

해산로티퍼 (*Brachionus plicatilis*)의 생존 및 개체군 성장률을 이용한 중금속(As, Cr, Pb) 독성평가

이주욱 · 류향미 · 허 승 · 황운기*

국립수산과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터

Toxicity Assessment of Heavy Metals (As, Cr and Pb) Using the Rates of Survival and Population Growth in Marine Rotifer, *Brachionus plicatilis*

Ju-Wook Lee, Hyang-Mi Ryu, Seung Heo and Un-Ki Hwang*

National Fisheries Research & Development Institute, West Sea Fisheries Research Institute, Marine Ecological Risk Assessment Center, Incheon 22383, Republic of Korea

Abstract - Toxicity assessment of heavy metals (As, Cr and Pb) has been investigated by using the rate of survival and population growth(r) of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. The survival rate was determined after 24 hours of exposure to As, Cr and Pb. As and Cr reduced survival rate in dose-dependent manner and a significant reduction were occurred at concentration of greater than 30 and 150 mg L⁻¹, but Pb had no effect on survival rate. The r was determined after 72 hours of exposure to As, Cr and Pb. As, Cr and Pb reduced r in dose-dependent manner and a significant reduction were occurred at concentration of greater than 5, 25 and 50 mg L⁻¹. The toxicity of heavy metals were ranked As>Cr>Pb, with EC₅₀ values of 12.98, 82.34 and 110.14 mg L⁻¹, respectively. The no-observed-effect-concentration (NOEC) of r in As, Cr and Pb exposure were 1, 12.5 and 50 mg L⁻¹, respectively. The lowest-observed-effect-concentration (LOEC) of r in As, Cr and Pb exposure were 5, 25, and 50 mg L⁻¹, respectively. From the results, the concentration of As, Cr and Pb (greater than 5, 25 and 50 mg L⁻¹, respectively) have toxic effect on the r of *B. plicatilis* in natural ecosystems. These results (including NOEC and EC₅₀) might be useful for the mixing toxicity assessment and toxic guide line of heavy metals in marine ecosystems.

Key words : rotifer, *Brachionus plicatilis*, heavy metal, toxicity assessment

서 론

대부분의 해양오염 물질은 육상으로부터 기인하며(Kang 2005), 이러한 오염물질 중에서 독성이 강한 것으로 잘 알려

져 있는 중금속은 연안 해역에서 희석 및 분산을 통해서 독성이 일부 감소되지만, 퇴적물과 결합을 통해서 긴 반감기를 가지는 것으로 알려져 있다(Martin and Whitfield 1983). 이런 오염물질은 해양생물의 생리적 장애를 일으킬 뿐만 아니라 체내 축적을 통해 최종 소비자인 인간의 건강에도 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Phillips and Segar 1986; Yap *et al.* 2004; Reiley 2007). 중금속 중에서 비소(Arsenic,

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

As)는 제초제나 살충제 등에 포함되어 환경 내로 유입되며 (Irving *et al.* 2008), 일부 국가에서는 식수에서 검출되어 세계적인 문제로 대두되기도 하였다 (Lewis *et al.* 1999; Bhattacharyya *et al.* 2003; Lamm *et al.* 2004; Xia and Liu 2004; Caceres *et al.* 2005). 크롬 (Chromium, Cr)은 금속의 도금 및 합금에 널리 사용되며, 중독되면 구토와 복통 등이 생기고 심하면 무뇨증과 요독증으로 사망하는 것으로 알려지고 있다 (Suh *et al.* 1999). 납 (lead, Pb)은 페인트의 계면활성제, 자동차 윤활유 및 납시 재료 등에 포함되어 있으며, 미량이라도 장기간 노출시 체내에 축적되어 급·만성의 비발암성 독성 (non-carcinogenic toxicity)을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Mahaffey *et al.* 1981; Mahaffey 1983; Park *et al.* 2006; Lee *et al.* 2009).

중금속과 같이 육상에서 유입되는 다양한 오염물질을 확인 및 정량화하기 위해 연안 해역에서는 많은 환경조사가 진행되어 왔고, 현재도 많은 조사가 진행되고 있다. 하지만, 환경조사의 대부분이 단일 오염물질을 정량하여 단순 기준치에 비교하는 이·화학적 분석에 의존하고 있어 다양한 오염물질이 공존하면서 발생할 수 있는 독성의 상승 작용을 파악하는 것은 불가능하다는 단점을 가지고 있다 (Rand and Petrocelli 1985). 또한 육상에서 연안 해역으로 유입되는 물질의 종류가 3만여 종에 이르고 매년 신규 등록되는 물질이 4백여 종 이상 되어 유입되는 모든 물질을 확인 및 정량하기는 대단히 어렵다 (Hwang *et al.* 2012). 이런 단점을 보완하기 위하여 SETAC (Society for Environmental Toxicology and Chemistry)에서는 환경을 통합적으로 판단하기 위해 생태독성을 이용한 WET (Whole Effluent Toxicity) test가 동시에 이루어져야 한다고 제안하고 있다. WET test를 적용하기 위해서는 시험방법의 정립 및 시험생물의 안정적인 공급이 이루어져야 하며, 이를 통해서 연안 해역에서 오염물질의 생태적 영향 및 수질과 퇴적물의 오염 정도를 평가할 수 있다. ASTM (American Society for Testing and Materials) 및 USEPA (U. S. Environmental Protection Agency)에서는 이미 발광박테리아 (*Vibrio fischeri*)와 같은 미생물에서부터 크릴새우 (*Mysidopsis bahia*) 등과 같은 무척추동물과 어류 *Cyprinodon variegatus*에 이르기까지 해양 생태독성을 위한 시험 가이드라인을 제시하고 있으며 (Martin *et al.* 1981; Beiras and Albertosa 2004; Geffard *et al.* 2004), 최근 우리나라에서도 성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*), 규조류 (*Skeletonema costatum*) 및 구멍갈파래 (*Ulva pertusa*) 등의 생물 영향을 통해 해양생태계의 위해성을 평가하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Han *et al.* 2008; Hwang *et al.* 2009, 2011, 2012).

본 연구에서는 해양생태계 내에서 1차 소비자이며, 다른

시험생물에 비해 사육 및 관리가 쉽고 생활사가 짧아 세대교번을 통한 생물영향을 평가할 수 있는 해산로티퍼, *Brachionus plicatilis*를 사용하여 중금속 3종 (As, Cr, Pb)의 생물영향을 살펴보았다. 또한, 실험 결과를 통해 무영향농도 (No Observed Effective Concentration, NOEC), 최소영향농도 (Lowest Observed Effective Concentration, LOEC), 반수영향농도 (50% Effective Concentration, EC₅₀)를 제시하였다. LOEC는 해양생태계 내에서 생물영향이 나타나는 기준농도로서 활용될 수 있고, NOEC는 WET test 시 오염물질별 혼합독성을 판단할 수 있는 기초자료로 사용될 것이며, EC₅₀은 오염물질별 독성의 세기를 나타내는 기초자료로 널리 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

재료 및 방법

1. 시험생물

해산로티퍼 (*Brachionus plicatilis*)는 강릉대학교 먹이생물 연구실에서 분양받아 서해수산연구소 항온실에서 25±1.0 °C, 6개월 이상 계대배양하면서 사용하였다. 배양액은 자연해수를 0.45 µm membrane filter로 여과 후 멸균하여 사용하였고, 먹이생물로 *Chlorella vulgaris*를 하루에 한 번 충분히 공급하였다. 실험에 사용한 *B. plicatilis*는 실험 당일 포란 중인 성체 (amitic female)를 분리하여, 2시간 이내 부화된 신생 개체 (neonate) 중 운동성이 활발한 neonate를 선별하여 사용하였다 (Fig. 1).

2. 중금속 농도 조성

사전 예비실험을 통해서 생존율에 미치는 As (Arsenic standard solution, Junsei, Japan)의 시험 농도는 0, 10, 20, 30, 40 및 50 mg L⁻¹으로 조성하였다. Cr (Chromium standard solution, Junsei, Japan)은 0, 25, 50, 100, 150 및 200 mg L⁻¹, Pb (Lead standard solution, Junsei, Japan)는 0, 1, 10, 50, 100 및 200 mg L⁻¹으로 조성하였다. 그리고 개체군 성장률에 미치는 영향을 알아보기 위한 As의 농도는 1, 5, 10, 15 및 20 mg L⁻¹, Cr은 0, 12.5, 25, 50, 100 및 200 mg L⁻¹, Pb는 0, 1, 10, 50, 100 및 200 mg L⁻¹으로 조성하였다. 중금속 조성에 사용된 해수는 자연해수를 여과 후 멸균하여 이용하였으며 염분이 30±0.5일 경우 사용하였다.

3. 생존율

생존율 실험은 24 well plate에 중금속 시험용액을 농도별

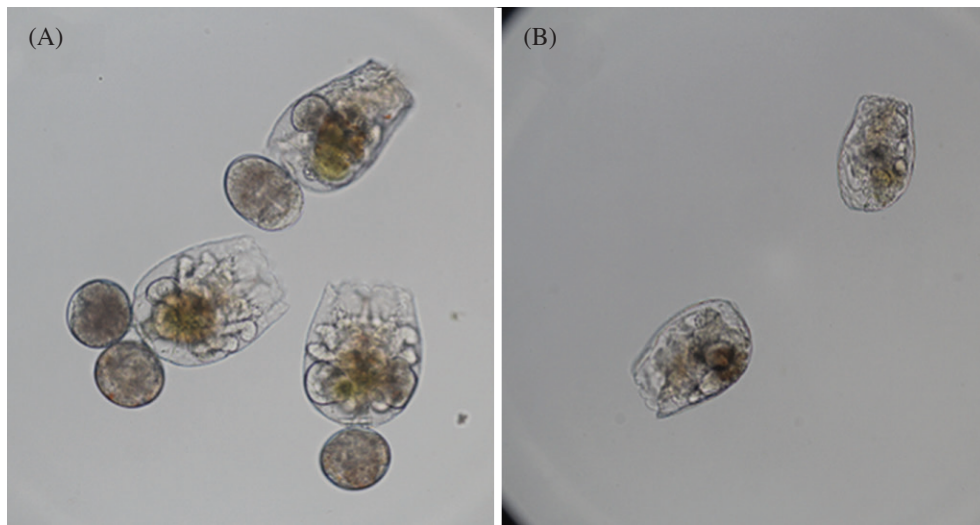


Fig. 1. Shape of adult (A) with egg and neonate (B) less than 2 hours of *B. plicatilis*.

로 1 mL씩 6반복으로 분주한 뒤, 부화한지 2시간 이내의 neonate를 5개체씩 넣고 $25 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 에서 24시간 암배양하였다(Table 1). 24시간 이후 해부현미경을 이용하여 생존한 *B. plicatilis* 개체수를 계수하여 생존율을 계산하였다. 생존 여부는 *B. plicatilis*의 내부기관 활성 유·무에 따라 판단하였고, 대조구 생존율이 90% 이상일 경우 실험 결과로 사용하였다(Table 1).

4. 개체군 성장률

개체군 성장률은 24 well plate에 증금속 시험용액을 농도별로 1 mL씩 6반복으로 분주하였다. 먹이생물인 *C. vulgaris*는 원심 분리후 시험용액을 첨가하여 실험구당 200만 cell mL^{-1} 로 공급하였으며, 부화한지 2시간 이내의 neonate를 well당 5개체씩 넣은 뒤 암상태의 $25 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 에서 72시간 배양하였다(Table 1) (Jansen *et al.* 1994). 72시간 이후 3% 포르말린으로 *B. plicatilis*를 고정하여 현미경으로 모든 개체수를 계수하여 개체군 성장률을 계산하였다. 개체군 성장률은 상대성장률 $r = (\ln N_d - \ln N_0)/d$ (r = 개체군 성장률, N_d = 날짜 d 에서의 개체수, N_0 = 초기 개체수, d = 배양일)을 이용하여 계산하였고, 대조구 개체군 성장률이 0.5 이상일 경우 적합한 실험 결과로 사용하였다(Table 1).

5. 통계분석

생존율 및 개체군 성장률에 대한 반수영향농도(50% Effective Concentration, EC_{50}), 95% 신뢰구간(95% Confidence Limit, 95% CI)은 Toxicalc 프로그램 (Toxicalc 5.0, Tidepool Scientific Software, USA)의 probit 통계법을 이용하였고 무

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	$25^\circ\text{C} \pm 1.0^\circ\text{C}$
Salinity	30 ± 0.5 psu
Photoperiod	Darkness
Test volume	1 mL
Solution	Filtered ($0.45 \mu\text{m}$) and sterilized seawater
Feed organism	<i>Chlorella vulgaris</i> ($2,000,000 \text{ cell mL}^{-1}$)
Validity	>90% survival rate, >0.5 population growth rate

영향농도 (No Observed Effective Concentration, NOEC)와 최소영향농도 (Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)는 Toxicalc 프로그램의 Dunnett's test를 이용하여 분석하였다. 연구결과의 유의성 검정은 SigmaPlot software (SigmaPlot 2001, SPSS Inc., USA)의 Student's *t*-test를 사용하였고 p 가 대조구 대비 0.05 이하를 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. 증금속이 생존율에 미치는 영향

As, Cr 및 Pb가 *B. plicatilis*의 생존율에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 대조구의 생존율은 90% 이상을 나타냈으며, As와 Cr의 생존율은 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타낸 반면 Pb는 최대 농도 200 mg L^{-1} 에서도 생존율이 $93.33 \pm$

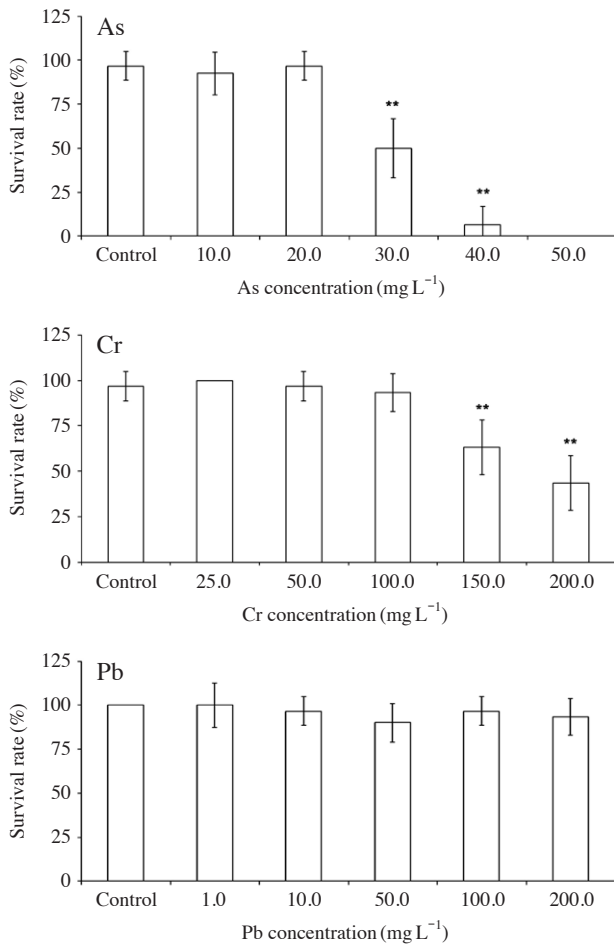


Fig. 2. Change of survival rates of *B. plicatilis* exposure to As, Cr and Pb. Vertical bars represent the SD of the mean for six times. ** $P < 0.01$ for control.

10.33%로 대조구 대비 유의적인 변화가 나타나지 않았다. As의 경우는 시험 농도 30 mg L⁻¹부터 생존율이 50.00 ± 16.73% ($P < 0.01$)로 유의적으로 감소하여 50 mg L⁻¹에서는 생존 개체가 관찰되지 않았으며, Cr의 경우는 150 mg L⁻¹부터 63.33 ± 15.06% ($P < 0.01$)로 유의적으로 감소하여 시험 최고 농도 200 mg L⁻¹에서 43.33 ± 15.06% ($P < 0.01$)로 나타났다.

2. 중금속이 개체군 성장률에 미치는 영향

As, Cr 및 Pb에 72시간 노출된 *B. plicatilis*의 개체군 성장률을 Fig. 3에 나타내었다. 대조구의 개체군 성장률은 모두 0.5 이상을 나타냈으며, As의 경우 5 mg L⁻¹의 시험 농도에서 0.48 ± 0.06 ($P < 0.05$)으로 감소하기 시작하여 최대 농도 20 mg L⁻¹에서 개체군 성장률이 0.18 ± 0.12 ($P < 0.01$)로 대조구 대비 68.97%가 감소하여 농도가 증가할수록 개체군 성

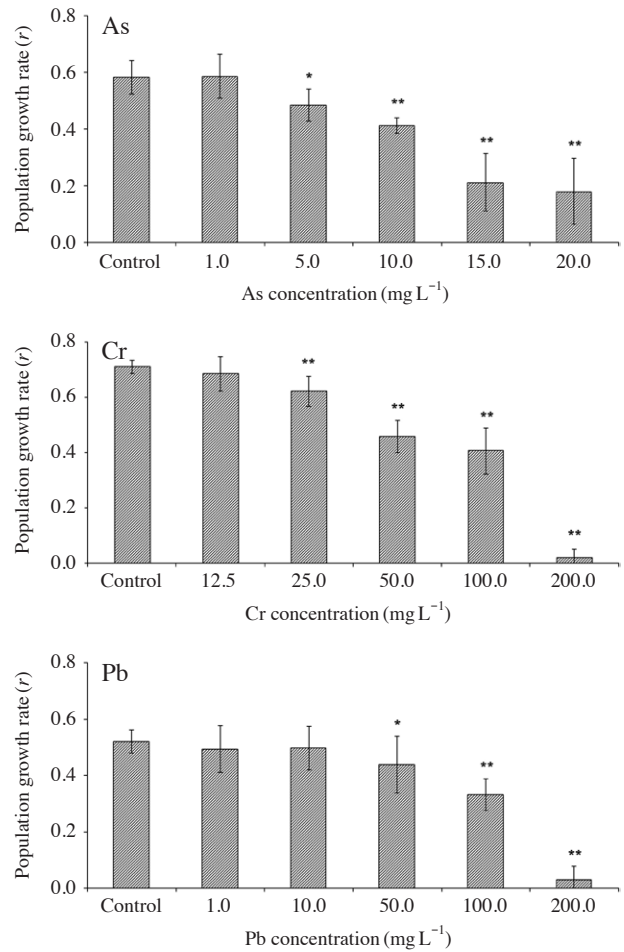


Fig. 3. Change of population growth rates of *B. plicatilis* exposure to As, Cr and Pb. Vertical bars represent the SD of the mean for six times. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ for control.

장률이 감소하는 경향을 보였다. Cr의 경우도 25 mg L⁻¹ 시험 농도에서 0.62 ± 0.05 ($P < 0.01$)로 감소하기 시작하여 농도가 증가할수록 개체군 성장률이 감소하였으며, 200 mg L⁻¹에서 0.02 ± 0.03 ($P < 0.01$)으로 개체군 성장률이 대조구 대비 97.18%가 감소하였다. Pb의 경우도 50 mg L⁻¹의 시험 농도에서 0.44 ± 0.10 ($P < 0.05$)으로 감소하기 시작하여 최대 농도 200 mg L⁻¹에서 0.03 ± 0.05 ($P < 0.01$)로 개체군 성장률이 대조구 대비 92.31%가 감소해 농도가 증가할수록 개체군 성장률이 감소하는 경향을 보였다.

3. 생존율 및 개체군 성장률을 이용한 독성평가

생존율은 As와 Cr에서 농도가 증가할수록 생존율이 감소하는 농도 의존성 반응을 보였으며 농도반응 관계식은 표준 독성 반응으로 알려진 Sigmoid 형태의 곡선을 나타냈다(Fig. 4). 개체군 성장률 또한 As, Cr 및 Pb에서 농도 의존성 반응

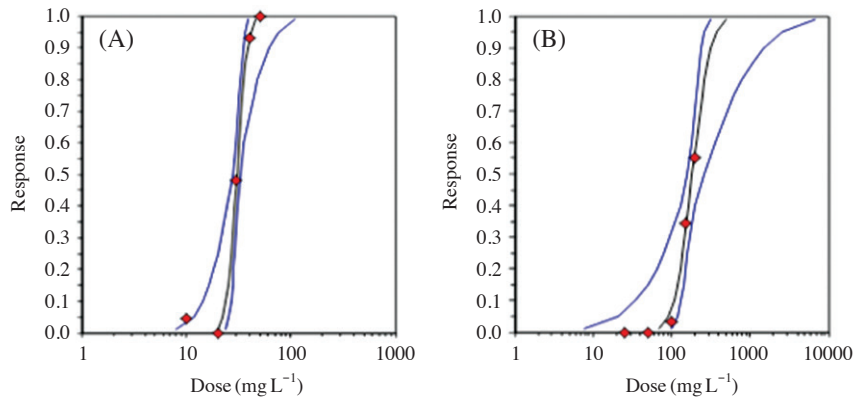


Fig. 4. Concentrations-response by As (A) and Cr (B) treatment using survival rates of *B. plicatilis*.

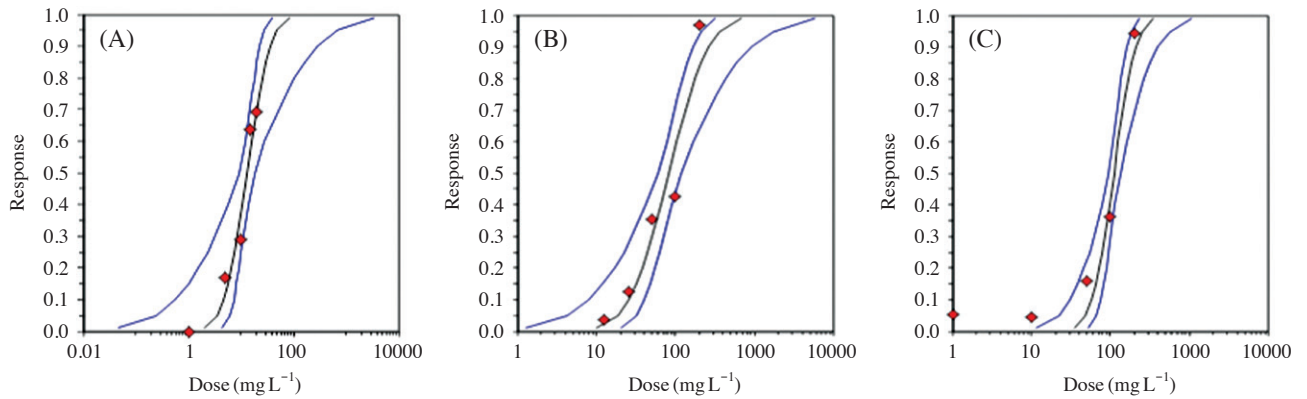


Fig. 5. Concentrations-response by As (A), Cr (B) and Pb (C) treatment using population growth rates of *B. plicatilis*.

Table 2. Toxicity evaluation using survival rates (SR) and population growth rates (PGR) in the *B. plicatilis* exposed to 3 heavy metals (As, Cr and Pb)

Toxicant		NOEC (mg L ⁻¹)	LOEC (mg L ⁻¹)	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	95% CI (mg L ⁻¹)
As	SR	20.00	30.00	30.27	27.51~32.49
	PGR	1.00	5.00	12.98	9.14~18.44
Cr	SR	100.00	150.00	185.43	160.58~255.86
	PGR	12.50	25.00	82.34	59.13~117.32
Pb	SR*	—	—	—	—
	PGR	10.00	50.00	110.14	91.82~133.10

NOEC: No observed effective concentration, LOEC: Lowest observed effective concentration, EC₅₀: 50% Effective concentration, 95% CI: 95% Confidence limit, SR: survival rates, PGR: population growth rates. *: No effect of survival rate by Pb in 200 mg L⁻¹ limits.

을 나타냈으며 농도반응 관계식은 Sigmoid 형태를 나타냈다 (Fig. 5). As 및 Cr에 대한 *B. plicatilis*의 생존율의 NOEC는 20.00과 100.00 mg L⁻¹, LOEC는 30.00과 150.00 mg L⁻¹으로 나타났다. 그리고 As, Cr 및 Pb에 대한 *B. plicatilis*의 개체군 성장률의 NOEC는 1.00, 12.50 및 10.00 mg L⁻¹, LOEC는 5.00, 25.00 및 50.00 mg L⁻¹로 나타났다. *B. plicatilis*의 생존

율 및 개체군 성장률의 중금속 As, Cr 및 Pb에 대한 EC₅₀을 비교하면, As는 생존율에서 30.27 mg L⁻¹, 개체군 성장률은 12.98 mg L⁻¹으로 개체군 성장률이 생존율보다 약 2.3배 낮은 값을 나타냈고, 또한 Cr도 생존율에서 185.43 mg L⁻¹, 개체군 성장률에서 82.34 mg L⁻¹으로 개체군 성장률이 생존율보다 약 2.3배 낮은 값을 나타내었다 (Table 2). Pb는 최대 농

도 200 mg L^{-1} 에서 생존율의 변화가 나타나지 않았지만 개체군 성장률에서 EC_{50} 이 110.14 mg L^{-1} 으로 나타났다(Table 2).

고 찰

육상기인 오염물질에 대한 연안 해역의 오염 정도를 평가하기 위한 대부분의 조사 방법은 전통적인 이·화학적 평가 방법을 이용하고 있다(Bidwell *et al.* 1998). 이·화학적 분석 방법은 화학물질을 정량하여 기준치와 비교할 수 있다는 장점을 가지고 있지만, 미지의 오염물질에 대한 탐지능력은 극히 제한되어 있을 뿐만 아니라 생물에 미치는 영향을 직접적으로 판단할 수 없다는 단점을 지니고 있다(Hwang *et al.* 2012, 2013). 또한, 다양한 오염물질의 상호작용에 의해 발생하는 독성의 상승(synergism), 부가(addition) 및 길항(antagonism) 작용을 판단할 수 없다는 한계를 지니고 있다(Ahlf *et al.* 2002; Chu and Chow 2002). 이로 인해, 해양환경 평가는 이·화학적 분석 방법과 더불어 생태독성을 이용한 WET (Whole Effluent Toxicity) test가 동시에 이루어져야 할 것으로 판단된다(Hwang *et al.* 2012). 본 연구에서는 양식어류의 치어기의 먹이생물로 광범위하게 사용되며 (Molly and Krishnan 2010), 유럽과 미국에서 산업 및 양식오염원에 대한 독성 연구에 사용되는 *B. plicatilis*를 이용하여 (Sladeczek 1983; Halbach 1984; ASTM 1991) 3종 중금속(As, Cr 및 Pb)에 대한 해양생태계 안전농도와 WET test를 위한 기초 연구가 진행되었다.

본 연구결과 중금속 As, Cr 및 Pb 노출에 의한 *B. plicatilis*의 생존률은 As와 Cr에서 농도의존적인 감소현상이 나타났으나 Pb는 최고 농도 200 mg L^{-1} 에서도 생존율의 변동이 일어나지 않았다(Fig. 2). *Philodina roseola* (Shaefer and Pipes 1973), *B. plicatilis* (Snell *et al.* 1991)와 *B. calyciflorus* (Snell and Persoone 1989; Snell *et al.* 1991)에서도 *B. plicatilis*는 Pb보다 As와 Cr에서 민감하였다. 반대로 *Vibrio fishceri* bacteria에서는 Pb가 As 및 Cr에 비해 100배 이상 독성이 높게 나타나는 경우도 있어(Fulladosa *et al.* 2005), 생물종에 따라 독성의 민감도의 차이가 생물종에 따른 독성의 민감도 차이가 있음을 알 수 있다.

As, Cr 및 Pb 노출에 의한 *B. plicatilis*의 개체군 성장률은 As와 Cr의 생존율 결과와 유사하게 3종의 중금속에서 모두 농도 의존적으로 감소하는 현상을 보였으며(Fig. 3), 생존율과 개체군 성장률의 EC_{50} 을 이용하여 중금속 3종이 *B. plicatilis*에 미치는 영향을 비교하면, 생존율보다 개체군 성장률의 EC_{50} 이 As와 Cr은 약 2.3배, Pb는 약 2배 이상 민감하였다(Table 2). Hwang *et al.* (2012, 2013)의 *H. pulcherrimus*

연구에서도 수정율과 배아발생율은 독성에 대한 민감도 차이가 나타났으며, 수정률보다 배아발생률에서 중금속의 영향이 더 민감하게 나타났다. 이러한 현상은 수정율(30분)과 배아발생율(64시간)의 노출시간 차이로 보여지며(Wui *et al.* 1992), *B. plicatilis*의 생존율(24시간)과 개체군 성장률(72시간)의 EC_{50} 값의 차이 또한 노출시간이 민감도에 가장 큰 영향을 주었다고 생각된다.

최근 우리나라 남, 서해 12지역(인천, 평택, 목포, 해창만, 광양, 통영, 행암만, 감만, 부산남항, 부산북항, 온산 및 장생포)항구의 표면 퇴적물에서 중금속 오염 정도를 조사한 결과 As와 Pb는 각각 $3.9 \sim 60.1 \text{ mg L}^{-1}$ 와 $20.2 \sim 386 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도로 장생포지역이 가장 높았고(Choi *et al.* 2012), Cr의 경우는 $11 \sim 401 \text{ mg L}^{-1}$ 으로 부산남항이 가장 높은 것으로 나타났다. 연구결과 As, Cr 및 Pb에 대한 *B. plicatilis* 개체군 성장률이 영향을 받기 시작하는 최소영향농도(LOEC)가 각각 5, 25 및 50 mg L^{-1} 로 항구의 표층 퇴적물의 평균치보다도 훨씬 낮은 농도이며, 이들 퇴적물 속에 포함되어 있는 다양한 오염물질의 상호작용을 평가하기 위해서 *B. plicatilis*는 현장 퇴적물 오염평가에 사용할 수 있는 시험생물로 판단된다. 또한 *B. plicatilis* 개체군 성장률의 반수영향농도(EC_{50})의 독성영향은 $As > Cr > Pb$ 순으로 나타났다. Hwang *et al.* (2013)은 *Hemicentrotus pulcherrimus*의 배아발생률에 미치는 독성영향을 $Cu > As > Zn > Pb > Cr > Co > Cd$ 순으로 보고하였고 Kobayashi (1994)는 $Cu > Hg > Zn > Cr > Ni$ 순서였다(Fulladosa *et al.* 2005).

*B. plicatilis*를 이용하여 다른 중금속에 대한 시험이 완료되면 EC_{50} 값을 이용하여 중금속별 독성의 세기가 다른 생물과 차이가 있는지를 살펴보려고 한다.

본 연구에서 As ($\geq 5.00 \text{ mg L}^{-1}$), Cr ($\geq 25.00 \text{ mg L}^{-1}$) 및 Pb ($\geq 50.00 \text{ mg L}^{-1}$)의 경우 해양생태계 내에서 *B. plicatilis*와 같은 1차 소비자 역할을 담당하는 생물에게 영향을 미칠 수 있는 농도로 활용될 수 있다. 또한 *B. plicatilis*를 이용하여 독성물질의 상호작용을 평가하기 위한 WET test에서 As, Cr 및 Pb의 무영향농도(NOEC)인 1.00, 12.50 및 10.00 mg L^{-1} 를 사용하는 것이 적절할 것으로 판단되며, 향후 다른 중금속의 결과를 바탕으로 반수영향농도(EC_{50})를 비교하여 생물별 중금속 독성영향 판단에도 활용하고자 한다.

적 요

해산로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 생존율 및 개체군 성장률을 사용하여 중금속 As, Cr 및 Pb에 대한 독성평가를 수행하였다. 중금속에 24시간 노출한 생존율은 As와 Cr의 30

과 150 mg L⁻¹ 농도에서 급격한 감소가 시작되어 농도의존적으로 감소하였으나, Pb에서는 영향이 나타나지 않았다. 중금속에 72시간 노출한 개체군 성장률은 As, Cr 및 Pb의 5, 25 및 50 mg L⁻¹ 농도에서 급격한 감소가 시작되어, 3중 중금속에서 모두 농도의존적으로 감소하는 경향을 보였다. As, Cr 및 Pb에 노출된 개체군 성장률의 EC₅₀ 값은 각각 12.98, 82.34 및 110.14 mg L⁻¹이고 독성의 세기는 As > Cr > Pb로 생존율과 동일하였다. 또한 As, Cr 및 Pb에 대한 개체군 성장률의 NOEC는 각각 1, 12.5 및 50 mg L⁻¹, LOEC는 각각 5, 25 및 50 mg L⁻¹로 나타났다. 해양환경에서 각각의 LOEC 이상의 농도는 *B. plicatilis*에게 독성영향을 미칠 수 있는 농도로 판단되며, NOEC와 EC₅₀ 값은 WET test를 위한 혼합독성과 해양생태계 내 중금속독성에 대한 가이드라인으로 적절하게 활용될 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 2016년도 국립수산물과학원 경상과제(R2016058) 연구비 지원으로 국립수산물과학원 서해수산연구소 해양생태위해평가센터에서 수행하였다.

REFERENCES

- 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 Sediment.* 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, Philadelphia PA USA.
- Beiras R and M Albentosa. 2004. Inhibition of embryo development of the commercial bivalves *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* by trace metals; Implication for the implementation of seawater quality criteria. *Aquaculture* 230:205-213.
- Bhattacharyya R, D Chatterjee, B Nath, J Jana, G Jacks and M Vahter. 2003. High arsenic groundwater: mobilization, metabolism and mitigation-an overview in the Bengal Delta Plain. *Mol. Cell Biochem.* 253:347-355.
- 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.
- Caceres DD, P Pino, N Montesinos, E Atalah, H Amigo and D Loomis. 2005. Exposure to inorganic arsenic in drinking water and total urinary arsenic concentration in a Chilean population. *Environ. Res.* 98:151-159.
- 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 metal is revealed by a biological assay using a nematode and its transgenic derivative. *Aquat. Toxicol.* 61:53-64.
- Geffard O, E His, H Budzinski, JF Chiffolleau, A Coynel and H Etcheber. 2004. Effects of storage method and duration on the toxicity of marine sediments to embryos of *Crassostrea gigas* oysters. *Environ. Pollut.* 129:457-465.
- 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, 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, H Seung, 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.
- 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*). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 29:251-257.
- 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*). *Korea J. Environ. Biol.* 31:69-77.
- Irving EC, RB Lowell, JM Culp, K Liber, Q Xie and R Kerrich. 2008. Effects of arsenic speciation and low dissolved oxygen condition on the toxicity of arsenic to a lotic mayfly. *Environ. Toxicol. Chem.* 27:583-590.
- Janssen CR, G Persoone and TW Snell. 1994. Cyst-based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Aqua. Toxicol.* 28:243-258.
- Kang YT and SP Chang. 2005. A Study on the Characteristic of Non-point Source Pollutants Streaming down Ocean. *Research papers, Dong-A Univ.* 17:19-29.
- Kobayashi N. 1994. Application of eggs of the sea urchin (*Diaedema Setosum*) in marine pollution bioassays. *Phuket Mar.*

- Biol. Cent. Res. Bull. 59:91-94.
- Lamm Sh, A Engel, MB Kruse, M Feinleib, DM Byrd, S Lai and R Wilson. 2004. Arsenic in drinking water and bladder cancer mortality in the United States: an analysis based on 133 U.S. counties and 30 years of observation. *J. Occup. Environ. Med.* 46:298-306.
- 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. *Korean J. Microscopy* 39:355-363.
- Lewis DR, JW Southwick, R Ouellet-Hellstrom, J Rench and RL Calderon. 1999. Drinking water arsenic in Utah: A cohort mortality study. *Environ. Health Perspect.* 1017:359-365.
- 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. Effects on toxicity and tissue metal concentrations in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 98:463-481.
- Martin JM and M Whitfield. 1983. The significance of river input of chemical elements to the ocean. In *Trace Metals in Sea Water*. New York. pp. 265-296.
- Martin M, KE Osborn, P Bilig and N Glicksten. 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and Cancer magister larvae. *Mar. Pollut. Bull.* 12:305-308.
- 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.
- Phillips DJH and DA Segar. 1986. Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants: programme design imparatives. *Mar. Pollut. Bull.* 17:10.
- Rand GM and SR Petrocelli. 1985. *Fundamentals of Aquatic toxicology*, Gemisphere Publishing Corporation. Washington.
- Reiley MC. 2007. Science, policy and trends of metals risk assessment at EPA: how under standing metals bioavailability has chang metals risk assesment at USEPA. *Aquat. Toxicol.* 84:292-298.
- Schaefer ED and WO Pipes. 1973. Temperature and the toxicity of chromate and arsenate to the rotifer *Philodina roseola*. *War. Res.* 7:1781-1790.
- Sladeczek V. 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia* 100:169-201.
- Snell TW and G Persoone. 1989. Acute toxicity bioassays using rotifers. I. A test for brackish and marine environments with *Brachionus plicatilis*. *Aquat. Toxicol.* 14:65-80.
- Snell TW, BD Moffat, CR Janssen and G Persoone. 1991. Acute toxicity tests using rotifers. III. Effects of temperature, strain and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Ecotoxicol. Toxicol. Wat. Qual.* 6:63-75.
- 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.
- Varghese M 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.
- 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. *J. Environ. Biol.* 10:92-99.
- Xia Y and J Liu. 2004. An overview on chronic arsenism via drinking water in PR China. *Toxicology* 198:25-29.
- Yap CK, A Ismail and SG Tan. 2004. Heavy metal (Cd, Cu, Pb and Zn) concentraions in the green-lipped mussel *Perna perna* collected from some wild and aquacultural sites in the west coast of Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 84:569-575.

Received: 25 July 2016

Revised: 10 September 2016

Revision accepted: 12 September 2016