

TBTCI 노출에 의한 대복, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) 외투막의 미세구조적 변화

박정준¹, 김석렬¹, 박명애¹, 이정식²

¹국립수산과학원 병리연구과, ²전남대학교 수산생명의학과

Ultrastructural Changes in the Mantle of the Equilateral Venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) Exposed to TBTCI

Jung Jun Park¹, Seok-Ryel Kim¹, Myoung Ae Park¹, Jung Sick Lee²

¹Pathology Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-902, South Korea

²Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, South Korea

ABSTRACT

Equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to tributyltin chloride (TBTCI) for 36 weeks was showed ultrastructural changes of the mantle. The fine mantle had 4-folds and its epidermal layer consisted of simple columnar epithelial cells and ciliated cells and secretory cells. Inner and outer epidermal layer covered connective tissue. The mantle exposed to TBTCI at 12 weeks was decreased cilia in the inner epidermal layer, and observed extension of the hemolymph sinus and destruction of the septum. At 20 weeks, it revealed vacuole formation and pycnosis in the cytoplasm, and scattered muscular fiber. After 28 weeks of exposure, the mantle revealed partially degenerative changes in the epidermal layer. In the ciliated cells, basal body was isolated from the cilia and rootlet complex and basal foot were scattered. The sarcolemma had debris fiber. At 36 weeks, it observed degenerative cells that it revealed disappearance of the cilia, atrophic nucleus, poorly membrane and destruction of the cresternae in the mitochondria, and increasing heterophagosome. The outer epithelial cell had necrotic nucleus, numerous lysosome and disappearance of the microvilli. Therefore, results of this study suggested that chronic TBTCI exposure in the *Gomphina veneriformis* induced the disorders of shell growth and physiological function with histopathological changes of the mantle.

Key words: *Gomphina veneriformis*, mantle, ultrastructural changes, TBTCI

서론

1960년대 이후 부착생물들이 선박의 표면에 부착하는 것을 최소화시키기 위해 뛰어난 부착방지 효과를 가진 tributyltin (TBT) 이 선박용 페인트에 널리 사용되었으며, 이들의 효과를 증대시키기 위하여 triphenyltin (TPT) 도 함께 사용되어져 왔다 (U.S. EPA, 2003). 생물에 대한 유기주석화합물 (butyltin) 의 영향은 1970년대 프랑스의 아카송만의 굴의 패각기형 현상이 처음 보고된 이후 오염지역의 조사 및 독성실험

을 통해서 굴의 성장억제 및 패각기형을 유발하는 것으로 보고되었다 (Waldock and Thain, 1983; Thain and Waldock, 1986; Stephenson, 1991). 특히, 동물의 생식관련 내분비계 장애를 유발시키고, 면역독성, 호르몬 분비 억제 및 먹이 섭취율 저하 등의 문제를 야기 하는 것으로 알려져 있다 (Kannan *et al.*, 1997; Gauthier-Clerc *et al.*, 2002; Halldórsson *et al.*, 2005). 또한 TBT가 기관계의 구조적 변화를 유도하여 기능적인 장애를 초래하였다는 사실 또한 여러 연구자들에 의해 보고되어 왔다 (Rasmussen *et al.*, 1983; Hinch and Stephenson, 1987; Regoli and Orlando, 1994; Quinn *et al.*, 2004).

이러한 해양생물체에 대한 독성 때문에 세계 각국에서는 TBT를 각국의 사정에 따라 사용을 규제하고 있고 (Champ, 2000), 우리나라의 경우에도 2003년 법을 개정하여 수산화트리알킬주석 (trialkyltin hydroxide) 과 그 염류 (trialkyltin

Received September 3, 2011 ; Accepted September 26, 2011

Corresponding author: Jung Sick Lee
Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: ljs@jnu.ac.kr
1225-3480/24398

oxide 포함), TBT 또는 그 중 하나를 0.1% 이상 함유한 혼합 물질의 사용을 금지 시키고 있다 (환경부, 2003). 국제해사기구 (IMO) 의 경우에도 2003년 1월 1일 이후, TBT를 주성분으로 하는 선박용 페인트의 도포를 금지하기로 하였으며, 2008년 1월 1일 이후 도포되어 있는 TBT 성분의 선박용 페인트를 선체로부터 완전 제거 또는 동 페인트가 해수로 용출되지 않도록 도막을 도포하도록 하고 있다. 하지만 유기주석화합물은 퇴적 정도에 따라 수중에서 수 십년간 축적되어있다 (Clavell *et al.*, 1986). 따라서 1960년대부터 2003년까지 사용된 TBT는 저질에서 계속 용출되어 생물에 영향을 줄 수 있을 것이다.

이때패류에서 패각이 외부자극에 일차적으로 반응하는 물리적인 기관이라면, 외투막은 외부 자극에 생물학적으로 처음 반응하는 기관계로서 자극을 외투강 기관계와 내장 기관계에 전달하는 동시에 외투강내의 모든 기관계를 이차적으로 보호하는 기능을 한다. 또한 대부분의 패류들은 외투막 구조의 기본적인 체제가 유사하고, 이들은 기능적으로 외투강의 정화, 점액분비 및 패각형성에 관여 한다 (Kawaguti and Ikemoto, 1962; Bubel, 1973; Saleuddin, 1974; Morrison, 1993; Lee *et al.*, 2007).

따라서 본 연구는 투과전자현미경을 이용하여 TBTCI에 노출된 대복 외투막의 미세구조적 변화를 관찰하였다. 따라서 Park and Lee (2008) 가 보고한 연구에서 규명하기 못했던 조직병리학적 미세구조적 변화를 보고하여 성장억제의 원인과 외투강 정화와 같은 생리적인 활동의 장애를 판단 할 수 있는 근거자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험종 및 오염원 노출

본 연구에 사용된 대복, *Gomphina veneriformis* 는 강원도 주문진읍 연안 (37°54' 27" N, 128°49' 38") 에서 채집한 각장 30.00 mm-35.00 mm 크기의 성체로서 실험에 사용된 개체 수는 120개체 였다.

실험 개체들은 10 cm 정도의 모래가 깔려있는 30 L의 지수형 순환여과식 사각 유리수조에서 사육하였다. 본 연구에 사용된 시험물질은 tributyltin chloride (TBTCI; [CH₃(CH₂)₃SnCl, Sigma) 를 acetone (CH₃COCH₃, Junsei) 으로 10000 mg L⁻¹ 농도의 stock solution을 만든 다음 dimethyl sulfoxide (DMSO; (CH₃)₂SO, Junsei) 를 이용하여 100 mg L⁻¹ 농도인 substock solution을 만들었다. TBTCI substock solution은 각각의 TBTCI 노출 실험 수조에 희석하여 사용하였다. TBTCI 노출실험농도를 정하기 위해 TBTCI을 인위적으로 노출시키지 않은 수조를 대조구로 하였으며, 두 차례에 걸친 예비실험을 통해서 LC₉ (20.0 μg

L⁻¹) 의 1/25 농도인 0.8 μg L⁻¹를 가장 높은 농도구로 정하고, 그 보다 낮은 0.6과 0.4 μg L⁻¹를 추가로 설정하였다.

2. 조직병리학적 방법

채집된 재료는 각장, 각고, 전중량, 육중량, 각중량을 측정하고, 해부하여 외투막 일부를 절취하였다. 전자현미경 조직표본 제작은 Cormack (2001) 의 방법에 따라 0.1 mol phosphate buffer (pH 7.5) 로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 2시간 동안 전 고정하였으며, 0.1 mol phosphate buffer (pH 7.5) 로 20분 동안 3회 수세 하였다. 그 후 1% osmium tetroxide (OsO₄) (Sigma) 로 2시간 후 고정한 후, 0.1 mol phosphate buffer로 20분 동안 3회 세척하고, ethanol을 이용하여 70%부터 100%까지 각각 30분 동안 단계별로 탈수하였다. TEM을 이용하여 관찰하기 위한 표본들은 propylene oxide로 30분씩 2회 치환하고, 에폭시 수지로 포매 (60°C dry oven에서 36-48시간 동안 중합) 한 1 μm 두께의 semithin section을 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. TEM 관찰 절편은 ultramicrotome (MT-X, RMC, Germany) 을 이용한 두께 70 nm로 section한 다음 grid에 올려서 uranyl acetate-lead citrate으로 염색하고, TEM (H-7500, Hitachi, Japan) 으로 관찰하였다. SEM을 이용하여 관찰하기 위한 표본들은 amyl acetate로 30분씩 2회 치환하고, CO₂ 가스로 임계건조 (critical point drying) 한 다음 1분 동안 금이온 증착 (gold ion particle coating) 하여 SEM (S-3000N, Hitachi, Japan) 으로 관찰하였다.

결 과

투과전자현미경으로 관찰한 대복 외투막의 패각 가장자리 부위에는 형태와 크기가 다른 주름 (fold) 들이 형성되었다. 이들은 위치에 따라서 내부 안쪽 주름 (inner-inner fold), 내부 바깥쪽 주름 (inner-outer fold), 가운데 주름 (middle fold), 바깥쪽 주름 (outer fold)으로 구분된다 (Fig. 1A). 외투막은 외투강과 인접한 내부상피층과 패각과 인접한 외부상피층으로 둘러싸여 있었는데, 이들 상피층 사이에는 소성의 섬유성 근육층 (fibromuscular layer) 과 격막으로 나뉘진 다수의 혈림프동이 발견되었다 (Fig. 1B). 내부상피층과 외부상피층은 모두 단층의 상피세포로 구성되어 있었다 (Figs. 1C, D). 하지만 내부상피층의 자유면에는 다수의 섬모들이 존재하고 있는 반면 (Fig. 1E), 외부상피층의 자유면에는 섬모를 관찰할 수 없었다 (Fig. 1F). 대복 외투막을 TEM으로 관찰한 결과 상피층에서는 상피세포, 섬모세포 그리고 분비세포들을 관찰할 수 있었다. 내부상피층과 외부상피층은 길이 20-30 μm의 원주형상피세포로 구성되어 있었는데, 이들의 자유면은

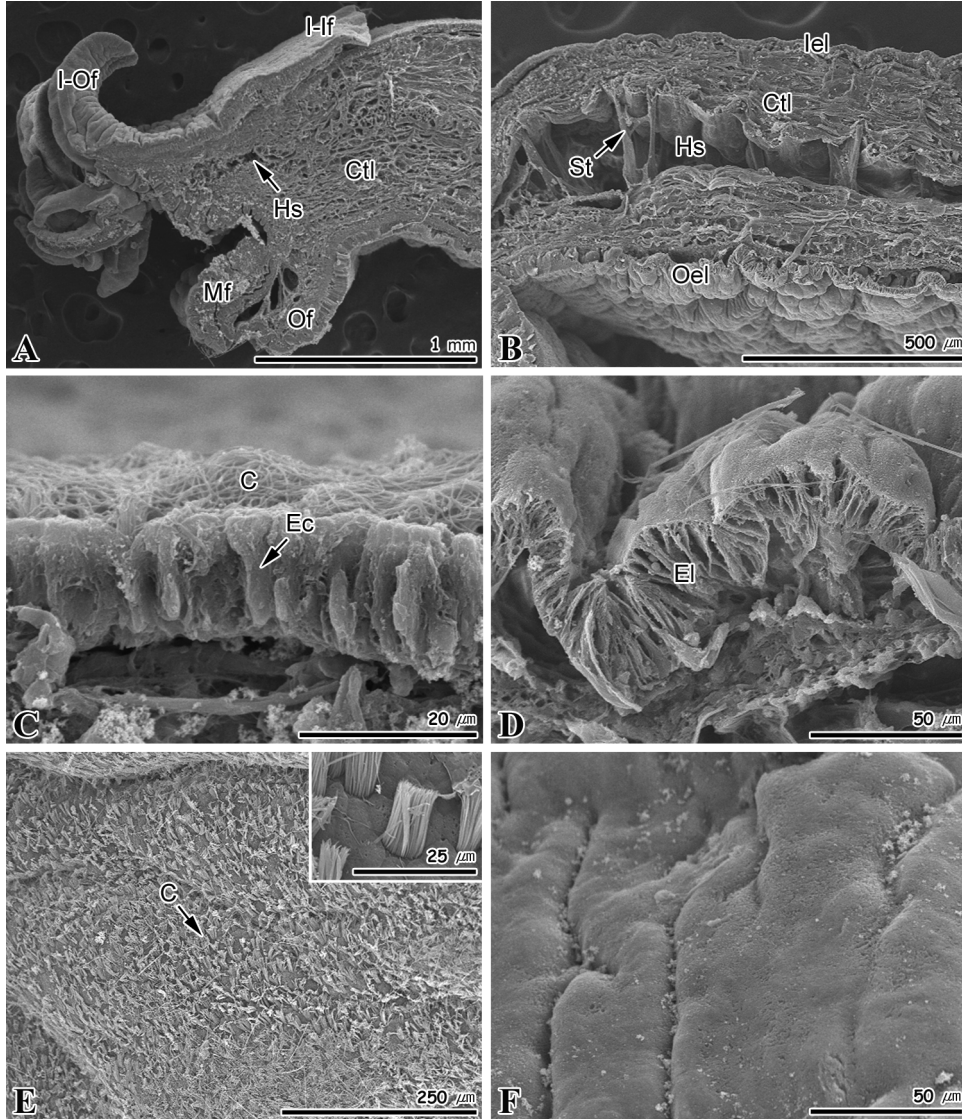


Fig. 1. Scanning electron micrographs of the mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. **A:** Marginal zone, note divided into four folds; inner-inner fold (I-lf), inner-outer fold (I-Of), middle fold (Mf), outer fold (Of). **B:** Sagittal section, showing hemolymph sinus (Hs) that partitioned by septum (St) between the inner epidermal layer (Iel) and the outer epidermal layer (Oel). **C:** Inner epidermal layer, note the simple epidermal layer with cilia (C) on the free surface. **D:** Outer epidermal layer, note the thick epidermal layer (El). **E:** Frontal view of the inner epidermal layer, showing the numerous cilia on the free surface and high power view of cilia (insert). **F:** Frontal view of the outer epidermal layer, note the free surface without cilia. Ctl, connective tissue layer; Ec, epithelial cell.

미세융모로 덮여 있었다. 이형염색질과 인의 발달이 뚜렷한 타원형의 핵은 세포의 기저부에 존재하고 있었다. 세포질의 상부에는 다수의 미토콘드리아들이 관찰되었다. 이들 세포들은 이웃하고 있는 세포들과 상부측면에 존재하는 부착띠로 연결되어 있었다. 내부상피층에서 주로 관찰되는 섬모세포들은 원주형으로 자유면에는 미세융모와 섬모들이 존재하였다. 원형에

가까운 핵은 세포의 기저부에 위치하고 있었고, 세포질의 상부에는 다수의 미토콘드리아들과 전자 밀도가 낮은 과립들이 존재하였다 (Fig. 2A). 상피층에 존재하는 분비세포들은 원주형으로 전자밀도가 낮은 분비과립을 가지고 있었다. 이들 분비과립들은 막을 가지지 않았으며, 활성정도에 따라 여러 개가 서로 융합되어 나타나기도 하였다 (Fig. 2B). 상피층의 하단에

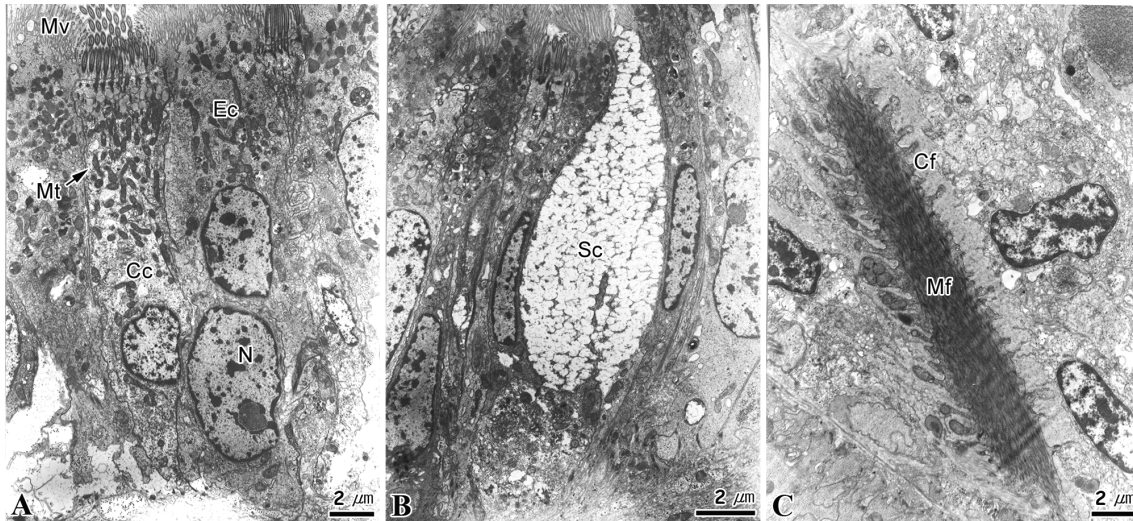


Fig. 2. Ultrastructure of mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis*. **A:** Epidermal layer, showing the epithelial cell (Ec), and ciliated cell (Cc) with numerous mitochondria (Mt) at the apical region. **B:** Secretory cell (Sc), note the typical goblet form and secretory granules with low electron density. **C:** Connective tissue layer, showing the collagen fiber (Cf) with low electron density and muscular fiber (Mf) with high electron density. Mv, microvilli; N, nucleus.

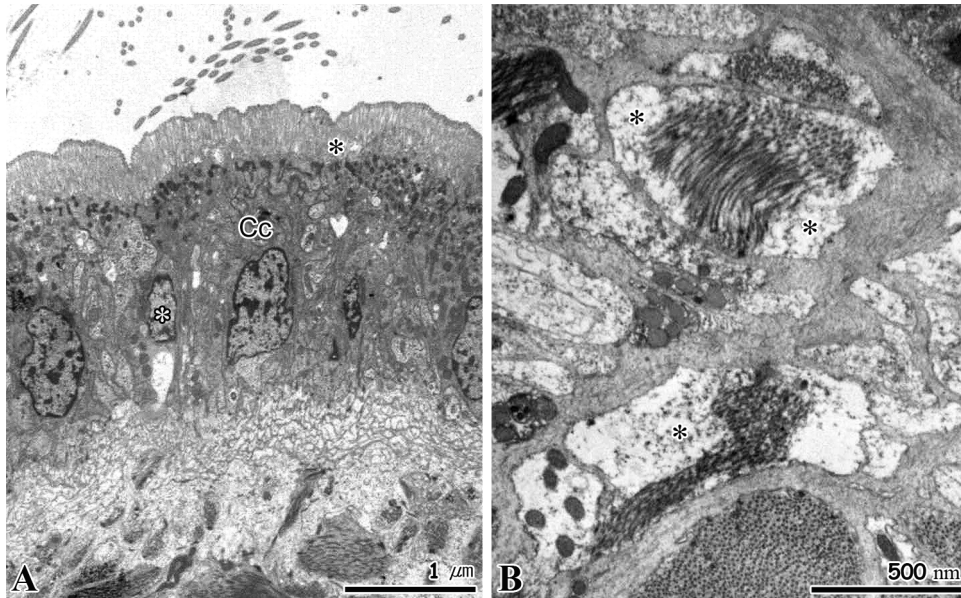


Fig. 3. Histopathological ultrastructure of the mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI at 20 weeks. **A:** Inner epidermal layer exposed to $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the absent cilia (black asterisk) and scanty mitochondria in ciliated cell (Cc), and migrated atrophic nucleus toward the apical of the cell (white asterisk). **B:** Muscular fiber bundle exposed to $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the scattered muscular fiber (asterisk) in the sarcolemma.

존재하는 결합조직층에는 다수의 교원섬유와 근섬유가 존재하는데, 교원섬유는 전자밀도가 낮았으며, 전자밀도가 높은 근섬유는 다수의 섬유 가닥들이 근형질막 안에서 조밀하게 모여있

었다 (Fig. 2C).

TBTCI 노출 4주째 대복 외투막에서 미세구조적인 변화는 관찰되지 않았다. 노출 12주째 내부상피층에 존재하는 섬모의

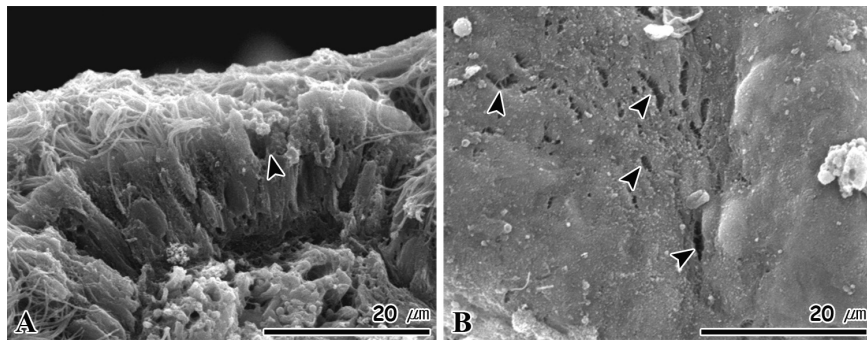


Fig. 4. Scanning electron microscope for histopathological changes of the mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI. **A:** Inner epidermal layer exposed to $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$ at 28 weeks, showing partially deserted epidermal layer (arrowhead). **B:** Inner epidermal layer exposed to $0.6 \mu\text{g L}^{-1}$ at 36 weeks, showing the opening (arrowhead) by the disappearance cilia on free surface.

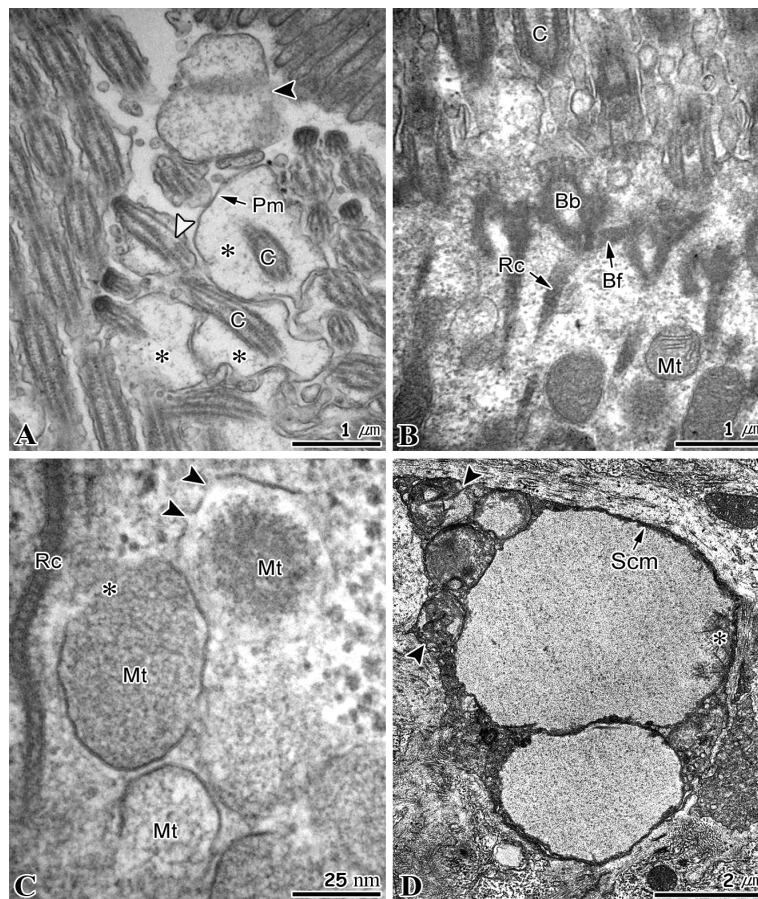


Fig. 5. Histopathological ultrastructure of the mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI at 28 weeks. **A:** Cilia exposed to $0.6 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the swelling (asterisk) and destruction (black arrowhead) of the plasma membrane (Pm), and abscission microtubules (white arrowhead). **B:** The apical cytoplasm of the ciliated cell exposed to $0.6 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the isolated basal body (Bb), scattered rootlet complex (Rc) and basal foot (Bf). **C:** Mitochondria (Mt) exposed to $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$, note the rarely cristae, destruction of mitochondrial membrane (arrowhead) and effluence of the increased matrix substance (asterisk). **D:** Sarcolemma exposed to $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$, note the destruction of muscular fiber and showing the debris fiber (asterisk). C, cilia.

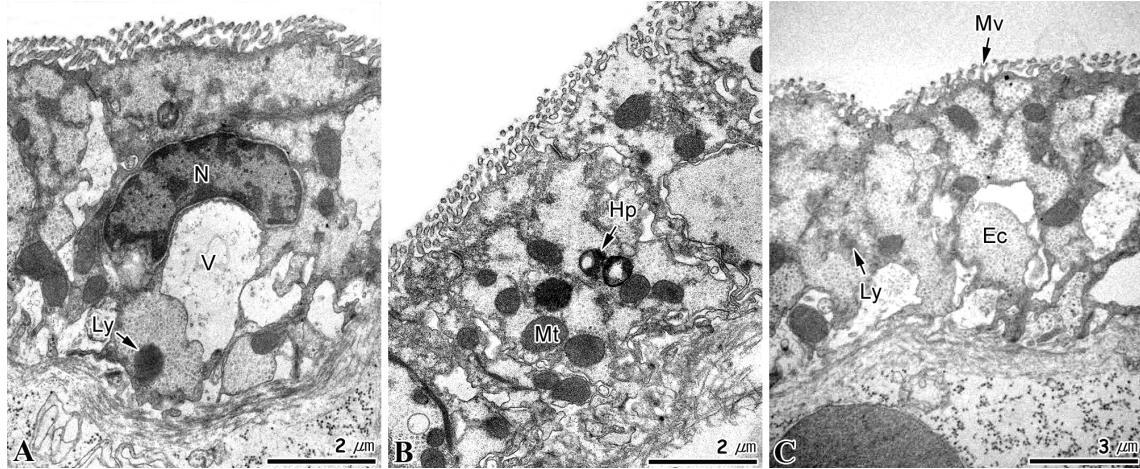


Fig. 6. Histopathological ultrastructure of the mantle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* exposed to TBTCI at 36 weeks. **A:** Degenerating outer epidermal layer exposed to $0.6 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the large vacuole (V), lysosome (Ly) and deformed nucleus (N) in the cytoplasm. **B:** Degenerating outer epidermal layer exposed to $0.6 \mu\text{g L}^{-1}$, note the increased heterophagosome (Hp) in the cytoplasm. **C:** Necrotic epithelium exposed to $0.8 \mu\text{g L}^{-1}$, showing the numerous irregular lysosome and degenerated microvilli (Mv) in the necrotic cytoplasm. Mt, mitochondria.

수가 감소하였으며, 혈림프동의 확장과 함께 격막의 파괴가 관찰되었다. 노출 20주째 섬모세포들에서는 섬모가 소실되었고, 상피세포들의 세포질에는 기저부에 타원형의 공포가 형성됨에 따라 기저부에 존재하던 핵은 응축되어 세포의 중앙으로 이동하였다 (Fig. 3A). 내부상피층과 외부상피층의 사이에 존재하는 결합조직층에서는 근섬유다발의 분절이 부분적으로 관찰되었다 (Fig. 3B). 노출 28주째 상피세포와 섬모세포의 파괴로 인하여 상피층의 부분적인 붕괴가 관찰되었다 (Fig. 4A). 섬모의 외막은 팽창되어 축사와 분리되었으며, 외막이 파괴된 섬모도 관찰되었다. 또한 섬모의 미세소관이 분절되었다 (Fig. 5A). 섬모세포의 정단부에서는 기저체가 섬모축사로 부터 분리, 미토콘드리아의 팽창 및 괴사가 나타났고 (Fig. 5B), rootlet complex의 파괴와 함께 몇몇 미토콘드리아들은 외막이 파괴되거나 cristae의 소실이 관찰되었다 (Fig. 5C). 결합조직층에 존재하는 다수의 근형질막은 팽창되었으며, 막의 내부에는 근섬유들이 대부분 파괴되어 막 주변에 근섬유 잔여물들이 관찰되었다 (Fig. 5D). 이후 노출 기간이 길어질수록 섬모세포들의 섬모들은 모두 탈락되었다 (Fig. 4B). 외부상피층을 구성하는 원주형 상피세포들의 핵은 축소되면서 세포의 가장자리로 이동하였으며, 세포질 내에 다수의 공포와 용해소체들이 관찰되었고 (Fig. 6A), 조면소포체의 감소와 이형소체의 출현 그리고 세포의 자유면에 미세융모가 짧아지는 퇴행성 조직상이 관찰되었다 (Fig. 6B). 외부상피층의 상피세포들이 괴사되어 핵이 파괴되고, 세포질 내에는 다수의 용해소체들이 가득 차 있었으며, 미세융모들은 대부분 소실되었다 (Fig. 6C).

고 찰

Park and Lee (2008) 의 보고에 의하면 대복 외투막의 변화는 노출 12주째부터 관찰되었다. 노출 28주에는 상피세포의 변형이 나타났으며, 노출 36주째에는 상피세포들이 원주형에서 입방형으로 변형됨에 따라 상피층의 두께가 감소하였다. 또한 각장성장은 노출 12주 이후부터 대조구에 비해 유의적인 차이를 보이며 감소하였다 ($p < 0.05$).

일반적으로 연체동물의 외투막 상피층을 구성하는 주된 세 가지 세포 종류는 상피세포, 선세포, 섬모세포이다 (Bubel, 1984). 외투막 상피층의 자유면에 존재하는 섬모들은 외투강 안으로 들어온 외부 입자들을 점액물질과 함께 외투강 밖으로 배출시키거나 아가미쪽으로 이동시켜 아가미에서 여과섭식을 할 수 있도록 도와주는 기능을 한다 (Galtsoff, 1964; Machin, 1977). 또한 외투막의 가장자리에서 관찰되는 4종류의 주름들 중에서 가운데 주름과 바깥쪽 주름 사이에 존재하는 각피층 홈은 폐각의 성장과 밀접한 관계를 가지고 있다 (Lee et al., 2007).

화학물질과 중금속의 이온성분들은 패류의 각 기관계에 작용하여 구조적인 변화를 통한 생리적장애를 초래하여 생존에 크게 영향을 미치며 이에 따라 생태계의 불균형을 초래하고 (Watling and Watling, 1982; Kim and Lee, 1988; Otludil et al., 2004), 화학물질 및 중금속 등의 오염원들은 외투막, 아가미, 신장, 발 그리고 소화선에 주로 축적된다 (Pekkarinen, 1996). 수중오염원에 의한 이매패류의 구조적 이상으로는 외투막의 경우 상피층의 정단부에 존재하는 선조

연과 섬모들이 탈락, 점액세포들의 활성 감소, 결합조직층에서 교원섬유와 근섬유 다발의 변성을 들 수 있다. (Kim and Lee, 1988; Gregory *et al.*, 1999).

0.4와 0.8 mg L⁻¹ 농도의 endosulfan에 30일 동안 노출된 *Planorbarius corneus*의 외부막은 노출 초기 저농도에서는 점액세포와 단백질 분비세포가 증가한 후 노출 20일 이후 고농도에는 다시 감소하였다. 이후 결합조직층을 둘러싸고 있는 상피세포가 탈락되었다. 노출 30일째의 개체들에서는 지방과 림프관이 관찰되었으며, 상피세포의 탈락과 더불어 근섬유들이 위축되는 조직상이 관찰되었다 (Otludil *et al.*, 2004). 카드뮴에 노출된 대복의 외부막은 노출 초기에 섬모가 탈락하였으며, 노출 시간이 경과하고, 고농도로 갈수록 외부상피층과 섬유성 근육층의 분리, 혈림프동 확장, 선조연 소실 그리고 상피세포 탈락이 관찰되었다 (Park *et al.*, 2006). 아연에 노출된 대복의 외부막은 내부상피층의 자유면에 발달한 선조연의 일부가 소실되었으며, 부분적으로 결합조직층에 존재하는 근섬유다발의 분절화와 혈림프동의 확장이 관찰되었다. 가장 높은 농도에서 실험 종료시에는 단층의 외부상피층이 다층으로 관찰되었다 (Ju *et al.*, 2006). Park and Lee (2008)의 연구에 따르면 TBTCI 노출 28주 이후부터 외부막 가장자리에 존재하는 주름들의 심각한 퇴행성 변화가 관찰되었다. 본 연구에서도 28주 이후부터 상피세포들의 괴사로 인하여 상피층의 부분적인 파괴가 관찰되었으며, 섬모세포들은 섬모의 탈락 혹은 섬모 외막이 팽창되어 축사와 분리된 조직상이 관찰되었다. 또한 섬모세포의 정단부에 다수 존재하는 미토콘드리아들은 팽창 및 괴사되었다.

다수의 효소와 조효소를 가지고 있는 미토콘드리아는 먹이를 통해 얻어진 에너지를 이들 효소들에게 전달해 준다. 아데노신삼인산(ATP)에 고 에너지 인산화 결합의 형태로 에너지를 저장 혹은 전달하게 되며, 세포에서 에너지가 필요할 경우 즉시 에너지를 공급한다 (Bubel, 1989). 하지만 TBT는 ATP의 생성을 자극하고, 이들이 ADP로 전환되는 것을 억제하여 세포 대사에 영향을 주는 산화 인산화 반응 억제제로서의 기능을 하며, 이러한 결과로 미토콘드리아 막의 파괴가 발생된다 (Krigman and Sliverman, 1984; Wester *et al.*, 1990; Mercier *et al.*, 1994; Alzieu, 2000). 비정상적인 미토콘드리아는 수의 증가 뿐만 아니라 크기 및 형태의 변화, cristae 패턴의 변화 등 다양한 형태로 나타난다. 변형된 미토콘드리아들은 결과적으로 산화적 인산화 기능의 장애를 유발하게 된다 (Pavelka and Roth, 2005). Yoshizuka *et al.* (1991)의 보고에 따르면 TBT를 주입한 rat의 각막상피세포에서 미토콘드리아의 부종과 cresternae의 변화가 관찰되었다. 또한 TBT는 특이적 막 침투성의 증가로 인하여 세포내에 Ca²⁺의 농도가 증가할수도 있다 (Oyama *et al.*, 1993).

섬모의 운동성이 없어지게 되는 immotile cilia syndrome의 증상으로는 dynein arm의 소실 및 감소, outer 혹은 inner dynein arm의 결핍, outer synein arm이 짧아지거나 inner dynein arm의 소실, spoke head가 짧아지거나 없어지는 spoke의 기형, 이종의 주변미세소관이 한 개로 통합되거나 한 개가 소실되는 증상, 중심 미세소관의 소실과 주변미세소관의 이동, 중심미세소관 추가 (9+4) 혹은 중심미세소관 중 하나 소실 (9+1)등이 있다 (Pavelka and Roth, 2005). 이러한 섬모 원형질막과 섬모축사를 둘러싸고 있는 기질의 비정상적인 팽창은 기능적으로 불안정한 상태를 유발할 수 있다 (Ghadially, 1997).

따라서 TBTCI에 노출된 대복의 외부막에서 섬모세포에 존재하는 미토콘드리아의 파괴 및 섬모의 형태 변화 그리고 상피층에 존재하는 분비세포의 감소로 인하여 외부막 정화기능 및 먹이를 아가미로 이동시키는 기능의 장애가 유발되는 것으로 생각된다. 또한 외부막 상피층의 변형 및 파괴는 패각 성장 억제제의 직접적인 원인으로 판단된다.

요 약

TBTCI에 36주 동안 노출된 대복, *Gomphina veneriformis*의 미세구조적인 변화를 전자현미경으로 관찰하였다. 대복의 외부막은 가장자리에 4개의 주름을 가지며, 내부와 외부상피층이 단층의 원주형 상피세포, 섬모세포, 분비세포로 구성되어 있었다. 이들 상피층은 혈림프동이 존재하는 결합조직층을 둘러싸고 있었다. 대복의 외부막은 TBTCI 노출 12주째 내부상피층에 존재하는 섬모의 수가 감소하였으며, 혈림프동의 확장과 함께 격막의 파괴가 관찰되었다. 노출 20주째 세포질내의 공포형성, 핵응축과 같은 변화가 관찰되었고, 결합조직층에서는 근섬유다발의 분절이 부분적으로 관찰되었다. 노출 28주째 상피층의 부분적인 붕괴, 섬모의 변화 및 섬모세포에 존재하는 미세구조가 괴사되었다. 결합조직층에 존재하는 다수의 근형질막은 팽창되었으며, 막의 내부에는 근섬유들이 대부분 파괴되어 막 주변에 근섬유 잔여물들이 관찰되었다. 노출 36주째에는 섬모들은 모두 탈락되고, 핵 응축되고, 이형소체의 증가가 나타나는 퇴행성 상피세포가 나타났다. 외부상피층의 상피세포들이 괴사되어 핵이 파괴되고, 세포질 내에는 다수의 용해소체들이 가득 차 있었으며, 미세용모들은 대부분 소실되었다. 따라서 만성적인 TBTCI 노출은 대복의 외부막은 각장성장 및 생리적인 기능의 장애를 유발하는 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 2011년 국립수산물품질관리원의 수산동물질병 역학 및 진단연구 지원을 받아 수행된 연구임 (RP-2011-AQ-084)

REFERENCES

- Alzieu, C. (2000) Environmental impact of TBT: the French experience. *Science of the Total Environment*, **258**: 99-102.
- Bubel, A. (1973) An electron microscope investigation of the cells lining the outer surface of the mantle in some marine molluscs. *Marine Biology*, **21**: 245-225.
- Bubel, A. (1984) Epidermal cells. In; *Biology of the Integument, 1 Invertebrates*, (ed. by Bereiter-Hahn, J., Matoltsy, A.G. and Richards, K.S.). pp. 400-477. Springer-Verlag, New York.
- Bubel, A. (1989) Microstructure and function of cells; Electron micrographs of cell ultrastructure. pp. 1-271, Ellis Horwood Limited. Chichester.
- Champ, M.A. (2000) A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *Science of the Total Environment*, **258**: 21-71.
- Clavell, C., Seligman, P.F. and Stang, P.M. (1986) Automated analysis of organotin compounds : A method for monitoring butyltins in the marine environment. *In*: Proceeding of the Oceans, pp. 1152-1154, '86 Conference, Organotin Symposium, 4.
- Cormack, D.H. (2001) Introduction to histology. In: *Essential histology*. Second Edition. pp. 1-23. Lippincott Williams & Wilkins, Maryland.
- Galtsoff, P.S. (1964) The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service, Vol. 64. pp. 480. United States Government Printing Office, Washington, D.C.
- Gauthier-Clerc, S., Pellerin, J., Blaise, C. and Gagné, F. (2002) Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? *Comparative Biochemistry and Physiology, C: Comparative Pharmacology*, **131**: 457-467.
- Ghadially, F.N. (1997) Ultrastructural pathology of the cell and matrix (4th edition). pp. 1414. A Hoder Arnold Publication, Boston.
- 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 filaments in *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Pollution Bulletin*, **39**: 116-121.
- Halldórsson, H.P., Svavarsson, J. and Granmo, Á. (2005) The effect of pollution on scope for growth of the mussel (*Mytilus edulis* L.) in Iceland. *Marine Environmental Research*, **59**: 47-64.
- Hinch, S.G. and Stephenson, L.A. (1987) Size-and age-specific patterns of trace metal concentrations on fresh water clams from on acid-sensitive and a circumneutral lake. *Canadian Journal of Zoology*, **65**: 2436-2442.
- 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.
- Kannan, K., Senthilkumar, K., Logannathan, B.G., Takahashi, S., Odell, D.K. and Tanade, S. (1997) Elevated accumulation of tributyltin and its breakdown products in bottle nose dolphins (*Tursiops truncatus*) found stranded along the U.S. Atlantic and Gulf coasts. *Environmental Science & Technology*, **31**: 296-301.
- Kawaguti, S. and Ikemoto, N. (1962) Electron microscopy on the mantle of a Bivalvia, *Fabulina nitidula*. *Biological Journal of Okayama University*, **8**: 1-20.
- Kim, S.Y. and Lee, T.Y. (1988) The effects of pollutants effluent from a steam-power plant on coastal Bivalvias. *Oceanology Research*, **10**(1): 47-56.
- Krigman, M.R. and Silverman, A.P. (1984) General toxicology of tin and its organic compounds. *Neurology Toxicology*, **5**: 129-140.
- Lee, J.S., Joo, J.Y. and Park, J.J. (2007) Histology and ultrastructure of the mantle epidermis of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Journal of Shellfish Research*, **26**: 413-421.
- Machin, J. (1977) Role of Integument in Molluscs. *In*: *Transport of ions and water in animals*, (ed. by Gupta, B.L., Moreton, R.B. Oschman, J.L. and Wall, B.J.). pp. 735-762. Academic Press, New York.
- Mercier A, Pelletier, E. and Hamel, J.F. (1994) Metabolism and subtle toxic effects of butyltin compounds in starfish. *Aquatic Toxicology*, **28**: 259-273.
- 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): 1-24.
- Otludil, B., Cengiz, E.I., Yildirim, M.Z., Unver, O. and Ünlü, E. (2004) The effects of endosulfan on the great ramshorn snail, *Planorbis cornus* (Gastropoda, Pulmonata): a histopathological study. *Chemosphere*, **56**: 707-716.
- Oyama, Y., Ueha, T. and Hayashi, A. (1993) Effects of tri-n-butyltin on intracellular Ca²⁺ concentration of rat cerebellar neurons. *European Journal of Pharmacology*, **248**: 89-93.
- Park, J.J. and Lee, J.S. (2008) Tributyltin chloride (TBTCI) toxicity on the growth and mantle structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *The Korean Journal of Malacology*, **24**(3): 229-241.
- 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. (2006) The effect of long-term cadmium exposure on the organ structure of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Bulletin of the Fisheries Science Institute, Chonnam National*

- University*, **15**: 10-20.
- Pavelka, M. and Roth, J. (2005) Functional ultrastructure; An atlas of tissue biology and pathology. pp. 326. Springer, New York,
- Pekkarinen, M. (1996) Scanning electron microscopy, whole-mount histology, and histochemistry of two *Anodontine glochidia* (Bivalvia: Unionidae). *Journal of Zoology*, **74**(11): 1964-1973.
- Quinn, B., Gagné, F., Costello, M., McKenzie, C., Wilson J. and Mothersill, C. (2004) The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Aquatic Toxicology*, **66**: 279-292.
- Rasmussen, L.P.D., Hage, E. and Karlog, O. (1983) 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. *Aquatic Toxicology*, **3**: 301-311.
- Regoli, F. and Orlando, E. (1994) Accumulation and subcellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment. *Marine Pollution Bulletin*, **28**(10): 592-600.
- Saleuddin, A.S.M. (1974) An electron microscopic study of the formation and structure of the periostracum in *Astarte* (Bivalvia). *Canadian Journal of Zoology*, **52**: 1463-1471.
- Stephenson, M.D. (1991) A field bioassay approach to determining tributyltin toxicity to oysters in California. *Marine Environmental Research*, **32**: 51-59.
- Thain, J.E. and Waldock, M.J. (1986) The impact of tributyltin (TBT) antifouling paints on molluscan fisheries. *Water Science and Technology*, **18**: 193-202.
- U.S. EPA. (2003) Ambient aquatic life water quality criteria for tributyltin (TBT)-final. pp. 1-129. United States Environmental Protection Agency, Washington DC.
- Waldock, M.J. and Thain, J.E. (1983) Shell thickening in *Crassostrea gigas*: Organotin antifouling or sediment induced? *Marine Pollution Bulletin*, **14**: 411-415.
- Watling, H.R. and Watling, R.J. (1982) Comparative effects of metals on the filtering rate of brown mussel, *Perna perna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **29**: 651-657.
- Wester, P.W., Canton, J.H., Van Iersel, A.A.J., Krajnc, E.I. and Vaessen, H.A.M.G. (1990) The toxicity of bis(tri-n-butyltin) oxide (TBTO) and di-n-butyltin dichloride (DBTC) in the small fish species *Oryzias latipes* (medaka) and *Poecilia reticulata* (guppy). *Aquatic Toxicology*, **16**: 53-72.
- Yoshizuka, M., Haramaki, N., Yokoyama, M., Hara, K., Kwahara, A., Umezu, Y., Araki, H., Mori, N. and Fujimoto, S. (1991) Corneal edema induced by bis (tributyltin) oxide. *Archives of Toxicology*, **65**: 651-655.
- 환경부 (2003) 환경부 고시 제 2003-163호. 제조·수입 또는 사용을 금지하거나 제한하는 화학물질, pp. 1-7. 2003. 9.16.