

구리, 카드뮴, 펜벤다졸, 설파티아졸이 국내산 풍년새우 생존에 미치는 영향

문성대, 조창현, 짝인실¹, 이창훈*

(주)네오엔비즈 부설 환경안전연구소, ¹전남대학교 해양기술학부

Effects of Cu, Cd, Fenbendazole and Sulfathiazole on the Survival of the Korean Fairy Shrimp *Branchinella kugenumaensis*

Seong-Dae Moon, Chang-Hyun Cho, Inn-Sil Kwak¹
and Chang-Hoon Lee*

NeoEnBiz Co., Deawoo Technopark A-1306, Dodangdong, Bucheon,
Gyeonggi-do 420-806, Korea

¹Division of Marine Technology, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

ABSTRACT

The short term (24-hr) and long term (21 days) effects of copper, cadmium, fenbendazole and sulfathiazole on the survival of the Korean fairy shrimp *Branchinella kugenumaensis* were evaluated. The 24-hr median lethal concentrations (LC₅₀) of copper, cadmium, fenbendazole, and sulfathiazole were 39, 512, 182, and 31,818 µg/L, respectively. The toxicity of copper is highest among 4 chemicals used in this study, while sulfathiazole the lowest. After the long term (21 days) exposure experiment, the LC₅₀ copper, cadmium, fenbendazole, and sulfathiazole were 1.12, 2.1, 0.1, 6.6 µg/L, respectively. The long term effects of antibiotics were highly enhanced while the short-term effects were not strong. The sensitivities of *B. kugenumaensis* to copper and cadmium were higher than or comparable to those of other freshwater branchiopods (*Streptocephalus* spp., *Thamnocephalus* sp.), and far higher than the marine species (*Artemia* sp.). There were significant effects on the survival of *B. kugenumaensis* after long term exposure to relatively lower concentrations of copper, cadmium, fenbendazole and sulfathiazole. Therefore, *B. kugenumaensis* seems quite a good candidate species for the ecotoxicological assessments of freshwater environments.

Key words : *Branchinella kugenumaensis*, short term, long term, bioassay, toxicity

서 론

환경으로 유입되는 유해물질들을 정량화하기 위

해서 기존에는 이화학적 분석을 통해 관리되어왔다. 하지만 이화학적 분석기법은 비용과 시간이 많이 들고 유해물질에 대한 농도 수준만을 확인할 수 있기 때문에 생물에게 미치는 영향을 예측하기는 힘들다. 따라서 선진국에서는 다양한 분류군의 생물을 이용하여 생물검정 (bioassay)을 실시하고 있다. 생물

※ To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-32-670-7210, Fax: +82-32-670-7211
E-mail: chlee@neoenbiz.com

검정을 통하여 유해물질 또는 환경 시료가 생물에게 미치는 영향의 정도를 정량화함으로써, 실제 현장에 서식하는 생물들이 어느 정도 영향을 받고 있는가를 예측할 수 있다(USEPA, 1985).

국내에서도 위해성 평가 기반 구축에 대한 인식이 높아지면서 선진국에서 개발된 프로토콜을 바탕으로 여러 생물에 대한 생태독성시험법을 개발하고 있다. 하지만 선진국에서 개발된 프로토콜은 해당 표준 시험법에서 추천한 시험종이나, 국내 수계에 서식하지 않는 외래종이기 때문에 국내 생태독성평가에 활용하는 데 몇 가지 문제점이 있다. 즉, 수입으로 인한 경제적 부담, 생물의 수계 유출을 통한 생태계 교란, 그리고 같은 수계에 서식하는 생물의 먹이 연쇄를 통한 상호 관련성 등을 고려해야 하기 때문에, 국내 수계에 대한 생태독성 시험은 국내 서식종을 이용하는 것이 가장 바람직하다(안윤주 등, 2007).

국내종을 이용한 생태독성 시험법 개발은 2000년대 초반부터 본격적으로 이루어지기 시작하였으며 식물플랑크톤, 요각류, 단각류, 물벼룩, 성게, 어류 등 다양한 분류군을 대상으로 개발이 시도되었다(이창훈, 2000; 박경수 등, 2005; 윤성진 등, 2006; 남선화 등, 2007; 안윤주 등, 2007; 이정석 등, 2008). 하지만 아직까지 관련 기술을 보유한 기관의 수는 많지 않으며, 표준 독성 시험종의 선정과 이들을 이용한 생태독성 시험법 개발도 아직은 체계적으로 정립되지 않은 실정이다. 생태독성 시험종으로 사용하기 위한 생물의 조건으로는 생태적, 경제적 중요성, 채집 및 배양을 통한 공급의 용이성, 실험실 유지 및 관리의 용이성, 오염물질에 대한 반응과 민감도 등이 있다(ASTM, 1997). 본 연구에서는 이러한 조건을 만족할 수 있는 후보 생물로 풍년새우(*Branchinella kugenumaensis*)를 선정하였으며, 본 연구 결과를 기초로 국내 표준 독성 시험종 개발에 활용 가능할 것으로 기대한다.

풍년새우는 절지동물문, 새각강, 무갑목에 속하며 1895년 일본에서 분류학적 연구를 시작으로 알려지게 되었다(Ishikawa, 1895). 무갑류는 전 세계에 약 200여 종이 알려져 있고(Schram, 1986; Dodson and Frey, 1991) 그중에 *B. kugenumaensis*는 한국, 일본, 중국, 인도 등 아시아 지역에서 서식하는 것이 보고되었으며 현재까지는 주로 분류, 생태, 발생, 분포에 관한 연구가 진행되어왔다(Yoon and Kim, 1992; Yoon, 1993). 풍년새우는 농약을 사용하지 않는 깨끗한

곳한 논에서 주로 발견되며, 불안정한 서식환경에서는 내구란(cyst)의 형태로 존재하여 종을 유지하는 특성을 가지고 있다(윤성명, 1998). 풍년새우와 같은 유럽산 *Streptocephalus*를 대상으로 형태, 유전, 생식, 성장, 먹이 및 배양조건, 그리고 생태 독성 등에 관한 다양한 연구가 이루어진 바 있다(Brendonck, 1991, 1993; Ali and Brendonck, 1995; Ali and Dumont, 2002; Belk and Rogers, 2002). 하지만 국내산 풍년새우에 대한 연구는 형태 및 분포에 관한 연구가 일부 있으며(윤성명, 1998), 생태독성 및 유해화합물질에 대한 생물반응 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 국내산 풍년새우를 이용하여 구리, 카드뮴, 펜벤다졸 그리고 설파티아졸의 단기 및 장기 독성평가를 실시하고, 각 물질에 대한 풍년새우의 민감도를 확인하고자 하였다. 구리는 미량으로 존재할 때 생물에게 필요한 필수영양소로 작용하지만, 체내 농도가 증가하면 생물에게 미치는 악영향 또한 증가하는 물질로 알려져 있다(Leland and Kuwabara, 1985; Lobban and Harrison, 1997). 카드뮴은 필수영양소가 아니면서 독성이 매우 강하며 생물체에 축적되어 미량으로도 생물에게 행동, 성장, 생식에 영향을 미치는 물질이다(Rompala *et al.*, 1984; Wren *et al.*, 1995).

펜벤다졸은 벤지미다졸계 구충제(benzimidazole anthelmintics) 6종(albendazole, thiabendazole, flubendazole, febantel, fenbendazole, oxfendazole) 중 에서 생태위해도 지수(hazard quotient)가 2,791로 가장 높은 물질이다(Oh *et al.*, 2004). 설파티아졸은 항생제로서 돼지와 양에게 경구 투여한 후 체내에서 완전히 흡수되지 않고 체외로 배출되는 비율이 높다고 알려져 있으며, 그 양이 돼지의 경우 48%, 양의 경우 67%가 뇨로 배설된다는 보고가 있다(Koritz *et al.*, 1977; Koritz *et al.*, 1978). 항생제는 전 세계적으로 돼지, 닭, 소, 양식어류 등의 질병예방과 치료, 성장촉진 등을 위해 축, 수산농가에서 널리 사용되고 있다. 하지만 질병에 대한 직접적인 치료 용보다 사료에 첨가하여 성장촉진제나 질병 예방으로 사용하는 양이 점차 증가하고 있는 추세이며 항생제를 섭취한 동물의 배설로 인해 환경 내에 잔류할 가능성이 높은 물질로 알려져 있다(서형석 등, 2002). 따라서 축산업의 확대와 함께 환경으로 배출되는 항생제의 증가는 토양 및 수서 생태계에 영향을 미쳐 군집 구조의 변화를 초래할 수 있다.

재료 및 방법

1. 실험생물의 준비

풍년새우 내구란은 유기농법으로 버를 재배하는 논에서 토양과 함께 채집하였다. 채집된 토양은 실험실에서 300- μ m 표준체를 이용하여 굵은 입자와 불순물을 제거하였다. 내구란을 부화시키기 위해서 1-L 폴리에틸렌 용기에 내구란이 포함된 토양을 넣고, EPA 배지(hard water)를 넣어주었다(USEPA, 2002). 내구란에서 부화한 유생은 성체가 될 때까지 배양하였으며, 먹이로는 테트라민(TetraMin[®]), 효모(yeast), *Chlorella* sp.를 급여하였다. 풍년새우 성체로부터 생산되는 내구란을 수거하여 건조시킨 후 보관하였고, 독성 시험에는 이렇게 건조 보관 중인 내구란을 시험 전에 부화시켜 사용하였다.

2. 각 물질별 농도제조

시험 대상 물질로는 구리(copper(II) chloride dihydrate, CAS No. 10125-13-0, SAMCHUN[®])와 카드뮴(cadmium chloride, CAS No. 10108-64-2, Sigma[®]), 펜벤다졸(Fenbendazole, CAS No. 43210-07-9, Sigma[®]) 그리고 설파티아졸(Sulfathiazole, CAS No. 72-14-0, Sigma[®])을 이용하였다. 구리와 카드뮴은 3차 증류수에 녹여 제조하였으며, 펜벤다졸과 설파티아졸은 유기용매인 DMSO(Dimethyl Sulfoxide, 99.8%)에 녹여 제조하였다. 용매로 사용한 DMSO 자체가 풍년새우에게 미치는 영향을 알기 위해 DMSO 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4% 농도에 풍년새우 유생을 24시간 노출하여 생존여부를 관찰하였다. 용매가 풍년새우 생존율에 영향을 미치지 않도록 최종 노출액에서의 DMSO 농도가 단기간 노출시 1% 미만, 장기간 노출시 0.1% 미만이 되도록 하였다.

3. 단기 노출평가

단기 노출평가 방법은 Maria *et al.* (1993)에서 제시된 담수산 무갑류 시험방법을 따랐다. 단기간 민감도 평가는 풍년새우 유생을 24시간 동안 노출하여 각 물질에 따른 희석 농도별 생존율을 평가하는 것이다. 시험조건은 온도 25°C, 명암주기 24시간 암 조건에서 수행하였다. 노출기간 동안 온도변화를 최소화하기 위해서 $\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되는 항온배양기를

이용하였다. 노출용기는 24 well plate를 사용하였으며, 노출용액은 각 실험구마다 3mL씩 주입하였다. 시험의 반복구는 3개로 설정하였으며, 부화한 지 24시간 미만의 개체를 각 반복구당 10마리씩 투입하였다. 노출기간 동안 시험액 교환과 먹이공급은 하지 않았다. 각 물질별 농도 구배는 구리의 경우 23, 47, 93, 186, 372 $\mu\text{g/L}$, 카드뮴의 경우 153, 306, 613, 1,225, 2,451 $\mu\text{g/L}$, 펜벤다졸의 경우 62.5, 125, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/L}$, 설파티아졸의 경우 6,250, 12,500, 25,000, 50,000, 100,000 $\mu\text{g/L}$ 이었다.

4. 장기 노출평가

장기 노출은 21일간 수행하였다. 시험조건은 다음과 같다. 온도 25°C, 명암주기 16시간 명, 8시간 암, 노출용기는 250 mL 유리비이커를 사용하였다. 시험의 반복구는 3개로 설정하였다. 생물은 일령 4일인 유생 중 움직임이 활발하고 크기가 동일한 개체를 선별하여 각 반복구당 20마리씩 투입하였다. 노출기간 동안 매일 생존여부를 관찰하였으며 시험수 교환은 2일에 1회 약 90% 환수하였다. 먹이는 테트라민, 효모, 클로렐라(*Chlorella* sp.) 등을 적절히 배합하여 급여하였다.

21일 노출평가에서 각 물질별 노출농도는 단기 노출평가 결과를 바탕으로 설정하였다. 각 물질별 농도 구배는 구리의 경우 0.01, 0.04, 0.11, 0.37, 1.12 $\mu\text{g/L}$, 카드뮴의 경우 0.06, 0.18, 0.61, 1.84, 6.13 $\mu\text{g/L}$, 펜벤다졸의 경우 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/L}$, 설파티아졸의 경우 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g/L}$ 이었다.

5. 자료분석

대조구와 실험구 간 유의성 검정에는 통계프로그램(SPSS[®])을 이용하여 분산분석(ANOVA, 유의수준 $\alpha=0.05$)을 실시하였다(Zar, 1984). 반수치사농도(LC₅₀)는 통계프로그램(Toxcalc[®])을 이용하여 선형 내삽법(linear interpolation)으로 산출하였다.

결과 및 고찰

1. 단기노출 결과

구리, 카드뮴, 펜벤다졸 그리고 설파티아졸에 노출된 풍년새우 유생의 24시간 생존율을 Fig. 1에 나

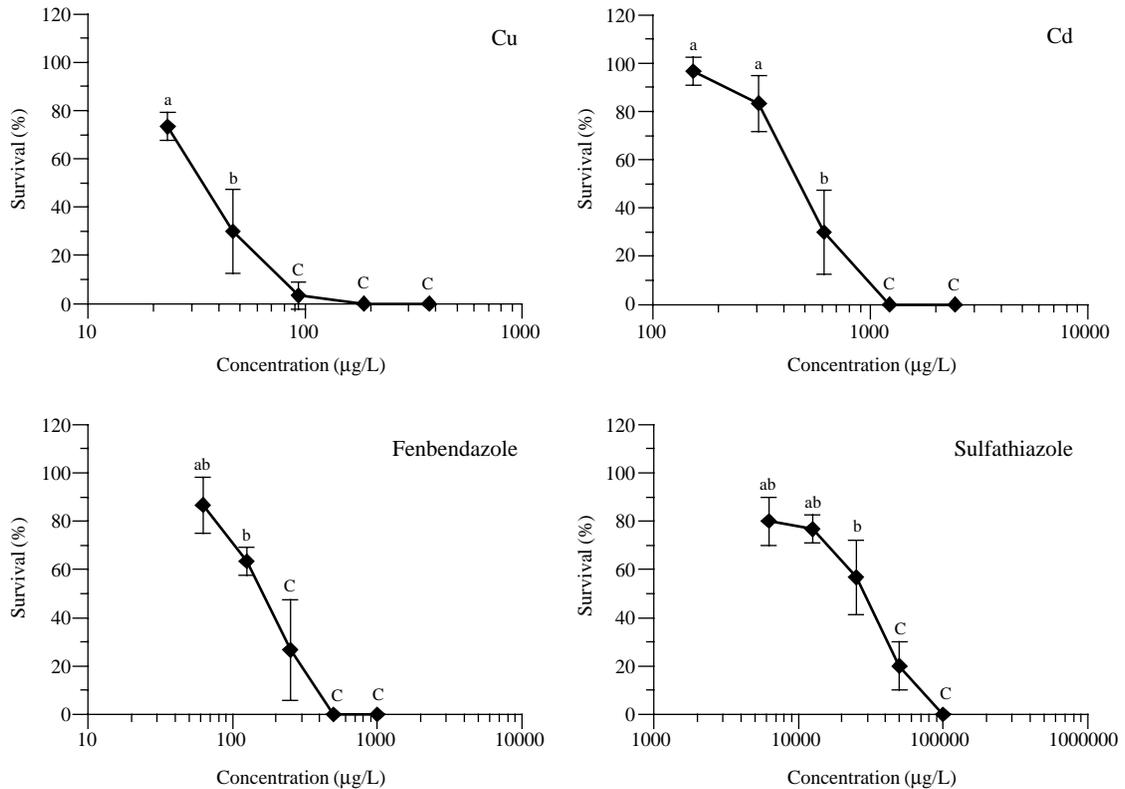


Fig. 1. 24-hr survival of *Branchinella kugenumaensis* (neonates) exposed at each concentration of cadmium, copper, fenbendazole and sulfathiazole. Error bar represent standard deviation (n=3). Values with the same character showed no significance (ANOVA, $\alpha=0.05$).

타내었다. 음성 대조구(negative control)에서의 생존율은 $93 \pm 6\%$ 이었고, 유기용매 대조구(solvent control)에서의 생존율은 $93 \pm 6\%$ 이었다.

구리와 카드뮴에 풍년새우 유생을 24시간 노출한 결과, 농도가 증가할수록 생존율이 낮아지는 농도-반응관계(concentration-response relationship)가 뚜렷하게 나타났다. 구리의 경우 $23 \mu\text{g/L}$ 농도에서의 생존율은 $73 \pm 6\%$ 이었으며, 대조구와 비교하였을 때 유의한 차이는 없었다($p=0.091$). $47 \mu\text{g/L}$ 농도에서는 생존율이 급격히 떨어져 $30 \pm 17\%$ 로 나타났으며, $93 \mu\text{g/L}$ 농도에서 $3 \pm 6\%$, 그리고 $186 \mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서는 모든 개체가 사망하였다. 카드뮴의 경우 $153 \mu\text{g/L}$ 에서의 생존율은 $97 \pm 6\%$ 로 대조구보다 높았고, $306 \mu\text{g/L}$ 에서의 생존율은 $83 \pm 12\%$ 이었다. $153 \sim 306 \mu\text{g/L}$ 의 범위에서의 생존율은 대조구와 유의한 차이가 없었다($p=0.997$, 0.758). 그러

나 $613 \mu\text{g/L}$ 의 농도에서는 생존율이 급격히 감소하여 $30 \pm 17\%$ 로 나타났으며, $1,225 \mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서는 모든 개체가 사망하였다.

펜벤다졸과 설파티아졸에서 역시 풍년새우의 생존율은 농도-반응 관계가 뚜렷이 나타났다. 펜벤다졸의 경우 $62.5 \mu\text{g/L}$ 의 농도에서 생존율은 $86 \pm 12\%$ 로 대조구와 유의한 차이가 없었다($p=0.963$). $125 \mu\text{g/L}$ 농도에서는 생존율이 $63 \pm 6\%$ 로, 대조구와 유의한 차이가 있었다($p=0.035$). $250 \mu\text{g/L}$ 에서는 생존율이 $27 \pm 21\%$ 로 더욱 감소하였고, $500 \mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서는 모든 개체가 사망하였다. 설파티아졸의 경우, 가장 낮은 농도인 $6,250 \mu\text{g/L}$ 에서의 생존율이 $80 \pm 10\%$ 이었고, $12,500 \mu\text{g/L}$ 에서는 $77 \pm 6\%$ 로, 이 두 농도에서는 대조구와 유의한 차이가 없었다($p=0.506$, 0.290). 그러나, 이보다 높은 $25,000 \mu\text{g/L}$ 에서는 생존율이 $57 \pm 15\%$ 로 감소하여 독성이 나

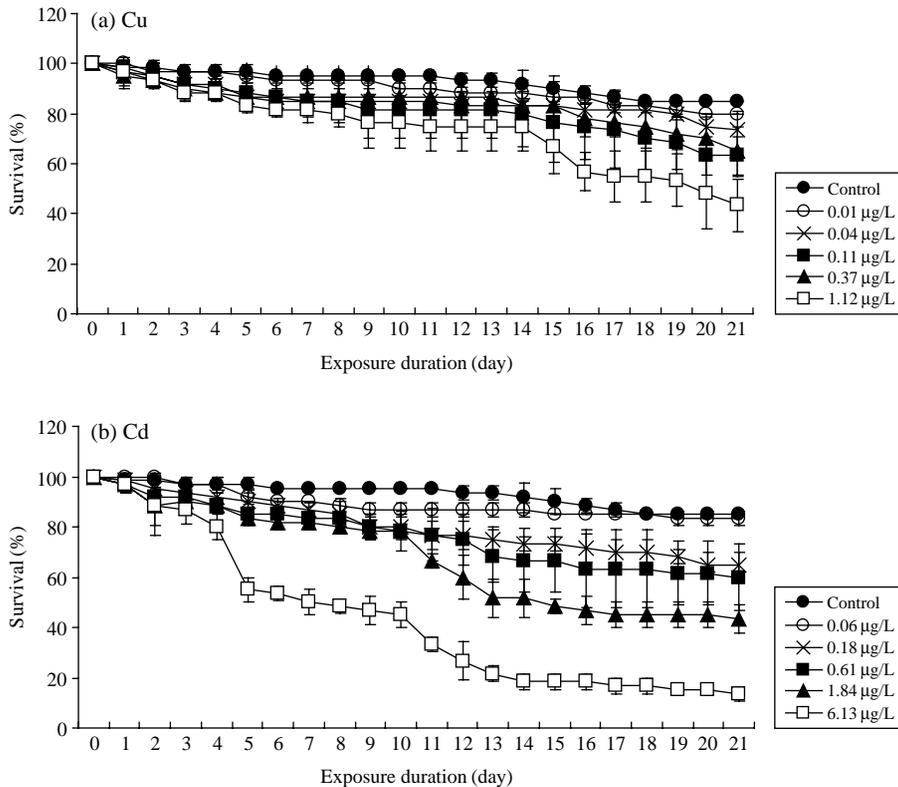


Fig. 2. Survivorship curves of *Branchinella kugenumaensis* exposed at each concentration of (a) copper and (b) cadmium for 21 days.

타났으며, 50,000 µg/L에서 20 ± 10%로 더욱 감소하였고, 100,000 µg/L에서는 모든 개체가 사망하였다.

풍년새우 단기노출 결과로부터 각 물질의 24시간 반수치사농도(LC₅₀)를 계산할 수 있었다. 구리와 카드뮴의 LC₅₀은 각각 39, 512 µg/L로 산출되었으며 펜벤다졸과 설파티아졸의 LC₅₀은 182, 31,818 µg/L로 나타났다. 실험대상 물질별 독성 강도는 구리 > 펜벤다졸 > 카드뮴 > 설파티아졸의 순이었다.

2. 장기노출 결과

장기노출은 구리, 카드뮴, 펜벤다졸, 설파티아졸에 풍년새우를 21일간 노출하였다. 노출기간 동안 매일 생존율의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 2와 Fig. 3과 같다. 풍년새우의 생존율은 노출 농도와 노출 기간이 증가할수록 감소하는 경향이 나타났다. 음성 대조구와 유기용매 대조구에서의 생존율은 각각

85 ± 0, 82 ± 3% 이었다.

구리에 노출된 풍년새우는 0.01 µg/L 농도에서 21일간 노출 후 생존율이 80 ± 0%로 나타났으며 대조구와 유의한 차이가 없었다(p=0.956). 0.04, 0.11, 0.37, 1.12 µg/L에서는 각각 73 ± 8, 63 ± 8, 65 ± 10, 43 ± 10%가 생존하였으며 대조구와 비교하였을 때 유의한 차이를 보였다(p < 0.033). 따라서 구리 0.04 ~ 1.12 µg/L 농도범위에서 풍년새우가 장기간 노출될 경우 생존율에 영향이 있는 것으로 판단된다 (Fig. 2a). 각 농도별로 풍년새우 생존율이 80% 이하로 감소하기 시작한 노출 시기는 0.04 µg/L에서 20일, 0.11 µg/L에서 15일, 0.37, 1.12 µg/L에서 각각 16, 9일이었다.

카드뮴에 노출된 풍년새우의 경우 0.06 µg/L에서 노출 3일부터 21일까지 꾸준히 생존율이 감소하였지만 21일째 생존율은 83 ± 3%로 대조구와 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p=0.999). 0.18 µg/L에

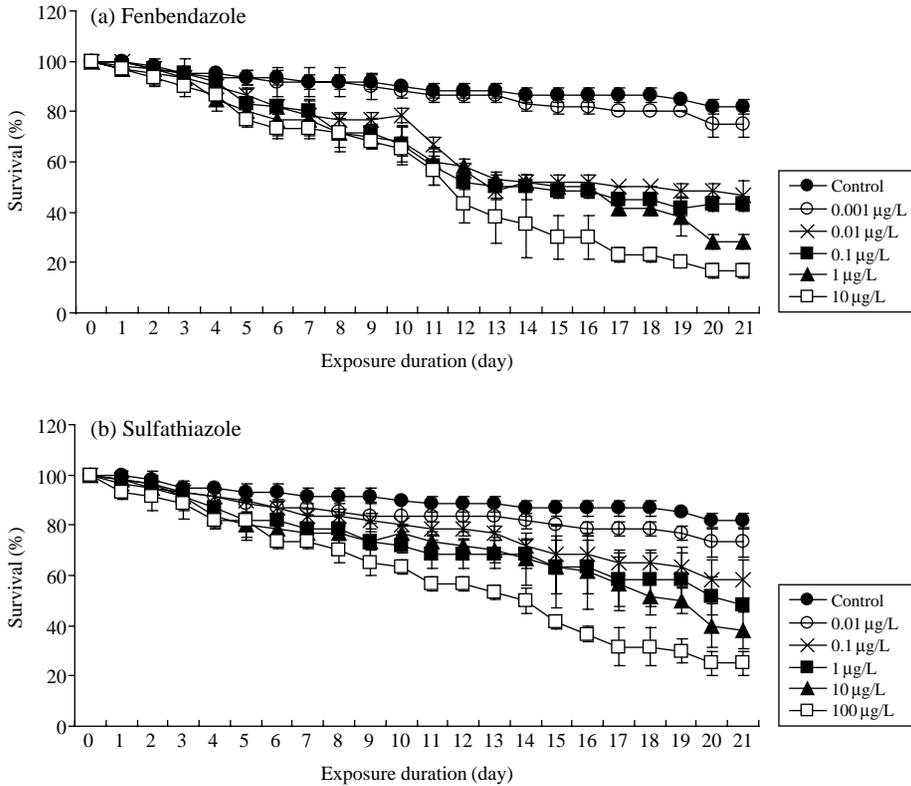


Fig. 3. Survivorship curves of *Branchinella kugenumaensis* exposed at each concentration of (a) fenbendazole and (b) sulfathiazole for 21 days.

서는 노출 10일째까지 80% 이상의 생존율을 보였으나 11일째에 $77 \pm 6\%$, 21일째에는 $65 \pm 5\%$ 까지 감소하는 것을 확인할 수 있다. 0.01, 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/L}$ 농도에서는 21일째 생존율이 각각 60 ± 13 , 43 ± 6 , $13 \pm 3\%$ 로 나타났으며 생존율 80% 이하가 되는 노출 기간은 각각 10일, 9일, 5일로 농도가 증가함에 따라 생존율이 감소하는 기간은 단축되었다(Fig. 2b).

펜벤다졸의 최저 농도인 0.001 $\mu\text{g/L}$ 에서 21일 생존율은 $75 \pm 5\%$ 로 유기용매 대조구와 유의한 차이가 없었다($p=0.353$). 0.01, 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/L}$ 에서 생존율은 각각 47 ± 6 , 43 ± 3 , 28 ± 3 , $17 \pm 3\%$ 이었고 모두 대조구와 유의한 차이가 있었다($p=0.000$, Fig. 3a). 각 농도별로 80% 이하의 생존율이 관찰된 노출 기간은 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/L}$ 에서 각각 20, 7, 8, 6, 5일이었다. 0.01~10 $\mu\text{g/L}$ 농도범위에서 5~8일째에 생존율이 80% 이하로 감소하는 것은, 이 물질이 매우 낮은 농도에서도 풍년새우 생존에 영향을

미치고 있음을 의미한다.

설파티아졸의 경우 최저 농도인 0.01 $\mu\text{g/L}$ 에서 21일 생존율이 $73 \pm 6\%$ 로 유기용매 대조구와 유의한 차이가 없었다($p=0.497$). 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g/L}$ 에서의 생존율은 각각 58 ± 8 , 48 ± 3 , 38 ± 8 , $25 \pm 5\%$ 이었고, 모두 대조구와 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.003$, Fig. 3b). 각 농도별로 80% 이하의 생존율을 보인 노출 기간은 0.01 $\mu\text{g/L}$ 에서 16일, 0.1 $\mu\text{g/L}$ 에서 11일 그리고 1, 10, 100 $\mu\text{g/L}$ 농도에서 각각 7, 5, 5일이었다.

각 물질별로 풍년새우를 21일간 노출한 결과에서 독성이 강한 순으로 나열하면 펜벤다졸 > 설파티아졸 > 카드뮴 > 구리 순으로 나타났다(Fig. 4). 펜벤다졸과 설파티아졸의 경우 생존율의 감소가 나타나는 농도 범위가 비교적 넓은 반면, 구리와 카드뮴은 상대적으로 좁았다. 각 물질별로 50% 이하의 생존율이 나타난 농도는 펜벤다졸의 경우 0.01 $\mu\text{g/L}$

설파티아졸의 경우 1 µg/L, 그리고 구리와 카드뮴의 경우 각각 1.12, 1.84 µg/L이었다. 각 농도별 생존율 결과로부터 21일간의 LC₅₀을 산출할 수 있었다. 구리의 경우 반수치사농도는 > 1.12 µg/L로 산출되었다. 카드뮴의 LC₅₀은 2.1 µg/L로 산출되었으며, 펜벤다졸과 설파티아졸의 LC₅₀은 각각 0.1, 6.6 µg/L로 나타났다. 구리를 제외한 나머지 물질에서 독성의 강도는 펜벤다졸>카드뮴>설파티아졸 순으로 나타났다. 21일 생존율 결과와 비교하면 카드뮴의 민감도가 설파티아졸보다 높은 것을 볼 수 있었다.

구리, 카드뮴, 펜벤다졸, 설파티아졸에 24시간 노출한 결과에서 각 물질별 독성의 강도는 구리가 가

장 높았으나, 21일 노출결과에서는 펜벤다졸이 가장 높았다. 구리는 낮은 농도에서 생물에게 필요한 필수영양소로 작용하여 저농도에서의 장기간 노출은 고농도의 단기간 노출에 비해 민감도의 변화가 다른 물질에 비해 적었던 것으로 여겨진다. 펜벤다졸은 저농도에서 장기간 노출될 경우 고농도의 단기간 노출보다 생존에 미치는 영향이 매우 큰 것으로 판단된다.

3. 구리와 카드뮴에 대한 민감도 비교

풍년새우과(Family Branchiopodidae)와 같은 과(Family)에 속하는 생물은 Artemiidae, Branchinectidae, Branchipodidae, Chirocephalidae, Parartemiidae, Polyartemiidae, Streptocephalidae, Tanytastigiidae, Thamnocephalidae 등이 있다(Daday, 1910; Fryer, 1999; Braband *et al.*, 2002). 이중에 Artemiidae, Streptocephalidae, Thamnocephalidae 등의 생물은 이미 구리와 카드뮴에 대한 생태독성 시험 자료가 보고되어 있다. 이들 무갑류와 풍년새우의 민감도를 비교한 결과는 Table 1에 나타내었다. 구리에 대한 풍년새우의 LC₅₀은 39 µg/L로 비교 대상인 무갑류 중 가장 낮은 값이었다. 풍년새우의 구리에 대한 민감도는 *Streptocephalus rubricaudatus*, *S. texanus*와 비슷한 수준이며, *S. proboscideus*, *Thamnocephalus platyurus*, *Artemia salina*보다는 훨씬 민감한 것으로 나타났다.

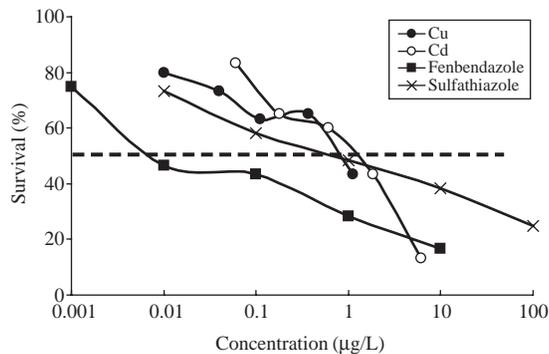


Fig. 4. Comparison of concentration-response relationships of *Branchinella kugenumaensis* among chemicals after exposure for 21 days.

Table 1. Comparison of 24-hr LC₅₀ of copper and cadmium among various branchiopod species used in ecotoxicological studies

Chemical	Species	LC ₅₀ (µg/L)	References
Cu	<i>Branchinella kugenumaensis</i>	39	This study
	<i>Artemia salina</i>	2,050~2,554	Reeve <i>et al.</i> , 1976
	<i>Artemia salina</i>	3,200~3,800	Persoone <i>et al.</i> , 1993
	<i>Streptocephalus proboscideus</i>	170~210	Centeno <i>et al.</i> , 1993
	<i>Streptocephalus rubricaudatus</i>	80	Crisinel <i>et al.</i> , 1994
	<i>Streptocephalus texanus</i>	40	Crisinel <i>et al.</i> , 1994
	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	310	Centeno <i>et al.</i> , 1995
Cd	<i>Branchinella kugenumaensis</i>	512	This study
	<i>Artemia</i> sp.	420,000~615,000	Espiritu <i>et al.</i> , 1995
	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	400	Centeno <i>et al.</i> , 1995
	<i>Streptocephalus proboscideus</i>	460~510	Centeno <i>et al.</i> , 1993
	<i>Streptocephalus rubricaudatus</i>	390	Crisinel <i>et al.</i> , 1994
	<i>Streptocephalus texanus</i>	250	Crisinel <i>et al.</i> , 1994
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	400	Centeno <i>et al.</i> , 1995	

Table 2. Selected examples of literature data on toxicity effects of commonly used animals Fenbendazole and sulfathiazole on *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna*

Element	<i>Vibrio fischeri</i>		<i>Daphnia magna</i>		References
	5 min EC ₅₀	15 min EC ₅₀	48 h EC ₅₀	96 h EC ₅₀	
FBZ	1,571	798	16.5	9.8	Oh <i>et al.</i> , 2006
STZ	>1,000,000	>1,000,000	149,300	85,400	Kim <i>et al.</i> , 2007

Units in µg/L; Abbreviations - FBZ: Fenbendazole, STZ: Sulfathiazole

카드뭴에 대한 풍년새우의 LC₅₀은 512 µg/L로, 이 또한 기존의 담수산 무갑류인 *S. rubricaudatus*, *S. texanus*, *S. proboscideus*, *T. platyurus* 등과 비슷한 수준이며 *Artemia* sp.보다는 훨씬 민감한 것으로 나타났다.

4. 펜벤다졸과 설파티아졸에 대한 민감도 비교

펜벤다졸과 설파티아졸에 대한 무갑류 생물검정 연구자료가 전무하기 때문에 유사 분류군과의 비교는 불가능하고, 타 분류군에 속하는 물벼룩(*Daphnia magna*)과 발광박테리아(*Vibrio fischeri*)의 민감도와 비교하였다(Table 2). Oh *et al.* (2006)에 의하면 펜벤다졸에 대한 발광박테리아의 15분 EC₅₀값은 798 µg/L이고, 물벼룩의 48시간 EC₅₀이 16.5 µg/L인 것으로 보고되었다. 이 결과에서 풍년새우의 펜벤다졸에 대한 민감도는 발광박테리아와 물벼룩의 중간 정도에 해당된다고 볼 수 있다. 풍년새우와 발광박테리아 그리고 물벼룩의 생태학적 분류가 다르고 측정변수도 다르지만, 생태독성 시험종의 민감도 비교이기 때문에 풍년새우가 발광박테리아보다는 민감하다고 볼 수 있다.

Kim *et al.* (2007)은 설파티아졸에 대한 발광박테리아 EC₅₀값이 1,000,000 µg/L 이상이라고 하였으며, 물벼룩의 48시간 EC₅₀은 149,300 µg/L로 보고하였다. 따라서, 풍년새우는 설파티아졸에 대한 민감도가 발광박테리아나 물벼룩보다 훨씬 좋다고 볼 수 있다. 생태독성 시험종으로 널리 이용되는 물벼룩과 발광박테리아의 민감도보다 풍년새우의 민감도가 더 좋거나 비슷한 수준이기 때문에 향후 생태독성 시험종으로 활용 가능성은 높다고 사료된다.

5. 시험생물로서의 풍년새우 이용

생태독성 시험용 생물로서 갖추어야 할 조건으로

는 생태적, 경제적 중요성, 채집 및 배양을 통한 공급의 용이성, 실험실 유지·관리의 용이성, 오염물질에 대한 반응과 민감도 등이 있으며 이러한 조건을 가급적 만족해야 시험종으로 이용될 수 있다 (ASTM, 1997).

본 연구에서는 풍년새우를 이용한 단기 및 장기 독성 시험을 통해 상기한 여러 조건에 잘 부합하는지의 여부를 확인할 수 있었다. 먼저 구리, 카드뭴, 펜벤다졸 그리고 설파티아졸에 대해 전형적인 용량-반응관계를 보였으며, 노출 시간에 비례하여 증가하는 치사 독성 반응이 나타나 유해 물질에 대한 단기 및 장기노출평가에 이용 가능성을 보였다. 또한 다른 시험종과 비교하였을 때 민감도가 뛰어났으며 실험실 유지와 충분한 수의 실험개체 확보에 계절적인 제한 없이 가능함을 알 수 있었다. 풍년새우를 배양함에 있어 경제적으로 비용이 많이 들지 않고 배양 또한 용이하여 국내 지표종으로서의 활용에 적합할 것으로 사료된다.

풍년새우를 이용하여 유해물질에 대한 단기 및 장기 노출시 민감도를 평가하고 시험생물로서의 이용가능성을 검토하였다. 하지만 최종측정치(end-point)는 생존율에 대해서만 평가하였으므로 성장, 생식, 형태적 변이, 유전 독성 등 다양한 생물반응에 대한 연구가 추가적으로 진행되어야 할 필요가 있다고 판단된다. 풍년새우는 내구란을 보관하고 있다가, 필요시 부화시켜 시험에 이용할 수 있다는 장점이 있으며, 이러한 특성은 실험 생물을 연속적으로 유지해야 하는 수고와 비용에 대한 부담을 덜어줄 것이다. 앞으로 풍년새우를 이용한 유해 화합물질의 급, 만성 독성에 관한 추가적인 연구와, 표준 시험 방법 개발 등에 관한 연구가 체계적으로 이루어진다면, 우리나라 담수 수계의 생태 독성 평가에 풍년새우가 훌륭한 시험생물로 이용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 환경부의 차세대 핵심환경기술개발사업(Eco-technopia 21 project)의 부분적인 지원을 받았음을 밝힙니다.

참고 문헌

- 남선화, 양창용, 안윤주, 이재관. 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구: (I) 어류, 한국육수학회지 2007; 40(2): 173-183.
- 박경수, 이상희, 이승민, 윤성진, 박승윤. 해양생태독성평가를 위한 표준시험생물로서의 식물플랑크톤에 관한 연구, 한국환경과학회지 2005; 14: 1129-1139.
- 서형석, 임정철, 허부흥, 권정택, 김성문, 천희웅, 최인방, 김진상. 육계에서 sulfathiazole 경구투여 후 혈장 및 조직 내 잔류량, 한국가축위생학회지 2002; 25(3): 299-308.
- 안윤주, 남선화, 이우미. 국내 생물종을 이용한 생태독성평가 기반연구: (II) 물벼룩류, 한국육수학회지 2007; 40(3): 357-369.
- 윤성명. 한국산 대형새각류(갑각 상강, 새각 강)의 분류 및 생태에 관한 연구, 한국과학재단 연구보고서, 한국과학재단 1998; 34pp.
- 윤성진, 박경수, 오정환, 박승윤. 저서성 해산 요각류 harpacticoid *Tigriopus japonicus* 유생을 이용한 해양생태독성평가, 한국해양환경공학회지 2006; 9: 160-167.
- 이정석, 이승민, 박경수. 국내산 저서 단각류를 이용한 퇴적물 독성시험법 개발에 관한 연구, 한국해양학회지 2008; 13(3): 147-155.
- 이창훈. 한국산 등근성게 (*Strongylocentrotus nudus*)의 정자와 수정란 생물검정법에 관한 연구, 서울대학교 대학원 이학박사 학위논문 2000; 185pp.
- Ali A and Brendonck L. Evaluation of agro-industrial wastes as diets for culture of the fairy shrimp *Streptocephalus proboscideus*, Hydrobiologia 1995; 298: 167-173.
- Ali A and Henri JD. Rice bran as a diet for culturing *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea:Anostraca), Hydrobiologia 2002; 486: 249-254.
- ASTM. Standard Guide for Selection of Resident Species as Test Organisms for Aquatic and Sediment Toxicity Tests, American society for Testing and Materials. Philadelphia, USA, 1997; E1850-97.
- Belk D and Rogers DC. A confusing trio of Branchinecta (Crustacea: Anostraca) from the western North America with a description of a new species, Hydrobiologia 2002; 486: 49-55.
- Braband A, Richter S, Hiesel R and Scholtz G. Phylogenetic relationships within the Phyllopora (Crustacea, bbranchiopoda) based on mitochondrial and nuclear markers, Molecular Phylogenetics and Evolution 2002; 25: 229-244.
- Brendonck L. Contributions to the study of the reproductive biology of *Streptocephalus proboscideus* (Anostraca, Streptocephalidae), Crustaceana 1991; 60: 145-162.
- Brendonck L. Feeding in the fairy shrimp *Streptocephalus proboscideus* (Frauenfeld) (Branchiopoda: Anostraca). II. Influence of environmental conditions on feeding rate, Journal of Crustacean Biology 1993; 13: 245-255.
- Centeno MDF, Brendonck L and Persoone G. Influence of production, processing, and storage conditions of resting eggs of *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) on the sensitivity of larvae to selected reference toxicants, Bull Environ Contam Toxicol 1993; 51(6): 927-934.
- Centeno MDF, Persoone G and Goyvaerts MP. Cyst-based toxicity tests, IX. The potential of *Thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca), Environ Toxicol Water Qual 1995; 10(4): 275-282.
- Crisinel A, Delaunay L, Rossel D, Tarradellas J, Meyer H, Saiah H, Vogel P, Delisle C and Blaise C. Cyst-based ecotoxicological tests using anostracans: comparison of two species of *Streptocephalus*, Environ Toxicol Water Qual 1994; 9(4): 317-326.
- Daday EV. Monographie systematique des Phyllopoetes Anostraces, Annales des Sciences Naturelles, Zoologie 1910; 11(9): 91-489.
- Dodson SI and Frey DG. Cladocera and other Branchiopoda, In: Thorp JH and Covich AP (Eds.). Ecological and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press Inc., 1991.
- Espirito EQ, Janssen CR and Persoone G. Cyst-based toxicity tests, VII. Evaluation of the 1-h enzymatic inhibition test (Fluotox) with *Artemia* nauplii, Environ Toxicol Water Qual 1995; 10: 25-34.
- Fryer G. A comment on a recent phylogenetic analysis of certain orders of the branchiopod crustacea, Crustaceana 1999; 72: 1039-1050.
- Ishikawa C. Phyllopod Crustacea of Japan, Zool, Mag, (Tokyo) 1895; 7: 154.
- Kim YH, Choi KH, Jung JY, Park SJ, Kim PG and Park JI. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea, Environment International, 2007; 33: 370-375.

- Koritz GD, Becill RF and Bourne DW. Disposition of sulfonamides in food producing animals: pharmacokinetics of sulfathiazole in swine, *Am J Vet Res* 1978; 39(3): 481-484.
- Koritz GD, Bourne DW and Dittert LW. Disposition of sulfonamides in food producing animals: pharmacokinetics of sulfathiazole in sheep, *Am J Vet Res* 1977; 38(7): 979-982.
- Leland HV and Kuwabara JS. Trace metals, In: Rand GM and Petrocelli SR (Eds.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, Hemisphere Publishing Company, New York, 1985; 666pp.
- Lobban CS and Harrison PJ. *Seaweed ecology and physiology*, Cambridge Univ Press, Cambridge, 1997.
- Maria DC, Brendonck L and Persoone G. Cyst-based toxicity tests, III. Development and standardization of an acute toxicity test with the freshwater Anostracan Crustacean *Streptocephalus proboscideus*, 1993.
- Oh SG, Kim JK, Park SY, Lee MJ and Choi KH. Aquatic toxicities of major antimicrobial and anthelmintic veterinary pharmaceuticals and their potential ecological risks, *Society of Environmental Toxicology (III-3)* 2004; 173-177.
- Oh SJ, Park JI, Lee MJ, Park SY, Lee JH and Choi KH. Ecological hazard assessment of major veterinary benzimidazole acute and chronic toxicities to aquatic microbes and invertebrates, *Environmental Toxicology and Chemistry* 2006; 25(8): 2221-2226.
- Persoone G, Blaise C, Snell T, Janssen C and Steertegem MV. Cyst-based toxicity tests, II. Report on an international intercalibration exercise with three cost-effective toxkits, *Z Angew Zool* 1993; 79(1): 17-36.
- Reeve MR, Grice GD, Gibson VR, Walter MA, Darcy K and Ikeda T. A Controlled Environmental Pollution Experiment (CEPEX) and its Usefulness in the Study of Larger Marine Zooplankton Under Toxic Stress, In: *Effects of Pollutants on Aquatic Organisms* 1976; 2: 145-162. (U.S.NTIS PB-259395/2ST)
- Rompala JM, Rutosky FW and Putnam DJ. Concentrations of environmental contaminants from selected waters in Pennsylvani, U.S. Fish and Wildlife Service report. State College, PA, 1984.
- Schram FR. *Crustacea*, Oxford Univ Press, New York, 1986.
- U.S. EPA. *Terms of the environment: Glossary, abbreviations, and acronyms*, 1985; 65pp.
- U.S. EPA. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*, Fifth Edition, October, 2002.
- Wren CD, Harris S and Hartrup N. Ecotoxicology of mercury and cadmium, In: Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA and Cairns J. *Handbook of Ecotoxicology*, Lewis Publishers, an imprint of CRC Press, Boca Raton FL. Reprinted by permission of CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1995; 392-423.
- Yoon SM. *The Systematics and Molecular Evolution of the Korean Branchiopods (Crustacea, Branchiopoda)*, PhD thesis, Seoul National Univ, 1993; 364pp.
- Yoon SM and Kim W. A taxonomic study on the recent conchostracans of Spinicaudata (Crustacea, Branchiopoda) from Korea, *Korean J Zool* 1992; 35: 474-483.
- Zar JH. *Biostatistical analysis*, 2nd edition, Prentice-Hall International Inc, Engelwood Cliffs, NJ, 1984; 718pp.