

## 구리 노출에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 만성독성

강주찬 · 김재원\* · 김성길 · 황운기<sup>1</sup>

부경대학교 수산생명의학과, <sup>1</sup>국립수산과학원 동해수산연구소

### Chronic Toxicity of the Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* Exposed to Copper

Ju-Chan Kang, Jae-Won Kim\*, Seong-Gil Kim and Un-Gi Hwang<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>East Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Kangwon-do 210-860, Korea

**Abstract** - In order to estimate chronic toxicity of copper in the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, experiments were investigated the effects of long term sublethal copper exposure on survival rate, metabolic rate, feed efficiency and growth rate. Olive flounder were exposed for 6 weeks to four different sublethal copper concentration (50, 80, 180, 320  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Survival rate of them significantly affected above 180  $\mu\text{g L}^{-1}$ , and reduced for increase exposure periods and concentrations. Copper exposure to 180 and 320  $\mu\text{g L}^{-1}$  significantly decreased metabolic rate in olive flounder. Exposure to waterborne copper concentrations as high as 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  resulted in significantly reduced feed efficiency and growth rate.

From these results, it could be concluded that the high level of 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  copper concentration in the bottom water would curtail production of the olive flounder in coastal area.

**Key words** : *Paralichthys olivaceus*, juvenile, copper, survival rate, metabolic rate, growth rate

### 서 론

구리는 각종 전기 관련 제품 제조에 이용되고, 합금의 원료, 화학 촉매제, 선체 부착생물 부착 방지용 도료 제조, 조류 부착 방지제 및 목재 보존 재료의 다양한 용도로 쓰이고 있으며 (Clark 1992), 양어지와 부화장의 질병을 치료하기 위한 효과적인 조절 방법으로 널리 알려져

양어장에서 종종 사용되고 있다 (Tucker and Boyd 1985).

이와 같은 다양한 제반 용도는 환경 유입을 필연적으로 만들어 많은 양의 구리가 수중으로 유입되게 하여 많은 수생동물에 영향을 끼치게 되었다. 구리 등의 중금속이 존재하는 연안에 서식하는 어류는 이에 관련한 여러 가지 측면에서 많은 피해 영향 및 체내축적이 일어나며, 생리적 장애로 이어져 심한 경우 사망하게 되어 생산성에 많은 악영향을 미치게 된다 (Hutchinson *et al.* 1994).

따라서 국내에서도 연안의 구리에 대한 독성연구를

\*Corresponding author: Jae-Won Kim, Tel. 051-620-6146, Fax. 051-628-7430, E-mail. kjw01@hanmail.net

하고 있지만, 참굴, *Crassostrea gigas*과 갈굴, *C. rivularis* (Cho & Kim 1971), 백합, *Meretrix lusoria* (Park & Kim 1979a), 진주담치, *Mytilus edulis*와 참굴, *Crassostrea gigas* (Choi *et al.* 1992), 우렁쟁이, *Halocynthia roretzi* (Kim *et al.* 2001) 등의 축적에 대한 연구가 주로 이루어지고 있으며, 그 외에 방어, *Seriola quinqueradiata*와 들돔, *Oplegnathus fasciatus*의 급성독성 (Park & Kim 1979b)과 곤쟁이, *Neomysis awatschenis*의 생존, 성장에 미치는 만성독성 (Kang *et al.* 1997) 등에 대한 보고가 있으나 구리의 장기노출에 따른 해산어류의 만성독성에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

넙치, *Paralichthys olivaceus*는 우리나라의 대표적인 양식어종으로 저서성이며, 다른 어종에 비하여 이동범위가 좁기 때문에 연안 또는 내만 지역에서 구리와 같은 중금속에 노출시 많은 저해 영향을 받는 것으로 예상된다. 따라서 본 연구는 연안과 내만 지역에서 발생하는 구리 오염에 따른 넙치의 생존, 산소 소비율 및 성장에 미치는 구리의 만성독성 영향을 평가하여 수산자원 및 환경규제의 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

넙치 치어는 남해안 소재 육상수조식 양어장에서 분양을 받아 실험실로 운반한 후, 300 L의 순환 여과식 수조에서 한달 이상 순치시켰다. 이때, 실험에 사용한 해수의 성분은 Table 1과 같다. 이와 같은 조건에서 순치시킨 넙치 중에 외관상 질병 증세가 나타나지 않고, 먹이 붙임이 좋은 넙치(전장  $8.33 \pm 0.05$  cm, 체중  $5.09 \pm 0.11$  g)를 선택하여 실험어로 사용하였다.

실험은 PVC수조(52×36×30 cm)를 사용하여 순환식 방법에 의해 실시하였으며, 실험해수의 환수시기는 2일을 원칙으로 하였으나, 수질측정 결과에 따라 수시로 교환하여 구리 독성 이외의 다른 요인에 의한 영향을 최대한 배제하였다.

구리 농도는  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (aldrich CO.)를 사용하여 예비실험을 바탕으로 0 (control), 50, 80, 180, 320  $\mu\text{g L}^{-1}$ 을 설정하였다.

실험은 6주간 온도조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 실험해수의 구성은 Table 1과 같다. 광주기는 12시간 간격(light: 12 hour, dark: 12 hour)으로 조절하였다. 사료의 공급은 상업용 넙치 사료를 하루에 두 번 어체중(습중량)의 3%를 2회로 나누어 공급하며 사육하였다.

넙치 치어의 생존, 대사율 및 사료효율의 변화에 대한

**Table 1.** The chemical components of seawater and experiment condition used in the copper exposure experiments

Item	Value
Temperature	$20.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$
Salinity	$32.7 \pm 0.4\text{‰}$
pH	$8.2 \pm 0.3$
SS	$7.8 \pm 0.5 \text{ mg L}^{-1}$
Dissolved oxygen	$7.1 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$
COD	$1.3 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$
Ammonia	$88.1 \pm 28.9 \mu\text{g L}^{-1}$
Nitrite	$1.4 \pm 0.3 \mu\text{g L}^{-1}$
Nitrate	$25.2 \pm 5.8 \mu\text{g L}^{-1}$
Phosphate	$5.0 \pm 1.0 \mu\text{g L}^{-1}$
Fe	$5.2 \pm 0.1 \mu\text{g L}^{-1}$
Cu	*N.D.

\*N.D.: not detected

구리 독성의 영향은 6주간의 노출동안 1주일마다 조사하였다. 생존은 매 24시간을 기준으로 사망한 개체를 계수하여 나타내었다. 그리고 대사율은 산소 소비율로 나타내었으며, 산소 소비율은 각 실험농도별로 6주간의 실험기간동안 매주 1회 생존한 5개체씩에 대하여 측정하여 (Kang *et al.* 1995), 평균 산소 소비율은 단위 건중량당 산소소비량으로 표시하였다. 사료효율은 체중과 섭취한 사료량을 측정하여 Kang *et al.* (1997)이 사용한 계산식으로 계산하였고, 성장율은 실험수조에 수용하기 전 실험어의 체중을 측정하였다.

넙치 치어의 성장율과 대사율에 대한 통계적 처리는 ANOVA test를 실시한 후 사후 다중비교는 최소유의차 검정 (Least-significance difference test)으로 평균간의 유의성 ( $P < 0.05$ )을 검정하였다.

## 결 과

넙치 치어의 생존, 성장, 사료효율 및 산소 소비율에 미치는 구리의 영향에 대해서 나타난 결과는 다음과 같다.

넙치 치어의 생존율은 대조구에서 실험 종료시까지 100%를 나타내었지만, 구리 농도구에서는 농도와 노출기간이 증가할수록 생존율이 감소하는 경향을 나타내었다. 구리 50과 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 6주간 노출된 넙치의 생존율은 94.0과 92.0%로 비교적 높은 생존율을 나타내었지만, 구리 180  $\mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 노출 3주 그리고 구리 320  $\mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 노출 1주 이후부터 생존율이 감소하여 실험종료시에는 84.0과 82.0%의 생존율을 나타내었다 (Fig. 1).

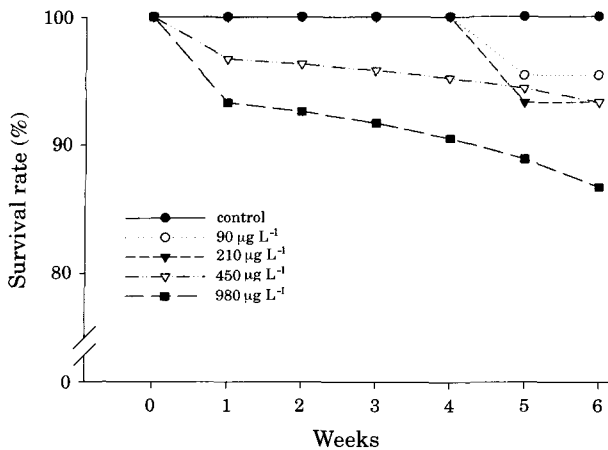


Fig. 1. Survival rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to sub-lethal copper for 6 weeks.

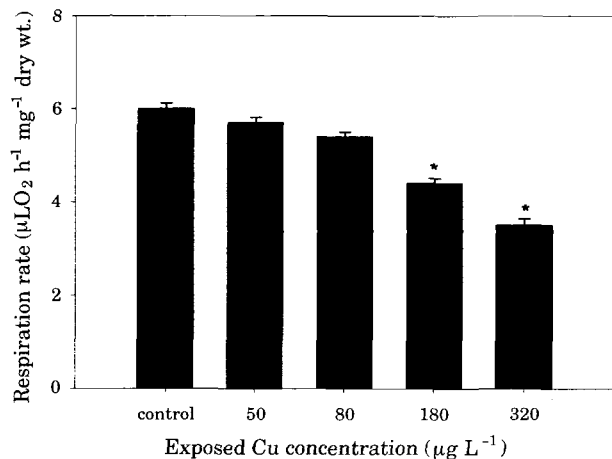


Fig. 2. Mean respiration rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 6 weeks. Vertical bar denotes a standard deviation. \*indicated a significant difference from control ( $P < 0.05$ ).

넙치의 산소 소비율은 대조구  $6.0 (\mu\text{LO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ dry weight})$ 으로 나타나지만 구리 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보여주었다. 구리  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서  $5.7 (\mu\text{LO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ dry weight})$  그리고  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서  $5.4 (\mu\text{LO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ dry weight})$ 로서 대조구에 비해 각각 5.0%와 9.0%로 감소하였지만 유의적인 차를 볼 수 없었다. 하지만, 구리  $180 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서  $4.4 (\mu\text{LO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ dry weight})$  그리고  $320 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서  $3.5 (\mu\text{LO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ dry weight})$ 로서 대조구에 비해 각각 27.0%와 42.0%로 감소하여 유의적인 차를 볼 수 있었다 ( $P < 0.05$ , Fig. 2).

넙치 치어의 사료효율은 대조구에서 43.6%로서 나타

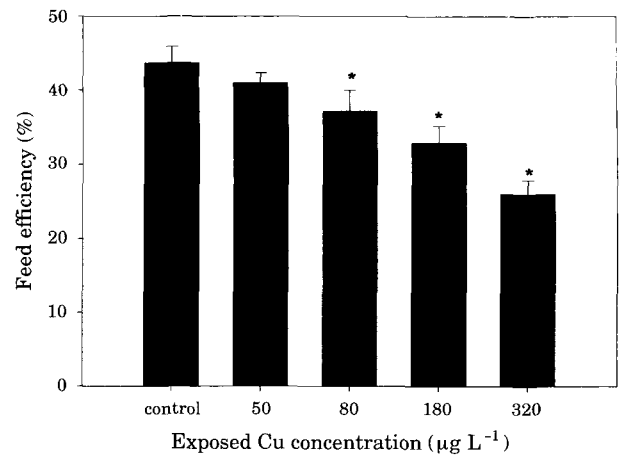


Fig. 3. Mean feed efficiency of *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 6 weeks. Vertical bar denotes a standard deviation. \*indicated a significant difference from control for feed efficiency ( $P < 0.05$ ).

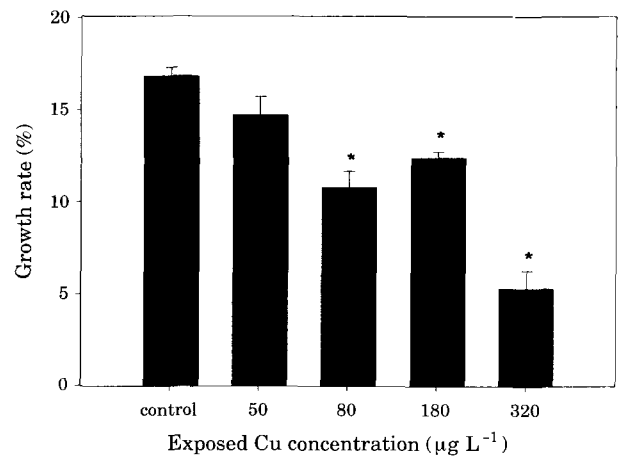
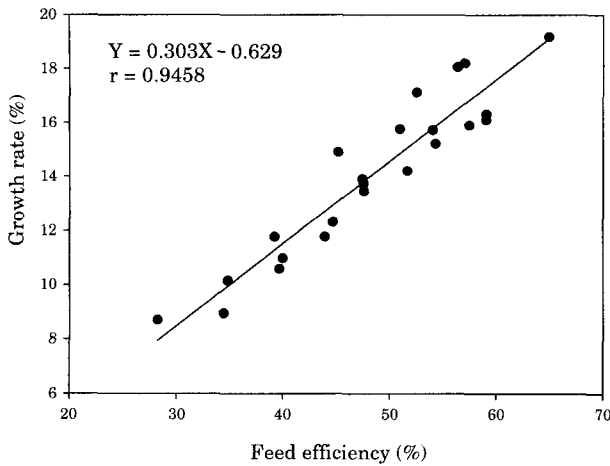


Fig. 4. Mean growth rate of *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 6 weeks. Vertical bar denotes a standard deviation. \*indicated a significant difference from control for growth rate ( $P < 0.05$ ).

났으며 구리농도가 증가할수록 점점 감소하는 경향을 보여주었다. 구리  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 40.1%로 대조구에 비해 3.5%로 감소하였지만 유의적인 차는 없었다. 구리  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 37.1%,  $180 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 32.8% 그리고 구리  $320 \mu\text{g L}^{-1}$  농도구에서 26.0%로 각각 6.0%, 11.0% 그리고 18.0% 감소하여 대조구와 비교하여 유의적인 차를 보였다 ( $P < 0.05$ , Fig. 3).

넙치 치어의 성장에 미치는 구리의 영향에 대해서 성장률로 표시하였는데, 성장률은 매 7일마다 측정하여 노출기간동안 전체 평균 성장률로 나타내었다. 넙치의 성



**Fig. 5.** Relationship between feed efficiency and growth rate in *Paralichthys olivaceus* exposed to copper for 6 weeks.

장률은 대조구에서 16.8%로 양호한 상태를 보였으나 구리농도  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 15.3%로 대조구와 비교하여 유의적인 차가 나타나지 않았지만 ( $P > 0.05$ ),  $80 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 10.8%,  $180 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 12.4% 그리고  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 5.4%로 낮게 나타나 대조구와 비교하여 유의적인 차를 나타내었다 ( $P < 0.05$ , Fig. 4).

또한, 성장률과 사료효율의 관계는  $Y = 0.303X - 0.629$ 의 선형식으로 표현되며, 상관 계수가 0.9458로서 강한 양의 상관관계를 가져 사료효율이 낮아짐에 따라 성장률이 감소하는 경향을 나타냈다 (Fig. 5).

## 고 찰

생물의 생존 및 성장을 위하여 반드시 섭취되어야 할 금속류가 있음에 반하여 섭취하였을 경우에 있어 해를 입히거나 또는 죽게 하는 종류도 있다. 일반적으로 용액에서 양이온 칼슘, 칼륨 및 나트륨 등과 같은 경금속 등은 생물체에 필수인 금속류임에 비하여 철, 구리, 코발트 및 망간 등과 같은 전이금속은 생물체에 필수 물질이나 과량으로 흡수 또는 섭취하게 되면 독성이 된다 (Furness and Rainbow 1990).

구리에 노출된 넙치의 생존율은  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  이하의 농도에서 6주간의 실험기간 동안 정상적으로 관찰되었으나  $180 \mu\text{g L}^{-1}$  농도에서 6주,  $320 \mu\text{g L}^{-1}$  농도에서 5주 이후부터 유의한 감소를 나타내었다. 무지개송어에서 구리를 만성적으로 처리시켰을 때, 농도가 증가하고 시간이 경과함에 따라 생존율의 감소를 보였으며 (Chapman 1999), 철에 12주 노출시킨 넙치 치어 (Kang *et al.* 1999)에서도

같은 경향을 보여주었다.

구리에 노출시킨 넙치의 산소소비는 구리농도에서 6주간의 실험기간 동안  $180 \mu\text{g L}^{-1}$ 와  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 각각 27.0%와 42.0%의 감소를 보였다. 구리에 노출된 넙치 산소소비의 감소 원인은 수중으로부터 산소를 받을 수 있는 아가미의 손상과 아가미와 체표면에 나타나는 점액분비로서, 이러한 점액생성은 금속독성에 대한 일반적인 방어기작이라고 보고하였다 (Boeck *et al.* 1995). 그리고 점액이 금속결합 뿐만 아니라 산소의 확산율을 유의적으로 지연한다는 것을 보여주었으며 (Pärt and Lock 1983), 본 실험과 동일한 결과인 Lee *et al.* (2001)에서도 점액세포의 증가를 보여주었다. 한편, 38주 후 구리  $290 \mu\text{g L}^{-1}$  농도에서 잉어, *Cyprinus carpio*와 브라운 송어, *Salmo trutta*의 항체 값이 감소하였으며, 적혈구용적, 혈청 단백질 감소를 보여주었다 (O'Neill 1981). 이상에서 알수 있듯이 구리농도의 증가에 따라 그들의 산소소비를 조절하기 위한 능력을 소실함으로 인해 호흡곤란 등의 생리적 장애로 이어져 심한 경우 사망하게 되는 것으로 알려져 있다 (Mckim and Goeden 1982). 따라서 구리농도  $180 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서의 16.0%,  $320 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서 18.0% 이상의 넙치사망은 과량의 구리 노출에 의한 구리 자체의 독성에도 기인될 수 있으나, 상기의 아가미 손상으로 인한 호흡곤란의 원인으로 사료된다.

구리에 노출시킨 넙치 성장률과 사료효율은 노출농도가 증가할수록 감소하였으며,  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서 유의한 감소를 보였다. 구리에 56일간 노출시킨 무지개 송어, *Oncorhynchus mykiss* 치어에서  $14.5 \mu\text{g L}^{-1}$  이상의 노출농도에서 성장 감소가 일어나고 (Hansen *et al.* 2002), 구리에 30일 노출시킨 무지개 송어, *S. gairdneri*의 성장률이 20.0% 감소된 (Weiwood 1978) 결과와 같은 경향을 보였다.

일반적으로 구리농도가 증가할수록 어류의 성장은 감소된다고 알려져 있다 (Drummond *et al.* 1973; Collvin 1985). 구리는 생리적 항상성을 유지하기 위하여 단백질, 특히 효소 ligands (배위자)와 서로 작용하는데, 이들의 활성을 감소시키는 것으로 알려져 있다 (Passow *et al.* 1961). 이에 대한 어류의 방어기작으로서, 생리적 항상성과 생존을 위하여 중금속 결합단백질인 metallothioneins와 결합하는 방법으로 유독한 구리를 무독성화 시킬 것이다 (Noël-Lambot *et al.* 1978). 이와 같은 과정들은 부가적인 에너지를 요구하게 됨으로써 체중감소의 원인이 되는 것이라고 하였으며 (Collvin 1985), 성장으로 들어가는 에너지를 구리에 대한 생체 반응의 에너지를 소비함에 따라 성장이 느리다고 보고하였다 (De Boeck *et al.* 1997).

아치사 구리노출은 식욕과 성장을 감소한다고 밝혀져 있으며 (Drummond *et al.* 1973; Lett *et al.* 1976), Lee *et al.* (2001)에 따르면 간조직에서 간세포의 핵응축, 세포질의 혼탁 및 과립변성 등의 손상이 나타났는데, 이와 같은 현상은 구리에 축적된 간조직 등의 손상에서 나타나는 식욕부진의 일부 원인일수 있다고 보고하였다 (De Boeck *et al.* 1997). 본 실험결과에서도 성장률과 사료효율은 높은 상관관계를 나타내어, 구리노출에 따른 성장과 식욕감소를 알 수 있다.

개체에 대한 오염원의 아치사 영향은 성장과 대사 등의 감소로 인해 에너지 흐름이 변화하여 (Widdows *et al.* 1984), 개체군 변동을 초래하게 되어 생태계에 영향을 주게 되는데, 연안해역 및 양식장 등의 넘치는 구리농도  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서는 그들의 대사생리에 영향을 받으며,  $180 \mu\text{g L}^{-1}$  이상의 농도에서는 치명적인 영향을 받아 생태계의 변화로 인해 수산자원에 영향을 크게 미칠것으로 사료된다.

## 적 요

연안지역의 환경오염 및 양식용수의 이용과정에 파생될 수 있는 구리의 오염에 따른 넘치의 생존, 대사율, 사료효율 및 성장율에 미치는 구리의 영향을 검토하였다. 4개의 아치사구리 농도 ( $50, 80, 180, 320 \mu\text{g L}^{-1}$ )에서 6주 동안 실험하였다.

실험기간 동안 넘치는 대조구에서는 실험종료시 까지 사망개체가 전혀 나타나지 않아 100%의 생존율을 나타내었다. 구리 노출농도  $180 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 노출 4주부터 감소하기 시작하였으며, 노출기간이 길어짐에 따라 지속적으로 감소하여 노출 6주에는 84.0%까지 감소하였다. 또한 구리 노출농도  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 노출 2주 부터 감소하여 노출 6주에 82.0%로 높은 두 개의 농도구에서 유의한 감소가 나타났다.

산소 소비량은 노출농도  $180, 320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 대조구보다 각각 27.0, 42.0%가 저하하여 유의한 감소를 나타냈다.

사료효율은 대조구가 43.6%로서 가장 높은 효율을 나타냈고, 노출농도가  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 30.0%로서 가장 낮은 성장 상태를 보였으며, 노출농도  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서는 대조구에 비해 유의한 감소를 나타냈다.

성장율은 대조구에서 평균 16.8%로 나타나 가장 높은 성장을 보였으며, 노출농도  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 5.4%로서 가장 낮은 성장을 보였다. 성장률의 전체적인 양상은 노출농도가 증가할수록 성장이 떨어지는 결과를 보였으며,

사료효율과 마찬가지로 노출농도  $80 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서 유의한 감소를 나타냈다.

## 참 고 문 헌

- Boeck GD, HD Smet and R Blust. 1995. The effect of sublethal levels of copper on oxygen consumption and ammonia excretion in the common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquatic Toxicol.* 32:127-141.
- Chapman GA. 1999. An acute TRV for Rainbow trout and Bull trout. Report prepared for the Montana Natural Resources Damage Program, Helena, MT, USA. 16 April.
- Cho YK and CK Kim. 1971. Accumulation of heavy metal in shellfish. 1. On the copper content in green oysters. *J. Korean Fish. Soc.* 4:61-65.
- Choi HG, JS Park and PY Lee. 1992. Study on the heavy metal concentration in mussel and oyster from the Korean coastal water. *J. Korean Fish. Soc.* 25:485-494.
- Clark RB. 1992. Marine pollution. Oxford university press, New York.
- Collvin L. 1985. The effect of copper on growth, food consumption and food conversion of perch *Perca fluviatilis* L. offered maximal food rations. *Aquatic Toxicol.* 6:105-113.
- De Boeck G, A Vlaeminck and R BLust. 1997. Effects of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33:415-422.
- Drummond RA, WA Spoor and GF Olson. 1973. Some short-term indicators of sublethal effects of copper on brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish Res. Board Can.* 30:698-701.
- Furness RW and PS Rainbow. 1990. Heavy metals in the marine environment. CRC press, Florida.
- Hansen JA, J Lipton, PG Welsh, J Morris, D Cacula and MJ Suedkamp. 2002. Relationship between exposure duration, tissue residues, growth, and mortality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* juveniles subchronically exposed to copper. *Aquatic Toxicol.* 58:175-188.
- Hutchinson TH, TD Williams and GJ Eales. 1994. Toxicity of cadmium, Hexavalent chromium and copper to marine fish larvae and copepods. *Mar. Environ. Res.* 38: 275-290.
- Kang JC, HY Kim and P Chin. 1997. Toxicity of copper, cadmium and chromium on survival, growth and oxygen consumption of the mysid, *Neomysis awatschenis*.

- J. Korean Fish. Soc. 30:874–881.
- Kang JC, JS Lee and JH Jee. 1999. Ecophysiological responses and subsequent recovery of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to hypoxia and iron. II. Survival, metabolic and histological changes of the olive flounder exposed to iron. J. Korean Fish. Soc. 32:699–705.
- Kang JC, O Matsuda and P Chin. 1995. Combined effects of hypoxia and hydrogen sulfide on survival, feeding activity and metabolic rate of blue crab, *Portunus trituberculatus*. J. Korean Fish. Soc. 28:549–556.
- Kim SG, HS Kwak, CI Choi and JC Kang. 2001. Accumulation of heavy metal by sea squirt, *Halocynthia roretzi*. J. Korean Fish. Soc. 34:125–130.
- Lee JS, JC Kang, YK Shin, KH Ma and P Chin. 2001. Histological responses of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. J. Fish Pathol. 14:81–90.
- Lett PF, GJ Farmer and FWH Beamish. 1976. Effect of copper on some aspects of the bioenergetics of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Res. Bd. Can. 33:1335–1342.
- McKim JM and HM Goeden. 1982. A direct measure of the uptake efficiency of a xenobiotic chemical across the gills of brook trout under normoxic and hypoxic conditions. Comp. Biochem. Physiol. 72C:65–69.
- Noël-Lambot F, C Gerday and A Distèche. 1978. Distribution of Cd, Zn and Cu in liver and gills of the eel *Anguilla anguilla* with special references to metallothioneins. Comp. Biochem. Physiol. 61C:177–187.
- O'Neill JG. 1981. The humoral immune response of *Salmo trutta* L. and *Cyprinus carpio* L. exposed to heavy metals. J. Fish Biol. 19:297–306.
- Park JS and HG Kim. 1979. Bioassays on marine organisms. II. Acute toxicity test of mercury, copper, cadmium and to clam, *Meretrix lusoria*. J. Korean Fish. Soc. 12:113–117.
- Park JS and HG Kim. 1979. Bioassays on marine organisms. III. Acute toxicity test of mercury, copper, cadmium and to yellowtail, *Seriola quinqueradiata* and Rock Bream, *Oplegnathus fasciatus*. J. Korean Fish. Soc. 12:119–123.
- Pärt P and RAC Lock. 1983. Diffusion of calcium, cadmium and mercury in a mucous solution from rainbow trout. Comp. Biochem. Physiol. 76C:259–263.
- Passow H, A Rothstein and TW Clarkson. 1961. The general pharmacology of the heavy metals. Pharmacol. Rev. 13:185–224.
- Tucker CS and CE Boyd. 1985. Water quality. pp.135–227. In Development in aquaculture and fisheries science, 15. Channel catfish culture (Tucker Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Waiwood KG and FWH Beamish. 1978. The effects of copper, hardness and pH on the growth of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol. 13:591–598.
- Widdows J, P Donkin, PN Salkeld, JJ Cleary, DM Lowe, SV Evans and PE Thompson. 1984. Relative importance of environmental factors in determining physiological differences between two populations of mussels, *Mytilus edulis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 17:33–47.

(Received 28 October 2002, accepted 10 January 2003)