

황복의 난발생과 자치어 발달

장선일 · 강희웅 · 한형균

국립수산진흥원 보령수산종묘배양장

Embryonic, Larval, and Juvenile Stages in Yellow Puffer, *Takifugu obscurus*

Seon Il Jang, Hee Woung Kang and Hyoung Kyun Han

*Poryoung Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency,
Chungnam 355-860, Korea*

We described morphological characteristics of embryonic, larval, and juvenile period of the yellow puffer, *Takifugu obscurus*. We defined seven periods of embryogenesis the zygote, cleavage, blastula, gastrula, segmentation, pharygula, and hatching periods. The eggs were adhesive and spherical in shape. The egg yolk had numerous tiny oil globules. Hatching began about 280 hours after insemination at $17.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ water temperature. Melanopores of star shape were seen on yolk, head and trunk during the pharygula and hatching period. The hatched larvae having large yolk were 3.00~3.54 mm in size with 25~26 myomeres. The larvae completely absorbed the yolk materials and oil globules within 7 days after hatching and became post-larvae. Laval fish became juveniles within 60 days after hatching, and they reached 23.54~30.12 mm in total length and had fin-rays.

Key words : Embryogenesis, Larva, Juvenile, Yellow puffer

서 론

황복(*Takifugu obscurus*)은 복어목(Tetraodontiformes)의 참복과(Tetraodontidae)에 속하는 어류로서 우리나라의 서남해와 중국의 동남해 등 황해에 주로 분포하며 산란시기에는 큰 하천이나 강의 중류 까지 거슬러 올라와 산란하는 소하성 어류이다(정, 1977 ; 이, 1993).

복어류 중에서 본 종은 5~6월 경 우리나라의 금강, 임진강 및 압록강에 주로 거슬러 올라와 산란을 하고 다시 바다로 내려가는 독특한 산란 생태를 갖고 있다.

황복에 대한 연구는 자주복을 비롯한 참복 등의 연구와는 대조적으로 형태분류학적 특징(정, 19

77 ; 이, 1993), 독성(전과 유, 1995), 그리고 자치어 생산 및 특징(명 등, 1994)에 대한 보고가 있을 뿐으로, 초기발생단계, 생활사 및 자치어 발달에 관한 문헌은 찾아볼 수 없는 실정이다.

따라서, 본 연구는 산란시기의 황복을 대상으로 성선자극호르몬을 이용해 인위적으로 배란시켜 수정한 후에 난 발생과정과 부화후 60일 까지 나타나는 형태발생학적 특징을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어류

군산 근해 및 강화도에서 1995년 5월에 포획된 성체(600~1,000 g)를 군산 및 강화도의 상점

으로 부터 황복(*T. obscurus*) 5마리(암컷 3, 수컷 2)를 구입하여 실험에 사용하였다. 암컷은 2.5% 염분 해수가 들어 있는 2톤 수조에 수용한 후 낮과 밤의 주기를 13~14 L; 11~10 D로 조절하고 지하담수를 소량씩 주입하면서 호르몬을 처리한 다음 최종 배란유도시 까지 염분의 최종 농도가 0.5% 이하로 되게하여 수온 16~20°C에서 실험하였다. 수컷은 암컷과 같은 조건 하에서 관리하였으나, 성숙이 자연조건에서 잘 이루어져 특별한 호르몬 처리는 하지않았다.

호르몬 처리

Human chorionic gonadotropin (HCG)은 Sigma사로 부터 구입하여 1 ml당 1,000 IU가 되도록 DPBS (Dulbaco's modified phosphate buffered saline, pH 7.2)로 호르몬 용액을 준비한 다음 500 IU/kg (어체중)을 복강에 24시간 간격으로 2회 반복 주사했다. 성숙된 난의 배란 상태를 조사하기 위해서 24시간 간격으로 복부를 압박하여 확인했다.

수정 및 난의 관리

호르몬 주사후 6~7일 경에 배란상태가 좋은 어류의 난을 수정에 사용하였다. 수정율을 높이기 위해서 성숙된 난이라 할지라도 처음과 마지막 난을 버리고 중간층의 난만을 200 µm 나일론 메쉬로 만든 용기(직경 25×5 cm)에 넣은 다음 성숙이 잘된 수컷으로부터 정액(정액은 암컷의 배란 유도직전에 현미경 하에서 운동성을 확인하였다)을 주입하고 즉시 부드러운 붓으로 난과 정액이 잘 흡착되도록 교반시켰다. 3~5분이 경과한 후 1.0 µm의 필터로 여과한 지하담수를 이용하여 잔여 정액과 불순물이 남지않도록 여러 번 반복 세척한 후에 난은 20 여개의 페트리디쉬(직경 10 cm)에 수용 부착시킨 후 난이 충분히 잠기게 여과수를 주입하였다. 미수정난이나 비정상적인 발생난은 피펫을 이용하여 제거했고 매 24시간 마다 새로운 여과수로 교환했다. 약 17.0°C에서 수정시킨 후 유리관(25×60 cm)에 약

2,000개의 난을 부착시킨 후 즉시 수온이 17.0±1.0, 22.0±1.5, 25.0±1.5°C 등 3가지 다른 수조에 나누어 수용한 후 부화시간과 부화율을 조사하였다.

부화자의 관리

부화직전의 난은 새로운 수조(200 l)에 수용하여 부화시킨 후 5~7일에 rotifer (*Branchionus plicatilis*)를 매일 급이하고 부화후 10일부터 실험이 종료된 부화후 60일까지 *Artemia nauplius* 유생과 rotifer를 동시에 급이하면서 형태적인 특징을 조사하였다.

형태발생학적 특징 조사

각 단계의 난의 형태 및 특징은 비디오가 부착된 해부현미경(Olympus)을 이용하여 조사하고 (50~70배), 현미경 시야에서 촬영하여 관찰하였다. 난과 자어의 크기는 만능투영기(Nikon)하에서 측정하였다.

결 과

1. 성숙난의 특징

성숙한 난은 난경이 1.45~1.51 mm (1.48 mm, n=100)의 구형으로 유백색을 띠며, 작고 많은 유구를 포함하고 있다. 배란된 난은 부착성을 가진 분리침성난으로 물질에 따라 부착강도가 다르나 유리재질에는 매우 강하며, 부착된 난의 모양은 약간의 타원 또는 불규칙한 형태를 나타냈다. 난막은 빗살 또는 불규칙한 무늬를 갖고 있다.

2. 난발생 단계의 형태적 특징

17±1.0°C 수온이 유지되는 수조에 난을 수용하여 관찰한 난발생과정의 형태적 특징은 Fig. 1에 나타냈다. 이 과정을 형태적 특징에 따라 융합기, 난할기, 포배기, 낭배기, 체절형성기, 인두형성기, 부화기 등 7개의 범주로 나누었다.

2-1. 융합기

수정후 30분이 경과되면 배반을 형성하기 위

하여 세포질이 동물극 쪽으로 이동되고, 수정후 60분에는 약한 담황색을 띤 융기가 돌아나 배반이 형성되었다(Fig. 1-1).

2-2. 난할기

수정후 6시간 30분에는 제1분열이 일어나 2세포기(Fig. 1-2)가 되었으며, 7시간 30분에 제2분열이 일어나 4세포기(Fig. 1-3), 8시간 30분에 8세포기(Fig. 1-4), 9시간 30분에 제4분열이 일어나 16세포기(Fig. 1-5), 10시간 30분에 32세포기(Fig. 1-6), 11시간 30분에 64세포기(Fig. 1-7)에 도달하였다.

2-3. 포배기

수정후 12시간 30분에는 난할 형태가 불규칙하고 5개의 할구층이 출현되는 128세포기(Fig. 1-8)에 도달되었고, 13시간 30분에 7개의 할구층이 나타나고 난황이 약간 함몰되는 256세포기(Fig. 1-9), 14시간 10분에 9개의 할구층이 나타나는 512세포기(Fig. 1-10), 16시간 30분에 11개의 할구층과 희미한 포배가 형성되는 1,000여개의 세포(Fig. 1-11)가 형성되었다. 수정후 20시간 30분에는 12개 이상의 할구층이 형성되어 배반이 편평하게 되며 모양이 불규칙적으로 나타나 포배고도기(high)에 도달되었다(Fig. 1-12). 포배부근이 장원형(oblong)으로 되는 시기는 수정후 22시간 20분에 이루어졌으며(Fig. 1-13), 27시간 30분에는 외포(epiboly)를 형성하기 위해서 난황세포가 동물극 쪽으로 부풀어 내려가는 반구시기(dome)가 형성되었다(Fig. 1-14). 동물극에 형성된 포배가 동물극과 식물극 사이의 비율이 40%에 도달되는 외포시기(Fig. 1-15)는 수정후 29시간 50분에 나타났다.

2-4. 낭배기

수정후 32시간에는 포배가 두터워지며 일정한 형태로 동물극과 식물극의 비율이 60%를 점유하는 외포기(Fig. 1-16)에 도달되었고, 부화후 35시간에는 배원(germ-ring)이 동물극에 70%를 점유하는 외포기(Fig. 1-17)가 형성되었다. 수정

후 40시간에는 포배의 등쪽면에 원시배가 형성되는 80% 외포기(Fig. 1-18)에 도달되었고, 부화후 45시간에는 체절판으로 부터 두꺼운 원시뇌와 척추기원세포가 출현되는 90% 외포기(Fig. 1-19)에 도달되었다. 수정후 49시간에는 뇌와 꼬리기의 기원이 되는 아체(bud)가 형성되었다(Fig. 1-20).

2-5. 체절형성기

첫째 마디의 체절형성은 관찰할 수 없었으나, 수정후 55시간에는 4마디의 체절이 관찰되었다(Fig. 1-21). 수정후 60시간에는 7마디의 체절(Fig. 1-22)과 원시안포 및 Kupffer씨낭이 형성되었으며, 수정후 67시간에는 11마디의 체절(Fig. 1-23)이 형성되었고, 수정후 78시간에는 15마디의 V자형 체절이 형성되었다(Fig. 1-24). 수정후 96시간에는 20마디의 체절이 형성되었고 꼬리부분이 신장되었다(Fig. 1-25). 수정후 105시간에는 22마디의 체절(Fig. 1-26)이 형성되었고, 124시간에는 25~26개의 체절이 형성되면서 약한 운동성을 보였다(Fig. 1-27).

2-6. 인두형성기

수정후 137시간에는 눈에 색소가 출현되었고 근육의 이완과 수축이 자유로우며 심장이 형성되어 혈액이 순환되고 약 5개의 인두열이 관찰되었다(Fig. 1-28). 수정후 190시간에는 심장박동이 활발했으며, 인두열이 완성되어 턱이 뚜렷이 나타났다. 이 시기에는 특히 난황주위에 흑포들이 출현되고 두정부와 몸통이 착색되었다(Fig. 1-29). 수정후 240시간에는 더욱 더 눈에 착색되었고, 혈액순환이 뚜렷하며 두부에 흑포가 뚜렷하고 이포가 형성되었으며 등, 가슴, 꼬리 지느러미의 형태가 나타났다(Fig. 1-30).

2-7. 부화기

수정후 260~280시간에는 강한 근육 운동과 함께 꼬리부분이 난막을 뚫고 돌출하면서 부화가 시작된다(Fig. 1-31). 이 때 두정부에 흑색포가 증가되고 매우 큰 난황에는 여전히 다수의 유구가

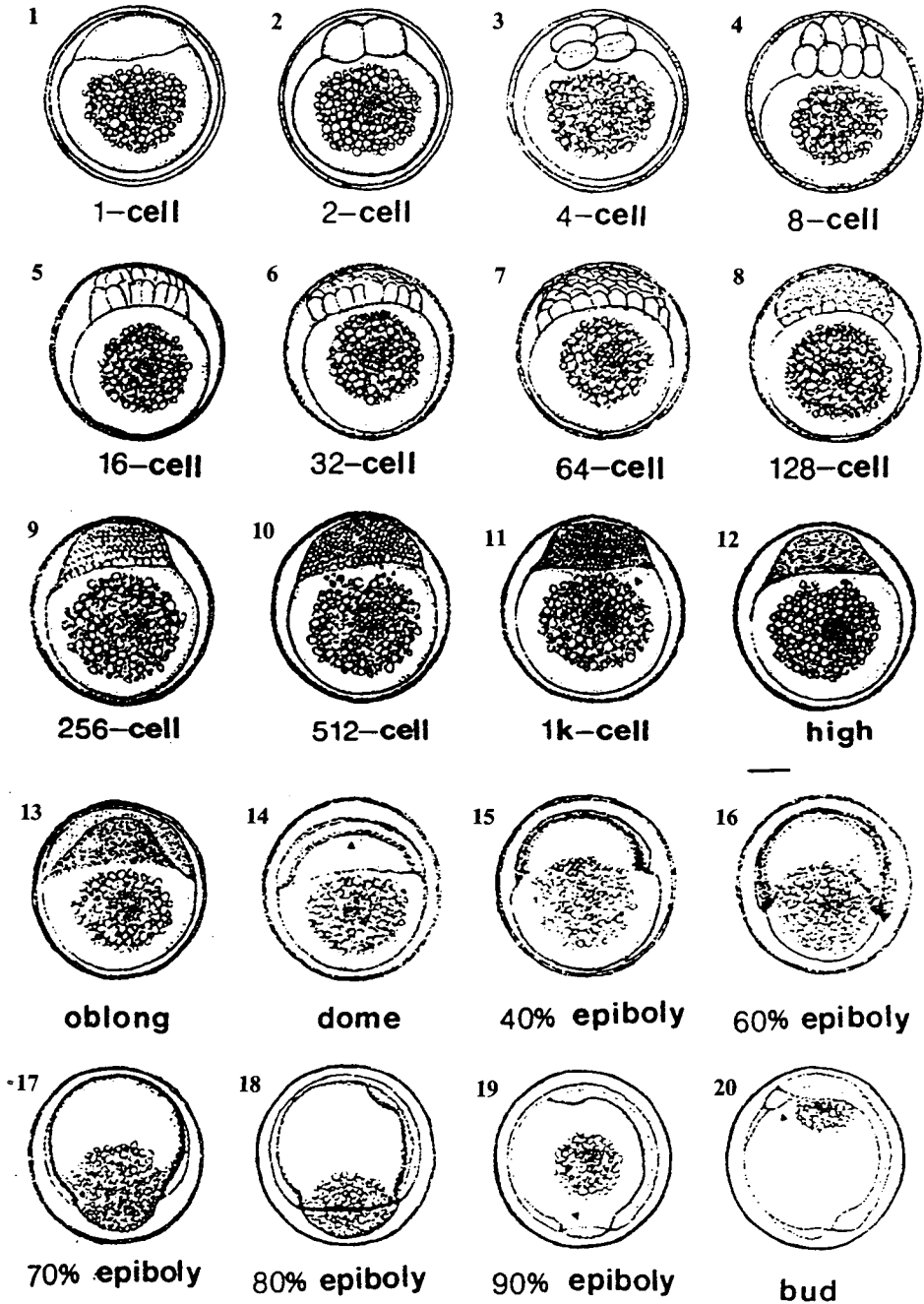


Fig. 1. Microscopic sketches of the yellow puffer embryo at selected stages. Arrow-head indicated the early appearance of some key diagnostic features at the following stages : (1) fertilized egg, (2) 2-cell : (3) 4-cell : (4) 8-cell : (5) 16-cell : (6) 32-cell : (7) 64-cell : (8) 128-cell : (9) 256-cell : (10) 512-cell : (11) 1k-cell : (12) high : (13) oblong : (14) dome : (15) 40%-epiboly : (16) 60%-epiboly : (17) 70%-epiboly : (18) 80%-epiboly ; (19) 90%-epiboly ; (20) bud.

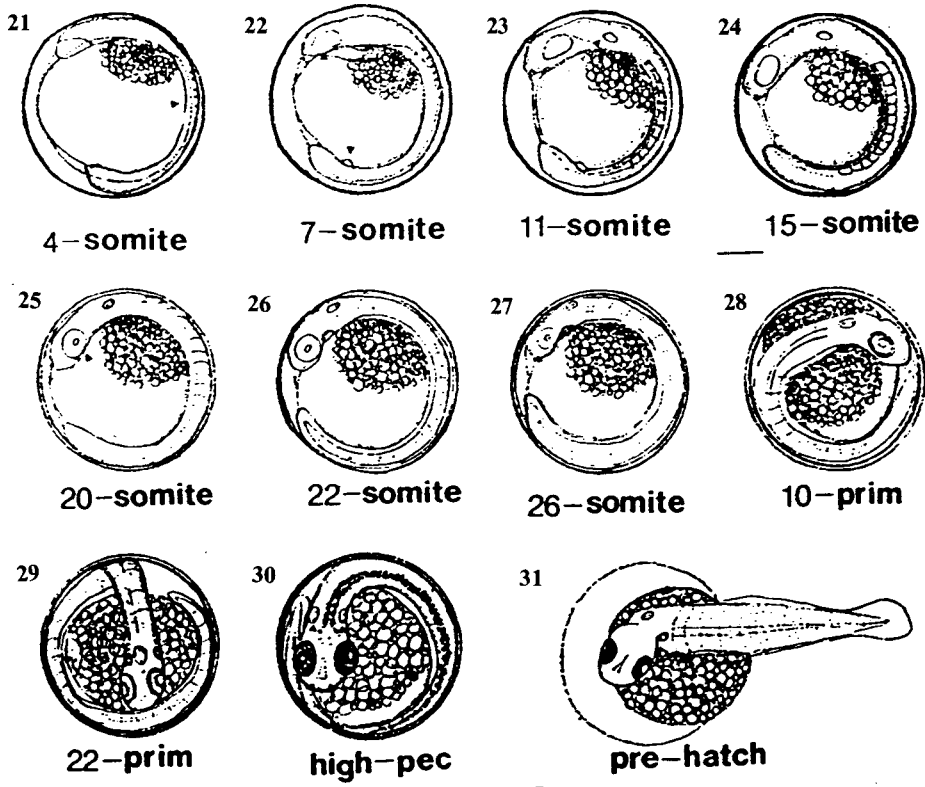


Fig. 1. Continued. (21) 4-somite : (22) 7-somite : (23) 11-somite : (24) 15-somite : (25) 20-somite : (26) 22-somite : (27) 26-somite : (28) 10-prim : (29) 22-prim : (30) high-pec : (31) pre-hatch : (32) hatched larva : (33) 2 days after hatching : (34) 5 days after hatching : (35) 6 days after hatching : (36) 7 days after hatching : (37) 19-days after hatching. 1k-cell : Yolk syncytial layer, Dome : the dome yolk syncytium, 90%-epiboly : blastoderm margin closing over the yolk plug, Bud : polster, 4-somite : fourth somite, 7-somite : eye promodium (upper arrow), Kupper's vesicle (lower), 11-somite : optic placode, 20-somite : lens primodium, 10-prim : primodium of the posterior lateral line, 22-prim : heart pulse, high-pec : pectoral fin bud. Bar indicates 250 μ m.

남아 있으며 난황배 주위에 흑색소포가 발달되고 몸통 주위에도 약하게 착색되어 나타나나 꼬리에는 흑포가 없었다(Fig. 2A). 부화직후 자어는 전장이 3.00~3.54 mm (평균 3.25 mm, n=30)로 입을 열리지 않고 항문은 몸통 중앙의 난황말단에 위치하나 개구되지 않았다. 부화자어는 활발히 꼬리와 근육운동을 하는데 페트리디쉬나 수조바닥에 앉아 있다가 위로 향하여 빙글빙글 돌 후 다시 바닥에 가라앉는다.

2-8. 자어의 형태발달

부화후 1~2일이 경과되면 자어의 전장이 3.20~3.67 mm (3.41, n=30)에 달하고 유영동작은 부화직후 보다 활발하다. 흑색소포는 별모양으로 두정부나 난황주위의 배부분에 분포한다. 부화후 2일째에는 입과 항문이 열리고 점차 난황이 흡수되면서 유구의 수가 줄어들었다(Fig. 2B). 부화후 5일에는 전장이 3.89~4.23 mm (4.07 mm, n=30)에 달하고 유영동작은 매우 활발한데

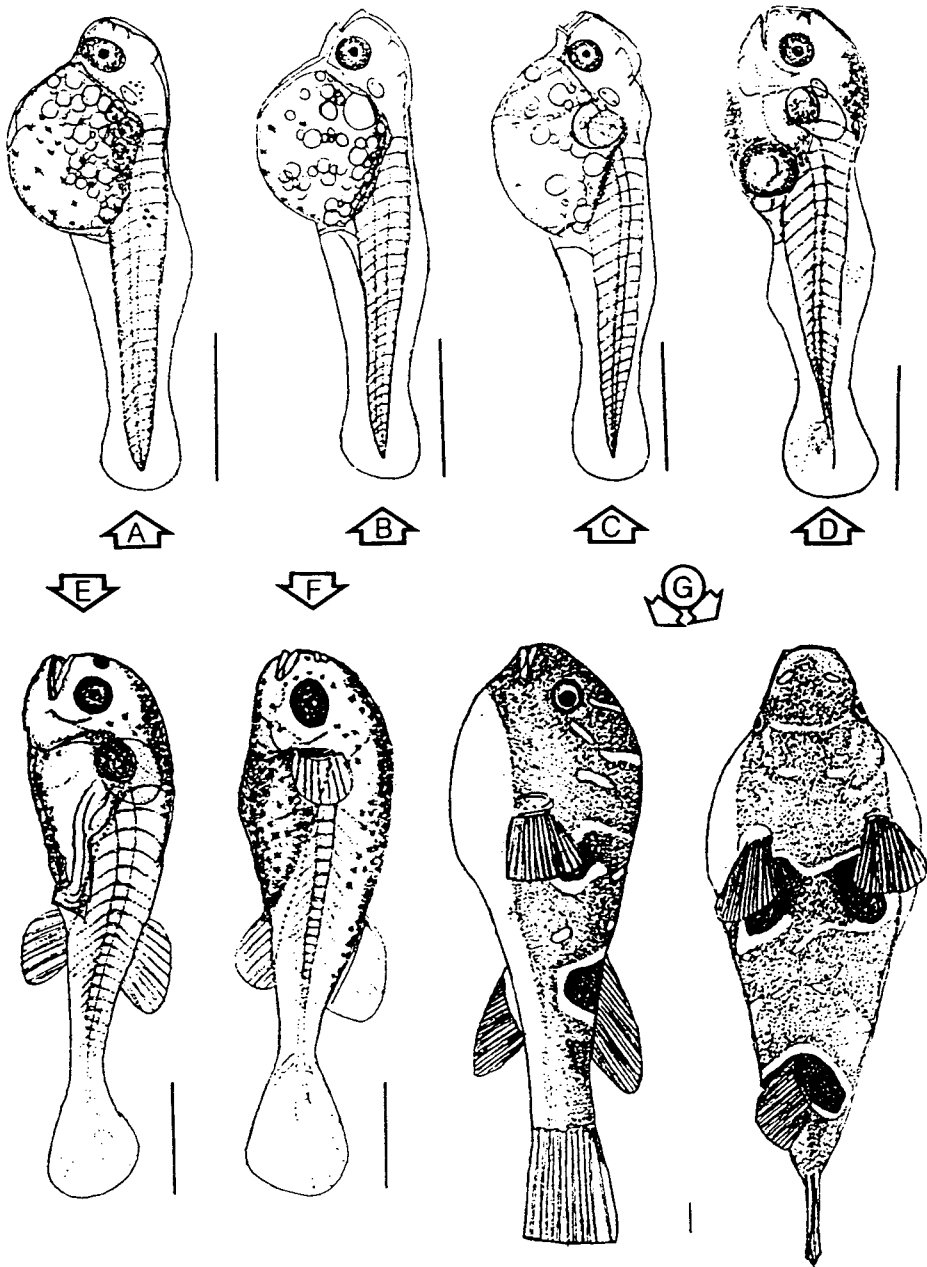


Fig. 2. The pre-larvae, post-larvae, and juvenile of the yellow puffer. A. The hatched larvae, 280 hrs after fertilization, 3.20~3.67 mm in total length. B. Pre-larvae, 2 days after hatching, 3.34~3.70 mm in total length. C. Pre-larvae, 5 days after hatching, 3.89~4.23 mm in total length. D. Post-larvae, 7 days after hatching, 4.02~4.41 mm in total length. E. Post-larvae, 15 days after hatching, 3.34~3.70 mm in total length. F. Post-larvae, 19 days after hatching, 6.87~7.23 mm in total length. G. Post-larvae, 60 days after hatching, 23.54~30.12 mm in total length. Bar indicates 1 mm.

가슴지느러미 윤곽이 뚜렷이 나타나고, 소화기관이 발달되며 먹이를 찾기위한 동작을 반복한다. 이포 주위에 흑색소포가 분포되며 난황의 약 2/3가 흡수되며 부레가 발달된다(Fig. 2C). 부화후 7일에는 전장이 4.02~4.41 mm (4.32 mm, n=30)에 달하며 난황이 완전히 흡수되고 rotifer를 먹기 시작한다. 복부는 흑색소포가 많이 분포되어 있고 소화기관의 분화는 계속되어지고, 배지느러미 및 등지느러미의 윤곽이 뚜렷하고 꼬리지느러미의 원기가 분화된다(Fig. 2D). 부화후 15일에는 전장이 5.37~5.98 mm (5.67 mm, n=30)에 달하며 rotifer와 *Artemia* 먹이 먹는 활동이 활발하고 소화기관에는 이들 동물성 플랑크톤을 먹은 흔적이 뚜렷이 나타나고 두정부와 몸통부분이 더욱 더 착색되고 꼬리, 가슴, 배, 등지느러미 등이 완전한 형태로 분화되었다(Fig. 2E). 부화후 19일에는 전장이 6.87~7.23 mm (7.13, n=30), 체장이 5.42~5.59 mm (5.41, n=30)에 달하고 거의 배부분의 흑포가 남아 있었다(Fig. 2F). 부화 후 30~60일 경에는 자어가 외부로부터 스트레스나 공격을 받을 때 순간적으로 몸이 2~3배 부풀어져 복어류에서 나타나는 독특한 특징이 나타난다. 부화 후 60일에는 완전한 형태의 치어가 되는데, 전장이 23.54~30.12 mm (28.04, n=30)에 달하고, 등지느러미의 기조수가 17~19, 배지느러미의 기조수가 15~17, 가슴지느러미 16~17, 꼬리지느러미의 기조수가 11, 척추마디가 23~24개로 성체에서 나타난 특징과 비슷하였다(Fig. 2G)

3. 수온이 부화시간에 미치는 영향

부화시간은 17.0±1.0°C 실험구에서 280~384 시간, 22.0±1.5°C에서 190~203시간, 25.0±1.5°C에서 165~178시간이 소요되어 수온이 높을수록 부화에 소요되는 시간은 짧았다. 그러나 부화율은 17.0±1.0°C에서 95%, 22.0±1.5°C에서 90%, 25±1.5°C에서 82%로 나타나 수온이 낮을수록 부화율이 높았다.

고 찰

본 연구는 복어류 중 산란습성이 독특한 황복을 대상으로 난발생과 자치어 발달을 조사하였다. 성숙난은 분리부착침성난으로 형태는 작고 많은 유구를 가진 구형이나 부착정도에 따라서 약간 일그러진 타원형이었고, 부착강도는 재질에 따라 다르나 유리에는 강한 부착성을 나타내었다. 자주복을 비롯한 다른 복어류의 난에 비해 탄력은 약했다(Fujita and Shinohara, 1986; Kobayashi et al., 1978). 황복의 배반 형성과 난할 방식은 Zebra어류, *Danio rerio*의 난할 형태와 비슷하였고(Kimmel et al., 1995), 특히, 산란 시기의 소화성 생태를 보이는 황어, *Tribolodon hakonesis*와 매우 흡사하여(Lee et al., 1989) 일반적으로 경골어류에서 나타나는 특징과 비슷하였다. 포배는 부화후 12시간 부터 30시간에 발생하는 형태적 변화에 근거하여 정한 바 부화후 12시간 경 부터는 상실기가 시작되었으며, 부화후 20시간 경에는 11개 이상의 할구판이 형성되었다. 부화후 30시간에 이르러 40% 외피가 형성되어 발생 시간에는 큰 차이가 있었으나 Zebra어류에서 나타난 특징과 유사하였다. 체절형성기와 부화기에 있어서도 비슷하였다(Kimmel et al., 1995). 발생이 점차적으로 진행되면서 유구의 수는 줄어드는데, 이러한 현상은 쥐노래미 *Hexagrammos otakii* (김 등, 1993), 청베도라치 *Pictiblennius yatabei* (김 등, 1992) 및 모치망둑 *Mugilogobius abei* (김과 한, 1991) 등과 비슷하였다. 그러나, 체절형성기 이후에 나타나는 난황 주위에 별모양의 흑색소포가 출현되는 현상은 다른 어류와 차이가 있다. 부화후 시간이 지나감에 따라 유구의 수가 감소되나 난황이 완전히 흡수될 때 까지도 흑색소포는 남아있는 특징이 나타났다. 두정부와 몸통에 있어서도 별모양과 같은 흑색소포가 분포되는데 복어류에서 나타난 현상(Fujita and Shinohara, 1986; 정, 1977; 명 등, 1994)과 유사하였다. 수온에

따른 황복의 부화 시간은 수온이 높을 수록 짧지만, 부화율에 있어서는 수온이 낮을 수록 높아 본 종의 적정 부화 수온은 17.0~22.0°C라 생각된다. 일반적으로 복어류는 자어기에 공식현상이 나타나는데(변과 노, 1970), 황복에 있어서도 자어가 성장함에 따라 공식현상이 전장 2.0~3.0 cm (부화후 40~60일) 부터 나타나나, 자주복에서 보이는 현상에 비해 매우 약한 편이었다.

요 약

본 연구는 수정난에서 부터 부화후 60일 까지 황복의 배발생 및 자치어의 발달에 관한 형태적 특징을 조사하였다. 배발생 단계는 융합기, 난할기, 포배기, 낭배기, 체절형성기, 인두형성기 및 부화기 등 7가지로 구분하였다. 황복의 난은 분리부착 침성난으로 구형이며, 난황은 작고 많은 유구를 갖고 있다.

수정후 약 170시간 경에 난황 주위에 흑색소포가 출현되기 시작했다. 수온 17.0±1.0°C에서 수정후 280시간에 부화되며, 부화된 자어는 큰 난황을 달고 있으며, 그 크기는 3.00~3.54 mm이고 25~26개의 체절이 형성되었다. 부화후 7일에는 난황과 유구가 완전히 흡수되고 자어기에 도달했다. 부화후 60일에 자치어의 전장은 23.54~30.12 mm로 성장되며, 모든 지느러미가 형성되었다.

감 사

이 연구는 수산진흥원 AF-03 연구비에 의해 실시되었으며, 본 연구의 결과가 나오기 까지 여러 가지 도움을 준 보령배양장 직원 여러분께 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Fujita, S., and M. Shinohara, 1986. Development of egg, larva, and juvenile of the puffer, *Takifugu chrysoptera*, reared in the laboratory. Jap. J. Ichthyol., 33 : 186-194.
- Kimmel, C. B., W. W. Ballard, S. R. Kimmel, B. Ullmann, and T. F. Schilling, 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. Devel. P. Dynamics, 203 : 253-310.
- Kobayashi, Y., H. Kobayashi, Y. Takei, and M. Nozaki, 1978. Spawning habit of the puffer, *Fugu niphobles* (Jordon et Snyder) II. Zool. Mag. (Tokyo), 87 : 44-55.
- Lee, G. Y., S. I. Jang, H. W. Park, H. Ryu and J. N. So, 1989. Isozyme patterns in the ontogenic stages and adult tissues of dace, *Tribolodon hakonensis* by electrophoresis. Korean J. Genetics, 11 : 73-76.
- 김용익 · 명정구 · 한경호 · 강충배, 1992. 청베도라치, *Pictiblennius yatabei*의 산란습성, 난발생 과정 및 부화자어의 형태. 한어지, 4 : 44-54.
- 김용익 · 한경호, 1991. 모치망둑의 산란행동 및 초기생활사. 한어지, 3 : 1-10.
- 김용익 · 한경호 · 김병학, 1993. 쥐노래미, *Hexagrammos otakii*의 난발생과정 및 자어의 형태 발달. 한어지, 5 : 151-159.
- 명정구 · 김형선 · 박철원 · 이순길 · 김종만 · 허형택 · 김용익, 1994. 황복, *Fugu obscurus*의 초기생활사에 관한 연구-I. 난 및 치어의 외부 형태. 한어지, 6 : 89(국문요지).
- 변충규 · 노섭, 1970. 자주복, *Fugu rubripes* (Temminck et Schlegel)의 종묘생산에 관한 연구. 한수지, 3 : 52-64.
- 이완옥, 1993. 한국산 참복과(복어목) 어류의 계통분류학적 연구. 박사학위논문. 전북대학교 대학원, 171pp.
- 전중균 · 유재명, 1995. 한국산 복어의 독성, I. 황복의 부위별 독성. 한수지, 28 : 137-140.
- 정문기, 1977. 한국어류도감. 일지사. 서울, 727pp.