

## 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 수정란 부화율에 대한 중금속 (Cd, Cu, Zn)의 급성독성

황운기 · 류향미 · 김성길<sup>1</sup> · 박승윤 · 강한승\*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태 위해평가 센터

<sup>1</sup>해양환경관리공단 기후해양환경팀

## Acute Toxicity of Heavy Metal (Cd, Cu, Zn) on the Hatching Rates of Fertilized Eggs in the Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Un-Ki Hwang, Hyang-Mi Ryu, Seong-Gil Kim<sup>1</sup>, Seung-Yoon Park and Han Seung Kang\*

National Fisheries Research & Development Institute, West Sea Fisheries Research Institute,  
Marine Ecological Risk Assessment Center, Incheon 400-420, Korea

<sup>1</sup>Climate & Marine Environment Team, KOEM, Busan 606-080, Korea

**Abstract** – Acute toxicity test of heavy metal (Cd, Cu, Zn) were examined using the hatching rates of fertilized eggs in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Eggs were exposed to Cd, Cu, Zn (0, 10, 100, 500, 1000, 2500, 5000 ppb) and then normal hatching rates were investigated after 48 h. The normal hatching rates in the control condition (not including Cd, Cu and Zn) were greater than 80%, but suddenly decreased with increasing of heavy metal concentrations. Cd, Cu and Zn reduced the normal hatching rates in concentration-dependent way and a significant reduction occurred at concentration greater than 1000, 100, 100 ppb, respectively. The ranking of heavy metal toxicity was Zn>Cu>Cd, with EC<sub>50</sub> values of 584, 1015 and 1282 ppb, respectively. The no-observed-effect-concentration (NOEC) and the lowest-observed-effect-concentration (LOEC) showed each 100 and 500 ppb of normal hatching rates in exposed to Cu and Zn. The NOEC and LOEC of normal hatching rates in Cd were 500 ppb and 1000 ppb, respectively. From these results, the normal hatching rates of *P. olivaceus* have toxic effect at greater than the 100 ppb concentrations in Cu, Zn and the 500 ppb concentrations in Cd in natural ecosystems. These results suggest that biological assay using the normal hatching rates of *P. olivaceus* are very useful test method for the acute toxicity assessment of a toxic substance as heavy metal in marine ecosystems.

**Key words** : *P. olivaceus*, heavy metal, hatching rate, toxicity

### 서 론

해양에는 각종 유해물질이 존재하며 이들 물질 중에

는 해수의 자연성분으로도 잘 알려져 있는 미량금속이 포함되며, 특히 비중이 4~5 이상인 중금속은 해양생물에게 다양한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Pereira et al. 1998; DeForest et al. 2007; Atici et al. 2008). 중금속은 미량일지라도 수중생물에 농축 및 축적이 가능하며, 먹이연쇄를 통해 인체에까지 영향을 미치므로 중금속에

\*Corresponding author: Han Seung Kang, Tel. 032-745-0684,  
Fax. 032-745-0686, E-mail. kanghs@nfrdi.go.kr

의한 수중생물의 오염은 인류의 보건과도 직결되는 심각한 문제이다 (Yap *et al.* 2004; Reiley 2007).

이들 중금속 중에서 카드뮴(Cd)은 플라스틱의 색소 발현, 합금 및 건전지 제조에도 사용되고 있으나, 생물에 게 있어서는 필수 미량원소가 아니며 해양의 주요 오염 원이자 심각한 독성을 미친다 (Pereira *et al.* 1993; Novelli *et al.* 1999). 구리(Cu)와 아연(Zn)은 서로 첨가된 황동의 상태로 많이 이용되고 있으며, 특히 Cu의 경우는 우수한 열 전도성과 내식성을 이용하여 전선 및 일반 용기에도 널리 이용되고 있을 뿐만 아니라 선박의 외부 및 그물망의 부착 방지 도료에 많이 포함되어 있다 (Lundebye *et al.* 1999; McGeer *et al.* 2000). 또한, Cu와 Zn은 생물체 내에 흡수되어 정상적인 생명활동을 유지하기 위한 필수 미량원소로 잘 알려져 있지만, 그 농도가 높아지면 세포의 구조적 이상 및 생화학적 기능 장애로 인한 생리 학적인 불균형을 나타내 생물에게 독성 영향을 미치게 된다 (Viarengo 1985; Maage *et al.* 1989).

우리나라의 경우 중금속에 대한 해양생물의 영향연구는 부착성 이매패류 (Lee and Lee 1984; Choi *et al.* 1992)를 중심으로 이루어져 왔으며, 이들 연구의 대부분은 이 화학적 연구가 중심이 되어 생물에 미치는 독성 영향에 대한 연구보다는 생물 체내에 존재하는 중금속 함량에 초점을 맞추어 왔다. 하지만, 최근에는 이 화학적 분석 보다는 생물 독성 영향을 직접 밝혀서 해양생태계 내에서 서식하는 생물의 영향을 판단하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Han *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009; Hwang *et al.* 2011).

생물 중에서 어류는 먹이사슬 중 가장 상위단계에 있으며 인류가 가장 많이 섭취한다. 또한 중금속 영향에 관한 연구가 많이 진행되어 왔으나 (Park and Kim 1979; Hawkins *et al.* 1980), 대부분이 섭취 가능한 성체 중심의 연구가 이루어져 왔다. 대다수 어류는 체외 수정을 통해서 발생단계를 거치게 됨으로 내성이 가장 약한 초기생 활사는 중금속과 같은 오염물질에 노출될 경우 더 큰 영향을 받을 것으로 판단된다.

넙치 (*Paralichthys olivaceus*)는 우리나라 전 연안에 분포하는 종으로 다른 어종에 비해 이동범위가 좁아서 육상으로부터 유입되는 중금속과 같은 유해물질에 많은 영향을 받을 것으로 판단된다. 본 연구는 *P. olivaceus*의 수정란 부화율에 대한 Cd, Cu 및 Zn의 급성독성 영향을 파악함과 더불어 생태독성 평가 시험으로서의 활용 가능성을 파악하고자 하였다. 또한, 본 연구 결과를 이용해 자연생태계 내에서 중금속 영향에 대한 무영향농도 (No Observed Effective Concentration, NOEC) 및 최소영향농도 (Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)를 제

시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험생물

실험에 사용된 실험에 사용된 *P. olivaceus* 수정란은 제주도 북제주군 소재의 종묘생산업체로부터 수정란을 분양받아 실험에 이용하였다.

### 2. 시험액의 조성

시험생물에 노출시킬 중금속은 Cd (Cadmium Chloride, Sigma), Cu (Copper Nitrate Hydrate, Sigma) 및 Zn (Zinc Oxide, Sigma)을 이용하였다. *P. olivaceus* 수정란에 노출시킬 독성물질 시료는 여과된 자연해수를 이용하였으며, 사전 예비실험을 통하여 0, 10, 100, 500, 1000, 2500 및 5000 ppb 농도구로 설정하였다.

### 3. 배양조건

실험실에 운반된 수정란은 500 mL의 비이커에 여과된 자연해수 300 mL을 넣고 수정란 20~30개체를 넣은 다음 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 염분 및 중금속 농도를 조성한 배양액의 pH는  $8.0 \pm 1$ 이 되게 조절한 후,  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하는 배양기에서 48 h 동안 배양하여 대조구에서 80% 이상이 정상부화 되었을 때의 결과를 이용하였으며 자세한 배양조건은 Table 1에 나타내었다.

### 4. 부화율을 이용한 생물검정

실험은 농도별로 3회 반복 실시하였으며 수정란의 부화

**Table 1.** Experimental culture conditions using the hatching rates of oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*

Test parameters	Conditions
Experiment organisms	Fertilized eggs
Culture type	Static non-renewal 48 h acute toxicity test
Photoperiod	Ambient light condition and 12L : 12D
Temperature	$20 \pm 0.5^\circ\text{C}$
pH	$8.0 \pm 1$
Salinity	$32 \pm 1.0$ psu
Chamber volume	500 mL glass
Solution	filtered ( $0.45 \mu\text{m}$ )
Solution exchange	Non
Initial density	20~30 inds/glass
Experiment period	48 hr
Investigation item	Hatching rates
Test acceptability criterion	>80% hatching rates at control
Test materials	Cd, Cu, Zn

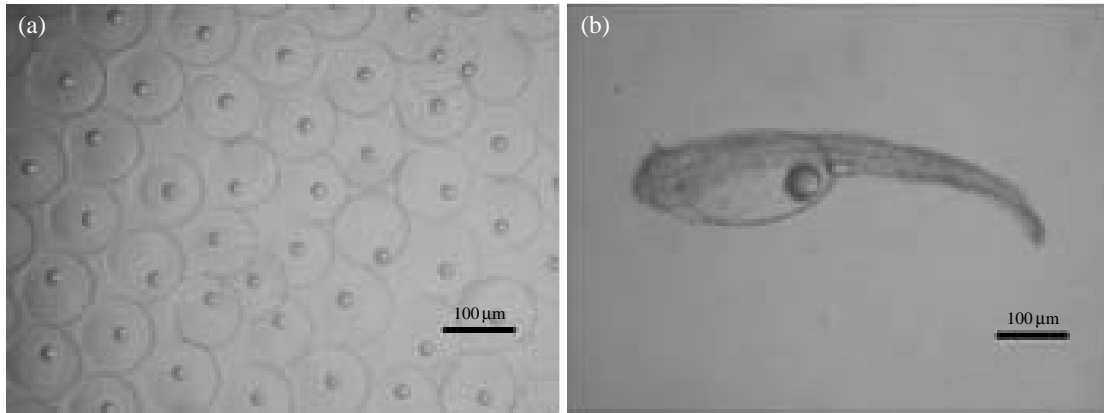


Fig. 1. Diagnostic features of fertilized eggs (a) and normal hatched eggs (b) in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*.

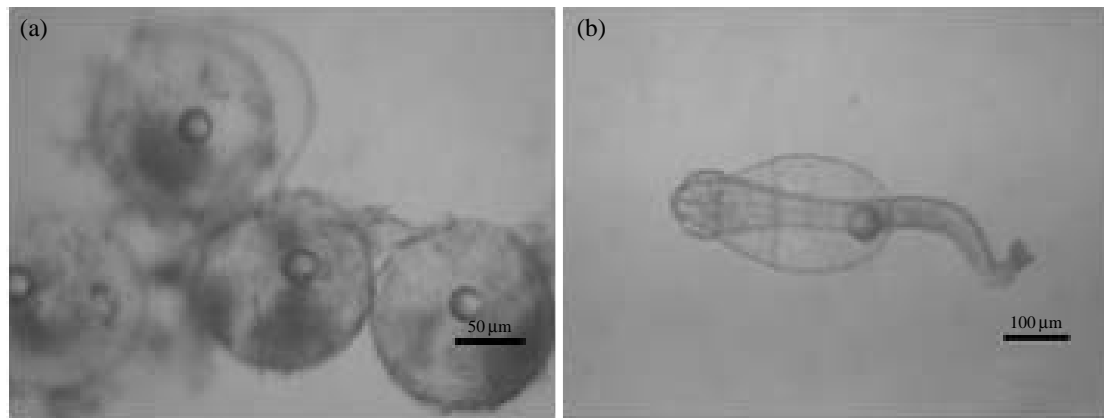


Fig. 2. Diagnostic features of abnormal hatched eggs ((a) no vertebration, (b) sway back) in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*.

율은 배양 48h 후, 광학현미경 ( $\times 50$ ) 아래에서 20개체 이상 관찰 및 계수하여 척추만곡 및 척추형성부전이 나타나지 않는 정상개체를 백분율(%)로 나타내었다(Figs. 1, 2).

이들 결과를 이용하여 정상 부화율에 대한 반수영향농도(50% Effective Concentration,  $EC_{50}$ )와 95% 신뢰구간(95% Confidence Limit, 95% CI)을 나타냈다. 또한, 무영향농도(No Observed Effective Concentration, NOEC)와 최소영향농도(Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)를 나타내었다.

### 5. 통계분석

대조군과 실험군과의 유의성 검정은 Student's *t*-test로 비교하였으며, *p*가 0.05 이하인 것을 유의한 것으로 나타내었다. 또한, probit 통계법을 이용해  $EC_{50}$ 과 95% CI를 산출하였고, Dunnett's test를 이용하여 NOEC와 LOEC 값을 나타내었다.

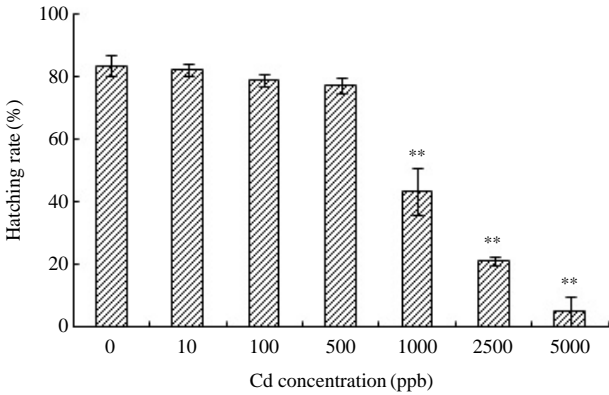
## 결 과

### 1. 중금속에 의한 부화율의 변동

Cd이 *P. olivaceus*의 부화율 변동에 미치는 영향 실험은 각 농도별로 3반복 실시하여 정상 부화율을 백분율로 나타내었다. *P. olivaceus* 수정란을 시험물질에 48 h 노출시켜 배양 후, Cd을 첨가하지 않은 대조 실험구의 부화율은 80% 이상을 나타냈다. 500 ppb의 농도까지는 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았으나, 1000 ppb에서 정상 부화율은 50% 이하로 급격하게 감소하여 대조구와 유의적인 차이를 나타냈다( $P < 0.01$ ). 2500 ppb의 농도에서는 정상 부화율이 20% 이하를 나타냈으며, 최대 농도인 5000 ppb에서는 5% 이하로 정상 부화율을 거의 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

Cu가 *P. olivaceus*의 부화율에 미치는 영향을 살펴본다. 대조구의 부화율은 80% 이상을 나타냈으며, 10 ppb

의 Cu 농도까지는 정상 부화율이 78%로 큰 변화를 나타내지 않았다. 하지만, 100 ppb 이상의 농도에서는 유의



**Fig. 3.** Changes of normal hatching rates in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to Cd. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  for control (Solvent only).

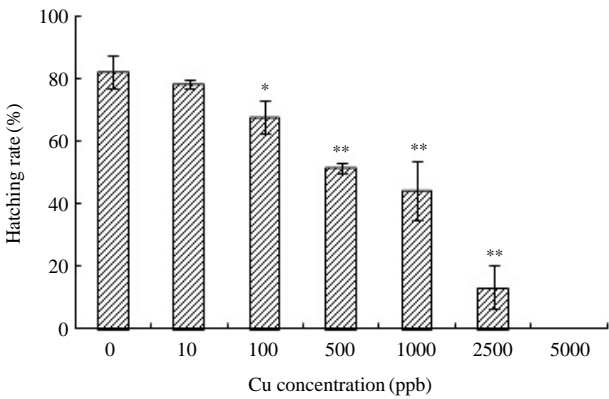
적인 차이를 나타내 ( $P < 0.05$ ), 500 ppb의 농도에서 52%로 감소하였으며, 1000 ppb 농도에서는 44%를 그 이상의 농도에서는 10% 이하로 급격히 감소했다 (Fig. 4).

Zn은 최소농도인 10 ppb의 농도에서 79%로 큰 차이를 나타내지 않았으나, Zn 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다. 100 ppb에서는 유의적인 감소를 나타내 ( $P < 0.05$ ) 500 ppb에서는 40% 이하로 감소하였으며, 1000 ppb 이상의 농도에서는 정상 부화율이 20% 이하로 급격히 감소하였다 (Fig. 5).

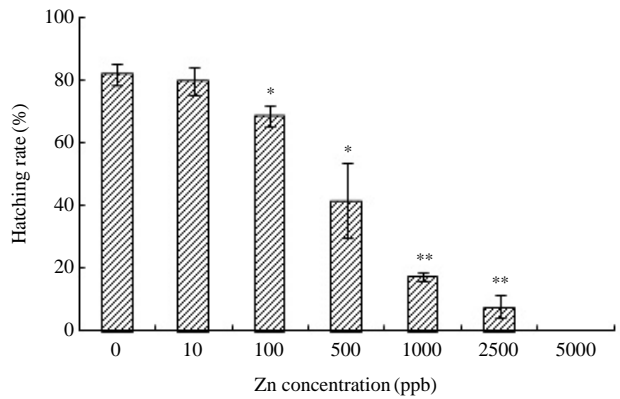
**2. 부화율을 이용한 중금속 독성평가**

정상 부화율은 중금속 농도가 증가할수록 급격히 감소하는 농도의존성을 나타냈으며, 농도반응 관계식이 표준 독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타냈다 (Fig. 6).

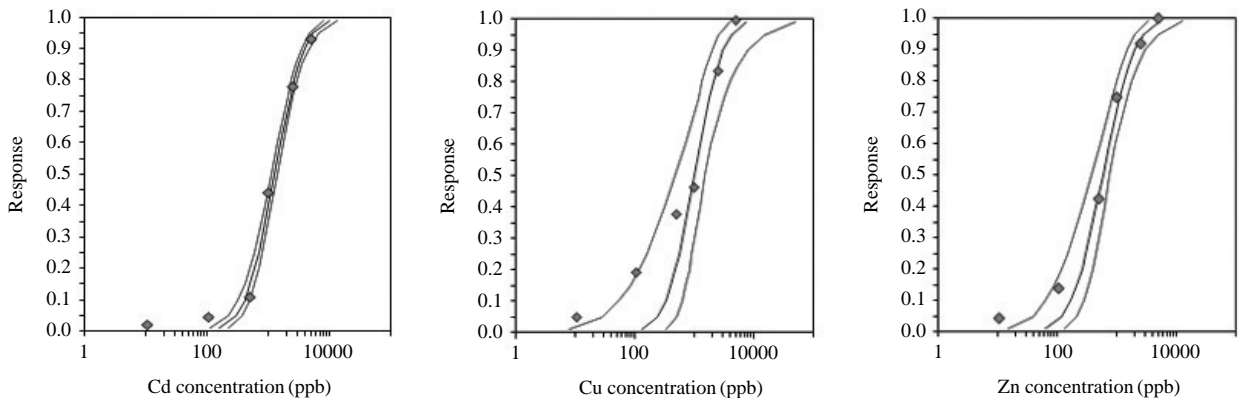
중금속 (Cd, Cu, Zn)이 *P. olivaceus* 수정란의 부화율에 미치는 영향에 대한 결과를 바탕으로 probit 통계법을 이용하여  $EC_{50}$ 과 95% CI을 산출하였고, Dunnett's를 이용



**Fig. 4.** Changes of normal hatching rates in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to Cu. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  for control (Solvent only).



**Fig. 5.** Changes of normal hatching rates in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to Zn. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  for control (Solvent only).



**Fig. 6.** Concentrations-response by heavy metal (Cd, Cu, Zn) treatment in normal hatching rates of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

**Table 2.** Toxicological estimation using the normal hatching rates in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to heavy metal (Cd, Cu, Zn)

Items	Toxicity (End-points)	Heavy Metal (ppb)		
		Cd	Cu	Zn
EC <sub>50</sub>	Normal Hatching rate	1282	1015	584
95% CI	Normal Hatching rate	1140~1424	484~1532	380~772
NOEC	Normal Hatching rate	500	100	100
LOEC	Normal Hatching rate	1000	500	500

EC<sub>50</sub>: 50% Effective Concentration, 95% CI: 95% Confidence Limit, NOEC: No Observed Effective Concentration, LOEC: Lowest Observed Effective Concentration

하여 NOEC 및 LOEC 값을 Table 2에 나타내었다.

Cd에 대한 정상 부화율의 EC<sub>50</sub>은 1282 ppb를 나타냈고, EC<sub>50</sub>에 대한 95% CI는 1140~1424 ppb를 나타냈다. NOEC와 LOEC는 각각 500, 1000 ppb를 나타냈다. Cu에 대한 EC<sub>50</sub>은 1015 ppb를 나타냈고, 95% CI는 484~1532 ppb를 나타냈다. NOEC와 LOEC는 각각 100, 500 ppb를 나타냈다. Zn에 대한 EC<sub>50</sub>은 584 ppb를 95% CI는 380~772 ppb를 나타냈으며, NOEC와 LOEC는 각각 100, 500 ppb를 나타냈다.

## 고 찰

산업폐수 및 도시하수 등에 함유된 다양한 유해물질의 유입으로 해양생태계를 전략적으로 감시할 수 있는 방안이 부각되고는 있으나 (Bidwell *et al.* 1998), 대부분 연안해역에서 실시되는 환경조사는 특정 유해물질을 이화학적으로 정량하여 기준치와 비교하는 방법으로 진행되고 있다. 이런 방법은 해양에 존재하는 유해물질에 대한 개별 정보를 제공한다는 점에서는 매우 유용하나, 해양생물에 미치는 직접적인 영향을 판단할 수 없을 뿐만 아니라, 미지의 유해물질에 대한 탐지 능력이 제한되어 있고 유해물질의 상호작용에 의해 발생하는 독성의 상승 (synergism), 부가 (addition) 및 길항 (antagonism) 작용에 대해서는 어떤 정보도 얻을 수 없다는 단점이 있다 (Ahlf *et al.* 2002; Chu and Chow 2002). 이러한 이화학적 분석 방법의 한계성을 극복하기 위하여 단일 유해물질의 양을 관찰하기 보다는 생물의 생리 및 행동학적 반응을 이용하여 통합적인 독성을 평가하는 생태독성 연구가 우리나라에서도 활발하게 진행되고 있다 (Han *et al.* 2008; Lee *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2011).

*P. olivaceus*는 우리나라 전 연안에 분포하는 종으로 다른 어종에 비해 이동범위가 좁고 연안에서 서식하는 어류일 뿐만 아니라 연중 시험생물인 수정란을 얻을 수 있다는 장점으로 인해 생태독성 시험생물로 활용가능성

이 클 것으로 판단된다. 본 연구결과에서도 *P. olivaceus*의 초기생활사에 속하는 수정란의 부화율은 중금속 농도가 증가할수록 급격히 감소하여 농도의존성이 강하게 나타났으며, 농도반응 관계식이 표준 독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타내 중금속의 생태독성 평가를 위하여 적절한 시험생물로 판단된다.

본 연구결과에서 독성물질에 대한 상대적 독성을 평가하기 위하여 사용되는 EC<sub>50</sub>을 이용하여 중금속 3종이 *P. olivaceus* 수정란 부화율에 미치는 영향을 살펴보면 Zn > Cu > Cd의 순으로 독성 영향을 미치는 것으로 알 수 있다. Zn과 Cu는 생명유지를 위한 필수 미량원소로 잘 알려져 있어 상대적으로 Cd의 독성이 높게 나타날 것으로 판단했으나, 본 연구결과에서는 Zn과 Cu가 높게 나타났다. Hwang *et al.* (2009)는 말뚝성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 배아 발생률을 이용한 실험에서 Cu의 EC<sub>50</sub>은 10.32 ppb, Cd은 244.01 ppb로 본 연구와 유사하게 Cu가 Cd에 비해 독성이 강한 것으로 보고하였다. 또한, Kobayashi (1995)는 성게의 초기 배 발생에 미치는 영향에서 Hg > Cu > Zn > Ni > Cd 순으로 영향을 미치는 것으로 보고하여, 본 연구결과와의 Zn과 Cu의 상대적 독성에서는 차이를 나타냈다. 불가사리의 초기 발생에 미치는 중금속 영향을 조사한 Yu (1998)의 결과에서는 아므르 불가사리 (*Asterias amurensis*)는 Hg > Cu > Zn > Cd > Ni의 순서로 영향을 미치며, 별 불가사리 (*Asterias pectinifera*)는 Cu > Hg > Zn > Cd > Ni 순서로 독성이 큰 것으로 보고하여 상대적 독성에 차이가 있음을 보고하였다. 본 연구결과에서 *P. olivaceus* 부화율에 대한 Cu의 EC<sub>50</sub>은 1015 ppb였으며 진주담치 (*Mytilus edulis*)의 배아 발생을 이용한 Michael *et al.* (1981)의 경우는 1200 ppb, 말뚝성게 (*H. pulcherrimus*)의 배아 발생을 이용한 Hwang *et al.* (2009)의 연구에서는 10.32 ppb로 보고되고 있다. 이들 연구결과를 통해서 생물종에 따라 중금속 독성에 대한 민감도와 중금속에 대한 상대적 독성 영향도 차이가 있는 것으로 판단된다.

본 연구 결과를 이용하여 Dunnett's test를 실시한 통계

분석에 의해 해양생태계 내에서 Zn과 Cd의 농도는 100 ppb, Cd의 경우는 500 ppb를 초과할 경우, *P. olivaceus*의 정상 부화율은 감소할 것으로 판단된다. 본 연구는 사육 및 관리가 편리한 동, 식물 플랑크톤을 대상으로 이루어 지던 생태독성 시험연구에서 탈피하여, 유용수산생물자원인 *P. olivaceus*를 이용하여 수산생물 위해성 평가시에 유용하게 활용될 것으로 판단된다. 또한, *P. olivaceus*의 정상 부화율에 대한 위해성 시험이 자연생태계의 해수 및 퇴적물의 건강성 평가에도 적절히 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 적 요

넙치(*Paralichthys olivaceus*) 수정란의 부화율에 대한 중금속(Cd, Cu, Zn)의 급성독성을 조사하였다. Cd, Cu 및 Zn(0, 10, 100, 500, 1000, 2500, 5000 ppb)에 수정란을 48 h 노출시킨 후, 정상 부화율을 백분율로 나타내었다. Cd, Cu 및 Zn을 포함하지 않는 대조구에서는 정상 부화율이 80% 이상을 나타냈으나, 중금속 농도가 증가할수록 정상 부화율은 급격히 감소하였다. 정상 부화율은 Cd, Cu 및 Zn에 대해 농도 의존적으로 감소하였으며, 각각 1000, 100, 100 ppb 이상의 농도에서 유의적이 차이를 나타내었다. *P. olivaceus*의 정상 부화율에 대한 Cd, Cu 및 Zn의 반수영향농도(EC<sub>50</sub>)를 이용한 독성은 Zn > Cu > Cd 순으로 강한 것으로 나타났으며, 이들 중금속에 대한 EC<sub>50</sub>는 각각 584, 1015, 1282 ppb를 나타내었다. Cd에 대한 NOEC는 500 ppb를 나타냈고 LOEC는 500 ppb를 나타내었다. Cu와 Zn의 NOEC와 LOEC 각각 100 ppb와 500 ppb로 유사한 값을 나타내었다. NOEC와 LOEC 결과로부터 자연생태계 내에서 Cu와 Zn 농도는 100 ppb, Cd 농도는 500 ppb를 초과할 경우 *P. olivaceus* 수정란의 정상 부화율은 감소할 것으로 판단된다. 본 연구결과를 바탕으로, *P. olivaceus*의 정상 부화율을 이용한 생물학적 시험은 중금속과 같은 유해물질에 대한 해양생태계의 영향을 판단하기 위한 시험방법으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 2012년도 국립수산과학원 경상과제 연구비 지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해 평가센터에서 수행하였다.

## 참 고 문 헌

- Ahlf W, H Hollert, H Neumann-Hensel and M. Ricking. 2002. A guidance for the assessment and evaluation of sediment quality: A german approach based on ecotoxicological and chemical measurements. *J. Soils Sediments* 2:37-42.
- Atici T, S Ahiska, A Altindag and D Aydin. 2008. Ecological effects of some heavy metals (Cd, Pb, Hg, Cr) pollution of phytoplanktonic algae and zooplanktonic organisms in Saryar Dam Reservoir in Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 7:1972-1977.
- Bidwell JR, KW Wheeler and TR Burridge. 1998. Toxicant effects on the zoospore stage of the marine macroalga *Ecklonia radiata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 163:259-265.
- Choi HG, JS Park and PY Lee. 1992. Study on the heavy metal concentration in mussel and oyster from the Korean coastal water. *Bull. Korean Fish. Soc.* 25:485-494.
- Chu KW and KL Chow. 2002. Synergistic toxicity of multiple heavy metals is revealed by a biological assay using a nematode and its transgenic derivative. *Aquat. Toxicol.* 61:53-64.
- DeForest DK, KV Brix and WJ Adams. 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: the inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquat. Toxicol.* 84:236-246.
- Han TJ, YS Han, GS Park and SM Lee. 2008. Development marine ecotoxicological standard methods for *Ulva* sporulation test. *Kor. J. Soc. Ocean.* 13:121-128.
- Hawkins WE, LG Tate and TG Sarphie. 1980. Acute effects of cadmium on the spot *Leiostomus xanthurus* (Teleostei): tissue distribution of renal ultrastructure. *J. Toxicol. Environ. Health.* 6:283-295.
- Hwang UK, CW Rhee, KS Kim, KH An and SY Park. 2009. Effects of salinity and standard toxic metal (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *J. Environ. Toxicol.* 24:9-16.
- Hwang UK, HM Ryu, YH Choi, SM Lee and HS Kang. 2011. Effect of cobalt (II) on the fertilization and embryo development of the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). 29:251-257.
- Kobayashi N. 1995. Bioassay data for marine pollution using echinoderms. *Encyclopedia of Environ. Control Technol.* 9:539-609.
- Lee JS, SM Lee and GS Park. 2008. Development of sediment toxicity test protocols using korea indigenous marine growth inhibition of marine phytoplankton. *Kor. J. Soc. Ocean.* 13:147-155.
- Lee SH and KW Lee. 1984. Heavy metals in mussels in the

- Korean coastal waters, *J. Oceanol. Soc. Korea* 19:111-1117.
- Lundebye AK, MHG Berntssen, SE Wendelar and A Maage. 1999. Biochemical and physiological responses in atlantic salmon (*Salmo salar*) following dietary exposure to copper and cadmium. *Mar. Poll. Bull.* 39:137-144
- Maage A, H Sveir and K Julshamn. 1989. A comparison of growth rate and trace element accumulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry four different commercial diets. *Aquaculture* 79:267-273.
- McGeer JC, C Szebedinszky, DG McDonald and CM Wood. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 50:231-243.
- Michael M, EO Kenneth, B Patricia and G Neil. 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Mar. Pollut. Bull.* 12:305-308.
- Novelli ELB, AM Lopes, ASE Rodrigues and BO Ribas. 1999. Superoxide radical and nephrotoxic effect of cadmium exposure. *International J. Environ. Heal. Res.* 9:109-116.
- Park JS and GH Kim. 1979. Bioassays on marine organisms III. Acute toxicity test of mercury, copper and cadmium to Yellowtail (*Quinqueradiata seriola*) and Rock Bream (*Oplegnathus fasciatus*). *Bull. Korean Fish. Soc.* 12:119-123.
- Pereira JJ, M Allen, C Kuropat, D Luedke and G Sennefelder. 1993. Effect of cadmium accumulation on serum vitellogenin levels and hepatosomatic and gonadosomatic indices of winter flounder (*Pleuronectes americanus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24:427-431.
- Pereira SA, A Nascimento, H Smith, H Leite, NL de Araújo and A Silva. 1998. The combined effects of temperature and metals copper, zinc and mercury on the embryological development of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*. *Ecotoxicol. Environ. Restoration* 1:21-32.
- Reiley MC. 2007. Science, policy and trends of metals risk assessment at EPA: how understanding metals bioavailability has changed metals risk assessment at USEPA. *Aquat. Toxicol.* 84:292-298.
- Viarengo A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 16:153-158.
- Yap CK, A Ismail and SG Tan. 2004. Heavy metal (Cd, Cu, Pb and Zn) concentrations in the green-lipped mussel *Perna viridis* collected from some wild and aquacultural sites in the west coast of Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 84:569-575.
- Yu CM. 1998. A study on the effect of heavy metals on early embryos development of starfish, *Kor. J. Env. Biol.* 16:151-156.

Received: 5 June 2012

Revised: 8 June 2012

Revision accepted: 11 June 2012