

대구 수정란의 질병 제어에 의한 부화율 향상 연구

박상언 · 권문경 · 이채성* · 김완기* · 이정용*

국립수산과학원 동해수산연구소

* 동해수산연구소 강릉수산종묘시험장

대구 인공종묘 생산 기술 개발의 일환으로 수정란에 기생하여 폐사를 유발하는 세균 및 세균 감염 경로를 파악함으로써 수정란의 생존율과 부화율 향상을 위하여 본 실험을 실시하였다.

세균 감염 경로를 파악하기 위하여 난소와 정소 자체 세균 감염 여부를 조사하였다. 일반배지 (BHIA)와 비브리오 선택배지 (TCBS)를 사용하여 세균 검사를 실시하였다. 난소의 세균 검사는 생식소 내부를 일부 절개한 후 멸균 roop를 찢어 세균을 검사하였고, 정소는 채정하기 전 복부를 절개하여 멸균 roop로서 적출하여 배지에 도말한 후 배양하였다. 수정란 내 세균 수는 수정란을 각각 20개씩 샘플하여 난 외부에 기생하는 세균을 제거하기 위하여 난 소독제로 이용되고 있는 benzalkonium 0.1%로 1분간 소독한 후 멸균 생리 식염수로 3회 세척하여 호모게나이즈하여 검사하였다. 호모게나이즈한 액 중 100 μ l를 pipetting하여 일반배지(BHIA)에 도말하여 인큐베이터에서 배양하였다.

난소와 정소 내에서 세균이 검출됨에 따라 수정 시 세균 감염을 억제하기 위하여 자외선 살균해수와 일반해수를 수정액으로 사용하여 발생율을 비교 시험하였다. 수정 시간은 1분으로 동일하게 적용하였으며, 수정 용기는 멸균 처리된 일회용 100ml 플라스틱 용기를 사용하였다. 수정 후 과도한 정자를 제거하기 위한 세란은 1 l 멸균 비이커에서 5회 30분 가량 실시하여 정자를 제거하였고 멸균 봉으로 저어주면서 수정란의 점착력을 제거하였다. 수정란은 100 μ m 그물망으로 수정란 유실을 방지한 플라스틱 용기에 수용하여 유효수량 270 l FRP 수조에 수용하여 3 l /min 환수하였고, 수온은 자연수온 10 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 발생율은 만능투영기로 3회 측정하였다.

수정 후 세균과 기생충에 의한 수정란의 폐사를 억제하기 위하여 수정 직후, 수정 후 1일, 2일째 oxytetracycline 과 iodine 처리에 따른 발생율 변화를 조사하였다. 발생율은 만능투영기로 조사하였고, 시험구별로 3회 측정하였다.

경과 일수별로 약제 처리는 약제 미처리 수정란 중 정상적인 발생이 이루어지고 있는 것을 선별하여 조사하였다. 약제 처리에 따른 배체 발생 단계는 수정 후 1일째는 상실기, 2일째는 포배기였다.

수정란 및 대구 자어에서 분리된 *V. splendidus* 에 의한 폐사를 예방하기 위해 in vivo에서 oxytetracycline 외 5종의 항생제를 대상으로 96well plate에서 최고 농도 250ppm부터 2 fold로 단계 희석하여 25℃에서 48시간 배양하여 MIC를 조사하였다.

세균 감염경로 파악을 위하여 난소, 정소 및 정자에서 세균을 분리한 결과 일반배지 및 비브리오 선택배지에서 모두 균이 검출되었고, 균 동정 결과 터봇 자어에서 검출된 것으로 보고된(Gatesoupe et al., 1999) *V. splendidus*로 나타났다. 수정액과 정자 및 미수정란의 세균 분리 결과 일반배지에서 $3 \times 10^6/\text{ml} \sim 7 \times 10^6/\text{ml}$ 로 균이 검출되었다.

수정액을 일반해수와 자외선 살균 해수를 사용하여 발생율을 비교한 결과 수정 후 3일째 발생율은 자외선 살균해수 72.3%, 일반해수 52.7%였으며, 수정 후 7일째 40.9%와 25.1%로 자외선 살균해수가 유의적으로 높게 나타났다.

수정 후 경과 일수별로 oxytetracycline과 Iodine을 처리한 결과 수정 직후 처리한 시험구는 7일째 19.8%와 18.9%로 대조구 23.1%와 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 수정 후 1일째 처리한 시험구는 54.5%와 56.8%, 수정 후 2일째 처리구는 47.9%와 50.6%로 두 시험구 모두 대조구와 수정 직후 처리구보다 유의적으로 높게 나타났다.

수정란 및 대구 자어에서 분리된 *V. splendidus* 에 의한 폐사를 예방하기 위해 in vivo에서 항생제 종류별 MIC 조사 결과 oxytetracycline이 0.48ppm으로 가장 효과가 높은 것으로 나타났다.

*Corresponding author: psuf@hanmir.com