

저온처리에 의한 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus* 척주 기형

박 인 석

군산대학교 해양생명과학부

저온 처리에 의한 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus*에서의 척주 기형을 발견하였다. 외형적으로 기형의 기형 위치는 미병 부위이었다. 이런 기형에 대한 x-ray 사진 조사 및 조직학적 조사 결과 기형을 확인할 수 있었으며 특히, 조직학적 조사시 기형은 미네랄화된 조직의 내적작용에 기인되어 척주 관절의 광범위한 융합을 나타내었다. 본 연구 결과, 저온 처리가 버들치에서 내적으로 척주 융합을 일으킨다는 직접적인 증거를 보여주었다.

Key words : Cold shock, *Rhynchocypris oxycephalus*, Deformed vertebrae

어류에서의 척주 기형(deformity)은 척주의 국소적인 종양 혹은 감염 및 물리적인 손상에 의해 야기되며, 아울러 부레 발달과의 관계, 초기먹이 영양 결핍등에 의해 야기되기도 한다(Officer *et al.*, 1995). 이와같은 척주 기형은 외형적으로 만곡(curvature)되어 나타나며 이러한 만곡의 종류로는 어체의 배쪽으로 만곡되는 척주전만(lordosis), 어체의 등쪽으로 만곡되는 척주후만(kyphosis)과 어체의 좌·우측면으로 만곡되는 척주측만(scoliosis)으로 구분되며, 더욱이 이러한 만곡은 골형성 조직의 증식을 동반하여 척주 골 조직의 형태는 불완전하고 불규칙적이 된다(Hibiya, 1982). School shark, *Galeorhinus galeu*에서 이러한 척주 기형이 자연발생으로 발견 되었는바, 척주 꼬리부분에서 미네랄화된 조직의 상실이 척주 기형을 유발한다고 보고한 바 있으며(Officer *et al.*, 1995), large shark인 경우 척주 기형은 척주 중심체에서의 석회질화된 물질의 부식(침식)과 여분의 침적, 융합에 기인된다고 설명한 바 있다(Hoenig and Walsh, 1983). 현재까지 어류를 대상으로한 기형에 관한 중점적인 연구 대상은 기형을 일으키는 원인들, 그리고 어떠한 기작으로 이러한 기형이 유발되며, 또한 어떠한 반응과정을 거쳐 기형이 정상 개체로 회복되는가 하는 문제들이다(Officer *et al.*, 1995).

버들치, *Rhynchocypris oxycephalus*는 분류학상 잉어목(Cypriniformes)의 잉어과(Cyprinidae)에 속

하며 동아시아 지역에 널리 분포하고 있고, 우리나라인 경우 서해안과 남해안으로 흐르는 하천계 지류 및 산간 계곡에 서식하며 식성은 잡식성이다(김, 1997). 본 연구는 현재까지의 어류 척주 기형에 관한 연구 상황을 고려, 어류 척주 기형 유발원의 파악 및 나타난 척주 기형 유형과 연골조직의 존재 양상을 규명하기 위하여, 현재까지 사육 및 양식생물학적 연구가 다수 이루어진 버들치(박 등, 1998; Park *et al.*, 1999; 박 등, 2000)를 대상으로 인위적인 저온 처리에 의한 효과를 조사하고자 하였다.

실험군으로는 실험실에서 20°C로 사육중인 평균 전장 18.4±0.7cm인 건강한 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus* 20마리를 사용하였으며, 이들 버들치를 4°C로 유지되는 저온배양기(DYS Co., 한국)내 유리수조(L90×W30×H60 cm)에 수용후 충분한 공기를 공급하였으며 형광등으로 일주기를 12L:12D로 유지하였다. 대조군의 조건은 사육수온을 20°C로 유지하는 조건만을 제외하고는 실험군과 모두 동일하게 하였다. 실험은 2 반복으로 하였고 실험 종료 시점은 외형상 완전한 기형 개체가 나타나는 시간으로 정하였으며, 실험기간중 실험군과 대조군 모두 금식하였다. 실험 종료후 나타난 척주 기형 개체는 soft x-ray system (Hitex Co., Japan) 하에서 x-ray film (Fuji Co., Japan)을 사용하여 사진촬영하였다. 사진촬영후 기형 개

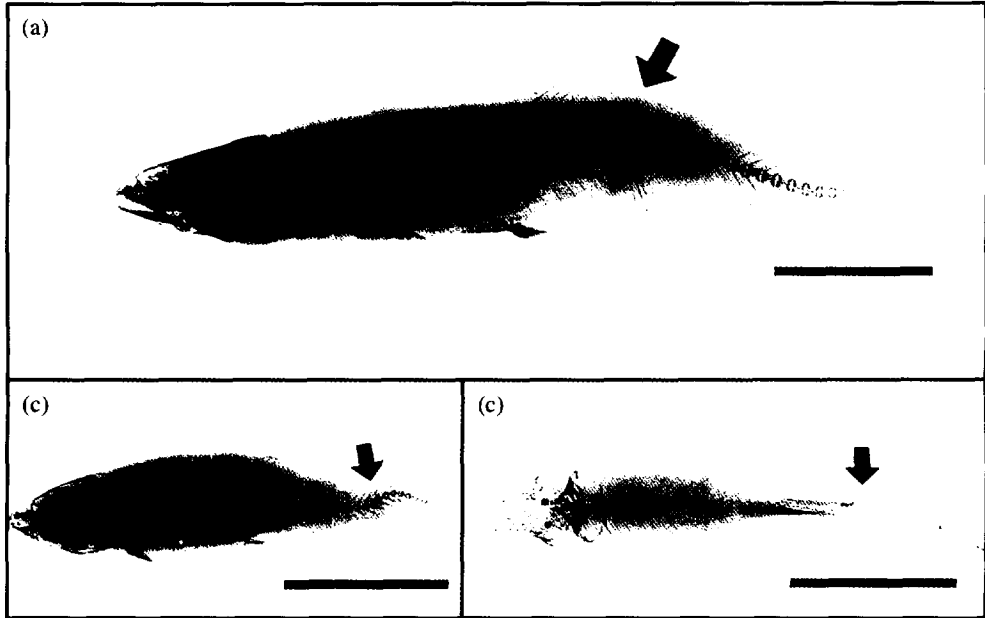


Fig. 1. Radiographs showing the orientation of the deformities within *Rhynchocypris oxycephalus*. Radio-graph taken a photograph of the side (a, b) and upside (c). The deformity shaped slowness with lordosis and scoliosis (a) or S shape with lordosis and scoliosis (b, c). Lesions are characterized by irregularly shaped and sized vertebrae surrounding areas of radiolucency (arrowed). Bars =2 cm.

체 및 정상 개체를 10% 중성 포르말린용액에 고정 후, Bouin 용액으로 재고정하였고 이후 formic acid로 탈칼슘화 시킨 후 평상의 paraffin 절편법으로 조직학적 조사를 실시하였다. 기형이 나타난 부위와 더불어 기형 전, 후 부위를 충분히 포함시켜 6 μ m 두께로 연속 종단절단 하였다. 조직절편은 Mayer's haematoxylin과 eosin-phloxine B로 염색하여 slide 표본을 작성하였으며 생물현미경 (Axioplan, Zeiss, West Germany) 하에서 작성된 slide 표본을 관찰, 사진촬영 하였다.

2번의 실험 결과, 저온 처리 후 2주에 실험군에서 척주 기형이 미병부위에서 나타났으며 그 기형율은 각각 10%(2/20) 및 15%(3/20)이었다. 대조군에서는 척주 기형이 나타나지 않았으며 대조군과 실험군에서는 공히 사망이 없었다. 기형 부위의 표피에 상처가 없었고 조직학적 조사시 기형 부위에 어떤 염증적인 세포 침투물이 없는 것은, 기형이 국소적인 종양이나 감염에 의해서가 아니라 저온 처리에 의해서 내적으로 유발되었다는 것을 시사하는 것으로, 이와 같은 온도에 기인되어 내적으로 형성된 척주 기형은 무지개송어, *Oncorhynchus*

*mykiss*에서 수온에 의해 형성된 바 있으며 (Sato et al., 1983), striped bass, *Morone saxatilis*와 blueback herring, *Alosa aestivalis*의 발생년에서 온도 처리시 나타난 바 있다 (Koo and Johnston, 1978).

X-ray 사진 조사 결과 버들치 척주 기형중 하나의 유형은 좌, 우로 만곡된 척주측만을 동반한 배 쪽으로의 만곡인 척주전만으로 외부형태는 완만한 U자 형태이었고 (Fig. 1-a) 또다른 유형은 역시 척주측만을 동반한 척주전만으로서 완만한 S자 형태이었다 (Fig. 1-b, c). 조직학적 관찰 결과 Fig. 2의 a에서와 같이 정상 개체의 척주모양은 마름모꼴로 불연속적이었으며 정상 척주 조직의 apical zone 안에는 growth zone이 존재하였다. 연골세포는 apical zone보다 growth zone에 더 많이 존재하였으며 growth zone안에는 hypertrophic 연골세포로 구성된 hypertrophic zone이 존재하였다. 또한 perichondrium은 연골조직을 둘러싼 후 periosteum으로 둘러싸여 각 관절 부분의 가장자리에 위치하였다 (Fig. 2-b).

척주에서 측만, 전만을 동반하며 U자 형태를 나



Fig. 2. The normal and deformed vertebrae of *Rhynchocypris oxycephalus*. Normal vertebrae (a) and high power view of Fig. 2-a (arrowed) of normal vertebrae (b). Deformed vertebrae (c) and high power view of Fig. 2-c (arrowed) of deformed vertebrae (d). Bars (a, c)=40 μ m. Bars (b, d)=10 μ m. AZ, apical zone; CB, ceratobranchial bone; CT, cartilage tissue; GZ, growth zone; HZ, hypertrophic zone; NC, notochord; PS, periosteum; SC, spinal cord.

타내는 척추 기형에서 척색(notochord)은 서로 융합하여 만곡을 나타내며 연속적으로 나타났으며, 척색이 융합된 부분은 투명한 연골 조직으로 가득 찼다(Fig. 2-c). 또한 뼈의 재흡수후 잔존하는 미네랄화된(mineralized) 조직이 서로 융합하여 척추 관절 부분에서 형태가 휘어짐과 뒤틀림으로 나타났다. 이와 같은 양상은 school shark에서도 역시 석회질의 미네랄화에 기인되어 척추 관절 부분에서의 형태가 휘어짐과 뒤틀림으로 나타난 바 있다 (Officer et al., 1995). Figure 2의 d에서와 같이 잔존하는 미네랄화된 조직은 융합되어 정상 척추 조직에서 나타나는 apical zone, growth zone, hypertropic zone을 구별할 수 없었으며 perichondrium은 더 이상 관절 부분의 가장자리에 위치하지 않았다.

Figure 3의 a에서 나타난 바와 같이 정상 개체



Fig. 3. Normal vertebrae (a) and the deformed vertebrae (b) of *Rhynchocypris oxycephalus*. Note the fusing between neighbouring vertebrae is extensive in deformed vertebrae. Bars = 40 μ m. NC, notochord; SC, spinal cord.

의 척추 절단상은 마름로꼴로써 좌우대칭을 나타내었다. 반면, 척추에서의 측만, 전만을 나타내는 S자 형태의 척추 기형은 Fig. 3의 b에서와 같이 척색이 서로 광범위하게 융합되어 척추가 S자로 상당한 굴곡을 나타내었으며 융합된 부분은 연골조직이 가득 차있었고 뼈의 재흡수후 잔존하는 미네랄화된 조직의 융합은 척추의 이상 발달을 야기하였다. 본 연구 결과에서의 척추 융합보다는 그 정도가 덜한 척추 융합이 school shark에서 보고된 바, 융합은 근접한 척추사이에서 나타났으며 이러한 융합은 유연성(신축성)을 상실하였고 척추사이 융합을 가로지르는 미네랄화된 조직이 연속적으로 나타난 바 있다(Officer et al., 1995). 비록, 척추 기형에 관한 연구는 본 실험에서 수행되지 않았지만 다수 포유류에서 미네랄된 조직의 재흡수에 따른 척추 기형 회복에 관한 보고를 고려시(Mundy, 1992), 버들치에서도 미네랄조직이 내적작용에 의해 이용될 수 있는 가능성 조사는 기형 개체가 정상 개체로의 회복 기작을 밝힌다는 관점에서 중요하다. 척추 기형은 척추 부위에서의 집중된 종양, 감염 그리고 척추에 대한 물리적인 손상에 의한 결과와 더불어 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss* 인 경우 ascorbic acid 부족사료 공급시 사육 수온에 의해서도 야기될 수 있음을 고려(Sato et al., 1983; Officer et al., 1995), 차후 이러한 다양한 종류의 척추 기형 유발원을 사용하여 버들치에서의 척추 기형 종류 및 그 기형 정도에 대한 면밀한 조사가 필요하리라 사료된다.

참고문헌

Hibiya, T.: An atlas of fish histology. II. motile organs.

- Kodansha LTD., Tokyo, pp. 20, 1982.
- Hoenig, J. M. and Walsh, A. H.: Skeletal lesions and deformities in large sharks. *J. Wild. Dise.*, 19: 27-33, 1983.
- Kitajima, C., Iwamoto, H. and Fujita, S.: Relation between curvature of vertelalal column and hatchery-reared undeveloped swimbladder in red sea bream, *Pagrus major*. *Bull. Nagasaki Pref. Inst. Fish.*, 3: 23-32, 1977.
- Koo, T. S. Y. and Johnston, M. L.: Larva deformity in striped bass, *Morone saxatilis*(Walbaum), and blueback herring, *Alosa aestivalis*(Mitchill), due to heat shock treatment of developing eggs. *Environ. Pollut.*, 16: 137-149, 1978.
- Mundy, G. R.: Cytokines and local factors which affect osteoclast function. *Inter. J. Cell Clon.*, 10: 215-222, 1992.
- Officer, R. A., Clement, J. G. and Rowler, D. K.: Vertebral deformities in a school shark, *Galeorhinus galeu* circumstantial evidence for endoskeletal resorption?. *J. Fish Biol.*, 46: 85-98, 1995.
- Park, I. -S., Kim, J. -H., Lee, J. H. and Kim, C. -H.: Egg development of *Rhynchocypris oxycephalus* (Teleostei, Cyprinidae). *Yellow Sea*, 5: 46-50, 1999.
- Sato, M., Kondo, T., Yoshinaka, R. and Ikeda, S.: Effect of water temperature on the skeletal deformity in ascorbic acid-deficient rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Nissuishi.*, 49: 443-446, 1983.
- 김익수: 한국동식물도감, 제 37권 동물편(담수어류), 629 pp., 교육부, 1997.
- 박인석, 김정혜, 방인철, 김동수: 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus* 초기생식소 발달과 성분화에 관한 조직학적 연구. *발생과 생식*, 2: 69-74, 1998.
- 박인석, 최윤, 김용호, 남윤권, 김동수: 버들치, *Rhynchocypris oxycephalus*와 버들개, *R. steindachneri*의 Flow Cytometry 및 세포유전학적 분석. *한국양식학회지*, 13: 193-196, 2000.

Vertebral Column Deformities in *Rhynchocypris oxycephalus* by Cold Shock Treatment

In-Seok Park

Faculty of Marine Life Science, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

Deformed vertebrae by cold shock in *Rhynchocypris oxycephalus* were discovered. Deformity was externally noticed in the caudal penducle region of *R. oxycephalus*. Radiographic and histologic investigation confirmed the deformity. Especially, histological investigations provided the fact that extensive fusion between neighbouring vertebrae is caused by removal of endogeneous mineralized tissue. Deformed vertebrae appeared suggesting the direct evidence of vertebral fusion had arisen internally by cold shock in this species.

Key words : Cold shock, *Rhynchocypris oxycephalus*, Deformed vertebrae