

바다송사리, *Oryzias dancena*와 자비송사리, *O. javanicus* 간 잡종에 대한 비스페놀 A의 효과

김봉석* · 송하연** · 남윤권** · 김동수**†

*국립수산과학원 생명공학과, **부경대학교 해양바이오신소재학과

Effects of Bisphenol A to interspecific hybrids between marine medaka *Oryzias dancena* and javanese medaka *O. javanicus*

Bong Seok Kim*, Ha Yeun Song**, Yoon Kwon Nam** and Dong Soo Kim**†

*Biotechnology Research Division, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

**Department of Marine Bio-Materials & Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Bisphenol A (BPA) is mainly used in the production of epoxy resins and polycarbonate plastics, which is a known endocrine disruptor and acutely toxic to aquatic organisms. In this study, estrogenic effect of BPA was investigated on hybrid between *Oryzias dancena* and *O. javanicus* (ODJ). ODJ were exposed to BPA of various concentrations (eg. 2.5 mg/L, 5.0 mg/L and 10.0 mg/L) for 56 days. The growth rate, abnormality and the ratio of female and male were observed in test group and control group. As a result, the growth was 14.7 ± 2.0 mm in total length (TL) in 2.5 mg/L, 13.7 ± 2.5 mm in 5.0 mg/L, 12.8 ± 2.5 mm in 10.0 mg/L in test group while it was 18.0 ± 1.2 mm in TL in control group which was not treated with bisphenol A. The result showed that the growth decreased as the concentration of BPA increased. The abnormality rate was 13.6% in control group, 65.4% in 2.5 mg/L, 81.3% in 5.0 mg/L and 98.1% in 10.0 mg/L which showed increase in abnormality as an increase of BPA concentration. As a result of analyzing ratio of sex in the test group and control group, 6.0% was examined to be interspecific in controls, 76.9% in 2.5 mg/L and 100.0% in 5.0 mg/L and 10.0 mg/L. In conclusion, these results suggest that BPA has estrogenic effect on ODJ.

Key words : Bisphenol A, Interspecific hybrid, *Oryzias dancena*, *Oryzias javanicus*

비스페놀 A (Bisphenol A; 4,4'-isopropylidenediphenol) 는 페놀시수지, 합성수지, 폴리카보네이트 등 플라스틱 제조의 원료로 쓰이며, 화장품의 향균제 및 곰팡이 제조에도 사용되는 내분비계 교란을 일으키는 물질로 통조림 내의 코팅제와 내용물의 액체에서도 검출

된 바 있다(Brotons, 1995). 또한 치과 치료에 사용되고 인체의 피부에 접촉 시 과민성 피부염(atopic dermatitis)을 유발(Estlander *et al.*, 1999)하는 것으로 알려져 있다. 그리고 수계 환경의 다양한 폐수에서도 발견되고 있어 수계의 생태계에 미치는 영향이 매우 크다. 비스페놀 A가 환경에 퍼져있는 양은 퇴적물에 32%, 물속에 43%, 진흙에 24% 그리고 공기 중에 3.5%로 보고된 바 있다(TemaNord, 1996). 또한, 인간과

†Corresponding Author: Dong Soo Kim

Tel : +82-51-629-5914 Fax : +82-51-629-5908

E-mail : dongskim@pknu.ac.kr

무지개 송어를 대상으로 한 연구에서 성호르몬에 결합하는 단백질로 알려져 있으며(Milligan *et al.*, 1998), 비스페놀 A가 에스트로겐 효과를 내는 것으로 보고되어 있다(Lindholm *et al.*, 2000). 따라서 비스페놀 A는 인간만이 아닌 수계생물에도 내분비계 교란물질로서 위험성을 내포하고 있어 2000년도부터 척추동물과 무척추동물을 대상으로 수계생물에 대한 많은 연구들이 이루어지기 시작하였다. 비스페놀 A의 영향에 대한 연구는 무지개송어(Van den Belt *et al.*, 2003), zebrafish (Kishida *et al.*, 2001), 대서양연어(Arukwe *et al.*, 2000), brown trout (Lahnsteiner *et al.*, 2005), turbot (Labadie and Budzinski, 2006), guppies (Haubruge *et al.*, 2000) 및 *O. latipes* (Zha and Wang, 2006; Tabata *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2002; Yokota *et al.*, 2000) 등 많은 종에서 보고되었으며, 비스페놀 A가 수컷의 성전환, 생식능력 약화 및 생식기관의 기형 등을 유발한다고 하였다.

본 연구에 사용된 바다송사리 *Oryzias dancena*는 파키스탄, 인도, 미얀마, 방글라데시 및 태국 등지에 넓게 분포하고 있으며(Robert, 1998), 자바송사리 *O. javanicus*는 싱가포르, 말레이 반도 및 태국 등지의 해변에 서식하고 있는 종이다(Robert, 1998). 이들 두 종 모두 기수에 서식하고 있어 염분 농도에 대한 내성이 강한 광염성 어류이다(Inoue and Takei, 2003). 송사리 속 어류의 성 전환 연구는 *O. latipes*를 대상으로 estrone을 경구투여 하여 수컷을 암컷으로 성전환(Yamamoto, 1953) 시킨 이래 지금까지 많은 연구가 이루어져 왔다. 같은 *Oryzias* 속에 속하는 담수산 송사리인 *O. latipes*는 비스페놀 A에 노출 시 산란 및 수정 능력, 사망률, 다음 세대의 성장률과 암·수 비율 등 많은 연구가 보고되어 있다(Zha and Wang, 2006; Tabata *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2002; Yokota *et al.*, 2000). 하지만 바다에 서식하는 송사리를 대상

으로 비스페놀 A가 해양 생물에 미치는 영향을 알아보기 위한 연구는 보고된 바 없다. 해산 어류에서 비스페놀 A의 영향에 대하여 연구된 종은 무지개놀래기(Alo *et al.*, 2005), *Xiphophorus helleri* (Kwak *et al.*, 2001), 대서양연어(Arukwe *et al.*, 2000) 등이 있다. 하지만 이들 종에 대한 연구는 비스페놀 A의 처리 기간이 3일~2주간 정도로 짧고, 주로 난황 단백질(vitellogenin)의 유도나 mRNA 발현 등에 대한 결과가 보고된 것으로서 성분화에 미치는 영향에 대한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구는 불임의 형질전환 ODJ (Song *et al.*, 2010)를 해양 생태계 위해성을 평가할 수 있는 생물 지표로 사용하기 위한 연구의 일환으로 우선 대조군 ODJ를 대상으로 비스페놀 A를 처리한 후 이에 대한 민감도를 측정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어의 확보 및 잡종 유도

본 실험에서 잡종을 유도하기 위해 사용된 친어인 바다송사리는 인도네시아로부터 자연산(wild-type) 개체들을 수산동식물 이식송인에 관한 규칙에 의거(농림수산식품부령 제1호)하여 수입하였으며, 실험실에서 6개월간 사육하여 사용하였다. 또한, 자바송사리는 한국해양연구원(KORDI)에서 암컷 5개체와 수컷 3개체를 분양받아 실험실 내에서 교배시켜 부화시킨 자어를 6개월간 사육하여 사용하였다. 사육수는 해수와 담수를 5 µm의 미세필터로 여과한 후 염분측정기를 이용 10‰ 기수를 제조하여 사용하였으며 20 L의 유리수조에서 25 ± 1°C로 유지하면서 광주기(16L:8D)를 조절하였다. 매일 1/2씩 환수하였으며, 사료는 초기미립자사료(이화사료 150 µm, 350 µm, 500 µm)와 brine shrimp (*Artemia nauplius*) 유생을

공급하였다. 잡종(ODJ)을 유도하기 위하여 바다송사리 암컷 12마리(평균전장: 37.1 ± 1.4 mm)와 자바송사리 수컷 8마리(평균전장: 39.8 ± 1.1 mm)를 교배하였으며 ODJ의 사육은 친어와 동일한 조건으로 수행하였다.

비스페놀 A 용액 제조 및 처리 농도 실험

비스페놀 A (Junsei, Japan)는 20 g/L의 농도로 100% ethanol에 용해하여 stock solution을 제조하여 4°C에 보관하며 사용하였다. 실험용 수용액을 만들기 위하여 여과한 10% 기수에 비스페놀 A의 stock solution을 용해시킨 다음 충분히 통기시킨 후 사용하였다. 반수치사농도(LD₅₀)를 조사하기 위하여 예비 농도 실험을 하였다. 부화한 직후의 ODJ 자어를 비스페놀 A 0 mg/L, 5.0 mg/L, 10.0 mg/L, 15.0 mg/L와 20.0 mg/L의 농도에서 24시간, 48시간과 72시간째마다 확인하여 폐사율을 2반복으로 조사하였다.

비스페놀 A 침지 처리

부화 직후의 자어부터 침지 처리법으로 비스페놀 A에 의한 ODJ의 성전환을 유도하였다. 비스페놀 A의 농도는 예비 실험 농도 결과를 토대로 처리 농도를 0 mg/L, 2.5 mg/L, 5.0 mg/L, 10.0 mg/L로 하여 56일간 처리하였으며, 대조군으로 비스페놀 A를 섞지 않고 다른 농도와 동일한 양의 100% ethanol을 첨가하여 만든 실험용 수용액을 제조하여 사용하였다. 실험 기간 동안 수온은 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 15 L 유리 수조에서 각 실험 군당 50마리씩 3반복으로 수행하였다. 1일 1회 사육수를 환수하였으며, 부화 후 5일째까지는 초기미립자사료(이화사료, 150 μm)를 1일 5회에 걸쳐 공급하였으며, 그 이후로는 brine shrimp 유생과 함께 병행 공급하여 사육하였다.

성장률 및 기형 개체 출현율 측정

비스페놀 A가 성장에 미치는 영향과 기형 개체 출현율을 조사하기 위해 침지 처리가 끝난 56일째에 각 농도별로 처리한 개체를 대상으로 버어니어 캘리퍼스 0.01 mm까지 전장을 측정하였으며, 기형 개체 출현율을 조사하였다.

조직학적 분석

비스페놀 A를 처리한 실험군의 성분화를 조사하기 위해 조직학적 방법에 의해 조사하였다. 성전환 처리군에서 무작위로 50마리씩 선별하여 머리와 항문 이후의 꼬리부분을 제거한 몸통 부분만을 Bouin's 용액에 고정한 후 포매하였다. 평상의 파라핀 절편법에 따라 8 μm 의 두께로 파라핀 연속 절편을 만들었으며, Mayer's hematoxylin과 eosin을 사용하여 표본을 염색 한 후, 광학현미경(Nikon, Japan)하에서 성분화 양상 및 성비를 검경하였다(Kim et al., 1990). 특징적인 조직상은 광학현미경에 부착된 디지털 카메라(ARTCAM-300MI, Japan)로 촬영한 후 분석하였다.

통계 처리

성장률과 기형 개체 출현율은 유의차 검정을 하기 위하여 $P < 0.05$ 수준에서 ANOVA 검정을 하였으며 성비 분석은 χ^2 test를 하였다.

결 과

비스페놀 A의 처리 농도

비스페놀 A의 처리 농도를 알아보기 위한 예비 실험 결과 농도에 따른 폐사율은 Table 1과 같다. 대조군과 비스페놀 A 농도 5 mg/L 처리군에서는 72시간까지 폐사한 개체가 없었으나, 10 mg/L의 경우 처리 72시간째에 36.0%가 폐사하였으며, 15 mg/L 처리군

Table 1. Mortality rate of hybrids of *Oryzias dancena* and *O. javanicus* after 72 hours exposure to various concentrations of bisphenol A

BPA Conc.	No. of larvae	Mortality (%)		
		24 hr	48 hr	72 hr
0 mg/L	15	0.0	0.0	0.0
	25	0.0	0.0	0.0
Total	40	0.0	0.0	0.0
5 mg/L	15	0.0	0.0	0.0
	30	0.0	0.0	0.0
Total	45	0.0	0.0	0.0
10 mg/L	8	0.0	24.0	36.0
	25	4.0	20.0	36.0
Total	33	2.0	22.0	36.0
15 mg/L	15	40.0	50.0	72.0
	25	32.0	48.0	68.0
Total	40	36.0	50.0	70.0
20 mg/L	8	100.0	-	-
	30	100.0	-	-
Total	38	100.0	-	-

은 70.0%가 폐사하였다. 20 mg/L의 농도로 처리한 경우에는 모든 개체가 24시간 만에 폐사하였다.

성장률과 기형 개체 출현율 측정

부화 직후의 자어부터 비스페놀 A를 56일간 처리한 실험군의 성장률은 Fig. 1과 같다. 대조군의 경우 3반복 실험군의 전장을 모두 측정한 결과 18.0 ± 1.2 mm로 나타났다. 비스페놀 A 처리군에서는 2.5 mg/L로 처리한 경우 15.0 ± 2.0 mm로, 5.0 mg/L의 경우 13.7 ± 2.5 mm로 나타났으며 10.0 mg/L 처리군에서는 12.8 ± 2.5 mm로 나타나 대조군과 비스페놀 A 처리군에서 성장 차이가 관찰되었다. 또한, 처리군 간에서도 비스페놀 A의 농도가 높을수록 성장이 느린 것으로 나타났다. ANOVA를 이용한 통계학적 분석 결과

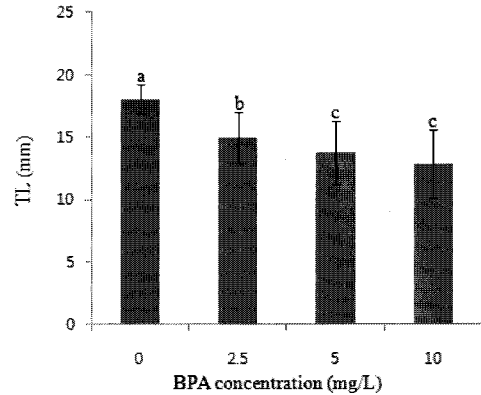


Fig. 1. Growth in total length (TL) of *Oryzias dancena* and *O. javanicus* hybrids (ODJ) treated with different concentrations of bisphenol A (BPA) for 56 days.

¹ Means with different superscript within a column are significantly different ($P < 0.05$), based on ANOVA test.

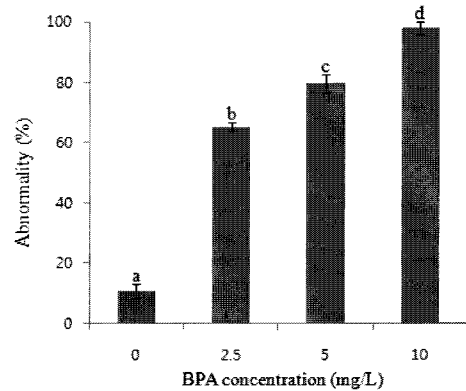


Fig. 2. Incidence of abnormalities of *Oryzias dancena* and *O. javanicus* hybrids (ODJ) treated with different concentration of bisphenol A (BPA) for 56 days.

¹ Means with different superscript within a column are significantly different ($P < 0.05$), based on ANOVA test.

에서 대조군, 2.5 mg/L와 5.0 mg/L는 각각 유의한 차이가 나타났으나, 5.0 mg/L와 10.0 mg/L에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 기형 개체 출현율을 조사한 결과 대조군에서는 13.6%로 나타났으며, 비스페놀 A 처리군의 경우 2.5 mg/L로 처리한 그룹에서는 65.4%로 대조군에 비해 매우 높게 나타났고, 이보

다 농도가 높은 5.0 mg/L와 10.0 mg/L에서는 각각 81.3%와 98.1%로 처리 농도가 높아질수록 기형 개체 출현율이 높게 나타났다(Fig. 2). ANOVA 통계 처리 결과 대조군과 비스페놀 A 처리군 간 모두에서 유의한 차이가 나타났다.

비스페놀 A 처리에 의한 생식소 관찰

부화 직후의 자어부터 비스페놀 A를 처리한 실험군의 성분화를 분석하기 위하여 조직학적 분석을 하였으며, 그 결과는 Table 2에 나타내었다. 대조군에서 사용된 ODJ 50마리 중 정상 수컷이 47마리였으나, 3마리가 간성(intersex)을 나타내었다(Fig. 3A, 3B). 비스페놀 A로 처리한 실험군에서는 모두 간성이 나타났다. 비스페놀 A 농도가 2.5 mg/L인 그룹에서 52마리의 생식소를 검경한 결과 76.92%인 40마리가 간성으로 나타났으며, 23.1%인 12마리가 수컷으로 나타났으나, 정자(spermatozoa)는 관찰되지 않았다

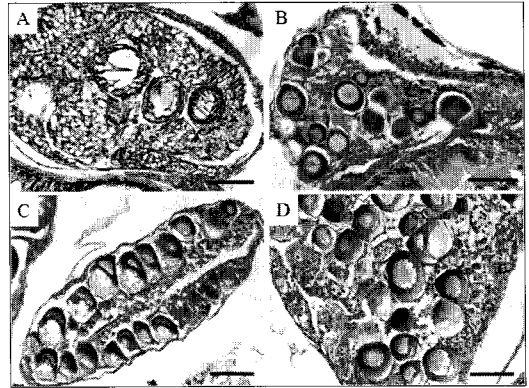


Fig. 4. Histological characteristics of gonads of *Oryzias dancena* and *O. javanicus* hybrids (ODJ) treated with different concentration of bisphenol A (BAP) for 56 days. (A, B) Development of testis-ova in gonads of ODJ exposed to BPA 10 mg/L. (C, D) Development of testis-ova in gonads of ODJ exposed to BPA 15 mg/L. Hematoxylin and eosin. All scale bars indicate 50 μ m.

(Fig. 3C, 3D). 비스페놀 A 농도가 5.0 mg/L (Fig. 4A, 4B)와 10.0 mg/L (Fig. 4C, 4D)인 그룹에서는 52마리 중 수컷은 한 마리도 나타나지 않았으며, 모든 개체에서 간성이 나타났다.

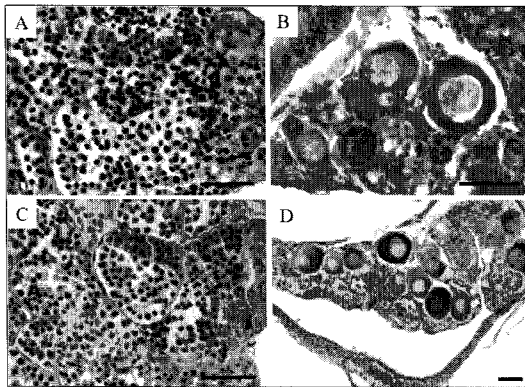


Fig. 3. Histological characteristics of gonads of *Oryzias dancena* and *O. javanicus* hybrids (ODJ) treated with different concentration of bisphenol A (BAP) for 56 days. (A, B) Development of gonads of ODJ exposed to BPA 0 mg/L (Control group). A, Normal testis; B, intersex testis group. (C, D) Development of gonads of ODJ exposed to BPA 5 mg/L. C, Normal testis; D, Occurrence of oocytes inside the testicular tissues. Hematoxylin and eosin. All scale bars indicate 30 μ m.

고 찰

에스트로겐 유사물질(estrogenic compounds)을 이용한 생태계 위해성 연구에 대한 실험은 이전부터 많이 연구되고 있다. *O. latipes*를 대상으로 한 연구에서 한 달 동안 10 ng/L의 낮은 농도로 E2를 처리한 결과 모든 개체가 암컷으로 보고되어, 암컷화 효과를 갖는 화학 물질(estrogenic chemicals)이 매우 낮은 농도에서도 개체에 영향을 미칠 수 있어 그 위해성에 대해 많은 연구가 이루어졌다(Nimrod and Benson, 1998). 그 중 비스페놀 A는 수컷과 암컷의 재생산 시스템(reproductive systems)에 영향을 준다고 보고되고 있다. 비스페놀 A에 노출시킨 구피 *Poecilia*

reticulata (Haubruge *et al.*, 2000), fathead minnows *Pimephales promelas* (Sohoni *et al.*, 2001)와 brown trout *Salmo trutta f. fario* (Lahnsteiner *et al.*, 2005)에서 비정상적인 정자 형성 즉, 정자의 밀도, 정자의 운동과 유영속도가 감소한다고 보고된 바 있다. 또한, 비스페놀 A가 암컷과 수컷 생식소의 성장을 저해한다고 하였으며(Sohoni *et al.*, 2001), 암컷의 배란이 비스페놀 A의 농도가 5 µg/L의 경우 이루어지지 않거나, 1.75 µg/L와 2.4 µg/L의 농도에서는 지연된다고 보고되었다(Lahnsteiner *et al.*, 2005). *O. latipes*의 연구에서 비스페놀 A의 12,500 µg/L의 농도에 14일 동안 수정란을 노출시켰을 때, 부화율이 대조군에 비하여 현저하게 감소하였으며, 1,000 µg/L의 농도로 21일 동안 수컷 개체를 노출시켰을 때, 간의 난황단백질(vitellogenin) 발현이 높아졌다고 하였다(Ishibashi *et al.*, 2005). 또한, 부화 후 24시간 경과된 자어와 수정 후 24시간이 되지 않은 수정란을 사용하여 초기 생활사에 미치는 영향을 조사한 결과 부화 후 24시간 된 자어는 비스페놀 A의 96시간의 반수치사 농도가 13,900 µg/L였으며(Ishibashi *et al.*, 2005), *O. latipes* 성어의 경우 13,000 µg/L로(Yokota *et al.*, 2000), 비스페놀 A의 독성이 *O. latipes*의 자어와 성어에서 크게 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 수정란의 부화율을 조사한 결과 Yokota *et al.* (2000)은 비스페놀 A 농도 2.28, 13.0, 71.2, 355와 1820 µg/L에서 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 그 이후의 연구에서 비스페놀 A 농도 12,500 µg/L에서는 14일 동안 처리 시 대조군에 비하여 현저히 낮은 부화율을 나타내었다고 보고되어(Ishibashi *et al.*, 2005), 수정란에 영향을 미치는 비스페놀 A의 최저 농도는 12,500 µg/L인 것으로 보고하였다. 본 연구에서 ODJ의 비스페놀 A의 독성은 부화 직후의 자어에서 48시간째의 10 µg/L의 농도에서 나타났으며, 비스페놀 A의 농도가 증가함에 따라 기형 개

체 출현율이 증가하고 성장률이 감소하였다. 하지만, 비스페놀 A 독성의 최저 농도에 대한 연구는 이루어져 있지 않아 앞으로 수정란과 부화 직후 자어를 대상으로 비스페놀 A에 의한 폐사율, 성장 저해와 기형률 등의 독성 연구를 수행해야 할 것으로 생각된다.

비스페놀 A의 암컷화 영향에 대한 연구는 많은 어류들에서 연구가 되어왔다. 무지개송어 *Oncorhynchus mykiss*에서는 12일 동안 500 µg/L의 비스페놀 A에 노출시켰을 시 난황단백질의 합성이 현저하게 증가한다고 보고되었으며(Lindholst *et al.*, 2000), Sohoni *et al.* (2001)은 fathead minnows *Pimephales promelas*의 수컷 개체에 640과 1280 µg/L의 비스페놀 A 농도에 43일간, 160 µg/L의 농도에 71일간 처리시 난황단백질이 합성된다고 하였다. Tabata *et al.* (2003)은 성숙한 수컷 송사리를 1,000 µg/L의 비스페놀 A에 5주간 처리하였을 시, 난황 단백질 농도가 현저히 증가한다고 보고하였다. 또한, 3,120 µg/L의 비스페놀 A에 수컷을 노출시켰을 때 간에서 난황 단백질의 농도가 증가되었다고 보고하였다(Kang *et al.*, 2002). 본 연구에서도 ODJ의 부화 직후의 자어를 대상으로 비스페놀 A에 56일간 노출시켰을 시, 2.5 mg/L의 농도부터 간성이 나타나기 시작하여, 5.0 mg/L와 10.0 mg/L의 농도에서는 모든 개체가 암컷화 된 것을 조직학적 방법으로 조사하였다. 또한 이전의 연구에서 수컷 어류에 에스트로겐 유사물질을 노출시켰을 시 난황 단백질의 과도한 유도로 인하여 간에 병변이 발생한다는 연구가 보고된 바 있다. Gray *et al.* (1999)은 *O. latipes* 수컷에 octylphenol을 초기 생활사에 처리하였을 시, 복부팽만증상(swollen abdomen)이 나타나며, 성숙되기 전에 모두 폐사하였다고 보고하였고, 이와 유사한 증상이 수컷 성어 *O. latipes*를 에스트로겐 유사물질에 노출시켰을 시 나타났다(Kang *et al.*, 2002; Seki *et al.*, 2002). 이는 *O. latipes*의 수컷이 난황

단백질을 분비하도록 되어 있지 않음에도 불구하고, 이를 과도하게 분비함으로써 간에 병변이 생겨 복부 팽창 증상이 일어나 폐사에 이르는 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 ODJ의 대부분의 개체가 수컷 생식소를 가지고 있었으나, 복부 팽창 증상은 관찰되지 않았다. 따라서 비스페놀 A의 농도별로 ODJ의 난황 단백질의 발현 정도를 조사하고, 그것이 *O. latipes*에서와 마찬가지로 ODJ에 있어서도 폐사에 이르는 원인이 되는지 앞으로 연구해야 할 필요가 있다고 생각된다.

본 연구에서는 불임인 바다 송사리와 자바 송사리의 잡종군(ODJ)에 비스페놀 A를 처리하여 성장률, 기형 개체 출현율, 성분화를 조사하여, 비스페놀 A의 독성과 에스트로겐 효과를 밝혀내었다. 따라서 본 잡종이 생태계의 내분비계 교란 물질의 위해성 평가를 위한 새로운 생물 지표로 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 앞으로 해양 생태계 위해성을 평가하기 위한 실험 모델로 본 연구에서 실험 모델로 제시한 ODJ 뿐만 아니라 *Oryzias* 속의 다른 종들과 그들 종간의 잡종을 유도하여 여러 가능성 있는 실험 모델을 개발하여 다양한 생물학적 기작에서의 위해성 반응을 연구해야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 비스페놀 A를 사용하여 바다 송사리 *Oryzias dancena*와 자바 송사리 *O. javanicus*의 잡종군(ODJ)의 성전환을 유도하였다. 부화 직후의 ODJ에 비스페놀 A를 2.5 mg/L, 5.0 mg/L와 10.0 mg/L의 농도로 56일간 처리한 결과 대조군의 경우 평균 전장이 18.0 ± 1.2 mm로 나타났고, 비스페놀 A 처리군에서는 2.5 mg/L로 처리한 경우 15.0 ± 2.0 mm, 5.0 mg/L 처리군은 13.7 ± 2.5 mm, 10.0 mg/L 처리군에서는

12.8 ± 2.5 mm로 나타나 대조군과 비스페놀 A 처리군에서 성장 차이가 관찰되었다. 또한, 처리군 간에서도 비스페놀 A의 농도가 높을수록 성장이 느린 것으로 나타났다. 기형률을 조사한 결과 대조군은 13.6%였고, 비스페놀 A 처리군의 경우 2.5 mg/L는 65.4%로 대조군에 비해 매우 높게 나타났으며, 이보다 농도가 높은 5.0 mg/L와 10.0 mg/L에서는 각각 81.3%와 98.1%로 처리 농도가 높아질수록 기형률이 높게 나타났다. 성전환율을 분석하기 위하여 조직학적 분석을 한 결과 대조군에서 사용된 ODJ 50마리 중 정상 수컷이 47마리였으나, 3마리가 간성(intersex)을 나타내었으며, 비스페놀 A 농도가 2.5 mg/L인 그룹에서 76.9%인 40마리가 간성으로 나타났으며, 23.1%인 12마리가 수컷으로 나타났다. 비스페놀 A 농도 5.0 mg/L와 10.0 mg/L인 그룹에서는 52마리 중 수컷은 한 마리도 나타나지 않았으며, 모든 개체에서 간성이 나타났다.

감사의 글

본 연구는 국립수산과학원 연구비(과제번호 RP-2011-BT-042)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Alo, R., Facciolo, R.M., Madeo, M., Giusi, G., Carelli, A. and Canonaco, M.: Effects of the xenoestrogen bispheno A in diencephalic regions of the teleost fish *Coris julis* occur preferentially via distinct somatostatin receptor subtypes. *Brain Res. Bull.*, 65: 267-273, 2005.
- Arukwe, A., Celius, T., Walther, B.T. and Goksøyr, A.: Effects of xenoestrogen treatment on *zona radiata*

- protein and vitellogenin expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquat. Toxicol.*, 49: 159-170, 2000.
- Brotons, J.A., Olea-Serrano, M.F., Villalobos, M., Pedraza, V. and Olea, N.: Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans, *Environ. Health Perspectives*, 103: 608-612, 1995.
- Estlander, T., Jolanki, R., Henriks-Eckerman, M.L. and Kanerva, L.: Occupational contact allergy to bisphenol A. *Contact Dermatitis*, 40: 52-53, 1999.
- Gray, M.A., Niimi, A.J. and Metcalfe, C.D.: Factors affecting the development of testis-ova in medaka, *Oryzias latipes*, exposed to octylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 1835-1842, 1999.
- Haubruege, E., Petit, F. and Gage, M.J.G.: Reduced sperm counts in guppies (*Poecilia reticulata*) following exposure to low levels of tributyltin and bisphenol A. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 267: 2333-2337, 2000.
- Inoue, K. and Takei, Y.: Asian medaka fishes offer new models for studying mechanisms of seawater adaptation. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 136: 635-645, 2003.
- Ishibashi, H., Watanabe, N., Matsumura, N., Hirano, M., Nagao, Y., Shiratsuchi, H., Hohra, S., Yoshigara, S. and Arizono, K.: Toxicity to early life stages and an estrogenic effect of a bisphenol A metabolite, 4-methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl) pent-1-ene on the medaka (*Oryzias latipes*). *Life Sciences*, 77: 2643-2655, 2005.
- Kang, I.J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda, Y., Oe, T., Imada, N., Tadokoro, H. and Honjo, T.: Effects of bisphenol A on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 21: 2394-2400, 2002.
- Kim, D.S., Bang, I.C. and Kim, I.B.: Gonadal sex differentiation in *Misgurnus mizolepis*. *Korean J. Ichthyol.*, 2: 95-105, 1990.
- Kishida, M., McLellan, M., Miranda, J.A. and Callard, G.V.: Estrogen and xenoestrogens upregulate the brain aromatase isoform (P450aromB) and perturb markers of early development in zebrafish (*Danio rerio*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 129: 261-268, 2001.
- Kwak, H.J., Bae, M.O., Lee, M.H., Lee, Y.S., Lee, B.J., Kang, K.S., Chae, C.L., Sung, H.J., Shin, J.S., Kim, J.H., Mar, W.C., Sheen, Y.Y. and Cho, M.H.: Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 20: 787-795, 2001.
- Labadie, P. and Budzinski, H.: Alteration of steroid hormone balance in juvenile turbot (*Psetta maxaxa*) exposed to nonylphenol, bisphenol A, tetrabromodiphenyl ether 47, diallylphthalate, oil, and oil spiked with alkylphenols. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 50: 552-561, 2006.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Kletzl, M. and Weismann, T.: Effect of bisphenol A on maturation and quality of semen and eggs in the brown trout, *Salmo trutta f. fario*. *Aquat. Toxicol.*, 75: 213-224, 2005.
- Lindholst, C., Pedersen, K.L. and Pedersen, S.N.: Estrogenic response of bisphenol A in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol.*, 48: 87-94, 2000.
- Milligan, S.R., Khan, O. and Nash, M.: Competitive binding of *xenobiotic oestrogens* to rat alpha-fetoprotein

- and to sex steroid binding proteins in human and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma. *General and Comparative Endocrinology*, 112: 89-95, 1998.
- Nimrod, A.C. and Benson, W.H.: Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquatic Toxicol.*, 44: 141-156, 1998.
- Robert, T.R.: Systematic observations on tropical Asian medakas or ricefishes of the genus *Oryzias*, with descriptions of four new species. *Ichthyol. Res.*, 45: 213-224, 1998.
- Seki, M., Yokota, H., Matsubara, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Tadokoro, H. and Kobayashi, K.: Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 1692-1698, 2002.
- Sohoni, P., Tyler, C.R., Hurd, K., Caunter, J., Hetheridge, M., Williams, T., Woods, C., Evans, M. and Sumpter, J.P.: Reproductive effects of long-term exposure to bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Sci. Technol.*, 35: 2917-2925, 2001.
- Song, H.Y., Nam, Y.K., Bang, I.-C. and Kim, D.S.: Hybridization between marine medaka *Oryzias dancena* and Javanese medaka *Oryzias javanicus*. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.*, 43(5): 462-473, 2010.
- Tabata, A., Watanabe, N., Yamamoto, I., Ohnishi, Y., Itoh, M., Kamei, T., Magara, Y. and Terao, Y.: The effect of bisphenol A and chlorinated derivatives of bisphenol A on the level of serum vitellogenin in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Water Sci. Technol.*, 50: 125-132, 2004.
- Tabata, A., Miyamoto, N., Ohnishi, Y., Itoh, M., Yamada, T., Kamei, T. and Magara, Y.: The effect of chlorination of estrogenic chemicals on the level of serum vitellogenin of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Water Science and Technology*, 47: 51-57, 2003.
- TemaNord: Chemicals with Estrogen-Like Effects, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, pp. 35-51, 1996.
- Van den Belt, Verheyen, K.R. and Witters, H.: Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 56: 271-281, 2003.
- Yamamoto, T.: Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka, *Oryzias latipes*, *J. Exp. Zool.*, 123: 571-594, 1953.
- Yokota, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Nakazono, A., Honjo, T. and Kobayashi, K.: Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 1925-1930, 2000.
- Zha, J. and Wang, Z.: Acute and early life stage toxicity of industrial effluent on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Sci. Total Environ.*, 357: 112-119, 2006.

Manuscript Received : April 12, 2011

Revised : July 6, 2011

Accepted : July 6, 2011