

물벼룩(*Daphnia magna*)에 대한 중금속의 급성 및 만성 독성

정재원·차미선·조순자·이상준
·부산시 보건환경연구원, 부산대학교 미생물학과
(2000년 5월 18일 접수)

Acute and Chronic Toxicity of Heavy Metals to *Daphnia magna*

Jae-Won Jeong¹, Mi-Sun Cha, Sun-Ja Cho and Sang-Joon Lee

¹Institute of Health and Environmental, Busan 613-014, Korea.

Dept. of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Manuscript received 18 May, 2000)

The toxicity values of various heavy metals were evaluated by acute immobilization and chronic reproduction impairment tests, using *Daphnia magna*. Acute tests were evaluated by the inhibition of their mobilization after 24hrs without food addition. The tests of reproductive impairment were investigated for 21 days by food addition and exchange of water. The effect of each concentration was assessed by Probit analysis and *t*-test.

The results obtained from this study were as follows : 1) The change of pH and DO was not significant in the acute tests, while, in the reproductive tests, pH was increased by 0.3~1.4 and DO also increased. 2) The E_{IC50} values of immobilization to *Daphnia magna* in artificial fresh water were 0.030mg/l (Cu), 0.054mg/l (Cd), 0.12mg/l (Cr), 0.74mg/l (Pb), 3.4mg/l (As) and the NOE_C values were 0.010mg/l (Cu), 0.018mg/l (Cd), 0.010mg/l (Cr), 0.10mg/l (Pb), and 1.8mg/l (As). 3) The E_{IC50} values of reproductive impairment to *Daphnia magna* were 13.8μg/l (Cu), 2.9μg/l (Cd), 15.5μg/l (Cr), 61.7μg/l (Pb), 759μg/l (As), and NOE_C values were 0.95μg/l (Cu), 0.54μg/l (Cd), 1.2μg/l (Pb), 7.4μg/l (As).

The results of tests using OECD artificial culture water were more sensitive than natural water for culturing. The presented data show that an artificial culture water is suitable in the experiment of bioassay for assessing the toxicity of materials.

Key word : toxicity, *Daphnia magna*, E_{IC50}, NOE_C, E_{IC50}, NOE_C, bioassay

1. 서 론

우리 주변에 존재하는 독성물질의 종류가 다양하고, 많은 혼합물에 대한 독성학적 자료의 결핍, 또 이를 혼합물의 감지와 분석의 어려움, 그들 상호작용에 대한 영향 예측의 어려움 등의 이유로 인해 이화학적 분석만으로는 생물체에 작용하는 수질의 독성을 평가하는데 한계가 있다.¹⁾ 생물검정은 수계에 존재하는 잠재적인 독성여부를 결정하는데 많은 도움을 줄 수 있으며, 화학적 분석방법의 보완방법으로 사용될 수 있다.²⁾ 생물검정에 사용되는 시험 종으로 동물플랑크톤인 물벼룩을 주로 많이 사용하는데, 큰 물벼룩(*Daphnia magna*) 종은 개체크기가 작고, 배양이 쉽고, 생활사가 짧으며, 높은 번식력 등의 장점이 있어 유해물질의 급성독성을 연구하는 수중생물로 오랜 기간동안 유용하게 사용되어져 왔으며,³⁾ 또한 독성물질에 대한 뚜렷한 감수성도 대표적 시험생물로서의 좋은 요건이 되고 있다.⁴⁻⁶⁾

Anderson¹⁵⁾이 산업폐수 중에서 발견될 수 있는 유기

물질 및 여러 중금속 염에 대한 *D. magna*에 대한 독성 발현농도(Threshold Concentration)를 발표함으로써 생물검정에 대한 연구가 활기를 띠기 시작한 이후로, Freeman⁷⁾이 여러 가지 세제류에 대해, Breukelman⁸⁾은 염화제2수은(HgCl₂)에 대해 *D. magna*의 저항성의 차이를 연구 발표하였으며, Baudouin 등⁹⁾은 *D. magna*를 포함한 몇 종의 담수산 동물플랑크톤류에 있어서의 여러 가지 금속에 대한 급성 독성을 비교하여 *Daphnia*류의 감수성을 확인하였다. 또한 Shcherban¹⁰⁾은 여러 온도 조건에 있어서의 *D. magna*의 중금속에 대한 독성평가 결과를 제시하였다.

1970년대 이후로 여러 가지 오염물질에 대한 *D. magna*의 반응에 관한 단순 연구에서 한걸음나아가 여러 세대에 걸친 장기적 영향에 관한 연구가 집중적으로 발표되었다. Biesinger 등¹¹⁾이 여러 가지 금속에 있어서의 *D. magna*의 생존, 성장, 번식 등에 대한 종합적 영향을 제시하였으며, Nebeker 등¹²⁾은 PCB's에 대한, Winner

등^[3]은 copper에 대한 *D. magna*의 생존과 번식에의 영향을 연구 발표함으로써 생물독성시험을 통한 생태학적 검정 단계로 들어서게 되었다. Adema^[4]는 수중 유해물질의 검정에 있어 급성독성시험 뿐만 아니라 만성독성시험에 있어서도 *D. magna*의 유용성에 관하여 설명하였으며, Canton 등^[5]은 15가지 복합화학물질에 대한 번식저해시험을 3종의 *Daphnia*류에 실시하여 비교하였다. 또한 Bertram^[6]은 cadmium이 섞인 먹이 및 사육수에 노출되었을 때의 *Daphnia*의 수명과 번식에 관해서 연구하였고, Leblanc^[7]도 *D. magna*가 몇 가지 중금속과 세제류에 미리 노출되었을 때의 저항능력의 발달에 대한 연구를 발표하는 등 환경오염과 생태계의 영향에 관한 한층 더 보편적인 자료를 제시하였으며, Maki^[8]는 몇 가지 독성물질에 대한 만성독성도에 있어서의 *D. magna*와 어류(fathead minnow)의 상관관계를 나타냄으로써 다른 생물 종간의 비교를 가능케 하였다. 수환경 내에서 생물학적 보전이 유지될 수 있는 독성물질의 영향을 알아내기 위해서는 한가지 이상의 생물검정 및 독성시험의 수행되어야 하며, 이러한 시험의 결과로부터 양-반응과의 상관성 분석을 통해 적절한 최대허용독성농도(Maximum Acceptable Toxicant Concentration)가 결정되어야 한다.^[9] 이미 김^[10] 등은 물벼룩과 형광성 박테리아를 동시에 실험하여 합성세제의 독성을 평가하였고, 또 하^[11] 등은 물벼룩과 형광성 박테리아를 같이 이용해 중금속의 급성독성을 평가한 바 있다. 그 외에도 국립환경연구원에서 우리 나라 주요 4대강의 상수원 등에 물벼룩, 물고기 등을 이용한 독성물질 조기 경보체계를 시험 운영하고 있으며,^[20] 여러 가지 유해물질에 대한 생물검정에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다. 그러나, 국내에는 표준생물검정시험법 등이 개발되어 있지 않은 상황이기에, 여러 각국의 연구사례를 따라 각기 나름대로의 실험방법을 사용하고 결론을 내리고 있는 실정이다.

미국에서는 Standard Methods 및 EPA, ASTM 등에서 표준시험법을 만들었으며, OECD에서도 1977년 이후 생물검정 표준시험법을 발표하였으며, 일본에서도 OECD 표준시험법을 기본으로 독성시험지침서가 만들어져 있다.

본 실험은 인체 및 여러 생물체에 유해하게 작용하는 몇 가지 유해 중금속에 대한 *D. magna*의 급성유영저해시험 및 만성번식저해시험을 국제적인 표준시험법인 OECD 표준시험법(1982)에 준해 실시하고, 그 결과로부터 NOEC(No Observable Effect Concentration) 및 EC₅₀(Median Effective Concentration)을 산출^{[21], [22]}하여 수생태계내에서의 중금속의 독성영향을 평가하는데 기초자료로 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

2.1.1. 물벼룩

실험에 사용한 물벼룩은 국립환경연구원 산하 낙동강 수질검사소에서 분양받은 큰물벼룩종(*D. magna*)으로서 평균 생활사는 25°C에서 약 40일, 20°C에서 약 60일이며,

부화 후 첫 새끼를 낳기까지는 6~10일이 소요되는 것으로 알려져 있는 것을 사용하였다.^[21]

2.1.1.1. 사육조건

본 실험에서 사용한 사육수는 인공담수를 조제하여 사용하였으며, 인공담수의 조성은 Table 1과 같으며, 이 사육수의 pH는 8.0 ± 0.2 이고, DO는 80% 이상 포화상태가 되도록 2~3시간 폭기시켰다. 사육실의 온도는 20 ± 1 °C를 유지시켜 주었으며, 1000~2000 Lux의 조명으로 16시간 light, 8시간 dark의 조건을 유지시켰다. 사육수는 2일마다 새로 교환해주는 반지수식 사육을 하였으며, 물벼룩을 새 사육용기로 옮길 때는 개구부의 끝을 잘라 크게 하고 날카롭지 않게 미리 손질하여 둔 괴allet을 사용하였다. 사육에 사용하는 용기는 전부 화학물질 등에 전혀 노출되지 않은 유리제품을 사용하였고, 1 ℓ의 사육수에 20개체의 물벼룩을 사육하였다. 먹이는 사육수를 교환할 때마다 *Chlorella* 약 4×10^7 cells/개체/일이 되도록 공급하였다(사육수 1 ℓ 당 조류 회석액 5 mL). 사육수를 교환할 때 어미 물벼룩과 새끼 물벼룩을 별도 분리하고, 항상 새끼를 낳을 수 있는 상태의 어미 물벼룩이 존재하게 준비하였다.

Table 1. Composition of artificial fresh water for *D. magna* culture

Composition	Concentration (mg/ℓ)
NaHCO ₃	192.0
CaSO ₄ · 2H ₂ O	120.0
MgSO ₄	120.0
KCl	8.0

2.1.1.2. 먹이

먹이로는 주로 세균, 조류, yeast가 이용되고 토양추출물, 목화씨 분말과 청어, 건초가루 및 무지개송어 치어용 강화사료와 같은 유기물질도 이용되는데, 본 시험에서는 녹조류인 *Chlorella vulgaris* 배양액을 사용하였다. *Chlorella* 배양을 위한 배지로는 DIN 배양액^[23]과 조류증식에 효과적인 vitamin stock 용액을 사용하였다. 배양액의 pH는 8.2이었고, 사용 전에 멀균하여 배양액이 오염되지 않도록 하였으며, 배양 온도는 23 ± 2 °C, 조도 8000 Lux를 유지시켰다. *Chlorella* 배양액은 대수증식기(배양 3일째)일 때, 원심분리(2000 rpm, 15분)하여 사육수로서 적당한 농도로 회석하여 냉장고에 보관하여 사용하였다.

2.1.2. 중금속

급성유영저해시험 및 번식시험에 사용된 중금속 시약은 유해중금속으로 널리 알려진 Cu, Cd, Pb, Cr, As의 5 가지 중금속분석용 표준용액을 설정 농도별로 사육수로 회석하여 사용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 독성 시험

2.2.1.1. 급성유영저해시험 (Acute Immobilization Test)

각 중금속을 농도구별로 5개씩 50ml 유리비이커를 준비하고, 대조구로는 사육수만을 넣은 50ml 유리비이커를 5개 더 준비하였다. 각각의 비이커에 생후 24시간 이내의 어린 물벼룩을 5개체씩 넣어 24시간 혹은 48시간이 지난 후의 유영 저해수를 기록하였다. 이때의 유영저해라 함은 시험용기를 천천히 움직여도 물벼룩이 15초간 헤엄치지 못하는 경우를 말하며 촉각만 움직일 경우에도 유영저해 당한 것으로 간주하였다.²²⁾ 시험 환경조건은 사육 환경조건과 동일하게 유지시켜 주었으며, 시험의 전, 후에 각 시험액과 대조구의 pH, DO를 측정하였다.

EC_{50} , NOEC를 구하기 위한 본 시험을 실시하기 전에 100, 10, 1, 0.1mg/l의 농도로 예비시험을 실시하고, 그 결과에 따라 공비 1.8($\sqrt[4]{10}$)로 농도구를 설정하여 본 시험을 실시하였다.^{24,25)} 본 시험은 결과의 신뢰성을 위해 독성물질마다 3회 이상의 동일 시험을 실시하였으며, 그 평균치로서 분석결과를 산출하였다.

2.2.1.2. 번식저해시험 (Chronic Reproduction Impairment Test)

번식저해시험은 급성유영저해시험의 결과에 근거하여 적정 시험농도를 설정하게 되는데, 급성유영저해시험의 EC_{50} 치의 1/100의 값을 최저농도로 하여 5단계의 농도구를 설정하였다.²²⁾ 각 시험물질을 농도구별로 10개의 50ml 유리비이커에 준비하고, 생후 24시간이내의 어린 물벼룩을 각 비이커에 1개체씩 넣어 14일~21일간의 생존 및 번식상태를 관찰하였다.

시험조건은 사육조건과 동일하게 유지하였으며, 48시간마다 시험수를 교환하여 주고, 교환시마다 먹이도 주었다. 대조구로 사육수만을 넣은 50ml 비이커 10개를 준비하고, 대조구에서 3번이상의 생산이 있을 때까지 시험을 계속하였다. 시험결과는 시험 시작일로부터 종료일까지 물벼룩의 유영상태 및 생산된 새끼의 수 등을 매일 기록하였다. 본 시험은 결과의 신뢰성을 위해 독성물질마다 3회 이상의 동일 시험을 실시하였으며, 그 평균치로서 분석결과를 산출하였다.

2.2.2. 독성 평가

2.2.2.1. EC_{50} 및 EC_{90} 의 산정

물벼룩 독성시험 결과는 주로 24hr, 48hr, 96hr-LC₅₀ (Median Lethal Concentration)값으로 나타내었으나, 독성물질 처리를 규제하는 직접적인 안전농도라고 할 수 없으며, 치사수준이 아닐지라도 수서생물의 생체기능을 불구하고 만들거나, 기능상의 장애를 줄 수도 있기 때문에, OECD 표준시험법에서는 물벼룩의 유영저해도를 살펴보고 EC_{50} (Median Effective Concentration)으로 나타내기를 권장하고 있다.

EC_{50} 이란 공시물벼룩 50%에 유영저해를 초래하거나 번식률을 50% 감소시키는 공시물질의 농도를 의미하는

것으로, 공시물질의 용량-반응과의 관계를 표시할 때 가장 많이 사용되고 있으며, 공시물질에 대한 반응을 Probit단위로 환산한 Probit 분석법²⁶⁾에 의해 산정하였다. 또한 Probit 분석법으로 구한 EC_{50} 치에 대한 95% 신뢰한계치를 Microsoft Excel 통계 program에 의해 구하였다.

2.2.2.2. NOEC 및 NOEC의 결정

NOEC(No Observable Effect Concentration)란 물벼룩이 유영저해를 당하지 않거나 번식 상태에 있어서 대조구와 유의차가 인정되지 않는 무작용농도중의 최고시험농도를 의미하는 것으로, 각 시험농도구와 대조구의 결과를 F-test 및 t-test로 검정하여, 5%의 위험율에서 유의차가 인정되지 않는 시험 최저농도로 표기하며, 본 실험에서는 Microsoft Excel 통계 program에 의해 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 급성유영저해시험(Acute Immobilization Test)

중금속에 대한 급성유영저해 시험의 결과는 Fig. 1과 같으며, *D. magna*에 대한 유영저해는 Cu에서 가장 크고, Cd, Cr, Pb, As의 순으로 나타났으며, EC_{50} 치와 95% 신뢰구간 및 NOEC값은 Table 2와 같다.

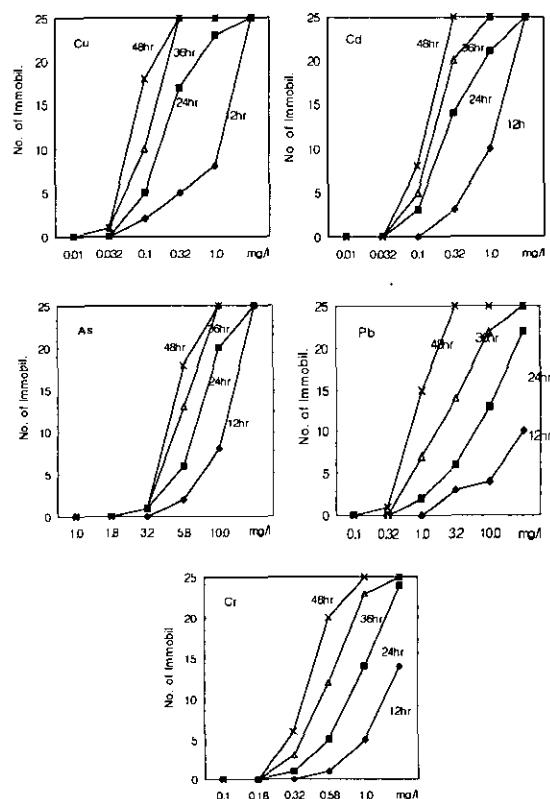


Fig. 1. Results of acute immobilization test.

Table 2. E_{C50} value, 95% confidence limit and NOEC value obtained from 24h-acute immobilization tests of each toxic metals for *D. magna* (mg/l)

	Cu	Cd	Cr	Pb	As
24h- E_{C50}	0.030	0.054	0.12	0.74	3.4
Confidence limit (95%)	0.026-0.036	0.048-0.060	0.080-0.19	0.46-1.20	2.8-4.1
NOEC	0.010	0.018	0.010	0.10	1.8

Table 2의 결과로 볼 때, *D. magna*의 유영저해에 대한 독성은 Cu > Cd > Cr > Pb > As의 순으로 나타났으며, 이 결과는 Warnick 등에 의한 독성 시험 결과와도 일치하였다.²⁷⁾ 그는 수생생물에 관한 그 이전까지의 독성시험 결과를 정리하여 발표하였는데, *D. magna*의 유영저해에 있어서 독성발현농도(Threshold Concentration)를 Cd 0.1mg/l, Cr 0.7mg/l, Pb는 5mg/l라고 발표하였으며, Cu는 0.027mg/l에서 100%의 유영저해를 보였다고 한다. 또 Biesinger 등¹¹⁾은 미국 Superior 호수물을 시험 수로 사용하고 말린 전초가루와 말린 송어가루를 먹이로 공급하면서 각종 중금속의 독성시험을 하였는데, 급성치사시험의 48h-LC₅₀이 Cd 0.065mg/l, Cu는 0.001mg/l, As는 7.4mg/l로 본 실험의 결과와는 다소 차이를 보였다.

3.2. 번식저해시험(Chronic Reproduction Test)

물벼룩에 대한 번식저해는 Cd, Cu, Cr, Pb, As의 순으로 나타났으며, 그 결과는 Fig. 2에, E_{C50} 치, 95% 신뢰구간 및 NOEC값은 Table 3에 나타내었다.

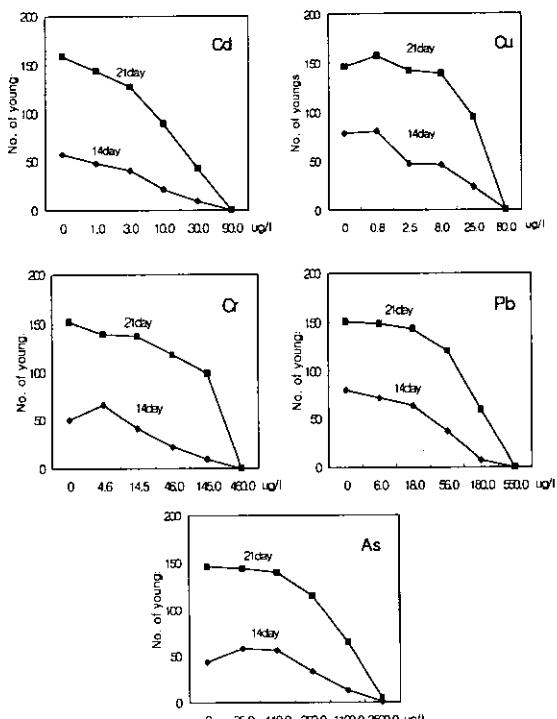


Fig. 2. Results of chronic reproduction impairment test

Table 3. E_{C50} value, 95% confidence limit and NOEC value obtained from 21d-chronic reproduction tests of each toxic metals for *D. magna* (μg/l)

	Cu	Cd	Cr	Pb	As
21d- E_{C50}	13.8	2.9	15.5	61.7	759
Confidence limit (95%)	11.8-16.2	2.0-4.5	10.7-22.4	41.7-91.2	562-1023
NOEC	0.95	0.54	1.2	7.4	110

3회 이상의 대조구 시험에서 21일까지 물벼룩의 평균 초산일수는 8.2일, 평균 산란회수는 6.5회, 평균 누적산자수는 146개체였으며, 번식에 있어서 대조구와 비교하여 50%의 저해를 보인 독성 농도는 Cu 13.8 μ g/l, Cd 2.9 μ g/l, Cr 15.5 μ g/l, Pb 61.7 μ g/l, As 759 μ g/l였다. 이 값은 Biesinger 등이 Superior 호수물을 이용하여 chronic test를 실시한 결과—Cu 3.5 μ g/l, Cd 0.7 μ g/l, Cr 600 μ g/l, Pb 100 μ g/l, As 1400 μ g/l—와 비교해 볼 때, Cu와 Cd를 제외하고는 인공담수에서 중금속에 대해 더 민감하게 나타났다.¹¹⁾

또한 Anderson⁴⁾은 미국 Erie 호수물을 사용하여 64hr 후의 독성발현농도(TC)를 Cu 13 μ g/l, Cd 1.6 μ g/l, Cr 1200 μ g/l, Pb 930 μ g/l로 발표하였는데, Cu와 Cd의 만성독성시험 결과와 거의 비슷하게 나타났음을 알 수 있다.

3.3. pH 및 DO의 변화

급성유영저해시험에서는 시험시작 48시간후에 초기 pH와 비교하여 볼 때 ±0.1~0.2정도의 미미한 변화가 있었으며, DO농도는 약 0.2~0.3mg/l 정도 범위로 약간 낮아졌는데, 이러한 변화는 물벼룩 시험 결과에 아무런 영향을 미치지 않았다.

번식저해시험에서는 환수 직후의 pH값보다 환수 직전에 0.3~1.4 정도 높아졌는데, 이는 먹이로 공급한 클로렐라의 광합성에 의한 것으로 사료된다. DO값 또한 시험 9~10일째까지는 클로렐라의 광합성으로 계속 높아지다, 물벼룩이 번식하여 그 수가 많아지면서 감소하는 경향을 보였다. 번식시험에서는 pH 및 DO의 변화가 다소 큰 폭으로 나타나지만 이를마다 사육수를 교환해 주었기 때문에 시험결과에는 영향을 미치지 않았다.

이러한 pH 및 DO의 변화 패턴은 5가지 중금속 실험의 경우 모두 비슷하게 나타났다.

3.4. 독성시험 결과의 비교

*D. magna*에 대한 여러 독성시험에 있어서, 국내 연구자례인 김¹⁸⁾ 및 하¹⁹⁾ 등의 연구에서는 그 사육수로서 인천시의 지하수를 사용하였고, 국외의 Biesinger 등¹¹⁾은 미국 Superior 호수물을, Anderson⁴⁾은 미국 Erie 호수물을 사용하였는데, 사육수로서 자연수를 사용하는 것은 그 원수의 수질에 따라 다양한 수질 환경을 나타내게 될 것이므로, 목적하는 물질의 독성을 정확히 파악하는 데는 알맞지 않으며, 반면 수생태계 중의 독성 영향 등을

물벼룩(*Daphnia magna*)에 대한 중금속의 급성 및 만성 독성

파악하고자 할 때에는 적합한 것으로 사료된다. 본 시험에서 사용한 인공사육수는 OECD시험법에서 권하는 것으로, 그 조성성분도 간단하고 보관에도 용이하여, 실험실내에서의 독성평가실험에 권장할 만하며, 임²⁰⁾ 등의 연구에서 사용된 M4 배양액은 인공배양을 위한 이상적인 배양액으로 여겨지나, 그 조제가 너무 번거로운 점이 있다. OECD 인공사육수를 이용한 독성시험 결과가 자연수를 사용으로 사용하였을 때의 결과보다 대체로 민감하게 나타났는데, 이는 자연수 중의 미세조류가 독성을 질을 다소 섭취 또는 흡착하고, 풍부한 미네랄 성분들이 물벼룩의 독성에 대한 내성을 강하게 하는데 기여한 것으로 사료된다.

4. 결 론

공장폐수 등으로부터 유입되기 쉬운 유해 중금속의 생물에 대한 독성을 평가하기 위해 OECD 표준시험법에 따라 물벼룩(*Daphnia magna*)을 이용하여 실험실 내 생물검정을 실시한 결과는 다음과 같다.

1. 급성유영저해시험에서의 pH 및 DO의 변화는 미미하였으며, 번식저해시험에서는 먹이인 *Chlorella*에 의해 pH가 0.3~1.4 정도 높아졌고 DO값도 높아지는 경향을 보였다.

2. 급성유영저해시험에서 EC₅₀은 Cu 0.030mg/l, Cd 0.054mg/l, Cr 0.12mg/l, Pb 0.74mg/l, As 3.4mg/l였으며, NOEC는 Cu 0.010mg/l, Cd 0.018mg/l, Cr 0.010mg/l, Pb 0.10mg/l, As 1.8mg/l였다.

3. 번식저해시험에서는 EC₅₀은 Cu 13.8μg/l, Cd 2.9μg/l, Cr 15.5μg/l, Pb 61.7μg/l, As 759μg/l였으며, NOEC는 Cu 0.95μg/l, Cd 0.54μg/l, Cr 1.2μg/l, Pb 7.4μg/l, As 110μg/l였다.

4. 독성시험 결과를 사육수에 대해서 고찰한 결과, OECD 인공사육수를 사용하였을 때의 결과가 자연수를 사육수로 사용하였을 때의 결과보다 대체로 민감하게 나타났으므로, 생물검정시험에서 유해물질의 독성정도를 평가하는 데는 인공사육수가 더 적합한 것으로 판단되었다.

참 고 문 헌

- 1) EPA, 1989, Short-term method for estimating the chronic toxicity of effluent and receiving water to freshwater organism, U.S.EPA-600/4-89-001.
- 2) EPA, 1978, Criteria and rationale for decision making in aquatic hazard evaluation, aquatic hazard of pesticides task group, American Inst. of Biological Science, Arlington, Virginia, 46pp.
- 3) Leblanc, G. A., 1982, Laboratory investigation into the development of resistance of *Daphnia magna* to environmental pollutants, Environ. Poll. A, 27, 309~322.
- 4) Anderson, B. G., 1944, The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *D. magna*, Sewage Works Journal, 16(6), 1156~1165.
- 5) Anderson, B. G., 1948, The apparent thresholds of toxicity to *Daphnia magna* for chlorides of various metals when added to lake Erie water, Trans. Amer. Fisheries Soc. 78, 96~113.
- 6) Holm-Jensen, I., 1948, Osmotic regulation in *D. magna* under physiological conditions and in the presence of heavy metals, Biologiske Meddeleser, 20(11), 64pp.
- 7) Freeman, L., 1953, Toxicity thresholds of certain sodium sulfonates for *Daphnia magna* status, Sewage Ind. Wastes, 25, 1331~1335.
- 8) Breukelman, J., 1970, Effect of age and sex on resistance of daphnids to mercuric chloride, Science, 76, 302.
- 9) Baudouin, M. F. and P. Scoppa, 1974, Acute toxicity of various metals to freshwater zooplankton, Bull. Environ. Contam. & Toxicol., 12(6), 745~751.
- 10) Shcherban, P. E., 1979, Toxicity of some heavy metals for *D. magna* strus, as a function of temperature, Hydrobiol. J., 13, 75~80.
- 11) Biesinger, K. E. and G. M. Christensen, 1972, Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *D. magna*, J. Fish. Res. Bd. Canada, 29, 1691~1700.
- 12) Nebeker, A. V., 1974, Effect of PCB's on survival and reproduction of *Daphnia*, *Gammarus*, *Tanytarsus*, Trans. Amfish. Soc., 103, 722~728.
- 13) Winner, R. W., T. Keeling, R. Yeager and M. P. Farrell, 1977, Effect of food type on the acute and chronic toxicity of copper to *D. magna*, Freshwater Biolog., 7, 343~349.
- 14) Adema, D. M. M., 1978, *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests, Hydrobiol., 59, 125~134.
- 15) Canton, J. H. and D. M. M. Adema, 1978, Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments, Hydrobiol. 59, 135~140.
- 16) Bertam, P. E., 1979, Longevity and reproduction of *Daphnia pulex* exposed to cadmium-contaminated food or water, Environ. Pollut., 295~305.
- 17) Maki, A. W., 1979, Correlations between *Daphnia magna* and fathead minnow(*Pimephales promelas*) chronic toxicity values for several classes of test substances, J. Fish. Res. Board Can., 36, 411~421.
- 18) 김태영, 채수권, 김건홍, 1994, 물벼룩과 형광성박테리아를 이용한 합성세제의 급성독성평가, 한국수문학회지, 27, No. 1, 69~77.
- 19) 하현중, 김성태, 최종욱, 민선홍, 장태연, 김건홍,

- 1995, 물벼룩과 형광성박테리아를 이용한 중금속의 급성독성평가, 한국육수학회지, 28, No. 3, 369~376.
- 20) 임병진, 박수영, 변명섭, 이철우, 임은숙, 류홍일, 최성현, 윤승모, 1995, 물벼룩을 이용한 조기경보체계 연구, 국립환경연구원, Nier No. 95-19-463, 2~4.
- 21) APHA-AWWA-WPCF, 1985, Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed., 804 B, 715~742.
- 22) OECD, 1982, Guidelines for testing of chemicals, No. 202, 261~276.
- 23) DIN, 1989, DIN 38412 Teil 30, 31, Deutsche Einheitverfahren Zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung.
- 24) Grothe, D. R. and R. A. Kimerle, 1985, Inter- and intralaboratory variability in *Daphnia magna* effluent toxicity test results, Envir. Toxicol. and Chemist., 4, 189~192.
- 25) Buikema Jr., A. L., B. R. Niederlehner and J. Cairns Jr., 1982, Biological monitoring part IV -toxicity testing, Water Research, 239~262.
- 26) 이영만, 서학수, 구자옥, 채영암, 1991, Probit 변환과 그래프에 의한 회귀식 추정, 응용생물통계학, 향문사 81~86.
- 27) Warnick, S. L. and H. L. Bell, 1969, The Acute toxicity of some heavy metals to different species of aquatic insects, J. Water Poll. Contr. Fed. 41, 280~284.