



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

붉바리(*Epinephelus akaara*) 종자생산을 위한
먹이생물 배양 개발 및 적정 먹이 탐색

제주대학교 산업대학원

증식학과

부 문 수

2019년 8월

붉바리(*Epinephelus akaara*) 종자생산을 위한

먹이생물 배양 개발 및 적정 먹이 탐색




지도교수 이 영 돈

부 문 수

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2019년 6월

부문수의 이학석사 학위논문을 인준함

심사위원장	<u>이 경 준</u>	
위 원	<u>여 인 규</u>	
위 원	<u>이 영 돈</u>	

제주대학교 산업대학원

2019년 6월

Development of feed organism culture
system and investigation of appropriate feeds
for the seed production of red spotted
grouper, *Epinephelus akaara*

Moon-Soo Boo

(supervised by professor Young-Don Lee)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

2019. 8

MARINE LIFE SCIENCE
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 어미 사육관리 및 수정란 생산	3
2. 붉바리 부화자어 사육	5
1) 부화자어 사육환경 조건	5
2) 부화자어 성장	6
3) 부화자어 구경 발달	6
4) 초기 부화자어 섭이율	6
3. 먹이생물 배양 및 영양강화	7
1) Rotifer 초고밀도(ultra high density culture) 배양	7
2) Rotifer 저밀도(low density culture) 배양	9
3) <i>Aretemia nauplii</i> 부화	10
4) <i>Aretemia</i> 영양강화	11
5) 영양제의 사용	12
4. 부화조 먹이생물 및 초기 사료 공급 시기	13
III. 결 과	14
1. 배양 방법에 따른 먹이생물의 변화	14
1) 초고밀도 배양 방법에 따른 rotifer 개체수 및 포란수별 개체수의 변화 ..	14
2) Rotifer 배양 방법에 따른 크기 비교	16
3) <i>Aretemia</i> 영양강화 전·후 크기 비교	18

2. 부화자어의 발달	19
1) 부화자어의 성장	19
2) 부화자어의 구경 발달	20
3) 부화자어의 먹이생물 섭이	21
3-1) 초기 부화자어 소화관 내 rotifer 관찰 및 섭이율 조사	21
3-2) 부화자어 소화관 내 먹이생물 조직학적 관찰	22
 IV. 고 찰	 23
 V. 요 약	 25
 VI. 참고 문헌	 26

List of figures

- Fig. 1. Culture of adult red spotted grouper by recirculating aquaculture system. A, schematic diagram of recirculating aquaculture system; B, rearing tank; C, adult red spotted grouper in rearing tank 4
- Fig. 2. Production of fertilized egg in red spotted grouper. A, broodstock ; B, hormone injection; C, spermiation; D, egg stripping; E, wet method of fertilization; F, fertilized egg 4
- Fig. 3. Schematic diagram of rearing tank by experimental control (A) and photograph of larval rearing tank (B) 5
- Fig. 4. Change of upper jaw length in larval red spotted grouper. A, UJL of 5 DAH; B, UJL of 11 DAH; C, UJL of 21 DAH. DAH, days after hatching; UJL, upper jaw length 6
- Fig. 5. Ultra-high-density rotifer culture. A, schematic diagram of high density rotifer culture; B, photograph of high density rotifer culture tank 8
- Fig. 6. Low density rotifer culture. A, schematic diagram of low density rotifer culture; B, photograph of low density rotifer culture tank 9
- Fig. 7. Schematic diagram (A) and photograph (B) of *Artemia* culture tank 10
- Fig. 8. Schematic diagram (A) and photograph (B) of enrichment *Artemia* culture tank 11
- Fig. 9. Feeding scheme during larval rearing of red spotted grouper *Epinephelus akaara* 13
- Fig. 10. Hourly change of total harvesting amount and egg-carried rotifers by

ultra high density culture	16
Fig. 11. Change of rotifer size by culture method. A, ultra high density rotifer culture; B, freshly-hatched rotifer; C, low density rotifer culture	16
Fig. 12. Size range of rotifer with different culture method	17
Fig. 13. Freshly-hatched Artemia (A) and Enriched Artemia after 30 hours after (B)	18
Fig. 14. Change of total length in larval of red spotted grouper	19
Fig. 15. Change of mouth size in larval of red spotted grouper. DAH, days after hatching; UJL, Upper jaw length	20
Fig. 16. Photomicrographs showing the presence of rotifer in larval guts on 5 DAH. A, live rotifer; B, fed rotifer of larva(scale bar: 200 μ m); C, mastax of rotifer in larval intestine (scale bar: 50 μ m). Arrows indicate mastax of rotifer. DAH, days after hatching	21
Fig. 17. Histological observation of rotifer mastax in larval intestine 8 DAH. Arrows indicate mastax of rotifer	22

List of Tables

Table 1. Hourly change of total harvesting amount and egg-carried rotifers by ultra high density culture	15
Table 2. Size range of rotifer with different culture method	17
Table 3. Change of total length in larval of red spotted grouper	19
Table 4. Change of mouth size in larval of red spotted grouper	20

Abstract

Owing to the fry of red spotted grouper has a small size of mouth, it needs a live food supply that is suitable for initial feeding during the seed production process. In this study, we made an incubation environment to miniaturize the rotifer used as an early live food, and the fry was raised by supplying the proper living food according to the size of the mouth.

In order to produce ultra-small rotifer, the incubation conditions were maintained under water temperature of $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, dissolved oxygen of 20 mg/l, PH 2.0 to 8.2, and salinity of 25 ppt and chlorella supplied $1.36\times 10^{13} \sim 2\times 10^{13}$ cell/mL with 100 million rotifers per day. Low-density rotifer incubation conditions maintained water temperature of $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, dissolved oxygen of 10 mg/L, PH 7.1 to 8.2, and salinity of 25 ppt and chlorella supplied $1.36\times 10^{13}\sim 2.42\times 10^{13}$ cell/mL with 100 million rotifers per day.

The fecundity of rotifer in ultra-density incubation was investigated every three hours. Rotifer with two eggs were observed 18 hours after and rotifer with three eggs after 24 hours. And after 30 hours incubation, rotifer with four eggs were observed. The population of rotifer with four eggs reached its highest level after 84 hours incubation.

The size of the rotifer produced in ultra-density incubation were $90.44 \mu\text{m}$ to $201.02 \mu\text{m}$, and the rotifer size in low density incubation were $130.39 \mu\text{m}$ to $216.02 \mu\text{m}$. The size of the mouth was $263.4\pm 3.7 \mu\text{m}$ on 5 day after hatching (DAH) and $406.7\pm 21 \mu\text{m}$ on 11 DAH. It was increased to $856.9\pm 136.6 \mu\text{m}$ on 21 DAH.

The result of supplying ultra-small rotifers to fry was 95% feed intake rate. The size of the fry grew to 1.95 ± 0.06 mm on 1 DAH, 2.40 ± 0.14 mm on 7 DAH, 3.52 ± 0.70 mm on 15 DAH and 4.99 ± 0.72 on 21 DAH when raised under water temperature conditions of 21°C to 24.5°C . Fry grow to about 2.12 ± 0.55 cm in size on 45 DAH, and its external morphology was alike to that of an adult fish.

I. 서 론

아열대성 어류인 바리과 어류는 우리나라뿐만 아니라 일본, 중국 그리고 동남아시아 지역에서 기호도가 높아 남획 등으로 인해 자원량이 급격하게 감소하고 있다(FAO). 전 세계 바리과 어류 162종 중 붉바리, 자바리 등을 포함한 20여종이 국제 자연 보전 연합(IUCN)에 의해 멸종위험이 있는 적색 리스트로 분류하고 있는 있으며(Morris et al. 2000; Thierry et al. 2008), 국내에서도 붉바리의 자원량이 감소하여 연안 자원관리 필요성이 부각되고 있다. 붉바리를 포함한 바리과 어류는 고가의 고급 어종으로 타 어종에 비해 수익성이 높아 종묘 및 양식에 대한 수요가 지속적으로 증가하고 있다. 특히, 붉바리는 중국 경제가 성장함에 따라 중국 등에서 고급 식재료 수요가 증가하여 홍콩 소비시장에서(140,000원/kg, honkong fish market, 2014) 높은 가격으로 거래 되어 주목 받고 있다.

붉바리의 양식 기술에 관한 국내 연구는 생식소 발달(hwang et al., 1988), 붉바리 성숙개시와 성 특성(Oh, 2017), 수정란 생산 기술 개발(Park, 2016)등을 볼 수 있다.

구경이 작은 붉바리(Kayano, 1988; Lee & Hur, 1997)와 바리과 어류의 종자생산을 위해 초기 먹이생물 연구에 집중되는 것은 초기 부화자어의 구경이 일반 어종에 비해 작아 S-type(*Brachionus -rotundiformis*) 로티퍼 보다 더 작은 크기의 rotifer를 필요로 하기 때문이다(Lim, 1993; Tamaru et al., 1995; Duray et al., 1997;).

이와 관련된 바리과의 초기 먹이생물로 70 μm 전후의 홍합유충, 굴 유생, 성게 알, 따게비 유충등에 관한 연구가 진행되어 왔다(Hussain & Higuchi, 1980, Kungvankij et al., 1986; Lim, 1993; Tamaru et al., 1995; Watanabe et al., 1996; Rimmer, 1998). 하지만 실험적 수준이 아닌 산업적으로 이용하기에는 애로사항이 많아 상용화에 걸림돌이 되고

있다.

이 연구는 붉바리 종자생산의 대량생산과 생산성 제고를 위하여 초기 부화자어의 첫 먹이 섭취 능력에 맞는 초기 먹이생물의 안정적인 생산시스템 운영과 자·치어의 성장에 따른 먹이생물(Rotifer, *Aretemia nauplii*)별 적정 공급시기를 탐색하여 건강한 종자생산 정보를 확보하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 어미 사육관리 및 수정란 생산

남해안에서 주낙으로 어획한 자연산 붉바리를 제주대학교 해양연구소 어미 사육관리동에서 순환여과시스템으로 사육관리 하였다(Fig. 1). 사육 관리는 콘크리트 사각수조(5.0×5.0×1.5 m, 유효수량 23 ton)에 붉바리 어미를 수용하여 수온 20℃~22℃, 용존산소 7~9 mg/L, pH 7.5~8.0을 유지하였다. 먹이는 상업용 시판 EP사료와 전갱이, 고등어, 오징어를 하루 2회 교차 공급하였다.

붉바리 알과 정자는 cannulation 방식을 이용해 성숙한 암컷과 수컷 개체를 선발 후, 체중 kg당 500 IU의 HCG (Human Chorionic Gonadotropin)를 주사하여 48시간 뒤에 복부 압박법을 통해 배란 및 배정을 유도하여 얻었고, 수정은 습식법을 통해 인공수정란을 생산하였다(Fig. 2). 수정 후 부상란을 분리 수거하여 제주대학교 해양과학연구소 종묘배양동 원형수조(Ø 4.0×1.2 m, 유효 수량 12 ton)에 100 mL (1,000개/mL, 20만 개체)를 입식 하였다.

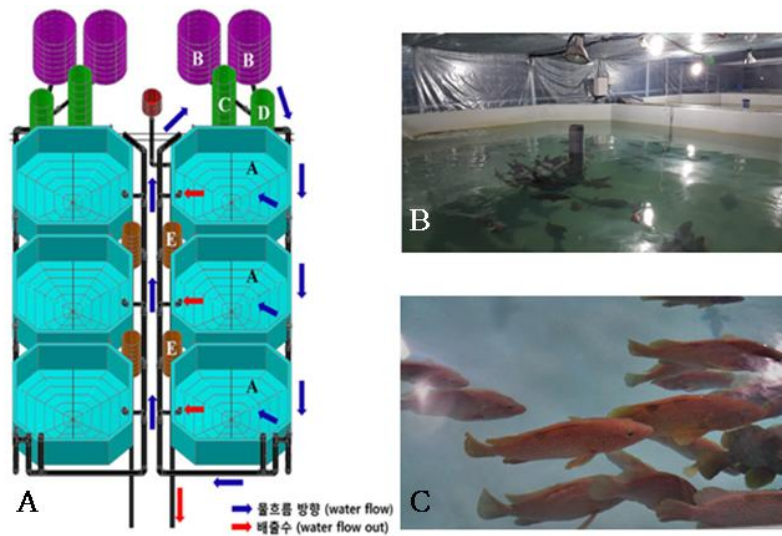


Fig. 1. Culture of adult red spotted grouper by recirculating aquaculture system. A, schematic diagram of recirculating aquaculture system; B, rearing tank; C, adult red spotted grouper in rearing tank.

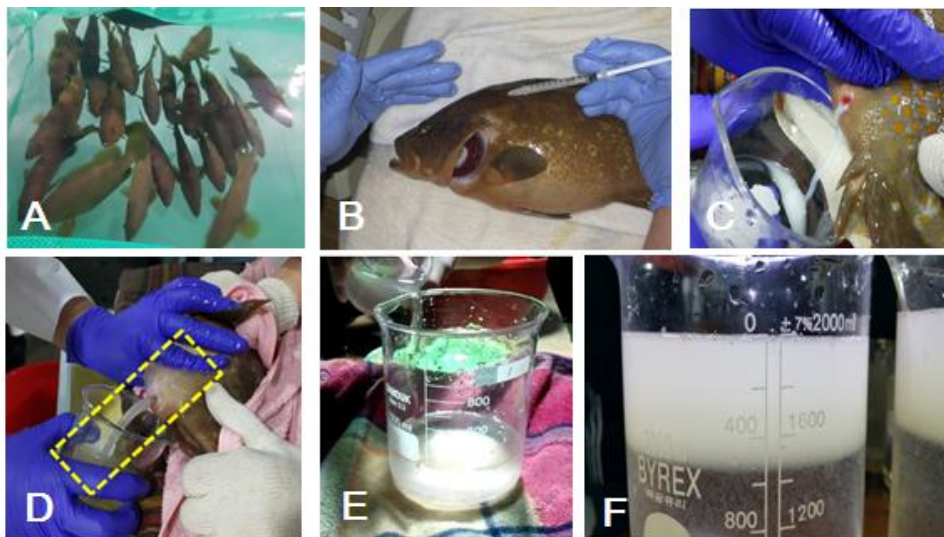


Fig. 2. Production of fertilized egg in red spotted grouper. A, broodstock; B, hormone injection; C, spermiation; D, egg stripping; E, wet method of fertilization; F, fertilized egg.

2. 붉바리 부화자어 사육

1) 부화자어 사육환경 조건

부화자어 사육환경 조건은 용존산소 6.5~8.0 mg/L, pH 7.0~8.2를 유지하였다. 수온은 $20.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 에서 수정란 입식 후 하루에 1°C 씩 증가시켜 $24.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. 광주기 조건은 부화 후 13일까지 24L로 유지하고 부화 후 14일부터는 12L로 조절하였다(Fig. 3).

부화자어 사육수조의 수질 안정화를 위해 생균제 *Rhodobacter Capsulata*, *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* 를 공급 하였다. 그리고 부화자어 사육수조에 공급 된 rotifer의 영양강화를 위하여 영양강화용 농축 Chlorella(1.5×10^{10} cell/mL)를 하루에 2회 부화자어 사육수조에 공급하였다.

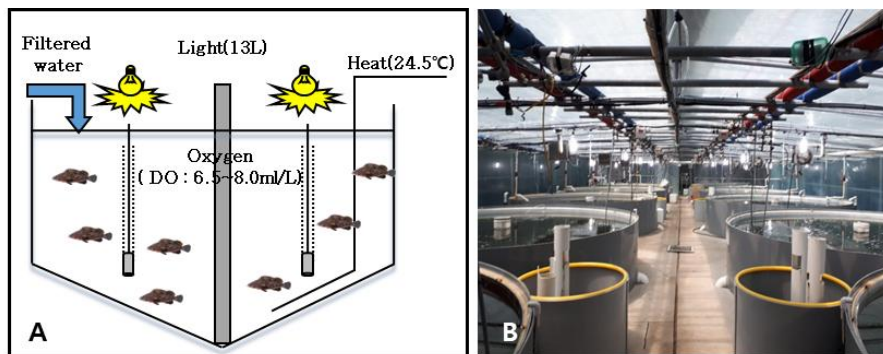


Fig. 3. Schematic diagram of rearing tank by experimental control (A) and photograph of larval rearing tank (B).

2) 부화자어 성장

붉바리 부화자어의 성장을 조사하기 위해 부화 후 1일부터 부화 후 45일까지 무작위로 10마리 내외의 부화자어를 채집하고 광학현미경과 실체현미경을 이용해 전장을 0.1 μm 까지 측정하였다.

3) 부화자어 구경 발달

먹이생물의 적합한 공급 시기를 탐색하기 위해 초기 먹이생물을 섭이하는 부화 후 5일부터 사료 붙임이 끝나는 부화 후 40일까지 5~10마리 내외의 자어를 채집하여 구경을 조사하였다. 구경(d)은 어체의 상악장 크기(upper jaw length, UJL)를 기준으로 설정한 Shirota (1970)의 방법을 이용해 $d = \sqrt{2} \times \text{UJL}$ 식으로 구하였다. 그리고 구경의 50%와 75% 크기를 계산하여 실질적인 예상 가능한 먹이생물의 섭이 크기를 계산하였다(Fig. 4).

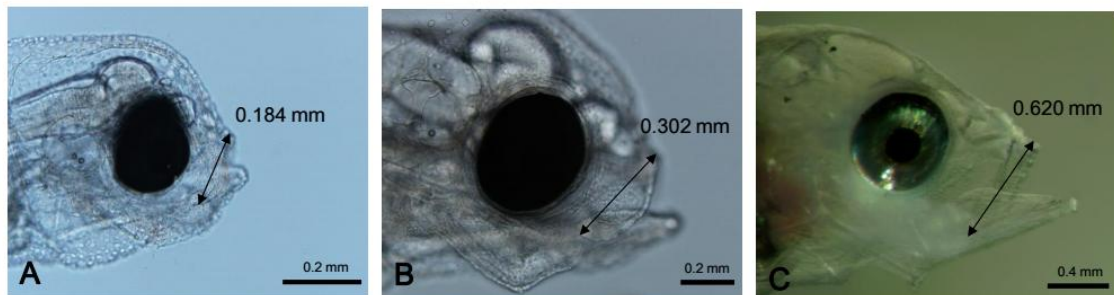


Fig. 4. Change of upper jaw length in larval red spotted grouper. A, UJL of 5 DAH; B, UJL of 11 DAH; C, UJL of 21 DAH. DAH, days after hatching; UJL, upper jaw length.

4) 초기 부화자어 섭이율

초기 먹이생물 섭이율을 조사하기 위하여 초고밀도로 배양한 로티퍼가 공급되는 시기인 부화 후 5일, 6일에 각각 20마리의 부화자어를 채집하였다. 채집한 부화자어는 슬라이드 글라스에 올려 놓고 커버글라

스로 압착 시킨 후 광학현미경을 이용해 로티퍼 치설 유무로 확인하였다.

부화 후 5일 이후부터 각 먹이생물 구간과 초기 사료 구간에 걸쳐 부화자어를 채집하여 Bouin's solution에 고정하고, parafin 절편법에 의해 조직표본을 제작하였다. 그리고 Hansen's hematoxylin과 0.5% eosin으로 비교 염색하여 소화관 내 먹이생물과 사료 섭이를 관찰하였다.

3. 먹이생물 배양 및 영양강화

1) Rotifer 초고밀도(ultra high density culture) 배양

Rotifer는 초고밀도 배양방법(Suantika et al., 2000)을 응용하여 배양하였다. 배양 조건은 아크릴 원형수조(Ø 0.5×0.7 m, 유효수량 100 L)에 rotifer를 수용하여 수온 28±0.5℃, 용존산소 30~50 mg/L 이상, pH 7.1~8.2, 염분 25 ppt를 유지하였다. Rotifer 배양 밀도는 배양수조 100 L에 40,000~70,000개체/ml를 유지하였고, 먹이는 농축 chlorella를 하루에 rotifer 1억 개체 당 $1.36 \times 10^{13} \sim 2.42 \times 10^{13}$ cell/mL을 정량 펌프로 일정하게 공급하였다(Fig. 5). Rotifer 계수는 배양 시작 후 3시간 간격으로 6일동안 1회 3반복으로 광학현미경하에서 측정하였고, 포란한 rotifer는 포란된 알의 수에 따라 2개 포란, 3개 포란, 4개 포란 rotifer를 구분하여 계수하였다. 부화자어에게 첫 공급되는 로티퍼 20ml를 채집하여 로티퍼의 크기를 광학현미경을 이용하여 0.1 μm 까지 크기를 계측하였다.

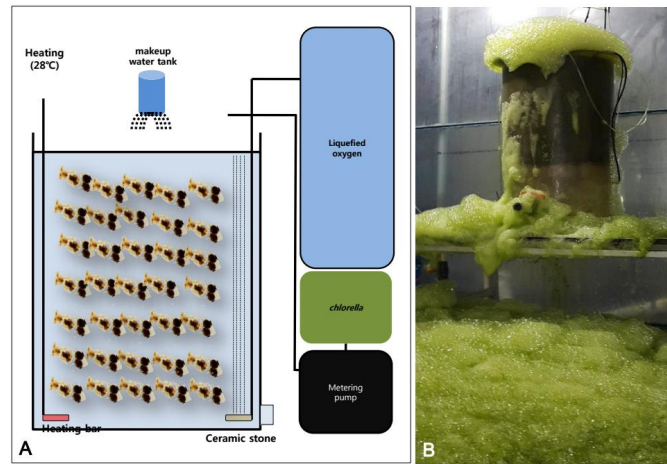


Fig. 5. Ultra-high-density rotifer culture. A, schematic diagram of high density rotifer culture; B, photograph of high density rotifer culture tank.

2) Rotifer 저밀도 (low density culture) 배양

Rotifer 저밀도 배양은 사각 아크릴수조(1.0 m×1.0 m×1.5 m, 유효수량 1.5 ton)에 수온 25±0.5℃, 용존산소 7~10 mg/L, pH 7.1~8.2, 염분 24 ppt를 유지하였다. Rotifer 밀도는 배양수조 1.5ton 수조에 1,000개체/mL를 유지하였고, 저밀도 배양수조에 먹이는 농축 chlorella를 하루에 rotifer 1억 개체 당 $1.36 \times 10^{13} \sim 2.42 \times 10^{13}$ cell/mL를 공급하였다(Fig. 6).

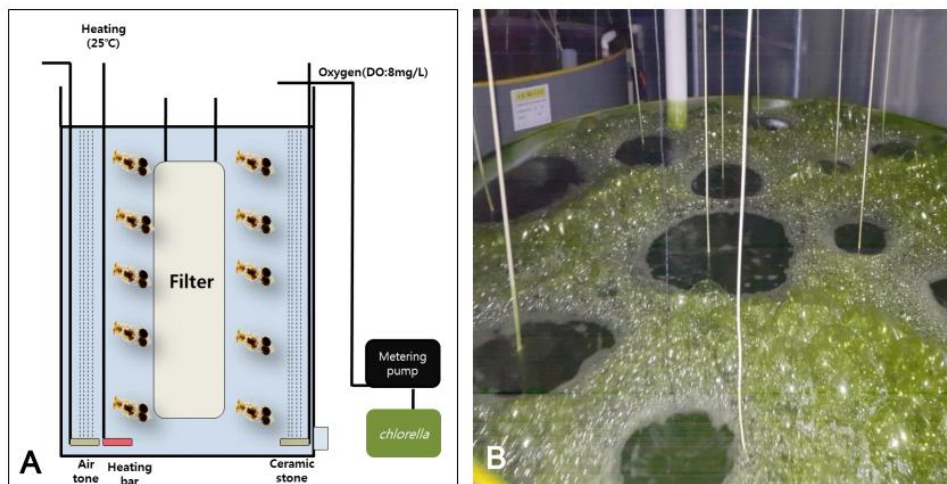


Fig. 6. Low density rotifer culture. A, schematic diagram of low density rotifer culture; B, photograph of low density rotifer culture tank.

3) *Artemia nauplii* 부화

*Artemia*는 시판 중인 미국산 제품(2.5×10^5 cell/g)을 사용하였다. 부화 조건은 수온 $27 \sim 30 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 용존산소 10 mg/L 이상, pH 7.5~8.2, 염분 25 ppt를 유지하였다. 에어레이션은 강하게 공급하여 *Artemia* 사란 발생을 저감시켰다. 배양수조(1.0 m×1.0 m×1.5 m, 유효수량 1.5 ton)에 *Artemia* 부화 밀도는 최대 200 cell/mL 이하로 하였다(Fig. 7). 갯 부화한 *Artemia*의 크기를 조사하기 위해 배양수조에서 무작위로 10마리를 채집하여 체장을 측정하였다.

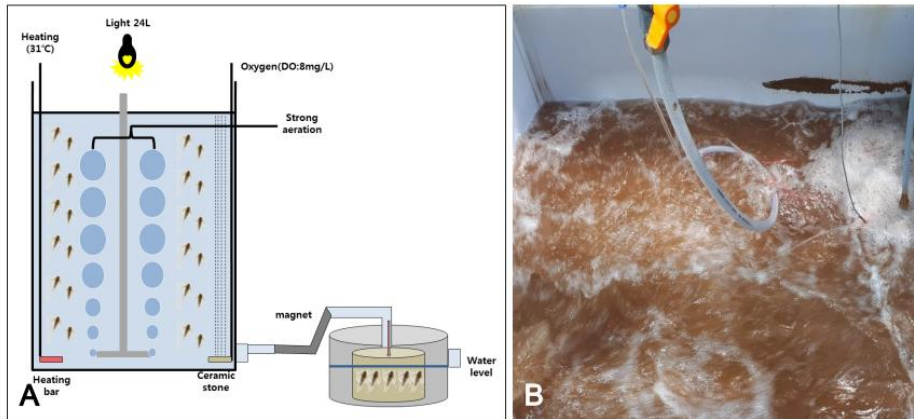


Fig. 7. Schematic diagram (A) and photograph (B) of artemia culture tank.

4) *Artemia* 영양강화

*Artemia*는 부화 후 배양수조(1.0 m×1.0 m×1.5 m, 유효수량 1.5 ton)에 최대 100 cell/ml이하로 입식 하였다. 영양강화 조건은 수온 23~25±0.5℃, 용존산소 6~8.0 mg/L 이상, pH 7.5~8.2, 염분 25 ppt를 유지하였다. *Artemia* 영양강화제는 영양강화용 농축 chlorella와 *Artemia* 전용 영양강화제, 비타민제, 미네랄제, Vit B12를 사용하였다(Fig. 8). 영양강화 후 *Artemia*의 크기를 조사하기 위해 부화 후 24시간이 지난 *Artemia*를 수거하여 무작위로 10개체의 전장을 측정하였다.

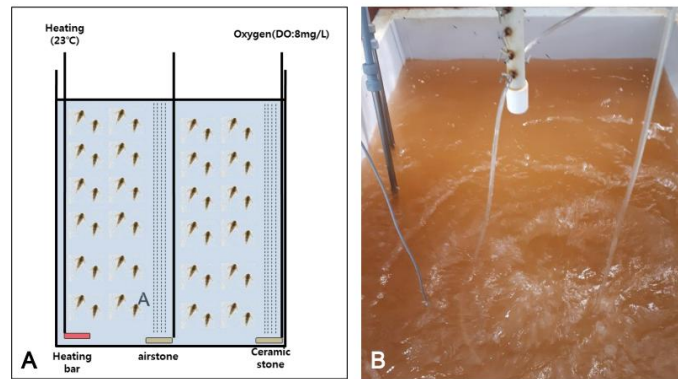


Fig. 8. Schematic diagram (A) and photograph (B) of enrichment *Artemia* culture tank.

5) 영양제의 사용

먹이생물의 영양강화는 영양강화제(Table 1) 제품을 사용하여 영양 강화수조에 직접 공급하였다. Rotifer 영양강화는 영양강화용 *chlorella*를 rotifer 1억 당 일일 공급량을 1.5×10^{12} cell/mL로 공급하였고, rotifer 전용 영양제는 50 ml/ton으로 공급하였다. 또한 종합비타민제, 미네랄제를 추가적으로 공급하였다. 알테미어 영양강화는 영양강화용 *chlorella*를 7.5×10^{11} cell/mL을 공급하였고, *Artemia* 전용 영양제는 50 ml/ton로 공급하였다. 그리고 종합비타민제, 미네랄제, 비타민 B12를 추가적으로 공급하였다. 부화자어 사육 수조에 공급된 먹이생물의 영양 유지를 위해 부가적으로 영양강화용 *chlorella*와 로티퍼 전용 영양제를 각각 하루 평균 1~2회 공급하였다.

4. 부화자어 먹이생물 및 초기 사료 공급 시기

부화 후 5일에 전체 부화자어의 개구가 완료되었고, 활발한 섭이활동이 관찰되었다. 부화 후 5일부터 8일까지 SS-type rotifer를 공급하였다. 부화 후 9일부터는 영양강화 된 S-type rotifer를 공급하였으며 부화 30일 경 공급을 중단하였다. 부화자어 사육수조에 rotifer 개체수는 10~20개체/mL를 유지 시켜 주었다. 부화 후 20일부터 갓 부화한 *Artemia*를 100개체/L 공급하였고, 부화자어 사육수조에 *Artemia* 개체수가 10개체/L 이하 일 때 재공급해 주었다. 부화 25일부터 영양강화 된 *Artemia*를 공급하여 사료 불임이 끝나는 50일 이후 공급을 중단하였다. 초기 사료는 부화 후 13일경부터 공급을 시작하여 부화 후 40일 전후부터 사료 불임을 시작하였다. 사료 공급은 사료 불임이 시작되는 시점에서 20분 간격으로 공급하였다(Fig. 9).

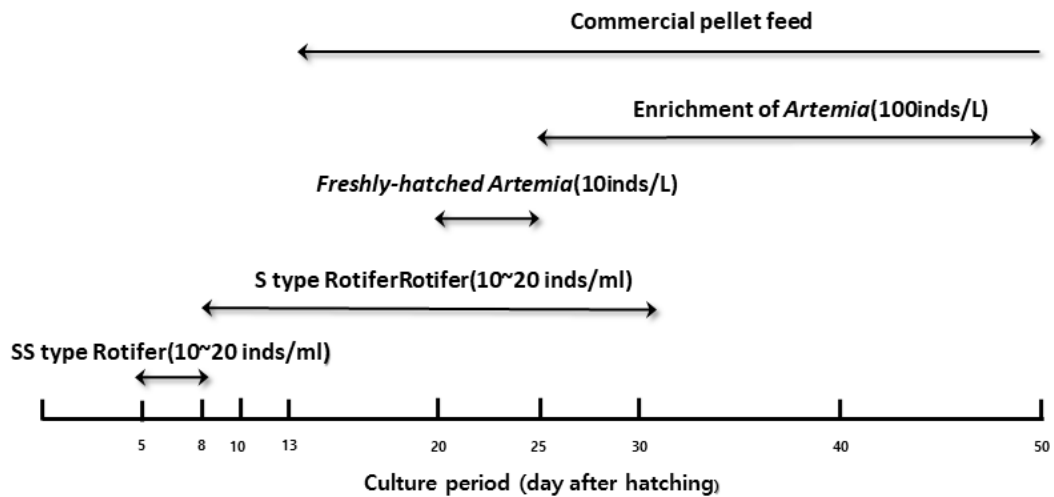


Fig. 9. Feeding scheme during larval rearing of red spotted grouper *Epinephelus akaara*.

Ⅲ. 결 과

1. 배양 방법에 따른 먹이생물의 변화

1) 초고밀도 배양 방법에 따른 rotifer 개체수 및 포란수별 개체수의 변화
원형 배양수조(100 L)에 초고밀도 배양을 시작하고 18시간 경과 후 포란수가 2개인 rotifer가 관찰되기 시작하였고, 24시간 경과 후 3개의 알을 포란한 rotifer가 관찰되었다. 30시간 경과 후 4개의 알을 포란한 rotifer가 관찰되었다. 42시간 경과 후 rotifer 밀도가 높아짐에 따라 63.4 억개체 (6.34×10^4 inds/mL)에서 34.5 억 (5.45×10^4 inds/mL)으로 rotifer 개체수를 조절하였다. 84시간 경과 후 2개의 알을 포란한 rotifer, 3개의 알을 포란한 rotifer, 4개 이상의 알을 포란한 rotifer 개체수가 가장 많은 높은 수치를 보였다. 이후 부화자어가 성장함에 따라 초소형 로티퍼의 필요성이 감소하여 먹이공급량을 감소시켰다. 이에 따라 rotifer 개체수는 증가하였으나 3개와 4개의 알을 포란한 rotifer 개체수는 점차 떨어지는 현상을 볼 수 있었다(Table 2, Fig. 10).

Table 1. Hourly change of total harvesting amount and egg-carried rotifers by ultra high density culture

Elapsed time (hour)	Total amount ($\times 10^7$ inds)	Density (inds/0.1 mL)		
		2 eggs-carried rotifers	3 eggs-carried rotifers	4 eggs-carried rotifers
0H	18.9	.	.	.
6H	23.9	.	.	.
12H	24.3	.	.	.
18H	34.8	20	.	.
24H	41.7	185	5	.
30H	46.3	276	71	1
36H	55.2	199	45	1
42H	63.4	263	51	4
48H	34.5	82	33	1
54H	36.1	80	12	1
60H	32.3	76	21	1
66H	38.1	172	45	6
72H	42.3	236	62	3
78H	37.5	157	63	4
84H	43.2	382	101	10
90H	45.1	239	75	6
96H	46.7	126	28	.
102H	52.0	217	68	1
108H	52.7	94	39	.
114H	52.5	53	38	.
120H	47.8	136	28	1

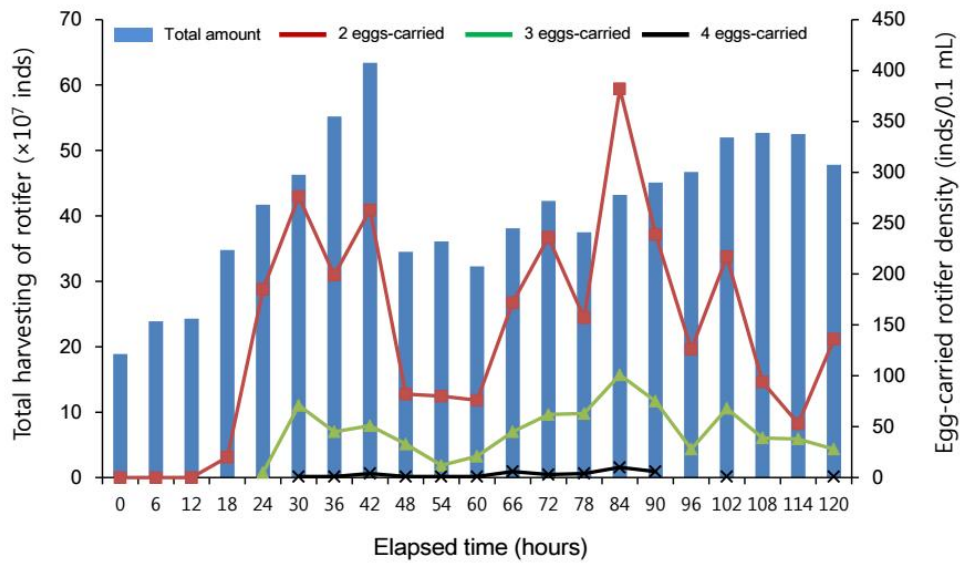


Fig. 10. Hourly change of total harvesting amount and egg-carried rotifers by ultra high density culture.

2) Rotifer 배양방법에 따른 크기 비교

초고밀도 배양방법에서 가장 작은 rotifer 크기는 $90.44 \mu\text{m}$ 가 관찰되었고, 가장 큰 rotifer는 $201.02 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다. 저밀도 배양에서 가장 작은 rotifer 크기는 $130.39 \mu\text{m}$ 이었고, 가장 큰 rotifer는 $216.02 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다(Fig. 11).

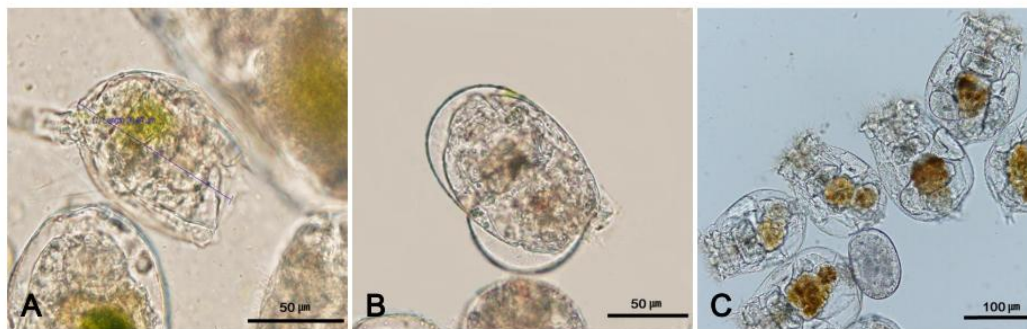


Fig. 11. Change of rotifer size by culture method. A, ultra high density rotifer culture; B, freshly-hatched rotifer; C, low density rotifer culture.

배양방법에 따른 rotifer 피갑장의 크기 분포 비율을 조사한 결과, 초고밀도 배양방법에서 피갑장 120 μm 이하의 rotifer는 전체에 18%를 차지했으나 저밀도 배양방법에서는 한 개체도 보이지 않았다. 그리고 초고밀도 배양방법에서 피갑장 120~150 μm 크기의 rotifer의 비율이 전체 43.15% 가장 높은 비율을 보였고, 저밀도 배양방법에서는 150~180 μm 크기의 rotifer가 전체의 57.89%로 조사 되었다(Table 3, Fig. 12).

Table 2. Size range of rotifer with different culture method

Culture method	<100 μm	100~120 μm	120~150 μm	150~180 μm	180~200 μm	>200 μm
Low density	.	.	7.3%	57.89%	29.47%	5.26%
Ultra high density	3.15%	16.84%	43.15%	26.31%	7.36%	3.15%

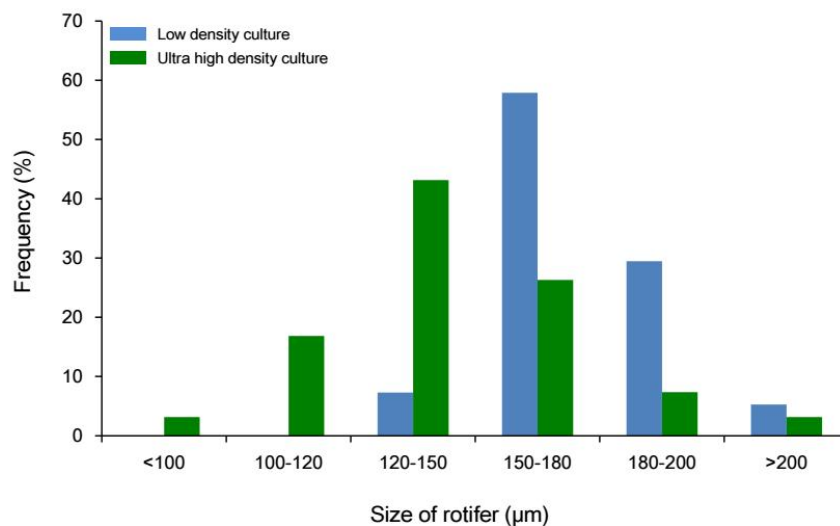


Fig. 12. Size range of rotifer with different culture method.

3) *Artemia* 영양강화 전·후 크기 비교

Artemia 부화 유생의 크기 변화를 측정하기 위해 부화 직후 *Artemia*와 부화 후 30시간이 지난 영양강화 된 *Artemia*를 약 100마리 채집하여 조사한 결과 부화 직후 *Artemia* 부화유생의 전장은 평균 488.17 μm , 부화 후 30시간 전·후 *Artemia* 부화유생 전장은 평균 785.53 μm 로 조사되었다(Fig. 13).

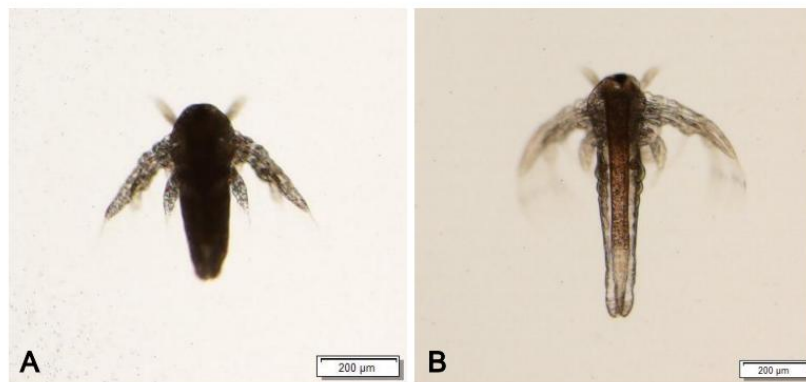


Fig. 13. Freshly-hatched *Artemia* (A) and Enriched *Artemia* after 30 hours after (B).

2. 부화자어의 발달

1) 부화자어의 성장

부화자어 전장은 부화 1일차 1.87~2.04 mm, 7일차 2.14~2.60 mm, 15일차 2.17~4.78 mm, 21일차 3.86~5.72 mm로 성장하였다. 부화 15일 전후 자어들부터는 개체 차이가 나타나기 시작하였다(Table 4 and Fig. 14).

Table 3. Change of total length in larval of red spotted grouper

Total length (mm)	1 DAH	7 DAH	15 DAH	21 DAH
Minimum size	1.87	2.14	2.17	3.86
Maximum size	2.04	2.60	4.78	5.72
Average size	1.95±0.06	2.40±.014	3.52±0.70	4.99±0.72

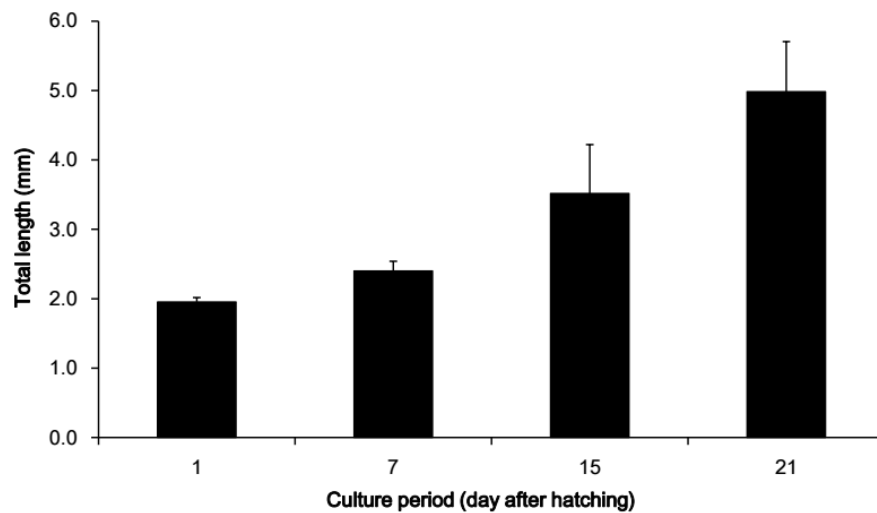


Fig. 14. Change of growth in larval of red spotted grouper.

2) 부화자어의 구경 발달

첫 먹이를 공급한 부화 5일째 부화자어의 상악장 크기는 $186.3 \pm 2.6 \mu\text{m}$ 로 측정되었고, Shirota (1970) 계산법으로 구경(D)을 계산하면 $263.4 \pm 3.7 \mu\text{m}$ 이었다. 0.5D와 0.75D는 각각 $131.7 \pm 1.8 \mu\text{m}$ 와 $197.6 \pm 2.8 \mu\text{m}$ 이었다. 부화 11일째 부화자어의 구경(D)은 $406.7 \pm 21.3 \mu\text{m}$, 0.5D와 0.75D는 각각 $203.3 \pm 10.6 \mu\text{m}$, $305.0 \pm 16.0 \mu\text{m}$ 로 커졌고, 부화 21일 부화자어의 구경(D)은 $856.9 \pm 136.3 \mu\text{m}$, 0.5D와 0.75D는 각각 $428.4 \pm 68.3 \mu\text{m}$, $642.7 \pm 102.4 \mu\text{m}$ 크기로 발달하였다(Table 5 and Fig. 15).

Table 4. Change of mouth size in larval of red spotted grouper

Days after hatching	UJL (μm)	D	0.5D	0.75D
5 DAH	186.3 ± 2.6	263.4 ± 3.7	131.7 ± 1.8	197.6 ± 2.8
11 DAH	287.6 ± 15.0	406.7 ± 21.3	203.3 ± 10.6	305.0 ± 16.0
21 DAH	606.0 ± 96.6	856.9 ± 136.6	428.4 ± 68.3	642.7 ± 102.4

UJL, Upper jaw length; D, mouth size.

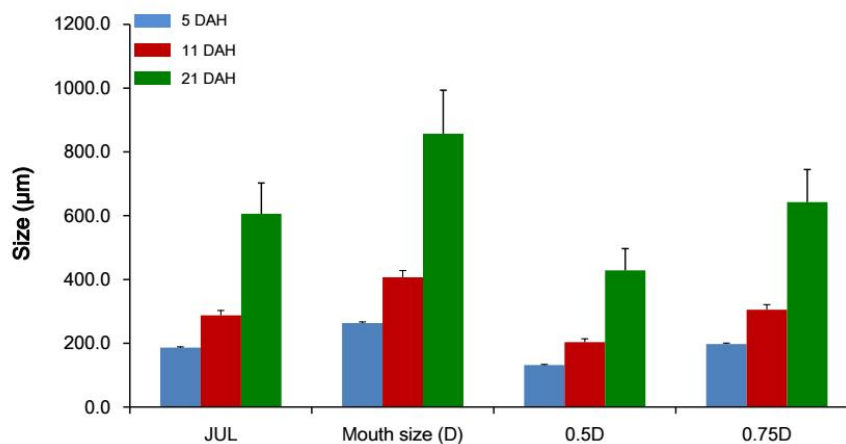


Fig. 15. Change of mouth size in larval of red spotted grouper. DAH, days after hatching; UJL, Upper jaw length.

3) 부화자어의 먹이생물 섭이

3-1) 초기 부화자어 소화관 내 rotifer 관찰 및 섭이율 조사

첫 먹이를 공급 후 부화 5일째 부화자어의 rotifer 섭이율을 조사한 결과, 초기 부화자어의 rotifer 섭이율은 95%로, 20마리 부화자어중 1마리를 제외한 19마리의 소화관에서 rotifer 치설이 관찰되었다. 부화 6일째 rotifer 섭이율도 95%로, 20마리 부화자어 중 19마리의 부화자어 소화관에서 rotifer 치설이 관찰되었다(Fig. 17).

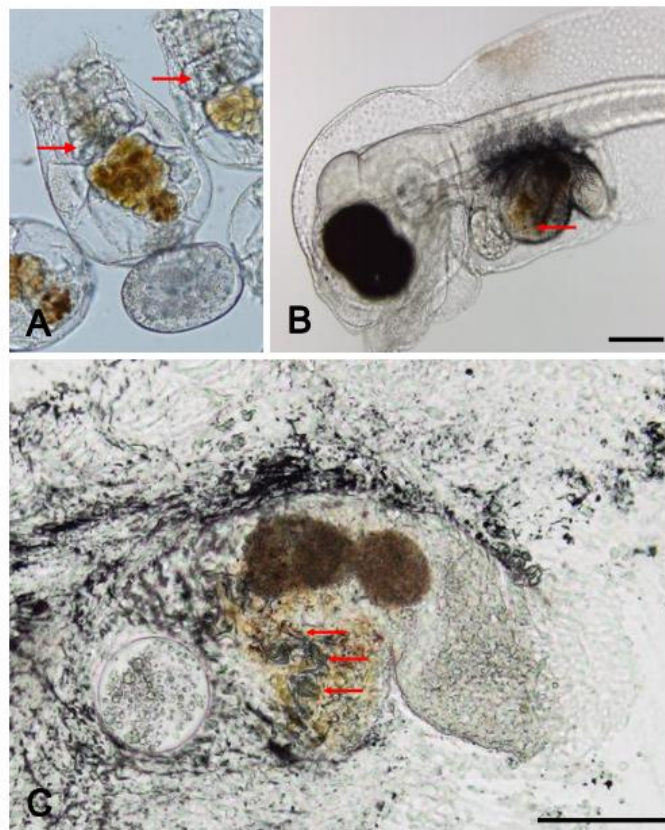


Fig. 16. Photomicrographs showing the presence of rotifer in larval guts on 5 DAH. A, live rotifer; B, fed rotifer of larva(scale bar: 200 μm); C, mastax of rotifer in larval intestine (scale bar: 50 μm). Arrows indicate mastax of rotifer. DAH, days after hatching.

3-2) 부화자어 소화관 내 먹이생물 조직학적 관찰

초소형 rotifer 공급 후 부화 8일째 부화자어의 소화관을 조직학적으로 관찰한 결과 소화관 내 rotifer를 섭취한 흔적인 rotifer 치설이 관찰되었다(Fig. 18).

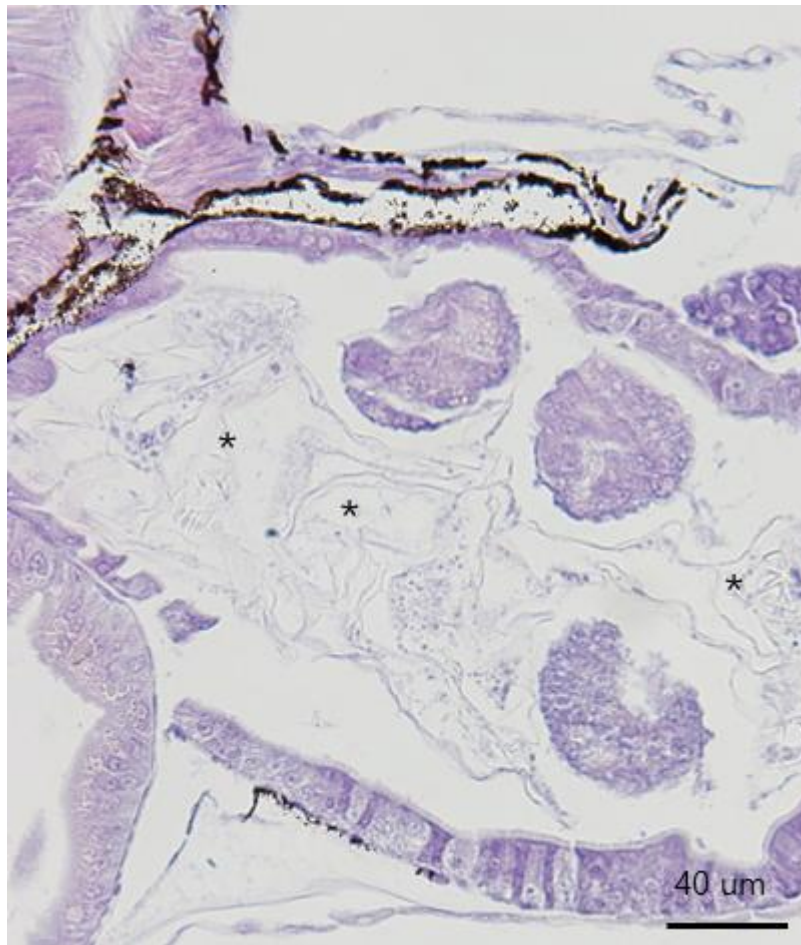


Fig. 17. Histological observation of rotifer mastax in larval intestine on 8 DAH. Arrows indicate mastax of rotifer. DAH, days after hatching.

IV. 고 찰

바리과 어류는 고부가가치 어종으로 1980년대부터 양식이 시작되었다. 특히 붉바리는 다른 바리과 어류에 비해 높은 가격으로 거래되어 부가가치가 높은 어종으로 주목받고 있다. 바리과 어류와 같은 고부가가치 대상종의 양식산업 발전을 위해서는 번식제어기술개발과 더불어 안정적인 종자생산이 이루어져야 한다. 붉바리 양식연구는 일본에서 어미관리와 초기 유생사육관리 등의 연구가 진행되었지만(Ukawa et al., 1966; Fukunaga et al., 1990; Okumura et al., 2002), 부화자어 개구 후 높은 폐사율로 인해 많은 어려움을 겪고 있다(Yamaoka et al., 2000).

바리과 어류를 포함한 해산어류의 종자생산에 있어 초기 먹이생물로는 대량 배양이 가능한 rotifer, *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*를 가장 많이 이용하고 있다(Lubzens, 1987; Lubzens et al., 1989; Hagiwara et al., 2001). 하지만 붉바리 등 바리과 어류의 초기 부화자어의 구경이 일반 양식대상 어종에 비해 작아, *B. plicatilis* (140~320 μm)와 *B. rotundiformis* (100~240 μm)를 정상적으로 섭취하는데 많은 문제점을 갖고 있어 인공종묘생산에 많은 어려움을 겪고 있다(Duray et al., 1997; Kohno et al., 1997; Suchar and Chigbu, 2006). 초기 부화자어의 구경 크기가 작은 양식대상종의 종자 생산을 위해 무척추동물의 난이나 유생, nauplius 단계의 요각류 유생 등의 연구가 진행되고 있으나(Schipp et al., 1999; Nagano et al., 2000; Toledo et al., 2002; Yoo and Hur, 2002), 초기 먹이 급이 시 소화불량 및 장애발생에 따른 폐사 유발, 대량생산의 어려움 등 많은 문제점을 갖고 있다(Payne and Rippingale, 2001; Lee et al., 2006). 이로 인해 인공종자생산이 어려운 고부가가치 대상 어종의 안정적 종자 생산을 위해 새로운 먹이 개발과 더불어 초소형 rotifer 대량생산 기술개발에 많은 연구가 진행되고 있다.

이 연구에서 안정적인 붉바리 종자생산을 위해 rotifer 소형화를 위한 배양환경을 조성하고, 부화자어 구경에 따른 적정 먹이생물 공급시기를 탐색하였다. 초고밀도 배양방법을 통해 rotifer를 생산한 결과, 120 μm 이하의 rotifer는 19.99%가 관찰되었고, 저밀도 배양에서는 한 개체도 관찰되지 않았다. 초고밀도 배양에서 생산된 초소형 rotifer를 부화 후 5일경 초기 부화자어에게 공급한 결과 95%의 섭이율을 보였다. 또한 저밀도 배양방법을 통해 생산된 rotifer는 크기가 120~180 μm 로 부화 후 8~9일경 부화자어에게 공급한 결과 100% 섭이율을 보였다.

영양성이 높고 일반적인 대량생산 방법으로 생산된 rotifer *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*는 피갑장 크기가 커서 구경이 작은 붉바리 초기 부화자어의 먹이로 부적합 하나, 이 연구개발을 통해 생산된 소형화 rotifer *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*는 붉바리 초기 부화자어의 먹이로 적합하였다. 향후 안정적인 붉바리의 양식 산업화를 위해 초기 부화자어의 적정 사육환경 조성과 안정적인 대량생산 기술개발이 필요하다고 판단된다.

V. 요약

붉바리는 구경이 작은 어류로 종자생산과정에서 초기 먹이 붙임에 적합한 크기의 먹이생물 공급이 필요하다. 이 연구에서는 rotifer 소형화를 위한 배양환경을 조성하고, 부화자어 구경에 따라 적정 먹이생물을 공급하여 사육하였다.

초소형 rotifer를 생산하기 위해 초고밀도 rotifer 배양조건은 수온 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 용존산소 20 mg/L, PH 2.0~8.2, 염분 25 ppt, 먹이생물로는 1일 rotifer 1억당 chlorella $1.36\times 10^{13}\sim 2.42\times 10^{13}$ cell/mL을 공급하였다.

저밀도 rotifer 배양방법은 수온 $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 용존산소 10 mg/L, PH 7.1~8.2, 염분 25 ppt, 먹이생물로는 1일 rotifer 1억당 chlorella $1.36\times 10^{13}\sim 2.42\times 10^{13}$ cell/mL을 공급하였다.

초고밀도 rotifer배양에서 rotifer의 포란수는 3시간 단위로 측정한 결과 18시간 후 2개의 알을 포란한 rotifer(2포란 rotifer), 24시간 3포란 rotifer, 30시간에 4포란 rotifer 개체가 측정 되었으며, 4포란 rotifer 개체수는 84시간 후에 최대치에 달하였다.

초고밀도 배양에서 생산한 rotifer 크기는 $90.44\sim 201.02\ \mu\text{m}$ 범위였다. 저밀도 배양에서는 $130.39\sim 216.02\ \mu\text{m}$ 범위였다. 구경 크기는 부화 후 5일차 $263.4\pm 3.7\ \mu\text{m}$, 11일차 $406.7\pm 21.3\ \mu\text{m}$, 21일차 $856.9\pm 136.6\ \mu\text{m}$ 로 증가하였다.

자어에게 초소형 rotifer를 공급한 결과 섭취율은 95% 였다.

자어의 크기는 사육 수온 $21\sim 24.5^{\circ}\text{C}$ 에서 부화 후 1일차 $1.95\pm 0.06\ \text{mm}$, 7일차 $2.40\pm 0.14\ \text{mm}$, 15일차 $3.52\pm 0.70\ \text{mm}$, 21일차 4.99 ± 0.72 로 성장하였다. 자어는 부화 후 45일 $2.12\pm 0.55\text{mm}$ 성장하고 성어의 형태와 유사한 체형을 가진다.

VI. 참고 문헌

- Duray, M.N., Estudillo, C.B., Alpasan, L.G., 1997. Larval rearing of the grouper *Epinephelus suillus* under laboratory conditions. *Aquaculture*, 150: 63-76.
- FAO. 1993. FAO species catalogue Vol. 16. Groupers of the world. pp. 1~10. Rome
- Fukunaga, K., Nogami, K., Yoshida, Y., Hamasaki, K., Maruyama, K., 1990. The latest developments and problems in seed production of the red spotted grouper at Tamano station of Japan Sea-Farming Association. *Saibai Giken* 19, 33-40.
- Hagiwara, A., Gallardo, W.G., Assavaaree, M. Kotani, T., de Araujo, A. B., 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture*, 200, 111-127.
- Hussain, N.A., Higuchi. M., 1980. Larval rearing and development of the brown spotted grouper, *Epinephelus tauvina* (Forskål). *Aquaculture* 19, 339-350.
- Hwang, S.I., Lee, Y.D. Song, C.B., Rho, S., 1988. Gonadal Development and the effects of 17 α -methyltestosterone. *J. Aqua. Korean*, 11(2): 173-182.
- Kayano, Y. 1988. DEvelopment of mouth parts and feeding in the laval and juvenile stages of red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Sabai. Giken.*, 3: 55-60.
- Kohno, H., Ordonio-Aguilar, R. S., Ohno, A. Taki, Y., 1997. Why is grouper larval rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early life stage larvae

- of the grouper, *Epinephelus coioides*, Ichthyol. Res., 44: 267–274.
- Kungvankij, P., Tiro, L.B., Pudadera, B.P., Potestas, I.O., 1986. Induced spawning and larval rearing of grouper (*Epinephelus salmoides*, Maxwell). In: J.L. Maclean, L.B. Dizon & L.V. Hosillos (eds). Proceedings of the First Asian Fisheries Forum, 663–666. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Lee, C.K. Hur, S.B., 1997. Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. J. of Aqua., 10: 473–483.
- Lim, L.C., 1993. Larviculture of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* F. and the brown-marbled grouper *E. fuscoguttatus* F. in Singapore. Journal of the World Aquaculture Society 24, 262–274.
- Lubzens, E., 1987. Rasing rotifers for use in aquaculture. Hydrobiologia, 147, 245–255.
- Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G., 1989. Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia, 186/187, 387–400.
- Okumura, S., Okamoto, K., Oomori, R., Nakazono, A., 2002. Spawning behavior and artificial fertilization in captive reared red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. Aquaculture 206, 165–173.
- Oh, S.B., Lee, C.H., Lee, Y.D., 2017. Induction of puberty in red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. by water temperature. J. Aquac. Res. Development 9: 1–7.
- Park, J.Y., J.K. Cho, M.H. Son, K.M. Kim, K.H. Han and J.M. Park,

2016. Artificial spawning behavior and development of eggs, larvae and juveniles of the red spotted grouper, *Epinephelus akaara* in Korea. Dev. Reprod., 20: 31-40.
- Rimmer, M.A., Williams, K.C., Phillips, M.J., 1998. Proceedings of the Grouper Aquaculture Workshop held in Bangkok, Thailand, 7-8 April 1998.
- Shirota, A., 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. Bull. Jpn. soc.sci. Fish., 36 : 353-368.
- Suantika, G., Dhert, P., Nurhudah, M., Sorgeloos, P., 2000. High-density production of the rotifer *Brachinous plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. Aquaculture Engineering, 21 : 201-214.
- Tamaru, C.S., Cholik J.C, F., Kuo, M., Fitzgerald, J.JR., 1995. Status of the culture of milkfish (*Chanos chanos*), striped mullet (*Mugil cephalus*) and grouper (*Epinephelus sp.*). Reviews in Fisheries Science 3(3), 249-273.
- Ukawa, M., Higuchi, M., Mito, S., 1966. Spawning habits and early life history of a serranid fish, *Epinephelus akaara* (TEMMINCK et SCHLEGEL). Jpn. J. Ichthyol. 13, 156-161.
- Watanabe, W.O., Ellis, S.C., Ellis, E.P., Lopez, V.G., Bass, P., Ginoza, J. Moriwake, A., 1996. Evaluation of first-feeding regimens for larval Nassau grouper *Epinephelus striatus* and preliminary pilot-scale culture through metamorphosis. Journal of the World Aquaculture Society 27, 323-331.
- Yamaoka, K., Nanbu, T., Miyagawa, M., Isshiki, T., Kusaka, A., 2000. Water surface tension-related deaths in prelarval red-spotted grouper. Aquaculture 189, 165-176.