

국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구 : (I) 어류

남선화 · 양창용 · 안윤주* · 이재관¹

(건국대학교 환경과학과, ¹국립환경과학원 수질환경과)

Fundamentals of Ecotoxicity Evaluation Methods using Domestic Aquatic Organisms in Korea : (I) Fish. Nam, Sun-Hwa, Chang-Yong Yang, Youn-Joo An* and Jae-Kwan Lee¹ (Department of Environmental Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea; ¹Water Quality Division, National Institute of Environmental Research, Korea)

The Ministry of Environment plans to introduce the Whole Effluent Toxicity (WET) system in Korea. The WET test is well established in developed countries with recognizing of the limitations of physicochemical analysis method and potential risk of chemicals in water medium. Therefore, it is essential to build the ecotoxicity infrastructure for the induction of WET test. In this study, we extensively collected the domestic and foreign toxicity test methods which employ native test species to Korea. And we suggested that the domestic ecotoxicity test methods with domestic test species in Korea through extracting the range of test conditions. Five domestic fish species selected were *Carassius auratus* (Crucian carp), *Cyprinus carpio* (Common carp), *Gasterosteus aculeatus* (Three spine stickleback), *Misgurnus anguillicaudatus* (Oriental weatherfish) and *Oryzias latipes* (Japanese medaka). The toxicity test methods with native test species to Korea were collected from the standard methods (OECD, U.S. EPA, ASTM), government reports, SCI papers and domestic papers. We collected the 32 test methods, and suggested the suitable aquatic toxicity test methods for fish. It is expected that this study could prove a useful information to establish the ecotoxicity test methods with domestic aquatic organisms in Korea henceforth.

Key words : ecotoxicity, domestic aquatic organism, fish, WET

서 론

환경부의 ‘물환경관리 기본계획’에 따르면, 우리나라는 현재 전체 수계의 위해성 관리체계 강화를 위해 생태독성통합관리제도 도입을 추진하고 있다(환경부, 2006a). 이러한 시도는 유해화학물질의 양적팽창과 화학물질 간 상호작용(예: 상승효과, 타감효과 등), 그리고 먹이 연쇄에 따른 생물 축적의 잠재적 위험성 등을 파악함으로써 기존 이화학적 분석기법의 한계를 극복할 수 있을 것으로 예상된다. 이미 미국, 독일 등 대부분의 선진국에서 수서

생물을 이용한 방류수 통합독성시험(Whole Effluent Toxicity test: WET test)을 실시하고 있는 상황을 비추어 볼 때 WET 제도를 통한 위해성 관리 체계는 바람직한 단계라 할 수 있다.

우리나라에서 WET 제도를 통한 위해성 평가 관리 체계가 정착하기 위해서는 무엇보다 국내 수계에서 서식하고 있는 다양한 수서생물을 이용한 생태독성시험법에 대한 인프라가 구축되어야 한다. 그러나 현재까지 국내에서 수행된 생태독성시험은 대체로 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development: OECD), 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection

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

Agency: U.S. EPA), 미국표준시험협회(American Society for Testing and Materials: ASTM) 등의 표준 시험법에서 추천한 시험종과 시험법에 따라 수행되었고 이 중 국내에서도 서식하는 생물종은 일부밖에 불과하다. 국제적으로 신뢰성 있는 표준 시험법에 따른 실험 결과는 시험종의 서식지가 달라도 그 독성 결과에는 영향을 크게 끼치지 않을 수 있다. 그러나 특정 국가의 수질관리체계에 적용되는 생태독성시험은 그 지역 내 먹이 연쇄를 통한 생물종간의 상호 관련성을 고려해야 하기 때문에 그 지역에 서식하고 있는 생물종을 대상으로 진행해야 한다(박 등, 2003). 또한 각각의 생물종마다 가지고 있는 고유 특성에 따라 최적의 시험 조건이 상이할 수 있기 때문에 종 특이성(species specificity)을 고려하여 각각의 생물종에 따른 독성 시험법을 수행해야 한다.

최근 외래 생물종 독성자료에 의존적인 국내 생태독성 평가의 문제점은 심각하게 인식되기 시작하였고, 그 예로 국립환경과학원에서는 대륙송사리, 새뱅이, 꾀체다슬기 3종을 생태독성평가에 활용 가능한 국내 고유 생물종으로 제시한 바 있다(환경부 등, 2007). 그러나 생태독성 평가 방법을 제시한 기존 연구를 살펴보면, 대체로 표준시험법에서 제시한 추천 시험종을 대상으로 수행된 것으로 국내 수계에서 서식하지 않는 외래 생물종(예: *Pimephales promelas*, *Daphnia magna*)도 다소 포함되어 있다(환경부, 2006b). 따라서 국내 수계에 서식하고 있는 생물종을 대상으로 한 독성 시험법을 제시함으로써 국내 수계의 실정, 먹이 연쇄를 통한 생물종간의 상호 관련성 등을 고려할 수 있는 국내 시험종 및 그에 따른 시험법 개발이 시급하다.

본 연구에서는 수생태계 영양단계의 상위에 위치하는 어류를 대상으로, 국내외 독성시험법 중에서 국내 수계에 서식하는 어종에 대한 시험 세부 조건(노출기간, 독성종말점 등)을 총체적으로 비교분석하였다. 궁극적으로 향후 국내 어종을 이용한 생태독성 시험법 개발을 위한 기반 자료를 구축하기 위하여, 각 어종별 생태독성 시험법의 적용 가능한 시험 세부 조건별 범위와 생태독성평가기법 구축을 위한 방향을 제시하였다.

연구 방법

1. 대상 생물종 선정

국내 수계에 서식하는 생물종을 이용하여 독성실험이 수행된 바 있는 국내외 독성 시험법을 분석하기 위하여 *Carassius auratus* (Crucian carp), *Cyprinus carpio* (Common carp), *Gasterosteus aculeatus* (Three spine stickleback), *Misgurnus anguillicaudatus* (Oriental weatherfish), *Oryzias latipes* (Japanese medaka)의 총 5종을 선정하였다(Table 1). 이 생물종들은 환경부에서 수행한 ‘물환경종합평가방법 개발 조사연구(III)-인체 및 수생태계 위해성 평가체계 구축’의 유해화학물질 검토대상 52개 항목을 대상으로 수행된 생태독성 시험종 중 생태 준거치 산출 기반으로 선별된 7종의 국내 어류독성 시험종에 포함되어 있으며(환경부, 2006), 국내 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종으로 선정한 바 있다(안 등, 2007).

한편 한국, 중국, 일본 등 동아시아에 널리 분포하는 소형 담수어의 일종인 *Oryzias latipes*는 국제적으로 신뢰성 있는 표준 시험법의 공시어종으로, 생태독성평가에 널리 사용되는 생물종이다. 기존 어류독성평가에서 주로 사용되어 온 Japanese medaka는 Asiatic ricefish를 독성 시험용으로 개발한 것으로, 이러한 다양한 변이종 중 실험실 사육이 가장 용이한 Orange-red type (d-rR strain)을 지칭하며, 일명 개량송사리라 불린다(국립환경연구원, 2000; Ministry of the Environment of government of Japan and CERl, 2003). 그러나 실제 국내 수계에 서식하고 있는 *O. latipes*는 Asiatic ricefish와 Dwarf rice fish로, 각각 송사리와 대륙송사리로 명명되어 있다(김 등, 2002). 한국, 중국, 일본의 분류학자들 사이에서는 송사리의 서식장소에 따라 지리적 변이를 보이기 때문에 변이 특성에 따라 종을 구분하고 있다. 특히 우리나라에서는 지리적으로 분리되어 분포하고 있는 한국산 송사리 2 집단(동한집단과 서한집단)에 대해 지리적 요인에 의한 염색체 분화로 인해 종 분화가 이루어진 것으로 추측하고

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

Test species (Fish)		Classification	
Scientific name	Common name	Order	Family
<i>Carassius auratus</i>	Crucian carp	Cypriniformes	Cyprinidae
<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp	Cypriniformes	Cyprinidae
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Three spine stickleback	Gasterosteiformes	Gasterosteidae
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	Oriental weatherfish	Cypriniformes	Cobitidae
<i>Oryzias latipes</i>	Japanese medaka	Beloniformes	Adrianichthyidae

있다. 그리하여 분류학적 측면에서 2 집단을 아종보다 별종으로 간주하여 *O. latipes*와 *O. sinensis*로 분류하고 있다(김 등, 1993; 박 등, 1998). 또한 중국에서도 마찬가지로 별종으로 간주하여 *O. latipes*와 *O. sinensis*로 분류하고 있다(Chen *et al.*, 1989). 반면 일본에서는 2 집단을 아종으로 간주하여 *O. latipes latipes*와 *O. latipes sinensis*로 분류하고 있다(Kurita *et al.*, 1993). 그러나 이러한 종분류는 아직까지 분류학적으로 국가 간 합의가 이루어지지 않은 논란이 야기되는 부분일 뿐만 아니라 종 분화에 관한 규명은 본 연구의 범위를 벗어나는 사항이므로, 본 연구에서는 분류학적 측면보다 독성학적 측면에서 접근하였다. 만일 국내 수계에 서식하고 있는 *O. latipes*와 *O. sinensis*에 대한 독성 민감도의 차이가 존재한다면 2 집단을 별종으로 간주하여 연구를 진행해야 할 것이다. 그러나 기존 어류독성연구사례를 조사한 결과 *O. latipes* (Asiatic ricefish)와 *O. sinensis* (Dwarf rice fish)에 대한 수서독성연구는 거의 전무한 실정이고, 독성실험용으로 개발된 *O. latipes* (Japanese medaka)를 대상으로 수행된 독성연구가 대부분이었다. 따라서 본 연구에서는 실제 국내 수계에 서식하고 있지 않지만 독성실험용으로 개발된 *O. latipes* (Japanese medaka)를 이용한 국내외 독성 시험법을 활용하였다.

2. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 조사

위에서 선정된 생물종을 대상으로 수행된 국내외 독성 시험법은 국제적으로 신뢰성이 높은 표준시험법(예:

OECD, U.S. EPA, ASTM 등), 정부 보고서, SCI 논문 그리고 국내 학술 논문을 통해 수집되었다. 수집된 독성 시험법은 일차적으로 시험종, 시험법, 시험유형, 종말점, 시험종의 연령, 시험종의 길이, 노출기간, 노출계, 온도, pH, 노출농도별 생물수, 노출농도별 반복수, 노출용액, 노출용액의 농도, 노출용액의 교체, 광주기, 먹이 공급, 산소 공급, 배양액, 결과, 시험유의사항 등의 시험 세부 조건을 중심으로 파악하였다. 다음으로 동일한 시험종, 시험법, 시험유형, 종말점에 대해 수행된 독성 시험법별로 분류하였다.

한편 급/만성 여부는 시험종별 생활사(life cycle)에 따라 차등 적용하였다. 일반적으로 급성 영향은 단기간으로, 만성 영향은 장기간으로 수행되는 시험을 통해 평가하고 있으나, 이는 대체로 각 분류군(예: 어류, 물벼룩류, 조류)에 따라 포괄적으로 적용되고 있기 때문에 각 생물종의 생활사에 따른 시험유형의 구분은 명확하게 규명된 바 없다. OECD, OPPTS, EC, KS 등의 표준시험법에 제시된 어류독성시험법의 현황을 살펴보면, *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Gasterosteus aculeatus*, *Oryzias latipes*를 대상으로 치사독성시험(mortality toxicity test), 연장독성시험(prolonged toxicity test), 수정란자어독성시험(embryo and sac-fry toxicity test), 생애초기단계독성시험(early-life stage toxicity test) 그리고 치어성장독성시험(fry growth toxicity test) 등이 제시되어있음을 알 수 있다. 먼저 급성 영향은 생물종 구분 없이 대체로 96시간 동안 치사독성시험으로 평가되고 있고, 만성 영향은 생물종에 따른 특정 기간 동안 연장독성시험, 수정란자어독성

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

Method	Endpoint	Species	OECD		OPPTS		EC		KS		
			Duration	Ref.	Duration	Ref.	Duration	Ref.	Duration	Ref.	
Acute	MTT	Mortality	<i>Oryzias latipes</i>	96 h	OECD, 1992a	96 h	U.S. EPA, 1996a	96 h	EC, 1992	96 h	한국표준협회, 2003
			<i>Cyprinus carpio</i>	96 h		96 h		96 h		-	
			<i>Gasterosteus aculeatus</i>	-		96 h		-		-	
Chronic	PMT	Mortality	<i>Oryzias latipes</i>	14 d≥	OECD, 1984	-	-	-	-	-	-
			<i>Cyprinus carpio</i>	14 d≥		-		-		-	
			<i>Oryzias latipes</i>	13~16 d		OECD, 1998		-		-	
<i>Cyprinus carpio</i>	8~9 d	-	8~9 d	-							
<i>Carassius auratus</i>	7 d	-	7 d	-							
Chronic	ELST	Adult	<i>Oryzias latipes</i>	30 d	OECD, 1992b	30 d	U.S. EPA, 1996b	-	-	-	-
			<i>Cyprinus carpio</i>	28 d		28 d		-		-	
			<i>Gasterosteus aculeatus</i>	28 d		28 d		-		-	
Chronic	FGT	Adult	<i>Oryzias latipes</i>	28 d≥	OECD, 2000	-	-	28 d≥	EC, 2001a	-	-

MTT (Mortality Toxicity Test); PMT (Prolonged Toxicity Test); ESST (Embryo and Sac-fry Toxicity Test); ELST (Early-life Stage Toxicity Test); FGT (Fry Growth Toxicity Test)

Table 3. Exposure duration of fish test species in this study.

Method	Endpoint	Species	Acute	Chronic
MTT	Mortality	All species	< 14 d	≥ 14 d
		<i>Oryzias latipes</i>	-	13~16 d
ESST	Fry	<i>Cyprinus carpio</i>	-	8~9 d
		<i>Carassius auratus</i>	-	7 d
		<i>Oryzias latipes</i>	-	30 d
ELST	Adult	<i>Cyprinus carpio</i>	-	28 d
		<i>Gasterosteus aculeatus</i>	-	28 d
		<i>Oryzias latipes</i>	-	≥ 28 d

MTT (Mortality Toxicity Test); PMT (Prolonged Toxicity Test); ESST (Embryo and Sac-fry Toxicity Test); ELST (Early-life Stage Toxicity Test); FGT(Fry Growth Toxicity Test)

시험, 생애초기단계독성시험 그리고 치어성장독성시험으로 평가되고 있다(Table 2). 따라서 본 연구에서는 다음과 같은 기준에 의해 생물종별 급/만성 여부를 검토하였다. 치사독성시험은 모든 생물종에 대해 급성 시험은 14일 미만으로 만성 시험은 14일 이상으로 구분하였다. 수정란자어독성시험은 수정란부터 자어 단계까지의 시험법이므로 치어가 나타나기 직전까지의 시기를 고려하여 생물종마다 적용하였고, 생애초기단계독성시험은 수정란부터 치어 단계까지의 시험법으로 성어가 되기 직전까지의 시기를 감안하여 적용하였다. 또한 치어성장독성시험은 치어를 대상으로 수행한 시험법이므로 성어가 나타나기 직전까지의 시기를 고려하여 적용하였다(Table 3).

3. 국내 생물종별 독성시험기법 제시 과정

국내 생물종별 독성시험기법은 위에서 조사된 국내외 독성 시험법을 바탕으로 각각의 시험종을 대상으로 수행된 실험의 급/만성 여부와 독성종말점을 확인한 뒤, 온도, pH 등 시험 세부 조건의 범위를 제시하였다. 한편 본 연구는 국내 생물종별 생태독성 시험법 개발을 위한 기반 연구로, 최적 조건의 생태독성 시험법을 제안하기 보다는 향후 실험 연구의 시행착오를 최소화하는데 기여할 수 있도록 기존 연구에서 수행된 바 있는 각각의 시험 세부 조건별 범위를 제시하였다.

결과 및 고찰

1. 국내 생물종별 국내외 독성 시험법 현황

대상 생물종 5종에 대한 독성 시험법은 OECD 표준시

험법 11개, 한국표준협회 표준시험법 1개, 정부 보고서 2개, SCI 논문 9개 그리고 국내 학술 논문 9개 총 32개의 참고문헌이 수집되었고, 대체로 OECD 등의 표준시험법에서 추천한 시험종(예: *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Gasterosteus aculeatus*, *Oryzias latipes*)을 대상으로 한 독성자료가 상당 부분을 차지하였다. 또한, 표준시험법의 공시어종 이외에도 국내 생물종(예: *Misgurnus anguillicaudatus*)에 대한 소량의 연구 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 개별 상황에 맞게 수정하여 적용한 것으로 나타났다. 그리고 시험종-시험법-시험유형-종말점별 독성 시험법은 치사독성시험(mortality toxicity test), 생애초기단계독성시험(early-life stage toxicity test), 생식독성시험(reproduction toxicity test) 그리고 수정란자어단계독성시험(embryo and sac-fry stage toxicity test) 등 4가지 어류독성시험이 있었고, 특정 성장단계(예: 수정란~자어, 수정란~치어)를 대상으로 한 독성 실험은 주로 만성독성평가에 적용하는 것으로 나타났다. 한편 생물종 내 시험 세부 조건은 온도를 제외하고 대체로 일정 범위 내에서 유사하게 적용된 것으로 나타났다. *Carassius auratus*의 경우 자어, 치어, 성어 등 부화 후 생물을 이용한 급성시험은 14~17.5°C, 수정란 단계부터 시작되는 만성시험은 23~25°C로 같은 생물종이라 하더라도 성장단계에 따라 상당한 온도 차이를 보이는 것으로 나타났다. 이와 달리 *Cyprinus carpio*, *Oryzias latipes*는 각각 20~25°C, 21~26°C로 급성 및 만성시험 간 온도 차이를 보이지 않았다. 생물종 간 시험 세부 조건은 대체로 표준시험법과 유사한 범위 내에서 적용된 것으로 나타났으나, 시험종의 길이, 노출기간, 온도 등의 조건에 대해 종 특이성을 보이는 것으로 나타났다(Table 4). 급성시험은 대체로 48~96시간 동안 수행되었으나, 만성시험은 각 생물종마다 고유의 생활 패턴을 가지고 있기 때문에 개체 크기 및 노출 기간이 상이하게 나타난 것으로 보인다. 또한 온도는 생물종 간뿐만 아니라 생물종 내 성장단계에 따라 적정 범위로 적용시켜야 하기 때문에 차이를 나타냈다. 특히 수온 변화는 어류독성시험에 있어서 가장 민감한 요인으로서 생물종의 성장이나 생식 활동에 영향을 미치기 때문에 시험 세부 조건 중에서 가장 뚜렷한 차이를 보였다.

2. 국내 생물종별 독성시험기법 및 방향 제시

전체 32개의 국내외 독성 시험법을 바탕으로 생물종별 독성 시험법의 세부 사항별로 집약한 결과, 치사독성시험, 생애초기단계독성시험, 생식독성시험, 수정란자어단계

Table 4. List of the toxicity test methods for fish.

Test species	<i>Carassius auratus</i>				<i>Cyprinus carpio</i>				<i>Gasterosteus aculeatus</i>		<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	
	Acute Mortality	Mortality toxicity test	Embryo and sac-fry stage toxicity test	Mortality toxicity test	Acute Mortality	Mortality toxicity test	Early-life stage toxicity test	Embryo and sac-fry stage toxicity test	Mortality toxicity test	Early-life stage toxicity test	Mortality toxicity test	
Age of test species	-	-	-	-	6 months adult	6 months adult	Bla.	-	-	Chronic Adult	Chronic Adult	Acute Mortality
Size of test species	9.2~11.2 cm	11~14 cm	-	2~4 cm	2.5~3.5 cm	2.5~3.5 cm	-	-	2~4 cm	28 d	28 d	96 h
Test duration	96 h	96 h	7 d	96 h	48 h	48 h	28 d	8~9 d	≥14 d	R or F	R or F	96 h
Test type	-	S	R or F	S, R or F	R	R	R or F	R or F	R or F	R or F	R or F	S
Temperature (°C)	14~16	17.5	23~25	20~24	23~25	23~25	21~25	21~25	20~24	18~20	18~20	24~26
pH	7.1~7.7	6.7	-	6.0~8.5	7.0~7.6	7.2~7.6	-	-	6.0~8.5	-	-	-
No. organisms per concentration	10	20	10	7	40	40	30	10	10	30	30	7
No. replicate chambers per concentration	2	2	3	-	5	5	2	3	-	2	2	-
Test solution	Chloro-aminines	HgCl ₂	-	-	Cyper-metrin	Delta-metrin	-	-	-	-	-	Diazinon <i>et al.</i>
Concentration of test solutions	6	7	6	6	9	7	6	6	6	6	6	-
Renewal of test solutions	-	None	24 h	-	12 h	12 h	at least two thirds	24 h	-	at least two thirds	at least two thirds	None
Photoperiod	12 h	-	12~16 h	12~16 h	12 h	12 h	12~16 h	12~16 h	12~16 h	12~16 h	12~16 h	16 h
Feeding regime	-	-	None	None	-	-	(according to age)	None	Once daily	(according to age)	(according to age)	-
Test solution aeration	-	-	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	-	-	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	-
Dilution water	DW	DW	-	RD	-	-	RW	-	RD	RW	RW	DW
Result	LC50	LC50	LC50, LOEC, NOEC	LC50	LC50	LC50	LOEC, NOEC	LC50, EC50, LOEC, NOEC	NOEC	NOEC	LOEC, NOEC	LC50
Test acceptability criterion	-	-	Con _{60p}	Con _{90s}	-	Con _{90s}	Con _{75p}	Con _{75p}	Con _{90s}	Con _{90s}	Con _{60p}	-
References	W. Li <i>et al.</i> , 2002	이영, 1989	OECD, 1998	OECD, 1992a	OECD, Rahmi <i>et al.</i> , 2005	Kenan <i>et al.</i> , 2004	OECD, 1992b	OECD, 1998	OECD, 1984	OECD, 1992b	OECD, 1992b	이영, 2006

Bla. (Before cleavage of the blastodisc commences or as close as possible after this stage); S (Static non-renewal); R (Static renewal); F (Flow-through); DO₆₀ (DO concentration of at least 60% of air saturation value); RD (Reconstituted water or dechlorinated tap water); RW (Reconstituted water); Con_{xp} (x% or greater survival in controls); Con_{90s} (x% or greater survival in controls)

Table 4. Continued.

Test species	Mortality toxicity test									
	Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality	
Test method	Mortality toxicity test									
Test pattern	Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality		Acute Mortality	
Endpoint	Mortality		Mortality		Mortality		Mortality		Mortality	
Age of test species	1~3 cm		1~3 cm		6 months adult		3 days larvae		6 months adult	
Size of test species	2.5~3.5 cm		2.9~3.3 cm		2.9~3.3 cm		2~4 cm		2~4 cm	
Test duration	96 h		48 h		48 h		96 h		96 h	
Test type	S, R or F		S		S		F		F	
Temperature (°C)	21~24		22~24		23~25		24~26		24~26	
pH	6.0~8.5		7.6~8.0		7.7		7.4		6.5~7.5	
No. organisms per concentration	7		7		5		16		10	
No. replicate chambers per concentration	-		-		-		-		-	
Test solution	-		CCl ₄		-		Bisphenol A		CdCl ₂	
Concentration of test solutions	6		7		7		7		6	
Renewal of test solutions	-		None		None		-		-	
Photoperiod	12~16 h		12~16 h		14 h		16 h		12 h	
Feeding regime	None		None		None		-		-	
Test solution aeration	None (DO ₆₀)		None (DO ₆₀)		-		-		-	
dilution water	RD		RD		DW		DW		DW	
Result	LC50		LC50		LC50		LC50		LC50	
Test acceptability criterion	Con _{90s}		Con _{90s}		-		-		-	
References	OECD, 1992a		한국표준협회, 2003		김동, 1993		김동, 2005		류동, 1998	

S (Static non-renewal); R (Static renewal); F (Flow-through); DO₆₀ (DO concentration of at least 60% of air saturation value); RD (Reconstituted water or dechlorinated tap water); RW (Reconstituted water); DW (Dechlorinated tap water); Con_{90s} (x% or greater survival in controls)

이동, 1997

Table 5. The ecotoxicity evaluation methods using domestic fish in Korea.

Test species	<i>Carassius auratus</i>			<i>Cyprinus carpio</i>			<i>Gasterosteus aculeatus anguillicaudatus</i>			<i>Oryzias latipes</i>			
	Acute Mortality	Chronic Fry	Acute Mortality	Mortality	Chronic Adult	Fry	Chronic Adult	Acute Mortality	Acute Mortality	Adult	Reproduction	Fry	Mortality
Age of test species	Sac-fry, fry, or adult (available options)	Eggs	Sac-fry, fry, or adult (available options)	Sac-fry, fry, or adult (available options)	Embryos less than 24h post-fertilization	Eggs	Bla.	a variety of ages	Sac-fry, fry, or adult (available options)	Embryos less than 24h post-fertilization	Adult	Eggs	Embryos, Sac-fry, fry, or adult (available options)
Test duration	96 h	7 d	48 or 96 h	≥ 14 d	28 d	8 ~ 9 d	28 d	96 h	48 or 96 h	14 ~ 30 d	14 ~ 49 d	13 ~ 19 d	≥ 14 d
Test type	S	R or F	S, R or F	R or F	R or F	R or F	R or F	S	S, R or F	S, R or F	R	R or F	R or F
Temperature (°C)	14 ~ 17.5	23 ~ 25	21 ~ 25	20 ~ 24	21 ~ 25	21 ~ 25	18 ~ 20	24 ~ 26	21 ~ 26	21 ~ 26 (according to age)	23 ~ 26	21 ~ 25	21 ~ 26
pH	6.7 ~ 7.7	-	6.0 ~ 8.5	6.0 ~ 8.5	-	-	-	-	6.5 ~ 8.5	7.0 ~ 7.2	6.64	-	6.0 ~ 8.5
No. organisms per concentration	10 ~ 20	10	7 ~ 40	10	30	10	30	7	5 ~ 16	20 ~ 30	5 pairs	10	10 ~ 15
No. replicate chambers per concentration	2	3	5	-	2	3	2	-	-	2 ~ 3	3	3	3
Renewal of test solutions	None	24 h	12 or 24 h	-	48 h	24 h	at least two thirds	None	24 or 48 h	24 h	24 or 48 h	24 h	24 h
Photoperiod	12 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h	16 h	12 ~ 16 h	12 ~ 16 h
Feeding regime	-	None	None	once daily	(according to age)	None	(according to age)	-	None	None	Once daily	None	Once daily
Test solution aeration	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)	None (DO ₆₀)
Dilution water	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD	RD
Result	LC50	LC50, EC50, LOEC, NOEC	LC50	NOEC	NOEC, LOEC	LC50, EC50, NOEC, LOEC	LOEC, NOEC	LC50	LC50	LC50, EC50, NOEC, LOEC	LC50	LC50, EC50, NOEC, LOEC	EC, NOEC, LOEC
Test acceptability criterion	Con _{95s}	Con _{50p}	Con _{95s}	Con _{95s}	Con _{75p}	Con _{75p}	Con _{60p}	Con _{95s}	Con _{95s}	Con _{60p}	-	Con _{60-90p}	Con ₉₀
No of references	2	1	4	1	1	1	1	1	8	4	3	2	3

Bla. (Before cleavage of the blastodisc commences or as close as possible after this stage); S (Static non-renewal); R (Static renewal); F (Flow-through); DO₆₀ (DO concentration of at least 60% of air saturation value); RD (Reconstituted water or dechlorinated tap water); Con_{95p} (x% or greater post-hatch in controls); Con_{95s} (x% or greater survival in controls)

독성시험 등 4가지 어류독성시험법을 제시하였다(Table 5). 생물종 간 시험법을 비교해보면 대체로 표준시험법과 유사한 범위 내에서 적용되었기 때문에 시험 세부 조건에 있어서의 종 특이성은 크게 발견되지 않았다. 그러나 온도의 경우 *Carassius auratus* < *Gasterosteus aculeatus* < *Oryzias latipes* < *Misgurnus anguillicaudatus* 순으로 낮아지는 것으로 보아, 생물종에 따라 최적 온도를 설정하여 독성평가를 수행할 필요가 있는 것으로 판단된다.

국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구 단계로서, 국내외 생태독성시험법에 대한 자료를 수집한 결과 국내 생물종을 이용한 연구 사례는 제한적이었고, 온도 등 민감한 조건을 제외하고 대체로 표준시험법에 준하여 수행된 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미약한 현 시점에서 보다 체계적인 독성시험법을 개발하기 위해서는 다음과 같은 연구가 선행되어야 할 것이다.

첫째, 태어난 지 24시간 이하의 물벼룩, 지수성장기에 도달한 조류 등 수서독성평가에 대표적으로 이용되는 생물종과 달리 종말점에 따라 다양한 성장단계(예: 수정란, 자어, 치어, 성어)의 개체를 사용하는 어류독성평가는 무엇보다 생물종의 생활사를 고려한 노출기간을 설정해야 한다. 일반적으로 각 생물종마다의 부화 및 산란 시기가 상이하므로, 개개인의 실험실 조건에 따라 성장 속도가 차이가 있을 수 있으므로 가능한 한 향후 실험 조건과 동일한 시스템 하에서 생활사를 측정하는 것이 보다 명확한 노출기간을 설정하는데 도움이 될 수 있을 것이다. 또한 이러한 노출기간 설정은 생태독성자료의 급성 및 만성 구분 시 중요한 기준이 될 수 있을 것으로 사료된다.

둘째, 본 연구에서 선정한 어류 5종을 대상으로 도출한 독성시험법은 향후 실험 연구의 시행착오를 최소화하는데 기여할 수 있도록 기존 연구에서 수행된 바 있는 각각의 시험 세부 조건별 범위를 제시한 것이다. 따라서 본 시험법으로부터 표준작업지침(standard operation procedure: SOP)과 같은 최적 조건의 생태독성시험법을 제안하기에는 실험 조건의 대표성이 다소 결여되었다고 볼 수 있다. 그러므로 실질적으로 국내 생물종별 독성 시험법으로서의 활용성은 이에 대한 보다 실험적인 연구를 통해 검증되어야 할 것으로 판단된다.

셋째, 표준시험법에서 추천한 공시어종 이외 국내 생물종에 대한 소량의 연구 사례를 검토한 결과, 대체로 표준시험법을 온도 등 조건을 개별 상황에 맞게 수정하여 적용한 것으로 나타났다. 따라서 기존 연구에서 다루지 않았던 많은 국내 생물종에 대해 본 연구에서 도출된 생태독성 시험법을 토대로 몇 가지 조건들을 수정해가는 실

험을 통해 새로운 시험종 개발 및 그에 따른 최적의 실험 조건을 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 국내외 독성시험법 중에서 시험종이 국내에 서식하는 경우를 대상으로 사용된 노출 기간, 종말점 등 시험 세부 조건을 집약하여, 향후 생태독성 시험법 개발 연구를 위한 각각의 생물종별 생태독성 시험법의 적용 가능한 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 공시어종 이외에도 국내 생물종에 대한 소량의 연구 자료가 있었으나, 대체로 표준시험법을 개별 상황에 맞게 수정하여 적용한 것으로 나타났다. 특히 온도는 *Carassius auratus* < *Gasterosteus aculeatus* < *Oryzias latipes* < *Misgurnus anguillicaudatus* 순으로 낮아지는 것으로 보아, 어류독성시험에 있어서 가장 유의해야 할 조건인 것으로 나타났다. 이와 같이 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반이 미약한 현 시점에서 보다 체계적인 독성시험법을 개발하기 위해서는 향후 실험 조건과 동일한 시스템 하에서의 생활사 측정 및 그에 따른 노출기간 설정, 본 연구에서 선정한 어류 5종을 대상으로 도출한 생태독성시험기법에 대한 실험 연구를 통한 검증 그리고 기존 연구에서 다루지 않았던 많은 국내 시험종 개발 및 그에 따른 실험 조건 규명이 선행되어야 할 것이다. 따라서 본 연구는 국내 생물종을 대상으로 한 독성시험기법 및 방향을 제시함으로써 국내 수계의 실정, 먹이 연쇄를 통한 생물종간의 상호 관련성 등을 고려할 수 있는 국내 시험종 및 그에 따른 시험법 개발을 위한 중요한 토대가 될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 환경부·국립환경과학원 물환경종합평가 개발 조사연구(III)-인체 및 수생태계 위해성평가체계 구축 사업의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인 용 문 헌

국립환경연구원. 2000. 환경독성시험용 송사리의 사육관리.

- 김길수, 염동혁, 김영길. 1993. 송사리에 있어서 사염화탄소의 독성에 관한 연구: LC50값 및 조직병리학적 변화, 한국생물학회지 **9**: 31-37.
- 김익수, 김소영. 1993. 한국산 송사리 두 종의 교잡실험, 한국어류학회지 **5**: 113-121.
- 김익수, 박종영. 2002. 원색도감 한국의 민물고기. 교학사, 서울.
- 김은경, 류지성, 박수영, 김현미, 최광수, 나진균, 이철우. 2005. 송사리 초기 생장단계에서의 비스페놀 A에 의한 내분비계 장애 영향, 한국환경독성학회지 **20**: 13-21.
- 류지성, 이철우, 최필선, 최성수, 류홍일, 이길철, 정규혁, 박광식. 1999. 자동영상추적장치를 이용한 카드뮴 처리 *Oryzias latipes*의 행위독성연구, 한국환경독성학회지 **14**: 217-222.
- 류지성, 정규혁, 최필선, 이길철, 최덕일, 최성수, 류홍일, 박광식. 1998. Humic acid가 카드뮴 어독성에 미치는 영향, 한국환경독성학회지 **13**: 11-17.
- 박광식, 최필선, 이상협, 이철우, 류지성, 최성수, 류홍일, 최덕일. 1988. 송사리수정란을 이용한 낱의 내분비계장애에 관한 연구, 한국환경독성학회지 **14**: 379-384.
- 박두신, 최신석. 1998. 송사리와 대륙송사리의 산란, 난발생 및 자어의 성장, 육수지 **31**: 109-118.
- 박용석, 이상구, 이승진, 문성경, 최은주, 이기태. 2003. Glucose-6-phosphate dehydrogenase를 이용한 *Moina macrocopa*의 중금속 독성 검정, 한국환경독성학회지 **18**: 305-310.
- 박민경, 김익수, 박종영. 2006a. 한국산 송사리 속 어류와 일본산 송사리의 형태 비교와 한국산 송사리의 분포, 수산관련학회 공동학술대회 발표 요지집 G-15.
- 박민경, 김익수, 박종영. 2006b. 한국산 송사리속 어류의 형태적 특징 및 지리적 분포, 한국어류학회지 **18**: 163-169.
- 안윤주, 남선화, 이재관. 2007. 수생태계 독성평가에 적용 가능한 국내 시험종 선정, 육수지 **40**: 1-13.
- 우화광, 전상린. 1987. 한국산 송사리의 동서양한집단의 핵형, 육수지 **20**: 139-147.
- 염동혁, 이성규. 2006. 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)의 치어 및 자어에 대한 4가지 농약의 급성독성, 한국환경독성학회지 **21**: 311-316.
- 이성규, 심점순, 김용화, 노정구. 1991. 어류, *Daphnia* 및 조류와 Ames' Test를 이용한 산업폐수의 환경독성 및 유전독성 평가, 한국물환경학회지 **7**: 100-109.
- 이재형. 1989. Mercuric Chloride가 붕어(*Carassius auratus*)에 미치는 급성독성 및 축척에 관한 연구, 한국환경보전학회지 **15**: 97-106.
- 이철우, 최성수, 최필선, 이상협, 이길철, 박광식. 1997. Furfural 어류급독성 및 조직병리에 관한 연구, 한국환경독성학회지 **12**: 55-59.
- Ministry of the Environment of government of Japan and Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan. 2003. Medaka *Oryzias latipes* Development of Test Methods and Suitability of Medaka as Test Organism for Detection of Endocrine Disrupting Chemicals.
- 한국표준협회. 2003. KS M ISO 7346 수질-민물고기에 미치는 물질의 급성 치사독성 측정 방법.
- 환경부. 2002. 환경위해성 평가 및 관리기술-환경오염물질 독성평가의 신기술 개발.
- 환경부. 2006a. 물환경관리 기본계획-4대강 대권역 수질보전 기본계획('06~'15).
- 환경부. 2006b. 수질유해물질 통합독성 관리제도 도입을 위한 시범사업 '05.
- 환경부, 국립환경과학원. 2006. 물환경종합평가방법 개발 조사 연구(III)-인체 및 수생태계 위해성 평가체계 구축.
- 환경부, 국립환경과학원. 2007. 환경독성평가를 위한 국내 고 유생물종 개발.
- Aydin, R., K. Koprucu, M. Dorucu, S.S. Loprucu and M. Pala. 2005. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquaculture International* **13**: 451-458.
- Chen, Y.-R., H. Uwa and X.-L. Chu. 1989. Taxonomy and distribution of the genus **Oryzias** in Yunnan, China (Cyprinodontiformes: Oryziidae). *Acta Zootaxonomica Sinica*. **14**: 239-246.
- EC. 1992. C.1 Acute toxicity for fish.
- EC. 2001a. C.14 Fish juvenile growth test.
- EC. 2001b. C.15 Short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages.
- FishBase (<http://www.fishbase.org>). 2007.
- Gray, M.A. and C.D. Metcalfe. 1999. Toxicity of 4-tert-octylphenol to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology* **46**: 149-154.
- Ishibashi, H., N. Watanabe, N. Matsumura, M. Hirano, T. Nagao, H. Shiratsuchi, S. Kohra, S. Yoshihara and K. Arizono. 2005. Toxicity to early life stages and an estrogenic of a bisphenol A metabolite. 4-methyl-2, 4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-ene on the medaka (*Oryzias latipes*). *Life Sciences* **77**: 2643-2655.
- Ishibashi, H., N. Matsumura, M. Hirano, M. Matsuoka, H. Shiratsuchi, Y. Ishibashi, Y. Takao and K. Arizono. 2004. Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquatic Toxicology* **67**: 167-179.
- Köprücü, K. and R. Aydin. 2004. The toxic effects of pyrethroid deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **80**: 47-53.
- Kurita, J., T. Oshiro, F. Takashima and M. Sakaizumi. 1993. Production of amphidiploid medaka *Oryzias 2 latipes sinensis*-2 curviontus by gynogenesis with retention of the second polar body. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **59**: 373.

- OECD. 1984. Test Guideline 204 Fish, Prolonged toxicity test: 14-day study.
- OECD. 1992a. Test Guideline 203 Fish, acute toxicity test.
- OECD. 1992b. Test Guideline 210 Fish, Early-Life stage toxicity test.
- OECD. 1998. Test Guideline 212 Fish, short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages.
- OECD. 2000. Test Guideline 215 Fish, juvenile growth test.
- Sakaizumi, M. and S.R. Jeon. 1987. Two divergent groups in the wild populations of medaka *Oryzias latipes* (Pisces: Oryziatidae) in Korea. *Korean J. Limnol.* **20**: 13-20.
- Shioda, T. and M. Wakabayashi. 2000. Effects of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* **40**: 239-243.
- Takehana, Y., S.R. Jeon and M. Sakaizumi. 2004. Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in wild populations of medaka (*Oryzias latipes*) from Korea and China. *Zoological Science* **21**: 483-491.
- Tilton, S.C., C.M. Foran and W.H. Benson. 2003. Effects of cadmium on the reproductive axis of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* **136**: 265-276.
- U.S. EPA. 1985. Guideline for deriving numerical national water quality criteria for the protection of aquatic organisms and their uses.
- U.S. EPA. 1996a. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1075 fish acute toxicity test, freshwater and marine.
- U.S. EPA. 1996b. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1400 fish early-life stage toxicity test.
- U.S. EPA. 1996c. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1500 fish life cycle toxicity test.
- U.S. EPA. 2002a. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.
- U.S. EPA. 2002b. Short-term Methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms.
- Yin W.D., A. Zhang and L. Wang. 2002. Toxicity of Chloroanilines and effects on superoxide dismutase activities in serum of crucian carp (*Carassius auratus*). *Environmental contamination and toxicology* **68**: 630-636.

(Manuscript received 5 March 2007,
Revision accepted 28 April 2007)