

## 병안목 달팽이류 두 종간(*Achatina fulica* and *Incilaria fruhstorferi*)의 타액선에 관한 비교연구

한 중 민 · 장 남 섭

목원대학교 이공대학 생물학과

= Abstract =

### Comparative Study on the Salivary Gland between Two Species (*Achatina fulica* and *Incilaria fruhstorferi*) of the Snails in Stylommatophora (Mollusca, Gastropoda)

Jong Min Han and Nam Sub Chang

Department of Biology, College of Science and Engineering, Mokwon University,  
24 Mok-dong, Chung-gu, Taejon 301-729, Korea

Histochemical experiment was carry out respectively to confirm the properties of the salivary gland and salivary secretory ducts between two species of snails (*Achatina fulica* and *Incilaria fruhstorferi*). SDS PAGE was carried out to compare and investigate the distribution aspects of protein patterns between the two species.

Five types(A, B, F, H and D) of gland cells with four neutral mucopolysaccharide cells and one acid mucopolysaccharide cell were observed in acinous of *Achatina fulica*, while six types were observed in acinous of *Incilaria fruhstorferi*: one acid mucopolysaccharide cell(type-A) and four neutral mucopolysaccharide cells(type-B, C, D and F) and one cell that acid mucopolysaccharide is only membrane that surrounded granule(type-E). The results are follows:

The type-A gland cell is commonly observed between the two species. The type-A gland cell in *Achatina fulica* possesses a nucleus with a developed heterochromatin, and the cytoplasm was filled with round granules. The granules were surrounded with an uncertain boundary membrane and confirmed with neutral mucopolysaccharides, but is confirmed acid mucopolysaccharide in *Incilaria fruhstorferi*.

The type-B gland cell is observed in the two species, too. The type-B gland cell in *Achatina fulica* was round shaped, and included an evenly large nucleus. The nucleoplasm was a well developed heterochromatin, and was observed in nucleolus. In the cytoplasm included granules that were confirmed in the neutral mucopolysaccharides of the two species.

The type-C and D gland cells exist only in *Incilaria fruhstorferi*, nucleoplasm was well developed heterochromatins.

The type-E gland cell appears in the acinous surrounded the salivary gland of *Incilaria fruhstorferi*. These granules appear irregular shape and size and the cytoplasm is formed in alveolar.

The type-F gland cells are commonly observed in the salivary glands of the two species. They are similar with the type B gland cell, but the granular shape is comparatively small and irregular, and possess the neutral mucous granules.

The type-H gland cells are mainly seen in only *Achatina fulica*, and in nucleus is a well developed heterochromatin. The cytoplasm is filled with round small granules with acid mucopolysaccharide for alcianophilia observed.

The type-I cell was small cell with an irregular shape and only observed in the gland cells of *Achatina fulica*. The heterochromatins were developed in the nucleus and the granules are not observed in cytoplasm.

Secretory ducts of saliva are composed of the interlobular duct and interlobar secretory duct. In *Achatina fulica* the interlobular duct consists of a simple cuboidal epithelium, while the endothelium of intralobar secretory duct consists membrane with no clear cell boundary. The interlobar secretory duct of *Incilaria fruhstorferi* consists of a simple squamous epithelium and in the cytoplasm is filled with granules (type G secretory cell).

A SDS PAGE was carried out to confirm that the protein band pattern consist of salivary gland.

In conclusions, five more bands in *Achatina fulica* and three bands in *Incilaria fruhstorferi* were confirmed in MW<29 kDa. one main band coincides comparatively with both and is between 29~45 kDa. There are four main bands in *Achatina fulica* and two main bands in *Incilaria fruhstorferi* between 45~66.5 kDa respectively. The bands in *Achatina fulica* seem more complex than in *Incilaria fruhstorferi*.

## 서 론

연체동물 복족강, 달팽이류의 타액선은 소화 기관의 선단부에 위치해 있으면서 섭취한 음식물의 소화액, 감작적으로 작용하는 중요한 기관으로 알려져 있다.

그 중 타액선에 관한 연구는 19세기 말경 Pelseneer (1894)의 *Acteoon tornatilis*를 재료로 한 실험에서부터 시작되었으며, 그 후 많은 구조적 연구(Fretter, 1937; Carriker and Bilstad, 1946; Campbell, 1965)가 있었다.

달팽이류 타액선의 구조는 그 형태에 따라 관 타액선(tubular salivary gland)과 선포 타액선(acinous salivary gland)으로 구성되어 있는데, 종에 따라 타액선을 이루고 있는 관 타액선과 선포 타액선의 비율이 다양하게 나타났다(Fretter and Graham, 1962).

일반적으로 관 타액선의 경우 비교적 두터운 근육층으로 둘러싸여 있고 당단백질과 같은 분비물을 분비하며 음식물의 연화를 돕고, 먹이를 마취시키기도 하며 (Marsh, 1971), 먹이의 석회질 껍데기에 구멍을 뚫는데 필요한 물질을 분비하는 것으로 알려져 있다 (Hermans, 1983).

선포 타액선의 경우 주로 점액다당류(mucopoly-

saccharide)와 효소를 포함하는 분비물 등을 분비하여 음식물을 매끄럽게 삼키고, 화학적 소화까지도 수행하고 있는 것으로 알려졌다(Hermans, 1983).

Campbell(1965)은 검은 전복(*Haliotis cracherodii*)의 타액선에서 두 가지 염색액, Mucicarmine과 Hematoxylin에 각각 양성 반응을 보인 점액 세포(mucous cell)와 분비 세포(secretory cell)를 확인했고, Mantale (1973)은 *Cryptozona semirugata*의 타액선에서 탄수화물을 분비하는 선세포와 적은 양의 protease를 분비하는 선세포를 확인한 바 있다. 그러나 McLean(1970)은 *Haliotis rufescens*를 재료로 한 실험에서 타액선을 구성하는 선세포는 오직 점액 세포(mucous cell) 한 종류뿐이라고 보고한 바 있다.

최근에 김 등(1995)은 *Nesiohelix samarange*의 타액선을 연구한 결과 타액선의 선포 조직이 3가지(type 1, type 2, type 3)로 구성되어 있고, 이들은 모두 PAS에 양성 반응을 나타낸다고 하였다.

그러나 복족강, 달팽이류(*Achatina fulica*와 *Incilaria fruhstorferi*) 사이에서의 소화 기관 및 타액선 조직의 구조적 차이와 단백질의 분포 양상을 비교 검토한 연구는 그리 흔하지 않다. 이에 본 연구에서는 복족강 병안목에 속하는 달팽이류 중 폐각이 잘 발달된 종인

*Achatina fulica*와 패각이 거의 퇴화된 종인 *Inciliaria fruhstorferi* 사이의 내장 기관의 구조적 차이를 확인하고자, 우선 소화 기관 중 타액선 조직을 그 대상으로 하였으며, 이들 조직의 화학적 특징과 SDS-PAGE 전기영동을 이용한 단백질 분석을 시행하고 이를 비교 검토하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

경기도 근교에서 사육 중인 왕달팽이(*Achatina fulica*)와 충남 공주시 반포면 계룡산 근교 야산에서 채집된 산민달팽이(*Inciliaria fruhstorferi*)를 실험실로 운반한 후, 실험 재료로 사용하였다. 재료는 70% 알콜로 시시히 마취 시켰고, 해부를 한 다음 관찰 부위인 타액선을 적출 하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 광학 현미경 관찰

타액선을 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.3)용액에 2시간 전고정한 후 phosphate buffer(pH 7.3)로 5분씩 3회 세척하고 1% OsO<sub>4</sub>(phosphate buffer, pH 7.3)고정액에 2시간 후고정 하였다. 고정이 끝난 재료는 이어 통상적 방법으로 alcohol과 acetone 상승농도순으로 탈수와 투명을 시켰으며, Epon 812-Araldite에 포매한 후, 60°C의 paraffin oven에서 40시간 이상 경화시켰다. 박편은 LKB-V ultramicrotome를 사용하여 1 μm 두께로 절편을 만들어 조직화학적 방법을 이용하여 염색하였다. 염기호성 물질과 산호성물질의 확인을 위해서 methylene blue-basic fuchsin 이중염색(이하 M-B 이중염색이라 칭함)과 Harris hematoxylin-eosin 이중염색(이하 H-E 이중염색이라 칭함)을 각각 실시하였으며, 산성 및 중성 점액다당류물질의 확인을 위해서 PAS-alcian blue(pH 2.5) 반응을 실시하였다. 또한 순수 점액질 확인을 위해서는 Mayer's mucicarmine 염색을 하였고, 사진은 카메라가 부착된 Olympus BH-2 광학현미경으로 촬영하였다.

#### 2) 전기영동(SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis)

##### (1) 단백질 시료의 추출

재료를 식염수에서 해부한 다음 타액선을 떼어 내었고 이들은 각각 test tube에 모은 후, lysis buffer[50 mM Tris · Cl(pH 8.0), 150 mM NaCl, 0.01% EDTA, 0.02% sodium azide, 0.1% SDS]에서 완전히 균질화시킨 다음, 15,000 rpm(4°C)에서 15분간 원심분리를 시켰고, 이의 상등액을 시료로 사용하였다.

##### (2) 단백질의 분리

전기영동은 Davis(1964)법에 의해 15% acrylamide gel과 Tris glycine buffer (pH 8.3)을 사용하였다. 시료는 1 gel당 45 μl의 양을 사용하였고 전류는 10 mA에서 전개시켰다. tracking dye로는 0.01% bromphenol blue수용액을 사용하였고, 전기영동 후 gel을 Coomassie brilliant blue R 250(0.025 %)으로 염색한 다음 단백질 패턴을 확인하였다.

## 결 과

타액선은 식도 말단 부위로부터 소낭의 앞부분에 걸쳐 위치해 있는 큰 분비선으로, 왕달팽이에서는 길이 1.8~2.2 cm정도이고 산민달팽이에서는 1.2~1.5 cm정도인 2엽성의 선포성 기관으로 노란 색을 띠고 있었다.

선엽을 광학현미경을 통해 관찰한 결과 약간의 근섬유와 결합조직에 의해 둘러싸여 있었고, 왕달팽이에서는 5종류(A형, B형, F형, H형 그리고 I형)의 선세포가 확인되었지만, 산민달팽이에서는 6종류(A형, B형, C형, D형, E형 그리고 F형)의 다양한 선세포가 확인되었다. 또한 전기영동(SDS-PAGE)을 시도하여 두 종간의 타액선을 구성하는 주요 단백질들의 pattern을 확인하였고 그 결과는 다음과 같다.

### 1. 광학현미경적 관찰

#### 1) 타액선(Salivary Gland)

##### (1) A형 선세포(Type-A gland cell)

왕달팽이에서의 A형 선세포는 비교적 둥글고 큰 세포로서 2~3 개씩 서로 군집을 이루면서 선엽의 대부분을 구성하고 있었다(Fig. 2). 핵은 과립에 밀려서 불규칙한 모양을 하고 있고 대체로 세포의 가장자리에 위치해 있었다. 이들이 소지한 과립들은 M-B 이중 염색에서 basophilia를 나타낸 반면, 이질 염색질이 발달

한 핵은 methylenophilia를 나타내었다(Figs. 4 and 8). PAS-alcian blue(pH 2.5) 반응에서 과립들은 PAS에 약한 양성 반응을 보였으며, H E 이중 염색과 Mayer's mucicarmine염색에서는 과립들이 hematoxyline과 carmine에 각각 양성 반응을 나타내었다.

산민달팽이에서의 A형 선세포는 크고 둥근 세포로서 선엽의 주위에서 많이 관찰되었다(Figs. 3 and 4). 왕달팽이에서와는 달리 PAS-alcian blue(pH 2.5) 반응에서 과립들은 alcianophilia를 나타내어 산성점액다당류로 확인되었고, Mayer's mucicarmine염색과 Harris hematoxylin 염색에서는 아무 반응도 나타내지 않았다.

(2) B형 선세포(Type-B gland cell)

이 세포는 비교적 둥근 모양을 한 분비세포로서, 왕달팽이에서는 이들이 소지한 불규칙한 모습의 핵은 과립들에 밀려 세포질 주위로 밀려나 있었다. 세포질내포만되어있는 크고 둥근 과립들은 M-B 이중염색에서 핵과 더불어 methylenophilia를 나타내었고(Figs. 4 and 8), PAS-alcian blue(pH 2.5) 반응과 H-E 이중염색에서는 PAS와 hematoxyline에 각각 약한 반응을 보인 반면, Mayer's mucicarmine에서는 아무 반응도 나타내지 않았다.

산민달팽이에서도 이 세포는 왕달팽이에서와 거의 비슷한 결과를 보였지만(Fig. 5), PAS-alcian blue반응과 Mayer's mucicarmine염색에서는 PAS와 carmine에 각각 양성반응을 보여, 염색성에서 왕달팽이와 약간 다르게 나타났다.

(3) C형 선세포(Type-C gland cell)

모양은 대부분 타원형이거나 약간 불규칙하였다. 세포질은 M-B 이중염색에서 methylenophilia를 나타내는 점액질로 가득차 있고, 핵은 불규칙한 타원형이거나 원형으로 이질 염색질이 뚜렷하였다(Fig. 7). PAS-alcian blue반응에서 핵은 alcianophilia를 나타낸 반면, 점액질은 PAS에 양성반응을 보였으며, Mayer's mucicarmine과 Harris hematoxylin에서도 양성반응을 보여 중성점액다당류로 나타났다.

(4) D형 선세포(Type-D gland cell)

세포의 모습은 장타원형이거나 불규칙한 경우가 많고, 핵도 불규칙하며 이질 염색질이 발달해 있었다. 세포질내의 과립들은 둥글고 크기도 다양하였으며 세포질내에 성글게 분포되어 있었다. 과립들은 2~3개씩 모여서 세포질로 나누어져 있고, M-B 이중염색에서

이들은 약한 methylenophilia를 보였다(Fig. 7). 이어 Mayer's mucicarmine염색과 Harris hematoxyline염색에서도 과립들은 강한 양성반응을 나타낸바 있으며, PAS-alcian blue반응에서는 PAS에 양성반응을 보여 중성점액다당류로 확인되었다.

(5) E형 선세포(Type-E gland cell)

타액선의 선엽에서 가장 드물게 나타나는 세포로서 세포의 형태는 긴 장타원형이거나 불규칙하며, 핵은 세포의 중앙에 위치하였다. 과립들은 크기와 모양이 다양하였고 M-B 이중염색에서 약하게 basophilia를 보였으나(Fig. 11), Mayer's mucicarmine 염색과 Harris hematoxylin염색에서는 각각 반응을 나타내지 않았다. PAS alcian blue 반응에서도 핵은 PAS에 양성반응을 나타내었지만 과립들은 아무반응을 보이지 않았으며, 다만 과립을 둘러싸고 있는 막만이 alcianophilia를 보여 산성점액다당류 막으로 확인된 뿐이었다.

(6) F형 선세포(Type-F gland cell)

이 세포는 모양과 분포가 B형 세포와 매우 유사하지만 B형에 비해 과립의 크기는 약간 작고 모양도 비교적 불규칙한 것이 특징이었다(Figs. 4 and 6). 왕달팽이에서는 세포질내 과립들은 M-B 이중염색에서 두 염색액에 모두 양성 반응을 보였으며, PAS-alcian blue(pH 2.5) 반응과 H-E 이중염색에서는 PAS와 hematoxyline에 각각 강한 양성 반응을 나타내어 중성 점액다당류로 확인되었다. 또한 Mayer's mucicarmine에서는 carmine에 약한 양성 반응을 보였다.

산민달팽이에서도 이 세포가 소지하고 있는 과립들이 M-B 이중염색에서 두 염색액에 모두 양성반응을 보였고, Mayer's mucicarmine염색과 PAS-alcian blue 반응에서도 carmine과 PAS에 각각 양성반응을 보이 역시 중성점액다당류로 확인되었다.

(7) H형 선세포(Type-H gland cell)

비교적 둥근 세포로서, 이질 염색질이 잘 발달된 핵을 소지하고 있었다. 세포질에는 작고 둥근 과립들로 가득 차 있고(Fig. 6), 과립들은 M-B 이중염색에서 M 염색에 또는 두 염색액에 모두 양성반응을 나타내는 경향을 보였다. 또한 과립들은 PAS-alcian blue반응에서 alcianophilia를 나타내어 산성 점액 다당류로 확인되었고, Mayer's mucicarmine염색에서는 carmine에 강한 양성 반응을 보인 반면, H E 이중 염색에서는 아무런 반응도 보이지 않았다.

(8) I형 세포(Type-I cell)

이 세포는 선엽 속에 가장 드물게 존재하는 세포로, 세포의 모양은 매우 불규칙하고 핵속에는 이질 염색질이 잘 발달해 있는 반면(Fig. 6), 세포질은 M-B 이중염색에서 아무런 반응도 나타내지 않았다. PAS·alcian blue반응과 H E 이중염색에서, 세포질은 PAS와 hematoxyline에 각각 강한 양성반응을 나타내어 중성 염색물질을 포함하는 것으로 확인되었지만 Mayer's mucicarmine염색에서는 아무 반응도 보이지 않았다.

2) 타액의 분비관(Secretory duct of Saliva)

타액선 내에 분포하고 있는 도관으로, 선엽에서 생성된 타액을 모아서 구강으로 운반하는 관이다. 타액은 타액소관인 소엽간관(interlobular duct)과 큰 분비관인 엽간도관(interlobar secretory duct)을 차례로 거친 후 구강으로 열려 있었다.

(1) 소엽간관(interlobular duct)

이 관은 타액선에서 매우 드물게 나타나는 관으로 한 층의 입방상피세포로 구성되어 있었다. M-B 이중염색에서 세포질은 강한 basophilia를 보였고, 이질 염색질이 잘 발달된 핵은 methy- lenophilia를 나타내었다(Fig. 9).

(2) 엽간도관(interlobar secretory duct)

이 관은 타액선 내에 존재하는 도관의 대부분을 차지하고 있으며 두터운 지지 상피 세포로 구성되어 있었다. 왕달팽이에서는 엽간도관의 내강상피세포의 경계가 뚜렷하지 않고 총관상 또는 나선상으로 이루어진 것이 특징이고, 이질 염색질이 발달된 핵만이 M-B 이중염색에서 methylenophilia를 나타낼 뿐, 도관의 내강 상피 조직은 여러 염색액에 전혀 반응을 보이지 않았다(Fig. 10). 반면, 산민달팽이에서 엽간도관의 상피조직은 지지상피세포와 A형, B형, E형 및 G형 선세포등 4종류의 다양한 분비세포로 구성되어 있고 세포의 경계도 비교적 뚜렷하며 M-B 이중염색에서 강한 호염기성을 나타내는 등 두 종 사이에 많은 차이가 있었다.

2. 전기영동

전기영동에서 왕달팽이와 산민달팽이의 타액선을 구성하는 protein band pattern은 매우 복잡하게 나타났다.

먼저 29 KDa이하에서는 B lane에서 3개정도, C lane에서는 5개이상의 band가 확인되었고, 29~45 KDa사이에서는 뚜렷한 main band 1개가 일치했다.

Table 1. Staining reactions of the secretory granules in cell types.

Stain	Cell type							
	A	B	C★	D★	E★	F	H☆	I☆
Methylene blue	-	+++	++	++	-	++	+++	-
Basic fuchsin	++	-	-	-	+	++☆ +++★	+	-
PAS	+☆ -★	+☆ ++★	++	++	-	+++	-	+++
Alcian blue (pH 2.5)	-☆ ++★	-	-	-	-	-	++	-
Hematoxylin	+☆ -★	+	+	++	-	++☆ +++★	-	+++
Eosin	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucicarmine	++☆ -★	-☆ +++★	+++	+++	-	+☆ ++★	+++	-

+++ , strong; ++ , moderate; + , weak; - , negative (☆, *Achatina fulica*; ★, *Incolaria fruhstorferi*)

또한 45~66.5 KDa사이에서는 B lane에서 2개, C lane에서는 4개정도의 뚜렷한 main band가 확인된 반면, 66.5 KDa이상에서는 B와 C lane 모두 적은 수의 band만이 관찰되었다(Fig. 1).

고 찰

연체동물(Mollusca), 복족강(Gastropoda)에 속하는 달팽이류 타액선의 구조와 기능은 매우 다양한 것으로 알려졌다(Runham, 1975).

전새아강(Prosobranch)은 대개 한 쌍의 선포 타액선(acinous salivary gland)을 가지고 있는데(Andrews, 1991), 복잡한 형태를 이루고 있거나(Patellogastropods and Mesogastropods) 그 크기가 비대해진 것도 있고, 반대로 선포의 수가 감소되어 있는 것도 있다(Fretter, 1965).

그 중 신복족목(neogastropods)의 여러 종들은 관 타액선(tubular accessory gland)을 소지하고 있는데(Andrews, 1991), 소수의 전새아강에서는 타액 속에 점액성 물질뿐 아니라 소화 효소까지도 분비되는 것으로 알려져 있다.

Nüske(1973)는 육식성인 *Cassidaria echinophora*의 타액선은 약간의 선포 타액선(acinous salivary gland)과 대부분의 관 타액선(tubular accessory salivary gland)으로 이루어져 있다고 보고하고, 이들 선포 타액선을 구성하는 선세포는 mucus와 chloride성분이 포함된 물질을 분비하고, 관 타액선의 선세포에서는 sulfuric acid가 포함된 물질을 분비한다고 하였다.

Martoja(1971)는 *Nucella lapillus*를 사용한 실험에서 점액세포(mucous cell)와 기저세포(basal cell) 두 가지 세포를 각각 mucin과 protease를 만들어 내는 세포라고 칭한 바 있다.

Rudman(1972b)은 후새아강(Opisthobranchia)에 속하는 동물들의 구강과 식도의 연결 부위에서 한 쌍의 타액선을 관찰하고 이를 구강선(oral gland)이라 칭하였으며 그 이외에도 많은 구강선에 대한 연구(Rudman, 1972a, 1974; Gosliner, 1988; Morse, 1984; Willan, 1987)가 있었다. 그 중 Rudman(1972a, b)은 Acteonacean에 속하는 *Bullina*와 *Hydatina*의 구강선을 순선(labial gland)이라 칭하였고, Rudman(1974)은 *Aglajids*에서 두 개의 순선인 배측 및 복측을 각각 관찰하였다. 또한 Gosliner(1988)도 *Philine finmarchica*

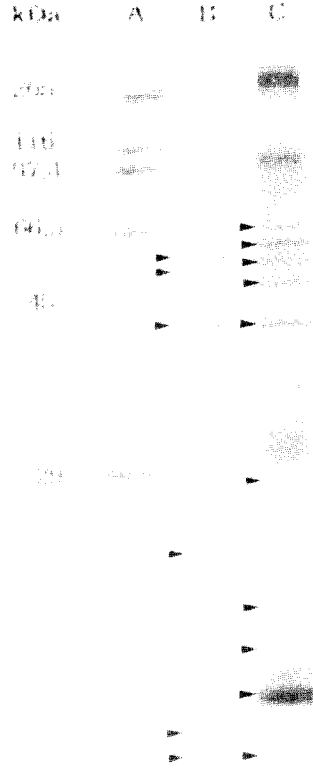


Fig. 1. SDS-PAGE of proteins obtained from the salivary gland of the two species.

lane A: standard molecular weight marker  
 lane B: *Incilaria fruhstorferi*  
 lane C: *Achatina fulica*

와 *Philine olba*, *Spiniphiline kensleyi*에서 구강선을 배측 및 복측 구강선으로 나누고, 이들이 구강부의 하단까지 크게 신장되어 있음도 확인하였다.

유폐아강(Pulmonata)의 어떤 종들은 타액 속에 음식물을 소화시킬 수 있는 효소들을 포함한다고 하였다(Barns, 1987). 그러나 일부 종(Fretter and Graham, 1962; Sheridan et al., 1973)에서는 타액선이 퇴화되어 관찰되지 않았으며, *Achatina*(Ghose, 1963), *Laevicaulis*(Kulkarni, 1972), *Cryptozonia*(Mantale, 1973), *Indoplanorbis exustus*와 *Macrochlamys indica*(Das et al.,

1989) 등에서는 비교적 큰 타액선을 가지면서 약간의 효소까지도 포함한다고 언급했는데, 본 실험의 *Achatina fulica*에서는 큰 타액선이 관찰되었지만 효소의 존재는 확인되지 않았다.

Chang and Han(1995)은 병안목(Stylommatophora), *Inciliaria fruhstorferi*의 타액선이 선포형이고, 모두 6 종류(A형, B형, C형, D형, E형 및 F형)의 선세포들로 구성되어 있다고 하였다(Fig. 3). 그 중 산성 점액 세포는 A형뿐이고, E형 세포는 alcianophilia성 막으로만 둘러싸여 있으며, B형, C형, D형 및 F형 선세포는 중성 점액을 소지한다고 하였다. 본 연구에서도 *A. fulica*의 타액선이 선포형으로 되어있고 산성 점액 성분인 H형 선세포와 중성 성분인 A형, B형, F형 및 I형 선세포 등 모두 5종류가 확인된바 있다. 특히 *Achatina fulica*에서 A형, B형, F형 선세포는 장과 한(1995)의 *Inciliaria fruhstorferi* 연구 결과와 비교할 때 m-b 이중염색시 과립의 모양과 세포의 형태가 서로 유사하게 나타났다(Fig. 5). 또한 PAS-alcian blue반응(pH 2.5)에서도 *Inciliaria fruhstorferi*의 A형 선세포를 제외하고는 모두 PAS에 양성 반응을 나타내 중성 점액 세포로 확인됨으로서 두 종 사이에 침샘 조직의 유사성이 일부 확인됐다 하겠다. 그러나 *Achatina fulica*의 타액선에서는 alcianophilia성의 작고 둥근 과립들을 소지한 H형 선세포와, m-b 이중염색에서는 무반응이지만 PAS에는 강한 양성 반응을 나타낸 I형 세포가 존재하고 있는 반면, *Inciliaria fruhstorferi*(Chang and Han, 1995)에서는 PAS에 양성인 C형 및 D형 선세포(Fig. 7)와 과립을 감싸는 막이 alcianophilia를 나타낸 E형 선세포(Fig. 11)가 관찰되어 두 종 사이에 조직의 상이점이 일부 확인되었다.

타액분비관에 관한 연구는 지금까지 매우 드문 실정이다. Chang and Han(1995)은 *Inciliaria fruhstorferi*에서 타액분비관을 구성하는 세포가 지지상피세포와 A형, E형, F형 및 G형 선세포들로 이루어져 있고, 그 중 E형과 G형 선세포는 과립 분비시 막이 소실되고 점액질이 일시에 내강으로 분비된다고 했는데(Fig. 11), *Achatina fulica*의 타액염간도관은 지지상피세포의 세포 경계가 총관상의 미로를 형성하고 있고 뚜렷한 핵이 관찰되어 두 종간에 차이를 보였는데, 이는 타액을 포함한 분비물의 분비 방식이 종에 따라 다양하다는 것을 보여주는 것이라 하겠다.

달팽이류 타액선의 단백질의 분포 양상에 관해서는

지금까지 연구가 매우 부진하고 다만 Xue 등(1994)이 달팽이류 *Oncomelania hupensis*의 체내에서 기생하는 *Schistosoma japonicum*의 total protein을 SDS-PAGE로 확인한 결과가 있을 뿐이다. 그 이외 포유류를 대상으로 한 타액선의 단백질 분포양상을 관찰한 연구는 비교적 많다(Cohen, 1962; Humphreys beher *et al.*, 1994).

본 실험에서도 *Inciliaria fruhstorferi*의 타액선과 *Achatina fulica*의 타액선을 구성하는 단백질 성분을 분석 비교해 본 결과, 뚜렷한 main band는 대부분 66.5 kDa이하의 lower molecular weight에서 공통적으로 많이 나타난 반면 main band의 수와 분포는 두 종(*Inciliaria fruhstorferi* and *Achatina fulica*) 사이에 유의할만한 차이가 있어 타액선 조직의 서로 다른 특성을 뒷받침할 수 있었다.

## 결론

달팽이류 두 종간(*Achatina fulica* and *Inciliaria fruhstorferi*)의 타액선과 타액분비관을 구성하는 조직의 성질을 확인하기 위하여 조직화학적 실험을 하였으며, 두 종간의 타액선을 구성하는 단백질의 분포 양상을 비교, 검토키 위해서 SDS-PAGE 전기영동을 수행하였다. 그 결과, 왕달팽이에서는 중성 점액 세포가 4개(type-A, B, F and I), 산성 점액 세포가 1개(type-H)등 모두 5 종류의 선세포가 선엽에서 관찰되었고, 산민달팽이에서는 중성 점액 세포가 4개(type-B, C, D and F), 산성 점액 세포(type-A)는 1개 그리고 막만이 산성점액성인 세포가 1개(type-E)등 모두 6 종류가 선엽에서 관찰되고, 타액관에서는 E형과 G형 선세포가 관찰되었다. 그 결과는 다음과 같다.

A형 선세포는 두 종에서 공통으로 관찰되었다. 왕달팽이에서 A형 선세포의 핵은 이질 염색질이 잘 발달돼 있었고, 세포질에는 둥근 과립들로 가득차 있었다. 과립은 서로 합체되는 현상을 보였으며 과립의 성분은 왕달팽이에서는 중성 점액다당류로 확인된 반면, 산민달팽이에서는 산성 점액 다당류로 확인되었다.

B형 선세포도 두 종에서 관찰되었다. 왕달팽이에서 B형 선세포는 둥근 형태를 하고 있고, 세포질에 비해 약간 큰 핵을 소지하고 있었다. 핵질 속에는 이질 염색질이 잘 발달해 있었으며, 커다란 인도 관찰되었다. 세포질은 타원형의 과립과 난원형 과립들도 점유되어

있었는데, 과립들은 두 종에서 모두 중성 집액다당류로 확인되었다.

C형 및 D형 선세포는 산민달팽이에서만 관찰되었는데, 핵질 속에 이질 염색질이 잘 발달되어 있었다.

E형 선세포는 산민달팽이의 선엽 및 타액관 주위에 존재하는 세포로서, 이들이 소지한 과립은 모양과 크기가 불규칙하고 세포질은 공포화 현상을 나타내었다.

F형도 두 종에서 공통적으로 관찰된 세포로서, B형 선세포와 유사하였지만 과립은 비교적 작고 불규칙하였으며 중성 집액 과립들을 소지하고 있었다.

H형 선세포는 왕달팽이의 타액선의 선엽 속에서 주로 많이 나타난 세포로서, 핵은 이질 염색질이 잘 발달해 있었다. 세포질 속에는 작고 둥근 산성 집액 과립들로 충만 되어 있었다.

I형 세포 역시 왕달팽이 타액선의 선세포 사이에서만 관찰된 불규칙한 형태의 작은 세포로서 핵질에는 이질 염색질이 잘 발달해 있고, 세포질에서는 과립들이 확인되지 않았다.

타액분비관은 소엽간관과 엽간도관으로 구성되어 있었다. 왕달팽이에서 소엽간관은 단층 입방상피로 구성되어 있었지만 엽간도관의 지지상피세포는 경계가 불확실했다. 반면, 산민달팽이의 엽간도관은 단층 편평상피로 구성되어 있고 세포질에는 과립들(G형 분비과립)로 점유되어 있었다.

두 종의 타액선 protein band pattern을 확인하기 위해 SDS PAGE 전기영동을 수행하였다. 그 결과 29 kDa 이하에서는 왕달팽이인 경우 5개 이상, 산민달팽이에서는 3개 정도의 band가 확인되었고, 29~45 kDa에서는 두 종에서 여러 개의 main band 중 1개만이 일치해 보였다. 그러나 45~66.5 kDa에서는 왕달팽이에서 4개 정도의 band가, 산민달팽이에서는 2개 정도의 band가 관찰되어 산민달팽이 보다 왕달팽이에서 protein band pattern이 복잡하게 나타났다.

참 고 문 헌

Andrews, E.B. (1991) The fine structure and function of the salivary glands of *Nucella lapillus* (Gastropoda: Muricidae). *J. Moll. Stud.*, 57: 111- 126.  
 Barns, R.D. (1987) Invertebrate zoology (5th ed.). Saunders College., 342-393 pp.  
 Campbell, J.L. (1965) The structure and function of the

alimentary canal of the black abalone, *Haliotis cracherodii* Leach. *Trans. Am. Miu. Soc.*, pp. 376-394.  
 Carriker, M.R. and Bilstad, N.M. (1946) Histology of the snail, *Lymnaea stagnalis appressa* (Say). *Trans. Micros. Soc.*, 65: 250-275.  
 Chang, N.S. and Han, J.M. (1995) Morphological and histochemical study on the salivary gland of Korean slug, *Incilaria fruhstorferi*. *Korean J. Electron Microscopy.*, 25: 40-50.  
 Cohen, S. (1962) Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J. Biol. Chem.*, 237: 1555-1562.  
 Das, S., Misra, K.K., Mondal, G. and Ghose, K.C. (1989) Salivary gland in gastropod molluscs of different feeding habits. *Proc. Zool. Soc. Calcutta.*, 40: 33-39.  
 Davis, B.J. (1964) Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121: 404-427.  
 Fretter, V. (1937) The structure and function of the alimentary canal of some species of Polyplacophora (Mollusca). *Trans. Roy. Soc. Edinburgh.*, 59: 119-164.  
 Fretter, V. (1965) Functional studies on the anatomy of some neritid prosobranchs. *J. Zool.*, 147: 46-74.  
 Fretter, V. and Graham, A. (1962) British prosobranch molluscs. Their functional anatomy and ecology. Ray Society, London.  
 Ghose, K.C., (1963) The alimentary system of *Achatina fulica*. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 82: 149-167.  
 Gosliner, T. (1988) The Philinacea (Mollusca: Gastropoda: Opisthobranchia) of Aldabra Atoll, with descriptions of five new species and a new genus. *Biol. Soc. Washington Bull.*, 8: 79-100.  
 Hermans, C.O. (1983) The duo gland adhesive system. *Oceanography and Marine Biology Annual Review.*, 21: 283-339.  
 Humphreys Beher, M.G., Macauley, S.P., Chegini, N., Setten, G., Purushotham, K., Stewart, C., Wheeler, T.T. and Schultz, G.S. (1994) Characterization of the synthesis and secretion of transforming growth factor  $\alpha$  from salivary glands and saliva. *Endocrinology. The Endocrine Society*, 134: 963-969.



- Kim, K.J., Lee, H. and Jeong, K.H. (1995) Histochemical and ultrastructural study of the salivary gland of the pulmonate snail, *Nesiohelix samarangae*. *Proceedings of 11th Semina of Malacological Society of Korea*
- Kulkarni, A.B. (1972) Some observations on the anatomy and histology of the digestive system of the land slug, *Laevicaulis alte*. *Marathwada Univ. J. Sci.*, **11**: 183-192.
- Mantale, B.M. (1973) Anatomy and histology of the digestive system of the land snail, *Cryptozona semirugata* (Beck). *Marathwada Univ. J. Sci.*, **12**: 205-214.
- Marsh, H. (1971) The feeding biology of some vermivorous *Conus* from the Great Barrier Reef. *Ph.D. Thesis, James Cook University, Townsville, Queensland, Australia*.
- Martoja, M. (1971) Données histologiques sur les glandes salivaires et oesophagiennes de *Thais lapillus* (L.). (= *Nucella lapillus*. Prosobranchia Neogastropode). *Archives de Zoologie Experimentale et Générale*, **112**: 249-291.
- McLean, N. (1970) Digestion in *Haliotis rufescens* Swainson (Gastropoda: Prosobranchia). *J. Expt. Zool.*, **173**: 303-318.
- Morse, M.P. (1984) Functional adaptations of the digestive system of the carnivorous mollusc *Pleurobranchaea californica*. *J. Morphol.*, **180**: 253-269.
- Nüske, H. (1973) Cytologische Untersuchungen an der Säuredrüse der Meeresschnecke *Cassidaria echinophora*. *Cytobiologie.*, **7**: 164-180.
- Pelseneer, P. (1894) Recherches sur divers Opisthobranches. *Mem. cour. Acad. Roy. Soc. Belg.* Vol. liii, p.1.
- Rudman, W. (1972a) Studies on the primitive opisthobranch genera *Bullina* Férussac and *Micro-mela pilsbury*. *Zool. J. Linn. Soc.*, **51**: 105-119.
- Rudman, W. (1972b) The anatomy of the opisthobranch genus *Hydatina* and the functioning of the mantle cavity and alimentary canal. *Zool. J. Linn. Soc.*, **51**: 121-139.
- Rudman, W. (1974) A comparison of *Chelidonura*, *Navanax* and *Aglaja*, with other genera of the Aglajidae (Opisthobranchia: Gastropoda). *Zool. J. Linn. Soc.*, **54**: 185-212.
- Runham, N.W. (1975) Alimentary canal. *In: The Pulmonates* (ed. by Fretter, V. and Peake, J.), Vol. 1, Academic Press, London, pp. 53-104.
- Sheridan, R., Jean-Jacques, V.M. and Jean, B. (1973) Etude morphologique de tube digestif de quelques Turridae (Mollusca-Gastropoda-Prosobranchia-Toxoglossa) de la region de roscoff. *Cah. Biol. Mar.*, **14**: 159-188.
- Willan, R. (1987) Phylogenetic systematics of the Notaspidea (Opisthobranchia) with reappraisal of families and genera. *Am. Malacol. Bull.*, **5**: 215-241.
- Xue, H.C., Qiu, L.S., He, Y.X., Zang, Y.H. and Zhu, C.W. (1994) SDS-PAGE protein pattern and its antigenicity analysis of different isolates of *Schistosoma japonicum* in China. *Chinese Medical Journal.*, **107**(1): 25-29.

## Explanations of Figures

- Fig. 2.** Light micrograph showing the salivary gland of *Achatina fulica*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 30  $\mu$ m.
- Fig. 3.** Light micrograph showing the salivary gland and salivary secretory duct of *Incilaria fruhstorferi*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 20  $\mu$ m.
- Fig. 4.** Light micrograph showing the type-A(A), type-B(B) and type-F(F) gland cells of *Achatina fulica*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 5.** Light micrograph showing the type-A(A) and type-B(B) gland cells of *Incilaria fruhstorferi*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 6.** Light micrograph showing the type-A(A), type-F(F), type-H(H) and type-I(I) cells of *Achatina fulica*. N, nucleus. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 7.** Light micrograph showing the type-A(A), type-C(C) and type-D(D) gland cells of *Incilaria fruhstorferi*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 8.** Light micrograph showing the type-A(A) and type-B(B) gland cells of *Achatina fulica*. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 9.** Light micrograph showing the intralobular duct(arrow) of *Achatina fulica*. L, lumen. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 10.** Light micrograph showing the intralobar duct of *Achatina fulica*. L, lumen. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.
- Fig. 11.** Light micrograph showing the type-E(E) and type-G(G) gland cells are secreted between the endothelial cells in salivary intralobar duct of *Incilaria fruhstorferi*. g, secreting type-G granule; L, lumen. methylene blue-basic fuchsin double stain. scale bar= 4  $\mu$ m.

