

# 한국 남해안 가막만에서 채집한 바지락, *Ruditapes philippinarum*의 미량금속 농도, intersexuality 및 소화선의 조직학적 변화

전미애, 김혜진, 최지성, 이정식  
전남대학교 수산생명의학과

## Concentration of Trace Metals, Intersexuality and Histological Alterations of *Ruditapes philippinarum* from Gamak Bay in Korea

Mi Ae Jeon, Hyejin Kim, Ji Sung Choi and Jung Sick Lee

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

### ABSTRACT

This study investigated concentration of trace metals, intersexuality and histopathology of digestive gland in *Ruditapes philippinarum*. Samples were collected from three areas of Gamak Bay in May, 2010. The concentration of trace metals showed that Al was highest, Zn was second high concentration and the lowest concentration was Cd. The intersexuality was 18.5% and female was higher than the male. Intersex type was observed one type. Destruction of digestive tubule epithelium was highest among other biomarkers in digestive gland. Distribution of basophilic cell was 5.8% and lipofuscin was 1.8%.

**Key Words:** trace metal concentration, intersexuality, histopathology of digestive gland, *Ruditapes philippinarum*

### 서론

수서생태계에서 생물에게 미치는 화학적 스트레스 요인은 중금속, 내분비계장애물질 (EDCs, endocrine disrupting chemicals) 과 난분해성 화학물질 (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 (Stasiūnaitė, 1999).

환경요인으로 인해 생물이 받는 위해도를 평가하기 위해서는 지표생물 (indicator organism) 과 생물지표 (biomarker)

의 선정이 중요하다. 이매패류들은 여과섭식에 의해 먹이를 섭취하며, 정착성 생활로 인해 일생동안 서식범위가 국한되어 있다. 또한 체내로 유입된 오염원들의 체내 축적은 용이하지만 체내에서의 해독과 체외방출이 낮아 특정 지역의 오염상태를 알아보기 위한 지표종으로 많이 사용되고 있다 (Rittschof and McClellan-Green, 2005; Husmann *et al.*, 2012).

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

우리나라 가막만은 남해안의 중앙에 위치하며 지형학적으로 반 폐쇄만으로, 주변 해안의 도시화로 인한 인구증가와 생활오폐수의 유입 증가 및 과도한 양식장으로 인해 생태환경이 악화되고 있다 (Lee *et al.*, 2005).

따라서 본 연구에서는 가막만에 서식하는 바지락의 체내 중금속 농도와 이성생식세포 발현 및 소화선의 조직학적 지표 변화를 이용하여 이들의 안전성을 알아보고자 하였다.

### 재료 및 방법

Received: June 18, 2015; Revised: June 22, 2015; Accepted: June 29, 2015

Corresponding author : Jung Sick Lee  
Tel: +82 (61) 659-7172 e-mail: ljs@jnu.ac.kr  
1225-3480/24576

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.

**Table 1.** Concentration of trace metal ions in soft tissue of *Ruditapes philippinarum*

Concentration of trace metal ions (mg/kg)	Al	As	Cr	Mn	Co	Cu	Ni	Zn	Cd	Pb
	306.8 (± 115.9)	33.7 (± 0.3)	3.6 (± 0.5)	24.3 (± 1.8)	1.3 (± 0.2)	13.6 (± 0.0)	2.9 (± 0.3)	76.8 (± 0.3)	0.5 (± 0.2)	0.8 (± 0.2)

**1. 재료**

본 연구에 사용된 바지락, *Ruditapes philippinarum* 은 남해안 가막만 연안 3곳 (전라남도 여수시 신월동 연안 (N34°43' 39.73" E127°41' 42.78" ), 돌산 우두리 연안 (N34°43' 32.93" E127°45' 51.53" ) 과 돌산 서근도 연안 (N34°38' 10.93" E127°42' 45.24" ) 에서 108개체 (각장: 30.6 ± 5.2 mm) 를 채집하였다.

**2. 방법**

**1) 체내 미량금속 이온 분석**

시료는 해부하여 - 80℃로 동결건조하여 2% HNO<sub>3</sub> (Nitric Acid 65%, Merck, Germany) 로 2번 이상 전처리를 하였다. 전처리 시료를 2% HNO<sub>3</sub>로 100 ml 정량하였고 이 용액의 일부를 분취하여 ICP-MS (Perkin Elmer, NexION®300X) 로 체내 미량금속 이온의 농도를 측정하였다. 회수율은 미량금속 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 Bouin 용액에 12시간 동안 고정하고, 24 시간 동안 수세하였다. 그 후 파라핀 절편법에 의해 4-6 μm 두께로 연속절편 하였다. 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 Lee *et al.* (2010) 의 방법을 이용하여 조직학적으로 네 종류로 구분하였다.

**4) 소화선의 조직학적 변화**

소화선의 조직학적 변화와 변화정도는 제작된 조직표본을 대상으로 Jeon *et al.* (2013) 의 방법에 따라 나타났다.

**5) 호염기성세포와 지방갈색소 분포 비율**

소화선에서 호염기성세포와 지방갈색소의 분포 비율은 Jeon *et al.* (2013) 의 방법에 따라 백분율 (%) 로 나타냈으며, 현미경 화상분석장치 (IMT, Visus, U.S.A) 를 사용하여 정량 분석하였다.

**6) 통계학적 분석**

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

**결 과**

**1. 체내 미량금속 이온의 농도**

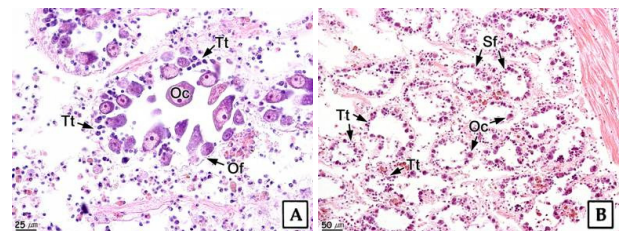
체내 미량금속 이온 분석 결과, Al이 306.8 mg/kg로 가장 높은 농도를 나타냈으며, Zn이 76.8 mg/kg로 두 번째로 높게 나타났다. 그리고 Cd이 0.5 mg/kg로 가장 낮게 나타났다 (Table 1).

**2. 이성생식세포 발현율과 발현 형태**

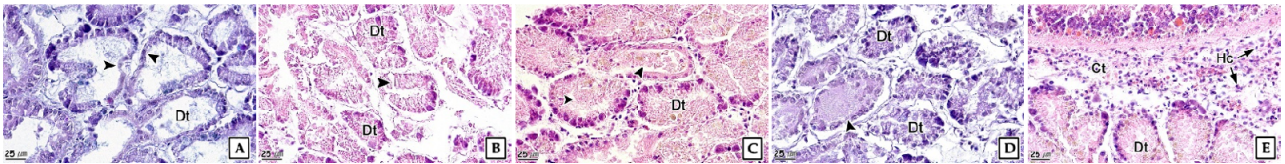
이성생식세포의 발현율은 18.5% (n = 20/108) 로 나타났으며, 성에 따른 이성생식세포의 발현율은 암컷과 수컷에서 각각 34.0% (n = 17/50) 와 5.2% (n = 3/58) 로 암컷에서 더 높았다. 조직학적으로 이성생식세포 발현 형태는 암컷과 수컷 모든 개체에서 Type 1만 관찰되었다 (Fig. 1).

**3. 소화선의 조직학적 변화**

소화선은 다수의 소화선세관들과 소화선세관 사이의 결합



**Fig. 1.** Intersex gonads of Type 1 in *Ruditapes philippinarum*. H-E stain. **A:** Ovarian section showing the male gametes within the oogenic follicle (Of). **B:** Testicular section showing the female gametes within the spermatogenic follicle (Sf). Oc, oocyte; Tt, testicular tissue.



**Fig. 2.** Photomicrographs of histological alterations on digestive gland of *Ruditapes philippinarum*. B, C and E: H-E stain. A and D: AB-PAS (pH 2.5) reaction. **A:** Showing atrophy of digestive tubule epithelium. **B:** Showing destruction of digestive tubule (Dt) epithelium (arrow head). **C and D:** Showing filled up cell debris in lumen of digestive tubule (arrow head). **E:** Showing increase of hemocyte (Hc) in connective tissue (Ct).

**Table 2.** Frequency and quantitative scoring of histological alterations on digestive gland in *Ruditapes philippinarum*

**Histological alterations		ADtE	DDt	FCDt	IHCt
<i>Ruditapes philippinarum</i>	Frequency (%)	0.9% (n = 1/108)	100% (n = 108/108)	31.5% (n = 34/108)	13.9% (n = 15/108)
	*Quantitative scoring	- (n = 2/394)	+++ (n = 290/394)	+ (n = 71/394)	-

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

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

조직으로 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.

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

**4. 호염기성세포와 지방갈색소 분포 비율**

소화선에서 조직학적 변화가 관찰되지 않은 소화선세관의 호염기성세포 분포 비율 (Fig. 3A) 은 18.0%로 나타났으나 소화선의 조직학적 변화가 관찰된 소화선세관의 호염기성세포 분포 비율은 5.8%로 정상 소화선세관의 호염기성세포 분포 비

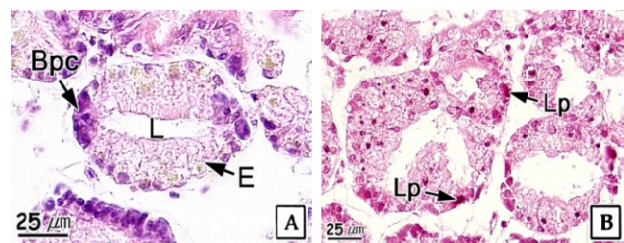
율에 비해 각각 약 67.8% 낮았다.

소화선세관 상피세포의 세포질에 분포하는 지방갈색소는 Long Ziehl-Neelsen 염색 결과, 적자색으로 반응하였는데 (Fig. 3B), 이들의 분포 비율은 1.8 (± 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 때문에 화학적 분석의 병행이 필요하다.

1993년 가막만에 서식하는 바지락의 체내 중금속 농도는 Mn 5.7 mg/kg, Cu 0.9 mg/kg, Zn 7.1 mg/kg, Pb 0.03 mg/kg 으로 나타났으나, 본 연구 결과에서는 Mn, Cu, Zn,



**Fig. 3.** Photomicrograph of basophilic cell (Bpc, **A**) and lipofuscin (Lp, **B**) in digestive gland of *Ruditapes philippinarum*. H-E stain. E, epithelial cell; L, lumen.

Pb의 농도가 약 10배 높은 농도로 나타났다. 또한 2002년 서해안 천수만에 서식하는 바지락에서는 Cr 0.9 mg/kg, Co 1.6 mg/kg, Zn 69.9 mg/kg, Cd 0.8 mg/kg, Pb 0.5 mg/kg로 나타났다. 본 연구 결과에서는 Cr과 Pb은 약 3배, Co, Zn, Cd은 약 2배 더 높게 나타났다.

이러한 결과는 가막만에서 중금속 오염이 가중화되고 있으며, 다른 지역보다 중금속 오염이 심하다는 것을 의미한다.

화학적 오염원에 대한 이매패류의 생물지표로서 성비, 생식소발달단계, 이성생식세포 발현, 생식소지수, 조직학적 변화, 호염기성 및 지방갈색소 분포 비율 등이 사용되어왔다. 이 가운데, 이성생식세포 발현은 *Mytilus edulis*, *Scrobicularia plana*, *Gomphina veneriformis*, *Scapharca broughtonii*, *M. galloprovincialis*, *Crassostrea gigas*, *Ruditapes philippinarum*에서 화학적 오염원이 생식에 영향을 미치는 지표로 사용되었다 (Strand and Asmund, 2003; Chesman and Langston, 2006; Ju *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010).

중금속 가운데 Zn, Cd, Pb은 EDCs로서 내분비계에 작용하여 생리학적 및 생식생물학적 변화와 이성생식세포 발현을 유도한다 (Ju *et al.*, 2009). Lee *et al.* (2010) 은 가막만에서 채집한 굴, *C. gigas* 암컷에서 47.8%, 수컷에서 24.0%, 바지락 암컷에서 37.8%, 수컷에서 13.8%의 이성생식세포 발현을 보고하였다. Zn에 노출된 대복, *G. veneriformis*에서 Zn의 체내 농도가 75.6, 160.3 mg/kg 일때, 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 바지락의 이성생식세포 발현율은 18.5%로 나타났으며, 수컷보다 암컷에서 더 높은 발현율을 보였다. 이러한 성적 차이는 체내에 높은 농도로 나타난 Zn의 영향을 받은 것으로 보이나, 복합적인 다른 요인에 의한 영향에 대해서도 추후 연구가 필요할 것으로 판단된다.

동물계에서 자연적으로 발현되는 이성생식세포의 발현 형태에 관한 연구는 많지만 환경오염원에 의해 발현되는 이성생식세포의 발현 형태에 관한 연구는 많이 부족하다. Chesman and Langston (2006) 은 EDCs에 오염된 지역에서 수컷 *S. plana*의 생식소에서 발현된 반대 성의 생식세포의 개수를 통해 6단계의 이성생식세포의 발현 단계를 관찰하였다. Lee *et al.* (2010) 은 굴과 바지락에서 생식소낭 내 반대성의 생식세포 발현과 생식소낭 사이에 반대성의 생식세포가 발현된 두 가지 발현 형태를 보고하였다.

본 연구에서 이성생식세포 발현 형태는 바지락에서 한 가지가 관찰되었지만, 종에 따른 차이를 비교 고찰할 수 있는 기존의 연구가 부족하기 때문에 종 특이성, 오염원 특이성, 농도의 존성 등 추후 연구가 필요하다.

이매패류에서 중금속은 다른 기관에 비해 소화선과 신장에 주로 축적된다. 특히, Zn, Cu, Cd, Mn은 아가미와 외투막보다 소화선에 더 많이 축적된다 (Husmann *et al.*, 2012). 따라서, 오염물질이 축적된 소화선을 구성하는 세포들의 손상은 독성영향을 평가하는데 중요한 지표가 된다 (Depledge and Hopkin, 1995).

이매패류의 소화선은 외부물질의 소화, 흡수 및 해독작용을 하는 기관이다. 소화선은 소화선세관들과 결합조직으로 구성되어 있으며, 소화선세관은 주로 호염기성세포와 상피세포로 구분할 수 있다. 호염기성세포는 세포외 소화를 위한 효소의 합성과 분비에 관여하며, 상피세포는 먹이의 세포내 소화를 담당한다 (Cajaraville *et al.*, 1990; Ju and Lee, 2011). 이러한 소화선의 기능으로 인해 소화선내에 축적된 중금속들은 소화선세관의 구조 및 기능을 상실하게 한다 (Soto *et al.*, 1996; Zorita *et al.*, 2006; Andhale *et al.*, 2011).

0.08 mg/L 농도의 Cu와 Zn 그리고 Cd에 41일 동안 노출된 지중해담치의 소화선세관을 구성하는 상피세포들은 모두 섬모가 소실되었다 (Soto *et al.*, 1996). 30일 동안 0.227 mg/L 농도의 Ni에 노출된 *Lammellidans marginalis*의 소화선에서 소화선세관 상피층의 파괴와 박리가 나타났다 (Andhale *et al.*, 2011). 노르웨이의 심각한 Cu 오염지역에서 채집한 진주담치의 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). 하지만 본 연구에서는 바지락의 소화선세관 상피층 파괴로 인해 호염기성 세포의 비율이 낮게 나타났다.

본 연구에서 바지락의 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 내 용해소체는 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).

*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

소화세포내에는 지방갈색소가 증가하였다 (Dimitriadis *et al.*, 2003). 대복을 24주 동안 0.64, 1.07, 1.79 mg/L의 Zn에 노출 시킨 결과, 지방갈색소는 농도의존적으로 증가하였다 (Ju *et al.*, 2006).

본 연구 결과, 바지락의 소화선세관에서 1.8%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 바지락, *Ruditapes philippinarum*의 체내 미량 금속 농도, 이성생식세포 발현과 소화선의 조직학적 지표 변화를 이용하여 이들의 안정성을 알아보려 하였다. 시료는 2010년 5월 한국 남해안의 가막만 3곳에서 채집하였다. 금속 이온의 체내 축적 농도는 분석된 10가지 금속 이온 가운데 Al이 가장 높았으며, 두 번째로 Zn이 높았다. 그리고 Co가 가장 낮은 농도로 나타났다. 이성생식세포 발현율은 18.5%로 나타났다. 암컷에서 더 높았다. 이성생식세포 발현 형태는 한 가지 형태가 관찰되었다. 조직학적 지표는 소화선의 조직학적 변화, 호염기성세포와 지방갈색소의 분포비율을 이용하였다. 소화선에서는 소화선세관 상피층의 파괴가 가장 높은 비율로 나타났다. 호염기성세포의 분포 비율은 5.8%로 나타났고, 지방갈색소 분포 비율은 1.8%였다.

## 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.
- 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.
- 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. Linthurst, R.A., P. Bourdeau and R.G. Tardiff. eds. 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. *Environment and Pollution*, 125, 345-353.
- 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.
- 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.
- Jeon, M.A., Kang, J.C. and Lee, J.S. (2013) Concentration of heavy metal and alteration of reproductive and histological biomarker of *Mytilus galloprovincialis* in Gamak Bay of the southern coast of Korea. *Korean Journal of Malacology*, 29, 33-41.
- 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., 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., 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.
- 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.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 Environment & Energy*, 11, 109-114.
- Moore, M.N., Allen, J.I. and Somerfield, P.J. (2006) Autophagy: Role in surviving environmental stress. *Marine Environmental Research*, 62, 420-425.

- 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, pp. 1-28.
- Rittschof, D. and McClellan-Green, P. (2005) Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 369-373.
- Strand, J. and Asmund, G. (2003) Tributyltin accumulation and effects in marine molluscs from West Greenland. *Environment and Pollution*, 123, 31-37.
- 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.
- 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.