

중금속 (Pb, Cr, As)이 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 수정란 부화율에 미치는 독성 영향

박종수 · 박승윤 · 황운기*

국립수산과학원 서해수산연구소 자원환경과

Toxic Effects of Heavy Metal (Pb, Cr, As) on the Hatching Rates of Fertilized Eggs in the Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Jong-Soo Park, Seung-Yoon Park and Un-Ki Hwang*

Fisheries Resources and Environment Division, West Sea Fisheries Research Institute,
National Fisheries Research & Development Institute, Incheon 400-420, Korea

Abstract - Toxic effects of heavy metal (Pb, Cr, As) were examined by the hatching rates of fertilized eggs in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Eggs were exposed to Pb, Cr, As (0, 10, 100, 500, 1,000, 2,500, 5,000 ppb) and then normal hatching rates were investigated after 48 h. The normal hatching rates in the control condition (not including heavy metal) were greater than 80%, but suddenly decreased with increasing of heavy metal concentrations. Pb, Cr and As reduced the normal hatching rates in concentration-dependent way and a significant reduction occurred at concentration greater than 100, 100, 500 ppb, respectively. The ranking of heavy metal toxicity was Cr > As > Pb, with EC₅₀ values of 415, 518 and 1,029 ppb, respectively. The no-observed-effect-concentration (NOEC) and lowest-observed-effect-concentration (LOEC) show each 100 ppb and 500 ppb of normal hatching rates in exposed to Pb and As. The NOEC and LOEC of normal hatching rates in Cr were 10 ppb and 100 ppb, respectively. From these results, the normal hatching rates of *P. olivaceus* have toxic effect at greater than the 100 ppb concentrations in Pb, As and the 10 ppb concentrations in Cr in natural ecosystems. These results suggest that biological assay using the normal hatching rates of *P. olivaceus* are very useful test method for the toxicity assessment of a toxic substance as heavy metal in marine ecosystems.

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

서 론

최근 산업기술의 발달에 따라 사용되는 중금속의 양은 해마다 증가하고 있으며, 이들 중금속은 다양한 농도로

육상뿐만 아니라 해양생태계에 존재하며 생물들에게 독성 영향을 미친다(Pereira *et al.* 1998; DeForest *et al.* 2007; Atici *et al.* 2008). 해양에 유입된 중금속은 퇴적물과의 결합에 의해 축적률이 높아 다른 오염물질보다도 상대적으로 긴 반감기를 가지고 있다. 미량일지라도 농축 및 축적이 가능하여 생물의 생리적 장애를 유발하며, 먹이연쇄를 통해 인체에까지 영향을 미칠 수 있다(Martin and Whitfield 1983; Phillips and Segar 1986).

* Corresponding author: Un-Ki Hwang, Tel. 032-745-0680, Fax. 032-745-0686, E-mail. vngil@nfrdi.go.kr

이들 중금속 중 납(Lead, Pb)은 인체 대사에 불필요한 유해금속물질(Toxic and non-essential metal)로 잘 알려져 있다. 페인트의 계면활성제, 자동차 윤활유 및 납시재료 등에 포함되어 있으며, 미량일지라도 장시간 노출 시에는 체내에 축적되어 다양한 종류의 급·만성 독성을 유발한다(Mahaffey *et al.* 1981; Mahaffey 1983; Park *et al.* 2006; Lee *et al.* 2009). 먹이 연쇄를 통해 체내에 흡수된 Pb의 90% 이상은 뼈에 축적되어 잘 유리되지 않으며, 발암물질의 작용을 촉진할 뿐만 아니라 인체의 모든 부분에 치명적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Suh *et al.* 1999). 크롬(Chromium, Cr)은 화학적 안정성과 내열성, 내부식성, 전기저항성이 강하기 때문에 각종 금속의 도금 및 합금에 널리 사용되는 금속이며, 중독되면 구토와 복통 등이 생기고 심하면 무뇨증과 요독증으로 수일 내에 사망하게 된다(Suh *et al.* 1999). 비소(Arsenic, As)는 살충제, 목재 보존제 및 농작물에 필요한 보충제뿐만 아니라 유리와 전자기기의 제조에도 사용되어 왔고(Eisler 1988), 광산, 제련, 금속제조와 화석연료 등으로 사용되고 있어 국내를 비롯하여 많은 국가의 오염원이 되고 있다(Karagas *et al.* 2002; Ayotte *et al.* 2003; Mukgerjee *et al.* 2006).

우리나라의 경우 중금속이 해양생물에 미치는 영향 연구는 부착성 이매패류(Lee and Lee 1984; Choi *et al.* 1992)를 중심으로 이루어져 왔으며, 이들 연구의 대부분은 이화학적 연구가 중심이 되어 생물에 미치는 독성 영향에 대한 연구보다는 생물 체내에 존재하는 중금속 함량에 초점을 맞추어 왔다. 그러나, 최근에는 이화학적 분석보다는 생물 독성 영향을 직접 밝혀서 해양생태계의 위해성을 판단하고자 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Han *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009; Hwang *et al.* 2011).

해양생물 중 어류는 먹이사슬의 가장 상위단계에 있으며 인류가 가장 많이 섭취하고 있다. 중금속의 독성 영향에 관한 연구가 일부 진행되어 왔으나(Hawkins *et al.* 1980), 대부분이 섭취 가능한 성체 중심의 연구가 이루어져 왔다. 대다수의 어류는 체외 수정을 통해서 발생단계를 거치게 됨으로 내성이 가장 약한 초기생활사는 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 부화율을 이용해 Pb, Cr 및 As의 독성 영향을 파악함과 동시에 해양유입 유해물질에 대한 생물영향 판단을 위한 유용한 시험방법으로써의 타당성도 평가하고자

하였다. 또한, 본 연구결과를 바탕으로 자연생태계 내에서 이들 중금속의 독성 영향에 대한 *P. olivaceus*의 정상 부화율의 무영향농도(No Observed Effective Concentration, NOEC) 및 최소영향농도(Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험생물

실험에 사용된 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 수정란은 제주도 복제주근 소재의 종묘생산업체로부터 수정란을 분양받아 실험에 이용하였다.

2. 시험액의 조성

시험생물에 노출시킬 중금속은 Pb(Lead Nitrate, Sigma), Cr(Chromium Oxide, Sigma) 및 As(Arsenic Oxide, Sigma)을 이용하였으며, Cr의 경우는 해수에 녹일 경우 Cr 산으로 전형적인 6가 Cr 형태를 나타냈다. 넙치수정란에 노출시킬 독성물질 시료는 여과된 자연해수를 이용하였으며, 사전 예비실험을 통하여 0, 10, 100, 500, 1,000, 2,500 및 5,000 ppb 농도구로 설정하였다.

3. 배양조건

실험실에 운반된 수정란은 500 mL의 비이커에 여과된 자연해수 300 mL를 넣고 수정란 20~30개체를 넣고 실험을 실시하였다. 실험에 사용된 중금속 농도를 조성한 배양액의 pH는 8.0 ± 1 이 되게 조절한 후, $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 를 유지

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 ± 1
Salinity	32 ± 1.0 psu
Chamber volume	500 mL glass
Solution	Filtered (0.45 μm)
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	Pb, Cr, As

하는 배양기에서 48 h 동안 배양해서 대조구에서 80% 이상이 정상부화되었을 때, 결과를 이용하였으며 자세한 배양조건은 Table 1에 나타내었다.

4. 부화율을 이용한 생물검정

실험은 농도별로 3회 반복 실시하였으며 수정란의 부화율은 배양 48 h 후, 광학현미경 ($\times 50$) 아래에서 20개체 이상 관찰 및 계수하여 척추형성부전 및 척추만곡이 나타나지 않는 정상개체를 백분율(%)로 나타내었다 (Figs. 1 and 2).

이들 결과를 이용하여 정상 부화율에 대한 반수영향 농도 (50% Effective Concentration, EC_{50})와 95% 신뢰구간 (95% Confidence Limit, 95% CI)을 나타냈다. 또한, NOEC와 LOEC를 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

Pb이 *P. olivaceus*에 미치는 영향은 각 실험 농도별로 3반복 실시하여 정상적으로 부화된 개체를 백분율(%)로 나타내었다. 중금속을 첨가하지 않은 *P. olivaceus* 수

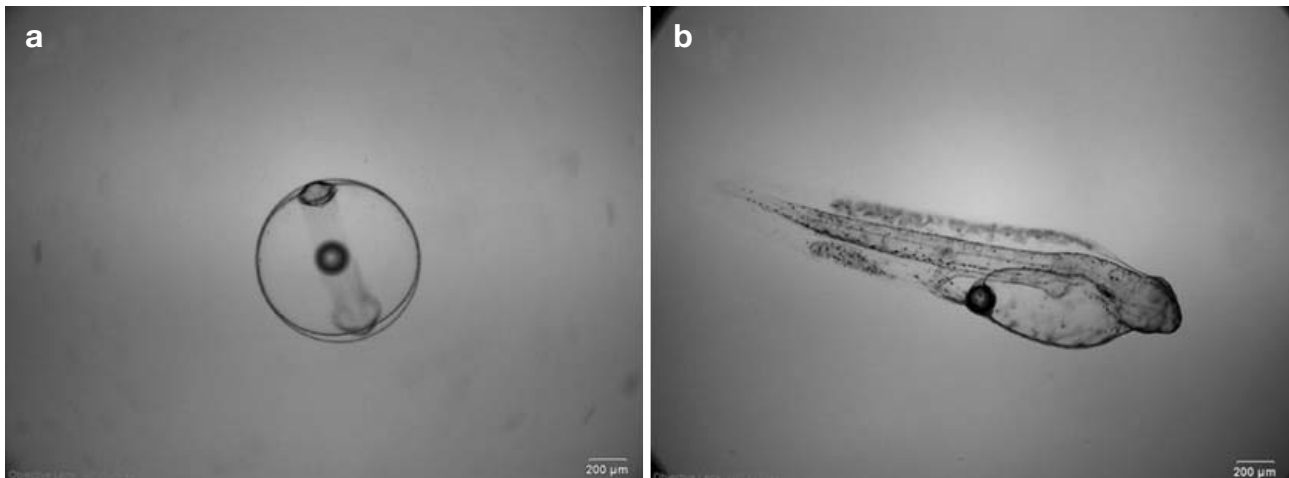


Fig. 1. Diagnostic features of normal vertebration (a) and hatched eggs (b) in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

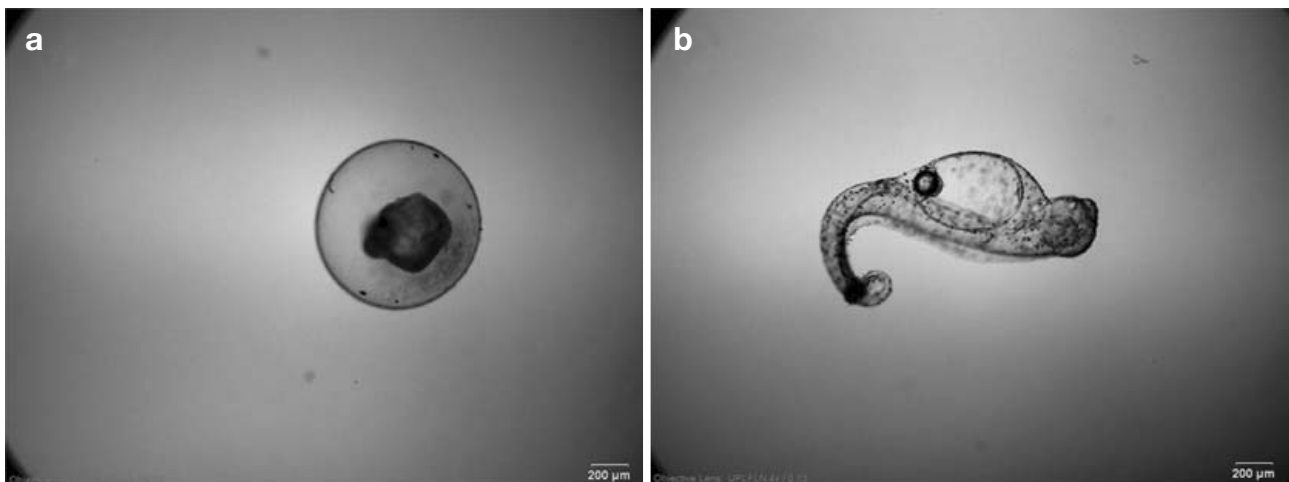


Fig. 2. Diagnostic features of no vertebraton (a) and sway back (b) in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

정란의 정상 부화율은 82%를 나타냈다. 최소 농도인 10 ppb에 노출된 수정란의 정상 부화율은 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았으나, Pb 농도가 증가할수록 감소하

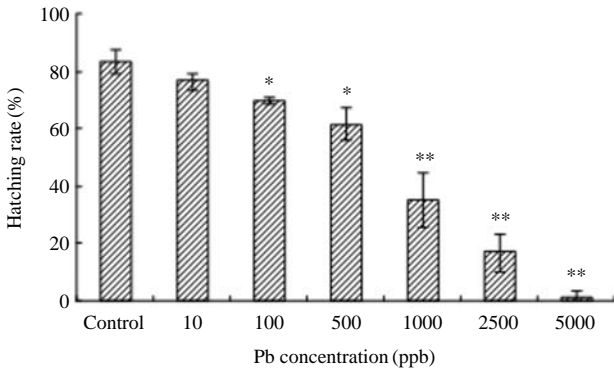


Fig. 3. Changes of normal hatching rates in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to Pb. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ for control (Solvent only).

는 경향을 나타내었다(Fig. 3). 100 ppb의 농도에서는 정상 부화율은 70%로 감소하여 대조구와 유의한 차이를 나타냈으며 ($P < 0.05$), 500 ppb에서는 정상 부화율이 62%를 나타냈다 ($P < 0.05$). 1,000 ppb에서는 35% ($P < 0.01$), 2,500 ppb에서는 17% ($P < 0.01$)로 급격히 감소하였으며, 최대 농도인 5,000 ppb에서는 정상 부화된 개체가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3).

Cr이 *P. olivaceus*의 부화율에 미치는 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 10 ppb의 농도까지는 정상 부화율이 79%로 큰 변화를 나타내지 않았으나, 100 ppb의 농도에서는 65%로 유의한 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$). 500 ppb의 농도에서는 38%로 급격히 감소하였으며 ($P < 0.01$), 1,000 ppb에서는 13%를 나타냈으며 그 이상의 농도에서는 정상 부화된 개체를 거의 관찰할 수가 없었다(Fig. 4).

As는 100 ppb 이하의 농도에서는 대조구와 큰 차이를 나타내지 않았으나, As 농도가 증가할수록 급격히 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 5). 500 ppb의 농도에서는

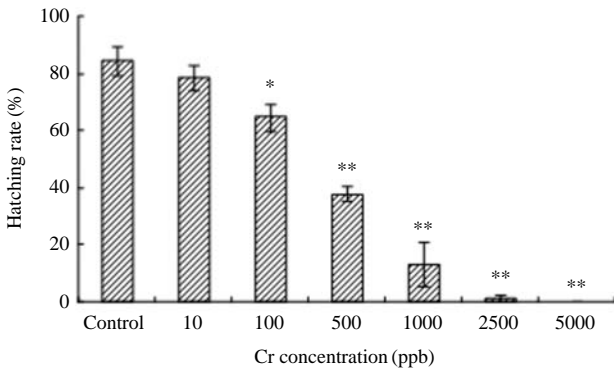


Fig. 4. Changes of normal hatching rates in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to Cr. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ for control (Solvent only).

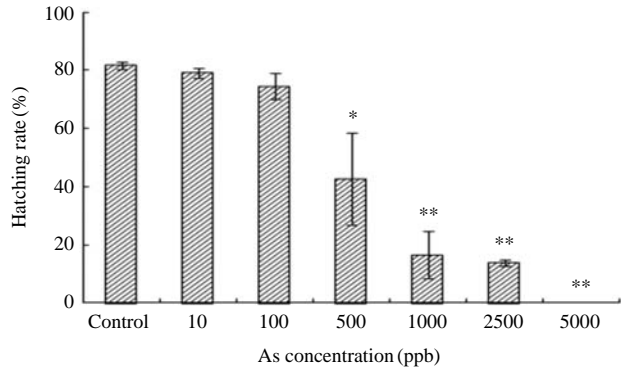


Fig. 5. Changes of normal hatching rates in the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to As. Vertical bars represent the SE of the mean for three times. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ for control (Solvent only).

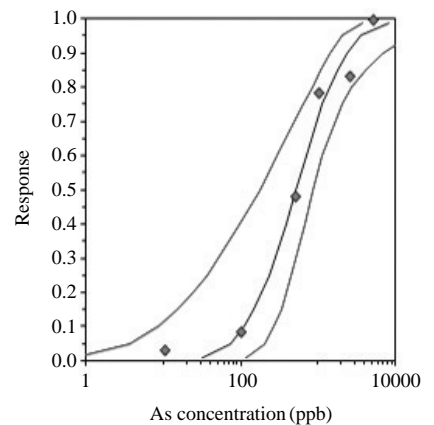
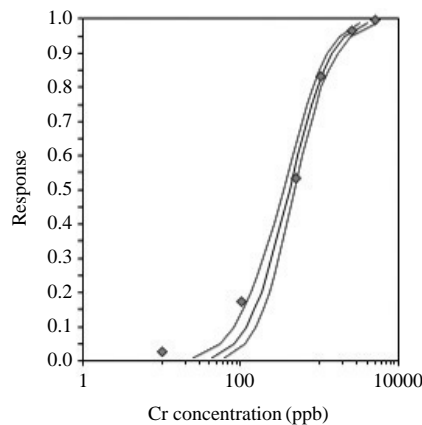
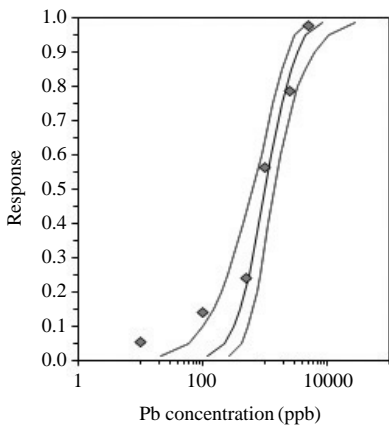


Fig. 6. Concentrations-response by heavy metal (Pb, Cr, As) treatment in normal hatching rates of oliver flounder, *Paralichthys olivaceus*.

Table 2. Toxicological estimation using the normal hatching rates of the oliver flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to heavy metal (Pb, Cr, As)

Items	Toxicity (End-points)	Heavy metal (ppb)		
		Pb	Cr	As
EC ₅₀	Normal Hatching rate	1029	415	518
95% CI	Normal Hatching rate	637~1415	346~480	176~867
NOEC	Normal Hatching rate	100	10	100
LOEC	Normal Hatching rate	500	100	500

EC₅₀: 50% effective concentration, 95% CI: 95% Confidence Limit, NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration

정상 부화율이 43%로 감소하였으며 ($P < 0.05$), 1,000 ppb 이상의 농도에서는 17% 이하로 감소하였다 ($P < 0.01$) (Fig. 5).

2. 정상 부화율을 이용한 중금속 독성평가

중금속 농도가 증가할수록 *P. olivaceus*의 정상 부화율은 급격히 감소하는 농도의존성을 나타냈으며, 농도반응 관계식이 표준 독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타냈다 (Fig. 6). 농도 반응에 따른 편차가 As에서 가장 큰 것으로 나타났으며, Cr의 경우는 거의 없는 것으로 나타났다.

중금속 (Pb, Cr, As)이 *P. olivaceus* 수정란의 정상 부화율에 미치는 영향에 대한 결과를 바탕으로 probit 통계법을 이용하여 EC₅₀과 95% CI를 산출하였고, Dunnett's를 이용하여 NOEC 및 LOEC 값을 Table 2에 나타내었다.

Pb에 대한 정상 부화율의 EC₅₀은 1,029 ppb를 나타냈고, EC₅₀에 대한 95% CI는 637~1,415 ppb를 나타냈다. NOEC와 LOEC는 각각 100, 500 ppb를 나타냈다. Cr에 대한 EC₅₀은 415 ppb를 나타냈고, 95% CI는 346~480 ppb를 나타냈으며, NOEC와 LOEC는 각각 10, 100 ppb를 나타냈다. As에 대한 EC₅₀은 518 ppb를 95% CI는 176~867 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 진행

되고 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.* 2009; Hwang *et al.* 2011).

덧붙여, *Paralichthys olivaceus*는 연중 시험생물인 수정란을 얻을 수 있다는 장점으로 인해 생물영향을 평가하기 위한 시험생물로 활용가능성이 클 것으로 판단된다. 본 연구결과에서도 *P. olivaceus*의 초기생활사에 속하는 수정란의 부화율은 중금속 농도가 증가할수록 급격히 감소하여 농도의존성을 강하게 나타내었으며, 농도반응 관계식이 표준 독성반응으로 잘 알려진 Sigmoid 형태를 나타내 중금속에 대한 생물영향 평가를 위한 시험생물로 적합한 것으로 판단된다.

본 연구결과에서 독성물질에 대한 상대적 독성을 평가하기 위하여 사용되는 EC₅₀을 이용하여 중금속 3종이 *P. olivaceus* 수정란 부화율에 미치는 영향을 살펴보면 Cr > As > Pb의 순으로 나타났다. Hwang *et al.* (2012)은 *P. olivaceus* 수정란 부화율을 이용한 실험에서 Cd의 EC₅₀은 1,282 ppb, Cu는 1,015 ppb, Zn은 584 ppb로 보고하였다. Hwang *et al.* (2012)의 연구결과와 본 연구결과의 EC₅₀을 이용하여 중금속에 대한 *P. olivaceus* 수정란 부화율에 미치는 독성 영향을 살펴보면, Cr > As > Zn > Cu > Pb > Cd 순으로 나타났다. Kobayashi (1995)는 성계의 초기 배 발생에 미치는 영향에서 Hg > Cu > Zn > Ni > Cd 순으로 영향을 미치는 것으로 보고하였다. 불가사리의 초기 발생에 미치는 중금속 영향을 조사한 Yu (1998)의 결과에서는 아므로 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 보고하다. Zn과 Cu는 생물에게 있어 생명유지를 위한 필수 미량원소로 잘 알려져 있어 상대적으로 독성이 낮게 나타날 것으로 판단했으나, 상대적으로 큰 것으로 나타났다. 본 연구결과에서 *P. olivaceus* 부화율에 대한 Pb의 EC₅₀은 1,029 ppb였으며 진주담치 (*Mytilus edulis*)의 배아 발생을 이용한 Michael *et al.* (1981)의 경우는 476 ppb, 말뚝성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 배아

발생을 이용한 Hwang *et al.* (2012)의 연구에서는 45 ppb로 보고되고 있다. 이들 연구결과를 통해서 생물종에 따라 중금속 독성에 대한 민감도와 중금속에 대한 상대적 독성 영향은 차이가 있는 것으로 판단된다. 또한, 시험생물 종에 따라 다른 노출기간 등과 같은 시험방법에 의한 차이도 고려해야 할 것이다.

본 연구 결과를 이용하여 Dunnett's test를 실시한 통계분석에 의하면 해양생태계 내에서 Pb과 As의 농도는 100 ppb, Cr의 경우는 10 ppb를 초과할 경우, *P. olivaceus*의 정상 부화율은 독성 영향을 받을 것으로 판단된다. 본 연구는 사육 및 관리가 편리한 동, 식물 플랑크톤을 대상으로 이루어지던 생태독성 시험연구에서 탈피하여 유용수생생물자원인 *P. olivaceus*를 이용한 것으로, 향후 해양유입 유해물질에 대한 수산생물 위해성 평가 시에 유용하게 활용될 것으로 판단된다.

적 요

넙치, *Paralichthys olivaceus* 수정란의 부화율을 이용하여 중금속(Pb, Cr, As)의 독성 영향을 조사하였다. Pb, Cr, 및 As (0, 10, 100, 500, 1,000, 2,500, 5,000 ppb)에 수정란을 48 h 노출시킨 후, 정상 부화율을 백분율로 나타내었다. 중금속을 포함하지 않는 대조구에서는 정상 부화율이 80% 이상을 나타냈으나, 중금속 농도가 증가할수록 정상 부화율은 급격히 감소하였다. 정상 부화율은 Pb, Cr, 및 As에 대해 농도 의존적으로 감소하였으며, 각각 100, 100, 500 ppb 이상의 농도에서 유의한 차이를 나타내었다. *P. olivaceus*의 정상 부화율에 대한 Pb, Cr 및 As의 반수 영향농도(EC₅₀)를 이용한 독성은 Cr > As > Pb 순으로 나타났다. Pb와 As의 NOEC와 LOEC 각각 100 ppb와 500 ppb로 유사한 값을 나타냈으며, Cr에 대한 NOEC는 10 ppb, LOEC는 100 ppb를 나타내었다. 이들 결과로부터 자연생태계 내에서 Pb과 As의 농도는 100 ppb, Cr 농도는 10 ppb를 초과할 경우 *P. olivaceus* 수정란의 정상 부화율은 독성 영향이 나타날 것으로 판단된다. 본 연구 결과를 바탕으로, *P. olivaceus*의 정상 부화율을 이용한 생물학적 평가방법은 중금속과 같은 유해물질에 대한 해양생태계의 영향을 판단하기 위한 시험방법으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 2012년도 국립수산과학원 경상과제 연구비

지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소에서 수행한 연구입니다.

참 고 문 헌

- Ahlf W, H Holler, H Neumann-Hense 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.
- Ayotte JD, DL Montgomery, SM Flanagan and KW Robinson. 2003. Arsenic in groundwater in eastern New England, controls, and human health implications. *Environ. Sci. Technol.* 37:2075-2083.
- 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.
- Eisler R. 1988. Arsenic hazards to fish, wild life and invertebrates: a synoptic review. *U.S. Fish. Wild Serv. Biol.* 85:1-12.
- 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 Sarphe. 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, SG Kim, SY Park and HS Kang. 2012. Acute toxicity of heavy metal (Cd, Cu, Zn) on the hatching

- rates of fertilization eggs in the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Korean J. Environ. Biol. 30:136-142.
- 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*). Korean J. Environ. Biol. 29:251-257.
- Hwang UK, S Heo, JS Park and HS Kang. 2012. Effects of lead and zinc on the fertilization and embryo development of the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). Korean J. Environ. Biol. 30:128-135.
- Karagas MR, TA Stukel and TD Tosteson. 2002. Assessment of cancer risk and environmental levels of arsenic in New Hampshire. Environ. Health. 205:85-94.
- Kobayashi N. 1995. Bioassay data for marine pollution using echinoderms. Encyclopedia of Environ. Control Technol. 9:539-609.
- Lee HH, MJ Cheong, J Huh, SY Song and HO Boo. 2009. Effects of *Momordica charantia* L. water extracts on the rat liver and kidney with acute toxicated by lead. Korea J. Microscopy 39:355-363.
- Lee SH and KW Lee. 1984. Heavy metals in mussels in the Korean coastal waters. J. Oceanol. Soc. Korea. 19:111-1117.
- Mahaffey KR. 1983. Biototoxicity of lead: influence of various factors. Fed. Proc. 42:1730-1734.
- Mahaffey KR, SG Capar, BC Gladen and BA Fowler. 1981. Concurrent exposure to lead, cadmium and arsenic. J. Lab. Clin. Med. 98:463-481.
- Martin JM and M Whitfield. 1983. The significance of river input of chemical elements to the ocean. pp.265-296. In Trace Metals in Sea Water. Plenum Press. New York.
- 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. 12:308-308.
- Mukgerjee A, MK Sengupta, MA Hossain, S Ahamed, B Das, B Nayak, D Lodh, MM Rahman and D Chakraborti. 2006. Arsenic contamination in ground water: a global perspective with emphasis on the Asian scenario. Health. Popul. Nutr. 24:142-163.
- Park SW, KY Kim, DW Kim, SJ Choi, HS Kim, BS Choi, MK Choi and JD Park. 2006. The relation between blood lead concentration, epidemiologic factors and body iron status. J. Environ. Toxicol. 21:153-163.
- Pereira SA, A Nascimento, H Smith, H Leite, NL DeAraújo 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.
- Phillips DJH and DA Segar. 1986. Use of bioindicators in monitoring conservative contaminants. Mar. Pollut. Bull. 17:10-15.
- Suh KH, KH Ahn, HS Lee, HG Lee, JK Cho and YK Hong. 1999. Biosorption of Pb and Cr by using *Sargassum sagamianum*. J. Korean Fish. Soc. 32:399-403.
- 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 August 2012

Revised: 5 September 2012

Revision accepted: 6 September 2012