

사육조건에 따른 능성어, *Epinephelus septemfasciatus*, 수정란의 난질 및 아미노산 조성

김경민 · 조재권¹ · 박종연¹ · 손맹현² · 박재민³ · 한경호⁴ · 홍창기*

남해수산연구소 양식산업과, ¹국립수산과학원 양식관리과, ²국립수산과학원 수산방역과, ³경상북도 토속어류산업화센터, ⁴전남대학교

Egg Quality and Amino Acid Composition of Fertilized Eggs of Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus* per Farming Condition by Kyong Min Kim, Jae Kwon Cho¹, Jong Youn Park¹, Maeng Hyun Son², Jae Min Park³, Kyeong Ho Han⁴ and Chang Gi Hong* (Southwest Sea Fisheries Research Institute, NIFS, Yeosu 59780, Republic of Korea; ¹Aquaculture Management Division, Aquaculture Research Institute, NIFS, Busan 46083, Republic of Korea; ²Aquatic Disease Control Division, Aquaculture Research Institute, NIFS, Busan 46083, Republic of Korea; ³Gyeongsangbuk-Do Native Fish Business Center, Uiseong 37366, Republic of Korea; ⁴Chonnam National University, 59626, Republic of Korea)

ABSTRACT This study aims to investigate egg quality and amino acid composition of buoyant and non-buoyant eggs and evaluate egg quality of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. Amino acid analysis of eggs was conducted to investigate what elements were necessary for the survival and good quality of egg depending on farming condition and different diet. We analyzed amino acid from buoyant eggs and non-buoyant eggs, farming conditions (tank and sea cage), and different dietary conditions (formulated feed, formulated feed + raw fish-based moist pellets, and raw fish-based moist pellets). Egg quality was the best in a sea cage and when raw fish-based moist pellets (MP) were fed. In addition, egg quality with formulated and MP was better than that with formulated feed. As a result of amino acid analysis of eggs, buoyant eggs were containing more free amino acid than non-buoyant eggs. Also, eggs with MP were containing more free amino acid than those with formulated feed and MP. Eggs with mixed formulated feed and MP were containing more free amino acid than formulated feed. In conclusion, amino acid was helpful to improve egg quality, and egg quality can be controlled by farming conditions and feed.

Key words: Sevenband grouper, egg quality, amino acid, free amino acid

서 론

바리과 (Family Serranidae) 어류는 아시아 지역에서 주로 양식하고 있는 고가의 어종이다 (Kohno *et al.*, 1993; Harikrishnan *et al.*, 2012). 그중 우리나라 및 일본 연안 암반지역에 주로 서식하고 있는 능성어, *Epinephelus septemfasciatus* 는 높은 수요, 뛰어난 맛, 환경에 대한 강한 내성 및 빠른 성장

으로 양식 산업화를 위해 번식생물학, 종묘생산 및 생리학적인 연구가 국내외적으로 진행되고 있다 (Kohno *et al.*, 1993; Lee and Go, 2003; Sakakura *et al.*, 2006; Ruttanap-ornvareesakul *et al.*, 2007; Wullur *et al.*, 2011; Harikrishnan *et al.*, 2012; Hong *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2016).

어류의 종묘생산에 있어 가장 중요한 요소 중 하나는 일시에 다량의 우량 수정란을 확보해야 하는 것이다. 하지만 능성어를 포함한 일부 바리과 어류는 어미의 사육관리 상태와 자성선숙형의 특성으로 인한 성비 불균형 및 산란환경 조성이 어려워 자연산란 유도가 쉽지 않다 (Toledo *et al.*, 1993;

*Corresponding author: Chang Gi Hong Tel: 82-61-690-8982, Fax: 82-61-685-9073, E-mail: ckhong@korea.kr

Okumura *et al.*, 2002). 이러한 이유로 대부분 바리과 어류는 인공수정으로 수정란을 생산하는데 난질 저하로 인하여 부화율이 낮고, 부화 후 대량폐사로 인한 초기 감모가 많다.

어류 양식에서 양질의 수정란을 확보하고 우량한 자어를 생산하는 것은 대량종묘생산을 위해 매우 중요하다. 난질은 현재 자어로 부화하기 위한 난의 잠재력으로 정의되고 있으며 (Kjorsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997), 수정과 부화가 일반적인 지표로 이용되고 있지만 어떤 구성변수가 난질에 관여하는지는 밝혀지지 않았다 (Brooks *et al.*, 1997; Nocillado *et al.*, 2000). 어류난의 생화학적 분석은 초기 영양적 요구에 대한 중요한 정보를 제공한다고 알려져 있다 (Rønnestad *et al.*, 1999). 이런 이유로 최근의 연구들은 난의 생화학적 구성변수와 그것들이 난질을 평가하기 위한 지표로서의 연관성에 초점을 맞추고 있다 (Srivastava and Brown, 1991, 1992, 1993). Czesny *et al.* (2005)는 난의 크기뿐만 아니라 난의 구성요소는 어류의 초기생활에 중요한 영향을 줄 수 있다고 하였는데, 그중 단백질과 아미노산 구성요소는 어류의 번식에 영향을 미친다 (Lanes *et al.*, 2012). 특히, 본 연구에서 분석한 유리 아미노산은 배아와 자어 발달을 위한 중요한 에너지원이며 (Lochmann *et al.*, 2007), 난 발생 단계에서 주요한 대사 에너지원으로 에너지 대사와 단백질 합성을 위한 중요한 기질로서 난의 생존과 관련이 있다고 보고되어 있다 (Finn *et al.*, 1995a, 1995b; Rønnestad *et al.*, 1998; Zhn *et al.*, 2003; Clarke *et al.*, 2010).

따라서 본 연구는 능성어 부상란과 침강란의 아미노산 분석을 통하여 난의 생존에 필요한 요소를 구명하고, 친어의 사육 환경 및 먹이에 따른 난질의 변화를 난의 생화학적 분석을 통하여 난질을 향상시킬 수 있는 성분을 밝혀냄으로서 양질의 난을 대량으로 생산하기 위한 기초자료를 확보하는데 연구 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 인공수정

실험어는 2007년 6월에 전남 여수시 거문도 해역에서 채집하여 해상가두리(7×7×5 m)에서 7년 동안 양성된 자연산 능성어와 거문도 해상가두리에서 2013년 국립수산물과학원 남해수산연구소 육상수조로 이동하여 관리하고 있는 능성어 어미를 이용하였다.

실험은 부상란과 침강란의 생화학적 성분의 차이와 사육 환경에 따른 난질의 변화 및 서로 다른 먹이 공급에 따른 난질의 변화를 분석하기 위하여 2014년 5월부터 각 실험구별로 1일 1회 어체중의 1~2%의 사료를 공급하였다.

실험구는 해상가두리에서 배합사료, 굴 및 크릴 새우를 급여하였으며 관리한 어미에게서 배란을 유도하여 부상란과 침강란의 생화학적 성분의 차이를 분석하였다. 그리고 육상수조와 해상가두리로 나누어 오징어와 전갱이를 급여하며 관리하여 사육환경에 따른 난질의 변화를 분석하였으며, 마지막으로 해상가두리에서 배합사료만 공급한 실험구(EP), 배합사료와 굴 및 크릴새우를 공급한 실험구(EP+MP) 그리고 오징어와 전갱이를 공급한 실험구(MP)로 나누어 서로 다른 먹이를 2개월간 어체중의 2%를 공급하였고 그에 따른 난질의 변화를 분석하였다.

각 실험구별로 암컷 7마리와 수컷 4마리를 선별하며 관리하였으며, 2개월 후 암·수 어미에게 LHRHa (des-Gly¹⁰, D-Ala⁶; Sigma Co., USA)를 100 µg/kg의 농도로 제1극조 하부의 등근육에 주사하고 48시간 경과 후 인위적으로 복부압박법으로 채란·채정하였다. 수컷에서 채정한 정자들은 4°C에서 보관하며 각각의 암컷에서 채란한 난과 건식법으로 수정시켰다.

2. 샘플링 및 측정

인공 수정시킨 수정란은 실험구별로 각 50 mL씩 아미노산 분석을 위하여 샘플링하였고, 부상란과 침강란의 생화학적 성분을 비교하기 위해 침강란을 50 mL 샘플링하였다. 그리고 각 실험구별로 생산된 수정란은 수조로 옮겨 부상물, 수정물, 발생물 및 부화율을 조사하였고, 30개체씩 샘플링하여 입체현미경 (Olympus CX41, Japan)을 이용하여 난경과 유구의 크기를 측정하였다.

3. 아미노산 분석

18 mL test tube에 난 0.5 g과 6 N HCl 3 mL를 감압 밀봉(질소가스 충전)한 후 120°C로 setting된 heating block에 24시간 이상 동안 가수분해 시켰다. 가수분해가 끝난 시료는 50°C에서 rotary evaporater로 산을 제거한 후 Sodium dilution buffer로 10 mL 정용한 다음, 이중 1 mL를 채취하여 membrane filter 0.2 µm로 여과시켜 아미노산 자동분석기(S433-H)로 정량 분석하였다.

4. 유리아미노산 분석

난 10 mL에 sulfosalicylic acid 0.2 g을 첨가 하여 4°C에서 1시간 방치하였다. 방치가 끝난 시료는 0.2 µm membrane filter로 여과하고 이중 1 mL을 lithium citrate buffer (0.12 N, pH 2.2)와 혼합하여 10배 희석한 후 그중 1 mL을 취하여 아미노산 자동분석기 automated amino acid analyzer (Sykam GmbH, Germany)를 이용하여 정량 분석하였다.

Table 1. Measurement of *E. septemfasciatus* eggs and oil globule on buoyant and non-buoyant eggs

	TL (cm)	BW (kg)	Egg diameter (μm)	Oil globule diameter (μm)
Buoyant eggs			841.99 ± 11.48	188.58 ± 9.61
Non-buoyant eggs	70.43 ± 3.60	6.87 ± 0.92	860.67 ± 44.29	201.68 ± 13.93

Each value represents mean ± S.D. (n = 30 of each). TL: total length, BW: body weight

Table 2. Amino acid composition of *E. septemfasciatus* buoyant and non-buoyant eggs (ppm)

Amino acid	Buoyant eggs	Non-buoyant eggs
aspartic acid	267.06 ± 3.87	220.73 ± 2.47
threonine*	202.10 ± 3.80	161.03 ± 1.63
serine	232.23 ± 3.42	151.25 ± 2.14
glutamic acid	491.32 ± 8.42	412.13 ± 5.68
proline	235.96 ± 9.35	222.59 ± 1.01
glycine	128.28 ± 3.22	112.92 ± 1.54
alanine	256.23 ± 2.66	211.83 ± 3.23
valine	239.90 ± 2.49	198.10 ± 1.63
methionine*	103.40 ± 2.58	81.82 ± 1.25
isoleucine*	217.77 ± 3.27	164.64 ± 1.07
leucine*	356.44 ± 3.82	278.56 ± 3.54
tyrosine	179.52 ± 12.81	169.14 ± 2.20
phenylalanine*	147.54 ± 2.27	134.84 ± 0.89
histidine*	121.03 ± 0.99	95.29 ± 0.57
lysine*	320.73 ± 7.13	216.99 ± 2.99
arginine*	197.14 ± 4.82	150.39 ± 2.31
Essential amino acid	1,506.80 ± 19.72	1,170.25 ± 9.84
Non-essential amino acid	2,189.86 ± 34.32	1,812.02 ± 20.23
Total	3,696.66 ± 50.69	2,982.27 ± 29.33

*: essential amino acid, Each value represents mean ± S.D.

5. 통계분석

본 실험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 분석은 SPSS 통계프로그램 (ver. 18.0)을 사용하여 one way-ANOVA test를 통해 Duncan's multiple range test로 평균값 간의 유의성을 검정하였다 ($P < 0.05$).

결 과

1. 부상란과 침강란의 외부 형태 및 아미노산 조성

능성어 난의 외부 형태는 원형의 분리부상란으로 부상란과 침강란의 외부 형태는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P < 0.05$). 난경의 크기는 부상란의 경우는 841.99 ± 11.48 μm (818.73 ~ 856.94 μm)였고, 침강란의 경우 860.67 ± 44.29 μm (799.40 ~ 920.24 μm)로 침강란의 난경의 크기가 더 컸다. 유구의 크기는 부상란의 경우는 188.58 ± 9.61 μm (176.26 ~ 211.16 μm)였고, 침강란의 경우는 201.68 ± 13.93 μm (180.84 ~ 233.45 μm)로

Table 3. Free amino acid composition of *E. septemfasciatus* buoyant and non-buoyant eggs (mg/100 g)

Free amino acid	Buoyant eggs	Non-buoyant eggs
phosphoserine	5.10 ± 0.10	0.52 ± 0.03
taurine	25.48 ± 0.37	2.45 ± 0.05
phosphoethanolamine	3.44 ± 0.19	N. D.
aspartic acid	19.20 ± 0.15	1.84 ± 0.09
threonine*	69.08 ± 0.80	15.54 ± 0.19
serine	106.33 ± 0.78	18.71 ± 0.19
glutamic acid	66.47 ± 1.14	13.98 ± 0.11
sarcosine	N. D.	1.22 ± 0.09
proline	56.43 ± 1.40	10.83 ± 0.49
glycine	29.26 ± 0.29	6.12 ± 0.06
alanine	100.53 ± 1.37	23.45 ± 0.23
α-aminobutyric acid	0.63 ± 0.05	N. D.
valine	82.71 ± 0.74	20.33 ± 0.24
cystine	N. D.	0.94 ± 0.17
methionine*	36.93 ± 0.57	N. D.
isoleucine*	0.42 ± 0.04	7.24 ± 0.30
leucine*	91.58 ± 1.68	22.53 ± 0.30
tyrosine	179.07 ± 2.92	42.93 ± 0.58
phenylalanine*	42.94 ± 0.38	10.19 ± 0.16
β-alanine	20.31 ± 0.31	4.45 ± 0.02
anserine	5.02 ± 6.15	1.44 ± 1.22
ornitine	2.76 ± 0.13	1.31 ± 0.09
lysine*	112.22 ± 2.91	11.33 ± 0.11
arginine*	71.30 ± 2.29	5.88 ± 0.34
Essential amino acid	424.47 ± 7.47	72.71 ± 0.40
Non-essential amino acid	702.74 ± 8.45	150.52 ± 1.32
Total	1,127.21 ± 18.28	223.23 ± 1.87

*: essential amino acid, N. D.: No detected. Each value represents mean ± S.D.

역시 침강란이 더 컸다 (Table 1).

부상란과 침강란의 아미노산을 분석한 결과 glutamic acid가 각각 491.32 ± 8.42 ppm과 412.13 ± 5.86 ppm으로 가장 많이 포함되어 있었으며, methionine은 각각 103.40 ± 2.58 ppm과 81.82 ± 1.25 ppm으로 가장 적게 포함되어 있었다. 전체적인 아미노산 함량은 부상란이 3,696.66 ± 50.69 ppm, 침강란이 2,982.27 ± 29.33 ppm으로 부상란이 침강란 보다 많이 포함하고 있었다 (Table 2).

유리아미노산을 분석한 결과 부상란은 tyrosine을 179.07 ± 2.92 mg/100 g으로 가장 많이 포함되어 있었고, isoleucine을 0.42 ± 0.04 mg/100 g로 가장 적게 포함되어 있었다. 총 유리아미노산의 양은 1,127.21 ± 18.28 mg/100 g이었고, 이중 필수아미노산은 424.47 ± 7.47 mg/100 g, 비필수아미노산은 702.74 ±

Table 4. Measurement of *E. septemfasciatus* eggs and oil globule on farming tank and sea cage

	Sex	TL (cm)	BW (kg)	Eggs diameter (μm)	Oil globules diameter (μm)
Tank	Male	73.13 ± 0.48	8.00 ± 0.41	827.24 ± 20.59	174.00 ± 9.93
	Female	69.43 ± 3.05	6.53 ± 0.47		
Sea cage	Male	72.25 ± 1.55	7.63 ± 0.48	865.09 ± 23.90	199.53 ± 9.28
	Female	71.43 ± 4.76	6.99 ± 0.47		

Each value represents mean ± S.D. (n = 30 of each). TL: total length, BW: body weight

Table 5. Percentage of buoyant rate, fertilization rate, embryonic survival, and hatching rate of *E. septemfasciatus* eggs on farming condition

	Buoyant rate	Fertilization rate	Embryonic survival rate	Hatching rate
Tank	13.51 ± 0.33	53.92 ± 2.47	33.33 ± 4.08	36.67 ± 7.45
Sea cage	98.50 ± 0.04	94.68 ± 0.14	96.47 ± 0.37	94.35 ± 0.28

Each value represents mean ± S.D. (%).

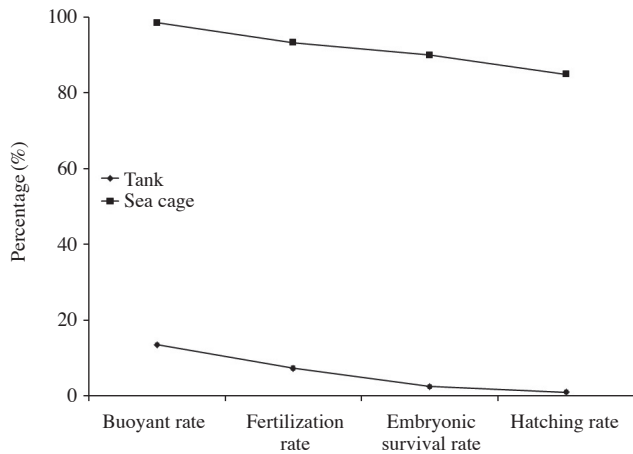


Fig. 1. Changes of from initial accommodate eggs to hatching of *E. septemfasciatus* eggs on farming condition (supply squid and horse mackerel).

8.45 mg/100 g을 포함하고 있었다 (Table 3). 그리고 칩강란 역시 tyrosine을 42.93 ± 0.58 mg/100 g으로 가장 많이 포함되어 있었고, phosphoserin은 0.52 ± 0.03 mg/100 g으로 가장 적게 포함되어 있었다. 총 유리아미노산의 양은 223.23 ± 1.87 mg/100 g이었고, 이중 필수아미노산은 72.71 ± 0.40 mg/100 g, 비필수아미노산은 150.52 ± 1.32 mg/100 g으로 부상란이 칩강란에 비해 약 5배 많은 유리아미노산을 포함하고 있었다 (Table 3).

2. 사육환경에 따른 난질의 변화

육상수조와 해상가두리에서 생산한 수정란의 난경과 유구의 크기는 육상수조의 경우 난경이 827.24 ± 20.59 μm (802.03 ~ 856.78 μm), 유구는 174.00 ± 9.93 μm (151.91 ~ 183.19 μm)였

Table 6. Amino acid composition of *E. septemfasciatus* eggs on farming tank and sea cage (ppm)

Amino acid	Tank	Sea cage
aspartic acid	228.43 ± 4.95	138.69
threonine*	163.41 ± 2.67	108.53 ± 4.56
serine	179.62 ± 2.42	144.30 ± 11.58
glutamic acid	415.51 ± 6.71	259.62 ± 3.96
proline	218.45 ± 20.62	106.88 ± 11.83
glycine	111.25 ± 2.57	65.20 ± 0.63
alanine	206.67 ± 3.79	139.63 ± 7.50
valine	193.00 ± 3.19	141.19 ± 7.12
methionine*	81.86 ± 0.80	59.20 ± 0.80
isoleucine*	165.00 ± 3.18	138.92 ± 9.83
leucine*	282.51 ± 4.96	211.15 ± 11.11
tyrosine	164.60 ± 2.62	91.45 ± 4.42
phenylalanine*	126.69 ± 2.50	73.98 ± 1.10
histidine*	100.69 ± 1.97	69.04 ± 3.04
lysine*	247.48 ± 4.45	187.70 ± 13.54
arginine*	163.36 ± 3.02	112.64 ± 4.27
Essential amino acid	1,197.23 ± 18.06	883.19 ± 44.33
Non-essential amino acid	1,851.30 ± 48.77	1,166.92 ± 15.07
Total	3,048.53 ± 65.79	2,050.11 ± 59.40

*: essential amino acid. Each value represents mean ± S.D.

으며, 해상가두리의 경우 난경이 865.09 ± 23.90 μm (828.51 ~ 896.27 μm), 유구는 199.53 ± 9.28 μm (184.85 ~ 215.36 μm)로 해상가두리에서 생산한 수정란의 난경과 유구의 크기가 더 컸다 (Table 4).

각 실험구별 수정란의 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율을 조사한 결과 해상가두리에서 생산된 수정란이 각각 98.50 ± 0.04%, 94.68 ± 0.14%, 96.47 ± 0.37%, 94.35 ± 0.28%로 육상수조에서 관리한 실험구의 수정란보다 우수하였다 (Table 5). 또한 최종 부화율은 육상수조에서 생산된 수정란의 경우 0.91 ± 0.34%만이 부화에 성공한 반면에 해상가두리에서 관리한 실

험구의 수정란은 74.47±0.33%가 부화에 성공하였다(Fig. 1). 아미노산 분석 결과 glutamic acid의 경우 육상수조와 해

Table 7. Free amino acid composition of *E. septemfasciatus* eggs on farming tank and sea cage (mg/100 g)

Free amino acid	Tank	Sea cage
phosphoserine	3.24±0.18	3.80±0.47
taurine	20.12±0.36	40.95±1.86
phosphoethanolamine	N. D.	2.50±0.22
aspartic acid	8.81±0.29	18.40±0.75
threonine*	34.27±1.33	61.27±2.51
serine	57.12±2.12	99.48±3.15
asparagine	28.70±3.16	43.99±1.13
glutamic acid	34.08±1.18	65.64±1.36
α-aminoadipic acid	0.55±0.26	1.19±0.20
proline	29.52±2.51	47.03±15.32
glycine	14.44±0.60	26.93±1.15
alanine	52.97±1.06	N. D.
citrulline	N. D.	167.86±7.15
α-aminobutyric acid	N. D.	0.50±0.07
valine*	45.78±2.01	82.95±3.27
methionine*	18.35±0.70	35.55±1.07
leucine*	50.18±2.14	90.85±3.27
tyrosine	97.24±4.04	176.39±6.96
phenylalanine*	22.87±1.03	40.74±1.64
β-alanine	10.16±0.39	18.79±0.32
1-methylhistidine	18.44±1.15	32.36±1.25
anserine	2.02±3.12	3.08±4.11
ornitine	1.11±0.14	2.11±0.17
lysine*	66.74±4.90	111.00±6.74
ethanolamine	4.13±2.35	3.01±1.62
arginine*	37.45±0.81	76.00±11.63
Essential amino acid	275.64±10.40	498.36±21.30
Non-essential amino acid	382.62±11.88	754.01±33.41
Total	658.26±26.94	1,252.37±77.37

*: essential amino acid, N. D.: No detected. Each value represents mean ± S.D.

상가두리에서 관리한 실험구에서 각각 415.51±6.71 ppm, 259.62±3.96 ppm으로 가장 많은 포함하고 있었으며, methionine은 육상수조 81.86±0.80 ppm, 해상가두리 59.20±0.80 ppm으로 가장 적게 포함되어 있었다. 총 아미노산 함량은 육상수조에서 생산한 수정란은 3,048.53±65.79 ppm이 포함되어 있었고, 이중 필수아미노산은 1,197.23±18.06 ppm, 비필수아미노산은 1,851.30±48.77 ppm이 포함되어 있었다. 해상가두리에서 생산한 수정란의 경우는 2,050.11±59.40 ppm이 포함되어 있었고, 이중 필수아미노산은 883.19±44.33 ppm, 비필수아미노산은 1,166.92±15.07 ppm이 포함되어 있었다 (Table 6).

유리아미노산을 분석한 결과 tyrosine의 경우 육상수조와 해상가두리가 각각 97.24±4.04 mg/100 g과 176.39±6.96 mg/100 g으로 가장 많이 포함되어 있었고, 육상수조에서 생산한 수정란은 α-aminoadipic acid가 0.55±0.26 mg/100 g으로 가장 적게 포함되어 있었으며 해상가두리에서 생산한 수정란은 α-aminobutyric acid를 0.50±0.07 mg/100 g으로 가장 적게 포함되어 있었다. 총 유리아미노산의 양은 육상수조 실험구가 685.26±26.94 mg/100 g, 해상가두리 실험구가 1,252.37±77.39 mg/100 g로 해상가두리에서 생산한 수정란에 약 2배가량 많은 유리 아미노산이 포함되어 있었고, 필수아미노산과 비필수아미노산 역시 해상가두리에서 생산한 수정란에 약 2배 많이 포함되어 있었다(Table 7).

3. 서로 다른 먹이공급에 따른 난질의 변화

서로 다른 먹이 공급에 따른 난의 특징을 살펴보면 EP 실험구의 경우는 난경의 크기가 846.57±12.92 μm(825.05~873.66 μm), 유구의 크기는 191.08±5.72 μm(180.51~197.75 μm)였

Table 8. Measurement of *E. septemfasciatus* eggs and oil globule on difference feeding

	Sex	TL (cm)	BW (kg)	Eggs diameter (μm)	Oil globules diameter (μm)
EP	Male	72.88±1.25	7.88±0.63	846.57±12.92 ^a	191.08±5.72 ^a
	Female	71.14±2.73	6.48±0.40		
EP + MP	Male	72.63±0.85	7.75±0.50	841.99±11.48 ^a	188.58±9.61 ^a
	Female	70.43±3.60	6.87±0.92		
MP	Male	72.25±1.55	7.63±0.48	865.09±23.90 ^b	199.53±9.28 ^b
	Female	71.43±4.76	6.99±0.47		

Each value represents mean ± S.D. (n=30 of each). EP: Supply formulated feed, EP+MP: Supply formulated feed, oyster, and krill, MP: Supply squid and horse mackerel. Different letters are significantly different (P<0.05).

Table 9. Percentage of buoyant rate, fertilization rate, embryonic survival, and hatching rate of *E. septemfasciatus* eggs on difference feeding.

	Buoyant rate	Fertilization rate	Embryonic survival rate	Hatching rate
EP	98.78±0.41	85.03±0.55	92.01±0.42	82.85±0.49
EP + MP	99.25±0.03	88.60±0.23	93.13±0.24	93.01±0.33
MP	98.50±0.04	94.68±0.14	96.47±0.37	94.35±0.28

Each value represents mean ± S.D. (%). EP: Supply formulated feed, EP + MP: Supply formulated feed, oyster, and krill, MP: Supply squid and horse mackerel.

고, EP+MP 실험구의 경우는 난정의 크기가 $841.99 \pm 11.48 \mu\text{m}$ ($818.73 \sim 856.94 \mu\text{m}$), 유구의 크기는 $188.58 \pm 9.61 \mu\text{m}$ ($176.26 \sim 211.16 \mu\text{m}$)였으며, 마지막으로 MP 경우는 난정의 크기가 $865.09 \pm 23.90 \mu\text{m}$ ($828.51 \sim 896.27 \mu\text{m}$), 유구의 크기는 $199.53 \pm 9.28 \mu\text{m}$ ($184.85 \sim 215.36 \mu\text{m}$)로 MP 실험구가 난경과 유구의 크기가 유의적으로 컸고, EP+MP 실험구의 난경과 유구의 크기가 가장 작았지만 EP 실험구와 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 8).

각 실험구별 수정란의 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율을 조사한 결과 EP 실험구의 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율

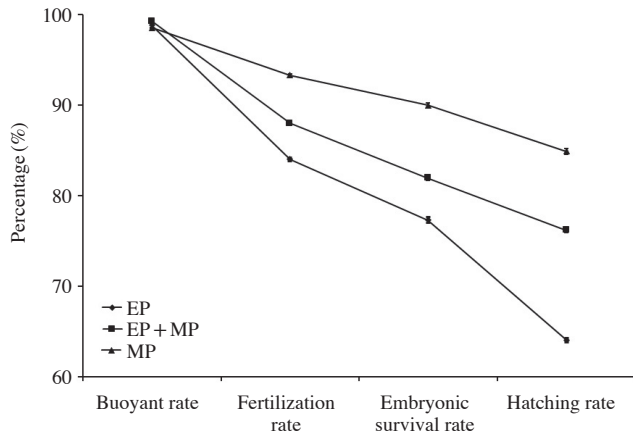


Fig. 2. Changes of from initial accommodate eggs to hatching of *E. septemfasciatus* eggs on difference feeding. EP: Supply formulated feed, EP+MP: Supply formulated feed, oyster, and krill, MP: Supply squid and horse mackerel.

이 각각 $98.78 \pm 0.41\%$, $85.03 \pm 0.55\%$, $92.01 \pm 0.42\%$, $82.85 \pm 0.49\%$ 로 가장 낮았으며, MP 실험구의 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율이 각각 $98.50 \pm 0.04\%$, $94.68 \pm 0.14\%$, $96.47 \pm 0.37\%$, $94.35 \pm 0.28\%$ 로 대체로 우수했다(Table 9). 또한 최종 부화율은 MP 실험구가 $84.88 \pm 0.32\%$ 로 EP 실험구 ($64.03 \pm 0.26\%$)와 EP+MP 실험구 ($76.17 \pm 0.24\%$)와 비교하였을 때 난질이 가장 우수하였다(Fig. 2).

서로 다른 사료를 공급하며 관리한 후 생산한 수정란의 아미노산을 분석한 결과 EP, EP+MP, MP 실험구 모두 glutamic acid가 각각 $499.52 \pm 15.71 \text{ ppm}$, $491.32 \pm 8.42 \text{ ppm}$, $259.62 \pm 3.96 \text{ ppm}$ 으로 가장 많이 포함되어 있었으며, methionine은 각각 $106.90 \pm 3.36 \text{ ppm}$, $103.40 \pm 2.58 \text{ ppm}$, $59.20 \pm 0.80 \text{ ppm}$ 으로 가장 적게 포함되어 있었다. 전체적인 아미노산 함량은 EP 실험구가 $3,754.68 \pm 100.24 \text{ ppm}$ 으로 EP+MP 실험구와 MP 실험구에 비해 유의적으로 많이 포함되어 있었으며, MP 실험구가 $2,050.11 \pm 59.40 \text{ ppm}$ 으로 가장 적게 포함하고 있었다 (Table 10).

각 실험구별 유리아미노산을 분석한 결과 EP 실험구, EP+MP 실험구, MP 실험구 모두 tyrosine 함유량이 각각 $142.22 \pm 1.96 \text{ mg/100 g}$, $179.07 \pm 2.92 \text{ mg/100 g}$, $176.39 \pm 6.96 \text{ mg/100 g}$ 으로 가장 많이 포함되어 있었고, EP 실험구는 cystine ($0.47 \pm 0.07 \text{ mg/100 g}$), EP+MP 실험구는 isoleucine ($0.42 \pm 0.04 \text{ mg/100 g}$) 그리고 MP 실험구는 α -aminobutyric acid ($0.50 \pm 0.07 \text{ mg/100 g}$)을 가장 적게 포함되어 있었다. 총 유리아미노산의 양은 EP 실험구가 $989.03 \pm 18.64 \text{ mg/100 g}$, EP+MP 실험구가 $1,226.45 \pm 18.28 \text{ mg/100 g}$ 그리고 MP 실험구가

Table 10. Amino acid composition of *E. septemfasciatus* eggs on difference feeding (ppm)

Amino acid	EP	EP+MP	MP
aspartic acid	273.64 ± 8.74^b	267.06 ± 3.87^b	138.69 ± 0.08^a
threonine	204.70 ± 5.90^b	202.10 ± 3.80^b	108.53 ± 4.56^a
serine	224.28 ± 6.65^b	232.23 ± 3.42^b	144.30 ± 11.58^a
glutamic acid	499.52 ± 15.71^b	491.32 ± 8.42^b	259.62 ± 3.96^a
proline	238.56 ± 2.41^b	235.96 ± 9.35^b	106.88 ± 11.83^a
glycine	134.98 ± 4.30^b	128.28 ± 3.22^b	65.20 ± 0.63^a
alanine	257.54 ± 9.07^b	256.23 ± 2.66^b	139.63 ± 7.50^a
valine*	244.46 ± 7.15^b	239.90 ± 2.49^b	141.19 ± 7.12^a
methionine*	106.90 ± 3.36^b	103.40 ± 2.58^b	59.20 ± 0.80^a
isoleucine*	218.32 ± 5.51^b	217.77 ± 3.27^b	138.92 ± 9.83^a
leucine*	360.33 ± 9.81^b	356.44 ± 3.82^b	211.15 ± 11.11^a
tyrosine	192.14 ± 5.20^b	179.52 ± 12.81^b	91.45 ± 4.42^a
phenylalanine*	151.52 ± 4.94^b	147.54 ± 2.27^b	73.98 ± 1.10^a
histidine*	122.18 ± 3.84^b	121.03 ± 0.99^b	69.04 ± 3.04^a
lysine*	320.75 ± 8.23^b	320.73 ± 7.13^b	189.70 ± 13.54^a
arginine	204.86 ± 5.59^b	197.14 ± 4.82^b	112.64 ± 4.27^a
Essential amino acid	$1,524.47 \pm 41.47^b$	$1,506.80 \pm 19.72^b$	883.19 ± 44.33^a
Non-essential amino acid	$2,230.21 \pm 58.93^b$	$2,189.86 \pm 34.32^b$	$1,166.92 \pm 15.07^a$
Total	$3,754.68 \pm 100.24^b$	$3,696.66 \pm 50.69^b$	$2,050.11 \pm 59.40^a$

*: essential amino acid, N. D.: No detected. EP: Supply formulated feed, EP+MP: Supply formulated feed, oyster, and krill, MP: Supply squid and horse mackerel. Different letters are significantly different ($P < 0.05$).

Table 11. Free amino acid composition of *E. septemfasciatus* eggs on difference feeding (mg/100 g)

Free amino acid	EP	EP + MP	MP
phosphoserine	0.97 ± 0.12 ^a	5.10 ± 0.10 ^c	3.80 ± 0.47 ^b
taurine	19.96 ± 0.03 ^a	25.48 ± 0.37 ^b	40.95 ± 1.85 ^c
phosphoethanolamine	1.95 ± 0.09 ^a	3.36 ± 0.19 ^c	2.51 ± 0.22 ^b
urea	N. D.	0.94 ± 1.08	N. D.
aspartic acid	15.44 ± 0.23 ^a	19.20 ± 0.15 ^b	18.40 ± 0.75 ^b
threonine*	51.58 ± 0.76 ^a	67.08 ± 0.80 ^c	61.27 ± 2.51 ^b
serine	78.25 ± 1.26 ^a	106.33 ± 0.78 ^c	99.48 ± 3.15 ^b
asparagine	33.33 ± 3.17 ^a	49.62 ± 2.20 ^b	43.99 ± 1.14 ^b
glutamic acid	47.72 ± 0.92 ^a	66.47 ± 1.14 ^b	65.64 ± 1.36 ^b
α-aminoadipic acid	1.23 ± 0.22 ^a	2.48 ± 0.21 ^b	1.19 ± 0.20 ^a
proline	41.51 ± 3.62 ^a	56.43 ± 1.40 ^a	47.04 ± 15.32 ^a
glycine	21.22 ± 0.32 ^a	29.26 ± 0.29 ^c	26.93 ± 1.15 ^b
alanine	N. D.	100.53 ± 1.37	N. D.
citrulline	132.31 ± 1.60 ^a	N. D.	167.86 ± 7.15 ^b
α-aminobutyric acid	0.66 ± 0.07 ^a	0.60 ± 0.04 ^a	0.50 ± 0.07 ^a
valine*	67.50 ± 1.34 ^a	82.71 ± 0.74 ^b	82.95 ± 3.27 ^b
cystine	0.47 ± 0.07	N. D.	N. D.
methionine*	29.56 ± 0.43 ^a	36.93 ± 0.57 ^b	35.56 ± 1.07 ^b
isoleucine*	0.67 ± 0.02 ^b	0.42 ± 0.04 ^a	N. D.
leucine*	72.28 ± 1.00 ^a	91.58 ± 1.68 ^b	90.85 ± 3.27 ^b
tyrosine	142.22 ± 1.96 ^a	179.07 ± 2.92 ^b	176.40 ± 6.95 ^b
phenylalanine*	34.97 ± 0.63 ^a	42.94 ± 0.38 ^b	40.74 ± 1.64 ^b
β-alanine	16.01 ± 0.27 ^a	20.31 ± 0.31 ^c	18.79 ± 0.32 ^b
1-methylhistidine	23.74 ± 0.30 ^a	34.47 ± 0.49 ^c	32.36 ± 1.24 ^b
anserine	7.08 ± 0.30 ^a	5.02 ± 6.15 ^a	3.08 ± 4.11 ^a
ornitine	1.91 ± 0.11 ^a	2.76 ± 0.13 ^b	2.11 ± 0.17 ^a
lysine*	83.44 ± 1.27 ^a	112.22 ± 2.91 ^b	111.00 ± 6.74 ^b
ethanolamine	8.78 ± 0.30 ^b	2.96 ± 0.25 ^a	3.01 ± 1.62 ^a
arginine*	54.26 ± 1.57 ^a	71.30 ± 2.29 ^b	76.00 ± 11.63 ^b
Essential amino acid	394.27 ± 6.32 ^a	507.16 ± 9.15 ^b	498.36 ± 30.12 ^b
Non-essential amino acid	594.75 ± 12.33 ^a	719.29 ± 10.35 ^b	754.01 ± 47.25 ^b
Total	989.03 ± 18.64 ^a	1,226.45 ± 18.28 ^b	1,252.37 ± 77.37 ^b

*: essential amino acid, N. D.: No detected. EP: Supply formulated feed, EP + MP: Supply formulated feed, oyster, and krill, MP: Supply squid and horse mackerel. Different letters are significantly different ($P < 0.05$).

1,252.37 ± 77.37 mg/100 g으로 MP 실험구와 EP + MP 실험구와 함께 유리아미노산 함유량이 유의적으로 많았다(Table 11).

고 찰

단일개체 또는 동일계군 내에서 비교적 난경이 클수록 난질이 우수하다고 평가하고 있으며 (Hoar, 1969; Hur *et al.*, 2011), 난의 크기, 중량 및 형태가 부화와 관련된 지표로서 사용되고 있다 (Kjorsvid *et al.*, 1990; Shields *et al.*, 1997). 그러나 Vallin and Nissling (1998), Rani (2005)은 비정상적인 난할구의 형태는 발생 초기단계에서 바로 잡을 수 있고, 정상적인 자어로 부화할 수 있기 때문에 난의 형태는 난 발생 단계 및 부화와 관련이 없다고 결론을 내렸고, Mejri *et al.* (2014) 역시 난의 크기와 생존 또는 부화 사이에는 관계가 없었다고 보고하였다.

본 연구에서는 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율로 난질을

평가한 결과 MP 실험구 암컷의 난의 가장 우수하다고 할 수 있고 그 다음으로 EP + MP 실험구 암컷의 난, EP 실험구 암컷의 난의 순서로 난질의 순서를 매길 수 있으며, 해상가두리에서 관리하는 것이 육상수조에서 관리하는 것보다 우수한 난질의 수정란을 얻을 수 있었다. 그리고 난질이 가장 우수했던 MP 실험구의 난경과 유구의 크기가 가장 컸지만 EP 실험구보다 난질이 우수했던 EP + MP 실험구는 난경과 유구의 크기가 오히려 더 작았다. 본 연구에서 난경과 유구의 크기는 난질보다는 어미의 크기와 연관성을 보였으며 (Tables 1, 4, 8), Mejri *et al.* (2014), Rani (2005), Vallin and Nissling (1998)의 연구결과와 같이 난의 크기와 난질은 관련이 없는 것으로 사료된다. 따라서 능성어의 경우 난경과 유구의 크기는 난질과는 연관성이 없고, 오히려 어미의 개체크기와 상관관계가 있는 것으로 생각된다. 해상가두리, EP, EP + MP, MP 실험구의 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율은 약 80% 이상으로 수정란의 대부분이 부화하였지만, 육상수조 실험구는 부상률도 낮았고, 수

정 후 난 발생단계에서 대부분의 난이 침강하여 일부만 부화하였다. 특히, 해상가두리에서 사육한 MP 실험구와 비교하였을 때, 같은 생사료만을 공급하였지만 부상률, 수정률, 발생률 및 부화율의 차이가 많은 것으로 보아 육상수조에서 사육 시 먹이의 종류와는 상관없이 난질이 저하되는 것으로 사료된다 (Tables 5, 9).

최근 난질 평가 기준이 난의 크기보다는 난 내에 함유되어 있는 생화학적 조성 (Watanabe *et al.*, 1984; Fraser *et al.*, 1987; Tomas *et al.*, 2005), 특히 조단백질과 아미노산 조성 (Whyte, 1987; His and Maurer, 1988; Whyte *et al.*, 1990) 그리고 조지질 및 지방산의 조성 (Holland and Spencer, 1973; Waldock and Nasciminto, 1979) 등이 난질을 결정하는 중요한 지표로 보고되고 있다 (Ringo *et al.*, 1987; Sargent *et al.*, 1989). 이들 대부분의 연구자들은 난 발생 단계 동안 조직구성 및 필요 시 에너지원으로 이용되는 단백질과 아미노산, 조지질 특히 불포화지방산과 다불포화지방산의 함량이 높을수록 난질이 우수하다고 평가하고 있다 (Hur *et al.*, 2011). 또한 부유난의 유리아미노산은 난 발생 단계 동안 호기성 에너지를 위한 주요 기질로 제공된다는 (Fyhn, 1990; Rønnestad and Fyhn, 1993; Rønnestad *et al.*, 1999) 연구 결과가 있었고, 유리아미노산은 난의 발달동안 주요 에너지원이고 또한 난모 세포가 최종적으로 성숙하는 동안 난의 수화작용과 이후 난의 부력을 규제하는 삼투활성 화합물이라고 밝혀졌다 (Rønnestad *et al.*, 1994, 1998). 이외에도 유리아미노산은 경골어류에서 난 발생 동안 주요한 에너지원이라는 연구 결과가 있었다 (Fyhn and Serigstad, 1987; Rønnestad *et al.*, 1992; Sivaloganathan *et al.*, 1998). Seoka *et al.* (2003)은 높은 수분과 유리아미노산 함유량은 부상을 위해 필요하다고 하였는데 이번 연구의 결과에서도 부상란과 침강란의 가장 큰 차이는 유리아미노산의 함유량이 밝혀졌고, 유리아미노산의 함유량이 대체로 많은 난의 부상률이 우수한 결과를 얻었다. 유리아미노산의 구성성분 중 tyrosine은 모든 그룹의 난에서 가장 많이 함유하고 있는 성분이었다고, sarcocine는 침강란에서만 검출되었다. 특히 asparagine, α -aminoadipic acid, methionine는 부상란에서만 검출되었다. 따라서 이 세가지 성분이 능성어란의 부상과 보다 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다. 그리고 phosphoethanolamine, α -aminobutyric acid는 부상률, 수정률, 발생률, 부화율로 난질을 판단하였을 때, 난질이 우수한 그룹인 해상가두리에서 사육한 어미의 난에서만 검출된 것으로 보아 난 발생 단계동안 주요한 역할에 관여하고 있는 성분으로 사료된다.

Morehead *et al.* (2001)은 난의 생화학적 구성은 난질의 지표로 종종 이용되지만 생화학적 구성과 난질 사이의 관계를 해석하는 것은 어렵다고 하였다. 이처럼 이번 결과에 의해 asparagine, α -aminoadipic acid, methionine는 부상과 관련이

있고, phosphoethanolamine, α -aminobutyric acid는 난질과 관련이 있다고 사료되지만, 보다 정확한 해석을 위해서는 위의 성분들에 대한 연구와 사육환경이 난의 아미노산 또는 유리아미노산의 구성에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 추가적으로 수행되어야 한다.

결론적으로 Whyte (1987), Whyte *et al.* (1990), His and Maurer (1988)의 연구결과와 동일하게 아미노산 조성이 부화에 영향을 주었으며, 특히 유리아미노산의 함유량이 난질에 큰 영향을 주는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구결과를 통해 난질을 결정하는 것은 난의 크기보다는 생화학 성분 특히, 유리아미노산의 함유량에 따라서 난질이 변화하고 있으며, 이는 사육 환경 및 공급하는 먹이에 의해서 조절이 가능하다고 사료된다.

요 약

본 연구는 능성어 부상란과 침강란의 아미노산 분석을 통하여 난의 생존에 필요한 요소를 구명하고, 사육환경 및 먹이에 따른 난질의 변화를 난의 생화학적 분석을 통하여 난질에 영향을 미칠수 있는 요소를 구명하기 위하여 수행하였다. 그 결과 육상수조에서 사육하는 것보다 해상가두리에서 사육할 때 난질이 우수하였고, 서로 다른 먹이를 공급한 후 배란을 유도하여 난의 특징을 조사하였다. 그 결과 배합사료만 공급하거나 배합사료와 생사료를 혼합급이한 것보다는 생사료만을 급이한 어미에게서 우수한 수정란을 얻을 수 있었다. 그리고 부상란과 침강란의 아미노산을 분석한 결과 부상란에서 유리아미노산의 함유량이 높았으며, 배합사료만 급이하거나 배합사료와 생사료를 혼합 급이한 경우 보다는 생사료만을 공급한 경우 수정란의 유리아미노산의 함유량이 높았다. 즉, 난질이 우수할수록 유리아미노산의 함유량이 높았다.

사 사

이 논문은 2016년도 국립수산물과학원 수산과학연구사업 “전북 가두리 양식 생산상 향상 및 표준화 연구 (R2016006)”의 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Brooks, S., C.R. Tyler and J.P. Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev. Fish Biol. Fish.*, 7: 387-416.
- Clarke, M., C.C. Parrish and R.W. Penney. 2010. Free amino acids as an indicator of egg viability in Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *Bull. Aquac. Assoc. Can.*, 108: 6-9.

- Czesny, S., J. Rinchar and K. Dabrowski. 2005. Intrapopulation variation in egg lipid and fatty acid composition and embryo viability in a naturally spawning walleye population from an inland reservoir. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 25: 122-129.
- Finn, R.N., H.J. Fyhn and M.S. Evjen. 1995a. Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). I. Respiration and nitrogen metabolism. *Mar. Biol.*, 124: 355-369.
- Finn, R.N., J.R. Henderson and H.J. Fyhn. 1995b. Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). II. Lipid metabolism and enthalpy balance. *Mar. Biol.*, 124: 371-379.
- Fraser, A., J. Sargent, J. Gamble and P. MacLachlan. 1987. Lipid class and fatty acid composition as indicators of the nutritional condition of larval Atlantic herring. *Am. Fish. Soc. Sympos.*, 2: 129-143.
- Fyhn, H.J. and B. Serigstad. 1987. Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod *Gadus morhua*. *Mar. Biol.*, 96: 335-341.
- Fyhn, H.J. 1990. Energy production in marine fish larvae with emphasis on free amino acids as a potential fuel. In: Mellinger, J. (ed.), *Nutrition in Wild and Domestic Animals*. Karger, Basel, 176-192p.
- Harikrishnan, R., J.S. Kim, C. Balasundaram and M.S. Heo. 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. *Aquaculture*, 326-329, 46-52.
- His, E. and D. Maurer. 1988. Shell growth and gross biochemical composition of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in the field. *Aquaculture*, 69: 185-194.
- Hoar, W. 1969. Reproduction. In: *Fish Physiology 3*. In: Hoar, W. and D. Randall (eds.), Academic Press, New York, U.S.A., 1-72.
- Holland, D.L. and B.E. Spencer. 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 53, 287-298.
- Hong, C.G., J.K. Cho, J.Y. Park, M.H. Son, J.M. Park, K.H. Han and H.W. Kang. 2015. Ovulation Induction Effect of Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus* by Treating Hormones. *JFMSE J.*, 27: 981-989.
- Hur, Y.B., E.K. Kim, Y.S. Lim, C.Y. Jeon, K.C. Cho and J.I. Myeng. 2011. Differences in Egg Quality and Larval Development among Four Population of Sea Squirt *Halocynthia roretzi* Adults. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.*, 44: 516-523.
- James, C.M., S.A. AL-Thobaiti, B.M. Rasem and M.H. Carlos. 1998. Comparative growth of brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* and camouflage grouper, *E. polyphakadioides* under hatchery and grow out culture conditions. *Asian Fisheries Science*, 11: 133-147.
- Kayano, Y. 1988. Development of mouth parts and feeding in the larval and juvenile stages of red spotted grouper *Epinephelus akaara*. *Saibai. Giken.*, 3: 55-60.
- Kjørsvik, E., A. Mangor Jensen and T. Holmefjord. 1990. Egg quality in fishes. In: Blaxter, J.H.S. and A.J. Southward (eds.), *Advances in Marine Biology*. Academic press, London, 71-113p.
- Kohno, H., S. Diani and A. Supriatna. 1993. Morphological development of larval and juvenile grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 40: 307-316.
- Lanes, C.F.C., T.T. Bizuayehu, S. Bolla, C. Martins, J.D.M.O. Fernandes, A. Bianchini, V. Kiron and Babiak, I. 2012. Biochemical composition and performance of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) eggs and larvae obtained from farmed and wild broodstocks. *Aquaculture*, 324-325: 267-275.
- Lee, Y.D. and K.M. Go. 2003. Aquatic industrialization by development of reproductive technology of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Jeju Univ.*, 1-86.
- Lochmann, S.E., K.J. Goodwin, R.T. Lochmann, N.M. Stone and T. Clemment. 2007. Volume and lipid, fatty acid, and amino acid composition of golden shiner eggs during a spawning season. *N. Am. J. Aquaculture*, 69: 116-126.
- Mejri, S., C. Andet, G.W. Vandenberg, C.C. Parrish and R. Tremblay. 2014. Biochemical egg quality in a captive walleye (*Sander vitreus*) broodstock population relative to ovulation timing following hormonal treatment. *Aquaculture*, 431: 99-106.
- Morehead, D.T., P.R. Hart, G.A. Dunstan, M. Brown and N.W. Pankhurst. 2001. Differences in egg quality between wild striped trumpeter (*Latris lineata*) and captive striped trumpeter that were fed different diets. *Aquaculture*, 192: 39-53.
- Nocillado, J.N., V.D. Penaflores and I.G. Borlongan. 2000. Measures of egg quality in induced spawns of the Asian sea bass, *Lates calcarifer* Bloch *Fish Physiology and Biochemistry*, 22: 1-9.
- Okumura, S., K. Okamoto, R. Oonori and A. Nakazono. 2002. Spawning behavior and artificial fertilization in captive reared red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquaculture*, 206: 165-173.
- Park, J.Y., J.M. Park, C.G. Hong, K.M. Kim and J.K. Cho. 2016. Physiological and Biochemical Response of Blood on Low Temperature Stress in Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Korean J. Ichthyol.*, 28: 1-8.
- Rani, M.S. 2005. Prediction of larval viability based on egg quality parameters and early cleavage patterns in the experiments of triploidy induction in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. M. Sc. Thesis, Univ. Tromso, Norway, 64.
- Ringo, E., R. Olsen and B. Boe. 1987. Initial feeding of wolf fish (*Anarhichas lupus* L.) fry. *Aquaculture*, 62: 33-43.
- Rønnestad, I., H.J. Fyhn and K. Gravningen. 1992. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar. Biol.*, 114: 517-525.
- Rønnestad, I. and H.J. Fyhn. 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs. *Rev. Fish. Sci.*, 1:

- 239-259.
- Rønnestad, I., W. Koven, A. Tandler, M. Harel and H.J. Fyhn. 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Mar. Biol.*, 120: 187-196.
- Rønnestad, I., W. Koven, A. Tandler, H. Mordechai and H.J. Fyhn. 1998. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 162: 157-170.
- Rønnestad, I., A.A. Thorsen and R.N. Finn. 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the role of amino acids. *Aquaculture*, 177: 201-216.
- Ruttanapornvareesakul, Y., Y. Sakakura and A. Hagiwara. 2007. Effect of tank proportions on survival of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg) and devil stinger *Inimicus japonicus* (Cuvier) larvae. *Aquaculture Research*, 38: 193-200.
- Sakakura, Y., S. Shiotani, H. Chuda and A. Hagiwara. 2006. Improvement of the survival in the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* larvae by optimizing aeration and water inlet in the mass-scale rearing tank. *Fisheries Science*, 72: 939-947.
- Sargent, J., R. Henderson and D. Tocher. 1989. The lipids. In: *Fish Nutrition*. Halver, J.E. and R.W. Hardy (eds.), Academic Press, London, U.K., 257-274.
- Seoka, M., S. Yamada, Y. Iwata, T. Yanagisawa, T. Nakagawa and H. Kumai. 2003. Differences in the biochemical content of buoyant and non-buoyant eggs of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, 216: 355-362.
- Shields, R.J., N.P. Brown and N.R. Bromage. 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, 155: 1-12.
- Sivaloganathan, B., J. Walford and T.J. Lam. 1998. Free amino acids and energy metabolism in eggs and larvae of sea bass, *Lates calcarifer*. *Mar. Biol.*, 131: 695-702.
- Srivastava, R.K. and J.A. Brown. 1991. The biochemical characteristics and hatching performance of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs. *Can. J. Zool.*, 69: 2436-2441.
- Srivastava, R.K. and J.A. Brown. 1992. Assessment of egg quality in Atlantic salmon, *Salmo salar*, treated with testosterone-II. Amino acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103: 397-402.
- Srivastava, R.K. and J.A. Brown. 1993. Assessment of egg quality in Atlantic salmon, *Salmo salar*, treated with testosterone: biochemical composition. *Can. J. Zool.*, 70: 109-115.
- Toledo, J.D., A. Nagi and D. Javellana. 1993. Successive spawning of grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes), in a tank and a floating net cage. *Aquaculture*, 115: 361-367.
- Tomas, C., J.H. Bae and S.B. Hur. 2005. Chemical composition and size of floating and sunken eggs of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish. Sci. Technol.*, 8: 132-137.
- Vallin, L. and A. Nissling. 1998. Cell morphology as an indicator of viability of cod eggs results from an experimental study. *Fish. Res.*, 38: 247-255.
- Waldock, M.J. and I.A. Nascimento. 1979. The triacylglycerol composition of *Crassostrea gigas* larvae fed on different algal diets. *Mar. Biol. Lett.*, 1: 77-86.
- Watanabe, T., S. Ohhashi, A. Itoh, C. Kitajima and S. Fujita. 1984. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50: 503-515.
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60: 231-241.
- Whyte, J.N.C., N.N. Bourne and N.G. Ginthe. 1990. Biochemical and energy changes during embryo genesis in the rock scallop, *Crassadoma gigantea* (Gray). *Aquaculture*, 86: 25-40.
- Wullur, S., Y. Sakakura and A. Hagiwara. 2011. Application of the minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp in larval rearing of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture*, 315: 355-360.
- Zhn, P., C.C. Parrish and J.A. Brown. 2003. Lipid and amino acid metabolism during early development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquacult. Int.*, 11: 43-52.