

기수산 요각류 *Paracyclops nana*의 배양을 위한 최적 미세조류의 선별

민병희 · 박흥기¹ · 이균우¹ · 허성범*
부경대학교 양식학과, ¹강릉대학교 해양생명공학부

Selecting the Optimal Microalgal Species for Culturing the Brackish Water Copepod *Paracyclops nana*

Byeong-Hee MIN, Heum-Gi PARK¹, Kyun-Woo LEE¹ and Sung Bum HUR*
Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
¹Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University,
Gangneung 210-702, Korea

This study selected the optimal microalgal species for mass culture of a brackish water copepod *Paracyclops nana*. Fifteen microalgal species were tested to examine nauplius production and the survival and maturation of brood females. Total and daily nauplius production were highest in *P. nana* fed *Tetraselmis suecica* followed *Isochrysis galbana*, *Dunaliella tertiolecta*, and *Phaeodactylum tricornutum*. With a monospecific microalgal diet, the total density was highest with *P. nana* fed *I. galbana*, at 63.3 inds./mL. With a mixed microalgal diet, the total density of *P. nana* fed *T. suecica* + *I. galbana* was higher than that fed other mixed diets, although there was no difference between a monospecific diet of *I. galbana* and a mixed diet of *T. suecica* + *I. galbana*. Examining the fatty acid composition of *P. nana*, the eicosapentaenoic acid (EPA) was highest in *P. nana* fed *T. suecica* at 5.4% while the docosahexaenoic acid (DHA) content was highest *I. galbana* diet at 31.9%. Although no DHA was detected in *T. suecica*, *P. nana* fed this microalgal species had a high DHA composition of 24.3%. We suggest that the optimal microalgal species for the mass culture of *P. nana* is *T. suecica* which is easy to culture en masse and has a high linolenic acid content.

Key words: Copepod culture, Fatty acid, Microalgal food, *Paracyclops nana*, *Tetraselmis suecica*

서 론

*Artemia*를 대체할 수 있는 먹이생물로서는 종류와 자원량이 풍부한 동물플랑크톤인 요각류를 들 수 있다. 요각류는 크기가 다양하고 높은 영양가로 인해 자어를 위한 최상의 먹이로 알려져 있다 (Gapasin and Duray, 2001). 특히, 해산 자치어의 필수 지방산인 n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acid)가 *Artemia*보다 훨씬 높기 때문에 어류 종묘생산시 먹이생물로서 이용가치가 높은 것으로 알려져 있다 (Watanabe et al., 1983; Kuroshima et al., 1987; Toledo et al., 1999).

1990년대 초반부터 요각류에 대한 관심이 더해지면서 어류 종묘생산을 위한 요각류의 대량배양이 시도되고 있다. 대표적으로 ω -yeast를 이용한 *Tigriopus* (Park et al., 1998), *Tisbe* (Støttrup and Norsker, 1997), *Amphiascoides* (Sun and Fleeger, 1995)와 같은 부착성 harpacticoid 요각류와 *Acartia* (Knuckey et al., 2005), *Gladioferens* (Payne and Rippingale, 2000), *Oithona* (Hernández Molejón and Alvarez-Lajonchère, 2003), *Paracyclops* (Lee et al., 2006) 등의 부유성 요각류가 대량배양과 먹이효율의 관점에서 주로 연구된 바 있다.

요각류의 성장과 성 결정은 먹이의 종류와 농도에 따라 다르다 (Nagaraj, 1992). 그리고 요각류의 빠른 성장과 최대 생산력을 유도하기 위해서는 EPA와 DHA와 같은 n-3 HUFA는 필수적인 영양소로 알려져 있다 (Støttrup and Jensen, 1990; Koski et al., 1999; Lacoste et al., 2001). 따라서 요각류의 대량배양을 위해서는 양질의 영양소를 함유한 먹이생물의 양적 확보가 중요하다.

*Paracyclops nana*는 우리나라의 기수지역에서 흔히 출현하는 부유성 요각류로서 *Artemia* nauplius의 대체원으로써 충분한 잠재성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Lee et al., 2006).

본 연구에서는 기수산 cyclopoid 요각류인 *P. nana*의 대량배양을 위한 먹이생물로 가장 적합한 미세조류를 선별하기 위하여 15종의 미세조류를 먹여 기른 *P. nana*의 생산력, 성장 및 지방산 조성의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

*P. nana*는 강원도 기수호인 송지호에서 100 μ m 망목의 plankton net로 채집하였다. 모세유리관으로 암컷 1마리를 분리한 후 500 mL 비이커를 이용하여 수온 20°C, 염분 15 psu에

*Corresponding author: hurs@pknu.ac.kr

서 먹이로는 *T. suecica*를 *P. nana* nauplius 단계에서는 1개체당 2×10^4 cells, 그 이후 성체 단계까지는 5×10^4 cells를 1일 1회 공급하였다.

*P. nana*의 nauplius 생산은 20 L 아크릴 원형 용기에 배양된 성체를 수용하여 매일 $120 \mu\text{m}$ 와 $40 \mu\text{m}$ 망목을 이용하여 nauplius만 수거한 후 다시 20 L 용기에서 성체까지 배양하였다. Nauplius 생산시 수온은 28°C 로, 성체까지 성숙시킬 때에는 20°C 로 유지하였고 염분 15 psu, 조도 $2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 광주기 12L:12D하에서 배양하였다.

미세조류의 배양

실험에 사용한 모든 미세조류는 부경대학교 양식학과 한국 해양미세조류은행에서 크기, 모양, 채집지역 및 영양성분 등의 관점에서 요각류의 먹이생물로서 이용 가능하다고 판단되는 1종의 담녹조류 (*T. suecica*), 6종의 규조류 (*Thalassiosira conferta*, *T. weissflogii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Nitzschia* sp., *Skeletonema costatum*, *Navicula* sp.), 2종의 착편모조류 (*Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*), 2종의 녹조류 (*Dunaliella tertiolecta*, *Chloromonas* sp.), 3종의 와편모조류 (*Heterocapsa triquetra*, *Prorocentrum minimum*, *Scrippsiella trichodea*)와 1종의 홍조류 (*Rhodomonas salina*), 총 15종을 분양받아 사용하였다.

미세조류의 배양은 f/2 배지 (Guillard and Ryther, 1962)를 사용하였으며, 수온은 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 이었고 조도는 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 연속 조명하여 20 L 아크릴 원형 용기에 배양하였다.

*P. nana*의 배양을 위한 미세조류 선별

*P. nana*의 배양에 적합한 미세조류를 선별하기 위하여 6 mL 12-cell chamber (배양수 5 mL)에 갓 포란한 암컷 1마리씩 접종하여 수온 28°C , 염분 15 psu, 조도 $2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 광주기 12L:12D 하에서 15종의 미세조류를 각각 공급하면서 20일 동안 배양하였다. 먹이를 공급하지 않은 실험구를 대조구로 하였다.

모든 실험은 6회 반복하였다. 매일 스포이드를 사용하여 cell chamber에서 암컷만 남기고 생산된 nauplius를 배양수와 함께 뽑아 입체현미경하에서 계수하였고, 새로운 배양수를 cell chamber에 공급하여 전량 환수하였다. 먹이 공급은 앞의 배양실험에서 공급했던 *T. suecica*의 농도를 기준으로 각종 모두 색깔이 나타날 정도로 충분히 공급하였다.

먹이에 따른 암컷의 생존기간과 nauplius 생산력을 조사하였다. 또 생산된 nauplius를 개체별로 성숙시켜서 nauplius가 성체로 되는 성숙기간을 12회 반복 조사하였다.

선별된 미세조류를 공급한 *P. nana*의 성장

앞의 실험에서 nauplius 생산이 높았던 4종의 미세조류 (*T. suecica*, *I. galbana*, *P. tricornutum*, *D. tertiolecta*)를 선별하여 단독 먹이 또는 혼합 먹이로 공급하였다. 500 mL 비이커 (배양수 400 mL)에 부화 후 24시간이 지나지 않은 *P. nana*의 nauplius I-II기를 10 inds./mL로 접종하여 14일 동안 온도 28°C ,

염분 15 psu, 조도 $2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 광주기 12L:12D하에서 배양하였다. 먹이의 밀도는 *P. nana*가 1 ind./mL 일 때 *T. suecica* 공급량 (2×10^4 cells/mL)을 기준으로 4종류 미세조류의 세포 용적 비율에 따라 1:10:7:1.5 (TET:ISO:PHA:DUN)로 하여 1일 1회 단독 공급하였다. 또 미세조류의 혼합 공급구는 *T. suecica* + *I. galbana* (TET+ISO), *T. suecica* + *P. tricornutum* (TET+PHA), *T. suecica* + *D. tertiolecta* (TET+DUN), *I. galbana* + *D. tertiolecta* (ISO+DUN), *P. tricornutum* + *D. tertiolecta* (PHA+DUN)와 *P. tricornutum* + *I. galbana* (PHA+ISO)로 구분하였다. 배양수는 3일 1회 전량 환수하였다. *P. nana*의 계수는 배양수를 잘 저은 후 1 mL를 마이크로 피펫으로 Sedgwick-Rafter chamber에 옮긴 후 10% 포르말린 용액을 넣어 고정한다. 다음 nauplius, copepodid, adult 단계로 구분하여 실시하였다. *P. nana*의 성장률 (specific growth rate, SGR)은 Rico-Martinez and Dodson (1992)의 식으로 계산하였다 [SGR = $(1/T) \ln(N_T/N_0)$ (T=접종 이후 *P. nana*가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수; N_T =T days의 밀도; N_0 =접종밀도)].

지방산 분석

선택된 4종의 미세조류를 앞에서와 같은 방법으로 대량배양한 후 대수기에 원심분리기로 수거하여 2반복 분석하였다. 이들을 먹이로 배양한 *P. nana*는 $40 \mu\text{m}$ 망목으로 각각 수거하여 1회 분석하였다. 이들 시료는 지방산 분석 전까지 -80°C 에 냉동 보관하였다.

지방산 분석은 15 mL test tube에 일정량의 시료 (20 mg 이상)를 수용한 후 10% BF_3 -methanol 2 mL로 첨가하고 질소로 충전한 다음 85°C 에서 1시간 30분간 가열하여 methyl ester화하였다 (Morrison and Smith, 1964; Budge, 1999). 시료는 약 30 - 40°C 로 냉각한 후 물과 hexane을 첨가하여 지방산을 분리 추출하였다. 추출된 지방산은 HP autosampler가 설치된 HP GC 6,890 plus (Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다. 지방산 분석에 사용된 GLC는 DB-225 (20 m \times 0.1 mm, i.d., 0.1 μm film thickness, J&W Scientific, Agilent Technologies, USA)를 이용하였다. 분석 조건은 column 온도 60 - 195°C ($25^\circ\text{C}/\text{min}$), 195 - 205°C ($3^\circ\text{C}/\text{min}$) 그리고 205 - 230°C ($8^\circ\text{C}/\text{min}$)의 승온 조건으로 injector 온도 250°C , detector 온도 250°C 그리고 carrier gas는 He (60 cm/sec)을 사용하였다. 지방산의 분석은 동일조건에서 분석한 standard (PUFA 1, 10 및 37 component FAME Mix, Supelco, Ontario, Canada)를 이용하여 동정하였다.

통계처리

결과는 one-way ANOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)를 실시하여 평균 간의 유의성 ($P < 0.05$)을 SPSS program (Ver. 10.1)으로 검정하였다.

결 과

먹이종류에 따른 *Paracyclopina nana*의 생산력

15종류의 미세조류에 따른 *P. nana* 암컷이 생산한 총

nauplius 생산력은 Table 1과 같다. *T. suecica*와 *I. galbana* 공급구에서 암컷 1마리가 생산한 총 nauplius는 각각 75.8개체와 70.1개체로 가장 높았다. *D. tertiolecta* 공급구는 65.7개체로 *I. galbana* 공급구와 차이를 보이지 않았으나 *T. suecica*보다는 유의하게 낮았다. 또 *P. tricorutum*는 61.7개체로 *D. tertiolecta*와는 유의한 차이가 없었으나 *T. suecica*와 *I. galbana*보다는 유의하게 낮았다 ($P < 0.05$). *H. triquetra*와 *R. salina*를 공급한 실험구는 25-26개체로 다른 먹이 공급 실험구에 비해 생산력이 가장 낮았다.

규조류 중 *Nisachia* sp.와 *T. conferta*는 52.7개체와 47.8개체로 비교적 높았으나 그 외 규조류는 30-35개체로 낮았다. 전체적으로 와편모조류와 홍조류는 낮은 생산력을 보였다. 포란한 암컷의 생존기간은 9.8 (*T. weissflogii*) - 11.2일 (*H. triquetra*)로 먹이에 따라서 큰 차이를 보이지는 않았다. Nauplius가 성체로 되기까지의 성숙기간은 *T. suecica* 공급구가 8.5일로 *I. galbana*와 *P. tricorutum*과는 차이가 없었으나 *D. tertiolecta* (9.8일) 보다는 유의하게 짧았다. 그러나 그 외 종류에서는 nauplius가 copepodid 단계로 성장하지 못하고 폐사하였다. 일일 생산력은 *T. suecica*와 *I. galbana* 공급구가 6.9개체와 6.5개체로 가장 높았고 전체적인 결과는 총 nauplius 생산력의 결과와 유사했다.

단독 및 혼합 먹이 공급에 따른 *P. nana*의 성장

T. suecica, *I. galbana*, *P. tricorutum*과 *D. tertiolecta*를 단독으로 공급한 *P. nana* nauplius의 최대 밀도는 *T. suecica* 공급구에서 배양 12일째 51.3 inds./mL로 가장 높았고, 다음으로 *I. galbana* 공급구가 배양 13일째 50.7 inds./mL의 밀도를 보였다. *P. tricorutum* 공급구는 배양 13일째 25.0 inds./mL로 가장 낮았다. Copepodid의 밀도는 *T. suecica* 공급구에서 배양 14일

째 11.3 inds./mL로 가장 높게 나타났으며, *P. tricorutum* 공급구는 배양 14일째 5.7 inds./mL로 가장 낮았다. 성체의 밀도에 서도 *T. suecica* 공급구에서 배양 13일째 9.3 inds./mL로 가장 높았고, *P. tricorutum* 공급구는 배양 13일째 6.7 inds./mL로 가장 낮았다.

*P. nana*의 전체 밀도는 *T. suecica* 공급구에서 배양 12일째 61.7 inds./mL, *I. galbana* 공급구에서 배양 13일째 63.3 inds./mL로 서로 비슷한 결과를 보였다. 그리고 *P. tricorutum* 공급구는 배양 13일째 35.0 inds./mL로 가장 낮았다 (Fig. 1). *P. nana*의 총개체수를 대상으로 한 먹이별 일일 성장률 (SGR)은 *T. suecica*, *I. galbana*, *D. tertiolecta* 공급구에서 0.145-0.147 사이로 서로 차이를 보이지 않았으나, *P. tricorutum* 공급구는 0.098로 가장 낮았다 ($P < 0.05$, Fig. 2).

*P. nana*의 nauplius에 *T. suecica*, *I. galbana*, *P. tricorutum*과 *D. tertiolecta*를 2종류씩 혼합 공급한 경우, nauplius의 밀도는 *T. suecica*+*I. galbana* 공급구에서 배양 12일째 52.7 inds./mL로 가장 높았고, 다음으로 *I. galbana*+*D. tertiolecta* 및 *T. suecica*+*D. tertiolecta* 공급구가 배양 12일째 각각 41.7 inds./mL와 40.3 inds./mL로 나타났다. 그리고 *P. tricorutum*+*I. galbana*, *P. tricorutum*+*D. tertiolecta* 및 *T. suecica*+*P. tricorutum* 공급구에서는 20.3-32.7 inds./mL로 낮았다. Copepodid의 최고 밀도는 *T. suecica*+*I. galbana* 공급구에서 배양 14일째 10.3 inds./mL로 가장 높았으며, 다음으로 *I. galbana*+*D. tertiolecta* 공급구에서 9.0 inds./mL이었다. *P. tricorutum*+*I. galbana* 공급구는 배양 14일째 4.3 inds./mL로 가장 낮았다. 성체의 밀도에서도 *T. suecica*+*I. galbana* 공급구에서 배양 10일째 7.7 inds./mL로 가장 높았고, *P. tricorutum*+*I. galbana* 공급구에서는 4.0 inds./mL로 가장 낮았다.

*P. nana*의 전체 밀도는 *T. suecica*+*I. galbana* 공급구에서

Table 1. Nauplius production of *Paracyclopina nana* fed different microalgal diet

Species	Microalgae		Total nauplius production (inds./female)	Daily nauplius production (inds./day)	Survival days of brood female	Days for female maturation
	KMCC Strain No.					
<i>Thalassiosira conferta</i>	B-022		47.8 ± 2.62 ^d	4.7 ± 0.25 ^d	10.3 ± 0.89 ^{abcde}	-
<i>T. weissflogii</i>	B-369		30.3 ± 3.89 ^{gh}	3.1 ± 0.46 ^{ef}	9.8 ± 0.72 ^e	-
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	B-045		61.7 ± 4.75 ^c	6.2 ± 0.59 ^b	9.9 ± 0.67 ^{de}	9.3 ± 0.87 ^{ab}
<i>Nitzschia</i> sp.	B-129		52.7 ± 5.00 ^d	5.3 ± 0.71 ^c	10.1 ± 0.79 ^{cde}	-
<i>Skeletonema costatum</i>	B-291		35.3 ± 3.20 ^{ef}	3.5 ± 0.45 ^e	10.2 ± 0.94 ^{bcdde}	-
<i>Navicula</i> sp.	B-394		34.0 ± 3.30 ^{efg}	3.3 ± 0.34 ^{ef}	10.3 ± 0.97 ^{bcdde}	-
<i>Isochrysis galbana</i>	H-002		70.1 ± 7.37 ^{ab}	6.5 ± 0.93 ^{ab}	10.8 ± 1.03 ^{abc}	9.0 ± 0.85 ^{ab}
<i>Pavlova lutheri</i>	H-003		37.7 ± 5.48 ^e	3.6 ± 0.55 ^e	10.4 ± 0.90 ^{abcde}	-
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	C-009		65.7 ± 6.79 ^{bc}	6.3 ± 0.81 ^b	10.6 ± 1.00 ^{abcde}	9.8 ± 1.48 ^a
<i>Chloromonas</i> sp.	C-043		35.3 ± 5.56 ^{efg}	3.3 ± 0.54 ^{ef}	10.7 ± 0.98 ^{abcde}	-
<i>Tetraselmis suecica</i>	P-009		75.8 ± 4.51 ^a	6.9 ± 0.63 ^a	11.0 ± 0.95 ^{ab}	8.5 ± 0.80 ^b
<i>Heterocapsa triquetra</i>	D-009		26.2 ± 5.72 ^{hi}	2.4 ± 0.55 ^g	11.2 ± 0.94 ^a	-
<i>Prorocentrum minimum</i>	D-031		38.3 ± 6.30 ^e	3.5 ± 0.72 ^e	11.0 ± 0.95 ^{ab}	-
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	D-045		29.4 ± 6.87 ^{gh}	2.8 ± 0.69 ^g	10.8 ± 0.87 ^{abcd}	-
<i>Rhodomonas salina</i>	CR-001		25.2 ± 6.56 ^{hi}	2.4 ± 0.61 ^g	10.6 ± 1.08 ^{abcde}	-
Control			22.4 ± 8.05 ⁱ	3.1 ± 1.23 ^{ef}	7.5 ± 0.90 ^f	-

Values in the same column not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

-: nauplius dead before maturation.

KMCC: Korea Marine Microalgae Culture Center.

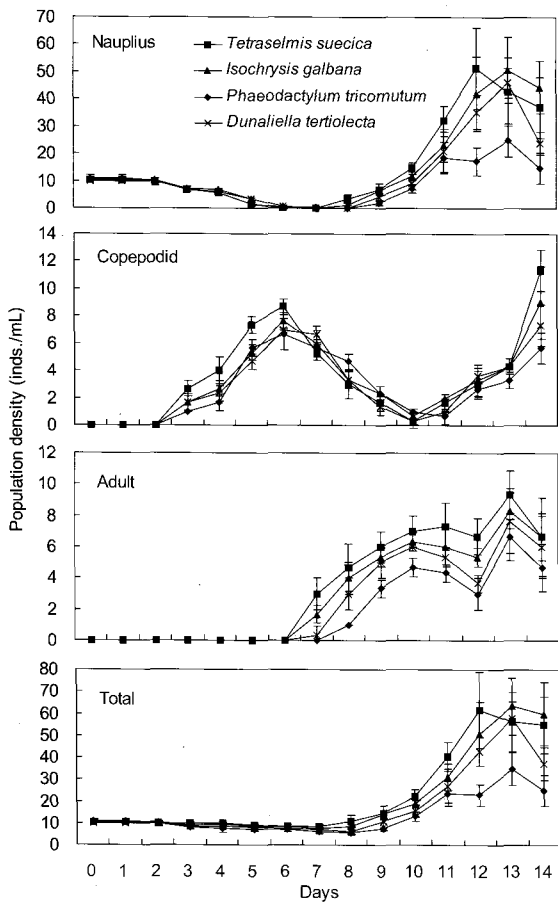


Fig. 1. Population growth of *Paracyclopsina nana* by growth stage, which fed monospecific microalgal diet.

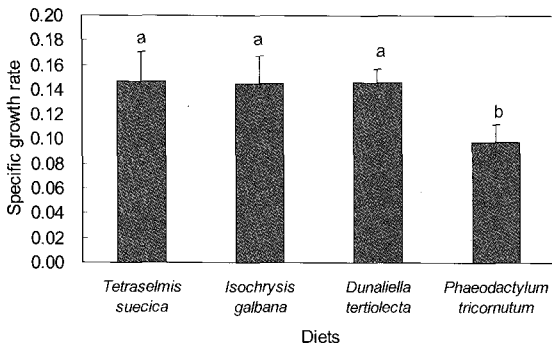


Fig. 2. Specific growth rate of *Paracyclopsina nana* fed monospecific microalgal diet. Different letter on the bar means significant difference at the level of 5%.

배양 12일째 63.7 inds./mL로 가장 높았으며, 다음으로는 *I. galbana*+*D. tertiolecta* 및 *T. suecica*+*D. tertiolecta* 공급구가 배양 12일째 각각 51.0 inds./mL와 48.0 inds./mL이었다. *P. tricornutum*+*D. tertiolecta* 공급구에서는 배양 13일째 34.4 inds./mL이었고, *P. tricornutum*+*I. galbana* 공급구에서는 배양 13일째 25.0 inds./mL로 가장 낮았다 (Fig. 3).

*P. nana*의 총개체수를 대상으로 한 일일 성장률 (SGR)은

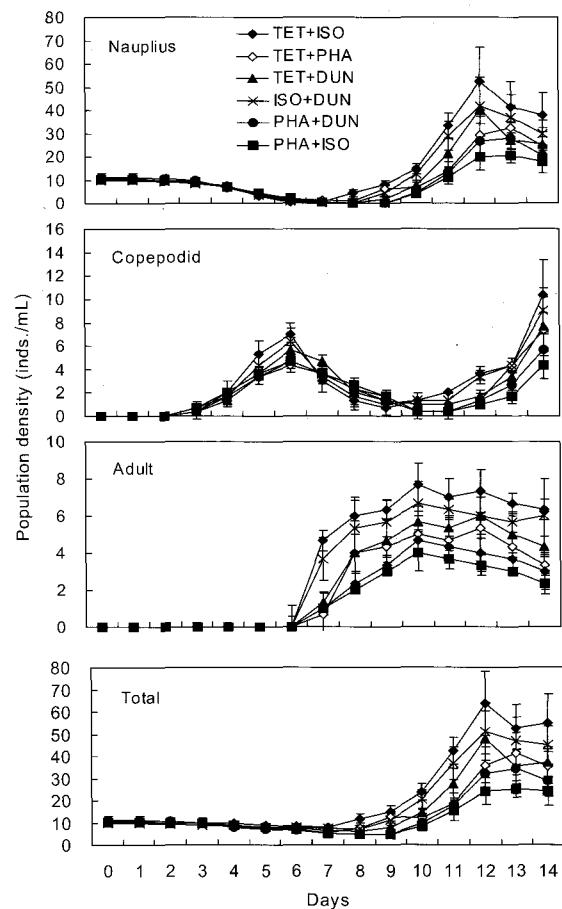


Fig. 3. Population growth of *Paracyclopsina nana* by growth stage, which fed mixed microalgal diet (TET, *Tetraselmis suecica*; ISO, *Isochrysis galbana*; PHA, *Phaeodactylum tricornutum*; DUN, *Dunaliella tertiolecta*).

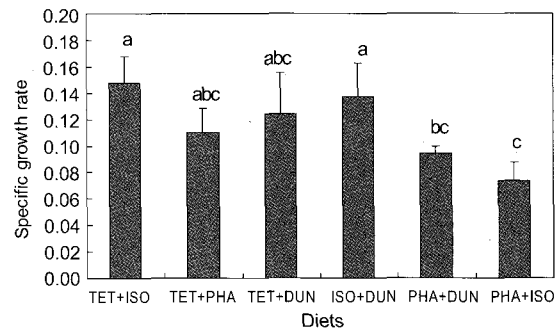


Fig. 4. Specific growth rate of *Paracyclopsina nana* fed mixed microalgal diet (TET, *Tetraselmis suecica*; ISO, *Isochrysis galbana*; PHA, *Phaeodactylum tricornutum*; DUN, *Dunaliella tertiolecta*). Different letter on the bar means significant difference at the level of 5%.

T. suecica+*I. galbana* 혼합 공급구에서 0.147로 높았으나, *T. suecica*+*P. tricornutum*, *T. suecica*+*D. tertiolecta* 및 *I. galbana*+*D. tertiolecta* 공급구와는 유의한 차이를 보이지 않았다. *P. tricornutum*+*I. galbana* 공급구에서는 0.074로 가장 낮았다

(Fig. 4).

미세조류의 지방산 조성

*P. nana*의 먹이생물로서 공급된 미세조류 4종에 대한 지방산 조성은 Table 2와 같다. 포화지방산 가운데 대표적인 지방산은 4종 미세조류에서 palmitic acid (16:0)였다. Palmitic acid 함량은 *D. tertiolecta*에서 28.6%로 *T. suecica*의 24.3%보다 높게 나타났으며 ($P<0.05$), 다음으로 *I. galbana*의 21.9%, *P. tricornutum*의 18.4% 순이었다. Stearic acid (18:0) 함량은 *D. tertiolecta*에서만 0.3%로 낮았다. 단순불포화지방산 가운데 oleic acid (18:1n-9) 함량은 *D. tertiolecta*에서 28.3%로 가장 높았고, *I. galbana*의 27.5%와는 유의한 차이를 보이지 않았다. 다불포화지방산 가운데 대표적인 지방산은 α -linolenic acid (18:3n-3)였다. 이 지방산의 함량은 다른 미세조류보다 *T. suecica*에서 23.3%로 높았고 ($P<0.05$), 다음으로 *D. tertiolecta*의 13.1%, *I. galbana*의 8.4% 순으로 나타났다. Linoleic acid (18:2n-6) 함량은 다른 미세조류보다 *T. suecica*에서 12.1%로 높았다 ($P<0.05$).

Arachidonic acid (20:4n-6, AA) 함량은 *P. tricornutum*에서 2.1%로 *T. suecica*의 1.2%보다 높았고 ($P<0.05$), *I. galbana*에서는 거의 나타나지 않았다. Eicosapentaenoic acid (20:5n-3, EPA) 함량은 *P. tricornutum*에서 11.6%로 가장 높았으며 ($P<0.05$), *I. galbana*에서는 0.3%로 가장 낮았다. 그리고 docosahexaenoic acid (22:6n-3, DHA) 함량은 *I. galbana*에서만 10.9%로 나타났

다. 포화지방산 (saturated fatty acids)의 총합량은 *I. galbana*에서 40.6%로 *D. tertiolecta*의 29.7%보다 높았고, *T. suecica*와 *P. tricornutum*는 25%로 가장 낮았다 ($P<0.05$). 단순불포화지방산 (monounsaturated fatty acids) 함량은 *P. tricornutum*에서 57.8%로 *D. tertiolecta*의 46.9%보다 높았고, *T. suecica*와 *I. galbana*에서 34-35%로 가장 낮았다 ($P<0.05$). 다불포화지방산 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 함량은 *T. suecica*에서 40.0%로 *I. galbana*의 24.1%보다 높았고, *P. tricornutum*에서 16.6%로 가장 낮았다 ($P<0.05$). n-3 고도불포화지방산 (HUFA) 함량은 *P. tricornutum*에서 11.6%로 가장 높았으나, *I. galbana*의 11.4%와는 차이를 보이지 않았다 ($P<0.05$). *D. tertiolecta*와 *T. suecica*는 각각 2.4%와 3.4%로 *P. tricornutum*이나 *I. galbana*보다 낮았다 ($P<0.05$).

미세조류를 섭취한 *P. nana*의 지방산 조성

각 미세조류를 섭취한 *P. nana*의 지방산 조성은 Table 3과 같다. 대표적인 포화지방산인 palmitic acid 함량은 *P. tricornutum* 공급구에서 29.3%로 높았고, *T. suecica* 공급구에서 23.8%로 낮았다. 그리고 stearic acid 함량은 *D. tertiolecta* 공급구에서 26.6%로 높았고, *P. tricornutum* 공급구에서 17.8%로 낮았다. 단순불포화지방산인 oleic acid와 다불포화지방산인 linoleic acid 및 α -linolenic acid 함량은 *T. suecica* 공급구에서 각각 5.8%, 5.8%, 8.7%로 가장 높았다. EPA 함량은 *P. tricornutum* 공급구에서 6.3%로, DHA 함량은 *I. galbana* 공급

Table 2. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of four microalgal species

Fatty acid	<i>Tetraselmis suecica</i>	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
11:0	0.4 ± 0.03 ^a	0.1 ± 0.05 ^a	0.2 ± 0.02 ^a	-
14:0	0.4 ± 0.01 ^c	17.8 ± 0.25 ^a	0.6 ± 0.04 ^c	3.5 ± 0.03 ^b
14:1	1.2 ± 0.07	-	-	-
15:0	-	0.9 ± 0.09	-	-
16:0	24.3 ± 1.46 ^b	21.9 ± 0.08 ^c	28.6 ± 0.13 ^a	18.4 ± 0.16 ^d
16:1	2.1 ± 0.11 ^d	7.9 ± 0.22 ^b	6.5 ± 0.09 ^c	52.2 ± 1.90 ^a
17:0	-	-	-	3.1 ± 0.18
17:1	16.7 ± 0.69 ^a	-	11.7 ± 0.12 ^a	-
18:0	-	-	0.3 ± 0.03	-
18:1n-9	13.9 ± 0.71 ^b	27.5 ± 0.40 ^a	28.3 ± 0.11 ^a	5.5 ± 0.29 ^c
18:2n-6	12.1 ± 0.50 ^a	4.4 ± 0.47 ^c	7.4 ± 0.18 ^b	1.0 ± 0.05 ^d
18:3n-3	23.3 ± 0.11 ^a	8.4 ± 0.06 ^c	13.1 ± 0.16 ^b	1.9 ± 0.15 ^d
20:0	0.3 ± 0.14	-	-	-
20:1	0.8 ± 0.58 ^a	-	0.4 ± 0.08 ^a	-
20:4n-6(AA)	1.2 ± 0.18 ^b	-	0.5 ± 0.02 ^c	2.1 ± 0.06 ^a
20:5n-3(EPA)	3.4 ± 1.69 ^b	0.3 ± 0.30 ^c	2.4 ± 0.12 ^{bc}	11.6 ± 1.04 ^a
22:6n-3(DHA)	-	10.9 ± 0.01	-	-
24:0	-	-	-	0.7 ± 0.40
Saturated FA	25.4 ± 1.63 ^c	40.6 ± 0.07 ^a	29.7 ± 0.00 ^b	25.7 ± 0.71 ^c
Mono FA	34.8 ± 0.64 ^c	35.3 ± 0.57 ^c	46.9 ± 0.00 ^b	57.8 ± 1.63 ^a
Poly FA	40.0 ± 2.33 ^a	24.1 ± 0.57 ^b	23.4 ± 0.14 ^b	16.6 ± 0.85 ^c
n-3 HUFA	3.4 ± 1.70 ^b	11.4 ± 0.07 ^a	2.4 ± 0.14 ^b	11.6 ± 0.99 ^a
n-6 HUFA	13.3 ± 0.71 ^a	4.4 ± 0.50 ^c	7.9 ± 0.14 ^b	3.1 ± 0.00 ^d
n-9 HUFA	13.9 ± 0.71 ^b	27.4 ± 0.28 ^a	28.3 ± 0.07 ^a	5.5 ± 0.28 ^c
DHA/EPA	-	25.1 ± 2.62	-	-
EPA/AA	2.7 ± 0.99 ^b	-	5.1 ± 0.42 ^a	5.7 ± 0.35 ^a
n-6/n-9	1.0 ± 0.07 ^a	0.2 ± 0.07 ^c	0.3 ± 0.00 ^c	0.6 ± 0.07 ^b

Values in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$).

-: trace amount ($\leq 0.01\%$ fatty acid).

구에서 31.9%로, AA 함량은 *T. suecica* 공급구에서 3.8%로 가장 높았다.

포화지방산 함량은 *D. tertiolecta* 공급구에서 75.1%로 높았고, *T. suecica* 공급구는 45.1%로 낮게 나타났다. 그러나 단순불포화지방산과 다불포화지방산 함량은 *T. suecica* 공급구에서 각각 5.8%와 49.0%로 가장 높았다. n-3 HUFA 함량은 *T. suecica* 공급구에서 38.4%로 가장 높았고, *D. tertiolecta* 공급구가 22.5%로 가장 낮았다. DHA/EPA 비율은 *I. galbana* 공급구에서 51.9%로 가장 높았고, *P. tricornutum* 공급구가 3.9%로 가장 낮았다 (Table 3).

고 찰

일반적으로 온도는 요각류의 성장에 영향을 미칠 수 있으며 (Kimoto et al., 1986ab; Riccardi and Mariotto, 2000), 염분은 크기의 결정에 중요한 영향을 미친다 (McLaren and Corkett, 1981). Chung (2001)과 Lee (2004)는 *P. nana* 암컷의 nauplius 생산력은 수온에 따라서 큰 차이가 나타나지 않으나, 수온이 낮을수록 생존기간은 길며 수온이 높을수록 성숙기간은 단축되므로 대량배양시 수온을 28-32℃로 높이는 것이 효과적이라고 보고하였다. 염분의 경우도, 30 psu에서는 암컷이 생산한 총 nauplius 생산력이 낮고 성체 암컷의 성숙기간이 길어지므로, 대량배양시 10-20 psu로 배양하는 것이 안정적이라고 보고하였다.

Payne and Rippingale (2000)은 수온과 먹이에 따른 *Gladioferens imparipes*의 nauplius 생산 및 성숙률은 온도보다 먹이에 의해 영향을 더 받는다고 보고하였다. 본 연구에서는 15종의 미세조류를 공급하여 포란한 *P. nana* 암컷의 총 nauplius 생산력은 *T. suecica* 공급구가 다른 먹이 공급구보다 높게 나타났으며 ($P < 0.05$), 일일 nauplius 생산력에서도 같은 결과를 보였다. 일반적으로 다른 요각류의 경우는 주로 규조류나 와편모조류를 섭취하는 것으로 알려져 있다 (Dam, 1986; Tirelli and Mayzaud, 1998; Lacoste et al., 2001). 그러나 본 연구에서는 *P. tricornutum*을 제외한 규조류 또는 와편모조류 등을 먹은 *P. nana*가 copepodid 단계로 성장하지 못하였고, nauplius 생산력이 낮았다.

Lee et al. (2006)은 단독으로 공급한 먹이보다는 *T. suecica* + *I. galbana*의 공급구에서 *P. nana*의 밀도가 가장 높았다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 *T. suecica* + *I. galbana* 공급구는 *I. galbana* 또는 *T. suecica* 단일 공급구와 비교하여 nauplius, 성체 및 총개체 밀도에서 차이가 없었다.

일반적으로 요각류의 번식은 먹이의 영양 조성에 달려있으며, 특히 EPA와 DHA와 같은 n-3 HUFA가 생산력과 알의 발달에 중요하게 작용한다 (Lacoste et al., 2001). 일반적으로 규조류는 높은 EPA 함량을 보이는데, 본 연구에서도 *P. tricornutum*의 EPA는 11.6%로 *T. suecica*의 3.4%보다 더 높았다. 또 *I. galbana*는 0.3%로 가장 낮았다 ($P < 0.05$). 그리고 DHA

Table 3. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of *Paracyclopsina nana* fed different microalgal species

Fatty acid	<i>Tetraselmis suecica</i>	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
6:0	-	-	-	-
8:0	-	-	-	0.3
10:0	-	-	-	0.6
14:0	0.6	7.5	8.5	5.8
15:0	-	0.2	2.9	0.1
16:0	23.8	27.0	27.9	29.3
17:0	1.0	5.7	8.1	1.1
18:0	19.1	25.7	26.6	17.8
18:1n-9	5.8	0.7	1.7	5.4
18:2n-6	5.8	0.1	0.3	-
18:3n-3	8.7	0.1	0.9	7.2
20:1	0.1	-	-	0.1
20:3n-6	1.1	0.3	0.1	0.9
20:4n-6 (AA)	3.8	0.1	0.4	0.1
21:0	0.3	-	0.4	0.3
20:5n-3 (EPA)	5.4	0.6	1.8	6.3
23:0	0.2	-	0.7	0.2
22:6n-3 (DHA)	24.3	31.9	19.8	24.4
24:0	0.1	-	-	0.1
Saturated FA	45.1	66.2	75.1	55.7
Mono FA	5.8	0.7	1.7	5.5
Poly FA	49.0	33.1	23.2	38.8
n-3 HUFA	38.4	32.6	22.5	37.8
n-6 HUFA	10.7	0.5	0.7	1.0
n-9 HUFA	5.8	0.7	1.7	5.4
DHA/EPA	4.5	51.9	10.8	3.9
EPA/AA	1.4	6.4	5.3	107.7
n-6/n-9	1.8	0.7	0.4	0.2

-: trace amount ($\leq 0.01\%$ fatty acid).

함량은 *I. galbana*에서 10.9%로 나타났으며 다른 종에서는 나타나지 않았다.

본 연구에서 *T. suecica*를 공급한 *P. nana*는 *I. galbana*를 공급한 것에 비해 EPA 함량이 더 높았으나 DHA는 더 낮았다. 또 *P. tricorutum*을 공급한 *P. nana*는 EPA와 DHA가 각각 6.5%, 24.4%로 *T. suecica* 공급구와 비슷한 경향이였다. 이들 3종류 먹이를 각각 공급한 *P. nana*는 n-3 HUFA의 함량이 32.6-38.4%로 큰 차이를 보이지는 않았으나, 다불포화지방산 함량은 *T. suecica* 공급구에서 49.0%로 다른 두 실험구보다 월등히 높았다. *P. nana*의 성장 실험에서 *T. suecica*와 *I. galbana* 공급구는 서로 비슷한 성장을 보이거나 전체적으로 보아 nauplius와 copepodid 단계에서는 *T. suecica* 공급구가 *I. galbana*보다 성장 속도가 다소 빠른 것으로 보인다. 그러나 총생산량이 *T. suecica* 공급구에서 더 높았던 점을 볼 때 *P. nana*의 대량배양에는 n-3 HUFA와 다불포화지방산 함량이 높은 *T. suecica*를 공급하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

DHA/EPA 비는 요각류의 생산력에 영향을 미칠 수 있으며 (Støttrup and Jensen, 1990), 특히 calanoid 요각류에 있어 알 생산율을 최대로 높이기 위해 DHA/EPA 비는 n-3 HUFA 함량보다 더 중요하다고 보고 된 바 있다 (Payne and Rippingale, 2000). 그러나 본 연구에서 DHA/EPA 비는 *I. galbana* 공급구에서 51.9로 *T. suecica*에서 4.5보다 높았으나, 생산력에서는 큰 차이를 보이지 않았던 점을 볼 때 *P. nana*의 생산력은 DHA/EPA 비보다는 먹이내의 n-3 HUFA와 다불포화지방산 함량과 더 관련이 있는 것으로 판단된다.

Lourenço et al. (1997)과 Renaud et al. (1999)은 *Tetraselmis* 속은 적은 양의 EPA와 DHA를 보유하며, 특히 *T. gracilis*는 EPA 함량이 낮을 뿐 아니라 DHA는 없다고 보고하였다. 대부분의 요각류는 linolenic acid (18:3n-3)로부터 EPA와 DHA를 합성할 수 있는 것으로 알려져 있다 (Norsker and Støttrup, 1994; Klein Breteler et al., 1999; Lacoste et al., 2001). 본 연구 결과에서도 *T. suecica*를 섭취한 *P. nana*의 DHA 함량이 24.3%로 *I. galbana* 실험구의 31.9%보다 낮았다. 그러나 *T. suecica* 자체의 DHA 함량이 거의 없었기 때문에 이는 *P. nana*가 18:3n-3으로부터 DHA를 합성했기 때문으로 해석할 수 있다. 따라서 *I. galbana*와 *T. suecica*는 모두 *P. nana*의 배양에 적합한 먹이로 판단되지만 대량배양이 까다로운 *I. galbana*보다는 대량배양이 용이하고 linolenic acid의 함량이 높은 *T. suecica*가 *P. nana*의 대량배양에 더 적합한 먹이생물일 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 해양수산부에서 시행한 2000년도 수산특정연구 개발사업과제에 의해 수행된 연구결과이며 연구비를 지원해 주신 해양수산부에 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

Budge, S.M. 1999. Fatty acid biomarkers in a cold water

marine environment. Ph.D. Thesis, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canada, 1-197.

Chung, J.H. 2001. Culture of copepods for use as a live food of marine fish larvae. MS Thesis, Kangnung National University, Gangneung, 1-58.

Dam, H.G. 1986. Short-term feeding of *Termora longicornis* Müller in the laboratory and field. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 99, 149-161.

Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics, 11, 1-42.

Gapasin, R.S.J. and M.N. Duray. 2001. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*). Aquaculture, 193, 49-63.

Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleece) Gran. Can. J. Microbiol., 3, 229-239.

Hernández Molejón, O.G. and L. Alvarez-Lajonchère. 2003. Culture experiments *Oithona oculata* Farran (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. Aquaculture, 219, 471-483.

Kimoto, K., S. Uye and T. Onbé. 1986a. Growth characteristics of a brackish-water calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* in relation to temperature and salinity. Bull. Plankton Soc. Jap., 33, 43-57.

Kimoto, K., S. Uye and T. Onbé. 1986b. Egg production of a brackish-water calanoid copepod *Sinocalanus tenellus* in relation to food abundance and temperature. Bull. Plankton Soc. Jap., 33, 133-145.

Klein Breteler, W.C.M., N. Schogt, M. Bass, S. Schouten and G.W. Kraay. 1999. Trophic upgrading of food quality by protozoans enhancing copepod growth: role of essential lipids. Mar. Biol., 135, 191-198.

Knuckey, R.M., G.L. Semmens, R.J. Mayer and M.A. Rimmer. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. Aquaculture, 249, 339-351.

Koski, M., M. Rosenberg, M. Viitasalo, S. Tanskanen and U. Sjölund. 1999. Is *Prymnesium patelliferum* toxic for copepods? - Grazing, egg production, and egestion of the calanoid copepod *Eurytemora affinis* in mixtures of good and bad food. ICES J. Mar. Sci., 56 (Suppl.), 131-139.

Kuroshima, R., M. Sato, R. Yoshinaka and S. Ikeda. 1987. Nutritional quality of the wild zooplankton as a living

- feed for fish larvae. Suisanzoshoku, 35, 113-117.
- Lacoste, A., S.P. Poulet, A. Cueff, G.K. Kattner, A. Ianora and M. Laabir. 2001. New evidence of the copepod maternal food effect on reproduction. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 259, 85-107.
- Lee, K.W. 2004. Mass culture and food value of the cyclopoid copepod *Paracyclopsina nana* Smirnov. Ph.D. Thesis, Kangnung National University, Korea, 1-124.
- Lee, K.W., H.G. Park, S.M. Lee and H.K. Kang. 2006. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclopsina nana* Smirnov. Aquaculture, 256, 346-353.
- Lourenço, S.O., U.M.L. Marquez, J. Mancini-Filho, E. Barbarino and E. Aidar. 1997. Changes in biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Comparison of two culture media. Aquaculture, 148, 153-168.
- McLaren I. A. and C. J. Corkett. 1981. Temperature-dependent growth and production by a marine copepod. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38, 77-83.
- Morrison, W.R. and L.M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride methanol. J. Lipid Res., 5, 600-608.
- Nagaraj, M. 1992. Combined effects of temperature and salinity on the development of the copepod *Eurytemora affinis*. Aquaculture, 103, 65-71.
- Norsker, N.H. and J.G. Støttrup. 1994. The importance of dietary HUFAs for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. Aquaculture, 125, 155-166.
- Park, H.G., S.B. Hur and C.W. Kim. 1998. Culturing method and dietary value of benthic copepod, *Tigriopus japonicus*. J. Aquacult., 11, 261-269.
- Payne, M.F. and R.J. Rippingale. 2000. Evaluation of diets for culture of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Aquaculture, 187, 85-96.
- Renaud, S.M., L.V. Thinh and D.L. Parry. 1999. The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. Aquaculture, 170, 147-159.
- Riccardi, N. and L. Mariotto. 2000. Seasonal variations in copepod body length: a comparison between different species in the lagoon of Venice. Aquat. Ecol., 34, 243-252.
- Rico-Martinez, R. and S.I. Dodson. 1992. Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture, 105, 191-199.
- Sun, B. and J.W. Fleeger. 1995. Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus* a marine harpacticoid copepod in a recirculating system. Aquaculture, 136, 313-321.
- Støttrup, J.G. and J. Jensen. 1990. Influence of algal diet on feeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 141, 87-105.
- Støttrup, J.G. and N.H. Norsker. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. Aquaculture, 155, 231-247.
- Tirelli, V. and P. Mayzaud. 1998. Gut pigment destruction by the copepod *Acartia clausi*. J. Plankton Res., 20, 1953-1961.
- Toledo, J.D., M.S. Golez, M. Doi and A. Ohno. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*. Fish. Sci., 65, 390-397.
- Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture, 34, 115-143.

2006년 8월 30일 접수

2007년 2월 23일 수리