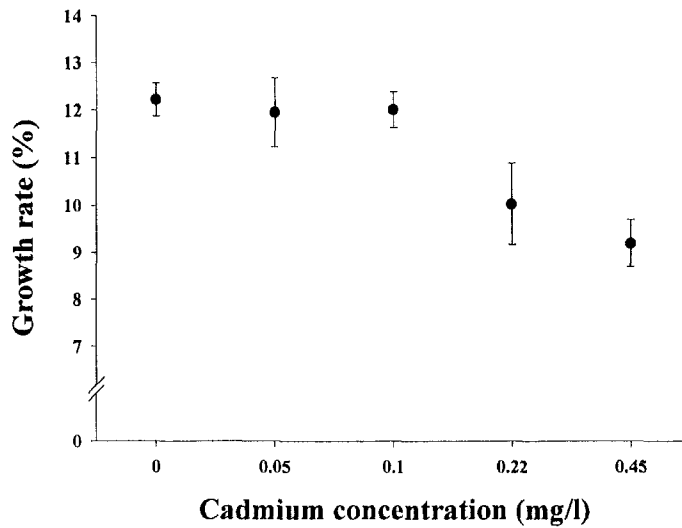


Fig. 5-12. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to cadmium for 42 days.



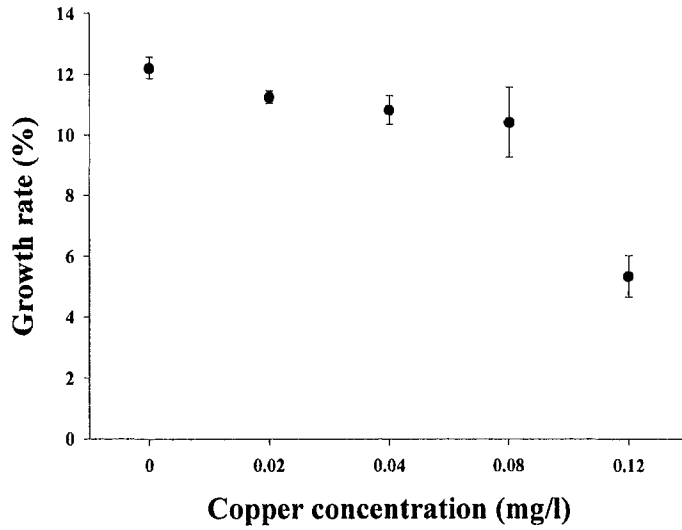


Fig. 5-13. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to copper for 42 days.

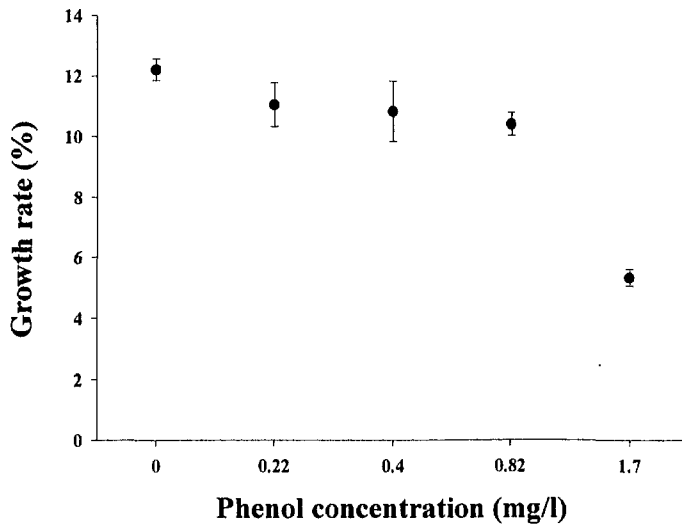


Fig. 5-14. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to phenol for 42 days.

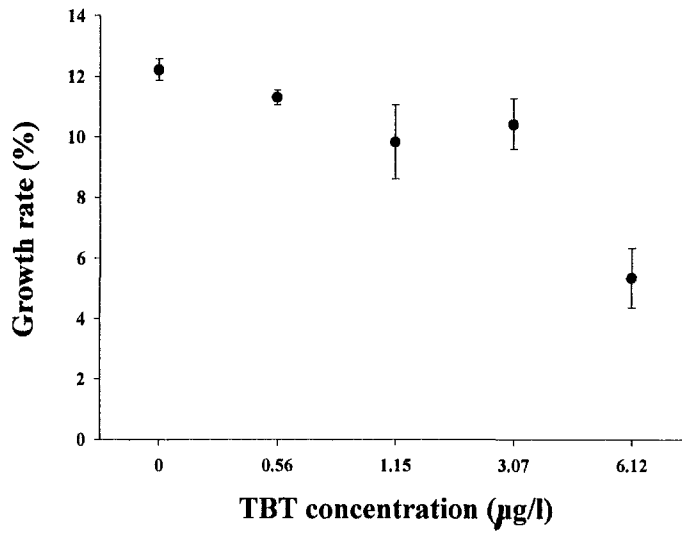


Fig. 5-15. Growth rate of *Neomysis awatschensis* exposed to TBT0 for 42 days.

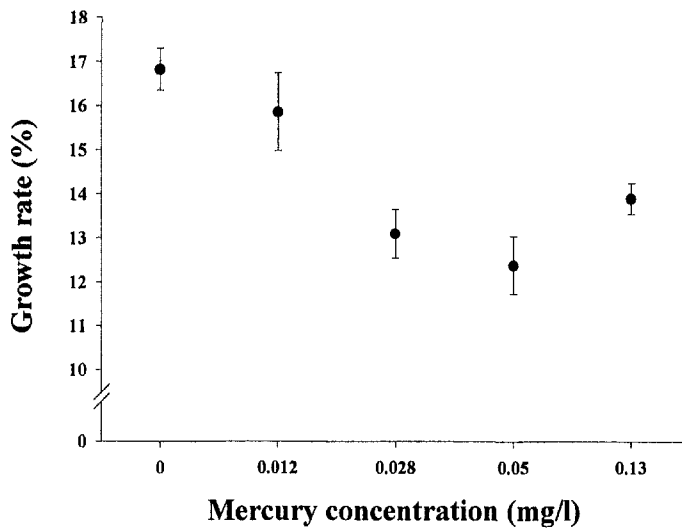


Fig. 5-16. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to mercury for 42 days.

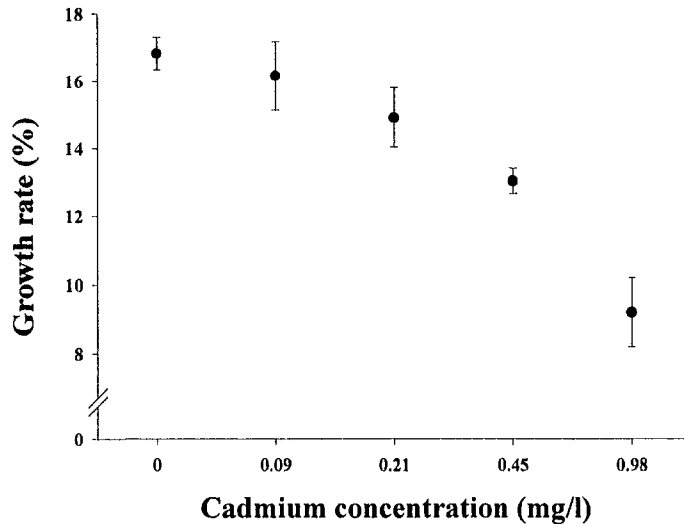


Fig. 5-17. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to cadmium for 42 days

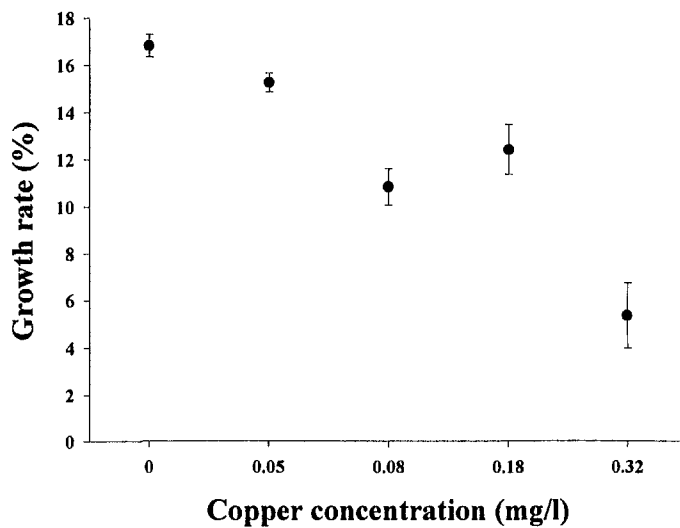


Fig. 5-18. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 42 days

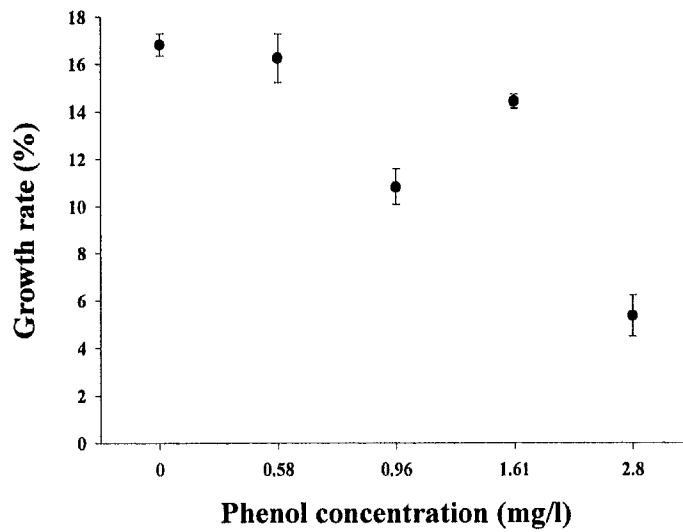


Fig. 5-19. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol for 42 days

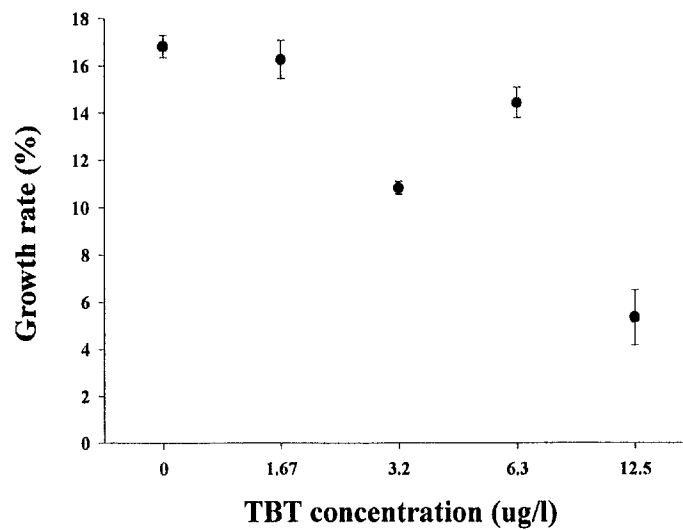


Fig. 5-20. Growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to TBTO for 42 days

## 다. 산소소비

### (1) 곤쟁이

곤쟁이 산소소비에 미치는 중금속, phenol 및 TBTO의 영향을 **Table 5-3**과 **Fig. 5-21~5-25**에 나타내었다. 대조구에서 곤쟁이의 산소소비율은  $0.38 \mu\text{O}_2\text{h}^{-1}\text{mg}^{-1}$  dry weight이었다. 성장률은 대조구에서 12.22%를 나타냈다. 각각의 독성물질에 노출시킨 곤쟁이의 성장률은 독성물질 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었고, 곤쟁이의 산소소비율은 수은  $0.032 \text{ mg} / \ell$ , 카드뮴  $0.22 \text{ mg} / \ell$ , 구리  $0.08 \text{ mg} / \ell$ , phenol  $0.82 \text{ mg} / \ell$  및 TBTO  $1.15 \mu\text{g} / \ell$  이상에서 유의한 감소를 나타내었다( $P < 0.05$ ).

### (2) 넙치

넙치의 산소소비에 대한 중금속, phenol 및 TBTO의 영향을 **Table 5-4**와 **Fig. 5-26~5-30**에 나타내었다. 대조구에서 넙치의 산소소비율은  $6.0 \mu\text{O}_2\text{h}^{-1}\text{mg}^{-1}$  dry weight이었고, 각각의 오염원에 노출시킨 시험재료의 산소소비율은 오염원의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 넙치의 산소소비율은 수은  $0.05 \text{ mg} / \ell$ , 카드뮴  $0.21 \text{ mg} / \ell$ , 구리  $0.18 \text{ mg} / \ell$ , phenol  $0.96 \text{ mg} / \ell$  및 TBTO  $6.32 \mu\text{g} / \ell$  이상에서 유의한 감소를 나타내었다( $P < 0.05$ ).

**Table 5-3.** Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to heavy metals, phenol and TBTO for 42 days.

| Test animal                  | Pollutant Concentration            | Body weight (g)              | Respiration rate ( $\mu\text{lO}_2\text{h}^{-1}\text{mg}^{-1}$ dry weight) |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--|
|                              | Control                            | wet weight<br>$3.0 \pm 0.14$ | $0.38 \pm 0.05$  |
|                              | 0.065                              | $2.6 \pm 0.13$               | $0.20 \pm 0.05$  |
|                              | Mercury<br>(mg/ l )                | $3.1 \pm 0.10$               | $0.21 \pm 0.02$  |
|                              | 0.015                              | $2.8 \pm 0.11$               | $0.34 \pm 0.03$  |
|                              | 0.007                              | $2.7 \pm 0.10$               | $0.37 \pm 0.09$  |
|                              | 0.45                               | $3.0 \pm 0.10$               | $0.24 \pm 0.04$  |
|                              | Cadmium<br>(mg/ l )                | $2.9 \pm 0.08$               | $0.26 \pm 0.02$  |
|                              | 0.10                               | $2.8 \pm 0.10$               | $0.34 \pm 0.07$  |
|                              | 0.05                               | $2.6 \pm 0.11$               | $0.33 \pm 0.06$  |
| <i>Neomysis awatschensis</i> | 0.12                               | $2.8 \pm 0.12$               | $0.19 \pm 0.03$  |
|                              | Copper<br>(mg/ l )                 | $2.7 \pm 0.08$               | $0.22 \pm 0.07$  |
|                              | 0.04                               | $3.0 \pm 0.06$               | $0.29 \pm 0.04$  |
|                              | 0.02                               | $2.9 \pm 0.13$               | $0.35 \pm 0.05$  |
|                              | 1.70                               | $2.9 \pm 0.12$               | $0.26 \pm 0.09$  |
|                              | Phenol<br>(mg/ l )                 | $2.6 \pm 0.11$               | $0.25 \pm 0.07$  |
|                              | 0.40                               | $2.8 \pm 0.12$               | $0.34 \pm 0.06$  |
|                              | 0.22                               | $3.1 \pm 0.07$               | $0.38 \pm 0.09$  |
|                              | 6.12                               | $3.0 \pm 0.10$               | $0.12 \pm 0.07$  |
|                              | TBTO<br>( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) | $2.8 \pm 0.11$               | $0.20 \pm 0.04$  |
|                              | 1.15                               | $3.2 \pm 0.08$               | $0.24 \pm 0.06$  |
|                              | 0.56                               | $2.8 \pm 0.12$               | $0.32 \pm 0.08$  |

Table 5-4. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to heavy metals, phenol and TBTO for 42 days.

| Test animal                   | Pollutant Concentration | Body weight (g) | Respiration rate ( $\mu\text{O}_2\text{h}^{-1}\text{mg}^{-1}$ dry weight) |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------|---|
|                               | Control                 | 70.5±3.04       | 6.0±0.13  |
|                               | 0.130                   | 71.1±4.05       | 4.0±0.13  |
|                               | Mercury (mg/ℓ)          | 72.2±3.15       | 4.1±0.12  |
|                               | 0.050                   | 69.5±2.40       | 5.4±0.12  |
|                               | 0.028                   | 67.3±1.49       | 5.7±0.17  |
|                               | 0.012                   | 70.1±3.05       | 3.0±0.15  |
|                               | 0.98                    | 71.2±2.16       | 4.2±0.12  |
|                               | Cadmium (mg/ℓ)          | 70.5±3.32       | 4.9±0.12  |
|                               | 0.45                    | 68.3±1.47       | 5.8±0.13  |
|                               | 0.21                    | 69.1±4.02       | 3.5±0.09  |
|                               | 0.09                    | 71.2±3.34       | 4.4±0.14  |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | Copper (mg/ℓ)           | 71.5±2.26       | 5.2±0.11  |
|                               | 0.32                    | 69.0±3.37       | 5.5±0.08  |
|                               | 0.18                    | 71.6±3.12       | 2.0±0.12  |
|                               | 0.08                    | 70.2±1.89       | 3.1±0.15  |
|                               | 0.05                    | 69.9±2.56       | 4.8±0.11  |
|                               | 2.80                    | 69.2±2.23       | 5.6±0.14  |
|                               | Phenol (mg/ℓ)           | 71.1±3.22       | 2.0±0.16  |
|                               | 1.61                    | 72.2±3.21       | 3.1±0.12  |
|                               | 0.96                    | 69.5±2.29       | 5.0±0.10  |
|                               | 0.58                    | 67.3±3.67       | 5.9±0.11  |
|                               | 12.5                    |                 |   |
|                               | TBTO (μg/ℓ)             |                 |   |
|                               | 6.32                    |                 |   |
|                               | 3.20                    |                 |   |
|                               | 1.67                    |                 |   |

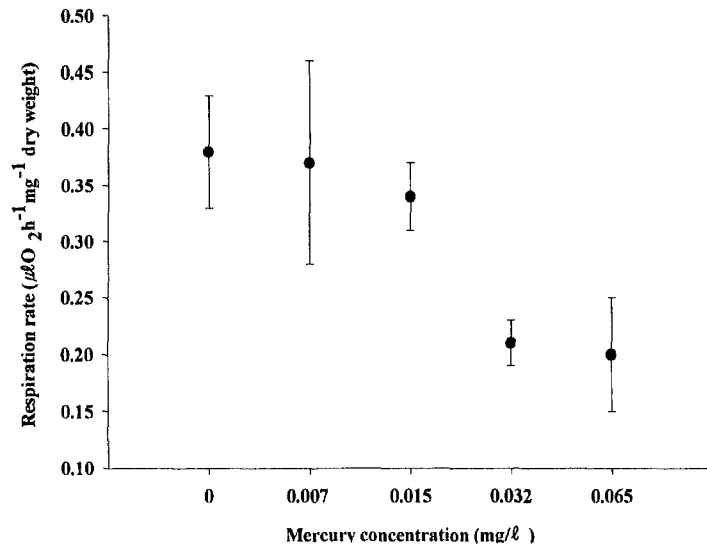


Fig. 5-21. Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to mercury for 42 days.

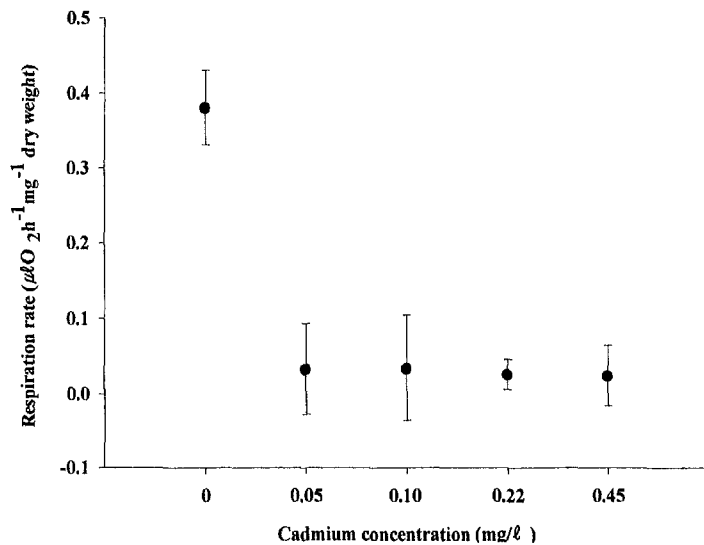


Fig. 5-22. Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to cadmium for 42 days.



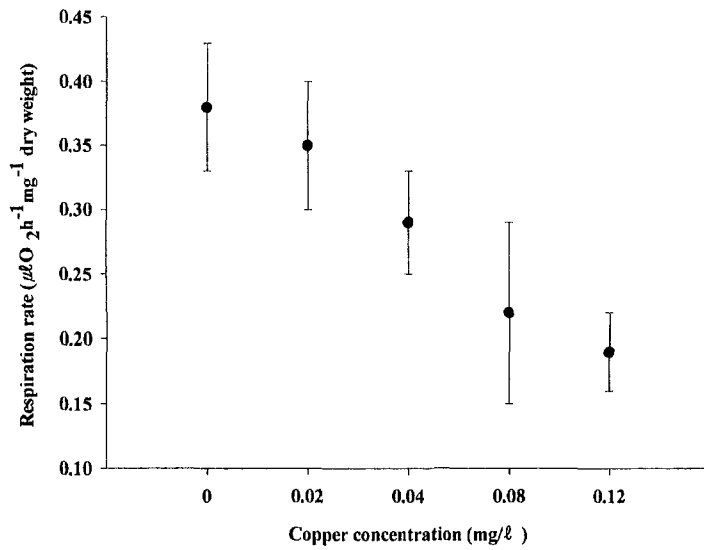


Fig. 5-23. Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to copper for 42 days.

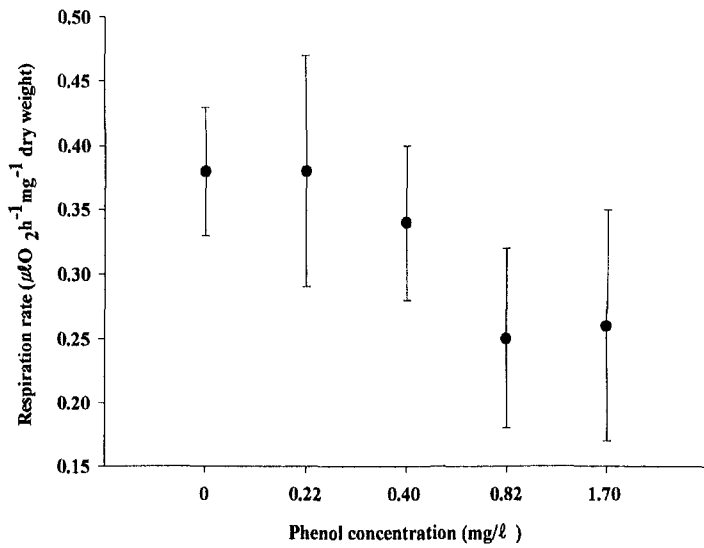


Fig. 5-24. Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to phenol for 42 days.

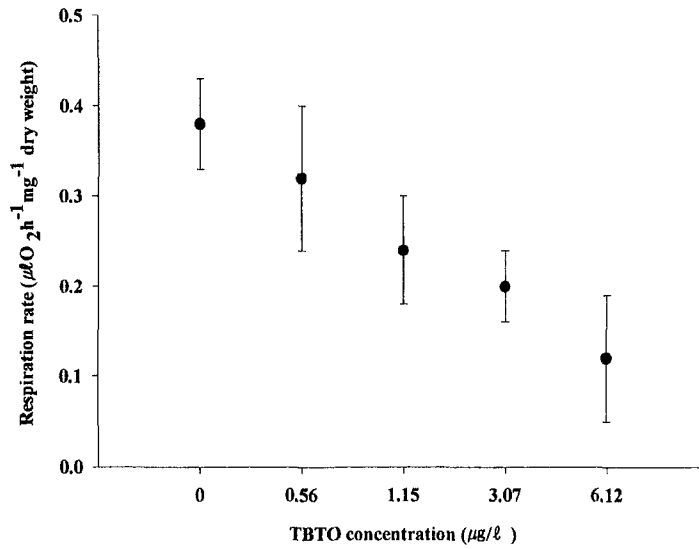


Fig. 5-25. Respiration rate of *Neomysis awatschensis* exposed to TBTO for 42 days.

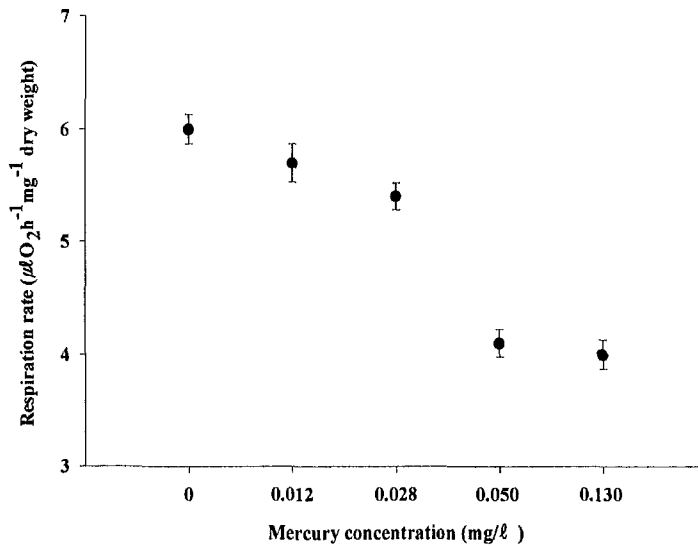


Fig. 5-26. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to mercury for 42 days.

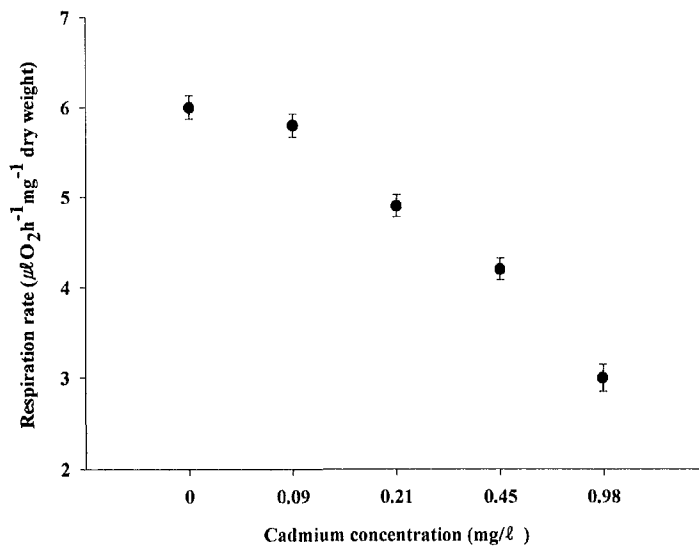


Fig. 5-27. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to cadmium for 42 days.

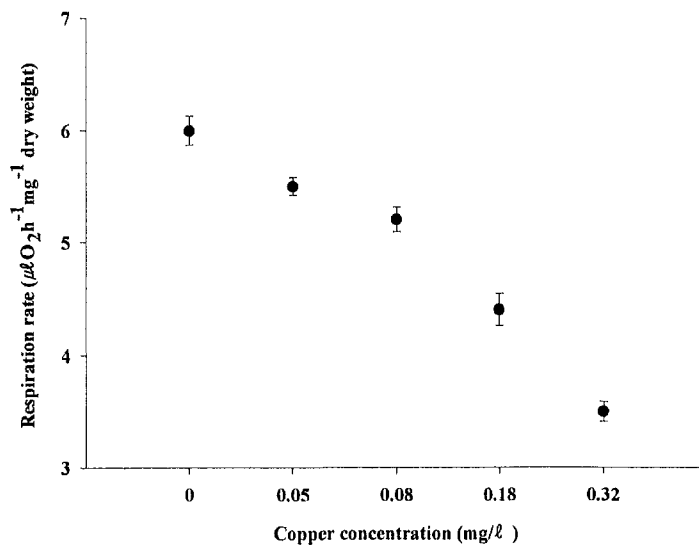


Fig. 5-28. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 42 days.

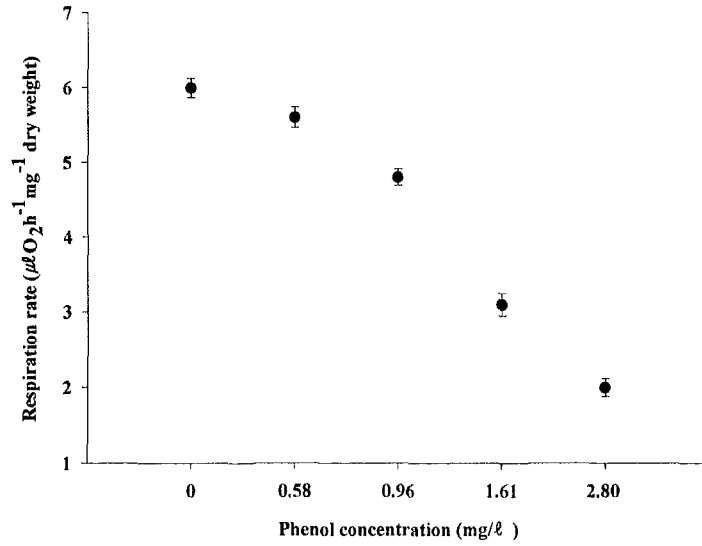


Fig. 5-29. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol for 42 days.

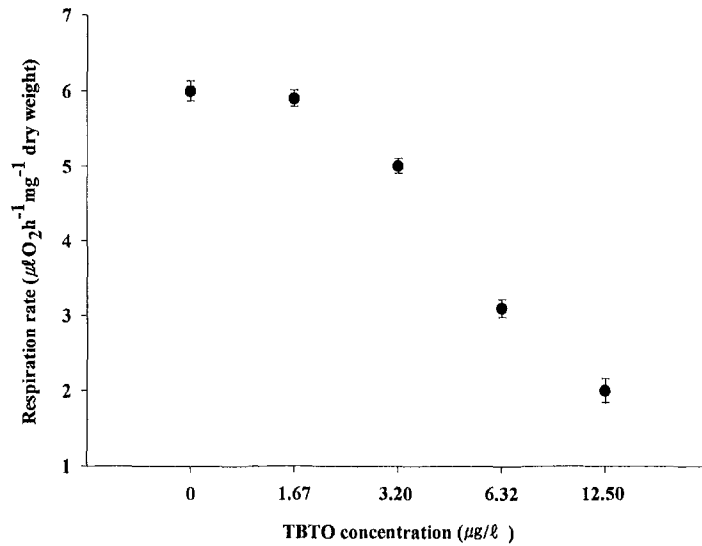


Fig. 5-30. Respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to TBTO for 42 days.

## 라. 넙치의 조직학적 반응

### (1) 대조구

#### (가) 아가미

넙치의 아가미는 다른 경골어류와 마찬가지로 각새골을 중심으로 새엽과 새판이 발달된 구조이다. 각 새판의 가장 바깥쪽은 단층 편평 상피세포층으로 덮여 있으며, 점액세포와 염세포 그리고 벽주세포 등으로 구성된다 (Fig. 5-31-A). 점액세포와 염세포는 H-E 염색에서는 모두 공포상으로 나타나지만, PAS 반응에서 점액세포는 양성의 결과를 보였고 염세포는 음성의 결과를 보였다 (Fig. 5-31-B). Mallory 삼중염색에서 점액세포와 염류세포는 모두 공포상으로 나타났다 (Fig. 5-31-C). 실험 개시기부터 4주까지는 별다른 특이한 조직상은 관찰되지 않았으며, 사육 4주 후부터 실험 종료까지는 점액세포와 염세포의 증가가 관찰되었을 뿐이다 (Fig. 5-31-D).

#### (나) 간췌장

넙치 간의 가장 바깥쪽은 얇은 장막으로 싸여 있으며, 췌장조직이 산재해 있는 간췌장의 조직상을 보였다. 간세포들은 각각의 간세포삭을 하나의 단위로 모여있으며, 각각의 간세포는 둥근 다각형으로 핵은 매우 뚜렷하다. 간조직의 여러 부위에서는 간정맥 및 모세혈관 그리고 담관이 확인되었다 (Fig. 5-32-A). 췌장조직을 구성하는 외분비세포들은 역삼각형으로 세포질은 강한 호염기성을 나타내지만, 세포질에는 다수의 호산성 효소원과립들이 밀집되어있다 (Fig. 5-32-B). 실험 개시 4주 후부터 대조구의 간조직에서는 모세혈관내에 혈구가 다소 증가되었으며, 일부 흑색 대식세포들이 관찰되었으나 췌장조직내의 효소원 과립의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 5-32-C). 6주 후에는 간세포의 팽창이 관찰되었을 뿐 별다른 조직상의 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 5-32-D).

#### (다) 신장

넙치 신장은 1/5정도의 전단부는 두 갈래로 분지 되어 있으나, 나머지 부위는 융합된 상태이다. 신장을 세 부분으로 나누어 볼 때, 제일 앞쪽은 사구체나 세뇨관은 없으며, 혈관과 조혈조직으로 구성된다 (Fig. 5-33-A). 가운데 부분에서는 사구체와 세뇨관들이 집중적으로 분포하고 있었다. 사구체는 얇은 보우만주머니로 싸여 있으며, 내부는 모세혈관으로 구성되며 다수의 혈구세포들이 관찰되었다 (Fig. 5-33-B). 후방부에는 일부 사구체와 주로 세뇨관들이 분포하고 있으며, 마지막 부분에서는 집합세관과 집합관이 관찰되었다. 근위세뇨관의 내강 상피층은 주로 입방형세포들로 구성되며 이들 세포들은 내강쪽으로 미세융모를 가진다. 원위세뇨관의 내강 상피층은 주로 원주형세포들로 구성되며 이들 세포들은 내강쪽으로 섬모와 미세융모를 가진다 (Fig. 5-33-C). 실험 개시기부터 4주까지는 별다른 조직상의 변화가 관찰되지 않았으나 4주 후부터 실험종료까지는 흑색 대식세포들이 일부 관찰되었다 (Fig. 5-33-D).

#### (라) 생식소

넙치 성체의 난소는 두꺼운 외막을 가진 낭상형으로 내부는 다수의 난소박판으로 구성되며 휴지기에는 주로 난황형성전 단계의 난모세포들이 관찰되지만 (Fig. 5-34-A), 생식주기에 따라 여러 단계의 난모세포들이 난소내부에서 관찰된다.

성체의 정소는 정소엽형이며, 각각의 정소엽은 다수의 정소소낭을 가진다 (Fig. 5-35-A).

미성어기 넙치의 난소 및 정소는 등쪽 체벽에 난소간막 및 정소간막에 싸여 있으며, 각각은 아직 미발달된 상태로 모두 선상의 형태를 보여 외형적

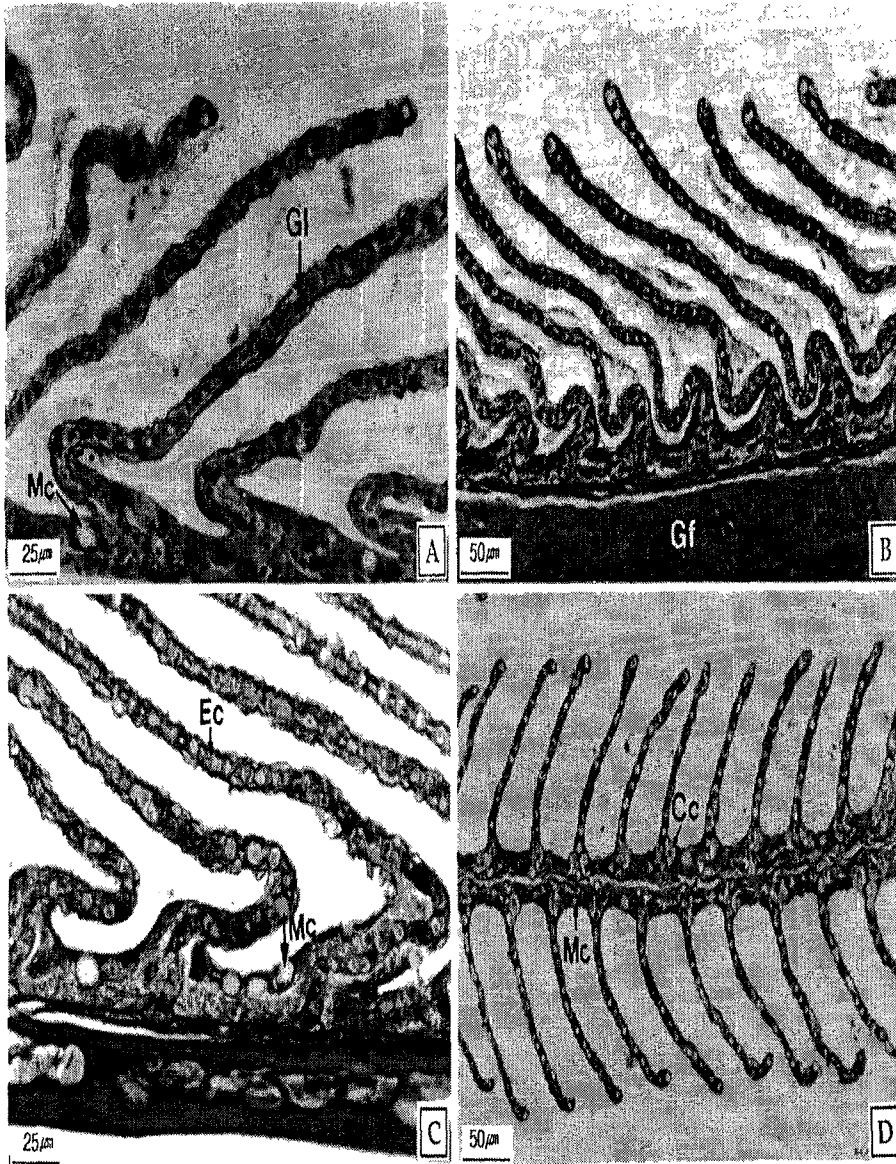
으로 난소와 정소를 구분하기는 힘든 상태였다.

#### 1) 난소

실험 개시 3주 후 난소의 내부는 난소강과 난소박판의 형성이 관찰되었으며, 생식세포들은 난원세포 단계에 머물러 있었다 (Fig. 4-B). 실험 개시 6주 후에 난소의 내부는 난소박판의 발달이 뚜렷하였으며, 난황형성전의 난모세포들이 다수 관찰되었다 (Fig. 5-34-C).

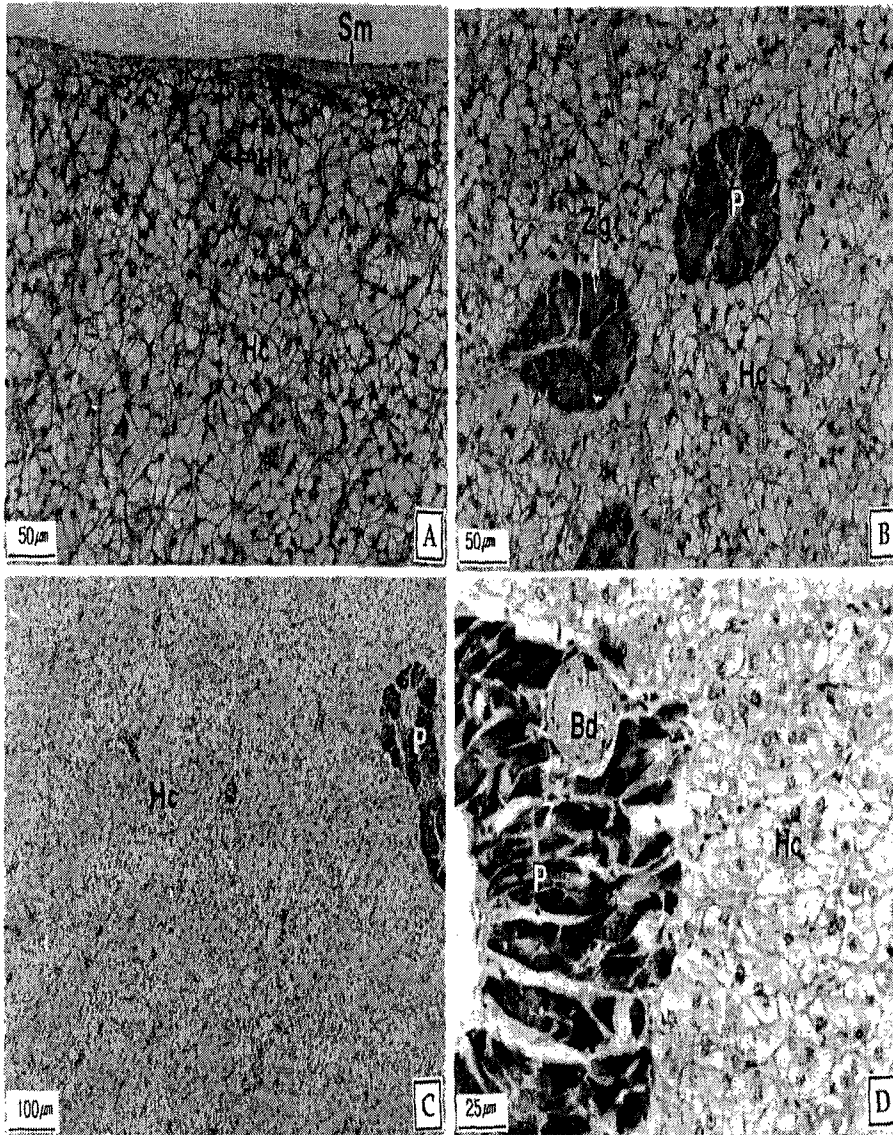
#### 2) 정소

실험 개시 3주 후 정소의 내부는 대부분 호산성 체세포들과 일부 정원세포들로 구성되어 있었다 (Fig. 5-35-B). 실험 개시 6주 후 정소에서는 정소소낭의 구분이 뚜렷하였으며, 정소조직상의 대부분은 정원세포들로 채워져 있었다 (Fig. 5-35-C).



**Fig. 5-31.** Histology of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* in the control group. A. Longitudinal section of H-E stain showing the gill lamellae (Gl), epithelial cell (Ec), mucous cell (Mc), chloride cell (Cc), pillar cell, capillary lumen and hemocyte. B. Section of AB-PAS (pH 2.5) showing the mucous cells of PAS positive. C. Section of Mallory triple stain showing the mucous cell and chloride cell of vacuolar form. D. Longitudinal section of gill at 4 weeks. Gf: gill filament.





**Fig. 5-32.** Histology of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* in the control group. A. Section of H-E stain showing the serous membrane (Sm), hepatic lobule (Hl) and hepatic cell (Hc). B. Section showing the hepatic cell and pancreas (P) with numerous zymogen granules (Zg) in the cytoplasm. C. Section of hepatopancreas at 4 weeks. D. Section of hepatopancreas at 6 weeks. Bd: bile duct.

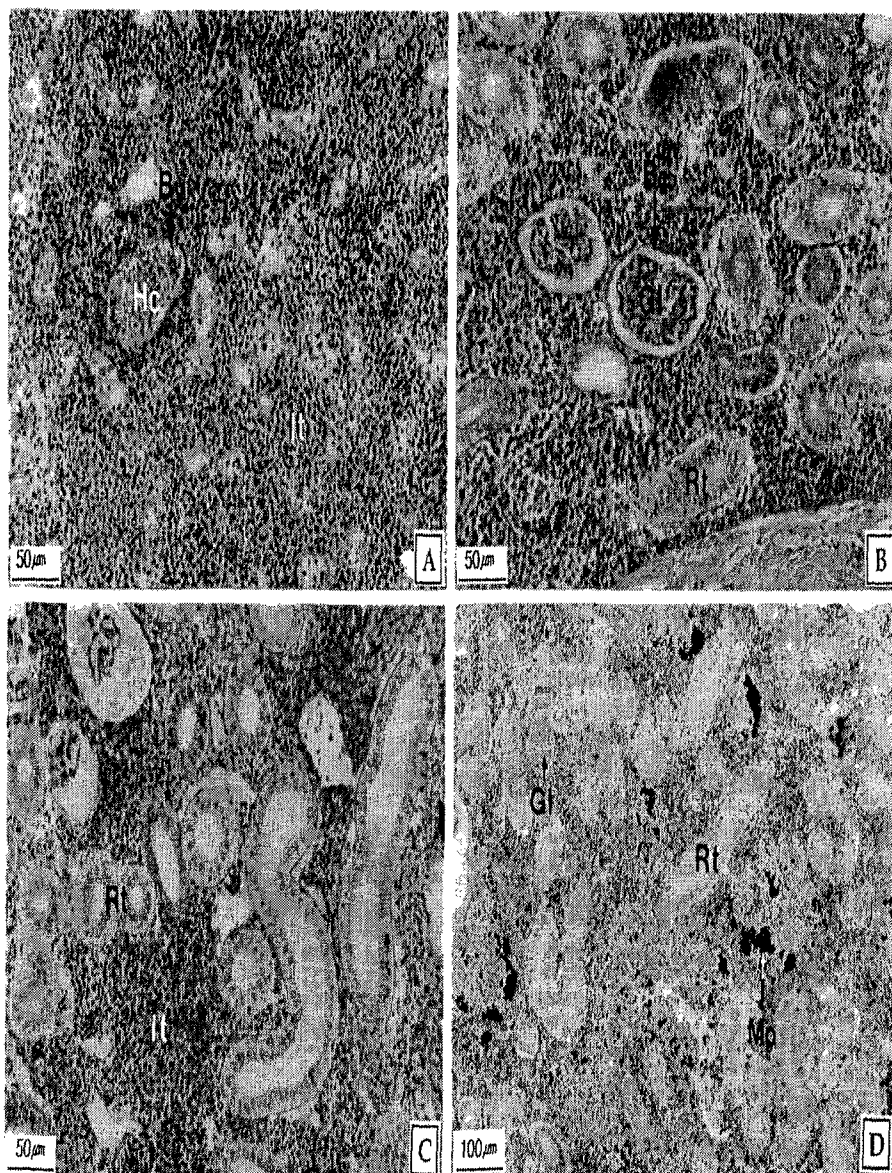


Fig. 5-33. Histology of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* in the control group. A. Anterior part of kidney. Note the abundant interstitial tissue (It) and absence of glomerulus and renal tubules. B. Mid part of kidney. Note the Bowman's capsule (Bc) and glomerulus (Gl) of positive in Schiff's solution and renal tubules (Rt). C. Section of posterior part of kidney. Note the numerous renal tubules. D. Section of kidney at 4 weeks. Mp: melano macrophagocytotic cells.

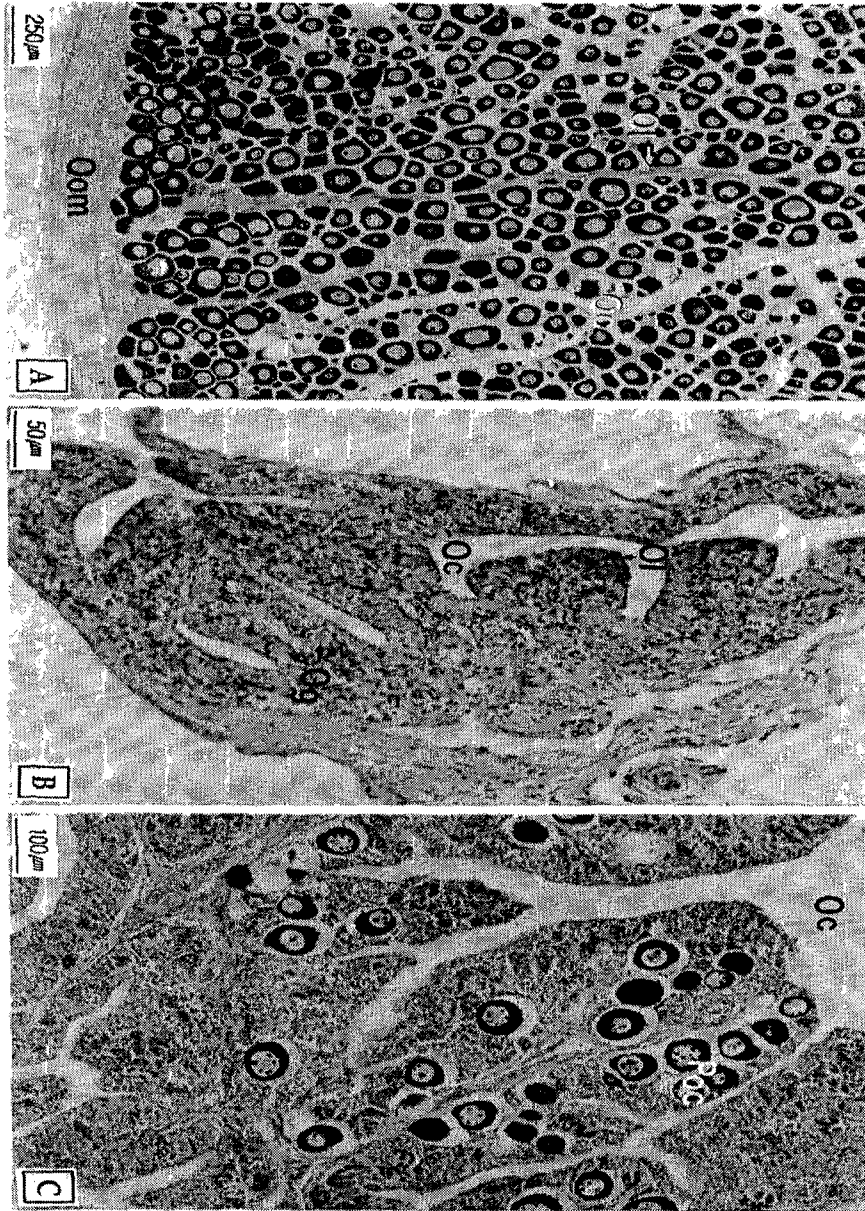


Fig. 5-34. Histology of ovary of the flounder, *Paralichthys olivaceus* in the control group. A. Section of the resting phase in the adult. B. Section of the immature stage at 3 weeks after experiment. C. Section of the immature stage in the terminal experiment. Oc: ovarian cavity, Og: oogonia, Ol: ovarian lamellae, Oom: ovarian outer membrane, Poc: previtellogenic oocytes.

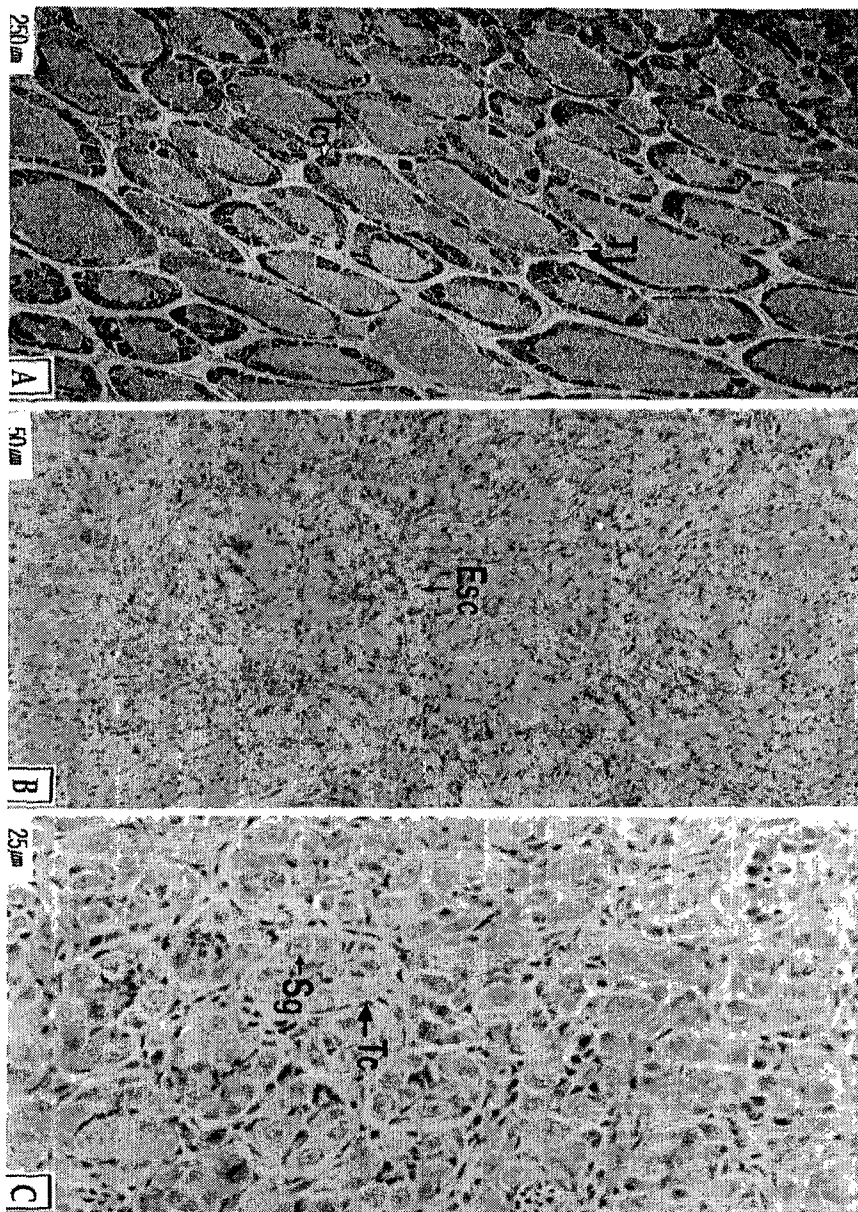


Fig. 5-35. Histology of testis of the flounder, *Paralichthys olivaceus* in the control group. A. Section of the ripe phase in the adult. B. Section of the immature stage at 3 weeks after experiment. C. Section of the immature stage in the terminal experiment. Esc: eosinophilic somatic cell, Sg: spermatogonia, Tc: testicular cyst, Tl: testicular lobule.

(2) 실험구

## (2) 실험구

### (가) 수은 (Hg)

#### 1) 아가미

실험 농도구 가운데 가장 낮은 0.012 ppm/7일 농도구에서는 새판 모세혈관의 팽창과 혈구의 증가가 관찰되었으며 (Fig. 5-36-A), 0.050 ppm/7일 농도구에서는 일부 새판 말단부의 미약한 곤봉화가 나타났다. 그리고 점액세포들은 수적으로 증가되었으며 PAS에 강한 양성반응을 보이므로써 매우 활성화 되어있는 것을 알 수 있었다 (Fig. 5-36-B). 0.028 ppm/14일 농도구에서는 새엽상피층의 비후와 염세포의 활성화가 관찰되었으며 (Fig. 5-36-C), 0.050 ppm/21일 농도구에서는 점액세포와 염세포의 불활성화와 함께 새판 상피층이 두꺼워지는 현상이 나타났다 (Fig. 5-36-D). 노출기간이 길어지면서 0.050 ppm/28 농도구에서는 새판 상피층의 박리가 관찰되었으며 (Fig. 5-36-E), 0.130 ppm/28 농도구에서는 새판 상피층 뿐만 아니라 새엽 기저부의 비후된 상피층 까지도 박리되는 조직상을 보였다 (Fig. 5-36-F).

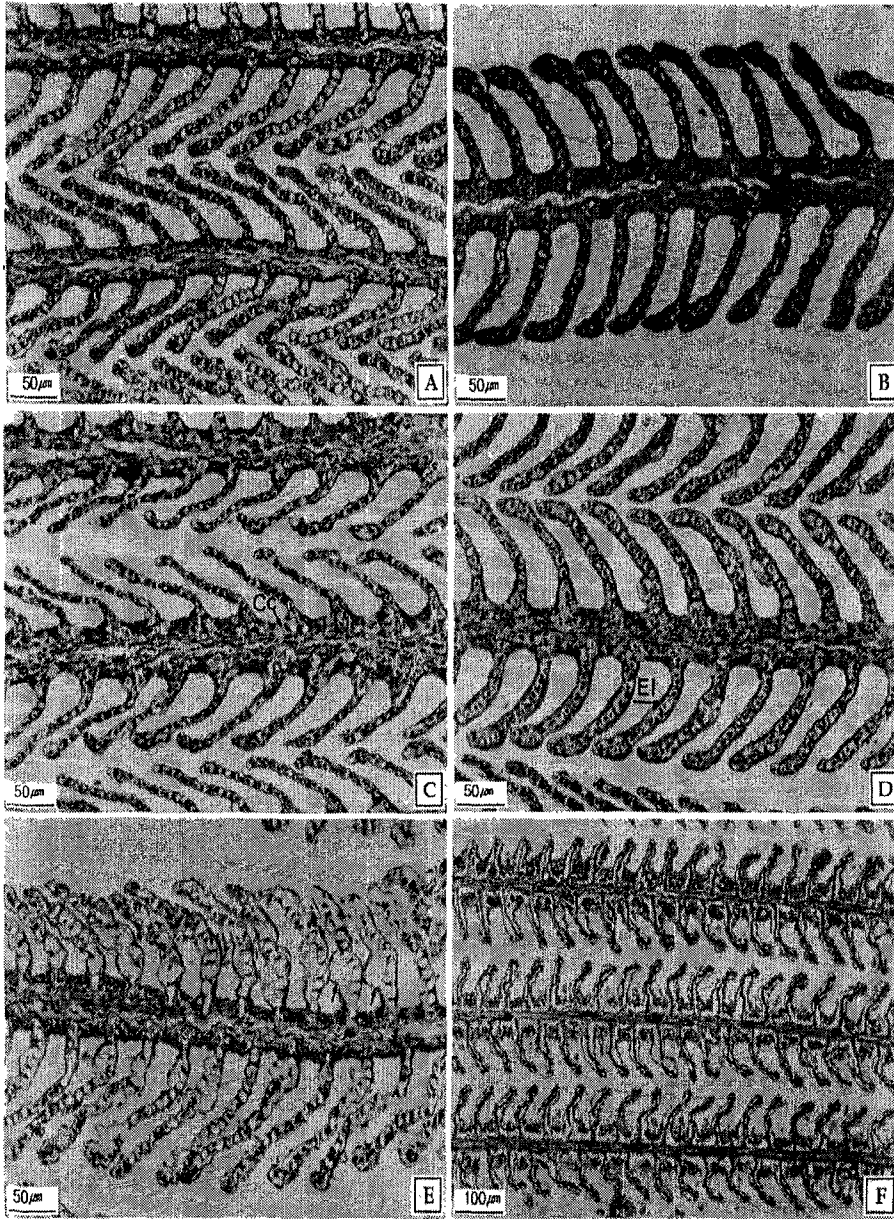
#### 2) 간체장

실험 농도구 가운데 가장 낮은 0.012 ppm/7일 농도구에서는 간세포의 팽창으로 인하여 간세포삭의 구분이 뚜렷하였으며, 간세포삭 사이의 모세혈관에서는 혈구들이 다소 증가된 조직상을 보였다. 하지만 체장조직의 외분비세포에서 효소원과립의 변화양상은 뚜렷하지 않았다 (Fig. 5-37-A). 0.050 ppm/14일 농도구에서는 0.012 ppm/7일 농도구와 마찬가지로 간세포의 팽창과 함께 담관 상피층의 자유면이 alcian blue에 양성반응을 보였으며 체장조직의 효소원과립은 감소된 상태였다 (Fig. 5-37-B). 0.130 ppm/14일 농도구에서는 모세혈관에서 혈구의 증가가 뚜렷하였으며, 간세포의 세포질에서는 혼탁현상이 관찰되는 조직상이 대부분의 개체에서 관찰되었다 (Fig. 5-37-C). 0.280 ppm/21일 농도구에서는 간세포의 세포질에서 과립변성이

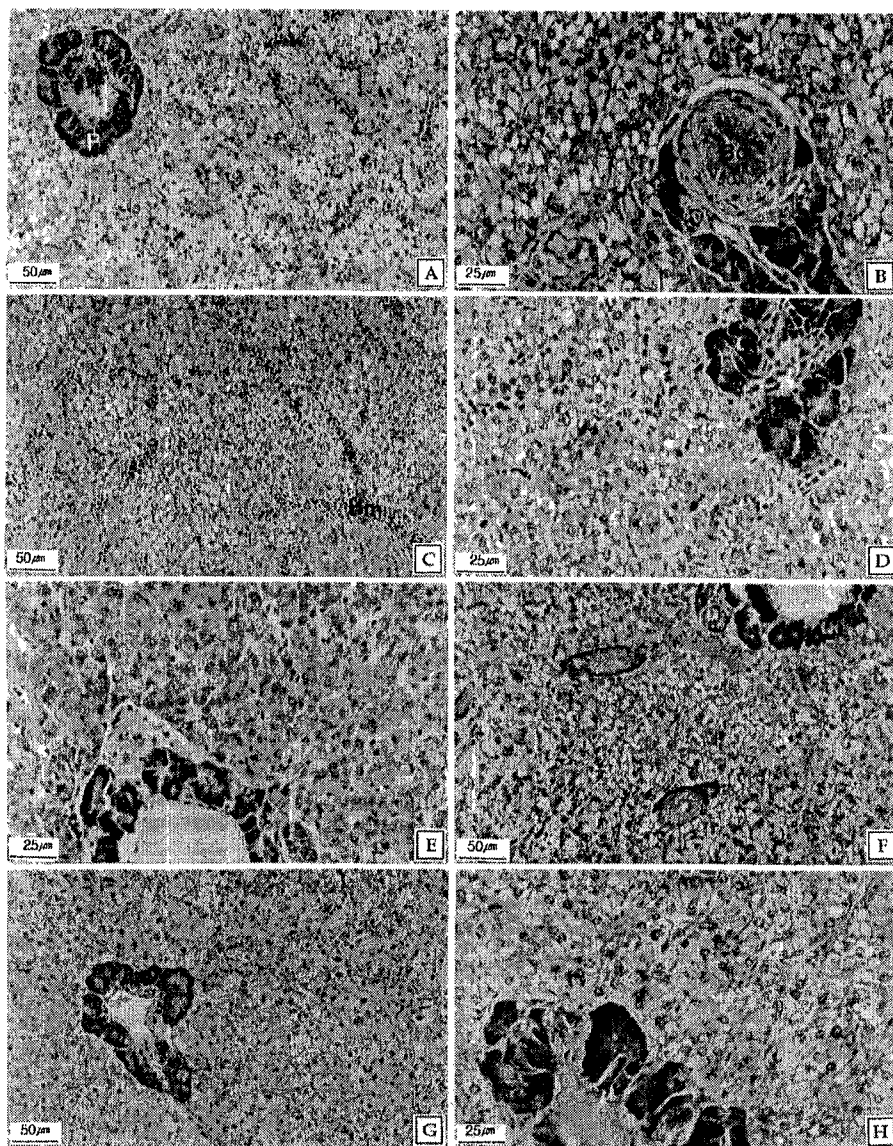
관찰되었으며 (Fig. 5-37-D), 0.050 ppm/21일 농도구에서는 간세포의 과립 변성과 함께 일부 핵응축이 관찰되었으며, 채장조직의 효소원과립이 거의 소실된 상태였다 (Fig. 5-37-E). 하지만 0.050 ppm/28일 농도구에서는 간세포의 뚜렷한 인과 다양한 핵상이 관찰되는 간세포 재생조직상이 대부분 개체에서 나타났다 (Fig. 5-37-F). 그리고 0.130 ppm/35일 농도구 (Fig. 5-37-G)와 0.028 ppm/42일 농도구 (Fig. 5-37-H)에서는 간세포의 활성화와 채장조직의 효소원 과립의 증가가 생존한 모든 개체에서 관찰되었다.

### 3) 신장

0.012 ppm/7일 농도구에서는 사구체의 팽창과 혈구가 증가되므로 신장기능의 활성화를 의미하는 조직상의 변화가 관찰되었으며 (Fig. 5-38-A), 0.050 ppm/7일 농도구에서는 간질조직에서 흑색 대식세포의 출현이 뚜렷하였으며 아울러 세뇨관 상피세포들의 핵의 활성화와 일부 세뇨관 상피층에서는 세포질이 균질한 대형의 호산성 세포들이 관찰되었다 (Fig. 5-38-B). 0.028 ppm/14일 농도구에서는 사구체를 싸고있는 보우만주머니의 비후가 관찰되었으며, AB-PAS (pH2.5) 반응에서 세뇨관 내강쪽의 자유면은 alcian blue에 양성으로 반응하였으나, 세뇨관의 장막부분은 비후 되면서 PAS에 양성반응을 나타내는 조직상이 관찰되었다 (Fig. 5-38-C). 0.050 ppm/21일 농도구 (Fig. 8-D)와 0.130 ppm/21일 농도구 (Fig. 5-38-E)의 개체들은 보우만주머니와 사구체 사이의 내강은 액상물질로 충만되면서 확장되고, 세뇨관에서는 상피세포들의 경계가 불분명해지고 대형의 호산성세포들이 증가되는 조직상을 보였다. 0.012 ppm/35일 농도구 (Fig. 5-38-F)와 0.050 ppm/35일 농도구 (Fig. 5-38-G)에서는 호산성 세포들의 소실과 세뇨관의 조직상이 대조구와 유사한 조직상을 보였다. 0.130 ppm/35일 농도구에서 사망한 개체의 조직상에서는 사구체의 파괴와 간질세포의 핵응축 그리고 세뇨관 내강의 폐쇄 및 상피세포의 핵응축이 관찰되었다 (Fig. 5-38-H).

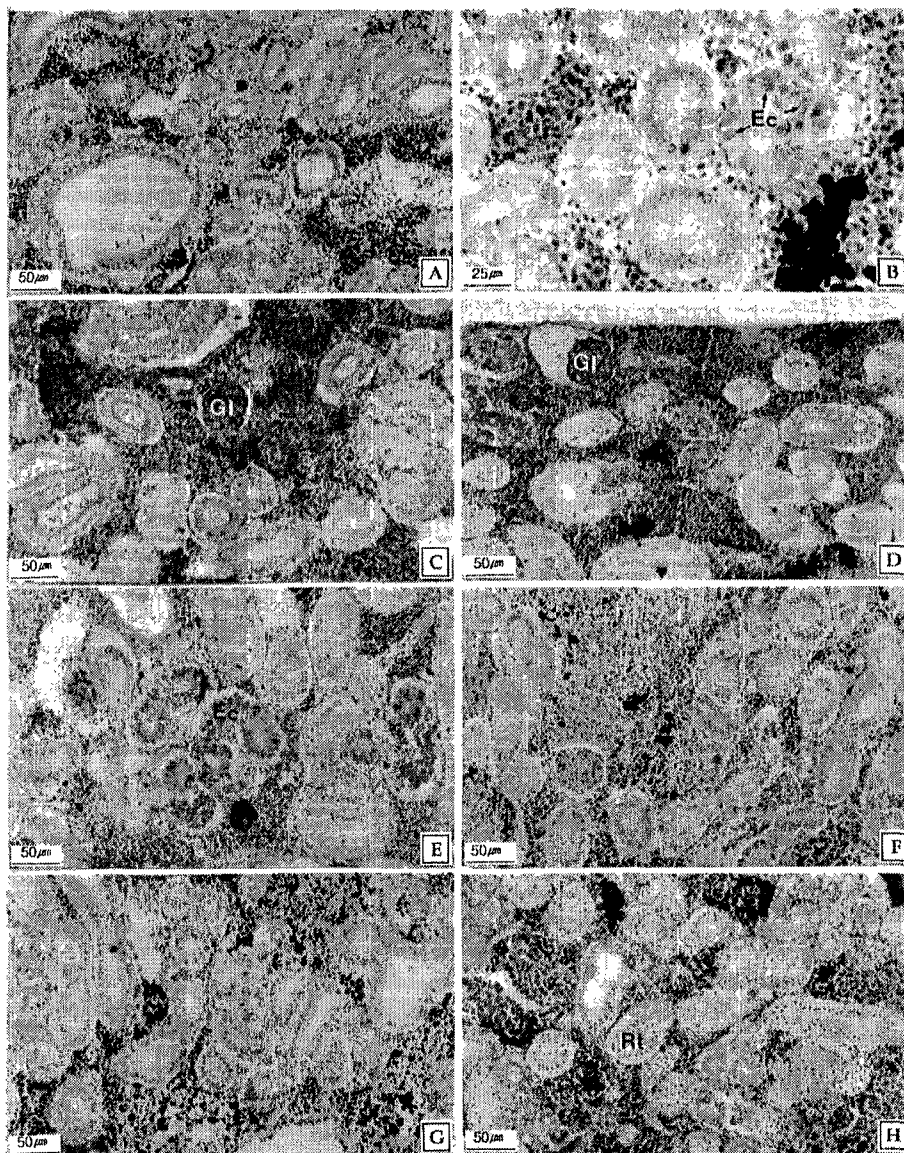


**Fig. 5-36.** Histological changes of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to mercury. A. 7 days in 0.012 ppm. Note the expanded lamella capillary. B. 7 days in 0.050 ppm. Note the activated mucous cells of PAS positive. C. 14 days in 0.028 ppm. Note the activated chloride cells (Cc). D. 21 days in 0.050 ppm. Note the thickening of lamella epithelial layer (El). E. 28 days in 0.050 ppm. Note the lifting (↑) of lamella epithelial layer. F. 28 days in 0.130 ppm.



**Fig. 5-37.** Histological changes of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to mercury. A. 7 days in 0.012 ppm. B. 14 days in 0.05 ppm. AB-PAS section showing the free surface of alcian blue positive in the bile duct (Bd). C. 14 days in 0.13 ppm. Note the increment of hemocytes (Hm) and the cloudy swelling of hepatic cells. D. 21 days in 0.028 ppm. Note the granulation of hepatic cells. E. 21 days in 0.05 ppm. Note the degeneration of zymogen granules. F. 28 days in 0.05 ppm. G. 35 days in 0.13 ppm. Note the regeneration of hepatic cells and zymogen granules. H. 42 days in 0.028 ppm. P: pancreas.





**Fig. 5-38.** Histological changes of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to mercury. A, 7 days in 0.012 ppm. Note the activated glomerulus and abundant hemocytes. B, 7 days in 0.050. Note the numerous eosinophilic cells (Ec). C, 14 days in 0.028 ppm. AB-PAS section showing the activated glomerulus (Gl) and free surface of alcian blue positive in the renal tubules. D, 21 days in 0.050 ppm. E, 21 days in 0.130 ppm. Note the deformation of renal tubules. F, 35 days in 0.012 ppm. G, 35 days in 0.050 ppm. H, 35 days in 0.130 ppm. Section of died individual showing the deformation of glomerulus and pycnosis of renal tubules (Rt).

## (나) 카드뮴 (Cd)

### 1) 아가미

0.21 ppm에서 7일간 노출된 개체들의 아가미 조직상은 새엽 기저부에서 엽세포와 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하는 점액세포들의 증가가 현저하였다 (Fig. 5-39-A). 0.21 ppm/14 농도구에서는 점액세포들이 더욱 활성화되었으며, 새판 상피층이 차츰 비후되는 조직상의 변화가 관찰되었다 (Fig. 5-39-B). 0.45 ppm/14 노출된 농도구와 0.09 ppm/21 노출된 농도구에서는 새판 말단부에서 상피세포들의 증식으로 미약한 곤봉화가 나타났으며, 모세혈관의 확장과 혈구의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-39-C, D). 0.98 ppm에서 21일간 노출된 개체들은 새엽 기저부 상피세포들의 이상증식과 새판 상피층의 비후 및 새판 말단부의 곤봉화 현상을 나타냈다 (Fig. 5-39-E). 0.45 ppm/28 농도구에서는 새판 상피층의 비후와 함께 박리 현상이 관찰되었으며 (Fig. 5-39-F), 0.21 ppm/35 농도구에서는 새판의 심한 만곡과 새엽기저부의 이상증식된 상피층이 박리되는 조직상이 관찰되었다 (Fig. 5-39-G). 0.45 ppm에서 35일째 사망한 개체에서는 새엽과 새판 상피층의 탈락 후 새판의 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 5-39-H).

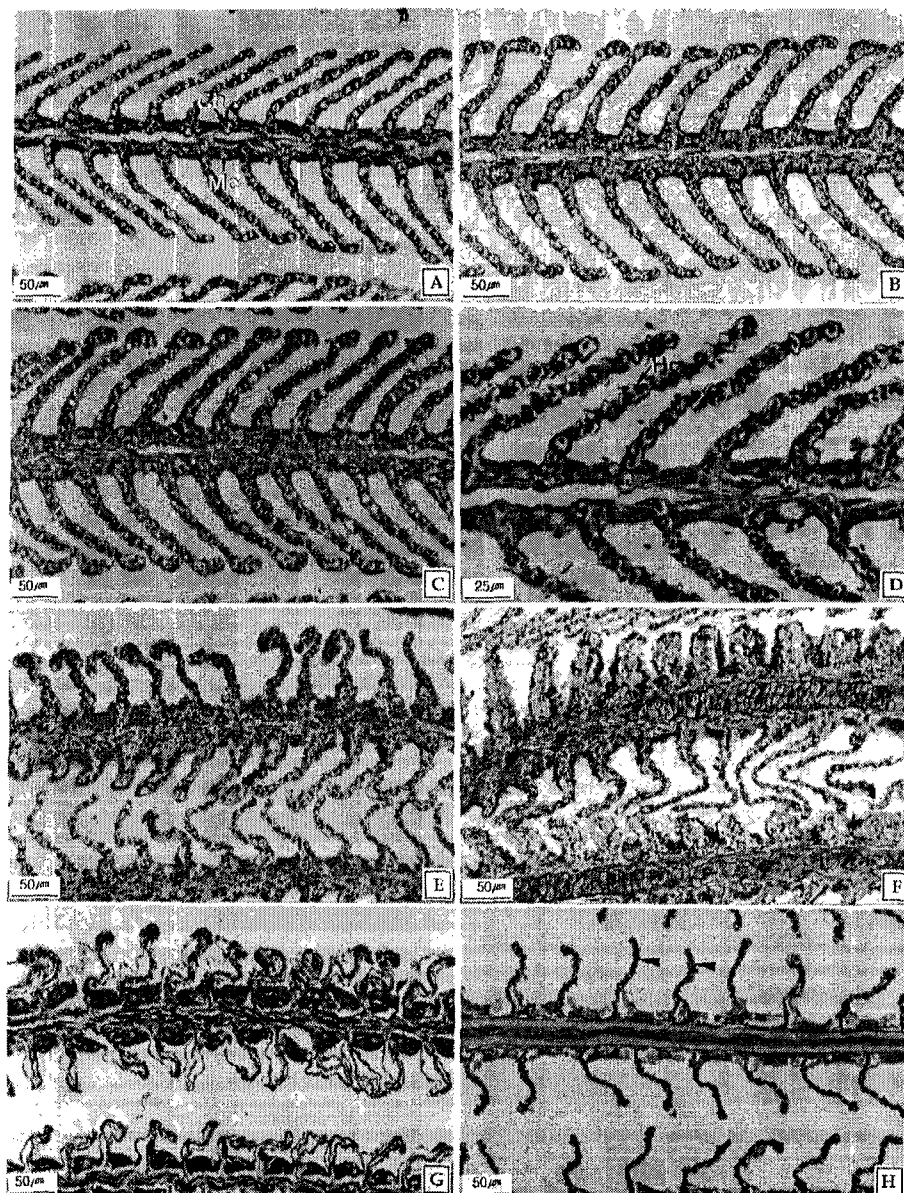
### 2) 간체장

실험 농도구 가운데 가장 낮은 0.09 ppm/7일 농도구에서는 간세포삭 사이의 모세혈관내에서 다수의 혈구가 관찰되었으며, 간세포의 팽창으로 인하여 간세포삭은 뚜렷히 나타났다 (Fig. 5-40-A). 0.09 ppm/21일 농도구에서는 혈구의 대량증식과 체장조직에서 효소원과립의 감소가 관찰되었으며 (Fig. 5-40-C), 0.45 ppm/21일 농도구에서는 체장조직의 효소원과립이 거의 소실된 조직상의 변화를 보였다 (Fig. 5-40-D). 0.98 ppm에서 28일 동안 노출된 개체들의 간체장 조직상은 간세포의 세포질에서 과립변성을 나타냈으며

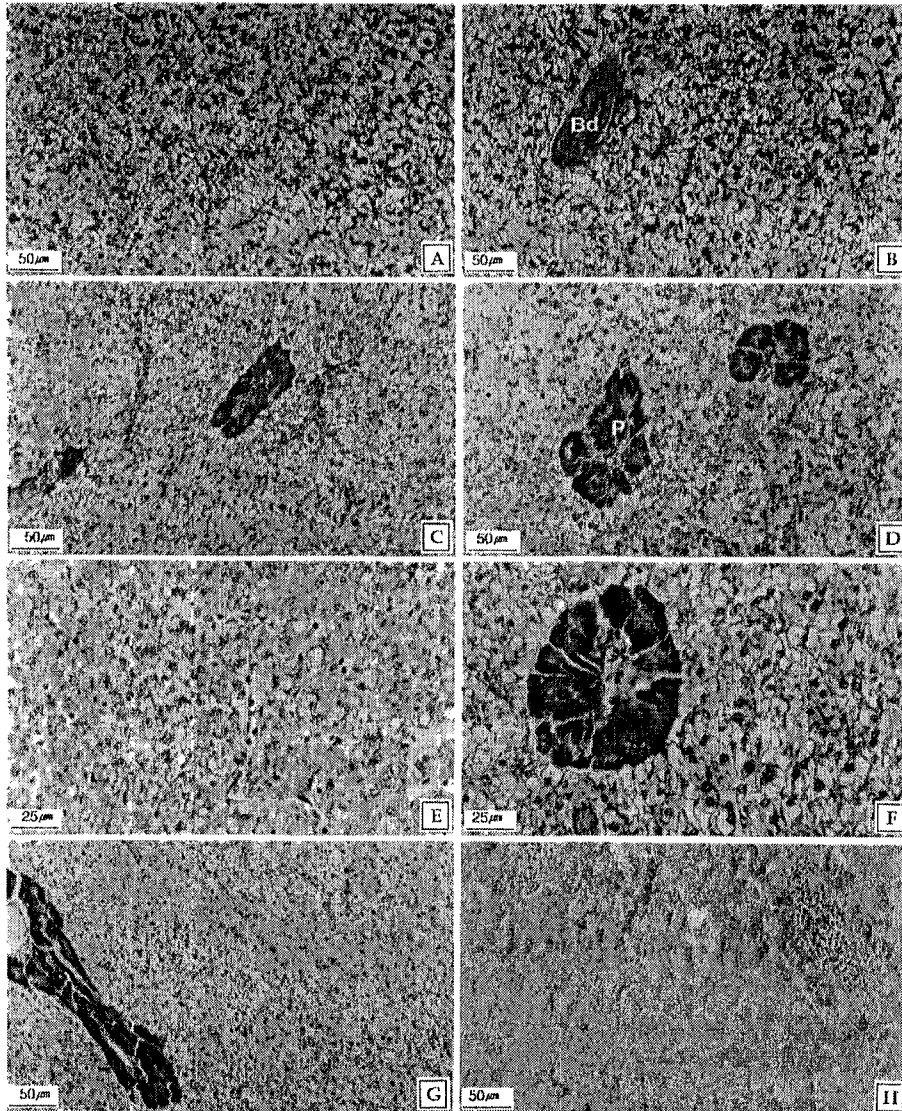
(Fig. 5-40-E), 0.45 ppm에서 35일 동안 노출된 개체들은 간세포의 핵상이 다양하게 나타나는 재생조직상이 관찰되었고 (Fig. 5-40-F), 0.98 ppm/42일 농도구에서는 췌장조직에서 효소원 과립의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-40-G). 그러나 0.45 ppm에서 35일째 사망한 개체의 간에서는 간조직의 거대괴사가 발견되었다 (Fig. 5-40-H).

### 3) 신장

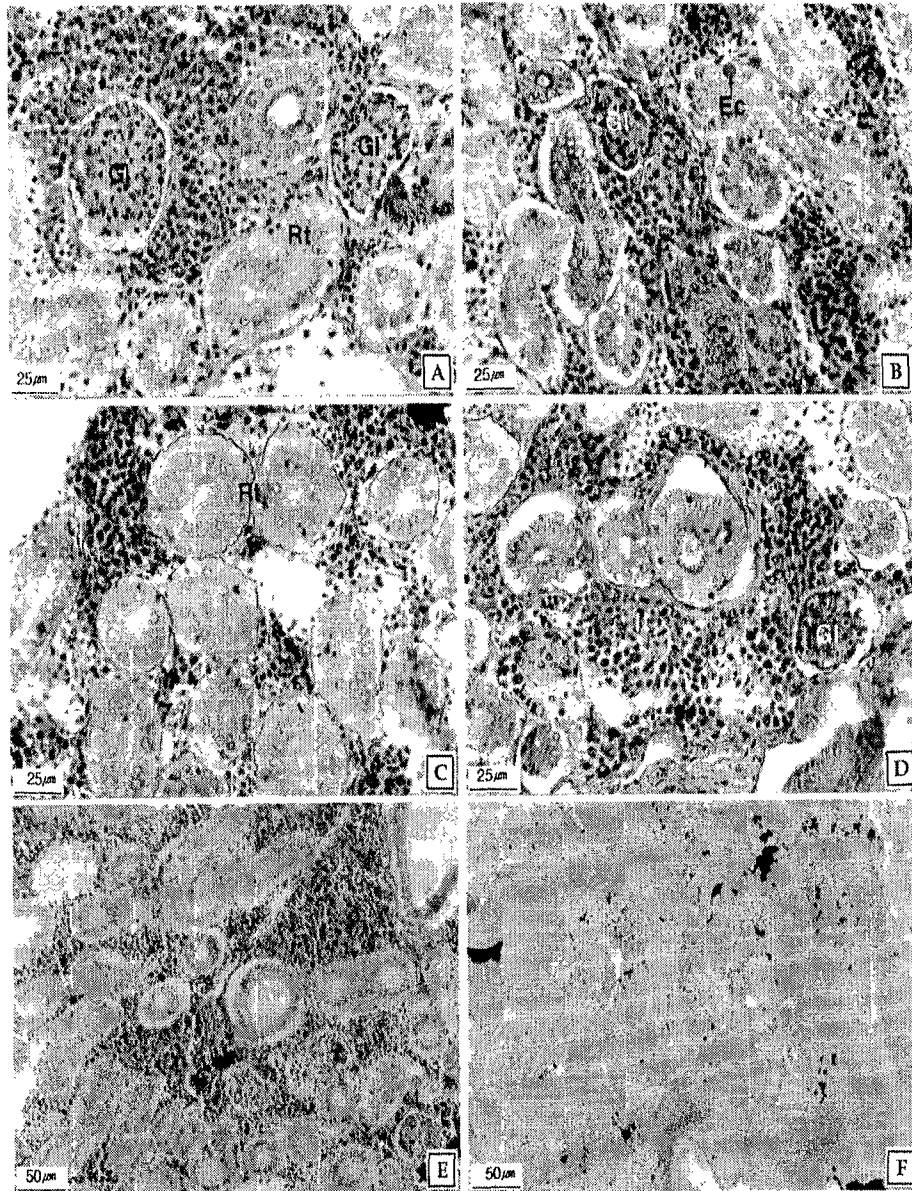
0.99 ppm 농도구에 노출된 개체들의 신장조직상은 14일 후부터 사구체의 확장 및 사구체 내부의 혈구의 증가와 각 세뇨관의 내강 상피층의 정단면이 AB-PAS (pH 2.5)에 청색으로 반응하여 신장의 기능이 활성화되기 시작함을 나타냈다 (Fig. 5-41-A). 0.21 ppm/21일 농도구 개체들의 신장에서는 실험 경과 2주에 관찰되었던 조직상 이외에 세뇨관 내강의 축소 및 세뇨관 주위에 다수의 호산성 세포들이 출현하였다. 사구에는 PAS에 강한 양성반응을 나타냈으며, 일부 간질세포에서 핵응축 현상이 관찰되었다 (Fig. 5-41-B). 0.45 ppm/28일 농도구와 0.45 ppm/35일 농도구 개체들에서는 간질세포들의 핵응축 증가, 세뇨관 상피층의 호산성 세포들의 증가, 세뇨관 내강의 위축, AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하는 세뇨관 장막층의 비후 및 격리 현상이 관찰되었다 (Fig. 5-41-C, D). 0.98 ppm에서 42일 동안 노출된 개체들의 신장에서는 호산성 세포들의 소실과 일부 세뇨관의 내강이 확장되어 있기는 하지만 대부분의 세뇨관은 폐쇄되거나 변형 또는 소실되어 있으며, 사구체의 파괴와 간질세포들의 핵응축이 심화된 조직상을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5-41-E). 0.45 ppm에서 36일째 사망한 개체의 신장조직은 여러 곳에서 흑색 대식세포들의 출현과 집중괴사현상을 나타냈다 (Fig. 5-41-F).



**Fig. 5-39.** Histological changes of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to cadmium. A. 7 days in 0.21 ppm. Note the activated chloride cell (Ch) and mucous cell (Mc). B. 14 days in 0.21 ppm. C. 14 days in 0.45 ppm. Note the increment of hemocytes (Hc). D. 21 days in 0.09 ppm. E. 21 days in 0.98 ppm. Note the terminal clubbing of the lamellae. F. 28 days in 0.45 ppm. Note the lifting of epithelial layer. G. 35 days in 0.21 ppm. H. 35 days in 0.45 ppm. Section of died individual showing the absence of epithelial layer (◄).



**Fig. 5-40.** Histological changes of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to cadmium. A. 7 days in 0.09 ppm. Note the increment of hemocytes and the swelling of hepatic cells. B. 14 days in 0.21 ppm. AB-PAS section showing the free surface of alcian blue positive in the bile duct (Bd). C. 21 days in 0.09 ppm. D. 21 days in 0.45 ppm. Note the degeneration of zymogen granules in the pancreas (P). E. 28 days in 0.98 ppm. Note the cytoplasmic granulation of hepatic cells. F. 35 days in 0.45 ppm. Note the regeneration of hepatic cells. G. 42 days in 0.98 ppm. Note the regeneration of zymogen granules in the pancreas. H. 35 days in 0.45 ppm. Section of died individual showing the massive necrosis.



**Fig. 5-41.** Histological changes of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to cadmium. A. 14 days in 0.09 ppm. Note the activated glomerulus (Gl) and free surface of alcian blue positive in the renal tubules (Rt). B. 21 days in 0.21 ppm. Note the numerous eosinophilic cells (Ec). C. 28 days in 0.45 ppm. AB-PAS section showing the melano macrophagocytotic cells and basal membrane of PAS positive in the renal tubules. D. 35 days in 0.45 ppm. Note the deformation of renal tubules. E. 42 days in 0.98 ppm. F. 36 days in 0.45 ppm. Section of died individual.

## (다) 구리 (Cu)

### 1) 아가미

0.05 ppm의 구리 농도구에서 7일 동안 노출된 개체들의 아가미 조직상에서는 대조구와 비교해 볼 때 새엽 상피층에서 염세포의 증가 및 활성화가 관찰되었다 (Fig. 5-42-A). 그 후 0.05 ppm에서 14일 동안 노출된 개체에서는 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응한 점액세포들이 새엽 상피층에서 증가된 양상을 보였다 (Fig. 5-42-B). 0.08 ppm/14일 농도구에서는 새엽 상피세포들의 증식과 새판 모세혈관 내에서 혈구의 증가가 관찰되었으며 (Fig. 5-42-C), 0.05 ppm/21일 농도구에서는 새판 말단부에서 미약한 곤봉화와 함께 새판 상피층의 비후가 관찰되었다. 그리고 0.05 ppm/21 농도구에서 또 한가지 특이할 사항은 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 상당수의 점액세포들이 alcian blue에 양성으로 반응하여 청색으로 나타났는데 이는 점액의 성상이 중성에서 산성으로 전환되었음을 의미하는 것이다 (Fig. 5-42-D). 0.18 ppm/21일 농도구에서는 새엽 상피층의 비후가 심화되었고 염세포들은 변성된 조직상을 보였다 (Fig. 5-42-E). 0.32 ppm/21일 농도구와 0.32 ppm/28일 농도구에서는 새엽 상피층의 이상증식된 상피세포들과 새판 상피층의 박리가 관찰되었다 (Fig. 5-42-F, G). 0.05 ppm/42일 농도구에서는 곤봉화를 나타내는 각 새판말단부가 서로 융합되어 있었으며 (Fig. 5-42-H), 0.18 ppm에서 6주 동안 노출된 개체들에서는 새판의 융합, 변형 및 파괴가 관찰되어 아가미 고유의 기능을 상실된 것으로 판단되는 조직상이 나타났다 (Fig. 5-42-I).

### 2) 간체장

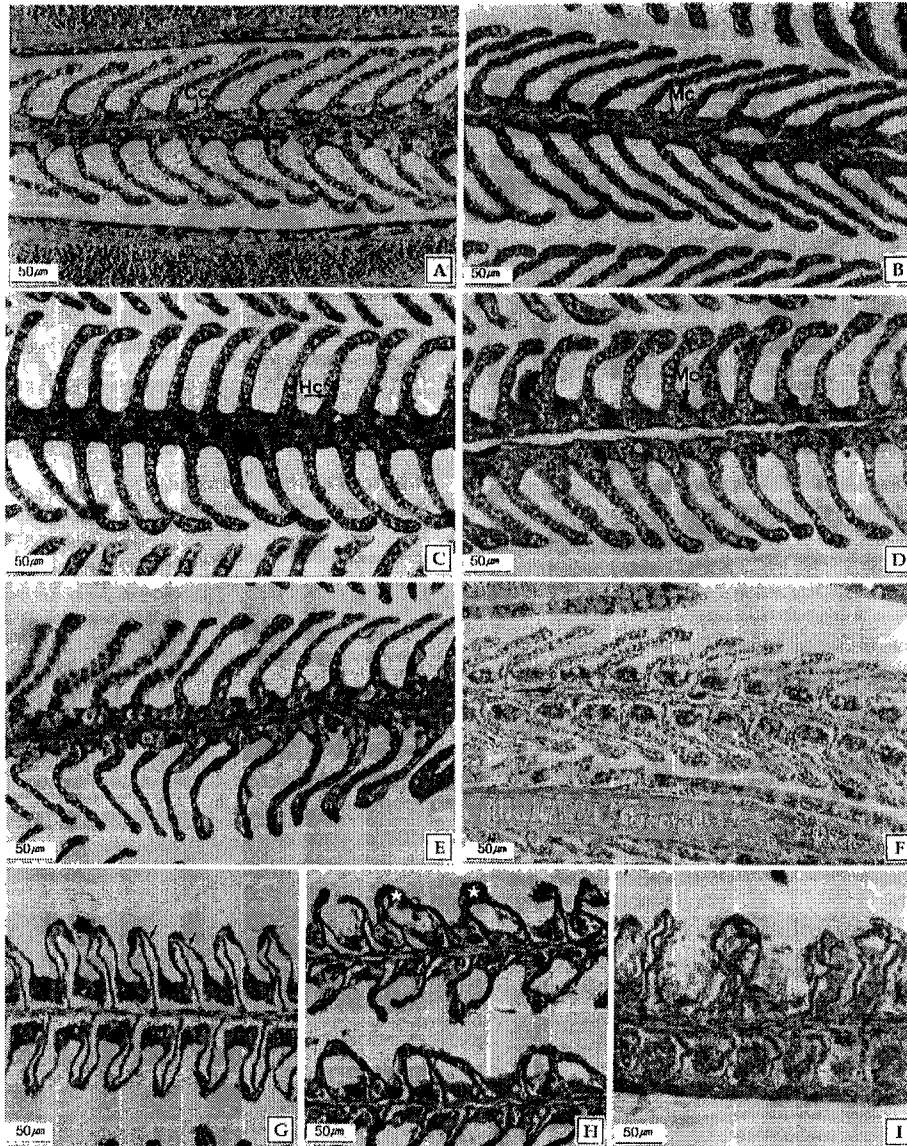
실험 농도구 가운데 가장 낮은 0.05 ppm에서 7일 동안 노출된 개체들의 간체장 조직은 간세포의 활성화와 체장 효소원과립의 감소를 나타냈다 (Fig. 5-43-A). 0.08 ppm/7일 농도구에서는 담관 내강의 자유면이 AB-PAS (pH 2.5)

반응에서 청색을 나타냈으며 (Fig. 5-43-B), 0.08 ppm/14일 농도구 개체들의 간조직에서는 모세혈관내의 혈구 증가와 흑색 대식세포들의 무리가 관찰되었다 (Fig. 5-43-C). 0.18 ppm에서 14일간 노출된 개체들에서는 일부 간세포의 핵응축과 간세포 세포질의 혼탁 현상, 담관 장막 주변의 흑색 대식세포군의 응집 그리고 췌장의 효소원과립이 거의 소실된 조직상이 나타났으며(Fig. 5-43-D), 0.32 ppm/14일 농도구에서는 간세포의 세포질에서 과립변성이 관찰되었다(Fig. 5-43-E). 0.18 ppm/21일 농도구에서는 간세포의 모세혈관의 팽창과 혈구의 증가가 나타났으며, 췌장조직에서는 효소원과립의 증가가 관찰되었다(Fig. 5-43-F). 0.18 ppm/35일 농도구와 0.32 ppm/42일 농도구에서는 간세포의 활성화와 전 단계에 비해 혈구의 감소가 관찰되었다(Fig. 5-43-G, H).

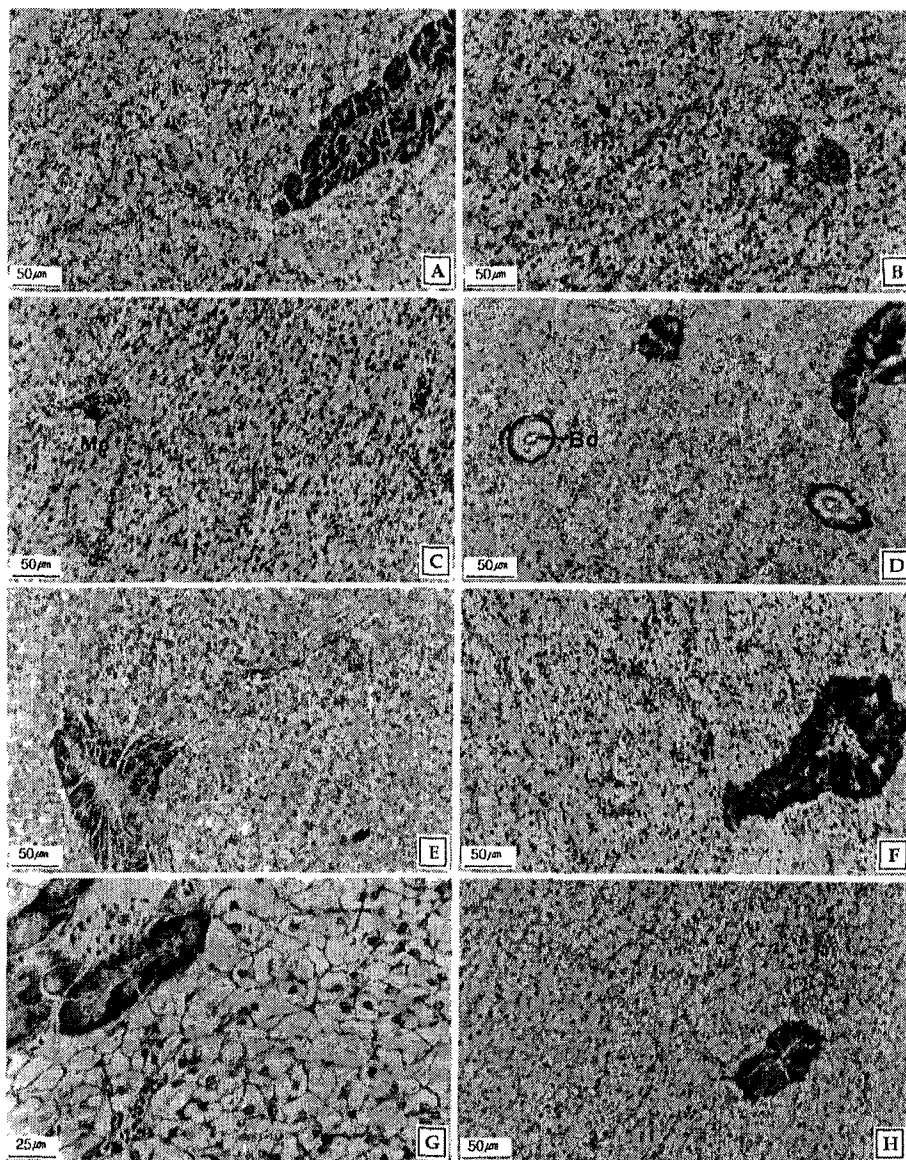
### 3) 신장

0.05 ppm의 구리 농도구에서 7일간 노출된 개체들의 신장에서는 혈구의 대량증가와 흑색 대식세포군의 다량 출현이 관찰되었다 (Fig. 5-44-A). 0.05 ppm/14일 농도구의 신장 조직에서는 혈구의 증가와 흑색 대식세포군의 출현과 함께 세뇨관 상피층에서 호산성 세포들의 출현이 관찰되었다 (Fig. 5-44-B). 0.08 ppm에서 14일 동안 노출된 개체들은 신장 간질조직의 일부 핵응축과 세뇨관 상피층의 내강쪽에서 보였다 (Fig. 5-44-C). 0.32 ppm/14일 농도구와 0.18 ppm/21일 농도구에서 사구체는 매우 활성화되어 있었으며, 상당수의 세뇨관 내강은 폐쇄되어 있었다 (Fig. 5-44-D, E). 0.08 ppm에서 28일 동안 노출된 개체에서는 일부 신장 간질조직에서 핵응축과 혈구의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-44-F). 0.18 ppm의 농도구에서 35일간 노출된 개체들의 세뇨관 상피층은 alcian blue에 약하게 반응하다가 (Fig. 5-44-G), 0.18 ppm/42일 농도구에서는 alcian blue에 음성반응을 나타냈으며, 세뇨관 내강도 열리는 조직상이 관찰되어 (Fig. 5-44-H) 신장 조직의 회복 가능성을 시사하고 있었다.

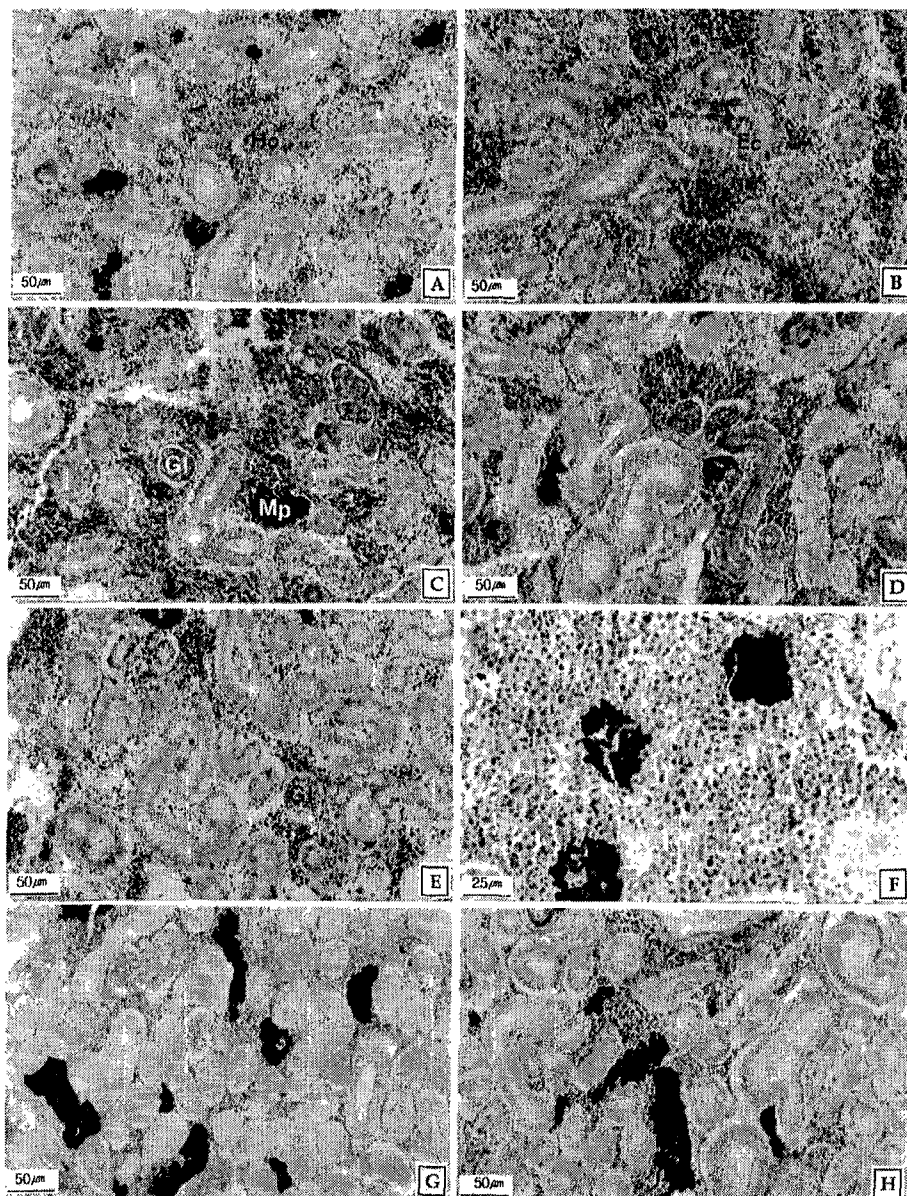




**Fig. 5-42.** Histological changes of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. A. 7 days in 0.05 ppm. Note the activated chloride cells (Cc). B. 14 days in 0.05 ppm. Note the activated mucous cells (Mc) of PAS positive. C. 14 days in 0.08 ppm. Note the hyperplasia of filament epithelial cells and increment of hemocytes (Hc). D. 21 days in 0.05 ppm. Note the mucous cells of alcian blue positive. E. 21 days in 0.18 ppm. F. 21 days in 0.32 ppm. G. 28 days in 0.32 ppm. Note the lifting (↑) of epithelial layer. H. 42 days in 0.05 ppm. Note the terminal clubbing and fusion (☆) of gill lamellae. I. 42 days in 0.18 ppm.



**Fig. 5-43.** Histological changes of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. A. 7 days in 0.05 ppm. Note the swelling of hepatic cells and the degeneration of zymogen granules. B. 7 days in 0.08 ppm. AB-PAS section showing the free surface of alcian blue positive in the bile duct (Bd). C. 14 days in 0.08 ppm. Note the melano macrophagocytotic cells (Mp). D. 14 days in 0.18 ppm. Note the cloudy swelling and pycnosis of hepatic cells. E. 14 days in 0.32 ppm. Note the granulation of hepatic cells. F. 21 days in 0.18 ppm. Note the regeneration of zymogen granules. G. 35 days in 0.18 ppm. Note the regeneration of hepatic cells. H. 42 days in 0.32 ppm.



**Fig. 5-44.** Histological changes of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. A. 7 days in 0.05 ppm. Note the melano macrophagocytotic cells (Mp) and increment of hemocytes (Hc). B. 14 days in 0.05 ppm. Note the numerous eosinophilic cells (Ec). C. 14 days in 0.08 ppm. Note the activated glomerulus (Gl). D. 14 days in 0.32 ppm. E. 21 days in 0.18 ppm. F. 28 days in 0.08 ppm. H-E section showing the abundance of hemocyte in the interstitial tissue. G. 35 days in 0.18 ppm. H. 42 days in 0.18 ppm.

## (라) Phenol

### 1) 아가미

Phenol에 노출된 개체들의 아가미 조직상은 0.58 ppm/7일 농도구 부터 뚜렷한 변화양상을 나타냈는데, 이때 주로 관찰되는 조직학적 변화양상은 새판의 만곡과 새엽 기저부의 점액세포와 염세포의 증가였다 (Fig. 5-45-A). 0.96 ppm/14일 농도구에서는 일부 새판의 말단부 곤봉화 현상이 뚜렷이 관찰되었으며 (Fig. 5-45-B), 0.96 ppm/21일 농도구에서는 새엽 기저부 상피세포들의 증식과 일부 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 청색으로 반응하여 이때부터 점액의 성상은 중성에서 산성으로 전환됨을 알 수 있었다 (Fig. 5-45-C). 1.61 ppm/28일 농도구의 개체들에서는 대부분 새판의 말단부 곤봉화가 심하게 진행되어 있었으며 (Fig. 5-45-D), 2.80 ppm/35일 (Fig. 5-45-E) 과 1.61 ppm/42일 (Fig. 5-45-F) 농도구에서는 일부 새판에서 상피층의 박리 현상, 곤봉화의 심화 및 산성점액세포들의 증가된 양상을 보였다.

### 나) 간체장

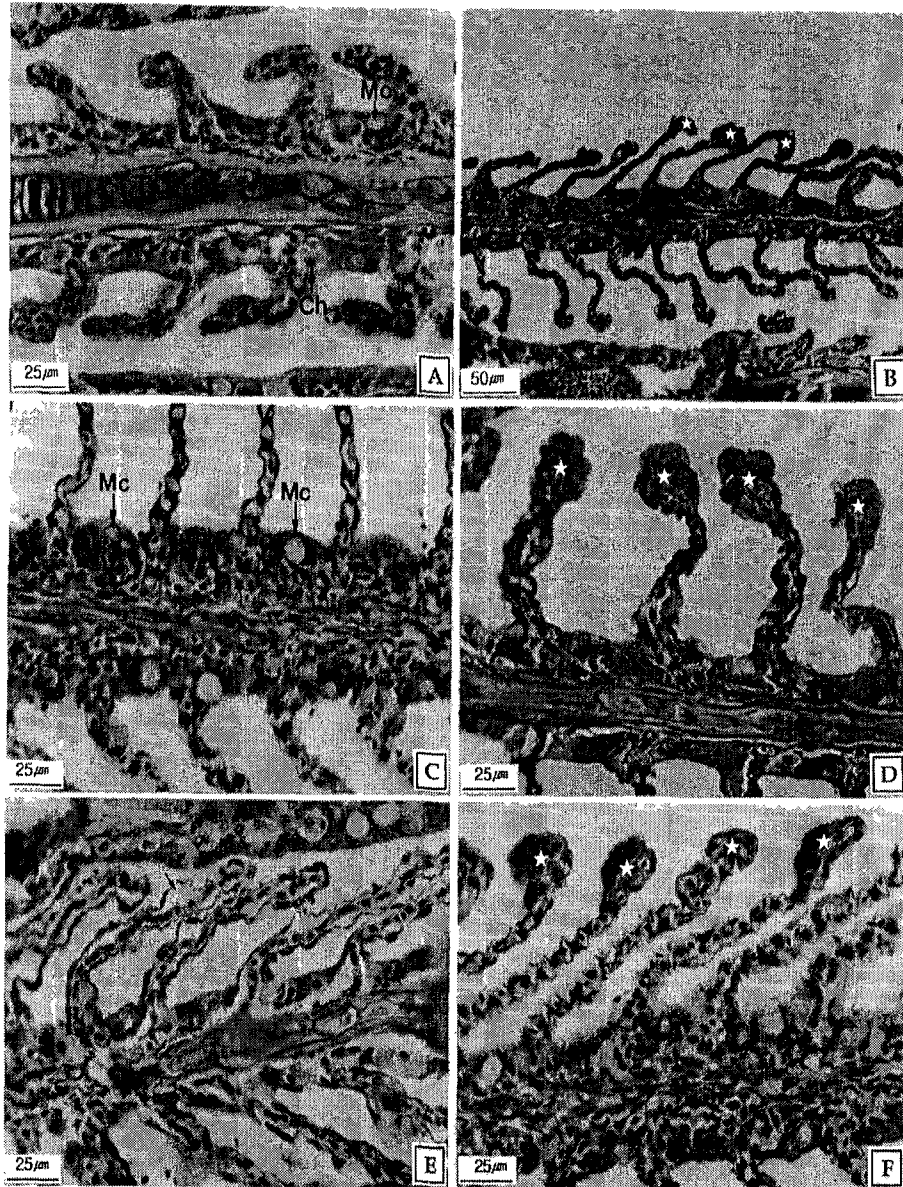
phenol 농도구 가운데 가장 낮은 0.58 ppm/7일 농도구에서 간체장의 조직학적인 초기 변화양상은 혈구의 증가, 간세포 세포질의 팽창 및 체장조직에서의 효소원과립의 감소였다 (Fig. 5-46-A). 1.61 ppm/7일 농도구와 1.61 ppm/14일 농도구에서 간세포 세포질은 차츰 불투명해지며, 대식세포군이 관찰되었다 (Fig. 5-46-B, C). 2.80 ppm/21일 농도구에서는 간세포의 세포질이 혼탁현상을 보였으며, 담관 상피층의 자유면은 alcian blue에 양성반응을 보였다 (Fig. 5-46-D). 2.80 ppm/28일 농도구와 1.61 ppm/35일 농도구에서는 간세포의 세포질은 차츰 투명해지며, 핵상은 다양해지는 재생 양상이 관찰되었다 (Fig. 5-46-E, F). 2.80 ppm/35일 농도구 농도구에서 간조직상은 대조구와 유사해지는 경향을 보였으며, 체장조직에서는 효소원과립의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-46-G, H).

#### 다) 신장

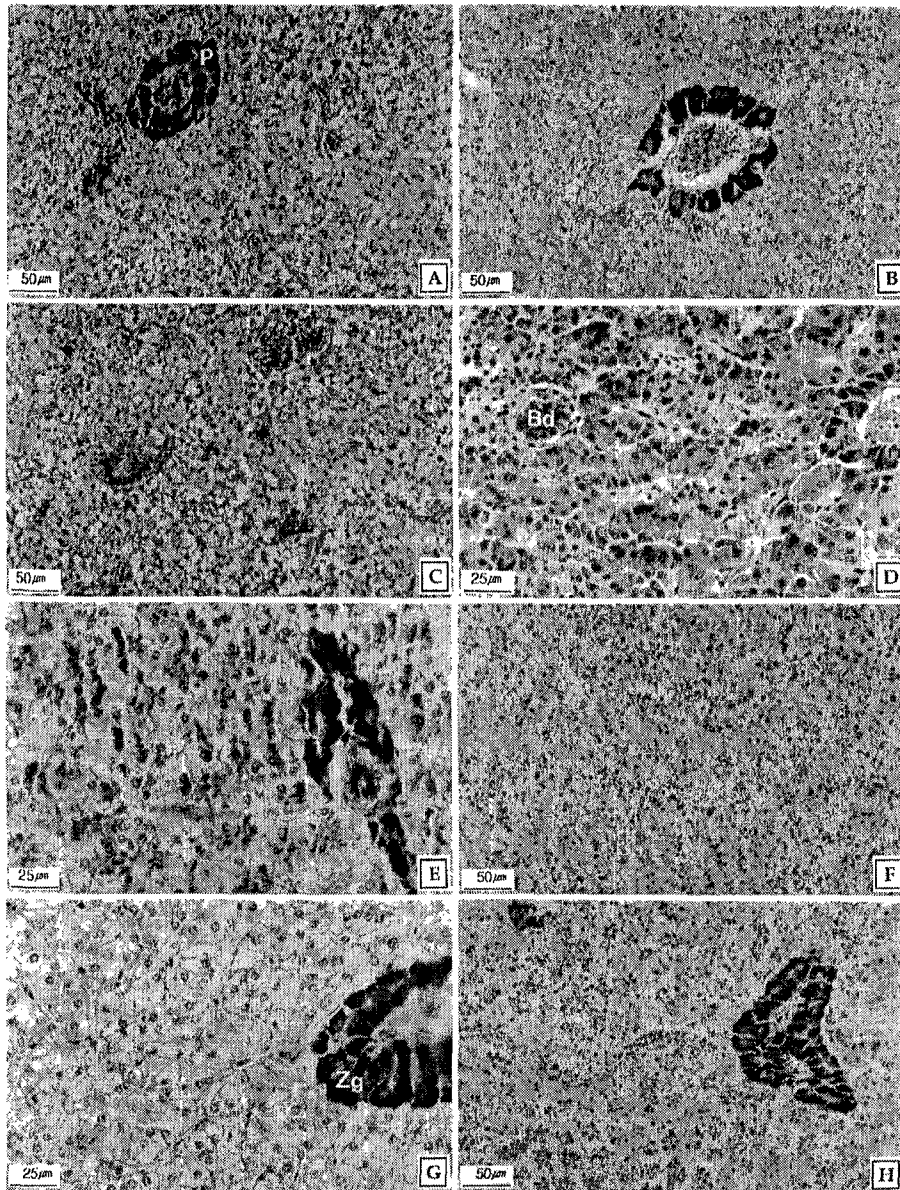
0.58 ppm 농도구에 노출된 개체들의 신장 조직상은 7일째 뚜렷한 변화양상을 나타냈다. 이때 주로 관찰되는 조직상은 간질조직에서 혈구의 증가와 흑색 대식세포군의 출현이었다 (Fig. 5-46-A). 0.96 ppm/14일 농도구에서는 사구체의 확장 및 각 세뇨관의 내강 상피층이 AB-PAS (pH 2.5)에 청색으로 반응하였으며, 세뇨관 상피층에서 호산성 세포가 관찰되었다 (Fig. 5-46-B). 1.61 ppm/21일 농도구에서는 호산성 세포들의 증가가 관찰되었으며 (Fig. 5-46-C), 2.80 ppm/28일 농도구에서는 간질세포들과 세뇨관 상피세포들의 핵응축 현상과 세뇨관 내강의 폐쇄가 나타났다 (Fig. 5-46-D). 2.80 ppm/35일 농도구에서는 세뇨관과 사구체의 변형과 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 5-46-E, F).

#### 라) 생식소

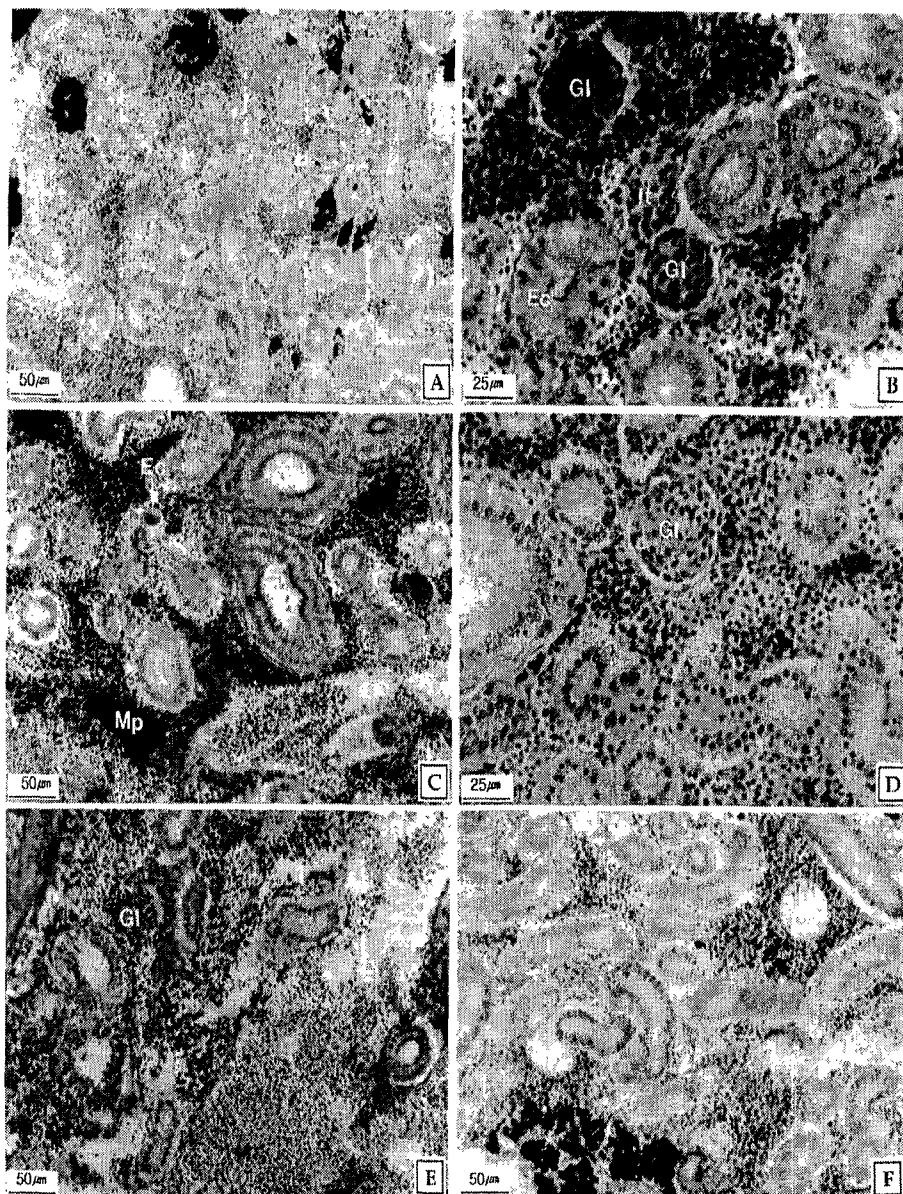
Phenol에 노출된 개체들의 난소와 정소는 외형적으로는 대조구 및 TBTO에 노출된 개체들과 마찬가지로 동쪽 체벽에 난소간막 및 정소간막에 싸여 있으며, 각각은 아직 미발달된 상태로 모두 선상의 형태를 보여 외형적으로 난소와 정소를 구분하기는 힘든 상태였다. Phenol 1.61 ppm의 농도구에 21일 동안 노출된 개체의 난소외막, 난소박판 및 난원세포의 분포정도는 대조구와 매우 유사하게 나타났다 (Fig. 5-47-A). 1.61 ppm의 농도구에 42일 동안 노출된 개체들의 난소박판의 발달상은 유사하였으나 난소박판 내부에서 관찰되는 난원세포들과 난황형성전의 난모세포들의 대부분은 변성된 상태였다 (Fig. 5-47-B). 1.61 ppm의 농도구에 21일 동안 노출된 개체들의 정소조직상은 정원세포들의 분포 정도와 A형 체세포들의 출현 정도에서 대조구와 유사하였다 (Fig. 5-47-C). 하지만 1.61 ppm의 농도구에 42일 동안 노출된 개체들의 정소조직상에서 정원세포의 분포정도는 대조구 보다 훨씬 낮았으며, 정소소낭 구조도 관찰되지 않았다 (Fig. 5-47-D).



**Fig. 5-45.** Histological changes of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol. A. 7 days in 0.58 ppm. Note the curvature of gill lamellae and the numerous chloride cells (Ch). B. 14 days in 0.96 ppm. Note the terminal clubbing (☆) of the lamellae. C. 21 days in 0.96 ppm. Note the hyperplasia of the epithelial cells and mucous cell (Mc) of alcian blue positive. D. 28 days in 1.61 ppm. Note the expended terminal clubbing. E. 35 days in 2.80 ppm. Note the lifting (↑) of epithelial layer. F. 42 days in 1.61 ppm.

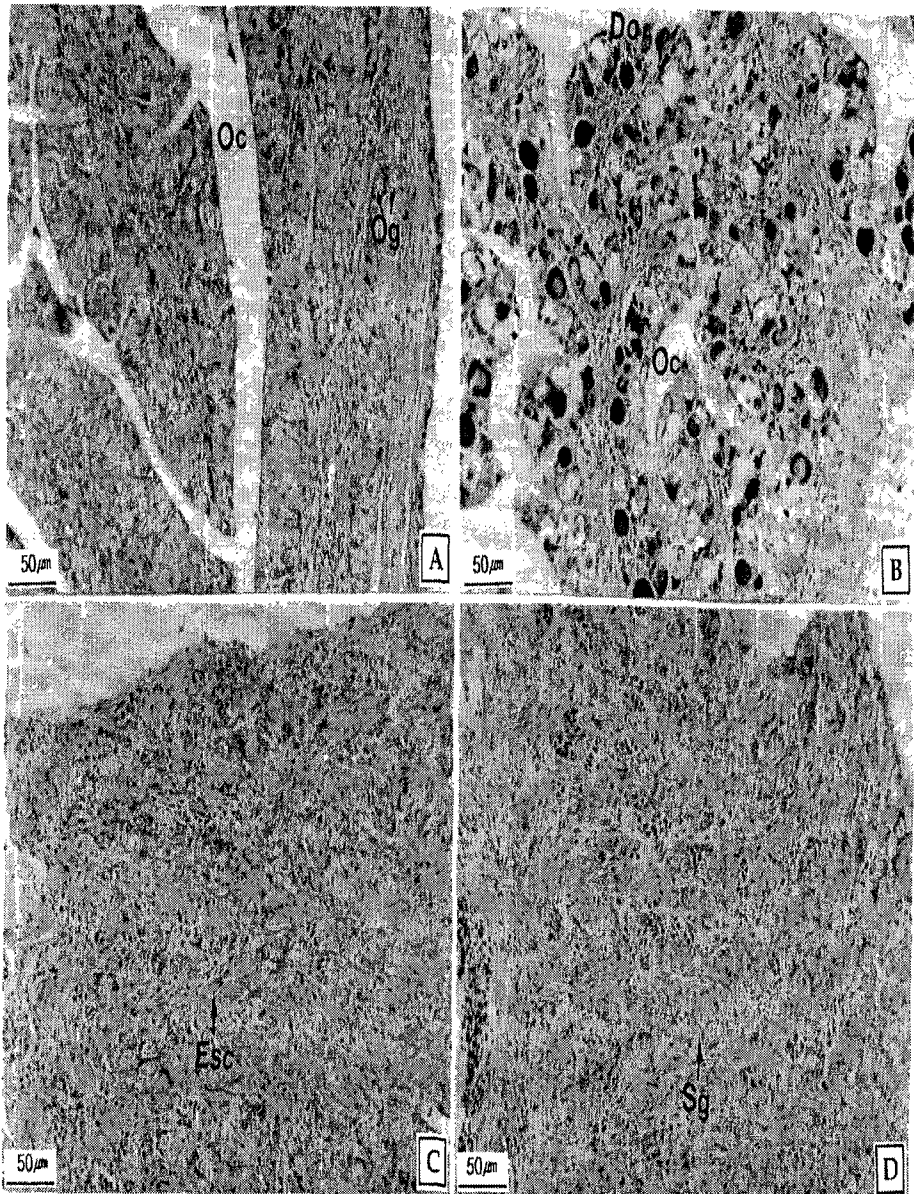


**Fig. 5-46.** Histological changes of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol. A. 7 days in 0.58 ppm. Note the increment of hemocytes. B. 7 days in 1.61 ppm. C. 14 days in 1.61 ppm. Note the macrophagocytotic cells. D. 21 days in 2.80 ppm. Note the cytoplasmic granulation. E. 28 days in 2.80 ppm. AB-PAS section showing the free surface of alcian blue positive in the bile duct (Bd). F. 35 days in 1.61 ppm. G. 35 days in 2.80 ppm. Note the regeneration of zymogen granules (Zg) in the pancreas (P). H. 42 days in 2.80 ppm.



**Fig. 5-47.** Histological changes of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol. A. 7 days in 0.58 ppm. Section showing the increment of hemocyte and melano macrophagocytotic cells (Mp). B. 14 days in 0.96 ppm. Note the activated glomerulus (Gl) and free surface of alcian blue positive in the renal tubules. C. 21 days in 1.61 ppm. Note the numerous eosinophilic cells (Ec). D. 28 days in 2.80 ppm. Note the pycnosis of interstitial cells. E. 35 days in 2.80 ppm. Note the deformation of renal tubules. F. 42 days in 2.80 ppm. Note the deformation of glomerulus.





**Fig. 5-48.** Histological changes of gonad of the immature flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to phenol. A. Ovary of exposed to 21 days in 1.61 ppm. B. Ovary of exposed to 42 days in 1.61 ppm. C. Testis of exposed to 21 days in 1.61 ppm. D. Testis of exposed to 42 days in 1.61 ppm. Do: degenerated oocyte, Esc: eosinophilic somatic cell, Oc: ovarian cavity, Og: oogonia, Sg: spermatogonia.

(마) TBTO

1) 아가미

TBTO 0.60 ppb 농도에서 7일 동안 노출된 개체들의 아가미 조직상에서는 주로 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하는 다수의 점액세포들이 관찰되었다 (Fig. 5-49-A). 1.67 ppb/14일 농도구에서 관찰되는 조직학적 변화양상은 활성화된 염세포들의 증가였다 (Fig. 5-49-B). 3.20 ppb/14일 농도구와 3.20 ppb/21일 농도구에서는 새판 말단부의 미약한 곤봉화 현상과 새엽 상피층의 비후가 관찰되었다 (Fig. 5-49-C, D). 6.30 ppb/21일 농도구에서는 새판 모세혈관내에 혈구가 증가된 조직학적 변화를 나타냈으며 (Fig. 5-49-E), 3.20 ppb/28일 농도구에서는 새판의 만곡과 변성된 다수의 염세포들이 새엽 상피층에서 관찰되었다 (Fig. 5-49-F). TBTO 12.50 ppb에서 35동안 노출된 개체들의 아가미 조직상에서는 주로 새판 상피층의 박리가 관찰되었다 (Fig. 5-49-G). 그리고 12.50 ppb에서 35일째 사망한 개체에서는 아가미의 기능이 불가능 할 것으로 판단되는 새엽과 새판 상피층의 탈락 및 새판의 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 5-49-H).

2) 간체장

TBTO 실험 농도구 가운데 가장 낮은 0.36 ppb에서 7일 동안 노출된 개체들의 간체장에서는 주로 간세포의 활성화와 혈구의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-50-A). 0.60 ppb/14일 농도구에서는 흑색 대식세포군이 관찰되었으며 (Fig. 5-50-B), 3.20 ppb/21일 농도구에서는 체장조직에서 효소원과립의 급격한 감소가 나타났으며 (Fig. 5-50-C), 0.36 ppb/28일 농도구에서 간체장은 간세포색이 불분명해지며, 담관의 장막은 비후되고 AB-PAS (pH 2.5)반응에서 적색으로 반응하였으며, 담관의 상피층 자유면은 alcian blue에 양성반응을 보였다 (Fig. 5-50-D). 6.30 ppb/28일 농도구에서 간조직상은 일

부 간세포에서 핵응축이 관찰되었으며, 대부분의 간세포는 세포질 혼탁 및 과립변성을 나타냈다 (Fig. 5-50-E). 3.20 ppb/35일 농도구에서는 간세포의 활성화와 체장 조직에서 효소원과립의 출현이 관찰되었으며 (Fig. 5-50-F), 6.30 ppb/35일 농도구에서는 모세혈관내에서 혈구의 증가와 체장 조직에서 효소원과립의 증가가 관찰되었다 (Fig. 5-50-G). 12.50 ppb/42일 농도구에서는 간세포사의 명확과 체장 효소원과립의 양 등에서 대조구와 유사한 조직상을 보였다 (Fig. 5-50-H).

### 3) 신장

TBTO 0.06 ppb/14일 농도구의 신장조직에서는 일부 간질세포의 핵응축, 세뇨관 상피층에 호산성 세포의 출현, 세뇨관 장막의 비후 및 세뇨관 상피층의 분리, 그리고 세뇨관 상피층 자유면의 alcian blue 양성반응이 관찰되었다 (Fig. 5-51-A). 1.67 ppb/14일 농도구에서는 사구체의 활성화와 보우만주머니의 비후가 관찰되었다 (Fig. 5-51-B). 3.20 ppb/21일 농도구에서는 흑색 대식세포군의 증가와 대부분 간질세포의 핵응축과 일부 세뇨관의 붕괴와 소실이 나타났다 (Fig. 5-51-C). 3.20 ppb/28일 농도구에서는 사구체의 위축과 세뇨관 상피세포의 비대에 의한 세뇨관 내강의 폐쇄가 관찰되었고 (Fig. 5-51-D), 6.30 ppb/35일 농도구에서는 일부 사구체의 붕괴와 세뇨관의 상당부분이 소실된 조직상을 볼 수 있었다 (Fig. 5-51-E). TBTO 12.50 ppb 농도에 35일 동안 노출된 개체의 신장조직에서는 신장 기능의 수행이 불가능할 것으로 판단되는 사구체의 붕괴, 간질세포 및 세뇨관 상피세포의 핵응축, 세뇨관 내강 폐쇄 등의 변화가 관찰되었다 (Fig. 5-51-F).

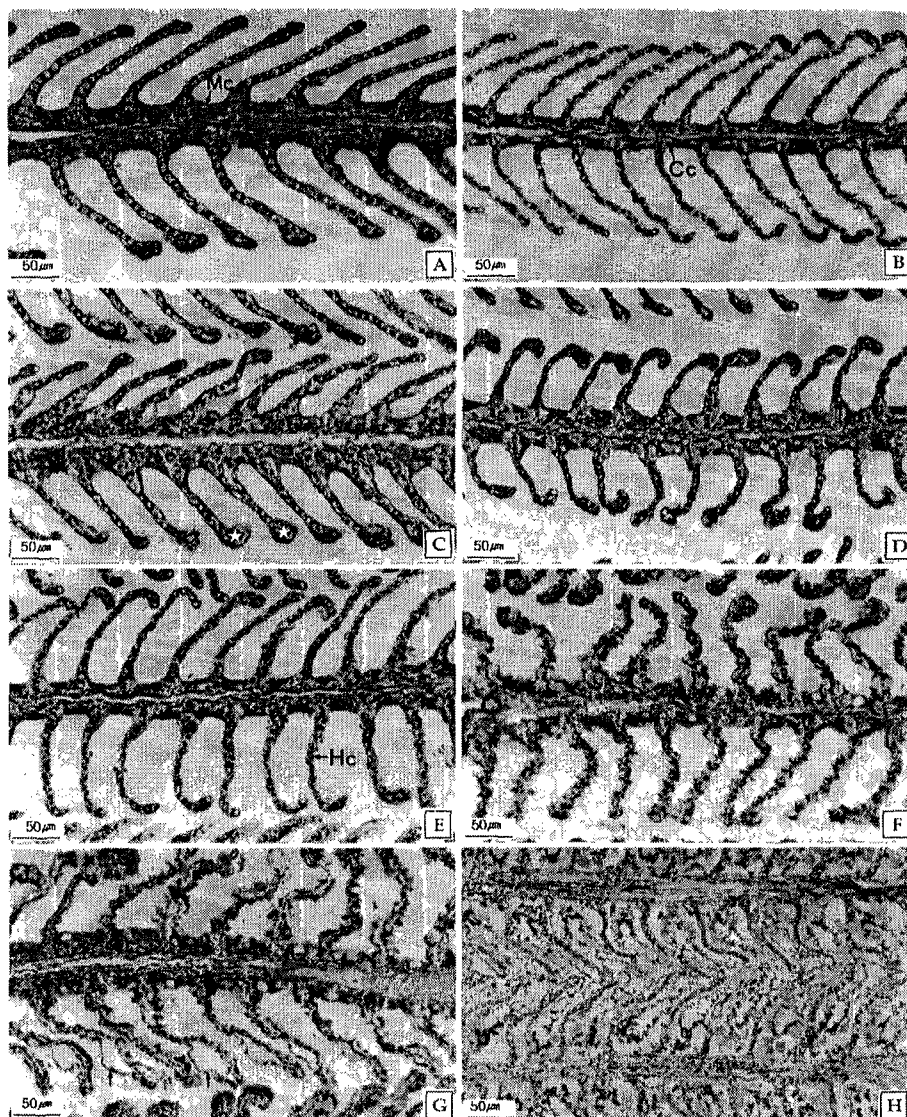
### 4) 생식소

TBTO에 노출된 개체들의 난소와 정소는 외형적으로는 대조구와 마찬가지로

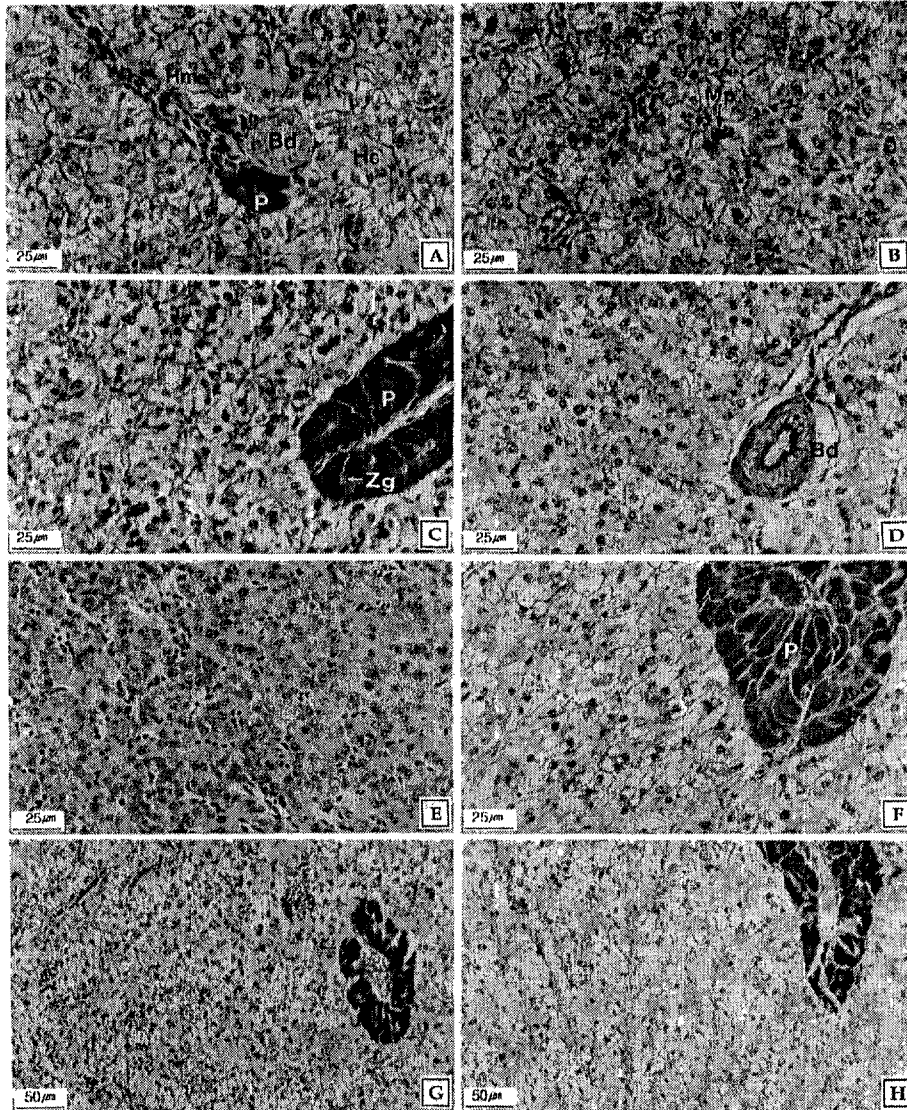
로 등쪽 체벽에 난소간막 및 정소간막에 싸여 있으며, 각각은 아직 미발달된 상태로 모두 선상의 형태를 보여 외형적으로 난소와 정소를 구분하기는 힘든 상태였다.

TBTO 3.20 ppb의 농도구에 21일 동안 노출된 암컷 개체에서 난소박판의 형성을 비롯한 전체적인 난소조직상은 대조구와 유사하였으며, 난소박판 내부에서는 다수의 혈구들이 관찰되었으나 난원세포들은 관찰하기 힘들었다 (Fig. 5-52-A). 3.20 ppb의 농도구에 42일 동안 노출된 개체들의 전체적인 난소조직상은 대조구 보다 난소박판의 발달이 미약했으며, 변성된 난원세포들과 난황형성전의 난모세포들이 관찰되었다 (Fig. 5-52-B).

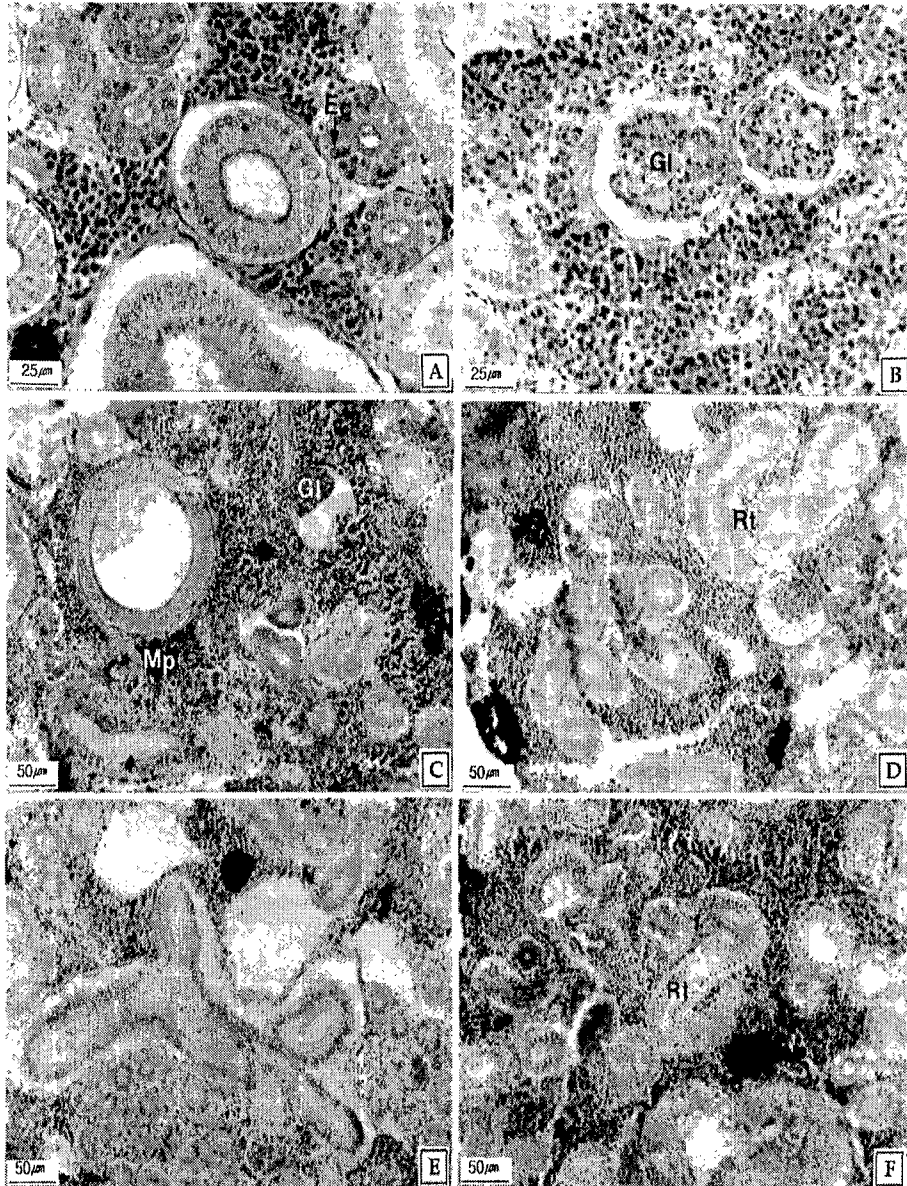
3.20 ppb의 농도구에 21일 동안 노출된 개체들의 정소조직상에서는 일부 변성된 정원세포들이 관찰되었으나 A형 체세포들의 출현 정도는 대조구와 유사하였다 (Fig. 5-52-C). 3.20 ppb의 농도구에 42일 동안 노출된 개체들의 정소조직상에서는 다수의 혈구들이 관찰되었으며, 대조구에서 볼 수 있는 정소소낭 구조와 정원세포의 무리는 관찰되지 않았다 (Fig. 5-52-D).



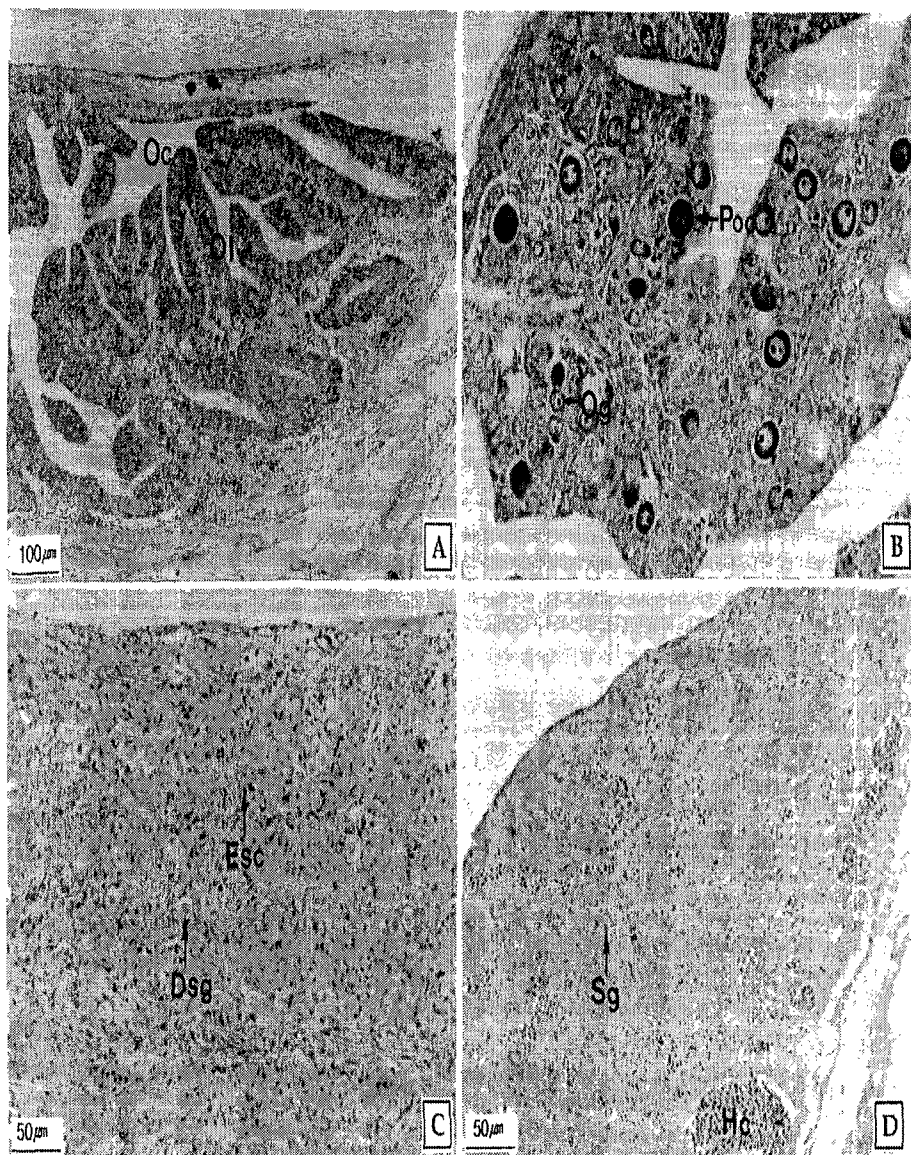
**Fig. 5-49.** Histological changes of gill of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to TBTO. A. 7 days in 0.60 ppb. Note the increment of mucous cell (Mc) of PAS positive. B. 14 days in 1.67 ppb. H-E section showing the activated chloride cells (Cc). C. 14 days in 3.20 ppb. Note the terminal clubbing (☆) of the lamellae. D. 21 days in 3.20 ppb. Note the hyperplasia of the filament epithelial cells. E. 21 days in 6.30 ppb. Increment of hemocytes (Hc) in the lamellae. F. 28 days in 3.20 ppb. G. 35 days in 12.50 ppb. Note the some lifting (↑) of epithelial layer. H. 35 days in 12.50 ppb. Section of died individual showing the separated epithelial layer and fused lamellae.



**Fig. 5-50.** Histological changes of hepatopancreas of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to TBTO. A. 7 days in 0.36 ppb. Note the increment of hemocytes (Hm). B. 14 days in 0.60 ppb. Note the melano macrophagocytotic cells (Mp). C. 21 days in 3.20 ppb. H-E section showing the activated hepatic cell (Hc) and decrease of zymogen granules (Zg) in the pancreas (P). D. 28 days in 0.36 ppb. AB-PAS section showing the free surface of alcian blue positive in the bile duct (Bd). E. 28 days in 6.30 ppb. Note the pycnosis and cytoplasmic degeneration of the hepatic cells. F. 35 days in 3.20 ppb. G. 35 days in 6.30 ppb. Note the abundant zymogen granules of pancreas. H. 42 days in 12.50 ppb.



**Fig. 5-51.** Histological changes of kidney of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to TBT0. A. 14 days in 0.06 ppb. Note the numerous eosinophilic cells (Ec) and free surface of alcian blue positive in the renal tubules. B. 14 days in 1.67 ppb. Note the activated glomerulus (Gl) and numerous hemocytes. C. 21 days in 3.20 ppb. Section showing the melano macrophagocytotic cells (Mp). D. 28 days in 3.20 ppb. Note the hypertrophied epithelia of renal tubules (Rt). E. 35 days in 6.30 ppb. F. 35 days in 12.50 ppb. Note the deformation and pycnosis of renal tubules (Rt).



**Fig. 5-52.** Histological changes of gonad of the immature flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to TBT0. A. Ovary of exposed to 21 days in 3.20 ppb. B. Ovary of exposed to 42 days in 3.20 ppb. C. Testis of exposed to 21 days in 3.20 ppb. D. Testis of exposed to 42 days in 3.20 ppb. Dsg: degenerated spermatogonium, Esc: eosinophilic somatic cell, Hc: hemocytes, Oc: ovarian cavity, Og: oogonia, Ol: ovarian lamellae, Poc: previtellogenic oocytes, Sg: spermatogonia.



## 제 6 장 결 론

### 제1절 독성수준

일반적으로 수계에 서식하는 어류나 무척추동물에 대한 독성물질의 수준을 판단하는데는 그 독성의 정도에 따라 치사농도(LC<sub>50</sub>)를 기준으로 ppm 단위로 하여 다음과 같이 구분할 수 있다.

- < 0.1 ----- very highly toxic(맹독성)
- 0.1~1 ----- highly toxic (강독성)
- > 1~10 ----- moderately toxic (보통독성)
- > 10~100 ----- slightly toxic (미약독성)
- > 100 ----- practically non-toxic (사실상 무독)

상기의 분류를 기준으로 할 경우에 본 시험의 곤쟁이에 있어 TBTO는 맹독성에 해당하며, 수은 강독성, 그 외의 독성물질은 보통독성에 해당한다. 넙치에 있어 TBTO는 맹독성에 해당하며, 그 외의 독성물질은 보통독성에 해당한다. 또한 날개망둑에 있어서는 TBTO는 맹독성에 해당하며, 수은과 카드뮴은 보통독성, 쳐와 phenol은 미약독성에 해당한다.

### 제2절 영향농도

공시재료 및 독성물질에 대한 만성독성의 결과에 바탕으로 공통관찰 항목을 설정하여 영향농도를 설정하였다.

본 실험결과에서 나타난 곤쟁이의 영향농도는 만성독성 시험을 기준으로 하여 수은 0.015 ppm, 카드뮴 0.10 ppm, 구리 0.04 ppm, Phenol 0.40 ppm, TBTO 1.15 ppb이었고, 넙치의 영향농도는 수은 0.012ppm, 카드뮴 0.09 ppm, 구리 0.05 ppm, phenol 0.58 ppm 및 TBTO 0.60 ppb이었다.

## 제 7 장 활용에 대한 건의

본 연구결과 현재까지 주로 사용되어 왔던 시험방법에서 새로운 순환식시스템을 개발하여 이를 연안어업평가를 위하여 사용될 수 있다. 또한 공시재료로 설정된 곤쟁이는 채집이 용이하고, 세대기간의 짧으며, 환경에 대한 반응성이 뛰어나 공시재료로 적합하며, 낚치는 양식대상 종으로 고비용의 단점을 갖고 있으나 언제든지 구입이 가능하고, 반응성이 뛰어나 공시재료로 적합할 것이다. 따라서 연안어업 손실 평가를 위한 기준에 있어 상기의 시험방법과 공시재료를 선택하여 평가를 할 수 있을 것으로 생각되나, 보다 정확히 평가하기 위해서는 다양한 생물시험에 대한 고려가 필요하다.

## 제 8 장 참고문헌

- Baek, H. J., H. B. Kim, T. Y. Lee and B. D. Lee, 1985, On the maturity and spawning of the longchin goby *Chasmichthys dolichognatus*( Hildendorf). Bull. Korean Fish. Soc., 18, 477~483.
- Carieno, I., Pujoi S. and E. Zoppi de Roa, 1989, *Metamysidopsis insularis brattegard* (Mysidacea): Field study of the larval cycle. Crustaceana 56,127~132.
- Chin, P., 1971, The effect of temperature on respiratory metabolism of the mysid, *Neomysis awatschensis* (Brandt). Publication of Marine Laboratory, Pusan Fisheries College, 5,31~36.
- Chin, P., 1974. Acclimation and metabolism attitude of *Neomysis awatschensis* (Brandt). Publication of Marine Laboratory, Pusan Fisheries College, 7, 1~20.
- Galat, D.L., Post, D., Keefe, T.J., Bouck, G.R., 1985, Histological changes in the gill, kidney and liver of lahontan cutthroat trout, *Salmo clarki henshawi*, living in lakes of different salinity-alkalinity. J. Fish Biol., 27, 533-552.
- Graves, S.S., Evans, D.L., Clvv, D., Dawe, D.L., 1984. Nonspecific cytotoxic cells in fish(*Ictalurus punctatus*). I. Optimum requirements for target cell lysis. Dev. Comp. Immunol., 8, 293-302
- Greenly, A.R., Brown, R.A., Ristow, S.S., 1992. Nonspecific cytotoxic cells of rainbow trout(*Onchorhynchus mykiss*)kill YAC-1 targets

- by both necrotic and apoptotic mechanisms. Dev. Comp. Immunol., 29, 1181-1187.
- Han, K. H. and Y. U. Kim, 1997, The early life history of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. I. Development of egg, larvae and juveniles. Bull. Yosu Nat'l Fish, Univ., 11, 105~117.
- Healey, M. C., 1971, Gonad development and fecundity of the sand goby, *Gobius minutus pallas*. Trans. Amer. Fish. Soc., 3, 520~526.
- Hyo, H.B., Yazima, G., Lee, Y.B., Kim, C.S., 1980, Studies on the early ultrastructural alterations of renal tubules of rats in acute mercury poisoning. Korean J. Electron Microscopy, 10(1,2), 53-76.
- Im, Y-J and T. W. Lee, 1990, Species composition and biology of major species of gobiid fish Cheonsu Bay of the Yellow Sea, Korea. Korean J. Ichthyol, 2, 182~202.
- Jeon, J.S., Kim, J.S., Koo, B.C., 1993, The effect of cadmium administration in seminiferous epithelium of mouse testes: electron microscopic study. Korean J. Electron Microscopy, 23(1), 125-138.
- Kiemer, MC.B., Black, K.D., 1997, The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture, 153, 181-189.
- Kim, I. S., Y. J. Lee and Y. U. Kim, 1986, Synopsis of the family gobiidae (pisces, perciformes) from Korea. Bull. Korea Fish.

- Soc., 19, 387-408.
- Kim, J. H., 1993. Gonadal development of *Archaeomysis kokuboi* (Crustacea: Mysidacea). M. S. Thesis, National Fisheries University of Pusan, 32pp.
- Kim, Y. U. and K. H. Han, 1989, Early life history of the marine animals. I. Egg development, larvae and juveniles of *Chaenogobius laevis* (Steindachner). Bull. Korean Fish. Soc., 22, 317-331.
- Krajnc, E.I., Wester, P.W., Loeber, J.G., Van Leeuwen, F.X.P., Vos, J.G., Vaessen, C.A., van der Heijden, C.A., 1984. Toxicity of bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat. I. Short-term effects on general parameters and on the endocrine and lymphoid systems. Toxicol. Appl. Pharmacol., 75, 363-386.
- Kwak, J.K., Lee, K.Z., Chung, H.S., Lee, K.S., 1991, Effects of cadmium chloride on fine structures of renal glomerulus and epithelial cells of proximal convoluted tubules in albino rats. Korean J. Electron Microscopy, 21(1), 76-95.
- Lee, K. H. and Y. U. Lee, 1990, Sex differentiation and development of the gonad in the flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temmincki et Schligel). Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat'l Univ., 14, 61~86.
- Ma, C. W., 1988. A taxonomical study of the mysids (Crustacea: Mysidacea) from the Korean Waters. M. S. Thesis, National Fisheries University of Pusan, 47pp.

- Mallatt, J., 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42, 630-648.
- Murano, M., 1964. Fisheries biology of a marine relict mysid *Neomysis intermedia* Czerniavsky. III. Life cycle with special reference to the reproduction of the mysid. Japan Aquaculture Research Group, 12, 19~39.
- Murtaugh, P. A., 1989. Fecundity of *Neomysis mecedis* Holmes on lake Washington (Mysidacea). *Crustaceana*, 57, 194~200.
- Ryu, H.Y., Bang, J.D., Lee, C., Shim, J.M., Kim, B.S., 1998. Effects of acute toxicity of chemical treatments on the cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacul.*, 11(2), 223-230.
- Tanaka, H. 1987. Gonadal sex differentiation in Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Natl. Res. Invt. Aquaculture*, 11: 7-9.
- Triebkorn, R., Köhler, H.R., Körtje, K.H., Negele, R.D., Rahmann, H., Braunbeck, T., 1994. Evaluation of bis (tri-n-butyltin) oxide (TBTO) neurotoxicity in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). II. Ultrastructural diagnosis and tin localization by energy filtering transmission electron microscopy (EFTEM). *Aquat. Toxicol.*, 30, 199-213.
- Vethaak, A.D., Jol, J.G., Meijboom, A., Eggens, M.L., ap Rheinalt, T., Wester, P.W., Van der Zande, T., Bergman, A., Danker, N., Ariede, F., Baan, R.A., Everts, J.M., Opperhuizen, A.,

- Marquenie, J.M., 1996. Skin and liver diseases induced in flounder (*Platichthys flesus*) after long-term exposure to contaminated sediments in large-scale mesocosms. *Environ. Health Perspect.*, 104(11), 1218-1229.
- Vos, J.G., de Klerk, A., Krajnc, E.I., Kruizinga, W., Van Ommen, W., Rozing, J., 1984. Toxicity of bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat II. Suppression of thymus-dependent immune responses and parameters of non-specific resistance after short term exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 75, 387.
- Webster, P.W., 1990, The toxicity of bis(tri-n-butyltin) oxide (TBTO) in small fish species *Oryzias latipes* (medaka) and *Poecilia reticulata* (guppy). *Aquat. Toxicol.*, 16, 53-72.
- Webster, P.W., Canton, J.H., 1987, Histopathological study of *Poecilia reticulata* (guppy) after long-term exposure to bis(tri-n-butyltin) oxide (TBTO) and di-n-butyltinchloride (DBTC). *Aquat. Toxicol.*, 10, 143-165.
- Webster, P.W., Vos, J.G., 1994, Toxicological pathology in laboratory fish; an evaluation with two species and various environmental contaminants. *Ecotoxicology*, 2, 21-44.
- You, K.H., Choi, C.H., Choe, R.S., Deung, Y.K., 1978, Ultrastructural studies on cadmium poisoning in the Liver, Kidney and Gills of *Carassius carassius*. *Korean J. Electron Microscopy*, 8(1), 33-48.