

뱀장어 자어용 액상사료 개발

김신권* · 이배익 · 김대중 · 이남실
(국립수산과학원 전략연구단)

Development of the Slurry Type Diet for the Growing Leptocephalus, Eel Larvae (*Anguilla japonica*)

Shin-Kwon KIM[†] · Bae-Ik LEE · Dae-Jung KIM · Nam-Sil LEE
(New Strategy Research Center, National Fisheries Research and Development Institute)

Abstract

This feeding experiment was conducted to investigate the effects of slurry type diet on growth performance and survival rate of growing leptocephalus, eel larva. We need to find new materials of diets for rearing eel larvae. Test diets were formulated with the eggs of the shark, fish soluble concentrate, soybean peptide and fish protein hydrolysate. Fish (average length 6 mm) were fed 3 slurry type diet(A, B and C) based on shark egg for 5 times per day. During feeding experiment, survival rates were significantly different among 3 slurry type diets. Total protein, lipid, moisture, ash and free amino acids contents were analyzed for slurry type diets. Leptocephalus fed the C slurry type diet was grown up to 38.0±9 mm at 150 days. But all leptocephalus fed B slurry type diet were died at 100 days, reaching 16.4±8 mm. This results suggest that basic information for diet development of eel leptocephalus.

Key words : Eel, Growth, Leptocephalus, Slurry type diet

I. 서론

뱀장어 양식업은 다른 양식어종과 달리 양식용 종묘의 인공적 생산기술이 확립되어 있지 않아 자연산 실뱀장어를 잡아 양식용 종묘로 사용하고 있는 실정이며, 극동산 뱀장어(*Anguilla japonica*)의 치어인 실뱀장어의 채포량 급변에 의한 가격 변동이 심해 뱀장어 양식산업 전반에 걸쳐 매우 심각한 문제로 대두되고 있다. 자연에서 극동산 실뱀장어는 지구온난화, 환경오염, 서식지 감소 등에 의해 채포량이 변화하고 있다는 추측은 있

으나 아직 과학적 조사에 의한 연구결과는 없다. 따라서 뱀장어 인공종묘 생산기술 확립을 통한 안정적인 인공종묘생산이 더욱 요구되어지고 있다. 뱀장어 인공종묘생산 연구는 1960년대 일본에서 처음 시작되었으며, Yamamoto & Yamauchi (1974)는 성성숙 관련 호르몬처리에 의해 수정란을 생산하여, 부화 후 약 2주간 7 mm의 부화자어(preleptocephalus)까지 사육하는데 성공하였다. 먹이생물 및 사료개발의 어려움에 직면하여 1990년대까지 뚜렷한 연구성과를 얻지 못했다. Tanaka et al. (1995)는 해산 종묘생산의 먹이생물

[†] Corresponding author : 051-720-2186, ksk4116@korea.kr

* 이 논문은 국립수산과학원(뱀장어 인공종묘 생산기술 개발, RP-2014-AQ-088)의 연구비 지원에 의한 것이며, 이에 감사드립니다.

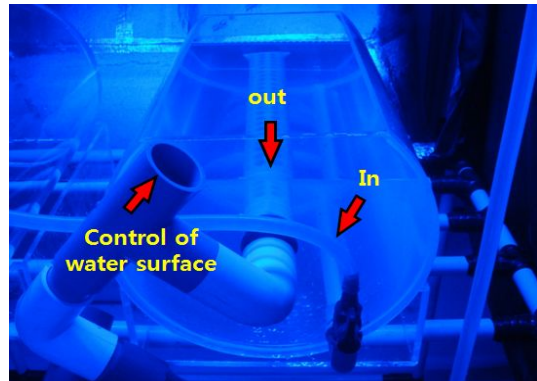
로써 이용되는 로티퍼(*Brachionus plicatilis sp.*)를 섭취하였다고 보고하였으나, 성장 및 생존기간 연장에는 실패하였다. 국내에서는 Kim et al. (2007)이 인위적 성숙 유도법에 의해 난 발생 및 프레렙토세팔루스까지의 생산에는 성공하였으나 초기사료 및 먹이생물이 개발되지 않아 렙토세팔루스 생산에는 실패하였다. 일본에서 초기사료 개발에 집중한 결과, 로티퍼의 영양강화 물질로 사용되는 아쿠알란(주원료: 곱상어 난황)에 크릴 분말 등의 사료원료를 혼합한 액상사료를 개발하여 렙토세팔루스 생산 및 싼뱀장어까지 사육에 성공하였다 (Kagawa et al., 2009; Okamura et al., 2009; Tanaka et al., 2001; Tanaka et al., 2003). 한편 Miller et al. (2013)은 자연에서의 렙토세팔루스는 해양수층에 존재하는 동물플랑크톤 혹은 식물플랑크톤 등의 사체가 부패하여 생성되는 유기물 덩어리인 마린스노우를 먹고 성장한다고 발표하였으나 인공적인 환경에서 자연과 같은 먹이를 이용한 인공종묘 생산기술은 개발되어 있지 않다. 현재 유일한 방법은 상어알을 이용한 액상사료이나 일본 양식연구소에서 개발한 액상사료에 대한 정보가 부족하여 재현실험이 불가능하고 원료에 대한 구체적인 정보가 제한되어 있어 뱀장어 자어용 액상사료 개발이 어려웠다. 본 연구에서는 곱상어알 및 국내에서 구입이 가능한 여러 가지 사료원료를 새롭게 탐색하여 사육환경 및 조건에 맞게 액상사료 제조 및 분석을 실시하였고, 부화자어에 직접 사료공급을 통한 사육실험을 실시하여 섭취여부 및 성장에 미치는 영향에 대하여 조사하였다..

II. 연구내용 및 방법

1. 실험어

뱀장어 암컷 친어는 국립수산물과학원 내수면양식센터에서 치어기에 에스트로젠을 사료에 첨가하여 암컷화한 친어를 약 2년 6개월 정도 사육하

여 친어로 사용하였다. 수컷 친어는 일반 양식장에서 양식한 친어를 사용하였다. 암컷에 대해서는 연어 뇌하수체 추출물을 투여하고 수컷에 대해서는 사람태반성성선자극호르몬을 매주 투여하여 성숙시켰다. 암컷에서는 최종적으로 난경 750 μm 로 커진 개체중 세포질주변 투명도가 높아진 개체에 연어뇌하수체 추출물을 투여하고, 다음날 DHP(17, 20b-dihydroxy-4-pregnen-3-one)를 투여하여 배란을 유도하였다. 수컷에서는 인공적으로 정자를 채취하여 인공 정장액에 희석 후 냉장 보관하였고, 인공채란된 알과 혼합하여 수정시켰다 (Kim et al., 2007).



[Fig. 1] Aquarium for feeding trail of eel larvae

<Table 1> Composition of the eel leptocephalus diets

Ingredients	Diets		
	A	B	C
Shark egg(g) ¹	50	50	50
Fish soluble ² concentrate(g)	-	3	3
Soybean ³ peptide(g)	-	3	3
Fish protein ⁴ hydrolysate(g)	-	-	3
Vitamin mix(g)	-	0.25	0.25
Krill extract(ml)	-	40	40

¹ Robson Ltd. Japan, ² Soprioecge Ltd. France,

³ Fuji Oil Ltd. Japan, ⁴ Suzuhiro Ltd. Japan

<Table 2> Crude protein, lipid, ash and moisture contents of the experimental diets (%)

Diets	Composition (% matter basis) ¹			
	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash
A	45.9±0.5	32.7±0.4	18.8±0.7	1.5±0.1
B	62.7±0.6	21.7±0.3	12.5±0.6	1.4±0.2
C	62.3±0.7	21.2±0.5	12.7±0.5	1.6±0.1

¹ Data are the mean±S.D.(n=5).

2. 수정란 관리

수정란은 원통형 그물(지름: 50 cm)이 설치된 2 t 사각수조에 수용하여 부화될 때 까지 사육하였고, 부화 후 원형수조(높이: 1.5 m 직경: 50 cm)에 수용하여 약 6일간 유구와 난황물질 등을 흡수하여 자어의 입, 눈 등이 발생하는 무급이 시기를 거친 후 U자형 수조(사육수량: 20 L)로 이동하여 사육실험을 실시하였다([Fig 1]).

3. 사료의 제조 및 분석

실험사료에 사용된 원료는 상어알(곱상어: *Squalus acanthias*), 수용성 어분, 대두 농축분말, 단백질 분해 어분, 비타민 프리믹스, 곤쟁이를 사용하였다. 상어알은 표면의 껍질을 제거 후 사용되었으며, 곤쟁이 1 kg을 증류수 2 L에 넣고 10 분간 믹서에 갈아 액상상태로 만든 후 물러가제 (500 μm)에 투과된 액상상태의 추출물을 사료제조에 사용하였다. 사료원료들은 실험사료 조성표 <Table 1> 와 같은 혼합비율로 솔더 크림 교반기(Solder cream mixer, Yestech, Korea)에서 1200 rpm으로 3분간 혼합하여 균일한 크림상태의 액상 사료가 되도록 제조하였다. 제조된 액상사료는 다시 물러가제(100 μm)로 여과하였다([Fig 2]).



[Fig. 2] Pictures of experimental diets

실험사료의 분석은 다음과 같다. 우선 110 °C에서 10시간 건조한 후, 단백질은 켈달법, 지질은 에테르 추출법, 회분은 600 °C에서 6시간 연소하여 분석하였다. 유리아미노산 분석은 Simpson et al. (1976)의 방법에 따라 각 사료 3 g를 정밀히 취하여 Sulfosalicylic acid 2 % 용액을 넣고 분쇄하여 3,500 rpm의 속도로 원심분리 한 후 상등액을 50 mL 메스실린더에 넣어 정용하여 0.45 μm membrane filter로 여과 한 시료액을 아미노산 자동 분석기(Biochrom 30, Biochrom Ltd., England)를 사용하여 분석하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 시료 3 g에 대하여 4 배량의 chloroform : methanol 혼합용매(2 : 1, v/v)를 가하여 homogenizer로 2분간 교반한 후, 여과하여 얻은 여액을 플라스크에 넣고 evaporator로 용매를 제거하여 지질을 추출하였다. 추출한 지질은 14 % BF₃-methanol (Sigma Chemical Co., USA) 2 mL를 가하고 30분간 85 °C에서 가열시킨 다음, 석유 ether로 추출하여 지방산 분석용 시료로 사용하였다. GC 분석조건은 HP-INNO Wax capillary column(30 m × 0.32 mm i.d., film thickness 0.5 μm, Hewlett-Packard, USA)이 정착된 gas chromatography(HP6890, USA)로 carrier gas는 helium을 사용하였다. Injector와 detector(FID) 온도는 각각 250 °C, 270 °C로 설정하였고, oven 온도는 170 °C에서 225 °C까지 1 °C/min 증가시켰다. 각 지방산은 동일조건에서 표준지방산 methyl ester mixture(Sigma Chemical Co., USA)와 retention time을 비교하여 동정하였으며 함량은

각 peak의 면적을 상대 백분율로 나타내었다.

<Table 3> Free amino acids contents (dry basis % of protein) of the experimental diet A, B and C

Amino acids	diets		
	A	B	C
Taurine	-	11.20	12.66
Urea	-	22.33	22.70
Aspartic acid	1.91	0.08	0.00
Hydroxyproline	-	0.00	0.41
Threonine	1.19	2.75	2.38
Serine	1.40	2.04	1.64
Glutamic acid	2.74	1.38	6.48
Sarcosine	-	2.91	2.26
α-aminoadipic acid	-	0.58	0.69
Proline	0.98	3.29	3.49
Glycine	0.76	2.23	2.26
Alanine	1.08	4.99	5.23
Citrulline	-	0.59	0.39
α-amino-n-butyric acid	-	0.16	0.16
Valine	0.44	3.92	3.41
Cystine	0.09	0.06	0.18
Methionine	1.10	1.54	1.51
Cystathionine	-	0.43	0.59
Isoleucine	1.31	3.00	2.46
Leucine	1.40	7.32	6.77
Tyrosine	0.75	2.37	1.74
β-alanine	-	3.01	2.39
Phosphoethanolamine	-	2.81	2.58
β-aminoisobutyric acid	-	0.48	0.27
Homocystine	-	0.05	0.00
γ-amino-n-butyric acid	-	2.61	0.08
Ethanolamine	-	0.05	0.03
Ammonium chloride	-	1.37	1.38
δ-hydroxylysine1	-	0.33	0.27
Ornithine	-	0.49	0.73
Lysine	1.40	4.27	3.71
1-methylhistidine	-	0.32	0.50
Histidine	0.80	1.79	1.59
Tryptophan	-	1.71	1.47
3-methylhistidine	-	0.01	0.03
Anserine	-	0.64	1.09

<Table 4> Fatty acids (% of total fatty acids) of the experimental diet A, B and C

Fatty acids	Diets		
	A	B	C
C11:0	-	4.66	5.00
C12:0	-	0.02	0.01
C13:0	-	0.01	0.01
C14:0	1.06	2.00	0.96
C15:0	0.31	0.35	0.28
C16:0	17.01	15.52	16.65
C17:0	1.48	0.50	0.80
C18:0	3.61	5.06	3.63
C20:0	0.10	0.05	0.11
C22:0	0.07	-	0.05
Σ Saturates	23.64	28.17	27.52
C14:1n5	-	0.05	0.01
C15:1	0.04	0.05	0.05
C16:1n7	3.02	4.69	2.75
C16:1n5	0.09	0.18	0.09
C17:1n7	0.30	0.30	0.27
C18:1 DMA	0.15	-	0.13
C18:1n9	18.25	23.92	17.11
C18:1n7	5.72	3.42	5.52
C18:1n5	0.34	0.39	0.30
C20:1n11	3.20	1.11	2.14
C20:1n9	3.96	1.55	3.69
C20:1n7	0.78	0.15	0.79
C22:1n11	5.07	0.72	4.11
C22:1n9	2.18	0.10	1.92
C22:1n7	0.16	-	0.12
Σ Monoenes	43.26	36.63	39.01
C16:2n7	0.02	-	0.03
C16:2n4	0.53	0.29	0.54
C18:2n7	-	-	0.02
C18:2n6	1.07	4.78	1.44
C18:2n4	0.22	0.13	0.21
C18:3n6	0.09	0.06	0.09
C18:3n3	0.30	0.68	0.41
C18:4n3	0.36	0.47	0.36
C20:2	0.10	-	0.12
C20:2n6	0.36	0.23	0.36
C20:3n6/C21:0	0.16	0.15	0.15
C20:4n6	2.79	1.24	2.82
C20:3n3	0.10	0.11	0.11
C20:4n3	0.76	1.11	0.75
C20:5n3(EPA)	6.43	9.91	6.45
C21:5n3	0.25	0.17	-
C22:4n6	0.56	0.26	0.53
C22:5n3	3.95	3.25	3.74
C22:6n3(DHA)	15.05	12.35	15.10
Σ Polyenes	33.09	35.19	33.22
Total	100	100	100

4. 사육실험

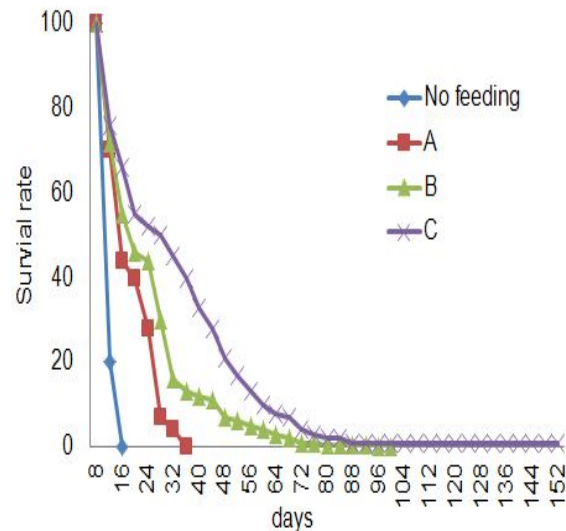
20 L U자형 아크릴수조에 1,000마리의 자어를 각각 수용하여 제작된 3가지의 액상사료와 무급이 실험구로 사육하였다. 시험개시시의 자어는 8 일령 전장은 6.8 ± 2 mm 이었다. 사육방법은 매일 2시간마다 1일 5회(9시-17시) 1회당 액상사료 5 ml을 바닥에 분산시켜 약 15분간 급이하였다. 급이시에는 조명을 켜서 음의 주광성을 가지고 있는 자어들이 바닥의 사료에 접근이 용이하도록 유도하였다. 수조내 환수는 분당 약 1 L로 하였으며 수온은 적정 수온인 23 °C를 유지하였다. 사망한 자어사체는 매일 계수하여 제거하였다. 자어를 이동시킨 후 기존수조를 세척하였다. 조도는 명시(급이시 15분간)에는 푸른색 LED 등을 이용하여 1,500-2,000 lx로 조정하였고 암시에는 1 lx 이하로 유지하였다. 이와 같은 방법으로 150일령까지 사육하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

현재 뱀장어 자어의 초기 액상사료는 Tanaka et al. (2003)에 의해 상어알을 기반으로 하는 사료가 개발되었으나, 상어알을 제외한 다른 사료원은 특수제조 된 사료원료로 제조 및 조성에 대한 구체적 정보는 공개되어 있지 않고 있다. 본 연구는 국내에서 입수 가능한 사료원료를 탐색하고 적용하는 신규사료 제작을 통해 생존율과 성장률이 향상된 뱀장어 자어용 사료를 개발하고자 하였다.

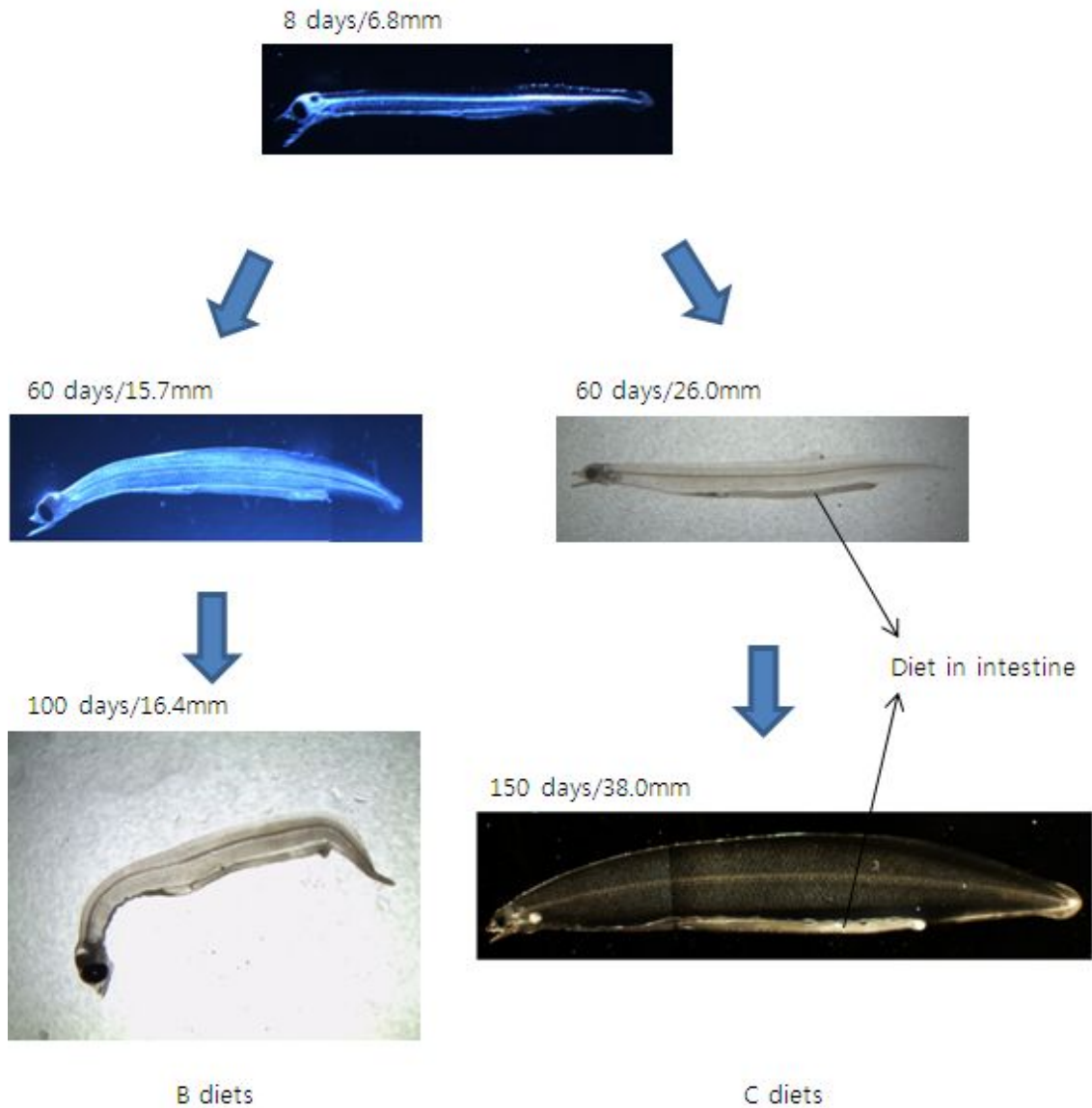
무급이구에서는 부화 후 16일에 전량 폐사하였으나, 그 외의 급이구에서는 무급이구에 비하여 생존을 연장하였다([Fig 3]). 상어알만을 먹인 A 사료 급이구에서는 36일째 전량 폐사하였고 상어알에 사료원료를 혼합한 B사료 급이구에서는 부화 후 100일경까지 생존하였으나 C사료 급이구와 개체를 비교해보면 체고가 낮으며 주둥이 부위가 불완전 성장한 모습을 관찰할 수 있었고 이

후 100일째 전량 폐사하였다. 유일하게 C사료 급이구만이 150일까지 생존하고 성장에 있어서도 랩토세팔루스의 본래의 모습으로 성장하였다([Fig 4]). C사료 급이구에서는 초기 사료급이 이후 약 7주일째 대량 폐사가 발생하여 약 70 %이상이 폐사하였고 이후 부화 후 20일 전후로 2차 대량 폐사가 발생하였다. 이후에는 매일 소량의 폐사가 발생하였으나 대량의 폐사는 일어나지 않았다. C사료 급이구에서는 장내 사료 충만도가 80 %이상 되었고 급이 후 20일이 경과한 개체는 액상사료 및 사육시스템([Fig. 2])에 적응하여 매시간 꾸준히 섭이하며 배설물을 배출하였다([Fig. 4]).



[Fig. 3] Eel larvae survival rate of experimental groups

B사료 실험구는 일령 60일까지는 정상적인 성장을 하였으나 일령 70일부터 성장이 둔화되어 일령 102일째에 폐사되었다. 폐사 시의 전장은 16.4 ± 8 mm로 정상적인 개체와 비교하여 성장이 저조하였으며 이는 영양적인 결핍에 의한 성장저하로 추정되어지고 있어, 향후 영양결핍에 대한 연구가 요구된다.



[Fig. 4] Eel larvae of Initial, 60 days, 100 days or 150 days of experimental B and C diet group

금번 개발된 C사료는 일령 60일에는 26.0±7 mm, 일령 150일에는 38.0±9 mm로 Tanaka et al. (2003)의 사육결과와 매우 흡사한 성장을 보였으며 형태에 있어서도 뱀잎 형태가 뚜렷한 랩토세 팔루스 형태로 성장하였다([Fig 4]). 기존의 A, B 사료와 개량된 C사료간의 일반분석 및 아미노산 분석을 실시하여 각각의 사료간의 영양적인 차이

를 검토하였으나 상어알만이 함유되어 있는 A사료만이 B, C사료에 비교하여 지방과 단백질이 높게 나타났으나 B, C사료간에 있어서는 단백질, 지질, 수분에 있어서 뚜렷한 차이가 없었으며 유리 아미노산 분석, 지방산 분석에서도 큰 차이가 발견되지 않았다(<Table 3, 4>). 향후 본 연구에는 분석하지 못한 미량 영양소, 즉 비타민, 미네랄

등의 분석을 실시할 필요가 있다고 사료된다.

Murashita et al. (2013)은 뱀장어 부화자어의 장내에 소화관련 효소가 존재하나 소화기관 전체의 발달이 다른 어류의 부화자어에 비하여 빈약하여 장내 소화 및 흡수를 위해서는 사료의 분자량이 비교적 작은 물질이 적합하다고 하였으며, Yoshimatsu (2011)는 뱀장어 부화자어의 구강내부를 관찰한 결과 입크기에 비하여 목부분의 구경이 약 50 μm 로 이 보다 작은 크기의 사료만이 섭취에 용이하다고 발표하였다. 이러한 연구결과로부터 뱀장어 부화자어의 초기 사료로 이용되기 위해서는 크기 뿐만 아니라 소화, 흡수가 용이한 분자량이 작은 물질이 적합하다고 사료된다. 본 연구에서도 상어알을 비롯한 모든 사료원료를 혼합한 후에 물리가제(100 μm)로 걸러 사료제조과정의 최종단계에서 큰 입자를 제거하여 사료 입자를 제어하였다. 또한 액상사료의 원료들도 거의 수분에 용해되거나 콜로이드 형태가 되는 작은 크기의 원료만을 사용하였다. 이러한 연구결과로부터 뱀장어 자어기에는 영양학적 요인 뿐만 아니라 각 사료원료가 자어의 소화기관내에서 쉽게 소화·흡수되는 작은 크기의 물질이어야 성장이 된다고 할 수 있다.

본 연구에서는 뱀장어 자어용 액상사료를 개발하여 뱀장어 자어를 부화 후 150일까지 성장시키는데 성공하였다. 향후 사료원료의 개량 등에 의해 뱀장어 자어의 성장에 보다 적합한 새로운 사료원료의 탐색 및 사육실험을 통해서 생존율 및 성장률을 향상시키기 위한 연구가 추진되어야 할 것이며, 이러한 연구는 뱀장어 인공종묘 대량생산 기술개발에 있어서 중요한 연구가 될 것이다.

References

- Folch, J. · Lees, M. & Stanley, G. H. S.(1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 496~509.
- Kagawa, H. · Tanaka, H. · Ohta, H. · Unuma, T. & Nomura, K.(2005). The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture. *Fish Physiol. Biochem.* 31, 193~199.
- Kim, D. J. · Kang, E. J. · Bae, J. Y · Park, M. W. & Kim, E. O.(2007). Development of the eggs and pre-liptocephalus larvae by natural spawning of artificially-matured Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J. Aquaculture* 20(3), 160~167.
- Miller, J. M. · Chikaraishi, Y. · Ogawa, N. · Yamada, Y. · Tsukamoto, K. & Ohkouchi, N.(2013). A low trophic position of Japanese eel larvae indicates feeding on marine snow. *Biol. Lett.* Feb 23, 2013; 9(1): 20120826.
- Murashita, K. · Furuita, H. · Matsunari, H. · Yamamoto, T. · Awaji, M. · Nomura, K. · Nagao, J. & Tanaka, H.(2013). Partial characterization and ontogenetic development of pancreatic digestive enzymes in Japanese eel *Anguilla japonica* larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 39(4) 895~905.
- Okamura, A. · Yamada, Y. · Mikawa, N. · Horie, N. · Utoh, T. · Kaneko, T. · Tanaka, S. & Tsukamoto, K.(2009). Growth and survival of eel leptocephali (*Anguilla japonica*) in low-salinity water. *Aquaculture* 296, 367~372.
- Simpson, R. J. · Neuberger, M. R. & Liu, T. Y. (1976). Complete amino acids analysis of proteins from a single hydrolysate. *J. Biol. Chem.* 251, 1936~1940.
- Tanaka, H. · Kagawa, H. & Ohta, H.(2001). Production of leptocephali of Japanese eel, *Anguilla japonica* in captivity. *Aquaculture* 201, 51~60.
- Tanaka, H. · Kagawa, H. · Ohta, T. · Unuma, T. & Nomura, K. 2003. The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 493~497.
- Tanaka, H. · Kagawa, H. · Okuzawa, K. & Hirose, K.(1995). The first report of eel larvae ingesting rotifers. *Fish. Sci.* 61, 171~172.
- Yamamoto, K & Yamauchi, K.(1974). Sexual maturation of Japanese eel production of eel larvae in the aquarium. *Nature* 251, 220~221.
- Yoshimatsu, T.(2011). Early development of

preleptocephalus larvae of the Japanese eel in captivity with special reference to the organs for larval feeding. Bull. Graduate School of Bioresources Mie Univ. 37, 11~18.

-
- 논문접수일 : 2014년 08월 18일
 - 심사완료일 : 1차 - 2014년 09월 16일
 - 게재확정일 : 2014년 10월 01일