

Static Test에 의한 *Daphnia magna*의 環境汚染物質에 대한 敏感性 評價

韓義正·崔聖憲·金鎮一*

國立環境研究院·誠信女子大學校*

Sensitivity of *Daphnia magna* to the Toxic Materials by the Static Test

Eui- Jung Han, Sung-Hun Choe, Jin- Ill Kim*

*National Institute of Environmental Research, Sungshin Women's University**

Abstract

Acute toxicity of heavy metals(mercury, cadmium, lead, chromium, and copper), organophosphours insecticides(EPN, 2, 4-D, and parathion), and other chemicals(arsenic, cyanide, and phenol) to *Daphnia magna* was analyzed.

Acute toxicity of heavy metals, organophosphours insecticides and other chemicals on *Daphnia magna*, LC₅₀ was showed 0.07-0.73mg/l, 0.22-1.94mg/l, and 1.73-39.92mg/l respectively.

Daphnia magna to most of toxic chemicals was sensitive and then it seems to be useful except phenol in toxic test of water.

Toxic chemicals were classified as Group 1 which had a high LC₅₀ value and the low increase rate of toxicity according to the increase of concentration, Group 2 which had a high LC₅₀ value and the high increase rate of toxicity, Group 3 which had a low LC₅₀ value and the low increase rate of toxicity. To *Daphnia magna*, lead, chromium, EPN, and parathion were included in Group 1; Mercury and copper in Group 2; Arsenic and cadmium in Group 3; Cyanide, 2, 4-D, and phenol in Group 4.

I. 서 론

우리나라는 1960년대부터 産業化로 말미암아 빠른 경제적 성장을 이룩하였으나 그 부산물로 오늘날에는 環境汚染問題가 크게 대두되었다.

최근에는 重化學工業 발달에 따른 산업의 多樣化 및 複雜化로 인하여 環境오염의 양상도 점점 복잡하고 다양해져 가는 형편이다. 산업의 발달로 인하여 세계적으로 현재 약 1,000만종의 화학물질이 개발되었으며 널리 사용되고 있는 것만 하여도 10만여종에 이르고 있다. 이러한 화학물질에 의한 環境오염은 고유의 毒性과 量에 따라 急性 또는 慢性으로 악영향을 미치고 있는데 더욱 중요한 것은 각종 화학물질이 상호결합하여 전혀 새로운 물질로 변화하여 더 큰 피해를 나타낼 수 있다는 것이다.

생물에 대하여 단일물질이나 화합물의 독성을 평가하기 위한 방법들 가운데 가장 널리 이용되고 있는 것은 生物檢定(Bioassay)방법으로 이는 어떤 물질을 시험생물에 대하여 실험한 후 그 결과를 이의 기준생물의 결과와 비교함으로써 당해물질의 相對的인 強度를 결정하는 방법, 즉 環境중에 있는 유해물질의 안전농도를 결정하는 것이다.

특히 수중 생태계에 대한 독성물질의 영향이나 수질오염 정도를 파악하는데는 수생생물이 많이 이용되는데 독성물질에 의한 종합적인 위해성을 단지 화학분석 결과에 의존하여 평가하는 것은 문제가 있기 때문이다. 즉 수많은 단일물질의 영향을 일일이 확인하기도 힘들 뿐만 아니라 각 독성물질의 화학반응으로 인하여 생성되는 새로운 물질의 영향 또는 오

염물질간의 相乘·相加作用에 의한 독성의 강화를 파악할 수 없다.

그러므로 화학분석에 우선하여 적당한 생물을 선택하여 독성학적으로 관찰하는 生物試驗(Biotest)이 실시되는데 시험생물은 독성에 민감하고 반응이 뚜렷한 종으로 무지개송어, 잉어, 송사리 등의 물고기나 물벼룩, 조류 또는 박테리아가 이용된다.

이미 유럽에서는 수생생물을 이용한 유해물질의 static test 뿐만 아니라 dynamic test도 실시하고 있는데 '71년에 개발된 물고기를 이용한 연속적인 수중 毒性監視裝置를 시작으로 물벼룩, 발광박테리아를 이용한 수질감시장치가 사용되고 있다.

본 연구는 각종 오염물질이 수생생물인 *Daphnia magna*에 미치는 영향을 평가하기 위하여 반응양상에 따른 민감성을 검토하였다.

II. 試驗材料 및 方法

1. 公試生物 및 公試物質

사육이 용이하며 세대교체 시간이 짧은 생물종이 유용하게 이용되는데^{5, 6, 12)} 본 시험에 사용된 *Daphnia magna*는 독일보건성에서 분양받아 1년 이상 계대배양하여 環境에 적응된 것을 사용하였다.

*Daphnia magna*는 부화직후 유충의 길이는 0.8mm 정도로 성충은 5-6mm에 이르며 생식은 有性生殖과 無性生殖을 되풀이하는 世代交番을 하는데 수명은 環境조건에 따라 차이가 있으나 평균 40~50일 생존한다⁵⁾. 環境오염물질로서 중금속류 6종, 유기인계 농약 3종 및 기타 유해물질 3종을 실험에 적용하였으며 공시물질의 종류는 표 1과 같다.

Table 1. Toxic materials used for test.

	Element	Compound
Heavy Metal	Mercury	HgCl ₂
	Cadmium	CdCl ₂
	Lead	Pb(NO ₃) ₂
	Chromium	K ₂ Cr ₂ O ₇
	Copper	CuCl ₂
Organo-	EPN	96.5%
Phosphorus	2, 4- D	99 %
Insecticide	Parathion	97.1%
Others	Arsenic	As ₂ O ₃
	Cyanide	KCN
	Phenol	99%

Table 2. Summary of the recommended toxicity test condition for *Daphnia magna*(from DIN 3842 Teil 30)

1. Test type	Static test(renewal)
2. Temp.(°C)	20±1°C
3. Light quality	Ambient laboratory illumination
4. Photoperiod	16h light, 8h dark
5. Test chamber size	25ml
6. Test solution volume	20ml
7. Renewal of test solution	None
8. Age of test organisms	Less than 24h
9. No. neonates per test chamber	5
10. Feeding	None
11. Aeration	None
12. Test duration	24h

2. 實驗方法

*Daphnia magna*를 이용한 static test는 오염물질에 폭로된 24시간 또는 48시간 후의 半數致死濃度를 구하는 실험으로 그 결과는 LC₅₀으로 나타낸다.

실험방법은 독일공업규격¹⁾에 따랐다. 먼저 각 독성물질을 배양액으로 희석하여 對數倍率로 농도가 다른 시험물질을 25ml 비이커에

20ml씩 가하고 각 비이커에 부화후 24시간 미만인 5마리의 *Daphnia magna*를 폭로시켜 24시간후 비이커를 약하게 흔들어 15초이상 움직이지 않으면 죽은 것으로 간주하고 이 실험을 4회 반복하여 LC₅₀을 산출하였다.

III. 結果 및 考察

1. 중금속에 대한 *Daphnia magna*의 민감성

수은에 대한 *Daphnia magna*의 24시간 LC₅₀값은 0.07mg/l로 기타 유해물질에 비해 독성영향이 큰 것으로 나타났으며, 직접적인 비교는 곤란하나 Elnabarawy²⁾의 48시간 LC₅₀값인 0.01-0.06mg/l 보다는 다소 높은 농도 범위에 놓여 있었다. 수은은 중금속중 가장 독성이 강한 물질로 알려져 있는데³⁾ 본 실험의 결과 역시 이를 立證하고 있다.

카드뮴과 6가 크롬의 24시간 LC₅₀값은 각각 0.73, 0.19mg/l로 나타나 역시 Elnabarawy²⁾의 48시간 LC₅₀값인 0.02-0.16mg/l, 0.10-0.13mg/l 보다 다소 높은 범위에 있었다.

구리는 24시간 LC₅₀값이 0.08mg/l로 나타나 48시간 LC₅₀값인 0.06mg/l를 약간 상회하였으며⁴⁾, 납은 LC₅₀값이 0.25mg/l로 밝혀졌는데 이는 US EPA⁴⁾의 0.45mg/l에 비해 다소 낮은 값이었다.

이런 결과를 각종 수질기준과 비교하여 보면, 사람의 健康保護를 위하여 기준을 설정하고 있는 카드뮴의 수질환경기준은 0.01mg/l로서 *Daphnia magna*의 24시간 LC₅₀값은 이보다 약 70배 높았으며, 6가 크롬은 수질환경기준 0.05mg/l의 4배 높은 값에서 LC₅₀값을 얻을 수 있었다. 구리의 LC₅₀값은 0.08mg/l로 조사되어 水質環境保全法의 농수산물 재배제

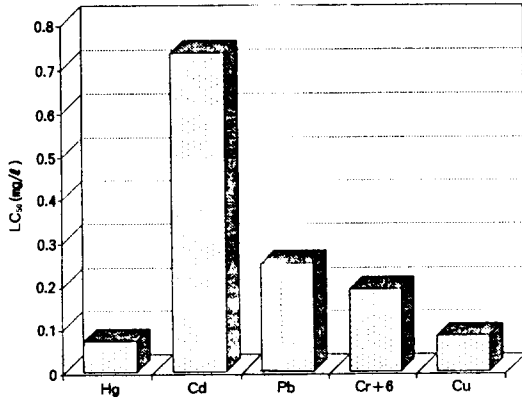


Fig. 1. Sensitivity of *Daphnia magna* to heavy metals.

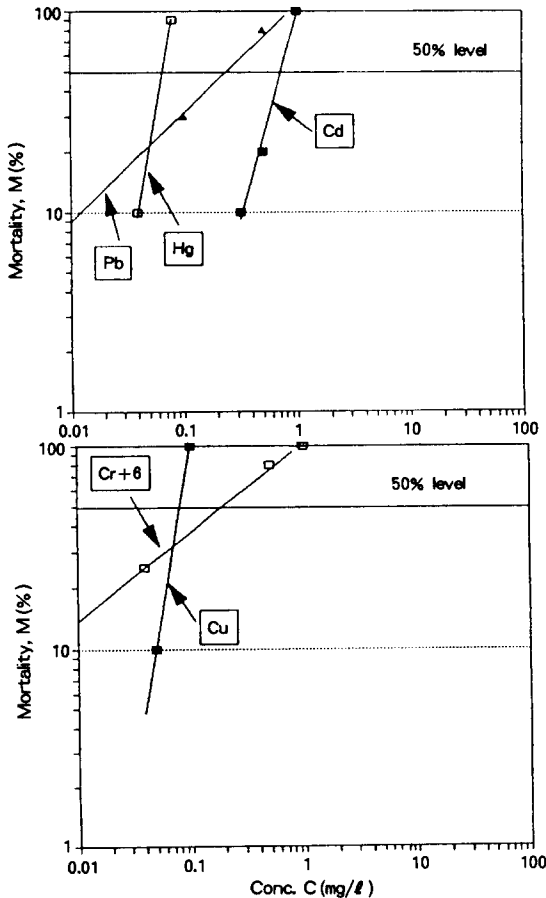


Fig. 2. Mortality of *Daphnia magna* according to the concentration of heavy metals.

한기준인 0.01mg/l 보다는 다소 높으나 음용수 수질기준의 0.08배에 불과하여 이 실험으로 음용수 수질기준의 超過與否를 판단할 수 있으리라 보며, 납의 LC₅₀값은 0.25mg/l로 조사되었는데 이 농도는 음용수 수질기준의 약 3배의 값이었다.

이러한 결과로 볼 때 농도상으로는 수은이 *Daphnia magna*에 대하여 독성을 가장 강하게 나타내고, 다음으로 구리가 강한 독성을 가지고 있음을 알 수 있었으며, 음용수 수질기준과 비교할 때 구리가 그 기준의 0.08배에 불과하여 구리에 대하여는 *Daphnia magna*를 통한 24시간 LC₅₀ 실험으로 음용수의 適合與否를 판단할 수 있을 것으로 사료되었다.

*Daphnia magna*의 치사율(mortality) M (%)과 공시물질의 농도 C(mg/l)간의 관계는 다음과 같은 대수관계를 보이는데,

$$\text{Log}_e(M) = n \cdot \text{Log}_e(C) + k$$

이 식에서 모수 n은 오염물질의 농도증가에 대한 死亡率의 증가율을 의미하는 것이며, k는 물질농도 1mg/l에 대한 사망율의 自然對數值를 의미하는 것이다. 따라서 k가 크면 클수록 독성물질의 영향도가 큰 것으로 볼 수 있으나 n은 물질농도에 대한 사망율의 기울기로 나타나므로 두 母數를 같이 고려하여 독성영향의 특성을 파악할 수 있다.

실험에 적용된 중금속 공시물질의 농도와 *Daphnia magna*의 치사율간에 나타난 관계식은 다음과 같다.

Mercury ; $\text{Log}(M) = 3.25 \cdot \text{Log}(C) + 12.72$

Cadmium ; $\text{Log}(M) = 2.05 \cdot \text{Log}(C) + 4.55 (r^2 = 0.99)$

Lead ; $\text{Log}(M) = 0.54 \cdot \text{Log}(C) + 4.67 (r^2 = 0.99)$

Chromium ; $\text{Log}(M) = 0.44 \cdot \text{Log}(C) + 4.63 (r^2 = 0.96)$

Copper ; $\text{Log}(M) = 3.32 \cdot \text{Log}(C) + 12.25$

*Daphnia magna*에 대한 독성계수 n 의 값은 구리와 수은이 각각 3.32, 3.25로 농도증가에 따른 영향의 增加速度가 매우 컸으며, 다음은 카드뮴으로 2.05이었고 납과 크롬은 각각 0.54, 0.44로 낮았다. 즉 납과 크롬의 경우 LC_{50} 값은 각각 0.25mg/l 와 0.19mg/l로 나타나나 毒性係數 n 의 값이 낮아 LC_{10} 값은 0.01mg/l로서 기타 유해물질의 LC_{10} 값에 비해서도 더욱 낮다. 즉 낮은 치사율의 범위에서는 크롬과 납에 대한 *Daphnia magna*의 민감도가 기타 물질에 비해 오히려 높게 나타남을 알 수 있다. 이에 반해 수은은 $LC_{10} \sim LC_{50}$ 의 범위가 0.04~0.07mg/l, 구리는 0.05~0.08mg/l, 카드뮴은 0.33~0.73mg/l로 폭이 좁아 그 범위에서 농도의 경미한 증가가 치사율에 급속한 영향을 준다.

2. 유기인계 농약에 대한 *Daphnia magna*의 민감성

유기인계 농약에 대한 독성실험에서는 2,4-D에 대한 *Daphnia magna*의 抵抗性이 가장 크고, Parathion에 대한 저항성이 EPN에 비해 다소 낮은 것으로 나타났다.

2,4-D에 의한 24시간 LC_{50} 값은 1.94mg/l로서 이는 Amann 등⁷⁾에 의한 물벼룩의 48시간 LC_{50} 값 2.6~11.0mg/l에 비해 다소 낮은 값이고 Thomas 등⁸⁾의 240mg/l 보다는 매우 낮은 값이다. LC_{10} 값은 0.07mg/l로 WHO의 음용수 수질기준 0.1mg/l에 대략 符合하는 값으로 나타났다.

Parathion의 24시간 LC_{50} 값은 0.22mg/l로 Amann 등⁷⁾에 의한 물벼룩의 48시간 LC_{50} 값 0.0046mg/l에 비해 매우 높은 값으로 나타났다. Parathion에 대한 우리나라의 음용수 수

질기준 0.06mg/l는 대략 LC_{30} 값에 해당하였다.

EPN의 LC_{50} 값은 0.36mg/l로서 Parathion에 비해 낮은 독성을 가진 것으로 나타났다.

이러한 농약에 대한 치사율과 농도간의 관계식은 다음과 같이 나타났다.

EPN ; $\text{Log}(M) = 0.77 \cdot \text{Log}(C) + 4.69 (r^2 = 0.99)$

Parathion; $\text{Log}(M) = 0.51 \cdot \text{Log}(C) + 4.29 (r^2 = 0.96)$

2, 4-D ; $\text{Log}(M) = 0.49 \cdot \text{Log}(C) + 3.59 (r^2 = 0.98)$

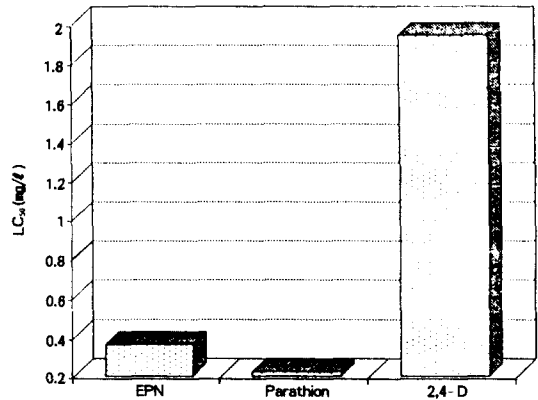


Fig. 3. Sensitivity of *Daphnia magna* to pesticides.

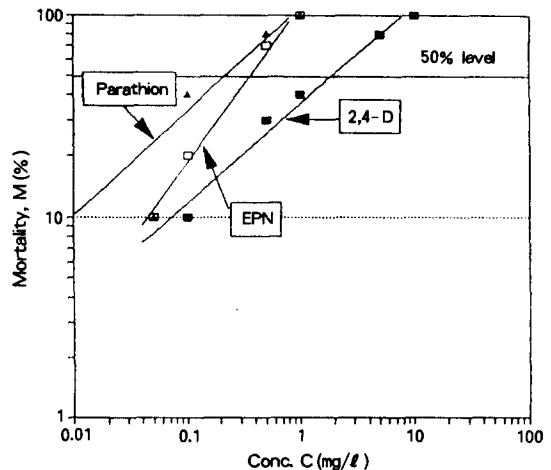


Fig. 4. Mortality of *Daphnia magna* according to the concentration of pesticides

독성계수 n 의 값은 EPN이 0.77로 다소 컸고, Parathion과 2, 4-D는 각각 0.51 및 0.49로 비슷한 값을 보였다. Parathion의 LC_{10}

~LC₅₀ 범위는 0.01~0.22mg/l, EPN은 0.05~0.36mg/l, 2,4-D는 0.07~1.94mg/l의 범위를 보였다.

3. 기타 유해물질에 대한 *Daphnia magna*의 민감성

기타 유해물질중 비소에 대한 *Daphnia magna*의 LC₅₀값은 1.73mg/l로 시안의 4.95mg/l보다도 낮고 페놀의 39.92mg/l보다는 훨씬 낮은 것으로 나타났다. 이중 비소의 경우는 Amann 등⁷⁾에 의한 48시간 LC₅₀ 1.7mg/l와 거의 일치하는 결과이다.

비소와 시안은 독성이 강한 것으로 알려져 있는데 우리나라 수질 환경기준과 음용수 수질기준에는 시안은 검출되지 않아야 하며 비소는 0.05mg/l 이하로 규정되어 있다. *Daphnia magna*에 대한 비소의 LC₅₀값은 위 기준보다 매우 높고, 시안의 경우도 WHO의 음용수 수질기준 0.1mg/l 이하에 비해 매우 높다.

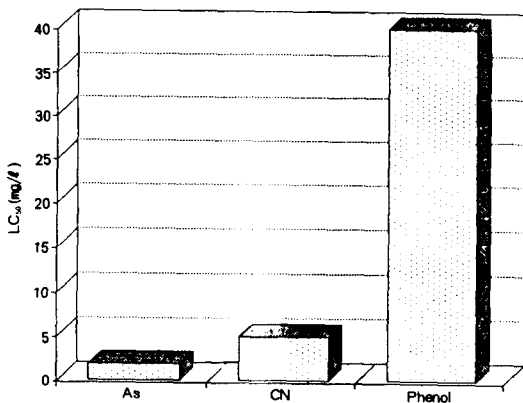


Fig. 5. Sensitivity of *Daphnia magna* to another toxic materials.

페놀의 LC₅₀값은 음용수 수질기준 0.005mg/l에 비해 무려 8,000배나 높은 농도이지만

異臭物質로서 문제는 있으나 생물의 치사율에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

치사율과 농도간의 관계식은 다음과 같다.

Arsenic ; $\text{Log}(M) = 2.93 \cdot \text{Log}(C) + 2.30 (r^2 = 0.78)$

Cyanide ; $\text{Log}(M) = 0.83 \cdot \text{Log}(C) + 2.59$

Phenol ; $\text{Log}(M) = 0.82 \cdot \text{Log}(C) + 0.89 (r^2 = 0.97)$

독성계수 n의 값은 비소가 2.93으로 가장 컸고, 시안과 페놀은 각각 0.83 및 0.82로 비슷한 값을 보였다. 비소의 LC₁₀~LC₅₀ 범위는 1.0~1.73mg/l, 시안은 1.71~4.95mg/l로서 LC₅₀으로서는 시안의 영향정도가 비소에 비해 낮게 평가되나, 1.0mg/l 내외의 낮은 농도에서는 각각의 영향정도가 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다. 페놀의 LC₁₀~LC₅₀ 범위는 5.59~39.92mg/l로 LC₅₀값도 높고 농도에 따른 치사율의 증가율도 낮았다.

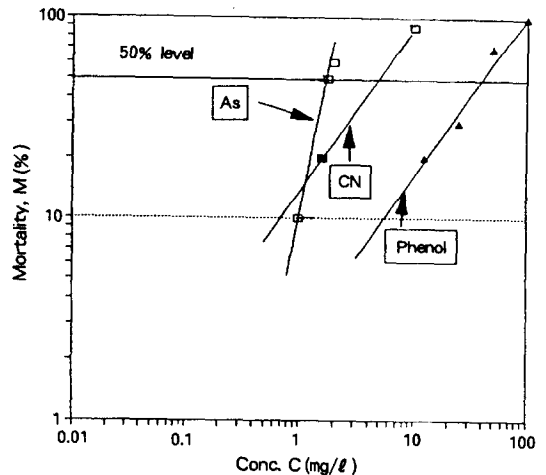


Fig. 6. Mortality of *Daphnia magna* according to the concentration of another toxic materials.

4. pH 조성에 따른 *Daphnia magna*의 민감성

수생생물의 생육과 pH의 관계에서 指標生物로는 대개 갑각류가 사용되고 있다^{9,10)}.

금번 실험에서는 각 pH별로 24시간후 *Da-*

*Daphnia magna*의 生存率을 조사하였다. Brehm 등¹⁰⁾은 호수에서의 관찰을 토대로 *Daphnia magna*는 pH 6.0~10.0에서 서식하고 있으며, *Daphnia magna*가 다른 종보다 pH에 더 민감하다고 보고하였다.

본 실험에서의 결과로 50% 이상이 생존하는 범위는 pH 4.5~10.5로 나타나 그림 7에서 보이는 바와 같이 산성의 범위에서 실험한 Parent 등¹¹⁾의 생존제한 범위 4.5의 값과 일치하였다.

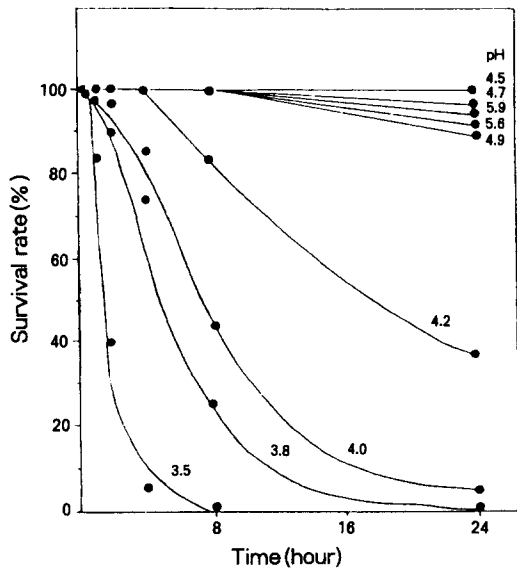


Fig. 7. The Effect of pH on acute survival of *Daphnia magna*.

그러나 자연수계에서는 약 40일 이상의 생존기간 동안 어떠한 pH값에 폭로되기 때문에 생존가능한 pH의 범위는 다르게 나타날 것으로 판단된다.

이상의 결과를 정리할 때 본 실험에 사용된 공시물질의 범위에서 *Daphnia magna*에 대한 중금속의 LC₅₀값은 0.07~0.73mg/l의 범위에 있었고, 유기인계 농약은 0.22~1.94mg/l, 기타 유해물질은 1.73~39.92mg/l의 범

위를 보여 시험물질중 중금속이 *Daphnia magna*에 독성을 가장 강하게 나타내었으며 기타 유해물질보다는 유기인계 농약에 대한 감수성이 더 큼을 알 수 있었다.

이러한 결과로서 살펴보면, 대체로 오염물질에 대하여 *Daphnia magna*가 민감하게 반응하는 것으로 나타났는데 이러한 민감성은 무엇보다도 아가미가 비교적 많은 양의 물을 접촉하고, 물이 창자를 통과하는데 그 이유가 있으며, 또한 *Daphnia magna*는 2분 동안에 몸속 물의 80%를 교환할 수 있는데서 그 이유를 찾아 볼 수 있다⁶⁾.

*Daphnia magna*의 LC값을 국내 음용수 기준과 비교할 경우 LC₅₀으로 기준에 부합할 정도의 예민도를 보이는 항목은 구리 단일항목이었으나 LC₁₀을 기준한다면, 납, 크롬 및 구리가 기준이하의 농도로 나타나 수질기준의 적합여부를 검정할 때 기준치로 活用可能할 것으로 판단되었으며, 기타 항목의 경우도 LC₁₀값은 음용수 기준에 상당히 접근하는 것으로 나타났다.

*Daphnia magna*의 민감도에 대한 독성물질의 特異性은 그림 8과 같다.

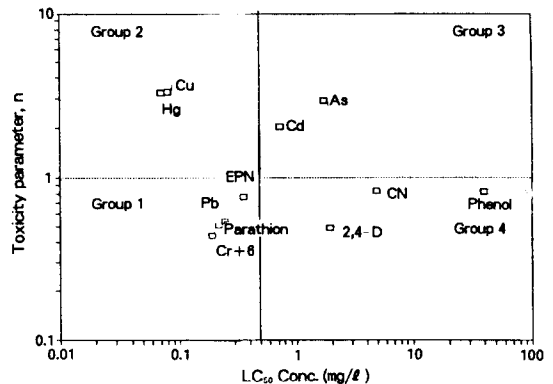


Fig. 8. LC₅₀ and toxicity parameter n of each toxic material for *Daphnia magna*.

즉 LC₅₀값과 독성특성의 모수 n을 기준으로 할 때 LC₅₀값이 낮아 민감도가 큰 반면 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 Group 1에 해당하는 물질은 납, 크롬, EPN, Parathion으로 나타났으며, LC₅₀값이 낮아 민감도가 클뿐만 아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 2에 해당하는 물질은 구리와 수은이었고, LC₅₀값이 높아 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 Group 3에 해당하는 물질은 카드뮴과 비소였으며, LC₅₀값이 높아 민감도가 약하고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 Group 4에 해당하는 물질은 시안과 2,4-D 및 페놀로 나타났다.

산업의 발달로 인하여 수많은 유해화학물질이 사용되고 또한 환경에 노출, 유입되어 생태계의 혼란 내지는 파괴가 일어나고 그 피해 범위가 점차 확대되고 있으나 구체적인 영향, 피해 對象生物 및 被害期間 등에 대하여는 거의 정보가 없는 실정이며, 그러한 것을 파악하기 위한 노력도 우리나라에서는 그다지 많지 않다.

특히 수중생태계의 변화는 수생생물을 통하여 판단하여야 하며 아울러 유해물질에 대하여 가장 민감하게 반응하는 생물을 적용하여야 할 것이다. Static test는 일정시간후 생물의 치사율을 기준으로 그 영향을 판단하는 것이나 이를 생물의 일반적 특성 즉, 遊泳性 또는 發光性의 변화로서 유해물질의 영향을 판단한다면 유해물질에 의한 수중생태계의 혼란을 조기에 확인할 수 있을 것이다.

IV. 結 論

생태계에 대한 환경오염물질의 영향을 파악

하기 위하여 甲殼類인 *Daphnia magna*를 시험생물로 선정하고 이에 대한 重金屬(수은, 카드뮴, 납, 6가 크롬, 구리), 有機磷系 農藥 (EPN, Parathion, 2,4-D) 및 기타 유해물질로써 비소, 시안, 페놀의 영향을 LC₅₀값으로 분석한 결과는 다음과 같다.

1. *Daphnia magna*에 대한 유기인계 농약의 LC₅₀값은 0.22~1.94mg/l, 기타 유해물질은 1.73~39.92mg/l, 중금속은 0.07~0.73mg/l의 범위를 보여 중금속의 독성영향이 큰 것으로 나타났다.
2. *Daphnia magna*의 LC값을 국내 음용수 기준과 비교할 경우 LC₅₀으로 음용수 기준값에 부합하는 물질은 구리 단일항목이었으나 LC₁₀을 기준한다면 납, 크롬 및 구리가 기준이하의 농도로 나타나 수질기준의 적합 여부를 검정할때의 기준치로 활용가능할 것으로 판단되었다.
3. *Daphnia magna*에 대해 LC₅₀값이 낮아 민감도가 크나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 크지 않은 물질은 납, 크롬, EPN, Parathion이며, LC₅₀값이 낮아 민감도가 클뿐만 아니라 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 수은, 구리이고, LC₅₀값이 높아 민감도가 약하나 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 큰 물질은 비소, 카드뮴이며, 민감도가 낮고 물질농도 증가에 대한 독성의 증가율이 낮은 물질은 시안과 2,4-D 및 페놀로 나타났다.
4. 이상과 같은 결과로 볼 때 *Daphnia magna*는 공시물질중 중금속 및 유기인계 농약에 대하여 민감하게 반응하는 것으로 나타나 수중생물에 대한 환경오염의 영향을 평가하는데 있어서 유용한 공시생물로 판단된다.

參 考 文 獻

1. DIN, DIN 38412 Teil 30, 1989, Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung.
2. Elnabarawy M.T., 1986. Short-Term Microbial and Biochemical Assays for Assessing Chemical Toxicity.
3. US EPA, 1972. 1973. Water Quality Criteria, EPA-R3-73-003 US EPA, Methods for acute toxicity tests with fish, macroinvertebrates and amphibians. 1975, EPA-600/3-75-009.
4. US PEA, 1977, Chemical/Biological Implications of Using Chlorine and Ozone for Disinfection. PB-270 694.
5. US EPA, 1985, Methods for measuring the acute toxicity of effluent to freshwater and marine organisms(3th edition). EPA-600/4-85-013.
6. Besch. W., 1977. Studien zum Gewässerschutz 2. Biotese in der Limnischen Toxikologie, Landesamt für Umweltschutz Baden-Württemberg.
7. Amann et al., 1988. Datenblätter zum Katalog wassergefardender Stoffe, Kommission Bewertung wasergefardender Stoffe.
8. Thomas, J.M., et al., 1986. Characterization of Chemical Waste Site Contamination and Determination of its Extent Using Bioassays, Environmental Toxicology and Chemistry, 5 : 487-501.
9. Bell, H.L. et al., 1969. Preliminary Studies on the Tolerance of Aquatic Insects to Low PH, J. of the Kansas Entomological Society, 42: 230-236.
10. Brehm, von J., te al., 1982. Zur Saeure-Empfindlichkeit Ausgewaehlter Sueswasser -Krebse(Daphnia und Gammarus, Crustacea), Arch. Hydrobiology, 95: 17-27.
11. Parent, S. et al., 1980, Effects of Acid Precipitation on Daphnia magna, Bull. Environm. Contam. Toxicol. 25: 298-304.
12. 小泉清明 等, 1975. 環境と生物指標 -水界編-, 日本生物學會 環境問題 専門委員會, 共立 出版株式會社.