

국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구 : (II) 물벼룩류

안 윤 주* · 남 선 화 · 이 우 미

(건국대학교 환경과학과)

Fundamentals of Ecotoxicity Evaluation Methods Using Domestic Aquatic Organisms in Korea : (II) Water Flea. An, Youn-Joo*, Sun-Hwa Nam and Woo-Mi Lee (Department of Environmental Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea)

Water fleas are very important organisms in aquatic ecosystem because they are key constituents of food webs as either grazers or foods for predators. *Daphnia magna* is a representative test species and it has been extensively used in ecotoxicity evaluation. However, *Daphnia magna* has not been found yet in Korean water environment. There are limitations of using the foreign species such as *Daphnia magna* to reflect domestic situations in Korea. Consequently it is mandatory to find domestic species suitable for bioassay, and to develop corresponding toxicity test methods using the domestic species. In this study, we widely collected the domestic and foreign toxicity test methods performed by using domestic water fleas in Korea. The 58 test methods were collected from the standard methods (OECD, US EPA, ASTM), government reports, SCI papers and domestic papers. Ten domestic water fleas selected were *Bosmina longirostris*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia reticulata*, *Daphnia obtusa*, *Daphnia pulex*, *Moina macrocopa*, *Moina micrura*, *Simocephalus mixtus*, *Simocephalus serrulatus*, and *Simocephalus vetulus*. We suggested the domestic ecotoxicity test methods using domestic water fleas in Korea through providing a range of test conditions, and future directions for toxicity test using water flea. This study could be a useful basis for establishing the aquatic toxicity test methods with domestic organisms in Korea.

Key words : aquatic toxicity, domestic organism, water flea, Korea

서 론

산업의 발달과 더불어 다양한 화학물질들이 개발 및 상용화됨에 따라 자연계에 존재하지 않았던 많은 새로운 물질들(Xenobiotics)이 생태계로 유입되고 있다. 유해화학물질의 수계 유입은 사람뿐 아니라 수서생물을 포함한 불특정 다수에게 심각한 악영향을 미칠 수 있기 때문에 무엇보다 사전 예방이 중요하다. 그러나 기존의 이화학적

분석기법은 비용과 시간 투자에 비해 그 결과가 측정 항목에 해당하는 화학물질에 대한 농도 수준만을 확인할 수 있기 때문에 폐수 내에 포함된 다양한 유해화학물질과 이들로부터 형성된 복합체(Complex)나 대사산물(Metabolite)로 인한 상승효과(Synergistic effect) 또는 타감효과(Antagonistic effect) 등을 파악하는 데에는 상당한 어려움이 따른다(안 등, 2007). 최근 들어 우리나라는 이러한 한계를 극복하고 전체 수계에 대한 위해성 관리체계를 강화하기 위해 물벼룩을 이용한 생태독성통합

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

관리제도를 본격적으로 추진하고 있다(환경부, 2006). 물벼룩은 어류의 피식자이자 조류의 포식자로서 수생태계의 주요 영양 단계를 대표하는 생물이다. 또한 광범위한 서식지 분포, 소형, 단성생식, 다산, 빠른 성장률, 독성물질에 대한 민감성 그리고 독성실험 수행의 용이성 등이 뛰어나 생태독성평가에서 가장 광범위하게 사용되는 생물종이다(Sarma and Nandini, 2006). 물벼룩류 독성평가에 주로 사용되고 있는 큰물벼룩(*Daphnia magna*)은 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development: OECD), 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency: US EPA), 미국표준시험협회(American Society for Testing and Materials: ASTM) 등 표준 시험법에서 추천한 시험종이나, 국내 수계에 서식하지 않는 국외종이기 때문에 국내생태독성평가에 활용하는 데에는 몇 가지 문제점이 있다. 우선 수입으로 인한 경제적 부담이 생기고, 예기치 못한 경로로 수계로 유출될 경우 생태계 교란이 발생할 가능성이 있다(이, 2003). 그리고 무엇보다 국가의 수질관리에 적용되는 생태독성시험은 그 지역 내 먹이 연쇄를 통한 생물종 간 상호 관련성을 고려해야 하기 때문에 그 수계에 서식하고 있는 생물종을 대상으로 수행할 필요가 있다(박 등, 2003). 따라서 국내 생물종을 대상으로 한 독성시험기법을 제시함으로써 국내 수생태계 실정 및 먹이 연쇄를 통한 생물종 간 상호 관련성 등을 고려할 수 있는 국내 시험종 및 그에 따른 시험법 개발이 시급하다. 최근 이러한 국내형 위해성 평가 기반 구축에 대한 인식이 높아지면서 어류독성평가에 대한 시험종 및 시험법에 관한 연구가 수행된 바 있다(남 등, 2007).

본 연구는 이의 연장으로서, 국내 수계에 서식하고 있는 물벼룩류를 대상으로 하여 수행된 바 있는 국내외 독

성 시험법의 노출 기간, 종말점 등 시험 세부 조건을 수렴하여 종합적으로 비교분석하였다. 본 연구는 향후 국내 물벼룩류를 이용한 생태독성 시험법 개발을 위한 기반연구로서 각 물벼룩종별 시험 세부 조건별 범위와 생태독성평가기법 구축을 위한 방향을 제시하였다.

연구 방법

1. 대상 생물종 선정

국내 수계에 서식하고 있는 수생물종을 대상으로 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법을 조사하기 위해 선정된 생물종은 모이나물벼룩(*Moina macrocopa*), 요술시모물벼룩(*Simocephalus mixtus*), 빗가시물벼룩(*Ceriodaphnia reticulata*), 긴빨물벼룩(*Bosmina longirostris*), 몽당물벼룩(*Daphnia obtusa*), 털이마시모물벼룩(*Simocephalus serrulatus*), 너도민코물벼룩(*Ceriodaphnia dubia*), *Daphnia carinata*, 참물벼룩(*Daphnia pulex*), 사방모이나물벼룩(*Moina micrura*), 긴눈시모물벼룩(*Simocephalus vetulus*)의 총 11종이다(Table 1). 이 중 10종은 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종 목록에 포함되어 있으며(안 등, 2007), *Simocephalus mixtus*는 본 연구에서 추가하였다. 총 11종 물벼룩 중에서 모이나물벼룩, 요술시모물벼룩, 긴빨물벼룩, 몽당물벼룩은 국내 수계에 흔한 종들이며, 털이마시모물벼룩과 빗가시물벼룩도 국내에 분포하고 있는 것이 확실한 종들이다. 그러나 너도민코물벼룩, 참물벼룩, 사방모이나물벼룩, 긴눈시모물벼룩은 분류학자들 사이에서 국내분포여부에 대한 재검토가 필요한 상태이며, *Daphnia carinata*도 분류학적으로 국내에서 정확하게 기록된 바가 없다. 따라서 본 연구에

Table 1. List of the toxicity test species (water flea) in Korea.

Test species (water flea)	Classification				
	Phylum	Class	Order	Family	Genus
<i>Bosmina longirostris</i> *				Bosminidae	Bosmina
<i>Ceriodaphnia dubia</i> **				Daphniidae	Ceriodaphnia
<i>Ceriodaphnia reticulata</i> *				Daphniidae	Ceriodaphnia
<i>Daphnia obtusa</i> *				Daphniidae	Daphnia
<i>Daphnia pulex</i> **				Daphniidae	Daphnia
<i>Moina macrocopa</i> *	Arthropoda	Branchiopoda	Cladocera	Moinidae	Moina
<i>Moina micrura</i> **				Moinidae	Moina
<i>Simocephalus mixtus</i> *				Daphniidae	Simocephalus
<i>Simocephalus serrulatus</i> *				Daphniidae	Simocephalus
<i>Simocephalus vetulus</i> **				Daphniidae	Simocephalus

*: Reliable test species for aquatic toxicity assessment in Korea

** : Potential test species for aquatic toxicity assessment in Korea

Table 2. Test durations of the standard methods for water flea toxicity assessment.

Method	Endpoint	Species	OECD		OPPTS		EC		KS		US EPA	
			Duration	Ref.	Duration	Ref.	Duration	Ref.	Duration	Ref.	Duration	Ref.
MTT	Mortality	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	-	OECD, 2004	-	US EPA, 1996	-	EC, 1992	-	KSA, 2003	96 h	US EPA, 2002a
		<i>Daphnia magna</i>	48 h	2004	48 h	1996	48 h	1992	48 h	2003	96 h	2002a
		<i>Daphnia pulex</i>	48 h	2004	48 h	1996	48 h	1992	-	-	96 h	2002a
ITT	Immobilization	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	-	OECD, 2004	-	US EPA, 1996	-	EC, 1992	-	KSA, 2003	96 h	US EPA, 2002a
		<i>Daphnia magna</i>	48 h	2004	48 h	1996	48 h	1992	48 h	2003	96 h	2002a
		<i>Daphnia pulex</i>	48 h	2004	48 h	1996	48 h	1992	-	-	96 h	2002a
Chronic RTT	Reproduction	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	-	OECD, 1998	-	US EPA, 1996	-	EC, 2001	-	KSA, 2001	7 d	US EPA, 2002b
		<i>Daphnia magna</i>	21 d	1998	21 d	1996	21 d	2001	21 d	2001	-	2002b

MTT (Mortality Toxicity Test); ITT (Immobilization Toxicity Test); RTT (Reproduction Toxicity Test)

Table 3. Classification of acute and chronic exposure duration of water fleas in this study.

Method	Endpoint	Species	Acute		Chronic	
			Duration	Ref.	Duration	Ref.
MTT	Mortality	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	< 6 d	-	≥ 6 d	-
		<i>Daphnia pulex</i>	< 10 d	-	≥ 10 d	-
		<i>Moina macrocopa</i>	< 8 d	-	≥ 8 d	-
ITT	Immobilization	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	< 6 d	-	≥ 6 d	-
		<i>Daphnia pulex</i>	< 10 d	-	≥ 10 d	-
		<i>Moina macrocopa</i>	< 8 d	-	≥ 8 d	-
RTT	Reproduction	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	-	-	≥ 6 d	-
		<i>Daphnia pulex</i>	-	-	≥ 10 d	-
		<i>Moina macrocopa</i>	-	-	≥ 8 d	-

MTT (Mortality Toxicity Test); ITT (Immobilization Toxicity Test); RTT (Reproduction Toxicity Test)

서는 국내 분포 여부가 확실한 6종과 현재 상태에서는 재검토가 필요하나 국내종으로서의 가능성이 있는 4종을 포함한 총 10종을 대상으로 연구를 수행하였다.

2. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 조사

상기 선정된 생물종을 중심으로 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법은 신뢰성 높은 표준시험법(예. OECD; US EPA; ASTM 등), 정부 보고서, SCI 논문 그리고 국내 학술 논문을 통해 수집하였다. 수집된 독성 시험법은 우선적으로 시험종, 시험법, 시험유형, 종말점, 시험종의 연령, 노출기간, 노출체, 온도, pH, 노출용기별 생물수, 노출농도별 반복수, 노출용액, 노출용액의 교체, 광주기, 먹이 공급, 배양액, 결과 등의 시험 세부 조건을 중심으로 파악하고, 동일한 시험종, 시험법, 시험유형, 종말점에 대해 수행된 독성 시험법별로 재분류하였다.

한편 급/만성 독성 자료의 판별은 생물종별 생활사(life cycle)에 따라 차등 적용하였다. 일반적으로 급성 영향은 단기간, 만성 영향은 장기간 평가되는 시험을 통해 수행되어 왔으나, 이는 대체로 각 생물분류군(예. 어류, 물벼룩류, 조류)에 따라 포괄적으로 적용되어 왔기 때문에 각 생물종별 생활사에 따른 명확한 구분은 이루어진 바 없다. OECD, OPPTS (Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances), 유럽위원회(European Commission: EC), 한국산업규격(Korean Industrial Standards: KS), US EPA 등 국제적인 표준시험법에 제시된 물벼룩류 독성시험법의 현황을 살펴보면, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*를 대상으로 치사독성시험(mortality toxicity test), 유영장애독성시험(immobilization toxicity test) 그리고 생식독성시험(reproduction toxicity test)이 제시되어 있다. 급성 영향은 생물종 구분 없이 대체로 24~96시간 동안 치사독성시험과 유영장애독성시험으로 평가되었고, 만성 영향은 생물종에 따라 특정 기간 동안 생식독성시험으로 평가되었다(Table 2). 따라서 본 연구에서는 다음과 같은 기준에 의해 생물종별 급/만성 독성 자료를 판별하였다. 생식독성시험은 최소 3배(brood) 이상의 생식이 가능한 기간으로 만성 영향을 평가할 수 있다고 하였으므로(ASTM, 2006), 최소 3배 이상의 생식이 가능한 시기(예. *Ceriodaphnia dubia* 6~8일, *Daphnia pulex* 10~14일, *Moina macrocopa* 8~9일)를 고려하여(US EPA, 2002a; UF/IFAS, 2003) 생물종마다 차등 적용하였다. 마찬가지로 치사독성시험과 유영장애독성시험은 생물종에 따라 만성 영향을 평가할 수 있는 최소 기간을 기준으로, 급성 시험과 만성 시험의 기간

을 설정하였다. 예를 들면 *Ceriodaphnia dubia*의 경우 급성 시험은 6일 미만으로 만성 시험은 6일 이상으로 구분하였다(Table 3).

3. 국내 생물종별 독성시험기법 제시 과정

국내 생물종별 독성시험기법은 상기 조사된 국내외 독성 시험법을 바탕으로 각각의 시험종을 대상으로 수행된 실험의 급/만성 독성 자료 판별 기준과 종말점을 확인한 뒤, 온도, pH 등 시험 세부 조건의 범위(예. 온도 22~24 °C)를 수렴함으로써 제시하였다. 한편 본 연구는 국내 생물종별 생태독성 시험법 개발을 위한 기초 연구로, 최적 조건의 생태독성 시험법 제안보다 향후 실험 연구의 시행착오가 최소화될 수 있도록 기존 연구에서 수행된 바 있는 각 시험법의 세부 조건별 범위를 제시한 것이다.

결과 및 고찰

1. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 현황

대상 생물종 10종에 대한 독성 시험법은 자료 부재로 수집되지 못한 1종을 제외한 9종에 대해 US EPA 표준 시험법 2개, OECD 표준시험법 1개, ASTM 표준시험법 1개, SCI 논문 46개 그리고 국내 학술 논문 8개 총 58개의 참고문헌이 수집되었고, OECD 등 표준시험법에서 추천한 시험종(예. *Ceriodaphnia dubia*; *Daphnia pulex*)을 대상으로 한 독성자료가 상당 부분을 차지하였다. 또한 표준시험법의 공시종 이외의 국내 생물종(예. *Bosmina longirostris*; *Ceriodaphnia reticulata*; *Moina macrocopa*; *Moina micrura*; *Simocephalus mixtus*; *Simocephalus serrulatus*; *simocephalus vetulus*)에 대한 소량의 연구 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 연구 상황에 맞게 수정·적용한 것으로 나타났다. 그리고 시험종-시험법-시험유형-종말점별 독성 시험법은 치사독성시험, 유영장애독성시험, 생식독성시험 등 3가지 물벼룩류독성시험이 대표적이며, 특히 국내에서 심장박동독성시험(heart beat toxicity test)을 수행한 바 있다. 급성독성평가는 대체로 24~96시간 동안 수행되었으나, 만성독성평가는 생물종 간 노출기간의 차이가 극명하게 나타났는데 대체로 최소 3배 이상의 생식이 가능한 기간을 대상으로 수행된 것으로 나타났다. 이는 각 생물종마다 고유의 생활사(예. 성장속도, 배 간격 등)를 가지고 있기 때문에 노출 기간을 상이하게 적용한 것으로 판단된다. 한편 생물종 내 시험 세부 조건은 배양액을 제외하고 대체로 일정 범위 내에

Table 4. List of the toxicity test methods for water flea.

Test species	<i>Ceriodaphnia dubia</i>												
	MIT & ITT				MIT & ITT				MIT & ITT				
Test pattern	Acute	Chronic	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute
Endpoint	Immobilization	4 broods	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality
Age of test species	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h
Test duration	24, 48 or 96 h	13 ~ 17 d	24, 48 or 72 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h
Test type	S	R	S, R or F	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	-	20	20 or 24 ~ 26	25	20.1 ~ 21.5	24 ~ 26	24 ~ 26	24 ~ 26	24 ~ 26	24 ~ 26	24 ~ 26	24 ~ 26	25
pH	7.5 ~ 7.8	6.9 ~ 7.1	-	-	8.22 ~ 8.46	-	-	-	-	-	-	7.5 ~ 7.8	-
No. organisms per chamber	-	-	5	-	5	-	5	5	5	5	5	20	30
No. replicate chambers per concentration	-	12	4	4	4	-	4	4	4	4	4	3	10
Test solution	Cu ²⁺	Cu	-	Chlorpyrifos	TCMTB	Ag	Pesticide	Chlorpyrifos	Diazinon	Diazinon	Diazinon	Ammonium chloride	Cd
Renewal of test solutions	None	daily	48 h	None	None	None	None	None	None	None	24 h	None	None
Photoperiod	14 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	24 h	16 h
Feeding regime	None	daily	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Dilution water	Synthetic water	Aerated water from lake	MW	MHW	MHW	MHW	RW	MHW	RW	MHW	MHW	MHW	MHW
Result	EC50, LC50	-	LC	LC50	EC50	LC50	LC50	LC50	LC50	EC50	LC50	LC50	LC50
References	Wu <i>et al.</i> , 2006	Koivisto <i>et al.</i> , 1995	US EPA, 2002	Woods <i>et al.</i> , 2002	Nawrocki <i>et al.</i> , 2005	Peng, <i>et al.</i> , 2002	George <i>et al.</i> , 2003	El-Merhibi <i>et al.</i> , 2003	Banks <i>et al.</i> , 2005	Warne <i>et al.</i> , 1999	Lan <i>et al.</i> , 2005	Werner <i>et al.</i> , 2004	Park <i>et al.</i> , 2004a

MIT (Mortality Toxicity Test); ITT (Immobilization Toxicity Test); R (Reproduction Toxicity Test); S (Static non-renewal); F (Flow-through); MW (Moderately hard synthetic water); MHW (Moderately hard water); RW (Reconstituted water); DW (Dechlorinated tap water)

Table 4. Continued.

Test species	Ceriodaphnia dubia											
	MTT & RTT											
Test method	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic
Test pattern	3 broods	3 broods	3 broods	3 broods	3 or 4 broods	3 broods	3 broods	3 broods	2 to 5 broods	3 broods	3 broods	Chronic
Endpoint	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 24h	less than 12h	less than 24h	Chronic
Age of test species	6~8 d	7 d	9 d	9 d	7 d	9 d	7 d	7 d	7 d	8 d	7 d	Chronic
Test duration	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Chronic
Test type	24~26	24~26	20.1~21.5	23~25	24~26	24~26	24~26	24~26	24~26	23~27	24~26	Chronic
Temperature (°C)	-	-	8.22~8.46	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.7~8.3	-	24~26	Chronic
pH	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Chronic
No. organisms per chamber	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	Chronic
No. replicate chambers per concentration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chronic
Test solution	-	TCMTB <i>et al.</i>	Pesticide	Zn	Zn	Azulene <i>et al.</i>	HN ₂	Chlorothalonil <i>et al.</i>	Sodium chloride	EGEs	Glutaraldehyde	Cu
Renewal of test solutions	24 or 48 h	daily	daily	every other day	every other day	-	daily	-	-	-	daily	daily
Photoperiod	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	-	-	-	-	16 h	16 h	16 h
Feeding regime	daily	daily	daily	daily	daily	-	daily	-	daily	-	daily	daily
Dilution water	Any appropriate water	MHW	RW	M4 medium	M4 medium	RW	MHW	-	-	Evian mineral water	MHW	MHW
Result	-	EC50, NOEC	LOEC, NOEC	EC50	EC50	LC50, EC50	LOEC, NOEC	LC50, LOEC	IC50, NOEC	EC, NOEC	LC, LOEC, NOEC	-
References	ASTM, 2006	Nawrocki <i>et al.</i> , 2005	George <i>et al.</i> , 2003	Muyssen <i>et al.</i> , 2002	Muyssen <i>et al.</i> , 2002	Sweet <i>et al.</i> , 1997	Lan <i>et al.</i> , 2005	Sherrard <i>et al.</i> , 2002	Aragao <i>et al.</i> , 2003	Devillers <i>et al.</i> , 2003	Sano <i>et al.</i> , 2005	Hauri <i>et al.</i> , 2004

MTT (Mortality Toxicity Test); RTT (Reproduction Toxicity Test); 3 broods (sufficient time for 1 organism to produce 3 broods); R (Static renewal); MHW (Moderately hard water); RW (Reconstituted water)

Table 4. Continued.

Test species	Ceriodaphnia reticulata									
	MTT & ITT		MTT & RTT		MTT & ITT		MTT & RTT		MTT & RTT	
Test pattern	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic
Endpoint	Mortality	3 broods	Chronic	3 broods	Mortality	Chronic	Mortality	Chronic	Mortality	Chronic
Age of test species	less than 24 h	-	less than 24 h	-	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h
Test duration	24 h	28 d	7 d	28 d	24, 48 or 96 h	7 d	24, 48 or 96 h	24, 48 or 96 h	24, 48 or 96 h	13~17 d
Test type	S	R	R	R	S, R or F	R	S, R or F	S	S	R
Temperature (°C)	25 (light), 22 (dark)	25 (light), 22 (dark)	22~24	25 (light), 22 (dark)	19~21 or 24~26	22~24	19~21 or 24~26	20	24~26	24~26
pH	-	-	7.7~8.3	-	6.0~9.0	7.7~8.3	-	7.6	7.5	7.5~7.8
No. organisms per chamber	10	1	10	1	5	10	5	10	5	10
No. replicate chambers per concentration	2	8	-	4	4	3	4	3	4	3
Test solution	Ethylene glycol	Ethylene glycol	Ag	Ethylene glycol	-	Phenol	-	Ag	Fluorescein	Ammonium chloride
Renewal of test solutions	None	48 h	48 h	48 h	48 h	None	48 h	None	None	24 h
Photoperiod	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	12 h	16 h	-	16 h	-
Feeding regime	None	None	daily	None	48 h	None	48 h	None	None	daily
Dilution water	Autochlorinated water from lake	Autochlorinated water from lake	Unchlorinated carbon-filtered water	Autochlorinated water from lake	M4 medium	Receiving stream/industrial waste water	MW	Artificial fresh-water	RDW	Synthetic water
Result	EC10, EC50, EC90	EC	EC50, LOEL, MATC	EC	EC50	EC10, EC50, EC90	LC	LC50	LC50, LC90	EC50, LC50
References	Jaser <i>et al.</i> , 2003	Elnabawy <i>et al.</i> , 2003	Elnabawy <i>et al.</i> , 1986	Jaser <i>et al.</i> , 2003	OECD, 2004	Tišler <i>et al.</i> , 2000	US EPA, 2002	Bury <i>et al.</i> , 2002	Stark <i>et al.</i> , 2005	Wu <i>et al.</i> , 2006

MTT (Mortality Toxicity Test); ITT (Immobilization Toxicity Test); RTT (Reproduction Toxicity Test); R (Static renewal); M (Moderately hard water); MHW (Moderately hard water); RDW (Reconstituted dilution water)

Table 4. Continued.

Test species	<i>Moina macrocopa</i>			<i>Moina micrura</i>		<i>Simocephalus mixtus</i>			<i>Simocephalus serrulatus</i>		<i>Simocephalus vetulus</i>	
	MTT & ITT	MTT & RTT	MTT	MTT	MTT	IMT	Heart beat toxicity test	MTT & IMT	MTT & IMT	MTT & IMT	MTT & IMT	
Test method	Acute	Chronic	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute	Acute
Test pattern	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Mortality	Heart beat rate	Immobilization	Immobilization	Immobilization	Immobilization	Immobilization
Endpoint	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h
Age of test species	24 h	21 d	24 h	24 h	24 h	24 h	48 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h
Test duration	24 h	15 d	24 h	24 h	24 h	24 h	48 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h
Test type	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	21~25	21~25	29~31	20, 25	20, 25	18~22	18~22	20~24	20~24	20~24	21~23	24~26
pH	7.5	7.5~7.8	7.2~7.4	7.5	7.5~7.8	7.6~7.8	7.6~7.8	7.6~7.8	7.6~7.8	6.5	7.2~7.4	7.5~7.8
No. organisms per chamber	20	20	5	10	10	5	5	3	3	10	5	1
No. replicate chambers per concentration	3	3	4	-	-	3	3	-	3	2	2	10
Test solution	Cd	Ammonium chloride	Ammonium chloride	Cu	Ammonium chloride	Carbaryl	Carbaryl	Cu	Cu	Cd	Hg	Diazinon
Renewal of test solutions	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Photoperiod	24 h	24 h	-	16 h	16 h	16 h	16 h	16 h	12 h	24 h	16 h	16 h
Feeding regime	None	daily	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
Dilution water	MHW	MHW	Filtered pond ground water	Intermediate hard water, very soft water, very hard water	Intermediate hard water, very soft water, very hard water	Hard constituted water	Hard constituted water	Hard constituted water	Sterile well-water	Well-water	filtered ground water	Synthetic water
Result	LC50	LC50	LC50	LC50	LC50	EC50	IC50	IC50	EC50	LC50	LC50	LC50, EC50, LOED, LC50
References	Garcia <i>et al.</i> , 2004	Mangas-Ramirez <i>et al.</i> , 2002	Garcia <i>et al.</i> , 2004	Lee <i>et al.</i> , 2004	Lee <i>et al.</i> , 2004	Lee <i>et al.</i> , 2007b	Lee <i>et al.</i> , 2007b	Lee <i>et al.</i> , 2007a	Nogueira <i>et al.</i> , 2005	Giesy <i>et al.</i> , 1977	Lee <i>et al.</i> , 1995	Werner <i>et al.</i> , 2004

MTT (Mortality Toxicity Test); ITT (Immobilization Toxicity Test); RFT (Reproduction Toxicity Test); S (Static non-renewal); R (Static renewal); MHW (Moderately hard water)

Table 5. The ecotoxicity evaluation methods using domestic water flea in Korea.

Test species	<i>Moina macrocopa</i> *		<i>Simocephalus mixtus</i> *		<i>Ceriodaphnia reticulata</i> *		<i>Bosmina longirostris</i> *		<i>Simocephalus serrulatus</i> *		<i>Ceriodaphnia dubia</i>		<i>Daphnia pulex</i>		<i>Moina micrura</i>		<i>Simocephalus vetulus</i>	
	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic	Acute	Chronic
Test pattern	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization, heart beat rate	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Reproduction	Mortality, immobilization	Mortality, immobilization	Mortality, immobilization
Endpoint	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h	less than 24 h
Age of test species	24~48 h	15~21 d	48 h	24~48 h	7~28 d (3 broods)	24~96 h	13~17 d (4 broods)	24~48 h	24~48 h	24~72 h	6~21 d (2 to 5 broods)	24~96 h (2 broods)	10~28 d (2 broods)	24 h	24 h	24 h	48~96 h	48~96 h
Test duration	24~48 h	15~21 d	48 h	24~48 h	7~28 d (3 broods)	24~96 h	13~17 d (4 broods)	24~48 h	24~48 h	24~72 h	6~21 d (2 to 5 broods)	24~96 h (2 broods)	10~28 d (2 broods)	24 h	24 h	24 h	48~96 h	48~96 h
Test type	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S
Temperature (°C)	21~25	21~25	18~25	22~25	22~25	20	20	20~24	20~24	20~26	20.1~26	18~26	20~26	29~31	29~31	29~31	21~26	21~26
pH	7.2~7.8	7.5~7.8	7.6~7.8	7.7~8.3	7.7~8.3	7.5~7.8	6.9~7.1	6.5	6.5	7.5~8.46	7.2~8.46	6.0~9.0	6.9~7.8	-	-	-	7.2~7.8	7.2~7.8
No. organisms per chamber	5~20	20	3~10	10	1~10	-	-	10	10	1~30	1~20	5~10	1~10	5	5	5	1~5	1~5
No. replicate chambers per concentration	2~3	3	3	2	8	-	12	2~3	2~3	3~10	3~10	3~4	3~10	4	4	4	2~10	2~10
Renewal of test solutions	None	24 h	None	None	48 h	None	daily	None	None	None	daily or every other day	None	24 h	None	None	None	None	None
Photoperiod	16~24 h	24 h	16 h	16 h	16 h	14 h	16 h	12~24 h	12~24 h	16 h	16 h	12~16 h	16 h	-	-	-	14~16 h	14~16 h
Feeding regime	None	daily	None	None	daily	None	daily	None	None	None	daily	None	daily	None	None	None	None	None
Dilution water	MHW	MHW	Hard constituted water	Auto-claved water from lake or Unchlorinated carbon-filtered well water	Auto-claved water from lake or Unchlorinated carbon-filtered well water	Synthetic water	Aerated water from lake	Sterile well-water	MHW	MHW	MHW	Artificial fresh-water, lake Synthetic water	MW, M4 medium, MHW, RDW, aerated water from lake	Filtered pond water	Filtered pond water	Filtered ground water, synthetic water	Filtered ground water, synthetic water	Filtered ground water, synthetic water
Result	LC, EC	LC, EC, LOEC, NOEC	LC, EC, IC	LC, EC	LC, EC, LOEC, NOEC	LC, EC	LC, EC, LOEC, NOEC	LC, EC	LC, EC	LC, EC	LC, EC, LOEC, NOEC	LC, EC	LC, EC, LOEC, NOEC	LC, EC	LC, EC	LC, EC	LC, EC	LC, EC
No of references	3	2	4	2	2	1	1	2	2	13	13	8	3	1	1	3	3	3

*: Reliable test species for aquatic toxicity assessment in Korea
 S (Static non-renewal); R (Static renewal); MW (Moderately hard synthetic water); MHW (Moderately hard water); RDW (Reconstituted dilution water)

서 유사하게 적용된 것으로 나타났다. 생물종 활성에 있어 가장 민감한 조건으로 알려진 온도나 pH의 경우 전체적으로 18~26°C, 6.0~9.0 범위 내에서 오차 범위를 감안해서 설정하고 있어 종 특이성을 보이지 않았으나, 배양액의 경우 M4 medium, MHW (moderately hard water), ASTM hard water와 같이 OECD, US EPA, ASTM 표준 시험법에서 제시한 조제수나 인위적 처리를 가한 자연수 등을 다양하게 사용하는 것으로 나타났다. 각각의 배양액마다 구성 성분이 상이하고 동일 성분이라 할지라도 그 농도가 각각 다르게 설정되어있기 때문에 시험 세부 조건 중에서 가장 뚜렷한 차이를 나타낸 것이라 사료된다 (Table 4).

2. 국내 생물종별 독성시험기법 및 방향 제시

전체 58개의 국내의 독성 시험법을 바탕으로 생물종별 독성 시험법의 세부 조건별로 수렴한 결과, 치사독성시험, 유영장애독성시험, 생식독성시험 그리고 심장박동독성시험 등 4가지 물벼룩류 독성시험법을 제시하였다 (Table 5). 생물종 간 시험법을 비교하면 대체로 표준시험법과 유사 범위에서 적용되었기 때문에 종 특이성을 크게 나타내지 않았으나, M4 medium, MHW (moderately hard water), ASTM hard water 등 조제수나 인위적 처리를 가한 자연수 등 다양한 배양액을 사용한 것으로 보아, 생물종에 따라 최적 배양액을 적용하여 독성평가를 수행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반 구축을 위해 시작된 연구로서, 국내의 생태독성시험법에 대한 자료를 수집한 결과 국내 생물종을 이용한 연구 사례는 매우 제한적이었고, 배양액 조건을 제외하고 대체로 표준시험법에서 제시한 범위 내에서 수행된 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미비한 현 시점에서 보다 체계적인 국내생태독성시험법을 개발하기 위해서는 다음과 같은 연구가 선행되어야 할 것이다.

첫째, 최소 3배 이상의 생식이 가능한 기간 동안 수행되어야 만성 영향을 평가할 수 있는 생식독성시험의 경우 생물종 고유의 생활사를 고려한 노출기간을 설정해야 한다. 일반적으로 동일한 배양 조건에서도 각 생물종마다의 성장 속도 및 배 간격이 상이하므로, 개별 실험실 조건에 따라 동일종이라 하더라도 생활사의 변화가 있을 수 있기 때문에 최대한 향후 실험 조건과 동일한 조건에서 생활사를 측정하여 보다 명확한 노출기간을 설정해야 할 것이다. 또한 이러한 노출기간 설정은 더 나아가 생태독

성자료의 급성 및 만성 구분 시 중요한 기준이 될 수 있을 것으로 판단된다.

둘째, 본 연구에서 선정된 물벼룩류 9종을 대상으로 도출한 독성시험법은 향후 실험 연구의 시행착오를 최소화할 수 있도록 기존 연구에서 수행된 시험 세부 조건별 범위를 제시한 것이다. 따라서 본 연구결과는 표준작업지침 (standard operation procedure: SOP)을 제안하기 위한 전단계이며, 차후 실험 연구를 통해 각 조건이 검증되어야 실제적으로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

셋째, 표준시험법에서 제안한 공시종 이외에 국내 생물종에 대한 소량의 연구 사례를 검토한 결과, 대체로 표준시험법을 개별 상황에 맞게 수정·적용한 것으로 나타났다. 따라서 기존 연구에서 사용되지 않았던 국내 생물종에 대해 본 연구에서 도출된 생태독성 시험법을 토대로 실험 조건을 보완하는 실험을 통해 새로운 시험종 개발 및 각각의 시험종에 따른 최적 실험 조건을 규명할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 연구에서는 국내 수계에 서식하고 있는 수서생물을 대상으로 수행된 바 있는 국내의 독성 시험법의 노출 기간, 종말점 등 시험 세부 조건을 수렴하여, 향후 국내생태독성시험법 개발을 위해 각 생물종별 시험 세부 조건별 범위와 생태독성평가기법 구축을 위한 방향을 제시하였다. 기존에 국내 생물종을 대상으로 국내외에서 수행된 바 있는 독성 시험법에 대한 연구 사례를 검토한 결과, OECD 등의 표준시험법에서 추천한 시험종을 대상으로 한 독성자료가 상당 부분을 차지하였다. 또한 표준시험법의 공시종 이외에도 국내 생물종에 대한 소량의 연구 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 개별 상황에 맞게 수정·적용한 것으로 나타났다. 특히 노출기간 및 배양액은 생물종마다 상이한 조건으로 수행된 바, 물벼룩류 독성시험에 있어서 가장 유의해야 할 조건인 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미비한 현 시점에서 보다 체계적인 국내생태독성시험법을 개발하기 위해서는 향후 실험 조건과 동일한 조건에서 생활사를 측정하여 보다 명확한 노출기간을 설정, 본 연구에서 선정된 물벼룩류 9종을 대상으로 도출된 생태독성시험기법에 대한 검증 그리고 기존 연구에서 사용되지 않았던 새로운 시험종 개발 및 각각의 시험종에 따른 최적 실험 조건 규명이 선행되어야 할 것이다. 따라서 본 연구는 국내 생물종을 대상으로 한 독성시험기법

및 방향을 제시함으로써 국내 수생태계 실정 및 먹이 연쇄를 통한 생물종 간 상호 관련성 등을 고려할 수 있는 국내 시험종 및 그에 따른 시험법 개발을 위한 중요한 기반이 될 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 환경부·국립환경과학원 물환경종합평가 개발 조사연구(III)-인체 및 수생태계 위해성평가체계 구축 사업의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다. 국내종 물벼룩 분류에 대해 자문을 해주신 조선대 윤성명 교수님께 감사의 뜻을 전합니다.

인 용 문 헌

김일희. 한국 담수산 물벼룩류에 대한 검색표, 한국동물분류학회지 **2**: 43-65.

남선화, 양창용, 안윤주, 이재관. 2007. 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구: (I) 어류, 육수지 **40**: 173-183.

박용석, 이상구, 이승진, 문성경, 최은주, 이기태. 2003. Glucose-6-phosphate dehydrogenase를 이용한 *Moina macrocopa*의 중금속 독성 검정, 한국환경독성학회지 **18**: 305-310.

박종호, 이상일, 조영욱. 2004a. *Ceriodaphnia dubia*의 먹이섭생 기작과 온도조절에 근거한 급성독성조사법의 비교, 한국물환경학회지 **20**: 48-54.

박종호, 이상일, 조영욱, 이원호, 연익준, 조규석. 2004b. *Ceriodaphnia dubia*의 온도조절에 근거한 단기급성독성 조사법, 한국수산학회지 **37**: 209-214.

이찬원. 2003. 환경 독성도 평가를 위한 국내 물벼룩종의 배양 방법 및 이 물벼룩종을 이용한 환경 독성도 측정 방법.

이찬원, 김인경, 전홍표. 2007a. 물벼룩의 심장박동을 이용한 독성실험, 한국환경과학회지 **16**: 425-432.

이찬원, 류재영, 임경원. 2007b. 물벼룩을 이용한 농약의 급성 독성에 관한 연구, 한국환경과학회지 **16**: 55-63.

안윤주, 남선화, 이재관. 2007. 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종 선정, 육수지 **40**: 1-13.

윤성명, 김 원. 2000. 한국산 시모물벼룩속(새각강, 이지목, 물벼룩과) 종들의 분류학적 검토와 요술시모물벼룩(*Simocephalus mixts*)의 재기재, 육수지 **33**: 152-161.

자연보호중앙협의회. 1996. 한국생물종목록.

하현중, 김성태, 최종욱, 민선홍, 장태연, 김진홍. 1995. 물벼룩과 형광성 박테리아를 이용한 중금속의 급성독성평가, 육수지 **28**: 369-376.

한국표준협회(Koreans Standards Association: KSA). 2001.

KS M ISO 10706 수질-물벼룩 *Daphnia magna Straus*를 이용한 장기 독성 시험.

한국표준협회(Koreans Standards Association: KSA). 2003. KS M ISO 6341 수질-물벼룩 운동성 억제 특성 측정 방법(급성 독성 시험 방법).

환경부. 2006. 물환경관리 기본계획-4대강 대권역 수질보전 기본계획('06~'15).

환경부, 국립환경과학원. 2006. 물환경종합평가방법 개발 조사연구(III).

ASTM. 2006. E1295-01 Standard guide for conducting three-brood, Renewal Toxicity Tests with *Ceriodaphnia dubia*.

Banks, K.E., P.K. Turner, S.H. Wood and C. Matthews. 2005. Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations. *Ecotoxicol. and Environ. Safety* **60**: 28-36.

Barry, M.J. and B.J. Meehan. 2000. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata*. *Chemosphere* **41**: 1669-1674.

Bury, N.R., J. Shaw, C. Glover and C. Hogstrand. 2002. Derivation of a toxicity-based model to predict how water chemistry influences silver toxicity to invertebrates. *Comparative Biochem. and Physiol. Part C* **133**: 259-270.

Caceres, T., M. Mergharaj and R. Naidu. 2007. Toxicity of fenamiphos and its metabolites to the cladoceran *Daphnia carinata*. *Chemosphere* **66**: 1264-1269.

Devillers, J., A. Chezeau, V. Poulsen and E. Thybaud. 2003. Effects of ethylene glycol ethers on the reproduction of *Ceriodaphnia dubia*. *Chemosphere* **50**: 373-376.

EC. 1992. C. 2 Acute toxicity for *daphnia*.

EC. 2001. C. 20 *Daphnia magna* reproduction test.

El-Merhibi, A., A. Kumar and T. Smeaton. 2004. Role of piperonyl butoxide in the toxicity of chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia* and *Xenopus laevis*. *Ecotoxicology and environmental safety* **57**: 202-212.

Elanbarawy, M.T., A.N. Welter and R.R. Welter. 1986. Relative sensitivity of three *daphnia* species to selected organic and inorganic chemicals. *Environ. Toxicol. and Chem.* **5**: 393-389.

Garcia, G.G., S. Nandini and S.S.S. Sarma. 2004. Effect of Cadmium on the Population Dynamics of *Moina macrocopa* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **72**: 717-724.

George, T.K., D. Waite, K. Liberi and J. Sproull. 2003. Toxicity of a complex mixture of atmospherically transported pesticides to *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental monitoring and assessment* **85**: 309-326.

- Giesy, J.P., G.J. Leversee and D.R. Williams. 1977. Effects of naturally occurring aquatic organic fractions on cadmium toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Daphnidae) and *Gambusia affinis* (Poeciliidae). *Water Research* **11**: 1013-1020.
- Hauri J.F. and A.J. Horne. 2004. Reduction in labile copper in the 7-day *Ceriodaphnia dubia* toxicity test due to the interaction with zooplankton food. *Chemosphere* **56**: 717-723.
- Jaser, W., G.F. Severin, U. Jutting, I. Juttner, K.-W. Schramm and A. Kettrup. 2003. Effects of 17 α -ethinylestradiol on the reproduction of the cladoceran species *Ceriodaphnia reticulata* and *Sida crystallina*. *Environment International* **28**: 633-638.
- Koivisto, S. and M. Ketola. 1995. Effects of copper on life-history traits of *Daphnia pulex* and *Bosmina longirostris*. *Aquatic Toxicology* **32**: 255-269.
- Krishnan, M., S. Chockalingam. 1989. Toxic and sublethal effects of endosulfan and carbaryl on growth and egg production of *Moina micrura* Kurz (Cladocera: Moinidae). *Environmental Pollution* **56**: 319-326.
- Lan, C.-H., T.-S. Lin and C.-Y. Peng. 2005. Aquatic toxicity of nitrogen mustard to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **61**: 273-279.
- Lee, C.W., H.-P. Jeon and J.-Y. Pae. 2004. Optimum culturing and testing conditions for environmental toxicity test with *Simocephalus mixtus*. *Korean society of environmental engineers* **9**: 125-129.
- Mangas-Ramírez, E., S.S.S. Sarma and S. Nandini. 2002. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicology and environmental safety* **51**: 216-222.
- Muysen, B.T.A. and C.R. Janssen. 2002. Tolerance and acclimation to zinc of *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Pollut.* **117**: 301-306.
- Nawrocki, S.T., K.D. Drake, C.F. Watson, G.D. Foster and K.J. Maier. 2005. Comparative aquatic toxicity evaluation of 2-(Thiocyanomethylthio)benzothiazole and selected degradation products using *Ceriodaphnia dubia*. *Arch. Environ. Comtam. Toxicol.* **48**: 344-350.
- Nogueira, P.F.M., M.D.G.G. Melao, A.T. Lombardi and A.A.H. vieira. 2005. The effects of *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) exopolysaccharide on copper toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Daphnidae). *Freshwater Biology* **50**: 1560-1567.
- OECD. 1998. OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS Test Guideline 211 *Daphnia magna* reproduction test.
- OECD. 2004. OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS Test Guideline 202 *Daphnia* sp., acute immobilisation test.
- Peng, H., B.W. Brooks, R. Chan, O. Chyan and T.W. La Point. 2002. Response of *Ceriodaphnia dubia* to ionic silver: discrepancies among model predictions, measured concentrations and mortality. *Chemosphere* **46**: 1141-1146.
- Sano, L.L., A.M. Krueger and P.F. Landrum. 2005. Chronic toxicity of glutaraldehyde: differential sensitivity of three freshwater organisms. *Aquatic toxicology* **71**: 283-296.
- Sarma, S.S.S. and S. Nandini. 2006. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of environmental science and health part B* **41**: 1417-1430.
- Sherrard, R.M., C.L. Murray-Gulde, J.H. Rodgers Jr. and Y.T. Shah. 2002. Comparative toxicity of chlorothalonil and chloropyrifos: *Ceriodaphnia dubia* and *Pimephales promelas*. *Environ. toxicol.* **17**: 503-512.
- Stark, J.D. and R.I. Vargas. 2005. Toxicity and hazard assessment of fipronil to *Daphnia pulex*. *Ecotoxicol. and Environ. Safety* **62**: 11-16.
- Sweet, L.I. and P.G. Meier. 1997. Lethal and sublethal effects of azulene and longifolene to Microtox[®]. *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **58**: 268-274.
- Tišler, T. and J. Zagorc-Končan. 1997. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water, Air, and Soil Pollution* **97**: 315-322.
- UF/IFAS. 2003. Circular 1054 Culture techniques of *Moina*: The ideal *Daphnia* for feeding to freshwater fish fry.
- US EPA. 1996. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity test, freshwater *Daphnids*.
- US EPA. 1996. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1300 *Daphnid* chronic toxicity test.
- US EPA. 2002a. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.
- US EPA. 2002b. Short-term Methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms.
- Walthall, W.K. and J.D. Stark. 1999. The acute and chronic toxicity of two xanthene dyes, fluorescein sodium salt and phloxine B. to *Daphnia pulex*. *Environ. Pollut.* **104**: 207-215.

- Warne, M.St.J. and A.D. Schifko. Toxicity of laundry detergent components to a freshwater cladoceran and their contribution to detergent toxicity. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **44**: 196-206.
- Werner, I., F.G. Zalom, M.N. Oliver, L.A. Deanovic, T.S. Kimball, J.D. Henderson, B.W. Wilson, W. Krueger and W.W. Wallender. 2004. Toxicity of storm-water runoff after dormant spray application in a French prune orchard, Glenn County, California, USA: Temporal patterns and the effect of ground covers. *Environmental toxicology and chemistry* **23**: 2719-2726.
- Woods, M., A. Kumar and R. Correll. 2002. Acute toxicity of mixtures of chlorpyrifos, profenofos, and endosulfan to *Ceriodaphnia dubia*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **68**: 801-808.
- Wu, Y., C. Lin and L. Yuan. 2006. Characteristics of six cladocerans in relation to ecotoxicity testing. *Ecological Indicators*. article in press.
- Zalizniak, L. and D. Nugegoda. 2006. Effect of sublethal concentrations of chlorpyrifos on three successive generations of *Daphnia carinata*. *Ecotoxicol. and Environ. Safety* **64**: 207-214.

(Manuscript received 16 July 2007,
Revision accepted 30 August 2007)