

저서성 요각류 *Tigriopus japonicus* s.l.에서 항생제 Fenbendazole과 Lincomycin의 영향

이동주, 짝인실¹, 방현우^{1,2}, 이원철*

한양대학교 생명과학과, ¹전남대학교 해양기술학부, ²수산과학원 서해연구소

Effects of Antibiotics, Fenbendazole and Lincomycin, in Benthic Copepod, *Tigriopus japonicus* s.l.

Dong Ju Lee, Inn-Sil Kwak¹, Hyun Woo Bang^{1,2} and Wonchoel Lee*

Department of Life Science, Hanyang University

¹Division of Marine Technology, Chonnam National University

²Fisheries Resources and Environmental Department, West Sea Fisheries Research Institute,
National Fisheries Research & Development Institute

ABSTRACT

The ecotoxicological effects of two antibiotics, fenbendazole and lincomycin, were observed in the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* s.l. collected from tidal pools in the southern coast of Korea. Fenbendazole had a significant effect on the survival rates ($p < 0.05$), delay of copepodite emergence, and urosome size ($p < 0.05$). Lincomycin, on the other hand, had no significant influence on these environmental indicators. However, our analysis of morphological abnormalities in *T. japonicus* s.l. showed that lincomycin was more effective than fenbendazole in causing deformities. The pattern of deformity was diverse, with fused segments, and loss or addition of setae in the swimming legs. All of these patterns appeared as a result of relatively low concentrations of this antibiotic ($0.3, 1 \mu\text{g L}^{-1}$). We report here patterns of morphological abnormality in *T. japonicus* s.l. exposed to antibiotics, and suggest their possible application in ecotoxicological monitoring.

Key words : *Tigriopus japonicus* s.l., Morphological abnormality, Fenbendazole, Lincomycin

서 론

항생제는 전 세계적으로 돼지, 닭, 소, 양식어류 등

의 질병예방과 치료, 성장촉진 등을 위해 축, 수산
농가에서 널리 사용되고 있다. 하지만 질병에 대한
직접적인 치료용보다 사료에 첨가하여 성장촉진제
나 질병예방으로 사용하는 양이 점차 증가하고 있
는 추세이며 항생제를 섭취한 동물의 배설로 인해
환경 내에 잔류할 가능성이 높은 물질로 알려져
있다(서형석 등, 2002). Fenbendazole은 구충제로써
일반적으로 포유동물의 감염치료에 많이 사용되고

접수일: 2010년 5월 19일, 채택일: 2010년 8월 5일
* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-2-2220-0951, Fax: +82-2-2296-7158
E-mail: wlee@hanyang.ac.kr

있으며, 벤지미다졸계 구충제(benzimidazole anthelmintics) 6종(albendazole, thiabendazole, flubendazole, febantel, fenbendazole, oxfendazole) 중에서 생태 위해도 지수(hazard quotient)가 2,791로 가장 높은 물질이다(Oh *et al.*, 2004). Lincomycin은 인체에 주로 사용될 뿐 아니라 축수산용 항생제로도 많이 사용되고 있다. 그러나 축산현장에서 항생제가 과다 사용되었을 경우에는 항생제 내성세균 출현으로 인해 축산 및 인체에 피해가 생길 수 있다. 특히, lincomycin의 경우 부작용에 의해 인체에 악영향을 미칠 수 있으므로 관리가 철저히 이루어져야 한다. 그러나 lincomycin은 수 생태계에서 생태 독성이 발생될 가능성이 있는 물질임에도 생태독성에 관한 연구는 전무한 상태다. 내분비계 교란물질을 대상으로 한 연구는 많이 이루어져 있으나 이들의 대부분은 척추동물들을 대상으로 이루어져 실제 지구상의 전체 동물계의 95%를 차지하고 있는 무척추동물에 대한 연구는 미비한 실정이다. 최근 들어 무척추동물은 내분비계 교란물질이 생태계에 미치는 영향에 대한 지표자로 주목 받고 있으며(Alvarez and Ellis, 1990; Crisp *et al.*, 1997; LeBlanc and Bain, 1997), 무척추동물의 여러 물질들에 대한 비정상적인 발생과 생식 반응 관련 연구가 많이 이루어지고 있다(Choi *et al.*, 1997; Oehlman *et al.*, 2000; Billingham *et al.*, 2001).

독성평가를 위한 생물 지표종의 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, 표준시험방법이 있어야 한다(DeFur *et al.*, 1999; Kust and Wollenberger, 2007). 또한 해양생물을 이용한 독성평가에서는 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 요각류인 *Tigriopus japonicus* s.l.는 해양생태계에서 저차생산자이고 먹이생물로 중요한 위치를 차지하고 있다. 또한 온도나 염분과 같은 환경변화에 강한 내성을 지니므로 연구실 내의 사육이 용이하여, 최근 독성 실험 생물로 많이 이용되고 있다(Ito, 1970; Koga, 1970; Hagiwara *et al.*, 1995; Forget-Laray *et al.*, 1998; Marcial *et al.*, 2003).

생물의 형태는 연속적이며 인식하기 쉬우며, 생태적인 영향을 정확하게 측정할 수 있는 면에서 매우 유용하다(Gould, 1991; Foote, 1997; Carroll, 2001). 현재까지 생태계 내에서 환경오염이 무척추동물의 형태학적 변화를 야기할 수 있다는 보고는 거의 되어있지 않지만(Kwak and Lee, 2007), 최근에 들어 무척추동물의 형태 기형을 통한 생태계 평가는 신속하고 간편한 방법으로 인식되고 있다(Kwak and Lee, 2005; Dias *et al.*, 2007; Verslycke *et al.*, 2007). 중금속, 농약 및 내분비계 교란물질이 깔따구의 구기와 두부의 형태 기형을 유도한다는 보고가 있으며(Hamilton and Saether, 1971; Kwak and Lee, 2005, 2007), 곤쟁이(*Americamysis bahia*)를 이용한 내분비계 교란물질 시험법에서 형태학적 방법을 도입하려는 시도(Verslycke *et al.*, 2007)가 있다. 하지만 이는 대부분 대형 무척추동물을 이용한 연구이며, 요각류와 같은 중형 무척추동물의 형태적 변이를 통한 환경오염 지표 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 국내에 서식하는 저서성 요각류인 *Tigriopus japonicus* s.l.에 미치는 fenbendazole과 lincomycin의 장기노출 영향을 조사하였으며, 생태독성 종말점으로 생존율, 성장율, 형태적 기형 등을 측정하여 수서생태계 내에서의 이들 물질의 영향을 파악하였다.

재료 및 방법

1. 실험 대상생물

저서성 요각류 *Tigriopus japonicus* s.l.는 전라남도 여수시 만성리 해수욕장 부근의 조수 웅덩이에서 채집하였다. 채집은 소형 핸드넷(망목 크기 63 μ m)을 사용하였다. 채집된 시료는 연구실로 옮겨와 충분히 안정시켜 배양하였으며, 배양액으로 사용할 해수는 1차 증류수와 인공 해수염(Crystal Sea Marine Mix, Crystal Sea[®])을 이용하여 농도 30 psu로 만들어 사용하였다. 먹이로는 Tetramin (Tetra-Werke, Melle, Germany)을 미세하게 처리한 후 현탁액 상태로 공급하였다. 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. 모든 배양 조건은 ISO의 표준시험방법을 참고하였다(ISO 1997).

2. 내분비계 장애물질 노출조건

시험 대상 물질인 fenbendazole (Fenbendazole, CAS No. 43210-67-9), lincomycin (Lincomycin, CAS No. 859-18-7)을 유기용매인 DMSO (Dimethyl Sulfoxide, 99.8%)에 녹여 제조하였다. *T. japonicus* s.l.의 생존율이 DMSO에 의해 영향이 미치지 않도록 DMSO 농도가 0.1% 미만인 되도록 하였다. 모든 시험 물질은 미국 Sigma-Aldrich 제품을 사용하였다. 실험은 25일간 진행되었으며 온도 20°C, 명암주기 (16:8), 노출용기는 폴리스티렌 재질의 일회용 다중 노출용기(6-well plate)를 사용하였으며, 배양액은 인공 해수염(Crystal Sea Marine Mix, Crystal Sea®)을 이용하여 농도 30psu로 만들어 10mL를 넣어주었다. 알에서 부화한 24시간 이내의 유생 중 움직임이 활발하고 크기가 일정한 개체를 선별하여, 10마리씩 계수하여 well별로 투입하며 시험구별 또는 시험농도별 반복수는 3 이상으로 하였다. 노출기간 동안 매일 생존여부를 관찰하였으며, 사료로는 Tetra-min (Tetra-Werke, Melle, Germany)을 공급하였다. 사료의 주입량은 유생 10개체에 5µL로 공급하였으며, copepodite 단계에서는 2배인 10µL로 공급하였다. 25일간 노출평가에서 각 물질별 농도는 0.3, 1, 10, 30ppb로 농도 범위로 실험하였다.

3. 생존율, 성장률 분석

각 독성물질의 노출에 따른 생물학적 영향을 조사하기 위해 각각의 실험농도당 부화 후 1~2일째 되는 *T. japonicus* s.l. 유생을 대상으로 25일 동안 노출 시킨 후 분석하였다. 각각의 개체를 관찰하여 5분 동안 아무런 움직임이 없는 경우 사망한 것으로 일단 판단한 후 24시간 이후에 사망을 확정하여 생존율을 계산하였다. 또한 *T. japonicus* s.l.의 성장률은 생물의 길이를 측정하여 산출하였다. 생물 길이의 측정방법은 광학현미경 하에서 측정하였으며, copepodite 시기에 크게 성장하는 배부분(urosome)의 길이를 측정하였다.

4. 형태 기형 분석

25일간 각 물질에 노출된 *T. japonicus* s.l.은 70% 에탄올에 고정시켜 보관하였다. 형태 기형 관찰을 위해 해부가 필요한 경우엔 해부를 실시하였다. 개체는 lactophenol을 떨어뜨린 H-S 슬라이드 위에서

외부 형태 또는 상세 관찰을 위해 해부핀으로 해부한 후, 각 개체의 부속지를 100~1,000배의 광학현미경(Olympus BX51)으로 관찰 하였다. 두흉부는 제1촉각의 마디수, 구강부분의 강모 변형, 유영지는 각 마디의 형태 및 마디 수, 강모의 위치와 강모 수, 복부는 미지(caudal rami)의 형태와 꼬리털(caudal seta)의 수를 기록하였다. 변이가 나타난 개체는 비정상적인 부분을 기형의 정도에 따라 강모의 이형, 결핍, 추가 발생, 비대칭 등으로 기록하였으며, 현미경 사진을 촬영하였다. 사진 촬영은 광학현미경에 장착된 Digital Camera를 이용하였다. 또한, 변이가 나타난 개체는 전체 관찰한 개체수의 비율로 환산하여 백분율을 구하여 변이율을 측정하였다.

5. 통계적 자료 분석

25일 동안의 생존율과 성장률 결과에 대해서 분산분석(ANOVA, 유의수준 $\alpha=0.05$)을 실시하였고(Zar, 1984), 각 실험구와 대조구 간 생존율의 유의한 차이를 분석하기 위해 SPSS version 15.0 (SPSS INC., Chicago, IL, USA)를 이용하여 Fisher's LSD (Least Significant Difference)로 분석하였다. $p < 0.05$ 를 통계적으로 유의수준으로 검정하였다.

결 과

1. 장기노출에 따른 *T. japonicus* s.l.의 생태독성

Fenbendazole, lincomycin에 장기 노출시킨 *T. japonicus* s.l.에서 생존율, 성장률 및 copepodite 출현일을 조사하였다. 0.3, 1, 10, 30 µg L⁻¹ fenbendazole에 각각 25일간 노출된 후 *T. japonicus* s.l.의 생존율은 농도 의존적으로 급격하게 감소되는 것($p < 0.05$)을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 특히 상대적으로 높은 농도인 10, 30 µg L⁻¹ fenbendazole에 노출된 경우에는 생존한 개체가 나타나지 않았다($p < 0.01$). Lincomycin에 노출된 경우에는 1 µg L⁻¹의 농도에서 $58.9 \pm 15.0\%$ 생존율이 관찰되었다($p < 0.05$). Copepodite의 출현일은 대조군에서 5.53 ± 0.05 일로 나타났다. Fenbendazole에 노출된 *T. japonicus* s.l.은 0.3 µg L⁻¹에서 7.00 ± 0.00 , 1 µg L⁻¹에서 7.46 ± 0.52 일에 출현하였으며 0.3 µg L⁻¹에서 통계적 유의성이

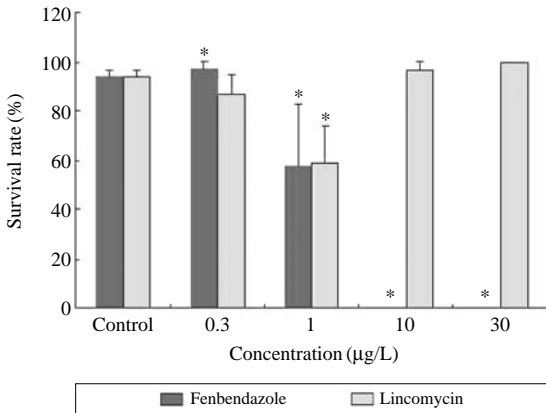


Fig. 1. The survival rates of *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to antibiotics. The experiment was performed in triplicate and the data shown represent the mean \pm standard error of the mean. Differences between antibiotics-treated and non-treated sample (control) were considered to be significant at *indicates $p < 0.05$.

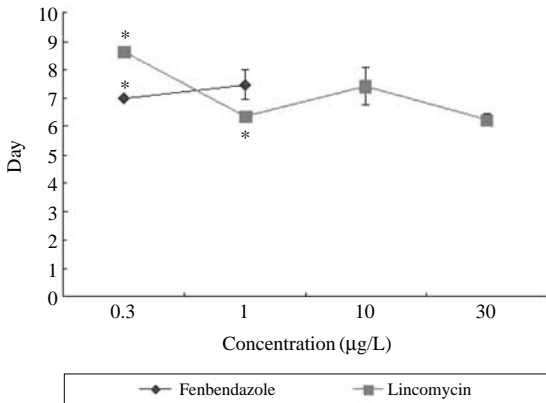


Fig. 2. The copepodite emergence day of *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to antibiotics for 25 days. The experiment was performed in triplicate and the data shown represent the mean \pm standard error of the mean. Differences between antibiotics-treated and non-treated sample (control) were considered to be significant at *indicates $p < 0.05$.

나타났다(Fig. 2). 또한, 상대적으로 높은 농도인 10, 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 copepodite가 출현하지 못하였다. Lincomycin에 노출된 경우에는 상대적으로 저농도인 0.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 8.61 ± 0.13 일로 늦게 출현하였으며, 0.3, 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 통계적으로 유의하게 나타났다

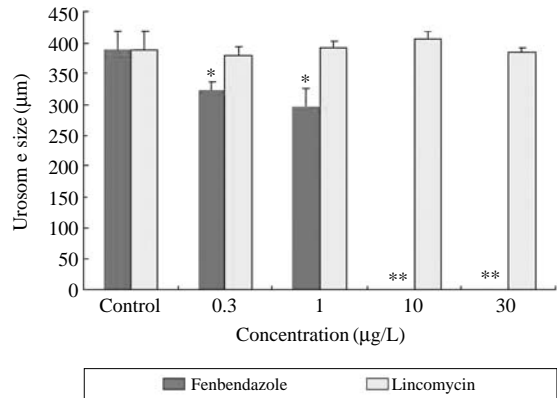


Fig. 3. The urosome size of *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to antibiotics for 25 days. The experiment was performed in triplicate and the data shown represent the mean \pm standard error of the mean. Differences between antibiotics-treated and non-treated sample (control) were considered to be significant at * $p < 0.05$, **indicates $p < 0.01$.

Table 1. Abnormal rate of *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to antibiotics

Con. (µg/L)	Chemical	
	Fenbendazole	Lincomycin
Control	0.00	0.00
0.3	0.00	0.00 ~ 9.09 (6.06 \pm 5.25)*
1	0.00 ~ 12.5 (4.17 \pm 7.22)*	00.00 ~ 10.00 (3.33 \pm 5.77)*
10	0.00	0.00
30	0.00	0.00

*mean \pm SD

($p < 0.01$). 종합해보면 항생제에 노출된 경우에는 copepodite의 출현이 대조군에 비해 지연이 되어 나타나며, 저농도인 경우에 크게 지연되었다. 대부분 비계 장애물질 노출에 따른 성장길이는 *T. japonicus* s.l.의 배부분의 길이를 측정하였다(Fig. 3). Fenbendazole은 농도 의존적으로 성장길이가 통계적 유의 수준으로 저해됨을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 하지만, lincomycin의 경우에는 농도에 따른 크기의 변화가 나타나지 않았으며, 대조군과 거의 같게 나타났다.

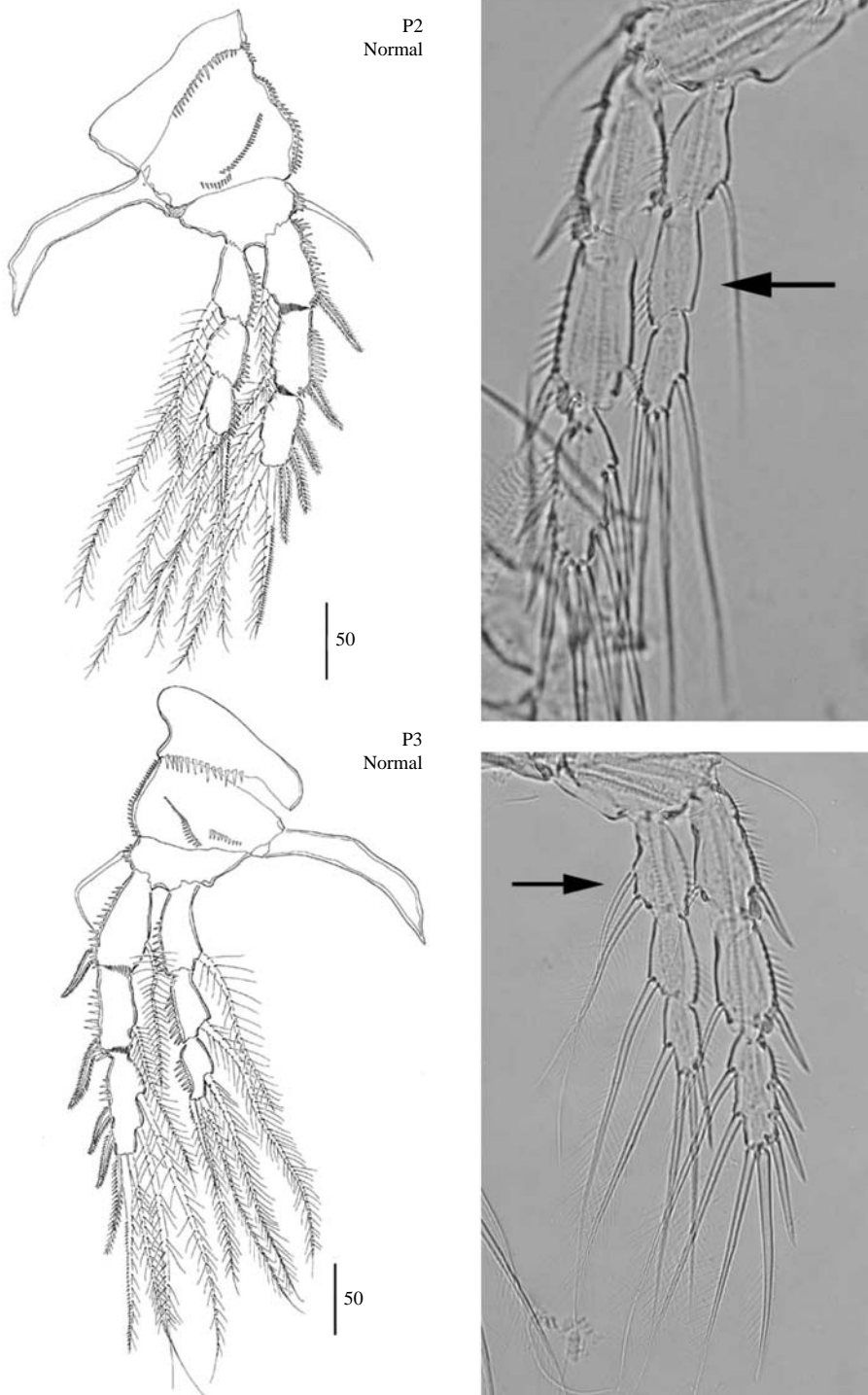


Fig. 4. *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to lincomycin. Normal (left) and abnormal (right) types in P2 and P3. Setal loss in the second endopodal segment of P2 (arrowed, up), and seta addition in the first endopodal segment of P3 (arrowed, down).

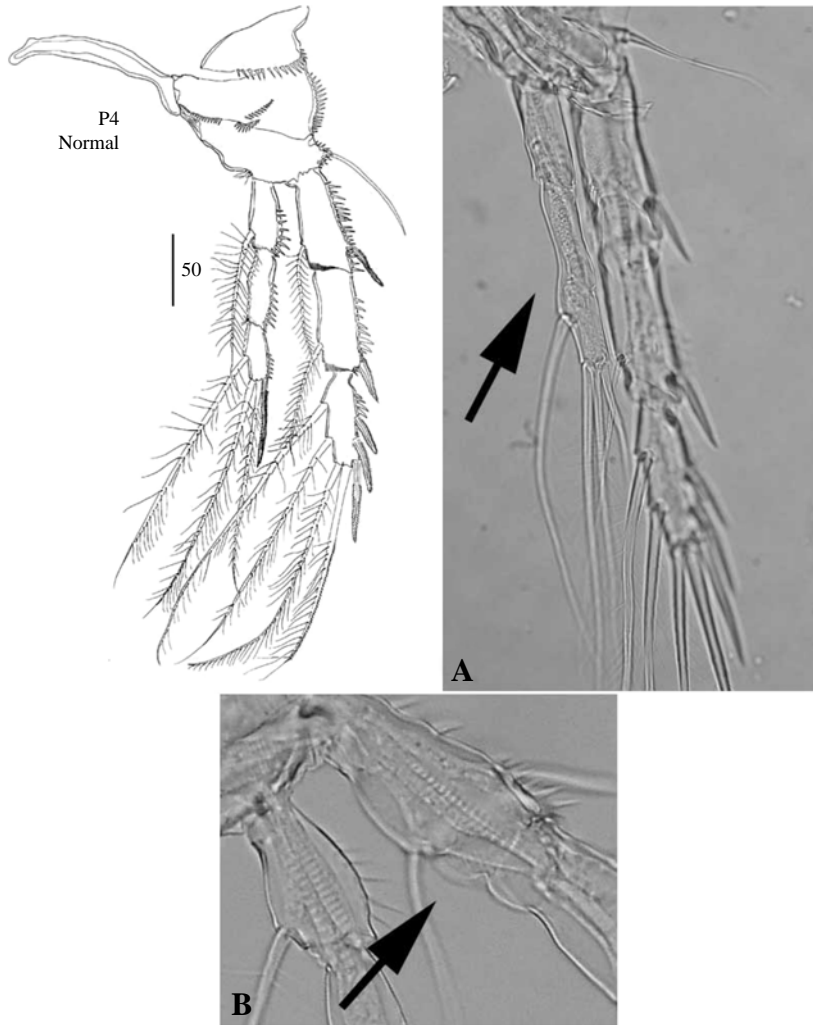


Fig. 5. *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to fenbendazole and lincomycin. Normal (left) and abnormal (A and B) types of P4. A. fused endopodal segment (arrowed, exposed to fenbendazole); B. fused exopodal segment (arrowed, exposed to lincomycin).

2. *T. japonicus* s.l.의 형태변이

내분비계 장애물질에 25일간 노출 시킨 후 *T. japonicus* s.l.의 형태변이는 주로 강모와 마디에서 나타났다. 강모는 비대칭 발달, 변형, 추가 발생 또는 결핍, 미성숙 등 다양하게 나타났고, 마디는 융합되거나 변형된 형태가 나타났다. 변이는 상대적으로 적은 농도인 0.3, 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 나타났으며, lincomycin 0.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 가장 높은 6.06 \pm 5.25 (0.00 ~ 9.09)%가 나타났다(Table 1). 이들 변이는 대조군

에서는 관찰되지 않았고, 농도 의존적으로 나타나지 않았다. Fenbendazole에 노출 된 경우 농도 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 에서 4.17 \pm 7.22 (0.00 ~ 12.50)%의 변이율이 나타났으며, 제4유영지의 내지 2, 3번째 마디가 융합되어 나타났다(Fig. 5A). Lincomycin에서는 마디와 강모에서도 변이가 나타났다. 마디의 변형은 제4유영지 외지의 1, 2번째 마디가 융합되어 나타났으며(Fig. 5B), 강모는 제2유영지 내지의 2번째 마디가 결핍되었으며, 제3유영지 내지에서는 1번째 마디에서 강모가 추가로 발생하였다(Fig. 4).

고 찰

우리나라 연안의 저서성 요각류 *T. japonicus* s.l.를 대상으로 항생제인 fenbendazole, lincomycin에 대한 생태독성 반응을 연구한 결과, 독성에 노출될 경우 fenbendazole은 $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ 을 제외한 모든 농도에서 생존율이 급격히 줄어들었으며, lincomycin은 $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 생존율이 줄어들었지만, 그 외의 저, 고농도에서는 크게 영향을 주지 않았다. Copepodite 출현일은 두 물질의 모든 농도에서 현저히 지연되었으며, 특히 상대적으로 높은 농도보다 낮은 농도에 영향이 더 많이 나타났다. 배부분의 길이는 fenbendazole의 경우 농도가 높아질수록 작게 나타났다. lincomycin은 큰 영향이 나타나지 않았다. 또한, 형태학적 기형은 두 물질 모두 나타났으며 저농도에서 두드러지게 나타났다.

5종의 내분비계 교란물질 nonylphenol, 17β -estradiol, benzo(a)pyrene, atrazine, diethylhexyl phthalate에 대한 부유성 요각류 *Eurytemora affinis* (Forget-Letry *et al.*, 2005)에서는 $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 이하의 모든 조사 농도에서 생존율이 저해되지는 않았다. 이번 연구와 같은 종인 *T. japonicus* s.l.에 대한 내분비계 교란물질 17β -estradiol, bisphenol A, 4-nonyphenol, p-tert-octylphenol에 대한 Marcial *et al.* (2003)의 연구에서도 생존율은 모든 실험물질과 농도에서 유의한 차이가 없는 결과 나타났으며, Bang *et al.* (2008a)의 연구에서도 nonylphenol의 경우 $30 \mu\text{g L}^{-1}$ 이하의 생존율에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 본 연구에서도 lincomycin의 경우 기존의 내분비계 교란물질과 유사하게 나타난다고 할 수 있으나, fenbendazole의 경우 $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 농도에서 생존하지 못하였다. 이는 지금까지의 일반적인 항생제에 대한 보고와는 확연히 다르게 저농도에서도 생존율이 저해됨을 의미하고, 추가적으로 다양한 물질의 저농도에 대한 계속적인 연구가 필요하다고 할 수 있다.

요각류는 갑각류로써 탈피를 거듭하면서 성장한다. 탈피와 변태는 엑디스테로이드(ecdysteroids)에 의해 조절되며 변태는 곤충에서 알려진 유약 호르몬(juvenile hormone)과 유사한 methyl farnesoate가 관여하는 것으로 알려져 있다(Laufer *et al.*, 1987; Laufer and Borst, 1988; Chang *et al.*, 1993; Block *et al.*, 2003).

내분비계 교란물질은 엑디스테로이드와 구조적 유사성으로 인해 갑각류의 탈피와 성장 과정을 방해하여 시간을 지연시키게 된다(Fingerman, 1987, 1997; Hasegawa *et al.*, 1993). 이 탈피의 여러 단계 중 유생단계에서 copepodite로 넘어가는 시기는 요각류의 형태가 크게 변하고 성체가 되는데 일반적으로 부화한 후 5~6일에 나타난다. 본 연구에서의 대조군이 5.53 ± 0.05 일에 비해 두 물질의 모든 농도에서 현저하게 늦게 나타났으며, 특히 lincomycin의 낮은 농도인 $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 8.61 ± 0.13 일로 가장 늦게 나타났다. 이는 생존율은 큰 영향이 없지만 항생물질이 생활사에 미치는 영향이 크다고 할 수 있다.

요각류의 성장에 있어서는 copepodite 시기에는 배부분(urosome)이 크게 발달하기 시작하며, 배부분의 첫번째 마디 생식절(genital segment)은 copepodite 3기(stage)에 암수의 구분이 나타난다. 이러한 특징들은 요각류의 성장 단계에 있어서 크기의 변화를 알아보기에 좋은 척도가 될 수 있다. 이에 본 연구에서는 요각류의 배부분의 길이를 측정하였는데, 저농도의 fenbendazole에서 배부분의 길이가 줄어드는 영향이 나타났다. 이는 같은 생물을 대상으로 한 4-nonyphenol, 4-tert-octylphenol 노출실험 (Bang *et al.*, 2008a, b)의 성장률 연구에서 나타난 성장 지연의 결과와 유사하게 나타났다. Marcial *et al.* (2003)의 연구에서도 $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 내외의 농도에서 성장 지연이 관찰되었으며, 살충제 finpronil의 노출 실험에서 성장이 저해되는 연구와도 일치하였다 (Chandler *et al.*, 2004). 내분비계 교란물질이 요각류와 같은 갑각류의 성장에 영향이 미치는 원인은 내분비계 교란물질과 탈피 호르몬인 엑디스테로이드와 구조적 유사성으로 인한 탈피 방해에 그 원인이 있는 것으로 알려져 있다(Hasegawa *et al.*, 1993; Fingerman, 1997). 하지만, 본 연구의 lincomycin에서는 영향이 나타나지 않았다.

형태 기형은 상대적으로 낮은 농도에서 나타났는데 fenbendazole은 $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$, lincomycin은 $0.3, 1 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서 기형이 나타났다. 기형은 유영지의 강모, 마디에서 주로 나타났는데, 이는 Takeda (1948)의 연구에서 나타난 형태 기형과 유사하였다. 또한, Takeda (1948)의 연구에 따르면 이러한 형태 기형은 다음 자손 세대에 영향을 미쳐 기형이 유전된다는 점에서 저농도의 항생제 생태독성 반응이 다음 세

대로 전달되는 점을 생각해본다면, 짧은 생활사를 가지고 있는 요각류에 있어서 그 반응은 세대를 거치면서 연속적으로 나타날 것으로 예상된다. 그리고, 생존율과 성장율에 관해서는 fenbendazole이 lincomycin보다 민감하게 나타났지만, 형태적 기형의 결과에서는 lincomycin이 더 영향을 주는 것으로 나타났다. Lincomycin에서는 제2~4유영지 모두에서 기형을 관찰 할 수 있었으며, 마디에서의 기형뿐 아니라, 강모의 결핍, 추가 발생 등도 나타났다. 이는 본 연구를 통해 lincomycin에 대해서는 그 생태독성에 대한 영향을 평가하기 힘들었던 부분을 해결해 줄 수 있을 것이다.

이번 연구를 통해 fenbendazole과 lincomycin에 따른 성장율, copepodite 발생일, 배부분의 길이, 형태적 기형이 확인되었다. 각 물질에 대한 생태독성은 현재 활발히 진행되고 있으나 그 평가가 어려운 물질들이 있을 가능성을 생각해 볼 수 있다. 이에 본 연구에서 실시한 형태적 기형의 관찰은 낮은 농도의 물질에 대해서도 그 독성에 대한 평가를 할 수 있을 것으로 기대 된다. 또한, 이러한 형태적 기형의 명확한 원인을 파악하기 위해서는 내분비계 노출에 따른 개체의 탈피, 세포 수준의 단백질 분석 등의 연구가 추가적으로 이루어 져야 할 것이다.

감사의 글

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

참 고 문 헌

서형석, 임정철, 허부홍, 권정택, 김성문, 천희웅, 최인방, 김진상. 육계에서 sulfathiazole 경구 투여 후 혈장 및 조직 내 잔류량, 한국가축위생학회지 2002; 25(3): 299-308.

Alvarez MMS and Ellis DV. Widespread neogastropod imposex in the Northeast Pacific: Implications for TBT contamination surveys, Mar Pollut Bull 1990; 21(5): 244-247.

Bang HW, Lee W, Lee S and Kwak I-S. Life cycle, morphology and gene expression of harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* s.l. exposed to 4-nonylphenol, Korean J

Limnol 2008a; 41(1): 81-89.

Bang HW, Lee W and Kwak I-S. Developmental delay effect of harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* s.l. exposure to 4-*tert*-octylphenol, J Environ Toxicol 2008b; 23(2): 93-100.

Billinghurst Z, Clare AS and Depledge MH. Effects of 4-nonylphenol and 17 beta-oestradiol on early development of the barnacle *Elminius modestus*, J Exp Mar Bio Ecol 2001; 257(2): 255-268.

Block DS, Bejarano AC and Chandler GT. Ecdysteroid concentrations through various life-stages of the meiobenthic harpacticoid copepod, *Amphiascus tenuiremis* and the benthic estuarine amphipod, *Leptocheirus plumulosus*, Gen Comp Endocrinol 2003; 132(1): 151-160.

Carroll SB. Chance and necessity: the evolution of morphological complexity and diversity, Nature 2001; 409(6823): 1102-1109.

Chandler GT, Cary TL, Volz DC, Walse SS, Ferry JL and Klosterhaus SL. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascoides tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format, Environ Toxicol Chem 2004; 23(1): 117-124.

Chang ES, Bruce MJ and Tamone SL. Regulation of crustacean molting: a multi-hormonal system, Amer Zool 1993; 33(3): 324-329.

Choi KH, Suh MS and Kim CH. Effects of the insect growth regulator dimilim on the survival rate of larvae, adults, and egg viability of *Tigriopus japonicus* Mori (Copepoda: Harpacticoida), Environ Sci 1997; 1(1): 61-67.

Crisp TM, Clegg ED, Cooper RL, Anderson DG, Baetcke KP, Hoffmann JL, Morrow MS, Rodier DJ, Schaeffer JE, Touart LW, Zeeman MG, Patel YM and Wood WP. Special report on environmental ED: an effects assessment and analysis, Washington DC: USEPA. EPA/630/R-96/012. 1997.

DeFur PL, Crane M, Ingersoll C and Tattersfield L. Endocrine disruption in Invertebrate: Endocrinology, Testing and Assessment. Pensacola, Fla.: Society of Environmental Toxicology and Chemistry 1999.

Dias V, Vasseur C and Bonzom JM. Exposure of Chironomus riparius larvae to uranium: effects on survival, development time, growth, and mouthpart deformities, Chemosphere 2008; 71(3): 574-581.

Fingerman M. The endocrine mechanisms of crustaceans, J Crust Biol 1987; 7(1): 1-24.

Fingerman M. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis, Physiol Zool 1997; 70(3): 257-269.

- Forget J, Pavillon JF, Menasria MR and Bocquéné 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(3): 239-244.
- Forget-Letray 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 Saf* 2005; 60(3): 288-294.
- Foote M. The evolution of morphological diversity, *Annu Rev Ecol Syst* 1997; 28: 129-152.
- Gould SJ. The disparity of the Burgess shale arthropod fauna and the limits of cladistic analysis: why we must strive to quantify morphospace, *Paleobiology* 1991; 17(4): 411-423.
- Hagiwara A, Lee CS 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, *Amer Zool* 1993; 33(3): 403-411.
- Hamilton AL and Saether OA. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes, *Can Ent* 1971; 103: 363-368.
- 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 copepod: implications for development of an estuarine chronic criterion, *Arch Environ Contam Toxicol* 1995; 28(3): 344-348.
- ISO-International Organization for Standardisation. 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 a harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* Mori, *J Fac Sci Hokkaido Univ Ser IV. Zool* 1970; 17: 474-500.
- Koga F. On the Life History of *Tigriopus japonicus* Mori (Copepoda), *J Oceanogr Soc Japan* 1970; 26(1): 11-21.
- Kust KO and Wollenberger L. Towards an internationally harmonized test method for reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in marine copepods, *Ecotoxicology* 2007; 16(1): 183-195.
- Kwak IS and Lee W. The Mentum deformity of *C. plumosus* following exposure to endocrine disruption chemicals, *Korean J Limnol* 2005; 38(1): 11-17.
- Kwak IS and Lee W. The Mentum deformity of *C. plumosus* following exposure to Bisphenol A and 4-nonylphenol, *Korean J Environ Biol* 2007; 25(1): 66-71.
- Kwok KWH and Leung KMY. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* (Crustacea, Copepoda): effects of temperature and salinity, *Mar Pollut Bull* 2005; 51(8-12): 830-837.
- Laufer H, Borst D, Baker FC, Reuter CC, Tsai LW, Schooley DA, Carrasco C and Sinkus M. Identification of a juvenile hormone-like compound in a crustacean, *Science* 1987; 235(4785): 202-205.
- Laufer H and Borst D. Juvenile hormone in Crustacea. In: *Endocrinology of Selected Invertebrate Types*. Laufer H and Downer RGH, eds. Alan R. Liss, New York, USA 1988.
- LeBlanc GA and Bain LJ. Chronic toxicity of environmental contaminants: sentinels and biomarkers, *Environ Health Perspect* 1997; 105(Suppl 1): 65-80.
- Marcial HS, Hagiwara A and Shell TW. Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*, *Environ Toxicol Chem* 2003; 22(12): 3025-3030.
- McAllen R and Taylor A. 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(2): 227-240.
- Oehlman J, Schulte-Oehlmann U, Tillman M and Markert B. Effects of endocrine disrupters on *Prosobranch snails* (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part 1. Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens, *Ecotoxicology* 2000; 9: 383-397.
- Oh SG, Kim JK, Park SY, Lee MJ and Choi KH. Aquatic toxicities of major antimicrobial and anthelmintic veterinary pharmaceuticals and their potential ecological risks, *Soc Environ Toxicol* 2004; 3: 173-177.
- Takeda N. Some abnormalities found in the marine copepod, *Tigriopus japonicus* Mori, *Jap J Genet* 1948; 24(5-6): 125-128.
- Verslycke T, Ghekiere A, Raimondo S and Janssen C. Mysid crustaceans as standard models for the screening and testing of endocrine-disrupting chemicals, *Ecotoxicology* 2007; 16(1): 205-219.
- 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(3): 160-167.