

# 한국 남해안 가막만에서 채집된 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*의 체내 중금속 농도와 생식 및 조직학적 지표 변화

전미애, 강주찬<sup>1</sup>, 이정식

전남대학교 수산생명의학과, <sup>1</sup>부경대학교 수산생명의학과

## Concentration of Heavy Metal and Alteration of Reproductive and Histological Biomarker of *Mytilus galloprovincialis* in Gamak Bay of the Southern Coast of Korea

Mi Ae Jeon, Ju Chan Kang<sup>1</sup> and Jung Sick Lee

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

<sup>1</sup>Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

### ABSTRACT

This study investigated concentration of metal ions, intersexuality and histological alterations of digestive gland in *Mytilus galloprovincialis*. Samples were collected from two areas of Gamak Bay in May, 2010. The concentration of metal ions showed that Al ( $366.5 \pm 249.7$  mg/kg) was highest and Zn ( $179.5 \pm 67.8$  mg/kg) was second high concentration. Co ( $1.0 \pm 0.2$  mg/kg) was lowest. The intersexuality was 26.4% and males (38.8%) was higher than the females (12.9%). Intersex type was observed four types. Destruction of digestive tubule epithelium was highest among other biomarker in digestive gland. Distribution of basophilic cell and lipofuscin was 6.1% and 1.5%, respectively.

**Key Words:** *Mytilus galloprovincialis*, heavy metal, biomarker, Gamak Bay

### 서 론

수서생태계에서 생물에게 미치는 화학적 스트레스 요인은 중금속, 내분비계장애물질 (EDCs, endocrine disrupting chemicals) 과 난분해성화학물질 (POPs, persistent organic pollutants) 등이 있다 (Rand and Petrocelli, 1985). 이 가운데 중금속은 생물 체내 축적성이 강하고 대사, 생화학, 생리학 및 조직학적 반응의 변화를 유도한다 (Stasiunaitė, 1999; Kim *et al.*, 2006). EDCs는 동물의 생

체호르몬과 비슷하게 작용하는 외인성 화학물질로서 동물의 내분비계에 영향을 미쳐 생식기능 등의 장애를 유발하는 물질을 말한다. 특히, androgenic effector나 estrogenic effector로서 각각 다른 기작에 의해 생물의 생식관련 내분비계를 교란시켜 성의 표현이나 기능을 변화시킨다 (Iguchi, 1998; Quinn *et al.*, 2004). 세계적으로 EDCs는 약 67종의 화학물질이 선정되었으며, 중금속 가운데 Cd, Pb, Hg, Zn이 내분비계 장애기능을 가지는 것으로 확인되었으며, 계속 추가되고 있는 실정이다 (WWF, 2006; Ju *et al.*, 2009).

환경요인으로 인해 생물이 받는 위해도를 평가하는 방법은 위험성 확인 (hazard identification), 노출평가 (exposure assessment), 용량-반응 평가 (dose-response assessment) 및 위해도 결정 (risk characterization) 의 주요 4단계이다 (NRC, 1983). 위와 같은 방법에 따라 위해도를 평가하기 위해서는 지표생물 (indicator organism) 과 생물지표 (biomarker) 의 선정이 중요하다.

지표생물 가운데 이매패류들은 주로 여과섭식에 의해 먹이

Received: March 18, 2013; Accepted: March 26, 2013  
Corresponding author : Jung Sick Lee  
Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: ljs@chonnam.ac.kr  
1225-3480/24467

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.

를 섭이하며, 이동성이 낮아 일생동안 서식범위가 국한되어 있다. 또한 체내로 유입된 오염원들의 체내 축적은 용이하지만 체내에서의 해독과 체외방출이 낮아 특정 지역의 오염상태를 알아보기 위한 지표종으로 많이 사용되고 있다 (Marin *et al.*, 2006; Schintu *et al.*, 2008; Ra *et al.*, 2011; Husmann *et al.*, 2012). 특히, 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis* 는 전 세계 연안에 널리 분포하며, 1970년대 이후, 'Mussel Watch Program'을 중심으로 해양환경 오염 모니터링 지표종으로 널리 이용되어 왔다 (Goldberg, 1975).

다양한 생물지표 가운데 생식생물학적 및 조직학적 지표들은 개체 또는 개체군 수준에서 독성물질에 의한 장기적이고 지속적인 영향을 평가하는데 중요하게 이용되는 항목이다 (Huggett *et al.*, 1992).

육지로 둘러싸인 연안의 폐쇄만은 육상에서 유입되는 환경오염원의 양이 많으며, 유입된 오염원들이 외양으로 쉽게 빠져나가지 못하기 때문에 서식하는 생물들은 환경오염원에 의한 영향을 지속적으로 받을 수 있다. 우리나라 가막만은 남해안의 중앙에 위치하며 지형학적으로 반 폐쇄만으로, 주변 해역은 크고 작은 반도와 섬들로 형성된 내만이 잘 발달한 곳이다. 그러나 주변 해안의 도시화로 인한 인구증가와 생활 오폐수의 유입 증가 및 과도한 양식장으로 인해 생태환경이 악화되고 있다 (Lee *et al.*, 2005).

따라서 본 연구에서는 가막만에 서식하는 지중해담치의 체내 중금속 농도, 이성생식세포 발현과 소화선의 조직학적 지표 변화를 이용하여 이들의 안전성을 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구에 사용된 지중해담치 129개체는 남해안 가막만 연안 두 곳, 전라남도 여수시 신월동 연안 (N34°43' 39.73" E127°41' 42.78" ) 과 돌산 우두리 연안 (N34°43' 32.93" E127°45' 51.53" ) 에서 채집하였다. 시료의 크기는 각고 59.1 (± 9.0) mm였다.

### 2. 방법

#### 1) 체내 금속 이온 분석

시료는 해부하여 -80℃로 동결건조하여 2% HNO<sub>3</sub> (Nitric Acid 65%, Merck, Germany) 로 2번 이상 전처리를 하였

다. 전처리 시료를 2% HNO<sub>3</sub>로 100 ml 정량하였고 이 용액의 일부를 분취하여 ICP-MS (Perkin Elmer, NexION®300X) 로 체내 금속 이온의 농도를 측정하였다. 회수율은 금속 이온 분석 시, Semi-Quantitative Standard (SQS, AccuTrace Reference Standard) 를 이용하여 측정하였다.

#### 2) 조직학적 분석

광학현미경 조직표본 제작은 시료를 해부한 후, 생식소와 소화선 부분을 적출하여 Bouin용액에 12시간 동안 고정하고, 24시간 동안 수세하였다. 그 후 파라핀 절편법에 의해 4-6 μm 두께로 연속절편하였다. 표본은 Mayer's hematoxyline-0.5% eosin (H-E) 염색, AB-PAS (pH 2.5) 반응과 지방갈색소를 관찰하기 위해 Long Ziehl-Neelsen 염색을 시행하였다.

#### 3) 이성생식세포 발현

이성생식세포 발현은 평균 1 cm<sup>2</sup>의 5-6개 생식소 조직표본을 광학현미경으로 관찰한 결과, 난소에서 수컷의 생식세포 또는 정소에서 암컷의 생식세포가 관찰되는 것만을 기준으로 하였다. 이성생식세포 발현 형태는 Herlin-Houtteville and Lubet (1975) 와 Lee *et al.*, (2010) 의 방법을 이용하여 조직학적으로 네 종류로 구분하였다.

#### 4) 소화선의 조직학적 변화

소화선의 조직학적 변화가 관찰된 개체 수의 비율은 아래의 식으로 계산하여 백분율 (%) 로 나타냈다.

$$\text{Frequency of digestive gland alterations (\%)} =$$

$$\frac{\text{Number of histological alteration in digestive gland}}{\text{Total number of analysed bivalves}} \times 100$$

소화선 세관의 조직학적 변화 정도는 아래의 식을 통해 계산한 후, Table 1과 같이 나타냈다.

$$\text{Frequency of digestive tubule alterations (\%)} =$$

$$\frac{\text{Number of histological alteration in digestive tubule}}{\text{Total number of digestive tubule}} \times 100$$

Table 1. Quantitative scoring of histological alterations

	None	Mild	Moderate	Severe
Frequency (%)	0-10%	10-40%	40-70%	70-100%
Quantitative scoring	-	+	++	+++

-, none; +, mild; ++, moderate; +++, severe.

**5) 호염기성세포 분포 비율**

소화선 조직을 구성하는 호염기성세포의 분포 비율은 아래의 식으로 계산하여 백분율 (%) 로 나타냈으며, 현미경 화상 분석장치 (IMT, Visus, U.S.A) 를 사용하여 정량 분석하였다.

$$\text{Distribution of basophilic cell (\%)} = \frac{\text{Basophilic cell area } (\mu\text{m}^2)}{\text{Epithelial layer area of digestive tubule } (\mu\text{m}^2)} \times 100$$

**6) 지방갈색소 분포 비율**

소화선에서 지방갈색소의 분포 비율은 아래의 식으로 계산하여 백분율 (%) 로 나타냈으며, 현미경 화상분석장치 (IMT, Visus, U.S.A) 를 사용하여 정량 분석하였다.

$$\text{Distribution of lipofuscin (\%)} = \frac{\text{Lipofuscin area } (\mu\text{m}^2)}{\text{Epithelial layer area of digestive tubule } (\mu\text{m}^2)} \times 100$$

**7) 통계학적 분석**

결과의 유의적인 차이 (P < 0.05) 를 알아보기 위해 SPSS 통계 프로그램을 이용하여 paired sample t-test를 실시하였다.

**결 과**

**1. 체내 금속 이온의 농도**

체내 금속 이온 분석 결과, 지중해담치 체내에서 분석된 10 가지 원소 가운데 Al이 366.5 mg/kg으로 가장 높은 농도를 나타냈다. 그 다음으로 Zn은 179.5 mg/kg으로 나타났으며, Co가 1.0 mg/kg으로 가장 낮은 농도였다 (Table 2).

**2. 이성생식세포 발현율과 발현 형태**

이성생식세포의 발현율은 26.4% (n = 34/129) 로 나타났다. 성에 따른 이성생식세포의 발현율은 암컷과 수컷에서 각각 12.9% (n = 8/62) 와 38.8% (n = 26/67) 로 수컷에서 더 높았다.

조직학적으로 이성생식세포 발현 형태는 네 가지 종류

(Type 1, 2, 3, 4) 로 구분되었으며, 각 형태의 특징은 다음과 같았다. Type 1은 생식소낭 내에 이성생식세포가 발현된 형태이며 (Fig. 1A, B), 이들의 출현율은 암컷에서 50.0% (n=4/8), 수컷에서 19.2% (n = 5/26) 였다. Type 2는 서로 다른 성의 생식소낭이 발현된 형태이며 (Fig. 1C), 출현율은 12.5% (n = 1/8) 로 암컷에서만 나타났다. Type 3는 간질조직에 이성생식세포들이 발현된 형태이며 (Fig. 1D), 출현율은 12.5% (n = 1/8) 로 암컷에서만 나타났다. Type 4는 생식소 외막 및 다른 조직에 이성생식세포가 발현된 형태이며 (Fig. 1E, F), 이들의 출현율은 암컷에서 25.0% (n = 2/8), 수컷에서 80.8% (n = 21/26) 였다.

**3. 소화선의 조직학적 변화**

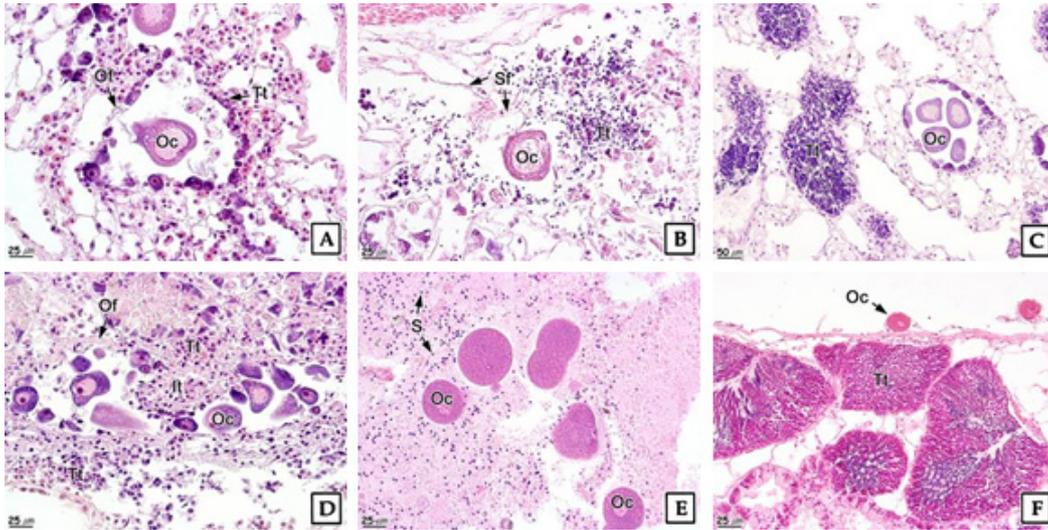
소화선은 다수의 소화선세관들과 소화선세관 사이의 결합조직으로 구성되어 있었다. 소화선세관의 상피층은 단층으로, 상피층에서는 상피세포와 호염기성세포 (basophilic cell) 를 구분할 수 있었다. 소화선세관 상피세포들은 원주형으로 중앙 하부에 뚜렷한 인을 갖는 핵을 가지며, 세포질 상부에는 다수의 과립들을 가지고 있었다. 호염기성세포는 소화선세관 상피층의 상피세포들 사이에 존재하는 원주형 세포이다. H-E 염색 결과, 중앙하부에 강한 호염기성을 나타내며 뚜렷한 인을 가진 핵이 존재하고, 세포질 상부에는 다수의 과립을 가지고 있었다 (Fig. 2A).

소화선에서는 네 가지 조직학적 변화가 관찰되었다. 첫 번째 조직학적 변화는 소화선세관 상피층을 구성하는 상피세포와 호염기성세포의 파괴였다 (Fig. 2B, C). 두 번째 변화는 H-E 염색 결과, 소화선세관 내강 안에 파괴된 세포 잔여물의 축적이었다. 세포 잔여물은 상피세포뿐만 아니라 호염기성세포의 파괴로 인해 세포질과 세포질 내에 있던 분비물질로 확인되었다. AB-PAS (pH 2.5) 반응 결과, 붉은색의 중성 점액다당류가 차 있는 개체들이 많았다 (Fig. 2D, E). 세 번째 변화는 소화선세관 사이의 결합조직에 다량의 혈구 증가였다 (Fig. 2F, G). 네 번째 조직학적 변화는 소화선세관 상피층의 위축이었다 (Fig. 2H, I).

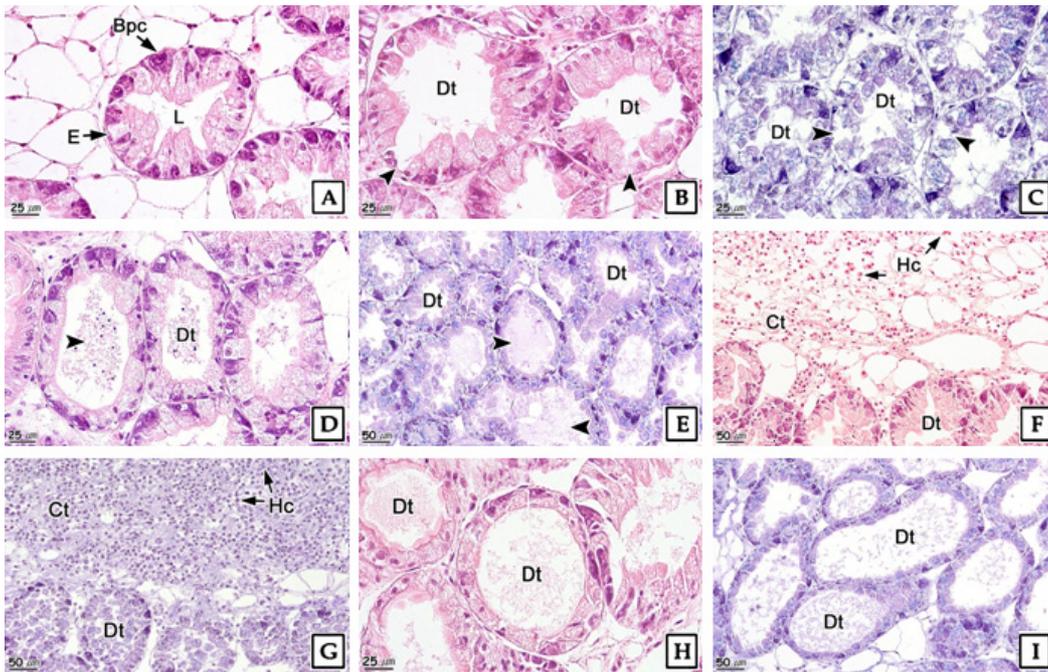
소화선세관 상피층의 파괴는 모든 분석개체들에서 나타났으며, 소화선세관 내강 안에 파괴된 세포 잔여물의 축적과 결합조직에 다량의 혈구 증가는 각각 50.4%, 29.5%로 나타났다. 소화선세관 상피층의 위축은 14.7% 였다 (Table 3).

**Table 2.** Concentration of metal ions in *Mytilus galloprovincialis*

Metal ions	Al	As	Cr	Mn	Co	Cu	Ni	Zn	Cd	Pb
Concentration (mg/kg)	366.5 (± 249.7)	11.5 (± 1.4)	3.7 (± 0.6)	21.9 (± 4.5)	1.0 (± 0.2)	9.0 (± 1.8)	2.5 (± 0.5)	179.5 (± 67.8)	2.8 (± 1.3)	2.1 (± 0.6)



**Fig. 1.** Intersex gonads of four types in *Mytilus galloprovincialis*. **A and B:** Type 1. **A**, Ovarian section showing the spermatids (St) within the oogenic follicle (Of); **B**, Testicular section showing the oocyte (Oc) within the spermatogenic follicle (Sf). **C:** Type 2, Ovarian section showing the male gametes in adjacent follicles. **D:** Type 3, Ovarian section showing the male gametes in interfollicular tissue (It). **E and F:** Type 4. **E**, Ovarian section showing male gametes in the outer area of gametogenic follicles; **F**, Testicular section showing female gametes in the outer area of testicular envelope. Oc, oocyte; S, sperm; Tt, testicular tissue.



**Fig. 2.** Photomicrographs of histological alterations on digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. **A:** Digestive tubule. **B and C:** Showing destruction of digestive tubule (Dt) epithelium (arrow head). **D and E:** Showing filled up cell debris in lumen (arrow head) of digestive tubule. **F and G:** Showing increase of hemocyte (Hc) in connective tissue (Ct). **H and I:** Showing atrophy of digestive tubule epithelium. Bpc, basophilic cell; E, epithelial cell; L, lumen.

**Table 3.** Frequency and quantitative scoring of histological alterations on digestive gland in *Mytilus galloprovincialis*

**Histological alterations	Frequency (%)	*Quantitative scoring
DDt	100 (n = 129/129)	++ (n = 301/669)
FCDt	50.4 (n = 65/129)	+ (n = 172/669)
IHCt	29.5 (n = 38/129)	-
ADtE	14.7 (n = 19/129)	- (n = 16/669)

\* Score values = -, none; +, mild; ++, moderate; +++, severe.

\*\* DDt, Destruction of digestive tubule epithelium; FCDt, Filled up cell debris in lumen of digestive tubule; IHCt, Increase of hemocyte in connective tissue; ADtE, Atrophy of digestive tubule epithelium.

**4. 호염기성세포와 지방갈색소 분포 비율**

지중해담치의 소화선에서 조직학적 변화가 관찰되지 않은 소화선세관의 호염기성세포 분포 비율은 23.2%로 나타났다. 그러나 소화선의 조직학적 변화가 관찰된 소화선세관의 호염기성세포 분포 비율은 6.1%로 정상 소화선세관의 호염기성세포 분포 비율에 비해 약 73.7% 낮았다.

소화선세관 상피세포의 세포질에 분포하는 지방갈색소는 Long Ziehl-Neelsen 염색 결과, 적자색으로 반응하였는데 (Fig. 3), 이들의 분포 비율은 1.5 (± 0.8)% 였다.

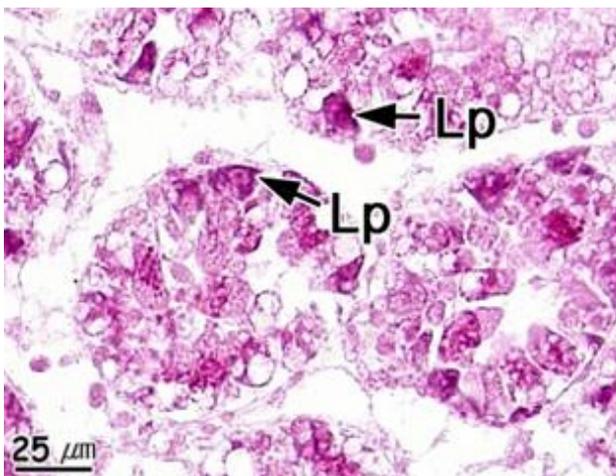
**고 찰**

생물은 화학물질과 접촉하였을 때 화학적인지로 인한 생물학적 반응이 시작된다. 따라서 화학물질을 평가하는데 있어 생물지표는 매우 유용한 수단 가운데 하나이다 (Hebel *et al.*, 1997). 하지만, 화학물질의 영향을 평가하는데 있어 생물지표만을 가지고는 원인관계를 규명하기에는 어려운 점이 있기 때

문에 화학적 분석의 병행이 필요하다.

본 연구에서 지중해담치의 체내 금속 이온 분석 결과, Al이 가장 높은 농도로 나타났고, Co가 가장 낮은 농도로 나타났다. 1985-89년도 가막만, 1998-99년도 마산만과 울산만, 2008년 태안에서 분석된 금속 이온 분석 결과와 비교해 보았을 때, Co의 경우, 마산만 (0.46 mg/kg) 에서는 본 연구 (1.0 mg/kg) 보다 낮은 농도로 나타났지만, 울산만 (7.60 mg/kg) 에서는 7배 높은 농도가 나타났다. Cu의 경우, 가막만 (0.60 mg/kg) 과 마산만 (7.91 mg/kg) 에서는 본 연구 (9.0 mg/kg) 보다 낮은 농도로 나타났지만, 울산만 (24.18 mg/kg) 에서는 약 2배 이상 높은 농도로 나타났다. Zn의 경우, 가막만 (11.05 mg/kg), 마산만 (116.67 mg/kg), 태안 (138.96 mg/kg) 에서는 본 연구 (179.5 mg/kg) 보다 낮은 농도로 나타났지만, 울산만 (201.00 mg/kg) 에서는 더 높은 농도로 나타났다. Cd의 경우, 가막만 (0.25 mg/kg) 과 마산만 (0.92 mg/kg) 에서는 본 연구 (2.8 mg/kg) 보다 2배 낮은 농도로 나타났지만, 울산만 (4.87 mg/kg) 과 태안 (4.81 mg/kg) 에서는 2배 높은 농도를 나타냈다. Pb의 경우, 가막만 (0.44 mg/kg) 과 마산만 (0.56 mg/kg) 에서는 본 연구 (2.1 mg/kg) 에서보다 2배 낮은 농도를 나타냈지만, 울산만 (10.88 mg/kg) 에서는 5배 높은 농도를 나타냈다 (Choi *et al.*, 1992; Szefer *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2011).

이때패류는 중요한 식용 생물이지만, 체내에 축적된 오염원이 인체에 전달될 가능성이 매우 높아 위해성 측면에서 큰 중요성을 지니게 된다 (Byrne and O'Halloran, 2001). 따라서 전 세계적으로 수서생물의 체내 축적된 중금속량을 법적으로 규제하고 있으나, 이는 일부 금속만 국한되어 있다. 우리나라의 경우, 패류 내 중금속 잔류 허용기준은 Pb과 Cd을 2.0 mg/kg 이하로 설정하고 있으며 (식품의약품안전청, 2012), 미국은 Cd은 4.0 mg/kg, Pb은 1.7 mg/kg, Cr은 13.0 mg/kg을 각각 권고치로 설정하고 있다 (FDA, 2011). 호주의 경우, As는 1.0 mg/kg, Cd은 2.0 mg/kg, Pb은 2.0 mg/kg



**Fig. 3.** Photomicrograph of lipofuscin in digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*.

으로 설정되어 있다 (Food Standards, 2011). 한국, 미국, 호주의 잔류허용기준을 본 연구 결과와 비교하였을 때, 지중해 담치에서 Cd은 기준치 초과, Pb은 기준치에 도달하는 농도를 나타냈다. As의 경우, 호주 기준치에 약 10배 높은 농도를 나타냈다. 본 연구에서 가장 높은 농도로 분석된 Al은 장기간 섭취 시, 신경계 장애와 뇌질환을 유발하는데 (Moon *et al.*, 2004), 현재까지 외국이나 한국에서 어패류의 Al에 대한 기준치가 정해져 있지 않다.

화학적 오염원에 대한 이매패류의 생물지표로서 성비, 생식소 발달단계, 이성생식세포 발현, 생식소지수, 조직학적 변화, 호염기성 및 지방갈색소 분포 비율 등이 사용되어 왔다 (Cajaraville *et al.*, 1990; Lee and Park, 2007; Ju *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010). 이 가운데, 이성생식세포 발현은 *Nucella lapillus*, *Thais clavigera*, *T. bronniin*, *T. luteostoma*, *Haliotis madaka*와 *Scrobicularia plana*에서 화학적 오염원이 생식에 영향을 미치는 지표로 사용되었다 (Gibbs *et al.*, 1988; Horiguchi *et al.*, 1994; Kahng *et al.*, 1996; Horiguchi *et al.*, 2000; Chesman and Langston, 2006).

중금속 가운데 Zn, Cd, Pb은 EDCs로서 내분비계에 작용하여 생리학 및 생식생물학적 변화와 이성생식세포 발현을 유도한다 (Lee and park, 2007; Ju *et al.*, 2009). Lee *et al.* (2010) 은 가막만에서 채집한 굴, *Crassostrea gigas* 암컷에서 47.8%, 수컷에서 24.0%, 바지락, *Ruditapes philippinarum* 암컷에서 37.8%, 수컷에서 13.8%의 이성생식세포 발현을 보고하였다. Zn에 노출된 대복, *Gomphina veneriformis*에서 Zn의 체내 농도가 75.6, 160.3 mg/kg일 때, 이성생식세포 발현율이 각각 25.8%, 27.7%로 나타났으며, 두 농도에서 모두 수컷에서보다 암컷에서 출현율이 현저하게 높아 Zn가 대복의 웅성화 기능을 유도하는 것으로 알려졌다 (Ju *et al.*, 2009).

본 연구에서 나타난 이성생식세포 발현율은 26.4%로 암컷 (12.9%) 보다 수컷 (38.8%) 에서 더 높은 발현율을 보였는데, 이러한 성적 차이의 원인에 대해서는 후후의 연구가 필요할 것으로 판단된다.

현재 환경오염원에 의해 발현되는 이성생식세포의 발현 형태에 관한 연구는 많이 부족하다. Chesman and Langston (2006) 은 EDCs에 오염된 지역에서 수컷 *Scrobicularia plana*의 생식소에서 발현된 반대 성의 생식세포의 개수를 통해 이성생식세포의 발현 단계를 관찰하였다. Lee *et al.* (2010) 은 가막만에서 채집한 굴과 바지락에서 생식소내 반대성의 생식세포 발현과 생식소내 사이에 반대성의 생식세포가 발현된 두 가지 발현 형태를 보고하였다.

본 연구에서 지중해담치의 이성생식세포 발현 형태는 네 가

지가 구분되었지만, 비교 고찰할 수 있는 기존의 연구가 부족하기 때문에 종 특이성, 오염원 특이성, 농도의존성 등 후후 연구가 필요하다.

이매패류에서 중금속은 주로 흡수세포들이 많이 존재하는 소화선과 신장에 주로 축적이 되는데, 특히, Zn, Cu, Cd, Mn은 아가미나 외투막보다 소화선에 더 많이 축적된다 (Husmann *et al.*, 2012). 오염물질이 축적된 소화선을 구성하는 세포들의 손상은 독성영향을 평가하는데 중요한 지표가 된다 (Depledge and Hopkin, 1995).

이매패류의 소화선은 소화선세관들과 결합조직으로 구성되어 있다. 소화선세관은 단층 상피층이며, 상피층은 상피세포와 호염기성세포로 구분할 수 있다. 상피세포는 먹이의 세포내 소화 담당하며, 호염기성세포는 세포의 소화를 위한 효소의 합성과 분비에 관여한다 (Owen, 1972; Cajaraville *et al.*, 1990; Park *et al.*, 2009; Ju and Lee, 2012).

0.08 mg/L 농도의 Cu와 Zn 그리고 Cd에 41일 동안 노출된 지중해담치의 소화선세관을 구성하는 상피세포들은 모두 세포가 소실되었다 (Soto *et al.*, 1996). 30일 동안 0.227 mg/L 농도의 Ni에 노출된 *Lammellidaens marginalis*의 소화선에서 소화선세관 상피층의 파괴와 박리가 나타났다 (Andhale *et al.*, 2011). 노르웨이의 심각한 Cu 오염지역에서 채집한 진주담치, *Mytilus edulis*의 소화선은 소화선세관의 내강이 팽창되어서 팽창된 소화선세관의 비율이 66.6%로 나타났다. 또한 오염의 정도가 심한 지역에서 채집한 개체 일수록 호염기성 세포의 비율이 높아지고, 상피세포의 비율이 낮아졌다 (Zorita *et al.*, 2006).

본 연구에서 지중해담치의 소화선에서는 모두 소화선세관 상피세포의 변성, 내강 안에 세포 잔여물과 점액의 축적, 결합조직층의 혈구 침윤 및 호염기성세포의 변성이 확인되었다. 이러한 조직학적 변성은 개체의 소화선에서 소화, 분비 및 해독 등의 정상적인 대사활동을 저해할 것으로 판단된다.

세포 내에서 기능이 소실된 세포소기관이나 불필요한 물질들을 용해시켜서 자가용해소체 (autophagosome) 로 전환되는데, 이때 미분해 고분자의 용해소체를 잔여소체 (residual body) 혹은 지방갈색소라고 한다 (Moore *et al.*, 2006). 이매패류에서 지방갈색소는 중금속이나 저산소증으로 인한 스트레스의 영향 지표로 이용되어 왔다 (Krishnakumar *et al.*, 1990; Byrne and O'Halloran, 2001).

진주담치를 15주 동안 0.8, 5.0, 20.0 mg/L의 Cu에 노출시킨 결과, 고농도에서 용해소체의 확장과 지방갈색소의 축적이 증가하였고, PAHs, PCBs와 중금속 오염지역에서 채집된 개체들의 소화선에서 지방과립과 지방갈색소의 비율도 증가하였다 (Moore, 1988). *Tapes semidecussatus*를 고농도의 중금속에 오염된 저질에 노출시킨 결과, 지방갈색소가 다량으로

축적되며 (Byrne and O'Halloran, 1999), 중금속에 노출된 담치류는 해독 기작의 저해로 인하여 지방갈색소가 증가한다 (Da Ros *et al.*, 2000). 0.1 mg/L의 Hg에 노출된 지중해담치의 소화선세관 소화세포 내에는 지방갈색소가 증가하였다 (Dimitriadis *et al.*, 2003). 대복을 24주 동안 0.64, 1.07, 1.79 mg/L의 Zn에 노출 시킨 결과, 지방갈색소는 농도 의존적으로 증가하였다 (Ju *et al.*, 2006).

본 연구 결과, 지중해담치의 소화선세관에서도 1.5%의 지방갈색소 분포 비율이 확인되었는데, 이러한 결과는 소화선의 변성 및 기능저하로 체내로 흡수된 오염원의 분해 및 해독작용이 정상적인 수행되지 못한 것으로 판단된다.

### 요 약

본 연구는 지중해담치, *Mytilus galloprovincialis*의 체내 중금속 농도, 이성생식세포 발현과 소화선의 조직학적 지표 변화를 이용하여 이들의 안정성을 알아보고자 하였다. 시료는 2010년 5월 한국 남해안의 가막만 2곳에서 채집하였다. 금속 이온의 체내 축적 농도는 분석된 10가지 금속 이온 가운데 Al이 가장 높았으며, 두번째로 Zn이 높았다. 그리고 Co가 가장 낮은 농도로 나타났다. 이성생식세포 발현율은 26.4%로 나타났다. 수컷에서 더 높았다. 이성생식세포 발현 형태는 네 가지 형태가 관찰되었다. 조직학적 지표는 소화선의 조직학적 변화, 호염기성세포와 지방갈색소의 분포비율을 이용하였다. 소화선에서는 소화선세관 상피층의 파괴가 가장 높은 비율로 나타났다. 호염기성세포의 분포 비율은 6.1%로 나타났고, 지방갈색소 분포 비율은 1.5%였다.

### 사 사

이 논문은 2012년도 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임 (2012-0004670).

### 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.

Byrne, P.A. and O'Halloran, J. (1999) Aspects of assaying sediment toxicity in Irish estuarine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 39: 97-105.

Byrne, P.A. and O'Halloran, J. (2001) The role of bivalve molluscs as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review. *Hydrobiologia*, 465: 209-217.

Cajaraville, M.P., Díez, G., Marigómez, I.A. and Angulo, E. (1990) Responses of basophilic cells of the digestive gland of mussels to petroleum hydrocarbon exposure. *Diseases of Aquatic Organisms*, 9: 221-228.

Chesman, B.S. and Langston, W.J. (2006) Intersex in the clam *Scrobicularia plana*: a sign of endocrine disruption in estuaries? *Biology Letters*, 2: 420-422.

Choi, H.G., Park, J.S. and Lee, P.Y. (1992) Study on the heavy metal concentration in mussels and oysters from the Korean coastal waters. *Journal of the Korean Fisheries Society*, 25: 485-494.

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*: Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems. (ed. by Linthurst, R.A., Bourdeau, P. and Tardiff, R.G.), Wiley, Chichester, U.K., pp. 125-149.

Dimitriadis, V.K., Domouhtsidou, G.P. and Raftopoulou, E. (2003) Localization of Hg and Pb in the palps, the digestive gland and the gills in *Mytilus galloprovincialis* (L.) using autometallography and X-ray microanalysis. *Environmental Pollution*, 125: 345-353.

FDA (Food and Drug Administration) (2011) Fish and fishery products hazards and controls guidance. 5. FDA & EPA safety levels in regulations and guidance. F.D.A., U.S., pp. 476.

Food Standards (2011) Food standards code. 2. food product standards. Food Standards Australia New Zealand, Australia, pp. 123.

Gibbs, P.E., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. (1988) Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 68: 715-731.

Goldberg, E.D. (1975) The mussel watch. A first step in global marine pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 6: 1-111.

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.

Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Morita, M. (1994) Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronniin* Japan. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 74: 651-669.

Horiguchi, T., Takiguchi, N., Cho, H.S., Kojima, M., Kaya, M., Shiraishi, H., Morita, M., Hirose, H. and Shimizu, M. (2000) Ovo-testis and disturbed reproductive cycle in the giant abalone *Haliotis madaka*: possible linkage with organotin contamination in a site of population decline. *Marine Environmental Research*, 50: 223-229.

Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Jr, P.M.M. and Bergman, H.L. (1992) Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. Lewis Publishers, London, pp. 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.
- Iguchi, T. (1998) Environmental endocrine disruptors. *Japanese Journal of Clinical Medicine*, **56**: 2953-2962.
- Ju, S.M., Park, J.J. and Lee, J.S. (2009) Induction of intersex and masculinization of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae) by zinc. *Animal Cells and Systems*, **13**: 339-344.
- Ju, S.M. and Lee, J.S. (2011) Microanatomical structure of the digestive diverticulum of *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae). *Korean Journal of Microscopy*, **41**: 257-263.
- 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.
- Kahng, S.H., Je, J.G., Oh, J.R., Shim, W.J. and Shim, J.H. (1996) Imposex of *Thais clavigera* and *T. luteostoma* (Muricidae) as evidence of organotin pollution in Chinhae bay. *The Korean Journal of Malacology*, **12**: 123-131.
- Kim, J.H., Cho, H.S., Yu, J., Choi, Y.S. and Jung, C.S. (2006) A study on the distribution of organochloride compounds in Gwangyang Bay and Gamak Bay. *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering*, **11**: 40-43.
- 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**: 1630-174.
- Lee, J.H., Jeong, H.S., You, Y.Y., Seo, S.J., Jeong, J.Y., Kim, K.B., Cheoi, M.H. and Cho, H.S. (2011) Heavy metal pollution situation in marine organisms of the early stage after the Hebei spirit oil pollution accident. *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering*, **11**: 108-111.
- 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). *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **40**: 16-23.
- Lee, J.S., Lee, Y.G., Kang, S.W., Park, J.S., Lee, D.G., Jeon, M.A. and Ju, S.M. (2010) Intersexuality of *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum* in Southern coastal waters of Korea. *Journal of Environmental Toxicology*, **25**: 287-294.
- Lee, M.O., Kim, B.K., Park, S.J. and Kim, J.K. (2005) Marine environment of Gamak Bay by field observations and numerical experiments. *Journal of the Korean Society for Marine Environmental Engineering*, **11**: 109-114.
- 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 inaequalvis*) for metal bioavailability assessment. *Science of the Total Environment*, **371**: 156-167.
- Moon, C.J., Koh, H.J., Shin, I.C., Lee, E.H. and Moon, H.R. (2004) The effects of oxidative stress induced by aluminum on cellular macromolecules in the hippocampus and cerebral cortex of rats. *Journal of Toxicology and Public Health*, **20**: 213-223.
- 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., Allen, J.I. and Somerfield, P.J. (2006) Autophagy: Role in surviving environmental stress. *Marine Environmental Research*, **62**: 420-425.
- NRC (National Research Council) (1983) Risk assessment in the federal government: managing the process. National Academy Press, Washington, D.C., pp. 192.
- Owen, G. (1972) Lysosomes, peroxisomes and bivalves. *Science Progress*, **60**: 299-318.
- Park, J.J., Park, J.C., Kim, S.S., Cho, H.S., Lee, Y.G. and Lee, J.S. (2009) Histological response of digestive gland of *Gomphina veneriformis* with TBTCI accumulation in sediment and soft tissue. *Journal of Environmental Toxicology*, **24**: 341-350.
- Quinn, B., Gagne, 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.
- Ra, K., Kim, K.T., Lee, J.M., Bang, J.H. and Kim, E.S. (2011) Study on heavy metals in bivalve and fish collected from lake Shihwa and outer sea. *Korean Association of Ocean Science and Technology Societies*, **6**: 2276-2285.
- Rand, G.M. and Petrocelli, S.R. (1985) Introduction. *In*: Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications. (ed. by Rand, G.M. and Petrocelli, S.R.), Hemisphere Publishing Corporation, Washington, D.C., pp. 28.
- 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.
- 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 and Cell*, **28**: 557-568.
- Stasiūnaitė, P. (1999) Long-term heavy metal mixture toxicity to embryos and alevins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Zoologica Lituanica*, **9**:

40-46.

Szefer, P., Kim, B.-S., Kim, C.-K., Kim, E.-H. and Lee, C.-B. (2004) Distribution and coassociations of trace elements in soft tissue and byssus of *Mytilus galloprovincialis* relative to the surrounding seawater and suspended matter of the southern part of the Korean Peninsula. *Environmental Pollution*, 129: 209-228.

WWF (World Wide Fund for Nature) (2006) Reducing

your risk from EDCs. WWF, Switzerland, pp. 20.

Zorita, I., Oritiz-Zarragoitia, M., Soto, M. and Cajaraville, M.P. (2006) Biomarkers in mussels from a copper site gradient (Visnes, Norway): An integrated biochemical, histochemical and histological study. *Aquatic Toxicology*, 78S: S109-S116.

식품의약품안전청 (2012) 식품공전. 제 1 권. 식품의약품안전청, 서울, pp. 277