

기아시 붉바리 자어의 간세포핵 변화

이창규 · 박인석* · 허성범**

국립수산진흥원, *군산대학교 해양자원육성학과

**부경대학교 양식학과

Influence of Starvation on the Variations of Hepatocyte Nucleus in Larvae of Red Spotted Grouper, *Epinephelus akaara*

Chang-Kyu Lee, In-Seok Park* and Sung-Bum Hur**

National Fisheries Research and Development Institute, Yangsan-gun, Pusan 619-900, Korea

*Department of Marine Living Resources, Kunsan National University, Kunsan, 573-360, Korea

**Department of Aquaculture, Pukyong National University, Nam-gu, Pusan 608-737, Korea

Variations of hepatocyte in the larval liver of grouper, *Epinephelus akaara* were examined to understand the effect of starvation during the first feeding period, 3 to 5 days after hatching.

Total length of the fed larvae increased from the 5th day after hatching, although no significant difference between the fed and starved larvae was found until the 4th day after hatching. Survival rate of the starved larvae decreased from the 4th day after hatching, and almost all of the larvae died by the 5th day after hatching.

Nuclear size of hepatocyte in the starved larvae started to decrease from the 4th day after hatching. The sizes by 4th and 5th days after hatching in the starved larvae were 1.4 to 1.9 times smaller than those in the fed ones. Hepatocytes in the starved larvae showed irregular morphology in which the nuclei were irregularly shrunk and highly compacted from the 4th day, while hepatocyte nuclei in the fed ones maintained their uniform features during the whole experimental period.

These results implied that the initial larval food should be supplied at least within the 4th day after hatching. Also, it suggested that the size of hepatocyte nucleus might be an indicator of starvation for wild and cultured grouper larvae.

Key words : Red spotted grouper, Larvae, Starvation, Nuclear size, Hepatocyte

서 론

붉바리는 활어 중에서도 특히 맛이 뛰어나 고가의 어종으로 취급되어 수요가 급증하고 있으나, 최근들어 그 어획량은 매년 격감하고 있는 추세이다. 따라서 인공 종묘생산 기술확립을 통한 붉바리 양식 생산량의 확대는 시급한 문제라 할 수 있다.

붉바리 종묘생산시에는 자어기 동안의 생존율이 다른 해산어류에 비해 현저히 낮은 것으로 알려져 있는데(Watanabe et al., 1987; 萱野·尾田, 1988; 萱野·水戸, 1995), 이러한 원인은 주로 자어기 동안의 먹이 섭취와 많은 관련이 있는 것으로 알려져 있다(塚島 等, 1983; 福永 等, 1990; 萱野·水戸, 1995). 현재까지 붉바리에 관한 연구는 대부분 종묘생산 기술개발에 국한된

것이었고(濱本 · 吉松, 1984; 萱野 · 尾田, 1988; 萱野 等, 1993; 李와 金, 1994; 萱野 · 水戸, 1995), 첫 먹이 섭취시기와 관련한 생존 자어의 생리 특성에 관한 연구는 매우 미미한 실정이다. 자어기의 생존 특성을 알기 위해서는 자어의 첫 먹이섭취와 관련한 생리적 변화에 관해 조사할 필요성이 있다.

일반적으로 해산어류의 초기 생존률은 난황기의 내부 영양섭취가 완료된 후 외부 영양섭취로 이행하는 단계에서 외부로부터 첫 먹이섭취의 성공 여부에 의해 크게 좌우된다(O'Connell, 1976; Theilacker, 1978; Strussmann and Takashima, 1990). 어류의 기아에 따른 영양상태의 결핍은 간세포핵의 감소를 야기시키고(Alvarez and Cowden, 1966; Baic et al, 1979; Storch and Juario, 1983; Wang and Takashima, 1984; Segner, 1985; Strussmann and Takashima, 1989), 때로는 장내의 상피세포에서도 이러한 현상이 나타나기도 한다(Ehrlich et al., 1976). 따라서 해산어류 자어의 간세포핵 크기 변화를 조사함으로써 자어의 영양 상태를 알 수 있다. 본 실험에서는 붉바리 자어의 외부 영양섭취 여부와 관련한 자어의 생리적 변화를 알아보기 위해, 첫 먹이 섭취시기 전후인 부화후 3일째부터 부화후 5일째 까지, 먹이를 섭취한 자어와 기아 자어의 성장, 간세포핵 크기의 변화 및 형태적 특징 등을 조사하였고 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

자어 사육

먹이공급구 및 기아구 자어의 간세포핵 크기 변화 시험은 친어 사육수조에서 자연 산란된 부상란을 50ℓ FRP 수조에서 부화시킨 다음, 부화후 2일째의 자어를 10개체/ℓ의 밀도로 시험수조인 50ℓ FRP 수조(dia.30×H75cm)에 수용하여 시험을 실시하였다. 자어의 사육방법은 먹이 공급구의 경우 자어수용 직후부터 시험 종료시까지 태국산 S형 rotifer, *Brachionus plicatilis*를 약

15개체/ml의 밀도로 공급하였고, 아울러 녹조류인 *Nannochloris oculata* (KMCC, C-31)를 200만세포/ml 내외의 농도로 유지해 주었다. 기아구의 경우는 자어수용 직후부터 실험종료시까지 rotifer를 전연 공급하지 않았고 단지 *N. oculata*를 ml당 300만세포/ml 내외의 농도로 유지해 주었다.

사육수는 공극 1μm의 cartridge filter로 여과한 해수만을 이용하였는데, 부화후 3일까지는 지수상태를 유지하였고, 그 후에는 매일 사육수의 약 30% 정도를 환수해 주었다. 자어사육 기간 중에는 소형 air-stone 1개를 이용하여 미약한 통기를 실시해 주었으며, 자어 사육기간중의 수온은 27.2~29.9°C 였다.

자어의 생존률은 매일 사육수조 저면을 siphon한 후 사체를 계수함으로써 생존자어의 수를 역산하였고, 시험에 이용된 수조수는 먹이공급구 및 기아구 각각 4개씩으로 하였다.

자어의 전장 및 간세포핵 크기 측정

개구후 첫 먹이 섭취 가능시기인 부화후 3일째부터 자어의 대량사망이 일어나는 시기인 부화후 5일째까지 먹이공급구 및 기아구 자어의 전장 및 간세포핵 크기의 변화를 조사하였다. 이를 위해 매 24시간 간격으로 사육조로부터 50마리 내외의 자어를 무작위 표본추출하였다. 표본추출한 자어는 MS-222로 마취시킨 후 20마리 내외의 자어를 만능투영기 하에서 1μm 단위까지 전장을 측정하였다.

간세포핵 크기 조사를 위한 자어의 조직 표본은 paraffin 절편법을 사용하여 자어의 횡단 및 종단 연속절편을 제작하였고, 이것은 haematoxylin-eosin 염색을 실시하여 간세포핵의 가장자리가 분명하게 구분되는 핵만을 측정하였다. 아울러 간세포핵이 비대칭적임을 감안하여 1,000배의 광학현미경 하에서 간세포핵의 장경, 단경을 측정하였고 이것은 Sezaki and Kobayashi(1978) 방법에 따라 표면적 $S = abn/4$ 의 식으로 계산하였다. 간세포의 측정은 먹이공급구 및 기아구의 자어를 각각 5마리씩 측정하였으며, 측정시 마리당

40~60개의 간세포핵을 각각 측정하였다.

동일한 개체로 부터의 평균 간세포핵 크기의 차이 정도는 Duncan의 분산분석법에 의해 결정하였다.

결 과

붉바리 자어는 부화후 약 2일만에 개구되어 부화후 3일째부터 부분적으로 자어가 첫 먹이를 섭취하기 시작하였다. 외부 영양섭취시기인 부화후 3~5일째 먹이공급구 및 기아구 자어의 전장 및 생존률은 Fig. 1과 같다. 부화후 3, 4, 5일째 먹이공급구 자어의 전장은 각각 2.11 ± 0.08 , 2.04 ± 0.13 , 2.16 ± 0.19 mm였고, 기아구 자어의 전장은 각각 2.12 ± 0.10 , 2.02 ± 0.11 , 1.97 ± 0.08 mm였다. 부화후 4일째까지는 두 시험구간에 서로 큰 차이가 없었으나 부화후 5일째에는 먹이공급구 자어의 전장이 뚜렷히 증가된 반면, 기아구 자어의 전장은 계속 감소된 것으로 나타났다. 부화후 3, 4, 5일째 자어의 생존률은 먹이공급구의 경우 각각 67, 47, 30%, 기아구의 경우는 각각 63, 19, 0.1%로써, 먹이공급구의 경우는 부화후 3~5일 동안 자어의 생존률이 비교적 완만하게 감소되는 경향을 보였으나 기아구의 경우는 부화후 4일째부터 생존률이 급격히 감소되기 시작해 부화후

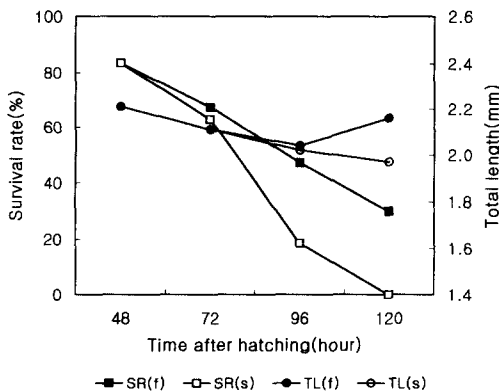


Fig. 1. Survival and growth of red spotted grouper larvae in fed or starved conditions (SR : survival rate ; TL : total length ; (f) : fed ; (s) : starved).

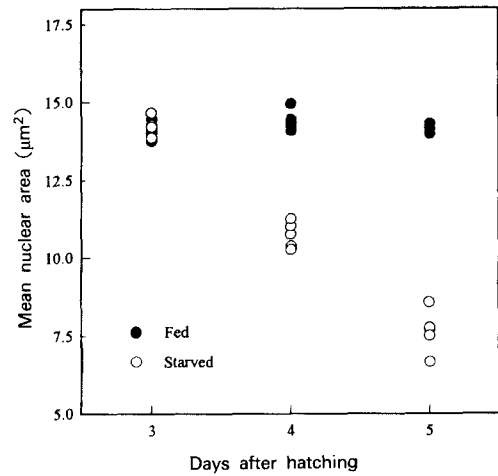


Fig. 2. Hepatocyte nuclear areas of fed and starved grouper larvae.

5일째 대부분의 자어가 사망한 것으로 나타났다.

외부 영양섭취 시기인 부화후 3~5일째 붉바리 자어의 간세포핵 표면적의 변화는 Fig. 2와 같다. 먹이공급구 자어의 간세포핵 평균 표면적은 부화후 3, 4, 5일째 각각 14.19 ± 0.36 , 14.38 ± 0.57 , $14.14 \pm 0.64 \mu\text{m}^2$ 였고 기아구의 경우는 각각 14.23 ± 0.28 , 10.72 ± 0.83 , $7.63 \pm 0.68 \mu\text{m}^2$ 으로 나타나, 먹이공급구 자어의 간세포핵 표면적은 일령에 관계없이 거의 일정하였지만 기아구 자어의 경우는 부화후 4일째부터 현저히 감소되는 경향을 보였다.

붉바리 자어의 간세포핵 표면적을 빈도분포로 나타낸 결과는 Fig. 3와 같다. 부화후 3일째 조사시료 50개중 간세포핵 표면적이 $13.00 \sim 13.99$, $14.00 \sim 14.99$, $15.00 \sim 15.99 \mu\text{m}^2$ 인 것은 각각 8, 17, 14개로써 16, 34, 28%의 빈도분포를 각각 나타내, 부화후 3일째 간세포핵 표면적은 $14.00 \sim 14.99 \mu\text{m}^2$ 에서 가장 높은 빈도분포를 보였다. 부화후 5일째 자어의 간세포핵 표면적의 빈도분포는 간세포핵 표면적이 $7.00 \sim 7.99$, $8.00 \sim 8.99$, $9.00 \sim 9.99 \mu\text{m}^2$ 인 것이 각각 16, 12, 8개로써 32, 24, 16%의 빈도분포를 각각 나타내, $7.00 \sim 7.99 \mu\text{m}^2$ 에서 가장 높은 빈도분포를 보였다. 기아

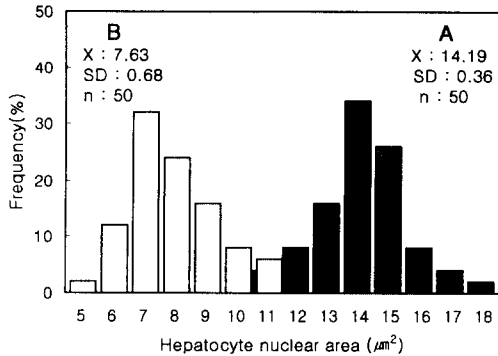


Fig. 3. Frequency distribution of hepatocyte nuclear areas of starved and fed grouper larvae.

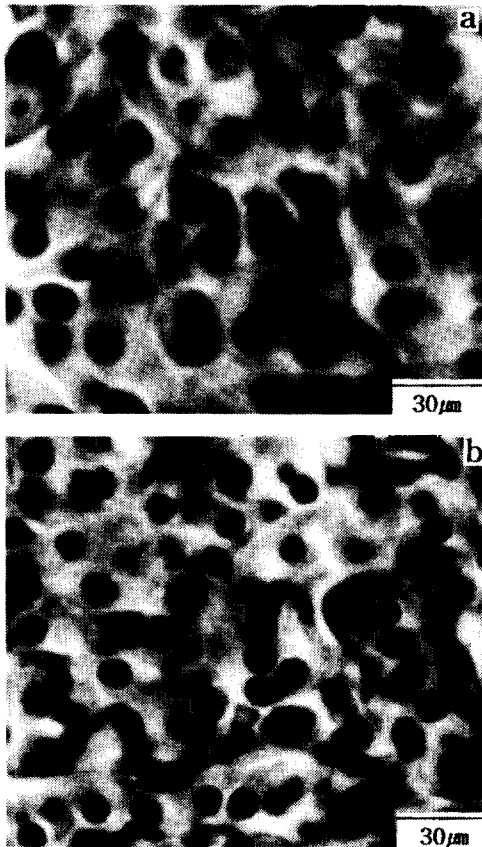


Fig. 4. Histological appearance of hepatocytes of grouper larvae (a : after 3 days from hatching ; b : after 5 days from hatching).

구와 먹이공급구간 간세포핵의 형태적인 차이는 Fig. 4와 같다. 먹이공급구의 경우는 부화후 3~5 일동안 간세포핵의 뚜렷한 형태적 차이점이 없이, 대부분의 간세포핵은 타원형으로 낮은 분포밀도를 보였다. 그러나 기아구의 경우는 부화후 4일째부터 간세포핵의 크기가 축소되고, 분포밀도가 높으며, 형태가 다소 불규칙하였다.

고찰

어류의 경우 충분한 영양공급시에는 간세포핵 (nucleus of hepatocyte)의 형태와 크기가 일정하지만 영양공급이 이루어지지 않으면 간세포핵의 내용물이 비염색체 단백질로(non-chromosomal protein) 변환되어 결국 핵의 형태와 크기의 변화가 일어나게된다(Alvarez and Cowden, 1966; Storch and Juario, 1983). 따라서 자어의 경우 난황흡수가 끝날 때 까지 영양을 섭취하지 못하면 간의 퇴화가 이루어지면서 자어는 수일내에 사망하게 된다(O'Connell, 1976; Theilacker, 1978; Wang and Takashima, 1984; Strussmann and Takashima, 1989). 기아시 어류의 간세포핵 형태 및 크기 변화는 종에 따라 다른데 milkfish, *Chanos chanos* 자어의 경우는 부화후 10일내에(Storch and Juario 1983), 독가시치의 경우는 이보다 빠른 부화후 6일 이내에(Segner, 1985) 간세포의 변화가 급격하게 일어나면서 사망한 것으로 보고되었다. 따라서 간세포핵의 형태 및 크기 변화를 조사함으로써 자어의 영양상태를 알 수 있는 것으로 생각된다.

Allyn and Alexander (1985)에 따르면 spot, *Leiostomus xanthurus* 자어의 경우 외부 영양 섭취 개시 시기에 먹이를 공급하지 않은 경우, 기아 3일만에 자어의 체형이 급격히 수축되면서 모든 자어가 사망하였다고 보고하였다. 본 실험에서 자어의 전장 변화는 부화후 4일까지는 먹이공급구 및 기아구의 전장이 서로 비슷하게 감소된 것으로 나타났다. 그러나 부화후 5일째에는

먹이공급구의 경우 전장이 급격히 증가되었는데 비해, 기아구의 경우는 계속하여 전장의 감소가 일어났고 그 후 하루만에 대부분 사망한 것으로 나타났다. 따라서 먹이공급구 자어는 부화후 5일 이전에 대부분 먹이를 섭취한 것으로 풀이된다.

붉바리 자어의 간세포핵 크기는 기아구 및 먹이공급구 모두 부화후 3일째까지는 큰 차이가 없었으나 부화후 4일째 이후부터는 두 시험구간 사이의 핵크기가 완전히 다른 결과를 보여, 부화후 4~5일째 간세포핵의 크기는 기아구의 경우가 먹이공급구 보다 약 1.4~1.9배 정도 작은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 milkfish, *Chanos chanos* 경우 기아구의 간세포핵 크기가 대조구보다 1.5배 이상 작고(Storch et al., 1983), Pejerrey, *Odontesthes bonariensis*의 경우는 1.4배 이상 작은 것으로 보고한(Strussmann and Takashima, 1989) 것과 비교해 보면, 붉바리는 다른 어류에 비해 기아시 핵크기의 감소율이 다소 큰 것으로 생각된다.

기아구의 자어는 먹이공급구에 비해 공통적으로 간세포핵의 크기가 작고, 간세포핵의 분포밀도가 높으며 또한 간세포핵의 형태가 불규칙한 것으로 나타났다. 이러한 원인은 기아시 내생적 영양에 의해 간세포내의 glycogen이 소비되고 따라서 핵내 비염색체 단백질함량 변화의 결과로써 나타나는 핵 변이 때문으로 생각된다(Strussmann and Takashima, 1990).

자어의 간세포핵 크기 및 형태 변화, 전장, 생존률 그리고 난황흡수시기 등을 종합적으로 고려해 보면, 자어의 난황흡수 직전후인 부화후 72~84시간까지는 간세포핵 크기의 감소가 일어나지 않았다. 또한 기아시 자어의 전장 및 생존률에 있어서도 먹이공급구와 큰 차이를 보이지 않아 이시기까지 자어가 먹이를 섭취하면 충분히 생존이 가능하리라 판단된다. 그러나 부화후 96시간까지도 먹이를 섭취하지 못한 자어는 간세포의 크기 및 형태가 현저히 변형되었고, 또한 자어의 전장 및 생존률도 급격하게 감소된 것으로 나타나 생존이 어려울 것으로 추측된다. 이러한

결과는 먹이공급 지연에 따른 자어의 생존률 결과와도 잘 일치하였다.

따라서 붉바리 자어를 수온 28°C 내외에서 사육할 경우 자어의 첫 먹이섭취 가능시간은 이론적으로는 개구직후 부터 난황이 완전히 흡수된 직후 까지인 46~96시간 전후의 약 2일 정도이지만, 자어의 소화관에서 첫 먹이가 발견된 시점과 자어의 생존률 등을 고려할 때, 실질적으로 자어가 첫 먹이를 섭취할 수 있는 기간은 1일 정도로 다른 해산어류에 비해 매우 짧은 것으로 판단된다 (Fig. 5).

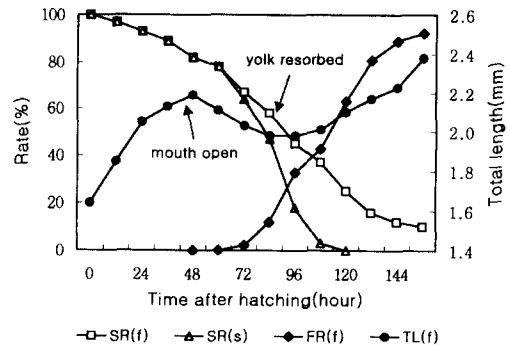


Fig. 5. Feeding and survival rates of grouper larvae in fed or starved conditions from hatching to 6th day (SR : survival rate ; TL : total length ; FR : feeding rate ; (f) : fed ; (s) : starved).

본 연구의 기아 자어의 조직학적 분석에 첨가하여, 먹이공급구 자어의 지방간과 관련한 연구가 요구되고, 아울러 자어의 혈액 및 영양학적 측면에서의 연구도 병행할 필요가 있다. 본 실험의 기아시 붉바리 자어의 간세포핵 크기 변화에 관한 결과는 앞으로 붉바리 자어의 영양상태를 알아보는 지표로 사용될 수 있을 것으로 생각되며, 아울러 붉바리 종묘생산시 적정 먹이공급 시기와 관련한 자어의 생리특성에 관한 기초 자료로써 유용할 것으로 생각된다.

요 약

기아시 붉바리 자어의 생리특성을 알아보기위

해, 부화후 3일부터 5일 동안 자어의 성장 및 간세포핵 크기 변화 등을 조사하였다.

자어의 전장 변화는 부화후 4일째까지는 먹이 공급구 및 기아구에 있어 서로 큰 차이가 없었으나, 부화후 5일째에는 먹이공급구의 경우 전장이 급격히 증가되었고 기아구의 경우는 계속하여 전장이 감소되었다. 자어의 생존률은 먹이공급구의 경우 부화후 3~5일 동안 비교적 안정되었으나, 기아구의 경우는 부화후 4일째부터 생존률이 급격히 감소되기 시작해 부화후 5일째에는 대부분의 자어가 사망하였다.

불바리 자어의 간세포핵 크기는 기아구 및 먹이공급구 모두 부화후 3일째까지는 큰 차이가 없었으나, 부화후 4일째 이후부터는 두구간 사이의 핵크기의 차이가 나타나기 시작해, 부화후 4~5일째 간세포핵의 크기는 기아구의 경우가 먹이공급구 보다 약 1.4~1.9배 정도 작은 것으로 나타났다.

간세포핵의 형태적인 변화는 먹이공급구의 경우 부화후 3~5일 동안 형태적으로 서로 큰 차이점이 발견되지 않았다. 그러나 기아구의 경우는 부화후 4일째부터 간세포핵의 크기가 축소되고 핵의 분포밀도가 높았으며 형태가 불규칙하게 나타났다. 부화후 5일째에는 이러한 현상이 더욱 심화되었다.

따라서 이러한 결과를 종합적으로 고려해 볼 때 불바리 자어의 생존을 위해서는 최소한 부화후 4일 이전에 먹이섭취가 가능하도록 해야할 것으로 판단된다. 아울러 위의 결과는 앞으로 불바리 종묘생산시 먹이공급시기 조절의 기초자료 및 자어의 영양상태를 판정할 수 있는 지표로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

李昌奎 · 金相根, 1994. 불바리 種苗生産 技術開發 試驗. 수진사업보고, 114 : 95-100.
Allyn, B. P. and J. C. Alexander, 1985. Morphometric indices of nutritional condition and sensitivity to starvation of spot larvae. Transactions of the American Fisheries So-

ciety, 114 : 338-347.
Alvarez, M. R. and R. R. Cowden, 1966. Karyometric and cytophotometric study of hepatocyte nuclei of frogs exposed to cold and prolonged starvation. Z. Zellforsch, 75 : 240-247.
Baic, D., B. G. Ladewski and B. E. Frye, 1979. Quantitative ultrastructural studies of hepatocytes from fed and starved frogs. J. Exp. Zool., 210 : 381-406.
Ehrlich, K. F., J. H. S. Blaxter and R. Pemberton, 1976. Morphological and histological changes during the growth and starvation of herring and plaice larvae. Marine Biology, 35 : 105-118.
O'Connell, C. P., 1976. Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* girard. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 25 : 285-312.
Sezaki, K. and H. Kobayashi, 1978. Comparison of erythrocytic size between diploid and tetraploid in spinous loach, *Cobitis biwae*. Jap. Soc. Sci. Fish., 44 : 851-854.
Segner, H., 1985. Influence of starvation and refeeding with different diets on the hepatocyte ultrastructure of juvenile *Siganus guttatus* Bloch (Teleostei). Zool. Anz., 214 : 81-90.
Storch, V., W. Stahlin and J. V. Juario, 1983. The effect of different diets on the ultrastructure of hepatocytes of *Chanos chanos* fry (Chanidae : Teleostei) and electron microscopic and morphometric analysis. Marine Biology, 74 : 101-104.
Storch, V. and J. V. Juario, 1983. The effect of starvation and subsequent feeding on the hepatocytes of *Chanos chanos* (Forsskal) fingerlings and fry. J. Fish Biol., 23 : 95-103.
Strussmann, C. A. and F. Takashima, 1989. PNR, histology and morphology of starved pejerrey, *Odontesthes bonariensis* larvae. Nippon Suisan Gakkaishi, 55 : 237-246.
Strussmann, C. A. and F. Takashima, 1990. Hepatocyte nuclear size and nutritional condition of starved pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier et Valenciennes). J. Fish Biol., 36 : 59-65.

- Theilacker, G. H., 1978. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jackmackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. Fish. Bull. U. S., 78 : 789-791.
- Wang, Z. and F. Takashima, 1984. Histological changes in digestive organs of carp larvae during starvation. II. Liver and pancreas. Suisanzoshoku, 32 : 44-53.
- Watanabe, K., M. Tenshin and S. Araki, 1987. Experiment on artificial propagation of grouper. Bull. Tokushima. Fish. Expl. Stn., 1987 : 42-43.
- 福永恭平・野上欣也・吉田儀弘・浜崎活幸・丸山敬悟, 1990. 日本栽培漁業協會玉野事業場における最近のキジハタ種苗生産量の増大と問題点について. 栽培技研, 19 : 33-40.
- 濱本俊策・吉松定昭, 1984. 渦鞭毛藻類 Dinophyceae 2種のキジハタ *Epinephelus akaara* (TEMMINCK et SCHLEGEL) 仔魚への投餌効果. 香水試報, 21 : 63-72.
- 萱野泰久・尾田 正, 1988. 珪藻添加海水によるキジハタ種苗生産. 岡山水試報, 3 : 64-70.
- 萱野泰久・水戸 鼓, 1995. キジハタの種苗生産. 岡山水試報, 10 : 209-212.
- 萱野泰久・水戸 鼓・杉野博之, 1993. キジハタの種苗生産. 岡山水試報, 8 : 90-96.
- 塚島康生・吉田範秋・北島 力・松村清治, 1983. 小形シオミズツボワムシおを用いたシロギスの種苗生産. 水産増殖, 30(4) : 202-210.