

銅이온이 참개구리 幼生の 成長에 미치는 影響

朴商玉 · 金相基* · 曹秀悅*

(曉星女子大學校 生物教育學科 · 嶺南大學校*)

Influence of Cu(II) on the Growth of Korean Tadpole, *Rana nigromaculata*

Park, Sang Ock, Sang Gi Kim* and Soo Yeul Cho*

(Dept. of Biology Education, Hyosung Women's University and Yeungnam University*)

ABSTRACT

The author hatched the eggs of Korean frog, *Rana nigromaculata* in natural water, and reared the tadpoles in natural water as control group and in seven copper ion groups contaminated by 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, and 1.0 ppm of copper ion.

The influences of copper ion on the growth of the tadpoles were analyzed, and the results were summarized as follows:

- 1) The copper ion inhibited the growth of the tadpole.
- 2) The tadpoles were not survived for 20 days in the copper ion of 0.4~0.5ppm, and in the 0.7ppm, the tadpoles were not survived for 1 day after hatch.
- 3) The critical lethal concentration of Korean tadpole is regarded as 0.6ppm of copper ion.
- 4) The growth of head width and body length show a convexing increase pattern.
- 5) In the growth quantity of head width and body length, that of natural water shows the most rapid increase pattern, and that of the copper ion groups 0.1, 0.2, and 0.3ppm follows in that order.
- 6) The coefficient of relative growth(α) of control group is the greatest value, and that of the copper ion groups of 0.1, 0.2, and 0.3ppm follows in that order. The natural water shows the positive allometry, the contaminated groups shows the negative allometry in the relative growth of the contaminated groups to the natural water.
- 7) Body length shows positive allometry in the relative growth to head width.

緒 論

食糧増産을 위한 農藥의 過多살포와 農村産業化로 인한 工業廢水가 全國水系의 水質汚染을 累積시키고 있다. 自然環境 條件 變化가 生物의 生活 및 成長에 影響을 미치게 되며, 심하면 生態系의 破壞를 招來하게 될 것이다. 이와같은 環境汚染을 累積시키는 要因으로 重金屬과 農藥을 배출할 수 없을 것이다. 이들 環境을

오염시키는 要因중 農藥으로 많이 利用되고 生物體를 구성하는 必須元素인 重金屬의 일종인 銅이온을 代表로 들 수 있다. 銅 및 그 化合物은 1978年 7月 1日 法律 第3078號로 公布된 環境保全法 第2條에 오염물질로 規定하고 있고, 法 第2條 第11項에 特定 有害物質(規則 第5條)로 規定하고 있으며, 法 第42條 第1項에는 農水産物의 栽培制限基準을 規定하고 있는데 그 制限濃度를 土壤중에는 銅含量 125ppm, 水域에서는 0.1ppm以上으로 定하고 있다. 또한 動物에 있어 $CuSO_4$ 의 LD_{50} 은

원위(經口) 300mg/kg, 토끼(靜注) 4~5mg/kg이다.

銅이온이 動物의 成長과 發生에 미치는 影響을 研究 檢討한 Lee와 Lee(1981)는 Cu 0.1ppm에서 참개구리 幼生은 모든 個體가 生存할 수 있으나 體重減少를 가져왔고 1ppm以上에서는 生存不可能하다는 事實을 밝히고 있다. Park等(1983)은 도롱뇽 幼生을 대상으로 銅이온 0.3ppm에서는 卵塊탈출 후 30일간의 생존이 불가능하였고, 0.4ppm에서는 10일간의 생존이 불가능하였다고 밝히고 있다. 그러나 참개구리를 대상으로 하여 0.2~0.9ppm에서의 生存與否를 밝히지 않아 致死濃도가 明確하지 않다.

그러므로 이 論文에서는 上記와 같은 條件을 감안하여 周邊에서 흔히 接할 수 있고, 教科書에도 代表的 動物로 나오는 참개구리를 대상으로 農藥으로 汚染된 水質에서 動物의 成長과 發生에 미치는 影響을 究明하기 위하여 基礎資料를 提供하기로 하였다.

그래서 汚染에 의한 生物의 成長을 究明하는 研究의 一環으로서 우선 重金屬으로 一般農家에서 많이 使用하는 보르도 液(Bordeaux mixture) 成分의 하나인 銅이온을 選定하여 實驗室에서 水質을 汚染시켜 이것이 참개구리(*Rana nigromaculata*) 幼生의 成長에 미치는 影響을 究明하는 동시에 明確치 못한 臨界致死濃도를 檢討하고자 한다.

材料 및 方法

實驗材料

材料는 大邱近郊(동명, 진량, 월배)의 農業用水路邊에 棲息하는 脊椎動物門, 兩棲綱, 개구리目, 참개구리科에 屬하는 참개구리(*Rana nigromaculata* Hallowell)의 알덩이를 1982年 5月初 採集하여 使用하였다. 採集한 알덩이는 實驗室에서 自然水로 채워진 水槽(45×25×30cm)에 넣어 酸素를 供給하면서 孵化를 시켰다.

實驗方法

實驗方法은 孵化된 幼生을 對照群으로 自然水를 使用하고, 實驗群으로는 銅이온 濃도를 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0ppm 溶液으로 만들어 飼育하였다. 飼育은 水槽(20×30×18cm)를 使用하였으며 각 水槽에 幼生을 100마리 以上 넣어 10日間隔으로 매회 5~10마리씩 標本으로 뽑아 μ 單位로 長이를 測定한 후 mm로 換算하여 實測值로 하였다. 測定 對象은 頭幅과 全長(體長)이며 實體顯微鏡(Olympus SZ-Ⅲ)下에서 測微計(micrometer)를 利用하여 그 長이를 測定하였다.

實驗飼育 環境은 室溫이 20°C 內外였으며 水溫은 17.6°C, 生物學的 酸素要求量(BOD)은 2.2ppm이고, 溶存酸素(DO)은 6.2ppm이었다. 飼育水는 自然水를 供給하여 10日마다 갈아 주었다. 먹이로는 Tetramin (Baby fish food)을 1日 2回 定期的으로 供給하였다.

分析方法

分析方法은 分散分析法으로서 銅이온이 成長에 미치는 影響을 檢定하였으며 아울러 成長式을 導入하여 成長에 따른 變化狀態를 定式化하고 各 體量의 成長狀態를 解釋하였다. 成長式은 成長量의 變化를 時間의 函數로 表示하는 $y=a+bt+ct^2$ 를 適用시켜 成長量(Growth quantity)으로 表示함으로써 Zimmerman(1934)과 Ishikawa(1934)의 것을 變形하여 使用하였으며 이것으로부터 成長率(Growth rate)도 誘導하였다. 이같은 絕對成長(Absolute growth)과는 달리 生物의 體量이 반드시 같은 比成長率(Specific growth rate)을 가지지 않은 成長關係를 表示하기 위하여 $y=bx^a$ 로 表現되는 Huxley와 Teissier(1937)의 相對成長率(Relative growth formula)을 導入 算出하였다.

結果 및 考察

Table 1은 各 期間과 銅이온의 濃度別로 측정된 참개구리 幼生의 成長實測值(平均値±標準偏差)를 mm로 나타내고 있다.

Table 1에 나타난 成長量에 대한 分散分析(analysis of variance) 結果 銅이온이 참개구리 幼生의 成長에 미치는 影響은 $p<0.01$ 로서 매우 有意的으로 그 差를 認定할 수 있다.

Lee와 Lee(1981)는 참개구리 幼生을 銅이온 0.1ppm 濃度에 10日동안 暴露시켰더니 生存은 可能하나 23%의 體重減少를 가져왔고, 1ppm以上 濃度에서는 生存하지 못하고, 對照群의 自然水에서는 生存이 可能한 동시에 18%의 體重增加를 보였다고 밝혔다.

朴等(1983)은 銅이온이 도롱뇽 幼生의 成長에 미치는 影響에서 銅이온 0.3ppm에는 30日間の 生存이 不可能하였고, 0.4ppm에는 10日을 經過하지 못했고, 0.6ppm以上에서 暴露 1日만에 모든 個體가 死亡하였다고 밝혔다.

本 實驗의 結果로서 銅이온 濃度에 安定된 體量은 頭幅이며 이것은 Park과 Lee(1971), 朴等(1983)이 밝힌 昆虫과 도롱뇽의 成長分析 結果와도 一致하고 있다. Table 1에서 볼 수 있는 것처럼 銅이온 0.4 및 0.5ppm

Table 1. Growth quantity (in mm) of Korean tadpole exposed in various concentrations of copper during 60 days after egg hatch of *Rana nigromaculata* (Mean±Standard deviation)

Body part	Copper concentration	Days							
		0	10	20	30	40	50	60	70
Head width	control	E	1.25±0.16	2.70±0.14	3.04±0.14	3.44±0.23	4.22±0.26	4.31±0.35	4.94±0.27
	0.1ppm	E	1.22±0.24	2.69±0.18	3.05±0.13	3.21±0.23	3.74±0.21	3.92±0.18	4.44±0.38
	0.2ppm	E	1.37±0.10	2.32±0.19	2.92±0.24	3.12±0.20	3.21±0.25	3.39±0.20	4.35±0.66
	0.3ppm	E	1.51±0.04	2.36±0.09	2.88±0.26	3.02±0.09	3.64±0.21	3.55±0.36	3.95±0.52
	0.4ppm	E	1.43±0.05	2.48±0.15	—	—	—	—	—
	0.5ppm	E	1.29±0.17	1.90±0.20	—	—	—	—	—
	0.7ppm	E	1.42±0.11	—	—	—	—	—	—
	1.0ppm	E	1.35±0.10	—	—	—	—	—	—

Body part	Copper concentration	Days							
		0	10	20	30	40	50	60	70
Body length	Control	E	7.50±0.73	11.92±0.57	12.82±0.55	14.86±1.05	17.76±1.37	18.27±2.38	22.16±1.18
	0.1ppm	E	7.98±0.68	11.80±0.64	13.46±0.59	14.64±1.28	15.10±0.64	16.44±0.78	18.96±1.52
	0.2ppm	E	7.86±0.57	11.04±1.13	13.38±1.46	13.90±0.80	14.50±1.01	14.98±0.95	18.20±2.61
	0.3ppm	E	8.68±0.35	10.94±0.31	12.80±1.13	13.04±0.62	13.64±0.98	15.47±1.27	17.54±1.28
	0.4ppm	E	8.42±0.37	11.05±0.99	—	—	—	—	—
	0.5ppm	E	7.49±0.82	9.26±0.46	—	—	—	—	—
	0.7ppm	E	7.65±0.34	—	—	—	—	—	—
	1.0ppm	E	7.71±0.62	—	—	—	—	—	—

E : egg, — : death

에서는 暴露 20日을 經過하지 못하고 모두 死亡하였으며, 0.7ppm 以上에서는 暴露 1日만에 모든 個體가 死亡하였다. 이와같은 實驗의 結果와 考察로서 臨界致死 濃度는 0.6ppm이라고 생각한다.

참개구리(*Rana nigromaculata*) 幼生의 成長 實測 値로부터 成長傾向을 分析하기 위하여 成長式을 導入 하여 成長現象을 解析하면 다음과 같다.

絕對成長

Zimmerman(1934)과 Ishikawa(1938)로부터 變形된 成長式은 $y = a + bt + ct^2$ 으로 表示된다. 이때 y 는 部分 및 全體成長量을 나타내고, t 는 時間으로 經過日數를 나타내며 a, b, c 는 常數로서 最小自乘法(least square method)으로 決定한다. 成長量은 上記 成長式에 의해 換算되며, 成長率(growth rate)은 上記 成長式에서 誘導되는 $dy/dt = b + 2ct$ 로 나타낸다.

頭幅의 成長

Fig.1은 各 濃度別 頭幅의 成長 變化像을 나타내고 있다.

對照群에서 成長式은 $y = 0.07 + 0.89t - 0.03t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 27.74%의 誤差 範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 38.50%였다. 成長率은 0.85mm/t에서 0.41mm/t로 緩慢하게 減少되었고, 成長量은 5.27倍가 增加되었다.

0.1ppm 濃度群에서 成長式은 $y = 0.06 + 0.88t - 0.04t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 26.50%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 41.45%였다. 成長率은 0.84mm/t에서 0.24mm/t로 緩慢하게 減少되었고, 成長量은 4.54倍가 增加되었다.

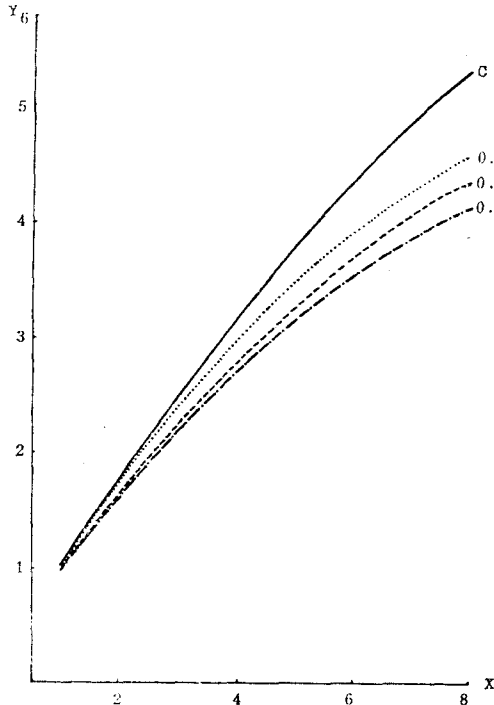


Fig. 1. Growth pattern of head width for each copper concentration in *Rana nigromaculata*.
 X : Days after egg hatch
 Y : Length in mm of head width
 0.1 : 0.1ppm of copper ion, 0.2 : 0.2ppm of copper ion, 0.3 : 0.3ppm of copper ion
 C : Control(0ppm of copper ion)

0.2ppm 濃度群에서 成長式은 $y=0.35+0.67t-0.02t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 16.50%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 24.24%였다. 成長率은 0.63mm/t에서 0.34mm/t로 緩慢하게 減少되었고, 成長量은 4.43배가 增加되었다.

0.3ppm 濃度群에서 成長式은 $y=0.35+0.71t-0.03t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 13.88%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 20.66%였다. 成長式은 0.65mm/t에서 0.23mm/t로 緩慢하게 減少되었고, 成長量은 4.11배가 增加되었다.

對照群을 除外한 0.1ppm以上の 濃度群에서 알덩이의 孵化以後 銅이온 汚染에 대한 暴露 30日만에 成長率이 거의 0으로 떨어지는 것으로 미루어 이후의 期間

동안에 生存을 보장받지 못한다는 結果를 分析할 수 있어 環境保全法 第42條 1項의 規定에 의한 水域에서의 農水産物 栽培 制限基準인 0.01ppm으로부터 0.09ppm까지의 影響을 分析해 볼 必要가 있다고 보겠다.

體長(全長)의 成長

Fig. 2는 各 濃度別 全長의 成長變化象을 나타내고 있다.

對照群에서 成長式은 $y=-2.11+4.75t-0.23t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 58.50%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 76.87%였다. 成長率은 4.29mm/t에서 1.07mm/t로 緩慢하게 減少되었고, 成長量은 21.17배가 增加되었다.

0.1ppm 濃度群에서 成長式은 $y=-2.26+5.18t-0.33t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 61.38%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 79.07%였다. 成長率은 4.52mm/t에서 $-0.1mm/t$ 로 急激하게 減少되었고, 成長量은 18.06배가 增加되었다.

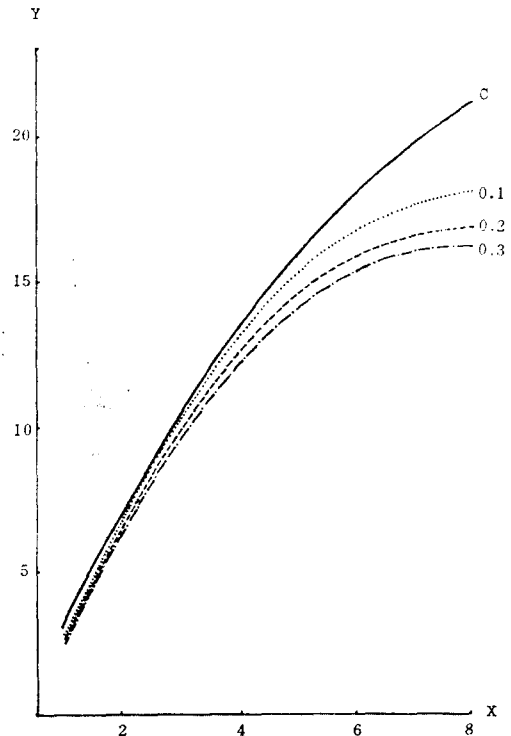


Fig. 2. Growth pattern of body length for each copper concentration in *Rana nigromaculata* (Abbreviations are the same as those in Fig. 1).

0.2ppm 濃度群에서 成長式은 $y = -2.06 + 4.96t - 0.33t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 61.24%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 81.05%였다. 成長率은 4.31mm/t에서 -0.31mm/t 로 急激하게 減少되었고, 成長量은 16.58배가 增加되었다.

0.3ppm 濃度群에서 成長式은 $y = -1.20 + 4.50t - 0.29t^2$ 으로써 凸曲線으로 表示되고, 上記 成長式은 66.77%의 誤差範圍內에서 그 成長現狀을 完全히 나타내며, 最大 誤差幅은 97.19%였다. 成長率은 3.92mm/t에서 -0.14mm/t 로 急激하게 減少되었고, 成長量은 16.24배가 增加되었다.

相對成長

Huxley와 Teissier(1937)에 의해 體系化된 相對成長(relative growth)의 概念은 成長系 2個의 部分 成長量을 x, y 라하여 成立되는 關係를 말하는데, $y = bx^\alpha$ 로 나타내고 있다. 이 式의 兩邊에 對數를 취하면 $\log y = \log b + \alpha \log x$ 로 되어 代數誘導 領域에서는 x, y 는 直線的 關係에 있는 것이다. 相對成長式에서 x, y 는 時間(t)의 函數이므로 t 로서 微分하면 $\frac{1}{y} \cdot \frac{dy}{dt} = \alpha \cdot \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt}$ 로 되어 x 와 y 의 成長率을 나타내며, 이때 $\alpha = \frac{1}{y} \cdot \frac{dy}{dt} / \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt}$ 로서 x 의 比成長率에 대한 y 의 比成長率의 比를 나타내게 된다.

이때 α 는 相對成長係數(coefficient of relative growth) 또는 成長比(growth ratio)라 한다. y 는 x 에 대하여 $\alpha > 1$ 일때 優成長(positive allometry), $\alpha = 1$ 일때

Table 2. Coefficient of relative growth of each concentration group(y) to control group(x) in two body parts

x	y		
	0.1	0.2	0.3
Control			
Head width	0.936	0.835	0.775
Body length	0.958	0.939	0.923

Table 3. Coefficient of relative growth of body length(y) to head width(x) in control group

x	y
	Hody length
Bead width	1.498

等成長(isometry), $\alpha < 1$ 일때 劣成長(negative allometry), $\alpha = 0$ 일때 成長停止(ceasing of growth), $\alpha < 0$ 일때 貧成長(actual negative growth)이라 한다.

對自然水 相對成長

對自然水 相對成長이란 自然水에서의 成長量 x 에 대한 各 濃度에서 成長量 y 의 關係를 말한다.

頭幅의 경우(Fig. 3) 自然水인 對照群에 대한 各 濃度の 相對成長係數를 보면 0.1ppm에서는 $\alpha = 0.936$ 으로서 $y = 0.034x^{0.936}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.1ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 93%로서 劣成長임을 알 수 있다.

0.2ppm에서는 $\alpha = 0.835$ 으로서 $y = 1.063x^{0.835}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.2ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 83%로서 劣成長임을 알 수 있다.

0.3ppm에서는 $\alpha = 0.775$ 으로서 $y = 0.322x^{0.775}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.3ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 77%로서 劣成長임을 알 수 있다.

全長의 경우(Fig. 4) 自然水인 對照群에 대한 各 濃度の 相對成長係數를 보면 0.1ppm에서는 $\alpha = 0.958$ 으로

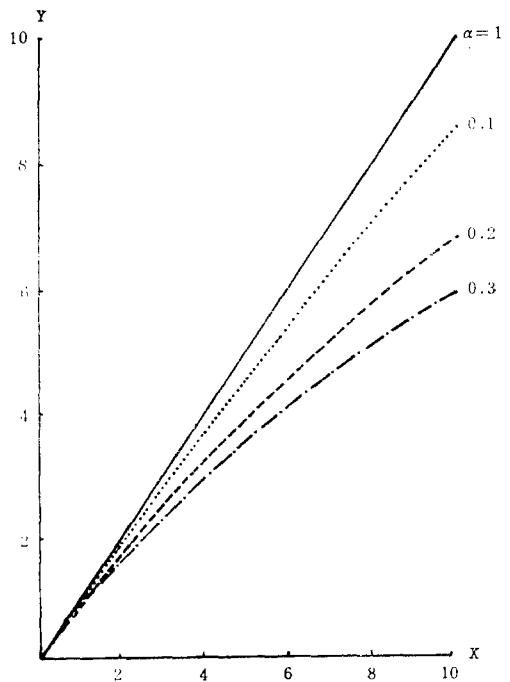


Fig. 3. Relative growth curve of each concentration (y) to control(x) in head width of *Rana nigromaculata* (α : Coefficient of relative growth. Other abbreviations are the same as those in Fig. 1).

로써 $y=0.171x^{0.958}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.1ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 95%로서 劣成長임을 알 수 있다.

0.2ppm에서는 $\alpha=0.939$ 으로써 $y=0.181x^{0.939}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.2ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 93%로서 劣成長임을 알 수 있다.

0.3ppm에서는 $\alpha=0.923$ 으로써 $y=0.236x^{0.923}$ 인 相對成長式을 나타내며, 0.3ppm에서의 比成長率은 自然水의 그것에 비해 92%로서 劣成長임을 알 수 있다.

上記와 같이 自然水에 비해 銅이온에 의한 汚染濃度群이 劣成長으로 나타나고 있는 것은 銅이온이 참개구리의 幼生の 成長에 阻害作用을 미쳤다고 할 수 있다.

對頭幅 相對成長

對頭幅 相對成長이란 自然水에서의 頭幅成長量(x)에 대한 自然水에서의 全長(y)과의 關係를 말한다.

自然水(對照群)인 경우 頭幅에 대한 全長과의 相對成長係數를 보면 全長에서는 $\alpha=1.498$ 으로써 $y=2.264x^{1.498}$ 인 相對成長式을 나타내며, 全長에서의 比成長率

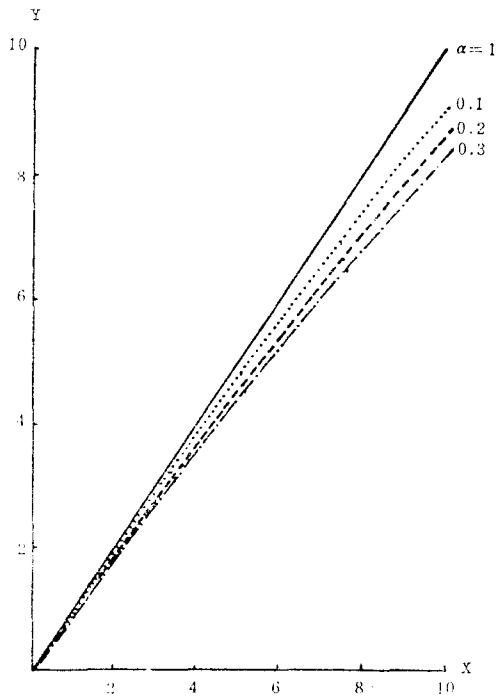


Fig. 4. Relative growth curve of each concentration (y) to control(x) in body length of *Rana nigromaculata* (Abbreviations are the same as those in Fig. 3).

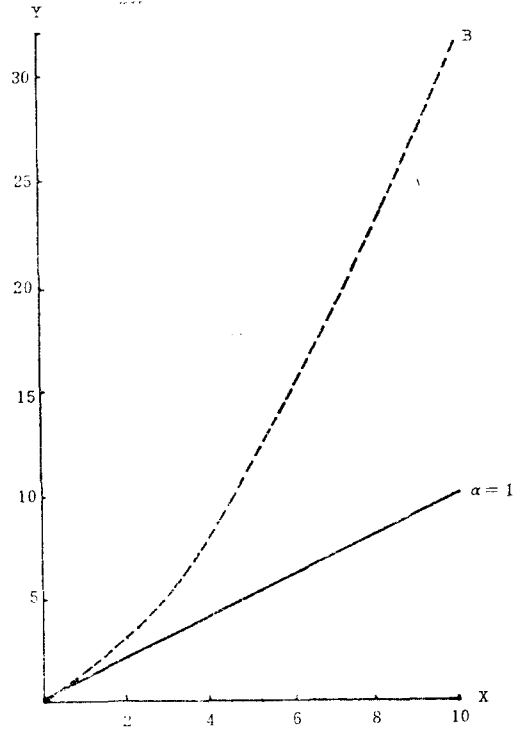


Fig. 5. Relative growth curve of body length(y) to head width(x) in control of *Rana nigromaculata* (Abbreviations are the same as those in Fig. 3). BL : body length

은 頭幅의 그것에 비해 149%로서 優成長임을 알 수 있다(Fig. 5).

結 論

大邱近郊 農業用水路邊에 棲息하는 참개구리(*Rana nigromaculata*)의 卵을 自然水에서 孵化시켜 孵化된 幼生을 對象으로 銅이온의 濃度가 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 1.0ppm인 汚染水와 對照群인 自然水에서 各 飼育시켜 銅이온이 참개구리 幼生の 成長에 미치는 影響을 分析한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 銅이온은 참개구리 幼生の 成長에 阻害作用을 하였다.
2. 銅이온 0.4, 0.5ppm에서는 孵化後 暴露 20日間의 生存이 不可能하였고, 0.7ppm以上에서는 暴露 1日間의 生存이 不可能하였다.
3. 참개구리 幼生の 銅이온에 의한 臨界致死 濃度는 銅이온 0.6ppm으로 看做된다.

4. 頭幅과 全長의 成長曲線은 凸型으로 보였다.
5. 體量의 增加는 모든 部位에서 自然水가 가장 크고 0.1, 0.2, 0.3ppm의 順이었다.
6. 相對成長係數는 自然水의 것이 0.1ppm以上 群의 것에 비해 항상 優成長이었고 0.1, 0.2, 0.3ppm 順이었다.
7. 對頭幅 相對成長에서 全長의 成長은 優成長이었다.

參考文獻

- Huxley, J. S. and G. Teissier, 1937. Zur Terminologie des relativen Grossenwachstums. *Anat. Bericht.* **35**(4) : 6.
- Ishikawa, A., 1938. Die quantitative Forschung über das Wachstum der Orbita des Japaners in der letzten Hälfte des Fetallebens. *Kaibogaku Zassi*, **13**(2) : 277~430.
- Lee, S. J. and C. E. Lee, 1981. Effects of heavy metal ions on (*Rana nigromaculata*) tadpole. *Nature & Life*, **11**(2) : 67~76.
- Park, J. H., W. H. Park and S. O. Park, 1983. Influence of Cu(II) on the growth of Korean Axolotl, *Hynobius leechii*. *Korean J. Ecology*, **6**(2) : 106~113.
- Park, S. O. and C. E. Lee, 1971. An analytical study on the growth of *Anoplocnemis dallasi* Kirichenko. *Kor. J. Zool.*, **14**(3) : 139~158.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf, 1973. Introduction to biostatistics. Freeman, pp. 368.
- Zimmerman, A. A., 1934. The changes in position of the eyeball during fetal life. *Anat. Rec.* **59** : 186.

(1984年 11月 11日 接受)