

배합사료의 수침과 공급량이 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 성장, 혈액 및 조직 성상에 미치는 영향

김강웅 · 김성삼¹ · 김재원² · 손맹현 · 김경덕 · 배승철³ · 이경준^{1,4,*}

국립수산과학원 사료연구센터, ¹제주대 해양생명과학과, ²강원도립대 해양생명과학과,
³부경대 양식학과/사료영양연구소, ⁴제주대 해양과환경연구소

Effects of Feeding Rate and Pellet Water-Soaking on Growth, Blood Components, and Histology of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Kang-Woong Kim, Sung-Sam Kim¹, Jae-Won Kim², Maeng-Hyun Son, Kyoung-Duck Kim,
Sungchul C. Bai³ and Kyeong-Jun Lee^{1,4,*}

Aquafeed Research Center, National Fisheries Research & Development Institute, Pohang 791-923, Korea

¹*Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea*

²*Department of Marine Life-Science, Gangwon Provincial collegey, Gangneung 210-804, Korea*

³*Department of Aquaculture / FFNRC, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

⁴*Marine and Environmental Research Institute, Jeju National University, Jeju 695-814, Korea*

Two consecutive feeding trials investigated the effects of feeding rate and pellet expansion by water-soaking on the growth performance, blood components and histology of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. The first two experiments were carried out to determine the effects of pellet expansion and feeding rate. In the first experiment, growth performance, feed utilization and survival of fish were not significantly affected by pellet expansion for six weeks. There were no significant differences in hematocrit, hemoglobin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, glucose and total protein of fish fed the expanded pellet. However, whole-body lipid content of fish in the non-expanded group was significantly higher than that in the expanded group. Histological analysis of the anterior intestine revealed that fish in the expanded group had shorter and smaller mucous folds. These results indicate that pellet expansion had no beneficial effect in terms of growth performance, feed utilization and fish health. In the second experiment, weight gain and feed efficiency were significantly increased as feeding rate increased from 0 to 25% body weight per day (BW/d), but there were no significant differences in weight gain or feeding efficiency in fish fed the expanded pellet at ratios of 2.5% BW/d and satiation for three weeks. Plasma aspartate aminotransferase activity of fish fed the expanded pellet at a ratio of 2.5% was significantly lower than that of starved fish. Histological analysis of the anterior intestine revealed that fish in the 0% group had shorter mucous folds. Broken-line regression analysis suggested that the optimum juvenile olive flounder feeding rate was 3.5% BW/d during the low temperature season (16-17°C).

Key words: Olive flounder, Feeding rate, Expanded pellet, Water-soaking, Histology

서 론

어류양식에 있어 총 양식경영비의 50-60%가 사료비로 지출되며(Cho et al., 2006), 효율적인 사료공급은 양식현장에서 어류성장에 직접적인 영향을 미쳐 양식 성공을 위한 가장 주요한 요소 중에 하나이다(Kim et al., 2009). 우리나라의 양식생산량은 꾸준히 증가하고 있지만, 양식어가들의 사료 사용현황을

보면 배합사료(EP, expanded pellet) 보다는 생사료(MP, moist pellet)를 선호하는 편이며, 특히 넙치의 경우 2007년 기준 생사료와 배합사료의 사용량이 각각 90.7%와 9.3%로 배합사료의 사용량이 10%도 되지 않는다. 배합사료의 사용은 사료효율, 인건비와 전기료 등의 양식비용 절감, 어병발생 저하 및 양식장시설의 자동화 등 많은 장점을 가지고 있다. 하지만 배합사료 사용 및 공급체계에 관한 연구가 미흡하여 양어가들은 생사료와 똑같은 방법으로 배합사료를 사용하고 있으며, 이에 따라 배합사료는 성장저하, 복수 등 다양한 문제점들을 일으키는 것으로 인식

*Corresponding author: kjlee@jeju.ac.kr

Table 1. Proximate analysis of the experimental diet for olive flounder *P. olivaceus*(% of DM basis, Exp. 1 and 2)

Proximate composition	Exp 1	Exp 2
Dry matter (%)	8.5	8.0
Crude protein (% DM)	59.5	56.8
Crude lipid (% DM)	12.7	14.4
Crude ash (% DM)	11.3	11.8
Gross energy (MJ/kg)	17.3	17.6
Size (mm)	6.0-6.3	4.0-4.3

되고 있다(Seo et al., 2007). 실제 양식현장에서는 이러한 문제점을 예방하는 차원에서 배합사료에 물을 흡착하여 공급하고 있는 실정이다. 최근에는 가공, 유통 및 환경적으로 많은 문제점을 야기하는 생사료 대신 배합사료를 공급하는 비율이 점차 증가하고 있다. 양식현장에서는 아직도 배합사료의 공급이 넙치의 소화력 감소, 복부팽창의 주된 원인으로 인지하여 배합사료 공급 전에 비타민, 소화제 및 간기능 개선제 등의 각종 첨가제와 물을 함께 흡착시켜 공급하는 경우가 많다. 흡착 및 수침의 효율성은 아직 과학적으로 검증되지 않았으며 오히려 양식생산비용의 상승을 초래할 수 있으므로 반드시 이에 대한 과학적 검증이 필요하다.

사료공급량은 양식어류의 성장, 어체조성, 영양소의 소화율 및 흡수, 개체간 무게 및 효소활성 등에 다양하게 영향을 미친다(Fontaine et al., 1997; Shimeno et al., 1997; Halver and Hardy, 2002). 사료가 과잉 또는 불충분하게 공급되면 양식어류의 성장과 양식장 경영에 부정적인 영향을 미치게 된다. 사료공급량은 어류의 성장단계별 및 사육수온별로 다양한 어종에서 연구되어 왔다(Hung and Lutes, 1987; Mihelakakis et al., 2002; Fiogbe and Kestemont, 2003). 지금까지의 연구결과를 보면 사료공급량은 어체 크기 및 사육수온에 따라 다르며, 어류가 성장함에 따라 감소하는 결과를 보였다. Fiogbe and Kestemont(2003)의 연구결과를 보면 Eurasian perch(*Perca fluviatilis*)를 대상으로 적정공급량을 조사한 결과 0.22, 0.73, 1.56 및 18.9 g 크기의 어류가 각각 7.4, 5.1, 4.5 및 2.2%가 적절한 것으로 조사되었다.

넙치의 배합사료에 관한 연구는 주로 영양소 요구량, 사료원료 이용성, 사료물성에 관한 연구결과들이 보고되고 있는 실정이다(Lee et al., 2009; Pham et al., 2005). 이러한 연구결과를 토대로 최근에는 넙치 사육에 있어서 생사료와 배합사료의 효능을 비교한 연구결과들이 발표되고 있다(Cho et al., 2005; Lee et al., 2005; Seo et al., 2005; Kim et al., 2006). 많은 연구를 통해 이미 넙치 육성용으로 단기간 사육 뿐 아니라 장기간 사육에서도 생사료 못지않은 배합사료의 성장효과가 증명되었다. 그러나 아직까지 넙치를 대상으로 배합사료의 사육수온별 및 성장단계별로 세부적인 공급량실험은 수행되지 않았다.

본 연구는 넙치의 적정수온 보다 다소 낮은 16-17°C의 저수온기에 배합사료의 적정공급량에 대한 조사와 더불어 배합사료

Table 2. Effects of water-soaking expanded pellet on growth performance of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 6 weeks¹

	Diets		Pooled SEM ⁶
	Non-soaking	Water-soaking	
Initial weight (g/fish)	34.5	34.6	0.50
Final weight (g/fish)	76.3	70.8	1.62
Weight gain ²	87.3	74.8	4.20
Specific growth rate ³	1.89	1.70	0.55
Feed efficiency ⁴	132.1	118.7	4.95
Protein efficiency ratio ⁵	2.59	2.33	0.09
Survival (%)	97.3	99.1	0.73

¹Values are means from duplicate groups of fish.

²Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

³Specific growth rate (%) = (log_e finalwt. - log_e initialwt.)/days.

⁴Feed efficiency (%) = wet weight gain (g) × 100 / dry feed intake (g).

⁵Protein efficiency ratio = wet weight gain / protein intake.

⁶Pooled standard error of means: SD/√n.

에 수침을 하였을 때 넙치 치어의 성장, 사료효율, 혈액성분 및 조직성상에 미치는 영향을 알아보기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

실험사료

실험 1(수침효과실험)에 사용된 실험사료는 상업용 시판 넙치용 배합사료를 이용하였으며, 일반성분 분석은 Table 1에 나타내었다. 수침의 효과를 알아보기 위해 실험사료는 두 가지로 수침과 비수침 사료를 이용하였으며, 비수침사료는 상업용 시판 넙치용 배합사료를 그대로 사용하였으며, 수침사료는 사료공급 하루 전날 상업용 시판 넙치용 배합사료와 물을 7(사료):3(증류수) 비율로 혼합하여 물이 잘 흡착되게 한 후 -20°C 냉동고에 보관하여 공급하였다.

실험 2(저수온기 적정공급량 실험)에 사용된 실험사료는 상업용 시판 넙치용 배합사료를 이용하였으며, 일반성분 분석은 Table 2에 나타내었다. 치어기 넙치의 적정 사료공급량 확인을 위하여 실험사료의 설계는 어체 무게당(g) 0%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% 및 만복공급(Saturation)으로 설정하여 총 6개 실험구로 나누어 공급하였다.

실험어 및 사육관리

실험 1과 실험 2의 사양실험에 사용된 실험어류는 제주도내 창해수산에서 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다.

실험 1은 예비사육 후 실험어류(초기 평균무게: 34.5 ± 0.1 g)

는 총 4개의 300 L 원형수조에 각 수조 당 55 마리씩 무작위로 선택하여 배치되었다. 사료공급실험은 실험구당 2 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min 의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 자동타이머가 설치된 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 20℃에서 23℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회(08:00와 18:00)에 나눠서 6주 동안 어체중의 2-2.5%로 제한공급 하였다.

실험 2는 예비사육 후 실험어류(초기 평균무게: 15.7±0.01 g)는 총 18개의 150 L 원형수조에 각 수조 당 30 마리씩 무작위로 선택하여 배치되었다. 사료공급실험은 실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min 의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 자동타이머가 설치된 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 사육수온은 16-17℃로 자연수온에 의존하였으며, 사료공급은 1일 2회(오전 08:00 hr 와 오후 18:00 hr)에 나눠서 3주 동안 어체중의 수분별로 공급 하였다.

샘플수집

실험 1과 2의 사료공급 실험 후, 어류의 최종 평균무게를 측정하여 증체율(Weight gain), 사료효율(Feed efficiency), 일간성장률(Specific growth rate), 단백질전환효율(Protein efficiency ratio) 및 생존율(Survival)을 계산하였다. 최종 무게측정 후, 혈액분석을 위해 각 수조마다 4마리씩 어류를 무작위로 선별하여 마취용액(MS-222, 100 mg/L)으로 마취시켜 헤파린 처리가 된 주사기를 사용하여 미부동맥에서 채혈한 후, Hematocrit 및 Hemoglobin 함량을 측정하였다. 분석 후, 남은 혈액은 ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), Total protein 및 Glucose 분석을 위해 원심분리기(Micro 17TR, Hanil Science, Korea)를 이용하여 5,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

일반성분 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC(1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125℃, 3 hr), 조회분은 직접회화법(550℃, 12 hr)으로 측정하였고, 단백질은 자동 조단백분석기(Kejltex system 2300, Sweden)로 분석되었으며, 지방은 Folch et al. (1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)를 이용하여 분석되었다.

혈액분석

Hematocrit은 헤파린이 처리된 미세혈관채혈튜브(Micro Hematocrit Capillary Tubes)에 혈액을 채운 다음 고무판(Wax plates)에 세운 후, 혈액진단원심분리기(Micro Hematocrit VS-12000, Vision Scientific, Korea)에서 10분간 원심분리하여 값

을 측정하였다.

Hemoglobin, ALT, AST, Total protein 및 Glucose 함량은 각각의 시약과 반응시킨 후 혈액생화학분석기(Express plus system, Bayer, USA)를 이용하여 분석하였다. ALT와 AST는 kinetic, Hemoglobin, Total protein 및 Glucose 함량은 end point방법으로 분석되었다.

조직학적 관찰

넙치 해부를 통하여 간, 신장 및 췌장의 조직학적 변화를 확인하기 위해 각 실험구당 3마리씩 무작위로 추출하였다. 해부한 간, 신장 및 췌장을 Bouin's solution에 24시간동안 고정 후 고정된 샘플을 수세와 탈수를 거쳐 paraffin에 포매하여 4-6 μm 두께로 연속절편하여 조직표본을 만들었다. 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin(H-E)의 비교염색을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

통계학적 분석

실험사료군의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)에 따라 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS(Version 12.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석되었다. 수침효과 실험의 데이터 값의 유의차는 Student's t-test ($P<0.05$)로 비교되었고, 사료공급량 실험은 Duncan's multiple test($P<0.05$) 및 broken line analysis(Robbins et al., 1979)로 분석하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 계산하여 통계 분석되었다.

결 과

실험 1의 배합사료의 수침효과를 알아보기 위한 6주간의 성장실험 결과는 Table 2에 나타내었다. 실험기간 동안의 생존율은 97% 이상으로 두 실험구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 증체율, 일간성장률, 사료효율 및 단백질전환효율에서도 실험구간에 유의적인 차이를 관찰할 수 없었다. 비록 유의적인 차이는 관찰할 수 없었으나 증체율 결과에 있어서 비수침그룹의 증체율은 87.3%로 수침그룹(74.8%) 보다 높은 증체율을 보였으며, 일간성장률 역시 비수침그룹이 1.89%로 1.70%인 수침그룹에 비해 높은 값을 보였다. 사료효율과 단백질전환효율 또한 비수침그룹이 각각 132.1% 및 2.5, 수침그룹이 118.7% 및 2.33으로 비수침그룹이 수침그룹 보다 높은 사료이용률을 보였다.

배합사료의 수침이 넙치의 혈액성상에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사한 혈액분석 결과는 Table 3에 나타내었다. Hematocrit, Hemoglobin, ALT, AST, Glucose 및 Total protein 함량에 있어서 두 그룹 간에 아무런 차이를 관찰할 수 없었다.

배합사료의 수침이 실험어의 전어체 일반성분에 미치는 영향을 알아보기 위해 분석한 결과는 Table 4에 나타내었다. 단백질함량에서는 두 실험구간에 유의적인 차이를 보이지 않았고,

Table 3. Effects of water-soaking expanded pellet on serological characteristics of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 6 weeks¹

	Diets		Pooled SEM ⁴
	Non-soaking	Water-soaking	
Hematocrit (%)	32.7	34.8	0.74
Hemoglobin (g/dL)	5.63	5.59	0.13
AST (U/L) ²	27.5	25.2	1.60
ALT (U/L) ³	9.3	10.3	0.59
Glucose (mg/dL)	27.6	31.1	2.12
Total protein (mg/dL)	3.72	3.59	0.16

¹Values are means from duplicate groups of fish.

²AST=Aspartate aminotransferase, Unit per liter (U/L) is the amount of enzyme which oxidizes one $\mu\text{mol/L}$ of NADH per minute.

³ALT=Alanine aminotransferase.

⁴Pooled standard error of means: SD/\sqrt{n} .

수분과 회분 함량에 있어서는 수침그룹이 비수침그룹 보다 유의적으로 높은 값을 보였다. 하지만 지방함량에 있어서는 비수침그룹이 수침그룹 보다 유의적으로 높은 값을 보였다.

배합사료의 수침이 넙치의 간체장, 신장 및 전장의 조직학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사한 분석결과는 Fig. 1에 나타내었다. 간체장에서는 두 그룹 모두에서 간체장 세포 핵이 응축되어 있고 모세혈관의 팽창 및 전장 효소원 과립들의 감소상태를 보였고(Fig. 1A, B), 신장에서는 사구체 내 혈구세포 팽창, 흑색 대식세포(macrophage) 및 신관 상피층 상피세포의 팽창이 관찰되었다. 두 그룹의 간체장과 신장의 조직상은 미약한 수준의 병변을 보여주었다(Fig. 1C, D). 하지만 전장에서는 수침그룹이 비수침그룹에 비해 점막상피층의 핵의 응축과 점막층이 탈락된 점막주름이 더 많이 관찰되었으며, 점막주름의 길이도 짧아진 것을 알 수 있었다(Fig. 1E, F).

실험 2의 치어기 넙치를 대상으로 저수온기 배합사료 공급량을 알아보기 위해 수행한 3주간 사육한 실험결과는 Table 5에 나타내었다. 실험어류는 실험사료에 빠르게 적응하였으며, 실험기간 동안의 생존율은 84% 이상으로 모든 실험구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 증체율에 있어서는 사료를 공급하지 않은 0%그룹에서 마이너스 성장(-9.4%)을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 증가하다가 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 성장률을 보였으며 반복실험구와 유의적인 차이는 보이지 않았지만 더 높은 성장률을 보였다. 반복실험구는 2.0% 실험구와도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 일간성장률도 성장률과 비슷한 경향을 보였다. 사료효율에서도 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였고, 단백질전환효율에서는 2.0% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으나 2.5% 실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았다.

배합사료 공급율이 넙치의 혈액성상에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사한 혈액분석 결과는 Table 6에 나타내었다.

Table 4. Effects of water-soaking expanded pellet on whole-body composition of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 6 weeks¹

	Diets		Pooled SEM ²
	Non-soaking	Water-soaking	
Moisture	73.0 ^b	74.5 ^a	0.50
Crude protein	71.2	72.7	1.74
Crude lipid	7.36 ^a	4.73 ^b	0.96
Crude ash	3.69 ^b	4.36 ^a	0.21

¹Values are means from duplicate groups of fish where the values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

²Pooled standard error of means: SD/\sqrt{n} .

Hematocrit 및 Hemoglobin에서는 모든 실험구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. AST에서는 0% 절식실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으며, 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 낮은 값을 보였다. ALT에서는 0% 절식실험구에서 다른 모든 실험구보다 유의적으로 가장 높은 값을 보였다. Glucose 및 Total protein에서는 0%실험구가 다른 모든 실험구보다 유의적으로 낮은 값을 보였으며, 1%부터 반복실험구 사이에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

사료공급량을 달리하여 사육한 실험어의 전어체 일반성분 분석 결과는 Table 7에 나타내었다. 수분함량은 0%실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 단백질함량 또한 사료공급량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으나 모든 실험구에서 유의적인 차이는 관찰할 수 없었다. 지방함량은 0% 실험구에서 유의적으로 가장 낮은 값을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 회분함량은 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

배합사료의 공급량이 넙치의 간체장, 신장 및 전장의 조직학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 0%, 2.5% 및 반복실험구(saturation, 2.7%)의 조직상을 조사한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 3개 실험구의 간체장에서 간세포 내 핵이 응축되어 있고 모세혈관의 팽창 및 췌장 효소원 과립들이 감소하는 현상을 관찰할 수 있었으나, 2.5% 실험구가 나머지 두 그룹에 비해 건강한 수준의 조직상을 보여주었다(Fig. 2A-C). 0% 실험구의 신장은 사구체 내 혈구세포가 팽창하고 흑색 대식세포(macrophage)들이 2.5%와 반복실험구보다 많이 관찰되었으며, 신장 상피층의 기적막이 비후된 조직상을 보였으나(Fig. 2D), 2.5% 실험구와 반복실험구에서는 절식실험구와 비교하여 심각한 병변현상이 나타나지 않았다. 절식실험구의 증상은 핵들이 응축되는 형태를 보였고, 점막 상피층 상피세포들이 파괴되어 점막하층의 파열이 두드러지게 나타났다. 또한 점막주름의 길이는 2.5% 실험구와 반복실험구와 비교하여 현저하게 짧게 관찰 되었다(Fig. 2, G-I).

Table 5. Effects of feeding rates on growth performance of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 3 weeks¹

	Diets					S ²	Pooled SEM ⁷
	0%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%		
Initial weight (g/fish)	15.7	15.7	15.7	15.7	15.7	15.7	0.16
Final weight (g/fish)	14.2 ^a	17.7 ^b	19.2 ^c	20.1 ^d	21.9 ^e	21.9 ^{de}	0.73
Weight gain ³	-9.4 ^a	13.8 ^b	24.9 ^c	34.0 ^d	46.0 ^e	41.6 ^{de}	4.63
Specific growth rate ⁴	-0.65 ^a	0.98 ^b	1.79 ^c	2.47 ^d	2.69 ^d	2.69 ^d	0.29
Feed efficiency ⁵		80.0 ^a	90.3 ^{ab}	92.1 ^{ab}	104.0 ^b	89.7 ^{ab}	2.82
Protein efficiency ⁶		1.93 ^a	2.38 ^{bc}	2.89 ^d	2.56 ^{cd}	2.20 ^{ab}	0.10
Survival (%)	91.1	91.7	88.8	84.4	87.8	91.1	1.41

¹Values are means from triplicate groups of fish where the values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

²Satiation (2.7%).

³Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

⁴Specific growth rate (%) = (log_e final weight - log_e initial weight) / days.

⁵Feed Efficiency (%) = wet weight gain (g) × 100 / dry feed intake (g).

⁶Protein efficiency ratio = wet weight gain / protein intake.

⁷Pooled standard error of means: SD/√n.

고 찰

배합사료의 수침효과를 알아보기 위해 넙치를 대상으로 6주간 사육실험을 한 결과, 성장률, 일간성장률, 사료효율, 단백질전환효율 및 생존율에서 아무런 차이를 관찰할 수 없었다. 두 실험구간에 유의적인 차이는 관찰할 수 없었으나, 오히려 비수침실험구에서 수침실험구 보다 높은 성장결과를 보였다. Hematocrit, Hemoglobin, AST, ALT, Glucose 및 Total protein의 함량에서도 두 실험구간에 아무런 차이를 관찰할 수 없었다. 전어체의 일반성분 분석결과에서는 비수침실험구에서 수침실험구 보다 유의적으로 높은 지방함량을 보였다. 이러한 이유는 수침과정에서 배합사료에 물이 흡착되면서 본래의 영양소함량(지방)에 영향을 미치고, 사료의 사이즈도 커지게 된다. 또한 사료가 물위에 잔류하는 부상시간 및 사료의 점결성에도 영향을 끼친다. 따라서 배합사료에 수침을 하는 것은 넙치의 건강 및 성장에 아무런 효과가 없고, 오히려 악영향을 끼칠 수 있음을 확인할 수 있었다.

6주간의 사육실험 동안 모든 실험구에서 복부팽창과 같은 병변현상은 관찰되지 않았다. 조직학적 분석결과에서는 모든 실험구에서 미약한 병변 수준이었으며, 특히 전장의 조직상에서는 수침그룹이 비수침그룹 보다 오히려 점막상피층의 핵 응축과 일부 점막층이 탈락된 점막주름이 더 많이 관찰되었으며, 점막주름의 길이도 짧아진 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 수침 처리를 한 사료의 점결성이 약해지면서 어류의 소화과정에서 보다 쉽게 소화 및 흡수가 이루어져 전장의 점막주름의 길이가 현저하게 짧아진 것으로 판단된다. Dabrowski et al. (2003)은 무지개송어를 대상으로 단백질원의 형태(di-, free, and intact protein-based)를 달리하였을 때, 장 상피세포(intestinal epithelium)를

조직학적으로 관찰하였다. 그 결과, free형태로 구성된 사료를 섭취한 어류에서 장 융모(intestinal fold)가 intact protein-based 및 dipeptide형태로 구성된 사료를 섭취한 어류보다 더 작고 짧아졌다고 보고하였다. 이러한 매커니즘으로 free형태의 사료를 섭취한 어류는 보다 더 쉽고 빨리 대사과 이화작용이 이루어져 어류가 이용하기 전에 체내에서 빠져나가기 때문이라고 보고하였다. 많은 연구를 통해 free형태가 intact protein-based 및 dipeptide형태 보다 이용률이 낮아 어류의 성장이 저하된다고 보고되고있다(Luo et al., 2005; Dabrowski et al., 2003; Murai et al., 1987; Cowey and Walton, 1988; Ronnestad et al., 2000; Dabrowski et al., 2007).

위의 결과를 종합해 볼 때 배합사료의 수침은 넙치의 소화력, 성장, 사료효율 및 건강도에 아무런 효과가 없으며, 오히려 성장률과 사료효율에 좋지 않은 영향을 미칠 것으로 판단된다. 또한 점막주름의 길이가 짧아져 소화흡수에 악영향을 미칠 것으로 사료되며, 수침과정에서 배합사료 내 지방의 함량에 영향을 미쳐 성장 및 어체의 영양소 조성에 좋지 않은 영향을 미칠 것으로 판단된다. 따라서 배합사료의 수침은 비효율적이고 양식생산비용의 상승을 초래할 것으로 사료된다.

저수온기(16-17°C)에 넙치 치어 15 g을 대상으로 적정공급량을 알아보기 위해 3주간 성장실험을 수행한 결과, 증체율에 있어서는 사료를 공급하지 않은 0%그룹에서 마이너스 성장(-9.4%)을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 증가하다가 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 성장률을 보였다. 사료효율에서도 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였고, 단백질전환효율에서는 2.0% 실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으나 2.5%실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 성장률을 기초로 Broken-line 분석을 통해 최적의 사료

Table 6. Effects of feeding rates on serological characteristics of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 3 weeks¹

	Diets					S ²	Pooled SEM ⁵
	0%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%		
Hematocrit (%)	23.5	21.5	23.2	21.2	23.2	23.5	0.55
Hemoglobin (g/dL)	4.6	4.3	4.2	3.7	4.2	4.3	0.13
AST ³	46.5 ^a	39.3 ^{ab}	41.8 ^{ab}	40.6 ^{ab}	31.0 ^b	33.6 ^{ab}	1.96
ALT ⁴	16.8 ^a	6.2 ^b	8.5 ^b	6.9 ^b	7.2 ^b	5.1 ^b	1.23
Glucose (mg/dL)	19.8 ^a	27.2 ^b	26.6 ^b	26.5 ^b	25.3 ^b	26.0 ^b	0.86
Total protein (mg/dL)	2.3 ^a	3.4 ^b	3.5 ^b	3.7 ^b	3.3 ^b	3.7 ^b	0.12

¹Values are means from triplicate groups of fish where the values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

²Satiation (2.7%).

³AST=Aspartate aminotransferase, Unit per liter (U/L) is the amount of enzyme which oxidizes one μmol/L of NADH per minute.

⁴ALT=Alanine aminotransferase.

⁵Pooled standard error of means: SD/√n.

Table 7. Effects of feeding rates on whole-body composition of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 3 weeks¹

	Diets					S ²	Pooled SEM ³
	0%	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%		
Moisture	78.0 ^a	76.5 ^b	76.0 ^b	75.5 ^b	75.5 ^b	75.3 ^b	0.25
Crude protein	77.0	76.0	73.8	73.3	73.9	72.6	0.74
Crude lipid	2.9 ^b	7.7 ^b	8.1 ^b	7.7 ^b	8.7 ^b	10.7 ^b	0.71
Crude ash	4.0	3.7	3.8	3.6	3.6	3.7	0.63

¹Values are means from triplicate groups of fish where the values in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

²Satiation (2.7%).

³Pooled standard error of means: SD/√n.

공급량을 분석한 결과, 어체중 당 2.4%로 분석되었다(Fig. 2). Choi et al. (2008)은 본 연구의 어체 사이즈와 비슷한 13 g 넙치 치어를 대상으로 여름철 평균수온이 21-25℃일때 실험한 결과 어체중 당 3.56%가 적정 사료공급량이라고 보고하였다. 본 연구에서는 이보다 낮은 2.4%가 적정공급량으로 조사되었는데, 이것은 수온에 따라 사료공급량이 달라질 수 있음을 시사한다. 이미 많은 연구에서 수온에 따라 사료공급량이 달라진다고 보고되고 있다. 이와 반대로 Kim et al. (2009)은 넙치 미성어(279 g)을 대상으로 겨울철 저수온기 평균수온이 12℃일때 실험한 결과 1일 1회 어체중 당 0.32%로 반복으로 공급하는 것이 좋다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 1일 2회로 공급하였을 때, 반복실험구가 오히려 2.5% 실험구 보다 낮은 성장률을 보였다. 따라서 앞으로 사료공급 횟수에 의한 적정사료 공급량에 대한 연구가 추가적으로 수행되어야 할 것으로 판단된다.

배합사료 공급율이 넙치의 혈액성상에 미치는 영향을 알아보기 위해 조사한 혈액분석 결과, AST에서는 0% 절식실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였고, 2.5% 실험구에서 유의적으로 가장 낮은 값을 보였다. ALT에서는 0% 절식실험구에서 다

른 모든 실험구보다 유의적으로 가장 높은 값을 보였다. ALT와 AST는 일반적으로 척추동물에서 간의 기능과 상태를 나타내는 지표로서 자주 사용되며 일반적으로 높은 ALT와 AST는 간 기능의 손상 또는 약화를 의미한다(Pan et al., 2003). 따라서 사료를 공급하지 않은 0%(절식실험구)에서 유의적으로 높은 ALT 및 AST 값이 조사됨으로써, 사료를 장기간 공급하지 않으면 어류의 간 기능이 약화되는 것을 알 수 있었다.

Glucose 및 Total protein에서는 0%실험구가 다른 모든 실험구보다 유의적으로 낮은 값을 보였으며, 1%부터 반복실험구 사이에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. Kim et al. (2007)은 먹이공급 후 3시간과 24시간 후의 혈액을 분석하여 어류의 소화 과정을 설명하였다. 어류의 소화과정은 사료섭취 후 3시간 후에 영양소가 장으로부터 흡수되고, 이것은 혈액으로 공급되어 각 조직과 기관으로 전달되며 24시간 후에 다시 정상으로 돌아온다고 설명하였다. 따라서 절식실험구(0%)에서 유의적으로 낮은 Glucose 및 Total protein 함량을 보인 것은 사료를 공급하지 않음으로 인해 혈액으로 공급 될 영양소가 없기 때문으로 판단된다.

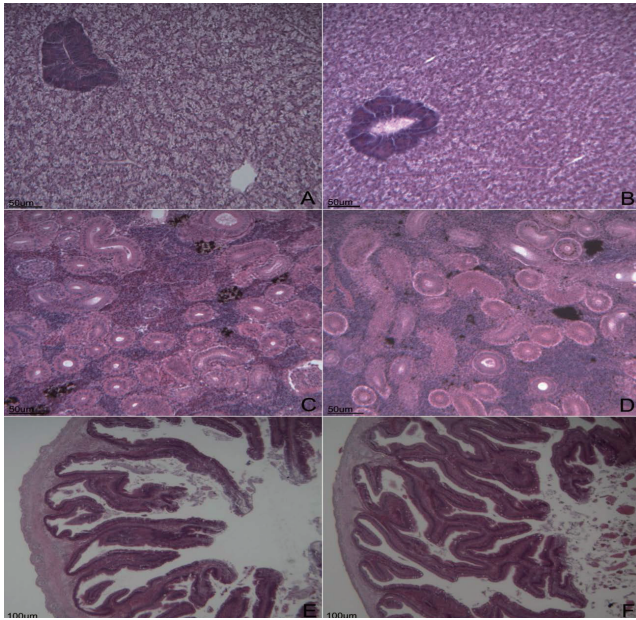


Fig. 1. Histological changes of the hepatopancreas, kidney and anterior intestine of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 6 weeks. A, C and E: Non-soaking group (A: Hepatopancreas, C: Kidney, and E: Anterior intestine), B, D and F: Water-soaking group (B: Hepatopancreas, D: Kidney, and F: Anterior intestine).

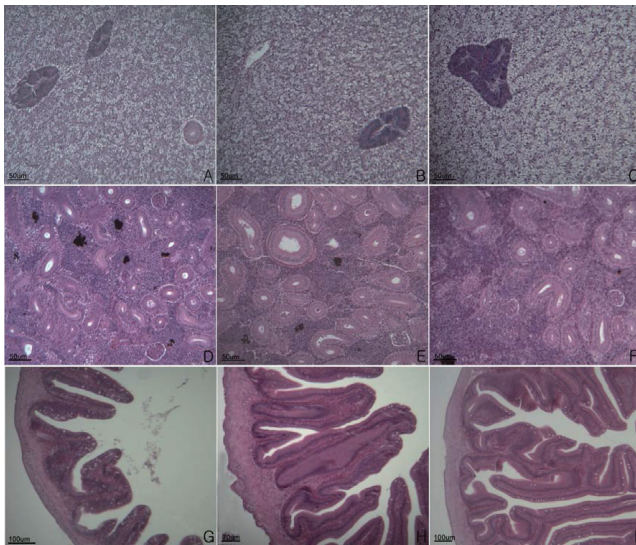


Fig. 2. Histological changes of the hepatopancreas, kidney and anterior intestine of olive flounder *P. olivaceus* fed the experimental diet for 3 weeks. A, D and G: 0% group, B, E and F: 2.5% group, C, F and I: saturation group (2.7%). (A-C: Hepatopancreas, D-F: Kidney, and G-I: Anterior intestine).

사료공급량을 달리하여 사육한 실험어의 전어체 일반성분 분석 결과, 수분함량은 0%실험구에서 유의적으로 가장 높은 값을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 단백질함량 또한 사료공급량이 증가함에 따라 감소하는

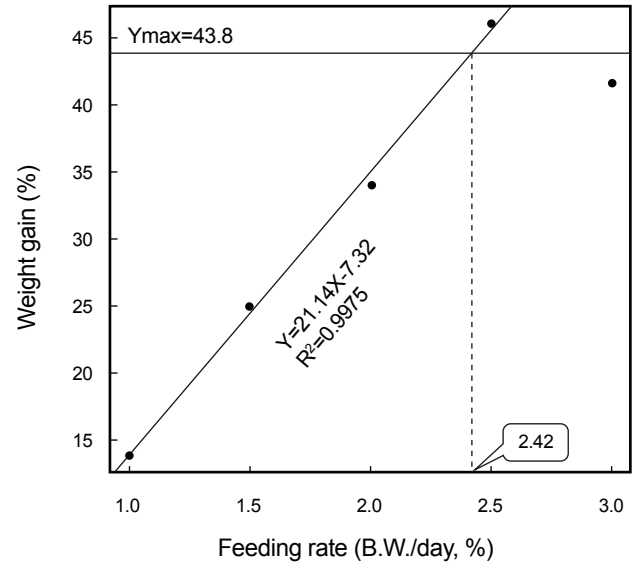


Fig. 3. Broken-line regression analysis of weight gain (%) to the feeding rates. Each point represents the average of three groups of fish. The optimum feeding rate for weight gain was 2.42% body weight/day based on the broken-line regression analysis.

경향을 보였으나 모든 실험구에서 유의적인 차이는 관찰할 수 없었다. 지방함량은 0% 실험구에서 유의적으로 가장 낮은 값을 보였으며, 사료공급량이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 회분함량은 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과 역시 사료를 공급하지 않음으로 영양소가 각 조직과 기관에 전달되지 않음으로 인해 0% 실험구에서 유의적으로 낮은 지방함량을 보인 것으로 판단된다.

3주간의 사육실험 동안 모든 실험구에서 복부팽창과 같은 병변현상은 관찰되지 않았으며, 조직학적 분석결과에서도 모든 실험구에서 미약한 병변 수준이었으며, 특히 적정 공급량인 2.5% 실험구가 다른 두 그룹(절식실험구 및 반복실험구)에 비해 건강한 수준의 조직상을 보여주었다. 또한 절식실험구의 전장은 핵들이 응축되는 형태를 보였고, 점막 상피층 상피세포들이 파괴되어 점막하층의 파열이 두드러지게 나타났으며, 점막주름의 길이도 다른 실험구와 비교하여 현저하게 짧게 관찰 되었다. 이러한 결과는 어류가 사료를 섭취하지 못해 영양소의 소화 및 흡수 작용이 이루어지지 않아 기인한 것으로 사료된다.

두 연구의 결과를 종합해 보면, 배합사료의 수침은 넉치에 있어서 성장, 건강 등에 아무런 효과가 없었다. 오히려 수침과정에서 배합사료 내 수분이 흡착되면서 배합사료의 사이즈, 부상시간, 사료의 점결성 등에 영향을 미쳐 어류의 성장에 부정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다. 또한 저수온기(16-17°C) 넉치 치어 15g의 적정 성장, 사료효율, 조직학적 관찰 및 혈액분석을 바탕으로 한 건강적인 측면을 고려해 볼 때 배합사료의 적정공급량은 어체중 당 2.4%가 적절한 것으로 사료된다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원(고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구, RP-2011-AQ-062)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, U.S.A., 1298.
- Cho SH, Lee SM and Lee JH. 2005. Effects of the extruded pellets and raw fish-based moist pellet on growth and body composition of flounder, *Paralichthys olivaceus* L. for 10 months. J Aquacult 18, 60-65.
- Cho SH, Lee SM Park, BH and Lee SM. 2006. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season. Aquaculture 251, 78-84.
- Choi SM, Kim KW, Kang YJ, Park HS and Bai, SC. 2008. Optimum dietary lipid level and feeding rates of extruded pellets in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* during the summer season. J Aquacult 21, 244-251.
- Cowey CB and Walton MJ. 1988. Studies on the uptake of (¹⁴C) amino acids derived from both dietary (¹⁴C) protein and dietary (¹⁴C) amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J Fish Biol 33, 293-305.
- Dabrowski K, Arslan M, Terjesen, BF, and Zhang Y. 2007. The effects of dietary indispensable amino acid imbalances on feed intake: Is there a sensing of deficiency and neural signaling present in fish? Aquaculture 268, 036-142.
- Dabrowski K, Lee KJ and Rinchar J. 2003. The smallest vertebrate, teleost fish, can utilize synthetic dipeptide-based diets. J Nutr 133, 4225-4229.
- Fiogbe ED and Kestemont P. 2003. Optimum daily ration for Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared at its optimum growing temperature. Aquaculture 216, 243-252.
- Folch J, Lee M and Sloane-Stanley GH. 1959. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226, 497-509.
- Fontaine P, Gardeur JN, Kestemont P and Georges A. 1997. Influence of feeding level on growth, intraspecific weight variability and sexual growth dimorphism of Eurasian perch *Perca fluviatilis* L. reared in a recirculation system. Aquaculture 157, 1-9.
- Halver JE and Hardy RW. 2002. Fish Nutrition. 3rd edition. Academic Press, California, U.S.A., 16-17, 553-554
- Hung SSO and Lutes PB. 1987. Optimum feeding rate of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20° C. Aquaculture 65, 307-317.
- Kim KD, Kang YJ, Lee HY Kim KW, Kim KM and Lee, SM. 2006. Evaluation of extruded pellets as a growing diet for adult flounder *Paralichthys olivaceus*. J Aquacult 19, 173-177.
- Kim KD, Nam MM, Kim KW, Lee HY, Hur SB, Kang YJ and Son MH. 2009. Effects of feeding rate and feeding frequency on growth and body composition of sub-adult flounder *Paralichthys olivaceus* in suboptimal water temperature. J Aquacult 42, 262-267.
- Kim SS, Galaz GB, Heo MS, Kim GY, Choi KS, Lee KW, Yeo IK and Lee KJ. 2007. Effects of dietary selfheal (*Prunella vulgaris*) water extracts and its culture fluid with *Lactobacillus rhamnosus* on growth and immune responses of juvenile olive flounder. J Aquacult 40, 300-307.
- Lee BJ, Lee KJ, Lim SJ and Lee SM. 2009. Dietary myo-inositol requirement for olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch et Schlegel). Aquaculture Research 40, 83-90.
- Lee SM, Seo JY, Lee YW, Kim KD, Lee JH and Jang HS. 2005. Evaluation of experimental extruded pellet, commercial pellet and raw fish-based moist pellet for growing flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Aquacult 18, 287-292.
- Luo Z, Liu Y, Mai K, Tian L, Yang H, Tan X and Liu D. 2005. Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. Aquaculture 249, 409-418.
- Mihelakakis A, Tsoikas C and Yoshimatsu T. 2002. Optimization of feeding rate for hatchery-produced juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Journal of the World Aquaculture Society 33, 169-175.
- Murai T, Ogata H, Hirasawa Y, Akiyama T and Nose T. 1987. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids. Bull Jpn Soc Sci Fish 53, 1847-1859.
- Pan CH, Chien YH and Hunter B. 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. J Exp Mar Biol Ecol 297, 107-118.
- Pham MA, Lee KJ, Lim SJ, Lee BJ, Kim SS, Park YJ and Lee SM. 2005. Fish meal replacement by cottonseed and soybean meal in diets for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Aquacult 18, 215-221.
- Ronnestad I, Conceicao LEC, Aragai C and Dinis MT. 2000. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). J Nutr 130, 2809-2812.

Seo JY, Lee J.H, Kim GU and Lee SM. 2005. Effect of extruded and moist pellets at different feeding rate on growth and body composition of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Aquacult 18, 26-30.

Shimeno S, Shikata T, Hosokawa H, Masumoto T and Kheyali D. 1997. Metabolic response to feeding rates in common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 151, 371-377.

2011년 6월 30일 접수

2011년 8월 19일 수정

2011년 10월 6일 수리