

## 내분비교란 물질에 노출된 *C. plumosus* (장수갈따구)의 하순기절 기형성

곽 인 실\* · 이 원 철

(한양대학교 자연과학대학 생명과학과)

The Mentum Deformity of *C. plumosus* Following Exposure to Endocrine Disruption Chemicals. Kwak, Inn-Sil \* and Wonchoel Lee (Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea)

Egg masses of *C. plumosus* were collected from Jungnang Stream in Seoul and reared in an incubator chamber. The larvae of *C. plumosus* were treated with potential endocrine disruption chemicals (EDCs) such as Diethylhexyl phthalate (DEHP), Bisphenol A (BPA) and Tebufenozide, and the effects of morphological abnormalities were observed. The deformities of the mentum following exposure to EDCs showed the smooth/round tooth, the loss of  $\geq 1$  tooth, reduced median lateral teeth (MLT) and light brown color. The incidence rates of the mentum deformity were associated with chemicals: BPA (73.7~90.9%) > tebufenozide (57.6~78.9%) > DEHP (46.2~85.7%). The deformity type of the mentum showed MIX (MLT+LT, 32~46%) > MLT (25~34%) > LT (lateral teeth, 3~7%). Also, the incidence of MIX type was in the order of BPA (46%) > DEHP (33%) > tebufenozide (32%), and that of MLT type showed DEHP (34%) > tebufenozide (31%) > BPA (25%).

As the concentration of Tebufenozide increased, the incidence of light brown mentum was dose dependent. While the incidences of light brown mentum following exposure to BPA and DEHP were not associated with their concentrations.

Key words : diethylhexyl phthalate, bisphenol A, tobufenozide, *C. plumosus*, mentum deformity

### 서 론

자연환경에서 내분비계교란물질이 담수 무척추동물에 끼친 영향을 보고한 예는 매우 드물다. 다만 제조제가 수서곤충의 내분비 관련 과정에 불리한 영향을 미치는 것으로 알려졌다. 예로, cytochrome P-450 효소를 저해하는 것으로 알려진 bipyridilium 계열 제초제인 diquat dibromide와 paraquat dichloride는 *Neobellieria bullata* (파리목) 유충의 제1령기 기간 연장, 첫 탈피의 장애, 용화 지연 등과 같은 발육과 생장에 모두 영향을 미치는 것이

보고되었다 (Darbas *et al.*, 1990). 국내에서는 파리류인 *Chironomus riparius*와 *Chironomus flaviplumus*를 대상으로 살충제인 tebufenozide에 의한 발생 지연, 우화 기간 연장, 성비의 교란, 암컷의 체적 비대화 등에 대해 보고된 바 있다 (곽과 이, 2003a, b, 2004a, b).

플라스틱 가소제인 phthalate ester에 노출된 *Chironomus riparius*는 발육에 영향을 받지 않았으며 (Brown *et al.*, 1996), tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD; West *et al.*, 1997)에 노출된 *C. tentans*도 생존, 성장, 발육 또는 생식에 영향을 받지 않는 것으로 보고되었다. TCDD는 모기인 *Aedes aegyptii*의 용화에도 영향을 미치지 않

\* Corresponding author: Tel: 02) 2295-5449, Fax: 02) 2296-7158, E-mail: inkwak@hotmail.com

았다 (Miller *et al.*, 1973). 노닐페놀은 *C. tentans*의 성장, 생존, 우화, 성비, 난 치사에 영향을 미치지 않는 것으로 보고되기도 하였다 (Kahl *et al.*, 1997).

이와는 대조적으로 깔따구 유충의 구기와 두부의 기형 (deformity)은 중금속과 농약에 노출에 따른 영향으로 보고되었으며 (Hamilton and Saether, 1971), *C. thummi*에서 발견된 특징기형은 중금속, phthalates 또는 DDT의 존재와 관련이 있는 것으로 보고 되었다 (De Bisthoven *et al.*, 1995). 깔따구과의 구기 기형과 환형동물의 강모 기형은 형태학적인 특성을 환경스트레스 평가 지표로 이용될 수 있음을 시사한다. 기형의 정도를 이용한 평가는 실질적인 생체지표로서 간편성과 신속성을 가지고 있다. 이런 연유로 퇴적물에 의한 기형성은 벨기에의 모니터링 프로그램 (De Cooman *et al.*, 1998)과 UK 환경부 (Pinder *et al.*, 1999)에서 관심을 가지고 있다.

실제로 깔따구의 기형 발생 증가는 내분비교란물질[예, dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE)], 중금속, 제지공장 아래의 침적물로 오염된 곳에서 관찰되었고, 기형의

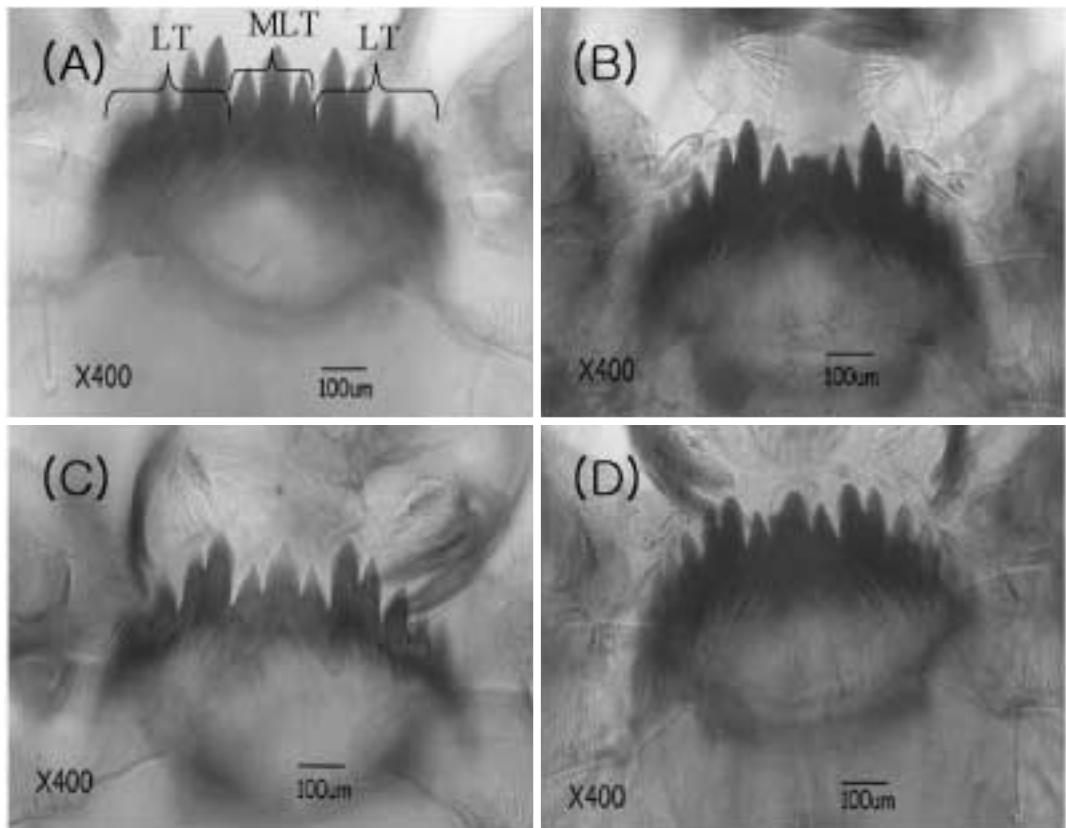
형태학적인 적합성을 평가하기 위한 생태지표들이 개발되고 있다 (Milbrink, 1983; Kosalwat and Knight, 1987; Warwick, 1989, 1991; Dickman *et al.*, 1990).

이에 본 연구에서는 서울의 중랑천에서 채집된 깔따구과의 *C. plumosus*의 알을 실내에서 부화시켜 실험에 사용하여 잠재적 교란물질이 구기 (하순기절)에 미치는 영향을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험생물 및 사육조건

*C. plumosus*의 알과 유충은 중랑천에서 채집하여 실내에서 사육하였다. 명암주기는 각각 16시간과 8시간으로 하였으며 광도는 500 lx 수준을 유지시켜 향온기 (Sanyo incubator MIR-553) 내에서 사육하였다. 온도는  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는 60%를 유지하였다. Crystallizing dish에 고운 흙(입자 크기가  $600 \mu\text{m}$  이하)을 1 cm 두께로 깔



**Fig. 1.** Deformity types of the mentum depict (A) control, (B) loss of tooth, (C) a light color, and (D) smooth and round teeth of *C. plumosus* fourth-instar larvae. (A) Normal arrangement of teeth is three median lateral teeth (MLT) and lateral teeth (LT).

고 M4 배지 (Elendt and Bias, 1990)를 500 mL 넣어 준 후에 유충을 사육하였다.

먹이로는 테트라민 (TetraMin, Tetra-Werke, Melle, Germany)을 미세하게 처리한 후 현탁액 상태로 공급하였다. 실험에 투입된 개체는 알에서 깨어난 지 12일째 된 선명하게 붉으며 건강한 개체를 사용하였으며, 각 농도별로 실험수조 당 20마리씩 투입하여 5회 반복 실시하여 농도당 노출 개체수는 100마리로 하였다. 실험개체를 추출하는 과정과 환경변화에 따른 개체의 적응을 고려하여 약제의 투입은 2일째에 실시하였다.

300 mL crystallizing dish에 200 mL의 M4배지로 채운 후 실험생물을 투입하였다. 본 실험에서는 처리약제 농도의 정확성을 위하여 매일 배지와 시약을 새로 교체 투입하는 방법을 사용하였다. 실험개체가 교란을 받지 않도록 가능한 한 저층에 깔아 준 기질의 움직임을 최소화하여 사육수를 교체 공급하였다. 공기는 지속적으로 공급하여 결핍을 방지하였다.

2. 투입약제와 노출 및 기형성 측정

DEHP (Diethylhexyl phthalate, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>[COOCH<sub>2</sub>CH(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, Junsei Chemical Co. Ltd.), Bisphenol A[(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH)]<sub>2</sub>, Junsei Chemical Co. Ltd.)과 Tebufenozide (C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Sigma-Aldrich)는 stock solution (20 mg L<sup>-1</sup>)을 만들어 사용하였다. 처리 농도는 각각 0 (control), 0.3 µg L<sup>-1</sup>, 1 µg L<sup>-1</sup>, 10 µg L<sup>-1</sup>와 30 µg L<sup>-1</sup>로 하였다. DEHP의 수중에서의 반감기는 2~3주이며, BPA

의 반감기는 3주이다 (국립환경연구원, 2002). Tebufenozide의 반감기는 40일로 (Sundaram, 1998) 실험기간 동안 노출 시간 경과에 따른 농도의 변화는 배제하였다.

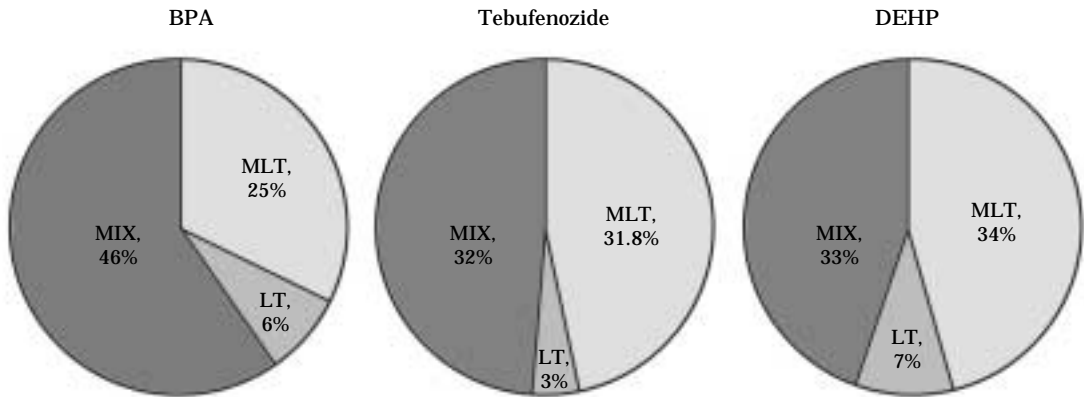
노출 후 치사 된 개체는 포르말린 7%에 보관하였으며, 두부는 슬라이드로 제작하여, Hoyer solution으로 처리한 후 커버글라스로 눌러 하순기절 (mentum)이 잘 보일 수 있도록 한 후 Olympus SZX-ILLB 200하에서 400배로 확대 관찰하였다. 머리의 구기 부분에 있는 하순기절의 tooth 상태와 기형을 살펴보았다. 하순기절의 구조는 MLT (median lateral teeth) 부분과 LT (lateral teeth) 부분으로 나누어 관찰하였으며, tooth의 기형 정도와 하순기절의 색에 따라 상태를 기록하였다. 기형 부위는 MLT, LT 및 MIX로 구분하여 한 부분만 기형을 입었으면 해당 부분에 기록을 하고 두 부분에 기형이 발생한 경우에는 MIX에 기록을 하여 기형 발생 부분이 중복 기록되는 것을 피하였다.

결 과

전체적으로 약제에 노출된 개체의 하순기절은 비처리군이 보인 뾰족한 모양이기보다는 부드러워지거나 (smooth) 손실 (loss)이 가장 많았으며 옅은 갈색을 보이는 것이 늘어났다 (Fig. 1). 비처리군에서 하순기절의 기형은 거의 관찰되지 않았으나 처리군에서는 농도가 증가함에 따라 기형이 증가되는 양상을 보였다 (Table 1). 각 처

Table 1. The deformity of the mentum in fourth-instar *C. plumosus*. The smooth and the loss of muntum were rarely observed in control. Total damage and the mentum with light brown were increased response to exposure time and concentrations. (MLT: median lateral teeth, LT: lateral teeth)

		Chemicals (µg L <sup>-1</sup> )											
		BPA				Tebufenozide				DEHP			
		0.3	1	10	30	0.3	1	10	30	0.3	1	10	30
Mentum deformity													
MLT	Smooth	9	5	1	3	9	9	5	1	4	7	9	6
	Loss	0	0	0	1	0	3	1	1	0	0	0	0
LT	Smooth	1	0	1	2	0	2	1	0	1	2	1	1
	Loss	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
MIX	Smooth/Smooth	3	2	12	10	3	5	8	6	1	6	8	8
	Loss/Smooth	0	1	3	1	0	0	0	7		1		1
	Loss/Loss	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	Total Damage %	14	10	17	18	12	19	17	15	6	16	18	16
		73.7	90.9	81.8	94.7	66.7	57.6	77.3	78.9	46.2	69.6	85.7	84.2
Mentum pigmentation													
Deep brown (%)		47.4	81.8	63.6	57.9	72.2	63.6	40.9	15.8	69.2	91.3	90.5	57.9
Light brown (%)		52.6	18.2	36.4	42.1	27.8	36.4	59.1	84.2	30.8	8.7	9.5	42.1



**Fig. 2.** The incidence rates of deformity for MLT/LT of the mentum in *C. plumosus* fourth-instar larvae were different depending on chemicals. MLT: three median lateral teeth, LT: lateral teeth.

리 물질에 따른 기형의 정도를 살펴보면, DEHP는 46.2~85.7%, BPA는 73.7~90.9%, tebufenozide는 57.6~78.9%가 기형을 입어 BPA > tebufenozide > DEHP 순으로 기형이 크게 나타났다 (Table 1). BPA는 처리 농도에 크게 상관없이 기형이 매우 크게 나타났는데 주로 teeth가 부드러워진 형태를 보였다. Tebufenozide 또한 처리 농도에 큰 차이없이 주로 MLT부분에 부드러워진 형태의 기형을 보였다. DEHP는 농도 간 차이를 보여  $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$  처리에서 가장 낮은 기형을 보였으며 ( $46.2\%$ ),  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  이상에서  $69.6 \sim 85.7\%$ 의 기형을 받았고 주로 MLT 부위에 부드러워진 형태를 보였다.

처리 물질별 기형 부위를 살펴보면, MIX (32~46%) > MLT (25~34%) > LT (3~7%)로 두 부분이 함께 기형을 입는 형태가 가장 많으며 LT 단독의 기형이 가장 적었다. MIX 형태로 기형이 가장 높은 물질은 BPA (46%) > DEHP (33%) > tebufenozide (32%)이고, MLT에 가장 높은 기형을 보인 것은 DEHP (34%) > tebufenozide (31%) > BPA (25%)로 나타났다 (Fig. 2).

하순기절의 색은 처리농도와 처리물질에 따라 차이를 보였다 (Table 1). Tebufenozide의 경우 처리농도가 높아 질수록 옅은 갈색 하순기절의 발생빈도가 증가되었다 ( $27.8 \sim 84.2\%$ ). 반면, BPA ( $8.7\%$ )와 DEHP ( $18.2\%$ )는  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 가장 낮은 옅은 갈색 하순기절의 발생빈도를 보였으나,  $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$  처리에서는 오히려 매우 높은 옅은 갈색의 하순기절의 발생빈도를 보였는데 (BPA  $52.6\%$ ; DEHP  $30.8\%$ ), 이것은  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  이상의 처리에서와 같은 발생빈도에 해당되었다.

## 고 찰

척추동물과 무척추동물의 호르몬 기능 교란은 많은 물질들에 대해 정리되었다 (Colborn and Clement, 1992; Colborn *et al.*, 1996; DeFur *et al.*, 1999; Pinder *et al.*, 1999). 기형은 유충의 우화 과정 중 구기 구조의 발달 동안 생리적인 교란에 의해 유발된다 (de Bisthoven *et al.*, 1992). 우화는 엑디손과 유약호르몬에 의해 호르몬적으로 조절되어진다 (DeFur *et al.*, 1999; Pinder *et al.*, 1999). 따라서 구기 구조의 기형은 내분비계 호르몬의 교란에 의해 발생한다는 보고들이 다수 제시되고 있다 (DeFur *et al.*, 1999; Pinder *et al.*, 1999; Vermeulen *et al.*, 2000). Vermeulen 등 (2000)은 에스트로겐과 엑디손의 분자구조의 유사성이 있을 것이라는 가설을 세웠다. 즉, 화합물이 에스트로겐 수용기를 방해하며, 따라서 엑디손의 작용에 장애가 발생하여 깔따구 유충의 형태적인 기형의 주요 요인이 된다는 것이다.

이를 증명하기 위하여 *Chironomus riparius* 유충을  $\beta$ -sitosterol (Vermeulen *et al.*, 2000), 4-*n*-nonylphenol (Meregalli *et al.*, 2000a) 또는 bisphenol A (Meregalli *et al.*, 2000b)에 노출시켜 실험실 분석을 하기도 하였다. 깔따구 유충은 다음과 같은 약제처리에 의해 기형이 발생하였다; copper (Kosalwat and Knight, 1987), DDT (Madden *et al.*, 1992), xylene (de Bisthoven *et al.*, 1997), 납과 카드뮴 (Vermeulen *et al.*, 2000), 4-*n*-nonylphenol (Meregalli *et al.*, 2000a). 또한 척추동물의 에스트로겐 수용기로 작용하는 DDT와 4-*n*-nonylphenol은 기형유발 가설을 지지하는 긍정적인 결과가 보고 되기도 하였다

(Vermeulen *et al.*, 2000).

어류를 대상으로는 자세한 연구가 이루어져 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 수컷의 경우, 2 ng 1-1 EE2 (17-ethynylestradiol) 처리시에 비텔로제닌 유도에 유의적이었으며 gonadosomatic index를 감소시킨다는 것이 보고 되었다 (Jobling *et al.*, 1996). Zebrafish는 5 ng 1-1 EE2에서 난 발생과 비텔로제닌 유도가 영향을 받았다 (Kime and Nash, 1999). *Daphnia magna* (Schweinfurth *et al.*, 1996)와 copepod *Tisbe battagliai* (Hutchinson *et al.*, 1999)는 EE의 높은 농도 처리에도 생존, 발생과 생식에 유의적인 영향이 나타나지 않았다.

기형의 정도를 이용한 퇴적물의 평가는 실질적인 생체 지표로서 간편성과 신속성을 지닌 기법이라고 할 수 있다. 이에 퇴적물에 의한 기형을 응용하여 벨기에의 모니터링 프로그램 (De Cooman *et al.*, 1998)과 UK 환경부 (Pinder *et al.*, 1999)에서도 사용에 관심을 가지고 진행하고 있다. 이미 생태적인 건강성과 안전성을 보장하기 위한 장치로 저서성 대형무척추동물의 이용은 신속한 생체 지표로 제시되고 있는 세계적인 추세임에도 국내에서는 그에 대한 연구가 매우 미미한 실정이다. 따라서 각종 담수에 유입되는 모든 물질은 퇴적물의 형태로 하상 저질에 축적되므로 그 곳에 서식하는 대표적인 생물인 깔따구과에 대한 연구는 매우 필요하다. 이에 본 연구에서는 *C. plumosus*를 이용하여 잠재적인 교란물질의 노출 농도에 따른 기형의 발생 빈도와 하순기절의 색이 영향을 받았음을 파악하였다. 나아가 노출시간에 따른 손상 정도와 결정적인 영향을 주는 농도에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 또한 정량적인 자료를 축적하는 연구가 더욱 진행되어야 하며 전체 생활사의 변화, 성비의 교란 등과의 연계 연구로 종합적인 평가가 시도되어야 할 것이다.

## 적 요

야외에서 채집한 *C. plumosus*를 대상으로 잠재적 내분비계 교란물질인 DEHP, BPA 및 Tebufenozide를 처리 물질로 하여 형태적인 교란 효과를 살펴보았다. 약제에 노출된 개체의 하순기절은 부드럽어지거나 (smooth) 손실 (loss)이 가장 많았으며 옅은 갈색을 보였다. 처리 물질에 따른 기형의 정도를 살펴보면, DEHP는 46.2~85.7%, BPA는 73.7~90.9% 그리고 tebufenozide는 57.6~78.9%가 기형을 입어 BPA>tebufenozide>DEHP 순으로 기형이 크게 나타났다. 처리 물질별 기형 부위를 살펴보면,

MIX (32~46%)>MLT (25~34%)>LT (3~7%)로 두 부분이 함께 기형을 입는 형태가 가장 많았으며 LT 단독의 기형이 가장 적었다. MIX 형태로 기형이 가장 높은 물질은 BPA (46%)>DEHP (33%)>tebufenozide (32%)이고, MLT에 가장 높은 기형을 보인 것은 DEHP (34%)>tebufenozide (31%)>BPA (25%)로 나타났다.

Tebufenozide 처리에 따른 하순기절의 색은 처리 농도가 높아지면 옅은 갈색 하순기절의 발생 빈도가 증가되었다 (27.8~84.2%). 반면, BPA (8.7%)와 DEHP (18.2%)는 1 µg L<sup>-1</sup>에서 가장 낮은 옅은 갈색의 하순기절의 발생 빈도를 보였으나 0.3 µg L<sup>-1</sup>처리에서는 매우 높은 옅은 갈색의 하순기절이 다수 발생하였다 (BPA 52.6%; DEHP 30.8%).

## 사 사

본 연구는 한국과학재단 (KOSEF; Project Number R08-2003-000-10163-0)의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 인 용 문 헌

- 국립환경연구원. 2002. 내분비계장애물질 측정분석방법.
- Brown, D., R.S. Thompson, K.M. Stewart, C.P. Croudace and E. Gillings. 1996. The effect of phthalate ester plasticisers on the emergence of the midge (*Chironomus riparius*) from treated sediments. *Chmosphere* **32**: 2177-2187.
- Colborn T. and C. Clement. 1992. Chemically induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. Princeton, NJ: Princeton Scientific, p. 403.
- Colborn T., D. Dumanoski and J.P. Myers. 1996. Our Stolen Future. London: Abacus, p. 306.
- Darbas B., J. Zdarek, T. Timar and M.H.T. El-Din. 1990. Effects of the bipyridylum herbicides diquat dibromide and paraquat dichloride on growth and development of *Neobellieria bullata* (Dipteralarvae. *J. Econ Entomol* **83**: 2175-2180.
- De Bisthoven L.J., C. Huysmans and F. Ollevier. 1995. The in situ relationship between sediment concentrations of micropollutants and morphological deformities in *Chironomus thummi* larvae (Diptera; Chironomidae) from lowland river (Belgium): a spatial comparison. *In: Chironomids: from genes to ecosystems* (Cranston P.S., ed.). Canberra, Australia: Commonwealth Scientific

- and Industrial Research Organisation (CSIRO).
- De Cooman, W., M. Florus and M. Devroede. 1998. Karakterisatie van de bodems van de Vlaamse onbevaarbare waterlopen. Report D/1998/3241/224. Brussels: Administratie Milieu-, Natuur-Land- en Waterbeheer, 56.
- DeFur, P., M. Crane, C. Ingersoll and L. Tattersfield. 1999. Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testing, and assessment. Pansacola, FL: SETAC, p. 303.
- Dickman, M., Q. Lan and B. Matthews. 1990. Teratogens in the Niagara River watershed as reflected by chironomid (Diptera: Chironomidae) labial plate deformities. *Water Pollut. Res. J. Can* **24**: 47-79.
- Elenndt, B.P. and W.R. Bias. 1990. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing; effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *Daphnia magna*. *Water Res.* **24**: 1157-1167.
- Hamilton, A.L. and O.A. Saether. 1971. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *Can. Entomol.* **103**: 363-368.
- Hutchinson, T.H., N.A. Pounds, M. Hampel and T.D. Williams. 1999. Impact of natural and synthetic steroids on the survival, development and reproduction of marine copepods (*Tisbe battagliai*). *Sci. Total Environ.* **233**: 167-179.
- Janssens de Bisthoven, L., K.R. Timmermans and F. Ollevier. 1992. The concentration of cadmium, lead, copper and zinc in *Chironomus gr. thummi* (Diptera Chironomidae) with deformed versus normal menta. *Hydrobiologia* **239**: 141-149.
- Janssens de Bisthoven, L., C. Huysmans, R. Vannevel, G. Goemans and F. Ollevier. 1997. Field and experimental morphological response of *Chironomus* larvae (Diptera: Nematocera) to xylene and toluene. *Neth. J. Zool.* **47**: 227-239.
- Jobling, S., D. Sheahan, J.A. Osborne, P. Matthiesen and J.P. Sumpter. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* **15**: 194-202.
- Kahl, M.D., E.A. Makynen, P.A. Kosian and G.T. Ankley. 1997. Toxicity of 4-nonylphenol in a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **38**: 155-160.
- Kosalwat, P. and K.W. Knight. 1987. Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge, *Chironomus decorus*. *Archiv. Environ. Contam. Toxicol.* **16**: 283-290.
- Kime, D.E. and J.P. Nash. 1999. Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish. *Sci. Total Environ.* **233**: 123-129.
- Kwak, I.-S. and W. Lee. 2003a. Effects of the hormone mimetid insecticide tebufenozide on *Chironomus flaviplumus* larvae. *Korean J. Environ. Biol.* **21**(1): 72-76.
- Kwak, I.-S. and W. Lee. 2003b. Effects of the Molting-Hormone Mimetid Insecticide Tebufenozide on *Chironomus riparius* Larvae. *Korean J. Environ. Biol.* **21**(3): 286-291.
- Kwak, I.-S. and W. Lee. 2004a. Effects of Ecdysteroid agonist Tebufenozide on freshwater Chironomids. *Korean J. Limnol.* **37**(1): 96-101.
- Kwak, I.-S. and W. Lee. 2004b. Detecting Points for Ecological Disruptions and Developmental Delay exposure to DEHP in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Korean J. Environ. Biol.* **22**(2): 321-328.
- Madden, C.P., P.J. Suter, B.C. Nicholson and A.D. Austin. 1992. Deformities in chironomid larvae as indicators of pollution (pesticide) stress. *Neth. J. Aquat. Ecol.* **26**: 551-557.
- Meregalli, G., L. Pluymers and F. Ollevier. 2000. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-n-nonylphenol. *Environ. Pollut.* **111**: 241-246.
- Meregalli, G., L. Pluymers, N. Van lent and F. Ollevier. 2000. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to known endocrine disruptors. Presented at SETAC 3rd World Congress, 21-25 May, Brighton, UK.
- Milbrink, G. 1983. Characteristic deformities in tubificid oligochaetes inhabiting polluted bays of Lake Vanern, Southern Sweden. *Hydrobiologia* **106**: 169-184.
- Miller, R.A., L.A. Norris and C.L. Hawks. 1973. Toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in aquatic organisms. *Environ. Health Perspect.* **5**: 177-186.
- Pinder, L.C.V., T.G. Pottinger, Z. Billinghamurst and M.H. Depledge. 1999. Endocrine function in aquatic invertebrates and evidence for disruption by environment pollutants, R & D report TR E67. Bristol, UK: Environment Agency and Endocrine Modulators Steering Group, 150.
- Schweinfurth, H., R. Lnge and P. Gnzal. 1996. Environmental fate and ecological effects of steroidal estrogens. Presented at IBC Conference, 9-10 May 1996, London, UK.
- Sundaram, K.M.S. 1997. Persistence of tebufenozide in aquatic ecosystems under laboratory and field conditions. *Pestic. Sci.* **51**: 7-20.
- Vermeulen, A.C., G. Liberloo, P. Dumont, F. Ollevier and B.R. Goddeeris. 2000. Exposure of *Chironomus riparius*

- larvae (Diptera) to lead, mercury and  $\alpha$ -steroid: effects on mouthpart deformation and moulting, *Chemosphere* **41**: 1581-1591.
- West, C.W., G.T. Ankley, J.W. Nichols, G.E. Elonen and D.E. Nessa. 1997. Toxicity and bioaccumulation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in long-term tests with the freshwater benthic invertebrates *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**: 1287-1294.
- Warwick, W.F. 1989. Morphological deformities in larvae of *Procladius skuse* (Diptera: Chironomidae) and their biomonitoring potential. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* **46**: 1255-1271.
- Warwick, W.F. 1991. Indexing deformities in ligulae and antennae of *Procladius* larvae (Diptera: Chironomidae); Application to contaminant-stressed environments. *Can. J. Aquat. Sci.* **48**: 1151-1156.

(Manuscript received 8 December 2004,  
Revision accepted 28 February 2005)