

말쥐치 *Thamnaconus modestus* 자치어의 성장에 따른 소화기관 및 소화효소 발달

곽우석* · 이소광¹

경상대학교 해양생물교육연구센터 · 해양산업연구소, ¹경상남도수산자원연구소

Developmental Changes in Digestive Organ and Digestive Enzyme Activity of Filefish *Thamnaconus modestus* by Woo-Seok Gwak* and So-Gwang Lee¹ (Marine Bio-Education & Research Center, The Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea; ¹Gyeongsangnam-do Fisheries Resources and Research Institute, Tongyeong 650-947, Korea)

ABSTRACT Larvae and juveniles of the filefish *Thamnaconus modestus* were reared for 64 days after hatching (DAH) in order to determine the activity of four enzymes (trypsin, pepsin-like enzyme, lipase, amylase) during ontogeny. Larvae were fed on rotifer *Brachionus plicatilis* from 2 to 26 DAH, *Artemia* nauplii from 10 to 64 DAH, and then gradually changed to pelleted feed from 40 DAH. Temperature was kept between 21.5~24.2°C. Activity of trypsin and lipase was found in larvae 4 DAH (6.0 ± 1.4 unit) and 6 DAH (4.5 ± 1.4 unit), respectively. The evolution of activity in both enzymes showed a profile marked by drastic increases between late larval and early juvenile stages. Pepsin-like enzyme activity was found at 10 DAH and drastically increased from 28 DAH, corresponding with the early juvenile stage of *T. modestus*. Interestingly, developmental changes in the pepsin-like enzyme activity coincided well with increases in the number of gastric glands. Amylase activity was found at 10 DAH and was maintained at a low level up to 28 DAH, followed by a drastic increase from 28 DAH to 40 DAH. It might be concluded that a drastic increase in trypsin and pepsin-like enzyme activities, and a corresponding increase in the number of gastric glands reflects a higher somatic growth of *T. modestus* during the early juvenile period.

Key words : *Thamnaconus modestus*, gastric gland, trypsin, pepsin-like enzyme, lipase, amylase, protein

서 론

복어목 (Order Tetraodontiformes) 쥐치과 (Family Monacanthidae) 어종은 전세계에 31속 70여 종이 알려져 있고, 쥐치과 (Monacanthidae)에 속하는 말쥐치 *Thamnaconus modestus* (Gunther)는 우리나라의 동·서·남해, 일본 남부 연안, 동중국해 등 광범위하게 분포하는 어종으로 국내에는 약 11 종류가 서식하는 것으로 보고되어 있다(김 등, 2005).

말쥐치는 수산가공건어물인 쥐포의 원료와 횡감으로도 많이 이용되어 수산업에 있어서도 중요한 위치를 차지하고

있지만 남획으로 인해 자원량이 급격하게 감소되어 양식 대상 어종으로 주목을 받고 있다. 새로운 양식 대상종의 종묘를 안정적으로 대량 생산하기 위해서 선행되어야 할 연구는 여러 가지가 있으나, 그 중에서도 자·치어의 소화기관 발달 및 소화생리에 관한 연구는 매우 중요하다고 할 수 있다. 즉, 난에서 갓 부화하여 난황이라는 내부 영양물질을 모두 흡수하고 외부에서 영양을 흡수하기 시작하는 전기자어기부터 치어기 사이의 성장에 따른 소화기관 발달과 소화효소의 활성 변화를 구명하는 것이다. 이와 같은 연구 결과는 인공배합사료의 조성을 결정할 때뿐만 아니라 대부분의 종묘생산 어종에 있어서 필수인 사료 생물의 적절한 선택, 사료 전환기, 급이 횟수, 급이 시간, 급이 량 등에 대해

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

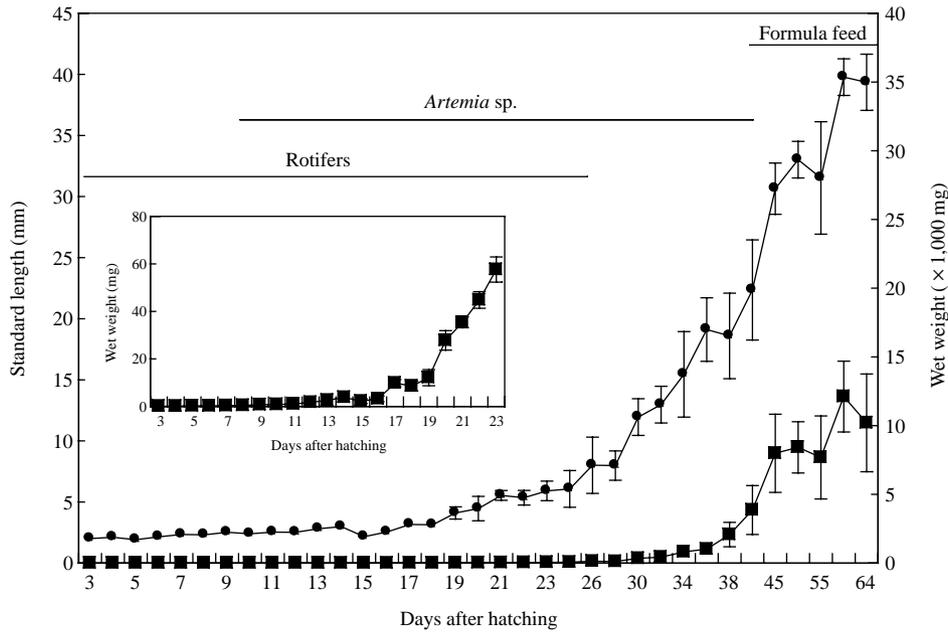


Fig. 1. Developmental changes in standard length (●) and wet weight (■) of *T. modestus* during larval and juvenile period. Lines show the live prey sequence.

서도 유효한 정보를 제공하게 된다. 이것은 소화기관이 아직 발달하지 않은 자·치어에 있어서는 성장과 생존이 걸려 있는 매우 중요한 문제라고 할 수 있다(Dabroski, 1984; Blaxter, 1988). 자·치어의 소화기관 발달에 관한 국내의 연구는 조직학적 연구로 망상어 *Ditrema temminckii* (Lee and Chin, 1995), 점농어 *Lateolabrax maculata* (Lee et al., 1998), 조피볼락 *Sebastes schlegeli* (Chin et al., 1998) 등이 있고, 소화효소 활성변화에 관한 연구는 pooled sample을 분석한 박 등(2003)의 찰가자미 *Micromus achne*에 대한 연구 그리고 자·치어 한 개체를 분석한 곽과 박(2006)의 볼락 *Sebastes inermis*에 대한 연구가 있다. 국외에서는 조직학적 연구(Tanaka, 1969, 1973; O'Connell, 1981)와 소화효소 활성(Hjelmeland et al., 1984; Holt and Sun, 1991; Oozeki and Bailey, 1995; Buchet et al., 2000; Ma et al., 2005)에 관한 많은 연구가 수행되었다. 그러나 국외에서 지금까지 수행된 소화효소 활성에 관한 연구도 정확한 분석기술의 미발달로 자·치어 한 개체가 아닌 pooled sample로 수행되어 갯 부화한 자어나 치어의 경우 개체 수준에서의 소화효소 활성 변화 파악이 불가능하였다.

본 연구는 말쭉치 자·치어의 성장에 따른 소화기관의 조직학적 변화 및 한 개체 당 소화효소 즉, trypsin, pepsin-like enzyme, amylase 그리고 lipase의 activity를 명확히 하여 종묘생산 현장에서 사료 급여 시기와 전환기 등을 판단하는데 기초자료로 활용하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

1. 자치어 사육 및 성장 측정

자치어 사육은 콘크리트 원형수조(ø6.5 m × 2 m, 50 ton) 5 개에서 이루어졌다. 말쭉치 부화자의 먹이인 rotifer 공급 시점부터 종묘까지 수색 유지 및 수질안정을 위하여 해산 농축 클로렐라로 100만 cell/mL의 농도 유지하여 green water를 만들어 주었다. 사육수는 부화 3일째까지 지수상태를 유지하였으며, 사육기간이 경과함에 따라 환수량을 점차 증가시켰다. 사육수온은 매일 오전 10시경 측정하였고 평균 사육수온은 22.9 ± 1.4°C, 평균 용존산소는 5.9 ± 0.4 ppm로 유지하였다. 자어 먹이는 시판 rotifer를 부화 후 2일부터 26 일령까지 공급하였다(Fig. 1). 공급된 rotifer 크기는 150~230 μm로 사육수 내 밀도가 15~20 개체/mL로 유지되도록 하였다. 영양강화 된 *Artemia*는 부화 후 10일부터 공급하기 시작하였으며, 부화 후 36일부터는 1~2 개체/mL 되도록 공급하였다. 배합사료는 입자 크기 250~1,000 μm (Ewha Oil and Fat Co. Ltd)를 부화 후 40일부터 공급하였다.

사육기간 중 자치어의 형태학적 측정을 위해 2~3일 간격으로 20~40 개체의 시료를 무작위로 채집하여 계측 후 5% formalin에 보존하였다. 습중량은 시료의 물기를 충분히 제거한 후, 건중량은 시료를 60°C 오븐에서 48시간 건조 후 전자저울(Mettler Toledo, AB 204-5)로 0.1 mg까지 측정하였다. 전장 및 체장은 만능투영기(Nikon V-12B)와 버니어

캘리퍼스(Mitutoyo CD-6CS)를 이용하여 0.01 mm까지 측정하였다.

2. 조직학적 분석

조직학적 실험을 위해 사육기간 중 매일 5개체 이상을 채집하였다. 조직학적 표본 제작을 위해 시료를 Bouin 용액에 24시간 고정 후 80% alcohol에 보존하였다. 파라핀 절편법에 의해 4~8 μm 두께로 연속절편을 만들어 Harry's Hematoxylin과 0.5% Eosin으로 염색하였다. 자치어 소화기관의 조직학적 발달은 현미경(Olympus DP20, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

3. 소화효소 활성 분석

소화효소활성 분석용 시료 채집일과 간격은 위에서 언급된 형태학적 측정용 시료 채집과 동일하고 채집한 개체수는 각 채집일 당 15개체이며 분석에는 10개체가 이용되었다. 분석용 시료의 채집은 먹이를 공급하기 전 위와 장이 완전히 비어있는 상태에서 실시하였다. 시료 채집 후 증류수로 세척 후 1.5 mL microcentrifuge 튜브에 한 개체씩 넣어 초저온냉동고(-80°C)에서 분석할 때까지 보관하였다. 소화효소 분석을 위해 동결 보존 되어있는 말쥐치 자·치어 한 개체를 100 μL의 homogenization buffer (20 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 10 mM CaCl₂, pH 7.5)가 들어 있는 Duall disposable homogenizer (1.5 mL microcentrifuge tube와 1회용 tissue grinder; Knotes Glass Co., San Francisco, California)로 얼음 물 속에서 2분간 130 rpm으로 분쇄하였다. Tissue

grinder의 끝 부분을 300 μL의 homogenization buffer로 씻은 후, 400 μL의 homogenate를 0°C에서 30분간 1,700G로 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액을 취하여 trypsin, pepsin-like enzyme, lipase 그리고 amylase activity 측정과 protein 정량에 이용하였다.

Trypsin activity는 N-α-carbobenzoxy-L-arginine 7-amino-4-methylcoumarin hydrochloride (CBZ-L-Arg-MCA) 기질을 이용하여 측정하였다. CBZ-L-Arg-MCA는 dimethyl-sulfoxide (DMSO)로 녹인 후 -80°C에 보존하였다. 상등액 50 μL를 250 μL의 기질과 섞은 후 37°C에서 10분간 반응시켰다. Blank도 위와 같은 방법으로 만든 후, 형광분광광도계(Shimadzu, RF-5300)로 excitation 380 nm과 emission 440 nm에서 흡광도를 측정하였다. trypsin 활성 (unit)은 1분당 형광강도의 증가량을 나타내는 unit/min/individual로 나타내었다.

Pepsin-like enzyme activity는 원심분리한 상등액 100 μL에 1 M CH₃COONa-1 N HCl(pH 2.0)과 2% 산변성 헤모글로빈 혼합액을 400 μL 첨가한 후 37°C에서 30분간 반응시키고 TCA 500 μL를 혼합하여 반응을 정지시켰다. 이것을 4000G에서 6분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 분광광도계(Shimadzu, BioSpec-mini)로 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosine 표준용액을 이용하여 표준곡선을 작성하였다. Pepsin-like enzyme 활성 (unit)은 μg tyrosine liberated/30 min/individual을 나타낸다.

Lipase activity는 6 mM Sodium Taurocholate와 0.1 M NaCl 그리고 0.5 M Tris-HCl (pH 7.4)를 혼합 후 30°C에 보존하였다. 이 혼합액 1 mL에 기질(4-Nitrophenyl Caproate)과 상등액 50 μL을 혼합한 후 Microplate reader (Bio-Rad Model

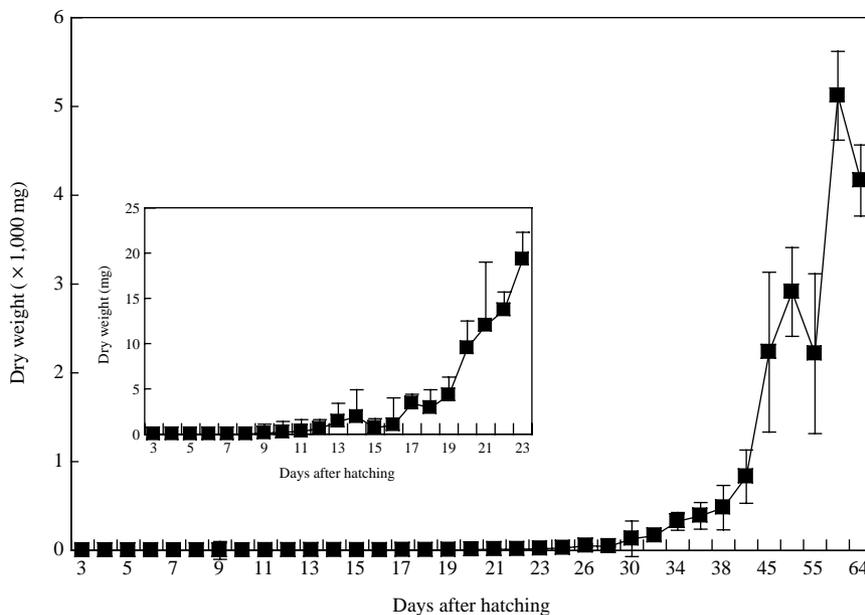


Fig. 2. Developmental changes in dry weight of *T. modestus* during larval and juvenile period.

2550)를 이용하여 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank도 위와 같은 방법으로 만든 후 측정하였다. 4-NPC의 분자흡광계수 $16,300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (조건: pH 7.4, 400 nm)를 이용하여 Total activity를 구하였다. Lipase activity (unit)는 μmol 4-NPC hydrolyzed min^{-1} 로 정의하였다.

Amylase activity는 분석용 kit(藤關聯試藥シリ"-ズ リキ テックAMY · EPS)를 이용하여 측정하였다. kit의 기질 혼합물 속에는 105 mM HEPES buffer (pH 7.1), 52 mM NaCl, 10 mM MgCl_2 , 3 mM 4, 6-ethylidene-G7 para-nitrophenol 기질, 24 U mL^{-1} α -glucosidase (enzyme code 3.2.1.20, 25°C, yeast)가 auxiliary enzyme으로 포함되어 있다. 상등액 12 μL 와 효소액 300 μL 그리고 기질 60 μL 를 혼합하여 반응 시킨 후 Microplate reader (Bio-Rad, 2550)를 이용하여 405 nm에서 측정하였다. Amylase activity (unit)는 1분 동안에 기질 1 mol을 전환하는 amylase의 활성으로 정의한다.

단백질 정량에는 Bio-Rad protein kit (Bio-Rad, Tokyo, Japan)을 이용하였다. 효소와 단백질 분석은 한 개체 당 3 반복으로 실시하여 평균값으로 나타내었다.

결 과

1. 자어 및 치어의 성장

말쥐치 부화 2일째 자어는 TL 1.87~2.17 mm (평균 1.97 \pm 0.15 mm, n=20)이었고, 부화 4일째는 난황의 대부분이 흡수되었으며, TL 1.82~2.27 mm (평균 2.11 \pm 0.21 mm, n=20)이었다. 부화 후 9일에서 10일째 등지느러미와 배지느러미의 기초가 돌출하였으며, TL 2.50~3.05 mm (평균 2.67 \pm 0.23 mm n=40), SL 2.11~2.93 mm (평균 2.46 \pm 0.27

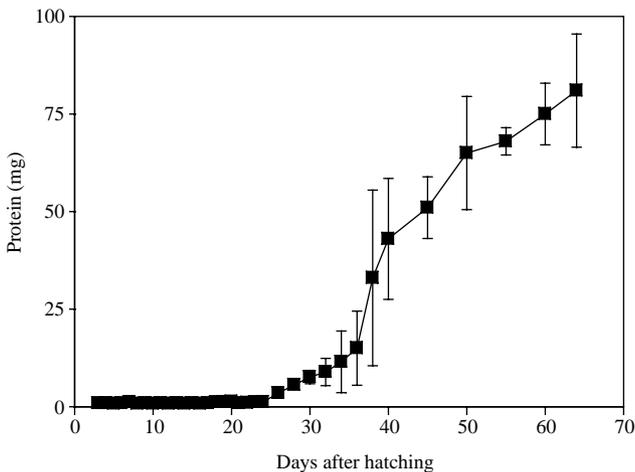


Fig. 3. Developmental changes in protein content of *T. modestus* during larval and juvenile period.

mm, n=40)이었다. 부화 후 17~18일째 등지느러미와 뒷지느러미의 원기가 형성되기 시작하였고, 척추골의 형성이 뚜렷해지기 시작하였으며, TL 2.79~4.13 mm (평균 3.37 \pm 0.26 mm, n=40), SL 2.56~3.94 mm (평균 3.15 \pm 0.29 mm, n=40)이었다. 부화 후 30~32일째 모든 지느러미의 기초는 완전히 분화되었고 성어와 비슷한 채색과 체형을 갖는 치어로 발달되어 있었으며, TL 11.85~20.56 mm (평균 14.94 \pm 3.15 mm, n=40), SL 9.01~15.84 mm (평균 12.46 \pm 2.37 mm, n=40)이었다. 방류되기 직전인 부화 후 64일째 치어는 TL 35.77~56.33 mm (평균 47.28 \pm 4.96 mm, n=20), SL 29.56~47.43 mm (평균 39.35 \pm 4.36 mm, n=20)를 나타내었다.

말쥐치 자치어의 체장은 부화 후 25일을 전후하여 급격히 증가하였고 습중량과 건중량은 약 13일 뒤인 부화 후 38일을 경계로 급격히 증가하였다(Figs. 1 and 2). 이와 같은 자치어의 체중 증가는 단백질량 증가와도 잘 일치하였는데 부화 후 24일째까지 체중에 큰 변화가 없다가 26일째

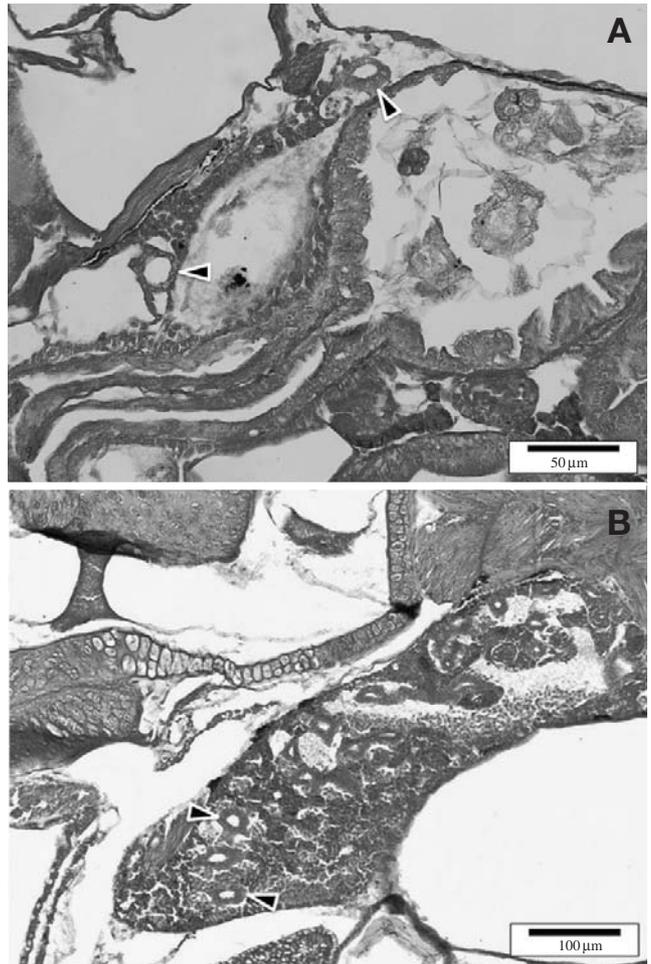


Fig. 4. Gastric gland of *T. modestus* on 16(A) and 26(B) days after hatching. Arrow heads indicate gastric glands.

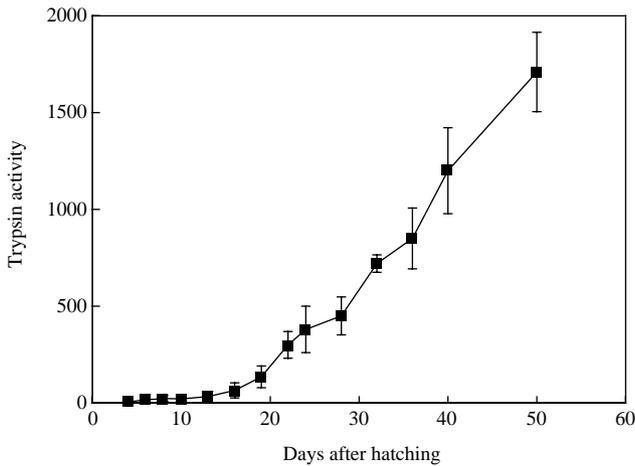


Fig. 5. Total enzyme activity of trypsin in whole body homogenate during larval and juvenile developmental period of *T. modestus*.

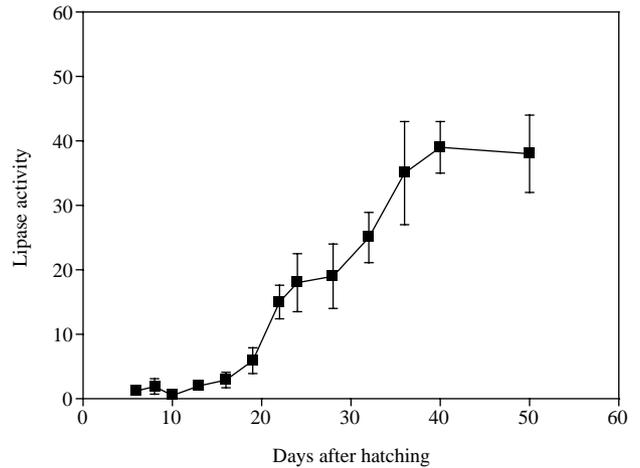


Fig. 7. Total enzyme activity of lipase in whole body homogenate during larval and juvenile developmental period of *T. modestus*.

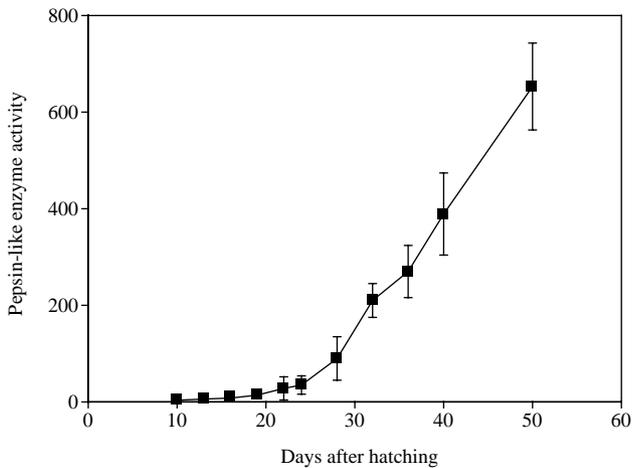


Fig. 6. Total enzyme activity of pepsin-like enzyme in whole body homogenate during larval and juvenile developmental period of *T. modestus*.

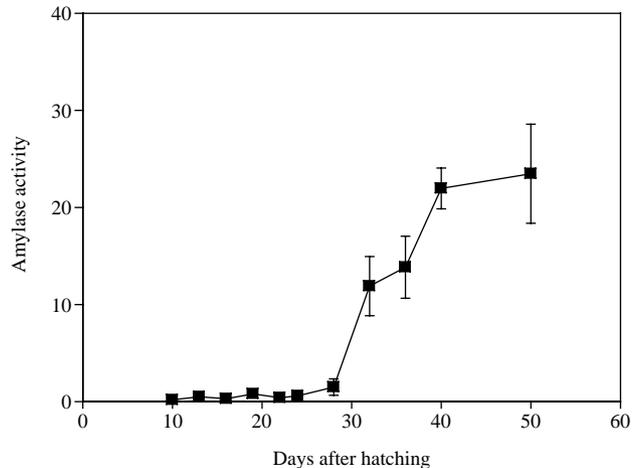


Fig. 8. Total enzyme activity of amylase in whole body homogenate during larval and juvenile developmental period of *T. modestus*.

부터 서서히 증가하기 시작하여 부화 후 38일 이후 급격히 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3).

2. 자치어 성장에 따른 조직학적 변화 및 소화효소 활성 변화

부화 4일째 자어의 난황은 대부분 흡수되어 있었으며, 입과 항문이 열려있었다. 부화 10일째 난황이 완전히 흡수되어 있었고, 자어의 장과 위에 미약한 주름이 관찰되었으며, 호산성과립세포가 확인되었다. 부화 16일째는 위체부에서 위선의 형성이 관찰되었으며 26일째는 다수의 위선이 관찰되었다(Fig. 4). 부화 50일째는 조직층을 명확하게 구분할 수 있었으며, 위선의 발달과 분비과립 등이 더욱 증가한 것

을 확인할 수 있었다.

Trypsin 활성 (unit)은 부화 후 4일째 확인되어 6.0 ± 1.4 unit을 나타냈고 13일째 57.4 ± 19.2 unit으로 서서히 증가하다가 그 이후 급격한 증가를 보였다. 부화 후 22일에는 350 ± 11 unit를 나타내었고 40일째 $1,200 \pm 220$ unit 그리고 50일째 $1,620 \pm 220$ unit을 나타내며 급격히 증가하였다(Fig. 5).

Pepsin-like enzyme 활성은 부화 후 10일째 3.5 ± 1.3 unit가 확인되었고 16일째 8.1 ± 3.2 unit로 서서히 증가하였으나, 28일째 90 ± 45 unit로 빠르게 증가하였다. 그 이후 32일째 210 ± 35 unit을 나타내었고 50일째는 653 ± 90 unit을 나타내며 급격히 증가하였다(Fig. 6).

Lipase는 부화 후 6일째 1.21 ± 0.32 unit가 확인되었고 부화 후 19일을 경계로 급격히 증가한 후 부화 후 40일째부

터 일정한 값을 유지하였다(Fig. 7).

Amylase 활성(unit)은 부화 후 10일째 0.18 ± 0.11 unit으로 처음 확인되었고 28일째까지 1.5 ± 0.8 unit으로 변화가 거의 없었다(Fig. 8). 그러나 부화후 32일째 11.9 ± 3.1 unit으로 증가하였고 40일째 21.9 ± 2.1 unit을 나타내며 급격히 증가한 후 일정한 값을 나타내었다.

고 찰

일반적으로 해산어류의 경우 부화 시에는 소화기관이 미분화 되어있고, 자어후기부터 분화가 진행되어 기본적인 구조가 확립된다. 자어후기에는 양쪽 턱의 이빨과 인두치가 분화하고 치어로 전환되는 시기에 위선의 분화와 기능화 및 유문수의 분화에 의해 자어의 소화계는 성어와 같은 모습과 기능을 갖추게 된다(田中, 1975). 渡辺(2007)는 썩기미 *Inimicus japonicus*의 경우 부화 후 10일째 체장 5.48 mm에서 위선이 처음 출현하였고 치어가 된 부화 후 20일째 체장 7.48 mm에서 다수의 분화된 위선이 관찰된 것으로 보고하였다. 또한 참돔 *Pagrus major*, 감성돔 *Acanthopagrus schlegeli*, 썩쟁이 *Sebastiscus marmoratus*, 은어 *Plecoglossus altivelis*는 자어후기의 2/3되는 시점(田中, 1975), 그리고 방어 *Seriola quinqueradiata*(榎全·落合, 1973)와 청보리멸 *Sillago japonica*은 자어후기 후반, 넙치와 같은 이체류는 변태기에 위선이 형성된다(安永, 1972; Boulhic and Gabaudan, 1992; Senger et al., 1994). 그리고 참다랑어 *Thunnus thynnus*는 脊索에 변화가 시작되는 부화 후 10일째(Miyasita et al., 1998), 삼치 *Scomberomorus niphonius*는 섭식개시 후에 위선이 형성된다(中村 등, 1992). 한편, 말쥐치의 경우, 위선이 처음 확인된 것은 부화 후 16일째 평균 체장 2.95 mm이고, 부화 후 26일째는 평균체장 8 mm로 위선이 다수 관찰되었고 형태적으로 치어의 형태를 갖춘 것을 확인할 수 있었다. 水戸(1966)도 부화 후 25~26일째 말쥐치 전장이 10 mm에 달하며 등지느러미 기조를 비롯한 모든 지느러미의 기조가 정수에 달하고 흑색소포가 몸 전역에 분포하며 성어의 형태를 갖춘 치어가 된다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 결과를 나타내었다. 결과적으로 말쥐치를 포함한 대부분의 해산어류의 경우 치어기 이전에 위선이 출현하고 치어로 전환되는 시기에 위선이 기능화 되는 것으로 사료된다.

田中(1975)는 부유생활이 30일 전후인 연안성 어종의 경우, 위선이 분화하기 시작하여 위가 기능화 되기까지 그리고 각 지느러미 기조가 분화하기 시작하여 정수가 되기까지 소요되는 시간이 거의 일치하며 부화 후 약 30일 정도 소요되는 것으로 보고하였다. 또한 渡辺(2007)는 썩기

미 *Inimicus japonicus*의 경우 부유기간이 16~28일 전후이고 위선 및 기조의 분화는 부화 후 10일 전후인 체장 5.48 mm에 시작하여 위의 기능화 및 기조의 정수화는 체장 7.48 mm인 부화 후 20일 전후에 마무리 되어 두 가지 모두 약 10일이 소요되는 것과 위의 기능화 및 기조의 정수화가 동시에 진행됨을 보고하였다. 본 실험에서 말쥐치도 위선이 처음 확인된 것과 지느러미 분화가 시작된 것은 부화 후 16일째이고 부화 후 26일째는 위선이 다수 관찰되었으며 기조가 정수에 달하여 형태적으로 치어의 형태를 갖춘 것을 확인할 수 있었다. 따라서 말쥐치도 위선 출현과 지느러미 분화가 동시에 진행되며 소요되는 시간도 약 10일로 썩기미와 유사한 경향을 나타내었다.

치어기 이전에는 위선이 기능화 되어 있지 않다고 볼 때 자어의 소화에 있어서 췌장이 매우 중요하고 유일한 소화효소 분비작용을 하는 곳이므로 성장에 따른 췌장의 발달과 활성을 조사하는 것은 매우 중요하다(O'Connell, 1981; Miwa et al., 1992; Douglas et al., 1999; Murray et al., 2003). 췌장에서 분비되는 소화효소 중의 하나인 trypsin은 자어 단계의 소화에서 가장 중요한 단백질 분해 효소이고 분비 되는 양은 섭식한 먹이의 양과 크기에 좌우 되므로 췌장 또는 장점막에서 분비되는 trypsin 활성을 측정해서 기아 또는 섭식 상황 등 자어의 건강 상태를 파악하는데 이용하기도 하였다(Pedersen et al., 1987; Ueberschär and Clemmesen, 1992). 자어의 체액 중에는 섭식개시 시에 이미 티모겐 과립이 준비되어 있어서 잉어 *Cyprinus carpio*나 감성돔 *Acanthopagrus schlegeli* 자어는 이 시기에 trypsin이 급상승한다는 보고가 있었다(Kawai, 1972). 말쥐치도 부화 후 4일째부터 trypsin이 확인되었으나 급격한 증가는 보이지 않았다. 말쥐치의 trypsin 전환성은 부화 후 19일째까지 낮은 값을 유지하였고, 특히 부화 후 10일째 trypsin 전환성은 41 ± 17 unit으로 산출후 10일째 볼락 자어와 유사한 수준을 나타내었다. 이는 조피볼락의 1/280 그리고 누루시볼락 *Sebastes vulpes*의 1/80 정도로 전환성이 낮게 나타난 것으로 말쥐치 자어 초기 protease로서의 trypsin 역할이 상대적으로 약할 것으로 추측된다. 은어 *Plecoglossus altivelis*는 25~30 mm 자어에서 trypsin 전환성의 peak가 확인 되고 이후에는 증가 없이 오히려 감소하였다(川畠, 1975). Tanaka(1973)는 원인을 자어가 치어로 성장하면서 완성된 소화관과 새롭게 분화된 위선에서 왕성하게 분비되는 pepsin-like enzyme에 의해 trypsin의 역할이 상대적으로 저하된 것으로 생각하였다. 그러나 말쥐치의 경우 부화 후 26일 이후 trypsin 전환성이 급격히 증가하는 것으로 볼 때 치어기에 pepsin-like enzyme 전환성이 높아진 때에도 trypsin이 protease로서 역할을 지속적으로 하고 있는 것으로 생각되었다. 한편 말쥐치가 치어로 전환된 부화 후 26일부터 체장이 급격히 증가하는 반면 습중량은 부화 후 36일 이후어나

증가하는 것으로 볼 때 체장 증가에 의한 성장이 우선하는 것으로 판단되었다. 또한 볼락 *Sebastes inermis* (곽과 박, 2006), 금붕어 *Carassius auratus* (Abi-Ayad and Kestemont, 1994) 그리고 넙치 *Paralichthys olivaceus* (Bolasina et al., 2006)의 경우, *Artemia* 급이 시작과 함께 trypsin activity가 높게 나타났는데 곽과 박(2006)은 자어가 큰 개체의 *Artemia nauplii*를 섭식하여 trypsin 분비량이 증가했을 가능성 또는 *Artemia*를 한 번 섭취했던 자어의 섭취율 증가에 기인했을 가능성을 제시하였다. 한편 말쥐치는 부화 후 10일째부터 *Artemia*를 급이했으나 trypsin 분비량에 큰 변화가 없다가 말쥐치 위 내용물에서 *Artemia*가 처음 발견된 부화 후 21일을 전후하여 trypsin 전환성이 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 그러므로 말쥐치 종묘생산 과정에서 *Artemia* 급이 시점을 본 연구결과에 근거하여 조절할 필요가 있을 것으로 판단된다.

Pepsin-like enzyme은 위액 중에 존재하는 소화효소 중 가장 강력한 것으로 최적 pH 2~4이고 먹이 중의 단백질 소화를 최초로 담당하는 소화효소라고 할 수 있다(田村, 1991). 말쥐치 자어기에는 pepsin-like enzyme 전환성이 낮은 값을 유지하지만 치어기로 전환된 부화 후 26일을 경계로 급격히 상승하게 된다. 이것은 볼락(곽과 박, 2006), 은어와 감성돔(Kawai, 1972) 등의 어류에서도 확인된 것으로 pepsin-like enzyme을 분비하는 위선이 치어기 이전에 분화하여 현저하게 발달하였기 때문인 것으로 판단되었다. 그러므로 말쥐치의 치어기 이후 단백질 소화에는 pepsin-like enzyme이 많은 기여를 할 것으로 사료된다.

대부분의 자어의 경우 섭식개시 시 lipase의 주요한 분비 부위인 체장에서 티모겐 과립이 다량 확인되므로(Tanaka, 1969), 섭식 초기부터 지질분해 능력은 높다고 추측된다. Bolasina (2006)는 넙치의 경우 부화 후 2일째 자어에서 neutral lipase activity를 확인하고 섭식개시 시점에서 자어는 지질을 소화할 수 있는 효소를 갖고 있음을 보고하였다. 곽과 박(2006)도 볼락 자어의 경우, 산출후 2일째부터 lipase의 전환성이 확인되었고 특히, specific activity가 높게 나타난 것에 근거하여 자어 초기부터 지질을 소화할 수 있는 능력이 있을 것으로 보고하였다. 말쥐치의 경우도 부화 후 6일째 lipase activity가 확인된 것으로 자어 초기부터 지질 소화 능력을 갖추고 있을 것으로 사료된다.

Amylase 전환성은 말쥐치가 치어로 전환된 이후 급격히 증가하는 경향을 나타내어 pepsin-like enzyme 전환성 변화와 유사한 경향을 나타내었고 부화 후 40일부터는 일정한 값을 유지하였는데 이것은 amylase를 합성하는 분비세포의 기능이 일정 수준으로 안정되었기 때문인 것으로 추측된다. 이와 같이 볼락이 산출후 50일을 전후하여 일정한 값을 나타낸 것과 유사하고 조피볼락이 부화 후 10일째 말쥐치와 유사한 값을 나타낸 산출후 10일째 볼락보다 약 40배

높은 전환성을 나타내는 것과 비교하면 대조적인 결과라고 할 수 있다(川습, 1995). 川습(1995)는 섭식개시 전후인 부화 후 5일째 조피볼락, 누루시볼락, 참돔 *Pagrus major* 그리고 감성돔 자어에서 amylase가 확인된 것을 보고하였다. 그러나 자치어 사육시 주로 급이하는 것은 동물플랑크톤인 rotifer이고 이를 배양하기 위해 식물플랑크톤을 이용하지만 해조류 내에는 전분 이외의 다당류가 포함되어 있고 자어가 이것을 섭취해도 amylase로 소화하는 것은 불가능한 것을 지적하며 많은 어종에서 자어 전기부터 확인되는 amylase 역할에 대한 의문점을 제시하였다. 이에 대해 田中(1975)는 식물플랑크톤의 탄수화물 함량이 건조중량으로 체중의 1~3%에 지나지 않는 매우 적은 양으로 자치어 영양원으로서의 중요도는 낮지만 자어의 섭식개시기에 amylase가 출현하는 것은 먹이생물의 양적 질적 변화에 대응하여 보다 다양한 먹이를 이용할 수 있는 가능성을 보장해 준 것으로 설명하였다.

난태생으로 산출 직후부터 외부에서 직접 먹이를 섭취할 수 있는 볼락 또는 조피볼락과 달리 대부분의 해산어는 난생으로 알에서 갓 부화했을 때는 먹이를 찾을 수 있는 눈, 먹이를 쫓아서 포획할 수 있는 유영력 그리고 먹이를 소화할 수 있는 기능화 된 소화기관을 갖지 못하다가 부화 후 발생이 진행되면서 이와 같은 능력을 갖추어나간다(水戸, 1966). 한편 곽과 박(2006)은 난태생인 볼락의 경우, 같은 속에 속하는 조피볼락, 황점볼락 보다 자어기가 상대적으로 길고, 치어가 되면서 소화관이 완성되어 기능화 되고(Harada, 1962), 이로 인해 소화관내에 먹이가 머무는 시간과 먹이와 소화효소가 소화관내에서 혼합될 수 있는 시간이 늘어나 효율적인 소화가 일어나게 되어 결과적으로 치어기 이후의 성장률 상승에 기여하는 것으로 생각된다고 하였다. 말쥐치도 형태학적으로 치어의 형태를 갖춘 부화 26일째 위선이 다수 관찰되었으므로 이와 함께 급격한 체성장이 수반된 것으로 판단된다.

본 연구에서 말쥐치 소화효소 활성과 체장 및 체중의 변화는 밀접한 상관관계를 갖고 있음을 알 수 있다. 특히 체중 증가가 현저하게 나타나기 시작하는 시기에 맞춰서 각 효소의 전환성이 급격히 상승하는 것은 흥미로운 현상이라고 할 수 있다. 일반적으로 이 시기는 위선이 기능적으로 역할을 하는 시기와 일치하므로 단백질 소화능력의 비약적인 증가에 기인하여 체중이 증가하였을 것으로 추측된다. 이와 같은 결과는 말쥐치 부화 후 26일째 확인된 다수의 위선이 뒷받침한다. 곽과 박(2006)은 볼락의 경우 체중이 급격하게 증가하는 시기가 볼락 양식에 있어서 생물사료에서 배합사료로 전환하는 시기로 적합하다고 제시하였는데 말쥐치의 경우도 체중이 급격히 증가하는 시기를 사료전환기로서 고려할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

말쥐치 자치어의 성장에 따른 소화기관 및 trypsin, pepsin-like enzyme, lipase, amylase 활성의 변화를 확인하기 위하여 64일간 사육실험을 수행하였다. 자어는 부화 후 2~26일 rotifer *Brachionus plicatilis*를 급이 하였고 부화 후 10~64일에는 *Artemia nauplii*를 급이 하였다. 그리고 부화 후 40일부터 배합사료를 급이 하기 시작하여 사료를 서서히 전환하였다. 사육기간 동안 수온은 21.5~24.2°C를 유지하였다. Trypsin과 Lipase 활성은 부화 후 4일째 (6.0 ± 1.4 unit) 그리고 6일째 (4.5 ± 1.4 unit) 각각 확인되었다. 이들 두 효소의 활성은 말쥐치 자어후기와 치어초기에 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. Pepsin-like enzyme 활성은 부화 후 10일째 확인되었고 말쥐치 치어 초기 단계인 28일부터 급격히 증가하였다. Pepsin-like enzyme 활성 변화와 위선 수의 변화가 일치하는 것은 흥미로운 현상이라고 할 수 있다. Amylase 활성은 부화 후 10일째 확인되었고 부화 후 28일까지 낮은 값을 유지하였으며 부화 후 28일과 40일 사이에 급격히 증가하였다. 결과적으로 말쥐치 치어초기의 Trypsin과 Pepsin-like enzyme 활성의 급격한 증가와 위선 수의 증가에 기인하여 치어기 급격한 체성장이 일어났을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2008년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2006-003-F00042).

인 용 문 헌

- 광우석 · 박대원. 2006. 볼락, *Sebastes inermis* 자 · 치어의 성장에 따른 소화효소 활성 변화. 한국양식학회지, 19: 125-132.
- 김익수 · 최 윤 · 이충열 · 이용주 · 김병직 · 김지현. 2005. 원색한국어류대도감. 교학사, 서울, pp. 495-499.
- 박상언 · 임한규 · 한현섭 · 이종하 · 임영수 · 이종관 · 이상민. 2003. 찰가자미, *Micromus achne* 자어의 성장과 발달에 따른 소화효소 활성의 변화. 한국양식학회지, 16: 233-239.
- Abi-Ayad, A. and P. Kestemont. 1994. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet. Aquaculture, 128: 163-176.
- Bolasina, S., A. Pérez and Y. Yamashita. 2006. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 252: 503-515.
- Blaxter, J.H.S. 1988. Pattern and variety in development. In: Hoar, W.S. and Randall, D.J. (eds.), Fish Physiology, Academic Press, San Diego, pp. 1-58.
- Boulhic, M. and J. Gabaudan. 1992. Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). Aquaculture, 102: 373-396.
- Buchet, V., J.L. Zambonino Infante and C.L. Cahu. 2000. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum *Sciaenops ocellatus* larvae. Aquaculture, 184: 339-347.
- Chin, P., J.S. Lee, Y.K. Shin and H.G. Kim. 1998. Biological study on the increment of survival rate during early life cycle in the rockfish, *Sebastes schlegeli* (Teleostei; Scorpaenidae). III. Ultrastructure of the adult digestive tract. Korean J. Ichthyol., 10: 115-127. (in Korean)
- Dabrowski, K.R. 1984. The feeding of fish larvae: present 'state of the art' and perspectives. Reproduction, Nutrition, Development, 24: 807-833.
- Douglas, S.E., A. Gawlicka, S. Mandala and J.W. Gallant. 1999. Ontogeny of the stomach in winter flounder: characterization and expression of the pepsinogen and proton pump genes and determination of pepsin activity. J. Fish Biol., 55: 897-915.
- Harada, E. 1962. A contribution to the biology of the black rockfish, *Sebastes inermis* Cuvier et Valenciennes. Publ. Seto. Mar. Biol. Lab., 10: 307-361.
- Hjelmeland, K., I. Huse, T. Jørgensen, G. Molvik and J. Raa. 1984. Trypsin and trypsinogen as indices of growth and survival potential of cod (*Gadus morhua* L.) larvae. In: Dahl, E., Danielssen, D.S., Moksness, E. and Solemdal, P. (eds.), The Propagation of Cod *Gadus morhua* L. Arendal: Flødevigen Rapportserie, pp. 189-202.
- Holt, G.J. and F. Sun, 1991. Lipase activity and total lipid content during early development of red drum *Sciaenops ocellatus*. European Aquaculture Society, Special Publication, 15: 30-33.
- Kawai, S. 1972. Studies on the digestive enzymes of fishes with special references to carbohydrates. Ph.D. Thesis, Kyoto Univ., pp. 1-44. (in Japanese)
- Lee, J.S. and P. Chin. 1995. Morphology and histochemical characteristics of the alimentary tract in surf perch, *Ditrema temmincki*. Korean J. Ichthyol., 7: 140-149. (in Korean)
- Lee, J.S., K.S. Jeong and S.H. Huh. 1998. Internal morphology and histochemistry of the digestive tract in the spotted sea bass, *Lateolabrax* sp. Bull. Fish. Sci. Inst. Yosul Nat'l Univ., 7: 105-113. (in Korean)
- Ma, H., C. Cahu, J. Zambonino, H. Yu, Q. Duan, M. Le Gall and K. Mai. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 245: 239-248.
- Miwa, S., K. Yamano and Y. Inui. 1992. Thyroid hormone stimulates gastric development in flounder larvae during meta-

- morphosis. *J. Exp. Zool.*, 261: 424-430.
- Miyasita, S., K. Kato, Y. Sawada, O. Murata, Y. Ishitani, K. Shimizu, S. Yamamoto and H. Kumai. 1998. Development of digestive system and digestive enzyme activities of larval and juvenile Bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, reared in the laboratory. *Suisanozoshoku*, 46: 111-120.
- Murray, H.M., J.W. Gallant, J.C. Pérez-Casanova, S.C. Johnson and S.E. Douglas. 2003. Ontogeny of lipase expression in winter flounder. *J. Fish Biol.*, 62: 816-833.
- O'Connell, C.P. 1981. Development of organ systems in the northern anchovy *Engraulis mordax*, and other teleosts. *Am. Zool.*, 21: 429-446.
- Oozeki, Y. and K.M. Bailey 1995. Ontogenetic development of digestive enzyme activities in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. *Mar. Biol.*, 122: 177-186.
- Pedersen, B.H., E.M. Nilssen and K. Hjelmeland. 1987. Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring (*Clupea harengus*) digesting copepod nauplii. *Mar. Biol.*, 94: 171-181.
- Senger, H., V. Storch, M. Reinecke and W. Kloas. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.*, 119: 471-486.
- Tanaka, M. 1969. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae-I. Development of the digestive system during prelarval stage. *Jpn. J. Ichthy.*, 16: 1-9.
- Tanaka, M. 1973. Studies on the structure and function of the digestive system of teleost larvae. Ph.D. thesis, Kyoto University, Kyoto, Japan, 134pp.
- Ueberschär, B. and C. Clemmesen. 1992. A comparison of the nutritional condition of herring larvae as determined by two biochemical methods-trypsin activity and RNA/DNA ratio measurements. *ICES J. Mar. Sci.*, 49: 245-249.
- 渡辺 憲一. 2007. オニコゼ *Inimicus japonicus* の成長と成熟に関する研究. 宮崎大学. 博士学位論文. 149pp.
- 水戸 敏. 1966. 日本海洋プランクトン圖鑑, 第7巻 魚卵・稚魚. 蒼洋社, 63pp.
- 安永 義揚. 1972. ヒラメ稚仔消化器官の発達について. 東海水研報, 69: 75-89.
- 榎全普・落合明. 1973. 仔稚魚期における消化管の構造と機能の発達に就いて. 日水誌, 39: 923-930.
- 田村 保. 1991. 消化吸収. 田村 保編, 魚類生理學概論, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 84-103.
- 中村陽子・田中克・青海忠久. 1992. サワラの仔稚魚期における消化管の発達. 平成 4 年度 日本水産学会春期大会講演要旨集. p. 201.
- 川合 眞一郎. 1975. 消化酵素. 日本水産學會編, 稚魚“攝食”發育. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 30-40.
- 川合 眞一郎. 1995. 栽培漁業技術体系化事業基礎理論コーステキスト集, 東京, 36pp.
- 田中 克. 1975. 稚魚の消化系. 日本水産學會編, 稚魚“攝食”發育. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 7-23.