

자주복(*Takifugu rubripes*) 종묘생산시 알테미아 대체 먹이원으로 기수산 물벼룩(*Diaphanosoma celebensis*) 효과

정우철 · 이정태¹ · Feng Jin · 최종국 · 최병대 · 강석중*

경상대학교 해양식품생명의학과, ¹경상남도 수산자원연구소

Growth of Larval Tiger Puffer *Takifugu rubripes* Fed *Diaphanosoma celebensis*

U-Cheol Jeong, ¹Jeong-Tae Lee, Feng Jin, Jong- Kuk Choi, Byeong-Dae Choi and Seok-Joong Kang*

Department of Seafood and Aquaculture Science, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea

¹Fisheries Resources Research Institute, Gyeongnam, Tongyeong 50411, Korea

Several of our recent studies have focused on mass production of the marine Cladoceran *Diaphanosoma celebensis*, which can serve as a feed substitute for *Artemia* nauplii in the culture of larval marine fish. We compared the growth and survival rates of tiger puffer *Takifugu rubripes* fed *D. celebensis* with those fed *Artemia*. The group fed *D. celebensis* showed an increase in growth from 0.10 g to 1.78 g, while the group fed enriched *Artemia* had a growth from 0.10 g to 0.92 g. The survival rate of fish fed *D. celebensis* was 86.7% while that of fish fed enriched *Artemia* was 51.1%, indicating that the former group was superior to the latter both in growth and survival rate. Fatty acid analysis revealed that *D. celebensis* fed *Nannochloropsis oculata* and *Schizochytrium* sp. had an eicosapentaenoic acid (EPA) content of 16.42% and a docosahexaenoic acid (DHA) content of 3.93%. Meanwhile, juvenile tiger puffer fed *D. celebensis* had an EPA content of 9.12% and a DHA content of 10.69%. Juvenile tiger puffer fed *D. celebensis* had a similar n-3 highly unsaturated fatty acid content to that of tiger puffer fed enriched *Artemia* which had an EPA content of 5.82% and a DHA content of 15.90%, indicating that no additional enrichment was required.

Key words: Tiger puffer, *Takifugu rubripes*, *Diaphanosoma celebensis*, *Artemia*, n-3 HUFA

서 론

자주복(*Takifugu rubripes*)은 복어목(Tetraodontiformes), 참복과(Tetraodontidae), 자주복속에 속하는 어류로서 우리나라 남서해안, 일본 서부연안 및 동중국해에 걸쳐 넓게 분포하는 어종이다(Rho and Jung, 1993). 자주복은 간장과 난소 등에 Tetrodotoxin이라는 강한 독을 가지고 있으며(Pyen and Rho, 1970), 고급 횡감으로서도 잘 알려져 있다(Han, 1998). 특히, 한국과 일본에서 부가가치가 높은 양식 대상종의 하나로서, 주로 연승어업, 저인망, 정치망 등에 의해 어획되고 있으나 최근 남획에 의한 자원감소가 심각한 문제로 대두되어, 자원관리의 필요성이 지적되고 있다(Yang et al., 1994). 현재 어류의 인공 종묘 생산을 위한 먹이공급체계는 해수클로렐라-로티퍼-알테

미아-인공배합사료로 구축되어 있다(Hirayama, 1985; Yamasaki et al., 1987; Yoshimura et al., 1996). 알테미아는 염호라는 극한 상황의 환경에서 자란 갑각류의 난을 채집하여 건조 후 통조림화한 것으로서 전량 수입해서 사용하고 있으며(Kim et al., 1999), 지질의 영양학적인 문제점에 대해서는 이미 많은 지적을 하고 있다(Jeong et al., 2016). 알테미아는 어류의 필수지방산으로 알려져 있는 EPA (Eicosapentaenoic acid), DHA (Docosahexaenoic acid) 등의 오메가-3 고도불화지방산 (Highly unsaturated fatty acid, HUFA)의 함량이 부족하기 때문에 이들 성분을 많이 함유한 지질물질을 보충하는 양양강화 방법을 사용하고 있지만, 이를 완전히 해결하지 못하고 있는 실정이다(Lavens and Sorgeloos, 2000). 또한 알테미아의 원활한

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0467>



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 49(4) 467-473, August 2016

Received 1 June 2016; Revised 9 June 2016; Accepted 5 July 2016

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 9154 Fax: +82. 55. 648. 3089

E-mail address: sjkang@gnu.ac.kr

수급과 가격폭등에 대하여 수십 년에 걸쳐서 많은 논란이 있음에도 불구하고 대체하지 못하는 이유는 이를 대신할 만한 먹이생물을 아직 찾아내지 못했기 때문이다(Jeong et al. 2016). 최근, 알테미아를 대체할 새로운 먹이생물로서 요각류 Copepoda (Schipp et al., 1999; Evjemo et al., 2003), 단각류 Amphipoda (Sudo and Azeta, 1996; Aravind et al., 2007) 그리고 지각류 Cladocera (Segawa and Yang 1988; Adeyemo et al. 1994; He et al., 2001)를 대상으로 하는 연구가 활발히 진행 중에 있다. 그러나 요각류의 경우 자웅이체이기 때문에 유성 생식을 통해서만 개체밀도가 증가하므로 대량 배양시 문제를 가지고 있으며, 수중에서 움직임이 너무 빨라서 유생이 먹이로서 섭이하는데 어려움이 있다(Stottrup and Norsker, 1997). 단각류는 *Gammarus pulex*, *Byblis japonicus* 그리고 *Eriopisachi lkensis* 등이 배양 시도가 이루어졌으나, 변태를 통한 성체까지의 발달 단계가 너무 길기 때문에 대량 배양이 되지 않고 있다(Welton and Clarke, 1980; Aravind et al., 2007). 이에 반해 지각류는 무성 생식을 하기 때문에 세대 교번이 빠르고, 성장률이 높기 때문에 대량 배양의 가능성이 높다고 보고되고 있다(Benider et al., 1998; Jung et al., 2001a). 담수산 지각류는 세계적으로 배양에 오랜 역사를 가지고 있으며, 노지와 못에 시비를 하여 발생시키는 방법을 사용하여 담수어류 종묘생산에 사용하여 왔다(Ventura and Enderez, 1980; Alam et al., 1993; Alam et al., 2008; Kumar and Hwang, 2008). 그러나 담수산 지각류는 염분 적응력이 약해서 해수에서 생존하지 않아 극히 제한적으로 이용이 되어왔고(He et al., 2001; Kotani et al., 2008), 이에 해수산 지각류를 배양하려는 시도가 이루어졌다(Chen et al., 1977; Korovchinsky, 1989; Nakamoto et al., 2008). 해수산 지각류인 *Diaphanosoma celebensis*는 성장률이 높고, 크기도 400-1,000 um 정도로 알테미아와 유사하여 알테미아를 대체할 수 있는 먹이생물로 주목 받고 있다(Korovchinsky, 1993; De la Pena et al., 1998; Nakamoto et al., 2008). 또한, 영양학적인 면에 있어서도 알테미아는 cyst에서 부화한 후, $\Sigma n-3$ 고도불포화지방산의 함량이 매우 낮은 상태이기 때문에 영양강화 과정이 필요하고, 영양강화를 하였더라도 DHA를 EPA로 역전환하는 기작을 가지기 때문에 문제가 되고 있지만 지각류는 이러한 역전환 현상이 없어 종묘생산시 알테미아에 비해 유리하다 *D. celebensis*는 동남아시아 연안에 널리 분포하며 광염성 종으로 기수와 해수에서도 생식이 가능한 것으로 알려져 있다(Segawa and Yang, 1987; Achuthankutty et al., 2000). 일부 동남아시아 지역에서는 자연에서 서식하고 있는 *D. celebensis*를 채집하거나, 인위적으로 배양하여 해산어류 종묘생산과정에서 일부 알테미아를 대체하고 있으며, 능성어와 같은 해산어류의 종묘생산 과정에서 로티퍼 다음 단계 먹이생물로 이용하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Chen et al., 1977). 또한 농어류(*Lates calcarifer*)에 *D. celebensis*를 이용하여 종묘생산을 시도한 연구와 *D. celebensis*의 염분에 의한 섭이, 생존, 성장 그리고 산자

수 생산에 관한 기초연구가 보고되고 있으며(Jung et al., 1999; Achuthankutty et al., 2000; Jung et al., 2001b), *D. celebensis*의 대량배양에 관한 연구도 이루어지고 있다(Park, 2010; Park et al., 2012). 따라서 이번 연구에서는 해산어류 종묘생산 단계에서 알테미아 대체먹이생물로서 *D. celebensis*을 자주복 자치어에게 급여하였을 때 성장과 생존율에 미치는 영향을 알아보고, 지질영양학적인 가치를 평가하고자 한다.

재료 및 방법

실험 물벼룩

실험에 사용된 물벼룩은 국립경상대학교 어류영양 및 사료 연구실에서 종 보관중인 *Diaphanosoma celebensis*종을 사용하였으며, 배양 용기는 직경 1.6 m, 높이 1 m의 수량 1 ton FRP 원형탱크를 사용하여 배양하였다. 먹이는 해양미세조류 *Nannochloropsis oculata*와 *Schizochytrium* sp.을 계분추출물(Kotani et al., 2008)를 혼합하여 공급하였다. 이때 배양조건은 수온 $28.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$, 광주기 18L:6D로 유지하였으며, 환수는 7일마다 전량 실시하였다.

Artemia 부화 및 영양강화

실험에 사용된 Artemia (Great Salt Lake, Utah, USA)는 염분 34 psu, 수온 28°C 그리고 광주기 12L:12D 조건으로 하였다. Artemia cyst 1 g/L 용량으로 부화기(Multi Thermo Incubator, Dong won Scientific co. Korea)에 넣은 다음, 24시간 동안 부화하였다. 부화된 알테미아는 영양강화제로 DC SUPER SELCO (INVE, Co., Ltd., Thailand)를 사용하였으며, 200 mL/can를 첨가하여 24시간 영양강화한 후에 공급하였다.

실험어 및 사육관리

실험어는 경남수산자원연구소에서 로티퍼 공급이 끝난 체중 0.10 ± 0.02 g의 자치어를 분양받아 경상대학교 어류영양 및 사료 연구실에서 사육하였다. 각 실험구당 30마리씩, 3반복으로 하였다. 먹이공급은 영양강화한 Artemia와 *D. celebensis*로 하였고, 각각의 먹이는 각각의 수조내 1개체/mL 이상을 유지하였으며, 실험은 6주간 진행하였고, 측정은 2주마다 성장(Body weight, g)과 생존율(Survival rate, %)을 측정하였다. 실험 종료 후에는 전 어체를 사용하여 Lipid class와 Fatty acid 분석하였다.

사육장치

사육장치는 해수순환여과시스템으로 사육수조의 크기는 $60\text{ cm} \times 30\text{ cm} \times 30\text{ cm}$ 의 직사각수조에 수량은 30 L였다. 이 때의 주수량은 0.5 L/min 이었고, Air flow는 4.5 L/min 였다. 사육기간 중 수온은 $25.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 였으며, 염분농도는 32.0 ± 0.5 psu를 유지하였다.

지방산 분석

총 지질 추출은 Bligh and Dyer방법(1959)에 준하였다. 비커에 시료 5 g을 취하여 세포분쇄기(homogenizer AM-12, Nihonseiki Kaisha Co. Ltd., Tokyo, Japan)에서 15,000 rpm로 5분간 분쇄한 후, Chloroform과 Methanol을 2:1로 혼합한 추출용매를 시료의 2 배량 넣어 하루 동안 방치한 다음 chloroform층만을 분리하기 위하여 둥근 플라스크 위에 깔때기를 놓고, 그 위에 Na₂SO₄를 넣어 서서히 chloroform층만 흘러내리게 하였다. 분리된 chloroform 층은 진공회전농축기(Rotavapor R-114, BUCHI)를 사용하여 40℃ 이하에서 용매를 완전히 증발시킨 후, 추출된 총 지질의 무게를 측정하였다. 모든 작업은 질소기류 하에서 행하였다. 지방산 methyl ester 유도체화는 시료 일정량과 내부표준물질(C_{23:0} methyl ester) 1 mL (1 mg)를 cap tube에 취하고, 0.5 N NaOH-methanol 용액 1.5 mL를 가하여 질소를 충전한 다음, 100℃에서 8분간 가열하여 검화하였다. 방냉 후 12% BF₃-methanol 2 mL를 가한 후 tube의 뚜껑을 닫고, 100℃에서 11분간 가열하여 methyl화 하였다. 약 30℃로 냉각한 후 Iso-octane 1 mL를 첨가하고 30초간 vortex mixer로 혼합하였다. 즉시 3 mL의 포화식염수를 가한 다음 흔들어 방치하여 iso-octane층이 분리되도록 하였다. iso-octane층을 시료 병(4 mL)에 옮긴 후, 다시 iso-octane 1 mL를 첨가한 다음 흔들어 재추출하여 시료 병에 모으고 이를 지방산 methyl ester 시료로 하였다. 지방산 분석에 사용하는 GC (Gas Chromatography)는 Omegawax™-320 fused-silica capillary column (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, i.d., Supelco Co., Bellefonte, PA, USA)를 장착한 Clarus 600 (Perkin Elmer Co. Ltd., USA)를 이용하였다. 분석조건으로 Column은 185℃에서 8분간 유지하고 3℃/min씩 230℃까지 상승시킨 후, 10분간 유지하였다. 이 때 주입기는 250℃, 검출기는 270℃ 그리고 carrier gas는 He (1.0 kg/cm²)을 사용하였다. 지방산의 분석은 동일조건에서 분석한 표준품의 ECL과 비교하여 동정하였고, 지방산 표준품은 14:0, 16:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 22:1, 24:0 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)과 GC-MS (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer)로 동정된 menhaden oil을 사용하였다.

통계처리

모든 자료는 3회 반복 실험하여 mean ± SD로 나타내었고, JMP (2002) Statistical Discovery Software™ version 5 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 Tukey-Kramer HSD test로 통계처리 하였다.

결 과

성장과 생존율

*D. celebensis*와 *Artemia* nauplii 를 자주복 자어에게 6주간 급여한 성장 결과는 Fig. 1에 나타낸 바와 같다. 실험초기 0.10 g의

자주복은 2주차에서 *D. celebensis* 공급구와 알테미아 공급구에서 각각 0.56 g와 0.39 g으로 실험시작 2주차부터 *D. celebensis* 공급구에서 성장이 차이를 나타내었으며($P < 0.05$), 4주차에서는 각각 0.94 g와 0.74 g으로 *D. celebensis* 공급구에서 성장이 높은 것으로 나타났다($P < 0.05$). 그리고 6주차에서는 *D. celebensis* 공급구와 알테미아 공급구에서 각각 1.78 g와 0.92 g으로 *D. celebensis* 공급구에서의 성장이 높게 나타났다($P < 0.05$). 이때 일간성장률(SGR)은 *D. celebensis* 공급구가 2.977%였으며, 알테미아를 공급구에서는 2.295%로 *D. celebensis* 공급구에서 성장률이 높게 나타났다($P < 0.05$).

*D. celebensis*와 알테미아를 자주복 자어에게 6주간 급여한 생존율은 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 실험시작 2주차에서 *D. celebensis*를 공급구와 알테미아 공급구에서 생존율이 각각 93.3%와 75.6%로 실험시작 2주차부터 *D. celebensis*를 공급한 구에서의 생존율이 높은 것으로 나타났으며($P < 0.05$), 4주차에서는 각각 91.1%와 63.3%로 *D. celebensis*를 공급한 구에서의 생존율이 높은 것으로 나타났다($P < 0.05$). 그리고 6주차에

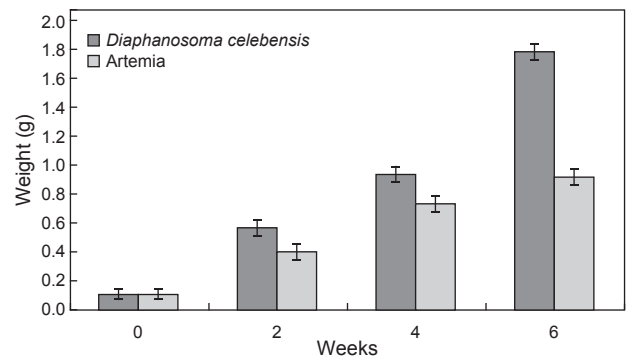


Fig. 1. Comparison of growth between juvenile *Tiger puffer* fed by *Diaphanosoma celebensis* supplied of marine chlorella and juvenile tiger puffer fed by enriched *Artemia* nauplii.

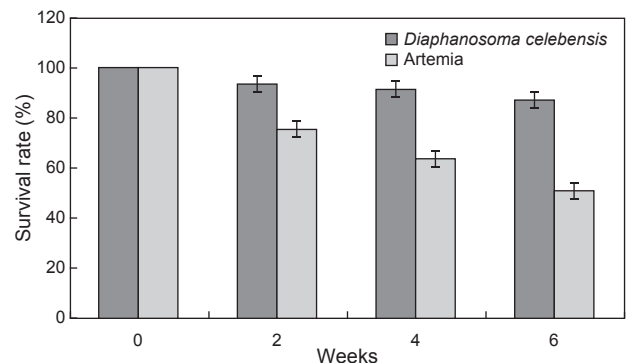


Fig. 2. Comparison of survival rate between juvenile *Tiger puffer* fed by *Diaphanosoma celebensis* supplied of marine chlorella and juvenile *Tiger puffer* fed by enriched *Artemia* nauplii.

서는 *D. celebensis*를 공급한 구와 알테미아 공급구에서 각각 86.7%와 51.1%로 *D. celebensis*를 공급구에서 생존율이 높게 나타났다($P<0.05$).

지질영양가

실험에서 사용한 *D. celebensis*와 영양강화한 *Artemia nauplii*의 지방산 조성은 Table 1에 나타낸 바와 같다. *D. celebensis*의 경우는 16:0, 16:1n-7, 20:5n-3, 18:1n-9 그리고 18:1n-7 순으로 높게 나타났으며, 이때 함량은 각각 20.98%, 19.53%, 16.42%, 10.23% 그리고 8.60%로 나타났다. 영양강화 알테미아의 경우는 18:1n-9, 20:5n-3, 18:3n-3, 16:0 그리고 22:6n-3 순으로 높게 나타났으며, 이때 함량은 각각 21.83%, 18.27%, 13.69%,

9.11% 그리고 8.42%로 나타났다. 포화지방산의 경우는 *D. celebensis*와 영양강화 알테미아에서 각각 29.30%와 14.57%로 *D. celebensis*구에서 높게 나타났으며($P<0.05$), 일가불포화지방산의 경우는 각각 38.35%와 30.24%로 *D. celebensis*구에서 높게 나타났으며($P<0.05$). 그리고 다가불포화지방산의 경우 *D. celebensis*와 *Artemia*에서 각각 32.35%와 55.20%로 영양강화 *Artemia*구에서 높게 나타났으며($P<0.05$). $\sum n-3$ HUFA의 경우 *D. celebensis*와 알테미아에서 각각 20.34%와 28.63%로서 *Artemia*구에서 높게 나타났으며($P<0.05$), $\sum n-6$ HUFA의 경우 각각 5.25%와 2.68%로서 *D. celebensis*구에서 높게 나타났으며($P<0.05$).

Table 1. Fatty acid composition of juvenile tiger puffer *Takifugu rubripes* fed by *Diaphanosoma celebensis* supplied of *Nannochloropsis oculata* and that of enriched *Artemia nauplii*

Fatty acid	(% of total fatty acids) ¹	
	<i>Diaphanosoma celebensis</i>	<i>Artemia nauplii</i>
14:0	3.26±0.06	0.48±0.03
16:0	20.98±0.22	9.11±0.18
16:1n-7	19.53±0.03	1.94±0.01
18:0	5.05±0.02	4.98±0.15
18:1n-9	10.23±0.36	21.83±0.21
18:1n-7	8.60±0.08	5.08±0.05
18:2n-6	6.45±0.02	6.63±0.01
18:3n-3	0.31±0.00	13.69±0.32
18:4n-3	0.00±0.00	3.56±0.24
20:1n-9	0.00±0.00	1.39±0.05
20:2n-6	0.23±0.00	0.37±0.01
20:3n-6	0.09±0.00	0.13±0.01
20:4n-6	4.59±0.08	2.18±0.14
20:3n-3	0.00±0.00	0.00±0.00
20:4n-3	0.00±0.00	1.07±0.01
20:5n-3 (EPA)	16.42±0.28	18.27±0.64
22:4n-6	0.00±0.00	0.00±0.00
22:5n-6	0.34±0.01	0.00±0.00
22:5n-3	0.00±0.00	0.88±0.03
22:6n-3 (DHA)	3.93±0.18	8.42±0.56
\sum SFA	29.30 ^a	14.57 ^b
\sum Monoenes	38.35 ^a	30.24 ^b
\sum Polynenes	32.35 ^b	55.20 ^a
$\sum n-3$ HUFA ¹	20.34 ^b	28.63 ^a
$\sum n-6$ HUFA	5.25 ^a	2.68 ^b
$\sum n-3/\sum n-6$	3.88 ^b	10.67 ^a

¹HUFA, Highly unsaturated fatty acid (above 20 carbon fatty acid). Values are means of triplicate groups.

Table 2. Fatty acid composition of juvenile tiger puffer *Takifugu rubripes* fed by *Diaphanosoma celebensis* supplied of *Nannochloropsis oculata* and that of enriched *Artemia nauplii*

Fatty acid	(% of total fatty acids)	
	Tiger puffer	
	<i>Diaphanosoma celebensis</i>	<i>Artemia nauplii</i>
14:0	3.65±0.09	0.26±0.05
16:0	15.27±0.92	12.77±0.33
16:1n-7	7.04±0.15	1.80±0.04
18:0	9.20±0.09	11.80±0.05
18:1n-9	13.88±0.12	16.79±0.45
18:1n-7	5.31±0.10	5.80±0.02
18:2n-6	3.12±0.06	4.59±0.08
18:3n-3	5.92±0.01	7.03±0.05
18:4n-3	3.14±0.03	1.62±0.06
20:1n-9	0.22±0.01	0.57±0.01
20:2n-6	0.23±0.02	0.41±0.02
20:3n-6	0.29±0.01	0.35±0.03
20:4n-6	5.55±0.09	6.35±0.16
20:3n-3	0.29±0.01	0.00±0.00
20:4n-3	1.03±0.02	0.60±0.02
20:5n-3 (EPA)	9.12±0.35	5.82±0.12
22:4n-6	0.66±0.05	2.46±0.08
22:5n-6	0.40±0.01	1.07±0.03
22:5n-3	4.98±0.12	4.02±0.04
22:6n-3 (DHA)	10.69±0.68	15.90±0.90
\sum SFA	28.13 ^a	24.83 ^b
\sum Monoenes	26.45 ^a	24.95 ^a
\sum Polynenes	45.42 ^b	50.22 ^a
$\sum n-3$ HUFA ¹	26.11 ^a	26.33 ^a
$\sum n-6$ HUFA	7.13 ^b	10.65 ^a
$\sum n-3/\sum n-6$	3.66 ^a	2.47 ^b

¹HUFA, Highly unsaturated fatty acid (above 20 carbon fatty acid). Values are means of triplicate groups.

*D. celebensis*와 영양강화한 *Artemia nauplii*를 공급한 자주복의 지방산 조성은 Table 2에 나타낸 바와 같다. *D. celebensis*를 공급한 자주복의 경우는 16:0, 18:1n-9, 22:6n-3, 18:0, 그리고 20:5n-3 순으로 높게 나타났으며, 이때 함량은 각각 15.27%, 13.88%, 10.69%, 9.20% 그리고 9.12%로 나타났다. 영양강화 알테미아를 공급한 자주복의 경우는 18:1n-9, 22:6n-3, 16:0, 18:0 그리고 18:3n-3 순으로 높게 나타났으며, 이때 함량은 각각 16.79%, 15.90%, 12.77%, 11.80% 그리고 7.03%로 나타났다. 포화지방산의 경우는 *D. celebensis*와 *Artemia* 공급한 자주복에서 각각 28.13%와 24.83%로 *D. celebensis* 급여구에서 높게 나타났으며($P < 0.05$), 일가불포화지방산의 경우는 각각 26.45%와 24.95%로 나타났다($P < 0.05$). 그리고 다가불포화지방산의 경우 *D. celebensis*와 알테미아 공급구에서 각각 45.42%와 50.22%로 알테미아 공급구에서 높게 나타났다($P < 0.05$). $\sum n-3$ HUFA의 경우 *D. celebensis*와 알테미아 공급구에서 각각 26.11%와 26.33%로서 차이를 나타내지 않았으며($P < 0.05$), $\sum n-6$ HUFA의 경우 각각 7.13%와 10.65%로 알테미아 공급구에서 높게 나타났다($P < 0.05$).

고 찰

이번 실험을 통해서 *D. celebensis*와 영양강화한 알테미아를 자주복 자어에게 급여한 결과 *D. celebensis*를 공급구에서 성장과 생존율 모두 높게 나타났다. 이러한 결과는 De la Pena (2001)의 연구에서 부화한지 15일 경과된 농어(*Lates cakari-fer*)에게 *D. celebensis*와 알테미아 공급한 결과, 성장률 및 생존율은 *D. celebensis* 공급구가 대조구인 알테미아보다 높았으며, 보리새우(*Penaeus japonicas*) 후기 유생에게 30일 동안 공급한 결과에서도 성장과 생존율에서 모두 *D. celebensis*가 알테미아 보다 높게 나타났다(Nakamoto et al., 2008)는 결과와 유사하게 나타났다. 이번 실험에서 *D. celebensis* 급여구에서 자주복 자치어의 성장 및 생존율은 알테미아 급여구에 비해 높게 나타나 알테미아를 대체할 수 있는 좋은 먹이인 것으로 나타났다. *D. celebensis*를 급여한 자주복의 성장과 생존율이 높은 원인으로 여러가지가 있겠지만 지질 영양학적인 측면에서 해산어류는 담수어류나 육상의 포유류와는 달리 필수지방산의 생합성 능력에 차이가 난다. 육상의 포유류는 Linoleic acid (18:2n-6)와 Arachidonic acid (20:4n-6)를 요구하지만(Holman, 1968), 어류는 어종과 서식환경에 따라 필수지방산으로 작용하는 지방산 종류와 그 요구량이 다르다고 보고되고 있다(Stickney and Hardy, 1989). 즉, 같은 담수어류라고 하더라도 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)의 경우는 linolenic acid (18:3n-3)를 필수지방산으로 요구하지만(Takeuchi and Watanabe, 1977a), 잉어(*Cyprinus carpio*)와 뱀장어(*Anguilla japonica*)는 18:2n-6와 18:3n-3을 모두 필요로 하는 것이다(Takeuchi and Watanabe, 1977b). 이와는 대조적으로 참돔(*Pagrus major*)과 방어(*Seriola quinqueradiata*)등의 해산어류에 있어서는 EPA

(20:5n-3)와 DHA (22:6n-3) 같은 $\sum n-3$ HUFA가 성장에 필수라고 보고되고 있다(Yone and Fujii, 1975a; Yone and Fujii, 1975b; Fujii and Yone, 1976). 또한 사료내의 EPA가 충분히 함유되어 있다고 하더라도 DHA로 전환되는 속도가 늦기 때문에 해산어의 DHA요구를 충족시킬 수 없다는 연구(Bell et al., 1995; Sargent et al., 1997)가 발표되기도 하였고, 알테미아를 비롯한 지각류도 DHA 함량이 낮기 때문에 영양강화가 필요하다는 연구가 발표되기도 하였다(Oka et al., 1982). 대부분의 해산어는 정상적인 성장과 발달을 위해 필수지방산으로 EPA, DHA 및 $\sum n-3$ HUFA를 요구하며 해산어 자치어의 성공적인 생산을 위해서는 이들 지방산이 필수적이다(Sargent et al., 1997). 하지만 알테미아의 경우 $\sum n-3$ HUFA의 함량이 극히 낮으며 DHA를 EPA로 역전환하는 메커니즘을 가지고 있어서 문제가 되고 있다(Oka et al., 1982; Alam et al., 1993). 이번 실험에서도 영양강화한 알테미아는 EPA가 18.27%이고 DHA가 8.42%로 영양강화를 했음에도 불구하고 DHA가 낮게 나타난 것은 알테미아의 생리적 현상인 지방산 역전환 작용에 의하여 DHA가 EPA로 역전환 되었을 가능성이 있다. 또한 알테미아구에서 18:3n-3의 지방산이 특이적으로 높은 점은 알테미아의 특징을 잘 나타내고 있다. 그러나 먹이생물의 지질영양가 척도 면에서 18:3n-3 지방산의 함량이 높은 것은 담수어에는 중요한 성분이지만, 참돔과 같은 해산어에게는 필수지방산으로의 효과는 매우 낮은 것(Watanabe, 1993)으로 밝혀져 있기 때문에 이러한 점이 알테미아의 문제점으로 나타나고 있다. 이러한 알테미아의 영양학적인 문제 때문에 영양강화제로 $\sum n-3$ HUFA의 함량을 증가시켜 주어야만 한다. 하지만 본 실험에 사용된 *D. celebensis*의 경우는 별도의 영양강화를 하지 않았음에도 불구하고 EPA와 DHA가 나타난 것은 EPA를 함유하고 있는 해양미세조류인 *N. oculata*와 DHA를 함유하고 있는 *Schizochytrium* sp.를 먹이로 배양했기 때문에 *D. celebensis*에 EPA와 DHA가 축적된 것이라 사료된다. 그리고 높은 EPA 함량에 비해서 낮은 DHA를 가진 *D. celebensis*를 먹은 자주복에서 DHA가 EPA보다 높게 나타난 것은 *D. celebensis*에서 나타난 EPA가 DPA (docosapentaenoic acid)를 거쳐 DHA로 전환되는 지방산 전환 메커니즘 능력이 다른 해산어에 비해 우수하여 이러한 결과가 나타난 것으로 사료된다. 그러나 이전의 연구결과들에서 해산어는 EPA가 충분히 함유되어 있다고 하더라도 DHA로 전환되는 속도가 늦기 때문에 해산어 자치어의 DHA요구를 충족시킬 수 없다(Bell et al., 1995; Wen and Chen, 2003)는 연구가 발표된 점으로 미루어 보아 이러한 지적이 자주복에 대해서만 나타나는 결과인지 아니면 다른 해산어에 대해서도 나타나는지에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

References

Achuthankutty CT, Shrivastava Y, Mahambre GG, Goswami SC and Madhupratap M. 2000. Parthenogenetic reproduction of

- Diaphanosoma celebensis* (Crustacea: Cladocera): influence of salinity on feeding, survival, growth and neonate production. *Mar Biol* 137, 19-22. <http://dx.doi.org/10.1007/s002270000322>.
- Adeyemo AA, Oladosu GA and Ayinla AO. 1994. Growth and survival of fry of African catfish species, *Clarias gariepinus* Burchell, *Heterobranchus bidorsalis* Geoffrey and *Heteroclaris* reared on *Moina dubia* in comparison with other first feed sources. *Aquaculture* 119, 41-45. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90442-1](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)90442-1).
- Alam MJ, Ang KJ and Cheah SH. 1993. Use of *Moina micrura* (Hruz) as an *Artemia* substitute in the production of *Macrobrachium rosenbergii* (deMan) post-larvae. *Aquaculture* 109, 337-349. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90173-v](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(93)90173-v).
- Alam MJ, Ang KJ, Cheah SH, Ambak MA and Saad CR. 2008. Effects of *Moina micrura* (Kurz) from two different culture sources as a replacement of *Artemia* spp. in production of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) post-larvae. *Aquaculture Res* 24, 47-56. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.1993.tb00827.x>.
- Aravind NP, Sheeba P, Nair KKC and Achuthankutty CT. 2007. Life history and population dynamics of an estuarine amphipod, *Eriopisa chilensis* Chilton. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74, 87-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2007.03.026>
- Bell MV, Batty RS, Dick JR, Fretwell K, Navaro JC and Sargent JR. 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenii herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids* 30, 443-449. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02536303>.
- Benider A, Tifnouti A and Pourriot R. 1998. Pathenogenetic reproduction of *Moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacea: Cladocera): trophic conditions, population density, grouping and temperature influence. *Int J Limnol* 34, 387-399. <http://dx.doi.org/10.1051/limn/1998031>.
- Bligh EG and Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochemical Physiol* 21, 72.
- Chen FY, Chow M, Chao TM and Lim R. 1977. Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore. *J Pri Ind* 5, 1-21.
- De la Pena MR, Fermin AC and Lojera DP. 1998. Partial replacement of *Artemia* sp. by the brackish water cladoceran, *Diaphanosoma celebensis* (Stingelin) in the larvae rearing of sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture* 50, 25-32.
- De la Pena MR. 2001. Use of juvenile instar *Diaphanosoma celebensis* (Stingelin) in hatchery rearing of Asian sea bass *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture* 53, 128-138.
- Evjemo JO, Reitan KI and Olsen Y. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture* 227, 191-210. [http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00503-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00503-9).
- Fujii M and Yone Y. 1976. Studies on nutrition of red sea bream. XIII. Effect of dietary linolenic acid and omega 3-polyunsaturated fatty acids on growth and feed efficiency. *Bull Jap Soc Sci Fish* 42, 583-588. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.42.583>.
- Han KN. 1998. Effects of starvation on growth, survival and feeding incidence of tiger puffer (*Takifugu rubripes*) larvae. *J Aquaculture* 11, 521-528.
- He ZH, Qin JG, Wang Y, Jiang H and Wen Z. 2001. Biology of *Moina mongollea* (Moinidae, Cladocera) and perspective as live food for marine fish larvae review. *Hydrobiologia* 457, 25-37.
- Hirayama K. 1985. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seeding. *Coll France-Japan Oceanogr* 8, 41-50.
- Jeong UC, Jin F, Choi JK, Lee JT, Choi BD and Kang SJ. 2016. Growth of larval rockfish *Sebastes schlegeli* fed *Moina macrocopa*. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 154-160. <http://dx.doi.org/10.5657/kfas.2016.0154>.
- Jung MM, Kim HS and Rho S. 1999. Selection of culture scale for stable culture of an estuarine Cladoceran *Diaphanosoma celebensis*. *J Korean Fish Soc* 32, 466-469.
- Jung MM, Kim HS, Rho S, Hur SI, Yoon YS and Kim JW. 2001a. Survival and growth responses on jumping of the each saline concentrations of freshwater Cladoceran *Moina macrocopa* and estuarine Cladoceran *Diaphanosoma celebensis*. *J Korean Fish Soc* 34, 697-704.
- Jung MM, Kim HS, Rho S, Hur SI, Yoon YS and Kim JW. 2001b. Effects of saline concentrations on the culture density and feeding of estuarine Cladoceran, *Diaphanosoma celebensis*. *J Korean Fish Soc* 34, 605-610.
- Kim NY, Choi BD, Kim KY and Kang SJ. 1999. Substitution live foods for *Artemia* II. *Moina macrocopa* production depend on the water temperature and fatty acid composition. *Proceedings of Korean Fisheries Society Autumn 1999*, 363-364.
- Korovchinskij NM. 1989. Redescription of *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900. *Hydrobiologia* 184, 7-22.
- Korovchinskij NM. 1993. New records of *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 (Crustacea: Diaphniiformes: Sididae) in tropical Asia with remarks on the morphological variability and biology of the species. *Rev Hydrobiol Trop* 26, 119-125.
- Kotani T, Imari H and Fushimi H. 2008. Effect of feeding of frozen freshwater cladoceran *Moina macrocopa* on red sea bream larvae. 8th Japan-Korea, Korea-Japan Joint Symposium on Aquaculture 2008.
- Kumar R and Hwang JS. 2008. Ontogenetic shifts in the ability of the Cladoceran, *Moina macrocopa* Straus and *Ceriodaphnia cornuta* Sars to utilize ciliated protists as food source. *Internat Rev Hydrobiol* 93, 284-296.

- Lavens P and Sorgeloos P. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture* 181, 397-403.
- Nakamoto T, Maruyama I, Kimura H, Inada Y and Hagiwara A. 2008. Two Cladoceran Species, *Moina macrocopa* and *Diaphanosoma celebensis*; as live feed for larval prawn, *Penaells japonicus*. *Aquaculture Science (Japan)*, 56, 31-36.
- Oka A, Suzuki N and Watanabe T. 1982. Effect of fatty acids in *Moina* on the fatty acid composition of larval ayu *Plecoglossus altivelis*. *Bull Jap Soc Sci Fish* 48, 1159-1162.
- Park JC. 2010. Mass culture of brackish water flea, *Diaphanosoma celebensis* as a potential live food of marine fish larvae. Doctor thesis, Gangnung-Wonju National University, Gangnung, Korea.
- Park JC, Kwon ON and Park HG. 2012. Relative Effectiveness of Replacement Diets for Mass Production of the Brackish Water Flea *Diaphanosoma celebensis*. *Korean J Fish Aquat Sci* 45, 146-153. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0146>.
- Pyen CK and Rho S. 1970. Studies on the seed production of the puffer, *Takifugu rubripes* (Temminck et Schlegel). *J Korean Fish Soc* 3, 52-64.
- Rho S and Jung YS. 1993. Studies on the seed production of the Puffer, *Takifugu rubripes* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture* 6, 295-310.
- Sargent JR, McEvoy LA and Bell JG. 1997. Requirements, presentation and source of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, 117-127. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00122-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00122-1).
- Schipp CR, Bosmans JMP and Marshall AJ. 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp., *Aquaculture* 174, 81-88. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00508-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00508-0).
- Segawa S and Yang WT. 1987. Reproduction of an estuarine *Diaphanosoma aspinosum* (Branchiopoda: Cladocera) under different salinities. *Bull Plankton Soc, Japan* 34, 43-51.
- Segawa S and Yang WT. 1988. Population, growth and density of an estuarine cladoceran *Diaphanosoma aspinosum* in laboratory culture. *Bull Plankton Soc, Japan* 35, 67-73.
- Stickney RR and Hardy RW. 1989. Lipid requirements of some warm water species. *Aquaculture* 79, 145-156. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90455-9](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(89)90455-9).
- Stottrup JG and Norsker NH. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture* 155, 231-247. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00120-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00120-8).
- Sudo H and Azeta M. 1996. Life history and production of the amphipod *Bythotrephes cederstroemi* Dahl (Gammaridea: Ampeliscidae) in a warm temperate zone habitat, Shijiki Bay, Japan. *J Exp Mar Biol Ecol* 198, 203-222. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981\(96\)00012-3](http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981(96)00012-3).
- Takeuchi T and Watanabe T. 1977a. Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement of rainbow trout. *Bull Jap Soc Sci Fish* 43, 893-898.
- Takeuchi T and Watanabe T. 1977b. Requirement of carp for essential fatty acids. *Bull Jap Soc Sci Fish* 43, 541-551.
- Ventura RF and Enderez EM. 1980. Preliminary studies on *Moina* sp. production in freshwater tanks. *Aquaculture* 21, 93-96. [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90129-5](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(80)90129-5).
- Watanabe T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aquacult Soc* 24, 152-161. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00004.x>.
- Welton JS and Clarke KT. 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod, *Gammarus pulex* (L.). *J Anim Ecol* 49, 581-592. <http://dx.doi.org/10.2307/4265>.
- Wen ZY and Chen F. 2003. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotech Ad* 21, 273-294. [http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00051-x](http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00051-x).
- Yamasaki S, Secor DH and Hirata H. 1987. Population growth of two types of rotifer (L and S) *Brachionus plicatilis* at different dissolved oxygen levels. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53, 1303-1309.
- Yang SG, Lee YD and Pyen CK. 1994. A Study on the Gonadal Maturation and Egg-Stripping by Hormone Treatment of Tiger Puffer, *Takifugu rubripes*. *J Aquaculture* 11, 189-205.
- Yone Y and Fujii M. 1975a. Studies on nutrition of red sea bream-XI. Effect of n-3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. *Bull Jap Soc Sci Fish* 41, 73-77. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.41.73>.
- Yone Y and Fujii M. 1975b. Studies on nutrition of red sea bream-XII. Effect of n-3 fatty acid supplement in a corn oil diet on fatty acid composition of fish. *Bull Jap Soc Sci Fish* 41, 79-86. <http://dx.doi.org/10.2331/suisan.41.79>.
- Yoshimura K, Hagiwara A, Yoshiamtsu T and Kitajima C. 1996. Culture technology of marine rotifers and the implications for intensive culture of marine fish in Japan. *Mar Freshwater Res* 47, 217-222. <http://dx.doi.org/10.1071/mf9960217>.