

실내사육조건에서 한국산 물벼룩 중간 life cycle 비교

김병석* · 박연기 · 박경훈 · 신진섭 · 김진화 · 윤성명¹ · 안용준²

농업과학기술원 농산물안전성부, ¹조선대학교 생물교육과, ²서울대학교 농생명공학부

요약 : 국내서식 물벼룩종을 이용한 표준생태독성시험법 개발을 위한 기초연구로서 국내환경에서의 대표성, 실내사육가능성 및 독성시험에 적합한 크기 등을 고려하여 선발된 4종의 한국산 물벼룩 *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*과 *Daphnia magna*에 대한 실내사육조건에서의 life cycle을 조사하였다. 국내산 물벼룩 4종과 *D. magna*에 대한 실내사육조건에서의 전 생애에 걸친 생육특성을 조사한 결과 *D. magna*가 어미 1마리당 평균 358마리의 새끼를 출산하였고 국내산 물벼룩 중에는 *Daphnia* sp.가 297마리의 새끼를 출산하여 가장 출산새끼수가 많았으며 그 다음으로는 *M. macrocopa*, *S. vetulus*, *D. obtusa* 순이었다. 평균수명은 *D. magna*가 50일로 가장 길었으며 국내산 물벼룩 중에는 *Daphnia* sp.가 39일로 조사되었으며 그 다음으로는 *S. vetulus*, *D. obtusa*, *M. macrocopa* 순이었다. 특히 *M. macrocopa*의 경우 번식력이 우수하면서도 세대기간이 짧아 기존의 번식독성시험법에서 제시하는 21일보다 짧은 10일 정도의 단기간에 번식영향을 평가할 수 있을 것으로 판단된다. (2006년 8월 8일 접수, 2006년 9월 15일 수리)

색인어 : life cycle, longevity, reproduction, cladocera

서 론

우리나라는 농약등록을 위한 생태위해성 평가과정에서 각 등록농약의 사용목적에 따라 藻類, 물벼룩, 어류(잉어, 미꾸리, 송사리 등), 鳥類, 지렁이, 꿀벌, 누에 등에 대한 다양한 영향성적을 검토하고 그 위해성에 근거하여 등록 가부를 결정하도록 규정하고 있다. 하지만 농약으로부터 국내 환경에 서식하는 다양한 생물종을 제대로 보호하기 위해서는 국내종을 이용한 표준생태독성시험법 확립연구가 절실한 실정이다.

국제표준종으로 화학물질의 수서무척추동물 독성연구에 가장 널리 사용되는 *Daphnia magna*에 관한 생리·생태·독성학적 연구문헌은 그 수를 파악하기조차 힘들 정도이다(Goulden *et al.*, 1982; Ferrando *et al.*, 1995; Versteeg *et al.*, 1997; Hanazato, 1998; Mark and Solbé, 1998). 일반적으로 암컷의 평균체장이 5~6 mm정도이며 온도가 28°C일 때가 18°C나 8°C일 때보다 더 작다고 보고되고 있다(MacArther and Baillie, 1929). 20°C에서 약 7~9일 정도면 새끼를 낳기 시작하는데 온도가 올라갈수록 첫 출산시기가 빨라진다. 보통 한번에 낳는 새끼의 수는 어미의 건강상태나 온도, 광조건등의 환경요인에 따라 다르지만 한번에 많으면 30마리 이상 낳기도 한다(김 등, 2004). *Daphnia*

*magna*의 수명은 약 40일 정도로 알려져 있으나 온도가 낮을수록 더 오래 생존하는 것으로 알려져 있고 *Moina micrura*의 경우에는 수명이 20~30일 정도 되는 것으로 보고되고 있다(Gilbert, 1983).

국내산 물벼룩에 대한 연구는 주로 종의 분포와 분류학적 연구에 집중되어 왔기 때문에(김, 1988; 윤, 1993) 생태독성시험의 표준 실험종으로서 국내산 물벼룩의 이용가능성을 조사하기 위한 생리·생태·독성학적 연구는 매우 미흡한 수준이다. 최근 농업과학기술원을 중심으로 국내산 물벼룩의 사육기술 개발 및 표준생태독성시험법 확립연구가 진행되어 먹이, 온도조건에 대한 연구결과가 발표되기는 했지만(김 등, 2004; 김 등, 2005) 국내산 물벼룩과 *D. magna*의 life cycle을 비교하여 수명 및 출산 특성을 조사한 연구는 없었다. 따라서 본 연구는 국내서식 물벼룩종을 이용한 표준생태독성시험법 개발을 위한 기초연구로서 4종의 한국산 물벼룩 *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*(김, 1988; 윤, 1993)에 대한 실내사육조건에서의 life cycle을 조사하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용한 4종의 국내산 물벼룩은 *Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*(모이나물벼룩),

*연락처자

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

Water type	Reagent added (mg L ⁻¹)				Final water quality		
	NaHCO ₃	CaSO ₄ · 2H ₂ O	MgSO ₄	KCl	pH	Hardness	Alkalinity
MHW ^{a)}	96.0	60.0	60.0	4.0	7.4~7.8	80~100	60~70
HW ^{b)}	192.0	120.0	120.0	8.0	7.6~8.0	160~180	110~120

^{a)}MHW : moderately hard water, ^{b)} HW: hard water.

Simocephalus vetulus(긴눈시모물벼룩)으로 모두 조선대학교에서 분양을 받았으며, 국내산 물벼룩의 사육조건과 국제적으로 공인된 시험법과의 비교를 위해 국제표준종인 *Daphnia magna*를 한국화학연구소에서 분양받아 실험에 사용하였다.

사육온도는 20±1°C, 광조건 16시간(500~800 Lux), 암조건 8시간으로 하였고 먹이로는 *Chlorella vulgaris*를 매일 2.5x10⁵~5x10⁵ cells mL⁻¹의 농도로 투여하였는데 어린 개체사육에는 먹이의 농도를 낮게 하고 자랄수록 그 양을 증가시켜 최대성장을 유지하도록 하였다.

시험 물벼룩의 사육수는 표 1의 방법에 따라 4종의 한국산물벼룩(*Daphnia* sp., *Daphnia obtusa*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*)은 moderately hard water(80~100 ppm CaCO₃)를 조제하여 사용하였고 *D. magna*는 미국 EPA의 독성시험법에서 제시하는 사육수인 경도 160~180 ppm(CaCO₃)인 hard water를 사용하였다(USEPA 1992a; USEPA 1992b).

물벼룩의 전 생육기간에 걸친 번식특성 및 수명을 조사하기 위해 125 mL 유리비이커에 100 mL의 배양액을 채우고 태어난 지 24시간이 되지 않은 어린 물벼룩 1마리씩을 10반복으로 투입하고 20°C로 고정된 항온수조에서 실험을 수행하였다. *Simocephalus vetulus*는 20°C에서 사육이 용이하지 않아 24°C로 고정된 항온수조에서 실험을 수행하였다. 사육수는 일주일에 2번씩 교체하였으며 시험기간은 각 물벼룩이 전부 사망할 때까지 조사하였다. 주요 조사내용은 전 생육기간 동안의 시험물벼룩의 탈피회수, 출산한 새끼 물벼룩의 수, 어미의 치사유무, 평균수명, 이상증상 등을 관찰하였다.

결과 및 고찰

Daphnia sp.는 평균수명이 38.6일, 최고수명 60일로 *D. magna*의 50.1일에 비해 약간 짧으나 국내산 물벼룩 중에서는 가장 긴 수명을 갖는 것으로 나타났다. 어린 물벼룩이 성장하여 첫 출산할 때까지 걸린 시간

은 평균 6.8일이었다. 일생동안 출산하는 회수는 평균 13.6회, 한번 출산시 생산하는 새끼 물벼룩의 수는 평균 21.7마리이었고, 한 마리가 일생동안 출산한 총 개체수는 평균 296.6마리로 나타났다.

*D. obtusa*는 평균수명이 26.1일, 최고 34일로 *D. magna*의 평균수명 50.1일에 비해 절반정도이며 어린 물벼룩이 성장하여 첫 출산할 때까지 걸린 시간은 평균 8.4일이었다. 일생동안 출산하는 횟수는 평균 6.8회, 한번 출산시 생산하는 새끼 물벼룩의 수는 평균 12.2마리이었고, 한 마리가 일생동안 출산한 총 개체수는 평균 83.4마리이었으나 그 표준편차가 31.1로 개체간의 변이가 심한 것으로 나타났다. 첫 출산에서의 새끼수는 17.2마리이었고 두번째와 세번째의 출산에서는 각각 12.6, 26.1마리의 새끼가 나와서 첫 출산때와 두 번째 출산에서의 새끼 물벼룩수가 세 번째 출산에 비해 적으며 그 편차도 세 번째 출산에 비해 큰 것으로 나타났다.

*M. macrocopa*는 평균수명이 14.9일, 최고수명은 17일로 국내산 물벼룩 중에 가장 짧으며 어린 물벼룩이 성장하여 첫 출산할 때까지 걸리는 시간도 가장 짧은 평균 4일이었다. 일생동안 출산하는 횟수는 평균 8회, 한번 출산시 생산하는 새끼 물벼룩의 수는 평균 22.2마리이었고, 한 마리가 일생동안 출산한 총 개체수는 평균 218마리로 나타났다. 첫 출산에서의 새끼수는 17.5마리이었고 두번째와 세번째의 출산에서는 각각 19.3, 20.0마리의 새끼가 나와서 첫 출산때의 새끼 물벼룩수가 두 번째와 세 번째 출산에 비해 적은 것으로 나타났다. Chu 등(1997)이 *M. macrocopa*에 대한 methoprene의 영향을 조사한 연구결과를 보면 26°C에서 *M. macrocopa* 어미 한 마리가 평생 생산한 물벼룩수가 평균 61마리로 보고하였는데 본 실험에서는 218마리로 3배 이상의 높은 수치를 보여주고 있다. 이는 본 연구의 실험조건이 *M. macrocopa*의 성장과 번식에 더 적합한 조건임을 간접적으로 보여주는 것이라고 할 것이다.

*S. vetulus*는 평균수명이 33.9일이며 어린 물벼룩이 성장하여 첫 출산할 때까지 걸리는 시간은 평균 5.3

Table 2. Comparison of fecundity and longevity of Korean water flea and *Daphnia magna* during their entire life span under laboratory culture condition

Parameter	<i>D. sp</i>	<i>D. obtusa</i>	<i>M. macrocopa</i>	<i>S. vetulus</i>	<i>D. magna</i>
Total offspring per adult	296.6±142.0 (156-514) ^{a)}	83.4±31.1 (46-150)	218±38.6 (117-229)	199.5±24.5 (158-254)	357.8±104.7 (207-468)
Number of broods produced	13.6±6.1 (7-23)	6.8±1.7 (4-10)	8.0±1.2 (7-10)	13.5±1.6 (11-15)	13.3±3.7 (7-18)
Brood size	21.7±1.2 (20-22)	12.2±3.1 (8-19)	22.2±3.1 (17-27)	15.0±2.2 (12-19)	27.0±2.6 (23-30)
days to first brood	6.8±0.4 (6-7)	8.4±0.8 (7-9)	4±0 (4-4)	5.3±0.5 (5-6)	9.0±0.0 (9-9)
Size of first brood	15.6±4.0 (11-21)	9.2±7.5 (2-20)	17.5±1.4 (15-20)	4.7±2.3 (1-9)	16.1±3.8 (10-22)
Size of second brood	22.4±11.5 (11-41)	17.2±11.0 (1-41)	19.3±2.4 (15-22)	8.7±3.6 (2-13)	39.4±7.7 (26-48)
Size of third brood	15.8±5.0 (10-22)	12.6±9.5 (1-27)	20.0±3.2 (15-22)	10.6±5.1 (2-16)	39.3±4.4 (34-46)
Life span (days)	38.6±14.6 (22-60)	26.1±5.2 (17-34)	14.9±2.2 (11-17)	33.9±9.7 (7-44)	50.1±10.9 (37-63)

Values are means ± SD, ^{a)}The values in Bracket means min-max.

일이었다. 평생동안 출산하는 횟수는 평균 13.5회, 한번 출산시 생산하는 새끼 물벼룩의 수는 평균 15마리 이었고, 한 마리가 평생동안 출산한 총 개체수는 평균 199.5마리로 나타났다. 첫 출산에서의 새끼수는 4.7마리이었고 두번째와 세번째 출산에서는 각각 8.7, 10.6마리의 새끼가 나와서 첫 출산때의 새끼 물벼룩 수가 두 번째와 세 번째 출산에 비해 적은 것으로 나타났다.

시험에 사용한 물벼룩의 수명은 *D. magna*가 평균 50일, 최장 63일까지 생존이 가능하였으며 국내산 물

벼룩의 경우 *Daphnia sp.*가 가장 수명이 길어 평균 39일, 최장 60일까지 생존하여 국제표준종인 *D. magna*와 가장 유사한 성장패턴을 가진 것으로 나타났다. 그 다음으로는 *S. vetulus*가 평균 34일, *D. obtusa*는 26일이었고 *M. macrocopa*는 평균 15일로 본 실험에 사용한 물벼룩 중 가장 수명이 짧았다(그림 1).

국제적으로 통용되는 물벼룩번식독성시험에서 추천하는 시험기간인 21일간 중별 생존율을 보면 *Daphnia sp.*와 *D. magna*는 100%이었고 *S. vetulus*와 *D. obtusa*는 90% 이상이었으나 *M. macrocopa*는 생존한 개체가

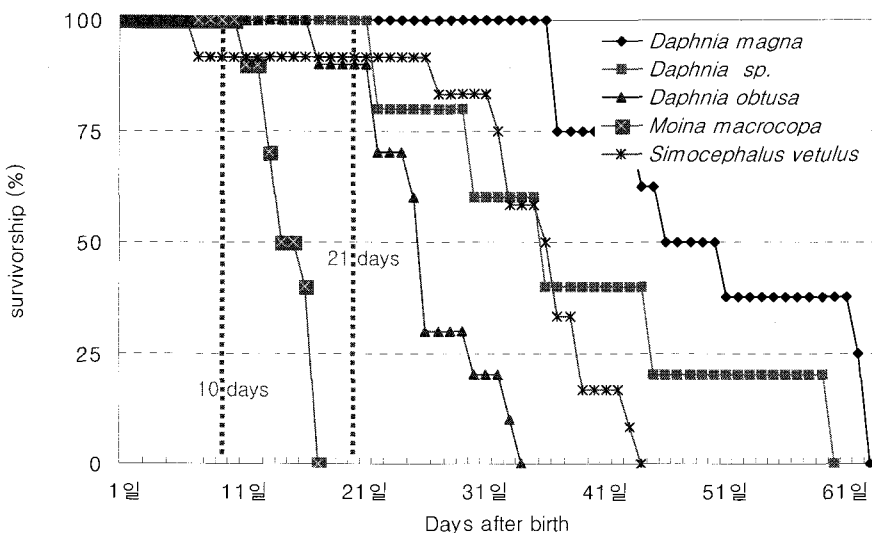


Fig. 1. Longevity of Korean water flea and *Daphnia magna* under laboratory culture condition.

없었다.

국내산 물벼룩 4종에 대한 전 생애에 걸친 생육특성을 조사한 결과 국내산 물벼룩 중 *Daphnia* sp.가 가장 생육이 잘되면서도 *D. magna*와 유사한 수명과 번식특성을 가지는 것으로 조사되었으며, *S. vetulus*의 경우는 일반적인 물벼룩의 유영과는 다른 표면 부착성의 특이한 유영패턴을 가지고 있으면서도 번식도 용이하게 나타나 향후 물벼룩 중간 독성반응 비교연구에 좋은 재료가 될 것으로 판단되며, *M. macrocopa* 처럼 세대기간이 짧은 경우 번식독성시험의 기간을 10일 정도로 단축시킬 수 있어 시간과 노력을 절감할 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서 밝혀진 국내산 물벼룩의 수명과 세대기간, 번식률 등의 life cycle 자료는 앞으로 국내산 물벼룩을 이용한 생태독성시험을 위한 기초자료로서 활용도가 높을 것으로 판단되며 앞으로도 광주기, 밀도, 먹이섭취율 등의 환경적요인에 의한 성 결정기작이나 농약 등 화학물질에 대한 독성반응의 생물종간 차이나 번식에 미치는 영향 등도 구명해볼 필요가 있을 것이다.

인용문헌

- Ferrando, 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.
- Gilbert, J. J. (1983) Sexual dimorphism in zooplankton (Copepoda, Cladocera, and Rotifera). *Ann. Rev. Eco. Syst.* 14:1~33.
- 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.
- MacArther, J. W. and W. H. T. Baillie (1929) Metabolic activity and duration of Life. I. Influence of temperature on longevity in *Daphnia magna*. *J. Exp. Zool.* 53:221~242.
- 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.
- USEPA (1992a) OPPTS 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity test, freshwater Daphnids, *Ecological Effects Test Guidelines*.
- USEPA (1992b) OPPTS 850.1300 Daphnid chronic toxicity test, *Ecological Effects Test Guidelines*.
- 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 species. *Chemosphere* 34(4):869~892.
- 김병석, 박연기, 신진섭, 김진화, 안용준 (2004) 한국산 물벼룩의 먹이조건별 번식영향. *농약과학회지* 8(2):117~128.
- 김병석, 박연기, 박경훈, 신진섭, 김진화, 안용준 (2005) 표준생태독성시험법 개발을 위한 한국산 물벼룩의 최적사육온도 구명. *농약과학회지* 9(3):221~230.
- 김일희 (1988) 한국 담수산 물벼룩류에 대한 검색표. *한국동물분류학회지 특간 제 2호* pp.43~65.
- 윤성명 (1993) 한국산 새각류(갑각 상강, 새각 강)의 계통분류 및 분자진화에 관한 연구. *서울대학교 박사학위논문*.

Comparison of Life Cycle of Several Korean Native Freshwater Cladocerans in Laboratory Culture Conditions

Byung-Seok Kim*, Yoen-Ki Park, Kyung-Hun Park, Jin-Sup Shin, Jin-Hwa Kim, Seong Myeong Yoon¹, Young-Joon Ahn² (National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, ¹Department of Biology education, Chosun University, ²School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University)

Abstract : In this study we investigated fecundity and survivorship of four staple Korean freshwater cladocerans for their whole life to develop a new standard method used for ecological risk assessment of pesticide. The tested Korean freshwater cladocerans were *Daphnia obtusa*, *Daphnia* sp., *Moina macrocopa* and *Simocephalus vetulus*. In addition, standard test species, *Daphnia magna*, endorsed formally by the major international organizations was tested together in order to compare with the reproductive characteristics of Korean cladocerans. A total of 358 young was produced by *D. magna*, whereas, 297 young was produced by *Daphnia* sp. throughout the entire life. The average life span of *Daphnia magna* was 50 days much longer than any other Korean species. Nevertheless all of the Korean water flea tested showed good fecundity, produced over 60 young for 21 days as the validation criterion for reproduction toxicity test in Ecological Effects Test Guidelines published by USEPA. Especially *Moina macrocopa* produced their first brood in 4 days. Therefore 10 day reproduction test with *Moina macrocopa* may be an alternative good method to save cost and time to elucidating the effects of hazardous substances on the reproduction of aquatic invertebrates.

Key words : life cycle, longevity, reproduction, cladocera

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