

## 참굴 *Crassostrea gigas* 인공종묘생산 시 유생의 성장과 체성분 변화

허영백\*, 민광식<sup>1</sup>, 김태익<sup>1</sup>, 이승주, 허성범<sup>2</sup>

국립수산과학원 양식환경연구센터, <sup>1</sup>국립수산과학원, <sup>2</sup>부경대학교 양식학과

## Larvae Growth and Biochemical Composition Change of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*, Larvae during Artificial Seed Production

Young Baek Hur\*, Kwang Sik Min<sup>1</sup>, Tae Eic Kim<sup>1</sup>, Seung Ju Lee and Sung Bum Hur<sup>2</sup>

Aquaculture Environment Center, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

<sup>1</sup>National Fisheries Research and Development Institute, Busan 650-943, Korea

<sup>2</sup>Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

A nutritional demand of oyster, *Crassostrea gigas* larva as part of research for improving of utilization of microalgae being used for the artificial oyster seed production. The change of body growth and biochemical compositions of larvae were investigated during larvae rearing in hatchery. The larvae were cultured in 60 M/T tank and fed mixture 6 different phytoplankton species, *Isochrysis galbana* (30%), *Cheateoceros gracilis* (20%), *Pavlova lutheri* (20%), *Phaeodactylum triconutum* (10%), *Nannochrysis oculata* (10%) and *Tetraselmis tetrahele* (10%). The initial feeding amount was  $0.3 \times 10^4$  cells/mL at three times a day to D-shaped larva and the feeding amount had been increased 30% gradually every two day since the larvae were raising. The larvae were developed from D shape to pediveliger stage for 12 days. The daily growth of shell length and hight were 5.8~30.8  $\mu$ m and 8.7~31.4  $\mu$ m, respectively and weight gains were changed from D shape to pediveliger as follow: wet weight was 0.52~15.0  $\mu$ g/larva, dry weight was 0.2~6.5  $\mu$ g/larva, and ash free dry weight was 0.1~8.5  $\mu$ g/larva. The larvae growth pattern shown a logarithmic phase from D shape to umbone stage but after that stage shown a exponential growth aspect. The crude protein, crude lipid and nitrogen free extract (NFE) of larvae during rearing periods were analyzed as 6.1~10.6%, 0.6~1.1% and 1.0~2.7%, respectively. And the total amino acid contents of the larvae during rearing periods were in order as glutamic acid 1.26~2.24%, aspartic acid 0.97~1.70%, and methionine 0.12~0.33%. Of the total fatty acid in the analyzed larvae, the saturated fatty acid (SSAFA) was decreased from 54.3% (D shaped larvae) to 17.1% (pediveliger) as larvae development but the total mono-unsaturated fatty acid ( $\Sigma$ MOFA) and Poly-unsaturated fatty acid ( $\Sigma$ PUFA) were increased from 29.9% and 7.8% to 40.6% and 45.6%, respectively. By the way the each fatty acid of the larvae were composed of palmitic acid 9.89~36.95%, oleic acid 12.17~32.29%, linoleic acid 1.96~33.55%, EPA 2.17~11.58% and DHA 1.95~4.51%. As a result of this study, the larvae of oyster were demanded a various nutrients for healthy growth and the feeding control, expecially after umbone stage larvae are a rapidly growing time, is very important for success of artificial seed production.

**Keywords:** *Crassostrea gigas*, Pacific oyster, Larva growth, Biochemical composition

### 서 론

우리나라의 참굴 양식은 수산 양식업 중 생산량(321,276톤), 생산금액(130,555,483천원), 면허건수(1,182건), 어장규모(7,641 ha) 그리고 가공을 비롯한 기타 관련 산업에 미치는 영향이 매우 크다(Statistical Year Book of Maritime Affairs and Fisheries, 2006).

우리나라 참굴 양식 생산은 대부분 수하식 양식으로 양식에 필요한 종묘는 연간 약 1,800~2,300만연 정도로 추정되고, 대부분 천연채묘로 확보하고 있다. 그러나 천연채묘는 해황에 따라 생산량의 변동이 많아 필요한 양의 종묘를 안정적으로 확보하는데 많은 어려움이 있다. 이에 보다 안정적인 종묘생산 방법으로 인공종묘생산이 대두되었다. 최근 참굴 인공종묘생산의 산업화 기술이 확립(Helm and Millican, 1987; Collet et al., 1999) 됨에 따라 인공종묘 생산에 의한 종묘확보가 늘어나고 있는 추세로 미국의 서부해안에서는 80%, 프랑스 10~20%로 보고

\*Corresponding author: ybhur@nfrdi.re.kr

(Donaldson, 1989)되고, 국내에서는 약 15% 정도가 생산되어 산업 현장에서 이용되고 있다.

그러나 인공종묘는 천연종묘에 비해 생산단가가 높고, 먹이 생물 배양 등 고난도의 기술을 필요로 하므로 대량생산에 많은 어려움이 있다. 따라서 단위면적당 생산량을 높이고 특히, 초기 유생의 폐사를 최소화시킬 수 있는 최적 생존조건을 구명하는 것은 매우 중요한 일이다.

유생의 성장과 생존에 미치는 영향으로 난질(Lannan et al., 1980a, b; Gallager and Mann, 1986), 환경적인 요인(Helm and Millican, 1977; Breese and Malouf, 1977; Nell and Holliday, 1988; Robert et al., 1988; His et al., 1989), 사육밀도(Min et al., 1997) 등 다수의 연구결과가 보고되었지만, 인공종묘생산과정에서 유생의 생존을 높이는 가장 중요한 것은 먹이의 양과 질(Wilson, 1978; Helm and Laing, 1987; Laing, 1995; Min et al., 1995), 공급횟수(Powell et al., 2002)가 중요하게 언급되고 있다.

따라서 참굴 인공종묘생산과정에서 어미관리, 유생 및 치패 사육에 필요한 먹이로 이용되는 미세조류의 질적 및 양적 대량 배양은 종묘생산과정에서 가장 필수적이다. 그러나 미세조류의 대량배양은 배양비용이 매우 높을 뿐만 아니라, 공간적인 면에서 유생사육시설의 3분의 1이 소요될 정도로 많은 부분을 차지하고 있다.

미세조류 대량 배양에 소비되는 경비는 노동력이 37%, 시설 및 감가상각비 30%, 배지비용 19% 그리고 에너지 비용이 14%의 순으로 노동경비가 가장 많은 부분을 차지하고 있다(Donaldson, 1991). 전체적인 미세조류의 배양비용은 실내의 경우 \$2~200/kg dry weight (Kalk and Langlykke, 1986; De Pauw and Persoone, 1988)이고, 실외는 \$4~20/kg dry weight (De pauw and Persoone, 1988)으로 미세조류의 종류와 배양방법 및 규모에 따라 다르지만 대체적으로 상업적 인공종묘생산 과정에서 전체 인공종묘생산 비용의 15~85% 정도 차지하고 있다(Urban and Langdon, 1984; Donaldson, 1991; Benemann, 1992; Coutteau and Sorgeloos, 1992).

따라서 효율적인 미세조류의 이용은 대상생물의 건강을 유지할 뿐만 아니라, 전체적인 인공종묘생산 비용을 낮출 수 있다. 미세조류의 효과적인 이용은 공급대상 생물의 크기 또는 유생의 성장단계에 따라 적정 요구조건을 맞춤으로서 허실을 줄여 전체적인 먹이효율을 높이고, 불필요한 배양을 억제함으로써 노동력을 절감할 수 있다.

뿐만 아니라, 건강한 유생 사육을 위한 영양조건은 매우 중요한 문제로(Newkirk et al., 1977; Losee, 1979; Collet et al., 1999; Garcia-Esquivel et al., 2001) 공급되는 영양조건 변화는 직접적으로 유생의 성장과 생화학적 조성 변화에 영향을 미치고, 전체 사육조건을 결정한다(Mann and Gallager, 1985; Gallager et al., 1986; His and Maurer, 1988; Ferreira et al., 1990; Farias et al., 1998). 따라서 인공종묘생산과정에서 유생의 생화학적 조성의 변화를 정확히 아는 것은 에너지 대사와 영양조건을 평가하는 중요한 요소(Farias et al., 1998)로 전체 종묘생

산의 성공과 효율적인 먹이생물 관리의 기초적인 요소로 작용할 수 있다.

그러나 지금까지 참굴 유생의 최적 성장을 유도할 수 있는 영양요구 및 먹이생물의 조건에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 이에 대한 체계적인 연구는 참굴 인공종묘생산의 지속적인 발전과 경쟁력 향상을 위해서 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다.

본 연구는 참굴 유생의 최적 성장과 먹이생물의 이용성을 높이기 위해 현재 인공종묘생산에서 많이 이용되고 대량배양이 용이한 미세조류를 대상으로 그 요구조건을 구명하고, 나아가 인공배합사료개발에 요구되는 기초적인 사료 설계 자료를 얻기 위하여 대량 인공종묘생산 시 유생의 축적영양소 변화를 유생의 성장 및 발달 단계에 따라 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 유생사육 및 먹이생물배양

유생사육에 필요한 알 및 부유유생을 얻기 위해 사용한 어미는 남해특성화연구센터 패류중간육성장에서 사육 중이던 만 1년생 참굴로 크기는 평균(N=30) 각장 60.0±5.8 mm, 각고 107.4±11.3 mm, 전중 95.7±27.2 g으로 자연 성숙된 개체를 이용하였다.

채란은 수온상승 자극법으로 하였고, 부화 및 유생사육은 지수식으로 수온 26±1°C의 여과해수가 채워진 수용적 60톤 사각 콘크리트 1개 수조를 이용하여 대량 사육하였다. 사육밀도는 최초 D상 유생을 기준으로 10마리/mL로 조절하였고, 매 2일마다 전환수를 실시하였다.

유생사육 시 공급된 먹이생물은 *Isochrysis galbana* (KMCC H-2), *Cheatocecos gracilis* (KMCC B-52), *Pavlova lutheri* (KMCC H-006), *Phaeodactylum tricornutum* (KMCC B-14), *Nannochloris oculata* (KMCC C-31), *Tetraselmis tetrahele* (KMCC P-002)를 각각 30%:20%:20%:10%:10%:10%의 비율로 혼합하여 일일 3회(오전 8시, 오후 4시, 10시) 공급하였다. 공급량은 초기 D형 유생을 기준으로 1회 공급 시 최초  $0.3 \times 10^4$  cells/mL로 매 2일 간격으로 30%씩 증가시켜 주었다. 사용된 먹이생물은 남해특성화연구센터 패류먹이생물배양실에서 직접 배양한 것으로 배양온도는 23±1°C였고, 조도는 400 Watt metal halide lamp로 배양수 표면 기준 20  $\mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{s}$ 로 연속 조명하였고, 배양수조는 500 L 원형 아크릴 수조를 이용하여 배양하였다. 사용된 기본배지는 Conwy 배지(Walne, 1974)를 이용하였고, *C. gracilis*와 *P. tricornutum* 배양시에는 기본배지 외에 규산나트륨 용액( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ : 증류수 1 L에 100 g 용해)을 배양수 1 L에 1 mL를 첨가해 주었다.

### 성장 및 증중량

성장은 매일 100마리의 유생을 Profile-Project (Nikon-

v12, Japan)와 Quadra-Chek 4000 Program (Metronics, USA)를 이용하여 각장과 각고를 0.1 µm까지 측정하였다.

성분분석용 시료 중 미수정란은 인위적으로 생식소를 절개하여 암컷의 알만 여과해수가 담겨 있는 수용적 100 L 플라스틱 수조에 직접 채취 한 후 망목 40 µm인 müller gauze로 알 외의 이물질을 제거한 후 망목 크기가 20 µm인 müller gauze를 이용하여 알을 수거하였다.

수거된 알은 다른 점액질 및 불순물을 제거하기 위하여 깨끗한 여과해수로 3회 이상 세척한 후 다시 염분기를 제거하기 위하여 증류수로 1회 세척하였다. 세척된 알은 습포지로 물기를 제거한 후 수분(%), 습증량(%), 건중량(%), 회분제외건중량(%) 및 성분조성을 분석하기 위한 시료로 이용하였다. 분석용 시료는 전 처리 후 곧 바로 -75°C에서 급냉 후 진공동결건조기로 건조시킨 다음 분석 전까지 -75°C에서 보관하였다. 유생은 매 2일 간격으로 크기에 따라 40, 60, 80, 100, 125, 150, 170, 200 및 230 µm 망목의 müller gauze를 이용, 수거 후 동일한 방법으로 처리하였다.

유생시료는 먼저 정확한 마리수와 크기를 측정하기 위하여 수거된 유생시료 1.0000 g를 정량(Mettler PM-4000, USA)하여 0.45 µm membrane filter (Waterman, UAS)로 여과된 해수가 채워진 2 L의 비이커에 재 수화 후 유리막대로 저어 잘 분산시킨 후 1 mL를 취하여 plankton chamber glass와 profile project를 이용, 유생마리수를 5회 측정하여 1 g당 마리수를 환적법으로 계산하였고, 크기는 성장측정과 동일한 방법으로 각장과 각고를 측정하였다.

중량변화는 마리수와 크기를 측정한 후 다시 5.0 µm membrane filter로 수집하여 증류수로 3회 이상 세척하여 염분기를 제거한 다음 습증량, 건중량을 측정하였다. 건중량은 60°C에서 24시간 건조 후 측정하였고, 회분제외건중량은 직접회화법으로 550°C에서 5시간 회화 후 측정하였다.

**체성분 분석**

일반성분은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(105°C, 4시간), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 시료를 12시간 동결 건조한 후, Soxtec system 1046 (Tator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다.

구성아미노산 분석은 동결 건조된 시료 20 mg을 test tube에 넣고 6 N HCl 15 mL를 가하여 밀봉한 후 110°C에서 24시간 가수분해 한 후 분해액을 여과한 다음, 감압 건조하여 HCl을 완전히 제거한 후, sodium dilution buffer (pH 2.2)로 25 mL 되게 정량한 후 이 용액을 일정량 취하여 아미노산 자동분석기 S433 (Sykam, Germany)를 이용하여 ninhydrin 방법으로 분석하였다. 분석조건은 다음과 같다: Column size: 4 mm×150 mm, Absorbance: 570 nm and 440 nm, Reagent flow rate: 0.25 mL/min, Buffer flow rate: 0.45 mL/min, Reactor temperature:

120°C, Reactor Size: 15 m, Analysis time: 65 min

지방산 분석은 동결 건조한 시료에서 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 CHCl<sub>3</sub>:MeOH (2:1)로 지질을 추출하여 20 mg의 지용성 회분에 0.5 N NaOH-methanol과 14% BF<sub>3</sub>-methanol로 Fame 시킨 후 Heaxane으로 추출하여 methylation 시킨 후, Gas chromatography (Trace, Germany)로 분석하였다. 분석조건은 다음과 같다: injector 온도는 250°C였고, detector (FID) 온도를 270°C로 하고, column (Quadrex, 30 m, Bonded carbowax 0.25 mm I. D×0.25 µm film Cat. No.:007-CW-30-0.25F) 온도는 180°C에서 8분간 유지시킨 다음, 3°C/min로 230°C까지 승온시키고, 15분간 유지하였다. Carrier gas는 He (1.0 kg/cm<sup>2</sup>)을 사용하였으며, split ratio는 1:20으로 하였다.

**통계처리**

결과에 대한 통계처리는 SPSS Version 10.0 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) 통계 package program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후 Duncan's multiple range test (Duncan's, 1955)를 실시하여 평균 간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

**결 과**

**유생의 성장**

사육일수에 따른 유생의 각장 · 성장과 일간성장은 Fig. 1와 Fig. 2에서 보는 것과 같다. 사육초기인 D형 유생에서 각장 100 µm 까지는 완만한 성장을 보이다가, 이 후 직선적인 성장을 보였다. 부화 직후 D형 유생의 평균 각장과 각고의 크기는 각각 73.5±2.8 µm, 63.2±2.1 µm였고, 사육 4일 된 초기 각정기 유생은 각각 105.3±5.6 µm, 109.1±9.1 µm, 사육 8일된 중형각

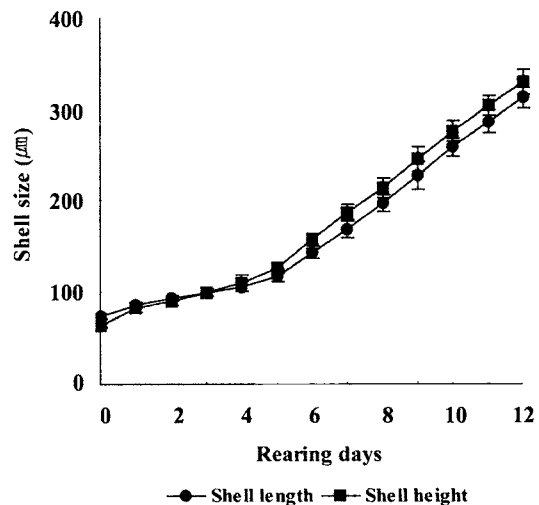


Fig. 1. Growth of shell length and height of *Crassostrea gigas* larvae.

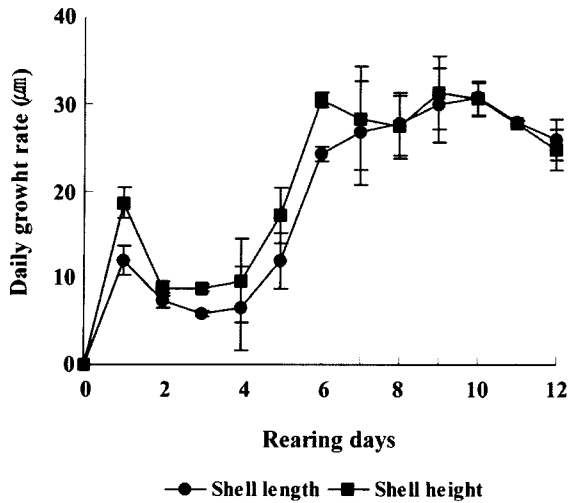


Fig. 2. Daily growth of shell length and height of *Crassostrea gigas* larvae.

정기 유생은 각각  $196.2 \pm 9.4 \mu\text{m}$ ,  $212.7 \pm 11.0 \mu\text{m}$ 였다. 그리고 사육 12일째 부착기 유생의 각장과 각고는  $311.0 \pm 10.8 \mu\text{m}$ ,  $327.5 \pm 13.4 \mu\text{m}$ 로 발달하였다. 전 사육기간 중 각장과 각고의 일간성장( $5.8 \sim 30.8 \mu\text{m}$ ,  $8.7 \sim 31.4 \mu\text{m}$ )은 비슷한 경향을 보였다. 각장은 대형각정기 유생인 사육 10일째( $30.8 \mu\text{m}$ ), 각고는 사육 9일째( $31.4 \mu\text{m}$ ) 가장 높은 일간성장을 보였고, 사육 3일째( $5.9 \mu\text{m}$ )와 사육 2일째( $8.8 \mu\text{m}$ ) 가장 낮았다. 일간성장은 사육기간 중 2개의 변곡점을 보였는데, 초기 D형 유생에서 사육 4일 구간에서는 낮은 일간성장을 보이다가 이 후 사육 5일째부터 급격히 증가하였고, 다시 사육 10일에서부터 감소하였다.

유생의 성장에 따른 수분, 습중량, 건중량 및 ash free dry weight (AFDW)의 변화는 Fig. 3에 나타냈다. 전 사육기간 중

유생의 수분함량( $52.0 \sim 61.9\%$ )은 평균  $55.7\%$ 로 성장에 따른 큰 변화는 없었지만, 습중량( $0.52 \sim 15.0 \mu\text{g}$ /마리), 건중량( $0.2 \sim 6.5 \mu\text{g}$ /마리) 및 AFDW( $0.1 \sim 2.3 \mu\text{g}$ /마리)는 유생이 성장함에 따라 일정한 크기로 증가하였다.

### 유생의 생화학적 조성

#### 일반성분

성장단계별 유생의 일반성분변화는 Table 1에서 보는 것과 같다. 알에서 D형 유생으로 발달하는 과정에서 회분은 패각이 형성됨에 따라  $7.7\%$ 에서  $30.2\%$ 증가하였고, 유기물인 조지질, 조단백 및 탄수화물(nitrogen-free extract, NFE)은 발생과정에서 에너지로 이용됨에 따라 각각 조지질은  $12.8\%$ 에서  $1.1\%$ , 조단백질은  $40.0\%$ 에서  $6.1\%$ , 탄수화물은  $6.5\%$ 에서  $1.0\%$ 로 감소하였다. 이에 따라 전체 유기물은  $59.3\%$ 에서  $8.2\%$ 로 감소하였다( $P < 0.05$ ).

D형 유생에서 부착기 유생으로 발달하는 과정에서 유생발달 단계별 영양성분을 조사한 결과, 회분은 초기각정기 유생에서  $39.6\%$ 까지 증가한 후 점차 감소하여 부착기 유생에서  $29.8\%$ 의 수준을 보였다. 조지질의 함량비는 전체 유생기간 동안 발달단계에 따른 유의한 차이는 없었지만, 전체적으로 초기각정기 유생까지  $0.6\%$ 로 감소하다가 각정기 유생 이후 어느 정도 축적되는 경향이었다. 조단백질은 유생이 성장함에 따라 유의한 증가를 보여 D형 유생의 경우  $6.1\%$  수준에서 부착기 유생(pediveliger)에서는  $10.6\%$ 까지 축적되었다( $P < 0.05$ ). 탄수화물(nitrogen-free extract, NFE)은 유생이 발달함에 따라 유의하게 증가하는 경향을 보였지만, 각정기 유생 이후는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 총 유기물질의 함량은 D형 유생에서  $8.2\%$ 를 보인 이후 유생이 발달함에 따라 증가하는 경향을 보였지만,

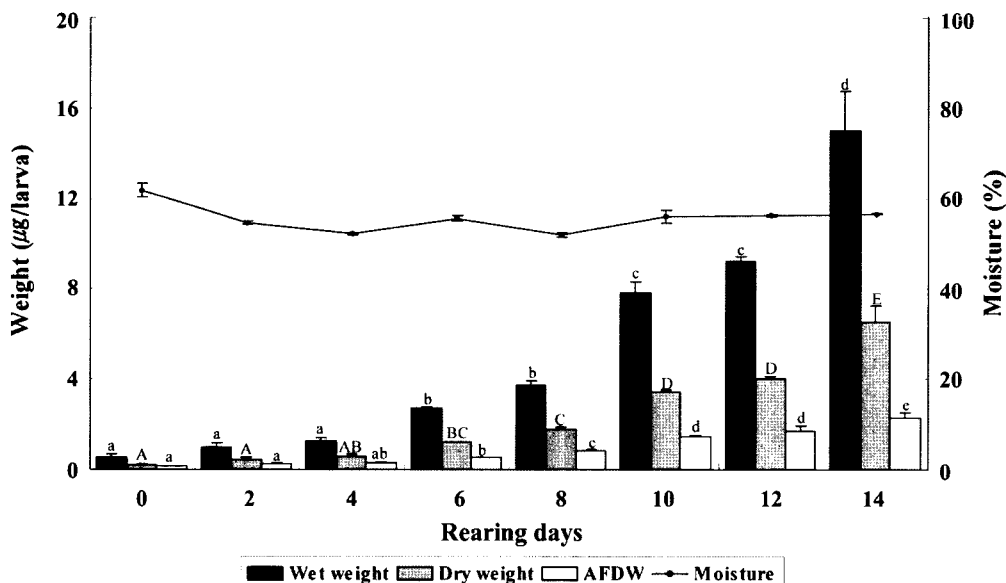


Fig. 3. Variation of moisture, wet weight, dry weight and ash free dry weight gain (AFDW) of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae.

**Table 1.** Variation of crude protein, crude lipid, crude ash, and nitrogen free extracts (NFE) content of feeds, eggs and larvae of *Crassostrea gigas*

Contents(%)	Feeds	Eggs	Larval stage				
			D shape	Early umbone	Umbone	Late umbone	Pediveliger
Shell length (µm) <sup>1</sup>	-	53.2±1.4	73.5±2.8	102.3±7.0	194.8±10.6	301.4±52.0	319.7±19.0
Moisture	70.2±1.5	33.0±1.4	61.9±1.7	52.1±0.2	52.0±0.4	56.0±1.5	56.6±0.2
Ash	5.0±0.2 <sup>a</sup>	7.7±0.3 <sup>b</sup>	30.2±0.2 <sup>c</sup>	39.6±0.1 <sup>d</sup>	37.4±0.4 <sup>e</sup>	31.1±0.8 <sup>e</sup>	29.8±0.4 <sup>e</sup>
Crude lipid	2.4±0.1 <sup>a</sup>	12.8±0.6 <sup>b</sup>	1.1±0.1 <sup>c</sup>	0.6±0.1 <sup>c</sup>	0.8±0.1 <sup>c</sup>	0.9±0.1 <sup>c</sup>	1.0±0.1 <sup>c</sup>
Crude protein	11.3±0.1 <sup>a</sup>	40.0±0.4 <sup>b</sup>	6.1±0.3 <sup>c</sup>	6.4±0.4 <sup>c</sup>	8.7±0.3 <sup>d</sup>	9.8±1.5 <sup>e</sup>	10.6±0.2 <sup>ae</sup>
NFE	11.1±0.0 <sup>a</sup>	6.5±0.1 <sup>b</sup>	1.0±0.1 <sup>c</sup>	1.3±0.4 <sup>cd</sup>	1.7±0.2 <sup>cd</sup>	2.1±0.9 <sup>cd</sup>	2.7±0.2 <sup>d</sup>
Total organic matters	24.8±0.2 <sup>a</sup>	59.3±0.3 <sup>b</sup>	8.2±0.3 <sup>c</sup>	8.3±0.1 <sup>c</sup>	11.1±0.3 <sup>d</sup>	12.9±0.8 <sup>e</sup>	14.2±0.5 <sup>e</sup>

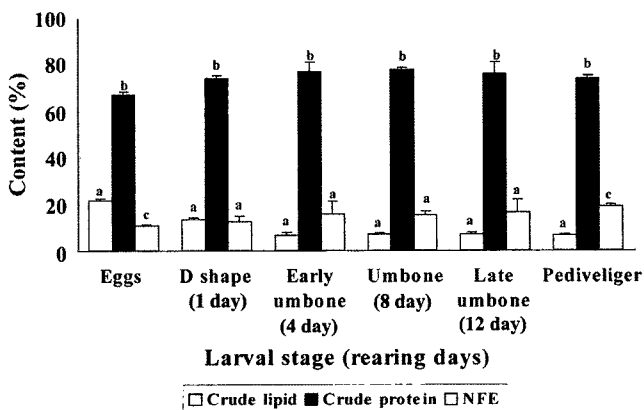
<sup>1</sup>Values are mean ± standard deviation of 30 larvae. Different superscripts are significantly different( $P<0.05$ ).

가장 높은 축적을 보인 부착기 유생에서 14.2%로 수정란의 23.9% 수준이었다.

대체적으로 평균 각장 102.3 µm의 초기각정기 유생 이후 전체 유기물질은 어느 정도 축적되는 경향이었지만, 전체 유생기간 동안 가장 높은 축적률을 보인 부착기 유생에서 알에 비해 각각 지질은 7.5% (9.5 mg/g/wet), 단백질은 26.5% (106.0 mg/g/wet), 탄수화물은 31.1% (26.8 mg/g/wet) 수준으로 알에 비해 매우 낮은 함량을 보였다. 그러나 회분은 패각이 완전히 형성되는 D형 유생 시기부터 높은 증가를 보여 알에 비해 부착기 유생에서 387.2% (298.3 mg/g/wet)의 증가를 보였다.

한편, 알에서 D형 유생으로 발달하면서 영양소별 이용비율은 조지질이 91.5% 감소되면서 가장 높은 이용성을 보였고, 다음으로 단백질 84.7%, 탄수화물 84.6% 순으로 나타났다.

발달단계별 총 건조 유기물질의 함량에 따른 각각의 영양소 함량비는 Fig. 4와 같다. 각각의 발달단계에서 단백질이 67.5~77.9%로 유의하게 높은 값을 나타내었고( $P<0.05$ ), 다음으로 탄수화물(NFE)이 10.9~18.8%, 조지질이 6.7~13.2%로 가장 낮은 구성비율을 보였다.



**Fig. 4.** Crude protein, crude lipid and nitrogen free extracts (NFE) content of total organic matter of an eggs and larvae of *Crassostrea gigas*.

### 아미노산 조성

유생의 발달 단계에 따른 아미노산의 조성변화는 Table 2와 같다. 전체적인 아미노산 조성은 유생의 성장에 따라 일정하게 변화하였으며, 초기각정기(4일) 유생까지는 감소하고, 이후 다소 축적되는 경향을 보였다.

알의 아미노산 구성은 glutamic acid (5.9%)가 가장 높은 조성비를 보였고, 다음으로 aspartic acid (4.7%), arginine (3.4%), lysine (3.4%), leucine (3.3%)이었고, 가장 낮은 구성비를 보인 것은 cysteine (0.7%)이었다. D형 유생에서 부착기 유생까지 각각의 발달 단계별 아미노산 구성비는 전체적으로 알에 비해 낮은 함량을 보였지만, 구성비는 비슷한 경향을 보여 glutamic acid (1.3~2.2%)가 가장 높은 구성비를 보였고 다음으로 aspartic acid (1.0~1.7%)였다. 한편, 가장 낮은 구성비를 보인 것은 methionine (0.1~0.3%)이었다.

유생의 아미노산 구성을 살펴보면, 필수아미노산 중 triptopan을 제외하고, 대체적으로 높은 구성비를 보인 것은 arginine (0.7~1.3%), lysine (0.7~1.4%) 및 leucine (0.7~1.3%)의 순이었고, methionine(0.1~0.3%)이 가장 낮은 구성비를 보였다.

알에서 D형 유생으로 발달하면서 총 아미노산의 73.5%가 감소하였으며, 사육 4일째인 초기 각정기 유생단계에서 알에 비해 21.6% 수준이었다. 이후 다소 축적되어 부착기 유생으로 발달하면서 40.1%까지 회복되었다. 한편, 공급된 먹이생물의 총 아미노산 함량은 알에 비해서는 낮았지만, 각 유생 발달단계의 아미노산 구성 함량보다는 높았다. 그러나 전체적인 아미노산 종류별 구성비는 비슷한 경향을 보였다.

### 지방산 조성

먹이생물과 유생의 발달단계별 지방산 조성은 Table 3과 같다.

전체적으로 유생이 성장함에 따라 포화지방산(saturated acids)은 초기 D형 유생에서 54.3%의 높은 조성을 보인 후 유생이 성장함에 따라 감소되어 부착기 유생에서 17.1%로 줄어들었다. 불포화 지방산 중 단일불포화지방산(monoenoic acids)은 각 유생 발달 단계에서 29.9~40.6%로 초기각정기 유생까지는 증가 후

**Table 2.** Amino acids composition of feeds, eggs and larvae of *Crassostrea gigas* (% in dry matter basis)

Amino acids	Feeds	Eggs	Larval stage				
			D shape (1 day)	Early umbone (4 days)	Umbone (8 days)	late umbone (12 days)	pediveliger
Aspartic acid	3.0	4.7	1.2	1.0	1.2	1.7	1.7
Threonine	1.5	2.3	0.6	0.5	0.6	0.8	0.8
Serine	1.4	2.6	0.6	0.5	0.6	0.8	0.8
Glutamic acid	3.8	5.9	1.5	1.3	1.5	2.2	2.2
Proline	1.3	1.6	0.5	0.4	0.4	0.6	0.8
Glycine	1.6	2.0	0.7	0.8	1.0	1.3	1.3
Alanine	2.2	2.0	0.6	0.5	0.6	0.9	0.9
Cysteine	0.3	0.7	0.2	0.2	0.3	0.4	0.4
Valine	1.6	2.3	0.6	0.5	0.6	0.9	0.9
Methionine	0.5	1.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3
Isoleucine	1.3	2.0	0.6	0.4	0.5	0.8	0.7
Leucine	2.5	3.3	0.8	0.7	0.9	1.2	1.3
Tyrosine	1.0	1.8	0.5	0.4	0.5	0.7	0.8
Phenylalanine	1.5	2.1	0.6	0.4	0.5	0.7	0.8
Histidine	0.7	1.3	0.2	0.1	0.3	0.7	0.7
Lysine	1.7	3.4	0.9	0.7	0.9	1.3	1.4
Ammonia	0.4	0.7	0.4	0.3	0.3	0.5	0.3
Arginine	1.9	3.4	0.9	0.7	0.9	1.2	1.3
Total	28.0	43.2	11.5	9.3	11.5	17.1	17.3
ΣEAA	12.7	20.8	5.3	4.1	5.2	7.8	8.0
ΣEAA/NEAA (%)	45.4	48.2	45.6	43.5	44.9	45.9	46.0

EAA : Essential amino acids.

NEAA: Non-essential amino acids.

**Table 3.** Fatty acids composition of feeds, eggs and larvae of *Crassostrea gigas* (% in dry matter basis)

Fatty acids	Feeds	Eggs	Larval stage				
			D shape (1 day)	Early umbone (4 days)	Umbone (8 days)	Late umbone (12 days)	Ped- iveliger
14:0	6.3	9.9	7.1	2.2	3.6	6.1	1.3
15:0	0.4	0.8	0.9	0.4	-	0.3	-
16:0	20.0	32.5	37.0	15.2	14.3	15.5	9.9
17:0	0.7	1.3	1.9	1.5	1.0	1.0	0.3
18:0	4.6	5.1	5.6	3.3	2.3	4.4	3.8
20:0	0.7	2.1	2.0	0.8	0.6	0.7	1.9
21:0	-	-	-	-	-	0.7	-
24:0	-	0.2	-	-	-	-	-
16:1n-7	15.3	10.2	5.5	4.3	7.1	8.4	2.5
17:1n-7	2.1	0.5	0.6	0.3	0.6	2.4	0.5
18:1n-9	20.7	12.2	16.4	32.3	28.0	23.3	24.6
20:1n-9	0.4	3.1	6.3	3.6	2.4	4.3	2.4
22:1n-9	-	2.2	4.7	-	-	-	-
18:2n-6	9.3	2.0	3.0	16.6	16.6	4.6	33.6
18:3n-3	1.7	1.6	0.7	1.7	2.6	2.3	4.5
20:5n-3	6.4	5.4	2.2	4.9	7.3	11.6	5.2
22:6n-3	2.1	3.3	2.0	3.3	4.5	3.3	2.4
Unknown	9.5	7.8	4.5	9.4	9.0	11.1	7.3
Saturated	32.6	51.8	54.3	23.5	21.8	28.9	17.1
Monoenoic	38.5	28.1	33.6	40.6	38.2	38.3	29.9
Polyenoic	19.5	12.3	7.8	26.6	31.0	21.8	45.6
EPA/DHA	3.1	1.6	1.1	1.5	1.6	3.5	2.2

-: trace (&lt;0.05).

부착기 유생으로 이행하면서 다소 감소하는 경향을 보였고, 고도불포화지방산(polyenoic acids)은 유생이 발달함에 따라 7.8%에서 45.6%로 높아지는 경향을 보여 포화지방산과 대조적인 조성비를 보였다.

한편, 알 및 각 유생 발달단계에서 가장 높은 조성비를 보인 지방산은 palmitic acid (9.9~37.0%), oleic acid (12.2~32.3%) 및 linoleic acid (2.0~33.6%)였고, EPA와 DHA함량은 각각 2.2~11.6%, 2.0~4.5%로 나타나, 전체 유생단계에서 EPA가 DHA에 비해 높은 조성비(1.1~3.5%, EPA/DHA)를 보였다. 공급된 먹이생물의 지방산 조성비는 유생의 지방산조성비와 비슷한 경향을 보였다.

## 고 찰

인공종묘생산의 목적은 대상생물을 한정된 공간에서 최대의 생산과 양질의 건강 종묘를 생산하는 것이다. 따라서 사육대상생물의 최적사육조건을 밝히는 것은 생산량과 생산단가를 결정하는 중요한 요건이다. 사육조건은 크게 물리·환경적인 요인과 공급되는 먹이의 질과 양, 즉 영양적인 요구조건인데, 건강종묘생산 차원에서 대부분 영양적인 조건에 더 큰 비중을 두고 있다(Newkirk et al., 1977; Collet et al., 1999; Garcia-Esquivel et al., 2001).

영양요구조건은 대상생물의 종과 크기, 식성 및 생리적인 조건에 따라 달라지기 때문에 각각의 상태에 따라서 필요한 영양소, 에너지 등을 정확히 구명하여 표준화된 사료 또는 먹이를 결정하여야 한다.

참굴 인공종묘생산과정에서 유생사육에 요구되는 영양요구조건에 관한 연구는 먹이의 양과 질(Wilson, 1978; Helm and Laing, 1987; Laing, 1995; Min et al., 1995; Powell et al., 2002), 공급 종에 따른 생화학적 변화(Holland and Spencer, 1973; Gallager et al., 1986; His and Maurer, 1988; Rodriguez et al., 1990; Farias et al., 1998; Videla et al., 1998), 먹이 섭취 및 생리적 조건(Gerdes, 1983 a, b), 에너지 요구조건(Holland and Spencer, 1973; Farias et al., 1998; Labarta et al., 1999) 등 다수의 연구결과가 있다. 그러나 대부분의 연구자들은 사육조건과 공급되는 먹이생물의 종과 질에 따라 그 요구조건이 달라지기 때문에 각각의 사육조건에 맞는 체계적인 영양요구조건 구명에 대한 필요성을 제기하였고, 특히 국내에서는 Min et al. (1995)의 연구 외에는 관련 연구가 매우 미흡한 상태로써 안정적인 참굴 인공종묘생산과 관련하여 기초자료 확보를 위해서는 이에 대한 체계적인 연구가 절실한 실정이다.

영양요구 조건 구명과 관련하여 많은 연구자들은 유생의 성장과 체조성의 생화학적 변화를 조사함으로써 인공종묘생산 또는 현장에서의 성장환경 조건을 명확히 알 수 있기 때문에 이러한 생화학적 조성의 변화에 관련된 보고(Mann and Gallager, 1985; Gallager et al., 1986; His and Maurer, 1988; Napolitano

et al., 1990; Ferreira et al., 1990; Farias et al., 1998)가 다수 있지만, 대부분 단편적 결과에 불과하여 대량 인공종묘생산 단계에 따른 일련의 체계적인 보고는 거의 찾아 볼 수 없다.

본 실험의 결과 부착기 유생까지의 성장에 따른 일간성장률과 각고의 성장은 사육조건이 동일한 Min et al. (1995)의 연구 결과와 비슷하였다. 그러나 His and Maurer (1988)가 수온 23.2의 자연에서 출현한 유생을 대상으로 성장과 체성분을 조사한 결과, 초기 D형과 부착기 유생의 크기는 각각 67  $\mu\text{m}$ 와 324  $\mu\text{m}$ 로 본 실험의 73.5  $\mu\text{m}$ , 319.7  $\mu\text{m}$ 와 비슷한 크기를 보였지만, 부착기 유생까지 성장하는데 27일이 소요되어 본 실험의 12일과는 상당한 차이를 보였는데, 이와 같은 결과는 해산 무척추동물 유생의 부유기간이 먹이생물의 질과 수온에 영향을 받으며(Loosanoff and Davis, 1963), 특히 수온에 크게 기인된 것으로 판단된다. 그러나 건중량의 변화는 128~7,000 ng/larva로 본 실험의 200~6,500 ng/larva와 비슷한 증가량을 보였다.

한편, 성장에 따른 체조성의 변화는 탄수화물은 0.2~21.0 ng/larva (0.4~1.7%/total organic mater), 지질 10.1~208.7 ng/larva (15.7~37.7%), 단백질 16.5~973.9 ng/larva (61.6~83.1%)로 His and Maurer (1988)는 보고하였는데, 본 실험에서는 지질 2.3~140.0 ng/larva (6.7~13.2%), 단백질 31.6~1,556.5 ng/larva (74.2~77.9%), 탄수화물 5.3~394.0 ng/larva (12.6~18.8%)로 단백질의 비율은 비슷한 경향을 보였지만, 지질함량은 낮았고, 탄수화물의 함량은 매우 높은 함량을 보였다. 또한 Park et al. (1999)은 국내 자연산 참굴 D형 유생의 지질함량이 2.7~5.0 ng/larva로 보고하여 본 실험과 비슷한 지질함량을 보였지만, 전체적으로 유생의 지질함량은 지역과 계절에 따라 차이를 나타내는 것으로 보고하였다. 이와 같은 결과의 차이는 인공종묘생산과정에서는 비록 몇 종의 먹이생물을 혼합해 주고 있지만, 다양한 종으로 균형적인 먹이를 섭취하는 자연조건의 영양상태와는 차이가 있음을 보여주고 있다. 따라서 인공종묘생산과정에서 건강한 유생을 얻기 위해서는 가능한 다양한 종의 먹이생물을 공급하는 것이 고른 영양상태를 유지할 수 있을 것으로 판단된다.

그렇지만, 본 실험의 결과와 His and Maurer (1988)의 결과에서 전체적으로 유생의 성장에 따른 3대 영양소의 변화는 D형 유생에서 각정기 유생 초기까지는 감소하다가 이 후에는 급격한 증가를 보이고 부착기에 즈음하여 다시 감소하여 비슷한 경향을 보였는데, 이와 같은 결과는 D형 유생에서 각정기 유생 초기에는 난황흡수기 단계로 유생의 주 에너지원은 축적된 난황에 의존하고, 각정기 유생에서 후기각정기 유생까지는 완전한 외부 먹이 붙임이 이루어지는 먹이전환기와 축적기 단계로 외부먹이공급에 따른 영양소의 축적이 이루어진다. 그리고 부착기로 이행함에 따라 변태에 필요한 각종 기관들의 형성에 따른 요인으로 일부 축적된 에너지를 이용한 결과로 추정된다. 한편, D형 유생 이후 급격한 회복 증가는 폐각형성과 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다.

일반적으로 조개류의 발생과정에서 최초의 난질, 특히 알에 축적된 지질의 함량은 난발생 및 유생의 성장과 생존에 직접적으로 영향을 미치는데(Lannan et al., 1980a; Gallager and Mann, 1986), Gallager and Mann (1986)은 버지니아 굴, *Crassostrea virginica*의 알 내 지질함량은 전체 유기물질 중 6.0~25.5%로 전체 유기물질 중 10% 이하의 지질함량은 부착기 유생까지 성장률이 낮아 난질이 좋지 않고, 18% 이상의 지질함량을 보인 알은 부착기 유생까지 생존율이 높은 점을 강조하여 알 내 지질함량의 중요성을 보고하였다. 본 실험에서도 알의 지질함량은 전체 유기물질 중 21.6%로 비교적 높은 지질함량을 보였고, 초기 발생과정에서 지질이 95.6%나 감소되면서 가장 높은 이용성을 보여 초기발생과정에서 지질의 중요성을 알 수 있었지만, 단백질과 탄수화물도 각각 84.7%와 84.6%의 이용성을 보여 지질 뿐만 아니라, 단백질과 탄수화물의 함량도 전체 난질을 결정하는 중요한 요소임을 보여주고 있다.

한편, 대부분 연구자들은 일반적인 영양조성과 영양 요구량은 일치하지 않기 때문에 조성분(단백질, 지질 및 탄수화물)만으로는 영양 요구량을 판정하기에는 어려움이 있어 영양원의 구성 요소(아미노산, 지방산)의 평가가 필수적임을 보고하였다(Webb and Chu, 1983; Thompson et al., 1993).

일반적으로 단백질은 모든 해산 동물의 체성분을 이루는 기본적인 영양소로 가장 고가의 영양원이다. 성장과정에서 얼마만큼의 단백질을 효율적으로 축적하는가에 따라 성장 및 생존율 그리고 먹이효율이 달라지고, 특히 필수아미노산의 공급은 전체 사육 생물의 생존유지에 반드시 필요하다. 참굴 유생의 필수아미노산 요구량은 정확하게 구명되지 않았지만, 성장과 생존에 매우 중요하다(Enright et al., 1986).

본 실험에서 아미노산 중 필수아미노산의 구성비율은 알은 48.2%, 유생은 43.5~46.6%로 비교적 높은 비율로 D형 유생에서 부착기 유생까지 각각의 발달 단계별 아미노산 구성비율은 전체적으로 알에 비해 낮은 함량을 보였지만, 조성비는 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 유생의 성장에 따른 정확한 아미노산 축적량에 대한 연구결과를 찾지 못해 축적 변화량을 비교 분석하는 데는 어려움이 있었다. 따라서 향후 보다 명확한 아미노산 요구량을 구명하기 위해서는 보다 체계적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

먹이가치와 영양요구량을 결정하는데 있어 지방산 조성은 매우 중요하며, 가치를 판단하는 직접적인 평가 요소이다. 이들 지방산에 대한 지금까지 연구 결과는 포화지방산, 특히 myristic 산과 palmitic 산, 단일불포화지방산은 주로 성장 및 활동 에너지로 이용되는 것으로 보고되고(Enright et al., 1986; Thompson et al., 1993), 고도불포화지방산, EPA, DHA은 패류, 새우류, 어류 및 많은 종류의 해산 동물(Volkman et al., 1993; Castell et al., 1994)과 이매패류 유생의 필수 지방산으로 밝혀졌다(Langdon and Waldoock, 1981; Thompson et al., 1993; Brown et al., 1997). 그리고 20:4n-6 (Arachidonic acid, ARA)은 포유동물,

해산어류 및 무척추동물의 생명활동에 매우 중요한 prostaglandin의 전구물질, 이온 수송 및 삼투조절에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 필수지방산으로 보고되고 있다(Castell et al., 1994). 본 실험의 결과에서도 알에서 초기 유생발달과정에 이르기까지 포화지방산의 감소율이 높게 나타났고, 전 유생기간 동안 불포화 지방산 중 단일불포화지방산은 29.9~40.6%로 각정기 유생 초기까지는 증가한 후 부착기유생으로 성장하면서 감소하였는데, 특히 Palmitic acid는 초기 D형 유생에서 37.0%로 높은 조성을 보이다가 부착기 유생에서 9.9% 수준으로 감소되었고, 18:1n-9는 D형 유생에서 16.4%였는데, 각정기 초기 유생에서 32.3%로 높아졌다가 다시 부착기에서 24.6% 수준으로 낮아졌다. 이와 같은 결과로 보아 이 두 지방산은 유생의 성장기 주 활동에너지원으로 사용된 것으로 판단된다. 그러나 고도불포화 지방산은 유생이 발달함에 따라 7.8%에서 45.6%로 높아지는 경향을 보였다. 특히 18:2n-6는 D형 유생에서 3%였지만 부착기 유생에서는 33.6%로 매우 높은 축적율을 보였고, EPA와 DHA의 함량비의 변화는 유생발달단계에 따라 큰 차이는 없었지만, EPA는 초기 D형 유생에서 2.2%, 후기각정기 유생에서 11.2%, 부착기 유생에서는 5.2%로 변화하였다. 이와 같은 결과는 성장과정에서 조직형성과 밀접한 관련이 있는 것으로 추정되고, 특히 부착기 유생에서 낮아지는 경향은 변태와 관련이 있는 것으로 판단된다. 전체적으로 본 실험의 결과는 참굴 인공종묘생산 시 단일조성먹이공급에 따른 유생의 성장 및 체조성의 변화를 조사한 결과로 직접적인 영양 요구량 조사는 아니었지만, 향후 이와 관련된 연구수행에 기초적인 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 참굴 인공종묘생산 시 필수적으로 이용되는 먹이생물의 정확한 공급으로 이용성을 높이고, 유생의 성장과 생존율을 제고하여 참굴인공종묘의 생산성을 개선하기 위해서는 보다 심도 깊은 연구가 수행되어야 할 것이다.

## 요 약

참굴 유생의 최적 성장과 먹이생물의 이용성을 높이기 위해 현재 인공종묘생산에서 많이 이용되고 대량배양이 용이한 미세조류를 대상으로 그 요구조건을 구명하고, 나아가 인공배합사료개발에 요구되는 기초적인 사료 설계 자료를 얻기 위하여 대량 인공종묘생산 시 유생에 축적되는 영양소의 변화를 유생의 발달 단계에 따라 조사하였다.

유생의 일간 각장 성장은 5.8~30.8  $\mu\text{m}$ 로 중형각정기 유생 이후 최대 성장률을 보였고, 사육 12일째 각장 311.0  $\mu\text{m}$ 의 부착기 유생으로 성장하였다. 습중량, 건중량 및 AFDW는 각각 0.5~15.0  $\mu\text{g/larva}$ , 0.2~6.5  $\mu\text{g/larva}$  및 0.1~2.3  $\mu\text{g/larva}$ 이었다. 각각의 증중량은 D형 유생에서 각장 100  $\mu\text{m}$ 까지는 감소하였고, 사육 8일째까지는 급격한 증가를 보였지만, 부착기 유생으로 발달하면서 감소하였다. 알의 일반성분 조성 중 회분은 7.7%로 전체 유생단계의 30.3~39.6%에 비해 매우 낮은 함량을 보



였지만, 조단백질, 조지질 및 탄수화물의 함량은 전 유생단계에 비해 높았다. 유생의 조지질(0.6~1.1%), 조단백(6.1~10.6%), 탄수화물(1.0~2.7%), 아미노산 및 지방산 함량은 초기각정기 유생까지는 감소하였고, 이후 어느 정도 축적되는 경향을 보였다. 알과 유생의 아미노산 조성 비율은 유생의 발달단계와 상관없이 비슷한 조성비로 glutamic acid (5.85%, 1.26~2.24%)과 aspartic acid (4.67%, 0.97~1.70%)가 가장 높은 조성을 보였다. 전체 유생기 동안 필수아미노산으로서 leucine (0.83~1.26%), lysine (0.90~1.35%) 및 arginine (0.92~1.25%)이 성장함에 따라 비교적 높게 축적되었다. D형 유생에서 부착기 유생으로 발달하는 과정에서 포화지방산은 65.5% (54.3→17.1%)로 줄어들었고, 단일불포화지방산과 고도불포화지방산은 각각 35.8% (29.9→40.6%)와 484.6% (7.8→45.6%)로 축적되었다. 이 중 palmitic acid (9.9~37.0%), oleic acid (12.2~32.3%) 및 linoleic acid (2.0~33.6%)가 비교적 높은 조성을 보였고, EPA와 DHA은 각각 2.2~11.6%, 2.0~4.5%로 나타나, 전체 유생단계에서 EPA가 DHA에 비해 높은 조성비(1.1~3.5, EPA/DHA)을 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 국립수산물과학원 수산시험연구소사업비(RP-2008-AQ-043) 지원에 의해 수행된 연구결과입니다.

### 참고문헌

AOAC., 1995. Official methods of Analysis, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., pp. 69-74.

Benemann, J. R., 1992. Microalgae aquaculture feeds. *J. Appl. Phycol.*, 4, 233-245.

Breese, W. P. and R. E. Malouf, 1977. Hatchery rearing techniques for the oyster *Crassostrea rivularis* Gould. *Aquaculture*, 12, 123-126.

Brown, M. R., S. W. Jeffrey, J. K. Volkman and G. A. Dunstan, 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151, 315-331.

Castell, J. D., J. G. Bell, D. R. Tocher and J. R. Sargent, 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 128, 315-333.

Collet, B., P. Boudry, A. Thebault, S. Heurtebise, B. Morand and A. Gérard, 1999. Relationship between pre- and post-metamorphic growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 175, 215-226.

Coutteau, P. and P. Sorgeloos, 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Res.*, 11, 467-476.

De Pauw, N. and G. Persoone, 1988. Microalgae for aquaculture. (in) Borowitzka, M. A. and L. J. Borowitzka (eds.). *Microalgal*

biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 197-221.

Donaldson, J., 1989. Overview of and operating oyster hatchery. (in) Keeler, S. (ed.), Fourth Alaska aquaculture conference, November 1987, pp. 77-81.

Donaldson, J., 1991. Commercial production of microalgae at coast Oyster company. (in) Fulks, W. and K. L. Main (eds.) Proceedings of US-Asia Workshop on Rotifer and Microalgae Culture, Honolulu, Hawaii. The Oceanic Institute, HI, USA, pp. 229-236.

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

Enright, C. T., G. F. Newkirk, J. S. Craigie and J. D. Casteell, 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 96, 1-13.

Farias, A., I. Uriarte and J. C. Castilla, 1998. A biochemical study of the larval and postlarval stages of the Chilean scallop *Aropecten purpuratus*. *Aquaculture*, 166, 37-47.

Ferreiro, M. J., A. Perez-Camacho, U. Labarta, R. Beiras, M. Planas and M. J. Fernández-Reiriz, 1990. Changes in the biochemical composition of *Ostrea edulis* larvae fed on different food regimes. *Mar. Biol.*, 106, 395-401.

Folch, J., M. Lees and G. H. S. Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *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.

Gallager, S. M., R. Mann and G. C. Sasaki, 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture*, 56, 81-103.

Garcia-Esquivel, Z., V. Monica Bricelj and M. A. Gonzalez-Gomez, 2001. Physiological basis for energy demands and early postlarval mortality in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 263, 77-103.

Helm, M. M. and P. F. Millican, 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 11, 1-12.

Helm, M. M. and L. Laing, 1987. Preliminary observations on the nutritional value of "Tahiti *isochrysis*" to bivalve larvae. *Aquaculture*, 62, 281-288.

His, E. and D. Maurer, 1988. Shell growth and gross biochemical composition of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in the field. *Aquaculture*, 69, 185-194.

His, E., R. Robert and A. Dinot, 1989. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biol.*, 100, 455-463.

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.

Kalk, J. P. and A. F. Langlykke, 1986. Cost estimation for biotechnology projects. (in) Demain, A. L. and N. A. Solomon

- (eds.) Manual of industrial microbiology and biotechnology. American Society for Microbiology. Washington, D.C., pp. 363–385.
- Labarta, U., M. J. Fernandez-Reiriz and A. Perez-Camacho, 1999. Energy, biochemical substrates and growth in the larval development, metamorphosis and postlarvae of *Ostrea edulis* (L.). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 238, 225–242.
- Laing, I., 1995. Effect of food supply on oyster spatfall. Aquaculture, 131, 315–324.
- 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. Assoc. U. K., 61, 431–448.
- Lannan, J. E., 1980a. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. I. Genetic and environmental variation in survival in the larval rearing system, Aquaculture, 21, 323–336.
- Lannan, J. E., 1980b. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. III. Selective breeding for improved larval survival. Aquaculture, 21, 347–351.
- Loosanoff, V. L. and H. C. Davis, 1963. Rearing of bivalve molluscs. In: Russel, R. S. (Ed.). Advances in Marine Biology. Milford, Conn. USA, pp. 1–36.
- Losee, E., 1979. Relationship between larval and spat growth rates in the oyster (*Crassostrea virginica*). Aquaculture, 16, 123–126.
- 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. Ecol., 85, 211–228.
- Min, K. S., Y. J. Chang, D. W. Park, C. G. Jung, D. H. Kim and G. H. Kim, 1995. Studies on rearing conditions for mass seedling production in Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency, 49, 91–111.
- Napolitano, G. E., R. G. Ackman and W. M. N. Ratnayake, 1990. Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochrysis galbana*, *Chetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for bivalve larvae. J. World Aquacult. Soc., 21, 122–130.
- Nell, J. A. and J. E. Holliday, 1988. Effects of salinity on the growth and survival of Sydney rock oyster (*Saccostrea commercialis*) and Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae and spat. Aquaculture, 68, 39–44.
- Newkirk, G. F., L. E. Haley, D. L. Waugh and R. Doyle, 1977. Genetics of larvae and spat growth rate in the oyster *Crassostrea virginica*. Mar. Biol., 41, 49–52.
- Park, M. S., H. J. Lim, Q. T. Jo, J. S. Yoo and M. J. Jeon, 1999. Assessment of reproductive health in the wild seed oyster, *Crassostrea gigas*, from tow locations in Korea. J. Shellfish Res., 18(2), 445–450.
- Powell, E. N., E. A. Bochenek, J. M. Klinck and E. E. Hofmann, 2002. Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae a modeling approach. Aquaculture, 210, 89–117.
- Robert, R., E. His and A. Dinet, 1988. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the European flat oyster *Ostrea edulis*. Mar. Biol., 97, 95–100.
- Rodriguez, J. L., F. J. Sedano, L. O. Garcia-Martin, A. Perez-Camacho and J. L. Sanchez, 1990. Energy metabolism of newly settled *Ostrea edulis* spat during metamorphosis. Mar. Biol., 106, 109–111.
- SPSS Inc., 1997. SPSS Base 10.0 for Windows, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chcago, IL, USA.
- Statistical Year Book of Maritime Affairs and Fisheries, 2006. Statistical year book maritime affairs and fisheries. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Korea.
- Thompson, P. A., M. Guo and P. J. Harrison, 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Mar. Biol., 117, 259–268.
- Urban, E. R. and C. J. Langdon, 1984. Reduction in costs of diets for the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin), by the use of non-algal supplements. Aquaculture, 38, 277–291.
- Videla, J. A., O. R. Chaparro and R. J. Thompson, 1998. Role of biochemical energy reserves in the metamorphosis and early development of the oyster *Ostrea chilensis*. Mar. Biol., 132, 635–640.
- Volkman, J. K., M. R. Brown, G. A. Dunstan and S. W. Jeffrey, 1993. The biochemical composition of marine microalgae from the class eustigmatophyceae. J. Phycol., 29, 69–78.
- Webb, K. L. and F. L. E. Chu, 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. (in) Pruder, G. D., C. Langdon, D. Conklin (eds.) Proceedings of the 2nd International Conference of Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. World Maricult. Soc. Spec. Publ., 2, 272–291.
- Wilson, J. H., 1978. The food value of *Phaeodactylum tricoratum* Bohlin to the larvae of *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea gigas* Thunberg. Aquaculture, 13, 313–323.

원고접수 : 2007년 11월 5일

심사완료 : 2008년 8월 12일

수정본 수리 : 2008년 11월 3일