

Thyroid hormone 처리에 의한 넙치, *Paralichthys olivaceus* 자어의 착저, 생존 및 성장*

방인철 · 김 윤 · 김경길 · 김동수**

국립수산진흥원 어류양식과 · **부산수산대학교 양식학과

Effects of Thyroid Hormones on Settlement, Survival and Growth in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* Larvae*

In Chul Bang, Yoon Kim, Kyung-Kil Kim and Dong Soo Kim**

Fish Culture Division, National Fisheries Research and Development Agency, Kijang-gun, Pusan 626-900, Korea

**Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae of pre-metamorphic and early metamorphic stage were treated with different concentrations of triiodothyroxine (T₃) and thyroxine (T₄) by immersion (0.02, 0.04, 0.08 and 0.16 ppm) for 11 days. Although T₃ was more potent than T₄, both T₃ and T₄ accelerated the settlement time of fish larvae. Duration upto complete settlement in hormone-treated groups was significantly shorter than that in controls. Survival of hormone-treated groups at the pre-metamorphic stage decreased as hormone concentrations increased, however groups treated at the early metamorphic stage were not differ from control. Growth rates of groups treated with high concentration of hormone were slightly lower than that of control except 0.02 ppm T₄ treated group.

서 론

넙치는 성장이 빠르고 질병에 비교적 강하며, 경제적 가치가 높아 양식에 의한 생산량이 점차 증가되어 1992년 국내 양식 생산량은 3,199톤으로 전체 해산어 양식의 69.6%를 점하고 있는 중요한 어종이다(농림수산부 1993). 우리 나라의 넙치에 대한 양식은 초기에는 국립수산진흥원을 중심으로 인공 종묘 생산이 개발되어 왔으나(Min 1987), 최근 양식 기술의 보편화로 어민들이 종묘생산부터

* 본 논문은 국립수산진흥원 수산시험연구 사업비에 의해 수행되었음.

양성까지 완전 양식이 가능하게 되었다. 그러나 보편화된 종묘 생산 기술에도 불구하고 자어기에 난질, 질병, 영양 및 수질 관리 등 제반 요인으로 인한 많은 폐사가 일어나 자어의 관리가 종묘 생산에 있어 성패를 좌우할 정도의 주요 요인으로 인식되고 있다.

Thyroid hormone은 틸라피아(Lam 1980; Reddy and Lam 1992a), milkfish(Lam *et al.* 1985), 넙치(Inui and Miwa 1985), 금붕어(Reddy and Lam 1992b), 잉어(Lam and Sharma 1985) 및 참돔(Hirata *et al.* 1989) 등 많은 어류에 있어 자어기의 성장, 발달 및 생존율을 증가시키는 물질로 알려져 왔다. 예컨대 틸라피아에 있어서는 자어의 난황 흡수를 촉진하였으며(Nacario 1983), *Aequidens portalegrensis* 자어의 자유 유영을 촉진하고(Munro 1984), 철갑상어 자어의 형태 형성(Iakovleva 1949) 및 뱀장어(conger eel)의 변태를 촉진(Kitajima *et al.* 1967) 하는 등 변태를 조절하는 주된 호르몬으로 알려져 있다. 또한 연어과 어류의 smoltification 과정에 있어서 thyroid hormone의 혈중 농도가 증가하고(Brown *et al.* 1989, Formar and Dickhoff 1980, Hoar 1976, Leathland *et al.* 1989, Sullivan *et al.* 1987, Youngson 1989), 인위적인 thyroid hormone 처리에 의해 smoltification이 유도된 바 있다(Miwa and Inui 1983).

넙치의 thyroid hormone에 관한 연구는 자어 변태기의 thyroid hormone 농도 변화(Tanangonan *et al.* 1988, Tagawa *et al.* 1990)와 thyroxine (T_4)과 thiourea (TU)에 의한 변태의 촉진 및 억제 효과가 보고된 바 있다(Inui and Miwa 1985). 또한 넙치의 변태를 조절하며 cortisol 및 sex steroid 등이 변태를 촉진한다고 보고 되어 있다(de Jusus *et al.* 1991 & 1992 & 1993, Yamano *et al.* 1988). 이렇듯 넙치 자어의 변태에 관한 많은 결과들이 보고되고 있지만 thyroid hormone을 이용하여 조기 변태를 유도하고, 이에 의해 자어의 생존율 및 성장율을 향상 시키는 등 양식 산업에 직접 이용하고자 하는 연구는 수행된 바 없다.

따라서 본 연구는 우리 나라에서 양식 대상으로 가장 중요한 넙치의 초기 폐사를 감소시키기 위한 연구의 일환으로, thyroid hormone 처리에 의한 변태를 촉진시킴으로써 조기 착저를 유도하고, 호르몬 처리에 의한 성장 및 생존율에 미치는 영향을 검토하였으며, 아울러 자어의 발달 단계에 따른 thyroid hormone의 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험어는 육상 탱크에서 사육중인 4년생 친어로부터 자연 산란된 수정란을 부화시킨 자어를 실험

Table 1. Developmental stages and morphological characteristics of larvae used in this experiment

Developmental stage*	Total length (mm)	Days after hatching	Morphological characteristics
Pre-metamorphosis E	8.30 ± 0.21	15	45° notochord flexion Body depth increased Pelagic larva
Early metamorphosis F	9.73 ± 0.30	18	Definite asymmetry due to eye migration Caudal fin rays developing Pelagic larva

* From Tanangonan *et al.* (1989)

Thyroid hormone 처리에 의한 넙치, *Paralichthys olivaceus* 자어의 착저, 생존 및 성장

에 사용하였다. 자어는 두 단계로 나뉘어 실험어로 이용하였는데 발생 단계에 따른 선별은 Minami (1982)와 Tanangonan *et al.* (1989)의 분류 기준에 따라 변태 전 단계(E stage, pre-metamorphic stage, 부화 후 15일)와 초기 변태 단계(F stage, early metamorphic stage, 부화 후 18일)로 나누었다(Table 1).

2. 방 법

2-1. 자어사육

부화 후 3일째부터 rotifer를 공급하였으며, 12일째부터는 *Artemia* nauplius와 배합사료를 혼합하여 공급하였다. 모든 실험기간 중의 사육 수온은 18~20°C로 유지하였고, 자어의 예비 사육에는 1톤 polycarbonate 수조를, 호르몬 처리에는 50 ℓ 플라스틱 수조(유효수량 40 ℓ)를 이용하였다.

2-2. 호르몬 처리

자어의 변태를 유도하기 위한 hormone은 triiodothyroxine (T_3)와 thyroxine (T_4)를 이용하였고, 호르몬 종류별로 0, 0.02, 0.04, 0.08 및 0.16 ppm 농도로 반복 처리하였다. 호르몬은 대조군의 착저가 완료되는 시기까지인 11일간 처리하였다. 실험어는 각 수조당 100 마리씩 수용하였다.

사육수의 환수는 매일 전체 수량의 1/4인 10 ℓ를 교체하였고 동시에 찌꺼기를 제거하였다. 10 ℓ의 여과해수를 보충할 때에는 일정량의 호르몬을 희석하여 수조내의 호르몬이 적정 농도가 유지되도록 하였다.

2-3. 착저율, 생존율 및 성장

매일 오전 10시 및 오후 4시에 착저가 완료된 자어를 계수하여 착저율로 하였고, 동일한 크기의 다른 수조로 옮겨 계속 사육하였다. 착저의 판단은 형태적인 변태(등지느러미 연조의 완전한 흡수)가 완료되어 수조의 바닥과 측면에 부착한 개체로 하였다.

Thyroid hormone 처리에 의한 성장 및 생존율을 조사하기 위해 대조군의 착저가 완료되는 시기에 최종 성장 및 생존율을 측정하였다.

결 과

1. 호르몬에 의한 착저 유도

Thyroid hormone을 처리한 모든 실험군에서 대조군보다 조기 착저가 유도되었고 착저에 필요한 기간도 단축되었다(Fig. 1). 변태 전단계에 처리한 대조군의 착저가 완료되는 기간은 12일(부화 후 26일)이 소요되었으나 0.02 ppm T_4 처리군의 착저 완료 기간은 9일, 0.02 ppm T_3 처리군이 8일 그리고 0.16 ppm T_3 및 T_4 처리군에 있어서는 처리한지 4일(부화 후 18일)만에 착저가 완료되어 대조군보다 8일이 단축되었다. 또한 초기 변태 단계의 실험군에 있어서도 비슷한 경향을 나타내어, 대조군이 처리 후 10일(부화 후 27일)에 100% 착저가 완료되는 반면 호르몬 처리군의 처리 후 3일~6일(부화 후 20~23일)만에 착저가 완료되었다. 따라서 착저가 완료되는 기간은 호르몬 처리군이 대조군보다 4일~7일이 단축되는 것으로 나타났다. 한편 호르몬 종류에 따라 착저율도 다르게 나타났는데 동일 농도로 처리하였다 하더라도 T_3 처리군이 T_4 처리군보다 더 높게 나타났다.

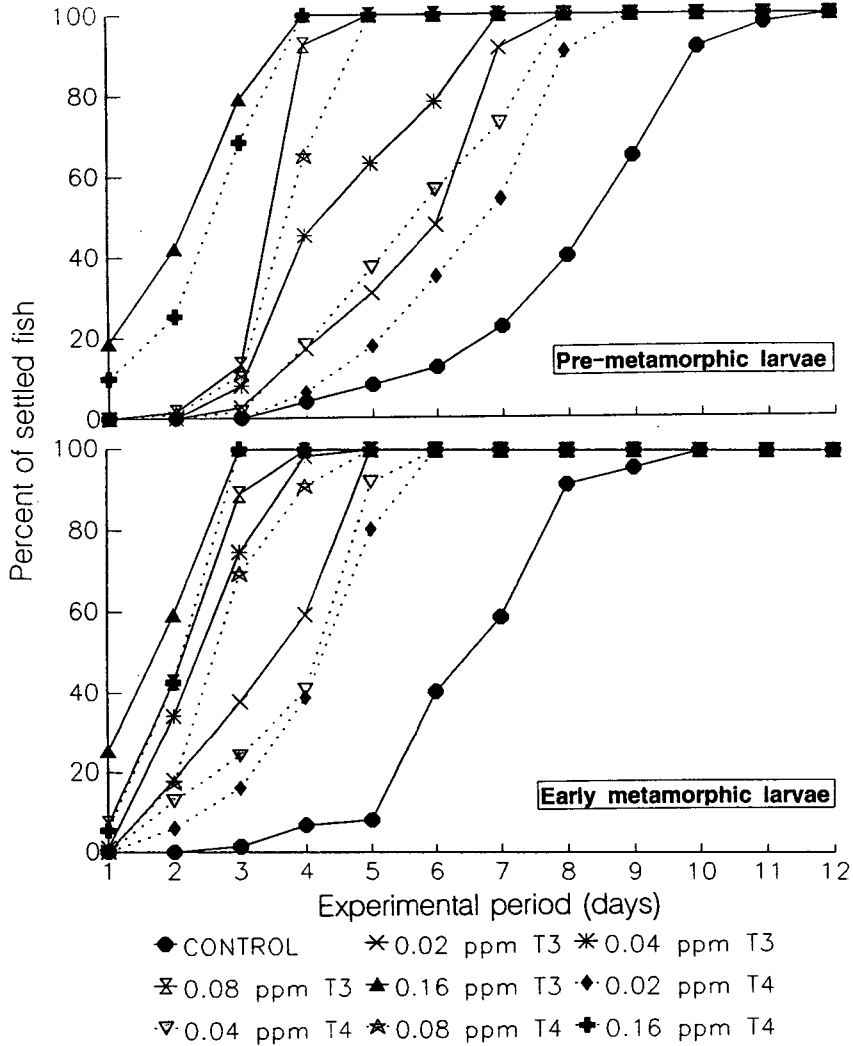


Fig. 1. Effects of triiodothyroxine (T₃) and thyroxine (T₄) on settling behavior in pre-metamorphic and early metamorphic larvae of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

2. 생존율 및 성장

대조군 자어의 착어가 완전하게 이루어지는 시기에 호르몬 처리를 중단하고, 모든 처리군의 생존율 및 전장을 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다.

생존율에 있어서 변태 전 단계의 자어를 대상으로 한 실험군은 대조군보다 낮은 결과를 보였으나, 변태 초기 단계의 자어를 대상으로 한 실험군은 차이가 없었다. 그러나 낮은 호르몬 농도 처리군에 있어서는 대조군보다 약간 높게 나타났다. 한편 모든 처리군에 있어서 호르몬 농도가 증가할수록 생존율이 감소하는 경향을 나타내었으며, 변태 전 단계 실험군에 있어서 T₃ 처리군보다 T₄ 처리군의 생존율이 다소 높았으나, 변태 초기 단계 실험군에 있어서는 비슷하였다.

Table 2. Survival and total length of control, T₃ and T₄-treated larvae at the end of the experiment

Treatment (ppm)	Pre-metamorphic larvae*		Early metamorphic larvae**	
	Survival	Total length (mm)	Survival	Total length (mm)
Control	90.7	12.5 ± 0.9 ^a	96.0	13.3 ± 0.9 ^a
T ₃ -0.02	85.6	11.7 ± 0.8 ^b	97.0	12.9 ± 1.4 ^{ab}
T ₃ -0.04	83.7	11.5 ± 1.1 ^b	98.3	12.0 ± 1.1 ^{bc}
T ₃ -0.08	77.0	10.9 ± 1.1 ^c	96.3	11.6 ± 1.3 ^c
T ₃ -0.16	73.6	11.4 ± 1.0 ^{bc}	93.3	12.3 ± 1.3 ^b
T ₄ -0.02	89.7	11.9 ± 1.1 ^{ab}	99.3	13.3 ± 1.1 ^a
T ₄ -0.04	85.3	12.2 ± 1.4 ^a	99.3	12.5 ± 1.0 ^b
T ₄ -0.08	81.3	11.1 ± 0.9 ^c	96.0	12.5 ± 0.9 ^b
T ₄ -0.16	80.7	11.3 ± 1.4 ^b	92.7	12.1 ± 0.9 ^{bc}

* Group treated at the pre-metamorphic stage (\bar{x} = 8.3 mm).

** Group treated at the early metamorphic stage (\bar{x} = 9.7 mm).

Values in same column having the different superscripts are significantly different at $P < 0.05$.

한편, 성장에 있어서는 변태 전 단계의 실험군보다 변태 초기 단계의 실험군이 약간 높은 성장을 나타내었고, 모든 호르몬 처리군에서 대조군보다 오히려 낮은 성장을 보였으나 큰 차이는 보이지 않았다. 또 호르몬 농도의 증감에 따라 성장에 대한 경향은 나타나지 않았으나, 0.02 ppm 처리군의 경우 대조군과 비슷하였다.

고 찰

본 연구 결과 thyroid hormone은 넙치 자어의 조기 착저 유도에 효과적임을 알 수 있었다. 모든 처리군에서 대조군보다 3~8일 정도 빨리 착저하는 결과를 나타내었는데 이와 같은 결과는 Inui and Miwa (1985)의 처리군이 대조군보다 1~2주 빠른 착저하였다는 결과보다는 짧았다. 그러나 본 연구에서의 사육 수온이 Inui and Miwa (1985)가 이용한 사육 수온(15°C) 보다 3~5°C 정도 높았기 때문에 실험 기간이 단축되어 thyroid hormone에 의한 착저도 짧게 나타난 것으로 생각된다. 한편, 착저 유도율에 있어 T₄보다 T₃가 더 강한 영향을 나타내었는데 이는 어류에서 thyroid hormone의 주된 산물이 T₄이고, 이것이 탈요오드화한 것이 T₃이며(Eales 1985), 따라서 T₃의 생물학적 활성이 T₄ 보다 강하다는 Reddy and Lam (1992a)의 주장과 일치하는 결과였다.

Thyroid hormone에 의한 생존율 영향에 있어 많은 보고에서 생존율이 향상되었다는 결과를 보고 하고 있으나(Lam 1980; Lam and Sharma 1985), 본 연구에서는 단지 낮은 농도(0.02 ppm)로 변태 초기 단계에 처리한 실험군에서만 대조군보다 높은 생존율을 보였고 높은 농도에서는 오히려 낮아지는 현상이 관찰되었다. 또한 변태 전 단계의 실험군에 있어서는 모든 처리군의 생존율이 대조군보다 낮았고, 농도의 증가에 따라 생존율이 감소하는 반대 경향이 관찰되었다. 이와 같은 현상은 thyroid hormone의 직접적인 영향으로 급격한 변태에 의한 과도한 에너지 소비 및 간접적인 영향으로 변태 후 2~3일간 먹이를 먹지않은 원인으로 생각된다. 따라서 본 연구 결과 효과적인 조기 착저

를 유도하여 생존율을 향상시키기 위해서는 변태 초기 단계 이후에 처리하여야 할 것으로 생각된다.

T₃와 T₄의 성장 촉진 효과가 다른 많은 어류에서 관찰되었다(Lam 1980; Nacario 1983; Lam *et al.* 1985; Lam and Sharma 1985; Reddy and Lam 1992a & 1992b). 그러나 본 연구에서는 0.02~0.04 ppm T₄ 처리군을 제외한 모든 처리군에서 대조군보다 오히려 느린 성장을 보여, 이전의 다른 연구 결과와 반대의 경향을 나타내었다. 특히 변태 전 단계의 처리군에서는 변태 초기 단계의 처리군보다 오히려 느린 성장을 보였는데, 이는 thyroid hormone에 의한 조기 변태에 따른 영향으로, 또 실험에 이용한 자어의 발달 단계로 볼 때 배합사료에 완전히 적응이 이루어지지 않았고, 착저를 완료한 실험군의 자어에 있어서 소화관이 비어있었다는 점으로 미루어 표층에 부유하는 *Artemia nauplius*를 섭취하지 못하여 성장이 둔화된 것으로 추정할 수 있다. 따라서 thyroid hormone을 이용하여 자어의 조기 착저 및 성장 촉진 효과를 얻기 위해서는 변태 초기 단계의 자어(전장 9.5 mm)를 배합사료에 순치시킨 후 처리하여야 할 것으로 생각된다.

처리 방법에 있어서도 침지 처리의 번거로운 문제점을 해결하기 위해서는 초기에 배합사료에 완전히 순치시켜 미립자 사료에 섞어 경구 투여하는 등의 다양한 방법의 검토가 이루어져야 할 것이며, 처리 후의 종묘 크기까지 thyroid hormone 영향등에 의한 성장의 연구가 이루어져야 할 것이다.

요 약

넙치, *Paralichthys olivaceus* 자어의 높은 사망율을 감소시키기 위한 연구의 일환으로 thyroid hormone을 이용하여 착저를 유도하였다. 적정 처리 시기를 알기 위하여 발달 단계가 서로 다른 변태 전 단계(pre-metamorphic stage)와 초기 변태 단계(early metamorphic stage)의 자어를 이용하였고, triiodothyronine (T₃) 및 thyroxine (T₄) 두 종류의 thyroid hormone을 0.02, 0.04, 0.08 및 0.16 ppm의 다양한 농도로 침지 처리하였다.

변태 전 단계의 자어에 있어 착저가 완료되는 시기는 0.02 ppm T₃ 및 T₄ 처리군이 대조군보다 2일 단축되었고, 농도의 증가에 따라 그 시기가 짧아져서 가장 높은 농도인 0.16 ppm T₃ 처리군은 7일이 단축되었다. 변태 초기 단계에서는 각각 4일 및 7일 단축되었다. 한편 호르몬 종류에 따른 착저 유도 효과는 T₄보다 T₃가 더 강한 것으로 나타났다. 생존율은 변태 전 단계 실험군 중 대조군이 90.7%, T₃ 처리군이 85.6~73.6%, T₄ 처리군이 89.7~80.7%로 호르몬 처리군이 다소 낮았으나 유의한 차이는 없었다. 또 초기 변태 단계 실험군에 있어서는 대조군이 96.0%, T₃ 및 T₄ 처리군이 92.7~99.3%로 큰 차이가 없었다. 성장에 있어서 호르몬 처리군이 대조군보다 약간 낮았으나 0.02 ppm T₄ 처리군은 대조군과 비슷하였다.

참 고 문 헌

- Brown, J. A., D. Edwards and C. Whitehead. 1989. Cortisol and thyroid hormone responses to acid stress in the brown trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol. 35: 73~84.
- Eales, J. G. 1985. The peripheral metabolism of thyroid hormones and regulation of thyroidal status in poikilotherms. Can. J. Zool. 63: 1217~1231.
- Folmar, L. C. and W. W. Dickhoff. 1980. The parr-smolt transformation (smoltification) and seawater adaptation in salmonids. A review of selected literature. Aquaculture 21: 1~37.
- Hirata, Y., H. Kurokura and S. Kasahara. 1989. Effects of thyroxine and thiourea on the

- development larval red sea bream *Pagrus major*. Nippon Suisan Gakkaishi 55: 1189~1195.
- Hoar, W. S. 1976. Smoltification transformation: evolution, behavior, and physiology. J. Fish. Res. Board Can. 33: 1234~1252.
- Iakovleva, I. V. 1949. The independence of the activity of the thyroid gland from thyrotropic function of the hypophysis in the post-embryonic development of acipenserines. Dokl. Akad. Nauk., USSR, 60: 281~284.
- Inui, Y. and S. Miwa 1985. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder laeae. Gen. Comp. Endocrinol. 60: 450~454.
- de Jesus, E. G., T. Hirano and Y. Inui. 1991. Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Gen. Comp. Endocrinol. 82: 369~376.
- de Jesus, E. G., T. Hirano and Y. Inui 1993. Flounder metamorphosis: Its regulation by various hormones. Fish Physiol. Biochem. 11: 323~328
- de Jesus, E. G., M. Tagawa and T. Hirano 1992. Changes in monodeiodinase activities during flounder metamorphosis. Zool. Sci. 9: 1264.
- Kitajima, C., T. Sato and M. Kawanishi. 1967. On the effect of thyroxine to promote the metamorphosis of a conger eel-preliminary report. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 33: 919~922.
- Lam, T. J. 1980. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus* Ruppell. Aquaculture 21: 287~291.
- Lam, T. J., J. V. Juario and J. Banno. 1985. Effect of thyroxine on growth and development in post-yolk-sac larvae of milkfish, *Chanos chanos*. Aquaculture 46: 179~184.
- Lam, T. J. and R. Sharma. 1985. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture. 44: 201~212.
- Leatherland, J. F., N. E. Down, E. M. Donaldson and H. M. Dye. 1989. Changes in plasma thyroid hormone levels in pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, during their spawning migration in the Fraser River (Canada). J. Fish Biol. 35: 199~205.
- Min, B. S. 1988. Maturation and spawning of flounder (*Paralichthys olivaceus*) under captive conditions. Korean J. Aquacult. 1: 25~39.
- Minami, T. 1982. The early life history of a flounder *Paralichthys olivaceus*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 48: 1581~1588.
- Miwa, S. and Y. Inui. 1983. Effects of thyroxine and thiourea on the parr-smolt transformation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture 4: 4~52.
- Munro, A. D. 1984. The ontogeny of the retina and optic tectum in *Aequidens portalegrensis* (Hensel). J. Fish. Biol. 24: 377~393.
- Nacario, J. F. 1983. The effect of thyroxine on the laeae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (*Tilapia nilotica*). Aquaculture 34: 73~83.
- Reddy, P. K. and T. J. Lam. 1992a. Role of thyroid hormones in tilapia laeae (*Oreochromis mossambicus*): I. Effects of the hormones and antithyroid drug on yolk absorption, growth and development. Fish Physiol. Biochem. 9: 473~485.

- Reddy, P. K. and T. J. Lam. 1992b. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of laevae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 107: 383~394.
- Sullivan, C. V., R. N. Iwamoto and W. W. Dickhoff. 1987. Thyroid hormones in blood plasma of developing salmon embryos. *Gen. Comp. Endocrinol.* 65: 337~345.
- Tagawa, M., S. Miwa, Y. Inui, G. E. DeJesus and T. Hirano, 1990. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.* 7: 93~96.
- Tanangonan, J. B., M. Tagawa, M. Tanaka and T. Hirano. 1989. Changes in tissue thyroxine level of metamorphosing japanese flounder *Paralichthys olivaceus* reared at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 485~490.
- Tsukamoto, K. and K. Aida. 1988. Plasma thyroxine concentration and upstream migratory behavior of juvenile ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1687~1693.
- Yamano, K., S. Miwa, T. Obinata and Y. Inui. 1991. Thyroid hormone regulates developmental changes in muscle during flounder metamorphosis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 81: 464~472.
- Youngson, A. F. 1989. Thyroid hormones in migrating Atlantic salmon. *Aquaculture* 82: 319~327.
- 농림수산부. 1993. 농림수산통계연보. 동양문화, 서울. 492pp.