장기 마취시 어류에 미치는 quinaldine 독성에 대한 기초 연구

윤 종 만 · 이 재 현 · 박 홍 양
건국대학교 축산학과 어류육종 실험실

The Experimental Study on the Quinaldine(2-Methylquinoline) Toxicity for a Long Anaesthetization Period

Jong-Man YOON, Jae-Hyun LEE, Hong-Yang PARK

Department of Animal Science
Kon Kuk University, Seoul 133, Korea

This study was taken to induce either anaesthesia or sedation for the purpose of applying to transport of live fish safely. 7 species of fish in addition to *Tilapia mossambica* were exposed to 250 ppm concentration of the anaesthetic quinaldine to determine the safe level for handling and transportation of these species.

The results obtained are as follows ;

1. The time taken to lose balance increased with a decrease on the concentration of the anaesthetic.
2. Anaesthetization must be carried out under temperature lower or higher rather than optimum temperature.
3. The longer the length of the fish, the longer the anaesthetization time and recovery time of fish.
4. Coefficient of recovery period and body length is 0.78.
5. At 10-15 min. after anaesthetization, the serum levels of glucose, ALP and SGOT were at peat.
6. LDH of the anaesthetized fish is much more increased than that of the unanaesthetized.
7. In the more 250 ppm treatment, the pyknosis of the brain and spleen tissue appeared.

서 론

물고기 무게의 측정, 표지 작업 그리고 산란하기 위하여 포획 및 수송의 경우 그물망을 사용함으로써 물고기에게 커다란 물리적 손상(physical damage) 및 shock을 유발시킬수 있다.

Quinaldine(2-methylquinoline)은 물고기를 수송(transport), 포획(clllectino), 표지작업(tagging), 무게측정

(weighting), 그리고 치료(treatment)를 용이하게 하기 위하여 사용해 왔다.

Sills와 Harman(1970)은 quinaldine이 quinaldine sulphate와 같은 마취 성질을 가지며, Gilderhus 등(1973)은 담수어에 있어서도 마찬가지의 특성을 가진다고 하였다.

Marking & Dawson(1973)은 물고기를 마취하기 위해서 이용되는 마취제는 일반적으로 독성이 없어야 한다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 quinaldine(2-Methylquinoline)을 어종마다 일정한 농도로 진정(sedation)시킬 때 시간에 따라 어떻게 변하는지를 조사하였고, 이의 확인 여부를 조직의 변화와 전기영동적 형태로써 확인하였으며, stress를 받을시 증가되는 glucose, SGOT그리고 ALP 등의 효소치를 심장, 간, 안구, 혈청 등의 각 조직부위에서 측정함으로써 약물에 대한 각 조직의 손상 유무를 파악하여, 궁극적으로 물고기 수송시 사용되는 quinaldine 약제의 적정농도를 알아보고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1. 시험 재료

1) 실험어

본 실험에서는 *Tilapia mossambica, Poecilia reticulata, Cyprinus carpio, Carassius auratus, Misgurnus anguillicaudatus,* F1(Israeli carp+colored carp)을 실험어로 사용하였고, 각 체장은 Table 1에 나타난 바와 같으며, 실험어 24시간 동안 실험환경에 적응시켰다.

2) 마취제

Quinaldine(Sigma Chemical Co.) 12.5ml을 50 l의 수조(60×30×35cm)에 넣어 250 ppm으로 만들어 pH를 7.1로 유지시켰다. Thermostatic circulator(LKB, Sweden)를 이용하여 수온을 일정하게 유지하였고, 수조 밑바닥에 생긴 물방울 형태의 둥근 결정체는 제거하였다.

2. 시험 방법

1) 행동학적 관찰

본 실험에서는 Table1, 2, 3, 4와 같이 실시하였으며, 전마취시의 물고기의 일반적 행동과 회복단계(recovery)를 조사하였다.

첫번째 실험에서는 각 어종에 대한 마취 소요시간과 회복시간을, 두번째 실험에서는 각 어종의 group당 마취에 소요되는 평균 시간과 회복에 소요되는 평균 시간을, 3번째 실험에서는 *Tilapia mossambica*에 대한 마취단계에 이르는 동안에 일어나는 여러 가지 행동학적 변화를, 마지막으로 수온에 따라 소요되는 마취 시간의 변화를 각각 조사하였다.

Tilapia의 적정 온도 범위 내에서 회복된 물고기는 실험에 재이용하지 않았으며, 적응시간(24h) 동안에는 사료 급여를 중단하였고, 실험 후의 결과를 알기 위해서 회복 후 24h 동안 관찰하였다. 물고기가 마취상태에 도달되었을 때 곧 신선한 물이 들어 있는 회복 수조에 넣었다. 제일 나중에 넣은 물고기가 다른 신선한 물이 들어 있는 수조로 이동되기 전에 마취상태에 도달되는 최대시간을 노출시간으로 하였다.

2) 혈액 채취 및 효소치 측정

살아있는 물고기의 caudal vein 및 artery에서 혈액을 채취하여 3,000rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 20 μl의 혈청을 blood analyzer(ABBOTT Co., ABA-200 series II, Bichromatic Analyzer)에 걸어 glucose, SGOT 그리고 AST 등의 효소치를 측정하여 시간에 따른 변화를 대조군과 비교하였다.

3) 전기영동 및 densitometry

1% agarose gel을 지지체로 이용하였고, 360 V로 4시간 동안 horizontal electrophoresis를 실시하였으며, 40% sodium lactate 3ml, NAD 30mg, 0.2M Tris-HCl 100ml의 혼합액에 전기영동이 끝난 gel을 20분 동안 염색시켰고, 염색이 끝난 gel을 dual wavelength chromatoscanner(Model CS-930M Shimazu, Japan)를 이용하여 실험군과 대조군의 LDH 농도치를 측정하였다.

4) 광학현미경

뇌와 비장조직 1g을 절취하여 Bouin's solution에 고정한뒤, 포매, 절편하여 조직을 H-E 염색한후 X100, X200, X400으로 광학현미경하에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

마취된 물고기는 평형상태를 상실(lose equilibrium)

하였고 진정(rull sedation)상태로 빠르게 진행되었으며, 물고기는 수조 주변을 배회하기 시작하였으나, 이 상태는 마취제에 의해서 나타나는 행동이 아니라 전형적인 놀라는 반응(fright response)을 나타내었다. 이 행동은 짧았으며 대부분의 물고기는 더 깊은 진정상태(stages of sedation)로 빠르게 진행되었고, 다른 마취제와는 달리 강한 점액반응(mucous response)은 나타내지 않았다.

Table 1에서 보는 바와 같이 *Tilapia mossambica*와 *Carassius carassius*의 경우는 체장별로 비교해 보았을 때 체장이 길수록 마취 기간과 회복 기간이 길어짐을 볼 수 있었으며, Table 4에서 보는 바와 같이 3℃의 온도차를 주었을 때 물고기가 살아가는 데 알맞는 26-29℃ 정도의 적정온도보다 낮거나 높은 경우 마취시간과 회복시간이 더 길어진다는 사실을 알 수 있다. Table 1에서 볼 때 균형이 상실되는데 걸리는 시간은 각 어종마다 다르게 나타났으며, Table 3을 볼 때 중요한 행동학적 변화(behavioural patterns)는 각 어종에서 거의 유사하게 나타났다.

Glucose, ALP 그리고 SGOT효소치는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 마취 후 10~15분 사이에 peak를 나타내었고, 그 이후의 ALP 및 SGOT치는 증감의 변화가 거의

Table 1. Anaesthesia and recovery period of each fish using Quinaldine(25℃, pH 7.2)

Species	Length (cm)	Anesthesia period		Recovery period	
		Equilibrium loss (m/sec)	Full anesthesia (m/sec)	Gill movement (m/sec)	Normal behavior (m/sec)
Carassius auratus	16	0/39	2/19	2/30	5/30
Tilapia mossambica	14	0/5	0/8	3/10	6/20
	22.6	1/25	1/45	3/38	12/50
	31.5	0/35	3/3	15/28	26/37
Carassius carassius	14.3	0/25	0/30	5/9	6/8
	21.7	0/45	3/24	7/37	14/4
Misgurnus anguillicaudatus	12.9	0/17	0/25	8/37	11/44
	29.8	1/43	1/55	9/45	11/50
Poecilia reticulata	4.2	0/19	0/30	2/30	5/10
Cyprinus carpio	7.5	0/23	0/39	2/58	6/12
Fi(Israeli carp×Colored carp)	3.7	0/14	0/21	3/21	11/39

Table 2. Anaesthesia & recovery period of anaesthetized fish

Species	No.	Mean	Anesthesia period		Recovery period	
		Length ±S.D. (cm)	Equilibrium Loss (m/sec)	Full Anesthesia (m/sec)	Gill Movement (m/sec)	Normal Behavior (m/sec)
Cyprinus carpio	8	5.9±1.39	0/16-0/19	0/32-0/49	4/26-7/59	8/4-13/30
Tilapia mossambica	6	13.5±0.60	0/14-0/23	0/31-0/42	3/52-7/27	9/4-12/55
Poecilia reticulata	9	3.4±0.37	0/17-0/22	0/30-0/32	1/29-4/23	4/54-7/23
Misgurnus anguillicaudatus	6	21.0±2.13	0/29-1/05	0/56-3/23	6/42-14/25	10/48-25/19

없었으며, glucose치는 15~20분 사이에 급격한 감소를 나타내다가 다시 점진적인 증가현상을 나타내었다. Fig. 2를 볼 때 마취된 물고기의 안구와 혈청에서 대조군의 물고기에 비해 LDH 효소치가 더 높았으며, Fig. 3은 안구의 LDH 효소치를 측정한 결과로써 실험군의 효소치가 더 높게 나타났다.

Fig. 4는 체장과 회복시간과의 상관관계를 나타낸 것이며 그 상관계수 r=0.75이다.

Fig. 5를 볼 때 3시간 이상 마취시켰을 경우 나타난 뇌(a)와 비장조직(b)으로써 뇌의 경우에는 핵농축(nucleus pyknosis)이 발생하였고, 비장에서도 비장세포의 핵이 작고 진하게 되는 핵농축이 발생되었다.

본 연구에 이용한 모든 어류의 경우 마취시켰을 때 나타나는 행동 변화는, *Fundulus parvipinnis*에 대하여 연구한 McFarland(1959)가 제시한 주요 단계(stages)와 비교해 보았을 때 시간의 차이가 있을 뿐 마취 과정에 있어서 Table 3(tilapia만 수록)에서와 같이 큰차이 없이 거의 유사하게 나타났으며, 지느러미 운동은 완전히 중단 상태이고, 물고기에게 막대기로 충격을 가했을 경우 신체의 움직임으로 보아서 정상적인 반사활동(reflex activity)이 아직도 일어나고 있었다는 것을 알 수 있었다. 준기간(sub-period)은 퇴행(regression)이 시작되는 단계로서 이 때는 정상적인 행동이 나타났다. 정상적인 추진능력(locomotor abilities) 으로의 복귀는 대부분의 경우 가슴지느러미의 움직임을 관찰함으로써 손쉽게 알 수 있었다. 추진사(licomotor)가 회복될 때 움직임이 강하게 나타났으며, 그 과정은 계속적으로 발생하였고, 준기간(sub-period)은 수직 위치(upright position)로 복귀되어 정상적인 유영을 시작하였다.

마취제가 물고기를 진정시키는 정확한 기전과 동태는 현재 Trams와 Brown(1970)이 주장한 것처럼 일정한 농도의 마취제가 아가미를 통하여 혈류(blood circula-

Table 3. Behaviour changes during anaesthesia(*Tilapia mossambica*)

Stage	Description	Behavioral responses
0	Normal behavior	Reactive to extermal stimuli
I	Sedation	Fast mouth movement, Opercular rate increase
II	First equilibrium loss	Body swirling, Eye reversed
III	Last	Loss of reactivity to extermal stimuli, Opercular movement cease, heart slow(at autopsy)
IV	Medullary collapse	Respiratory movement cease, Cardiac arrest(at autopsy)
V	Mortality	

Table 4. Anaesthesia period according to temperature(*Tilapia mossambica*)

Temperature	Mean	Anesthesia period	
	Length± S. D.	Equilibrium loss	Full anesthesia
(℃)	(cm)	(m/sec)	(m/sec)
21	13.9±1.47	0/17-0/19	0/25-0/27
23	13.9±1.60	0/19-0/20	0/34-0/39
26	14.1±1.25	0/33-0/40	0/58
29	14.4±1.31	0/20-0/36	0/50-0/52
32	14.3±1.29	0/22-0/24	0/28
35	11.6±2.67	0/22-0/23	0/27

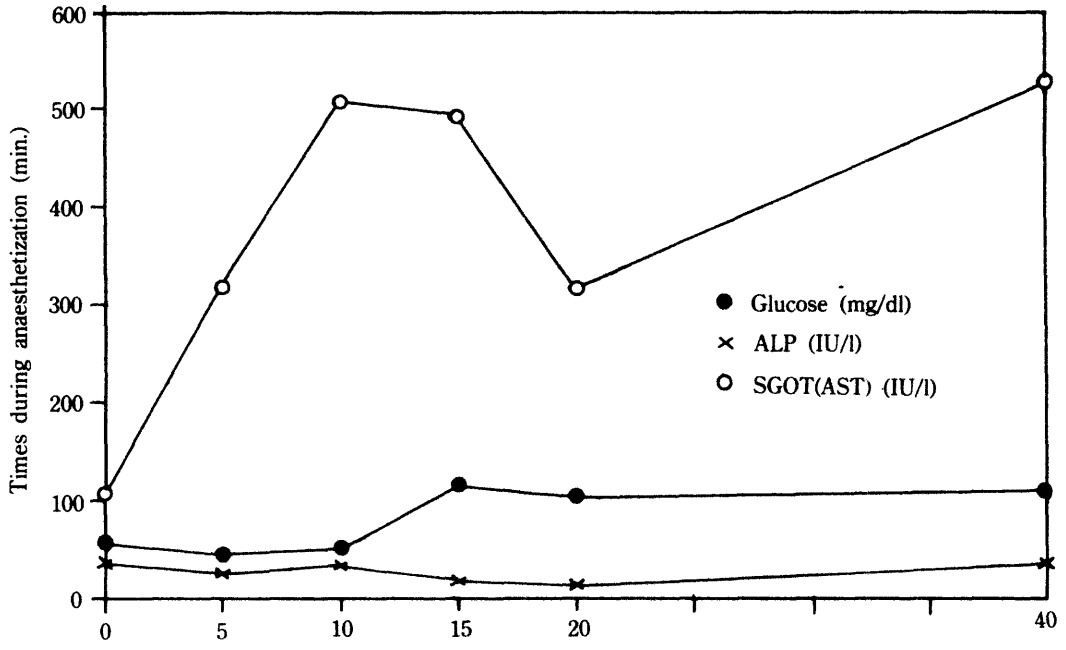

Fig. 1. Responeses(mean±S.D.) of plasma glucose, ALP(alkaline phosphatase) and GOT(glutamate oxalacetate transaminase) in *Tilapia* sp. during anaesthetization(25℃, pH 7.6).

tion)에 의해 순환된 다음 뇌와 간 그리고 비장에 축적되거나 뇨로 빠르게 소멸되기 때문에 각 기관의 구조는 시간이 경과함에 따라 크게 변화되지 않는다고 하였으나, Fig. 4와 같이 고농도인 250ppm 이상의 경우 마취시간이 3시간 이상 지속됨에 따라 뇌, 비장조직에 괴사 및 핵농축이 발생되는 것으로 보아 뇌 및 비장조직내에 마취제가 적정농도 이상일 경우 과다 축적되는 것으로 사려된다. 같은 농도인 250ppm의 quinaldine에 대하여 균형이 상실되는데 걸리는 시간은 Sada (1985)의 보고와 같이 일치하였으며, 중요한 행동학적 변화도 거의 유사하게 나타났다. Blasiola(1977) 및 Sada (1985)는 *Oreochromis niloticus*의 경우 50ppm quinaldine에서 12h 이후에 부분적인 균형 상실이 관찰되었다고 보고하였으나, 본 실험에서는 3시간동안 마취시킨 개체를 신선한 수조로 옮긴 경우에도 깨어나지 않은 것으로 보아 이 농도 이상은 물고기에 대하여 치명적인 손상을 주는 것으로 사려된다. 따라서 장거리 이동시에는 250ppm 이하로 하여 Sada(1985)가 주장한 바와 같이 물고기를 최대한 진정시켜서 산소의 소비율 감소,

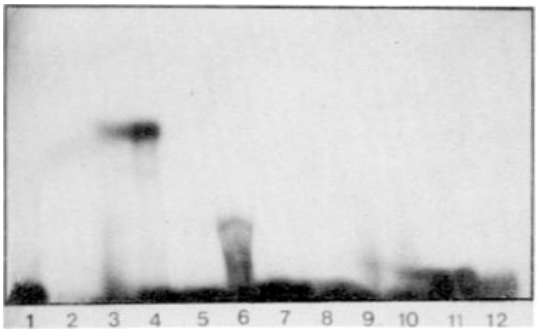

Fig. 2. Electropherogram of LDH in each tissue from *Tilapia* sp. between anaesthetized fish and unanaesthetized fish.

1-6 : anaesthetized.
7-12 : unanaesthetized.
1, 7 : heart, 2, 8 : liver, 3, 9 : brain,
4, 10 : eye, 5, 11 : muscle, 6, 12 : serum.

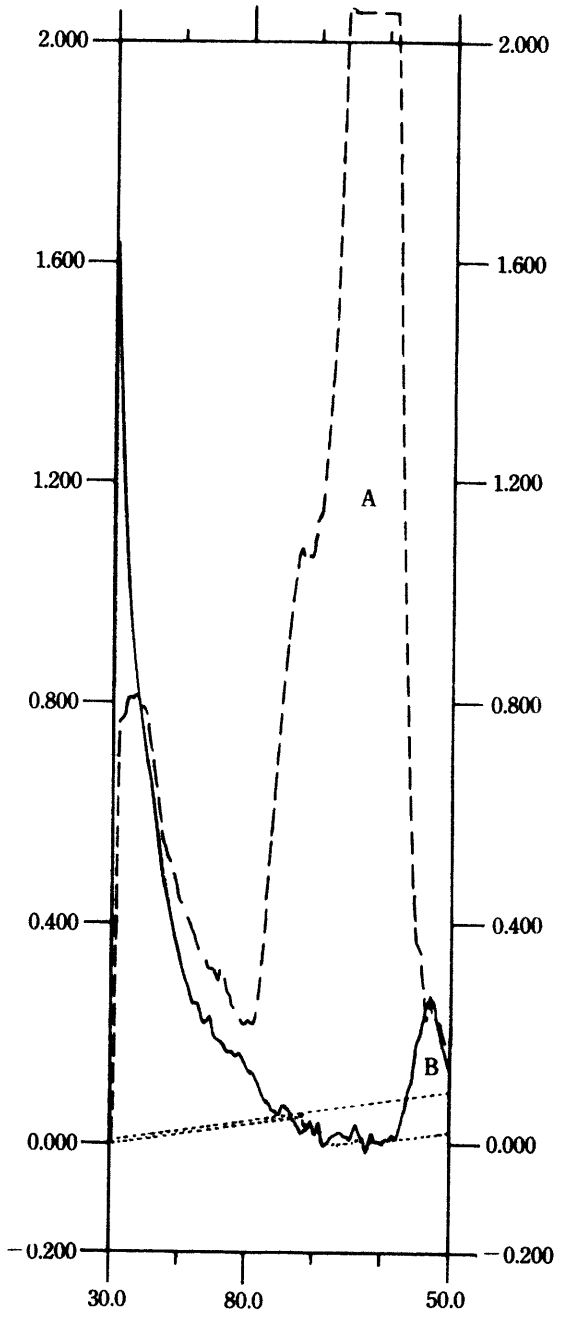

Fig. 3. Densitometry of LDH of the eye from *Tilapia* sp. anaesthetized and unanaesthetized.

A(− − −) : anaesthetized,

B(———) : unanaesthetized.

이산화탄소 분출의 감소, 암모니아 가스 및 다른 노폐물의 감소 그리고 물고기의 흥분을 조절함으로써 물리적 자극, shock을 최소화시켜 물고기를 취급하여야 한다는 보고와 일치된 소견을 보였다.

Fig. 2, 3에서와 같이 각 조직에서의 염색 정도를 볼 때 다른 부위보다는 특히 안구에서 많은 양의 LDH가 분비되는 것으로 보아 eye-specific LDH가 아닌가 사려된다. Sada(1985)는 촉각이나 시각과 같은 외적 자극에 대한 반응이 물질대사의 저하 및 계속적인 움직임을 저하시킨다고 하였으나, 본 실험에서는 그 행동학적 반응만을 관찰하였고, 물질대사의 감소 여부에 대한 연구를 하지 않으므로 앞으로 이 단계에 대한 더 많은 연구가 있어야 할 것이다. 마취 단계중 물고기를 살아 있는 상태로 수송할 경우에는 조직의 변화를 통해서 볼 때 light sedation 단계가 가장 적합한 것으로 사려된다. Fig. 5를 볼 때 회복기간과 개체별 체장과는 상관관계(r=0.78)가 있다고 사려되며, Table 4에서와 같이 적정 온도 보다는 낮거나 높은 상태에서 마취시키는 것이 효과가 있다고 생각된다.

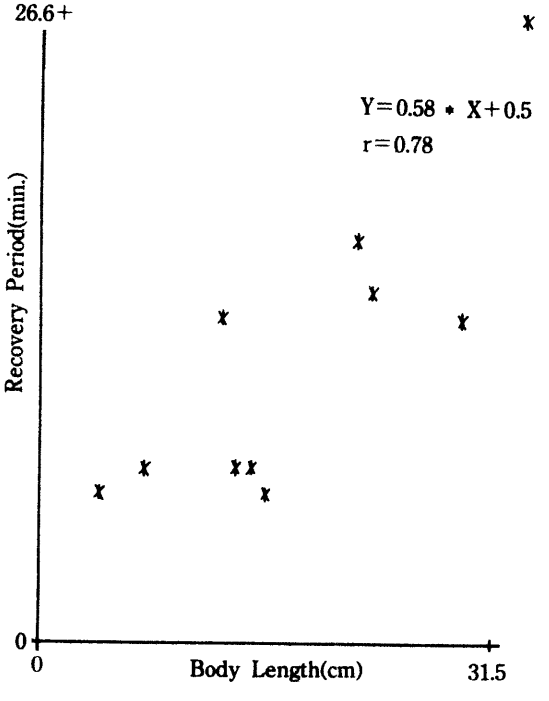

Fig. 4. The length and recovery period relationship in 4 species.

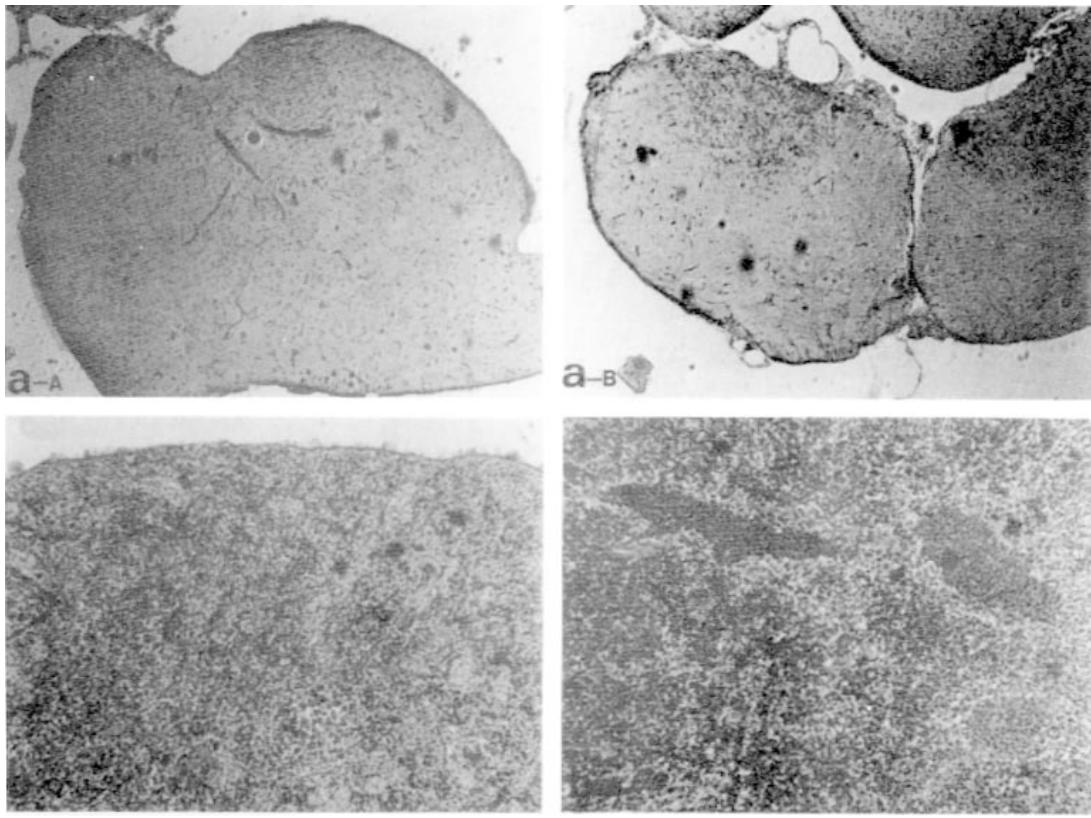

Fig. 5. 4μ sections through brain(a) showing the arcuate nucleus(B), and spleen(b) showing necrosis (↑) and strophy(D) of splenic cells in tilapia.

A : Normal, X 100

B : Abnormal, In 2hr after 250ppm treatment of quinaldine ; Neurons in the arcuate nucleus have pyknotic nuclei, X 100.

C : Normal, X 200.

D : Abnormal, The nuclei of splenic cells in the ansesthetized become small and pyknotic, X 200.

요 약

본 실험은 7가지 어종을 250ppm의 quinaldine 용액에 마취시켰을 경우 시간의 경과에 따라 나타나는 여러 가지 물고기의 행도 변화, glucose, ALP, SGOT, LDH 등의 효소량의 변화 그리고 병리조직학적 변화를 250ppm의 quinaldine이 물고기에 미치는 효과를 알아보고자 실시하였으며, 본 실험을 통해서 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 마취제의 농도를 250ppm 이하로 감소시켰을 때, 몸의 균형을 상실하는 걸리는 시간이 증가하였다.
2. 마취를 실시할 경우 적정온도보다 낮거나 높은 온도에서 실시하여야 한다.
3. 체장이 길수록 마취시간과 회복시간이 연장되었다.
4. 마취시간과 체장과의 상관계수는 0.78이었다.
5. 마취된지 10-15분 후에 glucose, ALP 그리고 SGOT 효소치가 peak에 도달됨을 보였다.
6. 마취된 물고기에서 분비되는 LDH의 양은 대조군보다 안구, 혈청 그리고 간장에서 상대적으로 증가되었다.
7. 250ppm 마취시 나타난 병리조직학적 소견으로는 뇌의 경우 핵농축이 있었고, 비장에서는 괴사 및 핵농축된 조직을 볼 수 있었다.

REFERENCES

Barton, B. A., G. S. Weiner and C. B. Schreck, 1985, Effect of prior acid exposure on physiological response of juvenile rainbow trout(*Salmo gairdneri*) to acute handling stress, Can. J. Fish, Aquat. Sci. 42, 710-717

Berlin, J. D. and J. M. Dean, 1966, Temperature-induced alterations in hepatocyte structure of rainbow trout(*Salmo gairdneri*), J. Exp. Zool., 164, 117-132

Blasiola, G. C., 1977, Quinaldine sulphate, a new anaesthetic formulation for tropical marine fishes, J. Fish Biol. 10, 114-119

Carrasco, S., H. Sumano and R. Nevarro-Fierro, 1984, The use of lidocain-sodium bicarbonate as anaesthetic in fish, Aquaculture 41, 395-398

Chapman, G. B., 1981, Ultrastructure of the liver of the fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson), J. Fish Biol. 18, 553-567

Ferreira, J. T., H. J. Schoonbee and G. L. Smit, 1984, The use of benzocaine-hydrochloride as an aid in the transport of fish, Aquaculture 42, 169-174

Ferreira, J., H. J. Schoonber and G. L. Smit, 1984, The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species, J. Fish Biol. 25, 35-41

Hibiya, T., 1982, An atlas of fish histology : Normal and pathological features, Kodansha Ltd. Tokyo.

Itazawa, Y. and T. Takeda, 1982, Respiration of carp under anaesthesia induced by mixed bubbling of carbon dioxide and oxygen, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 48, 489-493

Masson publishing USA, Inc., Clinical biochemical and hematological reference valves in normal experimental animals and normal experimental animals and normal humans(2nd Edit.)., Now York, Paris, Rio de Janeiro.

McFarland, W. N., 1959, The study of the effects of anaesthetic on the behaviour and physiology of fishes, Pub. Inst. Marime Sci. 6, 22-55

Mitchell, C. L., 1985, Target organ toxicology series ; Nervous sysyem toxicology, Raven Press Books.

Niimi, A. kJ., 1983, Biological and toxicological effects of environmental contaminants in fish and their eggs, Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40, 306-312

Plaa, G. L. and W. R. Hewitt, 1985, Target organ toxicology series ; Toxicology of the liver, Raven Press Books.

Sade, E. K., 1985, Influence of the anaesthetic quinaldine of some tilapia, Aquaculture 46, 55-62