

대복 (*Gomphina veneriformis*)의 생존 및 운동성에 미치는 카드뮴 (Cd)의 독성

박정준 · 이정식*
여수대학교 수산생명의학과

Cadmium Toxicity on the Survival Rate and Activity of the Equilateral Venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Jung Jun PARK and Jung Sick LEE*
Department of Aquaculture Medicine, Yeosu National University, Yeosu 550-749, Korea

This study observed change of survival rate, activity and foot structure of the equilateral venus (*Gomphina veneriformis*) exposed to cadmium. Survival rate and activity of the clam exposed to cadmium was reduced with increase of exposure duration and concentration. Change of survival rate and activity was observed in the early exposure time (7 days) in the condition of above 1.77 mg/L and 0.88 mg/L, respectively. Activity reduction of the clam exposed to cadmium seems to be caused by epidermal layer deformation, muscle fiber fragmentation and muscular layer collapse of the foot.

Key words: *Gomphina veneriformis*, Survival rate, Activity, Cadmium

서론

대복 (*Gomphina veneriformis*)은 이매패각 (Bivalvia) 백합목 (Veneroida) 백합과 (Veneridae)에 속하는 식용 이매패류로서 우리나라 전 연안의 조간대와 모래해안의 수심 1-5 m 내외에 분포하지만, 강원도 연안에 가장 많이 서식하고 있다. 대복과 민들조개 (*G. melanaegis*)는 서식환경이 서로 비슷하여 외형적으로 많이 닮았으나 대복은 소형으로 삼각형에 가깝다 (Yoo, 1976).

수질 오염은 인간의 산업 활동에 의하여 발생하는 오·폐수 등의 영향으로 물 환경이 물리, 화학, 생물학적 수용한계 이상으로 변하는 현상으로써 수질오염의 중요한 요인 가운데 하나인 중금속은 금속 중에서 그 비중이 4.0 이상인 것을 말하며, 중금속 가운데 독성이 강한 것으로는 카드뮴 (Cd), 수은 (Hg), 크롬 (Cr), 구리 (Cu), 납 (Pb), 니켈 (Ni), 아연 (Zn), 비소 (As) 등을 들 수 있다. 이러한 중금속은 물에 분해되거나 안정한 화합물로 되지 않고, 혼합상태로 남아 생태환경에서 악 영향을 미친다.

중금속의 생물체내 축적으로 유발되는 다양한 현상을 규명하기 위하여 해양생물을 이용한 생물검정법이 널리 쓰이고 있는데, 이러한 인위적인 생물체의 중금속 오염실험으로 생물체의 각 발달 단계와 기관들에 미치는 영향을 다각적으로 관찰하고 이해하는 것은 이들 오염물질로 인한 영향을 정확히 평가하는데 있어 반드시 필요하다.

이매패류는 중금속에 의한 해양 오염의 지표생물로서 이용되어지고 있는데, 이매패류에 축적되는 중금속과 생물체 기능

사이의 상관관계에 대해서는 많은 보고가 있다 (Ahsanullah, 1976; Howell et al., 1984; Odak et al., 1994; Regoli and Orlando, 1994; Phillips, 1997; Jeng et al., 2000).

고농도의 카드뮴은 *Rangia cuneata*의 생식세포 형성을 억제하고 (McConnell and Jarrel, 1995), 복족류인 *Biomphalaria glabrata*의 성장과 생존율을 저하시키며 (Abd Allah et al., 1997), *Salvelinus confluentus* 치어의 성장과 생존을 저하시킨다 (Hansen et al., 2002).

수중의 중금속 오염원이 수서생물의 기관계 구조에 미치는 영향에 관한 연구는 카드뮴과 구리, 기타 수중 오염원 노출에 따른 진주담치 (*Mytilus edulis*) 아가미의 조직병리학적 변화 (Sumila, 1986, 1988), 이매패류인 *Perna perna*의 새엽 형태에 미치는 수은의 영향 (Gregory et al., 1999) 등 주로 아가미 구조의 변화에 대한 연구가 대다수를 차지하며, 국내외적으로 이매패류의 운동성과 발의 구조적 변화에 대한 연구는 찾아보기 어렵다.

본 연구는 카드뮴에 노출된 대복의 생존과 운동성의 변화를 발의 조직학적인 반응 양상으로 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에서 사용된 대복은 동해안 주문진 연안에서 2001년 10월초에 채집한 각각 47.00-37.00 mm 크기의 260개체였다.

방 법

사 육

실험실로 옮겨온 개체들은 일주일 동안 순응시킨 후 2001년

*Corresponding author: ljs@yosu.ac.kr

10월 28일부터 12월 1일까지 5주 동안 노출실험을 실시하였다. 실험에 사용된 개체들은 60 L 유리 수조에 채집지역의 모래를 이용하여 두께 10 cm 정도의 저질을 제공한 순환여과 시스템을 가동하여 사육하였다. 실험 중 실험 개체들의 분비물로 인한 물리·화학적 변화를 최소화하기 위해서 매주 각 수조의 해수를 교환하였으며, 먹이는 규조류인 *Tetraselmis suecica*를 2일 1회 공급하였다.

오염원

본 실험에서 오염원으로 사용된 카드뮴은 $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ (Junsei Chem. Co., Japan)를 증류수로 1 g Cd^{++}/L 의 stock solution을 만든 후 농도별로 희석해 사용하였다.

농도구

카드뮴이 첨가되지 않은 여과해수에서 사육한 개체들을 대조구로 하였고, 두 차례에 걸친 예비실험을 통하여 LC_{20} 값 (1.77 mg/L)을 가장 높은 농도구로 정하였고, 그보다 낮은 값인 0.88 mg/L와 0.44 mg/L를 실험구로 하였으며, 각 농도구 당 같은 조건의 수조를 2개씩 만들어 실험하였다.

생존율

실험 개체들의 사망 여부는 매일 오전 9시와 오후 1시 그리고 오후 5시에 확인하였으며, 저질 밖으로 나와 패각을 벌리고 있는 개체들을 사망한 개체로 판단하여 생존율을 구하였다.

운동성

대복은 발을 이용하여 저질에 들어가는 잠입성이 있으며, 저질 속에서 입·출수관을 밖으로 내어 물을 교환한다. 오염원 노출 실험기간 동안 대복의 운동성은 저질에 들어가 있는 개체는 운동성이 있는 개체로 판단하였고, 모래 밖으로 나온 개체는 운동성이 없는 개체로 판단하여, 각 농도구별로 매일 오전 9시와 오후 1시 그리고 오후 5시에 확인하였다.

조직학적 방법

대조구를 포함한 각 농도구에서 매주 5개체를 조직학적 분석에 이용하였다. 각 개체는 각장 (shell length), 각고 (shell height), 전중량 (total weight), 육중량 (body weight)을 측정하고 발을 적출하여 Bouin's solution에 일정시간 고정하였다. 고정된 조직은 파라핀 절편법을 이용하여 두께 5 μm 의 횡단면과 종단면의 연속 절편을 제작하였다. 제작된 표본은 Mayer's hematoxylin and eosin (H-E) 염색, periodic acid and Schiff's solution (PAS) 반응, alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응, alcian blue (pH 1.0) 반응, aldehyde fuchsin and alcian blue (AF-AB) 반응, Masson's trichrome 염색을 실시하여 현미경으로 관찰하였다.

염색 친화도 판정

조직화학적 반응 후 점액세포의 염색 친화도 판정은 Pantone® Formula Guide (Pantone Inc., USA)를 기준으로 하여 고유번호를 ()안에 표시하였다.

결 과

생존율

실험 1일째에 대조구와 0.44 mg/L, 0.88 mg/L, 1.77 mg/L의 카드뮴 노출구에서 대복의 생존율은 각각 97.50%, 97.50%, 100%, 92.73%이었다. 실험 35일째 생존율은 대조구와 0.44 mg/L의 카드뮴 노출구에서 다소 감소하여 각각 80%와 87.5%를 나타내었다. 하지만 1.77 mg/L, 0.88 mg/L 농도구에서 생존율은 실험 개시 후 점차 감소하여 실험 35일째에 0.88 mg/L 농도구에서는 12.5%를 나타내었고, 1.77 mg/L 농도구에서는 실험 17일째에 모든 개체가 사망하였다 (Fig. 1).

운동성

매일 각 실험구에서 모래 밖으로 나온 개체를 파악하여

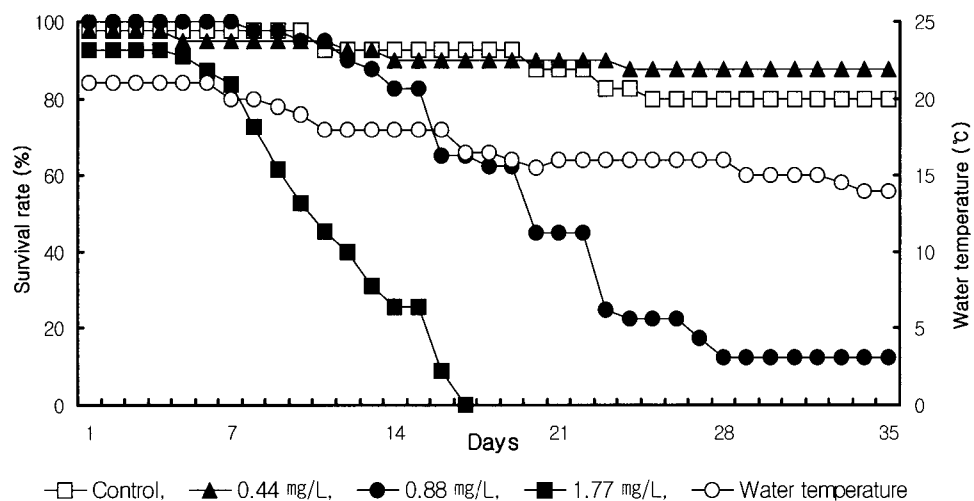


Fig. 1. Survival rate the equilateral venus (*Gomphina veneriformis*) exposed to cadmium.

운동성을 관찰하였는데, 실험 1일째에 대조구와 0.44 mg/L, 0.88 mg/L, 1.77 mg/L의 카드뮴 노출구에서 운동성은 각각 92.31%, 90.77%, 76.92%, 63.08%를 나타내었다. 대조구와 0.44 mg/L 농도구에서는 실험 35일째에 각각 83.07%와 84.61%로

비슷한 값을 나타내었다. 하지만 실험 35일째 0.88 mg/L 농도구에서는 10.77%를 나타내었고, 1.77 mg/L 농도구에서는 실험 11일째에 모든 개체가 저질 밖으로 나와 운동성 0을 나타내었다 (Fig. 2).

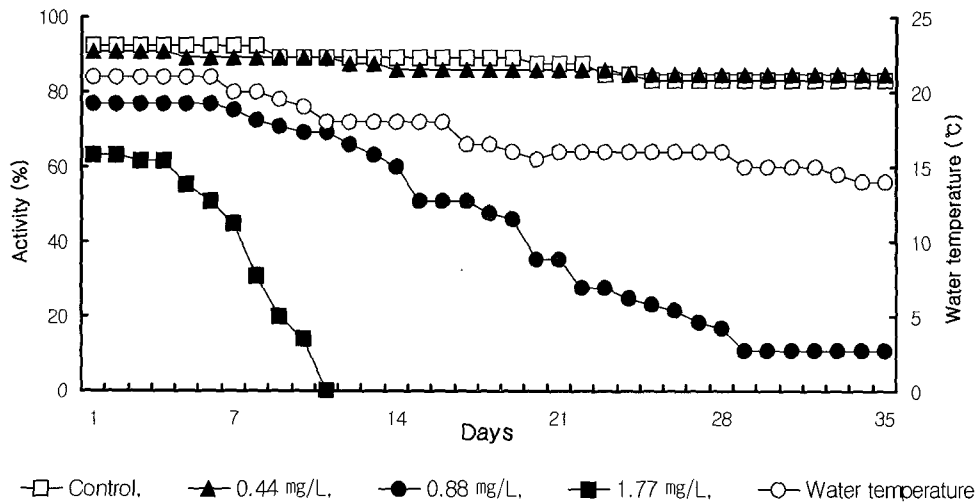


Fig. 2. Activity of the equilateral venus (*Gomphina veneriformis*) exposed to cadmium.

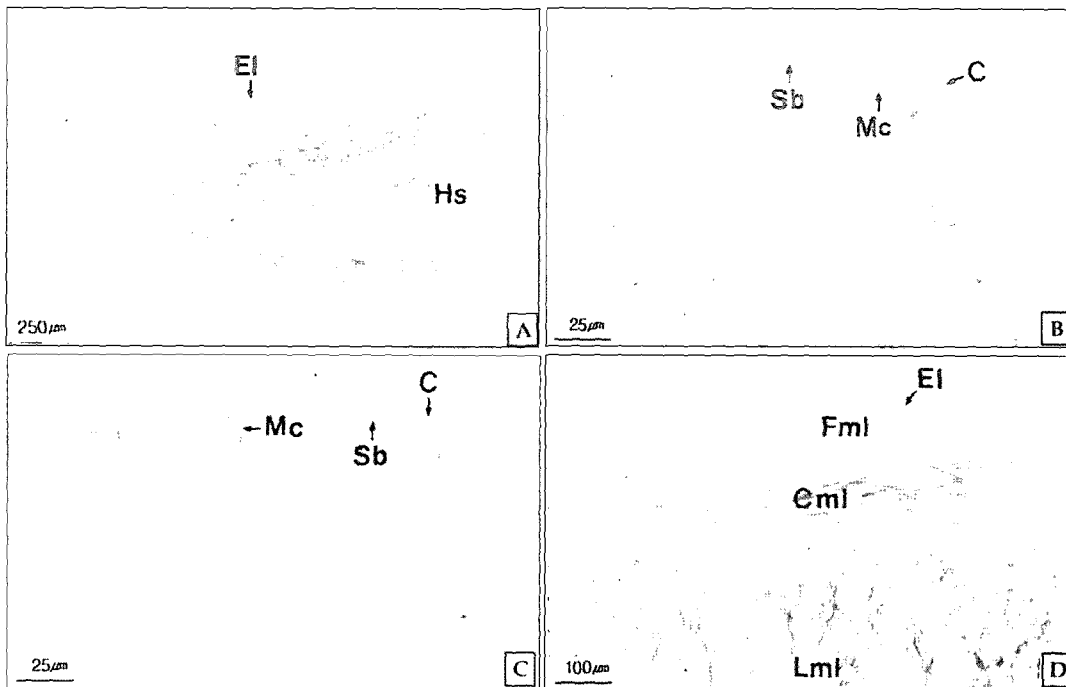


Fig. 3. Histology of foot of the equilateral venus (*Gomphina veneriformis*) in the control group. A: cross section showing epidermal layer (EI), fibromuscular layer and muscular layer (MI). Masson's trichrome stain. B: H-E stained section showing vacuolar mucous cell (Mc) in epidermal layer. C: section with AB-PAS (pH 2.5) reaction showing mucous cell (Mc) of alcian blue (pH 2.5) positive. D: cross section showing the arrangement of epidermal layer, fibromuscular layer (Fml), circular muscle layer (Cml) and longitudinal muscle layer (Lml). Masson's trichrome stain. C, cilia; Hs, hemolymph sinus; Sb, striated border.

발의 조직병리학적 변화

대복 발의 외부형태는 내장낭의 기저부와 융합되어 잘 발달된 도끼모양이었다. 조직학적 구조는 횡단면으로 볼 때 외부로부터 상피층 (epidermal layer), 섬유성 근육층 (fibromuscular layer)과 근육층 (muscular layer)으로 구성되어 있었으며, 상피층은 다수의 주름을 가지고 있었다 (Fig. 3A). 대조구 개체들에서 발의 상피층은 단층섬모원주상피와 점액세포로 구성되어 있었고, 상피세포의 핵은 세포의 기저부에 위치하고 있었으며, 상피층의 자유면 (free surface)에는 선조연 (striated border)의 발달이 뚜렷하였다. (Figs. 3B, C). 섬유성 근육층은 소성결합조직과 일부 근섬유로 구성되어 있었으며, 상피층에서 확장된 점액세포들이 존재하고 있었다. 근육층은 가로의 근섬유 다발을 가지는 환상근층 (circular muscle layer)과 세로의 근섬유 다발을 가지는 종주근층 (longitudinal muscle layer)으로

구성되어 있었다 (Fig. 3D). 상피층에 존재하고 있는 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응을 실시하였을 때 alcian blue에 양성 반응을 보이는 푸른색 (2295C)이었으며, AF-AB 반응에서도 alcian blue에 반응하여 푸른색으로 나타났었다 (Fig. 3C).

카드뮴 노출 7일째 0.44 mg/L 농도구 개체에서는 발의 상피층 자유면에 존재하는 선조연의 일부 탈락과 함께 섬유성 근육층에 발달되어 있는 혈림프동 (hemolymph sinus)의 확장이 나타났으며 (Fig. 4A), 1.77 mg/L 카드뮴 농도구에 7일 동안 노출된 개체들과 0.88 mg/L, 1.77 mg/L 농도구에 14일 동안 노출된 개체들의 발에서는 일부 상피층의 붕괴와 근육층을 구성하는 환상근층에서 근섬유 다발의 분절화가 관찰되었다 (Fig. 4B). 그리고 이들 개체의 조직표본을 AB-PAS (pH 2.5) 반응하였을 때 상피층에서 관찰되는 점액세포들도 주로 alcian blue에 양성 반응을 보여서 푸른색 (313C)으로 나타났으

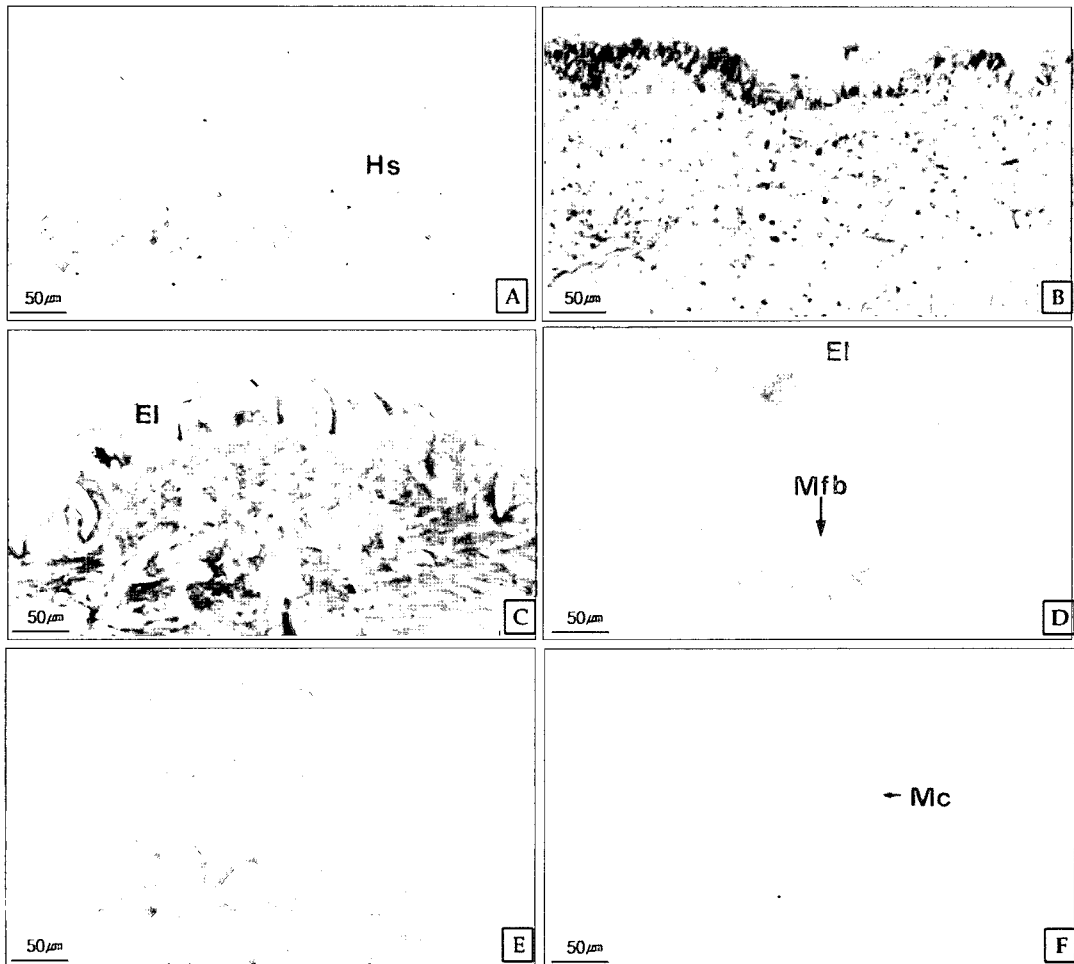


Fig. 4. Histological changes of foot of the equilateral venus (*Gomphina veneriformis*) exposed to cadmium. A: section with Masson's trichrome stain showing extended hemolymph sinus (Hs). (0.44 mg/L, 7 days). B: section showing deformation of epithelial cells. (0.88 mg/L, 14 days). Masson's trichrome stain. C: section showing deformation of epidermal layer (EI). (0.88 mg/L, 21 days). AB-PAS (pH 2.5). D: section showing fragmentation of muscular fiber bundles (Mfb) in fibromuscular layer. (0.44 mg/L, 28 days). Masson's trichrome stain. E: section showing deformation of epidermal layer and muscular layer in marginal shell side. (0.88 mg/L, 28 days). AB-PAS (pH 2.5). F: Alcian blue (pH 1.0) reacted section showing the mucous cell (Mc) of alcian blue positive. (0.44 mg/L, 35 days).

나 모든 농도구에서 점액세포들은 7일째에 비해 위축 및 감소된 상태였다. 그리고 0.88 mg/L 농도에 21일 동안 노출된 개체들의 발에서는 상피층의 자유면을 구성하는 선조연의 탈락과 상피층 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 4C). 노출 28일째 0.44 mg/L 농도구 (Fig. 4D)와 0.88 mg/L 농도구 (Fig. 4E)에서도 발의 가운데 부분보다는 주로 가장자리 쪽에서 선조연의 탈락과 기저막을 포함한 상피층 붕괴와 함께 발의 근육층을 구성하고 있는 환상근층 근섬유 다발의 분절화 및 근육층의 붕괴가 나타났다. 노출 35일째에 0.44 mg/L 농도구의 일부 개체에서는 alcian blue (pH 1.0)에 반응하는 푸른색 (229C)의 일부 점액세포들이 관찰되었다 (Fig. 4F).

고 찰

해양환경에서 중금속은 주로 저질에 많이 축적되어 있으며, 이때패류의 조직, 수중의 순으로 분포하고 있는데 (McConnell and Jarrel, 1995; Pip, 1995), 저질에 축적되어있는 중금속의 양은 이때패류의 조직에 축적되어있는 양보다 103-106 정도 더 많다 (Phillips, 1977). 이때패류에서 중금속은 그들의 껍각보다는 외투막, 아가미, 신장, 발 그리고 소화선에 주로 축적어진다고 (Adams et al., 1981; Lobel, 1987; Ward, 1990; Odak et al., 1994).

카드뮴 세포독성의 주원인은 유리 카드뮴 이온으로 (Suzuki, 1982) 카드뮴에 오염된 조개를 섭취한 쥐의 조직학적 연구에서 카드뮴은 간, 신장에 축적되고 일부는 metallothionein과 결합하며, 미 결합된 유리 카드뮴 이온은 조직에 염증세포 침윤, 괴사 현상 등의 실질조직 퇴행성 변화를 유도하는데, 그 정도는 카드뮴의 농도가 높아질수록 더욱 심하게 나타난다 (Soh et al., 1993).

카드뮴에 노출된 진주담치 (*Mytilus edulis*) 역시 생존율과 성장이 감소하였으며, 껍각의 기형이 증가하고, 성장과 껍각의 기형은 서로 반비례하며 (Sunila and Lindström, 1985), 카드뮴에 노출된 *Biomphalaria glabrata*는 성장과 생존율이 감소한다 (Abd Allah et al, 1997).

본 연구에서도 카드뮴에 노출된 대북의 생존율을 대조구와 비교하였을 때 저농도에서는 뚜렷한 차이가 나타나지 않았지만 농도가 증가할수록 현저하게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다.

백합과 이때패류의 발의 특징은 크고, 다소 넓적하여 저질을 파고 들어가기 용이한 형태이다. 이는 pedal gape의 확장과 관련이 있으며, 백합과의 한 종인 *Venerupis pullastra*도 다른 종들과 마찬가지로 발의 형태가 저질을 파고 들어가는 데 적절하다 (Ansell, 1961).

이때패류의 발에 존재하는 점액세포들이 가지는 점액성분은 종에 따라 다소 차이가 있는데, *Mercenaria mercenaria*에서는 상피층과 섬유성 근육층에 분포하는 점액세포들은 sulfated mucopolysaccharide와 carboxylated mucopolysaccharide를 모두 함유하고 있지만 (Eble, 2001), 대북 발의 상피층에서는

강한 활성을 나타내는 산성점액세포들이 관찰되었고, 이들 점액세포들은 AF-AB에 반응하였을 때 alcian blue에 푸른색으로 반응하는 carboxylated mucopolysaccharide를 함유하고 있어 *M. mercenaria*와는 다소 차이를 보였다.

일반적으로 외부 환경요인의 변화에 대한 점액세포의 반응은 점액물질의 산성화 및 점액세포의 위축과 감소로 이어지는데, 본 연구에서도 모든 농도구에서 노출 14일째에 점액세포들은 7일째에 비해 위축 및 감소된 상태였으며, 점액세포의 변화는 AB-PAS (pH 2.5) 반응 시 카드뮴 노출경과에 따라 alcian blue에 강한 양성반응을 보였으며, 일부 농도구의 개체에서는 alcian blue (pH 1.0)에 반응하는 푸른색의 점액세포들이 관찰되었다.

카드뮴에 노출된 대북에서는 다른 오염물질에 노출된 이때패류에서 보이는 것과 마찬가지로 노출 시간이 경과하고, 고농도로 갈수록 생존율 및 운동성이 감소하고, 조직병리학적 증상이 심화되었으며, 사망 직전의 개체들에서는 회복 불가능한 조직상이 관찰되며, 이러한 증상으로 인하여 이들은 정상적인 기능수행에 영향을 받는 것으로 판단되어졌다.

본 실험에서 0.44 mg/L 카드뮴 농도구에 하루 동안 노출된 개체들의 경우에 운동성은 90.77%로 대조구와 유사한 값을 나타냈으나 0.88 mg/L와 1.77 mg/L의 카드뮴 노출구의 경우 운동성은 각각 76.92%와 63.08%를 보여 고농도에서는 노출 초기부터 운동성에 영향을 주는 것으로 나타났다. 노출시간의 경과와 농도증가는 운동성에 직접 영향을 미쳐 가장 높은 농도인 1.77 mg/L에 7일 동안 노출된 개체들의 운동성은 55%를 나타내었으며, 11일째에 모든 개체가 저질 밖으로 나와 운동성 0을 나타내었는데 이는 발의 상피층 탈락과 근섬유 다발의 분절화 등에 따른 발 구조의 붕괴가 대북 잠입능력의 저하에 직접 영향을 미친 것으로 판단된다.

본 연구에서는 미세구조적 연구를 시행하지 않았기 때문에 이들의 세포학적 미세구조와 운동성의 상관관계를 설명하기는 곤란하지만, 추후에 이와 관련된 연구가 시행된다면 외부 오염물질에 대한 이때패류 발의 세포 미세구조적 반응 기작을 규명할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- Abd Allah, A.T., M.Q.S. Wanas and S.N. Thompson. 1997. Effects of heavy metals on survival and growth of *Biomphalaria glabrata* Say (Gastropoda: Pulmonata) and interaction with schistosome infection. *J. Moll. Stud.*, 63, 79-86.
- Adams, T.G., G.J. Atchison and R.J. Vetter. 1981. The use of the three-ridge clam, *Amblema perplicata* to monitor trace metal contamination. *Hydrobiologia*, 83, 67-72.
- Ahsanullah, M. 1976. Acute toxicity of cadmium and zinc to seven invertebrate species from Western port, Victoria. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.*, 27, 187-196.

- Ansell, A.D. 1961. The functional morphology of the British species of Veneracea (Eulamellibranchia). J. Mar. Biol. Ass. UK, 41, 489-515.
- Eble, A.F. 2001. Biology of the hard clam. In: Anatomy and Histology of *Mercenaria mercenaria*, Vol. 6A, Kraeuter J.N. and M. Castagna, ed. Elsevier, New York, pp. 117-220.
- Gregory, M.A., R.C. George, D.J. Marshall, A. Anandraj and T.P. Mcclurg. 1999. The effect of mercury exposure on the surface morphology of gill filaments in *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia). Mar. Pollut. Bull., 39, 116-121.
- Hansen, J.A., P.G. Welsh, J. Lipton and M.J. Suedkamp. 2002. The effects of long-term cadmium exposure on the growth and survival of juvenile bull trout, *Salvelinus confluentus*. Aquat. Toxicol., 58, 165-174.
- Howell, R., A.M. Grant and N.E.J. Maccoy. 1984. Effect of treatment with reserpine on the change in filtration rate of *Mytilus edulis* subjected to dissolved copper. Mar. Pollut. Bull., 15, 436-439.
- Jeng, M.S., W.L. Jeng, T.C. Hung, C.Y. Yeh, R.J. Tseng, P.J. Meng and B.C. Han. 2000. Mussel watch: a review of Cu and other metals in various marine organisms in Taiwan, 1991-98. Environ. Pollut., 110, 207-215.
- Lobel, P.B. 1987. Intersite, intrasite and inherent variability of the whole soft tissue zinc concentrations of individual mussels *Mytilus edulis*: Importance of the kidney. Mar. Environ. Res., 21, 59-71.
- McConnell, M.A. and R.C. Jarrel. 1995. The estuarine clam, *Rangia cuneata* (Gray) as a biomonitor of heavy metals under laboratory and field conditions. Am. Malacol. Bull., 11, 191-201.
- Odak, N., D. Martin, T. Zvonari and M. Branica. 1994. Bioaccumulation rate of Cd and Pb in *Mytilus galloprovincialis* foot and gills. Mar. Chem., 46, 119-131.
- Phillips, D.J.H. 1977. The common mussel, *Mytilus edulis* as an indicator of trace metals in Scandinavian waters. I. Zinc and cadmium. Mar. Biol., 43, 283-291.
- Pip, E. 1995. Cadmium, lead and copper in freshwater mussels from the Assiniboine River, Manitoba, Canada. J. Moll. Stud., 61, 295-302.
- Regoli, F. and E. Orlando. 1994. Accumulation and sub-cellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment. Mar. Pollut. Bull., 28, 592-600.
- Soh, C.T., I.S. Yoo, H. Park, S.H. Kim, J.J. Kim and D.Y. Min. 1993. Experimental study on the effect of cadmium containing shellfish by the long term intake. Kor. J. Malacol., 9, 85-93. (in Korean)
- Sunila, I. 1986. Chronic histopathological effects of short-term copper and cadmium exposure on the gill of the mussels, *Mytilus edulis*. J. Invert. Pathol., 47, 125-142.
- Sunila, I. 1988. Acute histopathological responses of the gill of the mussels, *Mytilus edulis*, to exposure by environmental pollutants. J. Invert. Pathol., 52, 137-141.
- Sunila, I. and R. Lindström. 1985. Survival, growth and shell deformities of copper-and cadmium-exposed mussels, *Mytilus edulis* L. in brackish water. Estuar. Coast. Shellf. Sci., 21, 555-565.
- Suzuki, K.T. 1982. Induction and degradation of metallothionein and their relation to the toxicity of cadmium. In: Biological Roles of Metallothionein. Foulkes, E.C. ed. Elsevier, New York, pp. 215-235.
- Ward, R.E. 1990. Metal concentrations and digestive gland lysosomal stability in mussels from Halifax Inlet, Canada. Mar. Pollut. Bull., 21, 237-240.
- Yoo, J.S. 1976. Korean Shells in Color. Iljisa Pub. Co., Seoul, pp. 196.

2003년 6월 16일 접수

2003년 10월 17일 수리