

## 대복, *Gomphina veneriformis*의 생존 및 저질 잠입성에 미치는 TBTCI의 독성

박정준<sup>†</sup> · 진영국 · 이정식  
전남대학교 수산해양대학 수산생명의학과

### Tributyltin chloride (TBTCI) toxicity on the survival rate and burrowing activity of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)

Jung Jun Park<sup>†</sup>, Young Guk Jin 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 responses of bivalves exposed to organotin compound. The results of the study confirmed that tributyltin chloride (TBTCI) induce reduction of survival rate and burrowing activity, and histopathological feature in the foot structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. The experimental period was 36 weeks. The experimental groups consisted of a control and 3 TBTCI exposure groups (0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ ). The survival rate and burrowing activity were recorded daily. For histological analysis, foot 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  $\mu\text{m}$ . The survival rate was not significantly different between the control and exposure groups for 20 weeks, but in 0.8  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ , it was on the decreased ever since the exposure. The burrowing activity was not significantly different in the exposure group compared to the control up to 12 weeks, but in 0.6 and 0.8  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ , it measured the lowest level after 20 weeks. The foot is composed of the epidermal layer, connective tissue, and muscular layer. The epidermal layer is composed of simple columnar, cuboidal epithelia and mucous cells. The cilia were well developed on the apical surface of epithelium. Circular, longitudinal and transverse muscle bundle were well developed in the muscular layer. The majority mucous cells showed blue color (542c) when it subjected to AB-PAS (pH 2.5) reaction. No histopathological alterations in the foot were observed up to 12 weeks. After 20 weeks of exposure to 0.8  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ , the foot samples of exposed *G. veneriformis* showed disappearance of cilia and striated border partially and extension of hemolymph sinus. The mucous cell increased in the marginal of foot. At 28-week of exposure to 0.4  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ , it observed weekly acid (564c), neutral (264c) and mixed mucous cell. At 36-week of exposure to 0.6  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ , it showed fragmentation of the muscle and collagen fiber bundle, and also disappearance of cilia on epithelia and edema of epithelium in 0.8  $\mu\text{M}$  TBTCI  $\text{L}^{-1}$ .

*Key words:* *Gomphina veneriformis*, Survival rate, Burrowing activity, Foot, TBTCI

내분비계장애물질 또는 환경호르몬이란 인간 내분비계 조절기작을 어지럽히는 유해화학물질의 산업 활동 결과로 만들어진 물질로 동물을 을 일컫는 용어이다. Dioxin, polychlorinated

<sup>†</sup>Corresponding Author : Jung Jun Park, Tel : +82-61-659-3172;  
Fax : +82-61-659-3172 E-mail : jungjun515@hanmail.net

biphenyls (PCB), tributyltin (TBT) 등이 이에 포함되는데, 이들 화학물질들은 동물체내로 유입되어 마치 호르몬처럼 작용하여 본래의 조절기능을 방해하는 것으로 알려져 있다.

유기주석화합물은 1850년대 처음 발견된 이후 1960년대부터 상업적으로 많이 이용되어 왔고 (Dubey and Roy, 2003), 1960년대 이후 TBT와 triphenyltin (TPT)의 방오효과의 우수함이 알려지면서 유기주석화합물의 사용량이 급증하였다. 부착생물방지제가 해양으로 유입되는 주된 형태는 tributyltin oxide (TBTO)이며, 해양으로 유입된 TBTO는 수화된 TBT 양이온으로 해리된 후  $Cl^-$ ,  $HCO_3^-$ ,  $OH^-$  등과 결합한다. 수중의 오염원들은 이매패류의 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 사실을 여러 연구자들이 보고하였다 (Abel, 1976; Watling and Watling, 1982; Sunila and Lindström, 1985; Regoli and Orlando, 1994; Gregory *et al.*, 1999 Otludil *et al.*, 2004).

또한 TBT를 포함한 내분비계장애물질이 생물체내에 축적되어 일어나는 현상을 규명하기 위하여 해양생물을 이용한 생물검정법이 널리 쓰이고 있는데, 이러한 인위적인 생물체내의 오염원 노출실험으로 생물체의 각 생활사와 기관계에 미치는 영향을 조직학적으로 관찰하고, 생리학적으로 이해하는 것은 이들 오염물질로 인한 영향을 정확히 평가하는데 있어 반드시 필요하다.

이매패류의 저질잠입이란 발을 이용하여 저질에 흠을 만들어 파고드는 습성을 말하며, 이들은 발 근육을 수축, 이완하면서 저질 안으로 잠입한다 (Brand, 1976). 또한 대부분의 이매패류들은 저질안 깊숙이 파고들면서 입·출수공만 저질 표면 밖으로 내어 먹이를 섭식하여 수질정화 기능을 한다.

수중의 오염원이 수서생물의 기관계 구조에

미치는 영향에 관한 연구는 카드뮴과 구리, 기타 수중 오염원 노출에 따른 진주담치, *Mytilus edulis* 아가미의 조직병리학적 변화 (Sunila, 1986, 1988), 이매패류인 brown mussel, *Perna perna*의 새엽 형태에 미치는 수은의 영향 (Gregory *et al.*, 1999) 등 주로 아가미 구조의 변화에 대한 연구가 대다수를 차지하며, 국내외적으로 이매패류의 운동성과 발의 구조적 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 분포하지만, 특히 강원도 연안에 가장 많이 서식하고 있다 (Yoo, 1976).

본 연구는 TBTCI에 노출된 대북의 생존과 운동성의 변화와 발의 조직학적인 반응사이의 연관관계를 파악하는데 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 실험 개체수는 125개체였다.

### 2. 방법

#### 1) 사육조건

채집한 개체들은 실험실로 운반하여 지수형 순환여과식 수조에 2주 동안 순치시켰다. 순치기간 동안 환경상태 등을 측정하고, 사망개체는 사육수조 안에서 제거하였다. 본 실험에서 사용한 수조는 30 ℓ의 지수형 순환여과식 사각 유리수조로써 수조의 내부는 실험중의 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  $\text{mL}^{-1}$ 를 2~3일에 1회씩 공급하였고, 사육수 교환은 먹이 공급시 사육수의 1/2씩 교환하였다.

실험기간 동안 수온의 변화를 알아보기 위해 매일 오전 9시와 오후 5시에 각 수조의 수온을 측정하여 주별로 평균값을 나타내었다.

## 2) 실험기간

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

## 3) 오염원

본 연구에 사용된 오염원인 tributyltin chloride (TBTCI;  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_3\text{SnCl}$ , Sigma)를 acetone ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ , 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  $100 \text{ mg L}^{-1}$  농도인 substock solution을 만들었다. TBTCI substock solution은 각각의 TBTCI 노출 실험수조에 희석하여 사용하였다.

## 4) 실험구

TBTCI 노출실험에 노출구의 농도를 정하기 위해 TBTCI이 인위적으로 첨가되지 않은 수조를 대조구로 하였으며, 두 차례에 걸친 예비실험을 통하여  $\text{LC}_{50}$  값 ( $20.0 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ )의 25배 희석 농도인  $0.8 \text{ TBTCI } \mu\text{g L}^{-1}$ 을 가장 높은 농도구로 정하였으며, 그 보다 낮은 값인 0.6과  $0.4 \text{ TBTCI } \mu\text{g L}^{-1}$ 를 실험구로 하였다.

## 5) 결과분석

### (1) 생존율

대복의 생존율은 실험기간 동안 각 농도구 별로 매일 오전 9시와 오후 5시에 관찰하였다. 사망 여부의 판단은 모래 밖으로 나와 패각을 벌리고 있으며, 인위적인 자극시 반응하지 않는 개체를 사망한 개체로 판단하였다. 생존율 계산은 전체 실험개체수에서 누적사망 개체수를 뺀 값을 생존율로 환산하였다.

### (2) 저질 잠입성

대복은 발을 이용하여 저질속에 들어가는 잠입성이 있으며, 저질 속에서 입·출수공을 밖으로 내어 물을 교환하기 때문에 오염원 노출 실험기간 동안 대복의 운동성은 수조의 저질속에 들어가 있는 개체는 잠입성이 있는 개체로 판단하였고, 모래 밖으로 나온 개체는 잠입성이 없는 개체로 판단하여, 각 농도구별로 매일 오전 9시와 오후 5시에 확인하였다.

### (3) 조직학적 방법

대조구를 포함한 각 농도구의 수조에서 매주 5개체를 조직학적 분석에 이용하였다. 채집된 재료는 각장, 각고, 전중량, 육중량 및 각중량을 측정 후 해부하여 발 일부를 절취하였다.

광학현미경 표본을 위해 절취한 시료들은 Drury and Wallington (1980)의 방법에 따라 Bouin's fluid에 12시간 동안 고정하고, 24시간 동안 수세하였다. 그 후 단계별 ethanol 탈수과정 후 paraplant (McCormick, USA)에 포매하였다. 포매된 시료는 microtome (RM2235, Leica, Germany)을 이용하여  $4 \sim 6 \mu\text{m}$  두께로 연속 절편하여 조직표본을 만들었다.

발의 구조와 세포형태를 관찰하기 위하여 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.

### (4) 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.

### (5) 유의성 검증

대조구에 대한 농도구들의 유의적인 차이 ( $P < 0.05$ )를 알아보기 위한 통계처리는 SPSS 통

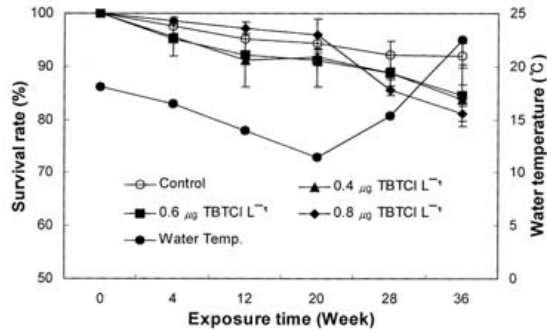


Fig. 1. Survival rate of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI.

계 프로그램을 이용하여 paired sample t-test를 하였다.

## 결 과

### 1. 생존율

실험기간 동안 생존율은 Fig. 1에 나타냈다. 실험 후 4주째에 대조구와 TBTCI 농도구인 0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 생존율은 각각 97.50%, 95.52%, 95.20%, 98.62% 였다. 이후 노출 28주째에 대조구의 생존율이 92.20%인데 반해 가장 높은 농도구인 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 생존율은 85.50%로 감소하여 유의적인 차이를 보였다 ( $P=0.009$ ). 노출 마지막주인 36주째에 대조구의 생존율은 92.00%로 나타났지만 0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 생존율은 각각 83.83% ( $P=0.025$ ), 84.51% ( $P=0.023$ ), 81.15% ( $P=0.008$ )로 감소하여 유의적인 차이를 보였다.

### 2. 저질 잠입성

36주 동안 TBTCI에 노출된 대복의 저질 잠입성을 주 별로 나타내었다 (Fig. 2). 노출 20주째부터 대조구와 0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  농도구에서는 각각 98.54%, 96.40%, 97.31%, 95.37%를 보여 0.6과 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  농도구에서는 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이를 보였다

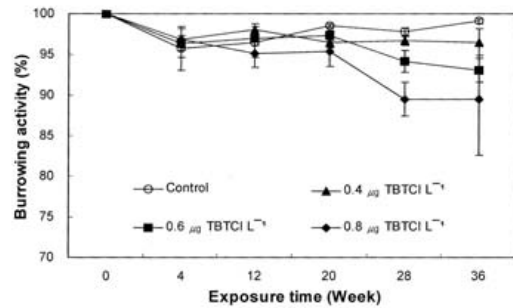


Fig. 2. Burrowing activity of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI.

( $P=0.005, 0.027$ ). 노출 28주째 가장 높은 농도구인 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 에서는 89.47%로 저질 잠입성이 감소하여 대조구와 유의적인 차이를 보였으며 ( $P=0.005$ ), 실험 마지막 주인 36주째에는 대조구와 0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  농도구에서 각각 99.11%, 96.50%, 93.00%, 89.41%의 실험체가 저질 안으로 잠입해 있었기 때문에 모든 농도구들은 대조구와 유의적인 차이를 보였다 ( $P=0.043, 0.003, 0.014$ ).

### 3. 발의 조직병리학적 변화

대복 발의 외부형태는 내장낭의 기저부와 융합되어 있으며, 좌·우로 평평하고, 납작한 도끼모양이다. 광학현미경으로 관찰하였을 때 발은 다수의 주름으로 덮여 있었으며, 외부로부터 상피층, 결합조직층과 근육층으로 구성되어 있었고, 근섬유 다발이 조밀하게 모여 있는 발의 중앙부위에는 혈림프동이 존재하고 있었다 (Fig. 3A). 발의 앞 부분 (anterior tip)은 상피층의 하단부에 넓은 결합조직층이 존재하고 있었다 (Fig. 3B). 상피층은 단층의 섬모상피세포와 점액세포로 구성되어 있었다. 주름의 융기부분에 존재하는 상피세포들은 원주형이었으며, 주름의 홈에 존재하는 상피세포는 키가 작은 원주형 또는 입방형이었다. 상피세포의 핵은 세포의 기저부에 위치하고 있었으며, 상피층의 자유면에는 미세

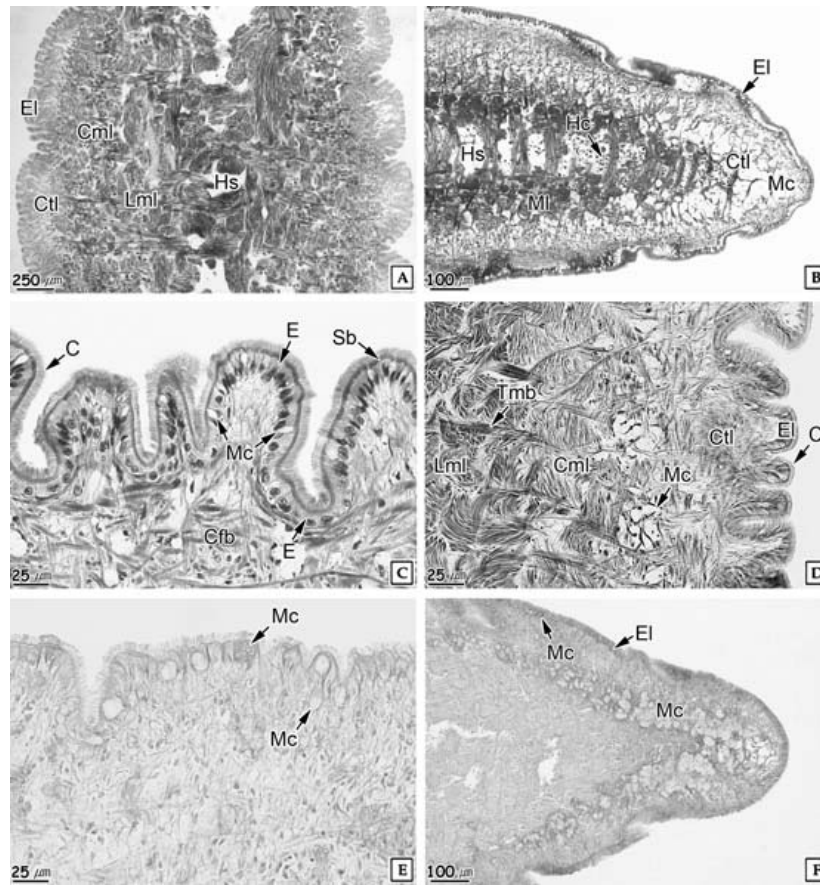


Fig. 3. Light microscopical feature of the foot of *Gomphina veneriformis*. A: Longitudinal section, showing the muscular layer that divided circular muscle layer (Cml) and longitudinal muscle layer (Lml), and connective tissue layer (Ctl) was covered with epidermal layer (El). Masson's trichrome stain. B: Anterior tip, showing the extensive connective tissue layer. Masson's trichrome stain. C: Epidermal layer, showing to constitute single ciliated epithelium (E) and mucous cell (Mc). Masson's trichrome stain. D: Longitudinal section, note fine reticular circular muscle layer and longitudinal muscle layer binding muscle fiber bundle (Mfb). Masson's trichrome stain. E: Epidermal layer, showing the mucous cell (Mc). AB-PAS (pH 2.5) reaction. F: Anterior tip, showing the numerous mucous cell on connective tissue layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. Hc, hemocyte; Hs, hemolymph sinus; Sb, striated border; Tmb, transverse muscles bundle.

용모와 점액물질이 융합된 선조연의 발달이 뚜렷하였다 (Fig. 3C). 결합조직층은 소성결합조직층으로서 일부 교원섬유 및 근섬유로 구성되어 있었으며, 상피층에서 확장된 점액세포들이 존재하고 있었다. 근육층은 가로의 근섬유 다발을 가지는 환상근층과 세로의 근섬유 다발을 가지는 종주근층으로 구성되어 있었으며, 근육층의 사이에는 두꺼운 횡문근다발 (transverse muscle bundle)이 존재하고 있었다 (Fig. 3D).

발의 중간부위와 가장자리부위의 상피층에 존

재하고 있는 원형의 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5)에 반응하였을 때 alcian blue에 푸른색 (542c)으로 반응하였으며 (Fig. 3E), 발 앞부분에서 결합조직층에 존재하는 점액세포는 alcian blue에 약하게 (5517c) 반응하였다 (Fig. 3F).

TBTCI에 노출된 대복은 노출 12주째 까지 특이할만한 조직학적인 변화가 나타나지 않았지만, 노출 20주째에  $0.6 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 상피층과 결합조직층에 존재하는 점액세포가 감소하였고 (Fig. 4A), 가장 높은 농도구인

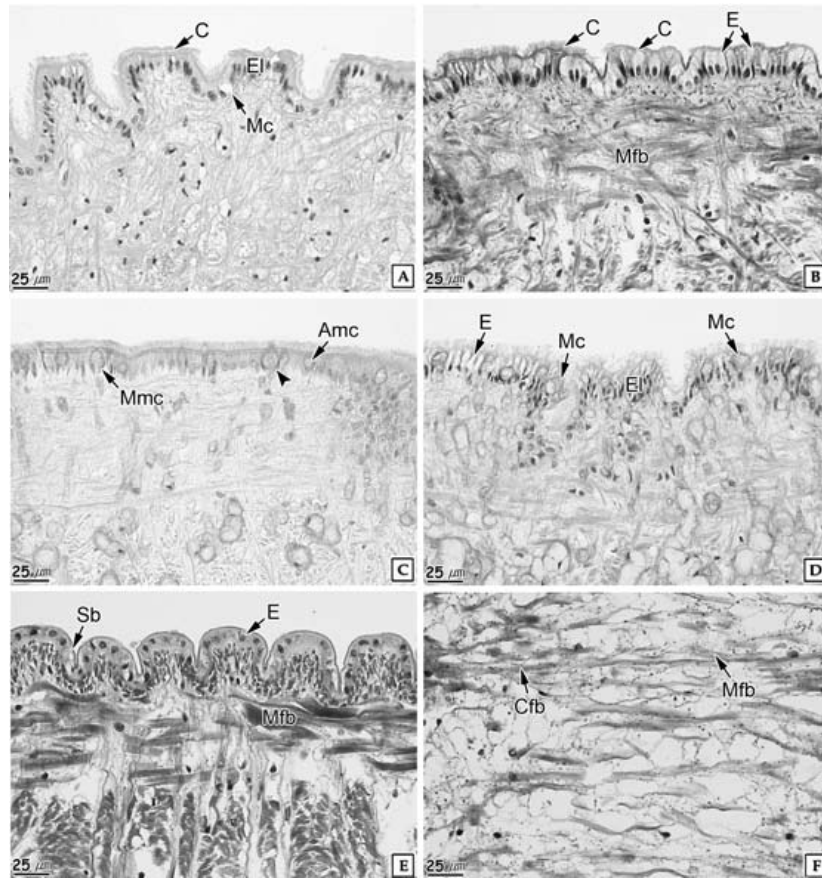


Fig. 4. Histological changes of foot of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI. A: 0.6  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 20 week, note decreased mucous cell (Mc) in epidermal layer (El). AB-PAS (pH 2.5) reaction. B: 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 20 week, showing the partially disappearance cilia (C) in the epidermal layer and hypertrophy of epithelium (E). Masson's trichrome stain. C: 0.4  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 28 week, showing the appearance alcian blue negative (Mmc), weakly positive mucous cell (Amc) and mixed mucous cell (arrowhead). AB-PAS (pH 2.5) reaction. D: 0.6  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 28 week, showing the increased mucous cell. AB-PAS (pH 2.5) reaction. E: 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 28 week, note the changed epithelium and showing the thinned striated border (Sb). Masson's trichrome stain. F: 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 28 week, showing the cutting of collagen fiber bundle (Cfb) and muscle fiber bundle (Mfb). Masson's trichrome stain.

0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 에서 상피층의 자유면에 존재하는 섬모가 부분적으로 탈락되었고, 상피세포가 비대되었다 (Fig. 4B). 이후 노출 28주째에는 0.4  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구의 상피층에서 AB-PAS (pH 2.5) 반응 시 alcian blue에 음성으로 반응하여 분홍색 (264c)을 나타내는 점액세포가 관찰되었고, 다른 점액세포들은 세포질 내에 산성과 중성의 점액물질이 동시에 나타나기도 하였으며, 산성 점액세포들은 alcian blue에 약하게 반응 (564c)하였다 (Fig. 4C). 0.6  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농

도구에서는 상피층에서 점액세포의 수가 증가하였으며 (Fig. 4D), 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 원주형에서 입방형으로 변화하였고, 선조연이 부분적으로 소실되었으며 (Fig. 4E), 섬모탈락, 혈림프동의 확장과 결합조직층에 존재하는 근섬유다발과 교원섬유다발 일부가 분절되었다 (Fig. 4F). 노출 마지막주인 36주째에는 0.4  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서 선조연이 소실되고, 혈림프동이 확장되었으며 (Fig. 5A), 점액세포가 증가하였다. 0.6  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 결

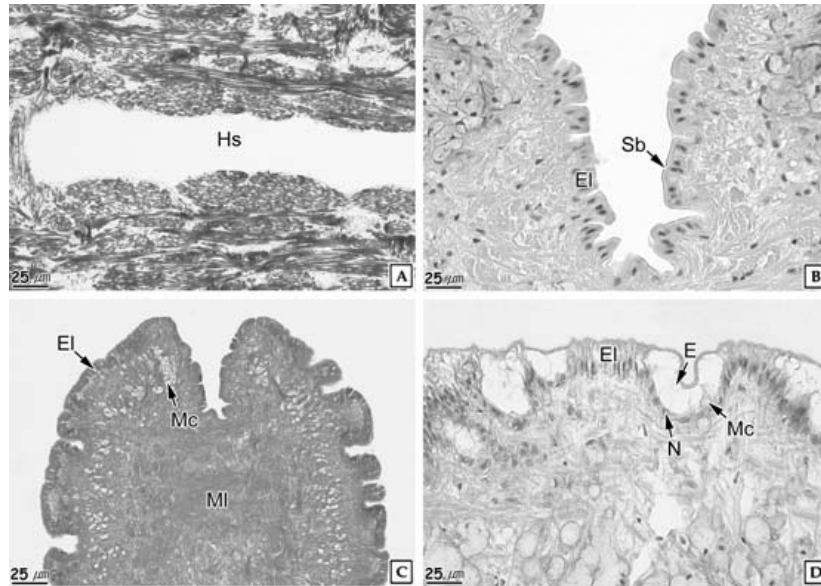


Fig. 5. Histological changes of foot of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI. A:  $0.4 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 36 week, showing the extension of hemolymph sinus (Hs). Masson trichrome stain. B:  $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 36 week, showing disappearance of cilia on epidermal layer in the anterior tip. AB-PAS (pH 2.5) reaction. C:  $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 36 week, showing decrease of mucous cell (Mc) in the anterior tip. AB-PAS (pH 2.5) reaction. D:  $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  at 36 week, showing edema of epithelium (E). AB-PAS (pH 2.5) reaction. El, epidermal layer, N, nucleus; Sb, striated border.

합조직층의 교원섬유다발과 근섬유다발의 분질이 관찰되었다.  $0.8 \mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 발의 가장자리 부분에 존재하는 섬모가 모두 탈락되었으며 (Figs. 5B), 점액세포 또한 두드러지게 감소하였다 (Fig. 5C). 섬모와 선조연이 소실된 상피층에서는 부분적으로 상피세포의 부종이 관찰되었으며, 이들의 핵은 위축되어 세포의 기저부에 존재하였다 (Fig. 5D).

## 고 찰

생물체는 오염물질과 접촉하였을 때 화학적 감각으로 인지한 행동적 반응이 시작되며 (Hebel *et al.*, 1997), 이는 오염을 평가하는데 있어 가장 민감한 지표 가운데 중 하나이다. 화학물질과 중금속의 이온성분들은 패류의 아가미에 작용하여 호흡장애를 일으킬 뿐만 아니라, 여수작용과 배설작용을 저해시켜 개체의 생존에 크게 영향을 미치며 이에 따라 생태계의 불

균형을 초래한다 (Kim and Lee, 1988).

20일 동안 TBT와 TPT에 노출된 피조개는  $2.5, 5.0, 10.0, 20.0 \mu\text{g TBT L}^{-1}$ 의 농도에서 각각 17일 18일 10일 8일에 모두 사망하였고, 가장 높은 TPT 농도인  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 에서는 노출 17일 만에 모든 개체가 사망하였다 (Kim *et al.*, 2004). 진주담치, *M. edulis*의 경우 노출 10일째  $8 \mu\text{g TBTO L}^{-1}$ 의 농도에서 실험개체의 50%가 사망하였고 (Salazar and Salazar, 1989), 만성 노출의 경우 66일 동안  $0.73, 0.97 \mu\text{g TBT L}^{-1}$ 의 농도에 노출되었을 때 실험개체의 50%가 사망하였다 (Valkirs *et al.*, 1985; 1987).  $0.24$ 와  $2.6 \mu\text{g TBTO L}^{-1}$ 의 농도에 45일 동안 5종의 이매패류 (*Crasostrea gigas*, *M. edulis*, *Ostrea edulis*, *Venerupis decussata*, *V. semidecussata*)를 노출하였을 때, *Ostrea edulis*는  $2.6 \mu\text{g TBTO L}^{-1}$ 의 농도에서 실험 종료일에 70%, *V. decussata*는 50%, *V. semidecussata*는 10%가 사망하였지만, *M. edulis*는 노출 2주만에 모든 개체들 (n=10)이 사망하였고,

*C. gigas*는 노출 6주 만에 90%가 사망하였다 (Thain, 1986). Nonylphenol에 50일 동안 노출된 zebra mussel, *Dreissena polymorpha*의 경우, 노출 종료시점에서 0.1 mg NP L<sup>-1</sup>의 농도구에서 생존율은 100%였다. 하지만 5.0 mg NP L<sup>-1</sup>의 농도에서는 노출 25일째, 10.0 mg NP L<sup>-1</sup>의 농도에서는 노출 15일째 모든 개체가 사망하였다. 50일 동안의 LC<sub>10</sub>은 0.68 mg NP L<sup>-1</sup>이었다 (Quinn *et al.*, 2004).

카드뮴에 노출된 대복의 생존율은 대조구와 비교하였을 0.44 mg Cd L<sup>-1</sup>에서는 별 차이가 나타나지 않았지만 0.88 mg Cd L<sup>-1</sup>와 1.77 mg Cd L<sup>-1</sup>에서는 현저하게 감소하였다 (Park and Lee, 2003). 하지만 아연에 노출된 대복의 경우에는 반대로 가장 높은 농도구인 1.76 mg Zn L<sup>-1</sup>와 1.07 mg Zn L<sup>-1</sup>의 경우에는 실험 종료시기인 24주까지 약 80%의 개체들이 생존하여 대조구와 비슷하였지만 가장 낮은 농도구인 0.64 mg Zn L<sup>-1</sup>의 경우에는 노출 15주째 모든 개체가 사망하였다 (Ju *et al.*, 2006).

본 연구에서는 노출 20주까지 대조구와 농도구 실험개체들의 생존율은 유의적인 차이를 보이지 않았지만 노출 28주째부터 가장 높은 농도구에서 유의적인 차이를 보였으며( $P < 0.05$ ), 노출 36주에서는 모든 농도구들의 생존율은 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이가 나타났다 ( $P < 0.05$ ).

백합과 이매패류의 발의 특징은 크고, 다소 넓적하여 저질을 파고 들어가기 용이한 형태이다. 이는 pedal gape의 확장과 관련이 있으며, 백합과의 한 종인 *Venerupis pullastra*도 다른 종들과 마찬가지로 발의 형태가 저질을 파고 들어가는 데 적절하다 (Ansell, 1961).

Byrne and O' Halloran (2001)은 높은 농도의 중금속에 오염된 침전물에 *Scrobicularia plana*와 *Tapes semidecussatus*를 노출시킨 결과, 잠입 행동과 생존율이 감소하였고, 생물체의 오염물질로부터 도피는 먹이 섭식과 생식을 감소시킨다고 하였다. 35일 동안 카드뮴에 노출된 대복의

경우에도 노출시간의 경과와 농도증가는 저질 잠입성에 영향을 주기 때문에 0.88 mg Cd L<sup>-1</sup> 농도에서는 노출 35일째 10.77%의 개체들만 저질 안으로 잠입해 있었으며, 1.77 mg Cd L<sup>-1</sup> 농도의 개체들은 11일째에 모두 저질 밖으로 나왔다 (Park and Lee, 2003).

4-nonylphenol에 7일 동안 노출된 바지락, *Tapes philippinarum*을 48시간 동안 인위적으로 저질 밖으로 꺼낸 다음 다시 저질 안으로 잠입하는 개체수를 측정하였는데, 0.1과 가장 높은 농도인 0.2 mg L<sup>-1</sup>에서 실험개체들은 각각 33%와 0%가 저질 안으로 잠입하여 대조구와 유의적인 차이를 보였다 (Matozzo *et al.*, 2004).

Fiddler carb, *Uca pugilator*의 경우에도 0.5, 5.0, 50.0 µg TBT L<sup>-1</sup>의 농도에 노출되었을 때 운동성과 저질 잠입능력이 감소하였다 (Weis and Perlmutter, 1987). Akberali *et al.* (1981)은 *S. plana*을 아연에 노출시켜 행동양상을 관찰하기 위해 호흡률과 운동성을 측정한 결과, 0.1~0.5 mg Zn L<sup>-1</sup> 농도구에서는 대조구와 다른 양상을 관찰할 수 없었지만, 5, 10 mg Zn L<sup>-1</sup> 농도구의 경우, 폐각을 닫고 입·출수관이 저질 밖으로 나오지 않았다. 그리고 1~5 mg Zn L<sup>-1</sup> 농도구에서는 운동성을 나타내는 개체가 일부 관찰되었으며, 10 mg Zn L<sup>-1</sup> 농도구의 경우, 실험 도중 모든 개체가 사망하였는데, 이는 낮은 호흡률 때문이라고 하였다.

백합과 이매패류인 *Mercenaria mercenaria*의 발은 높게 솟아 있는 주름이 발의 전체를 덮고 있으며, 이들 주름의 융기부분은 원주형 상피세포가 존재하고, 주름의 골 부분에는 키가 작은 원주형 또는 입방형 상피세포가 존재한다. 이들 상피층의 하단에는 환상근층과 환상근층의 아래에는 종주근층의 구별이 뚜렷하였고, 얇은 횡문근이 근육층 사이에 존재하고 있다 (Eble, 2001). 접시조개과에 속하는 *Macoma balthica*와 새조개과에 속하는 *Cardium edule*의 발을 ventral section 하였을 때 *M. balthica*의 발은 상피층과 반대편의 상피층까지 연결되어 있는 횡문근이 잘 발달되어 있었으며, *C. edule*의 발은 종주



근과 함께 환상근도 발달하고 있다. 또한 이들의 발에는 상피층의 바로 아래 존재하는 후방 수축근 (posterior retractor muscle)과 후방 수축근의 안쪽에 존재하는 전방 수축근 (anterior retractor muscle)이 잘 발달되어 있다 (Trueman *et al.*, 1966).

발의 근육층에 존재하는 종주근과 수축근들은 저질의 잠입능력과 관계있는 근육으로 대복의 발은 *M. mercenaria*와 기본적인 구조가 동일하였지만, 수축근과의 발달은 미약하고, 횡문근은 환상근층과 종구근층 사이에서만 관찰할 수 있었기 때문에 *M. balthica*와 *C. edule* 보다는 저질 잠입능력이 다소 떨어지며, 대복이 서식하는 지역의 저질은 *M. balthica*와 *C. edule*의 서식지역보다 좀 더 입자가 가는 저질일 것으로 생각되어진다.

이때패류의 발에 존재하는 점액세포들이 가지는 점액성분은 종에 따라 다소 차이가 있는데, *M. mercenaria*에서는 상피층과 섬유성 근육층에 분포하는 점액세포들은 sulfated mucopolysaccharide와 carboxylated mucopolysaccharide를 모두 함유하고 있지만 (Eble, 2001), 대복 발의 상피층에서는 산성점액물질을 가지는 점액세포들만 관찰되어 *M. mercenaria*와는 다소 차이를 보였다.

카드뮴에 노출된 대복의 경우에는 노출 7일째부터 모든 농도구에서 선조연과 섬모의 부분적인 탈락이 관찰되었으며, 특히 1.77 mg Cd L<sup>-1</sup>의 농도구에서는 근섬유다발의 분절이 관찰되었다. 이후 노출 28일째에는 0.88, 1.77 mg Cd L<sup>-1</sup>의 농도구에서 부분적인 상피층의 붕괴가 관찰되었다 (Park and Lee, 2003).

본 실험에서는 노출 12주까지 구조적인 이상이 관찰되지 않았지만, 0.8 µg TBTCI L<sup>-1</sup>의 농도구에서는 노출 36주째에 상피세포의 변형이 관찰되었다.

일반적으로 외부 환경요인의 변화에 대한 점액세포의 반응은 점액물질의 산성화 및 점액세포의 위축과 감소로 이어지는데, 카드뮴에 노출

된 대복의 모든 농도구에서 노출 14일째에 점액세포들은 7일째에 비해 위축 및 감소된 상태였으며, 점액세포의 변화는 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 카드뮴 노출경과에 따라 alcian blue에 강한 양성반응을 보였으며, 일부 농도구의 개체에서는 alcian blue (pH 1.0)에 반응하는 푸른색의 점액세포들이 관찰되었다 (Park and Lee, 2003).

TBTCI에 노출된 대복의 경우에는 노출 28주째부터 점액세포가 증가하였으며, 특히 0.6 µg TBTCI L<sup>-1</sup>의 농도구에서는 노출 20주째에는 감소하였다가 28주째부터 증가하였다. 하지만 이들 점액세포의 점액성상은 0.4 µg TBTCI L<sup>-1</sup>에서 alcian blue에 음성으로 반응하는 중성점액세포가 나타났으며, 점액세포의 세포질안에 산성점액물질과 중성점액물질이 함께 존재하기도 하였고, 산성점액세포들은 alcian blue에 약하게 반응하였다. 이러한 점액세포의 변화는 노출 초기에는 오염원에 의해 영향을 받지만 노출기간이 길어질수록 오염원에 대한 저항 기작으로 생각되어진다.

비록 노출 초기에는 대조구와 비슷한 경향을 나타냈지만 본 연구에서도 실험개체들이 선행 연구에서와 마찬가지로 만성적으로 노출되고, 고농도로 갈수록 생존율 및 운동성이 감소하고, 조직병리학적 증상이 심화되었다.

본 연구에서 대복의 저질 잠입성은 TBTCI 노출 20주부터 대조구와 0.6, 0.8 mg TBTCI L<sup>-1</sup>의 농도구들에서 유의적인 차이가 나타나기 시작했는데, 섬모의 부분적인 탈락과 점액세포의 감소 같은 조직학적인 변화 역시 20주째부터 나타나기 시작했다. 또한 가장 낮은 농도구인 0.4 mg TBTCI L<sup>-1</sup>의 농도구에서는 36주째부터 본격적인 조직병리학적 증상이 관찰되었는데, 저질 잠입성 또한 36주째에 대조구와 유의적인 차이를 보였다. 따라서 대복의 저질 잠입성은 발의 구조적인 변화와 깊은 연관이 있는 것으로 생각된다. 하지만 TBTCI에 노출된 개체들의 잠입성이 감소하는 이유는 발의 구조적인 변화뿐만 아니라 호흡과 여수율 같은 생리적인 변화 또한

중요한 요인이라고 생각된다.

본 연구에서는 미세구조적 연구를 시행하지 않았기 때문에 발을 구성하는 세포들의 미세구조적 변화를 설명하기는 어려우며, 생리학적인 연구와 미세구조적인 연구를 수행한다면 외부 오염물질에 대한 이매패류 발의 세포학적 반응 기작 및 저질 잠입성의 감소 원인을 규명할 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

TBTCI의 농도구 (0.4, 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ )에 36주 동안 노출시킨 대복, *Gomphina veneriformis*의 생존율과 저질 잠입성 그리고 발의 조직병리학적 변화를 관찰하였다. 대복의 생존율은 노출 28일째 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$  ( $P=0.009$ )와 36주째 모든 농도구에서 유의적인 차이를 보였고 ( $P<0.05$ ), 노출 20주 이후에 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구들은 노출 기간이 길어질수록 저질 잠입성이 감소하여 유의적인 차이를 보였다 ( $P<0.05$ ). 섬모를 가지는 단층의 원주형 상피세포에 의해 둘러싸인 대복의 발은 상피층의 안쪽은 고원섬유와 근섬유가 잘 발달된 근육층이 조밀하게 존재하고 있었다. TBTCI에 노출된 대복의 발은 노출 12주째 까지 특이한 조직병리학적 증상이 나타나지 않았지만, 노출 20주째 0.6, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구들에서 점액세포가 감소하고, 섬모가 부분적으로 탈락하였으며, 노출 28주째 0.4  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 붉은색으로 반응하는 점액세포와 푸른색과 붉은색의 점액물질을 함께 가지는 점액세포가 관찰되었다. 이후 노출 36주째에는 모든 농도구에서 혈림프동의 확장과 섬모의 탈락이 관찰되었고, 0.8  $\mu\text{g TBTCI L}^{-1}$ 의 농도구에서는 부분적으로 상피세포의 부종이 관찰되었다.

## 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.
- Akberali, H.B., Wong, T.M. and Trueman, E.R.: Behavioral and siphonal tissue responses of *Scrobicularia plana* (Bivalvia) to zinc. Mar. Environ. Res., 5: 251-264, 1981.
- Ansell, A.D.: The functional morphology of the British species of veneracea (Eulamellibranchia). J. Mar. Biol. Ass. U.K., 41: 489-515, 1961.
- Brand, A.R.: Heart action of the freshwater bivalve *Anodonta anatina* during activity. J. Exp. Biol., 65: 685-698, 1976.
- Byrne P.A. and O' Halloran, J.: The role of bivalve molluscs as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review. Hydrobiologia, 465: 209-217, 2001.
- 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.
- 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.
- Hebel, D.K., Jones, M.B. and Depledge, M.H.: Responses of crustaceans to contaminant exposure: a holistic approach. Estuar. Csttl. Shelf Sci., 44: 177-184, 1997.
- Ju, S.M., Lee, J.W., Jin, Y.G., Yu, J. and Lee, J.S.: Effect of zinc bioaccumulation on survival

- rate, activity, growth and organ structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). J. Environ. Toxicol., 21: 115-126, 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.
- Kim, C.K., Kim, D.H., Lee, J.S. and Lee, K.T.: Influence of heavy metals, ammonia and organotin compounds on the survival of ark-shell clams, *Scapharca broughtonii*. Korean J. Malacol., 20: 93-105, 2004.
- Matozzo, V., L. Ballarin, M.G. Marin.: Exposure of the clam *Tapes philippinarum* to 4-nonylphenol: changes in anti-oxidant enzyme activities and re-burrowing capability. Mar. Pollut. Bull., 48: 563-571, 2004.
- 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.
- Otludil, B., Cengiz, E.I., Yildirim, M.Z. Unver, O. and Ünlü, E.: The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbis cornus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. Chemosphere, 56: 707-716, 2004.
- Park, J.J. and Lee, J.S.: Cadmium toxicity on the survival rate and activity of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. J. Kor. Fish. Soc., 36: 463-468, 2003.
- 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.
- 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.
- Salazar, M.H. and Salazar, S.M.: Acute effects of (Bis) tributyltin oxide on marine organisms; Summary of work performed 1981-1983. Naval Ocean Systems Technical Report #1299, 1989.
- 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.
- 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. 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.
- Thain, J.E.: Toxicity of TBT to bivalves: effects on reproduction, growth and survival. Oceans, 18: 1306-1313, 1986.
- Trueman, E.R., Brand, A.R. and Davis, P.: The dynamics of burrowing of some common littoral bivalves. J. Exp. Biol. 44: 469-492, 1966.
- Valkirs, A.O., Davidson, B. and Seligman, P.F.: Sublethal growth effects and mortality from long-term exposure to tributyltin with marine bivalves and fish. Naval Ocean Systems Technical Report #1042, 1985.
- Valkirs, A.O., Davidson, B. and Seligman, P.F.:

- Sublethal growth effects and mortality to marine bivalves from long-term exposure to tributyltin. *Chemosphere*, 16: 201-220, 1987.
- 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.
- Weis, J.S. and Perlmutter, J.: Effects of tributyltin on activity and burrowing behavior of the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Estuaries*, 10: 342-346, 1987.
- Yoo, J.S.: Korean shells in color. Iljisa Pub. Co., Seoul, pp. 196, 1976.

---

Manuscript Received : March 6, 2008

Revision Accepted : April 4, 2008

Responsible Editorial Member : Myung-Joo Oh  
(Chonnam Univ.)