

## 원유의 WSF (water soluble fraction)가 참굴의 초기생활사에 미치는 영향

신윤경, 김응오, 조기채<sup>1</sup>, 전제천, 진영국<sup>2,\*</sup>

국립수산과학원 양식관리과, <sup>1</sup>남동해수산연구소,  
<sup>2</sup>남서해수산연구소 해역산업과

## Effect of Crude Oil (WSF) on Early Life Stage of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*

Yun Kyung Shin, Eung Oh Kim, Kee Chae Cho<sup>1</sup>, Je Cheon Jun  
and Young Guk Jin<sup>2,\*</sup>

Aquaculture Management Division, NFRDI

<sup>1</sup>Southeast Sea Fisheries Research Institute, NFRDI

<sup>2</sup>Southwest Sea Fisheries Research Institute, NFRDI

### ABSTRACT

The observed the toxic effect of WSF (Water Soluble Fraction) on development time, development rate, attachment rate, survival rate and growth of the larva during the early stage of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. The time required early juvenile from the fertilized eggs exposed to crude oil (WSF) was about 13 hours in control group. But that of the crude oil dose group takes 12 hours, with shorter compared to control group. Development and attachment rate of the oyster significantly higher in 0.4 and 0.8 mg/L WSF compared to control group ( $P < 0.05$ ) but significantly lower more than 1.6 mg/L WSF ( $P < 0.05$ ). Survival rate of the oyster larva significantly higher in 0.4 and 0.8 mg/L WSF compared to control group ( $P < 0.05$ ) but significantly lower more than 2.4 mg/L WSF ( $P < 0.05$ ). Survival rate of spot showed no significantly difference compared to control group ( $P > 0.05$ ). Shell growth of the oyster were significantly lower more than 1.6 mg/L WSF compared control group ( $P < 0.05$ ). The effect concentration of crude oil showed that more 0.4 mg/L in development and attachment rate and more 1.6 mg/L in growth. Also, chronic exposure of crude oil even effect also in low concentration.

**Key words** : Crude oil, *Crassostrea gigas*, Embryo development, Survival rate, Growth

---

접수일: 2010년 4월 30일, 채택일: 2010년 6월 24일

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-61-690-8972, Fax: +82-61-685-9073

E-mail: jyg4j@nfrdi.go.kr

### 서 론

유류유출은 유출당시 방제선에 의한 확산 방지,  
유화제 등을 이용한 기름막의 제거 등 즉각적인 방

제작업이 이루어진다 할지라도 유류성분의 독성학적 영향은 간과할 수 없다(Capuzzo, 1987; Venkateswaran *et al.*, 1995). 유류유출에 따른 손상 정도와 그 지속기간은 유출된 유류의 형태, 양, 유출기간, 온도 및 기상상태, 노출된 생물상의 종류, 서식지 및 저질 그리고 지리학적 위치 등 다양한 요소들에 의해 결정된다(Clark and Finley, 1977).

유류는 탄화수소, 질소 및 산소 화합물 그리고 중금속 등을 포함한 다양한 화합물로 구성되며, 각 성분의 함유량 등은 동일지역에서 생산된 것일지라도 시기에 따라 다르게 나타난다(Wake, 2005). 노출된 유류는 Naphthalene, Fluorene, Pyrene 등과 같은 다환방향족탄화수소(PAHs: polycyclic aromatic hydrocarbons)가 해수에 용해되어 수용성의 독성물질(WSF: water soluble fraction)로 전환되어 해양생물종들에게 다양한 영향을 미치게 된다(Kennedy and Farrell, 2005; Ramachandran *et al.*, 2006; Yasunori *et al.*, 2008). 유류의 독성은 어류에게 있어 생존율 감소 및 성장 지연(Brown *et al.*, 1996; Heintz *et al.*, 2000), 유영력 감소(Carls *et al.*, 1999), 면역시스템 및 유전학적 손상(Alkindi *et al.*, 1996; Carls *et al.*, 1999) 등을 일으킨다. 뿐만 아니라 이매패류 및 복족류 등을 포함한 무척추동물 등의 경우에도 생존율 및 성장 감소, 형태학적 기형 증가(Stegeman and Teal, 1973; Wu and Zhou, 1992; Stekoll *et al.*, 1996) 및 생식소발달을 지연시키는 원인이 된다(Cajaraville *et al.*, 1992). 특히 유류의 독성은 생물의 배발생 및 유생발달 저해 등 초기 생활사에 가장 강한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Wu and Zhou, 1992; Hamdoun *et al.*, 2002; Ramachandran *et al.*, 2006).

이매패류를 비롯한 무척추동물들은 서식범위가 한정되어 있고, 실내사육 및 노출실험이 용이한 점 등의 장점으로 인해 환경오염에 대한 모니터링을 하는데 있어 그 중요성이 나날이 증대되고 있으며, 독성물질의 영향을 평가하는데 있어서도 매우 유용하게 이용되고 있다(Zarragoitia and Cajaraville,

2006). 특히 이들의 초기생활사는 종 보존과 밀접한 관련이 있어, 이를 이용한 오염물질의 영향평가는 매우 중요하다고 할 수 있다.

유류는 그 특성상 나타나는 결과가 매우 다양하기 때문에 유류오염에 의한 독성영향을 평가하는 것은 자국의 생물종을 이용한 연구가 가장 바람직한 결과를 도출할 수 있다. 하지만, 국내에서도 빈번하게 발생하는 유류유출사고에 비해 국내 생물종에게 미치는 영향에 관한 연구들은 어류의 초기생활사에 미치는 WSF의 영향(Chang *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 2009), 백합과 곤쟁이의 발생 및 호흡에 미치는 원유의 영향(Lee *et al.*, 1975; Ahn and Chin, 1986) 등으로 보고가 많지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 국내 유용양식종인 참굴, *Crassostrea gigas*의 수정란을 이용하여 유류의 수용성 성분인 WSF의 농도에 따른 발생소요시간, 생존율, 발생률 및 유생과 부착치패의 성장을 조사하였으며, 유류의 노출이 해양생물종에 미치는 영향 및 해양생태계의 관리와 보전에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에 사용된 참굴, *Crassostrea gigas*의 수정란은 성숙한 어미를 간출법에 의해 산란 및 방정을 유도하였고, 수정된 후 40 µm sieve를 사용하여 수정된 난만을 수거하여 사용하였다. 부착치패는 정상적으로 발생되어 부착판에 부착한 개체들을 이용하였다. 시험에 사용된 수정란 및 부착치패의 크기와 개체 수는 Table 1과 같다.

### 2. 실험방법

#### 1) 실험기간 및 방법

실험기간은 수정란의 경우 수정~부착기까지였

**Table 1.** Size and number of the fertilized egg and spot of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* exposed to WSF (water soluble fraction) of crude oil

Species	Stage	Size (µm)	Number (N)
Pacific oyster, <i>Crassostrea gigas</i>	Fertilized egg	D 53.72 ± 2.6	13,492 ± 508.76
	Spat	SH 331.47 ± 25.4	2,842 ± 46.8

\*D: diameter, SH: shell height, SL: shell length



Fig. 1. Development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* larva (control). A: D shape larva, B: Umbo larva, C: Pediveliger showed the eye spot.

으며, 부착치패의 경우 부착 직후부터 부착 후 14 일 까지였다. 실험수온은 수정란과 부착치패 모두  $23 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 였다. 실험용기는 각 생물종들의 시험단계에 따라 5 L 원형수조 및 0.3~3 L 유리비커를 사용하여 3회 반복 실험을 하였다. 실험용액은 두바이산 원유를 사용하였으며, Paine *et al.* (1992)와 Polino and Holdway (2002) 등의 방법을 참고하여 원유: 해수=1:9로 24시간 혼합하였다. 그 후 분액갈때기에서 24시간 방치 후 분리된 유막층 아래의 수용액을 추출하여 WSF로 사용하였다. 실험용액의 농도는 gas chromatography를 이용하여 분석하였으며, total petroleum hydrocarbons (TPH)는 19.84 mg/L였다. 이것을 실험원액으로 하였고, 이때패류의 초기생활사에 나타나는 영향농도가 적게는 0.4 mg/L에서 많게는 13 mg/L 이상으로 매우 다양하게 나타나는 점을 고려하여 (Pelletier *et al.*, 1997; Ahrens *et al.*, 2002) 수정란의 경우 대조구, 0.04, 0.4, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 및 4.0 mg/L, 부착치패의 경우 대조구, 0.4, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2 및 4.0 mg/L를 실험농도로 설정하였다. 실험용액은 빛 등에 의한 휘발성을 최소화하기 위하여 비닐랩으로 실험용 비커를 밀봉하였으며, 검은 천을 이용하여 외부로부터의 빛을 최소한으로 차단하였다. 또한 24시간 간격으로 실험용액의 50%를 교환하였다.

먹이공급은 D형 유생이 발생한 시점부터 *Isochrysis galbana* (5,000 cells/mL)를 1일 3회 공급하였으며, 이후 유생의 성장에 따라 *Pavlova lutheri*와 *Tetraselmis tetraele*를 혼합 공급하였다.

2) 유생의 발생소요시간, 발생률 및 부착률  
 발생소요시간은 각 농도구에서 수정~D형 유생,

각정기유생 및 부착기유생 (Fig. 1)을 광학현미경 (Olympus, CX31)으로 관찰하여 최소 50% 이상의 발생율을 나타내는 시점을 기준으로 하였다. 발생률 및 부착률은 전체 개체수를 기준으로 하여 각 단계에 도달한 개체들을 누적백분율(%)로 표시하였다. 부착률을 조사하기 위해 각 유생이 부착기유생에 도달하였을 때 빈 가리비패각을 넣어 부착을 유도하였으며, 이후 전체 실험개체수와 부착기질에 부착한 마리수를 계수한 후 이를 백분율(%)로 표시하였다.

3) 유생 및 부착치패의 생존율

유생의 생존율은 수정란에서 부착기 유생까지 단계별 누적생존율(%)로 표시하였다. 부착치패의 경우 부착판에서 탈락한 개체들을 현미경으로 검정하여 움직임이 없는 개체들을 사망한 개체들로 간주하였으며, 전체개체수에서 누적사망개체수를 뺀 값을 생존율(%)로 환산하였다.

4) 유생 및 부착치패의 성장

각 농도별 유생 및 부착치패의 성장을 비교하기 위하여 Image Measurement System (FOCUS technology, 2005)을 이용하였다. D형, 각정기, 부착기유생 및 부착치패(부착 후 7일과 14일)의 각고(mm)를 측정하였으며, 각 농도구별로 30개체를 측정한 후 그 평균값을 기재하였다.

5) 통계분석

실험농도에 따른 대조구와 농도구간의 차이는 SPSS 통계패키지를 이용하여 independent t-test를 실시한 후 그 유의성 여부를 검증하였다.

**Table 2.** Development time of fertilized eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* exposed to WSF of crude oil

Species		Exposure group (mg/L)							
		Control	0.04	0.4	0.8	1.6	2.4	3.2	4.0
<i>Crassostrea gigas</i>	D shape	0:18:00	0:18:00	0:17:30	0:17:00	0:15:50	0:15:45	0:15:30	0:15:30
	Umbo	7:17:15	7:17:16	7:17:00	7:16:50	7:16:30	7:16:07	—	—
	Early juvenile	13:02:38	13:00:16	12:21:08	12:18:26	12:14:03	12:13:51	—	—

\*d (day):h (hour):m (minute)

## 결 과

### 1. 유생의 단계별 발생소요시간

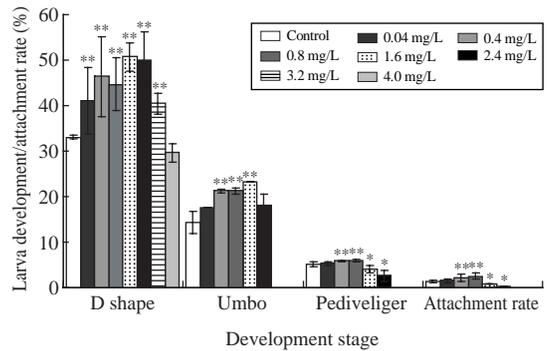
유생의 발생소요시간은 Table 2에서 보는 바와 같이 부착기유생에 도달하기까지 12~13일이 소요되었으며, 대조구와 비교해 노출구에서 농도의존적으로 빠른 발생속도를 보였다. 그러나 3.2와 4.0 mg/L의 농도에 노출된 개체들은 D형 유생 이후에 모든 개체가 사망하여 각정기 유생으로 발달하지 못했다.

### 2. 유생의 발생률 및 부착률

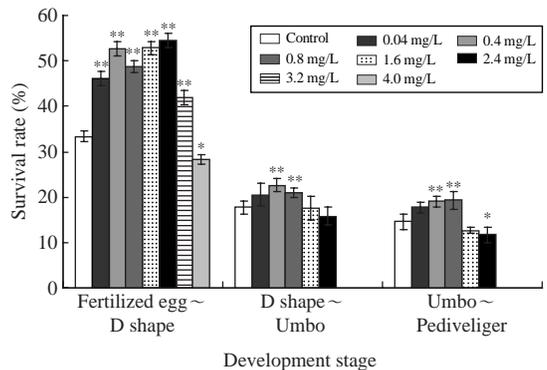
유생의 발생률은 Fig. 2와 같이 D형 유생의 경우 대조구(33.08%)와 비교해 0.04~3.2 mg/L 농도에 노출된 개체들이 높은 발생률을 나타냈으며 ( $P < 0.05$ ), 그 중 1.6 mg/L에 노출된 개체들은 50.68%로 가장 높았다. 각정기유생은 0.4~1.6 mg/L의 농도에 노출된 개체들이 대조구(14.43%)에 비해 유의적으로 높은 발생률을 나타냈으며 ( $P < 0.05$ ), 그 이상의 농도에서는 낮았다. 부착기유생의 발생률 및 부착률은 0.4 및 0.8 mg/L에 노출된 개체들이 대조구에 비해 높은 비율을 나타냈으나 ( $P < 0.05$ ), 1.6 및 2.4 mg/L에 노출된 개체들은 이와는 반대로 대조구에 비해 낮게 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ).

### 3. 유생 및 부착치패의 생존률

생존율은 Fig. 3과 같이 수정란에서 D형 유생으로 발달하는 동안 대조구에 비해 0.04~3.2 mg/L에 노출된 개체들이 더 높았으며 ( $P < 0.05$ ), 4.0 mg/L에 노출된 개체들은 낮았다 ( $P < 0.05$ ). D형 유생에서 각정기유생으로 발달하는 동안의 생존율은 대조구에 비해 고농도로 갈수록 높아지다가 (0.4 및 0.8



**Fig. 2.** Development and attachment rate of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* larva. (\*): significantly lower from control ( $P < 0.05$ ), (\*\*): significantly higher from control ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Survival rate of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* larva. (\*): significantly lower from control ( $P < 0.05$ ), (\*\*): significantly higher from control ( $P < 0.05$ ).

mg/L:  $P < 0.05$ ) 1.6 mg/L 농도구부터 낮아졌으며, 3.2 및 4.0 mg/L에 노출된 개체들은 모두 사망하였다. 각정기유생에서 부착기유생으로 발달하는 동안의 생존율은 대조구에 비해 0.04~0.8 mg/L에 노출

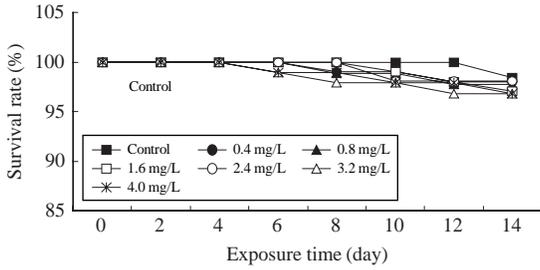


Fig. 4. Survival rate of the attached Pacific oyster, *Crassostrea gigas* spats.

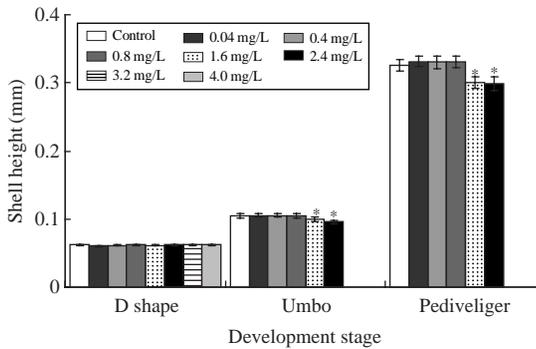


Fig. 5. Shell height (mm) of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* larva. (\*): significantly lower from control ( $P < 0.05$ ).

된 개체들은 높았으며 (0.4 및 0.8 mg/L:  $P < 0.05$ ), 1.6 및 2.4 mg/L에 노출된 개체들은 낮았다 (2.4 mg/L:  $P < 0.05$ ). 부착치패의 생존율은 노출 14일째 모든 실험구가 96% 이상을 나타냈으며 (Fig. 4), 각 농도구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

#### 4. 유생 및 부착치패의 성장

WSF에 농도별로 노출된 참굴 유생의 각고는 Fig. 5와 같이 D형 유생의 경우 대조구에 비해 별 다른 차이가 관찰되지 않았지만, 각정기 및 부착기 유생의 경우 1.6 및 2.4 mg/L에 노출된 개체들에서 낮게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 14일 동안 노출된 부착치패의 각고는 Fig. 6과 같이 노출 7일과 14일째 모두 대조구에 비해 낮았으며, 특히 2.4 mg/L 이상의 농도에 노출된 개체들은 노출 전 기간에 걸쳐 유의적인 감소현상을 보였다 ( $P < 0.05$ ).

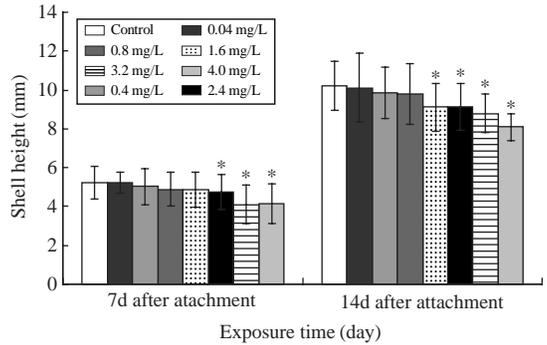


Fig. 6. Shell height (mm) of the attached Pacific oyster, *Crassostrea gigas* spats. (\*): significantly lower from control ( $P < 0.05$ ).

## 고찰

유류는 해양 무척추동물의 난발생, 생존율, 성장 등 초기생활사에 매우 다양한 영향을 미친다. 유류의 WSF에 노출된 blue mussel, *Mytilus edulis*는 1.25 mg/L 이상의 농도에서 유생발달이 저해되며 (Wu and Zhou, 1992), sea urchin, *Arbacia punctulata* 유생의 경우 0.22, 1.1 및 2.2 mg/L의 WSF에 노출된 개체들이 모든 노출 농도구에서 대조구에 비해 발달이 저해되었고, 2.2 mg/L에서는 초기낭배기의 발달단계에서 더 이상 진행되지 못했다 (Hamdoun et al., 2002).

유류에 노출된 종들의 초기생활사에서 배발생단계의 저해는 생존율의 감소를 초래한다. WSF와 PAHs에 노출된 blue mussel, *Mytilus edulis*는 대조구에 비해 높은 사망률을 나타냈다 (Stickle et al., 1985; Wu and Zhou, 1992). 또한 diesel oil에 노출된 blue mussel, *Mytilus edulis* 유생은 50 µg/L 노출구에서 대조구보다 사망률이 20~30% 증가하였고, 500 µg/L에서는 100%의 사망률이 나타났으며 (Stromgren and Nielsen, 1991), 원유의 WSF에 노출된 quahog clam, *Mercenaria sp.*의 유생은 2.1 mg/L의 노출농도에서 50% 이상의 사망률이 나타났다 (Byrne and Calder, 1977).

본 연구에서는 대조구에 비해 0.04~2.4 mg/L에서 유생의 발생소요시간, 발생률 및 부착률이 더 양호한 결과를 나타낸 반면, 3.2 mg/L 이상의 노출구

에서는 D형 유생에서 각정기유생으로의 발달이 진행되지 못했다. Johnson (1988)은 PAHs에 노출된 blue mussel, *Mytilus edulis*에서 본 연구결과와 같이 대조구보다 일부 노출농도구에서 D형 유생의 발생률이 더 높고, 고농도에서는 발생이 진행되지 못함을 관찰하였다. 하지만, 발달이 진행되지 못하거나 발달중인 개체들에게서 기형 등과 같은 형태학적 특징들은 발견하지 못했다. 일반적으로 유류에 노출된 생물들 중 경골어류를 포함한 척추동물들은 다양한 형태학적 기형이 보고되고 있지만(Heintz *et al.*, 1999; Incardona *et al.*, 2004), 이매패류 등에서는 Wu and Zhou (1992) 등 극히 일부를 제외하고 그 결과를 찾기가 쉽지 않으며 이를 위해선 보다 다양한 연구가 필요하다.

대부분의 연구결과들은 본 연구결과와 마찬가지로 유류에 의한 성장저해를 보고하고 있지만, 그 농도는 동일종이라 할지라도 매우 다양하게 나타난다. Stromgren and Nielsen (1991)은 WSF에 노출된 blue mussel, *Mytilus edulis* 유생은 10 µg/L에 노출된 개체들에서 유의적인 성장감소가 나타난다고 하였고, Wu and Zhou (1992)은 성장저해 농도를 동일종에서 1.25 mg/L 이상의 농도로 보고하였다. 또한 Byrne and Calder (1977)은 quahog clam, *Mercenaria* sp.의 유생에서 나타난 성장저해 농도는 220~4,200 µg/L로 매우 다양하며, 초기생활사 중 유생발생단계에 가장 강한 독성학적 영향을 받는다고 하였다.

유류성분 중 하나인 Anthracene에 이매패류인 coot clam, *Mulinia lateralis*의 난과 유생을 노출하였을 때 반수치사농도(LC<sub>50</sub>)는 난의 경우 4.26 mg/L인 반면 유생은 13.3 mg/L로 나타나며(Pelletier *et al.*, 1997), Naphthalene에 노출된 Dungeness crab, *Cancer magister* Dana의 유생은 2 mg/L 이상에서 관찰된다(Caldwell *et al.*, 1977). 또한 PAH에 노출된 sea urchin, *Arbacia punctulata*과 blue mussel, *Mytilus edulis* 유생의 영향농도는 각각 0.42 mg/L와 28.5 µg/L로 보고되고 있다(Johnson, 1988; Neff *et al.*, 2000).

본 연구에서 관찰된 영향농도는 발생 및 부착률의 경우 0.4 mg/L 이상에서 나타나며, 성장의 경우 1.6 mg/L 이상의 농도에서 영향을 받는 것으로 보여진다. 또한 노출기간이 길어질수록 저농도에서도 생존과 성장에 영향을 주는 것으로 보인다.

## 결 론

원유의 WSF가 참굴의 초기생활사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 발생소요시간, 발생률 및 부착률, 생존율 그리고 유생 및 부착치패의 각성장을 조사하였다. 발생소요시간은 대조구에 비해 노출구에서 빠른 경향을 보였다. 발생률 및 부착률은 D형 유생 발생률에서 부착기까지 0.4 및 0.8 mg/L의 농도에서는 대조구에 비해 높은 발생률을 나타냈지만( $P < 0.05$ ), 1.6 mg/L 이상의 농도에서는 반대의 결과를 보였다( $P < 0.05$ ). 생존율은 유생의 경우 0.4 및 0.8 mg/L의 농도에서는 대조구에 비해 높았지만( $P < 0.05$ ), 2.4 mg/L의 농도에서는 낮았다( $P < 0.05$ ). 부착치패의 생존율은 대조구와 노출구간 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 각성장은 1.6 mg/L 이상의 농도에서 대조구에 비해 감소하였다( $P < 0.05$ ). 유류의 영향농도는 발생 및 부착률의 경우 0.4 mg/L 이상, 성장의 경우 1.6 mg/L 이상의 농도에서 영향을 받으며 장기간 노출 시 저농도에서도 영향을 주는 것으로 보인다.

## 감사의 글

이 연구는 농림수산식품부 허베이스프리트호 유류사고 관련 농특회계지원에 따라 국립수산과학원 ‘태안어장 정밀조사 및 양식어장 복원사업(RP-2010-AQ-030)’의 지원에 의해 운영되었습니다.

## 참 고 문 헌

- Ahn KW and Chin P. Acute toxicity of Kuwait crude oil (WSF) to mysid, *Neomysis awatschensis*, Bull Korean Fish Soc 1986; 19(6): 599-607.
- Ahrens MJ, Nieuwenhuis R and Hickey CW. Sensitivity of juvenile *Macomona liliana* (bivalvia) to UV-photoactivated fluoranthene toxicity, Environ Toxicol 2002; 17(6): 567-577.
- Alkindi AYA, Brown JA, Waring CP and Collins JE. Endocrine, osmoregulatory, respiratory and haematological parameters in flounder exposed to the water-soluble fraction of crude oil, J Fish Biol 1996; 49(6): 1291-1305.

- Brown ED, Baker TT, Hose JE, Kocan RM, Marty GD, McGurk MD, Norcross BL and Short JW. Injury to the early life history stages of Pacific herring in Prince William Sound after the Exxon Valdez oil spill, *Am Fish Soc Symp* 1996; 18: 448-462.
- Byrne CJ and Calder JA. Effect of the water soluble fractions of crude, refined and waste oils on the embryonic and larval stages of the quahog clam, *Mercenaria* sp, *Mar Biol (Berl)* 1977; 40(3): 225-231.
- Cajaraville MP, Marigomez JA and Angulo E. Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels-1. Survival, growth and gonad development, *Comp Pharmacol* 1992; 102(1): 103-112.
- Caldwell RS, Caldarone EM and Mollon MH. Effects of a seawater soluble fraction of Cook Inlet crude oil and its major aromatic components on larval stage of the Dungeness crab, *Cancer magister* Dana. In: Wolfe DA. (ed.) Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms, Pergamon Press NY 1977; pp. 210-220.
- Capuzzo JM. Biological effects of petroleum hydrocarbons: Assessments from experimental results. In: long-term environmental effects of offshore oil and gas development, Boesch DF and Rabalais NN. eds., Elsevier Applied Science New York 1987; pp. 343-410.
- Carls M, Rice S and Hose J. Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: I. Low-level exposure during incubation causes malformations, genetic damage, and mortality in larval Pacific herring, *Clupea pallasii*, *Environ Toxicol Chem* 1999; 18(3): 481-493.
- Chang YJ, Lee KH, Kang DY and Chin P. Effects of the water soluble fraction from Kuwait crude oil on the early larval stages of three cultured fish species, *J Aquaculture* 2000; 13(1): 69-78.
- Clark RC and Finley JS. Effects of oil spills in arctic and subarctic environments. Chapter 9 In: Malins DC. (ed.) Effects of petroleum on arctic and subarctic marine Organisms. Vol II. biological Effects, New York Academic Press Inc 1977; pp. 411-476.
- Hamdoun AM, Griffin FJ and Cherr GN. Tolerance to biodegraded crude oil in marine invertebrate embryos and larvae is associated with expression of a multixenobiotic resistance transporter, *Aquat Toxicol* 2002; 61(1-2): 127-140.
- Heintz RA, Hhort JW and Rice SD. Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: Part II. Increased mortality of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) embryos incubating downstream from weathered Exxon Valdez crude oil, *Environ Toxicol Chem* 1999; 18(3): 494-503.
- Heintz RA, Rice SD, Wertheimer AC, Bradshaw RF, Thrower FP, Joyce JE and Short JW. Delayed effects on growth and marine survival of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha* after exposure to crude oil during embryonic development, *Mar Ecol Prog Ser* 2000; 208: 205-216.
- Incardona JP, Collier TK and Scholz NL. 2004. Defects in cardiac function precede morphological abnormalities in fish embryos exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons, *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 196(2): 191-205.
- Johnson D. Development of *Mytilus edulis* embryos: a bioassay for polluted waters, *Mar Ecol Prog Ser* 1988; 46: 135-138.
- Kennedy CJ and Farrell AP. Ion homeostasis and interregional stress responses in juvenile Pacific herring, *Clupea pallasii*, exposed to the water-soluble fraction of crude oil, *J Exp mar Biol Ecol* 2005; 323: 43-56.
- Lee BD, Lee TY and Chin P. Effects of crude oil ingredients on the development and oxygen uptake of hard clam, *Meretrix lusoria* (RODING), *Publ Inst Mar Sci Nat Fish Univ Pusan* 1975; 8: 31-38.
- Murakami Y, Kitamura S, Nakayama K, Matsuoka S and Sakaguchi H. Effects of heavy oil in the developing spotted halibut, *Verasper variegatus*. *Mar Pollut Bull* 2008; 57(6-12): 524-528.
- Ortiz-Zarragoitia M and Cajaraville MP. Biomarkers of exposure and reproduction-related effects in mussel exposed to endocrine disruptors, *Arch Environ Contam Toxicol* 2006; 50(3): 361-369.
- Paine MD, Leggett WC, McRuer JK and Frank KT. Effects of Hibernia crude oil on capelin (*Mallotus villosus*) embryos and larvae, *Mar Environ Res* 1992; 33(3): 159-187.
- Pelletier MC, Burgess RM, Ho KT, Kuhn A, McKinney RA and Ryba SA. Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles, *Environ Toxicol Chem* 1997; 16(10): 2190-2199.
- Pollino CA and Holdway DA. Toxicity testing of crude oil and related compounds using early life stages of the crimson-spotted rainbowfish, *Melanotaenia fluviatilis*, *Eco-toxicol Environ Saf* 2002; 52(3): 180-189.
- Ramachandran SD, Swezey MJ, Hodson PV, Boudreau M, Courtenay SC, Lee K, King T and Dixon JA. Influence of salinity and fish species on PAH uptake from dispersed crude oil, *Mar Pollut Bull* 2006; 52(10): 1182-1189.
- Shin YK, Cho KC, Jang DJ and Jin YG. Effect of crude oil on early life stage of flounder, *Paralichthys olivaceus*, *J Environ Toxicol* 2009; 24: 119-125.
- Stegeman JJ and Teal JM. Accumulation, release and reten-

- tion of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica*, Mar Biol 1973; 22(1): 37-44.
- Stekoll MS, Deysher L, Highsmith RC, Saupe SM, Guo Z, Erickson WP, McDonald L and Strickland D. Coastal habitat injury assessment: intertidal communities and the Exxon Valdez oil spill, Am Fish Soc Symp 1996; 18: 177-192.
- Stickle WB, Rice SD, Villars C and Metcalf W. Bioenergetics and survival of the marine mussel, *Mytilus edulis* L. during long-term exposure to the water soluble fraction of Cook Inlet crude oil. In: Vernberg FJ, Calabrese A, Thurberg FP and Vernberg WB. (eds), Physiological responses of marine biota to pollutants, Academic Press London New York San Francisco 1985.
- Stromgren T and Nielsen MV. Spawning frequency, growth and mortality of *Mytilus edulis* larvae, exposed to copper and diesel oil, Aquat Toxicol 1991; 21(3-4): 171-180.
- Venkateswaran K, Hoaki T, Kato M and Maruyama T. Microbial degradation of resins fractionated from Arabian light crude oil, Can J Microbiol 1995; 41(4-5): 418-424.
- Wake H. Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment, Estuarine Coastal Shelf Sci 2005; 62(1-2): 131-140.
- Wu J and Zhou X. A study of the effects of petroleum on the early development of mussel, *Mytilus edulis*, Trans Oceanol Limnol Haiyang Huzhao Tongbao 1992; 2: 46-50.