KOREAN JOURNAL OF ICHTHYOLOGY, Vol. 31, No. 4, 235-240, December 2019
ISSN: 1225-8598 (Print), 2288-3371 (Online). DOI: https://doi.org/10.35399/ISK.31.4.7

Received: October 11, 2019
Revised: October 29, 2019
Accepted: October 31, 2019

자바리(*Epinephelus moara*)와 대왕자바리(*E. moara* ♀× *E. lanceolatus* ♂)에 대한 MS-222의 마취효과

*박종연 · 김강래 · 방인철**

순천향대학교 생명시스템학과

The Anaesthetic Effect of MS-222 for Longtooth Grouper, *Epinephelus moara* and the Hybrid Grouper, *E. moara* ♀× *E. lanceolatus* ♂ by Jong Yeon Park, Kang-Rae Kim and In-Chul Bang* (Department of Life Science & Biotechnology, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University, Asan 31538, Republic of Korea)

ABSTRACT **The anaesthetic effect of tricaine methanesulfonate (MS-222) concentrations and water temperatures for longtooth grouper (*Epinephelus moara*) and hybrid grouper (*E. moara* ♀× *E. lanceolatus* ♂) were investigated. Anesthetic induction and recovery time were measured at 18, 22, 26 and 30°C of Cwater temperature and 100, 150, 200 and 250 ppm of anesthetic concentrations. Anesthetic induction time tended to decrease with increasing concentration and water temperature. Recovery time was proportional to concentration, but inversely proportional to water temperature. However, there was no significant differences in recovery time at 22°C or lower. The optimal anesthesia condition was 30°C and 100 ppm, which was the shortest recovery time for longtooth grouper, and 150 ppm at 30°C in the case of hybrid grouper because anesthetic time is significantly different with 100 ppm in spite of no significant differences with 100 ppm for recovery time. As a results of two-way ANOVA test, there was a significant difference between the species of longtooth and hybrid grouper. On the other hand, there was no interaction effect between concentration and species. Also, there was no interaction effect among species, concentration, and water temperature.**

Key words: Anaesthetics, tricaine methanesulfonate, hybrid grouper, *Epinephelus lanceolatus*, *Epinephelus moara*

서 론

어류에 있어서 마취는 채란, 채정, 계측 및 수술 등을 위해 수면 밖에서 다룰 때 발생하는 스트레스를 감소시키거나 또는 장시간 수송을 효율적으로 하기 위한 수단으로 사용되고 있다 (Pramod *et al*., 2010; Topic Popovic *et al*., 2012). 그러나 마취제는 독성을 가지고 있어 어체에 큰 영향을 끼칠 수 있다. 특히 해수에 용해시켜 사용 시 담수보다 마취효과가 감소하지만 독성은 오히려 증가되는 경향을 보여 마취제의 사용은 정확한 용량과 노출시간이 요구된다(Sada, 1985; Park *et al*., 1988).

Tricaine methanesulfonate (MS-222)는 어류마취제로서의 마취 효과 및 수용액 상태에서 높은 안정성을 보여 현재 가장 많이 효과적으로 사용되고 있으며(Massee *et al*., 1995; Topic Popovic *et al*., 2012), 일반적으로 마취농도는 25~100 mg/L로 사용하고, 수온과 경도(water hardness)뿐만 아니라 어류의 종, 크기 등과 관련이 있다(Marking, 1967; Son *et al*., 2001). 100 mg/L 이상의 MS-222 마취제 실험에 대한 이전 연구는 무지개송어(*Oncorchynchus mykiss*)에 대한 3가지 마취제로 사료섭이량과 혈장 코티솔 농도 실험(Pirhonen and Schreck, 2003), 잉어(*Cyprinus carpio*)에 대한 마취와 호흡 및 심혈관 활동 실험(Houston *et al*., 1973) Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.)에 대한 MS-222 마취실험(Malmstrøm *et al*., 1993), 줄농어(*Morone saxatilis*)에 대한 5가지 마취제 평가 등이 보고되어 있으나, 현재 자바리와 대왕바리, 교잡종에 대한 MS-222의 적정 마취농도에 대한 연구는 없다.

*Corresponding author: In-Chul Bang Tel: 82-41-530-1286, Fax: 82-41-530-1493, E-mail: incbang@sch.ac.kr

자바리(*Epinephelus moara*)는 농어목(Perciformes) 바리과(Serranidae)에 속하고 산호초 및 암초지역에 서식하는 어류로 다른 아열대 바리과 어류에 비해 저수온 내성을 가지고 있으며, 고급 어종으로 생선회 요리로 훌륭하지만(Song *et al*., 2005) 성장이 느리다는 단점이 있다. 대왕바리(*E. lanceolatus*)는 아열대 종으로 성장이 빠르고 고온에 내성을 가지고 있지만 저온 내성이 약하다. 두 종으로부터 잡종교배에 의한 잡종강세 효과를 얻고자 자바리와 대왕바리 간 교잡종인 대왕자바리가 생산된 바 있다(Park, 2016).

대왕자바리에 대한 연구는 동결보존을 이용한 대왕자바리의 난발생(Chen *et al*., 2018), 대왕자바리에 유전학적 분석 특성(Tang *et al*., 2018) 등이 보고된 바 있으나, 바리과 어류와 같이 큰 어류를 다루기 위한 마취실험 결과는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 자바리와 신교잡종 대왕자바리의 연구 및 양식 등을 위한 효과적인 취급을 위해 MS-222를 이용하여 수온과 마취농도를 달리해 마취시간과 회복시간 및 생존율을 조사하여 수온별 적정 마취농도를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

실험어로 사용한 자바리와 대왕자바리는 2014년 7월 전남 무안군 현경면 청솔수산에서 생산하였으며, 실험어는 순천향대학교 어류보전유전학 실험실로 수송하여 1주간 20°C, 300 L 원형 사육수조에서 순화시켰으며, 실험시작 24시간 전부터 절식하였다. 실험어의 평균 체중과 전장은 자바리가 9.25±1.15 g (n=20) 그리고 8.25±0.7 cm, 대왕자바리가 11.69±1.7 g (n=20) 그리고 9.29±0.52 cm 였고, 각 마취 실험구별 10마리씩 3반복으로 실험하였다.

2. 마취방법

수온은 온대성 어종인 자바리와 교잡종인 대왕자바리의 서식수온을 고려하여 18°C를 기준으로 실험구간을 4°C 간격인 22°C, 26°C 그리고 30°C 4개로 설정하였으며(Kaschner *et al*., 2016), MS-222 (Syndel, USA) 농도는 100 ppm을 기준으로 50 ppm 간격으로 나누어 150 ppm, 200 ppm 그리고 250 ppm 4개로 총 16구간을 실험하였다. 실험 당시 실내기온은 20°C 전후였으며 각 실험구별 수온을 유지하기 위해 스티로폼 박스(530×390×250 mm)에 해수 30 L와 에어스톤을 넣어 에어레이션을 하였고 22°C, 26°C, 30°C 실험구는 디지털온도조절기(OKE6710HC, Busan, Korea)와 티타늄히터봉(300 w, Aquatech, Busan, Korea)을 이용하여 가온하였으며, 18°C 실험구는 얼음을 이용하여 수온을 유지하였다.

Table 1. Stages of anesthesia and recovery from anesthesia employed as endpoints in the present study (modified from Lee *et al*., 2017)

Stage	Behavior responses in fish
Anesthesia	
3	Partial loss of equilibrium; swimming erratic
4	Complete loss of equilibrium, movement and reactivity
5	Medullary collapse; complete loss of opercular movement
Recovery	
4	Reappearance of avoidance swimming motion and reaction in reaponse to external stimuli, but still behavioral response in stolid
5	Total behavioural recovery. Normal swimming

3. 마취 및 회복판단

마취 및 회복의 판단은 Lee *et al*. (2017)의 논문에 따랐으며, 간략히 설명하면 마취는 평형감각을 잃고, 유영을 완전히 멈추고 아가미 운동을 정지하는 시점(stage 5)에서 기록하였다. 회복 수조는 해수 30 L를 넣은 스티로폼 박스에 공기를 공급하였고, 이후 마취된 어류를 박스 안에 넣어 회복시간을 측정하였다. 회복 판단은 평형감각을 되찾고 마취 전과 같이 정상적인 유영을 보이는 시점으로 하여 초 단위로 시간을 기록하였다(Table 1).

4. 통계처리

실험결과 통계처리는 SPSS 20 (IBM SPSS Statistics Version 20 program, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way 및 two-way ANOVA test를 수행하였으며, 등분산 가정이 되는 실험구는 Duncan's test, 등분산 가정이 안되는 실험구는 Games-Howell로 평균 간의 유의성을 95% 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

자바리와 대왕자바리의 MS-222 농도와 수온에 따른 마취 및 회복시간 실험 결과는 각각 Table 2와 Table 3에 나타내었다. 모든 실험구간에서의 생존율은 100%로 폐사 개체는 없었다.

자바리의 마취시간은 수온과 농도가 증가할수록 마취시간이 빠르게 나타났다($P<0.05$). 자바리의 수온과 마취농도에 대한 상호작용 효과를 알아보기 위해 이원배치분산분석으로 분석한 결과, 동일 수온구간에서 마취농도가 증가할수록, 동일 농도구간에서 수온이 높을수록 마취시간이 짧아지는 두 요인 사이의 상호작용 효과가 나타났다($P<0.05$).

Table 2. The anesthetic induction and recovery times of longtooth grouper (*Epinephelus moara*) by MS-222 concentrations and water temperatures

Concentration (mg/L)	Anesthesia time (sec)				Recovery time (sec)			
	18°C	22°C	26°C	30°C	18°C	22°C	26°C	30°C
100	$104.9 \pm 31.4^{a\,A}$	$92.5 \pm 8.4^{ab\,A}$	$53.6 \pm 3.8^{bc\,A}$	$24.2 \pm 3.4^{c\,A}$	$126.1 \pm 35.5^{a\,A}$	$109.5 \pm 13.6^{a\,A}$	$65.9 \pm 3.5^{a\,A}$	$61.8 \pm 3.8^{a\,A}$
150	$43 \pm 6.7^{a\,A}$	$62.6 \pm 1.9^{b\,B}$	$35.2 \pm 2.4^{c\,B}$	$15.2 \pm 2.2^{d\,B}$	$117.2 \pm 9.2^{a\,A}$	$130.8 \pm 15.1^{a\,B}$	$76.2 \pm 2.1^{b\,A}$	$76.8 \pm 18.2^{b\,AB}$
200	$38.2 \pm 5.6^{a\,A}$	$34.0 \pm 5.5^{a\,C}$	$24.0 \pm 2.6^{b\,C}$	$11.8 \pm 2.0^{c\,B}$	$115.6 \pm 26.0^{ab\,A}$	$179.4 \pm 4.2^{a\,C}$	$95.8 \pm 4.6^{b\,B}$	$91.1 \pm 15.6^{b\,B}$
250	$25.6 \pm 3.9^{a\,A}$	$26.0 \pm 2.3^{a\,C}$	$23.8 \pm 4.2^{a\,C}$	$12.2 \pm 2.2^{b\,B}$	$137.6 \pm 15.5^{a\,A}$	$179.7 \pm 6.4^{b\,C}$	$111.4 \pm 17.1^{c\,AB}$	$94.1 \pm 12.6^{c\,B}$

Two-way ANOVA	Mean square	F-value	P-value	Mean square	F-value	P-value
Temperature	3879.6	49.45	<0.001	12591.0	52.98	<0.001
Concentration	5297.3	67.52	<0.001	3998.8	16.83	<0.001
Interaction	631.4	8.05	<0.001	652.3	2.75	0.017

Lower case superscripts were significant water temperature differences within Concentration ($P < 0.05$). Upper case superscript were significant Concentration differences within water temperature ($P < 0.05$). Values are expressed as mean ± SD. Measurements were performed in triplicate (n = 10/group).

Table 3. The anesthetic induction time and recovery times of hybrid grouper (*Epinephelus moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) by MS-222 concentrations and water temperatures

Concentration (mg/L)	Anesthesia time (sec)				Recovery time (sec)			
	18°C	22°C	26°C	30°C	18°C	22°C	26°C	30°C
100	$150.2 \pm 26.5^{a\,A}$	$131.7 \pm 13.7^{ab\,A}$	$125.2 \pm 10.3^{ab\,A}$	$116.1 \pm 8.5^{b\,A}$	$179.9 \pm 3.1^{a\,A}$	$120.5 \pm 8.5^{b\,A}$	$99.6 \pm 7.3^{c\,A}$	$84.1 \pm 3.3^{d\,A}$
150	$72.6 \pm 4.8^{a\,A}$	$68.1 \pm 2.8^{a\,B}$	$56.6 \pm 4.4^{b\,B}$	$30.6 \pm 1.6^{c\,B}$	$187.3 \pm 6.9^{a\,AB}$	$131.2 \pm 1.3^{b\,A}$	$107.6 \pm 2.5^{c\,A}$	$86.3 \pm 7.6^{d\,A}$
200	$57.2 \pm 1.1^{a\,A}$	$53.6 \pm 1.7^{b\,C}$	$45.1 \pm 1.5^{c\,C}$	$25.7 \pm 2.7^{d\,B}$	$203.4 \pm 3.2^{a\,C}$	$156.9 \pm 8.8^{b\,B}$	$128.9 \pm 7.7^{c\,B}$	$85.4 \pm 3.1^{d\,A}$
250	$38.5 \pm 0.2^{a\,B}$	$36.4 \pm 1.9^{a\,D}$	$29.8 \pm 1.3^{b\,D}$	$23.2 \pm 2.8^{c\,B}$	$193.7 \pm 7.3^{a\,BC}$	$163.8 \pm 17.6^{b\,B}$	$142.1 \pm 13.5^{b\,B}$	$111.9 \pm 11.7^{c\,B}$

Two-way ANOVA	Mean square	F-value	P-value	Mean square	F-value	P-value
Temperature	2094.0	29.13	<0.001	21203.0	309.25	<0.001
Concentration	23451.0	326.26	<0.001	2517.6	36.72	<0.001
Interaction	112.4	1.56	0.169	241.2	3.52	0.004

Lower case superscripts were significant water temperature differences within Concentration ($P < 0.05$). Upper case superscript were significant Concentration differences within water temperature ($P < 0.05$). Values are expressed as mean ± SD. Measurements were performed in triplicate (n = 10/group).

마취로부터 회복시간은 100 ppm 실험구에서 18~30°C는 126.1~61.8초로 실험구 간에 유의한 차이가 없었지만($P>0.05$), 150~250 ppm 실험구에서는 수온 증가에 따라 유의한 차이를 보였다. 한편 자바리의 마취 후 회복시간에 대한 수온과 마취농도에 대한 상호작용 효과 역시 마취시간과 같은 결과를 나타내었다($P<0.05$).

일반적으로 고농도 마취는 저농도보다 회복시간이 더 걸리는데(Son and Lim, 2008; Han *et al*., 2011; Lee *et al*., 2017), 본 연구에서도 농도에 따른 자바리의 회복시간은 18°C 실험구를 제외하고 22°C, 26°C, 30°C의 실험구는 MS-222의 농도가 증가할수록 회복시간이 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 이는 Min *et al*. (2008)의 clove oil을 이용한 자바리(*E. bruneus*) 마취반응 연구, Son and Lim (2008)의 MS-222을 이용한 자연산 및 양식 감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*) 마취 비교연구, Murai and Catacutan (1981)의 2-phenoxy ethanol 및 MS-222를 이용한 milk fish (*Chanos chanos*) 마취실험 등에서도 동일하게 마취제의 농도가 높을수록 회복시간은 증가하는 경향을 보여 본 연구결과와 동일하였다.

대왕자바리의 MS-222에 의한 마취시간은 100~250 ppm, 18~30°C 실험구에서 수온이 증가할수록 그리고 농도가 증가할수록 유의하게 단축되었다($P<0.05$). 수온과 마취농도에 대한 상호작용 효과를 알아보기 위해 이원배치분산분석으로 분석한 결과 자바리 실험결과와 마찬가자로 동일 수온구간에서 마취농도가 증가할수록, 동일 농도구간에서 수온이 높을수록 마취시간이 짧아지는 두 요인 사이의 상호작용 효과가 나타났다($P<0.05$).

수온에 따른 대왕자바리의 회복시간은 MS-222 100~250 ppm 농도에서 수온이 증가할수록 회복시간이 통계적으로 유의하게 단축되는 것으로 나타났다($P<0.05$). 마취 후 회복시간은 수온 18°C 실험구에서 100 ppm은 179.9±3.1초, 150 ppm은 187.33±6.9초, 200 ppm은 203.43±3.2초, 250 ppm은 193.73±7.3초로 150 ppm과 250 ppm은 중간값을 보였고 100 ppm과 200 ppm의 실험구는 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 150 ppm과 250 ppm 구간의 회복시간에 중간값을 나타내는 것은 실험구 내 모든 개체가 마취된 후에 회복실험을 실시했기 때문인 것으로 추정되며, 또한 저온에서 두드러지게 나타나는 개체 차이에 따른 마취내성으로 인해 200 ppm 실험구 내에서 완전히 마취된 상태임에도 마취제에 여전히 노출된 개체가 있었기 때문이라 판단된다. 수온 18°C를 제외한 22~30°C 실험구는 마취제(MS-222)의 농도가 증가할수록 회복시간이 유의하게 높게 증가하는 것으로 나타났다($P<0.05$).

자바리와 대왕자바리 두 종 간의 마취효과에 대한 차이를 알아보기 위해 이원배치분산분석을 수행한 결과, 마취시간과 회복시간이 종과 마취농도, 수온에 유의한 차이를 보여($P<0.05$), 자바리와 대왕자바리 간 종에 따른 마취효과 차이가 뚜렷하였다. 한편 종과 마취농도, 수온의 상호작용 효과가 마취시간에서는 유의한 차이가 있었으나, 회복시간에 있어서는 종과 마취농도 간의 상호작용과 종, 마취농도, 수온 간의 상호작용 효과가 없는 것으로 나타났다($P>0.05$, Table 4).

적정 마취농도는 수산생물의 안정성을 고려해서 마취시간 3분 이내, 회복시간 5분 이내로 결정하는 것이 바람직하지만(Marking and Meyer, 1985; Weber *et al*., 2009), 회복시간의 증가는 어류에 스트레스 발생을 증가시키는 요인으로 작용한다고 보고되었다(Han *et al*., 2011). 본 연구 결과에서 온도(18, 22, 26 및 30°C)와 농도(100, 150, 200 및 250 ppm) 실험구간은 모두 3분 이내의 마취시간과 5분 이내의 회복시간 및 생존율 100%를 보여 마취온도 및 농도가 적합하다고 할 수 있으나, 자바리와 대왕자바리는 저농도(100 ppm)와 저수온(18°C)을 제외한 나머지 구간에서 수온이 낮을수록, 농도가 높을수록 회복시간은 증가하는 경향을 보였으며, 본 연구에서 마취

Table 4. The results of two-way ANOVA test according to 2 species, concentration, water temperature of 4 group and interaction for the MS-222 anaesthetic effects from longtooth grouper (*Epinephelus moara*) and longtooth giant hybrid grouper (*Epinephelus moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)

	Anesthesia time (sec)			Recovery time (sec)		
	Mean square	F-value	P-value	Mean square	F-value	P-value
Species	17655.7	234.89	<0.0001	16019.3	104.63	<0.0001
Concentration	25413.5	338.10	<0.0001	6429.3	41.99	<0.0001
Temperature	5744.5	76.42	<0.0001	27759.8	181.31	<0.0001
Species ×Concentration	3334.8	44.37	<0.0001	87.1	0.57	0.6374
Species ×Temperature	229.1	3.05	0.0349	6034.2	39.41	<0.0001
Temperature ×Concentration	462.6	6.15	<0.0001	606.9	3.96	0.0005
Species ×Temperature ×Concentration	281.2	3.74	0.0008	286.6	1.87	0.0724

시간은 유의하게 짧지만 회복시간이 통계적으로 유의한 차이가 나지 않은 수온 30°C와 150 ppm으로 마취하는 것이 가장 적합하다고 판단된다.

추후 다른 바리과 어류에서 적정 마취조건을 조사 시 본 연구결과와 같이 종에 따라 적정농도가 다를 수 있고, 종에 따른 마취농도 및 수온과 어체의 크기에 따라 적정 마취농도가 차이를 보이므로(Weber *et al*., 2009) 어체 크기별 적정 마취농도 역시 고려할 대상으로 판단된다.

본 논문에서는 잡종유도 시 사용한 부계 어류인 대왕바리에 대한 마취실험을 실시하지 못하였는데 추후 이에 대한 실험이 추가된다면 본 연구결과와의 비교를 통해 잡종효과를 구명하는 데 도움이 될 것이다.

요 약

자바리와 대왕자바리 2종을 대상으로 MS-222 농도 및 수온에 따른 마취효과 실험을 수행하였다. 농도는 100, 150, 200 그리고 250 ppm을, 수온은 18, 22, 26 그리고 30°C에서 마취 및 회복시간을 조사하였다. MS-222 농도와 수온이 높아질수록 마취시간이 짧아지는 경향을 보였으며, 회복시간은 농도와는 비례하지만 수온과는 반비례하는 경향을 보였다. 회복시간은 22°C 이하에서는 큰 차이가 없었다. 자바리의 최적 마취조건은 회복시간이 가장 짧은 30°C와 100 ppm, 대왕자바리의 경우 30°C 150 ppm이 회복시간이 100 ppm과 유의적으로 차이가 없으면서 마취시간은 유의하게 짧아 가장 적합했다. 이원배치분산분석 결과 자바리와 대왕자바리의 종 간 유의한 차이가 있었으나, 종과 농도 그리고 종, 농도, 수온에 대한 상호작용 효과는 없었다.

사 사

본 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 Golden Seed 프로젝트 사업의 지원을 받아 연구되었음(213008-05-3-SB410).

REFERENCES

Chen, Z.F., Y.S. Tian, P.F. Wang, J. Tang, J.C. Liu, W.H. Ma and J.M. Zhai. 2018. Embryonic and larval development of a hybrid between kelp grouper *Epinephelus moara* ♀×giant grouper *E. lanceolatus* ♂ using cryopreserved sperm. Aquac. Res., 49: 1407-1413.

Han, S.J., K.M. Kim, N.J. Choi, J.H. Koo, C.K. Park, W.G. Lee and S.C. Ji. 2011. Comparative efficacy of clove oil, MS-222 and 2-Phenoxyethanol as anesthetics in juvenile *Scomber japonicus*. Kor. J. Fish Aquat. Sci., 44: 653-657. (in Korean)

Houston, A.H., C.L. Czerwinski and R.J. Woods. 1973. Cardiovascular and respiratory activity during recovery from anaesthesia and surgery in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and carp (*Cyprinus carpio*). J. Fish. Res. Board Can., 30: 1705-1712.

Kaschner, K., K. Kesner-Reyes, C. Garilao, J. Rius-Barile, T. Rees and R. Froese. 2016. AquaMaps: predicted range maps for aquatic species. World wide web electronic publication. www.aquamaps.org (version 08/2016)

Lee, H.B., H.S. Jung, G.M. Ko and D.S. Kim. 2017. Comparative efficacy of 5 anesthetic agents in the glass catfish *Kryptopterus vitreolus*. Kor. J. Fish Aquat. Sci., 50: 824-828. (in Korean)

Malmstrøm, T., R. Salte, H.M. Gjoeen and A Linseth. 1993. A practical evaluation of metomidate and MS-222 as anaesthetics for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 113: 331-338.

Marking, L.L. 1967. Toxicity of MS-222 to selected fishes. 9pp. U.S. Fish and Wildlife Services, Investigations into Fish Control 12.

Marking, L.L. and F.P. Meyer. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries?. Fisheries, 10: 2-5.

Massee, K.C., M.B. Rust, R.W. Hardy and R.S. Stickney. 1995. The effectiveness of tricaine, quinaldine sulfate and metomidate as anesthetics for larval fish. Aquaculture, 134: 315-359.

Min, O.P., W.J. Hur, S.Y. Im, D.W. Seol, J. Lee and I.S. Park. 2008. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. Aquac. Res., 39: 877-884.

Murai, T. and M.R. Catacutan. 1981. Effect of 2-phenoxy ethanol and MS-222 on milkfish fingerlings, *Chanos chanos* as anesthetic agents. SEAFDEC Aquaculture Department Quarterly Research Report, 5: 19-.21.

Park, I.S., J.M. Kim, Y.H. Kim. and D.S. Kim. 1988. Influence of lidocaine as an anaesthetic for marine fishes. J. Fish. Pathol., 1: 123-130. (in Korean)

Park, J.Y. 2016. Effect of salinity change on stress response of longtooth grouper (*Epinephelus bruneus*) and longtooth giant grouper (*E. bruneus* ♀×*E. lanceolatus* ♂). Master's thesis Mokpo National University, Mokpo, 27pp. (in Korean)

Pirhonen, J. and C.B. Schreck. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO_2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorchynchus mykiss*). Aquaculture, 220: 507-514.

Pramod, P.K., T.P. Sajeevan, A. Ramachandran, S. Thampy and S.S. Pai. 2010. Effects of two anesthetics on water quality during simulated transport of a tropical ornamental fish, the Indian tiger barb Puntius filamentosus. North American Journal of Aquaculture, 72: 290-297.

Sada, E.K. 1985. Influence of the anesthetic quinaldine on the some

tilapias. Aquaculture, 46: 55-62.

Son, M.H., M.W. Park, J.I. Myeong, D.J. Kim, B.H. Kim, Q. Jo and I.G. Jeon. 2001. Anaesthetic tolerance of juvenile black rockfish Sebastess schlegeli produced for wild stock enhancement. Ocean Polar Res., 23: 285-290.

Son, M.H. and H.K. Lim. 2008. Comparison of anesthetic tolerance between the wild and cultured fish, black seabream *Acanthopagrus schlegeli* juvenile. J. Aquaculture, 21: 304-308. (in Korean)

Song, Y.B., S.R. Oh, J.P. Seo, B.G. Ji, B.S. Lim and Y.D. Lee. 2005. Larval development and rearing of longthooth grouper *Epinephelus bruneus* in Jeju island, Korea. J. World Aquacul. Soc., 36: 209-216.

Tang, J., Y. Tian, Z. Li, M. Cheng, Z. Chen, D. Mao and B. Li. 2018. Analysis of genetic characters in *Epinephelus moara*, *E. lanceolaus* and their hybrids. J. Agricul. Biotech., 26: 819-829.

Topic Popovic, N., I. Strunjak-Perovic, R. Coz-Rakovac, J. Barisic, M. Jadan, A. Persin Berakovic and R. Sauerborn Klobucar. 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. J. Appl. Ichthyol., 28: 553-564.

Weber, R.A., J.B. Peleterio, L.O. Garcia Marin and M. Aldegunde. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). Aquaculture, 288: 147-150.