농약과학회지 제9권 제3호(2005)
The Korean Journal of Pesticide Science
Vol. 9, No. 3. pp.221~230(2005)

표준생태독성시험법 개발을 위한 한국산 물벼룩의 최적사육온도 구명

김병석* · 박연기 · 박경훈, 신진섭 · 김진화 · 안용준[1]

*농업과학기술원 농산물안전성부, [1]서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부

요약 : 국내에 서식하는 주요 물벼룩에 대한 독성시험기준 마련의 필요성에 따라 국내환경에서의 대표성, 실내사육가능성 및 독성시험에 적합한 크기 등을 고려하여 선발된 4종의 한국산물벼룩(*Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*)과 *Daphnia magna*를 대상으로 사육온도(16, 20, 24, 28℃)에 따른 번식영향을 조사하였다. 그 결과 실험에 사용한 5종 물벼룩 모두 온도가 높을수록 탈피횟수, 새끼출산수 및 내적자연증가율이 증가하고 성체가 되는데 걸리는 기간과 생존율은 낮아지는 경향을 보였다. 따라서 높은 온도조건에서 높은 내적자연증가율을 보여줌에도 불구하고 고온에서의 높은 모체사망율을 고려한다면 대부분은 20℃내외가 가장 적절한 사육온도임을 알 수 있었다. 다만 *D. obtusa*의 경우에는 16℃에서 더 높은 모체생존율을 보여주었으며 내적자연증가율도 20℃와 비교하여 큰 차이가 없어 16℃ 내외가 더 적절한 온도인 것으로 판단되었다. (2005년 6월 24일 접수, 2005년 9월 20일 수리)

Key words : 내적자연증가율, 번식, 온도, *Daphnia magna, Korean cladoceran.*

서 론

새로운 농약이 제조, 판매되기 위해서는 약효·약해, 물리·화학적 안정성, 인체 및 환경위해성평가 등 일련의 안전성 검토과정를 거쳐야 한다. 이 과정에서 대상농약이 수서생태계에 미치는 위해성을 평가하게 되는데 이를 위해 농촌진흥청에서는 어류, 수서무척추동물, 藻類에 대한 독성시험성적을 기본적으로 요구하고 있다(농촌진흥청, 2005). 이중 수서무척추동물의 경우 미국이나 OECD 등에서는 물벼룩의 일종인 *Daphnia magna*를 시험종으로 한 급성유영저해시험과 만성번식영향시험의 독성성적을 검토하고 있다(USEPA, 1992a; USEPA, 1992b; OECD, 1984; OECD, 1996; OECD, 1997). 수 십년간 농약 등 화학물질 및 배출수에 대한 환경영향평가의 지표종으로 *D. magna*가 전 세계적으로 이용되어 오고 있는 배경에는 이 종이 독성물질에 대한 감수성이 타 종에 비해 높고 광범위한 화학물질 및 농약에 대한 방대한 독성 성적을 가지고 있으며 실내사육도 매우 용이하기 때문이다(Ferrando 등, 1995; Goulden 등, 1982; Hanazato 1998; Mark 와 Solbé, 1998; Versteeg 등, 1997).

그러나 최근 농약의 등록과 관련된 생태독성시험에서 *D. magna*만을 집중적으로 이용하는 것에 대해 이 종이 대형 저수지가 아닌 염농도가 높은 해안지역의 저수지나 기수역에만 분포한다는 지리적 제한성(Koivisto, 1995)과 오랜 실내사육으로 인해 외부 화학물질 등의 스트레스에 생존하도록 적응되었을 가능성(Koivisto 등, 1992) 등을 들어 비판하는 학자들도 있다. Versteeg 등(1997)은 *Ceriodaphnia*와 *D. magna*의 지역적 분포, 시험방법, 감수성 등을 비교하여 *Ceriodaphnia*는 미국 내 분포가 넓고 시험법도 확립되어 있으며, 화학물질에 대한 감수성도 *Daphnia*와 거의 유사함을 밝히고 이 종을 이용한 급·만성독성성적도 화학물질의 규제결정과정에서 *Daphnia*의 성적과 동등하게 고려되어 질 수 있다고 주장하였다.

*D. magna*가 전혀 서식하지 않는 것으로 알려진 우리나라의 경우에는 국내에서의 대표종인 *M. macrocopa, S. vetulus* 등에 대한 독성시험법을 개발하고 농약에 대한 독성자료를 축적하여 농약등록을 위한 시험성적을 검토 시 *D. magna*에 대한 독성과 비교, 검토하는 체계가 바람직할 것으로 판단된다. 하지만 국내에서는 아직까지 국내 서식하는 주요 물벼룩에 대한 표준독성시험법이 설정되어 있지 않은 상태일 뿐 만 아니라 독성시험에 사용가능한 국내산 주요 물벼룩에 대한 실내사육기술에 대한 기초 연구조차 전무한 실정이다(김 등, 2004).

표준독성시험법 개발에 있어서 가장 기초적이면서도 중요한 부분은 실험생물을 건강하게 유지 관리할 수 있는 최적사육조건을 설정하는 것이다. 최적사육

*연락저자

조건은 종마다 각기 다르기 때문에 이를 구명해내는 연구 없이는 일정한 수준의 질 높은 생물을 대량 확보하기 어려우며 신뢰성과 재현성을 가진 독성실험결과를 도출해 내기도 어렵다(이성규, 1994). 물벼룩의 최적사육을 위한 환경요인으로는 먹이의 종류와 양, 사육온도, 사육수, 광조건, 사육밀도 등이 거론되는데 이중 온도는 수서무척추동물의 생리와 대사에 영향을 미치는 매우 중요한 환경요인의 하나로 오염물질의 흡수배설율, 대사경로, 독성까지도 영향을 미칠 가능성이 있다(Tsui 와 Wang, 2004). Heugens 등(2003)은 대부분의 수서생물은 변온동물이므로 온도가 생리대사율에 영향을 주는 가장 중요한 요인이며 독성물질에 노출된 생물의 감수성에 큰 영향을 미치므로 일정한 온도에서 실시한 실내실험의 독성성적은 야외환경에 적용할 경우에는 야외 온도조건을 고려하여 보정할 필요가 있다고 하였다. Fisher 등(1999)은 온도가 4℃에서 23℃로 증가함에 따라 zebra mussel의 산소소비량이 10배 증가하고 benzo(*a*)pyrene의 흡수율도 2배 증가 한다고 보고하며 온도가 독성발현에 영향을 미치는 중요한 요인임을 밝혔다.

현재 전 세계적으로 가장 많이 이용되는 *D. magna*를 이용한 표준독성시험법에서는 20℃를 가장 선호하는 온도로 제시하고 있다(USEPA, 1992a; USEPA, 1992b; OECD, 1984; OECD, 1996; OECD, 1997). 하지만 국내산 물벼룩종에 대한 실내 최적사육온도조건에 대한 연구는 전혀 되어있지 않은 상태이므로 국내산 물벼룩의 표준독성시험법을 설정하기 위해서는 온도조건에 따른 국내산 물벼룩의 생존, 성장, 번식영향 등을 체계적으로 연구할 필요가 있다. 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*, *Simocephalus vetulus*(김일회, 1988;윤성명, 1995) 4종에 대한 실내사육 최적온도조건을 구명하기 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 사육조건과 국제적으로 공인된 시험법과의 비교를 위해 국제표준종인 *Daphnia magna*를 한국화학연구원에서 분양받아 사용하였다.

시험 물벼룩의 사육수는 표 1의 방법에 따라 *D. magna*는 미국 EPA에서 제시한 Hard water를, 국내종은 Moderately hard water를 제조하여 24시간동안 강하게 폭기한 후 사용하였다. 사육온도를 일정하게 유지하기 위해 20℃로 고정해 놓은 소형 water bath 안에 사육용기를 놓았으며, 이때 수온은 20±1℃, 광조건 16시간(500~800 Lux), 암조건 8시간으로 하였다. 실험에 사용할 생후 24시간 이전의 어린물벼룩을 수확하기 위해 실험 1일전에 어미를 사육하고 있는 용기에 들어있는 어린물벼룩을 완전히 제거하고 다음날 태어난 물벼룩만을 수집하여 사용하였다.

먹이로는 *Chlorella vulgaris*를 실험실에서 대량배양한 후 농축하여 냉장보관하면서 매일 2.5 x 10^5~5 x 10^5 cells/mL의 농도로 투여하였는데 어린 개체사육에는 먹이의 농도를 낮게 하고 자랄수록 그 양을 증가시켜 최대성장을 유지하도록 하였다.

최적사육온도를 설정하기 위해 사용한 온도조건은 16, 20, 24, 28℃의 4조건으로 하였고 각각의 온도조건마다 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 *M. macrocopa*는 10일로 하였으며 나머지 4종은 21일로 하였다. 매일 시험물벼룩의 탈피여부, 출산한 어린 물벼룩의 수, 어미의 치사유무, 이상증상 등을 관찰하였다. 출생한 어린물벼룩은 마리수를 계수한 후 시험

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

Water type	Reagent added (mg/L)				Final water quality		
	$NaHCO_3$	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	$MgSO_4$	KCl	pH	Hardness	Alkalinity
Very soft	12.0	7.5	7.5	0.5	6.4-6.8	10-13	10-13
Soft	48.0	30.0	30.0	2.0	7.2-7.6	40-48	30-35
Moderatey hard	96.0	60.0	60.0	4.0	7.4-7.8	80-100	60-70
Hard	192.0	120.0	120.0	8.0	7.6-8.0	160-180	110-120
Very hard	384.0	240.0	240.0	16.0	8.0-8.4	280-320	225-245

수조에서 제외시켰다. 시험 최종일에는 각 물벼룩의 체장을 해부현미경으로 측정하였는데 Villarroel 등(2003)이 조사한 기준에 의거하여 머리의 정수리부분에서부터 꼬리가시의 기저부까지의 길이를 조사하였다.

실험 종료 후 각 물벼룩의 일자별 출생수를 기초로 Lotka의 공식($\sum l_x m_x e^{-rx}=1$)을 사용하여 개체군의 내적 자연증가율(intrinsic rate of natural increase, r)을 계산하였다. 여기에서 l_x는 연령 x일까지 생존할 가능성, m_x는 특정연령에서의 번식력(연령 x일에서 생존한 암컷 한 마리가 낳은 새끼의 수), x 는 일수로 나타낸 시간이다(Van Leeuwen 과 Hermens, 1995).

결과 및 고찰

*D. magna*의 최적 사육온도

사육온도에 따른 *D. magna*의 생육영향을 보면(표 2) 21일간의 생존율이 16℃에서 90%를 제외하면 모두 100%이었고 총출산수는 20℃와 28℃에서 148.6, 168.8마리로 비슷하였으며, 출생 후 첫 출산까지 걸리는 시간은 16℃에서 10.2일 이었으나 온도가 높아질수록 빨라져 28℃에서는 5.6일로 16℃에서 걸린 기간보다 2배정도 빨리 출산을 시작하였다. 출산횟수도 온도가 높아질수록 많아져서 28℃에서는 8.3회의 출산을 보였다. 그러나 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수는 20℃에서 가장 많아 평균 30.7마리를 출산하였다. 체장과 탈피횟수는 모두 온도가 올라갈수록 뚜렷하게 높아지는 경향을 보였으며 28℃에서 4.4 mm, 12.5회로 가장 크게 나타났다. 16℃에서는 체색이 탈색되는 개체가 발견되었다.

Table 2. Effect of temperature on survivorship, reproduction, and growth of *Daphnia magna* during 21 days after birth

Parameter	Temperature (℃)			
	16	20	24	28
Survival rate, %	90	100	100	100
Reproduction				
Time to first brood	10.2±0.4	9.0±0.0	6.0±0.0	5.6±0.5
Total offspring/adult	20.2±6.4	148.6±18.2	103.4±8.8	168.8±15.5
Number of brood produced	2.4±0.5	4.9±0.6	7.0±0.0	8.3±0.7
Brood size	8.5±2.2	30.7±3.2	14.8±1.3	20.4±2.7
Growth				
Length, mm	3.9±0.2	3.9±0.2	4.1±0.1	4.4±0.1
Molting time	7.8±0.4	9.6±0.5	11.4±0.5	12.5±1.1
Abnormal symptom	c[a)]	-	-	-

[a)] Colorless body.

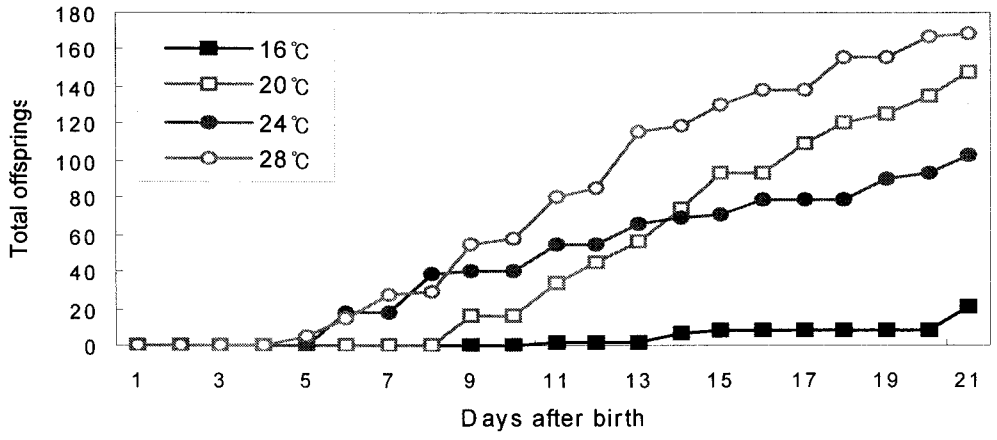

Fig. 1. Cumulative number of offspring of *Daphnia magna* during 21 days after birth at 4 different temperatures.

Daphnia sp.의 최적 사육온도

사육 온도가 *Daphnia* sp.의 생육에 미치는 영향을 보면(표 3) 21일간의 생존율이 16℃에서 90%, 20℃에서는 100%를 나타냈으나 24, 28℃에서는 73, 78%로 생존율이 저조하였다. 21일간 어미 1마리가 생산한 새끼의 수는 20℃와 28℃에서 316.7마리로 가장 많았으며 온도가 낮아질수록 출산수는 낮아지는 경향이었다. 출생 후 첫 출산까지 걸린 시간은 16℃에서 11.0일 이었으나 온도가 높아질수록 빨라져 20℃에서 6.8일, 24℃에서 5.4일 28℃에서는 4.2일이었고 28℃에서 어미로 성숙하는 기간이 16℃에서 걸린 기간에 비해 2배 이상 적게 걸린 것으로 나타났다. 출산횟수도 16℃에서는 3.8회, 28℃에서는 12.9회로 온도가 높아질수록 많아지는 경향을 보였으며 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수도 16℃에서 17.7마리인데 비해 28℃에서는 24.5마리로 온도가 증가함에 따라 출산수도 많아진 것을 알수 있었다.. 하지만 높은 온도에서는 그림 2에서 보는 바와 같이 초기에 생육이 좋으나 번식율이 점차 낮아지며 21일간의 생존율도 낮았다.

탈피횟수는 온도가 올라갈수록 뚜렷하게 높아지는 경향을 보였는데 16℃에서 8.2회, 28℃에서는 16.6회의 탈피를 하였다. 그러나 체장은 모든 시험군에서 3.0~3.1 mm정도의 크기를 보여 큰 차이가 없었다. 24℃와 28℃에서는 꼬리부위에 조류 등을 달고 다니는 개체가 보였으며 28℃에서는 체색이 하얗게 탈색된 개체도 발견되었다.

*D. obtusa*의 최적 사육온도

사육 온도가 *D. obtusa*의 생육에 미치는 영향은 표4에 나타내었다. 21일간의 생존율이 16℃에서 100%,

Table 3. Effect of temperature on survival, reproduction, and growth of *Daphnia* sp. during 21 days after birth

Parameter	Temperature (℃)			
	16	20	24	28
Survival rate, %	90	100	73	78
Reproduction				
Time to first brood	11.0±0.0	6.8±0.4	5.4±0.5	4.2±0.7
Total offspring	67.0±19.8	142.0±36.9	218.1±34.0	316.7±64.5
Number of brood produced	3.8±1.0	6.8±0.8	10.1±0.6	12.9±0.4
Brood size	17.7±2.5	20.7±3.3	21.5±2.9	24.5±4.6
Growth				
Length, mm	3.0±0.2	3.1±0.1	3.0±0.1	3.0±0.1
Molting time	8.2±1.1	10.8±0.8	13.9±0.4	16.6±0.8
Abnormal symptom	-	-	sc[a)]	sc,c[b)]

[a)] Swimming with carrying [b)] Colorless body.

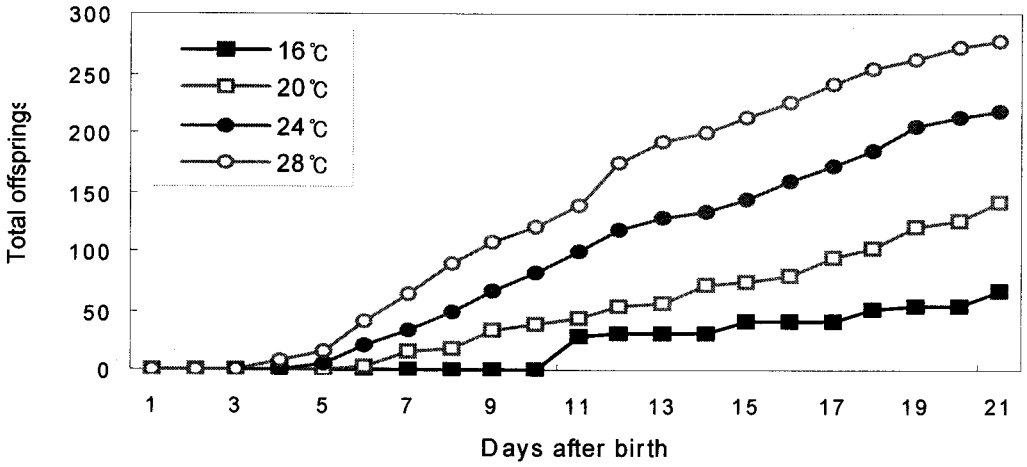

Fig. 2. Cumulative number of offspring of *Daphnia* sp. during 21 days after birth at different temperature.

Table 4. Effect of temperature on survival, reproduction, and growth of *Daphnia obtusa* during 21 days after birth

Parameter	Temperature (℃)			
	16	20	24	28
Survival rate, %	100	75	0	0
Reproduction				
Time to first brood	10.8±0.6	8.3±0.9	5.8±0.4	-
Total offspring/adult	72.4±15.4	68.9±21.2	19.0±5.7	-
Number of brood produced	4.0±0.0	5.1±1.2	2.6±0.9	-
Brood size	18.1±3.9	14.1±5.2	7.4±1.0	-
Growth				
Length, mm	2.7±0.1	2.6±0.1	-	-
Molting time	8.9±0.7	9.6±1.1	-	-
Abnormal symptom	-	-	-	-

20℃에서는 75%를 나타냈으나 높은 온도인 24, 28℃에서는 0%로 모든 개체가 21일간 생존하지 못하였다. 21일간 어미 1마리가 생산한 새끼의 수는 16℃와 20℃는 72.4와 68.9마리로 나타났으며 24℃에서는 평균 19마리가 죽을 때까지 출산되었고 28℃에서는 출산을 하지 않았다.

출생 후 첫 출산 때까지 걸리는 시간은 16℃에서 평균 10.8일, 20℃에서 8.3일, 24℃에서 5.8일이었다. 출산횟수는 16℃에서 4.0회, 20℃에서는 5.1회였으나 24℃에서는 2.6회로 저조하였다. 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수에서는 16℃에서 18.1마리인데 비해 20℃에서는 14.1마리, 24℃에서는 7.4마리로 온도가 증가함에 따라 새끼를 적게 출산하였다. 24℃와 28℃에서는 그림 3에서 보는 바와 같이 번식주기는 빨라지나 결국 21일 이전에 모두 치사하였다.

21일간의 탈피횟수 및 체장은 16℃에서 8.9회와 2.7 mm, 20℃에서는 9.6회와 2.6 mm로 큰 차이가 없었다.

*M. macrocopa*의 최적 사육온도

*M. macrocopa*의 10일간 생존율이 16℃, 20℃에서는 100%였으나 24, 28℃에서는 33, 17%로 생존율이 저조하였다. 10일간 어미 한 마리가 생산한 새끼의 수는 20℃에서 128.5마리로 가장 많았으며 16℃에서는 22.8마리, 24℃에서는 113마리, 28℃에서는 85.4마리로 20℃를 정점으로 하여 낮거나 높은 온도로 갈수록 출산수는 적어지는 경향이었다. 출생 후 첫 출산 때까지 걸리는 시간은 16℃에서 평균 5.9일 이었으나 온도가 높아질수록 빨라져 20℃에서 4일, 24℃에서 3일, 28℃에서는 2일이 지나면 새끼를 출산하여 온도가 높아지면 성체로 성숙하는 기간이 단축되는 것으로 나타났다. 출산횟수는 16℃에서는 2.1회였으나 20, 24, 28℃에서는 6.0~6.5회로 온도에 따른 차이가 거의 없

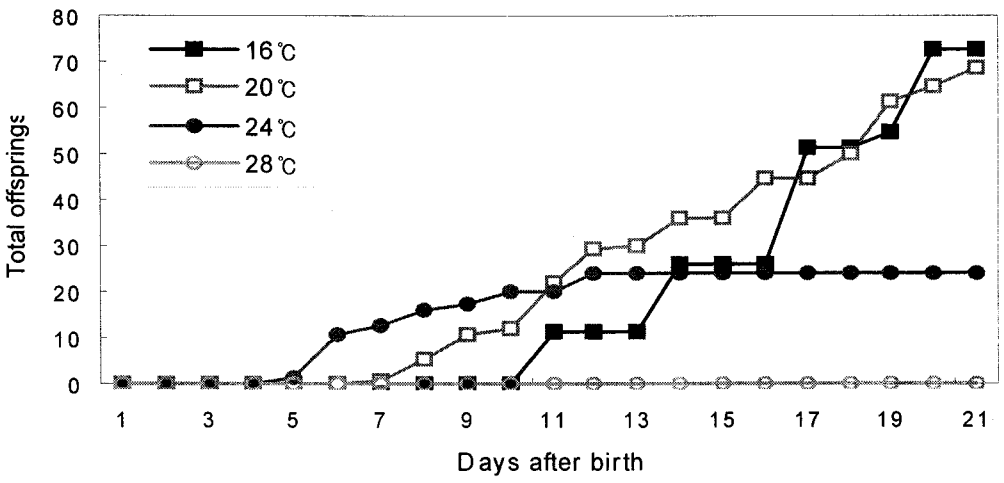

Fig. 3. Cumulative number of offspring of *Daphnia obtusa* during 21 days after birth at different temperature.

었다. 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수도 20℃에서 21.8마리로 가장 많았다. 높은 온도에서는 그림 4과 같이 초기에는 생육이 촉진되나 생존율이 떨어지고 최종적으로 번식율은 저하되었다.

탈피횟수는 온도가 올라갈수록 높아지는 경향을 보였는데 16℃에서 4.0회, 28℃에서는 8.5회의 탈피를 하였다. 그러나 체장은 16℃의 1.6 mm를 제외하면 모든 시험군에서 1.8 mm정도의 크기를 보여 큰 차이를 나타내지는 않았다. 28℃에서는 꼬리부위에 조류 등을 달고 다니는 개체가 보였다.

*S. vetulus*의 최적 사육온도

사육 온도가 *S. vetulus*의 생육에 미치는 영향을 보면(표 6) 21일간의 생존율이 16℃에서는 50%, 20℃에서는 100%, 24℃에서는 92%, 28℃에서는 67%의 생존율을 보여 저온에서의 생존율이 저조하였다. 21일간 생산한 새끼의 수는 온도가 높아질수록 많아지는 경향이었는데 16℃에서는 5.6마리로 극히 적었고 20℃에서는 88.6마리, 24℃에서는 148.8마리, 28℃에서는 164.1마리로 많아졌으나 온도가 높아질수록 개체간의 출산수의 차이가 심하였다. 첫 출산 때까지 걸리는 시간은 16℃에서 12.6일, 20℃에서 7.6일, 24℃와 28℃에서는 5.3일 이었다. 출산횟수는 16℃에서는 1.8회였으나 20, 24, 28℃에서는 각각 6.8, 9.3, 9.7회로 온도에 따라 증가하였다. 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수도 16℃에서는 2.9마리, 20℃에서는 13.2마리, 24℃에서는 16.1마리로 증가하였으나 28℃에서는 16.6마리로 24℃와 비슷하였다. 16℃와 28℃에서는 그림 5에서 보는 바와 같이 생육이 과다하게 저해되거나 촉진되어 생존율이 떨어졌다. 탈피횟수와 체장은 온

Table 5. Effect of temperature on survival, reproduction, and growth of *Moina macrocopa* during 10 days after birth

Parameter	Temperature (℃)			
	16	20	24	28
Survival rate, %	100	100	33	17
Reproduction				
Time to first brood	5.9±0.6	4.0±0.0	3.0±0.0	2.0±0.0
Total offspring/adult	22.8±4.7	128.5±9.7	113.0±31.3	85.4±27.6
Number of broods produced	2.1±0.3	6.0±0.8	6.5±0.6	6.1±1.6
Brood size	11.0±2.4	21.8±3.4	17.4±4.5	14.0±3.4
Growth				
Length, mm	1.6±0.1	1.8±0.1	1.8±0.1	1.8±0.0
Molting time	4.0±0.5	6.1±0.3	8.3±0.5	8.5±0.7
Abnormal symptom	-	-	-	sc[a)]

[a)] Swimming with carrying.

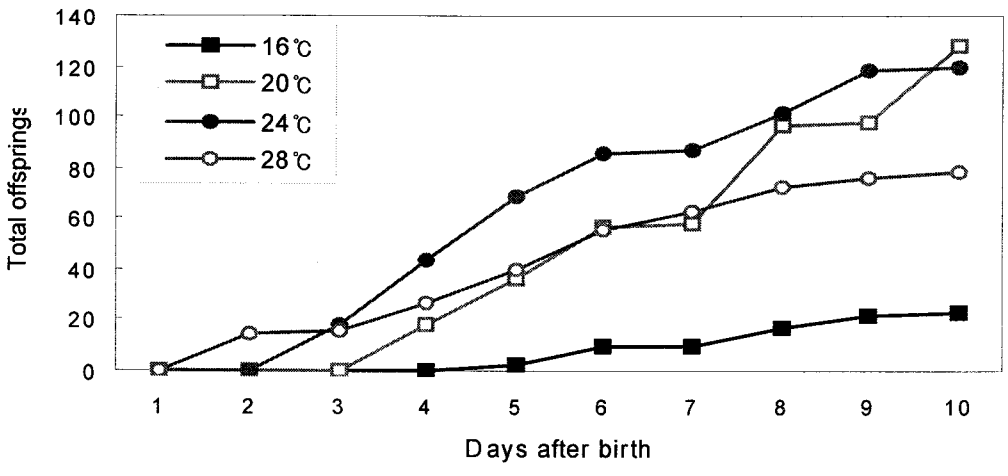

Fig. 4. Cumulative number of offspring of *Moina macrocopa* during 10 days after birth at different temperature.

Table 6. Effect of temperature on survival, reproduction, and growth of *Simocephalus vetulus* during 21 days after birth

Parameter	Temperature (℃)			
	16	20	24	28
Survival rate, %	50	100	92	67
Reproduction				
Time to first brood	12.6±3.6	7.6±0.9	5.3±0.5	5.3±0.5
Total offspring/adult	5.6±5.0	88.6±3.5	148.8±29.3	164.1±49.0
Number of brood produced	1.8±0.8	6.8±0.8	9.3±0.6	9.7±1.7
Brood size	2.9±1.5	13.2±1.9	16.1±3.4	16.6±4.1
Growth				
Length, mm	2.0±0.1	2.3±0.1	2.5±0.1	2.4±0.1
Molting time	7.0±0.0	9.6±0.5	13.2±0.8	12.6±0.7
Abnormal symptom	-	-	-	sc[a)]

[a)] Swimming with carrying.

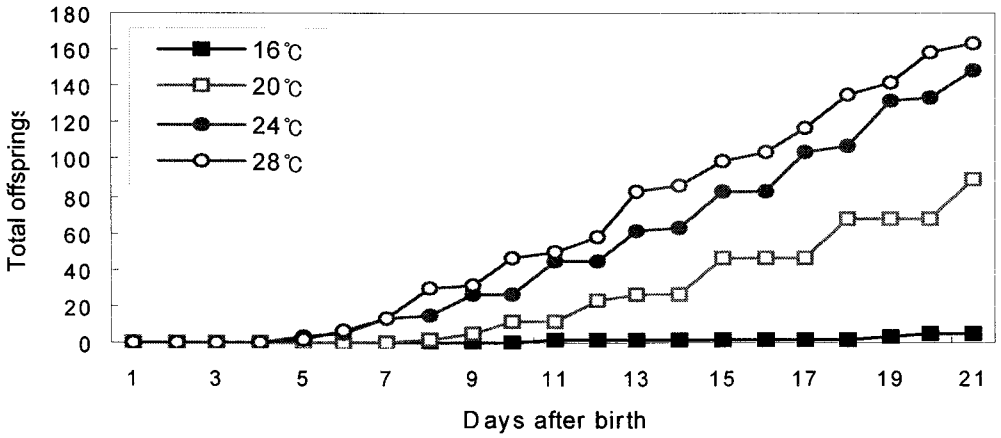

Fig. 5. Cumulative number of offspring of *Simocephalus vetulus* during 21 days after birth at different temperature

도가 올라갈수록 높아지는 경향을 보였는데 16℃에서 가장 적었으며 24, 28℃에서는 비슷한 수치를 보여 출산횟수나 한번 출산할 때 생산되는 새끼의 수의 경우와 유사한 경향을 보였다. 28℃에서는 꼬리부위에 조류등을 달고 다니는 개체가 보였다.

이상의 실험결과를 종합하여 보면 온도조건별 생존율에서는 *D. magna*는 저온인 16℃부터 고온인 28℃까지 일정하게 높은 생존율을 보여준 반면 *D.* sp와 *M. macrocopa*의 경우 16, 20℃에서 높은 생존율을 보여주었고, *D. obtusa*의 경우는 16℃에서 최고의 생존율을 그 이상의 온도에서는 높은 치사율을 나타내었다. *S. vetulus*는 중간온도인 20, 24℃에서 생존율이 높게 나타났다. 따라서 국내산 물벼룩들은 국제표준종이 보여주는 높은 온도적응력을 보여주지 못하고 사육온도에 훨씬 민감하게 반응하는 것으로 나타나 이후 국내종 실내사육에는 각 종마다의 선호도에 맞춘 일정한 온도유지가 매우 중요한 요인이 될 것으로 판단된다.

성장률을 비교하기 위한 지표로 측정한 최종일의 물벼룩의 체장과 탈피횟수를 비교해보면 체장의 경우는 5종 물벼룩 모두 온도에 따라 유의하게 증가하는 경향을 확인할 수 없었으나 탈피횟수의 경우는 *D. obtusa*를 제외하면 온도증가에 따라 유의한 증가를 확인할 수 있었다. 일반적으로 곤충을 비롯한 탈피를 통해 성장을 하는 생물들은 전형적으로 탈피 후 체장이 급격히 상승하는 계단식 성장곡선을 보여주는데 본 실험의 결과에서는 탈피횟수에 비례하여 체장의 증가를 보여주지 않고 있다. 이 결과는 성체가 된 이후의 탈피는 체장의 증가와 무관하게 이루어짐을 의미하는 것으로 판단된다. 만약 다른 독성실험에서 처

Table 7. Intrinsic rate of natural increase(r) of five Cladoceran at different temperature conditions

Species	Intrinsic rate of natural increase(r)			
	16℃	20℃	24℃	28℃
Daphnia magna	0.150±0.078[a]	0.395±0.012[b]	0.542±0.040[c]	0.578±0.038[c]
Daphnia sp.	0.290±0.104[a]	0.476±0.040[ab]	0.449±0.292[ab]	0.609±0.311[b]
Daphnia obtusa	0.285±0.028[a]	0.313±0.177[a]	0.222±0.236[a]	0[b]
Moina macrocopa	0.446±0.068[a]	0.857±0.014[ab]	1.118±0.052[b]	0.909±0.681[b]
Simocephalus vetulus	0.049±0.016[a]	0.331±0.009[b]	0.442±0.146[bc]	0.513±0.034[c]

* $p<0.05$.(results of one way ANOVA using Turkey's method)

리에 따른 물벼룩의 체장의 영향을 확인하고자 한다면 조사기간을 성체가 되기 전후까지로 짧게 설정할 필요가 있을 것이다. Nandimi 와 Rao(1998)는 온도조건에 따른 3일간 물벼룩 종간 체장증가율을 비교한 결과 *M. macrocopa*는 차이가 없었으나 *Ceriodaphnia cornuta*는 온도에 비례하여 증가하나, 번식률에서는 *M. macrocopa*는 먹이의 종류와 관계없이 온도가 증가할수록 번식률도 증가하지만 *Daphnia carinata*등은 유의한 차이가 없다고 하였다.

번식과 관련된 지표로 측정한 첫 출산까지 걸리는 기간은 실험물벼룩 5종 모두 온도가 높을수록 짧아지는 경향을 보였는데 28℃에서는 16℃에서 첫출산에 걸리는 기간에 비해 2배 정도 빠른 것으로 나타났다. 이것은 변온동물인 어류가 10℃의 온도상승에 따라 대사활동이 2배정도 증가한다는 보고(Mayer 등 1994)와 여러 가지 생물발육에서 나타나는 Q10은 화학반응에서와 비슷한 2~4범위에 들어간다(부, 1996)는 보고 등과도 일치한다.

생명표를 이용한 개체군 내적자연증가율(r) 분석결과를 보면 시험한 5종 모두 온도의 증가에 따라 내적자연증가율도 상승하는 것으로 조사되었다. 하지만 16℃에서 20℃로 증가할 때 내적자연증가율이 평균 2.8배로 증가하였으나 20℃에서 24℃로 증가할 때는 1.2배, 24℃에서 28℃로 증가할 때는 1.1배 증가하여 20℃이후에는 점차 증가율이 낮아지는 경향을 보여주었다. 따라서 높은 온도조건에서 높은 내적자연증가율을 보여줌에도 불구하고 고온에서의 높은 모체사망율을 고려한다면 대부분은 20℃내외가 가장 적절한 사육온도임을 알 수 있다.

다만 *D. obtusa*의 경우에는 16℃에서 더 높은 모체생존율을 보여주었으며 내적자연증가율도 20℃와 비교하여 큰 차이가 없어 16℃ 내외가 더 적절한 온도인 것으로 판단되었다. 국내산 물벼룩들 중에서 *M. macrocopa*가 가장 높은 내적자연증가율을 가지는 것으로 나타났는데 다른 4종의 내적자연증가율이 20℃에서 0.313~0.476인데 반해 *M. macrocopa*는 0.857로 조사되어 *D. obtusa*보다는 2.8배 높고 *Daphnia Sp.*에 비해서는 1.8배 높았다. 이는 *M. macrocopa*가 다른 종에 비해 최초 출산일이 가장 빠르고 출산주기도 짧고 출산새끼의 수도 비교적 많기 때문이다.

최근 생태독성학에서는 독성물질에 의한 개체군변이와 관련되어 조류(algae)나 물벼룩을 이용한 번식독성실험이 주로 활용되는데 여기에서 가장 중요한 생태독성학적 parameter가 개체군 내적자연증가율이다(Sanchez 등, 2004; Tanaka, 2003).

개체군성장에 영향을 주는 주요인자는 첫 출산시의 나이, 새끼의 수, 출산간격, 새끼의 상태, 새끼의 크기, 서식처의 이동빈도, 포식과 경쟁 등이다(Van Leeuwen 과 Hermens, 1995). 개체군 내적자연증가율은 하나의 조사결과치 안에 치사와 아치사의 영향이 함께 내포되어 있기 때문에 실험실에서의 번식독성실험의 우수한 endpoint로 추천되어 오고 있다(Stark 등, 1997).

Villarroel 등은 propanil에 노출된 *Daphnia magna*의 내적자연증가율이 대조군에서는 0.33이었으나 최고농도인 0.55 mg/L에서는 0.14로 유의하게 감소한다고 하였다. *D. magna*를 제외하고 국내산 물벼룩의 내적자연증가율을 보고한 문헌은 전무한 실정이므로 본 실험 결과가 국내산 물벼룩의 내적자연증가율을 이용한 번식독성연구를 위한 좋은 기초자료가 될 것으로 확신한다.

본 연구의 결과와 함께 기존에 발표된 한국산 물벼룩의 최적 먹이조건에 관한 연구의 결과(김 등, 2004)를 적용한다면 국내산 물벼룩의 생태독성실험을 위한 최소한의 안정적인 실내대량사육법이 될 것으로 기대된다. 하지만 보다 안정적인 대량사육기술을 확보하기 위해서는 사육수, 사육밀도 등의 부가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

인용문헌

Ferrrando, M. D., E. Sancho and E. Andreu-Moliner (1995) Chronic toxicity of fenitrothion to an algae(Nannochloris oculata), a Rotifer (Brachionus clayciflorus), and the Cladoceran (Daphnia magna). Ecotox. Environ. Safe 35: 112～120.

Fisher, S. W., H. Hwang, M. Atanasoff and P. F. Landrum (1999) Lethal body residues for pentachlorophenol in zebra mussel(Dreissena polymorpha) under varying conditions of temperature and pH. Ecotox. Environ. Safe 43: 274～283.

Goulden, C. E., R. M. Comotto, J. A. Jr. Hendrickson, L. L. Horing and K. L. Johnson (1982) Procedures and recommendations for the culture and use of Daphnia in bioassay studies. Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, fifth Conference, pp.139～160. ASTM. Philadelphia.

Hanazato, T. (1998) Growth analysis of Daphnia early juvenile stages as an alternative method to test the chronic effect of chemicals. Chemosphere 36(8): 1903～1909.

Heugens E. H. W., T. Jager., R. Creyghton, M. H. S. Kraak, A. J. Hendriks, N. M. V. Straalen and W. Admiraal (2003) Temperature-dependent effects of cadmium on Daphnia magna : accumulation versus sensitivity. Environ. Sci. Technol. 37:2145～2151.

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

Koivisto, S., M Ketola and M. Walls (1992) Comparison of five Cladoceran species in short- and long-term cooper exposure. Hydrobiologia 248:125～136.

Mark, U. and J. Solbé (1998) Analysis of the ECETOC AQUATIC TOXICITY(EAT) Database, V-The relevance of Daphnia magna as a representative test species. Chemosphere 36(1):155～166.

Mayer, F. L., L. Jr. Marking, T. D. Bills and G. E. Howe (1994) Physicochemical factors affecting toxicity in freshwater: hardness, pH, and Temperature, In Bioavailability; Physical, Chemical, and Biological Interaction. CRC press. Boca Raton, Florida.

Nandimi S. and T. R. Rao (1998) Somatic and population growth in selected cladoceran and rotifer species offered the cyanobacterium Microcystis aeruginosa as food. Aquaticc Ecology 31: 283～298

OECD (1984) Daphnia sp., acute immobilization test and reproduction test. OECD guideline for testing of chemicals No.202.

OECD (1996) Daphnia magna reproduction test, OECD guideline for testing of chemicals Proposal for updated guideline No.211. TG\DAPHNIA\9678.DOC.

OECD (1997) Report of the final ring test of the Daphnia magna reproduction test, Seriese on testing and assessment No. 6.

Sanchez, M., E. Andreu-Moliner and M. D. Ferrando (2004) Laboratory investigation into the development of resistance of Daphnia magna to the herbicide molinate. Ecotox. and Environ. Safe 59:316～323

Stark, J. D., L. Tanigoshi, M. Bounfour and A. Antonelli (1997) Reproductive potential: Its influence on the susceptibility of a species to pesticides. Ecotox. and Environ. Safe 37:273～279

Tanaka, M. (2003) Ecological risk assessment of pollutant chemicals: extinction risk based on population-level effects. Chemosphere 53:421～425

Tsui, M. T. K. and W. X. Wang (2004) Temperature influences on the accumulation and elimination of mercury in a freshwater cladoceran, Daphnia magna. Aquatic Toxicology 70:245～256

USEPA (1986) Ecological risk assessment, Standard Evaluation Procedure. EPA 540/9-85-001.

USEPA (1992a) Aquatic invertbrate acute toxicity test, freshwater Daphnid, Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.1010.

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

Van Leeuwen C. J. and J. L. M. Hermens (1995) Risk assessment of chemicals: An introduction. Kluwer Academic Publishers, pp 196～200.

Versteeg, D. J., M. Stalmans, S. D. Dyer, and C. Janssen (1997) Ceriodaphnia and Daphnia : a comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test spesies. Chemosphere 34(4) : 869～892.

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.

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

농촌진흥청 (2005) 농약의 등록시험 기준과 방법. 농촌진흥청고시 제 2005 - 7 호.

부경생 (1996) 곤충생리학. 집현사. 서울

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

이성규 (1994) 농약의 환경생태독성에 대하여, 농약정보 7 · 8월호. pp.32~35.

Optimal temperature conditions of Korean freshwater Cladoceran for development of standard toxicity test methods

Byung-Seok Kim*, Yoen-Ki Park, Kyung-Hun Park, Jin-Sup Shin, Jin-Hwa Kim, Young-Joon Ahn[1](*National Institute of Agricultural Science & Technology. RDA, [1]Division of Agricultural Biotechnology and the Research Center for New Bio-Materials in Agriculture, Seoul National University)

Abstract : Temperature is an important ambient factor affecting the physiology and metabolism of aquatic invertebrates. In this study, we studied about the survival, reproduction and growth effects of 4 different temperatures(16, 20, 24, 28℃) in four Korean cladoceran, *Daphnia sp., Daphnia obtusa, Moina macrocopa, Simocephalus vetulus* and *Daphnia magna.* as an international standard species. All 5 water flea tested showed that molting time, fecundity and intrinsic rate of natural increase(r) in high temperature condition were higher than those in lower temperature. On the other hand, lower survivals and longer time to start of offspring were showed in high temperature. Our results suggest that the optimal temperatures of *Daphnia sp., Moina macrocopa,* and *Simocephalus vetulus* seem to be about 20℃ except for *Daphnia obtusa* which as showed good survivals and reproductions in 16℃.

Key words : *Daphnia magna,* intrinsic rate of natural increase, Korean cladoceran, reproduction, temperature

---

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