

[報 文]

아가미 혈종과 지느러미 표피탈락 현상을 이용한 어류 폐사원인 연구

최필선 · 최성수 · 이길철 · 윤준현 · 박광식*

국립환경연구원 폐기물연구부

Studies on the Fish Kills by Histopathological Characteristics in Gills and Caudal Fins

Pil Son Choi, Sung Su Choi, Kil Chul Lee, Jun Huen Yun and Kwang Sik Park*

Waste Management Research Department National Institute of Environmental
Research 613-2, Bulkwang-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-040, Korea

ABSTRACT

Histopathological changes of gills and caudal fins isolated from fishes, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus*, and *Hemibarbus labeo*, which were killed by oxygen deficiency or toxic chemicals, were studied. The toxic chemicals were HCl, NaOH, chloroform, benzene, heavy metals (Cu, Cr, Zn, Pb, Hg), and o-dichlorobenzene. The exposure level was enough to kill the fishes within 30 minutes. Oxygen deficient water was prepared by aeration of nitrogen gas and the oxygen concentration was less than 1ppm. Cryocutting was used for the rapid preparation of tissue slides and the tissues were stained by hematoxylin/eosin. In the fishes killed by hazardous chemicals, congestion and/or hyperplasia of secondary lamella and erosion of fin were found as the major histopathological changes. Whereas, these characteristics were not observed in gills or caudal fins of fishes killed by oxygen deficiency. These different bioindications appeared in the fishes killed by toxic substances or natural causes, can be used for the rapid identification of the causes of fish kills.

서 론

농약, 유기용제, 중금속 등 어류폐사를 유발할 수 있는 대부분의 화학물질은 수계에 유출되는 순간부터 수생생태계에 영향을 미치게 된다.¹⁻³⁾ 이 가운데 특히 유해화학물질에 의한 물고기 폐사는 환경오염사고시 생태계의 혼란과 인간에 대한 잠재적 재난가능성을 더

욱 현실감 있게 표출하는 대표적인 사례로 알려져 왔다. 국내 환경사고에 관한 통계조사(환경부조사자료)에 의하면 어류폐사사고는 발생원에 따라 규모의 차이가 있긴 하나 해마다 반복되고 있으며, 환경질의 개선 노력에도 불구하고 오히려 대형화 되어가고 있는 실정이다. 대부분의 어류폐사는 크게 자연적요인, 감염증 또는 유해화학물질 등^{4, 5)}에 의해 발생되며, 정확한 사

* 논 본문에 관한 문의는 이 저자에게로 (전화) 02-383-7987 (팩스) 02-358-2961

인을 규명하는 데는 신속하고 광범위한 연구조사가 필요하다. 특히 유해화학물질에 의한 경우, 수질이 화학적 방법에 의한 원인물질 규명에는 더 많은 시간과 노력이 따르는데 이는 대부분의 폐사가 육상오염물질의 유입이나 산업폐수 무단 방류 등의 경우처럼 복합오염물질에 의해 발생하거나 폐사 사고시의 수계환경이 장기간 보존되지 않는 특수성으로 인하여 시료 채취의 시간적 제약과 기술적 어려움이 있기 때문인 것으로 알려져 있다.

이와 같이 기존의 수질 이화학적 방법을 통한 어류 폐사 원인 규명의 어려움을 보완하고자 최근에는 조직 변성을 이용한 생물학적 접근 방법이 다양하게 연구되고 있으며,⁶⁻⁹⁾ 이 밖에도 특정 화학물질에 특이적으로 반응하는 발색제의 응용 등 조직화학적 방법도 폐사원인 규명연구에 도입되고 있다.^{10, 11)} 그러나 이들 연구는 대개가 한정된 유해화학물질에 대해서만 이루어지고 있으며, 화학물질 그룹에 대한 체계적 연구는 수행되지 못하고 있는 실정이다.

본 연구는 아가미의 혈중/비후중 생성과 지느러미 표피의 탈락유무를 확인함으로써 용존산소부족 등 자연적요인에 의한 사망과 유해화학물질 등 인위적 요인에 의한 사망을 구분할 수 있는 간편한 시험을 수행하였기에 그 결과를 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시험어종

폐사에 사용한 시험어종은 우리나라 수계의 우점종이며, 폐사 사고시 주 폐사어종으로 보고되는 잉어 (*Cyprinus carpio*), 붕어 (*Carassius auratus*) 및 누치 (*Hemibarbus labeo*)를 사용하였다. 잉어는 청평내수면연구소에서 분양 받아 국립환경연구원에서 사육관리한 잉어 (체장: 15~20 cm, 체중: 40~45 g)를 사용하였으며, 붕어 (체장: 15~20 cm, 체중: 40~45 g)와 누치 (체장: 20~25 cm, 체중: 50~55 g)는 경동시장에서 구입하여 국립환경연구원 어류사육실에서 10일 이상 순화된 것을 사용하였다. 시험어종은 외관상 기형이 없으며, 건강한 것만을 사용하였다.

2. 어류폐사 유발

1) 용존산소부족에 의한 사망

1 L 용량의 비이커에 500 ml의 사육수를 채우고 용

존산소농도가 1 ppm 이하가 될 때까지 질소를 폭기시킨 후 비이커의 윗부분을 비닐랩으로 밀봉하였다. 이후 시험어종인 잉어, 붕어 및 누치를 각각 투입하여 사망시켰으며, 사망 시간의 진행에 따른 부패 정도를 확인하기 위해 사망후 30분, 1시간 30분, 3시간, 6시간, 12시간 및 24시간 후 아가미와 꼬리지느러미를 취하여 FAA (Formaldehyde, Acetic acid, Alcohol) 고정액에 24동안 고정시켰다.

2) 유해화학물질에 의한 사망

폐사를 유발시키기 위한 유해화학물질로는 염산, 수산화나트륨, 클로로포름, 벤젠, 메탄올, 중금속 및 농약을 사용하였고, 시험물질은 대개 어류가 30분내에 사망할 수 있는 농도를 사용하였으며, 이때의 최종 농도는 염산과 수산화나트륨이 1%, 벤젠, 클로로포름, 메탄올 및 구리가 5%, 혼합중금속으로서 구리, 크롬, 아연, 납 및 수은 등이 각각 1% 함유된 용액 5%였으며 농약은 o-dichlorobenzene가 1%, dichlorovos, fenvalerate 및 etofenprox 성분 등이 혼합된 제제액의 농도는 1%였다. 유해물질에 의한 폐사어류는 사망 30분 후 아가미와 꼬리지느러미를 취하여 조직병변 관찰을 수행하였다.

3. 병리조직 슬라이드 제작 및 관찰

용존산소가 부족한 사육수와 각각의 독성물질에서 사망한 어류의 아가미와 꼬리지느러미를 취하고 조직병변의 신속한 관찰을 위해 동결절편 제작법을 이용하였다. 즉, 아가미와 지느러미 일부를 영하 30°C에서 동결시켜 제작한 10~12 μm 두께의 조직절편을 슬라이드에 옮긴 후 0.5% 헤마톡실린과 1% 에오신으로 이중염색하여 이를 광학현미경하에서 관찰하였다. 조직병변을 보다 명확하게 관찰할 필요가 있을 경우는 채취된 조직을 FAA액에서 고정시킨 후 부탄올 시리즈로 탈수하여 파라핀 포매를 실시하고 회전식 마이크로톰으로 조직슬라이드를 만든 후 위와 동일한 방법으로 염색을 실시하여 현미경 관찰하였다.

결 과

1. 용존산소결핍에 의한 사망어류의 조직병변

사육수에 질소가스를 약 30분 동안 폭기시켰을 때 사육수중 용존산소는 약 0.1~0.5 ppm 정도였으며, 이

와 같이 용존산소가 부족한 사육수에서 사망한 잉어 아가미의 경우, 사망 후 3시간까지는 부패하지 않았다. 조직관찰에 의하면 아가미의 새변과 새박판은 정상대조군과 마찬가지로 가지런한 빗살모양으로 유지되고 있었으며, 혈종이나 비후증을 관찰할 수 없었으며, 새박판의 용해현상도 나타나지 않았다. 또한 지느러미에서도 부패가 시작되기전인 3시간 까지는 정상 대조군과 마찬가지로 기조, 기막 및 미기조굴근의 구조가 손상받지 않았다(Fig. 1, 2). 그러나 어중에 따른 차이가 있긴하나 대개 사망후 6시간부터는 아가미 새박판과 꼬리지느러의 기조와 기막을 싸고 있는 미기조굴근의 표피조직 및 진피조직세포가 부패되기 시작하여 조직병리학적 검정이 불가능하게 되었다(Table 1). 붕어의 아가미에서도 잉어와 동일한 결과로 관찰되었으나, 꼬리지느러미의 경우는 약 12시간까지 부패되지 않고 정상적인 구조를 유지하고 있었다(Table 2,

Fig. 2). 누치의 경우 아가미와 꼬리지느러미 모두 사망 후 약 1시간 30분까지는 부패하지 않아 조직 슬라이드 제작이 가능하였으나, 3시간 이후 부터 부패되기 시작하였다(Table 3). 이상의 결과로 보아 용존산소 부족으로 인한 사망어류의 경우 부패되기 이전에 조직을 채취하여 관찰할 경우 정상대조군과 마찬가지로 아가미에서 혈종, 비후증 또는 용해현상을 발견할 수 없을 뿐만 아니라 지느러미도 표피나 진피조직이 탈락되지 않는 상태로 유지된다는 것을 알 수 있었다.

2. 유해화학물질에 의한 사망어류의 조직병변

시험물질로서 염산, 수산화나트륨, 클로로포름, 벤젠, 메탄올, 중금속 및 농약 등을 처리하였을 경우, 잉어, 붕어 및 누치의 아가미 조직에서 상피세포와 내피세포로 이루어져 있는 새박판이 괴사 또는 용해되어 어어지거나 뒤엉켜 있는 등 조직병변현상이 뚜렷하게

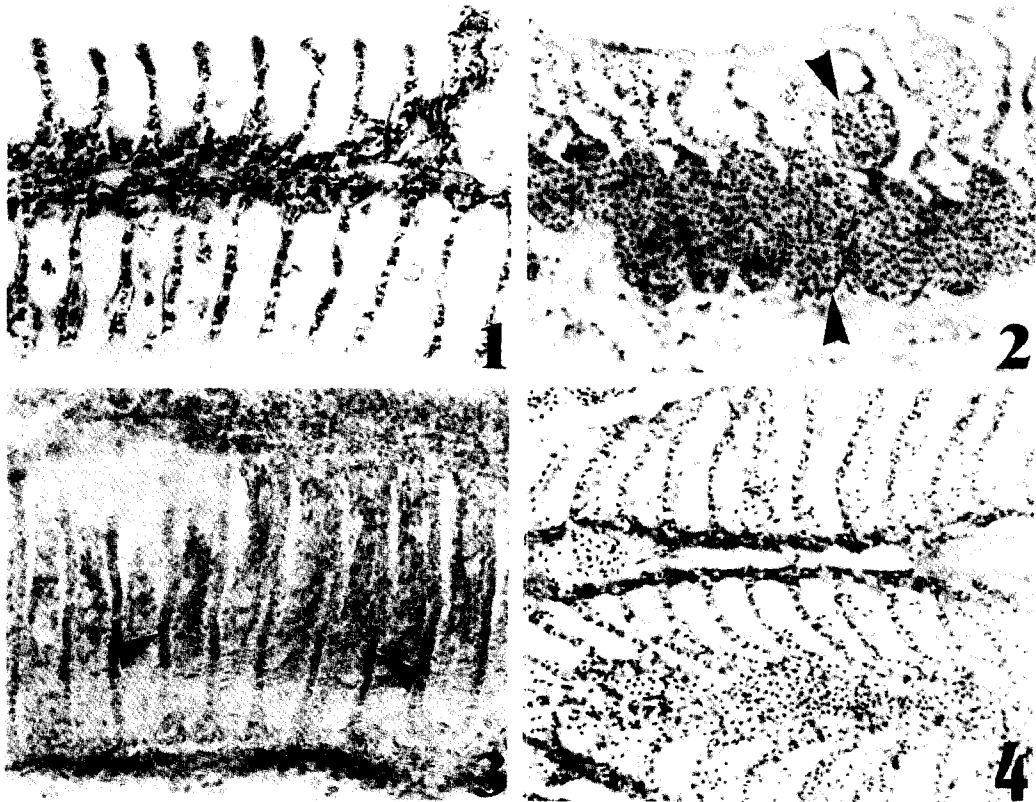


Fig. 1. Histological lesions on the gills of *Cyprinus carpio* L. treated to test solution of hazard chemicals or oxygen deficiency. 1: control, 2: saturated chloroform (congestion, arrow), 3: 5% CuSO₄ (hyperplasia, arrow), 4: oxygen deficiency.

Table 1. Histological analysis on the caudal fins and gills of *Cyprinus carpio* L.

사망요인		부 위	잉어			
			모리지느러미 탈락	아가미		
				혈 종	비후증	
대조군			무	무	무	
용존산소결핍에 의한 사망	사망 후 10분		무	무	무	
	사망 후 1시간30분		무	무	무	
	사망 후 3시간		무	무	무	
	사망 후 6시간		무	검사불능 (부패)		
	사망 후 12시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
	사망 후 24시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
유해화학물질에 의한 사망	염 산		유	유	유	
	수산화나트륨		유	유	유	
	클로로포름		유	유	유	
	벤젠		유	유	유	
	메탄올		유	유	유	
	구 리		무	유	유	
	혼합중금속 (Cu, Cr, Zn, Pb, Hg)		무	유	유	
	농 약	o-dichlorobenzene		유	유	유
		dichlorovos fenvalerate etofenprox		유	유	유

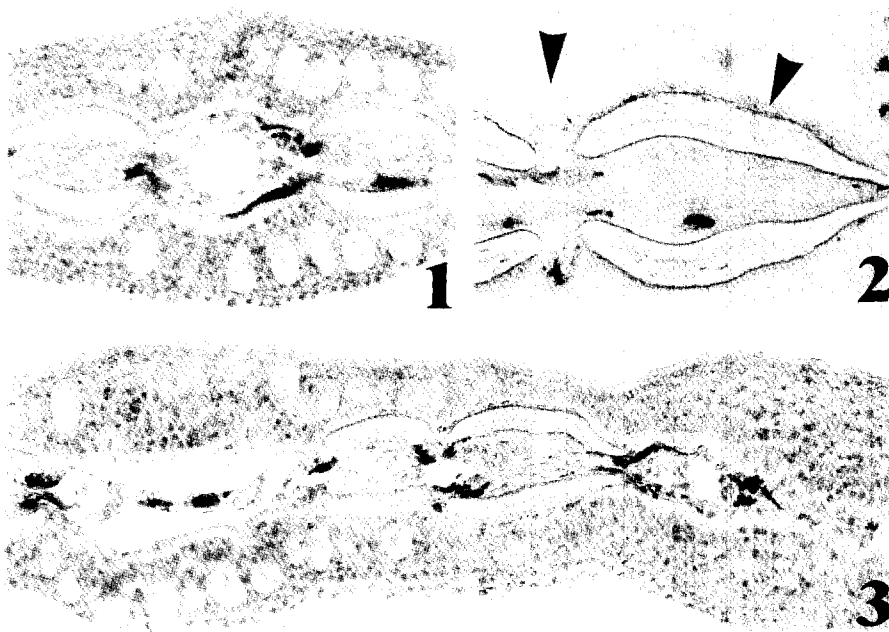


Fig. 2. Histological lesions on the caudal fins of *Carassius auratus* L. treated to test solution of hazard chemicals or oxygen deficiency. 1: control, 2: 5% benzene (fin erosion and edema, arrows), 3: oxygen deficiency.

Table 2. Histological analysis on the caudal fins and gills of *Carassius auratus* L.

사망요인		부 위	붕어			
			꼬리지느러미 탈락	아가미		
				혈 종	비후증	
대조군			무	무	무	
용존산소결핍에 의한 사망	사망 후 10분		무	무	무	
	사망 후 1시간30분		무	무	무	
	사망 후 3시간		무	무	무	
	사망 후 6시간		무	검사불능 (부패)		
	사망 후 12시간		무	검사불능 (부패)		
	사망 후 24시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
유해화학물질에 의한 사망	염 산		유	유	유	
	수산화나트륨		유	유	유	
	클로로포름		유	유	유	
	벤 젠		유	유	유	
	메탄올		무	유	유	
	구 리		무	유	유	
	혼합중금속 (Cu, Cr, Zn, Pb, Hg)		무	유	유	
	농 약	o-dichlorobenzene		유	유	유
		dichlorovos		유	유	유
		fenvalerate				
etofenprox						

Table 3. Histological analysis on the caudal fins and gills of *Hemibarbus labeo* L.

사망요인		부 위	누치			
			꼬리지느러미 탈락	아가미		
				혈 종	비후증	
대조군			무	무	무	
용존산소결핍에 의한 사망	사망 후 10분		무	무	무	
	사망 후 1시간30분		무	무	무	
	사망 후 3시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
	사망 후 6시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
	사망 후 12시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
	사망 후 24시간		검사불능 (부패)	검사불능 (부패)		
유해화학물질에 의한 사망	염 산		유	유	유	
	수산화나트륨		유	유	유	
	클로로포름		유	유	유	
	벤 젠		유	유	유	
	메탄올		무	유	유	
	구 리		무	유	유	
	혼합중금속 (Cu, Cr, Zn, Pb, Hg)		무	유	유	
	농 약	o-dichlorobenzene		유	유	유
		dichlorovos		유	유	유
		fenvalerate				
etofenprox						

관찰되었고, 아가미 새박판에서 모세혈관으로 흐르는 혈액이 멎쳐 생긴 심한 혈종 현상이 생기거나, 새박판의 비후증도 관찰되었다(Fig. 1, Table 1, 2, 3).

꼬리지느러미의 경우 잉어에서 중금속을, 붕어와 누치에서 중금속과 매탄올을 제외한 모든 유해화학물질에 의하여 미기조굴근이 용해되어 없어지거나 괴사되었으며, 기막부위에 심한부종과 괴사현상도 관찰되었다(Table 1, 2, 3, Fig. 2). 이는 정상대조군이나 용존산소 부족에 의한 사망어류의 지느러미에서는 관찰할 수 없었던 특징으로서 꼬리지느러미의 기조로부터 근육조직이 완전히 이탈되는 현상은 대부분의 유해화학물질에 의한 부식작용으로 볼 수 있다.

고 찰

여름철에는 수온의 상승이나 식물성 플랑크톤에 의해 수중 용존산소량이 결핍됨으로써 대량의 물고기가 폐사하게 되는 경우가 있다. 자연수계에서 용존산소부족에 의해 사망한 물고기의 아가미는 외관상 충혈되거나, 혈관이 확장되어 새박판의 호흡상피에 부종(edema)이 나타날 수 있고, 혈액의 산성도가 증가하게 되면 출혈가능성도 있다고 알려져 있다.¹²⁾ 그러나 본 연구에서 질소폭기에 의해 용존산소를 구축한 시험수에서 사망한 어류의 아가미에서는 새번이나 새박판에 혈종이나 비후증과 같은 증상은 관찰되지 않았을 뿐만 아니라 조직구조상 대조군과 유사함을 알 수 있었다. 다만 하절기에 환경수계에서 어류폐사사고 발생시 폐사어류는 매우 짧은 시간에 부패가 시작되므로 어류에 대한 조직병리검사를 수행할 시는 죽기전의 어류를 채집하거나 최소한 사망후 3시간 이내에 사망 조직을 고정액으로 보존하여야 올바른 조직소견을 내릴 수 있을 것이다.

유해화학물질로서 합성세제의 기본물질이 되는 직쇄계의 alkylbenzensulfonate (LAS)는 매우 유해하여 0.5 ppm의 농도가 포함된 수중에서 뱀장어를 사육할 경우 아가미 새박판에 심한 부종현상이 나타나거나, 새박판의 상피조직이 이상적으로 증식(hyperplasia, 과형성)됨으로서 호흡면적이 감소되기 때문에 호흡곤란으로 인한 어류폐사 현상이 발생한다고 보고된 바 있고,¹²⁾ 유기인계 살충제로 널리 알려진 다이아지논(diazinon)과 스미치온(MEP)은 고농도일 경우 물고기는 즉시 사망하고, 조직병변현상으로 근섬유세포의 용해 및 괴사,⁷⁾ 아가미의 출혈현상¹¹⁾ 등이 보여진다고

알려져 있다. 중금속이나 농약 등에 노출된 어류의 장기에서는 특이적인 병리현상이 나타나는 것으로 알려져 있다.^{3), 6-8), 13)} 특히, 카드뮴에 노출된 어류의 신장에서는 사구체가 괴사하거나 쭈그러지고, 보수만주머니의 팽창현상 등이¹⁴⁻¹⁶⁾ 나타나며, 농약에 노출된 어류의 간장에서는 괴사소 혹은 공포화 현상이, 신장에서는 사구체의 종대와 핵농축(pycnosis)을 동반하는 세뇨관의 괴사(necrosis)가³⁾ 그리고 소화기관에서는 점액분비기능이 항진되는 것으로 알려져 있다.^{7, 17)} 이와 같이 기 연구에서 유해화학물질에 노출된 어류장기에서 조직 병변현상은 매우 다양하게 관찰 될 뿐만 아니라, 각 장기에 대해 특정 유해화학물질이 특이적으로 반응할 가능성이 높으므로 이를 체계적으로 연구할 경우 폐사원인에 대한 생물학적인 접근 방안을 모색할 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Lacroix G.L., Hood D.J., Belfry C.S. and Rand T.G., Plasma electrolytes, gill aluminum content, and gill morphology of juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) indigenous to acidic streams of Nova Scotia. *Canadian journal of Zoology*, **68**: 1270-1280(1990).
2. Wise M.L., Stiebel C.L. and Grizzle J.M., Acute toxicity of nitrobenzene to channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and goldfish, *Carassius auratus*. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, **38**:42-46(1987).
3. Yokote M., Kimura S., Kumada H. and Matida Y., Effects of some herbicides applied in the forest to the freshwater fishes and other aquatic organisms-IV. Experiments on the assessment of acute and subacute toxicities of 2, 4, 5-T to the rainbow trout. *Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory*, **26**:85-93(1977).
4. Keup L.E., *How to "read" a fish kill*. *Water & Sewage Work*, 48-51(1974).
5. Munoz M.J., Castano A., Blazquez T., Vega M., Carbonell G., Ortiz J.A., Carballo M. and Trazona J.V., Toxicity identification evaluations for the investigation of fish kills: a case study. *Chemosphere*, **29**:55-61(1994).
6. Eller L.L., Histopathologic lesions in cutthroat trout (*Salmo clarki*) exposed chronically to the

- insecticide endrin. *American Journal of Pathology*, **64**:321-336(1971).
7. Groch L. and Svobodova Z., Histopathological changes in fish on intoxication with herbicides containing 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid. *Bulletin VUR11 Vodnany*, **13**:26-30(1977).
 8. Leino R.L., McCormick J.H. and Jensen K.M., Multiple effects of acid and aluminum on brood stock and progeny of fathead minnows, with emphasis on histopathology. *Canadian Journal of Zoology*, **68**:234-244(1990).
 9. Richmond C. and Dutta H.M., Histopathological changes induced by malathion in the gills of bluegill *Lepomis macrochirus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **43**:123-130(1989).
 10. Tung G. and Temple P.J., Histochemical detection of lead in plant tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:906-914(1996).
 11. Jung K.H., Bitton G. and Koopman B., Selective assay for heavy metal toxicity using a fluorogenic substrate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15**:711-714(1996).
 12. 이영순, 허강준, 박재학, 어류병리학, 신광종합출판, 페이지 564(1993).
 13. Onwumere B.G. and Oladimeji A.A., Accumulation of metals and histopathology in *Oreochromis niloticus* exposed to treated NNPC kaduna (Nigeria) petroleum refinery effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **19**:123-134(1990).
 14. Bano Y. and Hasan M., Histopathological lesions in the body organs of cat-fish (*Heteropneustes fossilis*) following mercury. *Journal of Environmental Science and Health* **25**:67-85(1990).
 15. Couillard C.M., Berman R.A. and Panisset J.C., Histopathology of rainbow trout exposed to a bleached kraft pulp mill effluent. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **17**:319-323(1988).
 16. Gill T.S., Pant J.C. and Tewari H., Cadmium nephropathy in a freshwater *Puntius conchonius* Hamilton. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **18**:165-172(1989).
 17. Smith C.E. and Piper R.G., Pathological effects in formalin-treated rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal Fisheries Research Board of Canada*, **29**:328-329(1972).