

대복, *Gomphina veneriformis* 아가미의 조직학적 변화와 산소소비율에 미치는 TBTCI의 독성

박정준[†] · 이정식

전남대학교 수산해양대학 수산생명의학과

Tributyltin chloride (TBTCI) toxicity on the oxygen consumption rate and histological changes of gill in the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Jung Jun Park[†] and Jung Sick Lee

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

This study was conducted to find out biological response of bivalves exposed to tributyltin chloride (TBTCI). The results of the study confirmed that TBTCI induce the reduction of oxygen consumption rate and histopathological feature in the gill structure of equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. The experimental groups consisted of a control and 3 TBTCI exposure groups (0.4, 0.6 and 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$) and the experimental period was 36 weeks. For histological analysis, gill tissues were fixed in Bouin's fluid and then stained H-E stain, AB-PAS (pH 2.5) reaction and Masson's trichrome stain after having serially sectioned the tissue by paraffin method at thickness of 4~6 μm . The oxygen consumption rate was not significantly different between the control and exposure groups at 4 weeks, but in all exposure groups at 28 weeks, it was significantly different to the control. Gill of *G. veneriformis* had demibranch that attached two sheets of lamellae and a lamella was composed of numerous filaments, numbering 25 on average. The frontal filament zone had three types of cilia; frontal, latero-frontal and lateral depending on locations while the lateral cilia were the longest and largest in number. The mucous cells observed in filaments were more abundant in the frontal filament zone than abfrontal filament zone and mucous substances were showed blue color (542c) in AB-PAS (pH 2.5) reaction. Gill exposed to TBTCI was extended hemolymph sinus and increased hemocytes at 4 weeks, and then it showed increases of mucous cells and partially disappearance of frontal cilia. In the group of 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 12 weeks, hypertrophy of frontal and latero-frontal epithelia was observed. Also it observed m decrease of mucous cell containing weekly acid mucosubstance and appeared partially destruction muscle fiber bundle. In the groups of 0.4 and 0.6 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 36 weeks, it appeared partially modification of epithelia and in 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ group, observed filaments that come out chitinous rod from disappearance of frontal and latero-frontal epithelia.

Key words: *Gomphina veneriformis*, Oxygen consumption rate, Gill, TBTCI

내분비계장애물질 (endocrine disruptor compounds; EDCs), 또는 환경호르몬이란 인간의 산업 활동 결과로 만들어진 물질로 동물의 내분비

계 조절기작을 어지럽히는 유해화학물질을 일컫는 용어이다. 특히 tributyltin (TBT)은 해양 환경에서 지속적으로 존재하기 때문에 복족류

[†]Corresponding Author : Jung Jun Park, Tel : +82-61-659-3172
Fax : +82-61-659-3172, E-mail : jungjun515@hanmail.net

나 이미페류의 체내로 들어오게 되면 imposex를 유발하고, 면역체계를 억제시켜 광범위한 독성을 나타내는 문제가 야기되고 있다 (U.S. EPA, 2003). 유기주석화합물은 1850년대 처음 발견된 이후 1960년대부터 상업적으로 많이 이용되어 왔고 (Dubey and Roy, 2003), 1960년대 이후 TBT나 triphenyltin (TPT)을 이용한 방오효과와 우수함입이 알려지면서 유기주석화합물의 사용량이 급증하였다. 부착생물방지제가 해양으로 유입되는 주된 형태는 tributyltin oxide (TBTO)이며, 해양으로 유입된 TBTO는 수화된 TBT 양이온으로 해리된 후 Cl^- , HCO_3^- , OH^- 그리고 탄소 혼합물과 결합한다 (Laughlin *et al.*, 1986).

이매패류에서 수중의 오염원들은 외투막, 아가미, 신장, 발 그리고 소화선에 주로 축적되며 (Morrison, 1993; Pekkarinen, 1996), 호흡을 비롯한 다양한 생리적인 변화는 물론, 기관계의 구조적 변화를 유도하여 기능적인 장애를 초래한다는 사실은 여러 연구자들에 의해서 보고 되어왔다 (Abel, 1976; Watling and Watling, 1982; Sunila and Lindström, 1985; Regoli and Orlando, 1994; Gregory *et al.*, 1999; Otludil *et al.*, 2004).

해산 이매패류의 대부분은 여과식자 (filter feeder)이며, 이러한 저서성 부유물식자들은 퇴적물과 해수의 경계면에 위치하면서 여과와 퇴적층으로의 물질수송을 담당하고 있다 (Asmus and Asmus, 1993). 또한 여과식자들은 유·무기물을 구별하지 않고 여과하기 때문에 물리적으로 5 μm 이하의 미립자를 강제적으로 침강시킴으로써 해수를 정화하는 중요한 역할도 담당하고 있다 (Foster-Smith, 1975). 이러한 이매패류의 기능들은 주로 아가미를 통하여 이루어지고 있으며, 저서생태계에서 이들의 생태적 역할과 기능은 매우 크다고 할 수 있다. 따라서 이와 같은 여과식 이매패류들은 생물·생태학적 중요성 때문에 많은 연구가 수행되어 왔다 (Allen, 1962; Foster-Smith, 1975; Gerdes, 1983; Griffiths, 1980; Palmer, 1980; Riisgård, 1988; Cranford and Grant, 1990;

Schulte, 1975; Shumway *et al.*, 1985; Winter, 1978).

해양환경에서 EDCs 물질을 비롯한 다양한 오염원은 호흡을 비롯한 다양한 생리적인 변화는 물론, 기관계의 구조적 변화를 유도하여 기능적인 장애를 초래한다는 사실이 여러 연구자들에 의해 보고 되어왔다 (Rasmussen *et al.*, 1983; Sunila and Lindström, 1985; Hinch and Stephenson, 1987; Regoli and Orlando, 1994; Gauthier-Clerc *et al.*, 2002; Quinn *et al.*, 2004).

수중의 오염원이 수서생물의 아가미 구조에 미치는 영향에 관한 연구는 카드뮴과 구리, 기타 수중 오염원 노출에 따른 진주담치, *Mytilus edulis* 아가미의 조직병리학적 변화 (Sunila, 1986, 1988), *Perna perna*의 새엽 형태에 미치는 수은의 영향 (Gregory *et al.*, 1999) 등 주로 중금속의 영향에 대한 연구가 대다수를 차지하며, 국내외적으로 TBTCI에 의한 이매패류 아가미의 구조적인 변화에 대한 연구는 찾아보기 어렵다.

대북, *Gomphina veneriformis*은 이매패강 (Bivalvia) 백합목 (Veneroida) 백합과 (Veneridae)에 속하는 식용 이매패류로서 우리나라 전 연안의 조간 대 모래해안 1~5 m 내외에 분포하고, 특히 강원도 연안에 가장 많이 서식하고 있으며 (Yoo, 1976), 30.00 mm 이상의 개체들이 생식, 생리적 활동이 활발한 성체이기 때문에 사육실험에 용이하다.

따라서 본 연구는 TBTCI에 노출된 대북 아가미의 조직학적인 변화에 따른 기능적인 장애와 산소소비율 변화 사이의 연관관계를 규명하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 대북, *Gomphina veneriformis*는 2005년 10월에 강원도 주문진읍 연안에서 채집한 각장 30.00 mm~35.00 mm 크기의 성체로서 개체수는 125개체였다.

2. 방법

1) 사육조건

채집한 개체들은 실험실로 운반하여 지수형 순환여과식 수조에 약 2주 동안 순치시켰다. 순치 기간 동안 환경상태 등을 측정하고, 사망개체는 사육수조 안에서 제거하였다. 본 실험에서 사용한 수조는 30 L의 지수형 순환여과식 사각 유리수조로써 사육수의 양은 실험 기간 내내 25 L로 일정하게 유지하였으며, 수조의 내부는 실험 종의 서식환경과 비슷한 저질환경을 유지하기 위해 채집지역의 모래를 두께 10 cm 정도 깔아 주었다.

실험기간 동안 광주기와 온도는 자연조건으로 설정하였으며, 먹이는 *Isochrysis galbana* $3\sim 4 \times 10^5$ cell mL^{-1} 를 2~3일에 1회씩 공급하였고, 사육수 교환은 먹이 공급시 사육수의 1/2씩 교환하였다.

2) 실험기간

본 실험은 2005년 10월 25일부터 2006년 7월 3일까지 36주 동안 실험하였다.

3) 오염원

본 연구에 사용된 오염원은 Tributyltin chloride (TBTCI; $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_3\text{SnCl}$, Sigma)를 acetone (CH_3COCH_3 , Junsei)으로 $10,000 \text{ mg L}^{-1}$ 농도인 stock solution을 만든 다음 Dimethyl sulfoxide (DMSO; $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, Junsei)를 이용하여 100 mg L^{-1} 농도인 substock solution을 만들었다. TBTCI substock solution은 각각의 TBTCI 노출 실험수조에 희석하여 사용하였다.

4) 실험구

TBTCI 노출실험에 노출구의 농도를 정하기 위해 TBTCI을 인위적으로 노출시키지 않은 여과해수의 수조를 대조구로 하였으며, 두 차례에 걸친 예비실험을 통하여 LC_{50} 값 ($20.0 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$)의 25배 낮은 농도인 $0.8 \text{ TBTCI } \mu\text{g L}^{-1}$ 을 가

장 높은 농도구로 정하고, 그 보다 낮은 0.6과 $0.4 \text{ TBTCI } \mu\text{g L}^{-1}$ 또한 농도구로 설정하였다.

5) 결과분석

(1) 산소소비율

산소소비율은 실험생물의 호흡에 의한 산소소비량을 측정하여 $\text{mg O}_2/\text{ind.}/\text{hr.}$ 으로 표시하였다. 산소소비량은 실험생물의 크기에 따라 1.2 L와 1.6 L의 respirometer chamber와 산소검량기 (Is-teck, 915PDC)를 이용하여 측정하였다.

각 수조당 두 개의 respirometer chamber에 실험 중 5개체씩 무작위로 선택하여 옮긴 다음 respirometer chamber에 사육수를 가득 붓고 산소검량기를 이용하여 실험 전 용존산소량을 측정하였다. 이후 respirometer chamber를 완전히 밀봉한 다음 각자의 수조로 respirometer chamber를 옮기고 3시간 후 실험 후 용존산소량을 측정하였다. 산소소비율의 산출식은 다음과 같다.

$$\text{OR} = [(\text{DO}_0 - \text{DO}_t) \times V] / t / W$$

OR : oxygen consumption rate

V : the volume of the respirometer chamber (L)

DO₀ : initial dissolved oxygen

DO_t : dissolved oxygen after time t₁

t : time between t₀ and t₁ (h)

W : total weight (g)

(2) 조직학적 방법

대조구를 포함한 각 농도구의 수조에서 매주 5개체를 무작위로 채집하여 조직학적 분석에 이용하였다. 채집된 재료는 각장, 각고, 전중량, 육중량, 각중량을 측정하고, 해부하여 왼쪽 아가미의 내부판 (inner demibranch)을 절취하였다.

광학현미경 표본을 위해 절취한 시료들은 Drury and Wallington (1980)의 방법에 따라 Bouin's fluid에 12시간 동안 고정하고, 24시간 동안 수세하였다. 그 후 ethanol을 이용한 단계별 탈수 후 paraplast (McCormick, USA)에 포매하였다. 포매된 시료는 microtome (RM2235, Leica,

Germany)을 이용하여 4~6 μm 두께로 연속 절편하여 조직표본을 만들었다.

발의 구조와 세포형태를 관찰하기 위한 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E) 염색, 산성 및 중성 당점액 성분을 관찰하기 위해 alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응, 조직 및 세포 함유물의 성분을 관찰하기 위해 Masson's trichrome 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

(3) 염색 친화도 판정

조직화학적 반응 후 점액세포의 염색 친화도 판정은 Pantone® Formula Guide coated first edition 2002 (Pantone Inc., USA)를 기준으로 고유번호를 ()안에 표시하였다.

(4) 유의성 검증

대조구에 대한 농도구들의 유의적인 차이 ($P < 0.05$)를 알아보기 위한 통계처리는 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 paired sample t-test를 하였다.

결 과

1. 산소소비율

실험 개시기에 대복의 산소소비율은 0.0127 $\text{mg O}_2/\text{ind.}/\text{hr.}$ 으로 나타났으며, 노출 4주 후에 대조구 그리고 0.4, 0.6, 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 농도구에서는 각각 0.0207, 0.0152, 0.0158, 0.0152 $\text{mg O}_2/\text{ind.}/\text{hr.}$ 으로 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$). 그러나 노출 12주째 0.4 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 농도구에서 산소소비율이 감소하여 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이가 나타났으며 ($P = 0.006$), 노출 28주째 0.4, 0.6, 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 농도구에서 각각 0.0073, 0.0084, 0.0082 $\text{mg O}_2/\text{ind.}/\text{hr.}$ 으로 대조구에 비해 산소소비율은 약 49.1~55.8% 감소하여 대조구와 유의적인 차이를 나타냈다 ($P = 0.049, 0.0049, 0.044$). 실험 마지

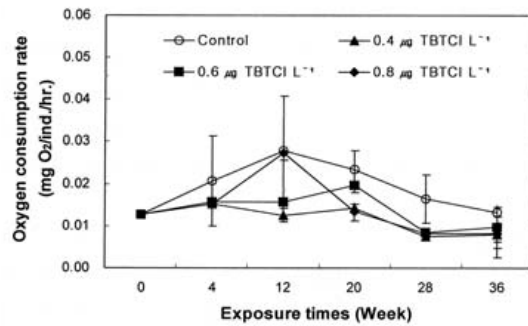


Fig. 1. Response of oxygen consumption rate with exposure times in the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI.

막주인 36주째에는 대조구의 산소소비율이 0.0133 $\text{mg O}_2/\text{ind.}/\text{hr.}$ 으로 28주 보다 약 19.4% 정도 감소하였기 때문에 28주째와 비슷한 값 (각각 0.0081, 0.0097, 0.0083)을 보였던 0.4, 0.6, 0.8 $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 농도구들은 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1).

2. 아가미의 조직병리학적 변화

대복의 아가미는 좌·우 각각 한 쌍으로 각각의 아가미는 넓은 빗모양이며 (Fig. 2A), 패각과 가까운 외부판 (outer demibranch)과 내장낭과 가까운 내부판으로 나누어진다. 이들 한 쌍의 좌·우 아가미판 (demibranch)은 각각 각정 부분의 외투막으로 부터 분화되었으며, 외부판은 내부판의 2/3 크기였다. 아가미판들은 두 장의 새판 (lamella)이 V자 형태로 부착되어 있으며, 이들 새판은 다수의 새엽다발이 양 옆으로 연결되어진 형태이다. 새판은 반대편의 새판 사이, 즉 아가미판의 골부분에 존재하는 새판연접 (interlamellar junction)에 의해 서로 연결되어 있었다 (Figs. 2B and C). 새엽다발은 다수의 새엽 (filament)으로 구성되는데 (Figs. 2B and C), 새판에서 하나의 새엽다발을 구성하는 새엽의 수는 평균 25개 (19~28, $n=10$)였다 (Fig. 2C). 새엽다발을 구성하는 새엽의 수는 마주보는 새엽다발과 동일하였고, 각 새엽다발의 내부에는 수관 (water tube)이 형성되어 있었으며, 새엽다발 내부의

양쪽 측면에는 각각 하나의 lamellae vessel이 존재하고 있었다 (Fig. 2C). 새엽다발을 구성하는 새엽은 긴 곤봉형으로 새엽 내부의 키틴질 기둥(chitinous rod)을 상피층이 둘러싸고 있었고

(Fig. 2D), 그 내부에는 혈림프동이 존재하고 있었다. 혈림프동들은 격벽에 의해 구분되어 있었으며, 내부에는 혈구들이 존재하였다 (Fig. 2F). 새엽에 존재하는 상피세포들은 그 위치에 따라

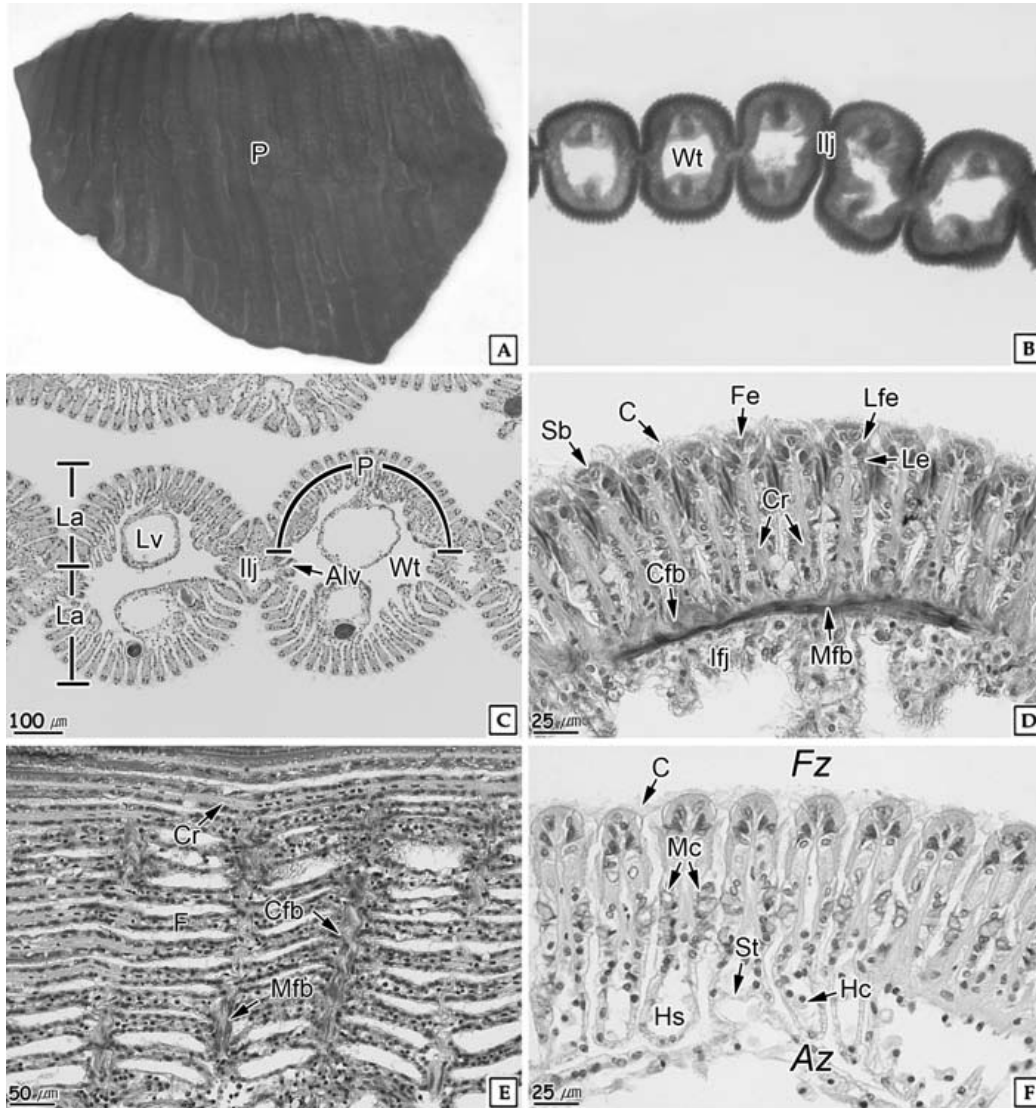


Fig. 2. Morphology and light microscopical feature of the gill of *Gomphina veneriformis*. A: Frontal view of the demibranch. $\times 7$. B: Cross semithin section of the demibranch. $\times 32$. C: Cross section of the demibranch, note each lamellae and plicae connected with interlamellar junction (Ilj). AB-PAS (pH 2.5) reaction. D: Cross section showing each filament (F) with cilia (C) connected with muscle fiber bundle (Mfb) and collagen fiber bundle (Cfb), and interfilamentary junction (ifj). Masson's trichrome stain. E: Longitudinal section of the demibranch, showing each filament connected with muscle fiber bundle and collagen fiber bundle. Masson's trichrome stain. F: Cross section showing the mucous cell (Mc) in filament. AB-PAS (pH 2.5) reaction. Az, abfrontal filament zone; Alv, auxiliary lamellar vessels; Cr, chitinous rod; E, epithelium; Fe, frontal ciliated epithelium; Fz, frontal filament zone; Hc, hemocyte; Hs, hemolymph sinus; La, lamellae; Le, lateral ciliated epithelium; Lfe, latero-frontal ciliated epithelium; Lv, lamellar vessel; P, plica; Sb, striated border; St, septum; Wt, water tube.

frontal filament zone의 정단 섬모상피세포 (frontal ciliated epithelium), 정단측면 섬모상피세포 (latero-frontal ciliated epithelium), 측면 섬모상피세포 (lateral ciliated epithelium)와 abfrontal filament zone의 abfrontal 상피세포로 나눌 수 있었으며 (Fig. 2D), 새엽들은 Masson's trichrome stain 결과 푸른색 (647c)으로 염색되는 교원섬유와 붉은색 (1807c)으로 염색되는 근섬유 그리고 abfrontal filament zone에서 관찰되는 새엽연접 (interfilamentar junction)에 의해 서로 연결되어 있었다 (Figs. 2D and E).

새엽에 존재하는 섬모들은 그 위치에 따라 정단섬모 (frontal cilia), 정단측면섬모 (latero-frontal cilia) 그리고 측면섬모 (lateral cilia)로 구분되어

졌다. 새엽의 정단부분에 존재하는 정단섬모는 길이가 가장 짧고, 분포정도 또한 가장 적은 섬모이며, 정단측면섬모는 정단섬모와 측면섬모 사이에 위치하며, 정단섬모를 향해 굽어 있다. 길이가 가장 길고 가장 많이 분포하는 측면섬모는 섬모대 (ciliary disc)를 형성하며, 이웃하는 섬모와 마주보고 있는 구조를 하고 있다 (Fig. 2D).

새엽에 존재하는 점액세포들은 주로 새엽의 frontal zone에 분포하고 있으며, 이들 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 푸른색 (542c)으로 반응하는 점액물질들을 가지고 있었다 (Fig. 2F).

TBTCl 노출 초기인 4주째에 모든 농도구들에게서는 혈구의 증가로 인하여 혈림프동이 확장되고 (Fig. 3A), 혈림프동을 구분 지어주는 격벽이

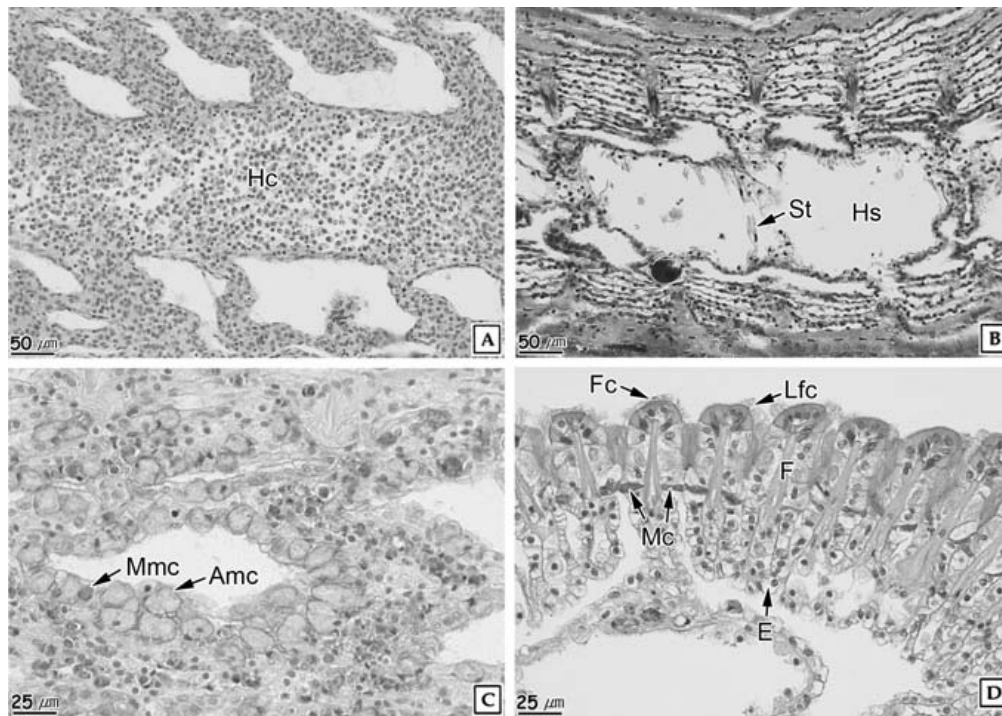


Fig. 3. Histological changes of gill of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCl for light microscope. A: $0.4 \mu\text{g TBTCl L}^{-1}$ at 4 weeks, showing the extended hemolymph sinus and increased hemocyte (Hc) in the filament. H-E stain. B: $0.4 \mu\text{g TBTCl L}^{-1}$ at 4 weeks, showing the destruction of septum (St). Masson's trichrome stain. C: $0.6 \mu\text{g TBTCl L}^{-1}$ at 12 weeks, showing the both weakly alcian blue positive mucous cell (Amc) and mixed mucous cell (Mmc) that have alcian blue positive mucosubstance and negative. AB-PAS (pH 2.5). D: $0.8 \mu\text{g TBTCl L}^{-1}$ at 12 weeks, note the decreased frontal (Fc) and latero-frontal cilia (Lfc), and mucous cell (Mc) in the plica. AB-PAS (pH 2.5) reaction. E, epithelium; F, filament; Hs, hemolymph sinus.

파괴되었다 (Fig. 3B). 노출 12주째 $0.4 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 정단섬모가 부분적으로 탈락되었으며, 새엽의 frontal zone에 존재하는 점액세포가 감소하였다. $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 정단섬모와 측면섬모가 부분적으로 탈락되었으며, AB-PAS (pH 2.5) 반응시 alcian blue에 약하게 반응하는 점액세포 (537c)가 증가함과 동시에 보라색 (2577c)으로 보이는 점액세포가 관찰되었다 (Fig. 3C). $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 정단섬모, 정단측면섬모, 측면섬모가 부분적으로 탈락되었으며, 새엽에 존재하는 점액세포가 감소하고, 새엽의 일부 상피세포가 비대되었다 (Fig. 3D). TBTCI 노출 20주째에는 $0.4 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구의 경우 측면섬모의 탈락

이 관찰되었으며 (Fig. 4A), $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 12주까지는 증가되었던 새엽의 점액세포들이 감소하고, 혈림프동내에서 혈구의 감소가 나타났으며, 새엽과 새엽을 연결해주는 근섬유다발의 부분적인 분절이 관찰되었다 (Fig. 4B). 28주째에는 아가미의 구조적인 변화가 더욱 심화되어 $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구의 경우에는 모든 정단섬모의 탈락과 새엽 상피세포의 변형이 관찰되고, $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 frontal과 abfrontal 상피층의 부분적인 탈락이 관찰되었다. TBTCI 노출 36주째에는 0.4 와 $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 농도구에서도 frontal과 abfrontal 상피세포의 부분적인 변형이 나타났고 (Fig. 4C), $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 모든 frontal

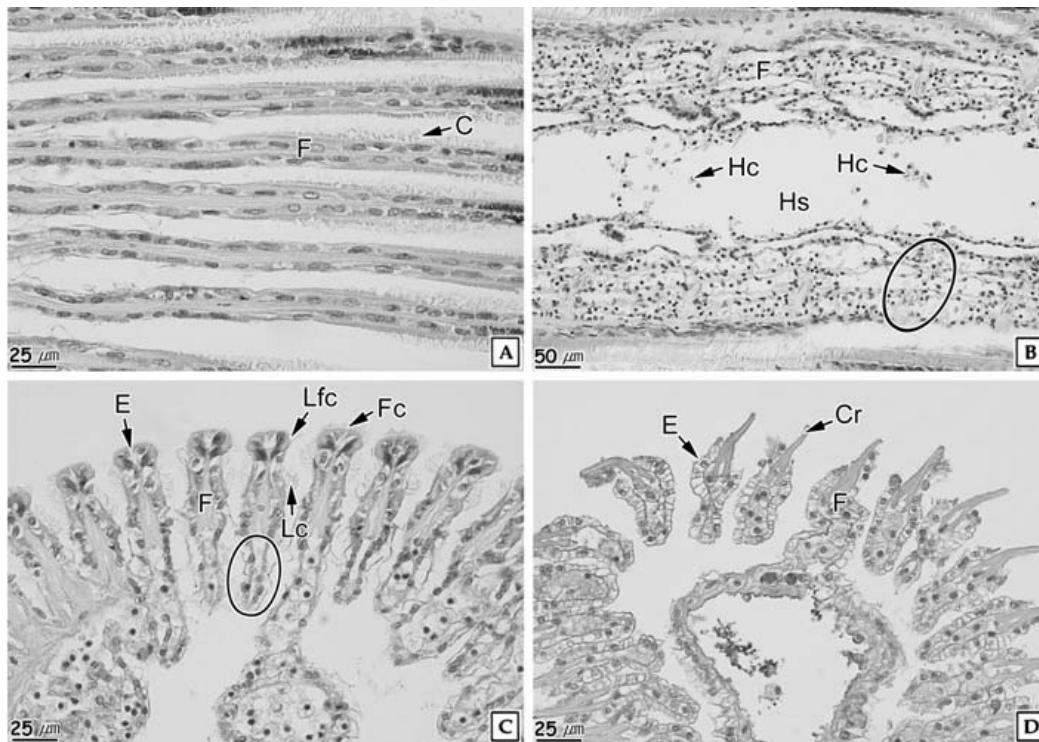


Fig. 4. Histological changes of gill of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI for light microscope. A: $0.4 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 20 weeks, note the partially disappearance of cilia (C) in the filament (F). AB-PAS (pH 2.5) reaction. B: $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 20 weeks, showing the extended hemolymph sinus (Hs) and cutted fiber bundle (circle) in longitudinal sectioned plica. H-E stain. C: $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 28 weeks, showing the partially destruction of abfrontal epidermal layer (circle) and partially disappearance of cilia in the filament. AB-PAS (pH 2.5) reaction. D: $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ at 36 weeks, showing the partially destruction of epidermal layer in the filament. AB-PAS (pH 2.5) reaction. Cr, chitinous rod; E, epithelium; Fc, frontal cilia; Hc, hemocyte; Lc, lateral cilia; Lfc, latero-frontal cilia.

상피층이 탈락되어 키틴질 기둥이 드러나는 새 엽을 관찰할 수 있었다 (Fig. 4D).

고 찰

이때패류에서 화학물질 및 중금속 등의 오염 원들은 외투막, 아가미, 신장, 발 그리고 소화선에 주로 축적되며 (Morrison, 1993; Pekkarinen, 1996), 직간접적으로 이들은 수서생물의 기관계 구조의 변화를 일으켜 생리학적 불균형을 초래한다 (Watling and Watling, 1982; Gregory *et al.*, 1999; Otludil *et al.*, 2004).

0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mg L⁻¹ 농도의 Nonylphenol에 7일 동안 노출된 바지락, *Tapes philippinarum*의 산소소비율을 측정된 결과 대조구를 제외한 모든 농도구에서 유의적인 차이를 보였으며, 특히 가장 높은 농도구인 0.2 mg NP L⁻¹에서는 산소소비율이 현저하게 감소 ($P < 0.001$)하였다 (Matozzo *et al.*, 2003).

0.2~0.25 mg Cu L⁻¹의 농도구에 노출된 진주담치, *M. edulis* (Delhaye and Cornet, 1975), 0.03 mg L⁻¹의 cadmium에 28일 동안 노출된 pocketbook mussel, *Lampsilis ventricosa* (Naimo *et al.*, 1992) 들은 모두 농도구에서 낮은 산소소비율이 나타났으며, 특히 17°C와 25°C의 50 µg Cu L⁻¹ 농도에 각각 3개월 동안 노출된 *Perna viridis*들은 두 가지 온도 모두 각각 12.8%와 24.8%의 산소소비율이 감소하여 대조구와 유의적인 차이 ($P < 0.05$)를 보였다 (Sze and Lee, 2000). 하지만 이와는 대조적으로 0.5~10 µg TBT L⁻¹의 농도에 노출된 *M. edulis*들은 대조구와 비교 하였을 때 산소소비율이 증가하였고 (Widdows and Page, 1993), 20일 동안 0.01 mg Cu L⁻¹의 농도에 노출된 *Ruditapes decussatus*의 경우에도 대조구보다 높은 산소소비율을 나타내었는데, 이들은 노출 2 일째 120%가 증가한 후 감소하고, 노출 10일부터 다시 증가하여 노출 20일째에는 산소소비율이 150%로 증가하여 대조구와 유의적인 차이 ($P < 0.01$)를 보였다 (Sobral and Widdows, 1997).

본 실험에서 TBTCI 노출 12주 동안 산소소비율의 상승을 보인 반면 이후 서서히 감소하여 노출 28주째부터는 대조구 보다 49.1~55.8%로 산소소비율이 감소하였고, 이로 인하여 대조구와 유의적인 차이를 보였다. 이러한 결과는 TBTCI 노출 초기에 순치를 위하여 대사율을 상승시키는 대복의 생리적 적응과정으로 여겨지며, 노출기간이 길어짐에 따라 높은 산소소비율에 기인한 빠른 대사과정에 의해 오염원의 체내 흡수 및 축적이 높아지고, 그로 인해 아가미의 구조적인 변화가 초래되어 생리적 장애가 발생하고, 산소소비율이 감소한 것으로 여겨진다.

이때패강의 아가미 형태는 크게 원새 (protobranch), 사새 (filibranch), 판새 (lamellibranch)의 3가지 type으로 나뉘며 (Morse and Zardus, 1997), 판새는 주로 백합과 이때패류의 아가미 형태로 내부판 보다 짧은 외부판을 가지고, 광학 현미경상으로 볼 때 길이가 서로 다른 새엽이 서로 연결되어 있어 V자 구조로 된 하나의 얇은 판처럼 보인다 (Eble, 2001).

대복과 같은 판새형 아가미들은 좌·우 각각 한쌍의 아가미판을 가지고 있으며, 각각의 아가미판들은 두장의 새판이 붙어 있는 형태이다. 새판에는 다수의 새엽다발을 가지는데 이들 새엽다발은 새엽연접에 의해 여러개의 새엽들이 연결되어져 있는 형태이다. 아가미의 새엽은 단층 원주형상피세포이지만, 많은 연구자들은 상피세포의 위치와 섬모의 유무에 따라 3~5개로 상피세포들을 나누었다 (Nelson, 1960; Morton, 1976; 1980; 1983; Silvester and Sleight, 1984; Beninger *et al.*, 1988; Eble, 2001; Gomez-Mendikute *et al.*, 2005; David *et al.*, 2007). 대복은 섬모를 가지는 3 종류의 상피세포와 섬모가 존재하지 않는 1 종류의 상피세포로 나눌 수 있었다.

수중의 중금속 (Cu, Cl, Fe, HCl) 오염원에 의한 굴, *Crassostrea gigas*, 진주담치, *M. edulis*, 바지락, *T. philippinarum*의 아가미의 구조적 이상으로는 새엽 상피층의 분리, 혈림프동의 확장, 새엽 섬모대의 소실 그리고 새엽 상피층의 분리와 파괴

등 아가미로써의 기능을 상실한 조직상들이 관찰되었다 (Kim and Lee, 1988).

카드뮴에 노출된 대복 아가미에서는 노출 초기에 혈림프동이 확장되었으며, 산성점액세포의 증가와 중성점액세포의 감소, 섬모탈락, 새엽의 분리, 산성점액세포의 감소 그리고 새엽상피층의 소실이 관찰되었다 (Park *et al.*, 2006). 아연에 노출된 대복의 아가미는 노출 초기 혈림프동이 확장되었으며, 이후 혈구의 증가와 정단섬모의 부분적인 탈락이 관찰되었다. 노출 마지막주에는 측면섬모의 탈락과 정단상피세포의 괴사와 부분적인 상피층의 박리가 관찰되었다 (Ju, 2006). 수은에 노출된 *Ostrea edulis*의 아가미는 노출 18일 이후 혈구의 증가와 새엽 상피세포의 파괴가 관찰되고, 키틴질 기둥이 변형되었으며, 새엽 상피세포의 기저부가 공포상으로 관찰되었다. 노출 18일째에는 섬모의 원형질막이 팽창되어 횡단면이 커진 discocilia와 팽창된 미세용모가 관찰되었다. 노출기간 동안 분비세포의 수는 대조구에 비해 감소하였으며, 분비세포의 크기는 증대되었다 (Bigas *et al.*, 2001).

수은에 노출된 brown mussel, *P. perna*의 아가미는 노출 16일부터 24일까지 미세용모 굽기의 증가, abfrontal cilia의 탈락, 섬모의 탈락과 새엽 상피세포의 괴사가 관찰되었다. 또한 노출 16일부터 측면섬모가 증가하여 24일째에는 측면섬모 다발이 관찰되었고, 정단섬모 쪽으로 굽어 있던 정단측면섬모가 곧게 펴지는 형태적인 변화가 나타났다 (Gregory *et al.*, 1999).

TBTCI 노출 12주째에는 점액세포들이 증가하였는데, 이들 점액세포의 점액물질들은 대조구의 점액물질 (647c)에 비해 alcian blue에 약하게 반응 (537c)하였고, 보라색 (2577c)으로 반응하기도 하였다. 이러한 결과는 점액세포가 증가하면서 점액성상이 중성으로 변화하는 것으로 생각되어진다. 하지만 노출 20주째부터는 이들 점액세포들이 다시 감소하였다.

이러한 아가미의 구조적인 변화는 기능적인 장애를 유발하는데, 0.5 mg Cu L⁻¹의 농도에 노출

된 진주담치, *M. edulis*의 경우에는 아가미 상피세포의 파괴로 인해 측면섬모 운동에 장애가 생기고 그로 인해서 아가미로 흘러드는 물의 흐름이 원활하지 않게 된다 (Manley, 1983).

광학현미경적 관찰 결과 TBTCI에 노출된 대복 아가미는 섬모의 탈락과 점액세포의 정상 변화 및 감소와 같은 조직병리학적 변화가 나타났는데, 이러한 섬모운동의 억제와 점액물질의 변화 등은 에너지 소비과정의 방해로 인해 산소 소비율의 감소를 유발하며, 간접적으로는 여수율과 같은 생리적인 활동에 쓰이는 에너지가 감소하여 산소소비율의 감소를 동반하게 된다 (Abel, 1976; Sze and Lee, 2000). 따라서 본 연구에서 노출 12주째 0.8 µg TBTCI L⁻¹ 농도구에서 나타나는 정단상피세포와 정단측면상피세포의 비대는 아가미 새엽의 구조적인 변형으로 인한 기능적인 장애를 극복하기 위한 반응으로 생각되어진다.

본 연구에서는 전자현미경을 이용하여 대복 아가미의 미세구조적 변화에 대한 연구를 시행하지 않았기 때문에 TBTCI에 의한 아가미의 세포학적 변화를 설명하기는 어렵다. 따라서 아가미의 구조적인 변화와 세포소기관과의 관계는 추후 연구되어야 할 것이다.

요 약

TBTCI의 농도구 (0.4, 0.6, 0.8 µg TBTCI L⁻¹)에 36주 동안 노출된 대복, *Gomphina veneriformis*의 산소소비율과 아가미의 조직병리학적 변화를 관찰하였다. 대복의 산소소비율은 노출 12주째부터 유의적인 차이가 나타나기 시작하여 노출 28주째에는 모든 농도구에서 유의적인 차이를 보였다. 좌·우 각각 두 장의 전형적인 판새형 아가미를 가지는 대복은 그 위치에 따라 정단섬모, 정단측면섬모, 측면섬모로 구분되었으며, 측면섬모가 가장 길고, 가장 많이 분포하고 있었다. 아가미의 frontal filament zone에 주로 분포하는 점액세포들은 산성점액물질 (542c)로 구

성되어 있었다. TBTCI에 노출된 대복의 아가미는 노출 4주째에 혈림프동이 확장되고, 혈구가 증가하였다. 이후 점액세포가 증가하고, 정단섬모가 부분적으로 탈락하였으며, 12주째 0.8 μg TBTCI L-1의 농도구에서는 일부 상피세포가 비대되었다. 노출 20주째에는 점액세포가 감소하였으며, 점액물질은 약산성으로 변화하고, 근섬유다발의 부분적인 분절이 관찰되었다. 노출 마지막주인 36주째에는 상피세포의 변형과 0.8 μg TBTCI L-1의 농도구에서는 정단상피세포와 정단측면상피세포가 탈락되어 키틴질 기둥이 드러나는 새엽을 관찰할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Abel, P.D.: Effects of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus edulis*. Mar. Poll. Bull., 7: 228-231, 1976.
- Allen, J.A.: Preliminary experiments on the feeding and excretion of bivalves using *Phaeodactylum* labelled with ^{32}P . J. Mar. Biol. Ass. U.K., 42: 609-623, 1962
- Asmus, R.M. and Asmus, H.: Phytoplankton-mussel bed interactions in intertidal ecosystems. In: Bivalve filter feeders in estuarine and coastal ecosystem processes NATO, A.S.I. Series, Vol. G33, Dame, R.F. ed. Springer-Verlag, Berlin, pp. 57-84, 1993.
- Beninger, P.G., Le Pennec, M. and Salaun, M.: New observations of the gills of *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia), and implications for nutrition. Mar. Biol., 98: 61-70, 1998.
- Bigas, M., Durfort, M. and Poquet, M.: Cytological effects of experimental exposure to Hg on the chilled epithelium of the European flat oyster *Ostrea edulis*: ultrastructural and quantitative changes related to bioaccumulation. Tissue Cell, 33: 178-188, 2001.
- Cranford, P.J. and Grant, J.: Particle clearance and absorption of phytoplankton and detritus by the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 137: 105-121, 1990.
- David, J.A.O., Salaroli, R.B. and Fontanetti, C.S.: Fine structure of *Mytella falcata* (Bivalvia) gill filaments. Micron., doi:10.1016/j.micron.2007.06.002, 2007. [Article in Press, Corrected Proof]
- Delhaye, W. and Cornet, D.: Contribution to the study of the effect of copper on *Mytilus edulis* during reproductive period. Comp. Biochem. Physiol., 50A: 511-518, 1975.
- Drury, R.A.B. and Wallington, E.A.: Carleton's histological technique. Oxford University Press, Oxford, pp. 520, 1980.
- Dubey, S.K. and Roy, U.: Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria. Appl. Organometal Chem., 17: 3-8, 2003.
- Eble, A.F.: Biology of the hard clam. In: Anatomy and histology of *Mercenaria mercenaria*, Vol. 6A, Kraeuter J.N. and Castagna, M. eds. Elsevier, New York, pp. 117-220, 2001.
- Foster-Smith, R.L.: The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production on *Mytilus edulis* (L.), *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (Montagu). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 17: 1-22, 1975.
- Gauthier-Clerc, S., Pellerin, J., Blaise, C. and Gagné, F.: Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? Comp. Biochem. Physiol., 131: 457-467, 2002.
- Gerdes, D.: The Pacific Oyster *Crassostrea gigas* Part I. Feeding behaviour of larvae and adults. Aquaculture, 31: 195-219, 1983.
- Gomez-Mendikute, A., Elizondo M., Venier, P. and

- Cajaraville, M.P.: Characterization of mussel gill cells in vivo and in vitro. *Cell Tissue Res.*, 321: 131-140, 2005.
- Gregory, M.A., George, R.C., Marshall, D.J., Anandraj, A. and McClurg, T.P.: The effect of mercury exposure on the surface morphology of gill filaments in *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia). *Mar. Pollut. Bull.*, 39: 116-121, 1999.
- Griffiths, R.J.: Filtration, oxygen consumption and assimilation in the black mussel *Choromytilus meridionalis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 3: 63-70, 1980.
- Hinch, S.G. and Stephenson, L.A.: Size- and age-specific patterns of trace metal concentrations on fresh water clams from an acid-sensitive and a circumneutral lake. *Can. J. Zool.*, 65: 2436-2442, 1987.
- Ju, S.M.: Biological response of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) with zinc bioaccumulation. Master Thesis, Yosun National University, Yosun, Korea. pp. 51, 2006.
- Kim S.Y. and Lee, T.Y.: The effects of pollutants effluent from a steam-power plant on coastal bivalves. *Ocean. Res.*, 10(1): 47-56, 1988.
- Laughlin, R.B., Guard, Jr., H.E. and Coleman III, W.M.: Tributyltin in seawater: speciation and octanol-water partition coefficient. *Environ. Sci. Technol.* 20: 201-204, 1986.
- Manley, A.R.: The effects of copper on the behaviour, respiration, filtration and ventilation activity of *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 63: 205-222, 1984.
- Matozzo, V., Deppieri, M., Maschino, V. and Marin, M.G.: Evaluation of 4-nonylphenol toxicity in the clam *Tapes philippinarum*. *Environ. Res.*, 91: 179-185, 2003.
- Morrison, C.M.: Histology and cell ultrastructure of the mantle and mantle lobes of the Eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin: A summary atlas. *Amer. Malac. Bull.*, 10(1): 1-24, 1993.
- Morse, M.P. and Zardus, J.D.: Bivalvia. In: *Microscopic anatomy of invertebrates*, Vol. 6A, Mollusca II, Harrison, F.W. and Kohn, A.J. eds. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, New York, pp. 7-118, 1997.
- Morton, B.S.: The biology and functional morphology of the weisted ark *Trisidos semitorta* (Bivalvia: Arcacea) with a discussion on shell "torsion" in the genus. *Malacologia*, 23: 375-396, 1983.
- Morton, B.S.: The biology and functional morphology of the weisted ark *Trisidos semitorta* (Bivalvia: Arcacea) with a discussion on shell "torsion" in the genus. *Malacologia*, 23: 375-396, 1983.
- Morton, B.S.: The biology, ecology and functional aspects of the organs of feeding and digestion of the South East Asian mangrove bivalve, *Enigmonia aenigmatica* (Mollusca: Anomiacea). *J. Zool. Lond.*, 179: 437-466, 1976.
- Naimo, T.J., Atchison, G.J. and Holland-Bartels, L.E.: Sublethal effects of cadmium on physiological responses in the pocketbook mussel, *Lampsilis ventricosa*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11: 1013-1021, 1992.
- Nelson, T.C.: The feeding mechanism of the oyster. II. On the gills and palps of *Ostrea edulis*, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea angulata*. *J. Morphol.*, 107: 163-191, 1960.
- Otludil, B., Cengiz, E.I., Yildirim, M.Z., Unver, O. and Ünlü, E.: The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbis planorbis* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. *Chemosphere*, 56:

- 707-716, 2004.
- Palmer, R.E.: Behavioral and rhythmic aspects of filtration in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* (Say), and the oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 45: 273-295, 1980.
- Park, J.J., Lim, K.H., Park, J.C., Jeong, S.A., Kwak, I.S., Cho, H.S., Shin, H.C. and Lee, J.S.: The effect of long-term cadmium exposure on the organ structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). Bull. Fish. Sci. Inst. Chonnam Nat'l Univ., 15: 10-20, 2006.
- Pekkarinen, M.: Scanning electron microscopy, whole-mount histology, and histochemistry of two *Anodontine glochidia* (Bivalvia: Unionidae). J. Zool., 74: 1964-1973, 1996.
- Quinn, B., Gagné, F., Costello, M., McKenzie, C., Wilson, J. and Mothersill, C.: The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). Aquat. Toxicol., 66: 297-292, 2004.
- Rasmussen, L.P.D., Hage, E. and Karlog, O.: Light and electron microscopic studies of the acute and chronic toxic effects of N-nitroso compounds on the marine mussel, *Mytilus edulis* (L). II. N-methyl-N-nitro-N-nitrodoguanidine. Aquat. Toxicol., 3: 301-311, 1983.
- Regoli, F. and Orlando, E.: Accumulation and sub-cellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in the *Mediterranean mussel*, *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment. Mar. Pollut. Bull., 28: 592-600, 1994.
- Riisgård, H.U.: Efficiency of particle retention and filtration rate in 6 species of Northeast American bivalves. Mar. Ecol. Prog. Ser., 45: 217-223, 1988.
- Schulte, E.H.: Influence of algal concentration and temperature on the filtration rate of *Mytilus edulis*. Mar. Biol., 30: 331-341, 1975.
- Shumway, S.E., Cucci, T.L., Newell, R.C. and Yentsch, C.M.: Particle selection, ingestion, and absorption in filter-feeding bivalves. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 91: 77-92, 1985.
- Silvester, N.R. and Sleight, G.H.: Hydrodynamic aspect of particle capture by *Mytilus*. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 64: 859-879, 1984.
- Sobral, P. and Widdows, J.: Effects of copper exposure on the scope for growth of the clam *Ruditapes decussatus* from southern Portugal. Mar. Pollut. Bull., 34: 992-1000, 1997.
- Sunila, I. and Lindström, R.: Survival, growth and shell deformities of copper-and cadmium-exposed mussels, *Mytilus edulis* L. in Brackish water. Estuar. Coast. Shellf Sci., 21: 555-565, 1985.
- Sunila, I.: Acute histopathological responses of the gill of the mussels, *Mytilus edulis*, to exposure by environmental pollutants. J. Invert. Pathol., 52: 137-141, 1988.
- Sunila, I.: Chronic histopathological effects of short-term copper and cadmium exposure on the gill of the mussels, *Mytilus edulis*. J. Invert. Pathol., 47: 125-142, 1986.
- Sze, P.W.C. and Lee, S.Y.: Effects of chronic copper exposure on the green mussel *Perna viridis*. Mar. Biol., 137: 379-392, 2000.
- U.S. E.P.A.: Ambient aquatic life water quality criteria for tributyltin (TBT)-final. United States Environmental Protection Agency, Washington D.C., pp. 129, 2003.
- Watling H.R. and Watling, R.J.: Comparative effects of metals on the filtering rate of brown mussel, *Perna perna*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 29: 651-657, 1982.
- Widdows, J. and Page, D.S.: Effects of tributyltin and dibutyltin on the physiological energeti-

- ca of the mussel, *Mytilus edulis*. Mar. Environ. Res., 35: 233-249, 1993.
- Winter, J.E.: A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture, 13: 1-33, 1978.
- Yoo, J.S.: Korean shells in color. Iljisa Pub. Co., Seoul, pp. 196, 1976.

Manuscript Received : March 10, 2008

Revision Accepted : April 14, 2008

Responsible Editorial Member : Sung Hee Jung
(NFRDI)