

4-*tert*-octylphenol에 노출된 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus s.l.*의 발생지연 현상

방 현 우, 이 원 철¹, 꺾 인 실^{*}

전남대학교 해양기술학부, ¹한양대학교 생명과학과

Developmental Delay Effect of Harpacticoid Copepod, *Tigriopus japonicus s.l.* Exposure to 4-*tert*-octylphenol

Hyun Woo Bang, Wonchoel Lee¹ and Inn-Sil Kwak^{*}

Division of Marine Technology, Chonnam National University

¹Department of Life Science, Hanyang University

ABSTRACT

The ecotoxicological effects of 4-*tert*-octylphenol were observed on Harpacticoid copepoda *Tigriopus japonicus s.l.* gathered and cultured from tidal pool of Korean coast. There were no significant differences in survival rate (except 10 µg/L; 70.00%) and sex ratio (except 30 µg/L) on *T. japonicus s.l.* exposed to 4-*tert*-octylphenol. However, 4-*tert*-octylphenol induced developmental delay (copepodite emergence day and adult male emergence day) and retardation of first brooding day of adult female. Moreover the body size and biomass decreased at 4-*tert*-octylphenol exposure. As a result, detailed life-cycle research of *T. japonicus s.l.* may yield potential bioindicators for environmental monitoring and assessment.

Key words : 4-*tert*-octylphenol, endocrine disrupter, copepod, *Tigriopus japonicus s.l.*, developmental delay

서 론

1996년 3월 미국에서 출판된 Theo Colborn 등의 “도둑맞은 미래 (Our Stolen Future)”를 통해 일반에 널리 알려지게 된 내분비계 교란물질 (Endocrine disrupting chemicals)은 일반적으로 “생물체 내에서 정상적으로 생성·분비되는 물질이 아니라, 인간의 다양한 인위적 활동에 의해 생성된 물질들 중 일부로, 생체는 물론 그 자손의 내분비계의 정

상적인 기능을 방해하거나 혼란케 해 건강에 변화를 가져올 수 있는 화학물질”로 정의할 수 있다 (DeFur *et al.*, 1999). 내분비계 교란을 일으킬 수 있다고 추정되는 물질로는 각종 산업용 화학물질 (원료물질), 살충제 및 제초제 등의 농약류, 유기 중금속류, 다이옥신류, 식물성 에스트로젠 (phytoestrogen) 등의 호르몬 유사물질, diethylstilbestrol (DES) 과 같이 의약품으로 사용되는 합성 에스트로젠류 및 기타 식품 첨가물 등이 있다. 현재 세계야생동물보호기금 (World Wildlife Fund)에서 67종, 일본 후생성에서 143종, 미국 일리노이 주에서 73종의 화학 물질을 환경 호르몬으로 규정하고 있으며, 우리나라에서는 추정물질 67종을 세계야생보호기금

^{*} To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-61-659-3193, Fax: +82-61-659-3199
E-mail: iskwak@chonnam.ac.kr

목록에 근거해 선정하여 관리하고 있다(국립환경과학원, 2007). 그 중 4-*tert*-octylphenol은 4-nonylphenol과 매우 유사한 기능을 하는 것으로 알려져 있으며, 주로 계면 활성제, 산화 방지제, 접착제, 안료, 도료, 잉크의 첨가제로 사용되고 있다. 4-*tert*-octylphenol은 알킬페놀에톡시레이트계(alkylphenol ethoxylates) 세제가 주 배출원으로 알려져 있으며(Bennie, 1999), 우리나라에서는 유해 화학 물질 관리법 상 “유독물”에 해당되어 관리되고 있다.

독성평가를 위한 생물지표종의 선정은 다음 몇 가지 기준을 만족시켜야 한다. 먼저 암컷과 수컷이 구분되는 유성 생식을 하며, 실험실 내 사육이 가능하고, 짧은 생활사를 가져야 한다. 또한 성장 단계별 구분이 쉽고, 크기가 작아야 하며, 대체적으로 독성에 민감하게 반응하고, 표준 시험 방법이 있어야 한다(DeFur *et al.*, 1999; Kusk and Wollenberger, 2007). 또한 해양생물을 이용한 독성 평가에서는 염분도 또한 중요한 요인이 된다. 독성 시험 시 대상 물질의 염분을 인위적으로 조절할 경우 대상 물질의 본성이 변하게 되는 경우가 있기 때문에, 시험 생물은 가능한 염분 변화에 내성이 강한 광염성 종이 우선 고려되어야 한다(Hall *et al.*, 1995; McAllen and Taylor, 2001; Kwok and Leung, 2005; Yoon *et al.*, 2006). 연안에 서식하는 저서성 요각류의 경우 이러한 생태독성 시험에 적합한 광염성 생물일 뿐 아니라, 쉽게 채집할 수 있으며, 생활사가 짧고, 현장에서 다량 채집이 가능하며, 실험실 내 배양이 용이하고, 수온과 pH에 대해 매우 넓은 내성 한계를 갖는 것으로 잘 알려져 최근 저서성 요각류가 독성 시험 생물로 많이 이용되고 있다(Ito, 1970; Koga, 1970; Hagiwara *et al.*, 1995; Forget-Leray *et al.*, 1998; Marcial *et al.*, 2003).

저서성 요각류를 대상으로 내분비계 교란물질에 대한 노출 시험이 다양하게 진행되어왔다. Octylphenol의 독성 노출 실험은 Marcial *et al.* (2003)가 보고하였으나 발생단계별 영향을 살펴본 생태독성 연구는 거의 없는 상태이다. 독성물질에 노출된 생물은 개체수준의 단기적인 독성반응으로 판단하는 경우가 가장 흔하나 장기적인 관점에서 생활사 단계별로 노출 영향을 살펴보는 것은 생태학적인 군집의 안전성과 관련되어져 있을 수 있다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 연안에서 쉽게 발견할 수 있는 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus s.l.*이 내분

비계 교란물질인 4-*tert*-octylphenol에 노출되었을 때 생활사의 발생단계별로 나타나는 생존과 성장, 생식에 대한 영향을 살펴보고자 하였다. 또한 본 연구에서는 12단계로 지속적인 탈피과정을 거쳐 성장하는 특징을 지닌 실험대상 생물 요각류가 교란물질에 노출된 개체의 변화를 탐색하기에 좋은 대상생물이 될 수 있는 지도 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 생물의 배양

*T. japonicus s.l.*는 전라남도 여수시 만성리 해수욕장 부근 조수 웅덩이에서 소형 핸드넷(망목 크기 63 μm)으로 채집한 후 배양하였다. *T. japonicus*는 6단계의 nauplius 유생 단계와 6단계의 copepodite 유생 단계의 생활주기를 가지며, 마지막 6번째 copepodite 단계가 성체다. 수컷과 암컷의 구분은 제1촉각과 5번째 유영지의 차이로 구분할 수 있다(Ito, 1970). 배양 조건은 ISO의 표준시험방법을 참고하였다(ISO, 1997). 배양액으로 사용한 해수는 1차 증류수와 인공 해수염(Crystal Sea Marine Mix, Crystal Sea[®])을 이용하여 농도 25 psu로 제조하였다. 실험 기간 중 수온 20°C, DO 80% 이상, pH 8 \pm 0.3, light : dark=16 : 8 조건에서 항온기(Sanyo incubator MIR-553) 내에서 배양하였다. 먹이로는 Tetra-min(Tetra-Werke, Melle, Germany)을 미세하게 분말 처리한 후 현탁액 상태로 공급하였다.

2. 실험 물질 및 독성 노출

실험 독성 물질로 4-*tert*-octylphenol(Sigma-Aldrich, cas no. 140-66-9)을 사용하였으며, carrier solvent로 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였다. DMSO는 최종 농도가 최대 0.01% (v/v) 이하가 되도록 했으며, 독성 물질은 대조군과 solvent 대조군을 포함하여 0.1, 1, 10, 30, 100 $\mu\text{g/L}$ 농도로 실험하였다.

모든 노출 실험은 배양 조건과 같은 환경에서 실시하였으며, 시험 용기로는 60 \times 15 petri-dish(Arambra)와 6-well, 24-well cell culture plate(SPL)을 이용하였다. 독성실험은 ISO의 표준 시험 방법 “ISO-14669; Water Quality-determination of acute lethal

Table 1. Ecotoxicological responses of *Tigriopus japonicus s.l.* exposed to different concentrations of 4-*tert*-octylphenol

Endpoint		Control	Solvent control	Concentration of 4- <i>tert</i> -octylphenol ($\mu\text{g/L}$)				
				0.1	1.0	10.0	30.0	100.0
NSR (%)	Mean	96.55	96.67	100.00	93.33	96.67	90.00	90.00
	SD	9.36	7.61	0.00	10.33	8.16	10.95	10.95
CSR (%)	Mean	97.86	100.00	100.00	92.86	70.00*	92.59	92.59
	SD	6.07	0.00	0.00	10.33	16.05	12.91	11.73
MER (%)	Mean	61.48	63.33	73.33	53.85	57.14	40.00 [†]	72.00

NSR: nauplius survival rate

CSR: copepodite survival rate

MER: male emergence rate

SD: standard deviation

*: asterisks denote a significant difference from control by one-way ANOVA followed by Duncan test ($p < 0.05$)[†]: crosses denote a significant difference from control by χ^2 -test ($p < 0.05$)

toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea)" (ISO, 1997)와 OECD의 "OECD draft guidelines for testing of chemicals. Proposal for a new guideline. Harpacticoid copepod development and reproduction test" (OECD, 2005)를 참조하여 각각 성체와 유생을 대상으로 실시하였다. 각 실험 대상 개체는 한 농도 당 최소 5개체씩 6회 이상 반복실험을 실시하였으며, 생사 여부를 24시간 마다 확인하였다. 실험 기간 중 독성 물질의 반감기를 고려하여 3일 간격으로 사육수를 교체해 주었고, 배양은 시험 생물이 유생일 경우 성체가 될 때 까지 계속 배양하고 생존율, 성장률, 포란, 부화 등을 측정하였다. 각각의 개체를 관찰하여 5분 동안 움직임이 없는 경우 사망한 것으로 일단 판단한 후 24시간 이후에 사망을 확정하여 생존율을 결정하였으며, 각 개체별로 copepodite가 되는 시기를 관찰하여 copepodite 출현일을 결정하였다. 수컷 출현일은 성체 수컷이 관찰되는 시기를 통해 판단하였으며, 성체가 된 개체를 대상으로 각각 성비, 포란일, 포란율 등을 확인하였다.

실험 후 모든 개체는 70% 에탄올로 고정하여 보관하였으며, 해부 현미경 (olympus SZX12), 광학 현미경 (olympus BX-51) 등을 이용하여 실험 생물의 체장, 체적, 각 부속지의 외형 변화 등을 살펴보았다. 각 개체의 길이와 폭은 해부 현미경과 광학 현미경에 부착된 카메라를 이용하여 이미지 분석 프로그램 (MetaMorph 6.0)에서 계산하였으며, 생물량 (biomass) 측정은 volumetric method (Feller and War-

wick, 1988)를 이용하였다.

3. 통계 분석

각각의 독성 물질에 대한 생물종의 생존율, 성장률, 포란율 등을 분석하기 위해 SPSS 프로그램 (ver. 12.0)을 이용하였다. 기본적으로 모든 통계 분석은 one-way ANOVA 분석을 기본으로 하여 분석한 후 Duncan test로 사후 검정하였다. 성비는 χ^2 검정을 통하여 분석하였다. 모든 분석은 유의수준 $p < 0.05$ 에서 검정하였다.

결 과

1. 약제 노출에 따른 성장단계별 영향

1) Nauplius 유생생존율 (NSR: nauplius survival rate)과 copepodite 유생생존율 (CSR: copepodite survival rate)

대조군 nauplius 유생생존율 (NSR)은 $96.55 \pm 9.36\%$ ($n=120$ 개체), carrier solvent인 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 nauplius 유생생존율은 $96.67 \pm 7.61\%$ 로 나타났다 (Table 1). 4-*tert*-octylphenol 처리군은 농도별로 30개체 내외로 실험하였다. $30 \mu\text{g/L}$ 이상의 4-*tert*-octylphenol에 노출된 개체의 nauplius 생존율은 90%인 반면, 저농도인 $0.1 \sim 10 \mu\text{g/L}$ 의 생존율은 93% 이상으로 고농도의 생존율이 상대적으로 낮게 나타났다.

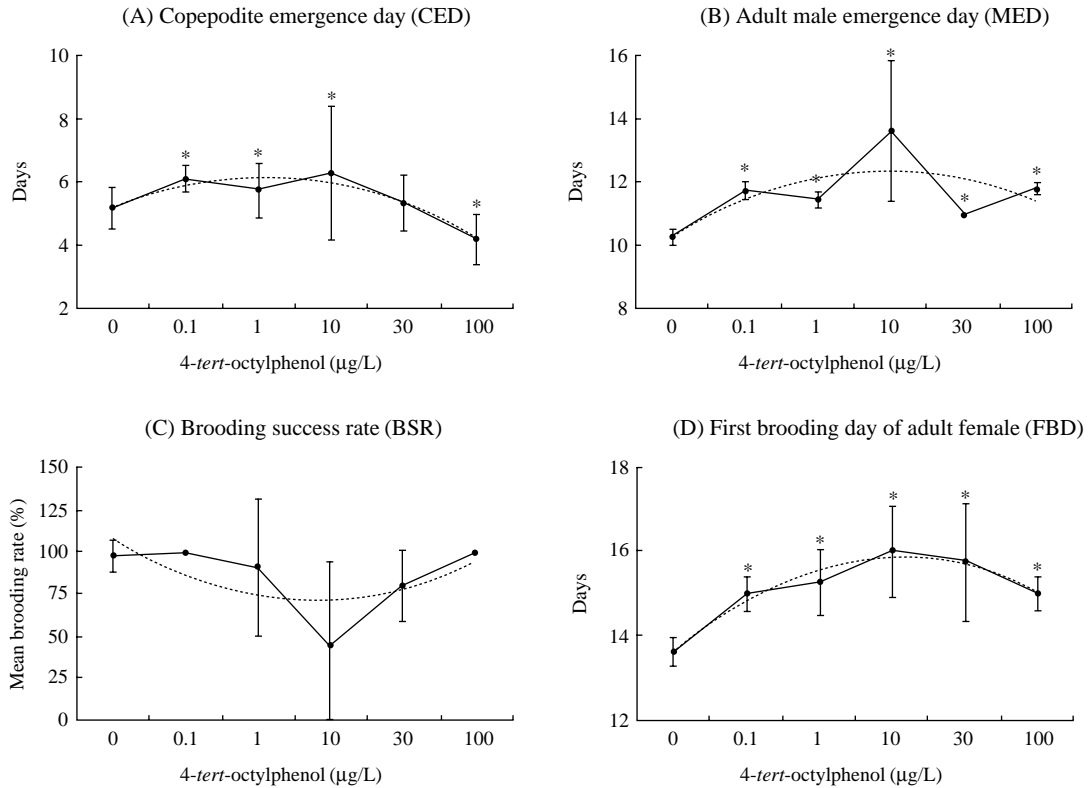


Fig. 1. *Tigriopus japonicus s.l.* in relation to different concentrations of 4-tert-octylphenol. error bar: standard deviation. *: asterisks denote a significant difference from control by one-way ANOVA followed by Duncan test ($p < 0.05$).

대조군 copepodite 유생의 생존율(CSR)은 $97.86 \pm 6.07\%$, solvent control의 copepodite 유생 생존율은 100%로 나타났다. 반면 1 µg/L 이상의 처리 농도에서 70.00~92.86%의 생존율을 보여 비교적 생존율이 낮았다.

2) Copepodite 유생 출현시기 (CED: copepodite emergence day)

Nauplius 유생이 copepodite 유생으로 발달하는데 소요되는 시간을 나타내는 copepodite 출현일(CED)을 보면 대조군은 평균 5.20 ± 0.65 일, solvent control의 CED는 평균 5.11 ± 0.63 일이다. 4-tert-octylphenol에 노출된 개체의 CED는 저농도에서 대조군에 비해 늦은 것으로 나타났다(Fig. 1A). 0.1, 1, 10 µg/L에서 각각 평균 6.10 ± 0.20 , 5.75 ± 0.42 , 6.28 ± 1.06 일로 대조군에 비해 지연되었다.

3) 성체 수컷 출현시기 (MED: adult male emergence day)

Copepodite가 성체 수컷으로 성장하는 기간을 종말점으로 살펴본 성체 수컷 출현시기(MED)는 대조군에서 발생 후 약 10일째 되는 날부터 관찰되기 시작하여 11일 이내에 모든 수컷이 성체가 되어 평균 수컷 성체 출현일은 10.33 ± 0.49 일로 나타났다. Carrier solvent의 성체 출현일은 10.39 ± 0.98 일로 대조군과 차이를 보이지 않았다. 4-tert-octylphenol 노출에 따른 copepodite 유생의 성장은 노출 농도가 높아짐에 따라 성장이 둔화되어 10 µg/L에서 가장 느린 성장을 보였으며, 이보다 농도가 높아지면 다시 성장이 빨라지는 것으로 나타났다(Fig. 1B).

4) 수컷 출현비율 (MER: male emergence rate) 대조군에서 출현한 성체 수컷의 비율(MER)은

Table 2. Morphological characters of *Tigriopus japonicus s.l.* in relation to different concentrations of compounds

Concentrations ($\mu\text{g/L}$)		Female			Male		
		Length (μm)	Width (μm)	Biomass (μg)	Length (μm)	Width (μm)	Biomass (μg)
Control	Mean	1034.25	355.38	5.90	858.19	322.49	4.04
	SD	61.89	13.06	0.45	36.90	11.47	0.38
0.1	Mean	1006.41	335.34	5.17	809.97*	277.78*	2.84*
	SD	70.68	24.81	1.02	45.98	12.45	0.38
1	Mean	955.44*	301.37*	3.95*	834.75	265.17*	2.66*
	SD	49.21	19.12	0.63	33.89	12.89	0.26
10	Mean	912.78*	299.92*	3.84*	838.00	270.70*	2.78*
	SD	92.51	36.76	1.43	19.35	12.14	0.22
30	Mean	908.22*	295.66*	3.64*	837.48	272.91*	2.83*
	SD	29.09	30.62	0.89	29.25	15.60	0.33
100	Mean	959.05*	337.82*	4.99*	863.17	271.41*	2.88*
	SD	60.66	17.82	0.83	29.70	7.44	0.21

*: asterisks denote a significant difference from control ($p < 0.05$)

61.48%로 암컷에 비해 다소 높게 나타났다(Table 1). solvent control의 수컷 출현 비율은 63.33%로 대조군과 차이가 나지 않았다. 4-*tert*-octylphenol 처리군은 0.1 $\mu\text{g/L}$ 와 100 $\mu\text{g/L}$ 에서 수컷이 많이 출현하였고, 나머지 농도에서는 대조군에 비해 암컷의 출현 비율이 높았다. 그러나 30 $\mu\text{g/L}$ 에서만 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보였고($p < 0.05$), 나머지 농도에서는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다.

5) 포란율 (BSR: brooding success rate)과 최초 포란일 (FBD: first brooding day of adult female)

대조군과 solvent control의 포란율(BSR)은 각각 $98.08 \pm 10.00\%$ 와 100%로 나타났다. 4-*tert*-octylphenol에 노출된 개체의 포란율은 0.1 $\mu\text{g/L}$ 에서 10 $\mu\text{g/L}$ 까지 노출 농도가 높아짐에 따라 포란율이 감소하며, 이 이상 농도에서는 포란율이 증가하는 경향을 보여주었다(Fig. 1C).

성체 암컷의 최초 포란일(FBD)을 살펴보면, 대조군과 solvent control의 성체 암컷은 각각 평균 13.64 ± 0.67 , 13.80 ± 1.14 일로 나타났다. 전체적으로 모든 노출 농도에서 대조군보다 포란이 지연되었다. 노출된 개체의 FBD는 15.0~16.0일로 대조군보다 유의적으로 지연되었는데(Fig. 1D), 이러한 포란 지연은 노출 농도가 높아짐에 따라 더 많이

지연되다가, 10 $\mu\text{g/L}$ 이상이 되면 포란이 조금 빨라지는 경향을 보이기는 하나 개체변이가 크게 나타났다(Fig. 1D).

2. 노출에 따른 형태적인 변화

4-*tert*-octylphenol 처리군 암컷은 0.1 $\mu\text{g/L}$ 에서는 체장, 폭, 생물량 모두 대조군과 차이를 보이지 않았다(Table 2). 그러나 1 $\mu\text{g/L}$ 이상에서는 체장, 폭 그리고 생물량 모두 대조군과 유의한 차이를 보였다. 체장은 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 30 $\mu\text{g/L}$ 에서 $908.22 \pm 14.55 \mu\text{m}$ 로 가장 짧은 체장을 보였다. 폭 역시 체장과 같은 경향을 보여 30 $\mu\text{g/L}$ 에서 $295.66 \pm 15.31 \mu\text{m}$ 로 대조군의 83% 정도로 나타나 가장 짧게 나타났고, 생물량 역시 30 $\mu\text{g/L}$ 에서 $3.64 \pm 0.45 \mu\text{gC}$ 로 30 $\mu\text{g/L}$ 에서 가장 작은 값을 보여주었다.

수컷의 경우 체장은 0.1 $\mu\text{g/L}$ 에서 $809.97 \pm 22.99 \mu\text{m}$ 로 가장 작았으며, 대조군과 유의한 차이를 보였으나, 1~30 $\mu\text{g/L}$ 범위에서는 대조군과는 차이를 보이지 않았다. 그러나 체폭은 265~280 μm 범위로 모든 농도에서 대조군과 유의한 차이를 보였다. 생물량 역시 모든 농도에서 대조군의 65~70% 정도로 큰 차이를 보였다. 1 $\mu\text{g/L}$ 에서 $2.66 \pm 0.13 \mu\text{gC}$ 로 가장 적은 생물량을 보였으나 농도별 차이는 보이지 않았다.

고 찰

우리나라 연안의 저서성 요각류 *T. japonicus* s.l. 를 대상으로 내분비계 교란물질인 4-*tert*-octylphenol에 대한 생태 독성 반응을 연구한 결과, 독성에 노출될 경우 10 µg/L를 제외한 모든 농도에서 생존율에는 크게 영향을 주지 않았으며, 성비에도 많은 영향을 주지 않았다. Nauplius 유생과 copepodite 유생은 거의 모든 농도에서 대조군보다 성장이 지연되는 것으로 확인되었으며, 최초 포란일 역시 지연되는 것으로 나타났다. 또한 실험 개체의 크기와 생물량은 모든 농도에서 대조군에 비해 작은 것으로 나타났다.

5종의 내분비계 교란물질 nonylphenol, 17β-estradiol, benzo(a)pyrene, atrazine, diethylhexyl phthalate에 대한 부유성 요각류 *Eurytemora affinis* 연구 (Forget-Leray *et al.*, 2005)에서는 100 µg/L 이하의 모든 조사 농도에서 생존율 저해는 보고되지 않았다. 이번 실험종과 같은 종인 *T. japonicus*에 대한 내분비계 교란물질 17β-estradiol, bisphenol A, 4-nonylphenol, p-*tert*-octylphenol에 대한 Marcial *et al.* (2003)의 연구에서도 생존율은 모든 실험 물질과 농도에서 대조군과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며, 방 등 (2008)의 2008년 연구에서도 4-nonylphenol은 30 µg/L 이하에서 생존율에 영향을 미치지 않는다고 하였다. Bechmann (1999)은 *Tigriopus battagliai*를 대상으로 한 연구에서 125 µg/L 이상의 nonylphenol에 노출되면 모두 사망하는 것으로 보고하였고, *T. japonicus*에 대한 4-nonylphenol 노출 실험 역시 100 µg/L 이상에서 절반 이하의 낮은 생존율을 보였으며 (방 등, 2008), *T. japonicus*의 4-nonylphenol에 대한 LC₅₀은 510 µg/L로 보고되었다 (Marcial *et al.*, 2003). 언급한 연구 결과에서 내분비계 교란물질은 고농도일 때 저서성 요각류의 생존을 저해할 수 있으나, 일반적인 연안이나 하천 오염 농도 범위 내의 내분비계 교란물질은 요각류 생존에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

그러나 성장률의 경우 저농도에서부터 영향을 받는 것으로 나타났는데, 0.1~10 µg/L 범위에서 *T. japonicus* 성장이 저해되었으며, 같은 생물을 대상으로 한 4-nonylphenol 노출실험 (방 등, 2008)에서

도 0.1 µg/L의 저농도에서부터 100 µg/L의 고농도까지 모든 농도에서 성장이 지연된다고 보고되었다. Marcial *et al.* (2003)의 연구에서도 1 µg/L 내외의 농도에서 성장 지연이 관찰되었으며, 부유성 요각류를 대상으로 한 Forget-Leray *et al.* (2005)의 연구 역시 내분비계 교란물질이 nauplius 유생의 성장을 지연시킨다고 보고하였고, Chandler *et al.* (2004)의 연구에서도 내분비계 교란물질로 의심되는 살충제 finpronil에 노출되었을 때 성장이 저해된다고 하였다. 내분비계 교란물질이 요각류와 같은 갑각류의 성장에 영향을 미치는 원인은 내분비계 교란물질과 탈피 호르몬인 엑디스테로이드와 구조적 유사성으로 인한 탈피 방해에 그 원인이 있는 것으로 알려져 있다 (Hasegawa *et al.*, 1993; Finger-man, 1997). 때문에 내분비계 교란물질에 노출되었을 경우 성장이 지연되는 현상은 다수의 연구에서 많이 보고되었으나 요각류를 대상으로 한 탈피호르몬에 대한 연구는 거의 되어있지 않은 실정으로, 앞으로 지속적인 연구가 필요한 부분이라고 할 수 있다.

본 연구에서는 30 µg/L에서 성비가 대조군과 유의한 차이를 보였다. 그러나 지금까지 내분비계 교란물질에 대한 여러 연구에서, 내분비계 교란물질이 성비를 교란시키지 않는다고 보고되었다 (Hutchinson *et al.*, 1999; Marcial *et al.*, 2003; Forget-Leray *et al.*, 2005; 방 등, 2008). 이는 갑각류의 성 결정이 에스트로젠성 스테로이드 (estrogenic steroid)가 아닌 옹성호르몬 (androgenic hormone)에 의해 결정되기 때문이다 (Hasegawa *et al.*, 1993). 그러나 요각류를 포함한 소형 갑각류에서 옹성호르몬에 대한 연구는 거의 되어있지 않기 때문에 내분비계 교란물질과 성비에 대한 상관관계를 명확히 하기 위해서는 내분비학적인 연구가 필수적이라고 할 수 있다 (DeFur *et al.*, 1999).

생식능력의 저하 현상은 여러 연구에서 연구되어 왔으나 (Brown *et al.*, 2003; Marcial *et al.*, 2003; Cary *et al.*, 2004; Chandler *et al.*, 2004; 방 등, 2008), 각 연구의 결과가 상이한 경우가 많아, 내분비계 교란물질이 생식에 미치는 영향에 대한 명확한 상관관계를 도출하기 어려운 것으로 판단되며 지속적인 연구를 통해 확인되어야 할 것이다.

이번 연구에서는 0~10 µg/L 농도까지는 농도 증가에 따라 성장 둔화, 포란 감소, 최초 부화일 지연

등이 확인되었다. 그러나 30 µg/L 농도 이상에서는 이러한 영향이 둔화되거나 회복되는 경향을 보였다. 이러한 원인은 독성 노출 농도 증가에 따라 세포의 방어기작이 발현되어 독성에 노출된 개체가 회복되었을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 그러나 수서 무척추동물에서 이러한 방어기작에 대한 연구는 거의 되어 있지 않아 이에 대한 명확한 원인을 파악하기 위해서는 내분비계 노출에 따른 개체나 세포의 방어기작에 관한 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 환경부의 차세대핵심환경기술개발사업 (Eco-technopia 21 project)으로 지원받은 과제입니다.

참고 문헌

- 국립환경과학원. 제8차 내분비계장애물질 조사 연구사업 결과보고, 환경부, 2007.
- 방현우, 이원철, 이승환, 박인실. 4-nonylphenol에 노출된 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus s.l.*의 생활사, 형태와 유전자 발현, 하천호수학회지 2008; 41: 80-88.
- Bechmann RK. Effect of the endocrine disrupter nonylphenol on the marine copepod *Tisbe battagliai*, Sci Total Environ 1999; 233: 33-46.
- Bennie DT. Review of the environmental occurrence of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates, Water Qual Res J Can 1999; 34: 79-122.
- Brown RJ, Rundle SD, Hutchinson TH, Williams TD and Jones MB. A copepod life-cycle test and growth model for interpreting the effects of lindane, Aquatic Toxicol 2003; 63: 1-11.
- Cary TL, Chandler GT, Volz DC, Walse SS and Ferry L. Phenylpyrazole insecticide fipronil induces male infertility in the estuarine meiobenthic crustacean *Amphiascus tenuiremis*, Environ Sci Technol 2004; 38: 522-528.
- Chandler GT, Cary TL, Volz DC, Spencer SS, Ferry JL and Klosterhaus SL. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format, Environ Toxicol Chem 2004; 23: 117-124.
- DeFur PL, Crane M, Ingersoll C and Tattersfield L. Endocrine disruption in invertebrates: endocrinology, testis-gland assesment, Pensacola, Fla.: Society of Environmental Toxicology and Chemistry 1999.
- Feller RJ and Warwick RM. Energetics. In: Higgins RP and Thiel H (eds). Introduction to the study of meiofauna, Smithsonian Institution Press, New York 1988; 181-196.
- Fingerman M. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis, Physiol Zool 1997; 70: 257-269.
- Forget-Leray J, Pavillon JF, Menasria MR, Bocquené G. Mortality and LC50 values for several stages of the marine copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) exposed to metals arsenic and cadmium and the pesticides atrazine, carbofuran, dichlorvos and malathion, Ecotoxicol Environ Saf 1998; 40: 239-244.
- Forget-Leray J, Landriau I, Minier C and Le Boulenger F. Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Poppe), Ecotoxicol Environ 2005; 60: 288-294.
- Hagiwara AC, Lee S and Shiraiishi DJ. Some reproductive characteristics of the broods of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* cultured in different salinities, Fish Sci 1995; 61: 618-622.
- Hasegawa, Y, Hirose E and Katakura Y. Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea, Am Zool 1993; 33: 403-411.
- Hall LW, Ziegenfuss MC, Anderson RD and Tierney DP. The influence of salinity on the chronic toxicity of atrazine to an estuarine copepod: implications for development of an estuarine chronic criterion, Arch Environ Contam Toxicol 1995; 28: 344-348.
- Hutchinson TH, Pounds NA, Hampel M and Williams TD. Impact of natural and synthetic steroids on the survival, development and reproduction of marine copepods (*Tisbe battagliai*), Sci Total Environ 1999; 233: 167-179.
- ISO. Water quality-determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea). Draft International Standard ISO/DIS 14669. Genève, Switzerland 1997.
- Ito T. The biology of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* Mori, J Fac Sci Hokkaido Univ 1970; 17: 474-500.
- Koga F. On the life history of *Tigriopus japonicus* Mori (Copepoda), J Oceanogr Soc Japan 1970; 26: 11-21.
- Kusk KO and Wollenberger L. Towards an internationally harmonized test method for reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in marine copepods, Ecotoxicology 2007; 16: 183-195.
- Kwok KWH and Leung KMY. Toxicity of antifouling bio-

- cides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): Effects of temperature and salinity, *Mar Pollut Bull* 2005; 51: 830-837.
- Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW. Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*, *Environ Toxicol Chem* 2003; 22: 3025-3030.
- McAllen R and Taylor AC. The effect of salinity change on the oxygen consumption and swimming activity of the high-shore rockpool copepod *Tigriopus brevicornis*, *J Exp Mar Biol Ecol* 2001; 263: 227-240.
- OECD. OECD Draft Guidelines for testing of chemicals. Proposal for a new guideline. Harpacticoid copepod development and reproduction test. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France 2005.
- Yoon SJ, Park GS, Oh JH and Park SY. Marine ecotoxicological assessment using the nauplius of marine harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *J Korean Soc Environ Eng* 2006; 9: 160-167.