

20029513

최 종
연구보고서

병어 인공종묘생산 기술개발

Technology development of the hatchery-based seed production
of Silver pomfret, *Pampus argenteus*

병어의 양식생물학적 연구

Biological studies on the aquaculture of pomfret, *Pampus argenteus*

자연산 병어의 채포 및 실내사육에 관한 연구

Studies on the capture and culture in laboratore from wild pomfret, *Pampus argenteus*

자연산 병어의 인공채란에 의한 종묘생산 기술개발 연구

Study on the technological development of artificial seed production of wild pomfret, *Pampus argenteus*

2008. 10.

주관연구기관 목포수산사무소

협동연구기관 목포대학교

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “병어 인공종묘생산 기술개발”에 관한 연구과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008년 10월 31일

주관연구기관명 : 목포수산사무소

협동연구기관명 : 목 포 대 학 교

총괄연구책임자 : 이 황 복

협동연구책임자 : 오 철 응

연 구 원

목포수산사무소 : 배 주 승, 이 강 화

윤 영 익, 김 동 철

김 군 철, 서 광 일

김 영 룡, 양 석 우

이 경 희, 김 학 배

목 포 대 학 교 : 정 인 주, 백 철 휘

최 흥 철

군 산 대 학 교 : 정 의 영, 곽 오 열

최 기 호

순천향대학교 : 방 인 철

서남대학교 : 김 정 우

전남해양바이오연구원 : 이 경 우

양 원 수 산 : 정 채 길

갈릴리수산 : 박 중 순

연구보조원 : 김 은 중, 박 중 선,

한 남 수

요 약 문

I. 제 목

병어 인공종묘생산 기술개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

병어 (*Pampus argenteus*)는 농어목 (Order Percida), 셋돔아목 (Suborder Stromateina), 병어과 (Family Pampidae)에 속하며, 난류 영향을 받는 수심 40~130m에 서식하는 외양성 어류로 우리나라 서·남해 연안 및 동중국해역에 주로 분포한다.

병어는 저칼로리 고단백질 식품으로서 맛이 좋아 국내에서 전어회 및 구이용으로 기호도가 매우 높아 병어에 대한 수요가 꾸준하게 증가하고 있다. 병어의 국내 어획량은 주어장인 동중국해에서 조업이 가능했던 1975년에는 24,191톤을 생산하였으나 2003년에 한·중 어업협정 체결로 조업수역이 축소되어 7,496톤으로 감소되었고, 지속적인 감소추세를 보이고 있다. 한편 수입은 1996년에 중국으로부터 29톤이 수입된 이래 국내소비 증가 및 유통기술의 발달로 수입량이 급격히 증가하여 2000년에 777톤, 2003년 1,409톤이 수입되었으며 앞으로 더욱 늘어날 전망이다.

이러한 추세를 감안, 목포수산사무소에서는 동중국해에서 우리나라 연안으로 회유하는 병어 계군의 양식 생물학적 연구와 더불어 인공종묘생산 기술 개발을 통하여 감소되고 있는 병어 자원의 증식 기반을 구축하고, 새로운 양식 대상 종으로 개발하여 어업인 소득 향상 기반 조성에 기여하고자 본 연구 개발 사업을 추진하게 되었다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 2005년 8월부터 2008년 10월까지 수행하였으며, 병어의 양식생물학적 기초연구 및 인공종묘생산 기술 개발에 그 목적을 두었다. 목표를 달성하기 위하여 기초 생리·생태 조사, 유전학적 분석, 병어 뇌에서 GnRH의 발현양상 조사, 병어 자연산 친어 채포 및 실내 사육기술, 자연산란 유도, 인공채란에 의한 종묘생산 등에 관한 일련의 연구를 수행함으로써 병어의 생태학적 특성의 이해와 새로운 양식대상 가능성에 대한 연구를 수행하였다.

IV. 연구개발 결과

1. 병어 채포 어장 환경

2005년 8월부터 2006년 7월까지 자연산 병어가 어획되는 전라남도 신안군 증도, 자은도, 임자도 인근 해역의 월별 표층 (수심 1~2m)수온을 측정한 결과, 2005년 8월에 25.0℃로 가장 높았고, 2006년 2월에 5.4℃로 가장 낮았으며, 계절적인 변동 폭이 매우 크게 나타났다. 월별 표층 염분농도를 측정한 결과 2006년 7월 29.2‰로 가장 낮았고, 2006년 1월에 34.2‰로 가장 높은 염분 분포를 보였으며, 평균염분은 32.9‰로 나타났다. 최저염분과 최대염분간의 차이는 약 5.0‰로 나타났으며, 월별 염분의 변동 폭은 매우 적은 것으로 나타났다. 월별 표층 용존산소량은 2005년 8월에 6.3mg/ℓ로 가장 낮았고, 2005년 12월에 8.8mg/ℓ로 가장 높았으며, 평균 7.9mg/ℓ로 나타났다. 월별 Chlorophyll-a의 양을 측정한 결과 2005년 12월과 2006년 1월에 1.9μg/ℓ로 가장 낮았고, 2006년 3월에 3.8μg/ℓ로 가장 많은 Chlorophyll-a 양을 나타내었으며, 평균 2.6μg/ℓ로 나타나, 월별 변동 폭은 크지 않은 것으로 조사되었다.

2. 생리 · 생태

가. 분포 및 회유

병어는 9~26℃ 수온 범위에 서식하는 난해성 어종으로 한국, 일본, 쿠웨이트연안으로부터 인도양, 남중국해의 아열대해역, 동중국해 중남부해역에 분포하고 있다. 회유경로는 12월부터 익년 2월까지 동중국해 중남부해역에서 월동하다가 4월 이후 수온이 상승하면서 5월부터 6월에 우리나라 서·남해 연안으로 북상 회유하여 산란을 하고 서식하다가 9월 이후 수온이 하강하면서 다시 동중국해 중남부해역으로 회유하여 깊은 수심에서 월동 한다. 우리나라 연안에서는 서해계군, 남해계군, 동중국해계군을 형성하고 있으며, 산란기인 6월경에 내해로 들어와서 산란한 후 가을에 외해로 나가며 유어도 체장 30mm가 되면 외해로 나간다.

나. 식성

위 내용물 분석에 사용된 병어는 가랑이 체장 9.3~28.5cm에 속하는 개체들로 총 156마리를 분석에 이용하여 체장 20cm 이하 크기군과 이상 크기군으로 분리하여 조사한 결과, 20cm 이하 크기군의 경우 가장 우점한 먹이 분류군은 Copepods로서 *Paracalanus*, *Calanus*, *Acartia* 등이 주 먹이생물로 조사되었으며, 그밖에 *Veligers*, *Polychaetes*, *Hydrozoa*, *Algae*

등이 소량 나타났다. 20cm 이상 크기군에서는 Decapoda, Chaetognatha, Hydrozoa, Fish 등이 주요 먹이생물로 조사되었으며, 그 외에 polychaeta, copepod, Amphipoda 등이 조사되었다.

다. 성비 및 체장조성

암수 성비의 구분은 생식소가 비교적 성숙에 이르는 시기인 2006년 5월에서 7월까지 포획된 개체를 이용하여 판단하였다. 이 기간 동안 총 278개체의 성비를 구분한 결과 암컷 개체는 181개체로 전체의 65.1%를 차지하였으며, 수컷 개체는 97개체로 34.9%의 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 체장 분석 결과 최대체장은 2006년 6월에 26.7cm 이었으며, 2006년 1월에 9.3cm의 최소체장 개체가 출현하였다. 월 평균 체장의 범위는 2006년 1월에 15.5cm로 작은 개체들이 많이 출현하였으며, 2006년 7월에 평균 19.9cm로 가장 큰 개체들이 어획되었다. 연급군은 수온이 상승하는 5월부터 어린개체들이 출현하여 뚜렷하게 2개의 코호트로 분리되는 양상을 나타냈으며, 산란에 참여한 개체들로 판단되는 연급군은 9월까지 지속되다가 사라지는 것으로 나타났다.

라. 성장, 사망 및 가입유형

총 732개체를 분석한 결과, 최대체장은 26.7cm였으며, 9.3cm의 최소체장 개체가 출현하였다. 체장자료를 체장계급 10mm 간격으로 나눈 후 ELEFAN 프로그램에서 추정된 계절적 변동요소를 고려한 von Bertalanffy 성장식의 매개변수를 추정하였다. 이론적인 최대체장 (L_{∞})과 성장계수(K)는 35.4cm, 0.45로 각각 추정되었고, 계절적인 성장의 변동 폭 (C)은 0.26으로서 온대해역에 서식하는 해양생물 중에서 비교적 계절적인 변동 폭이 크지 않은 것으로 나타났다. 성장이 가장 느린 시기인 동계점 (WP)은 0.67로 추정되었고, 성장 매개변수를 이용하고 체장계급에 대한 상대연령 (t)과 그 연령에 해당하는 개체수 (N)를 이용하여 추정된 회귀식은 $\ln(N) = -2.19 t + 6.48$ ($r^2=0.83$, $P<0.001$)로 추정되었다. 체장계급에 대한 개체수가 최고점에 이르는 점 이전의 자료는 가입에 도달하지 않은 것으로 판단되므로 계산에서 제외되었으며, 이론적인 최대 체장에 너무 근접한 자료 또한 제외하였다. 따라서 어획물 곡선법에 의해 추정된 순간전사망계수는 2.19 yr^{-1} 으로 추정되었다. ELEFAN 프로그램에 의해 추정된 가입유형은 한 개의 정규분포를 갖는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 병어가 일년 동안 한번의 가입이 일어난다는 것을 지적해 주고 있다.

마. 생식소중량지수 (Gonadosomatic index, GSI)의 월별 변화

병어 GSI의 월별 평균변화는 암컷의 경우, 1~3월까지 2.0 이하의 낮은 값을 보였고, 4월 (3.51)부터 급격히 증가하기 시작하여 6월에 최대값 (5.31)을 나타내었다. 그 후 7월까지 산란을 하여 GSI 값이 급격하게 감소되었으며, 9~12월까지 2.0 이하의 낮은 값을 나타냈다.

수컷의 경우도 GSI의 월별 평균변화를 보면, 1~3월까지 1.0 이하의 낮은 값을 보인 후 4월에 급격히 증가되어 최대값 (1.06)을 나타내었다. 그 후 5~8월까지 서서히 감소되었고, 9~12월까지 0.4 이하의 낮은 값을 나타냈다.

바. 간중량지수 (Hepatosomatic index, HSI)의 월별 변화

병어 HSI의 월별 평균변화는 암컷의 경우, 1~2월까지 평균 0.92~1.00의 낮은 값을 나타내었고, 3월 (1.10)부터 HSI 값이 증가하기 시작하여 6월에 최대값 (1.28)을 나타내었으며, 산란을 마친 8월에 HSI 값은 평균 1.18을 보인 후 10~12월까지 낮은 값을 나타냈다.

수컷의 경우도 암컷과 같이 1~2월까지 0.90 전후의 비교적 낮은 값을 나타내었으나 3월부터 서서히 증가하기 시작하여 7월에 최고값 (1.26)을 나타내었다. 방정을 마친 8월에 1.10으로 약간 감소되었으며, 그 후 9~12월까지 계속하여 낮은 값을 나타냈다.

사. 비만도 (Condition factor)의 월별 변화

비만도의 월별 변화는 암컷의 경우, 1~3월까지 비만도 값이 비교적 낮은 39.5~41.0의 범위를 보였으며, 그 후 수온이 점차 상승하는 4월 (42.7)에는 아주 높은 비만도 값을 나타내었고, 산란이 시작되는 5~8월까지 감소되었으며, 그 후 9월부터 다시 증가되기 시작하여 11~12월에는 아주 높은 값을 나타냈다.

수컷의 경우도 암컷의 경우와 같이, 1~3월까지 비만도 값은 36.5~37.6의 낮은 비만도 값을 나타내었고, 그 후 4월에 높은 값 (37.8)을 보인 후, 5~8월까지 서서히 감소되는 경향을 나타내었으며, 방정을 마친 후인 9월부터 서서히 다시 증가되기 시작하여 11~12월에는 아주 높은 값 (39.0)을 나타냈다.

아. 군성속도

암·수의 개체 크기별 군성속도(%)는 체장 12.0 cm 이하에서는 각각 18.8%와 22.2%를 나타내었고, 체장 12.1~15.0cm에서는 암·수 각각 55.6%와 56.3%를 나타내어 암·수 모두 군성속도 50% 이상을 나타내었다. 그리고 18.1cm 이상에서는 암·수 모두 군성속도 100%를 나타내었다. 따라서 병어의 생물학적 최소형 크기는 군성속도 50%인 체장 12.1~15.0cm로 판명되었다.

3. 생태학적 정보

병어는 체형이 측편형 어류로 생식소는 일반 경골어류와는 달리 복강 배후부의 척추골을 따라 만곡 되어 장의 일부를 둘러싸며 위치하고 있다. 그리고 암·수 모두 생식소는 좌우비상칭이나 거의 좌우상칭에 가깝다. 이들 생식소의 육안적 암·수 구별은 미성숙 개체일 때는 암·수 모두 백색을 띠고 있어 구별이 어려우나 성숙되면서 암컷은 황색, 수컷은 유백색을 띠어 식별이 용이하다.

생식세포 월별 변화는 수온이 낮아지기 시작하는 9월부터 생식소 내 난원세포가 난모세포로 발달하기 시작하여 1차 성장기를 나타내고, 10~12월에 2차 성장기를 보낸다. 다음해 4월에 난소는 본격적으로 성숙을 시작하여, 5월에 최종 성숙, 배란 및 산란 단계를 나타내었다. 이후 6월까지 병어는 왕성한 산란 시기에 머물러 있었으며, 7월에 이르러 산란 후 잔존 난모세포를 퇴화, 흡수시키고 8월에 이르러 휴지기에 접어들었다.

4. 유전학적 분석

병어와 덕대, 중국병어 각각 15마리씩 3개의 primer 조합으로 AFLP를 수행한 결과, (E/ATG-M/CCC primer 조합과 E/AGC-M/CAT primer) 중국병어 집단이 병어 집단과 덕대 집단과 상이한 DNA band pattern을 보였고, 병어 집단과 덕대 집단은 집단 내의 다양성이 높게 나타났다.

평균 유전 다양성 (GD)에 있어서는 병어 집단 0.2573, 덕대 집단 0.3058, 중국병어 집단이 0.0444로 중국병어 집단의 다양성이 낮았다.

5. GnRH 동정

생식주기에 따른 성체 병어 뇌에서 salmon 생식소자극호르몬 분비호르몬 (sGnRH)의 분포 및 발현정도를 면역조직화학법으로 동정하였다. 번식기에 sGnRH-ir 양성 신경세포체는 배쪽 중뇌와 시각교차 전·후방에서 분포하였다. 양성 신경섬유는 후각망울에서부터 대뇌 간뇌 등에서 다양하게 분포하였다. 그러나 중뇌와 후뇌에서는 동정되지 않았으며, 신경섬유도 분포하지 않았다. 생식관련 뚜렷한 sGnRH-ir 신경섬유는 뇌하수체를 축으로 하여 전방부위에 주로 발견되었으나, 뇌의 광범위 지역에서 발견된 대부분의 sGnRH-ir 신경섬유들은 다발을 형성하지는 않았다. 신경세포체로부터 뇌하수체로 뻗어있는 sGnRH-ir 양성 신경섬유는 다발을 형성하여 가장 뚜렷하게 관찰되었다.

sGnRH-ir 번식기 전에 증가하다 번식기에 가장 많이 그리고 가장 넓은 지역에서 분포하였고, 번식기가 끝난 시기에는 한정된 지역에서 가장 약하게 동정 되었다. 따라서 sGnRH는 병어 뇌에서 생식조절자로서 작용할 것으로 판단된다.

6. 자연산 병어 채포 및 실내사육

가. 채포

병어 치어 채포는 영광해역에서 건간망(개막이) 어법을 이용하였는데, 작업에 어려움이 있었으나 다른 포획 방식에 비하여 비늘 등 어체의 손상은 적었다. 이때 수온은 16.5~18.9℃, 염분은 31.5~32.4‰이었다. 조석간만의 차를 이용하여 병어를 채포하는 건간망 어법은 비교적 수심이 낮은 지역에 그물을 설치하기 때문에 물때와 시간의 제약을 많이 받는다. 2005년에는 10월부터 11월까지 3회에 걸쳐 497마리를 채포하여 사육지로 운반하였다. 포획된 병어의 크기는 최대 전장 13.2cm, 최소 전장 8.6cm의 크기였으며, 평균전장은 10.5cm, 평균 체중은 19.0g으로 나타났다.

병어 친어 채포는 2007년과 2008년 산란기인 5~6월에 고정걸그물, 소형안강망 등에서 최대 전장 32.4cm, 체중 610.2g, 최소 전장 22.8cm, 체중 161g 크기의 성숙한 자연산 친어 111마리를 포획하여 활어차를 이용하여 시험 양식장으로 운반하였다.

나. 운반 및 수송

건간망에서 포획한 병어 치어 운반은 비닐 봉투에 깨끗한 바닷물을 채우고 치어를 넣어 산소 포장한 다음 인근 선착장으로 운반하였고, 선착장에서 활어차의 수조에 치어를 넣고 액화산소를 공급하면서 시험양식장까지 운반하였다. 운반과정에서 274마리가 폐사되었다.

고정걸그물, 소형안강망 등에서 포획한 친어는 선박의 물칸에 수용하여 인근의 선착장까지 운반하였고, 시험양식장까지는 활어차량의 수조에 친어를 넣고, 액화산소를 공급하면서 운반하였다. 차량으로 운반하는 과정에서 어체 손상으로 인한 세균 감염을 예방하기 위하여 OTC 100 ppm으로 약욕을 하였으며, 채포에서 시험양식장 입식까지 수송 시간을 최소화하였다.

다. 실내사육

건간망 어장에서 채포하여 수송된 병어 223마리를 직경 6m 원형 PP 수조에 수용하였으며, 사육수의 수온은 16.8~19.1℃로 채포해역 보다 0.2~0.3℃ 높게 나타났고, 사육 수조의 염분은 32.4‰이었다. 수조에 수용 후 빠른 안정을 위해 치어 수조는 차광막을 이용하여 조도를 낮게 유지하였다. 시험 양식장의 사육 수조에 수용된 치어는 24시간 후에 안정을 찾고 무리를 지어 유영하기 시작하였다. 채포, 수송 과정에서 어체 손상으로 인한 세균 감염을 예방하기 위하여 실내 수용 후에도 2일 동안 OTC 150 ppm으로 2시간씩 약욕을 하였다. 수조 내에서 안정된 치어 관리를 위해서 매일 2~3회씩 신선한 생새우 및 곤쟁이를 공급하여 먹이불임을 하였다. 생사료의 먹이 불임은 입식 후 72시간 이내에 완료 되었고, 입식 30일 이후부터 배합사료 먹이 불임을 시작하였으며, 배합사료를 먼저 급이하고 난 후 생사료를 공급한 결과 먹이불임이 성공적으로 이루어 졌다. 이때 병어의 주둥이는 하악이 상악보다 작기 때문에 부상사료 보다 섭식에 편리한 침강사료를 선호하는 경향을 보였다. 사육 수온이 12.0℃ 이하로 떨어지는 11월 하순부터는 보일러를 이용하여 가온하였으며, 봄철 수온 상승기까지 12.0~16.4℃로 관리하였다. 또한 액화산소를 공급하여 DO 7.5~8.5mg/l 를 유지하였다.

소형 안강망 등에서 채포한 친어는 직경 2m 원형 FRP 수조에 수용하였으며, 건간망 어장에서 채포한 병어 치어 관리와 동일한 방법으로 관리하였다. 사육 수조에 냉각기를 설치하여 수온을 18.5~18.9℃로 유지 하였고, 액화산소를 공급하여 DO 8.0~9.5mg/l 로 유지 하면서 관리하였다.

라. 성장도 조사

실내 수조에 입식 당시 병어의 평균 전장은 10.4±1.3cm, 평균 체중은 18.2±5.8g이었다. 실내 사육 과정에서 성장도를 분기별로 측정하였으며, 시료는 실내 사육중인 병어 20마리를 무작위로 채포하여 측정하였다. 2006년 3월에 측정 결과 평균 전장은 11.2±1.1cm, 평균 체중은 21.8±6.0g으로 나타났다. 2006년 9월 측정결과 평균 전장은 15.0±2.0cm, 평균 체중은 51.9±19.4g으로 나타나서, 2006년 6월 조사 결과에 비하여 높은 성장률을 보였다. 일반적으로 겨울철 수온이 낮은 시기에는 성장도가 낮은 경향을 보였고, 병어의 성장에 적합한 수온이 유지되는 봄, 가을에는 높게 나타났다.

마. 산란 유도 시험

건간망 어장에서 2005년 10~11월에 채포하여 육상수조에서 사육해온 93마리(전장

15.5~26.0cm, 체중 61~231g)중에 2007년 6월까지 육안 관찰 시 배가 부른 상태의 완전성숙단계에 이르는 개체는 관찰되지 않았고, 자연산란도 이루어 지지 않았다.

소형안강망 어장에서 포획된 친어 가운데 활력이 좋고 성숙한 개체를 선별하여 저농도의 수산용 마취제(AQUIAS)로 진정시키고, LHRH-a + HCG 또는 HCG를 주사 한 후 선박 및 활어차를 이용하여 시험양식장으로 운반, 실내 수조에 수용하여 산란을 유도하였다. 호르몬 처리 결과 암컷은 반응을 보이며 생식소의 성숙이 급격하게 이루어졌으나 수컷은 뚜렷한 반응을 보이지 않았고, 암수 모두 36시간 이내에 전량 폐사하여 자연산란은 이루어지지 않았다.

바. 폐사 및 생존율

건간망 어장에서 2005년 10~11월 포획하여 수송 및 초기 사육관리 3일 동안 1차 포획한 병어에서 115마리, 2차 포획한 병어에서 92마리, 3차 포획한 병어에서 67마리가 폐사 되었다. 총 폐사량은 274마리로 폐사율은 55.2%로 나타났고, 223마리가 생존하여 생존율은 44.8%를 나타냈다. 이후 2007년 7월까지 사육한 병어의 폐사발생은 223마리 중에서 130마리가 폐사하여 93마리가 생존하였으며, 사육관리 중인 병어에서 2007. 7. 12~2007. 8. 12일 사이에 *Amyloodinium* sp.가 기생되었다. 이를 구제하기 위하여 포르말린 80~100 ppm으로 약욕한 결과 *Amyloodinium* sp.는 구제되었으나, 전장 15cm 전후의 병어에서 폐사가 많았다. *Amyloodinium* sp.의 기생으로 체력이 약화된 병어가 8월 상순 들어 고수온이 지속되어 사육수온이 상승하면서 활력을 회복하지 못하고 전량 폐사 되었다.

2008년 5~6월 최대 전장 32.4cm (체중 610.2g), 최소 전장 22.8cm (체중 161g)크기의 성숙한 자연산 친어 111마리를 소형 안강망에서 포획하여 시험 배양장에 입식한 결과, 입식 12시간 경과 후 41마리 (36.9%), 24시간 경과 후 60마리 (54.1%) 36시간 경과 후 10마리 (9.0%)가 폐사하여, 전량 폐사하였다.

7. 종묘생산

가. 시험 양식장 환경

2005~2007년까지는 무안군 소재 시험 배양장에서, 건간망어장에서 채포한 병어 및 고정걸그물, 유자망 등에서 인공 체란하여 부화된 자·치어의 실내사육 시험을 수행하였다. 그러나 2007년 여름철 기생충 감염 및 고수온 등으로 사육관리 중인 친어와 종묘가 대량 폐사됨에 따라 2008년에 시험장소를 기생충 감염도, 수질환경, 친어 및 수정란 운반

등 시험사업 여건이 보다 좋은 것으로 판단되는 신안군 지도읍으로 변경하였다. 2008년 6~8월까지 시험 양식장의 수온을 측정한 결과 19.7~28.8℃로 종전에 시험사업을 수행하던 양식장 보다 3.2℃ 낮았고, 염분농도는 32‰로 다소 높게 나타났다.

나. 인공채란을 통한 수정란 확보

인공채란은 3년 동안 총 21회 실시하여 2,767,500립을 채란하였으며, 이중 수정란 1,125,000립을 확보하여 수정률은 40.65%를 나타냈다. 수정 방법은 건식법, 등조법을 사용하였다.

2006년에는 고정 걸그물, 유자망에서 친어를 포획하여 인공채란을 4회 실시하였으며, 건식법으로 수정한 결과 수정률이 52.1%였다. 2007년에는 인공채란을 7회 실시하여 건식법으로 수정한 결과 수정률이 23.9%를 나타내었다. 2008년에는 육지와 인접한 해역에 설치된 소형안강망에서 친어를 확보하여 인공채란을 10회 실시하였으며, 등조법으로 수정한 결과 수정률이 51.2%를 나타냈다.

수정방법에 따른 수정률을 비교해 보면, 건식법에 의한 수정률은 10.0~71.4%, 평균 수정률은 33.2%를 나타냈고, 등조법에 의한 수정률은 32.4~69.7%, 평균 수정률은 51.2%를 나타내어 등조액 사용에 의한 수정률이 건식법에 의한 수정률보다 비교적 높고 안정적인 것으로 나타났다.

다. 난 발생

병어의 수정란은 원형으로 수정 후 4시간 경과 후 수정란의 평균 크기는 1.54 ± 0.02 mm(Mean±SD)이었으며, 1개의 유구를 가지고 있다. 난 발생과정은 수온 20.0℃에서 관찰하였다. 수정된 난은 위란강을 형성하고 수정 10~20분에 배반을 형성하며, 5시간에 2~64 세포기, 6시간 40분에 상실기, 8시간 25분에 포배기, 12시간 57분에 낭배기, 20시간 18분에 kupffer's vesicle 형성, 35시간 25분에 lens 형성, 39시간 40분에 기관형성기, 42시간 10분에 부화를 시작하여 44시간 30분에 부화가 완료되었다.

라. 부화율

인공채란으로 3년간 21회 수집한 채란량은 276만립으로 이중 부상란수는 112만립, 수정률은 평균 40.7%를 나타냈고, 부화율은 평균 42.0%를 보였다. 연도별 부화율을 살펴보면 2006년에는 44.9%, 2007년에는 54.1%, 2008년에는 35.2%를 나타냈다.

수온에 따른 병어 수정란의 부화율 실험결과 20℃ 시험구가 $65.0 \pm 6.6\%$ 로 가장 높았으며,

23℃ 시험구가 52.0±2.6%, 16℃ 시험구가 50.0±5.0%, 26℃ 시험구가 21.7±14.2% 순으로 나타났다.

병어 수정란의 부화 최적 염분농도를 알아보기 위한 염분 농도별 부화율 실험 결과 35‰ 시험구가 47.0±4.6%로 가장 높았으며, 30‰ 시험구가 27.0±5.6%, 40‰ 시험구가 18.0±5.0%, 25‰ 시험구가 9.0±4.0% 순으로 나타났다.

마. 자·치어의 먹이 공급

해산 클로렐라 (*Chlorella* sp.)는 조도유지, Rotifer의 먹이유지를 위해서 수정란 부화 완료 후부터 10~20만cell/ml를 유지하면서 25일까지 공급하였다.

로티퍼 (Rotifer)는 난황흡수가 완료된 부화 후 일령 2일부터 10일까지 10~15개체/ml를 공급하였고, 이 후 일령 25일까지는 8~10개체/ml를 공급하였다.

알테미아 (*Artemia nauplii*)는 부화 후 일령 20일부터 25일까지는 *Artemia nauplii* 3~5개체/ml에 Rotifer 8~10개체/ml를 혼합 급이 하였고, 26일부터 35일까지는 *Artemia nauplii* 만 단독으로 공급하였다.

배합사료는 수정란이 부화된 후 일령 18일부터 250 μ m 크기를 공급하였고, 일령 25일부터 300~400 μ m크기를 1~2시간 간격으로 급이 하였으며, 부화 50일 이후에는 1mm크기의 배합사료를 1일 5~6회 급이 하였고, 성장 단계별로 사료입자의 크기를 조절하여 공급하였다.

마. 감모 및 폐사

수정란에서 부화된 부화자어의 감모율은 2006년에는 일령 2일에 8.8%, 10일 35.1%, 30일 44.7%, 90일 10.1%로 최종 생존율은 1.3%를 나타냈고, 2007년에는 일령 2일에 10.6%, 10일 41.1%, 30일 48.3%로 나타났으며, 일령 26일째 해산 *Amyloodinium* sp. 가 기생되어 발병 후 3일 만에 전량 폐사되었다. 2008년에는 일령 2일에 10.2%, 10일 42.3%, 30일 31.4%, 90일 8.8%로 나타났으며, 최종 생존율은 7.3%를 나타냈다. 수정란에서 부화자어로 발생하는 단계에서 감모가 발생되고, 자어단계에서 난황흡수 후 첫 먹이를 급이한 후 10일까지의 단계에서 대량감모가 발생하였으며, 일령 30일째에는 *Artemia nauplii*로 먹이를 전환한 후 2차 대량감모가 발생하였다. 대량 감모 이후에도 성장하면서 지속적으로 감모가 발생되었다.

사. 생존율

인공 채란하여 수정란으로부터 부화된 부화자어가 체장 3.0cm까지 생존율은 2006년에는 부화자어 125,200마리 가운데 1,600마리가 생존하여 1.3%의 생존율을 나타냈고, 2007

년에는 부화자어 130,400마리 가운데 0%였으며, 2008년에는 부화자어 205,800마리 가운데 15,000마리가 생존하여 7.3%의 생존율을 나타냈다.

염분농도별 치어의 생존율 조사결과 생존율은 염분농도가 높을수록 높게 나타났다. 35‰ 시험구의 생존율이 93.3±5.8%로 가장 높았고 30‰ 시험구 90.0±10.0%, 25‰ 시험구 60.0±10.0%, 20‰ 시험구 50.0±10.0%, 10‰ 시험구 36.7±15.3% 순으로 나타났다.

사육밀도에 따른 생존율 실험결과 생존율은 20마리 83.3±7.6%, 25마리 73.3±10.1%, 15마리 62.2±10.2%, 5마리 60±20.0%, 10마리 53.3±15.3%순으로 나타났으며, 10ℓ 수조에 20마리를 수용 했을 때 생존율이 가장 높은 것으로 나타났다.

아. 자·치어 성장 및 특성

병어 자·치어의 사육기간 동안 배양수조의 환경조건은 수온 19.7~28.8℃, DO 7.5~9.8mg/ℓ, pH 7.8~9.1, 염분 32~35‰, NH₃ 0.18~0.84mg/ℓ, NO₃ 0.03~0.19mg/ℓ, NO₂ 0.012~0.082mg/ℓ, PO₄ 0.26~0.71mg/ℓ 을 나타내었으며, 수정란에서 난막을 깨고 나온 부화자어의 크기는 전장 3.52mm이었으며, 부화 후 일령 1일에는 3.96~4.15mm 크기로 성장하여 난황을 흡수하고, 머리를 아래로 향하여 부유한다. 일령 5일에는 4.65~5.03mm로 성장하여, 수직 운동과 섭식을 시작하였고, 일령 10일에는 8.13~9.43mm로 성장하여 외부 자극에 반응하며 Rotifer 섭식이 왕성하고, 대량 감모 현상이 발생하였다. 일령 15일에는 9.68~10.84 mm로 성장하여 유영 능력이 증가 되고, 먹이를 찾아서 섭식하기 시작하였다. 일령 20일에는 9.73~14.26mm로 성장하여 *Artemia nauplii* 섭식이 왕성하고, 대량 감모가 발생하였으며 표층에 누워서 유영하는 현상이 나타났다. 일령 25일에는 11.83~15.89mm로 성장하여 20~40cm 수층에 주로 분포하고, 배합사료의 섭이가 확인되었다. 일령 30일에는 11.97~19.69mm로 성장하여 전체적으로 배합사료를 섭식하고, 수중에 전체적으로 분포 유영하며, 개체 차이가 뚜렷해지고 큰개체가 작은 개체를 공격하는 현상이 나타났다. 일령 40일에는 13.85~22.64mm로 성장하였고, 물의 흐름을 거슬러 무리지어 유영하고, 외부 충격에 민감하게 반응하였다. 일령 50일에는 18.72~32.76mm로 성장하였으며, 개체간의 공격현상이 없어지고, 향문에 배설물 잔유물이 매달린 채 유영하는 현상을 보였다.

SUMMARY

I. Title

Technology development of the hatchery-based seed production of **Silver pomfret**, *Pampus argenteus*

II. Study purpose and justification

The silver pomfret (*Pampus argenteus*) belongs to the Percida order the suborder Stromateina, and family Pampidae. The species inhabits water at depths of 40~130m and can be found in the Yellow Sea, the South Sea of Korea, and the East Sea of China.

The silver pomfret is a popular fish for food, due to its low calories and high protein, which results in an increase in its demand in Korea. The harvested yield of the species was estimated at about 24,191 tons in 1975. However, in 2003, the yield had decreased to about 7,496 tons due to the reduced fishing zone resulting from the agreement between the Korean and Chinese fishing industries. Starting in 1996, the importing of silver pomfret from China had begun and the quantity of imports has been increasing, owing much to an increase in demand and a well developed distribution channel. The quantities of imported of silver pomfret reached up to 777 tons in 2000, and 1,409 tons in 2003. The increase in silver pomfret importation may be continued for a long time.

This research was carried out to assess the ecological behavior, to develop artificially reared seedlings, and evaluate the possibility of a new method for cultivation of the silver pomfret that would be able to increase income of the fishing industry from Mokpo.

III. Contents and scope of the study

The technological development of artificially reared seedlings and biological aquaculture were studied from August, 2005, to October, 2008. This study included the examination of the release of GnRH from the brain along with genetic analysis, physiological and ecological research, and the development of natural and artificial hatcheries and farming techniques.

IV. Result

1. Environmental sampling of silver pomfret

The sampling of silver pomfret was taken from the areas of Jeungdo, Jaeundo, and Imjado. These sampling sites showed significant fluctuation in seasonal temperature; 25.0°C in August, 2005, and 5.4°C in February, 2006. These results suggested that the fluctuation of temperature change is significant. Salinity at these sites were 29.2‰ in July, 2006, and 34.2‰ in January, 2006 which implies that there is no significant changes in seasonal salinity. The average salinity of these sites was 32.9‰. DO values of the sampling sites were lowest at 6.3mg/ℓ and highest at 8.8mg/ℓ, with an overall average of 7.9mg/ℓ. The concentration of chlorophyll-a at the sampling sites was lowest in December, 2005 and January, 2006 at 1.9μg/ℓ, and highest at 3.8μg/ℓ in March, 2006. The overall average concentration of chlorophyll-a was 2.6μg/ℓ and the fluctuation is not considered significant.

2. Physiology and ecology

A. Distribution and migration

The silver pomfret inhabits water at temperatures ranging from 9~26°C and can be found off the shores of Korea, Japan, Kuwait, the East China Sea, the subtropical sea south of China, and the Indian ocean. The species were divided into West, South and East-Chinese origins. The species' migratory route starts in the winter (December to February) in the East China Sea and then move to the South-West Korean Sea for spawning from May to June when the water temperature rises. They move back to the East China Sea in September for the winter. Their migration leads them inshore of Korea in June to spawn, and then leads them out to the open sea in the fall. When the fries have reached 30mm, they also move out to the open sea.

B. Taste

For analysis of the contents in stomach, 156 silver pomfret (9.3~28.5cm) were used and then separated into 2 groups, under and over 20cm body length. The stomach contents of pomfrets under 20cm included mainly copepods, such as paracalanus,

calanus, and acartia. Polychaetes, hydrozoa, and algae were also found in small amounts. In the group of over 20cm, decapoda, chaetognatha, hydrozoa, and fish were found to be the main contents, but polychaeta, copepods and amphipoda were also found.

C. Sexual ratio and body length

The sex ratio was analyzed during the period of gonad maturity, from May to July in 2006. The result was 181 females (65.1%) and 97 males (34.9%). The maximum length found was 26.7cm in June, 2006, and the minimum length was 9.3cm, found in January, 2006. Monthly averages of body length ranged from 15.5cm in January, to 19.9cm in July. Fish at a young age were present when the water temperature increased (May) in two distinct cohorts.

D. Growth, mortality and entry type

After an analysis of 732 fish, the maximum and minimum lengths found were 26.7cm and 9.3cm, respectively. When the data was applied to ELEFAN program, the theoretical maximum length (L_{∞}) and growth factor were 35.4cm and 0.45, respectively. Seasonal differences of the growth factor (C) were 0.26 implying low seasonal fluctuation. The winter point (WP) was 0.67 and the migratory formula was calculated for $\ln(N) = -2.19 t + 6.48$ ($r^2=0.83$, $P<0.001$). According to the fishing curve method, the total mortality factor was 2.19 yr^{-1} . The entry type showed one regular distribution, which indicates that the silver pomfret appear for fishing once a year.

E. Monthly change of Gonadosomatic index (GSI)

The GSI average of silver pomfret was 2.0 from January to March, 3.51 in April, and 5.31 in June for females. In July and August, the GSI value began to decrease and exhibited lower values (2.0) from September to December.

For males, the GSI value decreased (<1.0) from January to March, and significantly increased (>1.06) in April. The value slowly decreased (<0.4) again from May to September.

F. Monthly change of Hepatosomatic index (HSI)

The HSI was low (0.92~1.00) in January and February. The index increased to 1.10 in March and was highest (1.28) in June. The average HSI was 1.18 after the spawning period but decreased again from October to December.

For males, the HSI decreased (0.90) from January to February but slowly increased in March. The index reached up to 1.26 in July. After ejaculation, the HSI began to decrease from August and continued decreasing from September to December.

G. Monthly change of Condition index

In the condition index, females showed a low value (39.5~41.0) from January to March. In April, the index increased up to 42.7 but decreased from May to August. In September, the index increased again and peaked from November to December.

For the males, the index was low (36.5~37.6) from January to March. In April, the index increased but slowly decreased from May to August. After ejaculation, the index increased again and reached up to 39.0 from November to December.

H. Population maturity value

The population maturity value for both male and females less than 12.0cm in length was 22.2% and 18.8%. For body lengths of 12.1~15.0cm, the value was 56.3% for males and 55.6% for females. In sizes of over 18cm, both male and females had 100% values. Therefore, the biological minimum size was 12.1~15.0cm (50% of population maturity).

3. Ecological Information

Unlike the general fishes, the germ plasm of pomfret, a kind of compressed fishes, is curved along the spine of back and positioned, surrounding some parts of intestines.

Also, the germ plasms of both sexes are unbalanced on both sides but almost balanced right and left. The distinction of sex of these plasms with the naked eye is difficult as both sexes take on white when they are immature however as they grow, it comes to be easy to distinct as the female starts to take on yellow while the male takes on milky.

Meanwhile, according to the result of monthly change of reproductive cell, the pomfret's 1st growth period appears when the ooblast cell in the germ plasm starts to develop into the oocyte in September when the water temperature becomes lower and its 2nd growth period appears from October to December. From next January to April, the ovary arrives at the maturity in earnest and it arrives at the final stage of maturity or spawning in May. After that, the pomfret will be in excellent spawning period up to June. When July comes, it degenerates and absorbs the oocyte cell left after the spawning and it arrives at the anestrus in August.

4. Genetic Analysis

According to the result of AFLP with 3 primer groups of pomfret, pampus argenteus and Chinese pomfret 15 fishes respectively (E/ATG-M/CCC primer combination and E/AGC-M/CAT primer combination), The Chinese pomfrets showed a different DNA band pattern from that of a pomfrets' group or that of a pampus argenteus' group. Also, the diversity of pomfrets' group and pampus argenteus' group was high.

Regarding an average genetic diversity(GD), a pomfrets' group showed 0.2573, a pampus argenteus' group showed 0.3058 and a Chinese pomfrets' group showed the lowest value as 0.0444.

5. GnRH Identification

The distribution or manifestation of gonadotropin releasing hormone (sGnRH) of salmon were identified by immunohistochemical method in the brain of an adult pomfret, which followed a reproductive cycle. During the breeding season, the sGnRH-ir immunoreactive cell bodies were distributed in the ventral telencephalon and the front and the rear of suprachiasmatic. The immunoreactive fibers were observed widely from an olfactory bulb to a cerebrum or a between brain but they were not identified in the mesencephalon or the hindbrain that had no nerve fiber. Certain sGnRH-ir nerve fibers related to reproduction were found in the front area of hypophysis but most of sGnRH-ir nerve fibers found in wide area of brain did not

form any bundle of fibers. The sGnRH-ir immunoreactive fibers stretching out from sGnRH-ir nerve cell bodies to hypophysis were clearly observed as a bundle. The sGnRH-ir increased till the breeding season. Also, it was distributed most widely at the largest quantity during the season and when the season was over, it was identified most poorly in the limited area. Thus, it was considered that the sGnRH could be a role of reproductive coordinator in a pomfret's brain.

6. The Capture of Natural Pomfret and House Breeding

A. Capture

To capture the pomfret's fry, the fixed net fishery (Gaemakee) method was used. There was some difficulty in capturing the fishes but it had less damage on the fishes than other methods. During using the method, the water temperature was 16.5~18.9°C and the salt was 31.5~32.4‰. The fixed net fishery method uses the difference of flux and reflux of the tides to capture the pomfrets it is restricted by time and tide time as a net is installed on the low-depth area. In 2005, during the capture season, from September to November, totally 3 captures was carried out. As a result, totally 497 pomfrets were captured. The largest size of captured pomfret was 13.2cm and the smallest size was 8.6cm. An average total length was 10.5cm and an average weight was 19.0g. From May to June in 2007 and 2008, the spawning season, 111 natural brood pomfrets whose longest length was 32.4cm(610.2g) and the shortest length was 22.8cm(161g) were captured in a small stow net and set gill nets et al.

B. Conveyance and Delivery

The captured pomfret's fry in a fixed net were delivered to a neighboring dock after being put in the vinyl bag with some clear sea water and packed with oxygen. In the dock, they were put into an aquatic plan to of vehicle and delivered to a trial farm. At this moment, the liquefied oxygen was provided. During the delivery, 274 fishes died. The adult fishes captured in a small stow net were delivered to a neighboring dock after being put in a water room of ship. To the farm, they were delivered in the aquatic plant of vehicle and the liquefied oxygen was provided to them.

The medical washing with OTC 100ppm was carried out to prevent any bacterial infection caused by a damage of fish's body during the delivery. The time for all processes from the capture up to the entrance into trial was minimized.

C. House Breeding

223 delivered pomfrets, captured in the fishery with a fixed net, were put into a PP round aquatic plant of 6m diameter. The water temperature for breeding was 16.8~19.1°C, which was 0.2~0.3°C higher than that of capture area and the salt was 32.4‰. For the prompt stabilization of fry after putting them into the aquatic plant, made the illuminance for the plant lower with a blackout curtain. The fry in the aquatic plant of trial farm was stabilized and started to swim as a group within 24 hours. To prevent any bacterial infection caused by a damage of fish's body during the capture or delivery, the medical washing with OTC 150ppm had been carried out for 2 days after putting the fry into the aquatic plant. For the stable management of fry in the plant, the habituation to prey was carried out by providing the living shrimps and krill twice or three times a day and the habituation to these kinds of feed was completed within 72 hours. After 30 days, the habituation to assorted feed was started. The assorted feed was given to the fry first and the living feed was given later. As a result, the habituation was successfully completed. With the above, the pomfret shows a tendency of preferring to the sinking feed, which is easy for them to eat, than the rising one as the pomfret's lower jaw of mouth is smaller than its upper one. From November when the water temperature for breeding falls to under 12.0°C, heat the plant with a boiler and keep the temperature between 12.0°C and 16.4°C till the spring when the temperature rises again. Also, keep the DO 7.5~8.5mg/ℓ by providing the liquefied oxygen. The adult fishes captured in a small stow net were put into a FRP round aquatic plant of 2m diameter and managed in the same way as the pomfret's fry, captured in the fishery with a fixed net, were managed. By installing a refrigerator in the plant, keep the water temperature 18.5~18.9°C and by providing the liquefied oxygen, keep or manage the DO 8.0~9.5mg/ℓ.

D. Growth rate

Pomfret were obtained fish average length $10.4\pm 1.3\text{cm}$ and average weight $18.2\pm 5.8\text{g}$ from house breeding. Randomly of 20 fish measured off growth rate at a quarter year. In 2006, average length $11.2\pm 1.1\text{cm}$ and average weight $21.8\pm 6.0\text{g}$ from March, average length $15.0\pm 2.0\text{cm}$ and average weight $51.9\pm 19.4\text{g}$ from September. Growth rate from September was higher than from June. The trend of growth rate shown lower by winter season. Optimal temperature season were spring and autumn.

E. Induction Test for Spawning

According to the result of fry captured in the fishery with a fixed net in October~November of 2005 and bred 93 fish (Total length of fry was $15.5\sim 26.0\text{cm}$ and the weight was $61\sim 231\text{g}$) by June of 2007 with the naked eye, it was unavailable to find a fish that arrived at the complete mature stage of brooding and to find a fish that arrived at a natural spawning stage. Among the brood fishes captured in the fishery with a small stow net, selected some fishes which were active and matures, made them calm down with an aquatic anesthetic (AQUIAS) of low consistency and injected mixture of HCG and LHRH-a or only HCG. After getting brood fishes back to the farm by using a ship or a vehicle, put them into the aquatic plant and tried to induce the spawning. As a result of hormone treatment, the female showed a certain reaction and the mature of germ plasm was developed rapidly while the male did not show any particular reaction. In any case, both sexes died within 36 hours and no natural spawning happened.

F. Death Rate and Survival Rate

Among the pomfret captured in the fishery with a fixed net in September and October of 2005, 115 pomfrets of the 1st captured, 92 pomfrets of the 2nd captured and 67 pomfrets of the 3rd captured died. A total number of dead pomfret was 274 and the death rate was 55.2% while the living pomfret was 223 after being captured and the survival rate was 44.9%. During 2007. 7. 12~2007. 8. 12, the marine *Amyloodinium* sp. was parasitic on some of living pomfret. To save the fishes, the medical washing was carried out with 80~100 ppm formalin. As a result, the fishes could be relieved from the *Amyloodinium* sp. but many pomfrets under the size of 15cm died. Around the early of April, the high water temperature continued and it impeded the recovery of fishes so all

pomfrets weakened by the *Amyloodinium* sp. died. In May and June of 2008 respectively, the natural brood fishes whose maximum total length was 32.4cm(610.2g) and minimum total length was 22.8cm(161g) were captured in a small fishery with a stow net and put into the trial farm. The result was that 41 pomfrets(36.9%) died within 12 hours, 60 pomfrets(54.1%) died within 24 hours, 10 pomfrets(9.0%) died within 36 hours and finally all pomfrets died.

7. Production of Larvae Fishes

A. Surroundings of Trial Farm

From 2005 to 2007, we captured the brood fishes in a set gill net and a drift net and carried out the artificial hatching egg which had been reared of fry pomfret in Muan. However, because of the high water temperature or the parasites during the summer in 2007, a mass of larvae fishes and brood fishes which had been bred died so the place was changed to Jido-eup in Shinan that would be a better place for a trial business such as an infection rate of parasite, the aquatic environment and the conveyance of brood fishes or fertilized eggs. From June of 2008 to August of 2008, the water temperature of trial farm was measured. We found the temperature 19.7~28.8℃, which is lower value than that of the previous farm and the specific gravity 32‰.

B. Securing the fertilized eggs through artificial egg collection

The artificial egg collection was carried out 21 times for 3 years and totally 2,767,500 was collected. Among 2,767,500 the fertilized egg occupied 1,125,000. The fertilization rate was 40.65%. We used a dry method or an isotonic method as the way of fertilization. In 2006, we captured the brood fishes in a set gill net and a drift net and carried out the artificial egg collection 4 times. The result of fertilization by using a dry method showed 52.1% of fertilization rate. In 2007, we carried out the artificial egg collection 7 time sand the result of fertilization by using a dry method showed 23.9% of fertilization rate. In 2008, after capturing the brood fishes in a small stow net at the Yeonsan station, we carried out the artificial egg collection 10 times. The result of fertilization by using an isotonic method showed 51.2% of fertilization rate.

When comparing the fertilization rate according to the fertilization method, the fertilization rate by a dry method showed 10.0~71.4% on an average rate of 33.2% while that of an isotonic method showed 32.4~69.7% on an average rate of 51.2%. Thus, the fertilization rate by an isotonic method was higher and more stable than the rate by a dry method.

C. Egg Development

The fertilized egg of pomfret was round and after it was fertilized, an average size of fertilized egg became $1.54 \pm 0.02 \text{ mm}$ (Mean \pm SD) within 4 hours and it had an oil globe. The egg development was observed at the water temperature of 20.0°C. The fertilized egg formed the perivitelline space and the blastodisc within 10 minutes or 20 minutes after the fertilization. From 2 cell stage up to 64 cell stage was within 5 hours, the morula stage was within 6 hours 40 minutes, the blastula stage was within 8 hours 25 minutes, the gastrula stage was within 12 hours 57 minutes, the formation of Kupffer's vesicle was within 20 hours 18 minutes, the formation of lens within 35 hours 25 minutes, the formation of organ was within 39 hours 40 minutes and finally started to hatch within 42 hours 10 minutes. The hatching was completed within 44 hours 30 minutes.

D. Hatching Rate

The quantity of egg collected through 21 artificial egg collections for 3 years was 2,760,000. Among them, the damaged egg was 1,120,000. The fertilization rate was 40.7% on an average and the hatching rate was 42.0% on an average. The yearly hatching rate was 44.9% and 54.1% and 35.2% in 2006 and 2007 and 2008 respectively.

The result of research on the hatching rate of pomfret's fertilized egg depending on the water temperature showed that the rate was the highest at 20°C test zone accounting for $65.0 \pm 6.6\%$, $52.0 \pm 2.6\%$ at 23°C test zone, $50.0 \pm 5.0\%$, at 16°C test zone and $21.7 \pm 14.2\%$ at 26°C test zone in order. The result of research on the hatching rate depending on salt concentration to find out the optimum salt concentration for the hatching of pomfret's fertilized egg showed that the rate was the highest at 35‰ test zone accounting for $47.0 \pm 4.6\%$, $27.0 \pm 5.6\%$ at 30‰ test zone, $18.0 \pm 5.0\%$ at 27‰ test zone and $9.0 \pm 4.0\%$ at 25‰ test zone in order.

E. Supply of feed for the Larvae or Juvenile

To keep the illuminance for the marine *Chlorella* sp. and to keep the feed of rotifer, we provided the feed from the time when the fertilized egg hatched, keeping the quantity as a hundred or 2 hundreds of thousands cell/ml by the 25th day. The rotifer was provided by the 10~15/ml from the 2nd day when a yolk absorption was completed to the 10th day and 8~10/ml was provided up to the 25th day. From the 20th day to the 25th day, the *Artemia* nauplii by 3~5 /ml and the rotifer by 8~10 /ml were provided together. From the 26th day up to the 35th day, the *Artemia* nauplii was provided exclusively. The assorted feed of 250 μ m was provided from the 18th day after the fertilized egg hatched and from the 25th day, the feed of 300~400 μ m was provided. From the 50th day, the assorted feed of 1mm was provided 5~6 times a day and the article of feed was provided step by step by being adjusted the size.

F. Decrease and Die

The decrease rate of the larvae hatched from the fertilized egg showed: 2 days 8.8%, 10 days 35.1%, 30 days 44.7%, 90 days 10.1% and final survival rate 1.3% in 2006. Then again in the year 2007, 2 days 10.6%, 10 days 41.1% and 30 days 48.3%, 26th day after they hatched out however, all the pomfret larva died from parasite 3 days after the marine *Amyloodinium* sp. attacked. In the year 2008, the mortality rates per each certain raising day period are: 2 days 10.2%, 10 days 42.3%, 30 days 31.4%, 90 days 8.8%, and final survival rate 7.3% and that increased as against other years.

At the stage of becoming a larva from the fertilized egg, the decrease happened. At the stage of larva that the first feed was provided after an yolk absorption, a mass decrease happened during 10 days. When the feed was changed to the *Artemia* nauplii on the 20th day, the 2nd mass decrease happened. After the mass decrease, the small ones continued as the fish grew.

G. Survival Rate

The survival rate of larvae hatched after collecting the fertilized egg artificially by the time when the length reached 3.0cm was that 1.600 of 125,200 pomfrets were survived in 2006, accounting for 1.3% however, any of 130,400 pomfrets was not

survived so the rate was zero in 2007. In 2008, 15,000 of 205,800 pomfrets were survived accounting for 7.3%. The result of survival rate of larvae depending on the salt concentration showed that the survival rate became higher as the salt concentration went higher. The survival rate at 35‰ test zone was the highest as 93.3±5.8%, 90±10.0% at 30‰ test zone, 60±10.0% at 25‰ test zone, 50±10.0% at 20‰ test zone and 36.7±15.3% at 10‰ test zone in order.

The result of survival rate depending on the density of breeding was 83.3±7.6% at 20 fishes, 73.3±10.1% at 25 fishes, 62.2±10.2% at 15 fishes, 60±20.0% at 5 fishes and 53.3±15.3% at 10 fishes. With the result, we found that 20 pomfrets in 10 ℓ was the most efficient breeding circumstance.

H. The Growth and Feature of Larvae or Juvenile

The aquatic environmental condition for breeding the fry or the larvae of pomfret was following: the water temperature of 19.7~28.8℃, DO of 7.5~9.8mg/ℓ, pH of 7.8~9.1, the salt concentration of 32~35‰, NH₃ of 0.18~0.84mg/ℓ, NO₃ of 0.03~0.19mg/ℓ, NO₂ of 0.012~0.082mg/ℓ and PO₄ of 0.26~0.71mg/ℓ. The length of larvae hatched from the fertilized egg by breaking the egg shell was 3.52mm and it grew as 3.96~4.15 mm within 1 days, absorbed an yolk and floated with the head downward. On the 5th day, it became 4.65~5.03mm. It started to eat and moved vertically. On the 10th day, it became 8.13~9.43mm. It responded to the external stimulus and ate many Rotifers. Also, a mass decrease happened. On the 15th day, it became 9.68~10.84mm and its ability to swim increased. On the 20th day, it became 9.73~14.26mm. It ate many *Artemia* naupliis, swam on the surface and a mass decrease happened. On the 25th day, it grew up to 11.83~15.89mm. It stayed 20~40cm in the water and eating the assorted feed was observed. On the 30th day, it became 11.97~19.69mm. It ate the assorted feed, swam throughout the water, the difference of fishes got certain and the phenomenon of eating one another appeared. On the 40th day, it grew as 13.85~22.64mm. It swam as a group against the current of water and responded to external shocks sensitively. On the 50th day, it became 18.72~32.76mm.

CONTENTS

Contents of tables	37
Contents of figures	39
Chapter 1. Overview	44
Section 1. Purposes for the study	44
Section 2. Needs for the study	47
1. Technical side	47
2. Economical and industrial side	47
3. Social and cultural side	48
Section 3. Scope of the research and development	49
1. First-year (2005. 7~2006. 6)	49
2. Second-year (2006. 7~2007. 6)	49
3. Third-year (2007. 11~2008. 10)	50
Chapter 2. Present of domestic and international technical development	51
Section 1. Present of technical development	51
Section 2. Point at issue	52
Chapter 3. Content and result of technical development	53
Section 1. Research Method	53
1. Resources school register information	53
A. Resources school register information	53
B. Sexual ratio and body length	53
C. Growth, mortality and entry type	53
D. Body length, weight reaction and change growth	54
E. Taste	54
F. Characteristic of egg length and spawning number of times within ovary	56
G. Number of eggs	56
H. Population maturity value	56
I. Monthly change of Gonadosomatic index	56
J. Monthly change of Hepatosomatic index	56

K. Condition factor	56
2. Sexual cycle analysis	56
3. Specification GnRH revelation sympathy from silver pomfret brain	57
A. Samples and brain collects	57
B. Immunity systematization GnRH revelation researches from the silve pomfret brain	57
4. Genetic variety analysis	58
A. Samples of fish	58
B. Total DNA separation and refining	58
C. DNA cutted and adapter ligation	58
D. PCR amplification condition and electrophoresis	59
E. AFLP Resultant analytical method	59
5. Capture of nature silver pomfret and tank breeding	61
A. Capture of nature juvenile silver pomfret	61
B. Carriage and transfer	61
C. Tank breeding	61
D. Dispersion induction in compliance with a hormone injection	62
6. Artificial spawning and reproduction	62
A. Management of fertilized egg	62
B. Developmental egg	62
C. Size of fertilized egg	62
D. Hatching rate	62
1) Hatching ratio of the fertilized egg in water temperature	62
2) Hatching ratio of the fertilized egg in salinity	62
E. Breeding management of juvenile silver pomfret	64
1) Feeding <i>Chlorella</i> sp.	64
2) Feeding rotifer	64
3) Feeding <i>artemia</i>	64
4) Feeding EP	64
5) Breeding of juvenile silver pomfret	64
6) Survival rate	65

a) Survival rate of the juvenile silver pomfret in salinity levels	65
b) Survival rate of the juvenile silver pomfret in density	65
7) Activity quality of Juvenile silver pomfret	65
Section 2. Results and discussion	67
1. Research of resources	67
A. Position of classification	67
B. Characteristic of morphology	67
C. Characteristic of ecology	67
1) Distribution and migration	67
2) Habit	68
2. Information of resources	68
A. Environmental investigation of capture fishing ground	68
B. Sexual rate and body length	68
C. Growth, mortality and entry type	69
D. Body length, weight reaction and change growth	69
E. Taste	77
F. Characteristic of egg length and spawning number of times within ovary	77
G. Number of eggs	77
1) Per body length of absolute egg and relative egg	77
2) Per body weight of absolute egg and relative egg	80
H. Population maturity value	80
I. Monthly change of Gonadosomatic index	80
J. Monthly change of Hepatosomatic index	81
K. Monthly change of Condition factor	81
3. Change of developmental gonado in histology	88
A. External form and internal structure of silver pomfret gonado	88
B. Developmental gonado of observation optical microscope	88
1) Stagy of formative ovary development	88
2) Stagy of formative sperm development	90
3) Sexuary cycle	90
a) Female	90

(1) Early growing stage	90
(2) Late growing stage	90
(3) Mature stage	91
(4) Ripe and spent stage	91
(5) Recovery and resting stage	91
b) Male	91
(1) Growing stage	91
(2) Mature stage	91
(3) Ripe and spent stage	92
(4) Recovery and resting stage	92
C. Electron microscope observation of gonad advancement	96
1) Gamete formation process, Leydig Cell and minute structure of sertoli cell	96
a) Oogenesis	96
(1) Oogonium phase	96
(2) Previtellogenic phase	96
(3) Vitellogenic phase	97
(4) Maturation phase	98
b) Sperm formation and change of steroid hormone secretion cell activity ..	98
(1) Spermatogonial phase	98
(2) Spermatocyte phase	99
(3) Spermatid phase	100
(4) Spermatozoon phase	100
4. Revelation aspect of specification GnRH from silver fish brain	114
A. Specification GnRH revelation sympathy	114
B. Unique GnRH (sGnRH and cGnRH II) Sympathy	114
C. sGnRH-ir revelation aspectual comparisons which follows in season	117
1) At breeding season sGnRH-ir distributions	117
2) sGnRH-ir changes which follows in sexual cycles	117
5. Genetic analysis	121
A. AFLP gene map analyses	121
6. Capture nature of silver pomfret and tank breeding	128

A. Capture of fishing	128
1) Drift gill net	128
2) Set gill netter	128
3) Small stow net on anchor	129
4) Fish fence	129
B. Capture of nature silver pomfret and Survival rate	129
1) Silver pomfret capture site and interior breeding environment	129
2) Capture of nature juvenile silver pomfret Survival rate	130
C. Conveyance and Delivery	133
D. Tank breeding	133
E. Change of water temperature in the interior breeding duration	136
F. Breeding result of natural captured bloodstock pomfret	136
G. Breeding bloodstock of gonad maturity at investigation	137
H. Breeding bloodstock of mortality	137
I. Breeding nature bloodstock of maturity at investigation	139
1) Environmental analysis of fishing ground	139
2) Results of nature bloodstock of maturity	139
J. Induction test in spawning with hormone injection	151
7. Artificial spawning and reproduction	154
A. Environmental of test aquafarm and capture fishing ground	154
(1) Change temperature of capture fishing ground	154
(2) Change salinity of capture fishing ground	154
B. Fertilized egg security for artificial spawning	157
C. Transfer fertilized egg and hatching condition	157
D. Fertilized egg size, developmental egg and form change	161
1) Hatching ratio of the fertilized egg in water temperature	161
2) Hatching ratio of the fertilized egg in salinity	161
E. Environmental breeding of hatching fry	166
F. Developmental formation of fry and juvenile	166
1) Pre-fry	166
2) Latter term fry	166

3) Juvenile	167
G. Initially food conversion timely rescuing	167
1) Enrich nutritions of rotifer and feeding	167
2) Enrich nutritions of <i>artemia</i> and feeding	167
3) EP feeding	168
H. Form fry and juvenile follows in character growth	168
I. Decrease and die fry and juvenile	179
J. Survival rate of juvenile	179
1) Survival rate for salinity levels in juvenile	179
2) Survival rate for density in juvenile	179
K. Growth and character in juvenile	183
8. Technology development of the hatchery-based seed production of Silver pomfret, Dinner part holding	185
9. Releasing of Seedings	185
Chapter 4. Purpose achievement and expected contributions	189
Chapter 5. Application plan of results	192
Section 1. Core technology or research results	192
1. Core technology	192
2. Research results	192
Section 2. List of paper and proceeding	193
Section 3. Core technology and application types	194
Section 4. Research results by concrete application plana	195
Section 5. Technology transfer condition of research results	196
Section 6. Expectation effects	197
Chapter 6. References	198

목 차

표 목 차	37
그 림 목 차	39
제 1 장 연구개발과제의 개요	44
제 1절 연구개발의 목적	44
제 2절 연구개발의 필요성	47
1. 기술적인 측면	47
2. 경제·산업적 측면	47
3. 사회·문화적 측면	48
제 3절 연구개발의 범위	49
1. 1차년도 (2005. 7~2006. 6)	49
2. 2차년도 (2006. 7~2007. 6)	49
3. 3차년도 (2007. 11~2008. 10)	50
제 2 장 국내외 기술개발 현황	51
제 1절 기술개발 현황	51
제 2절 문제점 및 전망	52
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	53
제 1절 연구방법	53
1. 자원학적 정보	53
가. 채포어장의 환경조사	53
나. 성비 및 체장조성	53
다. 성장, 사망 및 가입유형	53
라. 체장, 체중관계, 성장식의 추이	54
마. 식성	54
바. 난소 내 난경조성 및 산란횟수	56
사. 포란 수	56
아. 군성숙도	56
자. 생식소중량지수	56
차. 간 중량지수	56

카. 비만도	56
2. 생식주기 분석	56
3. 병어 뇌에서의 특정 GnRH 발현 동정	57
가. 시료 및 뇌 수집	57
나. 면역 조직화합법을 이용한 병어 뇌에서의 GnRH의 발현연구	57
4. 유전적 다양성 분석	58
가. 실험어	58
나. Total DNA의 분리 및 정제	58
다. DNA 절단 및 adapter ligation	58
라. PCR 증폭조건 및 전기영동	59
마. AFLP 결과 분석 방법	59
5. 자연산 병어 채포	61
가. 자연산 병어 치어 채포	61
나. 운반 및 수송	61
다. 실내 사육	61
라. 성장도 측정	61
마. 호르몬제 주사에 의한 산란유도 시험	61
6. 인공채란 및 종묘생산	62
가. 수정란 관리	62
나. 난 발생	62
다. 수정란 크기	62
라. 부화율	62
1) 수온에 따른 수정란의 부화율	62
2) 염분농도에 따른 수정란의 부화율	62
마. 병어 치어 사육관리	64
1) 클로렐라 (<i>Chlorella</i> sp.) 공급	64
2) 로티퍼 (Rotifer) 공급	64
3) 알테미아 (<i>Artemia</i>) 공급	64
4) 배합사료 공급	64
5) 치어 사육	64
6) 생존율	65

가) 염분농도에 따른 치어의 생존율	65
나) 사육밀도에 따른 치어의 생존율	65
7) 치어의 행동특성	65
제 2절 연구결과 및 고찰	67
1. 자원학적 특성	67
가. 분류학적 위치	67
나. 형태학적 특징	67
다. 생태학적 특징	67
1) 분포 및 회유	67
2) 습성	68
2. 자원학적 정보	68
가. 채포 어장의 환경조사	68
나. 성비 및 체장조성	68
다. 성장, 사망 및 가입유형	69
라. 체장, 체중관계, 성장식의 추정	69
마. 식성	77
바. 난소 내 난경조성 및 산란횟수	77
사. 포란 수	77
1) 체장 당 절대포란수와 상대포란수	77
2) 체중 당 절대포란수와 상대포란수	80
아. 군성속도	80
자. 생식소중량지수 (Gonadosomatic index, GSI)의 월별 변화	80
차. 간 중량지수 (Hepatosomatic index, HSI)의 월별 변화	81
카. 비만도 (Condition factor)의 월별 변화	81
3. 생식소발달의 조직학적 변화	88
가. 생식소의 외부 형태 및 내부구조	88
나. 생식소 발달의 광학현미경 관찰	88
1) 난자 형성과정	88
2) 정자 형성과정	90
3) 생식 주기	90
가) 암컷	90

(1) 초기 성장기 (early growing stage)	90
(2) 후기 성장기 (late growing stage)	90
(3) 성숙기 (mature stage)	91
(4) 완숙 및 산란기 (ripe and spent stage)	91
(5) 회복 및 휴지기 (recovery and resting stage)	91
나) 수컷	91
(1) 성장기 (growing stage)	91
(2) 성숙기 (mature stage)	91
(3) 완숙 및 배정기 (ripe and spent stage)	92
(4) 회복 및 휴지기 (recovery and resting stage)	92
다. 생식소 발달의 전자현미경 관찰	96
1) 배우자형성과정, Leydig 세포 및 Sertoli 세포의 미세구조	96
가) 난자 형성과정 (oogenesis)	96
(1) 난원 세포단계 (oogonium phase)	96
(2) 전 난황 형성단계 (previtellogenic phase)	96
(3) 난황 형성단계 (vitellogenic phase)	97
(4) 성숙 단계 (maturation phase)	98
나) 정자 형성과정 및 스테로이드 호르몬분비세포의 활성변화	98
(1) 정원세포기 (spermatogonial phase)	98
(2) 정모세포기 (spermatocyte phase)	99
(3) 정세포기 (spermatid phase)	100
(4) 정자기 (spermatozoon phase)	100
4. 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상	114
가. 특정 GnRH 발현 동정	114
나. 특이적 GnRH (sGnRH 및 cGnRH II) 동정	114
다. 계절에 따른 sGnRH-ir의 발현 양상 비교	117
1) 번식기의 sGnRH-ir의 분포	117
2) 생식주기에 따른 sGnRH-ir의 변화	117
5. 유전학적 분석	121
가. AFLP 유전자 지문 분석	121
6. 자연산 병어 채포 및 실내사육	128

가. 채포 어법	128
1) 유자망	128
2) 고정 걸그물	128
3) 소형 안강망	129
4) 건간망	129
나. 자연산 병어 치어 확보와 생존율	129
1) 병어 채포현장 및 실내 사육환경	129
2) 치어 채포 및 생존율	130
다. 운반 및 수송	133
라. 치어 먹이 순치 및 실내사육	133
마. 실내사육 기간 중 수온변화	136
바. 자연산 병어 사육결과	136
사. 사육중인 친어의 성숙도 조사	137
아. 사육중인 친어의 폐사	137
자. 자연산 친어의 성숙도 조사	139
1) 어장 환경조사	139
2) 자연산 친어 성숙도 조사 결과	139
차. 호르몬제 주사에 의한 산란 유도 시험	151
7. 인공채란 및 종묘생산	154
가. 시험 양식장과 채포어장의 환경	154
(1) 채포어장의 수온변화	154
(2) 채포어장의 염분변화	154
나. 인공채란을 통한 수정란 확보	157
다. 수정란 운반 및 부화조건	157
라. 수정란 크기, 난 발생 및 형태변화	161
1) 수온에 따른 수정란의 부화율	161
2) 염분 농도에 따른 수정란의 부화율	161
마. 부화자어 사육환경	166
바. 자·치어 형태 발달	166
1) 전기 자어	166
2) 후기 자어	166

3) 치어기	167
사. 초기먹이 전환 시기 구명	167
1) 로티퍼 (Rotifer) 영양 강화 및 공급	167
2) 알테미아 (<i>Artemia nauplii</i>) 영양 강화 및 공급	167
3) 배합사료 공급	168
아. 자·치어 성장에 따른 형태 변화	168
자. 자·치어의 감모 및 폐사	179
차. 치어의 생존율	179
1) 염분농도에 따른 치어의 생존율	179
2) 사육밀도에 따른 치어의 생존율	179
카. 자·치어의 성장 및 특성	183
8. 병어 인공종묘 생산 기술개발 연찬회 개최	185
9. 병어 인공종묘 방류 행사	185
제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	189
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획	192
제 1절 핵심기술 또는 연구결과	192
1. 핵심기술	192
2. 핵심 연구결과	192
제 2절 논문발표 실적	193
제 3절 핵심기술(연구내용) 수준 및 활용유형	194
제 4절 각 연구결과별 구체적 활용계획	195
제 5절 연구결과외의 기술이전 조건	196
제 6절 기대효과	197
제 6 장 참고문헌	198

표 목 차

표	1. 우리나라의 연도별 병어 어획량	45
표	2. 우리나라의 연도별 병어 수입량	46
표	3. AFLP 분석에 사용한 adapter 및 primer의 염기서열	60
표	4. 병어 수정란 입식환경 조건	63
표	5. 병어 자·치어의 사육환경 조건	66
표	6. 병어의 위내용물 조성	78
표	7. 병어의 체장에 따른 절대포란수와 상대포란수	82
표	8. 병어의 체중에 따른 절대포란수와 상대포란수	83
표	9. 병어의 균성속도	84
표	10. 병어속 3종의 AFLP 마커 추적	125
표	11. AFLP 분석을 통한 병어속 3종간의 계산된 유전적거리 및 집단간 분화도 ...	126
표	12. 자연산 병어 채포현장 및 사육수조의 수온과 염분	134
표	13. 자연산 병어 채포량과 생존율	135
표	14. 자연산 병어 친어의 사육결과	141
표	15. 사육중인 친어의 생식소 성숙상태	146
표	16. 산란해역의 어장환경 조사	149
표	17. 친어의 성숙도 조사 결과	150
표	18. 산란유도를 위한 호르몬 주사	152
표	19. 인공채란 및 수정율	158
표	20. 수정란의 부화율	159
표	21. 난 발생과정과 형태 변화	163
표	22. 자·치어의 초기 감모율	180
표	23. 초기 성장 특성	184

LIST OF TABLE

Table 1. Annual catching production of Silver pomfret in recent 7 years in Korea	45
Table 2. Amount of Silver pomfret imported in Korea	46
Table 3. Adapters and primer sequences used for AFLP analysis	60
Table 4. Culture condition for the fertilized eggs of Silver pomfret	63
Table 5. Culture condition for the fertilized juvenile Silver pomfret	66
Table 6. Analysis of the contents in Silver pomfret stomach	78
Table 7. Composition of absolute fecundity and relative fecundity by body length of the pomfret	82
Table 8. Composition of absolute fecundity and relative fecundity by body weight of the pomfret	83
Table 9. The body length at first sexual maturity of Silver pomfret from April to August 2006	84
Table 10. Summary of the detection of AFLP markers of the three species in the genus <i>Pampus</i>	125
Table 11. Pairwise distance and Fst calculated between three species in the genus <i>Pampus</i> by AFLP analysis	126
Table 12. Water temperature, specific gravity of catching field, and culture tank with Silver pomfret	134
Table 13. Catch amount and survival rate of wild Silver pomfret	135
Table 14. Breeding result of natural captured broodstock pomfret	141
Table 15. Gonad maturity in rearing broodstock	146
Table 16. Environmental condition of spawning areas	149
Table 17. Result of gonad maturity in Silver pomfret	150
Table 18. Hormone injection for spawning induction with Silver pomfret	152
Table 19. Hatching rate of fertilized egg	158
Table 20. Hatching rate of fertilized egg	160
Table 21. Egg development process and morphological change of Silver pomfret	163
Table 22. Decrease rate of fry and juvenile	180
Table 23. Growth character of early	184

그림 목 차

그림 1. 병어 채포 어장 해역도	55
그림 2. 병어 계군의 회유 경로	70
그림 3. 병어 채포 어장환경 변화	71
그림 4. 체장빈도 분포표	72
그림 5. von Bertalanffy 성장 곡선	73
그림 6. 사망률	74
그림 7. 가입유형	75
그림 8. 체장-체중 관계	76
그림 9. 난소 내 난정조성	79
그림 10. 자연산 병어의 생식소중량지수의 월별 변화	85
그림 11. 자연산 병어의 간중량지수의 월별 변화	86
그림 12. 자연산 병어의 비만도의 월별 변화	87
그림 13. 병어 생식소의 외부형태 및 내부구조	89
그림 14. 병어의 생식주기	93
그림 15. 병어 난소 발달 단계별 변화	94
그림 16. 병어 정소 발달 단계별 변화	95
그림 17. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경 사진	102
그림 18. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경사진	103
그림 19. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경 사진	104
그림 20. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경사진	105
그림 21. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경 사진	106
그림 22. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경 사진	107
그림 23. 산란기 병어 뇌의 정중단면 모식도	115
그림 24. 산란기 병어 뇌에서의 sGnRH와 cGnRH-II의 발현	116
그림 25. 전시각지역과 앞측 또는 뒤측 optic chiasma에서 관찰되는 sGnRH-ir 세포체를 보여주는 광학현미경 사진	118
그림 26. 전시각지역과 앞측 또는 뒤측 optic chiasma에서 관찰되는 sGnRH-ir 세포체를 보여주는 광학현미경 사진	119
그림 27. primer combination E/ATG-M/CCCC를 이용한 AFLP fingerprint의 비교.	123

그림 28. primer combination E/AGC-M/CAT를 이용한 AFLP fingerprint patterns 비교	124
그림 29. UPGMA clustering 방법에 의해 수립된 유전적 거리 데이터를 기초로 한 병어속 3종간 계통 발생적 관계로 보여주는 그림	127
그림 30. 자연산 병어 시료의 포획 지점	131
그림 31. 자연산 병어 채포 방법	132
그림 32. 실내사육 기간 중 수온변화	140
그림 33. 자연산 병어 친어의 전장변화	142
그림 34. 자연산 병어 친어의 성장에 따른 체중변화	143
그림 35. 사육중인 병어 친어	144
그림 36. 어미의 생식소 형태	145
그림 37. 병어 아가미 및 체표에 기생한 <i>Amyloodinium</i> sp.	147
그림 38. 친어의 성숙도 조사	148
그림 39. 산란기 동안 친어 채포 및 호르몬 주사	153
그림 40. 자연산 병어 채포어장의 수온 변화	155
그림 41. 자연산 병어 채포어장의 염분 변화	156
그림 42. 인공채란	160
그림 43. 병어의 난 발생 과정	162
그림 44. 병어 수정란의 수온별 부화율	164
그림 45. 병어 수정란의 염분농도별 부화율	165
그림 46. 2006년과 2008년 초기사육 기간 동안 수온 변화	170
그림 47. 병어의 자·치어 형태발달 과정	171
그림 48. 로티퍼	172
그림 49. 알테미아	172
그림 50. 자·치어 성장에 따른 먹이 계열	173
그림 51. 성장에 따른 형태변화	174
그림 52. 병어 치어 사육	175
그림 53. 병어 자·치어의 전장 변화	176
그림 54. 병어 자·치어의 체고 변화	177
그림 55. 병어 자·치어의 체중 변화	178
그림 56. 병어 치어의 염분농도별 생존율	181
그림 57. 병어 치어의 사육밀도별 생존율	182
그림 58. 연찬회 및 현장 견학	187
그림 59. 병어 치어 방류행사	188

LIST OF FIGURE

Fig. 1. Sea area captured of silver pomfret	55
Fig. 2. Migration route on the groups of the wild Silver pomfret	70
Fig. 3. Envirmental sampling of silver pomfret	71
Fig. 4. Composition of body length frequence	72
Fig. 5. von Bertalanffy growth curve	73
Fig. 6. Mortality	74
Fig. 7. Entry type	75
Fig. 8. Reaction of body length and body weight	76
Fig. 9. Frequency distribution of egg diameters in female silver pomfret during the breeding season	79
Fig. 10. Seasonal changes of gonadosomatic index(GSI) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea	85
Fig. 11. Seasonal changes of hepatosomatic index(HSI) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea	86
Fig. 12. Seasonal changes of condition factor(CF) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea	87
Fig. 13. Ventral view of reproductive organs of the silver pomfret	89
Fig. 14. Reproductive cycle of silver pomfret	93
Fig. 15. Photomicrographs of ovarian developmental phases of silver pomfret	94
Fig. 16. Photomicrographs of testicular developmental phases of silver pomfret	95
Fig. 17. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females	102
Fig. 18. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females	103
Fig. 19. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females	104
Fig. 20. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of silver pomfret males	105
Fig. 21. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of	

silver pomfret males	106
Fig. 22. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of silver pomfret male	107
Fig. 23. Diagram of paramedian sagittal sections of the flatfis brain, and the distribution of sGnRH-ir on breeding season	115
Fig. 24. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies and sGnRH-ir fibers in the anterior optic chiasma and cGnRH II-ir fibers in the tectum from on breeding season	116
Fig. 25. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies observed in the preoptic area and anerior or posterior in the optic chiasma	118
Fig. 26. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies observed in the preoptic area on breeding season, before and post breeding season	119
Fig. 27. Comparison of AFLP fingerprint patterns using a primer combination E/ATG-M/CCC	123
Fig. 28. Comparison of AFLP fingerprint patterns using a primer combination E/AGC-M/CAT	124
Fig. 29. Dendrogram showing phylogenetic relationships among three species in the genus <i>pampus</i> based on genetic distance data constructed by the UPGMA clustering method	127
Fig. 30. Schematic diagram of catching station in living area of the wild Silver pomfret	131
Fig. 31. Capture methods of nature silver pomfret	132
Fig. 32. Change of water temperature in the interior breeding duration	140
Fig. 33. Change of body length for natural captured broodstock pomfret	142
Fig. 34. Change of body weight for natural captured broodstock pomfret	143
Fig. 35. Rearing of broodstock silver pomfret	144
Fig. 36. Condition of gonad maturity of silver pomfret	145
Fig. 37. Gill and skin of parastitic <i>Amyloodinium</i> sp. silver pomfret	147
Fig. 38. Result of gonad maturity in silver pomfret	148
Fig. 39. Fish capture and hormone injection during Breeding season	153
Fig. 40. Annual water temperature change at catching station of wild Silver pomfret	155

Fig. 41. Annual specific gravity change of catching station of wild Silver pomfret ...	156
Fig. 42. Artificial spawning	160
Fig. 43. Developmental stagy of stagy in silver pomfret	162
Fig. 44. Hatching rate of fertilized eggs of Silver pomfret by various water temperature	164
Fig. 45. Hatching rate of fertilized eggs of Silver pomfret by various salinity concentration	165
Fig. 46. Change of water temperature for the early days of culture in 2006 and 2008	170
Fig. 47. Stage of developmental fry and juvenile in silver pomfret	171
Fig. 48. Morphology of Rotifer	172
Fig. 49. Morphology of Artemia	172
Fig. 50. Feed order of growth levels in larvae and juvenile	173
Fig. 51. Morphological change on growth of Silver pomfret	174
Fig. 52. Culture of the juvenile Silver pomfret in the culture tank	175
Fig. 53. Total length change of the larvae and juvenile of Silver pomfret, for 90 days	176
Fig. 54. Body height change of the larvae and juvenile of Silver pomfret for 90 days	177
Fig. 55. Body weight change of the larvae and juvenile of Silver pomfret for 90 days	178
Fig. 56. Survival rate of juvenile Silver pomfret by various salinity concentration ...	181
Fig. 57. Survival rate of the juvenile Silver pomfret by various culture density	182
Fig. 58. Dinner part and on-the-spot study	187
Fig. 59. Releasing event for juvenile Silver pomfret	188

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적

병어(*Pampus argenteus*)는 농어목 샛돔亞目 병어科에 속하는 어종으로써 우리나라 서·남해 연안 및 동중국해역에 주로 분포하며, 수심 40~130m의 난류 영향을 받는 외양성 저서 어류로서 예로부터 우리 국민의 식탁에 친숙한 주요 어종 중 하나이다.

병어는 저칼로리 고단백질 식품으로서 맛이 좋아서 국내에서 선어회 및 구이용으로 기호도가 매우 높아서 병어에 대한 수요가 꾸준하게 증가하고 있다. 병어의 국내 어획량은 주 어장인 동중국해에서 조업이 가능했던 1975년에는 24,191톤을 생산하였으나 2003년에 한·중 어업협정 체결로 조업수역이 축소되어 7,496톤으로 감소되었고 지속적인 감소추세를 보이고 있다(표 1). 한편 1996년에 중국으로부터 29톤이 수입된 이래 소비자의 수요 증가 및 유통기술의 발달로 수입량이 급격히 증가하여 2000년에 777톤, 2003년 1,409톤이 수입되었으며 앞으로 더욱 늘어날 전망이다(표 2).

이러한 실정을 감안, 목포수산사무소에서는 동중국해에서 우리나라 연안으로 회유하는 병어 계군의 양식 생물학적 연구와 더불어 인공종묘생산 기술을 개발하여 감소되고 있는 병어 자원의 증식 기반을 구축하고, 새로운 양식가능성을 파악하여 어업인 소득향상 기반 조성에 기여하고자 본 연구 개발 사업을 추진하게 되었다.

표 1. 우리나라의 연도별 병어 어획량

Table 1. Annual catching production of Silver pomfret in recent 7 years in Korea

(단위 : M/T)

Years	1975	1980	1985	1990	1995	2000	2003
Capture production	24,191	14,169	9,294	10,390	10,896	7,838	7,496

(해양수산부 어업생산 통계, 2003)

표 2. 우리나라의 연도별 병어 수입량

Table 2. Amount of silver pomfret imported in Korea

(단위 : M/T)

Years	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Imported	29	413	334	363	777	1,265	1,667	1,409

(해양수산부 수입 통계, 2003)

제 2절 연구개발의 필요성

1. 기술적인 측면

우리나라에서 병어류에 대한 연구는 1980년대 말에 일부 연구자들에 의해 수행되었으나 생태 연구에 국한되어 있는 실정이다. 연구내용을 살펴보면 한국 근해 병어류의 자원 생물학적 연구로서 병어류 (덕대)의 형태 및 성숙과 산란 (동지나해산 덕대의 연령과 성장, 식성, 분포와 어황, 자원 해석과 관리, 그리고 덕대와 병어의 성숙에 관한 연구) 등 주로 생태 및 습성에 대한 연구논문이 보고되어 왔으나, 학술적인 차원을 넘어 양식 산업화에 적용할 수 있는 실질적인 연구 개발 실적은 미비한 실정이다. 중국에서는 1990년 후반 들어 산업적 종묘생산 및 양식기술이 확립된 것으로 보고되고 있으나, 현재까지 중국 병어의 산업화 연구가 주를 이루었다.

국내에서의 병어 종묘생산에 관한 연구는 2004년도에 (구)목포지방해양수산청에서 자체적으로 병어의 인공채란을 통한 난 발생까지의 과정과 치어를 포획하여 실내수조에서의 적응시험 과정 등 제한적인 기초 시험을 수행 하였을 뿐이다. 따라서 급후 본격적이고 적극적인 연구가 요청된다.

2. 경제·산업적 측면

우리나라 병어의 어획은 주로 안강망에서 60~70%가 어획되고, 저인망에서 20%가 어획되며, 유자망에서 8%가 어획된다. 해마다 높아지는 어획강도 등으로 인한 자원의 남획과 한·중 어업협정에 의한 어장 축소 등으로 생산량은 해마다 감소하는 추세이며, 반면 늘어나는 국내 수요를 충족하기 위해서 중국으로부터 수입량은 매년 증가하고 있다.

따라서 우리 국민의 선호도가 높고, 경제성이 높은 어종인 병어의 인공종묘생산 기술이 개발되면, 방류사업에 의한 자원 증강으로 어업 경영 개선에 도움이 될 것이며, 외국에서 수입되는 병어의 수입을 대체할 수 있고, 근래 들어 경영에 어려움을 겪고 있는 수산종묘 산업 활성화에 도움이 될 것이며, 병어 양식을 시도 할 수 있는 계기를 만들 수 있을 것이다.

3. 사회·문화적 측면

최근 국내·외에서 식품 안전문제가 대두되고 있다. 따라서 많은 국민들이 식품 안전문제에 관심을 갖게 되었으며, 안전한 먹거리와 선물로 수산물을 찾는 인구가 증가하고 있다. 따라서 우리 국민의 선호도가 높은 병어의 수요도 꾸준하게 증가 할 것으로 예상된다.

또한, 병어는 서해안 특산의 전통 어종으로 설, 추석 등 명절에도 소비가 많은 수산물이며, 병어는 선어상태로 빙장하여 소비지에 유통되기 때문에 유통 비용이 절감되는 장점이 있다. 근래 들어 우리나라 연안에서 병어가 주로 생산되는 서남해안 지역에 고속도로, 항공, 고속철도 등이 개통되어 물류 여건개선과 관광수요에 의한 소비 증가 추세가 이어지고 있다. 이제는 병어도 어선에서 잡히는 선어에만 의존하기 보다는 양식기술 개발을 통하여 우리국민이 선호하는 활어 생산체계를 구축하여 보다 상품성이 높은 어종으로 육성할 필요성이 있다. 그러기 위해서는 우선 인공종묘 생산기술을 개발하여 종묘를 안정적으로 공급할 수 있는 기반이 갖추어져야 할 것이다. 우리가 이러한 노력을 기울여 나갈 때 병어가 우리 어업인의 보다 큰 소득원으로 자리매김 할 것으로 기대된다.

제 3절 연구개발의 범위

1. 1차년도 (2005. 7~2006. 6)

가. 자연산 치어 채포방법 및 실내사육

- 건간망 어장에서의 치어채포
- 수송과정 및 실내사육에 따른 생존율 조사
- 최적 사육조건 구명(수온, 먹이 등)

나. 기초 생태조사 및 번식 생물 정보 수집

- 채포 어장 환경, 성비 및 체장조성 조사
- 체장, 체중관계 및 성장식의 추정
- 식성, 성장 사망 및 가입유형 조사
- 난소 내 난경 조성 및 산란횟수 조사
- 포란수, 균성속도 조사
- 생식소 중량지수 (GSI), 간중량지수 (HSI), 비만도 (CF) 조사

다. 생식소 발달의 조직학적 조사

- 생식소 발달의 광학현미경 관찰

라. 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상 조사

- 특이적 GnRH 및 cGnRHII 동정

2. 2차년도 (2006. 7~2007. 6)

가. 자연산 친어 채포, 사육기술 개발

- 2005년 확보된 친어의 실내사육 관리
- 2007년 친어확보 및 실내 적응 시험
- 친어 실내 사육에 의한 성숙도 조사

나. 기초 생태조사 및 번식 생물 정보 수집

- 생식소 발달의 조직학적 조사
 - 생식소 발달의 전자현미경 관찰
- 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상 조사
 - 계절에 따른 sGnRH-ir의 발현 양상 비교
- 유전학적 분석 (AFLP 유전자 지문분석)

다. 인공채란에 의한 수정란 확보

- 자연산 친어의 성숙도 조사
- 성숙한 어미로부터 인공채란
- 수정란 부화 및 자·치어 사육기술개발
 - 수정란의 수정률, 부화율 조사
 - 수정란의 최적 부화율 구명(수온별, 염분별)
 - 난 발생과정 조사
 - 자·치어의 사육환경 및 생존율 조사

라. 선진지 견학(중국)

- 병어 양식현황 및 실태파악
- 종묘생산 및 양식관련 자료조사

3. 3차년도 (2007. 11~2008. 10)

가. 인공채란 및 수정란 확보 기술개발 확립

- 자연산 친어채포 및 호르몬 주사에 의한 산란유도 시험
- 친어의 성숙도 조사
- 수정란 채란을 위한 친어확보 방법 정립
- 인공채란 시기 및 수정방법 구명
- 수정란의 수정률 및 부화율 조사

나. 인공종묘 생산기술 개발 확립

- 수정란 부화 및 자·치어 사육
- 치어의 생존율 및 적정 사육밀도 구명(염분 농도별, 사육 밀도별 생존율)
- 자·치어의 초기 성장 및 특성 조사

다. 병어 인공종묘생산 기술개발 연찬회 및 종묘방류

제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

제 1절 기술개발 현황

국내에서 병어류의 연구는 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구로서 병어류의 형태에 관한 연구(김과 한, 1989), 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 성숙과 산란(이와 진, 1989), 동지나해산 덕대의 연령과 성장(강 등 1989), 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 덕대의 식성(허, 1989), 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 분포와 어황(조 등, 1989), 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구- 덕대의 자원 해석과 관리(김 등, 1989) 덕대와 병어의 성성숙에 관한 연구(진, 1990), 한국근해산 병어의 자원생물학적 연구(김, 1991), 병어 자망의 망목 선택성(장 등, 2007), 한국서해산 덕대의 번식생태(박, 2008), 등이 보고되고 있다. 2004년 (구)목포지방해양수산청에서는 인공채란을 통해 소량의 수정란을 확보하여 발생과정까지 시험적으로 연구한바 있으나, 종묘생산 기술에는 미치지 못하였지만, 건간망을 이용해 어린 치어를 포획하여 육상 수조에서 순치 및 실내사육 실험을 통해 성공 가능성을 엿볼 수가 있었다.

국외의 연구 현황을 보면 일본에서는 병어의 난 발생 자어전기 및 세토나이 해에서의 산란에 대하여(水戸 敏 등, 1967), 동지나 해상에서 병어에 대하여(西村 博之 등, 1978), 남여군도 남서해역에서의 해황과 어황(東川 勢二 등, 1974), 병어의 친어양성에 관한 기초적 지견(水田 洋之介 등, 1977), 동지나 해상에서 병어에 대하여 - 식성(東川 勢二 등, 1981), 동지나해산 병어와 덕대에서 볼 수 있는 체형의 이상 변형체(東川 勢二 등, 1984), 주방탄의 회유 병어에 대한 생태(林 泰行, 1995) 등 연구가 수행되었다.

중국에서는 1990년 후반 들어 병어의 양식이 가능하다고 알려져 있으나 수정란 확보부터 가능한지, 치어를 채포해 양성하는 수준인지 알려져 있지 않다.

제 2절 문제점 및 전망

병어의 인공종묘 생산을 성공적으로 추진하기 위해서는 양질의 수정란을 확보하는 일이 무엇보다 중요하다. 이를 위해서는 속도가 높은 양질의 난을 보유하고 있는 친어를 확보하여야 한다. 그러나 자연에서 어획되는 어미는 외부 환경에 민감하여 어획과 동시에 폐사하는 경우가 많고, 어획하는 과정에서 비닐 탈락 등 어체의 손상에 의한 폐사가 많아서 수정란 확보에 적합한 친어를 확보하는 일이 매우 어렵다. 또한 병어는 활동성이 많은 어종으로 어획과정에서 외부자극과 스트레스를 받게 되면 난을 자연 방출하는 경우가 많았다. 병어는 종묘 생산기술이 확립된 다른 어종과는 달리 어미의 채포,란의 수집 등에 어려움이 많았으며 수정란의 부화율이 낮아서 자·치어 생산에 어려움이 많았다. 또한 시험수조에서 종묘를 관리하는 과정에서도 Rotifer, Artemia, 배합사료 등으로 먹이를 전환하는 과정에서 감도율이 높았으며, 식물성 편모조류의 기생 및 사육 수온상승에 의한 폐사가 발생하기도 하였다.

이러한 여러 가지 어려움에도 불구하고 우리는 병어 인공종묘생산 기술개발 과제를 수행하는 과정에서 동중국해에서 우리나라 연안으로 회유하는 병어 계군의 양식 생물학적 연구와 더불어 인공종묘 생산의 가능성을 열었다고 생각한다. 또한 자연산 치어와 인공종묘를 양성하는 과정에서 비록 완전한 성공에는 이르지 못하였지만 병어의 완전양식의 가능성을 발견하였다. 이번 시험 결과를 바탕으로 미흡한 부분을 보완하여 산업화로 연결하는 일을 시도하게 된다면 우선적으로 수산종묘 생산업의 경영개선에 기여 하게 될 것이다.

우리 국민의 병어에 대한 선호도를 감안할 때 국민 소득향상과 더불어 소비층의 증가와 함께 그 소비량도 매년 늘어나게 될 것으로 예상된다. 병어의 이러한 가치는 앞으로도 병어에 관한 연구를 계속하게 하는 동력으로 작용할 것이다. 종묘생산 기술개발로 건강한 종묘를 조기에 대량생산하여 안정적인 공급이 가능해지면, 병어 종묘 방류 사업 및 양식이 시도 될 것이며, 머지않은 장래에 병어는 서해안의 중요한 양식품종으로 자리매김하게 될 것으로 전망된다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1절 연구방법

1. 자원학적 정보

가. 채포어장의 환경조사

본 연구의 병어 채포 어장은 전라남도 신안군 임자도와 영광군 안마도 인근 해역으로서 병어 인공종묘 생산을 위한 실내사육 시험의 기초적인 환경자료를 제공하기 위하여 수온, 염분, 용존산소, *Chlorophyll-a*의 양을 2005년 8월부터 조업중인 어선에서 매월 측정하였다(그림 1). 수온은 SCT meter를 이용하여 현장에서 표층 수온을 측정하고 염분은 표층 해수를 염분측정기로 측정하였다. 용존산소는 현장에서 해수(표본시료)를 고정하여 Winkler 나카이 방법으로 각각 측정하였다.

나. 성비 및 체장조성

성비는 암컷에 대한 수컷의 비율로 표시하였으며, 어체판을 이용하여 표준체장(Standard length)으로 가랑이 체장(주둥이 앞끝에서 꼬리지느러미 중앙부분이 가장 깊게 패여 있는 곳까지의 길이)을 1mm까지 측정하였고, 체중은 디지털 저울을 이용하여 1g까지 측정하였다. 체장조성은 월별 체장자료를 이용하여 10mm 간격으로 빈도를 계산하고 체장빈도 분포표를 작성하였으며, 월별 체장조성 자료를 이용하여 우리나라 연안에 출현하는 병어의 생활사, 가입 및 코호트(Cohort)의 이행을 분석하였다.

다. 성장, 사망 및 가입유형

아열대 해역이나 온대해역의 어류는 계절별로 성장률이 다르기 때문에 성장식을 추정하고자 할 경우 계절별 성장변동률을 고려한 성장식이 더 바람직한 것으로 알려져 있다 (Pitcher and MacDonald, 1973; Pauly and Gaschutz, 1979; Pauly et al., 1984). 따라서 성장변동 요인이 sine 곡선을 따른다는 것에 이론적 배경을 둔 다음과 계절적 성장변동률을 고려한 von Bertalanffy 성장식 모델 (Pauly and Gaschutz, 1979)을 통해 성장식을 추정하였다.

$$L_t = L_{\infty} [1 - \exp[-K(t - t_0) - (CK/2\pi)\sin(2\pi(t - t_s))]]$$

여기에서 L_t 는 t 시간에서의 체장, L_{∞} 는 이론적인 최대 체장, K 는 성장률, t_0 는 체장이 0일

때의 연령, C는 계절적 성장의 변동폭, WP ($WP = t_s + 0.5$)는 동계점으로 성장이 가장 느릴 때의 시간을 나타낸다. 이러한 성장매개변수 및 성장비교지수는 FiSAT II computer program (Version 1.2.2)을 이용하여 추정하며, t_0 는 체장 빈도 자료만으로 추정할 수 없기 때문에 다음의 식에 의해 추정하였다 (Lopes Veiga, 1979).

$$t_0 = \frac{1}{K} \ln \frac{L_\infty - L_h}{L_\infty}$$

여기에서 L_h 는 부화시 체장을 가리키며, 기존 연구자료인 2.75mm를 이용하였다 (Y. U. Kim and K. H. Han, 1989).

성장분석을 통해 얻어진 von Bertalanffy 성장식의 파라미터를 이용하여 각 체급에 해당하는 상대연령을 추정하고 어획물곡선법 (length-converted catch curve)을 이용하여 순간전사망률(Z)을 추정하였다. 체장 L1과 L2사이에 채집된 개체수(F)와 중간체급에서의 연령을 t라고 한다면 체장에 기초한 어획물곡선식은 다음과 같은 식으로 나타낼 수 있다.

$$\ln \left[\frac{F}{dt} \right] = a - Z \times t$$

여기에서 순간전사망율은 위 식에서 기울기의 절대값과 같고 생존율(S)은 $\exp(-Z)$ 로 계산할 수 있다.

가입유형 (Recruitment pattern)은 성장 매개변수를 이용하여 체장빈도 분포에서 체장이 0일 때의 시점을 역 추정하는 Pauly (1982)의 방법을 이용하였으며, 가입형태에 대한 정규분포는 FiSAT 프로그램의 NORMSEP (Hasselblad, 1966)을 이용하였다.

라. 체장, 체중관계, 성장식의 추이

체장과 체중간의 상관관계는 체장과 체중간의 두 변수를 최소자승법 (least square method)에 의해 얻어진 매개변수를 이용하여 곡선 회귀식으로 표시하였으며, 성장모델은 von Bertalanffy 성장식을 선택하였으며, 매개변수는 Walford 정차도법에 의해 연령별 평균체장을 사용한 결과를 이용하였다.

마. 식성

병어의 식성에 관한 조사는 실험실로 운반된 시료를 체장 20cm를 기준으로 하고, 2개 집단으로 구분하여 위를 분리하고 위의 내용물은 해부현미경하에서 먹이 분류군별로 분리, 동정하였다. 대부분의 먹이생물은 대분류하였으며, 먹이 조성은 분류군별 건조중량을 측정하여 계산하였다.

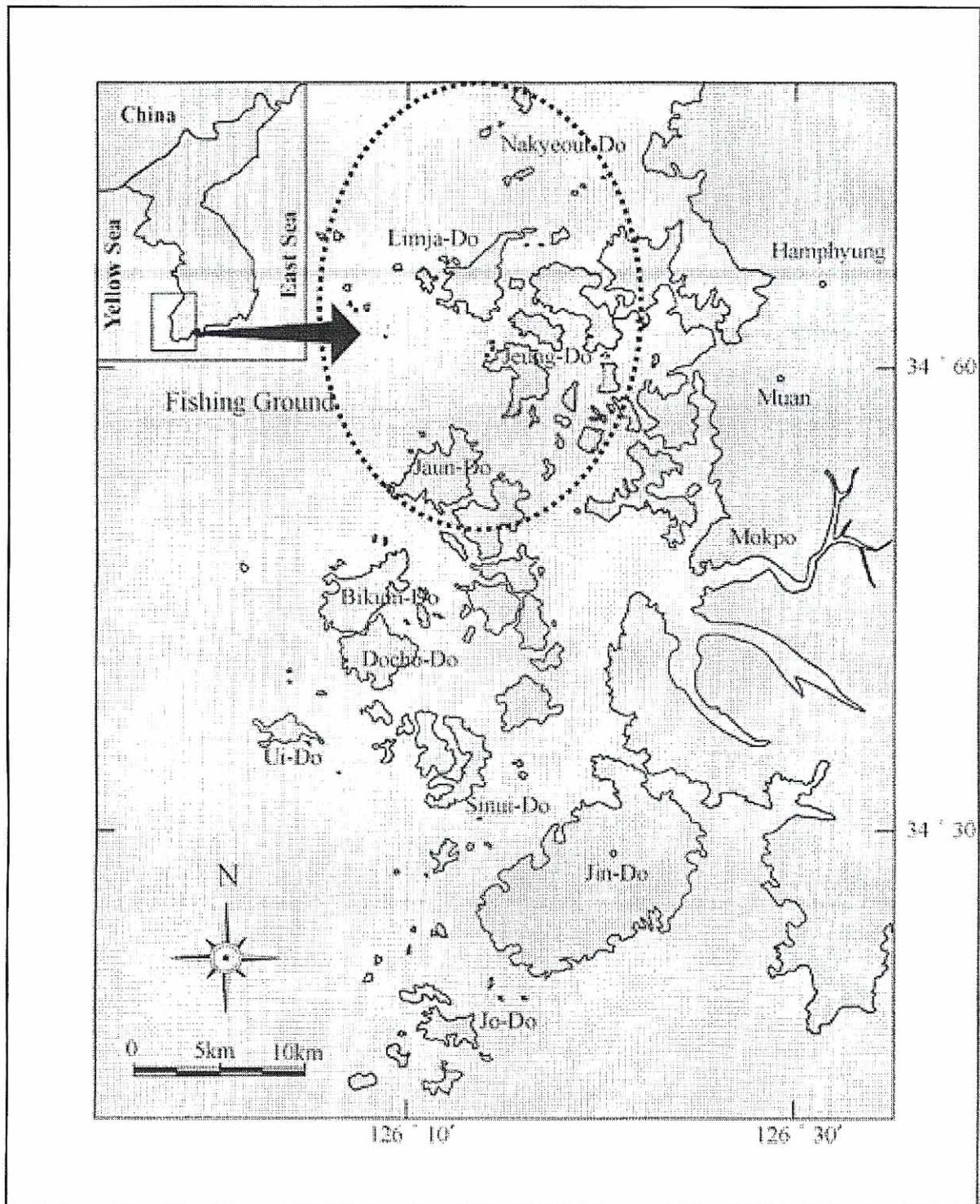


그림 1. 병어 채포 어장 해역도

Fig. 1. Sea area captured of silver pomfret

바. 난소 내 난경조성 및 산란횟수

난경조성 조사는 난소 내 성 성숙이 일어나는 4~8월의 개체 중 조직관찰에서 산란흔적이 있는 것으로 판단되는 것은 제외시키고 성숙상태가 육안적으로 식별되는 개체의 난소만을 이용하였다.

사. 포란수

병어의 번식 잠재력을 파악하기 위하여 군성숙도 50% 이상인 체장 12.6~32.4 cm인 총 59개체를 채집하여 체장과 체중별과 각각 7등급과 6등급으로 나누어 측정하였다.

아. 군성숙도

군성숙도는 주산란기로 추정되는 6~8월의 생식소 표본을 사용하였으며, 군성숙도 판정은 Volodin *et al.* (1974)과 Hayashi (1972) 등의 방법에 따라 개체군의 생물학적 최소형(군성숙도 50%)의 크기를 구하였다.

자. 생식소 중량지수

생식소중량지수 (Gonadosomatic index, GSI) : $GSI(\%) = (\text{생식소중량} / \text{체중}) \times 100$

차. 간 중량지수

간중량지수 (Hepatosomatic index, HSI) : $HSI(\%) = (\text{간중량} / \text{체중}) \times 100$

카. 비만도

비만도 (Condition factor) : $CF = (\text{체중} / \text{전장}^3) \times 100$

2. 생식주기 분석

정확한 산란시기를 구명하기 위하여 매월 난소 및 정소 표본을 이용하여 조직표본을 만들고, 광학현미경 및 전자현미경하에서 생식소 발달단계를 결정하고 월별 변화 양상을 조사 하였다.

3. 병어 뇌에서의 특정 GnRH 발현 동정

가. 시료 및 뇌 수집

본 시험에 사용된 병어 (*Pampus argenteus*)는 2005년부터 2007년 5월 계절에 따라 산란 전기(3월), 산란기(5월)와 산란 후기(10월)로 구분하여 각 단계별 시료를 전남 신안군 임자면, 흑산면 해역에서 안강망을 이용하여 포획 하였고, 500~800g의 성체 암수를 구별하지 않고 실험에는 8~10마리 내외로 병어 뇌를 적출하였다.

나. 면역 조직화합법을 이용한 병어 뇌에서의 GnRH의 발현연구

병어를 정치망에서 포획하여 살아있는 개체를 무작위로 선택하여 두부를 절개하고 4% neutral buffered paraformaldehyde (NBP) 용액에서 전고정하고 뇌를 적출하여 24시간 동안 후고정 하였으며, 30% sucrose 용액에서 뇌조직을 천천히 가라앉혔다. 다시 조직을 꺼내어 OCT compound에 포매하여 동결절편기 (Leica, CM 3000)를 이용하여 10~15 μ m 두께로 연속절편을 만든 후 면역조직화학염색을 시행하기 전까지 -40°C에 극 저온 냉장고에 보관하였다. 최대 2개의 연속절편까지 동일 슬라이드 위에 놓았으며, 여러 개체의 병어로부터 준비한 20~40개의 슬라이드를 동시에 염색함으로써 염색 과정에 따른 절편 표본 간 차이를 최소화하였다. 병어의 뇌조직에 대한 GnRH의 면역조직화학염색은 기본적으로 avidin-biotin-complex (Vectastain) horseradish peroxidase를 사용한 Hsu et al. (1981)의 방법을 따랐다. mGnRH (Incstar co.)는 직접 구입하였고, sGnRH는 동경대 Aida 교수로부터, cGnRH-II는 남아프리카공화국 케이프타운대학 Miller 박사로부터 기증 받았으며, 우선 상기의 조직절편을 0.02 M phosphate buffere saline (PBS), pH 7.4로 10분씩 3회 세척하였다. 비특이 반응을 최소화하기 위해 normal goat serum을 50분 동안 처리하였다. 그 후 세 가지 1차 GnRH 항체 (PBS에 1:5000비율로 희석)를 인접 절편 조직 위에 처리하고, 4°C의 습윤 상자에서 12시간 동안 반응 시켰다. 1차 항체로는 anti-rat GnRH (mGnRH), anti-salmon GnRH (sGnRH), anti-chicken GnRH-II (cGnRH-II)을 사용하였다.

다음에 조직을 PBS로 3회 10분간씩 세척한 후, 내인성 peroxidase 활성을 억제하기 위하여 0.5% periodic acid를 5분간 처리하였다. PBS에 1:200~1:500으로 희석한 2차 항체인 biltynylated goat anti-rabbit antisera를 실온에서 50분 동안 처리한 후 다시 PBS로 3회 10분간씩 세척하였다. 그 다음 avidin-biotin complex (ABCkit, Vectastain)로 1시간 동안 반응시킨 후 조직을 PBS로 2번 세척하고, 0.02 M PBS 완충액으로 다시 세척한 다음 정색 반응을 실시하였다. 0.05% 3-3 diaminobenzidine (Sigma Co.), 0.04% NiCl, 0.003%

H₂O₂ PBS 완충액에 10분간 반응시켜 GnRH 양성 신경세포체와 신경섬유를 발색시켰다. 탈수, 투명화를 거친 후 canada balsam으로 봉입하였다. 준비된 조직은 Nikon 현미경으로 사진작업을 수행하였다. 비특이 반응에 의한 정색의 대조군으로 인접조직에 1) 1차 항체를 제거하거나, 2) 합성 GnRH와 GnRH 항체를 24시간동안 반응시킨 후 1차 항체로 사용하였다.

4. 유전적 다양성 분석

가. 실험어

본 연구에 사용된 병어, *Pampus argenteus*와 덕대, *P. echinogaster*는 전남 신안군 흑산도 근해에서, 중국병어, *P. chinensis*는 중국 하문시(廈門市) 소재 향안 가두리 양식장에서 채집하여 AFLP 분석에 각각 15마리씩을 사용하였다.

나. Total DNA의 분리 및 정제

시험어의 Total DNA는 Asahida 등 (1996)의 방법에 따라 TNEs-urea 완충용액(10 mM tris-HCl; pH 8.0, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA; pH 8.0, 0.5% SDS, 8M urea) 과 proteinase K (Sigma, USA)를 사용하여 지느러미에서 분리하였고, 수집된 DNA는 TE buffer (10mM Tris-Cl; pH 8.0, 1 mM EDTA; pH 8.0)에 용해시켜 연구에 사용되었다.

다. DNA 절단 및 adapter ligation

Total DNA 2 μ g을 EcoR I 제한효소 (Promega, USA) 10 unit로 37°C에서 반응시킨 후, 0.7% agarose gel 상에서 절단 정도를 확인하였다. 절단된 DNA에 1/10 3M NaOAc 와 2배의 100% 에탄올을 첨가하여 DNA 단편들을 침전하였다. 다시 Mse I 제한효소 (Promega, USA) 2 unit를 첨가하여 65°C에서 4시간 동안 반응시켜 이중 절단한 후 같은 방법으로 침전시켜 3차 증류수에 용해시켜 놓았다. 두 종류의 제한 효소로 절단된 반응액에 각각 1 unit T4 DNA ligase (Promega, USA)와 EcoR I /Mse I adapter를 첨가하여 최종 부피가 50 μ l가 되도록 조정한 후 15°C에서 12시간 동안 ligation시켰다.

라. PCR 증폭조건 및 전기영동

Ligation된 DNA $5\mu\text{l}$, EcoR I primer, Mse I primer, 1 unit Taq DNA polymerase (iNtRON, Korea), dNTP, 10X PCR 완충용액을 첨가하여 PCR 반응액을 총 $50\mu\text{l}$ 로 조정 한 후 1차 증폭 반응을 실시하였다. PCR 반응조건은 94°C 에서 30초, 56°C 에서 60초, 72°C 에서 60초간의 cycle을 총 20회 반복하였다. 반응액을 TE 완충용액으로 50배 희석하여 2차 PCR 반응의 재료로 사용하였다. 희석액 $5\mu\text{l}$, EcoR I selective primer, Mse I selective primer, dNTP, Taq DNA polymerase, 10x PCR 완충용액을 최종 $20\mu\text{l}$ 가 되도록 첨가하여 2차 PCR을 하였다. 반응조건은 touchdown PCR법을 이용하여 94°C 에서 30초, $65^{\circ}\text{C}\sim 56^{\circ}\text{C}$ (회당 0.7°C 씩 감소)에서 30초, 72°C 에서 60초간 12회 실시 후 annealing 온도를 56°C 에서 30초로 고정하여 총 24회를 반복 수행하였다.

최종 PCR 반응액 $20\mu\text{l}$ 에 $6\mu\text{l}$ 의 for mamide dye를 첨가한 후 95°C 에서 5분간 가열 하였다. 그 중 $3\mu\text{l}$ 를 미리 55°C 로 가열된 5% denaturing polyacrylamide gel에 loading한 후 1,600 V에서 2시간 동안 전기영동하여 DNA 단편을 분리한 다음, silver staining kit (Promega, USA)로 염색하여 결과를 분석하였다.

본 연구의 AFLP 분석에 사용한 adapter 및 primer의 염기서열은 표 3에 나타내었으며, 이 중 AAT-CAG, ACG-CAT, AGT-CCC 총 3개의 primer 조합을 이용하여 AFLP를 수행하였다.

마. AFLP 결과 분석 방법

Silver staining된 gel 상에서 눈으로 직접 확인된 DNA 단편들은 밴드의 유무에 따라 0 또는 1로 표시하여 matrix code를 작성한 후, 각 개체간의 유사도 matrix를 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic means)로 분석하여 각각을 군집화 (clustering)하고 이를 토대로 계층도 (dendrogram)를 작성하였다. 각 집단별의 유전적 유사도 (genetic similarity, GS)는 Nei와 Li (1979)의 공식을 적용하여 직접 계산하였다. 이러한 작업은 수리분류분석용 프로그램인 NTSYS 프로그램을 이용하였다 (Rohlf, 1992).

또한 TFGA (ver. 1.3; <http://iubio.bio.indiana.edu.au/tfpga/>) 프로그램을 사용하여 (Miller, 1997) 병어 덕대 및 중국병어의 평균 이형접합율 (heterozygosity, HE)과 평균 유전 다양성 (genetic diversity, GD) 수준을 구하였다. 각 집단간의 Hardy-Weinberg 평형 (HWE)을 검정하기 위하여 유전적 분화도 (genetic differentiation, F_{st})를 분석하였다 (Wright, 1951). F_{st} 수치에 대한 유전적 검정(*P)은 무작위 대립유전자 치환 (random allelic permutation) 과정을 10,000번 이상 반복하여 수행하였다. 이러한 작업은 Arlequin 프로그램 (ver. 2.000, Stefan et al., 2000)을 이용하였다.

표 3. AFLP 분석에 사용한 adapter 및 primer의 염기서열

Table 3. Adapters and primer sequences used for AFLP analysis

		Sequence (5' → 3')	
Adapter	EcoR I	F	CTCGTAGACTGCGTACC
		R	AATTGGTACGCAGTC
	Mse I	F	GACGATGAGTCCTGAG
		R	TACTCAGGACTCAT
Preamplification primer	EcoR I		GACTGCGTACCAATTCA
	Mse I		ATGAGTCCTGAGTAAC
Selective amplification primer	EcoR I	E/AAC	GACTGCGTACCAATTCAAC
		E/AAG	GACTGCGTACCAATTCAAT
		E/ACA	GACTGCGTACCAATTCACA
		E/ACT	GACTGCGTACCAATTCACT
		E/ACC	GACTGCGTACCAATTCACC
		E/ACG	GACTGCGTACCAATTCACG
		E/AGC	GACTGCGTACCAATTCAGC
		E/AGG	GACTGCGTACCAATTCAGT
	Mse I	M/CAA	ATGAGTCCTGAGTAACAA
		M/CAG	ATGAGTCCTGAGTAACAG
		M/CAT	ATGAGTCCTGAGTAACAT
		M/CCA	ATGAGTCCTGAGTAACCC
		M/CTA	ATGAGTCCTGAGTAACTA
		M/CTC	ATGAGTCCTGAGTAACTC
		M/CTG	ATGAGTCCTGAGTAACTG
		M/CTT	ATGAGTCCTGAGTAACTT

5. 자연산 병어 채포

가. 자연산 병어 치어 채포

어류의 친어 확보는 자연에서 치어를 채포하여 육상수조 환경에 적응시켜 사육함으로써 어미 개체군 확보 가능성이 높아진다. 그러나 병어는 채포하는 과정에서 비늘탈락 등 어체의 손상으로 인한 폐사율이 높기 때문에 안전한 채포방법이 필요하다. 따라서 연안의 원거리에서 조업이 이루어지는 유자망, 고정 걸그물 등에서 병어를 포획 할 경우 생존율을 높이기 어렵다고 판단하여 육지와 인접한 해역에서 이루어지고 있는 어구 어법 가운데서 효과적인 채포방법을 찾고자 하였으며, 그 결과 건간망 어장에서 치어를 채포하게 되었다.

나. 운반 및 수송

건간망 어장에서 채포한 병어를 비닐 봉투에 산소 포장하여 인근 선착장까지 운반하였으며, 선착장에서 시험 양식장까지는 활어차로 운송하였다. 어획과정에서 어체의 손상으로 인한 세균 감염을 예방하기 위하여 활어차 수조에서 OTC 100ppm으로 약욕 처리하여 시험양식장으로 수송하였다.

다. 실내 사육

건간망 어장에서 채포한 치어의 사육은 2005년 10월부터 2007년 7월까지 이루어졌다. 채포한 병어를 어미로 사용하기 위해서 우선 육상수조에 적응 시키는 일과 더불어서 병어의 습성을 면밀하게 관찰하면서 특성에 맞는 관리 대책을 강구하였다. 육상수조에 적응한 병어는 어체 손상으로 인한 질병 예방을 위하여 OTC 150ppm으로 2시간 약욕하였으며, 생새우류, 냉동 곤쟁이, 배합사료 등으로 먹이불임을 하였다. 자연에서의 월동 환경 조건에 맞추어 사육 관리하고자 겨울철 수온이 12.0℃ 이하로 내려가는 11월 하순부터 다음해 3월 하순까지 100,000 Kcal 용량의 보일러를 가동하여 수온을 12.0~16.4℃로 유지하였다.

라. 성장도 측정

사육중인 병어의 성장도는 2006년 3월, 6월, 9월, 12월, 2007년 3월, 6월에 분기별로 측정하였으며, 무작위로 20마리를 포획하여 어체판을 이용하여 주둥이 앞끝에서 꼬리지느러미까지 1mm단위로 전장(Total length)을 측정하였고, 체중은 디지털 저울로 1g 단위까지 측정하였다.

마. 호르몬제 주사에 의한 산란유도 시험

2008년 5~6월 자연산 친어를 포획하여 육상수조에 적응시켜서 수정란 확보를 위한 어미로 활용하고자 하였다. 산란유도를 위하여 호르몬제는 HCG, LHRH-a (sigma)를 사용하였으며, HCG + LHRH-a를 혼합투여하거나, HCG 만 단독 사용하여 시험하였다.

6. 인공채란 및 종묘생산

가. 수정란 관리

인공채란에 의해 생산된 수정란은 20ℓ 규격의 박스에 포장하여 신속하고 안전하게 시험양식장으로 운반하여 부화수조에 수용하여 관리하였으며 입식 당시 사육 환경은 표 4와 같다.

나. 난 발생

난 발생 시험은 20 ℓ 들이 사각유리수조에 수정란을 수용하여 난에 충격이 가지 않게 산소를 소량 공급하면서 발생과정을 연속적으로 조사하였다. 수정란과 자어의 변화는 petri dish (Ø50 mm)에 옮겨 광학현미경과 입체 현미경으로 관찰하였으며, 난발생과정은 배반 형성기, 상실기, 포배기, 낭배기, 신경배 형성기, 기관형성기, 부화자어 단계 등을 조사하였다.

다. 수정란 크기

수정란은 크기 측정에는 만능투영기 (V-12A, Nikon Corp., Japan)를 사용하였으며, 수정란 30개를 무작위로 선별하여 난경을 측정하였다.

라. 부화율

1) 수온에 따른 수정란의 부화율

병어 수정란의 부화 최적수온을 조사하기 위하여 수온 16, 20, 23, 26℃ 시험구로 나누어 각 시험구당 1ℓ 들이 비이커에 100개의 수정란을 수용하여 부화율을 3반복 조사하였다.

2) 염분농도에 따른 수정란의 부화율

병어 수정란의 부화 시 최적 염분농도를 조사하기 위하여 25, 27, 30, 35‰ 시험구로 나누어 각 시험구당 1ℓ 들이 비이커에 100개의 수정란을 수용하여 부화율을 3반복 조사하였다.

표 4. 병어 수정란 입식환경 조건

Table 4. Culture condition for the fertilized eggs of Silver pomfret

WT (°C)	DO (mg/ℓ)	pH	Salinity (‰)	NH ₃ (mg/ℓ)	NO ₃ (mg/ℓ)	NO ₂ (mg/ℓ)	PO ₄ (mg/ℓ)
19.7	8.8	7.8	35	0.18	0.03	0.012	0.26

마. 병어 치어 사육관리

1) 클로렐라 (*Chlorella* sp.) 공급

해산 *Chlorella* sp.의 첨가는 부화자어의 사육수에 자어가 먹고 남은 로티퍼의 먹이 유지 및 사육수의 안정과 광합성 작용을 돕기 위하여 수정란 부화 완료 후부터 10~20만 cells/ml의 밀도를 유지하면서 25일간 공급하였다.

2) 로티퍼 (Rotifer) 공급

부화 자어의 초기 먹이 공급은 부화 후 2일째부터 Rotifer를 공급하였으며, 공급량은 사육수조에 로티퍼가 10~15개체/ml 유지 되도록 매일 2~3회 공급하였다. Rotifer 투여기간은 25일까지 계속 공급하였다.

3) 알테미아 (*Artemia*) 공급

*Artemia nauplii*는 28~30℃에서 부화시켜 난각을 제거한 후 각 수조 당 3~5 개체/ml의 농도로, 부화 후 20~35일 동안 공급하였다.

4) 배합사료 공급

초기 배합사료는 수정란이 부화된 후 일령 18일부터 250 μ m 크기를 공급하였고, 일령 25일부터 300~400 μ m 크기를 1~2시간 간격으로 급이 하였으며, 부화 50일 이후에는 1mm 크기의 배합사료를 1일 5~6회 급이 하였고, 성장 단계별로 사료입자의 크기를 조절하여 공급하였다.

5) 치어 사육

수정란을 수용한 사육수조에서 치어가 될 때까지 연속적으로 사육하였으며, 사육 환경조건은 표 5에 나타내었다. 부화 후 7일째까지는 지수식으로 관리하였으며, 이 후에는 매일 2회 (07:00, 16:00) 수량의 20~30%씩 여과해수를 보충하는 반 지수식 방법을 사용하였다. 부화 20일부터는 깨끗한 여과해수를 사용하여 유수식 방법으로 관리하였다.

6) 생존율

가) 염분농도에 따른 치어의 생존율

염분 농도에 따른 생존율 조사는 2008년에 부화하여 관리하고 있는 전장 20 mm의 치어를 가지고 시험하였다. 치어를 2ℓ 용량의 Glass beaker에 10‰, 20‰, 25‰, 30‰, 35‰ 등 5개 시험구를 설정하여 3반복으로 10일간 사육하면서 조사하였다. 병어의 사육과정에서의 염분 농도가 치어의 생존에 미치는 영향을 간접적으로 알아보려고 하였다.

나) 사육밀도에 따른 치어의 생존율

사육밀도에 따른 생존율 조사는 2008년에 부화하여 관리한 전장 25mm 크기의 치어를 대상으로 시험양식장에서 시험하였다. 치어를 10ℓ 용량의 아크릴 수조에 5, 10, 15, 20, 25마리씩을 수용한 5개 시험구를 설정하여 30일간 3반복으로 시험하였으며, 생존율을 근거로 적정 사육밀도를 간접적으로 알아보려고 하였다.

7) 치어의 행동특성

수정란이 부화되기 시작하면서 사육수조 내에서 나타나는 행동학적 특성들을 성장 시기별(5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 90일)로 나누어 유영, 먹이섭식, 무리형성 및 특이적 행동양상을 지속적으로 관찰하였다.

표 5. 병어 자·치어의 사육환경 조건

Table 5. Culture condition for the juvenile Silver pomfret

WT (°C)	DO (mg/ℓ)	pH	Salinity (‰)	NH ₃ (mg/ℓ)	NO ₃ (mg/ℓ)	NO ₂ (mg/ℓ)	PO ₄ (mg/ℓ)
19.7~28.8	7.5~10.0	7.8~8.1	32~35	0.18~0.84	0.03~0.19	0.012~0.082	0.26~0.71

제 2절 연구결과 및 고찰

1. 자원학적 특성

가. 분류학적 위치

- 1) 농어목 (Order Percida)/셋돔아목 (Suborder Stromateina)/병어과 (Family Pampidae)
- 2) 국 명 : 병어
- 3) 학 명 : *Pampus argenteus*
- 4) 영 명 : Silver pomfret
- 5) 일본명 : Mana-gatsuo
- 6) 중국명 : 白鯧
- 7) 방 언 : 병치, 편어, 뱀어, 병단어, 뱀에

나. 형태학적 특징

몸과 머리는 측편 되었고, 중간부분의 체고가 매우 높은 마름모꼴이다. 눈은 머리의 중앙에 있고, 눈 지름은 주둥이 길이와 비슷하거나 길며, 주둥이는 짧고 끝은 둥글다. 등지느러미와 뒷지느러미는 낫과 같이 안쪽으로 패었으며, 배지느러미는 없다. 꼬리지느러미 뒤 가장자리는 깊게 패었고, 상엽과 하엽의 양 끝은 뾰족하며 하엽의 끝이 길다. 몸 전체가 금속성 광택을 띤 은백색이고, 비늘이 쉽게 벗겨진다. D. X-39~46; A. VII-34~38이고 뒷지느러미는 1기로 기저는 길고, 그 시발부는 주둥이 끝과 꼬리자루가 시작된 부분과의 중간에 위치하며, 전장이 60cm에 달한다.

다. 생태학적 특징

1) 분포 및 회유

병어는 9~26℃ 수온 범위에 서식하는 난해성어종으로 한국, 일본, 쿠웨이트연안으로부터 인도양, 남중국해의 아열대해역, 동중국해 중남부해역에서 분포하고 있으며, 서해계군, 남해계군, 동중국해계군을 형성하고 있다. 회유경로는 12월부터 익년 2월까지 동중국해 중남부해역에서 월동하다가 4월 이후 수온이 상승하면서 5월부터 6월에 우리나라 남·서해연안으로 북상 회유하여 산란을 하고 서식하다가 9월 이후 수온이 하강하면서 다시 동중국해 중남부해역으로 회유하여 깊은 수심에서 월동 한다(그림 2).

2) 습성

자연에서의 습성은 산란기는 6월경으로 내해로 들어와서 산란한 후 가을에 외해로 나가며 유어도 체장 30mm가 되면 외해로 나간다.

부화된 자·치어의 시험수조에서의 습성을 관찰한 결과, 일령 25일째인 크기 11.83~15.89mm에서는 배합사료를 섭식하기 시작하였으며, 표층에서 옆으로 누워서 유영하는 현상을 보였는데, 이러한 행동은 배합사료를 섭식하면서 체내에 공기가 혼입되어 발생하는 것으로 보인다. 또한 외부의 소음, 물체 등의 접근에 민감한 반응을 나타냈는데, 특히 카메라 플래시, 랜턴 등의 불빛에 민감하게 반응하여 수면위로 뛰어 오르는 현상을 보였다.

2. 자원학적 정보

가. 체포 어장의 환경조사

2005년 8월부터 2006년 7월까지 전라남도 신안군 임자도와 영광군 안마도 인근 해역의 월별 표층 (수심 1~2m) 수온을 측정된 결과 2005년 8월에 25.0℃로 가장 높았고, 2006년 2월에 5.4℃로 가장 낮은 수온을 보였으며, 계절적인 변동폭이 매우 크게 나타났다(그림 3, a). 월별 표층 염분을 측정된 결과 2006년 7월 29.2‰로 가장 낮았고, 2006년 1월에 34.2‰로 가장 높은 염분을 보여주었으며 평균염분은 32.9‰로 나타났다(그림 3, b). 최저염분과 최대염분간의 차이는 약 5.0‰로 나타났으며, 월별 염분의 변동폭은 매우 적은 것으로 나타났다. 월별 표층 용존산소량은 2005년 8월에 6.3mg/ℓ로 가장 낮았고, 2005년 12월에 8.8mg/ℓ로 가장 많은 용존산소량을 보여주었으며 평균은 7.9mg/ℓ였다(그림 3, c). 월별 Chlorophyll-a의 양을 측정된 결과 2005년 12월과 2006년 1월에 1.9μg/ℓ로 가장 낮았고, 2006년 3월에 3.8μg/ℓ로 가장 많은 Chlorophyll-a을 보여주었으며 평균은 2.6μg/ℓ로 월별 변동폭은 크지 않았다(그림 3, d).

나. 성비 및 체장조성

2005년 8월~2006년 7월 조사기간 동안 병어는 총 732개체를 분석하였으며, 암수 성비의 구분은 생식소가 비교적 성숙에 이르는 시기인 2006년 5월~7월의 개체를 이용하여 판단하였다. 이 시기 동안 총 278개체의 성비를 구분한 결과 암컷 개체는 181개체로 전체의 65.1%를 차지하였으며, 수컷 개체는 97개체로 34.9%의 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 체장분석 결과 최대체장은 2006년 6월에 26.7cm 였으며, 2006년 1월에 9.3cm의 최소체장 개체

가 출현하였다. 월 평균 체장의 범위는 2006년 1월에 15.5cm로 작은 개체들이 많이 출현하였으며, 2006년 7월에 평균 19.9cm로 가장 큰 개체들이 어획되었다. 연급군은 수온이 상승하는 5월부터 어린개체들이 출현하여 뚜렷하게 2개의 코호트로 분리되는 양상을 보여 주었으며, 산란에 참여한 개체들로 판단되는 연급군은 9월까지 지속되다가 사라지는 것으로 나타났다 (그림 4).

다. 성장, 사망 및 가입유형

2005년 8월부터 2006년 7월까지 조사기간 동안 병어는 총 732개체를 분석하였으며, 최대체장은 26.7cm 였으며, 9.3cm의 최소체장 개체가 출현하였다. 체장자료를 체장계급 10mm 간격으로 나눈 후 ELEFAN 프로그램에서 추정된 계절적 변동요소를 고려한 von Bertalanffy 성장식의 매개변수를 추정하였다. 이론적인 최대체장 (L_{∞})과 성장계수(K)는 35.4cm, 0.45로 각각 추정되었다. 계절적인 성장의 변동폭 (C)은 0.26으로서 온대해역에 서식하는 해양생물 중에서 비교적 계절적인 변동폭이 크지 않은 것으로 나타났으며, 성장이 가장 느린 시기인 동계점 (WP) 은 0.67로 추정되었으며, 이들 성장 매개변수를 바탕으로 추정된 성장식은 그림 5와 같다. 성장 매개변수를 이용하여 체장계급에 대한 상대연령 (t)과 그 연령에 해당하는 개체수 (N)를 이용하여 추정된 회귀식은 $\ln(N) = -2.19 t + 6.48$ ($r^2=0.83$, $P<0.001$)로 추정되었다. 체장계급에 대한 개체수가 최고점에 이르는 점 이전의 자료는 가입에 도달하지 않은 것으로 판단되므로 계산에서 제외 되었으며, 이론적인 최대 체장에 너무 근접한 자료 또한 제외 되었다. 따라서 어획물 곡선법에 의해 추정된 순간전사망계수는 2.19 yr^{-1} 으로 추정되었다(그림 6). ELEFAN 프로그램에 의해 추정된 가입유형은 한 개의 정규분포를 갖는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 병어가 일년 동안 한번의 가입이 일어난다는 것을 지적해 주고 있다(그림 7).

라. 체장, 체중관계, 성장식의 추정

체장(L)과 체중(W)간의 관계를 그래프를 통해 알아본 결과, 체장이 커질수록 체중의 변이가 더 커지는 곱의 오차구조를 가짐을 알 수 있었다. 추정된 체장, 체중 관계식은 $W = 0.0099L^{3.3648}$ ($r^2 = 0.9803$, $n = 732$)로 나타났다(그림 8).

von Bertalanffy 성장식을 추정하기 위하여 성장매개변수들을 Walford의 정착도법에 의하여 추정한 결과 추정된 이론적 최대연령 (L_{∞})은 32.12cm 였으며, 성장계수 (K)는 0.332, 체장이 0일때 이론적 연령 (t_0)은 0.844로 각각 추정되었다.

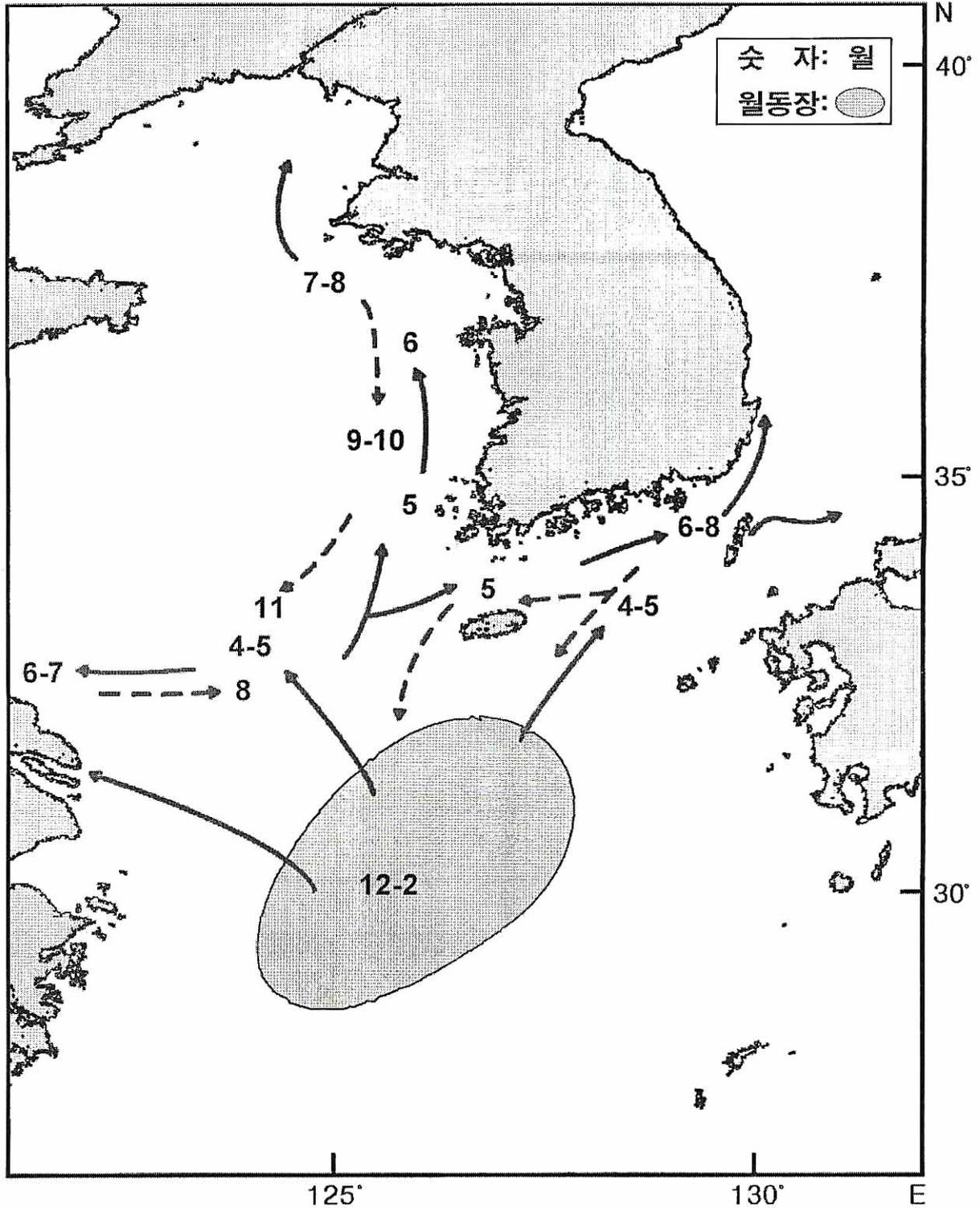


그림 2. 병어 계군의 회유 경로(해양수산부, 2005)

Fig. 2. Migration route on the groups of the wild Silver pomfret

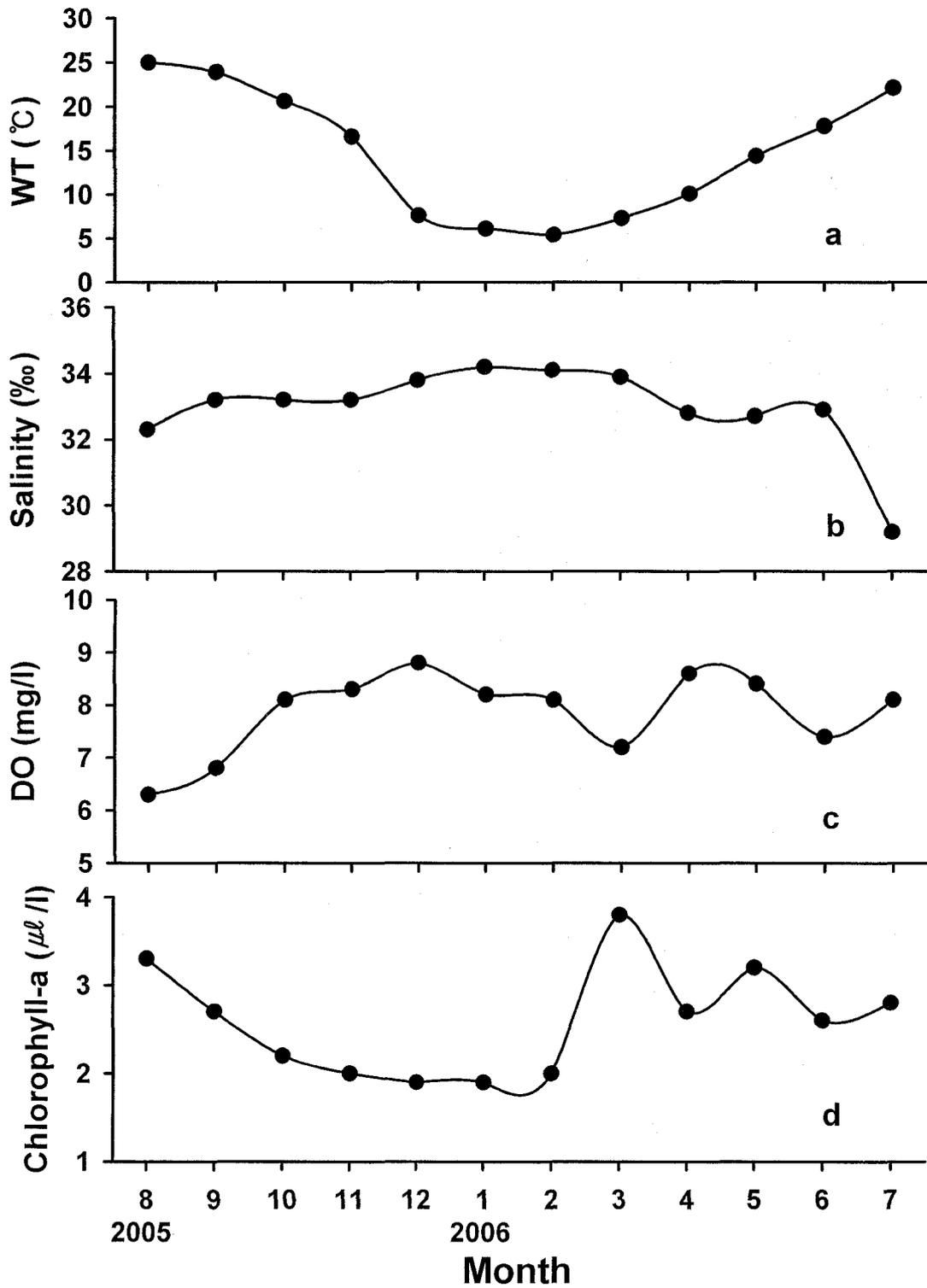


그림 3. 병어 채포 어장환경 변화 (a: 수온, b: 염분, c: 용존산소, d: 클로로필 a)

Fig. 3. Envirmental sampling of silver pomfret

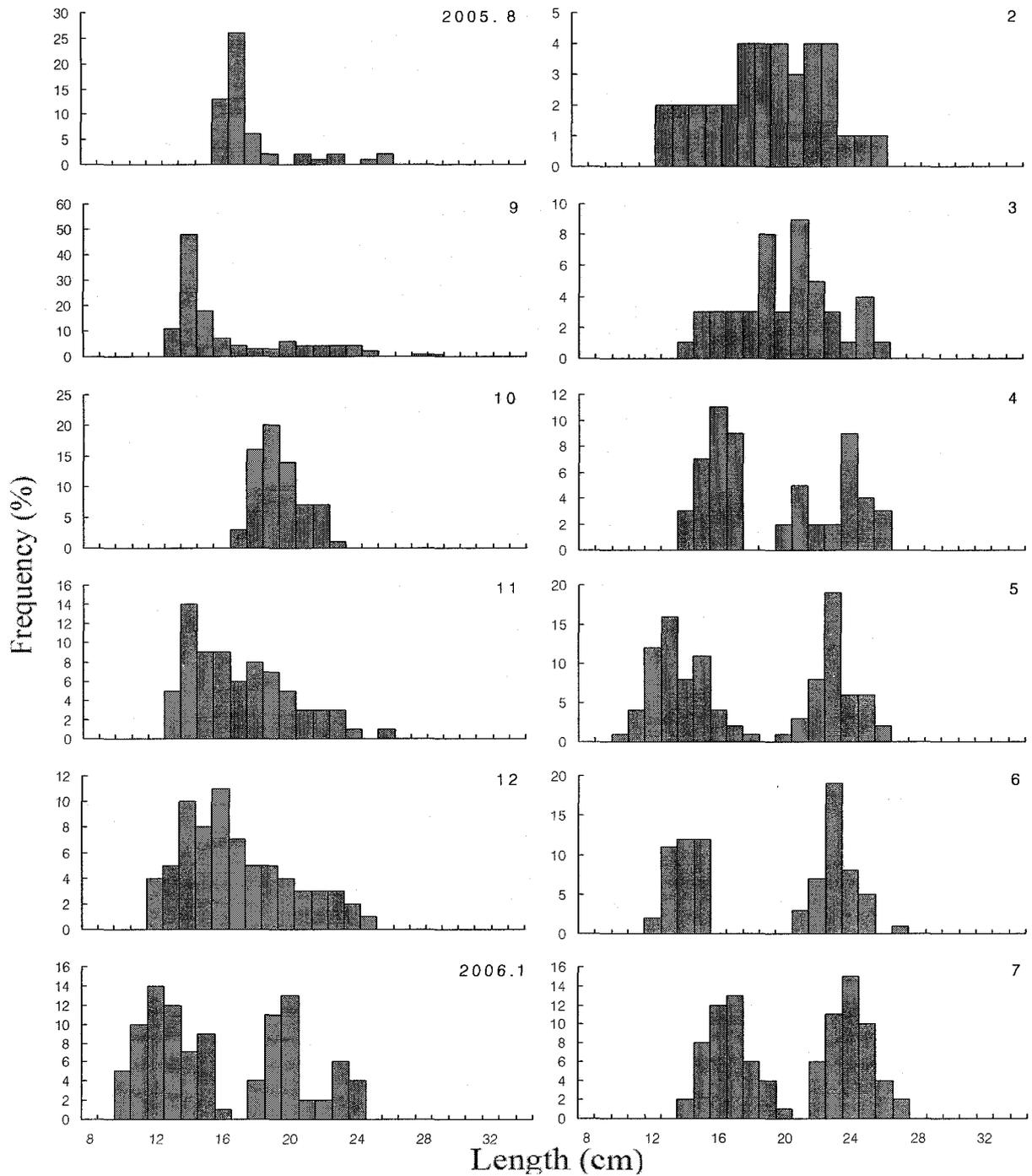


그림 4. 체장빈도 분포표

Fig. 4. Composition of body length frequency

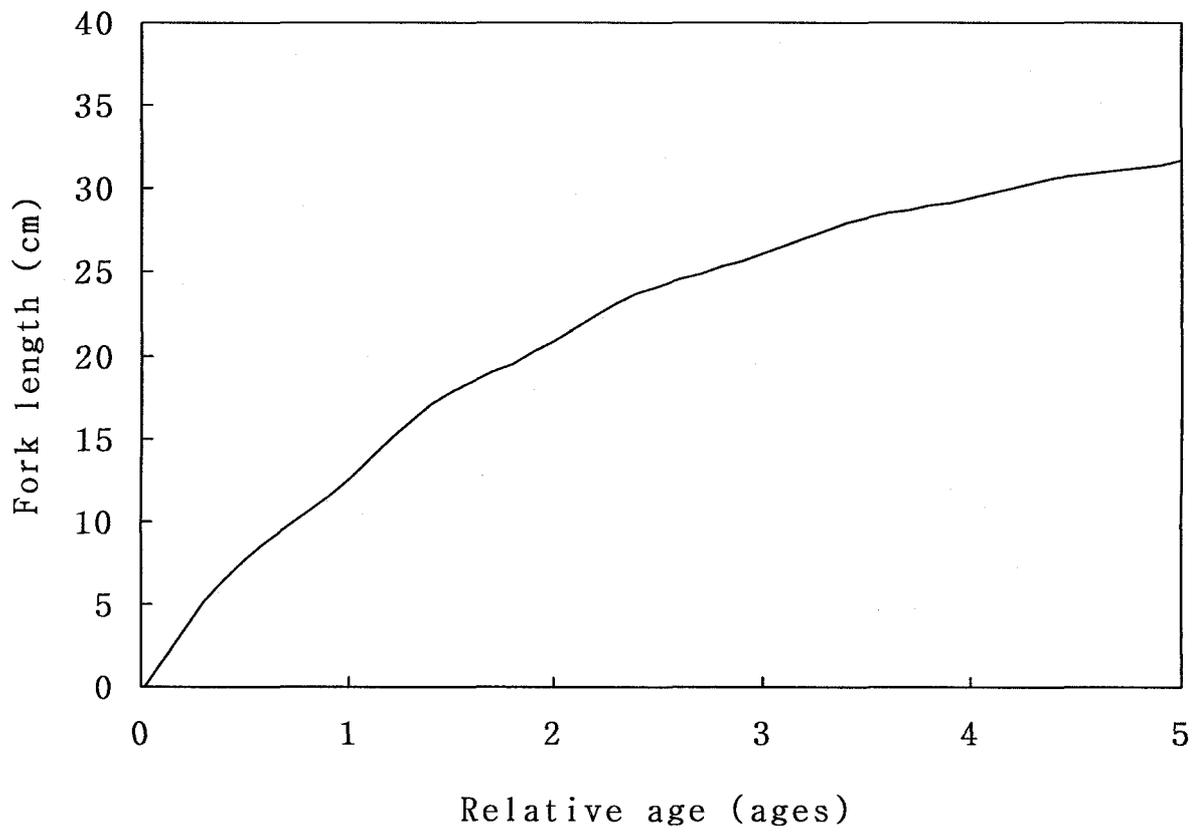


그림 5. von Bertalanffy 성장 곡선

Fig. 5. von Bertalanffy growth curve

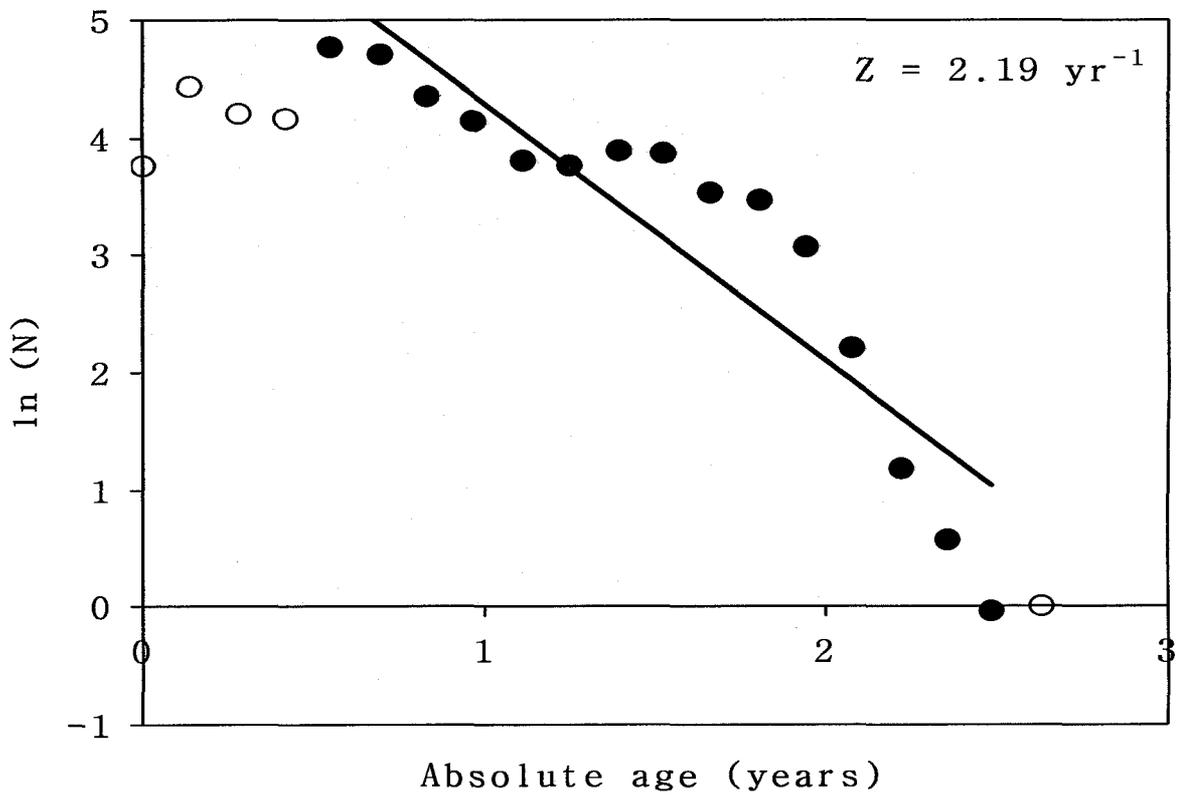


그림 6. 사망률

Fig. 6. Mortality

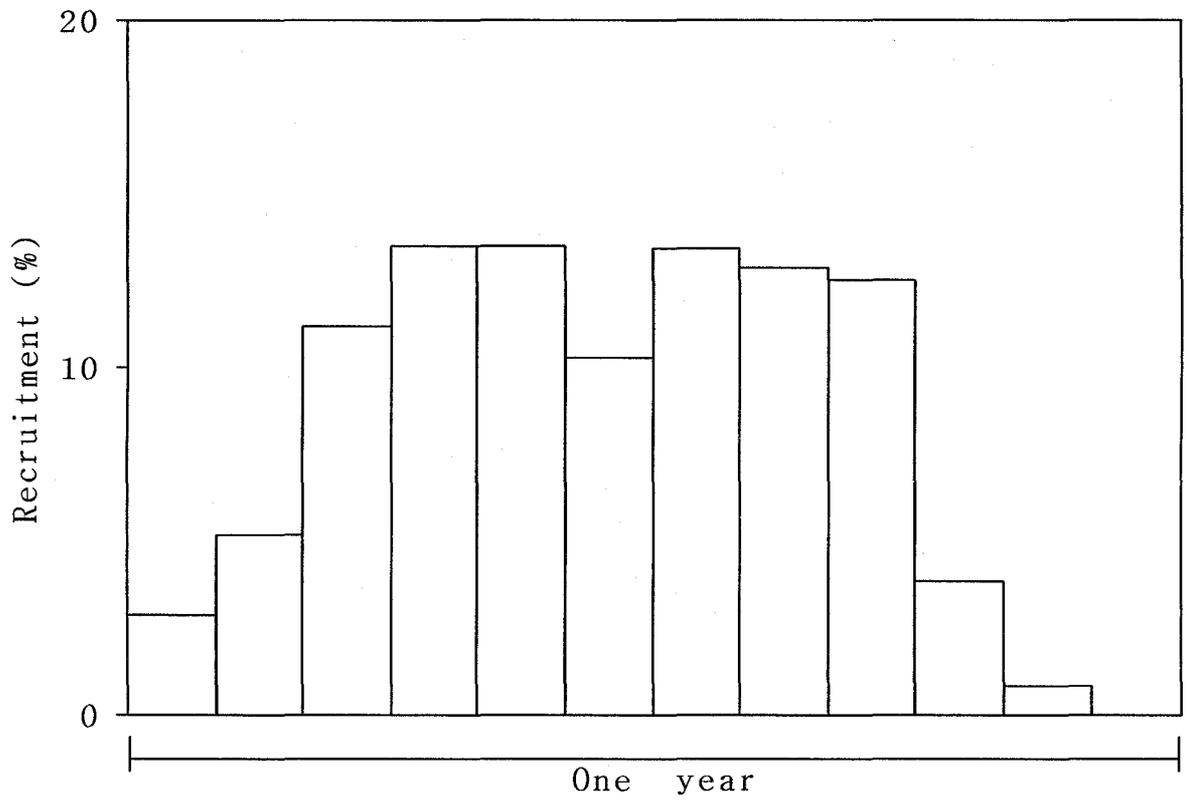


그림 7. 가입유형
 Fig. 7. Entry type

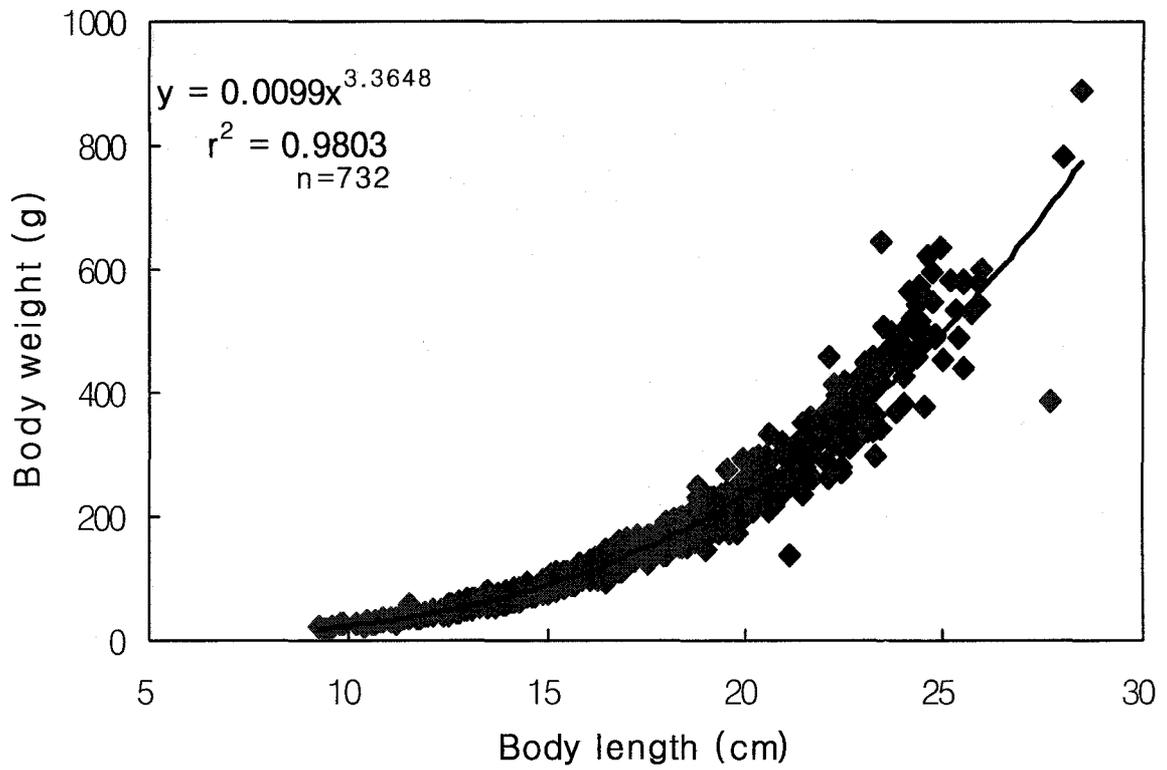


그림 8. 체장-체중 관계

Fig. 8. Reaction of body length and body weight

마. 식성

위 내용물 분석에 사용된 병어는 가랑이 체장 9.3~28.5cm에 속하는 개체들로서 총 156 마리를 분석에 이용하였으며, 체장 20cm 이하 크기군과 이상 크기군으로 분리하여 조사한 결과는 표 6과 같다. 20cm 이하 크기군의 경우 가장 우점한 먹이 분류군은 copepods로서 *Paracalanus*, *Calanus*, *Acartia* 등이 주 먹이생물로 조사되었으며, 그밖에 veligers, polychaetes, hydrozoa, algae 등이 소량 나타났다. 20cm 이상 크기군에서는 Decapoda, Chaetognatha, hydrozoa, Fish 등이 주요 먹이생물로 조사되었으며, 그 외에 polychaeta, copepods, Amphipoda 등이 조사되었다.

바. 난소 내 난경조성 및 산란횟수

난소 내 난의 성숙 및 산란횟수를 알아보기 위해 4월부터 8월까지 채집된 개체에 대하여 난소 내 난경조성을 조사하였다(그림 9). 성숙 이전 4월 개체에서는 500 μ m 전후의 소형 난모세포가 주된 군을 형성하였으며 5월에 이르면 700 μ m와 800 μ m 전후의 난모세포군이 2개 모드로 발달되었다. 6월에는 이들 모드가 더욱 발달하여 700 μ m 군과 800 μ m 전후의 군으로 변화되었으며, 7월에는 700 μ m 전후의 난모세포군과 분리된 800 μ m 전후의 대형 난모세포군이 배란된 상태로 관찰되었다. 이후 8월이 되면 800 μ m 전후의 대형 난모세포군이 사라지고 없으며, 300 μ m와 350 μ m 전후의 2개 난모세포군이 나타났다. 병어는 산란기 개체의 난경조성으로 보아 한 산란기동안 1개체가 2회 이상 산란하는 것으로 나타났다.

사. 포란수

병어의 번식 잠재력을 파악하기 위하여 군성숙도 50% 이상인 체장 12.6~32.4 cm인 총 59개체를 채집하여 체장과 체중별과 각각 7등급과 6등급으로 나누어 측정된 결과는 표 7과 8에 나타낸 바와 같다.

1) 체장당 절대포란수와 상대포란수

표 7에 나타난 바와 같이, 절대포란수의 총 난수는 체장 12.6~15.0cm에서 평균 29,746 eggs이었고, 체장 18.1~21.0cm에서 66,475 eggs이었다. 그리고 체장 24.1~27.0cm에서 98,443 eggs이었고, 체장 30.1~32.4cm에서는 134,977 eggs를 포란하고 있어 체장이 커짐에 따라 절대포란수의 총 난수는 증가되는 경향을 보였다. 상대포란수(cm 당)의 총 난수는 체장 12.6~15.0cm에서 평균 1,126 eggs이었고, 체장 18.1~21.0cm에서 3,516 eggs이었다. 그리고 체장 24.1~27.0cm에서 4,123 eggs이었고, 체장 30.1~32.4cm에서는 4,786 eggs를 포란하고 있어 체장이 커짐에 따라 상대포란수(cm 당)의 총 난수는 증가되는 경향을 보였다.

표 6. 병어의 위내용물 조성

Table 6. Analysis of the contents in silver pomfret stomach

Classification of feeds	Body length (cm)	
	< 20cm	> 20cm
Copepoda	***	*
Amphipoda	*	*
Mysidacea	*	*
Decapoda	*	**
Chaetognatha	*	**
Hydrozoa	*	**
Fish		**
Polychaeta	*	*
Veligers	*	
Algae	*	

*** : > 50%, ** : 25~50%, * : < 25%

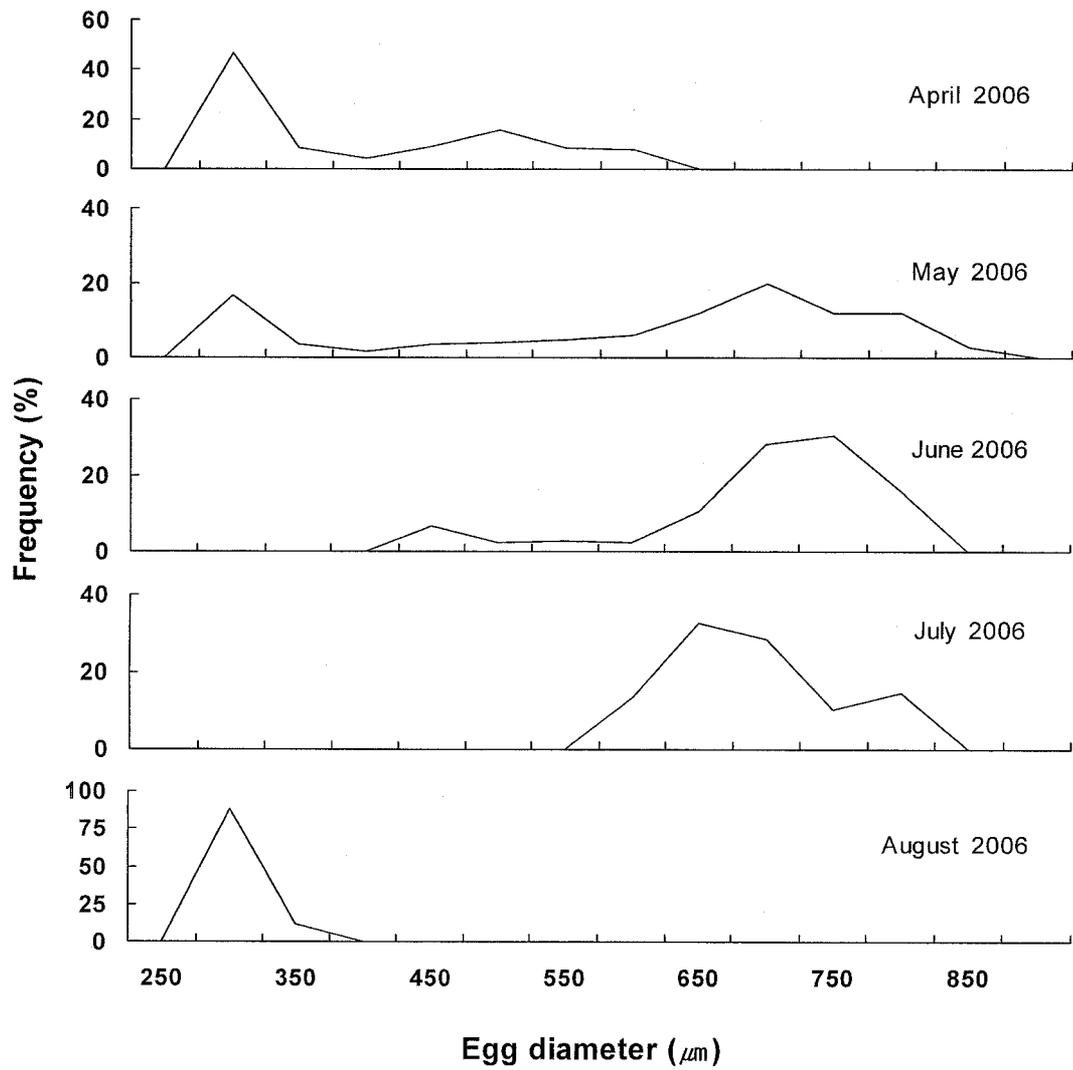


그림 9. 난소 내 난경조성

Fig. 9. Frequency distribution of egg diameters in female silver pomfret during the breeding season

2) 체중당 절대포란수와 상대포란수

표 8에 나타난 바와 같이, 절대포란수의 총 난수는 체중 400.6~600.0 g에서 평균 67,584 립이었고, 체중 1,000.1~1,200.0 g에서는 130,128 이었다. 그리고 체중 1,400.1~1,588.4 g에서는 154,438 립을 포란하고 있어 체중이 증가됨에 따라 절대포란수의 총 난수는 증가 되는 경향을 보였다. 중량당 상대포란수 (g 당)의 총 난수는 체중 400.6~600.0 g에서 평균 146립이었고, 체중 1,000.1~1,200.0 g에서는 151 eggs이었다. 그리고 체중 1,400.1~1,588.4 g에서는 144 립을 포란하고 있어 체중이 증가됨에 따라 일정 체중 이상으로 커지면, 오히려 체중 증가에 따라 상대포란수의 총 난수가 감소하는 경향을 보였다.

아. 균성속도

병어 개체가 어느 체장에서부터 재생산에 참여하기 시작하는 가를 알기 위해서 균성속도를 조직학적으로 조사하였다. 균성속도의 판정은 Volodin *et al.* (1974)과 Hayashi (1972), Fedrov (1971) 등에 조사된 방법을 참고로 산란기가 시작되는 4월부터 산란이 종료된 8월까지 체장 6.4~32.6cm의 암컷 143마리, 수컷 148마리를 대상으로 생식소 조직표본을 조사하여 방란·방정에 참여한 개체와 참여하지 못한 미성숙 개체를 조사하였다(표 9).

암·수의 개체 크기별 균성속도 (%)는 체장 12.0cm 이하에서는 각각 18.8%와 22.2%를 나타내었고 체장 12.1~15.0cm에서는 암·수 각각 55.6%와 56.3%를 나타내어 암·수 모두 균성속도 50% 이상을 나타내었다. 그리고 18.1cm 이상에서는 암·수 모두 균성속도 100%를 나타내었다. 따라서 병어의 생물학적 최소형 크기는 균성속도 50%인 체장 12.1~15.0cm로 판명되었다.

자. 생식소중량지수 (Gonadosomatic index, GSI)의 월별 변화

2005년 8월부터 2006년 7월까지 병어의 생식소중량지수 (GSI)의 조사 결과는 그림 10에 나타난 바와 같이, 병어 GSI의 월별 평균변화는 암컷의 경우, 1~3월까지 2.0 이하의 낮은 값을 보였고, 4월 (3.51)부터 급격히 증가하기 시작하여 6월에 최대값 (5.31)을 나타내었다. 그 후 7월까지 산란을 하여 GSI 값이 급격하게 감소되었으며, 9~12월까지 2.0 이하의 낮은 값을 나타냈다.

수컷의 경우도 GSI의 월별 평균변화를 보면, 1~3월까지 1.0 이하의 낮은 값을 보인 후 4월에 급격히 증가되어 최대값 (1.06)을 나타내었다. 그 후 5~8월까지 서서히 감소되었고, 9~12월까지 0.4 이하의 낮은 값을 나타내었다.

전반적으로 볼 때, 병어 암·수의 개체들의 생식소중량지수 (GSI)의 월별 변화는 생식

소 발달에 따른 생식주기와 거의 일치하여 변화하였다. 생식소의 발달이 일어나는 시기에는 GSI의 평균값이 증가하였고, GSI 값이 급격히 낮아지는 것은 산란 또는 방정이 일어난 것과 관련되며, 산란 이후 장기간에 생식소가 퇴화·흡수되는 시기에는 그 값이 아주 낮았다.

차. 간중량지수 (Hepatosomatic index, HSI)의 월별 변화

2005년 8월부터 2006년 7월까지 병어의 간중량지수 (HSI)를 조사한 결과는 그림 11과 같다.

병어 HSI의 월별 평균변화는 암컷의 경우, 1~2월까지 평균 0.92~1.00의 낮은 값을 나타내었다. 그러나 3월 (1.10)부터 HSI 값이 증가하기 시작하여 6월에 최대값 (1.28)을 나타내었다. 그 후 산란을 마친 8월에 HSI 값은 평균 1.18을 보인 후 10~12월까지 낮은 값을 나타내었다.

수컷의 경우도 암컷과 같이, 1~2월까지 0.90 전후의 비교적 낮은 값을 나타냈으나 3월부터 서서히 증가하기 시작하여 7월에 최고값 (1.26)을 나타내었다. 방정을 마친 8월에 1.10으로 약간 감소되었으며, 그 후 9~12월까지 계속하여 낮은 값을 나타내었다.

전반적으로 볼 때, 병어의 경우는 암·수 모두 수온이 상승하는 시기에는 간중량지수가 높아지고 수온이 하강하는 시기에는 낮아지는 경향을 보여 계절적 먹이 섭취와 밀접한 관계가 있는 것으로 나타난 반면, 생식소중량지수 (GSI)의 월별 변화와 유사한 경향을 나타내며 HSI의 평균값이 변하는 양상을 보였다. 일반적으로 해산어 중 하계산란어종의 경우는 생식소중량지수 (GSI)가 증가하는 시기에는 HSI가 감소하는 경향을 보여 서로 역상관관계를 나타내는 것이 일반적인 경향이나 암·수 병어의 HSI의 경우는 암컷의 GSI의 월별 변화 경향과 유사한 특징을 보였다.

카. 비만도 (Condition factor)의 월별 변화

2005년 8월부터 2006년 7월까지 병어의 비만도를 조사한 결과는 그림 12와 같다. 병어 비만도의 월별 변화는 암컷의 경우, 1~3월까지 비만도 값이 비교적 낮은 39.5~41.0의 범위를 보였다. 그 후 수온이 점차 상승하는 4월 (42.7)에는 아주 높은 비만도 값을 나타내었고, 산란이 시작되는 5~8월까지 감소되었으며, 그 후 9월부터 다시 증가되기 시작하여 11~12월에는 아주 높은 값을 보였다.

수컷의 경우도 암컷의 경우와 같이, 1~3월까지 비만도 값은 36.5~37.6의 낮은 값을 나타내었고, 그 후 4월에 높은 값 (37.8)을 보인 후, 5~8월까지 서서히 감소되는 경향을 보였다. 그리고 방정을 마친 후인 9월부터 서서히 다시 증가되기 시작하여 11~12월에는 아주 높은 값 (39.0)을 보였다.

전반적으로 볼 때 각 지역개체군마다 비만도의 월별 변화는 약간의 차이를 보일 수 있을 것으로 사료되나 수온이 하강하는 추·동계에는 비만도 값이 증가되는 경향을 보이고 있어 먹이섭취와 관련이 있는 것으로 사료된다.

표 7. 병어의 체장에 따른 절대포란수와 상대포란수

Table 7. Composition of absolute fecundity and relative fecundity by body length of the pomfret

Body length (cm)	Absolute fecundity	Relative fecundity (per cm)	Number
12.6~15.0	29,746(23,461~32,284)	1,126(1,048~1,564)	4
15.1~18.0	46,122(39,906~60,654)	3,326(3,276~3,423)	5
18.1~21.0	66,475(67,268~72,424)	3,516(3,318~3,645)	5
21.1~24.0	74,396(70,058~80,492)	3,804(3,668~3,988)	6
24.1~27.0	98,443(82,305~104,216)	4,123(3,944~4,212)	5
27.1~30.0	114,591(105,528~128,792)	4,408(4,315~4,604)	5
30.1~32.4	134,977(130,468~138,489)	4,786(4,634~5,016)	4

표 8. 병어의 체중에 따른 절대포란수와 상대포란수

Table 8. Composition of absolute fecundity and relative fecundity by body weight of the pomfret

Total weight (g)	Absolute fecundity	Relative fecundity (per g)	Number
400.6~600.0	67,584(52,846~78,569)	146(132~160)	5
600.1~800.0	88,483(80,243~99,785)	158(151~163)	4
800.1~1,000.0	128,346(121,478~134,236)	162(159~166)	5
1,000.1~1,200.0	130,128(125,369~134,468)	151(148~154)	4
1,200.1~1,400.0	139,426(135,264~141,434)	148(140~154)	4
1,400.1~1,588.4	154,438(150,129~158,763)	144(136~149)	3

표 9. 병어의 균 성숙도

Table 9. The body length at first sexual maturity of silver pomfret from April to August 2006

Body length (cm)	Female		Male	
	Number	Maturity (%)	Number	Maturity (%)
6.4~9.0	16	0.0	14	0.0
9.1~12.0	16	18.8	18	22.2
12.1~15.0	18	55.6	16	56.3
15.1~18.0	22	90.9	25	92.0
18.1~21.0	20	100.0	18	100.0
21.1~24.0	16	100.0	15	100.0
24.1~27.0	19	100.0	21	100.0
27.1~30.0	14	100.0	18	100.0
30.1~32.6	2	100.0	3	100.0
Total	143		148	

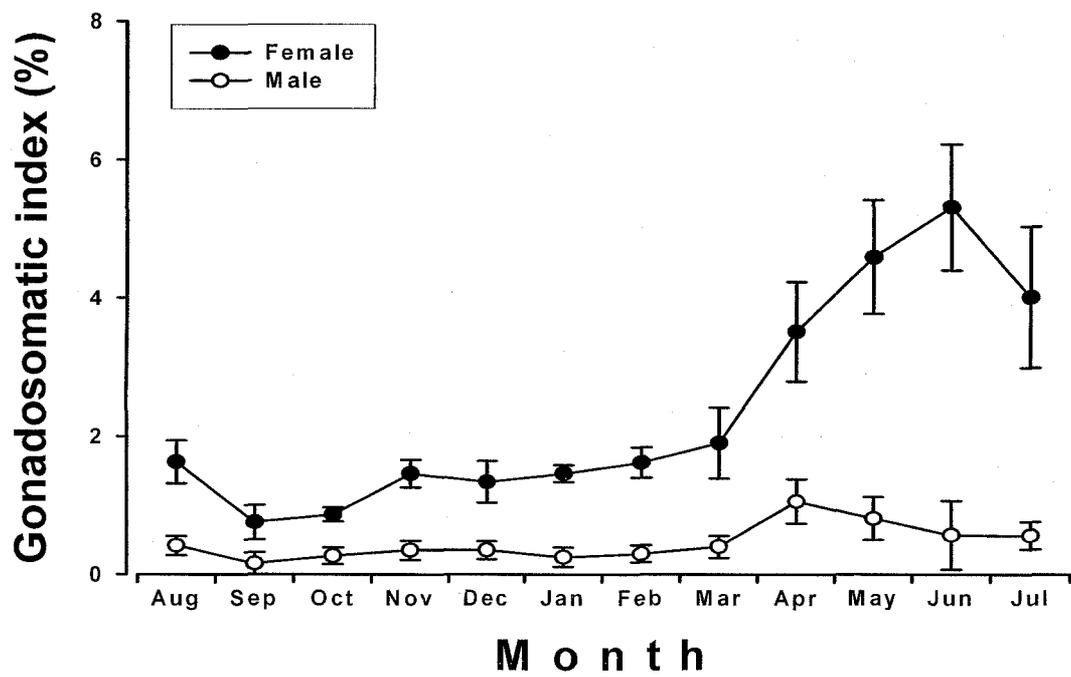


그림 10. 자연산 병어의 생식소중량지수의 월별 변화

Fig. 10. Seasonal changes of gonadosomatic index (GSI) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea

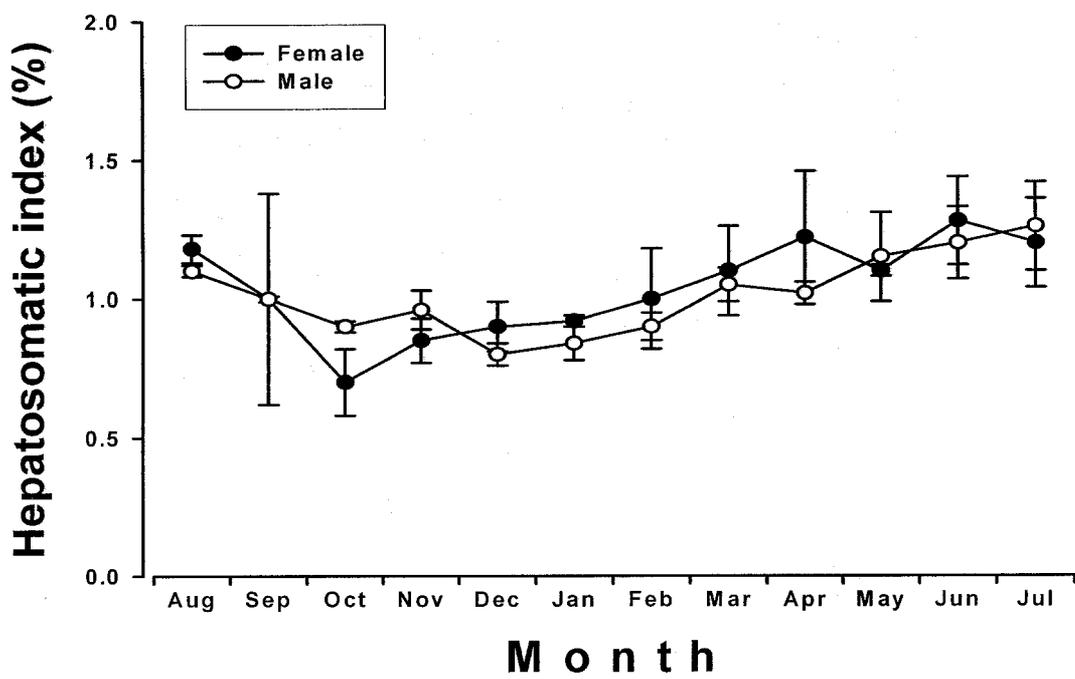


그림 11. 자연산 병어의 간중량지수의 월별 변화

Fig. 11. Seasonal changes of hepatosomatic index (HSI) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea

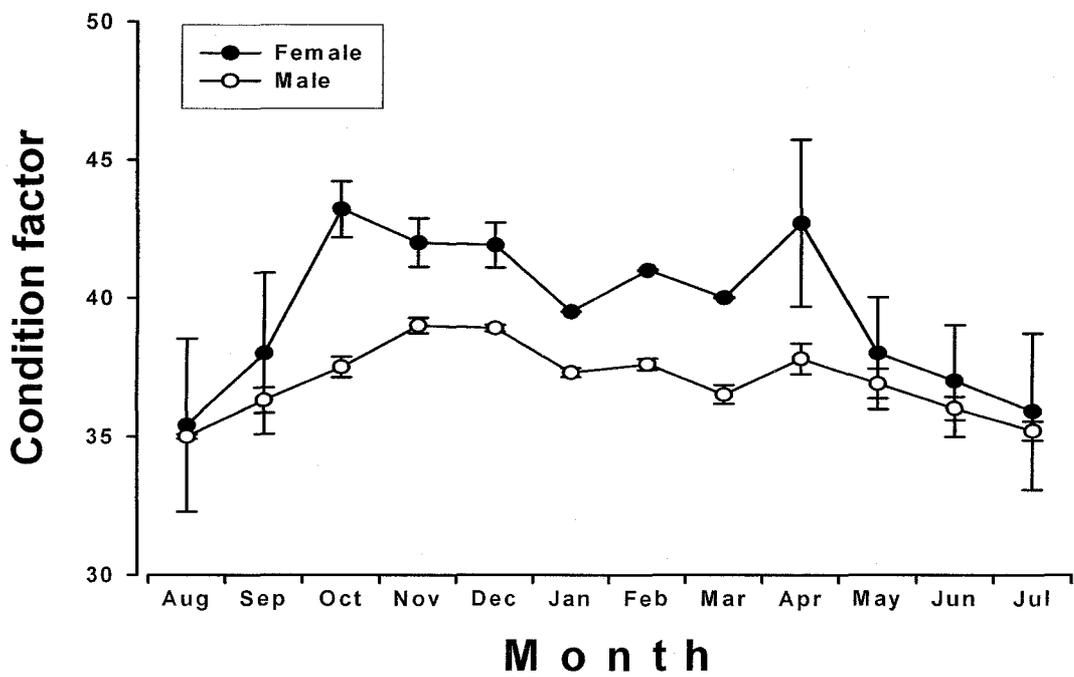


그림 12. 자연산 병어의 비만도의 월별 변화

Fig. 12. Seasonal changes of condition factor (CF) in wild silver pomfret captured from the western coast of Korea

3. 생식소 발달의 조직학적 변화

가. 생식소의 외부 형태 및 내부구조

병어는 체형이 측편형 어류로서 생식소는 척추골을 따라 복강 내 장의 일부를 둘러싸며 위치하고 있다. 그리고 암·수 모두 생식소는 좌우 비상칭이나 거의 좌우상칭에 가깝다(그림 13). 이들 생식소의 육안적 암·수 구별은 미성숙 개체일 때는 암·수 모두 백색을 띠고 있어 구별이 어려우나 성숙되면서 암컷은 황색, 수컷은 유백색을 띠어 식별이 용이하게 된다.

난소의 경우, 혈관이 풍부하게 분포된 결체섬유와 근섬유로 구성된 외막을 형성하여 낭상형을 이루고 있으며, 난소는 이중결체섬유로 이루어진 수많은 난소소낭들로 구성되어 있다. 정소 역시 이중결체섬유성막에 의해 구분된 수많은 정소소엽으로 구성되어 있고 수질부에는 각 소엽과 연결된 수정세관이 있다. 이들 수정세관들은 정소의 기부에서 수정관과 연결된다.

나. 생식소 발달의 광학현미경 관찰

2005년 8월부터 2006년 7월까지 신안군 임자도, 영광군 낙월도 주변해역에서 안강망으로 어획, 월 100개체씩 채집하여 병어의 생식소발달 조사한 결과를 토대로 난자형성과정과 정자형성과정을 그림 14, 15, 16에 나타내었다.

1) 난자 형성과정

초기성장, 발달 중인 난소는 섬유성 결체조직에 의해 이루어진 많은 난소소낭으로 구성되어 있다. 이들 난소소엽 상피 상에는 난원세포들이 분열 증식하여 난경 50~100 μm 의 초기성장 중인 난모세포들로 성장한다. 이러한 초기성장 중인 난모세포들은 세포질이 핵막실린에 농염 되어 나타났으며, 핵막을 따라 다수의 인들이 분포하고 있다.

성장이 계속되면서 난경이 200 μm 전후가 되면 난세포질의 염색성은 호염기성에서 호산성으로 바뀌고 세포질의 피질층에 공포상의 난황포가 나타나기 시작하며, 방사대가 출현한다. 그리고 난모세포를 둘러싸는 한 층의 여포세포층이 형성되고 차츰 세포질 내에는 난황포가 확대되어 산재한다.

난모세포가 더욱 성장하면서 난세포질의 주변으로부터 난황포 사이에 난황구가 형성되기 시작하고 난경이 400~500 μm 전후가 되면 난막에는 에오신에 짙게 염색되는 방사대가 발달한다. 이때 세포질에는 다수의 난황구들이 나타나고 난황이 축적되기 시작한다. 이후 중앙의 핵막이 거치화 되면서 배포상의 핵은 동물극 쪽으로 이동을 한다. 난경이 700~800 μm 크기로 성장하면 완숙난모세포가 되는데 이 때 동물극 쪽으로 이동한 핵은 세포질과의 구별이 어렵게 되고 난황구들은 서로 융합하여 더욱 커다란 성숙 난황구를 이룬 후 부분적으로 균질화 되는데 이들 사이에는 공포상의 유구들이 산재한다.

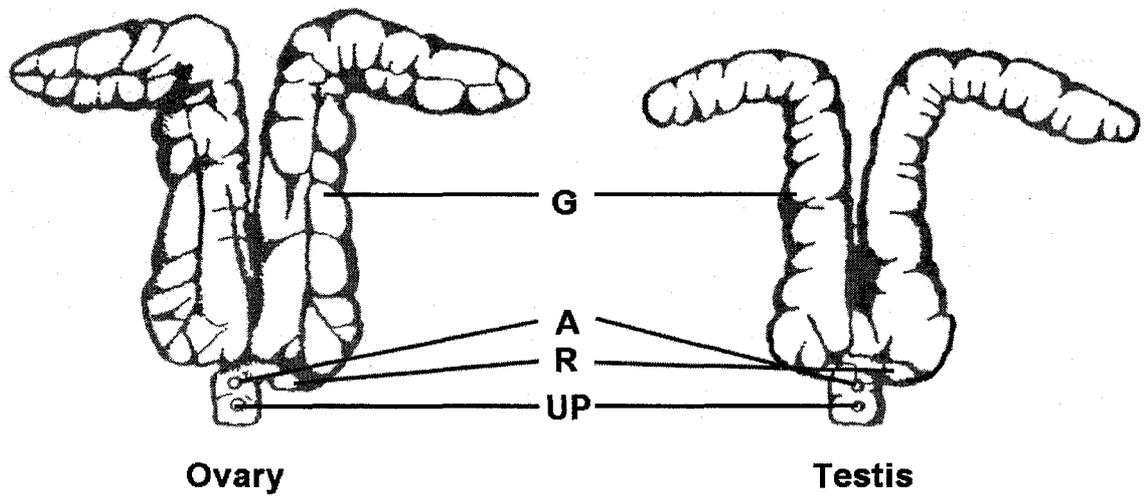


그림 13. 병어 생식소의 외부형태 및 내부구조

A, 항문; G, 생식소; R, 직장; UP, 비뇨 생식공

Fig. 13. Ventral view of reproductive organs of the silver pomfret

A, anus; G, gonad; R, rectum; UP, urinogenital pore

2) 정자 형성과정

정자는 정소소엽으로 구성되어 있으며, 각 정소소엽은 이중결체섬유로 격막을 형성하고 수질층은 이들에 연결된 수정세관들로 구성되어 있다. 초기성장 중인 정소소엽과 소엽 사이에는 발달된 Leydig 세포들이 뚜렷하게 출현하고 있으며, 정소소엽상피 상에는 집단을 이룬 정원세포들의 분열증식이 활발히 일어나고 있다. 이들 정원세포들이 발달하여 정모세포로 되고 포낭 (cyst)을 형성한다. 이 후 포낭 내의 정모세포들이 성숙 분열하여 정세포들이 된다. 특히 이 시기에는 Leydig 세포가 소엽과 소엽사이에서 다수가 출현, 발달하고 있다. 특히 정모세포가 정세포로 발달하는 시기에는 Leydig 세포가 다수 출현하는 특징을 보인다. 정소소엽 내에는 정모세포군, 정세포군, 그리고 변태를 마친 정자가 출현한다. 정소의 정소소엽 내에는 소수의 정모세포와 다수의 정세포들 그리고 수많은 정자들이 가득 채워지게 된다. 이들은 정소소엽의 내강으로부터 수질층의 수정세관으로 이동되어 정자관을 형성한다.

3) 생식 주기

난자형성과정과 정자형성과정의 생식소발달 과정을 조직학적으로 조사하여 이를 토대로 생식소발달 단계에 따른 생식주기를 편의상 암·수에 따라 구분하였다. 암컷의 경우는 초기성장기, 후기성장기, 성숙기, 완숙 및 산란기, 회복 및 휴지기의 연속적인 5단계로 구분하였고, 수컷의 경우는 성장기, 성숙기, 완숙 및 산란기, 회복 및 휴지기의 4단계로 구분하여 나타내었다(그림 14).

가) 암컷

(1) 초기 성장기 (early growing stage)

암컷의 경우에는 1월부터 일부 개체에서 난소가 활성화되기 시작하여 2~3월에는 난원세포, 크로마틴인기난모세포와 주변인기난모세포들이 난소소엽 내에서 출현하였다. 이들 난모세포의 난경은 대략 100~300 μ m 정도 이었다(그림 15, A). 초기성장기의 개체들은 수온이 낮은 2~3월에 출현하였다.

(2) 후기 성장기 (late growing stage)

이 시기에 난소소엽 내에 출현하는 성장기 난모세포들은 좀 더 성장, 발달하였다. 후기성장기에는 소수의 난황포기난모세포와 다수의 제 1차, 제 2차 난황구기의 난모세포가 출현하였고, 제 3차 난황구기난모세포는 그 수가 적었다. 이들 난모세포의 난경은 대략 400~600 μ m 이었다(그림 15, B~D). 후기성장기의 개체들은 수온이 점차 높아지는 3~4월에 출현하였다.

(3) 성숙기 (mature stage)

난소소엽 내 출현하는 난모세포들은 세포질 내에 성숙난황구가 축적되는 시기로서, 이 시기에는 소수의 제 3차 난황구기난모세포와 다수의 배포 이동기 난모세포와 성숙난모세포가 출현하였다. 이 때 성숙란의 난경의 크기는 대략 $700\mu\text{m}$ 이상이었다. 성숙기의 개체들은 3월부터 일부가 출현하기 시작하여 4~7월까지 나타났다(그림 15, E).

(4) 완숙 및 산란기 (ripe and spent stage)

이 시기의 난소소엽 내에는 소수의 초기 난모세포들과 $700\sim 800\mu\text{m}$ 전후의 완숙란들로 채워져 있다. 이들 난모세포질 내에는 성숙난황구와 유구가 출현하였다. 그리고 산란으로 일부 개체들은 방란 흔적을 보였다(그림 15, F~G). 완숙 및 산란기 개체들은 수온이 높아지는 5월 하순부터 7월말까지 출현하였다.

(5) 회복 및 휴지기 (recovery and resting stage)

이 시기의 난소소엽 내에는 난황포기, 난황구기난모세포들이 퇴화, 붕괴 흡수가 일어났으나 난원세포와 초기발달중인 난모세포 (크로마틴인기난모세포와 주변인기난모세포)들은 붕괴되지 않은 상태로 존재하였다. 난황포기 이상의 좀 더 발달된 난모세포들은 점차 퇴화, 붕괴 또는 흡수되는 양상을 보였다(그림 15, H). 산란을 이미 마친 개체는 7월 말부터 회복기의 개체가 출현하였으며, 이후 8~11월까지 미방출된 난들의 퇴화흡수가 일어났으며, 12~2월까지 퇴화·위축되었다.

나) 수컷

(1) 성장기 (growing stage)

일부 개체들의 정소는 활성화되기 시작하였으며, 정소소엽 내에는 분열중식 중인 정원세포들, 정모세포들, 정세포들 및 일부 변태 중인 정자들이 포낭(cyst) 내에서 출현하였다. 이 시기에 정소소엽과 소엽사이에는 Leydig 세포가 다수 출현하였다(그림 16, A~B). 성장기의 정소를 갖는 개체들은 2~4월 사이에 출현하였다.

(2) 성숙기 (mature stage)

정소가 좀 더 성숙하여 지면 정소소엽 내에는 소수의 정모세포군, 다수의 정세포군과 변태를 마친 수많은 정자들이 포낭을 가득 채운다(그림 16, C). 성숙기의 정소를 갖는 개체들은 3~6월 사이에 출현하였다.

(3) 완숙 및 배정기 (ripe and spent stage)

완숙 및 배정기에는 대부분의 개체에서 정자들이 정소소엽 내에 가득 차고 정자들이 배정되어 정소소엽 내 포낭은 텅 비어 나타났다(그림 16, D~E). 이러한 완숙 및 배정기의 정소를 갖는 개체들은 5~7월 사이에 출현하였다.

(4) 회복 및 휴지기 (recovery and resting stage)

이 시기에 정소소엽은 퇴화·위축되고 정소소엽의 본래의 형태를 찾아 볼 수 없을 정도로 수많은 정자들이 흐트러져 있고 잔존 미 방출 정자들이 퇴화·흡수된다. 반면, 결체조직이 출현하여 이 들의 빈 칸을 채우며(그림 16, F~G), 정원세포들이 재배치되면서 휴지기로 접어든다(그림 16, H). 이러한 회복 및 휴지기의 정소를 갖는 개체들은 7~2월 까지 장기간에 걸쳐 출현하였다.

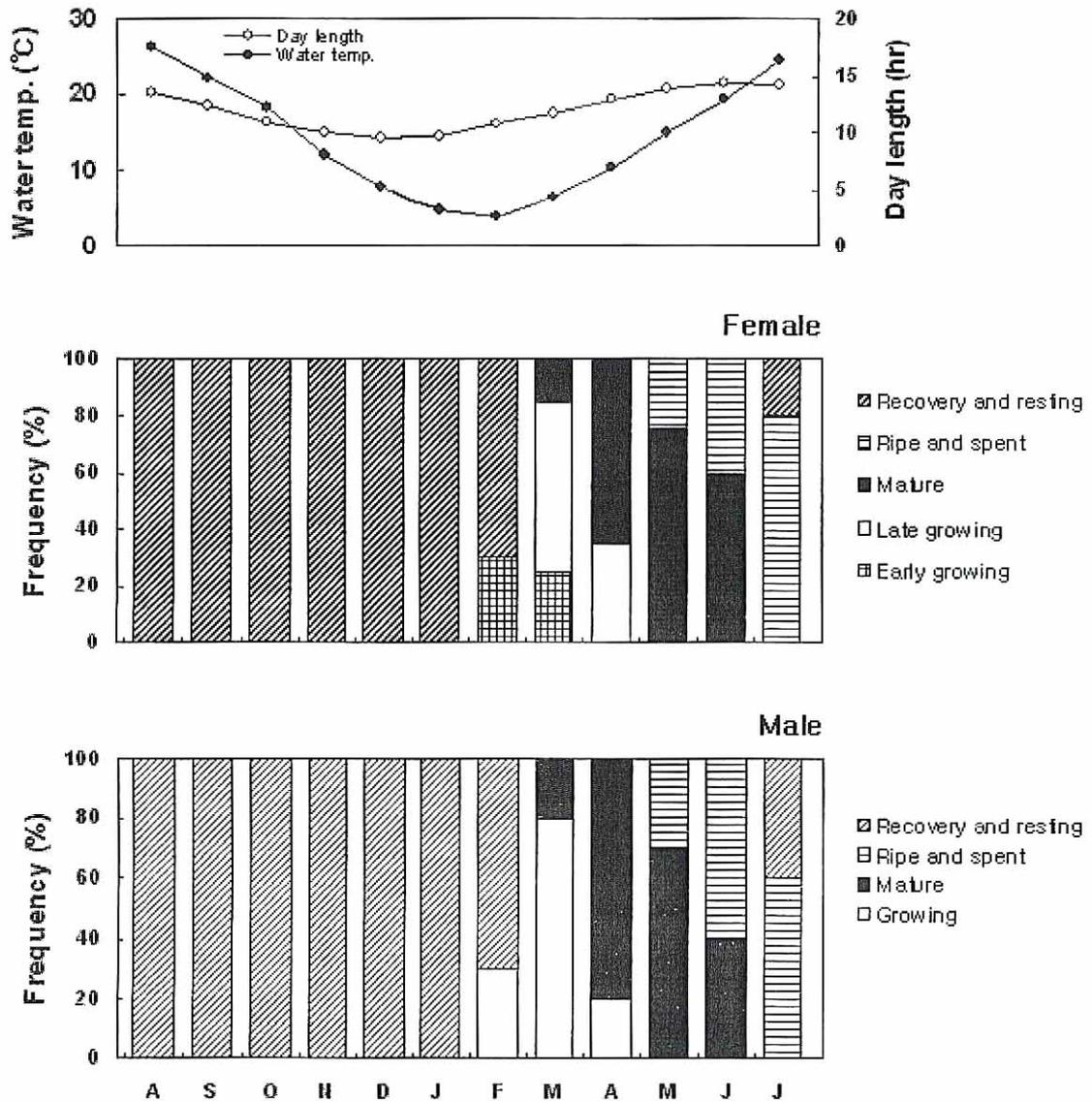


그림 14. 병어의 생식주기

Fig. 14. Reproductive cycle of silver pomfret

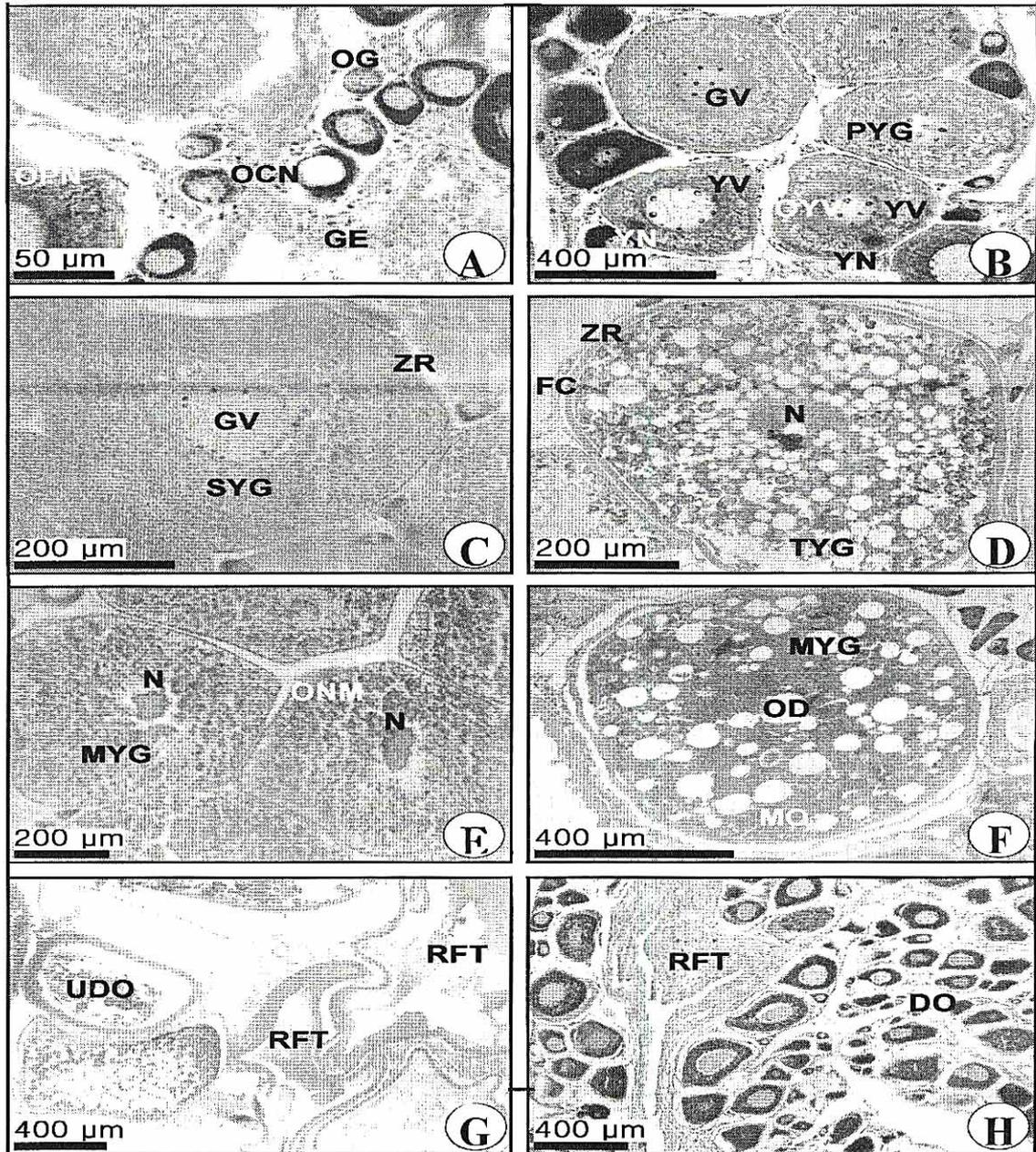


그림 15. 병어 난소 발달 단계별 변화(A~H)

Fig. 15. Photomicrographs of ovarian developmental phases of silver pomfret (A~H)

A, section of the lobule in the early growing stage; B, section of the lobule in the late growing stage; C~F, section of the lobules in the mature stage. G, H, Sections of ovarian lobules in the recovery and resting stage. Abbreviations: DO, degeneration oocyte; FC, follicle cell; GE, germinal epithelium; GV, germinal vesicle; MYG, mature yolk granule; MO, mature oocyte; N, nucleus; OCN, oocyte in the chromatin nucleus stage; OD, oil droplet; OG, oogonium; OPN, oocyte in the perinucleolus stage; ONM, oocyte in the nucleus migratory stage, OYV, oocyte in the yolk vesicle stage, PYG, primary yolk granule; RFT, residual follicle tissue; SYG, secondary yolk granule; TYG, tertiary yolk granule; UDO, undischarged oocyte; YN, yolk nucleus; YV, yolk vesicle; ZR, zona radiata.

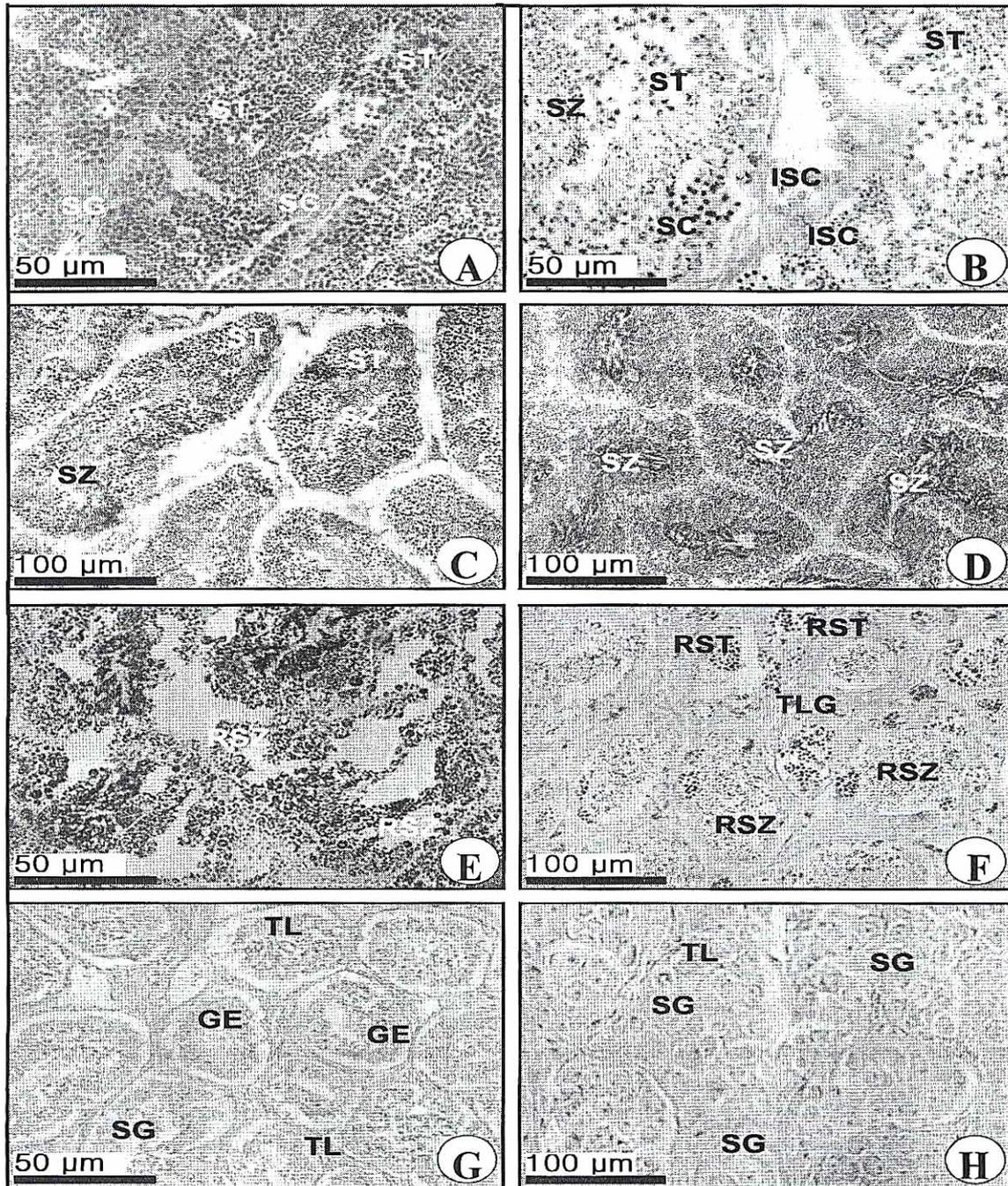


그림 16. 병어 정소 발달 단계별 변화(A~H)

Fig. 16. Photomicrographs of testicular developmental phases of silver pomfret (A~H)

A, B, section of the lobule in the growing stage; C, D, section of the lobules in the mature stage. E, F, G, Sections of testicular lobules in the recovery and resting stage. Abbreviations: GE, germinal epithelium, ISC, interstitial cell; RST, residual spermatid; RSZ, residual spermatozoa; SC, spermatocyte; SG, spermatogonium; ST, spermatid; SZ, spermatozoon; TL, testicular lobule; TLG, testicular lobule germinal epithelium.

다. 생식소 발달의 전자현미경 관찰

본 실험에 사용한 병어는 2006년 8월부터 2007년 7월까지 신안군 임자도, 영광군 낙월도 주변해역에서 안강망으로 월 100개체씩 채집하여 생식세포 분화와 내분비관련 Leydig 세포와 Sertoli 세포의 활성을 조사하였다.

1) 배우자형성과정, Leydig 세포 및 Sertoli 세포의 미세구조

가) 난자 형성과정 (oogenesis)

난소는 여러개의 난소소엽으로 이루어져 있으며, 난소소엽 내에서 일어나는 난형성과정은 생식세포들의 형태와 발달 및 구조적 특징에 따라 연속적인 4단계로 구분되었다: (1) 난원세포단계, (2) 전난황형성단계, (3) 난황형성단계, (4) 성숙단계.

(1) 난원 세포단계 (oogonium phase)

난소소엽 내에서 출현하는 난원세포는 큰 핵 내에 한개의 뚜렷한 인이 출현하였고, 세포질 내에서는 미토콘드리아들이 핵막 주변에서 출현하나 세포질의 발달은 매우 빈약하였다(그림 17, A).

(2) 전난황 형성단계 (previtellogenic phase)

전난황 형성단계는 난황형성이 일어나기 바로 직전까지의 단계로서, 크로마틴인기 난모세포 (oocyte in chromatin nucleolus stage)와 주변인기 난모세포 (oocyte in perinucleolus stage)들이 출현하였다. 크로마틴인기 난모세포 (난경 12.0~20.0 μ m)의 모양은 타원형이며, 난모세포 중앙에는 큰 핵이 위치하였다. 핵 내의 핵질은 중간정도의 전자밀도를 가지며 특히, 한개의 뚜렷한 인이 출현하였다. 난모세포의 핵막 주변 세포질 내에는 소수의 미토콘드리아간 시멘트 (intermitochondrial cement)들과 다수의 미토콘드리아들이 출현하였다. 크로마틴인기 난모세포의 특징은 핵 내에 염색질이 채워져 있으나, 세포질 내의 세포 소기관자들은 크게 발달되지 않았다(그림 17, B). 주변인기 난모세포는 직경이 대략 30~80 μ m이었으며, 난모세포의 핵 내에는 핵막을 따라 여러 개의 인들이 출현하였고, 세포질 내에는 미토콘드리아들과 다수의 공포들이 출현하였다. 이때부터 이들 난모세포에는 난황막이 발달하기 시작하였고 난황막 위에 과립막 세포들이 출현하였다(그림 17, C).

(3) 난황 형성단계 (vitellogenic phase)

난황 형성단계에는 난황포기 난모세포 (oocyte in the yolk vesicle stage)가 나타나는 초기 난황형성단계와 난황구기 난모세포 (oocyte in the yolk stage)들이 출현하는 후기 난황형성단계로 구분할 수 있는데, 각각의 난모세포들은 난황막 (방사대)과 이를 둘러싸는 과립막세포들 및 험막세포층들의 미세구조적 분화·특징이 성장, 발달 정도에 따라 각각 다르게 나타나는 특징을 보였다.

초기 난황형성단계 (early vitellogenic phase)

난황막 아래의 피질부에서 음세포낭 (pinocytotic vesicle)이 출현하였고, 원형질 돌기인 미세융모가 형성되어 방사대 (zona radiata)를 형성하기 시작하였으며, 방사대를 둘러싸는 과립막세포들이 출현하였다(그림 17, D). 난모세포가 180~190 μm 로 성장하면, 세포질 내에는 지방적, 미토콘드리아가 출현하고, 골지체에 의해 생성된 공포가 난황포로 되었다(그림 17, E).

난모세포의 크기가 190~210 μm 인 난황포기 난모세포의 세포질 내에는 공포상의 난황포들이 출현하였다. 이들 난황포의 내부에는 미세한 다당류물질들이 낮은 전자밀도를 보였다. 난황포기 난모세포들이 성장해 감에 따라 세포질 내 난황포들의 수와 크기는 증대되었다. 이때 난모세포의 방사대 (zona radiata)를 둘러싸고 있는 과립막세포 (granulosa cell)들과 기저막 (basement membrane)이 뚜렷하게 출현하였다. 이때 과립막세포 내에는 기다란 핵을 가지며 세포질 내에서는 다수의 미토콘드리아들이 출현하였다. 방사대에는 소공(pit)이 출현하였고 음세포작용 (pinocytosis)에 의해 외인성 단백질성 물질 (난황전구물질)들이 세포질 내로 들어왔다(그림 17, F). 난모세포가 좀 더 발달하게 되면 난황포 속에 글리코젠 입자들이 가득 채워지며(그림 18, A), 또한 난황포 주변에는 다수의 지방적 (lipid droplet)들이 출현한 후, 좀 더 큰 난황전구물질들이 미토콘드리아 주변에 나타났다(그림 18, B). 그 후 난모세포가 좀 더 발달하면 이 시기에 난모세포질 내에는 수많은 미토콘드리아들이 분산되어 나타나고 있는데 미토콘드리아들의 모양은 원형 또는 타원형이거나 막대형을 나타내었으며, 일부는 미토콘드리아 cristae의 변형이 일어나기 시작하였다(그림 18, C).

후기 난황형성단계 (late vitellogenic phase)

난모세포의 직경이 대략 400~500 μm 정도로 성장하면, 난황구기 난모세포로 되는

데, 방사대 주변 세포질에서 출현하는 수많은 미토콘드리아들은 크리스테와 2중 막이 불명확하게 변형되는데, 이들 변형된 미토콘드리아들이 다포체 (multivesicular body)를 형성하였다. 다포체 형성과정은 다양하였으며, 크기도 다양하였다. 이들의 직경은 1.5~2.5 μ m 정도로 원형 또는 타원형으로 한계막에 의해 둘러싸였다(그림 18, D~E). 방사대의 소공을 통해 음세포작용 (pinocytosis)에 의해 과립막세포질 내의 난황전구물질이 난모세포의 세포질내로 이동하여 다포체와 합쳐져 난황전구체 (yolk precursor)를 형성하였다(그림 18, F). 이들은 전자밀도가 낮았고, 모양은 거의 원형 또는 타원형이며 불연속적인 한계막에 의해 둘러싸였다. 그 후 난황전구체 (yolk precursor)들은 서로 합쳐져 제 1차 난황구 (Primay yolk globule)로 발달하였다. 이때 방사대가 발달하여 매우 두터워 졌으며, 방사대 위에는 과립막 세포층과 기저막이 나타나고 그 위에는 내협막과 외협막 세포층들이 나타나 난모세포들이 크게 발달하는 것으로 관찰되었다(그림 19, A). 특히, 과립막세포 밑에 있는 방사대에는 수많은 소공들이 나타나고 있는데, 이들 소공을 통해 외인성 난황형성물질들이 난세포질 내로 들어와 이들 물질들이 합쳐져서 제 1차 난황구들이 형성되고(그림 19, B), 이들 물질이 계속 합쳐져 제 2차 난황구로 되고 이들은 다시 제 3차 난황구를 형성하였다(그림 19, C).

(4) 성숙 단계 (maturation phase)

난모세포의 직경이 대략 700~800 μ m 로 성장·발달하면 난황물질의 축적이 완료되어 성숙난모세포가 된다. 이때 세포질 내에는 다수의 성숙난황구가 출현하였는데 성숙난황구는 3가지 부분인 주소체 (main body), 표면층 (superficial layer)과 한계막 (limiting membrane)으로 구성되어 나타났는데 특히, 주소체는 전자밀도가 높고 결정구조 형태를 나타내었다(그림 19, D).

나) 정자 형성과정 (Spermatogenesis) 및 스테로이드 호르몬분비세포 (Leydig cell and Sertoli cells)의 활성변화

정자 형성과정은 정소 소엽내에서 일어나는데, 연속적인 4단계로 구분된다 : (1) 정원세포기 (2) 정모세포기 (3) 정세포기 (4) 정자기.

(1) 정원 세포기 (spermatogonial phase)

제 1차 정원세포들은 길게 신장된 핵을 갖는 Sertoli 세포 (Sertoli cell)에 인접하

여 출현하고 있는데, 이들 제 1차 정원세포의 모양은 타원형이고, 세포의 크기는 7~8 μm 정도이며 핵의 크기는 대략 4~5 μm 정도였다. 세포질 내에는 intermitochondrial cement들이 출현하였다(그림 20, A). 제1차 정원세포가 분열증식하여 제 2차 정원세포가 되는데, 이들 세포의 크기는 6~7 μm 정도이며, 세포의 모양은 타원형이다. 제 2차 정원세포는 1개의 뚜렷한 핵을 가지며 세포질 내에는 intermitochondrial cement가 출현하였다(그림 20, B).

(2) 정모세포기 (spermatocyte phase)

정모세포기는 세포의 발달 정도와 형태적 차이에 따라 제 1차 정모세포와 제 2차 정모세포로 구분하면 다음과 같다.

제 1차 정모세포 (primary spermatocyte)

제 2차 정원세포들이 성장 발달하면 제 1차 정모세포로 되는데, 제 1차 정모세포가 제 1차 성숙분열을 하는 시기에는 정소소엽과 소엽 사이의 간질조직 내에 잘 발달된 Leydig 세포 (Leydig cell)들이 출현하였다. 특히, 이들 세포의 특징은 포상구조의 핵과 다수의 구상 미토콘드리아, 소수의 지방적과 다량의 활면소포체가 세포질을 가득 채웠다(그림 20, C). 간질조직 내 스테로이드 호르몬분비세포로 알려진 Leydig 세포 근처에는 정소소엽 내에서 출현하는 제 1차 정모세포들이 출현하고 있는데 이들 세포의 핵 내에는 연접사복합체 (Synapto nemal complex)들이 출현하고 있어 감수분열 전기인 쌍사기 (zygotene stage)의 특징을 나타내었다(그림 20, D). 또한 이들 세포와 인접하여 감수분열 전기의 태사기 (Pachytene)를 나타내는 제 1차 정모세포가 출현하고 있는데 핵 내에는 굵은 염색체가 나타나는 특징을 보였다(그림 20, E).

제 2차 정모세포 (secondary spermatocyte)

제 1차 정모세포가 제 1차 성숙분열을 마치면 제 2차 정모세포가 되는데, 이때 이들 세포 주변에는 Sertoli 세포가 출현하였다. 이 세포는 스테로이드 호르몬을 분비 하는 것으로 추정되는데, 핵의 모양은 길게 신장된 삼각형이었고 세포질 내에는 미토콘드리아들과 지방적들이 출현하였다. 이와 인접하여 나타나는 정소소엽 내에는 다수의 제 2차 정모세포들이 출현하였는데, 이들 세포의 크기는 5~6 μm 정도이며, 핵 내에는 전자밀도가 좀 더 높은 이형염색질 (heterochromatin)이 나타나며, 세포질 내에는 미토콘드리아들이 출현하였다(그림 20, F).

(3) 정세포기 (spermatid phase)

제 2차 정모세포가 성숙분열을 마치면 정세포가 된다. 이때, 제 2차 정모세포와 인접하여 간질조직 내에 Leydig 세포가 출현하였다. Leydig 세포의 핵은 포상구조를 나타내었고, 세포질 내에는 다수의 크리스테를 갖는 구상 또는 길게 신장된 다수의 미토콘드리아들과 지방적들 및 다량의 활면소포체들이 출현하고 있어, 매우 활성이 높은 steroid 호르몬 분비세포의 특징을 나타내었다(그림 21, A). 제 2 감수분열 후 생성된 정세포의 크기는 대략 3~4 μ m 정도로 핵 내에는 전자밀도가 높은 이형염색질이 농축되어 나타났으며, 세포질 내에는 다수의 미토콘드리아가 출현하였다(그림 21, B).

정세포가 정자변태 초기에 출현하는 Sertoli 세포는 길게 신장된 삼각형의 핵을 갖으며, 세포질 내에는 글리코젠 입자들과 미토콘드리아 및 지방적들이 출현하여 세포의 활성이 높게 나타났다. Sertoli 세포와 인접하여 정자 변태 중인 정세포들이 출현하였는데, 정자 변태 초기에 정세포의 핵은 이형염색질에 의해 전자밀도가 높게 나타났으며, 핵 밑에는 중심체와 타원형의 미토콘드리아들이 다수 출현하였다(그림 21, C). 정자변태 후기의 정세포들은 핵 밑에 기부중심립이 함입되어 출현하였고, 원위중심립이 나타나 여기에서 편모가 생성되었다(그림 21, D). 정자변태 후기에 출현하는 Sertoli 세포의 핵은 길게 신장되었고, 세포질 내에는 글리코젠 입자들과 미토콘드리아들이 출현하였다. 이때 Sertoli 세포 가까이에는 정자변태 중인 정세포들이 출현하는데, 함입된 핵 밑에 기부중심립과 원위중심립이 출현하였고, 편모축사가 길게 신장되어 출현하였다(그림 21, E~F).

(4) 정자기 (spermatozoon phase)

정세포의 정자변태가 완료되면 완성된 정자두부 아래에는 기부중심립 (proximal centriole)과 원위중심립 (distal centriole)이 출현하고 정자 중편부에는 미토콘드리아들이 모여 있으며, 긴 정자 편모가 출현하였다(그림 22, A). 정자 미부 편모를 횡절단하면, 체외수정 중들에서 나타나는 가장자리에 2개의 flagellum lateral fins가 출현하였고 편모의 axoneme에는 주변부에 9쌍의 미세소관들이 나타나고 중앙에 1쌍의 미세소관들이 출현하여 9+2 structure를 나타내었다(그림 22, B).

정자 변태가 끝난 후, 완성된 정자들은 배정이 일어나게 되는데 배정되지 못한 일부 잔존 정세포들 가까이에는 퇴화 중인 Leydig 세포가 출현하였다. 이 세포의 특징은 핵이 불규칙한 모양을 나타내기 시작하였고, 세포질 내에는 크리스테를 갖는 구형의 미토콘드리아들이 사라지고, 활면소포체의 모양도 불명확한 형태를 보여 활성이 크게 떨어진 특징을 보였다(그림 22, C).

정자가 배정된 후, 정소소엽 내에 퇴화, 붕괴중인 정세포들과 인접하여 Sertoli 세포들이 출현하였다. 이때 이들 Sertoli 세포들의 핵은 불규칙한 모양을 나타내었고, 세포질 내에는 lysosome들에 의해 형성된 다수의 phagosome들이 출현하였다. 이때 특히, Sertoli 세포의 세포막 구조물인 기저막 (basement membrane)이 파괴되어 Sertoli 세포의 세포질 내 lysosome과 정소소엽 내 세포질이 서로 연결되어 정소소엽 내의 정세포들이 퇴화·붕괴되어 식세포작용(phagocytosis)에 의해 phagosome (lysosome)들이 정세포 세포질 내에 형성되었다(그림 22, D). 이윽고, 정소소엽 내에서 퇴화·붕괴 후 생성된 phagosome들을 Sertoli 세포가 세포질 내로 끌어들이었으며, 붕괴 중인 정세포들은 myelin-like organelle들에 의해 둘러싸여 이들은 모두 lysosome들에 의해 분해되어 phagosome이 형성되었고, Sertoli 세포 내에 출현하는 phagosome들에 인접하여 지방적이 나타났다(그림 22, E).

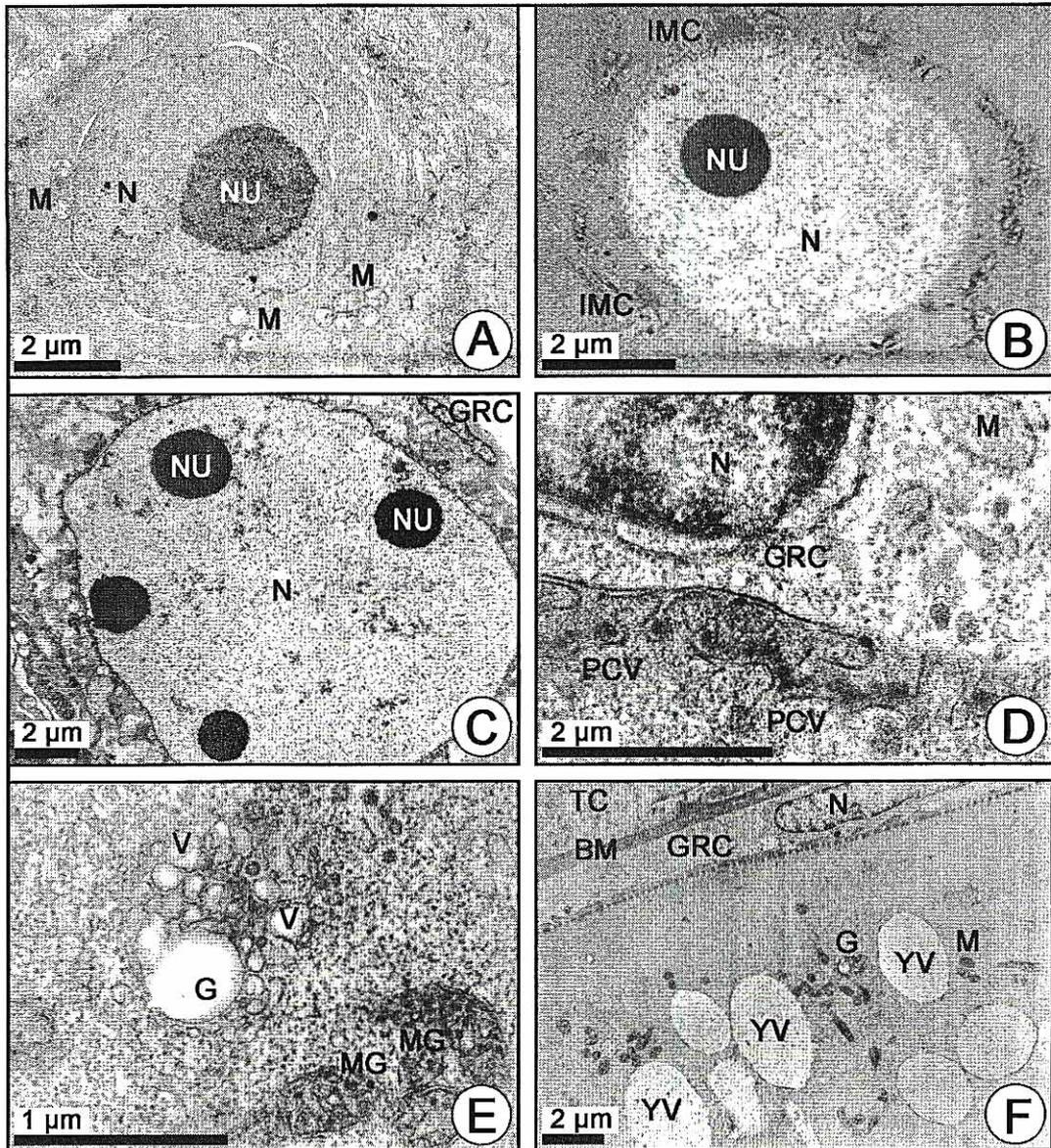


그림 17. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, 난원세포; B, 미토콘드리아간 시멘트(intermitochondrial cement)를 갖는 전난황형성단계 난모세포; C, 핵막 주변에 여러개의 인을 갖는 전난황형성단계 난모세포; D, 방사대 형성 시작과 더불어 출현하는 음세포낭(pinocytotic vesicle)을 갖는 초기난황형성단계 난모세포; E, 골지체가 공포와 소포를 만들어 난황포를 형성하는 초기난황형성단계 난모세포; F, 골지체에 의해 형성된 난황포에 글리코젠 입자가 축적되기 시작하는 초기난황형성단계 난모세포

Fig. 17. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females

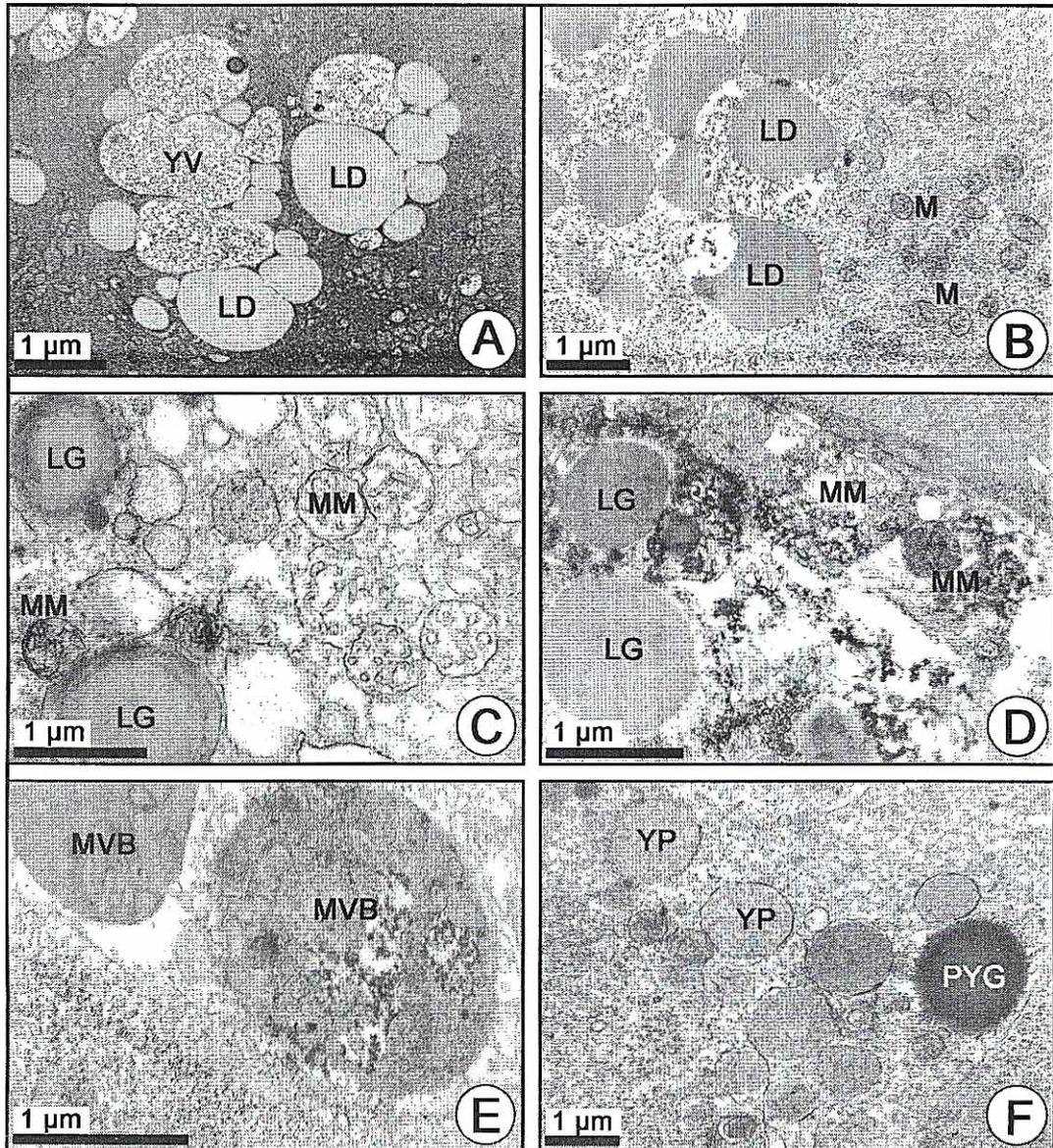


그림 18. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, 난황포 속에 다량의 글리코젠 입자가 축적된 후, 일부가 지방적으로 물질이 전환되는 초기난황형성단계 난모세포; B, 미토콘드리아들과 지방적이 난모세포질 내에 축적된 초기난황형성단계 난모세포; C, 지방적들이 지방과립을 형성하고, 미토콘드리아의 크리스테가 파괴되어 변형된 미토콘드리아를 갖는 후기난황형성단계 난모세포; D, 변형된 미토콘드리아가 다포체를 형성하기 시작하는 후기 난황형성단계 난모세포; E, 변형된 미토콘드리아가 다포체를 형성한 후, 후기난황형성단계 난모세포; F, 다포체와 외인성 물질이 합쳐져 만든 난황전구체들과 제 1차 난황구.

Fig. 18. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females

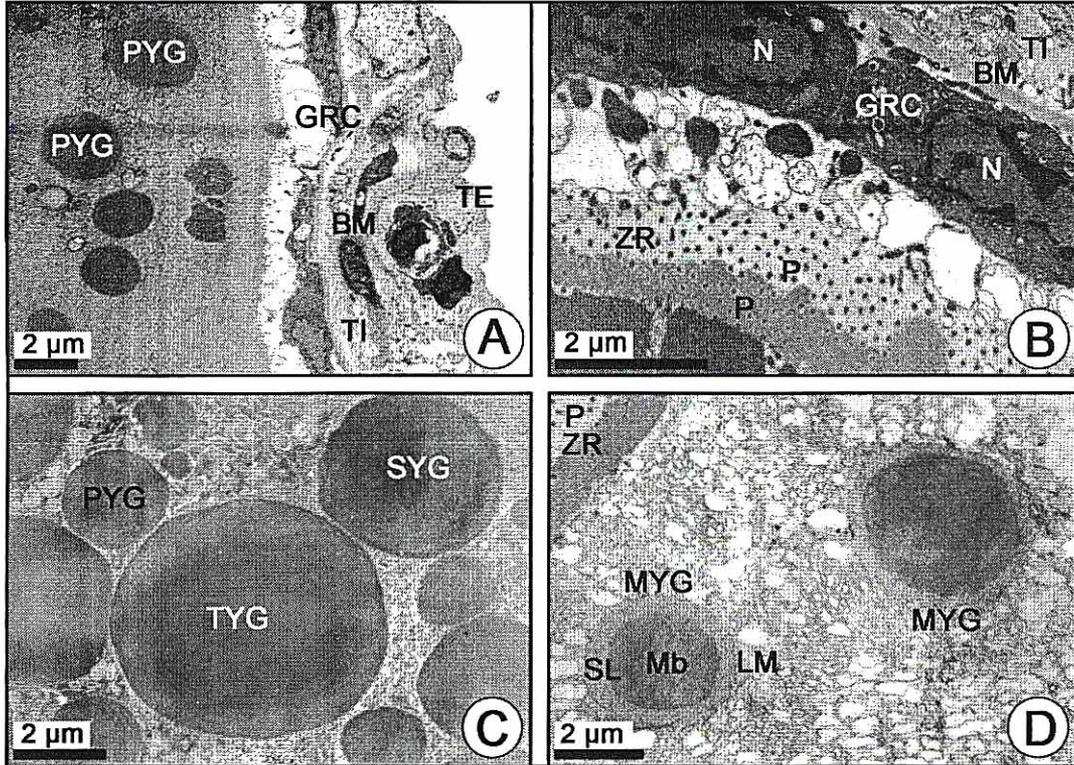


그림 19. 병어 암컷의 난형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, 제 1차 난황구를 함유하는 후기난황형성단계 난모세포와 발달된 방사대 위에 나타나는 과립막세포들과 협막세포들; B, 수 많은 소공이 뚫린 완성된 방사대를 갖는 후기난황형성단계. 난모세포위에 출현하는 과립막세포들과 기저막 및 내협막세포들; C, 제 1차, 2차, 3차 난황구를 갖는 후기난황형성단계 난모세포; D, 성숙난황과립들과 소공들이 막힌 방사대를 갖는 성숙난모세포.

Fig. 19. The electron microscope photograph which shows the elliptical result affection of silver pomfret females

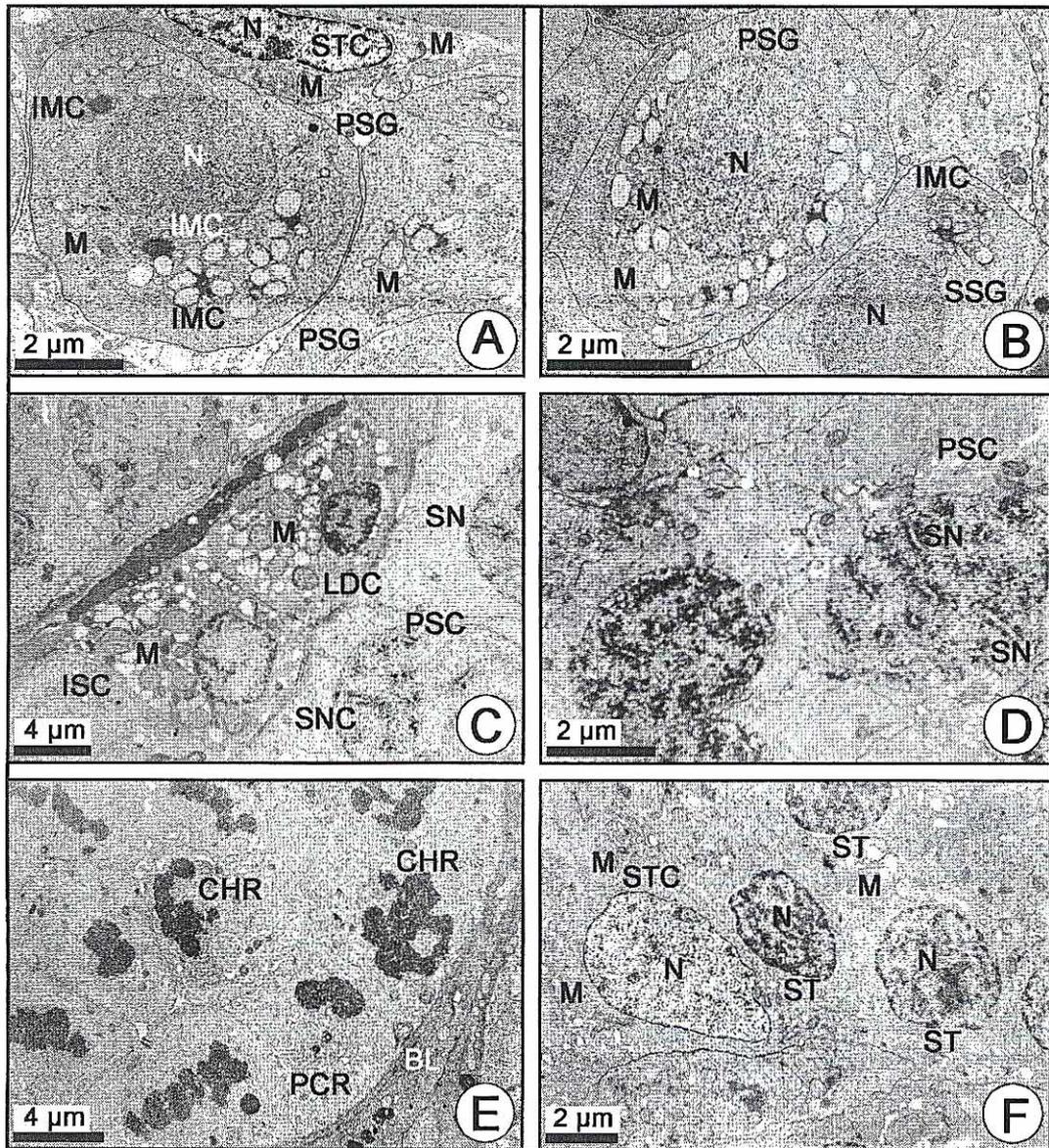


그림 20. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, Sertoli 세포와 세포질 내에 미토콘드리아간 시멘트(intermitochondrial cement)가 출현하는 제 1차정원세포; B, 제 1차 정원세포와 미토콘드리아간 시멘트가 출현하는 제 2차정원세포; C, 제 1차 정모세포와 세포질 내에 미토콘드리아와 활면소포체가 출현하는 Leydig 세포; D, 감수분열 전기의 쌍사기에 핵내에 연접사복합체가 출현한 제 1차 정모세포; E, 감수분열 전기의 태사기에 핵내에 염색체가 출현한 제 1차정원세포; F, Sertoli세포 가까이에 출현하는 제 2차정모세포

Fig. 20. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of silver pomfret males

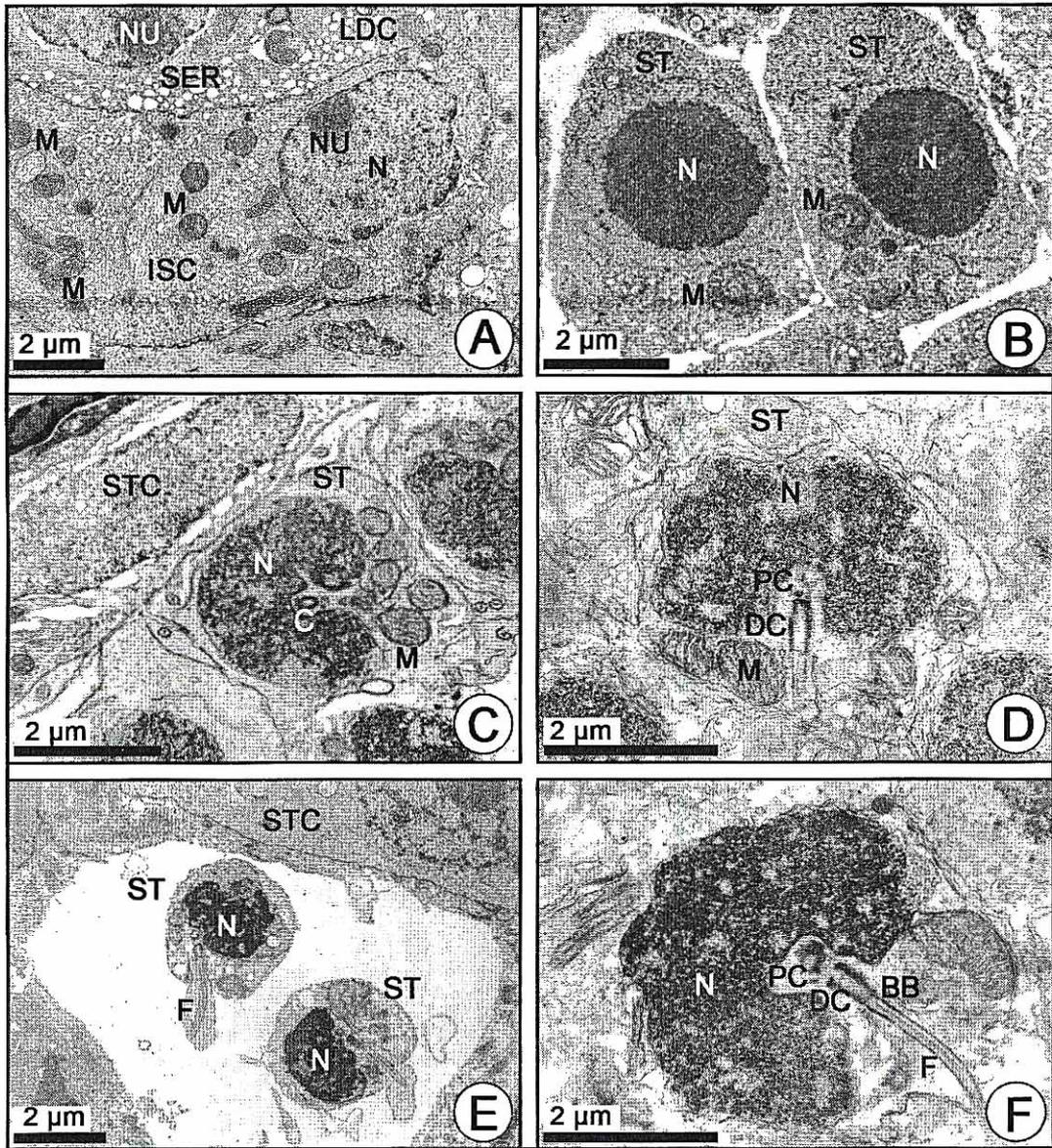


그림 21. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, 세포질내에 미토콘드리아와 활면소포체가 출현하고 있는 활발한 Leydig 세포; B, 제 2감수분열이 끝난 정세포들; C, 다량의 글리코젠 입자를 갖는 Sertoli 세포와 인접하고 있는 정세포들; D, 정자 변태 중인 정세포들; E, Sertoli 세포 가까이에서 출현하는 변태 중인 정세포들; F, 변태중인 정세포로 핵 내에 농축된 염색질을 갖는 핵과 기부중심립, 원단중심립, 기저소체, 편모를 갖는 정자변태 중인 정세포.

Fig. 21. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of silver pomfret males

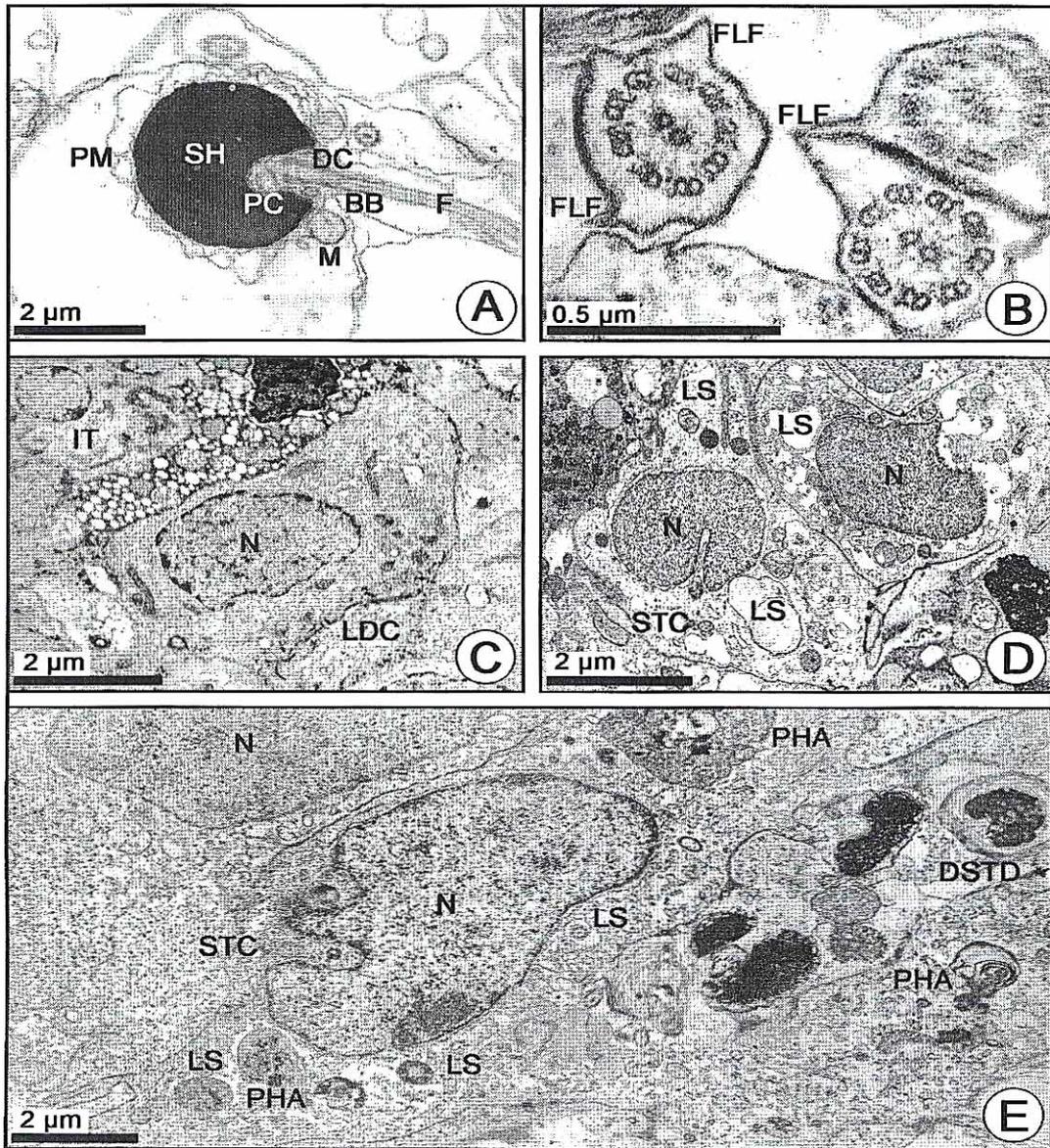


그림 22. 병어 수컷의 정자형성과정을 나타내는 전자현미경 사진

A, 정자두부, 미부, 편모가 출현하는 변태를 마친 정자; B, 정자편모를 횡절단 하였을때 2개의 Flagellum lateral Fins가 출현하며 9+2구조를 나타내는 정자 미부편모; C, 배정기에 정소소엽간 간질조직 내에 출현한 쇠퇴한 Leydig 세포; D, 배정기의 잔존 정세포와 리소조음을 다량으로 갖는 Sertoli 세포들; E, 배정기에 파괴소음과 리소조음을 많이 갖는 이그러진 핵을 갖는 Sertoli 세포.

Fig. 22. The electron microscope photograph which shows the spermatogenesis of silver pomfret male

온대해역에 서식하는 대다수의 어종은 각각 정해진 시기에 생식소가 발달, 성숙한 후 산란하는데, 이에는 생식현상의 직접적인 요인이 되는 내적요인으로 어체 내의 내분비 활동을 들 수 있는데, 내분비 활동에 의해 생식소 발달이 일정한 주기성을 가지고 주기적으로 변한다. 그리고 이러한 어체 내의 내분비 활동을 지배하는 외적 요인으로는 수온, 광주기, 등을 들 수 있는데, 이들 외적요인에 의해 내적요인이 지배되는 것으로 알려져 있다 (Kang et al., 2004; Choi, 2007). 최근 어체 내의 생리현상을 지배하는 내분비 활동을 알기 위해서 난소와 정소의 생식생리에 영향을 미치는 내분비 호르몬 분비세포를 대상으로 전자현미경에 의해 분비세포의 미세구조적 특징과 생리학적 기능, 역할 등과 관련된 어류의 생식기구가 밝혀지고 있다 (Payne et al., 1996; Russell and Griswold, 1993).

병어의 난모세포가 난황축적을 시작하는 성장기에는 난황막에 많은 미세용모가 발달하였으며, 난모세포를 둘러싸는 외층의 여포세포층도 활발하게 성장, 발달하였다. 초기 발달 중인 난모세포는 난모세포 자체에서 합성한 물질로 성장하나, 난황축적을 시작하게 되면 방사대에 수많은 소공들이 출현하여 이를 통하여 음세포작용 (pinocytosis)에 의해 외인성 물질을 받아들일 수 있는 구조로 변화되어 이들 물질을 받아들이는 현상이 관찰되었다. 이와같은 현상은 쥐노래미 *Hexagrammos otakii* (Kang et al., 2004)와 짱뚱어 *Boleophthalmus pectinirostris* (Choi, 2007) 등에서도 유사하게 관찰되었다.

병어의 전자현미경 관찰에서, 여포세포층이 발달하기 시작하는 초기 난황형성단계 난모세포에서는 방사대가 형성되는 시기에 방사대의 소공 (pit)을 통해 음세포낭 (pinocytotic vesicle)이 방사대 아래 피질부 세포질에 형성되었다.

음세포낭 속에 높은 전자밀도를 가진 과립상 물질들이 나타나고 있는데 이것은 음세포작용 (pinocytosis)에 의해 받아들여진 난황전구물질 (yolk precursor)로 추정되었다. 이 물질은 전자밀도가 높아 단백질 및 지질성 물질로 추정되는데, 이들은 간조직에서 합성된 난황전구물질인 vitellogenin으로 내협막 세포층에 분포하고 있는 모세혈관을 따라 수송된 것으로 여겨진다 (Choi, 2007).

금붕어, *Carassius auratus* (Yamamoto and Onozato, 1965), 노래미, *Hexagrammos agrammus* (Chung and Lee, 1985) 및 쥐노래미 *H. otakii* (Kang et al., 2004)의 난형성과정에서 난원세포가 전난황형성단계 난모세포로 성장하게 되면 인은 단일 인에서 핵막을 따라 분산 인으로 증가한다. 이 시기에 이들 인을 전자현미경하에서 관찰하여 보면, 치밀한 섬유상 부위와 과립상 부위의 2가지로 구분되는데 과립상 부위는 난모세포의 성장과 관련되는 RNA합성과 축적에 직접 관련이 있는 것으로 보고되어 있다. 이와 같은 인에 관한 현상은 전자현미경상은 병어에서도 유사한 현상이 관찰되었다. 초기 발달 중인 난모세포의

시기 (크로마틴인기 또는 주변인기)에는 RNA 물질들이 세포질 내에 많이 분비되어 헤마톡실린으로 염색을 할 경우 광학현미경상에서 난모세포들이 암청색을 나타내게 되는 것으로 사료된다.

난모세포의 성장과 더불어 여포세포층이 발달하게 되는데, 여포세포의 발달과 난황형성과의 상호관계에 대해서는 많은 연구자들에 의하여 생리학적으로 또는 형태학적으로 상세하게 밝히고 있다. Nagahama *et al.* (1983)은 난소 여포세포층의 협막세포층에 steroid 생산세포가 분포하는데, 이 세포들이 성 steroid hormone의 생산과 분비에 관여한다고 보고하였다. 또한 Wallace (1978)는 여포세포층의 협막층에서 생산되는 estrogen의 작용에 의해 간에서 vitellogenin이 합성되며, 이들이 혈류를 따라 난모세포로 가서 lipovitellin과 phosvitin으로 난황합성 전구물질이 된다고 보고하였다. 따라서 여포세포가 직접 난황축적에 관여하지는 않지만 (高野, 1989), steroid 호르몬을 생산하여 이 호르몬이 간세포에서 난황단백 전구체 형성을 촉진한다고 보고되어 있는데, (Aida *et al.*, 1973a, 1973b), 병어의 경우도 난모세포 내에서의 난황형성은 여포세포층의 발달과 밀접한 관련을 갖는 것이 세포·조직학적으로 관찰되었다.

전반적으로 볼때, 병어의 난황형성과정은 난모세포의 세포질 속에서 난황형성을 위한 물질을 합성하는 난황형성의 자율합성과정 (autosynthetic vitellogenesis)과 여포조직에서 생성된 estradiol-17 β (E₂)가 혈류를 따라 간조직으로 이동하여 vitellogenin (난황전구체)이 합성되면, 혈류를 따라 난모세포로 다시 들어와 이들 외인성 물질에 의해 난황형성이 일어나는 난황형성의 타가합성과정 (heterosynthetic vitellogenesis)이 일어나고 있어 두 과정에 의해 난황형성이 일어나는 것으로 관찰되었다. 그림 17에 나타난바와 같이, 전난황형성단계 난모세포에서는 골지체에 의해 공포와 소포가 난모세포질 내에 출현하며, 핵막 가까이에서 미토콘드리아간 시멘트 (intermitochondrial cement)가 출현한다. 특히, 높은 미토콘드리아 무리의 중앙부에 출현하는 전자밀도가 높은 cement 성분 (단백질, 지방 등)이 미토콘드리아 속으로 들어가 이들의 수적 증가가 일어나 미토콘드리아들이 증식되게 된다 (Toury *et al.*, 1977; Billard, 1984). 초기 난황형성단계 난모세포에서는 먼저 외인성 물질인 난황전구체 물질이 방사대의 소공 (pit)을 통해 음세포작용 (pinocytosis)에 의해 난세포질로 들어와 음세포낭 (pinocytotic vesicle)을 형성한다. 이 시기에 골지체가 형성하는 공포에 의해 난황포가 형성되고, 여기에 탄수화물성 글리코겐 물질들이 축적되었으며, 이들 난황포 옆에 지방적 (lipid droplet)들이 수많은 미토콘드리아들과 조면소포체들 사이에서 출현하였다. 이로부터 미토콘드리아와 조면소포체들이 지방적 형성에 관여하는 것으로 추정되었다 (Choi, 2007). 지방적들에 의해 지방과립 (lipid granule)이 형성되는 후기난황형성단계 난모세포질 내에서는 미토콘

드리아의 cristae가 변형되어 이들 변형된 미토콘드리아 (modified mitochondria)가 합쳐져 다포체 (multivesicular body)를 형성하며, 다포체들은 이미 난세포질내로 들어온 외인성 난황전구물질들과 결합되어 보다 큰 난황전구체가 되며, 이들은 다시 합쳐져 좀 더 큰 제 1차 난황구가 되며, 제 1차 난황구는 서로 융합되어 제 2차, 3차 난황구가 되었다. 이와 같이 병어에서 일어나는 일련의 자율합성과정과 타가합성과정에 의한 난황형성과정은 노래미 (Chung and Lee, 1985), 쥐노래미 (Kang et al., 2004), 돌가자미 (Jun, 2003), 쟁뚱어 (Choi, 2007)에서도 매우 유사하게 나타나는 현상을 보였다.

참돔을 대상으로 난모세포가 난황형성이 일어나는 성장기와 성숙기 중에 여포세포들의 미세구조를 조사한 결과, 난모세포에 출현하는 여포세포의 돌기는 난황형성단계 중에는 성장하여 방사대에 있는 미세한 난황막 공간들을 통해서 서로 접촉하게 되나, 난모세포가 성숙에 이르면, 난황막 공간의 기능은 사라지고 공간이 폐쇄된다고 보고되어 있다 (Matsuyama et al., 1988). 병어의 경우는 난모세포의 방사대와 과립막 세포사이에 사출되는 미세용모는 난황형성 기간 중에 잘 발달되었으나 완숙난모세포가 되면 방사대는 매우 두터워 졌으며, 미세용모도 사라졌다. 또한 방사대 내부에는 난황막 공간이 존재하나 방사대 최외측의 균일층 (homogenous layer)에서 난황막공간의 입구를 막아 더 이상의 영양물질이 이동될 수 없는 것으로 나타났다. 따라서 병어에서 나타나는 이와 같은 현상은 Matsuyama et al. (1988)이 보고한 결과와 쟁뚱어 (*B. pectinirostris*)의 조사 결과에서도 이와 동일한 현상을 관찰할 수 있었다 (Choi, 2007).

병어 정소에서 발달중인 정소소엽과 소엽사이에 있는 간질조직 내에서는 전형적인 steroid계 호르몬 생성분비세포인 Leydig 세포 (interstitial cell homolog)가 나타나고 있다. 이와 같은 현상은 쥐노래미 (Kang et al., 2004)와 쟁뚱어 (Choi, 2007)에서도 용이하게 관찰되고 있는데, 이들 Leydig 세포가 정소 발달에 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.

어류의 정자중편을 형성하는 단위는 어종에 따라 다르다. 뱀장어, *Anguilla japonica*는 1개 이상의 미토콘드리아가 중편을 형성하는 단위라고 하였으며 (Yamamoto and Colak, 1974), 독중개과 어류인 *Oligocottus maculosus*는 2개 (Stanley, 1969), 그리고 Pantodontidae의 *Pantodon buchholzi*에서는 9개의 미토콘드리아가 중편을 형성한다고 하였다 (van Deurs and Lastein, 1973). 그러나 병어의 중편을 형성하는 단위는 5개 또는 그 이상인 것으로 관찰되었다.

병어는 농어목 어류 (Perciformes)로 정소 구조는 대부분의 경골어류에서 나타나는 바와 같이, 수많은 정소소엽 (seminiferous lobule)으로 구성되어 있다. 병어의 정소소엽 내에는 초기발달 중인 정원세포와 정모세포들이 출현하는데 이들 세포에서 미토콘드리아

간 시멘트 (intermitochondrial cement)가 출현하였는데, 이 현상은 구피, (*Poecilia reticulata*)의 정원세포와 정모세포에서도 출현하였고 (Billard, 1984), 쥐노래미, (*Hexagrammos otakii*)와 짱뚱어, (*B. pectinirostris*)의 정원세포와 정모세포에서도 핵막 가까이에서 이들이 다수가 출현하는 것으로 보고되어 있다 (Chung et al., 1997; Choi, 2007). Toury et al., (1997)은 경골어류인 잉어과 어류의 정소 내에서 intermitochondrial cement를 추출하였는데, 이 cement 물질 속에 존재하는 단백질들이 무리를 이루고 있는 미토콘드리아들 속으로 들어가 결합된다고 보고하였다. 따라서 intermitochondrial cement는 미토콘드리아의 증식을 위해 초기발달 중인 정원세포와 정모세포들 세포질에서 출현하는 것으로 사료된다.

Mattei et al. (1993)은 경골어류의 정자형성은 cyst형과 semi-cyst형의 두가지 형태가 있다고 보고하였으며, 대부분의 경골어류는 cyst형 정자형성을 하는데 cyst들 속에서 일어나는 것으로 보고되어 있다 (Gusmão et al., 1999). 본 조사에서 짱뚱어, (*B. pectinirostris*)는 서로 다른 발달 단계를 갖는 여러 종류의 cyst를 가지는 것을 발견하였는데, 각각의 cyst는 동일 발달 단계의 생식세포를 가지는 것으로 관찰되었다.

병어 정소 내의 정소소엽 (seminiferous lobule)과 소엽 사이에 분화하고있는 간질조직 내에는 전형적인 steroid계 호르몬 분비세포로 알려진 Leydig 세포 (Leydig cell)가 출현하고 있다. 그동안 많은 어종에서 이들 세포의 출현은 계절에 따라 그리고 생식세포 발달과 생식주기에 따라 스테로이드 분비세포의 수와 크기가 변하는 것으로 보고되어 있다 (Payne et al., 1996). 이와 같은 현상에 관해서는 송사리 *Orzias latipes* (Gresik et al., 1973), 노래미 *H. agrammus* (Chung and Lee, 1994), 쥐노래미 *H. otakii* (Chung et al., 1997), 짱뚱어 *B. pectinirostris* (Choi, 2007), 등에서도 일찍이 상세히 보고되어 있다. 일반적으로 어류에서 나타나는 Leydig 세포는 고등한 포유류에서 나타나는 Leydig 세포와 같이, 1) 포상 구조의 핵, 2) 관상 크리스테를 갖는 미토콘드리아, 3) 다량의 활면소포체 출현 등 3가지 형태적 특징들을 가지기 때문에 어류의 Leydig 세포는 포유류의 Leydig 세포와 homologue로 보고되어 있다 (Follenius and Porte, 1960; Follenius, 1964; Payne et al., 1996). 지금까지 많은 어류에서 포상핵은 통상 경골어류의 스테로이드 분비세포들에서 관찰되고 있으며 (Follenius and Porte, 1960; Follenius, 1964; Chung and Lee, 1994), 또한 큰 타원형 또는 관상 크리스테를 갖는 막대형의 미토콘드리아를 갖는 세포들은 스테로이드를 합성하는 세포들에서 통상 나타나는 것으로 알려져 있다 (Christensen and Gillim, 1969; Fawcett et al., 1969; Chung and Lee, 1994). 그리고 만약 Leydig 세포들이 관상형의 활면소포체로 가득 채워져 있다면, 그 세포는 스테로이드 대사기능이 있는 세포로 알려져 있다.

상기 언급된 3가지 특징을 갖는 Leydig 세포가 성장, 발달 및 성숙 중인 병어의 정소 속에서 발견되었다. 일반적으로 지방적들은 고등한 척추동물의 Leydig 세포에서 관찰되고 있으며, 경골어류의 경우도 소수의 종들 즉, *Esox lucius* (Grier et al., 1977), *E. niger* (Grier et al., 1989), *Oryzias latipes* (Gresik et al., 1973), *Poecilia reticulata* (Follenius and Porte, 1960), *Sebastes schlegeli* (Chung and Chang, 1995)를 제외하면, 대부분의 종에서는 Leydig cell 내에 지방적이 출현하는 것으로 보고되어 있다 (Pudney, 1996). 병어의 경우는 Leydig 세포 내에서 지방적들이 관찰되었으나, 예외로 Follenius (1968)는 *Gasterosteus aculeatus*의 Leydig cell들에서는 퇴화기에만 지방적이 관찰되었다고 보고하였다. Leydig 세포 내에서 출현하는 지방적 함량의 변화는 계절에 따라 다르게 나타나는 것으로 보고되어 있는데 (Pudney J, 1996), 본 조사에서 병어의 Leydig 세포는 정자형성이 일어나기 시작하는 성장기부터 이들 세포수가 점차 증가하기 시작하여 배정 바로 직전 또는 배정 중에 Leydig 세포의 수적 증가와 지방적 함량이 가장 큰 것으로 관찰되었고, 배정 후에는 *Gasterosteus aculeatus* (Follenius, 1968)의 Leydig 세포에서 흔히 나타나는, 핵이 불규칙해지고 세포들이 위축되며, 세포소기관자 (cell organelle)들의 출현 및 그 활성이 급감되는 특징이 병어에서도 관찰되어 유사한 경향을 보였다.

Gresik et al.(1973)에 의하면, Sertoli 세포들은 정소 내에서 생식세포들과 인접하여 출현하는데 이들 세포들은 1) 영양공급, 2) 식세포작용, 3) 스테로이드형성 분비의 3가지 기능을 가지는 것으로 보고되어 있다. Chung and Lee (1994)는 노래미, (*H. agrammus*)에서, Chung and Chang (1995)은 *Sebastes schlegeli*에서, Choi (2007)는 *B. pectinirostris*에서 각각의 Sertoli 세포 내에서 미토콘드리아, 조면소포체, 소수의 지방적들(스테로이드 형성의 증거로서)과 다량의 글리코겐 입자들이 정자형성이 일어나기 시작하는 성장기부터 서서히 활성이 증가되기 시작하여 성숙기에 정자가 변태를 마치기까지 Sertoli 세포들이 세포질 내에서 용이하게 관찰되었다고 보고되어 있으며 특히, 성숙기에 다량의 글리코겐 입자들이 Sertoli 세포 내에 출현하는 것은 정자변태 중에 있는 정세포의 정자변태를 위한 영양 공급과 관련이 있는 것으로 보고되어 있다. 이와 같은 현상은 병어에서도 유사한 현상이 나타나고 있어 병어의 Sertoli 세포들은 발달 중인 생식세포들과 정자변태 중인 정세포의 영양공급에 직접 관여하는 것으로 판단된다.

Gresik et al. (1973)은 송사리 *Orzias latipes*의 Sertoli 세포 내에서 퇴화 중인 정세포들이 리소조움에 의해 식세포작용이 일어나는 현상을 관찰하였다고 보고하였다. 이와 같은 현상은 병어의 sertoli 세포 내에서 리소조움에 의해 myelin-like organelle에 의해 둘러싸여 퇴화, 붕괴되는 정세포들을 용이하게 관찰할 수 있었으며, phagosome 가까이에 있는 잔

여소체 (residual body)와 지방적들이 나타나고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 이와 같이 병어 정소 내의 Sertoli 세포 내에서 이와 같은 현상이 발견되는 것은 배정 후, 잔존하는 정세포를 식세포작용에 의해 sertoli 세포가 퇴화, 붕괴시켜 다음 정자형성을 위해 재 흡수하는 기능을 하는 것으로 판단되었다.

체외수정을 하는 경골어류의 정자들은 둥근핵과 소수의 미토콘드리아를 갖는 긴 편모를 갖는 정자꼬리를 갖는 원시형 (primitive type)에 속한다 (Franzen, 1970; Grier, 1981; Poirier and nichosn, 1982)고 보고되어 있다.

대부분의 체외수정을 하는 경골어류의 정자에서 나타나는 바와 같이 병어 (*P. argenteus*)의 정자 type은 전형적인 원시형 (primitive type)에 속하며, 정자 구조는 체외수정 종이 갖는 일반적인 정자의 구조를 보이고 있다. 또한 병어 정자는 모든 경골어류의 정자들이 첨체를 갖지 않는 것과 같이 첨체가 없는 것으로 나타났다 (van Deurs and Lastein, 1973; Yamamoto and Colak, 1974; Yip and Bols, 1982; Poirier and Nicholson, 1982; Chung and Lee, 1994; Chung and Chang, 1995; Chung *et al.*, 1997; Choi, 2007). 이 사실은 일반적으로 경골어류는 난에 난문이 존재하기 때문에 정자 두부에 첨체가 있을 필요가 없는 것과 관련이 있는 것으로 사료된다.

어류에서 정자의 중편을 형성하는 단위는 어종에 따라 다르다. 뱀장어, *Anguilla japonica*는 1개 이상의 미토콘드리아가 중편을 형성하는 단위라고 하였으며 (Yamamoto and Colak, 1974), 독중개과 어류인 *Oligocottus maculosus*는 2개 (Stanley, 1969), 그리고 *Pantodon buchholzi*는 9개의 미토콘드리아가 중편을 형성한다고 하였다 (van Deurs and Lastein, 1973). 본 조사에서 병어는 5개 또는 그 이상이 중편을 형성하는 것으로 관찰되었다.

정자편모 구조에서 나타나는 flagellum lateral fin은 차라시목 (Characiform), 잉어목 (Cypriniform), 메기목 (Siluriform clade)을 제외한 대부분 체외수정을 하는 어류에서 나타나고 있으나 (Jamieson, 1989; Park and Kim, 1996), 대부분 체내수정을 하는 어류의 정자는 axonemal lateral fin을 가지지 않는 것으로 보고되어 있다 (Jamieson, 1989; Chung and Chang, 1995; Lee, 1995). 본 연구에서, 병어는 체외수정 하는 종으로 정자에는 2개의 lateral fin을 가지는 어류로 관찰되어 본 조사의 결과는 Jamieson (1989)의 결과와 일치한다.

4. 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상

가. 특정 GnRH 발현 동정

현재까지 알려진 GnRH의 특정 타입 중에서 가장 대표적인 포유류, 조류 및 어류에서 대표되는 세가지 타입의 GnRH의 항체 (anti mGnRH, anti cII GnRH and anti sGnRH)를 이용하여 병어 뇌에서 어떤 형태가 동정되는지를 알아내고, 또한 계절별로 생식에 관련되는 특정 GnRH가 어떤 경로로 생성 분비 되는지를 파악하여, 병어의 인공종묘생산시 뇌에서 발현된 특정 GnRH를 이용하고자 한다.

나. 특이적 GnRH (sGnRH 및 cGnRHII) 동정

면역조직화학법에 의해 수행된 병어 뇌조직에서의 sGnRH 분포는 그림 23에 나타냈다. 현재까지 알려진 GnRH 중에서 세 종류의 항체를 병어 뇌 조직에 적용한 결과, 2종류에 대하여 양성반응을 나타냈다. 이중 sGnRH가 가장 강한 반응을 보였으며, 이들 양성반응을 보인 신경세포체는 주로 종뇌, 복측 및 시교 전방에 집중적으로 분포하였다(그림 24, A1~A2) 즉, 거대 신경세포체군은 시각 시경 교차 전방에서 거의 모든 양극성 신경세포체들과 연결되어 있는 양성 신경섬유들의 형태를 보여주었다. 신경섬유는 sGnRH 면역세포에서 종뇌의 등쪽으로 일부가 뻗어나가 있으며, 대부분의 신경섬유는 배쪽에 분포하였다. 또한 미부쪽으로 향하는 양성 신경섬유들은 배쪽에 치우쳐 뇌하수체병, 전 배측 정중 시상하부에서 발견되었고, 뇌하수체 직전 누두경에서 종결되었다(그림 24, B1). 전시각과 배쪽 종뇌로부터의 신경섬유는 주로 등쪽 종뇌, 신경핵 그리고 피개(Tectum)를 향하였다. 그 외의 다른 지역인 피개에서 cGnRH II에 면역 반응에 양성인 집단적인 신경섬유가 양성반응을 나타내었다(그림 24, B2). mGnRH 항체에 대하여는 전혀 양성 반응을 보이지 않았으나 신경섬유에서는 cGnRH II에 대하여는 양성반응을 나타냈다. 소수의 양성 신경섬유의 분포는 뇌의 전 부분에서 극히 일부분이 발견되었으며, 이들은 거의 다발을 형성하지 않고 흩어져 있었다. sGnRH-ir에 대한 양성 신경세포체의 분포가 가장 광범위하였고 cGnRH II에 대한 양성 신경섬유의 분포 지역은 가장 협소하였다.

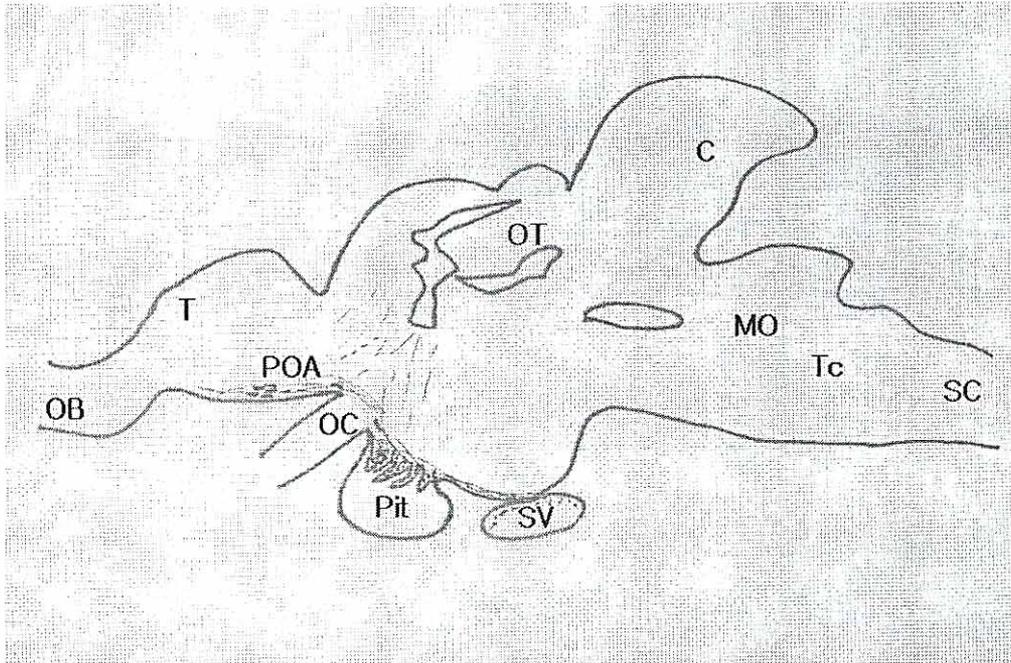


그림 23. 산란기 병어 뇌의 정중단면 모식도

Fig. 23. Diagram of paramedian sagittal sections of the flatfish brain, and the distribution of sGnRH-ir on breeding season

Stars represent the ir-perikarya and dotted the ir-fibers. The most anterior group of cell bodies observed in the preoptic area. Bipolar cell body(arrows) of the preoptic area(POA). Tract of ir fibers extending from the preoptic area to the pituitary stalk through the mediobasal of telencephalon(T) and detected cGnRH II-ir fibers in the tectum OB olfactory bulb; ON optic nerve; OC optic chiasma; Tc Tectum; C cerebellum ; Pit pituitary gland; OT optic tectum; MO medulla oblongata; SC spinal cord

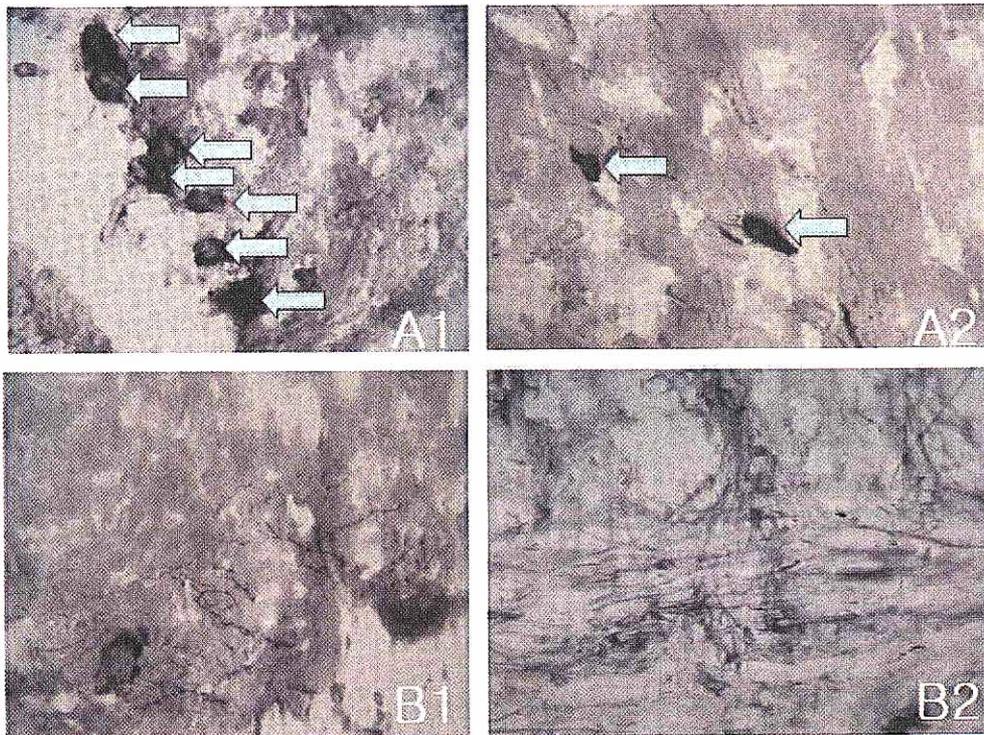


그림 24. 산란기 병어 뇌에서의 sGnRH와 cGnRH-II의 발현

Fig. 24. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies(A1, A2) and sGnRH-ir fibers(B1) in the anterior optic chiasma and cGnRH II-ir fibers(B2) in the tectum from on breeding season

다. 계절에 따른 sGnRH-ir의 발현 양상 비교

1) 번식기에 sGnRH-ir의 분포

계절별 변화에 따른 sGnRH-ir의 변화 및 분포의 차이를 알아보기 위하여 면역조직화학법에 의해 수행된 병어 뇌조직에서의 번식기에 sGnRH-ir 분포는 그림 25, 26에 나타냈다. 다른 시기에 비하여 번식기에 sGnRH가 가장 강한 면역반응을 보였으며, 이들 양성 반응을 보인 신경세포체는 주로 종뇌 배쪽 및 시각교차 전방 또는 후방에서도 분포하였다(그림 25, A1) 즉, 거대 sGnRH-ir 신경 세포체군은 시각 시경 교차 전방에 집중적으로 분포하였으며, 모든 양극성 신경세포체들과 연결되어 있는 양성 신경섬유들의 형태를 보여주었다. 그러나 후각엽(그림 25, A5)으로 뻗은 신경섬유의 굵기는 시상하부를 통하여 뇌하수체로 가는 신경섬유(그림 25, A2)에 비하여 훨씬 가는 형태였으며, 시상하부 뇌하수체로 가는 신경섬유는 뚜렷하였고, 또한 굵기에서도 다른 곳 즉 후각엽, 대뇌 피질(그림 25, A6), 시상상부, 시상, 등에 분포하는 것과 큰 차이를 나타냈다. 또한 미부쪽으로 향하는 sGnRH-ir 신경섬유들은 배쪽에 가장자리에 치우쳐 뇌하수체병, 전 배측 정중 시상하부에서 발견되었고, 뇌하수체 직전 누두경(그림 25, A3)에 그리고 혈관망(그림 25, A4)에서 종결되었다. sGnRH-ir에 대한 양성 신경세포체와 신경섬유의 분포는 중뇌와 후뇌에서는 발견되지 않았다.

2) 생식주기에 따른 sGnRH-ir의 변화

생식주기의 변화에 따른 sGnRH-ir의 세포체와 신경섬유의 변화 및 분포 차이를 알아보기 위하여 번식기 전후와 생식세포가 성장하는 시기 (10월)에 집중적으로 채집하여 실험을 수행하였다. 번식기 전 (3월)에는 sGnRH-ir의 신경세포체가 종뇌의 배쪽 지역에 한정되어 약한 면역반응을 보였다(그림 26, A2). 신경섬유의 분포도 생식과 관련된 축에서만 약하게 관찰되었다. 그러나 번식기 (5월)에는 가장 다양한 지역 (후각엽, 대뇌 피질, 간뇌 전지역)에서 신경섬유가 관찰 되었을 뿐 아니라, 신경세포체의 분포 부위도 다양하였고, 또한 sGnRH-ir의 반응성이 가장 강하게 나타났다(그림 26, A1~B1~C1). 또한 뇌하수체병, 시상하부의 누두경 그리고 뇌하수체 후방에 위치하는 혈관망에서도 sGnRH-ir를 보임으로서 번식기에 GnRH의 가장 활성이 극대화함을 알 수 있었다. 번식기가 지나고 다음 생식세포를 성장 시키는 시기 (10월)에는 sGnRH-ir의 신경세포체와 신경섬유의 동정 및 분포를 확인하기가 힘들었다(그림 26, A3~B3~C3).

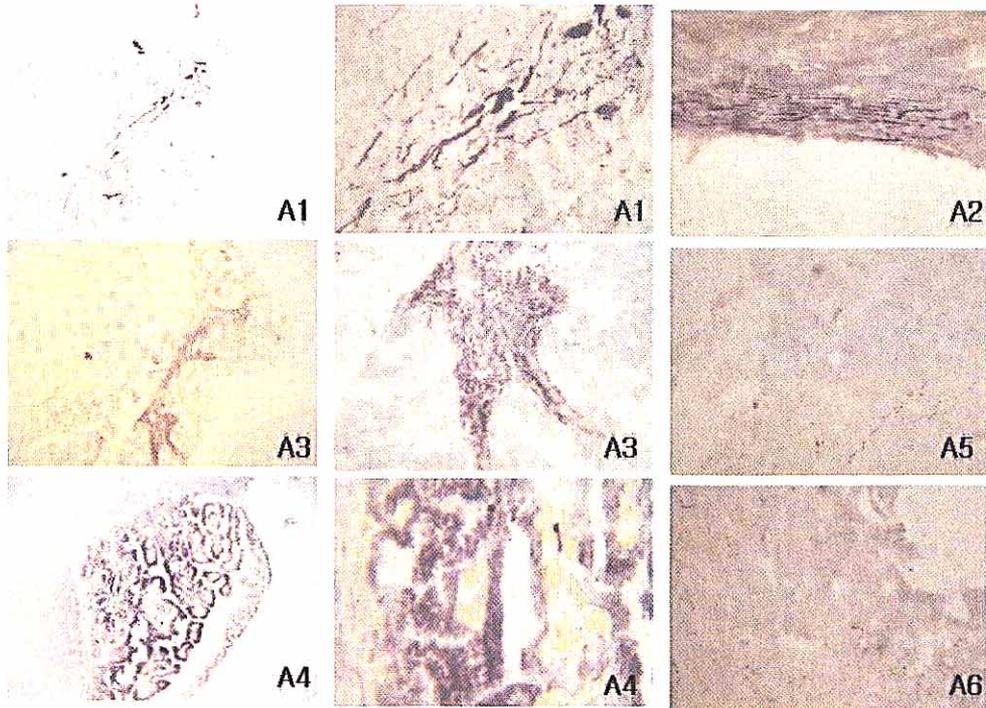


그림 25. 전시각지역과 앞측 또는 뒤측 optic chiasma에서 관찰되는 sGnRH-ir 세포체를 보여주는 광학현미경 사진

Fig. 25. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies observed in the preoptic area(A1) and anterior or posterior in the optic chiasma. sGnRH-ir fibers detected in the anterior optic chiasma(A2), the pituitary stalk(A3) through the mediobasal of diencephalon, telencephalon(A6), olfactory bulb(OB, A5) and saccus vasculosus(A4, SV) on the breeding season

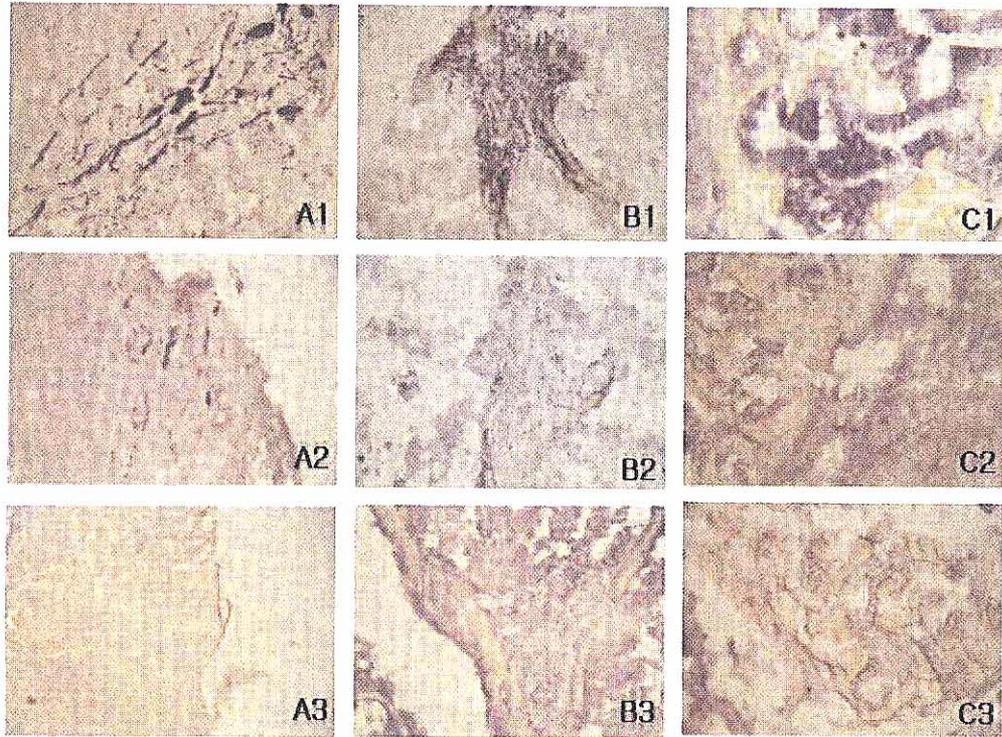


그림 26. 전시각지역과 앞측 또는 뒤측 optic chiasma에서 관찰되는 sGnRH-ir 세포체를 보여주는 광학현미경 사진

Fig. 26. Brightfield photomicrographs showing sGnRH-ir cell bodies observed in the preoptic area on breeding season(A1), before(A2) and post(A3) breeding season. sGnRH-ir fibers detected in the anterior optic chiasma, the pituitary stalk(B1) and saccus vasculosus(C1, SV) on breeding season, before(B2, C2) and post(B3, C3) breeding season

면역조직화학법에 의한 본 연구는 병어의 뇌조직에서 sGnRH 뿐 만 아니라, cGnRH II 항체에 대하여 양성반응을 보여 여러 종류의 GnRH peptide가 존재함을 시사하고 있다. 더욱이 다른 경골 어류에서 발견되었던 cGnRH II (Powell et al., 1986; Yu et al., 1988; Okuzawa et al., 1990) 또는 다른 종류의 존재를 뒷받침하고 있으며, mGnRH는 존재하지 않은 것으로 판단된다.

금붕어 뇌에서는 sGnRH와 cGnRH II가 서로 다른 지역에서 발견되었는데 sGnRH는 후각엽, 전뇌, 시상하부, 시각-시상하부 및 뇌하수체에서, cGnRH II는 소뇌와 연수에서 많은 양이 검출되었다. 특히 cGnRH II는 뇌하수체에서는 전혀 발견되지 않았으며, sGnRH가 뇌의 다른 부위보다 전뇌, 시상하부, 및 뇌하수체에서 많은 양이 검출되었고, cGnRH II는 뇌 전체에 넓게 퍼져 있으나 특히 연수에서 높은 농도로 존재한다는 것을 보고하였다(Kim et al., 1995). 그러나 연어가 금붕어와 다른 큰 차이점은 뇌하수체에서 cGnRH II가 발견된다는 점이다(Kobayashi et al., 1992, 1994). 또한 경골어류 뇌에서 면역조직화학법으로 여러 종류의 GnRH의 분포를 밝혀 왔는데, 연어 (masu salmon)의 뇌에서 sGnRH 양성 신경세포체가 후각신경, 후각엽, 그리고 전뇌의 복측, 전시각 부위 또는 신경절 말단의 한 부분과 후각엽 사이에 집단을 형성하고 있으며, sGnRH 양성신경섬유는 후각신경에서 척수에 이르기까지 다양한 부위에서 분포하고 특히 뇌하수체에 직접 연결되어 있다. cGnRH II 양성 신경세포체는 중뇌의 피개 (tetum) 지역에서 발견되었으며, 뇌 전체적으로 sGnRH 양성 신경섬유의 수가 cGnRH II 양성 신경섬유보다 훨씬 많았다고 보고하였다 (Amano et al., 1991). 이들 결과들은 sGnRH는 GTH 분비의 조절자 뿐만 아니라 신경조절자로서 작용하나 cGnRH II는 신경조절자로서 만 작용한다는 것을 시사한다 (Amano et al., 1997). 또한 금붕어에서는 두 종류 모두 GTH 분비 조절자 뿐만 아니라 신경조절자로서 작용하는 것으로 보고되었다 (Kim et al., 1995). 본 연구에서 병어는 또한 뇌 조직 내 sGnRH에 대한 양성 반응이 금붕어, 유럽과 일본계 뱀장어와 같은 종에서 보고된 것과 전반적으로 일치하였다(Kah et al., 1984, 1986). cGnRH II는 연어에서 같이 병어에서도 중뇌의 피개 지역에서 만 발견되었다. 따라서 병어에서의 sGnRH는 생식조절자로서, cGnRH II는 신경전달 물질로서만 주로 작용할 것으로 생각되며 대부분의 담수 경골어류의 생식소자극호르몬 분비호르몬의 체계와 매우 유사할 것으로 생각되었다.

또한, 면역조직화학법에 의한 본 연구는 병어의 뇌 조직에서 sGnRH는 생식주기에 따라 크게 차이가 남을 확인 하였다. 이는 sGnRH가 병어 뇌의 전부분에서 번식기에 뚜렷하게 증가하고 넓은 지역에서 분포함을 확인하였다. 이것은 sGnRH가 생식과 밀접하게 연관된 신경호르몬임을 증명한다.

이상의 결과로부터 양식어종으로 개발을 시도하고 있는 병어의 뇌에서 생식과 관계되는 최초의 생식조절자로서 sGnRH가 관여하고 번식기에 가장 강력한 면역반응을 보임으로서 생식에 직접 관여함을 증명한다. 따라서 이들 결과들은 병어 인공 종묘 생산 시에 합성 sGnRH 길항제를 투여함으로써 배란 및 산란을 유도할 수 있을 것으로 판단된다.

5. 유전학적 분석

가. AFLP 유전자 지문 분석

병어와 덕대, 중국병어 각각 15마리씩 3개의 primer 조합으로 AFLP를 수행한 결과, E/ATG-M/CCC primer 조합(그림 27)과 E/AGC-M/CAT primer 조합(그림 28)으로 AFLP를 수행한 gel 사진에서 보는 바와 같이 중국병어 집단이 병어 집단과 덕대 집단과 상이한 DNA band pattern을 보였고, 병어 집단과 덕대 집단은 집단 내의 다양성이 높게 나타났다.

각 집단별 전체 밴드의 수는 병어 155개, 덕대 156개, 중국병어 103개로 확인 되었으며, 그 중 다형성 밴드의 수는 병어 139개, 덕대 153개, 중국병어 30개였다. 따라서 다형성 밴드 수준은 병어에서 89.68%, 덕대는 98.07%, 중국병어는 29.13%로 덕대 집단이 높은 다형성 수준을 보여주었다.

집단 내 유전적 유사도 (GS)는 병어 0.725, 덕대 0.761, 중국병어 0.939로 나타나 중국병어 집단 내 유사도가 가장 높았다. 이에 따라 중국병어 집단 내의 유전적 다양성이 감소된 경향은 Hedgecock (1994)의 보고에 의하면 양식에서 적은 수의 친어로 인위적인 산란을 통해 많은 자손을 생산할 때 자연산에 비해 유전적 다양성이 감소된다고 하였다. 따라서 양식으로 인해 많은 세대를 거치는 동안 근친교배가 지속적으로 이루어졌을 가능성이 높고 이러한 영향으로 인해 유전 다양성이 낮아졌을 것이라고 판단된다. 평균 이형 접합율(HE)은 병어 집단 0.0402, 덕대 집단 0.2854, 중국병어 집단 0.0415로 역시 덕대 집단이 가장 높았다(표 10).

평균 유전 다양성 (GD)에 있어서는 병어 집단 0.2573, 덕대 집단 0.3058, 중국병어 집단 0.0444로 중국병어 집단이 다양성이 낮았다.

집단 간 분화도 (F_{st})는 병어 집단과 중국병어 집단이 0.72855로 가장 높게 나타났으며, 중국병어 집단과 덕대 집단이 0.68675, 병어 집단과 덕대 집단이 0.32997로 가장 낮았으며, 유전적 거리 (DS)는 병어 집단과 중국병어 집단 0.6530, 덕대집단과 중국병어 집단이 0.6294, 병어 집단과 덕대 집단이 0.2397로 나타나 병어와 덕대 집단이 가까웠고, 중국집단은 가장 크게 나타나서 이러한 결과는 집단간 분화도와 일치하였다. 집단 간 분화도 (F_{st})와 같은 경향을 보였다(표 11).

각 개체간의 유사도 matrix에 따른 3집단 전체의 UPGMA dendrogram 결과 3종간 3개의 clade를 형성하였고, 병어와 덕대 집단은 DS, *Fst* 결과와 마찬가지로 근연관계를 보였고, 중국병어는 거리가 멀게 나타났다. 한편, 덕대의 일부 개체들이 병어와 동일한 clade 내에 포함되는 결과를 보였는데, 이는 아마 두 종사이의 자연잡종에 따른 원인일 가능성이 높다(그림 29). 이는 덕대와 병어의 산란시기가 5월~7월이며, 서해 및 중국대륙 연안을 산란장으로 밀집 분포 (국립수산진흥원, 1985)하므로 동일 수역 내에서 자연적인 두 종간의 잡종이 유도되었을 가능성이 있다. 따라서 차후 형태적으로 덕대와 병어의 잡종으로 판단되는 집단에 대해서는 mtDNA 또는 RAPD 분석 등의 연구를 바탕으로 잡종 여부를 확인하여야 할 것이다.

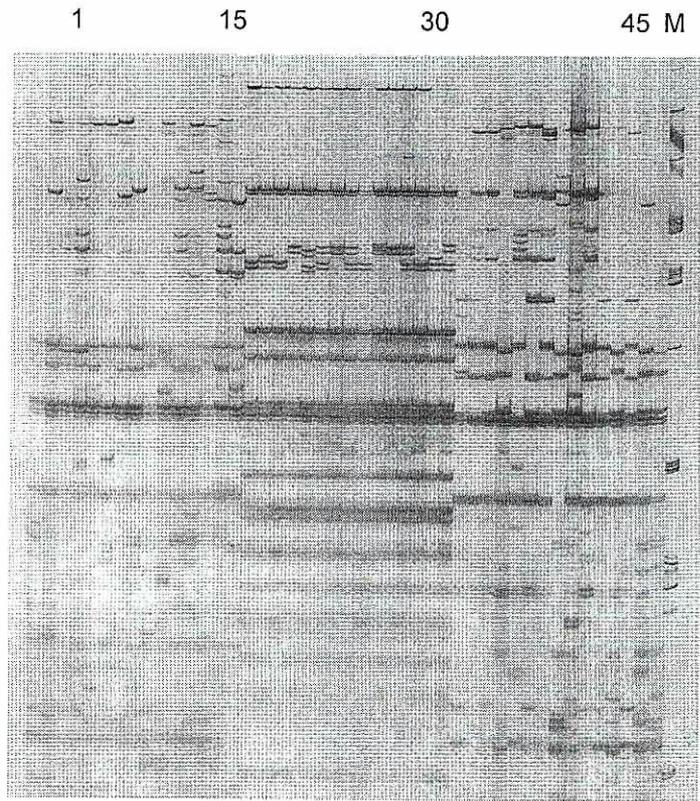


그림 27. primer combination E/ATG-M/CCC를 이용한 AFLP fingerprint의 비교
 1~15 lane; *Pampus argenteus*, 16~30 lane; *P. chinensis*,
 31~45 lane; *P. echinogaster*.

Fig. 27. Comparison of AFLP fingerprint patterns using a primer combination E/ATG-M/CCC

1 15 30 45 M

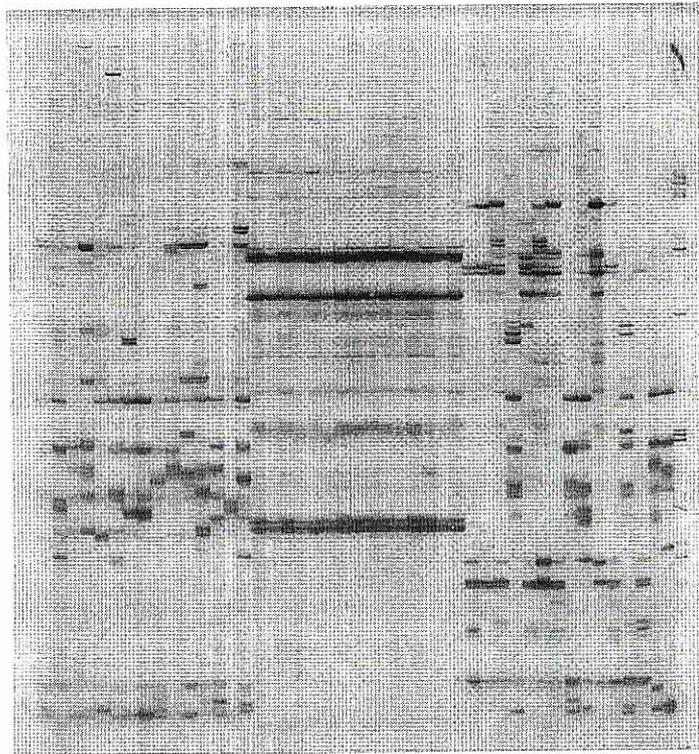


그림 28. primer combination E/AGC-M/CAT를 이용한 AFLP fingerprint patterns 비교
1~15 lane; *Pampus argenteus*, 16~30 lane; *P. chinensis*,
31~45 lane; *P. echinogaster*.

Fig. 28. Comparison of AFLP fingerprint patterns using a primer combination
E/AGC-M/CAT

표 10. 병어속 3종의 AFLP 마커 추적

Table 10. Summary of the detection of AFLP markers of the three species in the genus *Pampus*

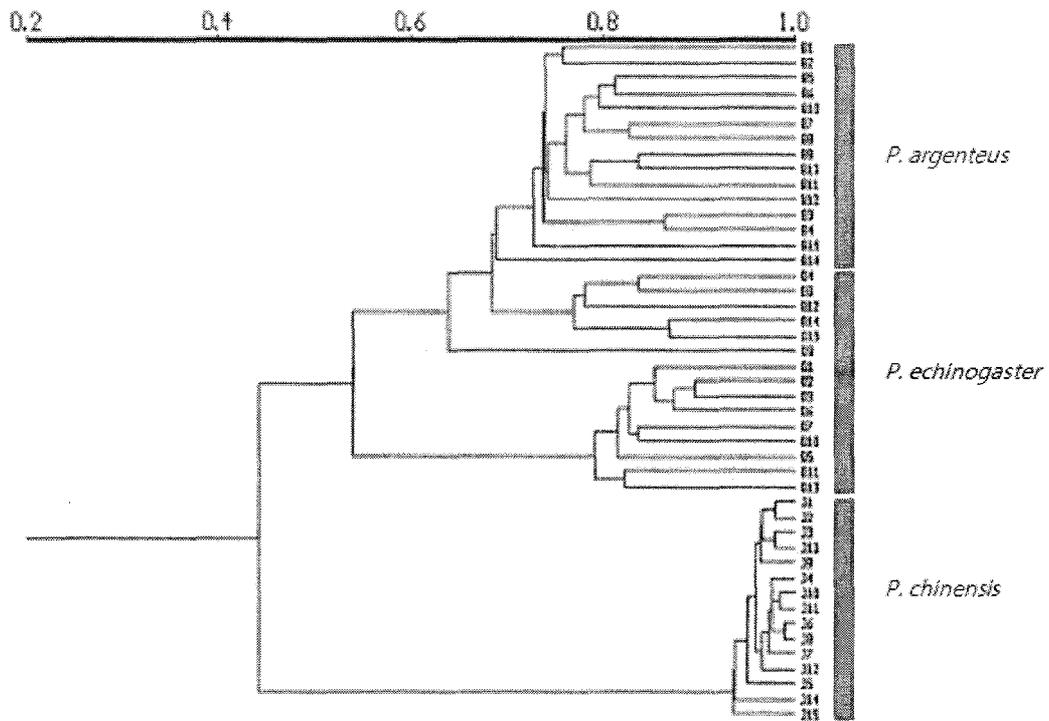
Information of AFLP markers	<i>P. argenteus</i>	<i>P. chinensis</i>	<i>P. echinogaster</i>
- Total number of primer combinations	3	3	3
- Total number of bands	155	103	156
- Average number of bands	51.67	34.33	52
- Total number of polymorphic markers	139	30	153
- Average number of polymorphic markers	46.3	10.0	51.0
- Average percentage of polymorphisms (%)	89.68	29.13	98.07
- Average genetic similarity	0.725	0.939	0.761
- Average heterozygosity	0.0402	0.0415	0.2854
- Average genetic diversity	0.2573 ±0.1325	0.0444 ±0.0244	0.3058 ±0.1570

표 11. AFLP 분석을 통한 병어속 3종간에 계산된 유전적거리 및 집단간 분화도

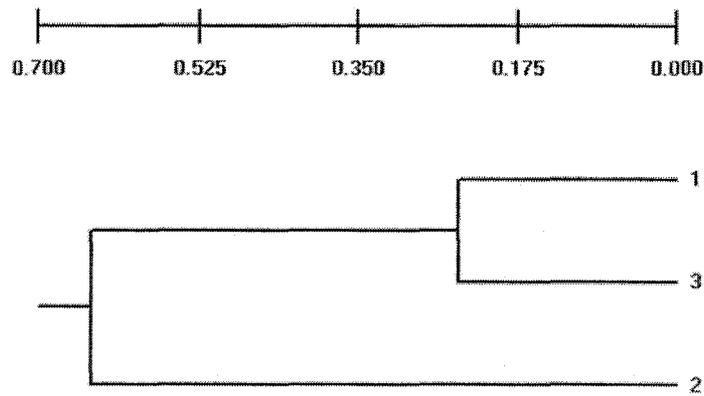
Table 11. Pairwise distance and F_{st} calculated between three species in the genus *Pampus* by AFLP analysis

Species	<i>P. argenteus</i>	<i>P. chinensis</i>	<i>P. echinogaster</i>
<i>P. argenteus</i>	—	0.6530	0.2397
<i>P. chinensis</i>	0.7286	—	0.6294
<i>P. echinogaster</i>	0.3300	0.6868	—

Pairwise distance, D_s (above); pairwise genetic differentiation, F_{st} (below);



(A) Genetic distace within individual



(B) Genetic distace within species

그림 29. UPGMA clustering 방법에 의해 수립된 유전적 거리 데이터를 기초로 한 병어속 3종간 계통 발생적 관계로 보여주는 그림

1, *P. argenteus*; 2, *P. chinensis*; 3, *P. echinogaster*.

Fig. 29. Dendrogram showing phylogenetic relationships among three species in the genus pampus based on genetic distance data constructed by the UPGMA clustering method

6. 자연산 병어 채포 및 실내사육

가. 채포 어법

우리나라 서해남부 해역에서의 병어 잡이 어장은 5~7월 신안군 임자도, 증도, 영광군 낙월도 등을 중심으로 형성된다(그림 30). 병어의 채포 시기는 병어가 산란하기 위하여 연안으로 들어오는 시기에 이루어지므로 시기를 정확하게 예측하는 일이 중요하다. 따라서 채포 장소 선정, 채포 시기 판단에 있어서 해황 자료를 토대로 어업인의 경험을 청취하여 결정하였으며, 연구 참여자가 위판장 조사, 병어 잡이 어선 등에서 병어 어획량, 포란 상태,란의 속도 등에 관한 사전 조사를 실시하였다. 병어의 어획시기를 예측하기 위하여 어업인 중심으로 정보망을 구축하여 운영하였으며, 병어의 회유가 예상되는 경로별로 1~3개의 병어 채포 조를 편성하여 운영하였다. 또한 병어의 포획과정에서 어체의 손상으로 인한 폐사 발생을 최소화하기 위하여 2005년에는 건간망 어법으로 자연산 치어를 포획하여 실내사육 하였고, 2006년에는 유자망에서 인공채란을 위해 성숙한 병어를 포획하였으며, 2007년에는 고정 걸그물에서 성숙한 병어를 포획하였으나 어체 손상 등으로 전량 폐사 되었다. 따라서 친어포획과정에서의 폐사율을 줄이기 위하여 2008년에는 연안 육지와 가까운 곳에서 조업이 이루어지는 소형안강망 어선에서 포획하였다(그림 31).

1) 유자망

2006년도에 신안군 임자도, 증도 부근 해역의 유자망 어구에서 인공채란을 위하여 친어 26마리를 채포하였다. 유자망은 홀림걸그물 이라고도 하며 수건모양의 그물을 수면에 수직으로 펼친 후 조류를 따라 흘러보내면서 어획 대상물이 그물코에 걸리도록 하여 어획하는 방법이다. 따라서 병어가 그물에 걸려서 장시간 시달리고, 그물에 걸린 병어를 선상으로 인양하는 과정에서 비늘 탈락과 어체의 손상이 많았으며, 조류에 따라서 그물이 이동하지만 그물코에 병어가 끼어서 포획되기 때문에 비늘탈락이 심하고 그물에 의한 상처 발생이 많았다(그림 31, A).

2) 고정 걸그물

2007년도에는 영광군 낙월도 해역의 고정 걸그물에서 성숙한 병어 127마리를 채포하였다. 고정걸그물은 닻자망 이라고도 하며 옆으로 긴 사각형 모양의 그물 양쪽을 닻으로 고정시킨 후 어군이 다니는 통로에 수직으로 펼쳐서 어획 대상물이 그물코에 걸리게 하여 잡는 어법이다. 어획하는 과정에서 어체의 손상이 많았으며, 친어의 운반에 많은 시

간이 소요되었다. 그물코에 병어가 끼어서 어획되고 그물이 닳아 의해 정지된 상태이기 때문에 조류에 의한 영향을 많이 받아 상처 발생 및 비늘 탈락이 심하였다(그림 31, B).

3) 소형 안강망

2008년도에는 신안군 입자면 재원도 주변 해역 등의 소형안강망 어구에서 성숙된 병어 111마리를 채포하였다. 안강망은 조류가 빠른 곳에 설치하여 어구를 조류에 밀려가지 않게 고정해 놓고, 어군이 조류의 힘에 의하여 강제로 자루에 밀려들어가게 하여 잡는 어법이다. 그물이 고정된 어법으로 조류에 의한 영향을 받으나, 포획 과정에서 유자망, 고정 걸그물 어업에 비하여 어체의 손상이 적었으나 망목의 크기가 작아서 혼획 된 다른 어종과의 마찰로 인한 어체 손상도 다소 있었다. 그러나 유자망, 고정 걸그물과는 달리 친어를 비교적 온전하게 포획할 수 있었다(그림 31, C).

4) 건간망

2005년도에 영광 백수 해역의 건간망 어구에서 치어 497마리를 포획하여 시험양식장까지 운반하여 양성하였다. 건간망은 개막이 라고도 하며, 조석간만의 차가 큰 간석지에 말뚝이나 대나무 등으로 울타리를 만든 후 밀물을 타고 들어온 어획 대상물을 썰물 때 빠져나가는 길목을 차단하여 물이 빠진 후에 잡는 어획 방법이다. 육지와 가까운 해역에 어구를 설치하기 때문에 채포 작업시간에 제약을 받고, 넓은 면적에서 수중 작업을 하는데 어려움이 있으나 치어 포획 시 어체의 손상이 적었고, 양성 과정에서의 생존율도 높았다(그림 31, D).

나. 자연산 병어 치어 확보와 생존율

1) 병어 채포현장 및 실내 사육환경

채포기간 중 채포현장 및 사육수조의 수온, 염분을 표 12에 나타내었다. 영광군 백수 지선 건간망 어장의 병어채포현장 수온은 16.5~18.9℃ 범위였으며, 채포기간 동안 평균 수온은 18.0℃로 나타났다. 사육수조의 평균 수온은 18.3℃로써 채포 현장 수온보다 0.3℃ 높았다. 채포 현장의 비중은 31.1~32.4‰ 범위로써 평균 31.5‰를 나타냈다. 사육수조의 염분은 채포 현장에 비해 다소 낮았다.

2) 치어 채포 및 생존율

2005년 10월 13일부터 11월 13일까지 3회에 걸쳐 건간망에서 채포한 자연산 병어의 채포현황은 표 13과 같다. 치어 채포과정에서 스트레스 및 어체 손상을 최소화 하기위하여 수중에서 뜰채 및 바가지 등을 이용하여 활력이 좋은 치어만을 선택하여 해수와 함께 채포하였다. 497마리를 채포하였으며 평균전장은 10.5cm, 평균체중은 19g이었다. 채포된 치어를 활어차를 이용하여 운반하는 과정에서부터 폐사가 발생하기 시작하였으며, 사육 수조에 수용한지 72시간 경과 후 274마리 (55.2%)가 폐사하였고, 223마리 (44.8%)가 생존하여 사육관리에 들어갔다.

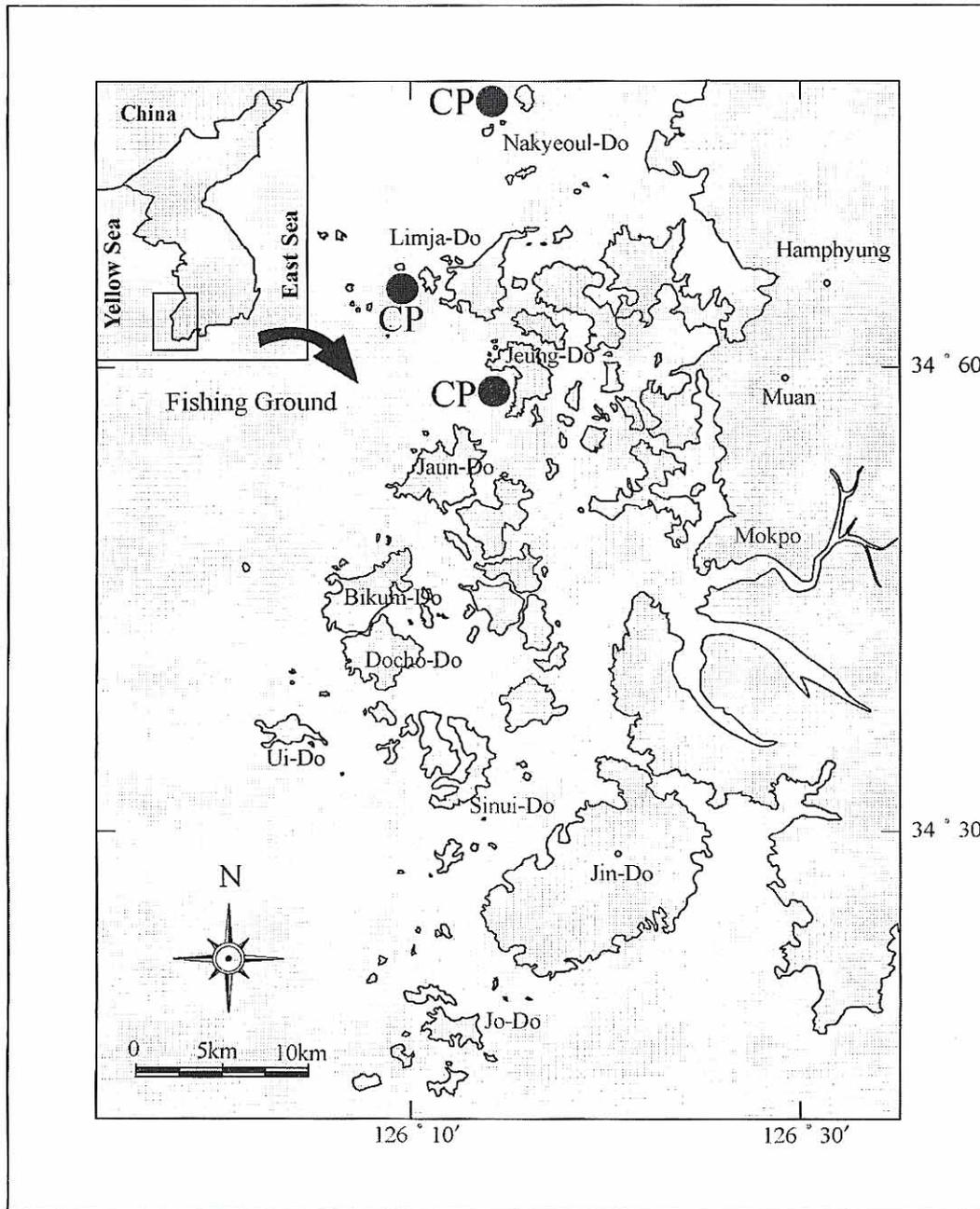


그림 30. 자연산 병어 시료의 포획 지점.

Fig. 30. Schematic diagram of catching station in living area of the wild Silver pomfret. CP : Catching point.



그림 31. 자연산 병어 채포 방법, A. 유자망, B. 고정 걸그물, C. 소형 안강망, D. 건간망

Fig. 31. Capture methods of nature silver pomfret

A. Drift gill net B. Set gill net C. Small stow net on anchor D. Fish fence

다. 운반 및 수송

2005년 건간망에서 포획한 병어 치어의 운반은 비닐 봉투에 깨끗한 바닷물을 채우고 치어를 넣어 산소 포장한 다음 인근 선착장으로 운반하였고, 선착장에서 활어차의 수조에 치어를 넣고 액화산소를 공급하면서 시험양식장까지 운반하였다. 운반과정에서 274마리가 폐사 되었다. 차량으로 운반하는 과정에서 어체 손상으로 인한 세균 감염을 예방하기 위하여 OTC (Oxytetracycline HCL) 100 ppm 으로 약욕하였으며, 채포에서 시험 양식장 입식까지 수송 시간을 최소화 하였다.

라. 치어 먹이 순치 및 실내사육

시험양식장에 운반된 치어는 직경 6m 원형 PP수조에 수용하였다. 채포, 수송 과정에서 어체의 손상으로 인한 세균 감염을 예방하기 위하여 OTC (Oxytetracycline HCL) 150ppm으로 1일 2시간씩 2일간 약욕하였으며, 육상수조에 적응된 치어에게는 매일 2~3회 신선한 새우 및 냉동 곤쟁이를 급이 하여 먹이붙임 하였다. 생사료의 먹이붙임은 72시간 만에 완료되었고, 먹이 순치는 비교적 빠른 시간에 이루어졌다. 수조 입식 30일 이후부터 배합사료 먹이 붙임을 시작하였으며, 배합사료를 먼저 급이하고, 곤쟁이 등 생사료를 나중에 급이 하는 방식으로 먹이 순치 시켰다. 배합사료는 부상사료보다는 침강사료를 선호하였는데, 이는 병어의 입의 구조가 상악이 하악보다 길어서 물에 뜨는 부상사료 보다는 물속에 가라앉는 침강사료 섭식이 용이하기 때문으로 생각된다. 사육과정에서 누적 폐사가 발생하였으며, 한 수조에서 장기간 사육함에 따라 수조 벽면에 물멍개가 대량 번식하여 탈락하는 현상이 발생하였다. 이로 인한 수질악화로 치어를 다른 수조로 옮겼는데, 옮기는 과정에서도 비늘 탈락 및 스트레스로 인하여 일부가 폐사 하였다. 이러한 옮기는 과정에서의 폐사를 줄이기 위하여 바가지를 사용하여 치어를 물과 함께 떠서 옮겼다.

또한 수조의 수질 악화를 방지하기 위하여 일주일 간격으로 수조바닥에 쌓인 배설물 및 사료찌꺼기 등을 Siphon으로 제거하였으며, 수조의 수심은 90cm정도로 유지하고, 일일 환수량은 봄~가을에는 10~15회전, 동절기에는 3회전으로 조절 관리하였다. 동절기 환수량 감소에 따른 산소를 보충하기 위하여 액체산소를 공급하여 DO를 7.5~8.5mg/l 로 유지하였고, 사육수 순환을 돕기 위하여 수중펌프를 가동하였다.

표 12. 자연산 병어 채포현장 및 사육수조의 수온과 염분

Table 12. Water temperature, specific gravity of catching field, and culture tank with Silver pomfret

Capture period	Water temperature(°C)		Salinity(‰)	
	Capture area	Culture tank	Capture area	Culture tank
2005.10.13(first)	18.9	19.1	32.4	31.1
2005.10.14(second)	18.7	19.0	32.4	31.1
2005.11.13(third)	16.5	16.8	32.4	32.4

표 13. 자연산 병어 채포량과 생존율

Table 13. Catch amount and survival rate of wild Silver pomfret

Capture period	Capture (fish)	Average length (cm)	Average weight (g)	Mortality (fish)	Survival (fish)	Survival rate (%)
2005.10.13(first)	196	9.7	15	115	81	41.3
2005.10.14(second)	189	10.1	16	92	97	51.3
2005.11.13(third)	112	11.8	26	67	45	40.1
합 계	497	10.5	19.0	274	223	44.8

마. 실내 사육기간 중 수온변화

자연산 병어를 채포하여 사육 관리한 2005년 10월~2007년 8월까지 수온의 월별 변화는 그림 32와 같다. 자연산 병어를 채포하여 입식한 2005년 10월의 평균 수온은 19.3℃로 나타났으며, 11월 하순에 12.0℃까지 하강하였다. 수온의 하강에 따라 2005년 11월 하순에서 2006년 3월 하순까지 보일러를 가동하여 동계 사육기간 중의 수온을 12.0~16.4℃로 관리하였다. 2006년 5월부터는 수온이 일반적인 상승 추세를 보이기 시작하여 7~8월 고수온기에는 26.4~28.7℃ 분포를 보였으며, 8월 3일에 31.3℃로 연중 가장 높은 수온을 나타냈다. 9월 하순부터 수온이 하강하기 시작하였으며, 11월 하순부터 겨울철 사육기간 중에는 보일러를 가동하여 수온을 12.3~16.3℃로 유지하였다. 2007년 수온상승기인 5~6월의 수온은 일반적인 상승추세를 보였으며, 고수온기인 7~8월 상순까지의 수온은 27.0~30.5℃를 나타내서, 2006년도에 비해서 0.6~1.8℃ 높은 분포를 보였다. 2007년도 연중 최고 수온은 8월 11일에 32.1℃를 나타냈다.

마. 자연산 병어 사육결과

전남 영광군 백수지선의 건간망 어장에서 채포한 병어를 2005년 10월부터 실내수조에 입식하여 2007년 8월까지 약 22개월 동안 사육 관리한 결과는 표 14와 같다.

채포된 치어를 활어차를 이용하여 운반하는 과정에서부터 폐사가 발생되기 시작하였으며, 실내 사육수조에 수용한지 72시간 경과 후 274마리 (55.2%)가 수송과정에서의 Stress 등으로 인하여 폐사되었고, 223마리 (44.8%)가 생존하여 사육관리에 들어갔다.

자연산 병어를 채포하여 육상수조에 입식한 후 10월의 평균수온은 19.3℃이었으며, 이후 11월 하순부터 수온이 12.0℃이하로 하강하면서 섭이량이 급격하게 떨어졌다. 이때부터 보일러를 이용하여 가온 사육하였다. 하절기 7~8월 사육수의 평균 수온은 2006년 26.4~28.7℃로 나타났으며, 2007년 27.0~30.5℃로 2006년에 비하여 0.6~1.8℃ 높았고, 동기간 동안의 사육 수온은 12.0~32.1℃를 나타내었다. 2005년 10~11월 채포하여 실내 수조에 입식 당시 병어의 평균 전장은 10.4 ± 1.3 cm, 평균 체중은 18.2 ± 5.8 g이었다. 실내 사육 과정에서 성장도를 분기별로 측정하였으며, 시료는 실내 사육중인 병어 20마리를 무작위로 채포하여 측정하였다. 2006년 3월에 측정 결과 평균 전장은 11.2 ± 1.1 cm, 평균 체중은 21.8 ± 6.0 g으로 나타났다. 2006년 9월 측정결과 평균 전장은 15.0 ± 2.0 cm, 평균 체중은 51.9 ± 19.4 g으로 나타나서, 2006년 6월 조사 결과에 비하여 높은 성장률을 보였다(그림 33~34). 일반적으로 겨울철 수온이 낮은 시기에는 섭이량과 성장도가 낮은 경향을 보였고, 병어의 성장에 적합한 수온이 유지되는 봄, 가을에는 섭이량과 성장도가 높게 나타났다.

성장도 측정에 사용한 병어를 수조에 다시 입식하여 사육한 결과 비늘탈락 등 어체 손상과 Stress 등으로 대부분 폐사하였다. 2007년 7월 해산 *Amyloodinium* sp.의 기생과 2008년 8월 고수온에 의해 사육관리중인 친어가 전량 폐사하여 자연산 친어 사육관리에 의한 자연산란 유도 시험을 수행하지 못하였다. 병어의 성장도를 2007년 8월 최종적으로 조사한 결과 평균 전장 21.7 ± 2.7 cm, 평균 체중 145.6 ± 48.3 g 으로 성장하였으며, 실내 수조에 최초로 입식한 2005년 10월에 비하여 전장은 208.7%, 체중은 800.0% 증가하였다.

사. 사육중인 친어의 성숙도 조사

채포한 병어 친어가 정상적으로 성숙하도록 유도하기 위해서 시험양식장 인근 어장에서 어획되는 새우 및 곤쟁이를 구입하여 지속적으로 공급하였으며, 배합사료와 함께 충분히 공급하여 건강 상태를 유지시켜 주었다(그림 35).

2005년 10월 채포하여 2007년 6월까지 사육한 결과, 93마리 중에 46마리가 병어의 생물학적 최소형인 체장 12.1~15.0cm로 성장하여 산란시기에 성숙단계까지 도달하는 개체는 약 49.5%로 나타났다. 병어의 전장은 15.5~26.0cm, 체중은 61.0~231.0g까지 성장하였다.

2005년도에 채포하여 실내 사육한 친어의 생식소의 성숙상태를 알아보기 위하여 암컷과 수컷 3마리씩을 포획하여 복부를 절개하여 생식소 성숙상태를 확인하였다(그림 36).

배가 부른 상태의 완전성숙단계에 이르는 개체는 전혀 관찰되지 않았고, 자연산란 단계에 이른 개체는 없었다. 암컷은 전장 21.3~23.8cm, 체중 160.5~172.8g, 생식소 중량 3.01~3.32g 이었으며 수컷은 전장 13.8~14.2cm, 체중 54.3~58.6g, 생식소 중량은 0.25~0.29g 으로 계측 되었다(표 15).

자연 상태에서의 병어의 주 산란기인 6월에 어획 된 병어의 생식소 중량지수 (GSI)는 암컷은 5.31 정도이고, 수컷은 1.06 정도이지만, 실내수조에서 사육한 병어의 생식소 관찰 결과 6월 현재 생식소 숙도지수가 암컷은 1.87~1.92를 나타내었고, 수컷은 0.46~0.49를 나타내어 자연산란은 어려울 것으로 판단되었다. 조사 다음 년도인 2008년에는 생식소 중량지수가 높아져서 자연 산란이 가능 할 것으로 추정되었다.

아. 사육중인 친어의 폐사

2007년 7월 12일 사육중인 병어의 아가미와 체표에 식물성 편모조류인 *Amyloodinium* sp.가 기생하여 병어가 이상 행동을 보였다(그림 37).

Amyloodinium sp.는 수족관의 해수어에서 자주 볼 수 있는 기생충으로 육상수조의 해

수어 종묘 배양장과 축제식양식장, 해상 가두리양식장에서도 발생하는 것으로 알려져 있다. 어류에 기생한 영양체 (Trophont)는 서양배 모양 또는 달걀 모양으로 최대 크기가 350 μm 이고, 부착반에서 뻗어나온 가근 (假根, Rhizoid)을 삽입하여 기생한다.

Amyloodinium sp.가 아가미에 대량 기생된 병어는 아가미 개폐 속도가 빨라지고 식욕 저하와 함께 체표를 주변의 물체에 비비는 행동을 나타내며, 아가미 조직의 증생, 출혈, 괴사로 인한 산소결핍으로 폐사가 발생하였다.

Amyloodinium sp.를 구제하기 위하여 발병 첫째 날에는 수산용 포르말린 80ppm 농도로 2시간 동안 약욕 후 환수를 실시하고 현미경 40배율로 검정한 결과 1시야 당 *Amyloodinium* sp. 30~40개체가 관찰되었다. 발병 2일째, 3일째에는 포르말린 농도를 100ppm으로 높여서 약욕 한 후 현미경으로 관찰한 결과 5~6개체가 발견 되었으며, *Amyloodinium* sp. 대부분은 구제되었으나, 전장 15cm 전후의 병어는 어체에 기생 3일 짜인 7월 14일부터 13마리가 폐사하였으며, 7. 15일부터 7. 19일까지 매일 3~9마리가 폐사하였고, 7월 19일까지 44마리가 누적폐사 되었다. 전장 15cm 이상의 병어는 소량 폐사 후 회복되기 시작하였다. 회복단계인 병어의 안정을 위해서는 친어 양성 수조내의 지속적인 사육수 환수가 필요하나 시험 배양장이 위치한 지점은 조석간만의 차이가 심하여 소조시에는 사육수를 바다에서 배양장으로 직접 끌어 올려 사용 할 수 없기 때문에 노지에 축제식 저수조(40m \times 50m \times 1.5m, 3,000톤)를 시설하여 여기에 사육수를 저장해 두었다가 사용하고 있는 실정이다. 이러한 환경 여건에서 장마기 이후 기온의 상승으로 7월 하순부터 8월 상순까지의 평균 기온은 25.2~33.4 $^{\circ}\text{C}$ (평균기온 31.0 $^{\circ}\text{C}$)를 나타내었고, 기온의 상승으로 저수조의 수온이 상승하여 29.4~32.8 $^{\circ}\text{C}$ 를 나타냈다. 저수조의 바닷물을 집수하여 사용한 배양수조의 수온은 7월 23일 28.7 $^{\circ}\text{C}$ 에서 급격하게 상승하여 7월 31일 29.9 $^{\circ}\text{C}$ 를 나타냈으며, 8월 4일 31.3 $^{\circ}\text{C}$, 8월 11일 32.1 $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승 하였다. 이러한 여건으로 인하여 소조시에 저수조의 사육수를 환수 시키지 못하게 됨에 따라 기생충에 감염되어 회복 중이던 친어가 활력을 찾지 못하고 8월1일 7마리가 폐사하기 시작하여 매일 소량씩 폐사가 발생하였으며, 8월8일 11마리, 8월11일 12마리가 폐사하여 49마리가 누적 폐사되었고, 최종적으로 93마리가 전량 폐사 하였다.

폐사를 줄이기 위한 대안으로 저수조보다 수온이 낮은 직수에 의한 환수도 고려하였지만, 2007년도에 시험 배양장 주변에 급격하게 증가한 전어 (10개소, 107.9ha, 11,800천마리)와 숭어 축제식 양식장에서 아가미 갑각충을 치료하기 위한 유독물질 사용으로 배출수에 의한 양식장 주변 해역의 오염이 우려되어 직수를 사용 할 수 없게 되었다. 시험 배양장이 위치한 해역의 구조가 만으로 형성되어 약욕 처리 후 방출된 폐수가 외해로 흘러

나가지 않고 환류 되어 돌아올 가능성이 높기 때문이다.

한편, 2007년도 장마철을 전후하여 *Amyloodinium* sp.는 서·남해 종묘 배양장에 광범위하게 발병하여 사육중인 해산 자·치어의 초기 대량폐사를 일으킴으로써 2007년 해산어의 종묘수급에 차질을 초래하였다. 주로 병어 종묘생산이 이루어지고 있는 시험 배양장 인근 지역의 넙치, 돝류 치어에도 발병하여 2,400여만 마리의 종묘가 폐사 하였다.

자. 자연산 친어의 성숙도 조사

1) 어장 환경조사

성숙한 자연산 어미 확보를 위하여 주 산란장인 영광군 낙월도, 신안군 임자도 해역 및 지도읍 송도 위판장에서 산란시기인 5월부터 성숙도 조사를 실시하였다(그림 38).

조사 해역의 수온과 염분농도를 표 16에 나타내었다. 수온은 16.2~17.4℃, 염분은 32.4‰을 나타내어 2007년과 2008년 모두 비슷한 분포를 보였다.

2) 자연산 친어 성숙도 조사 결과

2008년 성숙한 자연산 어미를 확보하고 인공채란을 실시하기 위해 산란장 해역 및 위판장에서 어획된 병어 친어의 생식소의 성숙도를 조사한 결과를 표 17에 나타냈다.

1차 25마리를 조사한 결과 암컷의 평균 체장은 29.8cm, 평균 체중은 512g 이었으며, GSI는 7.48이었으며, 수컷의 평균 체장은 27.5cm, 평균 체중은 349.4g이었고, GSI는 2.18로 암·수 모두 생식소가 성숙되어 있고, 난은 분리가 되고 있으며, 난경은 0.5mm 정도로 미성숙 상태를 나타냈으며, 2차 25마리를 조사한 결과 암컷의 평균 체장은 31.8cm, 평균 체중은 608.7g, GSI는 18.21이었으며, 수컷의 평균 체장은 28.2cm, 평균 체중은 351.5g, GSI는 3.03으로 나타났고, 난은 완전히 분리되어 난경은 1.0mm 내외로 성숙이 진행되고 있었다.

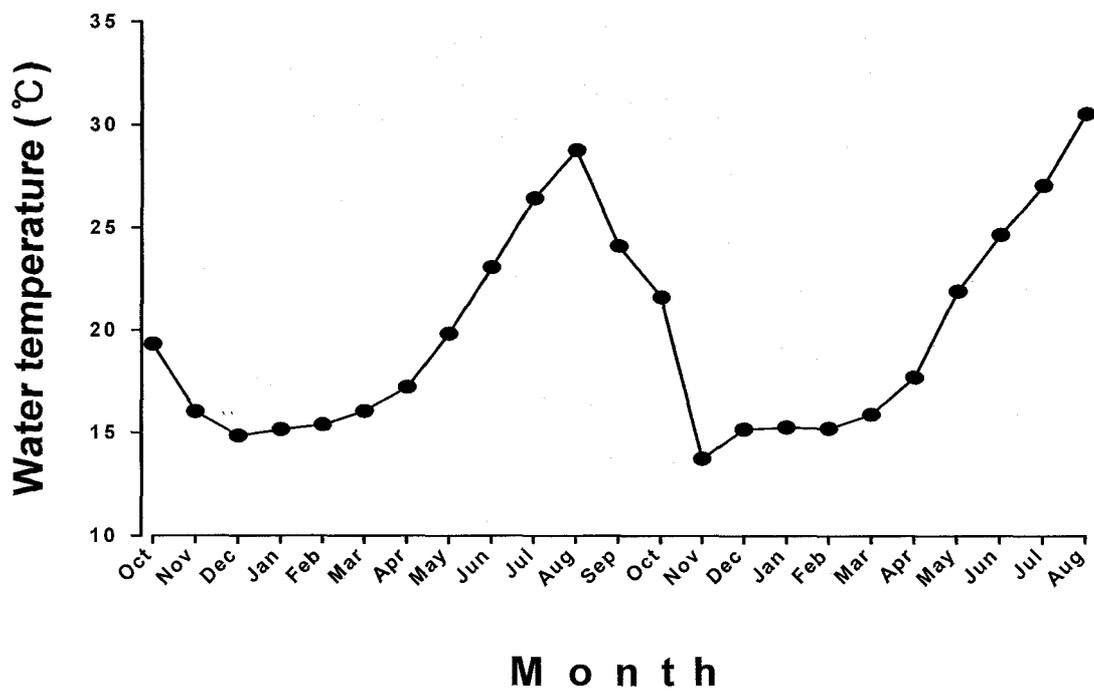


그림 32. 실내 사육기간 중 수온 변화

Fig. 32. Change of water temperature in the interior breeding duration

표 14. 자연산 병어 친어의 사육 결과

Table 14. Breeding result of natural captured broodstock pomfret

At the start of maintenance	
Date	2005. 10
Number of fish	20
Total length(cm)	10.4±1.3
Body weight(g)	18.2±5.8
At the end of maintenance	
Date	2007. 8
Number of fish	20
Total length(cm)	21.7±2.7
Body weight(g)	145.6±48.3

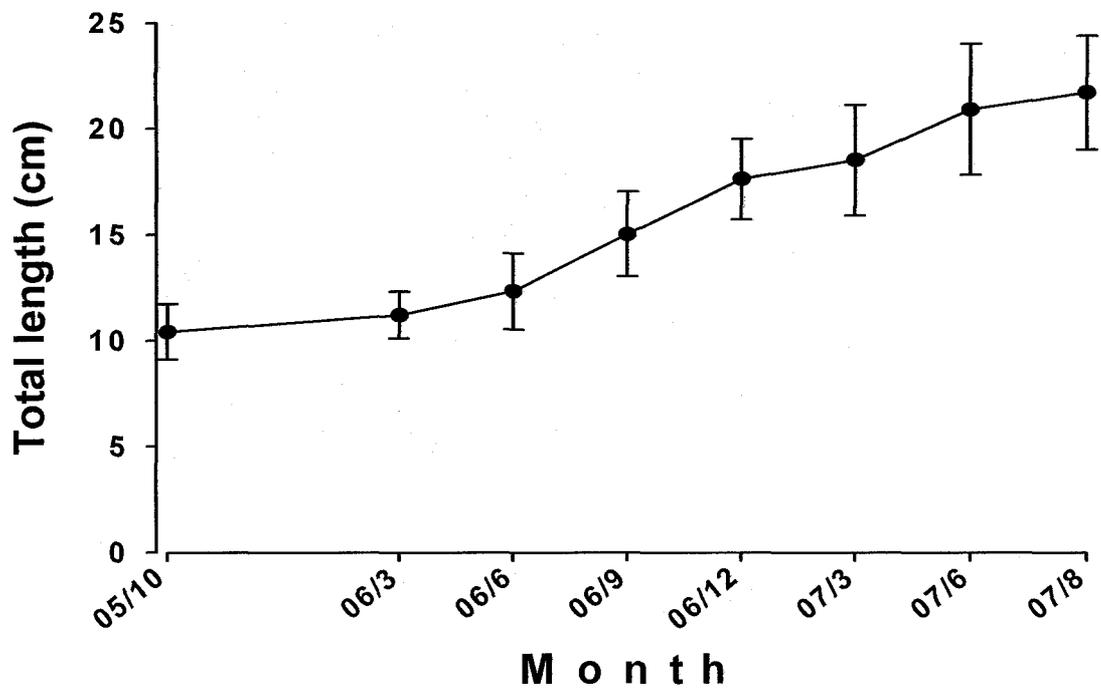


그림 33. 자연산 병어 친어의 전장 변화

Fig 33. Change of body length for natural captured broodstock pomfret

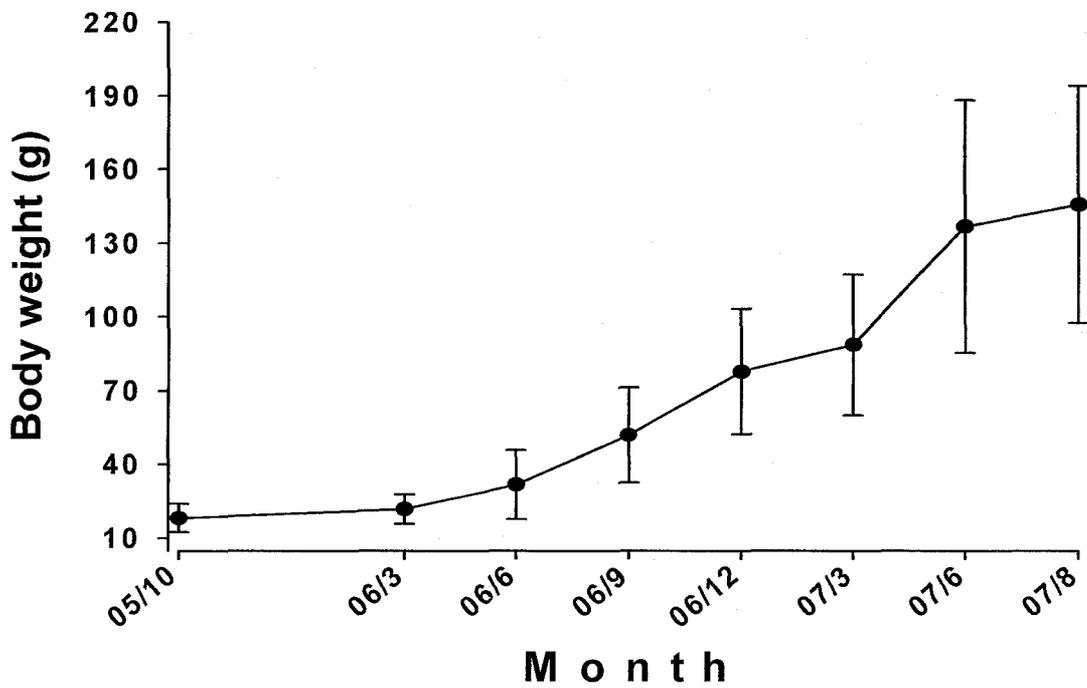


그림 34. 자연산 병어 친어의 성장에 따른 체중 변화

Fig 34. Change of body weight for natural captured broodstock pomfret

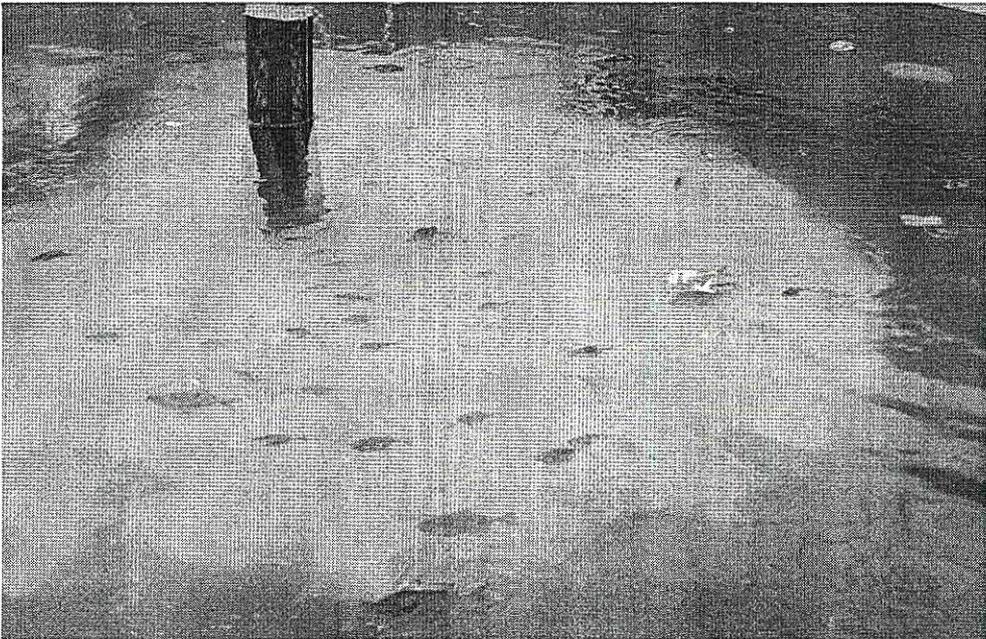


그림 35. 사육중인 병어 친어

Fig. 35. Rearing of broodstock silver pomfret

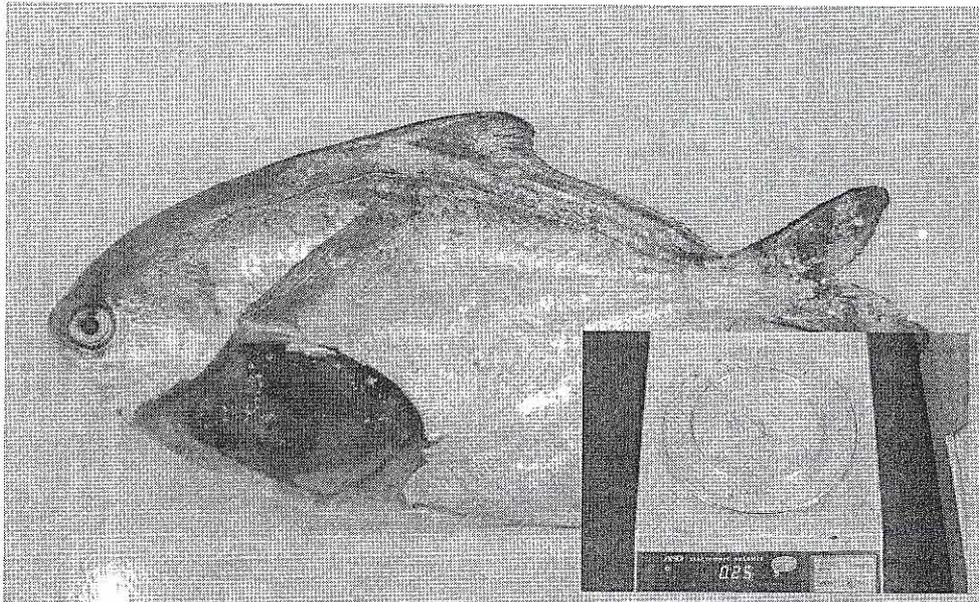
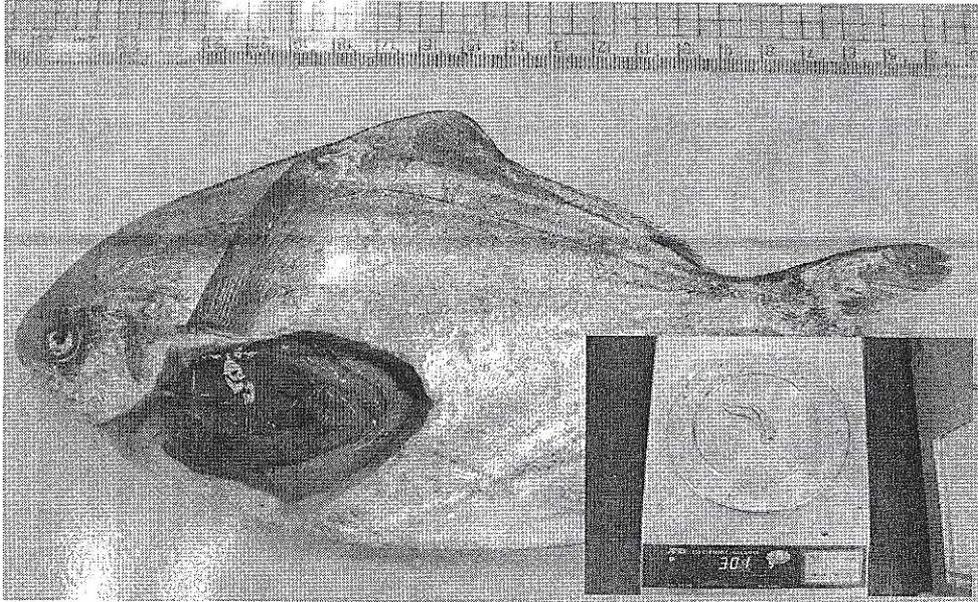


그림 36. 어미의 생식소 형태 (상 : 암컷, 하 : 수컷)

Fig. 36. Condition of gonad maturity of silver pomfret. (above-female, down-male)

표 15. 사육중인 친어의 생식소 성숙상태

Table 15. Gonad maturity in rearing broodstock

Division	Sample (fish)	Body length (cm)	Body weight (g)	Gonad weight (g)	GSI
Female	3	21.3~23.8	160.5~172.8	3.01~3.32	1.87~1.92
Male	3	13.8~14.2	54.3~58.6	0.25~0.29	0.46~0.49

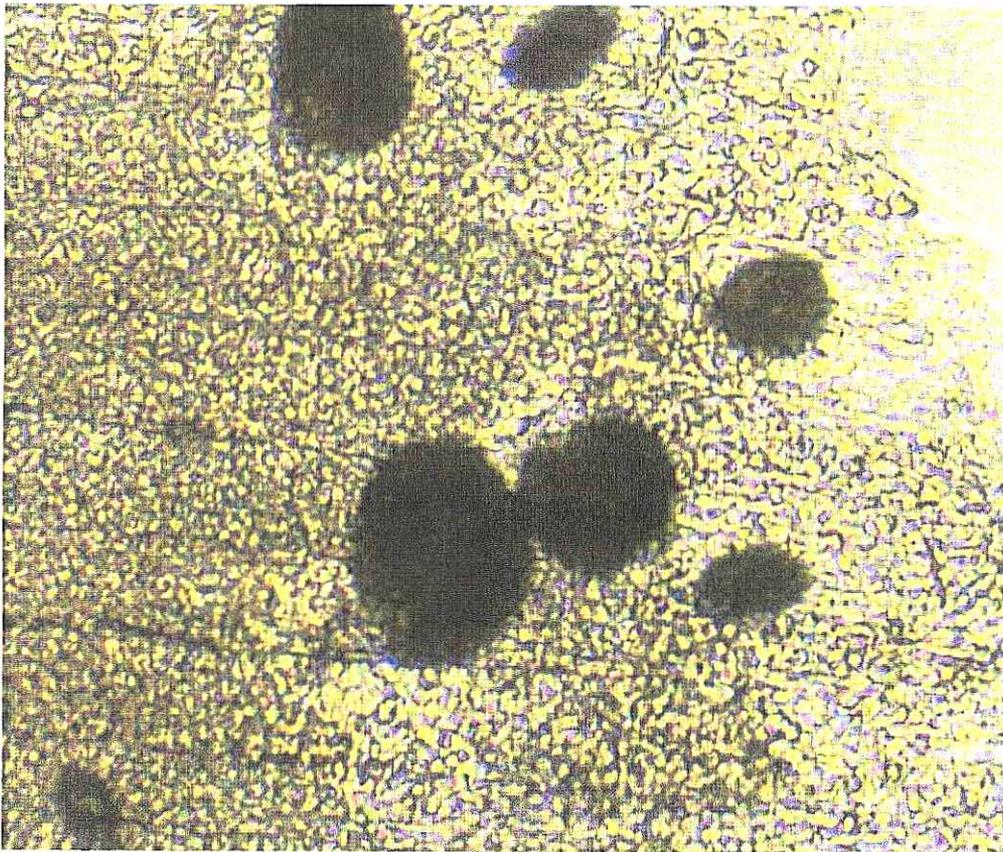


그림 37 . 병어 아가미 및 체표에 기생한 *Amyloodinium* sp.

Fig. 37. Gill and skin of parastitic *Amyloodinium* sp. silver pomfret ($\times 40$)

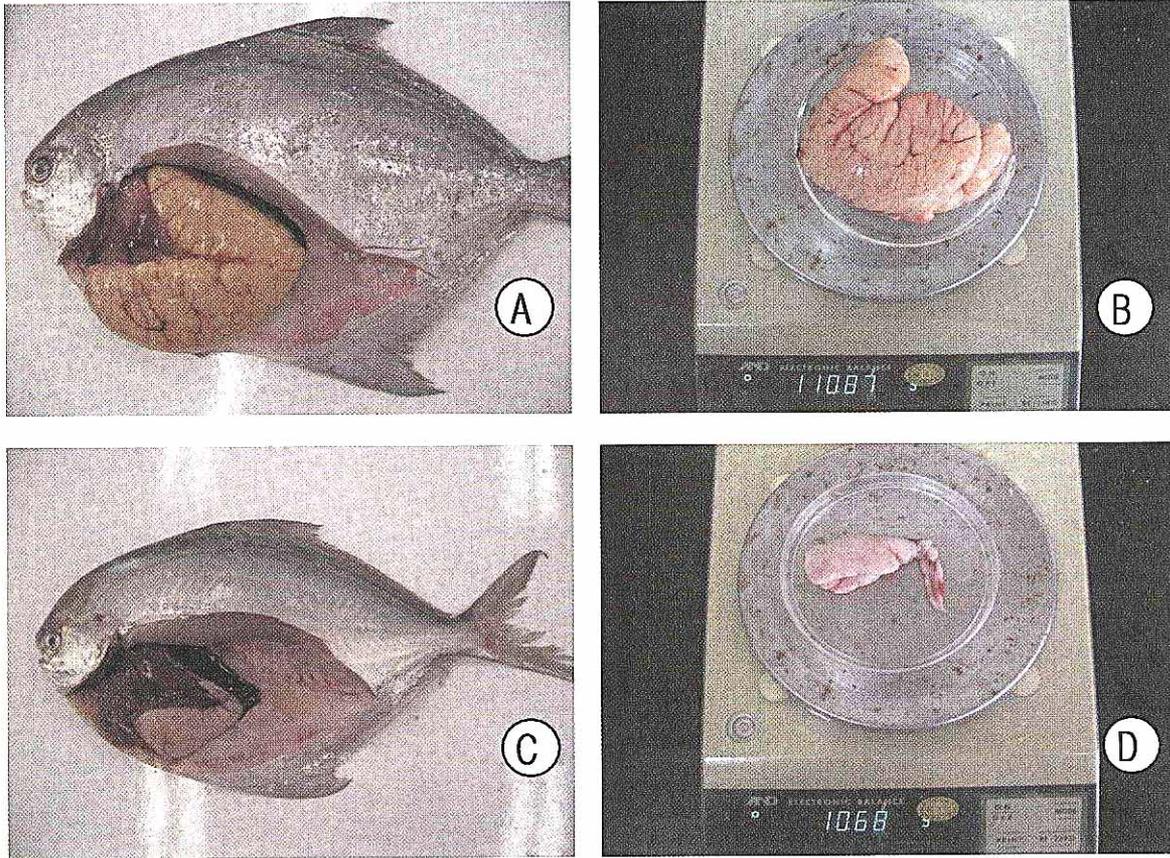


그림 38. 킨어의 성숙도 조사

- | | |
|--------------|--------------|
| 1. 성숙한 암컷 킨어 | 2. 암컷 생식소 중량 |
| 3. 성숙한 수컷 킨어 | 4. 수컷 생식소 중량 |

Fig. 38. Result of gonad maturity in silver pomfret

- | | |
|--------------------|---------------------------|
| A. Maturity female | B. Female of gonad weight |
| C. Maturity male | D. Male of gonad weight |

표 16. 산란해역의 어장환경 조사

Table 16. Environmental condition of spawning areas

Times	Analysis areas	Water temperature(℃)	Salinity(‰)
2007. 5. 23~24	Younggwang-gun	16.9~17.0	32.4
	Nakwol-do		
	Shinan-gun Limja-do		
2007. 5. 26~27	Shinan-gun Limja-do	17.2~17.3	32.4
2008. 5. 15~16	Younggwang-gun	16.2~16.5	32.4
	Nakwol-do		
	Shinan-gun Limja-do		
2008. 5. 23~24	Shinan-gun Limja-do	17.1~17.4	32.4

표 17. 친어의 성숙도 조사 결과

Table 17. Result of gonad maturity in silver pomfret

Times	Division	Body length (cm)	Body weight (g)	Gonad weight (g)	GSI	Samples (fish)
First 2008.5.15~16	Females	29.8	512	38.3	7.48	13
	Males	27.5	349.4	7.63	2.18	12
Second 2008.5.23~24	Females	31.8	608.7	110.9	18.21	13
	Males	28.2	351.5	10.7	3.03	12

차. 호르몬제 주사에 의한 산란 유도 시험

성숙한 자연산 친어를 포획하여 수조내에서 호르몬제 주사에 의한 산란유도 시험을 통하여 수정란을 안정적으로 확보하고 수정률 및 부화율, 생존율을 높이고자 2008년 5월 31~6월 1일 2회 실시하였다(표 18).

2008년 5월 31일 1차 시험은 신안군 임자면 필길리 해역에서 소형안강망 어법에 의해 포획된 병어 친어 중 활력이 좋고 성숙한 개체를 선별, 저농도의 수산용 마취제로 진정 시킨 후 어체의 체중을 감안하여 암컷과 수컷에 $30\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 LHRH-a와 $1,000\text{IU}/\text{kg}$ 의 HCG를 주사 한 후 활어차를 이용하여 시험어장으로 수송하여 수조에 수용 후 산란을 유도하였다. 호르몬 주사에 의하여 암컷이 급격한 반응을 보이면서 폐사가 발생하였다.

채포 해역의 수온은 17.5°C , 염분 농도는 32.4% 이었으며, 시험수조의 수온은 18.5°C , 염분 농도는 33% 로 나타났으며, 운반 시간은 2시간 정도 소요되었다.

친어를 수조에 수용 후 차광 시설을 하여 안정을 취하게 하고 액산을 공급하여 DO를 $8\text{mg}/\ell$ 정도를 유지하였으며, 냉각기를 설치하여 수조의 수온을 $18.5\sim 19.0^{\circ}\text{C}$ 를 유지하면서 관리 하였다. 1차 시험 결과 호르몬 주사 후 수송 중에 2마리가 폐사 되었고, 수조 입식 후 12시간 경과 후 15마리가 폐사 되었으며, 12~24시간 경과 후에 전량이 폐사되었다. 친어를 포획하는 과정에서 어체가 손상된 암컷이 조기 폐사하는 경향을 보였다.

2008년 6월 1일 2차 시험은 신안군 임자면 필길리 해역에서 소형안강망 어법에 의해 포획된 병어 친어 가운데 활력이 좋고 성숙한 개체를 선별, 저농도의 수산용 마취제로 진정 시킨 후 $1,000\text{IU}/\text{kg}$ 의 HCG를 주사 한 후 활어차를 이용하여 시험어장으로 수송하여 수조에 수용 후 산란을 유도하였다.

2차 시험결과 수송 중에는 폐사가 없었으며, 12시간 경과 후 24마리가 폐사되고, 12~24시간 경과 후 30마리가 폐사 되었으며, 24~36시간 후 7마리가 전량 폐사되었다. 호르몬제 주사에 의한 산란유도 시험에서 자연 산란은 이루어지지 않았다. 1차 시험 때와 달리 2차 시험에서는 호르몬제 주사에 의한 급격한 반응 및 폐사도 일어나지 않았다.

호르몬 처리 후 육안 관찰 결과 암컷은 복부가 팽창되어 반응을 보이며 급격한 생식소 성숙이 이루어졌으나 수컷은 외형적인 변화를 관찰 할 수 없었다(그림 39).

표 18. 산란유도를 위한 호르몬 주사

Table 18. Hormone injection for spawning induction with Silver pomfret

Times	Females (fish)	Males (fish)	Hormone	Injection concentration
2008. 5. 31	20	30	HCG + LHRH-a	1,000IU/kg + 30 μ g
2008. 6. 01	23	38	HCG	1,000IU/kg

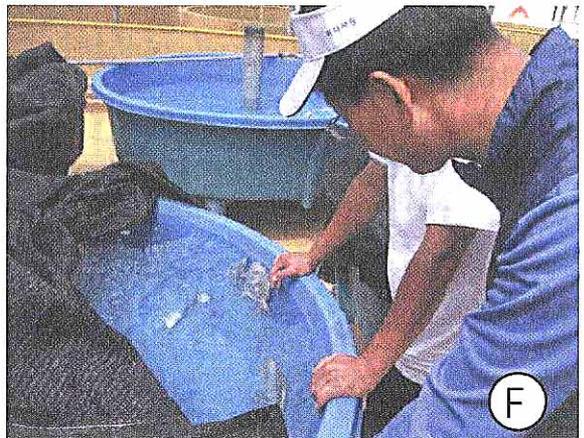
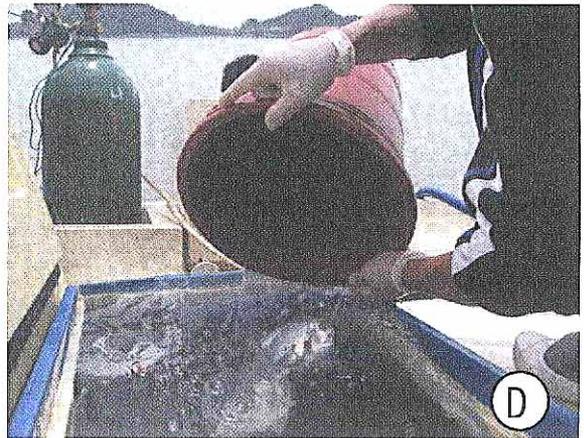
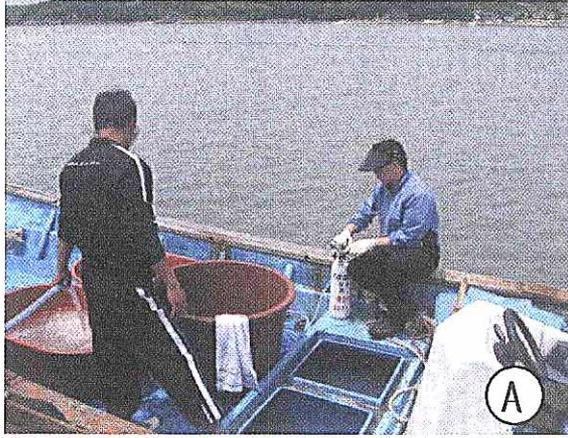


그림 39. 산란기 동안 친어 채포 및 호르몬 주사

- | | | |
|-------------|-----------|----------|
| A. 친어 확보 준비 | B. 호르몬 주사 | C. 어선 운반 |
| D. 활어차 수용 | E. 수조 수용 | F. 친어 관찰 |

Fig. 39. Fish capture and hormone injection during breeding season

- | | | |
|-----------------------------|----------------------|---------------------------|
| A. Preparation | B. Hormone injection | C. Transfer ship |
| D. Living transfer carriage | E. Keeping tank | F. Broodstock observation |

7. 인공채란 및 종묘생산

가. 시험 양식장과 채포어장의 환경

2005~2007년까지는 무안군 소재 시험 배양장에서, 건간망어장에서 채포한 병어 및 고정결그물, 유자망 등에서 인공 채란하여 부화된 자·치어의 실내사육 시험을 수행하였다. 그러나 2007년 여름철 기생충 감염 및 고수온 등으로 사육관리 중인 친어와 종묘가 폐사됨에 따라 3차년도인 2008년에는 시험장소를 기생충의 감염도가 적을 것으로 판단되고, 사육환경 여건이 보다 양호하며, 친어 채포 및 채란 현장과 가까운 신안군 지도읍으로 변경하였다. 2008년 6~8월까지 시험 양식장의 수온, 염분을 측정된 결과 수온은 19.7~28.8℃로 2차년도 까지 시험사업을 수행한 무안군 소재 양식장 보다 3.2℃ 낮았고, 염분은 32‰로 다소 높게 나타났다.

자연산 병어의 어획이 이루어지는 신안군 입자도 해역에서의 2006년부터 2008년까지 4~7월 (4개월) 수온 및 염분을 측정하였으며, 수온과 염분의 변화 추이를 그림 40과 41에 나타내었다.

(1) 채포어장의 수온변화

신안군 입자도 해역의 평균 수온 분포는 2006년에 7.0~23.4℃ (평균 16.2℃)를 나타냈고, 2007년에는 9.0~22.6℃ (평균 16.6℃)를 보였으며, 2008년에는 9.4~25.4℃ (평균 17.5℃) 분포를 나타냈다. 2008년에 수온이 가장 높았으며, 2006년이 가장 낮았다. 병어의 채란 작업이 주로 이루어지는 6월의 평균 수온은 2006년 17.8℃, 2007년 18.8℃, 2008년에는 19.0℃를 나타냈으며 2008년에 가장 높고, 2006년에 가장 낮은 값을 보였다.

(2) 채포어장의 염분변화

신안군 입자도 해역의 평균 염분은 2006년 32.0‰, 2007년 32.7‰, 2008년 32.9‰를 나타냈다. 2008년이 가장 높았으며, 2006년에 가장 낮았다. 주로 현장에서 채란 작업이 이루어지는 6월의 평균 염분은 2006년 32.9‰, 2007년 33.2‰, 2008년에는 33.3‰를 나타냈으며 2008년이 가장 높고, 2006년에 가장 낮게 나타났다. 측정 기간 중의 염분은 26.5~34.2‰ 분포를 보였는데, 일반적으로 4월에 높게 나타나고 점점 낮아져서 7월 장마기에는 강수의 유입으로 염분이 연중 최저치를 나타내었다.

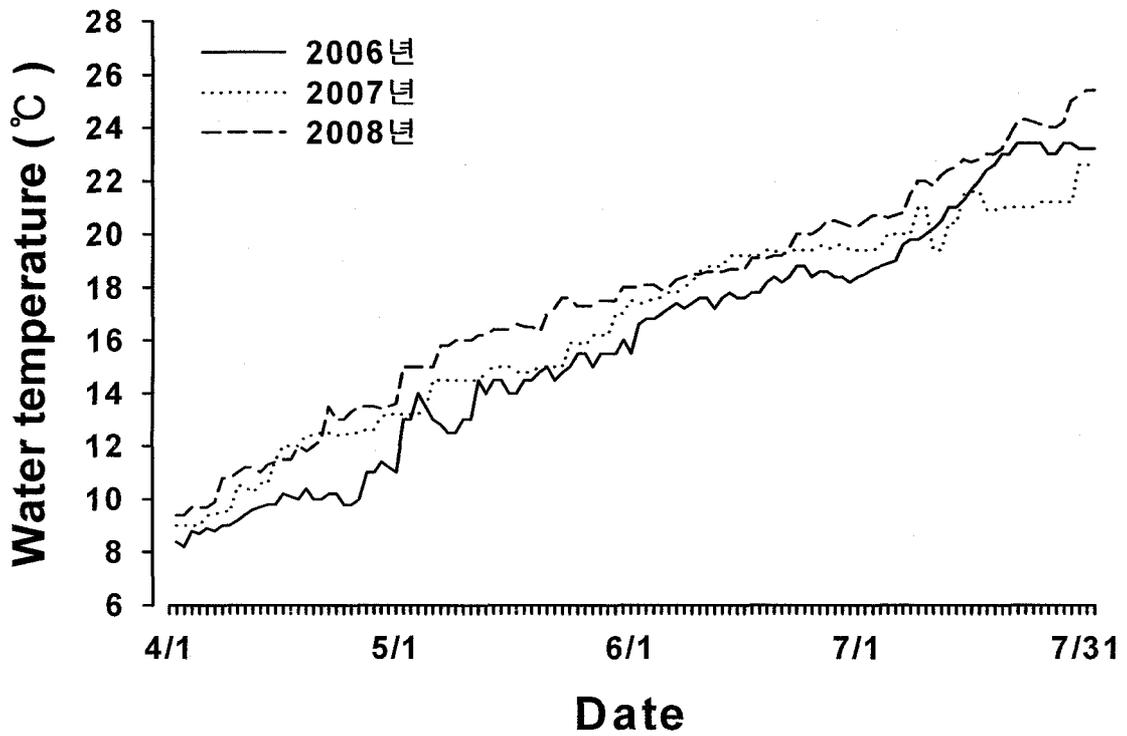


그림 40. 자연산 병어 채포어장의 수온 변화.

Fig. 40. Annual water temperature change at catching station of wild Silver pomfret

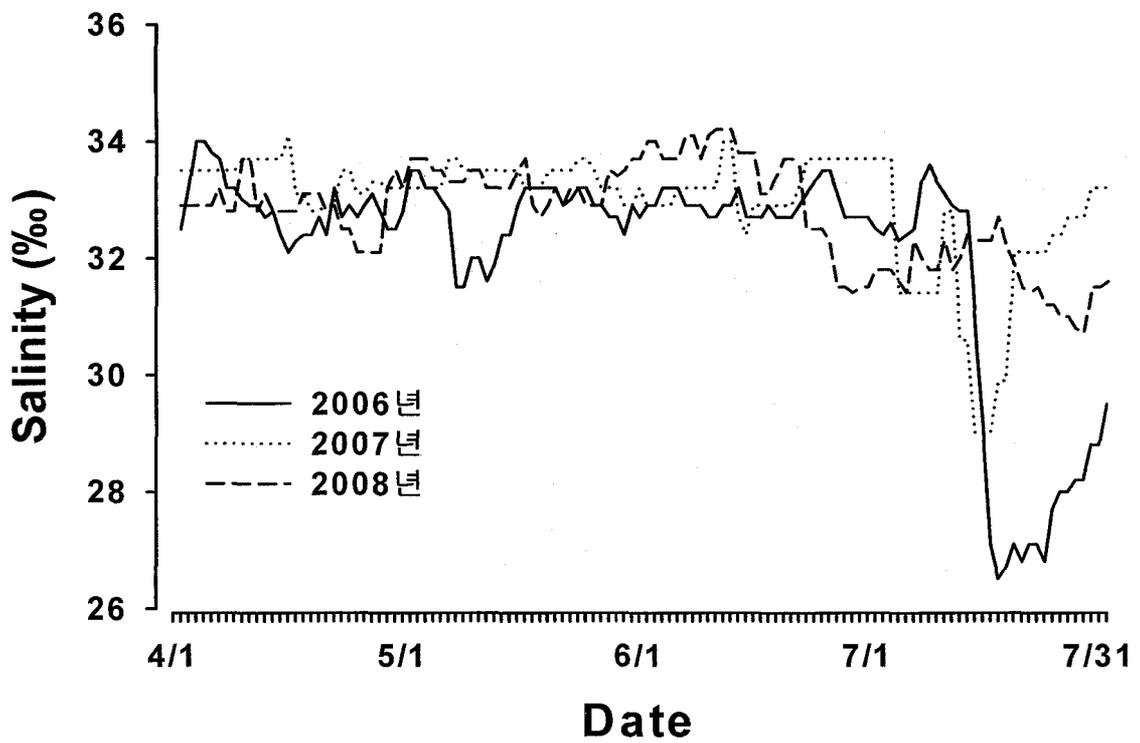


그림 41. 자연산 병어 채포어장의 염분 변화.

Fig. 41. Annual specific gravity change of catching station of wild Silver pomfret

나. 인공채란을 통한 수정란 확보

인공채란은 1년차인 2006년에는 5월 25일~6월 13일까지 4회 채란하여 수정란 620cc를 확보하였고, 2007년에는 6월 14일~7월 3일까지 7회 채란하여 수정란 580cc를 확보하였으며, 2008년에는 6월 3일~6월 23일까지 10회 채란하여 1,300cc를 확보하였다. 시험사업 기간 동안 총 21회 채란하여 수정란 2,500cc를 확보하였다(표 19).

2006~2007에는 건식법으로 수정하였으며, 평균 수정률은 2006년 52.1%, 2007년 23.9%를 나타냈고, 2008년에는 등조법을 사용한 결과 평균 수정률은 51.2%였다. 3년간의 평균 수정률은 40.7%를 나타내었다. 건식법에 비하여 등조법으로 수정한 경우 수정률이 비교적 높게 나타났다(그림 42).

다. 수정란 운반 및 부화조건

인공 채란된 수정란은 비닐 포장하여 온도 변화를 최소화 할 수 있도록 스티로폼 박스에 넣고, 여기에 아이스팩을 넣어서 실내 사육수조로 운반하였으며, 운반 시간은 2시간 이내로 최소화 하였다.

수정란은 2~30톤 용량의 부화수조에 수용하였으며, 지수식으로 하여 수정란이 유동하지 않도록 가급적 폭기량을 최소화 하고 용존산소량을 7 mg/ℓ 정도로 하여 관리 하였다. 이러한 조건에서 수정란은 19.7℃에서 44시간을 전후하여 부화가 완료되었다.

수정란의 평균 부화율은 2006년 44.9%, 2007년 54.1%를 보였고, 2008년에는 35.2%를 나타내어 3년간 평균 부화율은 42.0%를 보였다(표 20).

표 19. 인공채란 및 수정율

Table 19. Hatching rate of fertilized egg

Years	Time of sapwing	Egg (cc)	Fertilized egg (cc)	Non-fertilizedegg (cc)	Fertilized rate (%)
2006	5. 25	250	150	100	60.0
	6. 03	120	70	50	58.3
	6. 11	470	250	220	53.2
	6. 13	350	150	200	42.86
Subtotal	4 times	1,190	620	570	52.1
2007	6. 14	1,500	150	1,350	10.0
	6. 23~24	60	30	30	50.0
	6. 30~7.1	790	350	440	44.3
	7. 2~3	70	50	20	71.4
Subtotal	7 times	2,420	580	1,840	23.9
2008	6. 3	370	120	250	32.4
	6. 14~15	250	100	150	40.0
	6. 16~17	990	690	300	69.7
	6. 19~20	370	160	210	43.2
	6. 21~22	220	110	110	50.0
	6. 23	340	120	220	35.3
Subtotal	10 times	2,540	1,300	1,240	51.2
Total	21 times	6,150	2,500	3,650	40.7

표 20. 수정란의 부화율

Table 20. Hatching rate of fertilized egg

Years	Times	Fertilized egg (ea)	Hatching (fish)	Hatching rate (%)
2006	5. 25	67,500	27,000	40.0
	6. 03	31,500	17,300	55.0
	6. 11	112,500	50,600	45.0
	6. 13	67,500	30,300	45.0
Subtotal	4 times	279,000	125,200	44.9
2007	6. 14	67,500	6,750	10.0
	6. 23~24	13,500	4,050	30.0
	6. 30~7.1	157,500	110,250	70.0
	7. 2~3	22,500	20,250	90.0
Subtotal	7 times	261,000	141,300	54.1
2008	6. 3	54,000	43,200	80.0
	6. 14~15	45,000	27,000	60.0
	6. 16~17	310,500	15,500	0.50
	6. 19~20	72,000	50,400	70.0
	6. 21~22	49,500	34,600	70.0
	6. 23	54,000	35,100	65.0
Subtotal	10 times	585,000	205,800	35.2
Total	21 times	1,125,000	472,300	42.0

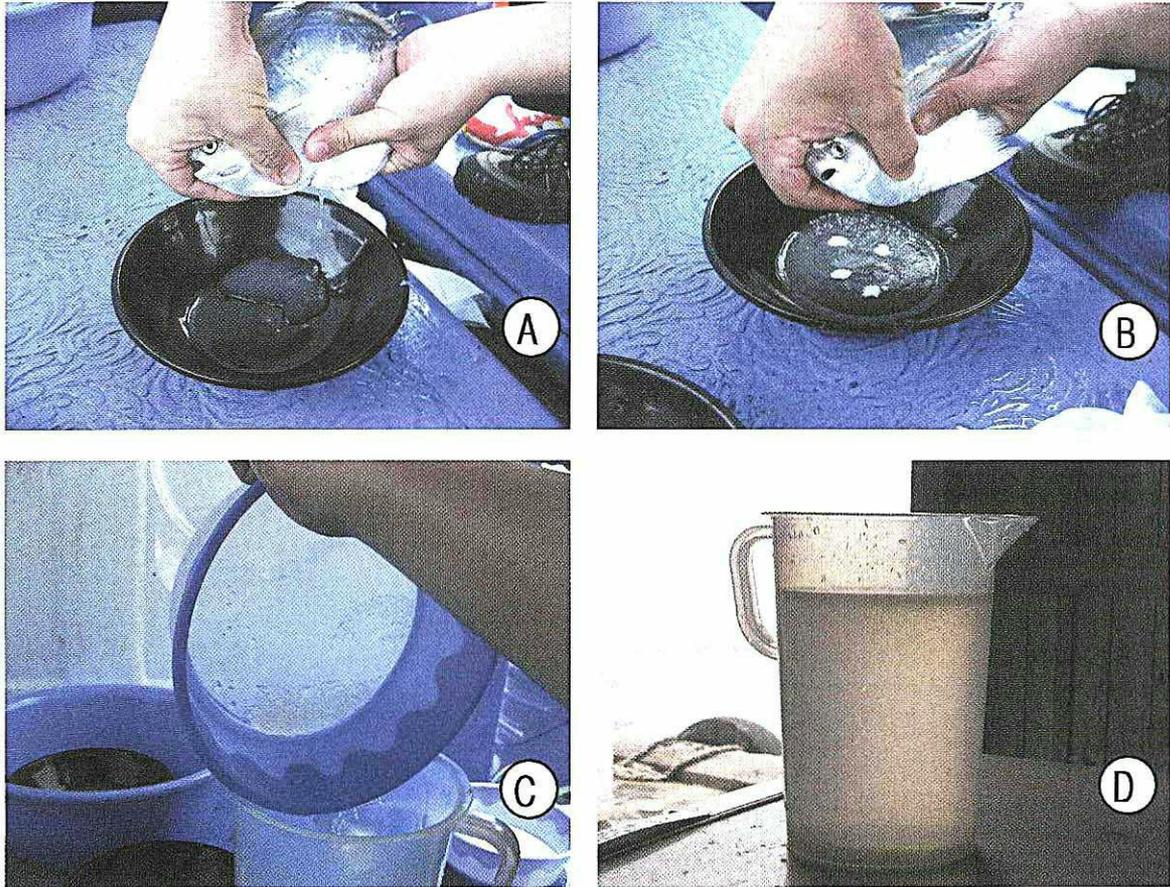


그림 42. 인공채란. A, 암컷 채란. B, 수컷 채정. C, 세란 작업. D, 수정란.

Fig. 42. Artificial spawning A. Spawning B. Sperm C. Washing egg D. Fertilized egg

라. 수정란 크기, 난 발생 및 형태변화

병어 수정란의 크기는 수정 후 4시간 경과된 수정란 30개를 만능투영기 (V-12A, Nikon Corp. Japan)를 이용하여 측정하였다. 측정결과 병어의 수정란은 구형으로 평균 크기는 $1.54 \pm 0.02 \text{mm}$ 로 나타났으며, 1cc에 약 450개로 조사되었다.

수온 20.0°C , 염분농도 35‰의 환경조건에서 병어 수정란의 난발생 과정을 관찰한 결과 수정 후 1시간 35분 만에 난황이 관찰되어 2세포기에 달하였다(그림 43, B). 수정 후 2시간 15분 만에 4세포기(그림 43, C)에 달하였고, 수정 후 2시간 50분 만에 8세포기(그림 43, D)에 달하였다. 수정 후 3시간 30분 만에 16세포기(그림 43, E)에 달하였고, 수정 후 4시간 50분 만에 64세포기에 달하였다(그림 43, F). 수정 후 6시간 40분 후에 상실기에 달하였고(그림 43, G), 분화가 계속 진행되어 수정 후 12시간 57분에 배반이 2/3 정도 내려오면서 낭배기에 달하였으며(그림 43, H), 이후 난황의 한쪽 끝에서 조금씩 함몰되어 배순이 자라 오르면서 수정 후 15시간 25분에는 배체가 형성되기 시작하였다(그림 43, I). 수정 후 17시간 12분에는 배체에 안포가 형성되었고, 근절 수는 5~6개가 나타났다(그림 43, J). 수정 후 20시간 18분에는 꼬리부분에 kupffer's vesicle가 형성되었고, 근절 수는 15~17개가 나타났다(그림 43, K). 수정 후 24시간 14분에는 이포가 형성되었으며, 근절 수는 20~25개가 나타났고(그림 43, L), 수정 후 35시간 25분에는 lens가 형성되었고(그림 43, M), 수정 후 39시간 40분 만에 심장이 분화되어 꼬리가 난황으로부터 완전히 분리되면서 배체의 움직임이 활발해 졌으며, 배체 전 반부에 흑색 소포가 나타났으며, 근절 수는 28~30개가 나타났다(그림 43, N). 수정 후 42시간 10분 만에 배체가 꼬리지느러미를 활발히 움직이면서 첫 부화가 시작되었고(그림 43, O) 수정 후 44시간 30분 만에 부화가 완료 되었다. 수정란의 난 발생과정과 형태 변화는 표 21과 같다.

1) 수온에 따른 수정란의 부화율

수온 (16, 20, 23, 26°C)에 따른 병어 수정란의 부화율은 20°C 시험구가 $65 \pm 6.6\%$ 로 가장 높았으며, 23°C 시험구가 $52 \pm 2.6\%$, 16°C 시험구가 $50 \pm 5.0\%$, 26°C 시험구가 $21.7 \pm 14.2\%$ 순으로 나타났다(그림 44).

2) 염분 농도에 따른 수정란의 부화율

수정란 부화 시 최적 염분농도를 조사하기 위해 25, 27, 30, 35‰ 시험구로 나누어 부화율을 측정한 결과, 35‰ 시험구에서 $47 \pm 4.6\%$ 로 가장 높게 나타났으며, 30‰ 시험구가 $27 \pm 5.6\%$, 27‰ 시험구가 $18 \pm 5.0\%$, 25‰ 시험구가 $9 \pm 4.0\%$ 순으로 나타났다(그림 45). 따라서 병어가 부화하는데 필요한 적정한 염분농도는 30~35‰ 정도로 판단된다.

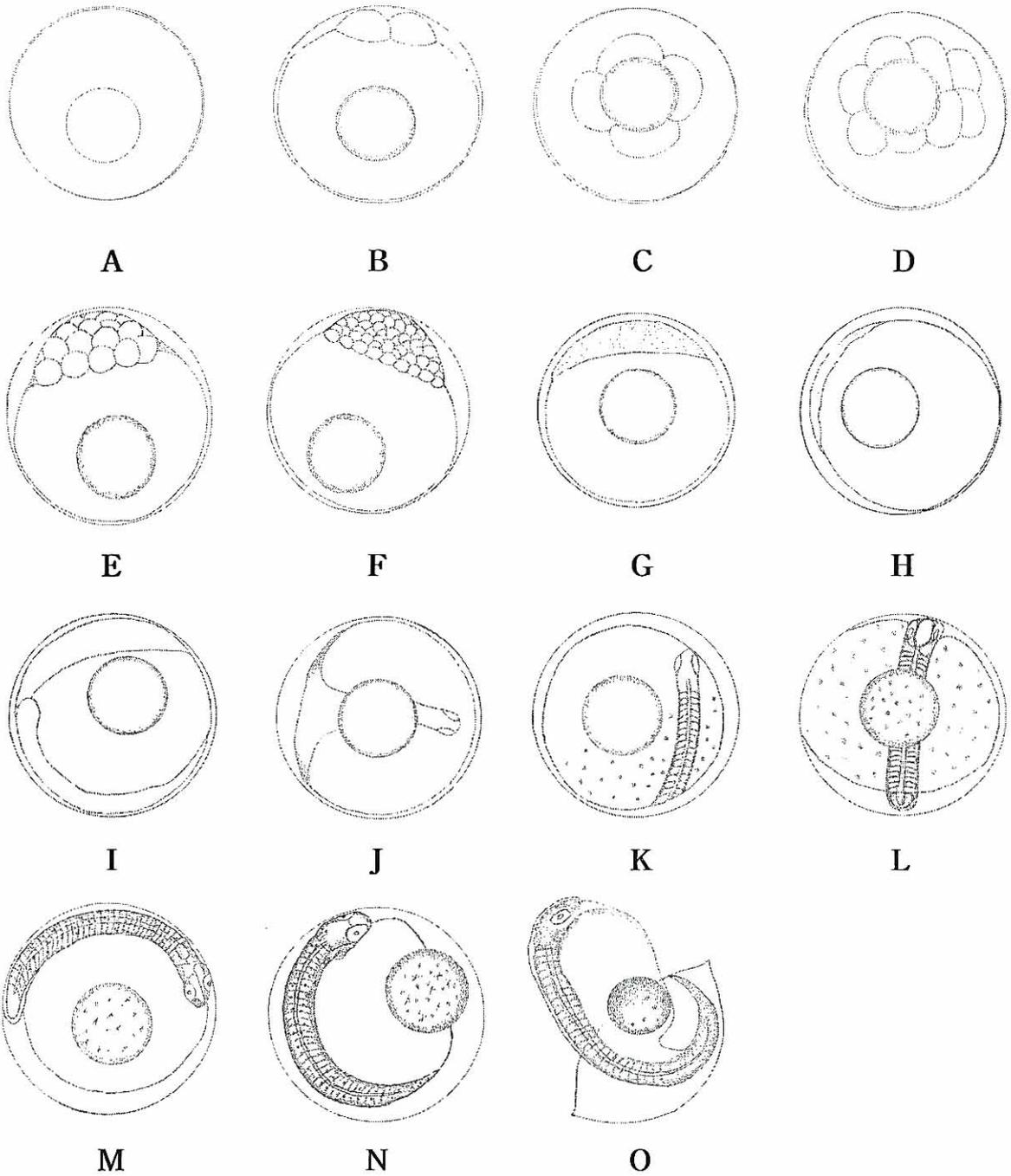


그림 43. 병어(*Pampus argenteus*)의 난 발생 과정

A: 수정란, 수정 후 10분 B: 2세포기, 수정 후 1시간 35분 C: 4세포기, 수정 후 2시간 15분 D: 8세포기, 수정 후 2시간 50분 E: 16세포기, 수정 후 3시간 30분 F: 64세포기, 수정 후 4시간 50분 G: 상실기, 수정 후 6시간 40분 H: 낭배기, 수정 후 12시간 57분 I: 배체형성, 수정 후 15시간 25분 J: 안포형성, 수정 후 17시간 12분 K: kupffer's vesicle 형성, 수정 후 20시간 18분 L: 이포형성, 수정 후 24시간 14분 M: lens형성, 수정 후 35시간 25분 N: 배체전반부에 흑색소포 출현, 수정 후 39시간 40분 O: 부화시작, 수정 후 42시간 10분 ~부화완료 수정 후 44시간 30분

Fig. 43. Developmental stagy of stagy in silver pomfret

표 21. 난 발생과정과 형태 변화

Table 21. Egg development process and morphological change of Silver pomfret

Time of development (After fertilized)	Developmental morphological change	Stage of development
~ 10분	- 수정막 형성	수정란
~ 5 시간	- 2, 4, 8, 16, 32, 64cell	세포 분열
~ 6 시간 40분	- 활발한 세포수 증가로 인하여 배반이 1/3이상 덮으면서 아래로 내려옴	상실기
~ 12시간 57분	- 배반이 거의 내려옴	낭배기
~ 15시간 25분	- 배순이 형성됨	배체 형성
~ 17시간 12분	- 배체에 안포 형성됨 - 근절 수 5~6개 나타남	안포 형성
~ 20시간 18분	- kupffer's vesicle 형성 - 난황 주위에 흑색소포 출현 - 근절 15~17개 나타남	kupffer's vesicle 형성
~ 24시간 14분	- 꼬리부분이 난황에서 분리됨 - 이포 형성됨 - 근절 20~25개 나타남	이포 형성
~ 35시간 25분	- 꼬리부분에 지느러미 형성 - 심장 분화	렌즈 형성
~ 39시간 40분	- 심장박동 활발 - 근절 25~30개 나타남 - 배체 전반부에 흑색소포 출현	기관 형성
~ 42시간 10분	- 난막을 뚫고 부화시작 - 근절 수 35~38개 나타남	부화 시작
~ 44시간 30분	- 부화완료 - 입, 항문 열리지 않음 - 전장 3.52mm	전기 자어

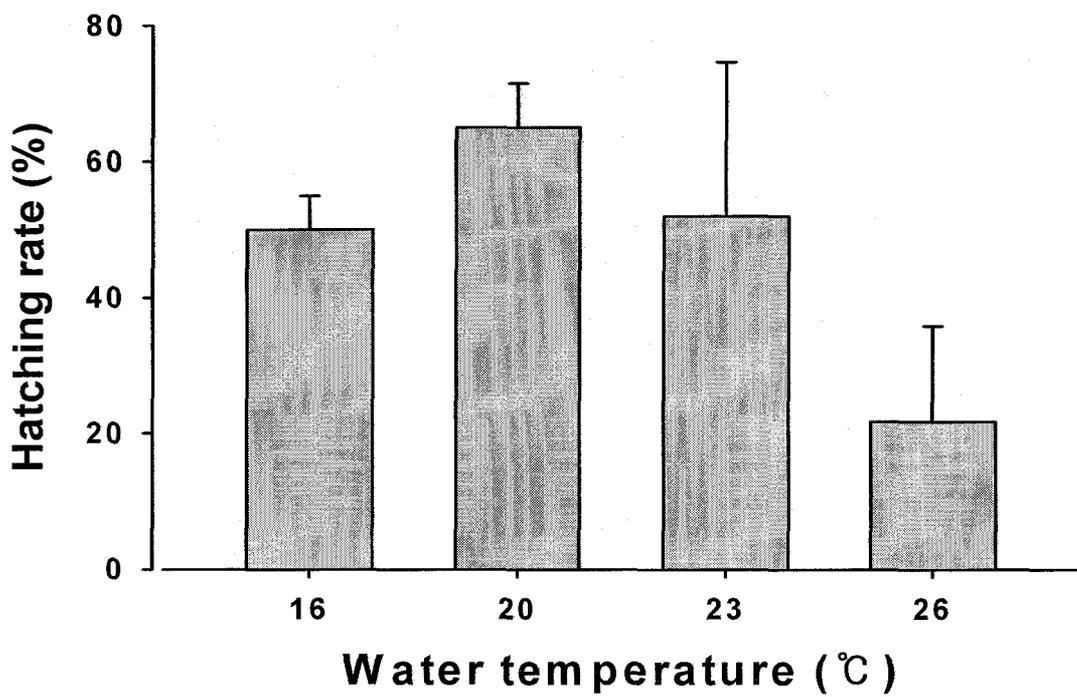


그림 44. 병어 수정란의 수온별 부화율.

Fig. 44. Hatching rate of fertilized eggs of Silver pomfret by various water temperature

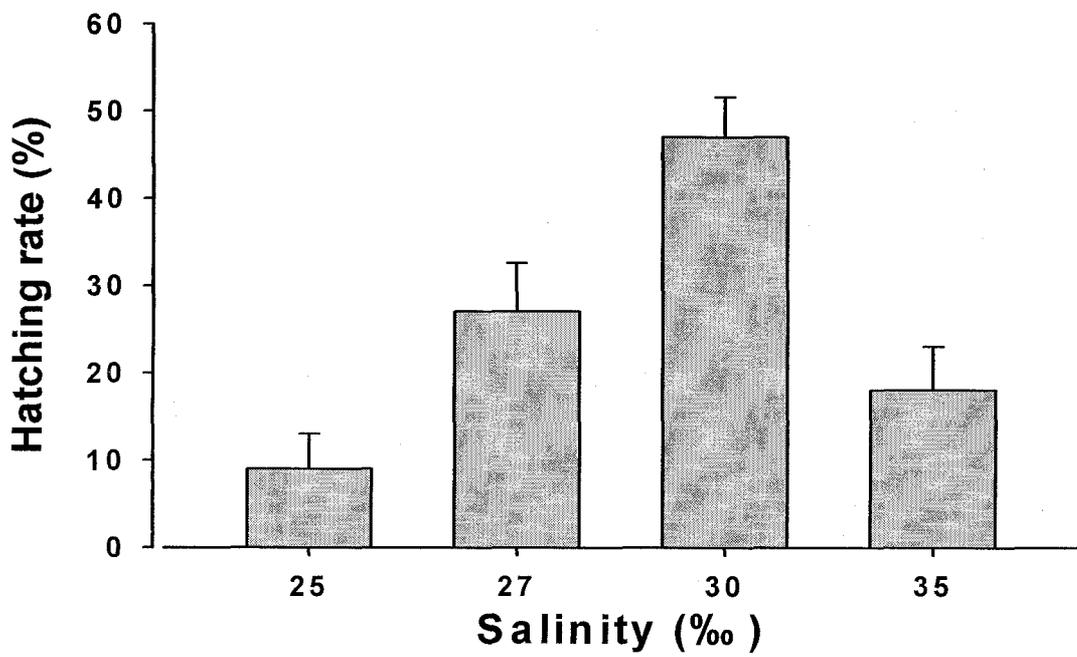


그림 45. 병어 수정란의 염분농도별 부화율.

Fig. 45. Hatching rate of fertilized eggs of Silver pomfret by various salinity concentration

마. 부화자어 사육환경

병어 초기 발생 및 양성 시험이 정상적으로 이루어진 2006년과 2008년 6~9월 (4개월) 수온 변화 추이는 그림 46과 같다. 동 기간 중의 2006년 평균 수온은 25.6℃ 이었고, 2008년 평균 수온은 24.7℃를 나타냈다. 2007년에는 7월 말을 전후하여 자어가 전량 폐사하여 수온 측정이 이루어지지 않았다. 수정란의 채집과 입식이 주로 이루어지는 6월 1일~6월 30일까지 평균수온이 2006년에는 22.7℃이었으나 2008년에는 21.6℃로 2006년에 비하여 1.1℃ 낮았다. 이러한 수온 차이에도 불구하고 2006년과 2007년의 자어 발생과 성장 속도가 비슷한 경향을 보였다. 이러한 결과로 보아 병어의 사육에 안정적인 수온 범위에서는 다소의 수온 차이가 자어의 발생과 성장에 유의할만한 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 2006년과 2008년 7월 상순에서 9월 상순까지의 수온이 큰 차이를 보이는 것은 2007년부터 고수온에 의한 감모 발생을 줄이기 위하여 수조에 냉각기를 설치하였기 때문이다.

바. 자·치어 형태 발달

1) 전기 자어

부화 직후 자어는 전장이 3.52mm로 난황을 달고 있었고, 입과 항문은 아직 열려 있지 않았으며, 항문은 전장의 중간부분에 위치하였다. 근절은 32~36개였고, 눈에는 흑색소포가 착색되어 있었으며, 모든 지느러미는 막상이었다(그림 47, A). 부화 후 2일째 자어는 전장이 4.16~4.94mm로 입과 항문이 열렸고, 눈에 렌즈는 색소포가 완전히 착색되었으며, 머리 쪽과 소화관, 꼬리부분에 나뭇가지 모양의 흑색소포가 출현하였다(그림 47, B).

부화 후 5일째의 자어는 4.65~5.03mm로 난황이 완전 흡수 되었다. 소화관이 발달하기 시작하여 초기사료인 로티퍼 (Rotifer)와 클로렐라 (*Chlorella sp.*)를 부화 2일째부터 먹이기 시작하였으며, 간헐적인 장의 연동운동을 관찰 할 수 있었고, 막상의 가슴지느러미가 발달하기 시작하여 후기 자어기로 이행 하였다(그림 47, C).

2) 후기 자어

부화 후 7일째의 후기자어는 머리부분이 발달하면서 섭이 활동이 활발해지고, 장은 더욱더 활발한 연동운동을 하였다. 몸 전반부로 흑색소포가 넓게 분포하였고, 가슴지느러미 줄기가 4~5개로 분화되었다.

부화 후 20일째의 후기자어는 전장이 9.73~14.26mm로 가슴지느러미가 현저하게 발달하고 10~12개의 줄기, 등지느러미에는 53~58개의 줄기, 뒷지느러미 33~36개의 줄기, 꼬리지느러미 9+9=18개의 줄기가 형성되었다(그림 47, D).

3) 치어기

부화 후 25일부터 가슴지느러미가 작아지면서 체고가 높아지고 체형이나 반문은 성어와 닮아가는 치어기로 이행하였다.

부화 후 30일째의 전장은 11.97~19.69mm로 체고가 현저하게 높아졌고, 몸 전반부에 걸쳐 은백색의 체색을 띠었다(그림 47, E)

사. 초기먹이 전환 시기 구명

1) 로티퍼 (Rotifer) 영양 강화 및 공급

첫 먹이 및 초기먹이 공급과정에서 Rotifer의 배양이 완전하지 못한 먹이를 지속적으로 공급하게 되면 영양결핍 현상이 나타날 수 있으므로 영양 강화를 시켜 주는 것이 바람직하다(그림 48). Rotifer 영양 강화에는 해양 미세조류를 원료로 한 DHA함유 시판 제품인 로티셀코 (미국산)를 사용하였다. 사용량은 로티퍼 1억 개체 당 15g 을 넣어서 최소한 6시간 이상 영양 강화 시킨 후 공급하였으며, 이때 액체 산소를 이용하여 충분하게 폭기하였다.

부화 후 일령 2일부터 사육수에 해산 *Chlorella* sp.를 약 10~20만cells/ml 되도록 유지시켜 주었으며, Rotifer 공급은 2006~2007년에는 부화 3일 오후부터 10~15개체/ml를 급이하여 일령 25일까지 급이 하였고, 2008년에는 난황이 완전히 흡수되기 전인 부화 2일 오후부터 밀도가 10~15개체/ml가 되도록 1회/일 공급하였다. 부화 5일 경과 후부터는 매년 동일하게 관리하였으며, 밀도가 8~10개체/ml가 되도록 2회/일, 부화 후 10일부터는 밀도를 8~10개체/ml가 되도록 3회/일, 15일부터는 4~5개체/ml로 25일까지 공급하였다. 병어 자어의 입이 다른 어종에 비해 다소 작아서 Rotifer는 초기성장과 생존을 그리고 개체간의 성장차이를 감소시키는데 있어 중요한 작용을 한다고 보여지기 때문에 첫 먹이공급 시기를 앞당겨서 부화 2일 오후부터 급이 하였고, Rotifer를 고밀도 배양하여 활력이 최상의 상태일 때 공급하였다. Rotifer에 *Chlorella* sp.를 첨가하여 포란 중인 Rotifer의 알이 부화되도록 하여 가급적 소형 Rotifer를 자어가 섭이 하도록 하였다.

2) 알테미아 (*Artemia nauplii*) 영양 강화 및 공급

Artemia nauplii 그 자체가 영양적으로 매우 낮기 때문에 자·치어에게 그대로 먹이거나 영양 강화가 제대로 이루어지지 않으면 자치어의 성장과 생존율에 여러 가지 문제점이 나타날 수 있다(그림 49). *Artemia nauplii* 부화는 1톤 pp수조에 *Artemia nauplii* 1억 개체를 넣고 부화수온 28~30℃, 용존산소 10~14ppm의 조건하에서 부화시켜 난각을 완전

히 분리한 후 영양강화제 (셀코)로 6시간 정도 영양강화 시켜서 여과 해수로 세척하여 공급하였다.

Artemia nauplii 공급 시에는 난각을 철저하게 분리해 주어야 하는데 이는 부화 자어가 섭식하여 위에서 소화를 못 시키기 때문에 결국은 항문을 통해 배출되거나 또는 많은 양을 섭식할 경우 결국 항문을 차단하여 폐사를 유발하는 원인이 되기 때문이다. *Artemia nauplii* 공급량과 공급 시기는 부화 후 20일 부터 3~5개체/ml로 급이 하여 부화 후 35일까지 공급하였다.

3) 배합사료 공급

초기 배합사료 공급은 부화 18일째부터 시판중인 초기배합사료 EWOS MARINE 250 μ m 크기를 공급하였으며, 부화 후 25일째부터 EWOS MARINE 300~400 μ m 크기를 1~2시간 간격으로 공급하였으며, 부화 50일 이후에는 1mm 크기의 배합사료를 1일 5~6회 공급하였고, 그 이후부터는 자·치어의 성장에 따라 공급 횟수를 최종적으로 3~5회/1일로 줄이면서 충분한 양의 배합사료를 공급하였다.

병어 종묘생산에 따른 먹이 계열은 해산 *Chlorella* sp. 와 Rotifer는 수정란 부화 2일부터 일령 25일까지 급이 하였으며, *Artemia nauplii*는 부화 후 일령 25일부터 35일까지 급이 하였고, 배합사료는 부화 일령 18일부터 급이 하였다(그림 50).

아. 자·치어 성장에 따른 형태 변화

병어의 형태는 부화 후 3일이 지나면 난황이 완전히 흡수되면서 부화자어로서의 형태를 갖추게 되는데, 부화 15일 경과 후 어류의 외형이 나타나기 시작하고, 30~40일 경과 후에는 완전한 어류의 형태를 나타내었다(그림 51, 52).

2006년과 2008년에 인공채란하여 입식한 병어의 성장과정(전장) 변화를 그림 53에 나타내었다.

2006년에 채란하여 부화된 자·치어의 성장은 일령 10일에 8.24~9.24 \pm 0.29mm, 20일에 9.84~14.52 \pm 1.03mm, 40일에 14.24~23.67 \pm 2.17mm, 50일에 19.43~32.88 \pm 3.48mm, 90일에 48.27~78.14 \pm 6.77mm로 나타났다.

2008년에 채란하여 부화된 자·치어의 성장은 일령 10일에 8.13~9.43 \pm 0.25mm, 20일에 9.73~14.26 \pm 1.05mm, 40일에 13.85~22.64 \pm 2.31mm, 50일에 18.72~32.76 \pm 3.68mm, 90일에 43.18~78.14 \pm 7.88mm로 나타났다.

2006년과 2008년 부화 자·치어의 일령별 성장도를 비교한 결과 2006년 부화 자어의 크기는 3.51 \pm 0.10mm이었고, 일령 90일 후에는 67.77mm가 성장하여 71.28 \pm 6.77mm를 나타내었

고, 2008년 부화자어 크기는 $3.52 \pm 0.07 \text{mm}$ 이었으며, 일령 90일 후에는 66.69mm 가 성장하여 $70.21 \pm 7.88 \text{mm}$ 를 나타내었다. 부화 후 초기에 완만한 성장도를 보이다가 일령 40일을 전후하여 성장도가 높아지는 경향을 보였다. 2006년에는 부화 1일에서 10일령까지는 전장이 $4.06 \pm 0.04 \text{mm}$ 에서 $8.67 \pm 0.29 \text{mm}$ 로 4.61mm 가 성장하였고, 20일령에서 40일령까지는 $12.42 \pm 1.03 \text{mm}$ 에서 $20.14 \pm 2.17 \text{mm}$ 로 7.72mm 성장하였으며, 50일령에서 90일령까지는 $26.84 \pm 3.48 \text{mm}$ 에서 $71.28 \pm 6.77 \text{mm}$ 로 44.44mm 성장한 것으로 나타났다.

한편, 2008년에는 부화 1일에서 10일령까지는 전장 $4.07 \pm 0.07 \text{mm}$ 에서 $8.92 \pm 0.25 \text{mm}$ 로 4.85mm 가 성장하였고, 20일령에서 40일령까지는 $11.43 \pm 1.05 \text{mm}$ 에서 $19.99 \pm 2.31 \text{mm}$ 로 8.56mm 성장하였으며, 50일령에서 90일령까지는 $25.55 \pm 3.68 \text{mm}$ 에서 $70.21 \pm 7.88 \text{mm}$ 로 44.66mm 가 성장하였다. 성장단계가 높아질수록 성장 폭이 증가하는 경향을 보였다.

병어 자·치어의 2006년과 2008년의 체고 변화는 그림 54에 나타내었다. 2006년에는 부화 1일에서 10일령까지 $1.11 \pm 0.02 \text{mm}$ 에서 $3.64 \pm 0.14 \text{mm}$ 로 2.53mm 성장하여 전장대비 41.98% 를 나타냈으며, 20일령부터 40일령까지는 $5.12 \pm 0.47 \text{mm}$ 에서 $12.35 \pm 1.00 \text{mm}$ 로 7.23mm 성장하였고, 50일령에서 90일령까지는 $15.43 \pm 1.57 \text{mm}$ 에서 $40.32 \pm 3.72 \text{mm}$ 로 24.89mm 성장하여 전장대비 56.57% 를 나타내었다.

한편, 2008년의 체고 변화는 부화 1일에서 10일령까지는 $1.12 \pm 0.01 \text{mm}$ 에서 $3.71 \pm 0.14 \text{mm}$ 로 2.59mm 성장하여 전장대비 41.59% 를 나타냈으며, 20일령부터 40일령까지는 $4.93 \pm 0.43 \text{mm}$ 에서 $12.22 \pm 1.02 \text{mm}$ 로 7.29mm 성장하였고, 50일령에서 90일령까지는 $15.28 \pm 1.27 \text{mm}$ 에서 $39.91 \pm 3.92 \text{mm}$ 로 24.63mm 성장하여 전장대비 56.84% 를 나타냈다. 병어 자·치어의 초기 체고 변화는 부화 후 40일령에서 전장대비 체고의 비율이 가장 높게 나타났으며, 이후 점차적으로 체고의 비율이 완만하게 증가하는 경향을 보였다.

병어 자·치어의 2006년과 2008년의 체중 변화는 그림 55에 나타내었다. 2006년에는 부화 후 10일령에 $0.02 \pm 0.00 \text{g}$ 에서 90일령까지 7.62g 증가하여 $7.64 \pm 1.15 \text{g}$ 을 나타내었고, 2008년에는 부화 후 10일령에 $0.02 \pm 0.00 \text{g}$ 에서 부화 90일령까지 7.56g 증가하여 $7.58 \pm 1.35 \text{g}$ 을 나타내었다. 부화 후 90일간의 체중 변화는 2006년에는 부화 10일령 $0.02 \pm 0.00 \text{g}$, 20일령 $0.05 \pm 0.01 \text{g}$, 40일령 $0.29 \pm 0.07 \text{g}$, 50일령 $0.37 \pm 0.15 \text{g}$, 90일령 $7.64 \pm 1.14 \text{g}$ 으로 나타났으며, 2008년에는 부화 10일령 $0.02 \pm 0.00 \text{g}$, 20일령 $0.04 \pm 0.01 \text{g}$, 40일령 $0.27 \pm 0.05 \text{g}$, 50일령 $0.35 \pm 0.16 \text{g}$, 90일령 $7.58 \pm 1.35 \text{g}$ 으로 나타났다. 체중의 변화는 부화 후 50일령까지는 체중의 증가 폭이 완만하였으며, 50일령 이후부터는 증가 폭이 큰 것으로 나타났다.

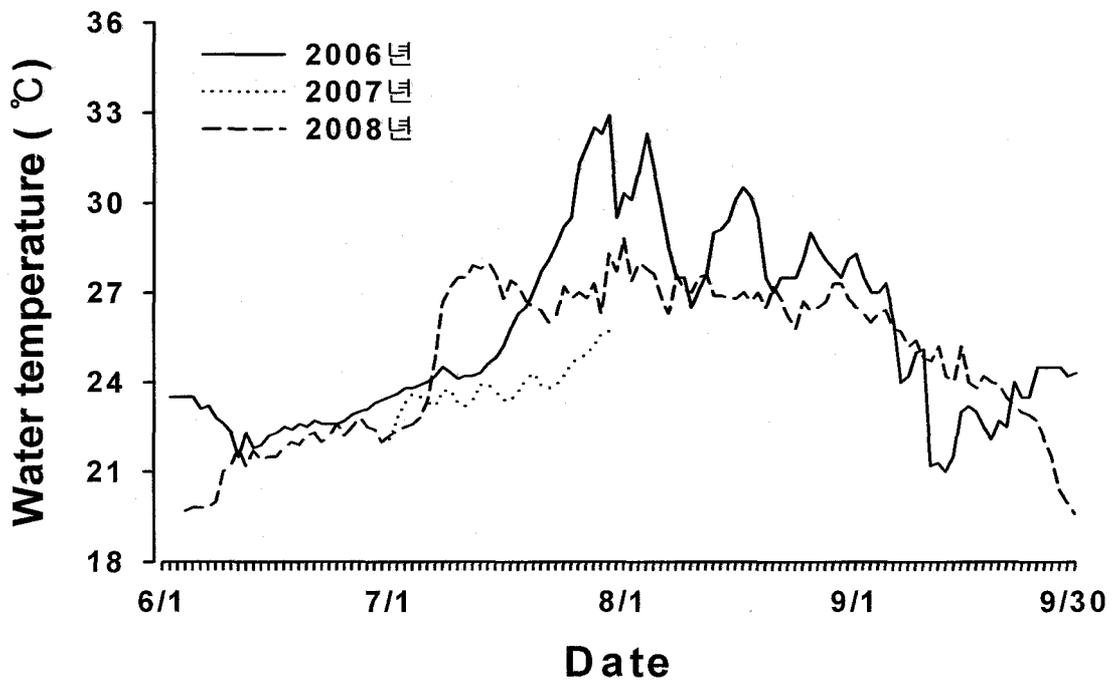


그림 46. 2006년과 2008년 초기사육 기간 동안 수온 변화.

Fig. 46. Change of water temperature for the early days of culture in 2006 and 2008

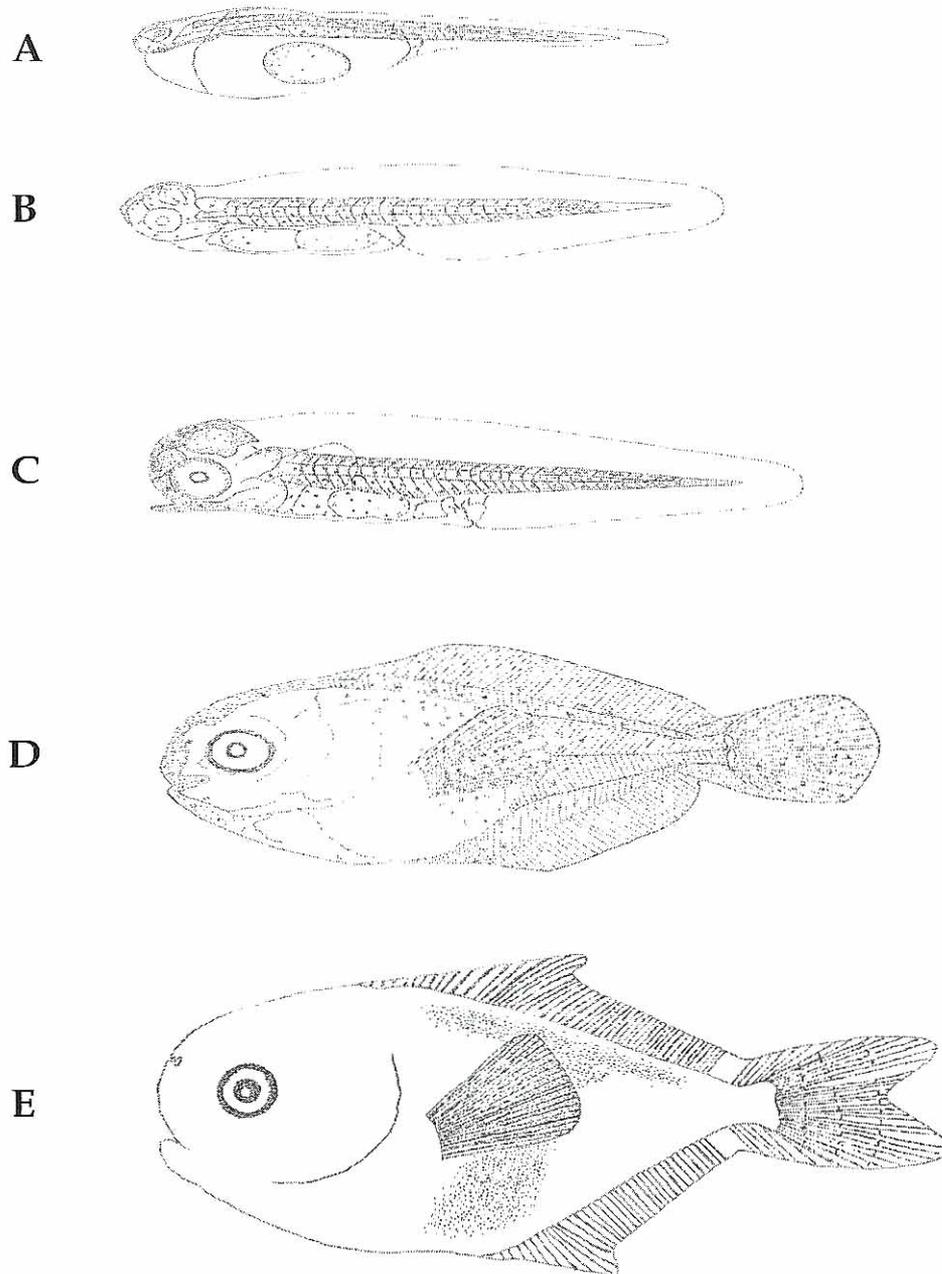


그림 47. 병어(*Pampus argenteus*) 의 자·치어 형태 발달 과정

A: 부화직후, 전장 3.52mm B: 부화 2일째, 전장 4.16~4.94mm C: 부화 5일째, 전장 4.65~5.03mm

D: 부화 20일째, 전장 9.73~14.26mm E: 부화 30일째, 전장 11.97~19.69mm

Fig. 47. Stage of developmental fry and juvenile in silver pomfret

A. Hatching Body length 3.52mm B. Hatching two days, Body length 4.16~4.94mm

C. Hatching five days, Body length 4.65~5.03mm D. Hatching 20 days, Body length 9.73~14.26mm

E. Hatching 30 days, Body length 11.97~19.69mm



그림 48. 로티퍼

Fig. 48. Morphology of Rotifer

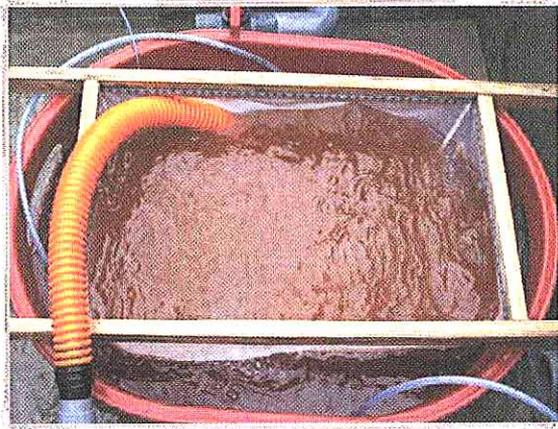


그림 49. 알테미아

Fig. 49. Morphology of *Artemia*

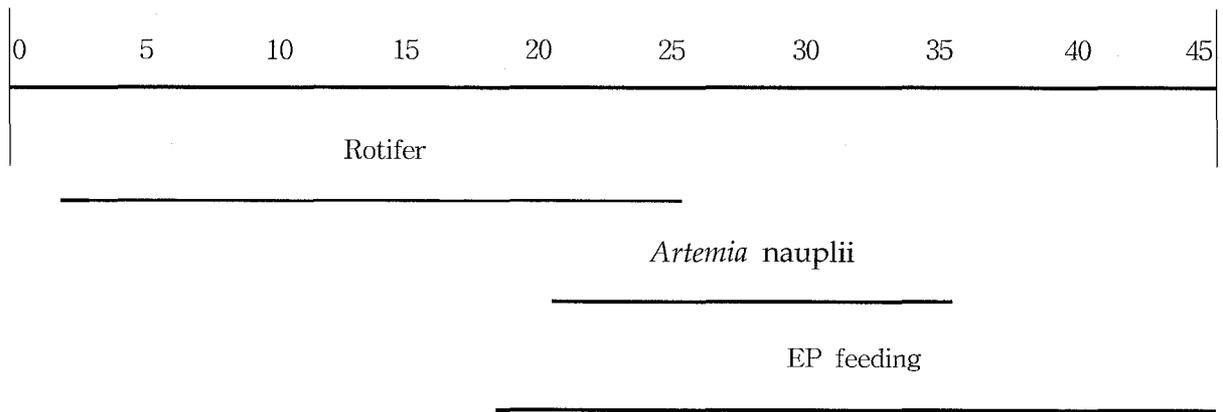


그림 50. 자·치어 성장에 따른 먹이 계열

Fig 50. Feed order of growth levels in larvae and juvenile

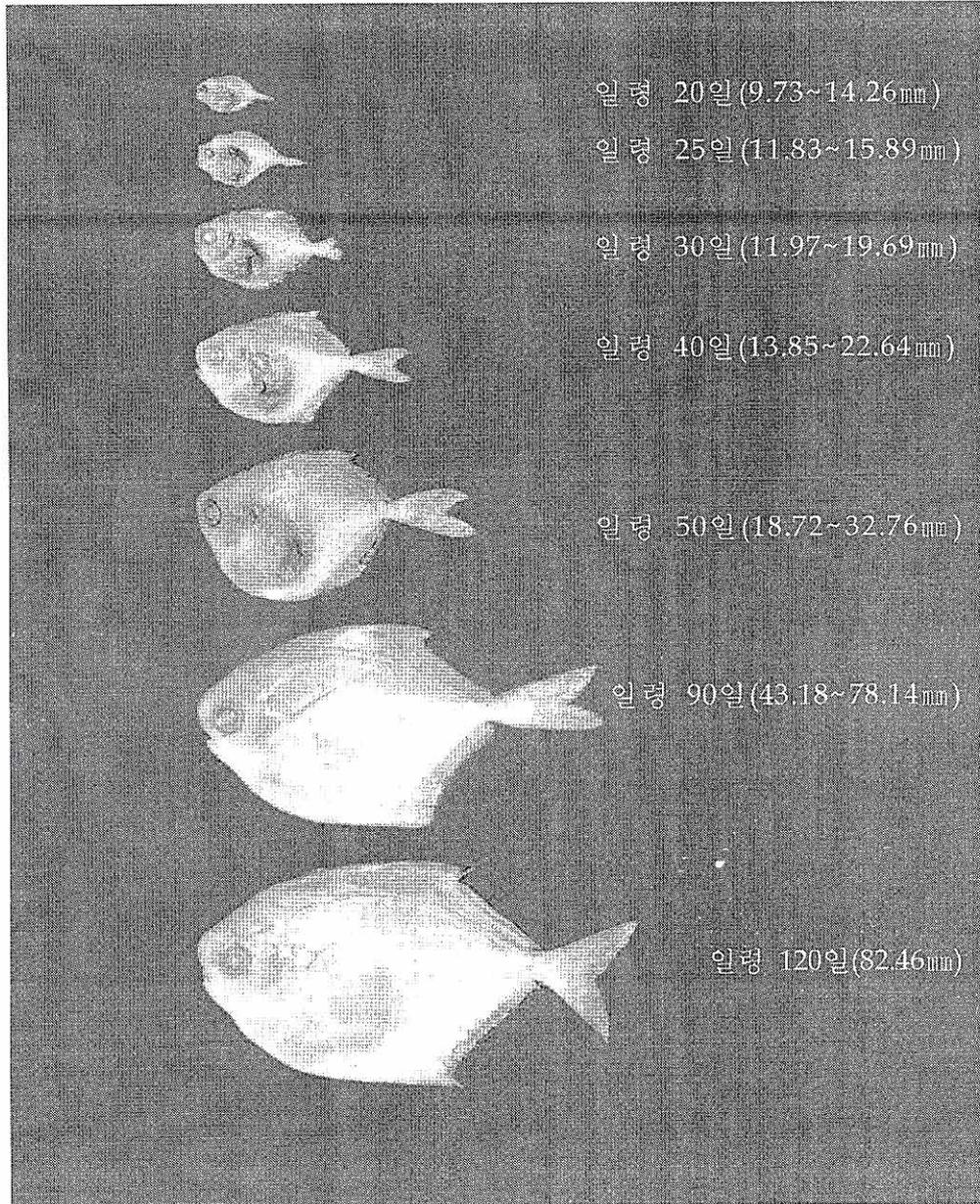


그림 51. 성장에 따른 형태변화

Fig. 51. Morphological change on growth of Silver pomfret

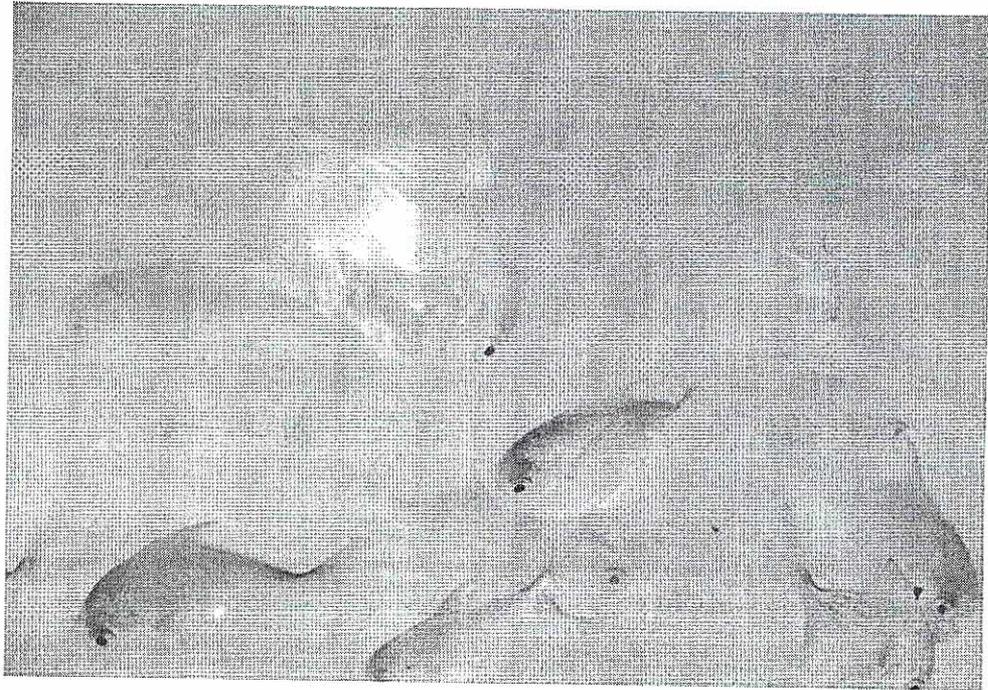


그림 52. 병어 치어 사육.

Fig. 52. Culture of the juvenile Silver pomfret in the culture tank

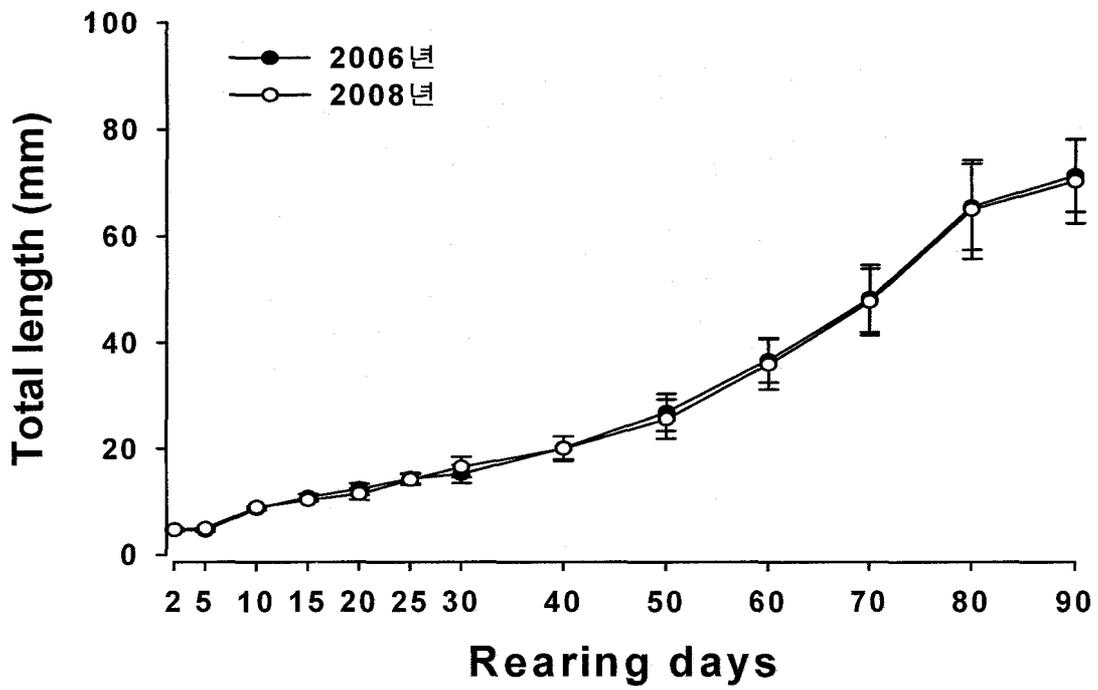


그림 53. 자·치어의 전장 변화

Fig. 53. Total length change of the larvae and juvenile of Silver pomfret, for 90 days

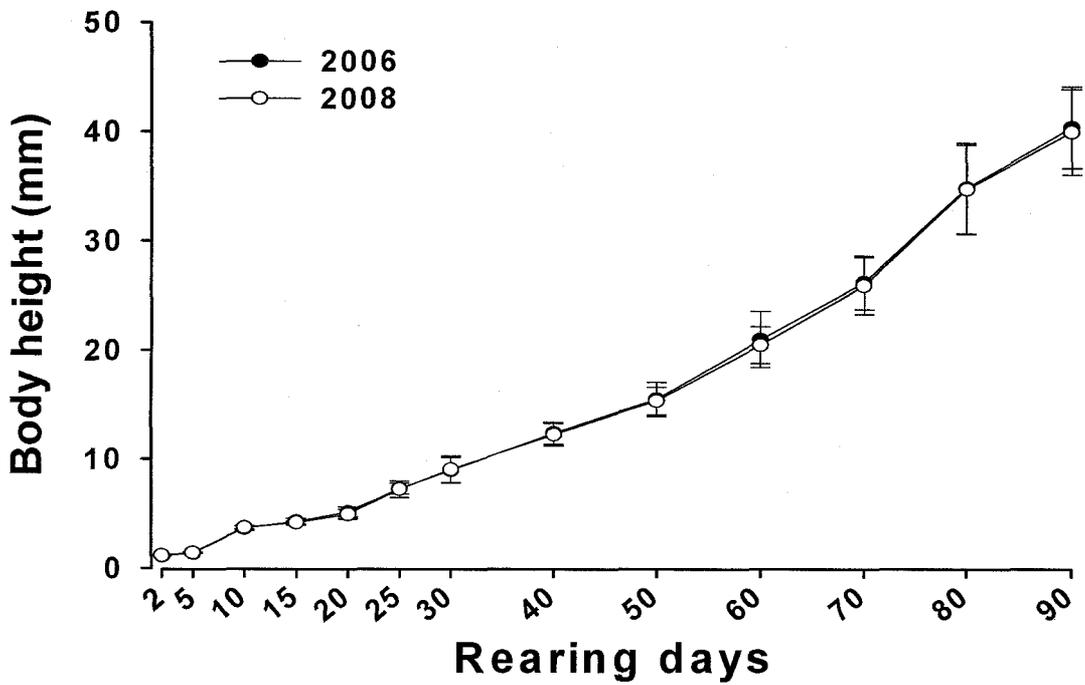


그림 54. 자·치어의 체고 변화

Fig. 54. Body height change of the larvae and juvenile of Silver pomfret for 90 days

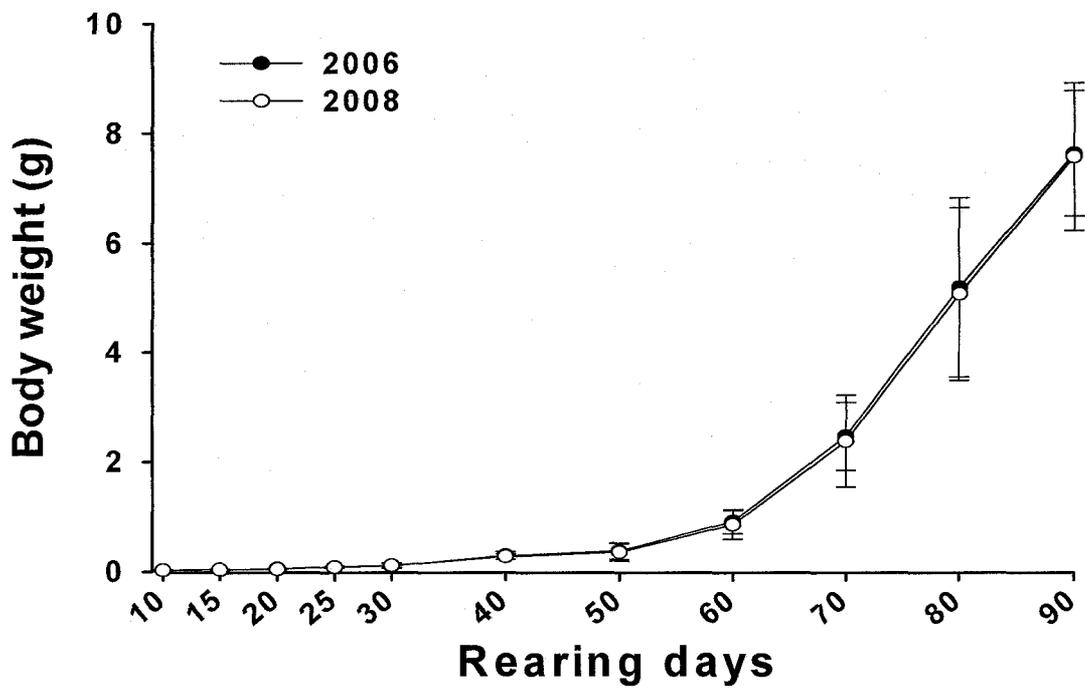


그림 55. 자·치어의 체중 변화

Fig. 55. Body weight change of the larvae and juvenile of Silver pomfret for 90 days

자. 자·치어의 감모 및 폐사

2006~2008년 수정란에서 부화된 부화자어의 감모율은 표 22에 나타냈다. 2006년에는 일령 2일은 8.8%, 10일 35.1%, 30일 44.7%, 90일 10.1%로 최종 생존율은 1.3%를 나타냈고, 2007년에는 일령 2일은 10.6%, 10일 41.1%, 30일 48.3%로 나타났으며, 일령 26일째 해산 *Amyloodinium* sp. 가 기생되어 발병 후 3일 만에 전량 폐사되었다. 2008년에는 일령 2일에 10.2%, 10일 42.3%, 30일 31.4%, 90일 8.8%로 나타났으며, 최종 생존율은 7.3%를 나타냈다. 수정란에서 부화자어로 발생하는 단계에서 감모가 발생되고, 자어단계에서 난황 흡수 후 첫 먹이를 급이 한 후 10일까지의 단계에서 대량감모가 발생하였으며, 일령 30일째에는 *Artemia nauplii*로 먹이를 전환한 후 2차 대량감모가 발생하였다. 대량 감모 이후에도 성장하면서 지속적으로 감모가 발생되었다.

차. 치어의 생존율

수정란을 인공 채란하여 부화된 부화자어가 체장 3.0cm 이상 성장하기 까지 생존율은 2006년에는 부화자어 125,200마리 가운데 전장 3cm 이상까지 1,600마리가 생존하여 1.3%의 생존율을 나타냈고, 2007년에는 부화자어 141,300마리 가운데 부화 후 일령 26일째 해산 *Amyloodinium* sp. 가 기생되어 발병 후 3일 만에 전량 폐사되어 0%의 생존율을 보였으나, 2008년에는 부화자어 205,800마리 가운데 전장 3cm 이상까지 15,000마리가 생존하여 7.3%의 생존율을 나타냈다.

1) 염분농도에 따른 치어의 생존율

염분농도별 치어의 생존율을 조사한 결과 생존율은 염분농도가 높을수록 높게 나타났다. 35‰ 시험구의 생존율이 93.3±5.8%로 가장 높았고 30‰ 시험구 90±10%, 25‰ 시험구 60±10%, 20‰ 시험구 50±10%, 10‰ 시험구 36.7±15.3% 순으로 나타났다(그림 56).

2) 사육 밀도에 따른 치어의 생존율

사육 밀도에 따른 치어의 생존율을 조사하기 위하여 실험에 필요한 치어를 실험 용기에 최초 수용 후 5일간 적응기간을 두었고 실험을 30일간 수행한 결과, 생존율은 20마리 83.3±7.6%, 25마리 73.3±10.1%, 15마리 62.2±10.2%, 5마리 60±20%, 10마리 53.3±15.3% 순으로 나타났으며, 10 L에 20마리를 수용하였을 경우 사육 효율성이 가장 높은 것으로 나타났다(그림 57).

표 22. 자·치어의 감모율

Table 22. Decrease rate of fry and juvenile

Years	Hatching (fish)	Second days(%)	10th days(%)	30th days(%)	90th days(%)	Final(%)
2006	125,200	8.8	35.1	44.7	10.1	1.3
2007	141,300	10.6	41.1	48.3	-	0
2008	205,800	10.2	42.3	31.4	8.8	7.3
Total	472,300	10.0	40.0	40.0	6.5	3.5

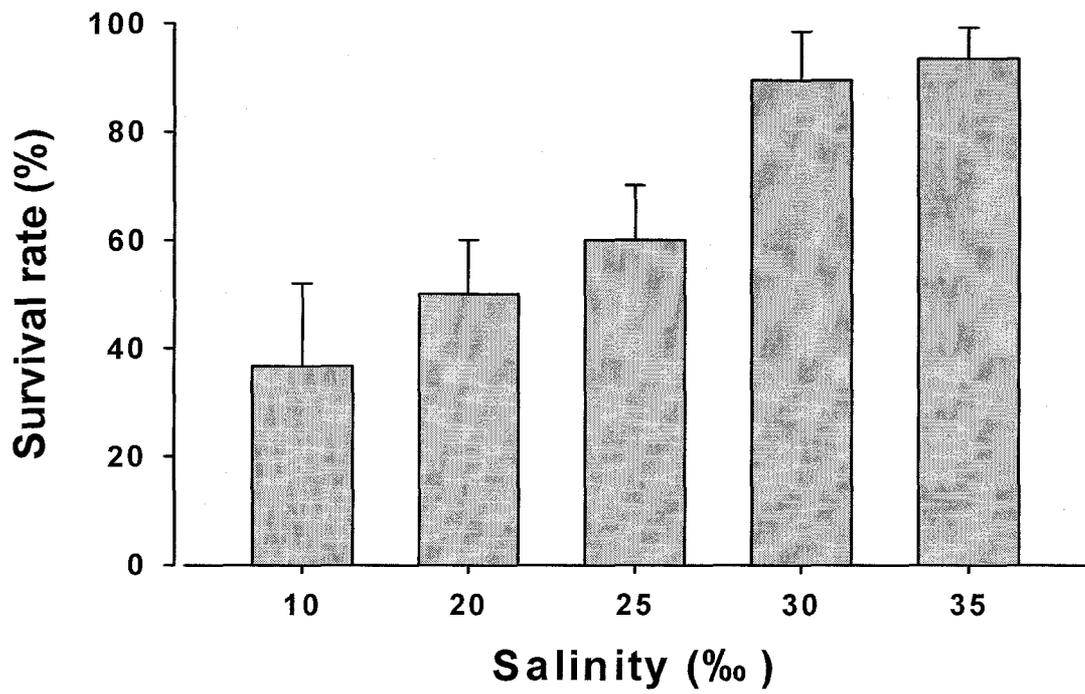


그림 56. 병어 치어의 염분농도별 생존율

Fig. 56. Survival rate of juvenile Silver pomfret by various salinity concentration

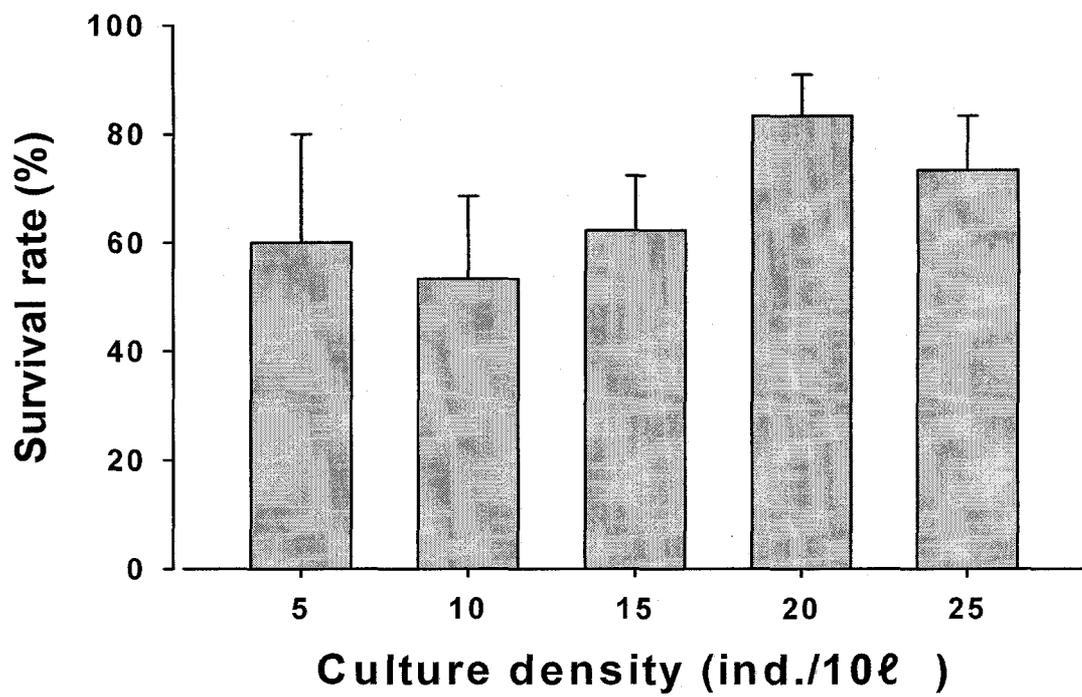


그림 57. 병어 치어의 사육밀도별 생존율

Fig. 57. Survival rate of the juvenile Silver pomfret by various culture density

카. 자·치어의 성장 및 특성

병어 자·치어의 사육기간 동안 배양수조의 환경조건은 수온 19.7~28.8℃, DO 7.5~9.8mg/ℓ, pH 7.8~9.1, 염분 32~35‰, NH₃ 0.18~0.84mg/ℓ, NO₃ 0.03~0.19mg/ℓ, NO₂ 0.012~0.082mg/ℓ, PO₄ 0.26~0.71mg/ℓ 을 나타내었다. 2008년도에 채란하여 부화 된 자·치어의 일령별 성장도 및 특성을 조사한 결과, 수정란에서 난막을 깨고 나온 부화자어의 크기는 전장 3.52mm이었으며, 부화 후 일령 1일에는 3.96~4.15mm 크기로 성장하여, 난황을 흡수하고, 머리를 아래로 향하여 부유한다. 일령 5일에는 4.65~5.03mm로 성장하여, 수직 운동과 섭식을 시작하였고, 일령 10일에는 8.13~9.43mm로 성장하여, 외부 자극에 반응하며, Rotifer 섭식이 왕성하고, 대량 감모 현상이 발생하였다. 일령 15일에는 9.68~10.84mm로 성장하여, 유영 능력이 증가 되고, 먹이를 찾아서 섭식하기 시작하였다. 일령 20일에는 9.73~14.26mm로 성장하여, *Artemia nauplii* 섭식이 왕성하고, 대량 감모가 발생하였으며, 표층에 누워서 유영하는 현상이 나타났다. 일령 25일에는 11.83~15.89mm로 성장하여 20~40cm 수층에 주로 분포하고, 배합사료의 섭이가 확인되었다. 일령 30일에는 11.97~19.69mm로 성장하여, 전체적으로 배합사료를 섭식하고, 수중에 전체적으로 분포 유영하며, 개체 차이가 뚜렷해지고 큰개체가 작은 개체를 공격하는 현상이 나타났다. 일령 40일에는 13.85~22.64mm로 성장하였고, 물의 흐름을 거슬러 무리지어 유영하고, 외부 충격에 민감하게 반응하였다. 일령 50일에는 18.72~32.76mm로 성장하였으며, 개체간의 공격현상이 없어지고, 항문에 배설물 잔유물이 매달린 채 유영하는 현상을 보였다. 일령 90일에는 43.18~78.14mm로 성장하여 배합사료 섭식 후 옆으로 눕는 현상이 사라졌으며, 일령 120일에는 최대 82.46mm까지 성장 하였다(표 23).

표 23. 자·치어의 성장 및 특성 (2008년도)

Table 23. Growth character of early

Sizes	Character of activity
5일령 전장: 4.65~5.03mm 체고: 1.29~1.49mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 부화자어는 주로 수면에 분포하여 수평으로 유영 하며, 수면과 수중을 반복하여 유영하기도 한다. ○ 개구 후 먹이 섭식 능력은 있으나 섭이량은 비교적 적었다.
10일령 전장: 8.13~9.43mm 체고: 3.24~3.99mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ Rotifer 섭이가 왕성해 진다. ○ 주로 주변의 먹이만을 인지하여 섭식 한다. ○ 입벌림 운동을 자주하며 외부자극에 반응 한다. ○ 수면으로부터 약 10~20cm 수층에 주로 분포 유영 한다.
15일령 전장: 9.68~10.84mm 체고: 3.84~4.32mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유영능력이 증가하여 주변의 먹이뿐만 아니라 먹이를 찾아 섭식하기 시작한다. ○ 건강한 개체는 주로 중층에 고르게 분포하며 조명에 민감하게 반응 한다.
20일령 전장: 9.73~14.26mm 체고: 3.87~5.68mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Artemia nauplii</i> 섭이를 시작하고 배합사료에 반응을 보인다. ○ 먹이전환 및 변태과정에서 감도가 많이 발생한다. ○ 사료 급이 후 표층에 누워서 유영하는 현상을 보이다가 정상으로 유영한다. ○ 수면과 수중을 자유로이 이동하면서 유영한다.
30일령 전장: 11.97~19.69mm 체고: 6.27~11.67mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전체적으로 배합사료를 섭식한다. ○ 사료 탐색능력을 갖게 된다. ○ 수면에서 수중까지 전체적으로 분포하여 유영한다. ○ 사료 섭식 후 표층에 눕는 현상이 나타난다. ○ <i>Artemia nauplii</i> 급이 후 큰 개체가 작은 개체를 공격하는 현상이 나타나고 감도량이 급격하게 증가한다.
40일령 전장: 13.85~22.64mm 체고: 10.28~14.67mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 적극적인 사료 섭식 행동이 나타난다. ○ 대부분 개체가 수면으로 부상하여 무리지어 유영하며, 물의 흐름을 거슬러 유영한다. ○ 외부 충격에 민감하게 반응한다.
50일령 전장: 18.72~32.76mm 체고: 11.82~16.78mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 무리유영 중에도 사료를 섭식한다. ○ 침강하는 사료를 따라 수중으로 같이 내려가면서 사료를 섭식한다. ○ 큰 개체가 작은 개체를 공격하는 현상이 없어진다. ○ 항문에 배설물을 매달고 유영하기도 한다.
90일령 전장: 43.18~78.14mm 체고: 28.76~43.24mm	<ul style="list-style-type: none"> ○ 대부분 개체가 중층에 분포하여 유영한다. ○ 배합사료 섭식 후 옆으로 눕는 현상이 완전히 없어진다.

8. 병어 인공종묘 생산 기술개발 연찬회 개최

수산특정연구과제 사업으로 2005년 7월~2008년 10월까지 3년간 수행한 병어 인공종묘 생산 기술개발 사업 종료 기간이 도래함에 따라, 그 동안의 추진 결과 및 성과를 홍보하고, 새로 개발된 병어 종묘생산 및 양성기술을 종묘 생산업체와 양식업체 등에 전수하기 위하여 연찬회를 개최하고, 종묘생산 시험 현장 견학을 실시하였다(그림 58).

1) 행사 일시 : 2008. 10. 24(금) 10:00~16:00

2) 행사 장소

○ 연 찬 회 : 목포지방해양항만청 대회의실

○ 현장견학 : 갈릴리 수산 (시험사업 현장)

3) 참석인원 : 67명

○ 국립수산과학원, 목포지방해양항만청, 수산사무소, 지자체, 방송국, 언론기관, 어촌계장, 종묘생산업체, 양식어업인, 수산업 경영인, 연구참여자 등 67명

4) 주요내용

○ 병어 인공종묘 생산 기술개발 과정 및 성과 설명

○ 참석자와의 토론 및 건의사항 청취

○ 시험 사업 현장 견학 및 설명

○ 언론사 취재 협조 및 보도 실적

- TV 방송 보도 (MBC 중앙방송, MBC, KBS 목포방송, KBS 광주방송, HBC 방송 등)

- 라디오 보도 (CBS 광주방송 등)

- 신문 게재 (연합뉴스, 국제일보, 광주일보, 목포 시민신문, 향도신문, 전국매일 등)

- 해양 수산 전문 게재 (수산양식, 현대해양 등)

9. 병어 인공종묘 방류 행사

2005년~2008년까지 수산특정연구과제 사업으로 추진한 병어 인공종묘 생산 기술개발 시험사업 추진 결과 2008년도 사업과정에서 생산된 병어 12,000마리 (전장 4.0~8.2cm)를 어촌계장, 어업인후계자, 종묘 생산 업체 등이 참석한 가운데 무안군 운남면 동암 해역에 방류하였다(그림 59).

가. 방류 치어 수송

병어 종묘 생산 시험 수조에서 금년도에 생산된 종묘를 두께 0.5 mm × 가로 50 cm × 세로 80 cm 비닐봉투에 종묘 100마리씩을 수용하고, 산소를 충분히 공급하여 밀봉한 후 사각 스티로폼상자 (56×37×28cm)에 담아서 차량으로 운송하였다. 운반과정에서 수온상승을 억제하기 위해 아이스 팩을 스티로폼상자 바닥에 넣어주었으며, 1톤 차량을 이용해 방류 장소 인근 선착장으로 운반하였으며, 기술지도선 및 어선을 활용하여 선상방류 하였다.

나. 종묘 방류

- 1) 일 시 : 2008. 10. 29(수) 14:00~15:00
- 2) 장 소 : 전남 무안군 운남면 동암 지선
- 3) 방류량 : 병어 치어 12,000마리 (전장 4.0~8.2cm)
- 4) 참석인원 : 51명
 - 어촌계장, 종묘생산업체, 수산업 경영인, 연구 참여자 등
- 5) 주요내용
 - 방류 종묘 질병 검사 (자체)
 - 인공종묘 산소 포장 작업 (갈릴리 수산)
 - 동암 선착장까지 운송 (차량)
 - 선상 방류 장소까지 수송 (기술지도선, 어선)
 - ※ 방류 해역 해황 관측
 - 수온 : 18.6℃ : 염분 농도 : 31.1‰, pH : 7.8, DO : 8.1mg/ℓ

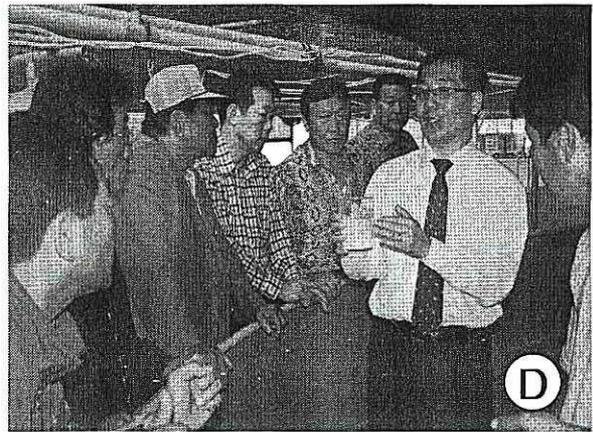
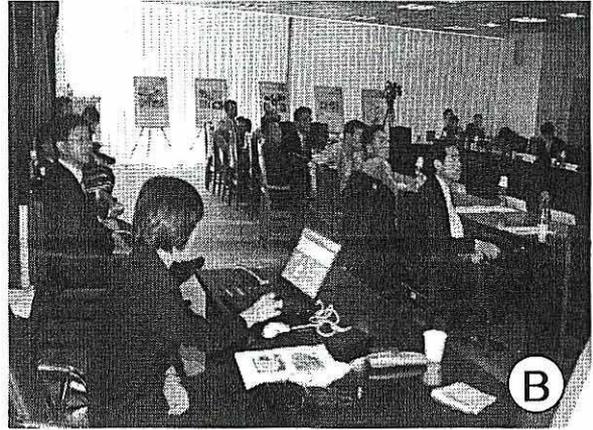


그림 58. 연찬회 및 현장 견학

A. 연찬회 행사

B. 프리젠테이션

C. 인터뷰

D. 현장 견학

Fig. 58. Dinner part and on-the-spot study

A. Dinner party

B. Presentation

C. Interview

D. On-the-spot study



그림 59. 병어 치어 방류행사

Fig. 59. Releasing event for juvenile Silver pomfret

구 분	평가의 착안점 및 기여도	
	착 안 사 항	기여도 (100점 만점)
2차년도		100
	가. 자연산 친어채포 및 사육기술개발 ○ 2005년 확보된 치어의 실내 사육 ○ 2007년 친어 확보 및 실내적용 시험 ○ 친어 실내사육에 의한 성숙도 조사	30
	나. 기초 생태 조사 및 번식생물 정보 ○ 생식소 발달의 조직학적 조사 - 생식소 발달의 전자현미경 관찰 ○ 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상 조사 - 계절에 따른 sGnRH-ir의 발현 양상 비교 ○ 유전학적 분석 - AFLP 유전자 지문분석	20
	다. 인공 채란에 의한 수정란 확보 ○ 산란 시기에 따른 자연산 친어의 성숙도 조사 ○ 성숙한 자연산 어미로부터 인공 채란 ○ 수정란 부화 및 자·치어 사육 기술개발 - 수정율, 부화율 조사, 최적 부화율 구명 (수온별, 염분별) - 난 발생 과정 조사 - 자·치어 사육 환경 구명 및 생존율 조사	40
	라. 선진지 견학 (중국) ○ 병어 양식현황 및 실태파악 ○ 종묘생산 및 양식관련 자료조사	10

구 분	평가의 착안점 및 기여도	
	착 안 사 항	기여도 (100점 만점)
3차년도		100
	가. 인공채란 및 수정란 확보 기술개발 ○ 자연산 친어채포 및 호르몬 주사에 의한 산란유도 ○ 자연산 친어의 성숙도 조사 ○ 수정란 채란을 위한 친어 확보 방법 ○ 인공채란 시기 및 수정방법 조사 ○ 수정란의 수정률 및 부화율 조사	40
	나. 인공종묘 생산기술 개발 ○ 수정란 부화 및 자·치어 사육관리 ○ 자·치어의 폐사율 및 생존율 (염분 농도별, 사육 밀도별 생존율) ○ 자·치어의 성장도 조사 ○ 치어의 적정 사육 밀도 구명 ○ 자·치어의 행동 특성 조사	50
다. 연찬회 및 종묘방류 행사 1) 연찬회 개최 (목포해양항만청 대회의실) ○ '08. 10. 24일 / 기관단체, 수산업체 등 67명 참석 / 병어 인공종묘 생산과정 및 성과 설명 등 2) 종묘 방류 행사 (동암 어촌계) ○ '08. 10. 29일 / 어촌계장, 종묘 생산업체 등 51명 참석 / 병어 인공종묘 12,000마리 (4.0~8.2cm) 방류	10	

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1절 핵심기술 또는 연구결과

1. 핵심기술

- 가. 자연산 병어 치어채포 및 수송방법
- 나. 어미 실내순치 사육기술
- 다. 인공채란 기술
- 라. 종묘생산 표준화

2. 핵심 연구결과

- 가. 생체지수 및 생식년 주기
- 나. 병어 뇌에서의 특정 GnRH의 발현 양상
 - 1) 특이적 GnRH (sGnRH 및 cGnRHⅡ)동정
 - 2) 계절에 따른 sGnRH의 발현 양상 비교
 - 가) 번식기에 sGnRH-ir의 분포
 - 나) 생식주기에 따른 sGnRH-ir의 변화
- 다. 유전적 다양성 분석
 - 1) AFLP 유전자 지문분석
- 라. 초기 발생과정 구명
 - 1) 난경 및 난 발생 과정
 - 2) 부화자어부터 치어까지의 성장도
 - 3) 수온별, 염분농도별 부화율
- 마. 양식생물학적 특성
 - 1) 초기 적정 먹이전환 시점
 - 2) 치어의 사육밀도에 따른 생존율 및 염분농도에 따른 생존율 구명
 - 3) 성장시기별 생태적 행동특성

제 2절 논문발표 실적

1. 논문게재 실적

제 목	발표자	학술지명	통권, 호	년, 월	발행기관
한국 서해산 병어, <i>Pampus argenteus</i> 의 번식생태	정의영, 배주승, 강희웅, 이황복, 이기영	한국발생 생물학회	제 12권 제 2호	2008	한국발생 생물학회

2. 학술회의 발표실적

제 목	발표자	학술회의명	호	발표년월일	발행기관
병어, 중국병어 및 덕대의 유전 다양성 분석	윤영은, 김근식, 배주승, 방인철	2007년도 한국수산과학 총연합회 공도학술대회		2007.5.18	한국 수산과학 총연합회
Ultrastructures of Germ cells, the Leyding Cell,m and Sertoli Cell during Spermatogenesis in Male <i>Pampus argenteus</i> on the West Coast of Korea	정의영, 배주승, 이황복, 김은종	2007년도 전기 한국발생생물 학회 제24차 학술발표대회		2007.7.13	한국발생 생물학회
Ultrastructural Study of Germ Cell Differntiation during Oogenesis in Female <i>Pampus argenteus</i> on the West Cost of Korea	정의영, 배주승, 이일호, 김연호	2007년도 전기 한국발생생물 학회 제24차 학술발표대회		2007.7.13	한국발생 생물학회

제 3절 핵심기술 (연구내용) 수준 및 활용유형

핵심기술 (연구내용)	핵심기술(연구내용) 수준					기술(연구결과) 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특히 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
인공 채란	○							○		
종묘생산 및 사육기술	○						○	○		

제 4절 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술 (연구내용)	활용계획 (활용시기, 활용방법 등을 요약하여 기재)
병어 수정란 인공채란	○ 자연산 병어를 채포하여 인공 채란하여 수정란을 확보하는 과정과 방법에 관한 기술을 시험사업 참여업체, 수산종묘생산 업체 등에 이전하고, 학술지 게재, 수산전문지 기고, 시험 사업 연찬회 발표, 어업인 교육 등에 활용
병어 인공종묘생산기술	○ 자연산 친어에서 확보된 수정란을 실내 수조에 입식하여 사육 관리하는 기술을 시험사업 참여 업체, 수산 종묘 생산 업체 등에 이전하고, 기술보급 연찬회, 논문 발표, 학술지 게재, 수산 전문지 게재, 양식어업인 교육 등에 활용
병어의 생식주기	○ 전자 현미경, 광학 현미경을 이용한 병어의 생식소 발달 과정에 관한 조직학적 조사 결과를 기술보급 연찬회, 시험사업 연찬회 등에서 발표하고, 학술지, 수산 신문 등에 기고하며, 연구 협조 요청 시 자료제공 등
병어류의 유전자 분석	○ AFLP 유전자 지문 분석을 실시하여 병어 집단간의 유전적 거리 및 집단간 분화도 연구 결과를 학술회의에 발표하고, 기술 보급세미나, 수산 전문지기고 등에 활용
병어 뇌에서의 특이적 GnRH 발현양상	○ 병어 종묘 생산에 활용하고자 병어 뇌에서의 특이적 GnRH 생성 분비 경로 조사 결과를 학술지에 발표하고, 수산기술 보급 연찬회, 기초 연구자료 등에 활용
병어의 자원학적 조사	○ 병어의 성장, 사망, 가입유형 등 자원학적 기초 정보를 학술지 기고, 연찬회 발표, 수산전문지 기고, 어업인 교육 활용 등

제 6절 기대효과

1. 정량적 효과

※ 2005년부터 병어의 양식생물학적 연구를 추진하여 완결하였으며, 2008년도에 자연산 어미에서 채란하여 실내 사육과정을 거쳐서 병어 인공종묘 15,000 마리를 생산하였고, 자연산 병어 채란에 의한 인공 종묘 생산 기술을 확립하였음

○ 개발된 기술을 연구 참여 업체 및 수산종묘 생산업체에 전수하여, 단기적으로 100만 마리 이상의 종묘 생산 기반 구축 예상

○ 인공 종묘 생산 기반이 구축 되어 병어 양식이 활성화 될 경우 장기적으로 양식이 활성화 되어 3,000톤 이상의 수입대체 효과 기대

2. 정성적 효과

○ 병어 인공종묘 생산 기술 활용

- 단기적으로 새로운 품종 개발로 수산 종묘 생산업체 경영개선

- 장기적으로 병어 양식 산업화를 통한 양식 품종의 다양화, 양식어업 경영개선과 더불어 종묘 양산 체계가 구축되고, 자원조성사업 활성화 가능

○ 병어 양식 생물학적 연구결과

- 자원학적 연구, 생리 생태학적 연구, 유전학적 연구 등 확보된 연구 기초 자료를 대학교, 연구기관 등 연구자에게 제공함으로써 지속적인 연구 기대

- 학술지, 전문지 기고, 수산인 교육 등을 통한 종묘 생산 및 양식 저변 확대 등

제 6 장 참고문헌

- Abe, T. And T. Kosaki, 1964. Notes on an economically important but scientifically little know silver pomfret, *Pampus echinogaster* (Pampidae, Teleostei). Jap. J. Ichthyol., 12, 29~31.
- Adams, B.A., Vickers, E.D., Warby, C. *et al.*, 2002. Three forms of gonadotropin-releasing hormone, including a novel form, in a basal salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biol. Reprod.* 67, pp. 232~239.
- Aida, K., P.V. Ngan and T. Hibiya, 1973a. Physiological studies on gonadal maturation of Fish-I. Sexual difference in compensation of plasma protein of ayu in relation to gonadal maturation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38(11): 1091~1106.
- Aida, K., K. Hirose, M. Yokote and T. Hibiya, 1973b. Physiological studies on gonadal maturation of Fish-II. Histological changes in the liver cells of ayu following gonadal maturation and estrogen administration. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39(11): 1107~1115.
- Amano M., Y. Oka, K. Aida, N. Okumoto, S. Kawashima and Y. Hasegawa. 1991. Immunocytochemical demonstration of salmon GnRH and chicken GnRH II in the brai of masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *J. Comp. Neurol.*, 314, 587~597.
- Amano M., K. Aida, N. Okumoto and Y. Hasegawa. 1992. Changes in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in the brain and pituitary, and GTH contents in the pituitary in female masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching through ovulation. *Zool. Sci.*, 9, 375~386.
- Amano M., A. Urano and K. Aida. 1997. Distribution and function of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the teleost brain. *Zool. Sci.*, 14, 1~11.
- Amano, M., Takahashi, A., Yamanome, T., Okubo, K., Aida, K. and Yamamori, K., 2002. Molecular cloning of three cDNAs encoding different GnRHs in the brain of barfin flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* 126, pp. 325~333.
- Andersson, E., Fjellidal, P.G., Klenke, U. *et al.*, 2001. Three forms of GnRH in the brain and pituitary of the turbot, *Scophthalmus maximus*: immunological characterization and seasonal variation. *Comp. Biochem. Physiol. B* 129, pp. 551~558.

- Asahida, T., T. Kobayashi, K. Saitoh and I. Nakayama. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62: 727~730.
- Basilewsky, S. 1952. *Ichthyographia Chainae Borealis*, Nouveaux memoires. T. X. Pekin, P. 215~264, pls.
- Billard, R., 1984. Ultrastructural changes in the spermatogonia and spermatocytes of *Poecilia reticulata* during spermatogenesis. *Cell Tissue Res.*, 273, 219~226.
- Bogerd, J., Li, K.W., Janssen-Dommerholt, J. and Goos, H.J.Th., 1992. Two gonadotropin-releasing hormones from African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187, pp. 127~134.
- Bond C. T., R. C. Francis, R. D. Fernald and J. P. Adelman. 1991. Characterization of complementary DNA encoding the precursor for gonadotropin-releasing hormone and its associated peptide from a teleost fish. *Mol. Endocrinol.*, 5, 931~937.
- Breton B., C. Weil, B. Jalabert and R. Billard. 1972. Activite reciproque des facteurs hypdthalamiques de belier (*Ovis aries*) et de poissons teleosteens sur la secretion in vitro des hormones gonadotropes c-HG et LH respectivement par des hypophyses de carpeet de Belier. *CR Acad. Sci.*, [III] 274, 2530~2533.
- Breton, B., Govoroun, M. and Mikolajczyk, T., 1998. GTH I and GTH II secretion profiles during the reproductive cycle in female rainbow trout: relationship with pituitary responsiveness to GnRH-A stimulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 111, pp. 38~50.
- Carolsfeld, J., Powell, J.F., Park, M. *et al.*, 2000. Primary structure and function of three gonadotropin-releasing hormones, including a novel form, from an ancient teleost, herring. *Endocrinology* 141, pp. 505~512.
- Christensen, A. K. and S. W. Gillim, 1969. The correlation of fine structure and function in steroidsecreation cell with emphasis on those of the gonads. In *The gonads* (K.W.Mckems ed.), Appleton-Century-Crofts. New York, 415~448.
- Choi, K. H., 2007. A study on reproductive ecology and genetic of analysis of the *Boleophthalmus pectinirostris* in Korea. Ph. D. Thesis, Kunsan. Nat. Univ., 128 pp. (in Korean)
- Chung, E. Y. and S. Y. Kim, 1994. On the maturity and spawning of Greenling, *Hexagrammos agrammus*. *Korean J. Ichthyol.*, 6(2), 222~236. (in Korean).

- Chung, E. Y. and K. Y. Lee, 1994. Structural and histochemical changes in the cyst cell and the interstitial cell in the testis of a teleost *Hexagrammos agrammus* associated with the reproductive cycle. Korean. J. Ichyol., 6(2), 193~205.
- Chung, E. Y. and Y. J. Chang, 1995. Ultrastructural changes of germ cell during the gametogenesis in Korea rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish. Soc., 28(6), 736~752.
- Chung, E. Y., H. K. Han and H. W. Kang, 1997. Reproductive biology of the greenling, *Hexagrammos otakii* in the Yellow sea. I. Ultrastructural study of spermatogenesis. Yellow Sea, 3, 87~94.
- Collins, P.M., O'Neill, D.F., Barron, B.R., Moore, R.K. and Sherwood, N.M., 2001. Gonadotropin-releasing hormone content in the brain and pituitary of male and female grass rockfish (*Sebastes rastrelliger*) in relation to seasonal changes in reproductive status. *Biol. Reprod.* 65, pp. 173~179.
- Copeland, P.A. and Thomas, P., 1993. Isolation of gonadotropin subunits and evidence for two distinct gonadotropins in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 91, pp. 115~125.
- Davies, B., Bromage, N. and Swanson, P., 1999. The brain - pituitary - gonadal axis of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: effects of photoperiod manipulation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 115, pp. 155~166.
- De Leeuw, R., Conn, P.N., van't Veer, C., Goos, H.J.Th. and van Oordt, P.G.W.J., 1988. Characterization of the receptor for gonadotropin-releasing hormone in the pituitary of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Fish Physiol. Biochem.* 5, pp. 99~107.
- Doerr-Schott, J., 1976. Immunohistochemical detection by light and electron microscopy of pituitary hormones in cold-blooded vertebrates. I. Fish and amphibians. *Gen. Comp. Endocrinol.* 28, pp. 487~512.
- Dufour, S., Montero, M., Le Belle, N., Bassompierre, M., King, J.A. and Millar, R.P., 1993. Differential distribution and response to experimental sexual maturation of two forms of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the European eel, *Anguilla anguilla*. *Fish Physiol. Biochem.* 11, pp. 99~106.
- Dwivedi, S.N., G.N. Roy and K. vijayakumuran, 1976. Morphological studies on *Pampus argenteus* (Euphrasen). *Geobios, Jodhpur*, 3(5), 145~148.

- Elizur, A., Zmora, N., Rosenfeld, H. *et al.*, 1996. Gonadotropins beta-GtHI and beta-GtHII from the gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 102, pp. 39~46.
- Fawcett, D. W., A. J. Long and A. L. Jones, 1969. The ultrastructure of endocrine glands. *Rec. Progr. Horm. Res.*, 25, 315~380.
- Follenius, E. and A. Porte, 1960. Cytologie fine des cellules interstitielles du testicule poisson *Lebistes reticulatus* R. *Experientia*, 16, 190~192.
- Follenius, E., 1964. Innervation des cellules interstitielles chez un poisson teleosteen *Lebistes reticulatus* R. Etude au microscope electronique. *C. R. Acad. Sci.*, 259, 228~230.
- Follenius, E., 1968. Cytologie et cytophysiologie des cellules interstitielles del' Epinoche: *Gasterosteus aculeatus* L. Etude au microscope electronique. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 198~219.
- Gresik, E. W., J. G. Quirk and J. B. Hamilton, 1973. A fine structural and histochemical study of the Leydig cell in the testis of the teleost, *Oryzias latipes* (Cyprinodontiformes). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 20, 86~98.
- Grier, H. J. and J. R. Linton, 1977. Ultrastructural indentification of the Sertoli cell in the testis of the northern pike *Esox lucius*. *Am. J. Anat.*, 149, 283~288.
- Grier, H. J., R. van den Hurk and R. Billard, 1989. Cytological indentification of cell types in the testis of *Esox lucius* and *E. niger*. *Cell Tissue Res.*, 257, 491~496.
- Hedgecock, 1994 D. Hedgecock, Does variance in reproductive success limit effective population size of marine organisms?. In: A. Beaumont, Editor, *Genetics and Evolution of Aquatic Organisms*, Chapman and Hall, London (1994), pp. 122~134.
- Headrich, R. L., 1967. The stromateid fishes: Systematics and a classification. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harv.* 135(2), 31~139.
- Higashikawa, S. and S. Mashumitsu, 1974. On the white pomfret of the East China Sea-I. Relation between the oceanographical condition and distribution of the white pomfret in the south-west region of the Danzyo Islands. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.*, 23, 57~63.
- Higashikawa, S. and S. Mashumitsu, 1976. On the white pomfret of the East China Sea-II. Relation between the oceanographical condition and distribution of the white pomfret in the south-west region of the East China Sea. *Mem. Fac. Fish.*

- Kogoshima Univ., 25(1), 181~191.
- Higashikawa, S., T. Nish and S. Arima, 1981. On the White pomfret of the East China Sea-III. Feeding activity. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 30, 125~133.
- Higashikawa, S., T. Nish and S. Arima, S. Masumitsu and M. Utiyama, 1984. Deformities found in the pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) and *Pampus echinogaster* (Basilewsky) from the East China Sea. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ. 33(1), 23~31.
- Holland, M.C., Hassin, S. and Zohar, Y., 2001. Seasonal fluctuations in pituitary levels of the three forms of gonadotropin-releasing hormone in striped bass, *Morone saxatilis* (Teleostei), during juvenile and pubertal development. *J. Endocrinol.* 169, pp. 527~538.
- Hsu S. M., L. Raine and H. Fanger. 1981. The use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase technique: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP procedures). *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 577~580.
- Huh, S. H. 1989. Studies on the fishery biology of pomfrets, *Pampus* spp. in the Korean waters. 4. Food of *Pampus echinogaster*. Bulletin of Korean Fisheries Society 22: 291~293.
- Jin, J. J., 1989. Gonadal maturation of the pomfrets, *Pampus echinogaster* and *Pampus argenteus* in the Korean Waters. MA. Thesis, Natl. Fish. Univ. Busan. 40 pp. (in Korean)
- Jun. J. C., 2003. A study on reproductive ecology of the stone flounder, *Kareius bicoloratus* on the west coast of Korea. Ph. D. Thesis, Kunsan. Nat. Univ., 135 pp. (in Korean)
- Illing, N., Troskie, B.E., Nahorniak, C.S., Hapgood, J.P., Peter, R.E. and Millar, R.P., 1999. Two gonadotropin-releasing hormone receptor subtypes with distinct ligand selectivity and differential distribution in brain and pituitary in the goldfish (*Carassius auratus*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, pp. 2526~2531.
- Kagawa, H., Kawazoe, I., Tanaka, H. and Okuzawa, K., 1998. Immunocytochemical identification of two distinct gonadotropic cells (GTH I and GTH II) in the pituitary of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 110, pp. 11~18.
- Kah O., B. Breton, J. G. Dulka, J. Nunez Rodriguez, R. E. Peter, A. Corian, J. J. Rivier and W. W. Vale 1986. A reinvestigation of the GnRH (gonadotropin releasing

- hormone) system in the goldfish brain using antibodies to salmon GnRH. *Cell Tissue Res.*, 244, 327~337.
- Kah O., P. Chambolle, P. Dubourg and M. P. Dubois. 1984. Immunocytochemical localization of LHRH in the brain of the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 53, 107~115.
- Kang, Y. J., D. W. Lee, B. Q. Hong and Y. S. Kim. 1989. Studies on the fishery biology of pomfrets, *Pampus* spp. in the Korean waters. 3. Age and Growth of Korean Pomfret, *Pampus echinogaster*, from the China Sea. *Bulletin of Korean Fisheries Society* 22: 281~290.
- Kang, H. W., O. Y. Kwak and E. Y. Chung, 2004. Ultrastructural study on oogenesis of the greeling *Hexagrammos otakii*. *Korean. J. Ichthyol.*, 16(4), 271~281. (in Korean)
- Kim, H. B. and T. Y. Lee, 1984. Reproductive biology of a shad, *Konosirus punctatus* (Temminck et Schlegel). *Bull. Kor Fish. Soc.*, 17(3), 206~218. (in Korean).
- Kim, Y. U. and K. H. Han. 1989. Studies on the fishery biology of pomfrets, *Pampus* spp. in the Korean waters. 1. Morphology of the Two Species of the Genus *Pampus*. *Bulletin of Korean Fisheries Society* 22: 241~265.
- Kim M. H., Y. Oka, M. Amano, M. Kobayashi, K. Okuzawa, Y. Hasegawa, S. Kawashima, Y. Suzuki and K. Aida. 1995. Immunocytochemical localization of sGnRH and cGnRH-II in the brain of goldfish. *Carassius auratus*. *J. Comp. Neurol.*, 356, 72~82.
- Kim. I. S., Y. Choi, C. L. Lee, Y. J. Lee, B. J. Kim and J. H. Kim, 2005. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., 615 pp. (in Korean)
- King J. A. and R. P. Miller. 1992. Evolution of gonadotropin releasing hormones. *Trends Endocrinol. Metab.*, 3, 339~346.
- King J. A. and R. P. Miller. 1994. Evolutionary aspects of gonadotropin releasing hormone and its receptor. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 15(1), 5~23
- Klungland H., J. B. Lorens, O. Andersen, G. O. Kisen and P. Alestrom. 1992. The Atlantic salmon prepro-gonadotropin releasing hormone gene and mRNA. *Mol. Cell Endocrinol.*, 84, 167~174.
- Kobayashi M., M. Amano, Y. Hasegawa, K. Okuzawa, and K. Aida 1992. Effects of olfactory tract section on brain GnRH distribution, plasma gonadotropin levels,

- and gonadal stage in goldfish. *Zool. Sci.*, 9, 765~773.
- Kobayashi M., M. Amano, M. H. Kim, K. Furukawa, Y. Hasegawa and K. Aida. 1994. Gonadotropin-releasing hormones of terminal nerve origin are not essential to ovarian development and ovulation in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 95, 192~200.
- Lee, D. W., 1989. Growth and reproduction of the Korean pomfret *Pampus echinogaster* from the East China Sea. MA. Thesis, Natl. Fish. Univ. Busan. 51 pp. (in Korean)
- Lee, T. Y. and J. J. Jin. 1989. Studies on the fishery biology of pomfrets, *Pampus* spp. in the Korean waters. 2. Gonadal Maturation and Spawning. *Bulletin of Korean Fisheries Society* 22: 266~280.
- Lovejoy D. A., W. H. Fischer, S. Ngamvongchon, A. G. Craig, C. S. Nahorniak, R. E. Peter, J. E. Rivier and N. M. Sherwood. 1992. Distinct sequence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in goldfish brain provides insight into GnRH evolution. *Proc. Natl. Acad. USA*, 89, 6373~6377.
- Matsuo H., Y. Baba, R. M. G. Nair, A. Arimura and A. V. Schally. 1971. Structure of porcine LH-and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43, 1334~1339.
- Miller, M. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: a windows programme for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Web site address <http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>.
- Montaner, A.D., Park, M., Fischer, W.H. *et al.*, 2001. Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone in the brain of a teleost, pejerrey. *Endocrinology* 142, pp. 1453~1460.
- Mousa, M.A. and Mousa, S.A., 2003. Immunohistochemical localization of gonadotropin releasing hormones in the brain and pituitary gland of the Nile perch, *Lates niloticus* (Teleostei, Centropomidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 130, pp. 245~255.
- Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetical variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 3321~3323.
- Okuzawa K., M. Amano, M. Kobayashi, K. Aida, I. Hanyu, Y. Hasegawa and K. Miyamoto. 1990. Differences in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in

- discrete brain areas of male and female rainbow trout according to age and state of maturity. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 80, 116~126.
- Okuzawa, K., Gen, K., Bruysters, M. *et al.*, 2003. Seasonal variation of the three native gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acids levels in the brain of female red seabream. *Gen. Comp. Endocrinol.* 130, pp. 324~332.
- Payne, A. H., M. P. Hardy and L. D. Russell. 1996. The Leydig cell. Cache river press., 802 pp.
- Powell R. C., R. P. Millar and J. A. King. 1986. Diverse molecular forms of gonadotropin releasing hormone in an elasmobranch and a teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 63, 77~85.
- Powell R. C., Y. Zohar, A. Elizur, M. Park, W. H. Fischer, A. G. Craig, J. E. Rivier, D. A. Lovejoy and H. M. Sherwood. 1994. Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 12081~12085.
- Pudney, I., 1996. Comparative cytology of the Leydig cell. In: Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (Eds.), *The Leydig cell*. Cache River Press, pp. 97~142.
- Rodríguez, L., Carrillo, M., Sorbera, L.A. *et al.*, 2000. Pituitary levels of three forms of GnRH in the male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) during sex differentiation and first spawning season. *Gen. Comp. Endocrinol.* 120, pp. 67~74.
- Rohlf, S. B. 1992. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.7. Applied Biostatistics Inc., New York, USA.
- Schreibman, M.P., Margolis-Nunno, H., Halpern-Sebold, L.R., Goos, H.J.Th. and Perlman, P.W., 1986. The influence of androgen administration on the structure and function of the brain - pituitary - gonad axis of sexually immature platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Cell Tissue Res.* 245, pp. 519~524.
- Schulz, R.W., Bosma, P.T., Zandbergen, M.A. *et al.*, 1993. Two gonadotropin-releasing hormones in the African catfish, *Clarias gariepinus*: localization, pituitary receptor binding, and gonadotropin release activity. *Endocrinology* 133, pp. 1569~1577.
- Senthilkumaran, B., Okuzawa, K., Gen, K., Ookura, T. and Kagawa, H., 1999. Distribution and seasonal variations in levels of three native GnRHs in the brain and pituitary of perciform fish. *J. Neuroendocrinol.* 11, pp. 181~186.

- Sherwood, N.M., Eiden, L., Brownstein, M., Spiess, J., Rivier, J. and Vale, W., 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, pp. 2794~2798.
- Sherwood, N.M., Sower, S.A., Marshak, D.R., Fraser, B.A. and Brownstein, M.J., 1986. Primary structure of gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. *J. Biol.Chem.* 261, pp. 4812~4819.
- Sherwood N. M., R. Leeuw de and H. Goos. 1989. A new member of the gonadotropin releasing hormone family in teleost: catfish gonadotropin releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 75, 427~436.
- Sherwood N. M., D. A. Lovejoy and I. R. Coe. 1993. Origin of mammalian gonadotropin releasing hormones. *Endocrine Reviews*, 14, 241~254.
- Suzuki M., S. Hyodo, M. Kobayashi, K. Aida and A. Urano. 1992. Characterization and localization of mRNA encoding the salmon type gonadotropin releasing hormone precursor of the masu salmon. *J. Mol. Endocrinol.*, 9, 73~82.
- Toury, R., J. C. Clérot and J. André, 1977. Les groupements mitochondriaux des cellules germinales des poissons Téléostéens Cyprinidés. *Biol. Cellulaire*, 30, 225~232.
- Volodin, V. M., F. I. Mehnin and V. V. Kuzmina, 1974. An experimental study of egg resorption in the bream, *Abramis brama*. *J. Ichthyol.*, (Translated from the Russian) 14(2), 219~230.
- Vos, P., R. Hodgers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP, a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23: 4407~4414.
- Weber, G.M., Powell, J.F.F., Park, M. *et al.*, 1997. Evidence that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) functions as a prolactin-releasing factor in a teleost fish (*Oreochromis mossambicus*) and primary structures for three native GnRH molecules. *J. Endocrinol.* 155, pp. 121~132.
- Weltzien, F. A., E. Andersson, Øivind Andersen , K. S. Tabrizi and B. Norberg. 2004. The brain - pituitary - gonad axis in male teleosts, with special emphasis on flatfish (*Pleuronectiformes*). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 137(3), 447~477.
- White S. A., T. L. Kasten, C. T. Bond, J. P. Adelman and R. D. Fernald. 1995. Three

- gonadotropin releasing hormone genes in one organism suggest novel roles for an ancient peptide. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 8363~8367.
- Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15: 313-354.
- Yamata, U., 1976. On young stages of *Pampus echinogaster* from the East China Sea. *Uo.*, 27, 1~26.
- Yoo, J. M., J. M. Kim and H. T. Huh, 1985. A study on the early development of morphology and vertebral column of Korean pomfret, *Pampus echinogaster* (Basilewsky). *Ocean Res. Korea*, 7, 11~18.
- Yoo, M.S., Kang, H.M., Choi, H.S. *et al.*, 2000. Molecular cloning, distribution and pharmacological characterization of a novel gonadotropin-releasing hormone ([Trp⁸] GnRH) in frog brain. *Mol. Cell. Endocrinol.* 164, pp. 197~204.
- Yoshiura, Y., Suetake, H. and Aida, K., 1999. Duality of gonadotropin in a primitive teleost, Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Gen. Comp. Endocrinol.*
- Yu, K., Sherwood, N. and Peter, R., 1988. Differential distribution of two molecular forms of gonadotropin-releasing hormone in discrete brain areas of the goldfish (*Carassius auratus*). *Peptides* 9, pp. 625~630.
- Zhang, L., Wayne, N.L., Sherwood, N.M., Postigo, H.R. and Tsai, P.S., 2000. Biological and immunological characterization of multiple GnRH in an opisthobranch mollusk, *Aplysia californica*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 117, pp. 77~89.
- Zohar, Y., Elizur, A., Sherwood, N.M., Powell, J.F.F., Rivier, J.E. and Zmora, N., 1995. Gonadotropin-releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormone present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 97, pp. 289~299.
- 강종주, 이동우, 홍병규, 김영섭, 1989. 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 3. 동지나해 산 덕대의 연령과 성장. *한수지*, 22(5), 281~290.
- 高橋裕哉, 1989. 精巢の構造と配偶者形成, 水族繁殖學, 綠書房, 東京, 35~64.
- 國立水産振興院, 1985. 沿近海 主要魚種의 生態와 漁場. 資源調査 資料集 第8號, 106~115.
- 김용문, 강용주, 강병하, 이동우, 이주희, 1989. 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 6. 덕대의 자원해석과 관리. *한수지*, 22(5), 306~316.
- 김용익, 한경호, 1989. 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 1. 병어류의 형태에 관한 연구. *한수지*, 22(5), 241~265.

- 이동우, 1989 동지나해산 덕대의 성장과 재생산에 관한 연구. 부산수산대학 대학원 석사학위 논문, pp.8~21.
- 이택열, 진종주, 1989. 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 2. 성숙과 산란. 한수지, 22(5), 266~280.
- 조규대, 김정창, 최용규, 1989. 한국근해 병어류의 자원생물학적 연구 5. 분포와 어황. 1989. 한수지, 22(5), 294~305.
- 진종주. 1990. 덕대, *Pampus echinogaster*와 병어, *Pampus argenteus*의 성성숙에 관한 연구. 부산수산대학 대학원 석사학위 논문, 40 pp.
- 허성희, 1989. 한국 근해 병어류의 자원 생물학적 연구 4. 덕대(*Pampus echinogaster*)의 식성. 한수지, 22(5), 291~293.