

Bisphenol A가 송사리, *Oryzias latipes*의 수정란 부화와 어미의 산란에 미치는 영향

나오수·오성립*·이영돈·백혜자**·김형배***

제주대학교 해양연구소, *제주도해양수산자원연구소, **국립수산진흥원, ***강원도립대학 수산개발과

Effects of Bisphenol A on the Hatching of Fertilized Eggs and Spawning of Adult Fish in Songsari, *Oryzias latipes*

Oh Soo NA, Seong Rip OH*, Young Don LEE
Hea Ja BAEK** and Hyung Bae KIM***

Marine Research Institute, Cheju National University, Cheju-do 695-810, Korea

*Cheju Province Fisheries Resources Research Institute, Cheju-do 699-810, Korea

**National Fisheries Research and Development Institute, Kijang-gun, Pusan 619-900, Korea

***Department of Fisheries Development, Kangwon Province University, Kangwon-do 210-800, Korea

The effects of bisphenol A (BPA), known as one of the endocrine disrupting chemicals (EDCs), on the hatching of fertilized eggs (FE) and the spawning of adult fish in songsari, *Oryzias latipes* were investigated. In condition of the experimental groups, incubated water temperature was $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and photoperiod was 16 h (light) : 8 h (dark). FE were exposed to aqueous solutions of BPA at nominal concentration of 50, 100 and 200 $\mu\text{g}/\ell$. The time required in hatching of FE was long in the BPA 50 and 100 $\mu\text{g}/\ell$ treatment groups when compared to the controls, and in the BPA 200 $\mu\text{g}/\ell$ treatment group, FE failed to hatch. And also hatching rate was decreased in the BPA treatment groups in comparison to the controls. Adult fishes were reared to oral administration via a diet of 50, 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{g}$ body weight BPA concentration for 3 weeks. Number of total eggs spawned in the adult fish were fewer in the BPA 100 and 200 treatment groups than in the controls and BPA 50 treatment group. Frequency of abnormal eggs in the total eggs spawned was 11.8 and 16.2% in the control and acetone carrier control lower than 36.8, 46.8 and 74.1% in the BPA 50, 100 and 200 treatment groups, respectively. And hatching rate of FE decreased in the BPA treatment groups in comparison to the controls. In these results, inhibition of the hatching of FE and the quantity and quality of spawned eggs in adult fish were observed from BPA treatment groups when compared to the controls.

Key words: *Oryzias latipes*, Bisphenol A, Hatching, Fertilized egg, Spawning

서 론

수서생태계는 산업화의 부산물인 유기화합물의 유입으로 심하게 오염되고 있으며, 이들 화합물은 생물학적, 화학적 분해가 느리고 친유성 (lipophilic)을 띄기 때문에 수서생물의 체내에 축적된다 (Colborn et al., 1993; Von Westernhagen et al., 1981, 1987).

어류에 있어 유기화합물은 생식소와 생식세포에 직접적인 작용으로 수정의 저해 (Spies et al., 1988)와 부화율 (Von Westernhagen et al., 1981; Hose et al., 1982)을 감소시킬 수 있다.

Bisphenol A (BPA)는 흰색 결정이고, 녹는점이 $150 \sim 155^\circ\text{C}$, 끓는점이 220°C , 밀도가 1.95로 자극성 및 과민성 물질이며, 생식독성 및 기형 유발가능성 물질이다. 이러한 내분비장애물질인 BPA는 폴리카보네이트 플라스틱과 에폭시수지의 원료로 사용되고 있다. 폴리카보네이트 플라스틱은 음식용기와 음료 포장재로 널리 사용되고 있으며, 또한 에폭시수지는 캔 용기, 병 뚜껑 그리고 물 공급용 파이프 등에 금속을 코팅하는 물질이며 (Brotons et al., 1995), 치과 재료와 플라스크에도 함유된 것으로 보고되고 있다 (Olea et al., 1996; Krishnan et al., 1993). 산업화가 발전함에 따라 세계적으로 BPA 사용량은 증가하는 추세이며, 1996년 환경부의

통계자료에 의하면 우리 나라에서도 BPA가 연간 61,300 ton이 생산되고 있다.

포유류에 있어 BPA의 내분비계 교란에 관한 연구는 비교적 많은 연구자들이 수행하고 있다 (Krishnan et al., 1993; Milligan et al., 1998; Staples et al., 1998). 그리고 최근에 들어 수서생물인 어류를 대상으로 *in vitro* 하에서 BPA처리에 의한 미성숙 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*의 vitellogenin 유도 (Christiansen et al., 1998a), 수컷 잉어, *Cyprinus carpio*의 간세포 배양에서 vitellogenin 분비유도 (Smeets et al., 1999) 등이 보고되고 있으며, *in vivo* 하에서 BPA가 송사리 *O. latipes*의 초기생활에 미치는 영향에 관한 연구 (Yokota et al., 2000)가 이루어지고 있으나, 수서생물을 대상으로 BPA의 내분비계와 번식의 연속성 교란에 관한 연구는 매우 드문 실정이다.

이 연구는, 내분비장애물질이 생물의 번식력과 종 연속성에 미치는 영향을 밝히기 위한 연구의 일환으로, 송사리, *Oryzias latipes*의 수정란을 BPA에 침적처리 하였을 때 수정란의 부화에 미치는 영향, 그리고 송사리 어미에 BPA를 경구투여 사육하였을 때 자손세대 (F1)에 미치는 영향을 파악하기 위해 어미의 산란량과 수정란의 부화에 관하여 번식생물학적 측면에서 탐색하였다.

재료 및 방법

실험약품

실험에 사용한 BPA는 Aldrich사 (Milwaukee, Wisconsin, USA)에서 구입하였으며, acetone을 용매로 하여 100 mg/ml BPA stock solution을 만들어 사용하였다.

실험어 및 사육조건

이 연구에 이용된 송사리는 전라남도 광양시 광양읍 소재 농로와 하천에서 채집하였으며 평균 전장은 2.6±0.6 cm, 평균 체중은 0.2±0.1 g 이었다. 채집된 송사리는 제주대학교 해양연구소로 옮긴 후 지하수를 이용하여 40 l 유리수조에 순치 사육하였다. 실험에 사용한 사육수는 pH 8.1, COD 0.8 mg/l의 제주대학교 해양연구소 지하수를 이용하였다. 실험기간 동안 수온은 25.0±0.5°C, 광주기는 16 h (Light) : 8 h (Dark)을 유지하였다. 산란기에는 수정란의 부착을 위해 사육수조에 수초를 함께 넣어 주었다.

수정란 침적처리

BPA에 침적처리된 수정란의 부화율과 부화 소요시간에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 송사리 어미 사육수조의 수초에 부착한 알 중에서 2~4 세포기 발생단계의 것을 수거하여 실험구별로 45~55개의 알을 500 ml 유리 비이커에 수용하였다. BPA 처리구는 50, 100 그리고 200 µg/l가 되도록 미리 조제한 BPA stock solution을 각각의 처리구에 2.5, 5 그리고 10 µl씩 첨가하였다. 대조구는 사육수만을 공급한 실험구 (대조구 I)와 BPA의 용매로 사용한 acetone을 200 µg/l 농도로 첨가한 실험구(대조구 II)를 두었다. 사육수는 24시간마다 전량 환수하였으며, 증발에 따른 농도변화를 막기 위해 투명비닐 덮개를 씌웠다.

어미 경구투여

각 실험구별로 평균 전장 2.9±0.2 cm, 0.3±0.1 g의 송사리 어미를 1 l 유리 비이커에 암·수 10마리씩 20마리를 수용하였다. BPA 처리구는 50, 100 그리고 200 µg/g body weight가 되도록 BPA stock solution과 시판중인 초기사료 (農産工業株式會社, 日本) 1 g을 20 ml 유리병에 넣어 혼합 흡착 후 4°C에 냉장 보관하였다. 대조구는 사료만을 공급한 실험구 (대조구 I)와 BPA의 용매로 사용한 acetone을 200 µg/g body weight 농도로 흡착시킨 실험구 (대조구 II)를 두었다. 각각의 사육수조에 일일 사료 0.15 g씩 3주 동안 경구투여 하였다. 사육수는 72 시간마다 전량 환수하였으며, 수정란을 부착할 수 있도록 각 실험구별로 수초를 넣어주었다. 수초에 부착한 수정란은 500 ml 비이커에 수용하여 부화를 유도하였다. 산란한 알의 상태는 해부현미경 (ZEISS, Stemi 2000-C)으로 관찰하였으며, 발생이 진행되는 알은 정상란, 백탁되거나 찌그러지고 발생이 진행되지 않는 알은 비정상란으로 구분하였다. 산란한 알의 수는 3주간 산란한 것을 계수하였고, 부화율은 (부화개체 수/정상란의 수)×100으로 계산하였다.

통계분석

실험결과는 SAS 통계처리 프로그램을 이용하여 ANOVA-test를

실시한 후 Duncan's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였다.

결과

수정란의 부화

송사리 수정란에 BPA를 침적 처리한 결과, 부화에 소요되는 시간과 부화율은 Fig. 1과 같다. 부화개시는 대조구에서 실험개시 후 9일, BPA 50, 100 µg/l 처리구에서 실험개시 후 26일이 걸렸고, 부화가 종결되는 시점도 대조구에서 실험개시 후 12일, BPA 50, 100 µg/l 처리구에서 실험개시 후 각각 35일과 27일이 걸려, 대조구보다 BPA 처리구에서 부화에 소요되는 시간이 길었다. 그러나 200 µg/l 처리구에서 수정란들은 부화하지 않았다.

대조구 I 과 II의 누적부화율은 각각 89.8±1.1, 84.3±4.5%인 반면, BPA 50, 100 µg/l 처리구의 부화율은 각각 23.3±7.8, 22.2%로 대조구에 비해 현저하게 낮았다 (p<0.05).

어미의 산란과 부화율

BPA를 처리한 송사리 어미에서 산란된 알의 수를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 대조구 I 과 II 그리고 BPA 50 µg/g body weight 처리구의 송사리 어미는 각각 52.5±33.2, 47.0±16.9, 48.0±12.7개

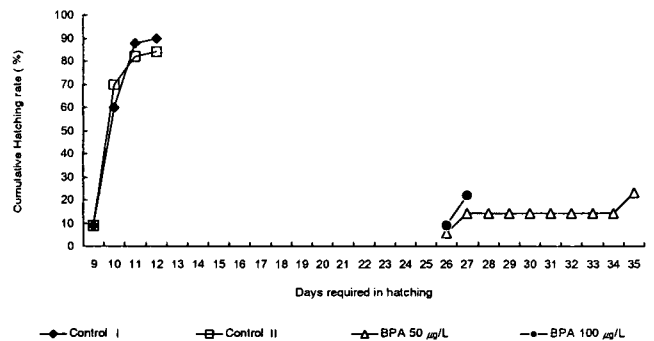


Fig. 1. Cumulative hatching rate and days required in hatching of the fertilized eggs of songsari, *O. latipes*.

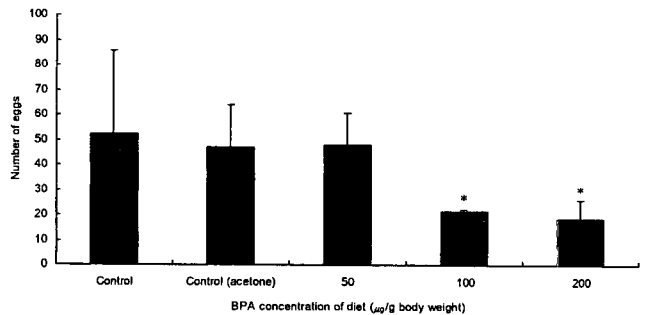


Fig. 2. Number of total eggs spawned in adult songsari, *O. latipes* of the controls and the treatments of oral administration via a diet of BPA. Statistical significant difference (p<0.05) from controls is indicated by an asterisk.

의 알을 산란한 반면, BPA 100, 200 µg/g body weight 처리구의 어미는 각각 21.5±0.7, 18.5±7.7개의 알을 산란해 상대적으로 적은 산란량을 보였다 (p<0.05). 산란한 모든 알 중에서 백탁되거나 찌그러지고 발생이 진행되지 않는 비정상란의 비율은 대조구 I 과 II에서 각각 11.8±1.9, 16.2±1.3%인 반면, BPA 50, 100 그리고 200 µg/g body weight 처리구에서는 각각 38.8±17.6, 46.8±14.6, 74.1±6.8%의 비율을 보여 BPA 처리 농도가 높을수록 비정상란이 많았다 (Fig. 3, p<0.05). 정상적으로 발생이 진행되는 정상란을 부화시킨 결과는 Fig. 4와 같다. 대조구 I 과 II의 부화율은 각각 78.7±8.4%와 78.9±4.3%인 반면, BPA 50, 100, 200 µg/g body weight 처리구의 부화율은 각각 47.7±30.2, 45.2±16.8, 47.2±3.9%로 대조구보다 상대적으로 낮았다 (p<0.05). 부화된 개체 중에서 기형 개체는 관찰할 수 없었다.

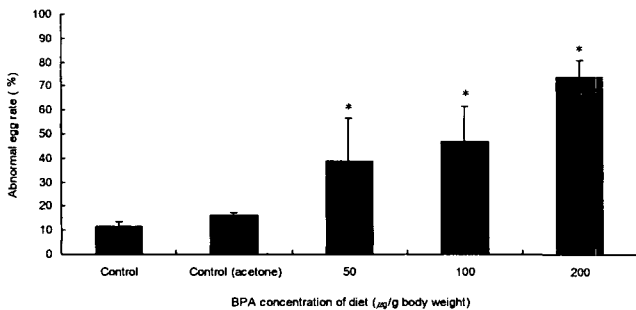


Fig. 3. Frequency of abnormal eggs in the total eggs spawned in adult songsari, *O. latipes* of the controls and the treatments of oral administration via a diet of BPA. Statistical significant difference (p<0.05) from controls is indicated by an asterisk.

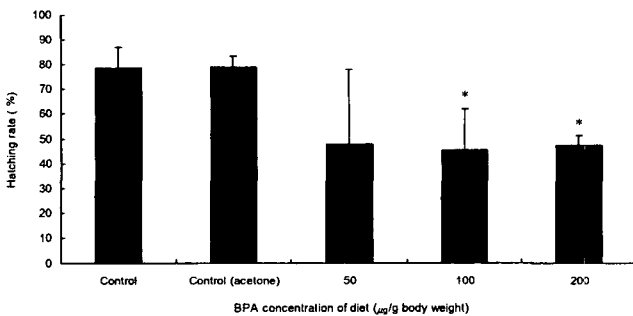


Fig. 4. Hatching rate of fertilized eggs spawned in adult songsari, *O. latipes* of the controls and the treatments of oral administration via a diet of BPA. Statistical significant difference (p<0.05) from controls is indicated by an asterisk.

고 찰

어류에 있어서 유기화합물은 생식소와 생식세포에 직접적인 교란작용으로 성분화 (Armstrong, 1986), 수정의 저해 (Spies et al., 1988), 부화율 (Von Westernhagen et al., 1981; Hose et al., 1982), 부화자어의 생존율 (Von Westernhagen et al., 1987)을 감소시킬

수 있다.

내분비장애물질인 BPA는 폴리카보네이트 플라스틱과 에폭시수지의 원료로 세계적으로 널리 사용되고 있다. BPA가 포유류에 미치는 내분비계 교란에 관한 연구는 무흉선 마우스의 estrogenicity (Kang et al., 1998)에 관한 연구, 어미 wistar rat에 BPA를 경구 투여한 결과 출산된 수컷자손의 생식기관 발달 저해 (Dimond et al., 1998) 등이 보고되고 있다. 그리고 어류를 대상으로 하여, 미성숙 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*에서 vitellogenin을 유도 (Christiansen et al., 1998), 수컷 잉어, *Cyprinus carpio*의 간세포 배양에서 vitellogenin 분비 (Smeets et al., 1999) 등 내분비계 교란을 보고하고 있다.

유기화합물이 어류의 수정란 부화에 미치는 영향에 관한 연구는 0.2 mg/l 농도의 PCB에 21일간 노출된 brook trout, *Salvelinus fontinalis*에서 부화율 감소 (Freeman and Idler, 1975)와 170 mg/kg 농도의 PCB를 경구 투여한 minnows, *Phoxinus phoxinus*에서 부화율 감소 (Bengtsson, 1980) 등이 보고되고 있다. 중금속류 중 내분비계 장애물질로서 어류의 수정 저해에 관한 연구는 송사리과 어류인 *Fundulus heteroclitus* 경우, 수은이 난문을 막아 정자의 난내 침입을 방해하여 수정을 저해하고 (Khan and Weis, 1993), 송사리, *O. latipes* 수정란이 15 µg/l 염화 제2수은에 장기간 노출에 따른 부화율의 감소와 이상 개체의 출현 (Heisinger and Green, 1975), 0.45 mg/l 카드뮴에 sheehead minnow, *Cyprinodon variegatus*의 수정란을 노출시켰을 때 부화가 지연되는 현상 (Meteyer et al., 1988) 등이 보고되고 있다. 이 연구에서도 송사리 수정란을 BPA에 노출시킨 결과, 수정란의 부화에 소요되는 시간은 대조구 I 과 II에서 실험개시 후 9~12일, BPA 50 µg/l 처리구는 26~35일, BPA 100 µg/l 처리구는 26~27일 소요되었다. 그리고 BPA 200 µg/l 처리구는 부화하지 않았다. 부화율은 대조구 I (89.8%)과 II (84.3%)에 비해 BPA 50 µg/l 처리구 (23.2%)와 BPA 100 µg/l 처리구 (22.2%)에서 상대적으로 낮았다. 이 결과들은 PCB에 노출된 brook trout, *S. fontinalis*와 minnows, *P. phoxinus*에서 부화율 감소의 결과와 유사하였다. 그러나 Yokota 등 (2000)은 상실기 단계의 송사리 *O. latipes* 수정란을 BPA에 3.2~2,000 µg/l 농도로 노출시켰을 때 부화율과 부화소요시간에 영향을 미치지 않았다고 보고하고 있어 이 실험결과와 상반되지만, 이것은 수정란 노출시기와 처리농도 차이에 기인하는 것으로 생각된다. Tuzuki 등 (1966)은 송사리 수정란을 수온 22.5°C에서 부화시켰을 때 11~13일이 걸린다고 보고하였는데, 이 연구에서 대조구의 부화에 소요된 시간 9~12일과의 차이는 사육수온에 기인하는 것으로 사려된다.

BPA가 수서환경에서 검출되는 농도는 일본의 Tama river에서 0.01~0.09 µg/l (Matsumoto, 1982), 미국의 Cape Cod의 배출수에서 0.09~0.15 µg/l (Rudel et al., 1998) 그리고 스웨덴의 하수처리장 배출수에서 0.49 µg/l (Larsson et al., 1999)로 미량이지만, 먹이사슬을 통해 어류의 체내에 축적되는 양은 수중 잔류농도의 10배 정도가 될 가능성을 제시하고 있다 (Hallett and Sonstegard, 1978). 그리고 포도, 관상수 등에 사용하는 살균제의 일종인 Vinclozolin을 실험쥐에 50~200 mg/kg body weight 농도로 처리하

여 번식기의 손상을 조사하였고 (Gray et al., 1997), p,p'-DDE를 실험쥐에 100 mg/kg body weight 농도로 임신기간 중에 투여하여 체내 대사생리의 교란을 보고하고 있다 (Kelce et al., 1995). Christiansen 등 (1998b)은 eelpout, *Zoarces viviparus*를 대상으로 Nonylphenol 100 µg/g body weight 농도로 투여하여 vitellogenin 활성을 유도하였다는 보고도 있다. 이 실험에서는 BPA 농도를 50, 100 그리고 200 µg/g body weight로 설정하여 사료에 혼합 경구투여 하였을 때 어미의 산란과 산란된 알들의 부화에 미치는 영향을 조사하였다.

BPA를 처리한 송사리 어미는 대조구 I 과 II 그리고 BPA 50 µg/g body weight 처리구에서 각각 52.5, 47.0, 48.0개의 알을 산란한 반면, BPA 100, 200 µg/g body weight 처리구에서 각각 21.5, 18.5개의 알을 산란해 상대적으로 산란량이 적었다. 산란된 모든 알 중에서 비정상란의 비율은 대조구 I 과 II에서 각각 11.8, 16.2%인 반면, BPA 50, 100 그리고 200 µg/g body weight 처리구에서 각각 38.8, 46.8, 74.1%의 비율을 보여 BPA처리 농도가 높을수록 비정상란이 많았다. 그리고 정상란의 부화율은 대조구에서 평균 78% 이상이었으나 BPA 처리구에서 평균 50% 이하로 대조구에 비해 상대적으로 낮았다. 이러한 결과는 sheepshead minnow, *C. variegatus*에서 산란된 알 수의 감소 (Goodman et al., 1982), guppy, *Poecilia reticulata*에서 산란된 알 수의 감소와 비정상란 비율의 증가 (Yasuno et al., 1980), flagfish, *Jordanella floridae*에서 산란된 알 수의 감소와 부화율 감소 (Holdway and Dixon, 1986) 등 유기화합물이 어류에 있어서 어미의 산란에 미치는 영향에 관한 연구와 유사한 경향을 보였다. 앞으로 BPA가 어류에 있어서, 수정란 발생과정의 저해, 어미의 번식력에 미치는 대사생리와 자손 (F1)에 연속적으로 미치는 영향에 관한 연구가 심도 있게 이루어져야 할 것이다.

요 약

내분비장애물질로 알려진 BPA가 송사리 수정란의 부화와 어미의 산란량에 미치는 영향을 번식생물학적으로 조사하였다.

송사리 수정란의 부화 소요시간은 대조구 I 과 II에서 9~12일, BPA 50 µg/l 처리구에서 26~35일, BPA 100 µg/l 처리구에서 26~27일 이었으나, 200 µg/l 처리구에서는 부화하지 않았다. 부화율은 대조구 I 과 II에서 각각 89.8, 84.3%인데 비해, BPA 50과 100 µg/l 처리구에서 각각 23.3, 22.2%로 현저하게 낮았다.

송사리 어미가 산란한 알의 수는 대조구 I 과 II 그리고 BPA 50 µg/g body weight 처리구에서 각각 52.5, 47.0, 48.0개인데 비해, BPA 100과, 200 µg/g body weight 처리구에서 각각 21.5, 18.5개로 상대적으로 산란량이 적었다. 산란한 모든 알 중에서 비정상란의 비율은 대조구 I 과 II에서 각각 11.8, 16.2% 이었고, BPA 50, 100 그리고 200 µg/g body weight 처리구에서 각각 38.8, 46.8, 74.1%의 비율을 보여 BPA 처리 농도가 높을수록 비정상란이 많았다. 그리고 정상란의 부화율은 대조구에서 평균 78% 이상인데 비해, BPA 처리구에서 평균 50% 이하로 대조구에 비해 상대적으로 낮았다. 이들 결과들에서 BPA 처리구는 대조구에 비해 송사리의

수정란 부화와 송사리 어미의 산란량과 난질 그리고 수정에 저해를 주는 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 환경부 “환경과학과 기술개발 (1999)” 지원을 받아 수행하였습니다.

참 고 문 헌

- Armstrong, D.T. 1986. Environmental stress and ovarian function. *Biol. Reproduction*, 3, 29~39.
- Bengtsson, B.E. 1980. Long term effects of PDB (Clophen A50) on growth, reproduction and swimming performance in the minnow, *Phoxinus phoxinus*. *Water Res.*, 14, 681~687.
- Brotos, J.A., F. Olea-Serrano, M. Villalobos, V. Pedraza and N. Olea. 1995. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food can. *Environ. Health Perspect.*, 103, 608~612.
- Colborn, T., F.S. Vom Saal and A.M. Soto. 1993. Development effect of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.*, 101, 378~384.
- Christiansen, L.B., K.L. Pedersen, B. Korsgaard and P. Bjerregaard. 1998a. Estrogenicity of xenobiotics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using *in vivo* synthesis of vitellogenin as a biomarker. *Mar. Environ. Res.*, 46, 137~140.
- Christiansen, T., B. Korsgaard and A. Jespersen. 1998b. Induction of vitellogenin synthesis by nonylphenol and 17β-estradiol and effects on the testicular structure in the eelpout, *Zoarces viviparus*. *Mar. Environ. Res.*, 46, 141~144.
- Diomond, S.S., J.M.J. Waechter, W.J. Breslin, J.H. Butala, S.Z. Cagen, F.W. Jekat, R.L. Joiner, R.N. Shiotsuka and G.E. Veenstra. 1998. Evaluation of reproductive organ development in the male offspring of female wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. unpublished study of the Society of the Plastics Industry Inc.
- Freeman, H.C. and D.R. Idler. 1975. The effect of polychlorinated biphenyl on steroidogenesis and reproduction in the brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Can. J. Biochem.*, 53, 666~670.
- Goodman, L.R., D.J. Hansen, C.S. Manning and L.F. Faas. 1982. Effects of Kepone on the sheepshead minnow in an entire life cycle toxicity test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 11, 335~342.
- Gray, L.E., J. Otsby, W.R. Kelce and E. Monosson. 1997. Low dose effects of vinclozolin on sex differentiation in rats. unpublished data.
- Hallett, D. and R. Sonstegard. 1978. Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and herring gulls (*Larus argentatus*) as indicators of organochlorine contamination in lake Ontario. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35(11), 1401~1409.
- Heisinger, J.F. and W. Green. 1975. Mercuric chloride uptake by eggs of the ricefish and resulting teratogenic effects. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 14, 665~673.
- Holdway, D.A. and D.G. Dixon. 1986. Effects of methoxychlor exposure of flagfish eggs (*Jordanella floridae*) on hatchability, juvenile methoxychlor tolerance and whole body levels of tryptophan, serotonin and 5-hydroxyindole acetic acid. *Water Res.*, 20, 893~897.

- Hose, J.E., J.B. Hannah, D. Dijulio, M.L. Landolt, B.S. Miller, W.T. Iwaoka and S.P. Felton. 1982. Effects of benzopyrene on early development of flatfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 11, 167~171.
- Kang, K.S., Y.S. Lee and K.S. Shin. 1998. Estrogenicity of Genistein and bisphenol A. *Kor. Soc. Food Hyg. Safety*, 13(2), 103~111.
- Kelce, W.R., C.R. Stone, S.C. Laws, L.E. Gray, J.A. Kemppainen and E.M. Wilson. 1995. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375, 581~585.
- Khan, A.T. and J.S. Weis. 1993. Differential effects of organic and inorganic mercury on the micropyle of the eggs of *Fundulus heteroclitus*. *Environ. Biol. Fish.*, 37, 323~327.
- Krishnan, A.V., P. Stathis, S.F. Permuth and L. Tokes. 1993. Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinol.*, 132, 2279~2286.
- Larsson, D.G.J., M. Adolfsson-Erici, J. Parkkonen, M. Pettersson, A.H. Berg, P.E. Olsson and L. Forlin. 1999. Ethinylloestradiol - An undesired fish contraceptive? *Aquat. Toxicol.*, 45, 91~97.
- Matsumoto, G. 1982. Comparative study on organic constituents in polluted and unpolluted inland aquatic environments-III. *Water Res.*, 16, 551~557.
- Meteyer, M.J., D.A. Wright and F.D. Martin. 1988. Effect of cadmium on early developmental stages of the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 7, 321~328.
- Milligan, S.R., A.V. Balasubramanian and J.C. Kalita. 1988. Relative potency of xenobiotic estrogens in an acute *in vivo* mammalian assay. *Environ. Health Perspect.*, 106, 23~26.
- Olea, N., R. Pulgar, P. Perez, F. Olea-Serrano, A. Rivas, A. Novillo-Fertrell, V. Pedraza, A.M. Soto and C. Sonnenschein. 1996. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ. Health Perspect.*, 104, 298~305.
- Rudel, R.A., S.J. Melly, P.W. Geno, G. Sun and J.G. Brody. 1998. Identification of alkylphenols and other estrogenic phenolic compounds in wastewater, septage and groundwater on Cape Cod, Massachusetts. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 861~869.
- Smeets, J.M.W., T.R. Rankouhi, K.M. Nichols, H. Komen, N.E. Kaminski, J.P. Giesy and M. van den Berg. 1999. *In vitro* vitellogenin production by carp (*Cyprinus carpio*) hepatocytes as a screening method for determining (anti)estrogenic activity of xenobiotics. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 157(1) 68~76.
- Spies, R.B., D.W. Rice and J. Felton. 1988. Effects of organic contaminants on reproduction of the starry flounder, *Platichthys stellatus*, in San Francisco Bay. II. Reproductive success of fish captured in San Francisco Bay and spawned in the laboratory. *Mar. Biol.*, 98, 191~200.
- Staples, C.A., P.B. Dorn, G.M. Klecka, S.T. O'Block and L.R. Harris. 1998. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 2149~2173.
- Tuzuki, E., N. Egami and Y. Hyodo. 1966. Multiplication and sex differentiation of germ cells during development in the medaka, *Oryzias latipes*. *Jap. J. Ichthyol.*, 13, 176~182.
- Von Westernhagen, H., V. Dethlefsen, P. Cameron and D. Janssen. 1987. Chlorinated hydrocarbon residues in gonads of marine fish and effects on reproduction. *Sarsia*, 72, 419~422.
- Von Westernhagen, H., H. Rosenthal, V. Dethlefsen, W. Ernst, U.L. Harms and P.D. Hansen. 1981. Bioaccumulating substances and reproductive success in Baltic flounder *Platichthys flesus*. *Aquat. Toxicol.*, 1, 85~89.
- Yasuno, M., S. Hatakeyama and M. Miyashita. 1980. Effects on reproduction in the guppy (*Poecilia reticulata*) under chronic exposure to temephos and fenitrothion. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 29~33.
- Yokota, H.Y., Tsuruda, M. Daeda, Y. Oshima, H. Tadokoro, A. Nakazono, T. Honjo and K. Kobayashi. 2000. Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 19(7), 1925~1930.

2000년 7월 15일 접수

2000년 9월 2일 수리