

## 염분과 표준 독성물질 (Cu, Cd)이 말똥성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 수정 및 배 발생률에 미치는 영향

황운기\*, 이충원, 김광섭, 안경호, 박승윤

서해수산연구소 환경연구과

### Effects of Salinity and Standard Toxic Metal (Cu, Cd) on Fertilization and Embryo Development Rates in the Sea Urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*)

Un-Ki Hwang\*, Choong-Won Rhee, Kwang-Seob Kim, Kyoung-Ho An  
and Seung-Youn Park

West Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research &  
Development Institute, Incheon 400-420, Korea

#### ABSTRACT

Effects of salinity and standard toxic metals on fertilization and embryo development rates were investigated in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Spawning was induced by injecting 1~2 mL of 0.5 M KCl into the coelomic cavity. Males released white or cream-colored sperms and females released yellow or orange-colored eggs. The fertilization rate was below 30% when salinity was 20 psu and lower, but was almost above 90% when salinity was 25 psu and higher. The embryo development rate was below 60% when salinity was 25 psu and lower, but was above 80% when salinity was between 30 and 35 psu.

The fertilization and embryo development rates in the control condition (not including Cu and Cd) were greater than 90%, but decreased a high negative correlation with the increasing of Cu ( $r=-0.80$ ,  $r=-0.78$ ) and Cd ( $r=-0.90$ ,  $r=-0.82$ ) concentrations, respectively. The fertilization and embryo development rates were significantly inhibited in the addition of Cu ( $EC_{50}=17.30$  ppb,  $EC_{50}=10.32$  ppb) and Cd ( $EC_{50}=364.57$  ppb,  $EC_{50}=244.04$  ppb), respectively.

These results suggest that salinity concentrations for successful fertilization and normal embryogenesis of *H. pulcherrimus* are above 25 psu and 30 psu, respectively, and the biological assays of fertilization and embryo development rates using *H. pulcherrimus* are useful methods for the ecological toxicity test of marine pollution elements.

**Key words :** *Hemicentrotus pulcherrimus*, fertilization rate, embryogenesis, salinity, toxicity

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-32-745-0676, Fax: +82-32-745-0678  
E-mail: vngi1@nfrdi.go.kr

## 서 론

급속한 경제성장과 산업화로 인해 발생되는 유해물질의 대부분이 하천과 인접한 연안해역으로 유입되면서 생물생산력이 가장 높은 연안어장을 황폐화시키는 일이 빈번하게 발생하고 있다(Huh and Oh, 1997; NFRDI, 2005, 2006). 악화되어가는 주변의 연안환경으로부터 어장을 보호하기 위하여 매년 빈번하게 환경조사가 실시되고는 있으나, 대부분이 개별 유해물질의 존재 유·무와 양만을 파악하고 있어 유용수산생물에 대한 직접적인 영향을 파악하기에는 한계가 있다(Kim et al., 1997; Lee et al., 1999). 매년 새롭게 개발되어 연안해역으로 유입되는 화학물질의 종류만 해도 수백여 종에 이르고 있어, 이를 물질을 하나하나 분석하여 파악 및 규제한다는 것은 현실적으로 불가능할 뿐만 아니라, 많은 시간과 경제적 비용이 소요된다는 점도 간과할 수 없는 현실이다. 또한, 이러한 이화학적 분석방법은 수계에 존재하는 잠재적인 독성여부와 유해물질이 공존할 경우 발생하는 독성 상승 또는 길항효과에 대한 판단을 할 수 없다는 단점이 있다(Rand and Petrocelli, 1985).

이러한 분석 방법을 보완하기 위해 구미 선진국에서는 단일 유해물질 혹은 다양한 유해물질이 포함되어 있는 해수 및 퇴적물에 대한 독성을 평가하기 위하여 생물검정법이 개발되어 각 나라의 실정에 적합한 생태독성시험법이 이용되고 있다(APHA et al., 1995; ISO, 1995; ASTM, 1996; NIWA, 1998; USEPA, 2002). 이러한 시험방법은 주로 자국의 생태계를 고려하여 시험생물을 선정하고 또 그에 적합한 시험방법을 제시하고 있어, 우리나라로 우리의 해양생태계를 고려한 적합한 생태독성시험법 개발이 절실히 요구된다.

유해물질에 대한 영향은 생물 종에 따라 다양한 차이가 있으며(Nacci et al., 1986; Ramachandran et al., 1997; His et al., 1999; Park et al., 2005; Oh et al., 2006), 같은 종이라 할지라도 서식환경과 생태학적 특이성에 따라 반응 정도가 다르다(Dinnel et al., 1987; Yu, 1998a, b; Yu et al., 1998; Yu, 2004). 또한, 생태독성에 사용되는 시험생물 종은 취급이 용이하고 시험비용이 적게 들 뿐만 아니라, 독성물질에 대한 높은 민감성과 다양한 지표적 특징을 지녀

정확한 평가가 가능해야 한다(Hwang et al., 2008; Park et al., 2008).

성게는 수정 및 배 발생률과 같은 초기생활사를 독성평가에 이용함으로, 독성에 대한 민감성이 뛰어날 뿐만 아니라 재료의 취급이 용이하고 시험비용이 적게 든다는 장점을 지니고 있다. 또한, 성게 각 종에 대한 실험방법을 체계화시킨다면 산란시기를 달리하는 종을 이용하여 연중 생물검정을 수행할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이러한 이유로 인해 국내에서도 성게의 수정 및 배 발생단계를 이용한 연구가 진행되고 있으나(Wui et al., 1992; Yu, 1998a; Yu, 2004; Hwang et al., 2008), 각 종의 배아 및 배우자를 적절하게 이용한 공정시험방법을 만들기 위한 연구는 미흡한 것으로 판단된다.

산업폐수, 기름 및 유화제 등과 같은 유해물질의 평가는 실험해수의 염분과 수소이온농도 같은 실험조건을 급격히 변화시켜서, 인위적으로 조절할 경우 유해물질이 가지고 있는 고유독성에 변화를 줄 수 있다(Kobayashi, 1980; Greenwood, 1983; Dinnel and Stober, 1987). 따라서, 각 종에 대한 적정한 염분 내성 범위와 같은 실험조건을 설정하고 유해물질의 독성에 대한 민감도를 좀 더 체계화시켜 관찰한다면, 성게의 수정 및 배 발생단계를 이용한 시험을 해양 생태독성 평가를 위해 널리 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 조간대에 서식하여 시험생물로 취급이 용이한 말똥성게(*Hericentrotus pulcherrimus*)를 이용하여, 수정 및 배 발생을 위한 적정 염분농도 범위를 조사하고자 하였다. 또한, 표준 독성물질인 Cu (Aldrich, USA)와 Cd (Aldrich, USA)에 의한 *H. pulcherrimus*의 수정 및 배 발생 변화를 살펴서 생태독성 평가를 위한 타당성을 파악하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험생물 및 채집

본 연구에 사용된 실험생물은 분류학적으로 극피동물문(Echinodermata)의 일종인 말똥성게(*Hericentrotus pulcherrimus*)로 2008년 주 산란시기인 3~4월에 전라북도 부안군 변산면 격포리 수산종묘배양장 인근해역, 수심 0~4 m의 암반지대인 조간대에서 채취하여 서식처와 유사한 환경조건을

조성하여 운반 및 실험에 사용하였다.

## 2. 방정 및 방란

방정과 방란을 위해 사용된 실험생물 수는 20개체로 각경이 3.5 cm 이상 되는 개체를 선별하였으며, 오염을 방지하기 위해 여과해수로 3회 이상 세척하였다. 실험시 사용된 해수는 자연해수를 UV carbonfilter로 처리한 후 membrane filter(pore size 0.45 μm)로 여과하여 사용되었다. 이 여과된 자연해수를 80 mL의 비이커에 가득 채운 후 성게의 생식공이 충분히 잡기게 한 다음 0.5 M KCl 용액 1~2 mL를 체강내로 주입해, 30분 동안 방정·방란시켜 얻은 배우자를 정자용액은 1회, 난자용액은 3회 세정하여 실험에 사용하였다(Fujisawa, 1989).

## 3. 시험액의 농도별 조성

염분농도는 자연해수에 인공염(Tropic Marine CO.)과 중류수를 사용하여 10, 15, 20, 25, 30 및 35 psu가 되도록 6개의 시험액을 조성하여 각각의 시험액에서 배양을 실시하였다.

표준 독성물질은 Cu (Aldrich, USA)와 Cd (Aldrich, USA)을 이용하였으며, 실험생물의 배우자와 배아에 노출시킬 표준 독성물질 시료는 여과된 자연해수와 1,000 μg/mL 표준용액을 이용한 사전실험에 의해 농도를 설정하였다. Cu 농도는 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ppb의 6개 농도구로, Cd은 0, 125, 250, 500, 1,000 및 2,000 ppb의 농도구로 조성하였다.

## 4. 배양조건

실험에 사용된 염분 및 표준 독성물질인 중금속 농도를 조성한 배양액의 pH는 7.8~8.2로 Kobayashi (1973)가 제시한 성게의 수정막형성에 가장 적합한 pH의 범위와 동일하게 유지하였으며, 배양온도는 16±0.5°C로 조성하였다. 적정량의 정자 첨가를 위한 사전실험을 통하여 정자는 2,000~2,500배 희석하였으며, 실험수 1 mL에 수정란 1,500~2,000개를 첨가해 아래 Table 1의 조건으로 배양하였다.

## 5. 수정률 및 배 발생률을 이용한 생물검정

방정을 통해서 얻은 정자를 각각 다른 농도로 조성한 염분 및 표준 독성물질에 30분간 노출시킨 후

**Table 1.** Experimental culture conditions using the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*

| Test parameters         | Conditions                                           |
|-------------------------|------------------------------------------------------|
| Culture type            | Static non-renewal                                   |
|                         | 10 min ~ 64 h toxicity test                          |
| Photoperiod             | Ambient light condition and<br>8 L: 16 D periods     |
| Temperature             | 16±0.5°C                                             |
| pH                      | 7.8~8.2                                              |
| Salinity                | 32±1.0                                               |
| Chamber volume          | 80mL glass                                           |
| Solution                | Filtered (0.45 μm) and<br>sterilized seawater        |
| Solution exchange       | None                                                 |
| Experiment period       | 10 min ~ 64 hr                                       |
| Investigation item      | Fertilization, larval<br>development rates           |
| Acceptability criterion | >80% fertilized egg and<br>pluteus larvae at control |

에 방란을 통해 얻은 난자를 첨가해 10분간 경과한 후에 수정막의 형성 유·무로 수정률을 파악하였다. 수정막의 유·무는 cap tube에 분주하여 formalin 용액(3%)으로 고정해 광학현미경으로 관찰하였다(Fig. 1).

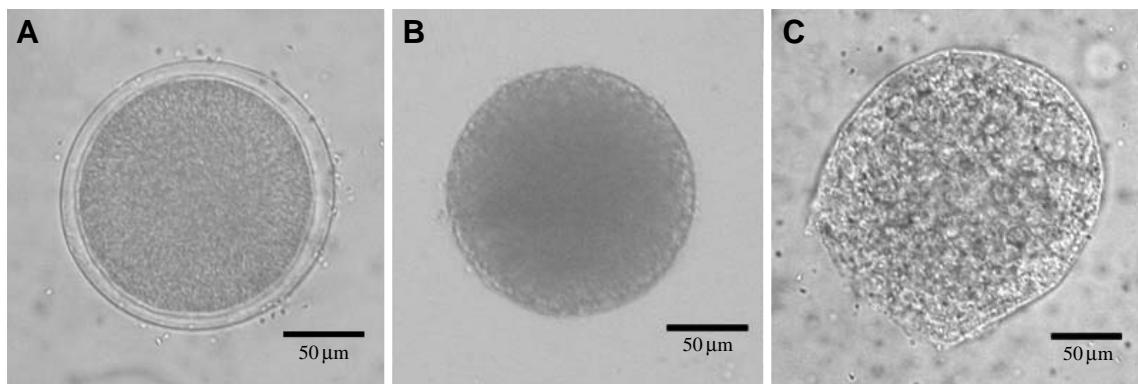
정상적인 배 발생률은 난자를 첨가한지 64 h 후에 formalin 용액(3%)으로 고정해 광학현미경으로 관찰하여, 정상과 비정상(작은 크기 혹은 기형) pluteus으로 나누어 관찰하였다(Pagono et al., 1995a, b)(Fig. 2).

실험은 각 실험농도별로 3회를 실시한 후, 실험액에 노출된 100개 이상의 배아를 3회 반복 계수하여 고정된 배아 수에 대한 정상적인 배아 수의 백분율을 산출하였다. 이를 결과를 이용하여 표준 독성물질이 수정 및 배 발생률에 대한 반수영향농도(50% Effective Concentration, EC<sub>50</sub>)를 probit 통계법을 이용하여 분석하였다. 또한, 무영향관찰농도(No Observed Effective Concentration, NOEC), 최소 영향관찰농도(Lowest Observed Effective Concentration, LOEC)는 Dunnett's test를 이용하여 분석하였다.

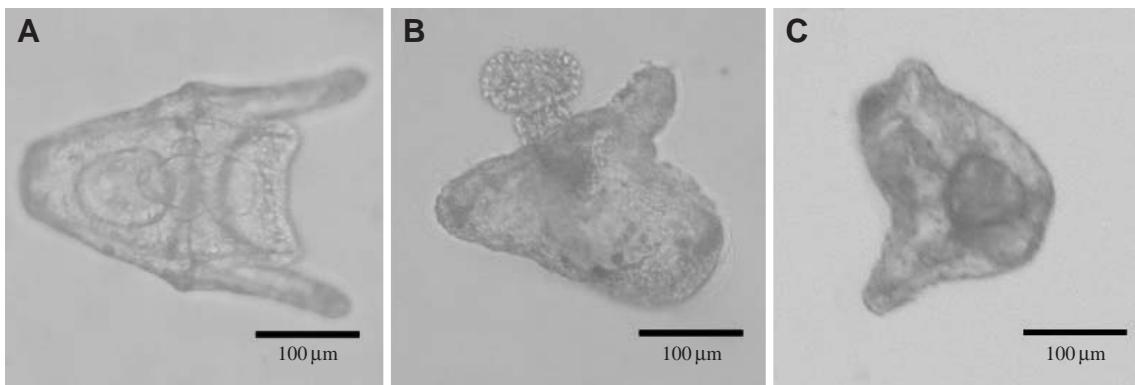
## 결과 및 고찰

### 1. 염분이 수정 및 배 발생률에 미치는 영향

각기 다른 농도의 염분에 30분간 노출시킨 정자



**Fig. 1.** Diagnostic features of normal (A), abnormal (B, C) fertilized egg in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*.



**Fig. 2.** Diagnostic features of normal (A) and abnormal (B, C) pluteus in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*.

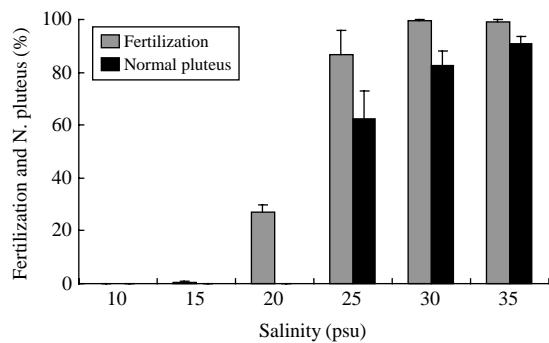
를 난자에 침가하여 10분경과 후에 수정막의 유·무로 수정의 유무를 판단하였다. 배 발생률은 수정시킨 후, 64h 경과했을 때의 정상 pluteus 유생 수를 계수하였다.

염분 농도 20 psu 이하에 노출된 정자의 수정률은 30% 미만으로 낮았으나, 25 psu에서는 87%로 높아졌고 30 psu와 35 psu에서는 99%와 98%로 높은 수정률을 나타내었다(Fig. 3). 배 발생률의 경우는 20 psu 이하의 염분 농도에서는 정상적인 pluteus 유생을 거의 찾아 볼 수가 없었으나, 25 psu에서는 62%를 나타냈으며 30 psu와 35 psu에서는 83%와 91%로 높게 나타났다(Fig. 3).

해양생태 특성평가를 실시함에 있어, 대상 실험 생물이 광염성 인지를 판단하는 것은 중요한 의미를 지니고 있다. 실험생물이 광염성이라면 해수에

서 뿐만 아니라 기수지역에서 발생되는 유해물질에 대한 생물 영향 또는 방조제 건설 등으로 인해 염분 농도가 낮은 지역의 해수 혹은 퇴적물에 대한 평가를 실시할 수 있다. 물론 인위적으로 조사하고자 하는 유해물질에 대한 염분 농도를 조절하여 생물의 영향을 파악할 수 있지만, 대상물질이 가지고 있는 고유독성에 변화를 줄 수 있어(Hall et al., 1995), 인위적인 염분 조절 없이 유해물질에 대한 독성을 평가해야 한다.

본 연구결과에서 밀뚱성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)의 정상적인 수정을 위한 염분농도는 25~35 psu의 범위로 나타났고, 정상적인 배 발생률을 위한 염분농도는 30~35 psu의 범위인 것으로 판단되었다. 또한, 수정난 검경시에 15 psu 이하의 농도에서는 난이 수정이 되지 않거나, 기존의 난보다



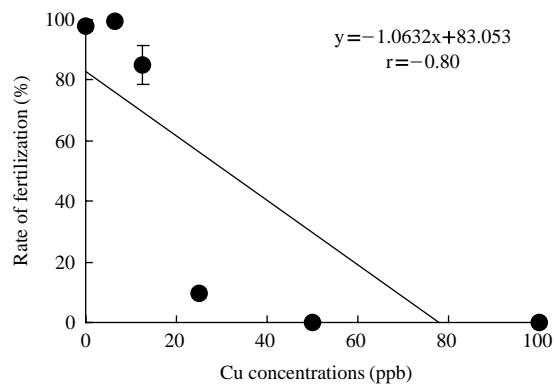
**Fig. 3.** Changes in the rate of fertilization and normal embryogenesis according to the salinity in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Vertical bars represents the mean $\pm$ SE of three times.

커져있거나 터져있는 경우가 많았으며, 20 psu에서 수정은 되었으나 정상적인 pluteus를 발견하기 어려웠다.

우리나라에서 산업적 혹은 생물검정 시험으로 이용되는 성게는 조간대에 서식하는 *H. pulcherrimus*와 수심 2~10m의 조하대에 서식하는 등근성게 (*Strongylocentrotus nudus*)와 북쪽말뚱성게 (*Strongylocentrotus intermedius*) 등이 있으나, 같은 성게라도 다양한 환경변화에 노출되는 *H. pulcherrimus*보다 조하대에 서식하는 *S. nudus*와 *S. intermedius*가 더 민감할 것으로 생각된다. 실제로 Hwang et al. (2008)의 결과에 의하면, 조하대에 서식하는 *S. nudus*의 수정률은 25 psu 이하에서 20% 미만을 나타냈고, 정상적인 pluteus 유생은 거의 발견되지 않는다고 발표하여 본 연구에 사용된 *H. pulcherrimus*보다 염분변화에 더욱 민감한 결과를 나타내었다. 따라서, 같은 성게 종이라 할지라도 서식환경과 같은 염분변화에 의해서 수정 및 배 발생률에 차이가 나타날 수 있음으로, 성게를 실험생물로 이용한 해양생태독성평가 공정시험법을 만들기 위해서는 종에 따른 실험조건 혹은 유해물질에 대한 민감성이 사전에 연구되어야 할 것으로 판단된다.

## 2. 표준 독성물질이 수정 및 배 발생률에 미치는 영향

6개의 Cu와 Cd 농도 용액으로 조성된 실험구에 30분간 노출된 정자를 난자에 첨가하여 10분 후에



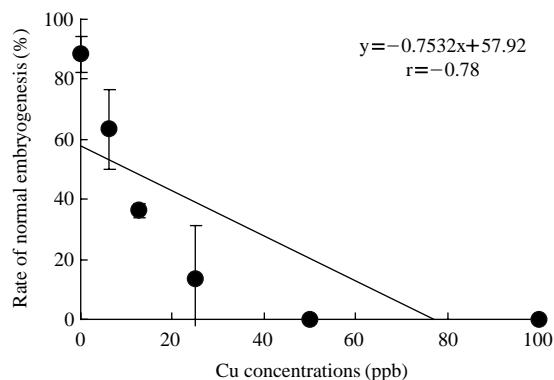
**Fig. 4.** Relationship between the rate of fertilization and Cu concentrations in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Each point represents the mean $\pm$ SE of three times.

수정률과 64h 후에 배 발생률을 관찰하였다.

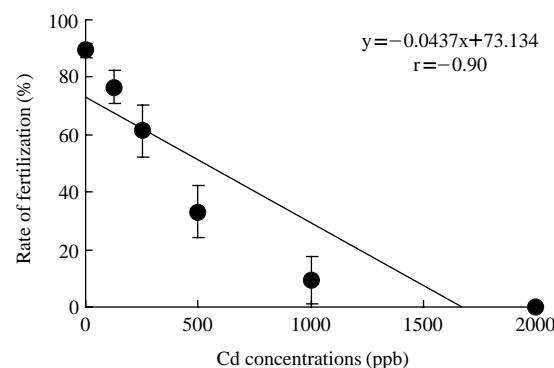
Cu를 첨가하지 않은 대조구에서는 98%로 높은 수정률을 나타냈으나, Cu 농도가 증가할수록 수정률은 급격히 감소해 ( $r=-0.80$ ), 12.5 ppb에서는 85%를 나타냈으며, 25 ppb 이상에서는 10% 미만의 수정률을 나타내었다 (Fig. 4). 배 발생률은 수정률과 유사하게 Cu의 농도가 증가할수록 급격히 감소하는 경향을 나타냈으며 ( $r=-0.78$ ), 12.5 ppb에서는 36%, 25 ppb 이상에서는 14% 미만을 나타내었다 (Fig. 5).

Cd의 경우에도 대조구의 수정률은 90%로 나타났으나, Cd의 농도가 증가 할수록 수정률은 감소했고 ( $r=-0.90$ ), 500 ppb에서는 33%를 나타냈으며 1,000 ppb 이상에서는 9% 미만의 수정률을 나타내었다 (Fig. 6). 배 발생률은 수정률과 유사하게 Cd의 농도가 증가할수록 배 발생률은 급격히 감소하는 경향을 나타냈으며 ( $r=-0.82$ ), 500 ppb에서는 23%, 1,000 ppb 이상에서는 10% 미만을 나타내었다 (Fig. 7).

표준 독성물질인 Cu와 Cd에 노출된 성게의 수정 및 배 발생률이 독성물질의 농도가 증가할수록 급격히 감소하는 경향을 나타내 성게의 수정 및 배 발생률은 독성물질의 노출에 따른 생물 영향의 정도를 파악하기에 적절한 것으로 판단된다. 동일 독성물질 농도에 대한 영향은 수정률보다 배 발생률의 저해현상이 크게 나타나는 것으로 보아, pluteus 유생시기의 배아가 표준 독성물질에 더 오랫동안

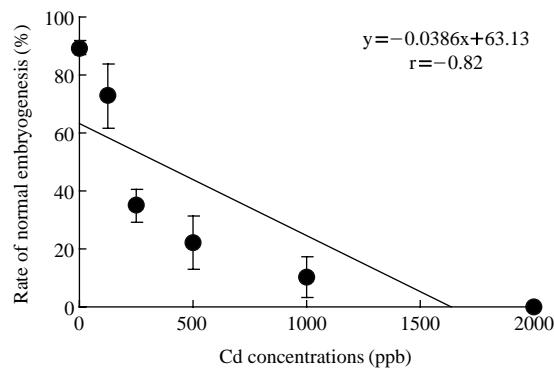


**Fig. 5.** Relationship between the rate of normal embryogenesis and Cu concentrations in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Each point represents the mean  $\pm$  SE of three times.



**Fig. 6.** Relationship between the rate of fertilization and Cd concentrations in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Each point represents the mean  $\pm$  SE of three times.

노출되어 있어 배 발달 과정 중 저해정도가 증가되었을 것으로 생각된다. 또한, 독성물질에 대한 노출은 pluteus 이전에 저해를 받았다 할지라도 형태적으로 빈약한 시기보다는 분화 정도가 진전된 pluteus 유생시기의 배아가 독성에 대해 더욱 증폭되어 표현되며, 환경에 대한 배아의 저해현상이 pluteus 형성시기에 더욱 뚜렷하게 관찰되는 것으로 판단된다(Pagano *et al.*, 1988; Wui *et al.*, 1992; Hwang *et al.*, 2008).



**Fig. 7.** Relationship between the rate of normal embryogenesis and Cd concentrations in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. Each point represents the mean  $\pm$  SE of three times.

**Table 2.** Toxicological estimation using the form of a fertilization membrane and normal pluteus in the *Hemicentrotus pulcherrimus* exposed to Cu and Cd

| Items            | Toxicity (End-points)  | Cu (ppb) | Cd (ppb) |
|------------------|------------------------|----------|----------|
| EC <sub>50</sub> | Fertilization membrane | 17.30    | 364.57   |
|                  | Normal pluteus         | 10.32    | 244.04   |
| NOEC             | Fertilization membrane | 6.25     | 125      |
|                  | Normal pluteus         | 6.25     | < 125    |
| LOEC             | Fertilization membrane | 12.50    | 250      |
|                  | Normal pluteus         | 12.50    | 125      |

EC<sub>50</sub>: 50% Effective concentration, NOEC : No observed effective concentration, LOEC : Lowest observed effective concentration.

### 3. 표준 독성물질에 의한 독성평가

Cu와 Cd이 성계의 수정 및 배아 형성에 미치는 영향에 대한 실험 결과를 바탕으로, probit 통계법을 이용하여 EC<sub>50</sub>을 산출하였고, Dunnett's test를 이용하여 NOEC와 LOEC를 산출하였다(Table 2).

Cu에 대한 수정률의 EC<sub>50</sub>은 17.30 ppb를 나타냈고, 배 발생률에 대한 EC<sub>50</sub>은 10.32 ppb를 나타냈다. 수정 및 배 발생률의 NOEC는 6.25 ppb를 나타냈으며, LOEC는 12.50 ppb로 동일하게 나타냈다 (Table 2).

Cd에 경우는 수정률의 EC<sub>50</sub>은 364.57 ppb를 나타났고, 배 발생률에 대한 EC<sub>50</sub>은 244.04 ppb를 나

타냈다. NOEC는 수정률에서 125 ppb와 배 발생률에서 <125 ppb를 나타냈으며, LOEC는 수정률의 경우 250 ppb, 배 발생률의 경우 125 ppb를 나타났다(Table 2). *H. pulcherrimus*의 수정률과 배 발생률을 이용한 독성평가에서 Cu가 Cd에 비해 독성영향이 강한 것으로 나타났다.

Kobayashi(1995)는 본 연구 결과와 유사하게 중금속이 성계의 초기 배 발생에 미치는 영향에서 중금속 중 Hg가 가장 큰 저해를 보였으며, Cu>Zn>Ni>Cd의 순으로 영향을 미치는 것으로 보고하고 있다. 본 연구결과에서도 수정률의 경우 Cu에 대한 EC<sub>50</sub>은 17.30 ppb였으며, Cd의 경우는 364.57 ppb로 Cu가 Cd에 독성이 큰 것으로 나타났다. 배 발생률의 경우도 Cu에 대한 EC<sub>50</sub>은 10.32 ppb였으며, Cd의 경우는 244.04 ppb를 나타내, 수정률과 같이 Cu가 Cd에 비해 강한 독성을 나타내는 것으로 나타났다. 불가사리의 초기 발생에 미치는 중금속의 영향을 조사한 Yu(1998b)의 연구 결과에서도 Cu가 Cd에 비해 독성이 큰 것으로 나타나고 있다. 아울러 불가사리(*Asterias amurensis*)의 경우는 Hg>Cu>Zn>Cd>Ni의 순서로 독성이 크며, 별 불가사리(*Asterina pectinifera*)의 경우에는 Cu>Hg>Zn>Cd>Ni 순서로 독성이 큰 것으로 나타났다. 또한, 본 연구결과에서 독성이 큰 Cu의 배 발생률에 대한 EC<sub>50</sub>이 10.32 ppb를 나타내고 있으나 진주담치(*Mytilus edulis*)를 이용한 Michael(1981)의 결과에서는 EC<sub>50</sub>이 1200 ppb를 나타내어, 생물 종에 따라 독성의 영향이 다양하게 나타난다는 것을 알 수 있었다.

## 결 론

본 연구는 말뚱성게, *Hemicentrotus pulcherrimus*의 수정 및 배 발생률을 이용해 해양에 유입되는 유해물질의 생태독성을 타당하게 평가할 수 있는 가를 살펴보기자 하였다. 실험조건상 해양생물이라는 특수성을 고려하여 적정 염분농도와 표준 독성물질인 Cu와 Cd 농도 변화에 따른 수정 및 배 발생률이 조사되었다.

염분 농도 20 psu 이하에 노출된 정자의 수정률은 30% 미만으로 낮았으나, 25 psu 이상의 염분 농도에서는 거의 90%의 높은 수정률을 나타냈다. 배

발생률은 25 psu 이하의 농도에서 60% 미만을 나타냈고, 30~35 psu에서는 80% 이상을 나타내, 정상적인 수정을 위한 염분농도는 25~35 psu이고 정상적인 배발생을 위한 염분농도는 30~35 psu였다. 표준 독성물질인 Cu와 Cd의 농도가 증가할수록 수정률( $r=-0.80$ ,  $r=-0.78$ )과 배 발생률( $r=-0.90$ ,  $r=-0.82$ )이 급격히 낮아져 독성물질에 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 또한, Cu와 Cd의 EC<sub>50</sub>은 수정률의 경우 17.30 ppb, 10.32 ppb를 나타냈고, 배 발생률은 364.57 ppb와 244.04 ppb를 각각 나타냈다.

이들 결과를 바탕으로, *H. pulcherrimus*의 수정 및 배 발생률은 해양 유해물질의 생태독성평가를 위한 유용한 생물학적 시험법으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

- APHA. Awwa and Wef. Standard methods for the examination of water and wastewater. American public health association, American water works association, Water environment federation, Washington, D.C, USA 1995.
- ASTM. Standard guide for acute toxicity test with rotifer *Brachionus*, American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA, USA 1996.
- Dinnel PA and Stober QJ. Application of the sea urchin sperm bioassay to sewage treatment efficacy and toxicity in marine waters, Mar Env Rec 1987; 21: 121-133.
- Dinnel PA, Link JM and Stober QJ. Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters, Arch Env Contam Toxicol 1987; 16: 23-32.
- Fujisawa H. Differences in temperature dependence of early development of sea urchins with different growing season, Ref Biol 1989; 176: 96-102.
- Greenwood PJ. The influence of an oil dispersant chemserve OSE-DH on the viability of sea urchin gametes. Combined effects of temperature, concentration and exposure time on fertilization, Aqua Toxicol 1983; 4: 15-29.
- Hall LW, Ziegenfuss MC, Anderson RD and Lewis BL. The effect of salinity on the acute toxicity of total and free cadmium to a Chesapeake bay copepod and fish, Mar Pollut Bull 1995; 30: 376-384.
- His E, Heyvang I, Geffard O and Montaudouin X. A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies, Wat Res 1999; 33(7): 1706-1718.
- Huh SH and Oh IS. Ecological studies on the man-made lake

- shihwa and adjacent coastal area: introduction, J Kor Soc Oceano, 1997; 2(2): 49-52.
- Hwang UK, Lee CW, Lee SM, An KH and Park SY. Effects of salinity and standard toxic metals (Cu, Cd) on fertilization and embryo development rates in the sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*), Kor J Env Sci 2008; 17(7): 775-781.
- ISO. Water quality-marine algae growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum triocornutum*, International Organization for Standardization, ISO 1995; 7pp.
- Kim JH, Kim SK, Park CD and Ju SD. Distribution and composition of floating debris in the east coast of Korea, Kor Soc F & M Sci Edu 1997; 9(1): 31-39
- Kobayashi N. Bioassay data for marine pollution using echinoderms, Encyclopedia of Environmental Control Technology, 1995; 9: 539-609.
- Kobayashi N. Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant to Canadian and Japanese sea urchin eggs, Publs Setomar Biol 1980; 27: 76-84.
- Kobayashi N. Studies on the effects of some agents on fertilized sea urchin eggs, as a part of the bases for marine pollution bioassay I, Publ Seto Mar Biol Lab 1973; 19: 109-114.
- Lee YD, Kam SK, Huh M, Kim HH, Chung JH. The effects of coastal fishing ground by sewage effluents, Kor J Tech Soci W & W Water Treatment 1999; 7(2): 49-56.
- Michael M, Kenneth EO, Patricia B and Neil G. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae, Mar Pollut Bull, 1981; 12(9): 305-308.
- Nacci D, Jackim E and Walsh R. Comparative evaluation of three rapid marine toxicity tests : sea urchin early embryo growth test, sea urchin sperm cell toxicity test and microtox, Env Toxicol Chem 1986; 5: 521-526.
- NFRDI. A study on construction of seaweed forest in the east sea, Final Report on Fisheries Life Sciences and Aquaculture Sciences, Nat Fish R & D Inst 2005; 5-50.
- NFRDI. A study on construction of seaweed forest in the east sea, Final Report on Fisheries Life Sciences and Aquaculture Sciences, Nat Fish R & D Inst 2006; 521-696.
- NIWA. Marine algae (*Dunaliella tertiolecta*) chronic toxicity test protocol, National Institute of Water and Atmospheric Research 1998; 30pp.
- Oh KY, Kim JW, Kim WK, Lee SA, Yun HG and Lee SK. Ecotoxicity assessment of industrial effluent in Korea, J Kor Soc Water Quality 2006; 22(1): 37-44.
- Pagano G, Cipollaro GA, Corsale A, Esposito E, Mineo GG, Ragucci G, Glordano G, Kobayashi N, Trieff NM. Effects of sodium azide on sea urchin embryos and gametes, Teratogenesis Carcinogenesis Mutagenesis 1988; 8: 363-376.
- Pagano G, Cipollaro M, Corsale G, Esposito A, Ragucciani E and Giordano GG. pH-induced changes in mitotic and developmental patterns in sea urchin embryogenesis, I. Exposure of embryos, Teratogenesis Carcinog Mutagen 1985a; 5: 101-112.
- Pagano G, Cipollaro M, Corsale G, Esposito A, Ragucciani E and Giordano GG. pH-induced changes in mitotic and developmental patterns in sea urchin embryogenesis, II. Exposure of sperm. Teratogenesis Carcinog Mutagen 1985b; 5: 113-121.
- Park GS, Kang JC, Yoon SJ, Lee SM and Hwang UK. Establishment of marine ecotoxicological standard method for larval fish survival test, Kor J Soc Oceano 2008; 13 (2): 140-146.
- Park GS, Lee SH, Lee SM, Yoon SJ and Park SY. Phytoplankton as standard test species for marine ecotoxicological evaluation, J Env Sci 2005; 14(13): 1129-1139.
- Ramachandran S, Patel TR and Colbo MH. Effect of copper and cadmium on three malaysian tropical estuarine invertebrate larvae, Ecotoxicol Env Saf 1997; 36: 183-188.
- Rand GM and Petrocelli SR. Fundamentals of Aquatic toxicology, Hemisphere Publishing Corporation, Washington 1985.
- USEPA. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA 2002.
- Wui IS, Lee JB and Yoo SH. Bioassay on marine sediment pollution by using sea urchin embryo culture in the southwest inland sea of Korean, J Env Biol 1992; 10(2): 92-99.
- Yu CM. A study on the effect of heavy metals on embryos formation of sea urchins, Kor J Env Hlth Soc 1998a; 24: 6-10.
- Yu CM. A study on the effect of heavy metals on early embryos development of starfishes, Kor J Env Biol 1998b; 16(2): 151-156.
- Yu CM. The effects of pH on early embryo development of sea urchins, Kor J Env Hlth Soc 2004; 30(2): 104-107.
- Yu CM, Chol BS and Kook SW. Temperature effects on early development of two starfishes, *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*, Kor J Env Biol 1998; 16(3): 223-228.