

국제 기준에 따른
**터봇 종자
생산 관리 매뉴얼**



국제 기준에 따른 터봇 종자 생산 관리 매뉴얼



목 차

1. 친어	5
가. 친어의 확보	5
1) 친어의 선택	5
2) 친어의 방역	5
3) 친어의 입식	7
나. 사육 시설	8
1) 친어 사육 시설	8
2) 친어 사육 시설과 장비의 위생 관리	9
다. 사육 관리	13
1) 친어 사육 환경 관리	13
2) 친어 사료 공급 관리	14
3) 질병 관리	16
라. 번식 관리	17
1) 친어의 성숙 유도	17
2) 친어의 산란 유도	20
2. 먹이생물	23

가. 조류	23
1) 배양 시설과 장비의 위생 관리	23
2) 조류 배양	27
나. 로티퍼	32
1) 배양 시설과 장비의 위생 관리	32
2) 대량 배양 환경 관리	36
3) 로티퍼의 배양	39
4) 로티퍼의 영양 강화	49
다. 알테미아	52
1) 배양 시설과 장비의 위생 관리	52
2) 내구란의 선정	56
3) 내구란의 살균	57
4) 내구란의 부화	57
5) 노플리우스의 수확	59
6) 영양 강화	63
3. 수정과 부화	66
가. 난의 수정	66
1) 번식 특성	66
2) 난과 정자의 수집	68
3) 인공 수정	75
4) 난의 평가	75
5) 난의 살균	79
나. 수정란의 부화	79

1) 수정란의 배양 관리	79
2) 수정란의 부화 관리	85
3) 부화 자어의 평가	87
4) 부화 자어의 이송	88
4. 자어	89
가. 위생 관리	89
1) 자어 사육 시설과 장비의 위생 관리	89
나. 사육 환경 관리	94
1) 자어 사육 환경 관리	94
다. 사육 관리	105
1) 자어의 발육 특성	105
2) 초기 먹이 공급	110
3) 자어 먹이 공급	111
4) 자어 인공 사료 전환	115
5) 자어 건강 모니터링	119
6) 자어 질병 관리	122
5. 치어	123
가. 위생 관리	123
1) 치어 사육 시설과 장비의 위생 관리	123
나. 사육 환경 관리	127

1) 치어 사육 환경 관리	127
다. 사육 관리	134
1) 치어 사료 공급 관리	134
2) 치어 건강 모니터링	137
3) 자치어의 이송 관리	141
라. 질병 관리	143
1) 바이러스성 질병	143
2) 세균성 질병	143
3) 기생충	144
6. 종자 수송	147
가. 수송 관리	147
1) 종자의 수확과 적재 기준	147
2) 종자의 수송 환경	148
3) 종자의 적하와 입식	152
참고 문헌	154

터봇 종자 생산 관리 매뉴얼

터봇(*Turbot, Scophthalmus maximus*)은 북위 68-30 °의 유럽과 지중해와 터키에 분포하는 종이다. 터봇은 수심 20~70 m의 모래와 자갈 또는 서로 섞인 바닥에서 어획된다. 터봇은 크기(0.65-15 kg)와 나라에 따라 10-25 \$/kg으로 시장 가격이 높은 종이였으나, 유럽 전체의 연간 어획량은 1만 톤 이하에 불과하였다(2011년). 1970년대 초부터 상업적 가치와 집약적 사육 조건에서의 성장 잠재력에 따라, 터봇 양식의 주요 연구는 처음에 영국의 MAFF¹⁾와 이전 WFA²⁾(현 SFIA) 그리고 프랑스의 이전 CNEXO³⁾(현 IFREMER⁴⁾) 등과 같은 국가 연구소에 의해서 수행되었다. 연구는 치어 사육 기술, 난의 공급 그리고 먹이생물 생산에 집중되었다. 실험실에서 치어 단계에서 치어 단계로의 첫 번째 변태가 1970년 영국에서 성공하였고, 뒤 이어 1972년 프랑스에서도 이루어졌다. 한편 치어의 양성에 대한 연구는 프랑스에서만 계속되었다. 영국에서는 터봇의 양식 기술을 개발하기 위해서 바다에서 채포된 터봇 치어가 약 10년 동안 양식 회사에서 사용되었기 때문이었다.

2000년대에 들어서, 영국과 프랑스는 배양장 설계와 관리와 함께 터봇의 영양 요구와 환경 조건에 대한 많은 발전이 이루어졌다. 과거 2000년

1) MAFF: Ministry of Agriculture Fisheries and Food, Fisheries laboratory, Lowestoft, Suffolk, England.
2) WFA: White Fish Authority, now SFIA: Sea Fish Authority, Marine Farming Unit, Ardtoe, Acharache, Argyll, Scotland.
3) CNEXO: Centre National pour l'Exploitation des Oceans, Centre de Brest, France.
4) IFREMER: Institut Francais pour l'Exploitation de la Mer.

대에는 양호한 품질의 치어 부족에 의해서 터봇 양식이 발전하지 못하였으나, 2000년대에 와서야 영국에서 수익성 있는 사업으로 되었다(Person-Le Ruyet et al., 2011).

1970년대 초 이후 터봇 생산 기술이 스페인에 전해졌다. 그러나 처음에는 종자의 부족으로 인하여 스페인에 있는 양식 시설의 수는 제한적이었다. 점차 종자 생산 기술의 발전으로 양식 생산 시설이 증가하기 시작하여, 1990년대 초에는 스페인에 이미 16명의 생산자가 있었다. 터봇 양식의 심각한 위기가 1992년에 발생했다. 생산량이 52% 증가했지만, 업계에서는 통합된 상업적 마케팅 네트워크가 없었다. 이 위기를 초래한 또 다른 요인은 양식장이 소규모이고 생산 비용이 매우 높다는 것이었다. 이 위기로 인해 일부 양식장들이 폐쇄되었다. 그 이후부터 계속해서 터봇 양식 부문의 개편이 시작되었으며, 이로 인하여 생산량이 증가하고 그리고 터봇을 양식하는 국가의 수도 증가하게 되었다. 매우 적합한 해양 조건을 갖춘 스페인은 현재 전 세계적으로 주요 생산국이 되었다.

그러나 또한 터봇은 현재 덴마크, 독일, 아이슬란드, 아일랜드, 이탈리아, 노르웨이, 웨일즈(영국) 및 포르투갈에서 현재 양식되고 있으며, 그리고 네덜란드에서는 이미 사육되고 있었다. 이들 모든 나라들의 연안 해역에는 터봇이 자연 분포하고 있다. 터봇이 분포하지 않는 다른 해역에도 터봇이 도입되었으며, 특히 1980년대 후반에 칠레에 도입되었고, 최근에는 중국에도 도입되었다(FAO, 2019).

중국에서 터봇은 중국 북부 해안의 넙치류 양식을 다양화하기 위하여 중국 수산과학원 황해수산연구소에 의해서 1992년 영국으로부터 전장 5-6 cm의 치어 200마리가 처음 도입되었다. 1995년 여름에 성적 성숙에 도달하였으며, 이들 어미로부터 산란된 난을 사용하여 1997년에 자어 대량 생산을 달성하였다. 1999년에 상업적 규모의 치어 생산이 중국 산둥

성의 북부 해안에서 시작되었다. 지하 해수를 이용한 온실에서의 본격적인 터봇 양식 체계가 발해만과 황해 해안을 따라 시설되었다. 중국에서 터봇은 2010년 세계 총 생산량의 87%인 6만 톤을 생산하였다. 중국의 종자 생산량은 2005년 이후 종자 생산 기술의 보급과 생산 업체의 증가로 연간 6,000만 마리 이상으로 급증하였다. 2011년에 주로 산둥성에 집중되어 있는 종자 생산장 99개소의 251,700 m²에서 19, 903만 마리를 생산하였다(Lei and Liu, 2010; Lei et al., 2012).

우리나라에서 터봇은 외래 양식 대상종의 개발에 필요한 종자 생산 기술 개발과 이식 기반 조사를 위하여, 국립수산물학원 동해수산연구소 울진수산종묘시험장에 의해 1998년 2월 26일 영국에서 전장 4.38~6.04cm (평균 전장: 5.31cm, 평균 체중: 2.48 g)의 치어들이 처음 이식되었다. 치어 도입 후 만 3년째인 2001년 2월, 터봇은 평균 전장 54.2±5.6cm, 평균 체중 4.9±0.79kg으로 성장하였다. 사육기간 중 넙치보다 저수온 수역에 서식하는 터봇은 고수온 기간에 많은 폐사가 일어났으며, 수조 내에서 성숙하여 산란하였으나, 수정률이 낮았다(국립수산물학원, 2002a). 국립수산물학원은 다시 20001년 6월 8일 프랑스 터봇 양어장에서 치어 3,000마리(전장: 8.4±0.63cm; 체중: 8.5±2.14g)를 도입하여 병원성 검증과 종자 생산 시험을 계속하였다(국립수산물학원, 2002b). 2002년부터 민간에서도 양식이 허용되면서 프랑스 등지에서 터봇 수정란을 수입하여 넙치와 같은 방식으로 양식이 시작 되었으나, 여름철 고수온기에 질병 및 대량 폐사로 인하여 양식하기 어려운 여건이었다. 그러나 2010년부터 제주도에 서 연중 17℃ 전후의 수온과 해수와 유사한 염도(25-34 psu)를 가진 지하 해수를 이용하여 터봇 어미를 사육할 수 있게 됨으로써, 종자 생산 기술의 개발이 촉진되고, 종자를 생산하여 보급할 수 있게 되어 터봇 양식의 기반이 조성되었다.

터봇(Turbot, *Psetta maxima* Linnaeus, 1758)은 북위 68-30도의 유럽과 지중해와 터키에 분포하는 종이며, 일반적으로 종자 생산은 18-20℃, 중간 육성과 양성은 16-18℃에서 이루어지고 있다. 따라서 서식 생태와 환경이 다른 지역에서 이식된 터봇을 양식하는데 필요한, 우리나라 자연 환경에 최적화된 종자 생산 기술과 양식 기술은 아직도 개발 과정에 있는 실정이다. 그러므로 터봇 종자 생산 매뉴얼은 유럽 자료를 중심으로 작성하여 종자 생산에 참조할 수 있도록 하였다. 먼저 「흑해의 터봇 종자 생산 매뉴얼⁵⁾」과 「유럽 농어와 돔의 종자생산 매뉴얼⁶⁾」을 기반으로 작성하였으며, 그에 더하여 Rurangwa et Poelman (2011)와 다른 여러 참고 문헌들을 참조하여 작성하였다. 이번에 작성된 매뉴얼은 하나의 첫 걸음으로 앞으로 미흡하거나 잘못된 내용들이 수정되고, 또 우리나라에서 새로이 개발되는 새 기술들이 추가됨으로써, 실질적인 터봇 종자 생산 매뉴얼로 보완되어 더 잘 활용될 수 있기를 기대한다.

5) 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.

6) Moretti, A.; Pedini Fernandez-Criado, M.; Cittolin, G.; Guidastrì, R. Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. Volume 1. Rome, FAO. 1999. 194 p.

1. 친어

가. 친어의 확보

1) 친어의 선택

- 터봇 양식 초기에 어미는 야생 어류를 어획하여 확보하였으나, 어획 후 순치 사육과 선택적 번식 후에 사육 시설에서 사육된 어미 집단을 확보하여 고품질의 난과 자어를 생산하는 데 사용하고 있다.
- 어류의 연령: 2살 이상의 수컷과 3살 이상의 암컷을 산란어로 사용할 수 있다.
- 어류의 형태: 체형과 체색이 정상적이어야 한다(상업적 선호 체색과 형태).
- 형태학적 기형: 골격 기형이 없어야 한다.
- 건강 상태: 큰 상처, 내부 출혈, 감염, 기생충 및 괴사가 없이, 전반적으로 건강 상태가 좋아야 한다.
- 행동 반응: 먹이 분포에 대하여 빠르게 반응하고 유영하며, 정상적으로 행동하여야 한다.
- 크기: 동일 연령 집단 안에서 큰 크기여야 한다.
- 성장률과 사료 전환 효율: 동일 연령 그룹 안에서 최상의 성장률과 사료 전환 효율을 가지고 있어야 한다.

2) 친어의 방역

가) 친어의 취급

- 포획 시 스트레스를 최소화하는 적합한 도구를 사용한다.
- 수조 등에서 포획 시 1회 인망에 적은 수의 친어를 포획하여 조심하여 다룬다.

- 비늘의 탈락을 피하기 위하여 무결절망과 면장갑을 사용한다.
- 친어는 항상 부드럽고, 빠르고 신중하게 취급하여야 한다.
- 단열 처리된 수송 용기를 사용한다.
- 임시 수용과 수송에 피부 찰과상과 기계적 충격을 피하기 위하여 충분한 공간의 원형 수조 또는 원형 모서리를 가진 사각 수조를 사용한다.
- 수송 시 수송 시간과 수온에 대비하여 어류 밀도를 조절한다.
- 수송 용기에서 100% 산소 포화도를 유지한다.

나) 친어의 방역

친어의 방역 기준

- 새로 도입된 친어용 어류는 배양장에 도착 직후 선택 기준에 따라 친어를 선정하며, 잠재적 난 산출량의 자료를 확보할 수 있도록, 친어의 체중을 측정하여 기록한다.
- 필요한 경우 마취제를 사용할 수 있다.
- 친어 선택 후 즉시 방역 수조로 옮겨 질병 예방 조치를 하여 기생충 또는 세균성 질병의 도입 위험을 차단하고, 취급 스트레스로부터 회복을 용이하게 한다.
- 질병의 오염을 방지하기 위하여, 정기적으로 관찰하여, 질병 관리사의 조언에 따라 처리제의 선택과 약욕 등 질병 예방 조치를 실시한다.
- 약욕 처리에 추가하여, 필요한 경우, 질병이 있는 터봇 어미는 회복될 때까지 15~30일마다 비타민 C (100 mg/kg 어류)를 복강 내 주사할 수도 있다(Devauchelle, 1986).
- 수온과 염분의 과도한 조작과 갑작스러운 변화는 피해야 한다.
- 어류를 다루는 데 소독된 면장갑의 사용을 권장한다.
- 절대로 어류를 더럽거나 또는 건조한 손으로 만지지 않아야 하

며, 어류를 만지기 전에 손을 잘 씻은 다음, 어류를 수용하고 있는 수조의 물에 손을 담그어 피부를 잘 적셔야 한다.

- 방역 수조는 빠른 청소, 용이한 수확 및 약욕 약제 사용량을 줄이기 위하여 적절한 크기여야 하고, 부드러운 내부 표면을 가져야 한다.

질병 진단 절차

- 아가미 샘플을 얻기 위해, 아가미가 노출되도록 아가미 뚜껑을 부드럽게 열고, 주걱으로 아가미를 조심스럽게 긁어낸다.
- 피부 샘플의 경우, 점액을 수집하기 위해 주걱으로 어류의 유안 측(ocular side)을 긁어낸다.
- 커버 글라스가 있는 슬라이드에 놓고, 현미경으로 검사한다.
- *Scuticociliata* sp., *Trichodina* sp. 등 원생동물 감염의 경우는 현미경으로 아가미와 피부 샘플을 검사하는 것이 필수적이다.

친어 방역 시설과 장비의 위생 관리

- 어미 방역 시설의 배수 또는 사용 장비를 분리함으로써, 다른 사육 단위와 접촉하지 않도록 하여야 한다.
- 기생충과 질병의 전파 가능성을 예방하기 위하여 어미 방역 시설은 다른 양식 시설로부터 완전히 격리되어 있어야 한다.
- 방역 수조의 배수는 병원 생물을 제거하기 위하여 처리되어야 한다.
- 친어의 이송 후에, 이들 수조는 배수하고, 완전히 살균하여야 한다.

3) 친어의 입식

- 성별 확인 후, 어류의 성장과 사료 계수를 산정하기 위하여 체중과 체장을 측정한다.

- 3-4살 어류의 초기 입식 밀도는 1:1의 성비(m^2 당 어미 약 1마리; 평균 어체중 2.5 kg)에서 2~3 kg/ m^2 이고, 반면에 2살 어류는 약 5~6 kg/ m^2 이다.
- 어미는 콘크리트 수조 등에 3~6 kg/ m^2 의 수용밀도로 입식한다 (Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).

나. 사육 시설

1) 친어 사육 시설

가) 친어 수조

- 수조 형태는 원형, 사각형 또는 둥근 모서리의 직사각형이며, 재료는 일반적으로 에폭시 페인트를 칠한 강화 콘크리트 수조, FRP 수조, 폴리에스테르 수조 등이다.

나) 친어 사육 시설 기준

- 산란 구역은 산란 어미에 대한 심리적 장애와 질병 감염의 가능 위험을 피하기 위하여 주요 배양장 건물로부터 분리하거나 또는 배양장 안의 전용구역에 두어야 한다.
- 산란수조의 형태와 수심은 어류에 쉽게 접근할 수 있고, 청소, 어류 교체, 먹이 공급, 난 수집과 통제 등과 같은 일상 작업을 용이하게 할 수 있도록 되어야 한다.
- 장기수용에 적합한 수조를 갖춘 독립 구역이 필요하며, 이 구역은 빛과 수온 조건이 자연 주기와 독립적으로 설정되어야 한다.
- 사육수는 고압 모래 여과조를 통해 여과한다.
- 배양장에서 수온은 유입수와 공기 조절 장치에 의해 조절되며, 필요한 수온을 확보하기 위하여 가온 및 냉각 시스템(히터와 히트 펌프)이 있어야 한다.

- 온도 안정성과 낮은 박테리아 부하로 지하수(철분 제거)가 필요한 경우 질산화 처리 시설의 채택이 검토되어야 한다.
- 자외선 살균등을 배양장 인수로에 설치한다.
- 사육수의 용존 산소 농도는 포화 상태에 가까워야 한다.
- 갑작스러운 광도의 변화를 피하고, 황혼 효과를 만들기 위한 조광 스위치가 장착된 타이머-조정 조명시설을 설치한다.

2) 친어 사육 시설과 장비의 위생 관리

가) 친어 사육 시설

- 친어 사육 시설은 기생충과 질병의 전파 가능성을 예방하기 위하여, 배양장에서 완전히 독립적이며, 격리된 부분이어야 한다.
- 친어 수조는 먼저 하루 동안 적절한 소독제로 소독하여야 하며, 그 다음 7일 동안 건조시킨 상태로 두어야 한다.
- 해수는 최소한 80 μm 이하의 여과 능력을 가진 고압모래 여과조를 통해 여과되어야 한다.
- 여과 해수는 가능한 한 자외선 시스템으로 살균되어야 한다.

나) 개인위생

- 작업을 시작하기 전에 그리고 필요할 때마다 손을 씻어야 한다.
- 어미 사육 구역에 들어가기 전, 그리고 떠나기 전에 장화를 소독하여야 한다.
- 일주일에 한 번 소독조에 담은 소독 용액을 새 것으로 바꾸어야 한다.
- 어류를 취급할 때는 면장갑을 착용하여야 한다.
- 위험한 화학 물질을 취급 할 때는 비닐장갑, 보안경 및 보호 앞치마를 착용하여야 한다.
- 흡연은 배양장 내부에서 허용되지 않는다.

다) 자외선 살균기

- 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영 튜브를 청소하거나 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다.
- 튜브에 와이퍼가 없는 경우, 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 그리고 분해하여 석영 튜브를 손으로 청소해야 한다.
- 정제된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다.
- 배양장에서 질병이 발생한 경우 측관을 열어서는 안 된다.
- 점검 창을 한 달에 한 번, 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 점검창을 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

라) 운용 수조

- 바닥의 찌꺼기와 침전물을 흡입기 또는 사이펀을 사용하여 제거한다.
- 친어를 불안하게 하는 것을 가능한 한 피하면서, 사료 섭취량을 평가하기 위해 찌꺼기와 침전물을 매일 제거한다.
- 수조 청소 후 다음 수조를 청소하기 전에 청소 공구를 소독하여야 한다.
- 침전물들이 다시 떠오르지 않도록 사이펀을 부드럽게 작동한다.
- 수조마다 소독된 사이펀을 사용하여야 한다.
- 사이펀을 소독 용액에 보관하고, 그리고 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 행구어야 한다.
- 수조 내벽과 수면 접촉면에 유분(greasy)이 축적될 때마다, 수위를 10 cm 낮추고 종이 티슈로 닦아야 한다.
- 절대로 물에 손을 담그지 않아야 한다.

마) 빈 수조

- 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다.
- 배수망 파이프, 에어 호스 및 에어스톤을 제거한다.
- 아직 젖어있을 때, 내부 벽, 바닥 및 모든 장비를 세제와 뜨거운 물로 세게 닦아야 한다.
- 적정 소독제로 밤새 행구고, 소독한다.
- 담수 또는 멸균된 해수로 행구고, 그리고 재충전하기 전에 건조시킨다.

바) 난 수집기

- 아침과 저녁에 난을 확인한다.
- 난 수집기를 한번 비운 후에는, 완전히 배출하고, 그리고 담수로 행구어야 한다.
- 난 수집기의 망과 내벽은 소독 용액으로 조심스럽게 세척하고, 담수로 행군 다음, 다시 산란 수조에 연결한다.

사) 배수 스탠드

- 저녁에 조명을 끄기 전에, 언제나 하루에 한 번 깨끗하고 소독된 배수 파이프로 교체한다.
- 주수구를 닫고, 그리고 어류를 불안하게 하는 것과 침전물이 다시 떠오르는 것을 피하면서, 더러워진 배수 파이프를 조심스럽게 제거한다.
- 뜨거운 물 또는 고압의 담수로 씻고, 그리고 적정 소독제로 소독한다. 물로 완전히 행구고 그리고 말린다.

아) 에어 호스와 에어 스톤

- 일주일에 한 번 각 수조에서 깨끗한 한 벌(비닐 호스 + 꼭지(tap) + 에어 스톤)로 교체한다.
- 유막(greasy film)을 제거하기 위하여, 뜨거운 물과 세제로 씻는다. 그 다음 적정 소독제에 담근다.
- 사용 전에 물로 철저히 행구어, 에어 호스와 에어 스톤 내부에 소독 용액이 남아 있지 않도록 한다.

자) 장비(버킷, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 하루 중에 사용하기 전과 후에 뜨거운 물로 철저히 행군다.
- 하루 작업 종료 시에 소독 용액에 담근다.
- 야간에는 물로 행구고, 그리고 건조한 상태로 보관한다.

차) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 침전물을 제거하여야 한다.

카) 배양실 바닥

- 일주일에 두 번 먼저 강력한 고압 분사기로 씻고,
- 그 다음 적절한 소독 용액으로 씻는다.
- 소독 용액으로 씻은 다음 바닥을 씻어내지 않는다.

타) 온도계, 염분 측정기, 산소 측정기

- 각 수조에서 채취한 표본 수를 측정기의 탐침으로 측정한다.
- 절대로 탐침을 수조에 담그지 않아야 한다.
- 사용 후에는 깨끗한 물로 완전히 씻는다.

파) 재료와 장비의 위생 관리

- 다른 구역 간에 질병이 퍼질 위험을 방지하기 위하여, 배양장의 다른 구역과 재료와 장비를 절대로 교환하지 않아야 한다.
- 사용 중인 재료와 장비가 깨끗하다고 여겨서는 안 된다. 필요할 때마다 스스로 세척해야 한다.
- 모든 소독제의 잔류물은 어류에 치명적인 독이 있으므로, 사용하기 전에 도구와 장비를 철저히 행구어야 한다.

다. 사육 관리

1) 친어 사육 환경 관리

가) 수온

- 수온은 가능한 한 13~14℃로 유지하고, 하계에 18℃ 이하로 조절하여야 하며, 갑작스러운 수온 변화가 일어나지 않도록 한다.

나) 빛과 조명

- 수조는 수조의 벽과 바닥의 조류 성장을 조래하는 햇빛을 차단하기 위하여 지붕이 있는 구역 아래에 설치한다.
- 조명은 20~200 lux의 범위로 유지한다.

다) 환수

- 수조의 환수는 포화도의 DO 수준과 1 ppm 이하의 암모늄 질소를 유지하기 위하여 조정한다.

라) 염분농도

- 염분농도는 수정란의 부력을 향상시킬 수 있는 적정 수준(32~34 psu)을 유지한다.

2) 친어 사료 공급 관리

가) 친어 사료의 선정

친어의 사료

- 친어의 사료 공급은 산란 후, 다음 산란기 3-4개월 전, 다음 난 형성(ovogenesis) 기간의 시작까지 공급하는 건강 유지 사료의 공급과, 그리고 그 이후 적절한 배우자 형성(gametogenesis)을 위한 필수 영양 요구물을 제공하기 위한 산란 촉진 사료로 구분하여 공급한다.
- 냉동 생사료를 먹이로 공급할 때는 어류의 크기에 따라 1-2조각으로 자르고, 해동하지 않고 친어에 직접 공급한다.
- 모이스트 펠릿에 필요한 경우, 비타민 C (600 mg/kg 어류)와 비타민 E (80 mg/kg 어류)를 보충하여 공급할 수 있다(Rurangwa et Poelman, 2011).
- 어미용 배합사료는 우수한 난을 확보하기 위하여 연간에 걸쳐 어미의 건강 상태 조절, 성숙, 산란 그리고 회복의 특정 단계에 적합하게 특화된 사료를 선정하여 공급한다.

건강 유지 사료

- 친어의 배우자 형성 시작 전까지 건강 유지를 위한 먹이 공급은, 생사료 공급 시, 어류, 갑각류, 연체류 등을 포함하여 가능한 한 자연 먹이에 가까운 먹이를 공급하여야 한다.
- 펠릿 건조 사료는 생사료의 대체 사료로 사용하거나, 약품, 영양제 등의 공급 및 자동 먹이 공급기의 사용에 유용하므로, 친어가 펠릿 건조 사료에 익숙하도록 적정하게 공급한다.

번식기 사료

- 배우자 형성기 동안, 암컷 어미가 앞으로 난모세포(oocytes)의 난

황으로 저장될 난황 전구 단백질(vitellogenin)을 생산할 수 있도록, 단백질과 지방이 평소보다 더 풍부한 먹이를 공급한다.

- 난황은 배 발생 단계와 생물 먹이를 먹기 시작하기 전까지 초기 자어 단계의 유일한 먹이 원천이기 때문에, 난황의 질과 양은 성공적인 번식을 위한 주요 요소이다.
- 배합 사료와 모이스트 펠릿 양쪽 다 이 시기에 공급된다. 건조 배합 사료는 고도불포화지방산과 같은 생존력 있는 자어의 발생에 필수적인 것으로 알려져 있는 모든 영양요소를 포함하여야 한다.
- 영양요소 중 특히 EHA (20:5 ω 3)와 DHA (20:6 ω 3)는 어류의 신진대사에 의해 생산될 수 없기 때문에 먹이와 함께 공급되어야 한다.
- 빈약한 먹이의 경우, 포화지방산이 풍부한 암컷의 내장 주위 지방이 난황 생산에 이용되어, 결과적으로 난의 품질이 빈약해지고 자어의 생존력을 감소하게 된다.
- 어류 양성용으로 배합된 펠릿 사료의 품질을 향상하기 위하여 상업적으로 이용 가능한 사료 첨가제를 사용할 수 있다.

나) 친어 사료의 공급

- 사료 공급량은 어류의 체중과 수온 및 생리적 상태에 따라 조정한다.
- 사료 공급은 포식 때까지 끈기 있게 조금씩 주어야 한다.
- 손으로 먹이를 주는 것은 빠르게 수질을 악화시키는 잔이를 예방하고, 어미의 행동을 관찰할 수 있게 해주기 때문에, 손으로 먹이를 주는 것이 권장된다.
- 3~4살 친어의 사료 공급은 1주에 2~3회 포식 공급을 하여야 하며, 1~2살 어류는 매일 아침 한 번 포식 공급을 하여야 한다.
- 냉동 생사료를 공급하는 경우, 어류의 크기에 따라 1-2조각으로

자르고, 또 해동하지 않고 친어에 먹인다.

- 지역 어업 등으로부터의 입수 가능성에 따라 확보한 잡어를 공급하는 경우, 오염 부하의 증가에 주의하여야 한다.
- 잡어는, 사료의 원 품질을 유지하기 위하여, 신선한 것을 구입한 다음, 즉시 깨끗이 씻고, 갈아서 급속 냉동한다.
- 먹이 공급은 건조 배합 사료의 공급을 주로 하고, 모이스트 펠릿의 공급을 병행하며, 일요일에는 사료를 공급하지 않는 것이 실용적이다.

약품 처리 중 및 후의 먹이 공급

- 수확 또는 약품 처리 후 빠른 회복을 위하여, 비타민 C와 불포화 지방산이 풍부한 사료를 먹이는 것이 권장된다.
- 약품을 처리하는 날에는, 치료 또는 예방 목적으로, 친어에게 사료를 주지 않는다.
- 약품 처리한 다음날부터 일주일 동안, 친어는 보통의 펠릿과 함께 추가적인 영양 강화제(Vitamin C, Vitamin Premix, 어유, 영양제 등)를 공급한다.

3) 질병 관리

가) 질병 증상

기생충 감염

- 기생충 감염 병어의 전형적인 증상은 식욕 감퇴와 불규칙한 유영 동작이다.
- 식욕 감퇴와 불규칙한 유영 동작이 나타나면 기생충 감염 검사를 실시한다.

세균성 질병 감염

- 세균성 질병 감염의 징후는 식욕 감퇴와 사료 미섭취이다.
- 피부와 아가미 꺾힘이 생기고, 그리고 어떤 병변이나 다른 문제가 나타난다.

나) 질병 치료

기생충 감염

- 기생충: *Trichodina*, *Scuticociliata*, *Ichtyobodo* 및 *Nematoda* 등
- 치료: 질병 관리사 또는 질병 전문가의 조언에 따라 조치한다.

세균 감염

- 세균: *Edwardsiella tarda*(에드워드균), *Flexibacter maritimus*(황주세균), *Streptococcus iniae*(연쇄구균), *Vibrio* sp. 등.
- 치료: 질병 관리사 또는 질병 전문가의 조언에 따라 조치한다.

라. 번식 관리

1) 친어의 성숙 유도

가) 성별 확인

- 산란기 동안에, 어류의 일반적인 모습도 성별을 나타낸다. 일반적으로 어류의 복부가 부풀어 오르면 암컷이고, 그리고 평평하고 단단하면 수컷이다.
- 성별을 결정하기 어려운 경우에는, 책상 조명을 사용할 수 있다. 터봇의 좌측 등쪽에 강한 광원(150 와트)을 두고 터봇의 오른쪽 복부 측면의 복강에서 관찰되는 생식선(난소낭)의 테두리가 어류의 뒷부분까지 연장되어 보이면 암컷이다. 그리고 복강에서 생식선이 관찰되면 수컷이다. 그러나 미성숙 수컷을 구별하는 것은 쉽지 않다.

- 성숙한 수컷의 생식선은 측정하는 것이 비교적 쉽다. 대부분의 경우 암컷 생식선은 쉽게 보이는 것을 이용하여, 미성숙 수컷의 성을 추론할 수 있다.
- 카테터 삽입(catheterization)에 의해 알이 없는 경우 수컷으로 결론짓는다.
- 암수를 구별하기 위하여 미성숙한 어류의 생식선에서 샘플을 채취하는 생체 검사 전에 마취하는 것이 권장된다.
- 난소(ovary)에 폴리에틸렌 관을 이용하여 사이펀으로 추출된 암컷의 난소 내 난모세포에 의해 성숙 단계를 추정할 수 있다 (Rurangwa et Poelman, 2011).

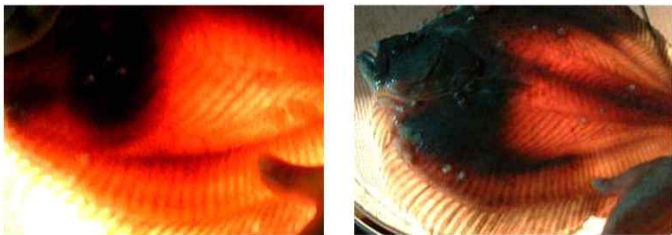


그림 1. 빛을 이용한 성 감별(좌, 수컷; 우, 암컷) (Source: Çiftci et al., 2002).

나) 친어 표지 부착

- 표지 부착은 현장에서 성별 및 연령별로 어류를 개별적으로 식별하고, 그리고 배양장 업무 일지에서 각 어류들의 이력을 쉽게 추적하기 위하여 필요하다.
- 어류의 안전을 위하여, 전자 표지인 수동적 통합 무선 응답 표지(PIT tag, passive integrated transponder tags)가 일반적으로 사

용된다.

- 유리 피복 전자 부호 표지는 등지느러미 밑의 피부 아래에 삽입되고, 그리고 그 숫자가 기록된다.

다) 성숙 연령

- 터봇은 2살 이상의 수컷(체장 약 30 cm)과 3살 이상의 암컷(체장 약 46 cm)을 친어로 사용할 수 있다(Danancher et Garcia-Vazquez, 2006).

라) 광주기의 성숙 유도

- 광주기와 수온을 조절함으로써 배우자 형성, 배우자 성숙, 산란을 조절할 수 있으며, 2~3개월의 산란기와 함께 연중 난을 확보할 수 있다 (Devauchelle et al., 1988; Forés et al., 1990). 그러나 모든 어류가 매년 산란하는 것은 아니다.
- 촉진된 광주기로 어류의 성숙을 앞당길 수 있으며, 연장된 광주기 체제로 성숙을 지연시키는 것이 가능하다.
- 터봇 어미의 선호 조도는 200~500 럭스이다 (Rurangwa et Poelman, 2011).

마) 온도의 성숙 유도

- 유럽에서 터봇의 배우자 형성은 12월에서 4월 또는 1월에서 5월 까지 수온이 7°C에서 12°C로 상승하며, 낮의 길이가 8시간에서 16시간으로 길어지는 시기에 약 150일이 소요된다. 그리고 터봇의 산란은 수온이 9.5°C에서 17°C로 상승하며(최적 13~15°C), 낮의 길이가 10시간에서 17시간으로 길어지는(최적 15~16시간) 시기의 32일에서 68일 사이(평균 약 50일)에 일어난다(Devauchelle, 1986).

- 산란기에 수온 13~15℃ 범위에서 정상적으로 산란하며, 16℃ 이상에서는 난자의 수정이 일어나지 않는다.
- 난 발생 적정 수온은 12~13℃ 이다(Devauchelle et al., 1988).
- 14℃에서는 종종 과숙의 난을 만든다.
- 스트레스를 줄이고 그리고 배란을 보다 정확하게 예측하기 위해 산란 기간 동안 사육 수온을 일정하게 유지하는 것이 권장된다(McEvoy, 1989).

2) 친어의 산란 유도

가) 번식 어미의 선택

수컷 어미

- 터봇에서 배란(ovulation)이 일어난다는 외부 징후가 없다.
- 터봇 수컷은 암컷과 비교하여 더 작은 크기, 쫓아다니는 산란 행동, 도관 삽입에 의한 난의 부재 등으로 선택될 수 있다.
- 정액은 어류의 정소의 위치에서 복부에 부드럽게 압력을 가하여 흘러내리는 것으로 확보한다.

암컷 어미

- 산업적으로 종자를 생산하는 배양장에서는 일반적으로 암컷들의 복부가 부풀어 오르고, 난이 압출될 수 있을 때까지 어미를 건드리지 않는다.
- 난 성숙 단계는, 먼저 암컷의 생식소 강(gonadal cavity)에 3mm 내경의 도뇨관(catheter tube)을 삽입하고, 도뇨관을 빼내는 동안 흡입을 통해, 난소(ovaries)에서 성숙하였거나 또는 성숙 중인 0.2mm 이상의 난모세포(oocytes) 2ml를 채취하여 확인한다(Forés et al., 1990).
- 난소 표본은 처음에 매주 2~3회 취해진다. 성숙의 최종 단계에서,

난소 표본은 매일 취해진다.

- 산란은 알의 지름이 약 1mm일 때 일어난다. 일단 산란이 시작되면 산란 진행 과정을 모니터링하기 위해 2~3일마다 복부 압착을 실시하고, 난의 단계와 부유 난과 비부유 난의 수를 기록하여야 한다. 동시에, 수컷이 정자를 방출하고 있는지 확인하기 위하여 표본 조사하여야 한다(Rurangwa et Poelman, 2011).

나) 산란 유도의 단계별 추진 절차

- 사육 수조의 준비(일정한 수온: 14℃, 염분: 32~34 psu).
- 이틀마다 포식 상태로 먹이 공급.
- 사육 상태에서 이전에 산란된 어미를 가급적 선택하고, 그리고 8시간의 일정한 낮 길이를 유지.
- 산란 행동이나 산란 활동을 나타내는 산란 어미를 선택(암컷: 부푼 난소, 수컷: 정액의 배출)
- 3.5~8 kg 사이 체중의 암컷과 2~7 kg 사이 체중의 수컷을 선택.
- 25 m²이 들어가는 1m 깊이의 산란 수조에 8~12 kg/m² 미만의 밀도에서 암컷 1마리당 1마리 또는 2마리 수컷의 성비로 수용.
- 200 lux의 표면 조도를 제공하는 일광 형광등 사용.
- 터봇 어미가 맨 처음 8L:16D의 일정한 광주기에 처음 노출되고, 어류가 산란 수조에 일단 적응된 후, 빛을 8시간에서 16시간까지 1일 이내에 광주기를 바꾸면 15일 이내에 성숙이 시작된다. 산란이 끝날 때까지 이 광 체계를 유지한다. 대부분의 암컷은 2개월 후에 산란하기 시작하고 모든 수컷은 같은 기간에 정액을 생산한다(Rurangwa et Poelman, 2011; Forés et al., 1990).

다) 호르몬 처리

수컷의 산란 유도 호르몬

- 배양장에서 일반적으로 수컷의 산란 유도를 위하여 호르몬을 처리하지는 않는다.

암컷의 산란 유도 호르몬

- 사육되고 있는 어미 터봇은 생식선 자극 호르몬 유사체(GnRH-a, gonadotropin-releasing hormone analogue)를 함유한 서서히 방출하는 펠릿(sustained-release pellets) 등을 사용함으로써 성공적으로 산란 시킬 수 있다.
- GnRH-a를 사용하여 암컷의 산란을 동기화 할 수 있으며, 산란 기간을 단축할 수 있다.
- 직경 0.4 mm 이상의 난모세포(oocytes)를 가진 성숙 중인 암컷이 호르몬 처리에 사용된다.

라) 산란 행동

- 배양장에서 터봇은 자연적으로 산란하지 않거나 또는 거의 산란하지 않는다.
- 터봇은 수조에서 산란기에 수컷이 암컷을 뒤쫓으며, 바닥과 다양한 깊이에서 헤엄쳐 다닌다. 때때로 수컷은 암컷 바로 위 또는 아래로 움직이고, 암수는 근육 조직의 동시 파동을 동시에 일으키며 유영한다. 몇 분 후에 암컷은 바닥에 돌아오고, 수컷은 암컷 가까이에서 자리 잡거나 또는 암컷에 포개며, 때때로 암컷의 등 체표면 위로 지느러미 끝으로 파문을 일으킨다. 그러나 산란 행동에도 불구하고, 자연 산란은 수조에서 거의 일어나지 않는다(Bromley et al., 1986)., P.J., Sykes, P.A. and Howell, B.R. (1986).

2. 먹이생물

가. 조류

- 최근의 개발로 인해, 조류 페이스트(algae paste)와 조류 농축물(algae concentrates)은 조류-효모에 의한 로티퍼 배양보다 위생적으로, 경제적으로 효과적이다. 그리고 조류 페이스트와 농축물은 상업적으로 이용할 수 있게 되어 어류 배양장에서 대부분 생산하지 않게 되었다.

1) 배양 시설과 장비의 위생 관리

가) 개인위생

- 구역에 들어가기 전이나 떠날 때 장화를 소독하여야 한다.
- 작업을 시작하기 전과 그리고 필요할 때마다 손을 씻어야 한다. 특히 원종 배양실 안에서 그리고 로티퍼를 취급한 후에 손을 씻어야 한다.
- 원종 배양실에서 작업할 때는 알코올로 손을 소독하여야 한다.
- 위험한 화학 물질을 취급 할 때는 비닐장갑, 보안경 및 보호 앞치마를 착용하여야 한다.
- 흡연은 배양장 내부에서 허용되지 않는다.

나) 자외선 살균기

- 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영 튜브를 청소하거나 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 튜브에 와이퍼가 없는 경우, 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 그리고 분해하여 석영 튜브를 손으로 청소해야 한다.

- 정제된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관 (by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다.
- 점검 창을 한 달에 한 번 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

다) 미세 여과 장치

- 미세 여과 장치는 생산자 지침에 따라 정기적으로 점검 및 정비 하여야 한다.
- 유속이 사전 설정된 안전 값 아래로 떨어지면 필터를 교체하여야 한다.
- 새로운 또는 소독된 여과 필터만 사용하여야 한다.
- 예비 부품을 충분히 준비하여야 한다.

라) 장비(버킷, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 항상 깨끗하고 소독된 장비를 사용하여야 한다.
- 도구는 소독 용액에 담가 두어야 한다.
- 필요할 때 도구를 꺼내어 잘 행구고 사용하여야 한다.
- 자흡수 플라스틱 펌프(Self-priming plastic pumps)는 매번 사용 후 멸균된 해수로 잘 행구어 주어야 한다. 하루 작업이 끝난 후 폐쇄 회로에서 소독 용액으로 행구어 주어야 한다. 호스를 소독 용기에 보관하여야 한다.
- 비닐 에어 관은 소독 용액에 보관하여야 한다.
- 로티퍼와 알테미아의 먹이 공급과 영양 강화를 위해 유분 영양 용액을 공급하기 위해 사용된 용기는 사용 후 비누로 세척해야 하며, 그리고 소독 용액에 보관해야 한다. 사용하기 전에 멸균 수로 행구어야 한다.
- 비닐 백은 사용 후 폐기하여야 한다.

마) 유리 제품

- 철저히 세척되고 살균된 유리 제품만 사용한다.
- 사용 후에는, 모든 유리 제품을 수돗물로 행구고 소독 용액에 적정 시간 동안 담가 두어 오랜 배양의 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, 유리 제품은 먼지가 들어가지 않게 알루미늄 호일로 개구부를 밀봉하여 보관한다.
- 피펫과 유리관은 소독 용액으로 채워진 원통형 플라스틱 행굼 용기에 적정 시간 동안 두어, 오래된 배양 물의 유기 잔류물을 쉽게 제거 할 수 있도록 한다. 행굼 순서는 항상 수돗물이 먼저이고, 그 뒤에 증류수로 행굼다.

바) 온도계, 염분측정기, 산소측정기

- 분석할 각 수조 또는 용기에서 비커 등으로 채취한 물 시료만 측정하여야 하며, 절대로 탐침(probes)을 용기에 직접 담그지 않아야 한다. 사용 후에는 깨끗한 물로 완전히 씻는다.

사) 대량 배양 수조와 장비

- 배양 수조의 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다. 에어 호스와 산소 호스 및 에어 스톤을 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 소독 용액에 밤새 담근다.
- 수조를 담수로 행구고, 소독 용액으로 한 번 더 처리한다.
- 수조를 담수로 행구고, 재충전하기 전에 수조를 건조 시킨다.

아) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 또는 소독 용액의 함량이 사전 설정된 값 이하가 될 때마다, 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 잔류물을 제거한다.

자) 테이블과 조명 선반

- 작업을 시작하기 전에, 모든 표면을 알코올로 소독한다.
- 하루 일과가 끝나면, 세제로 씻고, 수돗물로 행구고 말린다.

차) 소형 용기용 조명 선반

- 모든 표면을 매일 알코올로 세척하고 소독한다.

카) 바닥과 타일 벽

- 먼저 고압 세척기로 씻고, 그 다음 소독 용액으로 매일 씻는다. 행귀내서는 안 된다.

타) 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 소독 용액으로 씻거나 살포한 다음, 2시간가량 후에 수조의 물을 빼내고 잘 행군다.
- 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다.
- 포기 배관, 배수 밸브, 부유물 제거 매트 등 수조에서 사용되는 부속 장비들을 살균한다. 실용적 절차로 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 소독 용액으로 살균한다.

파) 먹이생물 배양의 주의 사항

- 항상 있는 일로, 로티퍼로 조류 배양을 오염시킬 위험을 방지하기 위해, 조류와 관련된 모든 조각은 로티퍼와 관련된 조치를 하기 전에 완료되어야 한다.
- 기본 규칙으로, 조류 배양을 하는 데 사용되는 모든 장비는 로티퍼에게 사용되는 장비와 분리되어 보관되어야 한다.
- 사용하려는 재료와 장비가 깨끗하다고 여겨서는 안 된다. 재료와 장비가 필요할 때마다 작업자 스스로 청소해야 한다.
- 차아염소산염 용액을 사용할 경우, 독성이 높은 염소 가스 (Cl₂)가 생성될 수 있기 때문에, 차아염소산염 용액(hypochlorite solutions)을 자외선에 노출시키거나 또는 염산(HCl)과 혼합해서는 안 된다.
- 모든 산성 또는 차아염소산염 잔류물은 어류에 치명적인 독이 있으므로, 사용하기 전에 철저히 행구어졌는지 확인해야 한다.
- 질병의 확산 위험을 예방하기 위하여, 배양장의 다른 구역과 재료와 장비를 절대로 교환하지 않아야 한다.

2) 조류 배양

가) 조류 대량 배양

- 조류 대량 배양은 일반적으로 실외에 위치한 5 ~ 30 m² 크기의

FRP 수조 등에서 수행한다.

- 옥외 배양 수조는 양지바른 지역에 배치하며, 또 조류 성장을 촉진하기 위해 서쪽에서 동쪽 위치로 돌려놓는다.
- 동물 플랑크톤들이 강한 바람에 의해 조류 배양 수조로 날아갈 수 있기 때문에, 로티퍼와 원생동물로부터 오염되는 것을 최소화하기 위하여 야외 수조의 위치를 적절히 고려한다.
- 여과된 바닷물과 수돗물은 청소와 충전을 위해 쉽게 접근 할 수 있어야 한다.
- 조류를 잘 휘젓기 위해서 강하게 포기한다.
- 1 m³과 5 m³ 수조의 조류 배양 물은 각각 5 m³과 30 m³ 배양 수조에 접종할 수 있다.
- *Nannochloropsis* 배양에서, 초기 수심은 접종되는 조류의 밀도와 부피로 고려한다.
- 접종 후 조류의 밀도는 5 ~ 10 x 10⁶ cells/ml로 설정하고, 그리고 조류의 밀도가 20 x 10⁶ cells/ml에 도달하면, 밀도가 10 x 10⁶ cells/ml가 될 때까지 살균된 해수를 첨가한다.
- *Nannochloropsis*의 밀도는 봄철 1주일에 목표 밀도인 20 x 10⁶ 세포/ml에 도달한다.
- 시비의 간격과 용량은 대량 배양 수조에서의 조류 성장에 영향을 미치므로, 표준 비료 양의 1/3을 매 3일마다 적용한다.
- 최고 밀도에 도달한 배양된 조류는 로티퍼에 공급되기 전이나 또는 농축되기 전에 온도 조절 수조로 옮긴다.
- 조류는 호스 끝 부분에 부착된 45µm 플랑크톤 망을 통해 거른다.

표 1. *Nannochloropsis*의 대량 배양에 사용되는 화학 물질의 용량

	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: Çiftci et al., 2002)



그림 2. 조류 배양 흐름(Source: Çiftci et al., 2002).

나) 세포 계수

- 성장과 오염을 조사하기 위해, 각 배양 조류의 밀도를 매일 모니터링하는 것이 권장된다.
- 조류 세포의 계수는 혈구 계산기(hemocytometer)를 사용하여 현미경 하에서 모니터 한다.
- 혈구 계산기에 의한 세포 계수 절차
 - 혈구 계산기와 커버 글라스를 90% 알코올로 닦는다. 먼지와 지질이 없어야 한다.
 - 커버 글라스를 혈구 계산기의 패선 부분 중앙에 놓는다.
 - 커버 글라스를 단단히 밀고, 가볍게 비틀어, 커버 글라스와 혈구 계산기 사이에 뉴턴 환(Newton's ring)을 형성한다.
 - 한 방울의 샘플을 커버 글라스의 면에 놓는다.
 - 시료가 너무 많아서 홈에 넘치거나 또는 너무 작아서 챔버(chamber)가 불완전하게 채워지지 않아야 한다.
 - 페트리 접시를 준비한다. 샘플의 증발을 방지하기 위해 페트리 접시에 축축한 종이 한 장을 둔다. 세포가 바닥에 가라앉을 때까지 5분 동안 혈구 계산기를 페트리 접시에 남겨 둔다.

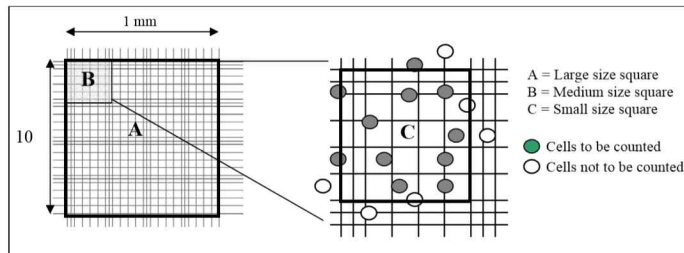


그림 3. 혈구 계산기(hemocytometer)에서 세포 계수(Source: Çiftci et al., 2002).

- 혈구 계산기는 일반적으로 세 가지 유형이 사용된다. 가장 큰 정사각형 크기의 Thoma형은 1 mm x 1 mm, Burkert-Turk형은 3 mm x 3 mm이고, Neubauer형은 4 mm x 4mm이다.

다) 오염 방지 대책

- 현미경 관찰 외에, 각 배양 수조의 육안 검사를 매일 수행하여야 한다.
- 수면에 끈적끈적한 녹색 기포 또는 배양 수조 벽면의 오염이 발견되면, 로티퍼 또는 원생동물이 의심되는 오염 물질이다. 이 중 어느 하나의 경우, 1 ml의 표본을 입체 현미경으로 검사해야 한다. 1 ml 샘플에서 오염의 증거가 발견되지 않으면, 5 L 샘플을 채취하고, 그 다음에 이 샘플을 45 µm 플랑크톤 망으로 농축한다. 농축된 샘플을 현미경으로 관찰한다.
- 로티퍼가 농축 표본에서 발견되면, 배양 수조의 배양수를 적절한 소독 용액으로 처리한다. 로티퍼 알은 이 처리로도 생존 할 수 있으므로, 같은 처리를 다음날 새롭게 부화한 로티퍼를 죽이기 위해 반복한다.
- 바람직하지 않은 원생동물이 관찰되면, 적절한 소독 용액으로 처리한다.

라) 농축

- 종자 생산 기간 동안 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 보존될 수 있다.

- 농축된 조류는 강한 포기가 제공되는 플라스틱 대형 병에 옮겨져서, 1~3℃ 온도에서 냉장고에 보관한다.
- 또한 조류는 비닐 백에 포장되어, 지질 함유물의 산화를 방지하기 위해 -30℃ 이하의 온도에서 보관할 수 있다.
- 농축된 *Nannochloropsis*의 밀도는 $5 \sim 6 \times 10^9$ cells/ml이다.

나. 로티퍼

1) 배양 시설과 장비의 위생 관리

가) 개인위생

- 배양 구역에 들어가기 전이나 떠날 때 장화를 소독하여야 한다.
- 작업을 시작하기 전과 그리고 필요할 때마다 손을 씻어야 한다.
- 위험한 화학 물질을 취급 할 때는 비닐장갑, 보안경 및 보호 앞치마를 착용하여야 한다.
- 흡연은 배양장 내부에서 허용되지 않는다.

나) 자외선 살균기

- 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영 튜브(quartz tubes)를 청소하거나 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 튜브에 와이퍼가 없는 경우, 자외선 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 분해하여 석영 튜브를 손으로 청소해야 한다.
- 정제된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다.
- 점검 창을 한 달에 한 번 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

다) 미세 여과 장치

- 생산자 지침에 따라 정기적으로 점검 및 정비를 하여야 한다.
- 유속이 사전 설정된 안전 값 아래로 떨어지면 필터를 교체하여야 한다.
- 새로운 또는 소독된 여과 필터만 사용하여야 한다.
- 예비 부품을 충분히 준비하여야 한다.

라) 장비(버킷, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 항상 깨끗하고 소독된 장비를 사용하여야 한다.
- 도구는 소독 용액에 담가 두어야 한다.
- 필요할 때 도구를 꺼내어 잘 행구고 사용하여야 한다.
- 자흡수 플라스틱 펌프(Self-priming plastic pumps)는 사용 후 매번 멸균된 해수로 잘 행구어 주어야 한다. 하루 작업이 끝난 후 폐쇄 회로에서 소독 용액으로 행구어 주어야 한다. 호스를 소독 용기에 보관하여야 한다.
- 비닐 에어 관은 소독 용액에 보관하여야 한다.
- 로티퍼와 알테미아의 먹이 공급과 영양 강화를 위해 유분 영양 용액을 공급하기 위해 사용된 용기는 사용 후 비누로 세척해야 하며, 그리고 소독 용액에 보관해야 한다. 사용하기 전에 멸균수로 행구어야 한다.
- 사용 후 비닐 백은 폐기하여야 한다.

마) 유리 제품

- 철저히 세척되고 멸균된 유리 제품만 사용한다.
- 모든 유리 제품을 사용 후에는 수돗물로 행구고 소독 용액에 적정 시간 동안 담가 두어 오랜 배양의 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, 유리 제품은 먼지가 들어가지 않게 알루미늄 호일로 개구부를 밀봉하여 보관한다.
- 피펫과 유리관은 소독 용액으로 채워진 원통형 플라스틱 행굼 용기에 적정 시간 동안 두어, 오래된 배양 물 유기 잔류물을 쉽게 제거 할 수 있도록 한다. 행굼 순서는 항상 수돗물이 먼저이고, 그 뒤에 증류수로 행군다.

바) 온도계, 염분 측정기, 산소 측정기

- 분석할 각 용기에서 채취한 물 시료만 측정하여야 하며, 절대로 담침을 용기에 직접 담그지 않아야 한다. 사용 후에는 깨끗한 물로 완전히 씻는다.

사) 대량 배양 수조와 장비

- 배양 수조의 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다. 에어 호스와 산소 호스 및 에어 스톤을 제거하고, 수중 히터와 플락 여과막(floccule traps)을 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 소독 용액에 밤새 담근다.
- 수조를 담수로 행구고, 소독 용액으로 한 번 더 처리한다.
- 수조를 담수로 행구고, 재충전하기 전에 수조를 건조 시킨다.

아) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 또는 소독 용액의 농도가 사전 설정된 값 이하가 될 때마다, 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 잔류물을 제거한다.

자) 테이블과 조명 선반

- 작업을 시작하기 전에, 모든 표면을 알코올로 소독한다.
- 하루 일과가 끝나면, 세제로 씻고, 수돗물로 행구고 말린다.

차) 소형 용기용 조명 선반

- 모든 표면을 매일 알코올로 세척하고 소독한다.

카) 바닥과 타일 벽

- 먼저 고압 세척기로 씻고, 그 다음 소독 용액으로 매일 씻는다. 행귀내서는 안 된다.

타) 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 소독 용액으로 씻거나 살포한 다음, 적정 시간 후에 수조의 물을 빼내고 소독 용액의 잔류물이 없어질 때까지 잘 행군다.
- 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다. 대안으로, 수조를 해수로 채우고 소독 용액으로 살균하며, 이후 소독 용액을 완전히 제거한다.

- 포기 배관, 배수 밸브, 부유물 제거 매트 등 수조에서 사용되는 부속 장비들을 살균한다. 실용적 절차로 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 소독 용액으로 살균한다.

파) 먹이 생물 배양의 주의 사항

- 항상 있는 일로, 로티퍼로 조류 배양을 오염시킬 위험을 방지하기 위해, 조류와 관련된 모든 조작용 로티퍼와 관련된 조치를 하기 전에 완료되어야 한다.
- 기본 규칙으로, 조류 배양을 하는 데 사용되는 모든 장비는 로티퍼에게 사용되는 장비와 분리되어 보관되어야 한다.
- 사용하려는 재료와 장비가 깨끗하다고 여겨서는 안 된다. 재료와 장비가 필요할 때마다 작업자 스스로 청소해야 한다.
- 차아염소산염을 사용할 경우 독성이 높은 염소 가스(Cl_2)가 생성될 수 있기 때문에, 차아염소산염 용액을 자외선에 노출시키거나 또는 염산(HCl)과 혼합해서는 안 된다.
- 모든 산성 또는 차아염소산염 잔류물(hypochlorite residue)은 어류에 치명적인 독이 있으므로, 사용하기 전에 철저히 행구어졌는지 반드시 확인해야 한다.
- 질병의 확산 위험을 예방하기 위하여, 배양장의 다른 구역과 재료와 장비를 절대로 교환하지 않아야 한다.

2) 대량 배양 환경 관리

가) 수온

- 30°C의 높은 온도에서도 대량 배양될 수 있으나, 높은 수온에서는 세균과 다른 오염물질도 증가할 수 있으므로, 관리가 용이한 20-25°C 범위가 일반적으로 채택된다.
- *Brachionus plicatilis* (평균 240 μm)의 최적 성장 온도는 일반적으로

20 ~ 25°C 이고, 반면에 *B. rotundiformis* (평균 160 μm)는 약 30°C 이다.

나) DO

- 조류 용기 안에서의 로티퍼의 증식 단계 동안에, 로티퍼의 산소 요구량은 미세조류의 광합성 활동에 의해서 필요한 산소량이 채워진다.
- 로티퍼의 대량 배양에서 인공 사료, 영양 강화 촉진제, 높은 밀도 및 대사 생성물은 배양액의 산소를 감소시키는 데 기여한다.
- DO 포화도 80% 이상의 안전 범위 안에 산소 수준을 유지하기 위하여, 강한 포기에 의해 공기를 공급하고, 필요시 비상 산소 공급 시스템에 연결한다.

다) pH

- 허용범위는 pH 5-9이나, 7.5-8.5로 조절한다.
- 해수의 완충 능력은 pH를 좁은 범위 안에 유지한다.
- 낮은 pH는 유독성 비이온화 암모니아(NH_3)와 이온화 암모니아(NH_4^+) 사이의 균형에 영향을 주어 유독성 암모니아(NH_3) 부분을 감소시킨다.

라) 염분농도

- 로티퍼의 배양 가능 염분 범위는 1-60 psu로 매우 넓으나, 소형과 대형의 두 계통 사이에 차이가 있다.
- 소형 로티퍼 계통(S-type strain)의 적정 염분농도는 18-20 psu이다. 반면에 대형(L-type)은 30 psu에서 더 잘 자란다.

마) NH_3

- 유독성 비이온화 암모니아(NH₃)는 1 mg/L 이하로 한다.

바) 포기

- 로티퍼 배양에 포기하는 것은 산소를 공급하고, 적정한 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 퍼져 있는 물의 난류(water turbulence)에 의해서 감지할 수 있다.
- 에어 스톤의 숫자와 배치는 수조의 형태와 부피에 달려있다. 그러나 모든 경우에 침전물의 재부유를 막기 위하여, 에어 스톤은 수조 바닥으로부터 약 15 cm 위에 떠 있어야 한다.

사) 로티퍼 배양수조의 청소

- 원추형 바닥을 가진 원형수조에서, 바닥 침전물은 포기 없이 10~15분 동안 침전시킴으로써 제거되어진다(침전 작업 중에 DO 수준의 점검에 주의를 기울여야 한다).
- 침전한 다음 바닥 밸브를 몇 초간 열었다가, 배출수가 다시 깨끗해졌을 때 밸브를 잠근다. 아침과 저녁, 하루에 두 번 사육 수조 청소 작업을 반복한다.
- 수면이 접촉하는 수조 벽 부위의 수면 접촉면에서 형성되는 기름 층을 스펀지 또는 종이 형질을 사용하여 제거함으로써 청소 과정을 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. 부유성 침전물, 배설물, 미섭취 먹이, 플락 등의 바닥 침전물의 제거는 과도한 세균 발생을 예방할 수 있으며, 로티퍼

가 이용 가능한 산소를 증가시켜 줄 수 있다.

- 로티퍼 배양수의 지속적인 포기는 부분적으로 입자의 침전을 방해하므로, 입자 제거에 입자 여과막(particle traps)을 활용하는 것이 도움이 될 수 있다. 입자 여과막은 최소 하루에 두 번 청소되어야 한다.

3) 로티퍼의 배양

가) 대량 배양 방법

- 로티퍼 배양의 먹이 공급 방법은 2개의 주요 방법이 있으며, 과거의 “조류와 빵 효모의 조합 공급 방법”과 최근의 “완전 인공 사료 공급 방법”이다. 신뢰성과 더 많은 생산량 때문에, 두 번째 방법이 점차 첫 번째 방법을 점진적으로 대체하고 있다.
- 인공 사료는 Belgium의 INVE SA 또는 다른 사료 회사들에서 생산되는 Culture Selco® 등 다양한 유사 제품들이 있다.
- 로티퍼의 대량 배양 체계는 일반적으로 사용되는 두 가지 표준 배양 시스템이 있으며, 한 방법은 “회분식 배양 시스템(batch culture system)”이고 다른 방법은 “이용 배양 시스템(exploitation culture system)” 또는 “반 연속 배양 시스템(semi-continuous culture system)”이다.

나) 대량 배양 시설

- 로티퍼 대량 배양 수조는 1 m³부터 10 m³ 이상의 대형 수조에 이르기 까지 다양한 용적을 가지며, 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 장치한다.

- 조류가 먹이로 이용되는 단계를 제외하고는, 로티퍼의 대량 배양은 빛이 필요 없기 때문에 일반적인 조명 시스템을 설치한다.
- 로티퍼 대량 배양은 고밀도 때문에, 엄격한 위생 상태를 유지하기 위한 사육 절차와 기준을 엄격하게 적용하여야 한다.
- 위생이 중요하므로 표준 세척 절차를 엄격히 이행해야 한다.

다) 수조 준비 절차

- 로티퍼 배양의 수확 후 새 배양 주기를 시작하기 전에 보통 아래와 같이 수조를 준비한다.
 - 수조에 있는 유기물 찌꺼기의 덩어리를 제거하기 위하여 수돗물로 행군다.
 - 솔과 세제로 완전히 씻고 다시 행군다.
 - 수조 벽을 소독 용액으로 씻거나 또는 살포한다. 수조의 물을 빼내고 소독 용액의 잔류물을 완전히 제거하기 위하여 잘 세척한다.
 - 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다. 대안으로, 수조를 해수로 채우고 소독 용액으로 살균한다.
- 포기 배관(, 배수 밸브, 부유입자 여과막(suspended traps) 등 수조에서 사용되는 장비들에 대한 절차를 반복한다.
- 실용적 절차로 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 소독 용액으로 살균한다.

라) 접종 로티퍼

- 접종에 사용하는 로티퍼 개체군은 최소 20% 번식률을 가진 대수 증식기의 중간에 있는 로티퍼여야 한다.
- 번식률은 전체 로티퍼에서 난을 가진 로티퍼의 율(%)로 정한다.

- 제한된 운동성, 낮은 포만도, 알의 부재 등으로 특징되는 이미 최종 단계에 달한 로티퍼를 접종용으로 사용해서는 안 된다.

마) 로티퍼의 접종 밀도

- 로티퍼 접종 초기 최적 밀도는 150-200 개체/ml 이나, 최소 100 개체/ml 이상이어야 한다.
- 인공 먹이 공급에 의한 고밀도 배양은 500 개체/ml로 증가할 수 있다.
- 초기 밀도 200 개체/ml로 접종될 경우, 일반적으로 로티퍼 밀도는 25℃에서 4-6일 안에 최대 생산 정점에 도달할 수 있다.

바) 반복 접종 횟수

- 로티퍼 배양 수조 접종은 다른 수조의 로티퍼를 사용할 수 있다.
- 접종 로티퍼로 사용하기 위하여 수확되기 하루 전에, 수조 안의 로티퍼에 번식 촉진제를 공급할 수 있다.
- 오염과 배양 실패의 위험을 줄이기 위하여, 수평 증식 배양은 7-8회로 제한하여야 한다.
- 7-8회 수평 증식 배양 이후에는 접종 로티퍼를 다시 가져와야 한다.

사) 번식 촉진제

- 로티퍼 배양에서 대수 증식기의 조류 배양과 인공 사료 첨가 처리 해수 배양의 양쪽 모두에서 로티퍼 배양액에 첨가되는 유일한 영양 강화는, 로티퍼의 생식력 촉진제로서, 비타민 B12의 첨가이다.
- 소량 또는 대량 배양의 두 경우 모두, 비타민 B12를 로티퍼 접종물과 함께 추가한다.
- 비타민 저장액은 살균된 눈금이 새겨진 1L 파이렉스 병에 비타민

B12 0.1g을 넣고, 살균된 증류수를 눈금까지 채운 다음, 충분히 녹았을 때 냉장고에 저장한다. 비타민 용액은 결코 살균해서는 안 된다.

- 비타민 투여 용량은 보통 수조의 로티퍼 배양 ml당 B12 저장액 100ml이다. 그러나 적은 용기와 백은 1 ml/L을 투여한다.

아) 배양 절차

- ① 수조를 염분농도 20 psu로 만들기 위하여 수돗물로 희석한 살균된 해수로 채운다. 수돗물의 염소 농도를 점검하여, 만일 염소가 있으면, 티오황산나트륨(sodium thiosulphate)으로 중화하여야 한다. 먹이로 공급될 조류를 위한 충분한 공간(수조 부피의 약 30%)을 남겨두어야 한다.
- ② 에어 스톤을 배치하고 포기를 시작한다.
- ③ 섬모충과 불순물 걸름막을 설치한다.
- ④ 오염을 점검하고, 접종 로티퍼로 사용할 최상의 적정 로티퍼 배양 수조를 선택한다. 반드시 청정 배치(batch)만 사용한다.
- ⑤ 선택된 배치들을 여과한다.
- ⑥ 150-200 개체/ml의 초기 밀도가 되도록 수조에 접종한다. 접종한 날을 일령 0일로 간주한다.
- ⑦ 로티퍼의 초기 먹이로 수조 부피의 20%의 배양 조류를 추가한다. 항상 조류는 대수 증식기에 있는 것이라야 하며, 오염된 것에서 가져오지 않아야 한다,
- ⑧ 다음 날(일령 1일)에 조류 배양물로 남은 10% 용적을 채운다.
- ⑨ 수조 일지에 배양 로티퍼의 성장, 공급된 먹이, 측정된 환경 변수 등에 관한 모든 정보를 기록한다.
- ⑩ 일령 1일부터 아래의 로티퍼의 밀도에 따라 빵효모를 먹인다.

표 2. 로티퍼의 밀도별 빵 효모의 공급률

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

- 신선한 효모의 1일 공급량은 4등분 공급량으로 나누고, 오전 2시, 8시, 오후 2시, 8시에 공급한다.
- 효모 먹이는 냉장고에 보관된 효모 덩어리에서 무게를 달아 잘라 내고, 100 g/L의 농도로 수돗물을 채운 양동이에 보관한다.
- 부엌용 또는 공업용 믹서(blender)가 효모 세포를 분리하고 물에 현탁될 수 있도록 하는 데 도움을 줄 수 있다.
- 즉시 먹이로 주어야 하고, 남은 것은 전부 폐기하여야 한다. 효모는 매번 먹일 때마다 새로 신선한 것으로 준비해야한다.

자) 로티퍼(*B. plicatilis*)의 4일 회분식 배양 시스템

- 4일 회분식 배양 시스템(Batch Culture System)은 7개의 750 L 원통-원뿔형 수조 6세트와 온도 조절실에서 수행한다.
- 증류 보일러 시스템에 연결된 라디에이터를 사용하여 온도를 19-23℃로 유지한다.
- 0일
 - 750 L 수조는 20×10^6 세포/ml의 밀도로 250 L의 조류를 채우고, 또 멸균된 해수 250 L로 채운다.
 - 수조에 혼합물로 500 L을 채우고, 조류 밀도는 약 10×10^6 세포/ml가 된다. 그런 다음 로티퍼는 100/ml의 밀도로 접종한다.

- 부드럽게 물을 순화시키기 위해서, 에어 스톤 하나를 수조 중앙에 설치한다(포기 7.5 L/min).

○ 1일 아침

- 수조는 20×10^6 세포/ml의 밀도로 조류 250 L을 채워, 수조는 750 L의 수준으로 채운다.
- 물의 오염을 포집하기 위하여, 한 장의 필터(air clean filter, 50 x 80 cm)를 물에 띄운다.
- 오후에는, 믹서를 사용하여 건조 빵 효모를 수돗물로 균질화한 후 $0.2 \text{ g}/10^6$ 로티퍼의 양으로 먹이로 공급한다.

○ 2일-3일

- 아침과 오후에 균질화된 빵 효모를 $0.2 \text{ g}/10^6$ 로티퍼의 양으로 먹이로 공급한다.
- 필터 재료는 아침에 세척하고, 교체한다.

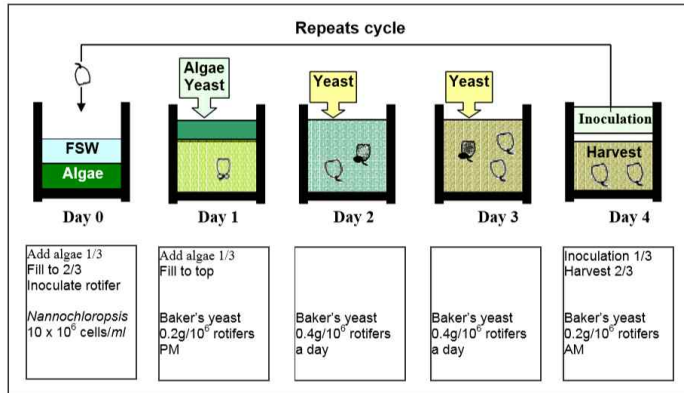


그림 4. 로티퍼(*B. plicatilis*)의 4일 회분식 배양 시스템(Source: Çiftci et al., 2002).

○ 4일 아침

- 수조에 있는 모든 로티퍼를 수확한다.
- 수확된 로티퍼의 3분의 1은 0일에 기술된 바와 같이 새로 준비된 수조에 접종한다.
- 로티퍼 밀도는 수확 시 $200 \text{ 로티퍼}/\text{ml}$ 이상이 될 것으로 예상된다. 하나의 750 L짜리 수조에서, 접종 로티퍼로 사용될 것을 제외하고, 약 100×10^6 개체의 로티퍼를 매일 생산할 수 있다.

차) 수확

- 중앙 배수 원추형 저면 원형수조의 수확과 행균 기준

- ① 항상 깨끗하고, 소독 용액으로 살균된 수확 장비를 준비한다.
- ② 로티퍼가 여과 수확 작업에 안전하게 견딜 수 있는 산소 과포화 매질(용존산소 10 ppm)을 만들기 위하여 10-15분 동안 수확될 수조에 순수 산소를 주입한다.
- ③ 10-15분 동안 에어레이션을 중지하고, 바닥 침전물을 제거한다.
- ④ 중앙 배수구에 배수구로부터 15 cm에 구멍들이 있는 PVC 배수 파이프를 끼우고 5분간 기다린다.
- ⑤ 수조 바닥 배수 밸브에 연성 호스(flex hose)를 끼우고 다른 끝을 수확할 장치에 둔다.
- ⑥ 밸브를 열고 $80 \mu\text{m}$ 나일론 망을 사용하여 여과 수확을 시작한다.
- ⑦ 물의 흐름을 조절하여 필터가 막히거나 사육수가 넘치지 않게 한다. $100 \text{ L}/\text{min}$.을 넘지 않게 한다.
- ⑧ 로티퍼 농축액의 넘침을 피하기 위하여, 필요할 때마다 물의 흐름을 멈추고, 막힌 이전 필터를 청소한다.
- ⑨ 수확하는 동안, 비커 또는 페트리 접시를 가지고 약간의 여과수의 표본에 의해 여과망을 통과하는 로티퍼의 손실 가능량을 점검한다.

- ⑩ 여과의 끝에, 밸브를 잠그고, 원 사육수조와 같은 온도에서 여과 살균된 해수로 10-15분 로티퍼를 행군다. 수확된 로티퍼를 어류에 먹이로 주거나 새 수조에 접종 로티퍼로 사용하기 전에 여과하고 행군다.

카) 로티퍼의 계수

- 각 수조의 샘플은 밀도, 번식력, 일반 배양 상태를 측정하기 위하여 40배 입체 현미경으로 매일 관찰한다.
- 최소 1 ml의 샘플을 동물 플랑크톤 계수 챔버에 펼치고, 섬모충류, 선충류 또 원생동물과 같은 오염물질을 먼저 조사한다.
- 로티퍼와 원생동물을 죽이기 위해 루골 용액이나 포르말린 한 방울을 샘플에 첨가한다.
- 포란 로티퍼의 수는 번식률을 산정하기 위하여 로티퍼의 총 수로 나눈다.
- 1일간의 배양은 번식률이 30~40%로 높으며, 배양의 지속 기간에 따라 점차 감소한다. 일반적으로 번식률이 10% 미만인 배양은 개체군 수의 회복에 어려움을 겪는다.

타) 로티퍼의 난 분리

- 터봇 배양에서, 섬모충류는 자어와 성어의 사망률을 높이는 가장 심각한 기생충 중의 하나이다. 배양 수조에 섬모충류의 오염이 관찰되면, 배양을 새로 하는 것이 좋다. 대량 난 분리 기술은 단기간에 로티퍼 배양을 회복하는 데 효과적일 수 있다.
- 로티퍼의 알을 몸에서 분리하기 위해 다음 절차를 수행한다.
 - 약 200 L의 로티퍼를 120 μ m 수확 주머니 망을 통해 농축하고, 그리고는 믹서(blender)에 넣는다.
 - 로티퍼를 갈고 또 로티퍼로부터 알을 분리하기 위하여, 로티퍼

는 10초 동안 균질화 한다.

- 균질화된 로티퍼는 두 층의 필터 망을 통해 분리된다. 위 망목(120 μ m)은 남아있는 일부 로티퍼를 거르게 된다. 알은 아래 망목(80 μ m)에 의해 수집된다.
- 알은 멸균된 해수로 잘 씻어 낸다.
- 일부 로티퍼는 여전히 살아 있으며, 이 로티퍼들이 알을 오염시킬 수 있다. 모든 로티퍼가 죽었다는 것을 확실히 하기 위하여, 80 μ m 여과망 위의 알을 10초 동안 한 번 더 균질화 한다.
- 분리된 알은 멸균된 해수로 다시 세척된다. 이 분리된 난은 100 L의 해수와 적정한 살균 용액이나 또는 이산화염소(chlorine-dioxide, 400 ppm)가 함유된 신선한 조류를 채운 원통형-원추형 수조에서 배양한다.

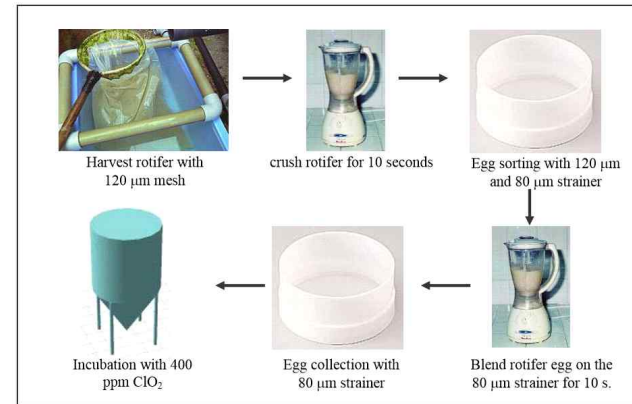


그림 5. 로티퍼(*B. plicatilis*) 난 분리 기술의 흐름(Source: Çiftci et al., 2002).

파) 로티퍼의 살균

- 로티퍼 배양은 위생 관리가 필요하다. 로티퍼 배양은 유입수의 살균, 그리고 수조와 유지 관리 자재의 살균(UV 또는 염소)에 의하여 병원생물의 유입으로부터 보호되어야 한다.
- 과거에 먹이생물은 조합된 항생제를 사용하여 살균하였다. 그러나 이것은 약물 내성 세균 군주의 발생을 예방하기 위하여 더 이상 권장되지 않는다.
- 로티퍼가 1mm 깊이의 액체 층에서 38 mW/cm² 에너지 강도의 자외선 조사에 노출되면, 2분 이내에 로티퍼의 박테리아 부하가 90% 이상 감소하였으며, 생존력에는 영향을 미치지 않았다. 그리고 자외선 조사는 로티퍼의 세균 부하를 감소함으로써 생존율이 증가하였다(Munro et al., 1999).
- 먹이생물의 세균 부하는 특히 영양 강화 후에 담수 수조에서 잘 세척함으로써 부분적으로 감소시킬 수 있다. 이에 더하여 영양 강화 전에 단기간의 단식이 로티퍼에 적용될 수 있다. 단식에 의해 로티퍼는 장을 비우게 되어 세균 부하가 감소하게 된다(Planas, M. and Cunha, I., 1999).
- 위생 상태가 불량한 경우, 미세 조류와 먹이생물은 주로 Vibrios, Aeromonas 및 Pseudomonas 등으로 인한 높은 세균 부하를 가지게 된다.

하) 로티퍼의 양적·질적 평가

배양 로티퍼의 평가

- 배양하는 모든 로티퍼 개체군의 양적, 질적 평가를 위해 매일 점검한다.
- 각 용기, 플라스크, 백 및 수조로부터 1ml 표본을 하고, 입체현미경 아래서 관찰한다.

- 모든 배양 정보는 각 배양에 대한 개별 파일에 기록되어야 한다.

양적 평가 기준

- ml당 로티퍼의 총 마리 수
- ml당 난의 총 개수
- 총 로티퍼 수에 대한 총 난 수의 %로 산정한 번식률

질적 평가 기준

- 개체당 평균 난 수(추산)
- 포식률(위의 먹이 유무)(공복: 0, 중복: +, 만복: ++)
- 운동성(활발: ++, 비활발: +, 없음: 0)
- 먹이 여과(섬모관의 활동성)
- 배양조 표면의 거품 유무 또는 배양 용기의 벽과 바닥의 침전물
- 원생동물, 곰팡이, 세균층, 등 기타 미생물의 유무 및 동정과 빈도(무: 0, 중간 오염: +, 대규모 오염: ++)

4) 로티퍼의 영양 강화

가) 로티퍼의 영양 강화

- 현재 영양 강화는 주로 특별히 제조된 영양 강화제를 사용하며, 조류만을 사용할 때는 불가능한 높은 수준의 EPA, DHA 및 비타민 C를 로티퍼가 함유할 수 있게 해준다. 그리고 노동, 시간, 투자 및 유지비를 절약할 수 있게 한다.
- 배양 과정 중에 배양 수조 안에서의 영양 강화는 전체 배양 기간 동안에 연속적이기 때문에, 조직의 영양 강화를 가져 온다. 획득된 지방산 비축물은 더 안정적이며, 굶주림 도중에 영양가의 빠른 감소에 적게 노출된다. 이 방법은 시간을 절약하고 취급 손실을 감소시킨다.

- 수확 후 전용 영양 강화 수조에서의 영양 강화는 단기간의 영양 강화이며, 소화관의 영양 강화라고 할 수 있다. 이것은 수확과 행굴, 그리고 별도의 분리된 영양 강화 수조가 필요하다.
- 영양 강화 제품에 의한 영양 강화는 제조사가 제공한 설명서에 따라 영양 강화를 진행한다.
- 영양 강화는 6-12시간 사이에 행해져야 한다.
- 영양 강화 과정 중에 자주 로티퍼의 사망률과 용존산소 양을 점검하여야 한다.
- 용존산소는 영양 강화 절차를 통해 80% 포화율 또는 4 ppm 이상이 유지되어야 한다. 필요할 경우 순수 산소를 첨가한다.
- 영양 강화제의 건조 제품은 생산 수조에서 직접 사용할 수 있으나, 반면에 기름이 함유된 제품은 단지 영양 강화 수조에서 사용하여야 한다.
- 거품의 집적에 의한 로티퍼의 손실을 방지하기 위하여, 필요시 영양 강화 중에 거품 방지제를 사용할 수도 있다.
- 대량 배양된 로티퍼의 영양가는 자어에게 영양적으로 부족하며, 특히 고도 불포화 지방산(HUFA)이 부족하다. 가자미류 자어 생산 시, 안구 불완전 색소 침착의 발생이 먹이생물의 품질에 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있으므로, 로티퍼의 영양 강화가 필요하다.
- 영양 강화제는 상업화된 다양한 제품들이 공급되고 있으므로, 로티퍼 배양 목적에 따라 적절히 선정하여 공급한다.

나) 로티퍼의 영양 강화 절차

- 농축된 로티퍼를 해수가 채워진 원통-원추형 수조로 옮긴다. 필요시 소독 용액(예, 400 ppm의 이산화염소(chlorine dioxide))을 추가한다.

- 로티퍼는 500 마리/ml 이하의 밀도로 저장하며, 그리고 추가 먹이 없이 중간 정도로 포기(7.5 l/min)되는 수조에 보관한다.
- 굵은 4시간 후, 로티퍼를 위한 영양 강화 배지를 넣는다. 농축된 미세조류와 HUFA가 풍부한 어유(0.15 g/10⁶로티퍼)를 수조에 첨가한다.
- 필요시, 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 이루어진다.

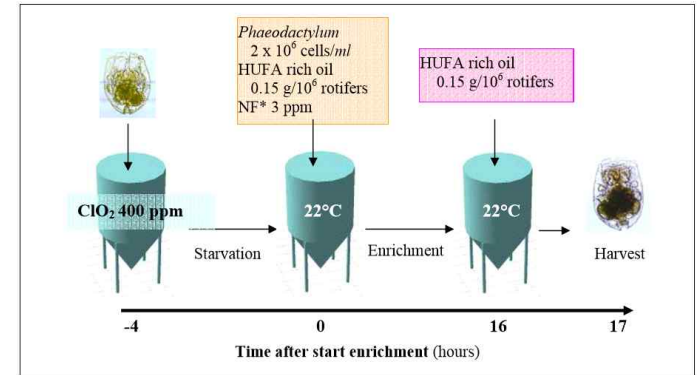


그림 6. 로티퍼(*B. plicatilis*)의 영양 강화(* NF, Sodium nyfurstyrenate acid) (Source: Çiftci et al., 2002).

다) 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. 로티퍼의 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.
- 로티퍼 저장 밀도는 2,500-3,000 개체/ml를 초과하지 않아야 한다.
- 로티퍼 저장의 산소 수준은 4 ppm 이상 되어야 한다.

다. 알테미아

- 알테미아(artemia)가 박테리아, 바이러스 및 기타 원하지 않는 미생물, 그리고 때로는 살충제와 중금속을 보유하고 있기 때문에, 현대 배양장과 자어 사료 제조업체는 미립자 사료의 조기 먹이 길들이기로 알테미아에 대한 의존성 감소를 목표로 하고 있다.
- 알테미아와 관련된 생산 비용과 자어에 유해한 박테리아 이동의 재발 위험성을 줄이기 위하여, 어류 사료 회사들은 최근 미립자 사료 형태로 알테미아 대체 사료를 제공하고 있다(Rurangwa et Poelman, 2011).

1) 부화 시설과 장비의 위생 관리

가) 개인위생

- 배양 구역에 들어가기 전이나 떠날 때 장화를 소독하여야 한다.
- 작업을 시작하기 전과 그리고 필요할 때마다 손을 씻어야 한다.
- 위험한 화학 물질을 취급 할 때는 비닐장갑, 보안경 및 보호 앞치마를 착용하여야 한다.
- 흡연은 배양장 내부에서 허용되지 않는다.

나) 자외선 살균기

- 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영관을 청소하거나 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 석영관에 와이퍼가 없는 경우, 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 분해하여 석영관을 손으로 청소해야 한다.
- 정체된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다.
- 점검 창을 한 달에 한 번 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

다) 미세 여과 장치

- 생산자 지침에 따라 정기적으로 점검과 정비를 하여야 한다.
- 유속이 사전 설정된 안전 값 아래로 떨어지면 필터를 교체하여야 한다.
- 새로운 또는 소독된 여과 필터만 사용하여야 한다.
- 예비 부품을 충분히 준비하여야 한다.

라) 장비(버킷, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 항상 깨끗하고 소독된 장비를 사용하여야 한다.
- 도구는 소독 용액에 담가 두어야 한다.
- 필요할 때 도구를 꺼내어 잘 행구고 사용하여야 한다.

- 자흡수 플라스틱 펌프(Self-priming plastic pumps)는 매년 사용 후 멸균된 해수로 잘 행구어 주어야 한다. 하루 작업이 끝난 후 폐쇄 회로에서 소독 용액으로 소독하여야 한다. 호스를 소독 용기에 보관하여야 한다.
- 비닐 에어 관은 소독 용액에 보관하여야 한다.
- 로티퍼와 알테미아의 먹이 공급과 영양 강화로 유분 영양 용액을 공급하기 위해 사용된 용기는 사용 후 비누로 세척해야 하며, 그리고 소독 용액에 보관해야 한다. 사용하기 전에 멸균 수로 행구어야 한다.

마) 유리 제품

- 철저히 세척되고 멸균된 유리 제품만 사용한다.
- 사용 후에는, 모든 유리 제품을 수돗물로 행구고 소독 용액에 담가 오랜 배양의 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, 유리 제품은 먼지가 들어가지 않게 알루미늄 호일로 개구부를 밀봉하여 보관한다.
- 피펫과 유리관은 소독 용액으로 채워진 원통형 플라스틱 행굼 용기에 적정 시간 두어, 오래된 배양 물의 유기 잔류물을 쉽게 제거할 수 있도록 한다. 행굼 순서는 항상 수돗물이 먼저이고, 그 뒤에 증류수로 행굼다.

바) 온도계, 염분 측정기, 산소 측정기

- 분석할 각 용기에서 채취한 물 시료만 측정하여야 하며, 절대로 탐침(probes)을 용기에 직접 담그지 않아야 한다. 사용 후에는 깨끗한 물로 완전히 씻는다.

사) 대량 배양 수조와 장비

- 배양 수조의 사용이 끝나면, 바닥 밸브를 열고 완전히 배수한다. 에어 호스와 산소 호스 및 에어 스톤을 제거하고, 수중 히터와 플락 여과막(floccule traps)을 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 소독 용액에 밤새 담근다.
- 수조를 담수로 행구고, 소독 용액으로 한 번 더 처리한다.
- 수조를 담수로 행구고, 재충전하기 전에 수조를 건조 시킨다.

아) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 또는 소독 용액의 함량이 사전 설정된 값 이하가 될 때마다, 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 잔류물을 제거한다.

자) 바닥과 타일 벽

- 먼저 고압 세척기로 세척한 다음 소독 용액으로 매일 씻는다. 행귀내서는 안 된다.

차) 배양 장비와 시설의 살균 절차

- 위생 및 살균 절차의 엄격한 이행이 필요하다.
- 알테미아 부화 수조의 유기물 찌꺼기의 덩어리를 제거하기 위하

- 여 수돗물로 행구고, 솔과 세제로 완전히 씻고 다시 행군다.
- 수조 벽을 소독 용액으로 씻거나 살포한 다음, 적정 시간 후에 수조의 물을 빼내고 소독 용액의 잔류물이 없어질 때까지 잘 행군다.
- 수조를 건조하며, 필요할 때는 살균 가온 해수로 채운다. 대안으로, 수조를 해수로 채우고 소독 용액으로 살균한다.
- 포기 배관, 배수 밸브, 부유물 제거 매트 등 수조에서 사용되는 부속 장비들을 살균한다. 실용적 절차로 모든 소형 장비들을 새 수조에 넣고, 해수를 채운 다음 소독 용액으로 살균한다.

카) 먹이 생물 배양의 주의 사항

- 사용하려는 재료와 장비가 깨끗하다고 여겨서는 안 된다. 재료와 장비가 필요할 때마다 작업자 스스로 청소해야 한다.
- 차아염소산염 용액을 사용할 경우, 독성이 높은 염소 가스(Cl_2)가 생성될 수 있기 때문에, 차아염소산염 용액을 자외선에 노출시키거나 또는 염산(HCl)과 혼합해서는 안 된다.
- 모든 산성 또는 차아염소산염 잔류물은 어류에 치명적인 독이 있으므로, 사용하기 전에 철저히 행구어졌는지 확인해야 한다.
- 질병의 확산 위험을 예방하기 위하여, 배양장의 다른 구역과 재료와 장비를 절대로 교환하지 않아야 한다.

2) 내구란의 선정

- 세계의 여러 다른 지역에서 생산한 많은 종류의 브라인 쉬림프 내구란이 판매되고 있으며, 각기 다른 노플리우스 유생 크기와 영양가 및 부화 특성을 가지고 있다.
- 알테미아 내구란의 계통을 구별하는 특성은 g당 내구란의 수와 부화 효율(내구란 g당 생산된 노플리우스 수)이다.

- 최상 계통의 내구란은 부화된 내구란의 g당 29-30만 노플리우스를 생산할 수 있으며, 95%에 가까운 부화율을 가진다.
- 품질이 좋은 내구란을 선정하여, 24시간 생산 주기의 동기화를 유도한다.

3) 내구란의 살균

- 알테미아 내구란의 난각은 일반적으로 세균, 곰팡이의 포자 및 기타 미세 생물에 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 살균되어야 한다.
- 내구란의 살균은 소독 용액에 침지하여 할 수 있으며, 처리 시간은 소독 용액에 따라 변한다.
- 상업용 표백제의 경우, 염소 농도는 5~15%의 범위이므로, 사용할 표백제의 실제 염소 농도를 점검하여 사용하는 것은 필수적이다. 실제 농도는 희석 또는 굴절률에 의해서 점검할 수 있다.

4) 내구란의 부화

가) 부화 수조

- 수조 형태는 일반적으로 원추형 바닥을 가진 원형수조이다.
- 수조 내부는 백색 젤 코팅이 되어 있고, 수확을 위하여 원추 끝 가까이에 반투명 창을 가지고 있다.
- 밸브 달린 배수관이 원추 끝에 설치되어 있다.
- 부화는 일반적으로 200~1,000 L 크기의 용기를 사용하나, 대량으로 부화시킬 때에는 이보다 큰 수조를 사용한다.

나) 부화 환경

수온

- 적정 부화 수온은 28-30℃ 이다.

염분농도

- 부화는 일반 해수의 1/4~3배의 염분 농도에서 가능하지만 일반 해수보다 염분 농도가 높을수록 부화에 소요되는 시간은 길어지고, 농도가 낮을수록 부화 소요 시간은 빨라진다.
- 부화는 여과 살균 해수를 사용한다.

용존산소

- 용존산소는 4 ppm 이상을 유지한다.

pH

- pH 8 이상을 유지하며, 필요할 경우 중탄산나트륨(sodium bicarbonate, NaHCO_3)을 L당 약 1g(미리 녹임)의 비율로 첨가한다.

조도

- 첫 배양 시간 동안에 수면에서 2,000 lux의 강한 조명을 한다.

포기

- 내구란이 떠있을 수 있도록 강한 물의 교란을 일으키기 위하여 수조 바닥 가까이에서 강하게 포기한다.

내구란의 배양 밀도

- 내구란의 배양 밀도는 L당 2.5g이다.

부화율 평가

- 부화 결과를 평가하는 두 주요 기준은 부화율과 부화 효율이다.
- 부화율은 내구란 100개당 부화한 노플리우스의 수이다. 좋은 집단은 약 90-95%의 부화율을 가진다.
- 부화 효율은 내구란 g당 생산된 노플리우스의 수이다. 최상급 품질의 내구란은 g당 약 30만 마리의 유생을 수확할 수 있다.

5) 노플리우스의 수확

가) 수확 시기

- 부화는 수온 28-30℃ 에서 20~24시간이 지나면 이루어진다.
- 알테미아 노플리우스는 부화 직후 에너지가 풍부한 1령 유생 단계에서 수확하여야 한다.
- 적정 수확 시간을 알기 위하여 5 ml 피펫으로 배양수를 표본하여 노플리우스와 부화 직후의 난각이 붙어있는 노플리우스 단계(umbrella stages)를 현미경 하에서 점검하여 수확한다.

나) 수확 절차

- 몇 초 동안 배수 밸브를 열어 원추형 수조 바닥에 가라앉은 부화되지 않은 내구란을 제거한다.
- 유연 호스를 배수 밸브에 채우고, 다른 입구에 여과기를 설치하고, 해수로 채워진 용기에 둔다.
- 포기를 멈추고, 수조 위 전등을 끄고, 수조 차광 뚜껑을 덮고 바닥 쪽에 있는 창에 광원을 둔다. 빈 난각은 떠오르고, 미부화 난은 가라앉는다.
- 10분 정도 기다리면 유생이 빈 난각에서 분리되므로, 필터로 배수함으로써 전부 또는 부분적으로 수조의 수확을 시작한다.
- 완전히 수확되지 않으면, 다시 10분 뒤에 두 번째 수확을 한다.

- 수조 안에 떠있는 빈 난각을 남겨두기 위하여 완전히 배수해서는 안 된다.
- 망의 막힘과 물의 넘침을 피하기 위하여 물의 흐름을 조정하여야 한다.
- 침전 시간 동안 용존 산소가 2 ppm 이하로 내려가지 않도록 하고, 원추형 바닥의 끝에 유생이 과도하게 밀집되지 않도록 한다.
- 필요한 경우, 수확 전에 순수 산소를 배양 수조에 10-15분 동안 주입하여, 10 ppm 이상으로 용존산소 농도를 올려야 한다.
- 부화 찌꺼기들을 씻어내기 위하여, 가급적 담수로, 노플리우스를 약 15분 동안 완전히 행군다.
- 행군 노플리우스를 알고 있는 양의 여과 및 살균 해수를 채운 임시 용기에 넣고, 계수한다.
- 유생을 살균 해수를 채운 저장 수조로 옮기고, 수량을 조정하여 L당 4백만 노플리우스의 최대 밀도가 되도록 한다.
- 수조 원추 끝으로부터 적당한 포기를 하고, 높은 수온에서 노플리우스의 영양가는 빠르게 감소하기 때문에, 가능한 한 수온을 5-10℃로 유지한다.
- 가능할 경우 저온 저장 수조나 냉동고를 이용한다.
- 노플리우스 유생을 영양 강화 하면, 노플리우스를 사전에 준비한 영양 강화 수조로 옮긴다.

다) 알테미아 노플리우스의 계수와 평가

알테미아 노플리우스의 계수

- 부화 결과를 평가하고, 설정된 밀도로 자어 사육 수조에 공급하기 위하여, 알테미아 노플리우스를 계수하여야 한다.
- 알테미아 노플리우스의 계수 방법은 배양 수조에 있을 때의 일반적인 계수, 수확 후와 저온 저장 수조에서 높은 밀도의 노플리우스

스의 계수 그리고 어류 사육 수조 안에 있는 낮은 노플리우스의 밀도 계수로 나눌 수 있다.

배양 수조에서 노플리우스 표본 계수

- 계수할 개체군에서 시험관으로 50 ml 표본을 취한다.
- 0.1 ml 자동 피펫으로 3개의 소표본을 취한다.
- 각 소 표본을, 바닥이 5 mm 격자로 나누어져 있는, 3 cm 페트리 접시로 옮긴다.
- 고정용 루골 용액 몇 방울을 각 페트리 접시에 첨가하고, 모든 노플리우스가 움직이지 않고 완전히 염색될 때까지 기다린다.
- 페트리 접시의 전 표면에 노플리우스가 고르게 분포하도록 물을 추가한다.
- 각 0.1 ml 표본에 있는 노플리우스를 계수한다.
- 계수한 3개의 합을 3으로 나눔으로써 ml당 노플리우스의 평균 숫자를 계산한다.
- L당 노플리우스 밀도는, ml당 노플리우스의 마리수를 구하기 위하여 노플리우스 평균 마리 수에 10을 곱하고, 끝으로 L당 최종 밀도를 구하기 위하여 1,000을 곱함으로써 구한다.

수확 후 및 저장 고밀도 노플리우스 표본의 계수

- 계수할 개체군의 10 ml을 표본 한다.
- 100 ml의 표본 수량을 만들기 위하여 해수 90 ml을 추가하여 노플리우스 농도를 희석한다.
- 흡입 공기 방울을 피하면서 1 ml 피펫으로 3개의 소표본을 취한다.
- 각 소 표본을 페트리 접시로 옮긴다.
- 고정 염색을 위한 루골 용액 몇 방울을 각 페트리 접시에 넣고,

- 노플리우스가 움직이지 않으며 완전히 염색될 때까지 기다린다.
- 물을 첨가하여 3개 페트리 접시의 전 표면에 노플리우스가 분포하도록 한다.
- 격자 위에 페트리 접시를 놓고, 각 1ml 소표본 안에 나타나는 노플리우스를 계수한다.
- 3개의 페트리 접시에서 계수한 전체 노플리우스를 3으로 나누어 ml당 평균 노플리우스의 수를 계산한다.
- 1당 노플리우스 밀도는 희석되지 않은 ml당 노플리우스의 마리수를 나타내기 위하여 10을 곱한 ml당 노플리우스의 평균 숫자에 의해서 주어지며, 끝으로 1당 최종 밀도를 얻기 위하여 1,000을 곱한다.

사육 수조의 저밀도 노플리우스 표본의 계수

- 50 ml 또는 100 ml의 눈금이 있는 메스실린더를 이용하여 3개의 50 ml 또는 100 ml 표본을 만든다.
- 각 표본을 큰 페트리 접시에 옮긴다.
- 몇 방울의 루골 용액을 각 표본에 첨가하고, 노플리우스가 움직이지 않고 완전히 염색될 때까지 기다린다.
- 각 페트리 접시를 격자에 두고 각 표본에 있는 노플리우스를 계수한다.
- 표본에 있는 노플리우스의 평균 마리수를 계산한다.
- 50 ml 표본에는 20을 곱하고, 10 ml 표본에는 100을 곱하여 1당 노플리우스 밀도를 계산한다.

부화 결과의 평가 기준

- 부화율은 내구란 100개당 부화한 노플리우스의 수이며, 좋은 집단은 약 90-95%의 부화율을 가진다.

- 부화 효율은 내구란 g당 생산된 노플리우스의 수이다. 최상급 품질의 내구란의 수확은 약 30만 노플리우스/g이다.

라) 알테미아 노플리우스의 소독

- 항생제를 사용한 먹이생물의 소독은 약물 내성 세균 군주의 발생을 예방하기 위하여 권장되지 않는다.
- 먹이생물의 박테리아 부하를 저감하기 위하여, 영양 강화 전에 먹이생물의 장을 비우기 위한 짧은 단식과 특히 영양 강화 후 담수 수조에서의 철저한 세척이 권장된다(Planas and Cunha, 1999).

6) 영양 강화

가) 영양 강화 기준

- 알테미아 노플리우스 유생은 불포화지방산(22:6 ω3)이 없거나 극히 미량이다. 그러므로 먹이생물을 치어에 공급할 때에 영양 강화를 하여야 한다.
- 영양 강화제는 편리성, 강화 효과, 경제성 등을 고려하여 신중히 선택한다.
- 알테미아의 메타노플리우스(metanauplius)는 전형적으로 후기 자어의 먹이로 이용된다. 그러나 메타노플리우스는 낮은 영양가로 인하여 필수적인 n-3 HUFA가 풍부한 전용의 영양 강화 먹이에 의해서 영양 강화되어야 한다.
- 알테미아의 첫 먹이 섭취는 II령 단계(second Instar stage)로의 탈피와 일치한다. II령 단계는 I령보다 크고, 위장관이 있기 때문에 II령 단계의 출현은 쉽게 발견할 수 있다. 영양 강화는 첫 II령 단계가 나타나자마자 시작하여야 한다.
- 알테미아 부화 유생의 입이 보통 6~8시간 전후에 열리므로, 입이

열린 후 영양 강화를 하여야 하며, 영양 강화 시간은 12시간 전 후이다.

- 최상의 결과는 부화 시간과 탈피 속도를 관찰함으로써 영양 강화의 시작 시간을 결정할 수 있다.
- 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.
- 영양 강화 초기 노플리우스 밀도는 15만-30만 개체/L 이다.
- 노플리우스를 부유시키기 위한 강한 물의 교환과 전 영양 강화 기간 동안에 4 ppm 이상의 용존산소를 유지하기 위한 순수 산소가 필요하다.
- 조명은 필요 없다.
- 생산자에 의해서 특화된 영양 강화 먹이를 준비하고, 각 먹이에 대해 새 영양 강화 유화액을 준비하는 것을 확실히 해야 한다.
- 영양 강화 시간의 끝에, 메타노플리우스를 수확하고 기름기가 있는 유화액이 밖으로 배수되는 물에서 감지되지 않을 때까지 완전히 해수로 행군다.

나) 알테미아 노플리우스의 영양 강화 절차

- 수조의 해수를 소독 용액으로 살균 처리한다.
- 영양 강화를 위해, 미세조류와 HUFA가 풍부한 영양 강화제를 수조에 공급한다.
- 영양 강화 시작 17시간 후, 다음날 아침 동일한 양의 HUFA가 풍부한 영양 강화제를 노플리우스에 공급한다.
- 19시간 이상 영양 강화된 노플리우스를 수확하고, 그리고 담수로 행구고, 자어 수조에 분배한다.

다) 메타노플리우스의 저장

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

라) 영양 강화제의 선정

- 먹이생물은 적절한 영양 강화제를 사용하여 자어에게 영양분과 기타 보호 화합물의 운반체로 사용될 수 있다.
- 알테미아 노플리우스의 영양 강화 재료로는 고도 불포화 지방산 유화제(HUFA emulsions) 외에 조류, 비타민, 단백질, 활생균(probiotics), 프리바이오틱스(prebiotics) 등이 포함된다(Rurangwa et Poelman, 2011).
- 자어의 건강을 증진시키기 위하여, HUFA, 단백질, 비타민 등의 함량을 높이고, 면역 촉진제, 항산화제, 무기물 등을 강화한 로티퍼와 알테미아의 영양 강화제로서 여러 회사로부터 상업화된 다양한 제품들이 개발되어 있으므로, 생산자의 목적에 따라 적절히 선정하여 활용할 수 있다.

3. 수정과 부화

가. 난의 수정

1) 번식 특성

가) 암컷 어미의 번식 특성

배란 주기

- 터봇의 배란 기간은 매 2~4일이며, 암컷들 사이의 배란 기간은 각기 차이가 있으나, 각 암컷 자체로는 전체 난 생산 기간 동안에 배란 기간이 일정하여 규칙적인 배란 주기를 가진다. 그러므로 각 암컷의 배란을 예측할 수 있다. 그러나 각 암컷의 배란 기간은 매년 수온에 따라 달라지며, 수온이 높아질수록 배란 기간이 짧아진다(McEvoy, 1984; Howell & Scott, 1989).

포란수와 산란 간격

- 터봇 암컷 어미의 포란 수는 매우 많으며, 성숙한 암컷은 500만~1,000만 개의 난을 생산할 수 있다(Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).
- 산란기의 암컷 1kg당 평균 생산량은 8만~20만 난(자연 산란)과 26만~43만 난(압출, stripping)으로 추정된다(Devauchelle et al., 1988).
- 암컷은 3~6일 간격으로 최대 12번의 산란(7~8주)을 할 수 있다.
- 압출(Stripping)은 매 4~5일 마다 있어야 한다.
- 암컷 kg당 채집될 수 있는 난의 수는 매우 변화가 심하며, 평균 43만 개다.
- 인공 수정에 의해 생산된 생존 가능한 배아(embryo)의 평균수는 배란 시간으로부터 압출(stripping)이 얼마나 지연되었는가에 달려

있다(Person-Le Ruyet, J. et al., 2011).

난의 과숙(Overripening of eggs)

- 터봇에서 배란(ovulation)이 순차적으로 일어난다, 그리고 난은 단기간 동안 생존할 수 있다.
- 수정의 성공률은 배란 후 6시간 후에 이미 감소하기 시작한다.
- 배란 후 터봇 난은 난소 내강(ovary lumen) 내에서 약 1일 동안 수용되며, 산란 시에 방출된다. 배란된 터봇 난은 난소 내강에 남아있을 때 빠르게 과숙하게 되므로, 난소 내강에서의 과숙이 사육 상태의 어미로부터 낮은 품질의 난 배치(batche)를 생산하는 원인이 될 수 있다(McEvoy, 1984).
- 갓 배란된 난은 90% 이상의 수정률을 보이며, 최대 97%의 부화율을 보이지만, 압출 전에 1일 동안 난소 내강(ovary lumen)에 체류한 난은 부화율이 0%로 떨어진다고(McEvoy, 1984).
- 최대 난 생존 능력을 확보하기 위해서, 배란 후 10시간(10~12°C 사이의 온도에서) 이내에 양식 터봇으로부터 난을 추출해 내는 것이 중요하다(Rurangwa et Poelman, 2011).
- 터봇에서 일주일에 5회 규칙적으로 압출한 난의 생존력(72%)이 일주일에 2회 압출한 난의 생존력(46%)보다 높았다. 반면에 취급 횟수는 암컷의 산란능력(체중 kg당 난의 총수)에는 영향을 주지 않았다. 그리고 난의 압출 횟수의 증가로 부화율과 암컷 체중당 난의 수가 증가하였다. 터봇의 종자 생산면에서 암컷 어미의 매일 점검이 배양장 관리 실무가 되는 것이 권장된다(Fauvel et al., 1992).

나) 수컷 어미의 번식 특성

- 터봇의 번식 기간은 수컷이 암컷보다 더 길다.
- 정액(milt)을 가진 터봇의 백분율은 암컷의 산란 시기에 최대가 되며, 동기화 번식(synchronization reproduction)이 나타난다.
- 사육 상태에서, 터봇의 정자 방출 기간은 6개월이다(Suquet et al., 1994).
- 터봇은 다른 어류와 비교해서, 낮은 수치의 생식소 속도 지수(gonadosomatic index, 0.6-0.8%)로 특징지어 진다. 그리고 분량(0.2-2.2 ml), 농도($0.7-11.0 \times 10^9$ 정자/ml) 및 압출당 방출된 총 정자 수($0.2-12.0 \times 10^9$ 정자) 면에서 빈약한 정자 생산 어류이다(Suquet et al., 1994).
- 대부분의 담수 어류에 비해 정자의 세포 운동 기간은 길다(1-17 분) (Suquet et al., 1994).
- 정자의 압출 빈도는 정액의 총 분량, 평균 정자 운동성 및 총 정자 수에 영향을 미치지 않는다. 터봇 수컷에서 월별에서 2주간 또는 매주로 압출 횟수를 증가시키면, 정액의 분량과 정자의 농도가 감소하게 된다(Suquet et al., 1992; Suquet et al., 1994).
- 자연 산란 기간 동안 수조 내의 암컷의 존재는 평균 정자 운동성을 증가시킨다(Suquet et al., 1992).

2) 난과 정자의 수집

가) 성 성숙의 측정

수컷 성 성숙 측정

- 부드러운 압박을 몇 번 실시한다.
- 압박은 배지느러미 직전 구역부터 시작하여 비뇨생식공 근처에서 끝낸다.
- 어류가 완전히 성숙하면, 정액(milt)은 일반적으로 비뇨 생식공으로부터 압출된다. 정액은 물기가 많고 또 색이 희끄무레하다.

- 만약 정액이 압출되지 않으면, 이 어류는 미성숙이거나 또는 이미 산란하였으므로, 수정 목적으로 사용하지 않는다.



그림 7. 터봇 수컷에서 압출된 정액(Source: Çiftci et al., 2002).

암컷 성 성숙 측정

- 암컷은 어류의 성숙도를 판정하기 위하여 수작업 압출(hand stripping)로 점검하거나 또는 캐놀라 삽입(cannulation)으로 점검한다.
- 성숙한 암컷의 경우, 부드러운 복부 압박 후 생식공(genital pore)으로부터 난이 쉽게 압출된다.
- 어류가 이미 성숙하였으면, 어류는 즉시 압출되어야 한다.
- 성숙 중인 암컷의 경우는, 복부를 강하게 압착해도 난이 압출되지 않을 수도 있다. 그러므로 생식소 조직을 표본하기 위하여 캐놀라를 사용한다.
- 캐놀라 삽입은 50 cm 길이의 가는 폴리에틸렌 튜브(직경 0.7 mm 또는 1.5 mm)를 사용하여 실시한다.

- 캐놀러는 약 20 cm 정도의 간격으로 생식공에 부드럽게 삽입하거나 또는 저항이 느껴질 때까지 부드럽게 삽입한다.
- 난모세포(oocytes)의 샘플은 입을 통해서 튜브에 빨려오게 되고, 그 다음 캐놀라를 회수한다.
- 캐놀라에서 샘플을 제거하기 위해, 끝이 평평한 바늘이 달린 1 ml 주사기를 한쪽 끝에 삽입한다.
- 표본은 주사기에서 링거 용액이 채워진 작은 유리병에 뽑어내어지게 된다.



그림 8. 생식선 조직 표본을 얻기 위한 친어 캐놀러 삽입
(Source: Çiftci et al., 2002).

현미경에 의한 수컷의 성숙 검사

- 정자의 활동을 100배 확대하여 현미경으로 검사한다.
- 처음에 해수 한 방울을 슬라이드 글라스 위에 놓는다.
- 그 다음 작은 양의 정액(milt)을 이 한 방울의 해수에 추가한다.

- 그리고 나서 현미경으로 관찰한다.
- 정자의 정상적인 생존 능력은 정액과 해수가 혼합된 후에 선회하는 것 같은 움직임으로 특징지어진다.

현미경에 의한 암컷의 성숙 검사

- 작은 양의 난을 난경 측정을 위하여 슬라이드 글라스에 옮긴다.
- 측정은 40배율의 현미경으로 할 수 있다.
- 만일 어류의 평균 직경($n = 100$)이 $400 \mu\text{m}$ 이상의 난모세포를 가지고 있으면, 어미는 산란 목적으로 사용할 수 있다.
- 그러나 평균 직경($n=100$) $400 \mu\text{m}$ 이하의 난모세포를 가진 어류는 사용하지 않고, 어미로서 보관한다.



그림 9. 현미경을 이용한 난 표본의 측정(Source: Çiftci et al., 2002).

나) 생식세포(Gamete) 수집 전 처리

- 처음에 터봇 어미를 성숙 탱크에서 꺼내고, 그리고 수돗물로 어

체를 깨끗이 하여 소금을 제거한다.

- 터봇을 작업대에 올려놓고, 그리고 어체를 수건으로 조심스럽게 닦는다.
- 그 후에, 친어의 비뇨 생식기(urogenital)와 생식공(genital pores) 주변을 눌러서 요(urine)를 짜낸다.
- 친어의 스트레스를 줄이기 위해 수건으로 머리를 가린다.
- 마취는 필요하지 않다.



그림 10. 염분 제거를 위한
친어의 담수 세척
(Source: Çiftci et al., 2002).



그림 11. 어미로부터 요의 압출
(Source: Çiftci et al., 2002).

다) 정자의 수집

정액의 요 오염

- 터봇 정자의 요(urine) 오염은 정자의 운동 개시를 지연시키고, 운동 속도를 감소시키며, 운동 세포의 수를 감소시킴으로써 정자의 질에 해로운 영향을 미치게 된다. 터봇의 복부 압출로 정자를 수집할 때, 요에 의한 정자의 평균 오염률은 15.3 %(요 용적: 정자 용적)였으나, 정자 수집 전에 요관에 카테터를 삽입함으로써, 요 오염은 유의하게 감소(9.3%)할 수 있다. 또한 요에 오염된 정

자는 저장과 수정 능력도 감소한다. 터봇 정자의 요 오염은 체정 전에 방광을 비움으로써 예방되어야 한다(Dreanno et al., 1998).

정액(Milt)의 수집

- 정액(semen)은 난보다 먼저 수집한다.
- 부드러운 압착이 몇 번 적용되며, 배지느러미의 바로 앞에 구역에서부터 시작하여 비뇨생식공(urogenital pore) 근처에서 끝난다.
- 어류가 완전히 성숙하면, 정액은 일반적으로 비뇨 생식공으로부터 압출된다.
- 만일 정액이 압출되지 않으면, 미숙이거나 또는 방출한 상태다.
- 정액은 비뇨생식공 주위에 복압을 가함으로써 실리콘 튜브(내경 1.5 mm)가 달린 주사기로 수집할 수 있다.
- 이 주사기는 수정 시점까지 아이스박스에 보관한다.
- 1 kg의 수컷에서 평균적으로 1.3 ml의 정액을 얻을 수 있다.



그림 12. 정액 수집(실리콘 튜브가
달린 1 ml 주사기)
(Source: Çiftci et al., 2002).



그림 13. 잠시 정액을 보관하는
아이스박스
(Source: Çiftci et al., 2002).

정자의 냉동 보존

- 포획 시 성숙한 수컷에게서 얻을 수 있는 정액의 불충분한 양에 의해 터봇의 인공 번식에 대한 진행이 때때로 방해 받는다.
- 동결 보존 정자는 수정 능력이 좋으며 매우 실용적이다.

라) 난의 수집

- 배란에 가까운 암컷 터봇은 산란기에 매일 점검한다.
- 난은 난소의 위치에서 생식공(genital pore)을 향한 복부 압박에 의해 투명한 난(hyaline eggs)들이 난소로부터 방출되며, 압출로 수집할 수 있다.
- 혈액이 압출된 난에 섞인 경우에는, 난 수집을 중단한다.
- 성숙한 어류는 한 번에 배란한다. 그러나 성숙 중인 어류는 약 2-10일이 필요하다.
- 배란이 일어나는지 관찰하기 위해 때때로 암컷 복부를 압박하는 것이 필요하며, 첫 번째 배란 후 매일 난을 수집할 수 있다.
- 성숙 중인 어류와 성숙한 어류의 배란은 평균 7-13일 연속으로 일어난다.
- 터봇 암컷의 체중 1kg당 40만~50만 개의 난을 생산할 수 있다.



그림 14. 터봇 암컷의 난 압출.

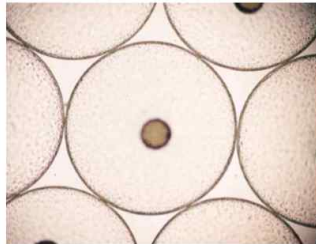


그림 15. 새로 압출된 난
(Source: Çiftci et al., 2002).

3) 인공 수정

- 인공 수정 방법으로, 압출된 정액이 해수와 혼합되기 전에 난 위에 뿌려지는 건식 수정법과 해수에 먼저 희석되는 습식 수정법이 있다.
- 건식법이 새로 배란된 난의 수정을 위해 사용된다.
- 과잉 숙성을 피하기 위하여 난 압출은 배란 후 10시간 이내에 시행한다(12-14°C에서).
- 채란 작업을 하는 동안, 양질의 난을 확보하기 위해서 온도 조절이 필요하며, 그리고 난에 대한 온도와 염분 충격을 피하는 것이 중요하다.
- 정액(semen)은 수생 조류의 깃털을 사용하여 압출된 난과 함께 첨가하고 해수 없이 혼합한다.
- 난 200g에 대한 정액의 최적 양은 1ml이다. 1g에는 약 900개의 알이 있다.
- 5-10분 후, 효과적인 수정을 위해 소량의 해수를 추가한다.
- 정자 수정 능력의 지속 시간에 해당하는 시간 때문에, 난은 이 혼합 용기에 약 10분 동안 보관한다.
- 난은 물에 뜨며, 수정되고 그리고 정상적으로 발생하는 것처럼 보이면 생존 가능한 것으로 분류한다(Bromley et al., 1986).
- 표면에 뜨는 난은 부화 수조에 넣으며, 반면에 가라앉는 난은 제거한다.

4) 난의 평가

가) 터봇 난의 특성

- 터봇 난은 평균 직경 1.1 mm (0.98-1.18 mm)로 매우 작고,
- 유구(0.18 mm)가 1개있으며,
- 부드럽고, 구형이며,

- 비점착성이고 투명하며,
- 부유성이다(Bromley et al., 1986; (Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).

나) 난질 평가

난질에 영향을 미치는 요소

- 난질에 영향을 미치는 요소는 난 자체의 내재적 특성과 난의 수정 및 배양 과정의 환경에 의해 결정된다(Brooks et al., 1997).
- 난질에 영향을 미치는 구성 요소로는 어미의 나이, 어미의 먹이, 난소에서 난모세포가 성장하는 동안의 내분비 상태, 난모세포에 비축된 영양물의 보충물 그리고 산란과 난의 압출 이후 배양되는 사육수의 물리화학적 상태가 포함된다. 그리고 어미를 취급하는 사육 관리 실무 또한 난질에 영향을 주는 주요한 요인이 될 수 있다. 한편 친어의 유전 형질 또한 포란수와 난질에 강하게 영향을 미친다는 것을 알고 있으나, 거의 연구된 바가 없다(Brooks et al., 1997).
- 난질에 영향을 미칠 가능성이 있는 많은 결정 요인들이 있으나 그 중에서 ① 난의 세균 감염, ② 어미의 영양 상태, ③ 배란 후 어미 내부에서의 체류 경과 시간에 의한 과숙이 난질에 분명히 영향을 주는 것으로 보인다(Bromage, 1994).
- 난의 과숙을 피하기 위하여, 배란 후 10시간 이내에 난을 압출하고, 수정시켜야 한다(Kjørsvik et al., 1990).
- 터벗 초기 난 단계의 수정률과 정상 난할구율(rates of normal blastomeres)이 잠재적인 종자 생산 평가의 유용한 예측 수단이 될 수 있다(Kjørsvik et al., 2003).
- 좋은 품질의 부유 난은 일반적으로 품질이 낮은 품질의 난보다 더 부력이 있으며, 부화율이 더 높고, 정상적 발생을 한다.

- 난의 품질은 산란 직후와 수정 후의 두 다른 단계에서 결정될 수 있다.

산란 직후 양질 난의 지표

- 부력이 높아 수면에 떠있는 부유 난의 비율이 더 높다(Forés et al., 1990).
- 난경 1.1 mm 미만인 부유 난이 50% 이상이다(Forés et al., 1990).
- 생존 능력의 초기 지표인 투명성이 높다(Fernández-Palacios et al., 1995).
- 터벗 난이 구형이며, 반투명 난이면 생존 가능하다.
- 터벗 난이 불규칙한 형태와 유착된 난황(coalescent yolk)을 가지면 생존 불가능한 난이다.

수정률의 추정

- 수정률은 15℃에서 수정 후 3시간, 4세포 단계에서 평가될 수 있다.
- 수정률과 총 난수를 산정하기 위해, 3개의 50 ml 표본을 부드럽게 포기되는 부화 해수에서 비커로 채취한다.
- 난 샘플을 현미경 아래서 검사하고, 계수한다.
- 부화 구조의 총 난의 수는 3반복×50 ml 표본의 평균 난 수에 의해 계산된 부화 해수의 용적에 기초하여 추정한다.
총란수(TNE) = (계수된 총 난의 평균 수/표본 부피(50 ml)) × 부화 구조의 해수 용적
- 수정률(%) = (계수된 수정란의 평균 수/총란수) × 100

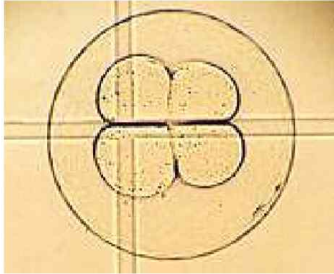


그림 16. 4세포의 수정란(Source: Çiftci et al., 2002).

수정 후 양질 난의 지표

- 수정률 70% 이상 수정(Kjørsvik et al, 2003)
- 수정란으로부터 정상 할구(정상적 비대칭)의 핵분열로서 계산된 8-32세포 단계에서의 정상 세포 분열 비율(Kjørsvik et al, 2003)
- 초기 분할의 50% 이상이 대칭
- 큰 크기의 첫 번째 세포 분할

표 3. 터봇 난의 난질 기준

난 단계	I	II	III	IV
부력	높다	중간		낮다
난경		< 1.1 mm	> 1.1 mm	
수정률(%)		> 70%	< 70%	
대칭성(%)		> 50%	< 50%	
첫 분열 크기		크다	작다	

※ I-II 단계가 사용하기에 최상 품질의 난이다.

자료 출처: Forés et al., 1990; Rurangwa et Poelman, 2011

5) 난의 살균

- 어류 난 표면의 착생 세균상에 기회 감염균들이 있을 수 있으므로, 난은 어미로부터 종자에 그리고 생산 시설 사이에서 질병 전염의 중요한 매체가 될 수 있다(Salvesen and Vadstein, 1995).
- 난 살균은 난의 부화와 생존을 향상시키고 그리고 배양장 내와 배양장 사이에서 병원균의 전염 위험을 감소시킨다(Salvesen and Vadstein, 1995).
- 어류 난의 표면 살균에 사용되는 약제에는 글루타르알데히드 (glutaraldehyde), 요오드포(iodophors), 자외선, 오존, 과산화수소, 차아염소산 나트륨(sodium hypochlorite), 항균 펩티드 및 항생제 등이 있다(Salvesen and Vadstein, 1995; Salvesen et al., 1997).
- 항생제는 내성이 생길 수 있기 때문에 권장되지 않는다.

나. 수정란의 부화

1) 수정란의 배양 관리

가) 난 발생

- 수정란은 구형이며, 부유 및 비점착성 난이고, 단일 유구가 있으며, 난각에는 특별한 구조가 없고, 좁은 난황 주위 공간(perivitelline space)이 있다.
- 난은 직경 0.98~1.18 mm 크기이다.
- 수정란의 배양을 위한 적정 온도는 13~15℃ 이다.
- 최적 염분은 25~35 psu 범위이다.
- 부화는 14~15℃의 온도에서 수정 후 약 110시간 후에 일어난다.

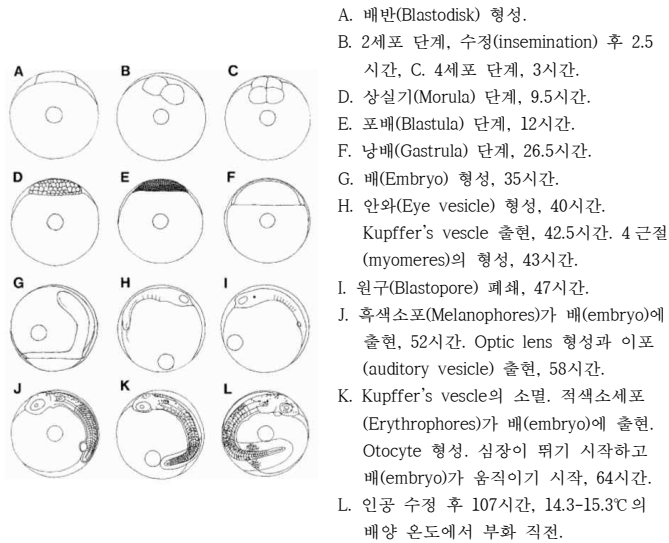


그림 17. 터봇 난의 발생(Source: Çiftci et al., 2002).

나) 부화 수조

- 난의 부화는 자어 사육 시설로부터 분리된 별도의 배양 시설에서 부화하는 것이 권장된다.
- 부화 수조는 일반적으로 원추형 바닥에 여과망을 부착한 중앙 배수 스탠드가 설치되어 있는 원통형 수조이다.
- 부화 수조의 크기와 용적은 부화하는 난의 양에 따라 적절히 결정한다.
- 난과 새로 부화된 자어에 손상을 주지 않도록, 내면이 매끄러운 원추 저면 플라스틱 또는 FRP 원형수조가 일반적으로 사용된다.

- 부화 수조의 수량은 배수 수위 스탠드 또는 배수 호스의 위치를 조절하여 원하는 수위로 유지한다.
- 중앙 배수 스탠드는 여과망을 통해 난이 통과하지 못하도록 하기 위하여 폴리에틸렌 망(망목: 8 mm)과 플랑크톤 망(망목: 520 μ m)으로 덮인 PVC 파이프로 만든다.



그림 18. 터봇의 난 배양기(Source: Çiftci et al., 2002).

다) 수정란 배양 수조와 장비의 살균

- 부화 수조, 주배수 파이프, 에어 스톤, 장비 등을 난 수용 전에 소독한다.
- 세제를 사용하는 일반적인 청소 후에, 부화 수조는 수돗물로 채우고, 소독 용액을 추가하여, 하루 이상 놔둔다.
- 염소를 사용한 경우, 다음 날 염소를 제거하기 위하여 염소화된 물을 몇 시간 동안 포기한다.
- 사용 전에 부화 수조의 물을 버리고, 수돗물로 행군다.
- 부화 수조를 다시 해수로 여러 번 행군다.
- 피펫, 관, 통, 메스실린더 등의 장비들을 살균 용액에 밤새 담근다. 그리고 사용하기 전에 수돗물로 행군다.

라) 수정란 배양 환경 관리

부화 해수

- 부화 해수는 1 μm 필터로 여과하고, UV으로 살균한다.
- 유수식으로 주수하는 해수의 수온과 염분을 산란 수조와 같게 조절한다.
- 부화 부산물과 난과 관련이 있는 잠재적 위험 미생물을 제거하기 위하여, 한번 사용한 물은 여과한 물이라도 재사용하지 않는다.

수온

- 터봇 난은 16℃ 이상에서는 거의 수정되지 않으며, 난의 생존율이 저하한다.
- 수정란의 배양을 위한 적정 수온은 13 ~ 15℃이다.
- 터봇 난은 난의 반(50%)이 13℃에서 6-7일 또는 $1,742 \pm 81^{\circ}\text{C} \times \text{시간}$, 15℃에서 4.5일 또는 $1,590 \pm 90^{\circ}\text{C} \times \text{시간}$ 그리고 17℃에서 4일 또는 $1,557 \pm 68^{\circ}\text{C} \times \text{시간}$ 이내에 부화한다(Devauchelle et al., 1988; Rurangwa et Poelman, 2011).
- 유럽 터봇은 13℃에서 부화율이 낮았으며, 17℃ 이상에서는 기형을 증가하였다(Devauchelle et al., 1988).
- 흑해 터봇의 경우 수온 14℃와 염분 18‰에서 수정율과 부화율이 높았으며, 그리고 기형율이 낮았다(Hamza Polat, et al., 2018).
- 12℃는 허용되지만 그러나 부화 과정을 지연시킨다.

난 수용 밀도

- 터봇 난의 초기 적정 수용밀도는 14℃에서 5,000 난/L 이하이다(FAO, Cultured Aquatic Species - fact sheets, *Psetta maxima*).

배양 수정란 관리

- 보통 희끄무레한 색의 가라앉은 난은, 비록 살아있는 알이 일부 섞여 있다하더라도, 죽은 것으로 간주한다.
- 생존 가능한 난은 수면 또는 물속에 부유한다.
- 죽은 난을 제거하기 위하여, 몇 분 동안 포기와 물 공급을 중단한다.
- 가라앉은 죽은 난들에 의한 박테리아와 원생동물의 번식을 최소화하기 위하여 사이펀으로 빼낸다.

환수율

- 환수율은 부유하는 난이 배수 스탠드의 망에 밀집되지 않으면서, 용존산소를 충분히 공급(포화도 100%)할 수 있도록 조절한다.
- 난 배양 기간 중의 환수율은 부화 동안과 부화 직후에 더 높인다.

포기

- 포기와 환수율을 조절하여 부화 수조의 용존 산소를 100% 포화에 가깝게 유지한다.
- 포기는 물에서 난을 부유시킬 수 있어야 한다.
- 강한 포기 또는 높은 환수율은 수조 벽 또는 중앙 배수 스탠드에 설치된 망과의 접촉을 통해 난을 손상시킬 수 있으므로 포기와 환수율을 적정하게 조절하여야 한다.
- 에어스톤을 원추 바닥의 끝 가까이에 배치하여, 물의 순환을 양호하게 하고, 생존 불가능한 난과 부화 찌꺼기를 잘 분리해 낼 수 있게 한다.
- 수조의 바닥에서 추가적으로 포기하여, 주로 난과 자어를 부유하게 하고 배양수의 성층화를 방지한다.

- 원주-원추형 수조는 물의 순환과 난 분포를 양호하게 하기 위하여 수조 중앙에서 부드럽게 포기하도록 에어 스톤을 설치한다.

조명

- 조명은 부화실에서 자연 조건하에 두며, 주간 약 100럭스이다.
- 광주기는 자어 사육 구역에 적용된 광주기와 같다.

배수 스탠드

- 배수 스탠드는 교체할 수 있는 400 μm 망목의 나일론 망으로 씌운다.
- 배수 스탠드 주위에 지속적으로 포기하여 부드러운 흐름을 만들어서, 밖으로 흐르는 배출수에 의해 밀리는 난과 자어로 망이 막히는 것을 방지할 수 있다.

찌꺼기 제거

- 해수와 공기의 공급은 사란과 부화 잔해를 바닥에 가라앉혀 제거하기 위하여 매일 일정 시간 멈춘다.

외부 충격

- 수정란의 배양 중, 난은 부화 전에 다양한 배아 발생이 일어나게 되므로 기계적 충격과 열 충격은 최소화되어야 한다(Devauchelle et al., 1988; Rurangwa et Poelman, 2011).
- 수정란의 발생 과정에서 수온 15-19℃에서는 난 발생의 상실기와 낭배기에서 주로 폐사가 일어났으나, 수온 21-25℃ 범위에서는 폐사는 대부분 부화 직전에 일어났다(Devauchelle et al., 1988).

마) 자어 사육 수조의 난 배양

자어 사육 수조의 난 배양

- 자어 사육 수조에 직접 난을 수용하여 전체 수용적을 점유할 경우, 난의 수용 밀도는 200 난/L를 초과하지 않아야 한다.
- 난이 자어 사육 수조에 직접 수용되어 있으면, 약간 강한 공기 흐름으로 난이 계속 부유할 수 있도록 한다.
- 자어 사육수조에 직접 난을 수용하는 방법은 후속 조치가 쉽고, 추가 장비도 필요하지 않다. 그러나 부화 후 수조 바닥의 청소엔 인력과 시간이 소모되며, 부화가 성공적이지 못하면 수조 전체를 세척하고, 살균하고 또 새로 채워야 하는 단점이 있다.

자어 사육 수조 내 가두리 망의 난 배양

- 사육 수조 안에 배치한 가두리 망에 난을 수용하는 방법은 자어 사육 수조 전체를 이용하는 것보다 더 잘 통제할 수 있다.
- 배양 가두리 망은 원형 또는 사각 망에 400μm 망목의 나일론 망으로 제작할 수 있다.
- 배양 가두리 망의 난 수용 밀도는 배양기 안의 환수율에 따라 정해진다(예, 6,000~7,000 난/L).
- 배양 가두리 망 안에는 난들의 부드러운 움직임을 위하여 미세 에어스톤으로 만든 포기 장치를 둔다.
- 자어 사육 수조 안의 해수 순환은, 전체 배양 가두리 망을 통해 부드러운 흐름을 제공하기 위하여 조절되어야 한다.
- 부화 후 난황을 가진 자어를 계수하고 나서 배양 가두리 망을 부드럽게 기울여 부화 자어를 사육 수조에 놓아 준다. 자어를 풀어주는 것을 용이하게 하기 위하여 포기를 중지하여야 한다.

2) 수정란의 부화 관리

가) 수정란의 부화 환경 관리

환수 조절

- 난 배양 기간 중의 환수율은 배양 환경을 고려하여 적정하게 조절(예: 시간당 1회) 하고, 추정 부화 시간 몇 시간 전부터 시작하여, 부화 동안과 부화 직후에 환수율을 높인다.
- 난이 배수 스탠드 망에 막히지 않도록 주의를 기울인다.

환경 변수의 조정

- 부화가 시작되면 곧 수온, 염분, 용존산소, 총질소, 조도 등 난 배양 수조의 환경 변수들을 적정 범위로 재조정하여야 한다.

부화 부산물의 제거

- 부화 부산물 중 난각이 열릴 때 작용하는 단백질 분해효소는 난막(chorion)에 의해 보호받을 수 없는 막 부화한 자어에 손상을 줄 수 있다. 부화 찌꺼기와 부산물을 제거하여야 한다.
- 자어 사육수조에서 직접 난을 부화한 경우, 부화가 종료되면 바로 사이펀으로 조심스럽게 부화 찌꺼기를 제거하고 포기와 환수를 부화 자어에 맞게 조정한다.

나) 부화율의 추정

- 부화율은 계수된 총 난 수와 부화된 자어의 비율에 기초하여 추정한다.
- 3개의 50 ml 표본을 비커를 사용하여 부드럽게 포기된 부화 사육수에서 채취한다.
- 표본의 부화 자어는 입체 현미경으로 계수한다.
- 수조에서 부화된 자어의 총 수는 50 ml 시료 3반복에서 부화된 자어의 ml당 자어 평균수에 수조 내 사육수의 용적을 곱하여 추정한다.

- 총 부화 자어 수 = (계수된 자어의 평균수/표본 부피(50 ml)) × 부화 수조의 해수 용적

- 부화율은 다음 식을 사용한다.

- 부화율(%) = (부화 자어의 총 수/총 난 수 × 100

3) 부화 자어의 평가

가) 부화 자어의 평가

- 부화된 자어는 부화 1일 후 형태와 행동에 관한 평가 기준에 따라 생존력과 상태를 점검하여야 한다.
- 생존력이 높은 자어를 선택하며, 생존력이 낮은 자어 그룹은 가급적 폐기한다.
- 부화 그룹별 10~20마리의 표본을 채집하여 시계 접시에 두고 입체 현미경으로 5~10배의 저배율로 기준에 따라 정상 상태 여부를 관찰한다.

나) 부화 자어의 형태 평가 기준

부화 자어를 다음의 형태 평가 기준에 따라 평가한다.

- 전반적인 형태와 크기,
- 자어 지느러미의 완전성(기형이나 결손이 있어서는 안 된다.),
- 외부 기생충(없어야 한다),
- 내장 기관의 배치,
- 정상적인 색소.

다) 부화 자어의 행동 평가 기준

- 부화 첫날의 자어는 특유의 전형적인 행동을 보이며, 그 관찰은 생존력의 평가에 도움이 된다(투명 용기에 50마리 정도를 표본 조사).

- 완전 수동적이거나, 또는 과잉 활동적인 다른 양상을 보이는 자어는 낮은 생존력을 나타내는 것일 수 있다.
- 같은 비정상적 양상이 생산 자어의 몇 그룹에서 연이어 관찰되면, 오염 문제의 신호일 가능성에 대해 검토, 조치하여야 한다.
- 부화 후 10일경에 가슴지느러미가 잘 발달한 자어의 움직임은 진동과 꼬리 박동이 강화되며, 때때로 물의 흐름에 거슬러 유명하였다가, 멈추어 물의 흐름에 의해 뒤로 옮겨지며, 그런 다음 이전의 위치로 다시 되돌아간다.
- 자어는 12일경에 S자 형태를 취한 다음, 갑자기 곧게 펴서, 먹이 생물을 섭식하기 위하여 돌진하며, 활발한 섭식이 이루어진다.

4) 부화 자어의 이송

부화 자어의 이송 절차

- 발생하지 않은 난과 유기물 잔해들을 배양 수조의 바닥으로 가라앉히고, 그리고 자어 또는 난들을 물 표면으로 부유시키기 위해서, 사육 수조로 부화 자어를 옮기기 직전에, 부화 수조에서 짧은 시간(예: 10-15분) 동안 포기를 중단한다.
- 바닥에 가라앉은 발생되지 않은 난과 유기물 잔해들을 사이펀이나 배양기 바닥에 연결된 호스를 통해 제거한다.
- 자어는 비커 또는 통을 사용하여 사육 수조로 부드럽게 옮긴다.
- 자어는 집약적 사육 시스템에서 15-20 자어/L 밀도, 그리고 반집약적 사육 수조에서는 2-5 자어/L의 밀도로 입식한다(Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).
- 사육 수조에 자어를 옮긴 이후, 부화 수조를 비우고, 세척하고, 소독하며, 그리고 다음 난 배치의 부화 배양을 위하여 다시 채운다. 만일 더 이상의 부화가 예상되지 않으면, 사용된 시설을 분해하고 소독한다.

4. 자어

가. 위생 관리

1) 자어 사육 시설과 장비의 위생 관리

가) 자어 사육 체계의 준비

- 배양장의 자어 사육 환경은 종종 연약한 자어에게는 해로운 환경이다. 그러므로 배양장의 위생 상태의 완전한 통제가 고려되어야 하고, 또 적절한 절차에 따라 시행되어야만 한다.
- 해산어류 자어의 건강 상태는 주로 잘 계획된 예방에 달려있다. 예방을 위하여 사육 해수의 처리와 엄격한 청소 일과를 준수하여야 한다.
- 생산 시기가 시작되기 전에, 배관, 수조, 필터, 살균 체계, 공기 공급 체계, 장비 등 완전한 자어 사육 체계를 적절하게 설치하여야 한다.
- 모든 생산 설비는 세제로 완전히 세척하여야 하고, 소독 용액으로 살균하여야 한다.
- 사육 수조와 배관 등의 살균과 세척의 실용적 방법은, 수조와 설비 등을 소독 용액으로 채우고 2-3일 동안 수조의 물을 순환시키거나 또는 가만히 두는 것이다.
- 사육 기간의 종료 시에도, 수조나 설비에 찌꺼기가 달라붙는 것을 방지하기 위하여 세척 작업을 반드시 수행해야 한다.
- 생산 기간 중에, 한 그룹의 자어가 치어 사육 시설로 이송된 뒤에도, 사육 수조와 배수 배관 등을 소독 용액으로 살균하여야 한다. 배수 배관 체계는 해체하여 하루 밤 동안 소독 용액에 담가 두어야 한다.
- 사육 시스템에 생물 여과조가 있으면, 질소 여과 미생물의 여과

제 착생을 위하여 자어 사육이 시작되기 전 최소 한 달 전에 가동을 시작하여야 한다. 생물 여과조 부품의 살균은 훨씬 전에 실시한다.

- 첫 자어 수용 훨씬 전에, 전체 사육 시스템을 조립하여, 전용량으로 가동되는지 점검하여야 한다. 설비에 대한 어떤 문제도 고치거나, 또는 교체하여 사전에 해결하여야 한다.
- 자어 사육 수조의 내면은 위생 관리 측면에서 매끄러워야 한다.

나) 자외선 살균기

- 청소 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영관을 청소하거나 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 석영관에 청소 와이퍼가 없는 경우, 자외선 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 그리고 분해하여 석영관을 손으로 청소해야 한다.
- 정체된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다. 배양장에 질병이 발생한 경우에는 측관을 열지 않아야 한다.
- 점검 창을 한 달에 한 번 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

다) 생물 여과조

- 여과조의 벽에 오물이 쌓일 때마다 종이 티슈로 없애야 하며, 작업 시 물에 손을 담그지 않아야 한다.
- 생물 여과조 집수조 바닥의 잔해를 배출하기 위하여 사이펀으로 오물을 제거한다. 침전된 잔해가 다시 떠오르는 것을 피하기 위하여 사이펀을 부드럽게 작동한다. 항상 깨끗하고 소독된 사이펀을 사용한다. 사이펀을 소독 용액에 담그고, 그리고 사용 직전에

담수 또는 해수로 잘 행군다.

- 매일 아침 생물여과조 입구의 알테미아 여과막을 청소하고, 완전히 씻은 다음, 여과막을 제자리에 설치하기 전에, 소독 용액에 담가 두어 소독한다. 여과막에 걸린 알테미아를 제거한다.
- 일반 배수구 흡통은 기계식 필터를 우회하여 솔로 한 달에 두 번 청소한다. 각 과정의 끝에 소독 용액을 사용하여 세척하고 소독한다.

라) 운용 자어 사육 수조

- 운용 중인 원추형 사육 수조는 하루 중 바닥 표면적의 최소 절반을 사이펀으로 오물을 제거하여야 한다. 침전된 잔해가 다시 떠오르지 않도록 사이펀을 부드럽게 작동하여야 한다. 각 수조마다 소독된 사이펀을 사용하여야 한다. 미세 조류가 수조에 추가되기 전에 사이펀 하여야 한다. 사이펀을 소독 용액에 보관하고 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 행구어야 한다.
- 수조 내벽과 수면 접촉 부위(meniscus)에 오물이 쌓일 때마다 종이 티슈로 닦아내야 한다. 손을 물에 담그지 않아야 한다.
- 원형-원추형 사육 수조는 하루에 아침과 저녁 두 번 포기를 중지하고, 하단 밸브를 열어 수조 바닥 끝 부분에 쌓인 물을 배출한다.
- 배수 스탠드의 망에 걸린 폐사어는 어떤 건강 문제의 시작을 나타내는 것일 수 있기 때문에, 사육 첫날 배수 스탠드의 망에 걸린 자어로 사육수 상태를 점검하고, 이후 폐사한 후기 자어와 치어를 점검하여야 한다.

마) 빈 자어 수조

- 각 자어 그룹의 사육 주기가 종료되면 바닥 밸브를 열어 사육수

를 완전히 배수한다. 배수 스탠드와 배관, 에어 호스와 에어 스톤, 바닥 마개 및 밸브를 떼어 낸다.

- 아직 젖어 있을 때, 세제와 뜨거운 물로 수조 내벽, 바닥 및 모든 관련 장비를 솔로 문지른다.
- 행구고 나서, 소독 용액으로 밤새 소독한다.
- 담수로 행구고, 그리고 다시 채우기 전에 공기로 말린다.

바) 유막 제거기

- 정기적으로, 약 4시간마다 종이 티슈로 부유 잔해와 유막 제거기(skimmers)에 의해 수집된 기름 막을 제거한다.
- 로티퍼와 알테미아를 공급한 후에는 더 자주 제거한다.
- 부레가 활성화되는 때인 자어 사육의 첫 10일 동안은 특별한 주의가 필요하다.

사) 배수 스탠드

- 아침과 저녁 조명을 끄기 전에 일과로서 하루에 두 번 깨끗하고 소독된 배수 스탠드로 교체하여야 한다. 만일 망 막힘의 위험이 있는 경우에는 낮에 더 자주 교체하여야 한다.
- 사육수의 급수를 멈추고, 그리고 어린 자어를 방해하지 않으면서 또 배수 스탠드에 붙은 더러운 오물이 다시 떠오르는 것을 피하면서 더러운 배수 스탠드를 조심스럽게 제거한다.
- 사용한 배수 스탠드를 뜨거운 물 또는 담수의 고압 세척수로 씻고 소독 용액에 담근다. 배수 스탠드를 물로 완전히 행구고, 그리고 수조 가까이에 보관한다. 수조 주변 통로의 난간은 작업 활동을 방해하지 않는 경우 보관에 적절한 장소이다.

아) 에어 호스와 에어 스톤

- 일주일에 한 번 각 수조에서 깨끗한 세트(비닐 호스 + 에어 꼭지(tap) + 에어 스톤)로 교체하여야 한다.
- 기름기가 많은 유막(greasy film)을 제거하기 위하여 뜨거운 물과 세제로 씻어낸다. 그런 다음 소독 용액에 담근다, 사용 전에 물로 철저히 행구어, 호스와 에어 스톤 내부에 소독 용액이 남아 있지 않도록 주의한다.

자) 장비(양동이, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 하루 동안에 사용하기 전과 후에 뜨거운 물로 철저히 행군다.
- 하루 작업 종료 시에 소독 용액에 담근다.
- 야간에는 물로 행구고, 그리고 건조 상태로 보관한다.

차) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 침전물을 제거하여야 한다.

카) 일간 먹이생물의 저장 용기

- 마지막 먹이생물 공급 후, 저장 용기의 내벽, 바닥, 뚜껑, 에어 호스 및 에어 스톤을 세제와 뜨거운 물로 문지른다.
- 소독 용액으로 소독한다.
- 다음날 먹이생물 공급을 준비하기 위하여, 담수로 씻어 내고, 그리고 공기 중에 말린다.

타) 사육실 바닥

- 일주일에 두 번, 먼저 강력한 고압 분사기로 씻고, 그 다음 소독 용액으로 씻는다. 소독 용액으로 씻은 바닥을 씻어내지 않는다.

파) 작업자 위생 관리 주의 사항

- 사용하려는 재료와 장비가 깨끗하다고 가정해서는 안 된다. 필요할 때마다 작업자 스스로 청소해야 한다.
- 모든 소독 용액은 자어에 치명적인 독(예, 산성 또는 염소 잔류물 등)이 있을 수 있으므로, 사용하기 전에 장비를 철저히 헹구어야 한다.
- 질병 확산의 위험을 피하기 위하여, 배양장의 다른 구역들과 재료와 장비를 교환하지 않아야 한다.
- 개인위생으로 작업자는 손을 깨끗하게 유지하여야 하고, 배양장에 들어가기 전에 소독조에 발을 담궈야 하며, 배양장 안에서 담배를 피워서는 안 된다.

나. 사육 환경 관리

1) 자어 사육 환경 관리

가) 자어 사육 수조

- 모든 사육 수조는 실내에 배치한다.
- 수조의 형태는 원형, 정사각형 또는 물의 흐름이 중요한 경우는 수로형(raceway) 등으로 다양하다.
- 자어 사육 수조의 크기는 생산 목표에 따라 다양하며, 깊이는 0.75 m 범위이다.

나) 자어 입식 밀도

- 터봇 자어의 초기 수용밀도는 약 20,000-30,000 ind./m³이다 (ÜSTÜNDAĞ C., 2003).
- 터봇 자어 사육은 반집약적 사육과 집약적 사육이 있다. 18-20°C의 사육 수온에서 반집약적 사육 체계의 자어는 50 m³ 대형 수조

에서 2-5 자어/L의 낮은 밀도에서 사육되고, 집약적 사육 체계에서는 20-30m³ 수조에서 15-20 자어/L의 밀도로 사육된다(FAO, Cultured Aquatic Species - fact sheets, *Psetta maxima*).

다) 입식 방법

- 난 또는 새로 부화한 자어를 사육 수조에 옮기기 전에, 사육 수조의 수온을 부화 수조와 같은 정도로 설정한다.
- 난 또는 부화된 자어를 사육 수조에 옮기기 바로 직전에, 미발생 난과 잔류물을 부화 수조의 바닥에 가라앉히고, 그리고 자어 또는 난이 수면에 부유할 수 있게 하기 위하여 잠시 동안 포기를 중단한다.
- 포기 중단 후 미발생 난과 찌꺼기를 사이펀이나 부화기 바닥에 연결된 호스를 통해 제거한다.
- 그리고 난 또는 자어는 비커 또는 통을 사용하여 사육 수조로 부드럽게 옮긴다.

라) 수질

- 적절한 자어 사육 조건을 유지하기 위해, 물은 5 µm으로 여과하고, 그리고 UV로 살균한다.

마) 수온

- 난이나 새로 부화된 자어의 수송 과정에, 난과 자어 출처의 수온과 입식될 장소 사육 수조의 수온을 같게 하는 것이 대단히 중요하다.
- 난황 흡수까지 친어 사육 수조의 수온과 동일하게 유지한다.
- 자어 사육 기간의 초기 수온 유지에 특별한 주의를 기울여야 한다.

- 자어는 초기 단계의 수온 변화에 내성이 적은 것으로 보이므로, 초기 사육 기간의 수온 변동은 최소화되어야 한다.
- 6일 이후부터 필요시 목표 수온까지 하루에 점진적(예, 하루 0.5℃ 증가)으로 가온한다.
- 대서양에서, 10g 터봇의 성장 적정 수온 범위는 16~22℃ 이고, 40~50 g 터봇의 적정 성장 수온의 범위는 16~19℃ 이다. 16℃ 이하와 20℃ 이상에서 성장률이 급격히 낮아진다. 종자 생산 과정에 5℃와 25℃에서 먹이를 먹지 않는다(Person-Le Ruyet, 2002).
- 난황 흡수 동안, 섭식 시작의 준비로 수온을 초기의 난 배양 수온 수준으로부터 점진적으로 높여준다.

바) 용존산소

- 자어 사육수조의 용존산소 포화도를 최소 80% 최대 100%로 유지한다.
- 터봇의 최대 성장을 위한 최소 산소 요구량은 6 mg/L이다 (Person-Le Ruyet, J., 2002).
- DO 3 mg/L에서 먹이 섭취를 증진하고, 0.75-1.3 mg/L에서 폐사한다 (Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 터봇은 용존산소 포화 상태에서 성장이 향상되었으며, 147%와 223%의 과포화 상태에서는 먹이 섭취와 사료전환효율 및 성장에 영향이 없었으나, 지방 축적이 증가하였다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 자어 수조 안의 사육수 교환이 필요한 경우 밤에 교환한다. 밤에 사육수를 교환하는 것은 이화대사산물을 제거하고, 산소가 가장 필요할 때(명기의 중반부) 산소를 공급하기 위한 것이다.
- 어느 경우에도 예상 외로 갑자기 발생할 수 있는 무산소 상태의 위험에 대처하기 위한 비상 산소 공급 장치를 설치하여야 한다.
- 조명 상태에서 환수가 없거나 또는 감소되는 동안에, 미세조류를

첨가하는 것은 DO 농도를 안정화 하는 데 도움이 될 수 있다.

- 일반적으로, 먹이 전환 치어 사육 기간 동안에 미세조류의 첨가가 DO 농도의 안정화에 중요하기는 하지만, 먹이 공급 후에는 DO 수준을 점검하여야 한다.
- 조류는 밤에 산소를 소비하기 때문에, 밤에 사육수를 환수하지 않으면서 과도한 양의 미세조류가 있을 경우, 밤중과 새벽에 DO 수준을 점검하여야 한다.
- 주수 배관에 순수 산소를 주입하여 수조 도달 전에 물과 산소의 접촉 시간을 연장하는 방법이 산소 기포를 만들어 공급하는 방법보다 더 효과적이며 산소를 절감할 수 있다.

사) 염분

- 산란 시의 염분을 유지한다.
- 터봇은 염분 10% 이하에도 적응할 수 있으나, 6%에서는 폐사하며, 고염분 내성에 대한 자료는 없다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 1~5 g의 터봇은 염분농도 10%에서 35% 사이에서 섭이 행동과 성장에 차이가 거의 없었다. 3g 체중 터봇의 3개월 실험에서 염분농도 35%보다 19%에서 체중 성장이 8% 더 많았다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 터봇 자어는 수온 범위 18~22℃에서 중간 수준의 20% 염분 농도에서 성장의 향상을 기대할 수 있다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 염분이 다소 낮아지면, 생물 먹이의 침전이 증가하고, 염분 변화에 의한 스트레스가 증가하게 된다.

아) 총질소(total ammonia)

- 자어 사육 과정에 총 생체량이 적어 총질소는 주요 문제가 되지 않는다.

- 터봇 자어가 암모니아에 내성이 있지만, 독성 수준에 대해서는 알려진 바가 거의 없다.
- 총암모니아성 질소가 2-3 mg/L 이하의 농도에서는 안전한 수준으로 간주되고 있다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 터봇의 성장에 영향을 미치는 암모니아의 농도는 용존산소, pH, 그리고 많은 생물적 요인(어류 크기, 초기 생활사, 건강 상태 등)에 영향을 받는다. 최적 사육 조건에서 암모니아 최저 한계 농도는 pH 7.5에서 총암모니아성 질소(total ammonia) 5-6 mg/L 또는 NH_3 0.2 mg/L이다(Person-Le Ruyet, J., 2002).

자) 기온

- 기온 변동은 1℃ 이내로 조정하고, 특히 밤에 기온 변화에 의한 수온 변화를 방지한다.
- 사육수의 교환이 없거나 또는 매우 적을 때 특히 기온 변화에 주의를 기울여야 한다.

차) 조명과 광주기

- 빛의 강도, 주기 및 색은 중요한 생태적 요인으로 작용한다.
- 빛은 자어의 먹이 공급 동안에 먹이 섭취의 중대한 결정적 요인 중의 하나이다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 터봇은 완전한 암흑 상태에서 섭이량이 감소하나 중지하지는 않는다. 그러나 비정상적으로 강한 빛은 행동 장애(disturbance)로 인하여 먹이 섭취가 중단될 수 있다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 먹이 공급이 제한되지 않고, 빛의 강도가 적절한 200 lux인 경우, 광주기를 8시간부터 16시간 사이에 각기 다르게 변화를 주어도 먹이 섭취와 성장에 유의한 차이가 없었다(Person-Le Ruyet, J., 2002).

- 온도가 높을수록 증가된 자어의 활동과 성장률에 맞추어 조명 시간을 연장한다.
- 일정 사육 조건에서, 밝은 시간이 길수록 어류는 먹이 포식을 확대하고, 성장이 증가할 수 있다.
- 사육 시설은 형광등을 사용하여 200-500럭스의 강도로 조명한다.
- 조도가 과도하게 높거나 낮아지는 것을 피한다.
- 만약 녹색 물(green water) 사육 시스템을 적용하면, 연속 조명(24 시간)을 한다.
- 자동적으로 조도와 광주기를 설정하기 위하여, 타이머 조광 스위치를 설치한다.
- 전원을 켜고 끌 때는 타이머에 의해서 조정되는 조광 스위치(dimmer switch)를 이용하여 황혼효과를 10-15분으로 지속한다.
- 직접적인 태양광은 광이 너무 강하고 또 인공적인 환경에 간섭을 일으키기 때문에 자어 사육 시설에 태양의 직사 일광은 피한다.

카) 환수

- 난의 부화 후 자어는 3일까지 사육수를 환수하지 않는다.
- 부화 후 4일에 사육수는 적당한 로터퍼의 밀도를 유지하고, 사육수의 악화를 방지하기 위하여 0.3 회/일의 율로 처음 환수한다.
- 환수율은 부화 후 10일에 1.0 회/일로 점진적으로 증가한다.
- 어류가 성장함에 따라, 배수 스탠드의 폴리에틸렌 망의 망목은 더 커져야 한다.
- 초기 단계에서, 자어의 유영 기능은 잘 발달되어 있지 않으므로, 물의 교란을 최소화하여야 한다.
- 자어는 활동적으로 유영할 수 없으므로, 강한 물의 흐름에 거슬러 가는 것은 불가능하다. 물의 흐름이 강하면 자어들은 배수 스탠드의 망 표면에 달라붙게 되고, 대량 폐사를 초래할 수 있다.

표 4. 터봇 종자 생산을 위한 자어 크기, 배수 스탠드의 망목과 환수율 사이의 관계

유생의 일령 (일)	자어의 전장 (mm)	배수 스탠드 망목 (μm)	환수율 (회전/일)
4-15	3-6	408	0.3-1.0
16-20	7-9	630	1.0-2.0
21-30	10-17	925	2.0-3.0
31<	18~	1,243	>3.0

Source: Ciftci et al., 2002.

- 첫 섭이 시기에 밝을 때(명기)는 환수하지 않고, 필요시 어두울 때(암기) 적정하게 환수한다(수조 총 수량의 0.5~1을 환수).
- 변태까지 환수량을 지속적으로 증가하여야 하므로, 규칙적으로 모니터링 하여 수질을 확인하고, 실제 필요에 따라 환수량을 조절한다.
- 난이 자어 사육 수조에 직접 수용되었으면, 난의 배양 동안 1일 1-2회 환수하고, 부화 중에는 3-6회 환수한다(수온을 점검한다).

타) 주수

- 초기 자어 사육 수조에서 과도한 교란은 부레의 팽창을 억제함으로써, 골격 기형에 이르게 할 수 있다.
- 사육수의 강한 주수는 척추 변형을 유발하며, 포식 행동의 시작을 방해하므로 주수를 적절히 조절하여야 한다.
- 수조 주변부에서 유속은 2 cm/sec 이내를 권장하며, 10 cm/sec 이상의 위험 유속을 피하기 위하여 주의해서 주수구를 설치한다.
- 가급적 주수구는 수조 주변부에 있어야 하고, 수평 접선 방향의

주수를 피한다.

- 사육 수조 내의 사육수가 성층화되지 않는 방법으로 주수하여야 한다.
- 자어가 사육수 중의 작은 공기 입자를 우연히 삼켰을 때 폐사를 초래할 수 있으므로, 각 주수구에 작은 공기 입자의 발생과 부유를 없애기 위한 장치를 설치하는 것이 권장된다.

파) 배수 스탠드

- 자어는 시각적 포식자이기 때문에, 주로 낮에 포식하고, 밤에는 충분히 먹이를 포식하기 어렵게 된다. 그러므로 먹이생물은 낮에 공급된 후, 밤이 되어 시간이 갈수록 영양가를 잃어버리게 된다.
- 자어에 먹이생물을 공급하는 동안, 밤에 영양가가 없어진 먹이생물을 수조 밖으로 배출하기 위하여 어두워지기 직전에 500 μm 망목을 가진 배수 스탠드로 교체한다.
- 빛이 있는 낮의 먹이 공급 동안에 환수가 필요하다면, 수조 안에 먹이 생물을 보전하기 위하여 로티퍼는 100 μm , 알테미아 노플리우스는 250 μm 망이 부착된 배수 스탠드를 사용한다.
- 난이 직접 자어 사육 수조에 수용되면, 배양과 부화 동안에 400 μm 망의 배수 스탠드를 사용하여야 한다.
- 배수 스탠드의 망에 죽은 자어는 발생 가능한 문제의 조기 경고일 수 있으므로, 배수 스탠드의 망에 죽은 자어를 점검한다.
- 배수 스탠드는 사용 후, 고압분사기로 오물을 제거하여 세척하고, 살균한 다음 담수로 완전히 행귀야 한다.
- 배수 스탠드는 수조 가까이 건조한 곳에 망목이 다른 한 벌의 예비 배수 스탠드를 비치하여 즉시 교체할 수 있도록 한다.

하) 포기

- 포기(aeration)와 순환(circulation)은 자어 사육에서 가장 중요한 두 가지 문제이다. 포기와 순환은 일반적으로 잘 설계된 장치에 의해 동시에 수행된다.
- 수조의 포기는 후기 자어와 먹이생물을 부유할 수 있게 하고, 수조의 물을 적절하게 혼합해준다.
- 수조 형태, 수심 및 주배수구의 위치에 따라서, 포기는 수조 전체 사육수의 적절한 수직 혼합을 위한 느린 용승류를 만들어 내게 낸다.
- 자어 초기에 수면에서 자어가 공기를 삼키는 것은 자어의 부레 팽창을 활성화하여 정상 기능의 부레를 만들기 위하여 필요하다. 자어의 부레 형성 기간 동안에 과도한 물의 움직임은 자어가 수면에서 공기 방울을 삼키는 것을 더 어렵게 만들 수 있다.
- 사육 수조에서의 과도한 교란은 부레의 팽창을 억제함으로써, 골격 기형을 유발할 수 있다. 과도한 교란을 하지 않아야 한다.
- 포기는 스트레스가 많은 난류를 피하기 위하여 조절되어야 한다.
- 터봇 자어는 수조에서 강한 포기를 지탱하지 못하므로 교란 없이 부드럽게 포기하여야 한다.
- 후기 자어의 첫 섭식 기간 동안에 과도한 물의 움직임은 포식 활동을 방해한다.
- 소수의 에어 스톤을 사용하여 강하게 포기하는 것보다, 다수의 에어 스톤 사용하여 부드러운 포기(예, 2.5 L/min/air stone)를 제공하여야 한다.
- 원형 수조에서 오물과 잔해들이 가라앉고 축적되어 용이하게 청소할 수 있도록, 원추 수조 바닥에서 20 cm 위에 에어스톤을 설치한다,
- 에어 스톤의 선택이 자어의 생존율에 영향을 줄 수 있다. 자어가 작은 기포를 로티퍼로 착각하고 많이 삼키게 되면, 심할 경우 자

어는 수 표면에 뜨게 되고 결국 폐사하게 된다. 그러므로 자어의 부화 후 첫 주 동안에 작은 기포(air bubble)가 폐사율의 증가를 유발할 수 있다. 이를 피하기 위하여 사전에 산소를 주입하던지, 또는 더 큰 기포를 만들 수 있는 에어 스톤을 선택하는 것이 권장된다(Dhert et al., 1998).

가) 유막 제거

- 집약적 사육 수조의 수면에 유막(oily film)이 형성되는 것은 흔히 기름진 유화제(oily emulsions)로 영양 강화된 먹이생물 때문에 발생한다.
- 수면에서 로티퍼 껍질, 기름 및 단백질 찌꺼기와 같은 잔해들의 제거는 중요한 일상 업무로 시행되어야 한다.
- 유막 제거는 공기-물 계면 사이의 산소 교환을 촉진하고, 박테리아 성장을 촉진시키는 찌꺼기들을 제거하며, 그리고 자어의 부레 발생을 위하여 중요한 행동인 공기 삼킴 능력을 촉진하여 부레의 팽창률을 향상시킬 수 있다.



그림 19. 수면의 유막 제거기(Skimmer) (Source: Çiftci et al., 2002).

나) 바닥 청소

- 수조 바닥은 5일부터 시작하여 매일 청소한다.
- 청소는 바닥 소제기로 질병의 온상이 될 수 있는 폐사어, 미섭취 먹이, 배설물, 찌꺼기 등을 제거한다.
- 포기는 사이펀으로 청소하는 동안 중단한다.
- 사이펀으로 청소 시 수조 바닥의 유기 물질을 휘저어 부유시키지 않도록 주의를 기울여야 한다.
- 사이펀으로 청소 시 수조 바닥 가까이에서 수영하는 자어를 사이펀으로 뽑아내지 않아야 한다.



그림 20. 사이펀 청소기(Source: Çiftci et al., 2002).

다) 선별

- 포식을 최소화하고 효율적인 먹이 공급을 위하여 어류의 크기를 분류한다.
- 어류는 플라스틱 또는 나일론 자재로 만들어진 선별기로 선별하기 위하여 전장 약 20 mm에서 수확한다.

- 수조의 수면과 모서리에 군집을 이루는 어류들을 양동으로 퍼서, 새 수조 안의 선별기 세트에 부어 선별한다.

라) 미세 조류의 첨가

- 로티퍼를 자어에 먹일 때, 매일 미세 조류를 수조에 첨가하여 50만~80만 세포/L를 유지한다.
- 미세조류의 첨가는 로티퍼의 높은 영양가를 유지하게 하고, 용해된 암모니아의 수준을 낮추어 수질을 향상함으로써, 자어의 생존율과 크기의 균질성을 향상시킨다.
- 자어의 집약적 사육 환경에서 미세조류의 첨가는 미생물상을 안정화하여 세균 발육을 억제하고, 자어의 공격적 행동을 감소하는 음영 효과가 있다.
- 미세조류를 수조에 첨가하면 사육수가 흐려져 바닥을 관찰할 수 없어지므로, 첨가 전에 반드시 수조 청소를 완전히 하여야 한다.

다. 사육 관리

1) 자어의 발육 특성

가) 전기 자어기(Pre-larval stage)

- 부화 직후의 자어는 형태가 대칭이고, 그리고 난황낭(yolk sac)과 유구(oil globule)가 있다.
- 새롭게 부화한 자어의 평균 전장은 2.5~3 mm이다.
- 부화 직후 자어의 눈은 착색되지 않았고 기능하지 않는다.
- 입은 아직 열리지 않으며, 항문은 아직 형성되지 않다.
- 소화 기관은 미분화되어 있으며, 앞쪽으로 닫혀 있다.
- 자어는 난황 흡수에 따라 빠르게 성장한다. 그러나 먹이 섭식과 섭식 행동은 관찰되지 않는다.

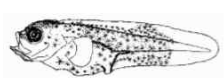
- 가슴지느러미는 아직 보이지 않으며, 자어는 수면 근처에서 두부를 숙이고 부유 상태로 있다.
- 2일에서 3일 사이에 입이 열리고, 난황낭이 남아 있으며 유구가 빠르게 소모된다.
- 3일경에 자어는 착색된 눈과 열린 항문을 가지게 된다.
- 난황 기간 동안, 소화관의 첫 분화와, 심장 조직(4개의 강(cavity)), 부레 팽창 및 전신의 분화가 일어난다.

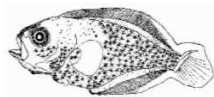
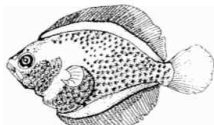
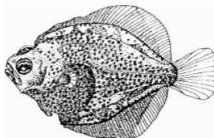
나) 후기 자어기(Post-larval stage)

- 난황은 5일경, 유구는 7일경에 소실되며, 이 동안 대략 3일부터 7일 사이에 외인성 먹이 섭취가 시작된다(Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).
- 5일경에는 가슴지느러미가 나타난다.
- 7일경에 곧은 소화관이 팽창하기 시작하며, 그리고 꼬이기 시작한다.
- 7일경 전기 자어기 후기에, 기도(pneumatic canal)가 퇴화하며(9일경에 소실), 중신(mesonephros)이 분화되고, 소화관이 더 발달한다.
- 10일경에 자어의 가슴지느러미가 잘 발달되고, 자어의 진동과 꼬리 박동이 강화되며, 때때로 물의 흐름에 거슬러 유영하였다가, 멈추어 물의 흐름에 의해 뒤로 옮겨지며, 그런 다음 이전의 위치로 다시 되돌아간다.
- 12일경에 자어는 S자 형태를 취한 다음, 갑자기 곧게 펴서, 먹이 생물을 섭식하기 위하여 돌진한다. 활발한 섭식이 이루어진다.
- 13일경에 지느러미 줄기(fin rays)의 발달이 시작된다.
- 15일경에 위선(gastric glands)이 형성되어 생리적 자어 단계의 마지막 단계로 추정된다.

- 15일경부터 해부학적 관점에서, 신체가 평편화하고, 우측 눈이 이동하기 시작하는, 변태가 시작된다.
- 20일경에 주요 꼬리지느러미 줄기들의 수가 다 갖추어진다.
- 25일경에 등지느러미와 뒷지느러미가 완성된다.
- 포식 행동은 자주 발생하지 않으나, 25일경에 더 큰 개체는 더 작은 개체를 공격하기 시작하는 것이 관찰된다.
- 30일에는 터봇 자어는 작은 성어처럼 보인다. 그러나 행동은 여전히 유영성이다,
- 저서성 행동(benthic behavior)은 40일경에 확실하게 하게 된다.

표 5. 사육 조건하의 터봇 자어의 형태학적 발달

연령 (일)	전장 (mm)	특 성	도 해
0	2.5	부화한 자어는 무색소의 눈, 형태가 없는 입 및 폐쇄 항문이 있다. 흑색소포(Melanophores)는 중앙 척삭에 분포되어 있다	
5	4.0	가슴지느러미 막(pectoral fin membrane)이 나타난다.	
10	4.8	가슴지느러미는 잘 발달되어있다. 흑색소포는 척삭(notochord)의 등쪽과 배 쪽 양측에 분포되어진다.	
15	6.3	일반 지느러미로부터 뒷지느러미의 분화가 시작되고, 그리고 척삭 위의 흑색소포가 미부를 제외하고 잘 발달되고 있다.	

20	9.6	등지느러미, 뿔지느러미 및 꼬리지느러미가 모두 분화된다; 척삭 말단의 굴곡(flexion)이 빠르게 진행되고, 그리고 가슴지느러미의 막이 나타난다. 많은 흑색소포가 척삭의 등 쪽 부위에 분포한다.	
25	14.1	모든 지느러미 줄기는 기능적으로 분화된다. 많은 흑색소포는 두부의 앞 부위를 제외한 척삭에 분포한다.	
30	17.6	대칭 위치에서 한쪽으로 눈이 움직이기 시작한다.	
70	43.3	오른쪽 눈의 이동은 다른 신체 부위의 상대 성장과 비교하여 천천히 진행된다. 어류는 D-70에서 완전히 변형되어진다.	

< Source: Çiftci et al., 2002 >

다) 변태기(Metamorphosis stage)

- 변태는 자어 단계에서 치어 단계로 전이 기간에 일어난다.
- 변태는 오른쪽 눈의 이동과 함께 부화 후 15일경에 시작하여, 자어의 체장이 약 25 mm가 되는 부화 후 40-50일경에 끝난다 (Danancher and Garcia-Vazquez, 2006).
- 터봇 자어의 눈 이동은 70일경에 완료되고, 어류는 형태가 비대칭이 된다.

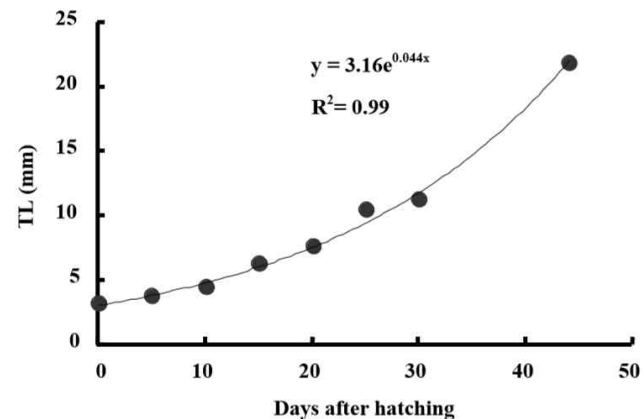


그림 21. 터봇의 성장(사육 수온 21℃) (Source: Çiftci et al., 2002).

- 변태한 어류는 사육 수조의 바닥에 자리 잡기 시작한다.
- 성어 가슴지느러미 줄기의 전수가 51일경에 관찰된다.
- 터봇의 대부분은 30일경에서 70일경까지 비스듬한 수평 위치를 나타내며, 수면 근처에서 유영한다.

라) 형태학적 기형

- 형태학적 기형은 배양장 사육 넙치류에서 흔히 관찰되며, 그리고 변태와 관련된 비대칭 변화와 조직 분화 기간 동안 발생하는 것으로 추정된다(Rurangwa et Poelman, 2011).
- 기형들은 관련이 있는 경향이 있으며, 그리고 불완전 색소 침착 (malpigmentation), 눈의 이동 실패, 비정상적 턱과 지느러미를 포함한다(Rurangwa et Poelman, 2011).

- 터봇의 기형들은 사료(지방산, 비타민), 조명, 개체군 밀도와 같은 배양장에서의 환경 요인에 기인하는 것으로 여겨져 왔다 (Rurangwa et Poelman, 2011).
- 알테미아 노플리우스에 존재하거나 결핍된 일부 영양 요인들은 변형된 조직 환경(tissue environment)을 통한 성어형 흑색소포의 발생을 방해 할 수 있다(Seikai et al., 1987).
- 넙치의 색소 결핍증은 난 배양 중의 조명 조건, 자어 단계에서의 먹이 수준, 사육 수조에서의 밀도 등에 기인하는 것으로 여겨진다(Seikai, 1985).
- n-3 PUFA가 결핍된 먹이는 터봇의 색소 결핍증의 발생뿐만 아니라 변태에도 장애를 초래하였다(Estévez et Kanazawa, 1995)

2) 초기 먹이 공급

- 부화한 자어는 초기에 내인성 먹이(endogenous feed)인 난황을 흡수하며, 입이 열린 3일경 이후부터 외인성 먹이(exogenous feeds)인 로티퍼 등의 먹이생물을 포식하기 시작한다.
- 로티퍼와 같은 외인성 먹이의 섭취는 온도에 따라 부화 후 3-7일 사이에 시작한다.
- 자어의 외인성 먹이에 대한 초기 적응은 자어의 건강과 생존율에 중요한 영향을 미치므로, 자어가 로티퍼(*Brachiomus plicatilis*)의 포식에 초기 적응할 수 있도록 하여야 한다.
- 먹이 공급 시작 후 최소 첫 10일 동안, 자어가 로티퍼 또는 알테미아 노플리우스에 접근하고, 포식하는 기회를 증가시킴으로써, 자어의 생존율을 향상하기 위하여 고밀도로 공급한다.
- 초기 단계에서 먹이의 밀도는 5-10 로티퍼/ml로 유지한다.
- 조명이 켜져 있는 동안, 후속 먹이 분포를 상황에 따라 조절하기

위하여 기간 내내 정기적으로 점검하여야 한다.

- 첫 먹이 공급의 적절한 관리를 위해, 각 수조에서 매일 표본을 수집하고, 현미경으로 포식률과 자어당 먹이 생물의 수를 조사하는 것이 권장된다.
- 포식률은 위 속에 먹이 생물을 가지고 있는 자어의 백분율이다.
- 먹이 공급의 첫 주의 끝에 건강한 개체군에서 표본된 어류의 거의 100%에서 소화관 안에 약간의 먹이들을 보여야 한다.
- 먹이 공급 기록지에 모든 먹이 공급 자료를 기록하여야 한다.

3) 자어 먹이 공급

가) 먹이 공급 체계

- 터봇 자어에 3종류의 먹이가 공급되며, 로티퍼(*B. plicatilis*), 알테미아 노플리우스 그리고 인공 사료(artificial diet)이다.

표 6. 터봇 자어 사육을 위한 먹이 공급 체계

Days	3-5	6-11	12-15	16-17	18-20	21	22-23	24-25	26-29	30-40	n+1
Algae (cells/ml)	0.5 x 10 ⁶										
Rotifer (ind./ml)	2	5	5	5	5	4	3	2			
<i>Artemia</i> nauplius (ind./ml)			0.2	0.1							
Enriched <i>Artemia</i> (ind./ml)				0.1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	
Artificial feed	Particle size (µm)										
	Quantity (g/10x10 ³ larvae)										
						250	400	700			
						10	15	18			

< Source: Çiftci et al., 2002 >

표 7. 터봇 자어 먹이 공급 시간표

부화후 경과일수	08:00	09:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00
3-11		R					R		
12-15		R		A			R		
16-17		R		A			R	AE	
18-20		R					R	AE	
21-23	AF	R	AF				R	AE	
23-25	AF		AF					AE	
25-40	AF		AF		AF			AE	
40<	AF		AF		AF		AF		AF

※ AF: artificial feed, R: enriched rotifer, A: artemia nauplius, AE: enriched Artemia < Source: Çiftci et al., 2002 >

- 터봇 자어는 난황 낭(yolk sac)의 흡수 이후, 생물 먹이인 로티퍼를 공급하고, 다음에는 알테미아를 공급하며, 이후 비활성의 배합사료를 공급한다.
- 터봇 자어 생산 첫 달 중의 먹이 공급 체계는, 로티퍼는 3일부터 7일 사이에 공급하고(Danancher and Garcia-Vazquez, 2006), 알테미아 노플리우스는 8일부터 12일까지, 영양 강화된 메타노플리우스(metanauplii)는 13일부터 18일까지, 미립자 사료는 18일부터 공급을 시작한다. 또한 먹이 길들이기는 늦어도 24-25일에 완료한다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

나) 로티퍼

- 온도에 따라 부화 후 3일경에 자어의 입이 열렸을 때, 영양 강화된 로티퍼(*B. plicatilis*)를 비커를 사용하여 천천히 사육수로 공급한다.

- 사육 수조의 로티퍼 밀도는 자어 단계에 달려 있으며, 2~5 로티퍼/ml로 유지한다.
- 로티퍼는 하루에 여러 번 자어에 먹이며, 그리고 공급 빈도는 자어가 자람에 따라 증가하게 된다.
- 자어 사육 수조의 로티퍼 밀도는 하루에 두 번 10시와 14시에 점검한다.
- 로티퍼의 밀도가 유지되도록 정해진 밀도보다 낮을 때 로티퍼를 추가로 공급한다.
- 자어 사육 수조에서 미세조류는 로티퍼에게 먹이가 되며, 녹조류인 *Nannochloropsis*는 사육 수조에서 0.5×10^6 세포/ml로 유지한다.
- 자어 먹이 공급은 과거에 일반적으로 12일에서 15일 사이에 로티퍼 공급을 종료하고 알테미아를 공급하였다.
- 최근 연구에 근거하여, 비정상 착색 어류를 감소하기 위하여, 로티퍼 공급의 조기 종료와 영양 강화 알테미아의 조기 공급이 권장된다.

다) 알테미아

- 자어 부화 후 12일에서 15일 사이에 알테미아 노플리우스를 공급하기 시작하였으나, 최근에는 부화 후 8일에서 12일까지 새로 부화한 알테미아의 노플리우스를 자어에게 조기에 공급하여, 점차적으로 로티퍼를 대체하는 노플리우스의 공급이 빨라지고 있다(Çiftci et al., 2002; Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 입의 크기에 따라, 부화 후 13일부터 또는 가능할 경우 더 빨리, 새로 부화된 알테미아 노플리우스와 영양 강화된 알테미아 메타노플리우스 양쪽을 공급한다.
- 자어에게 공급하는 알테미아의 밀도는 0.2 ind./ml에서 0.4 ind./ml로 증가한다.

- 일반적으로 알테미아는 2시간 이내에 자어에 의해 섭이되므로, 알테미아의 공급량은 자어의 소비량에 따라 조정한다.
- 영양 강화된 알테미아는 과거 부화 후 40일까지 공급하였으나, 점차 조기에 종료하는 경향이 있다.
- 영양 강화된 알테미아 메타노플리우스 유생을 건조 배합 사료로 먹이 길들이기 전에 사용한다.
- 터봇을 위한 미립자사료(micro-diets)가 시장에 출현한 이후, 먹이 생물로부터 조기 먹이 길들이기가 항상 선호되고, 그리고 터봇 자어가 부화 후 18일 또는 그보다 더 조기에 먹이 길들이기가 가능하기 때문에, 앞으로 배양장에서 알테미아가 사라질 위험이 있다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

라) 먹이생물 공급 방법

- 자어 1마리당 필요한 먹이생물의 일일 공급량을 추정하기는 어렵지만, 자어의 먹이 공급 부족과 먹이지 않은 먹이생물의 영양가의 저하 양쪽을 모두 피하여야 한다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 자어는 밤사이 굶주렸으므로 첫 먹이는 가급적 이른 아침에 빨리 공급하며, 이후 낮 동안의 공급량보다 일정 비율의 더 많은 양을 공급한다.
- 로티퍼와 알테미아는 밀도가 낮은 수조의 수면에 손으로 공급한다.
- 먹이생물의 최적 분산 상태를 유지하기 위하여 수조 가운데서 수면에 떠오르는 기포 위에 먹이생물을 부드럽게 부어 공급한다.
- 먹이생물 공급에 의한 자어의 스트레스를 감소하기 위하여 물의 침병거림, 파동, 흐름 등을 조심해서 피하여야 한다.
- 알테미아 노플리우스 유생이 섭식되면 소화관이 담황색이 되므

로, 규칙적으로 비커로 표본 하고, 소화관을 관찰하여 자어의 알테미아 섭식 상태를 점검한다.

- 밀도를 조절하여 먹이 과식 또는 부족함을 피하기 위하여, 하루의 첫 공급 후 다음 먹이 공급 전에 먹이생물의 밀도 점검을 권장한다.
- 수조의 각기 다른 지점에서 2-3개의 표본을 1 ml 피펫으로 추출하여, 로티퍼와 알테미아의 수를 맨눈 또는 휴대용 렌즈를 이용하여 점검한다.
- 공급된 먹이의 90%는 24시간 이내에 반드시 섭이되어야 한다.

4) 자어 인공 사료 전환

가) 먹이 전환 시기

- 생물 먹이의 섭취 기간은 수온, 종, 사육 수칙 및 자어 사육 관리자의 의견에 따라 달라진다.
- 어류가 인공 미립자 사료로 옮겨가는 것이 빠를수록, 노동력, 총 비용 및 시간이 절약될 수 있다.
- 사료 조성과 비타민 및 면역 촉진제 등을 포함한 잘 만들어진 미립자 사료 덕분에 첫 건조 먹이 공급의 시기 선택은 최근 계속 앞당겨져 왔다. 미립자 사료는 사료 조성, 크기, 부력 및 풍미 면에서 자어의 요구에 더 잘 맞는다.
- 미립자 사료는 특별 가공 기술로 고품질 성분을 미세 입자에 혼합할 수 있으며, 이들 미세 입자는 물에 우수한 안정성을 보여주고, 침강률이 느리며, 자어를 더 끌어 들인다.
- 터봇을 위한 미립자 사료가 시장에 출현한 이후, 먹이생물로부터 조기 먹이 길들이기가 선호되고, 그리고 터봇 자어가 18일 또는 그보다 더 일찍 먹이 길들이기가 가능하여 배양장에서 알테미아가 사라질 위험이 있다. 그리고 먹이 길들이기는 늦어도 24-25일

까지 완료되어야 한다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

나) 인공 사료 길들이기 수조

- 먹이 길들이기 수조는 원추형 바닥 또는 반구형 바닥을 가진 원형 수조이거나, 바닥이 평편한 원형 또는 사각형 수조 등이다.
- 먹이 길들이기는 18h L/6h D의 광주기와 2~4 W/m²의 조도에서 수행한다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

다) 인공 사료 길들이기

- 어류 자어 생산을 위해 자어의 성장에 따라 로티퍼와 알테미아 노플리우스 및 영양 강화된 메타노플리우스 유생을 공급한 이후 인공 배합사료인 미립자 사료를 공급하여 왔다.
- 최근 어류 미립자 사료의 발전으로 공급 시기가 점차 앞당겨지고 있어, 앞으로 알테미아가 배양장에서 사라질 것으로 예상되고 있다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 미립자 사료는 부화 후 18~20일경부터 처음 공급한다.
- 자어가 로티퍼와 알테미아를 사육 수 중에서 이용할 수 있는 경우, 자어는 미립자 사료보다 먹이생물을 선호하므로, 자어들을 인공 미립자 사료에 길들이는 것이 어렵게 된다. 그러므로 먹이 생물을 초과 공급하지 않는 것이 권장된다.
- 인공 사료 길들이기 과정이 적절하게 수행되지 못하면 자어 폐사율의 주요 요인 중의 하나로 작용하게 된다.
- 먹이 전환을 처음 시작할 때, 비활성 인공 사료인 새 먹이의 맛에 자어가 익숙해지도록 부화 후 18~20일경부터 매일 적은 양으로 뿌려준다.
- 먹이 소비를 촉진하기 위하여, 밤새 굶은 자어에게, 생물 먹이가 공급되기 바로 전, 아침에 비활성의 먹이의 공급을 시작한다.

- 점진적으로 인공 사료에 길들이기 위해, 배합사료는 지속적으로 공급하면서, 알테미아 공급은 인공 사료 길들이기 시작 이후 3일 부터 5일 사이에 아침에서 저녁으로 공급 시간을 옮긴다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 미립자 사료의 과도한 공급은 수질 악화를 초래할 수 있다. 그러므로 미립자 사료는 적절한 양으로 공급하여야 한다. 어떤 경우에도 섭취율을 자세히 관찰하여야 한다.
- 첫 인공 사료 길들이기 사료는 50~60% 조단백질(건조 중량)과 10~15% 지방(건조 중량)을 각각 함유한다. 인공 사료 길들이기 사료는 이노신(inosine)(건조 중량 0.6~1%)과 같은 식품 자극제를 함유하고 부드러운 질감을 가짐으로써, 어류를 유인할 수 있으며, 또한 맛이 좋아야 한다. 이것은 확장된 재수화 가능 내수성 펠렛(expanded rehydratable, water stable pellets)에 의해 달성될 수 있다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

표 8. 터봇 치어 사육을 위한 인공 사료의 공급률(1,000마리 기준)

전장 (mm)	기본 먹이 공급율(%)	사료의 크기 (mm)	일간 사료량 (g)
8~11	10	0.25	>1.0
12~17	7	0.25~0.4	1.0~1.5
18~20	7	0.4~0.7	1.5~1.8
21~24	5	0.7~1.0	1.8~3.0
25~30	5	1.0~1.2	3.0~5.0
31~35	4	1.2~1.5	5~15
36~40	3	1.5	15~30
41~55	3	2.3	30~60
56~80	3	2.3~3.0	60~200
81~100	2	3.0	200~400

< Source: Çiftci et al., 2002 >

- 인공 사료의 잔류는 금전 손실뿐만 아니라, 사육 수조의 사육수를 심하게 오염시킬 수 있기 때문에, 인공 먹이의 잔류는 반드시 피하여야 한다.

라) 인공 미립자 사료의 선택 조건

- 인공 사료의 품질이 자어 생존율과 성장에 영향을 미치기 때문에 미립자 사료는 품질 측면을 기반으로 하여 선택하여야 한다.
- 자어의 영양 요구량을 충족한다.
- 몇 분 동안 수중(water column)에 떠있을 수 있어야 한다.
- 사료의 영양소는 물에 용해되어 나와서는 안 된다. 결합제는 수용성 영양소의 누출을 저감할 수 있다.
- 물속에서 적절한 안정성을 보인다.

마) 먹이 전환 환경 관리

- 자어 사육 관리 관점에서, 인공 먹이를 자어에 먹이는 것은 사육 환경에 일련의 변화를 수반하게 되므로, 사육 환경을 적정 수준으로 관리하여야 한다.
- 불활성의 인공 먹이를 부유시키기 위해서, 포기를 약간 증가하여야 한다.
- 배설물과 먹지 않은 먹이 입자를 제거하고, 암모니아를 희석하며, 증가된 대사 요구량과 관련하여 더 많은 산소를 공급하기 위해서, 환수를 점진적으로 증가하여야 한다.
- 더 많은 찌꺼기를 제거하고 관련 세균들을 최소의 상태로 유지하기 위하여, 사육수조의 바닥 청소 빈도를 증가하여야 한다.

바) 미립자 사료의 종류

- 미립자 사료는 제조 공정과 특성에 따라 미세 캡슐 사료(microencapsulated diet), 미세 결속 사료(microbound diet), 미세 코팅 사료(micro-coated diet)의 3가지 유형으로 분류할 수 있다.
- 자어 먹이 길들이기 인공 사료(weaning feeds)는 알테미아 대체 사료로서 자어의 인공 사료 조기 적응을 위한 미립자 사료, 그리고 먹이 길들이기 이후의 빠른 성장을 위한 미립자 사료 등의 다양한 제품이 여러 사료 회사에 의해 개발 보급되고 있다.

5) 자어 건강 모니터링

가) 자어의 생존

- 자어 사육 수조와 먹이생물 시설 내의 위생, 세균 부하 및 세균 유형은 더 높은 생존율을 얻기 위한 핵심 요소이다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 터봇 배양의 성공률은 변동성이 커서, 배치(batches)에 따라 생존율이 거의 0%에서부터 50%의 범위에 이르기까지 변화가 심하다. 이러한 예측할 수 없는 불안정한 자어 생산의 주요 이유 중의 하나는 난의 필수 영양소의 심한 변화에서 나타나는 난과 자어의 질의 불안정한 변화이다(Lavens et al., 1999).
- 유럽에서, 터봇 자어의 사육 기술의 향상에도, 초기 생존율은 비교적 낮으며, 부화에서 5g 치어까지의 평균 생존율은 약 20%(범위 10~40%)이다(Person-Le Ruyet, 2002).
- 자어 배양 중 대체로 3번의 폐사 정점이 발생한다. 첫째, 초기 부화 자어를 사육 수조에 옮기는 동안 난질 또는 이송 스트레스에 기인하여 폐사가 일어나는 것으로 추정된다. 둘째, 6일과 8일 사이에, 먹지 못한 자어가 죽는 시기에 해당한다. 이 폐사는 먹이의 비기호성 또는 부적당에 기인하거나 또는 세균 문제에 기인하는 것으로 추정된다. 셋째, 10일과 15일 사이의 사료 전환

단계에, 때때로 자어의 심각한 폐사가 발생할 수 있다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

나) 자어 섭이 능력의 양적 평가

- 섭이한 먹이의 존재 여부와 양은 어류 건강 상태의 매우 명확한 징후를 준다.
- 어류의 건강 상태는 자어 사육의 첫 10일 동안에 수행되어야 할 가장 중요한 관리 사항들 중의 하나이다.
- 먹이 섭이 활동을 정확히 평가하기 위하여, 각 사육 수조에서 자어 30-50마리를 표본 하여 현미경으로 매일 조사한다.
- 먹이 공급 첫날은 표본을 더 많이 한다.
- 피펫으로 슬라이드에 자어를 놓고, 여분의 물을 제거한 다음, 커버 글라스를 덮지 않고, 취급의 부주의로 생긴 것을 제외한 자어 몸의 기형을 찾는다.
- 커버 글라스를 덮고, 여분의 물을 필터 페이퍼로 제거한 다음, 현미경에서 100배율로 장의 내용물을 관찰한다.
- 전체 로티퍼를 찾거나 또는 저작기, 껍질, 난과 같은 신체의 부분들을 찾고, 저작기의 수를 기록한다.
- 다른 섭취 물질들을 찾는다. 만약 있으면, 내부, 외부의 기생충을 찾는다.
- 모든 발견 사항을 정해진 양식에 기록한다.
- 먹이생물 양의 관찰은 자어 행동의 평가와 같이 해야 한다.
- 알테미아 노플리우스 유생 조사는 투명한 자어의 피부를 통해 짙은 주황색 노플리우스를 소화관에서 확인할 수 있다.
- 100 ml 투명 비커로 자어를 표본하고, 소화관에서 먹은 유생을 시각적으로 평가하여, 먹은 자어의 백분율을 섭식률로 표시한다.

다) 자어 스트레스의 질적 평가

자어의 스트레스

- 자어의 스트레스는 감지할 수 있는 형태적, 행동적 변화를 유도한다.
- 스트레스에 의한 형태와 행동의 변화는 사육 조건의 개선 또는 저질 자어의 대체 기준이 된다.
- 스트레스의 유도 요인에 대한 대처 대책이 없을 때에는 부실한 자어 개체군을 폐기할 시기를 고려하고, 새 자어의 사육을 빨리 시작하는 것을 검토하여야 한다.

굶주림

- 굶주림은 생산 과정에 무엇이 잘못되고 있다는 분명한 징후이다.
- 굶주림은 스트레스의 일반적인 반응으로, 급성 중독을 제외하고는, 단독 또는 여러 원인의 연계에 의해서 일어난다.
- 굶은 자어는 오래 살아남을 가능성이 낮아, 첫 먹이 섭이의 시작을 모니터링하는 것은 대단히 중요하다.

수동적 행동

- 활동적인 유영과 먹이 포식을 하지 않는 후기 자어가 많이 나타나는 것은 자어의 스트레스를 보여주는 다른 변수이다.
- 물이 흐르는 대로 떠내려가는 자어는 수동적인 행동으로 살아있는 먹이의 효과적인 포식을 할 수 없게 된다.
- 비정상적인 행동을 하는 자어가 있는지 관찰한다.
- 건강에 해로운 사육 환경은 가능한 선천적 요인과 함께 스트레스를 일으키는 가장 가능성 있는 요인으로 간주된다.

라) 생존율 추정

- 자어 개체군의 생존율은 자어가 부유하고, 사육수 중에 균일하게 분포되어있을 때, 어두운 동안 추정한다.
- 시료 채취기는 수조 수층 전체의 자어를 채취할 수 있게 제작 한다(예, 직경 50 mm PVC 파이프 활용).
- 수조의 각기 다른 장소에서 채취된 5개의 표본을 통에 넣는다.
- 시료 채취기로 바닥에서 시료를 채취하지만, 수조 바닥에는 닿지 않게 한다. 그리고 약 2~3L의 표본 해수를 수집하여 생존율을 계산한다.

6) 자어 질병 관리

병원체 확산 예방 대책

- 자어는 기생충과 질병에 감수성이 매우 높다.
- 병원성 기생충 *Nematoda*, *Scuticociliata*, *Tricodina* 등은 종종 수조 바닥에서 채취된 죽은 어류 또는 유기 퇴적물에서 관찰된다.
- 로티퍼의 잔해와 배설물을 제거하기 위하여 일상적으로 수조 바닥의 찌꺼기 등을 사이펀으로 뽑아낸다.
- 사육 수조에서 수질 악화를 촉진하는 포식되지 않은 굼주린 로티퍼를 제거하기 위하여 환수율을 높인다.
- *Scuticociliata*와 같은 원생동물이 로티퍼를 통해 유입이 의심되기 때문에, 로티퍼는 영양 강화 과정에 약육으로 살균한다.
- 수조에서의 원생동물의 증식을 점검하기 위하여, 으깨어진 자어 표본과 수조 바닥의 유기 퇴적물로 현미경 관찰을 한다. 주로 섬모충류인 원생동물이 자어의 내부 또는 외부에서 발견되거나 원생동물의 밀도가 유기 퇴적물에서 증가할 때, 자어는 적절한 소독 용액으로 약육 처리한다.
- 모든 교차 오염을 방지하기 위하여, 모든 배양장 자체는 적합한 소독 용액으로 소독하여야 한다.

5. 치어

가. 위생 관리

1) 치어 사육 시설과 장비의 위생 관리

가) 자외선 살균기

- 설치되어있는 와이퍼(wipers)를 사용하여 하루에 두 번 석영판을 청소하거나, 또는 UV 출력이 사전 설정된 최소 수준보다 낮아질 때마다 청소하여야 한다. 튜브에 와이퍼가 없는 경우, 살균기에서 전기와 물의 순환을 끊고, 그리고 분해하여 석영판을 손으로 청소해야 한다.
- 정제된 물을 제거하기 위해 하루에 두 번(아침과 저녁) 측관(by-pass)을 약 10초 동안 열어야 한다. 배양장에 질병이 발생한 경우에는 측관을 열지 않아야 한다.
- 점검 창을 한 달에 한 번 또는 올바르게 작동하지 않을 때마다 청소하여야 한다. 분해하고 에탄올로 청소하여야 한다.

나) 생물 여과조

- 여과조의 벽은 오물이 쌓일 때마다 종이 티슈로 없애야 한다. 물에 손을 담그지 않아야 한다.
- 집수조 바닥의 잔해를 배출하기 위하여, 사이펀으로 오물을 제거한다. 침전된 잔해(debris)가 다시 떠오르는 것을 피하기 위하여 사이펀을 부드럽게 작동한다. 항상 깨끗하고 소독된 사이펀을 사용한다. 사이펀을 소독 용액에 담그고 그리고 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 행군다.
- 매일 아침과 저녁에 생물 여과조의 주수구에서 기계식 필터의 역세척을 점검한다. 일주일에 한 번 세제와 뜨거운 물로 기계식 필터

터의 구성 부분들을 씻는다. 그런 다음 교체하기 전에 소독 용액에 담가 소독한다.

- 생물 여과조의 배수구 홈통은 기계식 필터를 우회하여 솔로 한 달에 두 번 청소한다. 각 과정의 끝에 소독 용액을 사용하여 세척하고 소독한다.

다) 운송 사육 수조

- 수조 바닥의 밸브를 통해 하루에 두 번 침전물을 없앴으로써 대부분의 침전물을 제거한다(배출되는 물이 깨끗해질 때까지 몇 초 동안 연다).
- 매일 전체 표면을 사이펀으로 남아있는 오물을 뽑아내어 제거하여야 한다.
- 수조 청소기를 사용하여 침전된 찌꺼기를 빨아들인다. 다른 수조로 옮기기 전에 사이펀을 소독하여야 한다. 사이펀을 소독 용액에 보관하였다가, 사용 직전에 담수 또는 해수로 잘 잘 행구어야 한다.
- 수조 내벽과 수면 접촉 부위는 오물이 쌓일 때마다 종이 티슈로 닦아내야 한다. 작업을 돕기 위해 수면을 10 cm 낮춘다. 손을 물에 담그지 않아야 한다.

라) 빈 사육 수조

- 더 이상 사용하지 않을 때, 바닥 밸브를 열고, 그리고 완전히 배수한다. 배수 필터(outlet filter)와 파이프, 에어 호스 및 에어 스톤, 그리고 밸브를 제거한다.
- 아직 젖어 있을 때, 세제와 뜨거운 물로 내벽, 바닥 그리고 모든 장비를 닦는다.
- 행구고 나서, 그리고 소독 용액으로 밤새 소독한다.

- 다음날 아침 담수로 행구고, 그리고 다시 물을 채우기 전에 공기 중에서 말린다.

마) 유막 제거기

- 유막 제거기(skimmers)에 의해 걸러진 부유 잔해와 유막(oily film)이 제거기에 쌓일 때마다 종이 티슈로 제거하여야 한다. 특히 물을 오염시킬 수 있는 습식 사료를 공급할 때 수면을 청소하기 위하여 유막 제거기를 사용하여야 한다.

바) 배수 스탠드

- 배수 스탠드(outlet filters)는 하루에 두 번 아침과 저녁 조명을 끄기 전에 깨끗한 필터와 소독된 필터로 정기적으로 교체하여야 한다. 만일 막힐 위험이 있는 경우, 더 자주 교체해야 한다.
- 물의 흐름을 멈추고, 그리고 오물(dirt)이 다시 떠오르는 것을 피하도록 노력하면서, 더러워진 배수 스탠드를 조심스럽게 제거한다. 꺼낸 배수 스탠드를 뜨거운 물 또는 고압의 담수로 씻고, 그런 다음 소독 용액에 담근다. 물로 철저히 행구고, 그리고 수조 가까이 보관한다. 만일 배수 스탠드가 작업을 방해하지 않는 경우, 수조 주위 통로의 난간은 배수 스탠드를 보관하기 적합한 장소이다.

사) 에어 호스와 에어 스톤

- 일주일에 한 번 각 수조에서 깨끗한 한 세트(플라스틱 호스 + 에어 꼭지(tap) + 에어 스톤)로 교체하여야 한다.
- 기름기가 많은 유막(greasy film)을 제거하기 위하여 뜨거운 물과 세제로 씻어낸다. 그런 다음 소독 용액에 담근다. 사용 전에 물로 철저히 행구어, 호스와 스톤 내부에 소독 용액 또는 산성 용

액이 남아 있지 않도록 주의하여야 한다.

아) 자동 사료 공급기

- 매일 먼지(dust)와 살포되지 않은 사료를 제거하여야 한다.
- 상업용 에탄올과 종이 티슈로, 일주일에 한 번 용기와 공급 장치를 청소하여야 한다.

자) 장비(양동이, 항아리, 비커, 피펫 등)

- 하루 동안은 사용하기 전과 후에 뜨거운 물로 완전히 행군다.
- 하루 작업 종료 후에는 소독 용액에 담근다.
- 밤에는 물로 행구고, 그리고 건조한 상태로 보관한다.

차) 소독 용액 용기

- 일주일에 한 번 소독 용액을 새 것으로 교체하고, 그리고 바닥 침전물을 제거하여야 한다.

카) 먹이생물의 일일 저장 용기

- 마지막 공급 후, 세제와 뜨거운 물로 내벽, 바닥, 뚜껑, 에어 호스 및 에어 스톤을 문질러 닦아낸다.
- 소독 용액으로 소독한다.
- 담수로 행구고, 다음 날을 준비하기 위해 공기 중에 말린다.

타) 사육실 바닥

- 일주일에 두 번, 먼저 강력한 고압 분사기로 씻고, 그 다음 소독 용액으로 씻는다. 행귀내지 않아야 한다,

파) 치어 사육 위생 관리 주의 사항

- 사용하려는 재료와 장비가 깨끗하다고 가정해서는 안 된다. 필요할 때마다 작업자 스스로 청소해야 한다.
- 모든 소독 용액의 잔류물(예, 산성 또는 차아염소산염의 잔류물(hypochlorite residue))은 치어에 치명적인 독이 있으므로 사용하기 전에 장비를 철저히 행구어야 한다.
- 질병 확산의 위험을 피하기 위하여, 배양장의 다른 구역들과 재료와 장비를 교환하지 않아야 한다.
- 개인위생으로, 손을 깨끗하게 유지하여야 하고, 배양장에 들어가기 전에 소독조에 발을 담가야 하며, 배양장 안에서 담배를 피워서는 안 된다.

나. 사육 환경 관리

1) 치어 사육 환경 관리

- 치어 사육(nursery rearing)이 부화 후 40일 ~ 42일경에 시작되지만, 어류는 여전히 취급과 운송 스트레스에 민감하다.
- 치어 사육은 전장 100 mm의 출하 크기까지 연장된다.
- 치어 사육(weaning)은 약 40일경에서 110일경까지 지속된다. 이 단계에서 생존율은 75% 이상으로 높다.

가) 사육 시설(수조와 시설)

- 치어 사육 단계(nursery phase) 또는 상품 크기 사육 전 단계(pre-growing stage) 동안에, 배합사료에 길들여진 터봇 치어는 양식장으로 이송하기 위한 적당한 크기로 더 길러진다.
- 자어가 전장 20 mm에서 수조 바닥에 자리하기 시작하기 때문에, 이 이후는 수조 바닥의 표면적이 수조 용적보다 더 중요해진다.
- 터봇의 입식 밀도는 이 단계부터 표면적을 기준으로 계산한다. 어류는 0.3-0.5 m 깊이의 얇은 콘크리트 또는 FRP 수조에서 사

육한다.

- 수조는 원형, 정사각형 또는 수로형 수조(raceways)가 될 수 있다.
- 수조는 물의 순환에 의한 구심력을 활용하여, 사육수의 폐기물과 수조 바닥의 잔유물을 배수하기 위해서 잘 설계되어야 한다.
- 물 순환을 향상시키기 위하여, 해수는 PVC 파이프로 만들어진 사육수 확산기(water diffuser)를 통해 공급된다. 가장 단순한 주수구는 주수구의 출구 끝 부분에 5 mm 개구(opening)가 있는 납작하게 만든 PVC 파이프로 만들 수 있다.
- 사육 용수는 PVC 파이프로 된 바깥쪽의 구멍이 있는 파이프와 안쪽의 스탠드 파이프의 두 부분을 통해 배출된다.

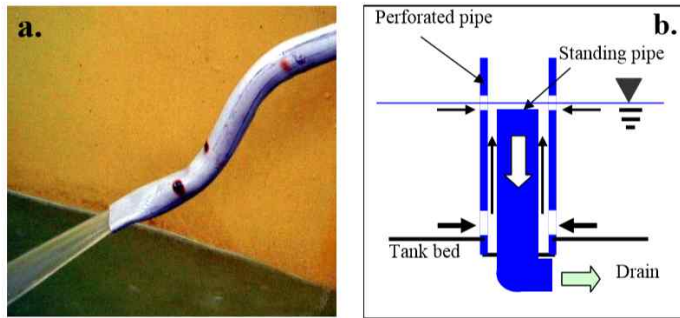


그림 22. 해수 공급 주수구(diffuser, a)와 배수 PVC 스탠드(b) (Source: Çiftci et al., 2002).

- 사육 수조는 수조의 벽과 중앙에 배치된 적정 수의 에어 스톤으로 포기된다.
- 조명은 오전 8시부터 19시 사이에 사육 수조 위에 설치된 형광등으로 200-500 lux로 유지한다.

- 용존산소는 4 mg/l 이하여서는 안 된다.

나) 선별

- 치어기의 선별 목적은, 비정상 착색 또는 기형 치어의 제거, 크기 분류, 정확한 사육 어류의 숫자 결정 및 수조 청소 등이다.
- 정상적이고 크기가 분류된 치어를 양동이를 사용하여 새 수조로 이송한다.
- 잦은 선별은 어류에 상해를 입히기 때문에 선별은 최소화하여야 한다.
- 첫 번째 선별은 어류가 약 50-60g일 때 이루어지며, 선별은 종묘생산 단계의 끝을 나타낸다(Person-Le Ruyet, 2002).

다) 치어 입식

- 터봇 체중 0.1g의 자어는 과밀 수용을 견딜 수 있으므로, 2,500 마리/㎡의 입식 밀도로 수용할 수 있으며, 체중 2g이 되면 1,000 마리/㎡로 점차 줄여 나간다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).
- 부화 후 4~5개월이 지나 치어 생산 단계의 끝에 체중이 약 10g이 되면, 치어를 다시 실내 사육실에서 4~5개월간 50-60g이 될 때까지 중간 육성을 실시한다. 중간 육성 단계(on-growing phase)의 초기 입식 밀도는 비교적 저밀도인 10 kg/㎡(약 150마리/㎡)로 시작하여, 중간 육성 단계의 끝에 입식 밀도는 30 kg/㎡(약 150마리/㎡)로 수용한다(Person-Le Ruyet, 2002).

표 9. 터봇의 크기와 입식 밀도의 관계

전장 (mm)	입식 밀도 (개체/㎡)
20-50	400-500
50-80	250-300
80-100	120-150

< Source: Çiftci et al., 2002 >

라) 사육 환경

수온

- 대서양 터봇에서 40-50 g 터봇의 최적 성장 수온 범위는 16-19℃이며, 10 g의 터봇은 16-22℃로 2℃가 더 높아진다.
- 터봇 성장률은 14℃ 이하와 20℃ 이상에서 빠르게 감소한다. 터봇의 자치어 생산 시기에 먹이 섭취를 중지하는 가장 낮은 수온은 5℃이고, 가장 높은 수온은 25℃이다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 적정 수온 범위에서 수온이 높을수록 성장이 잘 된다. 그러나 병원 세균의 성장과 어류 대사율이 증가하기 때문에, 결과적으로 산소 소비와 총 암모니아 질소 생산 역시 증가하게 된다.
- 높은 수온 범위는 공식과 같은 부정적 형태의 어류 행동을 유도하게 될 수도 있다.
- 환수와 산소 공급의 증대 방안 없이, 사육 수온을 올리는 것은 관리 문제를 더 증대시킬 수도 있다.

염분

- 터봇은 염분 10‰ 이하에도 적응할 수 있으나, 6‰에서는 폐사하

며, 고염분 내성에 대한 자료는 없다(Person-Le Ruyet, J., 2002).

- 1~5 g의 터봇은 염분 농도 10‰에서 35‰ 사이에서 섭이 행동과 성장에 차이가 거의 없었다. 3 g 체중 터봇의 3개월 실험에서 염분 농도 35‰보다 19‰에서 체중 성장이 8% 더 많았다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 염분이 다소 낮아지면, 생물 먹이의 침전이 증가하고, 염분 변화에 의한 스트레스가 증가하게 된다.

빛

- 빛(조도, 광주기, 색)은 먹이 공급 동안에 먹이 섭취의 중대한 결정적 요인 중의 하나이다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 터봇은 완전한 암흑 상태에서 섭이량이 감소하나 중지하지는 않는다. 그러나 비정상적으로 강한 빛은 행동 장애로 인하여 먹이 섭취가 중단될 수 있다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 먹이 공급이 제한되지 않고, 빛의 강도가 적절한 200 lux인 경우, 광주기를 8시간부터 16시간 사이에 각기 다르게 변화를 주어도 먹이 섭취와 성장에 유의한 차이가 없었다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 온도가 높을수록 증가된 활동과 성장률에 맞추어 조명 시간을 연장한다.
- 특정 사육 조건 하에서는, 긴 광주기가 섭식 활동을 자극하기 위해서 사용될 수 있다(Person-Le Ruyet et al., 2002).

산소

- 사육 수조의 용존산소 포화도를 최소 80% 최대 100%로 유지한다.
- 터봇의 최대 성장을 위한 최소 산소 요구량은 6 mg/L이다.
- 터봇은 용존산소 3 mg/L에서 먹이 섭취를 중지하고, 0.75-1.3 mg/L

에서 폐사한다.

- 티붓이 반복적인 심한 빈산소 충격(포화도 75-100%에서 20%로 감소)에 노출되었을 때, 사료 섭취량이 감소하고 사료 효율이 낮아져서 성장이 저하하게 된다.
- 용존 산소량이 감소할수록 사료 섭취량과 성장이 감소하게 된다.
- 티붓은 용존산소 포화 상태에서 성장이 향상되었으며, 147%와 223%의 과포화 상태에서는 먹이 섭취와 사료전환효율 및 성장에 영향이 없었으나, 지방 축적이 증가하였다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 어느 경우에도 예상 외로 갑자기 발생할 수 있는 무산소 상태의 위험에 대처하기 위한 비상 산소 공급 장치를 설치하여야 한다.
- 주수 배관에 순수 산소를 주입하여 수조 도달 전에 물과 산소의 접촉 시간을 연장하는 방법이 산소 기포를 만들어 공급하는 방법보다 더 효과적인 수 있다.

암모니아

- 티붓의 성장에 영향을 미치는 암모니아의 최저 한계 농도는 용존 산소, pH, 그리고 많은 생물적 요인(어류 크기, 초기 생활사, 건강 상태 등)에 영향을 받는다. 최적 사육 조건에서 암모니아 최저 한계 농도는 pH 7.5에서 총암모니아성 질소 5-6 mg/L 또는 0.2 mg/L NH_3 이다(Person-Le Ruyet, J., 2002).
- 2-3 mg/L 이하의 총암모니아 농도는 안전한 것으로 간주된다(Person-Le Ruyet, 2002).
- 총암모니아 질소(TAN)는 NH_3 와 NH_4^+ 의 합이고, ppm으로 표시하며, 가급적 1 ppm 이하로 유지되어야 하고, 2 ppm을 초과하지 않도록 한다.
- TAN의 유독성 부분인 비이온화 암모니아질소(N-NH_3)는 pH와 염분을 알면, 관련 표로 계산할 수 있다.

- 순수 산소 주입은 N-NH_3 을 무독성 NO_2^- 과 NO_3^- 으로 부분적으로 전환할 수 있다.
- 사육수 pH의 감소는 유독성 암모니아의 부분을 감소하는 데 효과적이다.

환수율

- 치어는 인공 배합사료를 섭취하고, 그리고 사료 섭취율이 성장에 따라 증가하며, 또한 생체량이 증가하기 때문에, 사육수 수질의 저하 가능성이 높아진다. 따라서 적정 수질을 유지할 수 있는 정도로 환수율을 높여야 한다.
- 환수율은 사육 시스템과 사육 환경 조건에 따라 다르게 정한다.

포기

- 치어 사육 동안의 바닥 포기는 더 이상 사육어를 분산시키는 것을 의도하지는 않는다. 그러나 그 중요성이 저평가되어서는 안 된다.
- 적절하게 배치된 포기 에어 스톤은 단지 사육수에 산소를 공급할 뿐만 아니라, 최적 유체역학 조건을 만드는 데에도 기여한다.
- 정사각 또는 직사각형 수조는 죽은 모서리(dead corners)의 형성을 방지하기 위하여 특별한 주의를 요한다. 죽은 모서리에서 남은 먹이와 배설물이 쌓이게 되고 사육수의 수질을 악화시키게 된다.

배수 스탠드의 망목

- 배수 스탠드의 여과망 망목은 치어 수용 시에 1 mm로 설치한다. 그리고 증가된 물의 흐름과 찌꺼기에 견디기 위해서, 가능한 한 빨리 2, 3 mm의 망으로 교체하여야 한다.

수조 바닥 청소

- 치어는 인공 배합사료를 섭취하고, 그리고 사료 섭취율은 어류의 성장에 따라 증가하기 때문에, 사육수 수질의 저하 가능성이 매우 높다. 따라서 하루 두 번, 아침과 오후에 바닥을 청소하는 것이 권장된다.

다. 사육 관리

1) 치어 사료 공급 관리

가) 사료 공급 체계

- 사료의 소식은 공식과 어류 크기 범위의 확대를 촉발하고, 과식은 건강 문제를 초래하며, 빠르게 수조 안의 암모니아 수준을 증가하게 한다. 사료의 소식과 과식 양쪽 다 예방하기 위하여, 사료 섭취 행동을 엄격히 통제하여야 한다.
- 사료 공급은 일정한 시간 간격에서 수행되어야 하며, 먹이를 전체 수면에 골고루 뿌려준다.
- 오염과 공식을 줄이고, 어류를 건조 사료에 더 잘 적응시키기 위하여, 건조 사료 1일 공급량의 60%는 아침에 뿌려주며, 나머지 40%는 오후와 이른 저녁에 준다.
- 0.7~1 mm 직경의 크럼블 펠릿은 치어 사육 개시기에 공급한다.
- 어류가 자람에 따라, 크럼블 펠릿(crumbled pellet)은 점진적으로 펠릿 사료(pelletized diet)로 대체한다.
- 치어에 의해 섭취된 사료의 양은 사료의 크기에 영향을 받는 경향이 있다. 크기가 너무 작거나 너무 크면, 먹이 섭취량이 적어진다.
- 전장 20~50 mm의 어류는 하루에 4-6회 먹이를 공급한다.

- 어류가 전장 50 mm로 자라면 먹이 공급 횟수가 포만 될 때까지 하루에 3-4회로 줄인다.
- 포식은 치어의 자발적인 먹이 섭취 활동의 종료에 의해 결정된다.
- 치어의 먹이 공급률은 전장 약 20 mm에서 체중의 약 4~5%로 시작하여, 전장 약 100 mm에서 체중의 2%~3% 사이로 점차적으로 감소한다.

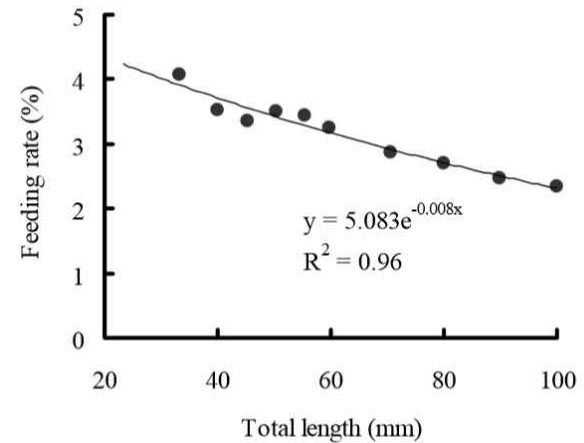


그림 23. 티벳 치어의 전장과 급이율의 관계(Source: Çiftci et al., 2002).

나) 사료 1일 공급량 산정

- 사료 공급은 처음에는 이론적으로 결정되나, 후에는 어류의 행동과 성장률에 따라서 미세 조정한다.
- 사육 수조의 치어의 평균 개체 중량과 숫자를 평가한 후에 실제

생체량에 맞추어 사료 공급량을 조정한다.

- 항상 실제 먹이 소비율, 수조 바닥에 잔류 사료의 존재 여부 및 일반적 어류 행동을 점검하여 1일 공급량을 산정한다.

다) 사료 공급자

- 잘못을 피하고 사료 공급률의 기록을 유지하기 위하여, 각 수조는 건조 사료의 1일 공급량을 담은 각각의 플라스틱 용기를 가지고 있어야 한다.
- 남은 사료는 항상 사육 수조의 사육 관리 파일에 기록되어야 한다.
- 어류의 행동과 요구를 알아내는 데 필요한 경험을 얻기 위해서 먹이와 사료 공급을 항상 같은 직원이 책임져야 한다.

라) 배합사료의 선정

- 사료의 품질이 생존, 성장 및 사료 효율에 직접적으로 영향을 미치며, 그리고 궁극적으로 경제적 수익에 영향을 미치기 때문에, 치어에게 공급되는 배합사료는 신중히 선정되어야 한다.
- 배합 사료는 부력이 있으면서 물에 뜨지 않는 펠릿이 선호되며, 그리고 바닥으로의 느린 하강 중에 섭취되어야 한다.
- 사료의 단백질 요구량은 55%의 높은 수준이다.
- 사료의 지질 수준의 요구량은 15% 이하로 추정된다.
- 사료의 pH는 7.1에서 7.5 사이로 조정하는 것이 권장된다.
- 사료는 단가뿐만 아니라 그 품질에도 근거하여 평가되어야 한다.
- 사료의 품질은 생존율, 성장률 및 사료계수 측면에서 평가되어야 한다.
 - 생존율(%) = (최종 어류 수/ 초기 어류 수) × 100
 - 성장률(mm/day) = (최종 전장(mm) - 초기 전장(mm))/일

- 사료계수(FCR) = 사료 총량/(최종 총 체중 - 초기 총 체중)

- 이상적인 실험 조건에서, 치어 사육 기간 동안에 생존율 90%, 성장률 1.2 mm/day, 사료계수 0.7 이하로 예상된다.

2) 치어 건강 모니터링

가) 어류의 행동 점검

어류의 정상 행동

- 유영 활동의 완전한 통제
- 성공적인 먹이 섭식/포식 활동(어느 정도의 공식도 포함)
- 갑작스러운 자극에 빠른 반응(전형적으로 수조 위에서 손을 흔드는 것 등)
- 적절한 색(흑색 대신 고유색)
- 먹이 공급에 무리의 밀집

어류 행동의 변화

- 사육 수조 안의 환경 조건의 변화로 문제가 발생하면, 대량 폐사와 같은 명백한 신호가 시작되기 전에, 어류의 행동에 먼저 영향을 주게 된다.
- 경험 있는 직원의 일상적 감시로도 만일 무엇이 잘못되고 있는지 알 수 있다.
- 어류의 행동을 매일 관찰하여야 한다.

나) 성장

- 치어의 성장은 사육 환경 조건, 사료의 품질과 공급 조건, 입식된 치어의 사육 환경 적응 능력 등에 영향을 받는다.
- 터벗 치어의 상업용 건조 펠릿의 높은 효율은 약 0.8의 사료계수(food conversion rate, FCR)를 가능하게 한다.

- 생존율은 75-85% 범위이며, 수질이 좋을수록 생존율이 더 높아진다(Person-Le Ruyet, 2002).
- 치어의 성장은 직선 회귀로 나타나며, 육안적인 성장의 관찰과 더불어 치어의 체중과 체장을 정기적으로 측정해야 한다.
- 치어의 성장이 정체되는 경향이 있는 경우, 사육 조건과 어류 조건을 점검해야 한다.
- 체중과 전장 관계는 다음과 같이 계산한다.
 - $BW = 0.008 TL^{3.145}$ ($r^2 = 0.99$), (BW: 체중, TL: 전장)

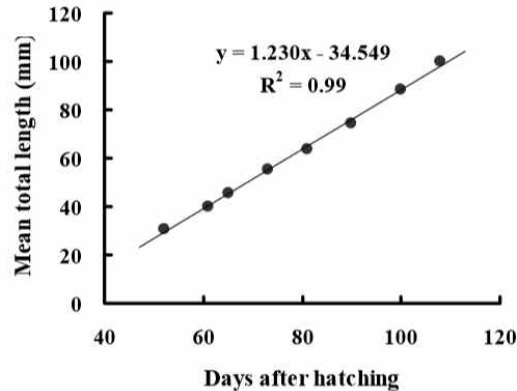


그림 24. 터봇의 성장(평균 수온 $22.6 \pm 1.6^\circ\text{C}$, 시험사료 사육) (Source: Çiftci et al., 2002).

다) 성장률의 조사

조사 시기

- 치어의 성장을 대표할 수 있는 표본은 정기적으로 선별하고 분산 수용할 때 실시한다.

- 사육의 성과는 2주에 한번 평가하는 것을 권장하고, 가능하면 어류 선별 때 같이 평가하도록 한다.
- 선별하지 않을 경우에는 한정된 표본을 수집하여 체중과 체장을 측정한다.

조사 표본

- 치어 표본의 수는 일반적으로 사육 초기에는 100마리가 적당한 표본이 될 수 있으나, 사육 후기로 갈수록 더 많은 표본을 한다.

조사 방법

- 치어는 점검하기 전에 폐사와 질병을 피하기 위하여 마취되어야 한다.
- 체중은 해수 300 ml이 든 1 L 비커에 치어를 넣고, 저울에서 무게를 잰 다음, 물과 비커의 무게를 빼서 치어의 체중을 측정한다.
- 치어를 모은 양동이에 100마리가 되면 개체의 평균 체중을 계산한다.
- 체장은 표본한 치어를 깨끗한 유리에 두고, 유리 아래에 둔 밀리미터 용지로 mm 단위로 체장을 측정한다.
- 각 개체에 대해서 형태적 이상을 기록한다.

후속 조치

- 마취된 치어는 가능한 한 빨리 포기되고 깨끗한 해수가 있는 회복 양동이에 되돌려 놓는다.
- 회복 중인 치어는 반드시 다른 치어의 공격을 피할 수 있게 완전히 회복된 이후에 사육 수조에 재수용되어야 한다.

라) 치어의 선별

공식 저감 방안

- 사육 수조의 조도 저하
- 사육수의 주수량과 사료 공급 회수의 증가
- 같은 크기의 그룹으로 만들기 위한 빈번한 선별(최선의 해결책).

선별 기준

- 주기적인 개체군 체중 점검이 큰 변동성을 보였을 때 선별한다.
- 사육 치어의 가장 작은 것과 가장 큰 것 사이의 체중 차이가 10% 이상 되면 선별하여야 한다.

선별 방법

- 치어 선별은 치어를 망목이 작은 선별기 위에 큰 선별기를 포개어 설치한 일련의 선별기를 통과시켜 수행하며, 선별기는 수조 안에 띄웠을 때 바닥이 물속에 있게 한다.
- 적당한 선별기를 선택하기 위하여, 100마리의 치어 표본으로 예비 시험을 해야 한다. 그리고 크기에 따른 치어의 분산은 예비선별 시험 후에 결정한다.
- 쪽대 그물로 어류를 채집해서 겹쳐진 선별기에 조심스럽게 붓고, 선별기의 망목을 통과하는 치어를 돕기 위하여 선별기를 조심스럽게 움직인다.

질병 예방

- 항스트레스 먹이 공급과 신중한 관리 작업으로 세균 감염의 위험을 최소화 한다.
- 선별 과정의 과도한 취급 또는 기타 원인에 의해 초래된 세균 감염의 위험을 최소화하는 것이 필요할 경우, 선별 후에 예방적 약품 처치를 할 수 있다.

3) 자치어의 이송 관리

가) 수조와 장비의 준비

- 어린 후기 자어 단계는 대단히 연약하며, 이송 작업은 어류에게 크게 스트레스를 주는 일이기 때문에 하루 전에 모든 장비를 준비하여, 잘 세척하고 살균하여야 한다.
- 수송은 가능하면 아침 일찍 이송을 준비한다.
- 어린 어류를 조심스럽게 다룰 수확과 이송 방법을 선택한다.
- 예상하지 못한 작업 지연이 발생하는 경우에 즉시 쓸 수 있는 비상 산소 공급 장치를 준비한다.
- 이송 매체의 오염을 피하기 위하여, 자어 사육 수조의 바닥을 완전히 청소한다.

나) 먹이 공급

- 비타민 C는 항스트레스 특성을 가지고 있으므로, 이송 3-4일 전에 증가된 양의 비타민 C(사료 kg 당 10,000 mg까지)가 들어 있는 먹이를 공급한다.
- 이송 전 먹이를 주지 않아야 한다.
- 이송 후 치어가 새 수조에 배치되었을 때, 공식을 피하고, 조속한 회복으로 위하여 가능한 한 빨리 먹이를 공급한다.

다) 수온과 염분

- 옮겨갈 수조의 수온과 염분은 자치어 사육수조의 수온, 염분과 서로 같아야 한다.

라) 자·치어 취급

- 어류에 직접 손대지 않도록 노력한다.

- 어류가 물 밖으로 튀어 나가거나, 물 밖에 있지 않도록 한다.
- 작은 용기에 너무 많은 어류를 밀집시키지 않는다.
- 더러운 물이 자치어 사육 수조에 들어가지 않도록 한다.
- 자치어를 수용하는 사육 수조에 자치어를 넣기 전에 자치어 운반 용기가 바닥에 닿는 것을 피한다.
- 자치어가 포기와 환수 없이 있는 시간을 가능한 한 최단시간이 되도록 노력한다.
- 유연성 자어는 주간의 균형 행동을 이용하여 양동으로 옮길 수 있다.
- 터봇 자어는 주광성이기 때문에 야간에 수조의 조명된 모서리에 자어가 모일 때 직경 50mm의 유연성 호스를 이용하여 사이편하여 양동으로 옮겨질 수 있다.

마) 질병 예방

- 이송 전후에, 이송으로 스트레스를 받은 어류의 질병 발생의 위험을 저감하기 위해서, 예방적 세균 발육 억제 조치를 때때로 적용한다.
- 예방적 세균 발육 억제 처리는, 약물 내성 세균의 출현을 유발할 수 있기 때문에, 항스트레스 먹이와 신중한 관리 작업으로 대체하는 것이 권장된다.
- 과도한 취급 또는 연약한 자어에 의해 초래된 세균 감염의 위험을 최소화하는 것이 필요할 경우, 이송 전후에 예방적 약품 처리를 검토할 수 있다.

라. 질병 관리

1) 바이러스성 질병

- 헤르페스 바이러스(Herpes virus)는 피부와 아가미 표피 세포의 과도한 성장과 관련이 있다.
- 전염성 췌장 바이러스(Infectious pancreatic virus)는 근육 출혈과 조혈 조직의 심각한 괴사를 일으킨다.
- IPNV는, 비록 큰 어류(30 g)에서 최소한 35일 동안 잠복하고 있지만, 작은 어류(2 g)에서만 폐사를 일으킨다.
- 바이러스 출혈성 패혈증(Viral Hemorrhagic Septicaemia, HVS)은 갑작스런 사망을 초래한다(Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011).

2) 세균성 질병(Bacterial diseases)

- 치어 단계에서 질병을 예방하기 위하여, 터봇은 대부분 비브리오병(vibriosis)과 절창병(furunculosis, 癰瘡病)에 대비하여 예방 접종을 받는다.
- 일부 양식 현장에서는, *Flexibacter*와 *Streptococcus*에 의해서 초래되는 세균성 질병에 대한 예방 접종을 받아야 한다.
- 세균성 질병의 종류
 - 비브리오병(Vibriosis)은 어린 터봇 사망률의 주요인이며 *Vibrio anguillarum*의 몇 가지 병원성 균주에 의해 발생한다.
 - Yersiniosis (*Yersinia ruckeri*)
 - Furunculosis (*Aeromonas salmonicida*)
 - *Photobacterium leiognathi*에 의한 세균병(Bacteriosis)
 - Flexibacteriosis (*Flexibacter maritimus*)
 - 겨울 병(winter disease) (*Pseudomonas anguilliseptica*)
 - *Edwardsiella tarda*

- 미코 박테리아 증(Mycobacteriosis) (*Mycobacterium marinum*).
- o 다가 백신(Multiple vaccines)이 스페인과 프랑스에서 Furunculosis, Flexibacter 및 Vibrio에 대해 이용 가능하다.
- o *Vibrio* spp. 및 슈도모나스 종(*Pseudomonas* spp.)이 Galicia(스페인) 양식장의 병든 터봇에서 찾아낸 가장 많이 유행한 박테리아였다. 입천장과 턱, 꼬리와 지느러미, 궤양성 병변의 출혈은 병이 있는 어류의 가장 흔한 외부 임상 증상이었다(Rurangwa, E. and Poelman, M.. 2011).

3) 기생충

- o Turbot은 기생충 침입에 매우 감수성이 높으며, 기생충은 주로 섬모충류인 *Trichodina*와 *Uronema*이다.
- o Ciliates(*Cryptocaryon*과 *Trichodina*)는 아가미와 피부의 표면을 섭취한다.
- o *Haemogregarina sachai*는 골수 괴사(myeloid necrosis)를 유발한다.
- o 흡충인 *Cryptocotyle lingua*는 흑점병(black spot disease)을 일으킨다.
- o Myxosporean (*Enteromyxum scophthalmi*)
- o *Uronema marinum*은 양식인들에게 더 큰 어려움을 주고 있는 종이며, 감염되면 치료하기가 쉽지 않은 내부 기생충이다. 백신 및 기타 예방 조치가 시도되고 있지만 터봇 양식인에게 큰 위협이 되고 있다(Rurangwa, E. and Poelman, M.. 2011).
- o 병원성 기생충(*Scuticociliata*, *Nematoda*, *Toricodina* 등)은 종종 바닥 청소 또는 죽은 치어를 통하여 모아진 잔유물에서 발견된다.
- o 특히, *Scuticociliata*는 가장 심각한 기생충 중의 하나이며, 대량 폐사를 유발한다. 이 기생충에 의한 심한 손상을 막기 위하여,

- 목측과 현미경 관찰이 특별한 주의를 기울여 실시되어야 한다.
- o 기생충 감염 어류는 다음과 같은 비정상적인 행동중의 일부를 보인다.
 - 사료 섭취량의 갑작스러운 감소,
 - 입 벌리고 유영하는 어류,
 - 수면에서 표류하는 어류 수의 증가,
 - 수조 벽면 주위의 유영 등.
- o 목측이 외에도, 현미경 관찰을 실시한다.
- o 기생충의 증상이 인지되면, 즉시 적절한 약육 처리를 한다.

표 10. 터봇의 질병 원인 병원체, 증상 및 대책

질 병	병원체	유 형	증 상	대 책
아메바 아가미 질병	<i>Neoparamoeba pemaquidensis</i>	체외 기생충	아가미 기생; 호흡 장애	담수욕
Trichodiniasis	<i>Trichodina</i> spp.	체외 기생충	Flashing; 피부 흑화; 무기력; 호흡 장애; 사육 수조 표면에 아가미 뚜껑과 신체 문지르기	살균제 약육
사상충증 (Scuticociliatosis)	<i>Philasteridis dicentrarchi</i>	체외, 체내 기생충	피부 궤양; 체색 흑화; 유영 행동 변화; 튀어나온 눈; 복부팽만	밀도 감소
미포자충증 (Microsporidiosis)	<i>Tetramicra brevifilum</i>	내부 기생충	-	밀도 감소
Myxosporidiosis	<i>Enteromyxum scophthalmi</i>	내부 기생충	피부와 아가미에 수많은 백색 포낭	밀도 감소; 시설의 완전 살균

Flexibacteriosis	<i>Tenacibaculum maritimum</i>	세균	처음에 등지느러미 부위에 회색 반점; 두부와 입 부위 손상; 때때로 아가미 부식	백신; 항생물질
절종증 (Furunculosis)	<i>Aeromonas salmonicida</i>	세균	Boil-like skin lesions	백신; 항생물질
Streptococcosis	<i>Streptococcus parauberis</i>	세균	지느러미, 피부 및 장막 표면의 출혈; 궤양	백신
Vibriosis	<i>Vibrio anguillarum</i>	세균	혹화 피부; 무기력; 헤어진 지느러미; 피부 궤양; 안구 돌출	백신; 항생물질

출처: FAO, [ftp://ftp.fao.org/fi/document/aquaculture/CulturedSpecies/file/en/en_turbot.htm](http://ftp.fao.org/fi/document/aquaculture/CulturedSpecies/file/en/en_turbot.htm)

6. 종자 수송

가. 수송 관리

1) 종자의 수확과 적재 기준

가) 수확

- 전장 50 mm의 치어는 취급에 내성이 있다. 그러므로 사육수의 수위를 낮춘 후에, 자어들이 뜰채로 수확할 수 있다.
- 치어들은 정상, 이상 및 이상 색소 침착 어류의 세 그룹으로 다시 한 번 더 선별한다.
- 치어들은 이송하기 적어도 24시간 전에 사료를 공급해서는 안 된다.

나) 적재

- 전장 50 mm 미만의 어류들은 수송 탱크에 직접 적재한다.
- 전장 50 mm보다 더 큰 치어는 플라스틱 바구니에 넣는 것이 권장된다. 플라스틱 바구니는 탱크에서 뒤집히지 않도록 고정되어야 한다.
- 치어 수송 수조의 해수는 배양장의 해수를 채우는 것이 권장된다.
- 치어를 실는 동안 치어가 취급당하게 되는 충격과 심한 스트레스 때문에, 치어들은 활동 과잉이 되고, 호흡률과 신진대사의 배설이 증가한다.
- 치어 수송 차량의 수송 수조에 적재가 끝났을 때, 실을 때 들어간 오염물(오물, 거품, 점액, 배변)의 부하를 제거하기 위하여 산소가 충분한 물로 완전히 환수한다.
- 낮은 온도가 바람직할 경우 얼음주머니를 이용할 수 있다.

- 수송 수조에서 치어들의 산소 소비와 암모니아 배설을 최소화하고, 변과 토한 사료 양을 감소하기 위하여, 치어는 보통 수송 차량에 싣기 적어도 24시간 전에 굶긴다.
- 수송 중에 치어의 포식 행동을 통제할 수 있을 경우에 한해서 수송 전 굶길 수 있다.

2) 종자의 수송 환경

가) 수송 시설과 장비

- 지방 또는 장거리 운송의 경우, 대형 수조가 사용될 수 있으며, 수조의 물을 잘 교반하기 위하여, 산소 공급, 포기 시설 그리고 수온 조절을 위하여 냉장 시설을 활용할 수 있다.

나) 수송 수조의 해수

- 치어 수송 수조의 해수는 배양장에서 치어에 사용된 해수와 같은 해수를 사용한다.
- 보충 해수는 부유 현탁물을 제거하기 위하여 기계적으로 여과되어야 한다.

다) 수송 밀도

- 수송 밀도는 어류의 크기에 달려 있다. 일반적으로 전장 50 mm 치어는 5,000 마리/㎥ 밀도로 수용하고, 그리고 전장 100 mm인 치어는 1,500 마리/㎥ 밀도로 수용한다.

라) 수온

- 수온은 어류의 산소 소비에 강하게 영향을 준다.
- 수송 해수의 낮은 온도에 의해 어류 대사가 감소하여 호흡이 감소하게 되고, 결과적으로 산소 요구량과 암모니아 배설도 감소하

게 되므로, 가능한 한 낮은 온도에서 수송하여 수질 변화와 산소 소비를 최소화한다.

- 물의 산소 용해도는 낮은 온도에서 더 높아진다.
- 치어 수송 용기의 단열은 어떤 경우든 필요한 예방 조치이다.
- 수송 해수의 수온은 배양장 환경의 수온과 크게 달라서는 안 되며, 필요시 스트레스를 줄이기 위하여 1시간에 1℃로 점진적으로 조정할 수 있다.
- 온도 변동을 최소화하기 위하여 여름에는 밤에 움직이는 것이 더 좋으며, 반대로 겨울에는 주간 수송이 권장된다.

마) 용존산소

- 용존산소(DO)는 살아있는 어류의 수송에서 가장 중요한 변수로서, 150-200%의 포화도 수준을 유지하기 위하여 포기 등으로 충분한 산소를 공급하여야 한다.
- 수송 중의 산소 소비량은 첫 1시간 동안에 최대가 되므로, 수송 해수는 치어의 수송 시작 전에 과포화가 되어야 하고, 수송 첫 1시간 동안 DO를 주의 깊게 조절하여야 한다.
- 순수 산소의 첨가는 비이온화 암모니아(NH3)의 독성 형태를 비독성 산물로 산화하는 데 기여한다.

바) 염분농도

- 수송 해수의 염분농도는 치어의 스트레스를 줄이기 위하여 치어가 길들여진 배양장 염분농도와 같아야 한다.
- 수송 시 20-25 psu의 저염분 해수는 치어의 삼투압 조절 에너지가 감소되고, 산소 용해도가 증가하여 수송 치어의 스트레스가 감소할 것으로 추정할 수 있으나, 적용 시 사전 시험과 적용이 필요하다.

사) pH

- 수송 중 해수와 기수에서 pH는 일반적으로 크게 문제가 되는 변수는 아니다.
- 호흡에 의한 이산화탄소의 증가는 수송 해수를 산성화한다. 그러나 해수의 완충능력이 pH 변화를 완화한다.
- pH의 수준은 독성 비이온화 암모니아(NH₃)의 균형에 직접적으로 영향을 준다. pH가 낮을수록 암모니아 질소의 독성 부분은 감소한다.
- pH가 낮고 이산화탄소가 많으면 헤모글로빈의 산소 결합력이 저하하게 된다.

아) 암모니아

- 암모니아는 아가미를 통해서 배설되며, 어류의 주요 대사산물이다.
- 수송 수조의 환수 없이 치어를 운반할 때, 어류의 대사산물인 암모니아가 해수에 축적되게 된다.
- 물에서 비이온화 암모니아(NH₃)와 암모늄 이온(NH₄⁺) 사이에는 화학적 평형이 존재한다.
- 비이온화 암모니아는 낮은 농도에서도 어류에 독성이 대단히 강하다.
- 치어 수송 수조의 비이온화 암모니아의 관리를 위하여 수송 전 먹이 공급을 중지하여야 한다.
- 치어의 공식 행동을 통제할 수 있으면, 치어의 배설물을 감소하기 위하여 수송 전 최소 24-48시간 먹이를 주지 않는다.
- 어류에 영향을 주지 않으면서 신진대사를 감소하고 유독 비이온화 암모니아의 백분율을 감소하기 위하여, 수온을 가능한 한 낮게 유지한다.

- 장거리 수송 동안에는 필요시 부분적 또는 전체를 환수한다.

자) 이산화탄소

- 호흡에 의해 생산되는 이산화탄소는 어류 혈액의 산소 수송 용량을 감소하기 때문에 적절한 산소 수준에 있을 때조차도 어류에 위험하다.
- 이산화탄소는 포기와 환기에 의해서 제거되며, 통풍구를 통해 배출된다.
- 치어 수송 수조 안의 암모니아와 이산화탄소의 축적을 방지하기 위하여, 수송 수조의 뚜껑 또는 통풍구는 부분적으로 개방한다.
- 밀폐된 수조는 이산화탄소의 위험한 증가 상태로 만들 수 있다.
- 수표면의 거품은 물과 공기의 가스 교환을 감소시킨다.

차) 탁도

- 탁도를 감소하기 위한 현탁 물질의 제거는 어류 관찰을 용이하게 하고, 아가미가 막히는 위험, 산소 결핍 및 세균 증가를 감소한다.
- 깨끗하고 여과된 해수로 채워야 한다.

카) 수면의 거품

- 수송 수조 해수 표면의 오물과 거품은 장거리에 실려 가는 많은 수의 치어에서 생기는 과도한 점액으로 만들어 진다.
- 거품은 공기와 물의 경계면에서 산소와 이산화탄소의 이동을 방해하며, 또한 어류를 관찰하기 어렵게 만든다.
- 트럭의 치어 수송자는 뜰채로 거품을 쉽게 제거할 수 있으나, 수송 시간을 연장하게 된다.
- 치어를 수송 수단에 적재할 때 치어 적재 후 수조의 전체 해수를 완전히 환수하거나 또는 수송 중에 환수하여 거품 발생의 요인

또는 거품을 효과적으로 제거하여야 한다.

타) 환수

- 장거리 운행의 경우, 수조의 물은 삼투압과 온도 변화의 결과로 충격을 주지 않도록 환수되어야 한다.

파) 포식 예방

- 어둡게 하거나 탁도를 증가하는 것은 포식을 제한하는 효과가 있다.
- 소량의 안정제 또는 마취제의 사용도 검토될 수 있다.

하) 수송 중의 모니터링

- 치어 수송 중에 주기적으로 수송 해수의 산소와 거품 그리고 폐사어를 모니터 하여야 한다.
- 수온, DO, pH 및 염분농도의 변화를 모니터링하고 적정 범위에서 유지한다.
- 어류의 행동과 산소 첨가 상태를 점검하기 위한 첫 번째 정차 점검은 보통 출발 후 약 1.5시간 뒤에 하고, 이후 규칙적인 간격에서 빈번하게 점검한다.

3) 종자의 적하와 입식

가) 종자의 적하

- 양식장에 도착 후 종자가 갑작스러운 수온과 염분의 변화 쇼크에 노출되지 않도록 필요한 조치를 한다.
- 양식장에 도착 후 수송 수조의 물을 천천히 배수하고 종자 입식 수조의 물을 재충전함으로써, 수송 수조 물의 수온과 염분 농도는 종자 입식 수조의 물 수온과 염분 농도와 같아지게 하여야

한다.

- 나쁜 수송 조건에 심하게 시달린 경우, 수송 시설에 가능한 한 빨리 이송한다.

나) 종자의 입식

- 수조 수용 직후, 오래 끓은 치어들의 공식 발생 가능성이 있는지 또는 사료 공급이 바람직하지 않은 어체 상태인지를 점검하여 사료 공급 여부를 결정하여야 한다.
- 폐사어는 조심스럽게 제거하고, 또 빈사 상태의 어류도 제거한다.
- 예방 목적의 항생제 투여는 내성 세균의 출현 가능성 때문에 권장하지 않는다.
- 항생제의 사용은 허약하거나 또는 스트레스를 받은 개체군에 대해 실제 질병 발생을 치료하는 데 제한되어야 한다.

참고 문헌

- 국립수산물과학원, 2002a. 유용양식종의 종묘생산 기술개발 및 종보존 II. 종묘생산 기술개발 시험(터봇). 2001년도 동해수산연구소 사업보고서, 279-288.
- 국립수산물과학원, 2002b. 양식대상종 개발을 위한 이식 기반 조사 - 터봇, 줄농어 이식시험. 2001년도 동해수산연구소 사업보고서, 294-298.
- Agh, N. and Sorgeloos, P. (eds), 2005. Handbook of Protocols and Guidelines for Culture and Enrichment of Live Food for Use in Larviculture. Artemia & Aquatic Animals Research Center Urmia University, Iran, pp. 52.
- Bromage, N.R., Bruce, M., Basavaraja, N., Rana, K., Shields, R., Young, C., Dye, J., Smith, P., Gillespie, M. and Gamble, J., 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of over ripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. Journal of the World Aquaculture Society 25, 13-21.
- Bromley, P.J., Sykes, P.A. and Howell, B.R., 1986. Egg production of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) spawning in tank conditions. Aquaculture 53, 287-294.
- Brooks, S., Tyler, C.R. and Sumpter, J.P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. Reviews in Fish Biology and Fisheries 7, 387-416.
- Çiftci, Y., Üstündağ, C., Erteken, A., Özongun, M., Ceylan, B., Haşımoğlu 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.

- Danancher D and Garcia-Vazquez E., 2006. Turbot - *Scophthalmus maximus*. In: "Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations." D. Crosetti, S. Lapègue, I. Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. WP1 workshop "Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish", Viterbo, Italy, 12-17th June, 2006, pp. 6.
- https://www.imr.no/genimpact/filarkiv/2006/01/turbot_leaflet.pdf/en
- Devauchelle N., 1986. Ponte en captivité et incubation de quatre poissons marins élevés en Europe. Conférence MEDRAP (FAO): Production contrôlée d'alevins en Europe - Zadar/Pula (Yougoslavie, 10-28 février 1986), pp. 47.
- <https://archimer.ifremer.fr/doc/00044/15570/12967.pdf>
- Devauchelle, N. Alexandre, J.C., Le Corre, N. and Letty, Y., 1988. Spawning of turbot (*Scophthalmus maximus*) in captivity. Aquaculture, 69, 159-184.
- Dhert, Ph., Divanach, P., Kentouri, M. and Sorgeloos, P., 1998. Rearing techniques for difficult marine fish larvae. World Aquacult. 29(1), 48-55.
- Dreanno, C., Suquet, M., Desbruyères, E., Cosson, J., Le Delliou, H. and Billard, R., 1998. Effect of urine on semen quality in turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture 169(3-4), 247-262.

Estévez, A. and Kanazawa, A., 1995. Effect of (n-3) PUFA and vitamin A Artemia enrichment on pigmentation success of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). Aquaculture Nutrition 1(3), 159-168.

FAO, 2019. Cultured Aquatic Species Information Programme, *Psetta maxima* (Linnaeus, 1758). FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome.

Fauvel, C., Omnes, M. H., Suquet, M. and Normant, Y., 1992. Enhancement of the production of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), larvae by controlling overripening in mature females. Aquaculture and Fisheries Management 23, 209-216.

Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. and Vergara, J.M., 1995. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture 132, 325-337.

Forés, R., Iglesias, J., Olmedo, M., Sánchez, F.J. and Peleteiro, J.B., 1990. Induction of spawning in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by a sudden change in the photoperiod. Aquacultural Engineering, 9(5), 357-366.

Hamza Polat, Mehmet Rüstü Özen and Serpil Yavuz Keskin, 2018. The Embryonic Development of Black Sea Turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) Eggs in Different Incubation Temperatures and Salinities. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18, 475-482.

Howell R. & Scott A.P., 1989. Ovulation cycles and postovulatory degradation of eggs of the turbot (*Scophthalmus maximus* (L.)). Rapports et proces-Verbaux de la Réunion du Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 191, 21-36.

Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, 26, 71-113.

Kjørsvik, E., Hoehne-Reitan, K. and Reitan, K.I., 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture, 227, 9-20.

Lavens, P., Lebegue, E., Jaunet, H., Brunel, A., Dhert, Ph. and Sorgeloos, P., 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. Aquaculture International, 7, 225-240.

Lei, Ji-Lin & Liu, Xin-Fu., 2010. Chapter 11, Culture of Turbot: Chinese Perspective. 185-202. in Harry V. Daniels & Wade O. Watanabe (ed.). Practical Flatfish Culture and Stock Enhancement. Wiley Blackwell.

L. Lei, J & F. Liu, X & T. Guan, C., 2012. Turbot culture in China for two decades: achievements and prospect. Modern Fisheries Sciences. 33. 123-130.

McEvoy, L.A., 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. Journal of Fish Biology 24, 437-448.

McEvoy, L.A., 1989. Reproduction of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in captivity. Cuad. Area Cienc. Mar. Semin. Est. Gal. 3, 9-28.

Munro, P.D., Henderson, R.J., Barbour, A. and Birbeck, T.H., 1999. Partial decontamination of rotifers with ultraviolet radiation: the effect of changes in the bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot. Aquaculture, 170, 229-244.

Person-Le Ruyet, J., 2002. Turbot grow-out in Europe. Practices, Results and Prospects. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic

Sciences, 2, 29-39.

Person-Le Ruyet, J., Baudin-Laurencin, F., Devauchelle, N., Métailler, R., Nicolas, J., Robin, J. and Guillaume, J., 2011. Culture of turbot (*Scophthalmus maximus*). CRC Handbook of Mariculture, 2, 21-41.

Planas, M. and Cunha, I., 1999. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. Aquaculture, 177(1-4), 171-190.

Rurangwa, E. and Poelman, M., 2011. Hatchery manual for broodstock management and larval production of turbot (*Psetta maxima*). IMARES (Report / IMARES Wageningen UR C150/11). pp. 52.

Salvesen, I. and Vadstein, O., 1995. Surface disinfection of eggs from marine fish: evaluation of four chemicals. Aquaculture International 3, 155-171.

Salvesen, I., Øie, G. and Vadstein, O., 1997. Surface disinfection of Atlantic halibut and turbot eggs with glutaraldehyde: evaluation of concentrations and contact times. Aquacult. Int. 5, 249-258.

Seikai, T., 1985. Influence of feeding periods of brazilian Artemia during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 51, 521-527.

Seikai, T., Matsumoto, J., Shimokazi, M., Oikawa, A. and Akiyama, T., 1987. An association of melanophores appearing at metamorphosis as vehicles of asymmetric skin color formation with pigment anomalies developed under hatchery conditions in the japanese flounder, *Paralichthys olivaceous*. Pigment Cell Res., 1, 143-151.

Suquet M., M. H. Omnes, Y. Normant and C. Fauvel, 1992. Influence of photoperiod, frequency of stripping and presence of females on sperm output in turbot, *Scophthalmus maximus* L. Aquac. Fish

Manage., 23, 217-225.

Suquet M., R. Billard, J. Cosson, G. Dorange, L. Chauvaud, C. Mugnier and C. Fauvel, 1994. Sperm features in turbot (*Scophthalmus maximus*): a comparison with other freshwater and marine fish species. Aquat. Living Resour., 7, 283-294.

Üstündağ C., 2003. Seed production of turbot (*Psetta maxima*). Cfri Yunus Research Bulletin 3(4), 6-8.



저 자

김태진 박민우 전임기 하현주 서종표 김성연

국제 기준에 따른 터보 종자 생산 관리 매뉴얼

발행일 2019년 10월 1일

발행인 김 태 진

발행처 (주)한국수산식품안전연구소

부산시 해운대구 센텀동로99, 1502호 (재송동 벽산e-센텀클래스원)

전화 (051)783-0198 / 팩스(051)-505-0197