



넙치 치어의 성장을 위한 사료 내 적정 eicosapentaenoic acid 와 docosahexaenoic acid 함량

장지원* · 김영철** · 김경덕*** · 김강웅*** · 임상구* · 배승철†
*국립수산과학원 사료연구센터(연구원) · **에코마린팜(연구원) ·
***국립수산과학원 양식관리과(연구원) · †부경대학교(교수)

The Optimum Dietary Eicosapentaenoic acid and Docosahexaenoic acid Levels for Growth of Juvenile Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Ji-Won JANG* · Young-Chul KIM** · Kyoung-Duck KIM*** · Kang-Woong KIM*** · Sang-Gu LIM* · Sungchul C. BAI†

*Aquafeed Research Center, National Institute of Fisheries Science(researcher) ·
ECO Marine Farm (manager) · *Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science(researcher) · †Pukyong National University(professor)

Abstract

This study was conducted to evaluate the optimum dietary eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) levels for growth of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. A basal diet without EPA and DHA supplementation was used as the control, and nine diets were prepared by six different dietary levels of EPA_{0.5}, EPA_{0.75}, EPA₁, EPA_{1.25}, EPA_{1.5}, EPA₂ and three different dietary levels of EPA_{0.5}+DHA_{0.5}, EPA_{0.75}+DHA_{0.75}, EPA_{1.0}+DHA_{1.0}. Triplicate groups of fish averaging 3.5±0.10 g(mean ±SD) were fed one of ten experimental diets for 8 weeks. Survival and hepatosomatic index of fish were not affected by dietary EPA and EPA+DHA levels. The highest growth rate and feed efficiency were observed in fish fed diets containing EPA_{0.75}+DHA_{0.75}. Weight gain and feed efficiency increased significantly with dietary EPA level up to 1.25%; however, those of fish fed EPA_{1.5} or EPA_{2.0} high level were decreased. WG and FE increased significantly with dietary EPA+DHA level up to 1.5%; however, high level of those of fish fed EPA_{1.0}+DHA_{1.0} were decreased. The result of broken line analysis showed that the maximum weight gain of 3.5-11.6g flounder could be attained at 1.10% EPA level in diet. Therefore, these results may suggest that the optimum dietary EPA level could be greater than 1.1% but less than or equal to 1.25% without DHA, and it could be 0.75%, with DHA at 0.75% in juvenile olive flounder.

Key words : Eicosapentaenoic acid, Docosahexaenoic acid, Growth, Juvenile flounder

I. 서론

Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) 및 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) 는 20개 이

† Corresponding author : 051-629-5916, scbai@pknu.ac.kr

※ 이 논문은 부경대학교 사료영양연구소 및 국립수산과학원 수산시험 연구사업(R2019013)의 지원으로 수행된 연구입니다.

상의 탄소로 구성되어 있으며, 탄소 사이에 cis 이중결합을 갖고 있는 n-3 고도불포화지방산 (highly unsaturated fatty acid, HUFA)으로 해산어의 정상적인 성장을 위해 사료에 첨가되어야 하는 필수 영양소이다(NRC 2011).

EPA는 해산어 자어(larva)의 성장 및 친어의 산란력에 중요한 역할을 한다(Watanabe et al., 1989; Fernández-Palacios et al., 1995). DHA는 어류의 신경 조직과 망막에 존재하는 인지질의 구성 성분이며, 어류의 성장에 중요한 역할을 하는 지방산이다(Bell et al., 1995; Koven, 2003; Mourente and Tocher, 2009).

사료 내 이러한 n-3 HUFA의 결핍은 해산어의 성장 및 면역력을 감소시키는 것으로 보고되었다(Kiron et al., 1995; Kim and Lee, 2004; Skalli and Robin, 2004). 그러나 이러한 필수 지방산의 과잉 공급 또한 양식어의 성장과 번식력을 저하시킬 수 있는 것으로 보고되었다(Takeuchi et al., 1990; Furuita et al., 2000). 넙치의 필수 지방산 요구에

관한 기존 연구에서 넙치 자어의 사료 내 n-3 HUFA 요구량은 3.5%로 보고되었으며(Izquierdo et al., 1992), 넙치 치어의 n-3 HUFA 요구량은 0.8-1.1%로 보고되었다(Kim and Lee, 2004; Choi et al., 2014). 그러나 어류의 필수 지방산 요구량은 어체 크기 및 사육환경과 같은 조건의 차이에 따라서 달라질 수 있는 것으로 알려져 있다(Olsson et al., 2003; Sharma et al., 2010). 그래서 본 연구는 사료 내 EPA의 단독 첨가 및 EPA 와 DHA 의 혼합 첨가량이 넙치 치어의 성장 및 사료효율에 미치는 영향을 조사하여, 사료 내 적정 EPA와 DHA 함량을 구명하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 사료

실험 사료의 원료 조성 및 영양 성분 분석 결과는 <Table 1>에 나타내었다. 단백질원으로는 카제인과 어분을 사용하였으며, 사용된 어분은

<Table 1> Ingredients and proximate composition of the experimental diets

	Diets									
	Con	EPA 0.5	EPA 0.75	EPA 1.0	EPA 1.25	EPA 1.5	EPA 2.0	EPA _{0.5} +DHA _{0.5}	EPA _{0.75} +DHA _{0.75}	EPA _{1.0} +DHA _{1.0}
Ingredients (%)										
Defatted fish meal ¹	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38
Casein ²	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5
Dextrin ²	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Wheat meal ³	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17
Coconut oil ⁴	9.8	9.27	9.01	8.74	8.48	8.21	7.68	8.75	8.22	7.69
EPA ⁵		0.53	0.79	1.06	1.32	1.59	2.12	0.53	0.79	1.06
DHA ⁵								0.56	0.84	1.12
Others ⁶	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
Proximate composition (% dry matter basis)										
Moisture	17.8	16.9	14.4	17.6	17.9	17.9	19.1	16	15.5	18.6
Crude protein	50.3	50.2	49.5	50.3	50.9	50.9	51.6	50.8	50.9	51.6
Crude lipid	11.1	11.9	11.2	11.4	11.3	11.1	10.7	11.2	10.8	12.3
Crude ash	8.1	8.5	8.8	8.9	9	8.9	9.1	8.6	8.8	8.7

¹Fish meal (Kodika Co., Alaska, USA) was defatted with chloroform-methanol mixture (2:1, v/v).

²United State Biochemical, Cleveland, OH44122, USA. ³Young Nam Flour Mills Co., Busan, Korea.

⁴G-Cube E.P.R. Co. Ltd., Seoul, Korea. ⁵Chemport Inc., Seoul, Korea.

⁶Others : Vitamin mix., Mineral mix., a-Cellulose, Choline Cl.

클로로포름 및 메탄올 혼합액(2:1)으로 지질을 제거하였다. 실험 사료의 지질원으로 사용한 EPA (95%) 및 DHA (89%) 정제품과 코코넛 오일의 지방산 조성을 <Table 2>에 나타내었다. 지질원으로 EPA (95%)와 DHA (89%)의 첨가량을 조절하여 사료 내 EPA 함량이 0%, 0.5%, 0.75%, 1.0%, 1.25%, 1.5% 및 2.0%가 되도록 하였으며, 사료 내 EPA 와 DHA 를 1:1의 비율로 혼합 첨가하여 n-3 HUFA 함량이 1.0%, 1.5% 및 2.0%가 되도록 조절한 총 10종의 실험사료를 설계하였다 (<Table 1>).

<Table 2> Fatty acids composition (% of total fatty acids) of dietary lipid sources

Fatty acids	Lipid sources		
	Coconut oil ¹	DHA ² (89%)	EPA ³ (95%)
C8:0	6.6		
C10:0	5.8		
C12:0	48.3		
C13:0	<0.1		
C14:0	18.9		
C16:0	9.3		
C18:0	2.7		
C24:0		3.1	
Σ Saturated	91.6	3.1	
C16:1	<0.1		
C18:1	6.7		
Σ Monounsaturated	6.8		
C18:2	1.6		0.5
C20:4		1.6	5.0
C20:5		5.9	94.5
C22:6		89.4	
Σ Polyunsaturated	1.6	96.9	100.0

¹G-Cube E.P.R. Co. Ltd., Seoul, Korea.

²Chemport Inc., Seoul, Korea.

³Chemport Inc., Seoul, Korea.

탄수화물원으로는 텍스트린과 소맥분을 사용하였다. 모든 실험 사료는 원료를 혼합한 후, 펠렛 제조기로 압출 성형하였으며, 냉동(-20℃) 보관하면서 사용하였다.

2. 실험어 사육관리 및 어체 측정

사육 실험에 사용된 넙치 치어는 전라남도 고흥 소재의 양식장에서 구입하였으며, 사육 실험 시작 전 2주 동안 EPA 및 DHA를 첨가하지 않은 대조 사료를 공급하며 예비 사육하였다. 사육 실험은 실험구별 3반복으로 실시하였다. 최초 체중 3.5±0.10 g의 넙치 치어를 총 30개의 40 L 사각 수조에 수조당 15마리씩 무작위로 배치하였다. 사육 실험은 반순환 여과식 시스템을 사용하였으며, 유수량은 1.0 L/분로 조절 하였다. 각 수조에 air를 공급하였으며 실험기간 동안 평균 수온은 21±1℃였다. 사육수의 염분은 32±1 ppt, 용존 산소량은 6.3-6.7 mg/L였다. 실험 사료는 어체중의 3-5%(건물기준)를 1일 2회로 나누어(오전 10시, 오후 4시) 공급하였으며, 8주간 사육 실험을 실시하였다. 사육 실험 시작 시와 종료 시 각 수조에 수용된 실험어를 MS-222 (200ppm)로 마취시킨 후 전체 무게를 측정하였다.

3. 성분 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (Association ciation of Official Analytical Chemists, 2000)방법에 따라 수분은 상압가열건조법(135℃, 2시간), 조단백질은 kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접 회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, soxtec system 1046 (Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다.

지질원의 지방산 분석은 Metclfe 등 (Metcalf et al., 1966)의 방법에 따라 지질을 methyl ester화시킨 후, gas chromatography (Trace GC, ThermoFinnigan, San Jose, CA, USA)로 분석하였

으며, column은 quadrex (30 m × 0.25 mm i.d. film thickness 0.25 μm)를 사용하였다. 각 지방산은 동일한 조건에서 표준 지방산 FAME mix-37 (Supelco, Bellefonte, PA, USA)와 retention time을 비교하여 동정하였으며 함량은 각 peak의 면적을 상대적인 백분율로 나타내었다.

4. 통계 분석

결과의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. PaulMN. USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소유의차검정(LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성(p<0.05)을 검정하였다. EPA 요구량은 증체율을 지표로 broken-line model (Robbins et al., 1979) 분석법을 이용하여 측정하였다.

III. 결과

EPA 및 DHA 함량을 다르게 첨가한 사료로 낚치 치어를 8주간 사육한 결과를 <Table 3>에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구에서 91.1-97.8% 이었으며 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 증체율, 일간 성장률, 사료효율 및 단백질 효율은 EPA와 DHA를 혼합(1:1)하여 1.5% 첨가한 실험구에서 유의하게 높았다(p<0.05). 사료 내 n-3 HUFA로 EPA만을 첨가한 실험구의 증체율, 일간 성장률, 사료효율 및 단백질효율은 사료 내 EPA 함량이 증가함에 따라서 증가하여 1.25%에서 유의하게 높게 나타났으나(p<0.05), EPA 1.5 및 2.0% 실험구는 EPA 1.25% 실험구에 비하여 유의하게 낮았다(p<0.05).

<Table 3> Growth performance of juvenile olive flounder fed the experimental diets for 8 weeks¹

	Diets ²										Pooled SEM ³
	Con	EPA 0.5	EPA 0.75	EPA 1.0	EPA 1.25	EPA 1.5	EPA 2.0	EPA _{0.5} +DHA _{0.5}	EPA _{0.75} +DHA _{0.75}	EPA _{1.0} +DHA _{1.0}	
W (%) ⁴	191 ^g	217 ^f	242 ^e	257 ^{de}	306 ^b	271 ^{cd}	266 ^{cd}	283 ^c	332 ^a	307 ^b	7.78
SGR ⁵	1.73 ^g	1.97 ^f	2.20 ^e	2.33 ^{de}	2.77 ^b	2.46 ^{cd}	2.41 ^{cd}	2.56 ^c	3.00 ^a	2.78 ^b	0.07
FE (%) ⁶	78.4 ^f	88.1 ^{ef}	98.0 ^{de}	103.7 ^{cd}	124.0 ^{ab}	109.3 ^{cd}	108.2 ^{cd}	114.0 ^{bc}	134.3 ^a	123.5 ^{ab}	3.18
PER ⁷	1.89 ^f	2.13 ^{ef}	2.37 ^{de}	2.51 ^{cd}	3.00 ^{ab}	2.64 ^{cd}	2.61 ^{cd}	2.75 ^{bc}	3.24 ^a	2.98 ^{ab}	0.08
Survival rate (%)	95.6	93.3	95.6	97.8	95.6	95.6	93.3	97.8	93.3	91.1	1.04
HSI ⁸	1.02	1.13	1.11	1.31	1.19	1.27	1.39	0.95	1.31	1.06	0.05

¹Values are means of triplicate groups, and values in the same row with different superscripts are significantly different(P<0.05)

²Control; Coconut oil 100%, EPA 0.5; Coconut oil 99.5% + EPA 0.5%, EPA 0.75; Coconut oil 99.25% + EPA 0.75%, EPA 1.0; Coconut oil 99.0% + EPA 1%, EPA 1.25; Coconut oil 98.75% + EPA 1.25%, EPA 1.5; Coconut oil 98.5% + EPA 1.5%, EPA 2.0; Coconut oil 98% + EPA 2%, EPA_{0.5}+DHA_{0.5}; Coconut oil 99.0% + EPA 0.5% + DHA 0.5%, E, EPA_{0.75}+DHA_{0.75}; Coconut oil 98.5% + EPA 0.75% + DHA 0.75%, EPA_{1.0}+DHA_{1.0}; Coconut oil 98.0% + EPA 1.0% + DHA 1.0%.

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

⁴Weight gain (WG, %) = [(final weight - initial weight) × 100] / initial weight

⁵Specific growth rate (SGR, %) = [log_e final weight - log_e initial weight × 100] / days

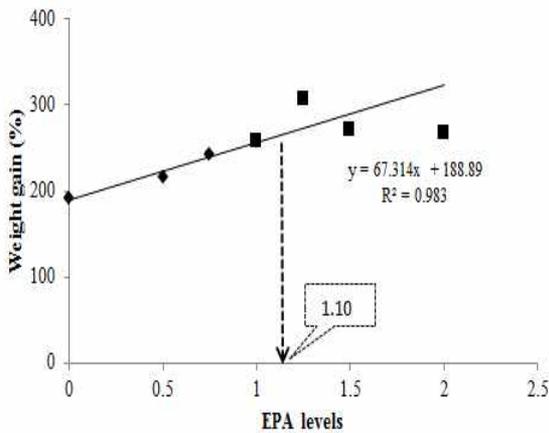
⁶Feed efficiency ratio (FE, %) = (wet weight gain / dry feed intake) × 100

⁷Protein efficiency ratio (PER) = wet weight gain / protein intake

⁸Hematosomatic index (HSI) = (liver weight / body weight) × 100

EPA 및 DHA 혼합 첨가 실험구의 증체율 및 일간 성장율은 EPA_{0.75} + DHA_{0.75} 실험구가 유의하게 높았으며, EPA_{1.0} + DHA_{1.0} 실험구 및 EPA_{0.5} + DHA_{0.5} 실험구 순으로 나타났다(p<0.05). EPA 및 DHA 혼합 첨가 실험구의 사료효율 및 단백질효율은 EPA_{0.75} + DHA_{0.75} 실험구가 유의하게 높았으며(p<0.05), EPA_{1.0} + DHA_{1.0} 실험구와는 유의한 차이가 없었다.

간중량 지수는 모든 실험구에서 0.95-1.39였으며, 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 증체율을 기초로 하여 넙치 치어의 최대 성장을 위한 EPA 요구량은 broken line 분석 결과 1.10%로 나타났다([Fig. 1]).



[Fig. 1] Broken line analysis for weight gain (WG, %) base on the different dietary EPA levels.

IV. 고찰

8주간 사료 내 EPA 함량을 다르게 공급한 실험어의 증체율을 기초로 한 broken-line model 의 EPA 요구량을 도출한 결과 치어기 넙치 사료 내 적정 EPA 요구량은 1.1%로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때, 3.5-11.6g 넙치 치어의 최대 성장을 위한 사료 내 EPA 요구량은 1.1%보다는 크고

1.25%보다는 동일하거나 적을 것으로 추정된다. DHA 첨가수준이 0.75%인 경우는 사료내 적정 EPA 첨가량은 0.75%로 낮아지는 것으로 추정된다. 그러나 n-3 HUFA 함량을 다르게 한 artemia 로 자어기 넙치를 사육한 Izquierdo et al.(1992)의 연구에서 넙치 자어 먹이의 n-3 HUFA 요구량은 3.5-4.0%로 보고되었다(Izquierdo et al., 1992). 또한 최초 체중 8.5g 및 9.7g의 넙치 치어를 대상으로 사료 내 n-3 HUFA 요구량을 조사한 기존의 연구(Kim and Lee, 2004; Choi et al., 2014)에서 사료 내 n-3 HUFA 요구량은 0.8-1.0% 및 1.06%로 보고되어 본 연구 결과의 사료 내 n-3 HUFA 인 EPA 요구량 1.1%와 다소 차이를 보였다. 이처럼 어류의 사료 내 필수지방산 요구량은 어류의 성장 단계에 따라 달라질 수 있는 것으로 알려져 있다(Sargent et al., 1989). Turbot의 경우 rotifer를 섭취하는 자어기의 n-3 HUFA 요구량은 1.3% 이상이지만(Le Milnaire et al., 1983), 치어기 및 육성어기의 n-3 HUFA 요구량은 각각 0.8% 및 0.6%인 것으로 보고되었다(Gatesoupe et al., 1977; Leger et al., 1979). 이러한 결과들로 볼 때, 어류가 성장함에 따라 사료 내 필수지방산 요구량은 감소할 수 있는 것으로 판단된다.

본 연구에서 사료 내 필수지방산으로 EPA_{0.5} + DHA_{0.5}, EPA_{0.75} + DHA_{0.75} 및 EPA_{1.0} + DHA_{1.0}를 혼합하여 첨가한 실험구는 EPA만을 각각 EPA_{1.0}, EPA_{1.5} 및 EPA_{2.0} 단독 첨가한 실험구에 비하여 유의하게 높은 성장을 보였다. 이러한 결과는 사료 내 n-3 HUFA로 EPA만을 1.2% 첨가한 실험구가 EPA와 DHA를 혼합하여 1.2% 첨가한 실험구에 비하여 넙치 치어의 증체량이 유의하게 낮은 결과를 보인 Kim and Lee (2004)의 연구 결과와 유사하였다. 사료 내 n-3 HUFA 공급원으로 EPA와 DHA를 각각 동일한 함량으로 제조한 사료로 조피볼락 치어를 사육한 Lee et al. (1994)의 연구에서 DHA를 공급한 실험구가 EPA를 공급한 실험구에 비하여 높은 성장과 사료효율을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 넙치 및 조피볼락과 같은

해산어 치어 사료 내 필수지방산 공급원으로는 EPA를 단독으로 사용하는 것보다는 DHA를 공급하거나 EPA와 DHA를 혼합하여 사용하는 것이 더 효율적일 것으로 판단된다.

본 연구에서 필수 지방산으로 사료 내 EPA만을 첨가한 실험구의 경우, 사료 내 EPA_{1.5} 및 EPA_{2.0} 실험구는 EPA_{1.25} 첨가구에 비하여 오히려 실험어의 증체율 및 사료효율이 감소하는 결과를 보였으며, EPA와 DHA를 혼합 첨가한 실험구에서도 EPA_{1.0} + DHA_{1.0} 실험구는 EPA_{0.75} + DHA_{0.75} 첨가구에 비하여 성장이 감소하는 결과를 보였다. 이와 같이 사료 내 n-3 HUFA 요구량을 초과하였을 경우 실험어의 성장 및 사료효율이 오히려 감소하는 결과를 보였는데, Kim and Lee (2004)의 연구에서도 사료 내 n-3 HUFA를 0.8-2.4% 첨가한 사료로 넙치 치어를 사육한 결과 n-3 HUFA 함량 0.8% 까지는 유의하게 증가하다가 1.6% 이상 첨가하였을 경우 넙치 치어의 성장 및 사료효율이 감소하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다. 그러나 Choi et al. (2014)은 사료 내 n-3 HUFA를 1.06-3.88% 첨가한 사료로 넙치 치어를 사육한 결과 증체량 및 사료효율은 모든 실험구에서 유의한 차이를 보이지 않아 본 연구와 차이를 보였다. 또한, 사료의 지질원으로 우지 (beef tallow)와 정제 EPA 및 DHA를 사용하여 사료 내 n-HUFA 함량이 0-4.0%인 사료를 사용하여 조피볼락 치어를 사육한 결과, 성장을 위한 사료 내 n-3 HUFA 요구량은 0.9% 이상이었으며, n-3 HUFA 4% 첨가 실험구에서도 우수한 성장 및 사료효율을 보여 필수지방산 과잉 공급에 따른 성장 저하 및 사료효율 감소는 나타나지 않았다 (Lee et al., 1993). 그리고 EPA (0.05-4.1%) 및 DHA (0.1-4.1%) 함량을 다르게 첨가한 사료로 돌돔 치어를 사육한 Hong et al. (2017)의 연구에서 사료 내 EPA 및 DHA 요구량은 각각 1.67% 및 1.19%였으며, 4.1% 이상의 EPA와 DHA를 함유한 사료 공급구에서도 성장 및 사료효율 감소는 나타나지 않아 어종에 따른 차이를 보였다. 사료

내 n-3 HUFA 요구량 초과에 따른 이러한 성장 차이는 실험 사료에 사용된 기초사료의 원료 조성비(어분, 탈지어분, 대두유, 코코넛오일 및 ethyl laurate), 수온 등의 사육 환경의 차이에 의한 것으로 판단된다. Lee et al. (1993)의 연구에서 n-3 HUFA가 0.6-1.5%인 사료로 수온 12°C와 20°C에서 조피볼락 치어를 사육한 결과, 수온 12°C에서 실험어의 성장은 사료 내 n-3 HUFA 함량에 따른 차이를 보이지 않았다. 그러나 수온 20°C의 경우 n-3 HUFA 0.9%-1.2% 실험구가 0.6% 실험구에 비하여 높은 성장을 보여, 수온에 따른 사료 내 적정 n-3 HUFA 함량에 차이를 보였으며, 수온 12°C에서 조피볼락 사료 내 적정 n-3 HUFA는 20°C에 비하여 낮게 나타났다.

따라서 수온 21°C에서 성장기 넙치의 사료내 적정 EPA 수준은 사료내 DHA 첨가수준이 없을 때 1.1% 보다는 크고 1.25%보다는 동일하거나 적을 것으로 추정되며, DHA 첨가수준이 0.75%인 경우는 사료내 적정 EPA 첨가량은 0.75%로 낮아지는 것으로 추정된다.

References

- AOAC(2000). Official methods of analysis, 16th ed. Association of Official Analytical chemists. Arlington, Virginia, USA.
- Bell MV, Batty RS, Dick JR, Fretwell K, Navarro JC and Sargent JR(1995). Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus L.*), *Lipids* 30(5), 443~449.
<https://doi.org/10.1007/BF02536303>
- Choi J, Aminikhoei Z, Kim KD and Lee SM(2014). Growth and fatty acid composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* Fed Diets Containing Different Levels and Ratios of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid, *Fisheries and aquatic sciences* 17(1), 95~103.
<http://dx.doi.org/10.5657/FAS.2014.0095>
- Cowey CB, Pope JA, Adron JW and Blair A(1972). Studies on the nutrition of marine flatfish. The

- protein requirement of plaice (*Pleuronectes platessa*). The British journal of nutrition 28(3), 447.
- Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T, Shiraiishi M and Takeuchi T(2000). Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, Aquaculture 187(3), 387~398.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00319-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00319-7)
- Fernández-Palacios H, Izquierdo MS, Robaina L, Valencia A, Salhi M and Vergara J(1995). Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*), Aquaculture 132(3), 325~337. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00345-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00345-0)
- Gatesoupe FJ, Leger C, Boudon M, Metailler R and Luquet P(1977). Lipid feeding of turbot (*Scophthalmus-maximus L.*) 2. influence on growth of supplementation with methyl-esters of linolenic acid and fatty-acids of w9 series, Ann. Hydrobiol 8, 247~254.
- Hong JW, Lee SH, Yun HH, Moniruzzaman M, Park YJ, Shahkar E, Seong MJ and Bai SC(2017). The optimum dietary docosahexaenoic acid level based on growth and non specific immune responses in juvenile rock bream, *Oplegnathus fasciatus*, Aquaculture Research 48(7), 3401~3412.
<https://doi.org/10.1111/are.13167>
- Hong JW, Lee SH, Moniruzzaman M, Park YJ, Won SH, Jo HY, Hung SSO and Bai SC(2017). Dietary eicosapentaenoic acid requirement of juvenile rock bream, *Oplegnathus fasciatus*, Aquaculture Nutrition. <https://doi.org/10.1111/anu.12530>
- Izquierdo MS, Arakawa T, Takeuchi T, Haroun R and Watanabe T(1992). Effect of n-3 HUFA levels in Artemia on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), Aquaculture 105(1), 73~82. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90163-F](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90163-F)
- Koven W(2003). Key factors influencing juvenile quality in mariculture: a review, Israeli Journal of Aquaculture Bamidgh 55, 283~297. <http://hdl.handle.net/10524/19089>
- Kiron V, Fukuda H, Takeuchi T and Watanabe T (1995). Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 111(3), 361~367. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)00042-6](https://doi.org/10.1016/0300-9629(95)00042-6)
- Kim KD and Lee SM(2004). "Requirement of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids for juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*).", Aquaculture 229(1-4), 315~323. [https://doi.org/10.116/S0044-8486\(03\)00356-9](https://doi.org/10.116/S0044-8486(03)00356-9)
- Le Milinaire C, Gatesoupe FJ and Stephan G (1983). Approche du besoin quantitatif en acides gras longs polyinsaturés de la série n-3 chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus*). Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie, 296(19), 917~920.
- Leger C, Gatesoupe FJ, Metailler R, Luquet P and Fremont L(1979). Effect of dietary fatty acids differing by chain lengths and ω series on the growth and lipid composition of turbot *Scophthalmus maximus L.*, Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry 64(4), 345~350. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(79\)90280-3](https://doi.org/10.1016/0305-0491(79)90280-3)
- Lee SM, Lee JY and Hur SB(1994). Essentiality of dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*, Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 27(6), 712~726.
- Lee SM, Lee JY and Kang YJ(1993). Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and water temperatures on growth and body composition of the Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*), Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency 48, 108~124
- Mourente G and Tocher DR(2009). Tuna nutrition and feeds: current status and future perspectives, Reviews in Fisheries Science 17(3), 373~390. <https://doi.org/10.1080/10641260902752207>
- Metcalfe LD, Schmitz AA and Pelka JR(1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis, Analytical chemistry 38(3), 514~515. <https://doi.org/10.1021/ac-60235a044>
- National Research council(2011). Nutrient requirements of fish and shrimp, National Academic Press, Washington, DC.
- Skalli A and Robin JH(2004). Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European

- sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles : growth and fatty acid composition, *Aquaculture* 240(1), 399~415. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.036>
- Sargent JR, Henderson RJ, Tocher DR(1989). The lipids. In: Halver, J. E.(Ed), *Fish Nutrition*, 2nd ed, Academic Press, London, 153~218.
- Takeuchi T, Toyota M, Satoh S and Takeshi Watanabe T(1990). Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids, *Nippon Suisan Gakkaishi* 56(8), 1263~1269. <https://doi.org/10.2331/suisan.56.1263>
- Takeuchi T and Watanabe T(1979). Effect of excess amounts of essential fatty acids on growth of rainbow trout, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 45(12), 1517~1519.
- Watanabe T, Izquierdo MS, Takeuchi T, Satoh SY and Kitajima C(1989). Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 55(9), 1635~1640. <https://doi.org/10.2331/suisan.55.1635>
-
- Received : 19 November, 2018
 - Revised : 16 January, 2019
 - Accepted : 28 January, 2019