

토양생태 위해성평가를 위한 국내 서식 토양독성 시험종 선별 연구 Selection of Domestic Test Species Suitable for Korean Soil Ecological Risk Assessment

김신웅 · 곽진일 · 윤진열 · 정승우* · 안윤주[†]

Shin Woong Kim · Jin Il Kwak · Jin-Yul Yoon · Seung-Woo Jeong* · Youn-Joo An[†]

건국대학교 환경과학과 · *군산대학교 환경공학과

Department of Environmental Science, Konkuk University

*Kunsan National University Department of Environmental Engineering

(2013년 6월 5일 접수, 2014년 5월 7일 수정, 2014년 5월 12일 채택)

Abstract : For an efficient and reasonable management scheme for protecting the soil environment, a soil ecological risk assessment (ERA) method should be developed prior to utilization, based on the contemporary uses and situations of each country. The Korean environmental policy focusing on soil protection is currently accelerating the development of the soil ecological risk assessment method. The soil ERA requires toxicological data on various trophic levels in the soil environment, and ultimately uses PNEC (Predicted No Effect Concentration), which is derived from collected toxicological data. Therefore, test species that are used to generate toxicity data are essential for conducting reliable ERA. This study aimed to select domestic test species for potential use in a reliable Korean ERA. Copper (Cu) and Nickel (Ni) were identified as target substances, with toxicity data (Cu, Ni) and standard test methods being collected to determine candidate species. The candidate species were first classified by soil trophic level, and then sorted into final domestic species. Forty out of 166 domestic species were determined as potential standard test species, whereas 17 out of 120 species were determined as potential Cu and Ni test species. Finally, this study presented potential soil test species based on the characteristics of the domestic soil environment, and established a preliminary step toward developing a reliable Korean soil ERA method.

Key Words : Soil, Ecological Risk Assessment, Domestic Species

요약 : 합리적이고 효율적인 토양환경관리를 위해 대상 지역 혹은 국가의 상황과 조건에 적합한 토양생태위해성평가 기법을 개발하여 적극적으로 활용해야 한다. 우리나라의 경우도 수용체 중심의 환경정책이 본격화됨에 따라, 국내 실정에 맞는 토양생태위해성평가 기법의 개발이 요구되는 실정이다. 한편, 토양생태위해성평가는 다양한 영양단계 내 서식종의 독성자료를 필요로 하며, 독성자료 성격에 따라 예측무영향농도(Predicted No Effect Concentration, PNEC)를 산출하여 이용한다. 그러므로 독성자료 산출에 이용되는 시험종은 합리적이고 신뢰성 높은 위해성평가와 밀접한 연관성을 가진다. 따라서, 본 연구의 목적은 합리적이고 신뢰성 높은 국내형 토양생태위해성평가를 위해 필요한 국내 서식종을 선별하는 것이다. 구리와 니켈을 대상물질로 설정하였으며, 해당 오염물질의 독성자료를 수집하고, 국제 표준기관(ASM, OECD, USEPA)에서 제시하는 표준 시험종을 조사하였다. 대상 시험종들은 영양단계별로 구분한 후 학술연구와 정부보고서, 생물도감 등을 통해 국내 서식종을 선별하였다. 본 연구결과, 표준시험종과 대상 물질 독성시험종은 각각 166, 120종으로 확인되었으며, 이 중 국내 서식종은 40, 17종인 것으로 확인되었다. 또한 본 연구에서는 국내 특성을 반영한 국내 서식종 선별자료를 아울러 제시하여 국내형 토양생태위해성평가 기법 수립의 기반을 조성하고자 하였다.

주제어 : 국내 서식종, 생태위해성평가, 토양

1. 서론

인간의 끊임없는 활동으로 인한 화학물질 사용의 지속적 인 증대는 토양생태계의 오염을 가속화시킨다. 토양오염물질은 토양, 대기, 지하수, 지표수 등 다른 환경매체로 이동하여 직간접적으로 위해성 문제를 발생시킨다. 또한, 토양의 경우 다른 매체에 비해 정화에 많은 시간과 비용이 소요되므로, 오염토양 관리와 정화과정에 있어서 합리적이고 과학적인 평가방법이 요구된다. 미국, 유럽 등 선진국에서는 토양오염에 대한 위해성을 신뢰성 있게 판단하기 위하여, 각국 실정에 맞는 다양한 토양위해성 평가기법들을 적용하고 있으며, 토양기준 설정이나 정화계획 수립에 활용

하고 있다. 또한 이들 국가는 토양기준을 도출하여 환경정책에 적용하기 위하여 인체위해성과 생태위해성을 모두 고려한 수용체(receptor) 중심의 평가 기법을 확립하고 있다.

우리나라는 「토양보전 기본계획 수립연구」¹⁾에 오염원 및 오염물질에 대한 인체 및 생태위해성평가 기법 제시가 중장기계획에 포함되어 있다. 같은 해 「토양환경보전법」의 개정으로 위해성평가의 필요성이 대두되면서, 환경부에서는 ‘토양오염기준과 연계한 위해성평가 실무지침 작성연구’를 수행하여 「토양오염 위해성평가지침」²⁾을 고시하였다. 「토양환경보전법」은 2012년 다시 개정되었고(2013년 시행), 위해성평가기관으로부터 위해의 정도를 평가받고 토양정화 및 개선사업의 범위를 반영할 수 있도록 정비되었다. 하지

[†] Corresponding author E-mail: anyjoo@konkuk.ac.kr Tel: 02-2049-6090 Fax: 02-2201-6295

만 지금까지는 모두 인체중심의 위해성평가에 관한 것이며, 토양생태계를 고려한 위해성평가는 연구는 초기단계에 불과하다. 그러나 생태위해성평가의 필요성이 높아지면서, 최근 환경부에서는 토양·지하수 오염방지기술개발사업의 일환으로 『국내 토양생태 위해성평가 기반 및 활용체계』 연구과제를 진행하고 있으며(2012-2013), 이를 통해 국내 실정에 적합한 토양생태 위해성 방안이 제시되어 토양환경정책에 반영될 예정이다.

생태위해성평가(Ecological Risk Assessment, ERA)는 수용체가 다양한 유해인자(stressor)에 노출되었을 때 발생 가능한 생태학적 악영향(Ecological adverse effects)의 개연성을 평가하는 과정이다.³⁾ 위해성의 정량화를 통한 합리적인 평가를 위하여, 생태계에 악영향을 미치지 않을 농도인 예측무영향농도(Predicted No Effect Concentration, PNEC)를 결정하고, 실제 환경 중 존재하는 유해물질의 예측농도(Predicted Exposure Concentration, PEC)를 결정하는 과정을 거치게 된다. 유럽연합, 네덜란드, 영국, 그리고 호주 등의 환경 선진국에서는 토양생태위해성평가를 위하여 종민감도분포(Species Sensitivity Distribution, SSD)를 고려하고 있다. 안 등⁴⁾과 이 등⁵⁾은 국내 토양생태 위해성평가 확립을 위하여, 다양한 국외 사례를 조사하여 생태위해성평가기법을 정리한 바 있다. 각 국에서는 종민감도분포를 이용한 토양생태위해성평가를 위하여 필요한 독성자료를 다르게 설정하고 있었으며, 평가계수(Assessment Factor, AF)를 이용한 독성자료의 보정, 혹은 토지이용도에 따른 보호수준(%)을 조정하여 적용하는 것으로 확인되었다. 또한, 자국의 토양 특성과 영양 단계에 따른 특성을 고려하여, 각각 표준토양 독성자료 보정, 이차독성(Secondary poisoning)을 활용하고 있는 것으로 확인되었다. 이는 각국의 조건과 정책적인 효율성을 위하여 다르게 적용되고 있으며, 다양하고 충분한 독성자료는 이에 대한 신뢰성을 높이는 역할을 하게 된다. 한편 나라마다 기후와 토양 특성 등의 조건이 다양하며, 그에 따라 고유종의 분포가 상이한 것으로 알려져 있다. 생태위해성평가에서는 독성자료의 분류 및 처리가 우선적으로 수행되는데, 일반적으로 독성자료의 분류는 토양 생물종의 강(class) 분류를 기준으로 한다. 하지만 같은 강에 해당하는 생물이라도 독성민감도가 상이하며, 이는 최종적으로 위해서도 산출에 영향을 미치게 된다. 예를 들어, 지렁이류 중 표준시험종으로 제시되고 있는 *Enchytraeus albidus*와 *Eisenia fetida*는 같은 환대강(Clitellata)에 속하지만, 각각 애지렁이와 줄지렁이로 개체의 크기 및 독성 민감도에서도 차이를 나타낸다. 이러한 조건들은 자국의 토양 위해성평가를 위한 독성자료 수집 시 중요하게 고려되어야 하는 인자 중 하나이며, 국내 토양 위해성평가에 대한 조건 성립에 고려되어야 한다.

본 연구는 국내형 토양생태위해성평가를 위한 기본단계로서, 토양시험종으로 사용될 수 있는 생물종들 중 국내 서식종을 선별하는 것을 목적으로 하였다. 또한 국제적으로 보고되어 있는 시험종 중에서 국내 서식종의 비율을 산정하기 위하여, 구리와 니켈을 대상으로 다양한 생태독성 데이

터베이스에서 해당 물질의 독성자료를 수집하였고, 국제 표준기관에서 제시하는 표준시험법에서 사용되는 시험종을 분류하였다. 수집된 각 시험종들 중 국내 서식종 선별은 학술연구와 정부보고서, 생물도감 등을 이용하였다.

2. 연구 방법

2.1. 대상물질의 선정

대상물질로 고려된 토양오염물질은 ‘토양오염 위해성평가 지침’에 명시되어 있는 중금속 오염물질을 우선시하였으며, 국내 노출자료를 수집·분석하기 위하여 위해성평가가 가능한 물질로 고려되었다. 토양오염 위해성평가 지침에 따르면, 중금속류는 카드뮴, 구리, 비소, 수은, 납, 6가크롬, 아연, 니켈 등이 포함되어 있다. 국내 토양의 현황을 파악하기 위하여 1997년-2010년 토양측정망 운영결과를 분석하였다. 토양 측정망 자료를 통해, 우려기준을 초과한 측정자료가 전체자료 대비 1% 이상이 되는 물질 중 충분한 노출자료를 제공할 수 있는 물질을 선택하였다. 전체 측정자료가 비교적 부족한 불소를 제외하고, 카드뮴, 구리, 비소, 니켈을 예비선정한 다음, 최종적으로 니켈과 구리를 대상물질로 선정하였다.

2.2. 토양생태독성 시험종 수집

토양생태독성에 사용되는 시험종의 영양단계별 분류를 위하여, 1차적으로 American Society for Testing and Materials (ASTM), Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD), U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) 등의 국제기관에서 제시하는 표준시험법에 이용되는 시험종을 수집하였다.⁶⁻²⁴⁾ 또한, 대상 화학물질로 선정된 니켈과 구리를 이용한 생태독성 시험종은 신뢰성이 높은 국제 생태독성 데이터베이스를 통해 수집되었다. U.S.EPA의 ECO-TOXicology Database (ECOTOX),²⁵⁾ 유럽연합의 International Uniform Chemical Information Database (IUCLID)²⁶⁾ 등이 연구에 활용되었다. ECOTOX는 U.S.EPA에서 수서생물, 육상식물 및 동물의 독성자료를 통합한 생태독성 데이터베이스이며, IUCLID의 경우는 인체 및 환경에 대한 오염물질의 위해성평가를 위한 유럽연합의 데이터베이스이다. 각 데이터베이스에서 수집된 자료의 보완과 추가 수집을 위하여, 학술연구 검색을 수행하였다.

2.3. 국내 서식종의 선별

토양생태독성 시험종 중, 국내 서식종의 선별을 위하여 한반도 생물자원 포털(Species Korea, <http://www.nibr.go.kr>)과 한국고유종의 데이터베이스 구축연구 정보를 이용하였다.^{27,28)} 한반도 생물자원 포털은 국립생물자원관 연구사업의 결과물을 토대로, 포유류, 조류, 어류, 양서류, 곤충 등을 비롯한 3만 7천여종의 국내 서식종의 정보를 구축을 목표로 하고 있다. 2009년 1차 사업을 시작으로 2011년까지 약 8천 4백여

종의 분류학적, 생태학적 정보를 포함한다. 그 밖의 선별되지 못한 시험종의 경우는 학술논문 및 생물도감 등이 이용되었다. 지렁이의 경우는 농생태계와 퇴비더미에서 서식하는 종 분포조사를 참고하였으며,^{29,30)} 톡토기는 한국산 톡토기목 목록을 참고하여 국내 서식 여부를 확인하였다(www.insects.or.kr).³¹⁾

3. 결과 및 고찰

3.1. 대표 토양 시험종에서의 영양단계별 국내 서식종 선별

OECD, ASTM, 그리고 USEPA와 같은 국제기관에서 제안하고 있는 독성시험법은 식물, 지렁이, 톡토기, 그리고 토양선충류를 비롯하여 다양한 시험종을 포함하고 있었다. 이들 중 국내 서식종의 선별을 위하여 한반도 생물자원 포털 (Species Korea, <http://www.nibr.go.kr>), 학술논문 및 생물도감 등의 정보를 이용하였다. 토양 식물의 경우 농작물과 비농

작물을 포함한 전통적으로 사용되는 시험종과 잠재적인 시험종으로 146종의 시험종을 제시하고 있다. 식물시험매체는 대부분 인공토양과 자연토양을 제안하고 있으며, 시험조건은 각 시험종별로 다르게 적용되는 것으로 확인되었다. 온도는 20-30℃, 대상 종자는 3-100개의 seed 사용을 제시하고 있다. 표준시험법에서 제시하는 시험종 중 국내 서식종은 어저귀(*Abutilon theophrasti*), 겨이삭속(*Agrostis sp.*), 양파(*Allium cepa*), 뚜껍별꽃(*Anagallis arvensis*), 수궁초속(*Apocynum sp.*), 땅콩(*Arachis hypogaea*), 유채(*Brassica napus*), 배추(*Brassica rapa*), 참새귀리속(*Bromus sp.*), 참새귀리(*Bromus japonicus*), 선태식물문(*Bryophyta*), 꽃냉이(*Cardamine pratensis*), 명아주(*Chenopodium album*), 쑥갓속(*Chrysanthemum sp.*), 오이(*Cucumis sativa*), 향부자(*Cyperus rotundus*), 오리새(*Dactylis glomerata*), 메밀(*Fagopyrum esculentum*), 해바라기(*Helianthus annuus*), 미국나팔꽃(*Ipomoea hederacea*), 상추(*Lactuca sativa*), 싸리속(*Lupinus sp.*), 개박하(*Nepeta cataria*), 벼(*Oryza sativa*), 기장(*Panicum miliaceum*), 완두(*Pisum sativum*), 흰여뀌(*Polygonum lapathifolium*), 산

Table 1. List of standard species for plant toxicity test

Scientific name	Standard species recommended by			Domestic species	Scientific name	Standard species recommended by			Domestic species
	OECD	ASTM	USEPA			OECD	ASTM	USEPA	
<i>Abutilon theophrasti</i>	○			어저귀	<i>Cynosurus cristatus</i>	○			
<i>Agrostis alba</i>		○			<i>Cyperus esculentu</i>		○		
<i>Agrostis sp.</i>		○		겨이삭속	<i>Cyperus rotundus</i>	○			향부자
<i>Agrostis tenuis</i>	○				<i>Dactylis glomerata</i>		○		오리새
<i>Allium cepa</i>	○	○	○	양파	<i>Daucus carota</i>	○	○	○	
<i>Alopecurus myosuroides</i>	○				<i>Dicotyledonae</i>			○	
<i>Anagallis arvensis</i>	○			뚜껍별꽃	<i>Digitalis purpurea</i>	○			
<i>Apocynum sp.</i>		○		수궁초속	<i>Digitaria sanguinalis</i>	○			
<i>Arabidopsis thaliana</i>		○			<i>Echinochloa crusgalli</i>	○	○		
<i>Arachis hypogaea</i>		○		땅콩	<i>Elodeadensa</i>		○		
<i>Atriplex patula</i>		○			<i>Elymus canadensis</i>	○			
<i>Avena fatua</i>	○				<i>Eragrostis curvula</i>		○		
<i>Avena sativa</i>	○	○	○		<i>Eragrostis lehmanniana</i>		○		
<i>Bellis perennis</i>	○				<i>Erysimum capitatum</i>		○		
<i>Beta vulgaris</i>	○	○			<i>Fagopyrum esculentum</i>	○	○		메밀
<i>Brassica alba</i>		○			<i>Feasted rubber</i>		○		
<i>Brassica campestrisvar</i>	○	○			<i>Festuca arundinacea</i>		○		
<i>Brassica napus</i>	○	○		유채	<i>Festuca pratensis</i>	○	○		
<i>Brassica nigra</i>	○				<i>Forgerysp.</i>		○		
<i>Brassica oleracea</i>	○				<i>Galium aparine</i>	○			
<i>Brassica capitata</i>	○				<i>Galium mollugo</i>	○			
<i>Brassica rapa</i>	○			배추	<i>Geum urbanum</i>	○			
<i>Bromus</i>		○		참새귀리속	<i>Gladiolus sp.</i>		○		
<i>Bromus japonicus</i>		○		참새귀리	<i>Glycine max (G. soja)</i>	○	○	○	
<i>Bromus tectorum</i>	○				<i>Gossypium</i>		○		
<i>Bromus</i>		○		참새귀리속	<i>Gymnospermae</i>			○	
<i>Bryophyta</i>			○	선태식물문	<i>Helianthus annuus</i>	○	○		해바라기
<i>Cardamine pratensis</i>	○			꽃냉이	<i>Hepatophyta</i>			○	

Table 1. Continued

Scientific name	Standard species recommended by			Domestic species	Scientific name	Standard species recommended by			Domestic species
	OECD	ASTM	USEPA			OECD	ASTM	USEPA	
<i>Cenchrus ciliaris</i>		○			<i>Hordeum pusillum</i>	○			
<i>Centaurea cyanus</i>	○				<i>Hordeum vulgare</i>	○	○		
<i>Centaurea nigra</i>	○				<i>Hypericum perforatum</i>	○			
<i>Chenopodium album</i>	○			명아주	<i>Inula helenium Elecampane</i>	○			
<i>Chrysanthemum sp.</i>		○		쑥갓속	<i>Ipomoea hederacea</i>	○			미국나팔꽃
<i>Citrus sinesnsis</i>		○			<i>Lactuca sativa</i>	○	○	○	상추
<i>Cryptogamae</i>			○		<i>Leersia oryzoides</i>		○		
<i>Cucumis sativa</i>	○	○	○	오이	<i>Lemna gibba</i>		○		
<i>Lemna minor</i>		○			<i>Ranunculus acris</i>	○			산미나리아제비
<i>Leontodon hispidus</i>	○				<i>Raphanus sativus</i>	○	○		갯무
<i>Leonurus cardiaca</i>	○				<i>Rorippa nasturtium-aquaticum</i>		○		
<i>Lepidium sativum</i>	○	○			<i>Rubus sp.</i>		○		산딸기속
<i>Lespedeza sp.</i>		○			<i>Rudbeckia hirta</i>	○			원추천인국
<i>Linum usitatissimum</i>	○				<i>Rumex crispus</i>	○			소리쟁이
<i>Lolium perenne</i>	○	○	○		<i>Secale cereale</i>	○			
<i>Lotus corniculatus</i>	○	○			<i>Senna obtusifolia</i>	○			
<i>Ludwigia natans</i>		○			<i>Sesbania exaltata</i>	○			
<i>Lupinus sp.</i>		○		싸리속	<i>Setaria italica</i>		○		조
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	○				<i>Sida spinosa</i>	○			
<i>Lycopersicon esculentum</i>		○	○		<i>Sinapis alba</i>	○			
<i>Medicago sativa</i>		○			<i>Solanum lycopersicon</i>	○			
<i>Melilotus albal</i>		○			<i>Solanum tuberosum</i>		○		
<i>Melilotus officinale</i>		○			<i>Solidago canadensis</i>	○			
<i>Menthaspicata</i>	○				<i>Sorghum bicolor</i>	○	○		
<i>Monocotyledonae</i>			○		<i>Spartina alterniflora</i>		○		
<i>Musa paradislaca</i>		○			<i>Spinacia oleracea</i>		○		
<i>Nelumbo lutea</i>		○			<i>Spirea alba</i>		○		
<i>Nepeta cataria</i>	○			개박하	<i>Stachys officinalis</i>	○			
<i>Nicotiana tabaccum</i>		○			<i>Tagetes sp.</i>		○		천수국속
<i>Oryza sativa</i>	○	○		벼	<i>Thalassia testudinum</i>		○		
<i>Panicum miliaceum</i>		○		기장	<i>Torilis japonica</i>	○			사상자
<i>Panicum virgatum</i>		○			<i>Tradescantia paludosa</i>		○		
<i>Papaver rhoeas</i>	○				<i>Trifolium omithopodioides</i>		○		
<i>Phaseolus aureus</i>	○	○			<i>Trifolium pratense</i>	○	○		붉은토끼풀
<i>Phaseolus sp.</i>		○			<i>Trigonella foenum-graecum</i>	○			
<i>Phaseolus vulgaris</i>	○	○			<i>Triticum aestivum</i>	○	○		
<i>Phleum pratense</i>	○	○			<i>Veronica persica</i>	○			큰개물알풀
<i>Pinus talda</i>		○			<i>Vicia faba</i>		○		
<i>Pistia statiotes</i>		○			<i>Vicia sativa</i>	○	○		
<i>Pisum sativum</i>	○	○		완두	<i>Vicia sp.</i>		○		나비나물속
<i>Poa pratense</i>		○			<i>Xanthium pensylvanicum</i>	○			
<i>Polygonum convolvulus</i>	○				<i>Xanthium spinosum</i>	○			
<i>Polygonum lapathifolium</i>	○			흰여뀌	<i>Xanthium strumarium</i>	○			도꼬마리
<i>Polygonum pennsylvanicum</i>	○				<i>Zea mays</i>	○	○	○	옥수수
<i>Polygonum periscaria</i>	○				<i>Zizania aquatica</i>		○		
<i>Prunella vulgaris</i>	○								

미나리아제비(*Ranunculus acris*), 갯무(*Raphanus sativus*), 산딸기속(*Rubus sp.*), 원추천인국(*Rudbeckia hirta*), 소리쟁이(*Rumex crispus*), 조(*Setaria italica*), 천수국속(*Tagetes sp.*), 사상자(*Torilis japonica*), 붉은토끼풀(*Trifolium pratense*), 큰개물알풀(*Veronica persica*), 나비나물속(*Vicia sp.*), 도꼬마리(*Xanthium strumarium*), 그리고 옥수수(*Zea mays*) 등 40종이었다(Table 1).

토양선충은 ASTM에서 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)을 제시하고 있었으며, 인공 혹은 자연토양 2.33 g에 오염물질을 분주한 후 성체 10개체를 주입하는 노출법을 제시하고 있다. 생존을 평가에는 24시간의 시험기간을, 생식율 평가에는 48시간의 시험기간을 설정하고 먹이를 제공한다. 하지만 예쁜꼬마선충은 국내 고유종 데이터베이스에서는 확인되지 않았다.

지렁이의 경우는 줄지렁이(*Eisenia fetida*)를 이용한 급성 독성 표준시험법이 제안되고 있으며, 줄지렁이를 이용한 생식율 평가와 *Enchytraeid* 류를 이용한 시험법이 제시되고 있다. 대상 물질의 토양 독성평가를 위하여, 기관과 시험법별 차이가 있으나 250-600 mg의 개체를 사용하도록 하고 있다. 급·만성 및 회피실험 모두 제조 인공토양에서 수행하며, 급성은 14일, 아만성은 28일, 만성은 8주간 노출기간을 설정한다. 급성실험에서는 치사, 성장, 행동 및 병리학적 이상현상(pathological symptom)을 관찰하고, 아만성·만성실험은 생식영향을 관찰하기 위해 유생의 수를 추가적으로 측정한다. 총 8종의 표준시험종 중 국내 서식종은 줄지렁이, 붉은줄지렁이(*Eisenia andrei*) 등 2종이었다.

Table 2. List of standard species for nematode, earthworm, and collembola toxicity tests

Classification	Scientific name	OECD	ASTM	USEPA	Domestic species
Nematode	<i>Caenorhabditis elegans</i>			○	
	<i>Eisenia andrei</i>	○			붉은줄지렁이
	<i>Eisenia fetida</i>	○	○	○	줄지렁이
	<i>Enchytraeus albidus</i>	○	○		
	<i>Enchytraeus buchholzi</i>	○	○		
	<i>Enchytraeus bulbosus</i>	○			
	<i>Enchytraeus crypticus</i>	○	○		
Earth-worm	<i>Enchytraeus luxuriosus</i>	○			
	<i>Helix aspersa</i>	○			
	<i>Folsomia candida</i>	○			장님마디톡토기
	<i>Folsomia fimetaria</i>	○			풀솜마디톡토기
	<i>Isotoma anglicana</i>	○			등줄마디톡토기
	<i>Isotomaviridis</i>	○			
	Collembola	<i>Mesaphorura macrochaeta</i>	○		
<i>Orchesella cincta</i>		○			
<i>Orthonychiurus folsomi</i>		○			어리털보톡토기
<i>Paronychiurus kimi</i>		○			김어리톡토기
<i>Proisotoma minuta</i>		○			
<i>Sinella curviseta</i>		○			

톡토기의 경우는 장님마디톡토기(*Folsomia candida*)와 풀솜마디톡토기(*Folsomia fimetaria*)를 비롯한 10종의 시험종을 제시하고 있었다. 각 시험종은 활성탄과 석고를 포함한 배지에서 배양되며, 20℃에서 효모를 먹이로 계대배양할 것을 권고하고 있다. 대상 물질의 토양 독성평가를 위하여, 시험종은 부화한지 9-12일 된 개체를 사용하며, 함수율 35-45% 수준에서 30 g의 자연 혹은 인공토양을 사용한다. 독성 물질에 노출된 개체의 생존을 평가를 위해서 14일의 노출기간을 가지며, 생식율의 경우는 28일의 노출기간을 설정한다. 그 밖에 원활한 실험 진행을 위하여, 1주일에 2회 통풍을, 2주에 1회 수분 및 먹이를 추가로 공급하는 조건을 가지고 있다. 장님마디톡토기의 동조화 기간과 노출기간은 각각 9-12일, 28일 것에 반해, 풀솜마디톡토기는 각각 19-23일, 21일로 적용되는 것으로 보여, 종간의 차이를 나타내었다. 또한, 제공되는 먹이의 양도 약 15 mg으로, 장님마디톡토기의 약 2배정도로 나타났다. 제시되고 있는 표준시험종 중 국내 서식종은 장님마디톡토기, 풀솜마디톡토기, 등줄마디톡토기(*Isotoma anglicana*), 어리털보톡토기(*Orthonychiurus folsomi*), 김어리톡토기(*Paronychiurus kimi*) 등 5종의 국내 서식종이 있는 것으로 확인되었다(Table 2).

3.2. 대상물질의 토양독성평가에서의 국내 서식종 선별

대상 물질인 구리와 니켈에 대한 토양 시험종의 독성데이터를 수집하기 위하여, U.S.EPA의 ECOTOX, 유럽연합의 IUCLID가 연구에 활용되었다. 전체 120종의 토양생물종이 사용된 것이 확인되었다. 식물의 경우는 18종, 토양선충 73종, 토포기 19종, 지렁이 10종이 확인되었으며, 영양단계별로 다양한 시험종이 사용되는 것으로 나타났다. 식물의 경우는 전체 18종 중, 양파(*A. cepa*), 배추(*B. rapa*), 상추(*L. sativa*), 벼(*O. sativa*), 옥수수(*Z. mays*)를 포함한 5종의 국내 서식종이 사용되었다. 구리와 니켈을 이용한 독성평가는 대부분 자연토양, 액체배지 및 인공토양 등이 이용되었다. 자연토양이 사용된 연구는, 토양의 특성(pH, OM, CEC, soil texture) 등을 평가하여 제시하고 있었으며, 폐광산지역, 공장지대 등 오염지역 토양을 이용한 연구가 다수 확인되었다. 시험의 종말점은 생장률이 대부분이었고, 그 외 lactase activity, leaf absorptivity등이 이용되고 있었다. 노출기간은 종말점에 따라 상이하였으며, 생장률의 경우 1-182일의 노출기간이 확인되었다.

토양선충의 경우는 구리와 니켈의 독성평가에 *C. elegans*를 비롯하여 총 73종이 이용된 것으로 확인되었다. 이 중 국내 서식종은 큰구멍선충속(*Aporcelaimellus sp.*), 옷이선충속(*Clarkus sp.*), 짚룩창선충속(*Ditylenchus sp.*), 등근머리창선충속(*Dorylaimellus sp.*), 중간창선충속(*Mesodorylaimus sp.*), 줄지선충속(*Mylonchulus sp.*)이었다. 토양을 매체로 하는 평가는 비교적 한정적이었으며, 한천배지, 액체배지를 이용한 연구가 대부분을 차지하였다. 먹이의 제공여부는 연구마다 상이하였으며, *Escherichia coli* strain OP50을 주로 이용하는 것으로 나타났다. 종말점으로는 생존율과 생식율을 포

함하여 생장율, 운동성 평가, 행동장애, 먹이흡수율, 자가형 광발현정도, RNA/DNA 평가, 그리고 장기간의 생활사 평가가 이루어지는 것으로 확인되었다. 각 종말점 평가 기준에 따라, 노출기간 및 시험조건도 다양성을 나타냈다. 또한, 변종간 독성 민감도 연구를 제외하고, N2 wild type을 이용한 독성평가가 주를 이루고 있었다.

지렁이의 경우, 표준시험법에서 제시하는 붉은줄지렁이(*E. andrei*), 줄지렁이(*E. fetida*), *Enchytraed* 류를 포함하여 총 10종이 확인되었다. 이 중 국내 서식종은 붉은줄지렁이(*E. andrei*), 줄지렁이(*E. fetida*), 2종인 것으로 확인되었다. 구리와 니켈의 토양생태독성을 평가한 연구는 개체수준으로 생존율, 생식율, 생장율, 회피반응을 평가하거나, 세포수준의 음세포 작용(Neutral red retention time assay) 등 다양한 종말점으로 평가한 것으로 확인되었는데, 대부분의 실험들에서 개체수준의 독성을 평가하고 있었다. 인공토양, 혹은 LUFA 토양이 사용되었고, 자연토양을 이용한 경우는, 토양의 특성(pH, CEC, OM, etc.)을 평가하여 제시하고 있었다. 시험의 특성에 따라 회피실험의 경우 2일로 단기간 수행하고, 만성 실험의 경우 84일까지 실험기간 범위가 넓었다.

독토기류의 경우는 19종의 시험종이 토양독성평가에 이용되었다. 이 중 국내서식종은 장님마디톡토기(*F. candida*), 풀솜마디톡토기(*F. fimetaria*), 그리고 늪마디톡토기(*Isotomurus palustirs*) 비롯한 3종인 것으로 확인되었다. 거의 모든 연구에서 자연토양과 국제 기관에서 제시하는 인공토양을 이용하고 있었으며, 자연토양을 이용하는 경우 토양 특성(pH, CED, OM etc)의 정보를 같이 제공하는 것이 대부분이었다. 종말점의 경우는 생존율과 생식율을 포함하여 생장율, 회피율을 평가하였고, 일부 회피율 등을 평가하기 위해서는 일반적 만성독성평가 기간인 28일 보다 더 짧은 기간(48시간)과 많은 수의 노출개체가 필요한 것으로 나타났다. 각 시험종의 생활사 및 생식주기를 고려하여, 시험에 적용 가능한 동조화 기간과 노출기간이 다르게 제시되고 있었다. 한편 An 등^{32,33)}은 국내 서식 애지렁이류인 *Fridericia peregrinabunda*와 국내 서식 독토기류인 예쁜꼬마혹무늬톡토기(*Lobella sokamensis*)를 새로운 토양독성 시험종으로 개발하여 독성 시험법을 제안된 바 있으나, 본 연구에서는 표준시험법과 대상물질에 대한 독성자료를 위주로 구성하였기에 본 연구범위에는 포함되지 않았다(Table 3).

Table 3. List of domestic species for Cu and Ni soil toxicity assessment

Classification	Scientific name	Common name	Korean name	Standard species
Plant	<i>Allium cepa</i>	Common onion	양파	○
	<i>Brassica rapa</i>	Bird Rape	배추	○
	<i>Lactuca sativa</i>	Lettuce	상추	○
	<i>Oryza sativa</i>	Rice	벼	○
	<i>Zea mays</i>	Corn	옥수수	○
Earthworm	<i>Eisenia andrei</i>	Earthworm	붉은줄지렁이	○
	<i>Eisenia fetida</i>	Earthworm	줄지렁이	○
Collembola	<i>Folsomia candida</i>	Collembola	장님마디톡토기	○
	<i>Folsomia fimetaria</i>	Collembola	풀솜마디톡토기	○
	<i>Isotomurus palustirs</i>	Collembola	늪마디톡토기	○
Nematode	<i>Aporcelaimellus sp.</i>	Nematode	큰구멍선충속	
	<i>Clarkus sp.</i>	Nematode	웃이선충속	
	<i>Ditylenchus sp.</i>	Bubb nematode	팻룩창선충속	
	<i>Dorylaimellus sp.</i>	Nematode	등근머리창선충속	
	<i>Mesodorylaimus sp.</i>	Nematode	중간창선충속	
	<i>Mylonchulus sp.</i>	Nematode	줄치선충속	

3.3. 국내 서식종의 비율

토양독성평가를 위하여 국제기관에서 제시하고 있는 표준 시험종은 총 165종으로, 이 중 국내 서식종은 40종으로 확인되었다. 식물, 지렁이, 독토기, 토양선충의 영양단계별로 27.4, 25, 50, 그리고 0%의 비율로 국내서식종이 포함되어 있다. 대상 물질인 구리와 니켈에 대한 토양생태독성 시험종은 총 120종이며, 이 중 표준시험법에서 제시되고 있는 종은 17종, 국내 서식종은 16종인 것으로 확인되었다. 전체 사용된 시험종과 국내 서식종의 비율은 식물(27.8%), 지렁이(20.0%), 독토기(15.8%), 토양선충(8.2%)인 것으로 확인되었다(Table 4).

4. 결론

본 연구에서는 국제적으로 제안되고 있는 표준시험법과 중금속류인 구리와 니켈에 대한 독성평가에 사용되는 시험종을 수집한 다음, 국내 서식종의 선별하였고 이를 토대로 국내 토양독성 평가에 적합한 시험종을 분석하였다. 대상 물질에 대한 독성 시험종은 총 120종으로, 이 중 국내 서식종

Table 4. The percentage of domestic test species

Classification	Standard species	Domestic test species	Domestic test species to standard species ratio	Standard test species used for toxicity tests of Cu and Ni	Domestic species used for toxicity tests of Cu and Ni	Domestic test species to test species ratio
Plant	146	40	27.4%	18	5	27.8%
Earthworm	8	2	25.0%	10	2	20.0%
Collembola	10	5	50.0%	19	3	15.8%
Nematode	1	0	0.0%	73	6	8.2%

은 지렁이 2종, 토티기 3종, 토양선충 6종, 식물 5종인 것으로 확인되었다. 선별된 국내 서식종 중 표준시험종으로 이용되는 시험종은 양파, 배추, 상추, 벼, 옥수수, 붉은줄지렁이, 줄지렁이, 장님마디톡토기, 그리고 풀숨마디톡토기를 포함한 총 9종이며, 국내 서식종을 이용한 토양 독성자료 구축을 위하여 적극적으로 활용되어야 할 것으로 사료된다. 하지만 현재까지 확인된 구리와 니켈 대상의 독성자료는 국내 생태독성평가에 적합한 국내 서식종 자료가 부족하여, 신뢰성 있는 종민감도 분포를 산출하기에 어려움이 있다.

토양 생태위해성평가는 토양생태계에 분포하는 서식종에 대한 독성자료를 기반으로 한다. 따라서 독성자료의 정확도와 민감도분포는 위해성평가의 신뢰성과 직결하게 된다. 토양 서식종은 매우 다양하고, 생태계내에서의 영양단계도 수생태계와 비교하여 매우 복잡하게 연결되어 있는 것으로 알려져 있다. 대상물질에 따른 독성영향도 생물종별로 상이하며, 국내에 서식하는 종의 독성자료 이용은 우리나라 토양생태계에 대한 위해성평가의 신뢰도에 영향을 줄 수 있다. 현재까지 수집된 독성자료와 표준시험법에서 제시하는 시험종 중 국내 서식종의 비율은 매우 저조한 것으로 확인되었으며, 따라서 추가적인 독성자료의 수집과 생성이 필요하다. 국내 서식종의 생태독성 시험법 개발은 다양한 독성자료 구축과 신뢰성 높은 위해성평가 기법을 정립하기 위해 필수적인 단계이다. 국내 서식종을 이용한 토양독성자료의 양적, 질적 수준을 높이기 위해서는, 표준시험법에서 이용되고 있는 시험종을 최대한 활용할 뿐 아니라 새로운 국내 시험종을 개발하여 신뢰성이 있는 데이터베이스를 구축해야 할 것이다.

사사

본 연구는 환경부 토양·지하수 오염방지 기술개발사업(2012000540011, 2014000560001)으로 지원받은 과제임.

KSEE

Reference

1. Ministry of Environment (MOE), "Road map of a master plan for soil preservation," (2005).
2. Ministry of Environment (MOE), "Creating study of practical guidelines for risk assessment in conjunction with soil pollution standard," (2006).
3. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Guideline for ecological risk assessment," EPA/630/R-95/0021F(1998).
4. An, Y.-J., Lee, W.-M., Nam, S.-H. and Jeong, S.-W., "Proposed approach of Korean ecological risk assessment for the derivation of soil quality criteria," *J. Soil Ground. Environ.*, **15**(3), 7~14(2010).
5. Lee, W.-M., Kim, S. W., Jeong, S.-W. and An, Y.-J., "Comparative study of ecological risk assessment: Deriving soil ecological criteria," *J. Soil Ground. Environ.*, **17**(5), 1~9 (2012).
6. American Society for Testing and Materials (ASTM), "Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the Lumbricid earthworm *Eisenia fetida*," E1676-97(1997).
7. American Society for Testing and Materials (ASTM), "Standard guide for conducting laboratory soil toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*," E 2171-08(2008).
8. American Society for Testing and Materials (ASTM), "Standard guide for conducting terrestrial plant toxicity tests," E1963-09(2009).
9. American Society for Testing and Materials (ASTM), "Standard guide for conducting laboratory soil toxicity or bioaccumulation tests with the Lumbricid earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid potworm *Enchytraeus albidus*," E1676-12(2012).
10. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "Earthworm, Acute Toxicity Tests," OECD No. 207(1984).
11. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Enchytraeid Reproduction Test. OECD No. 220 (2004).
12. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*)," OECD No. 222(2004).
13. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test," OECD No. 208(2006).
14. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test," OECD No. 227(2006).
15. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "Collembolan Reproduction Test in Soil," OECD No. 232(2009).
16. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Terrestrial plant toxicity Tier I (Seedling emergence)," OPPTS 850.4100(1996).
17. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Terrestrial plant toxicity Tier I (Vegetative Vigor)," OPPTS 850.4150(1996).
18. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Seed germination root elongation toxicity tests," OPPTS 850.4200(1996).
19. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Seedling emergence," OPPTS 850.4225(1996).
20. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Early seedling growth toxicity tests," OPPTS 850.4230 (1996).
21. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Vegetative Viogr, Tier II," OPPTS 850.4250(1996).
22. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Terrestrial plants field study, Tier III," OPPTS 850.4300

- (1996).
23. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Plant uptake and translocation test," OPPTS 850.4800 (1996).
24. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "Earthworm subchronic toxicity test," OPPTS 850.6200 (1996).
25. United State Environmental Protection Agency (USEPA), "ECOTOX," <http://www.epa.gov/ecotox> (2005).
26. European Chemicals Bureau (ECB), "IUCLID," <http://ecb.jrc.it> (2000).
27. Ministry of Environment (MOE), "Species Korea," <http://www.nibr.go.kr>
28. Ministry of Environment (MOE), "Database construction research report of Korea endemic species," (2004).
29. Na, Y. E., Hong, Y., Lee, S. B., Koh, M. W. and Ahn, Y. J., "Earthworm abundance and species composition in the heap of compost, wild-grass and sewer," *Kor. J. Soil Zool.*, **6**(1-2), 11~16(2001).
30. Hong, Y. and Kim, T. H., "Occurrence of earthworm in agro-ecosystem," *Kor. Soc. Environ. Biol.*, **25**(2), 88~93 (2007).
31. Korean University, Korean Entomological Institute, "Insects of Korea," <http://www.insects.or.kr>
32. An, Y.-J. and Yang, C.-Y., "*Fridericia peregrinabunda* (Enchytraeidae) as a new test species for soil toxicity assessment," *Chemosphere*, **77**(3), 325~329(2009).
33. An, Y.-J., Kim, S. W. and Lee, W.-M., "The collembolan *Lobella sokamensis* juvenile as a new soil quality indicator of heavy metal pollution," *Ecol. Indic.*, **27**, 56~60(2013).