

## 동결건조한 *Isochrysis aff. galbana*를 이용한 굴 유생사육에 관한 연구

임현정 · 박미선\* · 조지영\*\* · 홍용기\*\*

국립수산진흥원 서해수산연구소 증식과, \*국립수산진흥원 양식개발과, \*\*부경대학교 생물공학과

### Dietary Evaluation of the Freeze-Dried Alga *Isochrysis aff. galbana* for Larval Survival of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*

Hyun Jeong LIM, Mi Sun PARK\*, Ji Young CHO\*\*, Yong-Ki HONG\*\*

West Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Incheon 400-201, Korea

\*Department of Aquaculture, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 626-900, Korea

\*\*Department of Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

To investigate an efficient microalgal feed for larval culture of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, we prepared three types of *Isochrysis aff. galbana* (T-iso): 1) freshly harvested feed, 2) concentrated feed and 3) freeze-dried feed. The chemical compositions and fatty acid content of these feeds were evaluated and survival rate and lipid content of oyster larvae fed by these feeds were also determined. There was no significant difference in all types of feed in the gross biochemical compositions. In the fatty acid composition, the freeze-dried feed showed a significant increase in the level of polyunsaturated fatty acid (PUFA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) than freshly harvested feed, especially EPA was 7.35-fold higher than freshly harvested feed. The survival rate of the oyster larvae was the highest when the larvae were fed with a diet of 10% freeze-dried and 90% concentrated feed; it was 2.1-fold higher than that fed with freshly harvested food alone. Thereafter, the survival rate decreased with the increased substitutions of freeze-dried food, finally equalling that fed 100% freshly harvested feed at the 30% substitution. Larval lipid content of the oyster was also the highest when the larvae were fed with a diet of 10% freeze-dried and 90% concentrated feed. This increase was by 1.6-fold over that fed 100% freshly harvested cells. Thus feed produced during slack times, on a seedling aquaculture farm, and prepared as a freeze-dried diet can be used, mixed with concentrated feed, to supply diets more efficiently and to improve the larvae survival rate of Pacific oyster.

**Key words:** freeze-dried alga, oyster larvae, survival rate, fatty acid composition, lipid content

#### 서 론

#### 재료 및 방법

일반적으로 패류의 인공종묘생산에 중요한 요인으로서는 효과적인 모패 관리 (Lannan, 1980; Lannan et al., 1980), 수정 후 부유 유생의 기간 단축 및 생존을 향상을 위한 기술 (Beiras and Widows, 1995), 부착을 향상을 위한 부착 유발물질 개발 (Etoh et al., 1994), 사육 유생의 폐사를 줄이기 위한 수질 관리 기술 (Semura, 1994) 및 양질의 먹이 공급 (Coutteau et al., 1994) 등을 들 수 있다. 이 중 먹이생물의 공급을 위한 비용은 패류 인공종묘생산 전체 비용의 약 30%를 차지하므로 (Coutteau and Sorgeloos, 1992), 패류 종묘의 생산단가를 낮출 수 있는 가장 큰 요인은 먹이효율이 우수한 먹이생물을 값싸게 공급하는 것이다. 패류 인공종묘 생산시 양질의 먹이를 보다 편리하게 공급하기 위한 방법으로 Lim and Park (1998)은 종묘를 생산하지 않는 시기에 농축먹이를 만들어 보관하였다가 굴 유생에 공급하여 생 먹이를 공급하는 것보다 높은 생존율을 얻은 바 있다. 그러나 농축먹이는 수확시 먹이생물의 상태와 보관할 때의 수분 함량에 따라 부패하기가 쉽다. 그러므로 본 연구는 보관이 간편하고 장기간 보관이 가능한 건조먹이를 제조하여 먹이로서의 이용 가능성을 검토하고자 건조먹이의 일반 생화학성분 조성과 지방산 조성을 분석한 후 굴 유생에 공급하여 유생의 생존율과 지질 함량을 검토하였다.

#### 1. 원종 배양

실험에 사용한 먹이생물 종은 Lim and Park (1998)이 농축먹이로 굴 유생을 사육한 결과, 먹이효과가 가장 우수하다고 보고한 *Isochrysis aff. galbana* (clone T-iso; CCMP-1324)를 대상으로 하였다. 원종의 배양환경은 20°C, 3,500Lux, 24L:0D였으며, F/2배지 (Guillard and Ryther, 1962)를 사용하였다.

#### 2. 건조먹이의 제조

먹이생물은 5ℓ원형 플라스크에서 배양하여 7~10×10<sup>6</sup> cells·ml<sup>-1</sup>에 달한 정체가 초기에 수확하였다. 수확된 먹이생물은 6,000 rpm, 4±2°C에서 10분간 원심분리하여 회수, 농축한 후 -70°C 초저온 냉동고에서 동결시킨 다음 동결건조기 (Eyela FD-1, Japan)로 건조하여 건조먹이를 제조하였으며 -20°C에서 냉동 보관하여 실험에 사용하였다.

#### 3. 생화학성분 및 지방산 분석

일반적으로 많이 이용하는 수확 직후의 생먹이, Lim and Park (1998)의 방법에 따라 농축하여 4°C에서 30일간 저장한 농축먹이 및 60일간 -20°C에서 저장한 건조먹이를 대상으로 조단백질, 조지방, 탄수화물, 회분의 함량 및 지방산을 분석하였다. 조단백질,

조지방, 회분은 AOAC (1984)의 방법에 따라 kjeldahl 질소정량법, soxhlet 추출법 및 건식회화로법으로 분석하였으며, 탄수화물은 100-(회분+조단백질+조지방)으로 환산하였다. 지방산은 Folch et al. (1957)의 방법으로 총지질을 추출하였고 benzene과 14% BF<sub>3</sub>-methanol을 가하고 80°C에서 30분간 가열하여 methylation 시킨 후, gas chromatography (HP 5890 II)로 지방산을 분석하였다. 분석 조건은 Lim and Park (1998)이 실시한 방법과 동일하였으며 각 시료는 2 반복구로 시료당 2회 분석하였다.

4. 굴 유생의 사육

거제산 굴을 모패로 생식소 절개법으로 난과 정자를 얻은 후 25°C, 자외선 멸균 해수에서 수정시킨 얻어진 유생으로 사육 실험을 하였다. 실험구는 생먹이 100% 공급구, 90% 농축먹이+10% 건조먹이 공급구, 80% 농축먹이+20% 건조먹이 공급구, 70% 농축먹이+30% 건조먹이 공급구, 60% 농축먹이+40% 건조먹이 공급구, 50% 농축먹이+50% 건조먹이 공급구, 40% 농축먹이+60% 건조먹이 공급구의 7개구였다. 유생 사육수온은 25±1°C였으며, 최초의 유생수용량은 200~250개체·ml<sup>-1</sup>였다. 먹이는 수정 후 1~6일까지는 사육수 1 ml당 10<sup>4</sup> cells, 7~15일까지는 사육수 1 ml당 2×10<sup>4</sup> cells의 농도로 공급하였다. 사육조는 5 l용량이었고, 사육수는 매일 전량 환수하였다. 생먹이, 농축먹이 및 건조먹이는 생화학성분 및 지방산 분석에 사용한 것과 동일한 것을 사용하였다. 공급먹이별 굴 유생의 생존율은 사육수 ml당 생존 개체수를 평균하여 (생존 개체수/최초 유생수)×100으로 계산하였다. 모든 실험구는 2 반복구를 두었으며 실험은 3회 실시하였다.

5. 공급먹이별 굴 유생의 지질 함량

공급먹이별로 15일동안 사육한 굴 유생을 수거하여 Mann and Gallager (1985)의 방법에 따라 유생 체내의 지질 함량을 분석하였다.

6. 통계 분석

각 먹이의 일반 생화학성분과 지방산 조성비 및 굴 유생 지질 함량의 유의차 분석은 ANOVA test로 분석한 후 Scheffe의 다중 비교로 사후 검정하였다. 굴 유생의 생존율은 평균값을 자연대수로 환산하여 사육일수와 생존율간의 상관관계를 직선회귀식으로 구한 뒤 공분산분석으로 각 먹이간의 유의차를 확인하였다.

결 과

1. 생화학성분

생먹이, 농축먹이 및 건조먹이의 생화학적 조성을 분석하여 각 먹이간의 유의차를 검정하여 본 결과, 세가지 먹이 모두 단백질, 지질, 탄수화물 및 회분의 비율에 유의차가 없었다 (Fig. 1).

2. 지방산 조성

건조먹이는 생먹이에 비하여 16:0, 18:1, 20:5 (n-3), 22:6 (n-3) 및 고도불포화지방산 (PUFA)의 비율이 증가하였으며 14:1, 18:2

(n-6), 18:4 (n-3) 및 19:1의 비율이 감소하였다 (p>0.05) (Table 1). 이 중 가장 큰 폭으로 증가한 것은 20:5 (n-3) 즉 eicosapentaenoic acid (EPA)로 생먹이의 약 7.35배였다. 그밖에 먹이원에서 중요한 역할을 하는 22:6 (n-3) 즉 docosaheptaenoic acid (DHA)는 생먹이의 1.27배였으며 PUFA는 1.14배였다.

3. 건조먹이를 이용한 굴 유생의 사육

사육일수에 따른 굴 유생의 생존율은 농축먹이 90% + 건조먹이 10% 공급구와 농축먹이 80% + 건조먹이 20% 공급구가 가장

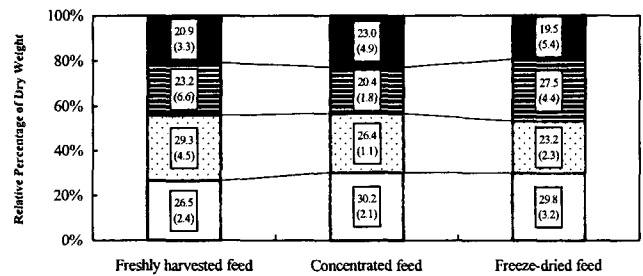


Fig. 1. Gross biochemical compositions of freshly harvested, concentrated, and freeze-dried *Isochrysis aff. galbana* (T-iso) feeds. □, ash; ▨, carbohydrate; ▩, crude protein; ■, crude lipid. Numbers are mean value and parenthesis are standard deviations (n=3) in bar.

Table 1. Fatty acid profiles of freshly harvested, concentrated, and freeze-dried feeds<sup>1</sup>

Fatty acids	Freshly harvested feed	Concentrated feed	Freeze-dried feed
12:0	5.9 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.7 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.0 <sup>b</sup>
13:0	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1
14:0	16.3 ± 1.6 <sup>ab</sup>	11.9 ± 0.8 <sup>b</sup>	18.4 ± 0.8 <sup>a</sup>
14:1	2.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>b</sup>
16:0	7.2 ± 0.3 <sup>b</sup>	7.0 ± 0.2 <sup>b</sup>	11.7 ± 1.4 <sup>a</sup>
16:1	6.2 ± 0.7 <sup>ab</sup>	8.3 ± 0.9 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.5 <sup>b</sup>
17:1	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.2
18:0	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.3 ± 0.1
18:1	2.0 ± 0.4 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.2 <sup>b</sup>	9.9 ± 0.6 <sup>a</sup>
18:2 (n-6)	8.3 ± 0.5 <sup>a</sup>	6.4 ± 0.9 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.3 <sup>b</sup>
18:3 (n-3)	3.0 ± 0.4	2.6 ± 0.4	3.4 ± 0.3
18:3 (n-6)	3.0 ± 0.3	2.5 ± 0.4	3.2 ± 0.3
18:4 (n-3)	10.2 ± 1.6 <sup>a</sup>	8.8 ± 0.6 <sup>a</sup>	5.1 ± 0.8 <sup>b</sup>
19:1	10.2 ± 0.8 <sup>a</sup>	4.0 ± 0.3 <sup>b</sup>	4.1 ± 1.1 <sup>b</sup>
20:5 (n-3)	1.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.8 <sup>a</sup>	12.5 ± 2.1 <sup>a</sup>
22:0	0.4 ± 0.3	—	—
22:6 (n-3)	7.0 ± 0.2 <sup>b</sup>	9.5 ± 0.4 <sup>a</sup>	8.9 ± 1.0 <sup>ab</sup>
22:4 (n-3)	—	—	1.9 ± 0.3
unknown	15.0 ± 2.8 <sup>ab</sup>	23.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	11.2 ± 2.1 <sup>b</sup>
Saturated	30.8 ± 2.5 <sup>a</sup>	23.7 ± 1.6 <sup>b</sup>	36.1 ± 2.2 <sup>a</sup>
Monoenoic	20.8 ± 1.7 <sup>a</sup>	15.5 ± 1.1 <sup>b</sup>	20.0 ± 1.5 <sup>a</sup>
PUFA <sup>2</sup>	33.2 ± 3.0 <sup>b</sup>	37.7 ± 1.8 <sup>a</sup>	37.9 ± 2.8 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Mean value (%) of total fatty acids ± SE (n=4).

<sup>2</sup> Poly unsaturated fatty acids.

\* Values in the same row having the different superscripts are significantly different (p<0.05).

높았으며 ( $p < 0.05$ ), 다음이 농축먹이 70% + 건조먹이 30% 공급구 등의 순이었다. 생먹이만을 공급한 실험구는 농축먹이 60% + 건조먹이 40% 공급구 및 농축먹이 50% + 건조먹이 50% 공급구와 95% 신뢰수준에서 유의차가 없었다 (Fig. 2).

4. 유생 지질 함량

공급먹이별로 15일간 사육한 굴 유생의 지질 함량을 분석한 결과, 농축먹이 90% + 건조먹이 10% 공급구에서  $3.67 \pm 0.25 \text{ ng} \cdot \text{유생}^{-1}$ 으로 가장 지질 함량이 높았고 ( $p < 0.05$ ), 다음이 농축먹이 80% + 건조먹이 20% 공급구, 농축먹이 70% + 건조먹이 30% 공급구 등의 순이었다. 100% 생먹이를 섭취한 유생의 지질 함량은 농축먹이에 건조먹이를 30~60%까지 혼합 공급한 실험구의 유생과 차이가 없었다 (Fig. 3).

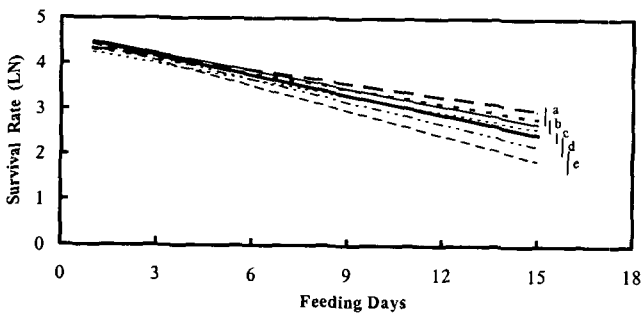


Fig. 2. Linear regressions of survival rates of *Crassostrea gigas* larvae fed with freshly harvested feed or mixture feeds of concentrated and freeze-dried algae. —, 100% freshly harvested diet; —, 90% concentrated and 10% freeze-dried diet; - - - -, 80% concentrated and 20% freeze-dried diet; —, 70% concentrated and 30% freeze-dried diet; - - - -, 60% concentrated and 40% freeze-dried diet; - - - -, 50% concentrated and 50% freeze-dried diet; - - - -, 40% concentrated and 60% freeze-dried diet. Different characters on the right side of the vertical lines are significantly different ( $p < 0.05$ ).

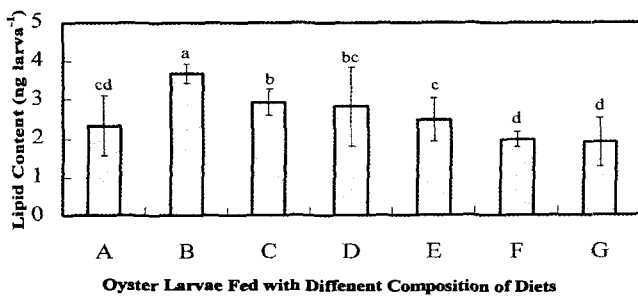


Fig. 3. Lipid contents of *C. gigas* larvae fed with freshly harvested feed or mixture feeds of concentrated and freeze-dried algae. A, 100% freshly harvested diet; B, 90% concentrated and 10% freeze-dried diet; C, 80% concentrated and 20% freeze-dried diet; D, 70% concentrated and 30% freeze-dried diet; E, 60% concentrated and 40% freeze-dried diet; F, 50% concentrated and 50% freeze-dried diet; G, 40% concentrated and 60% freeze-dried diet. Vertical bars indicate standard deviation and different characters on the bars are significantly different ( $p < 0.05$ ).

고찰

패류 유생 사육시 사용되는 먹이생물은 각종 영양원이 균형잡혀 있어야 하며 (Webb and Chu, 1983), 지방산 중 고도불포화지방산 특히, 필수지방산의 비율이 높아야 한다 (Langdon and Waldock, 1981; Chu and Webb, 1984). 또한 원활한 공급이 가능하고 (Herrero and Lid, 1991; Lid et al., 1992), 유생이 섭취 가능한 크기 (Haven and Morales-Alamo, 1970)이며 쉽게 소화되어야 한다 (Epifanio et al., 1981). 본 연구에서는 위에서 언급한 모든 조건들을 만족시키면서 보다 먹이효율이 향상된 먹이를 원활하게 공급하고자 먹이생물 *I. aff. galbana* (T-iso)를 건조먹이로 제조하여 굴 유생에 공급하여 그 효과를 검토하였다.

어패류 및 갑각류 유생의 먹이로 사용하고자 할 때 먹이생물의 일반조성은 유생의 성장 및 생존에 큰 영향을 미친다 (Laing and Millican, 1992; Webb and Chu, 1983). 따라서 실험에 사용된 먹이의 영양가치를 평가하고자 일반조성을 분석한 결과, 건조먹이, 생먹이 및 농축먹이의 생화학적 조성은 유의차가 없는 것으로 분석되었다. 먹이생물의 생화학적 조성은 성장단계 (Fernandez et al., 1989; Brown et al., 1996)나 배양환경 (Fabregas et al., 1986; Brown et al., 1993)에 따라 변화한다. 그러나 수확 후 저온처리 (4°C 혹은 -70°C)에 의해서는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

먹이의 지방산 조성은 유생의 성장과 변태에 커다란 영향을 미치므로 먹이원의 지방산 중 PUFA, 특히 EPA 및 DHA의 비율에 관하여는 연구자들의 모든 결과에서 반드시 고려되어야 한다고 보고되어 있다 (Langdon and Waldock, 1981; Chu and Webb, 1984). 따라서 각 먹이형태별 지방산 조성을 분석한 결과, PUFA, EPA 및 DHA는 생먹이에 비하여 농축먹이와 건조먹이에서 증가되는 경향을 나타내었다. 일반적으로 미생물은 온도의 저하 혹은 압력이 증가함에 따라 생명의 유지를 위하여 막의 유동성을 변화시키는 것으로 알려져 있으며 이를 위하여 막의 지방산 조성을 변화시킨다 (Hazel and Williams, 1990). 막의 지방산 조성을 변화시킬 때에는 하나 혹은 그이상의 double bond를 가진 fatty acyl chain을 더욱 확장된 형태로 단단하게 결합하여 불포화지방산의 비율을 증가시킴으로써 포화지방산보다 낮은 융점을 가져 저온 혹은 고압에 적응하며 (Allen et al., 1999), 특히 저온 혹은 고압에 적응된 많은 세균류의 가장 큰 특징 중 하나는 불포화지방산 중 EPA와 DHA를 생산하는 것이다 (DeLong and Yayanos, 1986; Yazawa et al., 1988). Lim and Park (1998)은 농축먹이를 이용한 패류 유생의 사육에 관한 실험에서 환경온도가 변화하면 먹이생물의 지방산 조성이 변화한다고 하였으며, 특히 농축먹이를 4°C에 보관하면 DHA의 비율이 증가한다고 보고하였다. 또한 본 실험에서도 *I. aff. galbana*를 동결건조한 결과, EPA와 DHA의 비율이 증가하였다. 따라서 *I. aff. galbana*는 저온 보관시 심해져 세균류와 같은 양상으로 지방산 조성을 변화시키는 것으로 조사되었다.

건조먹이의 먹이 이용 가능성을 평가하기 위한 굴 유생 사육 예비실험 결과, 건조먹이는 농축먹이보다 간편하게 장기간 보관이 가능한 반면 덩어리를 형성하기 쉽고 빨리 가라앉는 단점이 있어 건조먹이만을 공급하여 사육하면 유생의 생존율이 저조한 것으로 나타났다 (미발표자료). 그러므로 본 실험시에는 굴 유생을 사육

할 때 생존율을 높일 수 있다고 보고된 농축먹이 (Lim and Park, 1998)에 건조먹이를 혼합 공급하여 유생의 생존율을 조사하였다. 그 결과, 농축먹이와 건조먹이를 1:1의 비율로 혼합하여 공급하여도 생먹이만을 공급한 구와 유의차가 없었으며, 농축먹이에 건조먹이를 30, 20, 10% 혼합하여 준 경우 생먹이만을 공급한 것보다 각각 1.6, 1.8, 2.1배로 생존율이 향상되는 결과를 얻었다. 이처럼 건조먹이와 농축먹이 혹은 생먹이를 혼합하여 패류 유생에 공급함으로써 생존율이 향상되는 것은 지방산 조성의 변화, 특히 EPA와 DHA 함량의 증가 때문인 것으로 여겨진다. 따라서 저온에서 대량 배양이 가능한 mutant를 생산할 수 있다면 EPA와 DHA의 함량을 더욱 증가시킬 수 있을 것으로 기대되며 이는 패류 유생 사육시 보다 우수한 먹이효율을 얻을 수 있을 것으로 예상된다. 이밖에 Laing et al. (1990)은 *Nannochloris* sp.를 분무건조하는 과정 중 세포벽이 유생에게 소화되기 쉬운 상태가 되어 먹이효율이 더 좋아졌다고 보고하였다. 그러므로 건조먹이의 제조 방법에 따라라도 먹이생물의 먹이효율이 변화되는 것으로 생각되므로 건조먹이 제조 방법에 관한 연구도 수행되어야 할 것으로 생각된다.

이때패류를 포함한 해산무척추동물 유생의 발달시 유생이 계속적으로 건강한 치패로 성장할 수 있는가를 판단하는 데에 중요한 지표는 저장 지질의 종류와 함량이다 (Millard and Scott, 1967; Holland and Spencer, 1973; Gallager and Mann, 1986; Whyte et al., 1987; Helm et al., 1991). 따라서 본 실험에서도 수정 후 15일째의 유생을 수거하여 지질 함량을 조사한 결과, 농축먹이에 건조먹이를 10% 혼합하여 공급한 경우 생먹이만을 공급한 실험구 유생보다 지질 함량이 1.6배 높았으며, 농축먹이에 건조먹이를 60% 까지 혼합하여 공급하여도 생먹이만을 공급한 실험구의 유생 지질 함량과 유의차가 없었다. 즉, 유생 지질 함량이 높은 실험구에서 유생의 생존율도 높았으므로, 본 연구결과에서도 유생의 지질 함량은 건강도를 판정하는 기준으로 효과적으로 사용할 수 있는 것으로 확인되었다.

## 요 약

패류 인공종묘생산시 양질의 먹이를 원활하게 공급하기 위하여 장기간 보관이 가능한 건조먹이를 생산하여, 굴 유생을 대상으로 이용 가능성을 조사하였다. 이를 위하여 건조먹이의 생화학성분과 지방산 조성을 분석한 결과, 생화학성분 조성은 생먹이 및 농축먹이와 차이가 없었다. 지방산 조성은 건조먹이가 생먹이보다 PUFA, DHA 및 EPA의 비율이 높았으며 ( $p < 0.05$ ) 특히 EPA는 생먹이보다 7.35배 높았다.

농축먹이에 건조먹이를 비율별로 혼합하여 굴 유생을 15일간 사육한 후 유생의 생존율과 지질 함량을 분석한 결과, 건조먹이를 30%까지 혼합하여 사용하여도 생먹이만을 공급한 것보다 굴 유생의 생존율이 향상되었으며, 그중 건조먹이를 10% 혼합하여 사육하면 생먹이만으로 사육한 것보다 생존율이 2.1배 향상되었다 ( $p < 0.05$ ). 15일째 굴 유생의 지질 함량은 건조먹이를 10% 혼합하여 사육한 경우 생먹이만을 공급한 것보다 약 1.6배 높았다. 따

라서 패류의 종묘를 생산하지 않는 시기에 먹이생물을 배양하여 건조먹이 형태로 보관하여 두었다가, 농축먹이와 혼합하여 사용하면, 보다 간편하게 먹이를 공급할 수도 있으며 아울러 유생의 생존율도 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

## 사 사

본 연구는 국립수산업진흥원 연구과제 “패류먹이개발에 관한 연구”의 일부로 수행된 것임.

## 참 고 문 헌

- Allen, E.E., D. Facciotti, and D.H. Bartlett. 1999. Monounsaturated but not polyunsaturated fatty acids are required for growth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (4), 1710~1720.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemicals, 14th edition. Arlington, AV, 1141 pp.
- Beiras, R. and J. Widdows. 1995. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds. *Mar. Biol.*, 123, 327~334.
- Brown, M.R., G.A. Dunstan, S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, S.M. Barrett, and J.M. LeRoi. 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of the prymnesiophyte *Isochrysis* sp. (clone T-Iso). *J. Phycol.*, 29, 601~612.
- Brown, M., G.A. Dunstan, S.J. Norwood, and K.A. Miller. 1996. Effect of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *J. Phycol.*, 32, 64~73.
- Chu, F.L.E. and K.L. Webb. 1984. Polyunsaturated fatty acids and neutral lipids in developing larvae of the oyster *Crassostrea virginica*. *Lipids*, 19, 815~820.
- Coutteau, P. and P. Sorgeloos. 1992. The requirement for live algae and the use of algal substitutes in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Res.*, 11, 467~476.
- Coutteau, P., K. Cure and P. Sorgeloos. 1994. Effect of algal ration on feeding and growth of juvenile Manila clam *Tapes philippinarum*. *J. Shellfish Res.*, 13, 47~55.
- DeLong, E.F., and A.A. Yayanos. 1986. Biochemical function and ecological significance of novel bacterial lipids in deep-sea prokaryotes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 730~737.
- Epifanio, C.E., C.C. Valenti and C.L. Turk. 1981. A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster, *Crassostrea virginica*. *Aquaculture*, 23, 347~353.
- Etoh, H., N. Murayama, N. Watanabe, R. Takasawa, W. Miki, and K. Ina. 1994. A method for assaying substances that promote attachment of marine sessile organisms using the blue mussle, *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biotechnol.*, 2, 55~57.
- Fabregas, J., C. Herrero, B. Cabezas, and J. Abalde. 1986. Biomass production and biochemical composition in mass cultures of the marine microalga *Isochrysis galbana* Parke at varying nutrient concentrations. *Aquaculture*, 53, 101~113.

- Fernandez-Reiriz, M.J., A. Perez-Camacho, M.J. Ferreiro, J. Blanco, M. Planas, M.J. Campos, and U. Labarta. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 83, 17~37.
- Folch, J., M. Lees and S.G. Sloane. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497~509.
- Gallager, S.M. and R. Mann. 1986. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture*, 56, 105~121.
- Guillard, R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies for marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula conferracea* (Cleve) Gram. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229~239.
- Haven, D.S. and R. Morales-Alamo. 1970. Filtration of particles from suspension of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole, Mass.*, 139, 248~264.
- Hazel, J.R. and E.E. Williams. 1990. The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog. Lipid Res.*, 29, 167~227.
- Helm, M.M., D.L. Holland, S.D. Utting and J. East. 1991. Fatty acid composition of early non-feeding larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 71, 691~705.
- Herrero, C. and A. Lid. 1991. Yields in biomass and chemical constituents of four commercially important marine microalgae with different culture media. *Aquaculture Engineering*, 10, 99~110.
- Holland, D.L. and B.E. Spencer. 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 53, 287~298.
- Laing, I., A.R. Child and A. Janke. 1990. Nutritional value of dried algae diets for larvae of manila clam, *Tapes philippinarum*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 70, 1~12.
- Langdon, C.J. and M.J. Waldock. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 61, 431~448.
- Lannan, J.E., 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. I. Genetic and environmental variation in larval survival. *Aquaculture*, 21, 323~336.
- Lannan, J.E., A. Robinson, and W.P. Breese. 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. II. Broodstock conditioning to maximize larval survival. *Aquaculture*, 21, 337~345.
- Lid, A., J. Abalde and C. Herrero. 1992. High yield mixotrophic cultures of the marine microalga *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher (Prasinophyceae). *J. Appl. Phycol.*, 4, 31~37.
- Lim, H.J. and S.R. Park. 1998. Fatty acid composition of concentrated phytoplanktons by cold storage and their effects on the larval survival of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Kor. Fish. Soc.*, 31, 567~573.
- Mann, R. and S.M. Gallager. 1985. Physiological and biochemical energetics of larvae of *Teredo navalis* L. and *Bankia gouldi* (Bartsch) (Bivalvia: Teredinidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 85, 211~228.
- Millard, R.H. and J.M. Scott. 1967. The larvae of the oyster *Ostrea edulis* during starvation. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 47, 475~484.
- Semura, H. 1994. Influence of bacterial number on the culture of larvae of bay scallop, *Pecten albicans* in seawater. *Suisanzoshoku*, 42, 157~164.
- Whyte, J.N.C., N. Bourne and C.A. Hodson. 1987. Assessment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 113, 113~124.
- Yazawa, K., K. Araki, K. Watanabe, C. Ishikawa, A. Inoue, K. Kondo, S. Watabe, and K. Hashimoto. 1988. Eicosapentaenoic acid productivity of the bacteria isolated from fish intestines. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1835~1838.

---

1999년 4월 9일 접수

1999년 9월 16일 수리