

淡水產魚類의 血清蛋白質에 미치는 環境水의 影響 (I)

李容億·金益泰
(慶熙大. 文理大. 生物學科)

The Effect of External Medium on Serum Protein of Fresh Water Fish (I)

LEE, Yong Ock and Ik Tae KIM
(Dept. of Biology, Kyung Hee University)

(1965. 7. 5 接受)

SUMMARY

It is well known that many kinds of chemical or metallic agent which were ionized or undissociated at toxified external medium and remarkable effect occurred to the fresh water fish.

The effects of hydrogen ion concentration on serum protein of fresh water fish, (*Ophhycephalus argus* CANTOR) had not been reported yet.

In this point, authors attempted to study the changes of A/G ratio, total protein, hemoglobin, hematocrit, RBC, liver and kidney weight of snake head in the above environment.

95 snake heads were subjected to external medium with PH-4.5, and A/G ratio, hematocrit, hemoglobin, total protein, RBC, and liver & kindey weight were measured at 32. 80. 152. 200. and 272 hours respectively. In whole experimental period, L 1 and L 2 globulin increased, on the other, albumin decreased as compare with control.

Hence, the A/G ratio decreased remarkably. Though, total protein increased prominently through the whole experimental period, hematocrit, hemoglobin, RBC, increased only at 80 hours, and then decreased as compared to the control. Liver weight revealed distinctive increase at 80 hours, but no remarkable change could be seen thereafter.

Hence, kidney weight revealed continuous rise. By these results, it may be said that as snake head were subjected to external medium with PH-4.5, this environmental factor influenced protein metabolism, blood component and organs.

緒 論

여러가지 環境水의 化學的, 物理的 變化에 따르는 魚類의 生理的條件에 異常을 招來하고 電氣泳動像에 變化를 誘發시켰다는 事實이 많이 報告되고 있다.

即 環境水에 소금을 타서 淡水魚를 馴化시킨 結果 血清蛋白質의 電氣泳動像에 異常을 招來한다 하였고(南·金, 1964) 또한 미꾸라지의 尿素에 對한 耐性이 報告된 바 있으며(南, 1964), 環境水에 金屬性鹽이 溶解되어 있을 때 魚類의 體表와 아가미의 纖細한 組織이 直接 浸害를 받는다는 事實을 Carpenter (1927)가 報告하였다. 암모니아化合物이 環境水의 水質을 變化시켜 魚類의 生理條件을 惡化시키며 특히 水質이 酸性(pH=5.0)

일때 강한 毒性을 주며, 化合物이 非解離狀態로 存在하는 分子가 있을때 더욱 甚한 毒性을 나타낸다고 한다(Marget, 1957).

한편 田村(1950)은 環境水의 水質이 pH=4.0~3.0에서 송어가 10분만에 크게 弱化되었다는 것을 報告하였다.

또 Abegg(1950)은 環境水의 水質變化로 魚類(*Lepomic macrochirus*)의 組織液量에 異常을 招來하고 血液比重의 低下를 誘發했다고 報告한 바 있다.

한편 工場汚物이 水質變化를 가져오며 따라서 魚類의 生理現象에 異常을 나타내며 電氣泳動像에 顯著的한 影響을 미친다고 Doudoroff and Katz (1950), Fujiya (1961) 등이 報告한 바 있다.

Meiner and Hickman (1962)는 環境水의 溫度變化는 蟲어의 血清蛋白質(Albumin, Globulin)의 構成比에 異常을 誘發하였다고 하였으며, 한편 깃산이 淡水產 魚類의 血液속에 浸透하였을때 死境에 이르렀다는 事實도 Westfall (1945)에 依하여 報告되었다. 그러나 아직 環境水 水質의 變化에 따르는 淡水產 魚類의 血清蛋白質에 關한 電氣泳動像의 變化는 報告된 바 없기에 이에 대한 實驗을 하였다.

材料 및 方法

本 實驗은 1964年 夏季節에 施行하였다.

實驗에 供與된 材料는 2年生 가물치(*Ophicephalus argus* CANTOR), 體重 132±3 gr인 것으로 95 마리(서울近郊에 있는 養魚場에서 一時에 購入)를 水槽에서 井水로 7日間 馴化시킨 後, 環境水에 glycine 과 HCl을 混合 15倍 稀釋하여 pH=4.5로 維持하여 實驗에 使用하였다. 但 環境水의 pH는 12時間마다 測定 調節하였으며, 測定은 Toyo Roshi Kai sha 製 pH 檢査紙를 使用하였다.

處理後 32, 80, 152, 200 및 272時間區로 各各 나누어 每 時間區 마다 10~15 마리를 直接 心臟 切開하여 採血하였다. 肝臟, 腎臟도 함께 切取하여 體液을 除去하고 天秤으로 測定하였다.

採血된 것은 10分間 放置한 後 3,000 rpm에서 30分間 遠心分離하여 新鮮한 血清을 얻었다.

血清 0.04 ml를 試料로 Watman No. 2 濾紙에 塗布하였으며, 2.9 volt/cm 및 0.25 mA/cm를 주었다. 室溫 27±2°C에서 Grassman-Hannig 法으로 10時間 電氣泳動하였다. 이때 泳動液은 Veronal 泳動液이며 pH=8.6 이었는데 이러한 條件에서 뚜렷한 再現性이 얻어졌다.

泳動後 濾紙片은 100°C에서 10 分間 完全乾燥하였으며 ethanolic bromphenol blue 로 染色하여 蛋白質을 檢出하였다.

流動 파라핀을 濾紙片에 浸漬시켜서 Toyo Type No. 1 Densitometer 로 波長 540 mμ에서 optical density를 測定하였다.

사람의 血清蛋白質의 電氣泳動分層과 가물치의 分層 와를 比較 決定하였다. 全血清蛋白質量은 Folin-Wu의 方法과 Biuret 方法을 利用하여 亦是 波長 540 mμ으로 測定하였다.

Heparin 을 使用한 採血液의 一部를 가지고 血色素, 赤血球 hematocrit 比 등을 Hellige hemometer, Spence hemocytometer 및 Hematocrit tube 를 使用하여 測定하였다.

結 果

가물치의 生體條件은 初期보다 末期에 가서 衰弱한 狀態를 보였으나 죽은 個體는 全然 없었다. 또 가물치의 雌雄에 따르는 差異는 同一條件下에서 電氣泳動像과 全血清蛋白質量에 對하여 有意性이 없기 때문에 性別에 따르는 差異는 無視하였다.

Table 1 은 時間經過에 따르는 血清蛋白質 泳動分層 및 A/G 比 그리고 全血清蛋白質量의 變化를 表示한 것이다. 全 實驗時間區를 통해 α₁ 및 α₂ globulin 은 增加된 狀態를 보였고 또 β, γ-globulin 은 亦是 若干의 增加現象을 보였으나 反面 albumin 은 顯著한 減少를 나타내어 albumin 과 globulin 比는 顯著한 減少를 나타내고 있다. 對照群과 比較하여 볼 때 全血清蛋白質量은 全實驗時間區를 통하여 顯著한 增加를 나타내고 있다.

A/G 比와 全血清蛋白質量의 變量을 分析하여 T-test 하여보면(Croxton, 1959) 全時間區를 통하여 有意性(p>0.01)을 各各 나타내고 있다. hematocrit 比, 赤血球數, 血色素量은 Table 2 에 表示되었다. hematocrit 比는 32, 80 時間區에서 若干의 上昇을 보였으나 其後는 對照群에 比하여 若干의 減少를 보였고 赤血球數는 32時間

Table 1. Mean Values and standard deviations of percentage serum protein fraction and total serum protein of snake head, *Ophicephalus argus* (CANTOR) subjected to external medium (pH=4.5).

Hrs. subjected to external medium	No. of fishes	Globulin				Albumin %	A/G ratio	T test	Total protein (gm/dl)	T test
		α 1	α 2	β	γ					
Controls	15	28.47 ±2.71	28.79 ±4.12	4.67 ±1.2	5.44 ±1.39	32.62 ±1.07	0.48		2.82 ±0.4	
32	10	39.86 ±10.65	33.46 ±5.68	8.53 ±3.64	5.93 ±4.22	10.13 ±5.36	0.12	P> 0.01	4.14 ±0.31	P> 0.01
80	10	48.12 ±5.31	31.87 ±1.78	5.61 ±1.79	5.54 ±1.33	8.79 ±1.6	0.09	P> 0.01	4.28 ±0.23	P> 0.01
152	10	36.82 ±11.55	32.45 ±5.32	13.49 ±8.5	8.69 ±1.88	9.55 ±5.71	0.1	P> 0.01	4.67 ±0.29	P> 0.01
200	10	35.99 ±9.6	31.94 ±9.39	16.14 ±5.24	7.48 ±1.58	8.46 ±2.86	0.08	P> 0.01	4.60 ±0.13	P> 0.01
272	10	35.10 ±9.14	30.41 ±6.41	14.43 ±6.20	8.53 ±1.81	8.77 ±4.34	0.09	P> 0.01	4.45 ±0.04	P> 0.01

Table 2. Mean values and standard deviation of hematocrit, red blood cell and hemoglobin.

Controls	Experimental hrs. subjected to external medium (pH=4.5)				
	32	80	152	200	272
Hematocrit	35.25	34.16	31.67	32.33	32.33
33.6±2.18	±1.06	±2.39	±1.53	±3.21	±2.08
Red blood cell count	2.99	2.30	2.37	2.37	2.07
10 ⁶ /mm ³	±0.37	±0.17	±0.43	±0.28	±0.29
2.73±0.23					
Hemoglobin gm/dl	11.57	9.73	10.1	10.1	9.43
11.21±0.22	±0.97	±0.81	±0.44	±0.97	±0.55

Table 3. Mean values of weight of liver and kidney; body weight ratio (%).

Controls	Experimental hrs. subjected to external medium (pH=4.5)				
	32	80	152	200	272
Weight of liver					
Body weight	0.87	0.99	0.93	0.87	0.84
0.87					
Weight of kidney					
Body weight	0.35	0.33	0.36	0.30	0.39
0.15					

區에서 若干 增加되는 狀態를 나타내다가 其後는 繼續 顯著한 減少를 나타내었다.

한편 血色素量은 32 時間區에서 若干 增加하나 80 時間區後는 오히려 對照群에 比하여 減少된 것을 볼 수 있다.

肝臟의 體重比는 80 時間區에서 若干 增加된 狀態를 보였으나 其外 時間區에서는 別로 變化된 것을 볼 수 없다. 그러나 腎臟의 體重比는 全時間區를 通해 對照群 보다 顯著하게 增加된 現象을 表示하고 있다 (Table 3).

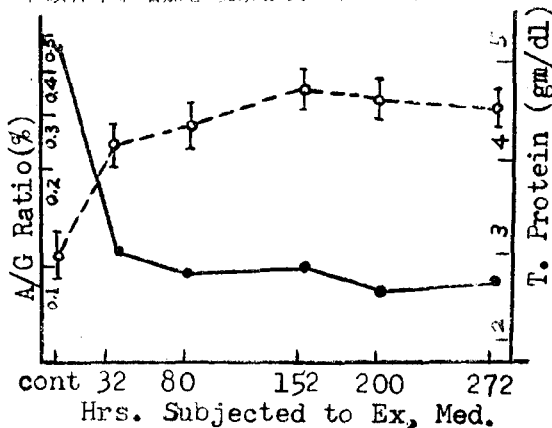


Fig. 1. Changes in A/G ratio (—●—●—) and total protein of serum (---○---○---) subjected to external medium (pH=4.5). Vertical lines represent 2 standard deviations of the mean. 10-15 fishes were used for each measurement.

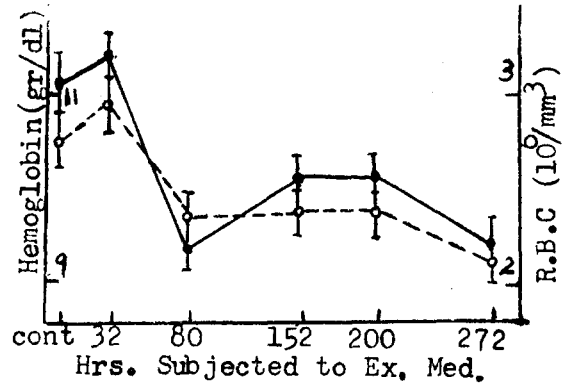


Fig. 2. Changes in red blood cell (---○---○---) and hemoglobin (—●—●—) subjected to external medium (pH=4.5). Vertical lines represent 2 standard deviations of the mean. 7-8 fishes were used each measurement.

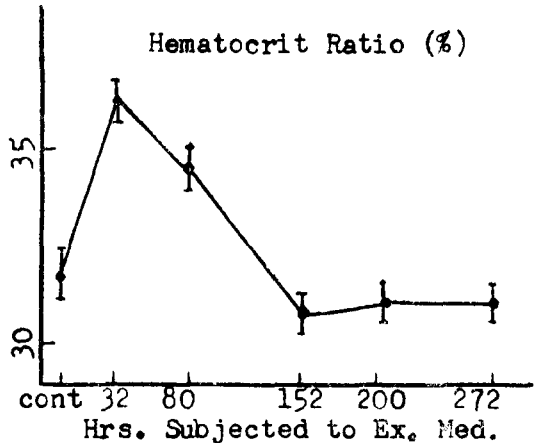


Fig. 3. Changes in hematocrit subjected to external medium (pH=4.5). Vertical lines represent 2 standard deviations of the mean. 7-8 fishes were used for each measurement.

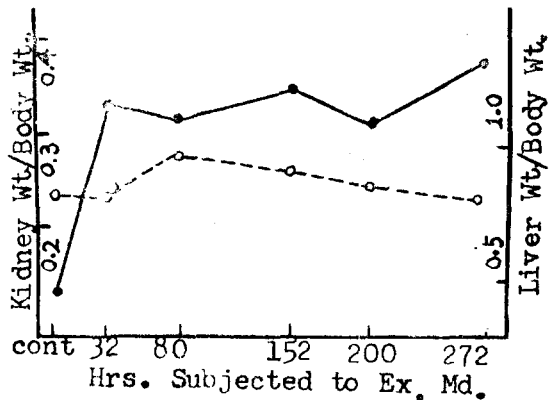


Fig. 4. Changes in weight of liver: body weight ratio (---○---○---) and weight of kidney: body weight ratio (—●—●—) subjected to external medium (pH=4.5). 7-8 fishes were used for each measurement.

Fig. 1은 albumin/globulin 비와 全血清蛋白質質量의 各時間區에 따르는 變化를 나타낸 것이다.

Fig. 2, 3, 4는 各各 赤血球數, 血色素量, hematocrit 비 및 肝臟과 腎臟의 體重比를 各 實驗時間區에 다른 變化를 表示하였다.

考 察

本 實驗에서 環境水의 酸性化는 淡水產 魚類의 血清蛋白質의 電氣泳動像, albumin/globulin 비, 全血清蛋白質量, 血色素量, 赤血球數, hematocrit 비, 또 肝臟 및 腎臟의 體重比等에 顯著的 變化를 誘發했다는 事實이 立證되었다. 環境水가 강한 酸性인 境遇 血清蛋白質의 電氣泳動像의 變化와 albumin/globulin 비의 非正常值로 減少된다는 事實은 蛋白質代謝에 異常을 招來하는 여러 가지 生理的 機作的 不順調에 基因되는 것으로 생각할 수 있다.

또한 環境水의 酸性化로 誘發된 全血清蛋白質量의 變化를 考察하여 볼 때 A/G 비의 變化와 全血清蛋白質量과 關聯되는 滲透效果에 異常을 갖어 온다고 생각할 수 있다.

Albumin의 顯著的 減少는 肝臟에서의 增加되는 蛋白質分解 또는 合成의 減少에 基因되며, 한편 이런 物質의 持續的인 排泄는 腎臟組織의 非正常化를 招來하며 globulin 量의 增加는 網狀內皮細胞의 反應 또는 非正常的인 蛋白質의 蓄積에 基因된다고 Abdel-Wahab et al. (1956)가 報告하였다.

또한 肝臟에서 血清蛋白質(Albumin, Globulin)의 代謝를 支配하며 合成이 일우워 짐으로(Madden and Whipple, 1940) 肝臟機能에 어떤 障害를 招來했을 때 血清蛋白質量, 全血清蛋白質量에 非正常的인 變化를 誘發시키게 될 것이라고 생각된다.

環境水의 溫度變化에 있어서 낮은 溫度에서 馴화된 송이가 높은 溫度에서 馴화된 것보다 A/G비가 顯著하게 增加된다고 하였으며(Meiner and Hickman, 1962), Evans et al. (1962)는 송이에 있어서 8°C에 馴화된 것이 16°C에서 馴화된 것 보다 肝臟에서의 酸素 消費량이 많았다고 報告한 바 있다.

한편 Carpenter (1927)에 依하면 金屬鹽類가 魚類의 體表 粘膜을 損傷시키며 또한 아가미 섬모에 障害 및 破壞를 誘發시켜 直接 血管으로 浸透하여 毒作用을 갖는다고 報告하였다. 또 이런 事實이 酸性도가 강한 環境水에서는 弱한 環境水에서 보다 顯著하게 毒性이 크다고 하였으며(Marget, 1957), 이런 毒性은 自體의 直接的인 影響이 아니라 非解離性分子 또는 其他 化學分子의 生理的 作用에 미치는 障害가 體力의 減退를 招來하

고 物質代謝의 非正常化가 誘發된다는 것이다 (田村, 1950).

한편 Abegg (1950)에 依하면 金屬性 化合物이 環境水에 溶解되어 있을 때 魚類의 組織液을 直接 減少 또는 增加시키며 筋肉組織에 脫水作用이 誘發되고 血液의 比重을 低下시킨다고 했다. 또한 環境水의 강한 酸性도로 因해서 가물치의 生體機能을 低下시키며 이로 因하여 蛋白質代謝 및 造血器官과 肝臟器官에 異常을 招來한다고 생각된다.

摘 要

1. 가물치 (*Ophicephalus argus* CANTOR) 95 마리를 酸性環境水 (pH=4.5)에서 飼育時 時間의 經過에 따르는 血清蛋白質의 電氣泳動像, 全血清蛋白質量, 赤血球數, 血色素量, hematocrit 비 그리고 肝臟 및 腎臟의 體重比 등의 變化를 32, 80, 152, 200, 272 時間區로 分割하여 觀察 測定하였다.

2. 全 實驗區間을 通하여 特히 α_1 과 α_2 globulin 이 增加하고 한편 albumin은 減少하여 A/G 비는 減少된 結果가 顯著하게 나타났다.

3. 全 血清蛋白質量은 全 實驗時間區를 通해 持續的인 增加를 보였고 血色素, 赤血球數, hematocrit 비는 初期 實驗時間區에서는 顯著的 增加를 보였으나 다시 減少되는 傾向을 나타냈다.

4. 肝臟重量은 80 時間區에서는 顯著的 增加를 보였으나 其他時區에서는 크게 變化되지 않았다. 한편 腎臟重量은 全 實驗時間區를 通해 顯著的 增加를 보았다.

5. 以上の 結果로 보아 가물치가 酸性環境水 (pH=4.5) 下에서 飼育될 때 이러한 環境因子가 蛋白質代謝, 血液像 그리고 器官에 異常을 招來한다고 생각된다.

文 獻

- Abegg, R., 1950. Some effects of inorganic salts on the blood. Specific gravity and tissue fluids of the Bluegill *Lepomis Machrochirus* RAF., *Physiol. Zool.* 23, 2.
- Abdel-wahab, E.M., V.H. Rees and D. Laurence, Jr. 1956. A ciba foundation symposium on paper electrophoresis. J & A. churchill Ltd., London 30—33.
- Carpenter, K.E., 1927. The lethal action of soluble metallic salts on fish. *Brit. J. Exptl. Biol.* 4, 378.
- 田村 正, 1950. 外圍의 變化가 魚ほに 及ぼす 影響. 第11報 綜合考察水. 科. 研. 2, 1—35.
- Doudoroff, P. and M. Katz, 1950. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their

- components to fish. *Sewage. Ind. wastes* 22, 1432. 1. Alkalies, Acids, and Inorganic gases.
- Evans, R.M. et al., 1962. The effect of temperature and photoperiod on the respiratory metabolism of rainbow trout. *Can. J. Zool.* 40, 107—116.
- Fujiya, M., 1961. Use of electrophoretic serum separation in fish studies. *J. water pollution cont. Fed.* 33, 250—257.
- 南相烈·金正鎮, 1964. 食鹽과 電擊이 가물치의 血清蛋白質에 미치는 영향. *大韓內科學會誌* 7:6, 37—40.
- 南相烈, 1964. 尿素가 미치는 비꾸라치의 耐力에 關하여. *李徽載博士華甲記念論文集* 39—42.
- Madden, S.D. and G.H. Whipple, 1940. Plasma proteins, their source, production and utilization. *Physiol. Rev.* 20, 194—218.
- Marget, E.B., 1957. Water Quality requirements of fishes and effects of toxic substances. *Physiol. fishes* 2, 403—427.
- Meiner, H.M. and C.P. Hickman, Jr., 1962. Effects of temperature and photoperiod on the serum proteins of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Can. J. Zool.* 40, 127—130.
- Westfall, B.A., 1945. Coagulation film anoxia in fishes. *Ecology* 26, 283.