

# 기아시 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*의 일부 영양 조건에서의 효과 1. 생화학적, 조직학적 변화

이 근 광 · 김 용 호\* · 박 인 석\*\*

나주대학교 환경보호과, \*군산대학교 해양생명양식학과, \*\*군산대학교 해양생명개발학과

## Effect of Starvation on Some Nutritional Parameters in *Rhynchocypris oxycephalus* 1. Characteristics of the histological and biochemical changes

Keun-Kwang Lee, Yong Ho Kim\* and In-Seok Park\*\*

Dept. of Environment Preservation, Naju University, Naju 520-930, Korea

\*Department of Marine Life Aquaculture, Kunsan National University, Kunsan 573-360, Korea

\*\*Department of Marine Life Development, Kunsan National University, Kunsan 573-360, Korea

The influence of nutritional conditions on the histological changes of hepatocyte and intestinal epithelium as well as hepatosomatic index (HSI), protein, RNA and DNA concentrations of liver of *Rhynchocypris oxycephalus* was tested. Although, the starved group showed higher concentrations of protein, DNA and RNA than the fed group, food deprivation resulted in a decrease in the HSI, hepatocyte nucleus size and nuclear height of the intestinal epithelium. The RNA-DNA ratio appears to be a useful index of nutritional status in *R. oxycephalus* and may be useful for determining if *R. oxycephalus* is in a period of rapid or slow growth at the time of sampling. Additionally, the data have been interpreted in detail and some biologically important relationships discussed.

**Key words** : *Rhynchocypris oxycephalus*, HSI, protein, RNA, DNA, fed group, starved group

### 서 론

대부분의 어류들은 계절적으로 월동(wintering), 산란 이동(spawning migration) 혹은 지역적인 먹이 감소로 인해 자연 기아(starvation) 시기를 거치게 된다. 그러나 기아시의 어류는 생화학적 방법, 생리학적 방법 그리고 행동학적 방법으로 기아를 극복하고 견딜 수 있으며, 이때는 생체내 기본 과정인 체내 조직 내의 내생적(endogenous) 축적 에너지의 소모로 유지된다(Weatherley

and Gill, 1987).

어류는 성 성숙 및 섭식량에 따라 간 세포내의 지방, glycogen, 단백질 및 핵산 물질 함량이 계절적으로 변하는 것으로 알려져 있다(Oliverew and Leloup, 1950; Pickford, 1953; Ito *et al.*, 1962). 또한 어류의 체 조직내 RNA-DNA 비는 섭식량과 성장률에 꽤 민감하다고 보고되고 있으며(Haines, 1973; Buckley, 1979b), 단백질 함량, 간중량지수(hapatosomatic index)는 어류에서의 영양 상태와 기아 그리고 성 성숙 상태의 진단을 위해 유용한 바(Buckley 1979a, 1980; Bulow *et al.*, 1981; 정

등, 1991), Mustafa and Mittal (1982)은 기아 시킨 메기 *Clarias batrachus*의 간과 뇌에서 단백질, RNA, DNA 수준을 비교 조사한 결과 간중량지수, 단백질 함량 및 RNA-DNA 비는 감소하였다고 보고하였다. 또한 중장 상피(midgut epithelia) 세포의 높이 측정은 영양 상태의 파악에 유용하며 (Ehrlich *et al.*, 1976), 간세포 핵 (hepatocyte nucleus) 크기 조사 역시 영양 상태와 기아 정도의 진단에 유용하여 pijerry *Odontesthes bonariensis* (Strüssmann and Takashima, 1989) 및 점농어 *Lateolabrax sp.*와 조피볼락 *Sebastes schlegeli* (박 등, 1998c)에서 내생적 영양 상태에서 외생적 영양 상태로의 파악을 가능케 한 바 있다.

버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*는 잉어 과 (Cyprinidae), 황어 아과 (Leuciscinae)에 속하며 국내에서는 서해안과 남해안의 하천계 지류와 산간 계곡에 서식한다 (민과 양, 1986; 김, 1997; 박 등, 1998a). 본 연구는 어류에서 인위적 기아시의 변화 항목 파악 및 이들의 연관성을 조사하기 위하여, 버들치를 대상으로 기아시 간중량지수 조사와 아울러 간의 단백질 함량, RNA-DNA 비, 간 세포 핵 크기, 중장 상피 세포 핵 크기 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

군산대학교 해양자원육성학과 유전육종학 사육실에서 3대째 사육중인 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*로부터 종묘 생산된 2년산 버들치를 실험에 사용하였다. 사용한 어체의 평균 체장, 평균 체중은 각각  $5.46 \pm 0.10$  cm,  $3.54 \pm 0.74$  g이었다. 포식군 (fed group)과 기아군 (starved group)으로 버들치 80마리를 각각 사용하였다. 실험은 1997년 10월초에 실시하였으며, 실험 시작시 포식군과 기아군에서 각 20마리 씩을 표본하였으며, 실험 후 3주, 6주 및 기아군의 활력이 떨어지는 시기인 실험 후 9주에 포식군과 기아군에서 각각 20마리 씩을 표본하였다. 포식군은 성분 및 성분 조성이 조단백 43.0% 이상, 조지방 3.0% 이상, 조섬유 5.0% 이상, 조회분 18.0% 이상, 칼슘 0.8% 이상, 인 1.8% 이하인 어린 잉어용 배합 사료 2호 (우성사료, 한국)를 매일 오전 10시와 오후 4시에 충분히 공급하였고 기아군은 절식시켰다. 기아 실험 중 사육 수온은  $15 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. 표본시 포식군은 표본 하루전에 절식시킨 후 표본하였다.

### 1. 간 단백질 정량 분석 및 핵산의 정량 분석

버들치 포식군과 기아군에서 각각 20마리를 표본 후 즉시, 박 등 (1998b)의 방법으로 염산리도카인/ $\text{NaHCO}_3$

로 마취 후 복부를 절개하였으며, 각 개체의 간 조직을 1g 채취하여 동량의 인산완충액 (pH 7.0)과 혼합하고, 유리 균질기로  $4^\circ\text{C}$ 에서 균질화하였다. 균질화된 간 세포 조직을 초음파 분쇄기 (Braun-sonic 1510, Japan)를 사용하여 200W에서 30초 조건으로 15~20회 실시하여 세포를 완전히 파쇄하였으며,  $3,000 \times g$ 로 10분간 원심 분리 후 상등액을 취하여 실험에 사용하였다. 단백질 정량은 Lowery *et al.* (1951)의 방법으로 실시하였으며, 0.01% bovine serum albumin을 표준 단백질로 사용하여 그 흡광도를 측정하여 작성된 표준 곡선과 비교하여 그 함량을 계산하였다. 흡광도 측정은 spectrophotometer (UV-120-02 Shimadzu, Japan)를 이용하여 660 nm에서 측정하였다. 핵산의 정량 분석을 위해 RNA량은 Schneider (1957)의 방법에 의해 측정하였으며, DNA량은 Dische (1955)의 방법에 의해 측정하였다.

### 2. 간중량지수 조사와 간 세포 핵 크기 및 중장 상피 세포 핵 높이 조사

각 표본 일수에 따라 표본된 포식군과 기아군의 각 개체 복부를 절개한 다음 간과 생식소를 적출하였으며, 간중량지수는 (간 중량/체 중량)  $\times 100$ 의 식으로 계산하였다. 간 세포 핵 크기 및 중장 상피 세포 핵 높이 변화를 조사하기 위해 포식군과 기아군을 대상으로 각 표본시 각각 20마리로 부터의 간과 중장 (midgut)을 10% 중성포르말린으로 고정하였다. 고정된 간과 중장은 Bouin 용액에 재 고정하였고, 이후 평상의 paraffin 절편법으로 처리하였다. 각 조직은  $6 \mu\text{m}$  두께의 절편을 만들어 Herring's hematoxyline과 eosin-phloxine B로 염색하였다. 포식군과 기아군을 대상으로 각 개체당 10~40개의 간 세포 핵 및 중장 상피 세포 핵을  $1,000 \times$  배율의 생물현미경 (Axioskop, Zeiss, Germany) 하에서 관찰하였으며, 간 세포 핵은 장경 (a), 단경 (b)을, 중장 상피 세포 핵은 높이를 각각  $\mu\text{m}$ 단위로 측정하였다. 간 세포 핵의 표면적 (S)은  $ab\pi/4$  (박 등, 1998b)로 계산하였다.

아울러 포식군과 기아군의 간 세포 그리고 포식군과 기아군의 중장 세포를 대상으로  $1,000 \times$  배율의 생물현미경 하에서 각각 사진 촬영하였다.

### 3. 통계 분석 및 해부학적 조사

실험 결과 자료의 통계 분석을 위해 student t-test 혹은 Duncan's multiple range test를 실시하였다. 실험 시작 후 9주에, 포식군과 기아군을 대상으로 표본 즉시 복부를 절개한 다음 해부학적 관찰을 실시하였다. 관찰 후 copy stand 하에서 사진 촬영하였다.

결과 및 고찰

어류를 대상으로한 기아 연구는, 자연 상태에서의 대상 어류 영양 상태 파악 그리고 성장 연구를 가능케 하므로 중요시 되고 있으며, 어류는 이러한 기아시 체중에 대비한 조직들의 상대 무게 변화, 체 조직의 생화학적 조성 변화 그리고 체 조직의 조직학적 변화를 수반한다 (Love, 1980; Weatherley and Gill, 1987). 실험 9주간 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus* 포식군과 기아군에서 사망은 나타나지 않았다. 기아 일수 경과에 따른 버들치 간 조직 세포내 단백질 함량 변화를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 실험 시작시 포식군의 간 조직 세포내 단백질 함량은  $28.95 \pm 0.03$  mg/g이었으며, 포식 3주후는  $30.92 \pm 0.28$  mg/g, 포식 6주후는  $34.92 \pm 0.60$  mg/g, 포식 9주후는  $22.55 \pm 0.50$  mg/g으로 포식 6주째까지는 단백질 함량이 증가하였으나 포식 9주후부터는 감소 현상으로 나타났다. 또한 기아군인 경우 실험 시작시의 단백질 함량은  $27.89 \pm 0.29$  mg/g이었으며, 기아 3주후는  $63.20 \pm 0.37$  mg/g, 6주후는  $82.74 \pm 0.22$  mg/g, 9주후는  $79.89 \pm 0.19$  mg/g으로 포식군과는 변화 경향이 유사하였으나 해당 단백질 함량이 높게 나타났다.

포식군과 기아군에서 공통적으로 실험 9주후에 단백질 함량이 감소하는 원인은, 본 연구 수행중 사육실 사육 조건 하에서 이루어진 성 성숙에 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되어진다. 또한 기아군에 비해 포식군의 단백질 함량이 낮게 나타나는 원인은 포식군 간 조직에 지방질 축적으로 인해, 단위 간 중량당 간 세포 수의 상대적인 감소에 기인된 것으로 생각되어진다. 반면, 기아군은 기아가 진행될수록 간 조직 세포내에 존재하는 지방을 에너지 대사에 소모하여 간 세포 조직내 세포질이 줄어들었으며, 이로 인해 간 조직 정량시 간 중량당 간

세포는 상대적으로 숫자가 증가하여, 포식군에 비해 단백질 함량에 있어 크게 나타나는 것으로 생각된다.

기아에 따른 영양성분 조사 결과로는 박 등(1995a, b)이 미꾸라지 *Misgurnus mizolepis*와 쟁쟁어 *Boleophthalmus pectinirostris*를 대상으로 동면 시기별 근육 성분 분포 및 조직학적 조사 결과, 동면 직후에는 근육 성분을 구성하고 있는 영양 성분이 동면 전보다 낮게 나타났다. 조직의 구성 역시 동면 직후에는 동면 전보다 근육의 지방질 염색 반응이 다소 약하게 나타나는 것으로 보아 동면시기 즉, 기아 시기에 이들 어류들도 근육 조직내에 축적된 지방을 에너지원으로 사용하고 있는 것으로 보고한 바 있다. 또한 Mustafa and Mittal (1982)는 메기 *Clarias batrachus*의 간 조직을 대상으로 단백질 함량을 조사한 바, 기아 개체와 먹이를 공급한 개체의 간 조직 내 단백질 함량은 먹이를 공급한 개체가 기아 개체에 비해 높았으며, 또한 이러한 결과는 먹이 공급원에 함유된 단백질 함량에 따라 변한다고 하였다. 아울러 간 세포의 RNA 량 역시 먹이 공급원의 단백질 함량에 의해 결정되는 바, 이러한 결과는 단백질이 없는 먹이 공급이나 완전한 기아시 RNA 량에서의 감소 효과로 나타나고 있다 (Brachet, 1955). 역시 Bouche *et al.* (1970)은 잉어 *Cyprinus carpio*의 간 조직에서 단백질 함량과 RNA 량의 감소는, 절식에 의한 기아시 이루어진다고 보고한 바 있다.

포식군과 기아군의 간 조직 세포내 핵산(DNA, RNA) 량의 변화를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 포식군에서는 단위 간조직 g당 DNA 량은 실험 시작시는  $1.63 \pm 0.01$  mg/g이었으나 포식 일수의 경과에 따라 포식 3주후에  $1.65 \pm 0.01$  mg/g, 포식 6주후에  $1.76 \pm 0.04$  mg/g, 포식 9주후에  $1.60 \pm 0.02$  mg/g이었다. 반면 기아군에서의 DNA 량은 실험 시작시는  $1.63 \pm 0.02$  mg/g로 포식군과 유사하였으나 기아 3주후에  $57.92 \pm 0.01$  mg/g, 기아 6주

Table 1. The change in protein and nucleic acid (total DNA and RNA) contents in the liver tissues of fed group and starved group of *Rhynchocypris oxycephalus*

	Experiment period (weeks)	Protein	DNA	RNA	RNA-DNA ratio
Fed group (mg/g)*	0	$28.95 \pm 0.03^c$	$1.63 \pm 0.01^c$	$5.66 \pm 0.02^c$	3.47
	3	$30.92 \pm 0.28^b$	$1.65 \pm 0.01^b$	$6.75 \pm 0.01^b$	4.09
	6	$34.92 \pm 0.60^a$	$1.76 \pm 0.04^a$	$7.31 \pm 0.02^a$	4.20
	9	$22.55 \pm 0.50^d$	$1.60 \pm 0.02^d$	$5.51 \pm 0.06^d$	3.44
Starved group (mg/g)*	0	$27.89 \pm 0.29^d$	$1.63 \pm 0.02^d$	$5.55 \pm 0.04^d$	3.40
	3	$63.20 \pm 0.37^c$	$57.92 \pm 0.01^c$	$80.33 \pm 0.02^c$	1.39
	6	$82.74 \pm 0.22^a$	$98.17 \pm 0.02^a$	$142.79 \pm 0.08^a$	1.45
	9	$79.89 \pm 0.19^b$	$78.43 \pm 0.01^b$	$109.19 \pm 0.12^b$	1.39

\* : Means  $\pm$  SD., means with the same lettered superscripts in a column are not significant at the 5% level by Duncan's multiple range test.

후에  $98.17 \pm 0.02$  mg/g, 기아 9주후에  $78.43 \pm 0.01$  mg/g으로 나타나 DNA 량에 있어 포식군은 기아군에 비해 높은 값을 보였다. 이러한 결과는 앞서 단백질 함량 결과에서 언급했던 것처럼, 간 조직내 지방 함량과 단위 간 조직 g당 세포 숫자에 기인된 것으로 사료된다.

또한 RNA 량 변화에 있어서 포식군은 실험 시작시  $5.66 \pm 0.02$  mg/g이었으나 포식 3주후에  $6.75 \pm 0.01$  mg/g, 포식 6주후에  $7.31 \pm 0.02$  mg/g, 포식 9주후에  $5.51 \pm 0.06$  mg/g이었다(Table 1). 반면, 기아군에서의 RNA 량은 실험 시작시는  $5.55 \pm 0.04$  mg/g로 포식군과 유사하였으나 기아 3주후에  $80.33 \pm 0.02$  mg/g, 기아 6주후에  $142.79 \pm 0.08$  mg/g, 기아 9주후에  $109.19 \pm 0.12$  mg/g으로 역시 DNA 량 조사 결과와 비슷한 경향을 나타내었다(Table 1). 이러한 결과는 포식 개체에 비해 기아 개체의 간 세포 단위 무게당 많은 간 세포에 기인된 것으로 생각되며 즉, 이것은 어류 기아시 단백질, 지방, 탄수화물과 같은 세포간 구성물질의 활발한 이화작용으로 인해 세포간 물질의 양이 줄어들고 또한 세포 개개의 무게가 감소되는 반면, 간 단위 무게당 간 세포 숫자는 오히려 증가함으로써 간 단위 무게당 단백질 함량, DNA 량 및 RNA 량이 증가된 것임을 시사한다. 만약, 간 세포 수 측정에 의한 세포 개개당 단백질 및 핵산 량이 측정된다면, 이러한 단백질 함량 및 핵산 량은 기아 일수가 연장될수록 감소될 것으로 사료된다. 포식군과 기아군을 대상으로한 단백질 함량, DNA 량 및 RNA 량의 유의성 검정 분석 결과 5% 수준에서 유의성이 인정되었으며, 이와 유사한 결과는 Mustafa and Mittal (1982)가 이미 절식시킨 메기의 간 조직에서 확인한 바 있다.

포식군과 기아군의 간 조직 세포내 RNA-DNA 비율 조사한 결과는 Table 1과 같다. RNA-DNA 비에서 포식군은 실험 시작시 3.47로 나타났으며, 실험 기간중 최대치 4.20을 나타내며 안정적이었다. 기아군의 RNA-DNA 비는 실험 시작시 3.40로 포식군의 RNA-DNA 비와 유사한 반면, 기아 후 3주~9주에 1.39~1.45의 RNA-DNA 비를 나타내었다. 비록 기아군은 포식군에 비해 실험 기간중 간 세포 수 감소에 기인되어 낮은 단백질 함량, DNA 량 및 RNA 량을 보였지만, 포식군의 RNA-

DNA 비는 기아군의 RNA-DNA 비에 비해 높게 나타나 포식군은 기아군에 비해 단위 DNA 량당 RNA의 합성 즉, 단백질 합성이 활발히 이루어짐을 알 수 있었다. RNA 량 조사는 RNA가 단백질 합성의 전구물이므로 개체의 성장을 판별할 수 있는 민감한 측정법이며(Bulow, 1970), DNA 량은 환경 조건 변화에도 일정하므로 세포수를 나타내는 지수로 사용된다(Dortch *et al.*, 1983). 그러므로 RNA-DNA 비 파악은, RNA-DNA 비가 조직내 세포의 수와 크기에 영향을 받지 않으므로, RNA 량 단독 조사만으로 물질대사 활성을 파악하는 것보다 더욱 정확한 방법이다(Haines, 1973).

실험 기간중 버들치 포식군과 기아군의 간중량지수 변화는 Table 2와 같다. 포식군에서의 간중량지수 평균값은 실험 시작시  $3.75 \pm 0.35$ 이었으나, 포식 3주후 ( $3.94 \pm 0.41$ )와 포식 6주후( $3.93 \pm 0.39$ )에 다소 증가후 포식 9주후에는  $3.86 \pm 0.37$ 로 다소 감소하였다. 이는 포식 6주째 부터 암컷인 경우 일부 난소 성숙 상태이며, 포식 9주후에는 일부 방란한 상태로, 정 등(1991)이 쟁쟁어의 난소 발달 단계에 따라 간중량지수의 변화를 보고한 바와 같이, 생식소 발달과 연관된 간중량지수로 생각되어진다. 반면 기아군의 간중량지수는 실험 시작시  $3.76 \pm 0.37$ 이었으나, 기아 3주후에는  $0.84 \pm 0.29$ 로 현저히 줄어들었으며 기아 6주후에는  $0.49 \pm 0.07$ , 기아 9주후에는  $0.49 \pm 0.25$ 로 간중량지수가 아주 낮으며 거의 일정하게 나타났다. 이와 같이 기아군에서 기아후 3주부터 낮은 간중량지수를 보이는 이유는, 어체가 기아로 인한 영양물 섭취 결핍으로 간세포 내의 지방질을 분해하여 에너지원으로의 사용이 한계점에 도달한 원인에 기인한 것으로 사료된다. 또다른 원인으로는 포식군에서의 결과와 마찬가지로, 기아 6주째에 난소에는 일부 포란되어 있었다는 점에서 추론해 볼 때, 간 세포내의 영양물질이 생식에 이용된 것과도 관련이 있을 것으로 추측된다. 더욱이 기아군은 기아 실험 과정에서 특히 담낭이 커졌는 바, 이러한 점으로 미루어보아 기아 개체는 간 세포 내에 존재하는 지방 성분을 분해하여 생존을 위한 에너지원으로 이용함으로써 인해 간중량지수의 감소가 동반되었을 것이라는 측면도 무시할 수는 없다. 이러한 측

**Table 2.** The change of hepatosomatic index in fed and starved groups of *Rhynchocypris oxycephalus*

		Experiment period (weeks)			
		0	3	6	9
Hepatosomatic index (Means $\pm$ SD)	Fed group	$3.75 \pm 0.35$	$3.94 \pm 0.41$	$3.93 \pm 0.39$	$3.86 \pm 0.37$
	Starved group	$3.76 \pm 0.37$	$0.84 \pm 0.29$	$0.49 \pm 0.07$	$0.49 \pm 0.25$
t-test		*	NS	NS	NS

\*: Denotes significant at P=0.05; NS: denotes not significant at P=0.05.

**Fig. 1.** Histological appearance of hepatocytes of (a) fish fed for 9 weeks and (b) fish starved for 9 weeks, and middle intestinal epithelium of (c) fish fed for 9 weeks and (d) fish starved for 9 weeks. Bars represent 10  $\mu\text{m}$ . Note the reduction in hepatocyte nuclear size (\*) and height of middle intestinal epithelium (\*).

면을 확인할 수 있는 연구로, Mustafa and Mittal (1982)는 메기에서 일정 기간 기아시킨 군에서는 간중량지수는 감소했으나 먹이 공급을 다시한 후에는 어체 무게 뿐만 아니라 간중량지수 역시 증가하였다고 보고한 바 있다.

포식군의 실험 시작시의 간 세포 핵 표면적은  $16.93 \pm 0.92 \mu\text{m}^2$ 으로, 이러한 간 세포 핵 표면적은 포식 후 3주에  $17.65 \pm 0.11 \mu\text{m}^2$ , 포식 후 6주에  $16.59 \pm 0.89 \mu\text{m}^2$ ,

포식 후 9주에  $17.67 \pm 0.93 \mu\text{m}^2$ 으로 큰 변화가 없었다 (Table 3). Fig. 1-a는 포식 후 9주의 간 세포 조직상으로 간 세포 및 핵이 비대화 되었으며 간 세포내에는 지방질이 많이 함유되어 있었다. 기아군의 실험 시작시의 간 세포 핵 표면적은 기아 실험 시작시의 포식군 간 세포 핵 표면적과 유사하게 나타나  $16.58 \pm 0.90 \mu\text{m}^2$ 이었다 (Table 3, Fig. 2-a). 그러나 기아 기간이 경과될수록 이러한 간 세포 핵 표면적은 점진적으로 작아져 기아 후

**Table 3.** The change of hepatocyte nuclear area and intestinal epithelium height in fed and starved groups of *Rhynchocypris oxycephalus*

		Experiment period (weeks)			
		0	3	6	9
Hepatocyte nuclear area ( $\mu\text{m}^2$ )* <sup>1</sup>	Fed group	16.93±0.92	17.65±0.11* <sup>3</sup>	16.59±0.89* <sup>3</sup>	17.67±0.93* <sup>3</sup>
	Starved group	16.58±0.90	14.45±0.67* <sup>3</sup>	13.49±0.76* <sup>3</sup>	11.00±0.88* <sup>3</sup>
Nuclear height of intestinal epithelium ( $\mu\text{m}$ )* <sup>1</sup>	Fed group	8.67±0.31	8.69±0.29* <sup>2</sup>	8.73±0.30* <sup>3</sup>	8.70±0.32* <sup>3</sup>
	Starved group	8.68±0.28	7.93±0.31* <sup>2</sup>	6.73±0.30* <sup>3</sup>	6.17±0.35* <sup>3</sup>

\*1: Means ±SD, \*2: Denotes significant at P=0.05, \*3: Denotes significant at P=0.01.

3주에  $14.45 \pm 0.67 \mu\text{m}^2$ , 기아후 6주에  $13.49 \pm 0.76 \mu\text{m}^2$ , 기아후 9주에  $11.00 \pm 0.88 \mu\text{m}^2$ 이었다(Table 3, Fig. 2-a). Fig. 1-b는 기아 후 9주의 간 세포 조직상으로, 간 세포 및 핵 크기가 Fig. 1-a의 포식 후 9주의 간 세포 및 핵에 비해 작았으며 간 세포의 밀도가 조밀하였다. 조피볼락 *Sebastes schlegeli* 자어와 점농어 *Lateolabrax* sp. 자어, 그리고 붉바리 *Epinephelus akaaka*에서 첫 먹이 섭취 시기에서 기아시 본 연구 결과와 같은 간 세포 변화 경향이 관찰되었다(박 등, 1998c; 이 등, 1998). 아울러 기아시 간 세포의 미세 구조가 잉어(Gas, 1973), 금붕어 *Carassius auratus* (Yamamoto, 1964) 및 미국장어 *Anguilla rostrata* (Moon, 1983)에서 보고되었는 바, 일반적으로 간 세포 핵 크기가 축소되었으며 잉어인 경우 기아 초기에 우선 활면소포체의 수화(hydration)가 동반되었고 이후 간 세포 조밀화가 일어난 바 있다(Gas and Serfaty, 1972).

포식군의 실험 시작시 점액 세포인 중장 상피 세포 핵 높이는  $8.67 \pm 0.31 \mu\text{m}$ 으로, 이러한 중장 상피 세포 핵 높이는 포식 후 3주에  $8.69 \pm 0.29 \mu\text{m}$ , 포식 후 6주에  $8.73 \pm 0.30 \mu\text{m}$ , 포식 후 9주에  $8.70 \pm 0.32 \mu\text{m}$ 로 큰 변화가 없었다(Table 3). Fig. 1-c는 포식 후 9주의 중장 상피 세포의 조직상으로 중장 상피 세포 크기 및 핵 높이가 컸고, 중장 상피 세포의 밀도가 조밀하게 나타남과 아울러 큰 공포(vacuole)가 다소 존재하였다. 기아군의 실험 시작시의 중장 상피 세포 핵 높이는 기아 실험 시작시의 포식군 중장 상피 세포 핵 높이와 유사하게 나타나  $8.68 \pm 0.28 \mu\text{m}$ 이었다(Table 3, Fig. 2-b). 그러나 기아 기간이 경과될수록 이러한 중장 상피 세포 핵 높이는 점진적으로 작아져, 기아후 3주에  $7.93 \pm 0.31 \mu\text{m}$ , 기아후 6주에  $6.73 \pm 0.28 \mu\text{m}$ , 기아후 9주에  $6.17 \pm 0.35 \mu\text{m}$ 이었다(Table 3, Fig. 2-b). Fig. 1-d는 기아후 9주의 중장 상피 세포 조직상으로, 중장 상피 세포 크기 및 핵 높이가 Fig. 1-c의 포식후 9주의 중장 상피 세포 크기

**Fig. 2.** Frequency distribution of (a) hepatocyte nuclear areas and (b) middle intestinal epithelium heights from the same individuals depicted in Fig. 1. Nuclear areas and middle intestinal epithelium heights from two replicate photographs of each individual were pooled and grouped in  $1\text{-}\mu\text{m}^2$  area classes and  $1\text{-}\mu\text{m}$  length classes, respectively.

및 핵 높이에 비해 작았으며, 중장 상피 세포의 밀도가 희박하게 나타났다. 이와 같이 기아시 조직학적 변화가 중장 상피 세포, 표피 및 근육 섬유에서 나타난 바 있으

**Fig. 3.** External and internal morphology of (a) fed and (b) starved *Rhynchocypris oxycephalus*. Note the enlarged liver of fed group (arrow).

며, 기아시 killfish *Fundulus heterelitus*의 장과 직장에서 상피 세포 및 핵의 밀도와 분포 변화가 본 연구 결과와 같이 나타난 바 있고 아울러 고밀도의 공포가 관찰된 바 있다(Pickford, 1953).

실험 시작 9주후에 포식군과 기아군의 표본을 대상으로 각각 복부를 절개하여 내부 장기를 육안으로 관찰한 결과, 포식군의 간은 그 크기가 커졌으며 간의 색깔은 황갈색으로 나타났다. 또한 간 주변은 복강 지방이 현저히 축적되었고 많은 지방 축적으로 인해 간은 지방간화가 진행되었다(Fig. 3-a). 반면 기아군의 간은 정상적인 선홍색이었으며, 간의 크기는 현저하게 줄어들어 그 크기가 아주 작아진 데 반해, 담낭의 크기는 진한 초록색으로 크기가 크게 증가하였다(Fig. 3-b). 이렇게 기아군에서의 담낭이 커진 결과는, 기아시 담낭내 담즙산염이 간 지방질을 유화하여 장에서 흡수케하여 대사활동에 필요한 에너지 전환을 이루지 못한 보상으로 나타난 현상으로 사료되나 차후, 이와 관련된 연구가 필요시 된다. 아울러 차후 기아시 성 성숙과 간 세포수를 고려한 본 연구에서 다룬 실험 항목들에 대한 면밀한 검토가 요구되며, 기아시 영양에 관련된 화학적 조성, 혈액내 hormone 농도 변화 양상에 관한 연구도 필요하리라 사료된다.

**적 요**

기아에 따른 버들치 *Rhynchocypris oxycephalus*의 생화학적, 조직학적 변화를 파악하기 위해, 간의 간중량지

수, 단백질 함량, RNA 량 및 DNA 량 조사와 더불어 간 세포 및 중장 상피 세포의 조직학적 조사를 실시하였다. 기아군은 포식군에 비해 간의 단백질 함량, RNA 량 및 DNA 량에서 높은 값을 보였지만, 먹이 공급 중단은 간 중량지수, 간 세포 핵 크기 및 중장 상피 세포 핵 높이에 있어서 감소를 나타내었다. 본 실험에서 조사된 RNA-DNA 비는 버들치의 영양 상태 파악 지수로 유용하였으며 또한, 버들치 표본 시기에서의 높은 성장 단계인지 혹은 낮은 성장 단계인지의 성장 활성 파악을 가능케하였다. 본 연구 결과의 자료를 구체적으로 해석하였으며, 아울러 다수의 생물학적 중요 연관 사항들을 고찰하였다.

**사 사**

본 연구 수행시 표본의 처리 및 논문 작성시 type-writing으로 도움을 준 군산대학교 해양자원육성학과 임재현님과 김정혜님께 감사드립니다. 아울러 본 논문을 세심하게 심사, 수정하여 주신 심사자들께도 감사를 드립니다. 본 연구는 한국학술진흥재단 지원하에 이루어진 '98 과학기술기초중점 연구과제(과제번호 1998-023-H00010)의 결과 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

**인 용 문 헌**

Bouche, G., Y. Creach and N. Gas. 1970. Fasting and re-nutrition of carp (*Cyprinus carpio* L.). I. Influence on the

- nucleic acids of liver. Arch. Sci. Physiol., 24 : 243~251.
- Brachet, J. 1955. The biological role of the pentose nucleic acids. The Nucleic Acids, Chemistry and Biology, Vol. 2. In: Chargaff E. and J.N. Davidson (eds.), Academic Press, New York, 576 pp.
- Buckly, L.J. 1979a. Biochemical changes during ontogenesis of cod (*Gadus morhua* L.) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae. In: Symposium on the Early Life History of Fish. Woods Hole, Massachusetts, U.S.A., April 1979. ICES/ELH Symp./SD, 1027 pp. (Mimeo.)
- Buckley, L.J. 1979b. Relationships between RNA-DNA ratio, prey density, and growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. J. Fish. Res. Bd. Can., 36 : 1497~1502.
- Buckley, L.J. 1980. Changes in ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid and protein content during ontogenesis in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, and the effect of starvation. Fish. Bull., 77 : 703~708.
- Bulow, F.J. 1970. RNA-DNA ratios as indicators of recent growth rates of a fish. J. Fish. Res. Bd. Can., 27 : 2343~2349.
- Bulow, F.J., M.E. Zeman, J.R. Winningham and W.F. Hudson. 1981. Seasonal variations in RNA-DNA ratios and in the indicators of feeding, reproduction, energy storage and condition in a population of bluegill, *Lepomis macrochirus* Rafinesque. J. Fish. Biol., 18 : 237~244.
- Dische, Z. 1955. The nucleic acids. Academic Press, New York, pp. 140~149.
- Dortch, Q., T.L. Roberts, J.R. Clayton and S.I. Ahmed. 1983. RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic marine organisms. Mar. Ecol.-Prog. Ser., 13 : 61~71.
- Ehrlich, K.F., J.H.S. Blaxter and R. Pemberton. 1976. Morphological and histological changes during the growth and starvation of herring and plaice larvae. Mar. Biol., 35 : 105~118.
- Gas, N. 1973. Cytophysiology of the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). II. Modes of alteration of the ultrastructures during prolonged experimental starvation. J. Physiol. (Paris), 66 : 283~302.
- Gas, N. and A. Serfaty. 1972. Cytophysiology of the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). Consecutive modifications to the ultrastructure during maintenance of conditions of winter starvation. J. Physiol. (Paris), 64 : 57~67.
- Haines, T.A. 1973. An evaluation of RNA-DNA ratio as a measure of long-term growth in fish populations. J. Fish. Res. Bd. Can., 30 : 195~199.
- Ito, T., A. Watanabe and Y. Takahshi. 1962. Histologische und cytologische untersuchungen der leber bei fisch und cyclostoma, nebst bemerkungen uber die fettspeicherung-zellen. Arch. Histol. Jap., 22 : 429~463.
- Love, R.M. 1980. The chemical biology of fishes. Vol. 2, Academic Press, London and New York, pp. 50~75.
- Lowery, O.H., J.N. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 103 : 265~275.
- Moon, T.W. 1983. Changes in tissue ion contents and ultrastructure of food-deprived immature American eels, *Anguilla rostrata* (LeSueur). Can. J. Zool., 61 : 812~821.
- Mustafa, S. and A. Mittal. 1982. Protein, RNA and DNA levels in liver and brain of starved catfish, *Clarias batrachus*. J. Ichthyol., 28 : 396~400.
- Oliverew, M. and J. Leloup. 1950. Variations du rapport hepatomatique chez la rousseye (*Scyllium canicula* L.) au cours de development et la reproduction. Vie et Milieu, 1 : 377~420.
- Pickford, C.E. 1953. A study of the hypophysectomized male killfish, *Fundulus heteroclitus* (Linn.). Bull. Bingham Oceanogr. Coll., 14 : 5~41.
- Schneider, W.C. 1957. Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. Methods in Enzymology. Vol. 3. In: Colowick S.P. and N.O. Kaplan (eds.), Academic Press, New York, 1154 pp.
- Strüssmann, C.A. and F. Takashima. 1989. PNR, histology and morphometry of starved pejerrey *Odontesthes bonariensis* larvae. Nippon Suisan Gakkaishi, 55 : 237~246.
- Weatherley, A.H. and H.S. Gill. 1987. The biology of fish growth. 4. Protein, lipid and caloric contents. Academic Press, London, pp. 139~146.
- Yamamoto, T. 1964. Some observations on the fine structure of the liver cells in the starved goldfish (*Carassius auratus*), with special reference to the morphology of fat mobilization during starvation to the liver. Arch. Histol. Jap., 24 : 335~345.
- 김익수. 1997. 한국동식물도감, 제 37권 동물편 (담수어류). 교 육부, pp. 257~261.
- 민미숙 · 양서영. 1986. 한국산 버들치속 어류 2종의 분류 · 분포 및 지리적 변이에 관하여. 한국동물학회지, 2 : 63~78.
- 박인석 · 김정혜 · 방인철 · 김동수. 1998a. 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus* 초기 생식소 발달과 성분화에 관한 조직학적 연구. 발생과 생식, 2 : 69~74.
- 박인석 · 김정혜 · 정방방 · 임재현. 1998b. 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus*와 버들개, *R. steindachneri*에 대한 리도카인의 마취 효과. 한국양식학회지, 11 : 59~66.
- 박인석 · 이창규 · 임재현 · 김정혜 · 김선웅. 1998c. 조피볼락



*Sebastes schlegeli*과 점농어 *Lateolabrax* sp. 자어의 기아시 성장 및 간세포 핵 크기 변화. 한국양식학회지, 11: 345~352.

박일웅·홍재식·이근광·김명곤·김종배·강귀환. 1995a.

동면어류의 시기별 근육성분 분포에 관한 조직학적 관찰.

1. 미꾸라지 (*Misgurnus mizolepis*) 근육조직중 탄수화물, 단백질 및 지방산 분포의 변화. 한국어류학회지, 7: 187~194.

박일웅·홍재식·이근광·김종배·강귀환·김현욱. 1995b.

동면어류의 시기별 근육성분 분포에 관한 조직학적 관찰. 2. 쟁쟁어 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 근육조직중 탄수화물, 단백질 및 지방질 분포의 변화. 한국어류학회지, 7: 195~202.

이창규·박인석·허성범. 1998. 기아시 붉바리 자어의 간세포 핵 변화. 한국양식학회지, 11: 11~17.

정의영·이근광·오영남. 1991. 자성쟁쟁어의 난소 발달단계에 따른 간세포의 활성변화 및 간조직의 단백질, 핵산함량에 관한 연구. 한국어류학회지, 3: 48~57.

Received December 30, 1998

Accepted May 21, 1999