한국해양생명과학회지[. April 2017; 2(1): 27-33 http://jmls.or.kr

한국해양생명과학회지[Journal of Marine Life Science] April 2017; 2(1): 27-33 http://imls.or.kr

절식에 따른 복섬, *Takifugu niphobles* 부화 자어의 성장, 생존율 및 간세포 핵 크기에 미치는 영향

박인석

한국해양대학교 해양과학기술대학 해양생명과학부

Effect of Starvation on the Just Hatched Grass Puffer, *Takifugu niphobles* Larvae

In-Seok Park^{*}

Division of Marine Bioscience, College of Ocean Science and Technology, Korea Maritime and Ocean University, Busan 49112, Korea

Corresponding Author

In-Seok Park Division of Marine Bioscience, College of Ocean Science and Technology, Korea Maritime and Ocean University, Busan 49112, Korea E-mail : ispark@kmou.ac.kr

Received : February 20, 2017 Revised : March 17, 2017 Accepted : April 14, 2017 복섬, *Takifugu niphobles* 부화 자어를 대상으로 기아에 따른 성장, 생존 및 간세포 핵 크기에 미치는 영향을 조사하였다. 자어의 전장은 부화 후 3일 까지 증가하였으나 부화 후 3일에서 부 화 후 6일까지 절식구는 공급구에 비해 유의한 낮은 성장을 보였다. 공급구 복섬의 체중은 실 험 기간 중 지속적인 증가를 보였다. 절식구의 체중은 부화 후 3일 까지 증가하였으나, 부화 후 3일 이후는 서서히 감소하였다. 절식구의 생존율은 공급구의 생존율에 비해 유의하게 낮았 으며(p < 0.05) 부화 후 6일째 절식구 자어는 폐사하였다. 절식구의 간세포 핵 크기는 부화 후 3일 까지는 공급구의 간세포 핵 크기와 유의한 차이가 없었으나, 부화 후 4일에서 부화 후 6일 까지는 절식구은 공급구에 비해 간세포 핵 크기 감소를 보이며 조직상 차이를 보였다. 본 연구 결과 도출된 자료들은 복섬의 영양상태 지표로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

The effects of starvation on the growth, survival and hepatocyte nuclear size of the just hatched grass puffer, *Takifugu niphobles* larvae were studied. The total length of the larvae showed increase up to 3 days after hatching (DAH), however, 3th to 6th DAH, the starved group grew, slower than the fed group, significantly. The body weight of the fed group grass puffer showed increase steadily during experimental period. The body weight of the starved group showed increase until 3th DAH, however, after 3th DAH the growth of body weight showed minute decrease. The survival of starved group decreased more significantly lower than that of the fed group and all the larvae died on the 6th DAH ($\rho < 0.05$). The nuclear area of the hepatocytes in the starved group to 3th DAH, however, the starved group showed histological differences with smaller hepatocyte nuclear size compared with the fed group from the 4th to 6th DAH. Results form this study can be used as an indicator of the nutritional status of grass puffer larvae.

Keywords: Fed group(공급구), Larvae(자어), Starved group(절식구), Takifugu niphobles

서 론

복섬, *Takifugu niphobles*은 복어목(Tetraodontiformes), 참복과 (Tetradontidae), 참복속(*Takifugu*)에 속하며, 우리나라의 동·서·남 해를 위시한 일본 중부 이남, 중국 이남 및 대만 등지에 분포한다 (Han, 1995). 우리나라 연안 해역에 서식하는 참복속에 속하는 어 류들은 주로 강 하구 및 연안역에서 서식하고, 산란기에는 내만 의 조간대에 몰려와 바위 틈새에 산란하는 특성을 가지는 바, 특 히 복섬은 이들 복어류 중 가장 작은 어종의 하나이다(Kim et al., 1994). 우리나라 주변 해역에서 출현하는 이들 참복속에 속하는 어종으로는 복섬 외에도 황점복(*T. flavidus*), 자주복(*T. rubripes*), 황복(*T. obscures*) 및 까치복(*T. xanthopterus*) 등이 있다(Kim and Kang, 1993). 이들 참복속 어류 중, 복섬은 성성숙이 빨라서 세대 주기(generation time)가 짧고(Kim et al., 1994), 산란 수가 많으며, 개체 크기가 작아서 실험실에서 유지하기에 수월하다. 그리고, 개 체마다 공통된 원형을 띠고 형질이 단순하여 복섬은 참복속에 속 하는 어류 중 실험생물로서 가장 적합하다고 판단된다. 복섬에 대 한 연구 중 독성 연구가 많이 진행된 상황이다(Jang et al., 2008). 복섬 부화 자어에 대한 연구는 복섬의 산란습성과 초기 생활사 및 자치어의 골격발달에 대한 연구가 존재하나(Oh et al., 2000; Han et al., 2003), 현재까지 그 외 진행된 연구가 없는 실정이다. 더욱이, 복섬 부화 자어가 기아에 의한 성장 및 생존율의 변화를 조사한 연구도 전혀 이루어지지 않았다.

어류들은 계절적인 월동, 산란 이동 혹은 지역적인 먹이 감소로 인하여, 자연적인 기아(starvation) 시기를 거치게 된다. 이와 같은 기아 시 어류는 생화학적 방법, 생리학적 방법 및 행동학적 방법 으로 기아를 극복하고 견딜 수 있으며, 이때 체내 축적된 조직 내 에너지를 소모하게 된다(Mustafa and Mittal, 1982; Lee et al, 1999; Woo, 2005; Park, 2006). 더욱이, 어류의 초기 생활사 중 자어기 기 아는 자어의 생존 및 성장에 절대적인 영향을 미치는 요인으로서 (Bagarinao, 1986; Myoung et al, 1990, 1992), 어류 초기 발생 시 이러한 기아가 상당히 지속되면 부화 자어는 지연된 첫 먹이공급 이 시작되더라도 부화 자어의 활력이 떨어져 더이상 먹이를 섭이 치 못하고 폐사에 이르는 한계점인 Point of no return (PNR)에 도 달한다(Strüssmann and Takashima, 1989; Han, 1998). 이와 더불어 어류의 초기 성장단계에 있어 기아에 의한 영양상태의 변화로 인 하여 외부, 내부 형태에서의 변화도 수반하게 된다(Theilacker, 1978; Yin and Blaxter, 1986).

일반적으로 해산어류의 초기 생존율은 난황 흡수상태의 내부 (endogenous) 영양섭취가 완료된 후 외부(exogenous) 영양섭취 이 행단계 시, 외부로 부터의 첫 먹이섭취 성공 여부에 의해 크게 좌 우된다(O'Connell, 1976; Theilacker, 1978; Strüssmann and Takashima, 1990). 아울러, 어류의 이러한 초기 발달단계 시의 기아는 생존율 감소는 물론 영양상태의 결핍으로 인해 장내 상피세포 및 간세포 핵 크기 감소를 야기시킨다고 보고되고 있다(Alvarez and Cowden, 1966; Baic et al, 1979; Storch and Juario, 1983; Wang and Takashima, 1984; Segner, 1985; Strüssmann and Takashima, 1989). 따라서 해산 어류 자어의 간세포 핵 크기 변화를 조사함으로써 자어의 영양상 태를 유추할 수도 있다.

본 실험은 부화 직후 복섬 자어를 대상으로 기아 시 형태 변화 및 영양상태를 평가할 수 있는 기초 자료를 축적하기 위한 것으 로써 인공산란에 의하여 종묘생산된 복섬 부화 자어에서의 기아 가 전장, 체중, 생존율 및 간세포 핵 크기 변화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 자어생산 및 사육

실험에 사용된 복섬, Takifugu niphobles 부화 자어는 2016년 8월 한국해양대학교 인근 연안에서 낚시로 채집한 자연산 친어로 부 터 인공수정을 통해 종묘생산된 개체들이다. 인공수정에 의해 생 산된 수정란은 한국해양대학교 수산유전육종학 연구실 내에서 20 ℓ 용량의 플라스틱 수조를 사용하여 부화시켰고, 본 실험 기 간 중, 수온은 22±0.5°C, pH는 7.1±0.78, DO (dissolved oxygen)는 7.5 mg/l, NH4⁺는 0.06±0.006 ppm, NO3⁻는 1.8±0.12 ppm, NO2⁻는 0.01±0.001 ppm으로 사육수 수질 및 사육조건을 유지하였다. 사 육 수조의 환수는 바닥 청소 후(1일 3회) Siphon을 이용해 찌꺼기 를 제거하였으며, 부족한 사육수를 30% 정도를 보충해 주었다. 실 험에 사용된 부화 직후(days after hatching: DAH) 자어의 평균 전 장은 2.5±0.11 mm, 평균 체중은 0.4±0.02 mg이었다.

2. 실험군 설정 및 생존율 조사

공급구와 절식구는 개구 후 첫 먹이섭취 가능 시기인 부화 후 (days after hatching: DAH) 3일(Oh et al., 2000) 부터 부화 자어의 대량 폐사가 일어나는 시기인 부화 후 6일 까지의 먹이공급 여부 에 따른 생존율을 조사하였다. 공급구는 부화 후 3일 부터 영양강 화된 Rotifer (AquaNet, Korea)와 막자사발로 충분히 분쇄한 미립자 인공배합사료(Inve Aquaculture, Thailand)를 매일 오전 9시와 오후 5시에 충분히 공급하였다. 인공배합사료의 성분 및 조성은 Crude protein, 52%; crude lipid, 9.5%; crude fiber, 1.8%; moisture, 9.9%0 었다. 절식구인 경우 실험 시작 후부터 모든 부화 자어가 폐사할 때까지 먹이공급을 중단하였다. 본 실험 기간 동안 공급구와 절식 구에서 매일 폐사 개체수를 확인하였다. 체장 및 체중 측정과 간 세포 핵의 측정을 위해 생존율 실험과 동일한 사육조건을 갖춘 공급구와 절식구를 재차 준비하였으며, 부화 후 1~6일까지 각 실험구로부터 부화 자어 10마리씩 무작위 표본 즉시 해부현미경 (Axioscope, Carl zeiss, Germany) 하에서 Eyepiece micrometer로 전 장을 0.1 mm 단위까지 측정하였고, 체중은 kimwipe로 수분을 충 분히 제거한 후 0.1 mg 단위까지 전자저울(Shimadzu, Japan)을 사 용하여 측정하였다. 공급구와 절식구 각 수조당 100마리의 부화 자어를 수용하였으며 이들 부화 자어의 생존율(%)은 매일 사육 수조 저면을 siphon한 후 사체를 계수함으로써 생존 부화 자어의 수로 역산하였다.

3. 간세포 핵 크기 측정

간세포 핵의 측정을 위해 부화 후 3일, 4일 및 5일에 공급구 및 절식구로 부터의 각각 5마리 부화 자어를 무작위로 표본 추출하



Days after hatching

Fig. 1. Total length and body weight of grass puffer, *Takifugu niphobles* fed and starved for 6 days during experimental period. Values are means \pm SE of triplicate experiments (*n*=10). Different letters on error bars are significantly different between fed and starved groups ($\rho < 0.05$).

였다. 표본은 10% 중성포르말린으로 즉시 고정한 후, 충분히 고 정된 조직 표본을 파라핀 절편법을 사용하여 조직 표본을 작성하 였다. 부화 자어를 4 µm 두께로 연속절편(횡단 또는 종단)으로 제작하였고 Hematoxylin-eosin (Sigma, USA) 염색 후 생물현미경 (Axioscope, Carl zeiss, Germany) 하에서 간세포 핵의 가장자리가 분명하게 구분되고 최대치의 크기만 보이는 핵만을 관찰하였다. 아울러 간세포 핵이 비대칭적인 점을 감안하여 1,000배의 생물현 미경 하에서 간세포 핵의 장경(a), 단경(b)을 측정 후 Sezaki and Kobayashi (1978) 방법에 따라 표면적(s) S=abrt/4을 계산하였다. 마리당 40~60개의 간세포 핵을 각각 측정하였다.

4. 통계분석

공급구 및 절식구 당 복섬 부화 자어 100마리씩을 수용하여 3반 복으로 실험하였으며, 각 실험군간 평균값의 유의성을 Student's *t*-test로 검증하였다. 결 과

1. 초기 성장

복섬, Takifugu niphobles 부화 자어는 부화 후 2일 전후로 난황 을 흡수하고, 부화 후 약 3일에 개구되어 외부영양 상태로 전환하 는 결과를 고려, 부화 3일 이후 부터 공급구와 절식구로 나누어 실험을 실시하였다. 외부 영양섭취 시기인 부화 후 3~6일째 공급 구 및 절식구 부화 자어의 평균 전장 및 평균 체중 변화는 Fig. 1 과 같다. 부화 후 3, 4, 5, 6일째 공급구 부화 자어의 평균 전장은 각각 2.9±0.04, 3.0±0.02, 3.1±0.04, 3.2±0.06 mm로 나타나 유의한 차이를 알 수 없었으나, 전반적으로 부화 후 시간경과에 따라 증 가하는 경향을 보였다. 절식구 부화 자어의 평균 전장은 부화 후 3, 4, 5, 6일에 각각 2.9±0.04, 2.9±0.05, 2.9±0.03, 3.0±0.04 mm로 실험 후 3일 까지는 공급구와 유사한 전장 성장 경향을 보였으나, 실험 후 4일 부터는 전장 성장의 증가 정도가 감소되어 공급구간 의 전장 차이가 나타났다. 부화 후 5일과 6일에 전장에 대한 공급



Fig. 2. Survival of fed and starved grass puffer, *Takifugu niphobles* for 6 days during experimental period. Values are means \pm SE of triplicate experiments (*n*=10).

구와 절식구간 유의한 차이가 각각 나타났다(p < 0.05).

부화 후 3, 4, 5, 6일째 공급구 부화 자어의 평균 체중은 각각 0.9 ±0.10, 1.0±0.07, 1.1±0.03, 1.2±0.04 mg으로 나타났으며, 절식구 부 화 자어의 평균 체중은 각각 0.9±0.10, 0.9±0.06, 0.8±0.03, 0.8±0.01 mg으로 나타났다. 따라서, 공급구 부화 자어의 체중은 부화시간 에 따라 꾸준히 증가하는 경향을 나타냈고, 절식구 부화 자어의 체중은 부화 후 3일 까지 증가하는 경향을 보이다가 부화 후 3일 이후 부터는 감소하는 경향을 보였다. 아울러, 부화 후 5일과 6일 에 체중에 대한 공급구와 절식구간 유의한 차이가 각각 나타났다 (*p* < 0.05).

2. 생존율

복섬 부화 자어의 부화시점 부터 절식구가 100% 폐사를 보인 부화 후 6일째 까지의 각 공급구와 절식구의 생존율 변화는 Fig. 2와 같다. 실험 시작부터 입이 열리고 먹이를 먹기 시작하는 부화 후 약 3일 까지의 폐사 개체는 기아와 상관없이 환경적 요인에 의해 자연사한 개체로, 기아에 의한 폐사 개체는 먹이를 먹기 시 작하는 부화 후 3일 이후 출현하였다. 부화 후 4, 5, 6일째 부화 자 어의 생존율은 공급구의 경우 각각 63±4.1%, 51±4.9%, 37±4.8%로 나타나 생존율이 비교적 완만하게 감소하는 경향을 보인 반면, 절 식구의 경우 각각 48±5.0%, 27±4.9%, 0%로 나타나 각 시기별로 공급구와 절식구간의 유의한 차이가 나타났으며(*p* < 0.05), 부화 후 4일째 부터 생존율이 급격히 감소되기 시작해 부화 후 6일째에 모든 부화 자어가 폐사하였다.



Fig. 3. Hepatocyte nuclear areas of fed and starved grass puffer, *Takifugu niphobles* from 3 to 5 days after hatching.

3. 간세포 핵 크기

박인석

외부 영양섭취 시기인 부화 후 3~5일째 복섬 부화 자어의 간세 포 핵 표면적의 변화는 Fig. 3과 같다. 공급구의 간세포 핵 평균 표 면적은 부화 후 3, 4, 5일째 각각 11.2±0.4, 11.3±0.4, 11.3±0.3 µm² 였고, 절식구의 경우 각각 11.2±0.6, 8.4±0.3, 5.3±0.4 µm²로 나타 나, 공급구 부화 자어의 간세포 핵 표면적은 부화 후 경과시간에 관계없이 거의 일정하였지만 절식구 부화 자어인 경우는 부화 후 4일째 부터 간세포 핵 표면적 크기가 현저히 감소되는 경향을 보 였다.

복섬 부화 자어의 간세포 핵 표면적을 빈도 분포를 나타낸 결 과는 Fig. 4와 같다. 부화 후 3일째, 공급구와 절식구 각각 50개의 간세포 핵 표면적이 10.00~10.99, 11.00~11.99, 12.00~12.99 µm²인 것은 각각 8, 17, 13개로서 16, 34, 26%의 빈도 분포를 나타내, 부 화 후 3일째 간세포 핵 표면적은 11.00~11.99 µm²에서 가장 높은 빈도 분포를 보였다. 부화 후 5일째, 절식구의 50개 간세포 핵 표 면적이 5.00~5.99, 6.00~6.99, 7.00~7.99 µm²인 것은 각각 16, 11, 8개로서 32, 22, 16%의 빈도 분포를 나타내, 부화 후 5일째 절식 구의 간세포 핵 표면적은 5.00~5.99 µm²에서 가장 높은 빈도 분 포를 보였다.

Fig. 5는 공급구와 절식구간 간세포 핵의 형태적 차이를 보이는 현미경상으로, 부화 후 3일에 공급구와 절식구간 간세포 핵의 뚜 렷한 형태적 차이점 없이, 대부분의 간세포 핵은 타원형으로 낮 은 분포 밀도를 보였다(Fig. 5a). 공급구의 경우 부화 후 3~5일 동 안 간세포 핵의 형태적 변화는 관찰되지 않았으나, 절식구의 경 우 부화 후 4일째 부터 간세포 핵의 크기가 축소되고, 분포 밀도



Fig. 4. Frequency distribution of hepatocyte nuclear areas of starved and fed grass puffer, *Takifugu niphobles.* a: at 3 days after hatching; b: at 5 days after hatching.

가 높으며, 형태가 다소 불규칙 하였다(Fig. 5b).

고 찰

Allyn and Alexander (1985)의 보고에 따르면 점민어, *Leiostomus xanthurus* 자어인 경우 외부 영양섭취 개시 시기에 먹이를 공급하 지 않은 기아인 경우, 기아 3일 만에 자어의 체형이 급격히 수축 되면서 모든 자어가 폐사하였다고 보고하였다. 본 실험에서 복섬, *Takifugu niphobles* 부화 자어의 전장, 체중의 변화는 부화 후 3일 까지는 공급구 및 절식구 모두 서로 유사하게 증가한 것으로 나 타났지만, 부화 후 3일 이후 부터 공급구 부화 자어의 전장, 체중 은 계속하여 증가한 반면, 절식구의 체중은 감소하였다. 또한 공 급구 및 절식구의 생존율은 부화 후 3일 까지는 감소하는 비율이 유사하였으나, 부화 후 3일 이후 부터는 절식구의 생존율은 공급 구의 생존율에 비해 급격하게 떨어지는 것으로 나타나, 이는 절식 이 성장과 생존율에 부정적인 영향을 미친 것으로 판단된다.

어류의 경우 충분한 영양공급 시에는 간세포 핵(nucleus of hepatocyte)의 형태와 크기가 일정하지만 영양공급이 이루어지지 않으면 간세포 핵의 내용물이 비염색체 단백질(non-chromosomal



Fig. 5. Histological appearance of hepatocytes of grass puffer larvae, *Takifugu niphobles* (a: at 3 days after hatching; b: at 5 days after hatching). Bars indicate 10 μ m.

protein)로 변환되어, 결국 핵의 형태와 크기에서의 변화가 일어나 게 된다(Alvarez and Cowden, 1966; Storch and Juario, 1983). 따라 서 본 연구의 복섬 부화 자어를 위시한 어류 발생 초기 간세포 핵의 형태 및 크기 변화 조사는 어류 발생초기 자어기의 영양상 태를 평가할 수 있는 한 가지 지표로 사용될 수 있는 것으로 사 료된다. 부화 자어의 경우 난황 흡수가 끝날 때 까지 영양을 섭 취하지 못하면 간의 퇴화가 이루어 지면서 자어는 부화 후 수일 내에 폐사하게 된다(O'Connell, 1976; Theilacker, 1978; Wang and Takashima, 1984; Strüssmann and Takashima, 1989). 절식(기아) 시 어류의 간세포 핵 형태 및 크기 변화는 종에 따라 다른 바, 젖빛 고기, *Chanos chanos* 자어의 경우는 부화 후 10일 내에 독가시치, *Siganus guttatus*의 경우는 이보다 빠른 부화 후 6일 이내에 간 세포의 변화가 급격하게 일어나면서 폐사한 것으로 보고되었다 (Storch and Juario, 1983; Segner, 1985).

본 연구의 결과, 복섬 부화 자어의 간세포 핵 크기는 공급구 및 절식구 모두 부화 후 3일차 까지는 큰 차이가 없었으나, 부화 후 3일차 이후 부터 차이가 나기 시작하면서 4일차 부터는 두 실험 구간 핵 크기가 현저히 다른 결과를 보여, 부화 후 4~5일째 간세 포 핵의 크기는 공급구가 절식구 보다 약 1.61~2.15배 정도 큰 것 으로 나타났다. 이러한 결과는 milkfish 경우 절식구의 간세포 핵 크기가 공급구 즉, 대조구 보다 1.5배 이상 작고(Storch et al., 1983) 페헤레이, *Odontesthes bonariensis*의 경우는 1.4배 이상 작은 것으 로 보고(Strüssmann and Takashima, 1989)된 것과 비교 시, 복섬 부화 자어는 다른 어류에 비해 기아 시 핵 크기의 감소율이 비교 적 큰 것으로 판단된다.

본 연구에서 복섬 절식구의 부화 자어는 공급구에 비해 간세포 핵 크기가 작고, 간세포 핵 분포 밀도가 높으며 또한 간세포 핵 형태가 불규칙한 것으로 나타났다. 이러한 원인은 기아 시 내생 적 영양에 의해 간세포 내의 Glycogen이 소비됨에 따라, 따라서 핵내 비염색체 단백질 함량 변화의 결과에 기인된 핵 변이 때문 인 것으로 알려져 있다(Strüssmann and Takashima, 1990).

본 연구 결과, 복섬 부화 자어의 난황 흡수 직전 후인 부화 후 72시간 까지는 간세포 핵 크기 감소가 일어나지 않았다. 또한 이 시기에 부화 자어의 전장, 전중 및 생존율에 있어서도 공급구와 절식구간의 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 부화 후 4일째 까지 도 먹이를 섭취하지 못한 부화 자어는 간세포 핵 크기 및 형태가 현저히 변형되었고, 또한 부화 자어의 체중 및 생존율도 급격하게 감소된 것으로 나타났다. 따라서 복섬 부화 자어의 간세포 핵 크 기 및 체성장, 생존율 그리고 난황 흡수 시기 등을 종합적으로 고 려해 보면, 부화 후 96시간 까지도 먹이를 섭취하지 못한 부화 자 어는 다시 먹이를 공급하더라도 생존이 어려울 것으로 추측되며, 복섬 부화 자어의 활력이 떨어져 더이상 먹이를 섭취하지 못하고 폐사하게 되는 한계점인 PNR은 적어도 부화 후 84~96시간 사이 로 추정되며, 이는 난황이 작은 복섬 부화 자어는 난황이 큰 다른 참복속 부화 자어에 비해 내생적 에너지를 많이 보유하지 못하므 로(Bagarinao, 1986), PNR에 도달하기 전까지 먹이를 섭취할 수 있 는 시간적 여유가 짧은 것으로 사료된다.

본 실험에 사용된 복섬 부화 자어의 기아 시 효과로의 전장, 체 중, 생존율 및 간세포 핵 면적 변화 결과는 복섬 부화 자어의 영 양상태를 평가할 수 있는 지표로 활용될 수 있을 것으로 생각되 며 더욱이, 복섬 종묘생산 시 적정 먹이공급 시기와 관련한 자어 의 생리 특성에 관한 기초자료로서 유용할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문을 세심하게 지적 및 수정하여, 본 논문의 질적 향상을 이끌어준 익명의 심사자들께 감사 드립니다. 본 연구는 현행법(실 험동물에 관한 법률, 식품의약품안전처 시행령)과 한국해양대학 교의 연구윤리수칙을 준수 하였습니다.

참고문헌

- Alvarez MR, Cowden RR. 1966. Karyometric and cytophotometric study of hepatocyte nuclei of frogs exposed to cold and prolonged starvation. Z Zellforsch 7: 240-247.
- Allyn BP, Alexander JC. 1985. Morphometric indices of nutritional condition and sensitivity to starvation of spot larvae. Trans Ame Fish Soc 114: 338-347.
- Bagarinao T. 1986. Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species reared in the hatchery. Mar Biol 9: 449-459.
- Baic D, Ladewski BG, Frye BE. 1979. Quantitave ultrastructural studies of hepatocytes from fed and starved frogs. J Exp Zool 210: 381-416.
- Han KH. 1995. Morphology, osteology and phylogeny of the fishes of the family Tetraodonidae (Teleostei: Tetraodontiformes). Ph D Thesis Pukyong Nat'l Univ Busan Korea 205 pp.
- Han KH, Oh SH, Seo WI. 2003. Ostelogical development of larvae and juveniles of the grass puffer, *Takifugu niphobles*. Korean J Ichthyol 15: 193-199.
- Han KN. 1998. Effect of starvation on growth, survival and feeding incidence of tiger puffer (*Takifugu rubripes*) larvae. J Aquacult 11: 521-528.
- Jang JH, Yun SM, Kim JS, Lee JS. 2008. Toxin profile in the liver of puffer fish, *Takifugu niphobles*, and changes in mouse toxicity by pH and heating conditions. J Korean Soc Sci Nutrit 37: 612-617.
- Kim IS, Kang YJ. 1993. Coloured Fishes of Korea. Academy Publishing Co Seoul 477 pp.
- Kim YU, Kim YM, Kim YS. 1994. Commercial fishes of the coastal and offshore waters in Korea. Nat'l Fish Res Dev Agency Korea 299 pp.
- Lee KK, Kim YH, Park I-S. 1999. Effect of starvation on some nutritional parameters in *Rhynchocypris oxycephalus*. 1. Charateristics of the histological and biochemical change. Kor J Ichthyol 11: 33-41.
- Mustafa S, Mittal A. 1982. Protein, RNA and DNA levels in liver and brain of starved catfish, *Clarias batrachus*. J Ichthyol 28:

396-400.

- Myoung JG, Kim HS, Kim PK, Kim YU. 1992. Morphological changes during starvation of larvae of left eye flounder, *Paralichthys olivaceus*. Korean J Ichthyol 4: 20-28.
- Myoung JG, Kim JM, Kim YU. 1990. Morphological changes during starvation of larvae of red sea bream, *Pagrus major*. Korean J Ichthyol 2: 138-148.
- O'Connell CP. 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 25: 285-312.
- Oh SH, Han KH, Kim YM, Joung HH, Shin SS, Kim YU. 2000. Spawning behavior and early life history of grass puffer, *Takifugu niphobles* (Jordan et Snyder) (Teleostei: Tetraodontidae). Korean J Ichthyol 12: 236-243.
- Park I-S 2006. Histological changes of hepatocyte and intestinal epithelium during starvation in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Kor Fisher Soc 39: 303-307.
- Segner H. 1985. Influence of starvation and refeeding with defferent diets on the hepatocyte ultarstructure of juvenile *Siganus guttatus* Bloch (teleostei). Zool Anz 214: 8190.
- Sezaki K, Kobayashi H. 1978. Comparison of erythrocytic size between diploid and tetraploid in spinous loach, *Cobitis biwae*. Jap Soc Sci Fish 44: 851-854.
- Storch V, Juario JV. 1983. The effect of starvation and subsequent

feeding on the hepatocytes of *Chanos chanos* (Forsskål) fingerings and fry. J Fish Biol 23: 95-103.

- Storch V, Stahlin W, Juario JV. 1983. The effect of different diets on the ultrastructure of hepatocytes of *Chanos chanos* fry (Chanidae: Teleostei) and electron microscopic and morphometric analysis. Mar Biol 74: 101-104.
- Strüssmann CA, Takashima F. 1989. PNR, histology and morphology of starved pejerrey, *Odontesthes bonariensis* larvae. Nip Sui Gak 55: 237-246.
- Strüssmann CA, Takashima F. 1990. Hepatocyte nuclear size and nutritional condition of starved pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier et Valenciennes). J Fish Biol 36: 59-65.
- Theilacker GH. 1978. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetridus*, Iarvae. Fish Bull 76: 403-414.
- Wang Z, Takashima F. 1984. Histological changes in digestive organs of carp larvae during starvation. II. Liver and pancreas. Suisanzoshoku 32: 44-53.
- Woo SR. 2005. Effect of starvation on parameters in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel.). Master Thesis Korea Maritime Uni Busan Korea p. 1-77.
- Yin MC, Blaxter JHS. 1986. Morphological changes during grow and starvation of larval cod (*Gadus morhua* L) and flounder (*Platichthys flesus* L.). J Exp Mar Biol Ecol 104: 215-228.