

중금속 이온이 산개구리 배아 발달에 미치는 영향

The Effect of Heavy Metal Ions on Developmental Stages of Frog Embryo, *Rana dybowskii*

박유리¹, 고선근²
호남대학교 대학원 생물학과¹, 호남대학교 생명과학과²

I. 연구목적

. 개구리류의 배아를 활용하여 화학물질 및 환경오염물질의 독성과 기형유발에 관한 연구로 FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus*) 방법에 의한 *Xenopus laevis*와 범개구리 (*Rana pipiens*)가 널리 사용되고 있으나 이들은 우리나라에서 구하기가 어렵고 이들의 생태적 특징상 우리나라의 양서류들과는 차이를 보인다. 본 연구에서는 한국산 개구리 중 산개구리 (*Rana dybowskii*) 배아를 활용하여 발생단계별로 몇 종의 중금속을 처리 한 후 효과 농도를 구하여 독성정도를 파악 하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 배아 채취 방법

산개구리는 광주 전남 일대에서 2006년 2월 초순부터 4월말까지 성체를 채집하여 약 5°C가 유지된 냉장실에서 가 동면을 유도하면서 인공배란을 유도하여 균일한 할구들을 가진 배아들을 선택한 후 젤리층을 제거하여 배양에 사용하였다.

2. 배양액 및 중금속

배양액으로 Amphibian Ringer 용액(AR; 6.6 g NaCl/ℓ, 0.15 g KCl/ℓ, 0.15 g CaCl₂/ℓ, 0.2 g NaHCO₃/ℓ, 0.05 g Streptomycin/ℓ, 0.03 g Penicillin/ℓ)을 제조하여 pH 7.4로 맞추어 배양에 사용하였으며 배아의 발생단계에 미치는 영향을 보기 위해 사용했던 중금속은 Mn²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺(KANTO CHEMICAL CO., INC), Pb²⁺(Junsei chemical Co., Ltd.)의 1000ppm Stock solution을 농도별로 희석하여 사용하였다.

3. 결과처리 및 분석

2세포기-포배기

중금속 이온들이 2세포기-포배시기에 미치는 효과를 조사하기 위해 2세포 배아를 포배기까지 배양 후 중금속의 농도에 따른 난할정지(ceased), 난할지연(retardation), 세포붕괴(cytolysis)비율을 파악하여 초기 난할 과정에 미치는 중금속 효과를 조사하였다.

낭배시기-꼬리 지느러미 순환

배엽이 형성되고 중금속 이온들이 기관형성에 미치는 효과를 파악하기 위해 낭배시기에 중금속이 농도별로 포함된 실험군과 대조군의 배아를 96시간 배양 후, 중금속 종류 및 농도별 기형의 종류, 기형율, 성장률 등을 조사하였다.

아가미 순환-아가미 완성시기

기관형성 이후, 중금속 이온들이 미치는 효과를 파악하기 위해 아가미 순환시기부터 중금속이 농도별로 포함된 실험군과 대조군의 배아를 96시간 배양 후, 중금속 종류 및 농도별 기형의 종류, 기형율, 성장률 등을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

2cell-포배기 배아에 미치는 영향

Fe은 0.01ppm부터 농도가 높아짐에 따라 13.3~66.6%의 치사율을 나타냈고 0.01ppm에서 3.3%의 배아가 난할정지 되었으며 3.3%의 배아가 5ppm에서 난할지연 효과를 나타냈고 또한 0.01ppm에서부터 3.3~20%의 배아가 세포붕괴 현상을 나타내었다. Mn의 경우는 0.01ppm부터 농도가 높아짐에 따라 3.3~53.3%의 치사율을 나타냈고 0.01ppm부터 3.3~20%의 배아가 난할정지 되었으며 0.5ppm, 5ppm에서 3.3~20%의 배아가 난할지연 효과를 나타냈고 0.05ppm에서부터 10~36.7%의 배아가 세포붕괴 현상을 나타내었다. Cu의 경우에는 0.01ppm부터 농도가 높아짐에 따라 6~63.3%의 치사율을 나타냈고 1ppm에서 13.3%배아가 난할정지 되었으며 0.5ppm, 1ppm에서 3.3~6.7%의 배아가 난할지연 효과를 나타냈다. 그리고 0.01ppm에서부터 3.3~63.3%의 배아가 세포붕괴

현상을 나타내었다. Pb의 경우도 0.01ppm부터 농도가 높아짐에 따라 10~80%의 치사율을 나타냈고 0.5ppm에서 3.3~13.3%배아가 난할정지 되었으며 0.05ppm, 0.5ppm, 1ppm에서 6~66.7%의 배아가 난할지연 효과를 나타냈고 0.01ppm에서부터 3.3~63.3%의 배아가 세포붕괴 현상을 나타내었다.

낭배시기-꼬리 지느러미 순환시기에 미치는 영향

Fe가 성장에 미치는 효과는 0.01ppm부터 대조군(10.3mm)에 비해 성장을 억제 하였고(10.0mm), 10ppm에서 17%의 기형율을 나타내었으며, Mn이 성장에 미치는 효과는 0.01ppm부터 대조군(10.3mm)에 비해 성장을 억제 하였고(9.8mm), 0.1ppm에서 15%의 기형율을 나타내었다. 또한 Cu가 성장에 미치는 효과는 0.01ppm부터 대조군(10.3mm)에 비해 성장을 억제 하였고(9.8mm), 기형율은 0.01ppm에서 15%의 기형율을 나타내었으며, Pb이 성장에 미치는 효과는 0.01ppm부터 대조군(10.3mm)에 비해 성장을 억제 하였고(9.9mm), 기형율은 0.05ppm에서 12%의 비율을 나타내었다. 기형은 수포성 기형, 척추기형 꼬리기형, 복부기형, Profound형 기형 등이 나타났다.

아가미 순환-아가미 완성시기 배아에 미치는 영향

Fe가 성장에 미치는 효과는 10ppm부터 대조군(13.0mm)에 비해 성장을 억제 하였고(8.9mm), 기형율은 10ppm부터 7%의 비율을 나타냈다. Mn이 성장에 미치는 효과는 10ppm부터 대조군(13mm)에 비해 성장을 억제 하였으나(8.4mm), 10ppm에 서는 모든 개체가 치사 되었다.

Cu가 성장에 미치는 효과는 0.05ppm부터 대조군(13.0mm)에 비해 성장을 억제 하였고(12.0mm), 기형율은 0.05ppm부터 33%의 비율을 나타냈다. 또한 Pb이 성장에 미치는 효과는 0.05ppm부터 대조군(13.0mm)에 비해 성장을 억제 하였고(11.8mm), 기형은 0.05ppm부터 14%의 비율을 나타내었다. 기형은 수포성 기형, 척추기형 꼬리기형, 복부기형, Profound형 기형 등이 나타냈다. 이상의 결과들로 보아 시험에 사용한 결과 중금속들 모두 배아 발생과정에서 배아들을 치사 시키거나 발생을 저해하고 기형을 유발하여 민감하게 반응함을 알 수 있었으며 이들의 작용기작을 파악하기 위해서는 보다 구체적인 실험이 필요한 것으로 생

각된다.

참 고 문 헌

Bantle, J.A. J.N. Dumont, R.A. Finch, and G. Linder(1991) Atlas of Abnormalities: a Guide the Perfomance of FETAX. Oklahoma State Pulications Department.

Bantle, J.A. D.J. Fort, J.R. Rayburn, D.J Deyoung, S.J. Bush(1990) Further validation of FETAX: evaluation of the developmental toxicity of five known mammalian teratogens and non-teratogens. Drug. Chem. Toxicol. 13:267-282.

Deucher, E.M.(1972) "Xenopus laevis and Developmental Biology" Biological Reviews, 47, 37-112.