

내분비교란물질이 조류의 성장에 미치는 영향

이 주 한 · 김 백 호 · 한 명 수*

(한양대학교 생명과학과)

Effects of Nonylphenol and Diethylhexyl Phthalate on the Population Growth of Freshwater HABs, *Microcystis* and *Stephanodiscus*. Lee, Ju-Han, Baik-Ho Kim and Myung-Soo Han* (Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea)

Effects of two endocrine disrupters (EDs), nonylphenol (NP) and diethylhexyl phthalate (DEHP), on the population growth and morphology of two freshwater HABs (harmful algal blooms), *Microcystis aeruginosa* and *Stephanodiscus hantzschii*, which frequently evoked the hazard bloom in an eutrophic lakes and reservoirs worldwide, were examined with seven different concentrations of EDs (0.01, 0.05, 0.1, 1, 2, 2.5 and 3 ppm). Even at concentration below 0.01 ppm, NP strongly inhibited the algal growth of both *M. aeruginosa* and *S. hantzschii*, regardless of the algal growth phase. Morphologically, the algal cell treated with NP gradually lost green color in cytoplasm, became smaller in cell size, and then, was hardly seen in microscopic field. On the other hand, DEHP employed did not affect two algae at all concentrations, and rather stimulated the growth by about 10% with a treatment at 3.00 ppm compared to control. These results indicate that the continuous input of EDs, DEHP into the natural water system plays a crucial role to enhance or help an outbreak of algal bloom in eutrophic waters.

Key words : nonylphenol, diethylhexyl phthalate, *Microcystis aeruginosa*, *Stephanodiscus hantzschii*, growth, algal bloom

서 론

내분비계 장애물질 (Endocrine Disrupters, EDs)은 사람을 비롯하여 가축이나 야생동물에 이르기까지 내분비계를 갖는 모든 생물체 내에서 정상적인 내분비계의 기능에 변화를 일으켜 번식기능 저하 및 각종 건강장애를 일으키는 외인성 화학물질을 말한다 (EPA, 1998; OECD, 1996). 이들은 환경 중에 널리 분포하면서 장기간에 걸쳐 동물체내에 서서히 흡수, 축적되고, 호르몬과 같은 작용을 하기 때문에 일명 환경호르몬 (Environmental hormone)이라고도 부른다 (Amaral Mendes, 2002). 대표적인

예로서 유기염소계 다이옥신, DDT, PCB, polycarbonate resin의 분해생성물인 Bisphenol A 등은 체내에서 여성호르몬 Estrogen과 유사한 작용을 한다 (Dunier and Siwicki, 1993). 오늘날 수많은 화학물질들이 내분비계 장애물질로서 의심 되고 있으며, 미국 EDSTAC (Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee)에서는 농약, 플라스틱제품 등 소비용품의 원료화학물질, 천연산물, 식품 및 사료첨가제, 화장품 원료 등을 포함한 약 86,000여종의 화학물질들에 대해서 우선적으로 내분비계 장애 유발성 여부를 검색하고 있다.

Nonylphenol (NP)은 alkylphenol polyethoxylation의 분해산물로서 오랫동안 비음이온성 계면활성제로써 산업

* Corresponding author: Tel: 02) 2220-0956, Fax: 02) 2296-1741, E-mail: hanms@hanyang.ac.kr

계나 가정에서 세척용으로 자주 사용되어 왔으며 (Gier *et al.*, 1984), Ethylene oxide를 첨가반응시켜 섬유직물의 염색가공 등에 사용하는 대표적인 EDs이다 (Soto *et al.*, 1991). 자연계에서는 주로 환경 중에 잔류되며, 해산물이거나 어류에서 높은 농도를 보인다 (Ferrara *et al.*, 2001; Tsuda *et al.*, 2001). Diethylhexyl phthalate (DEHP)는 폴리염화 비닐 (PVC)의 연화제로 사용되는 물질로서 각종 PVC 제품이나 목재의 제조 및 가공, 향수의 용매, 화장품의 보조물질 등으로 사용되고 있는 EDs이다. 이들은 중금속의 하나인 카드뮴에 비교될 만큼 강한 독성을 가지고 있으며, 동물실험 결과 간, 신장, 심장, 허파 등에 독성 영향을 주고, 기형아 출산, 생식기능 저하, 암 등을 유발하는 물질로 알려져 있다 (김, 1998).

수서생태계를 대상으로 하는 내분비계 장애물질의 위해성 평가는 주로 어류, 복족류, 포유류, 조류 등을 대상으로 한 독성, 발생 및 생식에 관한 연구가 진행되어 왔다 (Mann and Bidwell, 2000; Amaral Mendes, 2002). 그러나 자연생태계로 유입된 유해물질이 상위 또는 하위인자들에게 미치는 영향에 대한 연구는 주로 중금속이나 농약류 등에 집중되어 있으며 (Sugiura, 1996; Traunspurger *et al.*, 1996), TBT, PCB, DDT 등의 부분적인 연구가 있으나 (Harino *et al.*, 2000; Guruge and Tanabe, 2001; Manning *et al.*, 1999), 특히 식물플랑크톤과 같은 하위생물군에 대한 NP, DEHP 등의 연구는 극히 적은 편이다. 수서생태계는 크게 무기적 요소와 생산자, 소비자, 분해자 등 생물적 요소로 구성되어 있으며, 이들의 복잡하고 다양한 조합에 의해 생태계의 특징이 결정된다. 외부로부터 독성물질이 수계로 유입될 경우, 다른 생물군에 비해 식물플랑크톤은 가장 민감하게 반응을 하며, 포식자를 거쳐 최상위 소비자까지 전달되는 이른바 생물학적 농축과정의 초기단계를 유도하는데 특히 생분해가 어려운 물질들은 대부분 체내에 축적하여 이를 섭취하는 최고소비자 체내에서는 수중보다 최고 수십 만 배 이상의 높은 농도를 보이기도 한다 (Eriksson and Burton, 2003).

수중내 NP, DEHP의 농도는 우리나라를 포함하여 세계적으로 나라와 지역에 따라 매우 넓은 범위를 나타낸다 (Naylor, 1992; Ahel *et al.*, 1994; Blackburn and Walddock, 1995). 국내에서는 특히 한강 (Li *et al.*, 2004) 이 다른 지역 (김, 2002a, b; 김 등, 2003; Li *et al.*, 2004)에 비해 5~20배 이상의 높은 농도를 나타내고 있다. 한강이나 낙동강에서는 매년 여름부터 늦은 가을까지 남조 *Microcystis aeruginosa* (Han *et al.*, 1995), 초겨울부터 늦은 봄까지 규조 *Stephanodiscus hantzschii*의 대발생이 일어나고 있다 (Ha *et al.*, 2002). 내분비계 장애물질의 높

은 농도에도 불구하고 이러한 조류대발생이 계속되는 이유에 대해서는 잘 알려지지 않고 있다. 따라서 EDs와 식물플랑크톤간의 관계를 연구하는 것은 수중 내 생물학적 농축과정을 이해함으로써 어류나 패류와 같은 상위소비자는 물론 사람이나 포유류 수준에서의 내분비계 교란의 위험을 사전에 예방하고 수자원 관리를 위한 기초적 자료로써 제공할 수 있다고 판단된다.

본 연구는 내분비계 장애물질이 수중내 1차 생산자인 식물플랑크톤의 성장에 어떠한 영향을 주는지를 파악하고자, 매년 한강과 낙동강에서 우점하는 남조 *Microcystis aeruginosa*와 규조 *Stephanodiscus hantzschii* 단일 배양계에 NP와 DEHP를 각각 다양한 농도별로 처리하고 각 개체군의 현존량 및 형태적 변화를 추적하였다.

재료 및 방법

1. 조류배양

독성실험에 사용된 남조 *Microcystis aeruginosa* NIES 44는 일본국립환경연구소 (National Institute for Environmental Studies, Japan)에서 분양받아 사용하였다. 본 균주는 가장 독성이 약한 배양주로서 (Yasuno *et al.*, 1998), 세포는 구형 또는 난형이고, 크기는 3~5 μm 이며, 계대배양 동안 군체를 형성하지 않았다. 배양은 CB배지 (Cyanobacterial Broth: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 15 mg, KNO_3 10 mg, $\beta\text{-Na}_2\text{glycerophosphate}$ 5 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4 g, Vitamin B_{12} 0.01 μg , Biotin 0.01 μg , Thiamine HCl 1 μg , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 19.6 mg 100 mL^{-1} , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 3.6 mg 100 mL^{-1} , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.2 mg 100 mL^{-1} , $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.4 mg 100 mL^{-1} , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.25 mg 100 mL^{-1} , $\text{Na}_2\text{ETDA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 mg 100 mL^{-1} -0.3 mL, Distilled water 99.7 mL, pH 7.5)를 사용하였으며 (Watanabe *et al.*, 1997), 배양조건은 25~28°C, 40~80 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12 : 12 (Light : Dark) cycle, 150 rpm이었다. 규조 *Stephanodiscus hantzschii* UTCC 267는 캐나다 토론토 대학 (UTCC; University of Toronto Culture Collection of Algae and Cyanobacteria)에서 제공받아 사용하였다. 세포는 소형 원반형으로 크기는 10~12 μm 이며, 계대희수가 증가할수록 점차 크기가 감소하였고, 군체를 형성하지 않았다. 배양은 DM배지 (Diatom Media: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 4.000 g, KH_2PO_4 2.480 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0 g, NaHCO_3 3.180 g, EDTA-FeNa 0.450 g, EDTA- Na_2 , H_3BO_3 0.496 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.278 g, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.200 g, Cyanocobalamin 0.008 g,

Thiamine HCl 0.008 g, Biotin 0.008 g, NaSO₃·9H₂O 11.400 g 200 mL⁻¹, Make up 1 liter with Distilled water, pH 6.9)를 이용하였으며 (Beakes *et al.*, 1988), 배양조건은 15°C, 50 μmol photons m⁻² s⁻¹, 12 : 12 (L : D) cycle 조건에서 정지 배양하였다.

2. EDs의 종류와 처리농도

본 실험에 사용된 NP (nonylphenol, C₁₅H₂₄O, Aldrich Inc., USA)과 DEHP (diethylhexyl phthalate, C₆H₄[COOCH₂CH(C₂H₅)(CH₂)₃CH₃]₂, Junsei Chemical Co. Ltd., Japan)는 동일한 농도의 stock solution (100 ppm)을 각각 제조하고 실험당일 희석하여 사용하였다. EDs의 균질화를 위해 생물체에 비교적 독성효과가 적은 100% acetone을 이용하였다 (Meregalli *et al.*, 2001; Kwak and Lee, 2004). EDs의 투여농도를 결정하기 위하여 일반적으로 자연수 또는 하천수 중에서 검출되는 농도 (Fromme *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004)를 고려하여 이보다 높은 4단계 농도 (×1, ×10, ×100, ×1,000)을 제조하여 배양중인 조류세포에 각각 처리한 후 개체군의 성장 및 형태변화를 조사하였다.

3. 독성효과 조사

내분비계 장애물질이 조류성장에 미치는 독성 영향을 조사하기 위하여 조류의 성장시기에 따라 log phase (1차 실험), exponential phase (2차 실험)로 나누어 실시하였으며, 성장시기별 조류 밀도는 남조 *M. aeruginosa* (1 × 10⁷ cells mL⁻¹, 1 × 10⁶ cells mL⁻¹), 규조 *S. hantzschii* (4 × 10⁵ cells mL⁻¹, 1 × 10⁵ cells mL⁻¹)이었다.

Nonylphenol이 유해조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*의 개체군 성장에 미치는 독성효과를 조사하기 위하여, 직경 25 mm test tube에 CB배지와 DM배지를 20 mL씩 각각 분주하고 2 mL의 *M. aeruginosa* NIES 44와 *S. hantzschii* UTCC 267을 접종한 후 앞에서 언급한 것과 동일한 배양조건에서 배양하였다. EDs처리는 1차 실험에서는 배양시작과 함께 NP를 0.01, 0.05, 0.10 및 1.00 ppm씩 처리하였고, 용매의 영향을 확인하기 위하여 3.00 ppm의 acetone를 처리하였다. 2차 실험은 exponential phase인 11일째 두 조류에 NP를 0.01, 0.05, 0.10 및 1.00 ppm이 되도록 처리하였고, 용매로서 1차 실험과 같은 농도의 acetone을 처리하였다. 또한 NP를 넣지 않은 대조군을 포함하여 모든 실험은 3회씩 반복 수행하였다. 각 조류의 개체군 성장에 미치는 NP의 독성효과를 확인하기 위하여 약제처리 이후 매일 조류세포의 현존량 변화를 조사

하였다. 세포 계수는 약제를 처리한 후 매일 배양계로부터 20 μL씩 꺼내 Lugol solution으로 고정한 다음 광학현미경 (Olympus, Japan) 400배 하에서 계수하였다. NP처리 이후 조류세포의 형태적 변화를 관찰하기 위하여 광학현미경 (Olympus, Japan) 1,000배 하에서 검정하였다.

DEHP가 유해조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*의 개체군 성장에 미치는 독성효과를 조사하기 위하여, NP와 같은 동일한 방법으로 세포배양 및 약제처리를 실시하였다. DEHP 처리는 두 조류의 log phase에 각각 1.00, 2.00, 2.50 및 3.00 ppm이 되도록 처리하였고, 용매의 영향을 확인하기 위하여 6.00 ppm의 acetone를 처리하였다. acetone의 농도는 사전 예비실험을 통하여 조류에 영향이 없는 농도를 선택하였고 EDs의 양에 비례하여 증가하였다. 2차 실험은 exponential phase인 배양 11일째 약제를 0.01, 0.05, 0.10 및 1.00 ppm씩 처리하였고, 용매의 영향을 알아보기 위해 3.00 ppm Acetone을 각각 처리하였다. 또한 DEHP를 넣지 않은 대조군을 포함하여 모든 실험은 3회 반복하였다. DEHP가 두 조류세포의 성장에 미치는 영향을 확인하기 위한 NP처리 실험과 동일하게 매일 세포계수 및 형태변화를 조사하였다.

4. 자료분석

두 가지 내분비계 장애물질 NP, DEHP처리가 조류 성장에 미치는 독성효과를 확인하기 위하여, 모든 실험은 3회씩 실시하였으며, 대조군과 처리군의 평균간의 차이에 대한 유의성 검증은 SPSS package v 12.0를 이용하여 Student t-test를 실시하였다 (SPSS, 2003).

결 과

1. Nonylphenol (NP)이 유해조류 성장에 미치는 영향

배양 중인 유해조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*에 다양한 농도의 NP를 처리한 다음, 광학현미경하에서 매일 관찰하였다. 두 조류 모두 NP처리 초기에는 뚜렷한 형태적 변화는 관찰되지 않았다. 그러나 처리 2일째부터 남조 *M. aeruginosa* NIES는 NP 처리 이후 세포 내 chloroplast가 먼저 투명하게 변하기 시작하고 세포 크기가 다소 왜소해지면서 흔적을 찾기 어려운 상태로 사멸하였다. 규조 *S. hantzschii* UTCC 267은 NP처리 2일째부터 곧바로 세포 피사가 일어났는데, 약제처리 전의 갈색을 나타냈던 세포질은 점차 색이 옅어지면서 무색으로 변화

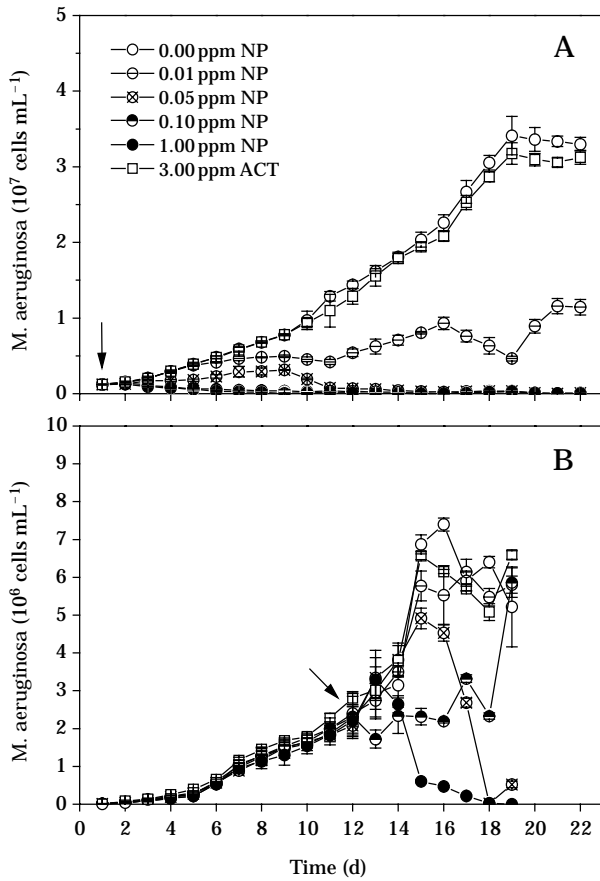


Fig. 1. Effects of nonylphenol on the algal growth of *Microcystis aeruginosa* NIES44 (NP: nonylphenol, ACT: acetone, arrow: injection time of endocrine disrupters, A: the NP treatment experiment at the log phase, B: the NP treatment experiment at the exponential phase).

되었고, 결국 투명한 세포 골격만 바닥에 남았다. 두 조류 세포의 log, exponential phase에 NP를 처리한 후, 조류 세포의 성장 변화를 조사한 결과는 다음과 같다. 먼저, 남조 *Microcystis aeruginosa* 성장초기(log phase)에 NP를 처리할 경우, 낮은 농도(0.01 ppm NP)처리에도 조류성장이 억제되었으며, 0.05 ppm 이상의 농도에서는 배양 10일째부터 조류세포가 관찰되지 않았다(Fig. 1-A). 한편, 대수성장기(exponential phase)에 NP를 처리할 경우, 0.1 ppm 이하의 농도에서는 대조군과 유사한 성장패턴을 보였으나, 고농도(1.0 ppm)에서는 6일만에 완벽하게 사멸하였다(Fig. 1-B). 또한 3.00 ppm acetone처리시 대조군과 거의 유사한 성장을 보여 남조 *M. aeruginosa*에 대한 acetone의 영향은 크지 않은 것으로 밝혀졌다(Fig. 1-A, B). 결국, NP은 *M. aeruginosa*의 성장초기에 더욱 뚜렷

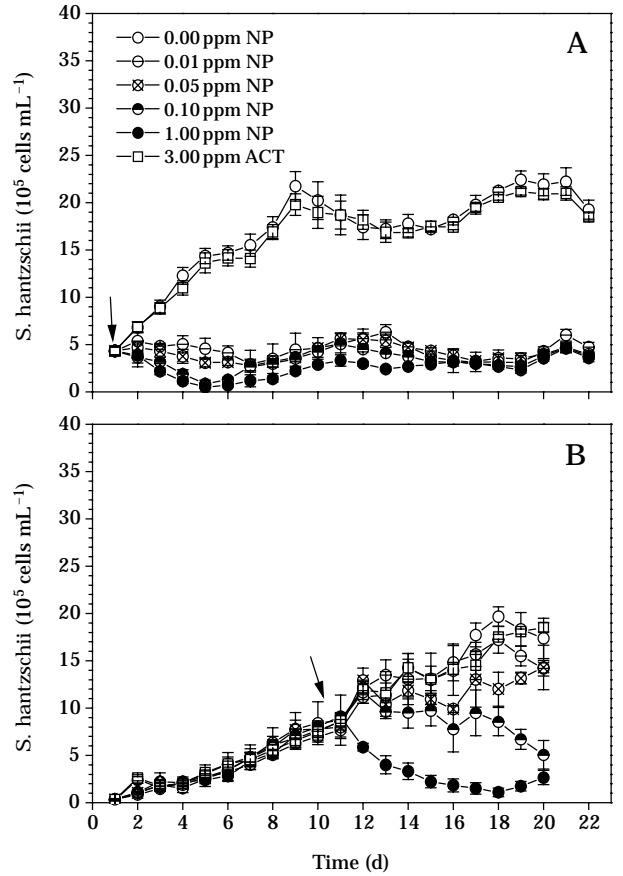


Fig. 2. Effects of nonylphenol on the algal growth of *Stephanodiscus hantzschii* UTCC267 (NP: nonylphenol, ACT: acetone, arrow: injection time of endocrine disrupters, A: the NP treatment experiment at the log phase, B: the NP treatment experiment at the exponential phase).

한 성장억제를 보인 반면, 대수성장기에는 농도의존적인 독성영향을 보였다. 규조 *Stephanodiscus hantzschii*는 전체적으로 *M. aeruginosa*의 감소 패턴과 유사하였다. 다만 성장초기(log phase)에 처리한 NP의 독성영향은 0.01 및 0.05 ppm 처리군에서 배양 7일까지는 매우 낮은 밀도가 관찰되었으나 그 이후부터 모든 처리군에서 조류세포가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 2-A). 대수성장기(exponential phase)에 처리한 2차 실험에서는 가장 높은 농도(1.00 ppm)에서도 조류는 완벽하게 사멸하지 않았으며 배양 7일째부터 다시 증가하는 특징을 나타냈다. 다만, 0.05 ppm 농도에서 일정시간이 지나면 다시 세포밀도가 증가하였다(Fig. 2-B). 또한 용매 3.00 ppm acetone 처리에서도 대조군과 유사한 성장을 나타내 특성은 낮은 것으로 밝혀졌다(Fig. 2-A, B). 따라서, NP은 두 유해조

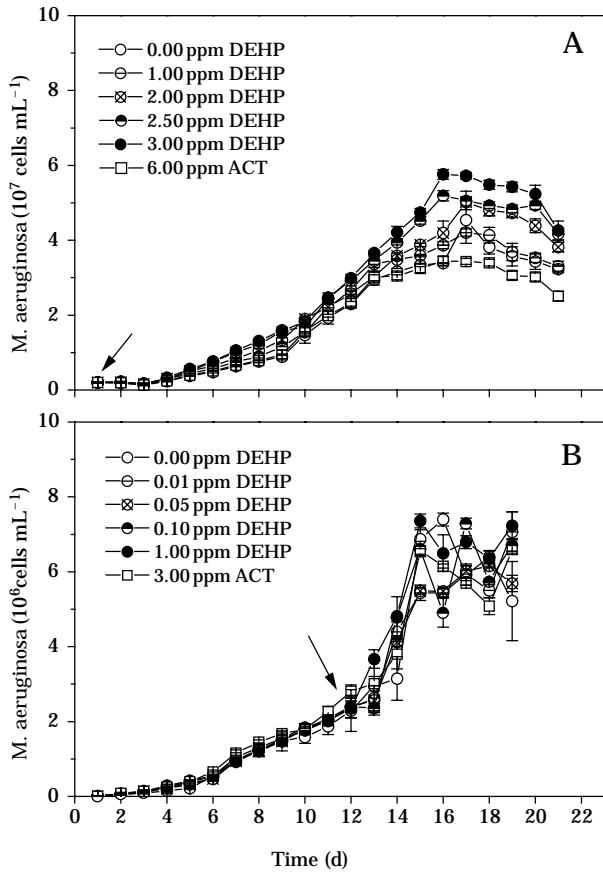


Fig. 3. Effects of phthalate on the algal growth of *Microcystis aeruginosa* NIES 44 (DEHP: diethylhexyl phthalate, ACT: acetone, arrow: injection time of endocrine disrupters, A: the DEHP treatment experiment at the log phase, B: the DEHP treatment experiment at the exponential phase).

류의 성장에 뚜렷한 제어효과를 나타냈으며, 성장초기와 대수성장기 모두 *M. aeruginosa*가 *S. hantzschii*보다 더욱 민감하게 영향을 받는 것으로 밝혀졌다.

2. Phthalate (DEHP)가 HABs 성장에 미치는 영향

배양 중인 유해조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*에 다양한 농도로 조절된 DEHP를 처리한 후 형태적 변화를 관찰하였다. 두 조류 모두 다양한 농도의 DEHP 처리에 대해 형태적인 변화는 거의 나타나지 않았으며, 대조군과 실험군간의 차이 또한 보이지 않았다. 한편, DEHP를 배양중인 조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*의 log, exponential phase에 처리한 후, 개체군 성장은 다음과 같다. 먼저 DEHP를 남조 *Microcystis aeruginosa* 배양조

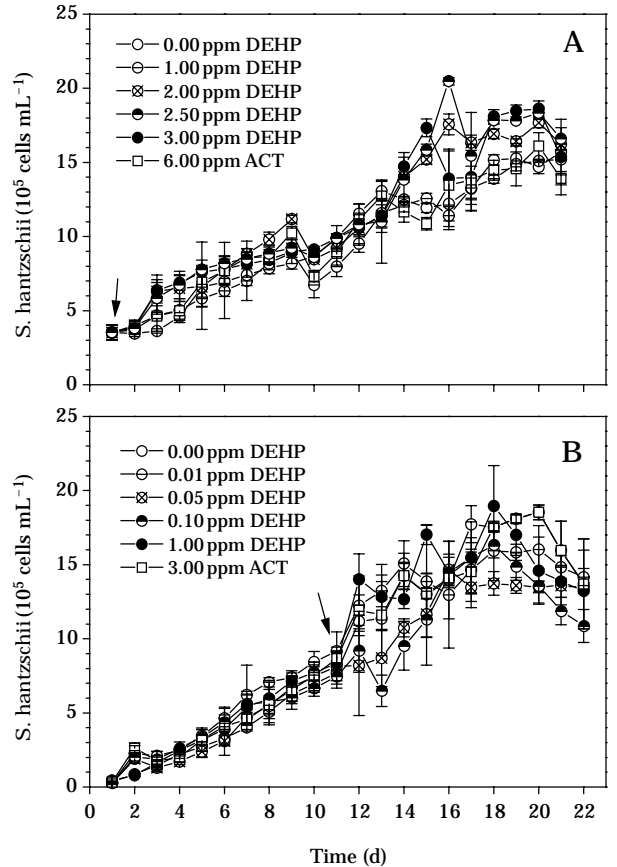


Fig. 4. Effect of phthalate on the algal growth of *Stephanodiscus hantzschii* UTCC267 (DEHP: diethylhexyl phthalate, ACT: acetone, arrow: injection time of endocrine disrupters, A: the DEHP treatment experiment at the log phase, B: the DEHP treatment experiment at the exponential phase).

기 (log phase)에 처리한 실험에서는 모든 농도에서 대조군보다 더 높은 성장을 나타냈다 (Fig. 3-A). 가장 높은 농도 (3.0 ppm DEHP)의 경우, 처리후 3일째부터 점차적으로 대조군보다 높은 성장을 보였다. 또한 6.00 ppm acetone 처리군에서는 대조군과 비교해 억제 현상을 보이지 않았다 (Fig. 3-A). 한편, DEHP를 대수성장기 (exponential phase)에 처리했을 경우, 대조군과 큰 차이를 보이지 않았으며 ($p > 0.5$), 농도간에도 유의한 차이가 보이지 않았다 (Fig. 3-B). 한편, 3.00 ppm acetone 처리시 예상했던 것처럼 대조군과 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3-A, B). 규조 *Stephanodiscus hantzschii*에 DEHP가 미치는 독성 영향은 전체적으로 *M. aeruginosa*와 유사한 패턴을 보였으며, 모든 농도의 처리군은 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다.

DEHP를 배양 초기 (log phase)에 처리하였을 경우, 고농도 (2.50, 3.00 ppm)에서 *M. aeruginosa*와 마찬가지로 대조군보다 다소 높은 성장을 나타냈다 ($p < 0.01$, Fig. 4-A). 또한 대수성장기 (exponential phase)에 처리할 경우, *M. aeruginosa*처럼 농도의존적 성장은 뚜렷하지 않았으나 역시 고농도 DEHP 처리군에서 높은 성장을 보였다 (Fig. 4-B). 용매 acetone 처리의 경우 성장시기에 상관없이 대조군과 크게 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4-A, B). 결국 DEHP는 두 유해조류의 성장에 대해 억제효과는 보이지 않았으며, 고농도로 갈수록 유해조류의 성장을 촉진함으로써 현장에서 조류대발생의 중요한 유발인자인 영양물질로 작용할 수 있다고 판단되었다.

고 찰

Nonylphenol (NP)은 배양중인 유해조류 *M. aeruginosa*와 *S. hantzschii*의 성장시기와 처리농도에 상관없이 뚜렷하게 억제한 반면, DEHP는 오히려 조류성장을 촉진하였다. 이는 쥐를 이용한 독성실험에서 두 약제의 LC_{50} 값이 각각 NP ($5 \sim 40 \text{ g kg}^{-1}$)는 DEHP (20 g kg^{-1})와 큰 차이를 보이지 않은 것 (Nakamura *et al.*, 1979)과는 대조적인 결과이며, 실험에 사용된 NP농도는 자연계 (Naylor, 1992; Ahel *et al.*, 1994; Blackburn and Walddock, 1995; 김, 2002a, b; 김 등, 2003; Li *et al.*, 2004)보다는 10~100배 이상의 높은 수준으로 $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 농도에서 수서곤충이나 동물플랑크톤 등은 강한 억제를 받은 반면 식물플랑크톤은 크게 영향을 받지 않는 것 (Sibley *et al.*, 2000)과는 차이를 보였다. 최근 한강 ($23.2 \sim 187.6 \mu\text{g L}^{-1}$, Li *et al.*, 2004)과 낙동강 (퇴적물 $25.1 \mu\text{g L}^{-1}$, 김 등, 2003)의 NP농도는 본 연구에서 적용한 처리농도 범위와 크게 다르지 않다. 본 실험에서 강한 독성을 보였던 NP는 여러 가지 수중생물-어류 ($17 \sim 3000 \mu\text{g L}^{-1}$, Kashiwada *et al.*, 2002; Matozzo *et al.*, 2003), 무척추동물 ($20 \sim 3000 \mu\text{g L}^{-1}$, Bettinetti *et al.*, 2002; Matozzo *et al.*, 2003), 동물플랑크톤 ($65 \sim 85 \mu\text{g L}^{-1}$, Tanaka and Nakanishi, 2002) 등에 대하여 비교적 낮은 독성 (LC_{50})을 갖는다. 다만 하절기를 중심으로 한강에서 남조 *Microcystis* (Han *et al.*, 1995)과 저온기 낙동강 *Stephanodiscus* 대발생 (Ha *et al.*, 2002)을 감안한다면, 0.10 ppm 이상의 현장 NP농도에서도 조류 성장이 억제되지 않은 것은 단일 배양주를 이용한 실내 실험과 자연수중의 식물플랑크톤과의 억제에 대한 감수성의 차이로 사료되며, 따라서 현장수에 존재하는 다양한 수중생물들의 간섭에 의해 특정조류가 받는 영향은 단일

배양주보다 크게 감소될 것으로 판단되었다.

Diethylhexyl phthalate (DEHP)는 *M. aeruginosa* 및 *S. hantzschii*의 성장시기 및 처리농도에 상관없이 독성효과는 주지 않았으며, 오히려 고농도 (3.00 ppm) 처리시 대조군보다 10% 이상 조류성장을 촉진하였다. 실험에 사용된 DEHP농도는 어류를 포함한 수서곤충 *Chironomus* (Meregalli *et al.*, 2001; 광과 이, 2005)보다 10~100배 이상 높은 수준으로서 DEHP가 자연계에 노출됨으로서 상위 및 최종소비자들의 성장은 억제되는 반면, 1차 생산자인 식물플랑크톤이나 내성이 강한 생물들의 대발생을 일으켜 결국 수서생태계를 교란할 것으로 사료된다. 특히 DEHP처리에 의한 조류의 성장 촉진은 지금까지 조류대발생이 주로 cultural eutrophication에 의한 수중내 증가된 영양물질 (N, P, Si)이나 환경요인 (빛, 온도, 바람)에 의해서 유도된다는 단순한 영양론적 해석에서 벗어나 수계에 유입된 EDs가 1차 생산자인 식물플랑크톤 위인자들의 성장억제를 통한 포식압 회피 및 성장유도 등의 과정을 거쳐 지속적인 조류대발생을 유도할 수 있다는 점에서 의미가 크다. 따라서 EDs가 수서생태계에 미치는 영향을 정확하게 이해하기 위하여 1) 수중내 EDs 분포 및 식물플랑크톤과의 상관성, 2) 수중 및 생물요인-박테리아, 식물플랑크톤, protozoa, 동물플랑크톤, 고등동물 체내의 EDs 조사를 통한 생태학적 농축과정의 규명, 그리고 3) DEHP와 같은 조류성장 요인들에 의한 수서생태계 교란형태 조사 등 기초생태학적 연구가 동반되어야 할 것으로 사료되었다.

최근의 EDs에 관한 연구는 주로 수중생물, 특히 조개와 어류 등의 성 이상이나 독성 등에 집중되어 있으며 (Gray and Metcalfe, 1997; Gimeno *et al.*, 1998; Schwaiger *et al.*, 2000; Yadetie and Male, 2002), 식물플랑크톤과 같은 하등생물에 대한 연구는 극히 적은 편이다. 앞에서 언급한 바와 같이 국내외의 NP, DEHP의 수중 분포가 지역이나 나라에 따라 매우 큰 범위를 나타내지만, 이들이 비록 저농도로 수계에 노출되더라도 먹이연쇄과정을 거쳐 상위 또는 최종소비자의 체내에 고농도로 축적됨으로서 피해현상이 일어나는게 일반적이다. 본 실험에서 NP는 DEHP에 비해 동일농도에서 뚜렷한 조류성장 저해를 가져왔으나, 수중내 대형어류, 무척추동물 등을 포함한 타가영양 생물들에게 동일한 형태의 독성을 보일지는 미지수다. 뿐만 아니라 본 실험에서는 단일 배양주를 이용한 실내실험의 결과로서 현장수에 분포하는 다양한 생물들의 독성반응을 단순히 추정하기는 매우 어렵고, 따라서 현장수에 대한 실험이 필요하다. 특히 EDs가 “생물체나 그 자손에 부정적 건강장애를 주고 내분비 기능의 변화

를 초래하는 외인성 물질”로 규정되고 있으나 (SIDS, 1995; OECD, 1996; EPA, 1998), 작용면에서 본 실험결과 처럼 수중에 노출될 경우, 포식압을 줄임으로써 조류대발생의 가능성을 시사하고 있으나 실제 동물의 내분비계 장애요인으로 작용되는 것이 과연 먹이연쇄과정에 의하여 동물장기내 축적되는 과정을 거치는 것인지, 수중내 분포하는 저농도 EDs가 수중동물에게 장기간 직접 섭취됨으로 체내 농도가 증가되는지, 아니면 두 가지 요인이 혼합된 것인지 아직 정확하지 않다. 따라서, 몇 가지 요소로 구성된 단순계 (microcosm)나 중형생태계 (mesocosm)와 같은 현장수를 이용한 체계적인 조사와 실내연구가 필요하다고 하겠다.

적 요

내분비계 장애물질이 식물플랑크톤의 개체군 성장에 미치는 영향을 이해하고자 부영양 호수 및 하천에서 우점하는 남조 *M. aeruginosa*와 규조 *S. hantzschii*를 성장 시기에 따라 자연수 농도의 10~1,000배까지 다양한 농도로 투여하고 현존량 및 형태적 변화를 조사하였다. Nonylphenol (NP)을 조류세포 배양초기나 대수성장기에 처리하였을 경우 농도 0.01 ppm 이상에서 곧바로 성장 억제 현상을 보였으며, 남조 *M. aeruginosa*가 규조 *S. hantzschii*보다 더 심한 억제현상을 보였다. 이에 반해 diethylhexyl phthalate (DEHP)의 경우에는 조류세포 성장시기나 처리농도에 상관없이 성장 억제 현상은 관찰되지 않았고, 실험 중 가장 높은 처리농도인 3.00 ppm 처리군에서는 오히려 대조군보다 10% 이상의 높은 성장을 나타냈다. 조류세포의 형태적 변화는 NP를 처리한 모든 실험군에서 조류세포의 색소체 변화가 뚜렷하였으며, *M. aeruginosa* 세포의 경우, 크기가 점차 작아지는 특징을 보였다. 결국 DEHP의 자연계로의 유출은 식물플랑크톤을 섭식하는 섬모충이나 동물플랑크톤의 성장을 억제하거나 *M. aeruginosa* 및 *S. hantzschii*와 같은 유해조류의 성장을 촉진함으로써 부영양수역 조류대발생의 중요한 요인으로 작용될 수 있음을 시사해주고 있다.

사 사

본 연구는 한국학술진흥재단 중점연구소 사업 (KRF 2003-2005-C 00022)에 의하여 수행하였음.

인 용 문 헌

- 곽인실, 이원철. 2005. 내분비교란 물질에 노출된 *C. plumosus* (장수갈다구)의 하순기절기형성. 한국육수학회지 **38**: 11-17.
- 김만영. 1998. 플라스틱과 내분비교란물질: 내분비교란물질 관련 국내의 동향과 소비자 안전 확보 대책. 강원대 부속 환경연구소 학술심포지엄. 21-40.
- 김성철, 박정길, 조현서, 이대인. 2003. 낙동강 퇴적물의 Nonylphenol과 Bisphenol A 오염도 평가. 한국물환경학회지 **19**: 357-366.
- 김중훈. 2002a. 물 시료 중 Octylphenol, Nonylphenol, Di(2-ethylhexyl)phthalate의 연구. *Analytical Science & Technology* **15**: 172-179.
- 김중훈. 2002b. 하수슬러지 중 Nonylphenol, Octylphenol, Di(2-ethylhexyl)phthalate의 연구. *Analytical Science & Technology* **15**: 451-458.
- Ahel, M., W. Giger and C. Schaffner. 1994. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-II. Occurrence and transformation in rivers. *Water Res.* **28**: 1143-1152.
- Amaral Mendes, J.J. 2002. The endocrine disruptors: a major medical challenge. *Food Chem. Toxicol.* **40**: 781-788.
- Beaker, G., H.M. Canter and G.H.M. Jaworski. 1988. Zoospores ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* Canter and *Z. planktonicum* Canter, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa* Hassall. *Can. J. Bot.* **66**: 1054-1067.
- Bettinetti, R., D. Cuccato, S. Galassi and A. Provini. 2002. Toxicity of 4-nonylphenol in spiked sediment to three populations of *Chironomus riparius*. *Chemosphere.* **46**: 201-207.
- Blackburn, M.A. and M.J. Waldock. 1995. Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales. *Water Res.* **29**: 1623-1629.
- Dunier, M. and A.K. Siwicki. 1993. Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish: a review. *Fish Shellfish Immunol.* **3**: 423-438.
- EPA. 1998. Research Plan for Endocrine Disruptors.
- Eriksson, C. and H. Burton. 2003. Origins and biological accumulation of small plastic particles in fur seals from Macquarie Island. *AMBIO* **32**: 380-384.
- Ferrara, F., F. Fabietti, M. Delise, A.P. Bocca and E. Funari. 2001. Alkylphenolic compounds in edible mollusks of the Adriatic sea (Italy). *Environ. Sci. Technol.* **35**: 3109-

- 3112.
- Fromme, H., T.K. Kuchler, T. Otto, K. Pilz, J. Muller and A. Wenzel. 2002. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Res.* **36**: 1429–1438.
- Giger, W., P.H. Brunne and C. Schaffner. 1984. 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Science* **225**: 623–625.
- Gimeno, S., H. Komen, A. Gerritsen and T. Bowmer. 1998. Feminization of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during sexual differentiation. *Aquatic Toxicol.* **43**: 77–92.
- Gray, M.A. and C.D. Metcalfe. 1997. Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**: 203–218.
- Guruge K.S. and S. Tanabe. 2001. Contamination by persistent organochlorines and butyltin compounds in the West Coast of Sri Lanka. *Mar. Pollut. Bull.* **42**: 179–186.
- Ha, K., M.H. Jang and G.J. Joo. 2002. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton communities along a regulated river system, the Nakdong River, Korea. *Hydrobiologia* **470**: 235–245.
- Han, M.-S., Y. YAug, J.K. Ryu, K.I. Yoo and Y.K. Choi. 1995. Ecological studies on Pal'tang River-Reservoir system in Korea 2. Changes in phytoplankton community structure. *Kor. J. Limnol.* **28**: 335–344.
- Harino, H., M. Fukushima and S. Kawai. 2000. Accumulation of butyltin and phenyltin compounds in various fish species. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **39**: 13–19.
- Kashiwada, S., H. Ishikawa, N. Miyamoto, Y. Ohnishi and Y. Magara. 2002. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Res.* **36**: 2161–2166.
- Kwak, I.S. and W.C. Lee. 2004. Detecting point for ecological disruptions and developmental delay exposure to DEHP in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). *Kor. J. Environ. Biol.* **22**: 321–328.
- Li, D.H., M.S. Kim, W.J. Shin, U.H. Yim, J.R. Oh and Y.J. Kwon. 2004. Seasonal flux of nonylphenol in Han River, Korea. *Chemosphere.* **56**: 1–6.
- Mann, R.M. and J.R. Bidwell. 2000. Application of the FETAX protocol to assess the developmental toxicity of nonylphenol ethoxylate to *Xenopus laevis* and two Australian frogs. *Aquatic Toxicol.* **51**: 19–29.
- Manning, C.S., T.F. Lytle, W.W. Walker and J.S. Lytle. 1999. Life-cycle toxicity of bis(tributyltin) oxide to the sheepshead Minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **37**: 258–266.
- Matozzo, V., M. Deppieri, V. Moschino and M.G. Marin. 2003. Evaluation of 4-nonylphenol toxicity in the clam *Tapes philippinarum*. *Environ. Res.* **91**: 179–185.
- Meregalli, G., L. Pluymers and F. Ollevier. 2001. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-n-nonylphenol. *Environ. Pollution.* **111**: 241–246.
- Nakamura Y., Y. Yagi, I. Tomita and K. Tsuchikawa. 1979. Teratogenicity of di-(2-ethylhexyl)phthalate in mice. *Toxicol. letters.* **4**: 113–117.
- Naylor, C.G. 1992. Alkylphenol ethoxylates in the environment. *J. Offic. Anal. Chem. Soc.* **69**: 695–703.
- OECD. 1996. 24th Joint Meeting of the Chemicals Group and Management Committee (II).
- Schwaiger, J., O.H. Spieser, C. Bauer, H. Ferling, U. Mallow, W. Kalbfus and R.D. Negele. 2000. Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicol.* **51**: 69–78.
- Sibley, P.K., K.R. Solomon, S. Mabury and J. Sall. 2000. Microcosm assessment of the environmental fate and biological effect of nonylphenol. *Guelph Turfgrass Institut. Annual Res. Report.*
- SIDS. 1995. for High Production Volume Chemicals.
- Soto, A.M., H. Justicia, J.W. Wray and C. Sonnenschein. 1991. P-nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from modified polystyrene. *Environ. Health Perspect* **102**: 380–383.
- SPSS Inc. 2003. SPSS Base 12.0 for window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL., 60611.
- Sugiura, K. 1996. The use of an aquatic microcosm for pollution effects assessment. *Water Res.* **30**: 1801–1812.
- Tanaka, Y. and J. Nakanishi. 2002. Chronic effects of p-nonylphenol on survival and reproduction of *Daphnia galeata*: multigenerational life table experiment. *Institute of Environ. Sci. Technol.* **29**: 487–492.
- Traunspurger, W., H. Schafer and A. Femde. 1996. Comparative investigation of the effect of herbicide on aquatic organism in single species tests and aquatic microcosms. *Chemosphere.* **33**: 1129–1141.
- Tsuda, T., A. Takino, K. Muraki, H. Harada and M. Kojima. 2001. Evaluation of 4-nonylphenols and 4-tert-octylphenol contamination of fish in rivers by laboratory accumulation and excretion experiments. *Water Res.* **35**: 1786–1792.
- Watanabe, M.M. and M. Hiroki. 1997. *NIES-Colletion: list of strains, Microalgae and Protozoa*, 5th edn. Microbial Culture Collection Institute for Environmental Studies, Tsukuba. p. 140.
- Yadatie, F. and R. Male. 2002. Effects of 4-nonylphenol on

gene expression of pituitary hormones in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquatic Toxicol.* **58**: 113–129.

Yasuno, M., Y. Sugaya, K. Kaya and M.M. Watanabe. 1998. Variations in the toxicity of *Microcystis* species to

Moina macrocopa. *Phycol. Res.* **46**: 31–36.

(Manuscript received 20 May 2005,
Revision accepted 9 August 2005)