

수온이 찰가자미(*Microstomus achne*)의 난발생에 미치는 영향

변순규¹ · 이성훈² · 황재호³ · 한경호² · 연인호² · 김진도⁴ · 이종하⁵ · 이배익^{1*}

¹국립수산과학원 동해특성화연구센터, ²전남대학교 해양기술학부, ³전남대학교 친환경해양바이오특성화산업단
⁴국립수산과학원 내수면양식연구센터, ⁵국립수산과학원 동해수산연구소

Effect of Water Temperature on the Embryonic Development of Slime Flounder *Microstomus achne*

Soon-Gyu Byun¹, Sung-Hun Lee², Jae-Ho Hwang³, Kyeong-Ho Han², In-Ho Yeon²
Jin-Do Kim⁴, Jong-Ha Lee⁵ and Bae-Ik Lee^{1*}

¹East Sea Mariculture Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Uljin 767-863, Korea

²Marine Technology, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

³Eco Marine Bio Center, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

⁴Inland Aquaculture Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Jinhae 577-1, Korea

⁵East Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Gangneung 210-861, Korea

ABSTRACT : The fertilized eggs were obtained from mature adult slime flounder *Microstomus achne* to determine the water temperature effect on egg development. The lowest water temperature for the flounder egg development was 0.4°C on average. The temperature-dependent duration from fertilization to hatching ranged 86.5 to 296.7 hours at 9~21°C with an accelerated development at higher temperature. Agreeable hatching rates, 95.8~97.0%, were obtained at 12~18°C, while lower at both extremes, 86.9% at 9°C and 9.3% at 21°C. The highest water temperature, 24°C, had the life of the fertilized eggs confined within 24 hours. Water temperature was a parameter that induced an abnormal egg development: with abnormalities of 88.3% at 21°C, 2.1% at 9°C ($P<0.05$), and 0.4~0.8% at 12~18°C.

Key words : *Microstomus achne*, Temperature, Egg development.

요 약 : 찰가자미 *Microstomus achne*의 어미로부터 수정란을 받아 수온이 난 발생에 미치는 영향을 연구하였다. 찰가자미의 난발생 속도와 부화율에 미치는 수온의 영향을 조사한 결과, 난발생이 개시되는 생물학적 영도는 평균 0.4°C였다. 수정에서 부화에 이르기까지 평균 소요시간은 9~21°C에서 86.5~296.67시간이 소요되었으며, 수온이 높을수록 각 발생단계에 이르는 시간이 짧아지는 경향을 나타내었다. 부화율은 12~18°C에서 95.8~97.0%였으며, 9°C와 21°C에서는 각각 86.9%, 9.3%가 부화되었다. 한편, 24°C에서는 24시간 이전에 모두 사망하였다. 기형어의 발생율은 21°C에서 88.3%, 9°C에서는 2.1%였으며($P<0.05$), 12~18°C에서는 0.4~0.8%였다.

서 론

찰가자미, *Microstomus achne*는 가자미목(Pleuronectiformes), 가자미과(Pleuronectidae), 찰가자미속(*Microstomus*)에 속하는 저저성 어류로서, 우리나라에 분포하는 찰가자미속 어류

는 찰가자미 1종이 알려져 있다. 전 세계적으로 가자미과에 속하는 어류는 39속 93종이 보고되어 있으며(Nelson, 1994), 우리나라에서는 17속 24종이 보고되어 있다(한국동물분류학회, 1977). 찰가자미에 관한 연구는 수정란의 분포(Ishito & Hashimoto, 1993), 정자의 냉동 보존(Saitoh, 1996), 해양세균(*Erythrobacter* sp. S π-1)을 이용한 자어 사육(Kang et al., 1999) 등이 있었으며, 가자미류에 난발생 및 초기생활사에 관한 연구(Yusa, 1960; 1961; Takita & Fujita, 1964; Takita

* 교신저자: 경상북도 울진군 원남면 오산리 22 국립수산과학원 동해수산연구소 동해특성화연구센터. (우) 767-863, (전) 054-782-5497, (팩) 054-783-5398, E-mail: bilee@nfrdi.go.kr

et al., 1967; Imaoka & Misu, 1974; Minami, 1982; Minami, 1983; Kim et al., 1983; Minami, 1984; Cho et al., 1995; Han et al., 2001)가 많이 진행되어 왔으나, 찰가자미에 대한 난발생 및 초기생활사에 관한 보고는 없는 실정이다.

최근 들어 이들 가자미류에 대한 산업적 가치가 인정되어 문치가자미, *Pleuronectes yokohamae*(이, 2006), 돌가자미, *Kareius bicoloratus*(Wang et al., 2001), 범가자미, *Verasper variegatus*(Nakamura et al., 1997), 참가자미, *Pseudopleuronectes herzensteini*(Lee et al., 1997), 층거리가자미, *Limanda punctatissima*(해양수산부, 2005) 등에 관한 종묘 생산 연구가 이루어지고 있다.

난발생 및 부화시기에 있어, 수온은 난발생의 진행 정도와 부화 및 자어의 생존율에 영향을 미치는 주요한 요인 중의 하나이며(Hokanson et al., 1973; Gunnes, 1979; Herzig & Winkler, 1986), 일반적으로 낮은 수온은 발생의 속도를 지연시키고, 높은 수온은 발생 속도를 가속화 시킨다.

가자미류에 있어서 수온이 초기 발생에 미치는 연구로 문치가자미(Yamamoto, 1939), 참가자미(Lee et al., 1997), 돌가자미(Jun et al., 1999) 등 몇 종에 대해서 연구되어져 있고, 성장 및 생존율과 관련한 자료들은 대부분 종묘 생산 결과 위주로 보고되어 있을 뿐 수온이 초기 생존율에 크게 영향을 미칠 수 있음에도 이에 관한 구체적인 보고는 거의 없는 실정이다.

따라서 이 연구는 찰가자미의 난 발생과정에 있어서, 수온의 영향을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 수온에 따른 발생 속도와 부화

수온별 난발생 속도를 구하기 위하여 실험구는 6, 9, 12, 15, 18, 21 및 24℃로 설정된 multi-chamber incubator (Hanback Co., Korea)와 항온 수조(Monotec Co., Korea)를 이용하였다. 각 실험구 당 3,000 ml 유리 수조를 3개씩 설치하고, 수정란은 약 500개씩 수용하였다.

수온에 따른 발생 속도는 8세포기, 상실기, Kupffer 세포 형성기, 심장 박동 및 부화 단계를 기준으로 발생 단계별 소요 시간을 비교하였다. 알의 각 발생 단계의 진행 시간 설정은 해당 발생 단계가 전체 알의 50% 정도 진행된 시간으로 하였고, 수정 후 2~3시간 간격으로 매 관찰 시마다 30개씩 입체해부 현미경(SZH-10, Olympus, Japan) 하에서 관찰하였다.

부화율은 총 부화 자어와 사란을 전부 계수하였고, 동시에 기형 개체의 출현을 조사하였다. 기형은 부화 직후 배체가 완전히 형성되지 못하여 사망한 개체와 척추만곡개체 등 비정상적인 개체의 비율로 나타내었다. 난발생 중 수조 바닥에 가라앉은 개체는 사망한 것으로 간주하고 제거하였으며, 각 실험구의 해수는 미리 준비한 같은 수온의 여과 해수로 매일 50%씩 교환하여 주었다.

2. 통계 처리

모든 실험은 3회 반복으로 실시하였으며, 실험 결과는 SAS program(ver. 6.12)에서 ANOVA-test를 실시하여 최소유의차 검증(least significant difference)으로 평균간의 유의성($P < 0.05$)을 검증하였다.

결 과

1. 수온에 따른 발생 속도

수온별로 각 발생 단계에 도달하는 시간은 Table 1과 같

Table 1. Relationships between water temperature and time (hour) required to each developmental stages from fertilized egg

Developmental stage	Water temperature (°C)						
	6	9	12	15	18	21	24
8-cell	16.2	9.2	7.3	5.2	4.7	3.8	dead
Morula	29.0	16.5	12.5	11.2	10.5	9.2	dead
Kupffer's vesicle	ND	99.3	55.2	44.2	36.7	31.5	dead
Pulse of heart	ND	166.2	108.2	80.2	74.7	66.7	dead
Hatching	ND	296.7	180.0	122.7	103.3	86.5	dead

ND: no more developed.

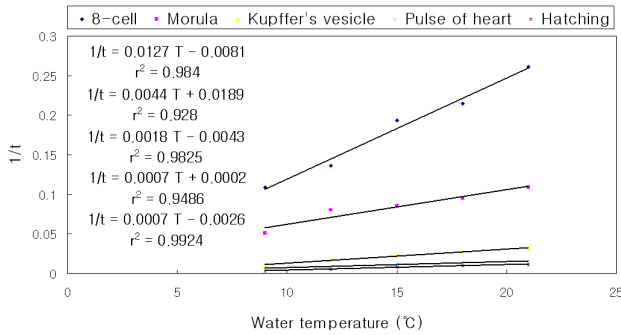


Fig. 1. Relationships between water temperature and time required to each development stage after fertilization of *Microstomus achne*.

다. 21°C에서 8세포기까지 소요된 시간은 평균 3.83시간인 반면, 9°C에서는 평균 9.17시간, 15°C에서는 5.17시간이 소요되었다. 상실기까지의 발생은 21°C에서 9.17시간, 15°C에서는 11.67시간이 소요되었다. 또한 부화 자어기까지의 평균 소요 시간은 21°C일 때 86.5시간, 15°C일 때 122.67시간, 9°C일 때 296.67시간이 소요되어 수온이 높을수록 발생 단계별 소요 시간이 짧아지는 경향이였다. 그러나 6°C에서는 상실기 이후 발생이 진행되지 않았으며, 24°C에서는 더 이상 발생이 진행되지 않고 사망하였다. 이상의 결과를 그림으로 나타냈을 때, 수온별 발생 속도는 직선함수식적 관계였다 (Fig. 1). Fig. 1의 X축은 수온, Y축은 시간의 역수를 나타내고 있으며, 각 발생 단계별 소요 시간(t: hour)과 수온(T: °C)과의 관계식은 다음과 같다.

- 8세포기 : $1/t=0.0127 T-0.0081(r^2=0.984)$
- 상실기 : $1/t=0.0044 T+0.0189(r^2=0.928)$
- Kupffer세포 출현기 : $1/t=0.0018 T-0.0043(r^2=0.9825)$
- 심장 박동 : $1/t=0.0007 T+0.0002(r^2=0.9486)$
- 부화자어기 : $1/t=0.0007 T-0.0026(r^2=0.9924)$

이들 관계식을 기초로 Y축의 값이 0일 때 회귀 직선이 X축에 접하는 수온, 즉 초기 발생에 있어서 난발생이 진행되지 않는 생물학적 영도(biological minimum temperature)는 평균 0.4°C이었다.

2. 수온에 따른 수정란의 부화율

수온별 수정란의 생존율, 부화 소요 시간, 부화율을 Fig.

2~4에 나타냈다. 24°C에서는 실험 시작 12시간째에 91.1%의 생존율을 보였으나 24시간 이전에 모두 사망하였다. 21°C에서는 실험 시작 12시간까지 99.7%의 생존율을 보였으나, 이후 지속적인 폐사를 보여 24시간째에는 58.5%, 48시간째에는 32.3%의 생존율을 보였고, 9.3%가 부화 완료하였다. 18, 15 및 12°C에서는 각각 96.7, 97.0 및 95.8%의 부화율을 보여 다른 실험구보다 높았다($P<0.05$). 9°C에서는 실험 시작 252시간까지 89.8%의 생존율을 보였으며 86.9%가 부화하였다(Fig. 2).

수온 9, 12, 15, 18, 21°C에서 부화 소요 시간 각각 296.7, 180.0, 122.7, 103.3, 86.5시간으로써 수온이 높을수록 부화 소요 시간이 짧아져 부화 소요 시간(y)과 수온(x)과의 관계는 $y=6948.4x^{-1.4588}(r^2=0.9855)$ 의 회귀식으로 표현되었다 (Fig. 3).

부화된 자어 중 기형 개체의 출현 비율은 Fig. 4에서와 같이 21°C에서 88.3%, 9°C에서는 2.1%였으며($P<0.05$), 12~18°C에서는 0.4~0.8%로, 통계적으로 차이가 없었다($P>0.05$).

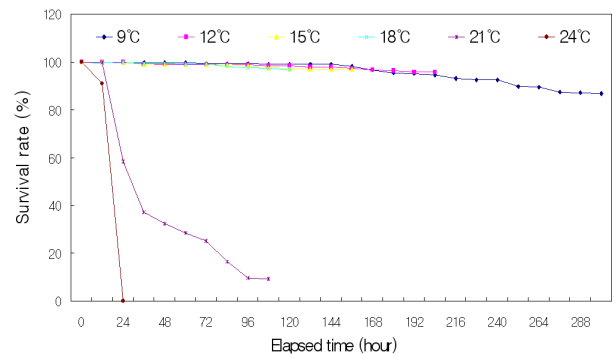


Fig. 2. Survival rates of fertilized eggs of *Microstomus achne* at various temperatures.

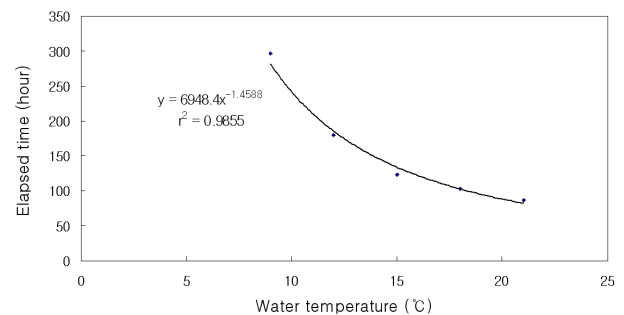


Fig. 3. Incubation time to hatching of induced spawning egg with different water temperatures.

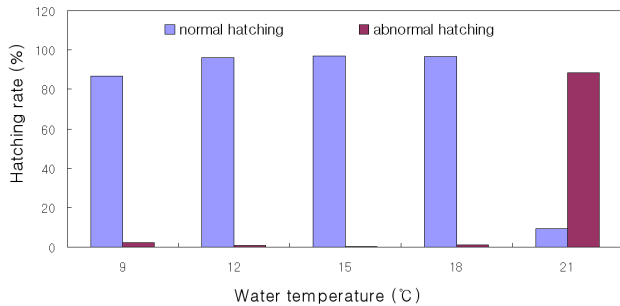


Fig. 4. Hatching rate and malformation rates of larvae hatched at different time in various temperatures (Hatching times are 300 hrs, 204 hrs, 156 hrs, 120 hrs and 108 hrs respectively in different temperatures).

고찰

어류 인공종묘 생산 시 환경 요인 중 수온은 어류의 난발생과 자치어의 발육에 영향을 미치는 가장 중요한 환경적 요인 중의 하나이며(Hokanson et al., 1973; Gunnes, 1979; Herzig & Winkler, 1986), 수정에서 부화까지의 발생속도는 수온에 따라 차이를 보인다(岩井와 柏木, 1989). 일반적으로, 낮은 사육 수온은 발생의 속도를 지연시키고, 높은 사육 수온은 발생 속도를 가속화 시킨다. 난의 발생이 정상적으로 부화를 시킬 수 있는 서식 수온과 인위적 수온의 범위는 각 어종에 따라 다양하다. 따라서 어류는 각 어종 특유의 생활사와 생태적인 특징에 의존되어 정상적인 발생을 위한 적정 수온 범위를 가지게 된다(Rana, 1990).

넙치, 가자미류를 비롯한 일반 경골어류의 난발생 속도는 온도가 높을수록 빠르다고 보고되어 있는데(Ehrlich & Farris, 1971; Yasunaga, 1975a; Laurence & Howell, 1981; Kashiwagi et al., 1984; Forrester & Alderdice, 1986; Garside, 1986), 이 연구에서 찰가자미도 생물학적 영도 이상 수온 범위 내에서 난발생 속도는 온도가 높을수록 각 발생단계에 이르는 시간이 빠른 경향을 나타내었다. 부화에 소요된 시간은 수온 11.0~13.8°C에서 물가자미는 93시간(Fujita, 1965), 돌가자미는 8.0~9.5°C에서 74시간(Kim, 1982)으로 나타나 본 실험의 부화 소요 시간보다 짧았고, 사할린가자미(Rho et al., 1988)는 11.5~13°C에서 150시간만에 부화하여 본 실험의 부화 소요 시간과 유사하였다.

岩井와 柏木(1989)은 부화 최적 수온은 대체로 자연 산란 시기의 수온과 일치한다는 의견을 제시하였으며, Kawabe et

al.(1991)도 전갱이류의 일종인 *Caranx delicatissimus*의 난 발생과 수온의 관계 실험에서 증명된 바가 있다. 본 연구에서 높은 수온에서 부화율이 감소하였을 뿐만 아니라 기형어 발생율도 높게 나타나 적정 수온범위를 벗어나게 되면 부화율 및 생존율이 감소하고 기형율은 증가(Lewis, 1965; Alderdice & Forrester, 1968; Katavic, 1980; Herzig & Winker, 1986) 한다는 보고와 같은 결과를 보였다.

찰가자미의 생물학적 영도는 평균 0.4°C로 문치가자미의 0°C(Yasunaga, 1975b), 돌가자미의 1.3°C(Jun et al., 1999)와 비슷한 반면, 참가자미 2.6°C(Lee et al., 1997)보다 조금 낮은 경향을 나타내었다. 이는 참가자미의 산란기가 4~6월 경인데 비하여 나머지 3종은 12~2월경으로, 산란시기의 자연수온과 관련된 종간의 생태적 차이에서 기인된 것으로 생각된다.

찰가자미의 난발생은 다른 어류와 마찬가지로 수온이 높을수록 각 발생단계에 이르는 시간이 짧아지는 경향을 보였고, 적정 부화 수온을 벗어날 경우 부화율은 낮아지는 반면 기형어 발생율은 높아져 사육환경 설정 시 발생 단계별 소요 시간과 부화율 및 생존율을 반드시 고려하여 적정 사육수온을 결정하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

인용문헌

- Alderdice DF, Forrester CR (1968) Some effects of salinity and temperature on early development and survival of the English sole (*Parophrys vetulus*). J Fish Res Bd Can 25:495-521.
- Cho KC, Kim JH, Go CS, Kim Y, Kim KK (1995) A study on seedling production of the spotted flounder, *Verasper variegatus*. Bull Nat'l Fish Res Dev Agency 50:41-57.
- Ehrlich KF, Farris DA (1971) Some influences of temperature on the development of the grunion *Leuresthes tenuis* (Ayres). Calif Fish Game 57:58-68.
- Forrester CR, Alderdice DF (1986) Effects of salinity and temperature on embryonic development of the pacific cod (*Gadus macrocephalus*). J Fish Res Bd Canada 23:319-340.
- Fujita S (1965) Early development and rearing of two

- common flatfishes, *Eopsetta grigorjewi* (Herzenstein) and *Tanakius kitaharai* (Jordan et Starks). Bull Jap Soc Sci Fish 31:258-262.
- Garside ET (1986) Effects of oxygen in relation to temperature on the development of embryos of brook trout and rainbow trout. J Fish Res Bd Canada 23:1121-1134.
- Gunnes K (1979) Survival and development of Atlantic salmon eggs and fry at three different temperatures. Aquaculture 16:211-218.
- Han KH, Park JT, Jin DS, Jang SI, Joung HH, Jho JK (2001) Morphological development of larvae and juveniles of the marbled sole, *Limanda yokohamae*. Korean J Ichthyol 13:161-165.
- Herzig A, Winkler H (1986) The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides mento* and *Vimba vimba*. J Fish Biol 28:171-181.
- Hokanson KEF, McCormick JH, Jones BR (1973) Temperature requirements for embryos and larvae of the northern pike, *Esox lucius* (Linnaeus). Trans Am Fish Soc 102:89-100.
- Imaoka Y, Mitsu H (1974) Fisheries biology of the roundnose flounder, *Eopsetta grigorjewi* Herzenstein, in the southwestern Japan sea and its adjacent water-VI. Early stage in development and growth by rearing. Bull Jap Soc Sci Fish 40:1107-1114.
- Ishito Y, Hashimoto R (1993) Distribution of the egg of the slime-flounder, *Microstomus achne* (Jordan et Starks) in the northeastern coast of Japan. Bull Tohoku Nat'l Fish Inst 55:37-51.
- Jun JC, Kim CH, Kim JS, Kim BK, Kim SU (1999) Influence of water temperature and salinity on embryonic development of stone flounder, *Kareius bicoloratus*. Bull Nat'l Fish Res Dev Inst Korea 56:83-90.
- Kang SJ, Lim YS, Park SU, Lee WJ, Cho BD, Park HG, Park YS, Oh HY (1999) Availability of marine bacteria (*Erythrobacter* sp. S π -1) for enrichment of livefood in the slime flounder larvae, *Microstomus achne*. J Korean Fish Soc 32:798-802.
- Kashiwagi M, Yamada N, Okada Y, Nakamura F, Kimura S, Iwai T (1984) Some effects of temperature and salinity on development eggs of the threeline grunt, *Parapristipoma trilineatum* (Pisces: Heamulidae). Bull Fac Fish Mie Univ 11:1-13.
- Katavic I (1980) Influence of temperature on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs and larvae. Nova Thalassia, 4(Suppl), pp 113-115.
- Kawabe K, Murai M, Kato K, Takashima F (1991) The effect of water temperature on egg development of striped jack, *Caranx delicatissimus*. J Aquaculture 39:211-216.
- Kim YU (1982) On the egg development and larvae of right-eye flounder, *Kareius bicoloratus* (Basilewsky). Bull Korean Fish Soc 15:323-328.
- Kim YU, Myoung JK, Park JS (1983) Eggs development and larvae of the right-eye flounder, *Limanda yokohamae* Gunther. Bull Korean Fish Soc 16:389-394.
- Laurence GC, Howell WH (1981) Embryology and influence of temperature and salinity on early development and survival of yellowtail flounder *Limnada ferrugines*. Mar Ecol Prog Ser 6:11-18.
- Lee JY, Kim WK, Chang YJ (1997) Influence of water temperature and salinity on egg development of flatfish, *Limanda herzensteini*. J Aquaculture 10:357-362.
- Lewis RM (1965) The effect of minimum temperature on the survival of larval Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*. Trans Am Fish Soc 94:409-412.
- Minami T (1982) The early life history of a flounder *Pleuronichthys cornutus*. Bull Jap Soc Sci Fish 48:369-374.
- Minami T (1983) The early life history of a flounder *Tanakius kitaharai*. Bull Jap Soc Sci Fish 49:527-532.
- Minami T (1984) The early life history of a flounder *Kareius bicoloratus*. Bull Jap Soc Sci Fish 50:551-560.
- Nakamura R, Atsusi Y, Masashi T (1997) Seedling of artificial juveniles of spotted halibut (*Verasper variegatus*) in Tokyo Bay. Bull Kanagawa Pref Fish Res Inst 2:55-63.

- Nelson JS (1994) Fishes of the World. 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, U.S.A. pp 1-439.
- Rana KG (1990) Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture* 87:165-181.
- Rho YG, Park DW, Lee GT (1988) Early development and rearing of floating larvae and fry of flatfish, *Limanda herzensteini* Jordan et Snyder. *Bull Nat'l Fish Res Dev Agency* 41:65-73.
- Saitoh S (1996) Cryopreservation of flatfish sperm 1. Pellet and straw methods. *Sci Rep Hokkaido Fish Exp Stn* 48:9-17.
- Takita T, Fujita S (1964) Egg development and prolarval stages of the turbot, *Pleuronichthys cornutus* (Temminck et Schlegel). *Bull Jap Soc Sci Fish* 30(8):613-618.
- Takita T, Fujuta S, Dotsu Y (1967) Egg development and prolarval stages of flatfish, *Verasper variegatus* (temminck et Schlegel). *Fac Fish Nagasaki univ* 23:101-106.
- Wang LC, Liu ZH, Wang YY, Gao YG, Lian Y, Zhang ZX, Ni GT (2001) A study on technique for artificial fry-rearing of stone flounder (*Kareius bicoearatas*). *J Oceanography of Huanghai & Bohai Seas* 19:55-59.
- Yamamoto T (1939) Effect of temperature and salinity on the embryonal development of the eggs of *Limanda yokohamae* (Gunther). *Bull Jap J Soc Sci Fish* 8:102-110.
- Yasunaga Y (1975a) Effects of water temperature and salinity on the embryonic development of eggs and the survival of larvae of *Paralichthys olivaceus*. *Bull Tokai Reg Fish Res Lab* 81, pp 151-169.
- Yasunaga Y (1975b) Environmental factor of marine fish eggs and larvae, with respect to water temperature, salinity, dissolved oxygen and hydrogen-ion concentration. *Bull Tokai Reg Fish Res Lab* 81, pp 171-183.
- Yusa T (1960) Eggs and larvae of flatfishes in the costal water hokkaido IV. Embryonic development of Mub dab, *Limanda yokohamae* Gunter. *Bull Tohoku Reg Fish Res Lab* 17:15-30.
- Yusa T (1961) Eggs and larvae of flatfishes in the coastal waters of Hokkaido V. Embryonic development of the flatfish, *Xystrias grigorjewi* (Herzenstein). *Bull Tohoku Reg Fish Res Lab* 19:109-118.
- 이소광 (2006) 문치가자미 종묘생산 기술개발 시험. 2006년도 연구사업보고서, 경상남도수산자원연구소, pp 113-121.
- 한국동물분류학회 (1977) 한국동물명집(곤충제외). 아카데미서적, 서울, pp 1-489.
- 해양수산부 (2005) 동해안 층거리 가자미, *Pleuronectes punctatissima*의 인공종묘생산 기술개발. pp 1-112.
- 岩井壽夫, 柏木正章 (1989) 發生と孵化管理. 水族繁殖學(隆島史夫·羽生 共著, 綠書房, 東京), pp 195-237.

(received 6 October 2009, received in revised form 13 November 2009, accepted 18 November 2009)