

Original article

칠게 외골격 표면 거칠기를 이용한 노출 독성 평가: 새로운 융합적 연구

박기연¹ · 객인실^{1,2,*}

¹전남대학교 수산과학연구소, ²전남대학교 해양융합과학과

Toxicological Assessment to Environmental Stressors Using Exoskeleton Surface Roughness in *Macrophthalmus japonicus*: New Approach for an Integrated End-point Development. Kiyun Park¹ (0000-0003-2965-6970) and Ihn-Sil Kwak^{1,2,*} (0000-0002-1010-3965) (¹Fisheries Science Institute, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea; ²Division of Fisheries and Ocean Science, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea)

Abstract Intertidal mud crab (*Macrophthalmus japonicus*) is an organism with a hard chitinous exoskeleton and has function for an osmotic control in response to the salinity gradient of seawater. Crustacean exoskeletons change in their natural state in response to environmental factors, such as changes in the pH and water temperature, and the presence of pollutant substances and pathogen infection. In this study, the ecotoxicological effects of irgarol exposure and heavy metal distribution were presented by analyzing the surface roughness of the crab exoskeleton. The exoskeleton surface roughness and variation reduced in *M. japonicus* exposed to irgarol. In addition, it was confirmed that the surface roughness and variation were changed in the field *M. japonicus* crab according to the distribution of toxic heavy metals (Cd, Pb, Hg) in marine sediments. This change in the surface roughness of the exoskeleton represents a new end-point of the biological response of the crab according to external environmental stressors. This suggests that it may affect the functional aspects of exoskeleton protection, support, and transport. This approach can be utilized as a useful method for monitoring the aquatic environment as an integrated technology of mechanical engineering and biology.

Key words: exoskeleton surface roughness, biological end-point, toxicity assessment, pollutant exposure, integrated bio-indicator

서 론

외골격(exoskeleton)은 외부환경으로부터 생물을 보호하기 위한 표면의 딱딱한 골격으로 발생과정 속에 탈피를 통해 완성된다. 갑각류의 외골격은 트위스트 형태의 합판 또는 180° 회전을 완료한 층의 촘촘한 Bouligand 패턴으

로 배열된 고도로 광물화된 키틴-단백질 섬유로 구성된다. 표면에 수직인 방향으로 밀도가 높은 세관이 있고 외골격은 외피큐티클(epicuticle), 엑소큐티클(exocuticle) 및 엔도큐티클(endocuticle)로 구성되며 가장 바깥쪽 영역은 외피큐티클의 얇은 왁스층으로 주요 방수 장벽 역할을 한다(Chen *et al.*, 2008). 갑각류의 외골격은 수질의 pH 및 온도 변화, 화학 독성 물질 및 병원체의 존재와 같은 환경 요인에 반응하여 자연 상태에서 변화한다(Robohm *et al.*, 2005; Glenn and Pugh, 2006). 키틴은 갑각류 외골격의 주요 구성 요소 중 하나이며 기계적 강성, 세포 외 구조 보호, 환경

Manuscript received 30 November 2021, revised 12 December 2021, revision accepted 13 December 2021

* Corresponding author: Tel: +82-61-659-7148, Fax: +82-61-659-7149
E-mail: inkwak@hotmail.com, iskwak@chonnam.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

및 미생물 감염에 대한 보호, 건조 저항성을 제공하는 주요 물질이다(Mali *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2008).

게(crab)는 단단한 키틴 외골격을 가진 유기체로서 해수의 염분 기율기에 반응하여 삼투압 조절 기능을 가지고 있어 해양 생태계는 물론 기수와 같은 수환경 모니터링에 중요한 저서 동물이다(Prosser *et al.*, 1955; Park *et al.*, 2019). 조간대 진흙게인 칠게(*Macrophthalmus japonicus*)는 한국, 중국, 일본, 호주 연안 갯벌에 일반적으로 분포한다(Kitaura *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2014). *M. japonicus*는 아시아에서 수산식품 및 수자원으로의 중요성뿐 아니라 해양 퇴적환경 정화에 있어 주요한 역할을 하는 종이다. 진흙 속에 서식하는 칠게를 비롯한 저서생물은 갯벌지역의 퇴적물을 정화한다. 퇴적물을 파는 칠게의 서식 행동이 질산염 감소에 기여하여 유기물의 순환과 퇴적물의 역학에 큰 영향을 미친다는 보고가 있다(Herman *et al.*, 1999). 또한, 게는 생산자 또는 1차 소비자를 포식하는 소비자로 수중 환경에서 에너지 및 물질 순환에 중요한 기능을 하는 해양무척추동물이다(Otania *et al.*, 2010). 해양 및 조간대에서 중금속의 농축 퇴적으로 저층 퇴적물에 서식하는 진흙 게는 생태계를 오염시키는 다양한 인위적 요인에 직접적으로 노출되는 생태적 특성을 지녀 환경 모니터링을 위한 지표생물로 유용하여 연구가 다수 보고되었다(Park *et al.*, 2014, 2016, 2019).

표면 조도(Surface roughness) 측정은 공학적으로 대상 물체 표면의 평활도(요철의 정도)를 측정하는 기술로 기존에는 다이아몬드 촉침을 이용한 기종이 일반적이었지만 반도체 등의 표면을 측정할 때 손상될 우려가 있어 광학 타입의 측정기가 보급되어 이용되고 있다. 평면뿐만 아니라 곡면을 측정하여 형상을 3D 화상으로 재현할 수도 있다. 금속 표면의 마모 상황이나 절삭면의 상황 확인, 도장 시 마감 상태 확인 등에 이용되는 공학적 측정기술이다(Park *et al.*, 2019). 다양한 환경변화에 대한 지표 생물의 판정점 연구는 노출 독성에 대한 생물 반응을 분석하는 데 주요하지만(Kim *et al.*, 2019), 칠게에서 판정점은 생존율을 제외하고 제한적인 현실이다. 이에 본 연구에서는 공학적 기술과 생물학적 반응 분석의 융합적 기술의 접근으로 키틴 외골격을 가지는 갑각류의 표면 조도를 측정하여 외부 노출 독성에 대한 반응 평가를 하는 연구방법을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 칠게 채집 및 샘플 보관

본 연구에서 사용된 칠게(*M. japonicus*)는 순천만에서

채집하여 전라남도 해룡면 수산시장에서 구입하여 사용한 것이다(무게 7.0 ± 3.0 g, 너비 3.5 ± 0.5 cm, 높이 3.0 ± 0.5 cm). 구입 후 전남대학교 수산과학연구소로 살아있는 상태로 이동해, 칠게를 17 ± 0.5 도에 연속 통기(aeration)와 천연 해수(SW)가 들어 있는 수조($45.7 \times 35.6 \times 30.5$ cm)에서 24시간 동안 순치하였다. 실험실 조건에 적응하는 동안 먹이로는 소량의 Tetramin (Tetra-Werke, Melle, Germany)을 매일 공급하였다.

연안 조간대에 서식하는 칠게의 샘플링은 서남해안 4곳에서 퇴적물과 칠게를 채집하였다. 모도(남해안: 철강화학공업지구, $34^{\circ}52'19.90''N$, $127^{\circ}42'46.77''E$), 여자만(남해안: 전형적인 만의 구조(bay system), $34^{\circ}45'46.80''N$, $127^{\circ}34'23.36''E$), 목포(서해안: 선박-건축공업지역, $34^{\circ}47'33.60''N$, $126^{\circ}25'21.49''E$) 및 함평(서해안: 연안만 지역, $35^{\circ}05'12.69''N$, $126^{\circ}26'22.71''E$). 샘플링은 썰물 때 수행되었으며 샘플은 멸균병에 보관되어 실험실로 옮긴 뒤 실험에 이용하였다.

2. 노출 실험

노출 실험을 위해 실험실 조건에 적응된 칠게를 대조군(control)과 노출 물질의 세 가지 농도에 각각 5~7마리씩 넣어주고 노출기간(1, 4, 7일) 동안 관찰한다. 이르기롤(Irgarol (2-(tert-butylamino)-4-(cyclo-propylamino)-6-(methyl-thio)-s-triazine))은 시그마-알드리치(St.Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 낮은 용해도 때문에 이르기롤 10 mg을 실온에서 99% acetone 1 mL에 녹여 원액을 준비하였다. 원액을 해수로 희석하여 1, 10, 30 ppb의 시험 용액을 준비하였다. 노출 실험은 각 농도별 3 반복구를 실시한다. 매일 칠게의 생존을 체크하며 죽은 개체는 수조에서 제거한 후 노출 조건을 확인하였다.

3. 외골격 표면조도(Exoskeletal surface roughness)

측정

노출 물질의 각 농도와 대조군에서 노출 7일 후 각각 칠게 10마리를 이용하여 표면조도를 측정하였다. 표면조도(표면거칠기) 측정기기는 접촉식 SurfTest SJ-400(Mitutoyo Co., Ltd.)를 사용하였다(Fig. 1). 표면 거칠기 측정기는 하드 스타일러스 프로브를 사용하는 접촉식과 광학 스타일러스 프로브를 사용하는 비접촉식의 두 가지 유형으로 분류된다. 접촉식 테스터는 비교적 높은 정확도로 편리하고 빠른 측정을 제공한다. 본 연구에서는 *M. japonicus* 칠게의 갑각 표면 거칠기를 측정하기 위해 접촉식 시험기인 SurfTest SJ-400을 사용하였다. *M. japonicus* 외골격의 표면

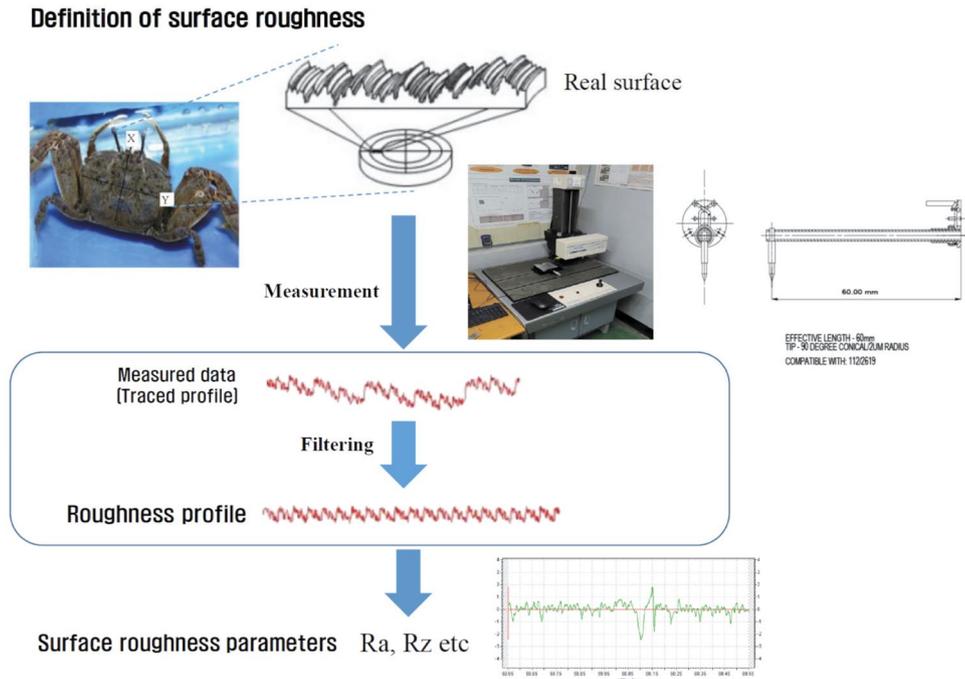


Fig. 1. The process for analyzing surface roughness on crab exoskeleton.

거칠기를 측정하기 위해 표준 스타일러스를 사용하였으며, 스타일러스의 측정 범위는 7400 mm이다. 측정을 위한 샘플링 길이 l 와 절단 길이 λ_s 는 각각 0.25 mm와 2.5 mm이다. 각 샘플은 X축과 Y축 모두 3번씩 총 6번 측정되었다. 각 철계에 대한 세 값의 평균은 각 테스트 농도에 대한 표면 거칠기의 비교에 사용되었다. 표면 거칠기는 셀의 불규칙한 표면 위로 스타일러스 프로브를 이동하여 생성된 거칠기 곡선에서 계산된다. 거칠기의 정도는 거칠기 곡선에서 산과 골 사이의 거리를 제공하므로 표면 거칠기를 평가하여 산출한다. 표면 거칠기는 다음 수학적식을 사용하여 계산하였다(ANSI, 1986).

$$R_a = 1/l \int_0^l |f(x)| dx.$$

$$R_{max} = R_p - R_v$$

Where, $R_p = \max f(x)$ and $R_v = \min f(x)$

R_a 는 거칠기 곡선의 절대값의 산술 평균이며, 여기서 $f(x)$ 는 샘플링 길이 (l) 범위에서 측정된 거칠기 곡선의 값을 나타낸다. R_p 는 평균선에서 최대 피크까지의 높이이고 R_v 는 평균선에서 최저 계곡까지의 깊이를 나타낸다. R_p 는 평균선의 위쪽에 있으므로 양의 값을 가지며 R_v 는 아래쪽에 있으므로 음의 값을 갖는다. R_{max} 는 각 샘플링 길이에서

가장 높은 피크와 가장 낮은 골 사이의 거리이다. 따라서 R_a 는 거친 표면의 정도를 평균값으로 제공하고 R_{max} 는 최대값을 제공하며, 일반적으로 R_a 값을 이용하여 표면 거칠기를 비교하고 R_{max} 값을 참고로 사용한다(ANSI, 1986).

4. 철계 중금속 분석

M. japonicus 철계의 조직 내 중금속은 전남대학교 공동 실험분석센터에서 측정하였다. 각 샘플링 지역의 철계 5마리 조직 샘플(0.1 g 건조 중량)을 3.5 mL HNO_3 , 3.5 mL HF 및 1.5 mL H_2O_2 를 함유하는 소화 완충액에 넣은 후 MARS 5 (CEM, Matthews, NC) 마이크로파 소화 시스템을 사용하여 Digestion을 수행하였다. 여과 후, 소화된 용액은 NexION 300 장치 (Perkin-Elmer, Waltham, MA)를 사용하여 유도 결합 플라즈마 질량 분석법(ICP-MS)을 통해 금속 분석을 수행하였다. 10가지 금속, 즉 알루미늄(Al), 비소(As), 카드뮴(Cd), 망간(Mn), 납(Pb), 크롬(Cr), 철(Fe), 구리(Cu), 아연(Zn), 수은(Hg)은 ICP-MS를 사용하여 분석되었다. 각 샘플 분석은 3반복으로 이루어졌다. 평균값을 계산하고 금속 농도를 $mg\ kg^{-1}$ 로 표시했다. 인증된 참조 물질(CRM 278, CRM 195)의 측정은 분석 값의 정확성 확인을 위해 이용하였다. 평균 회수 범위는 96~103%이고 인증된 샘플의 회수된 농도는 인증된 값의 5% 이내였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 Park *et al.* (2016, 2019)에 보고된 칠게에서 외골격 표면 거칠기 분석을 이용한 수환경 노출 독성 및 해양퇴적물 중금속 분포와의 연관성에 대한 결과를 살펴보았다. 이르가롤(Irgarol, 1051)은 일반적인 방오성 살생물제이며 낮은 농도에서 비교적 노출 생물에 매우 높은 독성을 나타낸다(Sapozhnikova *et al.*, 2013). 살생물제 이르가롤은 코팅 및 도료에서 침출된 후 하수시스템을 통해 폐수처리장으로 유입된다(Luft *et al.*, 2014). 방오성 화학물질의 침출은 수중 환경에 심각한 위협을 가하며 이르가롤이 해양 환경에서 퇴적물에 축적되면 저서 생물에 대해 잠재적인 위협이 증가된다(Sapozhnikova *et al.*, 2013; Luft *et al.*, 2014). Park *et al.* (2016)은 이러한 이르가롤 노출에 따른 칠게 외골격에서 거칠기 표면 조도의 변화를 분석하기도 하였다. Fig. 2는 이르가롤 1, 10, 30 ppb에 7일 동안 노출된 칠게의 외골격에서 거칠기 표면 조도를 측정된 결과이다. 이르가롤에 노출되지 않은 대조군의 R_a 값을 이용한 표면 거칠기를 기준으로 이르가롤에 노출된 칠게에서의 표면 거칠기를 비교하였다. 이르가롤에 노출되지 않은 *M. japonicus*는 세 가지 농도의 이르가롤에 노출된 *M. japonicus*보다 평균 R_a 값이 더 높았고 R_a 는 노출 농도 의존적으로 감소하는 것이 확인되었다. 또한, R_a 의 개체별 차이는 대조군에서 가장 높았고, R_a 의 개체 차이는 노출 농도 의존적으로 명확하게 감소하였다. 데이터에 따르면 노출되지 않은 동물의 최대 R_a 값은 0.071 mm에서 0.522 mm 까지 다양했으며 30 ppb에서 노출된 칠게의 평균(0.099 mm)에서 최대 R_a 값은 0.151 mm로 나타났다. 따라서 이르가롤에 노출된 *M. japonicus*에서 외부 골격 표면의 거칠기 변화는 노출농도 의존적으로 감소하였다. 이러한 결과와 같이 실내 노출실험을 통해 이르가롤 독성에 대한 칠게 외골격 표면 거칠기 변화를 확인하였다. 이르가롤 노출은 칠게 갑각의 키틴 구조의 변화뿐 아니라 외골격을 통한 이온 투과에도 영향을 줄 것이다.

카드뮴(Cd), 납(Pb), 수은(Hg)은 일반적인 중금속 독성 물질이며 고농도에서 독성학적으로는 신장에 영향을 준다고 알려져 있다. 그러나 이러한 화합물에 대한 저농도 노출에 대한 서식 생물의 건강성에 대한 영향평가는 연구가 충분하지 않다(Kim *et al.*, 2015). 수환경에서 증가하는 독성 중금속 분포에 관한 보고에 따르면, 국내 마산만 중앙부가 연안 유역에 비해 중금속(Cu, Zn, Cr, Pb) 농도가 약 2배 정도 높은 것으로 보고되었다(Cho *et al.*, 2015). 또한 중국의 댐 인근 농경지 표토의 주요 오염물질은 Cd, Cu, Hg, Zn으로 나타났다(Liu *et al.*, 2015). 콜로라도 강, 그린

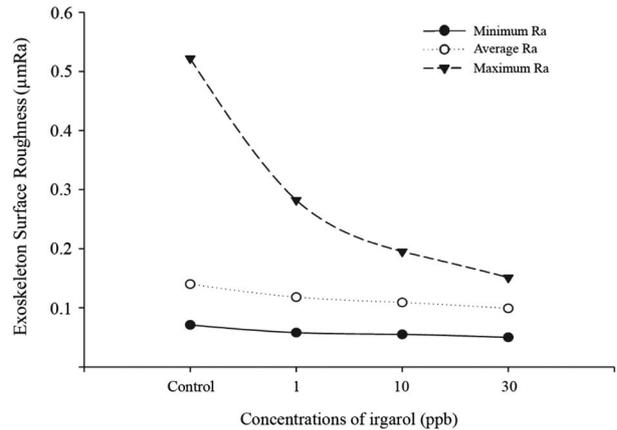


Fig. 2. Changes in the exoskeleton surface roughness of *M. japonicus* exposed to irgarol. Surface roughness of *M. japonicus* exposed to different irgarol concentrations (1, 10, and 30 ppb) after 7 days.

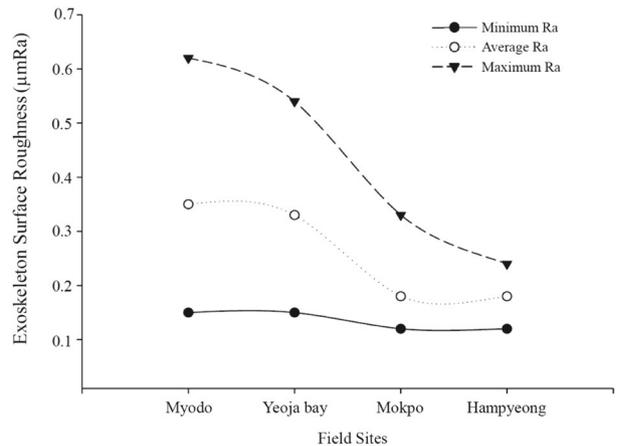


Fig. 3. Changes in the exoskeleton surface roughness of *M. japonicus* from south-western coasts of Korea.

드 कै년의 Hg 및 Se 금속 농도는 야생 동물, 물고기 및 인간에게 잠재적인 위협을 주는 것으로 보고되었다(Walters *et al.*, 2015). 굴, 새우, 게 및 어류와 같은 다양한 해양 생물종에서 중금속 축적이 보고되고 있다(Zhao *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2013; Mok *et al.*, 2015). 이러한 유해한 독성을 일으키는 중금속의 분포에 따른 칠게 외골격의 표면 조도 변화는 최근에 연구가 보고되었다(Park *et al.*, 2019) 이는 해양 연안 중금속 분포 차이가 서식하는 칠게의 외골격 표면 거칠기에 영향을 주는지에 대한 연구 결과이다. Fig. 3은 목포, 함양, 여수 여자만, 묘도 등 4개 연안지역에서 *M. japonicus* 외골격의 표면 거칠기 분석값이며, 표면 거칠기의 정도는 R_a 값으로 표시하였다. *M. japonicus*의 평균 R_a 는 남해안 지역 묘도 및 여자만: 0.25 및 0.23이 서해안 지

Table 1. Concentrations (mg kg⁻¹) of heavy metals in crabs from south-western coast of Korea.

Heavy metals	Sampling sites			
	Myodo	Yeoja bay	Mokpo	Hampyeong
Cd	0.08	0.14	0.09	0.44
Pb	2.06	3.89	1.69	2.44
Hg	0.01	0.01	0.01	0.03
Total*	3740	4104	3818	4887

*10 heavy metals (Cd, Pb, Hg, Al, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, As)

역 목포 및 함평: 0.08보다 높았다. 또한 *M. japonicus*의 R_a 값의 변이 (variation)는 묘도(0.05~0.52)에서 가장 높았고, 서해안 유역 중 *M. japonicus*의 R_a 값 변이가 함평(0.02)에서 가장 낮았다. *M. japonicus*의 최대 R_a 값은 묘도에 서식하는 칠게에서 0.52 μm이었고 *M. japonicus* 칠게의 최소 R_a 값은 목포와 함평에 서식하는 칠게에서 0.02 μm이었다. 또한 남해안(묘도, 여자만)의 칠게에 비해 서해안(목포, 함평)의 칠게에서 *M. japonicus* 외골격의 표면 거칠기 변화가 감소하였다. *M. japonicus* 외골격의 표면 거칠기 변화는 다른 지역의 칠게에 비해 묘도 지역이 가장 높았고 함평 지역이 가장 낮았다. 이러한 결과는 연안 환경의 중금속 함량 분포와 서식 칠게의 외골격 표면조도 변화와의 연관성이 있음을 시사한다(Table 1).

칠게의 외골격은 유기-무기물의 적층 구조이며 자가 치유(self-healing)의 기능을 가진다(Melnick *et al.*, 1996). 외골격은 몸의 지지, 근육 부착, 수분 불투과성, 환경변화에 대한 보호 및 건조 저항성을 포함하여 갑각류에 대해 다양한 기능을 수행한다(Vincent, 2002; Sanchez *et al.*, 2005). 이르기롤에 노출된 *M. japonicus*는 노출되지 않은 칠게에 비해 표면 거칠기의 변화가 감소하였다. 개체 간의 최대 거칠기(R_a) 변화는 이르기롤 농도가 증가함에 따라 감소하는 패턴을 확인하였다. 그러나 노출되지 않은 개체에서 표면 거칠기의 최대 변이(variation)가 더 크게 나타나, 노출된 동물보다 노출되지 않은 동물에서 가장 높은 표면 거칠기가 관찰되었다. 특히, 노출된 동물의 평균(0.099 mm)에서 고농도(30 ppb)까지의 최대 R_a 값의 변화는 노출되지 않은 동물에 비해 낮았다. 따라서 이르기롤 노출은 *M. japonicus* 외골격에서 표면 거칠기의 감소된 변화를 유도하였다. 칠게 껍질의 표면 거칠기는 외골격 표면에 수직인 방향으로 세관의 밀도가 높다는 것을 나타낸다. 이 세관은 수송과 영양을 공급하고 구조를 함께 연결하는 기능을 한다(Chen *et al.*, 2008). 따라서 이러한 결과는 이르기롤에 의한 표면 거칠기 감소가 외골격 표면의

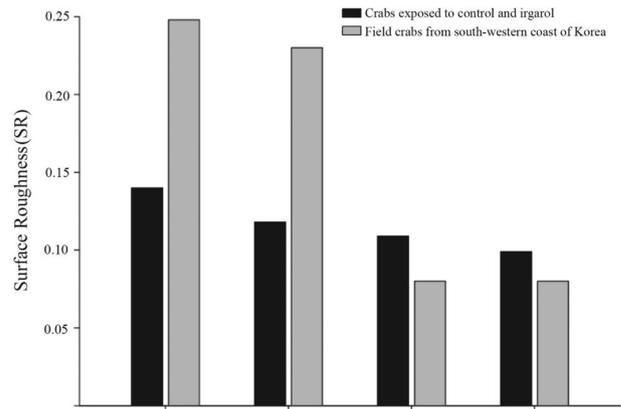


Fig. 4. Comparison of the surface roughness of *M. japonicus* exposed to irgarol and from south-western coasts of Korea.

세관 구조 및 탄산 칼슘의 광물화에 미치는 영향과 관련이 있음을 시사한다. 궁극적으로 키틴이나 키틴나제와 같이 외골격형성 과정에 관여하는 많은 유전자의 발현에 변화가 동반될 것이다(Park *et al.*, 2016). 외골격에서 키틴 및 키틴 관련 단백질의 수준은 외골격 완전성과 탈피 과정에 대한 오염의 가능한 독성 영향을 평가하는 데 중요한 요소가 된다(Gagné *et al.*, 2005). 따라서, 본 결과는 방오제 이르기롤 노출이 *M. japonicus*에서 외골격 및 탈피 과정의 변형을 유발할 수 있음을 제시한다. 또한 4개 해양 구간대 지역의 칠게 중 *M. japonicus* 외골격의 표면 거칠기 변화는 함평에서 가장 낮았고 묘도에서 가장 높았다. 이르기롤 노출에 의해 감소하는 R_a 변이와 유사하게 함평 계의 낮은 표면 거칠기 변이는 독성 중금속(Cd 및 Hg)을 포함한 총 중금속의 상대적으로 높은 수준과 관련이 있는 것으로 나타났다(Fig. 3 and Table 1). 이러한 결과는 칠게 몸체의 총 중금속 함량이 *M. japonicus* 키틴 외골격의 형성 및 유지에 영향을 미치고 결과적으로 갑각류 표면 거칠기의 차이를 나타낼 수 있음을 보여준다. 감소된 표면 거칠기 변화를 유도하는 *M. japonicus*의 중금속은 보호를 위한 탈피 과정을 방해할 수 있다(Luo *et al.*, 2015). 이는 갑각류 외골격의 오래된 표피에서 새로운 표피로의 재활용 메커니즘에 환경 중금속이 영향을 준 것이 반영된 결과이다. 칠게와 같은 갑각류의 외골격 표면 조도는 환경 유해물질의 노출이나 중금속 분포에 따라 영향을 받는 것이 확인되었다(Fig. 4). 이러한 외골격 표면의 변화는 나아가 이를 구성하고 있는 키틴의 성분과 구조에 변화를 주며 키틴형성 관련 유전자의 분자적 메커니즘 변화에도 관여하였다(Mali *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2016). 칠게의 외골격 표면 거칠기의 변화는 갑각류에서 환경변화

모니터링을 위한 유용한 생물 판정점(end-point)으로 이용될 수 있을 것이다.

적 요

갑각류 외골격은 키틴질로 이루어져 있고 외부자극에 보호와 지지를 위해 주요한 기능을 한다. 수환경은 물리적 변화뿐만 아니라 다양한 해양 오염에 끊임없이 영향을 받고 그 환경에 서식하는 생물은 생존을 위해 생물학적으로 반응한다. 본 연구에서는 이르가를 독성노출이나 퇴적 환경 중금속 분포에 따라 서식하는 칠게의 외골격 표면조도 분석을 통한 생태독성 종말점이 될 수 있음을 제시하였다. 칠게의 외골격 표면 조도는 이르가를 노출에 대해 거칠기(R_a)도 감소하고 조도 변이(variation)도 줄어들었다. 또한 해양 연안 퇴적물 내 중금속(Cd, Pb, Hg) 분포에 따라 서식하는 칠게에서 표면 거칠기 및 변이가 변화하는 것을 확인하였다. 이러한 외골격 표면 거칠기의 변화는 외부 환경 스트레스 요인에 따른 칠게의 생물학적인 반응 종말점(end-point)을 나타내며 나아가 외골격의 보호, 지지, 수송 등의 기능적 면에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. 이러한 접근방법은 공학과 생물의 융합적 기술로 수환경 모니터링을 위한 유용한 방법으로 활용될 수 있을 것이다.

저자정보 박기연(전남대학교 연구교수), 곽인실(전남대학교 교수)

저자기여도 개념설정: 곽인실, 방법론: 곽인실 & 박기연, 분석: 박기연 & 곽인실, 자료제공: 박기연 & 곽인실, 자료관리: 박기연 & 곽인실, 원고 초안작성: 박기연, 원고 교정: 박기연 & 곽인실, 원고 편집 및 검토: 곽인실 & 박기연, 과제 관리: 곽인실, 연구비 수주: 곽인실. 모든 저자는 논문의 결과에 동의하였고, 출판될 최종본을 검토하고 동의하였습다.

이해관계 이 논문에는 이해관계 충돌의 여지가 없음.

연구비 이 논문은 한국연구재단 중점연구사업[NRF-2018-R1A6A1A-03024314]과 전남대학교[grant number 2016-2692] 지원을 받아 수행된 연구임.

REFERENCES

ANSI (American National Standards Institute). 1986. Surface texture (surface roughness, waviness and lay). *The American Society of Mechanical Engineers* 4-10.

- Chen, P.Y., A.Y.M. Lin, J. McKittrick and M.A. Meyers. 2008. Structure and mechanical properties of crab exoskeletons. *Acta Biomaterialia* **4**: 587-596.
- Cho, J., S. Hyun, J.H. Han, S. Kim and D.H. Shin. 2015. Historical trend in heavy metal pollution in core sediments from the Masan Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin* **95**: 427-432.
- Gagné, F., C. Blaise and J. Pellerin. 2005. Altered exoskeleton composition and vitellogenesis in the crustacean *Gammarus* sp. Collected at polluted sites in the Saguenay Fjord, Quebec, Canada. *Environmental Research* **98**: 89-99.
- Glenn, R. and T. Pugh. 2006. Epizootic shell disease in American lobster (*Homarus americanus*) in Massachusetts coastal waters: interactions of temperature, maturity and intermolt duration. *Journal of Crustacean Biology* **26**: 639-645.
- Herman, P.M.J., J.J. Middelburg, J. Van de Koppel and C.R. Heip. 1999. Nutrients in estuaries, p. 195-240. In: Advances in ecological research: Estuaries (Nedwell, D.B. and D.G. Raffaelli, eds.). Academic Press, San Diego, CA.
- Kim, S.U., T.R. Kim, E.S. Lee, M.S. Kim, C.K. Kim, L.R. Kim and G.Y. Shin. 2015. Formaldehyde and heavy metal migration from rubber and metallic packaging/utensils in Korea. *Food Additives & Contaminants: Part B Surveillance* **8**: 7-11.
- Kim, W.S., C. Hong, K. Park and I.S. Kwak. 2019. Ecotoxicological response of Cd and Zn exposure to a field dominant species, *Chironomus plumosus*. *Korean Journal of Ecology and Environment* **52**: 266-273.
- Kitaura, J., M. Nishida and K. Wada. 2002. Genetic and behavioral diversity in the *Macrophthalmus japonicus* species complex (Crustacea: Brachyura: Ocypodidae). *Marine Biology* **140**: 1-8.
- Liu, Z., S. Pan, Z. Sun, R. Ma, L. Chen, Y. Wang and S. Wang. 2015. Heavy metal spatial variability and historical changes in the Yangtze River estuary and North Jiangsu tidal flat. *Marine Pollution Bulletin* **98**: 115-129.
- Luft, A., M. Wagner and T.A. Ternes. 2014. Transformation of biocides irgarol and terbutryn in the biological waste water treatment. *Environmental Science & Technology* **48**: 244-254.
- Luo, J., S. Pei, W. Jing, E. Zou and L. Wang. 2015. Cadmium inhibits molting of the freshwater crab *Sinopotamon henanense* by reducing the hemolymph ecdysteroid content and the activities of chitinase and N-acetyl- β -glucosaminidase in the epidermis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **169**: 1-6.
- Luo, W., Y. Lu, T. Wang, P. Kong, W. Jiao, W. Hu, J. Jia, J.E. Naile, J.S. Khim and J.P. Giesy. 2013. Environmental concentrations and bioaccumulations of cadmium and zinc in coastal watersheds along the Chinese Northern Bohai and Yellow Seas. *Environmental Toxicology and Chemistry* **32**: 831-840.
- Mali, B., F. Mohrlen, M. Frohme and U. Frank. 2004. A putative

- double role of a chitinase in a cnidarian: pattern formation and immunity. *Developmental & Comparative Immunology* **28**: 973-981.
- Melnick, C.A., Z. Chen and J.J. Mecholsky Jr. 1996. Hardness and toughness of exoskeleton material in the stone crab, *Menippe mercenaria*. *Journal of Materials Research* **11**: 2903-2907.
- Mok, J.S., H.D. Yoo, P.H. Kim, H.D. Yoon, Y.C. Park, T.S. Lee, J.Y. Kwon, K.T. Son, H.J. Lee, K.S. Ha, K.B. Shim and J.H. Kim. 2015. Bioaccumulation of heavy metals in oysters from the southern coast of Korea: assessment of potential risk to human health. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **94**: 749-755.
- Otania, S., Y. Kozukib, R. Yamanakab, H. Sasaokac, T. Ishiyamac, O. Yoshihito, H. Sakaic and Y. Fujiki. 2010. The role of crabs (*Macrophthalmus Japonicus*) burrows on organic carbon cycle in estuarine tidal flat, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **86**: 434-440.
- Park, K., T.S. Kwak and I.S. Kwak. 2014. Vitellogenin gene characterization and expression of Asian paddle crabs (*Charybdis japonica*) following endocrine disrupting chemicals. *Ocean Science Journal* **49**: 127-135.
- Park, K., C. Nikapitiya, W.S. Kim, T.S. Kwak and I.S. Kwak. 2016. Changes of exoskeleton surface roughness and expression of crucial participation genes for chitin formation and digestion in the mud crab (*Macrophthalmus japonicus*) following the antifouling biocide irgarol. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **132**: 186-195.
- Park, K., T.S. Kwak, W.S. Kim and I.S. Kwak. 2019. Changes in exoskeleton surface roughness and expression of chitinase genes in mud crab *Macrophthalmus japonicus* following heavy metal differences of estuary. *Marine Pollution Bulletin* **138**: 11-18.
- Prosser, C.L., S.W. Green and T.S. Chow. 1955. Ionic and osmotic concentrations in blood and urine of *Pachygrapsus crassipes* acclimated to different salinities. *Biology Bulletin* **109**: 99-107.
- Robohm, R., A. Draxler, D. Wieczorek, D. Kapareiko and S. Pitchford. 2005. Effects of environmental stressors on disease susceptibility in American lobster: a controlled laboratory study. *Journal of Shellfish Research* **24**: 773-780.
- Sanchez, C., H. Arribart and M.M. Giraud-Guille. 2005. Biomimetic and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems. *Nature Materials* **4**: 277-288.
- Sapozhnikova, Y., E. Wirth, K. Schiff and M. Fulton. 2013. Antifouling biocides in water and sediments from California marinas. *Marine Pollution Bulletin* **69**: 189-194.
- Vincent, J.F.V. 2002. Arthropod cuticle: a natural composite shell system. *Composites* **A33**: 1311-1315.
- Walters, D.M., E. Rosi-Marshall, T.A. Kennedy, W.F. Cross and C.V. Baxter. 2015. Mercury and selenium accumulation in the Colorado River food web, Grand Canyon, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* **34**: 2385-2394.
- Zhao, S., C. Feng, W. Quan, X. Chen, J. Niu and Z. Shen. 2012. Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* **64**: 1163-1171.