

# 동족, *Mactra veneriformis*의 생존, 호흡 및 기관계 구조에 미치는 구리 (Cu) 의 독성

신윤경, 박정준, 임현식<sup>1</sup>, 이정식<sup>2</sup>

국립수산과학원 전략양식연구소 양식관리과,

<sup>1</sup>목포대학교 해양수산자원학과, <sup>2</sup>전남대학교 수산생명의학과

## Copper Toxicity on Survival, Respiration and Organ Structure of *Mactra veneriformis* (Bivalvia: Mactridae)

Yun Kyung Shin, Jung Jun Park, Hyun Sig Lim<sup>1</sup> and Jung Sick Lee<sup>2</sup>

Aquaculture Management Division, Aquaculture Research Institute, NFRDI, Busan 619-902, Korea

<sup>1</sup>Department of Marine and Fisheries Resources, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea

<sup>2</sup>Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

### ABSTRACT

This study was conducted to find out the changes of survivorship, respiration and organ structure of *Mactra veneriformis* exposed to copper (Cu). Experimental period was four weeks. Experimental groups were composed of one control condition and three copper exposure conditions (0.025, 0.050 and 0.100 mg/L). The results of the study confirmed that copper induces reduction of survival rate and respiration rate and histopathology of organ structure of the bivalve. In the copper concentration of 0.100 mg/L, mortality was 100% after Cu exposure of 3 weeks. Respiration rate was observed exposure groups lower than control decline by 75%. Histological analysis of organ system illustrated expansion of hemolymph sinus, disappearance of epidermal layer and degeneration of connective tissue layer of the mantle. Also, histological degenerations as epithelial necrosis and hyperplasia of mucous cells are recognized in the gill and it was observed expansion of hemolymph sinus, disruption of epithelial layer, decrease of mucous cell and degeneration of connective tissue layer in the foot. In the digestive diverticulum, it was showed atrophy of basophilic cell and degeneration of epithelial cell in the digestive tubules, and as the concentration of copper increased the accumulation of lipofuscin increased.

**Key words:** *Mactra veneriformis*, copper(Cu), Survival, Oxygen consumption, Histopathology, Lipofuscin

### 서 론

구리는 모든 동식물의 정상적인 성장에 필요한 필수 영양소이며 생태계에 정상적으로 존재하는 성분이지만 생물이 필요 이상의 농도에 노출될 경우 세포 내부의 구조 및 기능적 이상을 유발하거나 생체기능의 장애를 일으켜 생리적 활동에 부정

적인 영향 미치기도 한다 (Sutherland and major, 1981). 최근 들어 구리는 양식어망의 부착생물 억제 또는 항균활성 (Park *et al.*, 2003, Xiuling *et al.*, 2012) 등으로 그 특징이 부각되고 있다. 그러나 산업용수 및 생활하수 유입에 의한 장기적인 노출에 따라 구리의 체내축적 (Rojik *et al.*, 1983), 형태적 기형 및 생식장애 (Park *et al.*, 2009) 등 구리독성에 의한 영향이 보고되고 있다

환경요인들의 영향으로 인해 생물이 받는 위해도를 평가하는 방법은 위험성 확인, 노출평가, 용량-반응 평가 및 위해도 결정의 주요 4단계이다 (NRC, 1983). 위와 같은 방법에 따라 위해도를 평가하기 위해서는 지표생물과 생물지표의 선정이 중요하다.

지표생물 가운데 이매패류들은 주로 여과섭식에 의해 먹이를 섭취하기 때문에 환경오염원에 쉽게 노출된다. 또한 이동성

Received: June 10, 2013; Accepted: June 25, 2013

Corresponding author : Jung Sick Lee

Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: ljs@chonnam.ac.kr  
1225-3480/24479

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

이 낮아 일생동안 서식범위가 국한되어 있고, 체내로 유입된 오염원들의 축적은 용이하지만 체내에서 해독과 체외방출이 낮아 특정 지역의 오염상태를 알아보기 위한 지표종으로 많이 사용되고 있다 (Marin *et al.*, 2006; Schintu *et al.*, 2008; Husmann *et al.*, 2012).

생물지표는 생물체에 미치는 외인성 요인들의 영향을 측정할 수 있는 세포 또는 개체수준의 생리, 생화학 및 구조 등의 지표를 지칭하는 용어이다. 생물지표에는 생리학, 생화학, 생식생물학적, 조직학적, 유전학적 지표 등이 있다 (Huggett *et al.*, 1992).

동족, *Mactra veneriformis*은 우리나라 서해안의 중요한 패류 생물자원 가운데 하나로써 해양생태계의 관리, 생물자원의 보존 및 수산물 안전성 측면에서 관리가 필요한 종이다. 본 연구에서는 동족의 생존, 호흡, 기관계 구조 및 lipofuscin의 축적에 미치는 구리의 독성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구에 사용된 동족, *Mactra veneriformis*은 각각 4.5-5.0 cm의 성체였으며, 외형 및 운동성에 이상이 없는 개체를 실험에 사용하였다.

시험물질인 구리는  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  (Copper Chloride Dihydrate, Showa Chem. Inc., Japan) 를 증류수로 1000 mg/L의 표준용액을 만든 다음, 실험 농도별로 희석하여 조제하였다.

### 2. 방법

#### 1) 농도구

급성독성 실험의 농도구는 Viarengo (1985, 1990) 와 Krishnakumar *et al.*, (1990) 의 보고를 이용하여 10개 농도구를 설정하였다. 각 농도구에서 2회 반복실험을 실시하여  $LC_{50-96h}$ 을 구한 다음, 이를 기준으로 1개의 대조구와 3개의 노출구 (0.025, 0.050, 0.100 mg/L) 를 설정하였다.

#### 2) 사육조건

본 실험에서 사용된 수조는 유리로 제작된 10L 용량으로 실험방법은 기수식 및 환수식을 병행한 생물검정법을 이용하였다. 실험생물은 채집한 후, 0.5톤 수조에서 실내사육하면서 10 일 동안 순치시킨 다음 노출실험을 실시하였다. 실험기간 동안 광주기는 자연조건으로 하였으며, 수온은  $17 \pm 0.5^\circ C$ 였다.

만성독성 실험의 노출실험 기간은 4주였다. 각 농도구당 실험 개체들은 밀도를 고려하여 30개체였으며, 실험기간 동안 광주기는 자연조건으로 하였으며, 수온은  $17 \pm 0.5^\circ C$ 였다. 먹이는 식물플랑크톤인 *Isochrysis galbana*를 개체 당  $1-2 \times 10^6$

cell/ml씩 매일 1회 공급하였고, 실험 중 실험 개체들의 분비물로 인한 사육수의 변화와 중금속 농도변화를 최소화하기 위해 매일 한 번씩 사육수를 교환하였다.

### 3) 사망률

실험생물의 사망여부는 패각을 벌리고 있는 개체들 가운데 외부에서 인위적인 자극을 가하여 반응이 없는 개체를 사망한 개체로 판단하였다. 사망개체는 매일 오전 오후 각 1회씩 확인하여 전체 실험 개체수에 대한 누적사망 개체수를 사망률로 환산하였다.

### 4) 호흡률

호흡률은 Shin *et al.* (2011) 의 방법에 따라 실험생물의 호흡에 의한 산소 소비량을 측정하여 표시하였다. 산소소비량은 실험생물의 크기에 따라 0.5-1.6 L의 respirometer chamber와 생물호흡측정기 (Orbis 3600, Switzerland) 를 이용하여 측정하였다.

### 5) 조직학적 분석

동족의 각장 등 측정형질을 계측한 후, 해부하여 외투막, 아가미, 발 그리고 소화맹장이 포함된 내장낭 일부를 적출하였다. 광학현미경 조직표본제작은 적출한 시료들을 Bouin 용액에 24시간 동안 고정하고, 48시간 동안 흐르는 물에 수세하였다. 파라핀 절편법에 의해 4-6  $\mu m$  두께로 연속 절편하여 슬라이드 글라스에 부착하였다. 그 후, Mayer's hematoxyline-eosin (H-E) 염색 및 alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하였다. 그리고 lipofuscin을 확인하기 위해 Long Ziehl-Neelsen 염색을 시행하였으며, lipofuscin의 분포비율은 Lee and Park (2007)의 방법에 따라 현미경 화상분석장치 (IMT, Visus, USA)를 이용하여 분석하였다.

### 6) 통계분석

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

## 결 과

### 1. 사망률

구리 노출에 의한 동족의 4주 동안 만성독성 사망률은 대조구에서 5%였다. 하지만, 0.025와 0.050 mg/L의 구리 노출구에서는 각각 80%와 65%의 사망률을 보였으며, 0.100 mg/L 구리 노출구에서는 노출 3주 후에 100%의 사망률을 보였다 (Fig. 1).

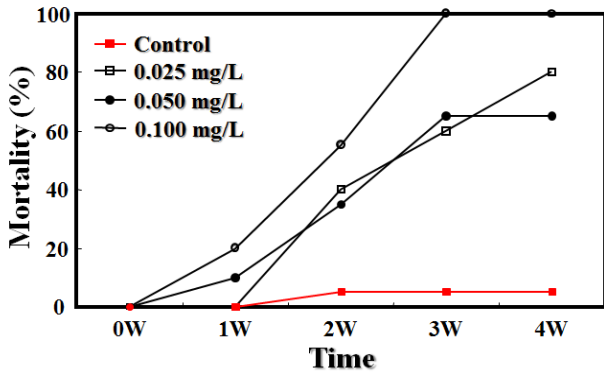


Fig. 1. Mortality of *Mactra veneriformis* exposed to copper for 4 weeks.

## 2. 호흡률

구리에 노출시킨 동족의 호흡률은 Fig. 2에 나타냈다. 구리에 노출된 동족의 호흡률은 구리 농도에 따라 유의한 차이는 없었으나 ( $p > 0.05$ ) 대조구에 비해 유의하게 낮은 ( $p < 0.05$ ) 경향을 보여 종말점에서는 대조구에 비해 약 75% 감소하였다.

## 3. 기관계의 조직학적 변화

### 1) 외투막

동족의 외투막은 횡단면에서 가운데 결합조직층을 상피층이 위 아래로 싸고 있는 구조였다. 상피층은 단층이며, 상피층을

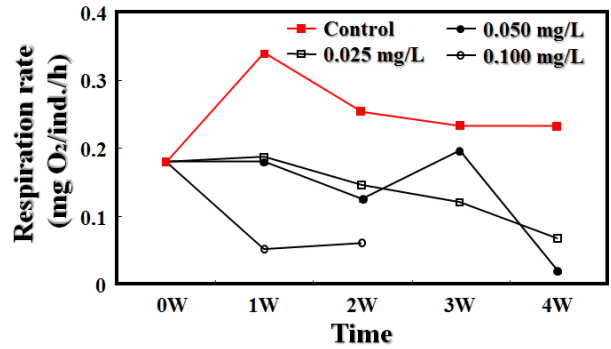


Fig. 2. Respiration rates of *Mactra veneriformis* exposed to copper for 4 weeks.

구성하는 세포들은 섬모원주형 상피세포와 점액세포들로 구분된다. 결합조직층은 주로 교원섬유와 일부 근섬유다발로 이루어지며, 다수의 혈림프동이 발달되어 있다 (Fig. 3A, B). 0.025 mg/L 농도의 구리에 노출된 동족의 외투막에서는 상피층 자유면에 존재하는 섬모의 탈락과 결합조직층의 변성 및 점액세포의 감소가 관찰되었으며 (Fig. 4A), 0.050 mg/L 구리 노출구에서는 외투막 상피의 위축과 변성 그리고 결합조직층의 붕괴가 확인되었다 (Fig. 4B). 그리고 가장 높은 농도구인 0.100 mg/L에서는 외부상피층의 파괴, 근섬유 다발의 분절 및 내부상피층의 부분적인 탈락이 관찰되었다 (Fig. 4C).

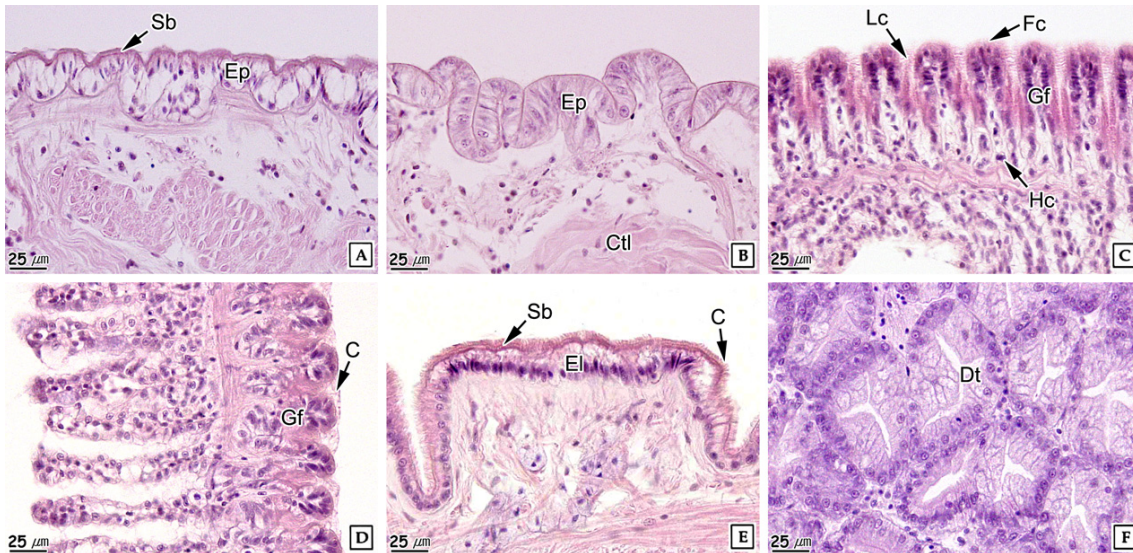
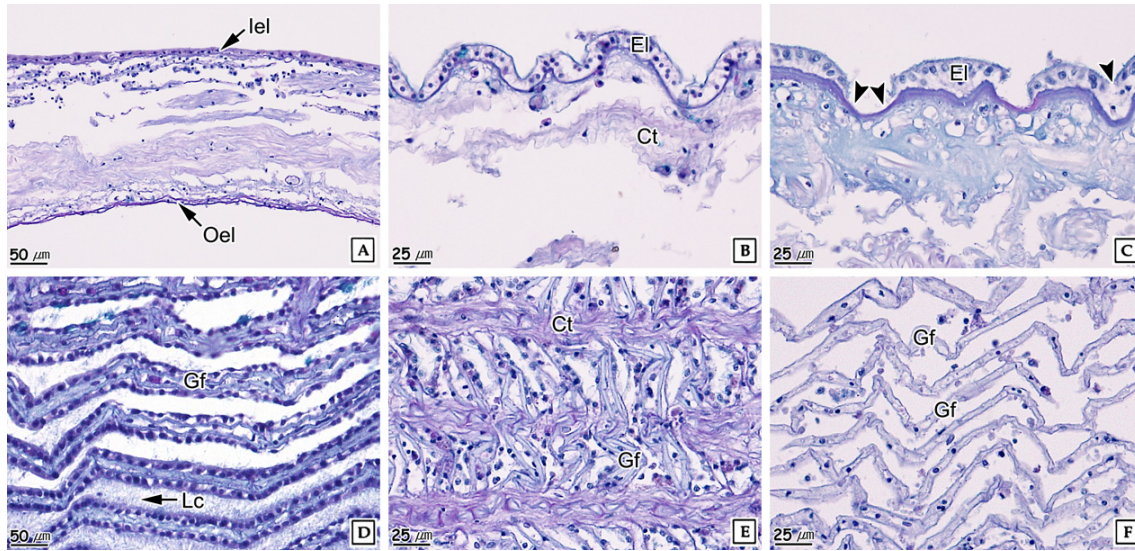


Fig. 3. Microstructure in the mantle cavity organs of *Mactra veneriformis*. **A:** Outer epithelial layer of the mantle. **B:** Inner epithelial layer of the mantle. **C and D:** Gill, showing the frontal (Fc) and lateral cilia (Lc) on the gill filament (Gf). **E:** Foot, numerous cilia (C) on the free surface of the epithelial layer. **F:** Digestive diverticulum, showing the irregular digestive tubule (Dt). Ctl, connective tissue layer; Ep, epithelial cell; Hc, hemocyte; Sb, striated border.



**Fig. 4.** Histopathological changes in the mantle and gill of *Mactra veneriformis* exposed to copper for 4 weeks. **A:** Mantle, showing the destruction of inner (Iel) and outer epidermal layer (Oel). 0.025 mg/L. **B:** Mantle, showing the epithelial atrophy, disappearance cilia and degeneration of connective tissue (Ct). 0.050 mg/L. **C:** Mantle, showing the deformation (arrowheads) of epithelial layer (Ei). 0.100 mg/L. **D:** Gill, showing the disappearance lateral cilia (Lc) of gill filament (Gf). 0.050 mg/L. **E and F:** Gill, showing the destruction of the epithelial layer and degeneration of mucous cell. 0.100 mg/L.

## 2) 아가미

동족은 판세형 아가미를 가지며, 각각의 새엽은 가운데 혈림프동을 단층의 새엽상피층이 둘러싸고 있으며, 새엽상피층은 상피세포, 점액세포, 섬모세포로 구성된다. 상피세포의 형태는 측면섬모대와 정단섬모대가 존재하는 부위에서는 입방형 또는 원주형세포이며, 나머지 부위에서는 편평형이다 (Fig. 3C, D). 구리에 노출된 동족의 아가미에서는 0.050 mg/L의 농도에서 새엽 측면섬모의 탈락이 관찰되었으며 (Fig. 4D), 가장 높은 농도구인 0.100 mg/L의 노출구에서는 새엽상피층의 박리와 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 4E, F).

## 3) 발

동족의 발은 전형적인 부족류의 발 형태이다. 발은 조직학적으로 상피층, 결합조직층, 근육층으로 이루어져 있다. 상피층은 단층으로 섬모원주형 상피세포와 점액세포로 구성되며, 자유면에서 선조연이 뚜렷이 관찰된다. 결합조직층은 주로 교원섬유와 일부 근섬유다발로 구성되며, 혈림프동이 발달되어 있고, 일부 상피층으로부터 발달된 점액세포들이 존재하기도 한다 (Fig. 3E). 0.025 mg/L의 구리 노출구에서 발의 상피층 점액세포의 위축과 결합조직층의 일부가 부분적으로 붕괴되었으며 (Fig. 5A), 0.050 mg/L의 농도에서는 상피층의 자유면에 존재하는 섬모의 탈락 및 상피세포와 점액세포의 변성이 관찰되었다 (Fig. 5B). 0.100 mg/L의 농도에서는 상피층의 파괴와 결합조직층을 구성하는 교원섬유의 변성 및 근섬유 다발의 분

질이 관찰되었다 (Fig. 5C).

## 4) 소화맹낭

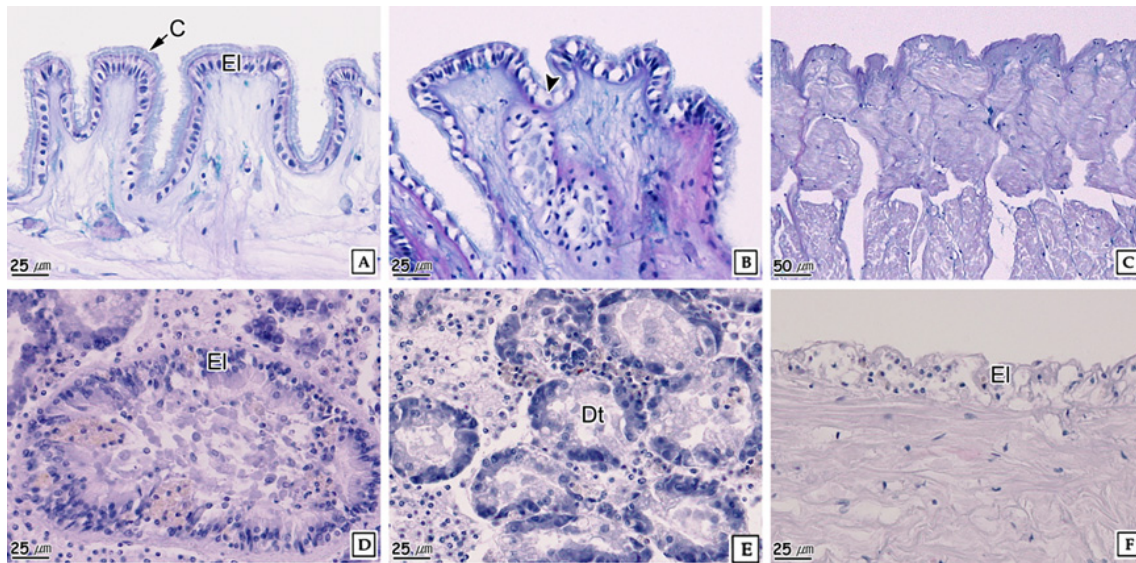
소화맹낭은 다수의 소화선세포관로 이루어져 있으며, 소화선세포는 단층으로 섬모원주형 상피세포와 호염기성세포들로 이루어져 있다 (Fig. 3F). 0.025 mg/L과 0.050 mg/L의 구리 노출구에서는 소화선세포의 호염기성 세포의 변성과 세포 내강에 혈구의 침윤이 나타났다 (Fig. 5D). 가장 높은 농도구인 0.100 mg/L에서는 세포 상피층의 다층화와 파괴, 내강의 폐쇄가 확인되었으며 (Fig. 5E), 내장낭 외막 상피층의 파괴 및 결합조직의 변성이 관찰되었다 (Fig. 5F).

## 4. Lipofuscin 분포비율

구리 노출에 의한 동족의 소화맹낭에서 lipofuscin의 분포비율은 대조구에서는 0%였다. 하지만, 0.025, 0.050 및 0.100 mg/L의 구리 노출구에서는 각각 0.91%, 3.83%, 5.87%로 농도의존적으로 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 6).

## 고찰

수중오염원에 대한 생물체의 반응한계를 평가하기위해 생존율, 성장, 행동의 이상, 호흡률, 조직학적 반응 및 효소학적 반응의 변화를 조사하는 방법 등이 사용되어지고 있으며 (Hebel *et al.*, 1997, Lee *et al.*, 2001), 이는 주요한 생물지표(Hebel



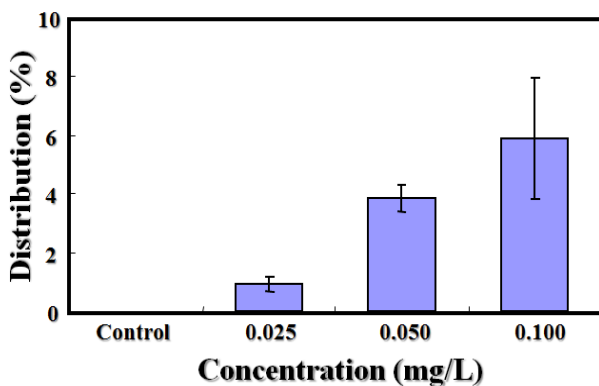
**Fig. 5.** Histopathological changes in the foot and Digestive diverticulum of *Mactra veneriformis* exposed to copper for 4 weeks. **A:** Foot, note the partially destruction of connective tissue. 0.025 mg/L. **B:** Foot, note the disappearance of mucous cell and epithelial edema (arrowhead). 0.050 mg/L. **C:** Foot, note the disappearance of epithelial layer (EI). 0.100 mg/L. **D:** Digestive tubule, showing the hemocytes invasion in the lumen. 0.100 mg/L. **E:** Digestive diverticulum, note the partially destruction of the epithelial layer in the digestive tubule (Dt). 0.100 mg/L. **F:** Visceral mass, note the destruction of epithelial layer. 0.100 mg/L.

et al., 1997) 로 사용되어지고 있다.

생물종에 따라 구리에 대한 치사농도는 다르다. *Anadara granosa*는 60  $\mu\text{g Cu/L}$ , *Meretrix casta*는 72  $\mu\text{g Cu/L}$ 였으며, *Crassostrea madrasen*는 88  $\mu\text{g Cu/L}$ 으로 96시간 동안의 반수치사농도 ( $LC_{50}$ )는 종에 따라 다르게 나타나고 있다(Kumaraguru and Ramamoorthi, 1978). 또한 *Scrobicularia plana*는 0.5 ppm에서 노출 시간의 경과에 따라 사망률은 증가하였으며, 5-7일 동안 50%가 사망하였으며(Hassan and Julia, 1980), 본연구의 경우에는 만성적인 영향으로 0.1mg/L에서 3주째 모두 폐사하여 중간 구리에 대한

반응은 다르게 나타나고 있다.

생물의 생체반응을 알아보기 위해 대사지표로 이용되고 있는 호흡률은 본 논문에서 동종의 경우 대조구에 비해 구리농도 증가에 따라 약 75% 감소 반응을 나타내었다. 그러나 구리에 노출된 *Pseudocalanus sp.*와 *Calanus sp.* (Reeve et al., 1977) 및 *Mutylus edulis* (James and Robert, 1981) 의 구리농도와 관계없이 산소소비율은 변화 없이 일정하게 유지되었다. 반면 *Littorina rudi* (James and Robert, 1981) 는 구리농도 증가에 따라 유의한 증가를 나타내었다. 한편 수은, 카드뮴과 같은 중금속 및 TBTCI에 노출된 *Littorina brevicula* (Chin et al., 1999) 및 남에 노출된 바지락 (Shin et al., 2013) 의 산소소비율은 노출 초기 감소 후 증가하는 경향을 보이며, 카드뮴과 아연에 노출된 *Perna viridis* (Cheung and Cheung, 1995), 카드뮴에 20일간 노출된 *Neomysis awatschensis* (Kang et al., 1997) 그리고 은과 크롬에 노출된 *Perna viridis* (Vijayavel et al., 2007) 의 중금속의 농도 증가에 따라 산소소비율은 감소하여 생물지표로 이용되는 호흡률은 생물종과 중금속의 종류에 따라 다양한 반응을 나타내고 있다. 이는 종에 따라 중금속에 반응하는 농도가 다르므로 생체 안전농도 및 생태계 보호를 위한 구리 안전농도를 설정을 위한 기초자료로 활용이 가능할 것으로 여겨진다.



**Fig. 6.** Lipofuscin distributions in *Mactra veneriformis* exposed to copper for 4 weeks.

이때패류에서 화학물질 및 중금속 등의 오염원들은 외부막,

아가미, 신장, 발 그리고 소화맹낭에 주로 축적되며 (Morrison, 1993), 직·간접적으로 이들은 수서생물의 기관계 구조의 변화를 일으켜 생리학적 불균형을 초래한다 (Watling and Watling, 1982; Gregory *et al.*, 1999; Otludil *et al.*, 2004).

이매패류에서 외투막은 감각, 폐각형성 및 외투강 정화 기능을 수행하는 기관계이다 (Eble, 2001). 수중오염원에 의한 이매패류의 외투막 이상은 상피층의 정단부에 존재하는 선조연과 섬모들이 탈락, 점액세포들의 활성 감소, 결합조직층에서 교원섬유와 근섬유 다발의 변성을 들 수 있다. 노닐페놀에 노출된 바지락의 외투막에서 혈림프동의 확장과 혈구의 증가, 상피층 자유면의 선조연 탈락, 결합조직층의 근섬유 다발의 분절과 산성 점액세포의 증가가 확인되었다 (Park and Lee, 2011). 또한 납에 노출된 바지락의 경우에도 구리 농도가 증가할수록 외투막에서 다양한 조직학적 이상을 보였으며 (Shin *et al.*, 2013), 본 연구의 동족에서도 구리 농도 증가에 따라 점액세포 감소, 상피층 파괴 및 근섬유 다발의 분절 등이 나타나 정상적인 외투강 정화기능의 장애 및 폐각형태의 기형 등을 유발할 것으로 판단된다.

이매패류의 아가미는 호흡뿐 만 아니라 여과섭식 기능을 수행하는 중요한 기관계 가운데 하나이다 (Benninger *et al.*, 1988; Eble, 2001). 수중의 구리, 염소, 철에 노출된 굴, *Crassostrea gigas*, 진주담치 및 납에 노출된 바지락 아가미에서는 세엽 상피층의 분리, 혈림프동의 확장, 세엽 섬모대의 소실 그리고 세엽 상피층의 분리와 파괴 등 아가미로써의 기능을 상실한 조직상들이 관찰되었다 (Kim and Lee, 1988; Shin *et al.*, 2013). DDT와 PCB에 오염된 핀란드의 해안에서 채집된 진주담치의 아가미에서는 정단상피와 측면상피의 붕괴와 측면섬모의 탈락이 관찰되었다 (Sunila, 1988). 수온에 노출된 *Perna viridis* (Gregory *et al.*, 1999) 와 중금속 오염지역에서 채집된 *Perna viridis*의 아가미에서도 이와 유사한 아가미의 구조적 이상이 보고되고 있다 (Vasanthi *et al.*, 2012).

이매패류의 발은 단층의 상피세포로 구성되어진 상피층이 조밀하게 발달한 근육층을 둘러싸고 있는 구조를 하고 있다. 이들 근육층은 저질에 잠입 시 이완, 수축하면서 저질에 파고 들면서 이동한다 (Eble, 2001). 0.4와 0.8 mg/L의 endosulfan에 30일 동안 노출된 *Planorbarius corneus*의 발은 노출 10일에는 점액세포와 단백질세포가 증가한 후 노출 20일 이후에는 다시 감소하며, 상피세포가 탈락된다. 사망 직전의 개체들에서는 상피세포의 탈락과 더불어 근섬유들이 위축되는 조직상이 관찰된다 (Otludil *et al.*, 2004). 또한, 아연에 노출된 대복의 발은 노출 초기에는 상피층 선조연의 일부가 소실되고 혈림프동이 확장된다. 그리고 결합조직층에 존재하던

점액세포들이 근육층까지 확장된다. 그리고 농도의존적으로 상피층의 박리와 상피세포의 괴사, 근육층을 구성하는 환상근층과 중주근층의 근섬유 다발의 분절화가 나타난다 (Ju *et al.*, 2006). 노닐페놀에 노출된 바지락의 발은 0.05 mg/L 농도구에서 상피층이 비후되며, 0.01과 0.02 mg/L 농도구에서는 상피층 선조연의 일부가 소실된다 (Park and Lee, 2011). 중금속 노출될 경우 패류의 발부분에서도 다양한 구조적 이상현상들이 관찰되며 이는 패류의 이동과 저질잠입 능력의 저하로 이어질 수 있는 결과들이다.

이매패류에서 소화맹낭의 소화선세관은 소화, 흡수 및 오염원의 해독기능을 수행하는데, 소화맹낭은 다른 기관에 비해 오염원의 축적성이 높다 (Moore and Allen, 2002). 특히, 아연, 구리, 카드뮴, 망간의 농도는 아가미나 외투막 보다 소화맹낭에서 높다 (Husmann *et al.*, 2012). 소화맹낭을 구성하는 세포들의 손상은 독성영향을 평가하는데 중요한 지표가 된다 (Depledge and Hopkin, 1995). 0.08 mg/L의 구리, 아연 및 카드뮴에 41일 동안 노출된 지중해담치의 소화선세관을 구성하는 상피세포들은 모두 섬모가 소실되었다 (Soto *et al.*, 1996). 30일 동안 0.227 mg/L의 니켈에 노출된 *Lammellidaens marginalis*의 소화선세관은 상피층의 파괴와 기저막 분리현상을 보인다 (Andhale *et al.*, 2011). 노르웨이의 심각한 구리 오염지역에서 채집한 진주담치의 소화선세관에서 내강의 팽창이 관찰되며, 오염의 정도가 심한 지역에서 채집한 개체들은 호염기성 세포의 비율이 높고, 소화세포의 비율은 낮다 (Zorita *et al.*, 2006). 본 연구 결과, 소화선에서 소화, 흡수, 분비 및 해독작용 등의 대사활동에 관여하는 소화선세관의 상피세포와 호염기성세포의 변화와 파괴와 내강의 폐쇄와 관찰되었는데, 이러한 결과로 인해 구리에 노출된 동족의 소화선에서는 정상적인 대사활동이 불가능할 것으로 여겨진다.

이매패류에서 lipofuscin은 구리, 아연, 철, 망간, 마그네슘과 같은 중금속 이온들을 포획가능한 제3의 용해소체로 여겨지기 때문에 중금속이나 저산소증에 인한 스트레스의 영향의 지표로 이용되어 왔다 (Krishnakumar *et al.*, 1990; Viarengo *et al.*, 1990). 진주담치를 15주 동안 0.8, 5.0, 20.0 mg/L의 구리에 노출 시킨 결과, 고농도에서 용해소체의 확장과 lipofuscin의 축적이 증가하였고, PAHs, PCBs와 중금속에 오염된 지역에서 채집된 개체들도 지방과립이 증가하고 lipofuscin의 비율도 증가하였다 (Moore, 1988; Regoli, 1992; Da Ros *et al.*, 2000). *Tapes semidecussatus*의 경우에도 고농도의 중금속에 오염된 저질에 노출시킨 후 대조구와 비교한 결과, 대조구의 소화맹낭에서는 lipofuscin이 관찰되지 않았지만 중금속 노출구에서는 lipofuscin이 다량으로 축적되었다 (Byrne and O'Halloran, 1999). 그리스 Thermaikos 만의 지중해담치의 소화선세관 상피세포에 존재하는 자가용해

소체와 잔여소체들은 오염지역으로 갈수록 크기와 분포정도가 높아졌으며, 중금속을 함유한 용해소체 또한 더 많이 관찰되었다 (Domouhtsidou and Dimitriadis, 2001). 본 연구의 동족에서도 구리농도 의존적으로 lipofuscin의 분포가 높게 나타나 구리의 낮은 농도에서도 아가미, 소화맹낭, 발 및 외투막의 변성과 함께 생존율 및 대사에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 구리의 저농도라 할지라도 노출기간이 길어짐에 따라 동족의 생리적 활성의 저하 및 조직학적 변성 등은 동족의 재생산에 영향을 미칠 수 있으며, 생산량에도 영향을 미칠 수 있을 것으로 여겨진다.

## 요 약

본 연구는 구리에 노출된 동족, *Macra veneriformis*의 생존율, 호흡율 및 기관계의 반응을 알아보고자 하였다. 실험기간은 4주였으며, 실험구는 대조구와 구리 노출구 3개 (0.025, 0.050 and 0.100 mg/L)였다. 실험 결과 구리는 동족의 생존율과 호흡률의 저하 및 기관계의 조직학적 변성을 유도하는 것이 확인되었다. 구리 0.100 mg/L 노출구에서 3주후 사망률은 100%였으며, 호흡률은 대조구에 비해 75% 감소하였다. 기관계의 조직학적 분석 결과, 외투막 상피층과 결합조직층의 변성, 아가미 점액세포의 증가와 상피세포의 괴사, 발에서는 상피층의 붕괴, 점액세포의 감소 및 혈림프동의 확장과 결합조직층의 변성을 나타냈다. 소화맹낭의 소화선세포에서는 호염기성 세포와 상피세포의 위축 및 농도의존적으로 lipofuscin의 축적이 확인되어 저농도의 구리에 노출된다 할지라도 노출기간이 길어짐에 따라 동족의 재생산 및 생산량 변동에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추정된다.

## 감사의 글

본 연구는 국립수산물품질관리원 수산시험연구사업 (RP-2013-AQ-115) 으로 수행되었습니다.

## REFERENCES

- Andhale, A.V., Bhosale, P.A. and Zambare, S.P. (2011) Histopathological study of nickel induced alterations in the fresh water bivalve, *Lammellidens marginalis*. *Journal of Experimental Sciences*, **2**: 1-3.
- Beninger, P.G., Le Penne, M. and Salaun, M. (1988) New observations of the gills of *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia), and implications for nutrition. *Marine Biology*, **98**: 61-70.
- Byrne, P.A. and O'Halloran, J. (1999) Aspects of assaying sediment toxicity in Irish estuarine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, **39**: 97-105.
- Cheung, S.G. and Cheung, R.Y. (1995) Effects of heavy metals on oxygen consumption and ammonia excretion in green-lipped mussels (*Perna viridis*). *Marine Pollution Bulletin*, **31**: 381-386.
- Chin, P., Lee, J.A., Shin, Y.K. and Lee, J.S. (1999) Environmental tolerance for pollutants in *Littorina brevicula* (Philippi). 2. The growth, metabolism and histological changes exposed to TBTCI and heavy metals in *Littorina brevicula*. *Journal of Korean Fisheries Society*, **32**: 593-600. (in Korean)
- Da Ros, L., Nasci, C., Marigómez, I. and Soto, M. (2000) Biomarkers and trace metals in the digestive gland of indigenous and transplanted mussels, *Mytilus galloprovincialis*, in Venice Lagoon, Italy. *Marine Environmental Research*, **50**: 417-423.
- Depledge, M.H. and Hopkin, S.P. (1995) Methods to assess effects on brackish, estuarine and near-coastal water organisms. *In*: Linthurst, R.A., Bourdeau, P. and Tardiff, R.G. (eds) Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems. Wiley, Chichester, UK, 125-149.
- Domouhtsidou, G.P. and Dimitriadis, V.K. (2001) Lysosomal and lipid alterations in the digestive gland of mussels, *Mytilus galloprovincialis* (L.) as biomarkers of environmental stress. *Environmental Pollution*, **115**: 123-137.
- Eble, A.F. (2001) Anatomy and histology of *Mercenaria mercenaria*. *In*: Kraeuter, J.N., Castagna, M. (eds.) Biology of the hard clam. Elsevier, New York, 117-220.
- Gregory, M.A., George, R.C., Marshall, D.J., Anandraj, A. and McClurg, T.P. (1999) The effects of mercury exposure on the surface morphology of gill filament in *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Pollution Bulletin*, **39**: 116-121.
- Hassan B. A. and E. B. Julia. 1980. Behavioral responses of the bivalve *Scrobicularia plana* (da Costa) subjected to short-term copper(Cu II) concentrations. *Marine Environmental Research*, **4**(2): 97-107.
- Hebel, D.K., Jones, M.B. and Depledge, M.H. (1997) Responses of crustaceans to contaminant exposure: a holistic approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **44**: 177-184.
- Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M. Jr and Bergman, H.L. (1992) Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. *Lewis Publishers, Boca Raton, FL*, 1-347.
- Husmann, G., Abele, D., Monien, D., Monien, P., Kriews, M. and Philipp, E.E.R. (2012) The influence of sedimentation on metal accumulation and cellular oxidative stress markers in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **111**: 48-59.
- James G. Wilson and Robert F. McMahon, (1981) Effects of high environmental copper concentration on the oxygen consumption, condition and shell morphology of natural populations of *Mytilus edulis* L. and *Littorina rudis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Comparative Pharmacology*, **70**(2):

- 139-147.
- Ju, S.M., Lee, J.W., Jin, Y.G., Yu, J. and Lee, J.S. (2006) Effect of zinc bioaccumulation on survival rate, activity, growth and organ structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Journal of Environmental Toxicology*, **21**: 115-126.
- Kang, J.C., Kim, H.Y. and Chin, P. (1997) Toxicity of cooper, cadmium and chromium on survival, growth and oxygen consumption of the mysid, *Neomysis awatschensis*. *Journal of Korean Fisheries Society*, **30**: 874-881. (in Korean)
- Kim, S.Y. and Lee, T.Y. (1988) The effects of pollutants effluent from a steam-power plant on coastal bivalves. *Ocean Research*, **10**: 47-56. (in Korean)
- Krishnakumar, P.K., Asokan, P.K. and Pillai, V.K. (1990) Physiological and cellular responses to copper and mercury in the green mussel *Perna viridis* (Linnaeus). *Aquatic Toxicology*, **18**: 163-173.
- Kumaraguru A.K. and Ramamoorthi, K., (1978) Toxicity of copper to three estuarine bivalves. *Marine Environmental Research*, **1**(1), 43-48.
- Lee, J.S., Kang, J.C., Shin, Y.K., Ma, K.H., Chin, p., (2001) Histological responses of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. *Journal of Fish Pathology*, **14**(2), 81-90. (in Korean)
- Lee, J.S. and Park, J.J. (2007) Risk assessment of nonylphenol using the sex ratio, sexual maturation, intersex and lipofuscin accumulation of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Journal of Korean Fisheries Society*, **40**: 16-23. (in Korean)
- Marin, M.G., Boscolo, R., Cella, A., Degetto, S. and Ros, L.D. (2006) Field validation of autometallographical black silver deposit (BSD) extent in three bivalve species from the Lagoon of Venice, Italy (*Mytilus galloprovincialis*, *Tapes philippinarum*, *Scapharca inaequivalvis*) for metal bioavailability assessment. *Science of Total Environment*, **371**: 156-167.
- Moore, M.N. (1988) Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Marine Ecology Progress Series*, **46**: 81-89.
- Moore, M.N. and Allen, J.I. (2002) A computational model of the digestive gland epithelial cell of the marine mussel and its simulated responses to oil-derived aromatic hydrocarbons. *Marine Environmental Research*, **54**: 579-584.
- Morrison, C.M. (1993) Histology and cell ultrastructure of the mantle and mantle lobes of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, Gmelin: A summary atlas. *American Malacological Bulletin*, **10**: 1-24.
- NRC (National Research Council). (1983) Risk assessment in the federal government: managing the process. National Academy Press, Washington, D.C., 1-192.
- Otludil, B., Cengiz, E.I., Yildirim, M.Z., Unver, O. and Unlu, E. (2004) The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbium corneus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. *Chemosphere*, **56**: 707-716.
- Park, J.S. and Lee, J.S. (2011) Change of reproductive and histological biomarkers of *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) exposed to nonylphenol. *Korean Journal of Malacology*, **27**: 181-190.
- Park, K.Y., Lee, D.J., Lee, C.H., Won, D.H., Lee, W.H. and Kwak, I.S., (2009) Studies on endpoints of toxicological evaluation of heavy metals in *Brachinella kugenumaensis*. *Journal of Environmental Toxicology*, **24**(3): 241-249.
- Park S.J., Kim, B.J. and Rhee J.M., (2003) Antibacterial activity of activated carbon fibers containing copper metal. *Polymer(Korea)*, **27**(3): 235-241.
- Reeve, M.R., Gamble, J.C. and Walter, M.C. (1977) Experimental observation on the effects of cooper on copepod and other zooplankton: controlled ecosystem pollution experiment. *Bulletin of Marine Science*, **27**: 92-104.
- Regoli, F. (1992) Lysosomal responses as a sensitive stress index in biomonitoring heavy metal pollution. *Marine Ecological Progressive Series*, **84**: 63-69.
- Rojik I, Nemcs'OK J and Boross L. (1983) Morphological and biochemical studies on liver, kidney and gill of fishes affected by pesticides. *Acta Biologica Hungarica*, **34**: 81-92.
- Schintu, M., Durante, L., Maccioni, A., Meloni, P., Degetto, S., and Contu, A. (2008) Measurement of environmental trace-metal levels in mediterranean coastal areas with transplanted mussels and DGT techniques. *Marine Pollution Bulletin*, **57**: 832-837.
- Shin, Y.K., Jun, J.C., Kim, E.O., and Hur, Y.B., (2011) Physiological changes and energy budget of the sea squirt *Halocynthia roretzi* from Tongyeong, South Coast of Korea, *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **44**(4), 366-371.
- Shin, Y.K., Park, J.J., Lim H.S. and Lee, J.S., (2013) Changes of biomarker in manila clam, *Ruditapes philippinarum* exposed to lead. *Korean Journal of Malacology*, **29**(1), 7-13.
- Soto, M., Cajaraville, M.P. and Marigómez, I. (1996) Tissue and cell distribution of copper, zinc and cadmium in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*, determined by autometallography. *Tissue Cell*, **28**: 557-568.
- Sunila, I. (1988) Acute histological responses of the gill of the mussel, *Mytilus edulis*, to exposure by environmental pollutants. *Journal of Invertebrate Pathology*, **52**: 137-141.
- Sutherland J. and Major CW. (1981) Internal heavy metal changes as a consequence of exposure of *Mytilus edulis*, the blue mussle, to elevated external copper (II) levels. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63-67.



- Vasanthi, L.A., Revathi, P., Arulvasu, C. and Munuswamy, N. (2012) Biomarkers of metal toxicity and histology of *Perna viridis* from Ennore estuary, Chennai, south east coast of India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **84**: 92-98.
- Viarengo, A. (1985) Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, **16**: 153-158.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M.N. and Orunesu, M. (1990) Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Comparative Biochemistry and Physiology, C*, **97**: 37-42.
- Vijayavel, K., Gopalakrishnan, S. and Balasubramanian, M.P. (2007) Sublethal effect of silver and chromium in the green mussel *Perna viridis* with reference to alterations in oxygen uptake, filtration rate and membrane bound ATPase system as biomarkers. *Chemosphere*, **69**: 979-986.
- Watling, H.R. and Watling, R.J. (1982) Comparative effects of metals on the filtering rate of the brown mussel, *Perna perna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **29**: 651-657.
- Xiuling JI., Qunhui S., Fang Liu, Jing Ma, Gang Xu, Yuanlong Wang, Minghong Wu, (2012) Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China, *Journal of Hazardous Materials*, **235-236**: 178-185.
- Zorita, I., Ortiz-Zarragoitia, M., Soto, M., Cajaraville, M.P. (2006). Biomarkers in mussels from a copper site gradient (Visnes, Norway): an integrated biochemical, histochemical and histological study. *Aquatic Toxicology*, **78**: S109-S116.