

## 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구: (III) 녹조류

안 윤 주\* · 남 선 화 · 백 용 옥

(건국대학교 환경과학과)

**Fundamentals of Ecotoxicity Evaluation Methods Using Domestic Aquatic Organisms in Korea: (III) Green Algae. An, Youn-Joo\*, Sun-Hwa Nam and Yong-Wook Baek (Department of Environmental Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea)**

Green algae are important primary producers in aquatic ecosystem, and they are sensitive test species in bioassay. Green algae are broadly used to assess the adverse effects of various chemicals by measuring the inhibition of metabolism, reproduction and survival. In this study, we extensively gathered domestic and foreign toxicity test methods conducted using green algae, which are distributed in Korean water environment. Selected eight domestic green algae were *Chlamydomonas reinhardtii*, *Desmodesmus subspicatus* (= *Scenedesmus subspicatus*), *Scenedesmus abundans*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Podohedriella falcata* (= *Ankistrodesmus falcatus*), *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*), and *Chlorella vulgaris*. Forty four test methods were collected from the standard test ones, government reports, SCI papers and Korean research papers. *P. subcapitata* and *D. subspicatus* are the most common test species recommended by the standard test methods. Initial cell density and dilution water were the main differences among the test methods we collected. We proposed the suitable ecotoxicity test methods based on domestic green algae in Korea. This study could be a fundamental basis to establish the ecotoxicity test methods by green algae distributed in Korea.

**Key words :** aquatic toxicity, domestic organism, green algae, Korea

### 서 론

생물검정기법(bioassay)은 화학물질에 노출된 생물체의 신진대사, 생식, 생존 등과 관련된 영향을 토대로 화학물질의 유해 여부를 판별하는 방법이다(민 등, 2000). 이러한 생물검정기법은 국내에서 사용되던 이화학적 분석기법의 한계점을 극복하고 다양한 화학물질로 인한 악영향을 감소시키는 데 이용될 수 있다. 현재까지 국내에서는 이화학적 분석기법을 적용하여 특정수질항목에 한해 감시를 해왔으나, 이는 다양한 화학물질 중 일부분에 불과하다. 또한 분석 비용과 시간 투자에 비해 측정 결과의

활용성이 제한적이며, 특히 다양한 화학물질의 상호작용으로 인한 복합영향 파악에 상당한 어려움이 존재한다(안 등, 2007a, b). 반면 생물검정기법은 수계 내 유해 수준의 화학물질의 존재 여부를 실시간으로 파악할 수 있으며, 두 가지 이상의 화학물질의 혼재로 인한 상승효과나 타감효과 등 복합효과에 대한 감별이 가능하다. 이러한 이화학적 분석기법의 한계와 생물검정기법의 장점이 부각되면서 어류, 물벼룩, 조류(Algae), 박테리아 등을 이용한 생태독성통합관리제도가 도입될 수 있도록 기반연구가 진행 중에 있다(환경부, 2006a, b).

조류는 수생태계의 주요 영양 단계 중 가장 하위권을 차지하는 생산자로서 상위 영양 단계의 먹이로 제공되기

\* Corresponding author: Tel: 02) 2049-6090, Fax: 02) 2201-6295, E-mail: anyjoo@konkuk.ac.kr

**Table 1.** List of the toxicity test species (green algae, Phylum Chlorophyta) in Korea.\*

Test species (green algae)	Classification			
	Class	Order	Family	Genus
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Chlorophyceae	Volvocales	Chlamydomonadaceae	<i>Chlamydomonas</i>
<i>Chlorella vulgaris</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Chlorellaceae	<i>Chlorella</i>
<i>Desmodesmus subspicatus</i> (= <i>Scenedesmus subspicatus</i> )	Chlorophyceae	Chlorococcales	Scenedesmaceae	<i>Desmodesmus</i>
<i>Podohedriella falcata</i> (= <i>Ankistrodesmus falcatus</i> )	Chlorophyceae	Chlorococcales	Chlorellaceae	<i>Podohedriella</i>
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (= <i>Selenastrum capricornutum</i> )	Chlorophyceae	Chlorococcales	Selenastraceae	<i>Selenastrum</i>
<i>Scenedesmus abundans</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>
<i>Scenedesmus acutus</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Chlorophyceae	Chlorococcales	Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>

\*: Chung Jun (정준), 1993

때문에 먹이 연쇄 과정에서 중요한 역할을 하는 생물이다. 또한 광범위한 서식지 분포, 실험의 용이성, 신속성, 저비용 등의 측면에서 뛰어나기 때문에 생태독성평가에서 매우 광범위하게 사용되는 생물종이다(Olguín *et al.*, 2000). 녹조류 독성평가에서 널리 사용되고 있는 *Pseudokirchneriella subcapitata*와 *Scenedesmus subspicatus*는 OECD, 유럽연합이사회(European Commission: EC), 미국표준시험협회(American Society for Testing and Materials: ASTM), 한국산업규격(Korean industrial Standards: KS) 등 표준시험법에서 추천한 시험종이다. 앞서 제시된 국제적 표준시험법의 녹조류 2종은 국내 수계에 서식하고 있는 생물종인 것으로 확인된 바 있으나, 전 세계적으로 가용한 녹조류 생태독성자료에는 국내 수계 내 서식여부가 미확인된 생물종도 포함된다. 그러나 특정 국가의 수생태계 관리를 위한 과학적인 근거로서 활용되는 생태독성자료는 먹이사슬을 통한 생물종간 상호관계를 고려해야하므로(박 등, 2003; 남 등, 2007; 안 등, 2007a, b), 지역특이성을 반영할 수 있도록 그 지역 내 분포하는 생물종을 이용하는 것이 합리적일 것이다. 이러한 인식이 높아지면서 호주/뉴질랜드에서는 일부 가용한 국내종 생태독성자료가 있는 경우에 한해 수질 준거치를 도출한 바 있으며, 지속적인 국내종 생태독성자료 구축을 통해 점차적으로 국내종 기반 수질 준거치를 도출할 계획이다(ANZECC & ARMCANZ, 2000).

따라서 우리나라도 국내 생물종을 대상으로 한 독성시험기법을 제시함으로써 국내 수계 실정 및 먹이 연쇄에 따른 생물종 간 상호 연관성 등을 고려한 국내 시험종 및 시험법을 개발하여 국내 생태독성자료를 축적할 필요가 있다. 최근 이러한 국내 수질관리를 위한 위해성 평가 기반 구축에 대한 인식이 고조되면서 어류 및 물벼룩류

독성평가를 위한 시험종 및 시험법에 관한 연구가 수행된 바 있다(남 등, 2007; 안 등, 2007a).

본 연구는 국내 수계에 분포하고 있는 녹조류를 대상으로 하여 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법의 시험 세부 조건을 노출 기간, 종말점, 초기접종농도 등을 중심으로 수렴하여 급성 및 만성 독성시험기법의 시험 세부 조건별 범위를 제시하였다. 또한 국내형 생태독성시험기법을 마련하기 위해 현 시점에서의 제한점과 생태독성평가기법 구축을 위한 방향을 제시하였다.

## 연구 방법

### 1. 대상 생물종 선정

국내 수계에 분포하는 녹조류를 대상으로 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법을 검토하기 위해 총 8종의 생물종을 선정하였다(Table 1). 선정된 생물종은 *Chlamydomonas reinhardtii*, *Desmodesmus subspicatus* (= *Scenedesmus subspicatus*), *Scenedesmus abundans*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Podohedriella falcata* (= *Ankistrodesmus falcatus*), *Pseudokirchneriella subcapitata* (= *Selenastrum capricornutum*), *Chlorella vulgaris*이다. 이 중 7종은 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종 목록에 포함되어 있으며(안 등, 2007b), *Desmodesmus subspicatus*는 본 연구에서 국내 수계에 분포하는 녹조류인 것으로 확인됨에 따라 추가한 생물종이다.

한편 대상 생물종으로 선정된 8종의 녹조류는 학술 논문 및 생물 도감 등의 참고문헌을 통해 국내 수계 내 분포 여부를 확인하였다. 그 결과 총 8종의 녹조류 중에서

**Table 2.** Test durations of the standard methods for green algae toxicity assessment.

Method	Growth inhibition test		Reference	
	Species	<i>P. subcapitata</i>		<i>D. subspicatus</i>
Duration	OECD	48 or 72 h	48 or 72 h	OECD, 2006
	OPPTS	Up to 96 h	-	US EPA, 1996
	EC	72 h	72 h	EC, 1992
	KS	> 72 h	> 72 h	KSA, 2003
	US EPA	96 h (Required)	-	US EPA, 2002

*Chlamydomonas reinhardtii*는 충청남도 대전시(고 등, 2006), *Desmodesmus subspicatus*는 경상북도 성주군(김, 1987), *Scenedesmus abundans*는 경기도 수원시 금곡저수지(ACKU, 2005), *Scenedesmus acutus*는 경기도 광주시 팔당호(국립환경과학원, 2004), *Scenedesmus quadricauda*는 경기도 수원시 신대저수지(ACKU, 2005), *Podohedriella falcata*는 강원도 신연(국립환경과학원, 2004), *Pseudokirchneriella subcapitata*는 경기도 고양시(한국과학재단, 1998), *Chlorella vulgaris*는 경기도 양수리(문교부, 1968)에서 서식하는 것으로 확인되었다.

**2. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 조사**

상기 선정된 생물종을 대상으로 연구된 바 있는 국내외 독성 시험법은 국제적 표준시험법(예. OECD; EC; KS 등), SCI 논문 그리고 국내 학술 논문을 통해 수집하였다. 수집된 독성 시험법은 우선적으로 시험종, 시험법, 시험 유형, 종말점, 시험종의 연령, 노출기간, 노출제, 온도, pH, 초기접종농도, 노출농도별 반복수, 노출용기의 크기, 노출 용액의 부피, 노출용액, 노출용액의 교체, 광주기, 광도, 회전율, 배양액, 측정법, 결과 등의 시험 세부 조건을 중심으로 파악하였다. 다음으로 동일한 시험종, 시험법, 시험 유형, 종말점에 대해 수행된 독성 시험법별로 검토하였다.

한편 급성 및 만성 독성 자료의 구분은 생물종의 세대 교번에 따라 차등 적용하였다. 일반적으로 생물분류군(예. 어류, 물벼룩류, 조류)에 따라 급성 영향은 단기간, 만성 영향은 장기간 수행되는 시험으로 포괄적으로 평가되어 왔다. 그러나 최근 들어 알, 유생, 성체 등의 생물종별 성장 단계에 따라 어류나 물벼룩의 급만성 독성을 구분하고 있다(남 등, 2007; 안 등, 2007a). OECD, OPPTS (Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances), EC, KS, 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency: US EPA) 등 국제적 표준시험법에 제시된 녹조류 독성시험법을 살펴보면 성장저해시험(Growth inhibi-

tion test)이 주를 이루고 있다(Table 2). 이 때 성장저해 시험은 개체(Individual)별 치사나 유영장애와 같은 영향이 아닌 개체군(Population) 밀도의 증감 즉, 녹조류의 성장률에 근거하여 평가하는 것이다. 그러므로 최소 두 세대 이상의 세대 교번이 이루어진 시기부터 만성 영향으로 평가하는 것이 바람직할 것이다. 표준시험법에 제시된 조류별 성장률을 살펴보면 1.1~2.4 day<sup>-1</sup>로 생물종마다 약간의 차이가 있으나(OECD, 2006) 최소 2일이 지나야 2배 이상으로 증식되는 것을 알 수 있다. 또한 표준시험법의 지침서(EC, 1992)에 따르면 72시간 성장저해 시험을 통해 여러 세대의 단세포 조류의 독성 영향을 평가할 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 녹조류의 성장저해시험에 대해 급성 시험은 72시간 미만으로 만성 시험은 72시간 이상으로 구분하였다.

**3. 국내 생물종별 독성시험기법 제시 과정**

국내 생물종별 독성시험기법은 상기 조사된 국내외 독성 시험법을 바탕으로 각각의 시험종별 급/만성 독성 자료 구분 기준과 종말점을 파악한 뒤, 노출기간, 온도, 초기접종농도 등 시험 세부 조건의 범위(예. 노출기간 1~24시간)를 수렴하여 제시하였다. 한편 본 연구는 국내 생물종별 생태독성 시험법 개발을 위해 기초 연구로서 수행되었으며, 최적 조건의 생태독성 시험법을 제안하기에 앞서 향후 실험 연구의 시행착오를 최소화하기 위해 기존 연구에서 수행된 바 있는 각각 시험법의 세부 조건별 범위를 제시하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 현황**

대상 생물종 8종에 대한 독성 시험법은 자료 부재로 수집되지 못한 1종을 제외한 7종에 대해 OECD 표준시험법 2개, US EPA 표준시험법 2개, EC 표준시험법 2개,

Table 3. List of the toxicity test methods for green algae.

Test species	D. subspicatus										C. vulgaris									
	C. reinhardtii					D. subspicatus					C. vulgaris					C. vulgaris				
Test pattern	Ac	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch
Endpoint	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI
Age of test organisms	-	-	-	2~4d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d	3d
Test duration	6h	72h	96h	72h	At least 72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h	72h	96h	96h	72h	168h	240h
Test type	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	20	23~27	20	21~24	21~25	21~25	21~25	23~25	21~25	22~26	21~25	21~25	26~28	21	22~26	20~24	25	24~26	25	25
pH	-	-	6.9~7.1	-	7	7.7~8.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.8	-	-
Initial cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	12 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	0.25 × 10 <sup>4</sup>	0.25 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	5 × 10 <sup>5</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	32 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	2.5 × 10 <sup>6</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	-	-	-	
No. replicate chambers per concentration	-	3	5	4	3	3	3	3	3	8	8	-	6	8	3	3	-	-	3	
Test chamber size	250 mL flask	-	250 mL flask	-	-	250 mL flask	250 mL flask	250 or 300 mL flask	250 or 300 mL flask	96-well microplate	100 mL flask	96-well microplate	250 mL flask	96-well microplate	125 mL flask	250 mL flask	-	-	250 mL flask	
Test solution volume	100 mL	-	100 mL	-	-	100 mL	-	-	-	200 µL	-	-	-	200 µL	50 mL	50 mL	300 mL	100 mL	100 mL	
Test solution	Ag	Herbicide et al.	Ag	Selenate	9-hydroxy-fluorene	-	-	Cd et al.	Cd et al.	Cu et al.	Propanil et al.	Propanil et al.	Metals	Sulfac-tants	Propanil et al.	Zn	Pesti-cides	Cd	Phenol	
Renewal of test solutions	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	
Photoperiod (day: night)	-	-	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	
Light intensity (lux)	100 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	5000 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	100 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	4400~8880 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	6000~10000 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	6000~10000 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	6000~10000 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	-	-	8000 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	120 µE	6000 µE	138 µmol	8000 µE	7250 µE	5000 µE	120 W m <sup>-2</sup>	76 µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	76 µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	
Shaking rate (cycles min <sup>-1</sup> )	50	130	50	120	-	-	-	-	-	100	60	-	-	100	-	100	-	60	60	
Dilution water	High salt	SGI	MHSM	Synthetic freshwater	ISO	OECD or AAP	EC	KSA	DIN	DIN	ASTM	ISO	ISO	ASTM	-	HB-4	-	-	Bolds Basic	
Measurement	EPC	Spec (660 nm)	EPC	EPC	EPC, FC, Flu, Spec, Col	EPC, FC, Flu, Spec, Col	EC	EPC, Spec, Flu	Digital photo-meter (578 nm)	MR (450 nm)	MR (450 nm)	Spec (650 nm)	Spec (680 nm)	MR (450 nm)	MR (450 nm)	CC (560 nm)	Spec (500 nm)	-	-	
Result	-	EC	-	EC, LOEC, NOEC	EC, LOEC, NOEC	EC, LOEC, NOEC	EC, NOEC	EC, NOEC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC, NOEC	-	-	
References	Lee et al., 2005	Lee et al., 2005	Hiriart-Baer et al., 2006	Geoffroy et al., 2007	Sepić et al., 2003	OECD, 2006	EC, 1992	KSA, 2003	Kuhn and Pattard, 1990	Eisen-traefer et al., 2003	Gomez de Barreda Ferraz et al., 2004	Rosa et al., 2006	Rojickova-Padrtova and Marsalek, 1999	Rosa et al., 2006	Gomez de Barreda Ferraz et al., 2004	Gomez de Barreda Ferraz et al., 2004	Gomez de Barreda Ferraz et al., 2004	Ma et al., 2004	EL-Naggar and Scragg, 2006	

GI (Growth inhibition); S (Static non-renewal); EPC (Electronic particle counter); FC (Flow cytometer); Flu (Fluorometer); Spec (Spectrophotometer); Col (Colorimeter); CC (Counting chamber); Pho (Photometry); MR (Microplate reader); URW (Uncontaminated receiving water); SSW (Standard synthetic water); NW (Natural water); Ac (Acute); Ch (Chronic)

Table 3. Continued.

Test species		<i>P. subcapitata</i>											
Test pattern	Ac	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch
Endpoint	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI
Age of test organisms	-	2~4d	-	3d	-	4~7d	3~7d	-	-	-	-	7d	-
Test duration	≤60 min	72h	72h	At least 72h	72h	96h (required)	Up to 96h	96h	96h	96h	96h	96h	96h
Test type	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	22	21~24	21~25	21~25	20~24	24~26	22~26	23~25	19~21	20	24	24~26	23~25
pH	-	-	8	7	-	-	7.4~7.6	7.4~7.5	-	-	6.9~7.1	-	-
Initial cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	1 × 10 <sup>4</sup>	5 × 10 <sup>3</sup> ~10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	0.25 × 10 <sup>4</sup>	1.9 × 10 <sup>6</sup>	1.5 × 10 <sup>6</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>
No. replicate chambers per concentration	-	3	3	3	3	4	3	3~4	3	5	-	-	3
Test chamber size	250 mL flask	-	250 mL flask	250 mL flask	125 mL flask	125 or 250 mL flask	125 or 250 mL flask	100 mL flask	250 mL flask	250 mL flask	250 mL flask	100 mL flask	250 mL flask
Test solution volume	100 mL	-	100 mL	-	50 mL	50 or 100 mL	Not exceed 50% of the flask volume	20 mL	100 mL	100 mL	100 mL	50 mL	100 mL
Test solution	Ag	-	-	-	Zn	-	-	4-Hydroxybenzoic acid <i>et al.</i>	Cu <i>et al.</i>	Ag	Noelsamide <i>et al.</i>	Effluent water	Effluent water
Renewal of test solutions	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Photoperiod (day : night)	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0	12 : 12	24 : 0	-	16 : 12	24 : 0
Light intensity (lux)	7	4400~8880	6000~10000	6000~10000	7250	4306	4300	3600~4400	40	100	5000	86 ± 8.6	4000~8000
Shaking rate (cycles min <sup>-1</sup> )	50	-	-	-	-	100	100	100	-	50	-	125	105
Dilution water	High salt	High salt	EC	KSA	-	URW, SSW, NW	ASTM	EPA	Synthetic culture	MHSM	-	AAP	OECD
Measurement	EPC	EPC, FC, Flu, Spec, Col	-	EPC, Spec, Flu	CC	Flu, Spec, EPC, CC	Spec, EPC	CC	CC	EPC	CC	CC, Spec (686 nm)	CC
Result	-	EC, LOEC, NOEC	EC, NOEC	EC, NOEC	EC	EC, LOEC, NOEC	EC	IC	EC	-	IC	IC	EC
References	Lee <i>et al.</i> , 2004	Lee <i>et al.</i> , 2005	EC, 1992	KSA, 2003	Muyssen and Janssen, 2001	US EPA, 2002	US EPA, 1996	Kamaya <i>et al.</i> , 2006	Pereira <i>et al.</i> , 2005	Hiriart-Baer <i>et al.</i> , 2006	Eduardo and Francisco, 2000	Kim <i>et al.</i> , 2007	Lee <i>et al.</i> , 1991

GI (Growth inhibition); S (Static non-renewal); EPC (Electronic particle counter); FC (Flow cytometer); Flu (Fluorometer); Spec (Spectrophotometer); Col (Colorimeter); CC (Counting chamber); Pho (Photometry); MR (Microplate reader); URW (Uncontaminated receiving water); SSW (Standard synthetic water); Ac (Acute); Ch (Chronic)

Table 3. Continued.

Test species	S. abundans			S. acutus			S. quadricauda		
	Ch	GI	Ch	Ch	GI	Ch	Ch	GI	Ch
Age of test organisms	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Test duration	72 h	96 h	168 h	168 h	168 h	96, 168 h	96 h	96 h	288 h
Test type	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	20	22	25	25	24~26	21~25	25	24	24~26
pH	7.8~8.0	-	-	-	7.1~7.3	-	-	-	-
Initial cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	-	-	3 × 10 <sup>6</sup>	3 × 10 <sup>6</sup>	3 × 10 <sup>6</sup>	-	-	OD <sub>680</sub> = 0.005	8 × 10 <sup>4</sup>
No. replicate chambers per concentration	5	3	4	5	4	-	-	-	6
Test chamber size	250 mL flask	96-well microplate	-	-	200 mL tube	120 mL flask	250 mL flask	250 mL flask	500 mL flask
Test solution volume	200 mL	200 µL	-	200 mL	-	30 mL	50 mL	100 mL	200 mL
Test solution	Cd, Cu	Propanil <i>et al.</i>	Pyridaphenthion	Cu, Zn	Cd	Cr	Pesticides	Cyhexatin <i>et al.</i>	Zn <i>et al.</i>
Renewal of test solutions	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Photoperiod (day : night)	24 : 0	24 : 0	12 : 12	16 : 8	16 : 8	24 : 0	24 : 0	24 : 0	24 : 0
Light intensity (lux)	34 Watt	8000	1100	230 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	230 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	230 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	5000	5000	6000
Shaking rate (cycles min <sup>-1</sup> )	-	100	-	-	-	-	100	100	100
Dilution water	-	ASTM	ASTM	-	Modify EPA	Detmer	HB-4	HGZ or HB-4	ISO
Measurement	Spec	MR (450 nm)	Spec (750 nm)	CC	CC	- (660 nm)	-	Spec (680 nm)	CC
Result	-	EC	-	-	-	-	EC, NOEC	-	-
References	Terry and Stone, 2002	Gomez de Barreda Ferraz <i>et al.</i> , 2004	Sabater and Carrasco, 2001	Morsi Abd-El-Monem <i>et al.</i> , 1998	Torriceili <i>et al.</i> , 2004	Gorbi <i>et al.</i> , 2006	Olguin <i>et al.</i> , 2000	Ma, 2005	Rojickova-Padrtova and Marsalek, 1999

GI (Growth inhibition); S (Static non-renewal); EPC (Electronic particle counter); FC (Flow cytometer); Flu (Fluorometer); Spec (Spectrophotometer); Col (Colorimeter); CC (Counting chamber); Pho (Photometry); MR (Microplate reader); URW (Uncontaminated receiving water); SSW (Standard synthetic water); NW (Natural water); Ch (Chronic)

Table 4. The ecotoxicity evaluation methods using domestic green algae in Korea.

Test species	<i>C. reinhardtii</i>		<i>D. subspicatus</i>		<i>C. vulgaris</i>		<i>P. subcapitata</i>		<i>S. abundans</i>		<i>S. acutus</i>		<i>S. quadricauda</i>	
Test pattern	Ac	Ch	Ac	Ch	Ac	Ch	Ac	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch	Ch
Endpoint	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI	GI
Age of test organisms	-	-	2~4d	72~96h	72~240h	7d	2~7d	72~96h	-	-	-	-	-	-
Test duration	6h	72~96h	24h	72~96h	72~240h	7d	1~6h	72h	72h	72h	72~268h	72~268h	96~288h	96~288h
Test type	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	20	20~27	-	21~28	20~26	20~26	20~22	19~26	20	20	21~26	21~26	24~28	24~28
pH	-	69~7.1	-	7.0~8.3	6.8	6.8	-	6.9~7.0	7.8~8.0	7.8~8.0	7.1~7.3	7.1~7.3	-	-
Initial cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	12 × 10 <sup>4</sup>	0.25 × 10 <sup>4</sup>	1 × 10 <sup>4</sup>	0.2~50 × 10 <sup>4</sup>	1~250 × 10 <sup>4</sup>	1~250 × 10 <sup>4</sup>	1~12 × 10 <sup>4</sup>	0.25~190 × 10 <sup>4</sup>	-	-	50~300 × 10 <sup>4</sup>	50~300 × 10 <sup>4</sup>	2.5~8 × 10 <sup>4</sup>	2.5~8 × 10 <sup>4</sup>
No. replicate chambers per concentration	-	5	4	3~8	3~8	3~8	-	3~5	5	5	3~8	3~8	6	6
Test chamber size	250 mL flask	250 mL flask	-	100~250 mL flask, 24 well microplate or 96-well microplate	125~250 mL flask or 96-well microplate	250 mL flask	250 mL flask	100~250 mL flask	250 mL flask	250 mL flask	120 mL flask or 96-well microplate	120 mL flask or 96-well microplate	250~500 mL flask	250~500 mL flask
Test solution volume	100 mL	100~200 mL	-	100, 2 or 0.2 mL	50~300 mL or 200 µL	100 mL	100 mL	20~100 mL	200 mL	200 mL	30~200 mL or 200 µL	30~200 mL or 200 µL	50~200 mL	50~200 mL
Renewal of test solutions	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Photoperiod (day : night)	-	24:0	12:12	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	24:0	12:12~16:8 or 24:0	12:12~16:8 or 24:0	24:0	24:0
Light intensity (lux)	100 µE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	5000	100 µE	4400~10000	5000~8000	6000	6000	3600~10000	34 Watt	34 Watt	1100~8000	1100~8000	2000~6000	2000~6000
Shaking rate (cycles min <sup>-1</sup> )	50	50~130	-	60~100	60~100	50	50	50~125	-	-	100	100	100	100
Dilution water	High salt	SGI <i>et al.</i>	ISO	OECD, KSA, DIN, ASTM, EEC, ISO or AAP	ASTM <i>et al.</i>	High salt	High salt	OECD <i>et al.</i>	-	-	ASTM <i>et al.</i>	ASTM <i>et al.</i>	ISO <i>et al.</i>	ISO <i>et al.</i>
Measurement	EPC	EPC, Spec (660 nm)	-	Flu (450/685 nm), Spec (650 or 680 nm) or MR (450 nm)	CC, Spec (560 nm) or MR (450 nm)	EPC	EPC	EPC, Spec (686 nm), CC, Flu	Spec	Spec	Spec (750 nm) or CC	Spec (750 nm) or CC	CC, Spec (680 nm)	CC, Spec (680 nm)
Result	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC	EC, IC, NOEC
No. of References	1	3	1	9	5	2	2	12	1	1	6	6	4	4

GI (Growth inhibition); S (Static non-renewal); EPC (Electronic particle counter); Flu (Fluorometer); Spec (Spectrophotometer); CC (Counting chamber); MR (Microplate reader); Ac (Acute); Ch (Chronic)

KS 표준시험법 2개, SCI 논문 34개 그리고 국내 학술 논문 2개 총 44개의 참고문헌이 수집되었고, OECD, EC, KS 등 표준시험법에서 추천한 시험종 *Pseudokirchneriella subcapitata*나 *Desmodesmus subspicatus*를 활용한 독성자료가 대부분이었다(Table 3). 또한 표준시험법의 시험종 이외의 국내 생물종(예. *Chlamydomonas reinhardtii*; *Chlorella vulgaris*; *Podohedriella falcata*; *Scenedesmus abundans*; *Scenedesmus acutus*; *Scenedesmus quadricauda*)에 대한 소수의 기존 독성 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 연구 상황에 맞게 수정·적용하였다. 그리고 시험종-시험법-시험유형-종말점별 독성 시험법은 성장저해시험이 대표적이었다. 급성독성평가는 대체로 1~24시간 동안 수행되었으나 전체 자료 중 소수에 불과하였다. 또한 만성독성평가는 72~240시간 동안 수행되었으나 대체로 72~96시간 동안 수행된 사례가 다수였다(Table 3). 이는 대조구와 노출 용액에서의 조류 성장률의 극명한 차이를 나타내기 위해 녹조류의 지수성장기(Exponential growth phase) 동안 노출을 시도한 것으로 판단된다. 한편 생물종 내 시험 세부 조건은 초기접종농도와 배양액을 제외하고 대체로 일정 범위 내에서 유사하게 적용된 것으로 나타났다. 조류 성장에 있어 가장 민감한 조건으로 알려진 온도나 광도의 경우 전체적으로 19~28°C, 1,100~10,000 lux 범위 내에서 오차 범위를 감안해서 설정하고 있어 종 특이성을 보이지 않았다. 그러나 초기접종농도의 경우 대체로 전배양기(Pre-culture) 때 지수성장기에 있는 녹조류를 사용하나, 이 때 접종농도는 적게는  $0.25 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup>부터 많게는  $300 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup>까지 차이를 나타내고 있다(Table 3). 이는 생물종별 성장률이 각각 상이하서 대조구와 노출용액에서의 조류 성장률의 극명한 차이를 나타내는 시기 역시 약간씩 상이하기 때문에 접종농도를 상대적으로 가감하여 사용한 것으로 사료된다. 또한 배양액의 경우 OECD 배지, ASTM 배지, AAP 배지와 같이 OECD, ASTM, US EPA 표준시험법에서 제시한 조제수나 Bristol 배지, Bold 배지와 같이 UTEX (University of Texas at Austin)에서 제시한 성장 배지를 사용하는 것으로 나타났다. 이는 배양액마다 구성 성분이 조금씩 다르거나 동일 구성 성분이지만 그 농도가 각각 상이하게 조성되어있기 때문에 가장 뚜렷한 차이를 나타낸 것이라 판단된다(Table 3).

## 2. 국내 생물종별 독성시험기법 및 방향 제시

전체 44개의 국내외 독성 시험법을 대상으로 생물종별 독성 시험법의 세부 조건별로 분류하여 생물종별 성장저

해시험법을 제시하였다(Table 4). 생물종별 시험법을 살펴보면 표준시험법과 대체로 유사한 범위 내에서 적용되어 크게 종 특이성을 나타내지 않았다. 그러나  $0.25 \times 10^4 \sim 300 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup>의 초기접종농도나 OECD 배지, ASTM 배지, AAP 배지와 같이 OECD, ASTM, US EPA 표준시험법에서 제시한 조제수나 Bristol 배지, Bold 배지와 같이 UTEX (University of Texas, Austin)에서 제시한 성장 배지를 사용한 것으로 보아, 생물종에 따라 최적 초기접종농도 및 배양액을 적용하여 독성평가를 수행해야 할 것으로 사료된다.

국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반 구축을 위한 연구 단계로서, 국내외 생태독성시험법에 대한 자료를 검토한 결과 국내 생물종을 이용한 연구 사례는 다소 제한적이었고, 초기접종농도와 배양액 조건을 제외하고 대체로 표준시험법을 따른 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미약한 현 시점에서 국내생태독성시험법을 보다 효율적으로 개발하기 위해서는 다음과 같은 연구가 선행되어야 한다.

첫째, 본 연구에서 선정된 녹조류 7종을 대상으로 도출된 독성시험법은 향후 실험 연구의 시행착오를 최소화하기 위해 기존 연구에서 수행된 시험 세부 조건별 범위를 제시한 것이다. 따라서 본 연구결과는 최적 조건으로 구성된 표준작업지침(Standard Operation Procedure: SOP)을 제안하기에는 전체 자료의 대표성이 다소 결여되었으므로, 차후 실험 조건에 대한 검증을 통해 실질적인 가용토대를 마련해야 할 것으로 사료된다.

둘째, 표준시험법에서 제안한 시험종 이외에 국내 생물종에 대한 소수의 기존 독성 자료를 살펴본 결과 대체로 표준시험법을 수정·적용한 것으로 나타났다. 따라서 기존 연구에서 사용된 바 없는 국내 생물종에 대해 본 연구에서 도출된 생태독성 시험법을 중심으로 실험 조건을 수정해가는 보완 실험을 통해 시험종 개발 및 각각의 시험종별 최적독성시험기법을 규명할 수 있을 것으로 판단된다.

## 적 요

본 연구에서는 국내 수계에 분포하는 녹조류를 대상으로 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법의 시험 세부 조건을 노출 기간, 종말점, 초기접종농도 등을 중심으로 수렴하여 급성 및 만성 독성시험기법의 시험 세부 조건별 범위를 제시하였다. 또한 국내형 생태독성시험기법을 마련하기 위해 현 시점에서의 제한점과 생태독성평가기법

구축을 위한 방향을 제시하였다. 국내 생물종을 대상으로 국내외에서 수행된 바 있는 독성 시험법에 대한 기존 연구 사례를 살펴본 결과, OECD, EC, KS 등의 표준시험법에서 추천한 시험종 *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus*를 대상으로 한 독성자료가 대부분을 차지하였다. 또한 표준시험법의 시험종 이외에도 국내 생물종에 대한 소수의 독성 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 수정·적용한 것으로 나타났다. 반면 초기접종농도 및 배양액은 생물종마다 상이하게 수행되었으므로 녹조류 성장저해시험에 있어서 가장 주의할 조건인 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미약한 현 시점에서 국내생태독성 시험법을 보다 효율적으로 개발하기 위해서는 본 연구에서 선정한 녹조류 7종을 대상으로 도출된 생태독성시험 기법에 대한 실험 연구를 통한 검증 및 보완, 기존 연구에서 사용된 바 없는 시험종 개발 및 각각의 시험종별 생태독성시험기법 규명이 선행되어야 할 것이다. 따라서 본 연구는 국내 생물종별 독성시험기법 및 방향을 제시함으로써 국내 수계 실정 및 먹이 연쇄에 따른 생물종 간 상호 연관성 등을 고려할 수 있는 국내 시험종 및 그 시험법 개발을 위한 중요한 기초가 될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구의 일부는 환경부·국립환경과학원 물환경종합평가 개발 조사연구(III)-인체 및 수생태계 위해성평가체계 구축 사업의 일환으로 수행되었습니다. 국내 수계에 분포하는 녹조류 분류에 대해 자문을 해주신 경기대 이옥민 교수님께 감사의 뜻을 전합니다.

인 용 문 헌

국립환경과학원. 2004. 팔당호의 식물플랑크톤 사진집.  
 고소라, 안치용, 정승현, 김희식, 오희목. 2006. 부영양 연못에서 초음파 작동에 따른 식물플랑크톤의 군집 변화. *환경생물* **23**: 221-229.  
 김동욱, 김기태, 김상돈, 이병천. 2007. 국내 폐광산 지역의 *Vibrio fisheri*, *Selenastrum capricornutum*, 그리고 *Daphnia magna*를 이용한 생태 위해성 평가. *대한환경공학회지* **9**: 163-168.  
 김용재. 1987. 성주군 일대의 담수 녹조류. *경북대학교 석사학위논문*. 36 p.  
 남선화, 양창용, 안윤주, 이재관. 2007. 국내 생물종을 이용한

생태독성평가 기반연구: (I) 어류. *한국육수학회지* **40**: 173-183.  
 민선홍, 김성태, 김건홍. 2000. 조류, 물벼룩, 형광성 박테리아를 이용한 금속의 독성평가. *대한토목학회논문집* **20**: 421-427.  
 문교부. 1968. 한국 동식물 도감 제9편 식물편(담수조류). 삼화출판사.  
 박용석, 이상구, 이승진, 문성경, 최은주, 이기태. 2003. Glucose-6-phosphate dehydrogenase를 이용한 *Moina macrocopa*의 중금속 독성 검정. *한국환경독성학회지* **18**: 305-310.  
 안윤주, 남선화, 이우미. 2007a. 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구: (II) 물벼룩류. *한국육수학회지* **40**: 357-369.  
 안윤주, 남선화, 이재관. 2007b. 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종 선정. *한국육수학회지* **40**: 1-13.  
 이성규, 심점순, 김용화, 노정구. 1991. 어류, *Daphnia* 및 조류와 Ames' Test를 이용한 산업폐수의 환경독성 및 유전독성 평가. *한국물환경학회지* **7**: 100-109.  
 이용두, 고인법, 신우석. 2005. *Chlamydomonas reinhardtii*를 이용한 농약의 독성평가. *한국물환경학회지* **21**: 332-336.  
 이찬원. 2003. 환경 독성도 평가를 위한 국내 물벼룩종의 배양 방법 및 이 물벼룩종을 이용한 환경 독성도 측정 방법.  
 정 준. 1993. 원색한국담수조류도감. 아카데미서적.  
 한국과학재단. 1998. *rbcL* gene 분석에 기초한 한국산 Anki-strodesmoideae(녹조식물)내 식물군의 분류학적 연구.  
 한국표준협회(Koreans Standards Association: KSA). 2003. KS M ISO 8692 수질-담수 조류 성장 억제 시험 방법.  
 환경부. 2006a. 물환경관리 기본계획-4대강 대권역 수질보전 기본계획('06~'15).  
 환경부. 2006b. 수질유해물질 통합독성 관리제도 도입을 위한 시범사업.  
 환경부, 국립환경과학원. 2006. 물환경종합평가방법 개발 조사연구(III).  
 ACKU. 2005. ACKU (Algal culture Collection of Kyonggi University). <http://www.acku.re.kr/index1.htm>.  
 ANZECC and ARMCANZ. 2000. Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality.  
 ASTM. 2006. D 3978-04 Standard practice for algal growth potential testing with *Pseudokirchneriella subcapitata*.  
 EC. 1992. C.3. Algal inhibition test.  
 Eduardo, C.O. and J.R.P. Francisco. 2000. Toxicity of Euphorbia milii Latex and Niclosamide to Snails and Non-target Aquatic Species. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **46**: 342-350.  
 Eisentraeger, A., W. Dott, J. Klein and S. Hahn. 2003. Comparative studies on algal toxicity testing using fluorometric microplate and Erlenmeyer flask growth-inhibition assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **54**: 346-354.  
 EL-Naggar, A.H. and M.M. EL-Sheekh. 1998. Abolishing

- cadmium toxicity in *Chlorella vulgaris* by ascorbic acid, calcium, glucose and reduced glutathione. *Environmental Pollution* **101**: 169-174.
- Fargasova, A., A. Bumbalova and E. Havranek. 1999. Ecotoxicological effects and uptake of metals ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{6+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ) in freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*. *Chemosphere* **38**: 1165-1173.
- Geoffroy, L., R. Gilbin, O. Simon, M. Floriani, C. Adam, C. Pradines, L. Cournac and J. Garnier-Laplace. 2007. Effect of selenate on growth and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology* **83**: 149-158.
- Gorbi, G., E. Torricelli, B. Pawlik-Skowronska, L.S.d. Toppi, C. Zanni and M.G. Corradi. 2006. Differential responses to Cr (VI)-induced oxidative stress between Cr-tolerant and wild-type strains of *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *Aquatic Toxicology* **79**: 132-139.
- Gomez de Barreda Ferraz, D., C. Sabater and J.M. Carrasco. 2004. Effects of propanil, tebufenozide and mefenacet on growth of four freshwater species of phytoplankton: a microplate bioassay. *Chemosphere* **65**: 315-320.
- Hiriart-Baer, V.P., C. Fortin, D.Y. Lee and P.G.C. Campbell. 2006. Toxicity of silver to two freshwater algae, *Chlamydomonas reinhardtii* and *Pseudokirchneriella subcapitata*, grown under continuous culture conditions: Influence of thiosulphate. *Aquatic Toxicology* **78**: 136-148.
- Kamaya, Y., S. Tsuboi, T. Takada and K. Suzuki. 2006. Growth stimulation and inhibition effects of 4-hydroxybenzoic acid and some related compounds on the freshwater green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **51**: 537-541.
- Kuhn, R. and M. Pattard. 1990. Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. *Water Research* **24**: 31-38.
- Lee, D.Y., C. Fortin and P.G.C. Campbell. 2005. Contrasting effects of chloride on the toxicity of silver to two green algae. *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology* **75**: 127-135.
- Lee, D.Y., C. Fortin and P.G.C. Campbell. 2004. Influence of chloride on silver uptake by two green algae, *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**: 1012-1018.
- Ma, J. 2005. Differential sensitivity of three cyanobacterial and five green algal species to organotin and pyrethroids pesticides. *The Science of the Total Environment* **341**: 109-117.
- Ma, J., F. Lin, R. Zhang, W. Yu and N. Lu. 2004. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris*, to 14 pesticide adjuvants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **58**: 61-67.
- Morsi Abd-El-Monem, H., M.G. Corradi and G. Gorbi. 1998. Toxicity of copper and zinc to two strains of *Scenedesmus acutus* having different sensitivity to chromium. *Environmental and Experimental Botany* **40**: 59-66.
- Muysen, B.T.A. and C.R. Janssen. 2001. Zinc acclimation and its effect on the zinc tolerance of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. *Chemosphere* **45**: 507-514.
- OECD. 2006. OECD Guidelines for testing of chemicals test guideline 201 freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test.
- Olguín, H.F., A. Salibián and A. Puig. 2000. Comparative sensitivity of *Scenedesmus acutus* and *Chlorella pyrenoidosa* as sentinel organisms for aquatic ecotoxicity assessment: Studies on a highly polluted urban river. *Environmental Toxicology* **15**: 14-22.
- Pavlic, Z., Z. Vidakovic-Cifrek and D. Puntaric. 2005. Toxicity of surfactants to green microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Scenedesmus subspicatus* and to marine diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Skeletonema costatum*. *Chemosphere* **61**: 1061-1068.
- Pereira, M.J., P. Resende, U.M. Azeiteiro, J. Oliveira and D.R. Figueiredo. 2005. Differences in the effects of metals on growth of two freshwater green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak and *Gonium pectorale* Müller). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **75**: 515-522.
- Rojickova-Padrtova, R. and B. Marsalek. 1999. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. *Chemosphere* **38**: 3329-3338.
- Rosa, E., C. Barata, J. Damasio, M.P. Bosch and A. Guerrero. 2006. Aquatic ecotoxicity of a pheromonal antagonist in *Daphnia magna* and *Desmodesmus subspicatus*. *Aquatic Toxicology* **79**: 296-303.
- Sabater, C. and J.M. Carrasco. 2001. Effects of pyridaphenthion on growth of five freshwater species of phytoplankton. A laboratory study. *Chemosphere* **44**: 1775-1781.
- Scragg, A.H. 2006. The effect of phenol on the growth of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* VT-1. *Enzyme and Microbial Technology* **39**: 796-799.
- Sepic, E., M. Bricelj and H. Leskovsek. 2003. Toxicity of fluoranthene and its biodegradation metabolites to aquatic organisms. *Chemosphere* **52**: 1125-1133.
- Terry, P.A. and W. Stone. 2002. Biosorption of cadmium

- and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. *Chemosphere* **47**: 249-255.
- Torricelli, E., G. Gorbi, B. Pawlik-Skowronska, L.S. di Toppi and M.G. Corradi. 2004. Cadmium tolerance, cysteine and thiol peptide levels in wild type and chromium-tolerant strains of *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *Aquatic Toxicology* **68**: 315-323.
- US EPA. 1996. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.5400. Algal Toxicity, Tiers I and II.
- US EPA. 2002. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms.
- UTEX. 2007. UTEX (University of Texas, Austin) The culture collection of algae (<http://www.utex.org>).
- (Manuscript received 4 March 2008,  
Revision accepted 14 May 2008)