

[報 文]

## Humic acid가 카드뮴 어독성에 미치는 영향

류지성\* · 정규혁\* · 최필선 · 이길철  
최덕일 · 최성수 · 류홍일 · 박광식

\*성균관대학교 약학대학, 국립환경연구원

## Effects of Humic Acid on the Cadmium-Induced Fish Toxicity

Ji-Sung Rhu\*, Kyu-Hyuck Chung\*, Pil-Son Choi, Kil-Chul Lee  
Doug-Il Choi, Sung-Su Choi, Hong-Il Rhu and Kwang-Sik Park

\*College of Pharmacy, Sungkyunkwan University  
National Institute of Environmental Research

### ABSTRACT

Cadmium, a major aquatic pollutant in many parts of the world, is toxic and readily accumulated in aquatic organisms. It mainly exists in water as complexes with organic ligands such as dissolved organic carbon and this complexation is known to have effects on the aquatic toxicities. In this study, acute toxicity, histology, and bioaccumulation were studied to evaluate effects of humic acid on cadmium toxicity and bioavailability to fish using *Oryzias latipes* and *Cyprinus carpio*.

96h-LC50 of cadmium was 6.38 mg/L using *Oryzias latipes*. However, the mortality showed the dose-dependent decrease when humic acid was added to the test solution. When fish were exposed to 5 mg/L of cadmium, histological changes in the exposed organs (caudal fins, gills, kidney, liver, and gut) of *Cyprinus carpio* were decreased by humic acid, especially in kidney and liver. Bioaccumulation of cadmium also decreased by treatment of humic acid. It seems that the formation of complexes between cadmium and humic acid may decrease bioavailability of cadmium to fish, and thus reduce the toxic effects of cadmium.

### 서 론

카드뮴은 주된 수질오염물질 중 하나로 자연상태에서 카드뮴이 존재하기도 하지만 인위적인 오염원에 의해 환경 중으로 방출되기도 한다. 토양중의 카

드뮴은 대부분 토양입자에 흡착된 상태로 존재하는데 산성비 등으로 인해 토양이 산성화되면 토양입자로부터 분리되어 나와 물 속으로 방출된다.<sup>1,2)</sup> 카드뮴의 주된 오염원으로는 아연과 같은 비철금속 광산으로부터의 폐수나 이들 금속의 제련과정의 부산물로 이들을 통해 수역으로 방출된다.<sup>1,2)</sup> 또한 카

드륨은 산업적 이용에 의해 환경 중으로 방출되는 데, 카드뮴은 도금재료, PVC 안정제, 플라스틱 및 유리등의 착색제, 니켈-카드뮴 전지의 재료 등으로 사용되고 있다.<sup>1),2)</sup>

카드뮴은 수은이나 납과 같이 매우 유독한 중금속으로 갈슘과 같은 필수금속이온에 대한 경쟁작용과 생체내 효소와 구조 단백질의 정상적 기능에 중요한 sulfhydryl 작용기에 대한 강한 친화력이 있어서 필수금속이온의 흡수 억제 및 효소와 단백질의 작용에 방해할 나타내는 것으로 알려져 있다.<sup>1),3)</sup> 이러한 카드뮴은 수생생태계의 대표적 생물인 어류에 대해서도 독성을 나타내는데 아가미에서 과량의 점액 물질 분비 유도로 인한 질식, 아가미 손상, acetylcholinesterase 억제, 저칼슘혈증 (hypocalcemia) 을 일으키고, 간 및 신장에 대한 독성이 보고된 바 있다.<sup>4)</sup> 또한 카드뮴은 다른 중금속들과 마찬가지로 생물농축성이 있는데 어류의 경우 카드뮴 흡수는 주로 소화관과 아가미를 통해서 이루어지며 특히 아가미, 간 및 신장에 대한 농축성이 높다.<sup>1),3),4)</sup>

카드뮴의 생물이용도는 2가 카드뮴이 이온화된 상태에서 가장 높지만 카드뮴은 이온상태로 존재하기 보다는 유기물질 등과 결합된 상태로 존재한다.<sup>1),5)</sup> 이러한 유기결합체들은 카드뮴의 물리화학적 성질을 변화시켜 생물이용도에 영향을 미친다.

물 속에 존재하는 용존유기탄소(dissolved organic carbon; DOC)는 카드뮴과 결합체를 이루는 주된 물질이며 humic acid는 DOC의 상당부분을 차지하는 대표적인 물질이다.<sup>5),6)</sup> Humic acid는 담수 뿐 아니라 토양, 바다, 호수의 저층 등에 존재하는 지구상에서 가장 풍부한 유기물질의 하나로 분자량이 수천에서 수십만에 이르는 고분자물질로 어두운 색을 나타낸다.<sup>5),6)</sup> Humic acid는 광물질 및 무기물질의 이동과 농도형성에 영향을 미치며, 미량원소 등 organic xenobiotics의 보유체로서의 역할을 하기도 한다.<sup>5)</sup> 금속이온과 humic acid의 결합은 주로 humic acid의 carboxyl group과 phenolic hydroxyl group에 의해 이루어지는 것으로 보인다.<sup>5),7),8)</sup> 이러한 결합은 어류 외에도 다른 생물들에 대한 중금속의 독성 및 생물농축을 감소시키는 것으로 알려져 있다.

과거 독성물질에 대한 환경독성평가는 수소이온농도, 온도, 경도 등의 단순한 영향인자와 더불어 평가되어 왔으나 환경이 매우 복잡한 구성체라는 것

을 생각할 때 독성물질과 함께 공존하는 다른 물질이 독성에 미치는 영향과 그 기작이 평가되어야 한다는 인식이 증가되고 있다. 이러한 관점에서 본 연구에서는 DOC 중 humic acid를 시험물질로 하여 카드뮴의 어독성에 미치는 영향을 조사하였다. 시험어종으로는 OECD 시험방법에 독성평가 시험어종으로 지정<sup>9)</sup>되어 있는 개량송사리(*Oryzias latipes*)와 잉어(*Cyprinus carpio*)를 이용하였다. 본 시험에서는 먼저 카드뮴의 급성어독성시험결과로부터 개량송사리에 대한 카드뮴의 반수치사농도(LC50)를 구하였으며, 카드뮴과 humic acid를 동시 처리하여 humic acid가 카드뮴의 급성어독성과 생물농축에 미치는 영향을 조사하였다. 아울러 잉어에 대한 조직변형시험을 수행하여 조직변성과 humic acid가 카드뮴의 어독성에 미치는 영향을 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험어

급성어독성시험 및 생물농축시험은 개량송사리(*Oryzias latipes*)를, 조직변형시험은 잉어(*Cyprinus carpio*)를 이용하였다. 개량송사리는 한국화학연구소에서 분양받아 국립환경연구원에서 1년이상 사육관리한 개량송사리(체장: 2~4 cm, 체중: 0.2~0.3 g)를 사용하였으며, 잉어는 국립수산진흥원 청평내수면연구소에서 분양받아 국립환경연구원에서 사육관리한 잉어(체장: 15~20 cm, 체중: 40~45 g)를 사용하였다. 시험어는 하루 이상 방치시켜 탈염소한 수돗물에서 사육하였으며 사육수의 온도는 25°C±1, pH는 7±0.5를 유지하였다. 시험어는 모두 외관상 기형이 없으며, 건강한 것을 사용하였다.

### 2. 시험방법

#### 1) 개량송사리(*Oryzias latipes*)를 이용한 급성어독성시험

##### (1) 카드뮴 단독처리에 의한 급성어독성

OECD Test Guidelines에 준하여 유수식시험계(flow-through test system)를 이용하여 시험하였다. 대조군외에 20, 40, 60, 80 및 100 mg/L의 카드뮴(CdCl<sub>2</sub>, Sigma Chemical Co., Germany) 용액을 각각 조제하고 탈염소수인 희석수와 일정비율로 희석하여 최종적으로 시험수조에 유입되는 카

드름농도가 각각 2, 4, 6, 8 및 10 mg/L가 되도록 하였다. 각 수조에는 10 L의 시험용액이 일정하게 유지되도록 하였으며, 송사리 10마리씩을 넣었다. 수조내의 pH, 수온, 용존산소 및 치사율은 24시간마다 측정 또는 관측하였으며, 치사어는 발견 즉시 제거하였다. 시험기간동안 조명시간은 하루에 12시간으로 하였다. 96시간 반수치사농도 (LC50)는 Probit 통계처리방법을 사용하여 산출하였다.

### (2) 카드뮴의 급성어독성에 미치는 humic acid의 영향조사

24시간마다 시험용액 전체를 교환하는 반지수식 시험계 (semi-static test system)를 이용하였다. 10 mg/L의 카드뮴농도를 기준농도로 하여 여기에 humic acid (Aldrich Chemical Co., USA)를 1, 10, 100 및 1,000 mg/L의 농도로 각각 처리하여 혼합한 후 96시간 동안 치사율을 관찰하였다. 대조군으로는 시험물질을 처리하지 않은 군, 카드뮴만을 처리한 군 및 humic acid만을 처리한 군을 준비하여 시험하였다. 개량송사리는 시험용액 3L를 담은 시험수조에 각각 10마리를 넣어 시험하였다. 시험용액을 교환할 때마다 이전 용액과 새로 조제한 용액의 pH, 수온 및 용존산소를 측정하고 24시간마다 치사율을 관찰하였다. 조명시간은 하루에 12시간으로 하였다.

### 2) 잉어 (*Cyprinus carpio*)를 이용한 조직병변관찰

잉어에 5 mg/L의 카드뮴을 96시간동안 처리하였다. 또한 카드뮴에 의한 조직병변에 미치는 humic acid의 영향을 조사하기 위해 5 mg/L의 카드뮴과 500 mg/L의 humic acid를 함께 96시간 동안 처리하였다. 잉어는 3L의 시험용액이 담긴 시험수조에 한 마리씩 넣었다. 96시간 후 잉어의 꼬리지느러미, 아가미, 신장, 간, 및 소화관 일부를 적출하였다. 적출한 각 장기들을 FAA 용액에 넣어 24시간 이상 고정시킨 후 부탄올시리즈로 탈수시키고 파라핀포매를 실시하였다. 포매된 조직을 회전식 마이크로톰을 이용하여 약 10  $\mu$ m 두께의 조직절편으로 만들고 1% hematoxylin과 1% eosin 염색액으로 이중염색한 후 광학현미경을 이용하여 관찰하였다.

### 3) 개량송사리를 이용한 생물농축시험

14일동안의 최대무영향농도 (NOEC)인 0.53 mg/L의 카드뮴에 0.53 및 53 mg/L의 humic acid를 각각 처리하였다. 시험전에 24시간 동안 절식시

킨 10마리의 개량송사리를 시험용액 3L를 담은 원형 수조에 넣었다. 시험용액은 48시간마다 교환하였고 사망한 개량송사리가 있을 경우 시험용액을 교환할 때 제거하였다. 시험용액 교환시 이전용액과 새로운 용액의 pH, 온도 및 용존산소를 측정하였다.

14일 후 살아 있는 시험어를 탈이온수로 잘 세척하여 각 개체의 체중을 측정하고 HNO<sub>3</sub>와 HClO<sub>4</sub>를 이용하여 산분해<sup>11)</sup>한 후 조직분해액을 10 ml가 되도록 탈이온수로 희석하고 ICP (AtomScan 25, Thermo Jarrell Ash, Japan)로 개량송사리 체내에 축적된 카드뮴의 양을 측정하였다.

각 처리군에 대한 카드뮴의 생물이용도를 비교하기 위해서 생물농축계수 (bioconcentration factor, BCF)를 아래 식에 따라 구하였다. 결과는 Student's t-test를 이용하여 통계처리하였다.

$$BCF = \frac{\mu\text{g Cd g}^{-1} \text{ fresh whole body}}{\mu\text{g Cd ml}^{-1} \text{ medium}}$$

## 결과 및 고찰

### 1. 개량송사리에 대한 카드뮴의 급성어독성 및 이에 미치는 humic acid의 영향

96시간 동안의 급성어독성시험으로부터 얻어진 용량-반응 곡선 (dose-response curve)은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 전형적인 sigmoid 곡선을 나타내었으며 96시간 LC50는 6.38 mg/L로 계산되었다. 개량송사리를 이용한 96시간 급성어독성시험에서 100% 치사율을 나타낸 카드뮴의 농도인 10 mg/L를 기준농도로 하여 이 농도의 카드뮴용액에 humic acid를 각각 1, 10, 100 및 1,000 mg/L를 처리한 후 96시간 동안 관찰한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 100% 치사율을 나타낸 카드뮴 농도의 10배 및 100배의 humic acid를 처리한 군에서 각각 치사율이 60%, 40%로 감소된 것을 관찰할 수 있었다. 또한 1,000 mg/L의 humic acid만을 처리한 군에서는 96시간 후에도 개량송사리가 모두 살아 있었다. 따라서 시험기간 동안 humic acid 단독으로는 개량송사리를 치사시키지 않으면서 오히려 카드뮴에 의한 급성어독성을 감소시키는 것으로 나타났다. Shanmukhappa 등<sup>11)</sup>은 조류의 한 종인 *Synechocystis aquatilis*를 이용하여 구리, 카드뮴

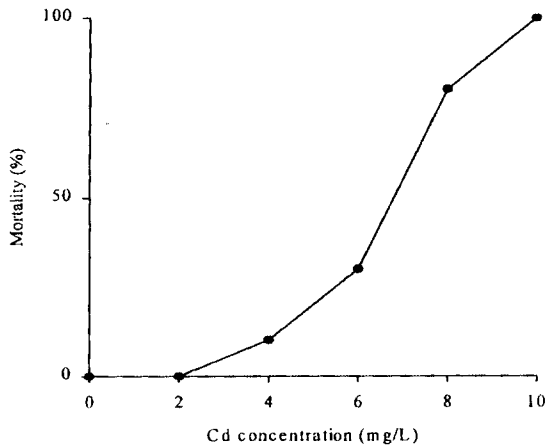


Fig. 1. The sigmoid dose-response curve after 96-h exposures of *Oryzias latipes* to cadmium. n=10 animals per treatment.

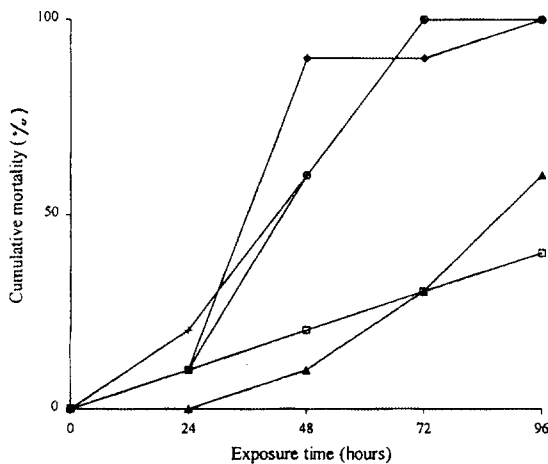


Fig. 2. Curves of cumulative mortality vs. exposure time for exposures to cadmium and mixtures of cadmium and humic acid. ○: Cd 10 mg/L, ◆: Cd 10+HA 1 mg/L, +: Cd 10+ HA 10 mg/L, ▲: Cd 10+HA 100 mg/L, and □: Cd 10+HA 1,000 mg/L. n=10 animals per treatment. HA: humic acid.

및 납독성이 humic acid처리에 의해 감소됨을 보고 하였다. 또한 *Oncorhynchus mykiss*에 대한 알루미늄 독성의 감소,<sup>12)</sup> *Poecilia reticulata*에 대한 구리 독성의 감소<sup>13)</sup> 등이 보고된 바 있으며 본 실험결과도 이들 보고와 유사함을 알 수 있다.

## 2. 카드뮴에 의한 잉어 조직병변에 미치는 humic acid의 영향

카드뮴에 대한 잉어의 96시간 LC50인 3.78 mg/L보다 조금 높은 5 mg/L를 기준농도로 하여 카드뮴을 처리하였다. 96시간 후에 카드뮴만으로 단독처리한 군에서는 치사어가 발생하였으나 humic acid를 함께 처리한 군에서는 모두 96시간 후에도 살아 있었다.

카드뮴을 단독 처리한 잉어 꼬리지느러미에서는 상피 및 내피조직세포의 약한 괴사현상과 기막으로부터의 근육조직의 분리가 관찰되었다. Humic acid를 함께 처리한 군에서는 카드뮴 단독 처리한 경우와 비슷하거나 그 이하의 병변을 보였다. Iger 등<sup>14)</sup>은 카드뮴 22 mg/L와 560 mg/L를 처리한 *Cyprinus carpio*에서 피부표면의 굴곡, 편평상피세포의 괴사 및 피부표면 주위로 점액세포의 발달 등이 나타났음을 보고하였다. 본 실험에서 나타난 꼬리지느러미 상피세포의 괴사 및 피부표면의 약한 굴곡현상은 보고된 바와 유사한 결과임을 알 수 있었다.

카드뮴을 단독 처리한 경우 아가미 새변(primary lamellae) 및 새박판(secondary lamellae)의 괴사현상과 조직의 위축현상이 나타났다. Humic acid를 처리한 잉어에서는 새박판의 약한 curling현상과 새변 및 새박판의 비대현상(hypertrophy)을 관찰할 수 있었고, 새박판말단의 상피세포층이 부풀어 내피와 분리된 것처럼 보이는 swelling현상을 보였다(Fig. 3). 일반적으로 다른 어류에서 카드뮴을 처리하였을 때 아가미 새박판 및 새변의 비대증이 보고<sup>15), 16)</sup>되었으나 본 실험에서 처리한 카드뮴농도 및 노출시간에서는 비대현상은 나타나지 않았다.

Gill 등<sup>17)</sup>은 카드뮴을 처리한 *Puntius conchonius*의 신장에서 근위세뇨관에서의 조직손상이 나타남을 보고하였다. 본 실험에서는 카드뮴을 단독 처리한 경우 세뇨관을 비롯한 주위 간질조직의 전반적인 괴사현상이 나타났다. 그러나 humic acid를 함께 처리한 잉어의 신장에서는 세뇨관 및 간질조직에서 부분적으로 미약한 괴사현상이 나타나 카드뮴 단독처리군에 비해 병변이 감소된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

카드뮴 단독처리군의 간에서는 조직전반에 걸쳐 괴사현상이 관찰되었다. 그러나 humic acid를 합

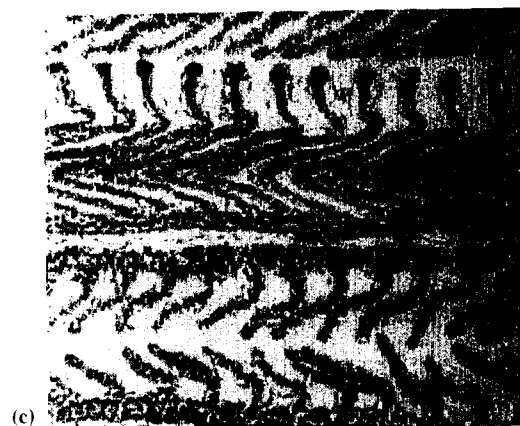
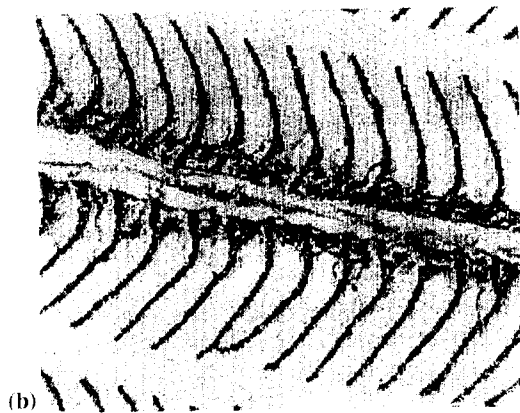
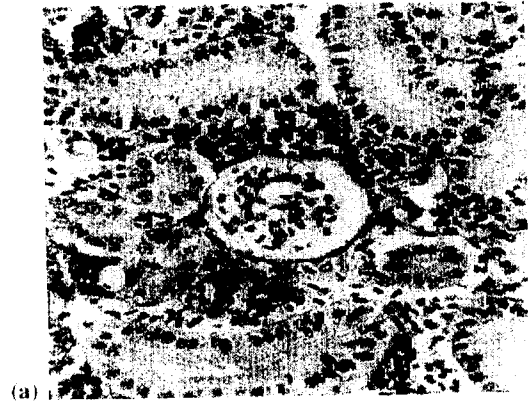


Fig. 3. Histological observations of the gills of *Cyprinus carpio* exposed to cadmium and mixture of cadmium and humic acid. (a) Control, (b) Cd 5 mg/L (atrophy of lamellae and mild necrosis), (c) Cd 5 mg/L+humic acid 500 mg/L (curling, swelling and hypertrophy of lamellae) ( $\times 200$ ).

Fig. 4. Histological observations of the kidney of *Cyprinus carpio* exposed to cadmium and mixture of cadmium and humic acid. (a) Control, (b) Cd 5 mg/L (necrosis), (c) Cd 5 mg/L+humic acid 500 mg/L (partial necrosis) ( $\times 400$ ).

**Table 1.** The Bioconcentration Factors (BCF) of the Control and the Test Fish after 14-Day Exposures to Cadmium and Mixtures of Cadmium and Humic Acid

Bioconcentration factors (BCF)			
Control	0.53 mg/L Cd	0.53 mg/L Cd + 0.53 mg/L HAb	0.53 mg/L Cd + 53 mg/L HA
0.20 ± 0.03(10) <sup>a</sup>	14.30 ± 2.79(10)	9.53 ± 1.78(8)	6.60 ± 0.80(9)

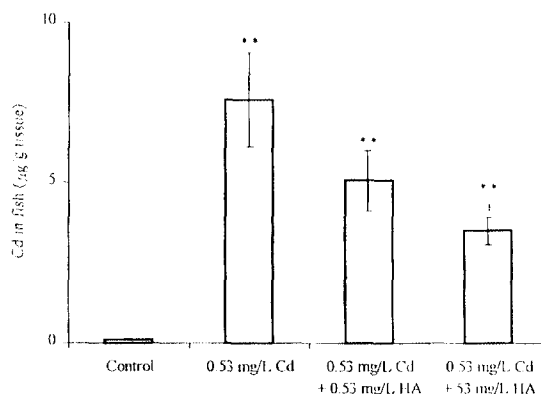
<sup>a</sup> Mean ± S.E. (N)<sup>b</sup> Humic acid

께 처리한 군에서는 대조군과 차이가 없었다.

*Fundulus heteroclitus*에 카드뮴을 노출시켰을 때 소화관 점막의 점액세포 발달 및 상피세포의 swelling 등이 보고<sup>18)</sup>되었으나 본 실험에서는 모든 시험군의 소화관에서 유의적 병변은 나타나지 않았다.

### 3. 카드뮴에 의한 개량송사리의 생물농축에 미치는 humic acid의 영향

모든 시험군에서의 개량송사리 체내 카드뮴 농축량은 모두 14일 후에 대조군에 비해서 유의적으로 증가하였다 ( $p < 0.01$ ) (Fig. 5). 0.53 mg/L의 카드뮴과 0.53 mg/L의 humic acid를 처리한 군은 생체조직 g당 대조군 7.577 µg에 비해 5.052 µg으로 약 33.3%의 농축감소를 보였고, 0.53 mg/L의 카드뮴과 53 mg/L의 humic acid를 처리한 군에서는 3.501 µg으로 대조군에 비해 약 53.8%의 유의적 감소를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ). BCF값을 계산한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 카드뮴을 단독 처리한 경우에 비해 0.53 mg/L의 humic acid를 동시에 처리한 시험군에서는 평균 BCF 값이 14.30에서 9.53으로, 53 mg/L의 humic acid를 처리한 군에서는 14.30에서 6.60으로 감소하였다. 따라서 humic acid의 첨가는 농도 의존적으로 카드뮴의 생물이용도를 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 humic acid의 중금속흡수감소 효과는 어류 외에도 *Daphnia magna*와 duckweed 등에서도 보고<sup>18), 19)</sup>되었다. 그러나 이러한 흡수억제효과에 대한 정확한 기작 및 독성학적인 해석에 대한 연구는 미흡한 실정으로 이에 대한 많은 연구가 수행되어야 할 것이다. 이러한 연구 결과에서 보면 humic acid가 카드뮴의 개량송사리에 대한 생물농축에 직접 관여하고, humic acid의 농도와 생물농축은 반비례 관계임을 알 수 있다. 이러한 요인은 동시처리한 카드뮴과



**Fig. 5.** Effect of 14-day exposures to mixtures of cadmium and humic acid on tissue cadmium levels in *Oryzias latipes*. Standard error bars are shown. HA: humic acid. \*\*Significantly different from the control group at  $p < 0.01$ . \*Significantly different from 0.53 mg/L Cd treated group at  $p < 0.05$ .

humic acid가 물속에서 결합하여 용해도가 낮은 결합체를 형성하므로 물 속에서 이온상태의 카드뮴 농도가 감소되는데 기인하는 것으로 사료된다. 본 실험에 사용된 시험수의 pH는 평균  $7 \pm 0.5$ 를 유지하였으며, 경도는 평균  $\text{CaCO}_3$  환산값으로  $60 \pm 5$  mg/L사이를 유지하였다.

## 결론

카드뮴 어독성에 미치는 humic acid의 영향을 알아보기 위하여 본 연구를 수행하였다. 먼저 개량송사리를 이용한 카드뮴 급성어독성시험에서 6.38 mg/L의 96h LC50값을 얻었으며, humic acid는 카드뮴에 의한 개량송사리의 치사율을 농도 의존적으로 감소시켰다. 카드뮴 처리에 의해 잉어의 꼬리

지느러미, 아가미, 신장 및 간에서 병변이 나타났으나 humic acid를 첨가함에 따라 특히 간과 신장에서 병변이 감소함을 관찰할 수 있었다. 또한 개량 송사리를 이용한 생물농축시험에서 humic acid 처리에 따른 카드뮴의 생물농축 감소를 확인할 수 있는데 이는 humic acid와 카드뮴의 결합에 따른 흡수감소에 의한 것으로 판단된다. 본 연구는 실제 환경에서의 카드뮴에 대한 환경독성 평가 및 독성을 미치는 농도설정 등에 유효한 정보를 줄 수 있을 것으로 기대된다.

### 참 고 문 헌

1. WHO (World Health Organization), Cadmium-environmental aspects (Environmental Health Criteria 135) (1992).
2. Wren, C.D., Harris, S., and Harttrup, N., Ecotoxicology of mercury and cadmium. In: *Handbook of ecotoxicology*, eds. by Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A., Jr., and Cairns, J., Jr., CRC Press, Boca Raton, pp.392-423 (1995).
3. Sorensen, E.M.B., *Metal poisoning in fish*, CRC Press, Florida (1991)
4. Kraal M.H., Kraak M.H., de Groot C.J., and Davids C., Uptake and tissue distribution of dietary and aqueous cadmium by carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **31**(2), 179-183 (1995)
5. Stevenson, F.J., *Humus chemistry*, 2nd ed., J. Wiley and Sons, New York (1994)
6. Thurman, E.M., Humic substances in groundwater. In: *Humic substances in soil, sediment, and water*, eds. by Aiken, G.R., McKnight, D.M., Wershaw, R.L., and MacCarthy, P., J. Wiley and Sons, New York, pp.87-103 (1985).
7. Manahan S.E., *Toxicological chemistry*, 2nd ed., Lewis Publishers, Michigan (1992).
8. Aualiitia, T.U., and Pickering, W.F., Anodic stripping voltammetric study of the lability of Cd, Pb, Cu ions sorbed on humic acid particles. *Wat. Res.* **20**(11), 1397-1406 (1986).
9. OECD, *OECD guidelines for testing of chemicals* (1993)
10. Barak, N.A.E., and Mason, C.F., Mercury, cadmium and lead concentrations in five species of freshwater fish from Eastern England. *Sci. Total Environ.* **92**, 257-263 (1990)
11. Shanmukhappa H., and Neelakantan K., Influence of humic acid on the toxicity of copper, cadmium and lead to the unicellular alga, *Synchosystis aquatilis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **44**, 840-843 (1990).
12. Witters, H.E., Van Puymbroeck, S., Vangenechten, J.H.D., and Vanderborght, O.L.J., Effect of humic substances on the toxicity of aluminum to adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Biol.* **37**(1), 43-53 (1990).
13. Chynoweth D.P., Black J.A., and Mancy K.H., Effects of organic pollutants on copper toxicity to fish. In: *International joint commission's workshop proceedings "Toxicity to biota of metal forms in natural water"*. Michigan university, Duluth, 145-157 (1976).
14. Iger, Y., Lock, R.A., van der Meij, J.C., and Wendelaar Bonga, S.E., Effects of water-borne cadmium on the skin of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **26**(3), 342-350 (1994)
15. Gill, T.S., Pant, J.C., and Tewari, H., Branchial pathogenesis in a freshwater fish, *Puntius conchonus* Ham., chronically exposed to sublethal concentrations of cadmium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **15**(2), 153-161 (1988)
16. Gony, S., Short note on the effects of cadmium on the gill of the glass eel (*Anguilla anguilla*). *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* **75**(6), 835-836 (1990).
17. Gill, T.S., Pant, J.C., and Tewari, H., Cadmium nephropathy in a freshwater fish, *Puntius conchonus* Hamilton. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **18**(2), 165-172 (1989).
18. Stackhouse R.A., and Benson W.H., Interaction of humic acid with selected trace metals: influence on bioaccumulation in daphnids. *Environ. Toxicol. Chem.* **8**, 639-644 (1989).
19. Mo S.C., Choi D.S., and Robinson J.W., Uptake of mercury from aqueous solution by duckweed: the effects of pH, cooper and humic acid. *J. Environ. Sci. Health*, **A24**(2), 135-146 (1989).