

## 명태(*Theragra chalcogramma*) 자어의 지방산 조성에 따른 영양강화 로티퍼의 먹이효율

박진철 · 홍우석<sup>1</sup> · 서주영<sup>1</sup> · 남원식 · 권오남\*

어업회사법인 가비(주), <sup>1</sup>강원도 한해성수산자원센터

### Enriched Rotifer Feeding Efficiency in the Walleye Pollock *Theragra chalcogramma* Depends on Larval Fatty Acid Composition

Jin-Chul Park, Woo-Seok Hong<sup>1</sup>, Joo-Young Seo<sup>1</sup>, Won Shik Nam and O-Nam Kwon\*

GABI Co. Ltd., Gangneung 25440, Korea

<sup>1</sup>Gangwon-do Cold water Fisheries Research Center, Gosung 24747, Korea

The objectives of this study were to confirm the nutritional requirements and improve the survival of the walleye pollock *Theragra chalcogramma*, a cold seawater fish, by enrichment. We analyzed the fatty acids and amino acids of fertilized pollock eggs before hatching, just-hatched larvae, larvae that had absorbed only the yolk sac, and larvae starved for 2 days after yolk absorption. For the survival improvement experiment, we administered docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA), and DHA-EPA enrichment. Fatty acid decreased DHA and EPA content. On the 30<sup>th</sup> day, body growth was significantly greater in pollock given the EPA and DHA-EPA treatments ( $P < 0.05$ ). Larval survival at 20 and 30 days after hatching (DAH) was greatest under the DHA-EPA treatment ( $P < 0.05$ ). Survival was significantly lower under the EPA treatment at 10 DAH, but then increased to approach that seen under the EPA-DHA treatment ( $P < 0.05$ ). Therefore, we determined that reduced survival in hatchlings of high-mortality pollack could be improved by controlling EPA and DHA content during enrichment. We conclude that cold seawater fish must be given feed that meets their nutritional needs, which can be accomplished using newly manufactured enrichment products for the larvae of cold seawater fish, such as pollock.

Key words: Walleye Pollock, *Theragra chalcogramma*, Nutritional Requirement, Early larvae, EPA

### 서론

해산어 어류 자어에 대한 연구는 80-90년대 집중적으로 실시되었다(Klungsoyr et al., 1989; Rainuzzo et al., 1997; Sargent et al., 1999a, b). 첫 먹이로 로티퍼와 알테미아는 50-60년대 이후 사용되면서 영양강화제가 미국의 Martek社와 벨기에의 INVE Aquaculture社를 중심으로 docosahexaenoic acid (DHA) 영양강화제가 개발되어 왔다. Rotifer booster와 같은 분말형태도 개발되었지만, 2010년 이후에는 어유와 광합성세균을 주원료로 한 DHA 영양강화제가 개발되어 양식현장에서 사용되고 있다(Park et al., 2011). 지난 40년간 한해성과 온수성 해산어류 자어의 지질요구량에 대해서 차이를 설명하고 있지만, 한해성 어류 특유의 linoleic acid (LNA, 18:3n3),

eicosapentaenoic acid (EPA), DHA와 같은 essential fatty acid (EFA) 중 유독 DHA 요구량에 대한 보고가 위주로 되어 있다 (Takeuchi, 1997). Park et al. (2011)은 한해성 어류의 양호한 성장과 생존을 위해서는 DHA/EPA 비율을 7.0 이상으로 설정할 필요가 있다고 보고하였으며 Abdul Malak et al. (1989)은 수온이 낮아지면 EPA 요구량이 높아지기 때문에 DHA, PUFA (poly-unsaturated fatty acid) 뿐만 아니라 EPA의 효능에 대해서도 규명할 필요가 있다고 보고하였다. 그러므로 EFA 중 LNA, EPA 등의 지방산도 해산 어류의 중요한 영양강화제로서 연구되어야 하지만 대부분의 연구가 DHA와 n-3 PUFA 함량을 위주로 보고되어 있으며(Rainuzzo et al., 1997; Sargent et al., 1999a, b) 특히, EPA 함량에 대한 연구결과는 찾아보기 힘들다. 명태(*Theragra chalcogramma*)는 1981년에 16만 6천톤의 어

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0549>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 51(5), 549-555, October 2018

Received 22 August 2018; Revised 18 September 2018; Accepted 6 October 2018

\*Corresponding author: Tel: +82. 33. 644. 1040 Fax: +82. 33. 644. 1040

E-mail address: onkwon@gab-i.net

획고를 보였고 이후 급격히 감소하여 2000년 이후 1톤 이하로 급감하였다(Kang et al., 2013). 그리고 이러한 자원의 변화는 1970년대 후반부터 감소경향이 확인되어(Lee, 1991) 현재에는 방류와 같은 적극적인 자원회복을 위한 노력이 진행되고 있다. 그러나 현재 우리나라 명태는 종묘생산용 어미의 확보는 되었지만, 유전적 다양성이 낮아 종묘생산 시 근친교배에 의한 근교 약세가 일어나고 있으므로 종묘생산용 어미의 개체수 확보를 위해 우리나라 동해안의 여러 지역에서 많은 노력을 기울이고 있다. 또한, 종묘생산용 어미를 확보하더라도 명태는 다회산란 어종으로 10-20회에 걸쳐 산란기 동안 나눠서 산란하기 때문에(Bachelor et al., 2010) 한번에 많은 양의 수정란을 얻기가 힘들다. 더욱이 2-3백만개의 수정란이 하루에 확보된다고 하여도 높은 초기 폐사율은 명태뿐만 아니라 대구과 어류 전체에서 아직 명확히 밝혀지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 우선 명태 자어의 난황흡수 전후와 기아 시에 체성분의 변화를 확인하여 이를 바탕으로 자어의 영양 요구를 규명하고자 한다. 다음으로 규명된 영양요구에 따라 영양강화제를 제조하고 로티퍼를 영양강화하여 연구의 실효성을 명태 자어의 체성장과 부화 후 사육시기별 생존율을 통해서 확인하였다. 마지막으로 이러한 결과를 토대로 생존율 향상을 위한 방법을 명확히 제시하는 것을 목표로 하였다.

## 재료 및 방법

명태 수정란, 난황흡수 전후 자어와 2일 굶긴 자어의 아미노산과 지방산 조성 실험에 사용한 명태(*Theragra chalcogramma*)의 수정란은 2016년 1월 강원도 한해성수산자원센터에서 자연 채란된 것으로 채란 당일 강릉원주대학교 해양생물연구교육센터 연구동으로 이송하여 5°C에서 관리하였다. 성분분석을 위한 시료는 5°C에서 14일 동안 관리된 부화 직전의 수정란(Before hatching egg, BH) 약 100 개를 시료로 활용하였다. 또한, 동일 온도에서 관리된 부화 직후 난황을 가지고 있는 자어(just hatched larvae, HL), 부화 후 2.5일이 지난 난황흡수 직후의 자어(larvae absorbed yolk sac, L) 그리고 난황흡수 후 2일간 먹이를 공급하지 않은 기아 자어(starved larvae, SL)를 각각 약 100 마리를 사용하였다. 모든 시료는 증류수에 1차 세척 후 물기를 모두 제거하고 분석 시까지 -80°C에 냉동 보관하였다. 냉동 보관된 시료는 2일간 동결건조(Lyovapor™ L-300, Switzerland)하여 분말화 하였으며, 각각의 시료를 1-2 mg씩 정량하여 지방산 시료 3개, 아미노산 시료 3개씩 채취한 후 전처리용 시료로 사용하였다. 구성 아미노산 분석과 지방산 분석은 Kwon and Park (2009, 2012)의 방법에 따라 미량분석되었다. 그리고 모든 지방산과 아미노산의 분석 결과는 ug/mg dry matter로 나타내었다.

## 영양강화제 제조와 지방산분석

영양강화제는 기본적으로 DHA원으로 *Schyzochitrium flake*

(DHA™, Daesang Co. Ltd., Korea)를 사용하였고, EPA원으로는 EPA oil (Megapex-E70EE, Chemport Inc. Co. Ltd., Korea)을 사용하였다. 그리고 EPA oil의 유화를 위해 tween-20과 lecithin을 선택적으로 사용하였으며, 클로렐라(Daesang, Korea), 복합효소제(Foodpro CAT, VisionBioChem Co. Ltd., Korea), 99.0% astaxanthin (Phayno, China), 타우린, 황산아연을 첨가하였다. 이들의 지방산 조성은 명태의 수정란과 자어의 분석방법과 같이 측정하였으며, 건중량을 측정하여 사용된 영양강화제의 건중량으로 환산하여 ug/mg dry matter로 나타내었다.

## 명태 자어 사육

명태 수정란은 1 L 비이커에 50여개씩 수용하여 부화를 준비하였다. 수용 다음날부터 사란 없이 일부 부화가 시작되어 최종 부화까지 3일이 걸렸으며, 부화 개시 2일차를 부화당일로 계산하였다. 사육 수온은 6톤 수조(사육수 5톤)를 5.0±0.5°C로 냉각기를 이용하여 냉각시키고, 비이커의 흔들림을 방지하기 위해 고정틀을 만든 후 물 표면에 띄워서 수온 관리를 하였다. 용존산소는 산소돌(Nitchidou, Japan)를 5일 간격으로 하나씩 새것으로 교체하면서 7 ppm 이상을 유지하였다. 먹이로 로티퍼를 부화 후 2.5일째부터 20로티퍼/mL의 밀도로 공급하였으며, 첫 먹이 공급 다음날부터 매일 아침 먹이 공급 전 폐사체 계수와 함께 바닥청소를 하면서 10-30%의 사육수를 환수하였다. 실험은 첫 먹이 공급 후 30일 동안 진행하였다. 그리고 최종일에는 모든 개체들을 5% 포르말린용액에 담가서 고정된 후 즉시 micrometer가 장착된 입체현미경(Olympus CH40, USA)에서 체장은 0.1 mm 단위까지 측정하였다.

## 통계처리

명태 수정란, 부화직후 자어, 난황흡수 자어 및 난황흡수 후 2일간 굶긴 자어의 지방산과 아미노산, 영양강화제 종류별 지방산, 그리고 각 영양강화제를 섭취한 자어의 전장과 기간별 생존율에 대한 처리 평균을 ANOVA test를 실시한 후 Duncan의 다중 검정을 통해 95% 유의수준에서 검정하였다(P<0.05).

## 결 과

명태 수정란에서 기아 자어까지의 구성아미노산 조성은 Table 1에 나타내었다. 필수아미노산에서 valine, isoleucine, leucine의 경우 난황흡수와 함께 급격히 감소하였고, 난황흡수 후 감소된 이들 아미노산의 함량은 기아 시에도 변하지 않았다. 그리고 각각의 필수 아미노산과 총량에서는 유의적인 변화가 보이지 않았다. 비필수아미노산에서 cysteine과 tyrosine의 경우 부화 후 난황흡수와 기아상태로 이어지는 과정에서 지속적으로 감소하였지만, 다른 아미노산의 경우 오히려 증가하는 경향을 보였다. 총 단백질량도 유의적으로 증가하였다(P<0.05).

총 지질의 변화에서 난황을 흡수하는 동안의 총 지질 함량은 증가하였고 난황흡수 후 기아 상태에서의 총 지질 함량은 4%

이하로 감소하였다(Table 2). 그리고 부화 전후에는 포화지방산의 변화는 없었고 단지 C20:3n3의 경우 급격하게 증가하였다. 그리고 난황흡수과정에서 포화지방산 총량은 변함이 없으며, mono-unsaturated fatty acid (MUFA)은 급격히 감소하여 12.20%에서 6.76%로 감소하였다. 하지만 고도불포화지방산의 경우 유의적인 변화가 없었다. 기아 시에는 포화지방산이 증가하고, PUFA의 경우 급격히 감소하는 경향을 보였다.

DHA와 EPA-DHA 영양강화제는 각각 75.10%, 76.79%로 비슷한 수분함량을 보였으며 EPA 영양강화제는 86.79%로 상대적으로 수분함량이 높았다(Table 3). 그러나 EPA와 EPA-DHA의 수분함량의 차이는 단지 *Schyzochitrium flake*의 함량에 따른 결과였다. 이들 영양강화제의 EPA, DHA 함량을 제외한 나머지 지방산에 대해서는 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). EPA 함량은 DHA 영양강화제에서  $1.0 \pm 0.24$  ug/mg dry matter 로 EPA와 EPA-DHA 영양강화제의  $3.9-4.1$  ug/mg dry matter 보다 유의적으로 낮았다( $P<0.05$ ). DHA 함량에 있어서는  $EPA < DHA < EPA-DHA$  영양강화제 순으로 높았다. Highly unsaturated fatty acid (HUFA)와 n-3 HUFA 함량 그리고 불포화도(unsaturated index of fatty acid, UI)는 EPA-DHA 영양강화제에서 유의적으로 높았다( $P<0.05$ ) (Table 4).

첫 먹이를 먹은 부화 후 2.5일째 자어의 체장은  $5.10 \pm 0.31$

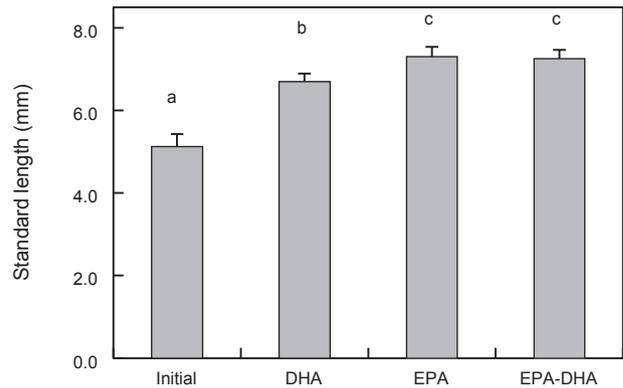


Fig. 1. Standard length (mm, mean±S.D.) of Walleye Pollock *Theragra chalcogramma* larvae fed the rotifers enriched by three enrichments during 30 days after first feeding. DHA, Docosahexaenoic acid; EPA, Eicosapentaenoic acid.

mm였으며, 부화 후 30일째에는 DHA 실험구는  $6.70 \pm 0.19$  mm 로 EPA, EPA-DHA 실험구의  $7.25-7.30$  mm 보다 유의적으로 낮았다( $P<0.05$ ) (Fig. 1). 1-10일 사이의 생존율은 EPA 실험구 보다 DHA 및 DHA-EPA 실험구에서 더 높게 나타났으며 EPA-DHA 실험구에서 유의적으로 가장 높았다( $P<0.05$ ).

Table 1. Protein-bound amino acid profile (ng/mg dry matter) of eggs before hatching (BH), just hatched larvae (HL), larvae absorbed yolk (L) and starved larvae (SL) for 2 days after absorption yolk of walleye pollock *Theragra chalcogramma* larvae. Different superscripts in the same row indicate significant differences by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ )

	BH <sup>1</sup>	HL	L	SL	
Essential amino acid	Threonine	17.4±0.39 <sup>b</sup>	12.2±1.20 <sup>a</sup>	12.3±0.06 <sup>a</sup>	13.1±1.16 <sup>a</sup>
	Valine	19.7±0.34 <sup>c</sup>	13.9±0.89 <sup>b</sup>	10.5±0.01 <sup>a</sup>	10.4±0.82 <sup>a</sup>
	Methionine	5.8±0.32	4.2±0.43	4.9±0.00	4.2±0.46
	Isoleucine	17.2±0.22 <sup>c</sup>	10.7±0.72 <sup>b</sup>	7.6±0.01 <sup>a</sup>	7.7±0.62 <sup>a</sup>
	Leucine	36.5±0.67 <sup>c</sup>	24.9±1.99 <sup>b</sup>	21.3±0.01 <sup>a</sup>	21.8±1.56 <sup>a</sup>
	Phenylalanine	16.0±0.39 <sup>b</sup>	11.2±0.96 <sup>a</sup>	10.5±0.01 <sup>a</sup>	11.6±0.79 <sup>a</sup>
	Lysine	26.2±0.51 <sup>c</sup>	18.8±2.09 <sup>a</sup>	21.4±0.03 <sup>b</sup>	23.3±2.21 <sup>b</sup>
Non-essential amino acid	Histidine	6.9±0.17	5.6±0.46	6.2±0.24	6.5±0.67
	Aspartate	23.5±0.54 <sup>b</sup>	18.7±2.11 <sup>a</sup>	24.3±0.03 <sup>b</sup>	26.3±2.25 <sup>b</sup>
	Serine	17.3±0.50 <sup>c</sup>	11.8±1.45 <sup>a</sup>	13.3±0.02 <sup>b</sup>	15.5±1.70 <sup>bc</sup>
	Glutamate	42.8±1.26 <sup>b</sup>	31.5±3.76 <sup>a</sup>	39.9±0.01 <sup>b</sup>	42.5±4.01 <sup>b</sup>
	Glycine	13.0±0.31 <sup>b</sup>	10.0±1.05 <sup>a</sup>	14.2±0.00 <sup>b</sup>	17.0±1.51 <sup>c</sup>
	Alanine	28.8±0.40 <sup>b</sup>	16.6±1.59 <sup>a</sup>	16.7±0.03 <sup>a</sup>	17.6±1.33 <sup>a</sup>
	Cysteine	4.6±0.28 <sup>b</sup>	3.8±0.71 <sup>a</sup>	2.8±0.05 <sup>a</sup>	2.3±0.57 <sup>a</sup>
	Tyrosine	14.3±0.75 <sup>c</sup>	9.4±1.01 <sup>b</sup>	8.0±0.02 <sup>a</sup>	7.4±0.13 <sup>a</sup>
	Arginine	18.4±0.54 <sup>b</sup>	13.4±1.53 <sup>a</sup>	18.4±0.06 <sup>b</sup>	19.3±0.87 <sup>b</sup>
Proline	21.5±0.71 <sup>b</sup>	11.6±1.00 <sup>a</sup>	11.5±0.03 <sup>a</sup>	12.8±0.85 <sup>a</sup>	
Essential AA(%)	13.9±0.25 <sup>b</sup>	9.6±0.83 <sup>a</sup>	8.9±0.41 <sup>a</sup>	9.20±0.68 <sup>a</sup>	
Protein (%)	37.3±0.81 <sup>c</sup>	25.8±1.44 <sup>a</sup>	27.4±0.01 <sup>b</sup>	29.21±2.18 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup>BH, HL, L and SL indicated before hatching larvae, yolk sac larvae, larvae absorbed yolk and starved larvae, respectively.

10-20일에는 DHA와 EPA 실험군에서 유의적으로 차이가 없었으며 EPA-DHA 실험군에서 다른 실험군에 비해 유의적으로 높았다( $P>0.05$ ). 마지막으로 20-30일 실험에서는 DHA 실험군에서 유의적으로 가장 낮게 나타났고, EPA-DHA 실험군에서 유의적으로 가장 높았다( $P<0.05$ ) (Fig. 2).

**고 찰**

어류의 초기 발달과정에서 영양과 섭취에 대한 이해는 해산어의 자어를 사육하는데 있어서 가장 중요한 선행조건이라고 할 수 있다(Campoverde and Estevez, 2017). 해산어 자어의 사육에 있어서 성공요인 중 하나는 영양요구에 맞춰서 먹이를 공급하는 것으로, 특히 이들 자어는 지질성분을 함유하는 첫 먹이의 영양적 질과 첫 먹이 공급 체계에 많은 영향을 받는다. 특히 이 영양요인은 자어의 성장과 생존에 영향을 끼치게 된다(Watanabe, 1993).

이들 자어가 성장과 생존을 보장 받기 위한 첫 먹이의 영양은 1970년대에 양식품종으로 개발되는 많은 어종에서 부화 자어의 난황흡수 후 기아 상태에서 감소하는 영양분을 바탕으로 자

어가 요구하는 영양학적인 요구를 이해하기 시작하였다(Parma et al., 2014). 양식기술의 발달 초기에는 영양적으로 부족한 달갈노른자 등을 먹이기도 했지만, 대부분 자연의 copepod를 채집해서 먹이으로써 DHA, EPA 함량이 높은 먹이를 자연스럽게 공급했고, 이후 영양강화제와 로티퍼가 개발되면서 DHA와 HUFA의 영양강화에 집중하게 되었다(Bell et al., 2003). 하지만 많은 해산어류를 바탕으로 하는 연구들에서는 linoleic acid (18:3n3), EPA (20:5n3), DHA (22:6n3)로 연결되는 지방산의

Table 2. Fatty acid profile (ug/mg dry matter) of eggs before hatching (BH), just hatched larvae (HL), larvae absorbed yolk (L) and starved larvae (SL) for 2 days after absorption yolk of walleye pollock *Theragra chalcogramma* larvae. Different superscripts in the same row indicate significant differences by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ )

	BH <sup>1</sup>	HL	L	SL
C16:0	25.4±1.82 <sup>a</sup>	25.8±3.34 <sup>a</sup>	25.3±0.27 <sup>a</sup>	36.2±4.22 <sup>b</sup>
C18:0	2.4±1.09 <sup>a</sup>	2.97±1.19 <sup>a</sup>	5.68±0.02 <sup>b</sup>	8.65±2.48 <sup>c</sup>
C18:1n9	8.46±1.83 <sup>c</sup>	7.84±0.44 <sup>c</sup>	6.76±0.02 <sup>b</sup>	4.74±1.15 <sup>a</sup>
C20:1	0±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>a</sup>	2.43±1.21 <sup>b</sup>
C20:3n3	1.91±0.68 <sup>a</sup>	4.48±1.18 <sup>b</sup>	5.41±0.04 <sup>c</sup>	3.87±0.89 <sup>b</sup>
C20:5n3	39.1±2.47 <sup>c</sup>	35.5±3.9 <sup>bc</sup>	33.6±0.14 <sup>b</sup>	20.1±2.73 <sup>a</sup>
C22:6n3	17.6±2.87 <sup>a</sup>	19.1±1.06 <sup>a</sup>	23.2±0.06 <sup>b</sup>	21.9±1.96 <sup>ab</sup>
SFA	27.8±3.79 <sup>a</sup>	28.8±6.43 <sup>a</sup>	31±0.26 <sup>b</sup>	44.9±6.54 <sup>c</sup>
MUFA	13.6±2.2 <sup>c</sup>	12.2±0.21 <sup>c</sup>	6.76±0.02 <sup>a</sup>	9.25±3.42 <sup>b</sup>
PUFA	58.6±3.06 <sup>b</sup>	59.0±6.29 <sup>b</sup>	62.3±0.24 <sup>b</sup>	45.9±2.56 <sup>a</sup>
DHA/EPA	0.5±0.16 <sup>a</sup>	0.5±0.05 <sup>a</sup>	0.7±0.12 <sup>a</sup>	1.09±0.06 <sup>b</sup>
n-3 PUFA	58.6±3.06 <sup>b</sup>	59.0±6.29 <sup>b</sup>	62.3±0.24 <sup>b</sup>	45.9±2.56 <sup>a</sup>
UI	320±24.1 <sup>b</sup>	317±28.5 <sup>b</sup>	331±1.18 <sup>b</sup>	253±14 <sup>a</sup>
Total Lipid (ug/mg)	5.52±0.85 <sup>b</sup>	6.02±2.28 <sup>b</sup>	10.8±0.05 <sup>c</sup>	4.05±1.22 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>BH, HL, L and SL indicated before hatching larvae, yolk sac larvae, larvae absorbed yolk and starved larvae, respectively. SFA, Saturated fatty acid; MUFA, Monounsaturated fatty acid; PUFA, Poly-unsaturated fatty acid; DHA, Docosahexaenoic acid; EPA, Eicosapentaenoic acid; UI, Unsaturated fatty acid index.

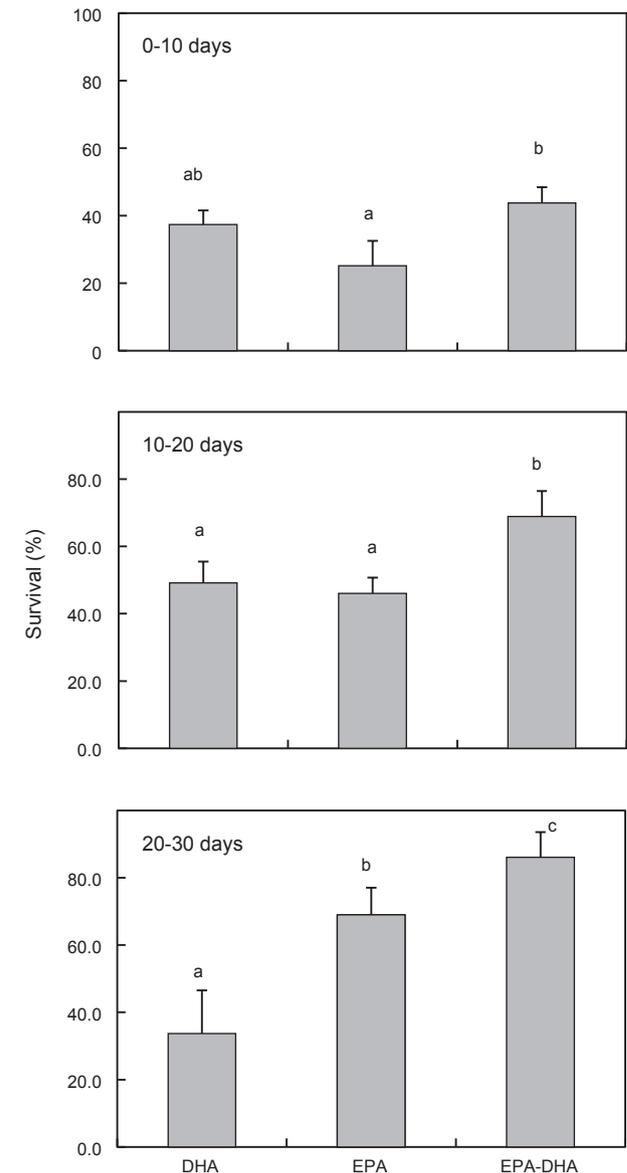


Fig. 2. Survival (%; mean±S.D.) of walleye pollock *Theragra chalcogramma* larvae fed the rotifers enriched by three enrichments during 0 to 10 day, 10 to 20 days and 21 to 30 days after first feeding. DHA, Docosahexaenoic acid; EPA, Eicosapentaenoic acid.

합성이 이루어지지 않음(Tocher and Ghioni, 1999)을 증명하면서 온수성 어류를 중심으로 영양강화 연구가 진행되었다(Estevez et al., 1999; Sargent et al., 1999a). 반면 한해성인 대서양 가자미(Bruce, 1999)와 대구(Klungsoyr et al., 1989)의 연구에서는 알의 지방산 조성이 다른 어종에 비해 유난히 높고 DHA/EPA 비율이 2 이상을 요구한다고 보고하였으나 Bell et al. (2003)의 연구에서와 같이 초기 먹이로 공급하는 로티퍼의 영양강화는 주로 DHA와 HUFA를 중심으로 하고 있다.

본 연구에서 분석된 결과와 Aragão et al. (2004)의 보고를 보면, 난황흡수 후 기아상태에서 필수아미노산인 valine, isoleucine, leucine, 비필수아미노산인 cysteine, tyrosine이 급격히 감소하는 것으로 조사되어 난황흡수 후 보충이 필요할 것으로 판단되었지만, 영양강화된 로티퍼는 이들 감소하는 아미노산의 적당량을 함유하고 있기 때문에 아미노산 부족에 의한 문제는 지방산 함량 부족에 따른 문제와 함께 언급되기는 힘들다. 반면 Walker (1965)는 외부에서 공급되는 영양분 없이 기아단계에서 증가하는 아미노산(aspartate, glutamate, glycine)은 핵산의 복제와 세포분열을 하는 과정에서 합성에 의한 증가로 설명하였으며 Krebs and Johnson (1937)은 일반적으로 외부에서 공급되는 영양분이 없는 경우에 증가하는 아미노산과 지방산에 대해서는 acetyl CoA가 미토콘드리아(mitochondria) 내 해당 과정에서 변화하는 화학적 형태라고 보고하였다. 이것은 TCA cycle 내에서 acetyl CoA가 지방산, 글루코스(pyruvate 이후), 아미노산 그리고 케톤체가 만들어지기 때문에 기아 시라도 호흡하는 과정에서 공급되는 탄소원(carbon source) 만으로도 주위의 영양성분들과 결합되어 새롭게 만들어 질 수 있다. 하지만 1차적으로 감소되는 영양분은 합성이 되지 않거나 전구물질의 절대량이 부족한 상황(기아)에서 감소하는 물질들이 외부에서 공급되지 않으면 생존에도 영향을 줄 수 있을 것이다.

많은 문헌에서는 초기 먹이(rotifer, *Artemia* 그리고 algae)에 포함된 DHA가 자어의 생존과 성장에 모두 영향을 준다고 보고하고 있다(Sargent et al., 1999b; Awaiss et al., 1996; Estevez et

al., 1999). 그러나 일부 온수성 어류인 meager (*Argyrosomus regius*) 자어의 경우에는 먹이내 DHA 함량 12-15%에서 성장에는 양호한 영향을 주지만 최소 공급량 이상에서 생존율에는 영향을 주지는 못한다고 보고하였다(Campoverde and Estevez, 2017). 일반적으로 DHA는 신경과 망막조직에 함유되어 자어의 발달과정에서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고(Mourente and Tocher, 1992; Bell et al., 1996), 특히 이 DHA가 없거나 적은 경우, 여러 행동학적으로나 생리학적으로 그리고 형태적 변형에 영향을 주어 저조한 성장과 높은 폐사율의 결과를 이끌게 된다(Lingenfelter et al., 1995; Tocher, 2010). 하지만 본 연구에서는 30일째 자어의 체장 성장은 EPA 영양강화 로티퍼와 EPA-DHA 영양강화 로티퍼 실험구가 DHA 영양강화 로티퍼 실험구보다 높은 체장 성장이 확인되었다(생존율은 부화 후 10일째에는 유의적인 차이를 보이지 않았다). 또한 시간 경과에 따라 DHA 함량이 높은 DHA-EPA 영양강화 로티퍼 실험구에서 생존율이 가장 높고, 20-30일째 EPA 영양강화 로티퍼 실험구에서 생존율이 DHA 영양강화 로티퍼 실험구에 비

Table 4. Fatty acids component (ug/mg Dry Matter) of rotifer enriched for 3 hours to rearing of walleye pollock *Theragra chalcogramma* larvae during 30 days. Different superscripts in the same row indicate significant differences by Duncan's multiple range test (P<0.05)

	Enrichments		
	DHA	EPA	EPA-DHA
C16:0	14.5±1.20	15.7±1.81	16.2±1.15
C16:1	1.4±0.29	1.0±0.16	1.0±0.06
C18:0	2.6±0.53	2.8±0.25	2.6±0.26
C18:1n9	0.8±0.04	1.1±0.17	0.9±0.14
C18:2n6	38.7±5.03	40.1±4.37	37.6±3.48
C18:3n3	3.2±0.49	3.6±0.91	3.1±0.61
C20:1	0.7±0.32	0.9±0.22	1.0±0.04
C20:2	3.8±1.25	3.2±0.37	4.1±0.72
C20:3n6	3.7±0.37	4.5±0.82	3.6±0.90
C20:4n6	1.1±0.15	1.0±0.21	1.1±0.21
C20:5n3	1.0±0.24 <sup>a</sup>	4.1±0.80 <sup>b</sup>	3.9±1.09 <sup>b</sup>
C22:6n3	12.3±1.19 <sup>b</sup>	6.9±0.38 <sup>a</sup>	24.6±4.15 <sup>c</sup>
SFA	16.3±3.29	18.5±1.58	18.8±1.41
MUFA	3.1±1.32	2.9±0.34	2.9±0.13
HUFA	63.9±7.97 <sup>a</sup>	63.4±5.68 <sup>a</sup>	78.1±3.06 <sup>b</sup>
DHA/EPA	12.5±1.75 <sup>c</sup>	3.8±0.42 <sup>a</sup>	6.3±1.88 <sup>b</sup>
n-3 HUFA	15.2±3.74 <sup>a</sup>	14.1±2.98 <sup>a</sup>	30.7±4.16 <sup>b</sup>
UI	194.0±22.33 <sup>b</sup>	181.3±15.40 <sup>a</sup>	280.1±20.96 <sup>c</sup>

SFA, Saturated fatty acid; MUFA, Monounsaturated fatty acid; PUFA, Poly-unsaturated fatty acid; DHA, Docosaheptaenoic acid ; EPA, Eicosaheptaenoic acid; UI, Unsaturated fatty acid index.

Table 3. Composition of three newly-manufactured enrichments to rearing of walleye pollock *Theragra chalcogramma* larvae during 30 days

	DHA	EPA (%)	EPA-DHA
<i>Schyzochitrium</i> flake	17.5	5	15
Chlorella or yeast or <i>Spirulina</i> powder	5.4		0.5
Mixing enzymes	-		5
Fish oil (EPA)	-		1.5
Emulsion (tween 20 and Lecithin)	1.5		0.5
Others*	0.5		1.21
Water contents	75.1	86.79	76.79

\*Others were included to Astaxanthin, Taurine and Zinc. DHA, Docosaheptaenoic acid; EPA, Eicosaheptaenoic acid.

해 생존율이 높은 것으로 확인되었다. 이는 EPA와 DHA 함량이 함께 많으면서 DHA/EPA ratio가 6.0 이상일 때 생존율이 높았다는 결과가 된다.

Rainuzzo et al. (1997)는 DHA와의 양적 관계에서 EPA 함량이 높을 경우 인지질 형성에 균형이 맞지 않기 때문에 자어의 정상적인 질과 성장에 영향을 줄 수 있다고는 하지만 이들이 언급하고 있는 어종은 turbot 과 같은 어종의 체색변화와 관련된 연구들이고 온수성 어류라는 것에 특징이 있다. 그리고 Bell et al. (2003)은 DHA/EPA ratio가 2이상이면 초기 자어의 성장과 체색변화에 문제가 없다고 보고했지만, 본 연구에서 성장과 생존율이 가장 양호했던 EPA-DHA 실험구에서는 이 비율이 6.3이 있기 때문에 한해성 어류를 위해서는 EPA도 보충이 필요하지만, DHA 함량 또한 보다 높여서 공급할 필요가 있다는 것을 결과로 보여주고 있다.

본 연구에서 한해성 어류인 명태 자어의 기아 시 감소하는 아미노산은 없었다. 지방산의 경우 HUFAs를 중심으로 감소하였는데 DHA가 감소하는 것은 온수성 어류들과 다를 바가 없지만, EPA의 감소는 아직까지 한해성과 온수성 어류의 자치어를 대상으로 논의된 바가 없다. 단지 무지개송어에서 저수온 사육 시 EPA 요구량이 증가한다는 연구(Abdul Malak et al., 1989)가 있을 뿐이다. 따라서 본 연구에서는 초기 폐사율이 매우 높은 냉수성 어류 특히, 명태의 초기 생활사에서 부화 후 낮아지는 생존율을 먹이내 EPA와 DHA 함량 증가를 통해 향상시킬 수 있었다. 결국, 한해성 어류 자어를 위한 영양강화제는 중 특성에 맞도록 새롭게 만들어서 공급해야 할 필요가 있다. 추후, 먹이내 EPA와 DHA 총량의 변화가 자어의 생존율에 미치는 영향을 연구할 필요가 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

이 논문은 2015년 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(동해안 명태의 종묘생산 및 방류기술 개발).

## References

- Abdul Malak N, Brichon G, Meister R and Zwingelstein G. 1989. Environmental temperature and metabolism of the molecular species of phosphatidylcholine in the tissues of the Rainbow trout. *Lipids* 24, 318-324. <https://doi.org/10.1007/BF02535170>.
- Aragão C, Conceição LEC, Dinis MT and Fyhn HJ. 2004. Amino acid pools of rotifers and *Artemia* under different conditions: nutritional implications for fish larvae. *Aquaculture* 234, 429-445. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.025>.
- Awaïss A, Kestemont P and Micha JC. 1996. Fatty acid profiles of two freshwater fish larvae (Gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. *Aqua Res* 27, 651-658. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1996.00773.x>.
- Bacheler NM, Ciannelli L, Bailey K and Duffy-Anderson JT. 2010. Spatial and temporal patterns of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) spawning in the eastern Bering Sea inferred from egg and larval distributions. *Fish Oceanogr* 19, 107-120. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2419.2009.00531.x>.
- Bell MV, McEvoy LA and Navarro JC. 1996. Deficit of docosahexanoyl phospholipid in eyes of larval sea bass fed an essential fatty acid deficient diet. *J Fish Biol* 49, 941-952. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1996.tb00091.x>.
- Bell JG, McEvoy LA, Estevez A, Shields RJ and Sargent JR. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture* 227, 211-220. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00504-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00504-0).
- Bruce MP. 1999. Broodstock management and nutrition and egg and larval quality in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). PhD thesis, University of Stirling, Scotland, U.K.
- Campoverde C and Estevez A. 2017. The effect of live food enrichment with docosahexaenoic acid (22:6n-3) rich emulsions on growth, survival and fatty acid composition of meager (*Argyrosomus regius*) larvae. *Aquaculture* 478, 16-24. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.012>.
- Estevez A, McEvoy LA, Bell JG and Sargent JR. 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture* 180, 321-343. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00209-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00209-4).
- Kang SK, Park JH and Kim SA. 2013. Size-class estimation of the number of walleye pollock *Theragra chalcogramma* caught in the Southwestern East Sea during the 1970s-1990s. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 445-453.
- Klungsoyr J, Tilseth S, Wilhelmsen S, Falk-Petersen S and Sargent JR. 1989. Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadus morhua* from Lofoten, Northern Norway. *Mar Biol* 102, 183-188.
- Krebs HA and Johnson WA. 1937. Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochem J* 31, 645-660. <https://doi.org/10.1042/bj0310645>.
- Kwon ON and Park HG. 2009. Comparison of feed efficiency between rotifer enriched lipid-contents to enrichment and enhanced digestive enzymes activity to starch. *J Aquaculture* 22, 105-111.
- Kwon ON and Park HG. 2012. Effects of enhanced digestive enzymes activity with starch and glycogen during rotifer *Brachionus rotundiformis* culture. *J Aqua Feed Sci Nut* 4, 27-33. <https://doi.org/10.3923/joafnsu.2012.27.33>.
- Lee JU. 1991. Estimation on optimum fishing effort of walleye pollock fishery in the east coast of Korea: Based on the eco-

- conomic analysis between danish seine fishery and trawl fishery for walleye pollock. *J Fish Bus Adm* 22, 75-99.
- Lingenfelser JT, Blazer VS and Gay J. 1995. Influence of fish oil in production catfish feeds on selected disease resistance factors. *J Appl Aquac* 5, 37-48. [https://doi.org/10.1300/J028v05n02\\_04](https://doi.org/10.1300/J028v05n02_04).
- Mourente G and Tocher DR. 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6 n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 105, 363-377. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90100-Y](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90100-Y).
- Park JC, Lee BI and Kwon ON. 2011. Effect on enrichment with *Schizochytrium* sp. and squid liver oil on fatty acid content of live feed. *Korean J Fish Aquat Sci* 44, 24-29. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2011.0339>.
- Parma L, Bonaldo A, Pirini M, Viroli C, Parmeggiani A, Bonvini E and Gatta PP. 2014. Fatty acid composition of eggs and its relationships to egg and larval viability from domesticated common Sole (*Solea solea*) breeders. *Reprod Domest Anim* 50, 186-194. <https://doi.org/10.1111/rda.12466>.
- Rainuzzo J, Reitan KI and Olsen Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00121-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00121-X).
- Sargent JG, Bell JG, McEvoy LA, Tocher D and Estevez A. 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191-199. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00083-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00083-6).
- Sargent JR, McEvoy, LA, Estevez A, Bell JG, Bell MV, Henderson RJ and Tocher DR. 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217-229. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00191-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00191-X).
- Stoiber W, Haslett JR, Wenk R, Steinbacher P, Gollmann H and Sanger AM. 2002. Cellularity changes in developing red and white fish muscle at different temperatures: simulating natural environmental conditions for a temperate freshwater cyprinid. *J Exp Biol* 205, 2349-2364.
- Tacheuchi T. 1997. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis on fish larvae and fingerlings. *Rev Fish Sci* 5, 1-25. <https://doi.org/10.1080/10641269709388592>.
- Tocher DR. 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquac Res* 41, 717-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>.
- Tocher DR and Ghioni C. 1999. Fatty acid metabolism in marine fish: low activity of D5 desaturation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cells. *Lipids* 34, 433-440.
- Walker IO. 1965. Electrometric and spectrophotometric titration of histone and deoxyribonucleohistone. *J Mol Biol* 14, 381-398. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(65\)80189-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(65)80189-9).
- Watanabe T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aquacult Soc* 24, 152-161. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00004.x>.