

국제 기준에 따른
**대왕자바리 종자
생산 관리 매뉴얼**





수산종자사업단
한국수산식품안전연구소
KOREA SEAFOOD SAFETY INSTITUTE

일러두기

1. 국내의 자바리 암컷과 동남아 분포의 대왕바리 수컷과의 교잡종인 대왕자바리는 고수온 내성과 속성장이 특징으로 기후 온난화에 대응한 양식품종으로서 중국을 비롯한 중화권에서 수요가 증가하고 있는 어류이다.
2. 본 매뉴얼은 Golden Seed 프로젝트(GSP)의 “수산종자 관리기준 개발 및 인증제 연구”의 일환으로 전 세계적으로 수산 양식생산물에 적용되고 있는 외국의 국제적 인증제도(ASC, GAP, BAP 등)를 분석하여 종자 배양장에 적용할 수 있는 공통성(commonality)과 대왕자바리의 종자 생산 연구결과 및 문헌자료로부터 생산과정별 종자 생산 관리의 현실성을 감안하여 수산종자 관리기준을 개발하였다. 그리고 “수산종자인증 평가 체크리스트” 준수사항 및 기준과 관련한 기본적인 자료로서 “대왕자바리 종자 생산 관리 매뉴얼”을 개발하여 이론적 근거 자료를 확보함으로써 활용의 토대를 마련하였다.
3. 참고한 자료는 GSP 사업 “아열대 바리와 우량종자 개발과 국내외 산업화” 과제의 연구 결과를 기반으로 국내외의 연구논문, 보고서, 기타 자료 등을 참고로 하였으며 그 중 국외자료는 중국의 대왕자바리와 관련한 연구논문을 주로 참고하였다.
4. 바리류의 교잡종에 관한 연구는 주로 동남아시아에서 개발되고 있으나, 대왕자바리는 암컷 친어인 자바리의 분포가 한국, 중국, 일본, 대만에 국한되어, 종자생산 연구도 중국과 일본에 한정되어 있고, 우리나라에서도 학술연구 위주로 발표되었다. 때문에 종자 생산의 전 과정에 걸친 관리 매뉴얼의 작성에 상당한 어려움이 있었다. 그러므로 본 매뉴얼은 현장의 상황과 조건에 따라서 적용의 범위나 기술의 적합성에 차이가 있을 수 있으므로 전체적인 이해의 측면에서 참고해 주길 바란다.

- 목 차 -

일러두기

I. 바리류의 세계 양식 생산 및 교잡종의 개발 동향 .. 1

1. 바리류의 양식 생산 동향	1
2. 우리나라에서의 바리류 교잡종에 관한 연구개발 현황	4
가. 대왕자바리(Giant Kelp Grouper)	4
나. 대왕범바리(Giant Brown-marbled Grouper)	7
다. 대왕붉바리(Giant Red-spotted Grouper)	8
라. 기타 교잡종	10
3. 중국의 바리류 교잡종 개발	10
4. 대왕자바리 교잡종 친어의 생태 및 개발 동향	11
가. 대왕바리	11
나. 자바리	14

II. 대왕자바리의 종자 생산

1. 친어관리	19
가. 자바리의 친어관리	19
나. 대왕바리의 친어관리	21

2. 산란 유도 및 산란	25
가. 자바리	25
나. 대왕바리	27
3. 호르몬 처리에 의한 산란 및 난질	31
4. 채란 및 수정	32
5. 난 세정 및 소독	32
가. 포비돈요오드 처리	33
나. 배우자 세정법	35
6. 부화 및 사육	37
가. 사육 환경	37
나. 대왕자바리의 염도별 부화율과 초기 발달	37
다. 부화 자어의 평가	39
라. 저환수 사육에 의한 종자 생산	41
마. 대왕자바리 유생의 발달	43
7. 종자 양산화 성공의 포인트	47
가. 양질의 수정란 확보	47
나. 자어의 초기 감모 방지 대책	48
8. 대왕자바리의 성장	53
가. 대왕자바리의 성장	53
나. 대왕자바리의 성장 특성	55
다. 대왕자바리의 저온 내성	58

라. 종자의 수송	58
-----------------	----

Ⅲ. 먹이생물 60

1. 조류 배양 60

가. 조류 대량 배양	61
-------------------	----

나. 세포계수	62
---------------	----

다. 오염 방지 대책	63
-------------------	----

라. 농축	64
-------------	----

2. 로티퍼 배양 65

가. 대량 배양 환경관리	65
---------------------	----

나. 로티퍼의 배양	67
------------------	----

다. 로티퍼의 영양 강화	74
---------------------	----

라. 영양 강화 로티퍼의 저장	76
------------------------	----

마. 로티퍼의 양적·질적 평가	76
------------------------	----

3. 알테미아 배양 77

가. 내구란의 선정	77
------------------	----

나. 내구란의 살균	78
------------------	----

다. 내구란의 부화	78
------------------	----

라. 노플리우스의 수확	79
--------------------	----

마. 영양 강화	80
----------------	----

Ⅳ. 바리류의 질병과 대책 83

1. 바리와 어류 양식의 질병 현황	83
가. 세균성 질병	83
나. 바이러스 질병	84
다. 기생충성 질병	89
라. 곰팡이성 질병	94
마. 영양성 질병	94
바. 환경성 질병	97
2. 바리와 어류 양식의 질병관리	98
가. 작업자 위생관리	98
나. 사육기구·장비 및 시설의 위생관리	98
다. 병원체 프리 사육용수 확보를 위한 살균	104
라. 사육배수의 살균	107
용어 해설	108
참고 문헌	111
부 록(바리류의 학명 및 일반명)	120

I. 바리류의 세계 양식 생산 및 교잡종의 개발 동향

1. 바리류의 양식 생산동향

바리과(Family Serranidae) 어류는 전 세계에 3아과(Subfamily) 72속(genus) 579종(species)이 분포하고 있다(Parenti & Randal, 2020). 이전에 5아과 중 Nipponina와 Grammistinae는 Epinephelinae 아과의 족(Tribe)인 Nipponini와 Grammistini로 분류되었다. 우리나라 해역에서는 현재까지 참바리속(Genus Epinephelus) 15종이 분포하고 있는 것으로 기록되어 있다(Han 등. 2014).

전 세계의 바리류(grouper)의 양식 생산량은 2018년에 209,052 M/T이다(FAO, Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Branch, 2021). 여기에서 바리류란 참바리아과 (Subfamily Epinephelinae)의 *Cromileptes*, *Epinephelus*, *Mycteroperca*, *Plectropomus* 속(Genus) 등이며, 교잡종인 Sabah grouper (*E. fuscoguttatus*×*E. lanceolatus*)을 포함한다. *Epinephelus* 속 이외에 양식종은 Humpback grouper (*Cromileptes altivelis*), Black grouper (*Mycteroperca bonaci*), Spotted coral grouper (*Plectropomus maculatus*)이다. 필리핀의 경우 *Cromileptes altivelis*, 자바리(*E. bruneus*), 갈색점바리(*E. fuscoguttatus*), 대왕바리(*E. lanceolatus*), 무늬바리(*Plectropomus leopardus*) 등의 바리류를 생산하고 있지만 FAO 통계상 2018년에 477톤의 바리과(Family Serranidae)의 생산량으로 집계되어 전 세계 바리류의 양식 생산량에서 제외하였다.

2018년도 바리류의 국가별 양식 생산량은 중국 76.3%, 대만 10.2%, 인도네시아 7.9%, 말레이시아 3.8%, 태국이 1.0%를 차지하였다(그림 1). 그러나 국가별 양식 생산액은 생산량과 많은 차이가 있어 중국 46.0%, 대만 21.7%, 인도네시아 17.2%, 말레이시아 10.2%, 태국이 2.0%를 차지하였는데, 이러한 차이는 생산 품종의 단가나 현지 유통이나 수출 등에 의한 가격 결정에 의한 것으로 추정된다(그림 2).

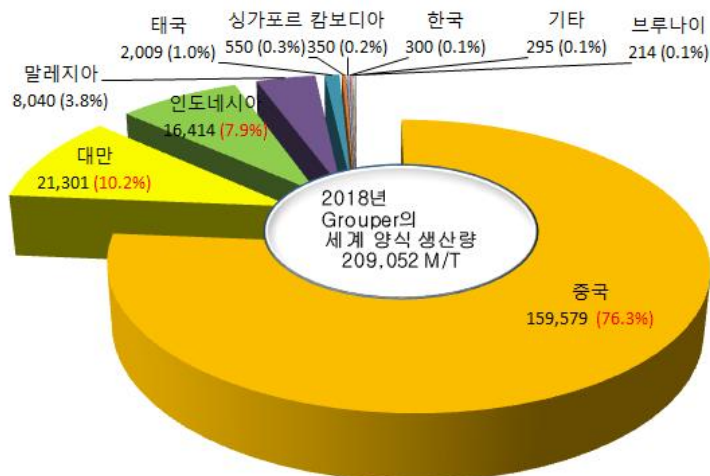


그림 1. 2018년도 바리류의 국가별 양식 생산량 (FAO, 2021)

바리류의 국가별 양식 생산량의 추이에 있어 중국은 2003년 이후 급속한 증가를 보이고 있으며 2009년 43,645톤에서 10년만인 2018년 159,579톤으로 약 3.7배 급증하였다. 이외 대만, 인도네시아, 말레이시아, 기타 국가에 있어서는 근소한 증가나 답보상태에 있는 것을 알 수 있다(그림 3).

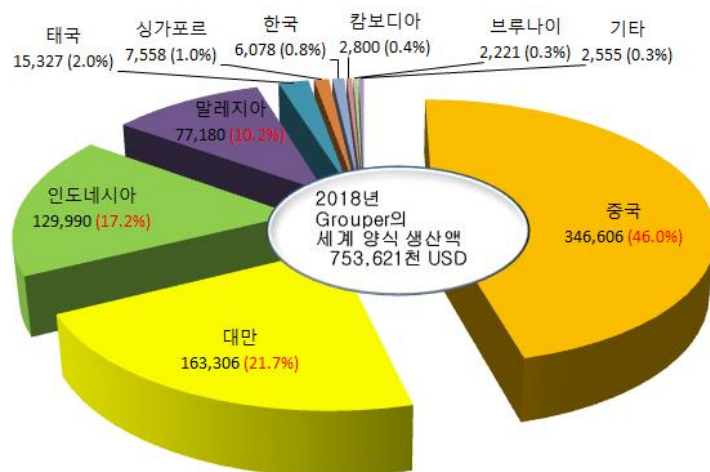


그림 2. 2018년도 바리류의 국가별 양식 생산액 (FAO, 2021)

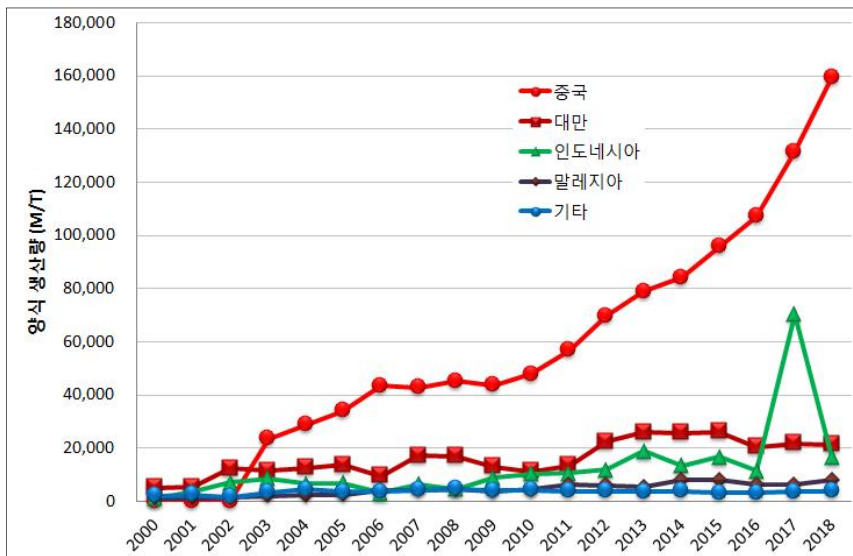


그림 3. 바리류의 주요 국가별 생산량 변동 추이 (source; FAO, 2021)

현재 중국의 주요 양식 바리류는 도도바리(*E. awoara*, 青石斑魚), 갈색등근바리(*E. coioides*, 斜帶石斑魚), 붉바리(*E. akaara*, 赤點石斑魚), 흥기흑점바리(*E. malabaricus*, 点带石斑魚), 별우럭(*E. trimaculatus*, 鮭點石斑魚), 자바리(*E. moara*, 云纹石斑魚), 대왕바리(*E. lanceolatus*, 鞍帶石斑魚) 등이다.

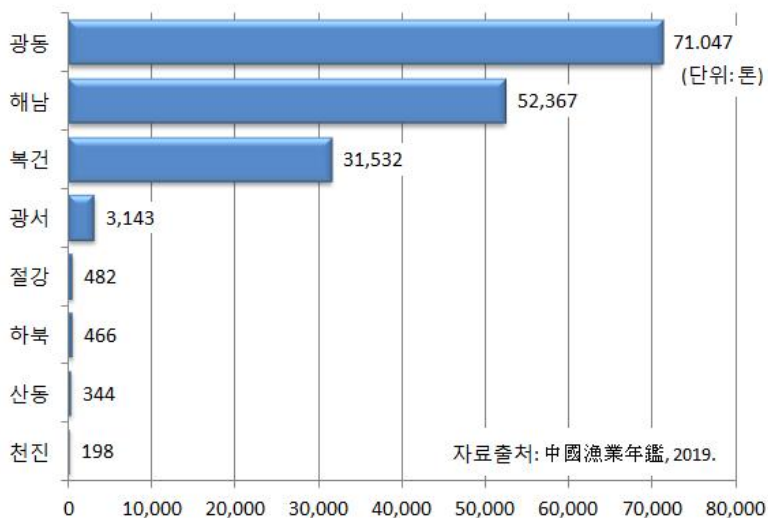


그림 4. 2018년 중국 각 성(省)·시(市)별 바리 해수 양식 생산량

중국 본토의 바리 양식의 주요 생산지는 광둥(廣東), 하이난(海南), 푸젠(福建), 광서(廣西)이며, 그 외에 저장(浙江), 산둥(山東), 천진(天津) 및 기타 지역에 소량의 양식이 있다. 2018년 광둥성의 바리 해산양식 생산량은 71,000톤으로 전국 1위를 차지했으며, 하이난성은 52,000톤의 바리를 생산했다(그림 4).

2. 우리나라에서의 바리류 교잡종에 관한 연구개발 현황

교잡은 유전자형과 표현형이 다른 두 종간 교배 방법으로서 경제적으로 중요한 형질인 성장, 내병성, 육질, 환경 적응력 증대 등을 대상으로 새로운 종을 생산하고자 하는 기법이다. 특히 종간 교잡은 원하는 형질의 조합을 통해 잡종강세를 획득할 확률이 높으므로 다양한 시도들이 이루어지고 있다(노충환 등, 2015a).

최초의 교잡바리는 2006년에 말레이시아 사바대학(UMS, Universiti Malaysia Sabah)의 보르네오 해양 연구소, 말레이시아의 수산개발청(LKIM), 킨키(近畿)대학·사바대학양식개발센터사업장인 시게하루 세누(瀬尾重治)와 협력하여 UMS 연구원들에 의해 대왕바리(*Epinephelus lanceolatus*)의 정자로 갈색점바리(*E. fuscoguttatus*)의 난을 체외 수정하여 생산되었다. 이 교잡종은 일반적으로 Sabah grouper(또는 pearl grouper)으로 알려져 있다(https://en.wikipedia.org/wiki/Hybrid_grouper).

가. 대왕자바리(Giant Kelp Grouper)

대왕자바리는 자바리(*Epinephelus bruneus* 또는 *E. moara*)의 암컷과 대왕바리(*E. lanceolatus*)의 수컷과의 교잡종이다. 교잡종인 대왕자바리에 대한 최초의 연구는 박중열(2016)의 염분변화에 따른 자바리(*E. bruneus*)와 대왕자바리(*E. bruneus*♀ × *E. lanceolatus*♂)의 스트레스 반응으로, 자바리

와 대왕자바리는 2014년 여름 전라남도 무안군 현경면에 위치한 청솔수산에서 생산된 치어로서, 실험에 사용된 자바리 치어는 전장 8.9 ± 0.1 cm, 체중 10.7 ± 0.3 g 이었고, 대왕자바리 치어는 전장 10.6 ± 0.1 cm, 체중 20.3 ± 0.7 g 이었다. 실험 결과, 자바리보다 교잡종이 저염분에 대한 내성이 더 강하였으며, 실험한 모든 염분 범위에서 성장과 생존에 차이를 보이지 않았다.

박종연(2019)은 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 유도와 형태학적, 유전학적 및 생리학적 분석으로 대왕자바리는 저온 및 고온내성을 모두 가지고 있을 뿐만 아니라 뛰어난 맛과 활발한 먹이반응을 보이기 때문에 식품과 더불어 낚시터에서의 상품으로서 가치가 충분해 유망한 양식 대상종이 될 것이라 하였다. 이와 함께 박종연 등(2019, 2020)은 자바리(*E. moara*)와 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)에 대한 MS-222의 마취효과와 자바리(*E. moara* ♀)와 대왕바리(*E. lanceolatus* ♂) 간 교잡종 대왕자바리의 형태 비교를 보고하였다.

자바리 암컷과 대왕바리 수컷을 교잡한 대왕자바리와 달리, Park 등(2018)은 대왕바리 암컷과 자바리(*E. moara*) 수컷의 교잡종에 대한 완전 미토콘드리아 유전체를 결정했으며, 강민주 등(2020)은 대왕바리 암컷을 사용한 두 교잡(대왕바리♀ × 자바리, *E. bruneus* ♂, 대왕바리♀ × 불바리 ♂) 수정란의 난 발생과 부화력에 대한 연구에서, 두 교잡 자어의 전장은 대왕바리 순종교배와 다르지 않았기 때문에 기존에 개발된 대왕자바리와 대왕불바리 보다 빠른 성장이 기대된다고 하였다.

李子奇 등(2020)은 대왕바리(*E. lanceolatus*)를 암컷과 자바리(*E. moara*)를 수컷 친어로 교잡을 하여, 친어 및 상호교잡 F₁ 세대인 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)와 성장을 비교한 결과, 직접 및 교잡 F₁ 세대의 성장률은 자바리보다 빠르며 대왕바리보다 느렸고, 대왕자바리의 성장률보다 빠른 것으로 보고하였다.

표 1. 대왕자바리의 개요(Golden Seed 프로젝트 개발품종)

대왕자바리 성어 	교잡육종 개발 암컷(♀) × 수컷(♂) 자바리 (Kelp Grouper) <i>Epinephelus modra</i> ↓ 대왕자바리 (Giant Grouper) <i>E. lanceolatus</i> 종자 
개발배경 및 필요성	○ 중국, 대만, 동남아시아 등의 주요 시장 진출이 용이하고, 고부가성 바리품종 개발 ○ 수출 대상국의 환경에서 양식 생산성이 높고, 기호성 높은 바리품종 생산 ○ 우리나라의 양식생산 기술의 우수성을 바탕으로 세계적 종자강국으로 발돋움
적용기술	○ 교잡육종 - 육질이 뛰어난 자바리의 알과 초고속 성장 어종인 대왕바리의 정자를 체외수정 후 부화와 종자생산의 최적 조건을 구명하여 교잡 대왕자바리를 생산
주요특성	○ 넓은 수온 범위(16~34℃)에서 성장이 빠르고, 특히 고수온에서 고속 성장 ○ 최소 수출 크기(1 inch) 도달 일수가 순종보다 빠름(자바리 58 → 43일) ○ 낮은 염분(5 ppt)과 용존산소(2 ppm)에서도 성장이 빨라 동남아 사육환경에 적합 ○ 자바리와 체형·채문이 유사하고 가식부 비율이 높아 모든 요리 형태에 적합
개발기관	○ 순천향대학교 ○ 한국해양과학기술원 ○ 청솔수산

출처: 수산종자사업단, 2020. Golden Seed 프로젝트 수산종자 개발 품종(ppt 자료). pp. 26.

나. 대왕범바리(Giant Brown-marbled Grouper)

대왕범바리는 갈색점바리(*Epinephelus fuscoguttatus*, Tiger grouper)의 암컷과 대왕바리(*E. lanceolatus*)의 수컷을 교잡한 것으로 말레이시아에서는 Sabah grouper이라 하며, 상업적으로 생산되는 주요 교잡종이다. 빠른 성장과 내병성을 갖는 이유로 대량생산되고 있으며, 홍콩 시장에 정식으로 등록되어 판매되고 있다.

김강래 등(2018)은 2015년 1월에 말레이시아 사바주 코타키나발루(Kota Kinabalu)의 수산청 종자배양장에서 확보한 대왕범바리의 수정란으로 장거리 수송을 위한 염분, 수온 및 발생단계에 따른 생존율 및 부화율을 조사하였다. 최정인(2019)은 충남 당진에서 생산된 대왕범바리와 전남 무안에서 생산된 대왕붉바리(*E. akaara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 분자생물학적 동정을 하였으며, 조재황 등(2020)은 경남 고성에서 종자생산장에서 분양 받은 대왕범바리(평균 무게 27.3 ± 3.8 g; 평균 전장 11.6 ± 0.7 cm)의 아질산 급성노출에 따른 혈액성상 및 혈장성분의 변화로 내성한계를 도출하였다.

표 2. 대왕범바리의 개요(Golden Seed 프로젝트 개발품종)

대왕범바리 성어 	교잡종 개발 암컷(♀) 갈색점바리 (Brown-marbled Grouper) <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> 수컷(♂) 대왕바리 (Giant Grouper) <i>E. lanceolatus</i> ↓ 종자
개발배경 및 필요성	○ 중국, 대만, 동남아시아 등의 주요 시장 진출이 용이하고, 경쟁력을 보유한 바리품종 개발 ○ 수출 대상국의 고수온, 저염분 환경에서 양식 생산성이 높고, 기호성 높은 바리품종 생산 ○ 우리나라 수산 종자 개발 및 생산기술의 수월성을 바탕으로

	세계적 종자 강국으로 발돋움
적용기술	○ 교잡육종 - 중국 및 동남아 보편적 어종인 갈색점바리 알과 초고속 성장 어종인 대왕바리의 정자를 수정 후 종자생산의 최적조건을 구명하여 교잡종 대왕범바리 생산 - 사육수 관리, 소형 먹이생물 생산• 공급 기술 등 바리 어류에 적합한 기술개발로 안정적 종자 대량 생산 기술
주요특성	○ 넓은 수온 범위(16~31℃)에서 성장이 빠르고, 특히 고수온에서 고속 성장 ○ 낮은 염분(8 ppt)과 용존산소(2 ppm)에서도 성장이 빨라 동남아 사육환경에 적합
개발기관	○ 순천향대학교 ○ 한국해양과학기술원 ○ 청솔수산

출처: 수산종자사업단, 2020. Golden Seed 프로젝트 수산종자 개발 품종(ppt 자료). pp. 26.

다. 대왕붉바리(Giant Red-spotted Grouper)

대왕붉바리는 붉바리(*Epinephelus akaara*)의 암컷과 대왕바리(*E. lanceolatus*)의 수컷의 교잡종이다. 임상구 등(2016)은 염분 변화에 따른 붉바리(*Epinephelus akaara*)와 대왕붉바리(*E. akaara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 성장, 생존 및 스트레스 반응을 조사하여 붉바리보다 대왕붉바리가 저염분에 대한 내성이 강하였으며 두 종 모두 자연해수보다 염분이 낮은 16 psu에서 성장이나 사료효율이 높아, 붉바리와 대왕붉바리의 치어시기에는 자연해수보다는 기수처럼 염분이 낮은 해역에서 양식하는 것이 효과적인 것으로 보고하였다. Choi (2017)는 붉바리와 대왕바리 교잡종의 염분 변화 반응 및 Prolactin 유전자 분석을, Kim 등(2018)은 대왕붉바리의 암컷과 수컷이 바뀐 대왕바리의 암컷과 붉바리의 수컷의 교잡종에 대한 완전한 미토콘드리아 유전체를 결정했다.

표 3. 대왕붉바리의 개요((Golden Seed 프로젝트 개발 품종)

대왕붉바리 성어 	교잡육종 개발  암컷(♀) × 수컷(♂) 붉바리(Red-spotted Grouper) <i>Epinephelus akaara</i> 대왕바리(Giant Grouper) <i>E. lanceolatus</i> 종자
개발배경 및 필요성	○ 중국, 대만, 동남아시아 등의 주요 시장 진출이 용이하고, 경쟁력을 보유한 고부가 바리품종 개발 ○ 수출 대상국의 고수온, 저염분 환경에서 양식생산성이 높고, 기호성 높은 바리품종 생산 ○ 우리나라 수산 종자 개발 및 생산 기술의 수월성을 바탕으로 세계적 종자 강국으로 발돋움
적용기술	○ 교잡육종: - 육질과 체색이 뛰어난 고가 어종인 붉바리의 알과 초고속 성장 어종인 대왕바리의 정자를 체외수정 - 종자생산의 최적 조건을 구명하여 교잡종 대왕붉바리 생산 - 사육수 관리, 소형 먹이생물 생산·공급 기술 등 바리 어류에 적합한 기술 개발로 안정적 종자 대량 생산 기술 확보
주요특성	○ 넓은 수온 범위(16~31℃)에서 성장이 빠르고, 특히 고수온에서 고속성장 ○ 종자 수출 최소 크기인 1 inch 도달 일수를 국내 환경에서 47일로 단축(붉바리 65일) ○ 낮은 염분(8 ppt)과 용존산소(2 ppm)에서도 성장이 빨라 동남아 사육환경에 적합 ○ 붉바리의 붉은 체색이 발현되고 가식부 비율이 높아 모든 요리 형태에 적합
개발기관	○ 순천향대학교 ○ 한국해양과학기술원 ○ 청솔수산

출처: 수산종자사업단, 2020. Golden Seed 프로젝트 수산종자 개발 품종(ppt 자료). pp. 26.

라. 기타 교잡종

대왕자바리, 대왕범바리, 대왕불바리의 기타 교잡종에 관한 연구로서는 노충환 등(2015b)이 불바리(*E. akaara*) 암컷과 Brown-Marbled Grouper (*E. fuscoguttatus*) 수컷 중간 잡종 수정란의 부화율을 수온별로 연구한 결과, 25℃에서 9.8%로 가장 높았다고 하였다. 노충환과 윤낙진(2019)은 “능성어 (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀×대왕바리 (*E. lanceolatus*) ♂ 수정란의 난발생”에서 발생 양상, 부화율, 부화 소요시간 등을 조사하고, 교잡종의 모계 어종의 순종(능성어 ♀×♂)과 비교하였다.

Park 등(2020a, 2020b)은 능성어(*H. septemfasciatus*) ♀ × 대왕바리(*E. lanceolatus*) ♂의 교잡종과 *E. fuscoguttatus* (♀) × *E. polyphkadion* (♂) 교잡종의 완전한 미토콘드리아 유전체를 밝혔으며, Kang 등(2020)은 자바리(*E. bruneus*)와 불바리(*E. akaara*) 상호 교잡종의 배발생과 부화 가능성에 대하여 보고하였다.

3. 중국의 바리류 교잡종 개발

중국에서 현재까지 수행된 바리류의 교잡 실험은 아래 표 4와 같다. 이 중 棕点石斑鱼(*E. fuscoguttatus* ♀) × 鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus* ♂)의 교잡종인 “珍珠龙胆石斑鱼(Zhenzhulongdan grouper, 대왕범바리)”와 云纹石斑鱼(*E. moara* ♀) × 鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus* ♂)의 교잡종인 “云龙石斑鱼(Yunlong grouper, 대왕자바리)”의 잡종 자손은 경제적 특성이 뛰어나 대규모로 생산되고 있다(李振通 등, 2020).

표 4. 중국의 바리류 교잡종

교잡종 명	영 명	교잡종의 친어
褐龙石斑鱼	Helong grouper	褐石斑鱼(<i>E. bruneus</i>) ♀

		× 鞍带石斑鱼(<i>E. lanceolatus</i>) ♂
대왕자바리, 云龙石斑鱼	Yunlong grouper	云纹石斑鱼(<i>E. moara</i>) ♀ × 鞍带石斑鱼(<i>E. lanceolatus</i>) ♂
대왕범바리, 珍珠龙胆石斑鱼	Zhenzhulongdan grouper, Pearl Gentian grouper	棕点石斑鱼(<i>E. fuscoguttatus</i>) ♀ × 鞍带石斑鱼(<i>E. lanceolatus</i>) ♂
青龙石斑鱼	Qinglong grouper	斜带石斑鱼(<i>E. coioides</i>) ♀ × 鞍带石斑鱼(<i>E. lanceolatus</i>) ♂
대왕붉바리		赤点石斑鱼 (<i>E. akaara</i>) ♀ × 鞍带石斑鱼(<i>E. lanceolatus</i>) ♂
		棕点石斑鱼(<i>E. fuscoguttatus</i>) ♀ × 清水石斑鱼(<i>E. polyphekadion</i>) ♂
		云纹石斑鱼(<i>E. moara</i>) ♀ × 赤点石斑鱼(<i>E. akaara</i>) ♂
		云纹石斑鱼 (<i>E. moara</i>) ♀ × 七带石斑鱼(<i>E. septemfasciatus</i>) ♂
		斜带石斑鱼(<i>E. coioides</i>) ♀ × 赤点石斑鱼 (<i>E. akaara</i>) ♂
		棕线石斑鱼(<i>E. costae</i>) ♀ × 东大西洋石斑鱼(<i>E. marginatus</i>) ♂
		东大西洋石斑鱼(<i>E. marginatus</i>) ♀ × 青铜石斑鱼(<i>E. aeneus</i>) ♂

4. 대왕자바리 교잡종 친어의 생태 및 개발 동향

가. 대왕바리

대왕바리(giant grouper, *Epinephelus lanceolatus*)는 산호초에서 발견되는 가장 큰 경골어류로 산호초 주변에서 무리를 짓지 않고 홀로 생활하며, 이외 바위가 많은 지역을 포함한 석호*와 바다를 향한 암초에 서식한

다. 이외 동굴이나 난파선 또한 강어귀를 포함한 얕은 해안에서 발견될 수 있다. 치어는 산호초에 숨는 경향이 있으며 거의 보이지 않는다.

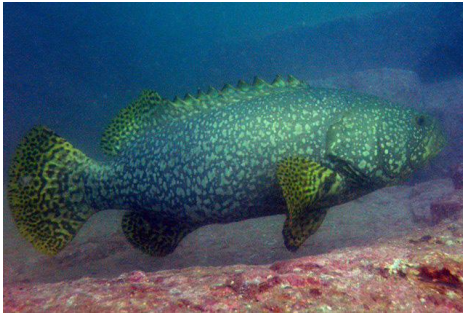


그림 5. 대왕바리 (fishbase)



그림 6. 대왕바리의 치어 (Wikipedia)

남아프리카 공화국의 Algoa Bay에서 홍해까지 동쪽으로 일본, 중국 본토, 하이난섬, 필리핀, 태국, 말레이시아, 인도네시아, 미크로네시아 및 하와이와 Pitcairn 제도, 남쪽으로 호주에 이르는 인도-태평양 지역(페르시아만을 제외) 도처에 분포한다.

수면 근처에서 수심 100 m까지 발견된다. 바리류 중에서도 가장 대형으로 전장(TL)은 최대 2.7 m, 무게는 400 kg에 이른다. 일반적으로 전장 1.9 m이다. 처음 성숙 시 전장은 약 129 cm이다.

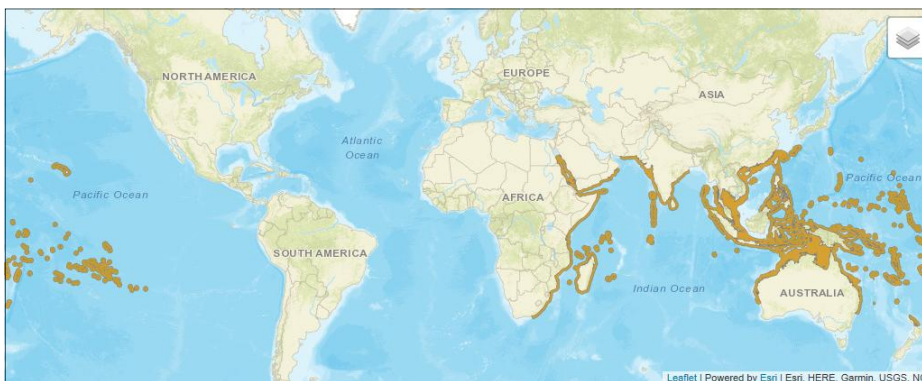


그림 7. 대왕바리, *Epinephelus lanceolatus*의 지리적 분포(IUCN, 2018)

대왕바리는 큰 입과 둥근 꼬리가 있으며, 체색은 나이에 따라 변하는데, 치어일 때는 검은색과 노란색의 불규칙한 무늬가 온몸에 산재해 있으나, 성체는 희미한 반문을 가진 녹회색에서 회갈색으로 지느러미에 수많은 작은 검은 점들이 있다. 치어는 때때로 애완동물(수족관) 거래에서 발견되기도 한다.

어릴 때부터 탐식성이 강하고 큰 입으로 작은 물고기, 갑각류, 연체류 등을 포식한다. 성어는 딱딱한 닭새우(spiny lobsters), 바다거북 새끼, 작은 상어와 가오리를 포함한 어류 등도 먹어 치운다. 식용어로 이용시 큰 개체는 체내에 시가테라(ciguatera)라고 하는 독을 가지고 있기도 하므로 주의해야 한다.

대부분의 groupers와 마찬가지로, 대왕바리는 자성선숙 자웅동체(雌性先熟雌雄同体, protogynous hermaphrodites)로 모두 암컷으로 태어나지만, 몇몇은 수컷이 거의 없을 때 수컷이 된다.

음력 주기(lunar cycle)에 산란집합 장소로 이동하여 산란하는데 약 7일 동안 지속되며, 일반적으로 수컷 한마리 당 몇 마리의 암컷이 함께 산란한다. 잔지바르 남부, 뉴 칼레도니아, 몰디브 및 Papua New Guinea에서 계절 산란 집합 장소가 확인되었다. 또한 남서부 파푸아, 동부 인도네시아, 솔로몬 제도 및 Vanuatu에서도 집합이 발생할 수 있다.

친어 사육 수온(태국)은 28~30℃ (30~31 psu)이며, 산란기인 7월에서 9월의 산란 수온은 28-31℃. 배발생은 수온 27±0.5℃, 염분 31.0, pH 7.8에서 25시간 40분 소요된다.

대왕바리는 홍콩에 기반을 둔 활 암초 어류(live reef fish) 무역에서 높은 평가를 받고 있다. 홍콩의 대왕바리 주요 공급 원산지는 홍콩 정부의 자료에 따르면 인도네시아가 유일하지만, 무역업자들은 필리핀, 호주, 말레이시아, 인도 (안다만 제도) 및 태국을 포함한 다른 국가도 출처일 가능성이 있다고 하였다.

남획으로 인해 이 종은 많은 지역에서 급격히 감소했으며 호주, 모잠비크, 남아프리카, Andaman 제도(인도) 및 미국령 사모아에서는 특정 보호

를 받고 있다. 현재 세계자연보전연맹(IUCN)의 멸종위기에 놓인 야생생물 종의 목록(Red List)에 자료 부족(Data Deficient) 종으로 분류되어 있다.

지난 1~2세기 동안, 이 종은 대만, 인도네시아 및 중국 본토의 양식업에서 매우 성공적으로 생산되었다. 현재 홍콩의 소매업에서 가장 많이 판매되는 어류는 *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂의 교잡종인 대왕범바리이다.

우리나라에서 대왕바리의 종자생산은 2008년에 대만 유통업자를 통한 수정란 이식 후 국내에서 종자생산을 하고자 했으나 국내 규제로 실패하고, 2010년에 최초로 1.5kg을 이식하여 5만 마리를 생산했으나 virus로 대량 폐사하고 최종 3만여 마리를 대만 수출과 일부 제주도에 판매하였다.

2014년에는 대왕바리의 안정적인 수정란 확보, 대량 종자생산 기술개발과 교잡종자 및 육종 프로그램에 대한 연구를 위하여, Golden Seed Project (GSP) 중 '수출용 아열대 바리과 우량종자 개발(주관기관: 순천향대학교, 연구책임자 방인철 교수)' 과제의 일환으로 대왕바리 친어(체중 70~110 kg의 암수 7마리)를 이식하였다.

나. 자바리

1) *Epinephelus bruneus*와 *E. moara*는 동종 이명(synonym)인가?

우리나라는 자바리 학명으로 *Epinephelus bruneus*와 *E. moara*의 2가지를 사용하고 있다. 이 2종은 외형적 특성과 분포가 상당히 유사하며, 다양한 단계 및 생활 조건에서 색상 패턴 변화로 인해 구별이 어려워(Guo et al. 2009), 이들이 동종인지 아닌지는 장기간에 걸쳐 논란의 대상이 되어 왔다.

세계해양생물목록(World Register of Marine Species, WoRMS)에서는 현재 *E. moara* (Temminck & Schlegel, 1842)는 *E. bruneus* Bloch, 1793의 동종이명(synonym)으로 기록되어 있다.

그러나 Guo et al. (2008)은 두 종의 중간 차이를 골격 시스템과 상대성장 및 형태 계량 특성에 따라 동정한 결과, 통계적인 유의한 차이가 나타

나 두 종은 동속 내의 다른 종임을 보고하였다. 또한 Guo et al. (2014)은 이 두 종의 분자 세포유전학적 분석 결과, 핵형(karyotype), 핵 조직 영역(NOR)의 염색체 분포, 18SrDNA의 국소화에서 종별 차이가 나타났다고 하였다. 세포유전학적 데이터는 *E. bruneus*와 *E. moara*의 계통이 최근에 *Epinephelus* 속 내에서 파생되었으며, *E. moara*는 *E. bruneus*보다 더 많은 원시형질(plesiomorphic)의 특징을 나타내었다고 하였다.

Liu et al. (2013)은 이 두 종의 mitochondrial genome을 분석한 결과, 두 종 사이의 부분적인 사이토크롬 산화효소(cytochrome oxidase) 서브 유닛 I (col) 염기서열 차이는 동일한 종 내의 표본보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 또한 유전자 흐름 ($N_m = 0.02$) 및 유전적 분화의 분석 결과, 두 종 사이의 생식적 분리가 밝혀졌다.



그림 8. *E. moara* 와 *E. bruneus*의 외형 (Source; Guo et al., 2008)



그림 9. *E. bruneus*와 *E. moara*의 성체 표본 (Source; Guo et al. 2014)

본 연구에서 얻은 *E. bruneus*와 *E. moara*간의 분자적 비교와 GenBank에서 한국의 *E. bruneus*의 표본은 *E. bruneus* 보다 *E. moara*와 동일하다는 것을 보여 주었다.

모든 결과는 오랫동안 *E. bruneus*의 동종이명으로 여겨져 온 *E. moara*가 Epinephelidae의 별개의 종이라는 것을 확인해 준다.

2) 자바리(*Epinephelus bruneus*)의 생태

자바리(Longtooth grouper)는 농어목 바리과의 해산어이다. 일반적으로 한자 표기는 垢織이지만, 취음자(取音字)로 九絵(クエ)라고 쓰기도 한다. 중국명은 雲紋石斑魚, 褐石斑鱼라 한다,

성어는 최대 체장 120 cm, 체중 50 kg이 넘는다. 체색은 연한 녹갈색으로 몸에는 6개의 검은 색의 가로줄 무늬가 있고, 두부의 가로줄은 입을 향해 비스듬히 달린다.



그림 10. 자바리 (東海大学海洋科学博物館 사육개체)



그림 11. 자바리 *E. bruneus*의 유어 (wikipedia)

유어는 체색이 검고 희고 명료한 줄무늬가 있고, 성장함에 따라 무늬가 불선명해지고, 대형 개체에서는 대부분 무늬가 사라진다. 대형 개체는 능성어와도 비슷하다. 또한, 꼬리지느러미 끝이 희지 않은 것, 몸이 약간 가늘고 긴 것 등으로 구별할 수 있다(출처: ja.wikipedia.org).

*E. bruneus*는 한국, 일본 (북쪽에서 Hegura-jima 섬, 37° 50' N), 중국 (남쪽에서 홍콩 및 하이난 섬), 대만에서만 알려져 있다(출처: BioLib.cz). 이외 필리핀에서도 분포가 알려져 있다(Parenti & Randal, 2020)

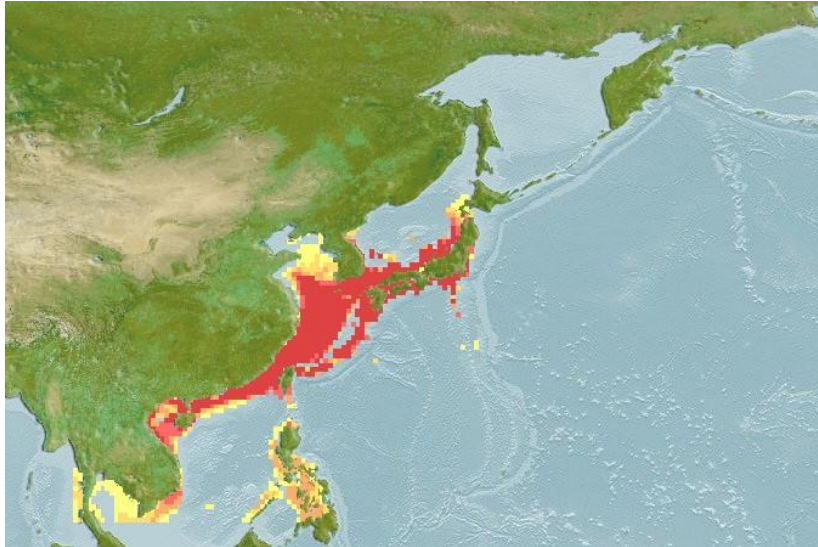


그림 12. *Epinephelus bruneus*의 지리적 분포 (Source; Fishbase)

외양에 면한 수심 50 m 정도까지의 암초나 산호초에 서식한다. 무리를 짓지 않고 단독으로 생활하며 낮에는 바위 그늘이나 동굴 속에 숨는다. 밤에 헤엄치며 먹이감을 찾고 해저에서 별로 떨어지지 않고 천천히 헤엄 친다. 또 보금자리에서도 별로 벗어나지 않고, 먼 길을 떠나는 일은 적다. 육식성으로 암초역에 사는 어류나 오징어, 닭새우 등을 큰 입으로 통째로 먹는다.

산란기는 5~7월. 가을에는 2~3 cm 정도의 유어가 내만과 강어귀의 잘피 장이나 조수 웅덩이(타이드풀)에서 발견되며, 성장과 함께 연안의 암초에서 깊은 곳으로 이동한다. 자성선속의 성전환을 하므로 암컷은 약간 소형 개체가 많고, 대형 개체는 대부분 수컷이다.

해저의 바위 그늘에 숨어 적극적인 먹이활동을 하지 않는 습성도 있어

자연산은 어획량이 매우 적다. 이에 따라 각지에서 양식을 통한 어획 확대가 시도되고 있다(출처: ja.wikipedia.org).

3) 자바리(*Epinephelus bruneus*)에 대한 연구 현황

자바리(*E. bruneus*)에 대한 연구로서는 허성표(2008)가 내인성 호르몬을 이용한 치어의 응성화 유도, 양문호 등(2007)이 자바리의 난 발생과 부화에 미치는 수온의 영향, 양상근 등(2013, 2014)이 수온, 광조건 및 밀도에 따른 산소 소비 특성, 사육밀도와 수온에 따른 적응 특성에 대해 보고하였으며, 이외 자바리 정자의 운동성과 형태에 대한 희석액과 동해 방지제의 평가(Lim & Le, 2013), 저수온 스트레스시 vitamin E의 생리적 효과(Lim et al. 2017)가 있다.

종자생산에 대한 현장 연구로서는 제주특별자치도 해양수산연구원에서 2003년부터 자바리(*E. bruneus*)의 종자생산 기술개발 시험으로서 인위적 응성화 유도, 동결보존 정자의 수정 능력, 조기 성 성숙 유도, 시험종자 생산 등을 연구(오성립 등, 2004a, 2004b, 2006, 2007a, 2007b, 2009, 2010, 2011, 2018; 고희범 등, 2005; 오성립과 현재민, 2012; 오성립과 김수강, 2013; 공포 등, 2019; 강형철 등, 2019)하여, 2018년에 6만마리의 종자 대량생산에 성공하였다. 제주특별자치도 해양수산연구원에서는 2007년부터 2018년까지 종자 생산 299천 마리를 하였고 이중 제주 연안에 240천 마리를 방류하였다.

E. moara (kelp grouper)의 생태에 대한 구체적인 연구자료는 국내에 없는 실정이나, 앞에서 *E. bruneus*와 *E. moara*간의 분자적 비교와 GenBank에서 한국의 *E. bruneus*의 표본은 *E. moara*와 동일하다는 것을 시사하였다.

II. 대왕자바리의 종자 생산

1. 친어 관리

종자 생산을 하기 위해서는 양질의 친어 확보가 대전제가 된다. 대왕자바리는 자바리(*Epinephelus moara*) 암컷과 대왕바리(giant grouper, *E. lanceolatus*) 수컷의 교잡종으로 각각의 친어에 대한 확보와 관리가 필요하다.

가. 자바리의 친어 관리

1) 친어의 포획과 수송

- 자연에서 포획 시 어살(魚箭), 통발 등 스트레스를 최소화하는 적합한 어구를 사용한다.
- 가두리 및 수조에서 포획 시 1회 인망에 적은 수의 친어를 어획하여 조심하여 다룬다.
- 비늘의 탈락을 피하기 위하여 취급시 무결절망과 면장갑을 사용한다.
- 수송할 어류는 배설물과 역류된 사료가 수송 용수를 오염시키지 않도록 사전에 최소 24시간 먹이를 먹여서는 안 된다.
- 임시 수용과 수송 용기에 어류가 포획된 장소로부터 가져온 해수를 사용하여야 한다.
- 임시 수용과 수송에 피부 찰과상과 기계적 충격을 피하기 위하여 충분한 공간의 원형 수조나 원형 모서리의 사각 수조를 사용한다.
- 수송 시 수송 시간과 수온에 반비례하여 어류 밀도를 조절하고 단열 처리된 수송 용기를 사용한다.
- 친어는 스트레스를 줄이기 위해 포기하거나 산소 처리된 물이 담긴 어두운 색상의 탱크에 수송한다. 용존 산소량은 항상 75% 이상의 포화 상태를 유지해야 한다.

2) 친어의 사육 시설

- 산란 구역은 산란 어미의 심리적 장애와 질병 감염의 위험을 피하기 위하여 주요 배양장 건물로부터 분리하거나 또는 배양장 안의 전용구역에 두어야 한다.
- 친어수조는 사육과 유지뿐만 아니라 산란에도 사용된다. 수조는 원형, 사각형 또는 둥근 모서리가 있는 직사각형으로, 수조의 색상으로는 중간정도의 청색, 녹색 또는 회색이 선호되며, 매우 밝거나 매우 어두운 색조는 아니다.
- 난과 정자를 방출하면서 수조 바닥에서 위쪽으로 헤엄치는 자바리의 쌍 또는 그룹의 산란 행동을 위한 충분한 공간을 확보하기 위해서는 수조의 깊이는 2.0 m 이상이어야 한다.
- 각 탱크에는 난의 수집을 위해 그물이 설치된 오버플로(overflow) 파이프를 설치한다.
- 친어 수조는 난의 수집을 어렵게 하고 기생충 감염의 위험을 높이는 수조 벽면의 조류의 성장을 줄이기 위해 지붕이 되어 있는 것이 좋다.
- 더러운 탱크는 친어에 스트레스를 유발하여 산란 실패를 초래하거나 산란된 난의 질을 떨어뜨릴 수 있으므로 자주 청소한다.
- 장기수용에 적합한 수조를 갖춘 독립 구역이 필요하며, 이 구역은 빛과 수온조건이 자연 주기와 독립적으로 설정될 수 있어야 한다.
- 갑작스러운 광도의 변화를 피하고 황혼 효과를 만들기 위한 조광 스위치가 있는 타이머-조정 조명시설이 필요하다.

3) 친어의 관리

- 자바리는 자성선숙형(雌性先熟型)으로 대형이 되면 수컷으로 성전환하기 때문에 채란을 하는 암컷은 소형 사이즈(4~5 kg)이다. 우선, 어미 후보가 되는 성숙전의 약 3 kg의 암컷을 구입해 해상가두리

에서 먹이 불임을 하고, 부드럽게 배란할 수 있도록 육상 수조의 사육 환경에 적응시킨다.

- 먹이는 주당 2~3회 모이스트 펠렛(고등어:크릴:오징어: 배합사료 =2:1:1:4)을 주어 만복급이한다.
- 1회 먹이량은 친어체중의 1% 정도로 한다. 일주일에 한 번 비타민을 보충해 친어의 영양을 강화한다.



그림 13. 자바리의 채란(濱崎, 2018)

나. 대왕바리의 친어관리

1) 친어의 확보 및 선별

- 대왕바리는 대만으로부터 수입하여 친어 사육조에서 순치 중인 체중 54.2~112.0 kg의 개체 중 성숙한 수컷을 이용한다.
- 채란용 친어의 건강 상태의 파악과 그 관리는 종자 생산의 성패를 좌우한다. 성숙 축진을 위한 축양 중에 병원체를 내는 개체가 존재

하면, 군 전체에 수평 감염이 일어나고, 생성된 난 또는 정자는 병원체에 오염되어 부화 자어에 감염된다. 그러므로 채란용 친어 후보 개체를 검사하여 성숙 촉진 중의 수평 감염을 방지한다.

- 천연해역에서 포획한 친어 후보 개체는 모두 개체표지하고 사육시설로 반입 시에는 항체검사를 실시하여 고위험 개체를 배제해야 한다. 또한 성숙 3개월 전에 다시 검사를 하여 친어 후보 개체를 선별한다.
- 채란 시에 난 및 정자를 대상으로 RT-PCR(역전사 중합효소 연쇄반응)*을 이용하여 바이러스 유전자의 유무를 검사하고, 양성 개체가 있으면 수정란을 폐기한다.

2) 친어의 수용

- 국내 대왕바리 친어는 육상 탱크 수조에서 연중 친어 관리 중인 개체(체중 70~140 kg)를 외부 노지 탱크로 옮겨 사육한다(그림 14).



그림 14. 대왕바리 친어 노지 수용(방인철, 2021)

- 친어 관리 시, 차광막 등으로 암광 처리를 한 수조와 처리하지 않은 수조의 먹이 섭취량이 차이가 있으나, 노지(18×18×2.5 m)에서의 경우 수심이 깊고, 면적당 활동 범위가 육상수조보다 넓어서 먹이 섭취량과 스트레스가 암광 처리한 육상수조보다 안정적이다.
- 안정적인 수온과 사육기간 확대를 위해서는 중국식 비닐하우스 시설을 하여 사육하는 것이 바람직하다.

- 친어의 이동은 마취를 한 후 차량으로 이동하여 노지에 입식한다. 수온의 하강(수온 23℃)시에는 육상수조로 이동하여 사육한다.

3) 친어 먹이

- 대왕바리는 일반적으로 어체중 대비 1~1.5%의 먹이 섭취량을 보이며, 사료 섭취는 1회/1일 5~7 kg을 섭취하는 반면, 1회/2일시 10~20 kg을 섭취하여 큰 차이를 보인다. 성장을 위해서는 1회/2일이 적합하며, 이에 따라 성숙유도를 위하여 친어에게 고등어, 전갱이 등 양질의 먹이를 공급하여 관리한다.
- 생사료 공급 시 영양 강화는 Vitamin E & C, multi-vitamin, glutathione, fish (or squid) liver oil, taurine를 추가로 공급한다.
- 노지 해수 온도에 따라 친어의 먹이 섭취량의 차이를 나타내는데, 수온 28℃가 가장 많은 섭취량을 나타내었다.
- 친어의 먹이 공급 시 오전 12시 전후가 섭취량이 높으며, 이에 따라 일중 먹이 공급량을 조절하여 생사료를 투여한다.

4) 친어의 마취 및 성숙도 확인

- 바리과 어류의 산란 적수온인 28~30℃ 기간은 우리나라에서 전체 사육 기간 99일 중 2개월에 미치지 못하여 암컷의 자연산란은 확인하기는 어려우나, 8월 및 9월에 걸쳐 수컷으로부터 양질의 정액을 확보하였다.
- 친어 핸들링에 있어서 최적의 마취 효율은 친어의 폐사에 대한 위험과 스트레스를 최소화 시킬 뿐만 아니라, 원활한 핸들링 작업의 효율을 극대화 시킬 수 있다(그림 15, 16).
- 친어 핸들링을 위한 마취제는 Eugenol, MS-222를 사용한다.
- 마취된 대왕바리는 평형상태를 상실하였고, 진정상태로 진행되었으며, 더 깊은 진정상태로 빠르게 진행되었고, 점액 반응이 나타나면 암컷 성숙도 확인 및 수컷을 채정하였다.

- 마취제 Eugenol의 경우 50 ppm 이하의 농도에서는 마취가 원활하지 않았으며, 280초 이상이 소요됨에 따라 Bell (1987)이 제안한 이상적 마취제 특성인 3분 미만에 부합하지 못함. 또한, 마취에서 회복하는 시간은 80초 내외로 핸들링에 매우 비효율적이었음. 150 ppm의 농도에서는 마취가 원활하게 일어났으며, 125~143초가 소요되었으며, 회복 시간은 180초 내외로 핸들링에 적합하였다.
- 마취제 MS-222의 경우 50 ppm의 농도에서는 마취가 원활하게 일어났으며, 96~130초가 소요되었으며, 회복 시간은 약 180초 내외로 핸들링에 적합하였다



그림 15. 노지 탱크에서 대왕바리 핸들링 과정



그림 16. 대왕바리 수컷 친어 마취
(사진: 수산종자사업단, 2020)



그림 17. 튜브를 이용한 순수 정액 채취
(사진: 수산종자사업단, 2020)

- 마취제 Eugenol과 MS-222의 모든 마취 조건에서 마취 후 생존율은 100%로 안정적이었다(표 5).

표 5. 바리과 어류 친어 마취 효율에 따른 최적 조건

	농도(ppm)	마취 시간 (sec.)	회복 시간 (sec.)	생존율(%)
Eugenol	150	≤143	≤180	100
MS-222	50	≤130	≤180	100

2. 산란 유도 및 산란

가. 자바리

- 암컷은 어류의 성숙도를 판정하기 위하여 수작업 압출에 의해 점검하거나 또는 캐놀라 삽입(cannulation)으로 점검한다.
 - 난소의 발달 단계를 평가하기 위해 난 샘플을 얻으려면 암컷 생식공(genital pore)에서의 캐놀레이션(cannulation)이 필요하다. 그러나 생식문(生殖門, genital orifice)이 완전히 닫히거나 접근하기가 어렵기 때문에 어류가 산란 상태에 있지 않으면 암컷의 캐놀레이션이 어려울 수 있다.
 - 성숙한 암컷의 경우, 부드러운 복부 압박 후 생식공으로부터 난이 쉽게 압출된다. 성숙 중인 암컷의 경우는, 복부를 강하게 압박해도 난이 압출되지 않을 수도 있다. 그러므로 생식소 조직을 표본하기 위하여 캐놀라를 사용한다.
 - 캐놀라(cannula)는 40~50 cm 길이의 깨끗하고 유연한 플라스틱 관(외경 3 mm, 내경 1.2 mm)으로 암컷의 난관에 삽입한다.
 - 캐놀라를 삽입할 자바리를 마취시키거나 젖은 천이나 수건을 눈 위에 두어 진정시킨다. 캐놀라는 6~7 cm 정도 길이로 넣어 캐놀라의 다른 끝 부분에서 흡입한다.

- 캐놀라를 빼낸 후, 캐놀라 내의 샘플은 즉각적인 검사를 위해 현미경 슬라이드에 옮기거나 또는 나중에 난 직경 측정을 위해 1%의 중성 완충 포르말린(neutral buffered formalin)이 들어 있는 유리병(vial)에 넣는다. 암컷의 성숙 정도는 난을 슬라이드 글라스에 옮겨 40배율의 현미경으로 검경한다. 일반적으로 산란 상태의 암컷은 난경 400-500 μm 이상의 난모세포를 갖는다.
- 본 종의 산란기는 5~6월이며, 이 시기에 복부가 팽만한 암컷을 선택하여 난소 내의 난이 난경 약 500 μm 에 이른 개체에 LHRH-a 펠렛을 삽입하여 40시간 후에 채란을 한다(그림 18~22).



그림 18. 자바리 성숙 개체 선별
(사진: 수산종자사업단, 2020)



그림 19. 자바리 호르몬 주사(좌)와 인공채란(우) (방인철, 2021)



그림 20. 성숙 진행 및 채란 가능 여부 확인(수산종자사업단, 2020)



그림 21. 마취 후 복부 압박을 통한 채란(수산종자사업단, 2020)

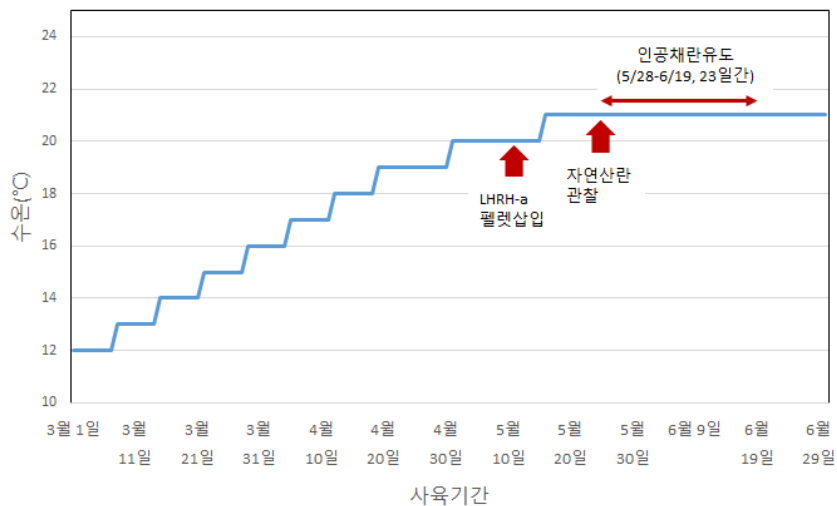


그림 22. 자바리 산란유도를 위한 호르몬 주사 및 인공 채란 일정

나. 대왕바리

1) 채정

- 관리 중인 대왕바리의 자연성숙을 유도하여 표 6과 같이 채정하여 동결 보존하여 보관(그림 22)한다. 채정량은 개체당 20~80 ml(평균 약 43 ml)정도이다.

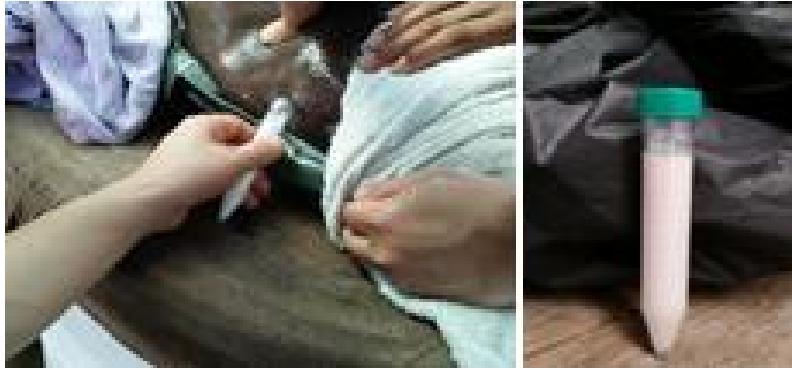


그림 23. 대왕바리의 정액 채취하는 과정(방인철, 2021)

표 6. 대왕바리 채정 시기 및 채정량

일 자	채정량 (ml)
2019. 08. 01.	40 + 60 (2 fish)
2019. 09. 23.	50 + 45 + 25 (3 fish)
2020. 06. 02	20 + 80 (2 fish)
2020. 06. 28	40 + 30 (2 fish)

2) 동결 전 운동성과 운동시간 관찰

- 성숙한 수컷의 친어를 배지느러미 직전 구역부터 시작하여 비뇨생식공(urogenital pore) 근처까지 부드럽게 압착하면 비뇨생식공에서 엄청난 정액(milt)이 밀려 나온다. 만약 정액이 압출되지 않으면 미성숙이거나 또는 이미 방정하였거나 암컷이다.
- 수컷은 배를 누르는 것만으로 정액이 생식공에서 나오는 경우가 있지만 그렇지 않은 경우는 캐놀라를 생식공에 삽입하여 관의 반대편을 가볍게 흡입하면 생식선의 내용물이 조금 나오므로 이것으로 성숙도를 판별한다.
- 채정 된 정자는 인공해수를 1:100 비율로 희석하여 광학현미경으로 운동성을 관찰한다. 해수 한 방울을 슬라이드 글라스 위에 놓

고, 작은 양의 정액을 한 방울의 해수에 추가하여 현미경으로 관찰한다.

- 정상적인 정자는 정액과 해수가 혼합된 후에 선회하는 움직임을 보인다. 정자 총 개체 수에서 활동개체수의 비율과 인공해수 희석 직후부터 활성 개체 수의 비율이 10% 미만까지 도달하는 시간을 측정하여, 활동개체 수의 비율에 따라 5단계로 구분하여 운동성을 평가한다(표 7).

표 7. 정자의 운동성 등급

	운동성 (Motility classes)				
	0	1	2	3	4
Forward sperm (%)	0	25	50	75	100

3) 동결 최적 조건에 따른 대왕바리 동결정액 생산

- 대왕바리의 정액을 희석액(ELS3)과 1:2로 혼합하고, 이때 동해방지제 DMSO의 양은 정액과 희석액(ELS3)의 혼합량을 기준으로 하여 12%를 사용한다.
- 사용된 ELS3의 조성 조건은 표 8과 같다.

표 8. ELS3 용액의 조성표

성 분	ELS3 (mM)
Glucose	92.46
NaCl	171.12
NaHCO ₃	5.95
FBS	10%

- 전처리 과정을 끝낸 정자는 각각 0.25 mL 용량의 straw에 밀봉하여 액체질소 증기 -76℃에 5 cm에서 5분간 노출시킨 뒤 -196℃ 액체질소에 침지하여 급속 동결 보존한다.

4) 동결 최적 조건에 따른 동결 후 운동성 및 운동시간 관찰

- slow-freezing 시간의 최적 조건에 따라 동해방지제와 정액의 평형 시간, 액체질소와의 거리 등 최적의 조건에 따라 동결 후 운동성과 운동시간을 관찰한다 (그림 25).



그림 24. 액체질소탱크에 장기간 동결보존(수산종자사업단, 2020)

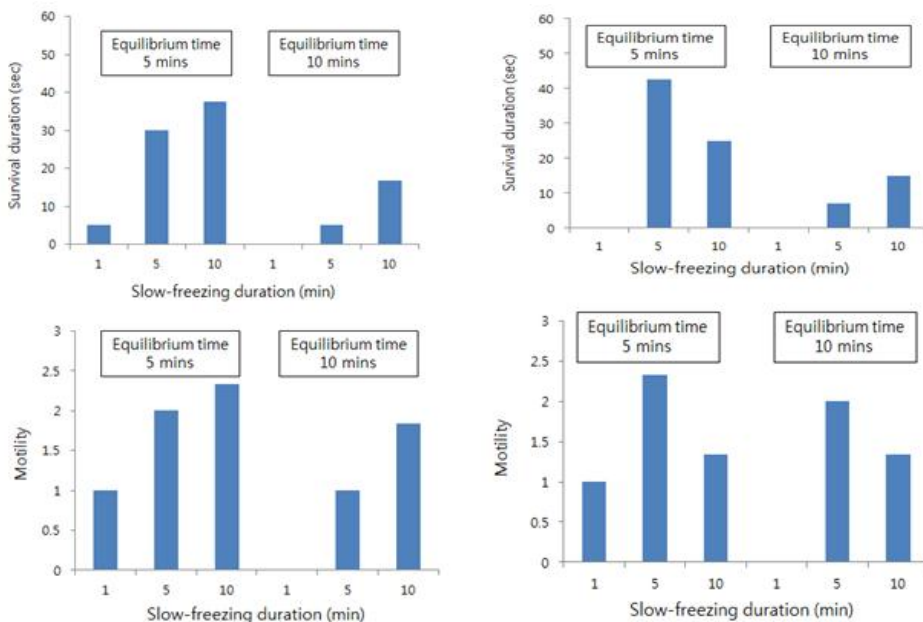


그림 25. 대왕바리 정액의 동결 후 운동성과 운동시간
(※ 최적 조건 5 cm-5분(좌), 10cm-10분(우)이며, 평형시간 5분)

3. 호르몬 처리에 의한 산란 및 난질

- 대왕자바리를 생산하기 위해 국내 자바리를 대상으로 위해 4월부터 성숙 및 산란유도를 실시하였으며, 호르몬 Ovaprim, LHRH, HCG 등을 사용하여 적정 호르몬을 조사하였다.
- 캐뉼레이션*을 통해 난경을 확인 후 40시간부터 4시간 간격으로 확인하여 56시간까지 채란을 시도하였으며, 복부압박법을 통한 건식법으로 인공수정을 실시하였다.
- Ovaprim과 HCG를 이용해서 모두 채란에 성공하였으며, 난경이 클수록 부상율이 좋은 경향을 일부 보였으나, 예외적인 경우도 있었으며 이는 개체별 영양적인 문제로 인한 난질의 영향으로 판단되었다(표9).



그림 26. 대왕자바리 수정란 계량
(수산종자사업단, 2020)

표 9. 호르몬과 난경에 따른 대왕자바리 수정란의 부상률, 수정률, 부화율

호르몬 및 투여량	난경 (μm)	총 난수 (cc)	부상률 (%)	수정률 (%)	부화율 (%)
Ovaprim 0.5 ml/kg	350-500	750	73.3	76.2	12.1
	400-500	600	83.3	68.8	28.3
	400-480	500	50	93.3	9.8
LHRH 5 $\mu\text{g/kg}$	300-450	-	-	-	-
LHRH 10 $\mu\text{g/kg}$	200-300, 450-500	-	-	-	-
	400-500, 150-250	400	10	90	11.5
HCG 500 IU/kg	200-400	200	0	-	-
	300-450	550	87.3	97.6	12.2
LHRH 20 $\mu\text{g/kg}$, HCG 500 IU/kg	400-500	300	33.3	73.7	5.4

4. 채란 및 수정

- 우선 성숙한 자바리(*E. bruneus*) 암컷(5~7 kg)의 고품질의 성숙란을 얻기 위해 복부를 관찰한 후 손으로 만져보면서 성숙 상태를 확인한다.
- 성숙이 진행된 자바리 암컷의 복강에 LHRH (Sigma, USA) 호르몬 25 μ g/kg와 HCG 호르몬 1,000IU/kg을 주사한다. 주사 후 36시간부터 4시간 간격으로 손으로 만져보며 성숙란의 완숙 여부를 확인하고, 최종적으로 복부를 압박하여 성숙란을 확보한다. 대왕바리 수컷은 복부 압박법으로 정액을 추출하거나 이들에 사전에 수컷에서 채취하여 동결 보존하고 있던 정자를 이용하여 인공 수정을 함으로써 수정란을 확보한다.
- 확보된 성숙란은 30분 이상 상온에 노출되지 않도록 하며, 확보된 성숙란과 정액을 채란 용기에서 골고루 섞이도록 한 다음 1~5분간 실온에 둔 후 해수를 첨가하여 정자를 활성화한다.
- 이 후 해수를 더 첨가하여 실온에 5~20분 간 둔 후 부상란과 침강란을 구분하여 부상란만을 세란망으로 옮겨 잔여 정액을 세척한 다음 세란망을 수조에 띄워 10~20시간가량 해수를 흘려준다.
- 최종적으로 부상한 수정란만을 수거하여 부화조로 이동한다.
- 입식 후 부화에서 배체 형성기까지 냉각기를 이용하여 18℃로 관리한다.

5. 난 세정 및 소독

자바리류는 종자 생산 기간 중에 바이러스성 신경괴사증에 감염되어 대량 폐사를 일으킬 수 있다. 이를 방지하기 위해 인공수정에 이용하는 정자 및 난자는 바이러스 검사를 실시하고 음성인 것을 종자 생산에 사용한다. 또한 사육에서도 바이러스의 혼입을 방지하기 위해, 사육수는 자외선

살균 해수를 사용하여 시설에 들어갈 때 소독을 철저히 한다.

종자 생산과정의 수직감염 방지기술로는 포비돈요오드 처리와 배우자 세정법을 들 수 있다.

가. 포비돈요오드 처리

바이러스성 신경괴사증(VNN)은 자바리(*E. bruneus*)를 비롯해 전 세계의 30종을 넘는 증양식 대상 해산어류에 발생 또는 감염이 확인되고 있다.

종자 생산 과정에서 바이러스성 신경괴사증 원인 바이러스(NNV)의 주요 감염 경로는 친어로부터의 수직 감염으로, 흑점줄전갱이(*Pseudocaranx dentex*), 노랑가자미(*Verasper moseri*), 유럽농어(*Dicentrarchus labrax*), 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 등에서 친어 생식선과 수정란 등으로부터 NNV가 검출되어 수직 감염이 의심되고 있다. 어류의 바이러스가 난자나 정자에 흡착되어 수정 시에 정자와 함께 난 내에 침입하면 태어나는 자어에게 감염되는 것이 불가피하다.

수정란을 통한 수직 감염의 방제 대책으로 어류의 증양식에서는 요오드제를 이용한 난 소독이 실시되고 있다. 포비돈요오드는 광범위한 살균 효과를 가진 소독약이다. 수용액 상태에서 방출된 요오드가 미생물의 세포벽을 통과해 세포막과 단백질, 효소, DNA 등을 파괴하여 살균효과를 나타낸다. 수정 후 정상 발생란을 배아의 안정기인 발안기에 포피돈요오드로 난 표면을 소독하면 난 표면에 부착되어 있는 병원체를 죽이고, 병원체가 없는 부화·사육용수로 난 관리를 하면 감염을 방지 할 수 있다.

난의 소독은 어종에 따라 난경·난막의 두께, 소독제 감수성이 달라 각각의 어종에 적합한 소독제의 농도와 처리시간이 검토되고 있다(표 10).

이 때 소독 대상이 되는 바이러스의 불활화* 농도를 표 11에 나타내었다. 난소독에서는 완전 살균을 할 필요가 없으며, 대상으로 하는 병원체를 불활화 또는 살균할 수 있으면 목적은 달성된다.

표 10. 어류 수정란의 포비돈요오드(povidone-iodine) 감수성

어 종	안전성이 확인된 농도와 시간		소독률 (%)
	농도(mg/L)	시간(분)	
연어·송어류	50~1,000	15	>99
비단잉어	50~200	15	88~98
넙치	25~50	15	>99
노랑가자미	50	15	>99
갯장어	25~100	15	>99
흑점줄전갱이	50	15	>99
자바리	25~100	5	>99
자주복	25~100	5	>90
대구	25~100	5	>90
참돔	10~25	<5	-
보리새우	2.5~5	5~15	>90

어류에서는 참돔 난이 가장 감수성이 높고, 안전하게 소독할 수 있는 농도는 10mg/L · 5분 처리 정도이다. 보리새우의 흰반점바이러스병 대책에는 5mg/L · 5분이 채용되고 있다. 신경괴사증 바이러스의 옥시던트*에 의한 불활화는 잔류 옥시던트 농도 0.5mg/L로 30초이다. 노랑가자미 난의 경우, 상실기(morula stage)에 잔류 옥시던트 농도 0.5mg/L · 5분 혹은 포비돈요오드 25mg/L · 15분으로 소독하는 것이 가장 안전하며, 넙치에서도 이 농도로 소독의 안전성이 보고되었다.

자바리 수정란의 포비돈요오드에 의한 적정한 소독 조건으로서 유효 요오드 농도 100 mg/L 이하의 농도로 5분간 침지에서는 대조구의 정상부화률과 동일한 정도였다. 또한, 유효 요오드 농도 25 mg/L로 10분 또는 50 mg/L로 5분간 침지한 경우의 수정란의 생균 수는 대조구와 비교하여 99.9% 이상 감소했다. NNV를 충분히 불활화시키기 위한 자바리 수정란의 안전하고 효과적인 소독 조건은 수정란의 발육 단계에 관계없이 유효 요오드 농도 50~100 mg/L를 포함하는 해수에 5분간 침지하는 방법이다.

표 11. 대표적인 어류 질병 바이러스와 세균의 포비돈요오드 감수성

바이러스	불활화 농도(mg/L)	시간
전염성 췌장 괴사증 바이러스 (IPN : Infectious Pancreatic Necrosis)	25	15초
전염성 조혈기 괴사증 바이러스 (IHN: Infectious Hematopoietic Necrosis)	30	5분
Oncorhynchus masou Virus	40	30초
바이러스성 출혈성패혈증 바이러스 (VHS : Viral Hemorrhagic Septicemia)	8	5분
잉어 herpes virus (KHV)	12	30초
바이러스성 신경괴사증 바이러스 (VNN : Viral Nervous Necrosis)	25	5분
세균성 신장병 원인균	25	5분

나. 배우자 세정법

VNN은 각종의 해산어에서 발생하며, 치어기에는 폐사율이 높은 바이러스병으로, 종자 생산의 방제 대책으로서 PCR검사에 의한 친어 선별, 옥시던트 등을 이용한 난소독 및 전해나 자외선 처리 해수에 의한 사육이 효과적이지만, 최근에 친어로부터 수직 전파를 방지하기 위해 인공수정하기 전의 미수정란 및 정자를 세정하는 배우자 세정법이 자바리(*E. bruneus*)에서 개발되었다.

즉, 착출한 미수정란에 대해서는 안공 난소강액(卵巢腔液)과 잘 혼합한 후에 정치하고, 미수정란이 침전된 후에 상등액을 제거한다. 정자는 60% Percoll* 용액을 넣은 튜브에 인공정장과 혼합한 정자를 넣어 원심처리 후에 정자를 회수한다. 정자, 미수정란 모두 세정처리를 3회 반복(그림 27)하여, 인공수정에 의해 얻은 수정란을 종자 생산에 사용한다. 배우자의 세정은 수정율이나 부화율에 큰 영향을 미치지 않으며, 배우자 세정 후 수정란을 이용한 종자생산에 있어서 VNN의 발생이 없음을 대형수조를 이용하여 양산 규모에서 다년간에 걸쳐 확인하고, VNN 방제에 유효한 것이 밝혀졌다.

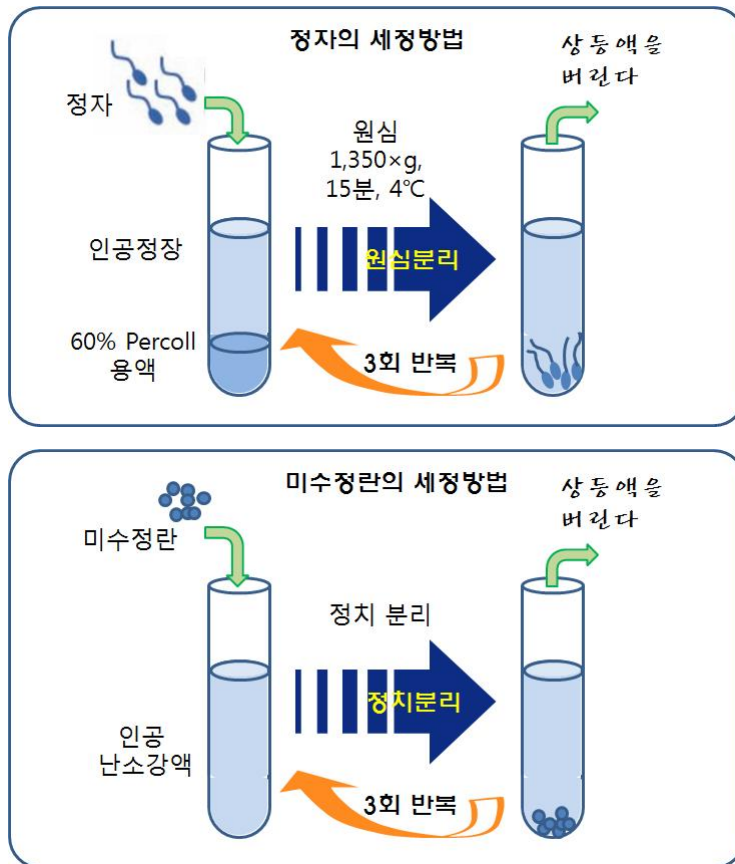


그림 27. 자바리의 배우자 세정법(西岡, 2016)

일본에서는 이 배우자 세척법으로 세척한 자바리의 미수정란과 정자를 이용하여 종자 생산을 한 결과, 오랫동안 자바리의 중간 육성 중에 발생 하였던 VNN이 전혀 발생하지 않아 생산시설에서의 유효성이 확인되었다.

6. 부화 및 사육

가. 사육 환경

- 부화 및 자치어 사육은 부화조에서 동일하게 진행한다. 부화조의 수온은 부화 실험결과 22~31℃ 까지 모두 부화가 진행되었으나, 22℃와 31℃에서는 25℃와 28℃에 비해 낮은 부화율을 보였다.
- 난황흡수 자어의 생존율은 25℃ 및 28℃ 실험구에서 높은 수치를 나타내었으나, 22℃와 31℃ 실험구에서는 생존이 되지 않았다.
- 부화 자어의 기형률은 25℃에서 1.5%의 기형률을 보인 반면, 28℃에서는 기형률이 15.5%로 높아져 적정 부화조의 온도는 23~27℃가 바람직하며, 23.5~26.5℃가 더욱 바람직하다.
- 부화 후 개구가 완료되는 2일째부터 로피터를 공급하며, 자어가 성장함에 따라 알테미아 유생과 함께 배합사료를 공급한다. 사육수는 여과 해수를 이용하여 사육 초기에는 지수식으로 유지하고, 알테미아 공급 이후부터는 1일 환수량을 30~50%로 유지한다. 수조내 배설물은 알테미아 공급단계부터 사이폰을 통해 제거한다.

나. 대왕자바리의 염도별 부화율과 초기 발달

대왕자바리의 염도별 부화율은 염도 35~37은 잡종 F1의 부화에 최적이고 염도 20~30은 유생의 생존에 최적임을 나타내었다. 유생의 SAI (survival activity index) 값은 염도가 20~35일 때 높았고, 염도가 5, 10, 45일 때 낮아졌다. 배아 후 발달은 난황낭, 두 번째 등 지느러미 가시, 배지느러미 가시, 비늘 및 체색의 특징을 기반으로 자어 단계, 치어 단계 및 유어 단계로 나눌 수 있다.

배아는 2일 만에 pre-larvae로 발달하였으며, 새로 부화 한 유생의 평균 길이는 1.959 ± 0.152 mm였다. 이 단계는 난황낭과 흡수되지 않은 유구 (oil ball)가 특징이다.

표 12. 대왕자바리 수정란의 염도별 부화율 및 기형률(张梦淇 等, 2016)

항 목	염도 Salinity								
	5	10	15	20	25	30	35	40	45
부화율 (%)	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	13.0±2.6 ^c	18.7±1.5 ^d	21.7±2.1 ^d	31.3±3.0 ^e	7.3±2.5 ^b	4.3±1.1 ^b
기형률 (%)	-	-	-	88.7±7.6 ^d	72.7±10.8 ^c	60.3±6.2 ^{bc}	40.0±7.4 ^a	55.7±5.1 ^b	62.2±3.8 ^{bc}

참고 : 위첨자가 다른 동일한 행의 데이터는 유의차가 있다(P <0.05)

유생 후(post-larvae) 단계는 3일부터 30일까지 지속되었으며, 3일 유생의 평균 길이는 2.765 ± 0.108 mm였다. 이 단계에서 두 번째 등지느러미 가시와 배지느러미 가시의 길이는 유생과 치어의 최대치에 도달했다.

부화 후 31일부터 치어기에 진입하였으며 평균 길이는 18.130±1.565 mm였다. 이 단계에서 내장 기관(visceral organs)이 완전히 발달하고 체색이 투명해졌다. 부화 후 46일째부터 평균 길이 39.850±2.565 mm, 체색이 옅은 갈색으로 변하는 유어(young fish) 단계에 들어갔다.

이 단계에서 체 표면에 갈색 반점이 나타나고 현미경으로 비늘을 관찰할 수 있었다.

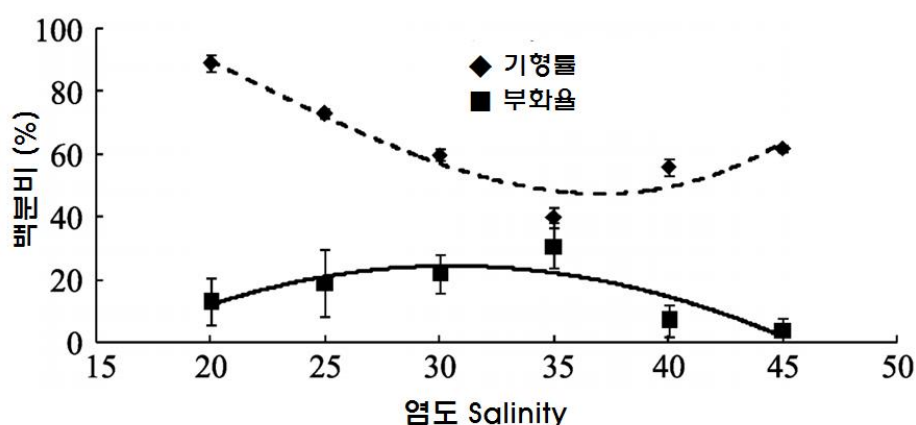


그림 28. 대왕자바리의 염도별 배아의 부화율과 기형율(张梦淇 等, 2016)

표 13. 교잡종 대왕자바리와 친어(자바리 및 대왕바리) 종의 초기발달 비교(张梦淇 等, 2016)

학 명	사육 수온 (℃)	난황난 섭이개시 시간	유생과 후기 자어기 (Post larvae)	치어기 (Juvenile)	유어기 (Young fish)	참고 문헌
자바리 <i>E. moara</i>	22-24	1-4, 5	5-30	31-65	66	宋振鑫等, 2012
대왕바리 <i>E. lanceolatus</i>	27-30	1-2, 4	3-21	22-30	31	郭仁湘等, 2011
교잡종 (대왕자바리)	25-27	1-2, 4	3-30	31-45	46	본 연구

표 14. 교잡종 대왕자바리와 친어(자바리 및 대왕바리) 종의 초기발달과 전장의 비교(张梦淇 等, 2016)

학 명	부화자어 전장(mm)	후기자어 개시 (일)와 전장(mm)	치아 개시(일)와 전장(mm)	유어 개시(일)와 전장(mm)	참고 문헌
자바리 <i>E. moara</i>	1.739	5, 2.640	31, 9.992	66, 25.000	宋振鑫等, 2012
대왕바리 <i>E. lanceolatus</i>	2.075	3, 3.050	22, 18.185	31, 32.500	郭仁湘等, 2011
교잡종 (대왕자바리)	2.059	3, 2.765	31, 18.130	46, 39.850	본 연구

다. 부화 자어의 평가

1) 부화 자어의 평가

- 부화된 자어는 부화 1일 후 사육수조에 수용되기 전에, 형태와 행동에 관한 평가 기준에 따라 생존력과 상태를 점검하여야 한다.
- 부화 그룹별 10~20마리를 표본으로 하여 시계접시에 두고 입체현미경으로 5~10배의 저배율로 기준에 따라 정상상태 여부를 관찰한다.

2) 부화 자어의 형태

- 부화 자어를 형태 평가 기준에 따라 평가한다.
 - 전반적인 형태와 크기,
 - 자어 지느러미의 완전성(기형이나 결손이 있어서는 안 한다.),
 - 외부 기생충(없어야 한다),
 - 내장 기관의 배치,
 - 정상적인 색소.

3) 부화율

- 죽은 알과 살아있는 알 그리고 부화한 유생은 탱크 내에 다르게 분포하기 때문에 부화율을 계산하기 위해 난과 유생을 표본으로 추출하기 전에 손으로 수조를 휘저어 난과 유생을 혼합한다. 휘젓는 것은 난과 유생을 완전히 섞기에 충분해야 하지만 새로 부화한 유생을 손상시킬 정도로 강하게 해서는 안 된다. 비커 또는 작은 용기와 같은 장비를 사용하는 경우 사용하기 전에 소독했는지 확인하여야 한다.
- 바리류의 난은 부화하기 전에 유생 사육 탱크에 직접 방양하기 때문에, 부화율은 일반적으로 유생 사육을 위한 것이 아닌 별도의 유생 샘플에서 계산한다. 부화가 완료되면 부화율의 산정을 해야 한다. 부화까지의 시간과 부화 기간은 온도에 따라 달라진다.
- 부화율 계산
 - 부화율을 계산하려면 부화유생의 수와 발달 중인 유생이 있는 부화되지 않은 난의 수를 계산한다. 부화되지 않은 난수 + 부화 유생수 = 표본의 총 난 수, 부화율(%)은 부화유생수/표본의 총 난수 $\times 100$ 이다.
 - 예로서 부화 후 난과 유생의 표본 10개를 검사한 결과 988마리의 유생이 부화했고, 122개의 난은 부화되지 않은 발생 중의 배아

(embryos), 15개의 난이 수정이 되지 않거나 미발달된 것으로 나타났다. (수정률의 산정에는 15개의 미수정란이 고려되었으므로 부화율 산정에는 포함되지 않는다.) 부화 유생수 = 988 및 총 난수 = 1,110 부화율 = 89%

4) 유생 사육 탱크 방양

- 일반적으로 바리류의 난은 부화되기 전 발안 단계에서 유생사육 수조로 옮긴다. 왜냐하면 이 단계에서는 새로 부화한 유생보다 더 튼튼하기 때문이다. 새로 부화 한 유생은 물리적 충격이나 수질 변화에 매우 민감하여 유생 사육 탱크로 이동하면 높은 사망률을 초래할 수 있다.
- 부화율은 난이 유생 사육 탱크에 방양되기 전에 알 수 없기 때문에 방양되어야 할 난의 수는 부화장에서의 과거의 부화율을 이용하여 산정할 필요가 있다.
- 만일 부화율이 낮으면 유생 사육 탱크의 유생을 폐기하고 탱크를 청소하고 소독해야 한다.

라. 저환수 사육에 의한 종자 생산

- 자바리의 자어는 성어의 외형과는 대조적으로 부화 직후에는 전장 약 2 mm로 작고 연약하기 때문에 사육환경의 변화에 약하여 부적절한 환경에서는 즉시 폐사하게 된다. 일반적으로 해산어의 종자 생산은 부화 직후부터 사육수에 새로운 해수를 주입하는 이른바 '유수사육'으로 이루어진다.
- 그러나 유수 사육에서는 취수하는 지선의 해수의 영향을 받아 사육 수중의 수질과 세균총 등이 급격히 변화할 수 있다. 이러한 사육환경의 급변을 방지하기 위해 일본의 수연센터에서는 거의 사육수의 환수를 하지 않는 '저환수 사육'으로 자바리 자어의 감모를 방제하는 데 성공해 그때까지 부화 후 10일까지의 생존률이

10~30% 정도였던 것을 50~70%로 개선할 수 있었다. 그에 따라, 치어까지의 생산율도 그때까지 10%이하였던 것을 10~20% 정도로 끌어올리는 것에 성공해, 자바리 종자를 만 단위로 생산하는 것이 가능하게 되었다.

○ 저환수 사육에는 다음과 같은 장점이 있다.

- 첫째는 자어의 초기 이료인 로티퍼의 사육수 중의 밀도 유지와 배양 비용 절감이다. 일반적으로 해산어의 종자 생산에서는 자어의 초기 이료로서 로티퍼를 급이하지만, 유수 사육에서는 사육수의 환수에 따라 사육수 중의 로티퍼가 유출되어 버린다. 그 때문에 자어가 충분히 섭취할 수 있도록 사육수 중의 로티퍼 밀도를 유지하기 위해서는 거의 매일 대량의 로티퍼 급이를 하지 않으면 안된다. 저환수 사육방법에서는 로티퍼 급이에는 전혀 환수를 하지 않으므로, 환수에 의한 로티퍼의 유출이 없다. 따라서 항상 일정한 밀도 이상의 로티퍼가 사육 수중에 있기 때문에 자어가 언제든지 로티퍼를 섭취할 수 있게 되어, 자어의 생존이 향상된다. 또한, 매일 대량의 로티퍼를 투여할 필요가 없기 때문에 로티퍼를 배양하는 양을 대폭 줄일 수 있어 로티퍼 배양에 드는 비용을 절감할 수 있다.
- 두 번째는 가온 비용의 절감이다. 자바리의 종자 생산에 있어서는 최적으로 여겨지는 26℃로 사육수를 가온시켜 사육을 한다. 저환수 사육은 유수 사육에 비해 26℃보다 수온이 낮은 새로운 해수를 주수하는 양이 적기 때문에 사육수를 가온시키기 위한 비용을 절감할 수 있다.
- 세 번째는 취수 해수에서 오는 병원체 침입 위험의 저감이다. VNN 등의 병원체는 취수 해수로부터 침입할 위험성이 있어, 저환수 사육을 통해 취수에서 오는 병원체의 침입 위험을 줄일 수 있고, 이를 통해 자치어가 병에 걸리는 것을 방지할 수 있다.

이상과 같이, 저환수 사육은 자바리 자어가 자라는 환경을 적정하게 유

지할 뿐만 아니라, 생산 비용의 절감이나 질병 발생의 위험을 저감하여 안정적으로 효율적인 종자 생산을 할 수 있다.

마. 대왕자바리 유생의 발달

- 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 배발생은 수온 $22\pm1^{\circ}\text{C}$, 염분 33 psu에서 수정 후 1시간에 2세포기로 되어 4시간 30분경에 상실기(morula stage), 5시간에 포배기(blastula stage), 9시간 30분경에 낭배기(gastrula stage), 15시간 45분에 배체형성기(embryo body stage), 21시간 15분에 근절(muscle bur)이 출현하였다. 수정 후 약 32시간에 부화자어로 부화하였다(표 15, 그림 29, 30).
- 수온 $22\pm1^{\circ}\text{C}$ 의 해수(염분 33 psu, pH 7.8)에서 교잡종인 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 부화율은 91.5%로 대조군(93.1%)보다 낮았고, 기형률은 10.5%로 자바리 암수 교배의 대조군(5.3%)보다 높았다. 배아 발달에는 35시간 23분이 소요되었다. 난할 단계, 포배 단계, 유생 전후에 교잡종의 사망률이 더 높았다.
- 난낭, 제2등지느러미 가시, 배지느러미 가시, 비늘 및 체색의 특징에 따라 교잡종의 배아 발달후 단계는 유생 (0~27일), 치어 (28~45일), 그리고 유어 단계 (46일)로 구분하였다. 결과는 교잡종이 자바리(*E. moara*)보다 더 빠르게 성장하였다.

표 15. 대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 배발생(吳水淸 等, 2016)

배발생 단계	수정후 시간 (시:분)	주요 특징
수정란	0:00	(도판 I -1)
배반(胚盤, Blastodisc) 형성	0:32	배반응기 (도판 I -2)
2세포기	1:01	제1차 난할 (도판 I -3)
4세포기	1:35	제2차 난할 (도판 I -4)
8세포기	2:05	제3차 난할 (도판 I -5)
16세포기	2:43	16세포 형성(도판 I -6)
32세포기	3:12	32세포 형성(도판 I -7)
64세포기	3:41	64세포 형성(도판 I -8)
다세포기(Multi-cell stage)	4:10	(도판 I -9)
상실기(Morula stage)	4:38	(도판 I -10)
고포배기(High blastula stage)	5:02	(도판 I -11)
저포배기(Low blastula stage)	6:30	(도판 I -12)
낭배초기(Early gastrula stage)	9:33	(도판 I -13)
낭배중기(Middle gastrula stage)	12:53	(도판 I -14)
낭배말기(Late gastrula stage)	14:40	(도판 I -15)
배체형성기(Embryo body stage)	15:45	(도판 I -16)
원구폐쇄기(Closure of blastopore stage)	17:40	(도판 I -17)
시낭형성기(Optic capsule stage)	18:47	(도판 I -18)
근절출현기(Muscle burl stage)	21:15	(도판 I -19)
이포(耳胞)형성기(Otocyst stage)	22:18	(도판 I -20)
뇌소포형성기(Brain vesicle stage)	24:55	(도판 I -21)
미아기(尾芽期. Tail-bud stage)	27:10	(도판 I -22)
정체형성기(晶体, Crystal stage)	28:45	(도판 I -23)
심장박동기(Heart-beating stage)	30:05	(도판 I -24)
부화기(Hatching stage)	31:20	(도판 I -25)
초기부화자어	32:06	(도판 I -26)

Note: 부화온도 22±1℃, 염분 33 psu

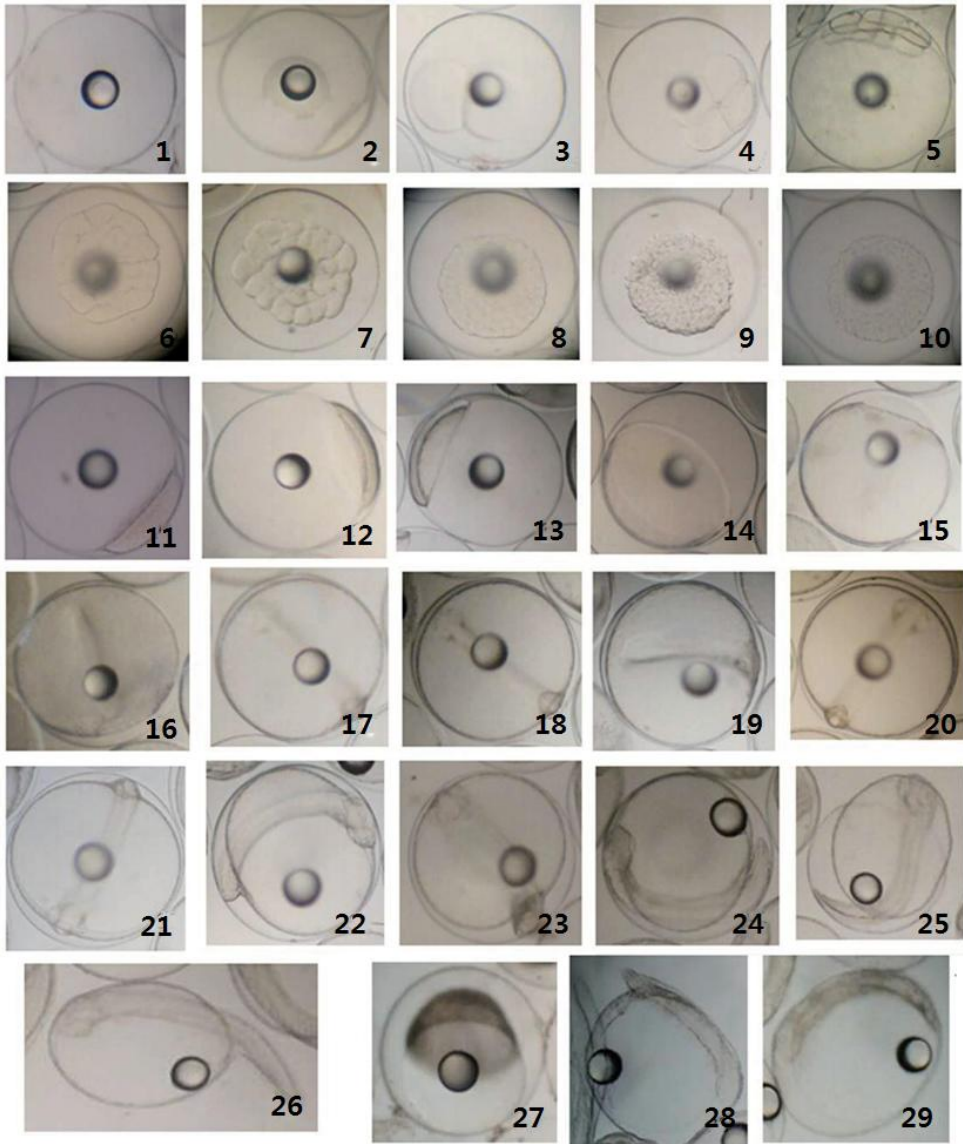


그림 29. 대왕자바리(*E. moara* ♀×*E. lanceolatus* ♂)의 배발생(吳水淸 等, 2016)

1. 수정란(Fertilized egg); 2. 배반용기(Blastodisc formation); 3. 2세포기(2-cell stage); 4. 4-cell stage; 5. 8-cell stage; 6. 16-cell stage; 7. 32-cell stage; 8. 64-cell stage; 9. 다세포기(Multi-cell stage); 10. 상실기(Morula stage); 11. 고폭배기(High blastula stage); 12. 저포배기(Low blastula stage); 13. 낭배초기(Early gastrula stage); 14. 낭배중기(Middle gastrula stage); 15. 낭배말기(Late gastrula stage); 16. 배체형성기(Embryo body stage); 17. 원구폐쇄기(Closure of blastopore stage); 18. 시낭형성기(Optic capsule stage); 19. 근절출현기(Muscle burl stage); 20. 이포(耳胞)형성기(Otocyst stage); 21. 뇌소포형성기(Brain vesicle stage); 22. 미아기(尾芽期. Tail-bud stage); 23. 정체형성기(晶体, Crystal stage); 24. 심장박동기(Heart-beating stage); 25. 부화기(Hatching stage); 26. 초기부화자어(Newly hatched larvae); 27. 포배기에서 멈춘 배아; 28. 정상이 아닌 유생; 29. 기형의 배

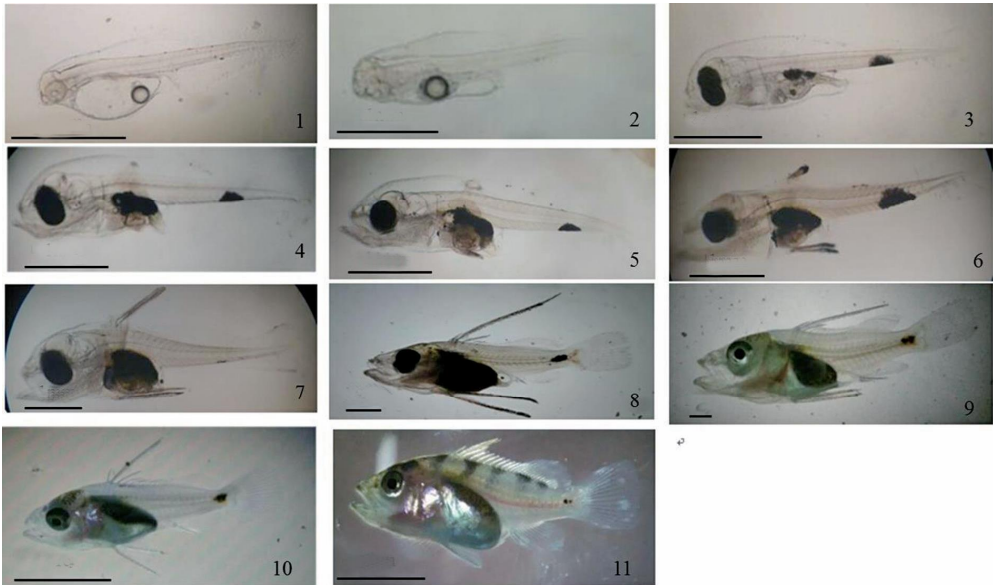


그림 30. 대왕자바리(*E. moara* ♀×*E. lanceolatus* ♂)의 유생, 치어, 유어의 형태적 발달(吳水淸 等, 2016)

1. 부화후(DAH) 1일 유생 ; 2. 2 DAH; 3. 3 DAH; 4. 4 DAH; 5. 7 DAH; 6. 10 DAH; 7. 15 DAH; 8. 27 DAH; 9. 30일령 치어; 10. 38일령 치어; 11. 46일령 유어(幼魚).



그림 31. 대왕자바리 종자(전장 6-8 cm) (방인철, 2021)



그림 32. 대왕자바리 종자 및 중간육성을 위해 순환 사육 중인 치어(방인철, 2021)



그림 33. 대왕자바리의 자어(부화 30일)와 치어(전장 4 cm) (수산종자사업단, 2020)

7. 종자 양산화 성공의 포인트

가. 양질의 수정란 확보

종자 생산을 위해서는 양질의 수정란의 확보가 필요하다. 자바리는 자성 선속형으로 대형이 되면 수컷으로 성전환한다. 즉, 채란에 암컷은 4~5 kg의 개체를 주년 해상가두리에서 양호한 영양 상태를 유지하고 질병의

발생 등에 주의하면서 사육한다.

채란을 위해 자바리의 산란기인 5~6월에 복부가 팽만한 암컷을 수거해 난소의 발달 상태를 조사한다. 그 결과 난소란이 0.5 mm 이상으로 발달한 개체를 선별하여 배란을 촉진하는 호르몬을 처리한다.

배란은 호르몬 처리로부터 2일 후에 일어나므로, 신속하게 난을 착출(그림 1)해 인공수정을 한다. 정자는 미리 대왕바리의 수컷에서 채취하여 활력이 높은 것을 동결 보존해 두었다가 이것을 사용한다. 이와 같이 어미의 철저한 선별과 호르몬 처리 기술 및 활력 높은 정자 사용 등으로 양질의 수정란의 안정 확보가 가능하다.

나. 자어의 초기 감모 방지 대책

생산한 치어는 태어나자마자 초기 단계에서 대량으로 죽어 버릴 수 있다. 이것을 초기 감모라고 하는데 부화 후 10일까지 70% 이상이 폐사할 수 있다. 그래서 초기 감모 방지 대책으로 난과 자어의 침강사를 방지하고, 자어의 섭이율을 향상시키며 안정된 수질 환경을 유지한다.

1) 부상 폐사의 방지(Surface aggregation mortality)

- 고수온기에 태어나는 자어는 섭이 가능해진 후 회생 불능 시점(PNR)까지의 시간이 상당히 짧아 자어가 섭이 가능해지는 시각이 밤이 된 경우에도 섭이를 할 수 있는 밝은 환경을 제공할 필요가 있다.
- 그러나 야간에 조명을 하면, 자어의 습성으로 인하여 조명 기구의 바로 아래의 수면에 위집(蝟集)하는 일이 많다.
- 개구 전후 전기 자어의 체표에서 분비되는 점액은 유생이 위에서 나오는 빛에 의해 수표면으로 부상할 때 접착제 역할을 하여 유생이 수면에 달라붙어 폐사를 초래한다. 또한 유생의 집단이 서로의 가시에 얽히는 결과를 초래한다. 두 가지 문제 모두 초기 단계의 유생 사이에 심각한 사망률을 초래한다.

가) 유막(oil film)

- 표면 장력 폐사(surface tension death)를 방지하기 위해 부화 후 1~5일에서 오일을 매일 2회(약 0.2 mL/m^2) 탱크에 첨가하여 박막을 형성할 수 있다.
- 2000 Lux와 암흑 조건에서 유막의 존재에 따른 붐바리의 전기 자어기 유생의 부상 폐사의 조사 결과, 조도와 관계없이 유막이 있는 경우 부상 폐사가 없었으나, 유막이 없고 조도가 있는 경우 부상 폐사가 암흑 조건보다 많았다. 수 표면의 유막이 붐바리 전기 자어기 유생의 표층 대량 폐사를 방지했음을 보여 주었다.
- 부화 후 2~7일의 자어에 대해서 조도에 따른 수면에 유막이 있는 경우와 없는 경우의 평균 부상 폐사 개체수를 조사한 결과(Setiadi 등, 2002), 유막이 없는 경우에 부상 폐사 개체는 부화 후 2일째부터 출현하여 10,000 lx와 1,000 및 500 lx 사이에 빛이 강한 만큼 부상 폐사 개체수는 유의하게 증가하였다. 유막이 있는 경우에는 부화 후 2~7일의 사이에 모든 실험구에서 부상 폐사는 일어나지 않았다.
- 유막은 표면 장력을 수 표면에서 빼앗는데, 이는 바리류의 전기 자어기에서 표층 대량 폐사의 발생을 방지하는 열쇠이다. 유막의 사용은 부레(swim bladder) 팽창을 하기 전에 중단해야 한다.

나) 난백 첨가

- 바리류의 부상 폐사를 방지하기 위해 피드 오일(feed oil)을 사용하여 수면에 유막을 형성하는 방법이 실제로 사용되었으나 취급의 어려움 등 단점도 있다.
- 계란 흰자(鷄卵卵白)의 첨가에 의한 수면에서의 막 형성은 Kaji et al. (2003)이 2~30 L의 수조를 이용한 실험에서 줄삼치 등의 부상 폐사의 방지에 효과적인 것으로 보고되어, 그 후 비슷한 실험에

서 자바리, 능성어에서도 부상 폐사의 방지 효과가 입증되었다.

- 계란은 입수가 용이하고, 1개당 난백(달걀 흰자위)가 약 30 g 정도 되는 점을 감안하면 매우 저렴하고, 수면에 형성되는 난백막(卵白膜)은 안정성도 높아 수조의 오염을 일으키지 않는다.

다) 수류

- 수류의 존재가 붉바리의 부화가 완료된 후 전기 자어의 폐사율을 줄여 주는데, 이것은 수면의 표면장력(surface tension)이 표층 폐사의 발생에 있어서 주요 환경 요인임을 시사한다.

라) 명암 조건과 사육수의 색채

- 명암 조건
 - 부화에서 섭이 개시까지의 기간(부화 후 0~4일째)의 명암조건에 따른 생존율은 부화 후 3일째 전후의 섭이 개시기에 암조건으로 했을 때에 현저하게 낮다.
 - 자어의 초기 섭이 기회의 증가를 위하여 기능적 개구가 야간에 이루어지는 경우에는 점등을 하여 초기 섭이의 촉진을 도모하는 것이 유효하다.
- 사육수의 색채
 - 사육수가 적색인 경우에, 노란색이나 그린색의 경우보다도 부상 폐사 개체 수가 유의하게 감소했다. 사육수의 색깔과 빛의 강도 사이에는 사망 개체수에 관해서 관련은 없었다.
 - 유막을 치지 않고 종자 생산을 하는 경우에는 사육환경을 최대한 어둡게 함과 동시에 사육수가 적색인 경우 생존을 높이는 인자일 가능성이 있다.

2) 난과 자어의 침강사 방지

- 개구 후, 섭이를 시작한 붉바리의 자어는 체중의 증가에 따라 물

에 대한 비중이 무거워져 야간에 잠든 자어가 수조 바닥에 침강하면 악화된 저질 환경으로 사망하는 경우가 많다.

- 즉, 개구 직후에는 먹이생물 크기나 조도 환경, 수류 환경에 유의해 섭이를 성공시키고, 4일령 이후는 소형수조에서 통기는 하지 않고 욕조 펌프(bath pump)로 수조 바닥에 설치한 구멍을 뚫은 PVC 파이프로 물을 뿜어내어 수조 바닥에 수류를 발생시켜 침강을 방지한다. 30 톤 정도의 큰 수조에서는 1수조 당 욕조 펌프 3~5개를 사용한다.

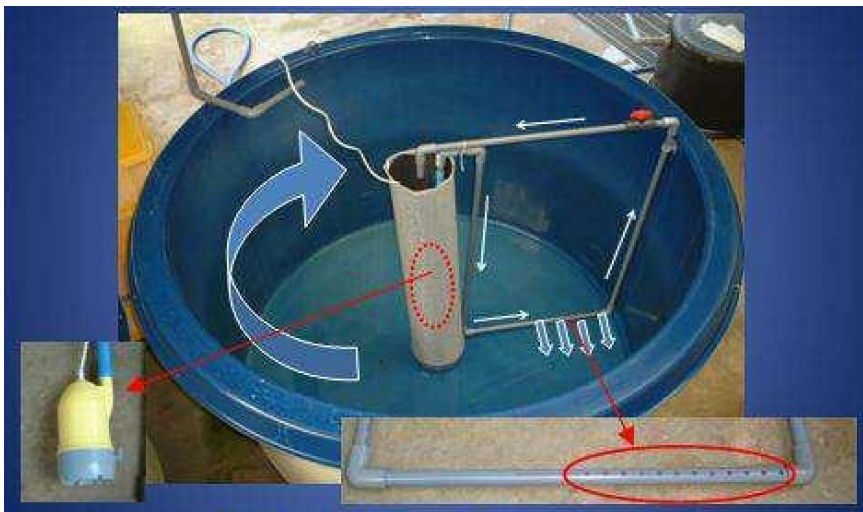


그림 34. 욕조 펌프(bath pump)를 사용한 침강대책(南部, 2012)

3) 자어의 먹이 섭취율의 향상

- 부화유생에서 첫 번째로 발생하는 감모는 초기 섭이의 실패로 인한 것으로 초기 감모가 개구 시기와 거의 일치한다. 종자 생산에 있어서 초기 먹이생물의 크기가, 또 개구 후 단시간에 내부 영양이 흡수되기 때문에 외부 영양으로의 전환 시기가 자어의 생존에 큰 영향을 미친다.
- 부화 직후의 자어는 전장 약 2mm로 다른 어종과 비교해도 매우

작은 크기로 태어난다. 그래서 자어의 입이 매우 작아서 최초로 주는 먹이는 보통 사용하는 로티퍼 중에서도 더 소형의 S형 로티퍼(0.1mm)를 사용한다.

- 통상의 S형 로티퍼는 초기 먹이생물로 크기 때문에 섭이하지 못하고 아사하게 된다. 그러므로 태국산 소형 로티퍼, *Brachionus rotundiformis* (155 μm 이하), 이른바 SS형 로티퍼의 새끼를 급이하는 것이 초기 섭이의 촉진과 감모의 경감에 효과적이다.
- 급이밀도는 사육수 1ml 중에 10개 정도로 충분한 양을 주고, 섭취율을 높이기 위해 수조 내의 조도를 높게 유지하여 자어가 로티퍼를 인식하기 쉬운 환경을 만든다.

4) 안정적인 수질환경 유지

- **수류 환경:** 자어에 확실하게 공급한 로티퍼를 먹이기 위해서는 안정된 자세를 취할 수 있는 수류 환경이 필요하다, 개구 직후의 자어는 유영력이 약하기 때문에 펌프나 통기의 강약을 조정하여 수류를 완만하게 조정함으로써, 안정된 섭이행동이 가능하게 하여 자어가 섭이행동을 하는지 관찰한다.
- **조도:** 개구 직후 자어의 먹이생물에 대한 가시적 시인성(視認性)을 높이기 위해서 수면 조도 1만 LUX 이상의 밝은 환경을 확보한다. 그러한 환경을 정비한 다음, 자어의 소화관 내를 조사해, 로티퍼가 확실히 섭이되고 있는지 확인한다.
- 많은 시험 결과에서 10일령으로의 생존율 40% 이상을 달성하기 위해서는, 개구 직후의 자어 1마리당의 로티퍼 섭이 개수는 5개 이상이 필요하고, 한편, 수조 내의 자어의 80% 이상이 섭이해야 하는 것으로 나타났다.
- 사육수의 환수율을 낮추고 사육수에 첨가하는 미세조류(로티퍼의 먹이)도 소량씩 24시간 첨가함으로써 수질 환경의 변화를 억제하고 사육수 중의 로티퍼나 자어에게 미치는 영향을 줄인다.

5) 바이러스 방제 대책

- 대왕자바리는 종자 생산 중에 바이러스성 질병에 의해 치자어가 대량으로 사망 할 수 있으므로 바이러스 방제대책을 철저히 하는 것이 중요하다.
- 먼저 배란 전에 난과 정자의 바이러스 검사를 실시하고, 음성인 것만을 사용하여 인공 수정을 한다. 또한 수정된 난은 다시 바이러스 검사로 음성임을 확인하고 사육 수조에 수용하기 전에 난 표면에 묻어 있을 가능성이 있는 바이러스를 사멸시키기 위해 소독을 한다.
- 자치어의 사육에 대해서도 바이러스의 혼입을 막기 위해 사육수는 자외선 조사에 의한 살균을 하고, 각 수조 간을 비닐 시트로 격리함과 아울러 사육기구, 장화 등을 철저히 소독함으로써 바이러스성 질병을 방제한다.

8. 대왕자바리의 성장

가. 대왕자바리의 성장

- 고수온(27~31℃)에서 성장이 빨라 동남아 환경에 최적화된 품종으로 수온 평균 23.4℃ (17.4~31.7℃)에서 15개월령에 상품어 크기(1 kg)에 도달한다.
- 대만 수출 종자는 종자 입식 8개월령에, 동남아 환경(베트남 평균 29.4℃)에서는 10개월령에 상품어 크기에 도달한다.

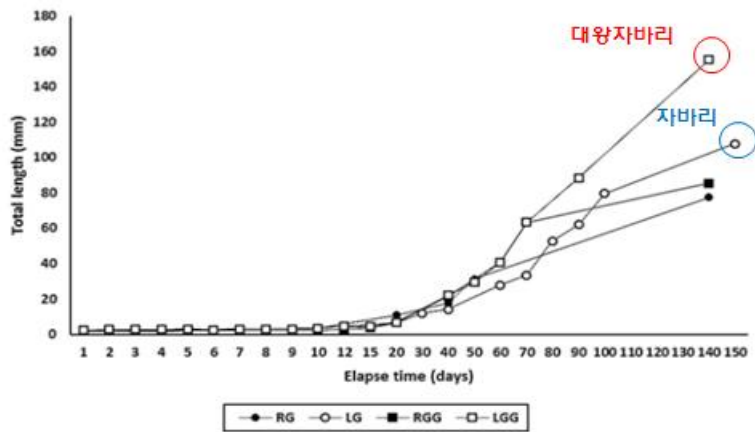


그림 35. 대왕자바리와 자바리의 성장(수산종자사업단, 2020)

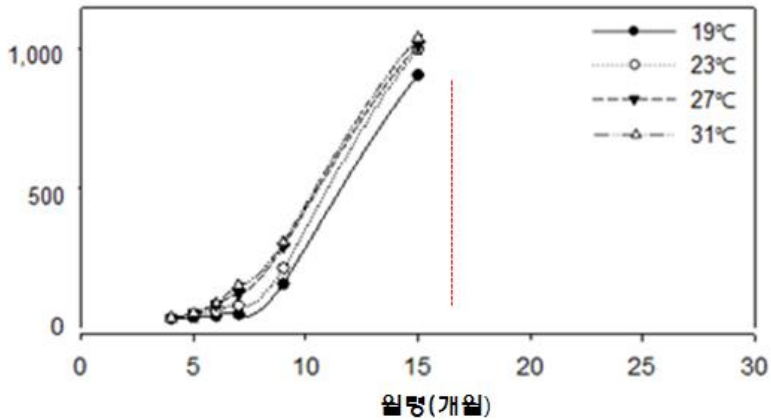


그림 36. 대왕자바리의 수온별 성장(수산종자사업단, 2020)

표 16. 대왕자바리의 성장

치어			성어			색상	적정수온 (°C)
육성기간 (month)	길이 (cm)	무게 (g)	육성기간 (month)	길이 (cm)	무게 (kg)		
5.5	20	100	15.5	35~40	750 ~ 1,000	검붉은 갈색 세로 줄무늬	25~30

* 육성기간은 수정란 입식을 기준으로 함

- 부화 직후 자어의 크기와 난황 흡수 이후 자어의 크기, 그리고 부화 성장도를 조사하였다. 측정은 전장을 기준으로 하였으며, 해당 교잡종의 성장을 비교하기 위해 자바리 순종과의 전장을 기준으로 비교 분석하였다. 부화 후 20일자까지는 자바리(*E. bruneus*) 순종과 자바리와 대왕바리 교잡종 간 유의한 차이는 없었으나, 이 후 자바리 순종에 비해 자바리와 대왕바리 교잡종은 40일자에 약 155%, 70일자에 187%의 성장을 보였다(그림 34).

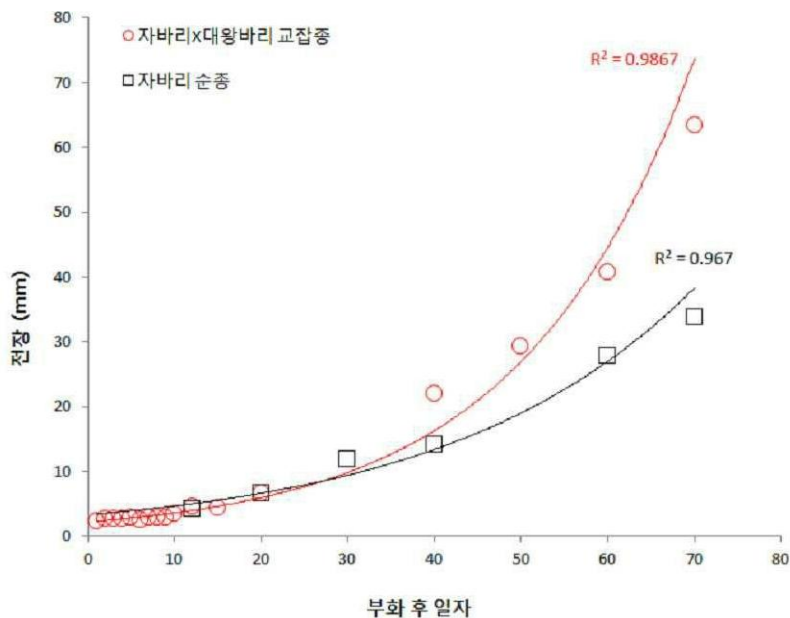


그림 37. 대왕자바리와 자바리의 성장 비교(노충환 등, 2015a)

나. 대왕자바리의 성장 특성

- 대왕자바리 (*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, Yunlong grouper), 자바리(*E. moara*) 및 대왕범바리(*E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, Zhenzhulongdan grouper, 珍珠龙胆石斑鱼)를 포함한 3개의 groupers 간의 성장 특성을 비교하였다.

- 그 결과 대왕자바리의 평균 수정율, 정상 발생률, 기형율은 각각 $55.5\% \pm 26.7\%$, $33.9\% \pm 23.6\%$, $8.3\% \pm 0.9\%$ 로 나타났다. 생후 245일까지 대왕자바리의 체중과 체장은 각각 316.7 ± 57.3 g, 22.5 ± 1.7 cm였다. 여기에 대해서 자바리는 체장 16.8 ± 1.3 cm, 체중 123.2 ± 30.2 g이었다. 대왕자바리는 자바리보다 빠르게 성장했고, 대왕자바리의 체중은 자바리의 2.6배, 체장은 약 1.3배였다.
- 생후 45-245일 동안의 대왕자바리의 성장 곡선은 $W = 0.0392L^{2.8912}$ ($R^2 = 0.9869$)이었고, 이는 대왕자바리가 이 단계에서 상대 성장(allometric growth) 상태에 있음을 나타내며, 자바리의 성장 곡선은 $W = 0.0255L^{3.0216}$ ($r^2 = 0.9908$)로, 이는 이 단계에서 등속성장(等速成長, isogony)* 패턴에 있음을 나타낸다.
- 12개월 동안 대왕자바리와 대왕범바리의 사육 결과, 대왕자바리의 생존율은 97.2%, 대왕범바리의 생존율은 93.2%~94.0%이며, 대왕자바리의 체중과 전장은 각각 700.0 ± 247.2 g, 35.3 ± 4.1 cm이었으나 대왕범바리의 전장은 28.6 ± 3.5 cm, 체중은 550.0 ± 224.8 g으로 대왕자바리의 체중은 대왕범바리의 1.3배, 전장은 1.2 배였다.
- 이 연구의 결과는 *E. moara* (♀) × *E. lanceolatus* (♂)는 이상적인 하이브리드 조합으로 빠른 성장, 낮은 기형률, 높은 생존율의 장점을 가지고 있어 대왕자바리의 양식 산업화를 위한 과학적 근거를 제공한다.
- 중간육성 시, 대량 폐사를 극복하기 위해서는 수질 여건이 나빠지는 하절기에 환수량을 늘리고 사료 공급을 줄여 수질을 잘 유지하여야 하며, 폐사가 감지되면 초기에 플로르페니콜 (Florfenicol)로 약육한 후 수질을 안정화할 수 있는 순환여과사육으로 전환하는 것이 바람직하다.

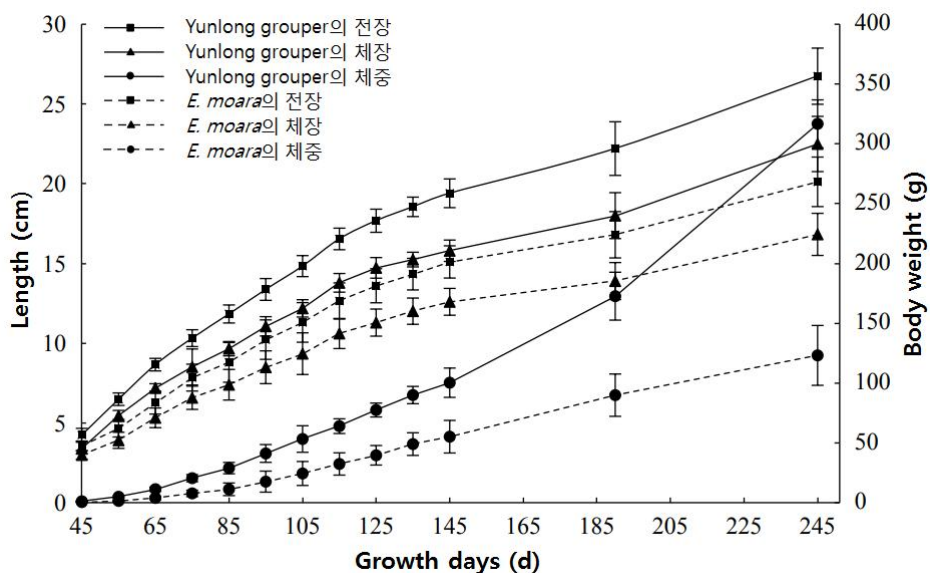


그림 38. 대왕자바리(Yunlong grouper)와 자바리(*E. moara*)의 성장 비교 (45일~245일)(李振通 等, 2019)

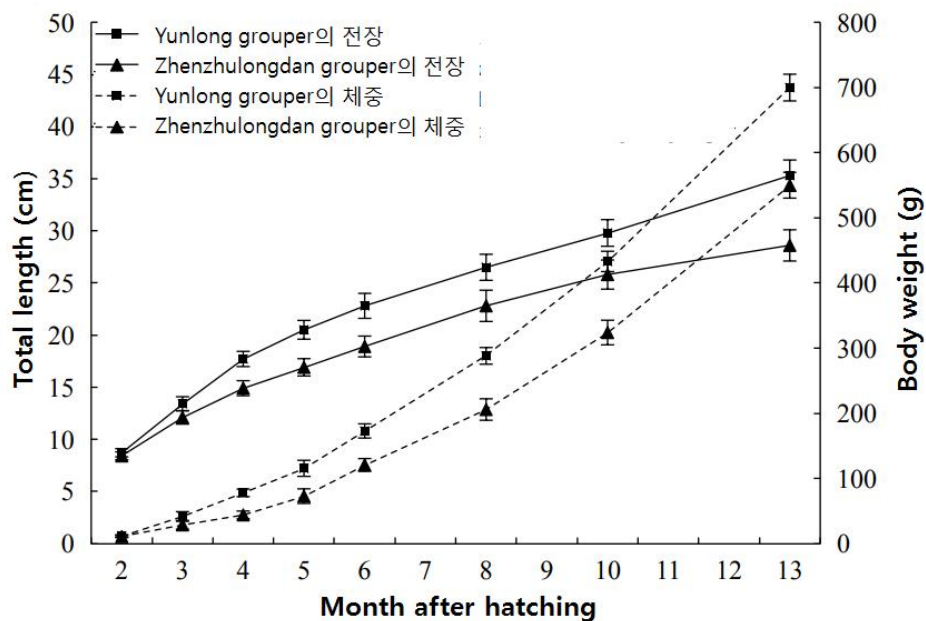


그림 39. 대왕자바리(Yunlong grouper)와 대왕범바리(Zhenzhulongdan grouper)의 성장 비교(李振通 等, 2019)

다. 대왕자바리의 저온 내성

대왕자바리(*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, Yunlong, 云龙石斑鱼), 대왕범바리(*E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, Pearl Gentian, 珍珠龙胆石斑鱼), Qinglong (青龙石斑鱼, *E. coioides* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 저온 내성 실험 결과, 대왕자바리는 20℃ 이상에서는 먹이 섭취가 정상, 14℃ 저온에서는 먹이 섭취를 중지하고 8.5℃에서 사망하기 시작하여 8℃에서 48시간에 50%의 치사 온도에 도달하였다.

대왕범바리는 온도가 15℃로 떨어지기 전에 먹이 섭취량이 정상 섭취량의 70%-80%로 저하하였다. 13℃에서는 사망하기 시작하며 12℃에서는 대부분 체표가 빨갛게 되며 수영능력이 떨어지고 11℃에서는 48시간에 사망이 반을 넘었다.

Qinglong Grouper는 저온처리 후 13℃에서 수영능력이 떨어져 거의 먹이를 섭취하지 않고, 9.5℃에서 48시간에 50%가 넘는 사망을 기록했다. 결론적으로 대왕자바리는 세 가지 잡종 중 저온 스트레스에 가장 내성이 강하였다(邵彦翔 等, 2017).

라. 종자의 수송

- 장거리 해외 수출을 위한 대왕자바리의 수송 실험은 2020년 9월 16일부터 10월 9일까지 총 3주간, 평균 700 g의 대왕자바리 300마리를 대상으로 총 212kg의 중량의 개체를 대상으로 점진적으로 수온을 낮춰 최종적으로 수송수온 15℃로 실험하였다(그림 40).
- 대왕자바리의 장거리 수송 실험 결과, 대왕자바리는 25℃에 사육하고 있던 대왕범바리 개체들을 18℃에 운송하여 수용하던 것에 비해, 물리적인 온도 및 충격 등에 민감하지 않아 장기적인 수송 형태에 적합하였다.
- 활어차를 이용해 대왕자바리의 생존율과 이송 후의 수질분석을 통해 수송으로 인한 수질변화를 확인한다.

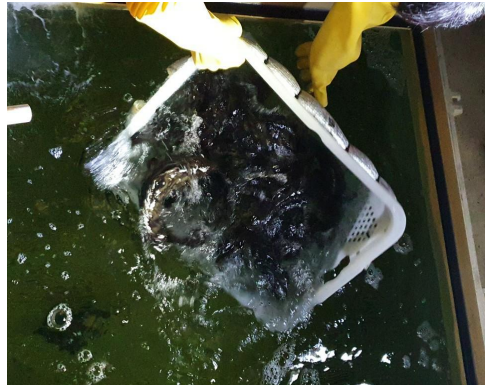


그림 40. 실험어 선적을 위한 중량 확인 및 활어차 수용(방인철, 2021)



그림 41. 종자 판매(수산종자사업단, 2020)

III. 먹이생물

해산 어류 종자의 생산을 위해서는 먹이생물인 미세조류(microalgae), 로티퍼(rotifers), 알테미아(artemia)의 생산과 자어의 성장에 따라 영양의 질을 개선하기 위한 일부 영양 강화가 필요하다.

갈색둥근바리(*Epinephelus coioides*, green grouper)의 유생은 적절한 발달을 위하여 불포화 지방산인 EPA(20 : 5n-3), 아라키돈산 (ARA 또는 20 : 4n-6) 및 DHA(22 : 6n-3)의 높은 지방 함량을 필요로 하며, 이들 지방산의 공급은 유생사육에 사용되는 먹이생물체의 결합을 통하여 유생과 종자의 생존율과 성장 그리고 색소 침착을 개선한다.

이런 이유로 대왕자바리 유생사육에 사용되는 먹이생물은 필수 지방산의 수준을 높이기 위해 처리해야 한다. 로티퍼와 알테미아의 영양을 향상시키기 위해 다양한 상업적 조제용 물질이 개발되어 있다. 바리류는 DHA에 대한 요구가 매우 높으며 특히 알테미아는 장쇄 지방산(long-chain fatty acids)을 단쇄 지방산으로 역 변환하여 DHA와 같은 필수 지방산의 수준을 낮추기 때문에 DHA가 높은 제품을 사용하는 것이 좋다. 이러한 영양 보충 제품은 액체 또는 분무 건조 제품으로 포장된다.

일반적인 준비는 필요한 양을 측정하고, 재료에 수화시키거나(분무 건조제품을 위하여), 유화(액체 제품을 위하여)시켜 혼합한 다음 먹이생물 배양 탱크에 적용한다. 특히 중요한 것은 적용 기간(일반적으로 <12시간) 동안 배양 탱크에서 높은 용존산소 수준을 유지해야 하며, 먹이생물이 고밀도인 경우에는 순수 산소 또는 산소 보충 공기가 필요하다.

1. 조류 배양

- 최근의 개발로 인해, 조류 페이스트(algae paste)와 조류 농축물(예: *Chlorella* sp., 10-12 g/L)은 조류-효모 배양(algae-yeast cultures)보다 위생적이며 경제적으로 가장 효과적이라는 것이 입증되었다. 조

류 페이스트와 농축물은 상업적으로 이용 가능하여 배양장에서 곧 더 이상 생산하지 않게 될 것이다.

- 그러므로 여기에서는 조류 배양에 있어 시험관 배양→ 200 ml 배양→ 5 L 플라스크 배양→ 100 L ~ 1 m³ 배양에 이르는 스케일 업 배양(scale-up culture)에 대한 배양방법은 생략하고 대량 배양(mass culture)에 대해서만 기술한다.

가. 조류 대량 배양

- 조류 대량 배양은 실외에서 5 ~ 30 m³ FRP 수조를 이용한다.
- 옥외 배양 수조는 양지바른 곳에서, 또 조류 성장을 촉진하기 위해 서쪽에서 동쪽 위치로 돌려놓는다.
- 야외 수조의 위치는 로티퍼와 원생동물로부터 오염되는 것을 최소화하기 위하여 고려되어야 한다. 이들 동물 플랑크톤이 강한 바람에 의해 조류 배양 수조로 날아갈 수 있기 때문이다.
- 여과된 바닷물과 수돗물은 청소와 충전을 위해 쉽게 접근할 수 있어야 한다.
- 강한 포기로 조류를 잘 교반할 수 있어야 한다.
- *Nannochloropsis* 배양에서, 초기 수심은 접종되는 조류의 밀도와 부피로 고려한다.
- 접종 후 조류의 밀도는 $5 \sim 10 \times 10^6$ cells/ml로 설정하고, 조류의 밀도가 20×10^6 cells/ml에 도달하면, 밀도가 10×10^6 cells/ml가 될 때까지 살균된 해수를 첨가한다.
- *Nannochloropsis*의 밀도는 봄철에 1주일에 목표 밀도인 20×10^6 세포/ml에 도달한다.
- 시비의 간격과 용량은 대량 배양조에서의 조류 성장에 영향을 미치므로, 표 12와 같이 표준 비료 양의 1/3이 매 3일마다 적용한다.
- 최고 밀도에 도달한 배양된 조류는 로티퍼에 공급되기 전이나 또는 농축되기 전에 온도 조절 수조로 옮긴다.

- 조류는 호스 끝 부분에 부착된 45 µm 플랑크톤 백 그물(plankton bag net)을 통해 거른다.

표 17. *Nannochloropsis*의 대량 배양에 사용되는 화학제품의 투여량

	수조 용량			
	100 L	1 m ³	5 m ³	30 m ³
Initial water volume	100 L	900 L	2 m ³	10 m ³
Bleach(12% sodium hypochlorite)	20 ml	180 ml	400 ml	2 L
10% Sodium thiosulfate solution	2 ml	18 ml	40 ml	200 ml
Inoculation	5 L	100 L	1 m ³	5 m ³
21-0-0(ammonium sulfate)	10 g	100 g	100 g	500 g
42-44-0(ammonium phosphate)	0.8 g	8 g	8 g	40 g
46-0-0(urea)	10 g	10 g	10 g	50 g
Fe-EDTA	0.5 g	5 g	5 g	15 g
시비의 간격	1회		3일 마다	

(Source: Çiftçi et al., 2002)

나. 세포 계수(Cell Counting)

- 성장과 오염을 조사하기 위해 각 배양 조류의 밀도를 매일 모니터링 한다.
- 조류 세포의 수는 혈구 계산기(hemocytometer)를 사용하여 현미경 하에서 모니터링 한다.
- 혈구 계산기(hemocytometer)에 의한 세포 계수
 - 혈구 계산기와 커버 글라스를 90% 알코올로 닦는다. 먼지와 지질이 없어야 한다.
 - 커버 글라스를 혈구 계산기의 패션 부분 중앙에 놓는다.
 - 커버 글라스를 단단히 밀고 가볍게 비틀어, 카버 글라스와 혈구 계산기 사이에 뉴턴 환(Newton's ring)을 형성한다.
 - 한 방울의 샘플이 커버 글라스의 면에 놓여진다.

- 시료가 너무 많아서 홈에 넘치거나 또는 너무 작아서 챔버가 불완전하게 채워지지 않아야 한다.
- 페트리 디쉬(petridish)를 준비한다. 샘플의 증발을 방지하기 위해 페트리 디쉬에 축축한 종이 한 장을 둔다. 세포가 바닥에 가라앉을 때까지 5분 동안 혈구 계산기를 페트리 디쉬에 남겨 둔다.
- 혈구 계산기는 일반적으로 세 가지 유형이 사용한다. 가장 큰 Thoma형은 1 mm x 1 mm, Burkner-Turk형은 3 mm x 3 mm이고, Neubauer형은 4 mm x 4 mm이다.

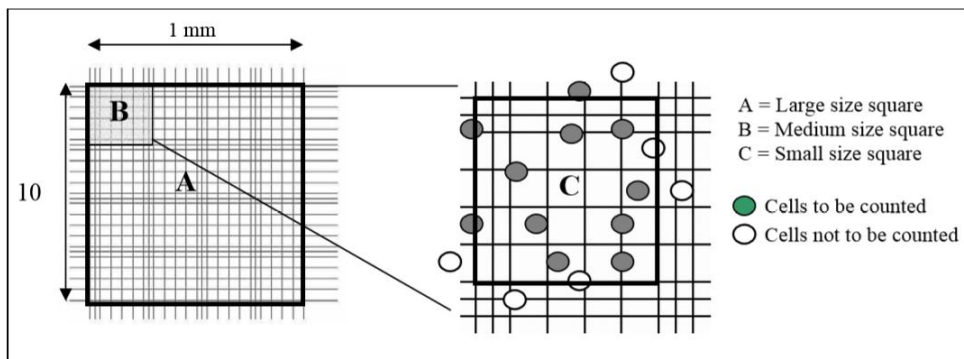


그림 42. 혈구 계산기에 의한 세포 계수(Source: Çiftci et al., 2002)

다. 오염 방지 대책

- 기본 규칙으로, 조류 배양을 하는 데 사용되는 모든 장비는 로티퍼에게 사용되는 장비와 분리되어 보관되어야 한다.
- 테이블과 조명 선반(light shelves)은 작업을 시작하기 전에, 모든 표면을 알코올로 소독하고, 하루 일과가 끝나면 세제로 씻고, 수돗물로 행구고 말린다.
- 현미경 관찰 외에 각 배양 수조의 육안 검사를 매일 해야 한다.
- 수면에 끈적끈적한 녹색 거품 또는 배양 수조 벽면의 오물이 발견되면, 로티퍼 또는 원생동물이 의심된다. 이 중 어느 하나의 경우,

1 ml의 표본을 입체 현미경으로 검사한다. 1 ml 샘플에서 오염의 증거가 발견되지 않으면, 5 L 샘플을 채취하고, 그 다음에 이 샘플을 45 μm 플랑크톤 망으로 농축하여 농축된 샘플을 현미경으로 관찰한다.

- 로티퍼가 농축 표본에서 발견되면, 액체 표백제(liquid bleach)를 15 ppm (15 ml/m³)의 농도로 30분 동안 배양조에 첨가한 후 티오황산나트륨(1.5 ppm = 1.5 g/m³)으로 중화시킨다. 로티퍼 알은 이 치료로도 생존할 수 있으므로, 같은 처리를 다음날 새롭게 부화한 로티퍼를 죽이기 위해 반복한다.
- 바람직하지 않은 원생동물이 관찰되면, 액체 표백제를 50 ppm (50 ml/m³)의 농도로 30분 동안 배양 수에 첨가하고, 그리고 나서 티오황산나트륨(5 ppm = 5 g/m³)으로 중화시킨다.

라. 농축(Concentration)

- 종자 생산 기간동안 인력을 최소화하고, 또 비수기에 기존 재고를 확보하고, 또한 대량 배양을 위한 비상 공급원으로서, 수확된 조류의 일부 또는 전부를 폴리에틸렌 중공사막(polyethylene hollow fiber membrane, 개방 직경 0.1 μm)을 통해 농축한다.
- 농축 조류는 액체 또는 냉동 형태로 보존한다. 이들 해조류는 품질이 현저하게 저하되지 않으면서 1년 이상 보존할 수 있다.
- 농축된 조류는 강한 포기가 제공되는 플라스틱 대형 병에 옮겨져서, 1~3°C에서 냉장고에 보관한다.
- 또한 조류는 비닐 백에 포장하여, 지질 함유물의 산화를 방지하기 위해 -30°C 이하의 온도에서 보관할 수 있다.
- 농축 *Nannochloropsis*의 밀도는 $5\sim 6 \times 10^9$ cells/ml, *Phaeodactylum*의 경우 $0.5\sim 1 \times 10^9$ cells/ml이다.

2. 로티퍼 배양

가. 대량 배양 환경 관리

1) 수온

- 30℃의 높은 온도에서도 대량 배양할 수 있으나 높은 수온에서는 세균과 다른 오염물질도 증가할 수 있으므로, 일반적으로 관리가 쉬운 20~25℃에서 배양한다.
- *Brachionus plicatilis* (평균 240 μm)의 최적 성장 온도는 일반적으로 20 ~ 25℃이고, *B. rotundiformis* (평균 160 μm)는 약 30℃이다.

2) DO

- 조류 용기 안에서의 로티퍼의 증식 단계 동안, 로티퍼의 산소 요구량은 미세조류의 광합성 활동에 의해서 산소량이 채워진다.
- 로티퍼의 대량 배양에서 인공 사료, 영양 강화 촉진제, 높은 밀도 및 대사 생성물은 배양액의 산소를 감소시킨다.
- DO 포화도 80% 이상 안전 범위의 산소 수준을 유지하기 위하여, 강하게 포기를 하고, 필요시 비상 산소 공급 시스템에 연결한다.

3) pH

- 허용범위는 pH 5~9이나, 7.5~8.5로 조절한다.
- 낮은 pH는 유독성 비이온화 암모니아(NH₃)와 이온화 암모니아(NH₄⁺) 사이의 균형에 영향을 주어 유독성 암모니아(NH₃) 부분을 감소시킨다.

4) 염분

- 로티퍼의 배양 가능 염분은 1~60 ppt로 매우 넓으나, 소형 로티퍼 계통(S-type strain)의 적정 염분농도는 18~20 ppt이며, 반면에 대형(L-type)은 30 ppt에서 더 잘 자란다.

5) NH₃

- 유독성 비이온화 암모니아(NH₃)는 1 mg/L 이하로 한다.

6) 포기(aeration)

- 로티퍼 배양에 포기하는 것은 산소를 공급하고, 적절한 난류를 조성하여 로티퍼와 먹이생물의 부유를 유지하는 것과 또한 수조의 청결을 최적화하는 데 필수적이다.
- 포기율과 에어 스톤의 위치 설정은 조심스럽게 조정되어야 한다.
- 적절히 강한 포기는 큰 공기 거품이 없이 수면에 평탄하게 퍼져있는 물의 난류(water turbulence)에 의해서 감지할 수 있다.
- 에어스톤의 숫자와 배치는 수조의 형태와 부피에 달려있다. 그러나 모든 경우에 침전물의 재부유를 막기 위하여, 에어스톤은 수조 바닥으로부터 약 15 cm 위에 떠 있어야 한다.

7) 로티퍼 배양수조의 청소

- 원추형 바닥을 가진 원형수조에서, 바닥 침전물은 포기없이 10-15 분 동안 침전시켜 제거할 수 있다(침전 작업 중에 DO 수준의 점검에 주의가 필요하다).
- 침전한 다음 바닥 밸브를 몇 초간 열었다가, 배출수가 다시 깨끗해졌을 때 밸브를 잠근다. 아침과 저녁, 하루에 두 번 사육수조 청소 작업을 반복한다.
- 수조벽의 수면 접촉면에 형성되는 기름층을 스폰지 또는 종이 헝겊으로 제거하여 청소를 완료한다. 결코 손을 물에 넣지 않아야 한다.
- 로티퍼 수조의 사육수는 부유성 고형물, 배설물 및 섭취되지 않은 먹이로 생긴 솜털 같은 플락(flocks)에 의해서 빠르게 오염될 수 있다. 이들 바닥 침전물의 제거는 과도한 세균 발생의 예방과 로

티퍼가 이용 가능한 산소를 증가시켜 준다.

- 로티퍼 배양수의 계속적인 포기는 부분적으로 입자의 침전을 방지한다. 입자의 제거는 입자 포집장치(particle traps)을 활용하는 것이 편리하며, 효과적으로 사용하기 위하여 하루에 최소 두 번 청소한다.
- 질병의 확산 위험을 예방하기 위하여, 배양장의 다른 구역과 재료와 장비를 절대로 교환하지 않아야 한다.

나. 로티퍼의 배양

1) 대량 배양 방법

- 로티퍼의 대량 배양에 일반적으로 사용되는 표준 배양 시스템은 “회분식 배양 시스템(batch culture system)”과 “이용 배양 시스템(exploitation culture system, 또는 반연속 배양시스템)”이다.
- 로티퍼 배양의 먹이 공급은 2개의 주요 방법이 있으며, 과거의 “조류와 빵 효모의 조합 공급”과 최근의 “인공 사료 공급”이다. 신뢰성과 더 많은 생산량 때문에 두 번째 방법이 점차 첫 번째 방법을 점진적으로 대체하고 있다.
 - 조류/효모에 의한 대량 배양은 혼하고 쉽게 이용할 수 있는 먹이 상품인 빵효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 이용한다. 빵효모는 노력과 경비를 절약할 수 있는 먹이이나, 효모에 관련된 세균을 먹는 로티퍼에게 효모는 영양가가 없다.
 - 인공 사료에 비교해서, 이 방법은 수확량이 적고, 일반적으로 하루 더 많은 시간을 요한다. 로티퍼는 높은 수준의 n-3 HUFA와 비타민으로 영양을 강화하여야 한다.

2) 대량 배양 시설

- 로티퍼 대량 배양 수조는 1~10 m³의 용적으로, 이들 수조는 FRP, PE 또는 PVC 내장 콘크리트 수조 등으로 만들어진다.

- 해수 순환과 입자 침전을 위하여 원추형 바닥을 가진 원형 수조를 이용한다.
- 로티퍼 대량 생산을 위하여 공기 배분 시스템, 냉난방 장치, 해수 가온기 등을 설치한다.
- 조류가 먹이로 이용되는 단계를 제외하고는, 로티퍼의 대량 배양은 빛이 필요 없기 때문에 일반적인 조명 시스템을 설치한다.
- 로티퍼 대량 배양은 고밀도 때문에 위생 상태를 유지하기 위한 사육 절차와 기준이 엄격하게 적용되어야 한다.
- 위생이 중요하기 때문에 표준 세척 절차를 엄격히 실천해야 한다.

3) 수조 준비

- 로티퍼 배양의 수확 후, 새 배양 주기를 시작하기 전, 아래와 같이 수조를 준비한다.
 - 유기물 찌꺼기의 덩어리를 제거하기 위하여 수돗물로 행군다.
 - 솔과 세제로 완전히 씻고 다시 행군다.
 - 수조 벽을 500 ppm 활성 염소 용액으로 씻거나 또는 살포한다. 2 시간가량 후에 수조의 물을 빼내고 염소 냄새가 없어질 때까지 잘 행군다.
 - 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다. 대안으로, 수조를 해수로 채우고 차아염소산염(hypochlorite)으로 살균하며, 이후 잔류 염소는 티오황산나트륨(sodium thiosulphate)으로 중화한다.
- 독성이 높은 염소가스 (Cl_2)가 생성될 수 있기 때문에, 차아염소산염 용액을 자외선에 노출시키거나 또는 염산(HCl)과 혼합해서는 안 한다.
- 포기 배관, 배수 밸브, 부유입자 여과막(suspended traps) 등 수조에서 사용되는 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 차아염소산염(hypochlorite)으로 살균한다.

4) 로티퍼의 접종

- 접종 로티퍼로 사용하는 로티퍼 개체군은 최소 20% 번식률(전체 로티퍼에서 난을 가진 로티퍼의 비율)을 가진 대수 증식기(log-phase)의 중간에 있어야 한다.
- 제한된 운동성, 낮은 포만도, 알의 부재 등으로 특징되는 이미 최종 단계에 달한 로티퍼를 접종용으로 사용해서는 안 한다.
- 로티퍼 접종의 초기 최적 밀도는 150-200 개체/ml 이나, 최소 100 개체/ml 이상이어야 한다.
- 인공 먹이 공급에 의한 고밀도 배양은 500 개체/ml로 증가하는 것이 필요하다.
- 초기 밀도 200 개체/ml로 접종될 경우, 일반적으로 로티퍼 밀도는 25℃에서 4~6일 안에 최대 생산 정점에 도달할 수 있다.
- 로티퍼 배양 수조 접종은 다른 수조의 로티퍼를 사용할 수 있다.
- 접종 로티퍼로 사용하기 위하여 수확하기 하루 전에 수조 안의 로티퍼에 번식 촉진제를 먹여야 한다.
- 오염과 배양 실패 위험을 줄이기 위하여, 수평 증식 배양은 7-8회로 제한한다.
- 7-8회 수평 증식배양 후에는 접종 로티퍼를 다시 가져와야 한다.

5) 번식 촉진제

- 조류 배양 또는 인공 사료 배양 모두 로티퍼 배양액에 번식 촉진제로 vitamin B₁₂를 첨가한다.
- B₁₂ 저장액은 살균된 1L 파이렉스 병에 비타민 B₁₂ 0.1g을 넣고, 살균된 증류수를 눈금까지 채우고, 충분히 녹았을 때, 냉장고에 저장한다. 비타민 용액을 살균해서는 안 한다.
- 투여량은 일반적으로 수조의 로티퍼 배양 m³당 B₁₂ 저장액 100 ml이다. 그러나 적은 용기와 비닐 백 등에는 1 ml/L을 투여한다.
- 비타민 B₁₂는 접종 로티퍼와 함께 배양 수조에 투여한다.

6) 로티퍼의 배양 절차

- 수조를 염분농도 20 ppt로 만들기 위하여 수돗물로 희석한 살균된 해수로 채운다. 수돗물의 염소 농도를 점검하여, 만일 염소가 있으면 티오황산나트륨(sodium thiosulphate)으로 중화하여야 한다. 먹이로 공급될 조류 배양을 위한 충분한 공간(수조 부피의 약 30%)을 남겨두어야 한다.
- 에어 스톤을 배치하고 포기를 한다.
- 섬모충과 불순물 걸름망을 설치한다.
- 오염을 점검하고, 접종 로티퍼로 사용할 최상의 적정 로티퍼 배양 백(rotifer bags)을 선택한다.
- 선택된 집단(batches) 또는 집단들을 여과한다.
- 150-200 개체/ml의 초기 밀도가 되도록 수조에 접종한다. 접종한 날을 일령으로 0일로 한다.
- 로티퍼의 초기 먹이로 수조 부피의 20%만큼 배양 조류를 추가한다. 배양 조류는 대수 증식기에 있어야 하며, 오염된 것에서 가져 오지 않아야 한다.
- 다음 날(일령 1일)에 배양 조류로 남은 10% 용적을 채운다.
- 수조 일지에 배양 로티퍼의 성장, 공급된 먹이 및 측정된 환경 항목에 관한 모든 정보를 기록한다.
- 일령 1일부터 기록된 로티퍼의 밀도에 따라 표 13의 비율로 빵효모(bakers' yeast)를 공급한다.
- 신선한 효모의 1일 공급량은 4등분으로 나누어, 오전 2시, 8시, 오후 2시, 10시에 공급한다.
- 각 효모 먹이는 냉장고에 보관된 효모 덩어리에서 무게를 달아 잘라, 100 g/L의 농도로 수돗물을 채운 플라스틱 양동이에 보관한다.
- 부엌용 또는 공업용 믹서(blender)로 효모 세포를 분리하여 물에 현탁한다.

표 18. 로티퍼의 밀도별 빵효모의 공급률

로티퍼의 밀도(No./ml)	일일 먹이 공급률 (효모g/백만 로티퍼)
50 이하	3
50 ~ 100	2
100 이상	1

- 즉시 먹이로 주어야 하고, 남은 것은 전부 폐기하여야 한다. 효모는 매번 먹일 때마다 새로 신선한 것으로 준비해야 한다.

7) 수확

- 로티퍼는 어류의 먹이로 주거나 새 수조에 접종 로티퍼로 사용되기 전에 여과하고 행군다.
- 필터의 용량은 완전 수확과 행군에 필요한 시간 동안 전체 로티퍼 개체군을 안전하게 유지하기에 충분한 크기가 되어야 한다.
- 필터의 내측을 따라서 부드러운 기포를 만드는 것은 필터가 막히지 않도록 유지하는 데 도움이 된다.
- 중앙 배수 원추형 저면 원형수조의 수확과 행군 기준
 - 항상 깨끗하고 차아염소산염(hypochlorite)으로 살균된 수확 장비를 준비한다.
 - 로티퍼가 여과 작업에 안전하게 견딜 수 있는 산소 과포화 매질(용존산소 10 ppm)을 만들기 위하여 10~15분 동안 수확될 수조에 순수 산소를 주입한다.
 - 10~15분 동안 에어레이션을 중지하고, 바닥 침전물을 제거한다.
 - 중앙 배수구에 배수구로부터 15 cm에 구멍들이 있는 PVC 배수 파이프를 끼우고 5분간 기다린다.

- 수조 바닥 배수 밸브에 연성 호스를 끼우고 다른 끝을 수확할 장치에 둔다.
- 밸브를 열고 80 μm 나일론 망을 사용하여 여과 수확을 시작한다.
- 물의 흐름을 조절하여 필터가 막히거나 사육수가 넘치지 않게 한다. 100 L/min.을 넘지 않게 한다.
- 로티퍼 농축액이 넘치지 않도록 필요할 때마다 물의 흐름을 멈추고, 막힌 이전 필터를 청소한다.
- 수확하는 동안, 비커 또는 페트리 디쉬(petri dish)를 가지고 약간의 여과수의 표본에 의해 여과망을 통과하는 로티퍼의 손실여부를 점검한다.
- 여과의 끝에, 밸브를 잠그고, 원 사육수조와 같은 온도에서 여과 살균된 해수로 10-15분 로티퍼를 행군다.

8) 로티퍼의 난 분리

- 로티퍼 알을 몸에서 분리하기 위해 그림 45의 절차로 수행한다.
 - 약 200 L의 로티퍼가 120 μm 자루 망(bag net)을 통해 농축하고, 그리고는 믹서에 넣는다.
 - 로티퍼를 분쇄하고 알을 분리하기 위하여 10초 동안 가동한다.
 - 균질화된 로티퍼는 두 층의 필터 스크린을 통해 분리한다. 위 망목(120 μm)은 일부 로티퍼를 거르고, 알은 아래 망목(80 μm)에서 수집한다.
 - 알은 멸균된 해수로 잘 씻어 낸다. 일부 로티퍼는 여전히 살아있어, 이 로티퍼들이 알을 오염시킬 수 있다. 모든 로티퍼가 죽었다는 것을 확실히 하기 위하여, 80 μm 여과기망 위의 알을 10초 동안 한번 더 혼합한다.
- 분리된 알은 멸균된 해수로 다시 세척한다. 이 분리된 난은 100 L의 해수와 이산화염소(chlorine-dioxide, 400 ppm)가 함유된 신선한 조류를 채운 원통형-원추형 수조에서 배양한다.

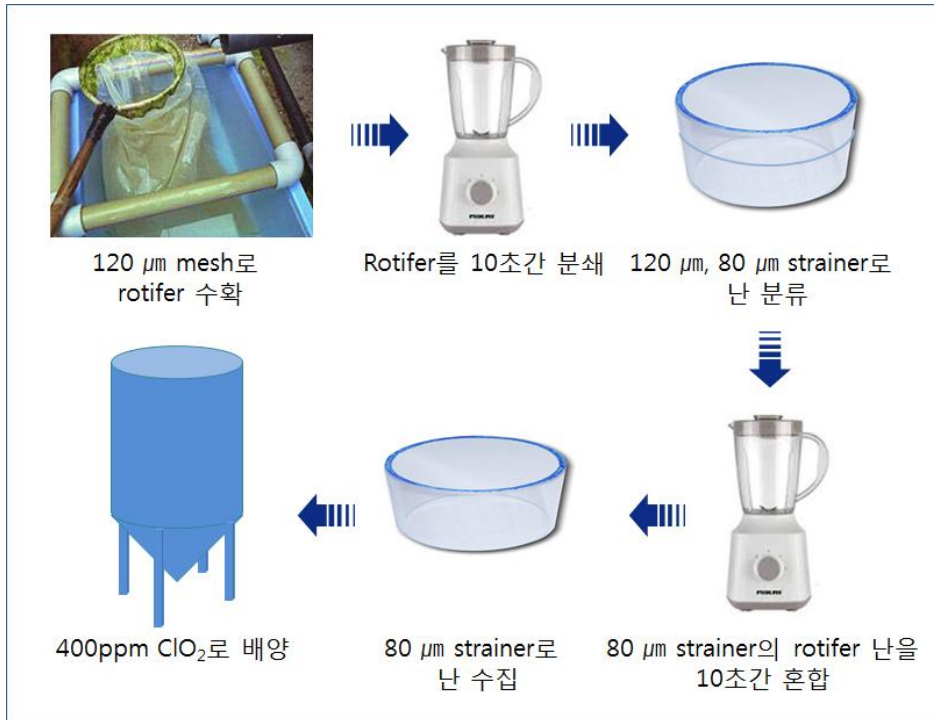


그림 43. 로티퍼(*B. plicatilis*) 난의 분리(Source: Çiftci et al., 2002)

9) 로티퍼의 살균

- 어류 자어에 대한 세균의 대량 유입은 먹이생물 사슬을 통해 일어난다. 그러므로 로티퍼 배양은 위생 관리가 필요하며, 위생 상태가 불량한 경우 *Vibrios*, *Aeromonas* 및 *Pseudomonas* 등으로 인한 높은 세균 부하를 받는다.
- 유입수 및 수조와 유지 관리 자재의 살균(UV 또는 염소)에 의하여 병원균의 유입으로부터 보호되어야 한다.
- 과거에 먹이생물은 항생제를 조합하여 살균하였다. 그러나 약물 내성 세균 균주의 발생을 예방하기 위하여 더이상 권장되지 않는다.
- UV 조사(38 mW/cm^2)에 대한 로티퍼의 노출은 2분 이내에 세균 부하

- 를 약 90% 이상 감소시켜, 생존율을 향상시키는 데도 효과적이다.
- 먹이생물에 대한 세균 부하는 먹이생물의 장을 비우기 위하여 영양 강화 전의 짧은 단식과 그리고 특히 영양 강화 후 담수조에서의 철저한 세척에 의해서 감소된다.

다. 로티퍼의 영양 강화

1) 로티퍼의 영양 강화

- 현재 영양강화는 주로 특별히 제조된 영양 강화제를 사용하며, 조류만을 사용할 때는 불가능한 높은 수준의 EPA, DHA 및 vitamin C를 로티퍼가 함유할 수 있게 해준다.
- 로티퍼는 대량 배양 과정 중의 수조에서 또는 수확 후 전용 영양 강화 수조에서 영양 강화할 수 있다.
 - 배양 과정 중에 배양 수조 안에서의 영양 강화는 전체 배양 기간 동안에 연속적이기 때문에, 조직의 영양 강화를 가져온다. 획득된 지방산 비축물은 더 안정적이며, 굶주림 도중에 영양가의 빠른 감소에 적게 노출한다. 이 방법은 시간을 절약하고 취급 손실을 감소시킨다.
 - 수확 후 전용 영양 강화 수조 안에서의 영양 강화는 단기간의 영양 강화이며, 소화관의 영양 강화라고 할 수 있다. 이것은 수확과 행균, 그리고 별도의 분리된 영양 강화 수조가 필요하다.
- 영양 강화제품에 의한 영양강화는 제조사가 제공한 설명서에 따라 영양 강화를 진행한다.
- 영양 강화는 6-12시간 사이에 해야 한다.
- 영양 강화 과정 중에 자주 로티퍼의 사망률과 용존산소 양을 점검하여야 한다. 용존산소는 80% 포화율 또는 4 ppm 이상이 유지되어야 한다. 필요할 경우 순수 산소를 첨가한다.
- 영양강화제의 건조제품은 생산 수조에서 직접 사용할 수 있으나, 기름이 함유된 제품은 단지 영양 강화 수조에서 사용하여야 한다.

- 거품의 집적에 의한 로티퍼의 손실을 방지하기 위하여, 필요시 영양 강화 중에 거품 방지제를 사용할 수 있다.

2) 로티퍼의 영양 강화 절차

- 농축된 로티퍼를 해수가 채워진 원통-원추형 수조로 옮긴다. 필요시 소독 용액(예, 400 ppm의 이산화염소)을 추가한다.
- 로티퍼는 500 마리/ml 이하의 밀도로 저장하며, 그리고 추가 먹이 없이 중간 정도로 포기(7.5 l/min)되는 수조에 보관한다.
- 4시간 절식 후, 로티퍼를 위한 영양 강화 배지를 넣는다. 농축된 미세조류와 HUFA가 풍부한 어유($0.15 \text{ g}/10^6$ 로티퍼)를 수조에 첨가한다.

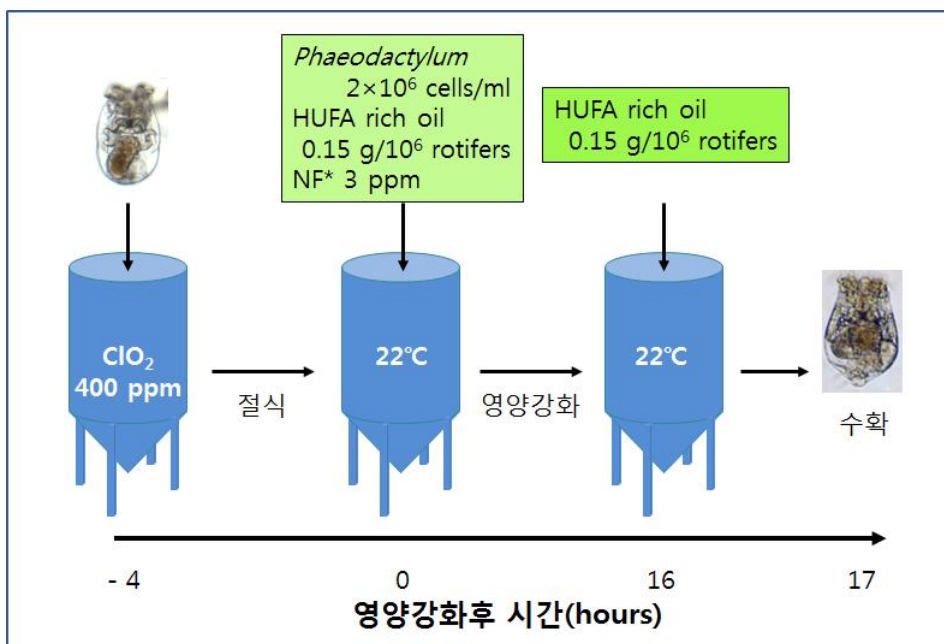


그림 44. 로티퍼(*B. plicatilis*)의 영양강화(*NF, Sodium nyfurstyrenate acid)
(Source: Çiftci et al., 2002)

- 필요 시, 로티퍼에서 자어에 도입되는 박테리아 부하를 최소화하기 위하여, 살균을 위한 적정 소독 용액을 첨가한다.

- 로티퍼가 기름과 기포에 응집되는 것을 피하기 위하여, 포기는 엄격하게 통제하여야 한다.
- 영양 강화 시작 16시간 후에, 같은 양의 HUFA가 풍부한 오일을 첨가한다.
- 영양 강화된 로티퍼의 수확은 영양 강화 시작 17시간 후에 한다.

라. 영양 강화 로티퍼의 저장

- 어류 자어에 의해 즉시 소비되지 않은 로티퍼의 영양분 함량은 빠르게 감소한다. 굵은 로티퍼의 경우, 총 PUFA량의 손실은 18℃에서 6시간 후에 60%에 이른다. 미세조류가 있는 green water에서 조차, 로티퍼의 PUFA량의 손실은 6시간 후에 약 40%에 달한다.
- 영양 품질의 저하를 방지하기 위하여, 어류에 즉시 먹이지 않은 영양 강화된 로티퍼는 저온 저장고에 저장하여야 한다.
- 소비하고 남은 영양 강화 로티퍼는 저장 시 영양 손실을 방지하기 위하여 저장 시간이 14시간을 초과해서는 안 된다.
- 저장 온도는 단열 수조와 아이스 백 등에 의해 5~10℃ 사이를 유지해야 한다.
- 로티퍼의 저장 밀도는 2,500~3,000 개체/ml를 초과하지 않아야 하며, 로티퍼 저장의 산소는 4 ppm 이상 되어야 한다.

마. 로티퍼의 양적·질적 평가

- 배양 로티퍼 개체군의 양적, 질적 평가를 위해 매일 점검한다.
- 각 용기, 플라스크, 백 및 수조로부터 1 ml 표본을 하고, 입체현미경(stereoscopic microscope) 아래서 관찰한다.
- 모든 배양 정보는 각 배양에 대한 개별 파일에 기록되어야 한다.

표 19. 로티퍼의 평가 기준

양적 평가 기준	질적 평가 기준
----------	----------

○ ml당 로티퍼의 총 마리 수 ○ ml당 난의 총 개수 ○ 총 로티퍼 수에 대한 총 난 수의 %로 산정한 번식률	○ 개체당 평균 난 수(추산) ○ 포식률(위의 먹이 유무)(공복: 0, 중복: +, 만복: ++) ○ 운동성(활발: ++, 비활발: +, 없음: 0) ○ 먹이 여과(섬모관의 활동성) ○ 배양조 표면의 거품의 유무 또는 배양 용기의 벽과 바닥의 침전물 ○ 원생동물, 곰팡이, 세균총 등 기타 미생물의 유무 및 동정과 빈도 (무: 0, 중간 오염: +, 대규모 오염: ++)
---	--

2. 알테미아 배양

알테미아(artemia)는 생산 비용과 자어에 유해한 박테리아, 바이러스 및 기타 원하지 않는 미생물, 그리고 때로는 살충제와 중금속을 보유하고 있기 때문에, 최근에 배양장과 자어 사료 제조업체는 미립자 사료의 조기 먹이 길들이기로 알테미아에 대한 의존성을 줄이려고 한다.

가. 내구란의 선정

- 세계의 여러 다른 지역에서 생산한 많은 종류의 브라인 쉬림프 내구란이 판매되고 있으며, 각기 다른 nauplius 유생 크기와 영양가 및 부화 특성을 가지고 있다.
- 알테미아 내구란의 계통을 구별하는 특성은 g당 내구란의 수와 부화 효율(내구란 g당 생산된 nauplius 수)이다.
- 최상 계통의 내구란은 부화된 내구란의 g당 29-30만 노플리우스를 생산할 수 있으며, 95%에 가까운 부화율을 가진다.
- 품질이 좋은 내구란을 선정하여 24시간 생산주기의 동기화를 유도한다.

나. 내구란의 살균

- 알테미아 내구란의 난각은 일반적으로 세균, 곰팡이의 포자 및 기타 미세생물에 의해 오염되어 있다.
- 어류의 자어는 처리되지 않은 빈 난각, 미부화 내구란 또는 내구란 부화액 잔류물 등이 자어 사육 수조에 유입되었을 때 감염될 수 있다. 그러므로 내구란은 접종 전에 살균하여야 한다.
- 내구란의 살균은 최대밀도 50 g/L에서 차아염소산염 용액에 침지하여 할 수 있으며, 처리 시간은 활성 염소의 농도에 따라 변한다(예: 200 ppm 염소 용액에서 20분, 또는 10,000 ppm 용액에서 1분).
- 125 μm 망목의 체로 내구란을 건지고, 충분한 담수로 행군다. 행구어진 내구란을 배양 수조로 옮긴다.
- 상업용 표백제의 경우, 염소 농도는 5-15%의 범위이며, 사용될 표백제의 실제 염소 농도를 점검하는 것은 필수적이다.

다. 내구란의 부화

1) 부화 수조

- 수조 형태는 일반적으로 원추형 바닥을 가진 원형 수조이다.
- 수조 내부는 백색 젤 코팅이 되어 있고, 수확을 위하여 원추 끝 가까이에 반투명 창을 가지고 있다.
- 밸브 달린 배수관이 원추 끝에 설치되어 있다.
- 부화는 200~1,000 L 크기의 용기를 사용하나, 대량으로 부화시킬 때에는 이보다 큰 수조를 사용한다.
- 내구란이 떠있을 수 있도록 심한 물의 요동을 일으키기 위하여 수조 바닥 가까이에서 강하게 포기한다.

2) 부화 조건

- 적정 부화 수온: 28~30℃
- 염분: 염분농도 35 ppt의 여과 살균 해수를 사용한다. 내구란을 빨리 부화시키기 위해서는 담수를 30% 정도 채워주는 것이 좋다.
- 용존산소: 4 ppm 이상
- pH: 8 이상을 유지하며, 필요하면 중탄산나트륨(NaHCO_3 , sodium bicarbonate)을 1당 약 1g(미리 녹임)의 비율로 첨가
- 조도: 첫 배양 시간 동안 수면에서 2,000 lux의 강한 조명을 한다.
- 내구란의 배양 밀도: L당 2.5 g

라. 노플리우스의 수확

1) 수확 시기

- 부화는 수온 28~30℃에서 20~24시간이 지나면 이루어진다.
- 알테미아 노플리우스는 부화 직후 에너지가 풍부한 I령 유생 단계에서 수확되어야 한다.
- 적정 수확 시간을 예측하기 위하여 5 ml 피펫으로 배양수를 표본하여 노플리우스와 부화직후의 난각이 아직 붙어있는 배아(umbrella stages)를 현미경으로 점검한다.
- 수확 전에 포기를 멈추고, 10분 동안 방치하여 부화되지 않은 내구란을 가라앉히고, 빈 난각을 부유시킨다. 그런 다음, 배수관의 정제된 물과 부화되지 않은 내구란을 배출시킨다.
- 난각과 노플리우스 유생을 분리하기 위해서는 높은 염분의 바닷물(45 psu)을 사용하는 것이 좋다.
- 부화한 노플리우스는 밸브를 열어 114 μm 나일론 주머니 망(30 × 60 cm)을 사용하여 농축하고, 농축된 노플리우스 유생을 수돗물로 씻어낸다.

2) 부화율 평가

- 부화 결과를 평가하는 두 주요 기준은 부화율과 부화 효율

(hatching efficiency)이다.

- 부화율은 내구란 100개당 부화한 노플리우스의 수이다. 좋은 집단 은 약 90~95%의 부화율을 가진다.
- 부화 효율은 내구란 g당 생산된 노플리우스의 수이다. 최상급 품 질의 내구란은 g당 약 30만 마리의 유생을 수확할 수 있다.

3) 알테미아 노플리우스의 살균

- 어류 자어에 대한 세균(bacteria)의 대량 유입은 먹이생물 사슬을 통해 일어난다. 위생 상태가 불량한 경우, Vibrios, Aeromonas 및 Pseudomonas 등으로 인한 높은 세균 부하를 겪는다.
- 과거에 먹이생물은 항생제의 조합을 사용하여 살균하였으나, 더 이상 약물 내성 세균 균주의 발생을 예방하기 위하여 더 이상 권장되지 않는다.
- 먹이생물의 세균 부하를 줄이기 위하여, 영양 강화 전에 먹이생물 의 장을 비우기 위한 짧은 단식과 영양 강화 후 담수조에서의 철저한 세척을 한다.

마. 영양 강화

1) 영양 강화

- 알테미아 노플리우스 유생은 불포화지방산(22:6 ω 3)이 없거나 극히 미량이므로 먹이생물을 치어에 공급할 때에 영양 강화를 하여야 한다.
- 알테미아 부화 유생의 입은 보통 6~8시간 전후에 열리므로, 입이 열린 후 영양 강화를 하여야 하며, 영양 강화 시간은 12시간 전후 이다.
- 알테미아의 메타노플리우스(metanauplii)는 전형적으로 후기 자어 의 먹이로 이용된다. 그러나 메타노플리우스는 낮은 영양가로 인 하여 필수적인 n-3 HUFA가 풍부한 전용의 영양 강화 먹이에 의

해서 향상되어야 한다.

- 그러한 먹이는 II령(instar II)과 III령(instar III)의 유생 단계 동안 알테미아가 활발히 먹을 때에만 주어질 수 있다. 알테미아의 첫 먹이 섭취는 실제로 II령 단계로의 탈피와 일치한다.
- 최상의 결과는 부화 시간과 탈피 속도를 정확히 알 때 얻어진다. 영양 강화의 시작은 관찰에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 첫 18시간 후, 매시간 소표본을 만들어 현미경 아래서 점검한다. II령 단계의 출현은 I령보다 크고, 위장관(gastrointestinal tract)이 있기 때문에 쉽게 발견할 수 있다. 영양 강화는 첫 II령 단계가 나타나자마자 시작하여야 한다.
- 영양 강화 과정의 기간은 요구되는 HUFA의 함량에 달려 있다. 완전한 영양 강화는 24시간이 걸리고, 영양 강화 유화액의 투여량은 0시와 12시간 후 두 번 투여한다. 단기 영양 강화는 12시간이 걸리고 단지 초기 투여량만 공급한다.
- 적정 영양 강화 조건
 - 초기 노플리우스 밀도: 150,000-300,000 nauplii/L 이다.
 - 노플리우스를 부유시키기 위한 강한 물의 교반과 전 영양 강화 기간 동안에 4 ppm 이상의 용존산소를 유지하기 위한 산소의 공급이 필요하다.
- 생산자에 의해서 특화된 영양 강화 먹이를 준비하고, 각 먹이에 대해 새 영양 강화 유화액을 준비해야 한다. 영양 강화 시간의 끝에 메타노플리우스를 수확하고 기름기가 있는 유화액이 배수되는 물에서 감지되지 않을 때까지 완전히 해수로 행군다.

2) 알테미아 노플리우스의 영양 강화 작업

- 해수를 중화시킨 후, 400 ppm의 이산화염소를 첨가하고 그리고 노플리우스를 수조로 옮긴다.
- 영양 강화를 위해, 미세조류와 상업용 HUFA가 풍부한 오일을 수

조에 공급한다.

- 영양 강화 시작 17시간 후, 다음날 아침 동일한 양의 HUFA가 풍부한 오일을 노플리우스에 공급한다.
- 19시간 이상 영양 강화된 노플리우스를 수확하고, 그리고 담수로 헹구고, 자어 수조에 분배한다.

3) 메타노플리우스의 저장

- 영양 강화된 메타노플리우스는 로티퍼의 경우와 마찬가지로, 4~10℃의 저온 해수에 저장되지 않는 한, 실온에서 빠르게 영양가를 잃게 한다.
- 영양 강화된 메타노플리우스의 저장 밀도는 L당 4백만 개체 이하를 유지해야 한다.

바. 알테미아 공급통의 위생관리

- 매일 알테미아 공급이 완료되었을 때, 세제와 뜨거운 물로 청소하고 30분간 차아염소산염 용액(hypochlorite solution)에 담근다. 알테미아 공급 호스와 꼭지가 막히지 않았는지 확인하여야 한다.

IV. 바리류의 질병과 대책

1. 바리와 어류 양식의 질병 현황

동남아시아의 양식산업에서 바리류는 집약적으로 널리 양식되고 있다. 그러나, 바리류의 집약적인 양식은 양식장과 부화장 모두에 심각한 경제적 손실을 초래하는 감염성 및 비감염성 질병의 발생으로 이어진다.

바리류의 대량 종자생산은 유생 사육동안 바이러스, 박테리아, 기생충 등으로 인한 각종 감염병으로 어려움에 직면하고 있다(Harikrishnan et al., 2010).

가. 세균성 질병

세균은 양식 환경에서 아주 일반적으로 감염되며 대부분의 세균성 질병의 원인체는 수중의 세균군의 일부로, 질병발생은 어류가 열악한 환경에서 부적절한 사료와 잘못된 사육 기술로 스트레스를 받을 때 일어난다(Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004).

바리류 양식에서 수많은 세균성 질병이 아시아 태평양 지역에서 보고되었다. *V. alginolyticus* 및 *V. harveyi*에 의한 세균성 질병은 바리류 양식을 포함한 다양한 어종의 양식업에서 가장 심각한 질병 중 하나이다. 병든 바리류로부터 분리된 병원성 비브리오 중에 의해 생성된 세포외 단백질 분해효소(proteases)는 중요한 유해인자이다.

비브리오병(Vibriosis)은 연쇄구균에 의해 발생하는 적점병 등과 관련되며, 비브리오 출혈성패혈증으로 알려져 있다. 이 질병은 *Epinephelus malabaricus*와 *E. tauvina*, *E. coioides*와 *E. bleekeri* 에서 보고되었다. 원인체는 *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*와 *V. carchariae* 등으로 바리류의 치어, 미성어, 성어와 어미에 감염한다.

임상증상으로는 체색흑화, 식욕부진 및 감퇴, 표면근처에서 기면성* 유영, 감염어는 균형을 잃고 비정상적인 유영행동을 보인다. 질병의 가장

중요한 증상은 출혈성 체표 궤양, 지느러미 끝의 부식을 시작으로 지느러미가 부패되고 점차적으로 궤양이 관찰된다. 안구돌출과 각막 불투명, 내부장기 출혈로 출혈성 이상이 복강에 관찰된다.

고염분(30~35 psu)과 관련, 세균은 감염된 지역에서 어류에 전파된다. 물과 사료 찌꺼기를 통해 전파될 수 있으며, 기생충 감염과 이동, 선별 등의 물리적 손상에 의해 확대된다. 심한 핸들링, 샘플링, 가두리망 교환, 선별과 밀식을 피하고 깨끗한 사육수의 유지가 필요하다(Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004).

*V. harvey*는 병든 양식 바리류에서 확인되었으며 바리류에서 위장염의 원인균으로 특징지어졌다. 병원성 세균인 *V. alginolyticus*, *Pseudomonas* sp.와 *Flexibacter* sp.도 감염된 바리류에서 보고되었다(Harikrishnan et al., 2010).

이외 말레이시아의 가두리 양식장에서 *E. tauvina*에서 보고된 슈도모나스 감염증 (*Pseudomonas* Infection), 동남아시아의 말레이시아, 싱가포르, 태국 등지에서 *E. malabaricus*, *E. bleekeri*에서 보고된 연쇄구균 감염증 (*Streptococcal* Infection)이 있으며, 세균성 아가미질병과 지느러미 부식 (Fin Rot)증을 일으키는 활주세균 감염증 (*Flexibacter* Infection)이 있다 (Nagasawa and Cruz-Lacierda, 2004).

나. 바이러스 질병

수산양식을 위한 대상종이나 종자 생산량의 증가에 따라 종자 생산 과정에서 질병의 발생이 심각해지고 있다. 그 원인으로서는 영양이나 환경에 기인하는 것도 있지만, 피해의 대부분은 세균이나 바이러스 등의 병원체에 의한 감염증이 대부분이다. 그 중에서도 바이러스성 질병은 사망률이 높고 효과적인 치료법이 없기 때문에, 바이러스성 질병을 방제하는 것이 종자생산에서 기술 개발의 가장 중요한 과제가 되고 있다.

최근 아시아 태평양 지역에서 빠르게 발전하는 바리류 양식 및 무역의 확대로 바이러스성 질병의 발생은 꾸준히 증가하고 있으며, 양식 산업에

막대한 경제적 손실을 초래하고 있다. 바리류는 육식성으로 바이러스의 보균자인 생사료 또는 잡어로부터 바이러스 병원체가 들어오기 쉬우며, 바이러스를 보균한 어미로부터 수직감염의 영향을 받는다. 대부분의 경우, 자어단계가 가장 민감하다. 바이러스 감염에서 생존한 개체는 바이러스 병원체의 보균자가 될 수 있다.

1) 바이러스성신경괴사증 (Viral Nervous Necrosis, VNN)

자바리(*E. bruneus*)의 종자 생산과 양식과정 중에 발생하는 바이러스병인 바이러스성 신경괴사증(VNN) 주로 해산어의 자치어기에 발생하는 특유의 질병으로 중추신경에 감염되는 증상으로 인해 바이러스성 신경괴사증이라는 이름이 붙었다.

1994년 이후 신경괴사바이러스(NNV)로 인한 바이러스성신경괴사 (VNN) 질병이 양식된 바리류에서 지속적으로 보고되었으며, 생후 1개월 및 2개월 유생 및 치어에서 항상 가장 높은 사망률 (80~100%)이 발생하였다.

VNN은 10개 과의 39종 이상의 해산어종에서 대량폐사를 일으키는 가장 중요한 바이러스 질병으로, 심각한 발병은 외해에서 그물 가두리 양식 동안에 바리류인 붉바리(*Epinephelus akaara*), 갈색둥근바리(*E. coioides*), 갈색점바리(*E. fuscoguttatus*)에서 보고되었으며, 바리류외에 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 바라문디(*Lates calcarifer*), 유럽농어(*Dicentrarchus labrax*) 및 터봇(*Scophthalmus maximus*) 등 많은 양식 어종의 유생에서 발견된다.

본 병의 원인이 되는 바이러스는 RNA를 유전자로 하는 소형의 구형 바이러스로서 노다바이러스과(Nodaviridae)의 Betanodavirus 속의 어류(Piscine) Nodavirus이며, 직경이 25~30nm인 단일 가닥 RNA segment 2개로 구성된 게놈을 가진 작고 구형의 외피(envelope)를 갖지 않은 바이러스이다.

VNN 질병은 해산어 중 가장 피해가 큰 바이러스 감염이다. 모든 성장 단계에 감염되며 대량 폐사는 20일령 이하의 유생기에서 발생한다. VNN

은 치어기에 70% 이상의 폐사를 가져오는데 2.5~7.5cm에서 100% 폐사 발생, 15cm 이상에서 폐사율은 20% 이하이다.

VNN 감염어의 전형적인 외부증상은 선회, 돌진 유영, 공중제비하는 유영행동과 부레의 팽창이다. 일부는 바닥에 가라 앉고 다시 표면에 떠오른다. 감염된 자어와 치어는 복부가 팽만된다. 감염된 어류는 무기력하고 체색이 창백해지며 식욕이 없다.

야생 어류가 바이러스의 비축 또는 운반자로 추측되고 있으며, 본 병은 부모로부터 자식에게 감염된다는 점에서 PCR 검사로 바이러스를 가지고 있지 않은 친어만 선별하여 채란에 사용하고, 또한 수정란의 소독, 사육수의 살균을 하는 대책이 효과적이라는 것이 밝혀졌다.

예방책으로 VNN 보균어는 자어의 바이러스 감염원이므로 산란 전·후에 VNN을 스크리닝하는 것은 아주 중요하다. 단지, VNN 음성 친어는 산란이 가능하나 오존이나 포비돈요오드를 이용하여 난의 소독이 필요하다. 이런 과정은 바이러스 수직감염 예방에 아주 효과적이다.

부화장에서의 엄격한 부화 관리가 VNN 예방 관리에 아주 중요하다. 바이러스는 감염된 사육수나 사육도구를 통해 쉽게 전이될 수 있는 가능성이 매우 높다. 탱크에서 유생사육 밀도를 낮춤으로 바이러스 전파의 가능성을 저하시키는데 도움이 될 수 있다.

사육수 온도가 높은 경우에 폐사율이 높고 질병 증상이 빨리 나타나므로, 수온조절이 질병발생 감소에 도움이 된다.

VNN과 관련된 대량 사망은 여러 종의 바리류와 농어에서 일반적으로 여름에 발생한다는 것이 널리 알려져 있으며, 대량 사망 동안의 수온은 25~28℃ 범위로, 기온이 23℃ 이하로 내려가면 사망률이 멈췄다.

종자기에 발생하는 이러한 바이러스성 질병은 종자생산을 위한 친어가 감염원이 되어 원인 바이러스가 난을 통해 자어에 감염하는 수직 전파가 주된 감염 경로로 질병 방제 대책으로서 친어의 적정 관리가 중요하다.

종자생산 과정에서 발생하는 바이러스성 질병의 원인 바이러스의 전파에는 수직 전파와 수평 전파가 모두 깊이 관여하고 있다.

가) 수직전파

수직 전파에 대해서는 종자 생산 과정에서의 바이러스성 질병에 의한 피해가 문제가 되는데 친어가 수직 전파의 중요한 감염원이 된다.

흑점줄전갱이에 있어서 VNN은 질병의 발생 상황으로 보아 친어로부터 종자 생산 수조로 반입된 바이러스에 기인하고 있다고 생각된다. 즉, 산란 직전의 친어의 난소에서 효소 항체법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)에 의해 NNV의 4가지 유전자형(genotype) 중 하나인 Striped jack VNN (SJNNV)이 검출되었고, 친어의 혈액 속에서는 항 SJNNV 항체가 검출되었다. 또한, 친어의 난소 및 정소의 샘플에서는 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction: PCR)법에 의한 SJNNV 검출 결과와 그것들로부터 얻은 부화 자어에 있어서의 SJNNV 감염과의 사이에 상관성이 인정되어 친어로부터 난을 통해 자어에 수직 전파하는 것이 확인되었다(森広, 虫明, 2006). 이러한 결과로부터 PCR법에 의한 채란용 친어에서의 SJNNV 검출 결과에 따라 PCR 음성 친어의 선별은 VNN의 방제 대책으로서 유효하다는 것이 확인되었다.

또한 흑점줄전갱이에서는 산란기간 동안 다회 산란으로 인해 산란 후기에는 스트레스 반응이 인정되어 산란 당초에 PCR 검사 음성의 개체도 양성으로 변하는 사례가 있으므로, VNN 발생을 감소시키기 위해서는 산란기 초기의 수정란을 종자 생산에 제공할 필요가 있다. 이 밖에 수직 전파의 방제 대책으로 잔류 옥시던트(0.5 mg/mL에서 30초)에 의한 수정란 소독의 유효성이 보고되고 있다.

나) 수평전파

수평 전파의 경로로는 1) 친어 후보군으로 반입한 천연어로부터 양성중인 친어에의 감염 2) 친어 육성용의 이료로 사용되는 천연 어패류로부터의 친어에의 감염과 그 먹이 자체에 의한 시설의 오염 및 3) 천연어에서 방출된 바이러스가 혼입되어 있는 연안수를 사육 용수로 도입하는 데 따

른 친어나 종자에 감염이 예상된다.

이들 요인에 의해 유래된 바이러스를 종자 생산시설에 반입하지 않도록 대책을 강구할 필요가 있다. 이를 위해 채란할 때에는 사전에 친어의 바이러스 검사를 실시하는 동시에 숙주 체내에서의 바이러스 증식이나 감염을 조장하지 않는 적절한 채란 및 사육관리 기술의 개발이 필요하다. 또한 친어의 먹이에 대해서도 천연 어패류를 생먹이로 사용하는 것보다 대상종의 영양 요구에 맞는 배합사료 등을 사용하는 편이 바이러스 오염의 가능성을 낮출 수 있다.

또한 연안에서 취수한 사육용수는 살균 소독하여 친어 양성과 종자 생산에 사용할 필요가 있다. 이러한 대책에 의해 종자기에 문제가 되는 바이러스의 종자 생산 수조로의 반입을 방지하는 것이 가능할 것이다.

2) 이리도바이러스 감염증 (Iridovirus Infection)

이리도바이러스는 참돔, 돌돔, 농어, 방어, 능성어, 복어 등 적어도 50종의 어류 종에서 분리되어 확인되었으며, 중국 및 동남아시아 국가의 바리류 양식에 상당한 경제적 손실을 초래했다.

이리도바이러스과(Iridoviridae)는 이리도바이러스(Iridovirus), 클로리이리도바이러스(Chloriridovirus), 라나바이러스(Ranavirus), 림포시스티스바이러스(Lymphocystivirus), 메갈로사이티바이러스(Megalocytivirus)로 5개의 속으로 분류된다.

바리류에 감염을 일으키는 이리도바이러스는 Fish Lymphocystis Disease (FLD), Blister Disease(수포병), 참돔 이리도바이러스병 (Red Seabream Iridovirus Disease, RSIVD), 기면성 능성어 질병 (Sleepy Grouper Disease, SGD), 대만 능성어 이리도바이러스병 (Grouper Iridovirus Disease of Taiwan, TGIVD), Singapore Grouper Iridovirus Disease (SGIVD), Grouper Iridovirus Disease (GIVD), Grouper Spawner Iridovirus Disease (GSIVD) 등으로 분류된다. Fish Lymphocystis Disease를 제외하고 다른 이리도바이러스 병원체는 전신성 감염을 일으킨다.

가) 기면성 능성어 질병 (Sleepy Grouper Disease, SGD, 嗜眠症)

바리류의 유생이 불충분한 영양소 섭취로 인해 바이러스 감염에 취약할 때, 이유(離乳)와 변태 사이에 주로 발생한다. 1994년 싱가포르의 brown-spotted grouper에서 처음보고 되었다. 최근 SGD는 싱가포르의 일부 해산 가두리 양식장에서 상당한 경제적 손실을 초래했다.

나) Grouper Iridovirus Disease (GIVD)

Grouper iridovirus (GIV)는 동남아시아의 바리류를 포함한 관상어 및 양식 어류에서 높은 사망률 및 막대한 경제적 손실을 초래하는 심각한 질병이다. 전 세계적으로 이리도바이러스 병원체는 지난 10년 동안 30종 이상의 바리류 종을 감염시키는 가장 중요한 병원체 중 하나로, 숙주에는 양식 *E. malabaricus* 및 *E. tauvina*와 같은 양식 바리류의 종과 참돔, 돌돔 및 방어와 같은 몇몇 중요한 양식 어종이 있다.

양식 바리류에서 이리도바이러스 감염 사례가 대만에서 보고되었는데, 사망률은 30% (성어)에서 100% (치어)까지 다양했다.

다) Singapore Grouper Iridovirus Disease (SGIVD)

Singapore grouper Iridovirus(SGIV)는 바리류 양식에 상당한 경제적 손실을 입히는 주요 병원체로 Brown-spot grouper와 Malabar grouper에서 처음 분리되어, 새로운 ranavirus로 확인되었다.

다. 기생충성 질병

1) 원생동물 감염증

원생동물(原生動物, Protozoa)은 현미경적 단세포 생물로 숙주의 내부 또는 외부에 기생하며, 숙주 내에서 복제 할 수 있다.

가) 아밀로오디늄증(Amyloodiniosis)

아밀로오디늄증의 원인체는 와편모조류인 *Amyloodinium ocellatum*으로, 감염어는 물체에 몸을 문지르고 비정상적인 발작성 호흡과 불균형의 움직임을 보인다. 수표면과 에어 공급원 근처에서 모여서 움직인다. 체색 흑화와 아가미 백탁이 나타나며, 부분적 충혈과 호흡률이 증가된다.

어류에서 어류로 전파되며, 숙주 밖의 생활사에서 재생산과 세포분열이 이루어진다. 감염요인은 고밀도사육, 수질의 높은 유기물질 농도와 핸들링 스트레스이다. 섭이 후 성숙 영양체는 숙주에 남아 뿌리를 부착하여 영양체로 된다. 무성생식 분열이 몇 차례 일어나며, 운동성 포자가 방출되어 새로운 숙주에 감염된다. 아가미 새엽의 부착지 근처에 $150 \sim 350 \times 15 \sim 70 \mu\text{m}$ 크기의 길게 늘어 뜨린 붉은 반점의 서양배 또는 난형의 흰색의 영양체가 보인다.

예방을 위해서는 사육수의 필터 또는 UV 소독수의 공급, 새로운 집단은 격리해야 한다. 담수 약욕으로 체표와 아가미의 기생충을 탈락시킨다.

나) 백점충 (Cryptocaryosis)

섬모 기생충인 백점충(*Cryptocaryon irritans*)은 $0.3 \sim 0.5\text{mm}$ 의 구형으로 표피에 섬모를 가지고, 해산어류의 피부와 눈, 아가미를 침범해 흰색 또는 회색 반점의 백반병(white spot disease)을 일으킨다. 이 기생충은 상업적인 어류 양식장에서 빈번한 해충이 되었고 온대 및 열대 바다에서 양식되는 해산어류의 가장 파괴적인 기생충 중 하나로, 양식에 끼치는 피해 때문에 전 세계적으로 주목을 받고 있다. 잡어가 감염원이 될 수 있으며, 일부 질병은 영양 결핍과 관련한 기회감염으로 발생한다는 보고가 있다.

현미경 검정 시 체표와 아가미에서의 점액분비와 구형 또는 난형의 기생충이 확인된다. 증상은 식욕저하, 비정상적 유영, 체색흑화, 체표에 충혈, 안구돌출, 중증의 개체는 점액 과잉생산, 물체에 몸을 비비며, 호흡 곤란을 보인다. 2차 감염으로 체표 궤양을 형성한다. 예방책으로는 강한 에어레이션을 하며 2~3일간 담수에 1시간 동안 유지한다.

다) 트리코디나증(Trichodiniosis)

원충성의 트리코디니드(*Trichodinid* sp.)에 의한 감염은 일반적으로 집약적 사육시설에서 발생하는 기생성 질병이다. 원인체는 몸의 섬모 둘레 주변에 받침모양의 몸통을 가진다.

증상은 섬모에 의한 지느러미 문지름과 아가미 백탁으로 체표와 아가미에 과도한 점액분비를 보인다.

사육수의 유기물 농도가 높은 경우, 핸들링 등의 스트레스, 감염어, 물, 감염된 사육도구와 생사료를 통해 수평감염이 된다. 대책으로는 강한 에어레이션을 하면서 3일 동안 담수에서 1시간 처리한다.

이외 원생동물 감염증으로는 브루클리넬나증(Brooklynelliosis), 신장점액포자충증(Renal Sphaerosporosis), 미포자충증(Microsporidiosis)이 동남아시아의 바리류에서 발생되었다.

2) 단생흡충류 감염

단생흡충류(Monogenean)는 갈고리와 흡반으로 장기 끝에 부착하는 외부 기생충이다. 단생흡충의 대부분은 현미경으로 관찰되지만 일부는 육안으로 볼 수 있을 정도로 크다. 바리류의 주요 단생흡충은 피부와 아가미 기생충이다.

가) 피부흡충 (Skin Monogeneans)

대부분의 바리류에서 감염이 보고되었다. 원인충은 길이 2~6 mm, 캡슐형의 단생흡충류인 *Benedenia epinepheli*, *Benedenia* spp., *Neobenedenia girellae*와 *Neobenedenia* spp.이다. 이러한 캡슐형 단생흡충은 납작하며, 전방 끝에 한쌍의 흡반과 후방에 큰 후방흡반이 있다. 두쌍의 안점은 앞쪽 흡반의 뒤에 있다. 성숙한 *Benedenia* sp.의 길이와 폭은 각각 1.8~9.5 mm와 0.82~2.5 mm, *N. girellae*는 3.3~6.1×1.8~3.7 mm이다.

눈, 체표와 아가미에 부착한다. 감염어는 물체에 몸을 비비며, 이상 유영행동으로 에어레이션 근처에 모인다. 식욕을 잃고 기면상태, 중증어는

체표에 출혈을 일으키고, 안구는 불투명하다.

치료는 숙주의 내성에 따라 담수욕을 5~30분 실시하면 투명한 기생충은 하얗게 변하며 숙주로부터 탈락된다.

나) 아가미흡충 (Gill Monogeneans)

원인충은 *Pseudorhabdosynochus* spp., *Megalocotyloides* spp.와 *Diplectanum epinepheli*가 일반적이다. 길이 1~5mm 이상이다.

수표면 근처에서 비정상적인 유영행동과 식욕저하를 보인다. 점액분비가 증가하고 지느러미가 문드러지고 아가미가 창백해지며 체색 흑화가 보인다. 체표의 출혈성 병소는 중증의 경우에 공통적인 현상이다.

아가미 새엽 상피세포의 증생과 손상을 보이며, 호흡에 영향을 준다. 용존산소가 낮은 경우, 악화되며 대량 폐사를 일으킨다.

3) 이생흡충

이생흡충류(二生吸蟲類, Digenean)인 *Didymozoid digeneans*은 길고 아가미에 캡슐 또는 시스트를 형성하는 기생충이다. 작고 불투명한 흰색 또는 노란색 시스트가 감염어의 새궁(鰓弓, branchial arch)에서 발견된다.

감염된 아가미 새엽(鰓葉)은 형태가 찌그러진다. 기생충은 아가미 새엽의 상피세포의 증생을 일으키며, 점액세포 수가 증가한다. 중간숙주인 연체 복족류는 기생충의 보균자이므로 제거해야 한다.

4) 선충 (Infections caused by Nematodes)

선충(Nematode) 또는 선형동물(線形動物, Nematoda)은 분절이 없는 내부 기생충으로 보통 1~2cm이다. 바리류의 선충은 주로 *Philometra* sp., *Anisakis* sp., *Raphidascaris* sp.이다.

붉은색 또는 검은색의 마디없는 선형동물이 지느러미, 아가미 새궁, 근육, 소화관의 이상조직과 생식소에 부착하며, 중증어의 체표는 색변과 여위증상을 보인다.

먹이 섭취에 영향을 미쳐 성장률 저하, 여윌, 상품 가치를 떨어뜨린다. 생식소가 감염되면 위축과 숙주의 불임을 유발한다.

감염된 숙주 또는 생사료를 통해 수평감염되고, 성숙 선충은 알을 방출하며 자유 유영 유생으로 부화하며 중간숙주인 무척추동물에 먹힌다. 유생은 중간 숙주에서 변태하고 최종 숙주인 어류에 먹힌다. 어린 어류는 아니사키스 선충의 중간 숙주로서, 바리류에 감염된 *Anisakis* sp.는 수서 포유동물 숙주에 의해 먹힐 때까지 유생단계로 남아있다.

예방책으로는 감염사료를 먹이지 않으며, 중간 숙주(코페포다)를 제거하고 수조 바닥을 말린다. 선충의 난을 파괴하기 위해 사육시설을 소독해 주며, 사육수는 여과하여 넣어준다.

5) 갑각성 요각류 감염증

Caligid Copepods의 몸체는 부속지로 연결된 갑으로 덮혀 있는 체절로 된 외부 갑각성 기생충이다. 길이 3 mm, 폭 1.6 mm, 4쌍의 다리를 가진 난형이다. 원인체는 *Caligus epidemicus*, *Caligus* sp., *Lepeophtheirus* sp.이다.

투명하고 체표와 지느러미에 영구적으로 기생하지 않는다. 흰색 파편으로 보인다. 감염부위는 비늘이 없으며, 출혈 또는 궤양 형성을 한다, 감염어는 체표가 우둘투둘하고, 수면 근처에서 느리게 유영하고 식욕저하와 과도한 점액분비, 섬광행동*을 보인다. 중증어는 어체가 약해진다. 충분한 해수교환을 해주며, 담수욕을 10~15분 실시한다.

6) 등각류

등각류(Isopoda)인 *Rhexanella* sp.는 길이 10~50 mm, 7쌍의 다리와 1쌍의 눈을 가진다. 체표, 주둥이, 비공, 아가미뚜껑 내부에 부착하여 식욕저하, 아가미뚜껑의 운동 약화, 느린 성장률을 나타낸다. 체표에 감염된 경우 물체에 몸을 문지르며, 구강에 감염된 경우 어체가 약화된다. 아가미 새엽과 진피의 괴사, 유영과 섭이 행동에 영향을 준다.

대책으로는 손을 이용하여 물리적으로 제거하거나 못바닥을 건조 소독

한다.

7) 거머리 감염

거머리(leeches)는 몸체가 줄무늬로 되어 있으며, 섭이와 운동에 사용되는 근육 벽과 2개의 흡반을 가진 외부 기생충이다. *Zeylanicobdella arugamensis*는 필리핀의 *E. coioides*에서 보고되었다. 흑갈색의 기생충은 체표, 지느러미, 안구, 아가미와 구강에 부착한다. 감염어는 지느러미를 문지르고, 감염부위는 출혈이 있으며 부어오른다. 감염어는 식욕을 잃고, 물 표면에서 힘없이 유영한다.

성숙한 거머리는 길이 15 mm에 달하며 바위, 조개껍질, 식물과 같은 딱딱한 기질에 고치를 만들기 위해 숙주를 떠난다. 거머리는 고치를 낳은 후 죽는다. 1개의 난을 가진 고치는 어린 거머리로 부화 후 숙주에 붙어 성숙한다.

여과 사육수의 사용, 큰 개체는 젖은 헝겊을 사용하여 손으로 제거하는 것이 효과적이다. 강한 에어레이션을 하면서 양식 시설은 염소로 소독하고, 기생충 고치의 제거를 위해 몇 주간 강한 햇볕에 건조한다.

라. 곰팡이성 질병

곰팡이성 질병으로는 *Plectropomus* sp.와 Humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)에서 보고된 이크티오포누스증(Ichthyophoniosis)이 있다. 이크티오포누스(*Ichthyophonus* sp.)에 의한 질병은 식욕부진, 여윈, 체색 변화를 보이며, 거친 피부와 경우에 따라 피부 궤양을 형성한다. 일반적으로 오염된 해산어를 사료로 사용 시 발생하므로 생사료 사용 시 주의하여야 한다. 만성적인 진행 때문에 상품 크기에서 진단된다.

마. 영양성 질병

어류의 영양성 질병은 사료의 영양 결핍, 과영양 또는 불균형으로 발생

된다. 어떤 영양성분이 급격한 농도로 떨어지거나, 너무 많은 양의 먹이를 먹었을 때 남은 것은 지방으로 전환되고, 조직이나 장기에 저장되어 어류의 생리적인 기능에 영향을 줄 수 있다.

1) 지방질 축적증 (Lipidosis)

지방질 축적증(또는 지방증, lipidosis)은 변성된 사료, 지방 또는 보관이 잘못된 생사료가 원인이다. 성장이 느려지며 혼수상태, 안구 불투명, 경미한 복부 팽만이 나타난다. 간은 비정상적으로 창백해지며 조직학적으로 물방울처럼 지방세포가 커진다. 올바른 사료 보관 방법이 필요하며, 상하거나 보관이 잘못된 생사료를 주지 말고 지방변성이 확인될 때는 즉시 남은 사료는 중단하고 새로운 사료로 대체해서 주어야 한다.

2) 괴혈병

비타민 C(ascorbic acid) 결핍이 1차적인 원인이다. 성장단계에서 발생되지만 척추 기형은 후기 자어와 치어에 비타민 C가 결핍되었을 발생한다.

증상은 식욕부진, 아가미뚜껑과 지느러미의 부식, 안구와 지느러미의 충혈, 안구돌출, 복부팽만, 비정상 두개골, 심한 여윌, 빈혈, 아가미 두껍탈락, 척추의 만곡, 척추전만증을 나타낸다. 결핍이 지속되면 성장불량과 심한 여윌증을 보인다. 조직학적으로 아가미 상피의 이상증식과 탈락이 관찰되며, 간세포는 큰 지방 덩어리로 차 있게 된다.

3) 필수지방산 결핍증

해산어는 정상적 성장과 발달을 위해 사료에 불포화지방산이 요구된다. DHA (docosa hexaenoic acid)과 EPA (eicosapentaenoic acid) 같은 필수지방산(EFA, Essential Fatty Acid)은 미세조류, 코페포다, 로티퍼와 알테미아 같은 살아있는 먹이생물에 있다. 이러한 지방산의 결핍은 ‘Shock syndrome’ 으로 알려진 유생의 대량 폐사와 관련된다.

예방을 위해서는 n-3HUFA 또는 Nannochloropsis로 로티퍼의 영양강화

를 하고, 톤당 25~50 ml의 어유로 영양 강화된 알테미아를 15일령된 자어에 투여한다. 또한 생먹이의 필수지방산 농도를 12%까지 증가시킨다.

4) 영양성 근육질환

산패한 지방 또는 복합 불포화지방산과 저농도 비타민 E가 원인이 된다. 불포화지방은 산화에 아주 민감하기 때문에 용액과 세포에서 지방 과산화가 발생된다. 세포막에서 과산화가 발생되면, 세포 본래의 상태에서 근육질환을 가져온다. 여위고 체색 흑화, 아가미 뚜껑의 점상 출혈과 경우에 따라 척추의 기형을 보인다.

예방을 위해서는 적절한 사료 관리가 되어야 하는데, 사료는 복합 불포화지방의 산패를 예방하기 위해 -30℃ 이하의 냉동고에 보관한다. 세포에 손상을 주는 과산화물 예방을 위해 비타민 E 등의 항산화제가 효율적이며, 복합 비타민을 사료에 혼합해서 대량 폐사를 예방한다.

5) 티아민 결핍증

정어리, 멸치과의 어종은 어류 자체에 티아민 B₁(thiamin)을 분해시키는 효소(thiaminase)가 포함되어 있다. 이 종류의 생사료를 일정기간 투여하였을 때 결핍증상이 나타나므로, 다른 종류 또는 여러 종류의 사료를 교대로 주어야 한다.

티아민 결핍은 신경계의 기능에 영향을 주며, 병리조직학적으로 주로 뇌에서 신경세포 핵의 출혈과 변성이 발견된다. 체색의 백탁, 이상 유영 행동, 물리적 손상으로 체표, 주둥이, 가슴지느러미와 복부에 출혈 증상을 나타낸다.

예방을 위해서는 정어리와 멸치의 장기적인 투여를 하지 않고, 다양한 종류의 생사료를 주며, 사료에 복합 티아민을 1주일에 1회씩 규칙적으로 투여한다.

바. 환경성 질병

환경성 질병으로는 부레 스트레스증(Swim Bladder Stress Syndrome, SBSS)과 가스기포병(Gas Bubble Disease, GBD)이 있다.

부레 스트레스증은 높은 사육 수온, 높은 조명, 조류번식 증가, 밤에 산소결핍과 낮의 과포화상태 같은 수질의 급변과 관련있다. 증상은 부레의 과도한 부풀림, 복부팽만과 머리를 아래쪽으로 유영하거나 수표면 근처에서 비스듬한 자세로 있다. 아가미 새엽에 기포를 보인다.

기포병은 질소나 산소 같은 용존가스의 과포화로 인해 생기며, 과포화는 물속의 가스 압력이 대기 환경 중에 있는 가스보다 높을 때 발생한다. 조류의 번무로 인해 물속에 산소의 과포화가 발생한다. 증상은 안구(안구 돌출 또는 방울눈), 체강, 피부, 아가미에 기포를 보인다. 가스는 아가미 새엽에 형성되고 아가미 혈관의 색전증을 일으키며, 혈액이 물려있다. 감염어는 이상 유영행동을 보인다. 혈류, 아가미 새엽의 변성과 각막의 팽창으로 폐사되며 급격한 대량 폐사가 발생한다. 예방을 위해서는 약한 수류 공급과 포화 질소를 제거하기 위해 강한 에어레이션 공급이나 수표면에 취수 파이프를 설치한다.

바리류에 감염되는 각 질병의 원인체, 감염단계, 임상증상, 숙주에 미치는 영향, 전파, 진단, 예방에 관한 자세한 설명과 관련 사진은 아래의 사이트를 참고해 주시기 바랍니다.

- 국립수산물품질관리원 홈페이지/해양수산물자료실/연구사업/간행물
(<http://www.nifs.go.kr/rsh/index.jsp?type=4>)에서 “수산물 질병 발생 사례집” 검색

2. 바리와 어류 양식의 질병 방제

부화장 혹은 종자 생산 시설의 질병 방제 대책은 사육 기구·장비 및 시설의 위생관리, 병원체 프리 사육 용수의 확보, 건강 친어의 확보 또는 선별, 난세척 및 난 소독, 자치어의 건강성 확인을 위한 병원체 검사, 사육 수온의 관리, 사육 배수의 살균 등이다.

어류방역을 위해서는 어종 및 병원체별로 리스크를 평가하고, 중요한 관리점의 추출과 그 실시기록이 중요하다.

가. 작업자 위생관리

- 작업을 시작하기 전에 그리고 필요할 때마다 손을 씻어야 한다.
- 배양장에 들어가기 전, 그리고 떠나기 전에 전용 장화를 소독하여야 한다(일주일에 한 번 소독조에 담은 소독 용액을 새 것으로 바꾸어야 한다).
- 또한 옷도 전용의 것으로 갈아입는 등의 마음가짐이 필요하다.
- 순수 계통 배양실(pure-strain culture room) 안에서 작업할 때는 알코올로 손을 소독하여야 한다.
- 배양장 안에서 담배를 피워서는 안 한다.
- 어류를 취급할 때는 면장갑을 착용하여야 한다.
- 위험한 화학 물질을 취급할 때는 플라스틱 장갑, 보안경 및 보호 앞치마를 착용하여야 한다.

나. 사육기구·장비 및 시설의 위생관리

작업자의 손이나 장화를 비롯해 육상시설에서는 사육 수조, 사육기구·장비의 미생물관리가 병원체의 전파 방지에 매우 중요하다. 사육수조, 사육지, 가두리 등의 사육시설은 종자의 반입 전에 병원체를 살균 또는 제거해야 하며, 사육기구 및 장비는 평소에도 상시 소독하고 방역에 힘써야

한다. 또한 질병 확산의 위험을 피하기 위하여, 배양장의 다른 구역들과 재료와 장비를 교환해서 사용하지 않아야 한다.

소독약은 종류가 많고, 그 작용 메커니즘도 다르고, 또 병원체에 따라 감수성도 다르다. 더욱이 수서생물은 종마다 사육 온도나 염분 농도도 다르므로 병원체마다 적절한 소독약을 선택할 필요가 있다. 모든 산성 또는 차아염소산염의 잔류물은 치어에 치명적인 독이 있으므로 사용하기 전에 장비를 철저히 행구어야 한다.

다행히 어류의 병원세균 및 바이러스는 모두 공칭(公稱) 유효농도에서 충분히 살균·불활화되지만, 겨울철 저온에서 사용하거나 사육어의 분변, 잔이, 체표점액 등 유기물이 부착된 대상물의 살균에는 일부 부적합한 소독약이 있다. 염소나 요오드와 같은 할로젠계의 소독약은 저온에서도 효과의 감소는 나타나지 않지만 반복 사용은 피해야 하며, 알데히드계의 소독약은 반복 사용을 견디지만 온도의 영향을 받기 쉽다. 어패류의 병원 바이러스, 세균에 한정해 보면, 역성 비누액*이 냄새도 없고 양자의 조건을 충족하고 있다.

1) 생물 여과조(Biofilter)

- 벽(walls): 오물이 쌓일 때마다 종이 티슈로 없애야 한다. 물에 손을 담그지 않아야 한다.
- 집수조 바닥 잔해 배출(pump sump bottom): 사이펀으로 오물을 제거한다. 침전된 잔해(debris)를 재부유시키는 것을 피하기 위하여 사이펀을 부드럽게 작동한다. 항상 깨끗하고 소독된 사이펀을 사용한다. 사이펀을 500 ppm 차아염소산 용액에 담그고 그리고 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 행군다.
- 매일 아침 생물 여과조의 주수구에서 알테미아 트랩을 청소하고, 완전히 씻은 다음, 트랩을 제자리에 놓기 전에, 500 ppm 차아염소산염 용액에 30분 담가 두어 소독한다. 트랩에 걸린 알테미아를 제거한다.

- 매일 아침과 저녁에 생물 여과조의 주수구에서 기계식 필터의 역세척을 점검한다. 일주일에 한 번 세제와 뜨거운 물로 기계식 필터의 구성 부분들을 씻는다. 그런 다음 교체하기 전에 차아염소산염 용액 500 ppm에 30분 동안 담가 소독한다.
- 일반 배수구 홈통(outlet gutter): 기계식 필터를 우회하여 솔로 한 달에 두 번 청소한다. 각 과정의 끝에 차아염소산염 500 ppm으로 세척하고 소독한다.

2) 배양 장비와 시설의 살균: 배양 장비와 시설의 살균 절차

- 위생 및 살균 절차의 엄격한 이행이 필요하다.
- 로티퍼 배양 수조의 유기물 찌꺼기의 덩어리를 제거하기 위하여 수돗물로 행구고, 솔과 세제로 완전히 씻고 다시 행군다.
- 수조 벽을 500 ppm 활성 염소 용액(active chlorine solution)으로 씻거나 살포한 다음, 2시간 가량 후에 수조의 물을 빼내고 염소 냄새가 없어질 때까지 잘 행군다.
- 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다. 대안으로, 수조를 해수로 채우고 차아염소산염(hypochlorite)으로 살균하며, 이후 잔류 염소는 디오황산나트륨(sodium thiosulphate)으로 중화한다.
- 포기 배관, 배수 밸브, 부유물 제거 매트 등 수조에서 사용되는 부속 장비들을 살균한다. 실용적 절차로 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 차아염소산염으로 살균한다.

3) 대량 배양 수조와 장비

- 배양 수조의 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다. 에어 호스와 산소 호스 및 확산기(diffusers)를 제거하고, 수중 히터와 플락 포집기(floccule traps)를 제거한다.
- 젖어 있을 때, 수조와 모든 장비를 담수로 행구고, 그런 다음 수조 내벽, 바닥 및 모든 장비를 세제와 뜨거운 물로 솔 등을 사용하여

문지른다.

- 모든 장비를 담수로 행구고, 그리고 500 ppm 차아염소산염 용액에 밤새 담근다.
- 수조를 담수로 행구고, 그리고 차아염소산염 용액으로 한 번 더 처리한다.
- 수조를 담수로 행구고, 재충전하기 전에 수조를 건조 시킨다.

4) 운용 수조(Working tanks)

- 바닥: 진공청소기, 진흙 흡입기 또는 사이펀을 사용하여 하루에 두 번 침전물을 제거한다.
 - 가능한 한 친어를 불안하게 하는 것을 피하면서, 사료 섭취량을 평가하기 위해 매일 제거한다.
 - 다음 수조를 청소하기 전에 청소 공구를 소독하여야 한다.
 - 침전물들이 다시 떠오르지 않도록 사이펀을 부드럽게 작동한다.
 - 수조마다 소독된 사이펀을 사용하여야 한다.
 - 사이펀을 500 ppm 차아염소산염 용액에 보관하였다가 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 행구어야 한다.
- 수조 내벽과 수면 접촉면: 유분이나 오물이 쌓일 때마다 수위를 10 cm 낮추고 종이 티슈로 닦아야 한다. 절대로 물에 손을 담그지 않아야 한다.

5) 빈 수조(Empty tanks)

- 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다.
- 배수망과 파이프, 에어 호스 및 에어스톤, 그리고 밸브를 제거한다.
- 아직 젖어있을 때; 내벽, 바닥 및 모든 장비를 세제와 뜨거운 물로 세게 닦아야 한다.
- 행구고 나서, 500 ppm 차아염소산염 용액으로 밤새 소독한다.
- 다음날 아침 담수로 행구고, 다시 채우기 전에 공기 중에서 말린다.

6) 사육실 바닥과 타일 벽

- 일주일에 두 번, 먼저 강력한 고압 분사기로 씻고, 그 다음 500 ppm 차아염소산염 용액(hypochlorite solution)으로 씻는다. 행귀내지 않아야 한다,

7) 자외선 살균기(UV-light sterilizer)

- 석영 등의 청소: 설치되어 있는 자동세척기를 사용하여 하루에 2번 석영관을 청소하거나 또는 자외선 산출량이 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 자동 세척기가 없는 자외선등은 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 분해하여 석영관을 손으로 세척하여야 한다.
- 우회 배관의 환수: 자외선 살균기의 우회 배관의 정체된 물을 제거하기 위하여 하루에 2번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어 배관 내의 물을 배수한다. 경고: 배양장에서 질병이 발생한 경우 측관을 열어서는 안 한다.
- 자외선 살균등의 점검 창을 한 달에 한 번, 또는 잘 보이지 않을 때마다 분해하고 에탄올로 청소한다.

8) 버킷(buckets), 항아리(jugs), 비커, 피펫 등

- 하루 동안: 사용하기 전과 후에 뜨거운 물로 철저히 행군다.
- 하루 작업 종료 시: 500 ppm 차아염소산염 용액에 담근다.
- 야간: 밤에는 물로 행구고, 그리고 건조한 상태로 보관한다.
- 항상 깨끗하고 소독된 장비를 사용하여야 한다.
- 도구는 500 ppm의 차아염소산염 용액에 담가 두어야 한다.
- 필요할 때 도구를 꺼내어 잘 행구고 사용하여야 한다.
- 플라스틱 에어 관은 10% HCl 용액에 보관하여야 한다.
- 로티퍼와 알테미아의 먹이 공급과 영양 강화를 위해 유분 영양 용

액(oily nutrient solutions)을 공급하기 위해 사용된 용기는 사용 후 비누로 세척해야 하며, 그리고 차아염소산염 용액에 보관해야 한다. 사용하기 전에 멸균 수로 행구어야 한다.

- 사용 후 폴리에틸렌 백은 폐기하여야 한다.

9) 유리 제품(Glassware)

- 철저히 세척되고 멸균된 유리 제품만 사용한다.
- 사용 후에는, 모든 유리 제품을 수돗물로 행구고 10% 염산 용액에 1시간 동안 담궈 유기 잔류물을 쉽게 제거할 수 있도록 한다.
- 기름기가 많거나 또는 두꺼운 침전물이 있으면, 세제와 솔로 씻는다. 모든 무기물 침전물을 피할 필요가 있는 경우, 마지막 행굼은 증류수로 해야 한다.
- 세척하여 젖은 유리 제품은 적절한 선반에 매달아 건조 시키거나, 또는 여과된 해수로 즉시 채워서, 살균 과정을 준비한다. 일단 건조되고 나면, 즉시 사용하지 않을 경우, 먼지가 들어가지 않게 알루미늄 호일로 개구부를 밀봉하여 보관한다.
- 피펫과 유리관은 10% 염산 용액(hydrochloric acid solution)이 채워진 원통형 플라스틱 행굼기(plastic rinsers)에 적어도 1시간 동안 두어, 오래된 배양물의 유기 잔류물을 쉽게 제거할 수 있게 한다. 행굼 순서는 항상 수돗물이 먼저이고, 그 뒤에 증류수로 행군다.

10) 에어 호스(Air hoses)와 확산기(diffusers)

- 일주일에 한 번 각 수조에서 깨끗한 세트(플라스틱 호스 + 에어 꼭지(tap) + 에어 스톤)로 교체한다.
- 유막을 제거하기 위하여, 뜨거운 물과 세제로 씻는다. 그 다음 10% 염산(hydrochloric acid)에 담근다. 사용 전에 물로 철저히 행구어, 에어 호스와 에어 스톤 내부에 산성 용액이 남아 있지 않도록 주의하여야 한다.

다. 병원체 프리 사육용수 확보를 위한 살균

사육용수의 살균을 위해서는 물 자체의 물리화학적 성상을 바꾸지 않고 대량의 물의 살균 처리를 안정적으로 실시할 수 있는 장치가 필요하다. 현재까지는 자외선, 오존 혹은 전해에 의한 살균이 일반적이다^{6,7)}.

1) 자외선 조사

자외선을 이용하는 경우, 병원체의 자외선 감수성을 구해 그 값의 10배 정도의 선량(線量)을 안전율로 하여 조사선량을 정한다. 어패류의 병원체는 자외선 감수성에서 고감수성 그룹과 저감수성 그룹으로 나눌 수 있다(그림 59).

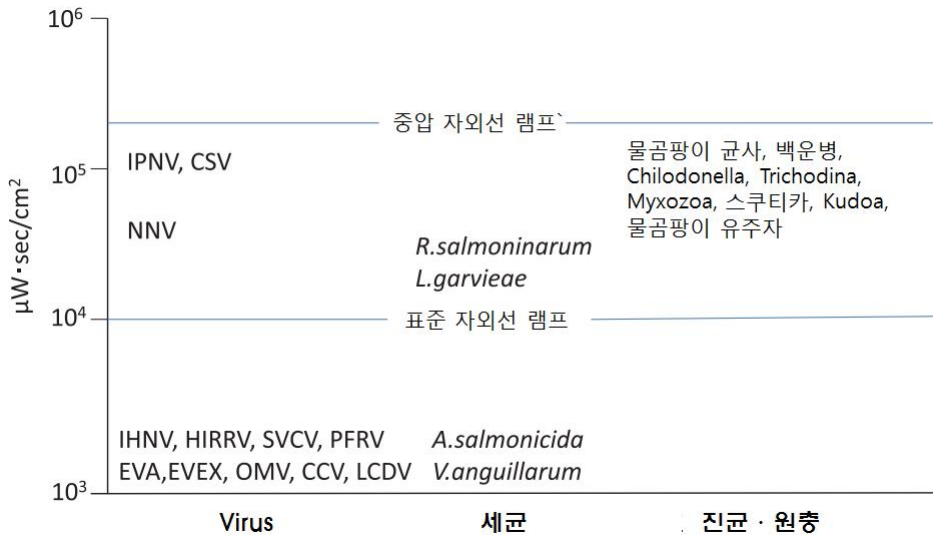


그림 45. 어류 병원 미생물의 자외선 감수성

바이러스는 감염가를 99%이상, 세균은 생균수를 99.9%이상 감소시키는데 필요한 선량, 진균은 균사의 신장을 저지하는 선량과 유주자를 죽이는 선량, 원충은 살충에 필요한 선량

외피(envelope)를 가진 각종 바이러스, DNA 바이러스 및 그램 음성 세균이 고감수성 그룹에 포함되어 $10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2 (=10 \text{ mJ})$ 의 자외선 조사에서 99.9% 이상의 살균 혹은 99%이상의 감염성 바이러스의 불활화가 가능하다. 한편 2중가닥 RNA 바이러스나 그램 양성세균, 곰팡이, 원충은 감수성이 낮아 $10^6 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 정도의 조사가 필요하다.

수심은 자외선의 투과율(5 cm에서 10% 감소)을 고려하여 가급적 얇게 잡고, 그림자가 되는 부분이 없도록 수중의 대형입자를 제거해야 한다. 또 저온에서는 효력이 약간 저하된다. 현재의 자외선 램프의 출력은 8,000시간 경과에 약 20% 저하하기 때문에 연 1회의 교환이 바람직하다⁷⁾.

2) 오존 처리

해수를 오존처리하면 해수 중의 브롬 등의 할로젠과 반응하여 옥시던트가 생성되고 이것이 살균효과를 나타낸다. 물론 어류에도 독성을 나타낸다. 살균효과는 오존가스의 산화력과 옥시던트의 효과가 거의 1:1이다. 담수에서는 포기에 의해 오존 가스를 제거한 후 사육 용수로 사용 가능하지만, 해수에서는 먼저 오존처리 수조에서 살균 후, 활성탄조를 거쳐 잔류 옥시던트를 제거하여 사육수로 한다.

어류 병원세균 및 바이러스를 99.9% 이상 살균 또는 불활화시키는 잔류 옥시던트 농도와 처리 시간은 0.5 mg/L로 1분 정도이며, 안전율을 고려하여 보통 0.5 mg/L로 5분간 처리되고 있다. 이 경우, 사육수 중의 일반 세균의 생균수는 99.9% 이상 감소한다. 상기의 자외선 살균장치를 이용한 $10^6 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 조사 시의 생균수의 감소율도 99.9% 이상으로, 모두 4자리 가까운 감소를 보인다. 이 수치를 어류 병원 미생물을 살균할 때의 지표값으로 사용하는 것이 좋다^{7,8)}.

오존살균장치는 유럽을 중심으로 수돗물의 살균에 널리 이용되어 보급되고 있으나, 고가이며 유지보수 경비 등으로 최근에는 수산증양식 분야에서 전기 분해한 해수(電解海水) 중에 생성되는 차아 염소산에 의해 살균하는 장치로 대체가 진행되고 있다.

3) 전기분해 해수(電解海水)

해수를 전기분해하면 식염이 분해되어 염화물(염소) 이온이 산화력이 강한 차아염소산나트륨으로 전환하여 살균효과를 나타낸다. 해수를 백금 코팅 티타늄(titanium) 전극 사이를 흘려보내기만 하는 간단한 구조로 장치가 단순하고 또한 해수는 무진장하여 경비적으로 가장 저렴하며⁶⁾, 매시 200~500톤의 사육배수의 생균수를 99.9%이상 감소시킬 수 있다¹⁶⁾. 사육에는 오존 살균과 마찬가지로 활성탄을 이용한 탈염소 처리가 필요하다.

자바리 및 능성어에서 바이러스성 신경괴사증 (VNN) 원인 바이러스 (betanodavirus)의 수직 감염을 방제할 목적으로 두 종의 수정란을 전기분해한 해수에 침지하는 경우, 두 종 모두 유리염소 농도 0.3~1.0 mg/L로 3분 또는 1.5 mg/L로 1분 침지하여도 부화율에 영향을 주지 않고 99.4% 이상의 베타노다바이러스가 불활화되어 자바리 및 능성어의 종자 생산에 있어서 VNN에 의한 감모 방지에 도움이 될 수 있다(渡邊 등, 2013).

실용 규모에서는 수정란 유래의 유기물에 의해 유리염소 농도가 저하하는 것으로 알려져 있으며, 그 방제를 위해 소독 전에 수정란을 세척하여 유기물을 씻어 낸과 함께 소독 중에는 전해 해수를 유수할 필요가 있다.

일본의 기능수학회(機能水学会)가 제시한 수산분야의 전해수 이용 가이드라인(표 20⁹⁾)에서는 사육해수의 살균에 사용할 경우, 유효염소 농도 0.5 mg/L에서 5분 혹은 1 mg/L로 1분간 처리 후 활성탄을 통해 탈염소를 하여 사용한다. 유효염소농도 0.5 mg/L로 5분의 처리로 해수 중의 일반세균의 생균수는 99.9% 이상 감소한다. 굴 등 패류나 성계의 정화에는 유효염소 0.3 mg/L 이하의 전해해수에서 24시간 사육하면 대장균은 음성이 되고¹⁰⁾, 성계의 장관 내 장염 비브리오는 배제된다¹¹⁾.

수산물의 식품가공에는 식품첨가물로서 인정받고 있는 식염 전해수를 사용한다. 그 외, 중공사 여과막을 이용한 여과살균이나 핫플레이트를 이용한 가열 살균 또는 요오드를 떨어뜨리는 방법도 효과적이지만, 전해 살균 이외에는 경제적인 면이나 어독성 등에서 문제가 있어 실용화에는 이르지 못하고 있다.

표 20. 수산분야에 있어서 전해수의 이용 가이드라인⁹⁾

목 적	유효염소농도와 작용시간	처리법
어류사용 용수의 살균	0.5 mg/L·5분간 (1.0 mg/L·1분간)	탈염소 후에 사용
사육 배수의 살균	0.3 ~0.5 mg/L	0.5 mg/L에서는 탈염소 후에 방류
굴의 정화	0.3 mg/L	한번 사용후 버림
어선·어구의 살균 세정	0.5 mg/L	세정
시장의 좌판, 해안벽의 살균 세정	0.5 mg/L	세정
식품 가공 공정의 살균·세정	0.5 mg/L	식염 전해수를 사용 [※]
가공품의 살균·세정	0.5 mg/L	식염 전해수를 사용

※ 현재 식품첨가물로서 인정되는 것은 차아염소산나트륨 강산성 전해수, 약산성 전해수, 식염수를 전해한 식염 전해수이다.

라. 사육 배수의 살균

어병 대책은 물론 환경 대책으로도 효과적인 배수의 살균이 필요하다. 앞서 기술한 바와 같이 해수를 전기분해하면 차아염소산이 발생한다. 이 차아염소산은 어류 병원미생물에 대해 0.1~0.5ppm, 1분 처리로 양호한 살균 및 불활화 효과를 나타낸다.

배수 중에 포함된 염소의 환경영향평가를 하고, 적절한 운전조건을 설정하면 배수의 살균처리가 가능하다. 단백질을 응집시켜 가압부상 등의 처리를 하면 사육 배수의 COD, SS, TOC, 전 인량, 전 질소량 및 암모니아태 질소량을 줄이는 것이 가능하다.

용어 해설

기면성(嗜眠性): 깊은 잠에 빠지도록 하는 병의 성질

등속성장(等速成長): isogony, 각 부분의 성장률이 전체의 성장률과 같은 비율로 상대적으로 성장하는 것을 말한다. isauxesis (isuxesis)라고도 함.

불활화(不活化): 불활(성)화, inactivation, 본디 가지고 있는 기능(機能)이 없어지게 되는 것으로 바이러스가 감염력(感染力)을 잃는 일, 효소가 효소 작용을 잃는 일, 독성(毒性)이 있는 것이 독성을 잃는 일 따위를 말한다.

역성비누액: 양이온성의 침투력과 살균력이 강한 계면 활성제로서 염화벤잘코니움, 염화벤제트니움 등으로 일반적으로 0.1~0.5%의 수용액을 만들어 사용한다. 무색, 무취, 무자극이므로 손, 기구, 용기소독에 적당하다. 세정력은 거의없다.

옥시던트(oxidant): 해수에 오존을 불어 넣거나 전류를 흘려 산화 물질이 생성된 해수로 강력한 살균 작용이 있어 VNN (viral nervous necrosis) 바이러스에 감염된 친어에서 산출된 난에 부착한 바이러스의 감염력을 잃게 할 수 있다. 해수에 오존을 접촉시키면 주로 해수중의 Br^- (bromine, 臭素)이온이 BrO^- (hypobromite ion) 이온으로 산화된다. BrO^- 는 해수의 pH에 의해 HBrO 의 형태를 취한다. 예로는 pH 7일 때 BrO^- 와 HBrO 의 존재 비율은 2 : 98이며, pH 10일때 95 : 5이다. 또 해수의 pH에 가까운 pH에서는 17 : 83이다. 따라서 해수 중에는 BrO^- 와 HBrO 의 2개의 형태로 생체에 작용한다. 이와 같이 해수에 오존 등을 접촉시켜서 생성되는 옥시던트를 일반적으로 잔류 옥시던트(total residual oxidants, TROs)라 한다.

석호(潟湖): lagoon, 해안에서 파랑과 연안류의 작용으로 모래 등 퇴적물이

이동·퇴적되면 사취(砂嘴), 사주(砂洲) 등의 퇴적지형이 발달하게 된다. 이때, 만(灣)이었던 지역은 사취나 사주의 성장에 의해 입구가 서서히 막히게 되어 바다와 분리된 호수가 생성되고는 하는데, 이러한 호수를 석호라 한다.

섬광행동(閃光行動): flash behaviour, 피식자가 포식자로부터 달아나면서 포식자를 놀라게 하여 몸을 보호할 목적으로 갑자기 발하는 색깔의 섬광을 번쩍이는 행동

캐눌레이션(cannulation): 캐눌라(cannula)는 몸 속에 삽입하는 튜브로서, 액체나 공기를 통하게 하기 위한 의료기구로 캐눌라를 삽입하여 액의 주입이나 추출을 하는 행위

HDPE: 고밀도 폴리에틸렌(High Density Polyethylene), 에틸렌을 중합하여 제조하는 합성수지로서 성상은 반투명 고체(밀도가 0.94 이상의 것)로 환경호르몬인 비스페놀, 프탈레이트, 멜라민이 전혀 검출되지 않는다. 강도는 우수하나 유연성·가공성이 떨어진다. 주로 일회용 쇼핑백, 각종 용기, 완구, 컨테이너, 파이프 등의 원료로 사용

Ovaplant: 연어의 Gonadotropin - 방출 호르몬 analogue (sGnRHa)를 함유한 체내에서 천천히 지속적으로 효과가 방출되는 펠렛 임플란트 산란 유도제이다. 많은 어종의 성숙과 배란을 동기화하고 촉진하는 데 효과적이며 수컷의 정액(milt) 생산을 증가시키는 데 사용한다.

Percoll: 퍼콜은 원심분리에서 효율적인 밀도구배를 만들기 위한 시약이다. 주로 특정 세포나 세포소기관, 바이러스 등을 원심분리로 분리하기 위해 이용된다. 퍼콜은 폴리비닐피롤리돈(PVP)으로 코팅된 직경 15~30nm의 규산콜로이드 입자(함수율 23%)로 구성된다. 퍼콜은 다른 밀도 구배의 기질에 비해 점성이 낮고, 삼투압이 작아 세포 독성이 없어 실험 조작에 적합하다. “Percoll“는 GE Healthcare의 등록 상표이다.

RT-PCR: 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction), PCR이 DNA를 증폭시키는 기술인 한편, RT-PCR은 RNA에 대해 PCR을 실시하는 기법이다. 역전사 PCR이나 RNA-PCR 등으로 불리기도 한다. RT-PCR은 우선 RNA로부터 역전사 효소(reverse transcriptase)에 의해 cDNA를 합성하고(c는 상보적 complementary), 나머지는 cDNA에 대해서 통상의 PCR법을 실시한다. 그 때문에 역전사 효소의 과정 이외는 검사 방법의 원리는 PCR과 동일하다.

참고 문헌

- Choi B.K., 2017. Low salinity acclimation in hybrid between red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*) and giant grouper (*E. lanceolatus*) and gene encoding prolactin. Department of Fisheries Biology The Graduate School Pukyong National University, Thesis for the Degree of Master of Fisheries Science. pp. 55.
- Çiftci, Y., Üstündağ, C., Erteken, A., Özongun, M., Ceylan, B., Haşimoğlu A., Güneş, E., Yoseda, K., Sakamoto, F., Nezaki, G. and Hara, S., 2002. Manual for the Seed Production of Turbot, *Psetta maxima* in the Black Sea. Special Publication No.2, Central Fisheries Research Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Trabzon, Turkey and Japan International Cooperation Agency, 1-80.
- Guo M, Su Y, Chen X, Ding S, Wang J, 2008. Comparative studies on morphology of *Epinephelus moara* and *E. bruneus*. *Acta Oceanologica Sinica* 30(6), 106-114.
- Guo M, Su Y, Zhang Z, Ding S, Wang J. 2009. Differentiation of *Epinephelus moara* from *E. bruneus* by improved nest-tetra-primer-specific PCR. *Progress in Natural Science* 19, 1221-1226.
- Guo M, Wang S, Su Y, Zhou Y, Liu M, and Wang J, 2014. Molecular cytogenetic analyses of *Epinephelus bruneus* and *Epinephelus moara* (Perciformes, Epinephelidae). *PeerJ* 2: e412.
- Han SH, Kim MJ and Song CB. 2014. First record of the oblique banded grouper, *Epinephelus radiatus* (Perciformes: Serranidae) from Korea.

- Korean J Ichthyol 26, 143-146.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS., 2010. Molecular studies, disease status and prophylactic measures in grouper aquaculture: Economic importance, diseases and immunology. Aquaculture. 309: 1-14.
- Kang M.J., Noh C.H., Choi H.J., Park D.W. and S.P Hur, 2020. Embryonic Development and Hatchability in the Reciprocal Hybrids of Kelp Grouper (*Epinephelus bruneus*) and Red-Spotted Grouper (*Epinephelus akaara*). Ocean and Polar Research, 42(4), 303-311.
- Kim J.H., Park J.Y., Noh C.H., Kang M.J., Truong T.Q. and I.C Bang, 2018. The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus lanceolatus* (♀) × *E. akaara* (♂). MITOCHONDRIAL DNA PART B, 3(2), 1083-1084.
- Lim HK and Le MH, 2013. Evaluation of extenders and cryoprotectants on motility and morphology of longtooth grouper (*Epinephelus bruneus*) sperm. Theriogenology 79, 867-871.
- Lim SG, Lee TH, Gil HW and Park IS, 2017. Physiological effects of dietary vitamin E on kelp grouper, *Epinephelus bruneus* under low water temperature stress. JFM SE, 29(3), 636-645.
- Liu M, Li JL, Ding SX, Liu ZQ, 2013. *Epinephelus moara*: a valid species of the family Epinephelidae (Pisces: Perciformes). J Fish Biol., 82(5), 1684-99.
- Nagasawa, K. and E. R. Cruz-Lacierda (eds.) 2004. Diseases of cultured groupers. Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department, Iloilo, Philippines. pp. 81.

Parenti P., Randall J.E. 2020. An annotated checklist of the fishes of the family Serranidae of the world with description of two new related families of fishes. FishTaxa 15: 1-170.

Park J.Y., Kim Y.H. and I.C Bang, 2020a. Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Hyporthodus septemfasciatus* (♀) × *Epinephelus lanceolatus* (♂). MITOCHONDRIAL DNA PART B, 5(3), 3241-3242.

Park J.Y., Kim Y.H., Kim J.H. and I.C Bang, 2020b. The complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (♀) × *E. polyphkadian* (♂). MITOCHONDRIAL DNA PART B, 5(3), 3265-3266.

Park J.Y., Yoon J.H, Noh C.H, Kang M.J and I.C Bang, 2018. Complete mitochondrial genome of the hybrid grouper *Epinephelus lanceolatus* (♀) × *E. moara* (♂). MITOCHONDRIAL DNA PART B, 3(2), 1079-1080.

The IUCN Red List of Threatened Species: *Epinephelus lanceolatus*-published in 2018.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T7858A100465809.en>

World Register of Marine Species (WoRMS),
<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=304747>

강민주, 노충환, 김재훈, 박종연, 박대원, 2020. 대왕바리 암컷을 사용한 두 교잡(대왕바리우 × 자바리♂, 대왕바리우 × 불바리♂) 수정란의 난 발생과 부화력. 한수지 53(4), 557-562.

강형철, 공포, 오성립, 고희범, 2019. 바리과 어류 종묘생산 및 자원조성. 제주특별자치도해양수산연구원 2018년 연구사업보고, 115-124.

고형범, 오성립, 고경민, 김판석, 김대용, 2005. 능성어류(*Epinephelus* sp.)

- 종묘생산 기술개발 III. 자바리(*E. bruneus*), 능성어(*E. septemfasciatus*)
 응성화 유도 및 인공수정란 생산. 제주도해양수산자원연구소 2004년도
 연구사업보고서, 25-30.
- 공포, 강형철, 고희범, 2019. 대왕자바리(*Epinephelus bruneus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) 양식산업화 기초연구. 제주특별자치도해양수산연구원
 2018년 연구사업보고, 61-68.
- 邱沛盛, 黃政軒, 蔡惠萍, 朱永桐, 劉于溶, 葉信利, 2020. 雲紋石斑魚之人工
 繁殖、初期發育及仔稚魚培育. 水產研究 28 (1): 47-60.
- 국립수산물과학원, 2012. 수산생물 질병 발생 사례집. pp. 139.
- 吉水 守, 2012. 魚類ウイルス病とその防疫・防除に関する研究. 日本水産学
 会誌 78(3), 358-367.
- 吉水 守, 2016. 種苗期疾病の病原体とその防疫・防除について. 豊かな海
 No. 38, 31-35.
- 김강래, 문신주, 박종연, Duc Tam Huynh, 박중열, 김근식, 한상봉, 방인
 철, 2018. 대왕범바리(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)
 수정란의 장거리 수송을 위한 염분, 수온 및 발생단계에 따른 생존율
 및 부화율. Ocean and Polar Research, 40(3), 161-167.
- 南部智秀, 2012. 高級魚キジハタの栽培漁業推進に関する研究. 平成24年度
 全国水試場長会会長賞, www.fishexp.hro.or.jp/cont/jochokai/.../H24_07_koen2.pdf
- 노충환, 김근식, 최문정, 박서운, 황효신, 방인철, 한상봉, 문신주, 임한규,
 정태혁, 윤낙진, 2015a. 자바리와 대왕바리의 교잡종 및 그 생산방법(특
 허등록 공고전문, 제10-1829052호(2018. 02. 07.))
- 노충환, 김근식, 명정구, 조재권, 윤락진, 임한규, 방인철, 2015b. 붉바리
 (*Epinephelus akaara*)와 Brown-Marbled Grouper (*E. fuscoguttatus*) 종간

- 잡종 수정란의 부화율. 한국어류학회지 27, 16-20.
- 노충환, 윤낙진, 2019. 능성어 (*Hyporthodus septemfasciatus*) ♀×대왕바리 (*Epinephelus lanceolatus*) ♂ 수정란의 난발생. 한국어류학회지, 31(1), 23-29.
- 渡邊研一, 井手健太郎, 岩崎隆志, 佐藤 純, 森広一郎, 米加田徹, 2013. ウイルス性神経壊死症の防除を目的とした電解海水によるクエおよびマハタ受精卵の消毒条件の検討. 魚病研究 48(1), 5-8.
- 박종연, 2019. 자바리 *Epinephelus moara* ♀와 대왕바리 *E. lanceolatus* ♂ 간 잡종 대왕자바리의 유도과 형태학적, 유전학적 및 생리학적 분석. 순천향대학교 대학원 생물학과 박사학위 논문, pp. 139.
- 박종연, 김강래, 방인철, 2019. 자바리(*Epinephelus moara*)와 대왕자바리(*E. moara* ♀×*E. lanceolatus* ♂)에 대한 MS-222의 마취효과. 한국어류학회지, 31(4), 235-240.
- 박종연, 김용휘, 방인철, 2020. 자바리(*Epinephelus moara* ♀)와 대왕바리 (*E. lanceolatus* ♂) 간 교잡종 대왕자바리의 형태 비교. 한수지 53(4), 572-576.
- 박중열, 2016. 염분변화에 따른 자바리(*Epinephelus bruneus*)와 대왕자바리 (*E. bruneus*♀×*E. lanceolatus*♂)의 스트레스 반응. 목포대학교 자연과학 대학 해양수산자원전공 석사학위 논문. pp. 28.
- 방인철, 노충환, 윤낙진, 2020. GSP 아열대 바리과 우량종자 개발과 국내 의 산업화 프로젝트 중간 실적 및 연구개발 계획서. pp. 76.
- 濱崎将臣, 2018. クエの種苗生産について. 長崎県総合水産試験場 種苗量産 技術開発センター, pp. 4.
- 양문호, 최영웅, 정민민, 구학동, 오봉세, 문태석, 이창훈, 김정민, 한석중,

2007. 자바리, *Epinephelus bruneus*의 난 발생과 부화에 미치는 수온의 영향. 발생과 생식 11(2), 105~109.
- 양상근, 지승철, 문태석, 김경민, 정민환, 2013. 수온, 광조건 및 밀도에 따른 자바리(*Epinephelus bruneus*)의 산소소비 특성. 한수지 46(2), 195-200,
- 양상근, 지승철, 문태석, 손맹현, 김경민, 허성표, 이치훈, 이영돈, 2014. 사육밀도와 수온에 따른 자바리(*Epinephelus bruneus*)의 적응특성. 한수지 47(6), 847-852.
- 오성립, 고희범, 김필연, 2004a. 자바리, *Epinephelus bruneus* (Bloch) 종묘 생산 기술개발 I. 인위적 응성화 유도. 제주해양수산자원연구소 2003년도 연구사업보고서, 16-22.
- 오성립, 고희범, 고경민, 김필연, 2004b. 자바리, *Epinephelus bruneus* (Bloch) 종묘생산 기술개발 II. 시험종묘생산. 제주해양수산자원연구소 2003년도 연구사업보고서, 160-168.
- 오성립, 고경민, 양병규, 김명관, 송지환, 2006. 능성어류(*Epinephelus* sp.) 종묘생산 기술개발 (V) 자바리, *E. bruneus* 인공종묘생산. 제주도해양수산자원연구소 2005년도 연구사업보고서, 32-41.
- 오성립, 고경민, 양병규, 2007a. 능성어류(*Epinephelus* sp.) 종묘생산 기술개발 (VI) 자바리, *E. bruneus* 동결보존 정자의 수정 능력. 제주특별자치도해양수산자원연구소 2006년도 연구사업보고서, 52-61.
- 오성립, 고경민, 양병규, 2007b. 능성어류(*Epinephelus* sp.) 종묘생산 기술개발 (VII) 자바리, *E. bruneus*의 조기 성 성숙 유도와 종묘생산. 제주특별자치도해양수산자원연구소 2006년도 연구사업보고서, 62-72.
- 오성립, 고경민, 양병규, 송진선, 홍행연, 2009. 자바리, *Epinephelus*

- bruneus* Bloch 종묘생산. 제주특별자치도해양수산자원연구소 2007-2008 연구사업보고서, 66-72.
- 오성립, 고정민, 양병규, 2010. 능성어류(*Epinepheiline*) 종묘생산 및 방류. 제주특별자치도해양수산연구원 2009년도 연구사업보고서, 17-22.
- 오성립, 고정민, 양병규, 2011. 어류종묘생산 I. 능성어류(*Epinepheiline*) 종묘생산. 제주특별자치도해양수산연구원 2010년도 연구사업보고서, 3-8.
- 오성립, 현재민, 2012. 자바리(다금바리) 인공종묘생산. 제주특별자치도해양수산연구원 2011년도 연구사업보고서, 79-85.
- 오성립, 김수강, 2013. 어류 종묘생산 및 자원조성. 제주특별자치도해양수산연구원 2012년도 연구사업보고서, 121-139.
- 오성립, 강형철, 고희범, 2018. 자바리 *Epinephelus bruneus* 종자생산 및 자원조성. 제주특별자치도 해양수산연구원 2017년도 연구사업보고서, 107-112.
- 吴玉萍, 田永胜, 成美玲, 李振通, 张晶晶, 王林娜, 马文辉, 庞尊方, 张淞林, 翟介明, 2020. 鞍带石斑鱼(♂)与褐石斑鱼(♀)、云纹石斑鱼(♀)杂交后代变态发育和生长比较. 渔业科学进展, 41(4): 23-32.
- 吴水清, 郑乐云, 黄种持 等, 2016. 云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J]. 渔业研究, 38(1): 27-35.
- 李子奇, 成美玲, 吴玉萍, 张晶晶, 李振通, 马文辉, 庞尊方, 翟介明, 田永胜, 2020. 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交后代早期发育及正反交后代生长特性. 水产学报 44(3), 436-446.
- 李振通, 田永胜, 唐 江, 成美玲, 马文辉, 庞尊方, 李文升, 刘江春, 王晓梅, 翟介明, 2019. 云龙石斑鱼与云纹石斑鱼, 珍珠龙胆石斑鱼的生长性状

及对比分析. 水产学报 43(4), 1005-1017.

李振通, 田永胜, 成美玲, 吴玉萍, 张晶晶, 李子奇, 王林娜, 马文辉, 庞尊方, 孙礼娟, 翟介明, 2020. 驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交子代发育及生长比较]. 南方水产科学, 2020, 16(1): 17-26.

임상구, 한상범, 임한규, 2016. 염분변화에 따른 붉바리(*Epinephelus akaara*)와 대왕붉바리(*E. akaara* ♀×*E. lanceolatus* ♂)의 성장, 생존 및 스트레스 반응. 한수지 49(5), 612-619.

山野井英夫, 近藤正美, 藤井義弘, 田川正朋, 1999. トリヨードチロニン浴によるキジハタ仔魚の初期減耗の軽減. 水産増殖 47(4), 589-593.

森広一郎, 虫明敬一, 2006. 親魚管理による種苗期疾病の防除. 日本水産学会誌 72(2), 246-249.

森広一郎, 岩崎隆志, 2013. クエの防疫対策と効率的種苗生産に向けて. 豊かな海 30, 15-17.

森広一郎, 佐藤 純, 米加田徹, 2014. ハタ科魚類の繁殖の生理生態と種苗生産. II-4. ウイルス対策技術. 日本水産学会誌 80(6), 997.

西岡豊弘, 2016. 近年問題となっている種苗期の疾病とその対策について. 豊かな海 38, 36-37.

邵彦翔, 陈 超, 李炎璐, 张梦淇, 陈建国, 庞尊方, 2017. 低温胁迫对云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂) 杂交后代血清生化指标的影响. 渔业科学进展 38(2): 70-76.

수산종자사업단, 2020. Golden Seed 프로젝트 수산종자 개발 품종(ppt 자료). pp. 26.

张梦淇, 陈 超, 李炎璐, 孔祥迪, 刘 莉, 翟介明, 2016. 盐度对云纹石斑鱼

(*Epinehelus moara* ♀)×鞍帶石斑魚(*Epinehelus lanceolatus* ♂)受精卵孵化的影响及杂交仔稚幼鱼形态发育观察. 渔业科学进展 37(4): 81-89.

조재황, 김석렬, 허영백, 이경미, 김준환, 2020. 대왕범바리(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)의 아질산 급성노출에 따른 내성한계: 혈액성상 및 혈장성분의 변화. 환경생물, 38(1), 93-100.

中田 久, 2009. クエの種苗量産技術について. 漁連だより No.175. pp. 3.

佐藤 純, 齊藤貴行, 渡邊研一, 2006. クエ受精卵に対するポビドンヨード処理の消毒効果および正常ふ化率に及ぼす影響. 水産増殖 54(3), 265-268.

최정인, 2019. 바리과 어류 교잡종 대왕범바리(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)와 대왕불바리(*E. akaara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 분자생물학적 동정. 순천향대학교 대학원 해양생명공학과 석사학위 논문, pp. 38.

허성표, 2008. 내인성 호르몬을 이용한 자바리 *Epinephelus bruneus* 치어의 응성화 유도. 제주대학교 대학원 해양생명과학과 석사학위논문, pp. 39.

クエ, ウィキペディア, <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%AF%E3%82%A8>

Epinephelus bruneus, <https://www.biolib.cz/en/taxon/id168276/>

Giant grouper, Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Giant_grouper

https://en.wikipedia.org/wiki/Hybrid_grouper

<https://www.fishbase.se/summary/Epinephelus-lanceolatus.html>

부 록

■ 바리류의 학명 및 일반명(영명, 중명)

학 명	영 명	국명/중국명
<i>Epinephelus aeneus</i>	White grouper	青铜石斑鱼
<i>Epinephelus akaara</i>	Hong Kong grouper, Red grouper	붉바리, 赤点石斑鱼, 紅斑
<i>Epinephelus areolatus</i>	Areolate grouper, Brown spotted grouper	대문바리, 宝石石斑鱼, 芝麻斑, 小斑
<i>Epinephelus awoara</i>	Yellow grouper, Banded grouper	도도바리, 青石斑鱼, 中溝
<i>Epinephelus bleekeri</i>	Duskytail grouper	布氏石斑鱼, 橙色石斑鱼, 紅點鰷
<i>Epinephelus bruneus</i>	Longtooth grouper, Kelp grouper	자바리, 褐石斑鱼, 云纹石斑鱼, 油斑
<i>Epinephelus chlorostigma</i>	Brownspotted grouper	구실우럭, 密点石斑鱼, 网纹石斑鱼, 芝麻斑, 大斑,
<i>Epinephelus coioides</i>	Orange-spotted grouper, Green grouper (Indonesia)	갈색등근바리, 斜带石斑鱼, 点带石斑鱼, 紅點石斑
<i>Epinephelus costae</i>	Goldblotch grouper, Golden grouper	棕线石斑鱼, 地中海石斑鱼
<i>Epinephelus cyanopodus</i>	Speckled blue grouper	细点石斑鱼, 蓝鳍石斑鱼, 南瓜, 白瓜
<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>	Brown-marbled grouper, Tiger grouper, Blotchy grouper	갈색점바리, 棕点石斑鱼, 老虎斑鱼, 褐点石斑鱼,
<i>Epinephelus guttatus</i>	Red hind	빨간점바리, 细斑石斑 鱼, 紅點石斑鱼
<i>Epinephelus lanceolatus</i>	Giant grouper Queensland grouper	대왕바리, 鞍带石斑鱼, 龍膽石斑鱼

<i>Epinephelus malabaricus</i>	Malabar grouper, Black-spotted grouper (Taiwan)	홍기흑점바리, 点带石斑鱼, 瑪拉巴石斑鱼, 黑點石斑, 黄丁斑, 青斑
<i>Epinephelus marginatus</i>	Dusky grouper, Dusky sea perch	东大西洋石斑鱼
<i>Epinephelus moara</i>	Kelp grouper	자바리, 云纹石斑鱼
<i>Epinephelus multinotatus</i>	White-blotched grouper, Brown rock-cod	淡点石斑鱼, 白斑石斑魚, 南瓜, 黑瓜
<i>Epinephelus polyphekadion</i>	Camouflage grouper Flowery grouper (Indonesia)	清水石斑鱼, 小牙石斑魚
<i>Epinephelus quoyanus</i>	Longfin grouper, Rockcod	알락우럭, 玳瑁石斑魚, 指印石斑鱼
<i>Epinephelus septemfasciatus</i>	Convict grouper, Seven-banded grouper	능성어, 七帶石斑鱼
<i>Epinephelus tauvina</i>	Greasy grouper Green grouper (Hong Kong)	鲈滑石斑鱼, 丘石斑鱼, 巨石斑魚
<i>Epinephelus trimaculatus</i>	Threespot grouper	별우럭, 鮭點石斑魚, 三斑石斑魚,
<i>Epinephelus tukula</i>	Potato grouper, Potato cod	감자바리, 藍身大斑石斑鱼, 藍身(大)石斑鱼, 金錢斑鱼
<i>Cromileptes altivelis</i>	Humpback grouper, Mouse grouper, Panther grouper	곰사등그루퍼, 驼背鲈, 老鼠斑(라오슈반), 駝背鱸
<i>Plectropomus leopardus</i>	Leopard coral grouper, Bluedotted coraltrout	무늬바리, 花斑刺鰵鯧, 东星斑(동성반), 豹纹鰵棘鲈