

# Eicosapentaenoic Acid (EPA) 영양강화 알테미아 공급이 명태(*Gadus chalcogrammus*) 자어의 생존율, 성장, 지방산 조성, 항산화능 및 성장 관련 호르몬에 미치는 영향

이기욱<sup>†</sup> · 이태훈<sup>1†</sup> · 한경식 · 김소선 · 유해균 · 김희성<sup>1\*</sup>

국립수산과학원 동해수산연구소, <sup>1</sup>경상국립대학교 해양생명과학과

## Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA)-Enriched *Artemia* Nauplii on Survival, Growth, Fatty Acid Composition, Antioxidant Status and Growth-Related Hormone Levels of Walleye Pollock *Gadus chalcogrammus* Larvae

Ki-Wook Lee<sup>†</sup>, Tae Hoon Lee<sup>1†</sup>, Gyeong Sik Han, So-Sun Kim, Hae Kyun Yoo and Hee Sung Kim<sup>1\*</sup>

Aquaculture Industry Research Division, East Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Gangneung 25435, Republic of Korea

<sup>1</sup>Department of Marine Biology and Aquaculture, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Republic of Korea

This study evaluated the effects of eicosapentaenoic acid (EPA)-enriched *Artemia* nauplii on the survival, growth, fatty acid composition, antioxidant capacity and growth-related hormone level of walleye pollock *Gadus chalcogrammus* larvae. Fifty days after hatching, pollock larvae (average total length: 17.8 mm) were fed *Artemia* enriched with four different levels of EPA, with total fatty acid content of 10.48% (D1), 12.28% (D2), 23.20% (D3), and 31.20% (D4), for 4 weeks. At the end of the feeding trial, survival of the fish in the D4 group was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than that in the D1 group. However, EPA-enriched *Artemia* did not significantly affect larval survival. The activity of superoxide dismutase, growth hormone, and insulin-like growth factor-1 in the whole body was not significantly affected by EPA levels in *Artemia*. Our findings suggest that EPA-enriched *Artemia* with a total fatty acid content of 31.20% enhances the survival of walleye pollock larvae.

Keywords: *Artemia*, Eicosapentaenoic acid, Survival, Walleye pollock, Larvae

## 서론

명태(*Gadus chalcogrammus*)는 일본 북부 연안과 오후츠크 해에서 베링해와 알래스카만에 이르는 북태평양에서 광범위하게 서식하는 어종으로(Fissel et al., 2016; Orlov et al., 2020), 특유의 맛과 다양한 식품으로 사용될 수 있어 전세계 식품산업 시장에서 중요한 어종이다(Sinclair et al., 2008; Hirota et al., 2014). 현재 우리나라는 명태의 어획량 감소(Kooka et al., 2007; Kim et al., 2020; Jeon et al., 2022)를 완화하기 위한 종보존 연구뿐만 아니라, 안정적인 양식생산 기술 개발을 위한 조

도 및 수온과 같은 사육환경에 대한 연구(Choi et al., 2020c; Lee et al., 2021) 및 로티피 영양강화, 영양소 요구량 규명과 같은 영양학적 연구(Park et al., 2018; Choi et al., 2020a, 2020b; Lee et al., 2021) 등이 이루어졌으나, 여전히 종자생산에 있어 폐사를 최소화하고 생산성을 향상시킬 수 있는 연구가 지속적으로 필요하다. 해산어 종자생산에 있어 지질은 대사 에너지 공급원, 막 인지질의 구성 요소 및 생리활성 분자의 전구체로서 중요한 역할을 한다(Sargent et al., 1999a; Tocher, 2003). 특히, 해산어 자어의 정상적인 성장과 발달을 위해서는 먹이생물 내 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acids, HUFA)

\*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 9154 Fax: +82. 55. 772. 9159

E-mail address: bluesonn@gnu.ac.kr †Contributed equally.



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2024.0691>

Korean J Fish Aquat Sci 57(6), 691-699, December 2024

Received 31 July 2024; Revised 13 September 2024; Accepted 22 October 2024

저자 직위: 이기욱(연구사), 이태훈(대학원생), 한경식(연구보조원), 김소선(연구사), 유해균(연구사), 김희성(부교수)

이 중요한 요소로 작용하여 종자생산 성공 가능성을 좌우한다 (Izquierdo, 1996; Takeuchi et al., 1996; Sargent et al., 1999a, 1999b; Izquierdo et al., 2000; Holt et al., 2011; Hamre et al., 2013). 일반적으로 해산어 종자생산에 있어 로티퍼와 알테미아는 eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3)와 같은 일부 n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA)를 합성할 수 있으나(Lubzens et al., 1985), 양식 대상종의 요구량을 충족시킬 수 있을 만큼 합성 속도가 빠르지 않아 EPA, DHA 등의 영양강화가 필요하며(Seychelles et al., 2009), 영양강화를 통한 성장 및 생존율 향상, 부레 이상 및 색소 침착 감소에 도움을 준다는 결과가 다수의 연구를 통해 밝혀진 바 있다(Narciso et al., 1999; Villata et al., 2008). EPA는 어류의 초기 발달 과정에서 성장과 생존에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며(Reitan et al., 1994; Furuita et al., 1996), 어류의 생체막 유동성과 효소 활성화에도 중요하다(Sargent et al., 1999a). 특히, 해산어는 담수어와 달리 지방산 불포화효소(desaturase)와 연장효소(elongase)의 활성이 낮아 EPA와 같은 HUFA를 합성하는데 제한적이므로 외부로부터 EPA의 공급이 필수적이다 (Sargent et al., 1999b).

최근까지 EPA, DHA 등의 HUFA로 영양강화한 알테미아가 어류 종자생산에 미치는 효과에 대한 다양한 연구가 보고되어진 바 있다(Rainuzzo et al., 1997; Sargent et al., 1999a, 1999b; Harel and Place, 2003; Villata et al., 2008). 명태와 같은 한해성 어종인 대서양 대구(*G. morhua*) 자어에 HUFA로 영양강화한 알테미아의 공급은 생존율과 성장 향상에 효과적이라고 보고되었으며(Garcia et al., 2008), Choi et al. (2021)의 연구에서도 태평양 대구(*G. macrocephalus*) 자어에 HUFA 함량이 풍부한 영양강화 알테미아의 공급은 생존율과 성장 개선에 효과적 인 것으로 보고된 바 있다. 반면 명태 종자생산에 있어 EPA 및 DHA 영양강화 로티퍼에 관한 연구(Park et al., 2018)는 수행된 바 있으나, EPA 영양강화를 통한 알테미아 내 EPA 함량이 명태의 종자생산에 미치는 효과에 대한 연구는 수행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 다양한 농도의 EPA 영양강화 알테미아가 명태 자어의 생존율, 성장, 지방산 조성 및 성장 관련 호르몬에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 알테미아 배양 및 영양강화

본 실험에 있어 알테미아 nauplius의 배양을 위해 Great Salt Lake (Salt Lake City, UT, USA)에서 채취한 알테미아 cysts (INVE Aquaculture, Dendermonde, Belgium)를 이용하였으며, cysts를 50 L 폴리카보네이트 원형 수조내 염분 30 psu, 수온 25°C의 여과 해수에서 24시간동안 부화시켰고, 난각은 SEP-Art Magnetic Harvestors (INVE, Dendermonde, Belgium)를 이용하여 제거하였다. 수집된 nauplius는 100 µm sieve로 걸

러 여과 해수로 씻은 후 영양강화를 위해 수온 25°C, 염분 30 psu 배양수가 수용된 폴리카보네이트 10 L 배양수조에  $5 \times 10^4$  nauplii/L 밀도로 접종하여 24시간동안 영양강화 하였다. 영양강화제로는 EPA-RICH MEGAPEX™ (EPA97D00EE/rTG, 97% purity; Chemport)를 이용하여 배양수 기준 10, 20, 50 및 100 mg/L 농도(D1, D2, D3 및 D4)로 첨가하여 영양 강화하였다.

### 실험어 및 사육 조건

실험에 이용된 실험어는 국립수산물연구원 동해수산연구소 (Gangneung, Korea)에서 사육 관리 중인 부화 후 50일 된 명태 자어(전장 17.8 mm, 전체중 48.0 mg, n=1,200)를 12개의 300 L (수량, 200 L) 유수식 원형 fiber-reinforced plastic 수조에 각각 100마리씩 분산 수용하였다. 각 영양강화 알테미아 (D1-D4) 공급구는 3반복으로 준비하였으며, 1일 3회 09:00, 13:00 및 17:00에 먹이를 공급하였다. 알테미아 공급 전 모든 사육실험 수조내 알테미아 개체수를 측정하여 사육 1주차부터 2주차까지는 각 수조내 밀도가 2,000 nauplii/L, 3주차부터 4주차까지는 3,000 nauplii/L 밀도가 유지되도록 조절 공급하였다. 또한 알테미아의 기아와 사육수 안정을 위하여 액상 *Chlorella* spp. (Aquanet Co. Ltd., Tongyoung, Korea)를 1일 2회(09:00 및 17:00)에 mL 당 3,000–5,000개체의 밀도로 120 mL씩 공급하였다. 사육수는 모래 및 마이크로필터 여과 해수를 사용하여 각 수조당 환수량을 0.6 L/min으로 유지하였다. 여과 사육실험 간 광주기는 light emitting diode를 이용하여 10 L (light): 14 D (dark) 조건을 유지하였고, 실험기간 동안 평균 사육 수온, 염분 및 용존산소는 각각 10.3°C, 33.0 psu 및 8.67 mg/L였다.

### 어체 측정 및 샘플 수집

사육실험 종료시 각 실험수조 내 생존한 명태 자어의 수를 관찰 후 실험수조에서 생존한 자어 30마리를 무작위로 선택하여 전장 및 체중을 측정하였으며, 전장은 digital caliper (Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)를 사용하여 0.01 mm 단위까지 전장을 측정하였고, 체중은 분석저울(AL104; Mettler Toledo, Columbus, OH, USA)을 이용하여 0.01 mg 단위까지 측정하였다. 이후 측정된 모든 시료는 증류수로 1차 세척 후 물기를 제거 후 분석 전까지 -80°C에 냉동 보관하였다. 생존율(survival), 증체량(weight gain, WG) 및 일간성장률(specific growth rate, SGR)은 각각 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Survival (\%)} = (\text{number of fish at the end of the trial} / \text{number of fish at the beginning of the trial}) \times 100$$

$$\text{Weight gain (WG, g/fish)} = (\text{final body weight} - \text{initial body weight})$$

$$\text{Specific growth rate (SGR, \% / day)} = [(\ln \text{ final weight of fish} - \ln \text{ initial weight of fish}) / \text{days of feeding}] \times 100$$

## 지방산 분석

미 영양강화 알테미아, 공급구별 영양강화 알테미아 및 사육종료시 수조별 자어의 지방산 분석을 위해 동결건조기(Lyovapor™ L-300, Buchi, Flawil, Switzerland)를 사용하여 동결 건조하였다. 이후 각 시료의 지방산 분석은 Folch et al. (1957)에 따라 chloroform과 methanol 혼합액(2:1 v/v)을 사용하여 총 지질을 추출한 후 BF<sub>3</sub>-MeOH (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 methylation 시킨 후 capillary column (100 m × 0.25 mm i.d., 0.2 µm film thickness; Supelco, Bellefonte, PA, USA)이 장착된 gas chromatograph (PerkinElmer Clarus 600; Shelton, CT, USA)를 사용하여 지방산을 분석하였다.

## 항산화효소 및 성장관련 호르몬 활성 분석

항산화효소와 성장관련 호르몬 활성 측정을 위해 전어체의 전처리 과정은 다음과 같이 수행하였다. 먼저, 실험어를 얼음 위에서 생리식염수로 세척하여 표면의 불순물을 제거하였고, 이후 완충용액과 100:1 비율로 혼합하여 조직 균질기(TissueLyser II, QIAGEN, Netherlands)를 이용하여 균질화 하였다. 균질화된 샘플은 4°C에서 10,000 g로 15분간 원심 분리하여 상층액을 분리하였다. 수집된 상층액을 이용하여 superoxide dismutase (SOD) 활성은 SOD assay kits (Cayman Chemical Company Ann Arbor, MI, USA)를 사용하여 측정하였으며, 성장 호르몬 (growth hormone, GH)과 인슐린 유사 성장 인자(insulin-like

Table 1. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of initial *Artemia nauplii* and *Artemia nauplii* after enrichment with eicosapentaenoic acid (EPA)

| Fatty acids            | Initial <i>Artemia</i> | Experimental diets       |                          |                          |                          | P-value |
|------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
|                        |                        | D1                       | D2                       | D3                       | D4                       |         |
| % of total fatty acids |                        |                          |                          |                          |                          |         |
| C14:0                  | 0.67±0.034             | 0.65±0.011               | 0.62±0.023               | 0.59±0.025               | 0.60±0.034               | 0.487   |
| C16:0                  | 12.30±0.265            | 10.60±0.388              | 10.81±0.122              | 10.01±0.279              | 9.74±0.342               | 0.183   |
| C17:0                  | 0.53±0.051             | 0.65±0.031               | 0.66±0.064               | 0.58±0.011               | 0.52±0.017               | 0.167   |
| C18:0                  | 5.91±0.186             | 5.60±0.068 <sup>b</sup>  | 5.40±0.096 <sup>b</sup>  | 4.85±0.097 <sup>a</sup>  | 4.62±0.045 <sup>a</sup>  | 0.001   |
| C20:0                  | 0.22±0.017             | 0.20±0.012               | 0.25±0.027               | 0.18±0.023               | 0.22±0.032               | 0.413   |
| C22:0                  | 0.59±0.058             | 0.57±0.019               | 0.57±0.010               | 0.54±0.035               | 0.47±0.036               | 0.159   |
| C23:0                  | 1.96±0.100             | 1.29±0.039               | 1.54±0.244               | 1.20±0.058               | 1.16±0.021               | 0.326   |
| C16:1n-7               | 1.68±0.155             | 1.93±0.140               | 1.87±0.103               | 1.78±0.132               | 1.68±0.132               | 0.679   |
| C18:1n-9               | 31.15±1.401            | 27.51±0.249 <sup>c</sup> | 26.95±0.229 <sup>c</sup> | 23.22±0.032 <sup>b</sup> | 19.38±0.316 <sup>a</sup> | 0.001   |
| C20:1n-9               | 0.72±0.028             | 0.77±0.006               | 0.77±0.014               | 0.71±0.030               | 0.73±0.038               | 0.420   |
| C18:2n-6               | 7.87±0.171             | 6.96±0.023 <sup>c</sup>  | 6.74±0.098 <sup>bc</sup> | 6.15±0.135 <sup>ab</sup> | 5.99±0.215 <sup>a</sup>  | 0.007   |
| C20:2n-6               | 0.27±0.048             | 0.28±0.003               | 0.28±0.010               | 0.26±0.042               | 0.23±0.015               | 0.481   |
| C22:2n-6               | 0.54±0.016             | 0.71±0.025               | 0.73±0.058               | 0.75±0.114               | 0.78±0.075               | 0.955   |
| C18:3n-3               | 31.11±1.064            | 29.60±0.272 <sup>c</sup> | 29.04±0.159 <sup>c</sup> | 24.58±0.466 <sup>b</sup> | 21.28±0.546 <sup>a</sup> | 0.001   |
| C18:3n-6               | 0.32±0.012             | 0.37±0.005               | 0.38±0.007               | 0.34±0.015               | 0.34±0.018               | 0.214   |
| C20:4n-6               | 0.73±0.033             | 0.86±0.013               | 0.87±0.015               | 0.80±0.039               | 0.76±0.021               | 0.076   |
| C20:5n-3 (EPA)         | 3.15±0.163             | 10.48±0.557 <sup>a</sup> | 12.28±0.082 <sup>a</sup> | 23.20±0.459 <sup>b</sup> | 31.20±0.995 <sup>c</sup> | 0.001   |
| C22:6n-3 (DHA)         | 0.28±0.015             | 0.30±0.028               | 0.25±0.045               | 0.25±0.035               | 0.26±0.029               | 0.763   |
| SFA                    | 22.17±0.607            | 19.77±0.290 <sup>b</sup> | 19.85±0.029 <sup>b</sup> | 17.96±0.588 <sup>a</sup> | 17.33±0.353 <sup>a</sup> | 0.003   |
| MUFA                   | 33.56±1.716            | 30.45±0.170 <sup>c</sup> | 29.58±0.189 <sup>c</sup> | 25.71±0.186 <sup>b</sup> | 21.80±0.539 <sup>a</sup> | 0.001   |
| n-3HUFA                | 4.17±0.177             | 11.34±0.434 <sup>a</sup> | 13.39±0.058 <sup>a</sup> | 24.25±0.460 <sup>b</sup> | 32.25±1.132 <sup>c</sup> | 0.001   |
| n-3/n-6                | 4.32±0.249             | 5.57±0.043 <sup>a</sup>  | 5.96±0.101 <sup>a</sup>  | 7.54±0.345 <sup>b</sup>  | 8.49±0.463 <sup>b</sup>  | 0.018   |
| DHA/EPA                | 0.09±0.011             | 0.02±0.004               | 0.01±0.002               | 0.01±0.001               | 0.03±0.002               | -       |

Values (means of triplicate±SE) with different superscript letters within a row are significantly different (P<0.05). EPA, Eicosapentaenoic acid; DHA, Docosahexaenoic acid; SFA, Saturated fatty acid; MUFA, Monounsaturated fatty acid; HUFA, Highly unsaturated acid; n-3 FA, n-3 fatty acid; n-6 FA, n-6 fatty acid; D1, EPA enrichment accounts for 10.48% of the total fatty acid content; D2, EPA enrichment accounts for 12.28% of the total fatty acid content; D3, EPA enrichment accounts for 23.20% of the total fatty acid content; D4, EPA enrichment accounts for 31.20% of the total fatty acid content.

growth factor-1, IGF-1)의 농도는 각각 GH ELISA Kit (MyBiosource Co., San Diego, CA, USA)와 IGF-1 ELISA Kit (MyBiosource Co., San Diego, CA, USA)를 사용하여 측정하였다.

### 통계분석

모든 통계 분석은 SPSS program (version 27.0; SPSS Michigan Avenue, Chicago, IL, USA)을 이용하였고, 데이터는 Kolmogorov-Smirnov test 사용하여 데이터 분포의 정규성을 확인하였고, Levene's test를 이용하여 실험구간의 분산의 동질성을 검증하였다. 분석에 앞서 모든 백분율 데이터는 arcsine 변환을 실시하였으며, One-way ANOVA와 Tukey's HSD test를 사용하여 각 실험구간의 유의성( $P < 0.05$ )을 검증하였다.

### 결과 및 고찰

본 연구는 영양강화 알테미아의 EPA 함량이 명태 자어(부화 후 50일령)에 미치는 효과를 조사하였으며, 각 공급구별 영양강화 후 알테미아의 지방산 조성은 Table 1에 나타내었다. 공급구별 영양강화 알테미아의 EPA의 함량은 EPA 첨가 함량 증가에 따라 유의하게 증가하였다( $P < 0.05$ ). 이와 달리 stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1n-9), linoleic acid (C18:2n-6) 및 linolenic acid (C18:3n-3) 함량은 EPA 첨가 함량에 따라 유의하게 감소하였다( $P < 0.05$ ). 포화지방산(saturated fatty acid) 및 단일불포화지방산(monounsaturated fatty acid)은 EPA 영양강화 함량에 따라 유의하게 감소하는 것으로 나타났으나( $P < 0.05$ ), n-3 HUFA 및 n-3/n-6는 유의하게 증가하는 것으로 나타났나( $P < 0.05$ ).

일반적으로 종자생산시 먹이생물로 공급되는 알테미아 내 낮은 지방산 조성은 영양학적으로 결핍됨에 따라(Koven et al., 1990; Czesny et al., 1999; Copeman et al., 2002) 해산어의 정상적인 성장과 높은 생존율을 위해서는 먹이생물의 영양강

화가 필수적인 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 다양한 농도의 EPA 영양강화 알테미아를 4주간 공급한 명태 자어의 생존율, 사육 종료시 무게, 전장, WG 및 SGR 결과는 Table 2에 나타내었다. 생존율은 D1 공급구에 비해 D4 공급구가 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). EPA 및 DHA와 같은 n-3 HUFA는 수산동물의 면역능에 중요한 역할을 하고(Trichet, 2010; Ji et al., 2011) 특히, EPA는 eicosanoids의 전구체로 작용하며, cyclooxygenase 및 lipoxigenase 경로에서 염증 반응을 억제하는 3-series prostanoids와 5-series leukotrienes로 전환되어 면역 반응 및 스트레스 호르몬 조절에 관여하는 것으로 알려져 있으며(Tocher, 2003; Wang and DuBois, 2010; Tian et al., 2017), 먹이생물 내 EPA의 적정 함유는 자어의 면역 반응 또는 스트레스 저항성 향상에 효과를 보였다(Dey et al., 2022; Pham et al., 2023). 본 연구에서 면역능, 스트레스 호르몬 활성능 등의 분석 연구는 수행되지 않았지만, 알테미아 내 EPA 함량의 증가가 면역능 등을 개선하여 생존율 증가에 긍정적인 영향을 미친 것으로 판단된다. 본 연구와 유사하게 잿방어(*Seriola dumerili*) 자어의 생존율은 미 영양강화 알테미아를 공급한 실험구에 비해 EPA 영양강화 알테미아를 공급한 실험구에서 높게 나타났다(Roo et al., 2023). Senegal sole *Solea senegalensis*에 있어 적정 함량(10.7–20.3% of total fatty acid)의 EPA로 영양강화한 알테미아 공급시 생존율이 증가하였으나, 적정 함량 이상일 경우(29.5% of total fatty acid) 감소하였다(Villalta et al., 2008). 또한 n-3 HUFA로 영양강화한 알테미아를 palmetto bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*)에 공급하였을 때 생존율 향상이 나타났으며(Tuncer et al., 1993), 태평양 대구 자어에서 최적의 생존율은 5.88% of total fatty acid 함량의 DHA로 영양강화한 알테미아를 공급한 실험구에서 나타났으나, 더 높은 함량(9.28% of total fatty acid)으로 영양강화한 알테미아를 공급한 실험구에서는 감소하는 것으로 나타났나(Choi et al., 2022). 그러나 본 연구에서 설계한 알테미아 내 EPA 함량은 명태 자어의

Table 2. Survival and growth results of walleye pollock *Gadus chalcogrammus* larvae fed on experimental *Artemia* nauplii enriched with eicosapentaenoic acid (EPA) for 4 weeks

| Experimental diets | D1                     | D2                      | D3                      | D4                     | P-value |
|--------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|---------|
| IBW (g/fish)       | 0.048±0.00             | 0.048±0.00              | 0.048±0.00              | 0.048±0.00             | -       |
| ITL (mm)           | 17.8±1.36              | 17.8±0.24               | 17.8±0.83               | 17.8±0.58              | -       |
| Survival (%)       | 62.3±3.84 <sup>a</sup> | 71.0±1.15 <sup>ab</sup> | 71.3±1.76 <sup>ab</sup> | 76.3±2.91 <sup>b</sup> | 0.032   |
| FBW (g/fish)       | 0.35±0.028             | 0.33±0.010              | 0.33±0.014              | 0.31±0.022             | 0.497   |
| FTL (mm)           | 34.5±1.65              | 34.6±1.79               | 33.9±1.25               | 35.5±0.74              | 0.887   |
| WG (g/fish)        | 0.31±0.028             | 0.29±0.01               | 0.28±0.014              | 0.26±0.022             | 0.497   |
| SGR (%/day)        | 7.1±0.27               | 6.9±0.11                | 6.9±0.0.15              | 6.7±0.26               | 0.540   |

Values (means of triplicate±SE) with different superscript letters within a row are significantly different ( $P < 0.05$ ). IBW, Initial body weight; ITL, Initial total length; FTL, Final total length; FBW, Final body weight; WG, Weight gain; SGR, Specific growth rate; D1, EPA enrichment accounts for 10.48% of the total fatty acid content; D2, EPA enrichment accounts for 12.28% of the total fatty acid content; D3, EPA enrichment accounts for 23.20% of the total fatty acid content; D4, EPA enrichment accounts for 31.20% of the total fatty acid content.

생존율 개선에는 효과적이지만, 적정 EPA 함량을 평가하는 데는 한계가 있으며 보다 넓은 범위의 EPA 함량으로 적정 함량 평가가 수행될 필요가 있다.

본 연구에서 사육 종료시 명태 자어의 무게, 전장, WG 및 SGR은 EPA 영양강화 농도에 따른 공급구간의 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 먹이생물 내 DHA/EPA 비율은 먹이생물의 품질을 평가하는 데 사용되는 지표이며, 자연에서 자어의 먹이인 어란, 요각류 등의 DHA/EPA 비율은 약 2인 것으로 보고된 바 있다(Sargent et al., 1997; Sorgeloos et al., 2001; Bell et al., 2003). 명태와 같은 한해성 어종인 태평양 대구 자어

는 DHA/EPA 비율이 2인 로티퍼 공급구가 다른 공급구에 비해 생존율과 성장 개선에 효과적인 것으로 나타났고(Choi et al., 2020b), Park et al. (2006)에 따르면 DHA/EPA 비율 증가에 따른 대서양 대구 자어의 생존율과 성장 향상이 보고된 바 있다. 또한, DHA/EPA 비율이 3일 경우 대서양 대구 자어의 성장 및 생존율을 개선시켰고(Garcia et al., 2008), 태평양 대구 자어에 있어 영양강화 알테미아의 최적 DHA/EPA 비율은 4.3인 것으로 나타났다(Choi et al., 2021).

그러나 본 연구에서 이용된 영양강화 알테미아의 DHA/EPA는 0.01–0.03의 범위로 이전 연구들에 비해 매우 낮은 비율로

Table 3. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of walleye pollock *Gadus chalcogrammus* larvae fed the enriched *Artemia* nauplii with eicosapentaenoic acid (EPA)

| Diets          | D1        | D2        | D3        | D4        | P-value |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| C14:0          | 0.8±0.03  | 0.7±0.01  | 0.7±0.01  | 0.7±0.01  | 0.919   |
| C15:0          | 0.2±0.01  | 0.2±0.00  | 0.2±0.01  | 0.2±0.00  | 0.875   |
| C16:0          | 20.0±1.55 | 20.9±1.37 | 20.4±0.59 | 22.1±1.06 | 0.964   |
| C17:0          | 1.0±0.08  | 0.9±0.08  | 0.9±0.09  | 1.0±0.10  | 0.555   |
| C18:0          | 9.0±0.48  | 8.9±0.46  | 9.0±0.09  | 9.8±0.11  | 0.399   |
| C20:0          | 0.2±0.01  | 0.2±0.00  | 0.2±0.00  | 0.2±0.01  | 0.637   |
| C22:0          | 0.5±0.05  | 0.6±0.02  | 0.5±0.05  | 0.7±0.03  | 0.580   |
| C23:0          | 4.0±0.60  | 4.4±0.46  | 4.1±0.27  | 4.8±0.37  | 0.997   |
| C24:0          | 0.1±0.02  | 0.1±0.01  | 0.1±0.02  | 0.1±0.01  | 0.726   |
| C16:1n-7       | 2.0±0.22  | 1.8±0.09  | 1.8±0.07  | 1.6±0.14  | 0.694   |
| C18:1n-9       | 46.4±1.96 | 45.6±1.83 | 45.8±0.18 | 43.9±0.80 | 0.773   |
| C20:1n-9       | 1.6±0.03  | 1.6±0.01  | 1.6±0.02  | 1.6±0.04  | 0.894   |
| C22:1n-9       | 0.3±0.03  | 0.3±0.04  | 0.3±0.02  | 0.3±0.02  | 0.748   |
| C24:1n-9       | 0.7±0.11  | 0.9±0.11  | 1.1±0.31  | 1.0±0.11  | 0.879   |
| C18:2n-6       | 10.1±0.16 | 10.4±0.11 | 10.4±0.22 | 10.0±0.27 | 0.687   |
| C20:2          | 3.2±0.46  | 2.6±0.44  | 2.9±0.26  | 2.2±0.29  | 0.963   |
| C18:3n-3       | 34.8±2.16 | 32.5±1.48 | 33.8±1.25 | 31.4±2.74 | 0.787   |
| C18:3n-6       | 0.5±0.02  | 0.5±0.02  | 0.5±0.01  | 0.5±0.04  | 0.618   |
| C20:3n-3       | 2.2±0.02  | 2.1±0.04  | 2.1±0.00  | 2.2±0.06  | 0.447   |
| C20:4n-6       | 0.4±0.03  | 0.4±0.03  | 0.4±0.03  | 0.4±0.02  | 0.639   |
| C20:5n-3 (EPA) | 30.0±2.83 | 29.5±3.02 | 30.2±1.69 | 33.2±0.70 | 0.656   |
| C22:6n-3 (DHA) | 3.7±0.28  | 3.8±0.72  | 3.2±0.29  | 4.1±0.67  | 0.576   |
| SFA            | 35.8±3.07 | 36.9±2.68 | 36.3±0.95 | 39.5±1.60 | 0.929   |
| MUFA           | 50.9±2.40 | 50.2±2.06 | 50.6±0.59 | 48.3±0.97 | 0.954   |
| n-3HUFA        | 35.7±3.43 | 35.5±4.15 | 35.5±1.62 | 39.5±1.47 | 0.619   |
| n-3/n-6        | 6.4±0.19  | 6.0±0.28  | 6.2±0.23  | 6.5±0.05  | 0.614   |
| DHA/EPA        | 1.3±0.20  | 1.3±0.24  | 1.3±0.06  | 1.12±0.07 | -       |

Values (means of triplicate±SE) in the same row without any superscript are not different ( $P>0.05$ ). EPA, Eicosapentaenoic acid; DHA, Docosahexaenoic acid; SFA, Saturated fatty acid; MUFA, Monounsaturated fatty acid; HUFA, Highly unsaturated acid; n-3 FA, n-3 fatty acid; n-6 FA, n-6 fatty acid; D1, EPA enrichment accounts for 10.48% of the total fatty acid content; D2, EPA enrichment accounts for 12.28% of the total fatty acid content; D3, EPA enrichment accounts for 23.20% of the total fatty acid content; D4, EPA enrichment accounts for 31.20% of the total fatty acid content.

Table 4. Superoxide dismutase (SOD), growth hormone (GH) and Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in whole-body of walleye pollock *Gadus chalcogrammus* larvae fed on experimental *Artemia* nauplii enriched with eicosapentaenoic acid (EPA) for 4 weeks

| Experimental diets | D1         | D2          | D3         | D4          | P-value |
|--------------------|------------|-------------|------------|-------------|---------|
| SOD (ng/mL)        | 14.1±1.15  | 13.7±0.56   | 13.8±0.1   | 14.0±1.27   | 0.970   |
| GH (ng/mL)         | 22.6±0.77  | 22.2±0.47   | 22.0±0.07  | 22.8±0.33   | 0.225   |
| IGF-1 (pg/mL)      | 170.5±9.41 | 172.5±14.91 | 154.6±7.77 | 182.0±20.69 | 0.201   |

Values (means of triplicate±SE) in the same row without any superscript are not different ( $P>0.05$ ). SOD, Superoxide dismutase; GH, Growth hormone; IGF-1, Insulin-like growth factor-1; D1, EPA enrichment accounts for 10.48% of the total fatty acid content; D2, EPA enrichment accounts for 12.28% of the total fatty acid content; D3, EPA enrichment accounts for 23.20% of the total fatty acid content; D4, EPA enrichment accounts for 31.20% of the total fatty acid content.

인해 명태 자어 성장에 긍정적인 효과를 보이지 않은 것으로 판단된다.

4주간의 사육실험 종료 후 다양한 농도의 EPA 영양강화 알테미아를 공급한 명태 자어의 지방산 조성은 Table 3에 나타내었다. 일반적으로 EPA 등의 n-3 HUFA 영양강화 알테미아의 공급은 자어의 지방산 조성에 유의미한 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Koven et al., 2001; Bransden et al., 2004; Villalta et al., 2005; Roo et al., 2019; Roo et al., 2023). 그러나 본 연구에서 EPA 영양강화 알테미아를 공급받은 자어의 모든 지방산 함량은 실험구간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 본 연구와 유사하게 n-3 HUFA로 영양강화한 알테미아의 공급은 giant tiger prawn *Penaeus monodon* 유생의 지방산 조성에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다(Rees et al., 1994). 이러한 알테미아 영양강화 공급이 지방산 조성에 미치는 결과 차이는 대상 어종, 영양강화제 종류, 함량 및 영양강화 형태 등에 의해 기인한 것으로 판단된다.

다양한 농도의 EPA 영양강화 알테미아를 공급한 명태 자어의 SOD 활성 결과는 Table 4에 나타내었다. SOD를 포함하는 항산화 효소는 자유 라디칼을 제거하는 데 중요한 역할을 하며, 세포 손상으로 인한 산화 및 식균 작용에 관여하는 것으로 알려져 있다(Rudneva, 1997). 특히, 어류는 세포막내 EPA와 같은 PUFA를 보호하기 위해 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소가 작용한다(Tian et al., 2017). 그러나 본 연구에서 명태 자어의 SOD 활성은 EPA 영양강화 농도에 따른 공급구간의 유의적인 차이가 나타나지 않았으며( $P>0.05$ ), 이는 본 연구에서 설정한 알테미아의 EPA 함량은 SOD 활성에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 이와 유사하게 common dentex *Dentex dentex*에 공급된 알테미아 내 n-3 HUFA 함량이 증가에 따라 SOD 활성은 실험구간의 차이가 나타나지 않았다(Mourente et al., 1999).

그러나 Xie et al. (2021)은 whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*에게 높은 함량의 EPA를 함유하고 있는 미세조류인 *phaeodactylum tricornutum*로 영양강화한 알테미아 공급구의 SOD 활성은 미 영양강화 알테미아 공급구에 비해 낮게 나타난 것으로 보고하였다. 알테미아 내 DHA 함량 증가에 따라 ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*의 SOD 활성

증가가 나타났다(Wang et al., 2021). 또한 lined seahorse *Hippocampus erectus* 어린 치어에 적정 함량의 HUFA로 영양강화한 알테미아 공급시 SOD활성에 영향을 미치지 않았으나, 적정 함량 이상일 경우 malondialdehyde함량 및 SOD 활성에 부정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(Yin et al., 2012). 이처럼 EPA, DHA 등의 HUFA 영양강화 또는 DHA/EPA, EPA/ARA 등의 필수지방산 비율을 고려한 영양강화 알테미아의 공급이 명태 자어의 항산화능에 미치는 효과에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

명태 자어내 성장 관련 호르몬 활성 결과는 Table 4에 나타내었다. GH는 뇌하수체 전엽에서 분비되어 순환계를 통해 간 내 IGF-1 생산을 촉진하며(Laron, 1996), IGF-1은 중요한 GH으로 성장을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Laron, 2001). 본 연구에서 명태 자어 내 GH와 IGF-1 활성은 알테미아 내 EPA 영양강화 농도에 따른 공급구간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 그러나 이전 연구에 따르면 로티퍼 내 DHA 영양강화 농도가 증가함에 따라 gilthead seabream *Sparus aurata*의 IGF-1 유전자 발현의 향상을 보였다(Izquierdo et al., 2013). 이와 같은 차이는 본 연구에서 설정한 EPA 함량 범위, DHA 함량을 고려하지 않은 영양강화 설계로 인하여 GH와 IGF-1 활성에 효과를 보이지 않은 것으로 판단되며, 이에 따라 성장 결과가 유의한 차이를 보이지 않은 것으로 생각된다. 따라서 본 연구의 설정된 DHA 함량을 고려한 EPA 영양강화 알테미아의 공급이 명태 자어의 성장에 미치는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 고려하면 EPA 함량이 31.20%(% of total fatty acid)인 영양강화 알테미아의 공급은 명태 자어의 생존을 개선에 효과적인 것으로 판단되나, 추후 명태 자어의 알테미아 공급 시기의 최적의 EPA 요구량을 규명하기 위한 다른 필수지방산 함량, 비율 등을 고려한 추가적인 영양강화 연구가 반드시 이루어질 필요가 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

이 연구는 2024년 국립수산물품질관리원 수산시험연구사업(R2024030)의 지원으로 수행된 연구입니다.

## References

- 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).
- Bransden MP, Dunstan GA, Battaglione SC, Cobcroft JM, Morehead DT, Kolkovski S and Nichols PD. 2004. Influences of dietary n-3 long-chain PUFA on body concentrations of 20: 5n-3, 22: 5n-3, and 22: 6n-3 in the larvae of a marine teleost fish from Australian waters, the striped trumpeter (*Latris lineata*). *Lipids* 39, 215-222. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1222-6>.
- Choi J, Byun SG, Lim HJ and Kim HS. 2020a. Determination of optimum dietary protein level for juvenile walleye pollock, *Gadus chalcogrammus* Pallas 1811. *Aquac Rep* 17, 100291. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100291>.
- Choi J, Han GS, Byun SG, Lim HJ, Lee CH, Lee DY and Kim HS. 2020b. Effect of different rotifer enrichment products on survival, growth, and fatty acid composition of larval Pacific cod *Gadus macrocephalus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 530-537. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0530>.
- Choi J, Han GS, Byun SG, Oh HY, Lee TH, Lee DY, Lee CH and Kim HS. 2022. Effects of dietary docosahexaenoic acid enrichment in *Artemia* feed on the growth, survival, and fatty acid composition of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) larvae. *Aquac Res* 53, 4353-4362. <https://doi.org/10.1111/are.15934>.
- Choi J, Han GS, Lee KW, Byun SG, Lim HJ and Kim HS. 2020c. Effect of water temperature on the egg hatch and early growth of walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*). *Korean J Ichthyol* 32, 78-83. <https://doi.org/10.35399/ISK.32.2.6>.
- Choi J, Han GS, Lee KW, Byun SG, Lim HJ, Lee CH, Lee DY and Kim HS. 2021. Effects of feeding differentially enriched *Artemia* nauplii on the survival, growth, fatty acid composition, and air exposure stress response of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) larvae. *Aquac Rep* 21, 100829. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100829>.
- Copeman LA, Parrish CC, Brown JA and Harel M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): A live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210, 285-304. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00849-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00849-3).
- Czesny S, Kolkovski S, Dabrowski K and Culver D. 1999. Growth, survival, and quality of juvenile walleye *Stizostedion vitreum* as influenced by n-3 HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 178, 103-115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00120-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00120-9).
- Dey T, Ghosh PK, Nandi SK, Chowdhury G, Mian S and Uddin MS. 2022. A review on n-3 HUFA and live food organism for marine fish larvae nutrition. *Am J Agric Sci Eng Technol* 6, 88-102. <https://doi.org/10.54536/ajaset.v6i3.770>.
- Fissel BE, Dalton M, Felthoven RG, Garber-Yonts, BE, Haynie A, Himes-Cornell AH, Kasperski S, Lee JT, Lew DK, Santos AN, Seung C and Sparks K. 2016. Stock assessment and fishery evaluation report for the groundfishes fisheries of the gulf of Alaska and Bering Sea/Aleutian island area: Economic status of the groundfish fisheries off Alaska, 2015. *Economic Stock Assessment and Fishery Evaluation Report*, North Pacific Fishery Management Council, Anchorage, AK, U.S.A.
- Folch J, Lees M and Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5).
- Furuita H, Takeuchi T, Toyota M and Watanabe T. 1996. EPA and DHA requirements in early juvenile red sea bream using HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Fish Sci* 62, 246-251. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.246>.
- Garcia AS, Parrish CC and Brown JA. 2008. Use of enriched rotifers and *Artemia* during larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758): Effects on early growth, survival and lipid composition. *Aquac Res* 39, 406-419. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01816.x>.
- Hamre K, Yufera M, Ronnestad I, Boglione C, Conceicao LEC and Izquierdo M. 2013. Fish larval nutrition and feed formulation knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Rev Aquac* 5, 526-558. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01086.x>.
- Harel M and Place AR. 2003. Tissue essential fatty acid composition and competitive response to dietary manipulations in white bass (*Morone chrysops*), striped bass (*M. saxatilis*) and hybrid striped bass (*M. Chrysops* × *M. saxatilis*). *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* 135, 83-94. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00044-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00044-7).
- Hirota M, Kawano M and Haga M. 2014. Marketing and distribution of walleye pollock: Past, current and future developments. *Fish Sci* 80, 219-226. <https://doi.org/10.1007/s12562-014-0726-x>.
- Holt GJ, Webb KA and Rust MB. 2011. Microparticulate diets: Testing and evaluating success. In: *Larval Fish Nutrition*. Holt GJ, ed. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, U.S.A., 353-372. <https://doi.org/10.1002/9780470959862>.
- Izquierdo MS. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquac Nutr* 2, 183-191. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.1996.tb00058.x>.
- Izquierdo MS, Socorro J, Arantzamendi L and Hernandez-Cruz CM. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol Biochem* 22, 97-107. <https://doi.org/10.1023/A:1007810506259>.
- Izquierdo MS, Scolamacchia M, Betancor M, Roo J, Caballero MJ, Terova G and Witten PE. 2013. Effects of dietary DHA

- and  $\alpha$ -tocopherol on bone development, early mineralisation and oxidative stress in *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) larvae. *Br J Nutr* 109, 1796-1805. <https://doi.org/10.1017/S0007114512003935>.
- Jeon SH, Choi J, Kim KT, Byun SG, Lim HJ, Kim LK and Sohn SB. 2022. Blood physiological changes and gene expression on walleye pollock *Gadus Chalcogrammus* stress response to salinity fluctuation. *J Kor Soc Fish Mar Edu* 34, 1140-1150. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2022.12.34.6.1140>.
- Ji H, Li J and Liu P. 2011. Regulation of growth performance and lipid metabolism by dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 159, 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.01.009>.
- Kim SS, Kim DNJ, Lee CJ, Yoo HK, Byun SG, Lim HJ, Choi J and Park JS. 2020. The potential sex determination genes, Sox9a and Cyp19a, in walleye pollock (*Gadus Chalcogrammus*) are influenced by water temperature. *J Mar Sci Eng* 8, 501. <https://doi.org/10.3390/jmse8070501>.
- Kooka K, Yamamura O, Nishimura A, Hamatsu T and Yanagimoto T. 2007. Optimum temperature for growth of juvenile walleye pollock *Theragra chalcogramma*. *J Exp Mar Biol Ecol* 347, 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.03.003>.
- Koven W, Barr Y, Lutzky S, Ben-Atia I, Weiss R, Harel M, Behrens P and Tandler A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 193, 107-122. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00479-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00479-8).
- Koven WM, Tandler A, Kissil GW, Sklan D, Friezlander O and Harel M. 1990. The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture* 91, 131-141. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90182-M](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90182-M).
- Laron Z. 1996. The Somatostatin-GHRH-GH-IGF-1 Axis. In: Growth Hormone, IGF\_1 and Growth: New Views and Old Concepts. Modern Endocrinology and Diabetes. Merimee T and Laron Z, eds. Freund Publishing House Ltd., London and Tel Aviv, U.K. and Israel, 5-10.
- Laron Z. 2001. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): A growth hormone. *Mol Pathol* 54, 311-316. <https://doi.org/10.1136/mp.54.5.311>.
- Lee CH, Kim HS, Lee KW, Han GS, Byun SG, Lim HJ, Lee DY and Choi J. 2021. Effects of dietary lipid level on growth performance, feed utilization, fatty composition and antioxidant parameters of juvenile walleye pollock, *Gadus chalcogrammus*. *Aquac Rep* 19, 100631. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100631>.
- Lee KW, Han GS, Byun SG, Kim WJ, Kim KD, Lim HJ and Kim SS. 2021. Effects of light intensity and photoperiod on survival and growth of walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*) larvae. *J Kor Soc Fish Mar Edu* 33, 859-865. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2021.8.33.4.859>.
- Lubzens E, Marko A and Tietz A. 1985. De novo synthesis of fatty acids in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 47, 27-37. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90005-5).
- Mourente G, Tocher DR, Diaz-Salvago E, Grau A and Pastor E. 1999. Study of the n-3 highly unsaturated fatty acids requirement and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the *Artemia* feeding stage. *Aquaculture* 179, 291-307. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00166-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00166-0).
- Narciso L, Pousão-Ferreira P, Passos A and Luis O. 1999. HUFA content and DHA/EPA improvements of *Artemia* sp. with commercial oils during different enrichment periods. *Aquac Res* 30, 21-24. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00293.x>.
- Orlov AM, Savin AB, Gorbatenko KM, Benzik AN, Morozov TB, Rybakov MO, Terentiev DA, Vedishcheva EV, Kurbanov YK, Nosov MA and Orlova SY. 2020. Biological studies in the Russian Far Eastern and Arctic seas in the VNIRO transarctic expedition. *Trudy VNIRO* 181, 102-143. <https://doi.org/10.36038/2307-3497-2020-181-102-143>.
- Park HG, Puvanendran V, Kellett A, Parrish CC and Brown JA. 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *ICES J Mar Sci* 63, 285-295. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.10.011>.
- Park JC, Hong WS, Seo JY, Nam WS and Kwon ON. 2018. Enriched rotifer feeding efficiency in the walleye pollock *Theragra chalcogramma* depends on larval fatty acid composition. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 549-555. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0549>.
- Pham HD, Siddik MAB, Rahman MA, Huynh LT, Nahar A and Vatsos IN. 2023. Effects of n-3 HUFA-enriched *Artemia* on growth, biochemical response, skeletal morphology and stress resistance of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) larvae reared at high temperature. *Aquaculture* 574, 739732. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739732>.
- Rainuzzo JR, 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).
- Rees JF, Curé K, Piyatiratitivorakul S, Sorgeloos P and Menasveta P. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirement of *Penaeus monodon* post larvae: An experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture* 122, 193-207. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90510-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90510-X).
- Reitan KI, Rainuzzo JR and Olsen Y. 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquacult Int* 2, 33-48. <https://doi.org/10.1007/BF00118531>.
- Roo J, Hernández-Cruz CM, Mesa-Rodríguez A, Fernández-Palacios H and Izquierdo MS. 2019. Effect of increasing



- n-3 HUFA content in enriched *Artemia* on growth, survival and skeleton anomalies occurrence of greater amberjack *Seriola dumerili* larvae. *Aquaculture* 500, 651-659. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.065>.
- Roo J, Montero D, Raquel QP, Monzón-Rivero C and Izquierdo López M. 2023. Optimizing *Artemia* enrichment: A low DHA/High EPA Protocol for Enhanced n-3 LC-HUFA Levels to Support Greater Amberjack (*Seriola dumerili*) Larval Rearing. *Aquac Nutr* 2023, 5548991. <https://doi.org/10.1155/2023/5548991>.
- Rudneva II. 1997. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 118, 255-260. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(97\)00111-4](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(97)00111-4).
- Sargent J, Bell G, McEvoy L, 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 and Bell JG. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, 117-127. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00122-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00122-1).
- Sargent J, McEvoy, L, Estevez A, Bell G, Bell M, Henderson J and Tocher D. 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).
- Seychelles LH, Audet C, Tremblay R, Fournier R and Pernet F. 2009. Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Müller) using frozen-concentrated microalgae. *Aquac Nutr* 15, 431-439. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00608.x>.
- Sinclair EH, Vlietstra LS, Johnson DS, Zeppelin TK, Byrd GV, Springer AM, Ream RR and Hunt Jr GL. 2008. Patterns in prey use among fur seals and seabirds in the Pribilof Islands. *Deep Sea Res II Top Stud Oceanogr* 55, 1897-1918. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2008.04.031>.
- Sorgeloos P, Dhert P and Candreva P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200, 147-159. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00698-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00698-6).
- Takeuchi T, Masuda R, Ishizaki Y, Watanabe T, Kanematsu M, Imaizumi K and Tsukamoto K. 1996. Determination of the requirement of larval striped jack for eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using enriched *Artemia* nauplii. *Fish Sci* 62, 760-765. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.760>.
- Tian JJ, Lei CX, Ji H, Kaneko G, Zhou JS, Yu HB, Li Y, Yu EM and Xie J. 2017. Comparative analysis of effects of dietary arachidonic acid and EPA on growth, tissue fatty acid composition, antioxidant response and lipid metabolism in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Br J Nutr* 118, 411-422. <https://doi.org/10.1017/S000711451700215X>.
- Tocher DR. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev Fish Sci* 11, 107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>.
- Trichet VV. 2010. Nutrition and immunity: An update. *Aquac Res* 41, 356-372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02374.x>.
- Tuncer H, Harrell RM and Chai TJ. 1993. Beneficial effects of n-3HUFA enriched *Artemia* as food for larval palmetto bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*). *Aquaculture* 110, 341-359. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(93\)90381-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90381-8).
- Villalta M, Estévez A and Bransden MP. 2005. Arachidonic acid enriched live prey induces albinism in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture* 245, 193-209. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.035>.
- Villalta M, Estevez A, Bransden MP and Bell JG. 2008. Effects of dietary eicosapentaenoic acid on growth, survival, pigmentation and fatty acid composition in Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae during the *Artemia* feeding period. *Aquac Nutr* 14, 232-241. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00522.x>.
- Wang D and DuBois RN. 2010. Eicosanoids and cancer. *Nat Rev Cancer* 10, 181-193. <https://doi.org/10.1038/nrc2809>.
- Wang Y, Li G, Han Z, Hu G, Yan B, Zhang Q and Gao H. 2021. Effect of concentration of DHA nutrient-enhanced *Artemia* on the growth and physiology of the ridgetail white prawn, *Exopalaemon carinicauda* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Crustaceana* 94, 29-43. <https://doi.org/10.1163/15685403-bja10071>.
- Xie W, Ma Y, Ren B, Gao M and Sui L. 2021. *Artemia* nauplii enriched with archaea *Halorubrum* increased survival and challenge tolerance of *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Aquaculture* 533, 736087. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736087>.
- Yin F, Tang B, Zhang D and Zou X. 2012. Lipid metabolic response, peroxidation, and antioxidant defence status of juvenile lined seahorse, *Hippocampus erectus*, fed with highly unsaturated fatty acids enriched *Artemia* nauplii. *J World Aquac Soc* 43, 716-726. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00598.x>.