

영양강화 Rotifer와 효소활성 향상 Rotifer의 먹이효율 비교

권오남*, 박희기¹

강릉대학교 동해안생명과학연구소, 강릉대학교 해양생명공학부

Comparison of Feed Efficiency Between Rotifers Enriched Lipid-contents to Enrichment and Enhanced Digestive Enzymes Activity to Starch

O-Nam Kwon* and Heum Gi Park¹

East coastal Life Science Institute, Kangnung National University, 210-702 Gangneung, Korea

¹Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, 210-702 Gangneung, Korea

In this study, we carried out an experiment for estimation the larval digestibility in aspects which digestive enzymatic activities and nutrition of the rotifers, *Brachionus rotundiformis*. Thus we enhanced the digestive enzymatic activity through the addition of starch for the increase of digestibility of rotifer (starch-rotifer), and compared with the feed efficiency through rearing of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* used rotifer lipid-enriched with Algamac 2000[®] (CE-rotifer). The digestive enzyme activities (except for TG-lipase), total protein contents, total essential amino acid, essential amino acids (methionin and phenylalanine) of starch-rotifer (the rotifer used a starch as additive, and enriched not) was assayed significantly higher than CE-rotifer ($P<0.05$). And total lipid, lipid classes (except for sterol) and fatty acids as DHA and EPA showed higher in CE-rotifer than starch-rotifer ($P<0.05$). But, sterol contents and ST/TG ratio were shown significantly higher in starch-rotifer ($P<0.05$). The flounder larvae supplied the two rotifers showed standard length and body weight that not significantly differed with ranges 3.72~3.79 mm and 32.9~37.8 mg/larva on 6 days after hatching (DAH), respectively ($P>0.05$). However, these of 12 DAH showed the values of significantly higher to 5.94±0.249 mm, 144.0±23.86 mg/larva and 26.2±12.13% in standard length, body weight and survival in CE-flounder than that of starch-flounder ($P<0.05$). The hydrolytic enzymatic activities of flounder larvae severally supplied the two rotifers showed the significantly higher activities in acidic -amylase, neutral -amylase, TG-lipase, lysozyme and acidic phosphatase in starch-flounder on 5 DAH ($P<0.05$). But neutral α -amylase, three proteases and two phosphatases of CE-flounder on 11 DAH showed the significantly higher activities than that of starch-flounder ($P<0.05$). Therefore, for the flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae just depleted yolk was more beneficial to supply the feed, rotifer, enhanced the digestibility than to supply the feed lipid-enriched for aspect of larval digestibility up to 6 DAH, thereafter nutrition of absorption due to the development of digestive organs suggested that enrichment effect appeared with larval somatic growth. Consequently, investigation more detailed about the larval digestive physiological and nutritional requirement variations after 6 DAH will be necessary, thereafter.

Keywords: *Brachionus rotundiformis*, Lipid enriched, Digestive enzymes enhanced, Starch, *Paralichthys olivaceus*

서론

어류 자어는 동물성 먹이생물을 공급받게 되는 시점에서 먹이 섭취와 소화는 위하여 내부기관이 발달하게 된다(Zambonino Infante and Cahu, 2001; Jaravata et al., 2004). 그렇지만 이 시기 자어는 절대적인 운동력 부족과 소화력의 부족으로 먹이의 섭취뿐만 아니라 섭취한 먹이의 소화도 원활하게 이루어지지 않는다. 그러나 충분한 먹이의 섭취와 소화가 이루어지지

않는다면, 이들은 첫 먹이를 먹어 볼 기회도 없이 폐사하거나 이후 성장에 영향을 받을 수 있을 만큼 내부 기관의 발달이 이루어지지 않을 수 있다(Hjort, 1914; Porter and Theilacker, 1999).

이와 같이 자어는 난황 흡수 후 수 일 이내에 장의 발달을 통해 섭취한 먹이의 소화/흡수를 위한 준비를 하게 된다(Dettlaff et al., 1993). 그렇다고 해도 위의 생성이 이루어지지 않는다면 불완전한 소화과정이 이루어지는 시기가 연속될 수 밖에 없다. 그러나 초기 생활사에서 위는 부화 후 약 20일 전후에 형태적

*Corresponding author: onamkwon@yahoo.com

으로나 기능적인 위가 갖추어져서 영양분 특히, 단백질의 완벽한 소화가 가능해 진다(Chong et al., 2002). 기능적인 위가 만들어지기 전에는 췌장과 장의 기능으로 먹이의 소화과정이 이루어진다. 그렇지만 난황흡수 직후의 자어는 이들의 기능조차도 원활하지 않아서 절대적인 먹이 내 영양의 소화능력이 부족하다(Dabrowski and Rusieki, 1983). 그러나 부화 후 난황 성분을 이미 흡수하기 위해 일부 장과 직장의 미세융모와 같은 흡수기관이 발달해 있기 때문에, 소화 및 흡수하기 쉬운 먹이를 공급받거나 섭취했을 때는 큰 문제가 되지 않는 것으로 판단된다(Ribeiro et al., 1999a, b). 그리고 섭취할 수 있는 초기 먹이의 절대적인 량과 자어의 소화능력의 부족은 rotifer나 Artemia와 같은 일반적인 동물성 먹이생물로도 보충해 주기 힘들 것으로 판단되지만 동물성 먹이생물은 지질 영양강화를 통해서 자어에게 필요한 HUFA와 같은 영양분의 공급자로서 그 역할을 다한다. 그래서 먹이생물을 이용하여 영양뿐만 아니라 자어의 소화력까지도 증가시켜 공급해 줄 필요가 있으며, 일부에서 미립자사료를 이용하여 소화력 향상을 꾀하기도 하지만(Kolkovski et al., 1997), 동물성 먹이생물이 아니라면 현재까지 불가능한 방법이라고 판단된다. 이 같이 초기 소화력이 부족하여 이들 자어의 생존까지 위협받을 수 있는 초기 난황흡수 직후에 소화력까지 증가시켜 줄 수 있는 먹이생물을 공급해 준다면, 부화 후 원인 모를 대량폐사의 많은 원인 중에 한가지를 해결할 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 자어의 부족한 소화력을 증가시키기 위해 먹이로 공급될 rotifer의 소화력을 한층 더 높여서 공급하기 위한 실험을 수행했다. 그래서 rotifer의 소화력을 증가시켜 줄 목적으로 배양수에 탄수화물인 starch를 공급하여 rotifer의 소화효소 활성의 향상을 꾀했으며, 이들의 먹이효율을 일반적

인 방법으로 배양하고 지질 영양강화시킨 rotifer를 이용하여 넙치 자어를 대상으로 성장 및 이들 자어의 효소 활성 및 생존율을 비교해 보았다.

재료 및 방법

Rotifer 배양/소화효소 분석

Rotifer는 강릉대학교 해양생명공학부 먹이생물연구실에서 배양중인 *Brachionus rotundiformis* (Uljin strain)을 사용하였다. 28°C, 15 psu에서 배양하였으며, 먹이는 담수산 농축 *Chlorella*를 2,000 개체당 2 mg을 하루에 2 번으로 나누어서 공급하였다. *Chlorella*만 공급하고 배양하던 rotifer를 지질 영양강화한 것(CE-rotifer)과 starch를 *Chlorella*와 함께 공급한 starch구(starch-rotifer)로 나누어서 준비하였다. 각각의 rotifer는 소화효소와 영양조성분석을 위해 샘플링 하였으며, 분석된 소화효소(α -amylase, total alkaline protease 및 TG-lipase)는 rotifer 개체당 활성으로 나타내었다. 그리고 영양조성(총 단백질, 아미노산, 총 지질, 지질 classes 및 지방산)은 건중량 당 백분율로 나타내었다(단, 지방산은 지방산 총량 중 백분율).

넙치사육/소화효소 분석

실험에 사용한 넙치 자어는 강원도수산자원연구소에서 분양 받은 부화율 98%의 수정란에서 부화한 것들이었다. 부화부터 실험종료시인 부화 후 12일까지 19에서 사육하였으며, 250 L 수조(사육수 200 L)에 수정란 4,000개를 입식하였고, 부화 후 3일째 아침부터 먹이 공급을 하였다. 그리고 넙치사육은 3 회 반복하였다. 먹이는 지질 영양강화한 rotifer (CE-넙치)와 starch를 배양 시에 첨가해 준 rotifer (starch-넙치)로 각각 넙치 사

Table 1. Methodology for digestive enzyme assay determined for flounder larvae in this study

Enzymes, assay		Assay conditions		
Substrates	Incubation conditions	Buffers and pHs		
α -amylase (Somogyi, 1952)				
Acidic	3.0% Soluble starch	30°C, 60 min	Tris-HCl buffer pH 4.0	
Neutral*	3.5% Soluble starch	30°C, 50 min	phosphate-NaOH buffer pH 7.0	
Alkaline	4.0% Soluble starch	30°C, 50 min	phosphate-NaOH buffer pH10.0	
Total alkaline protease (Dabrowski and Glogowski, 1977)				
Acidic-like	0.3% hemoglobin	60°C, 80 min	Tris-HCl buffer pH 3.0	
Trypsin-like*	0.5% azo-casein	55°C, 40 min	phosphate-NaOH buffer pH 8.0	
Chymotrypsin-like	0.5% azo-casein	65°C, 40 min	phosphate-NaOH buffer pH11.0	
Lysozyme (Myrnes and Johansen, 1994)				
	125 μ g/ml <i>Micrococcus lysodeikticus</i>		sodium-acetate buffer pH 5.5	
Phosphatase (Bessey et al., 1946 and Ribeiro et al., 1999b)				
Acidic	5 mM pNPP	50°C, 40 min	Tris-HCl buffer pH 4.0	
Alkaline	5 mM pNPP	40°C, 25 min	Tris-HCl buffer pH 10.0	
TG-lipase (Schmidt et al., 1974)*				
	81.2 mM olive oil	25°C, 25 min	phosphate-NaOH buffer pH 8.0	

* * ” was to assay in the only rotifer.

육수조에 10 rotifers/ml의 밀도로 공급하였다. 각각의 넙치 자어는 부화 후 6, 12일에 성장과 생존율을 확인하였으며, 부화 후 5, 11일에 소화효소 활성 측정을 위해 샘플링 하였다. 분석된 소화효소 활성(α -amylase, total alkaline protease, TG-lipase, phosphatase 및 lysozyme)은 넙치 자어 당 활성으로 나타내었다.

Rotifer와 넙치의 소화효소 활성과 영양성분분석

Rotifer와 넙치의 소화효소 활성은 Table 1에 의해 분석하였다. 총 지질은 자동아미노산분석기(L-8800, Hitachi, Japan)를 이용하여 분석한 구성아미노산들의 합을 이용하여 계산하였으며, 총 지질은 박막크로마토그래피(thin layer chromatography, Iatrosan MARK^{new}, Iatron, Japan)를 이용하여 분석한 지질클래스의 합을 이용하여 계산하였다. 그리고 지방산은 자동샘플 공급기가 장착된 가스크로마토그래피(gas chromatography, HP6890, U.S.A.)를 이용하여 분석하였으며 총지방산 내 백분율로 나타내었다(Parrish, 1987).

통계처리

지질 영양강화한 rotifer와 배양 시 starch를 첨가한 rotifer의 소화효소 활성과 조성분 그리고 이들 rotifer를 공급받은 넙치들

의 성장, 생존율 그리고 소화효소 활성들의 평균은 SPSS program Ver. 10.0.7 (SPSS Inc., 2000, Michigan Avenue, Chicago, Illinois, U.S.A.)을 이용하여 t-test를 유의수준 95%로 처리하였다.

결 과

영양강화 rotifer (CE-rotifer)와 starch 첨가 rotifer (starch-rotifer)의 비교

CE-rotifer와 starch-rotifer의 소화효소활성과 조성분 분석결과는 Table 2에 나타내었다. Neutral α -amylase와 trypsin-like protease 활성은 지질 영양강화 시 낮아져서 starch-rotifer에서 0.62±0.017 U/rotifer와 0.248±0.015 U/rotifer으로 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 기질(substrate)인 지질의 공급이 이루어진 CE-rotifer의 TG-lipase는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그리고 함황 아미노산인 methionin과 방향족 아미노산인 phenylalanin에서 starch-rotifer에서 보다 높은 0.8±0.01 µg/mg DW와 3.1±0.04 µg/mg의 함량으로 CE-rotifer 보다 유의적으로 높게 분석되었으며, 필수아미노산 함량과 총 단백질량 또한 각각 25.1±0.35% DW와 65.3±0.83% DW로 CE-rotifer 보다 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 총 지질, 지질 클래스 및 지방

Table 2. Digestive enzymes activity, total protein, several amino acid, total lipid, lipid classes and fatty acids of the rotifers, *Brachionus rotundiformis* (CE and starch) used the rearing of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

		CE ¹ -rotifer	Starch ² -rotifer	
Digestive Enzymes (U/rotifer)	Neutral α -amylase	0.07±0.017	0.62±0.017*	
	Trypsin-like protease	0.18±0.029	0.25±0.02*	
	TG-lipase	0.10±0.013	0.09±0.009	
Amino acids	Total protein (%)	52.5±0.04	65.3±0.83*	
	EAA(% of DW) ³	19.3±0.01	25.1±0.35*	
	Methionin (ug/mg)	0.6±0.02	0.8±0.01*	
	Phenylalanin(ug/mg)	2.4±0.04	3.1±0.04*	
	Tyrosin(ug/mg)	1.5±0.09	1.5±0.03	
Nutrient Contents (%)	Total lipid (%)	8.0±0.30	7.2±2.56	
	Triacylglycerol(TG)	21.6±3.05*	18.3±0.82	
	Phospholipid(PL)	60.3±2.18	63.5±2.20	
	Lipid Classes (%)	Sterol(ST)	3.9±1.34	7.0±1.01*
	ST/TG	0.19±0.082	0.38±0.042*	
	Lipid: protein ratio	0.15±0.006*	0.11±0.039	
Fatty acids (% in the total fatty acids)	C18:3n3	3.5±0.53*	1.9±0.23	
	C20:4n6	1.1±0.21	1.1±0.14	
	C20:5n3	1.0±0.18*	0.1±0.01	
	C22:6n3	12.6±0.79*	0.0±0.00	
	n-3 HUFA	4.5±0.35*	2.1±0.24	
	UI ⁴	190.6±8.34*	145.0±1.35	

¹CE, rotifer enriched with lipid (Algamac 2000[®]) at room temperature during 8-12 hours after semi-continuous culture at 28°C with the freshwater condensed *Chlorella vulgaris*.

²rotifer enhanced with the digestive enzymes by supplementation of 10 mg/100,000 rotifers/day starch with semi-continuous culture at 28°C with the freshwater condensed *Chlorella vulgaris*.

³EAA, essential amino acid.

⁴Unsaturated index of fatty acids.

*indicated to differ the significantly between rotifers lipids-enriched and rotifers enhanced enzymatic activity.

산에서는 sterol 함량과 sterol: triacylglycerol ratio에서 $7.0 \pm 1.01\%$ 와 0.38 ± 0.042 로 starch-rotifer에서 유의적으로 높게 분석되었을 뿐 총 지질, 지질 클래스에서 triacylglycerol과 phospholipid, 그리고 지방산에서 linolenic acid, EPA, DHA, n-3 HUFA 및 unsaturated index of fatty acid에서 CE-rotifer에서 높게 나타났다. 그리고 lipid: protein ratio 또한 CE-rotifer에서 0.15 ± 0.006 으로 starch-rotifer 보다 유의적으로 높게 나타났다.

두 가지 rotifer를 각각 섭취한 넙치 자어(CE-넙치와 starch-넙치)의 성장 및 생존율

이 두 가지 rotifer를 공급받은 넙치의 부화 후 6일과 12일에서의 성장과 생존율은 Table 3에 나타내었다. 부화 후 6일까지의 넙치자어의 체장과 체중은 $3.72 \sim 3.79$ mm와 $32.9 \sim 37.8$ mg/

Table 3. Somatic growth and survival on 6 and 12 DAH of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae reared with the rotifers (CE and starch)

		CE ¹ -flounder	Starch ² -flounder
6 DAH	Length (mm)	3.72 ± 0.072	3.79 ± 0.060
	Weight (μ g)	37.8 ± 7.83	32.9 ± 6.47
	Survival (%)	27.0 ± 11.51	$31.7 \pm 14.15^*$
12 DAH	Length (mm)	$5.94 \pm 0.249^*$	4.84 ± 0.332
	Weight (μ g)	$144.0 \pm 23.86^*$	62.8 ± 5.68
	Survival (%)	26.2 ± 12.13	11.1 ± 7.79

¹, ² and * was same with Table 1

Table 4. The hydrolyzed enzymes (α -amylases, proteases, TG-lipase, phosphatases, lysozyme) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed the rotifers enriched the lipid and fed the starch.

		pH range	Days after Hatching	CE ¹ -flounder (U/larva)	Starch ² -flounder (U/larva)
α -amylase	Acidic		5	33.5 ± 3.41	$52.6 \pm 0.76^*$
			11	47.8 ± 4.56	39.6 ± 5.18
	Neutral		5	22.9 ± 2.79	$67.4 \pm 5.22^*$
			11	$80.0 \pm 13.94^*$	61.7 ± 2.76
	Alkaline		5	$45.5 \pm 1.78^*$	30.6 ± 7.47
			11	41.4 ± 6.21	47.3 ± 2.67
Protease	Acidic		5	0.005 ± 0.0002	0.005 ± 0.0000
			11	$0.010 \pm 0.0003^*$	0.003 ± 0.0001
	Trypsin-like		5	0.005 ± 0.0004	0.005 ± 0.0003
			11	$0.007 \pm 0.0007^*$	0.000 ± 0.0000
	Chymotrypsin-like		5	$0.004 \pm 0.0001^*$	0.001 ± 0.0002
			11	$0.015 \pm 0.0005^*$	0.008 ± 0.0005
TG-lipase		5	1.53 ± 0.096	$4.38 \pm 0.167^*$	
		11	1.23 ± 0.546	$2.01 \pm 0.000^*$	
Phosphatase	Acidic		5	2.48 ± 0.075	$3.92 \pm 0.086^*$
			11	$3.11 \pm 0.045^*$	1.80 ± 0.030
	Alkaline		5	0.71 ± 0.062	0.74 ± 0.020
			11	$1.18 \pm 0.031^*$	0.10 ± 0.048
	Lysozyme		5	0.003 ± 0.0002	$0.004 \pm 0.0005^*$
			11	0.000 ± 0.0000	0.000 ± 0.000

¹, ² and * was same with Table 1

larva로 두 실험구간의 유의적인 차이가 없었다. 그리고 생존율에 있어서도 starch-넙치에서 $31.7 \pm 14.15\%$ 로 높게 나타났지만 $27.0 \pm 11.51\%$ 의 생존율을 보인 CE-넙치와 유의적인 차이는 없었다. 그러나 부화 후 12일째의 이들 자어는 CE-넙치에서 유의적으로 보다 높은 5.94 ± 0.249 mm, 144.0 ± 23.86 mg/larva 및 $26.2 \pm 12.13\%$ 의 생존율을 보였다.

두 가지 rotifer를 각각 섭취한 넙치 자어의 가수분해효소 활성

이들 두 rotifer를 공급받은 넙치자어의 가수분해 효소 활성은 Table 4에 나타내었다. 이들의 가수분해효소는 부화 후 5일째 acidic α -amylase, neutral α -amylase, TG-lipase, lysozyme 및 acidic Phosphatase에서 각각 52.6 ± 0.76 U/larva, 67.4 ± 5.22 U/larva, 4.38 ± 0.167 U/larva, 0.004 ± 0.0005 U/larva 및 3.92 ± 0.086 U/larva의 활성으로 CE-넙치보다 starch-넙치에서 유의적으로 높은 활성을 보였다. 그리고 alkaline α -amylase 및 chymotrypsin-like protease 활성만이 부화 후 5일째 CE-넙치가 45.5 ± 1.78 U/larva와 0.004 ± 0.0001 U/larva로 유의적으로 높은 활성을 보였다. 그러나 부화 후 11일째의 자어 가수분해 효소 활성은 TG-lipase 활성이 starch-넙치에서 2.01 ± 0.000 U/larva로 CE-넙치의 1.23 ± 0.546 U/larva 보다 높은 활성을 보였을 뿐, neutral α -amylase, three proteases, two phosphatases에서 각각 80.0 ± 13.94 U/larva, 0.010 ± 0.0003 U/larva, 0.007 ± 0.0007 U/larva, 0.015 ± 0.0005 U/larva, 3.11 ± 0.045 U/larva 및 1.18 ± 0.031 U/larva로 starch-넙치보다 유의적으로 높은 활성을 보였다.

고 찰

난황을 달고 부화하는 어류 자어는 여러 원인으로 성장과정에서 대량폐사시기를 겪게 된다. 우선 친어의 영양이나 변식학적 호르몬의 불균형에 의해 난황성분의 부족으로 첫 먹이를 섭취하기 전에 죽는 경우를 시작으로 해서, 양적이고 질적인 첫 먹이의 문제로 인해 난황흡수 직후 수일 내에 폐사하는 경우가 있다(Moyano et al., 1996). 이런 이유로 인해 대부분 이 시기 빠른 성장과 생존율을 보장받기 위해 지질영양강화를 시킨 rotifer를 공급하고 있다(Rainuzzo et al., 1997; Mercier et al., 2004)

그렇지만 지금까지 행해지고 있는 지질영양강화는 유지나 지질함량이 높은 영양강화제를 공급해서 먹이생물의 지질함량을 높여 준 것이다(Kissil and Koven, 1990; Harel et al., 2002). 그러나 이런 경우 rotifer는 탄수화물과 단백질의 공급은 거의 이루어지지 않고 지질함량이 높은 영양강화제만 공급받기 때문에, 개채수, 포란수 및 살아있는 먹이생물이 갖추고 있는 활성을 가지는 생리활성물질(특히, 소화효소)의 함량은 극히 줄어들어 있으며, 그 상태로 갖 난황을 흡수한 자어에게 공급된다. 그러나 자어의 난황흡수 직후 폐사의 원인은 절대적으로 낮은 먹이섭취 능력(Porter and Theilacker, 1999)과 더불어 난황흡수 종료 시기에 낮아지는 일부 소화효소들에 의해 소화력 또한 극도로 낮아진 상태이며(Kim et al., 2001; Bolasina et al., 2006), 본 연구에서와 같이 분해시키기 가장 쉬운 지질임에도 불구하고 상당히 낮은 활성을 TG-lipase에서 보이고 있다.

그러나 타 어종에서 살펴보면 이들 소화효소는 난황흡수 후 수일 내에 장의 발달과 더불어 활성이 증가하고 외부에서 공급되는 먹이를 소화 및 흡수하려는 노력을 하고, 위의 생성으로 영양분, 특히 단백질의 소화과정이 완벽해 진다(Ueberschr, 1993). 그러나 초기 대량 폐사가 난황흡수 직후 수일 이내에 기아의 형태로 폐사 증상이 나타난다는 것을 보았을 때, 이 초기 며칠은 소화력 부족으로 소화라는 과정이 필요한 영양분의 공급보다는 살아있는 먹이생물을 통해 필수아미노산이나 자어의 소화력을 향상시켜 줄 수 있는 활성을 가지는 소화효소(혹은 생리활성물질)의 공급에 보다 더 큰 의미를 두어야 할 것으로 판단된다(Dabrowski and Rusiecki, 1983; Kolkovski et al., 1997).

본 연구에서는 부화 후 3일째부터 먹이를 공급했으며 부화 후 6일째까지 지질 영양강화 rotifer (CE-rotifer)와 먹이와 함께 starch 만을 첨가했던 rotifer (starch-rotifer)를 섭취한 녀치에서 성장뿐만 아니라 낮지만 생존율에서도 차이를 보이지 않았다. 이 상황에서 두 종류의 rotifer를 비교해 보면, starch-rotifer는 소화효소 활성이 높았다. 그리고 필수 아미노산 총량, 그리고 생리활성물질로 작용하는 합황 아미노산인 methionin 함량이 높았으며, 기호성을 높여주는 방향족 아미노산인 phenylalanine 함량이 유의적으로 CE-rotifer 보다 높았다. 그리고 지질함량에서도 영양강화를 하지 않았음에도 불구하고 각 기관 (특히, 췌장)에서 호르몬(Werbin et al., 1960)과 소화효소 전구체로 합성

(Hfken et al., 1998)되는 sterol 함량이 유의적으로 높은 것을 알 수 있다. 결국 난황흡수 직후 며칠 동안, 이와 같이 소화효소 활성이 높고, 필수 아미노산 그리고 sterol과 같은 성분을 많이 가진 rotifer를 초기 며칠 동안 공급한다면, 높은 소화력을 가지는 자어의 사육이 가능할 것으로 판단된다. 그리고 Table 3의 생존율의 변화를 살펴보면 CE-녀치는 부화 후 6일 이후 생존율의 변화는 거의 없었던 반면, starch-녀치는 생존율의 많은 변화를 보이고 있다. 이것은 부화 후 6일 전후 장의 발달로 DHA, EPA와 같은 생명현상에 기본이 되는 필수 지방산을 받아 들일 수 있었기 때문에 자어의 생존율의 변화가 적었다고 판단된다. 그리고 starch-녀치에서는 이와 같이 지질을 받아들일 준비가 되어 있는데도 불구하고 필수 지방산이 충분히 공급되지 않았기 때문에 생존율이 낮아졌다고 판단된다. 이를 뒷받침 해 주는 것이 부화 후 5일과 11일째 자어의 가수분해효소 활성으로, 부화 후 5일째 starch-녀치의 효소활성이 CE-녀치의 자어 보다 유의적으로 대부분 높다는 것이다. 그리고 생존율이 낮아진 부화 후 12일경에는 CE-녀치에서 오히려 더 높아진 활성을 보인 것으로 다시 설명이 될 것으로 판단된다.

이와 같이 자어의 소화력에 관한 연구는 자어에게 공급된 먹이생물과의 관계나 미립자사료에 정제된 pancreas를 섞어줘서 미립자사료의 동화효율을 향상시키는 등의 방법을 택하고 있다(Kolkovski et al., 1997). 그리고 되도록이면 빠른 시기에 미립자사료를 공급하기 위한 실험이 사실상의 목적이다. 그러나 본 연구는 난황흡수 직후의 자어(특히, 해산 어류 자어)가 가진 소화력을 살아있는 먹이생물로 해결을 하고 있다는 것이 다른 점이라고 볼 수 있다. 더욱이 원인 모를 부화 후 10 수일 이내에 벌어지는 대량폐사의 원인을 초기 자어의 절대적으로 부족한 소화력이라고 판단하고, 보다 더 정확한 원인을 밝히도록 추후 연구가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국토해양부 한국 Sea Grant 사업(중부 SG 사업단)의 연구비 지원에 의한 것이며, 이에 감사 드립니다.

요 약

본 연구는 rotifer가 가진 소화효소활성과 영양적인 측면에서 자어의 소화력을 평가하기 위한 실험을 하였다. 그래서 rotifer의 소화력을 증가시켜 주기 위해 배양수에 starch를 첨가하여 rotifer (starch-rotifer)의 소화효소 활성을 향상시켰으며 지질 영양강화 rotifer (CE-rotifer)와 비교하여 녀치자어를 이용하여 먹이효율 실험을 하였다.

이들 rotifer의 소화효소 (lipase 제외), 총 단백질, 필수아미노산 총량, 필수아미노산(methionin과 phenylalanine)에서 starch-rotifer가 높게 나타났다. 하지만 총지질, 지질 클래스(sterol 제

외) 및 DHA, EPA와 같은 지방산은 CE-rotifer에서 높게 나타났다. 그러나 sterol과 ST/TG 비는 starch-rotifer에서 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 이 두 가지 rotifer를 공급받은 넙치 자어는 부화 후 6일까지 체장과 체중에서 3.72~3.79 mm와 32.9~37.8 mg/larva의 범위로 유의적인 차이가 없었다($P > 0.05$). 그러나 부화 후 12일째는 CE-넙치에서 starch-넙치가 보다 높은 5.94 ± 0.249 mm, 144.0 ± 23.86 mg/larva 및 $26.2 \pm 12.13\%$ 의 생존율을 보였다. 이들 두 rotifer를 공급받은 넙치자어의 가수분해 효소 활성은 부화 후 5일째 acidic -amylase, neutral -amylase, TG-lipase, lysozyme 및 acidic Phosphatase에서 starch-넙치에서 유의적으로 높게 조사되었으나, 부화 후 11일째는 CE-넙치의 neutral α -amylase, three proteases, two phosphatases에서 starch-넙치보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 결과적으로 넙치자어는 부화 후 6일까지 영양강화 rotifer를 공급하는 것보다 소화효소 활성을 향상시킨 먹이를 공급하는 것이 자어의 소화력 측면에서 유익하며, 이후 소화기관의 발달로 영양의 흡수가 원활해져서 영양강화 효과가 자어의 성장으로 나타났다고 판단된다. 따라서 이후 소화효소활성과 영양의 측면에서 부화 후 6일 이후에 대한 상세한 고찰이 필요할 것으로 판단된다.

참고문헌

- Bessey, O. A., O. H. Lowry, M. J. Brock, 1946. Rapid coloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimetres of serum. *J. Biol. Chem.*, 164, 321-329.
- Bolasina, S., A. Prez and Y. Yamashita, 2006. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 252, 503-515.
- Chong, A. R. Hashim, L.- C. Lee and A. Ali, 2002. Characterization of protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciata* larva. *Aquaculture Research*, 33, 663-672.
- Dabrowski, K. and J. Glogowski, 1977. A study of the application of proteolytic enzymes to fish food. *Aquaculture*, 12, 349-360.
- Dabrowski, K. and M. Rusiecki, 1983. Content of total and free amino acid in zooplanktonic food of fish larvae. *Aquaculture*, 30, 31-42.
- Dettlaff, T. A., A. S. Ginsburg and O. I. Schmalhouse, 1993. Sturgeon fishes. *Developmental Biology and Aquaculture*, Springer-Verlag, Berlin, 300 pp.
- Harel, M., W. Koven, I. Lein, Y. Bae, P. Behrens, J. Stubblefield, Y. Zohar and A. R. Place, 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. *Aquaculture*, 213, 347-362.
- Hjort, J., 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe. *Rapp. P.-V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer.*, 20, 1-227.
- Hfken, T., D. Linder, R. Kleene, B. Gke and A. C. C. Wagner, 1998. Membrane dipeptides and glutathione are major components of pig pancreatic zymogen granules. *Exp. Cell Res.*, 244, 481-490.
- Jaravata, E. E., A. A. Herrera and J. S. Abucay, 2004. Impact of the quality of first food on digestive enzymes and development of the anterior intestine and hepatopancreas of genetically male Nile tilapia (GMT) *Oreochromis niloticus* L. 6th. International Symposium of Tilapia Aquaculture Philippine International Convention Center Roxas, Philippines, 316-334.
- Kim, B. G., S. Divakaran, C. L. Brown and A. C. Ostrowski, 2001. Comparative digestive enzyme ontogeny in two marine larval fishes: Pacific threadfin (*Polydactylus sexfilis*) and bluefin trevally (*Caranx melampygus*). *Fish Physiol. Biochem.*, 24, 225-241.
- Kissil, G. W. and W. M. Koven, 1990. Preparation of oils, enhanced in highly unsaturated fatty acid (HUFA) content, by low temperature crystallization separation, for rotifer (*Brachionus plicatilis*) enrichment. *Aquaculture*, 88, 69-74.
- Kolkovski, S., A. Tandler and M. S. Izquierdo, 1997. Effects of live food and dietary digestive enzymes on the efficiency of microdiets for seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 148, 313-322.
- Mercier, L., C. Audet, J. Noe, B. Parent, C. C. Parrish and N. W. Ross, 2004. First feeding of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae: use of *Brachionus plicatilis* acclimated at low temperature as live prey. *Aquaculture*, 229, 361-376.
- Moyano, F. L., M. Daz, F. L. Alarn and M. C. Sarasquete, 1996. Characterization of digestive enzyme during larval development of filthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish. Physiol. Biochem.*, 15, 121-130.
- Mymes, B. and A. Johansen, 1994. Recovery of lysozyme from scallop waste. *Prep. Biochem.*, 24, 69-80.
- Parrish, C. C., 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 722-731.
- Porter, S. M. and G. H. Theilacker, 1999. The development of the digestive tract and eye in larval walleye Pollock, *Theragra chalcogramma*. *Fish. Bull.*, 97, 722-729.
- Rainuzzo, J. R., K. Reitan and Y. Olsen, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155, 103-115.
- Ribeiro, L., C. Sarasquete and M. T. Dinis, 1999a. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae. *Aquaculture*, 171, 293-308.
- Ribeiro, L., J. L. Zombonino-Infante, C. Cahu and M. T. Dinis, 1999b. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179, 465-473.
- Schmidt, F. H., H. Stork and K. von Dahl., 1974. Lipase, photometric assay. (in) H. U. Bergmeyer (ed.), *Methods of enzymatic analysis vol. 2*, Academic Press, New York, pp. 819-823.
- Somogyi, M., 1952. Notes on sugar determination. *J. Bio. Chem.*, 195, 19-23.
- Ueberschr, B., 1993. Measurement of proteolytic enzyme activity:

Significance and application in larval fish research. *Fish Larval Physiol. Biochem.*, 8, 233-239.

Werbin, H., I. L. Chaikoff and E. E. Jones, 1960. The metabolism of H³- β -sitosterol in the guinea pig: its conversion to urinary cortisol. *J. Biol. Chem.*, 235, 1629-1633.

Zambonino Infante, J. L. and C. L. Cahu, 2001. Ontogeny of the

gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130C, 477-487.

원고접수 : 2009년 2월 3일

심사완료 : 2009년 2월 8일

수정본 수리 : 2009년 2월 9일