

국내 생물 종 유글레나(*Euglena agilis*)를 이용한 5종 유기용매의 독성평가

이정아* · 장순웅 · 김지태 · 김동우

경기대학교 환경에너지공학과

Toxic Effects of 5 Organic Solvents on *Euglena agilis*

Junga Lee*, Soon-Woong Chang, Ji-Tae Kim and Dong-woo Kim

Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea

Abstract - Acute toxicity tests for 5 organic solvents were conducted using *Euglena agilis carter* (*E. agilis*), a Korean domestic organism. Organic solvents decreased the growth rate of *E. agilis* in a dose dependent manner. The toxicity to *E. agilis* was increased in the order of chloroform > acetone ≥ ethanol ≥ methanol > DMSO based on EC₅₀ values from growth test. Organic solvents also induced cell motility and morphological changes of *E. agilis*. Especially significant effects on the cell swimming velocity, motility, and compactness were observed for chloroform at the concentration of EC₅₀ calculated from 96 hr growth test. Overall, toxic responses of *E. agilis* to test substances are comparable to or more sensitive than *D. magna*, *M. macrocopa* and *V. fischeri*. Our study demonstrates that *E. agilis* can be a putative ecotoxicity test model organism to assess domestic water quality. Results obtained from this study can be applied to establish the standard test guidelines for ecotoxicity test using *E. agilis*.

Key words : ecotoxicity, *Euglena agilis*, organic solvents, domestic organism, guidelines

서 론

수계로 배출되는 다양한 유해물질에 대한 위험을 극복하고자 미국을 비롯한 유럽의 여러 국가들은 1970년대부터 지금까지 생물체를 이용해 검증하는 통합독성 관리제도(Whole Effluent Assessment/Toxicity)를 개발하여 운영하고 있으며, 우리나라도 2011년부터 생태독성 관리제도를 도입하여 운영하고 있다(USEPA 2002; Korea Ministry of Environment 2011).

현재 국내 생태독성 관리제도에 시행되는 생물시험은 물벼룩 단일종을 이용한 급성독성시험으로 시험 생물

종인 *Daphnia magna* (*D. magna*)는 국내 수계에 전혀 서식하지 않는 외래 생물 종이다. 단일 종을 이용한 생태독성평가는 그 시험 종이 어떤 물질에 대해 민감도 특이성을 나타내는 경우 그 물질에 대한 전반적인 독성을 이해하는 데 어려움이 유발될 수 있다. 또한 국내 수계의 실정 및 먹이사슬을 통한 생물 종 간의 상호 관련성 등을 고려한 수질환경 위해성을 평가하기 위해서는 국내 서식 종을 이용한 독성 평가기법의 적용이 바람직할 것이다. 이와 같은 단점들을 극복하기 위하여 식물성 플랑크톤(녹조류), 물벼룩류, 어류(알) 등 국내 생물 종을 이용한 생태독성평가 기반연구가 수행되었고 최근 생태독성 시험 생물 종의 다변화를 위한 연구도 진행되고 있다(Nam *et al.* 2007; An *et al.* 2007, 2008).

식물성 플랑크톤은 1차 생산자로 수중의 넓은 생태적

* Corresponding author: Junga Lee, Tel. 031-244-9755,
Fax: 031-244-9757, E-mail: leejunga@kyonggi.ac.kr

Table 1. Physical properties of test chemicals

Chemicals	CAS number	Molar mass (g mol ⁻¹)	Density (g cm ⁻³)	Melting point (°C)	Vapor pressure (kPa)	Viscosity (mpa.s, 20°C)
Acetone	67-64-1	58.08	0.791	-95.0	24.460	0.33
Chloroform	67-66-3	119.38	1.483	-63.5	21.086	0.56
DMSO	67-68-5	78.13	1.100	19.0	0.056	2.00
Ethanol	64-17-5	46.07	0.789	-114.0	5.950	1.14
Methanol	67-56-1	32.04	0.792	-97.6	13.020	0.59

Table 2. The composition of the culture medium of *E. agilis*.

Compound	Quantity (mg L ⁻¹)
CaCl ₂ H ₂ O	20
EDTA	50
FeCl ₃ · 6H ₂ O	5
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	44
MnSO ₄ · H ₂ O	30.9
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	10.08
CoCl ₂ · 6H ₂ O	87
CuSO ₄ · 5H ₂ O	39
H ₃ BO ₃	283
NaI	0.118
CH ₃ COONa	1000
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1000
KH ₂ PO ₄	1000
MgSO ₄ · 7H ₂ O	200
VitB ₁	0.0001
VitB ₁₂	0.0005

적용 범위를 가지고 있기 때문에 수중의 물리화학적 인 서식 환경의 변화에 따라 반응을 나타내어 하천이나 호수 등의 수질상태를 파악하기 위해 자주 이용되는 대표적인 지표 생물 종이다 (Turbak *et al.* 1986). 그 중 유글레나는 약산성 조건에서도 잘 성장하고 독성물질에 민감하며 (Ahmed and Häder 2010a, b; Jasso-Chávez *et al.* 2010; Azizullah *et al.* 2011) 체내에 엽록체를 가지고 광합성을 하는 식물적 특성과, 탄소원으로 유기물을 이용하고 세포벽이 없으며 편모로 유영생활을 하는 원생동물의 편모충류에 해당하는 동물적 특성을 동시에 가지고 있어 (Carmner and Myers 1952; Brochiero *et al.* 1984; Einicker-Lamas *et al.* 2002) 다양한 유해화학물질 및 환경시료에 대한 식물적 특성과 동물적 특성을 이용한 독성반응 측정 및 관찰이 동시에 가능하다 (Azizullah and Richter 2012). 이와 같은 장점들로 인하여 카드뮴, 수은 등 중금속을 비롯한 다양한 화학물질에 대해 유글레나를 이용한 독성평가가 수행되고 있으며 도출된 결과를 기반으로 수 생태 독성 평가에 적합한 생물 종이라고 제안되고 있다 (Tahedi and Häder 1999, 2001; Einicker-Lamas *et al.* 2002). 그러나 다양한 물질에 대한 유글레나의 독성반응 자료는 주로 *Euglena gracilis* (*E. gracilis*)를 이용한 시험으로부터 도출된

것으로 국내 서식 종인 *Euglena agilis* (*E. agilis*)에 대한 독성 자료는 거의 없으며 표준시험법도 설정되지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 *E. agilis*가 국내 수 생태계의 독성 및 위해성을 평가하기 위한 시험 생물 종으로서의 적용가능성을 평가하기 위하여 총 5종의 시험물질 (acetone, chloroform, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol, methanol)에 대한 독성영향을 측정하여 현재 생태독성 시험 생물 종인 물벼룩 (*D. magna*)과 생태독성평가 후보 생물 종인 국내 서식 물벼룩 (*Moina macrocopa*, *M. macrocopa*)과 해양 발광박테리아 (*Vibrio fischeri*, *V. fischeri*)의 독성민감도와 비교하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

Acetone, chloroform, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol, methanol은 시그마알드리치사 (Sigma-Aldrich, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 고순도의 실험용 시약을 사용하였다. 시험물질의 이화학적 성상은 Table 1에 나타내었다.

2. *E. agilis*의 배양 및 시험 조건 수립

본 실험에 이용된 *E. agilis*는 인천대학교 수서독성 생리생태학 실험실에서 분양받아 사용하였다. Sodium acetate가 포함된 mineral medium 배양액 (Starr 1971) (Table 2)에 접종된 유글레나는 조도 2800 Lux, 온도 24 ± 1°C, 광주기 16:8 (light:dark)의 비율로 유지하며 배양하였다.

시험물질의 물리화학적 특성에 따른 표준 독성시험방법을 수립하기 위하여 배양환경 조건에 의한 세포생장을 측정하였다. 초기 세포밀도 변화에 의한 유글레나 성장영향은 100 mL 삼각플라스크 또는 20 mL 시험용기에 약 0.2 × 10⁵, 0.5 × 10⁵, 그리고 1.5 × 10⁵ cells mL⁻¹로 접종하여 5일간 배양하며 측정하였다. Open과 close 환경에

의한 세포 성장영향은 20 mL 시험용기에 초기 세포밀도를 약 0.2×10^5 , 0.5×10^5 , 그리고 1.5×10^5 cells mL⁻¹로 접종한 후 멸균거즈와 솜을 이용하여 공기가 통하게 한 상태 (open)와 공기가 통하지 않도록 마개로 입구를 밀봉한 상태 (closed with head space)로 5일간 배양하며 측정하였다. 배양액 pH에 의한 영향은 위의 실험과 동일한 조건하에 배양액의 pH를 변화시켜 (pH 5, pH 6, pH 7) 수행하였다. 세포 밀도는 혈구계수판 (superior, Germany)을 이용하여 Inverted microscope (CKX41, Olympus, Japan)로 측정된 뒤 다음과 같은 식에 의해 세포 성장률 (cell growth rate, μ)을 산출하였다.

$$\text{Growth rate } (\mu) = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n - t_0} \text{ (day}^{-1}\text{)}$$

t_0 : 시험시작시간 (day)

t_n : 시험종료시간 (day)

N_0 : 조류 초기 세포밀도

N_n : 시간 t_n 에서 측정된 세포밀도

3. *E. agilis*의 성장 저해 시험

5종 유기용매 (acetone, chloroform, dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol, methanol)를 시험물질로 유글레나 성장 저해시험을 수행하였다. 시험은 지수생장기에 도달한 세포를 이용하여 수행하였으며 실험과정은 다음과 같다. *E. agilis* (약 1.5×10^5 cells mL⁻¹)에 배양액 (Table 1)으로 희석한 각 유기용매를 농도별로 처리한 후 공기와 접촉하지 않은 상태 (closed with head space)로 배양하였다. 96시간 경과 후 세포밀도를 측정하여 다음과 같은 식에 의해 세포 성장 저해율 (cell growth inhibition rate)을 산출하였다.

$$\text{Inhibition rate } (\%) = \frac{\mu_{\text{control}} - \mu_{\text{inhibited}}}{\mu_c} \times 100$$

μ_c : 대조군의 성장률

μ_i : 노출농도 i 에서의 성장률

4. *V. fischeri* 시험

V. fischeri 시험은 Modern water Microtox[®] Analyzer (Model 500, Microtox[®], USA)를 이용하여 다음과 같은 방법으로 분석하였다. 각 시험물질에 총량의 1/10 (v/v)에 해당하는 OAS (osmotic adjusting solution)를 첨가한 후 농도별로 희석한 시료를 준비하였다. 독성영향은 *V. fischeri*의 초기 발광도와 대조군 및 시료에 노출 5분, 15분,

그리고 30분 경과 후의 발광도를 측정한 후 EC₅₀ (Half maximal effective concentration)을 산출하였다.

5. *E. agilis*의 세포 반응 시험

시험물질에 의한 *E. agilis*의 세포반응을 관찰 및 측정하였다. 세포반응 관찰 시험은 각 시험물질을 처리 후 *E. agilis* 세포를 현미경 (Inverted microscope, CKX41, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 또한 촬영된 세포반응 이미지 (1초에 4번, 총 2분)를 이용하여 *E. agilis*의 운동성 파라미터 (swimming velocity, motility)를 측정하였다 (Tahed and Häder, 2001).

$$\text{Velocity} = \frac{d}{\Delta t} \times fs,$$

d : 벡터의 길이 (1째 화면과 5째 화면의 세포거리, x축상의 이동거리와 y축상의 이동거리)

$$d = \sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2}$$

Δt : 1째 화면과 5째 화면의 시간 차이

$$\text{Motility} = \frac{ns}{n} \times 100\%$$

n_s : velocity > v_s 인 벡터의 수

n : 모든 벡터의 수

v_s : 활동적으로 움직이는 세포와 활동성이 없거나 바닥으로 가라앉는 유글레나를 구별하는 최소한의 속도

$$\text{Compactness} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{S_i^2}{A_i \times 4\pi}}{n_s}$$

S : 유글레나 외부길이의 합계

A : 면적 (유글레나의 면적)

6. 통계처리

대조군과 실험군의 유의성 검정은 students t-test로 비교하였고 SAS 통계프로그램을 이용하여 95% 신뢰구간을 포함한 EC₀₅, EC₅₀을 분석하였으며 모든 통계 값에서 유의 수준은 0.05 이하 ($p < 0.05$)로 하였다.

결과 및 고찰

1. *E. agilis* 배양 및 시험조건 수립

생물을 이용하여 환경유해 화학물질에 대한 영향을 평

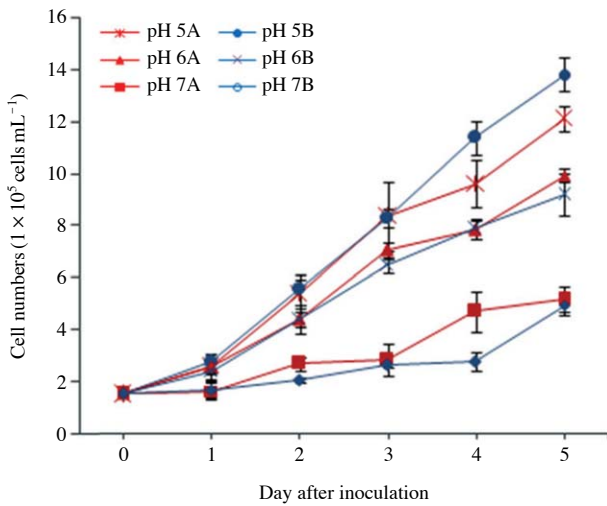


Fig. 1. Cell growth for 5 days after inoculation in different culture condition (A. 100 mL, B. 10 mL). Values are expressed as mean \pm SD.

가할 경우, 시험물질의 노출시기, 노출기간 및 노출방법 등 적용된 시험방법에 따라 생물에게 발현되는 양상이 다양하게 나타날 수 있다. 따라서 본 연구에서는 표준화된 독성 시험법 개발을 위한 기초연구로 배양액 pH, 배양용량, 초기접종 세포밀도, 그리고 노출환경조건 (open 혹은 close)에 의한 *E. agilis*의 성장 영향을 측정하였다.

Fig. 1은 *E. agilis*의 초기 세포밀도를 1.5×10^5 cell mL^{-1} 로 동일하게 유지한 후 배양액의 부피 (100 mL 또는 10 mL)와 pH (pH 5, 6, 7) 조건을 변화하여 5일간 측정된 결과이다. 배양액 pH에 의한 세포 성장속도 변화는 초기접종 2일 후부터 나타나기 시작하였으며 배양액의 pH가 5인 조건에서 *E. agilis*는 가장 좋은 성장을 나타내었다 (Fig. 1). 배양용량 차이에 의한 세포 성장을 변화는 없으며 이와 같은 결과는 적은 용량 (10 mL, 총 부피)의 독성 시험이 가능함을 보여준다.

시험물질의 기체압과 헨리상수 값은 독성시험 수행 시 시료가 휘발에 의해 소실되는가를 결정하는 데 중요한 영향인자이므로 휘발성 유기화합물질에 대한 독성시험을 수행할 경우 시험물질 노출방법이 독성 결과 값에 영향을 야기할 수 있다. 따라서 휘발성 물질을 함유한 시료일 경우 일반적으로 close 환경 조건에서 독성실험을 수행하는 것이 바람직하다. 그러나 생물 종에 따라 close 환경의 배양조건이 시험 생물 종의 성장에 영향을 미칠 수 있으므로 독성평가에 있어 방해 요소로 작용할 수 있다. 특히 미세조류를 생물 종으로 단힌 조건 (closed system)에서 성장저해를 종말점으로 독성시험을 수행할 경

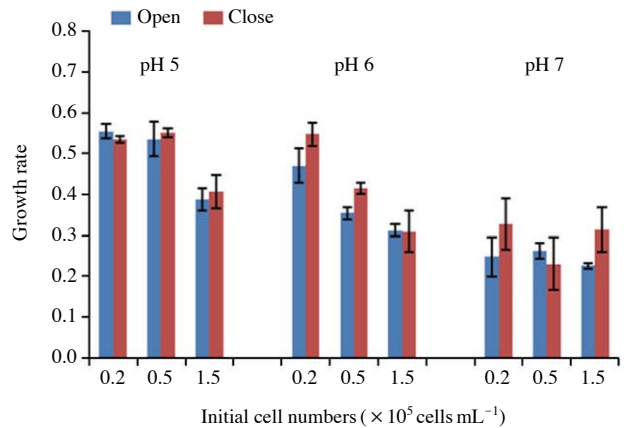


Fig. 2. Growth rate changes of *E. agilis* in different culture conditions (pH, initial cell numbers, open/close) after 4 days incubation. Values are expressed as mean \pm SD.

우 CO_2 의 고갈과 pH 증가에 의해 조류 성장에 제한을 유발할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 *E. agilis*를 이용하여 close 환경에서 시험물질에 대한 독성시험의 적용가능성을 평가하기 위해 20 mL 시험용기 (총 부피: 10 mL)에 초기 세포밀도를 약 0.2×10^5 , 0.5×10^5 , 그리고 1.5×10^5 cells mL^{-1} 로 접종한 후 open과 close 환경으로 4일간 배양하며 세포 성장영향을 측정하였다. 96시간 경과 후 배양액 pH 및 초기 세포밀도에 의한 성장율의 변화가 관찰되었으나 open과 close 환경에 의한 성장율 변화는 높지 않았다 (Fig. 2). 특히 pH 5와 pH 6인 조건에서 초기 세포밀도가 1.5×10^5 cells mL^{-1} 일 경우 유사한 세포 성장율을 나타내었다 (Fig. 2). 이와 같은 결과는 *E. agilis*를 이용하여 open과 close 환경에서 독성시험 수행이 가능함을 나타내며 휘발성 유기용매에 의한 독성영향 평가 시 closed system 노출시험이 적합할 것으로 판단된다.

2. *E. agilis* 성장 저해 시험

5종의 휘발성 유기용매 (acetone, chloroform, DMSO, ethanol, 그리고 methanol)에 대한 *E. agilis* 성장 저해시험을 수행하였다. 시험 결과, 시험물질의 농도가 증가할수록 *E. agilis*의 세포밀도가 감소하였다 (Fig. 3). 시험물질에 의한 세포독성 영향은 농도 의존성을 나타냈으며 농도-반응 관계는 Sigmoid 형태를 나타내었다 (Fig. 4). 시험에 사용된 5종의 시료 중 *E. agilis*는 chloroform에 가장 민감한 반응을 보였으며 (Fig. 3, Fig. 4) 용량-반응 곡선과 반수영향농도 (EC_{50})를 비교한 결과 DMSO가 가장 독성이 낮았고 methanol, ethanol, acetone순으로 독성이 높아졌으며 chloroform의 독성이 가장 높게 측정되었다 (Table

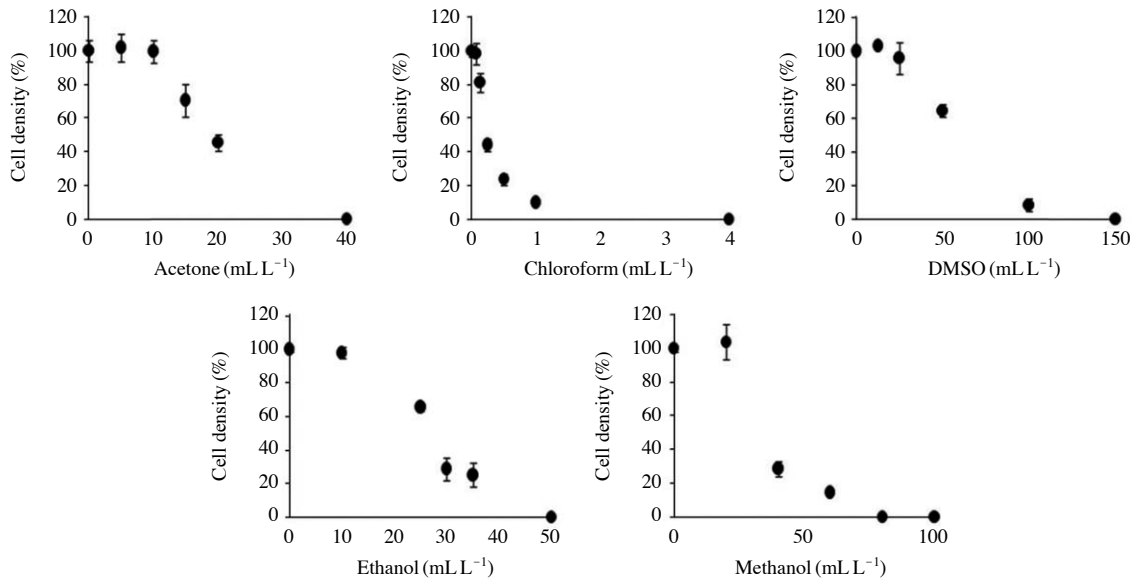


Fig. 3. The cell density of *E. agilis* after 96 hr incubation with various concentration of (A) acetone, (B) chloroform, (C) DMSO, (D) ethanol, and (E) methanol. Values are expressed as mean \pm SD.

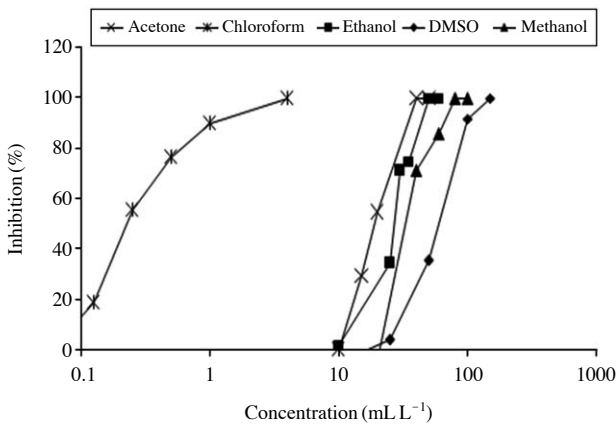


Fig. 4. Concentration-response curve of *E. agilis* by acetone, chloroform, DMSO, ethanol, and methanol treatment for 96 hr.

3). Acetone과 ethanol의 최저영향농도 (LOEC)는 각각 5.0 과 10 mL L^{-1} 이고 *E. agilis*에 해를 나타내지 않는 최고 농도를 무영향농도 (NOEC)로 가정할 때 DMSO와 methanol의 NOEC는 각각 12.5 와 10.0 mL L^{-1} 로 측정되었다 (Table 3).

시험물질에 의한 *E. agilis*의 독성민감도를 알아보기 위해 *E. agilis* 급성 독성영향 (EC_{50} , 96 h)과 현재 수 생태 관리제도에 이용되는 생물 종인 *D. magna* (24 h), 새로운 독성시험평가 종 후보인 국내 서식 물벼룩 (*M. macrocopa*, 24 h)과 *V. fischeri*의 독성영향과 비교하여 Table 4에 나타내었다. 동일시험물질에 대하여 해양 발광박테리아

Table 3. Estimation of 96 hr NOEC/LOEC, EC_{05} , and EC_{50} values of 5 volatile organic compounds with 95% confidence intervals to *E. agilis*.

Chemicals	96 hr EC (mL L^{-1})	Confidence Intervals (95%)	
		lower	upper
Acetone	LOEC	5.00	—
	EC_{05}	14.91	11.36
	EC_{50}	18.93	15.85
Chloroform	NOEC	—	—
	EC_{05}	0.26	0.19
	EC_{50}	0.59	0.45
DMSO	NOEC	12.50	—
	EC_{05}	27.87	24.24
	EC_{50}	56.87	32.73
Ethanol	LOEC	10.00	—
	EC_{05}	14.39	12.83
	EC_{50}	22.90	15.79
Methanol	NOEC	10.00	—
	EC_{05}	20.40	22.13
	EC_{50}	35.03	23.75

EC_{05} and EC_{50} : 5% and 50% Effective concentration. NOEC: No observed effective concentration. LOEC: Lowest observed effective concentration.

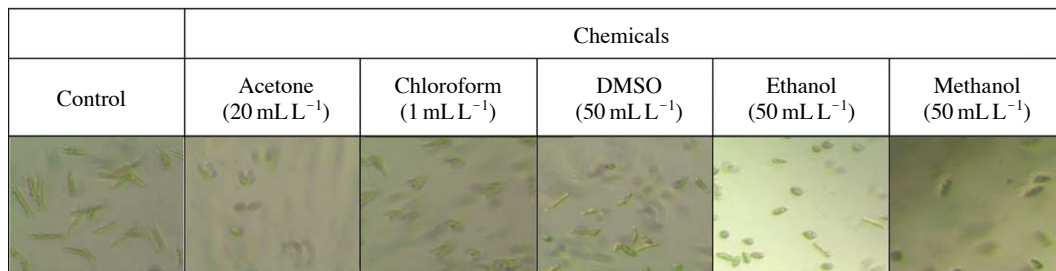
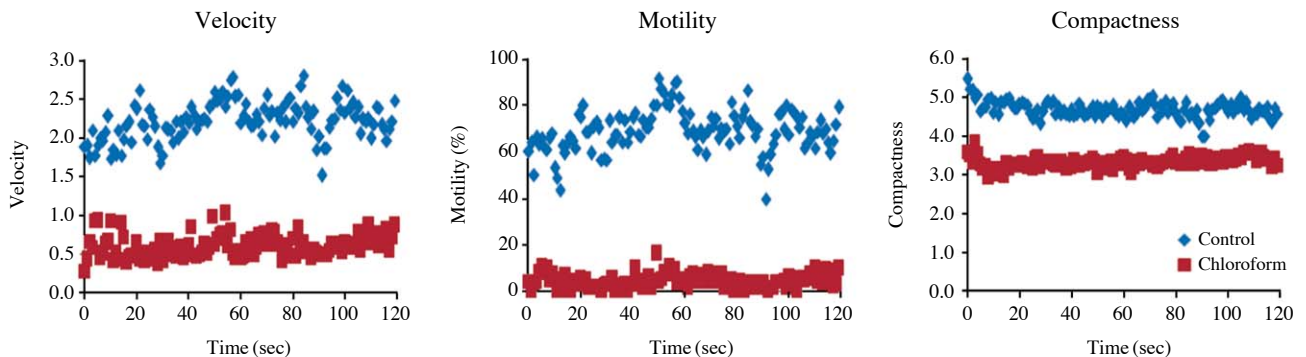
(*V. fischeri*)를 이용한 독성시험을 수행하였고 독성민감도 비교에 이용된 *D. magna*와 *M. macrocopa*의 EC_{50} 값은 문헌조사를 통해 얻은 값이다. *V. fischeri*에 대한 발광저해시험 결과 EC_{50} (15 min)을 기준으로 Chloroform의 독성이 가장 높았으며 Acetone > Methanol > Ethanol > DMSO 순으로 독성이 높았다.

*E. agilis*의 독성민감도는 acetone에 대하여 *D. magna*보다 낮았으나 *V. fischeri*와 유사하였고 *M. macrocopa*보

Table 4. Acute toxicity of 5 organic solvents to *E. agilis*, *M. macrocopa*, *D. magna*, and *V. fischeri*.

Chemicals	EC ₅₀ (mL L ⁻¹)			
	<i>Euglena agilis</i> (96 hr)	<i>Moina macrocopa</i> ¹⁾ (24 hr)	<i>Daphnia magna</i> (24 hr)	<i>V. fischeri</i> (15 mins)
Acetone	18.93 (17.97~19.17)	58.82 (43.95~79.01)	7.60, 10.00 ²⁾	16.27
Chloroform	0.59 (0.52~0.74)	—	0.60, 0.79 ³⁾	0.48
DMSO	56.87 (54.83~59.27)	36.70 (31.31~44.43)	6.21, 11.65 ¹⁾	95.85
Ethanol	22.90 (22.13~23.75)	36.70 (31.31~44.43)	10.00 ³⁾ , 15.80 ²⁾	97.78
Methanol	35.03 (31.98~38.58)	36.70 (31.31~44.43)	10.00 ²⁾ , 19.23 ¹⁾	90.44

¹⁾Kim *et al.* 2010, ²⁾Bringmann and Kühn 1982, ³⁾Kühn *et al.* 1988

**Fig. 5.** Morphological changes of *E. agilis* induced by acetone, chloroform, DMSO, ethanol, and methanol after 2 min exposure.**Fig. 6.** The movement patterns of *E. agilis* treated with chloroform concentration of 0.5 mL L⁻¹ during a tracking period of 2 min.

다 약 3배 정도 높았다. Chloroform에 대하여 *E. agilis*는 *D. magna* 또는 *V. fischeri*와 유사하였다. DMSO에 대한 *E. agilis*의 독성민감도는 *M. macrocopa*와 *D. magna*에 비해 약 1.5~9.2배 낮았다. Ethanol에 대한 *E. agilis* 독성민감도는 *D. magna*보다 낮으나 *M. macrocopa*와 *V. fischeri*보다 각각 약 1.5와 4.5배 정도 높았다. Methanol에 대한 *E. agilis* 독성민감도는 *M. macrocopa*와 유사하였고 *D. magna*보다 낮으며 *V. fischeri*보다 약 2.5배 정도 높았다 (Table 4). *E. agilis*의 독성민감도는 시험물질별로

상이하나 전반적으로 *D. magna*보다 낮았다. 그러나 *M. macrocopa* 또는 *V. fischeri*와 유사하거나 더 민감하였다.

3. *E. agilis*의 세포 반응 시험

유글레나(*E. gracilis*)의 동물성 특성을 이용한 독성시험을 통하여 다양한 유해화학물질은 세포의 형태, 움직임, 방향성 및 이동속도 등에 영향을 미친다는 연구 결과가 보고된 바 있다. Cadmium (0.1~1.6 mg L⁻¹)과 tributyl-

tin chloride (5.6 mg L^{-1})에 의해 세포의 형태 변화가 관찰되었으며 (Ohta *et al.* 2001; Watanabe and Suzuki 2001), 대조군 대비 50% 이하의 세포성장 저해를 유발하는 우라늄 노출에도 세포 밀집 현상과 V-형태의 세포가 관찰되었다 (Trenfield *et al.* 2012). Danilove와 Ekelund는 구리, 니켈, 납 그리고 아연에 단기 노출(2시간)된 *E. gracilis*의 세포의 형태 변화는 민감한 지표가 아니라고 규정하였으나 (Danilove and Ekelund 2001) Ahmed와 Häder는 세포이동속도 (swimming velocity)와 세포방향성 (gravitactic orientation)이 세포성장 저해를 유발하는 구리독성에 민감한 지표라고 제시하였다 (Ahmed and Häder 2010a).

이에 본 연구에서는 5종의 시험물질에 대하여 *E. agilis*의 세포반응을 관찰하였고 가장 독성이 높은 chloroform에 대하여 *E. agilis* 세포의 운동성 변화에 기인된 movement parameters (swimming velocity, motility, compactness)를 측정하였다. 세포반응 관찰 결과 각 물질의 EC_{50} (*E. agilis*, 96 h) 또는 그 이상의 농도에 단 2분 노출되었음에도 *E. agilis* 세포의 형태 변화가 나타났다 (Fig. 5). 특히 chloroform 노출 후 *E. agilis* 세포의 움직임을 측정한 결과 세포의 평균 이동속도 (swimming velocity), 움직임 (motility) 그리고 세포 밀집 (compactness)은 대조군에 비해 각각 73.0, 94.0, 그리고 29.4% 감소하였다 (Fig. 6).

본 연구의 결과, *E. agilis* 세포의 운동성 변화에 기인된 movement parameters (velocity, motility, compactness)를 종말점으로 독성시험을 수행할 경우 시험물질에 대한 세포의 반응시간이 짧아 단시간 내에 독성영향을 측정할 수 있으므로 실시간 모니터링에 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 연구에서는 새로운 국내 생태독성평가 시험 생물 종으로서 유글레나의 적용가능성을 평가하기 위하여 국내 서식종인 *E. agilis*를 이용하여 5종의 휘발성 유기용매 (Acetone, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Ethanol, Methanol)에 의한 독성영향을 평가하였다. *E. agilis*의 식물적 특성을 이용한 급성독성영향 평가 결과, *D. magna*에 비해 DMSO에 대한 독성민감도가 상대적으로 낮았으나 전반적으로 비교생물 종과 유사하거나 민감하였다. *E. agilis*의 동물적 특성을 이용한 세포반응 시험 결과, Chloroform의 경우 반수영향을 야기하는 시험물질농도 (96시간 EC_{50})에 상당히 신속하고 민감한 독성반응을 나타내었다. 환경시료에 대한 모니터링 목적으로 다양한

생물 종을 이용한 생물검정 기법 적용이 증가하고 있는 추세이다. 수 생태 환경관리를 목적으로 새로운 생태독성시험 개발에 적용할 생물 종은 국내 수질환경에 적합하고 배양이 용이하며 다양한 유해화학물질에 대한 독성이 민감해야 한다. 또한 반응시간이 짧아 실시간으로 모니터링이 가능할 뿐만 아니라 경제성도 고려되어야 한다. 본 연구의 결과 *E. agilis*는 배양이 용이하고 다루기 쉬우며 성장율 (growth rate), 이동속도 (velocity), 활동도 (motility), 세포형태 (compactness) 등 식물적 특성과 더불어 동물적 특성과 연계된 인자들을 종말점으로 독성시험을 수행할 수 있다. 따라서 *E. agilis*는 다양한 유해화학 물질 및 환경시료에 대하여 신속하고 민감한 독성반응 도출이 가능할 것으로 예상되며 향후 국내 수질관리를 위한 새로운 생태독성 영향평가 생물 종으로 적용될 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 환경부 “글로벌탑 환경기술개발사업”으로 지원 (과제번호: GT-11-B-01-015-0)받아 수행한 연구입니다.

REFERENCES

- Ahmed H and DP Häder. 2010a. A fast algal bioassay for assessment of copper toxicity in water using *Euglena gracilis*. J. Appl. Phycol. 22:785-792.
- Ahmed H and DP Häder. 2010b. Rapid ecotoxicological bioassay of nickel and cadmium using motility and photosynthetic parameters of *Euglena gracilis*. Environ. Exp. Bot. 69:68-75.
- An YJ, SH Nam and WM Lee. 2007. Fundamentals of ecotoxicity evaluation methods using domestic aquatic organisms in Korea: (2)Water Flea (Review). Korean J. Limnol. 40: 357-369.
- An YJ, SH Nam and YW Baek. 2008. Fundamentals of ecotoxicity evaluation methods using domestic aquatic organisms in Korea: (3)Green algae (Review). Korean J. Limnol. 41: 117-127.
- Azizullah A, P Richter and DP Häder. 2011. Toxicity assessment of a common laundry detergent using the freshwater flagellate *Euglena gracilis*. Chemosphere 84:1392-1400.
- Azizullah A, P Richter, M Jamil and DP Häder. 2012. Chronic toxicity of a laundry detergent to the freshwater flagellate

- Euglena gracilis*. *Ecotoxicology* 21:1957-1964.
- Bringmann G and R Kühn. 1982. Results of toxic action of water pollutants on *Daphnia magna* tested by an improved standardized procedure. *Z. Wasser Abwasser Forsch.* 15:1-6.
- Brochiero E, J Bonaly and JC Mestre. 1984. Toxic action of hexavalent chromium on *Euglena gracilis* cells strain Z grown under heterotrophic conditions. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 13:603-608.
- Cramer M and J Myers. 1952. Growth and photosynthetic characteristics of *Euglena gracilis*. *Arch. Microbiol.* 17:384-402.
- Danilov RA and NG Ekelund. 2001. Effects of Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} and pentachlorophenol on photosynthesis and motility in *Chlamydomonas reinhardtii* in short-term exposure experiments. *BMC Ecol.* 1:1-9.
- Einicker-Lamas M, GA Mezian, TB Fernandes, FLS Silva, F Guerra, K Miranda, M Attias and MM Oliveira. 2002. *Euglena gracilis* as a model for the study of Cu^{2+} and Zn^{2+} toxicity and accumulation in eukaryotic cells. *Environ. Pollut.* 120:779-786.
- Jasso-Chávez R, A Pacheco-Rosales, E Lira-Silva, JC Gallardo-Pérez, N García and R Moreno-Sánchez. 2010. Toxic effects of Cr (VI) and Cr (III) on energy metabolism of heterotrophic *Euglena gracilis*. *Aquat. Toxicol.* 100:329-338.
- Kim BS, YK Park, YJ Yang, SS Hong, KH Park, MH Joeng, SR Kim, KH Park, WH Yeh, DH Kim, JC Yun, MK Hong, KS Kyung and YJ Ahn. 2010. Comparison of toxic response of cladocerans to organic solvents to establish the standard test guidelines using Korean native species. *The Korean J. Pestic. Sci.* 14:10-15.
- Korea Ministry of Environment. 2011. Official Test Methods of water quality Acute Toxicity Test Method of the *Daphnia magna* Straus.
- Kühn R, M Pattard, KD Pernak and A Winter. 1989. Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21d reproduction test. *Water Res.* 23:501-510.
- Nam SH, CY Yang, YJ An, WM Lee and JK Lee. 2007. Fundamentals of Ecotoxicity Evaluation Methods Using Domestic Aquatic Organisms in Korea: (1) Fish (Review). *Korean J. Limnol.* 40:173-183.
- Ohta M, S Okazaki, M Hiramatsu and T Suzuki. 2001. Comparative studies on the cellular response to chemical loading in unicellular eukaryote, *Euglena gracilis*, Strains Z and SMZ. *Nutr. Res.* 18:83-89.
- Starr RC. 1971. The culture collection of algae at Indiana University. *J. Phycol.* 7:350-362.
- Tahedl H and DP Häder. 1999. Fast examination of water quality using the automatic biotest ECOTOX based on the movement behavior of a freshwater flagellate. *Water Res.* 33:426-432.
- Tahedl H and DP Häder. 2001. Automated biomonitoring using real time movement analysis of *Euglena gracilis*. *Ecotox. Environ. Safe.* 48:161-169.
- Trenfield MA, JC Ng, B Noller, SJ Markich and RA Dam. 2012. Dissolved organic carbon reduces uranium toxicity to the unicellular eukaryote *Euglena gracilis*. *Ecotoxicology.* 21:1013-1023.
- Turbak SC, SB Olson and GA McFeters. 1986. Comparison of algal systems for detecting waterborne herbicides and metals. *Water Res.* 20:91-96.
- US Environmental Protection Agency. 2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.
- Watanabe M and T Suzuki. 2001. Cadmium-induced abnormality in stains of *Euglena gracilis*; morphological alteration and its prevention by zinc and cyanocobalmin. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 130:29-39.

Received: 26 November 2014

Revised: 10 March 2015

Revision accepted: 14 March 2015