Korean J. Malacol. 30(1): 51-56 2014
http://dx.doi.org/10.9710/kjm.2014.30.1.51

북방전복, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953) 아가미의 미세해부학적 특징

김수지, 전미애, 김혜진, 최지성, 이문옥[1], 곽인실[1], 김재원[2], 강주찬[3], 이정식

전남대학교 수산생명의학과, [1]전남대학교 해양기술학부, [2]강원도립대학 해양생명과학부, [3]부경대학교 수산생명의학과

Microanatomy of gill of the abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1953) (Gastropoda: Haliotidae)

Suji Kim, Mi Ae Jeon, Hyejin Kim, Ji Sung Choi, Moon Ock Lee[1], Ihn-Sil Kwak[1], Jae Won Kim[2], Ju-Chan Kang[3] and Jung Sick Lee

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea
[1]Faculty of Marine Technology, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea
[2]Department of Marine Bio-resource, Kangwon Provincial University, Kangnung 210-804, Korea
[3]Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

ABSTRACT

Morphology and histochemistry of gill of the abalone, *Haliotis discus hannai* were described using light microscopy and scanning electron microscopy (SEM). The abalone has bipectinate gill of protobranch. The cilia and microvilli were well-developed on the free surface of the gill filaments. The epithelial layer of gill filament was simple and composed columnar epithelia and mucous cells. Result of AB-PAS (pH 2.5 and 1.0) and AF-AB (pH 2.5) reaction showed that mucous cells contained mainly acidic carboxylated mucosubstances.

Key Words: *Haliotis discus hannai*, gill, gill filament, mucous cell

서 론

연체동물의 아가미는 연체동물을 분류하는 중요한 기준 가운데 하나로 사용되고 있다. 연체동물의 아가미는 크게 원새, 판새, 사새 3가지 형태로 구분할 수 있으며, 연체동물 복족강은 아가미의 위치, 형태 및 폐의 유무에 따라 전새아강 (Prosobranchia), 후새아강 (Opistobranchia), 유폐아강 (Pulmonata) 으로 구분할 수 있다 (Atkins, 1937; Yoo, 1988; Starobogatov, 1992; Zardus, 2002; Cannuel *et al*., 2009).

Received: March 10, 2014; Revised: March 20, 2014; Accepted: March 25, 2014
Corresponding author : Mi Ae Jeon
Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: omiaeo@naver.com
1225-3480/24514
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.

복족류의 아가미와 관련된 연구는 복족류 아가미 형태의 비교 연구 (Eertman, 1996) 와 *Haliotis iris*의 호흡생리 (Ragg and Talyor, 2006) 및 *Siphonaria capensis* (de Villers and Hodgson, 1987), *Haliotis asinine* (Wanichanon *et al*., 2004), *Patella* (Aksit and Mutaf, 2007)와 *Batillus cornutus* (Jung *et al*., 2011) 의 아가미 구조에 관한 보고가 있다. 하지만, 한국의 중요 수산업 복족류인 북방전복의 아가미에 관련한 연구는 찾아보기 어렵다.

따라서, 본 연구는 주사전자현미경과 광학현미경을 통하여 북방전복, *Haliotis discus hannai* 아가미의 형태와 아가미 새엽 점액세포의 조직화학적 특징을 기재하여 이들의 호흡생리 연구의 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

본 연구에서 사용한 북방전복은 측정형질을 계측한 후, 해부하여 아가미를 적출하고 아가미 종단면을 기준으로 각 새엽을 기저부, 중간부, 말단부로 구분하여 조직 표본을 제작하였다 (Fig. 1).

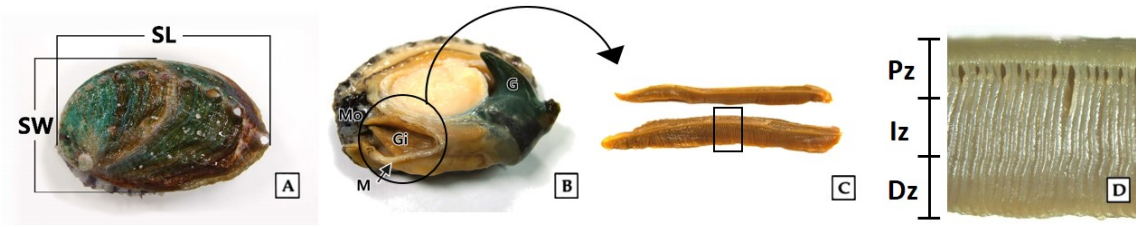

Fig. 1. Morphology and anatomy of *Haliotis discus hannai*. **A**: External morphology and morphometric characteristics. **B**: Anatomy of the abalone. **C**: Morphology of the gill. **D**: Regions for histological analysis of gill. Dz: distal zone, G: gonad, Gi: gill, Iz: intermediate zone, M: mantle, Mo: mouth, Pz: proximal zone, SL: shell length, SW: shell width.

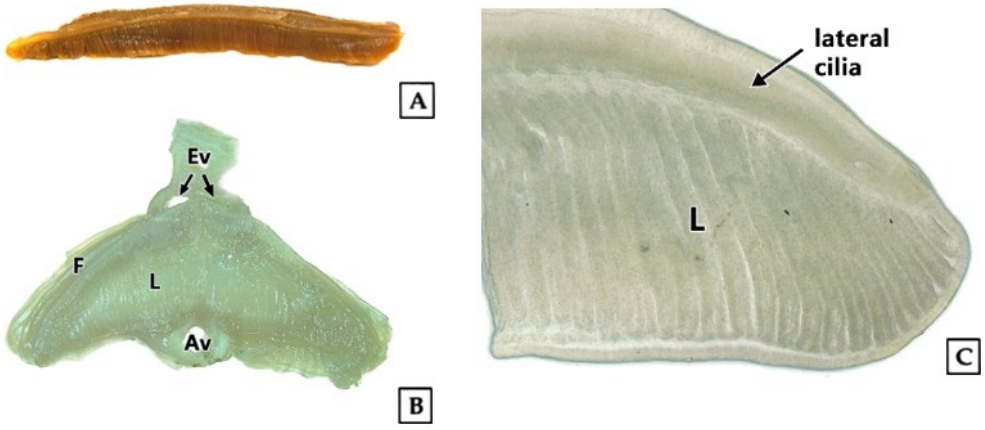

Fig. 2. Morphology and microanatomy of the gill of *Haliotis discus hannai*. **A**: Lateral view. **B**: Frontal view. **C**: Enlargement of the frontal view. Av: afferent vein, Ev: efferent vein, F: gill filament, L: gill lamella.

광학현미경 조직표본 제작은 시료를 10% 중성 포르말린에 고정한 후 수세하였다. 그 후 파라핀 절편법에 의하여 4-6 μm 두께로 연속절편을 제작하였다. 제작된 표본은 Mayer`s hematoxylin-eosin (H-E) 염색, Masson 삼중염색, alcian blue-periodic acid and Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5와 pH 1.0) 반응, aldehyde fuchsin-alcian blue (AF-AB, pH 2.5) 반응, periodic acid and Schiff's solution (PAS) 반응을 실시하였다. 점액세포의 염색친화도 판정은 Pantone® Formula Guide (Pantone Inc., USA)를 기준으로 고유번호를 괄호 안에 표시하였다.

주사전자현미경 (scanning electron microscope, SEM) 조직표본 제작은 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 12시간 동안 전고정 하였으며, 1% osmium tetroxide (OsO_4) (Sigama) 로 후고정한 후, 0.1 M phosphate buffer로 세척하고, ethanol로 단계별 탈수하였다. 이후 amyl acetate로 20분씩 3회 치환하고, CO_2 가스로 임계건조 후 1분 30초 동안 금이온을 증착하여 SEM (JSM-7500F, Hitachi, Japan) 으로 관찰하였다.

결 과

북방전복의 아가미는 호흡공 아래에 위치하며, 패각과 발 사이에 있는 외투막에 덮여있었다 (Fig. 1B). 아가미는 좌·우 한 쌍이며, 크기는 왼쪽 아가미가 오른쪽 아가미 보다 컸다 (Fig. 1C). 아가미의 형태는 빗 모양으로 새엽은 직선상이며, 나방의 날개모양이었다 (Fig. 2).

SEM 관찰 결과, 새엽의 표면 대부분은 섬모와 미세융모들로 덮여 있었으며 새엽의 측면에는 다수의 분비세포와 분비공 및 두터운 측면 섬모대가 관찰되었다 (Fig. 3). 또한 각 새엽의 부위별 점액세포의 분포정도는 중간부 > 말단부 > 기저부 순으로 나타났다.

광학현미경 조직표본을 관찰한 결과, 아가미의 종단면에서 각 새엽은 기저부, 중간부, 말단부에서 서로 조직학적으로 차이를 보였다. 새엽 기저부의 기저판은 상피세포층과 결합조직층으로 구분되었다. 상피층은 단층으로 원주형의 상피세포와

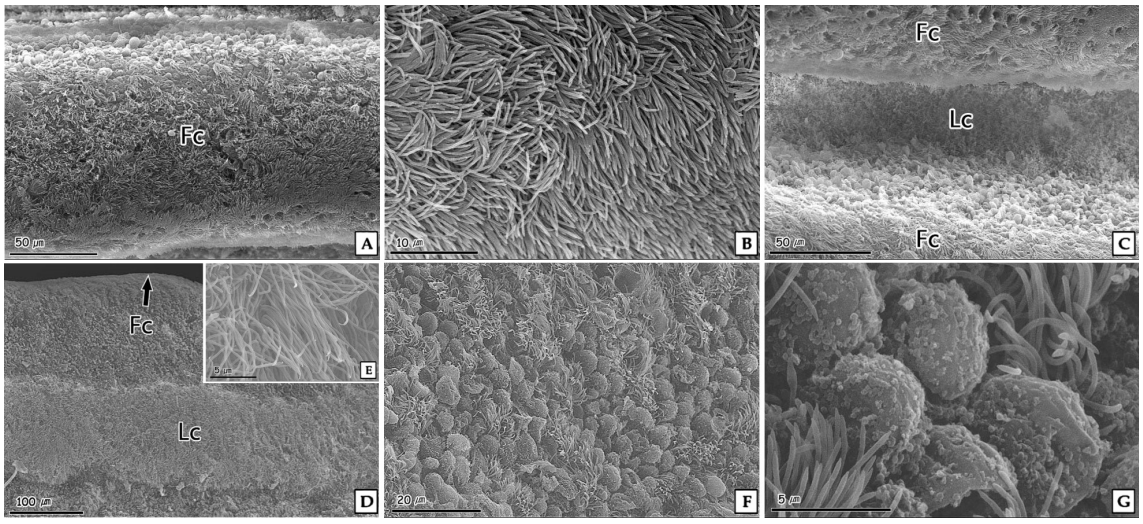

Fig. 3. Scanning electron micrographs of the gill surface of *Haliotis discus hannai*. **A** and **B**: Frontal cilia (Fc). **C**, **D** and **E**: lateral cilia (Lc). **F**: Interspace of frontal and lateral ciliary zone. **G**: Secretory granules in the gill filament.

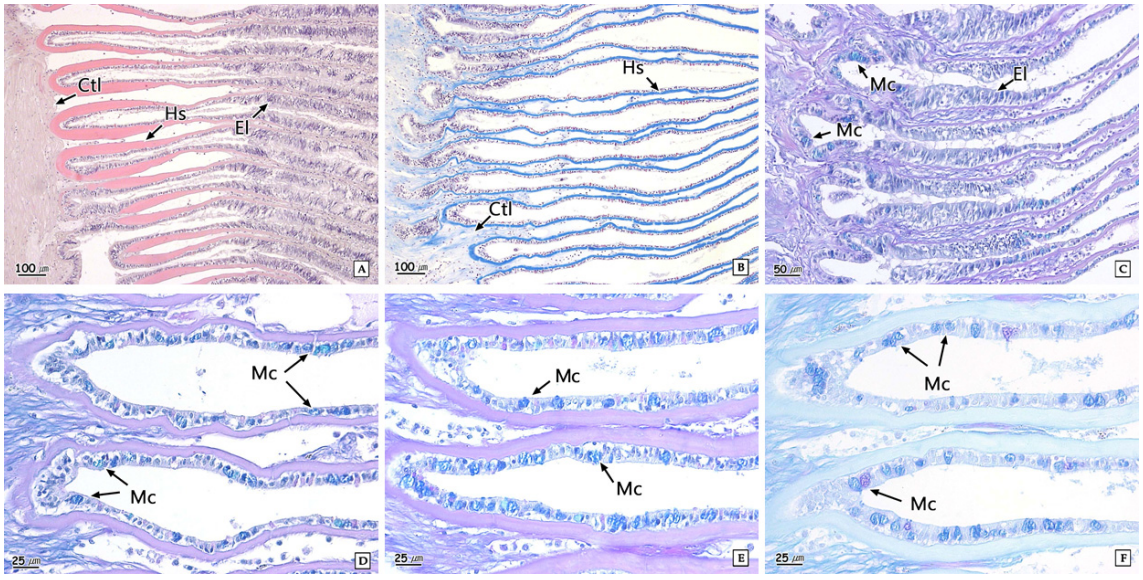

Fig. 4. Longitudinal section of proximal zone of the gill of *Haliotis discus hannai*. **A**: Showing the connective tissue layer (Ctl) and epidermal layer (El). H-E stain. **B**: Section showing the hemolymph sinus (Hs). Masson's trichrome stain. **C**: Showing the epithelial layer (El) and mucous cells (Mc). AB-PAS (pH 2.5) reaction. **D**: Showing the mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **E**: Showing the numerous mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 1.0) reaction. **F**: Showing the mucous cells of alcian blue positive. AF-AB (pH 2.5) reaction.

다수의 점액세포로 구성되어 있었다. 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응에 푸른색 (3135 C) 으로 반응하였고, AB-PAS (pH 1.0) 반응에 푸른색 (2935 C) 으로 반응하였다. AF-AB (pH 2.5) 반응에서는 적자색 (2593 C) 과 푸른색 (300 C) 으로 반응하였다. 결합조직층은 일부 근섬유들과 대부분의 콜라겐 섬유들로 구성되어 있었다. 기저판과 연결된 새엽의 기저부는 Masson 삼중염색에서 푸르게 반응하는 콜라겐 섬유의 띠를 가지고 있었다. 새엽 모세혈관을 중심으로 단층의 원주상피층과 다수의 점액세포들이 잘 발달되어 있었다 (Fig. 4).

새엽 중간부의 상피층은 단층으로 원주형 상피세포들과 점

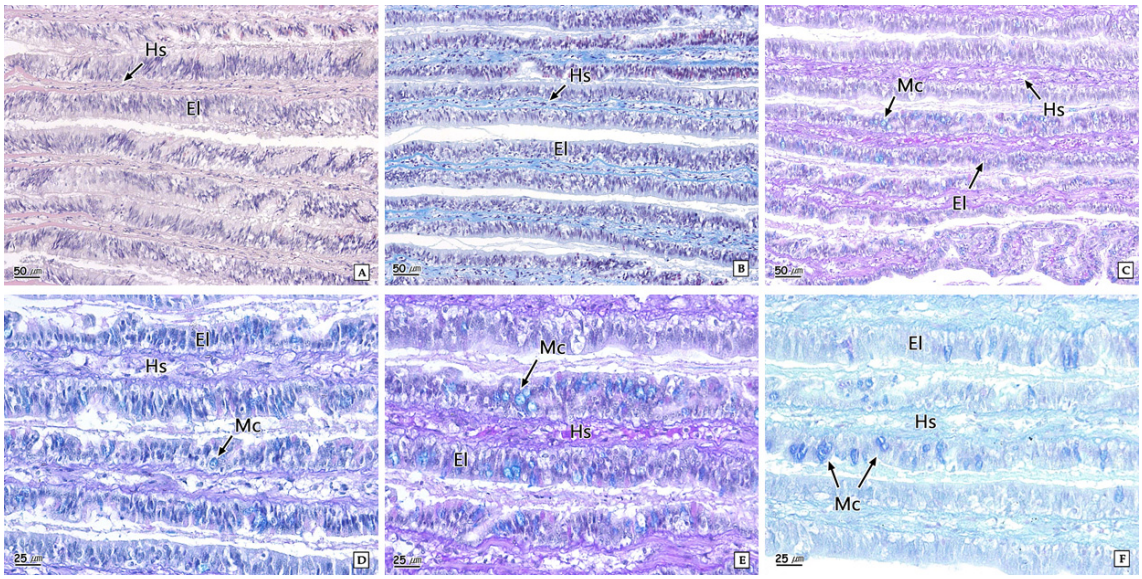

Fig. 5. Longitudinal section of intermediate zone of the gill of *Haliotis discus hannai*. **A**: Showing the epidermal layer (El). H-E stain. **B**: Section showing the epidermal layer (El). Masson's trichrome stain. **C**: Showing the hemolymph sinus (Hs) and mucous cells in epithelial layer (El). AB-PAS (pH 1.0) reaction. **D**: Showing the mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **E**: Showing the numerous mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 1.0) reaction. **F**: Showing the mucous cells of alcian blue positive. AF-AB (pH 2.5) reaction.

액세포들로 구성되어 있었으며, 원주형 상피세포들의 정단부에는 다수의 섬모들이 잘 발달되어 있었다. 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응에 푸른색 (3135 C) 으로 반응하였고, AB-PAS (pH 1.0) 반응에 푸른색 (2935 C) 으로 반응하였다. AF-AB (pH 2.5) 반응에서는 적자색 (2593 C) 과 푸른색 (300 C) 으로 반응하였다 (Fig. 5).

새엽의 말단부는 콜라겐 성분의 skeletal rod가 곤봉형의 새엽 모세혈관을 감싸고 있었다. 상피층은 원주형 상피세포와 점액세포로 구성되어 있고 측면 섬모대가 발달하였다. 점액세포들의 특징은 새엽 중간부에 존재하는 점액세포들과 유사하였으며 AB-PAS (pH 2.5) 반응에 푸른색 (3135 C) 으로 반응하였고, AB-PAS (pH 1.0) 반응에 푸른색 (2935 C) 으로 반응하였다. AF-AB (pH 2.5) 반응에서는 적자색 (2593 C) 과 푸른색 (300 C) 으로 반응하였다 (Fig. 6).

고 찰

복족류의 아가미는 다른 수서동물과 마찬가지로 호흡을 담당하는 기관이다. 복족류는 종 및 서식환경에 따라 다양한 형태의 아가미를 가지며 (Voltzow, 1994), 이들의 형태적 특징은 복족류를 분류하는 중요한 형질이다.

전새아강에 속하는 많은 연체동물들의 아가미는 원새형의 빗 모양으로 아가미 축은 이중 새엽 열을 갖는다 (Voltzow, 1994). 하지만, 복족류의 아가미 형태는 분류군에 따라 다소 차이를 보이는데, 밤고둥과 (Trochidae) 의 *Austrocochlea constricta*와 소라과 (Turbinidae) 의 소라, *Batillus cornutus*는 bipectinate형 아가미를 가진다 (Eertman, 1996; Jung *et al*., 2011). 하지만, Planaxidae의 *Planaxis sulcatus*, 총알고둥과 (Littorinidae) 의 *Littoraria articulata*와 *Bembicium auratum* 그리고 뿔소라과 (Muricidae) 의 *Morula marginalba*는 monopectinate형 아가미를 갖는다 (Eertman, 1996).

본 연구에서 관찰한 결과, 북방전복의 아가미는 원새형 아가미로 좌·우 한 쌍이며, 소라와 유사한 bipectinate형 이었다. 측면에서는 빗 모양의 형태를 나타내지만 정단면에서는 나방날개모양이었다.

복족류의 아가미에서 정단면, 측면, 정단측면의 섬모들은 물과 부유입자 수송을 위한 수류를 만드는 기능을 가진다 (Voltzow, 1994). 이매패류 역시 아가미 새엽의 섬모들은 입자 수송과 연관이 있다. 새엽 정단섬모는 아가미 쪽으로 수송된 입자들을 새엽의 위쪽 혹은 아래쪽으로 전달하여 입쪽으로 수송하는 역할을 한다. 정단섬모와 측면섬모의 사이에 존재하는 정단측면섬모는 입자들을 정단섬모 쪽으로 튕겨 보내는 방식으로 입자들을 여과하거나, 외투강 안으로 들어온 물의 흐름을 조절한다. 그리고 새엽의 양쪽에 존재하는 측면섬모는 매우 밀집되어 정렬하고 있으면서 입출수관을 통해 들어오고 나가는 물을 아가미 쪽으로 빨아들이고 내뿜어 입자들을 여과한다

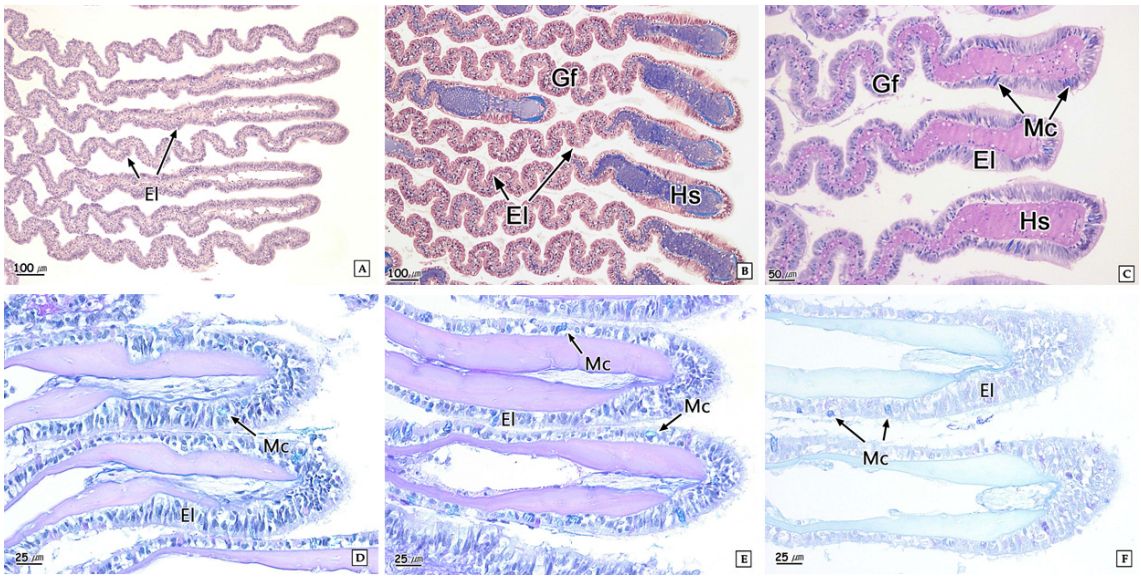

Fig. 6. Longitudinal section of distal zone of the gill of *Haliotis discus hannai*. **A**: Showing the epidermal layer (El). H-E stain. **B**: Showing the hemolymph sinus (Hs). Masson's trichrome stain. **C**: Showing the hemolymph sinus (Hs) and mucous cells in epithelial layer (El). AB-PAS (pH 2.5) reaction. **D**: Showing the mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 2.5) reaction. **E**: Showing the numerous mucous cells of alcian blue positive in epithelial layer. AB-PAS (pH 1.0) reaction. **F**: Showing the mucous cells of alcian blue positive. AF-AB (pH 2.5) reaction.

(Moore, 1971; Owen, 1974; Morton, 1983).

*Haliotis iris*는 아가미의 lamella에서 가스교환이 일어나며, 측면섬모는 lamella에서 원활한 가스교환이 일어나도록 수류를 조절하는 역할을 한다 (Ragg and Talyor, 2006). 본 연구에서의 북방전복 아가미에서도 SEM 관찰 결과, 새엽 표면은 섬모와 미세융모들이 덮여있었으며, 새엽 측면에 측면섬모가 존재하여 이 역시 물의 흐름을 조절하는데 관여할 것으로 보인다.

복족류 및 이매패류 연체동물의 아가미에서 새엽 상피층을 구성하는 상피세포의 형태는 보통 정단부와 측면에서는 원주형이나 기저부에서는 입방형 또는 편평형이다 (Gomez-Mendikute *et al*., 2005). 북방전복의 아가미 새엽 상피층을 구성하는 상피세포의 형태는 기저부, 중간부, 말단부에서 모두 원주형 상피세포로 소라와 유사한 구조였다.

연체동물 가운데 아가미에 존재하는 점액세포들의 분포 위치와 조직화학적 특징은 이매패류에서는 많은 보고가 있으나 복족류의 아가미에서 종에 따른 분비세포 종류의 다양성에 관한 연구는 많지 않다. 이매패류 아가미의 새엽 상피층에 존재하는 점액물질의 기능은 외투강 안으로 들어온 과립물질들을 아가미의 섬모에 잘 부착하게 하여 섬모에 의한 여과기능을 도와주는 역할을 한다 (Tammes and Dral, 1955; Dral, 1967).

복족류인 *Austrocochlea constricta*의 새엽에서는 2종류의 분비세포가 보고되었는데, 이들 세포들은 PAS 양성반응을 보였다 (Eertman, 1996). 가리비, *Placopecten magellanicus* 아가미의 주새엽에 존재하는 점액세포들은 대부분 (85% 이상)은 산성과 중성점액물질을 함유하고 있는 혼합된 점액세포였지만, 부새엽에서는 45-58%의 점액세포들이 대부분 산성이었다 (Beninger *et al*., 1993). 소라의 아가미에서는 4종류의 분비세포들이 기재되었는데, 이들은 모두 단세포선으로 주로 산성점액을 함유한다 (Jung *et al*., 2011). 진주담치, *Mytilus edulis*의 아가미 점액세포들은 산성점액물질과 중성점액물질들이 일정한 비율로 분포하고, 점액세포의 분포정도도 *Placopecten magellanicus* 보다 일정하였는데, 이는 진주담치의 새엽이 형태적인 분화가 나타나지 않기 때문에 여과와 정화 기능이 한 곳에서 이루어지는 결과이다 (Beninger *et al*., 1993).

아가미의 산성점액물질과 중성점액물질은 서로 점성의 차이를 보이는데, 이러한 차이는 물질수송의 기계적인 과정이 종과 아가미의 부위에 따라 차이를 나타내는 이유이다 (Beninger and Dufour, 1996).

본 연구에서 전복의 상피층에서 관찰된 다수의 점액세포들은 AB-PAS (pH 2.5) 반응과 AB-PAS (pH 1.0) 반응, AF-AB (pH 2.5) 반응에서 양성반응을 보여 이들의 대부분이 산성점액물질이었다. 또한 새엽의 기저부와 중간부, 말단부의 점액세포의 분포정도는 중간부 > 말단부 > 기저부의 순으로

나타났는데, 위치에 따른 점액세포의 분포비율에 관한 연구는 추후에 정량학적 분석이 필요하며, 아가미의 기능을 정확히 파악하기 위해서는 미세구조학적 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

요 약

주사전자현미경과 광학현미경을 이용하여 북방전복 아가미의 형태와 조직화학적 특징에 대하여 기재하였다. 북방전복의 아가미는 원새형의 bipectinate형 이었다. 아가미 새엽의 표면은 잘 발달된 섬모들로 덮여있었다. 새엽의 상피층은 공통적으로 단층으로 원주형의 상피세포와 점액세포로 구성되어 있었다. AB-PAS (pH 2.5와 pH 1.0) 반응과 AF-AB (pH 2.5) 반응 결과, 점액세포들은 주로 산성의 뮤코점액다당류를 함유하고 있었다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업에 의해 이루어졌습니다.

REFERENCES

Aksit, D. and Mutaf, B.F. (2007) Gill histology of *Patella* Linneaus, 1758 (Mollusca: Gastropoda). *Rapport Commission International Mer Méditerranee*, **38**: 1-413.

Atkins, D. (1937) On the ciliary mechanisms and interrelationships of lamellibranchs. Part III. Types of lamellibranch gills and their food currents. *The Quarterly Journal of Microscopical Science*, **79**: 375-421.

Beninger, P.G. and Dufour, S.C. (1996) Mucocyte distribution and relationship to particle transport on the pseudolamellibranch gill of *Crassostrea virginica* (Bivalvia: Ostreidae). *Marine Ecology Progress Series*, **137**: 133-138.

Beninger, P.G., St-Jean, S., Poussart, Y. and Ward, J.E. (1993) Gill function and mucocyte distribution in *Placopecten magellanicus* and *Mytilus edulis* (Mollusca: Bivalvia): the role of mucus in particle transport. *Marine Ecology Progress Series*, **98**: 275-282.

Cannuel, R., Beninger, P.G., McCombie, H. and Boudry, P. (2009) Gill development and its functional and evolutionary implications in the blue mussel *Mytilus edulis* (Bivalvia: Mytilidae). *The Biological Bulletin*, **217**: 173-188.

de Villers, C.J. and Hodgson, A.N. (1987) The structure of the secondary gills of *Siphonaria capensis* (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Molluscan Studies*, **53**: 129-138.

Dral, A.D.G. (1967) The movements of the latero-frontal cilia and the mechanism of particle retention in the mussel. *Netherlands Journal of Sea Research*, **3**: 391-422.

Eertman, R.H.M. (1996) Comparative study on gill morphology of gastropods from Moreton Bay, Queensland. *Molluscan Research*, **17**: 3-20.

Gómez-Mendikute, A., Elizondo, M., Venier, P. and Cajaraville, M.P. (2005) Characterization of mussel gill cells in vivo and in vitro. *Cell and Tissue Research*, **321**: 131-140.

Jung, G.K., Park, J.J., Ju, S.M., Jeon, M.A. and Lee, J.S. (2011) Gill ultrastructure of the spiny top shell, *Batillus cornutus* (Gastropoda: Turbinidae). *Korean Journal of Malacology*, **27**: 69-76.

Moore, H.J. (1971) The structure of the latero-frontal cirri on the gills of certain lamellibranch molluscs and their role in suspension feeding. *Marine Biology*, **11**: 23-27.

Morton, B. (1983) The biology and functional morphology of the twisted ark *Trisidos semitorta* (Bivalvia: Arcacea) with a discussion on shell "torsion" in the genus. *Malacologia*, **23**: 375-396.

Owen, G. (1974) Studies on the gill of *Mytilus edulis*: the eu-latero-frontal cirri. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, **187**: 83-91.

Ragg, N.L.C. and Taylor, H.H. (2006) Oxygen uptake, diffusion limitation, and diffusing capacity of the bipectinate gills of the abalone, *Haliotis iris* (Mollusca: Prosobranchia). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, **143**: 299-306.

Starobogatov, Y.I. (1992) Morphological basis for phylogeny and classification of Bivalvia. *Ruthenica*, **2**: 1-25.

Tammes, P.N.L. and Dral, A.D.G. (1955) Observations on the straining of suspensions by mussels. *Archives Neerlandaises de Zoologie,* **11**: 87-112.

Voltzow, J. (1994) Gastropoda: Prosobranchia. ***In***: Microscopic Anatomy of Invertebrates Vol. 5. Mollusca Ⅰ. (ed. by Harrison, F.W. and Kohn, A.J.), Wiley-Liss, New York. pp. 111-252.

Wanichanon, C., Laimek, P., Linthong, V., Stretarugsa, P., Kruatrachue, M., Upatham, E.S., Poomtong, T. and Sobhon, P. (2004) Histology of hypobranchial gland and gill of *Haliotis asinina* Linnaeus. *Journal of Shellfish Research,* **23**: 1107-1112.

Yoo, J.S. (1988) Korean Shells in Color. Iljisa Publishing company, Seoul. pp. 1-196.

Zardus, J.D. (2002) Protobranch bivalves. *Advances in Marine Biology*, **42**: 1-65.