

# 대구 *Gadus macrocephalus* 이석 표지를 위한 Alizarin Complexone의 최적 농도

김태진 · 이소광<sup>1</sup> · 곽우석\*

국립 경상대학교 해양생명과학과 해양산업연구소, <sup>1</sup>경상남도수산자원연구소

**Optimum Concentration of Alizarin Complexone (ALC) for Otolith Marking of Pacific Cod *Gadus macrocephalus* by Tae Jin Kim, So Gwang Lee<sup>1</sup> and Woo Seok Gwak\*** (Division of Marine Bioscience, The Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea; <sup>1</sup>Gyeongsangnam-do Fisheries Resources and Research Institute, Tongyeong 650-947, Korea)

**ABSTRACT** Optimum concentration of alizarine complexone (ALC) for staining of otoliths for Pacific cod was determined by examination of stained quality, growth and survival rates. Small juveniles ( $34.1 \pm 1.8$  mm TL, mean  $\pm$  SD) were immersed in four different concentrations (20, 40, 60, 80 mg/L) and large ones ( $73.8 \pm 1.2$  mm TL, mean  $\pm$  SD) in five different concentrations (1, 5, 10, 20, 40 mg/L) of ALC for 24 hrs. The fish were then reared and observed for 14 days. The stained quality of otoliths was evaluated by dividing them into four grades by the presence of fluorescent stains on the otoliths under G-excited UV light. The small juveniles stained with the different ALC concentrations had 100% staining success, and their growth rate and body weight did not differ significantly between treatments. Optimal ALC concentration for the smaller juveniles was 20 mg/L in the present experiment. On the other hand, distinct fluorescent rings were confirmed on otoliths of larger juveniles in the 10 mg/L treatment with high survival rate. These results suggest that ALC staining at concentrations of 10 mg/L with larger juveniles will be helpful for release-recapture experiments for stock enhancement of Pacific cod.

**Key words :** Pacific cod, otolith marking, alizarine complexone

## 서 론

어류의 성장, 회유경로 및 개체군 특성을 파악하기 위해 어체 표지 방법이 이용되고 있으며, 1980년대 후반 과학적으로 입증된 방류어 표지 시스템과 방법이 도입되면서 방류효과에 대한 연구는 급속히 진행되어 왔다(Munroe and Bell, 1997; Leber, 1999; Hiborn, 2004). 어류의 표지에는 유전자 표지(Perez-Enriquez and Taniguchi, 1999), 화학물질 표지(Taylor *et al.*, 2005), 온도에 의한 표지(Jenkins *et al.*, 2004), 내부 표지(Brennan *et al.*, 2005), 외부 표지(Stoettrup *et al.*, 2002), 전자추적장치(Prentice *et al.*, 1990) 등 다양한 방법이 이용되어 오고 있다. 방류어에 대한 내·외부 표지

와 전자추적장치 부착은 어체에 직접적으로 스트레스를 주게 되며 많은 개체 처리 시, 노동력과 비용이 많이 든다. 그러나 화학물질 표지는 어체에 직접적인 스트레스를 최소화할 수 있고, 부착표지가 어려운 크기의 작은 난, 자·치어에 대량 표지가 가능하다(Tsukamoto, 1985; Iglesias and Rodriguez-Ojea, 1997).

화학물질 표지는 어류가 성장된 이후에도 그 표지의 식별이 가능하여(Campana and Neilson, 1982), 자원관리(McFarlane and Beamish, 1987), 방류효과조사(Tsukamoto *et al.*, 1989; Yamashita *et al.*, 1994), 성장률(Schmitt, 1984), 이석의 일일 성장 주기성(Hoff *et al.*, 1997) 등을 추정하는 데 많은 정보를 제공하는 것으로 알려져 있다.

Alizarin complexone (ALC)을 이용한 이석 표지는 은어, *Plecoglossus altivelis* (Tsukamoto, 1988), 참돔, *Pagrus major*

\*교신저자: 곽우석 Tel: 82-55-640-3102, Fax: 82-55-642-4509, E-mail: wsgwak@gsnu.ac.kr

(Tsukamoto *et al.*, 1989), 대서양 대구, *Gadus mohua* (Blom *et al.*, 1994), 터봇, *Scophthalmus maximus* (Iglesias and Rodriguez-Ojea, 1997), 넙치, *Paralichthys olivaceus* (Yamashita *et al.*, 1994) 등과 같은 여러 어종에 적용되어 왔다. 그러나 국내에는 ALC 표지를 이용한 황복의 이석 미세성장선 변화에 대한 연구보고가 있을 뿐이다(김, 2002). 우리나라 연안어장의 수산자원 증강을 위해 1990년부터 2006년까지 약 12억 미의 해산어류 종묘를 방류하였으며(해양수산부, 2007), 그 중 경상남도에는 약 3천 5백만 미의 종묘를 방류하였지만(경상남도, 2008), 표지방류를 통한 효과조사에 관한 연구는 아직 수행되지 못하였다. 대구, *Gadus macrocephalus*는 2002년 경상남도 수산자원연구소에서 종묘생산에 성공하여 진해만에서 매년 평균 2만 미가 방류되고 있다. 또한 수정란 방류사업도 1981년부터 시작하여 현재까지 약 12억 립의 수정란이 지속적으로 방류되어 자원증강을 위해 지속적으로 노력하고 있다(거제해양사무소, 2008). 광(2007)은 진해만에 방류된 대구 종묘에 DNA 마커를 이용하여 처음으로 종묘 방류 효과를 추적하였다. 형광염료를 이용한 이석 표지법은 이미 많은 어종에서 방류종묘의 표지방법으로 사용되고 있어 대구 종묘 방류 효과를 추적하는 데 비교적 간편하고 실용적인 방법이라고 생각된다.

본 연구는 방류 대상종인 대구 종묘를 여러 ALC 농도에 노출시켜 이석을 염색한 후 사육하면서 이석에 ALC 표지 정도, 순간성장률 및 사망률을 비교 분석하여, ALC 적정 농도를 추정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어

대구는 경상남도수산자원연구소에서 생산된 종묘를 이용하였다. 1차 실험은 평균전장 34.1±1.8 mm 치어를 5개 수조에 각각 14개체씩 그리고 2차 실험은 평균전장 73.8±1.2 mm 치어를 5개 수조에 각각 10개체씩 수용하여 실시하였다.

### 2. 사육 환경

1차와 2차 실험 모두 ALC는 해수에 희석하기 전 100 mL 증류수에 용해하였고, pH는 7.0~7.5로 보정하였다. 1차 실험은 ALC 농도를 0, 20, 40, 60, 80 mg/L로, 2차 실험은 1, 5, 10, 20, 40 mg/L로 각각 5개 실험구를 설정하였다. 실험어를 ALC가 용해된 5L 플라스틱 원형수조에서 통기하며 24시간 침적하였고, 침적 후 60L 플라스틱 원형수조로 옮겨서 유수식으로 14일간 사육하였고 1일 전량 환수하였다.

사육 및 ALC 실험조건을 일정하게 유지하기 위하여 수온,

**Table 1.** Effect of ALC marking on wet weight (±SD) and body length (±SD) of small Pacific cod *Gadus macrocephalus* juveniles on the 1st experiment

ALC concentration (mg/L)		n (ind.)	Wet weight (g)	Standard length (mm)
0	Initial	14	0.2±1.5	23.5±1.0
	Final	9	0.6±1.1	28.7±0.9
20	Initial	14	0.4±1.5	30.2±1.6
	Final	10	0.7±1.3	32.3±1.4
40	Initial	14	0.3±1.9	24.6±1.7
	Final	8	0.5±1.1	28.8±1.4
60	Initial	14	0.3±1.3	29.0±0.9
	Final	6	0.6±1.8	32.4±0.7
80	Initial	14	0.5±0.6	31.1±1.1
	Final	3	0.8±0.7	35.2±1.4

염분, 용존산소 및 pH 측정은 수질계측기 (ISTEK, 815PDC)를 이용하여 1일 1회 측정하였고, 2차 실험 시 사육수는 냉각기(KQMS, KR/KRANG060352)를 이용하여 적정 수온을 유지하였다. 어체 측정을 위해 MS-222 (3-amino benzoic acid ethyl ester)를 사용하여 마취하였고, 전장 및 체장은 1/20 mm Vernier caliper로 0.1 mm까지 측정하였으며, 습중량은 전자저울(SHIMADZU, BW 4200H)을 이용하여 0.1 g까지 측정하였다. 1차 실험의 사육수온 범위는 14.8~17.5°C (평균 15.8°C), 염분은 34.7~36.1 (평균 35.3), 용존산소는 10.1~11.3 ppm (평균 10.4 ppm), pH 7.8~8.2 (평균 7.9)이었다. 1차 실험의 실험 시작 전과 종료 후 시험어의 평균 전장, 체장 그리고 체중은 Table 1과 같다. 2차 실험의 사육수온 범위는 15.1~15.8°C (평균 15.5°C), 염분은 34.1~35.8 (평균 34.8), 용존산소는 9.8~10.6 ppm (평균 10.1 ppm), pH 7.8~8.0 (평균 7.8)이었다.

### 3. ALC 침적 후의 성장률과 사망률

1차 실험에 있어서 각 실험구에 대한 일일순간성장률(Lagardere *et al.*, 2000)과 사망률은 다음과 같은 식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{순간성장률}(G, \%): G=100 \times (\ln L_f - \ln L_i) / (t_f - t_i),$$

$L_i$ : 실험 시작 전 전장

$L_f$ : 실험 종료 후 전장

$t_f - t_i$ : 사육 기간

$$\text{사망률}(D, \%): D=100 \times [1 - (I_f/I_i)]$$

$I_i$ : 실험 시작 전 개체수

$I_f$ : 실험 종료 후 개체수

성장 data와 사망률에 대해 SPSS-통계 패키지(SPSS 10.0,

SPSS Inc., Chicago, USA)에 의한 일원 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다.

#### 4. 이석 ALC 침적정도 분석

이석 표본은 어체의 통낭에서 편평석(sagitta)을 추출한 후, 증류수로 세척하여 별이 들지 않는 서늘한 곳에서 건조 보관하였다. ALC 염색정도 분석을 위한 이석 영구표본은 이석의 등근면을 위로 하여 slide glass에 놓고, 매니큐어액으로 1차 몰딩한 후, Epoxy를 이용하여 2차 몰딩하였다. 고화된 부분은 사포(sandpaper) 1200, 1500, 2000 grid로 시상단(sagittal section)을 연마하고, 4000, 6000, 8000 grid의 연마제로 광택을 내었다. 연마된 이석은 UV-형광현미경(OLYMPUS, AX 70)을 이용하여 관찰하였다. 이석에 침적된 형광물질의 염색정도는 10명이 2번 관찰하여 아래와 같이 0~3단계로 구분하였다.

- 0=전혀 염색 안 됨
- 1=희미함
- 2=선명함
- 3=매우 선명함

각각의 농도에 대한 표지 정도의 차이는 비모수 Kruskal-Wallis H로 비교 분석하였다.

### 결 과

#### 1. ALC 침적에 따른 사망률 및 성장률 변화

##### 1) 1차 실험

작은 치어들의 침적 직후 사망률은 ALC 농도 0 mg/L에서 35%, 20 mg/L에서 14%, 40 mg/L에서 28%, 60 mg/L에서 50%, 80 mg/L에서 57%를 나타냈으며, 실험 종료 후 사망률은 0 mg/L에서 35%, 20 mg/L에서 28%, 40 mg/L에서 42%, 60 mg/L에서 57%, 80 mg/L에서 78%를 나타내었다. 각각의 실험구에 있어서 사망률의 차이는 유의하였다( $P < 0.05$ ).

각각의 실험구에 대한 실험 전후 체중 차이는 유의하지 않았으며( $P > 0.05$ ), 순간성장률도 ALC 농도 0 mg/L에서  $0.69 \pm 0.25$ , 20 mg/L에서  $0.72 \pm 0.20$ , 40 mg/L에서  $0.63 \pm 0.15$ , 60 mg/L에서  $0.77 \pm 0.21$ , 80 mg/L에서  $0.77 \pm 0.16$ 를 나타내어( $P > 0.05$ ) 유의하지 않았다(Fig. 1).

##### 2) 2차 실험

크기가 큰 치어들의 침적 직후 사망률은 모든 실험구에서 0%를 나타냈으며, 실험 종료 후 사망률은 1 mg/L에서 10%, 5 mg/L에서 20%, 10 mg/L에서 10%, 20 mg/L에서 10%, 40 mg/L에서 10%를 나타내었다. 각각의 실험구에서 사망률의 차이는 유의하지 않았다( $P > 0.05$ ).

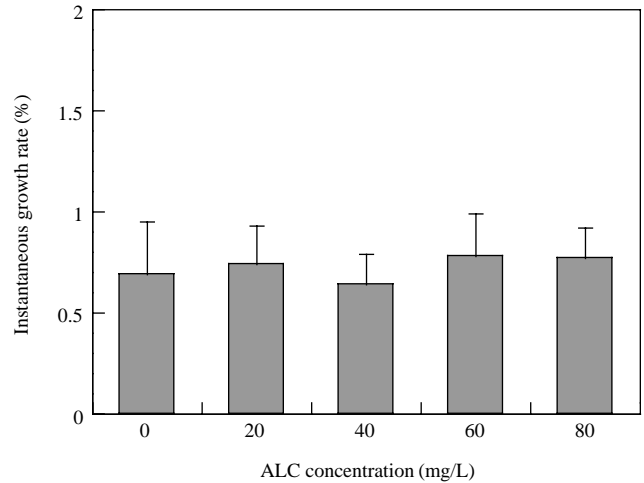


Fig. 1. Average growth rate of Pacific cod, *Gadus macrocephalus* subjected to five different marking treatments by immersion in buffered solutions of ALC at concentrations of 0, 20, 40, 60, 80 mg/L, respectively (vertical bars denote the standard deviation).

#### 2. 이석 ALC 침적정도 분석

UV light 현미경(G필터)으로 이석을 관찰한 결과 이석 표면에는 붉은색 계통의 원형띠를 형성하며 ALC가 염색되었다(Figs. 2, 4).

##### 1) 1차 실험

ALC 농도 20 mg/L에서의 염색 정도는 7개체가 2(선명하게 염색), 3개체가 3(매우 선명하게 염색)으로 판정되었고, ALC 농도 40 mg/L에서의 염색 정도는 3개체가 2, 5개체가 3으로 판정되었다. ALC 농도 60 mg/L에서의 염색 정도는 6개체가 3으로 판정되었으며, ALC 농도 80 mg/L에서의 염색 정도는 3개체가 3으로 판정되어(Fig. 3), 각각의 실험구에 있어서 염색 정도 차이는 유의하지 않았다( $P > 0.05$ ).

##### 2) 2차 실험

ALC 농도 1 mg/L에서의 염색 정도는 9개체가 0(염색 안 됨)으로 판정되었고, ALC 농도 5 mg/L에서의 염색 정도는 8개체가 1(희미하게 염색)로 판정되었으며, ALC 농도 10 mg/L에서의 염색 정도는 1개체가 1, 7개체가 2, 1개체가 3으로 판정되었다. ALC 농도 20 mg/L에서의 염색 정도는 9개체가 3으로 판정되었고, ALC 농도 40 mg/L에서의 염색 정도는 9개체가 3으로 판정되었다(Fig. 5). 각각의 실험구에 있어서 염색 정도 차이는 유의하였다( $P < 0.05$ ).

### 고 찰

ALC는 치의학 분야에서 경조직 표지를 위해 사용된 방법이 어류에 응용된 것이고(Kobayashi *et al.*, 1964), 형광물

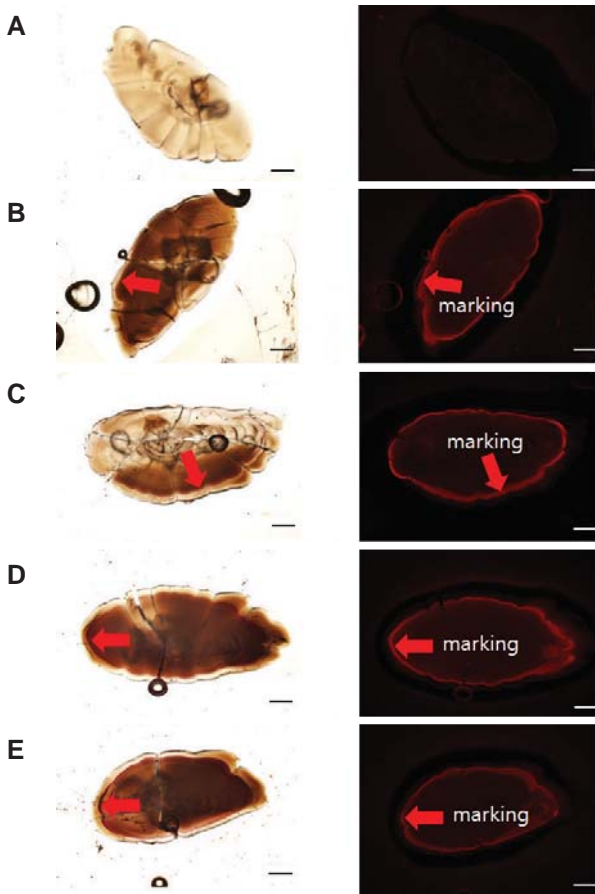


Fig. 2. Different alizarine complexone staining qualities of sagittal otoliths extracted from 98-days-old Pacific cod. Photographs in each row are of the same otolith viewed under the transmitted visible light (left) and UV light (right). Arrow indicates ALC stained mark on otoliths at the concentrations of A: 0 mg/L, B: 20 mg/L, C: 40 mg/L, D: 60 mg/L, E: 80 mg/L, Scale bars=20 μm

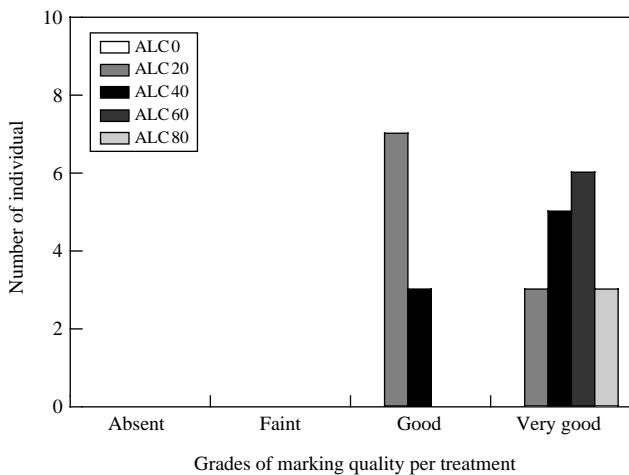


Fig. 3. Stained quality of small Pacific cod juvenile otolith by alizarine complexone marking. Grades were determined by average of ten readers assessments.

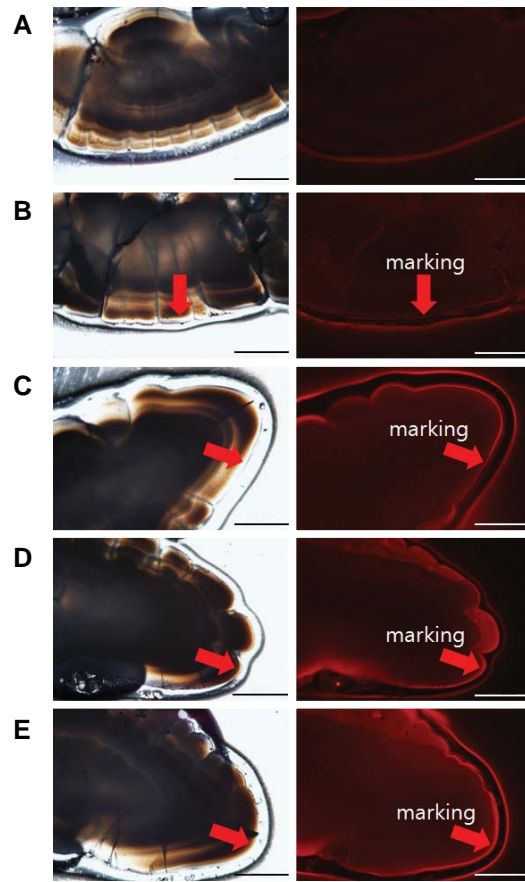


Fig. 4. Different alizarine complexone staining qualities of sagittal otoliths extracted from 224-days-old Pacific cod. Photographs in each row are of the same otolith viewed under the transmitted visible light (left) and UV light (right). Arrow indicates ALC stained mark on otoliths at the concentrations of A: 1 mg/L, B: 5 mg/L, C: 10 mg/L, D: 20 mg/L, E: 40 mg/L, Scale bars=20 μm.

질을 이용하여 방류용 종묘 이석을 대량으로 표지하는 데 있어서 가장 안전성이 높은 방법으로 알려져 있다(Tsukamoto, 1987). 평균 전장 34 mm 대구 종묘에 대해 ALC 침적 실험을 한 1차 실험 결과는 모든 실험구에서 이석에 ALC가 염색되었고, 최저 농도인 20 mg/L에서 조사한 10개체 모두 ‘선명함’ 이상으로 판정되었다. 또한 ALC 침적 후 생존율도 20 mg/L에서 침적 직후 86% 그리고 실험 종료 후 72%로 실험구 중 가장 높게 나타나 본 연구에서 설정한 농도 중 20 mg/L가 전장 약 34 mm 대구 종묘 ALC 침적에 적정 농도로 판단된다. 한편 가장 높은 ALC 농도인 80 mg/L에서 침적 직후 43% 그리고 실험 종료 후 22%의 생존율을 나타내어 ALC 농도가 높아질수록 대구 종묘의 생존율이 감소하는 것으로 나타났다. 그러나 대조구에서도 대구 종묘 생존율이 실험 시작과 종료 시 65%인 것으로 보아 각 실험구에서의 대구 종묘 폐사는 ALC 농도뿐만 아니라 ALC 침적 과정에서 발생하는 스트레스도 원인인 것으로 추정된

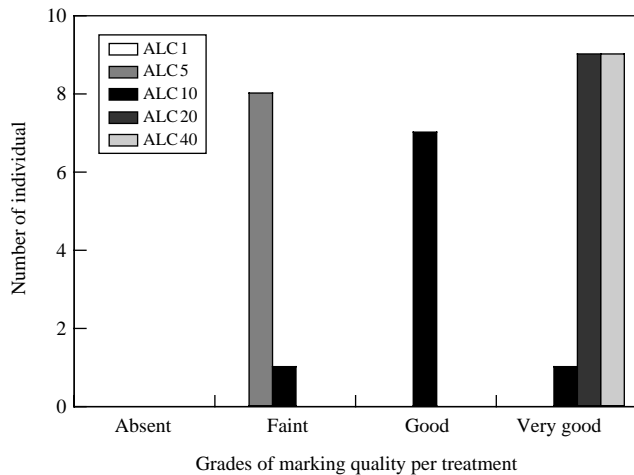


Fig. 5. Stained quality of large Pacific cod juvenile otolith by alizarine complexone marking qualities. Grades were determined by average of ten readers assessments.

다. 각 실험구에서 폐사한 대구 종묘가 전장 30 mm 이하의 상대적으로 작은 개체가 대부분이었는데 대구 종묘의 경우, 사육기술이 확립되지 않아 작은 개체일수록 이동시 발생하는 스트레스에 민감하고 먹이불입이 어렵기 때문인 것으로 판단된다. 침적실험 후 성장과 순간성장률에 있어서 유의한 차이는 나타나지 않았는데 이와 같은 결과는 다양한 ALC 농도에서 자주복 이석에 ALC 표지 후 90일간 사육실험한 후 성장에 유의한 차가 없었던 것과 유사한 결과라고 할 수 있다(Matsumura, 2005).

한편 평균 전장 74 mm 대구 종묘를 ALC 농도 1, 5, 10, 20, 40 mg/L에서 침적한 결과 10 mg/L 이상의 농도에서 1 개체를 제외한 모든 개체에서 표지정도가 '선명함' 이상으로 판정되었다. 또한 5 mg/L에서도 8개체가 '희미함' 염색 정도로 판정되었다. 이와 같은 결과에 근거한다면, 1차 실험의 시험어인 평균전장 34 mm 대구도 5 mg/L 또는 10 mg/L의 저농도에서 침적이 가능할 것으로 추측된다. 그러나 ALC 침적 후 생존율이 2차 실험에서는 1차 실험 결과와는 달리 모든 실험구에서 100%를 나타내었고, 실험 종료 후 생존율 또한 90%로 높았다. 그러므로 대구의 경우, ALC 표지 후 방류 종묘의 생존율을 높이기 위해서는 어체의 크기가 클수록 바람직할 것으로 판단된다. 한편 Nakagawa *et al.* (2007)은 전장 45 mm 조피볼락 치어에 대해 ALC 농도 30 mg/L와 50 mg/L에서 침적 한 24시간 후의 생존율이 약 62%와 8%이므로 이 어종은 ALC 최적 침적농도가 낮고 범위가 좁다고 보고하였다. 대구도 평균전장 34 mm의 경우, ALC 농도가 높아질수록 사망률이 높아졌으므로 5 mg/L 또는 10 mg/L의 ALC 농도에서 침적이 가능하고 사육기술이 발달된다면, 작은 크기, 저농도 ALC에서도 높은 생존율을 기대할 수 있을 것으로 추측된다.

다른 어종의 ALC 침적 최적농도는 참돔 80~160 mg/L (Tsukamoto *et al.*, 1989), 넙치 80 mg/L (Yamashita *et al.*, 1994), 명태, *Theragra chalcogramma* 25 mg/L (Katakura, 2003), 도루묵, *Arctoscopus japonicus* 40 mg/L (Tomoda and Kuwada, 2006), 자주복, *Takifugu rubripes* 5~10 mg/L (Matsumura, 2005)으로 자주복을 제외하고 모두 대구에 비하여 높은 것을 알 수 있다. 또한 체장 19 mm 참돔 종묘의 경우 80 mg/L에서 160 mg/L로 ALC 침적 농도가 높아질수록 염색 정도가 선명해 진다고 보고하였다(Kuwada and Tsukamoto, 1987). 그러나 1차 실험에서 대구 종묘의 경우 60 mg/L와 80 mg/L에서 침적 직후와 실험 종료 시 사망한 개체수가 50% 이상으로 증가하였고, 20 mg/L에서 선명하게 표지 되었으므로 대구 치어의 ALC 침적 적정농도는 다른 어종보다 낮은 것으로 추정된다. 이와 같이 적절한 ALC 표지조건이 어종마다 다른 것은 형광물질의 흡수율에 기인하는 것으로 추정되지만 이에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

ALC 농도 20 mg/L에서 침적된 대구는 이석 적출 후, 얼마 하지 않고 육안으로 ALC 표지 확인이 가능하였는데, 자주복(Matsumura, 2005)과 은어(Tsukamoto, 1985)에서 유사한 보고가 있다. 특히 Matsumura (2005)는 자주복 종묘 이석에 ALC 표지 횟수, 종류, 표지 반경 등을 달리하여 방류 후 산란회유로 돌아온 자주복 친어를 확인하여 2~7세어인 것을 밝혔다. 그러나 참돔의 경우 ALC 표지 확인을 위해 부화자어는 212일 이상, 전장 10 mm 이상에서 표지 한 경우는 412일 이상이 되면 연마처리가 필요하다고 보고하였다.

Kudou (2001)는 ALC 표지된 연어, *Oncorhynchus keta* 종묘 약 천만 미를 5년간 일본 북해도에 있는 강에서 방류 후 인근해역에서 다수의 방류 치어가 재포된 것을 보고하였고, 유어 1개체가 오후츠크해 남부에서 방류되었음을 ALC 표지를 통해 확인하였다(Ueno, 1998). 또한 산란회유 한 연어의 이석에서 ALC 표지를 확인 후, ALC 표지가 4년 이상 유효하다고 보고하였다(Itamoto, 2000; Kudou, 2001). 자주복도 부화자어와 전장 22 mm 치어를 20 mg/L에서 침적 후 5년 5개월 후 표지가 명료하게 남아있는 것이 확인되었다(Matsumura, 2005). 대구는 주 산란장인 경남 진해만에서 산란되어 성장함에 따라 동해로 이동하여 45~450 m의 깊은 바다에서 서식하다가 겨울철 산란기가 되면 산란에 적당한 수온이 형성되는 진해만으로 4세 또는 5세에 다시 산란 회유를 하는 저어류로 알려져 있지만(Uchida, 1936), 산란회유 경로에 대해서는 아직 보고된 바 없다. 하지만 진해만에서 방류된 대구 종묘가 성장 후 산란을 위해 진해만으로 다시 산란 회유하는지를 밝히고, 회유 경로를 파악하기 위한 기초자료를 얻기 위해 현재 유전자 marker를 이용한 방류어 표지 연구가 진행 중이다(곽, 2007). 이와 같은 연구

에 방류 종묘 이석에 ALC 표지 후 방류하는 방법을 병행한다면 보다 효율적으로 방류어 판정을 할 수 있을 것으로 기대된다.

이석 형광염색을 통해 어류의 회유경로, 산란 회귀율, 성장, 생존 등 계군 특성을 지역별로 명확히 하여 자원의 효율적 관리와 증식에 기초적인 정보를 제시할 수 있을 것이다. 이를 위해서 대구는 종묘 양산기술 확립, 방류 종묘 크기에 따른 적정 ALC 농도 및 침적시간 설정 등에 대한 추가적인 연구노력이 필요할 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구는 방류 대상종인 대구의 이석에 ALC 표지 가능 여부, 표지 적정농도 및 순간성장률을 비교 분석하여 수산 종묘 표지방류 연구에 대한 기초자료를 제공하고자 수행하였다. 전장이 작은 대구 치어 ( $34.1 \pm 1.8$  mm, mean  $\pm$  SD)의 경우 ALC 농도를 0, 20, 40, 60, 80 mg/L로, 전장이 큰 치어 ( $73.8 \pm 1.2$  mm, mean  $\pm$  SD)의 경우 ALC 농도 1, 5, 10, 20, 40 mg/L로 각각 5개 실험구를 설정하여 24시간 침적한 후 14일간 사육하면서 관찰하였다. 표지 이석을 UV light 현미경(G필터)으로 관찰한 결과 이석 표면에는 붉은색 계통의 원형띠를 형성하며 ALC가 염색 되었다. 작은 크기 치어는 모든 실험구에서 이석에 ALC가 염색 되었고, 최저 농도인 20 mg/L에서 조사한 10개체 모두 '선명함' 이상으로 판정 되었으며, 각각의 실험구에 대한 실험 전후 체중과 성장률의 차이는 유의하지 않았으나 사망률은 농도가 높아지며 높아졌다. 크기가 큰 대구 치어는 10 mg/L 이상의 농도에서 1개체를 제외한 모든 개체에서 염색 정도가 '선명함' 이상으로 판정 되었으며, 실험기간 동안 모든 개체가 생존하였다. 대구 방류 효과를 추적하기 위한 이석의 ALC 염색에서는 크기가 큰 치어를 대상으로 10 mg/L의 농도가 적정농도로 추정되었다.

## 사 사

이 논문은 (구)해양수산부 2007년도 수산특정연구개발사업에 의하여 지원되었습니다. 또한 이 논문이 있기까지 많은 도움을 주신 국립수산물과학원 김영혜 박사님과 심사위원님들께 감사의 뜻을 포함합니다.

## 인 용 문 헌

곽우석. 2007. 대구 우량종묘 대량 생산기술 확립 및 종묘방류

- 기술개발 효과조사. 해양수산부보고서, 54pp.  
 거제해양사무소. 2008. 대구방류보고서, 18pp.  
 경상남도. 2008. 해양수산현황, 361pp.  
 김동우. 2002. 황복, *Takifugu obscurus*의 초기성장과 이석의 미세 구조. 인하대학교 석사학위청구논문, 47pp.  
 해양수산부. 2007. 해양수산통계연보, 334pp.  
 Blom, G., J.T. Nordeide, T. Svasand and A. Borge. 1994. Application of two fluorescent chemicals, alizarin complexone and alizarin red S, to mark otoliths of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aqua. Fish. Manage.*, 25: 229-243.  
 Brennan, N.P., K.M. Leber, H.L. Blankenship, J.M. Ransier and J.R. DeBruler. 2005. An evaluation of coded wire and elastomer tag performance in juvenile common snook under field and laboratory conditions. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 25: 437-445.  
 Campana, S.R. and J.D. Neilson. 1982. Daily growth increments in otoliths of starry flounder, *Platichthys stellatus* and the influence of some environmental variables in their production. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.*, 39: 937-942.  
 Hiborn, R. 2004. Population management in stock enhancement and sea ranching. In: Leber, K.M., S. Kitada, H.L. Blankenship and T. Svasand (eds.), *Stock Enhancement and Sea Ranching*. Blackwell Publishing, Oxford, U.K., pp. 201-209.  
 Hoff, G.R., D.J. Logan and D.F. Markle. 1997. Otolith morphology and increment validation in young Lost River and shortnose suckers. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 126: 488-494.  
 Iglesias, J. and G. Rodriguez-Ojea. 1997. The use of alizarin complexone for immersion marking of the otoliths of embryos and larvae of the turbot, *Scophthalmus maximus* (L.): dosage and treatment time. *Fish. Manage. Ecol.*, 4: 405-417.  
 Itamoto, K. 2000. Marking of otolith by alizarine complexone in Salmon fry, *Oncorhynchus*. *Bull. Yama. Pre. Fish. Exp. St.*, 1: 15-16.  
 Jenkins, W.E., M.R. Denson, C.B. Bridgman, M.R. Collins and T.I. Smith. 2004. Retention of oxytetracycline-induced marks on sagittae of red drum. *N. Am. J. Fish. Manage.*, 22: 590-594.  
 Katakura, S., M. Ohta, M. Jin and Y. Sakurai. 2003. Otolith-marking experiments of juvenile walleye pollock *Theragra chalcogramma* using oxytetracycline, alizarin complexone, and alizarin red S. *Jap. Aqu. Soc.*, 51: 327-336.  
 Kobayashi, S., R. Yuki, T. Furui and T. Kosugiyama. 1964. Calcification in fish and shell-fish-I. Tetracycline labelling patterns on scale, centrum and otolith in young goldfish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 30: 6-13.  
 Kudou, T. 2001. Growth and migration routes of otoliths-tagged young salmon. *Fish and Water*, 37: 31-40.  
 Kuwada, H. and K. Tsukamoto. 1987. Otolith-tagging of the red sea bream larvae with alizarine complexone-I. Optimum concentration and mark retention. *Saibai-gyogyo Gijutsu-kaihatsu Kenkyu*, 16: 93-104. (in Japanese)

- Lagardere, F.K., K. Thibaudeau and M.L. Begout Anras. 2002. Feasibility of otolith marking in large juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* using alizarin red S solutions. ICES. J. Mar. Sci., 57: 1175-1181.
- Leber, K.M. 1999. Rationale for an experimental approach to stock enhancement. In: Stickney, R.R. and J.P. McVey (eds.), Stock Enhancement and Sea Ranching. Blackwell Publishing, Oxford, U.K., pp. 63-75.
- McFarlane, G.A. and R.J. Beamish. 1987. Selection of dosages of oxytetracycline for age validation studies. Can. J. Fish. Aqua. Sci., 44: 905-909.
- Matsumura, Y. 2005. Otolith marking for eggs, larvae and juveniles of ocellate puffer, *Takifugu rubripes* by alizarin complexone and tetracycline. Nippon Suisan Gakkaishi, 71: 307-317.
- Munro, J.L. and J.D. Bell. 1997. Enhancement of marine fisheries resources. Rev. Fish. Sci., 5: 185-222.
- Nakagawa, M., H. Okouchi and K. Hattori. 2007. Otolith-marking experiments of juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli* using alizarin complexone. Aqua. Sci., 55: 253-257.
- Perez-Enriquez, R. and N. Taniguchi. 1999. Genetic structure of red sea bream population off Japan and southwest Pacific, using microsatellite DNA markers. Fish. Sci., 65: 23-30.
- Prentice, E.F., T.A. Flagg and C.S. McCutcheon. 1990. Feasibility of using implantable passive integrated transponder (PIT) tags in salmonids. In: Parker, N.C., A.E. Giorgi, R.C. Heindinger, D.B. Jester, E.D. Prince and G.A. Winans (eds.), Fish Marking Techniques. American Fisheries Society Symposium 7, Bethesda, M.D., pp. 317-322.
- Schmitt, P.D. 1984. Marking growth increments in otoliths of larval and juvenile fish by immersion in tetracycline to examine the rate of increment formation. Fish. Bull., 82: 237-242.
- Stoettrup, J.G., C.R. Sparrevohn, J. Modiun and J.K. Lehmann. 2002. The use of releases of reared fish to enhance natural population: a case study on turbot, *Psetta maxima* (Linne, 1758). Fish. Res., 59(1-2): 161-180.
- Taylor, M.D., D.S. Fielder and I.M. Suthers. 2005. Batch marking of otoliths and fin spines to assess the stock enhancement of *Argyrosomus japonicus*. J. Fish Biol., 66: 1149-1162.
- Tomoda, T. and H. Kuwada. 2006. Otolith marking by dilution of alizarin complexone solution through pH adjustment for juvenile Japanese sandfish, *Arctoscopus japonicus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 72: 76-78.
- Tsukamoto, K. 1985. Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 51: 903-911.
- Tsukamoto, K. 1987. Otoliths marking method for fish eggs, larvae and juveniles. Aquabiol., 9: 103-105.
- Tsukamoto, K. 1988. Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. Nippon Suisan Gakkaishi, 54: 1289-1295.
- Tsukamoto, K., H. Kuwada, J. Hirokawa, M. Oya, S. Sekiya, H. Fujimoto and K. Imaizumi. 1989. Size-dependent mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. J. Fish. Biol., 35: 59-69.
- Uchida, K. 1936. On the Pacific cod of adjacent waters to Korea. Chosen no Suisan, 130: 24-39.
- Ueno, Y. M. Nagata, H. Kawamura, K. Suzuki, H. Mayama, J. Seki, S. Urawa, T. Ariyoshi and K. Nakamura. 1998. The origin and migration route of young *Oncorhynchus keta* in Okhotsk during autumn. Salmon Report Series, 46: 64-92.
- Yamashita, Y., S. Nagahora, H. Yamada and D. Kitagawa. 1994. Effects of release size on survival and growth of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* in coastal waters off Iwate Prefecture, northeastern Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser., 105: 269-276.