

염화니켈 (NiCl₂) 노출에 따른 북방전복, *Haliotis discus hannai*의 조직학적 지표 변화

김수지, 전미애, 주선미, 김재원¹, 강주찬², 이정식

전남대학교 수산생명의학과, ¹강원도립대학 해양생명과학과, ²부경대학교 수산생명의학과

Histological Indicator Change of the Abalone, *Haliotis discus hannai* Exposed to Nickel Chloride (NiCl₂)

Suji Kim, Mi Ae Jeon, Sun Mi Ju, Jae Won Kim¹, Ju-Chan Kang² and Jung Sick Lee

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

¹Department of Marine Life-Science, Gangwon Provincial College, Gangneung 210-804, Korea

²Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to find out accumulated concentration of nickel, survival rate and falling rate, structural changes of abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Experimental groups were composed of one control condition and five nickel chloride exposure conditions (5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L). The accumulation of nickel in abalone was significantly increased all exposure group. Though the exposure groups had lower survival rate than the control group, higher falling rate than the control group. Histopathological changes in the foot, gill and hepatopancreas of abalone revealed obvious with exposure group than control group.

Key words: *Haliotis discus hannai*, nickel chloride (NiCl₂), histopathology

서 론

해양환경의 변화는 서식생물의 생태생리에 장애를 초래하여 성장, 생존 및 생식 등에 큰 영향을 준다 (Wedemeyer and McLeay, 1981; Park *et al.*, 2013). 육상에서 연안 수역으로 유입된 금속원소는 오랜 기간 분해되지 않는 지속성과 그에 따른 독성, 생체축적의 특성으로 인해 수계생물 내 급성, 만성독성을 유발한다 (Atchison *et al.*, 1987). 또한 수질과 토양을 오염시켜 생태계의 먹이망을 통하여 농축되므로 대부분 연안에서 서식하고 있는 생물의 활동에 장애 우려가 있다 (Rashed, 2001; Mok *et al.*, 2010).

니켈 (Ni) 은 미량금속에서 필수원소 중의 하나로 지질대사

와 인지질의 합성, 비오틴, 엽산 등의 활성화에 관여하는 것으로 알려져 있으며 (Stangl and Kirchgessner, 1996), 지질대사와 간에서 triacylglycerol의 축적을 방해하는 것으로 알려져 있다 (Donald and Donald, 1999). 니켈에 노출시 북쪽말뚝성게, *Strongylocentrotus intermedius*에서는 유생의 기형을 이 증가되며 (Ryu *et al.*, 2004), 이매패류인 *Lammellidens marginalis*에서는 소화선세관 상피층의 파괴와 기저막의 탈락 등이 나타난다 (Andhale *et al.*, 2011). 그리고 복족류인 *Helix aspersa*에서는 장의 글루코오스 흡수를 억제시키고 장상피 파괴 등의 영향을 나타낸다 (Agnieszka *et al.*, 2010). 하지만 이러한 니켈의 많은 독성효과가 알려졌음에도 불구하고 상대적으로 포유류에 비해 수서생물에서의 연구는 제한적이다.

북방전복, *Haliotis discus hannai*는 복족강 (Gastropoda), 고복족목 (Vetigastropoda), 전복과 (Haliotidae) 에 속하는 종이며 (Lee and Min, 2002), 한국, 중국, 일본 등에서 고부가가치의 양식 대상으로 생산량이 점차 증가하고 있는 추세이다. 한국에서 전복 양식장의 대부분은 남해안 일대에 위치하고 있으며 남해안은 반 폐쇄만의 형태로 유입된 오염원들이 외양으로 쉽게 빠져나가지 못하는 지형적

Received: June 12, 2015; Revised: June 22, 2015;
Accepted: June 29, 2015

Corresponding author : Mi Ae Jeon

Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: omiaeo@naver.com
1225-3480/24577

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.

특성을 가진다. 따라서 이러한 서식지의 생물들은 급변하는 해양환경 변화의 영향을 지속적으로 받게 되어 질병 및 폐사 등을 유발하게 된다 (Cho *et al.*, 2008). 또한 전복은 환경변화에 따라 이동할 수 있는 어류들과는 달리 이동이 매우 제한적이므로 급격한 환경변화에 노출될 경우 많은 영향을 받게 된다. 본 연구에서는 염화니켈 (NiCl₂) 노출에 따른 북방전복의 생존율, 탈락률 및 조직학적인 변화양상을 통해 그 위해성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용된 북방전복, *Haliotis discus hannai*는 각장 33.86 ± 2.19 mm로 외형적으로 이상이 없는 180개체를 사용하였다. 북방전복은 실험개시 전 수온 15°C, 염분 32 psu 조건의 30 L 사각 유리수조 (28 x 50 x 30 cm) 에서 1주간 순치시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 실험조건

본 실험은 OECD test guideline No. 203 (OECD, 1992)을 인용하여 실시하였으며, 반지수식 독성시험 방법을 이용하여 96시간 동안 진행하였다. 실험용액은 염화니켈 (Nickel chloride, Sigma) 표준용액 (1,000 mg/L) 을 이용하여, 실험 농도는 급성독성시험을 바탕으로 0, 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 NiCl₂ mg/L로 설정하였다. 실험기간 동안 북방전복의 사육환경과 유사하도록 각 수조마다 암막장치를 설치하였으며, 수온, 염분 그리고 pH는 매일 오전 10시에 측정하였다. 사육수는 염화니켈 (NiCl₂) 의 반감기에 따라 1일 1회 매일 10시에 실험수의 1/3씩 교환하였으며, 교환시 사이펀을 이용하여 수조 바닥면의 배설물을 제거하였다.

2) 생존율 및 탈락률

실험개체들의 사망과 탈락은 실험기간 동안 각 농도구별로 매일 오전 10시에 관찰하였다. 개체의 사망은 자극에 대한 발과 촉수의 수축반응 여부로 판단하였으며, 개체의 탈락은 기질로부터 떨어진 개체를 대상으로 자극에 대한 발과 촉수의 수축반응 여부로 판단하였다.

3) 조직학적 지표 분석

광학현미경 조직표본제작은 각 기관계를 적출하여 Bouin's solution에 24시간 고정한 후, 흐르는 물로 36-48시간 동안 수세하였다. 그 후, 알코올의 농도순 탈수과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 파라핀에 포매된 조직은 마이크로톰을 이용하

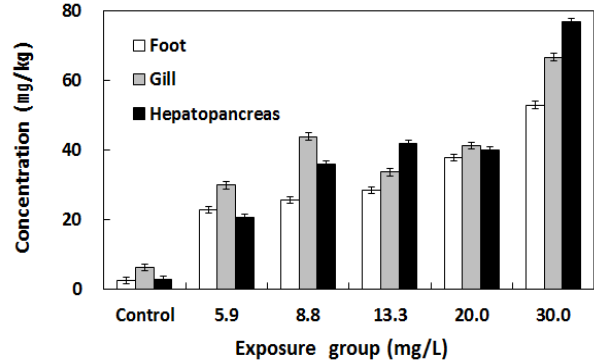


Fig. 1. Nickel concentration in the foot, gill and hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

여 두께 4-6 μm로 연속절편을 제작하였다. 제작된 조직절편은 Mayer's hematoxylin-eosin (H-E) 염색과 alcian blue and periodic acid-Schiff solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하였다. 점액세포의 염색친화도 판정은 Pantone® Formula Guide (Pantone Inc., USA) 을 기준으로 고유번호를 괄호 안에 표시하였다.

조직화학적 변화양상 (상피층 두께, 점액세포 분포비율, 호염기성세포 분포비율) 은 화상분석장치 (IMT, Visus, USA) 를 사용하여 정량화하였다. 체내 염화니켈 농도 분석은 2% HNO₃ (Nitric Acid 65%, Merck, Germany) 로 전처리한 후, ICP-MS (Perkin Elmer, NexION®300X) 로 측정하였다.

4) 유의성 검증

대조구에 대한 노출구들의 유의적 차이 (P < 0.05) 를 알아보기 위하여 통계처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS 20.0, SPSS Inc., U.S.A) 을 이용하여 paired sample t-test를 실시하였다.

결 과

1. 체내 염화니켈 축적 농도

염화니켈에 노출된 북방전복의 기관계별 염화니켈 축적 농도는 Fig. 1에 나타내었다.

발에 축적된 염화니켈의 농도는 대조구에서 2.49 mg/kg, 각 농도구 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L에서는 각각 22.72, 25.52, 28.44, 37.68, 52.68 mg/kg으로 농도가 높아짐에 따라 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였다. 아가미에 축적된 염화니켈의 농도는 대조구에서 6.18 mg/kg, 각 농도구에서는 29.81, 43.81, 33.55, 41.15, 66.57 mg/kg으로 농도

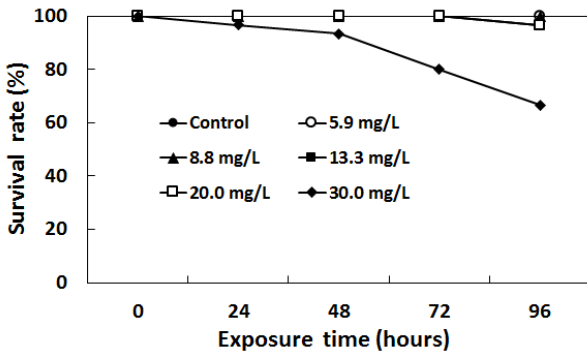


Fig. 2. Survival rate of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 96 hours.

의존적으로 증가하는 결과를 보였으며, 간체장의 염화니켈 축적농도는 대조구에서 2.64 mg/kg, 각 농도구에서 20.52, 35.81, 35.81, 41.69, 39.80, 76.78 mg/kg으로 발과 아가미와 마찬가지로 농도가 높아짐에 따라 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였다. 각 기관계별 염화니켈의 축적농도를 비교한 결과, 간체장에서 가장 높은 축적농도를 나타냈으며, 모든 농도구에서 유의적인 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$).

2. 생존율 및 탈락률

염화니켈에 노출된 북방전복의 생존율은 24시간 경과 후 가장 높은 농도구인 30.0 mg/L 농도구에서 96.7%로 나타났으며, 48시간 경과 후 93.3%, 72시간 경과 후 80%로 감소하는 결과를 나타냈다. 96시간 경과 후 대조구, 5.9, 8.8 mg/L 농도구에서는 100%의 생존율을 보였으며, 13.3 mg/L와 20.0 mg/L 농도구에서는 96.7%, 30.0 mg/L 농도구에서는 66.7%로서 농도의존적으로 감소하는 경향을 나타냈다 (Fig. 2).

탈락률은 48시간 경과 후 30.0 mg/L 농도구에서 3.3%로 나타났으며, 72시간 경과 후 13.3, 20.0, 30.0 mg/L 농도구에서 각각 3.3%, 3.3%, 16.7%의 탈락률을 보였다. 96시간 경과 후에는 대조구, 5.9, 8.8 mg/L 농도구에서는 0%의 탈락률을 보였으며, 13.3 mg/L와 20.0 mg/L 농도구에서는 10.0%, 30.0 mg/L 농도구에서는 36.7%로 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타냈다 (Fig. 3).

3. 조직학적 지표 변화

1) 발

북방전복 발의 조직학적 구조는 외부로부터 상피층, 결합조직층, 근육층으로 구분된다. 상피층은 단층으로 주로 섬모원주형 상피세포, 점액세포, 과립세포들로 구성되며, 상피층의 자유면에는 선조연의 발달이 뚜렷하다. 점액세포는 섬모원주형 상피세포 사이에서 관찰되며, 이들은 H-E 염색에서 공포상으로 관찰되었다. AB-PAS (pH 2.5) 반응을 실시한 결과, 상피층의

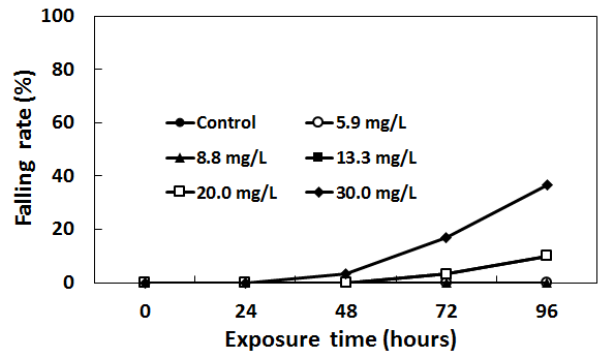


Fig. 3. Falling rate of *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride for 96 hours.

점액세포들은 alcian blue에 양성으로 반응하여 푸른색으로 나타났다. 근육층에서는 근섬유 다발들과 혈림프동이 관찰되었다. 근육층의 근섬유 다발들은 치밀하게 분포하고 있으며, 환상근섬유와 종주근섬유들이 격자모양으로 구성되어 있다 (Fig. 4A, B).

염화니켈에 노출된 발 상피층에서는 24시간 경과 후 점액세포의 수가 증가하는 결과를 보였으며, 5.9 mg/L와 8.8 mg/L 농도구에서는 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 푸른색 (2935C)으로 반응하는 점액세포 수의 증가와 일부 섬모의 소실이 관찰되었다 (Fig. 4C, D). 20.0 mg/L와 30.0 mg/L 농도구에서는 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 푸른색 (3015C)으로 반응하는 점액세포 수의 증가와 근섬유의 갈라짐이 관찰되었다 (Fig. 4E, F). 노출 72시간 경과 후에는 20.0 mg/L와 30.0 mg/L 농도구에서 점액세포의 감소 및 공포화, 혈림프동의 폐쇄와 일부 근섬유 다발들의 소실이 관찰되었다. 노출 96시간 경과 후에는 5.9 mg/L와 8.8 mg/L에서 근섬유 다발들의 갈라짐이 관찰되었으며, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L에서는 점액세포 수의 감소와 근섬유 다발들의 갈라짐, 혈림프동의 폐쇄가 관찰되었다.

염화니켈에 노출된 북방전복 발의 상피층 두께를 비교한 결과, 대조구에서는 14.43 μ m, 각 농도구 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L에서는 13.55, 14.16, 13.94, 13.68, 13.50 μ m으로 대조구와 유사한 결과를 보였으며, 대조구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$) (Fig. 5). 발 상피층의 점액세포 분포비율을 비교한 결과, 대조구에서는 5.3%, 각 농도구에서는 10.4, 13.5, 17.2, 21.7, 21.2%로 모든 농도구에서 농도가 높아짐에 따라 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였으며, 20.0 mg/L와 30.0 mg/L 농도구에서 대조구와의 유의적인 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$, Fig. 6).

2) 아가미

북방전복 아가미의 조직학적 구조는 종단면에서 각 세엽은 기저부, 중간부, 말단부로 구분된다. 세엽 기저부의 기저판은

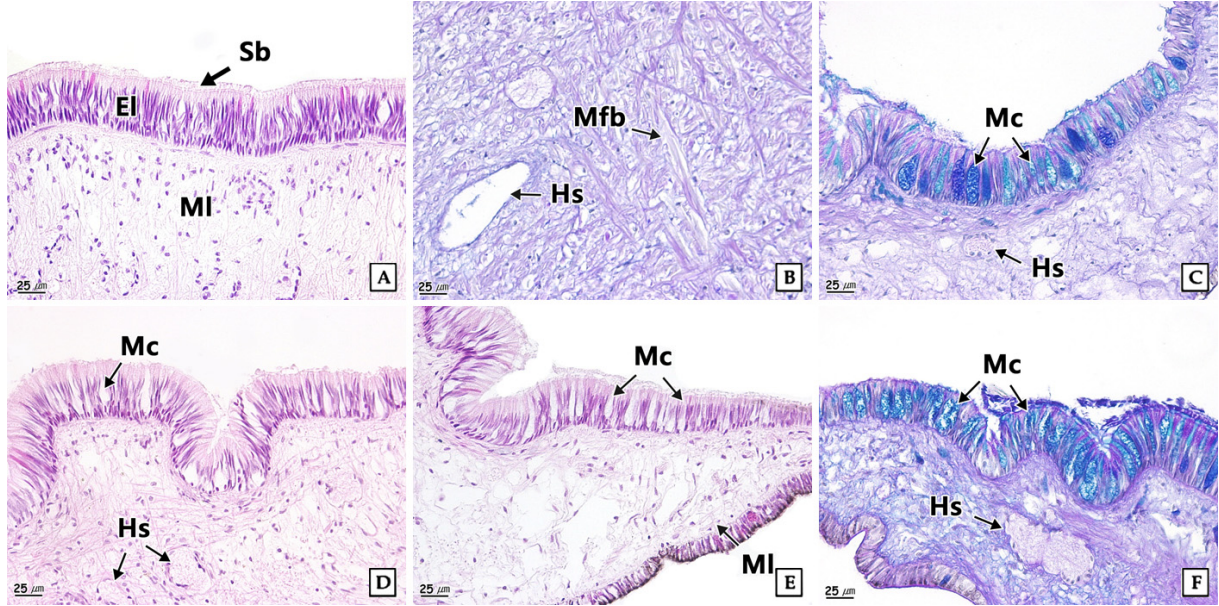


Fig. 4. Histological change of foot of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. A and B: Control group. A: Showing the epithelial layer (EI) and striated border (Sb). H-E stain. B: Section showing the hemolymph sinus (Hs) and muscle fiber bundle (Mfb). AB-PAS (pH 2.5) reaction. C: 5.9 mg/L for 48H. Mucous cell (Mc) showing the alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. D: 13.3 mg/L for 48H. Showing the mucous cell and partially disappearance of cilia. H-E stain. E: 20.0 mg/L for 24H. Separation of muscle fiber bundle. H-E stain. F: 30.0 mg/L for 24H. Showing the numerous mucous cell of alcian blue positive and closing the hemolymph sinus. AB-PAS (pH 2.5) reaction. MI, muscle layer.

상피층과 결합조직층으로 구분된다. 상피층은 단층으로 원주형의 상피세포와 다수의 점액세포로 구성되어 있으며, 결합조직층은 일부 근섬유들과 대부분의 콜라겐 섬유들로 구성되어 있다. 기저판과 연결된 새엽의 기저부는 콜라겐 섬유의 띠를 가지고 있으며, 혈림프동을 중심으로 단층의 원주 상피층과 다수의 점액세포들이 잘 발달되어 있다. 새엽 중간부의 상피층은 단층으로 원주형 상피세포들과 점액세포들로 구성되어 있으며,

원주형 상피세포들의 측면부에는 다수의 섬모들이 잘 발달되어 있다. 새엽의 말단부는 콜라겐 성분의 skeletal rod가 곤봉형의 혈림프동을 감싸고 있으며, 상피층은 원주형 상피세포와 AB-PAS (pH 2.5) 반응에 푸르게 반응하는 점액세포로 구성되어 있다 (Fig. 7A, B).

염화니켈에 노출된 북방전복의 아가미에서는 노출 24시간 경과 후 5.9, 8.8, 13.3 mg/L 농도구에서 섬모의 탈락, 새엽

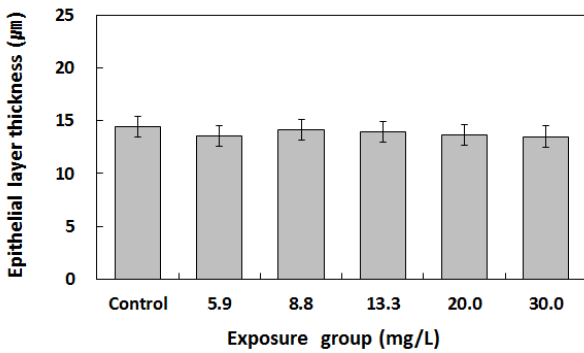


Fig. 5. Epithelial layer thickness on the foot of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

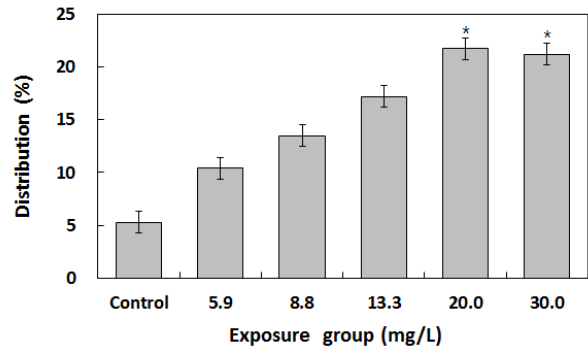


Fig. 6. Mucous cell distribution on the foot of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD. *: Statistically significant difference from the control (ANOVA, P < 0.05).

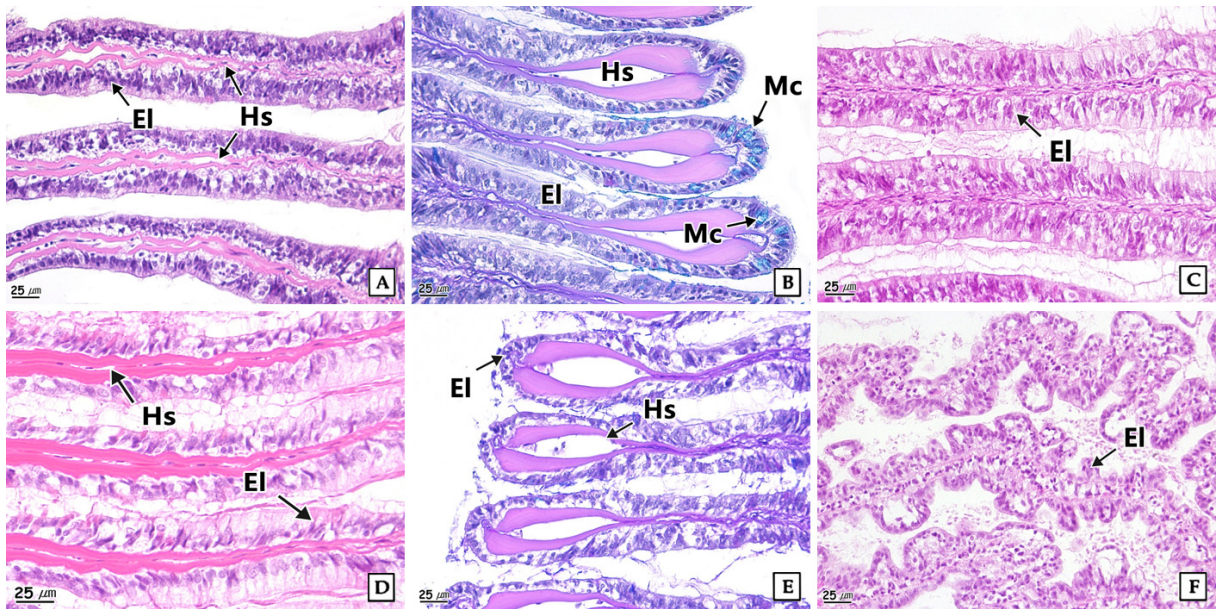


Fig. 7. Histological change of gill of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. **A** and **B**: Control group. **A**: Showing the epithelial layer (EI) and hemolymph sinus (Hs). H-E stain. **B**: Showing the mucous cells (Mc) in epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **C**: 5.9 mg/L for 48H. Showing the degeneration of epithelial layer and disappearance of cilia. H-E stain. **D**: 20.0 mg/L for 48H. Showing the degeneration of epithelial layer. H-E stain. **E**: 30.0 mg/L for 72H. Showing the partially destruction of epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **F**: 30.0 mg/L for 96H. Showing the falling the epithelial layer. H-E stain.

상피층 상피세포의 세포질 혼탁과 같은 세포질 변성이 관찰되며, 48시간 경과 후 20.0 mg/L와 30.0 mg/L에서도 새엽 상피층 상피세포의 세포질 혼탁과 같은 세포질 변성이 관찰되었다 (Fig. 7C, D). 노출 72시간 경과 후에는 8.8 mg/L 농도구에서 AB-PAS (pH 2.5) 반응시 보라색으로 나타나는 점액세포의 수가 증가하는 것이 관찰되며, 30.0 mg/L 농도구에서는 일부 상피세포의 파괴가 관찰되었다. 노출 96시간 경과 후에는 상피세포의 파괴와 일부 상피층의 탈락이 관찰되었다 (Fig. 7E, F).

염화니켈에 노출된 북방전복 아가미 새엽의 상피층 두께를 비교한 결과, 대조구에서는 17.60 μm , 각 농도구 5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L에서는 19.03, 19.08, 18.32, 19.20, 18.67 μm 으로 대조구에 비해 증가하는 결과를 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$, Fig. 8). 아가미의 점액세포 분포비율을 비교한 결과, 대조구에서는 2.5%, 각 농도구에서는 2.7, 2.8, 3.2, 2.9, 2.8%로 모든 농도구에서 대조구와 유사한 결과를 보였으며, 대조구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$, Fig. 9).

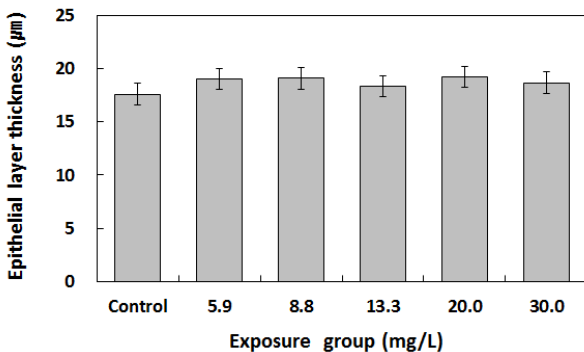


Fig. 8. Epithelial layer thickness on the gill of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

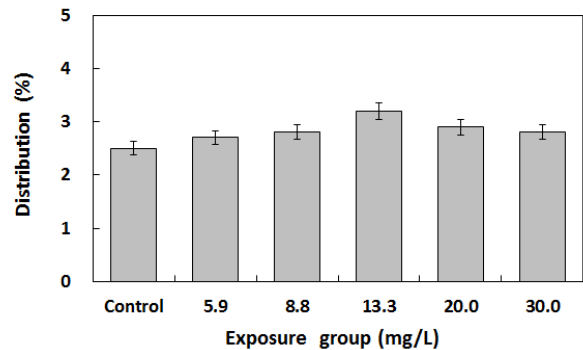


Fig. 9. Mucous cell distribution on the gill of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

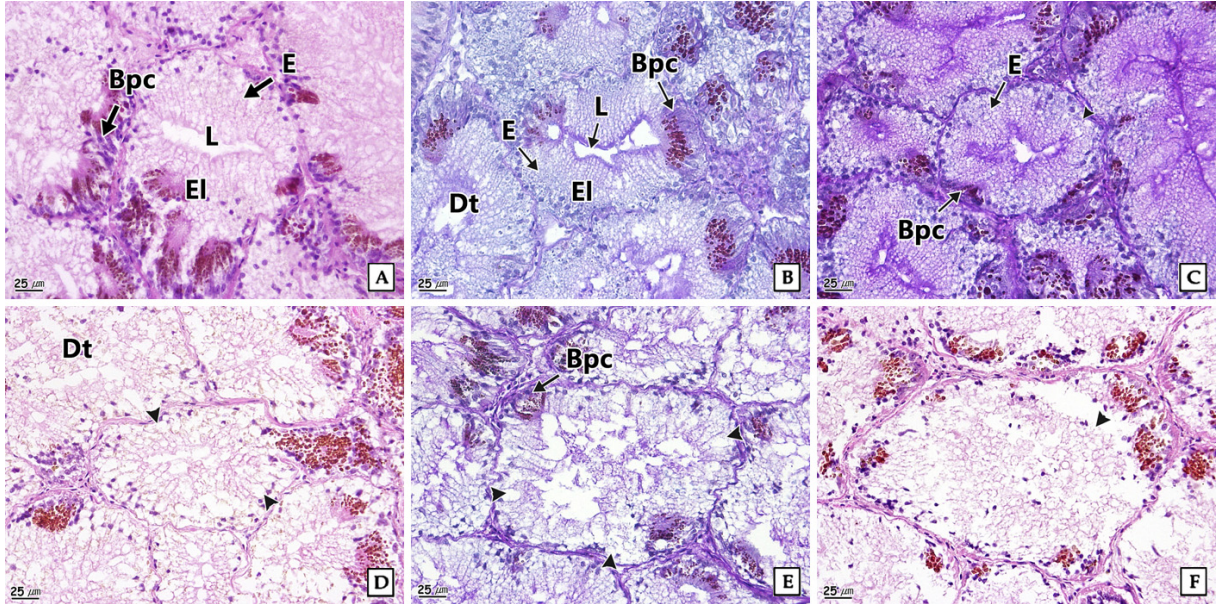


Fig. 10. Histological change of digestive tubule of hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. **A** and **B**: Control group. **A**: Showing the epithelial cell (E) and basophilic cell (Bpc). H-E stain. **B**: AB-PAS (pH 2.5) reaction. **C**: 5.9 mg/L for 48H. Showing the epithelial cell and basophilic cell. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **D**: 5.9 mg/L for 72H. Showing the vacuolation of epithelial cell (arrow head). H-E stain. **E**: 13.3 mg/L for 72H. Showing the partially destruction of epithelial cell (arrow head). AB-PAS (pH 2.5) reaction. **F**: 20.0 mg/L for 96H. Showing the filled up cell debris in lumen (L) of digestive tubule (arrow head). H-E stain. Dt, digestive tubule; EI, epithelial layer.

3) 간체장

복방전복의 간체장은 다수의 소화선으로 구성되며, 이들 각 소화선의 조직학적 구조는 다수의 소화선세관들과 소화선세관들 사이의 결합조직으로 구성되어 있다. 소화선세관은 단층의 상피층으로 이루어져 있으며, 상피층은 상피세포와 호염기성세포로 구분할 수 있다. 상피세포는 원주형으로 기저부에 핵을 가지고 있으며, 호염기성세포는 원주형 세포로 핵은 세포의 중앙 또는 상부에 존재하고 있다 (Fig. 10A, B).

염화니켈에 노출된 복방전복 간체장의 소화선세관은 노출 48시간 경과 후 5.9 mg/L와 8.8 mg/L 농도구에서 상피세포의 공포화가 관찰되며 (Fig. 10C), 20.0 mg/L와 30.0 mg/L 농도구에서는 상피세포의 공포화와 일부 상피세포의 파괴가 관찰되었다. 노출 72시간 경과 후 5.9, 8.8, 13.3 mg/L 농도구에서 상피세포의 공포화와 일부 상피세포의 파괴 및 탈락이 관찰되었다 (Fig. 10D, E). 96시간 경과 후에는 5.9 mg/L 농도구에서 상피세포의 파괴가 관찰되며, 20.0 mg/L와 30.0 mg/L 농도구에서는 상피세포의 파괴가 진행되어 파괴된 세포 잔여물들이 내강 안에 축적되어 있는 것이 관찰되었다 (Fig. 10F).

염화니켈에 노출된 복방전복 소화선세관의 상피층 두께를 비교한 결과, 대조구에서는 54.55 μ m, 각 농도구 5.9, 8.8,

13.3, 20.0, 30.0 mg/L에서는 44.72, 43.97, 42.83, 41.54, 39.05 μ m으로 모든 농도구에서 농도가 높아짐에 따라 농도의존적으로 감소하는 결과를 보였으며, 20.0와 30.0 mg/L 농도구에서 대조구와의 유의적인 차이를 나타냈다 ($P < 0.05$) (Fig. 11). 소화선세관의 호염기성세포 분포비율을 비교한 결과, 대조구에서는 1.01%, 각 농도구에서는 0.98, 1.14, 1.30, 0.98, 0.97%로 증가 후 감소하는 결과를 보였으나 대조구와의

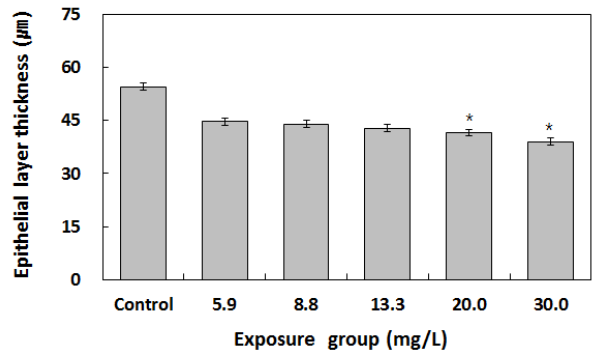


Fig. 11. Epithelial layer thickness on the hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD. *: Statistically significant difference from the control (ANOVA, $P < 0.05$).

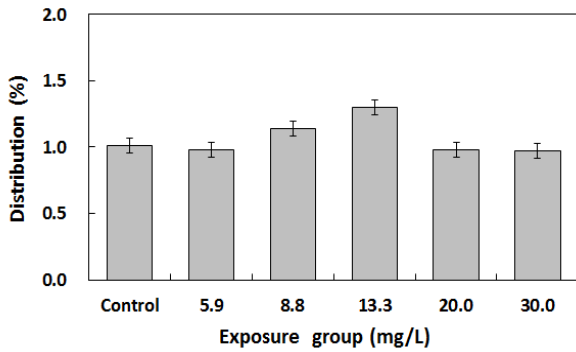


Fig. 12. Basophilic cell distribution on the hepatopancreas of the abalone, *Haliotis discus hannai* exposed to nickel chloride. Vertical bar: SD.

유의적인 차이는 나타나지 않았다 ($P > 0.05$, Fig. 12).

고 찰

미량 금속은 수서생태계에서 생물에게 미치는 스트레스 요인 중 화학적 요인 가운데 하나로 필수원소와 비필수원소로 구분되며, 니켈과 같은 미량금속은 필수원소에 속하는 금속으로 생물 체내에 흡수되어 정상적인 생명활동의 유지와 생리적 반응의 항상성 유지에 이용된다. 하지만, 필요 이상의 농도에 노출될 경우, 세포 내부의 구조적 이상을 유발하거나 생체기능의 장애를 일으켜 생리적 활동에 악영향을 미친다 (Sutherland and Major, 1981). 화학물질 및 미량금속 등의 오염물질은 주로 소화선, 아가미, 외투막, 신장 등에 축적되며, 수서생물의 기관계 구조의 변화를 유발한다 (Morrison, 1993; Perkkarinen, 1996; Otludil *et al.*, 2004). 본 연구에서는 염화니켈의 축적농도를 각 기관계별로 비교한 결과 농도구가 높아짐에 따라 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였으며, 간체장에서 가장 높은 축적률을 보였다. 이러한 결과는 간체장이 소화 및 흡수를 담당하는 기관으로써 간체장을 구성하는 세포들이 세포내 소화와 세포외 소화를 위한 효소의 합성과 분비에 관여하기 때문이라고 판단된다.

Wang *et al.* (2009) 은 *Haliotis discus hannai*를 구리 (Cu) 에 노출시켜 생존율을 관찰한 결과, 1.08 mg/kg 농도구에서는 대조구와 유사한 결과를 보였지만, 1.08 mg/kg을 제외한 모든 농도구에서는 생존율이 감소하는 결과를 나타냈다. 본 연구에서는 모든 농도구에서 생존율이 농도의존적으로 감소하는 결과를 나타냈으며, 탈락률 역시 농도의존적으로 증가하는 결과를 나타냈다.

전복의 발은 운동계에 해당하는 신축성이 있는 기관으로 이동, 부착, 먹이의 포획, 교미, 산란 등과 같은 다양한 기능을 수

행한다 (Voltzow, 1990). 보통 복족류에서 기질의 부착은 발 근육과 점액을 이용하며, 움직이지 않고 있을 때 점착제 역할을 하는 부착점액을 발 근육 표면으로부터 분비함으로써 기질에 부착한다 (Denny and Gosline, 1980; Denny, 1984). 북방전복을 수온 변화에 노출시킨 결과, 발 상피층에 분포하는 점액물질의 증가와 혈림프동의 확장 및 점액세포의 공포화 등이 나타났다 (Park *et al.*, 2013). 본 연구에서는 노출 농도가 높아짐에 따라 점액세포의 증가 및 공포화, 일부 상피층의 세포 소실이 관찰되었으며, 이러한 결과는 외부물질에 의한 방어 기작으로 노출농도에 따른 높은 탈락률과도 관련이 있는 것으로 판단된다.

복족류의 아가미는 다른 수서동물과 마찬가지로 호흡을 담당하는 기관으로서 종 및 서식환경에 따라 다양한 형태의 아가미를 갖는다. 또한 다양한 환경오염에 노출되었을 때 형태 및 생리적 기능에 변화가 나타난다 (Voltzow, 1990). 굴, *Crassostrea gigas*, 진주담치, *Mytilus edulis*, 바지락, *Ruditapes philippinarum*을 구리 (Cu), 염소 (Cl), 철 (Fe) 등의 오염원에 노출시킨 결과, 세엽 상피층의 분리, 혈림프동의 확장 등이 관찰되었다 (Kim and Lee, 1988). 본 연구에서도 기존 연구와 유사한 결과를 보였으며, 상피세포의 파괴 및 탈락 등이 관찰되었고 점액세포는 증가 후 고농도로 갈수록 감소하는 결과를 보였다. 이는 상피세포의 파괴 및 탈락으로 인한 것으로 아가미 본래의 기능을 상실할 것으로 생각된다.

복족류의 간체장은 소화 및 흡수를 담당하는 기관으로 간체장을 구성하는 소화선세관은 상피세포와 호염기성세포로 구성되어 있으며, 상피세포는 먹이의 세포내 소화를 담당하고 호염기성세포는 세포외 소화를 위한 효소의 합성과 분비에 관여한다. *Lammellidens marginalis*를 니켈 (Ni) 에 노출시킨 결과, 소화선세관 상피층의 파괴와 상피층의 탈락 등이 관찰되었다 (Andhale *et al.*, 2011). 본 연구에서는 상피세포의 공포화와 파괴가 진행되어 그 잔여물들이 소화선세관의 내강 안에 응축되어 있는 것이 관찰되었다. 또한 소화선세관 상피층의 파괴로 인하여 호염기성세포의 분포비율이 증가 후 고농도에서 감소하는 결과를 보였다. 이러한 체내 염화니켈 축적농도의 증가, 생존율의 감소, 탈락률의 증가 및 기관계의 구조적 변화는 각 기관계들의 정상적인 구조와 기능을 상실할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 염화니켈 노출에 따른 북방전복의 염화니켈 축적 농도, 생존율 및 탈락률, 조직학적 지표 변화에 대하여 알아보 고자 하였다. 실험은 1개의 대조구와 5개의 니켈 노출구 (5.9, 8.8, 13.3, 20.0, 30.0 mg/L) 였다. 염화니켈에 노출된 북방전

복의 체내 염화니켈 축적 농도는 모든 니켈 노출구에서 농도의존적으로 증가하는 결과를 보였다. 생존률 및 탈락률은 대조구에 비해 니켈 노출구에서 농도의존적으로 나타났다. 북방전복의 발, 아가미, 간체장의 조직학적 변화는 시간이 경과함에 따라 대조구보다 니켈 노출구에서 뚜렷하게 나타났다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Agnieszka, Z.R., Dolezych, B., Dolezych, S., Migula, P. and Maciej, L. (2010) Effect of nickel exposure and acute pesticide intoxication on acetylcholinesterase, catalase and glutathione S-transferase activity and glucose absorption in the digestive tract of *Helix aspersa* (Pulmonata, Helicidae). *International Journal of Environment and Pollution*, **40**: 380-390.
- 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.
- Atchison, G.J., Henry, M.G. and Sandheinrich, M.B. (1987) Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of fishes*, **18**: 11-25.
- Cho, H.S., Cho, G.O., Park, J.C. and Kim, H.J. (2008) Study of characteristics of seasonal fluctuation of water quality and sediment environment in Kamak Bay in 2007. *Journal of the Korean Society of Marine Environment & Safety*, **5**: 129-132.
- Denny, M.W. (1984) Mechanical properties of pedal mucous and their consequences for gastropod structure and performance. *American Zoologist*, **24**: 23-36.
- Denny, M.W. and Gosline, J.M. (1980) The physical properties of the pedal mucus of the terrestrial slug, *Ariolimax columbianus*. *The Journal of Experimental biology*, **88**: 375-394.
- Donald, G.B. and Donald, B. (1999) Nickel. *Clinical Toxicology*, **37**: 239-258.
- Kim, S.Y. and Lee, T.Y. (1988) The effects of pollutants effluent from a steam-power plant on coastal bivalves. *Ocean and Polar Research*, **10**: 47-65.
- Lee, J.S. and Min, D.K. (2002) A catalogue of molluscan fauna in Korea. *The Korean Journal of Malacology*, **18**: 93-217.
- Mok, J.S., Lee, K.J., Shim, K.B., Lee, T.S., Song, K.C. and Kim, J.H. (2010) Contents of heavy metals in marine invertebrates from the Korean coast. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **39**: 894-901.
- 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.
- OECD (1992) Test No. 203: Fish, acute toxicity test. *In*: OECD Guidelines for the testing of chemicals. (ed. by OECD). pp. 1-9. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Otludil, B., Cengiz, E.I., Yildirim, M.Z., Unver, O. and Unlu, E. (2004) The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. *Chemosphere*, **56**: 707-716.
- Park, M.W., Kim, H., Kim, B.H., Son, M.H., Jeon, M.A. and Lee, J.S. (2013) Changes of survival rate, falling rate and foot histology of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1952) with water temperature and salinity. *The Korean Journal of Malacology*, **29**: 303-311.
- Pekkarinen, M. (1996) Scanning electron microscopy, whole-mount histology, and histochemistry of two *Anodontine glochidia* (Bivalvia: Unionidae). *Canadian Journal of Zoology*, **74**: 1964-1973.
- Rashed, M.N. (2001) Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*, **27**: 27-33.
- Ryu, T.K., Hwang, I.Y., Lee, T.K., Yoon, J. and Lee, C.H. (2004) Effects of cadmium, copper, chromium, nickel, silver and zinc on the embryonic development of the sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. *Journal of Environmental and Toxicology*, **25**: 19-26.
- Stangl, G.I. and Kirchgessner, M. (1996) Nickel deficiency alters liver lipid metabolism in rats. *Journal of Nutritional*, **126**: 2466-2473.
- Sutherland, J. and Major, C.W. (1981) Internal heavy metal changes as a consequence of exposure of *Mytilus edulis*, the blue mussel, to elevated external copper (II) levels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **68**: 63-67.
- Voltzow, J. (1990) The functional morphology of the pedal musculature of the marine gastropods *Busycon contrarium* and *Haliotis kamtschatkana*. *Veliger*, **33**: 1-19.
- Wang, W., Mai, K., Zhang, W., Ai, Q., Yao, C., Li, H. and Liufu, Z. (2009) Effects of dietary copper on survival, growth and immune response of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture*, **297**: 122-127.
- Wedemeyer, G.A. and McLeay, D.J. (1981) Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. *In*: Stress and Fish. (ed. by Pickering, A.D.). pp. 247-255. Academic Press, London.