한국전자현미경학회지 제 26 권 제 2 호 1996
Korean J. Electron Microscopy 26(2), 123~136(1996)

Aflatoxin B_1이 계배 간조직의 미세구조에 미치는 영향

조 자 향 · 전 향 미* · 서 숙 재*
경상대학교병원 조직병리과 전자현미경실, *자연과학대학 생물학과

The Effect of the Aflatoxin B_1 on Liver Tissue of Chick-Embryo

Cho, Ja Hyang, Cheon, Hyang Mi* and Seo, Sook Jae*
Dept. of Pathology, Hospital of Gyeongsang National University.
Dept. of Biology, Gyeongsang National University.
(Received January 11, 1996)

ABSTRACT

To investigate the effect of aflatoxin B_1 on survival rate and ultrastructure of liver during chick embryogenesis electron microscopic methods were used. After injection of aflatoxin B_1 into the yolk, ultrastructural changes in the liver of chicken embryo were observed. The results were as followed.

1. 12-day old chicken embryos were treated with single injection of aflatoxin B_1 with the dose of 0.0005 μg, 0.005 μg, 0.05 μg, 0.5 μg, 2.5 μg, 5.0 μg each. Chicken embryos treated with the dose of 0.5 μg of aflatoxin B_1 had survival rate of 22%. The embryos treated with 2.5 μg of aflatoxin B_1 hardly survived.
2. Chicken embryos treated with 0.05 μg of afatoxin B_1 had hatched in 30%, but once hatched, they all survived.
3. After administration of 0.05 μg of aflatoxin B_1 into the 12-day old chicken embryo, the electron microscopic studies were examined during development stages.

The nuclei of hapatocytes became irregularly shaped and the structures of endoplasmic reticulum were changed to spherical types at 20-day old chicken embryo. Also, mitochondria became to be dilated and severe fibrosis was induced in the cytoplasm. However, the hepatocytes became almost normal in 30-day old young chicken.

Key words : Aflatoxin B_1, Survival rate, Ultrastructure, Liver, Chick, Embryogenesis

서 론

곰팡이독소(Mycotoxin)는 *Aspergillus*, *Penicillium* 및 *Fusarium*속 등의 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로서 사람과 가축에 이상 생리작용이나 질병을 유발하는 물질이다 (Patterson, 1977). 현재까지 알려진 곰팡이독소는 100여종이 있으며 이 중 가축의 간에 치명적인 손상

을 주는 것으로 알려진 aflatoxin은 이미 발암물질로 알려진 dimethylnitrosamine보다도 약 3,750배의 높은 발암유기력을 나타낸다고 보고 되었다 (Theron, 1965).

Aflatoxin은 화학적으로 구조가 유사한 17종의 이성체가 발견되어 있다 (Wyllie and Morrehouse, 1978). 이들은 박층크로마토그래피 (thin layer chromatography : TLC)에 의해서 발현되는 형광의 색에 따라서 B (blue)군, G (green)군으로 구분하며 이들을 섭취한 동물의 대사산물로서 소변, 우유 등에서 발견되는 것을 M (metabolized toxin)군으로 분류한다. B_1, G_1 및 M_1과 각각의 분자내에 수산화기가 치환된 B_2, G_2 및 M_2가 알려져 있다 (Horton *et al.*, 1972; Bennett and Lee, 1979). 그 중에서 독성이 가장 강하며, 동물의 간에 치명적인 손상을 주는 것으로 알려진 aflatoxin B1은 pH 3 이하의 산성과 pH 10 이상의 알카리성 그리고 산화제, 환원제 및 자외선과 감마선에서 불안정하다. 그러나 열에 대하여는 저항성이 커서 280~300°C에서 분해된다.

Wogan과 Newberne (1967)에 의하면 15 ppb의 aflatoxin B_1 혼합사료로 흰쥐 (Fisher rat)를 사육한 결과, 수컷에서 68주에, 암컷에서 80주에 간암이 100% 발생되어 투여 총량 100 μg 이하의 양으로 발암작용을 갖는 것으로 보고하였으며, 발암유발 이외에도 돌연변이 유발, 기형발생유발의 성질 등이 있다고 보고하였다.

Aflatoxin은 종에 따라 감수성에 차이가 있으나 사람, 쥐, 무지개송어, 기니아 피그, 원숭이 등에서 광범위하게 발암인자로 작용한다. 장시간 노출시에는 원발성 간암을 유발할 가능성이 있다.

Aflatoxin의 세포 생리적 작용에 있어서는 세포막의 불안정성 및 미토콘드리아 팽윤 (mitochondrial swelling)을 유발하며 간의 탄수화물, 지방, 단백질 대사활동을 억제한다는 보고가 있다 (Bababunmi and Bassir, 1972; Donaldson *et al.*, 1972; Hsieh, 1974; Busby and Wogan, 1985)

생화학적 수준에서 aflatoxin의 대사과정을 보면 간에서 일부가 epoxide를 형성하고, 이는 다시 간세포 DNA의 염기중 구아닌과 결합하여 결국 유전자 구조에 이상을 초래함으로써 발암효과를 내는 것으로 알려져 있다. 이러한 aflatoxin-DNA의 공유결합체를 aflatoxin-DNA adduct라고 하며 사람의 간암조직에 aflatoxin-DNA adduct가 존재함이 알려져 있다 (Garner and Wright, 1973; 김, 1984).

지금까지 다양한 발암물질과 화학물질들이 간장에 미치는 영향에 대해 여러가지 방법으로 조사된 바 있으나 aflatoxin이 배발생 (embryogenesis)에 미치는 영향은 거의 보고된 바 없다.

본 연구에서는 발암물질로 알려진 aflatoxin이 닭의 배 발생동안 생존율에 미치는 영향과 간조직내의 미세구조에 미치는 영향을 알아보고 부화후 병증 지속여부를 조사하기 위하여 발생 중인 계배의 난황에 aflatoxin B_1 (AFB1)을 주입하고 발생단계별로 생존율을 조사하였으며 투과전자현미경으로 미세구조를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

실험에 사용한 계배는 경남 진주시 망경남동 소재 진주 부화장에서 분양 받은 함협 816호의 종란을 이용하였다. 종란의 평균 무게는 55 g이었다.

재료처리는 종란을 Wyttenbach 등 (1981)의 방법에 따라 난각 (egg shell)을 70% 알콜로 소독한 후 21 gauge의 주사침으로 난각에 구멍을 뚫었다. Microsyringe를 이용하여 corn oil에 녹인 aflatoxin B_1 (AFB_1)을 10 μl씩 종란의 난황에 주입하고 침입공은 파라핀으로 봉입하였으며 37.5°C로 유지되는 항온기에 두고 부화시키면서 부화율 및 생존율을 관찰하였다. AFB_1의 농도별 영향을 관찰하기 위하여 12일째 계배에 0.0005, 0.005, 0.05, 0.5, 2.5, 5.0 μg의 AFB_1을 1회 주입한 후 3일 후인 15일째 계배에서 농도별로 생존율을 확인하였다. 대조구는 corn oil을 동량 주입하였다. 이 중 60%의 생존율을 나타낸 0.05 μg AFB_1을 다시 12일 째 배에 1회 주입하여 15일째 계배, 18일째 계배, 20일째 계배 부화 5일, 부화 15일, 부화 30일까지 간장을 적출하여 재료로 사용하였다.

2. 전자현미경 실험

대조군과 AFB_1 처리군의 간장을 1~2 mm^3의 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde로 전고정한 후 1% osmium tetroxide로 후고정을 하였다. 이때 사용하는 모든 시약은 0.1 M 인산완충용액으로 희석하였으며, 동일한 완충

용액으로 수세하였다. 시료를 알콜농도 상승순 (60~100%)으로 탈수하고 propylene oxide로 조직을 치환시킨 다음 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 60°C oven에서 24시간 중합시킨 후 초박절편기 (ULTRA-CUT, Reichert-Jung)를 이용하여 초박절편 (70 nm)을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경 (Hitachi H-600)으로 75 KV에서 관찰하고 사진을 촬영하였다.

결 과

1. Aflatoxin이 계배의 생존에 미치는 영향

12일째 계배에 0.0005, 0.005, 0.05, 0.5, 2.5, 5.0 μg의 AFB_1을 1회 주입하고 3일 동안 발생시키면 대조군에서는 88%의 생존율을 보이는데 반해 0.0005 μg은 76%, 0.005 μg은 64%, 0.05 μg은 60%, 0.5 μg은 22.0%, 2.5 μg은 3.3%, 5 μg은 0%의 생존률을 나타내었다 (Table 1).

Table 1. The 3 day-survival rate of 12 day-old-embryos after injection of aflatoxin B_1.

Dose of injected aflatoxin B_1(μg)	Total number of embryos tested	Number of survivors	Percentage of survival
* control	50	44	88.0
0.0005	50	38	76.0
0.005	50	32	64.0
0.05	50	30	60.0
0.5	50	11	22.0
2.5	50	2	3.3
5.0	60	0	0

* control : injected with 10 μl of corn oil only

Table 2. The survival rate of 12 day-old-embryos after injection of aflatoxin B_1 (0.05 μg/embryo).

Developmental days post-injected with aflatoxin B_1(μg)	Total number of embryos tested	Number of survivors	Percentage of survival
15 days	50	35	70.0*
18 days	50	28	56.0
20 days	50	17	34.0
hatching	50	15	30.0
5 days after hatching	50	15	30.0
15 days after hatching	50	15	30.0
30 days after hatching	60	15	30.0

* Z test : not significant ($P>0.05$)

12일째 계배에 0.05 μg의 AFB_1을 1회 주입하고 시간경과별 부화율을 조사하면 15일째 계배는 70%, 18일째 계배는 56%, 20일째 계배는 34%, 그리고 부화율은 30%이었다. 일단 부화되면 계속적으로 모두 생존하였다 (Table 2).

2. 간조직의 전자현미경적 관찰

12일째 계배에 0.05 μg의 AFB_1을 주입한 후 발생 단계별로 간세포의 미세구조의 변화를 살펴보면 주로 핵과 핵막의 변형, 그리고 세포소기관인 미토콘드리아, 소포체 및 지방적 등의 증가양상이 관찰 되었다.

12일배 정상의 간에서는 정상적인 세포핵이나 세포내 소기관들이 관찰되었다. 간세포에는 미토콘드리아와 소포체 등이 풍부했으며 간세포삭 주위에는 내강이 비교적 넓은 동양모세혈관 (sinusoid capillaries)도 잘 관찰되었다. 또한 혈관주변에는 대식세포인 핵이 큰 쿠퍼세포 (Kupffer cell)도 관찰되었다 (Fig. 1a, b).

AFB_1 투여 후 3일째인 15일배에서는 12일배 보다 핵모양이 약간 불규칙하였고, 미토콘드리아는 대부분 팽윤되었다 (Fig. 2a, b).

18일배에서는 세포내기관의 다양한 미세구조의 변화를 보였으며 지방과립이 저장되었던 부분은 공포로 나타났다 (Fig. 3a, b). 미토콘드리아는 팽윤되어 관찰되고, 핵도 불규칙한 형태를 나타내었다. 18일배에서는 동양혈관 주위에 섬유증 (fibrosis)이 현저히 나타났다 (Fig. 3c).

20일 배에서는 핵모양이 불규칙하게 관찰되고 핵막도 현저히 두껍게 관찰되었다 (Fig. 4a). 소포체의 막은 균일한 평행선 구조를 상실하여 불규칙한 소낭성 구조를 나타내었고 미토콘드리아의 변형도 현저하였다 (Fig. 4b). 18일배에 비하여 간세포 주위에 섬유증 (fibrosis)이 격심하였다 (Fig. 4c).

부화 5일에는 지방적의 분포는 여전하나 핵의 변형은 어느정도 회복되었다 (Fig. 5a). 그러나 미토콘드리아내의 크리스테 파괴현상과 소포체의 구형화는 여전히 관찰되었다 (Fig. 5b).

부화 15일에는 지방과립이 부화 5일에 비하여 줄어들고 핵과 미토콘드리아는 정상적으로 회복단계에 있었다 (Fig. 6a, b). 한편 혈관주위에는 여전히 섬유증 (fibrosis)이 소량 관찰되었고 먹이의 섭취에 따라 부위별로 글

리코겐의 축적도 관찰되었다(Fig. 6c).

30일배에서는 특징적으로 글리코겐의 다량 축적을 관찰할 수 있으며, 핵과 기타 세포내 소기관들이 정상세포에 가까운 형태로 회복되었다(Fig. 7a, b).

위의 결과 부화 후 정상적인 간조직으로 회복되는 것은 부화 후의 정상적인 먹이 섭취와 면역기관의 발달때문인 것으로 생각된다.

고 찰

Aflatoxin은 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus*의 자연 대사산물로 B_1, B_2, G_1, G_2이외에, 미생물이나 동물에서 대사, 유도되는 M_1, M_2, P_1, Q_1 그리고 aflatoxicol 등이 존재한다.

Aflatoxin은 형광을 발하고 잘 산화되는 여러 다른 고리 화합물로 이루어진 화학적복합물이다. 대표적인 환경성 오염물질중 하나인 AFB_1은 방치해둔 곡류, 건과류, 또는 가축사료 등에서 흔히 발견되는 곰팡이 (*Aspergillus flavus*)로부터 생성되는 곰팡이 독소 (mycotoxin)이다. 이것은 주로 음식물을 통하여 동물이나 사람에게 유입되어 강력한 간 독성 물질이 되며 돌연변이 및 간암 유발원이 되기도 한다(Ong, 1975).

아프리카와 아시아의 일부 지역, 즉 원발성 간암의 빈도가 높은 지역에서 음식물 속의 aflatoxin 함량, 체액(소변과 혈청)에서 검출되는 aflatoxin의 양과 간암과의 관계에 대해서 많은 연구가 시행되었다 (Campbell, 1970; Alpert *et al.*, 1971). 원발성 간암이 많은 지역에서 aflatoxin의 오염도가 높게 나타났고, 그 지역 주민의 체액에서도 상당량의 aflatoxin이 검출되어 aflatoxin이 간암 유발에 중요한 인자라는 사실이 보고되었다(Shank *et al.*, 1972).

우리나라에서 보고된 간암 발생의 원인으로는 B형 간염, C형 간염, 알콜성 간경변, 혈색소증 (hemochromatosis), 당원저장증 (glycogen storage disease), 간디스토마증 (clonorchiasis), 흡연 및 aflatoxin이 있는데, 이들 중에서 B형 간염과 aflatoxin의 섭취가 가장 중요한 위험인자로 인정되고 있다(Ray, 1986).

AFB_1이 체내에 섭취되어 간조직의 어떠한 부위에 침착되는지에 관한 조직학적인 보고는 거의 없다. 최근 최 등(1991)은 흰쥐에 aflatoxin을 투여하면 간세포 미세구조에 영향을 주어 핵막의 변화와 함께 핵내 염색질의 이상 분포 현상이 나타나며 세포소기관의 변화로서 지방질의 출현과 조면소포체의 팽윤이 나타난다고 보고하였다.

최 (1991)는 AFB_1을 주입 후 2시간 후에 간문 삼분지와 중심 정맥을 중심으로 분포된 것을 관찰할 수 있었으며, 주로 간조직 세포의 세포질과 핵에 고루 분포하는 현상을 볼 수 있었다고 보고하였다. 또한 일부 대식세포와 간세포에서는 핵에만 짙게 염색된 현상도 관찰되어 이들 세포가 발암성 전환에 중요한 역할을 한다고 추정하였다.

본 실험의 경우 AFB_1 처리군에서 간조직을 전자현미경으로 관찰한 결과 핵이 불규칙하게 변형되고 세포질내에 극심한 섬유증 (fibrosis)을 유발한 것으로 보아, AFB_1이 DNA나 핵의 수준에서 영향을 미친다는 위의 보고들과도 일치하며 아마도 섬유증이 더욱 진행되면 괴사와 발암성 전환이 가능하리라고 생각된다.

Aflatoxin의 세포 생리학적 영향에 있어서, 세포막에 대한 작용은 lysosomal enzyme을 분비시켜 세포막의 불안정성을 초래한다고 보고한 Adekunle와 Elegbe (1974), 그리고 Pokrovsky 등(1972)의 보고가 있다. Bababunmi와 Bassir (1972)은 aflatoxin이 DNP-inducible ATPase activity를 비활성화시켜서 간의 미토콘드리아를 팽윤(swelling)시킨다고 하였고, Doherty와 Campbell (1973)은 이와같은 미토콘드리아 팽윤(swelling)은 시토크롬 b와 c 또는 c_1 사이의 전자 전이 반응의 저해에 기인하는 것으로 주장하였다. Theron (1965)은 aflatoxin은 리보솜과도 관계가 있는데, 소포체의 초기탈과립 (early degranulation)을 일으킨다고 하였고, Pong과 Wogan (1970)은 aflatoxin이 쥐의 간조직에서 조면소포체의 붕괴 (disorganization)와 함께 리보솜의 파괴를 유발하며 또한 RNA poly-merase 활성을 억제한다고 보고하였다.

본 실험의 경우 투여 후 시간이 경과 할 수록 미토콘드리아의 팽윤 (swelling) 및 파괴현상이 현저히 증가되었고 소포체의 구형현상도 관찰할 수 있어 위의 보고들과 일치하였다. 그러나 부화 후 정상먹이를 섭취함에 따라 세포내소기관의 변형은 점차 회복되었다.

Schoental (1970)은 화학적으로 다양한 물질인 pyrolizodine alkaloids, alkylnitrosamines, 7, 12-dime-

thybenz[a]anthracene, aflatoxin 등이 대사적으로 활성화되면 암 전구물질로 작용한다고 주장하였다.

Aflatoxin의 발암성은 aflatoxin 분자의 furan portion에 있는 이중 결합에 의하여 생기는데 이것이 cytochrome P_{450}의 작용을 받아서 2,3-epoxide가 되면 DNA의 guanine에 있는 N-7과 공유결합하여 발암성을 나타낸다고 알려져 있다.

여러가지 화합물이 발생중인 계배에 미치는 영향에 대한 조사로는 하와 한 (1983)이 계배의 난황에 발암물질의 일종인 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO)를 주입하여 간장의 단백질 합성에 미치는 영향을 전기영동적인 방법으로 분석하고, 한과 오 (1983)의 계배의 소화기 점막에 미치는 4QO의 영향, 김 (1984)의 십이지장의 단백질과 당단백질 합성에 미치는 6-aminonicotinamide 의 영향 및 이 (1988)의 중금속 $HgCl_2$가 계배의 중추신경계 단백질 합성에 미치는 영향 등이 보고되어 있다.

다양한 화학물질이나 발암물질의 섭취 혹은 주입시 초래되는 단백질합성의 저해현상은 전자현미경으로 관찰되는 조면소포체의 변형과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. Huffer (1984)은 2.5 ppm의 aflatoxin을 broiler 병아리에게 투여한 결과 체중 및 도체의 각 부위의 무게 등이 감소되었으며 간장의 지질이 증가한다고 보고하였다. Smith와 Hamilton (1970)은 5 ppm의 aflatoxin을 병아리에 투여한 결과 간장, 비장 및 췌장의 크기가 증가하고 간장의 지질이 증가된다고 발표하였다.

본 실험의 경우 aflatoxin 투여 후 시간이 경과 할 수록 지방과립이 증가하여 위의 보고들과 일치하였다. 그러나 부화후 지방과립이 감소하고 대신 글리코겐 축적이 증가 되는것은 오염되지 않은 정상적인 식품섭취때문이라고 생각된다.

또한, 부화 30일 조직에서 AFB_1의 피해 부위가 회복되는 현상은 병아리가 성장함에 따라 aflatoxin에 대한 항체형성 혹은 독성물질에 대한 해독작용으로 AFB1이 분해되거나 배설되기 때문으로 생각되나 이에 대한 규명은 연구가 계속 이루어져야 될 것이다.

결 론

Aflatoxin B_1이 계배의 생존율과 간세포의 변화에 미치는 영향을 조사하기 위해 투과전자현미경적 방법을 이용하였다. 계배의 난황에 aflatoxin B_1을 주입 후 배 발생동안 간세포에서의 미세구조 변화를 관찰한 결과 12일째 계배에 0.0005 μg, 0.005 μg, 0.05 μg, 2.5 μg, 5.0 μg의 AFB_1을 1회 주입하고 3일 동안 발생시키면 0.5 μg에서는 22%의 생존율을 나타내었고, 2.5 μg 이상에서는 거의 생존이 불가능하였다. 12일째 계배에 0.05 μg의 AFB_1을 주입시 30%의 부화율을 나타내며 일단 부화하면 계속적으로 생존하였다. 12일째 계배에 0.05 μg의 AFB_1을 1회 주입한 후 부화직전 (20일째 계배)까지 간세포의 미세구조를 보면 핵막이 불규칙하게 변형되고, 소포체는 구형 구조로 변형되었으며 미토콘드리아의 팽윤현상과 섬유증을 유발하였다. 그러나 부화 후 30일배는 거의 정상적 세포로 회복되었다.

참 고 문 헌

김순영. 1984. 계배 십이지장의 단백질과 당단백질 합성에 미치는 6-aminonicotinamide의 영향. 부산대학교 석사학위 논문.

이하영. 1988. 중금속 $HgCl_2$가 계배의 중추신경계 단백질합성에 미치는 영향. 부산대학교 석사학위논문.

최상경. 1991. Aflatoxin B_1에 대한 항체를 이용한 백서 Aflatoxin B_1-DNA adduct의 정량과 면역 조직화학적 분석. 서울대학교 박사학위 논문.

최치용, 최임순, 차영남. 1991. Aflatoxin B_1으로 유발되는 흰쥐 간세포 미세구.

조변화 : Butylated hydroxyanisole 전처리에 의한 보호 효과. 한국전자현미경학회지 21, 63-76.

하재청, 한복기. 1993. 계배 발생중의 단백질 및 당단백질 합성에 대한 4NQO의 영향. 한국동물학회지. 26, 283-294.

한춘재, 오진태. 1983. 계배 소화관 점막에 미치는 4NQO의 영향. 부산대학교. 자연과학논문집. 36, 211-220.

Adekunle AA, Elegbe RA, 1974. Lysosomal activity in aflatoxin B_1 treat avian embryos. Lancet 1, 991.

Alpert ME, Hutt MSR, Wogan GN, Davidson CS, 1971. Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda. Cancer 28, 253-260.

Bababunmi EA, Bassir O, 1972. Effects of aflatoxin B_1 on the swelling and adenosine triphos-

phatase activities of mitochondria isolated from different tissues of the rat. FEBS Lett. 26, 102-104.

Bennett JW, Lee LS, 1979. Mycotoxins-their biosynthesis in fungi : aflatoxins and other bisfuranoids. J. Food Prot. 42, 805-809.

Busby WF, Wogan GN, 1985. In chemical carcinogens, edited by C.E. searle, American Chemical Society, Washington, D.C., pp.945.

Campbell TC, 1970. Aflatoxin M_1 in human urine. Nature 27, 403-404.

Doherty WP, Campbell TC, 1973. Aflatoxin inhibition of rat-liver mitochondria. Chem. Biol. Interact. 7, 63-77.

Donaldson WE, Tung HT, Hamilton PB, 1972. Depression of fatty acid synthesis in chick liver by aflatoxin. Comp. Biochem. Physiol. 41, 843-847.

Garner RC, Wright CM, 1973. Induction of mutation in DNA repair deficient bacteria by a liver microsomal metabolite of aflatoxin. Br. J. Cancer 28, 544-551.

Horton BJ, Sabine JR, 1972. Metabolic controls in precancerous liver. II. Eur. J. Cancer 8, 437-443.

Hsieh DP, 1974. Toxic fungal polyketides in the food chain. Proc. Fourth Int. Congress Food Sci.and Technol. Vol. III. Washington D.C., pp.228-237.

Huffer WE, 1984. The individual and combined effects of aflatoxin and ochratoxin A on various processing parameters of broiler chickens. Poultry Sci. 63, 2153-2161.

Ong TM, 1975. Aflatoxin mutagenesis. Mutat. Res. 32, 35-53.

Patterson DSP, 1977. Aflatoxin and related compounds. In : Wyllie T.D. and L.G. Morehouse (eds). Mycotoxigenic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses an encyclopedic handbook. Marcel Dekker, New York. pp.131-233.

Pokrovsky AA, Kravchenco LV, Tutelyan VA, 1972. Effect of aflatoxin on rat liver lysosomes. Toxicol. 10, 25-30.

Pong RS, Wogan GN, 1970. Time course and dose-response characteristics on aflatoxin B_1. Effects on rat liver RNA polymerase and ultrastructure. Cancer Res. 30, 294-304.

Ray AC, 1986. Bovine abortion and death associated with consumption of aflatoxin-contaminated peanuts. J. Am. Vet. Med. Asoc. 188, 1187-1188.

Schoental R, 1970. Aflatoxins. In "Annual review of pharmacology and toxicology" ed. by G.O. Cho, Annual Reviews, Inc. pp.343-356.

Shank RC, Wogan GN, Gibson SB, Nondausta A, 1972. Dietary aflatoxins and food stuffs of Thiland and Hongkong. Food and Cosmetics Toxicology. 10, 61-69.

Shank RC, Wogan GN, Gibson JB, 1972. Dietary aflatoxins and human liver cancer, I. Toxigenic molds in foods and foodstuffs of tropical south-east asia. Food and Cosmetics Toxicology 10, 51-60.

Smith JW, Hamilton PB, 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. Poultry Sci. 49, 207-215.

Theron JJ, 1965. Acute liver injury in ducklings as a result of aflatoxin poisoning. Lab. Inverst. 14, 1586-1603.

Wogan GN, Newberne PM, 1967. Dose-response characteristics of aflatoxin B1 carcinogenesis in the rat. Cancer Res. 27, 2370-2376.

Wyllie TD, Morrehouse LG, 1978. Mycotoxic Fungi, Mycotoxicoses, vol. 1, Dekke, 136.

Wyttenbach CR, Thompson SC, Garrison JC, Kitos PA, 1981. Precision delivery of small volumes of liquids to very young avian embryos. Toxicology and Applied Pharmacology. 59, 49-52.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Electron micrograph of ultrastructural feature of the 12 day-old embryo liver. a : lower magnification Bars=4 μm N : nucleus, M (arrows) : mitochondria b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm ER (arrows) : endoplasmic reticulum.

Fig. 2. Electron micrograph of the liver in the intoxicated 15 day-old embryo. a: lower magnification Bars=4 μm b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm N : nucleus, M (arrows) : mitochondria begining to be transformed.

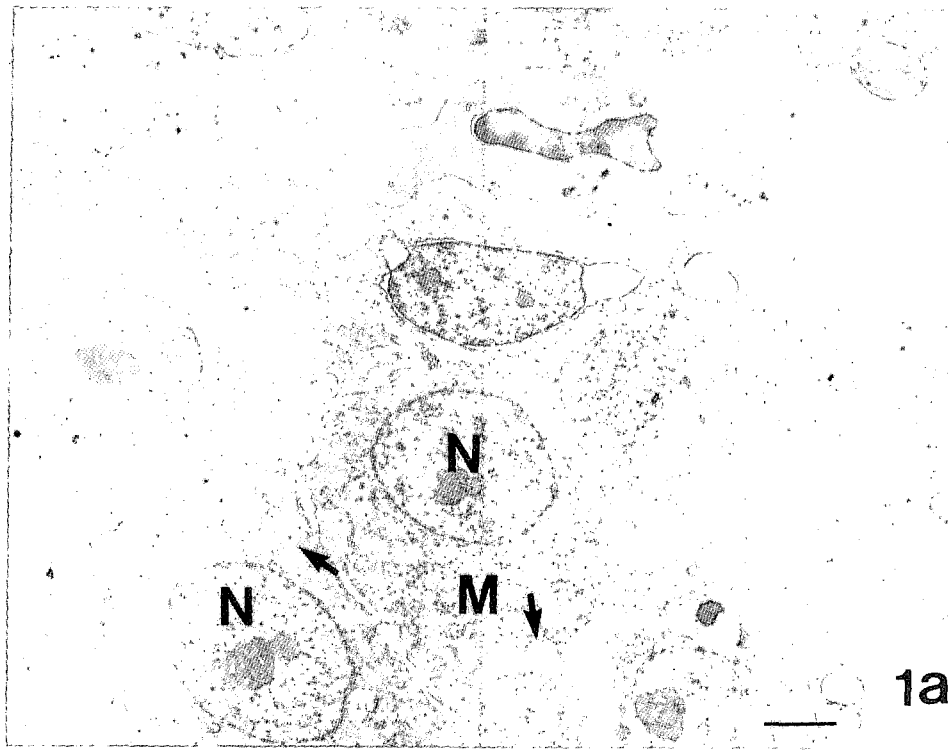
Fig. 3. Electron micrograph of the liver in the intoxicated 18 day-old embryo. a: lower magnification Bars=4 μm b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm c : magnified view of fibrosis Bars=1 μm N : nucleus, M (arrow) : mitochondria transformed, F : fibrosis showing collagen bundle (*), ER : endoplasmic reiculum, FD : fat droplet.

Fig. 4. Electron micrograph of the liver in the intoxicated 20 day-old embryo. a: lower magnification Bars=2.5 μm b : magnified view of endoplasmic reticulum Bars=0.4 μm c : magnified view of fibrosis Bars=1 μm N : nucleus, M : mitochondria, FD : fat droplet, ER (arrows) : endoplasmic reticulum.

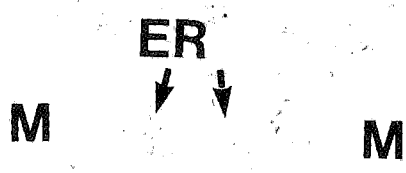
Fig. 5. Electron micrograph of the liver in the 5 day-old chicken. They were intoxicated with AFB_1 at 12 day-old embryo. a : lower magnification Bars=4 μm b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm N: nucleus, M : mitochondria, FD (arrows) : fat droplet.

Fig. 6. Electron micrograph of the liver in the 15 day-old chicken. They were intoxicated with AFB_1 at 12-day-old embryo. a : lower magnification Bars=4 μm b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm c: glycogen accumulation and fibrosis Bars=1 μm N : nucleus, M : mitochondria, FD : fat droplet, G : glycogen, F : fibrosis.

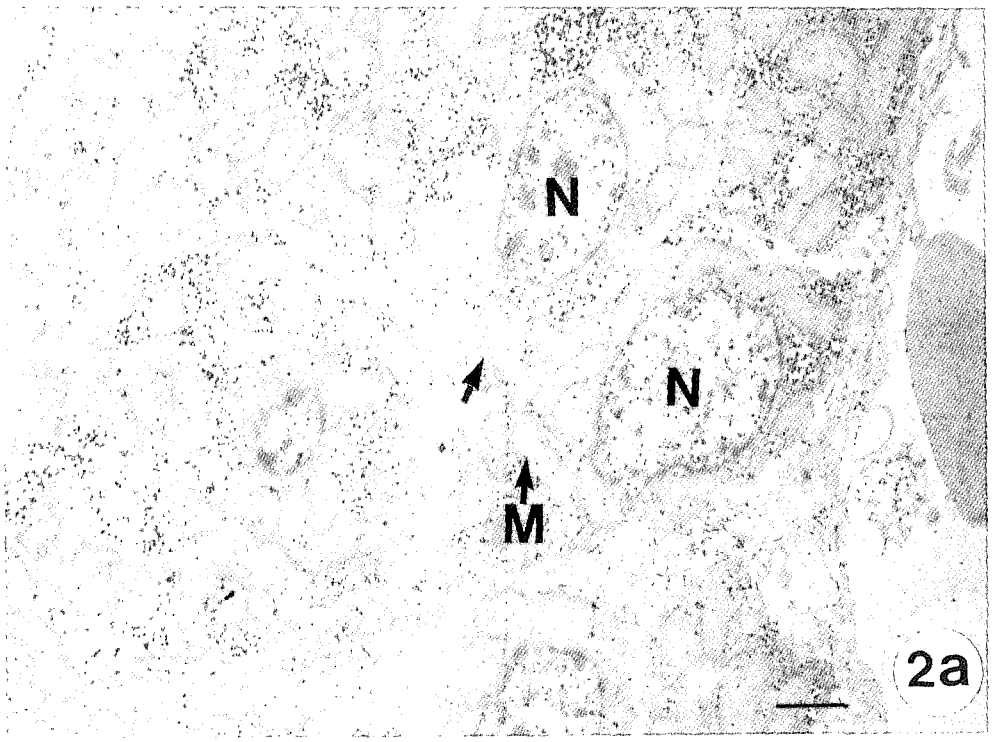
Fig. 7. Electron micrograph of the liver in the 30-day-old chicken. They were intoxicated with AFB_1 at 12-day-old embryo a : lower magnification Bars=4 μm b : magnified view of mitochondria Bars=0.4 μm N : nucleus. M : mitochondria.

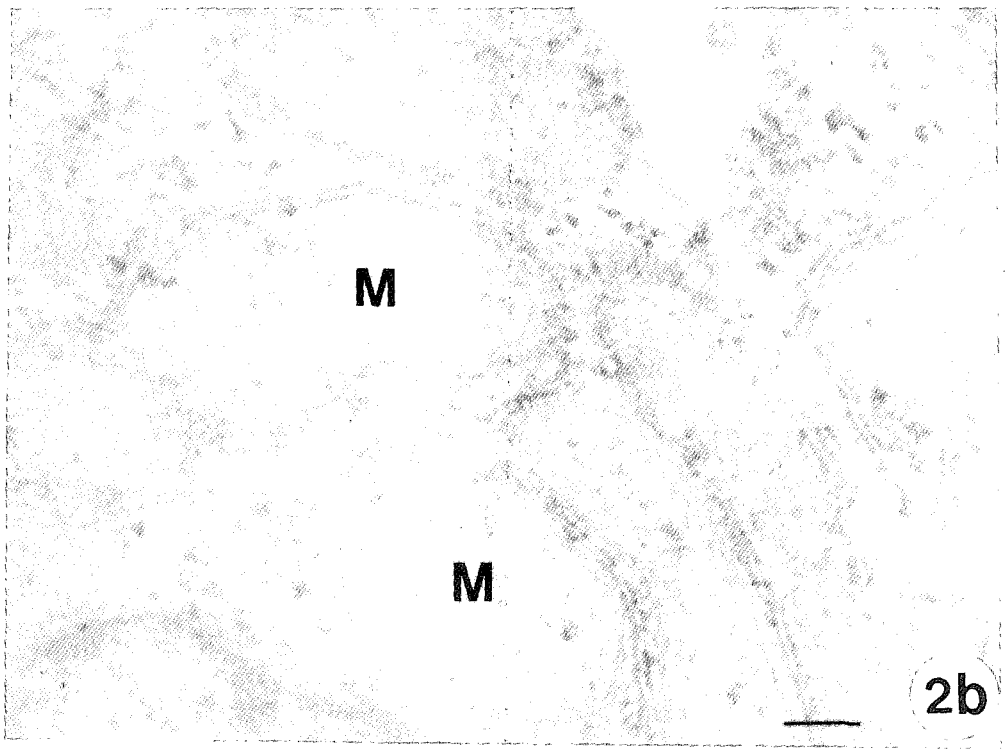


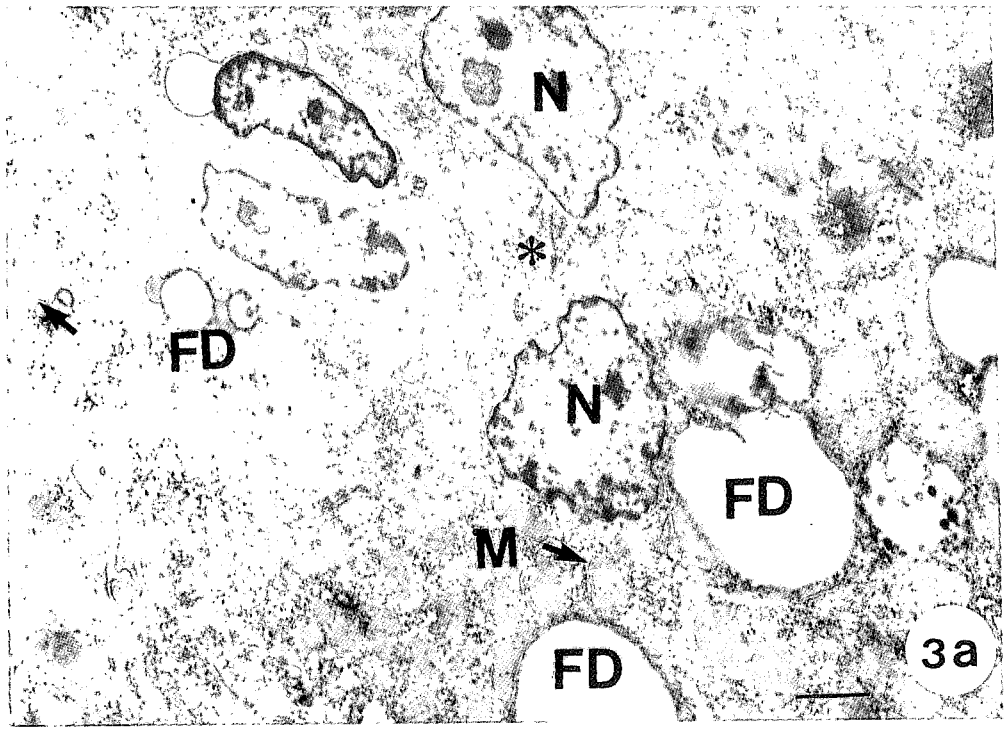
1a

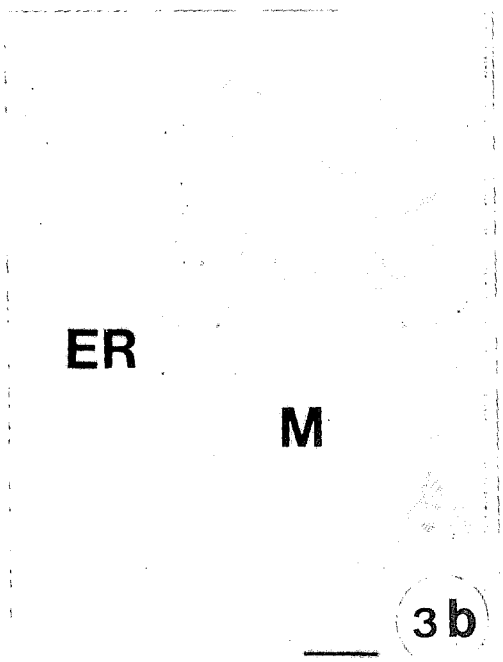


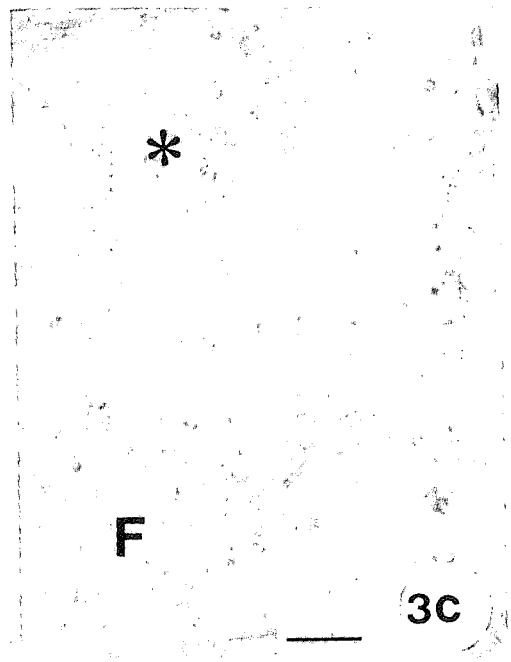
1b

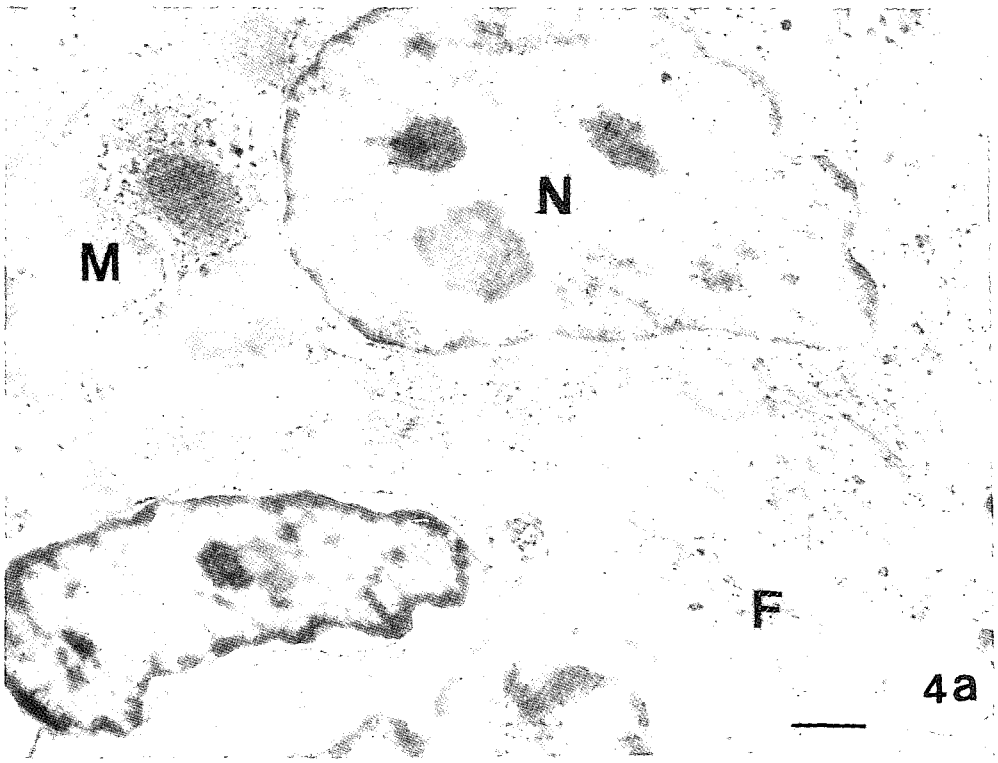

N
N
M
2a


M
M
2b

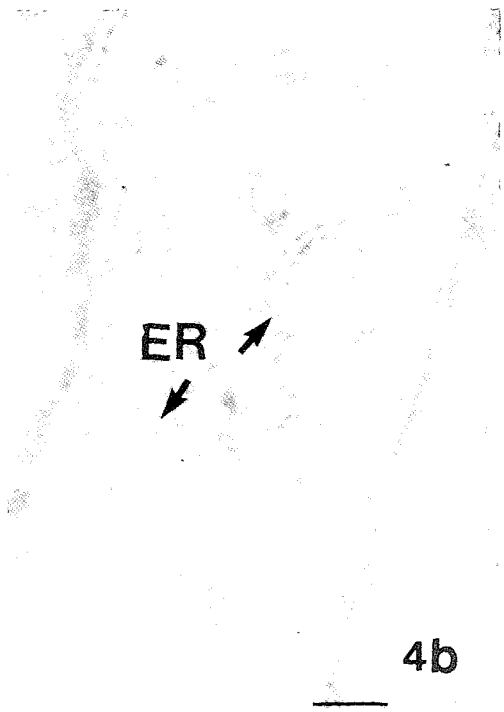

N
FD
N
FD
M
FD
3a


ER
M
3b

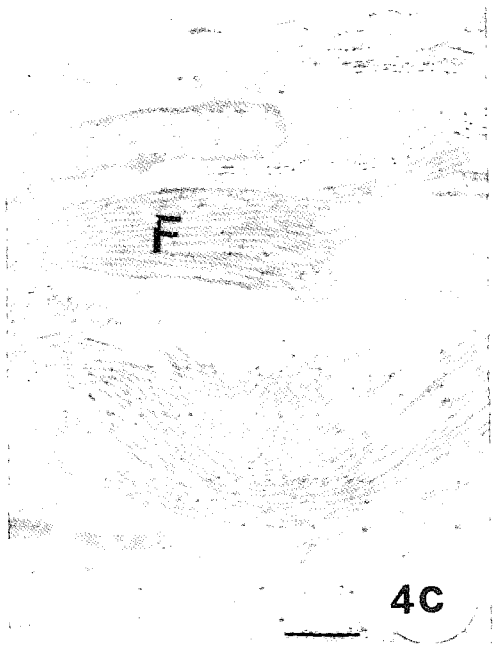

F
3c



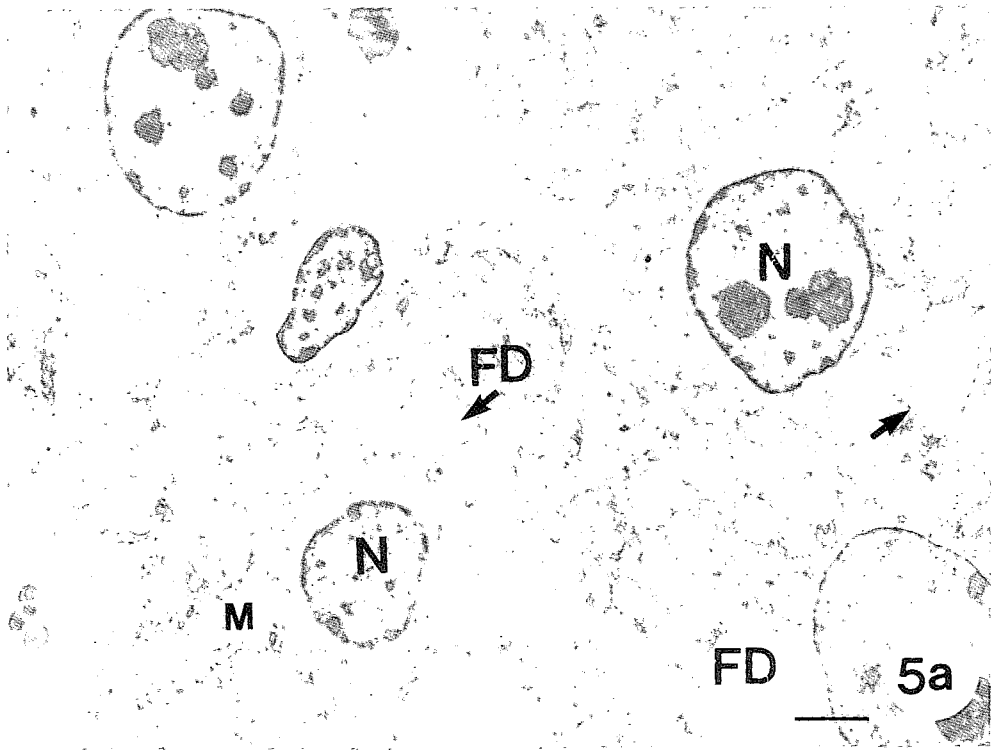
4a

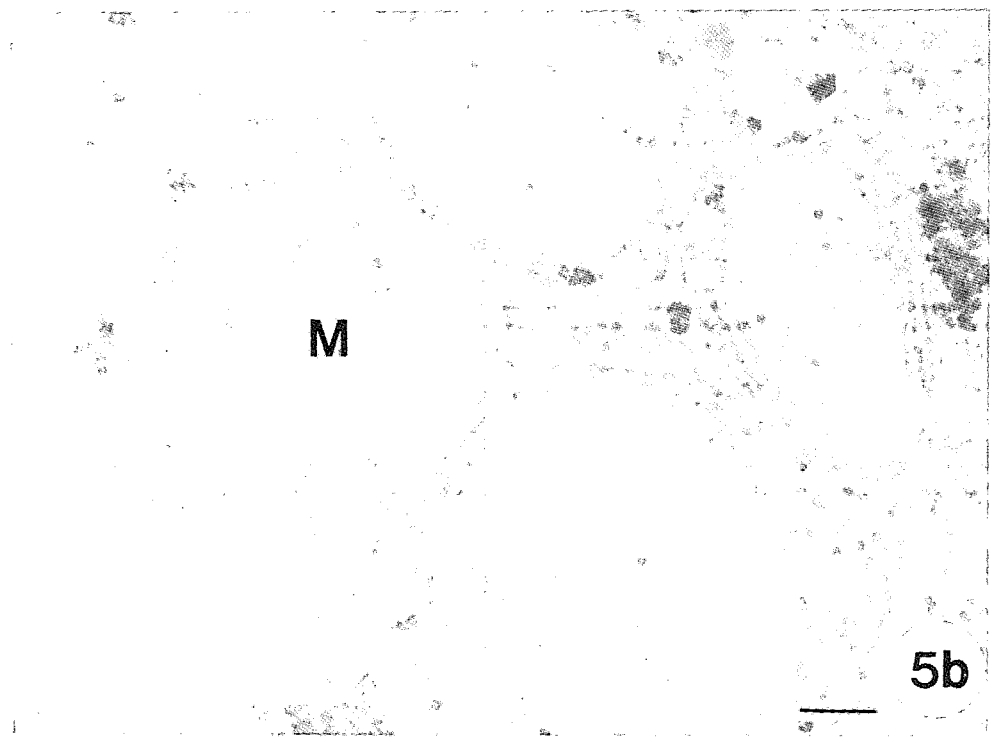


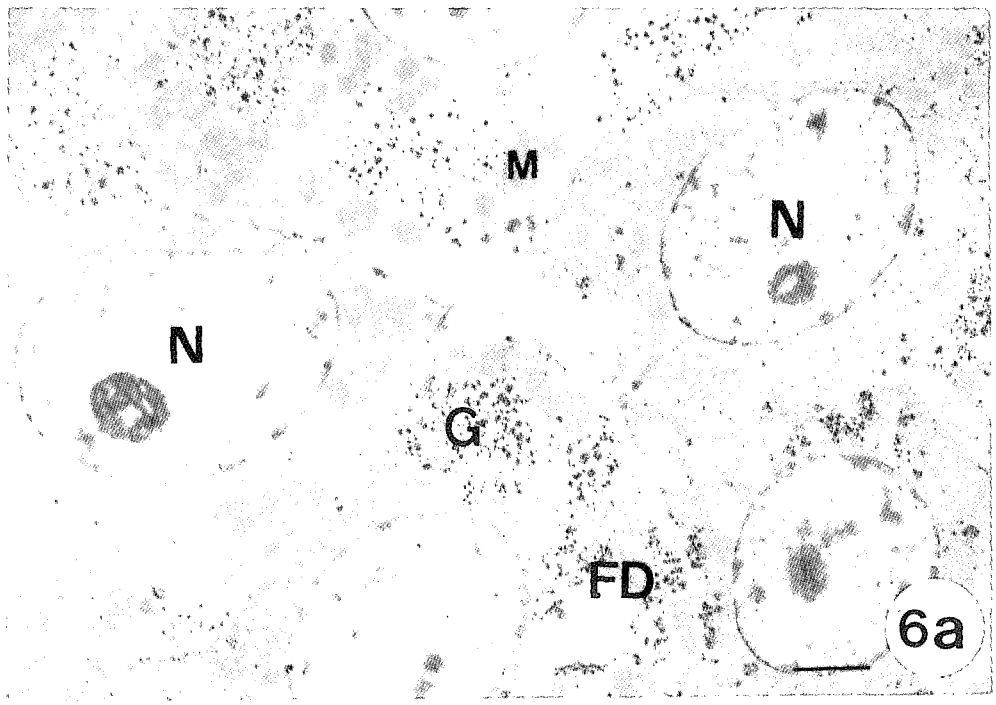
4b

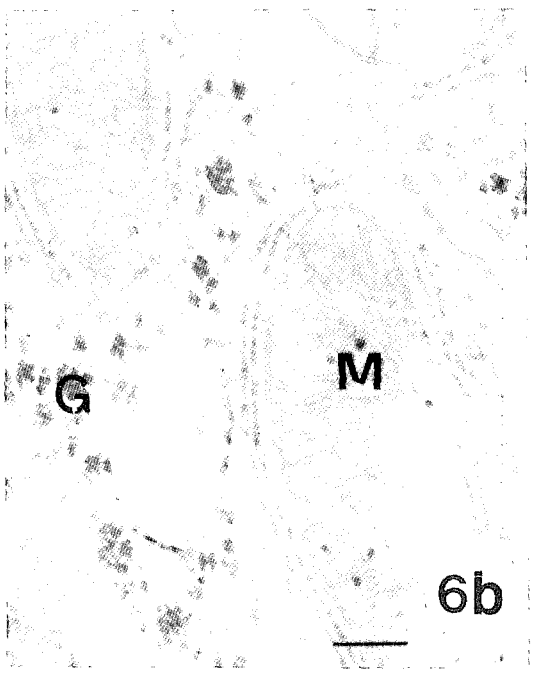


4c

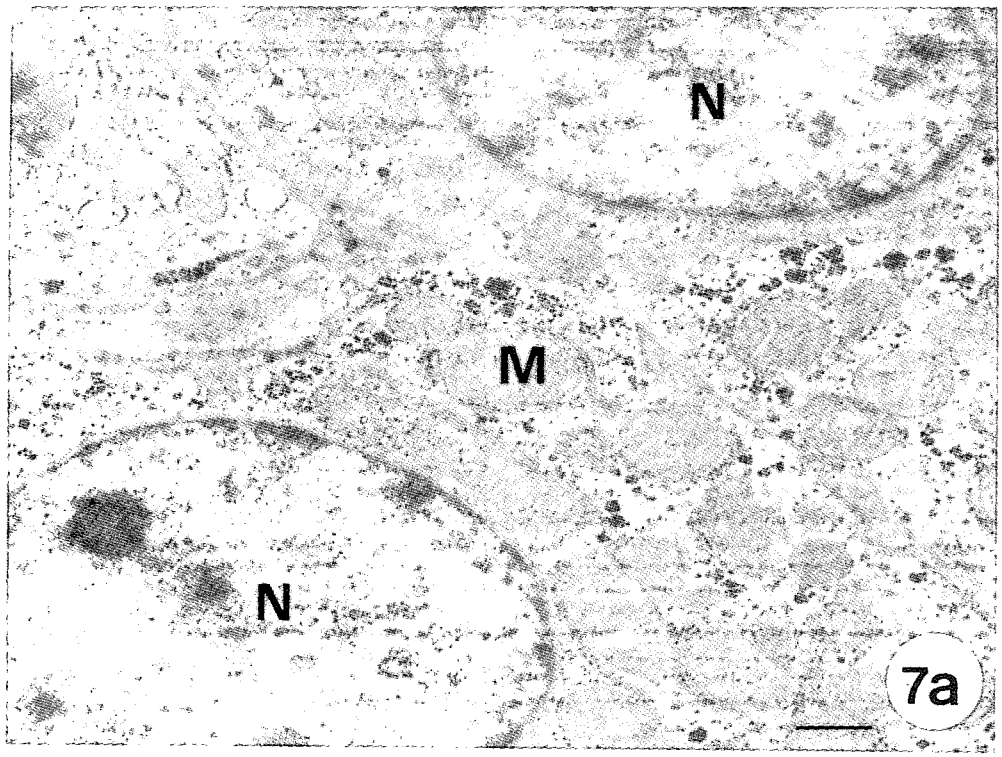

N
FD
N
M
FD
5a

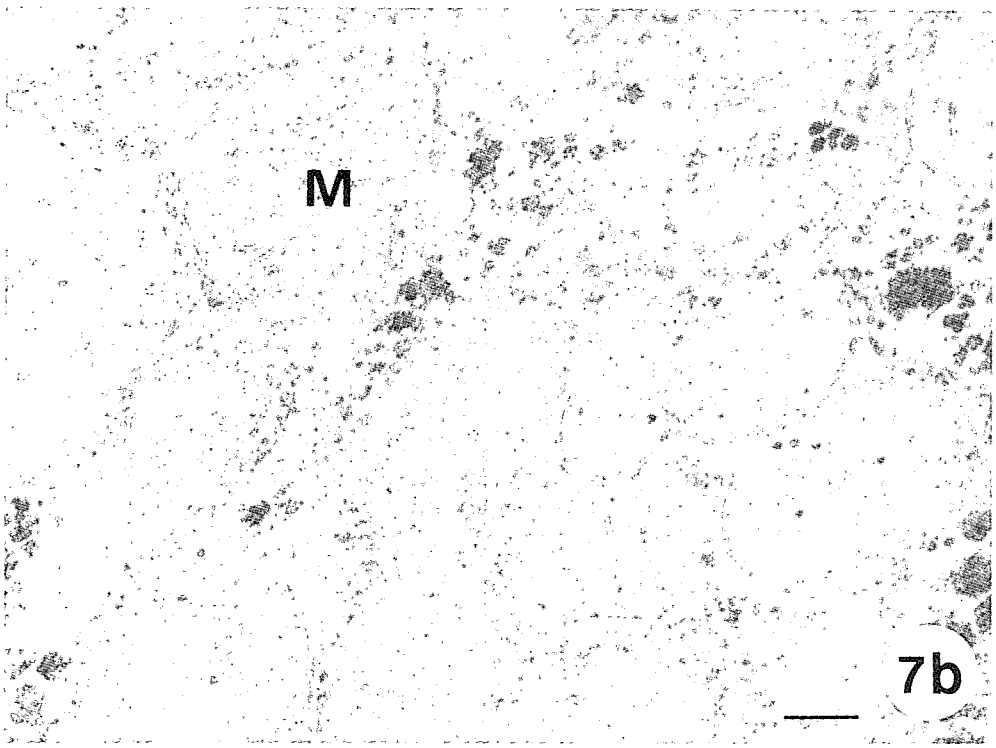

M
5b


M
N
N
G
FD
6a


G
M
6b

G
F
6c


N
M
N
7a


M
7b