

아연의 체내축적이 대복의 생존, 운동성, 성장 및 기관계 구조에 미치는 영향

주선미*, 이재우, 진영국, 유 준¹, 이정식

전남대학교 수산해양대학 수산생명의학과, ¹국립수산과학원

Effect of Zinc Bioaccumulation on Survival Rate, Activity, Growth and Organ Structure of the Equilateral Venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Sun Mi Ju*, Jae Woo Lee, Young Guk Jin, Jun Yu¹ and Jung Sick Lee

Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science,
Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

¹National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to find out survival rate, activity, growth and change of the organ structure of bivalves exposed to heavy metal. The results of the study confirmed that zinc (Zn) induces reduction of survival rate and activity, abnormality of organ structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. Experimental groups were composed of one control condition and three Zn exposure conditions (0.64 mg Zn l⁻¹, 1.07 mg Zn l⁻¹, 1.79 mg Zn l⁻¹). As the concentration of zinc increased the accumulation of lipofucin increased in the digestive gland. Survival rate was the lowest in the lowest Zn exposure group at 0.64 mg Zn l⁻¹. Growth was not significantly different between the control and exposure group. Activity, with the exception of the lowest Zn exposure group at 0.64 mg Zn l⁻¹, was similar between the control and exposure group. Histological analysis of organ system illustrated expansion of hemolymph sinus, loss of striated border of inner epidermis, increase in the number of mucous cell in the mantle. Also, histological degenerations as epithelial necrosis and hyperplasia of mucous cells are recognized in the gill and foot.

Key words : *Gomphina veneriformis*, zinc, bioaccumulation, histological degenerations

서 론

구리(Cu), 아연(Zn), 철(Fe), 망간(Mn) 등은 생체 필수 금속이지만 생물체내에 필요이상으로 축적되

면 오염원으로 작용하게 된다. 그 중 아연은 주로 뼈, 피부, 근육조직에 축적되고, 간, 신장, 정소조직에는 적게 축적되며 (Pentreath, 1973; Wicklund, 1990), 일부는 metallothionein과 결합한다 (Soh et al., 1993). 만성적인 아연노출은 guppy, *Lebistes reticulatus*, 큰가시고기, *Gasterosteus aculeatus*, 잉어, *Cyprinus carpio*에서 아가미 염세포의 증식, 새 판의 괴사, 혈구의 증가 등의 영향을 나타낸다

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-61-659-3172, Fax: +82-61-659-3172
E-mail: mi357579@hanmail.net

(Skidmore, 1970; Matthiessen and Brafield, 1973; Wong *et al.*, 1977). 그리고 이매패류인 *Tapes semi-decussatus*의 생존율과 운동성을 감소시키고 라이소좀 막을 파괴하며 중장선에서 지방갈색소의 침적을 증가시킨다(Byrne and O'Halloran, 2001). 이매패류는 그들의 행동과 여과섭이 때문에 주위 환경으로부터 유기금속과 중금속 오염물질의 축적자이며(Bryan *et al.*, 1985), 노출되는 금속의 농도가 증가함에 따라 체내 중금속을 고농도로 축적함으로써 연안 환경의 중금속 오염감시 목적으로 사용하기에 적합하다(Hemelraad *et al.*, 1986; Jenner, 1991). 본 실험에 사용된 대복, *Gomphina veneriformis*은 이매패강(Bivalvia) 백합목(Veneroidea) 백합과(Veneridae)에 속하는 식용 이매패류로서 우리나라 전 연안의 조간대 모래해안 1~5 m 내외에 분포하지만, 강원도 연안에 가장 많이 분포하며 다른 조개와 같이 식물성플랑크톤이나 모래 중의 유기물을 여과섭이 한다(Yoo, 1988). 중금속에 노출된 해양 저서생물들은 오랜 기간 노출되어 독성을 발현하기 때문에 급성독성의 결과를 위해성 평가에 적용하는 것은 효용성이 떨어진다. 따라서 본 연구에서는 대복을 이용하여 체내 아연농도와 만성독성효과간의 관계를 설정하기 위해 24주 동안 아연에 노출시킨 후 체내 아연농도를 분석하고, 대복의 생존, 운동성, 성장 및 외투강 기관계의 조직학적 변화양상을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 대복은 2004년 10월에 동해안 주문진 연안에서 채집한 각장 3.5~4.0 cm 크기의 성체로서 개체수는 약 1000개체였다.

2. 방법

1) 사육조건

채집한 시료를 실험실로 운반하여 지수형 순환 여과식 수조에 약 4주 동안 순응시켰다. 실험기간은 2004년 11월 1일부터 시작하여 24주였다. 본 실험에 사용한 수조는 30 L의 지수형 순환여과식 사육 유리수조로써 수조 내부는 대복의 서식환경과

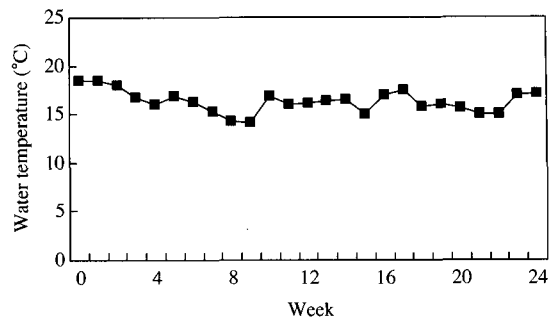


Fig. 1. Variation of water temperature during experimental period.

비슷한 저질환경을 유지하기 위해서 채집지역의 모래를 두께 10 cm 정도 깔아 주었다. 실험기간 동안 광주기와 온도는 자연조건으로 설정하였으며, 먹이는 *Isochrysis galbana*를 대복 개체당 $1 \sim 2 \times 10^6$ cell mL⁻¹을 3일에 1회씩 공급하였고, 사육수 교환은 먹이공급 시 1/2씩 교환하였다. 24주 실험기간 동안 수온의 변화를 알아보기 위해 매일 오전 9시와 오후 5시에 각 수조의 수온을 측정하여 4주별로 평균값을 나타냈다(Fig. 1).

2) 시험용액

본 연구에 사용된 시험용액은 ZnSO₄ · 7H₂O (Zinc sulfate heptahydrate, Sigma)를 증류수로 1,000 mg Zn l⁻¹의 표준용액을 만든 다음, 실험농도별로 희석하여 조제하였다.

3) 실험구

아연이 첨가되지 않은 여과해수를 대조구로 하였고, 2회의 급성독성실험을 통하여 LC₆ 값인 1.79 mg Zn l⁻¹을 가장 높은 농도구로 정하였으며, 그 보다 낮은 값인 1.07 mg Zn l⁻¹와 0.64 mg Zn l⁻¹를 실험구로 하였다.

4) 체내 아연분석

체내 아연분석은 해양환경공정시험방법 해양수산부(2005)에 준하여 ICP-MS (Perkin Elmer, ELAN 6000)로 중금속을 측정하였다. 중금속 분석시 정확도를 검증하기 위해 표준물질로 SRM 2976 (Mussel Tissue, Standard Reference Material)을 이용하였다. SRM 2976의 아연농도 범위는 137 ± 13 mg/kg (dry wt.)이다(Table 1).

Table 1. Comparison of metal concentration (mg/kg dry weight) in standard reference material and equilateral venus

Metal	Certified value	Equilateral venus (n=5)
Zn	137 ± 13	123 ± 13

5) 지방갈색소(Lipofuscin)의 분포

중장선에서 관찰되는 지방갈색소의 분포 정도를 조사하기 위하여 화상분석장치 (IMT, Visus, USA)를 사용하였다. 지방갈색소의 분포(지방갈색소 침적 면적/중장선 면적)는 농도별로 5개체씩 2회 반복 측정하여 백분율(%)로 나타내었다.

6) 생존 및 운동성

대북의 생존 및 잠입 여부는 실험기간 동안 각 농도구 별로 매일 오전 9시와 오후 1시 그리고 오후 5시에 관찰하였다. 사망 여부의 판단은 모래 밖으로 나와 패각을 벌리고 있는 개체들을 사망한 개체로 판단하였으며, 운동성은 수조의 저질속에 들어가 있는 개체는 운동성이 있는 개체로 판단하였다.

7) 성장

대북의 성장은 실험 개시기에 각 개체의 전중량을 측정하고 패각 위에 개체 고유번호를 표시하여 24주 동안 각각의 노출구에서 사육하면서 8주 간격으로 채집하여 실험 개시기와 동일한 개체의 전중량의 변화를 평균값으로 나타냈다.

8) 조직학적 방법

채집된 재료는 각장, 각고, 전중량, 육중량, 각중량을 측정하고, 해부하여 외투막, 아가미, 발 그리고 중장선이 포함된 내장낭 일부를 절취한 후 Bouin's solution에 고정하여 파라핀 절편법에 의해 두께 4~6 µm로 연속절편하여 조직표본을 만들었다. 조직표본은 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E)염색, alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5)반응, Masson's trichrome 염색, lipofuscin을 확인하기 위해 Long Ziehl-Neelsen 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 조직화학적 반응 후 점액세포의 염색 친화도 판정은 Pantone® Formula Guide (Pantone Inc., USA)를 기준으로 고유번호를 ()안에 표시하였다. 기관계의 조직학적 이상은 최소 5개체 이상을 조사하여 이 가운데

50% 이상의 병리조직학적 특성을 가진 개체들을 대상으로 기재하였다.

9) 유의성 검증

통계처리는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 ANOVA t-test를 한 후 다중비교를 최소 유의치 검정 (Least-significant difference test)으로 유의성 (p < 0.05)을 검정하였다.

결 과

1. 아연의 체내축적

대북의 체내 아연축적량은 아연의 농도가 높을 수록 체내축적량은 증가하지만 노출기간에 따라 증가하였다가 감소하였다.

실험 개시기의 대북 육질부에 축적된 아연의 농도는 83.96 mg/kg 이었다. 실험 개시 8주 후 대조구와 0.64 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 각각 58.8과 68.24 mg/kg로 감소하였고, 1.07 mg Zn l⁻¹와 1.79 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 각각 84.09와 105.29 mg/kg로 증가하였다. 실험 개시 16주 후 대조구와 1.07 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 각각 59.89와 69.45 mg/kg로 감소하였고, 1.79 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 93.0 mg/kg으로 증가하였다. 실험 개시 24주 후 대조구와 1.07 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 각각 70.13과 75.68 mg/kg으로 감소하였고, 1.79 mg Zn l⁻¹ 농도구는 160.30 mg/kg으로 증가하였다 (Fig. 2).

2. 지방갈색소(Lipofuscin)의 침적

아연에 노출된 대북의 중장선을 Long Ziehl-

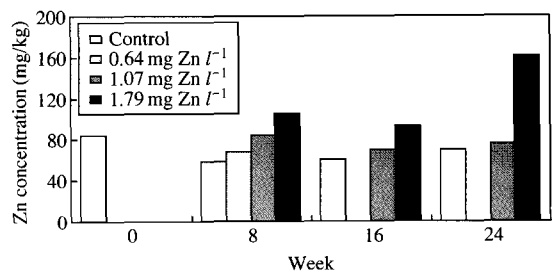


Fig. 2. Zn bioaccumulation of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc.

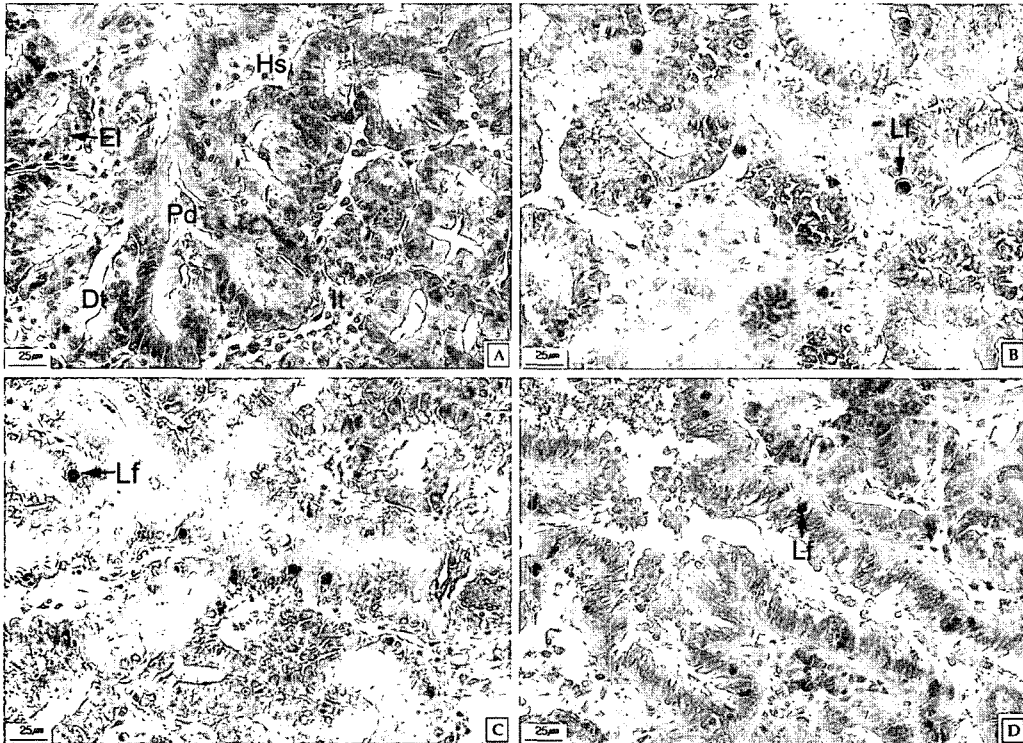


Fig. 3. Histological change of mid-gut gland of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc. A: Control group. Cross section showing the pretubular duct (Pd) lead into digestive tubules (Dt). Long Ziehl-Neelsen stain. B: 0.64 mg Zn l^{-1} for 8 W. Section showing the lipofuscin of reddish-purple and nucleus of blue. C: 1.07 mg Zn l^{-1} for 24 W. D: 1.79 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note lipofuscin (Lf) penetrating the epithelium in the lumen of mid-gut gland. Long Ziehl-Neelsen stain. It: interstitial tissue, El: epidermal layer, Hs: hemolymph sinus.

Neelsen 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰한 결과, 지방갈색소는 적자색, 핵은 청색을 나타냈으며 중장선의 상피층과 내강에서 관찰되었다 (Fig. 3).

아연 농도가 증가할수록 지방갈색소의 침적이 높아지는 경향을 보였다. 실험 개시 후 24주 경과된 대조구에서 지방갈색소의 분포율은 0%였으며 아연 노출구 가운데 가장 높은 1.79 mg Zn l^{-1} 농도구에서 지방갈색소의 분포율은 5.5%였다 (Fig. 4).

3. 생존, 운동성 및 성장

1) 생존율

실험기간 동안 생존율은 Fig. 5에 나타났다. 대조구와 아연 노출구인 1.07과 1.79 mg Zn l^{-1} 농도구에서의 생존율은 약 80%였다. 0.64 mg Zn l^{-1} 농도구에서는 2주째에 67.2%에서 6주째에 33.2%로 감

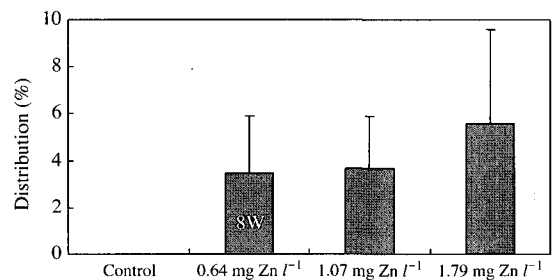


Fig. 4. Lipofuscin distribution on mid-gut gland of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc 24 for weeks. Vertical bar: SD.

소하였고, 15주째에 모든 개체가 사망하였다.

2) 운동성

실험 개시 후 24주 경과된 대조구와 1.07과 1.79

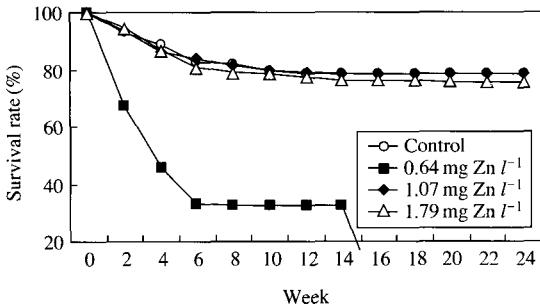


Fig. 5. Survival rate of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc.

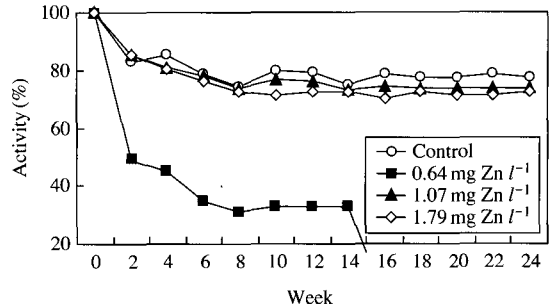


Fig. 6. Activity of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc.

mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 약 70%의 운동성을 보였고, 가장 낮은 0.64 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 3주째 44.8%, 13주째 32.8%로 감소하다가 15주째 모든 개체가 사망하여 운동성은 0%로 나타났다(Fig. 6).

3) 성장

전중량을 비교한 결과, 실험 종료 시기인 24주 후에 대조구와 농도구에서 유의적 변화는 관찰되지 않았다. 가장 낮은 농도인 0.64 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 실험 개시 후 8주째에 9.87g에서 9.79g으로 다소 감소하였고, 1.07 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 실험 개시기와 실험 종료 시기의 전중량이 각각 9.68과 9.67g으로 거의 동일하였다. 가장 높은 농도인 1.79 mg Zn l⁻¹ 농도구에서도 실험 개시 후 24주째에 9.87g으로 개시기의 전중량과 거의 동일하였다(Fig. 7).

4. 기관계의 구조에 미치는 영향

1) 외투막

대복의 외투막은 외부상피층과 내부상피층 사이에 결합조직층이 존재하고 있었다. 외투막의 외부상피층은 단층구조이며, 원주형 세포들로 구성되고 선조연은 뚜렷하지 않았다. 내부상피층은 단층으로 섬모의 발달이 뚜렷한 원주형 세포가 존재하며, 자유면에는 선조연이 발달하였다(Fig. 8, A). 대조구 개체들의 외투막을 AB-PAS (pH 2.5)에 반응시킨 결과, 외부상피층과 내부상피층에서는 alcian blue에 푸른색(285C)으로 반응한 점액세포가 관찰되었는데, 이들 점액세포의 분포 정도는 외부상피층 보다 내부상피층에서 더 높았다(Fig. 8, B). 결합조직층은

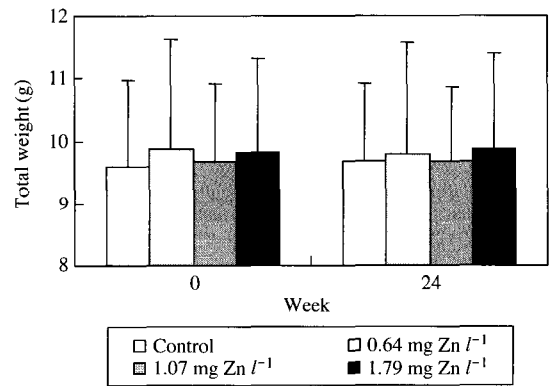


Fig. 7. Growth of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc. Vertical bar: SD.

느슨한 교원섬유와 치밀한 근섬유 다발로 이루어진 소성결합조직으로 다수의 혈림프동을 가지고 있었다.

아연에 노출된 대복의 외투막은 아연 노출구 가운데 가장 낮은 농도인 0.64 mg Zn l⁻¹ 농도구에서 부분적으로 내부상피층의 자유면에 발달한 선조연이 소실되었고, AB-PAS (pH 2.5)에 푸른색으로 반응한 점액세포가 증가하였다(Fig. 8, C). 1.07 mg Zn l⁻¹ 농도구의 경우, 혈림프동이 확장되고 혈구가 증가하였으며(Fig. 8, D), 일부 개체의 외투막 결합조직층에서는 근섬유 다발의 분절과 괴사가 관찰되었으며, 외부상피층의 박리가 관찰되었다(Fig. 8, E). 1.79 mg Zn l⁻¹ 농도구의 경우, 내부상피층의 상피세포가 괴사되고, 외부상피층에 존재하는 상피세포의 증식으로 단층이었던 상피층이 다층으로 비후되었다(Fig. 8, F).

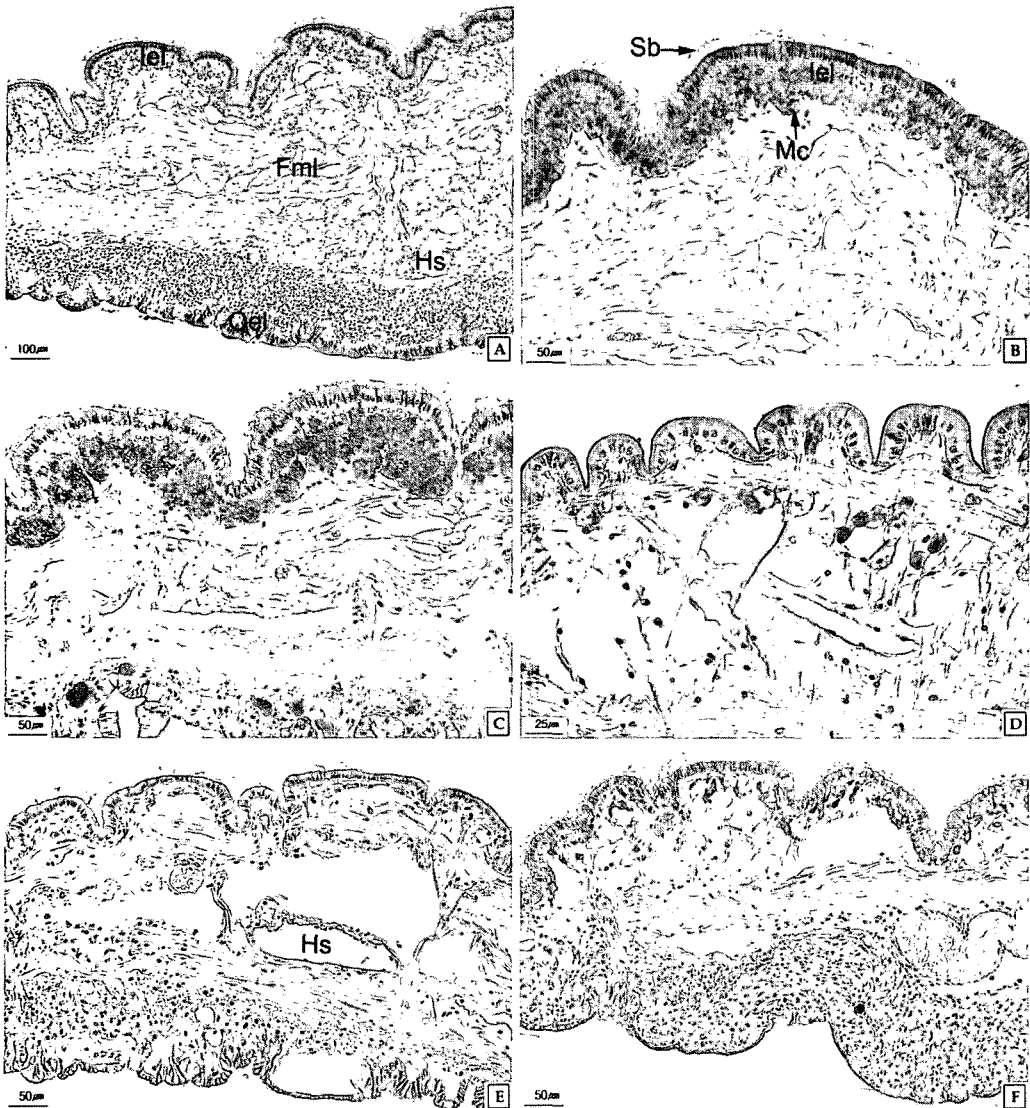


Fig. 8. Histological change of mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc. A and B: Control group. A: Cross section showing the fibromuscular layer (Fml) between outer (Oel) and inner epidermal layer (Iel). H-E stain. B: Cross section showing the mucous cell (Mc) of alcian blue positive in inner epidermal layer. AB-PAS (pH 2.5). C: 0.64 mg Zn l^{-1} for 8 W. Note partially disappearance of striated border (Sb) in inner epidermal layer and mucous cell of alcian blue positive in outer epidermal layer. AB-PAS (pH 2.5). D: 1.07 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note dilated hemolymph sinus (Hs) in fibromuscular layer. AB-PAS (pH 2.5). E: 1.07 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note disappearance of striated border (Sb) in inner epidermal layer and split of fibromuscular layer. H-E stain. F: 1.79 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note hyperplasia of epithelial cells in outer epidermal layer. AB-PAS.

2) 아가미

대복의 아가미는 다수의 새엽이 서로 연결되어 하나의 판구조를 하고 있는 판쇄형 이었다. 각각의 판은 여러 개의 새엽다발로 구성되어 있었으며, 새

엽다발은 근섬유에 의해 연결되어 있는 다수의 새엽으로 구성되어 있었다. 각각의 새엽다발 안에는 혈림프동이 존재하고 있었다. 새엽의 상피층은 단층으로 편평상피세포 또는 입방상피세포가 관찰되

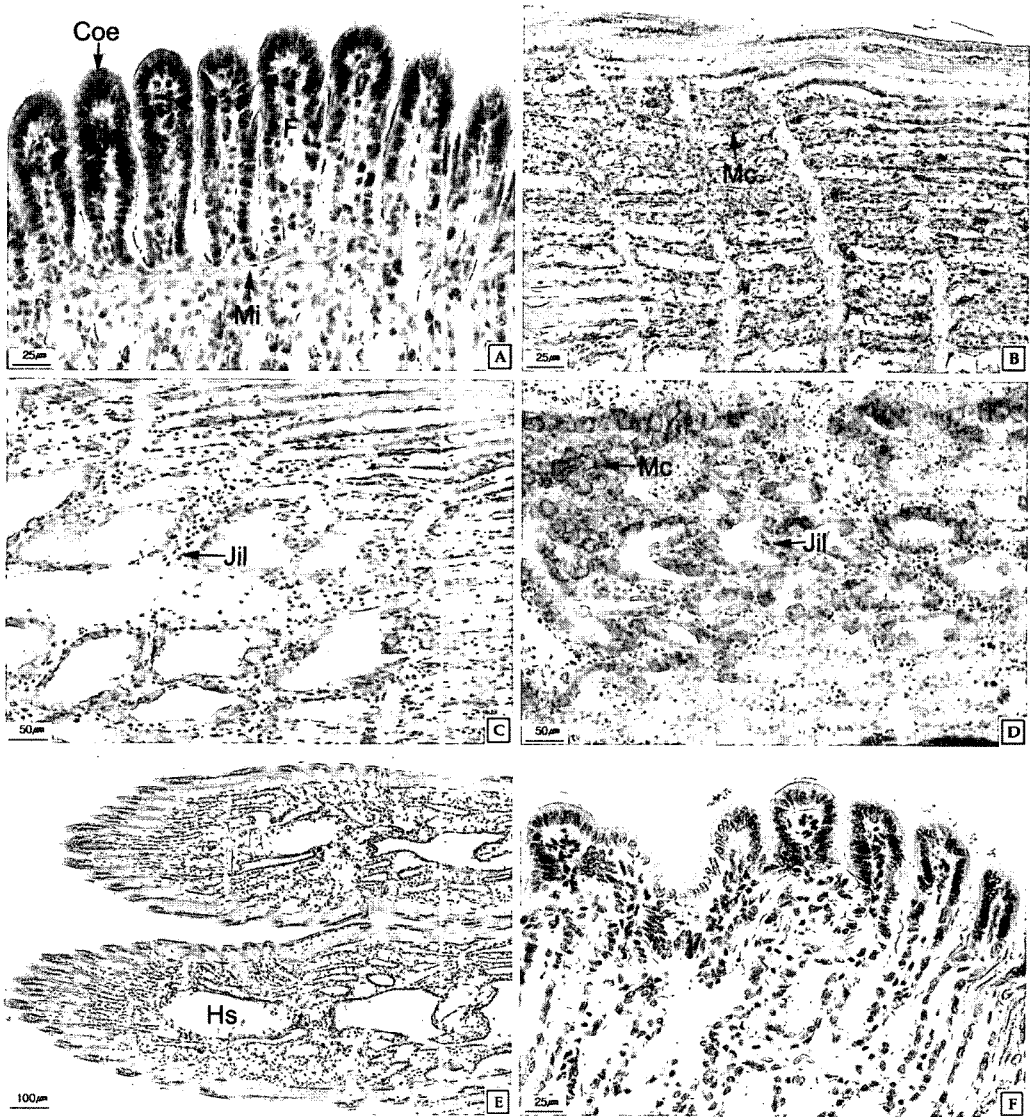


Fig. 9. Histological change of gill of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc. A and B: Control group. A: Cross section of demibranch showing the simple ciliated columnar epithelium (Coe) and interfilament muscles (Mi) in the filament (F). H-E stain. B: Longitudinal section showing the mucous cell (Mc) of alcian blue positive in the lamella. AB-PAS (pH 2.5). C: 0.64 mg Zn l⁻¹ for 8 W. Note dilated interlamella junction (Jil). AB-PAS (pH 2.5). D: 0.64 mg Zn l⁻¹ for 8 W. Note ruptured interlamella junction and hyperplasia of mucous cell in alcian blue positive. AB-PAS (pH 2.5). E: 1.07 mg Zn l⁻¹ for 24 W. Note dilated hemolymph sinus (Hs). AB-PAS. F: 1.79 mg Zn l⁻¹ for 24 W. Note deserted cilia in epithelial layer of the filament. H-E stain.

었으며, 정단면에는 섬모가 발달된 원주형 세포가 관찰되었다 (Fig. 9, A). 대조구의 아가미를 AB-PAS (pH 2.5)에 반응시킨 결과, alcian blue에 푸른색 (2925C)으로 반응한 점액세포가 관찰되었다 (Fig.

9, B).

아연 노출구 가운데 가장 낮은 0.64 mg Zn l⁻¹ 농도구에서 일부 개체의 아가미에서는 혈림프동과 혈림프동 사이에 존재하는 interlamella junction이

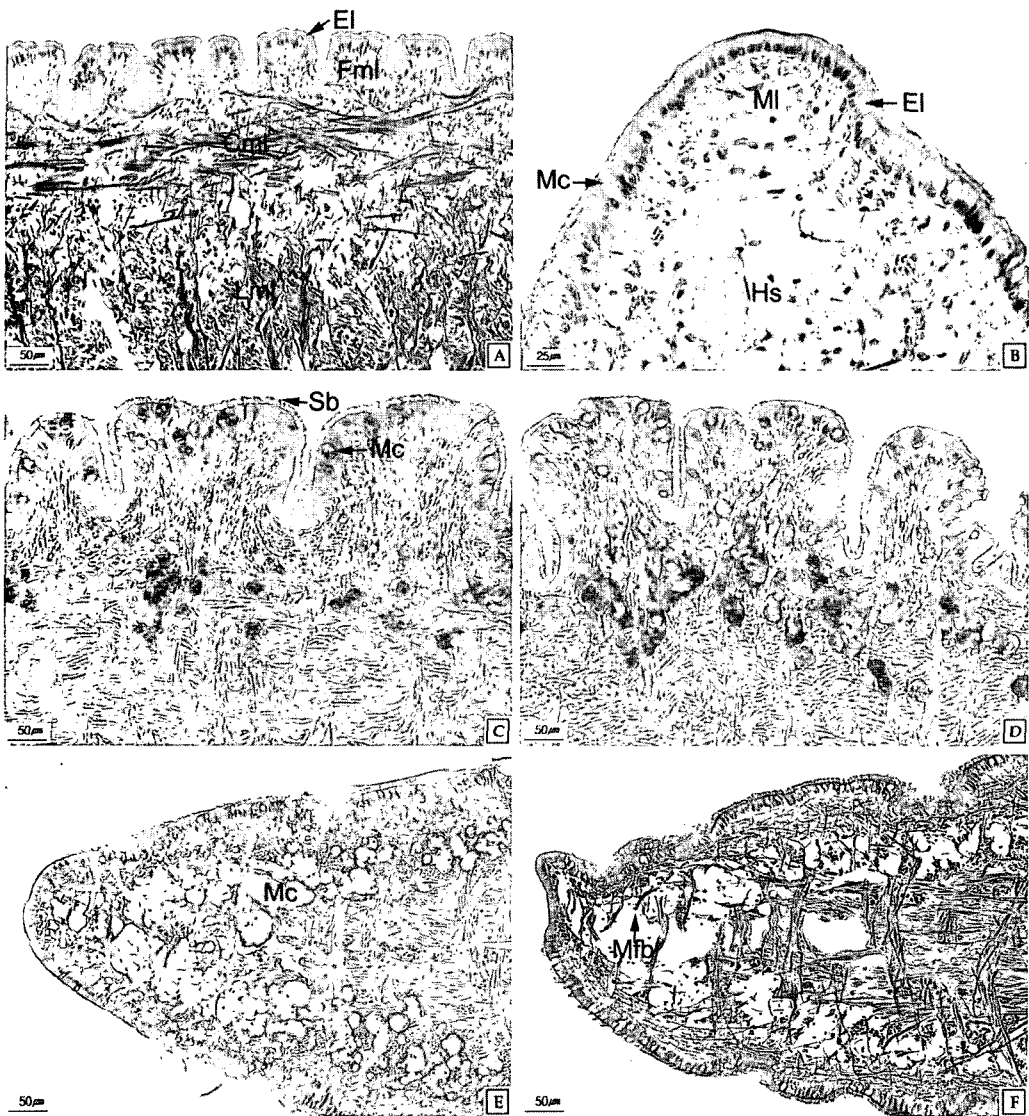


Fig. 10. Histological change of foot of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to zinc. A, B and C: Control group. A: Cross section showing the arrangement of epidermal layer, fibromuscular layer (Fml), circular muscle layer (Cml) and longitudinal muscle layer (Lml). Masson's trichrome stain. B: Section showing the columnar epithelium and vacuolar mucous cell (Mc) in epidermal layer (EI) and hemolymph sinus (Hs) in muscle layer (MI). H-E stain. C: Cross section showing the striated border (Sb) and mucous cell of alcian blue positive in epidermal layer. AB-PAS (pH 2.5). D: 0.64 mg Zn l^{-1} for 8 W. Note hyperplasia of mucous cell in epidermal layer. AB-PAS (pH 2.5). E: 1.07 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note disappearance of striated border (Sb) in epidermal layer and the hyperplasia of mucous cell in fibromuscular layer. AB-PAS (pH 2.5). F: 1.79 mg Zn l^{-1} for 24 W. Note partially deserted epidermal layer and fragmented muscular fiber bundle (Mfb) in fibromuscular layer. Masson's trichrome stain.

붕괴되고 (Fig. 9, C), AB-PAS (pH 2.5)에 반응 결과, alcian blue에 푸른색 (2716C)으로 반응한 점액세포들이 대조구에 비해 증가하였다 (Fig. 9, D). 1.07 mg

Zn l^{-1} 농도구의 경우, 혈림프동이 확장되고 일부 개체에서는 혈림프동 내에 혈구가 증가하였으며, 세엽 상피세포의 섬모들이 부분적으로 탈락되었다

(Fig. 9, E). 1.79 mg Zn l^{-1} 농도구의 경우, 일부 개체의 아가미에서는 새엽과 새엽 사이가 좁아지면서 서로 융합하고 새엽 기저부에 존재하는 근섬유 다발이 붕괴되었으며, 새엽상피층의 정단면에 존재하는 상피세포의 정단섬모와 측면섬모가 부분적으로 탈락되었다. 그리고 일부 개체에서는 새엽 상피층의 박리 상피세포의 괴사가 관찰되었다(Fig. 9, F).

3) 발

대복 발의 횡단면을 조직학적으로 관찰한 결과, 외부상피층, 결합조직층, 근육층으로 구성되어 있었다. 외부상피층은 다수의 주름을 가지는 단층으로 섬모의 발달이 뚜렷한 원주상피와 점액세포로 구성되어 있었다. 대조구의 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응 결과, alcian blue에 양성으로 반응하여 푸른색으로 관찰되었다. 상피층의 자유면에는 선조연의 발달이 뚜렷하였다. 결합조직층은 근섬유 다발로 구성되어진 소성결합조직이 관찰되었다. 근육층은 환상근층과 종주근층으로 구성되어 있었고, 종주근층에는 혈림프동이 존재하였다(Fig. 10, A, B and C).

아연 노출구 가운데 가장 낮은 0.64 mg Zn l^{-1} 농도구에서 대복의 발은 AB-PAS (pH 2.5) 반응 결과, 발의 상피층에 존재하는 점액세포가 alcian blue에 푸른색(284C)으로 반응하였으며, 대조구에 비해 점액세포의 수가 증가하였다(Fig. 10, D). 1.07 mg Zn l^{-1} 농도구의 경우, 상피층에 존재하는 선조연의 일부가 소실되었고 섬모들이 탈락되었으며 혈림프동이 확장되었다. 그리고 결합조직층에 존재하던 점액세포가 근육층까지 확장되었으며, AB-PAS (pH 2.5)에 반응 결과, alcian blue에 강한 활성을 나타내는 점액세포들이 관찰되었다(Fig. 10, E). 1.79 mg Zn l^{-1} 농도에 노출된 대복 가운데 일부 개체의 발에서는 상피층의 박리와 상피층에 존재하는 상피세포의 일부가 괴사되고, 근육층을 구성하고 있는 환상근층과 종주근층의 근섬유 다발이 분절화되었다(Fig. 10, F).

고 찰

중금속에 오염된 해양 저서생물들은 급성 농도 수준보다 낮은 농도에서 오랜 기간 동안 노출되어 독성을 발현하기 때문에 급성독성실험 기법과 결

과를 위해성 평가에 적용하는 것은 그 효용성이 떨어진다. 따라서 오염의 정도가 낮은 환경에서 장기간에 걸쳐 중금속에 노출된 생물의 독성효과를 평가하기 위해서는 만성독성효과를 통해서 이루어져야 할 것이다(Yoo *et al.*, 2002). 오염물질이 생물에 미치는 잠재적 영향을 예측하고 평가하는데 있어 가장 중요한 단계는 생물 체내 농도수준과 생물에 미치는 독성효과 사이의 관계를 규명하는 것이다.

이때패류인 *Ruditapes decussatus*를 아연, 구리 그리고 카드뮴에 48시간 동안 노출시켜 육질부에 축적된 이들 금속의 체내축적량을 나타낸 보고에서 오염원을 투여하지 않은 대조구의 경우, 아연은 $77 \pm 8 \mu\text{g/g}$ 이었고, 구리는 $5.7 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$ 이었고, 카드뮴은 $0.36 \pm 0.24 \mu\text{g/g}$ 이었다. 노출구인 1,000 $\mu\text{g Zn } l^{-1}$ 농도구의 경우, $85 \pm 10 \mu\text{g/g}$ 이었고, 150 $\mu\text{g Cu } l^{-1}$ 농도구의 경우, $11.6 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$ 이었으며, 500 $\mu\text{g Cd } l^{-1}$ 농도구의 경우, $13.09 \pm 3.49 \mu\text{g/g}$ 으로 체내 축적정도는 금속의 종류에 따라 다르게 나타났다(Romeo and Gnassia-Barelli, 1995). 이러한 결과를 본 연구 결과와 비교해 보았을 때, 실험실 대조구의 경우, 83.96 mg Zn l^{-1} 으로 유사하였고, 노출구 가운데 1.07 mg Zn l^{-1} 농도구에서 8주 동안 사육한 대복의 육질부에 축적된 84.09 mg Zn l^{-1} 과도 유사한 축적량을 나타냈다. 본 연구에서도 이와 유사하게 24주 동안 아연에 노출된 대복의 체내 아연축적량은 아연의 농도가 높을수록 체내축적량은 증가하지만 노출기간에 따라 증가하였다가 감소하는 것을 알 수 있었다. Suzuki *et al.* (1990)은 쥐의 간세포를 카드뮴과 아연에 노출시켜 이들의 유입과 유출에 대한 조절기작에 대해 보고하였는데, 필수 금속인 아연의 경우 유출이 조절되는 양상을 보였다고 보고하였다.

이때패류에서 중금속은 그들의 껍질보다는 외투막, 아가미, 신장, 발 그리고 중장선에 주로 축적된다(Morrison, 1993; Pekkarinen, 1996; Eble, 2001). 오염된 현장에서 채집된 가리비, *Chlamy varia*의 체내에 축적된 카드뮴, 구리, 그리고 아연의 농도를 조사한 결과, 이들 금속들은 중장선에 주로 축적되었다(Bustamante and Miramand, 2005). 다른 종류의 가리비에서도 중금속은 주로 중장선과 신장에 축적되었는데, 이는 두 기관이 대사작용이나 해독 작용과 연관성이 있기 때문이며(Mauri *et al.*, 1990;

Viarengo *et al.*, 1993), 특히 신장은 배설기능으로 인해 다른 기관으로부터 중금속이 전달되기 때문이다(Rainbow, 1993).

세포반응은 환경변화의 지표로서 신속하고 민감하게 제공될 수 있기 때문에 세포를 구성하는 과립들과 조직의 손상으로 생화학적, 세포적 수준에서 독성영향을 평가할 수 있다(Depledge and Hopkin, 1995). 이매패류의 조직은 라이소솜이 풍부하기 때문에 라이소솜의 병리학적 변화는 환경적 역효과의 지표로서 유용하다(Moore, 1990). 소화기관은 생물체와 환경사이의 주요 접촉면이며, 라이소솜은 세포내 소화의 주요 부위로서 중장선에서 풍부하게 발견된다(Owen, 1972). 라이소솜이 풍부한 부위에서 지방갈색소의 조성이 과도하게 일어났는데 이로 인해 지방갈색소는 지질단백질막에서 포식작용으로 인한 과산화반응의 산물임을 알 수 있다.

Byrne and O'Halloran (2001)은 세포수준에서 독성평가를 하기 위해 지방갈색소의 침적과 라이소솜의 막 보존을 관찰하였는데, 오염된 침전물에 노출된 *Tapes semidecussatus*의 중장선에서 지방갈색소가 검출되었고, 라이소솜 막에서 중성 레드 염료의 정체시간이 감소하였다.

본 연구에서도 아연에 노출된 대복의 중장선을 Long Ziehl-Neelsen 염색 결과, 중장선의 상피층과 내강에서 지방갈색소가 관찰되었는데 아연 농도가 증가할수록 지방갈색소의 침적이 증가하였다. 이러한 세포수준의 biomarker는 생물체가 오염물질에 노출되었을 때 발생하는 반치사 독성의 평가에서 중요하게 고려된다(Byrne and O'Halloran, 2001).

생물체는 오염물질과 접촉하였을 때 화학적 감각의 인지로 인한 행동의 반응이 시작되며(Hebel *et al.*, 1997), 이는 오염을 평가하는데 있어 가장 민감한 지표 가운데 하나이다. 중금속 화합물의 이온성 분들은 패류의 아가미에 작용하여 호흡장애를 일으킬 뿐만 아니라, 여수작용과 배설작용을 저해시켜 개체의 생존에 크게 영향을 미치며 이에 따라 생태계의 불균형을 초래한다(Kim and Lee, 1988). Byrne and O'Halloran (2001)은 중금속에 높은 농도로 오염된 침전물에 *Scrobicularia plana*와 *Tapes semidecussatus*를 노출시킨 결과, 잠입 행동과 생존율이 감소한다고 하였고, 생물체의 오염물질로부터 도피는 먹이 섭식과 생식을 감소시킨다고 하였다. 또한 대복을 1.77 mg Cd l⁻¹ 농도에 노출시킨 결과,

17일째에 모든 개체가 사망하였다(Park and Lee, 2003). 다른 연구에서도 오염물질의 독성영향을 결정하기 위해 오염물질에 노출된 개체의 이동거리, 잠입속도를 관찰하였다(Depledge and Hopkin, 1992). 외부 환경요인에 대한 생물의 반응은 농도의존적 관계로 설명된다(Byrne and O'Halloran, 2001). Akberali *et al.* (1981)은 *Scrobicularia plana*을 아연에 노출시켜 행동양상을 관찰하기 위해 호흡률과 운동성을 측정된 결과, 0.1~0.5 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 대조구와 다른 양상을 관찰할 수 없었지만, 5, 10 mg Zn l⁻¹ 농도구의 경우, 폐각을 닫고 입출수관을 내지 않았으며, 호흡률 또한 낮았다. 그리고 1~5 mg Zn l⁻¹ 농도구에서는 운동성을 나타내는 개체가 일부 관찰되었으며, 10 mg Zn l⁻¹ 농도구의 경우, 실험 도중 모든 개체가 사망하였는데, 이는 낮은 호흡률 때문이라고 하였다. 하지만 본 연구에서는 가장 낮은 농도에서 가장 높은 사망률을 나타냈는데 이는 한계 반응농도 이하에서 개체의 오염원에 대한 인식 및 적응력의 실패로 생각되지만 이러한 반응현상에 대해서는 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

중금속을 포함한 오염물질은 수서생물의 기관계 구조의 변화를 일으켜 생리학적 불균형을 초래한다. 이매패류의 아가미는 입수관을 통해 들어온 물이 아가미 표면을 지나가면서 새엽에서 분화한 섬모에 의해 먹이를 섭취하고 호흡을 하는데(Micallef and Tyler, 1990), 중금속에 노출 시 아가미 기능장애에 따른 여수율의 감소가 일어난다(Abel, 1976; Watling and Watling, 1982; Gregory *et al.*, 1999). 복족류인 *Babylonia areolata*를 카드뮴에 노출시킨 경우, 아가미 새엽의 섬모가 소실되었으며, 아가미 정단면에 염증이 생기고 점액세포가 증가하였다(Thanhan *et al.*, 2004).

복족류 *Planorbis corneus*를 endosulfan에 노출시킨 후 외투막을 관찰한 결과, 점액세포의 수와 크기가 증가하다가 시간이 지날수록 수와 크기가 감소하였고, 상피세포층의 박리가 관찰되었다. 그리고 발에서도 상피세포층의 박리, 지방 공포와 점액세포의 증가, 원주형 근섬유의 위축이 관찰되었다(Otludil *et al.*, 2004).

본 연구에서 대복의 저농도 아연에서 만성적으로 노출된 결과로 생긴 기관계의 구조적 이상은 이들 개체의 기능장애로 이어질 것으로 판단되는

데 이러한 기능변화에 관해서는 추후에 지속적으로 연구되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Abel PD. Effects of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus edulis*, Mar Poll Bull 1976; 7: 228-231.
- Akberali HB, Wong TM and Trueman ER. Behavioral and siphonal tissue responses of *Scrobicularia plana* (Bivalvia) to zinc, Mar Environ Res 1981; 5: 251-264.
- Bustamante P and Miramand P. Subcellular and body distribution of 17 trace elements in the variegated scallop, *Chlamys varia* from the French coast of the bay of Biscay, Sci Total Environ 2005; 337: 59-73.
- Bryan GW, Langston WJ, Hummerstone and Burt GR. A guide to the assessment of heavy-metal contamination in estuaries using biological indicators, Mar Biol Assoc UK 1985; 4: 1-92.
- Byrne PA and O'Halloran J. The role of bivalve molluscs as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review, Hydrobiologia 2001; 465: 209-217.
- Depledge MH and Hopkin SP. Methods to assess effects on brackish, estuarine and near-coastal water organisms, In: Methods to Assess the Effects of Chemicals on Ecosystems Chap. 7. Lindhurst RA, Bourdeau P and Tardiff RG eds. John Wiley London 1995; pp. 125-149.
- Depledge MH, Amaral-Medes JJ, Daniel B, Halbrook R, Klopper-Sams P, Moore MM and Peakall DB. The conceptual basis of the biomarker approach, In: Biomarkers, Research and Application in the Assessment of Environmental Health NATO ASI Series, Peakall H and Shugart RL eds. Springer Berlin 1992; 68: 15-29.
- Eble AF. Anatomy and histology of *Mercenaria mercenaria*, In: Biology of the Hard Clam. Kraeuter JN and Castagna M eds. Elsevier Science BV New York 2001; pp. 117-220.
- Gregory MA, George RC, Marshall DJ, Anandraj A and McClurg TP. The effects of mercury exposure on the surface morphology of gill filament in *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia), Mar Poll Bull 1999; 39(1): 116-121.
- Hebel DK, Jones MB and Depledge MH. Responses of crustaceans to contaminant exposure: a holistic approach, Estuar Csttl Shelf Sci 1997; 44: 177-184.
- Hemelraad J, Holwerda DA and Zandee DI. Cadmium kinetics in freshwater clams, 1. The pattern of cadmium of accumulation in *Anodonta cygnea*, Arch Environ Contam Toxicol 1986; 15(1): 1-7.
- Jenner HA, Hemelraad J, Marquenie JM and Nopert F. Cadmium kinetics in freshwater clams (Unionidae) under field and laboratory conditions, Sci Total Environ 1991; 108: 205-214.
- Kim SY and Lee TY. The effects of pollutants effluent from a steam-power plant on coastal bivalves, Ocean Res 1988; 10(1): 47-56.
- Matthiessen P and Brafield AE. The effect of dissolved zinc on the gills of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, J Fish Biol 1973; 5: 607-613.
- Mauri M, Orlando E, Negro M and Regoli F. Heavy metals in the Antarctic scallop, *Adamussium colbecki*, Mar Ecol Prog Ser 1990; 67: 27-33.
- Micallef S and Tyler PA. Effect of mercury and selenium on the gill function of *Mytilus edulis*, Mar Poll Bull 1990; 21(6): 288-292.
- Ministry of maritime affairs & fisheries. Oceanic environmental process tentative method, 2005; pp. 206-210.
- Moore MN. Lysosomal cytochemistry in marine environmental monitoring, Histochem J 1990; 22: 187-191.
- Morrison CM. Histology and cell ultrastructure of the mantle and mantle lobes of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, Gmelin: A summary atlas, Amer Malacol Bull 1993; 10(1): 1-24.
- Otludil B, Cengiz EI, Yildirim MZ, Unver O and Unlu E. The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbis cornuus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study, Chemosphere 2004; 56: 707-716.
- Owen G. Lysosomes, peroxisomes and bivalves, Sci Prog Oxford 1972; 60: 299-318.
- Park JJ and Lee JS. Cadmium toxicity on the survival rate and activity of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae), J Kor Fish Soc 2003; 36(5): 463-468.
- Pekkarinen M. Scanning electron microscopy, whole-mount histology, and histochemistry of two *Anodontinae glomchidia* (Bivalvia: Unionidae), J Zool 1996; 74(11): 1964-1973.
- Pentreath RJ. The accumulation and retention of ⁶⁵Zn and ⁵⁴Mn by the plaice, *Pleuronectes platessa* L, J Exp Mar Biol Ecol 1973; 12: 1-18.
- Rainbow PS. The significance of trace metal concentration in marine invertebrates, In: Ecotoxicology of Metals in Invertebrates, Dallinger R and Rainbow PS eds. Lewis Publishers Boca Raton FL 1993; pp. 461.
- Romeo M and Gnassia-Barelli M. Metal distribution in different tissues and in subcellular fractions of the Mediterranean clam, *Ruditapes decussatus* treated with cad-

- mium, copper, or zinc, *Comp Biochem Physiol* 1995; 3: 457-463.
- Skidmore JF. Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulfate, *J Exp Biol* 1970; 52: 481-494.
- Soh CT, Yoo IS, Park H, Kim SH, Kim JJ and Min DY. Experimental study on the effect of cadmium containing shellfish by the long term intake, *Korean J Malacol* 1993; 9(2): 85-93.
- Suzuki KT, Kawahara S, Sunaga H and Shimojo N. Efflux of endogenous zinc liberated from metallothionein and alcohol dehydrogenase in the liver by replacement with cadmium, *Toxicol Appl Pharmacol* 1990; 105: 413-421.
- Thanhan P, Sretarugsa P, Pokethitiyook P, Kruatrachue M and Upatham ES. Histopathological alterations in the edible snail, *Babylonia areolata* (Spotted Babylon), in acute and subchronic cadmium poisoning, *Environ Toxicol* 2004; 20: 142-149.
- Viarengo A, Canesi L, Mazzucotelli A and Ponzano E. Cu, Zn and Cd content in different tissues of the Antarctic scallop, *Adamussium colbecki*: role of the metallothionein in heavy metal homeostasis and detoxification, *Mar Ecol Prog Ser* 1993; 95: 163-168.
- Watling HR and Watling RJ. Comparative effects of metals on the filtering rate of brown mussel, *Perna perna*, *Bull Environ Contam Toxicol* 1982; 29: 651-657.
- Wicklund A, Norrgren L and Runn P. The influence of cadmium and zinc on cadmium turnover in the zebrafish, *Brachydanio rerio*, *Arch Environ Contam Toxicol* 1990; 3: 348-353.
- Wong MH, Luk KC and Choi KY. The effects of zinc and copper salts on *Cyprinus carpio* and *Ctenopharyngodon idellus*, *Acta Anatomica* 1977; 99: 450-454.
- Yoo H, Lee IT and Lee BG. Influence of Ag and Cu contaminated sediments on the bioaccumulation and chronic toxicity to the clam, *Macoma balthica*, *Korean J Environ Biol* 2002; 20(2): 136-145.
- Yoo JS. Korean shells in color, *Il Ji Sa Seoul* 1988; pp. 196.