

## 표준생태독성시험법 개발을 위한 한국산 물벼룩의 최적 사육수 선발

김병석\* · 박연기 · 박경훈 · 김진경 · 신진섭 · 김진화 · 윤성명<sup>1</sup> · 안용준<sup>2</sup>

농업과학기술원 농산물안전성부, <sup>1</sup>조선대학교 생물교육과, <sup>2</sup>서울대학교 농생명공학부

**요약** : 본 연구의 목적은 대표적인 한국 담수산 물벼룩을 대상으로 농약의 생태영향을 평가하기 위한 표준 시험법을 개발하기 위하여 수행되었다. 국내환경에서의 대표성, 실내사육가능성 및 독성시험에 적합한 크기 등을 고려하여 선발된 4종의 한국산 물벼룩(*Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*)과 국제표준종인 *Daphnia magna*를 대상으로 실내사육에 적합한 최적 사육수를 선발하고자 하였다. 국내산 물벼룩은 사육수의 경도가 80~100 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 hard water와 40~48 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 soft water에서 가장 우수한 생육을 보였으나, 우리나라 강물의 경도가 60.2~127.2 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)의 범위에 있는 점과 칼슘부족이 동물성플랑크톤 갑각류의 종 번식과 군집구조에 중대한 결정요소인 점을 감안하여 우리나라 물벼룩의 실내사육을 위한 최적 사육수로 경도가 80~100 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 hard water를 추천하고자 한다. (2006년 8월 8일 접수, 2006년 9월 15일 수리)

색인어 : culture medium, water hardness, reproduction, cladocera

### 서 론

물의 경도는 물속에 있는 2가 이온(Ca, Mg, Sr, Fe, Mn)의 양을 CaCO<sub>3</sub>의 농도(ppm)로 환산한 값이다. 물의 경도를 결정하는 주 요인은 담수에 다량으로 용해되어 있는 Ca, Mg 이온의 양이다(박, 2004). 이 중 칼슘은 석회화된 외골격을 가진 갑각류나 다른 무척추동물의 생존에 필수적인 원소로서 해양환경이나 높은 경도수의 호수와 강에 서식하는 생물들은 칼슘요구량이 쉽게 충족되지만 낮은 경도수의 수계에서는 매우 심하게 석회화된 복족류 뿐만 아니라 단각류(amphipods)나 가재(crayfish) 등의 번식과 분포에 매우 중요한 결정요인으로 작용한다(Hessen *et al.*, 2000). 또한 경도는 일정정도까지는 미생물의 성장을 자극하는 역할을 하지만 일정이상의 농도로 증가하게 되면 미생물의 성장억제를 유발하며(박, 2004) 카드뮴, 구리, 납, 아연, 니켈 등의 중금속은 경도의 증가에 따라 무지개송어에 대한 급성독성이 낮아진다고도 알려져 있다(Leeuwen and Hermens, 1995).

USEPA는 *Daphnia magna*를 이용한 표준생태독성시험에서 사육수 경도가 160~180 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 hard water를 사용하도록 하고 있으며 OECD에서는 경도가 약 250 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 Elendt M4와 Elendt M7 medium 두 가지가 물벼룩을 장기간 사육하는데 적절

하다고 추천하고 있다(Elendt and Bias, 1990; USEPA, 1992a; USEPA, 1992b; Baer and Goulden, 1998; OECD, 1998). 이와 같이 *D. magna*의 사육수로 지표수보다 높은 경도수를 사용하는 이유는 이 종이 염농도가 높은 해안지역의 저수지나 기수역에 주로 분포한다는(Koivisto, 1995) 생태학적 특성을 반영한 것으로 판단된다. 그러나 국내산 물벼룩의 경우에는 경도가 높지 않은 논, 강, 호수 등의 담수역에 분포하고 있기 때문에 우리나라 지표수의 경도에 가까운 사육수가 적절할 것으로 판단되나, 현재까지 사육수의 경도에 따른 국내산 물벼룩의 생존, 성장, 번식 등의 영향을 연구한 사례는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 국내에 서식하는 주요 물벼룩 중 국내환경에서의 대표성, 실내사육가능성 및 독성시험에 적합한 크기 등을 고려하여 선발된 4종의 한국산 물벼룩 *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa* and *Simocephalus vetulus*(김, 1988; 윤, 1995)에 대한 최적 경도의 사육수를 선발하기 위해 수행되었다.

### 재료 및 방법

본 실험에 사용한 4종의 국내산 물벼룩은 *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, 모이나물벼룩(*Moina macrocopa*), 긴눈시모물벼룩(*Simocephalus vetulus*)으로 모두 조선대학교에서 분양을 받았으며, 국내산 물벼룩의 사육조

\*연락처

Table 1. Preparation of synthetic freshwater using reagent grade chemicals (USEPA Water Quality Criteria)

Water type	Reagent added (mg L <sup>-1</sup> )				Final water quality		
	NaHCO <sub>3</sub>	CaSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	MgSO <sub>4</sub>	KCl	pH	Hardness	Alkalinity
VSW <sup>a)</sup>	12.0	7.5	7.5	0.5	6.4-6.8	10-13	10-13
SW <sup>b)</sup>	48.0	30.0	30.0	2.0	7.2-7.6	40-48	30-35
MHW <sup>c)</sup>	96.0	60.0	60.0	4.0	7.4-7.8	80-100	60-70
HW <sup>d)</sup>	192.0	120.0	120.0	8.0	7.6-8.0	160-180	110-120
VHW <sup>e)</sup>	384.0	240.0	240.0	16.0	8.0-8.4	280-320	225-245

<sup>a)</sup>VSW: very soft water, <sup>b)</sup>SW: soft water, <sup>c)</sup>MHW: moderately hard water, <sup>d)</sup>HW: hard water, <sup>e)</sup>VHW: very hard water.

건과 국제적으로 공인된 시험법과의 비교를 위해 국제표준종인 *Daphnia magna*를 한국화학연구소에서 분양받아 사용하였다.

사육온도를 일정하게 유지하기 위해 20°C로 고정해 놓은 소형 water bath 안에 사육용기를 놓았으며, 이때 수온은 20±1°C, 광조건 16시간(500~800 Lux), 암조건 8시간으로 하였다. 실험에 사용할 생후 24시간 이전의 어린 물벼룩을 수확하기 위해 실험 1일전에 어미를 사육하고 있는 용기에 들어있는 어린 물벼룩을 완전히 제거하고 다음날 태어난 물벼룩만을 수집하여 사용하였다.

먹이로는 *Chlorella vulgaris*를 실험실에서 대량배양한 후 농축하여 냉장보관하면서 매일 2.5x10<sup>5</sup>~5x10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup>의 농도로 투여하였는데 어린 개체사육에는 먹이의 농도를 낮게 하고 자랄수록 그 양을 증가시켜 최대성장을 유지하도록 하였다.

시험 물벼룩의 최적 사육수를 선정하기 위해 표 1의 방법에 따라 5종의 사육수를 조제하여 24시간 동안 강하게 폭기한 후 사용하였다. 각각의 사육수 조건마다 최소한 10마리 이상의 물벼룩을 사용하였다. 시험용기는 125 mL 유리비이커를 사용하였으며, 각 비이커에 100 mL의 사육수를 채우고 나서 태어난 지 24시간이 되지 않은 어린 물벼룩을 1마리씩 투입하였다. 사육수는 일주일에 2번 교체하였으며 시험기간은 USEPA의 *D. magna* 번식독성시험법에서 제시하는 기간인 21일로 하였으나 *M. macrocopa*는 평균수명이 26°C±2°C조건에서 11.6일로 (Chu et al., 1997) 다른 종에 비해 매우 짧기 때문에 조사기간을 10일로 하였다. 매일 시험 물벼룩의 탈피여부, 출산한 어린 물벼룩의 수, 어미의 치사유무, 이상증상 등을 관찰하였고 출생한 어린 물벼룩은 마리수를 계수한 후 시험수조에서 제외시켰다. 시험 최종일에는 각 물벼룩의 체장을 해부현미경으로 측정하였는데 Villarroel 등(2003)이 조사한 기준에 의거하여 머리의 정수리부분에서부터

꼬리가시의 기저부까지 길이를 조사하였다.

우리나라 강물의 일반적인 경도를 확인하기 위하여 한강, 금강, 낙동강, 영산강, 만경강의 본류지점의 물을 채취하여 실험실내에서 EDTA 적정법을 사용하여 측정하였다(Kim, 2006).

## 결과 및 고찰

사육수의 경도 조건에 따른 *Daphnia sp.*의 생육 영향

사육수의 경도가 *Daphnia sp.*의 생육에 미치는 영향을 보면(표 2) 21일간의 생존율이 HW에서는 75%를 보였으나 나머지 4종의 사육수에서는 100%의 생존율을 나타내었다. 첫 출산소요일은 VHW에서는 10일이 걸렸으나 다른 사육수에서는 7.0~8.8일이 걸려 약간 빨라지는 경향을 보였다. 21일간의 출산수는 VHW에서는 49.7마리로 가장 낮았으며 VSW에서 123.5마리로 그 다음으로 낮았으며 나머지 3종의 사육수는 141.2~163.3마리로 출산수가 비슷하였다. 출산회수는 VHW에서 3회 출산으로 가장 적었으며 나머지 사육수에서는 6.0~7.0회로 큰 차이는 없었다. 한번 출산시에 생산된 새끼 물벼룩의 수는 VHW와 VSW에서 18.4와 17.6마리이었고 나머지는 20마리 이상으로 양호하였다. 21일 후의 체장은 3.0~3.3 mm로 비슷하였다. 탈피횟수는 VHW의 9회가 가장 적었으며 나머지 사육수는 약 10.8~12.5회의 탈피를 하였다.

*Daphnia sp.*는 VHW에서 생육이 현저히 저조한 반면 VSW에서는 초기에는 빠른 생육을 보였으나 10일 이후부터는 새끼의 출산수가 낮아지며, 이외의 3종 사육수는 대체로 지속적인 출산을 하여 양호한 생육을 보인 것으로 나타났다. VSW를 제외한 나머지 배양액에서는 죽은 새끼가 출산되었으나 그 수가 많지 않았고 첫배 출산 때 사산을 하는 경우가 대부분으로 이는 일반적으로 첫배에서 나온 어린 물벼룩이 건강하지 못한 경우가 많기 때문이다. 이런 이유로 OECD

Table 2. Effects of water hardness on survival, reproduction, and growth of *Daphnia* sp. during 21-day life study

Parameter	Water type				
	VHW	HW	MHW	SW	VSW
Survival rate (%)	100	75	100	100	100
<b>Reproduction</b>					
Days to first brood	10.0±1.7	8.0±0.0	7.0±0.0	8.8±2.5	7.0±0.0
Total offspring	49.7±6.7	163.3±86.4	141.2±19.5	151.3±42.1	123.5±12.0
No. of brood produced	3.0±1.0	6.0±1.0	6.4±0.5	6.0±0.8	7.0±0.0
Brood size	18.4±8.9	26.1±10.0	22.1±3.1	24.9±4.5	17.6±1.7
<b>Growth</b>					
Length (mm)	3.1±0.1	3.3±0.1	3.1±0.1	3.3±0.1	3.0±0.0
Molting time	9.0±1.0	11.3±0.6	10.8±0.8	11.3±0.5	12.5±0.7
Abnormal symptom	SB <sup>a)</sup>	SB	SB	SB	-

<sup>a)</sup>Stillbirth.

Table 3. Effects of water hardness on survival, reproduction, and growth of *Daphnia obtusa* during 21-day life study

	Water type				
	VHW	HW	MHW	SW	VSW
Survival rate (%)	60	80	100	100	100
<b>Reproduction</b>					
Days to first brood	14.7±1.2	6.0±0.0	8.0±0.0	8.0±0.0	6.0±0.0
Total offspring	7.3±5.5	131.3±29.6	97.2±20.5	100.6±25.2	82.3±6.1
No. of brood produced	1.7±1.2	7.5±0.6	6.0±0.7	6.0±1.0	6.5±0.6
Brood size	5.1±5.2	17.5±3.4	16.3±3.2	17.1±4.9	12.8±2.0
<b>Growth</b>					
Length (mm)	2.2±0.3	2.6±0.1	2.5±0.1	2.6±0.2	2.6±0.2
Molting time	9.7±0.6	10.0±0.8	10.2±0.4	10.0±0.0	10.0±0.0
Abnormal symptom	SB <sup>a)</sup> , SC <sup>b)</sup>	SB, SC	SB	SB	SB

<sup>a)</sup>Stillbirth, <sup>b)</sup>Swim on carrying.

의 *Daphnia magna* 번식독성시험법에서는 반드시 첫 배에서 나온 어린 물벼룩을 실험에 사용하지 말도록 규정하고 있다(OECD, 1998).

사육수의 경도 조건에 따른 *D. obtusa*의 생육 영향

표 3은 사육수의 경도가 *D. obtusa*의 생육에 미치는 영향을 나타낸 것으로 21일간의 생존율이 VHW에서는 60%, HW에서는 80%를 보였으나 나머지 3종의 사육수에서는 100%의 생존율을 나타내었다. 첫 출산 소요일은 VHW에서는 14일이 걸렸으나 다른 사육수에서는 6.0~8.0일이 걸려 약간 빨라지는 경향을 보였다. 21일간의 출산수는 VHW에서 7.3마리로 가장 낮았으며 VSW에서 82.3마리로 그 다음으로 낮았으며 나머지 3종의 사육수는 97.2~131.3마리로 출산수가

비슷하였다. 출산회수는 VHW에서 1.7회 출산으로 가장 적었으며 나머지 사육수에서는 6.0~7.5회로 큰 차이는 없었다. 한번 출산시에 생산된 새끼 물벼룩의 수는 VHW, VSW에서는 각각 5.1, 12.8마리로 적었고 나머지는 16.3~17.5마리 정도로 양호하였다. 21일 후의 체장은 VHW의 2.2 mm를 제외하면 나머지 사육수에서 2.5~2.6 mm로 비슷하였다. VHW와 HW에서 시험 물벼룩이 꼬리에 먹이로 준 녹조류를 달고 다니는 것이 관찰되었는데 이는 물벼룩의 건강이 좋지 않아 활발한 운동성을 보여주지 못할 때 먹이로 준 녹조류가 물벼룩 꼬리에 길게 붙어 따라다니는 현상으로 물벼룩의 건강상태를 쉽게 확인할 수 있는 행동학적 특성중 하나이다.

Table 4. Effects of water hardness on survival, reproduction, and growth of *Moina macrocopa* during 10-day life study

Parameter	Water type				
	VHW	HW	MHW	SW	VSW
Survival rate (%)	100	100	100	100	40
<b>Reproduction</b>					
Days to first brood	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
Total offspring	77.6±4.0	91.5±5.8	113.0±6.8	60.8±6.8	53.8±27.8
No. of brood produced	4.2±0.4	4.0±0.0	4.4±0.5	4.0±0.0	3.2±1.3
Brood size	18.7±2.4	22.9±1.5	26.0±3.4	15.2±1.7	15.6±5.1
<b>Growth</b>					
Length (mm)	1.8±0.0	1.9±0.0	1.8±0.1	1.7±0.0	1.9±0.1
Molting time	6.0±0.0	5.5±0.6	6.0±0.0	6.3±0.5	6.0±0.0
Abnormal symptom	-	-	SB <sup>a)</sup>	-	-

<sup>a)</sup>Stillbirth.

사육수의 경도 조건에 따른 *M. macrocopa*의 생육 영향

사육수가 *M. macrocopa*의 생육에 미치는 영향을 보면(표 4) 10일간의 생존율이 VSW의 40%를 제외하면 모두 100%를 나타냈으며 첫 출산까지 걸린 시간은 모든 사육수에서 4일이었다. 10일간의 총출산수는 MHW에서 가장 높은 113마리를 보였고 VSW에서는 53.8마리로 가장 낮은 출산을 보였다. 출산회수는 VHW에서 3.2회 출산으로 가장 적었으며 나머지 사육수에서는 4.0~4.4회로 큰 차이가 없었다. 한번 출산시에 생산된 새끼 물벼룩의 수는 SW, VSW, VHW에서는 15.2, 15.6, 18.7마리로 적었고 HW와 MHW에서는 각각 22.9, 26.0마리로 20마리 이상이었다. 10일 후의 체장은 1.7~1.9 mm로 경도에 따른 차이가 없었으며 탈피횟수도 5.5~6.3회로 큰 차이가 없었다. Chu 등(1997)이 *M. macrocopa*에 대한 methoprene의 영향을 조사한 연구결과를 보면 경도를 알 수 없는 오래 정지한 수돗물로 사육한 *M. macrocopa* 어미 한 마리가 평생 생산한 물벼룩수가 평균 61마리로 본 실험의 MHW에서 10일간의 총 출산수 113마리에 크게 못 미치고 SW와 VSW에서의 결과와 유사하였다. 이 결과의 차이는 온도, 먹이, 사육밀도 등 다양한 사육조건에서의 차이에서 기인한 것이지만 사육수의 경도도 지대한 영향을 미친 것으로 판단된다.

사육수의 경도 조건에 따른 *S. vetulus*의 생육 영향

사육수의 경도가 *S. vetulus*의 생육에 미치는 영향을 보면(표 5) 21일간의 생존율이 HW와 MHW에서

100%를 보였고 나머지는 모두 80%를 나타냈다. 첫 출산까지 걸린 시간은 모든 사육수에서 9일에서 10일로 비슷하였으나 21일간의 총출산수는 MHW에서 가장 높은 90.7마리를 보였고 VHW에서는 5.3마리로 가장 낮은 출산을 보였다. 출산회수는 MHW에서 6.3회로 가장 많았으며 VHW에서 1.3회 출산으로 가장 적었다. 한번 출산시에 생산된 새끼 물벼룩의 수는 SW, VHW에서 8.1, 3.4마리로 적었고 HW와 MHW에서는 14.4, 14.5마리로 양호하였다. 21일후의 체장은 HW와 MHW에서 2.4, 2.5 mm로 상대적으로 길었으며 탈피회수는 사육수 별 8~10회로 큰 차이가 없었다. VHW에서는 꼬리부위에 조류 등을 달고 유평하는 개체가 있었으며 HW에서는 죽은 새끼가 출산되었다.

표 6에서와 같이 국제적으로 통용되는 표준종인 *D. magna*의 생육에 미치는 사육수의 경도 영향을 조사한 결과를 보면 출산수 및 출산횟수에서 가장 양호한 결과를 보인 hard water가 *D. magna*의 사육수로 적합한 것으로 조사되어 미국 EPA의 *D. magna*의 독성시험법에서 제시하는 사육수 기준과 일치하였다.

이상의 결과를 종합하면 가장 높은 경도수인 280~320 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)의 hard water와 가장 낮은 경도수인 10~13 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)의 soft water에서는 국내산 물벼룩이 성장과 번식이 대체적으로 저해됨을 보여주고 있어 사육수의 경도가 국내산 물벼룩의 생장 및 생존에 매우 중요한 영향을 미치고 있음을 확인하였다. 수질 경도의 저하에 따라 체형이 큰 수서무척추동물인 갑각류(crustaceans)에서 작은 윤충류(rotifers)로 동물성플랑크톤의 군집구조가 전환되며 이는 갑각류

Table 5. Effect of water hardness on survival, reproduction, and growth of *Simocephalus vetulus* during 21-day life study

Parameter	Water type				
	VHW	HW	MHW	SW	VSW
Survival rate (%)	80	100	100	80	80
<b>Reproduction</b>					
Days to first brood	10.3±0.5	9.0±1.0	9.0±0.0	10.3±0.5	10.5±0.6
Total offspring	5.3±6.7	76.7±3.5	90.7±9.1	27.8±21.5	71.0±22.5
No. of brood produced	1.3±0.5	5.3±0.6	6.3±0.6	3.0±1.2	4.5±0.6
Brood size	3.4±3.1	14.4±1.0	14.3±0.9	8.1±4.4	15.5±3.2
<b>Growth</b>					
Length (mm)	1.8±0.2	2.4±0.1	2.5±0.1	2.1±0.1	2.1±0.0
Molting time	8.0±1.4	9.7±1.2	10.0±0.0	9.3±0.6	9.5±1.0
Abnormal symptom	SC <sup>a)</sup>	SB <sup>b)</sup>	-	-	-

<sup>a)</sup>Swim on carrying, <sup>b)</sup>Stillbirth.

Table 6. Effects of water hardness on survival, reproduction, and growth of *Daphnia magna* during 21-day life study

Parameter	Water type				
	VHW	HW	MHW	SW	VSW
Survival rate (%)	100	100	100	100	100
<b>Reproduction</b>					
Days to first brood	7.6±0.5	9.0±0.0	8.0±0.0	7.6±0.5	8.0±0.0
Total offspring	114.6±11.1	142.0±36.9	99.6±3.3	94.2±15.5	112.8±8.2
No. of brood produced	5.4±0.5	6.8±0.8	4.8±0.8	5.2±0.4	5.2±0.4
Brood size	21.3±1.9	20.7±3.3	21.2±3.4	24.5±4.6	21.8±2.3
<b>Growth</b>					
Length (mm)	4.4±0.1	4.4±0.1	4.5±3.4	4.4±0.1	4.2±0.1
Molting time	9.0±0.7	9.0±0.7	9.4±0.9	9.2±0.4	9.6±0.5
Abnormal symptom	-	-	do <sup>a)</sup>	do	-

<sup>a)</sup>Stillbirth.

의 칼슘부족과 관련이 있다(Hessen *et al.*, 2000)고 하였으나, 본 연구의 결과에서는 경도를 결정하는 주요 이온인 칼슘과 마그네슘이 과량으로 들어간 고도의 경도수에서도 국내산 물벼룩의 성장과 번식이 저해됨을 확인할 수 있었다.

결론적으로 국내산 물벼룩은 적당한 hard water와 soft water에서 가장 우수한 생육을 보였으나 그림 1에서 보는 바와 같이 우리나라 강물의 경도가 평균 78.3 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)이었으며 조사한 모든 강물시료가 60.2~127.2 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)의 경도 범위에 있었던 점을 감안하여 우리나라 물벼룩의 실내사육을 위한 최적 사육수로 경도가 80~100 mg L<sup>-1</sup>(CaCO<sub>3</sub>)인 hard water를 추천하고자 한다.

본 연구의 결과와 함께 기존에 발표된 한국산 물벼룩의 최적 먹이조건과 온도조건에 관한 연구의 결과(김 등, 2004; 김 등, 2005)를 적용한다면 국내산 물벼룩의 생태독성실험을 위한 안정적인 실내사육법이 될 것으로 기대된다.

## 인용문헌

- Baer, K. N. and C. E. Goulden (1998) Evaluation of a high-hardness COMBO medium and frozen algae for *Daphnia magna*. *Ecotox. Environ. Safe* 39:201~206.
- Chu, K. H., C. K. Wong and K. C. Chiu (1997) Effects of the insect growth regulator (S)-methoprene on

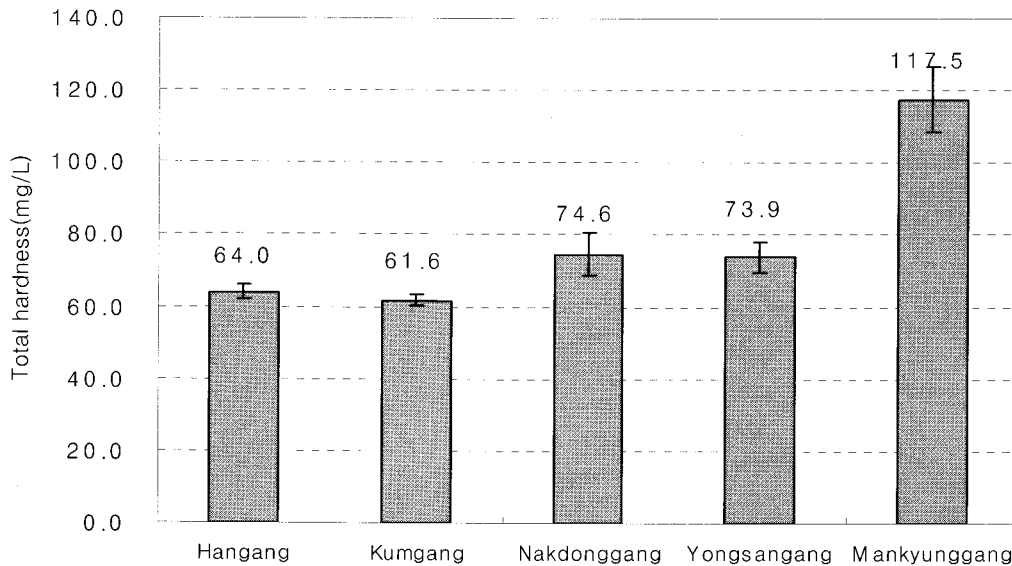


Fig 1. Total hardness of surface water sampled from five rivers in Korea.

survival and reproduction of the freshwater cladoceran *Moina macrocopa*. *Environmental Pollution* 96:173~178.

Elendt, B. P. and W. R. Bias (1990) Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing : Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*. *Water Res.* 24:1157~1167.

Hessen, D. O., N. E. W. Alstad and L. Skardal (2000) Calcium limitation in *Daphnia magna*. *J. Plankton Research* 22(3):553~568.

Kim B. S. (2006) Determination of total hardness in laboratory culture waters in environmental studies. NIAST SOP HSD/ERA-004.

Koivisto, S. (1995) Is *Daphnia magna* an ecologically representative zooplankton species in toxicity tests? *Environmental Pollution* 90:263~267.

Leeuwen C. J. and J. L. M. Hermens (1995) Risk assessment of chemicals: an introduction. Kluwer academic publisher. Netherlands.

OECD (1998) 211 *Daphnia magna* reproduction test, OECD guidelines for testing of chemicals.

USEPA (1992a) OPPTS 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity test, freshwater Daphnids, Ecological

Effects Test Guidelines.

USEPA (1992b) OPPTS 850.1300 Daphnid chronic toxicity test, Ecological Effects Test Guidelines.

Villarroel M. J., E. Sancho, M. D. Ferrando and E. Andreu (2003) Acute, chronic and sublethal effect of the herbicide propanil on *Daphnia magna*. *Chemosphere* 53:857~864.

김병석, 박연기, 신진섭, 김진화, 안용준 (2004) 한국산 물벼룩의 먹이조건별 번식영향. *농약과학회지* 8(2): 117~128.

김병석, 박연기, 박경훈, 신진섭, 김진화, 안용준 (2005) 표준생태독성시험법 개발을 위한 한국산 물벼룩의 최적사육온도 구명. *농약과학회지* 9(3):221~230.

김일희 (1988) 한국 담수산 물벼룩류에 대한 검색표. *한국동물분류학회지 특간 제 2호*, 43~65.

박영규 (2004) 물의 경도가 알코올발효에 미치는 영향 연구-오존의 영향을 중심으로. *한국생물공학회지* 19(2):98~103.

윤성명 (1993) 한국산 새각류(갑각 상강, 새각 강)의 계통분류 및 분자진화에 관한 연구. *서울대학교 박사학위논문*.

---

**Selection of Optimal Culture Media for Developing Standard Ecological Toxicity Test Methods using Korean Freshwater Cladocera**

Byung-Seok Kim\*, Yoen-Ki Park, Kyung-Hun Park, Jin-Kyung Kim, Jin-Sup Shin, Jin-Hwa Kim, Seong Myeong Yoon<sup>1</sup>, Young-Joon Ahn<sup>2</sup> (*National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA*, <sup>1</sup>*Department of Biology education, Chosun University*, <sup>2</sup>*School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University*)

**Abstract :** The purpose of the current study was to develop a standard method to assess the ecological effect of pesticides using the representative Korean freshwater cladocerans. The indigenous cladocerans, *Daphnia obtusa*, *Daphnia* sp., *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus* and *Daphnia magna* formally endorsed by the major international organizations were tested to select optimal culture media in laboratory condition. All of the Korean water flea tested showed good growth and fecundity in the moderately hard water ( $\text{CaCO}_3$  ranged 80 to 100 mg  $\text{L}^{-1}$ ) and soft water ( $\text{CaCO}_3$  ranged 40 to 48 mg  $\text{L}^{-1}$ ). However, considering that the total hardness of fresh water collected from 5 rivers ranged from 60.2 to 127.2 mg  $\text{L}^{-1}$  ( $\text{CaCO}_3$ ) and Ca deficiency could be a major determinant of species success and community structure among crustacean zooplankton, the present study suggests that the optimal water hardness for growing *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa* and *Simocephalus vetulus* is 80~100 mg  $\text{L}^{-1}$  of  $\text{CaCO}_3$ .

Key words : culture medium, water hardness, reproduction, cladocera

---

\*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0506, E-mail : kbs2000@rda.go.kr)