

## 중금속(Cd, Cu, Zn) 농도구배에 따른 윤충류 *Brachionus plicatilis*의 생존 및 개체군 성장에 미치는 영향

황운기 · 류향미 · 허 승 · 장수정 · 이기원<sup>1</sup> · 이주욱\*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터, <sup>1</sup>한화 해양생물연구센터

### Effect of Heavy Metals on the Survival and Population Growth Rates of Marine Rotifer, *Brachionus plicatilis*

Un-Ki Hwang, Hyang-Mi Ryu, Seung Heo, Soo-Jung Chang, Ki-Won Lee<sup>1</sup> and Ju-Wook Lee\*

National Fisheries Research & Development Institute, West Sea Fisheries Research Institute,  
Marine Ecological Risk Assessment Center, Incheon 22383, Republic of Korea  
<sup>1</sup>Hanwha Marine biology Research Center, Seoul 07345, Republic of Korea

**Abstract** - Effect of heavy metals (Cd, Cu, Zn) on the survival and population growth rates (*PGR*) of marine rotifer, *Brachionus plicatilis* were examined. *B. plicatilis* were exposed to Cd, Cu and Zn for 24 h to determine their survival and 72 h to determine their *PGR*. Survival rates in the control groups were greater than 90%. They were decreased with increasing concentrations of Cd, Cu and Zn. Survival rates were reduced in a concentration-dependent manner. Significant reduction in survival rates after exposure to Cd, Cu and Zn at concentration greater than 40.00, 0.13 and 10.00 mg L<sup>-1</sup>, respectively. *PGR* in the control groups were greater than 0.50. They were decreased with increasing concentrations of heavy metals. *PGR* were reduced in a concentration-dependent manner. Significant reduction in *PGR* after exposure to Cd, Cu and Zn occurred at concentration greater than 12.5, 0.06 and 1.00 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The order of heavy metal toxicity based on *PGR* was Cu > Zn > Cd, with EC<sub>50</sub> (50% Effective Concentration) values of 0.12, 6.15 and 21.41 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The lowest-observed-effective-concentrations (LOEC) of *PGR* after exposure to Cd, Cu and Zn were 12.50, 0.06 and 1.00 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The No-observed-effective-concentrations (NOEC) of *PGR* after exposure to Cd, Cu and Zn were 6.25, 0.03 and 0.01 mg L<sup>-1</sup>, respectively, in marine ecosystems have toxic effects on *PGR* of *B. plicatilis*. These results suggest that the *PGR* of *B. plicatilis* are useful tool to assess the effect of heavy metals on primary consumers in marine natural ecosystems.

**Key words** : *Brachionus plicatilis*, heavy metal, population growth rate, effect assessment

## 서 론

광업 및 농업과 같은 산업 활동과 화석연료 등의 연소에

의해 연안 해역으로 유입되는 중금속은 생물의 행동, 성장 및 생식능력을 감소시켜 해양생태계에 악영향을 미치는 대표적인 물질이다(Fairbrother *et al.* 2007). 연안 해역으로 유입된 중금속은 희석 및 분산을 통해서 독성영향이 상대적으로 감소하기도 하지만, 퇴적물과 결합하면 긴 반감기를 가지고 축

\* Corresponding author: Lee Ju Wook, Tel. 032-745-0684,  
Fax. 032-745-0686, E-mail. leejuwok84@gmail.com

적률이 높아지기 때문에 유입되는 양이 미량이라도 먹이사슬을 통해 인간에게도 전달될 수 있다(Martin and Whitfield 1983; Phillips and Segar 1986; Reiley 2007). 연안으로 유입된 중금속 중에서 플라스틱의 색소발현, 합금 및 건전지 제조 등에 사용되는 카드뮴(Cd)은 비필수 중금속의 대표적인 물질로(Reiley 2007), 유용수산생물 자원의 체내에 높은 농도로 축적되어 인간에게 악영향을 미칠 수 있는 물질로 잘 알려져 있다(Yap *et al.* 2004). 구리(Cu)와 아연(Zn)은 선박의 외부 및 그물망의 부착 방지 도료에 널리 사용되고 있으며, Cu의 경우는 우수한 열전도성과 내식성이 있어 전선 및 산업 용기에도 널리 사용되고 있다(Lundebye *et al.* 1999; McGeer *et al.* 2000). 또한 이들 두 중금속은 생물체내에 흡수되어 정상적인 생명활동을 유지하기 위한 필수미량원소로 잘 알려져 있지만, 그 농도가 증가하면 세포의 구조적 이상과 생화학적 기능 장애로 인한 생리학적 불균형을 나타낸다고 알려져 있다(Viarengo 1985; Maage *et al.* 1989).

우리나라에서도 연안 해역에 대한 중금속의 위해성을 조사하기 위하여, 해수 및 퇴적물의 중금속 함량과 더불어 일부 서식생물의 체내 중금속 함량에 대한 조사가 활발하게 진행되고 있다(Lee and Lee 1984; Choi *et al.* 1992; Hwang *et al.* 2008, 2009, 2011, 2012a, b, 2013). 이러한 자연생태계 내에서 중금속의 위해성을 평가하기 위해서는 실내실험을 통해 단일 중금속의 안전농도와 오염물질의 혼합독성에 대한 생태독성 자료가 충분히 제시되어야 한다. 최근에 우리나라에서도 단일 오염물질에 대한 기준치로 오염정도를 판단하는 이·화학적 평가의 단점을 보완하기 위하여, 중금속 등과 같은 오염물질이 해산규조류(*Skeletonema costatum*), 구멍갈파래(*Ulva pertusa*) 및 성게(*Hemicentrotus pulcherrimus*) 등과 같은 해양생물에게 미치는 영향을 판단하고, 무영향농도(No Observed Effective Concentration, NOEC), 최소영향농도(Lowest Observed Effective Concentration, LOEC) 및 반수영향농도(50% Effective Concentration, EC<sub>50</sub>)를 제시하여 위해성평가의 기준치로 사용하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Han *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009, 2011, 2012a, b, 2013). 또한, SETAC (Society for Environmental Toxicology and Chemistry)에서도 연안 환경을 통합적으로 판단하기 위해서 단일 오염물질의 기준치 비교도 중요하나, 오염물질이 공존할 때 생물에 미치는 영향을 판단할 수 있는 WET (Whole Effluent Toxicity) test가 함께 수행되어야 한다고 제안하고 있다.

본 연구의 대상생물은 *B. plicatilis*는 해양생태계 내에서 1차 소비자 역할을 담당하고 사육과 관리가 쉬워 양식 치어의 먹이생물로 광범위하게 사용되며, 생활사가 짧아 생태독성 평가에 우수한 장점을 가지고 있다. 본 연구에서는 중금

속 Cd, Cu 및 Zn에 대해 해양 동물플랑크톤의 안전농도의 기준이 될 수 있는 NOEC 및 EC<sub>50</sub>을 제시하여 WET test시 오염물질의 농도조성과 연안해역의 중금속 농도에 영향을 미칠 수 있는 배경자료(reference)로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험생물

실험에 이용된 동물플랑크톤인 해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)는 강릉대학교 먹이생물 연구실에서 분양받아 항온실에서 3개월 이상 계대배양하여 실험에 이용하였다. 배양액은 자연해수를 0.45 µm membrane filter로 여과 후 멸균하여 사용하였고 하루에 한 번 *Chlorella vulgaris*를 충분히 공급하였다. 시험 당일 계대배양 중인 *B. plicatilis*의 포란한 성체를 배양액과 같은 해수에 분리하여 2시간 후에 부화한 신생개체 중 운동성이 활발한 신생개체를 시험에 사용하였다.

### 2. 시험액의 조성

실험에 사용한 중금속은 Cd (Cadmium standard solution, Sigma), Cu (Copper standard solution, Sigma) 및 Zn (Zinc standard solution, Sigma)을 이용하였다. 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위한 중금속의 시험농도는 Cd 0, 20, 30, 40, 50, 60 mg L<sup>-1</sup>, Cu는 0.00, 0.03, 0.06, 0.13, 0.25, 0.50 mg L<sup>-1</sup>, Zn는 0, 5, 10, 50, 100, 200 mg L<sup>-1</sup>로 조성하였고 개체군 성장률의 시험농도는 Cd 0.00, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100 mg L<sup>-1</sup>, Cu는 0.00, 0.03, 0.06, 0.13, 0.25, 0.50 mg L<sup>-1</sup>, Zn는 0.0, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 mg L<sup>-1</sup>로 조성하였다. 시험액 조성에 사용된 해수는 염분이 30±0.5 이내의 자연해수를 멸균하여 사용하였고 조성된 시험액 pH는 8.0±0.2로 조절하였다.

### 3. 생존율

생존율 시험은 24 well plate에 시험용액을 각 농도별로 1 mL씩 분주하였으며, 각 시험구별 6반복으로 실시하였다. 분주된 시험용액에 부화 2시간 이내의 신생개체를 well당 5개체씩 넣고 25±1.0°C에서 암상태로 24시간 동안 배양한 뒤 생존한 *B. plicatilis*의 개체수를 계수하여 백분율로 계산하였으며, 대조구의 생존율이 90% 이상일 경우 적합한 시험결과로 사용하였다(Table 1). *B. plicatilis*의 생존여부는 개체의 운동성과 내부기관의 활성 유·무에 따라 판단하였다.

**Table 1.** Culture condition of *B. plicatilis*

Class	Condition
Culture type	Static non-renewal
Parameter	Survival rate (24 h) and Population growth rate (72 h)
Temperature	25°C ± 1.0°C
Salinity	30 ± 0.5
pH	8.0 ± 0.2
Photoperiod	Darkness
Test volume	1 mL
Solution	Filtered (0.45 µm) and sterilized seawater
Feed organism	<i>Chlorella vulgaris</i> (2,000,000 cell mL <sup>-1</sup> )
Validity	>90% survival rate, >0.5 population growth rate

#### 4. 개체군 성장률

개체군 성장률은 24 well plate에 시험용액을 각 농도별로 1 mL씩 분주하였으며, 각 시험구별 6반복으로 실시하였다. 부화 2시간 이내의 신생개체를 well당 5개체씩 넣고 먹이생물 *C. vulgaris*를 원심분리 후 각 시험구당 200만 cell mL<sup>-1</sup>을 공급하여 25 ± 1.0°C에서 암상태로 72시간 동안 배양하였다 (Table 1) (Jansen *et al.* 1994). 72시간 배양된 *B. plicatilis*를 3% 포르말린으로 고정하고, 현미경으로 각 well의 모든 *B. plicatilis* 개체수를 계수하여 상대성장률을 아래와 같이 계산하였다.

$$PGR = (\ln N_d - \ln N_0) d^{-1}$$

$PGR$  = 개체군 성장률,  $N_d$  = 날짜  $d$ 에서의 개체수,

$N_0$  = 초기 개체수,  $d$  = 배양일

*B. plicatilis*의 개체군 성장률은 대조구의 개체군 성장률이 0.5 이상일 경우 적합한 시험 결과로 사용하였다 (Table 1).

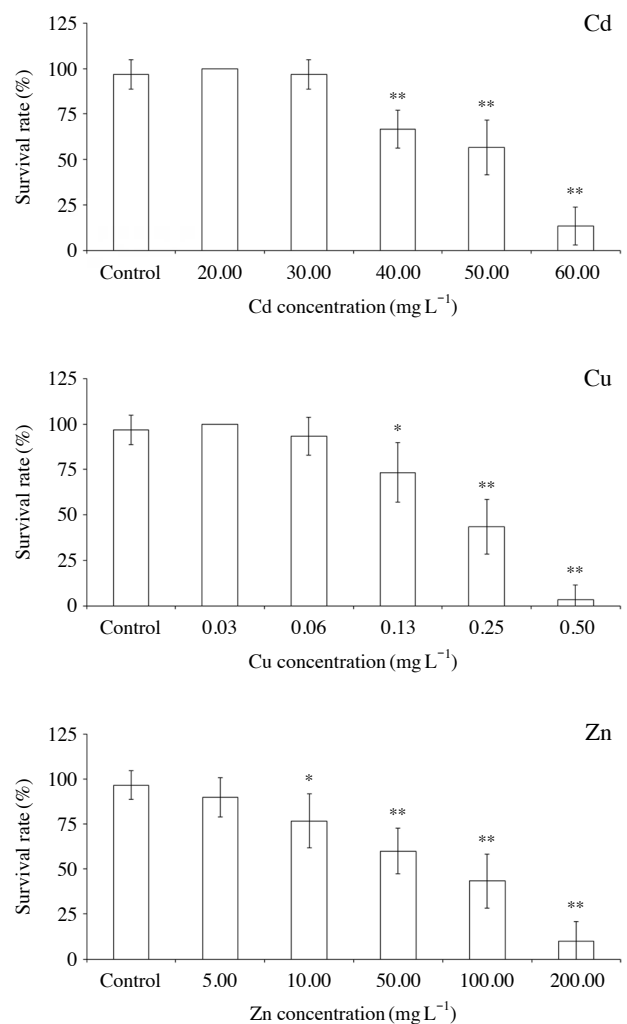
#### 5. 통계학적 분석

대조군과 실험군의 유의성 검정은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc., USA)의 Student's *t*-test로 비교하였으며  $P$ 가 0.05 이하인 것을 유의한 것으로 판단하였다. 생존율 및 개체군 성장률에 대한 반수영향농도 (50% Effective Concentration, EC<sub>50</sub>)와 95% 신뢰구간 (95% Confidence Limit, 95% CI)은 Toxicalc 프로그램 (Toxicalc 5.0, Tidepool scientific software, USA)의 probit 통계법을 이용하여 분석하였다. 또한, 무영향농도 (No Observed Effective Concentration, NOEC) 및 최소영향농도 (Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)도 Toxicalc 프로그램의 Dunnett's test를 이용하여 분석하였다.

## 결 과

### 1. 생존율 변동

Cd, Cu 및 Zn에 의한 *B. plicatilis*의 생존율 변동을 Fig. 1에 나타내었다. 중금속을 첨가하지 않은 대조구의 생존율은 90% 이상을 나타냈으며, Cd은 시험농도 40.00 mg L<sup>-1</sup>부터 생존율이 66.67 ± 10.33% ( $P < 0.01$ )로 감소하기 시작하여 60.00 mg L<sup>-1</sup>에서는 13.33 ± 10.33% ( $P < 0.01$ )로 대조구 대비 83.34% 감소하였다. Cu의 경우도 시험농도 0.13 mg L<sup>-1</sup>에서 73.33 ± 16.33%로 감소하기 시작하여 0.50 mg L<sup>-1</sup>에서 3.33 ± 8.16%로 대조구 대비 93.34%가 감소하였고, Zn 또한 10.00 mg L<sup>-1</sup>에서 76.67 ± 15.06%로 감소하기 시작하여 200



**Fig. 1.** Changes of survival rates of *B. plicatilis* after exposure to Cd, Cu and Zn. Vertical bars represent the SD of the mean of six measurement. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  compared to the control.

mg L<sup>-1</sup>에서 10.00 ± 10.95%로 86.67%가 감소해 *B. plicatilis*의 생존율은 중금속 3종에 대해 농도의존적인 결과를 나타냈다(Fig. 1).

2. 개체군 성장률 변동

Cd, Cu 및 Zn에 의한 *B. plicatilis*의 개체군 성장률 변동을 Fig. 2에 나타내었다. 대조구의 개체군 성장률은 모두 0.5 이상을 나타냈으며, Cd의 경우 12.5 mg L<sup>-1</sup>의 시험농도에서 0.48 ± 0.06 (P < 0.05)으로 감소하기 시작하여 최대농도 100.00 mg L<sup>-1</sup>에서 개체군 성장률이 0.17 ± 0.10 (P < 0.01)로 대조구 대비 70.70%가 감소하였다. Cu의 경우도 0.06 mg L<sup>-1</sup> 시험농도에서 0.55 ± 0.05 (P < 0.01)로 감소하기 시작하여 농도가 증가할수록 개체군 성장률이 감소하였으며, 0.50 mg L<sup>-1</sup>에서 0.10 ± 0.08 (P < 0.01)으로 개체군 성장률이 대조구 대비 97.18%가 감소하였다. Zn 또한 1.00 mg L<sup>-1</sup>에서 0.46 ± 0.03 (P < 0.01)으로 감소하기 시작하여 최대농도 50.00 mg L<sup>-1</sup>에서 0.14 ± 0.07 (P < 0.01)로 개체군 성장률이 대조구 대비 75.86%가 감소해 생존율과 마찬가지로 중금속 3종에 대해 농도의존적인 결과를 나타냈다(Fig. 2).

3. 생존율 및 개체군 성장률을 이용한 독성평가

생존율은 중금속 3종의 농도가 증가할수록 생존율(survival rates, SR)이 감소하는 농도의존성을 보였으며 농도반응 관계식은 표준 독성 반응으로 알려진 Sigmoid 형태의 곡선을 나타냈고(Fig. 3), 개체군 성장률(population growth rates, PGR)도 중금속 3종에 농도의존적으로 반응해 독성 반응이 Sigmoid 형태를 나타냈다(Fig. 4). *B. plicatilis*의 생존율 NOEC는 Cd 30.00 mg L<sup>-1</sup>, Cu 0.06 mg L<sup>-1</sup> 및 Zn 5.00 mg L<sup>-1</sup>로 나타났고, LOEC는 Cd 40.00 mg L<sup>-1</sup>, Cu 0.13 mg L<sup>-1</sup> 및 Zn 10.00 mg L<sup>-1</sup>으로 나타났다. *B. plicatilis*의 개체군 성

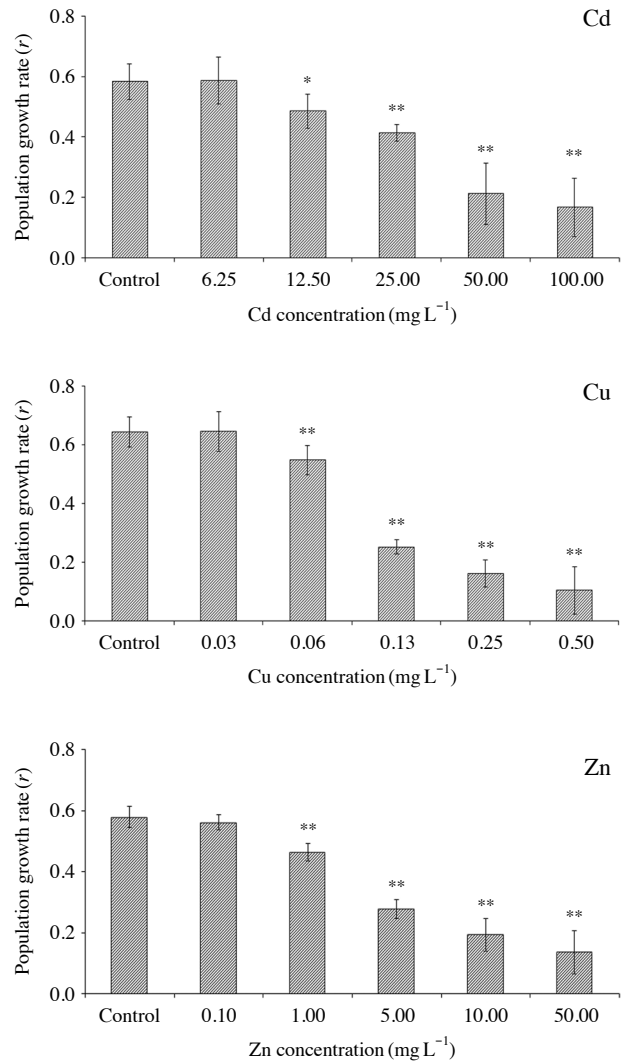


Fig. 2. Change of population growth rates of *B. plicatilis* after exposure to Cd, Cu and Zn. Vertical bars represent the SD of the mean of six measurement. \*P < 0.05 and \*\*P < 0.01 compared to the control.

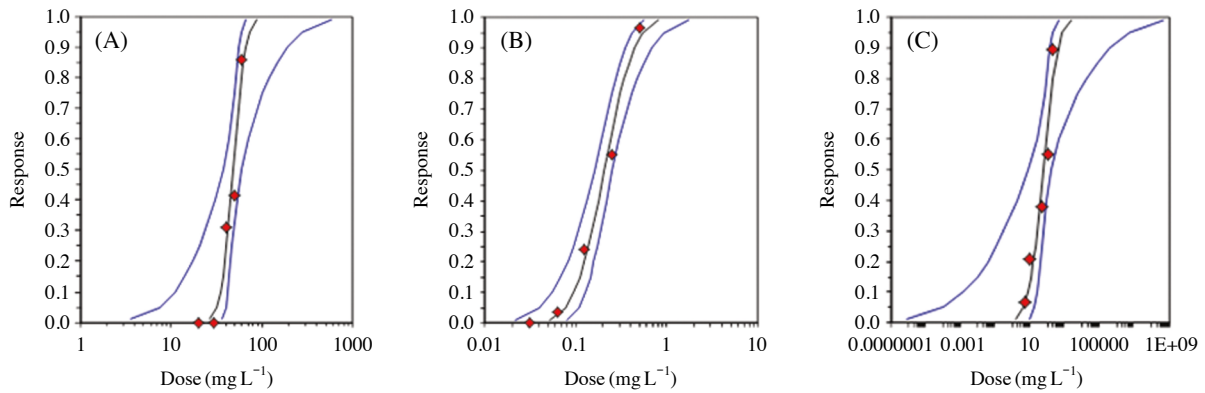


Fig. 3. Survival rates of *B. plicatilis* in response to different concentrations of Cd (A), Cu (B) and Zn (C).

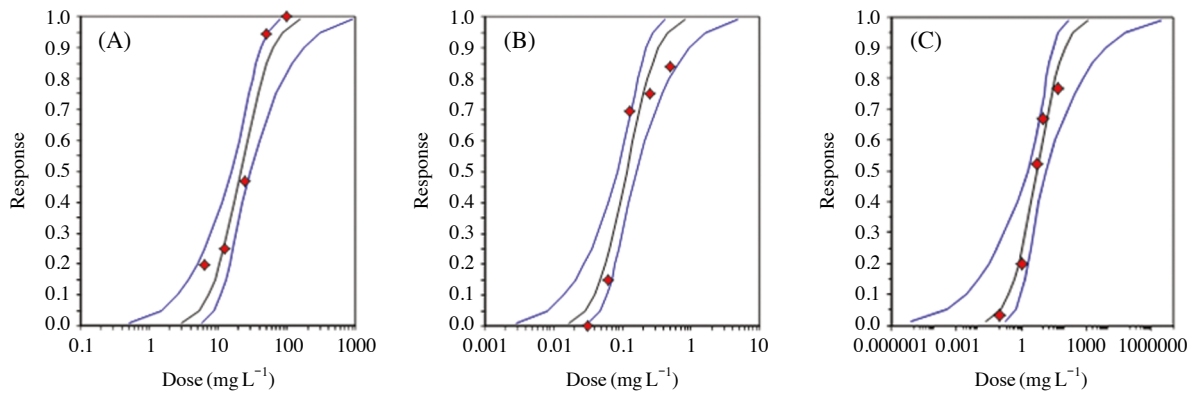


Fig. 4. Population growth rates of *B. plicatilis* in response to different concentrations of Cd (A), Cu (B) and Zn (C).

**Table 2.** Toxicity evaluation using survival rates (SR) and population growth rates (PGR) in *B. plicatilis* exposed to three heavy metals (Cd, Cu and Zn)

Toxicant		NOEC (mg L <sup>-1</sup> )	LOEC (mg L <sup>-1</sup> )	EC <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	95% CI (mg L <sup>-1</sup> )
Cd	SR	30.00	40.00	48.35	37.66~59.02
	PGR	6.25	12.50	21.41	15.64~29.25
Cu	SR	0.06	0.13	0.21	0.16~0.25
	PGR	0.03	0.06	0.12	0.08~0.16
Zn	SR	5.00	10.00	57.19	8.39~180.18
	PGR	0.10	1.00	6.15	1.92~12.67

NOEC: No observed effective concentration; LOEC: Lowest observed effective concentration; EC<sub>50</sub>: 50% Effective concentration; 95% CI: 95% Confidence limit; SR: survival rates, PGR: population growth rates.

장률의 NOEC는 Cd 6.25 mg L<sup>-1</sup>, Cu 0.03 mg L<sup>-1</sup> 및 Zn 0.10 mg L<sup>-1</sup>로 나타났고, LOEC는 Cd 12.50 mg L<sup>-1</sup>, Cu 0.06 mg L<sup>-1</sup> 및 Zn 1.00 mg L<sup>-1</sup>로 나타났다. 또한 *B. plicatilis*의 생존율 및 개체군 성장률의 EC<sub>50</sub>은 Cd는 48.35 mg L<sup>-1</sup>와 21.41 mg L<sup>-1</sup>, Cu의 경우는 0.21 mg L<sup>-1</sup>와 0.12 mg L<sup>-1</sup>, Zn은 57.19 mg L<sup>-1</sup>와 6.15 mg L<sup>-1</sup>로 각각 나타나 개체군 성장률이 생존율에 비해 독성이 높게 나타났다(Table 2).

## 고 찰

다양한 산업 활동을 통해 환경내로 유입되는 중금속에 대한 연안 해역의 오염평가는 대부분 전통적인 이·화학적 평가방법을 사용하고 있다(Bidwell *et al.* 1998). 이·화학분석 방법은 특정 물질을 정량하여 비교 가능한 장점이 있지만, 미지의 오염물질을 탐지 할 수 있는 능력은 극히 제한적이기 때문에 생물에 미치는 영향을 직접적으로 판단할 수 없다(Hwang *et al.* 2012b, 2013). 뿐만 아니라 다양한 오염물

질의 상호작용에 의해 발생하는 독성의 상승(synergism), 부가(addition) 및 길항(antagonism)작용을 판단할 수 없는 명확한 한계가 있다(Ahlf *et al.* 2002; Chu and Chow 2002). 이러한 이·화학분석 방법의 단점을 보완하기 위하여 미국 환경보호청(USEPA)과 SETAC (Society for Environmental Toxicology and Chemistry)에서 환경을 정확하게 판단하기 위해서는 생태독성을 이용한 WET (Whole Effluent Toxicity) test가 함께 수행되어야 한다고 제안한다(Lee *et al.* 2016). 현재 우리나라에서도 환경부에서 산업폐수의 위해성을 평가하기 위하여 담수생 물벼룩(*Daphnia magna*)을 이용한 생태독성 시험법이 법제화 되어 활용되고 있고 육상기인 오염물질의 단독 또는 혼합물질에 대한 생물영향을 분석하여 해양생태계의 위해성을 평가하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Han *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009, 2011, 2012b, 2013). 본 연구에서는 초기 양식어류의 먹이생물로 사용되며(Molly and Krishnan 2010), 유럽과 미국에서 생물영향 연구에 사용되는 *B. plicatilis*를 사용하여(Sladecek 1983; Halbach 1984; ASTM 1991) 중금속 3종(Cd, Cu 및 Zn)에 대한 해양생태계 안전농도와 연안역의 WET test를 위한 NOEC, LOEC 및 EC<sub>50</sub>을 밝히고자 하였다.

연구결과 중금속 Cd, Cu 및 Zn 노출에 의한 *B. plicatilis*의 생존율은 농도의존적으로 감소하는 현상이 나타났다(Fig. 1). 또한 *B. plicatilis*의 개체군 성장률도 생존율 결과와 유사하게 모두 농도의존적으로 감소하는 현상을 보였으나(Fig. 2), 3종의 중금속이 생존 및 개체군 성장률의 EC<sub>50</sub>에 미치는 영향을 비교하면 생존율보다 개체군 성장률의 EC<sub>50</sub>이 Cd는 약 2.3배, Cu는 약 1.8배, Zn은 약 9.3배 이상 민감하게 나타났다(Table 2). Hwang *et al.* (2012b, 2013)의 *H. pulcherrimus* 연구에서도 수정율과 배아발생율이 독성에 대한 민감도 차이를 보였고 이러한 현상이 수정율(30분)과 배아발생율(64시간)의 노출시간 차이로 보여 지는 것과 마찬가지로(Wui

et al. 1992), *B. plicatilis*의 생존율(24시간)과 개체군 성장률(72시간)의 차이 또한 노출시간이 증가할수록 독성이 증가되는 일반적인 경향으로 판단된다.

Snell and Persoone (1989a)는 Cu에 대한 *B. plicatilis* 생존율의  $LC_{50}$ 은  $0.13 \text{ mg L}^{-1}$ , NOEC는  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ 로 보고하여 본 연구결과의  $EC_{50}$   $0.21 \text{ mg L}^{-1}$ , NOEC  $0.06 \text{ mg L}^{-1}$ 에 비해  $LC_{50}$ 의 독성이 높았지만 NOEC는 유사한 결과를 나타냈다. *Brachionus rubens*를 Cu에 노출한 경우  $LC_{50}$ 이  $0.019 \text{ mg L}^{-1}$ , NOEC가 0.0094로 매우 높은 독성이 보고되었고, 담수에서 *B. plicatilis*와 유사한 위치에 있는 *Daphnia magna*와 *D. pulex*도  $LC_{50}$ 이  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ 로 독성이 높게 나타났다 (Mound and Norberg 1983; Snell and Persoone 1989b; Snell and Moffat 1992). Snell and Persoone (1989b)의 Cd에 대한  $LC_{50}$ 은  $54.9 \text{ mg L}^{-1}$ 로 본 연구결과의  $EC_{50}$   $48.36 \text{ mg L}^{-1}$ 가 독성이 높았지만, Snell et al. (1991)에 따르면  $LC_{50}$ 이  $39.0 \text{ mg L}^{-1}$ 로 독성이 조금 높은 차이가 나타났다. 또한 Snell and Moffat (1992)의 Zn 결과는 본 연구결과의  $EC_{50}$   $57.19 \text{ mg L}^{-1}$ 보다 독성이 높은  $>4.8 \text{ mg L}^{-1}$ 로 나타났으나 NOEC는 큰 차이가 없었다. 이러한 결과는 생물 서식환경 및 종 간의 독성 민감도의 차이를 나타내는 것으로 중금속에 대한 다양한 종의 생태독성 실험결과를 비교해야 할 필요성을 반증한다.

최근 우리나라 남, 서해 12지역(인천, 평택, 목포, 해창만, 광양, 통영, 행암만, 감만, 부산남항, 부산북항, 온산 및 장생포) 항구의 표면 퇴적물에서 중금속 오염정도를 조사한 결과 Cd가  $0.03 \sim 15.10 \text{ mg L}^{-1}$  농도로 검출되었으며 장생포지역에서 평균  $1.95 \text{ mg L}^{-1}$ 로 가장 높았고, Cu와 Zn가 각각  $5 \sim 2,360 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \sim 1,940 \text{ mg L}^{-1}$  농도로 검출되었으며 부산남항에서 각각  $629 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $788 \text{ mg L}^{-1}$ 로 가장 높게 나타났다 (Choi et al. 2012). 연구결과 Cd, Cu 및 Zn에 대한 *B. plicatilis* 개체군 성장률이 영향을 받기 시작하는 LOEC가 각각 12.5, 0.06 및  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$ 로 항구의 표층 퇴적물의 평균치보다도 낮거나 조사된 농도 범위 내 포함되므로, 이들 현장 퇴적물 속에 포함되어 있는 다양한 오염물질의 상호작용을 평가하기 위한 생물로 *B. plicatilis*를 적절히 활용할 수 있을 것으로 판단된다. 또한, *B. plicatilis* 개체군 성장률의  $EC_{50}$ 을 이용한 독성영향의 세기는 Cu>Zn>Cd 순으로 나타났다. Hwang et al. (2013)은 *Hemicentrotus pulcherrimus*의 배아발생물에 미치는 독성영향을 Cu>As>Zn>Pb>Cr>Co>Cd 순으로 보고하였고 Kobayashi (1994)는 Cu>Hg>Zn>Cr>Ni 순서였다. 동일 시험생물인 *B. plicatilis* 사용한 Lee et al. (2016)의 As, Cr 및 Pb에 대한 개체군 성장률의  $EC_{50}$ 과 비교하면 독성세기는 Cu>Zn>As>Cd>Cr>Pb 순서로 나

타낼 수 있다. *B. plicatilis*는 *H. pulcherrimus*과 비교해서 Cu>Zn>Cd 순서로 독성의 세기가 유사하게 나타났고, Cu ( $0.12 \text{ mg L}^{-1}$ )와 Zn ( $6.15 \text{ mg L}^{-1}$ )의  $EC_{50}$  값은 Cd ( $21.41 \text{ mg L}^{-1}$ )보다 낮게 나타나, 특히 독성이 강하게 나타났다. 이처럼 Cu와 Zn 같이 생물이 생명유지를 유지하기 위한 필수미량 금속의 독성이 높은 것은, 생물체 내 해당 중금속의 수용체가 존재하기 때문에 다른 중금속보다 체내 흡수율이 높다고 판단된다 (Viarengo 1985; Maage et al. 1989).

본 연구의 LOEC는 해양생태계 1차 소비자 역할을 담당하는 생물의 해양환경 내에서 독성영향을 판단하는 자료로 사용되고 NOEC 값은 중금속 혼합 독성 평가의 농도 설정을 위한 배경자료로 사용될 수 있고,  $EC_{50}$  값은 향후 다른 오염물질의 해양 생물별 생태독성 민감도 비교에 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

## 적 요

중금속 Cd, Cu 및 Zn이 해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존율 및 개체군 성장률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 중금속 3종에 대한 독성평가를 수행하였다. 중금속에 24시간 노출하였을 때 Cd, Cu 및 Zn에 대한 생존율은 40.00, 0.13 및  $10.00 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서 급격한 감소가 시작되어 농도의존적으로 감소하였고, 중금속에 72시간 노출한 개체군 성장률도 Cd, Cu 및 Zn의 12.50, 0.06 및  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$  농도에서 급격한 감소가 시작되어, 중금속 3종에서 모두 농도의존적으로 감소하였다. Cd, Cu 및 Zn에 노출된 개체군 성장률의  $EC_{50}$  값은 각각 21.41, 0.12 및  $6.15 \text{ mg L}^{-1}$ 이며, 독성의 세기는 Cu>Zn>Cd로 생존율과 개체군 성장률이 동일하였다. 또한 Cd, Cu 및 Zn에 대한 개체군 성장률의 LOEC는 각각 6.25, 0.03 및  $0.10 \text{ mg L}^{-1}$ , NOEC는 각각 12.50, 0.06 및  $1.00 \text{ mg L}^{-1}$ 로 나타났다. 해양환경에서 개체군 성장률의 LOEC를 초과하는 농도가 *B. plicatilis*에게 독성영향을 미칠 수 있다고 판단되며, NOEC와  $EC_{50}$  값은 혼합독성을 판단하기 위한 WET test와 해양생태계 내 생물에게 영향을 미치는 중금속 독성에 대한 가이드라인으로 활용될 수 있을 것이다.

## 사 사

본 연구는 2016년도 국립수산과학원 경상과제(R2016058) 연구비 지원으로 국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태 위해 평가센터에서 수행하였다.



## REFERENCES

- 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 and Sediments* 2:37-42.
- ASTM. 1991. Standard guideline for acute toxicity tests with the rotifer *Brachionus* Annual Book of ASTM Standards. Vol 11.04 E1440. American Society for Testing and Materials. USA.
- Bidwell JR, KW Wheeler and TR Burrige. 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.
- Choi KY, SH Kim, GH Hong and HT Chon. 2012. Distributions of heavy metals in the sediments of South Korean harbors. *Environ. Geochem. Health* 34:71-82.
- 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.
- Fairbrother A, R Wenstel, K Sappington and W Wood. 2007. Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 68:145-227.
- Halbach U. 1984. Population dynamics of rotifers and its consequences for ecotoxicology. *Hydrobiologia* 109:79-96.
- 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.
- Hwang UK, CW Rhee, SM Lee, KH An and SY Park. 2008. Effects of salinity and standard toxic metals (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*). *J. Environ. Sci.* 17:775-781.
- Hwang UK, CW Rhee, KS Kim, KH An and SY Park. 2009. Effects of salinity and standard toxic metals (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*). *Korean J. Environ. Biol.* 29:251-257.
- Hwang UK, HM Ryu, SG Kim, SY Park and HS Kang. 2012a. Acute toxicity of heavy metal (Cd, Cu, Zn) on the hatching rates of fertilized eggs in the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Korean J. Environ. Biol.* 30:136-142.
- Hwang UK, JS Park, JN Kwon, S Heo, Y Oshima and HS Kang. 2012b. Effect of nickel on embryo development and expression of metallothionein gene in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 57:145-149.
- Hwang UK, HM Ryu, J Yu and HS Kang. 2013. Toxic effects of arsenic and chromium on the fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *Korean J. Environ. Biol.* 31:69-77.
- Lee SH and KW Lee. 1984. Heavy metals in mussels in the Korean coastal waters. *J. Oceanol. Soc. Korea* 19:111-117.
- Lee JW, HM Ryu, S Heo and UK Hwang. 2016. Toxicity assessment of heavy metals (As, Cr and Pb) using the rates of survival and population growth in marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Korean J. Environ. Biol.* 34:193-200.
- 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 Sveier 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.
- Martin JM and M Whitfield. 1983. The significance of river input of chemical elements to the ocean. pp. 265-296. *Trace Metals in sea Water*. Plenum Press. New York.
- 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.
- Molly V and L Krishnan. 2010. Reproductive potential of the rotifer, *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff in relation to salinity, feed type and feed concentration. *Indian J. Fish.* 57:31-37.
- Mount DI and TJ Norberg. 1984. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test. *Environ. Toxicol. Chem.* 3:425-434.
- Phillips DJH and DA Segar. 1986. Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants. *Mar. Pollut. Bull.* 17:10-15.
- Reiley MC. 2007. Science, policy and trends of metals risk assessment at EPA: how understanding metals bioavailability has changed metals risk assessment at US EPA. *Aquat. Toxicol.* 84:292-298.
- Sladeczek V. 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia* 100:169-201.
- Snell TW and G Persoone. 1989a. Acute toxicity bioassays using rotifers. I. A test for brackish and marine environments with *Brachionus plicatilis*. *Aqua. Toxicol.* 14:65-80.
- Snell TW and G Persoone. 1989b. Acute toxicity bioassays using rotifers. II. Freshwater test with *Brachionus rubens*. *Aqua. Toxicol.* 14:65-80.
- Snell TW, BD Moffat, CR Janssen and G Persoone. 1991. Acute

- toxicity test using rotifers. III. Effects of temperature, strain and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Ecotoxicol. Toxicol. Wat. Qual.* 6:63-75.
- Viarengo A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.* 16:153-158.
- Wui IS, JB Lee and SH Yoo. 1992. Bioassay on marine sediment pollution by using sea urchin embryo culture in the south-west inland sea of Korean. *Korean J. Environ. Biol.* 10:92-99.
- 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.

Received: 20 October 2016

Revised: 1 November 2016

Revision accepted: 2 November 2016