KFAS 한국수산과학회지 Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences
한수지 54(1), 124-128, 2021

Note
Korean J Fish Aquat Sci 54(1),124-128,2021

황복(*Takifugu obscurus*) 수정란의 부화방법 및 수송 시기에 따른 부화율 조사

유광열 · 허준욱[1]*

특허청 식품생물자원심사과, [1]군산대학교 해양생명응용과학부

Effects of Incubation Method and Transfer Timing on the Hatching Rate of Fertilized Eggs of the River Puffer *Takifugu obscurus*

Gwangyeol Yoo and Junwook Hur[1]*

Food & Biological Resources Examination Division, Korean Intellectual Property Office, Daejeon 35208, Korea
[1]Faculty of Marine Applied Biosciences, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea

This study was conducted to evaluate the effects of incubation methods and transfer timings on the hatching rate of fertilized eggs of the river puffer *Takifugu obscurus*. Four incubation methods were tested, a) control (fertilized eggs attached to the glass plate), b) bottom (fertilized eggs spread on the bottom of the tank without any treatment), c) S-bottom (removing the stickiness of the fertilized eggs, and then spreading the eggs on the bottom of the tank), and d) incubator (removing the stickiness of the fertilized eggs, and then incubating the eggs in an incubator). Additionally, four transfer timings were tested: a) control (no transfer from the incubation tank), b) zygote (fertilized eggs transferred at the zygote stage), c) segmentation (fertilized eggs transferred at the segmentation stage), and d) pharygula (fertilized eggs transferred at the pharygula state). The results showed that the hatching rate of incubator was significantly higher than those of control, bottom, and glass ($P<0.05$). The results also showed that the hatching rates of control and pharygula were significantly higher than those of zygote and segmentation ($P<0.05$).

Keywords: Puffer, Hatching rate, Incubation method, Transfer timing, Adhesiveness

서 론

복어류는 전 세계적으로 120여종이 분포하고 있으며 이 중 식용으로 이용하는 산업종은 황복(*Takifugu obscurus*), 자주복(*T. rubripus*), 참복(*T. chinensis*) 등을 포함하여 10여종에 불과하다. 황복은 복어목(*Tetraodontiformes*)의 참복과(*Tetraodontidae*)에 속하며 우리나라의 서해연안과 기수역(임진강, 한강, 금강, 만경강), 동중국해 및 남중국해와 인접한 강하류(랴오허, 황허, 양쯔강 등)에 분포하며, 우리나라와 중국의 황해로 유입되는 하천의 중·상류 지역까지 서식하는 광염성 해산어류에 속한다(Yuan and Xie, 1986; Wang, 2008).

황복은 서식수온이 15-22℃ 내외인 온대성 어종이나 다른 복어류와는 달리 바다에서 성장 후 하천수온이 15-20℃에 도달하는 4월 중순-6월 초순경에 산란을 위해 임진강, 한강, 만경강 등 서해안 하천으로 거슬러 올라와 산란을 하는 소하성 어류이다. 황복의 식성은 잡식성이나 어린시기에는 성어와 달리 부유동물과 소형의 치어를 먹으며, 성어가 되면 새우, 권패류, 조개류, 곤충의 유충, 지각류와 고등식물의 잎사귀 등 긴 모양의 조개류 등을 먹는 것으로 알려져 있다(NIFS, 2006).

국내의 황복 연구는 배란유도방법(Jang, 1996), 난발생과 자·치어 발달에 관한 연구(Jang et al., 1996), 세포유전학적 연구(Park et al., 1997), 정자의 냉동보존 및 해동기술(Chang et al., 1999), 초기단계의 소화효소 변화(Son et al., 2001), 급격한 염분변화에 따른 생리적 변화(Lee and Kim, 2005), 백점충 감염(Park et al., 2004), 수온이 성장과 혈액에 미치는 영향(Lee et al., 2004), 초기발달시기 먹이와 염분의 효과(Kang et al., 2004) 등이 보고되었다. 국외 연구는 인공종자생산 연구 및 무독화 담수양식(Jiang et al., 2000), LHRH-a를 이용한 산란유도

***Corresponding author:** Tel: +82. 63. 469. 1838 Fax: +82. 63. 469. 7442
E-mail address: junwhur@kunsan.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial Licens (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0124
Korean J Fish Aquat Sci 54(1), 124-128, February 2021
Received 30 December 2020; **Revised** 14 January 2021; **Accepted** 21 January 2021
저자 직위: 유광열(심사관), 허준욱(교수)

(Yang and Chen, 2004), 광주기 변화에 따른 난발생(Yang and Yang, 2004), 삼투압 조절(Kato et al., 2005), 급격한 염분변화에 따른 삼투압 반응(Yan et al., 2005), 난발생에 미치는 수온과 염분의 영향(Yang and Chen, 2006) 등 대부분 생리분야에 관한 연구가 수행되어 있다.

양식 현장에서 황복의 종자생산은 수정란을 수조 바닥에 살포하거나 수정란의 부착 성질을 이용하여 유리판에 수정란을 부착시키는 방법들로 이루어지고 있다. 그러나 상기 방법들은 수정란의 관리가 어렵고 유리판에 수정란의 부착밀도를 조절하기가 매우 까다로워 다년간의 숙련된 기술 및 많은 인력이 요구되는가 하며, 또한 부착 및 살포밀도에 따라 부화율의 편차가 매우 크다. 특히, 많은 양식장에서 황복 수정란을 수조 바닥에 그대로 수용하여 부화될 때까지 관리하고 있는데, 이러한 방법은 생존율이 낮기 때문에 황복 친어도 많이 필요할 뿐만 아니라 다수의 사육지에 수정란을 관리하게 되므로 수조관리, 사육수 가온비 상승 등의 문제로 비효율적이라 할 수 있다. 또한 국내에 주요 양식 대상품종으로 자리 잡은 넙치, 감성돔, 송어 등은 전문적인 어미 관리업체에서 수정란을 생산하여 종자생산 업체에 공급하고 있는데, 아직까지 대부분의 황복 양식장에서는 자연산 어미를 이용하여 종자를 생산하고 있다. 이러한 기술개발의 한계로 황복의 양식 생산량증대를 기대하기가 어려운 실정이다.

따라서 본 실험은 안정적인 황복 종자생산을 위해 기존에 수정란 부화방법 이외에 새로운 부화방법을 찾고자 수행하였으며, 또한 현장에서 수정란을 확보하여 어느 시기에 양식장(부화장)으로 수송해야 생존율을 높일 수 있는지 알아보고자 수행하였다.

재료 및 방법

수정란 확보

성숙한 4년생 양식산 어미 황복 13마리(평균중량 379±14.6 g의 암컷 9마리, 평균중량 285±9.64 g의 수컷 4마리)로부터 채란 및 채정하여, 인공수정 후 수정란을 500 μm의 나일론 망에 담아 여과살균수(염분 4.5 psu, 수온 20℃)로 5분간 세척(세란)한 후 실험에 이용하였다. 확보한 수정란은 375,200립으로 수정율은 97%로 실험에 이용하기 전 고르게 혼합하여 사용하였다.

수정란 부화방법에 따른 부화율 평가

황복 수정란의 적정 부화관리 방법을 규명하기 위하여 수정란을 유리판에 부착시키는 실험구를 대조구(control)로 선정하였으며, 수정란을 아무런 처리 없이 수조 바닥에 살포하는 실험구(bottom), 수정란의 점착성질을 제거 후 수조바닥에 살포하는 실험구(S-bottom) 및 수정란의 점착성질을 제거 후 부화기를 이용한 실험구(incubator)로 4가지 방법별 부화율을 조사하였다. 모든 실험구는 3반복으로 설정하였으며, 실험수조는 2

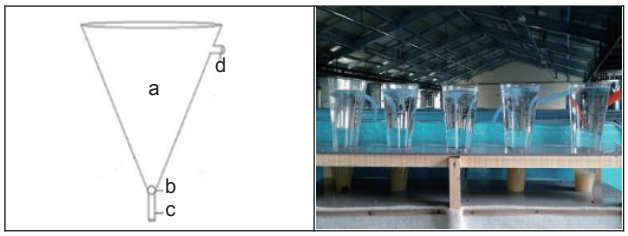

Fig. 1. Cone incubator. a, Imhoff cone; b, glass bead; c, inlet; d, outlet.

ton의 원형 FRP (fiber reinforced plastics) 수조(지름 150 cm, 높이 120 cm)를 사용하였다. Control은 40×60 cm의 유리판에 15,000립의 수정란을 부착시킨 후 수조에 수용하고, bottom 실험구는 수정란에 아무런 처리 없이 수조에 15,000립씩 고루 살포하였다. S-bottom 실험구와 incubator 실험구의 점착성질 제거를 위해 수정란 확보 전에 원뿔형 용기(지름 30 cm, 높이 50 cm)를 준비하여 용기안에 사육수를 50% 채우고, 에어스톤을 용기 하부에 배치하여 사육수가 충분히 교반되도록 한 후 점토 분말인 Fuller's earth (catalog no. f200, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 10 g을 넣고 수정란 50,000립을 수용하였다. 용기안에 수정란을 수용하고 10초간 교반 시킨 후 용기안의 내용물을 나일론 망(500 μm)에 옮겨 담아 흐르는 물로 3분간 세란 하였다. S-bottom 실험구는 수정란을 세란 후 수조에 15,000립씩 수용하였으며, incubator 실험구는 1 L 용량의 원뿔형 플라스틱 부화기에 15,000립씩 수용하였다(Fig. 1). 모든 실험구의 사육수는 수온 21±0.46℃, 염분 4.57±0.04 psu, 유수량 4.0 L/min로 관리하였다. 부화수량 파악을 위해 부화 직후부터 5일동안 control, bottom, 및 S-bottom 실험구는 매일 야간에 15회씩 1 L의 용기에 사육수를 채취하여 용기안의 자어수량을 계수 후 수조에 수용된 사육수량으로 환산하였고, incubator 실험구는 부화기 배출관 하부에 500 μm의 나일론 망으로 제작한 포획망을 설치하여 육안으로 계수 하였다.

수정란 수송 시기에 따른 부화율 평가

수정란 수송 시기에 따른 부화율 평가를 위해 수정란을 운송하지 않고 부화 관리하는 실험구를 대조구(conrol)로 선정하고, 수정 직후(zygote), 체절형성기(segmentation, 수정 후 70시간) 및 60% 이상의 개체에 눈이 뚜렷하게 착색되는 시기(pharygula, 수정 후 100시간)에 3시간 동안 수정란을 각각 수송하여 부화율을 비교하였다(Fig. 2). 수정란은 실험구당 1 L 용량의 원뿔형 플라스틱 부화기 3개에 15,000립씩 수용하였다. 모든 실험구의 수정란은 실험 1과 동일한 방법으로 점착성질 제거하고 세란 후 수송 또는 부화기에 수용하여 관리하였다. 수정란의 운송은 20 L의 투명비닐봉투에 사육수(염분 4.45 psu, 수온 21.0℃) 10 L를 넣고 수정란을 15,000립씩 수용한 후 산소를 충전하고 밀봉하였으며, 밀봉된 봉투를 승용차량에 적재하고 3시간 동안

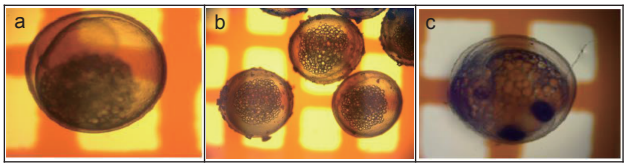

Fig. 2. Developmental stages on transfer timings of fertilized eggs of river puffer *Takifugu* obscurus. a, zygote period; b, segmentation period; c, pharygula period.

수송 후 부화기에 다시 수용하여 부화율을 평가했다. 모든 실험구의 사육수는 수온 21±0.39℃, 염분 4.48±0.04 psu, 유수량 4 .0 L/min로 관리하였다. 부화 자어수 파악을 위해 배출관 하부에 500 μm의 나일론 망으로 만든 포획망을 설치하여 육안으로 계수하였다.

통계처리

실험구별 부화율은 SAS (Version 9.1) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석하였다. 데이터 값은 최소유의차(least significant difference test, LSD) 검정(P<0.05)으로 비교하고 평균값 ± 표준편차(mean±SD)로 나타냈다.

결과 및 고찰

황복 수정란의 부화 방법에 따른 부화율은 Fig. 3에 나타내었다. 부화율 평가 결과 control, bottom, S-bottom 및 incubator의 부화율은 각각 61.7±6.81%, 33.2±5.62%, 41.8±3.76% 및 83.4±2.59%로 incubator 실험구의 부화율이 다른 모든 실험구에 비해 유의한 차이로 높게 나타났으며(P<0.05), control의 부화율은 bottom 및 S-bottom 실험구에 비해 유의한 차이로 높게 나타났다(P<0.05). 그러나 bottom과 S-bottom 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 점착성 수정란의 부화 관리 방법은 수정란을 적당한 기질에 부착시켜 관리하는 방법과 수정란의 점착성질을 제거한 후 부화기에 수용하여 유동식으로 관리하는 방법으로 구분할 수 있다(Kitsukawa et al., 2006; Mizuno et al., 2013). 수정란의 점착성질을 제거하면 수정란이 서로 엉겨 붙지 않아 산소결핍에 따른 사란의 발생을 방지할 수 있고, 이로 인해 부화율이 향상된다고 빙어(Mizuno et al., 2013), 대구(Gwak et al., 2010), 은어(Kitsukawa et al., 2006) 등 다양한 어종에서 보고되었다. 수정란의 점착성질 제거 방법은 수정란을 탄닌산 용액에 침지하는 방법(Tanaka, 2008), 가리비 패각이나 카올린 분말이 혼합된 용액에 침지하는 방법(Kudoh, 1999; Mizuno et al., 2010), 녹차 추출물이 혼합된 용액에 침지하는 방법(Mizuno et al., 2013) 등 다양한 방법들이 보고되었다. 본 연구에서는 수정란을 점토분말인 Fuller's earth가 혼합된 용액에 침지한 후 부화기에 수용하여 유동식으로 관리한 실험구가 다른 모든 실험구들에 비해

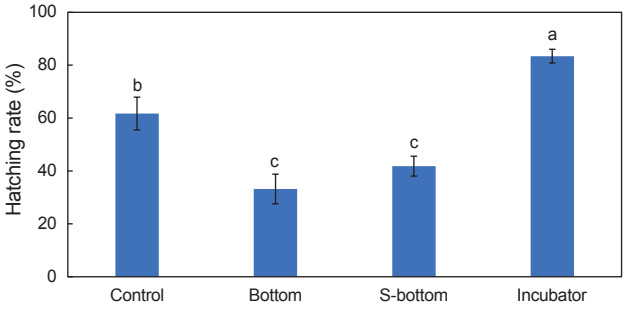

Fig. 3. Hatching rate according to incubation methods. Values with different letters are significantly different (P<0.05). Values are means±SD (n=15).

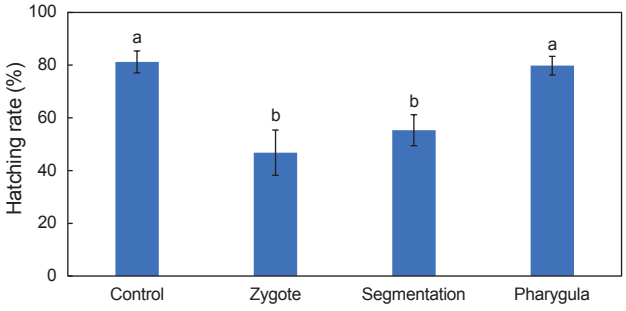

Fig. 4. Hatching rate according to transfer timings. Values with different letters are significantly different (P<0.05). Values are means±SD (n=15).

유의한 차이로 부화율이 높게 나타났다(P<0.05). 실험구별 부화까지 소요 시간은 control, bottom, S-bottom 및 incubator에서 각각 수정 후 158.5시간, 176.3시간, 182.3시간 및 149.7시간에 관찰되었다. 부화까지 소요되는 시간도 S-bottom 실험구가 control과 incubator에 비해 장시간 소요되는 반면 bottom과는 유사하게 나타났다. 이러한 결과는 incubator 실험구는 수정란을 부화기를 이용하여 유동식으로 관리하여 난막에 부착된 Fuller's earth가 제거되는 반면 S-bottom 실험구는 난막에 부착된 Fuller's earth가 탈락되지 않음으로 인해 수정란에 산소가 원활하게 공급되지 않았기 때문으로 추정된다.

황복 수정란의 수송 시기에 따른 부화율은 Fig. 4에 나타내었다. 부화율 평가 결과 control, zygote, segmentation 및 pharygula의 부화율은 각각 81.2±4.16%, 46.8±8.60%, 55.3±5.87% 및 79.8±3.51%로, control과 pharygula 실험구의 부화율이 zygote 실험구와 segmentation 실험구에 비해 유의한 차이로 높게 나타났다(P<0.05). 그러나 control과 pharygula 실험구, zygote 실험구와 segmentation 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다. Jang et al. (1996)은 황복의 난 발생 과정을 융합기(zygote period), 난할기(cleavage period), 포배기(blastula period), 낭배기(gastrulla period), 체절형성기(segmentation

period), 인두형성기(pharygula period), 부화기(hatching period) 등 7개의 범주로 나누었으며, 17℃ 수온에서 체절형성기와 인두형성기는 수정 후 55시간, 137시간 후에 각각 관찰되고, 수정 후 260시간부터는 부화가 시작된다고 보고하였다. 본 연구의 control의 체절형성기와 인두형성기는 36시간, 78시간 후에 각각 관찰되었고, 수정 후 148시간부터는 부화가 시작되었다. 이러한 결과는 Jang et al. (1996)이 보고한 17℃, 22℃ 및 25℃의 수온에서 황복 수정란 부화시간은 수온이 높을수록 짧고, 부화율은 수온이 낮을수록 높았다는 연구결과와 유사하였다. 한편 control, zygote, segmentation 및 pharygula의 실험구별 부화까지 소요시간은 148시간, 174.6시간, 156.5시간 및 148.5시간으로, 수정란의 발생이 더욱 많이 진행된 시점에 수정란을 수송할수록 부화까지 소요 시간이 단축되는 경향을 보였다.

따라서 황복 수정란의 부화율 향상을 위해 점착성질을 제거 후 부화기를 이용하여 관리하고, 수정란의 수송은 안점 형성 후 수송하는 것이 바람직할 것으로 판단된다. 앞으로 황복 종묘생산 기술의 안정적인 정착을 위해 수정란의 수송 밀도별, 부화기에 수용 밀도별 부화율 평가, 수정란 운송시기별 부화시간 평가에 관한 연구들이 수행되어야 할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부 수산실용화기술개발사업(311045-03-1-SB010)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

Chang YJ, Lim HK, Chang YJ, Kim HS and Huh HT. 1999. Physico-chemical properties and cold storage of river puffer *Takifugu obscurus* milt. J Korean Fish Soc 32, 243-246.

Gwak WS, Han DH and Lee SG. 2010. Hatching rate of pacific cod *Gadus macrocephalus* in a large volume of the hatching jar. Korean J Ichthylo 22, 195-200.

Jang SI. 1996. Induced ovulation by using human chroionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone anlogue plus pimozide in yellow puffer *Takifugu obscurus*. J Aquaculture 9, 3-10.

Jang SI, Kang HW and Han HK. 1996. Embryonic, larval, and juvenile stages in yellow puffer *Takifugu obscurus*. J Aquaculture 9, 11-18.

Jiang RL, Zhang CW and Ding YK. 2000. Artificial propagation of nontoxic *Takifugu obscurus* cultured in ponds. J Fish China 24, 539-543.

Kang HW, Kang DY, Cho KC, Lee JH, Park KJ and Kim JH. 2004. Effect of food and salinity on larval growth and survival of the river puffer *Takifugu obscurus*. J Aquaculture 17, 221-227.

Kato A, Doi H, Nakada T, Saka Hi and Hirose S. 2005. *Takifugu obscurus* is a euryhaline fugu species very close to *Takifugu rubripes* and suitable for studying osmoregulation. BMC Physiology 5, 18.

Kitsukawa M, M Ohba and S and Kudoh. 2006. Use of a new jar hatchery to control the hatching of adhesiveeliminated eggs of Japanese smelt, *Hypomesus nipponensis*. Aquacult Sci 54, 231-236. https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.54.231.

Kudoh S. 1999. Culture method for adhesive egg. In: Japan Patent No. 2957718. Japan Patent Office, Tokyo, Japan, 1-3.

Lee BK and Hur MK, Kim YW, Choi JS and Kim BK. 2004. Effect of juvenile river puffer *Takifugu obscurus*. Korean J Ichthylo 16, 27-33.

Lee SM and Kim KD. 2005. Effect of various levels of lipid exchanged with dextrin at different protein level in diet on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquac Nutr 11, 435-442. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00372.x

Mizuno S, Hatakeyama M, Teranishi T and Koide N. 2013. Effect of soaking artificially fertilized eggs in a green tea extract solution on the elimination of egg adhesiveness, hatching rate and larval quality in Japanese smelt *Hypomesus nipponensis*. Aquacult Sci 61, 153-162. https://doi.org/10.11233/aquaculturesci.61.153.

Mizuno S, Teranishi T, Sasaki N and Koide N. 2010. Effects of treatment using unbaked scallop shell powder suspension on eliminating egg adhesiveness, hatching rate and larval quality in Japanese smelt *Hypomesus nipponensis* eggs. Aquacult Sci 58, 97-104.

NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2006. Standard manual of river puffer culture. NIFS, Busan, Korea, 2-23.

Park IS, Kim HS, Kim ES, Kim JH and Park CW. 1997. Cytogenetic analysis of river puffer *Takifugu obscurus* (Teleostomi : Tetraodontiformes). Korean J Fish Aquat Sci, 30, 408-412.

Park SW, Choi HM and Yu JH. 2004. Cyptocaryon irritans infection in river puffer *Takifugu obscurus* cultured in sea water. J Fish Pathol 17, 99-103.

Son KH, Han KN and Chang CS. 2001. The changes of digestive enzyme in early stage of the river puffer *Takifugu obscurus*. J Korean Fish Soc, 34, 577-593.

Tanaka T. 2008. Chemical studies on plant polyphenols and formation of black tea *polyphenols*. Yakugaku Zasshi 128, 1119-1131.

Wang SY. 2008. Biological study for seedling production of the river puffer *Takifugu obscurus*. Ph.D. Thesis. Inha University of marine science, Inchun, Korea.

Yan M, Li Z and Xiong B. 2005. Preliminary results on osmolality response of puffer fish *Takifugu obscurus* to sudden salinity change. J Appl Ichthyol 21, 156-159. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2004.00589.x.

Yang Z and Chen YF. 2004. Induced ovulation in obscutre puffer *Takifugu obscutus* by injections of LHRH-α. Aquacult Int 12, 215-223. https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000032082.17825.f2.

Yang Z and Chen YF. 2006. Salinity tolerance of embryos of obscure puffer *Takifugu obscurus*. Aquaculture 253, 393-397. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.08.014.

Yang Z and Yang J. 2004. Effect of photoperiod on the embryonic development of obscure puffer *Takifugu obscutus*. J Freshw Ecol 19, 53-58. https://doi.org/10.1080/02705060.2004.9664512.

Yuan CM and Xie HG. 1986. Fresh water fishes of Jiangsu province, China. Jiangsu Pres of Science and Technology, Nanjing, China, 295-296.