

노닐페놀 (NP)에 장기간 노출된 줄납자루, *Acheilognathus yamatsutae*의 NP 체내 축적, 성장 및 생존율

진영국[†] · 김치홍* · 이철우** · 이정식

전남대학교 수산해양대학 수산생명의학과

*국립수산과학원 중부내수면연구소, **국립환경과학원 환경노출평가과

Survival Rate, Growth and NP Accumulation of the Striped Bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* Long-term Exposed to Nonylphenol (NP)

Young Guk Jin[†], Chi Hong Kim*, Chul Woo Lee** and Jung Sick Lee

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

*Central Inland Fisheries Research Institute, Kapyeong 477-815, Korea

**Environmental Exposure Assessment Division, National Institute of Environmental Research,
Incheon 404-708, Korea

Striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* (TL: 4.25 cm, TW: 0.73 g) were exposed to 0.3, 1.3, 17.6 and 33.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ of nonylphenol (NP) for a period of 20 weeks. We studied on accumulation, growth and survival rate. After 20 weeks of exposure, the accumulation of NP in the body of the female and male was increased with increasing dose-dependent and male was higher than female. 4 weeks of exposure, TL of female striped bitterling was found to be increased in all of the dose group compared to control and 12 weeks of exposure, similar or some decreased in all of the dose group compared to control. 20 weeks of exposure, increased in all of the dose group compared to control and TL at 33.7 $\mu\text{g NP L}^{-1}$ were significantly higher than those in control ($p < 0.05$). 4 weeks of exposure, TL and TW of male striped bitterling was found to be increased in all of the dose group compared to control and significantly higher in TL of 33.7 $\mu\text{g NP L}^{-1}$ ($p < 0.05$). 12 and 20 weeks of exposure, TL and TW decreased in all of the dose group compared to control and significantly lower in 1.3 $\mu\text{g NP L}^{-1}$ of 12 weeks. Survival rate in both groups decreased with increasing NP concentration and there was a significant difference between control group and experimental groups exposed to each NP concentration.

Key words: *Acheilognathus yamatsutae*, Nonylphenol, Accumulation, Growth, Survival rate

내분비계장애물질을 비롯한 다양한 수중 오염 물질들은 어류의 생식에 영향을 미치며, 그 영향은 매우 다양하게 나타난다 (Westernhagen *et al.*, 1981; Andersson *et al.*, 1988; Nimrod and Benson, 1998; Schwaiger *et al.*, 2000; Stentiford

et al., 2003).

특히, 수서동물의 구조, 생리 및 생식이상을 초래하는 것으로 보고되고 있는 페놀류 가운데 노닐페놀은 어류의 다양한 부위에 축적되며 (Soverchia *et al.*, 2005), 다량 축적으로 인해 사

[†]Corresponding Author : Young Guk Jin, Tel : +82-61-659-3172;
Fax : +82-61-659-3172, E-mail : jyg4j@hanmail.net

망에 이를 수 있을 뿐만 아니라 (Uguz *et al.*, 2003), 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss* 치어의 성장 감소 (Ashfield *et al.*, 1998) 또는 coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* 치어와 Atlantic salmon, *Salmo salar*에서 성장을 촉진시킨다 (McCormick *et al.*, 2005; Keen *et al.*, 2005). 또한 goldfish, *Carassius auratus*, flounder, *Platichthys flesus*와 fathead minnow, *Pimephales promelas* 등 많은 어류들에서 vitellogenin을 활성화 시키고 (Christensen *et al.*, 1999; Giesy *et al.*, 2000; Soverchia *et al.*, 2005), 효소의 활성을 유도한다 (Bhattacharya *et al.*, 2008). 이 뿐 아니라 medaka, *Oryzias latipes*에서 testis-ova를 유도하며 (Gray *et al.*, 1997), zebrafish, *Danio rerio*에서 비정상적인 배우자형성과정 및 간과 신장에서의 구조적 변형 (Weber *et al.*, 2003), 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss* 피부에서 점액세포의 이상증식 및 구조적 이상 (Holm *et al.*, 2000) 등을 초래한다.

하지만 노닐페놀이 어류에 미치는 영향은 아직까지도 연구자들마다 다소 상이한 결과들을 나타내고 있고 (Harries *et al.*, 2000; Schwaiger *et al.*, 2000), 그 중에서도 성장에 미치는 영향은 노출기간이 비교적 짧은 단기간 노출임에도 불구하고 매우 다양한 결과들이 보고되고 있어 정확한 결론을 내리기에는 어려움이 있다 (Keen, 2005; Balch and Metcalfe, 2006; Ishibashi *et al.*, 2006).

이에 본 연구는 국내 담수어종 중 하나인 줄납자루, *Acheilognathus yamatsutae*를 다양한 농도의 노닐페놀에 장기간 노출시킴으로써 이들 어류 체내의 노닐페놀 축적에 따른 생존율 및 성장에 대한 영향을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에 사용된 줄납자루는 평균 전장 4.25

cm, 평균 전중 0.73 g의 성어 288개체를 국립수산물확원 중부내수면연구소에서 분양받아 실험에 이용하였다.

방 법

사육조건

줄납자루는 실험실로 운반하여 지수형 순환여과식 수조에 약 4주 동안 순치시켰다. 실험에 사용한 수조는 30 L의 지수형 순환여과식 사각 유리수조를 이용하였다.

실험기간은 2006년 12월 16일부터 2007년 5월 8일까지 20주였으며, 광주기와 수온은 자연 조건으로 설정하였다. 먹이는 1000 μm 의 잉어용 인공배합사료 (Ewha oil & fat ind. Co. Ltd. Korea)를 매일 오전 9시와 오후 5시에 각 수조마다 전체 체중의 0.5 ~ 1%씩 공급하였다. 또한 사육수의 농도 유지를 위해 Robert *et al.* (2003)에 의한 방법을 고려하여 3일마다 실험수의 50%를 교환하였다. 교환 시 siphon을 이용하여 수조저면의 배설물을 제거하였다.

실험기간 동안 사육수조의 수온은 노출 개시기에 15.5 $^{\circ}\text{C}$ 였으며, 이후 노출 8주까지 14 $^{\circ}\text{C}$ 로 낮아졌다가 다시 증가하기 시작하여 노출 종료일에는 23 $^{\circ}\text{C}$ 를 기록하였다 (Fig. 1).

시험용액 및 실험구

본 연구에 사용된 시험용액은 노닐페놀 (NP,

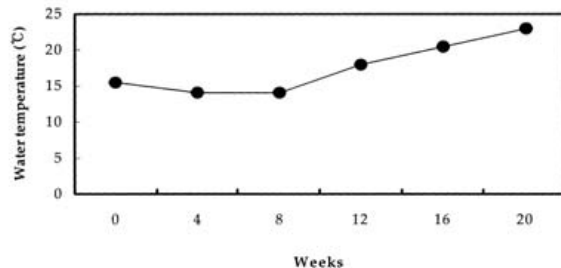


Fig. 1. Variation of water temperature during experimental period.

Aldrich Chem. Co. Inc., U.S.A)을 사용하였으며, DMSO에 1:3으로 녹인 후 증류수로 1 g NP L⁻¹ 표준용액을 만든 다음, 실험농도 별로 희석하여 조제하였다.

노닐페놀 노출실험에 대한 노출구의 농도는 예비실험 결과 얻어진 LC₅ (15.73 µg NP L⁻¹)와 축적 (Soverchia *et al.*, 2005), 생존 (Balch *et al.*, 2006), 성장 (Keen *et al.*, 2005), 생식 (Moncaut *et al.*, 2003; Zha *et al.*, 2007) 및 기관계 (Weber *et al.*, 2002; Moor *et al.*, 2003)에 나타나는 영향을 고려하여 0(control), 1, 10, 20 µg NP L⁻¹를 실험구로 하였다.

노닐페놀 분석

실내노출실험 전 먹이 및 사육수의 영향과 노출물질의 농도 및 사육수 교환을 위한 교환주기 등을 고려하기 위해 노닐페놀의 축적도를 분석하였다. 또한 노출 실험 종료 후 노닐페놀의 체내 축적도를 알아보기 위한 분석을 실시하였다. 분석 방법은 내분비계장애물질 측정분석방법 (국립환경과학원, 2002)에 준하여 분석하였으며, 각각의 분석방법은 다음과 같다.

사육수

사육수 1 L를 1 M 염산용액으로 pH를 3으로 조정한 후, 염화나트륨 30 g을 넣고 충분히 혼합하여 녹인 다음, 산성으로 한 시료에 디클로로메탄 50 mL를 넣고 10분간 진탕 추출하였다. 그 후 디클로로메탄 추출을 2회 반복하고 디클로로메탄층을 합하여 무수황산나트륨으로 탈수한 다음 회전식감압농축기를 사용하여 약 0.5 mL까지 농축한 후 내부표준물질 (Phenanthrene-d₁₀)을 첨가한 후 GC-MSD-SIM으로 분석하였다.

먹이 및 체내 축적

먹이 및 어체를 homogenizer로 균질화하여 반죽상으로 한 시료 5 g을 메탄올 20 mL를 넣고 10분간 진탕 추출하여 GF/C로 여과하고 상등액

을 취하였다. 추출조작을 3회 반복하고 원심분리 후 상등액을 합하여 300 mL 분액깔때기에 넣고 정제수 5 mL를 넣었다. n-hexane을 떨어뜨려 포화시킨 다음 추가하여 n-hexane 10 mL를 넣고 5분간 진탕추출하였다.

메탄올 층을 10% 염화나트륨 수용액 300 mL를 넣어둔 1 L의 분액깔때기에 옮기고 염산 0.5 mL를 첨가하고 디클로로메탄 20 mL로 10분간 진탕추출하였다. 이 조작을 3회 더 반복하고 디클로로메탄층을 합하여 무수황산나트륨으로 탈수하고 회전식감압농축기를 사용하여 약 0.5 mL까지 농축하여 시료의 전처리액으로 하였다. 전처리액을 실리카겔 컬럼에 부하하고 액면을 컬럼헤드까지 내린 후, n-hexane 30 mL를 유출시켜 용출액을 버린 다음 아세톤 40 mL를 유출시켰다. 얻어진 아세톤 용출액을 회전식 감압농축기를 사용하여 약 0.5 mL까지 농축한 후 내부표준물질 (Phenanthrene-d₁₀)을 50 ng 첨가한 다음 측정용 시료액으로 하였고, 이를 GC-MSD-SIM으로 분석하였다.

위와 같은 방법에 의해 분석된 먹이에서 노닐페놀은 검출되지 않았으며, 사육수 내의 노닐페놀 농도의 변화는 모든 농도구에서 노출 72시간에 평균 14.9±0.46%가 감소하였다 (Table 1).

체내 축적, 성장 및 생존율

노출기간 동안 노닐페놀의 체내 축적 변화를 알아보기 위해 각 채집일 (4, 12, 20주)마다 축적량 (분석값), 축적율 (채집일의 축적량*100/이전 채집일의 축적량) 및 생물농축계수 (BCF: bio-concentration factor, 체내 축적량/사육수의 농도)를 암·수로 나누어 전체 평균값과 비교하였다.

성장은 각 채집일에 측정된 전장 (cm)과 전중 (g)을 광학현미경 조직표본 관찰결과를 토대로 암·수로 나누어 평균값을 기재하였다.

생존율은 실험기간 동안 각 농도구별로 매일 오전 9시와 오후 5시에 사망개체를 확인하였다. 생존율은 농도구별 전체 실험 개체수에서 누적

사망 개체수를 뺀 값을 생존율로 환산하였다.

채집된 줄납자루는 버니어캘리퍼스를 이용하여 전장과 체장을 0.1 cm까지 측정하였고, 전자저울을 이용하여 전중과 체중을 0.0001 g까지 측정하여 기재하였다. 그 후 해부하여 생식소를 적출하였으며, 파라핀 절편법에 따라 광학현미경 관찰용 조직표본을 제작하여 암·수를 구분하였다.

통계적 방법

대조구에 대한 농도구들의 유의적인 차이 ($P < 0.05$)를 알아보기 위한 통계처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS, Inc., 2001)을 이용하여 paired sample t-test를 하였다.

결 과

체내 노닐페놀 축적

20주 동안 노닐페놀 (NP)에 노출된 줄납자루의 체내 NP 축적을 분석한 결과는 Figs. 2~4와 같다.

축적량은 암컷의 경우 노출되기 전 개체들의 축적 농도는 2.27 ng g^{-1} 으로 전체 축적량 (1.7 ng g^{-1})에 비해 높게 나타났다. 그 후 노출 4주에서 12주째까지는 전체축적량과 암컷의 축적량 사이에 별다른 변화는 보여지지 않았지만, 노출 20주째에 전체 축적량 및 암컷에서의 축적량이 큰 폭으로 증가한 가운데 $33.7 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된

암컷 개체들이 전체 축적량에 비해 감소하였다. 수컷의 경우 노출되기 전 개체들의 축적 농도는 1.18 ng g^{-1} 으로 전체 축적량에 비해 낮게 나타났다. 그 후 노출 20주째까지의 증가 양상은 암컷과 동일하였으나, 수컷의 축적량은 고농도에서 전체 축적량보다 높게 나타났다.

노출 기간에 따른 축적율의 변화를 관찰한 결과, 전체적으로 노출 4주째에 큰 폭으로 증가하였으며, 12주째에 큰 폭으로 감소한 후 다시 증가하는 양상을 나타냈다. 또한 대부분 암컷보다 수컷에서의 축적율이 높게 나타나 암·수간 차이를 보였다.

생물농축계수는 암·수 모두 노출 4주째에는 감소하다가 그 후 점차적으로 증가하였으며, 저농도일수록 높게 나타났다.

성장

20주 동안 노닐페놀에 노출된 줄납자루의 전장 및 전중은 Figs. 5~8과 같다.

암컷의 전장은 노출 4주째 대조구와 비교해 모든 농도구들에서 증가하였으나, 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 노출 12주째에는 노출 4주째와는 다르게 대조구와 비교해 모든 농도구들의 전장이 감소되었으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 노출 20주째 암컷의 전장은 노출 4주째와 마찬가지로 모든 농도구들에서 증가하였으며, $33.7 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들에서는 대조구와 비교해 유의적인 차이를 나타냈다 (P

Table 1. Nominal and measured nonylphenol concentrations ($\mu\text{g NP L}^{-1}$) in food and water

Nominal Concentration	Measured concentrations ($\mu\text{g/L}$)				
	0 h	24 h	48 h	72 h	
Food	ND				
Control	0.296				
Water	$1 \mu\text{g NP L}^{-1}$	1.3	1.4	1.2	1.1
	$10 \mu\text{g NP L}^{-1}$	17.6	15.5	15.3	15.0
	$20 \mu\text{g NP L}^{-1}$	33.7	30.4	29.9	28.8

* ND: not detected.

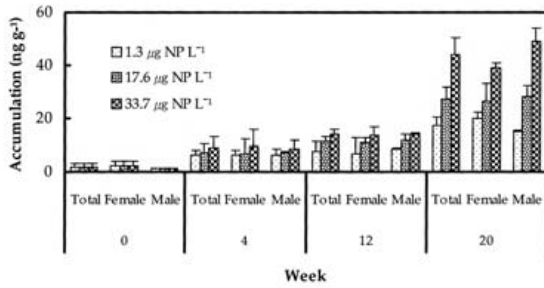


Fig. 2. Accumulation of the adult striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD.

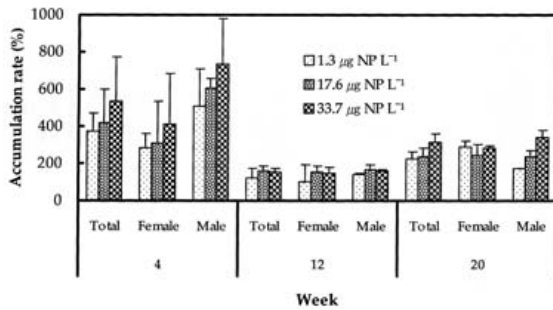


Fig. 3. Accumulation rate of the adult striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD.

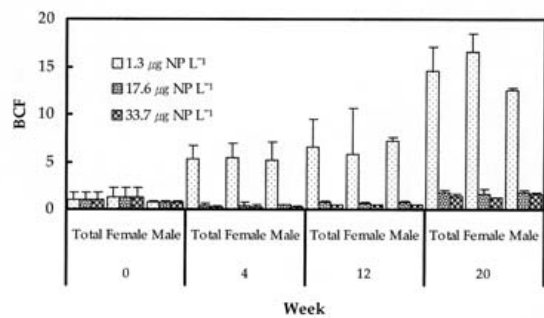


Fig. 4. Bioconcentration factor (BCF) of the adult striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD.

<0.05).

암컷의 전중은 노출 4주째 대조구와 비교해 $17.6 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들을 제외하고, 1.3 및 $33.7 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들에서 증가하였으나, 대조구와 각 농도구간 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 노출 12주와 20주째 역시 대

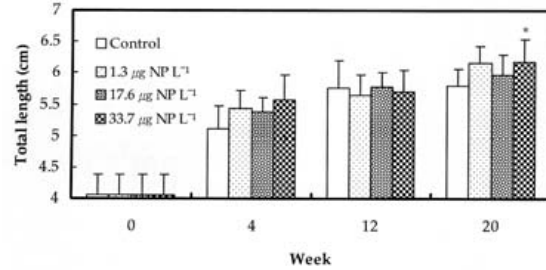


Fig. 5. Total length of the female striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD. *: significantly different from control ($P < 0.05$).

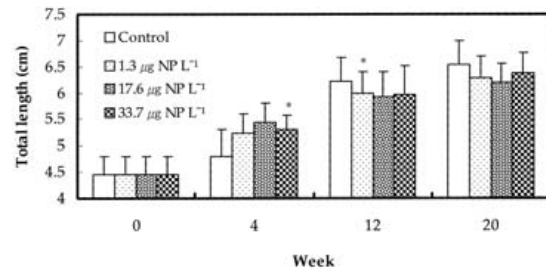


Fig. 6. Total length of the male striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD. *: significantly different from control ($P < 0.05$).

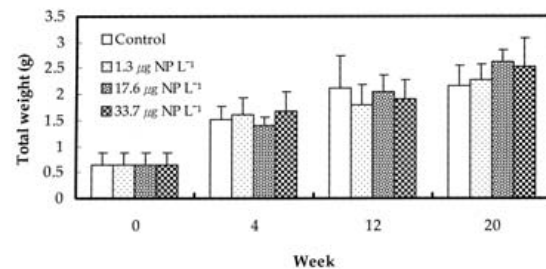


Fig. 7. Total weight of the female striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD.

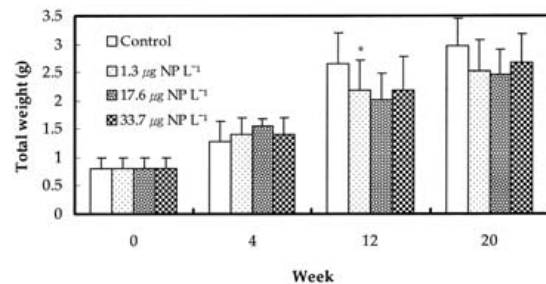


Fig. 8. Total weight of the male striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. Vertical bar: SD. *: significantly different from control ($P < 0.05$).

조구와 비교해 모든 농도구에서 전중이 증가하였지만, 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

수컷의 전장은 노출 4주째 $17.6 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들의 전장이 가장 높게 측정된 가운데, 대조구와 비교해 모든 농도구들에서 증가하였지만, 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 노출 12주와 20주째에는 대조구에 비해 모든 농도구들에서 감소되는 결과를 보였으며, 노출 12주째 $1.3 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들은 대조구와의 유의적인 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$).

수컷의 전중 역시 노출 4주째에는 대조구에 비해 모든 농도구들에서 감소하였으나, 노출 12주부터는 대조구와 비교해 모든 농도구들의 전중이 증가하고 있었고, 노출 12주째 $1.3 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들은 전장과 마찬가지로 대조구와의 유의적인 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$).

생존율

20주 동안 노닐페놀에 노출된 줄납자루의 생존율은 Fig. 9와 같이 노출 농도가 높아질수록 생존율은 감소하였다. 노출 8주까지는 대조구와 각 농도구의 생존율이 90% 이상으로 대조구와 비교해 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 노출 12와 16주째에 접어들면서 17.6 및 $33.7 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들의 생존율이 감소하기 시작하였으며, 실험종료일인 노출 20주에는 농도에 비례하여 생존율이 감소하였고, 채집된 모든 노출 개체들에서 대조구와 비교해 유의적인

차이를 나타냈다 ($P < 0.05$).

고 찰

자연수계에 분포하는 노닐페놀의 농도 및 어체 내의 축적량, 인위적인 노출실험시 노출 농도에 따른 체내 축적 그리고 생존율과의 관계는 지역, 계절, 종, 물질의 농도 및 노출방법 등 여러 가지 요인에 의해 다양하게 나타나지만, 지금까지 보고된 자료들에 의하면 노닐페놀은 체내에 축적이 되며, 이는 성장 및 생존율에 영향을 미치는 것으로 보인다.

Biwa 호수에 잔류하는 노닐페놀 및 서식하는 어류에서의 체내 축적량을 보면 Biwa 호수에는 $0.11 \sim 3.08 \text{ ng mL}^{-1}$ 의 노닐페놀이 잔류하고 있었으며, 서식하는 어류 중 pale chub, *Zacco platypus*는 최대 63 ng g^{-1} 까지 검출되었고, ayu sweetfish, *Plecoglossus altivelis*는 최대 110 ng g^{-1} , crucian carp, *Carassius carassius*는 최대 34 ng g^{-1} 그리고 bluegill, *Lepomis macrochirus*는 최대 24 ng g^{-1} 까지 검출되었다 (Tsuda *et al.*, 2000). 국내의 경우 낙동강 퇴적물에서 노닐페놀의 함유량은 $2.3 \sim 5.7 \text{ ng g}^{-1}$ dry wt.의 범위를 보이고 있었고 (Kim *et al.*, 2003), 일부 한강수계에서 노닐페놀 함유량은 $0.8 \sim 12.7 \mu\text{g L}^{-1}$ 의 범위를 보이고 있었다 (Ham *et al.*, 2004). 이와 같은 환경 및 체내 노닐페놀 축적은 본 연구에서 나타난 결과와 유사함을 나타내며, 이는 체내에서 쉽게 분해되지 못하고 다른 이차적인 영향을 미치는 중요한 요인으로 작용할 것으로 보여진다.

Medaka, *Oryzias latipes*를 $9.6, 25.8, 98.5 \mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 21일 동안 노출시킨 후 노출종료일에 전장 및 전중을 측정된 결과 수컷의 경우 대조구보다 노출구들에서 전장 및 전중 성장이 늦었으며, 이와는 반대로 암컷의 경우 대조구보다 전장 및 전중 성장이 높게 나타났고 (Ishibashi *et al.*, 2006), Balch and Metcalfe (2006)는 $8.7 \mu\text{g L}^{-1}$ 이상의 nonylphenol 농도에서 medaka, *Oryzias latipes*의 전장 및 전중 성장의 감소를 관찰하였

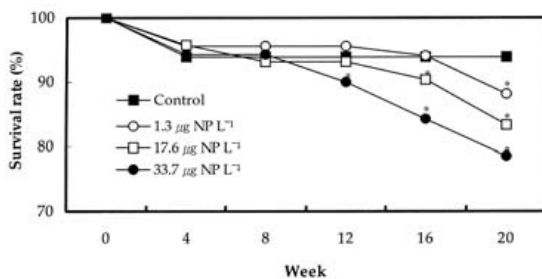


Fig. 9. Survival rate of the adult striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae* exposed to nonylphenol for 20 week. *: significantly different from control ($P < 0.05$).

다. coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*을 125일 동안 0.002, 0.2, 20, 2000 mg kg⁻¹의 노닐페놀과 31 mg kg⁻¹의 E2에 노출시킨 후 암컷과 수컷의 구분 없이 일일성장률을 분석한 결과 노닐페놀의 경우 0.002와 0.2 mg kg⁻¹에 노출된 개체들은 대조구에 비해 성장률이 약간 높았으며, 20과 2000 mg kg⁻¹에 노출된 개체들은 대조구에 비해 성장률이 약간 낮았지만, 유의적인 차이는 관찰되지 않은 반면, 31 mg kg⁻¹의 E2에 노출된 개체들은 대조구에 비해 유의적인 증가를 기록하였다 (Keen, 2005). 또한 Atlantic salmon을 14일 동안 0.5, 2, 10, 40 및 150 µg g⁻¹에 노출시킨 후 노출 7일과 14일에 성장호르몬의 양을 조사한 결과 노출 7일째는 2 µg g⁻¹에서, 노출 14일째는 0.5, 2, 40 µg g⁻¹에서 대조구에 비해 유의적인 증가를 나타냈으며 (McCormick, 2005), adult rare minnow, *Gobiocypris rarus*에 대한 28일 간의 EE2 노출실험에서는 암컷과 수컷 모두 대조구에 비해 25 ng L⁻¹에서 전장 및 전중 성장이 감소되는 결과를 보였다 (Zha, 2007). medaka, *Oryzias latipes*의 경우 triclosan에 17.3, 75.2, 162.1 µg L⁻¹에 21일 동안 노출시킨 후 노출 종료일에 전장 및 전중을 측정된 결과 암컷과 수컷 모두 대조구보다 전장 및 전중 성장이 지연되는 것으로 보고되었다 (Ishibashi et al., 2004). 어류 뿐 만 아니라 *Chronomus riparius*에 대한 노닐페놀의 노출실험에서 농도가 증가할수록 larval의 성장이 감소된다는 보고도 있으며 (Bettinetti et al., 2002), Microcystis를 0.02~2 mg L⁻¹의 nonylphenol에 노출시킨 결과 0.02~0.2 mg L⁻¹에서는 대조구에서 빠른 성장을 보인 반면, 1~2 mg L⁻¹에서는 대조구에 비해 성장저해 현상이 관찰되었다 (Wang et al., 2007).

본 연구 결과에서 암컷의 경우 대조구에 비해 전장성장에 있어 증가를 나타냈으며, 수컷의 경우 전장성장은 노출 초기에 증가하다가 노출이 길어질수록 감소를 나타냈다. 이러한 결과는 단기간 노출에 있어서는 어떤 확실한 영향이 나타나지 않지만, 노출이 장기화 될수록 암컷에서는

성장을 촉진시키고, 수컷에서는 성장을 저해시키는 것으로 볼 때, Ishibashi et al. (2006)과 유사한 결과를 나타냈지만, 노닐페놀이 어류의 성장에 미치는 영향은 다소 상이한 연구들이 다수 보고되고 있어 보다 자세한 결론을 얻기 위해서는 성장인자 등을 통한 다양한 연구가 필요할 것으로 보인다.

무지개 송어, *Onchorynchus mykiss*의 난을 1.05와 10.17 µg NPL⁻¹에 노출시켜 사망률 및 부화율을 관찰한 결과 사망률은 대조구의 경우 9.8%가 나타난 반면, 1.05 µg NP L⁻¹는 13.1%, 10.17 µg NP L⁻¹는 15.1%를 기록하였고, 부화율은 대조구의 경우 86.8%, 1.05 µg NP L⁻¹는 80.1%, 10.17 µg NP L⁻¹는 79.3%를 나타내 노출 집단에서 영향을 보였다 (Ackermann et al., 2002). medaka, *Oryzias latipes* 난의 부화율과 부화 소요시간에 대해 9.6, 25.8, 98.5 µg NP L⁻¹가 미치는 영향에서는 노출 2주부터 대조구에 비해 100 µg NP L⁻¹에서 부화율이 급격히 감소되었으며, 부화소요시간은 대조구 (9일)에 비해 노출 3주째 100 µg NP L⁻¹에서 12.33일로 늦어지는 것으로 보고되었다 (Ishibashi, 2006). 또한 fathead minnow, *Pimephales promelas*를 0.33, 0.93 및 236 µg NPL⁻¹에 노출시켜 체내의 축적량을 분석한 결과 각각 81.2, 403 및 912 mg NP L⁻¹가 검출되었으며 (Snyder et al., 2001), rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*를 66, 220 및 660 µg NP L⁻¹에 3주간 노출시켜 축적량 및 생존율을 관찰한 결과 노출 농도가 증가할수록 축적량이 증가하였으며, 660 µg NP L⁻¹에 노출된 개체들은 노출 4일 만에 전 개체가 사망하였고, 사망 당시의 bio-concentration factor는 1.37±0.213 µg NP L⁻¹였다 (Uguz et al., 2003). 뿐만 아니라 Japanese medaka, *Oryzias latipes*를 21일 동안 29.3~463 ng E2 L⁻¹에 노출시켜 암·수컷 사망률을 분석한 결과 수컷에서는 463 ng E2 L⁻¹에 노출된 개체들에서 12.5%의 사망률을 나타냈으며, 암컷에서는 가장 낮은 농도인 29.3 ng E2 L⁻¹에 노출된 개체들에서 12.5%의 사망률을 나타냈다 (Kang et al., 2002).

Moore *et al.* (2003)은 Atlantic salmon, *Salmo salar* 를 30일 동안 5~20 $\mu\text{g L}^{-1}$ 의 노닐페놀에 노출시켜 아가미에서 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ 활성이 감소되는 현상을 관찰했으며, 이는 사망률의 증가와도 연관이 있는 것으로 보고하였고, Christensen *et al.* (1999)은 2주간 10, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g g}^{-1}$ 의 노닐페놀에 flounder, *Platichthys flesus*를 노출시켜 GPT의 증가에 따른 사망률의 증가를 언급하였다. 본 연구에서 노출기간에 따른 생존율의 영향은 기존의 보고들이 단기간 노출에 의한 생존율의 감소가 주로 고농도에서 나타나고 있고, 저농도에서는 관찰되지 않은 점 등을 볼 때 본 연구 결과에서 노출 초기에 높은 생존율을 나타낸 것과 일치하지만, 저농도 일지라도 노출기간이 길어지면 농도에 비례하여 생존율에 영향을 받는 것으로 보여진다.

요 약

줄납자루, *Acheilognathus yamatsutae*를 노닐페놀에 노출시킨 후 노닐페놀의 체내축적, 성장 및 생존율을 관찰하였다. 줄납자루는 평균 전장 4.25 cm, 평균 전중 0.73 g의 성어 288개체를 실험에 이용하였으며, 노출기간은 20주였다. 체내 노닐페놀 축적은 암·수 모두 농도 의존적 증가를 나타냈고, 암컷보다 수컷에서의 축적량이 높게 나타났다. 암컷의 전장 (cm)은 대조구에 비해 증가 후 감소하다가 다시 증가하였고, 노출 20주의 33.7 $\mu\text{g NPL}^{-1}$ 에 노출된 개체들은 대조구와 유의적인 차이를 보였다. 수컷의 전장 (cm) 및 전중 (g)은 대조구에 비해 증가하다가 노출 12주부터 감소하였으며, 노출 12주째 1.3 $\mu\text{g NP L}^{-1}$ 에 노출된 개체들은 대조구와 유의한 차이를 보였다. 생존율은 노출 12주에 33.7 $\mu\text{g NP L}^{-1}$ 에서 유의적인 차이가 나타났고, 노출 16주부터는 농도 의존적 감소와 동시에 모든 농도구들에서 대조구에 비해 유의적인 차이를 나타냈다. 본 연구에서 노닐페놀의 체내 축적은 축적량 및 축적

율에 있어 암컷보다는 수컷에서 높게 나타났으며, 이는 암·수간 성장 및 생존율에 영향을 미치는 것으로 보인다.

사 사

“이 논문은 2006년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임” (KRF-2006-511-D00241)

참 고 문 헌

- Ackermann, G.E., Schwaiger, J., Negele, R.D. and Fent, K. Effects of long-term nonylphenol exposure on gonadal development and biomarkers of estrogenicity in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat. Toxicol.*, 60: 203-221, 2002.
- Andersson, T., Förlin, L., Hårdig, J. and Larsson, Å. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft pulp mill effluents. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 1525-1536, 1988.
- Ashfield, L.A., Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P. Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17: 679-686, 1998.
- Balch, G. and Metcalfe, C. Developmental effects in Japanese medaka, *Oryzias latipes* exposed to nonylphenol ethoxylates and their degradation products. *Chemosphere*, 62: 1214-1223, 2006.
- Bettinetti, R., Cuccato, D. Galassi, S. and Provini, A. Toxicity of 4-nonylphenol in spiked sediment to three populations of *Chironomus riparius*. *Chemosphere*, 46: 201-207, 2002.
- Bhattacharya, H., Xiao, Q. and Lun, L. Toxicity

- studies of nonylphenol on rosy barb, *Puntius conchonius*: A biochemical and histopathological evaluation. *Tissue and Cell*, doi:10.1016/j.tice.2007.12.004, 2008.
- Christensen, L.J., Korsgaard, B. and Bjerregaard, P. The effect of 4-nonylphenol on the synthesis of vitellogenin in the flounder, *Platichthys flesus*. *Aquat. Toxicol.*, 46: 211-219, 1999.
- Giesy, J.P., Pierenx, S.L., Snyder, E.M., Miles-Richardson, S., Karmer, V.J., Snyder, S.A., Nichols, K.M. and Villeneuve, D.A. Effects of 4-nonylphenol on fecundity of biomarkers of estrogenicity in fathead minnows, *Pimephales promelas*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 1368-1377, 2000.
- Gray, M.A., Teather, K.L. and Metcalfe, C.D. Reproductive success and behavior of Japanese medaka, *Oryzias latipes* exposed to 4-tert-octylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2587-94, 1997.
- Ham, Y.K., Oh, S.J. and Kim, S.W. Monitoring of bisphenol A and nonylphenol in waterworks system of Seoul, Korea. *Anal. Sci. Technol.*, 17(5): 423-433, 2004.
- Harries, J.E., Runnalls, T., Hill, E., Harris, C.A., Maddix, S., Sumpter, J.P. and Tyler, C.R. Development of a reproductive performance test for endocrine disrupting chemicals using pair-breeding fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Environ. Sci. Technol.*, 34(14): 3003-3011, 2000.
- Holm, P.B., Wahli, T. and Meier, W. Nonylphenol affects the granulation pattern of epidermal mucous cells in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 46: 34-40, 2000.
- Ishibashi, H., Hirano, M., Matsumura, N., Watanabe, N., Takao, Y. and Arizono, K. Reproductive effects and bioconcentration of 4-nonylphenol in medaka fish, *Oryzias latipes*. *Chemosphere*, 65: 1019-1026, 2006.
- Ishibashi, H., Matsumura, N., Hirano, M., Matsuo-ka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y. and Arizono, K. Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka, *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquat. Toxicol.*, 67: 167-179, 2004.
- Kang, I.J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda, Y., Yamaguchi, T., Maeda, M., Imada, N., Tadokoro, H. and Honjo, T. Effect of 17 β -estradiol on the reproduction of Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Chemosphere*, 47(1): 71-80, 2002.
- Keen, P.L., Higgs, D.A., Hall, K.J. and Ikonomou, M. Effects dietary exposure of 4-nonylphenol on growth and smoltification of juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Sci. Total Environ.*, 349: 81-94, 2005.
- Kim, S.C., Park, C.K., Cho, H.S. and Lee, D.I. Estimation of the nonylphenol and bisphenol A in the sediment of Nakdong river. *J. Korean Soc. Water Quality*, 19(4): 357-366, 2003.
- McCormick, S.D., O'Dea, M.F., Moeckel, A.M., Lerner, D.T. and Bjornsson, B.T. Endocrine disruption of parr-smolt transformation and seawater tolerance of Atlantic salmon by 4-nonylphenol and 17 β -estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 142: 280-288, 2005.
- Moore, A., Scott, A.P., Lower, N., Katsiadaki, I. and Greenwood, L. The effects of 4-nonylphenol and atrazine on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. smolts. *Aquaculture*, 222: 253-263, 2003.
- Nimrod, A.C. and Benson, W.H. early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquat. Toxicol.*, 44: 141-156, 1998.
- Robert, L.Hill, Jr. and David, M.J. Developmental estrogenic exposure in zebrafish, *Danio re-*

- rio. I. Effects on sex ratio and breeding success. *Aquat. Toxicol.*, 63: 417-429, 2003.
- Schwaiger, J., Spieser, O.H., Bauer, C., Ferling, H., Mallow, U., Kalbfus, W. and Negele, R.D. Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquat. Toxicol.*, 51: 69-78, 2000.
- Snyder, S.A., Keith, T.L., Pierensm, S.L., Snyder, E.M. and Giesy, J.P. Bioconcentration of nonylphenol in fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Chemosphere*, 44: 1697-1702, 2001.
- Soverchia, L., Ruggeri, B., Palermo, F., Mosconi, G., Cardinaletti, G., Scortichini, G., Gatti, G. and Polzonetti-Magni, A.M. Modulation of vitellogenin synthesis through estrogen receptor beta-1 in goldfish, *Carassius auratus* juveniles exposed to 17- β estradiol and nonylphenol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 209: 236-243, 2005.
- Stentiford, G.D., Longshaw, M., Lyons, B.P., Jones, B., Green, M. and Feist, S.W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Mar. Environ. Res.*, 55: 137-159, 2003.
- Tsuda, T., Takino, A., Kojima, M., Harada, H., Muraki, K. and Tsuji, M. 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa. *Chemosphere*, 41: 757-762, 2000.
- Uguz, C., Iscan, M., Erguven, A., Isgor, B. and Togan, I. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout, *Onchorynchus mykiss*. *Environ. Res.*, 92: 262-270, 2003.
- Wang, J., Xie, P. and Guo, N. Effects of nonylphenol on the growth and microcystin production of *Microcystis* strains. *Environ. Res.*, 103: 70-78, 2007.
- Weber, L.P., Hill, R.L. and Janz, D.M. Developmental estrogenic exposure in zebrafish, *Danio rerio*. II. Histological evaluation of gametogenesis and organ toxicity. *Aquat. Toxicol.*, 63: 431-446, 2003.
- Westernhagen, H., Rosenthal, H., Dethlefsen, V., Ernst, W., Harms, U. and Hansen, P.D. Bioaccumulating substances and reproductive success in Baltic flounder, *Platichthys flesus*. *Aquat. Toxicol.* 1: 85-99, 1981.
- Zha, J., Wang, Z., Wang, N. and Ingersoll, C. Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow, *Gobiocypris rarus* after exposure to ethinylestradiol and nonylphenol. *Chemosphere*, 66: 488-495, 2007.
- 국립환경과학원. 내분비계장애물질 측정분석 방법. 327pp., 2002.

Manuscript Received : March 11, 2008

Revision Accepted : April 11, 2008

Responsible Editorial Member : Sung-Ju Jung
(Chonnam Univ.)