

임하호 탁수역에 서식하는 치리 (*Hemiculter eigenmanni*)의 조직과 혈장단백질

이 청 · 신명자 · 이종은 · 서울원*

안동대학교 자연과학대학 생명과학과

Tissues and Plasma Proteins of *Hemiculter eigenmanni* in Muddy Water of Imha Reservoir

Chung Lee, Myung Ja Shin, Jong Eun Lee and Eul Won Seo*

Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract – Present study aims to investigate the effect of muddy water on various tissues and plasma proteins of *Hemiculter eigenmanni* in Imha reservoir. The gills in muddy water were shown to have clubbing in secondary lamellae and edema in primary lamellae, respectively. The size of glomerula in kidney was smaller than that of control. Scanning electron micrographs of gills revealed muddy debris and parasites attached between primary and secondary lamellae, suggesting that muddy water possibly involves to decrease in respiratory rate. By using SDS-PAGE, plasma protein bands displayed both quantitative and qualitative changes and ferritin activities were shown more stronger and Fe-3 ferritin band appeared to be specific to plasma of muddy water.

Key words : muddy water, gill, kidney, ferritin, plasma protein

서 론

탁수현상은 여름철 집중호우로 하천과 저수지에 일시적으로 나타났다가 자연적으로 소멸되지만, 임하호는 2002년도 태풍 루사와, 2003년의 태풍 매미의 영향으로 탁수현상이 발생하여 현재까지 지속되고 있다. 임하호는 1993년 준공된 이 후 탁수현상은 집중호우 후에도 3개월 이상 지속되지 않았을 뿐 아니라 2001년까지 연중 최대 탁도가 100~250 NTU 수준이었다. 그러나 2002년 태풍 루사 후 최고탁도가 882 NTU까지 상승하였으며

탁수일수도 170일로 크게 증가하였다. 2003년 태풍 매미 후에는 최고탁도가 1,221 NTU까지 증가하였으며 탁수일수도 315일로 증가하였다(이와 조 2004). 이러한 탁수가 장시간 지속되는 원인은 임하호 상류유역에 넓게 분포한 고화가 덜된 토사 층이 집중호우나 홍수 시 담내로 유입되며, 유입되는 탁수 중 특히 2µm 이하의 세일, 실트암, 사암 등이 다량 포함되어 쉽게 가라앉지 않고 수중에 부유하게 되어 장시간 탁수현상이 나타나는 것으로 추정하고 있다. 임하호의 이러한 탁수 현상은 인근 지역의 자연경관의 훼손 및 이에 따른 경제적 손실도 막대하지만 탁수에 따른 수중생물의 먹이 탐식능력 저하, 호흡율의 저하, 서식처의 교란 등 수생태계에 심각한 영향을 미칠 것으로 생각된다.

* Corresponding author: Eul Won Seo, Tel. +82-54-820-5462, E-mail. ewseo@andong.ac.kr

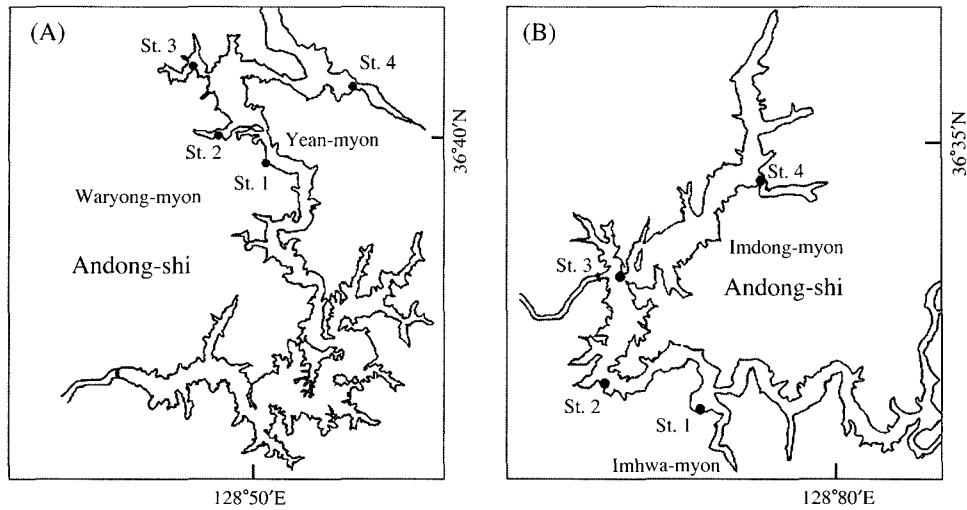


Fig. 1. Map showing the sampling stations in Andong (A) and Imha reservoir (B). A : St. 1=Waryong-myeon Bangjang, St. 2=Waryong-myeon Ocheon-ri, St. 3=Dosan-myeon Seonyang-ri, St. 4=Yean-myeon Gwidan-ri. B : St. 1=Giran-myeon Yonggye-ri, St. 2=Imhwa-myeon aksei, St. 3=Imhwa-myeon cheonjeon-ri, St. 4=Imdong-myeon Jungpyeong-ri

하천은 주변의 급속한 공업화와 인구의 도시집중 및 소비증가 등으로 배출되는 오염원이 다양화됨에 따라 자연환경 및 생활환경에 심각한 영향을 미치게 되지만 (Shroeder 1977), 자연적 재해에 의해서도 심각한 영향을 받고 있다. 수질이 오폐수 등에 의해 오염되는 경우 여러 수생생물 중 어류의 경우에는 아가미와 신장에서 주로 조직학적 변화가 일어난다고 알려져 왔으며 (Morrison 1981, Ferguson 1989), 김 등 (2002)은 수질오염 지역에 서식하는 수중 생물 중 어류는 오염물질과 오염수역의 원생생물 및 균 등에 의해 아가미와 신장 조직이 비정상적으로 관찰된다고 보고한 바 있다. 그러나 자연적인 재해로 장기간에 걸친 탁수가 어류의 조직 및 생리에 미치는 영향에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 현재 탁수 문제가 심각하게 대두되고 있는 임하호에 서식하고 있는 치리 (*Hemiculter eigenmanni*)를 대상으로 탁수가 치리의 조직 및 혈장단백질에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시 어류

실험에 사용된 치리는 안동호 4개의 지점과 임하호 4개의 지점을 선정하여 2005년 3회 (5월, 7월, 9월)에 걸쳐 채집하였다. 채집은 3중 자망 (망목 10×10 mm, 25×25 mm)을 사용하여 설치 48시간 정치 후 수거하였다 (Table 1). 채집된 어류 중 치리는 현장에서 김 (1997), 김

Table 1. Individual numbers of *H. eigenmanni* collected from Andong and Imha reservoir during May to September in 2005

	Andong reservoir			Imha reservoir		
	May	Jul	Sep	May	Jul	Sep
St. 1	4	1	8	10	9	6
St. 2	13	-	6	2	4	-
St. 3	33	5	15	-	3	1
St. 4	53	3	3	15	-	-
Total	103	9	32	27	16	7

과 박 (2002)을 참고하여 동정한 후 즉시 실험실로 운반하여 암수를 확인 하였으며, 형태적 손상이 없는 3년생 암컷 (전장 15.0±1.5 cm, 체중 28.0±4.5 g)을 안동호에서 20개체, 임하호에서 14개체씩 선별하여 실험에 사용하였다. 안동호와 임하호 조사 지점의 행정 명칭과 위치는 다음과 같다 (Fig. 1).

○ 안동호 조사지점

- St. 1: 안동시 와룡면 방잡
- St. 2: 안동시 와룡면 오천리
- St. 3: 안동시 도산면 선양리
- St. 4: 안동시 예안면 귀단리

○ 임하호 조사지점

- St. 1: 안동시 길안면 용계리
- St. 2: 안동시 임하면 악새
- St. 3: 안동시 임하면 천전
- St. 4: 안동시 임동면 중평리

2. 아가미, 신장 및 간 조직의 관찰

1) 광학현미경적 연구

탁수역인 임하호와 비탁수역인 안동호에 서식하는 치리의 아가미, 신장 및 간을 절취하여 FAA로 24시간 고정 후 수세, 탈수 과정을 거친 후 일반적인 조직 제작 방법에 따라 조직을 paraffin 포매하였다. 이 후 paraffin block을 두께 4~6 μ m로 제작하여 hematoxylin과 eosin에 이중염색한 후, 광학현미경(Olympus BX50)하에서 관찰하였으며 사진 촬영은 Olympus DP-70을 사용하였다.

2) 주사전자현미경적 연구

주사전자현미경 관찰은 치리의 아가미를 절취하여 glutaraldehyde (2.5%)에서 2시간 전고정 후, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)로 15분씩 3회 세척하였다. 후고정은 1% osmium tetroxide (O_8O_4)에 1~2시간 고정시켜 탈수 과정을 거친 후 freeze dryer에서 완전히 건조시켜 Au를 이용하여 coating한 후, 주사전자현미경(Hitachi S-2500C)에서 아가미 표면의 미세구조를 관찰하였다.

3. 혈장 단백질 분석

1) SDS 전기영동과 분자량 측정

혈장 단백질은 heparin으로 처리된 주사기를 사용하여 압컷 치리의 미부동맥에서 혈액을 채취하여 상온에서 3,000 rpm으로 20분간 원심분리한 후, 혈장을 사용하였다. 혈장 단백질의 분석은 Davis (1964)의 방법에 따라 5% native PAGE를 사용하였으며, SDS-PAGE는 Laemmli (1970)의 방법에 따라 9~14% gradient gel을 사용하였다. 표준 단백질로서는 Bio-Rad사의 Low molecular weight standard (phosphorylase B, MW 97,400; bovine serum albumin, MW 66,200; ovalbumin, MW 45,000; carbonic anhydrase, MW 31,000; soybean trypsin inhibitor, MW 21,500; lysozyme, MW 14,400)를 이용하여 분자량을 조사하였다.

2) Ferritin의 확인

Native 전기영동은 Davis (1964)의 방법에 따라 5% polyacrylamide gel에서 실시하였으며, 철 결합단백질 여부는 ferene S 염색 (Chung 1985)을 실시하여 확인하였다. 염색시약은 0.75 mM 3-(2-pyridyl)-5, 6-bis (2-(5-furyl-sulfonic acid))-1, 2, 4-triazine disodium salt (ferene S)와 2% acetic acid에 15 mM의 thioglycolic acid를 혼합하여 염색 직전에 만들어 사용하였으며, 청색의 단백질 밴드를 확인한 후 2% acetic acid 용액으로 탈색하였다.

결과 및 고찰

1. 광학현미경적 관찰

비탁수역인 안동호에 서식하는 치리의 아가미 표면은 얇은 단층의 상피세포로 덮혀 있으며 이차 새변 사이의 공간이 일정하게 규칙적으로 끈게 뿔어 있는 구조로 관찰되었다 (Fig. 2A). 그러나 탁수역인 임하호에 서식하는 치리 아가미의 이차 새변은 두꺼운 다층의 상피세포로 비대해져 있는 부종 (Fig. 2B), 새변의 끝부분이 팽대되어 있는 곤봉상 및 이차 새변의 상피세포의 분리 (Fig. 2D)가 확인되었다. 또한 이차 새변은 굽어 있거나 꺾여져 있으며 (Fig. 2C), 이차 새변 사이의 공간은 비교적 좁고 불규칙하였다. 탁수역인 임하호 치리 아가미 조직의 경우 조사된 개체에 따라 다소의 변이가 있지만 전반적으로 이차 새변이 굽어 있거나 꺾여져 있는 형태는 80%의 개체에서 확인되었으며, 부종은 70%, 곤봉화는 50%, 상피세포의 박리는 60%의 개체에서 확인되었다 (Table 2). 어류의 아가미는 표면의 얇은 상피세포에서 물과 혈액간의 가스교환이 원활히 이루어질 수 있도록 이차 새변이 일정한 거리로 배열되어 있다. 그러나 수중에 독성 물질이 함유되거나 수환경의 급격한 변화 등의 스트레스가 나타날 경우 이차 새변은 비대해져 곤봉화나 부종을 일으키게 되어 가스교환이 어려워지게 된다 (신 등 1993; 허와 정 1993). 탁수역인 임하호 치리 아가미에서 관찰되는 부종과 곤봉화도 이차새변의 상피세포가 비후해져 두꺼워진 층으로 새변과 새변사이의 공간이 좁아져 호흡율의 저하를 가져올 수 있다. 또한 이차 새변이 굽어져 있거나 꺾여진 구조로 변형된 것은 유속을 완만하게 하여 호흡 시 가스교환율을 높여주게 되는데 (Richman *et al.* 1987) 본 연구에서도 탁수역에 서식하는 치리 아가미가 변형된 구조를 하고 있는 것은 탁수역에서 호흡율 회복을 위해 변형된 것으로 사료된다.

신장 조직을 살펴보면 비탁수역인 안동호 치리의 신장내 사구체는 보우만 주머니를 가득 채우고 있으며, 조직내 피사나 공포가 거의 없는 정상적인 형태로 관찰되었다 (Fig. 3A). 반면 탁수역인 임하호 치리의 사구체는 비탁수역 치리에 비해 훨씬 수축되어 보우만 공간이 공포화된 형태로 관찰되었다 (Fig. 3B). 또한 간조직의 경우 비탁수역에 서식하는 치리의 간에서는 간세포의 모양과 크기가 일정한 형태로 관찰되었으나 (Fig. 4A), 탁수역 치리의 간세포는 모양과 크기가 일정하지 않았으며 부분적으로 팽대된 형태로 관찰되었고 (Fig. 4C, D) 간세포의 수도 훨씬 적은 것으로 관찰되었다 (Fig. 4B). 해수어의

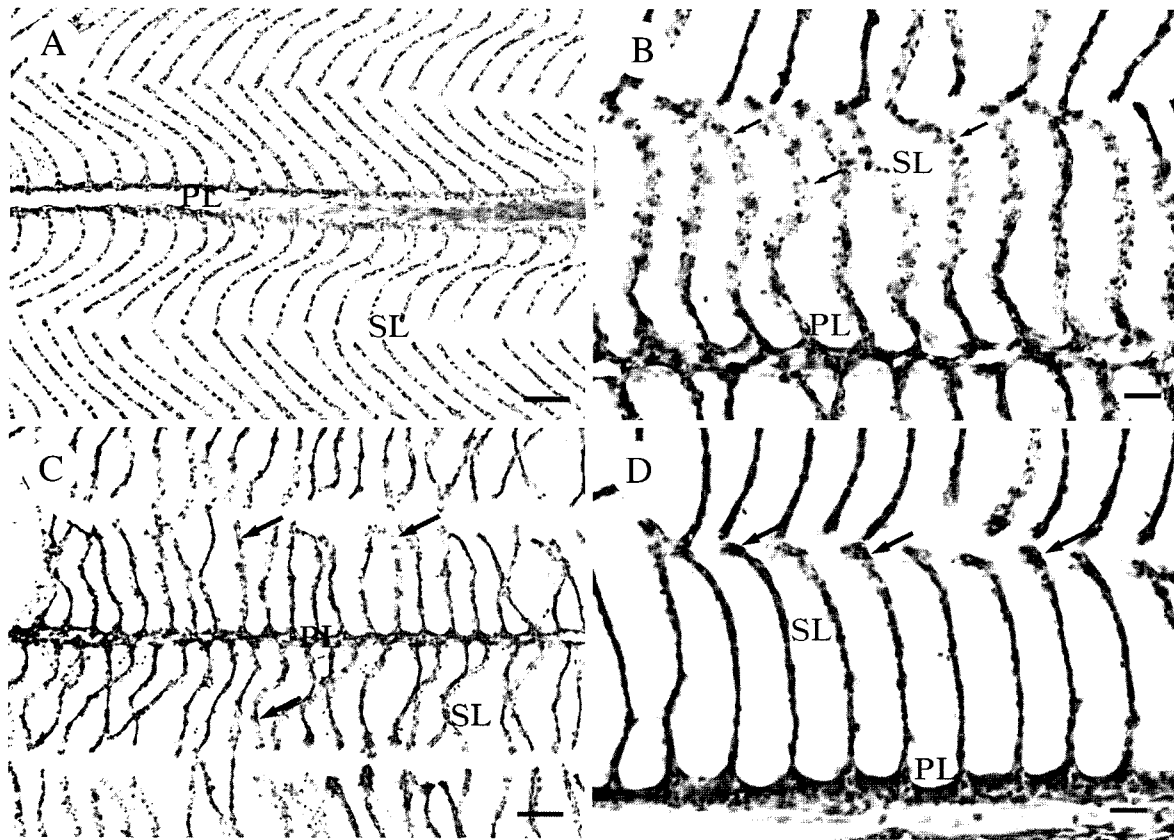


Fig. 2. Micrographs of gills of *Hemiculter eigenmanni*. A: Normal gill of *H. eigenmanni* in Andong Reservoir. PL, primary lamella. SL, secondary lamella. Scale bar=50 μ m; B, C, D: Gills of *H. eigenmanni* in Imha Reservoir B: Edema was shown by arrows. Scale bar=20 μ m; C: Winding of the secondary gill lamellae (arrows). Scale bar=50 μ m; D: Clubbing was showing in secondary lamellae (arrows).

Table 2. Occurrence frequency of pathological characters of *H. eigenmanni* in Andong and Imha reservoir.

Pathological character	Occurrence frequency of pathological characters (%)	
	Andong reservoir	Imha reservoir
Winding of the secondary lamellae	10	71
Edema of the secondary lamellae	15	71
Clubbing of the secondary lamella	5	50
Epithelial separation	10	57
Nephrosclerosis in kidney	5	93
Changes in size of hepatocytes	15	64
Muddy debris between primary and secondary lamellae	20	93
Parasites between primary and secondary lamellae	5	36
Winding of the secondary lamellae (By SEM)	10	64

경우 아가미를 통한 탈수증상을 예방하기 위해 신장의 사구체는 수축되어 배설되는 오줌의 양을 줄임으로서 체내의 삼투압을 조절하는 기능이 있다 (Galat *et al.* 1985). 그러나 담수어에서는 사구체의 표면적이 좁아지면 삼투압 조절기능 보다는 오히려 노폐물을 걸러주는 효과가 떨어질 수 있다. 사구체의 표면적이 좁아지는 현상은 포유류의 만성 사구체 신염이나 위축신과 매우 유

사한 병변으로 어류의 경우에도 이차 병변의 원인이 될 수 있다 (Fennel and Pardo 1967). 어류의 간은 영양상태가 좋지 않을 때는 간세포가 수축되는 것으로 알려져 있다 (박 등 1995). 본 연구에서도 조사된 탁수역인 임하호 치리의 90% 이상의 개체에서 신장 사구체의 수축이 관찰되었으며 65%의 개체에서는 간세포의 크기와 모양이 일정하지 않은 것으로 관찰되었다 (Table 2). 이러한

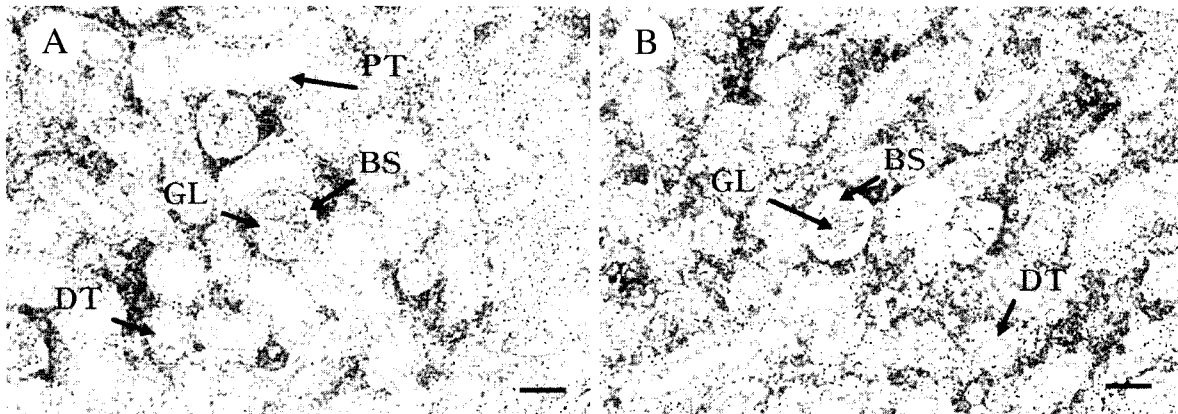


Fig. 3. Micrographs of kidney of *H. eigenmanni*. A: Normal glomerulus of *H. eigenmanni* in Andong reservoir. BS, Bowman's space. DT, distal tubule. GL, Glomerulus. PT, proximal tubule. Scale bar=50 µm; B: Nephrosclerotic glomerulus was shown in *H. eigenmanni* from Imha reservoir. Scale bar=50 µm

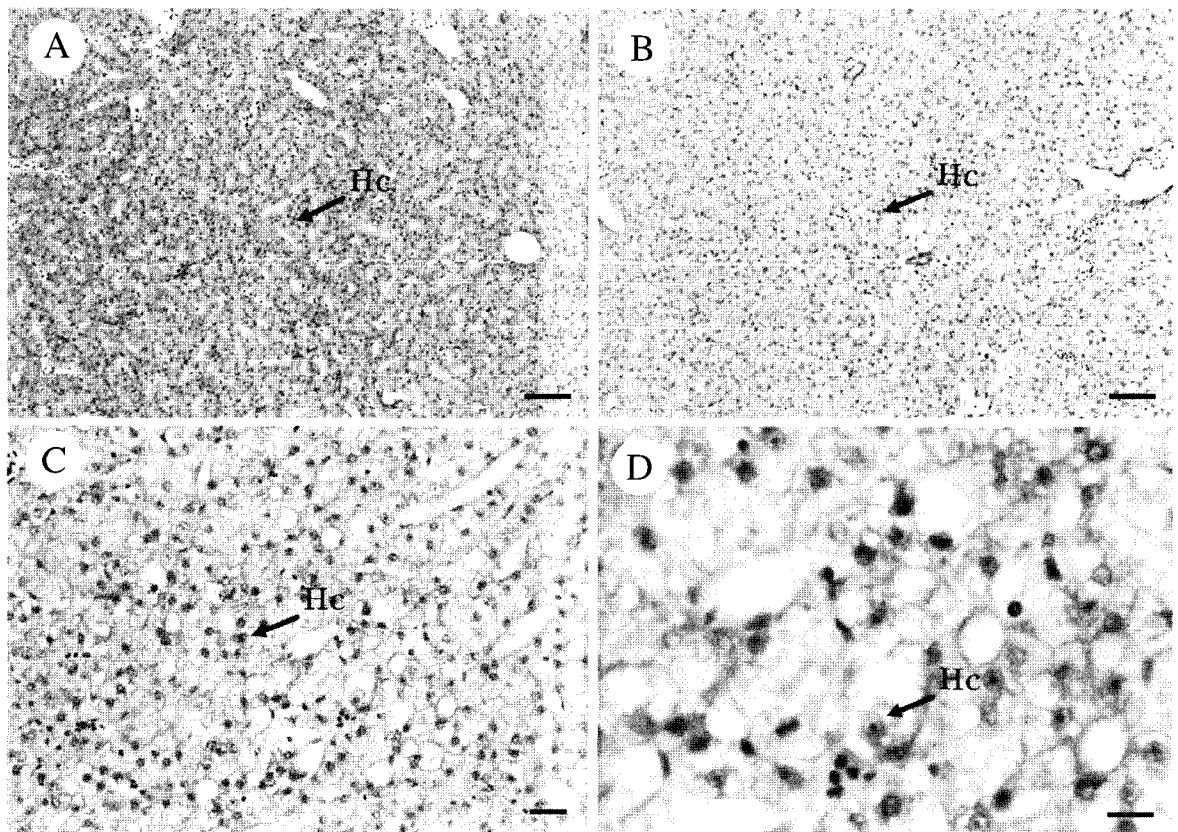


Fig. 4. Micrographs of liver of *H. eigenmanni*. A: Normal hepatocytes (Hc) were showing in liver of *H. eigenmanni* from Andong reservoir. Scale bar=50 µm; B, C, D: Kidney of *H. eigenmanni* from Imha reservoir. B: A few of hepatocytes were shown. Scale bar=50 µm; C, D: Some of hepatocytes were showing hydrophobic swelling. Scale bar=20 µm (C), 10 µm (D)

결과로 보아 탁수가 조직의 구조적 변형에 직접적으로 영향을 미칠 것으로 사료된다. 또한 탁수에 의한 수질의 투명도 저하로 인해 어류의 먹이 탐색 능력이 떨어진

결과 탁수역의 어류는 영양 결핍의 가능성을 보여주고 있다.

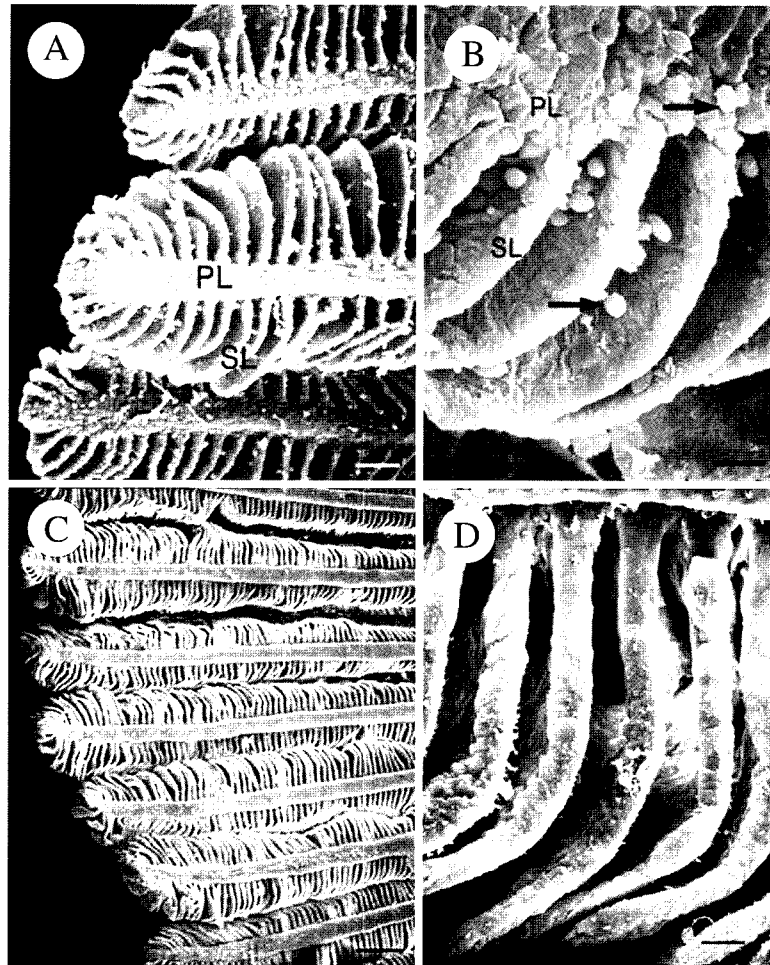


Fig. 5. Scanning electron micrographs of gill of *H. eigenmanni* in Imha reservoir. Muddy debris (A, D) and parasites (B) were attached to between primary and secondary lamellae. C: Winding of the secondary gill lamellae. Scale bar=45 μ m (A), 20 μ m (B), 200 μ m (C), 20 μ m (D) PL, primary lamella. SL, secondary lamella.

2. 주사 전자현미경적 관찰

탁수역인 임하호에 서식하는 치리 아가미의 표면 구조를 주사전자현미경으로 관찰하였다. 탁수역에 서식하는 치리 아가미에는 많은 점토성 부유물로 보이는 다량의 이물질이 일차새변과 이차새변사이에 부착되어 있다 (Fig. 5A, D). 또한 기생충 혹은 원생동물이 새변사이에 부착되어 있으며 (Fig. 5B), 이차새변이 심하게 굽어진 형태도 관찰되었다 (Fig. 5C). 새변사이에 이물질이 부착되어 있거나 기생충 혹은 *Myxobolus* sp.와 같은 원생동물이 부착되어 있는 경우 이물질은 가스교환을 방해하여 호흡률을 저하시키며 원생동물은 조직의 파괴, 괴사, 출혈 등을 유발하며 심하면 죽음에 까지 이르게 된다 (Landsberg 1993). 본 연구의 탁수역에서 채집된 치리 아가미에서는 모든 개체의 새변 사이에 이물질이 부착되어 있는 것으로 관찰되었으며, 35%의 개체에서는 새변사이에 기생충

이나 원생동물이 부착된 것으로 확인되었고 이차새변의 만곡 현상도 65%의 개체에서 확인되었다 (Table 2). 결론적으로 여러 환경적 요인 중 탁수로 인하여 아가미의 구조적 변형이 일어날 수 있으며, 어류의 호흡율은 새변사이에 다량의 이물질과 원생동물 혹은 기생충의 부착에 의해서도 커다란 영향을 받을 것으로 사료된다.

3. 혈장단백질에 대한 생리학적 연구

혈장 단백질 패턴은 SDS-PAGE법으로 조사하였다 (Fig. 6). 임하호와 안동호에 서식하는 치리 혈장에서는 공통적으로 나타나는 많은 단백질 밴드가 분리되었으며, 이러한 단백질 밴드 중 47 Kda 단백질 밴드는 임하호 치리의 혈장 단백질에서만 확인되었다. 88 Kda와 74 Kda 단백질 밴드는 안동호 치리에 비해 농도가 매우 낮은 것으로 확인되어 탁수역과 청정수역에 서식하는 어류의

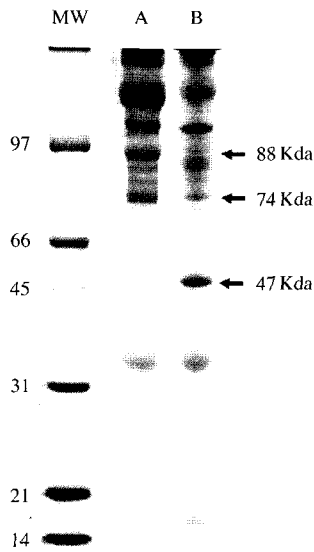


Fig. 6. 9~14% SDS-PAGE of plasma proteins of *H. eigenmanni*. 47 Kda plasma protein was identified only in *H. eigenmanni* plasma of Imha reservoir. A: Plasma of *H. eigenmanni* in Andong reservoir, B: Plasma of *H. eigenmanni* in Imha reservoir.

혈장 단백질은 같은 종이라도 서식 환경에 따라 질적, 양적 차이를 보여주고 있다. 또한 혈장 단백질 중 이온화 된 철을 결합하여 운반하는 단백질인 ferritin은 임하호 치리의 혈장에서 다소 많은 밴드가 확인되었으며 활성도 높게 나타났다 (Fig. 7). 확인된 ferritin 중 Fe-1, Fe-2, Fe-4는 임하호 탁수역 치리의 혈장에서 더 높은 활성을 보였으며, 특히 Fe-3는 탁수역에 서식하는 치리의 혈장에서만 확인 되었다.

탁수라는 환경스트레스에 대해 수생물은 미세한 형태적 변화와 더불어 생리적 변화도 수반하여 대응하게 되며, 생리적 변화는 가장 직접적으로 혈장의 여러 성분 중 혈장 단백질에서 변화를 나타나게 된다 (이 등 2004). 혈장 단백질 중 ferritin은 철과 결합된 단백질로서 대부분의 생물에서 철은 많은 단백질의 활성에 작용하여 대사에 중요한 역할을 수행하지만 동시에 과량으로 존재할 경우, 독성을 나타내기 때문에 체내의 철은 철 결합 단백질인 ferritin의 형태로 저장되고 필요시 공급되어 체내 항상성을 유지할 수 있게 해주고 있다 (Briat 1992). 생체 내에서 철은 ferritin의 형태로 존재하며 산소운반, 세포호흡, 전자전달 및 해독 등의 생리작용에 관여하며 (Matthias *et al.* 1996), ferritin은 토양, 대기, 수질의 환경오염에 따라 동물의 체내로 유입되는 cadmium, zinc, aluminum, manganese 등과 같은 금속 이온에 대한 결합

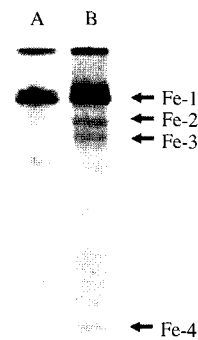


Fig. 7. Ferritin activity of blood plasma of *H. eigenmanni*. Ferritin activity was shown more strong in *H. eigenmanni* plasma in Imha reservoir. And Fe-3 was shown to be specific in *H. eigenmanni* plasma in Imha reservoir. A: Plasma of *H. eigenmanni* in Andong reservoir, B: Plasma of *H. eigenmanni* in Imha reservoir.

단백질로 관여하기도 하기 (Webb *et al.* 1985; Winzerling and Law 1997) 때문에 환경 변화에 대한 생체내 생리적 지표로 이용되고 있다. 혈장에 용해되어 있는 이온화 상태의 철은 산소존재 하에서 유리 라디칼을 형성하여 체내에 독성작용을 나타낸다. 이러한 철은 ferritin과 결합하여 운반 저장됨으로서 철의 흡수, 저장과 분비가 조절되며 생체 내에서 안정한 상태를 유지하게 된다. 따라서 혈장 내 ferritin의 활성을 통해 환경스트레스의 정도를 유추할 수 있다. 본 연구의 탁수역 치리 혈장내 ferritin은 높은 활성을 나타내며 새로이 Fe-3가 확인되고 있으며 혈장 단백질에서도 47 Kda 단백질이 새로이 확인되는 것으로 보아 탁수라는 환경적 스트레스로 인하여 탁수역에 서식하는 치리의 아가미는 점액질이나 이물질에 의해 가스교환이 원활하지 못하게 됨으로써 혈장 내에서 다량의 철이 이온화되는 것을 억제하기 위해 ferritin의 활성이 증가하거나 새로운 ferritin의 출현을 촉진하는 것으로 생각된다.

적 요

탁수가 어류의 조직과 혈장 단백질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 탁수역인 임하호와 비탁수역인 안동호

에 서식하는 치리 (*Hemiculter eigenmanni*)를 공시재료로 사용하였다. 탁수역에 서식하는 치리의 아가미에서는 이차새변의 만곡, 곤봉화, 부종 및 상피세포 박리 현상 등이 나타났고, 신장에서는 사구체의 크기가 다소 작아지는 수축현상과 조직의 괴사 및 공포현상이 관찰되었다. 또한 간세포의 수가 적어졌으며 크기가 불규칙한 형태로 나타났다. 주사전자현미경을 통해 아가미 표면을 관찰한 결과 일차새변과 이차새변 사이에 다량의 이물질과 기생충이 부착되어 있는 것으로 확인되었다. 혈장 단백질 중 47 Kda 단백질은 탁수역에 서식하는 치리에서만 확인되었고, 혈장내 ferritin은 탁수역 치리에서 높은 활성을 보이고 있으며 새로이 Fe-3가 확인되었다.

참 고 문 헌

- 김익수. 1997. 한국동식물도감. 제37권 동물편 (담수어류). 교 육부. pp.279-280.
- 김익수, 박종영. 2002. 한국의 민물고기. 교학사. pp.190-191.
- 김익수, 김선영, 박종영. 2002. 만경강 오염수에서 서식하는 붕어의 아가미와 신장의 비정상 적인 조직. Korean J. Ichthyol. 14:70-75.
- 박홍양, 윤종만, 장계남, 허형택. 1995. 어류생물학. 정문각. pp.136-138.
- 산미영, 최동림, 정준기, 전세규. 1993. 과망 간산칼리에 의한 어류 아가미의 병리조직학적 변화와 수질에 따른 영향. J. Fish Pathol. 6:21-55.
- 이근상, 조기성. 2004. 탁수자료를 이용한 GIS 기반의 토사 유실량 평가. 한국지형공간정보학회. 12:75.
- 이정식, 강주찬, 신윤경, 마경화, 진 평. 2001. 구리에 대한 넘치, *Paralichthys olivaceus*의 조직학적 반응. 한국어병 학회지. 14:81-90.
- 이 청, 신명자, 김경호, 박진영, 이종은, 서울원. 2004. 임하댐 탁수지역에 서식하는 잉어의 조직과 혈 장단백질의 변화. J. Envir. Res. 4:60-65.
- 전홍진, 정경모, 김관휘, 이효진, 박재충. 2004. 대형댐저수지 에서 홍수기 탁수유입 특성 및 거동에 관한 비교연구. 한국물환경학회. pp.439-444.
- 허민도, 정현도. 1993. 어류의 아가미의 조직학적 구조와 병 변. J. Fish Pathol. 6:65-70.
- Briat JF. 1992. Iron assimilation and storage in prokaryotes. J. Gen. Microbiol. 138:2475-2483.
- Chung MC-M. 1985. A specific iron stain for iron binding proteins in polyacrylamide gels: application to transferrin and lactoferrin. Anal. Biochem. 148:498-502.
- Davis BJ. 1964. Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum protein. Ann. N.Y. Acad. Sci. 121:404-427.
- Fennel RH and VM Pardo. 1967. Experimental glomerulonephritis in rats. Lab. Invest. 17:483-488.
- Ferguson HW. 1989. Gill and pseudobranchs pp.11-40. In: Sysremic pathology of fish. Iowa State University Press/Ames.
- Galat DL, G Post, TJ Keefe and GR Bouck. 1985. Histological changes in the gill, kidney and liver of Lahontan cutthroat, *Salmo clarki henshawi*, living in lakes of different salinity-alkalinity. J. Fish. Biol. 27:533-552.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 27:680-685.
- Landsberg JH. 1993. Myxosporean parasites of common snook in Florida. J. Aqua. Animal Health 5:102-109.
- Matthias LJ, I Gotis-Graham, PA Underwood, HP Mcneil and PJ Hogg. 1996. Identification of monoclonal antibodies that recognize different disulfide bonded forms of thrombospondin 1. Biochim. Biophys. Acta 1296:138-144.
- Morrison CM. 1981. Microsporidian parasites in the gills of salmonid fishes. J. Fish Disease 4:371-386.
- Richman III NH, ST De Diaz, RS Nishioka, P Prunet and HA Bern. 1987. Osmoregulatory and endocrine relationships with chloride cell morphology and density during smoltification in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 60:265-285.
- Shroeder ED. 1977. Water and waste water, pp.206-207. McGraw Hill.
- Webb J, DJ Macey and V Talbot. 1985. Identification of ferritin as a major high molecular weight zinc-binding protein in the tropical rock oyster, *Saccostrea cucullata*. Arch. Envir. Contam. Toxic. 14:403-407.
- Winzerling JJ and JH Law. 1997. Comparative nutrition of iron and copper. Ann. Rev. Nutr. 17:501-526.

Manuscript Received: November 8, 2005

Revision Accepted: June 12, 2006

Responsible Editor: Myung Chan Gye