



# L-thyroxine에 의한 복섬, *Takifugu niphobles* 자어의 난황 성장 효과

박 인 석†  
(한국해양대학교)

## Growth Effect of L-thyroxine on Grass Puffer, *Takifugu niphobles* Yolk-sac Larvae

In-Seok PARK†  
(Korea Maritime and Ocean University)

### Abstract

Effects of immersion treatment of Na-L-thyroxine ( $T_4$ ) on grass puffer, *Takifugu niphobles*, yolk-sac larvae were studied. Treatment experiments were carried out with various combinations of  $T_4$  concentration and water temperature (0.1 ppm-16°C, 20°C, and 24°C; 0.5 ppm-16°C, 20°C, and 24°C; 1.0 ppm-16°C, 20°C, and 24°C) for 96 hours, from instantly hatching. The  $T_4$  treatment caused a significantly increase in the growth rate of the larvae ( $P<0.05$ ). Treatment with thyroxine at 1.0 ppm in 20°C resulted in the most significant increase volume and weight of yolk-sac, epidermal thickness, total length and body weight ( $P<0.05$ ). But the survival rate decreases with increasing  $T_4$  concentration. This treatment accelerated yolk-sac resorption and caused thickening of the epidermis.

**Key words :** Na-L-thyroxine ( $T_4$ ), *Takifugu niphobles*, Water temperature, Yolk-sac larvae

### I. 서론

복섬, *Takifugu niphobles*은 복어목 (Tetraodontiformes), 참복과(Tetradontidae), 참복속 (Takifugu)에 속하며, 우리나라의 동-서-남해, 일본 중부 이남, 중국 이남, 대만 등지에 분포한다 (Han, 1995). 복섬은 복어류 중 가장 작은 어종의 하나로 대부분 연안 주변에서 서식하는 것으로 알려졌으나, 다수의 개체들이 기수역과 담수역에서 출현한다(Kim and Kang, 1993). 산란시기는 5~7월경이고 연안의 자갈밭에서 만수위 1~2시간 전에 산란하는 것으로 알려져 있다. 또한 복섬은

우리나라 및 일본 연안의 잘피밭이나 뺨 조간대 부근에서 유어기때 많은 출현량을 보이고 있는 어종으로 보고되고 있다(Kikuchi, 1966; Huh, 1986; Huh and Kwak, 1997; Go and Cho, 1997).

성장호르몬으로 알려져 있는, thyroid hormone은 자어의 성장, 발달 및 생존율을 증가시키는 물질로 알려져 있으며(Kim et al., 1995), 틸라피아, *Tilapia mossambica* (Lam, 1980; Reddy and Lam, 1992), 넙치, *Paralichthys olivaceus* (Inui and Miwa, 1985), 및 잉어, *Cyprinus carpio* (Lam and Sharma, 1985) 등 많은 어류에 적용된 바 있다. 그 중, 어류 갑상선에서의 주된 hormone인 L-thyroxine ( $T_4$ : 3, 5, 3', 5'

† Corresponding author : 051-410-4321, ispark@kmou.ac.kr

- Tetraiodothyroxine)은 담수어류 초기의 생존, 번데, 발생 및 성장에 관해서 그 효과가 연구된 바 있다(Donaldson et al., 1979; Lam and Sharma, 1985; Weatherley and Gill, 1987).

T<sub>4</sub> 처리시의 어류 성장 촉진 효과는 무지개송어, *Salmo gairneri*, 브라운송어, *S. trutta*, 민물송어, *Salvelinus fontinalis*, 은연어, *Oncorhynchus kisutch*, 붕어, *Carassius auratus*, *Xiphophorus helleri*와 *X. maculatus*의 잡종, *Lebistes reticulatus*, *Lepomis cyanellus* 및 *Mugil auratus*에서 보고된 바 있다(Donaldson et al., 1979). 또한, Park and Zhang (1998)은 연어, *O. keta*에서 T<sub>4</sub> 처리시 난황 흡수 및 성장촉진 효과를 밝힌 바 있다.

본 연구에서는 복섬 난황자어를 대상으로 T<sub>4</sub>를 각각의 다른 수온 및 농도에서 96시간 처리시, 성장 관련 항목(전장, 난황 크기, 난황 무게 및 포피 두께)과 생존율을 비교 및 분석하여 복섬 난황 자어에서의 T<sub>4</sub> 효과를 파악하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 자어 생산 및 사육

실험에 사용된 복섬, *Takifugu niphobles* 자어는 2016년 8월 한 달간 한국해양대학교 통선장 인근 해역에서 줄납시 및 대납시 어구를 사용하여 채집한 자연산 친어로 부터 인공수정을 통해 부화한 난황자어로, 수정란은 한국해양대학교 수산유

전육중학 실험실에서 20 L 플라스틱 수조에서 부화 시켰다. 부화 수조의 수온은 22 ± 0.5°C, 용존 산소, pH 및 사육 수질은 <Table 1>과 같이 유지하였다. 부화한 자어의 경우 작은 구형 air-stone 을 이용하여 매우 미약하게 폭기를 하여 자어가 휩쓸리지 않도록 주의하였고, 사육수온은 22 ± 0.5°C, 환수는 매일 바닥 청소(3회/일) 후 해수 부족분을 보충하였다.

### 2. Na-L-thyroxine의 처리

Na-L-thyroxine(T<sub>4</sub>: Sigma, St. Louis, USA)를 70% alkaline ethanol 용액(33 mL 95% EtOH: 12 mL 0.1 N NaOH)에 충분히 녹인 후 T<sub>4</sub> 농도가 0.1 ppm, 0.5 ppm 그리고 1.0 ppm이 되도록 하였다. T<sub>4</sub> 처리를 위해 200 mL 비커를 사용하였으며, 16°C, 20°C 및 24°C의 3가지 수온으로 실시하였다. 수온은 20 L 수조에 항온조절기를 사용하여 중탕하여 각 비커의 수온을 유지하였다. 각 수온 당 T<sub>4</sub> 농도를 5개의 실험구(control, sham control, 0.1 ppm, 0.5 ppm 및 1.0 ppm)로 나누어 총 15개의 비커를 사용하였다. T<sub>4</sub> 농도는 해수 180 mL에 비율을 계산하여 최종농도를 맞췄다. 각 비커 당 해수 180 mL를 넣고 난황 자어는 각 30마리를 수용 하였다. 폭기는 1 mL 주사기의 끝부분을 잘라 에어호스에 연결하여 매우 미약하게 공기를 공급하였다. 실험시 난황 흡수가 끝난 자어의 먹이 공급은 실험실에서 배양하고 영양 강화된 Rotifer (Aquanet. Co., Korea)로 하였으며,

<Table 1> Water quality items for this experiment in grass puffer, *Takifugu niphobles*\*

Test parameters	Condition
pH	7.1 ± 0.78
DO (dissolved oxygen; mg/L; saturated concentration in 25°C)	7.5
Ammonia (ppm)	0.06
Nitric acid (ppm)	1.8 ± 0.12
Nitrous acid (ppm)	0.01

\*Temperature, pH, dissolved oxygen and salinity were measured using an oxygen measurement electrode and a multi-data logger system (Oxyguard, Denmark). Ammonia, nitric acid and nitrous acid were measured using spectrophotometer (DR2800, HACH, Loveland, Colorado, USA). The values are means of triplicate groups (n=20).

6시간 간격으로 만복에 가깝게 충분히 공급하였다.

### 3. 표피두께 측정

난황 자어의 고정은 실험 시작 후 6, 12, 24, 48, 72 그리고 96시간에 각 비커당 5마리씩을 표본하여 10% 중성 Formalin 용액에 1일간 고정하였다. 표피 두께 조사를 위한 자어의 조직 표본은 파라핀 절편법으로 자어의 횡단 및 종단절단으로 6  $\mu\text{m}$  두께의 연속절편 Slide 표본을 작성하였으며, 작성된 조직 표본은 Haematoxylin-Eosin (Sigma, St. Louis, USA)으로 염색하였다. 이후, 제작된 Slide상의 표피(epidermis) 및 진피(dermis)를 생물현미경(Axioskop, Zeiss, Germany)하에서 관찰하였으며 표피의 두께는 Eyepiece micrometer로 측정하였다.

### 4. 샘플 측정

대조군, Sham 대조군 및 각 실험군을 대상으로 6시간, 12시간 이후 1일 간격으로 4일까지 전장, 체중, 난황 무게 및 난황 부피의 각 항목을 계산하였다. 생물현미경(Axioskop, Zeiss, Germany)으로 사진 촬영 한 난황 자어의 사진을 토대로 난황과 전장(total length)의 길이를 0.1 mm 단위로 측정 하였다. 체중(body weight)은 0.1 mg 단위까지 전자저울(AX200, Shimadzu, Japan)을 통해 측정하였다. 난황 무게(yolk sac weight: YW, mg)는 충분히 고정 후 어체에서 난황만 제거 후 난황 무게를 측정 하였고 난황 부피는 아래와 같은 공식(yolk sac volume: YV,  $\text{mm}^3$ ) =  $(\pi/6) \times \text{YL} \times \text{YH}^2$  (YL: yolk length; YH, yolk height, After Blaxter and Hempel, 1963)으로 측정하였다([Fig. 1]). 난황 자어의 생존율 조사는 부화 후 6, 12, 24, 48, 72 그리고 96시간 마다 T<sub>4</sub> 처리군 및 대조군의 비커 저면을 각각 수거 한 후 사체를 계수하여 각각의 생존 자어를 계산하였다. 자어의 생존율은 (survival rate) = [(number of survived

larvi)/(number of experimented larvi)]  $\times$  100 ( $n = 30$ )으로 계산하였다.

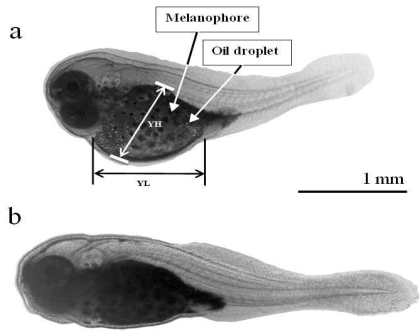
### 5. 통계 분석

대조군을 포함한 각 실험군 당 복섬 난황 자어 30마리씩을 사용하여 3반복으로 실험하였으며, 각 실험군간 평균값의 유의성을 One-way ANOVA 및 Duncan's multiple range test (Duncan, 1954)로 검증하였다.

## III. 결과

[Fig. 1]은 복섬, *Takifugu niphobles* 난황 자어의 T<sub>4</sub> 처리 직후 대조군(a)과 수온 24°C에서 1.0 ppm T<sub>4</sub> 처리 72시간 후 난황 흡수가 끝난 자어(b)의 사진으로, (a)는 난황 자어의 난황 및 유구 흡수가 진행중인 상태이고, (b)는 난황 및 유구가 모두 흡수가 되고 Melanophore가 완전히 도포된 상태를 보여준다. 여러 처리 수온 및 T<sub>4</sub> 농도서 복섬 난황 자어의 난황 부피 및 난황 무게 결과는 <Table 2>와 같다. T<sub>4</sub> 처리 후 6시간에서 24°C 대조군의 난황 부피는 0.14  $\text{mm}^3$ , 난황 무게는 0.24 mg, Sham 대조군의 난황 부피는 0.14  $\text{mm}^3$ , 난황 무게는 0.24 mg, 0.1 ppm의 난황 부피는 0.13  $\text{mm}^3$ , 난황 무게는 0.23 mg 이며 0.5 ppm의 난황 부피는 0.12  $\text{mm}^3$ , 난황 무게는 0.22 mg 이었다. 1.0 ppm의 난황 부피는 0.10  $\text{mm}^3$ 이고, 난황 무게는 0.17 mg 으로 다른 실험군 및 대조군과 비교시 유의한 차이가 나타났다( $P < 0.05$ ). T<sub>4</sub> 처리 후, 12시간에서 24시간까지는 6시간 후와 유사하게 모든 실험군에서 대조군 보다 난황 부피와 무게가 감소하는 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

T<sub>4</sub> 처리 후 48시간에서는 모든 실험군에서 대조군보다 난황 부피와 무게가 현저하게 감소하였으며, 24°C, 1.0 ppm에서 난황 흡수가 완료되었다 ( $P < 0.05$ ). 처리 후 72시간에서는 모든 실험군에서 대조군보다 난황 부피와 무게가 현저하게 감소



[Fig. 1] Appearance of yolk-sac absorption degree of grass puffer, *Takifugu niphobles*. (a) Control and (b) 1.0 ppm L-thyroxine treated for 72 hrs. YH: yolk-sac height; YL: yolk-sac length.

하였으며, 24°C, 0.5 ppm에서는 난황 흡수가 완료되었다( $P<0.05$ ). 처리 후 96시간에서는 20°C, 24°C의 대조군, sham 대조군과 20°C, 0.1 ppm을 제외한 모든 실험군 및 대조군에서 난황 흡수가 완료되었다. T<sub>4</sub>를 처리한 실험군이 대조군보다 수온이 올라 갈수록(16°C~24°C), 난황 흡수가 촉진되었다( $P<0.05$ ). 최초 난황 흡수가 완료된 시점은 실험 시작 후, 48시간 일때 24°C, 1.0 ppm에서 난황이 모두 흡수 되었으며, 96시간 일때 16°C, 대조군에서 가장 늦게 흡수 되었다. 그리고 실험 종료 시 대조군 20°C와 24°C, sham 대조군 20°C, 24°C 그리고 20°C, 0.1 ppm을 제외한 모든 군에서 난황 흡수가 완료되었다.

<Table 2> Volume and weight of yolk sac treated in different L-thyroxine dose and water temperature in grass puffer, *Takifugu niphobles* yolk-sac larvae during 96 hrs\*

Dose (ppm)	Water temperature (°C)	Elapsed time (hrs)											
		6		12		24		48		72		96	
		YV	YW	YV	YW	YV	YW	YV	YW	YV	YW	YV	YW
Control	16	0.158 <sup>c</sup>	0.273 <sup>c</sup>	0.151 <sup>c</sup>	0.268 <sup>c</sup>	0.127 <sup>c</sup>	0.215 <sup>c</sup>	0.085 <sup>b</sup>	0.146 <sup>b</sup>	0.055 <sup>b</sup>	0.092 <sup>b</sup>	0	0
	20	0.147 <sup>c</sup>	0.248 <sup>b</sup>	0.142 <sup>c</sup>	0.245 <sup>c</sup>	0.117 <sup>c</sup>	0.197 <sup>c</sup>	0.071 <sup>b</sup>	0.129 <sup>b</sup>	0.046 <sup>b</sup>	0.076 <sup>b</sup>	0.018 <sup>b</sup>	0.029 <sup>b</sup>
	24	0.143 <sup>b</sup>	0.247 <sup>b</sup>	0.137 <sup>c</sup>	0.229 <sup>b</sup>	0.112 <sup>c</sup>	0.191 <sup>c</sup>	0.063 <sup>b</sup>	0.102 <sup>b</sup>	0.042 <sup>b</sup>	0.069 <sup>b</sup>	0.013 <sup>b</sup>	0.019 <sup>b</sup>
Sham control	16	0.153 <sup>c</sup>	0.268 <sup>c</sup>	0.146 <sup>c</sup>	0.245 <sup>c</sup>	0.113 <sup>c</sup>	0.192 <sup>c</sup>	0.065 <sup>b</sup>	0.108 <sup>b</sup>	0.047 <sup>b</sup>	0.081 <sup>b</sup>	0	0
	20	0.146 <sup>c</sup>	0.243 <sup>b</sup>	0.138 <sup>c</sup>	0.248 <sup>c</sup>	0.096 <sup>b</sup>	0.152 <sup>c</sup>	0.052 <sup>b</sup>	0.087 <sup>a</sup>	0.031 <sup>b</sup>	0.043 <sup>b</sup>	0.015 <sup>b</sup>	0.021 <sup>b</sup>
	24	0.141 <sup>b</sup>	0.243 <sup>b</sup>	0.134 <sup>c</sup>	0.227 <sup>b</sup>	0.087 <sup>b</sup>	0.143 <sup>b</sup>	0.048 <sup>a</sup>	0.079 <sup>a</sup>	0.027 <sup>b</sup>	0.042 <sup>b</sup>	0.005 <sup>a</sup>	0.009 <sup>a</sup>
0.1	16	0.149 <sup>c</sup>	0.253 <sup>b</sup>	0.135 <sup>c</sup>	0.229 <sup>b</sup>	0.094 <sup>b</sup>	0.151 <sup>c</sup>	0.058 <sup>b</sup>	0.096 <sup>a</sup>	0.027 <sup>b</sup>	0.048 <sup>b</sup>	0	0
	20	0.141 <sup>b</sup>	0.244 <sup>b</sup>	0.121 <sup>b</sup>	0.218 <sup>b</sup>	0.083 <sup>b</sup>	0.143 <sup>b</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.053 <sup>a</sup>	0.014 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.006 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>
	24	0.139 <sup>b</sup>	0.237 <sup>a</sup>	0.113 <sup>b</sup>	0.196 <sup>b</sup>	0.063 <sup>a</sup>	0.103 <sup>b</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.036 <sup>a</sup>	0.011 <sup>a</sup>	0.016 <sup>a</sup>	0	0
0.5	16	0.142 <sup>b</sup>	0.245 <sup>b</sup>	0.115 <sup>b</sup>	0.197 <sup>b</sup>	0.074 <sup>a</sup>	0.124 <sup>b</sup>	0.039 <sup>a</sup>	0.061 <sup>a</sup>	0.018 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0	0
	20	0.132 <sup>b</sup>	0.232 <sup>a</sup>	0.092 <sup>a</sup>	0.162 <sup>a</sup>	0.052 <sup>a</sup>	0.089 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.013 <sup>a</sup>	0.019 <sup>a</sup>	0	0
	24	0.127 <sup>b</sup>	0.221 <sup>a</sup>	0.091 <sup>a</sup>	0.159 <sup>a</sup>	0.037 <sup>a</sup>	0.051 <sup>a</sup>	0.013 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0	0	0	0
1.0	16	0.136 <sup>b</sup>	0.232 <sup>a</sup>	0.095 <sup>a</sup>	0.173 <sup>a</sup>	0.061 <sup>a</sup>	0.102 <sup>b</sup>	0.028 <sup>a</sup>	0.042 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.017 <sup>a</sup>	0	0
	20	0.112 <sup>a</sup>	0.196 <sup>a</sup>	0.068 <sup>a</sup>	0.103 <sup>a</sup>	0.038 <sup>a</sup>	0.051 <sup>a</sup>	0.015 <sup>a</sup>	0.023 <sup>a</sup>	0.005 <sup>a</sup>	0.009 <sup>a</sup>	0	0
	24	0.105 <sup>a</sup>	0.178 <sup>a</sup>	0.053 <sup>a</sup>	0.086 <sup>a</sup>	0.022 <sup>a</sup>	0.035 <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	0

\*Each values are the means of triplicated groups (n=30). Means in row s with the different superscript letter are significantly different ( $P<0.05$ ). Yolk sac volume (YV, mm<sup>3</sup>) =  $(\pi/6) \times YL \times YH^2$  (YL: yolk length; YH: yolk height, After Blaxter and Hempel, 1963), Yolk sac weight (YW, mg).

복합 자어의 생존율은 <Table 3>과 같다. 생존율은 T<sub>4</sub> 처리 6시간 후 실험군인 16°C, 1.0 ppm은 85%, 0.5 ppm은 88%으로 같은 수온 내의 대조군인 94%보다 낮게 나타났다. 16°C를 제외한 다른 수온 20°C와 24°C에서도 16°C와 유사하게 실험군보다 대조군의 생존율이 높게 나타났다 ( $P<0.05$ ). 처리 후, 12시간에서 72시간까지는 6시간 후와 유사하게 모든 실험군에서 대조군보다 낮은 생존율 보이고 있으며, 50% 이상의 생존율이 나타났다. 처리 후 96시간에는 72시간에 비해 생존율이 급격하게 낮아졌으며, 대조군 20°C를

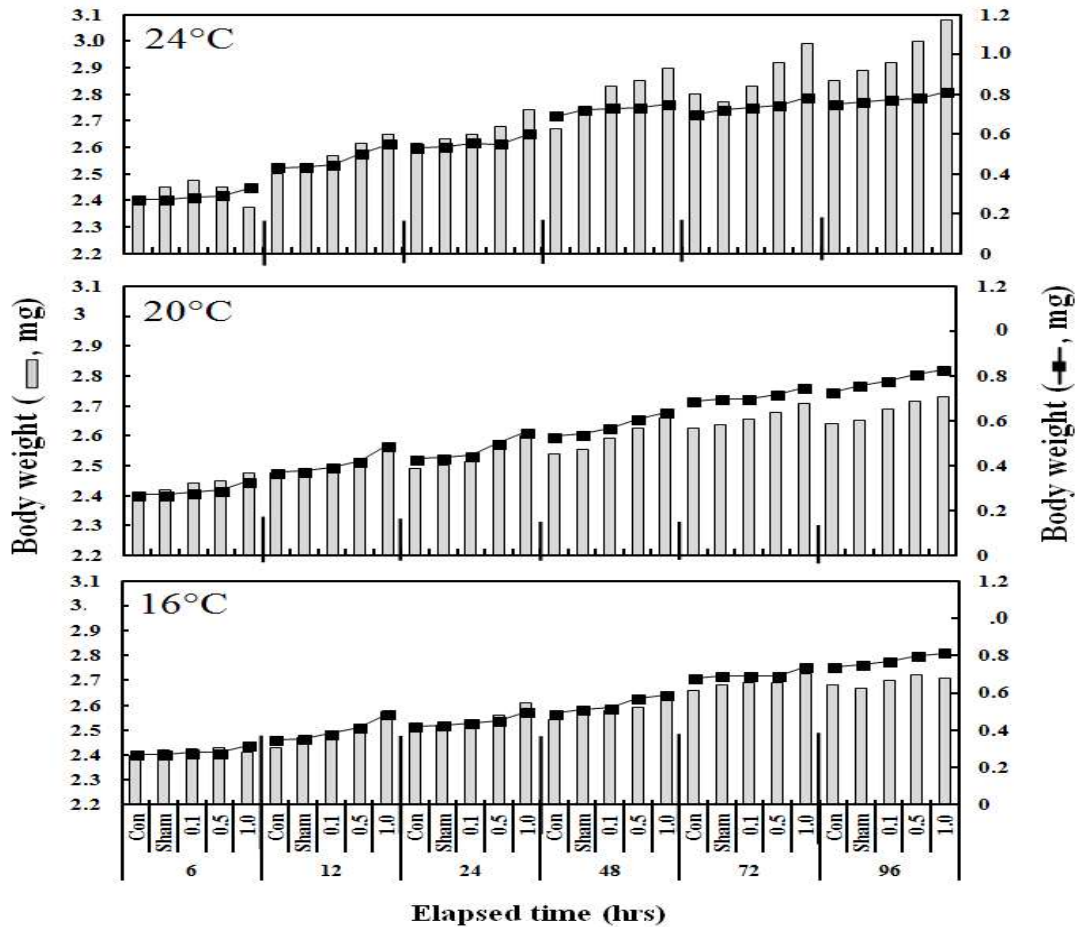
제외한 나머지 조건에서는 10% 미만으로 나타났다( $P<0.05$ ). T<sub>4</sub> 처리 후 6시간에는 20°C, 대조군에서 98%로 가장 높은 생존율을 보였으나, 16°C, 1.0 ppm에서는 85%로 가장 낮은 생존율을 나타냈다( $P<0.05$ ). T<sub>4</sub> 처리 후 96시간에는 20°C, 대조군에서 13%로 가장 높았으나, 16°C, 1.0 ppm에서는 2%로 가장 낮은 생존율을 보였다( $P<0.05$ ). 모든 실험군 및 대조군에서 시간이 경과 할수록 생존율이 감소함을 보였으며, 16°C, 1.0 ppm에서 가장 낮은 생존율을 보였다( $P<0.05$ ).

<Table 3> Percentage survival of different L-thyroxine dose and water temperature in grass puffer, *Takifugu niphobles* yolk-sac larvae during 96 hrs\*<sup>1</sup>

Dose (ppm)	Water Temperature (°C)	Elapsed time (hrs)* <sup>2</sup>					
		6	12	24	48	72	96
Control	16	94±2.9 <sup>b</sup>	89±3.1 <sup>a</sup>	87±3.8 <sup>a</sup>	78±3.1 <sup>a</sup>	53±4.1 <sup>a</sup>	5±2.7 <sup>a</sup>
	20	98±2.1 <sup>b</sup>	96±1.7 <sup>b</sup>	94±1.4 <sup>b</sup>	89±2.4 <sup>b</sup>	65±1.2 <sup>c</sup>	13±2.2 <sup>c</sup>
	24	96±2.3 <sup>b</sup>	93±1.8 <sup>b</sup>	92±2.0 <sup>b</sup>	86±1.8 <sup>b</sup>	61±2.2 <sup>b</sup>	9±1.8 <sup>b</sup>
Sham control	16	93±3.3 <sup>b</sup>	91±4.6 <sup>a</sup>	88±3.8 <sup>a</sup>	79±3.30 <sup>a</sup>	51±3.5 <sup>a</sup>	4±1.9 <sup>a</sup>
	20	97±1.5 <sup>b</sup>	96±1.5 <sup>b</sup>	94±2.2 <sup>b</sup>	88±1.2 <sup>b</sup>	62±1.9 <sup>b</sup>	9±2.3 <sup>b</sup>
	24	96±2.3 <sup>b</sup>	94±2.1 <sup>b</sup>	93±1.8 <sup>b</sup>	85±2.4 <sup>b</sup>	62±2.3 <sup>b</sup>	8±1.7 <sup>b</sup>
0.1	16	95±4.3 <sup>a</sup>	88±3.6 <sup>a</sup>	87±3.6 <sup>a</sup>	79±3.0 <sup>a</sup>	55±3.4 <sup>a</sup>	5±3.1 <sup>a</sup>
	20	96±1.9 <sup>b</sup>	95±1.6 <sup>b</sup>	94±2.0 <sup>b</sup>	87±1.7 <sup>b</sup>	63±2.2 <sup>b</sup>	10±2.0 <sup>c</sup>
	24	95±2.2 <sup>b</sup>	94±2.8 <sup>b</sup>	93±1.8 <sup>b</sup>	85±2.2 <sup>b</sup>	59±2.0 <sup>b</sup>	7±2.1 <sup>b</sup>
0.5	16	88±3.5 <sup>a</sup>	85±3.8 <sup>a</sup>	84±2.9 <sup>a</sup>	77±3.4 <sup>a</sup>	49±3.5 <sup>a</sup>	3±0.5 <sup>a</sup>
	20	96±2.3 <sup>b</sup>	94±2.3 <sup>b</sup>	93±1.8 <sup>b</sup>	85±2.1 <sup>b</sup>	62±2.1 <sup>b</sup>	8±1.2 <sup>b</sup>
	24	94±1.9 <sup>b</sup>	93±1.9 <sup>b</sup>	91±2.4 <sup>b</sup>	83±1.8 <sup>a</sup>	60±1.8 <sup>b</sup>	6±2.0 <sup>a</sup>
1.0	16	85±3.5 <sup>a</sup>	82±3.9 <sup>a</sup>	80±3.3 <sup>a</sup>	75±3.1 <sup>a</sup>	48±4.1 <sup>a</sup>	2±1.8 <sup>a</sup>
	20	95±1.9 <sup>b</sup>	94±2.1 <sup>b</sup>	91±2.0 <sup>b</sup>	84±2.3 <sup>b</sup>	59±1.9 <sup>b</sup>	7±2.4 <sup>b</sup>
	24	93±2.5 <sup>b</sup>	92±2.6 <sup>a</sup>	90±2.5 <sup>a</sup>	85±2.0 <sup>b</sup>	57±2.6 <sup>b</sup>	5±1.1 <sup>a</sup>

\*<sup>1</sup>Each values are the means±SE of triplicated groups(n=30). Means in rows with the different superscript letter are significantly different ( $P<0.05$ ).

\*<sup>2</sup>Survival rate = [(number of survived larvi)/(number of experimented larvi)]×100 (n=30).



[Fig. 2] Changes in total length and body weight according to the different L-thyroxine dose and water temperature in grass puffer, *Takifugu niphobles* yolk-sac larvae during 96 hrs experiment.

여러 수온과 여러 T<sub>4</sub>의 농도에 따른 전장과 체중을 비교한 결과는 [Fig. 2]와 같다. 전반적으로 수온의 차이에 따른 체중의 유의한 차이는 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 전장은 16°C, 20°C의 수온에 비해 24°C에서 증가하는 경향을 보였다. T<sub>4</sub> 처리 후 12시간 부터 1.0 ppm이 대조군에 비해 전장과 체중이 크게 증가 하였으며, 처리 후 96 시간 까지 모든 실험군과 대조군에서 비슷한 경향을 보였다. 24°C, 96시간 1.0 ppm에서는 전장이 3.08 mm, 체중은 0.82 mg 이며 대조군의 전장이 2.84 mm, 체중이 0.76 mg 으로 유의한 차이를 나

타냈다( $P < 0.05$ ). 모든 수온에서 1.0 ppm과 0.5 ppm이 대조군에 비해 전장과 체중에서 유의한 차이를 보였다( $P<0.05$ ).

각 농도 별 48시간 동안 T<sub>4</sub> 처리 후 복섬 자어 표피 두께 변화를 <Table 4>와 [Fig. 3]에 나타내었다. [Fig. 3]은 복섬의 표피와 진피로, T<sub>4</sub>를 처리한 실험군 (b)와 (c)가 대조군(a) 보다 표피가 두꺼워지고 실험군(b)와 (c)를 비교시도 고농도 일수록 표피가 두꺼워지는 것이 관찰되었다. 또한 실험군 (b), (c)가 대조군 (a)에 비해 점액세포가 팽창되었음을 알 수 있다. <Table 4>에 나타

난 바와 같이, 16°C의 대조군에서 14 mm, 0.1 ppm에서 32 mm, 1.0 ppm에서 39 mm로 T<sub>4</sub>의 농도가 증가 할수록 표피가 유의하게 두꺼워졌다 ( $P<0.05$ ).

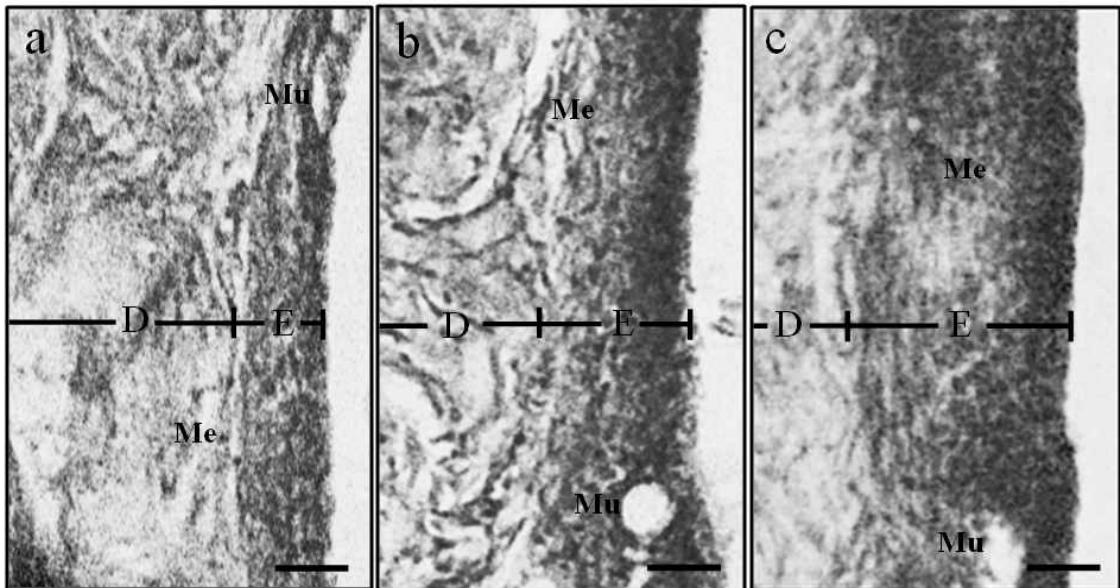
T<sub>4</sub> 농도 1.0 ppm인 경우, 16°C에서 39 mm, 20°C에서 42 mm, 24°C에서 44 mm로 온도가 증

가 할수록 표피가 두꺼워져, 모든 실험군 및 대조군에서 수온이 증가 할수록 표피가 두꺼워졌다 ( $P<0.05$ ). 표피는 24°C, 1.0 ppm에서 45 mm로 가장 두꺼웠으며, 16°C, 대조군에서는 14 mm로 가장 얇았다( $P<0.05$ ).

<Table 4> Thickness of epidermis at after 48 hours of L-thyroxine dose and water temperature treatment in grass puffer, *Takifugu niphobles* yolk-sac larvae\*

Dose (ppm)	Water temperature		
	16	20	24
Control	14 ± 2.6	16 ± 2.9	17 ± 3.1
Sham control	14 ± 1.8	18 ± 3.7	19 ± 1.5
0.1	33 ± 2.6	34 ± 1.9	36 ± 1.1
0.5	34 ± 3.1	38 ± 2.1	39 ± 1.7
1.0	40 ± 2.6	43 ± 1.7	45 ± 2.1

\*Each values are the means±SE of triplicated groups ( $n=30$ ). Means in rows with the different superscript letter are significantly different ( $P<0.05$ ). The unit of each value is  $\mu\text{m}$ .



[Fig. 3] Section of the skin (a) Control, (b) 0.1 ppm, and (c) 1.0 ppm L-thyroxine (T<sub>4</sub>) treated to grass puffer, *Takifugu niphobles* yolk-sac larvae by the end of the 48 hrs of the hormone treatment. Note the thick epidermis of T<sub>4</sub> treated groups (b and c) compared with the control (a). D: dermis; E: epidermis; Me: melanophore; Mu: mucous cell. Scale bars indicate 15  $\mu\text{m}$ .

#### IV. 고찰

Na-L-thyroxine ( $T_4$ )는 성장호르몬으로 알려져 있어 자어의 성장 및 발달에 영향을 끼친다고 보고된 바 있다(Kim et al., 1995). Park and Zhang (1998)의 보고에서는 연어, *Oncorhynchus keta* 난황 자어에  $T_4$  농도를 0.5 ppm - 60 min과 1.0 ppm - 60 min 처리 후 15°C에서 33일 간 사육한 바, 연어 난황 자어의 실험군이 대조군에 비해 전장은 10.8% 증가하였고 체중은 14% 증가 하였으며, 난황 무게는 대조군에 비해 실험군에서 약 20% 정도 작게 나타나 난황 흡수도 빠르게 진행 된다는 것을 언급하였다. 본 실험에서 96시간 동안 복섬, *Takifugu niphobles* 난황 자어의 체중 및 전장의 경우는 대조군에 비해 실험군에서 전장 10.7%, 체중 5.3% 증가 하였고, 난황 무게는 약 39% 감소하여 연어 자어와 비교시 복섬 자어에 대한  $T_4$  효과는 크지 않은 것으로 보여진다. 이와 더불어,  $T_4$ 는 민물송어, *Savelinus fontinalis*, 무지개송어, *O. mykiss*, 틸라피아, *Tilapia mossambica* 및 잉어, *Cyprinus carpio* 자어에 처리한 결과에서도 대조군에 비해 실험군에서 자어의 난황 흡수가 빠르고 체중 및 전장이 증가하는 것으로 보고되고 있다(Baker-Cohen, 1961; Lam 1980; Lam and Sharma 1985).

Han (1995)에 따르면 참복속 어류인 자주복, *T. rubripes* 자어의 난황 흡수는 부화 후 5일 전후로 완료된다고 보고한 바 있다. 같은 속 복어과 어류인 복섬 자어의 경우는 이보다 빠른 부화 후 3일 전후로 난황 흡수가 완료 되었으나, 1.0 ppm의  $T_4$ 를 처리시 부화 후 2일에 난황 흡수가 완료 되었다.  $T_4$  처리에 따른 생존율에서는 넙치, *Paralichthys olivaceus* 자어인 경우 생존율이 비교적 낮은 농도(0.02 ppm)로 처리한 실험군만 대조군 보다 높은 생존율을 보였고, 높은 농도로 처리한 실험군은 오히려 낮아지는 현상이 관찰 되었다(Baker-Cohen, 1961). 본 실험에서의 복섬 자

어도  $T_4$  농도가 높아 질수록 생존율이 낮아지는 경향을 보였으나, 낮은 농도(0.1 ppm)에서는 다소 대조군 보다 높은 생존율을 보였다. 생존율 평가로의 적정  $T_4$  농도 결정 이외에도 기형을 고려에 의한 적정  $T_4$  농도 설정도 차후, 필요하리라 사료된다.

$T_4$  처리에 따른 표피 두께 및 점액세포의 크기 변화는 연어, 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus* 및 문피쉬, *Mene maculate*의 자어에서 연구된 바 있다(Baker-Cohen, 1961; Nacario, 1983; Park and Zhang, 1998). 이 중, 연어의 경우는 실험군의 표피가 대조군에 비해 1.7배 이상 증가 하였고, 본 실험의 복섬 난황 자어는 2.5배 이상 증가하여  $T_4$  처리에 의한 효과는 뛰어나다고 볼 수 있다(Park and Zhang, 1998). 점액세포의 경우는  $T_4$ 를 처리한 연어 *O. keta* 자어와 복섬 자어 모두 실험군이 대조군에 비해 표피 내의 점액세포가 팽창되어 있는 것이 관찰되었다(Park and Zhang, 1998).

비록  $T_4$ 가 어류 성장 촉진에는 영향이 있지만, 이러한 성장 촉진 효과가  $T_4$ 의 직접적인 영향에 의한 것인지,  $T_4$ 에 의한 hormone들의 복합적인 활성화에 의한 것인지는 명확하지는 않다(Weatherley and Gill, 1987). 이와같이 어체에서  $T_4$ 는 작용기작이 아직까지는 불명확하지만,  $T_4$ 가 확실히 성장 및 변태 등 관련 효과들이 있는 것으로 나타났다(Park and Zhang, 1998).

실험의 결과들로 보아 여러 수온 별  $T_4$ 의 농도가 증가 할수록 성장률과 난황 흡수율이 증가하는 경향을 보였다. 또한  $T_4$ 의 농도가 증가 할수록 표피 두께가 전반적으로 증가하는 경향도 보였다.  $T_4$ 가 연어 난황자어에서 자어로의 변태와 성장 촉진 효과로 연어 방류사업시 초기 사육기간을 단축시키는 장점(Park and Zhang, 1998)과 마찬가지로,  $T_4$ 는 본 실험의 복섬 난황자어에서도 연어 난황자어에서와 같은 효과가 나타나, 차후 본 실험 결과를 적용시 복섬의 양식 종묘생산이나 초기 방류사업에서 그 효용성이 있으리라



사료된다. 첨가적으로, 차후 본 실험에서 사용하였던 T<sub>4</sub> 농도보다 고농도를 사용하여 그 효과를 조사하고 파악 할 필요가 있다고 사료된다.

## References

- Baker-Cohen, K. F.(1961). The role of the thyroid in the development of flatfish. *Zoologica* (NY) 46, 181~222.
- Blaxter, J. H. S. & Hempel, G.(1963). The Influence of Egg Size on Herring Larvae (*Clupea harengus* L.). *ICES. J. Mar. Sci.* 28, 211~240.
- Donaldson, E. M. · Fagerlund, U. H. M. · Higgs, D. A. & McBride, J. R.(1979). Hormonal enhancement growth. In: Hoar, W. S. · Randall, D. J. · Brett, J. R.(eds.), *Fish Physiol Vol VIII Bio Grow Aca. Pre.* pp. 455~598.
- Duncan, D. B.(1954). Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1~42.
- Go, Y. B. & Cho, S. H.(1997). Study on the fish community in the seagrass belt around Cheju Island. I. Species composition and seasonal variations of fish community. *Kor J. Ichthyol.* 9, 48~60.
- Han, K. H.(1995). Morphology, osteology and phylogeny of the fishes of the family Tetraodontidae (Teleostei: Tetraodontiformes). Ph D Thesis Pukyong Nat'l Univ 205 pp.
- Huh, S. H.(1986). Species composition and seasonal variations in abundance of fishes in eelgrass meadows. *Bull Kor Fish. Soc.* 19, 509~517.
- Huh, S. H. & Kwak, S. N.(1997). Species composition and seasonal variations of fishes in eelgrass (*Zostera marina*) bed in Kwangyang Bay. *Kor J. Ichthyol.* 9, 202~220.
- Inui, Y. & Miwa, S.(1985). Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *Gene. Comp. Endo.* 60, 450~454.
- Kikuchi, T.(1966). An ecological study on animal communities of the *Zostera marina* belt in Tomioka Bay, Amakusa, Kyushu. *Public Amak. Mar. Biol. Lab.* 1, 1~106.
- Kim, D. S. · Bang, I. C. · Kim, Y. & Kim, K. K.(1995). Effects of thyroid hormones on settlement, survival and growth in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae. *J. Aquacult.* 8, 133~140.
- Kim, I. S. & Kang, Y. J.(1993). Coloured Fishes of Korea. Academy Publishing Co. Seoul 477 pp.
- Lam, T. J.(1980). Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (*Tilapia*) *mossambicus* Ruppell. *Aquacult.* 21, 287~291.
- Lam, T. J. & Sharma, R.(1985). Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquacult.* 44, 201~212.
- Nacario, J. F.(1983). The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. *Tilapia nilotica*. *Aquacult.* 34, 73~83.
- Park, I.-S. & Zhang, C. I.(1998). The effect of thyroxine on the growth and yolk resorption of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) yolk sac larvae. *Isr J. Aquacult-Bamid.* 50, 60~66.
- Reddy, P. K. & Lam, T. J.(1992). Role of thyroid hormones in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*): I. Effects of the hormones and antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. *Fish Physiol. Biochem.* 9, 473~485.
- Weatherley, A. H. & Gill, H. S.(1987). The biology of fish growth, 6. Influence of hormones. *Aca. Pre.* 201~204.

• Received : 19 February, 2018

• Revised : 31 May, 2018

• Accepted : 06 June, 2018