

물벼룩을 이용한 농약의 급성 독성에 관한 연구

이 찬 원 · 류 재 영 · 임 경 원
경남대학교 환경공학과

(2006년 5월 12일 접수; 2006년 11월 21일 채택)

Acute Toxicity Test of Agricultural Chemicals to Water Fleas

Chan-Won Lee, Jae-Young Ryu and Kyeong-Won Lim

Department of Environmental Engineering, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

(Manuscript received 12 May, 2006; accepted 21 November, 2006)

There are concerns that chemical residues could harm the consumer on the environment, although 50 to 80% of the crops would be destroyed by pests and others without agrochemicals. Environmental fate and ecotoxicity studies are usually carried out to assess the impact on the human and the environment.

A comparison of the *Daphnia magna* and *Simocephalus mixtus* toxicity was performed to study the relative sensitivities and discrimination abilities to agriculture chemicals.

The species of *Simocephalus mixtus* was more sensitive to agriculture chemicals than *Daphnia magna*. *Simocephalus mixtus* was approved to be a water flea in determining insecticide and pesticide toxicity by heart-beat rate in a consistency and repeatability.

The order of acute toxicity to water flea *Daphnia magna* for ecotoxicity test was carbaryl>benomyl>amtirole with both *Daphnia magna* and *Simocephalus mixtus*. The heartbeat pattern after the exposure to agrochemicals was different from that of exposure to heavy metals.

Agrochemical lethal concentration test with heartbeat rate measurement was found to be more appropriate than inhibition concentration test with respect to toxicological endpoint.

Key Words : *Daphnia magna*, *Simocephalus mixtus*, Heartbeat rate, Acute toxicity, Agriculture chemicals

1. 서 론

생태계에 유입되는 화학물질의 종류가 많고, 그 특성이 다양하여 모든 물질을 화학적으로 분석하는 것은 매우 어렵다. 또한 독성자료가 부족하기 때문에 각 물질별 규제치를 설정하기가 쉽지 않다. 생태계에서 화학물질이 생물에 미치는 영향은 복합적으로 나타나기 때문에, 단일 물질의 자료만으로는 그 물질의 영향을 정확하게 평가하는 것이 어렵다. 따라서 생물검정은 수계에 존재하는 잠재적인 독성여부를 결정하는데 많은 도움을 줄 수 있으며, 화학적 분석방법의 보완방법으로 사용될 수 있다. 생물검정은 어떤 물질이 시험 생물체의 신진대

사, 번식의 감소, 생체기능의 상실이나 치사 등에 미치는 영향을 조사 분석함으로써 오염물질의 유해성을 검사하는 검정방법이다¹⁾.

독성물질의 영향에 관한 연구나 조사에 많은 생물체가 생물검정에 이용되고 있다. 미국 EPA에서는 물벼룩이 실험실 환경에 쉽게 적응하고, 짧은 생활사를 가지며, 독성물질에 대한 뚜렷한 감수성을 가진다는 장점 때문에 유해물질의 독성 시험종으로 유용하게 사용되어져²⁻³⁾ 왔다.

물벼룩 및 생물독성에 관한 중급속의 자료는 국·내외적으로 많은 연구가 있었고 EC₅₀과 IC₅₀ 등의 값도 이미 많은 연구에서^{1,5-10)} 다루었다. 현재 물벼룩 독성연구에 활용하는 국내의 연구현황을 살펴보면 주요 4대강의 상수원 등에서 물벼룩, 물고기 등을 이용한 독성물질조기경보체계가¹¹⁾ 시험 운영중이다. 최근에는 낙동강 수계 및 하천수계의 독성시험에 물벼룩을 이용하는 등의 다각도의 연

Corresponding Author : Chan-Won Lee, Department of Environmental Engineering, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea
Phone: +82-55-249-2988
E-mail: water@kyungnam.ac.kr

구가^{12,14,17,18)} 진행중이나, 아직 국내 환경에 대한 기초 자료가 부족한 실정이다. 특히 농약의 독성에 관해서는 생산 및 사용이 금지된 일부 제품에 대한 연구가 대부분이기 때문에 독성에 관한 자료가 부족한 형편이다.

이에 본 연구에서는 외래종인 *Daphnia magna* (이하 *D. magna*)와 국내종인 *Simocephalus mixtus* (이하 *S. mixtus*)를 이용하여 살충제(carbaryl), 살균제(benomyl), 제초제(amitrole)가 물벼룩에 미치는 영향을 파악하고, 물벼룩 종에 따른 농약 독성의 감수성 차이를 밝히며, 심장박동의 변화와 (IC₅₀) 유영저해를(EC₅₀) 동시에 테스트하여 상호연관관계를 밝히고 그 특성을 연구하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험종

담수 무척추 동물에 속하는 *D. magna* 는 주로 호수, 강, 늪 등에서 서식하며 환경 조건에 따라 형태적인 변화를 보이는 종으로 성체가 되었을 때는 5~6mm 크기에 달한다. 돌출된 입 모양을 한 *D. magna*는 단성생식을 하지만 환경이 악화되면 양성생식을 하기도 한다¹⁾. 일반적으로 20°C에서 56일 정도 생존하며 더 낮은 온도일수록 더 오래사는 것으로 알려져 있다. 평균 7.5일후에는 성체가 되고 7~10일 후에는 첫 출산을 하기 시작하여 2~3일 마다 출산을 반복한다¹⁾.

*S. mixtus*는 물벼룩과 한국산 요술시모 물벼룩으로 크기는 0.5~2mm 정도이며 갑각의 후배각이 낮고 넓게 돌출하였고 갑각의 등쪽 가장자리의 뒷부분이 팽창하였으며, 머리의 부리에 가까운 배쪽 가장자리 부위가 깊게 함몰되어 있고 길쭉한 모양의 단안을 가지며, 후복부 발톱의 기부에 빗모양의 가시군이 없다는 점에서 근연종들과 구별된다¹³⁾.

2.1.1. 실험종의 배양

물벼룩의 성장, 번식, 생존은 먹이의 양과 질에 의해 아주 많은 영향을 받는다. 배양 조건은 Table 1과 같으며, 먹이는 한 종류의 먹이보다는 섞어 먹

이는 것이 성장에 좋은 영향을 주기 때문에¹⁴⁾ 본 연구에서는 접종 3일 후의 *Senedesmus sp.*와 *Chlorella*를 1:1 비율로 혼합하여 약 1마리당 약 10⁴ cell/mL로 공급하였다. *Senedesmus sp.*는 본 실험실에서 배양하였으며 *Chlorella*는 시중에서 구입하여 사용하였다. 물벼룩의 최저 용존산소농도는 3mg/L이며, 6mg/L가 되었을 때 최상의 상태를 보이므로 용존산소 농도를 6mg/L로 유지하였다.

2.1.2. 배양액 조제

배양액의 조제는 USEPA (1993)의 Hard constituted Water Medium 방법에 의하여 행하였다. 배양액의 조제방법은 Table 2의 방법에 따라 제조된 stock solution No 1~No 4를 각각 20mL, 20mL, 40mL, 1000mL를 취하여 혼합한 후 증류수를 넣어 18.2 L로 하여 24시간동안 강력히 폭기 하였다. *D. magna*의 경우 만들어진 배양액 그대로를 사용하였으나 *S. mixtus*는 증류수로 희석하여 경도가 80~100 mg/L as CaCO₃ 되게한후 사용하였다.

2.1.3. 조류의 배양

*Senedesmus sp.*의 배지는 USEPA법에 따랐으며 pH 7.5±0.1로 조정하였다. 만들어진 배양액은 고압 멸균한 멸균수를 사용하여 1mL/100mL로 접종시켜 25°C 400ft/c 아래의 형광등에서 배양하였으며, Magnetic stirrer로 교반을 시켜 조류(algae)가 정지되지 않도록 하였다.

2.2. 실험대상 물질

현재 국내에서 생산·유통되는 농약의 종류는 130여종인데 이중에는 1종의 화합물을 용제에 녹이거나 분말로 사용하는 것도 있으나, 2종 혹은 3종 이상을 섞어 사용하는¹²⁾ 것이 대부분이다. 본 실험에서는 살충제 1종(carbaryl), 살균제 1종(benomyl), 제초제 1종(amitrole)을 선택하여 실험하였다.

실험에 사용된 농약은 세계생태보전기금(WWF) 분류 내분비계장애물질 목록 67종 중 carbaryl, benomyl, amitrole이 포함되며, 일본 후생성 분류 내

Table 1. Culturing condition of *D.magna* and *S.mixtus*

	<i>D. magna</i>	<i>S. mixtus</i>
Lighting	700Lux~800Lux "Cool White" Fluorescent 16hr light : 8hr dark	700Lux~800Lux "Cool White" Fluorescent 16hr light : 8hr dark
Temperature	20°C	20°C
Hardness (mg as CaCO ₃ /L)	160~180	80~100
pH	7.6~7.8	7.6~7.8
Chamber	10 individuals/L	15individuals/L
Prey	<i>Senedesmus sp.</i> + <i>Chlorella</i>	<i>Senedesmus sp.</i> + <i>Chlorella</i>

Table 2. Hard Reconstituted Water medium³⁾

No.	Stock Solution	Preperation method
1	KCl	4g KCl / 500ml H ₂ O
2	MgSO ₄	60g MgSO ₄ / 500ml H ₂ O
3	NaHCO ₃	48g NaHCO ₃ / 500ml H ₂ O
4	CaSO ₄ · H ₂ O	2.4g CaSO ₄ · H ₂ O / 1000ml H ₂ O

분비계장애물질 목록 142종 중에도 carbaryl, benomyl, amitrole이 포함된다. 우리나라의 경우 amitrole은 환경부 유해화학물질관리법의 유독물, 노동부의 산업안전관리법에 관리대상 물질로 분류되며, benomyl은 농림부의 농약관리법, 노동부의 산업안전관리법, 보건복지부의 식품위생법에 관리대상 물질로 분류되고 있다. 사용된 농약은 순도 98% 이상의 독일제 Dr. Ehrenstorfer GmbH사의 표준시약을 사용하였으며, 대략적인 이·화학적 특성은 Table 3과 같다.

2.3. 실험방법

EC₅₀과 IC₅₀은 일반적으로 독성실험에 흔히 사용하는 치사율을 보는 LC₅₀이나 LT₅₀과는 다른 개념으로 이미 유입된 유해물질에 대해 사망이 아닌 저해성을 보는 것이다. LC₅₀이나 LT₅₀은 독성물질 처리를 규제하는 직접적인 안전농도라 할 수 없으며 치사 수준이 아닐지라도 수서생물의 생체기능을 불구로 만들거나 기능상의 장애를 줄 수도 있기 때문에 EC₅₀과 IC₅₀을 생물의 저해성 판단을 위하여 사용하였다.

2.3.1. 급성유영저해시험(EC₅₀)

물벼룩 독성시험에서 EC₅₀은 median effect concentration의 약자로서 시험물벼룩의 50%에 유영저해를 초래한 독성물질의 농도를 의미한다. 유영저해라 함은 시험 용기를 천천히 움직여도 물벼룩이 15초간 헤엄치지 못하는 경우를 말하며 촉각만 움직일 경우에도 유영저해를 당한 것으로 간주한다. 급성유영저해시험은 유해물질이 첨가된 시험수내에서 시험생물인 물벼룩의 24시간 또는 48시간 후의 유영저해 정도를 살펴보는 것이다. 본 실험에서는 48시간의 급성유영저해시험을 실시하였는데 시험의 절차등은 OECD Guideline for Testing of Chemicals 202를 기본으로¹⁶⁾ 하고, 기

타 국내외의 시험법도^{1,12)} 참고 하였다.

급성시험기간 동안 사육실 온도는 20±2℃로 유지되었고 배양액의 교환 및 먹이공급은 중단하였다. 시험전후의 pH는 7.6~7.8, 용존산소(Dissolved Oxygen)는 6이상, 광 조건은 16시간 light/8시간 dark로 유지하였다. 각 시험 농도마다 100mL 유리 비커에 희석 시험액을 넣은 후 생후 24시간 이내의 어린 물벼룩을 5개체씩 넣어 48시간 후의 유영저해수(치사포함)를 관찰 기록하였다.

본 시험의 경우 결과의 신뢰성을 위해 시험 대상물질 마다 3회 이상의 시험을 실시하여 그 평균치로서 분석결과자료로 이용하였다.

2.3.2. 심장박동(heartbeat test)을 이용한 저해시험(IC₅₀)

IC₅₀은 Inhibitor Concentration 50의 약자로서 어떠한 물질에 대한 저해효과가 50% 정도를 나타낼 때의 저해농도를 말한다. 각 시험 농도마다 100mL 유리비커에 희석 시험액을 넣은 후 생후 24시간 이내의 어린 물벼룩을 5개체씩 넣었으며, 동영상 촬영을 위해 24시간 이전의 어린물벼룩을 slide glass에 올려놓고 물벼룩의 움직임을 없애기 위해 소량의 액만 남긴 뒤 현미경(Axiolab, Zeiss)에 장착된 디지털카메라(DSC-F717, Sony)를 사용하여 동영상 촬영을 하였다. 각각 다른 5개의 농도에 물벼룩을 노출시켜 1시간, 6시간, 24시간, 48시간 후의 심장박동변화를 알아보기 위해 촬영된 동영상을 Adrenalin(프로그램) 0.2배속으로 관찰하였다. 그의 실험 조건은 급성유영저해시험 조건과 동일하게 실시하였다.

2.3.3. 실험액의 제조

농약의 대부분이 물에 대한 용해도가 낮기 때문에 유기용매에 녹여 사용하는 경우가 많다. 본 연구에서는 2mL의 아세톤을 용매로 농약을 녹인 후 시험농도까지는 배양액으로 희석하여 사용하였다. 이때 용매로 사용한 아세톤이 물벼룩에 미치는 영향을 고려하기 위하여 2mL 아세톤을 배양액으로 희석하고, 다시 농도를 20µg/L가 되도록 희석하여 아세톤의 영향이 전혀 없는 대조군과 48시간 후의 변화를 관찰 하였다. 그 결과 *D. magna*의 경우 대조군과 비교했을 때 특별한 점은 관찰 되지 않았으나, *S. mixtus*의 경우 시험에 사용한 20마리중 19마리

Table 3. Physical and chemical characters of agricultural chemicals

Agricultural chemicals	Classification	Chemical formula	LD ₅₀ Rats(mg/kg)	Solubility in water
Carbaryl	insecticide	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	>9590	0.04g/L at 30℃
Benomyl	germicide	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₃	850	0.004g/L at 25℃
Amitrole	herbicide	C ₂ H ₄ N ₄	1100-24600	260g/L at 25℃

가 사망함을 알 수 있었다. 그래서 본 연구에서는 용매 사용으로 인한 영향을 무시할 수 없어 100% 물을 사용하여 25℃ 및 30℃의 온도에서 48시간 동안 magnetic stirrer를 사용하여 교반시켜 용해하였다. carbaryl의 경우 30℃ 물에 대한 용해도가 0.04g/L 이고, 25℃에서 물에 대한 용해도가 benomyl 0.004g/L, amitrole 280g/L 이므로 carbaryl은 0.02g을 증류수를 사용하여 1L에 녹였으며, benomyl은 0.002g/L로, amitrole은 20g/L로 녹인 다음 실험 농도까지의 희석은 배양액으로 하였다.

2.3.4. 실험농도의 결정

급성독성 실험의 농도 설정을 위하여 예비실험을 실시하고, 결과에 근거하여 100% 물벼룩에 저해가 관찰되는 최저농도와 저해가 전혀 관찰되지 않는 농도사이를 본 실험의 농도범위로 설정 하였다. 예비실험을 통해 설정된 농도범위는 *D. magna*의 경우 carbaryl 10~100µg/L, benomyl 30~130µg/L, amitrole 1~10mg/L 이고, *S. mixtus*의 경우 carbaryl 0.1~4µg/L, benomyl 0.1~4µg/L, amitrole 4~70 µg/L 이다. 설정된 각 농도의 범위를 다시 5단계로 나누어 본 실험을 실시하였으며, 동일한 실험을 3회 실시하여 평균값으로 EC₅₀ 및 IC₅₀ 산정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 급성유영저해실험 결과

3.1.1. Carbaryl

Carbaryl을 *D. magna* (10~100µg/L)와 *S. mixtus* (0.1~4µg/L)의 각 농도 구간에서의 실험 결과 *D. magna*의 경우 50µg/L 이상의 농도에서는 모든 물벼룩이 유영저해 영향을 받아 실험의 농도 구간을 10~100µg/L에서 10~50µg/L으로 조정하여 급성유영저해실험을 실시하였고 그 결과를 Table 4, 5에 나타내었다.

*D. magna*의 경우 10µg/L 에서는 17%가 저해를 받았고 40µg/L 이상에서는 100% 저해를 받았다. *S. mixtus*의 경우 0.1µg/L 에서는 27%가 저해를 받았으며 4µg/L 에서는 100% 저해를 받았다. 국내종인 *S. mixtus*가 carbaryl의 독성에 민감한 것을 알 수 있다.

3.1.2. Benomyl

Benomyl을 *D. magna* (30~130mg/L)와 *S. mixtus* (0.1~4µg/L)의 각 농도 구간에서 급성유영저해 실험을 한 결과를 Table 6, 7에 나타내었다.

*D. magna*의 경우 30µg/L 에서는 13%가 저해를 받았고 130µg/L 이상에서는 90% 저해를 받았다. *S. mixtus*의 경우 0.1µg/L 에서는 20%가 저해를 받았으며 4µg/L 에서는 83% 저해를 받았다. 역시

Table 4. Acute immobilization test of carbaryl in *D. magna*

Contents	Concentration(µg/L)					
	0	10	20	30	40	50
unaffected average individuals	30	25	18	5	0	0
Rate of immobilization(%)	0	17	40	83	100	100

Table 5. Acute immobilization test of carbaryl in *S. mixtus*

Contents	Concentration(µg/L)					
	0	0.1	0.4	0.7	1	4
unaffected average individuals	30	22	16	9	4	0
Rate of immobilization(%)	0	27	47	70	87	100

Table 6. Acute immobilization test of benomyl in *D. magna*

Contents	Concentration(µg/L)					
	0	30	50	80	100	130
unaffected average individuals	30	26	22	14	10	3
Rate of immobilization(%)	0	13	27	53	67	90

Table 7. Acute immobilization test of benomyl in *S. mixtus*

Contents	Concentration(µg/L)					
	0	0.1	0.4	0.7	1	4
unaffected average individuals	30	24	20	14	11	5
Rate of immobilization(%)	0	20	30	53	63	83

carbaryl과 마찬가지로 국내종인 *S. mixtus*가 benomyl의 독성에 민감한 것을 알 수 있다.

3.1.3. Amitrole

Amitrole을 *D. magna* (1~10mg/L)와 *S. mixtus* (4~70µg/L)의 각 농도 구간에서 급성유영저해 실험을 한 결과를 Table 8, 9에 나타내었다.

*D. magna*의 경우 1mg/L 에서는 10%가 저해를 받았고 10mg/L 이상에서는 77% 저해 받았다. *S. mixtus*의 경우 4µg/L 에서는 23%가 저해를 받았으며 70µg/L 에서는 77% 저해 받았다. carbaryl, benomyl과 마찬가지로 국내종인 *S. mixtus*가 amitrole의 독성에 민감한 것을 알 수 있다.

3.1.4. 농약에 대한 EC₅₀

본 연구의 EC₅₀은 Microsoft Excel 통계 프로그램으로 구하였으며, 각 농약에 대한 *D. magna*와 *S. mixtus*의 EC₅₀은 Table 10에 나타내었다. EC₅₀을 통해 나타난 물벼룩에 미치는 농약 독성은 중예

Table 8. Acute immobilization test of amitrole in *D. magna*

Contents	Concentration(mg/L)					
	0	1	3	5	8	10
unaffected average individuals	30	27	23	19	13	7
Rate of immobilization(%)	0	10	23	37	57	77

Table 9. Acute immobilization test of amitrole in *S. mixtus*

Contents	Concentration($\mu\text{g/L}$)					
	0	4	7	10	40	70
unaffected average individuals	30	23	19	15	11	7
Rate of immobilization(%)	0	23	36	50	63	77

Table 10. EC_{50} values for agricultural chemicals using *D. magna* and *S. mixtus*

Agricultural chemicals	<i>D. magna</i>	<i>S. mixtus</i>
	EC_{50} ($\mu\text{g/L}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/L}$)
Carbaryl	18.81	0.39
Benomyl	68.97	0.71
Amitrole	5.81 (mg/L)	15.47

관계없이 carbaryl이 가장 강하고 그 다음이 benomyl, amitrole 순이었다. *D. magna*와 *S. mixtus*의 EC_{50} 을 비교 했을 때 국내종인 *S. mixtus*가 *D. magna*보다 그 값이 현저하게 낮았다.

3.2. 심장박동(Heartbeat test)을 이용한 저해실험 결과

3.2.1. Carbaryl

Carbaryl을 *D. magna* (10~100 $\mu\text{g/L}$)와 *S. mixtus* (0.1~4 $\mu\text{g/L}$)의 각 농도 구간에서 시간에 따른 심장 박동의 변화를 측정 한 결과를 Fig. 1, 2에 나타 내었다.

*D. magna*는 노출 1시간 후에 심장박동수가 조금 증가하였다가 6시간 이후부터 감소하는 경향을 보였으며, *S. mixtus*는 노출 후 꾸준히 감소하는 경향을 보였다.

*D. magna*는 carbaryl의 농도가 0 $\mu\text{g/L}$ 일때 심장 박동수가 조금씩 감소하여 48시간이 경과한 후에 10%가 감소하였는데 먹이 공급의 중단으로 인한 박동수 감소라 판단된다. carbaryl의 농도가 10 $\mu\text{g/L}$ 일때 시간에 따른 심장박동의 변화를 대조군과 비교할 때 큰 차이를 보이지 않았으나, 농도가 30 $\mu\text{g/L}$ 이고 노출 후 48시간이 경과 하였을 때 박동수는 초기보다 25% 감소하였다. carbaryl의 농도가

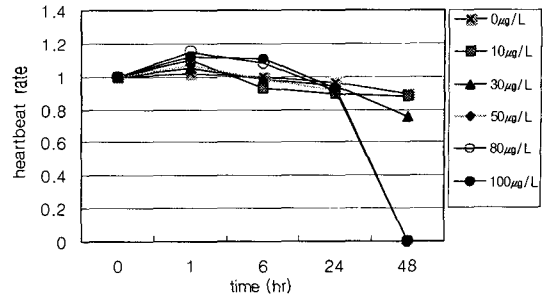


Fig. 1. *D. magna* heartbeat change by time and concentration exposure to carbaryl.

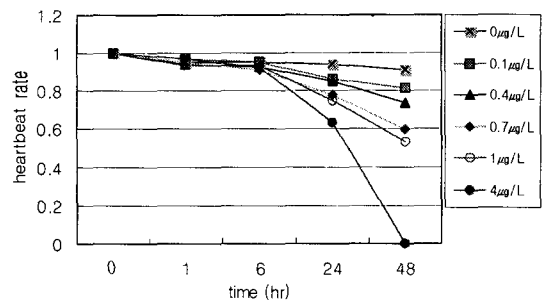


Fig. 2. *S. mixtus* heartbeat change by time and concentration exposure to carbaryl.

50 $\mu\text{g/L}$ 이상 일 때는 사망하여 심장박동을 측정할 수 없었다.

*S. mixtus*의 먹이 공급 중단으로 인한 심장 박동수의 감소는 9%였다. carbaryl의 농도가 0.1 $\mu\text{g/L}$ 이고 노출 후 48시간이 경과 하였을 때 박동수는 초기보다 19% 감소하였고, 0.4 $\mu\text{g/L}$ 일 때 27% 감소, 0.7 $\mu\text{g/L}$ 일 때 40% 감소, 1 $\mu\text{g/L}$ 일 때는 47% 감소하였으며, 7 $\mu\text{g/L}$ 일 때는 사망하여 심장박동을 측정할 수 없었다.

3.2.2. Benomyl

Benomyl을 *D. magna* (30~130 $\mu\text{g/L}$)와 *S. mixtus* (0.1~4 $\mu\text{g/L}$)의 각 농도 구간에서 시간에 따른 심장 박동의 변화를 측정 한 결과는 Fig. 3, 4에 나타내었다.

Benomyl에 노출된 두 종류의 물벼룩은 carbaryl에 노출된 것과 비슷한 경향으로 나타났으며, *D. magna*는 benomyl에 노출 후 48시간 경과 하였을 때 농도 100 $\mu\text{g/L}$ 에서 심장박동수가 32% 감소하였으며, 130 $\mu\text{g/L}$ 일 때는 사망하여 심장박동을 측정할 수 없었다.

*S. mixtus*도 노출 후 48시간이 경과 하였을 때 benomyl 농도 1.0 $\mu\text{g/L}$ 에서 심장박동수가 39% 감소하였으며, 4.0 $\mu\text{g/L}$ 일 때는 44% 감소하였다.

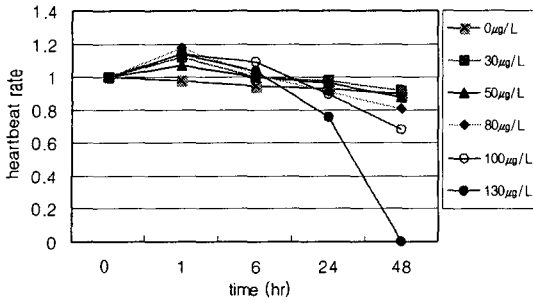


Fig. 3. *D. magna* heartbeat change by time and concentration exposure to benomyl.

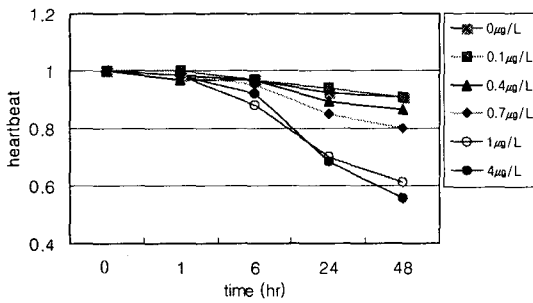


Fig. 4. *S. mixtus* heartbeat change by time and concentration exposure to benomyl.

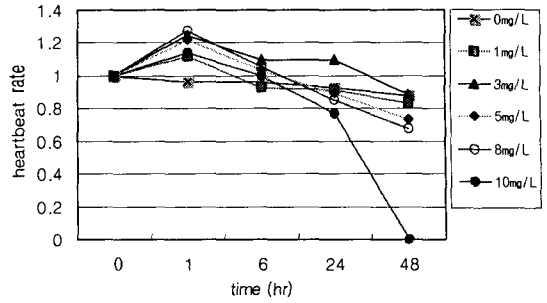


Fig. 5. *D. magna* heartbeat change by time and concentration exposure to amitrole.

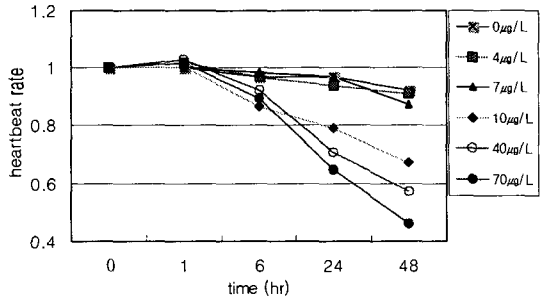


Fig. 6. *S. mixtus* heartbeat change by time and concentration exposure to amitrole.

3.2.3. Amitrole

Amitrole을 *D. magna* (1~10mg/L)와 *S. mixtus* (4~70µg/L)의 각 농도 구간에서 시간에 따른 심장 박동의 변화를 측정된 결과는 Fig. 5, 6에 나타내었다.

마찬가지로 carbaryl과 benomyl에 노출된 것과 비슷한 경향으로 나타났다. *D. magna*는 amitrole에 노출 후 48시간이 경과 하였을 때 80mg/L의 농도에서 박동수가 33% 감소하였으며, 100mg/L 일 때는 사망하여 심장박동을 측정할 수 없었다.

*S. mixtus*도 amitrole에 노출 후 48시간이 경과 하였을 때 농도 40µg/L에서 박동수가 43% 감소하였으며, 70µg/L 일 때는 54% 감소하였다.

3.2.4. 농약에 대한 IC₅₀

Table 12에서 보는바와 같이 중금속에 노출된 물벼룩의 심장박동은 농도에 따라 약간의 차이는 보였지만 현저하게 그 수가 감소하여 반 이상으로 줄어드는 경향을¹⁾ 보이는 반면, Fig. 1~6에서 보았듯이 농약에 노출된 물벼룩은 사망하기 전까지 박동수가 반 이하로 줄어드는 경향을 찾아보기 힘들었다. 결과적으로 본 연구에서는 24시간 IC₅₀과 48시간 IC₅₀을 정확하게 구하는 것은 힘들었다. IC₅₀이 사망하기 이전에 어떤 물질이 미치는 저해 영향을 파악하기 위한 것이므로 본 연구에서 구한

48시간 IC₅₀은 큰 의미를 부여하기 힘들며 오히려 치사수준에 더욱 가까운 값이라 판단된다.

Table 11에서 보는바와 같이 IC₅₀을 통해 나타난 물벼룩에 미치는 농약 독성은 종에 관계없이 EC₅₀과 같은 경향으로 carbaryl이 가장 강하고, 그 다음이 benomyl, amitrole 순이었다. *D. magna*와 *S. mixtus*의 IC₅₀을 비교 했을때도 EC₅₀과 같은 경향으로 국내종인 *S. mixtus*가 *D. magna*보다 농약 독성에 대한 감수성이 민감하였다.

중금속에 노출 되었을때는 현저하게 박동수가 감소를 보이다가 농약에 노출 되었을 때는 감소하는 경향이 작은 것은 각 물질이 신체 기관에 미치는 영향이 다르기 때문이라고 판단된다.

4. EC₅₀, IC₅₀의 비교

중금속 및 농약에 대한 *D. magna*의 EC₅₀과 IC₅₀의 비교는 Tables 13, 14에서 보는바와 같다. 같은 종류의 중금속이나 농약일지라도 EC₅₀이나 IC₅₀의 값은 그 범위가 상당히 넓다는 것을 알 수 있다. 이것은 실험 방법이나, 실험장소, 실험 조건의 차이에서 오는 것이라 판단된다.

일반적으로 농약은 물에 대한 용해도가 낮기 때문에 유기용매를 사용하여 용해시킨다. 하지만 유

물벼룩을 이용한 농약의 급성 독성에 관한 연구

Table 11. Heartbeat test IC₅₀ values for agricultural chemicals using *D. magna* and *S. mixtus*

Agricultural chemicals	IC ₅₀ (μg/L)			
	<i>D. magna</i>		<i>S. mixtus</i>	
	24hr	48hr	24hr	48hr
Carbaryl	-	30~50	-	1~4
Benomyl	-	100~130	-	>4
Amitrole	-	8~10(mg/L)	-	>4

Table 12. Heartbeat test IC₅₀ values for heavy metal using *D. magna* and *S. mixtus*¹⁾

Heavy metal	IC ₅₀ (μg/L)			
	<i>D. magna</i>		<i>S. mixtus</i>	
	24hr	48hr	24hr	48hr
Cu	43	33	10	7
Cd	48	3	245	34
Zn	>1000	471	350	155

기용매로 인한 피해를 무시할 수 없어 농약을 유기 용매에 용해시키지 않고 100% 물로만 용해시켰기 때문에 본 연구의 EC₅₀이나 IC₅₀ 값이 타 연구의

값 보다 높게나온 이유라 하겠다.

독성물질의 유입으로 인하여 생물이 사망하거나, 사망하지 않더라도 생물의 생체기능을 불구로 만들며 기능상의 장애를 줄 수 있기 때문에 본 연구에서는 치사수준이 아닌 저해수준으로서 EC₅₀과 IC₅₀ 값을 비교했다. 하지만 심장박동을 이용한 IC₅₀ 값이 저해수준이 아닌 치사 수준에 가까웠기 때문에 두 값을 직접적으로 비교 하기는 힘들었다.

Table 12에서 보는바와 같이 심장박동을 이용한 물벼룩의 중금속 IC₅₀ 값은¹⁾ 정상적으로 구해졌기 때문에, 본 연구만으로 EC₅₀이 IC₅₀ 보다 독성물질에 더 민감한 값이라고 단정 지을 수는 없다. 직접적인 비교를 위해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요하며, 또한 실험방법이나 조건 등이 통일 되어할 것이다.

EC₅₀이나 IC₅₀을 통하여 국내종인 *S. mixtus*가 *D. magna*보다 독성물질에 대한 감수성이 민감하다는 것을 알았다. 감수성이 민감하다는 것은 독성실험에 있어 더 낮은 농도에도 감지가 가능하다는 것을 의미하므로 현재 4대강 상수원에서 사용 중인 물벼룩 *D. magna*를 국내종인 *S. mixtus*로 교체할 수 있거나 또는 동시에 사용할 수 있음을 보여주고 있다.

Table 13. EC₅₀ and IC₅₀ values for heavy metal using *D. magna*

Heavy metal	48hr EC ₅₀ (μg/L)			48hr IC ₅₀ (μg/L)	
	Jae-Won Jeong ¹⁸⁾ (2000)	K.A.C De Schampelaere ⁵⁾ (2005)	L. Twagilimana ⁶⁾ (1998)	Sang-Il Lee ⁷⁾ (1998)	Chan-Won Lee ¹⁾ (2005)
Cd	54	33~140 ^a	4,660(24hr)	41~1,900	3
Cu	30	66.8, (6~53 ^b)	10(24hr)	20~93	33
Zn	-	330, (1,833~2,909 ^c)	12,500(24hr)	27~29,000	471
Cr ³⁺	120	-	-	100~1,800	-
Pb	740	-	4,890(24hr)	3,600	-
Hg	-	-	8(24hr)	5.2~210	-

a : Ute Mark¹⁹⁾ (1998), b : Bart T.A Muysen⁸⁾ (2005), c : Bart T.A Bossuyt⁹⁾ (2005)

Table 14. EC₅₀ and IC₅₀ values for agricultural chemicals using *D. magna*

Agricultural chemicals	48hr EC ₅₀ (μg/L)			48hr IC ₅₀ (μg/L)	
	this study	Jae-Won Jeong ¹⁸⁾ (2000)	Mikio Kikuch ¹⁰⁾ (2000)	this study	Sang-Il Lee ⁷⁾ (1998)
Carbaryl	18.81	-	-	30~50	-
Benomyl	68.97	0.31	-	100~130	-
Amitrole	58,100	-	-	8000~10,000	-
Aldrin	-	34	-	-	-
Parathion	-	1 ^a	2.2 ^b (24hr)	-	7.9
Malathion	-	0.95	1.8	-	-
Diazinon	-	1	0.87	-	-

a : Ute Mark¹⁹⁾ (1998), b : L. Twagilimana⁶⁾ (1998)

4. 결 론

1) 독성 실험에 있어 실험액의 제조에 물이 아닌 다른 용매를 사용할 경우 그 용매로 인한 저해가 있음을 알 수 있으므로 EC₅₀와 IC₅₀ 값은 용매에 따라 고려되어야 한다.

2) *D. magna*와 *S. mixtus*에 의한 농약의 독성도는 종에 상관없이 carbaryl > benomyl > amitrole 순이었다

3) 본 연구에서 사용된 농약(carbaryl, benomyl, amitrole)의 종류에 관계없이 EC₅₀과 IC₅₀은 국내종인 *S. mixtus*가 외국종인 *D. magna*보다 감수성이 민감하다.

4) 실험에서 사용한 두 종류의 물벼룩에 대하여 EC₅₀은 신뢰성 있게 구할 수 있었다.

5) 농약에 노출된 물벼룩은 사망하기 직전까지 심장박동 수가 반 이하로 감소되는 경향이 적어 저해수준(IC₅₀)이라기보다는 치사수준(LC₅₀)에 가깝다고 할 수 있다. 따라서 본 연구의 EC₅₀과 IC₅₀의 직접적인 비교는 힘들다.

감사의 글

본 연구는 경남대 부설연구소(환경문제연구소) 2005년 연구비 지원으로 수행되었음.

참 고 문 헌

- 1) 이찬원, 김인경, 전홍표, 2005, 물벼룩의 심장박동을 이용한 독성실험, 한국습지학회 2005년 정기학술발표대회 논문집, 220-228.
- 2) Weber, C. I., 1989, Short-term Method for Estimating the Chronic Toxicity of Effluent and Receiving Water to Freshwater Organism, U.S.EPA/4-89-001.
- 3) 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.
- 4) Anderson, B. G., 1994, The toxicity thresholds of various substance found on industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*, sewage works Journal, 16(6), 1156-1165.
- 5) De Schampelaere, K. A. C., 2005, Reverse osmosis sampling dose not affect the protective effect of dissolved organic matter on copper and zinc toxicity to freshwater organisms, Elsevier, Chemosphere, 58(2005),

653-638.

- 6) Twagilimana, L., J. Bohatier, C. A. Groliere, F. Bonnemoy and D. Sargos, 1998, A new low-cost microbioassay with the protozoan *Spirostomum thres*; Culture conditions and assessment of sensitivity of the ciliate to 14 pure chemicals, Environmental Research, Section B, Ecotoxicology and Environmental Safety, 3(41), 231-244.
- 7) 이상일, 1998, 공공기반기술 개발사업 계획서-환경오염물질 독성평가의 신기술 개발, 13pp.
- 8) Bart T. and A. Muysen, 2005, Inter- and intra-species variation in acute zinc tolerance of field-collected cladoceran populations, Elsevier, Chemosphere, 8(61), 1159-1167.
- 9) Bart T., A. Bossuyt and Colin R. Janssen., 2005, Copper toxicity to different field-collected cladoceran species: Inter- and intra-species sensitivity, Elsevier, Environmental Pollution, 1(136), 145-154.
- 10) Kikuchi, M., Y. Sasaki and M. Wakabayashi, 2000, Screening of Organophosphate insecticide pollution in water by using *Daphnia magna*, Environmental Research, Section B, Ecotoxicology and Environmental Safety, 3(47), 239-245.
- 11) 임병진, 1995, 물벼룩을 이용한 조기경보체계 연구, 국립환경연구원, Nier No, 95-19-463, 2-4.
- 12) 조순자, 정재원, 손홍주, 이경민, 박근태, 오현영, 이상준, 2000, 물벼룩(*Daphnia magna*)를 이용한 살충제의 급성 및 만성독성 평가, 한국환경과학회 가을 학술발표지, 9(2), 197-198.
- 13) 윤성명, 김원, 2000, 한국산 시모물벼룩속 종들의 분류학적 검토와 요소시모물벼룩속의 재기재, Korean J. Limnol, 33(2), 152-161.
- 14) 이찬원, 권영택, 윤종섭, 문성원, 2002, 국내종 물벼룩 *Simocephalus mixtus*에 의한 습지퇴적물 독성도 측정, 한국환경과학회지, 11(9), 851-855.
- 15) Guilhermino, L., T. Diamantino, M. C. Silva and A. M. V. M. Soares, 2000, Acute toxicity test with *Daphnia magna*; An alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity? Ecotoxicology and environmental safety, 3(46), 357-342.
- 16) OECD, 1989, Guidelines for testing of chem-

물벼룩을 이용한 농약의 급성 독성에 관한 연구

- icals, No. 202, 261-276.
- 17) 하현중, 김성태, 최종욱, 민성홍, 장태연, 김건홍, 물벼룩과 형광성 박테리아를 이용한 중금속의 급성독성 평가, Korea Journal of Lemnology, 3(28), 369-376.
- 18) 정재원, 차미선, 조순자, 이상준, 2001, 물벼룩 (*Daphnia magna*)에 대한 중금속의 급성 및 만성 독성, 한국환경과학회지, 10(4), 293-298.
- 19) Ute M. and J. Solbé, 1998, Analysis of the ecetoc aquatic toxicity (EAT) database V-The relevance of *Daphnia magna* as a representative test species, Pergamon, 1(36), 155-166.