

대복 *Gomphina veneriformis*의 성비, 성 성숙, intersex 및 지방갈색소 침적을 이용한 nonylphenol의 위해성 평가

이정식 · 박정준*

전남대학교 수산해양대학 수산생명의학과

Risk Assessment of Nonylphenol using Sex Ratio, Sexual Maturation, Intersex and Lipofuscin Accumulation of the Equilateral Venus *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Jung Sick LEE and Jung Jun PARK*

Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science
Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

Nonylphenol (NP) is an estrogen-mimicking compound or xenoestrogen. This study investigated the effects of nonylphenol on the reproductive status of the equilateral venus *Gomphina veneriformis*. The experiment lasted 24 weeks. Experimental groups consisted of a control and three nonylphenol exposures (1.0, 2.5, and 5.0 µg NP/L). Mortality did not differ significantly between the control and the exposure groups. The sex ratio (F:M) was 1:1 in nature and 1:1.03 in the control group. However, it changed to 1:3.5 with 5.0 µg NP/L exposure. Gonad maturity in females was higher in the nonylphenol exposure groups than in the control group. By contrast, in males, it was lower in the nonylphenol exposure groups. Intersex individuals constituted 0% in nature, 3.08% in the control group, and 23.6% in the group exposed to nonylphenol, with female characteristics more prevalent than male. As the concentration of nonylphenol increased, the accumulation of lipofuscin increased in the mid-gut gland.

Key words: *Gomphina veneriformis*, Nonylphenol, Sex ratio, Gonad maturity, Intersex, Lipofuscin

서 론

인공적으로 합성된 화학물질 또는 중금속 가운데 생태계로 배출되어 인간과 야생 생물들의 내분비계 작용기작에 비정상적인 영향을 미치는 물질을 내분비계장애물질 (endocrine disrupting chemicals: EDCs)이라고 한다 (Munkittrick and Van Der Kraak, 1999). EDCs는 육상동물은 물론 수서생물들의 행동, 생리, 생식 등에 나쁜 영향을 미쳐 최종적으로는 생태계에서 군집의 감소를 초래하기도 한다 (Mori et al., 1969; Lagadic et al., 1994).

EDCs 가운데 nonylphenol은 소수성 화합물질로 수중에서 쉽게 분해되지 않고 부유입자에 흡착되어 저층에 퇴적되며 (Sundaram and Szeto, 1981), 비이온화 계면활성제로서 생물체 내에서 암컷의 특징을 유발하는 물질로 알려져 있다 (Greak and Layman, 1989; Tolls et al., 1994; Khim et al., 1999). Nonylphenol에 의한 해양 연체동물의 생식이상은 굴 *Crassostrea gigas* (Mori et al., 1969), 우럭 *Mya arenaria*

(Gauthier-Clerc et al., 2002), zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Quinn et al., 2004) 등에서 보고된 적이 있다.

EDCs에 의한 해양 연체동물의 영향에 관한 기존의 연구들에서 오염원에 의한 생물지표로서 생식저해, 성비 불균형, imposex, intersex 그리고 지방갈색소 (lipofuscin) 축적 등이 제시되어져 왔다 (Krishnakumar et al., 1990, 1994; Nimrod and Benson, 1998; Gimeno et al., 1998; Servos, 1999; Horiguchi et al., 2000; Sukhotin et al., 2002). 하지만 우리나라에서 해양 연체동물에 이러한 생물지표를 적용하여 nonylphenol의 위해성을 평가한 연구는 찾아보기 힘들다.

대부분의 백합과 이매패류들은 주로 저질 내에 서식하면서 여과섭식에 의해 먹이를 섭취하므로 오염물질은 체내에 쉽게 축적되지만 체내에서의 해독과 체외방출은 낮기 때문에 해양 저질과 수질의 오염상태를 알아보기 위한 지표종으로 많이 사용되고 있다 (Siah et al., 2003).

본 연구에서는 백합과 이매패류인 대복을 nonylphenol에 장기간 노출 시켰을 때, 이러한 생물학적 지표들의 변화를 확인하고 이를 통하여 nonylphenol의 위해성을 알아보고자 하였다.

*Corresponding author: jungjun515@hanmail.net

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 대복 *Gomphina veneriformis*은 2004년 10월 말에 동해안 주문진 연안에서 채집한 각장 3.5-4.0 cm 크기였으며, 분석에 사용된 개체 수는 261개체였다.

방법

사육조건

본 실험에 사용된 수조는 유리로 제작된 30 L의 지수형 순환여과식 수조로서 채집지역의 모래로 두께 10 cm 정도의 저질을 제공하였다. 실험개체들을 채집 후, 1주 동안 순치시킨 다음 노출실험을 실시하였다. 노출실험 기간은 Park et al. (2003)의 보고에 따라 대복의 생식소 발달상태가 비활성기인 2004년 11월 14일부터 24주였다. 각 농도구당 노출된 개체들은 각각 53개체였다. 실험기간 동안 광주기와 온도는 자연조건으로 설정하였으며, 이 기간 동안 사육수의 평균 수온은 15.3°C (13.3-17.9°C)였다. 먹이는 *Isochrysis galbana*를 개체당 1-2×10⁶ cell/mL씩 3일에 1회 공급하였고, 실험 중 실험생물들의 분비물로 인한 물리·화학적 변화와 사육수의 nonylphenol 농도변화를 최소화하기 위해 사육수는 2일에 한 번씩 사육수의 2/3를 교환하였다.

시험용액 및 실험구

실험에 사용된 시험용액은 C₁₅H₂₄O (Nonylphenol, Aldrich, USA)를 표준용액으로 만든 다음, 실험농도 별로 희석하여 조제하였다. 실험구는 nonylphenol이 인위적으로 첨가되지 않은 여과해수를 대조구로 정하고, 노출구의 농도는 예비실험 결과 영향농도를 기준으로 각각 1.0, 2.5, 5.0 µg NP/L로 설정하였다.

생존율

대복의 사망여부 판단은 수조 내에서 저질 밖으로 나와 폐각을 벌리고 있는 개체들을 사망한 개체로 판단하였다. 사망개체는 매일 오전 오후 각 1회씩 확인하여 전체 실험개체수에서 누적사망 개체 수를 뺀 값을 생존율로 환산하였다.

조직학적 분석

실험생물은 실험 종료시점에 측정형질을 계측하고, 해부하여 생식소를 포함한 내장낭의 일부를 Bouin's solution에 고정하여 파라핀 절편법에 의해 두께 4-6 µm로 연속절편하여 조직표본을 만들었다. 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색을 실시하였다. 그리고 증장전에서 지방갈색소 관찰을 위하여 각 실험구당 15개체씩을 무작위로 선별하여 Long Ziehl-Neelsen 염색을 시행하였으며, 지방갈색소의 분포비율은 화상분석장치 (IMT, Visus, USA)를 이용하여 분석하였다.

생식소 발달단계

대복의 생식소 발달단계는 Fig. 1과 같이 암·수 각각 5단계 (비활성기, 초기활성기 I, 초기활성기 II, 초기활성기 III, 후기

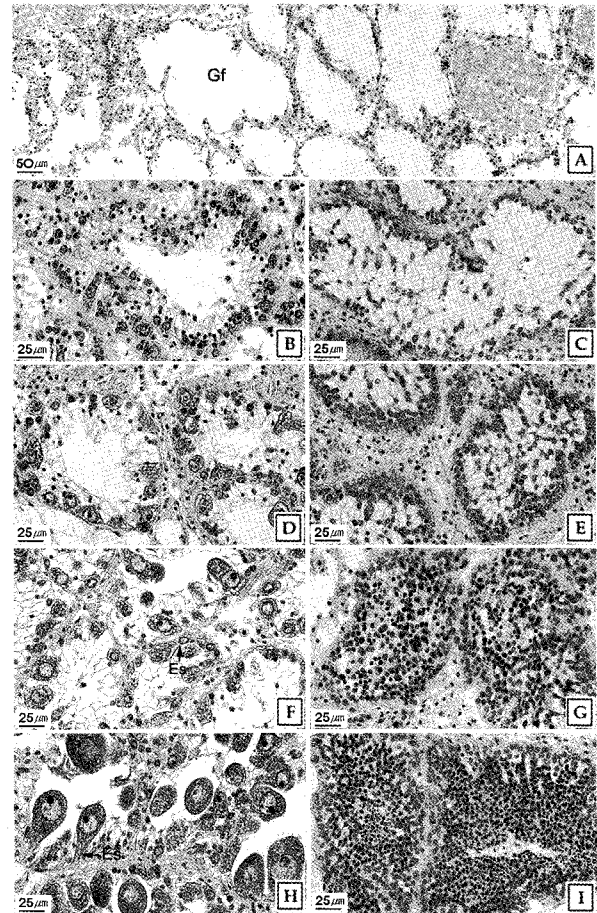


Fig. 1. Photomicrographs on the gonadal development of the equilateral venus *Gomphina veneriformis*. A, Inactive stage; B, Early active stage I of female. Oogonia appear along the oogenic follicle wall; C, Early active stage I of male. Showing the spermatogonia near the spermatogenic follicle; D, Early active stage II of female. Note proliferation of oogonia along the oogenic follicle; E, Early active stage II of male. Spermatogonia occur the spermatogenic follicle; F, Early active stage III of female, showing the oocytes connected by the egg stalk (Es) to the oogenic follicle; G, Early active stage III of male. A number of spermatozoa and spermatids identified in the lumen; H, Late active stage of female; I, Late active stage of male; Gf, gamatogenic follicle.

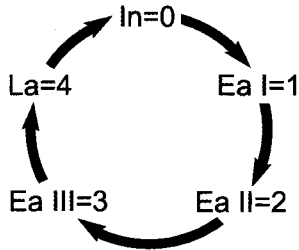
활성기)로 구분하였다.

비활성기 (Inactive stage: In)는 조직학적으로 암·수 구별이 어려운 상태이다 (Fig. 1A). 초기활성기 I (Early active stage I: Ea I)은 암·수 모두 생식세포형성 소낭 벽이 비활성기 보다 두꺼워졌다. 암컷의 난소소낭 벽에는 난원세포들과 직경 10 µm 내외의 난모세포들이 1-2층으로 배열된 상태이다 (Fig. 1B). 수컷의 정소소낭 벽에는 소수의 정원세포들이 존재하고 있었다 (Fig. 1C). 초기활성기 II (Early active stage II: Ea II)는 암컷의 경우, 난병이 미발달된 직경 약 20 µm의 난모세포들이 난소소낭 벽에서 1-2층으로 존재하고 있었다 (Fig. 1D). 수컷의 정소소낭에서는 정원세포들과 정모세포

들이 내강 쪽으로 발달하고 있었다 (Fig. 1E). 초기활성기 III (Early active stage III: Ea III)은 암컷의 경우, 직경 30 μm 내외의 난모세포들이 난병의 발달과 함께 소낭 벽에서 소낭의 내강으로 발달하기 시작하였다 (Fig. 1F). 수컷에서는 정소 소낭 내강을 대부분의 정모세포들과 일부 정세포들이 점유하고 있었다 (Fig. 1G). 후기활성기 (Late active stage: La)의 발달단계에서는 암컷의 경우, 소낭의 내강에서 난병이 발달된 장경 40~50 μm 크기의 난모세포들을 관찰할 수 있었으며, 이들 난모세포들은 소낭 내강의 약 70% 이상을 차지하고 있었다 (Fig. 1H). 수컷에서 소낭 내강은 대부분의 정세포와 일부 정자들로 채워져 있었다 (Fig. 1I).

생식소지수 (Gonad index: GI)

GI는 Fig. 2와 같이 Eversole (1997)의 방법을 변형하여 5단계의 생식소 발달단계에 단계별 상수 (In=0, Ea I=1, Ea II=2, Ea III=3, La=4)를 부여한 후 전체의 합을 개체 수로 나누었다.



$$GI = \frac{\{(\text{Number of In} \times 0) + (\text{Number of Ea I} \times 1) + (\text{Number of Ea II} \times 2) + (\text{Number of Ea III} \times 3) + (\text{Number of La} \times 4)\}}{\text{Total number of individuals}}$$

Fig. 2. Scoring system used to rank different stage of gonadal development of the equilateral venus *Gomphina veneriformis*.

Intersex

Intersex는 생식소 조직표본 관찰 결과, 암컷에서 수컷의 생식세포 또는 수컷에서 암컷의 생식세포가 관찰되는 것을 기준으로 하였다 (Fig. 3).

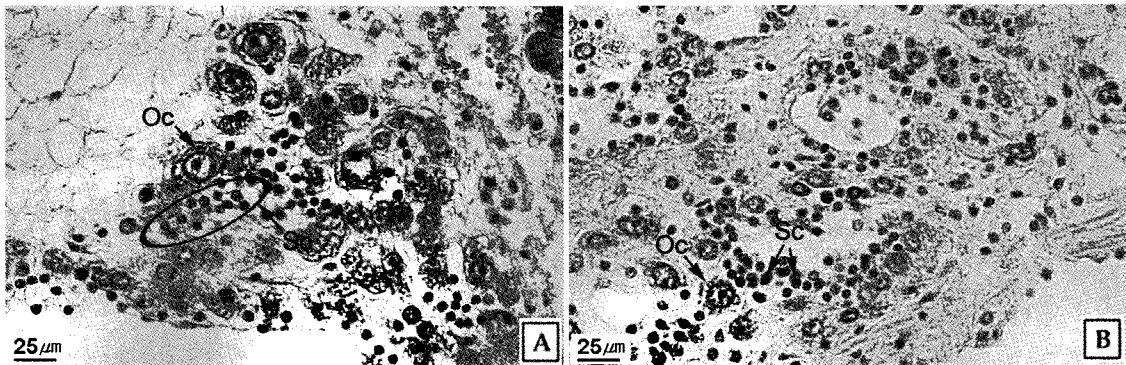


Fig. 3. Photomicrographs of intersex of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol. A, The spermatocytes (Sc) in the ovary of 2.5 μg NP/L; B, The oocyte (Oc) in the testis of 1.0 μg NP/L.

통계분석

통계처리는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 ANOVA *t*-test를 한 후 다중비교를 최소유의치검정으로 유의성 ($P < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

생존율

24주 노출 종료시점의 대조구와 노출구 (1.0, 2.5, 5.0 μg NP/L)에서 실험개체들의 생존율은 각각 94.3, 92.5, 90.6, 94.3%로 나타났다 (Fig. 4).

성 비

암컷에 대한 수컷의 성비는 자연대조구에서는 1:1로 조사되었다. 실험에 사용된 261개체 중에서 생식소 발달단계가 비활성기로 암·수 구별이 어려운 91개체를 제외한 170 (암: 74, 수: 96)개체를 분석한 결과, 실험실 대조구에서는 1:1.03으로 나타난 반면 가장 높은 노출구인 5.0 μg NP/L에서는 1:3.50으로 수컷의 비율이 높게 나타났다 (Fig. 5).

생식소 발달단계

생식소 발달단계는 암컷의 경우, 자연 대조구와 실험실 대조구에서는 각각 초기활성기 I (62.5, 77.4%)의 빈도가 가장 높았다. 1.0, 2.5, 5.0 μg NP/L의 노출구에서는 초기활성기 II (47.4, 47.1, 33.3%)의 빈도가 가장 높았으며, 초기활성기 III과 후기활성기는 나타나지 않았다 (Fig. 6). 수컷의 경우에는 1.0, 2.5, 5.0 μg NP/L의 노출구에서 초기활성기 I (57.1, 52.4, 75.0%)의 빈도가 가장 높았지만, 실험실 대조구에서는 초기활성기 II (51.5%)의 값이 가장 높았다. 초기활성기 III과 후기활성기는 나타나지 않았다 (Fig. 7).

생식소지수 (GI)

실험구별 GI는 암컷의 경우 1.0 μg NP/L 농도구에서 가장 높게 (1.32) 나타났으며, 대조구에 비해 노출구에서 높거나 유사하였다. 반면, 수컷의 경우에는 자연 대조구 (1.27)와 실험

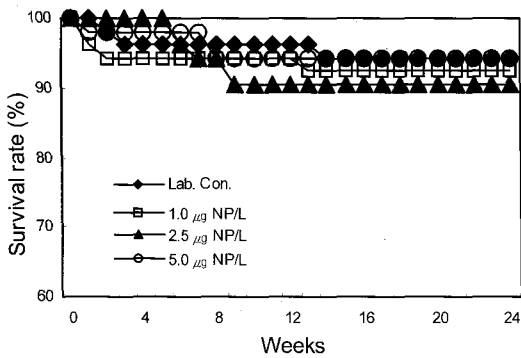


Fig. 4. Survival rate of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

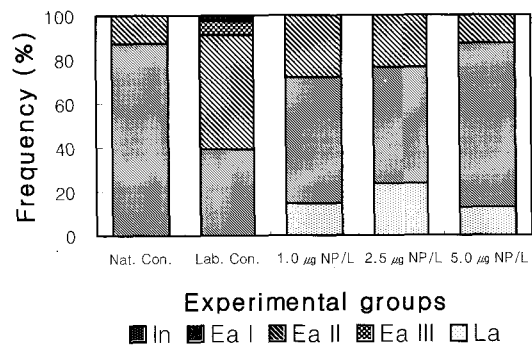


Fig. 7. Frequency of testicular development of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

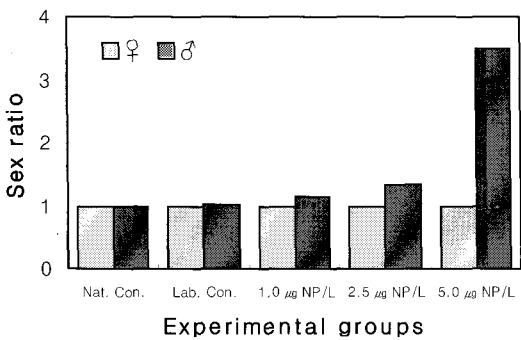


Fig. 5. Sex ratio of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

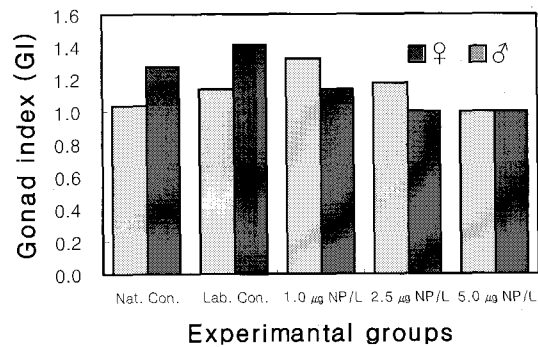


Fig. 8. Gonad index (GI) of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

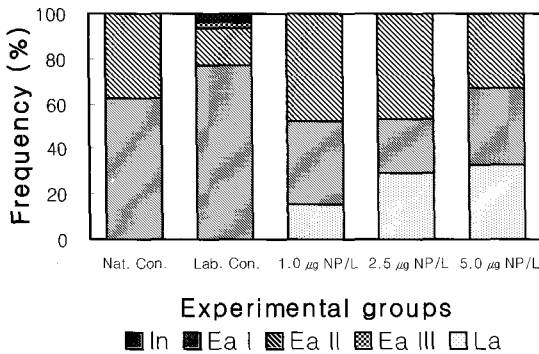


Fig. 6. Frequency of ovarian development of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

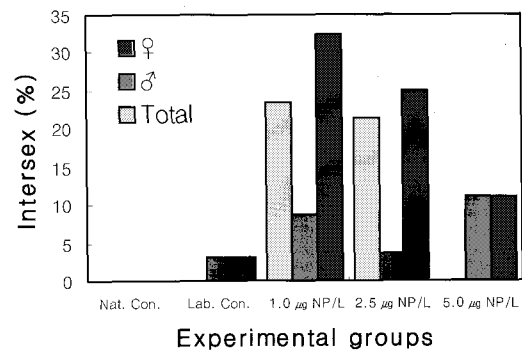


Fig. 9. Intersexuality of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol.

실 대조구 (1.41)에 비해 1.0, 2.5, 5.0 μg NP/L에서는 각각 1.14, 1.0, 1.0으로 낮은 값을 보였다 (Fig. 8).

Intersex

Intersex는 자연대조구에서는 관찰되지 않았으며, 실험실 대조구에서 3.08% (n=2/65)로 나타났다. 반면, nonylphenol 노출구에서는 23.6%의 출현율을 보였는데, 가장 낮은 농도구인 1.0 μg NP/L에서 32.35%, 2.5 μg NP/L에서 25.0%, 5.0 μg NP/L에서는 11.11%로 나타났다. Intersex가 관찰된 개체들 가운데 실험실 대조구의 경우 intersex는 수컷에서 관찰되었지만, 가장 높은 농도구인 5.0 μg NP/L에서 intersex는 모두 암컷에서

관찰되었다 (Fig. 9).

지방갈색소 (Lipofuscin)의 침적

중장선에서 지방갈색소는 적자색, 핵은 청색을 나타냈으며, 중장선의 상피층과 내강에서 관찰되었다 (Fig. 10). 자연 대조구와 실험실 대조구에서는 지방갈색소의 분포를 관찰할 수 없었으나 가장 낮은 NP 노출구인 1.0 μg NP/L에서는 0.19%의 점유율을 보였으며, 2.5 μg NP/L에서 0.21%, 5.0 μg NP/L에서는 1.29%로 nonylphenol의 농도가 증가 할수록 분포면적이 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 11).

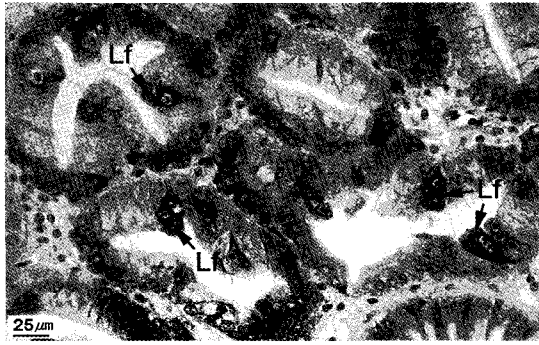


Fig. 10. Lipofuscin (Lf) in the mid-gut gland of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to 5.0 μg NP/L. Long Ziehl-Neelsen stain.

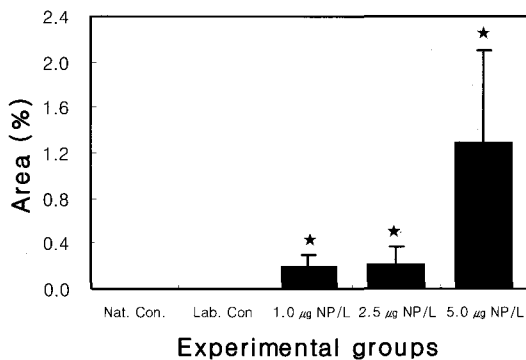


Fig. 11. Lipofuscin distribution in the mid-gut gland of the equilateral venus *Gomphina veneriformis* exposed to nonylphenol. Vertical bar, SD; ★, Significantly different from control (P<0.05).

고찰

Nonylphenol은 암컷화 특성이 강한 물질로서 다양한 수서동물에 생존, 생식 그리고 구조적 이상 등 여러가지 생물학적 이상현상을 유발하며 (Nimrod and Benson, 1998; Gimeno et al., 1998; Servos, 1999; Ackermann et al., 2002), 그로 인해 먹이포획, 섭이, 호흡, 생식에 영향을 주기 때문에 최종적으로는 종의 감소를 초래하게 된다 (Gibbs and Byrne, 1986; Horiguchi et al., 2000).

다양한 종류의 내분비계장애물질 (endocrine disrupting chemicals: EDCs)은 수서생물의 생존과 성장에 영향을 미치게 된다. Nonylphenol에 50일 동안 노출된 zebra mussel *Dreissena polymorpha*의 경우, 노출 종료시점에서 0.1 mg NP/L의 농도구에서 생존율은 100%였다. 1.0 mg NP/L의 농도구에서는 실험 종료시점에서 사망률이 다소 증가하였지만 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 5.0 mg NP/L의 농도에서는 노출 25일째, 10.0 mg NP/L의 농도에서는 노출 15일째 모든 개체가 사망하였다. 50일 동안의 LC₁₀은 0.68 mg NP/L이었다 (Quinn et al., 2006).

EDCs는 수서동물의 성비, 생식소 발달 등 생식에 영향을 미치게 되는데, 그 가운데 이때패류의 성비의 변화에 관한

보고에서 바지락 *Tapes philippinarum*의 경우 대조구에서는 암:수 성비가 1:0.90였다. 하지만 nonylphenol 0.025, 0.05, 0.1 mg NP/L 농도구에서는 각각 1:0.77, 0.64, 0.66으로 암컷의 비율이 높게 나타났지만, 가장 높은 농도구인 0.2 mg NP/L에서는 1:1.66으로 수컷의 비율이 높게 나타났다 (Matozzo and Marin, 2005). 또 다른 연구결과, 캐나다 Saint Lawrence 강 하구 조간대의 유기주석 농도가 높은 지역에서 서식하는 우럭 *Mya arenaria*의 경우에는 수컷이 63%를 차지한다고 보고되었다 (Gagné et al., 2003). 그리고 대북 *Gomphina veneriformis*을 아연 (Zn)에 24주 동안 노출시킨 실험에서 대조구의 경우 성비는 1:0.97이었으나 아연 노출구의 경우 0.64 mg Zn/L에서는 1:1.13, 1.07 mg Zn/L에서는 1:1.74, 1.79 mg Zn/L에서는 1:2.69로 농도가 증가 할수록 수컷의 비율이 높아지는 경향을 보였다 (Ju, 2006).

본 연구 결과에서는 대조구와 노출구 실험개체들의 성비를 비교하였을 때, 자연 대조구와 실험실 대조구는 각각 1:1, 1:1.03으로 암컷과 수컷의 비율이 비슷하게 나타났지만, nonylphenol 농도가 증가함에 따라 수컷의 비율이 높아지는 경향을 보였는데, 특히 가장 높은 농도구인 5.0 μg NP/L에서는 1:3.50으로 나타났다.

PAH (500-4,500 ng PAH/g) (Martel et al., 1986)와 Hg (100 ng Hg/g), Pb (44-66 μg Pb/g), Zn (43-145 μg Zn/g), Cu (6-33 μg Cu/g) (Barbeau and Bougie, 1981)의 농도가 높은 오염지역에 서식하는 우럭 *Mya arenaria*은 비오염지역 (Blaise et al., 1996)에 서식하는 개체들보다 생식소 발달이 지연되어 비오염지역의 개체들이 성숙기 혹은 방란·방정기인 반면 오염지역의 개체들은 비활성기 혹은 활성기의 발달단계를 나타냈으며, 생식소중량지수 (GSI)도 암·수 모두 비오염지역 (6-9) 보다 오염지역 (2-4)에서 현저히 낮게 나타났다 (Gauthier-Clerc et al., 2002; Siah et al., 2003). Nonylphenol에 장기간 (115일) 노출된 zebra mussel *Dreissena polymorpha*의 수컷 생식소는 정자형성 소낭의 크기가 작아지고, 정원세포와 정모세포의 수가 감소하였으며, 소낭과 소낭 사이가 많이 벌어지는 현상을 나타냈다 (Quinn et al., 2004).

Horiguchi et al. (2000)은 비오염지역인 Tsushima에 서식하는 전복 *Haliotis madaka*을 유기주석 오염지역인 Jogashima로 옮겨와 7개월 동안 노출시킨 결과, 비오염지역과 오염지역 개체들의 생식소지수 (GI)는 매우 큰 차이를 보였다고 보고하였다.

본 실험에서 nonylphenol에 노출된 대북의 GI는 암컷의 경우 대조구 보다 높거나 유사한 반면, 수컷의 경우에는 모든 노출구에서 대조구 보다 낮게 나타났다. 생식소 발달단계는 암컷의 경우에는 대조구에 비해 노출구의 개체들에서 성숙기가 높은 비율을 보여 생식소 성숙을 유도하는 결과를 보였다. 하지만 수컷의 경우에는 대조구 보다 노출구에서 성숙기의 비율은 낮았고 초기활성기가 높은 비율을 보여 생식소 발달이 지연되는 결과를 보였다.

다양한 수중오염원에 의한 어류와 복족류 연체동물 등 다양한 수서동물에서 성적 형질의 변화가 보고되고 있다. 경골어류에서는 mosquitofish *Gambusia affinis*에서의 Intersex (Drysdale and Bortone, 1989)와 Japanese medaka *Oryzias latipes*에서 testis-ova (Gray and Metcalfe, 1997) 현상 등이 보고되었다. 그리고 유기주석에 의한 dog-whelk *Nucella lapillus* (Gibbs et al., 1988), 대수리 *Thais clavigera*와 두드럭고둥 *T. bronni* (Horiguchi et al., 1994), 대수리와 빨두드럭고둥 *T. luteostoma* (Kahng et al., 1996), *Haliotis madaka* (Horiguchi et al., 2000) 등에서 imposex 현상이 보고되고 있으며, 이러한 성적형질의 변화가 수중오염원의 영향에 대한 지표로 이용되고 있다 (Bortone and Davis, 1994; Munkittrick and Van Der Kraak, 1999).

본 연구에서도 대북 암컷의 생식소에서 수컷의 생식세포가 나타나거나 혹은 수컷의 생식소에서 암컷의 생식세포가 나타나는 현상을 Intersex로 판단하여 분석한 결과, 실험실 대조구에서는 3.08% (n=2/65)가 나타났으며, nonylphenol 노출구 전체에서 23.6%의 intersex 개체가 확인되었다. 이러한 본 연구 결과, 대북에서 intersex 현상은 수온, 염분도 변화 등의 서식환경의 변화에 따라 유도될 수 있는 것으로 생각되지만, 적어도 nonylphenol이 이러한 현상의 유발을 촉진하는 것으로 판단된다.

기존의 많은 연구에서 nonylphenol은 암컷화 특성이 강한 EDCs 가운데 하나로 보고되었다 (Soto et al., 1991; Tanghe et al., 1999; Pickford et al., 2003). 하지만, 본 연구결과에서는 성비나 Intersex에 관한 영향에서는 암컷화 보다는 수컷화 특성이 강한 것으로 나타났으며, 생식소 발달에 관한 영향에서는 암컷화 특성이 나타났다. 따라서 본 연구 결과로부터 nonylphenol이 이매패류의 생식에 미치는 암컷화 또는 수컷화 특성을 결론 내리기에는 어려울 것으로 판단되며, 추후 다양한 이매패류 중에 대하여 노출 농도의 세분화와 성호르몬의 분석 등 다양한 방법이 병행된 실험이 수행된 이후에 대북의 생식에 미치는 이들 물질의 특성에 관한 결론을 내릴 수 있을 것으로 생각된다.

지방갈색소 (Lipofuscin)는 지방의 색소용액으로 형성된 지방색소로서 육상척추동물에서와 마찬가지로 이매패류에서도 일반적으로 노화되면서 조직 내에서 농도가 증가한다 (Lomovasky et al., 2002).

이매패류에서 지방갈색소에 대한 연구는 대부분 중금속이나 저 산소상태로 인한 스트레스의 영향의 지표로 이용되고 있다 (Krishnakumar et al., 1990, 1994; Viarengo et al., 1990; Sarasquete et al., 1992; Hole et al., 1995; Sukhotin et al., 2002; Byrne and O'Halloran, 2001). 오염지역 (Cu: 198.0 mg Cu/kg Dw, Zn: 7,834.0 mg Zn/kg Dw, Hg: 15.4 mg Hg/kg Dw, Pb: 2,336 mg Pb/kg Dw)에 노출된 *Tapes semidecussatus*의 중장선에서 다량의 지방갈색소가 침적되었다 (Byrne and O'Halloran, 1999). 구리 농도가 높은 오염지역 (183.6±125.3 g Cu/g Dw)에

서 채집된 진주담치 *Mytilus edulis*에서 지방갈색소를 분석한 결과, 비오염지역의 개체에 비해 지방갈색소의 농도가 높았다 (Zorita et al., 2006).

진주담치를 EDCs로 알려져 있는 PAHs와 PCBs에 노출시킨 결과, PAHs의 경우 노출 30일 후 대조구에 비해 지방갈색소의 농도가 증가하였으며, PCBs의 경우에도 노출 6일 후에 지방갈색소의 농도가 증가하였다 (Krishnakumar et al., 1997).

본 연구에서도 nonylphenol에 농도의존적으로 중장선 내 지방갈색소의 분포가 높게 나타나 다른 연구들과 유사한 결과를 보였다.

참 고 문 헌

- Ackermann, G.E., J. Schwaiger, R.D. Negele and K. Fent. 2002. Effects of long-term nonylphenol exposure on gonadal development and biomarkers of estrogenicity in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat. Toxicol.*, 60, 203-221.
- Barbeau, C.R. and et J.-E. Côté Bougie, 1981. Temporal and spatial variations of mercury, lead, zinc, and copper in sediments of the Saguenay Fjord. *Can. J. Earth Sci.*, 18, 1065-1074.
- Blaise, C., J. Pellerin-Massicote and P.D. Hansen. 1996. Molluscan shellfish biomarker study of the Saguenay fjord, Quebec, Canada. Fourth European Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety, Metz., France, 25-28 August, Abstract C41.
- Bortone, S.A. and W.P. Davis. 1994. Fish intersexuality as indicator of environmental stress: Monitoring fish reproductive systems can serve to alert humans to potential harm. *BioSci.*, 44, 165-172.
- Byrne, P.A. and J. O'Halloran. 1999. Aspects of assaying sediment toxicity in Irish estuarine ecosystems. *Mar. Pollut. Bull.*, 39, 97-105.
- Byrne, P.A. and J. O'Halloran. 2001. The role of bivalve molluscs as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review. *Hydrobiologia*, 465, 209-217.
- Drysdale, D.T. and S.A. Bortone. 1989. Laboratory induction of inter-sexuality in the mosquitofish, *Gambusia affinis*, using paper mill effluent. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43, 611-617.
- Eversole, A.G. 1997. Gametogenesis of *Mercenaria mercenaria*, *M. campechiensis* and their hybrids. *Nautilus*, 110, 107-110.
- Gagné, F., C. Blaise, J. Pellerin, E. Pelletier, M. Douville, S. Gauthier-Clerc and L. Viglino. 2003. Sex alteration in soft-shell clams (*Mya arenaria*) in an intertidal zone of the Saint Lawrence River (Quebec, Canada). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 134, 189-198.

- Gauthier-Clerc, S., J. Pellerin, C. Blaise and F. Gagné. 2002. Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay Fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? *Comp. Biochem. Physiol. C*, 131, 457-467.
- Gibbs, P.E. and P.A. Byrne. 1986. Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 66, 767-777.
- Gibbs, P.E., P.L. Pascoe and G.R. Burt. 1988. Sex change in the female dog-whelk *Nucella lapillus* induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 68, 715-731.
- Gimeno, S., H. Komen, S. Jobling, J. Sumpter and T. Bowmer. 1998. Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during spermatogenesis. *Aquat. Toxicol.*, 43, 93-109.
- 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, 1082-1086.
- Greak, B.F. and P.L. Layman. 1989. Higher costs spur new detergent formulations. *Chem. Eng. News*, 23, 29-49.
- Hole, L.M., M.N. Moore and D. Bellamy. 1995. Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 122, 173-178.
- Horiguchi, T., H. Shiraishi, M. Shimizu, and M. Morita. 1994. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 74, 651-669.
- Horiguchi, T., N. Takiguchi, H.S. Cho, M. Kojima, M. Kaya, H. Shiraishi, M. Morita, H. Hirose, and M. Shimizu. 2000. Ovo-testis and disturbed reproductive cycle in the giant abalone *Haliotis madaka*: possible linkage with organotin contamination in a site of population decline. *Mar. Environ. Res.*, 50, 223-229.
- Ju, S.M. 2006. Biological response of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) with zinc bioaccumulation. MS Thesis, Yosu Nat'l Univ., Yeosu, Korea, pp. 50.
- Kahng, S.H., J.G. Je, J.R. Oh, W.J. Shim and J.H. Shim. 1996. Imposex of *Thais clavigera* and *T. luteostoma* (Muricidae) as an evidence of organotin pollution in Chinhae Bay. *Kor. J. Malacol.*, 12, 123-131.
- Khim, J.S., D.L. Villeneuve, K. Kannan, K.T. Lee, S.A. Snyder, C.H. Koh and J.P. Giesy. 1999. Characterization and distribution of trace organic contaminants in sediment from Masan Bay, Korea. *Inst. Analy. Environ. Sci. Technol.*, 33, 4199-4205.
- Krishnakumar, P.K., E. Casillas and U. Varanasi. 1994. Effect of environmental contaminants on the health of *Mytilus edulis* from Puget Sound, Washington, USA: 1. Cytochemical measures of lysosomal responses in the digestive cells using automatic image analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 106, 249-261.
- Krishnakumar, P.K., E. Casillas and U. Varanasi. 1997. Cytochemical responses in the digestive tissue of *Mytilus edulis* complex exposed to microencapsulated PAHs or PCBs. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 118, 11-18.
- Krishnakumar, P.K., P.K. Asokan and V.K. Pillai. 1990. Physiological and cellular responses to copper and mercury in the green mussel *Perna viridis* (Linnaeus). *Aquat. Toxicol.*, 18, 1630-174.
- Lagadic, L., T. Caquet and F. et Ramade. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment. Invertebrate population and communities. *Ecotoxicology*, 3, 193-208.
- Lomovasky, B.J., E. Morriconi, T. Brey and J. Calvo. 2002. Individual age and connective tissue lipofuscin in the hard clam *Eurhomalea exalbida*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 276, 83-94.
- Martel L., M.J. Gagnon, R. Masse, A. Leclerc and L. Tremblay. 1986. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Saguenay Fjord, Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37, 133-140.
- Matozzo, V. and M.G. Marin. 2005. Can 4-nonylphenol induce vitellogenin-like proteins in the clam *Tapes philippinarum*? *Environ. Res.*, 97, 43-49.
- Mori, K., T. Muramatsu and Y. Nakamura. 1969. Effect of steroid on oyster. III. Sex reversal from male to female in *Crassostrea gigas* by estradiol-17 β . *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35, 1072-1076.
- Munkittrick, K.R. and G. Van Der Kraak. 1999. Appropriate uses of physiological techniques for endocrine studies. In: Standardization of Biomarkers for Endocrine Disruption and Environmental Assessment, 8th Vol., Environmental Toxicology and Risk Assessment, Henshel, D.S., M.C. Black and M.C. Harrass, eds. ASTM, West Conshohocken, pp. 95-118.
- Nimrod, A.C. and W.H. Benson. 1998. Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquat. Toxicol.*

- 44, 141-156.
- Park, J.J., J.Y. Lee, J.S. Lee and Y.J. Chang. 2003. Gonadal development and gametogenic cycle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). J. Kor. Fish. Soc., 36, 352-357.
- Pickford, K.A., E. Thomas-Jones, B. Wheals, C.R. Tyler and J.P. Sumpter. 2003. Route of exposure affects the oestrogenic response of fish to 4-*tert*-nonylphenol. Aquat. Toxicol., 65, 267-279.
- Quinn, B., F. Gagné, C. Blaise, M.J. Costello, J.G. Wilson and C. Mothersill. 2006. Evaluation of the lethal the sub-lethal toxicity and potential endocrine disrupting effect of nonylphenol on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). Comp. Biochem. Physiol. C, 142, 118-127.
- Quinn, B., F. Gagné, M. Costello, C. McKenzie, J. Wilson and C. Mothersill. 2004. The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). Aquat. Toxicol., 66, 297-292.
- Sarasquete, M.C., M.L. Gonzales de Canales and S. Gimeno. 1992. Comparative histopathological alterations in the digestive gland of marine bivalves exposed to Cu and Cd. Eur. J. Histochem., 36, 223-232.
- Servos, M.R. 1999. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. Water Qual. Res. J. Can., 34, 123-177.
- Siah, A., J. Pellerin, J.-C. Amiard, E. Pelletier and L. Viglino. 2003. Delayed gametogenesis and progesterone levels in soft-shell clams (*Mya arenaria*) in relation to in situ contamination to organotins and heavy metals in the St. Lawrence River (Canada). Comp. Biochem. Physiol. C, 135, 145-156.
- Soto, A.M., H. Justicia, J.W. Wray and C. Sonnenschein. 1991. *p*-Nonylphenol: An estrogenic xenobiotic released from modified polystyrene. Environ. Health Perspect., 92, 167-173.
- Sukhotin, A.A., D. Abele and H.O. Pörtner. 2002. Growth, metabolism and lipid peroxidation in *Mytilus edulis* L.: age and size effects. Mar. Ecol. Prog. Ser., 226, 223-234.
- Sundaram, K.M.S. and S. Szeto. 1981. The dissipation of nonylphenol in stream and pond water under simulated field conditions. J. Environ. Sci. Health B, 16, 767-776.
- Tanghe, T., G. Devriese and W. Verstraeta. 1999. Nonylphenol and estrogenic activity in aquatic environmental samples. J. Environ. Qual., 28, 702-707.
- Tolls, J., P. Kloepper-Sams and D.T.H.M. Sijm. 1994. Surfactant bioconcentration - A critical review. Chemosphere, 29, 693-719.
- Viarengo, A., L. Canesi, M. Pertica, G. Poli, M.N. Moore and M. Orunesu. 1990. Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. Comp. Biochem. Physiol. C, 97, 37-42.
- Zorita, I., M. Ortiz-Zarragoitia, M. Soto and M.P. Cajaraville. 2006. Biomarkers in mussels from a copper site gradient (Visnes, Norway): An integrated biochemical, histochemical and histological study. Aquat. Toxicol., 78S, S109-S116.

2006년 10월 31일 접수

2007년 2월 2일 수리