

크롬(Cr)과 구리(Cu) 노출에 따른 *Chironomus plumosus* 깔다구의 생물학적 영향과 하순기절 기형발생

김원석 · 박기연¹ · 곽인실*

전남대학교 해양기술학부, ¹전남대학교 수산과학연구소

Biological Effects and Mouthpart Deformity on *Chironomus plumosus* Exposed to Chromium and Copper. Won-Seok Kim (0000-0003-3368-3891), Kiyun Park¹ (0000-0003-2965-6970) and Ihn-Sil Kwak* (0000-0002-1010-3965) (Division of Marine Technology, Chonnam National University; ¹Fisheries Science Institute, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea)

Abstract Heavy metals resulted from the increase of human industrial activity are introduced into the environment through rainfall and wastewater, and have harmful effects on inhabitants. In this study, we investigated biological responses such as survival rate, growth rate, emergence rate and sex ratio, and morphological effects of mentum deformity in *Chironomus plumosus*, an indicator organism to evaluate pollutions on aquatic ecosystem. The survival rate of *C. plumosus* showed time- and dose-dependent decrease after chromium and copper exposures. Growth rate decreased at 4th day after chromium exposure and significantly reduced at exposure to relatively high concentration (copper 1000 mg L⁻¹) for all exposure times. In addition, we observed that the emergence rate by exposure to copper 1000 mg L⁻¹ was significantly lower than that of the control group. The imbalance of sex ratios showed at relatively low concentrations (chromium 10 and 50 mg L⁻¹) with the high proportion of female and at the relative high concentration (copper 1000 mg L⁻¹) with the high proportion of male. Furthermore, the morphological mentum deformities of *C. plumosus* observed in the exposed group according to chromium and copper exposure. These results suggest that the heavy metal exposure in environment may influence biosynthetic and morphological stresses of benthic invertebrate *C. plumosus*, and aquatic midge *C. plumosus* are potential indicators for toxicity assessment of heavy metals such as chromium and copper.

Key words: *Chironomus plumosus*, heavy metal, growth, sex ratio, morphological deformity

서 론

인간의 산업활동으로 인해 발생하는 여러 오염물질들은 다양한 형태로 환경 중으로 유입되어 서식생물의 성

장, 행동, 신진대사 등에 변화를 준다. 환경 내 분해 및 희석이 어려운 중금속은 퇴적물 내에 축적되어 서식하는 저서생물의 건강성에 영향을 준다. 크롬(Cr)은 전기, 섬유, 염색 등의 산업에서 이용되는 물질로 산업폐수를 통해 환경 중으로 유입된다(Sinha *et al.*, 2005). 또한 쉽게 수환경에 용해되기 때문에 환경 중 유동성이 크며, 다양한 생물에서 생리적 기능 및 행동 영향에 대한 연구가 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2018). 구리(Cu)는 바

Manuscript received 31 January 2019, revised 12 February 2019, revision accepted 12 February 2019

* Corresponding author: Tel: +82-61-659-7148, Fax: +82-61-659-7149, E-mail: inkwak@hotmail.com, iskwak@chonnam.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

위, 토양, 물과 같은 환경 내 존재하는 물질로서 생물 내 다양한 생화학적 반응에 필요한 요소이다. 그러나, 정상적인 생리활동을 하기 위한 농도 이상으로 존재할 경우 생물에게 치명적인 독성 영향을 준다(Herkovits and Helguero, 1998). 이러한 중금속은 수생태계 내에서 높은 농도로 관찰되며, 서식 생물 내 신경계 손상 및 삼투압 기능에 교란을 유도한다(Handy, 2003; Grosell *et al.*, 2007). 환경 중 관찰되는 Cu와 Cr 농도 분포는 불가리아의 Chaya 강에서 Cr이 $18.4 \sim 22.3 \mu\text{g g}^{-1}$, Cu $75.2 \mu\text{g g}^{-1}$ 이 보고되었으며(Michailva *et al.*, 2015), 폴란드 dunajec 강에서는 Cr $224 \sim 3415 \mu\text{g g}^{-1}$ 으로 높은 농도가 관찰되었다(Vignati *et al.*, 2018). 국내에서는 시화호 유역 하천에서 Cr과 Cu가 각각 104 mg kg^{-1} , 34.4 mg kg^{-1} 이 측정되었으며(Jeong *et al.*, 2016), 전라남도 목포와 여수 인근 조간대 지역에서는 Cr $26.68 \sim 54.48 \text{ mg kg}^{-1}$, Cu $22.17 \sim 82.38 \text{ mg kg}^{-1}$ 으로 높은 농도로 관찰되었다(Park *et al.*, 2019). 이와 같이 중금속은 퇴적물 내 높은 농도로 축적되며, 인간뿐 아니라 저서생물의 생활사에 직·간접적 영향을 주기에 중금속에 대한 생태 독성 반응에 대한 연구는 중요하다.

저서 생물상 내 우점종인 *Chironomus plumosus*는 파리목 깔따구과에 속하며 성체시기를 제외한 알, 유충, 번데기 발생 시기에 수환경 저서에 서식하기에 수생태계 환경을 잘 반영하는 지표 생물이다. 또한, 쉬운 생활사 구분과 실내 실험의 용이성, 짧은 생활사 등의 장점으로 인해 실내 실험에 이용된다(Park and Kwak, 2008). 최근에는 *C. plumosus*와 실내사육 중 *Chironomus riparius*에서 중금속 노출에 따른 heat shock proteins (HSPs), cytochrome P-450 (CYP450) 등의 스트레스 지표 유전자 발현 비교가 보고되었다(Kim *et al.*, 2015). 또한 항생제의 일종인 sulfathiazole 노출로 인해 *C. riparius*의 생존율, 성장률, 하순기절 기형과 같은 생물학적 반응뿐 아니라 HSPs 유전자 발현에 변화가 관찰되는 등 유해물질 노출 스트레스에 대한 분자생물학적 연구가 활발히 진행되고 있다(Park and Kwak, 2018). 서식환경에 따라 관찰되는 Chironomidae 유충의 하순기절의 형태적 기형은 중금속이나 내분비계 교란물질 등의 인위적인 스트레스에 대한 영향을 분석하는 생물지표로 이용되고 있다(Dias *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2009).

본 연구에서는 하천 저서에 높은 농도로 퇴적되는 중금속 Cr과 Cu의 유해성을 *C. plumosus*를 통해 관찰하고 생물학적, 형태적 반응을 분석하고자 한다. 이를 위해 여러 노출 농도 구간에서 *C. plumosus* 생존율, 성장률, 우화율, 성비와 하순기절 기형을 관찰하였다. *C. plumosus*의 중금속 노출에 따른 생물학적 반응에 대한 관찰을 통한 판정점은 수생태계 모니터링에 대한 기초적 자료로서 활용될 수 있을 것이다.

재료 및 방법

1. 실험 생물

실험 대상 종인 *C. plumosus*는 서울시 금천구 안양천에서 채집하여 실험에 이용했다. 채집된 *C. plumosus*는 실험실로 이동 M4 배지(Elendt, 1990)를 이용하여 항온기 내에서 순치 및 실험을 진행하였다. 항온기 내부 조건은 온도 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 60%, 광도 500 lx, 광주기 명암은 16:8의 조건으로 사육하였다. 환경 조성을 위해 모래($< 63 \mu\text{m}$)를 바닥에 깔아주고, 먹이로는 tetramin (Tetra-Merke, Melle, Germany)를 곱게 갈아 매일 $0.5 \mu\text{g day}^{-1}$ 로 공급하였다.

2. 독성 노출 시험 및 조건

노출물질인 Cr, Cu는 Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA)에서 구입하였다. 노출 처리 농도는 0, 10, 50, 200, 1000 mg L^{-1} 로 *C. plumosus* 4령기 개체를 선별하여 독성 반응을 관찰하였다. 실험 수조는 300 mL 비커에 각 수조당 20마리씩 배치하고 5개의 반복구를 두어 1~3번 반복구는 생존율, 성장률, 우화율과 성비를 측정하였으며 4~5번 반복구는 하순기절 기형을 관찰하였다. 노출 실험을 진행하는 동안 개체 간 공식을 막기 위해 tetramin을 공급하였다.

3. 생존율과 성장률 측정

생존율과 성장률을 측정하기 위해 대조군과 각 중금속을 처리한 그룹들을 매일 관찰하였다. 생존율은 육안으로 관찰하여 *C. plumosus*의 붉은 색이 보이지 않고 물 자극에 대해 반응이 없는 경우에 치사로 판단하였다. 독성 노출 기간 동안 *C. plumosus*의 성장률 변화를 관찰하기 위해 다음과 같은 식을 이용하였다.

$$\text{Growth rate (\%)} = [\ln(W_t) - \ln(W_0)]/t$$

G: 상대성장률

W_0 : 시작 시점 평균 무게

W_t : 최종 시점 평균 무게

t: 배양기간

4. 하순기절 형태적 기형분석

C. plumosus 하순기절 관찰을 위해 Cr과 Cu 노출 7일부터 10일까지 각 농도별로 2개체씩 샘플링하여 10% 포르말린에 고정시켰다. 보관된 *C. plumosus*의 몸통과 머리를 분리 후, CMC-10 (Master company, Inc., Wooddale, Illinois)을 이용하여 슬라이드에 고정하였다. 고정된 슬라이드

는 현미경 (Olympus BX51, Japan)을 통해 관찰하였으며 Dickman *et al.* (1992) 자료를 이용하여 기형을 판단하였다.

5. 통계적 자료분석

Cr과 Cu 노출에 따른 *C. plumosus*의 생물학적 결과에 대해 분산 분석(ANOVA, $\alpha=0.05$)을 실시하고, 모든 데이터는 평균±분산(SD) 값으로 표시하였다. 각 데이터들의 유의적 차이를 비교하기 위해 SPSS 12.0KO (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 Tukey's test로 분석하고 통계적 유의수준($P<0.05$)으로 검정하였다.

결과 및 고찰

중금속은 인간의 인위적 활동으로 인해 수생태계로 지속적으로 유입되며 하상에 퇴적되어 서식하는 생물 체내로 농축된다. 생물 체내 유입된 중금속은 다양한 생리적 활동에 치명적인 영향을 주며 장기간 노출 시 치사에 이르게 된다. 하천 퇴적물에 서식하는 Chironomidae는 생활사가 유충시기에 저서에서 생활함으로 중금속 오염에 대해 직접적인 영향을 받는다. 이에 환경 유해성을 판단하는 지표 생물로서 널리 이용되고 있다 (Park *et al.*, 2018). 하천에 존재하는 중금속 노출을 통해 *C. plumosus*와 *C. riparius*의 스트레스 지표 유전자 발현을 비교하였으며 (Kim *et al.*, 2015), 카드뮴과 구리 노출이 *C. riparius* 내 alcohol dehydrogenase 유전자 발현에 유의한 차이도 관찰되었다 (Park and Kwak, 2009). 또한, 염분 스트레스로 인해 *C. riparius* 성장 지연과 형태적 기형에 대한 연구도 보고되었다 (Kim *et al.*, 2017). 저서지표종인 Chironomidae 깔다구

류를 대상으로 스트레스 노출에 따른 다양한 생물학적 반응 연구에 대한 결과는 생태독성학적 관점에서 있어 물질 독성을 판정하는데 주요한 기초자료로 이용된다.

본 연구에서 Cr과 Cu에 노출된 *C. plumosus*의 생존율을 관찰한 결과, 10 mg L⁻¹ Cr에 노출된 깔다구는 노출 7일 때 100% 생존율을 보인 후, 노출 10일부터 85%의 생존율을 보이며 감소하였다 (Fig. 1). 50과 1000 mg L⁻¹ Cr에 노출된 *C. plumosus*는 노출 7일부터 98%의 생존율을 보이며 노출 10일부터 농도 의존적인 생존율 감소 경향이 나타났다. 상대적으로 고농도인 1000 mg L⁻¹ Cr에 28일간 노출된 개체는 50%의 생존율을 보이며 가장 낮은 생존율을 보였다. 10과 200 mg L⁻¹ Cu에 노출된 *C. plumosus*는 노출 7일부터 생존율 100%를 보이며 농도 의존적 생존율 감소가 나타났다. 50과 200 mg L⁻¹ Cr에 10일간 노출된 깔다구는 각각 80, 75%의 생존율을 보였으며 노출 28일까지 생존율이 유지되었다. 그러나, 상대적으로 고농도인 1000 mg L⁻¹ Cu에 노출된 개체는 노출 4일부터 생존율 88%를 보이며 다른 노출군에 비해 낮은 생존율을 보였다. 나아가 노출 28일째는 생존율이 감소하여 30%로 나타났으며 전체 노출군 중 가장 낮은 생존율을 보였다. 본 연구에서 Cr과 Cu에 노출된 *C. plumosus*는 유의한 생물적 반응을 보였다. 생존율 결과는 Cr과 Cu에서 농도-시간 의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 Cr과 Cu 노출이 *C. plumosus* 체내 독성 스트레스에 영향을 주어 궁극적으로는 생존율에도 영향을 준 것으로 보여진다. 이러한 중금속 노출에 따른 생존율 감소는 나아가 생태계내 저서지표종인 깔다구류 군집분포에도 영향을 줄 것이다. *C. tepperi* 깔다구에서 아연 (Zn)의 노출도 생존율이나 발생 시기에 영향을 주는 것이 보고되었고 (Colombo *et al.*, 2014), 그외 다양한 유해

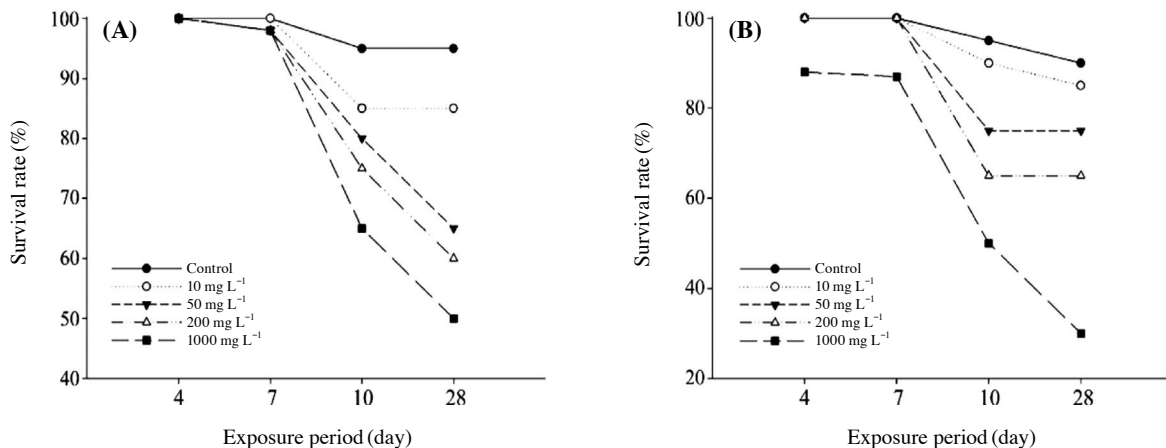


Fig. 1. Cumulative survival rate (%) of *C. plumosus* exposed to different Cr (A) and Cu (B) concentrations (control, 10, 50, 200 and 1000 mg L⁻¹) for 28 days.

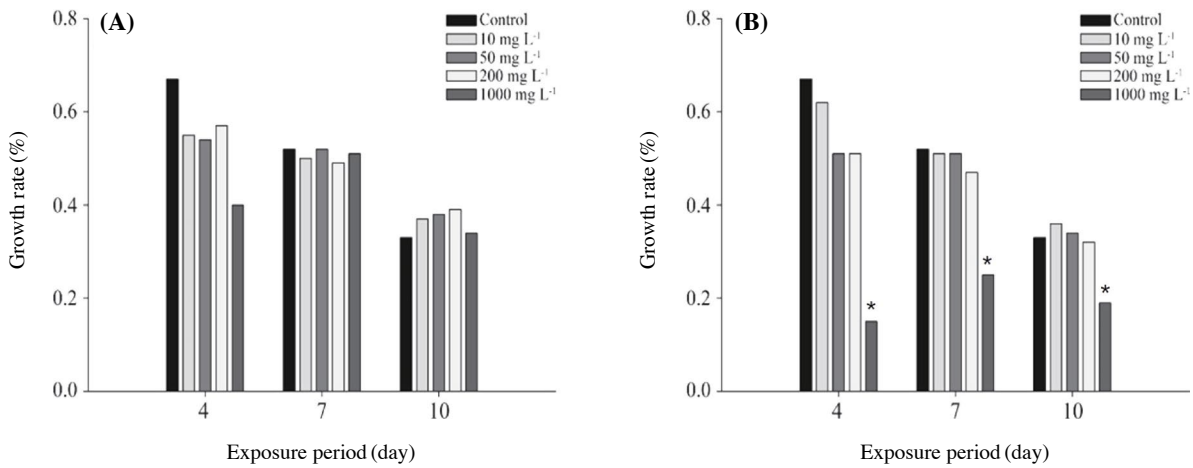


Fig. 2. Growth rate (%) of *C. plumosus* exposed to different Cr (A) and Cu (B) concentrations (control, 10, 50, 200 and 1000 mg L⁻¹) for 4, 7 and 10 days. Significant differences are indicated with the asterisk mark at $P < 0.05$.

물질 노출에 깔다구류의 생존을 감소가 관찰되었다 (Park *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2017).

성장률 분석결과, Cr과 Cu 노출된 *C. plumosus*에서 노출 기간과 농도에 따라 성장속도가 느려지는 것이 관찰되었다 (Fig. 2). 4일 동안 Cr에 노출된 *C. plumosus*는 전체적으로 대조군에 비해 낮은 성장률을 보였다. 고농도인 1000 mg L⁻¹는 0.4 day⁻¹를 보이며 통계적으로 유의한 수준으로 낮은 성장률 수치를 보였다. Cr 노출 7일과 10일째에는 대조군에 비해 성장률 차이가 나타나지 않았으나 시간에 따라 성장률이 감소하는 경향을 관찰하였다. Cu에 4일간 노출된 *C. plumosus*는 전체적으로 대조군에 비해 낮은 성장률을 보였으며 1000 mg L⁻¹에서는 0.15 day⁻¹로 가장 낮은 성장률을 보였다. Cu 노출 7일째 1000 mg L⁻¹를 제외한 노출군에서 대조군과 비슷한 성장률을 보였으며, 10일간 노출된 개체는 농도 의존적인 성장률 감소를 보였다. 본 연구에서 중금속 노출에 따른 *C. plumosus* 성장률은 상대적으로 고농도인 1000 mg L⁻¹에서 대조군에 비해 감소함을 확인하였다. Cr 노출의 경우 노출 4일째에 통계적으로 유의한 감소가 나타났고 ($P < 0.05$), Cu 노출 시에는 모든 노출 시간 동안 (4, 7, 10일) 통계적으로 유의한 감소를 보였다 ($P < 0.05$). 두 중금속 중 Cu 노출이 *C. plumosus* 성장 지연을 더 민감하게 나타냄을 알 수 있었다. 또한, Cr과 Cu에 28일간 노출된 *C. plumosus*의 우화율을 측정하였다 (Fig. 3). 50 mg L⁻¹ Cr에 노출된 개체는 79% 우화율을 보이며 Cr 노출군 중 가장 낮은 우화율을 보였다. 1000 mg L⁻¹ Cr에 노출된 개체는 84%의 우화율을 보이며, 50 mg L⁻¹를 제외한 모든 노출군에서 80% 이상의 우화율을 관찰하였다. Cu에 노출된 *C. plumosus*는 10~200 mg L⁻¹에서 90%

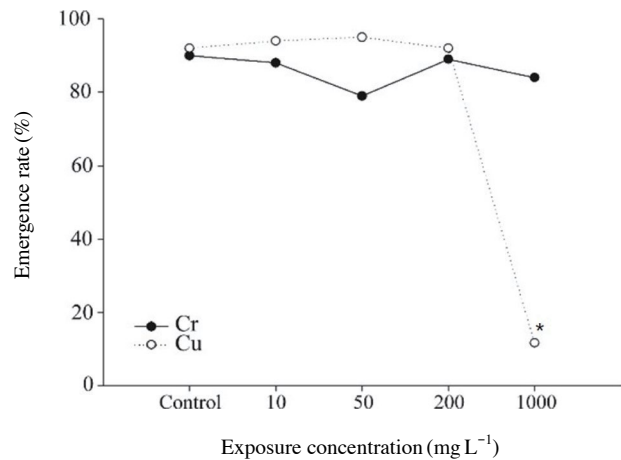


Fig. 3. Emergence rate (%) of *C. plumosus* exposed to different Cr and Cu concentrations (control, 10, 50, 200 and 1000 mg L⁻¹). Significant differences are indicated with the asterisk mark at $P < 0.05$.

이상의 높은 우화율이 관찰되었으나 상대적으로 고농도인 1000 mg L⁻¹에서 11.7%로 급격한 우화율 감소를 보였다. 중금속은 생물 체내로 유입 시 활성산소 (reactive oxygen species)를 발생시키며, 축적된 활성산소는 면역, 성장, 내분비계에 교란 영향을 준다 (Maritim *et al.*, 2003). 본 연구에서 관찰된 성장 지연은 중금속 독성 영향으로 발생한 활성산소에 대한 면역 반응과 생리적 활동 교란으로 인해 성장 차이가 나타난 것으로 보여진다. 기존 연구에 따르면 활성산소에 대한 해독 작용을 하는 지질동성효소 발현이 생물 개체 간 유의한 성장 차이가 나타남이 보고되었다 (Velki *et al.*, 2011). 또한, 중금속 해독과 항산화 작용에 기

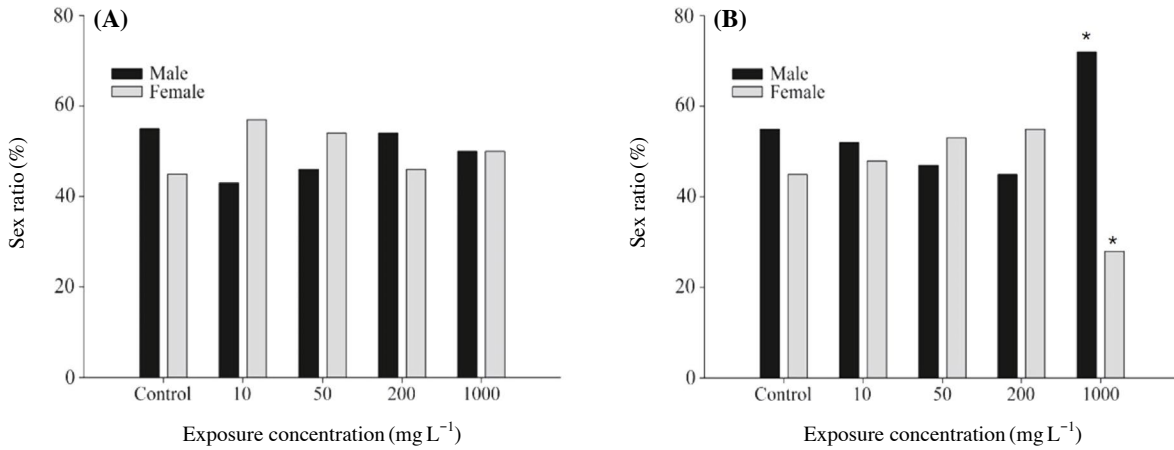


Fig. 4. The sex ratio of emerged individuals (%) of *C. plumosus* exposed to different Cr (A) and Cu (B) concentrations (control, 10, 50, 200 and 1000 mg L⁻¹). Significant differences are indicated with the asterisk mark at $P < 0.05$.

여하는 metallothionein 유전자 발현이 1과 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu에 노출된 *C. riparius*에서 대조군에 비해 높은 발현을 보이며 중금속 독성에 대해 활발한 면역 반응을 보였다 (Park and Kwak, 2012).

Cr과 Cu에 28일간 노출된 *C. plumosus*의 우화된 개체의 안테나를 이용하여 성비를 관찰하였다 (Fig. 4). 대조군은 암컷과 수컷의 비율에서 수컷이 10% 높게 나타났다. Cr에 노출된 *C. plumosus*는 모든 노출군에서 10% 이내의 차이를 보였으며, 1000 mg L⁻¹는 성비의 차이가 나타나지 않았다. 10 mg L⁻¹ Cu에 노출된 *C. plumosus*는 수컷의 비율이 4% 정도 높게 나타났으나, 50, 200 mg L⁻¹ Cu에서는 암컷의 비율이 높게 관찰되었다. 하지만, Cu 노출군 중 고농도인 1000 mg L⁻¹에 노출된 개체들은 수컷의 성비가 급격하게 증가하여 암컷의 비율과 44% 차이를 보였다. 본 연구를 통해 중금속에 노출되지 않은 대조군에서는 성비가 수컷이 암컷보다 조금 높게 나타나는 것을 확인했다. 하지만 Cr 노출의 경우 저농도에서는 성비의 비율이 암컷이 더 높아지는 경향이 나타나고 고농도에서는 대조군과 유의한 차이가 나타나지 않았다. Cu 노출 시에는 50과 200 mg L⁻¹ Cu에서는 암컷의 비율이 조금 높아지다가 상대적 고농도에서는 암컷의 비율이 통계적으로 유의한 수준으로 감소하여 성비 교란이 발생함을 확인하였다. 외부 환경 스트레스는 체내 호르몬 시스템에 영향을 주어 생물 군집내 성비 교란을 유도한다 (Hahn *et al.*, 2001). 특히, 중금속은 뇌하수체 호르몬 분비와 스테로이드와 같은 내분비계에 직접적인 교란을 야기한다 (Smida *et al.*, 2004). 본 연구에서 상대적 고농도인 1000 mg L⁻¹ Cu 노출군의 수컷 비율이 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다. 이는 장기간 지속된

Table 1. The frequency rates (%) of mentum deformity types in *C. plumosus* larvae following Cr and Cu exposures.

| Concentration (mg L ⁻¹) | Mentum deformity | | | |
|-------------------------------------|------------------|-----|-----|------|
| | Cr | | Cu | |
| | MLT | LT | MLT | LT |
| Control | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 10 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 12.5 |
| 50 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 200 | 0.0 | 6.3 | 0.0 | 0.0 |
| 1000 | 6.3 | 6.3 | 0.0 | 0.0 |

MLT: median lateral teeth, LT: lateral teeth

고농도 Cu 노출이 *C. plumosus* 생식 관련 요소들에 직·간접적인 영향을 준 것으로 판단된다. Cu는 산화, 환원 반응과 항산화 작용뿐만 아니라 도파민과 같은 내분비계 효소들의 보조인자이다. 그러므로 Cu의 고농도 장기 노출은 생물의 성장이나 성비 분포에 민감하게 영향을 줄 것이다. 이와 비슷한 결과로 중금속 카드뮴에 노출된 긴노린재류 (*Oncopeltus fasciatus*)에서 난소 미성숙이 관찰되었으며 (Cervera *et al.*, 2005), *C. riparius* 내 호르몬 작용에 관여하는 vitellogenin 유전자의 높은 발현량에 대해 보고하였다 (Park and Kwak, 2012).

Cr과 Cu에 노출된 *C. plumosus*의 하순기절 기형을 관찰하였다 (Fig. 5, Table 1). *C. plumosus* 하순기절은 중앙순치 (Median lateral teeth, MLT)와 2개의 순치 (Lateral teeth, LT)로 구성된다. 대조군에서는 하순기절 기형이 관찰되지 않았으나, Cr과 Cu에 노출된 *C. plumosus*에서는 LT의 부러짐 (Fig. 5B), 유실 (Fig. 5C)과 MLT의 갈라짐 (Fig. 5D) 형태의 기형이 관찰되었다. 200 mg L⁻¹ Cr에 노출된 그룹에

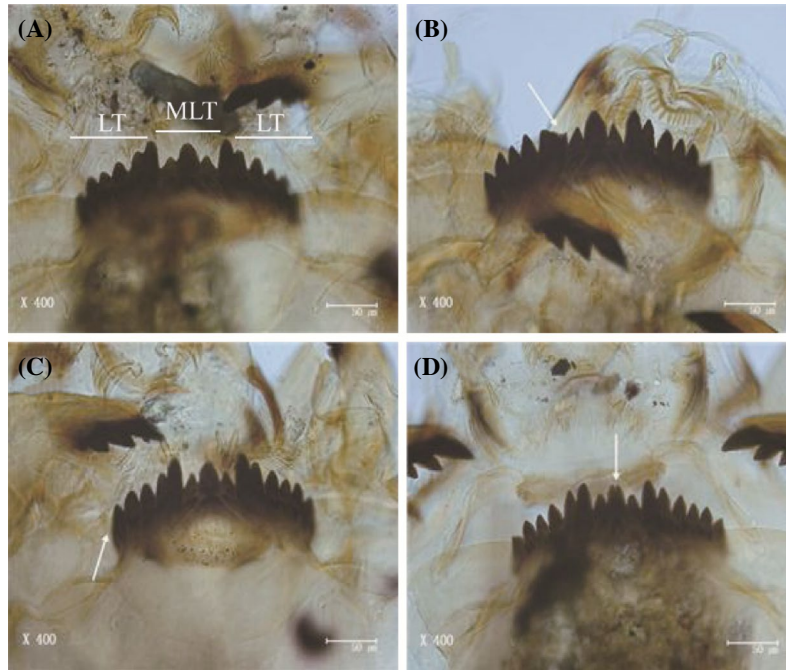


Fig. 5. Types of mentum deformities of *C. plumosus* exposed to $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cr}$. (A) control: normal arrangement of teeth consists of three median lateral teeth (MLT) and two sections of lateral teeth (LT), (B) broken teeth, (C) deletion type of mentum, (D) split medial teeth. The white arrows indicate the region of deformity (A~D scale bar: $50 \mu\text{m}$).

서는 6.3%의 기형이 LT에서 발생하였으며, 1000 mg L^{-1} 에서는 MLT와 LT 각각 6.3%의 기형율을 보였다. $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cu}$ 에 노출된 *C. plumosus*는 12.5%의 기형 발생이 관찰되었다. Chironomidae의 하순기절 기형 관찰은 환경 스트레스를 평가하는 지표로서 이용되며, 중금속, 내분비계 교란 물질 등 다양한 스트레스 요인에 대한 연구가 보고되고 있다. 살충제 (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ 에 노출된 *C. riparius*에서 하순기절의 유실 및 갈라짐 등의 구강기형이 관찰되었다(Park *et al.*, 2010). 최근에는 염분 10 psu에 96시간 동안 노출된 *C. riparius*에서 하순기절 MLT에서 갈라짐이 보고되었다(Kim *et al.*, 2017). 깔다구는 생활사 중 유충시기를 저서에서 서식함으로 환경변화에 따른 형태적 구강기형이 발생할 수 있다. 이러한 결과들은 중금속 노출에 따라 *C. plumosus* 구강을 형성하는 키틴질의 변화를 나타내며 고농도 Cr 노출과 저농도 Cu 노출에 따라 형태적 하순기절기형이 더 나타남을 보여준다.

적 요

인간의 산업활동 증가로 인해 발생하는 크롬과 구리 중금속은 강우와 폐수를 통해 환경으로 유입되어 서식 생물

에 유해한 영향을 준다. 본 연구에서는 하천 수생태계 오염 지표 생물인 *Chironomus plumosus*를 대상으로 크롬과 구리 노출에 따른 생존율, 성장률, 우화율, 성비 등의 생물학적 반응과 하순기절 기형의 형태적 영향을 관찰하였다. *C. plumosus*의 생존율은 크롬과 구리 노출 시간-농도 의존적인 감소를 나타냈다. 성장률은 크롬 노출 후 4일째 감소하였고 구리 노출 시에는 상대적으로 고농도인 1000 mg L^{-1} 에서 모든 노출 시간에 감소함을 확인하였다. 또한 1000 mg L^{-1} 구리 노출에서 대조군에 비해 우화율이 급격히 감소함을 관찰하였다. 크롬 노출 시 성비는 상대적 저농도에서 (10 과 50 mg L^{-1}) 대조군과 달리 암컷의 비율이 증가했지만 구리 노출 시에는 상대적으로 고농도인 1000 mg L^{-1} 에서 수컷의 비율이 눈에 띄게 증가하는 성비불균형을 확인하였다. 나아가 *C. plumosus* 하순기절 형태적 기형은 크롬과 구리 노출에 따라 노출군에서 발생함을 관찰하였다. 이러한 결과는 크롬과 구리의 수생태계 유입이 서식하는 저서무척추동물인 *C. plumosus*의 생물학적, 형태적 유해 스트레스를 제공하며 *C. plumosus*가 크롬과 구리 같은 중금속 독성평가에 민감하게 반응하는 지표종임을 제시한다.

저자기여도 개념설정: 곽인실, 방법론: 곽인실 & 김원석,

분석: 김원석 & 박기연, 자료제공: 김원석 & 박기연, 자료 관리: 곽인실 & 박기연, 원고 초안작성: 김원석, 원고 교정: 김원석, 박기연, 곽인실, 원고 편집 및 검토: 곽인실, 박기연, 과제관리: 곽인실, 연구비 수주: 곽인실. 모든 저자는 논문의 결과에 동의하였고, 출판될 최종본을 검토하고 동의하였습니다.

이해관계 이 논문에는 이해관계 충돌의 여지가 없음.

연구비 및 사사 이 논문은 한국연구재단 중점연구사업의 지원을 받아 수행된 연구임 [NRF-2018-R1A6A1A-03024314].

REFERENCES

- Cervera, A., A. Cristina Maymó, R. Martínez-Pardo and M. Dolores Garcerá. 2005. Vitellogenesis inhibition in *Oncopeltus fasciatus* females (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Journal of Insect Physiology* **51**: 895-911.
- Colombo, V., V.J. Pettigrove, L.A. Golding and A.A. Hoffmann. 2014. Transgenerational effects of parental nutritional status on offspring development time, survival, fecundity, and sensitivity to zinc in *Chironomus tepperi* midges. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **110**: 1-7.
- Dias, V., C. Vasseur and J.M. Bonzom. 2008. Exposure of *Chironomus riparius* larvae to uranium: effects on survival, development time, growth, and mouthpart deformities. *Chemosphere* **71**: 574-581.
- Dickman, M., I. Brindle and M. Benson. 1992. Evidence of teratogens in sediments of the Niagara River watershed as reflected by chironomid (Diptera: Chironomidae) labial plate deformities. *Journal of Great Lakes Research* **18**: 467-480.
- Elendt, B.P. 1990. Selenium deficiency in Crustacea; an ultrastructural approach to antennal damage in *Daphnia magna* Straus. *Protozoology* **154**: 25-33.
- Grosell, M., J. Blanchard, K.V. Brix and R. Gerdes. 2007. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. *Aquatic Toxicology* **84**: 162-172.
- Hahn, T., M. Liess and R. Schulz. 2001. Effects of the hormone mimetic insecticide tebufenozide on *Chironomus riparius* larvae in two different exposure setups. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **49**: 171-178.
- Handy, R.D. 2003. Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process? *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **135**: 25-38.
- Herkovits, J. and A. Helguero. 1998. Copper toxicity and copper-zinc interactions in amphibian embryos. *Science of the Total Environment* **221**: 1-10.
- Jeong, H., K.T. Kim, E.S. Kim, K. Ra and S.Y. Lee. 2016. Sediment quality assessment for heavy metals in streams around the Shihwa Lake. *Journal of the Korean Society for Marine Environment and Energy* **19**: 25-36.
- Kim, S., X. Xu, Y. Zhang, X. Zheng, R. Liu, K. Dietrich, T. Reponen, S.M. Ho, C. Xie, H. Sucharew, X. Huo and A. Chen. 2018. Metal concentrations in pregnant women and neonates from informal electronic waste recycling. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* [Epub ahead of print].
- Kim, W.S., B.H. Im, C. Hong, S.W. Choi, K. Park and I.S. Kwak. 2017. Gene expression of *Chironomus riparius* heat shock protein 70 and developmental retardation exposure to salinity. *Korean Journal of Ecology and Environment* **50**: 305-313.
- Kim, W.S., R. Kim, K. Park, N. Chamilani and I.S. Kwak. 2015. The molecular biomarker genes expressions of rearing species *Chironomus riparius* and field species *Chironomus plumosus* exposure to heavy metals. *Korean Journal of Ecology and Environment* **48**: 86-94.
- Maritim, A.C., R.A. Sanders and J.D. Watkins. 3rd. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **17**: 24-38.
- Michailova, P., J. Ilkova, A.P. Dean and K.N. White. 2015. Cytogenetic index and functional genome alterations in *Chironomus piger* Strenzke (Diptera, Chironomidae) in the assessment of sediment pollution: a case study of Bulgarian and UK rivers. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **111**: 220-227.
- Park, K. and I.S. Kwak. 2008. Characterization of heat shock protein 40 and 90 in *Chironomus riparius* larvae: effects of di (2-ethylhexyl) phthalate exposure on gene expressions and mouthpart deformities. *Chemosphere* **74**: 89-95.
- Park, K. and I.S. Kwak. 2009. Alcohol dehydrogenase gene expression in *Chironomus riparius* exposed to di (2-ethylhexyl) phthalate. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology* **150**: 361-367.
- Park, K. and I.S. Kwak. 2012. Assessment of potential biomarkers, metallothionein and vitellogenin mRNA expressions in various chemically exposed benthic *Chironomus riparius* larvae. *Ocean Science Journal* **47**: 435-444.
- Park, K. and I.S. Kwak. 2018. Disrupting effects of antibiotic sulfathiazole on developmental process during sensitive life-cycle stage of *Chironomus riparius*. *Chemosphere* **190**: 25-34.
- Park, K., H.W. Bang, J. Park and I.S. Kwak. 2009. Ecotoxicological multilevel-evaluation of the effects of fenbendazole exposure to *Chironomus riparius* larvae. *Chemosphere* **77**: 359-367.
- Park, K., J. Park, J. Kim and I.S. Kwak. 2010. Biological and molecular responses of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) to herbicide 2,4-D(2,4-dichlorophenoxy-

- acetic acid). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology* **151**: 439-446.
- Park, K., T.S. Kwak, W.S. Kim and I.S. Kwak. 2019. Changes in exoskeleton surface roughness and expression of chitinase genes in mud crab *Macrophthalmus japonicus* following heavy metal differences of estuary. *Marine Pollution Bulletin* **138**: 11-18.
- Smida, A.D., X.P. Valderrama, M.C. Agostini, M.A. Furlan and J. Chedrese. 2004. Cadmium stimulates transcription of the cytochrome p450 side chain cleavage gene in genetically modified stable porcine granulosa cells. *Biology of Reproduction* **70**: 25-31.
- Sinha, S., R. Saxena and S. Singh. 2005. Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidants and antioxidant enzymes. *Chemosphere* **58**: 595-604.
- Velki, M., D. Kodrik, J. Večeřa, B.K. Hackenberger and R. Socha. 2011. Oxidative stress elicited by insecticides: a role for the adipokinetic hormone. *General and Comparative Endocrinology* **172**: 77-84.
- Vignati, D.A.L., B.J.D. Ferrari, J.L. Roulier, M. Coquery, E. Szalinska, A. Bobrowski, A. Czaplicka, A. Kownacki and J. Dominik. 2018. Chromium bioavailability in aquatic systems impacted by tannery wastewaters. Part 1: Understanding chromium accumulation by indigenous chironomids. *Science of the Total Environment* **653**: 401-408.
- Yang, J., Z. Cui, O.A. Dada, Y. Yang, H. Yu, Y. Xu, Z. Lin, Y. Chen and X. Tang. 2018. Distribution and enrichment of trace metals in surface marine sediments collected by the manned submersible Jiaolong in the Yap Trench, northwest Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin* **135**: 1035-1041.