

납 노출에 따른 붕어 (*Carassius auratus*) 조직의 미세구조 및 생리적 변화

김정숙 · 신명자 · 이종은 · 서울원*

(안동대학교 자연과학대학 생명과학과)

Morphological and Physiological Effects of Lead (Pb) Exposure on Tissues of *Carassius auratus*. Kim, Jeong Sook, Myung Ja Shin, Jong Eun Lee and Eul won Seo* (Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea)

Present study aimed to investigate morphological and physiological change in the tissues of *Carassius auratus* after exposure against Pb (lead) with various rearing condition. We measured the level of accumulated heavy metal and analyzed ultrastructure with transmission electron microscopy. The heavy metal, Pb, was accumulated in the gill, bone and integument increased drastically for exposure periods, the 40 days. The accumulation of Pb in the gill showed relatively higher than that in other tissues. And accumulated Pb amounts also were increased with exposure time dependent manner in the gill, bone and integument tissues. Also, specific activities of antioxidant enzymes in all tissue after exposure to Pb were increased in the course of exposure. And the activities of SOD from tissues exposed to Pb were increased 2 folds than those from the unexposed but GPX activities were maintained constant. The increased numbers of mucous cells in gill tissues exposed to Pb were determined and morphological changes, such as clubbing and fusion, were shown secondary lamella. Also, exposure of Pb for 40 days on gills tissues cause membrane damage in mitochondria and nucleus. In kidney tissues, the atrophied glomerulus was observed, and the empty space in Bowman's capsule was expanded. Based on the all results, it is suggested that the exposure to the high level of Pb for long period affect on the morphology of tissues, and change the enzymatic balance in *C. auratus*.

Key words : *Carassius auratus*, lead, antioxidant enzyme, tissues

서 론

최근 수질오염에 의한 환경문제가 심각한 가운데 가장 큰 비중을 차지하는 중금속은 생활하수를 비롯하여 각종 도시하수, 산업폐수를 통해 하천, 호수 및 해양으로 유입되고 있으며 그 외에 미량의 유해독성물질의 대량방출은 이미 수중 생태계에 중대한 위협요소가 되고 있다. 중금속은 Fe(철), Zn(아연), Cu(구리) 등과 같은 생체 내 필수

원소도 있지만 Pb(납), Hg(수은) 및 Cd(카드뮴)과 같은 유해금속도 있으며 이들 대부분은 생체내에서 다양한 유해작용을 유발시키게 된다(Lee *et al.*, 2001). 중금속은 환경에 유출되어 물에 분해되거나 안정한 화합물로 되지 않고 혼합 상태로 남아 수질과 토양을 오염시키며 먹이사슬을 통한 단계적인 농축으로 생물의 활동에 장애를 주고 생명에 악영향을 줄 수 있으며(Sorensen, 1991), 소위 생물증폭에 따른 독성과 피해 사례가 연구, 보고되면서 중금속 오염에 대한 감시(monitoring)의 필요성이 부각되

* Corresponding author: Tel: 054) 820-5462, Fax: 054) 820-7705, E-mail: ewseo@andong.ac.kr

었다(Ringwood, 1992; Watzin and Roscigno, 1997; McGeer *et al.*, 2000).

안동호와 임하호는 경상도 지역에 식수, 농업용수 및 공업용수로서 주로 이용되고 있으며 전력을 공급하고 있으나 서로 특징적인 차이점을 가지고 있다. 안동호의 경우 유역 내에는 납, 아연, 금, 은, 동 광산이 존재하고 있으며, 이로 인해 폐광산의 침출수 등이 하천으로 유입됨으로써 안동호에 많은 영향을 미치고 있다(Heo *et al.*, 2000). 임하호에도 폐광된 금, 은, 동, 아연 광산이 존재하고 있으나 안동호 유역에 비해서는 매우 미비한 숫자에 지나지 않는 반면 지질학적 구조로 인하여 잘 침강하지 않는 탁수의 발생이 빈번하게 일어나고 있는 특징을 지니고 있다(Hwang and Jeong, 2006). 또한 Seo *et al.* (2008)은 안동·임하호 저니토의 토양 성분을 조사한 결과 안동호의 저니토에서 임하호보다 Zn(아연)과 Pb(납)의 함량이 1.5 배 정도 높은 것으로 나타나 댐 상류 수계 지역으로부터 Zn과 Pb가 유입되어 저니토에 흡착 및 농축된 것이라 하였다. 이와 더불어 안동호와 임하호에 서식하는 붕어의 중금속 함량을 조사한 연구에서 안동호에 서식하는 붕어가 임하호에 서식하는 붕어보다 Pb의 함량이 높으며 조직에 따라서 함량의 차이도 큰 것으로 나타났다(Kim *et al.*, 2009). 하천은 어류의 성장과 번식에 필수적으로 요구되는 여러 가지 조건을 가지고 있기 때문에 수질이 오염될 경우 어류의 생활에 미치는 영향은 아주 크다. 어류의 경우에는 일부분이 피부로 침입되고 대부분은 아가미를 경유하므로 호흡의 중요 기관이 타격을 받게 되며 어류의 형태적 특성상 아가미와 신장 등 어류의 조직은 수질의 변화에 민감하게 변화한다(Kimura *et al.*, 1990; Black and Bauman, 1991). 특히 수중에 함유된 Pb는 동물의 소화기, 호흡기, 피부를 통해 주로 흡수하게 되며, 흡수된 Pb는 혈액을 통해 배설되거나 나머지는 간, 신장, 근육, 뼈 등에 저류되어 축적을 일으키게 된다. 또한 Pb에 중독된 동물의 신장과 간의 미토콘드리아는 크기가 커지고 호흡과 인산화에 손상을 받는다. 더불어 Pb가 체내에 축적될 경우 축적정도에 따라 차이는 있으나 다량이나 미량의 Pb이라도 만성으로 축적되면 심할 경우는 신체조직에 치명적인 손상을 일으키거나 죽음을 초래할 수도 있다(Cornard and Barton, 1978; Wapnir *et al.*, 1978).

최근 수생 생태계로 유입된 중금속의 독성적 영향을 평가하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있지만, 수질에 대한 이화학적 분석만으로는 여러 가지 한계가 있다. 그 이유는 다양한 물질이 용존되어 있는 수질의 정확한 분석이 쉬운 일이 아니며 이들 물질의 혼합에 따른 상호작용 측면을 고려해야 하기 때문이다. 또한 어류의 생체 내 중

금속 축적이나 독성실험에는 수중 생태계의 제반 특성과 어류의 종류에 따라 차이가 있을 수 있다. 따라서 어류에 대한 중금속 축적 연구는 자연 생태계에서의 어류를 채집하여 중금속 농도를 측정할 실험이 대부분이어서 이들이 서식하는 생활환경과 물의 오염상태에 따라 측정치에 차이가 있을 수 있어 사실상 특정 중금속에 어류들이 노출되었을 때 어느 정도 축적되는지, 시간경과에 따른 축적 변화는 어떠한 경향인지를 알아내기가 어렵다(Park *et al.*, 2000). 더불어 잉어목(Order Cypriniformes) 잉어과(Family Cyprinidae)에 속하는 붕어(*Carassius auratus*)는 한국, 중국 및 일본 등 아시아권에 널리 분포하고 개체수도 풍부한 대표적인 담수어종이며, 실험실에서 순화가 잘 될 뿐만 아니라 채집에도 용이함으로 생물검정시험에 적합한 재료로 활용되고 있다(Cho *et al.*, 2004).

따라서 본 연구에서는 Pb 농도와 노출 기간이 붕어(*Carassius auratus*) 조직의 미세구조와 생리적 변화에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 노출 실험

본 실험에 사용한 붕어(*Carassius auratus*)는 경북 의성군 비안면에 위치한 약수 양어장에서 사육한 것으로 7일간 순치과정을 거친 후 체장 6.5 ± 0.5 cm, 무게 3.5 ± 1.1 g인 건강한 개체만을 선별하여 실험에 사용하였다. 실험은 $30 \times 60 \times 45$ cm 크기의 수조에 각 10마리씩 분배하였고, 각 중금속 농도는 $PbCl_2$ 로 0, 0.1, 0.5, 1 mg L^{-1} 의 표준액으로 제조한 후 실험에 사용하였다. 수조의 수온은 $18 \sim 20^\circ\text{C}$ 를 유지하여 96시간 동안 실시하였으며, 반수치사농도는(50% lethal concentration) 96시간에서 APHA (1985)의 probit 값으로 구하였다. Pb에 대한 96 hr-LC₅₀의 농도 값이 0.429 mg L^{-1} 로 나타나 급성실험을 통해 구한 96 hr-LC₅₀ 농도보다 낮게 설정하여 0.2 mg L^{-1} 으로 Pb의 노출 농도를 결정하였다(Fig. 1). 또한 노출기간은 5일, 10일, 20일 및 40일 간격으로 설정하였고 각 실험구당 70마리씩 사용하였다. 대조군은 0.2 mg L^{-1} 의 Pb에 노출 실험 전 0일을 대조군으로 하여 노출기간에 따른 실험군과 비교하였다.

2. 조직 내 Pb의 함량 측정

어류의 아가미, 뼈, 근육 조직의 표면에 부착된 미세입자 및 이물질은 초음파세척기(5210, Branson, USA)를

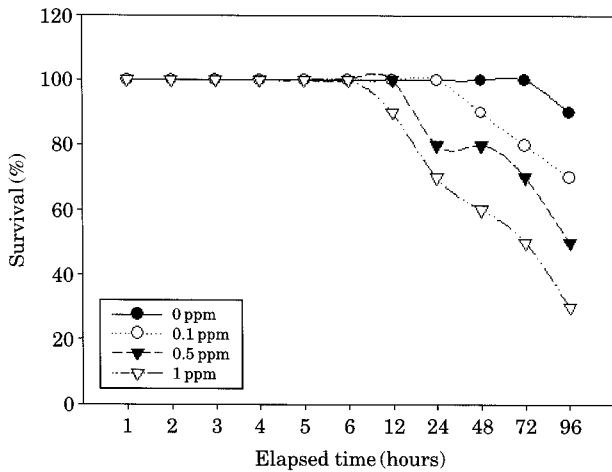


Fig. 1. Effect of Pb concentration on survival of *Carassius auratus*.

이용하여 최대한 제거하였다. 미세입자와 이물질들을 제거한 조직은 액체 질소로 처리하여 재차 냉동건조기에서 완전히 건조 후, 건조중량을 측정하였다. 각 조직 내 Pb의 함량을 측정하기 위해 전처리기는 초단파 용해장치(Ethos Plus, Mileston, USA)를 이용하였다. 전처리된 조직 내 Pb의 함량은 유도결합 플라즈마 질량분석기(Elan DRC-e, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 항산화효소 활성 측정

1) 시료 추출

붕어의 아가미, 신장, 간, 근육 조직은 적출하여 100 mM phosphate buffer (pH 7.2)에 혈액 및 기타 이물질 등을 세척한 후 조직의 무게를 측정하였다. 무게를 측정한 시료는 homogenation buffer (5 mM Tris, 38 mM glycine, pH 8.4)에서 완전히 균질화시킨 후, 13,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 지질층을 제외한 상등액을 모아 -70°C에 보관하였다.

2) Superoxide dismutase (SOD)

SOD 활성은 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 0.1 M cytochrome C, 50 mM xanthine, 0.1 mM EDTA 및 효소액이 포함된 용액을 25°C에서 예치한 다음 xanthine oxidase를 첨가하여 반응을 개시하였다(McCord and Fridovich, 1969). 효소의 활성은 550 nm에서 10초 단위로 150초간 흡광도를 측정하였고, xanthine oxidase 첨가량은 효소액을 함유하지 않은 반응액의 흡광도 흡수가 분당 0.025가 되도록 조절하였다. 효소의 활성은 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 양을 1 unit로 하여 unit mg protein⁻¹으로 나타냈다.

3) Catalase (CAT)

CAT 활성은 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)와 시료액을 넣은 후 기질로 10 mM H₂O₂ 용액을 가하여 잘 혼합한 후 240 nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다(Aebi, 1984). 대조실험으로는 기질인 H₂O₂ 용액 대신에 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)을 가하고 위와 동일한 방법으로 흡광도의 변화를 측정하였다. CAT의 활성은 1분 동안에 1 μmol의 H₂O₂를 분해하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

4) Glutathione peroxidase (GPX)

GPX 활성은 1 mM EDTA가 함유된 100 mM phosphate buffer (pH 7.6)에 0.25 mM GSH, 0.12 mM NADPH, 20 mM glutathione reductase 0.72 U가 포함된 반응액을 제조하였다(Flohe et al., 1984). 이 반응액에 효소 시료액을 혼합한 후 37°C에서 5분간 방치한 다음 4 mM cumene hydroperoxide를 첨가하여 340 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하였다. GPX의 활성은 1분 동안에 1 μmol의 NADPH를 NADP로 산화하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

4. 조직학적 변화 관찰

1) 광학현미경 관찰

아가미와 신장 조직은 FAA로 24시간 고정하였으며, 수세와 탈수 과정을 거친 후 일반적인 조직 제작 방법에 따라 조직을 paraffin 포매하였다. 이 후 paraffin block은 두께 4~6 μm로 제작하여 hematoxylin과 eosin에 이중염색하였다. 완성된 조직프레파라트는 광학현미경하에서 관찰하였으며, Olympus DP-71을 사용하여 사진 촬영하였다.

2) 투과전자현미경 관찰

아가미 조직은 glutaraldehyde에서 전고정 후, osmium tetroxide로 1시간 30분간 후고정 하였으며, ethyl alcohol을 사용하여 계대 탈수과정을 하였다. 탈수과정을 거친 조직은 propylene oxide로 치환하였으며, epon resin에 포매하여 60°C 배양기에서 48시간 중합하여 block을 제작하였다. 제작된 block은 초미세절편기(Ultracut UCT, Leica)를 이용하여 80 nm로 박절한 후 uranyl acetate와 lead nitrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(H-7000, Hitachi)을 이용하여 미세구조를 관찰한다.

5. 통계처리

각 실험에서 얻어진 자료는 통계 프로그램 패키지 (SPSS Inc., ver 12.0 K)를 이용하여 분석한 후, ANOVA

test를 사용하여 평균값들 간의 유의성을 검정하였으며 ($P < 0.05$), 모든 데이터는 평균±표준편차(mean±SD)로 표시하였다.

결 과

1. 조직 내 납 (Pb)의 함량

40일간 Pb에 노출시킨 붕어의 아가미, 뼈, 근육 조직 내 Pb의 함량은 노출기간이 길어질수록 증가하였다. 또한 대조군에 비해 아가미와 뼈 조직 내 Pb의 함량은 노출기간에 따라 높은 축적량을 보였으나, 근육 조직 내 Pb의 함량은 커다란 차이를 보이지 않았다. 아가미 조직 내 Pb의 함량은 노출기간이 길어질수록 증가하여 노출 40일에 $35.03 \pm 2.51 \mu\text{g g}^{-1}$ 으로 대조군에 비해 35배의 높은 함량 증가를 보였다(Fig. 2). 뼈 조직 내 Pb의 함량은 노

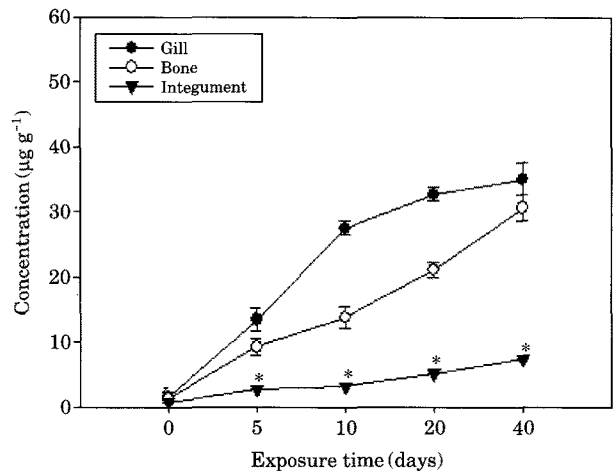


Fig. 2. Contents of micro heavy metal of *C. auratus* tissues (gill, bone, integument) during 40 days exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} in water. The values are mean±SD (n=3). $P < 0.05$ (Significantly different from control and Pb 0.2 mg L^{-1} treated group).

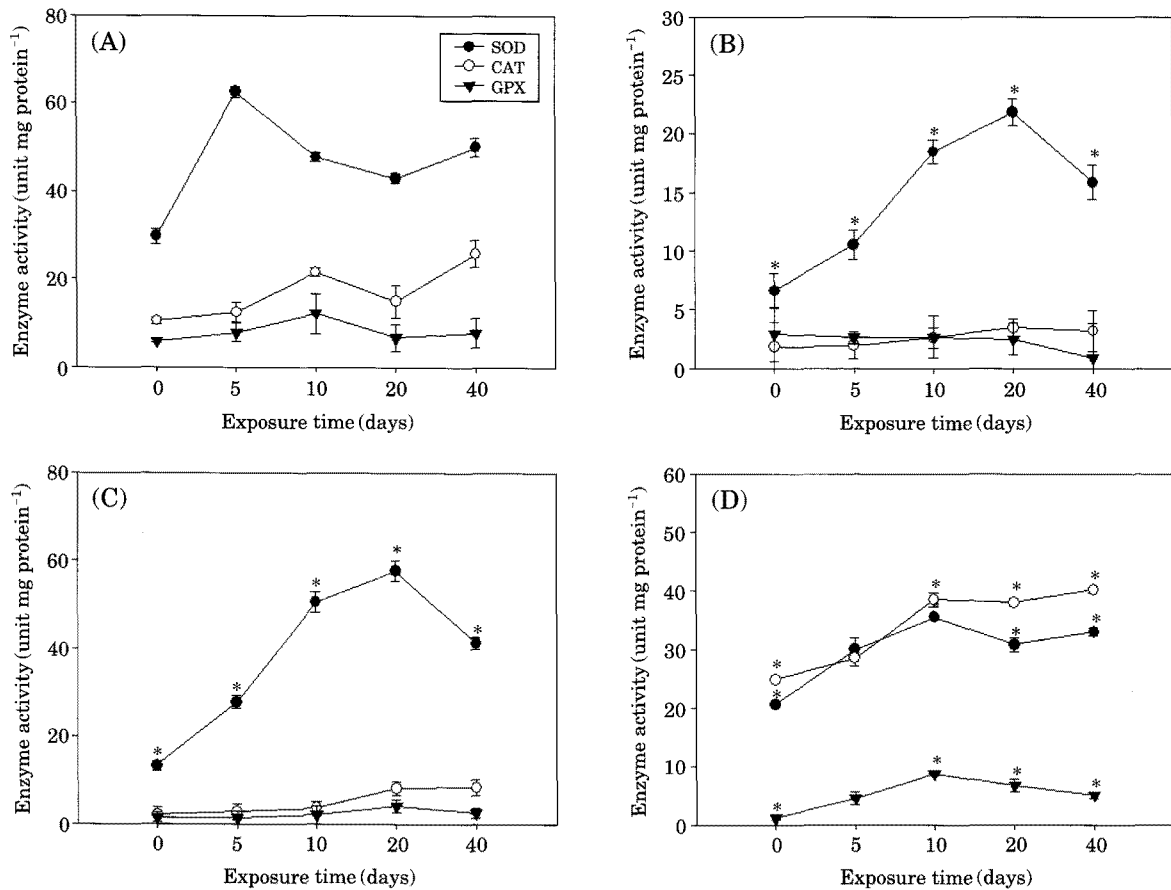


Fig. 3. Various antioxidant enzyme activities of *C. auratus* tissues during 40 days exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} in water. A: gill, B: kidney, C: liver, D: integument. The values are mean±SD (n=3). $P < 0.05$ (Significantly different from control and Pb 0.2 mg L^{-1} treated group).

출기간이 길어질수록 증가하였으며, 노출 40일에 $30.61 \pm 2.04 \mu\text{g g}^{-1}$ 으로 높은 축적량을 보이며 대조군에 비해 30배의 함량 증가를 보였다. 근육 조직 내 Pb의 함량은 노출기간이 길어질수록 증가하였으며, 노출 40일에 대조군보다 10배 함량이 증가하여 $7.34 \pm 0.01 \mu\text{g g}^{-1}$ 로 가장 높은 축적량을 보였다(Fig. 2).

2. 조직 내 항산화효소의 활성 변화

항산화효소 활성은 Pb에 40일간 노출시킨 붕어의 각 조직을 측정하였다. 아가미 조직 내 SOD 활성은 노출 5일에 급격히 증가하여 $62.63 \pm 1.26 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 으로 가장 높은 후 노출기간이 길어질수록 감소하였다(Fig. 3). CAT와 GPX의 활성은 노출 10일까지 증가한 후 노출기간이 길어질수록 감소하였다. 또한 CAT 활성은 $25.78 \pm 3.13 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 이며, GPX 활성은 $12.15 \pm 4.55 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 으로 10일에 가장 높았다(Fig. 3A). 신

장 조직 내 SOD와 CAT의 활성은 노출기간이 길어질수록 증가하였으며, 노출 20일에 가장 높은 활성을 보인 후 40일에 감소하였다. 가장 높은 SOD 활성은 노출 20일로 $21.81 \pm 1.16 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 을 보였으며, 가장 높은 CAT 활성은 $3.43 \pm 0.78 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 을 보였다. 대조군에 비해 GPX 활성은 노출기간이 길어질수록 감소하여 노출 40일에 가장 낮은 활성을 보였다(Fig. 3B). 간 조직 내 SOD 활성은 노출기간이 길어질수록 증가하여 노출 20일에 $57.69 \pm 2.37 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 로 가장 높은 후 감소하였다. CAT 활성은 노출 5일에 증가하나 노출 10일에 감소한 후 다시 노출 20일에 증가하였다. GPX 활성은 노출 20일에 높았으며, 노출 40일에 감소하였다(Fig. 3C). 근육 조직 내 SOD와 CAT의 활성은 노출 10일에 가장 높은 활성을 보인 후 노출후기로 감에 따라 감소하였다. 또한 SOD 활성은 노출 10일에 $35.51 \pm 0.40 \text{ unit mg protein}^{-1}$ 으로 가장 높은 활성을 보였으나, 노출 20일에 감소

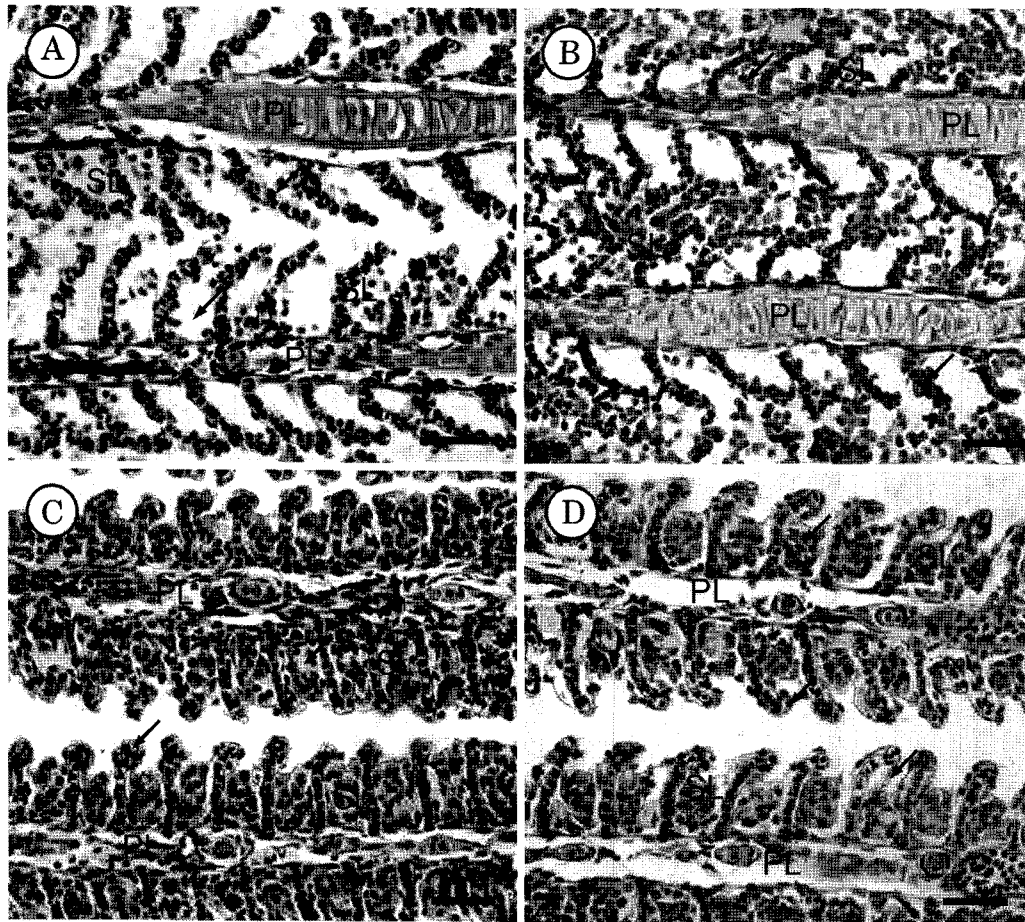


Fig. 4. Micrographs of *C. auratus* gill during 40 days exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} in water. A: Exposed to water for 0 day, B: Exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} for 5 days, C: Exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} for 20 days, D: Exposed to Pb 0.2 mg L^{-1} for 40 days. Scale bar: A, B, C, D=50 μm . PL: primary lamella, SL: secondary lamella.

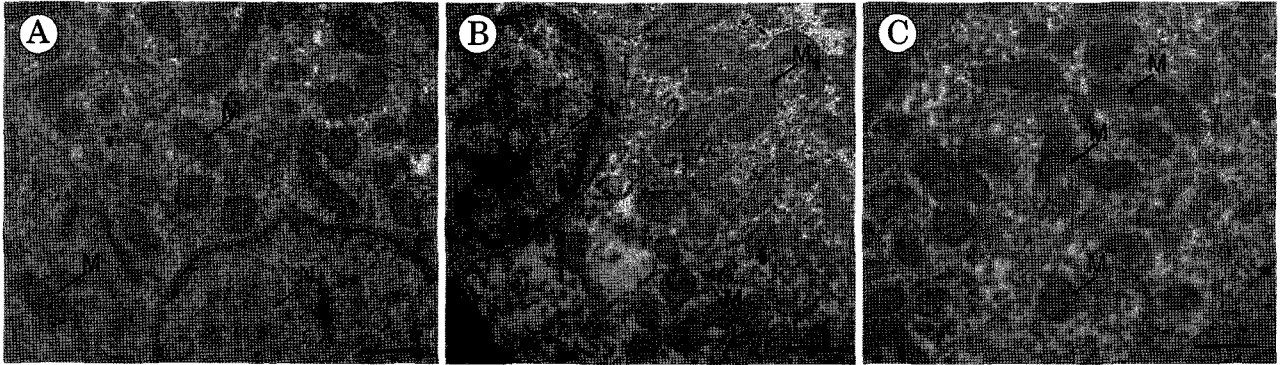


Fig. 5. Transmission electron microscope of *C. auratus* gill during 40 days exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ in water. A: Exposed to water for 0 day, B, C: Exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ for 40 days. Scale bar: A, B, C=2 μm. M: Mitochondria, N: Nucleus.

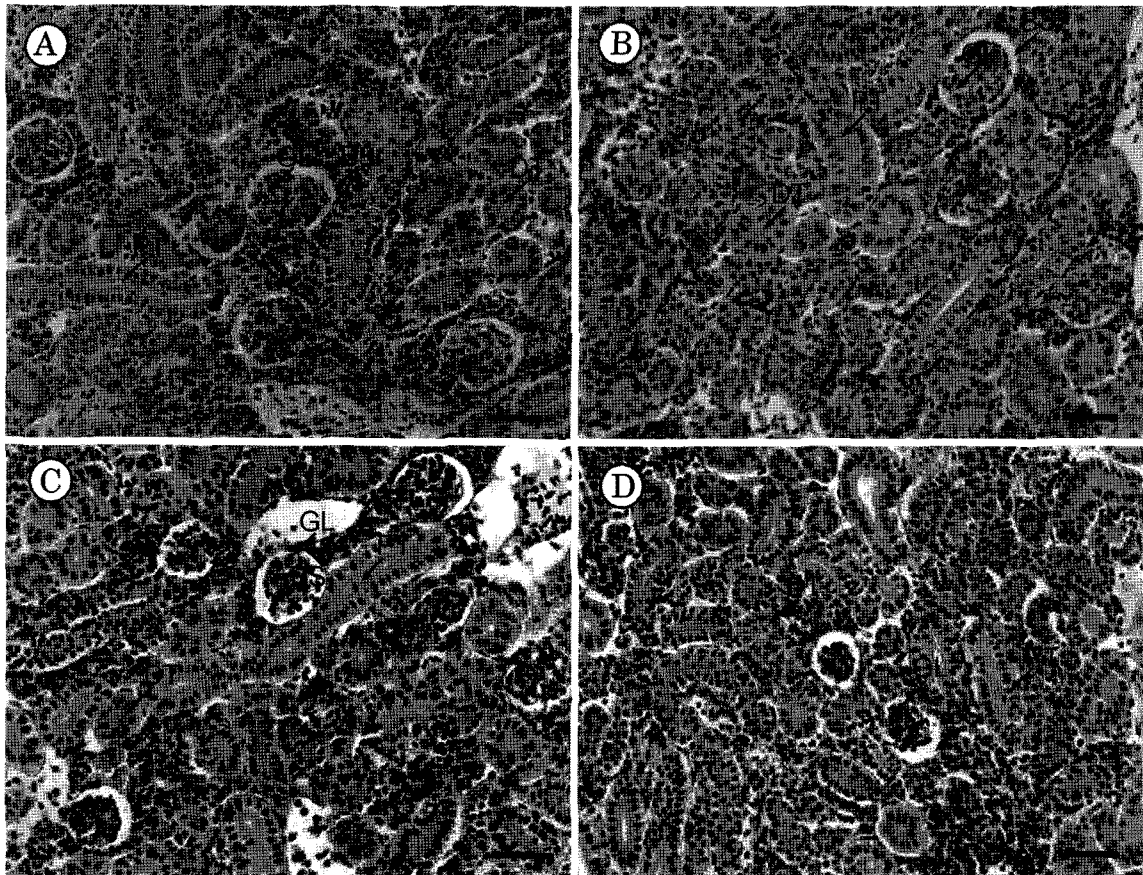


Fig. 6. Micrographs of *C. auratus* kidney during 40 days exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ in water. A: Exposed to water for 0 day, B: Exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ for 5 days, C: Exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ for 20 days, D: Exposed to Pb 0.2 mg L⁻¹ for 40 days. Scale bar: A, B, C, D=50 μm. BS: Bowman's space, DT: Distal tubule, GL: Glomerulus, PT: Proximal tubule.

한 후 다시 노출 40일에 증가하였다. GPX 활성은 노출 10일에 8.81 ± 0.10 unit mg protein⁻¹으로 높게 나타난 후 노출 20일에 감소하였다(Fig. 3D). 조직 내 항산화효소의 활성은 아가미와 간 조직에서 높았으며, 신장과 근육 조

직에서 낮았다(Fig. 3).

3. 아가미와 신장 조직의 변화

대조군 아가미 조직은 이차세변 사이의 공간이 비교적

일정하고 점액세포의 수에 증가도 관찰되지 않았다(Fig. 4A). 5일간 Pb에 노출된 아가미 조직은 이차새변 사이의 공간이 비교적 일정하였으나, 점액세포의 수가 증가하기 시작하였다. 또한 부분적으로 이차새변은 상피층의 박리와 상피세포가 비대해진 형태가 관찰되었다(Fig. 4B). 노출 20일에는 점액세포의 수가 많이 증가하였으며, 이차새변의 끝부분이 부풀어 오르는 곤봉화 형태가 관찰되었다(Fig. 4C). 노출 40일에는 비교적 이차새변 사이의 간격은 일정하였으나 점액세포의 수 증가와 곤봉화가 두드러지게 관찰되었으며, 새변과 새변이 접하여 융합한 형태도 관찰되었다(Fig. 4D). 투과전자현미경을 통해 아가미 조직 내 세포소기관을 관찰한 결과 대조군 아가미 조직 내에서는 미토콘드리아와 핵에서 막의 손상 없이 정상적인 형태로 관찰되었다. 그러나 Pb에 40일간 노출시킨 아가미 조직은 미토콘드리아와 핵에서 막의 손상이 관찰되었다(Fig. 5). 5일간 Pb에 노출된 신장 조직은 보우만 주머니 안에 사구체가 가득 차 있는 정상적인 구조로 관찰되었다. 그러나 Pb의 노출기간이 20일과 40일로 길어짐에 따라 사구체가 수축하여 보우만 주머니 안의 공간이 넓은 형태로 관찰되었다(Fig. 6).

고 찰

중금속을 비롯한 유해물질은 비록 미량일지라도 수생 생물에 농축, 축적이 가능하며 먹이연쇄를 통해 인체에까지 영향을 주기 때문에 중금속에 의한 수서생물의 오염은 사람의 공중보건에 직결되는 심각한 문제가 되기도 한다(Friberg and Vosta, 1972). Cho and Kim(2007)은 진주담치와 넙치를 치사 농도 이하의 Pb를 첨가한 배양 수조에 2주간 노출시킨 후 생물체내 중금속 농도를 조사한 결과 진주담치와 넙치의 중금속 함량은 노출농도가 높아짐에 따라 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다. 또한 Pb 노출 농도를 0.1~0.5 mg L⁻¹ 구간에서 체내 축적량은 395 µg g⁻¹에서 5,258 µg g⁻¹으로 13배 증가하였고, 대조군에 비해서는 1,319배로 노출농도가 증가할수록 높은 축적량을 보였으며, 조직 내 축적량에서는 아가미 조직에서 높은 축적을 나타냄을 보고하였다(Cho and Kim, 2007). 본 연구에서도 Pb의 함량은 노출기간이 길어질수록 증가하였으며, 특히 아가미 조직에서 높은 함량을 나타내고 있어 Cho and Kim(2007)의 보고와 유사한 결과를 보였다. 또한 이러한 결과로 보아 Pb에 장기간 노출이 되면 체내에 함량이 축적될 수 있으며, 더 나아가 어류의 조직에서 미세 구조의 변화와 생리적 병변을 일으킬 것으로 생각된다.

활성산소의 발생으로 인한 산화성 스트레스는 호흡을 통해 세포 에너지를 확보하는 모든 생체에서 필연적으로 야기되는 생물학적 스트레스이다. 그러나 외부 자극 등에 의해 유발되는 과도한 산화성 스트레스는 생체의 원활한 대사에 큰 장애요인으로 작용하며, 특히 조절 범위를 넘어선 활성산소들은 세포내 주요 물질인 핵산 및 단백질의 구조 변성과 기능 손실 등을 야기시킴으로써 노화 촉진, 질병저항성 감소, 생식능력 저하 등 많은 생리학적 장애를 유발시킨다(Johnson, 2002; Pandey *et al.*, 2003). 생체내에서 산화·환원 반응을 통해 형성되는 활성산소는 반응성이 매우 큰 산화물 라디칼로서 자발적인 과정에 의해서 일부 분해되거나, 비효소적 반응을 통해 H₂O₂로 전환된다. 그러나 SOD와 CAT 등과 같은 항산화효소는 활성산소를 보다 안정된 물질로 환원시키는데, 이중 SOD는 superoxide radical(O₂⁻)을 H₂O₂와 O₂로 전환시키며, CAT는 전환된 H₂O₂를 O₂와 H₂O로 분해함으로써 생체에 유해한 라디칼을 효소적으로 보다 효율적으로 제거하게 된다(Forman and Fridovich, 1973). 일반적으로 이러한 항산화효소는 중금속 이온의 노출에 의해서도 항산화효소 활성이 변화한다고 알려져 있다(Livingstone *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 2000; Zikic *et al.*, 2001). 이처럼 항산화효소의 활성은 생체내의 스트레스 반응과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 0.2 mg L⁻¹의 농도에 Pb를 처리한 붕어의 경우 아가미 조직에서 SOD 활성은 노출초기에 증가하며 노출 10일에 가장 높은 활성을 보였다. 또한 신장과 간 및 근육 조직에서 SOD 활성은 노출기간이 길어질수록 증가하는 경향을 보이며, 노출 후기인 40일에 감소를 보였다. 모든 조직에서의 CAT와 GPX의 활성은 노출기간이 길어짐에 따라 증가하여 SOD의 활성과 유사한 경향을 보였다. 이러한 결과로 보아 Pb의 노출에 따른 환경적 스트레스에 대해 SOD에 의해 항산화작용이 주로 이루어지며 SOD에 의해 생성된 O₂⁻를 CAT와 GPX에 의해 분해가 이루어짐으로써 생체에 무해한 분자들로 전환시키는 것으로 사료된다.

일반적으로 어류의 호흡은 피부와 아가미를 통하여 이루어지고 있으나 아가미에서 훨씬 높은 호흡기능을 담당하고 있다. 그리고 아가미는 호흡 및 질소노폐물 배설의 중추적인 역할이 이루어지는 기관으로 다른 기관에 비해 그 표면적이 넓기 때문에 환경변화에 가장 민감하게 반응하는 부위로 알려져 있다(Lee *et al.*, 1997). 이에 대한 아가미 조직의 독성물질에 대한 반응은 두 그룹으로 나눌 수 있는데 그 하나는 독성물질이 아가미를 통하여 흡수되는 것을 막거나 그 독성작용을 감소시키기 위한 변화이다. 상피세포의 비후, 비대, 점액세포의 증식 등은 아

가미 모세혈관과 환경수와의 거리를 증가시켜 독성물질이 아가미로 확산되어 들어가는 것을 막기 위한 반응이고, 독성물질의 배출을 위한 변화로 염세포가 비대, 증식되는 현상이 나타날 수도 있다. 특히 독성물질로 인하여 계속 자극받아 이러한 반응이 계속 진행되면 아가미 이차새엽의 두께가 점점 두꺼워져 산소의 흡수가 어려워지므로 질식으로 인해 사망하게 된다. 또 하나는 독성물질에 의해 직접 받는 독성작용으로서 상피세포의 괴사, 탈락, 상피층의 박리 등이 여기에 속한다(Muller *et al.*, 1991). 본 연구에서도 Pb에 노출시킨 붕어의 아가미 조직은 노출기간이 길어질수록 이차새엽의 두께가 점점 두꺼워졌으며 점액세포 수의 증가와 곤봉화 형태를 보였으며, 아가미 조직 내 미토콘드리아와 핵에서는 막의 손상이 관찰되었다. 이러한 조직의 구조적 변형 등이 일어난 것으로 보아 Pb에 노출됨에 따라 아가미의 미세구조에 변형을 일으킴으로써 아가미 조직의 병리적 영향을 미치는 것으로 생각되며, 이로 인해 호흡 면적이 축소되어 호흡 기능이 약화될 수 있을 것으로 생각된다.

어류의 아가미와 더불어 신장도 수질오염과 같은 환경적 스트레스에 의해 사구체 수축의 구조적 변형을 나타내는데 사구체의 표면적이 좁아지는 현상은 포유류의 만성 사구체 신염이나 위축신과 매우 유사한 병변으로 어류의 경우에도 이차 병변의 원인이 될 수 있으며(Fennel and Pardo, 1967), 심할 경우 어류 폐사의 원인이 되기도 한다. 본 연구에서도 노출기간이 길어질수록 사구체의 수축현상이 두드러지게 관찰되었으며, 보우만 주머니 안의 공간이 넓은 형태로 관찰되었다. 이러한 신장 조직의 구조적 변형의 결과로 보아 Pb이 신장의 기능 손실이나 노폐물 제거에 영향을 줄 수 있으며, 더 나아가 어류의 2차 병변에도 영향을 줄 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 Pb의 농도와 노출 기간이 붕어(*Carassius auratus*) 조직의 미세구조와 생리적 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 아가미, 뼈와 근육 조직에서 Pb의 축적 농도는 노출 40일에 증가하였다. 아가미 조직 내 Pb의 축적량은 다른 조직에 비하여 높았으며, 아가미, 뼈 및 근육 조직에서 노출기간이 길어질수록 증가하였다. Pb에 노출된 아가미, 뼈와 근육 조직의 항산화효소 활성은 아가미와 근육 조직에서 높았으며, 신장 조직에서 가장 낮은 활성을 보였다. 또한 항산화효소 중 superoxide dismutase의 활성은 대조군에 비해 2배 정도 증가하였으나, gluta-

thion peroxidase의 활성은 매우 낮았다. Pb에 노출된 아가미 조직에서 점액세포는 수가 증가하였으며, 곤봉화와 부종이 이차새변에서 나타났다. 또한 40일간 Pb에 노출된 아가미 조직 내 미토콘드리아와 핵에서는 막의 손상이 관찰되었으며, 신장 조직 내 사구체는 수축되어 보우만 주머니의 공간이 넓게 관찰되었다. 이러한 결과로 보아 붕어 조직이 장기간 고농도의 Pb에 노출이 되면 비정상적인 형태로 변형되며, 이에 따라 매우 유해한 영향을 받을 수 있을 것으로 생각된다.

인 용 문 헌

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro, p. 121-126, *In: Methods in Enzymology* (Packer, L. ed.). Academic Press, NY.
- APHA. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater (16th ed.). Port City Press, Maryland.
- Black, J.J. and P.C. Bauman. 1991. Carcinogens and cancers in freshwater fishes. *Environ. Health Perspect* **90**: 27-33.
- Chen, Y., X.D. Cao, Y. Lu and X.R. Wang. 2000. Effects of rare earth metal ions and their EDTA complexes on antioxidant enzymes of fish liver. *Environ Contam Toxicol* **65**: 357-365.
- Cho, K.S., J.H. Park and J.C. Kang. 2004. Acute toxicity of *Carassius auratus* and *Pungtungia herzi* lavra on mercury, lead and copper exposure. *Journal of Korean Society on Water Quality* **20**: 265-268.
- Cho, Y.G. and G.B. Kim. 2007. Bioaccumulation of Pb and Cd in blue mussel (*Mytilus edulis*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to rearing media. *Journal of Korean Society for Marine Environmental Engineering* **10**: 21-28.
- Conard, M.E. and J.C. Barton. 1978. Factors affecting the absorption and excretion of lead in the rat. *Gastroenterology* **74**: 831-839.
- Fennel, R.H. and V.M. Pardo. 1967. Experimental glomerulonephritis in rats. *Laboratory Investigation* **17**: 483-488.
- Flohe, L., A. Wolfgang and W.A. Gunzler. 1984. Assay of glutathione peroxidase, p. 105-114. *Methods in enzymatic analysis* (Packer, L. ed.). Academic Press, NY.
- Forman, H.J. and I. Fridovich. 1973. Superoxide dismutase: A comparison of rate constant. *Arch Biochem Biophys* **158**: 396-400.
- Friberg, L. and J. Vosta. 1972. Mercury in the environment, p. 17-23, CRS Press, Cleveland.
- Heo, W.M., S.Y. Kwon, B.C. Kim and J.H. Park. 2000. Long-

- term variation of water quality in lake Andong. *Korean J Limnol* **33**: 260-266.
- Hwang, S.K. and G.Y. Jeong. 2006. Geology in drainage field of the Imha Dam and origins of high turbid water in the Imha Lake, Andong. *Econ Environ Geol* **39**: 771-786.
- Johnson, P. 2002. Antioxidant enzyme expression in health and disease: Effects of exercise and hypertension. *Comp Biochem Physiol* **133**: 493-505.
- Kim, J.S., M.J. Shin, J.E. Lee and E.W. Seo. 2009. Heavy metal contents in tissues of *Carassius auratus* in Andong and Imha Reservoir. *J Life Sci* **19**: 1562-1567.
- Kimura, L., M. Yamashita, N. Kinae, H. Kumai and G. Nakamura. 1990. The croaker (*Nibea mitsukurii*) and the sea catfish (*Plotosus anguillaris*): Useful biomarkers of coastal pollution, p. 73-84. In: Biomarkers of Environmental Contamination (Publisher, L. ed.). Academic Press. Florida.
- Lee, J.S., J.C. Kang and Y.K. Shin. 2001. Histological responses of the flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to copper. *J Fish Pathol* **14**: 81-90.
- Lee, J.S., K.T. Lee, D.H. Kim, J.H. Kim and K.N. Han. 2004. Acute toxicity of dissolved inorganic metals, organotins and polycyclic aromatic hydrocarbons to puffer fish, *Takifugu obscurus*. *J Environ Toxicol* **19**: 141-151.
- Lee, Y.C., Y.J. Chang and B.K. Lee. 1997. Osmoregulation capability of juvenile grey mullets (*Mugil cephalus*) with the different salinities. *J Korean Fish Soc* **30**: 216-224.
- Livingstone, D.R., S. Archibard, J.K. Chaman and J.W. Marsh. 1992. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda limanda* from the North Sea. *Mar Ecol Prog Ser* **91**: 97-104.
- McCord, J.M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase an enzymic function ferythrocuprotein (Hemocuprotein). *J Biol Chem* **244**: 6049-6055.
- McGeer, J.C., C. Szebedinszky, D.F. McDonald and C.M. Wood. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. I: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquatic Toxicol* **50**: 231-243.
- Muller, M.E., D.A. Sanchez, H.L. Bergman, D.G. Rhem and C.M. Wood. 1991. Nature and time course of acclimation to aluminium in juvenile brook trout (*Salvelinus fontinalis*) Gill histology. *Can J Fish Sci* **48**: 2016-2027.
- Pandey, S., S. Parvez, I. Sayeed, R. Haque, B. Bin-Hafeez and S. Raisuddin. 2003. Biomarker of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. and Schn.). *Sci Total Environ* **309**: 105-115.
- Park, S.H., I.S. Song and Y.C. Cho. 2000. Experimental study on the accumulation of cadmium and other metals in the fish bodies (*Oryzias latipes*). *Kor J Env Hlth Soc* **26**: 25-31.
- Ringwood, A.H. 1992. Comparative sensitivity of gametes and early developmental stages of a sea urchin species (*Echinometra mathaei*) and a bivalve species (*Isognomon californicum*) during metal exposures. *Arch Environ Contam Toxicol* **22**: 288-295.
- Seo, E.W., Y.J. Kim and S.C. Baek. 2008. Soil components and elution characteristics of heavy metals in sediments of Andong and Imha Reservoir, *Korea Geotechnical Society* **9**: 47-52.
- Sorensen, E.M. 1991. Cadmium. In: Metal Poisoning in Fish, p. 175-234, CRC press, Boston.
- Wapnir, R.A., S.A. Moak, F. Lifshitz and S. Teichberg. 1978. Alterations of intestinal and renal functions in rats after intraperitoneal injection of lead in the rat. *Gastroenterology* **74**: 731-734.
- Watzin, M.C. and P.R. Roscigno. 1997. The effects of zinc contamination on the recruitment and early survival of benthic invertebrates in an estuary. *Mar Pollut Bull* **34**: 443-455.
- Zikic, R.V., A.S. Stajn, S.Z. Pavlovic, B.I. Ognjanovic and Z.S. Saicic. 2001. Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch) exposed to cadmium. *Physiol Res* **50**: 105-111.

(Manuscript received 30 July 2010,
Revision accepted 10 September 2010)