

## 저서성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 nauplii 생산에 미치는 미세조류의 영향

김미정 · 김정창<sup>1</sup> · 허성범\*  
부경대학교 양식학과, <sup>1</sup>부경대학교 탐사선

### Effect of Microalgal Species on Nauplii Production in the Benthic Copepod *Tigriopus japonicus*

Mi Jeong KIM, Jeong Chang KIM<sup>1</sup> and Sung Bum HUR\*  
Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea  
<sup>1</sup>Ocean Research Vessel, Tamyang, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

The survival and growth of marine benthic invertebrate larvae such as abalone depend on the nutritional value of microalgae. However, it is difficult to determine the dietary value of the many microalgal species used for food by benthic larvae. Therefore, we tested the benthic copepod, *Tigriopus japonicus*, which grazes microalgae on substrata in a manner similar to abalone larvae. It also has short generation time and is easy to rear which makes to be easier to examine the dietary value of each microalgal species. We measured the daily production of nauplii from gravid females of *T. japonicus* fed 26 microalgal species separately. Amino acid and fatty acid content of the microalgae and the copepod was also analyzed. The nauplii production of *T. japonicus* was the highest (10.7) when they were fed *Navicula* sp. (B-394) and the lowest (0.8) when they were fed *Scrippsiella trochoidea*. In *Tetraselmis suecica* the nauplii production was so high (8.2), which was not significantly different with the diatom group. We determined that *Navicula* sp. (B-394), *Rhaphoneis* sp. and *T. suecica* were good sources of food for *T. japonicus*. We suggest that a diet of with a mixture of these three microalgal species may be also good for invertebrate larvae such as abalone.

Key words: Food organism, Microalgae, Nauplii production, *Tigriopus japonicus*

#### 서 론

해양미세조류는 양식 생물의 인공종묘생산을 위한 필수적인 먹이생물이다. 그러나 해양미세조류의 대량배양은 경제적인 기술적인 어려움이 많다. 또 양식 대상생물의 번식 시기가 제한적이기 때문에 짧은 시일 안에 다양한 미세조류를 대상으로 먹이효율을 파악하기 어려운 문제점이 있다. 지금까지 조개류 유생을 위한 부유성 미세조류의 배양과 먹이 효율에 대해서는 비교적 많은 연구가 보고된 바 있으나 (Volkman et al., 1991; Poisson and Ergon, 2001; Martínez-Fernández et al., 2004), 포복성 무척추동물의 유생 사육을 위한 부착성 미세조류의 배양과 먹이효율은 부유성 미세조류에 비해 상대적으로 충분한 연구가 보고되어 있지 않다.

최근 대량 양식 기술이 개발된 전복의 경우에도 유생 시기에 적합한 부착성 미세조류의 선별과 대량 배양은 여전히 어려운 문제로 남아 있다. 그 이유는 부착성 미세조류일 경우 기질에 부착하여 군집형으로 성장하며 또 성장이 진행됨에 따라 자체 무게로 부착기질에서 탈락하는 문제가 있어, 먹이 생물로서의 종의 선별은 물론, 최적 성장 환경 요인의 파악과 배양 관리가 까다롭기 때문이다 (Hur, 2001).

한편 *Tigriopus japonicus*는 저서성 harpacticoid 요각류로서 주로 부착하여 서식하며 generation time이 짧고 채집과 대량배양이 용이하여 (Takano, 1968; Park and Hur, 1993) 어류의 먹이생물 (Park et al., 1998; Fleeger, 2005) 또는 독성실험생물 (Raisuddin et al., 2007; Lee et al., 2008)로 널리 이용되고 있다. *T. japonicus*의 서식 생태는 저서성이므로 식성도 부착 미세조류를 주로 섭취한다. 이러한 관점에서 *T. japonicus*의 성장에 적합한 미세조류는 전복, 소라, 성게, 군소 등의 포복성 유생에게도 적합한 먹이생물이 될 수 있을 것으로 예상할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 배양이 용이한 *T. japonicus*를 이용하여 다양한 미세조류의 먹이효율을 쉽게 파악함으로써, 그 결과를 향후 포복성 무척추 동물의 인공종묘생산에 적합한 먹이생물을 개발하기 위한 기초 자료로 파악하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### *Tigriopus japonicus*의 배양

실험에 사용된 *T. japonicus*는 부경대학교 유용해양플랑크톤은행의 CCUMP-39 strain을 이용하였다. *T. japonicus*의 배양을 위하여 먹이로 사용된 미세조류는 부착성이 있으면서 무척추 동물 유생의 먹이생물로 널리 이용되는 종을 고려하여, 부경대학교 한국해양미세조류은행에서 13종의 규조류, 6종

\*Corresponding author: hurs@pknu.ac.kr

Table 1. Microalgal species for the experiment of *Tigriopus japonicus* nauplii production

Species	KMMCC No.	Size (μm)		Species	KMMCC <sup>1</sup> No.	Size (μm)	
		length	width			length	width
<b>Bacillariophyceae</b>				<b>Chlorophyceae</b>			
<i>Amphora</i> sp.	B-304	23.2±3.3	6.2±1.0	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	C-20	1.9±0.6*	
<i>Cocconeis californica</i>	B-482	4.0±0.6	2.7±0.2	<i>Chloromonas</i> sp.	C-43	12.8±2.6	9.0±1.3
<i>Navicula cancellata</i>	B-4	38.6±1.7	6.4±1.2	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	C-9	12.9±2.4	7.9±2.0
<i>Navicula</i> sp.	B-123	8.2±1.1	6.1±1.1	<i>Gloeocystis gigas</i>	C-15	6.7±1.8*	
<i>Navicula</i> sp.	B-161	9.3±0.8	4.2±0.5	<i>Nannochloris oculata</i>	C-31	2.1±0.6*	
<i>Navicula</i> sp.	B-293	26.0±6.8	7.2±0.9	<i>Stichococcus bacillaris</i>	C-3	8.0±2.5	2.1±0.3
<i>Navicula</i> sp.	B-394	15.1±1.1	4.5±0.4	<b>Dinophyceae</b>			
<i>Nitzschia inconspicua</i>	B-587	6.0±1.0	2.8±0.3	<i>Amphidinium</i> sp.	D-19	15.0±2.2	9.4±1.6
<i>Nitzschia</i> sp.	B-590	3.8±0.6	2.4±0.3	<i>Prorocentrum minimum</i>	D-31	17.4±2.8	12.0±1.3
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	B-45	27.3±2.0	5.0±1.0	<i>Scrippsiella trochoidea</i>	D-1	25.2±4.7	9.8±1.2
<i>P. tricornutum</i>	B-129	23.9±1.0	4.3±0.9	<b>Haptophyceae</b>			
<i>P. tricornutum</i>	B-411	33.6±4.0	3.2±0.4	<i>Isochrysis galbana</i>	H-2	3.7±1.5	3.6±0.7
<i>Rhaphoneis</i> sp.	B-41	8.8±1.7	4.0±0.6	<i>Pavlova lutheri</i>	H-6	5.5±1.4	3.7±0.7
				<b>Prasinophyceae</b>			
				<i>Tetraselmis subcordiformis</i>	P-1	14.8±3.8	7.7±1.7
				<i>T. suecica</i>	P-9	7.9±1.5	6.2±1.7

<sup>1</sup>KMMCC : Korea Marine Microalgae Culture Center.

\*: mean diameter.±standard deviation.

의 녹조류, 3종의 와편모조류, 2종의 담녹조류와 2종의 착편모조류를 분양받아 이용하였다 (Table 1).

*T. japonicus*에 대한 각 미세조류의 먹이효율은 포란한 *T. japonicus* 암컷의 일일 nauplii 생산과 생존일수로 측정하였다. 3 mL culture cell chamber에서 2 mL 여과 해수와 한 마리의 포란한 *T. japonicus* 암컷을 넣고, 1/2배지 (Guillard and Rhyther, 1962), 20°C, 33 psu, 3,000 lux의 연속조명하에서 배양한 각 종의 미세조류를 원심분리하여 먹이밀도가 매일 100×10<sup>4</sup> cells/mL 이상 유지되도록 충분한 양을 공급하며 매일 부화한 nauplii 유생을 현미경하에서 계수하였다. *T. japonicus*는 22°C, 33 psu, 3,000 lux 연속조명하에서 배양하였고, 해수는 매일 2 mL씩 GF/C 필터 (0.45 μm)로 여과하여 환수하였다. *T. japonicus*는 25일간 배양하였고 3회 반복 실험하였다.

아미노산과 지방산 분석

한편 26종의 미세조류 가운데 *T. japonicus* nauplii의 생산이 높았던 10종의 미세조류와 이 중 3종의 미세조류로 배양한 *T. japonicus*의 아미노산과 지방산을 분석하였다. 배양된 미세조류와 *T. japonicus*는 분석 전까지 -80°C에서 냉동 보관하였다. 아미노산은 시료 20 mg을 시험관에 넣고 6N HCl 15 mL를 가하여 밀봉한 후 110°C에서 24시간 가수분해하였다. 이 분해액을 여과한 후 감압 건조하여 HCl을 완전히 제거한 다음, sodium dilution buffer (pH 2.2)로 25 mL되게 정량하고, 이 용액을 일정량 취하여 아미노산 자동분석기 S433 (Sykam, Germany)를 이용하여 ninhydrin 방법으로 분석하였다. 분석조건은 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 min로 하였다.

추출한 지방의 methylation은 Metcalfe et al. (1966)의 방법으

로 분석하였다. 지방산 methylation은 ferries silica capillary column을 장착한 SRI 8610 gas chromatography (Thermo, Trans-GC, USA)로 분석하였다. 분석조건은 column: quadrex, 30 m bonded carbowax 0.25 mm, i.d×0.25 μm film, cat. no.: 007-CW-30-0.25F, injector temperature: 250°C, detector temperature: 280°C, carrier gas: helium에 의하여 분석하였다. 지방산은 동일 조건에서 분석한 standard (PUFA 1, 10 및 37 component FAME Mix, Supleco, Ontario, Canada)를 이용하여 동정하였다. 영양분석은 각 시료당 2회 반복 분석하였다.

통계처리

모든 실험 결과의 통계처리는 SPSS (version 11) 통계패키지를 이용하여 one-way ANOVA test (Duncan's test; Duncan, 1955)로 5% 수준의 유의성을 조사하였다.

결 과

*Tigriopus japonicus*의 배양

각 종의 미세조류를 먹이로 공급한 *T. japonicus* 암컷 1개체의 일일 평균 nauplii 생산은 Fig. 1과 같다. Nauplii 생산은 미세조류의 종류에 따라 유의적 차이가 있었다 (P<0.05). 크기가 15.1 μm인 *Navicula* sp. (B-394)를 공급한 *T. japonicus*의 일일 평균 nauplii 생산은 10.7 개체로 가장 높았고 와편모조류인 크기 25.2 μm의 *Scrippsiella trochoidea*는 0.8 개체로 가장 낮았다. 규조류 가운데 *P. tricornutum* (B-45, B-129), *Navicula cancellata*, *Rhaphoneis* sp., *Amphora* sp., *Navicula* sp. (B-161, 293), *C. californica*는 일일 nauplii 생산이 7.5-9.6 개체로 *Navicula* sp. (B-394)와 유의적인 차이가 없었다.

규조류 가운데 *Navicula* sp. (B-123)와 *N. inconspicua*는 가장 낮은 nauplii 생산을 보였다. 또 *P. tricornutum*의 경우 같은 종임에도 B-411 strain은 B-45나 B-129 strain에 비해 유의적으

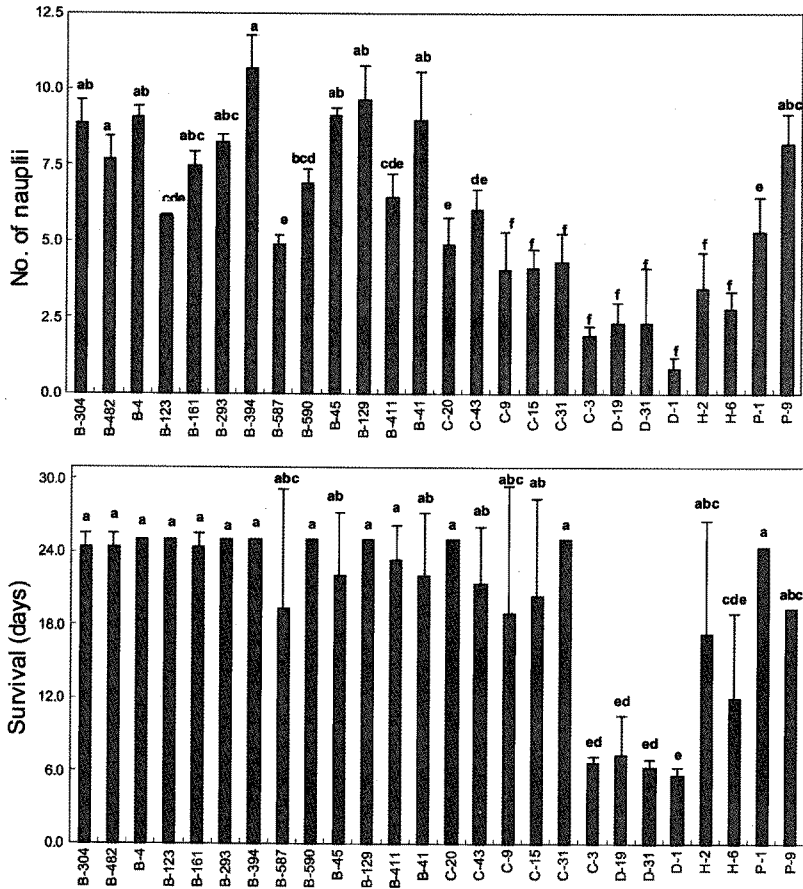


Fig. 1. Number of nauplii per day (up) and survival days (bottom) of a gravid female of *Tigriopus japonicus* fed different microalgal species (B-304, *Amphora* sp.; B-482, *Cocconeis californica*; B-4, *Navicula cancellata*; B-123, *Navicula* sp.; B-161, *Navicula* sp.; B-293, *Navicula* sp.; B-394, *Navicula* sp.; B-587, *Nitzschia inconspicua*; B-590, *Nitzschia* sp.; B-45, *Phaeodactylum tricornutum*; B-129, *P. tricornutum*; B-411, *P. tricornutum*; B-41, *Rhaphoneis* sp.; C-20, *Chlorella ellipsoidea*; C-43, *Chloromonas* sp.; C-9, *Dunaliella tertiolecta*; C-15, *Gloeocystis gigas*; C-31, *Nannochloris oculata*; C-3, *Stichococcus bacillaris*; D-19, *Amphidinium* sp.; D-31, *Prorocentrum minimum*; D-1, *Scrippsiella trochoidea*; H-2, *Isochrysis galbana*; H-6, *Pavlova lutheri*; P-1, *Tetraselmis subcordiformis*; P-9, *T. suecica*).

로 낮은 생산을 보였다. 규조류 이외의 미세조류 가운데 담녹조류인 *Tetraselmis suecica*는 1일 생산이 8.2 개체로 nauplii 생산이 가장 높았던 *Navicula* sp. (B-394)와 유의적인 차이가 없었으나 *T. subcordiformis*는 같은 속임에도 유의적으로 낮았다 ( $P < 0.05$ ).

녹조류 6종의 경우 1일 nauplii 생산은 1.9-6.0 개체였으며 이 중 *Chlorella ellipsoidea*와 *Chloromonas* sp. 가 4.9-6.0 개체로 다른 녹조류에 비해 유의적으로 높았다 ( $P < 0.05$ ). 3종의 와편모조류 (*Amphidinium* sp., *Prorocentrum minimum*, *S. trochoidea*)는 1일 생산이 2.3 개체 이하로 가장 낮았다. 조개류 먹이 생물로 널리 이용되는 *Isochrysis galbana*와 *Pavlova lutheri*는 1일 생산이 2.8-3.4 개체로 매우 낮았다.

전체적으로 규조류는 다른 class의 미세조류에 비하여 *T.*

*japonicus* nauplii 생산이 높았으며, 그 외 부유성이 높은 미세조류는 낮은 결과를 보였다. 특히 운동성이 큰 부유성 와편모조류는 가장 저조한 생산을 보였다. 본 조사에서 미세조류 크기에 따른 생산의 차이는 없었다.

한편 암컷 *T. japonicus*의 생존 일수는 3종의 와편모조류와 녹조류 *Stichococcus bacillaris*의 경우를 제외하면 모두 18-25 일로 서로 유의적인 차이가 없었다. 그러나 이들 4종의 경우는 생존일수가 6-7일로 다른 실험구에 비해 유의적으로 낮은 생존 결과를 보였다 ( $P < 0.05$ ).

#### 아미노산과 지방산 분석

*T. japonicus* nauplii의 생산이 높았던 미세조류 10종의 아미노산 조성은 종에 관계없이 비슷한 경향을 보였다 (Table 2).

Table 2. Amino acid composition (%) of ten microalgal species for high production of *Tigriopus japonicus* nauplii

Amino acid	P-9	B-4	B-41	B-45	B-129	B-161	B-304	B-293	B-394	B-482
Aspartic acid	1.4±0.28	1.8±0.25	1.7±0.21	2.5±0.54	2.3±0.84	2.3±0.79	2.7±1.87	2.7±0.38	2.5±1.45	1.8±0.38
Threonine	8.0±0.27	0.9±0.29	0.9±0.02	1.2±0.18	1.0±0.37	1.1±0.55	1.6±1.10	1.2±0.13	1.2±0.42	0.8±0.02
Serine	0.7±0.14	0.9±0.37	0.9±0.17	1.2±0.02	1.0±0.48	1.1±0.46	1.3±0.95	1.2±0.08	1.1±0.37	0.8±0.04
Glutamic acid	2.5±0.44	2.7±0.35	2.5±0.43	3.0±0.08	2.9±1.27	2.7±1.12	3.0±1.49	2.5±0.25	2.8±1.62	2.1±0.21
Glycine	0.7±0.21	0.8±0.04	0.8±0.29	1.1±0.29	0.8±0.56	1.2±0.28	1.4±1.19	1.1±0.18	1.2±0.30	0.8±0.03
Alanine	1.0±0.29	1.0±0.25	1.0±0.25	1.5±0.37	1.3±0.75	1.3±0.46	1.5±1.43	1.1±0.16	1.4±0.45	1.0±0.09
Valine	0.8±0.53	0.9±0.49	0.9±0.42	1.3±0.28	1.1±0.24	1.1±1.05	1.3±0.48	1.1±0.44	1.2±0.64 <sup>d</sup>	0.8±1.39
Cystein	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00	0.1±1.88
Methionine	0.0±0.00	0.1±0.93	0.0±0.00	0.2±0.91	0.1±0.17	0.1±0.03	0.3±0.09	0.0±0.78	0.2±0.13	0.2±0.32
Isoleucine	0.4±0.22	0.6±0.20	0.5±0.12	0.7±0.12	0.6±0.04	0.6±0.40	0.7±0.43	0.7±0.09	0.7±0.03	0.5±0.05
Leucine	0.9±0.28	1.1±0.38	1.0±0.01	1.5±0.24	1.2±0.26	1.3±0.62	0.8±11.43	1.3±0.14	1.3±0.47	1.1±0.07
Tyrosine	0.0±0.88	0.0±1.30	0.0±1.23	0.1±1.69	0.1±1.08	0.2±0.04	0.5±0.67	0.2±0.57	0.4±1.87	0.3±2.05
Phenylalanine	0.9±0.38	1.0±0.33	1.0±0.53	1.2±0.26	1.1±0.59	1.1±0.36	1.4±1.89	1.2±1.17	1.2±0.29	0.9±0.49
Lysine	0.6±0.07	0.7±0.12	0.6±0.13	0.8±0.12	0.7±0.38	0.8±0.41	0.9±0.47	0.7±0.10	0.8±0.69	0.7±0.24
Histidine	0.3±0.69	0.3±0.72	0.2±0.47	0.3±1.18	0.4±0.51	0.3±0.25	0.3±0.40	0.3±0.78	0.3±0.65	0.2±0.72
Arginine	1.5±0.22	1.3±0.36	1.4±0.76	1.2±0.24	1.9±0.61	1.1±0.65	1.1±0.42	0.9±0.01	1.2±0.40	0.8±0.07
Proline	0.5±0.52	0.6±0.14	0.6±0.25	1.1±0.52	0.7±4.16	0.8±0.30	0.9±0.69	0.7±0.41	1.0±1.42	0.5±0.38
Total	13.4	14.6	14.3	19.0	17.1	17.0	19.7	16.7	18.4	13.6
ΣEAA	6.1	6.8	6.5	8.5	8.1	7.4	8.5	7.3	8.0	6.1
ΣEAA/TA(%)	46.4	46.3	46.3	44.7	47.1	43.8	43.0	43.4	43.5	45.2

EAA, essential amino acid; TA, total amino acid.

P-9, *Tetraselmis suecica*; B-4, *Navicula cancellata*; B-41, *Rhaphoneis* sp.; B-45, *Phaeodactylum tricornutum*; B-129, *P. tricornutum*; B-161, *Navicula* sp.; B-304, *Amphora* sp.; B-293, *Navicula* sp.; B-394, *Navicula* sp.; B-482, *Cocconeis californica*.

Aspartic acid와 glutamic acid가 1.4-3.0%로 가장 높은 조성을 보였고 valine, cysteine, leucine과 histidine은 0.5%이하로 비교적 낮았다. 기타 아미노산은 0.6-1.5%의 범위를 보였다. 총 아미노산 조성은 *Amphora* sp.와 *P. tricornutum* (B-45)가 각각 19.7%, 19.0%로 가장 높았고, *T. suecica*는 13.0%로 규조류에 비해 낮았다. 한편 10종 미세조류의 총 아미노산에 대한 필수 아미노산의 구성비는 43-47%로 비슷한 경향을 보였다.

미세조류 10종의 지방산 조성을 살펴보면, *T. suecica*를 제외한 규조류의 경우 16:1이 13.5-45.1%로 가장 높은 비율을 보였다 (Table 3). 반면 *T. suecica*는 C16:1에서는 1.8%로 가장 낮았으나 C16:0에서는 26.4%로 가장 높았다. 또 *T. suecica*는 규조류와 달리 C18:1n9, C18:2n6와 C18:3n3이 각각 17.2%, 8.3%, 20.1%로 높아 다른 9종 규조류의 지방산 조성보다 매우 상이한 결과를 보였다. 지방산 성분 중에서 polyunsaturated fatty acid (PUFA)의 함량은 *N. cancellata*, *T. suecica*와 *Rhaphoneis* sp.에서 각각 48.1%, 42.5%, 37.8%로 가장 높았고, *Navicula* sp. (B-293)와 *C. californica*에서는 각각 9.3%와 10.4%로 가장 낮았다. Eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) 함량은 *N. cancellata*에서 31.5%로 가장 높았으나, 같은 속인 *Navicula* sp. (B-293)에서는 2.9%로 가장 낮았다. 그러나, docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3)는 *T. japonicus* nauplii의 생산이 가장 높았던 *Navicula* sp. (B-394)에서 2.3%로 가장 높았으며 나머지 종류에서는 0.3-2% 수준으로 낮았다.

한편 *T. japonicus*의 nauplii의 생산이 가장 높았던 *Navicula* sp. (B-394)와 규조류가 아니면서도 생산이 높았던 *T. suecica*, 그리고 *Navicula* 이외의 규조류로서 PUFA의 함량이 가장 높았던 *Rhaphoneis* sp.을 대상으로 이들 3종류의 미세조류로

*T. japonicus*를 각각 사육한 후 아미노산과 지방산 분석의 결과는 Table 4, 5와 같다. 아미노산의 종류별 구성은 3 실험구에서 서로 유사한 경향을 보였다. 총 아미노산은 *T. suecica*를 공급한 *T. japonicus*에서 52.2%로 가장 높았고 *Rhaphoneis* sp.은 35.4%로 가장 낮았다. 그러나 총 아미노산에 대한 필수 아미노산의 비율은 43.8-50.0% 범위로 서로 비슷하였다. Glutamic acid는 3 실험구 모두에서 5.1-7.7%로 가장 높은 비중을 차지했고, cystein은 검출되지 않았다. Threonin의 경우 *T. suecica* 자체는 8.0%로 가장 높았으나, 이 미세조류로 배양한 *T. japonicus*의 threonin은 2.6%에 불과했다. 또 *T. suecica*의 glutamic acid는 2.5%였으나 이종으로 배양한 *T. japonicus*의 glutamic acid는 7.7%로 가장 높은 구성 비율을 차지한 점이 특이하였다.

3종류 미세조류로 각각 배양한 *T. japonicus*의 지방산은 C16:0이 22.3-24.9%로 가장 높은 비율을 차지하였다. C16:1은 *Rhaphoneis* sp.에서는 23.1%로 *T. suecica*와 *Navicula* sp. (B-394)의 14.0%와 15.8%에 비하여 월등히 높은 비율을 보였다. EPA의 경우는 3 실험구에서 11.6-13.1%로 유사하였고 DHA도 14.4-19.8%의 비율로 큰 차이는 없었다.

## 고 찰

해산 저서성 harpacticoid 요각류인 *T. japonicus*는 광영성으로 급격한 환경변화에서도 잘 번식한다 (Koga, 1970). 또 liter당 100,000개체 이상의 대량배양이 용이하여 어류치어의 종묘생산에서 먹이생물로 이용된다 (Park and Hur, 1993; Park et al., 1998; Fleeger, 2005). *T. japonicus*는 다른 동물플랑크톤과 달리 여과구조가 발달하지 못해 벽면이나 부착기질에 붙은 미세조류를 잡아먹는 습성을 지니고 있다 (Ogawa, 1977). 따

Table 3. Fatty acid composition (%) of ten microalgal species for high production of *Tigriopus japonicus* nauplii

Fatty acid	P-9	B-4	B-41	B-45	B-129	B-161	B-304	B-293	B-394	B-482
C10:0	0.3±0.02	0.6±0.24	0.6±0.02							
C12:0	0.1±0.05									
C13:0	0.2±0.06	0.7±0.10	0.6±0.26	0.3±0.04	0.3±0.13	0.3±0.02	1.2±0.55	1.2±0.49	0.3±0.03	
C14:0	1.3±0.28	11.9±1.00	0.5±0.04	2.8±0.14	4.5±0.39	3.9±0.44	5.6±1.76	3.0±0.40	4.7±0.32	5.7±0.15
C14:1	2.1±0.02	3.0±0.55					1.2±0.47			0.0±0.00
C15:0	0.5±0.10	1.1±0.08	0.5±0.11	0.4±0.05	0.3±0.10	0.4±0.04	1.0±0.74	1.2±0.49	0.4±0.01	1.5±0.02
C15:1	1.0±0.06	1.2±0.30	0.6±0.00	0.3±0.04	0.3±0.13	0.3±0.02	1.2±0.55	1.2±0.49	0.3±0.03	0.5±0.45
C16:0	26.4±0.25	12.0±1.45	19.0±0.13	17.1±1.55	13.8±0.41	18.5±1.28	19.1±0.05	15.8±1.15	18.2±0.06	19.5±0.19
C16:1	1.8±0.08	13.5±0.64	34.3±1.74	42.6±0.67	33.8±2.38	22.5±5.73	21.1±4.70	24.3±3.14	45.1±1.67	36.3±3.14
C17:0				0.3±0.04			0.4±0.12	1.2±0.55	0.3±0.03	0.4±0.51
C18:0	4.3±1.73	4.0±2.79	1.5±0.66	3.2±1.42	0.9±0.26	12.1±4.92	3.6±3.10	1.7±0.82	0.9±0.12	3.8±1.16
C18:1n9	17.2±0.09	3.0±1.34	1.9±0.30	4.0±0.82	3.2±0.00	5.8±1.86	5.8±0.50	3.2±0.22	2.5±0.08	2.3±0.95
C18:2n6	8.3±0.70	2.1±0.10	2.6±0.01	2.0±0.14	1.6±0.03	3.3±0.90	2.1±0.75	1.9±0.74	1.0±0.13	1.1±0.17
C18:3n6	0.4±0.05		1.2±0.01	1.4±0.01	0.5±0.04		1.2±0.55		0.5±0.01	0.4±0.51
C18:3n3	20.1±0.37	9.8±1.21	0.6±0.12	0.3±0.04	0.3±0.13	0.3±0.02	1.2±0.55	1.2±0.49	0.6±0.03	0.4±0.51
C20:0		0.4±0.12		0.3±0.04		0.3±0.02				0.4±0.51
C20:1	1.8±0.31	0.5±0.29								
C20:2			0.7±0.34	0.7±0.50	1.9±0.25	2.3±0.52	3.9±2.29	1.2±0.49	0.5±0.30	2.9±0.53
C20:3n6		1.1±0.22	0.0±0.01						0.3±0.03	
C20:3n3	0.5±0.09		0.6±0.13						0.3±0.03	
C20:4n6	2.4±0.24	3.2±0.04	6.0±0.06	1.7±0.05	1.7±0.06	10.9±3.9	11.3±3.14	2.1±0.44	2.1±0.05	1.7±0.02
C21:0	0.3±0.04								0.0±0.00	
C20:5n3	10.0±0.53	31.5±1.87	26.1±0.19	12.3±0.17	13.9±1.29	5.7±2.41	3.6±1.74	2.9±0.58	9.7±0.31	6.3±0.05
C22:0				0.3±0.04					0.0±0.00	
C22:1n9			0.8±0.40	8.4±3.39	19.9±3.79	12.6±2.11	13.5±7.40	36.9±0.49	9.7±1.60	16.2±0.86
C23:0			0.6±0.01							
C24:0	0.2±0.04		0.4±0.04	1.1±1.05	2.7±0.44	0.0±0.00	1.2±0.55	1.2±0.49	0.3±0.03	0.0±0.00
C22:6n3	0.8±0.06	0.5±0.09	0.7±0.29	0.3±0.04	0.3±0.13	0.3±0.02	1.2±0.55	1.2±0.49	2.3±0.04	0.4±0.51
Saturated	33.6	30.6	23.9	25.9	22.6	35.9	32.9	23.9	25.1	31.5
Monoun-saturated	24.0	21.2	37.6	55.4	57.2	41.2	42.8	65.6	57.6	55.3
Polyun-saturated	42.5	48.1	37.8	18.1	18.3	20.6	20.5	9.3	16.8	10.4
n3 HUFA	31.4	41.8	27.9	12.9	14.6	6.3	5.9	5.3	12.9	7.1
n6 HUFA	11.1	6.4	9.9	5.2	3.8	14.3	14.5	4.0	3.9	3.2
n-3/n-6	2.8	6.5	2.8	2.5	3.9	0.4	0.4	1.3	3.3	2.2

HUFA, highly unsaturated fatty acid.

P-9, *Tetraselmis suecica*; B-4, *Navicula cancellata*; B-41, *Rhaphoneis* sp.; B-45, *Phaeodactylum tricorutum*; B-129, *P. tricorutum*; B-161, *Navicula* sp.; B-304, *Amphora* sp.; B-293, *Navicula* sp.; B-394, *Navicula* sp.; B-482, *Cocconeis californica*.

라서 *T. japonicus*의 채식성은 전복과 같은 포복성 저서무척추 동물 유생의 식성과 유사할 수 있다. 따라서 *T. japonicus*를 대상으로 다양한 미세조류의 먹이효율 조사 결과는 전복 종묘 생산에 적용할 수 있는 유용 미세조류의 탐색에 참고 자료로 활용할 수 있을 것이다.

본 연구에서 규조류는 녹조류, 와편모조류, 남조류 등의 미세조류에 비하여 *T. japonicus* nauplii 생산이 높았다. 그 이유는 규조류가 다른 미세조류에 비하여 부착성이 높기 때문으로 해석된다. 13종의 규조류 중에서 부착성이 강한 *Rhaphoneis*, *Amphora*, *Navicula*, *Nitzschia* 등의 9 종은 nauplii 생산에 있어서 유의적인 차이가 없던 점으로 보아 *T. japonicus*의 먹이로 우수한 것으로 판단된다. 그러나 *P. tricorutum*과 *Navicula* sp.와 같은 규조류의 경우 서로 유사한 크기의 종임에도 strain에 따라 nauplii 생산은 차이가 있었다. 이러한 현상은 미세조류의 영양가가 strain에 따른 차이는 물론, 미소 배양 환경의 차이 때문으로 해석할 수 있다 (Utting, 1985; Brown et al.,

1989).

본 실험에서 3-38  $\mu\text{m}$  사이의 규조류에서는 크기에 따른 *T. japonicus* nauplii 생산의 유의적 차이가 없었던 것으로 보아, 약 40  $\mu\text{m}$  이하의 규조류는 *T. japonicus*의 먹이로 적당한 것으로 판단된다. 담녹조류를 제외한 녹조류, 와편모조류, 착편모조류는 규조류에 비해 낮은 nauplii 생산을 보였다. 특히 고도 불포화지방산 (high unsaturated fatty acid, HUFA)의 함량이 높아 조개류 먹이로 널리 이용되는 *I. galbana*와 *P. lutheri* 등은 높은 영양가를 갖고 있음에도 (Volkman et al., 1991; Poisson and Ergon, 2001; Min et al., 2007) *T. japonicus*의 먹이로는 적합하지 않았다. *Akashiwo sanguinea*, *Prorocentrum minimum* 등의 와편모조류는 *Calanus*, *Temora* 와 같은 요각류의 먹이로 활용이 가능하다는 보고 (Ianora, 2005)가 있으나 본 조사에서 실험한 *P. minimum*을 포함한 3종의 와편모조류는 모두 *T. japonicus*에게는 낮은 먹이효율을 보였다. 녹조류에서 *Chlorella*는 높은 지방산을 함유하고 있어 rotifer의 먹이

Table 4. Amino acid contents (%) of *Tigriopus japonicus* fed three microalgal species

Amino acid	P-9	B-41	B-394
Aspartic acid	5.3±0.18	3.9±0.82	4.6±1.10
Threonine	2.6±0.23	2.0±0.36	2.3±0.55
Serine	2.8±0.09	2.0±0.38	2.5±0.45
Glutamic acid	7.7±0.94	5.1±0.74	6.6±1.45
Glycine	2.9±0.20	2.2±0.42	2.6±0.69
Alanine	3.5±0.40	3.0±7.41	3.0±0.68
Cystein	0.0±0.00	0.0±0.00	0.0±0.00
Valine	3.3±0.57	2.3±0.24	2.8±0.61
Met	1.0±0.06	0.5±0.13	0.7±0.12
Isoleucine	2.0±0.17	1.4±0.31	1.7±0.30
Leuine	3.6±0.47	2.5±0.30	3.1±0.61
Tyrosine	2.3±0.31	1.4±0.23	1.8±0.34
Phenylalanine	2.4±0.22	1.8±0.34	2.1±0.40
Lysine	3.7±0.53	2.2±0.28	3.1±0.06
Histidine	1.1±0.13	0.6±0.03	0.9±0.22
Arginine	3.8±0.46	2.3±0.40	3.3±0.67
Proline	4.5±0.00	2.4±0.62	3.5±0.65
Total	52.2	35.4	44.7
ΣEAA	23.5	15.5	20.1
ΣEAA/TA(%)	45.0	43.8	44.9

EAA, essential amino acid; TA, total amino acid.

P-9, *Tetraselmis suecica*; B-41, *Rhaphoneis* sp.; B-394, *Navicula* sp..

Table 5. Fatty acids composition (%) of *Tigriopus japonicus* fed three microalgal species

Fatty acid	P-9	B-41	B-394
C8:0	0.1±0.09		0.6±0.19
C13:0			0.3±0.05
C14:0	0.15±0.08	3.2±0.47	2.2±0.03
C15:0	0.7±0.09	0.5±0.12	1.3±0.13
C16:0	23.5±0.37	24.9±0.77	22.3±0.80
C16:1	14.0±0.16	23.1±1.03	15.8±0.49
C17:0	2.3±0.02	2.1±0.02	3.3±0.19
C18:0	6.9±0.04	5.6±0.22	5.7±0.09
C18:1n9	9.2±0.27	6.3±0.11	8.1±0.73
C18:2n6	2.1±0.01	2.4±0.08	3.6±0.13
C18:3n6	0.9±0.00	0.7±0.19	1.6±1.37
C18:3n3	1.2±0.01	1.0±0.10	2.1±0.44
C20:0			
C20:1	0.5±0.12	0.2±0.07	
C20:3n6	1.1±0.28	0.4±0.09	
C20:4n6	4.4±0.03	3.5±0.22	1.9±0.22
C21:0	0.0±0.04		0.4±0.17
C20:5n3	11.8±0.01	11.6±0.11	13.1±0.17
C22:0			0.1±0.02
C22:1n9			
C22:6n3	19.8±0.14	14.4±0.90	16.9±0.23
C24:0			0.5±0.26
Saturated	33.7	36.3	36.7
Mono-unsaturated	23.7	29.6	23.9
Poly-unsaturated	41.3	34.0	39.2
n3 HUFA	32.8	27.0	32.1
n6 HUFA	8.5	7.0	7.1
n-3/n-6	3.9	3.9	4.5

HUFA, highly unsaturated fatty acid.

P-9, *Tetraselmis suecica*; B-41, *Rhaphoneis* sp.; B-394, *Navicula* sp..

생물로 널리 이용되고 있으나 (Cabrera et al., 2005) *T. japonicus*의 경우에는 규조류에 비하여 낮은 먹이효율을 보였다.

*T. japonicus*의 생존일수에 있어서도 3종의 와편모조류와 *Chlorella*는 낮은 결과를 보였다. 이와 같은 이유는 이들 미세조류가 영양적으로 부족해서라기보다는 크기가 매우 작고 운동성인 부유성 미세조류이기 때문에 *T. japonicus*가 섭취하기 어려웠기 때문으로 판단된다. 그러나 담녹조류인 *T. suecica*의 경우는 규조류가 아님에도 높은 nauplii 생산을 보였다. 이러한 이유는 *T. suecica*가 다른 녹조류에 비하여 부착성과 영양가가 높기 때문으로 판단된다.

한편 미세조류의 영양성분 중 고도불포화 지방산과 필수 아미노산은 먹이생물로서 영양 가치를 결정하는 주요 요소이다 (Millar and Scott, 1967; Langdon, 1982; Brown, 1991). 본 실험에서 최종적으로 선별된 10종 미세조류의 아미노산 함량은 Brown et al. (1997)의 보고와 마찬가지로 aspartic acid와 glutamic acid는 1.4-3.0%로, valine은 1.3% 미만으로 매우 낮은 조성을 보였다. 그러나 *T. suecica*는 threonin이 8.0%로 매우 높았던 점이 특이하였다. 전체적으로 이들 미세조류의 총 아미노산은 13.0-19.0%, 필수아미노산 함량은 43-47%로 유사하였던 점으로 보아 이들 10종 미세조류의 단백질의 질에는 큰 차이가 없을 것으로 판단된다.

지방산의 경우 포화지방산 특히, myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0)와 일불포화 지방산은 무척추동물 유생의 성장 및 활동에너지로 주로 이용되고 (Enright et al., 1986; Thompson et al., 1993), 다불포화지방산, EPA, DHA 등은 많은 해산동물과 조개류 유생 성장의 필수 지방산으로 밝혀졌다 (Langdon and Waldock, 1981; Brown et al., 1997). 또 arachidonic acid (20:4n-6)도 해산어류 및 무척추동물의 생명활동에 매우 중요한 prostaglandin의 전구물질, 이온수송 및 삼투 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다 (Castell et al., 1994). 그러나 본 실험의 경우, C14:0, C16:0 등의 포화지방산과 필수지방산인 n-3 HUFA의 함량에 따른 *T. japonicus*의 nauplii 생산은 뚜렷한 차이를 보이지 않았고, *T. japonicus*의 생존일수에 있어서도 유의적인 차이가 없었다 ( $P < 0.05$ ).

한편 *T. japonicus* nauplii 생산이 가장 높았던 *Navicula* sp. (B-394)와 *Navicula* 이외의 규조류 중 생산이 높고 지방산 함량이 높았던 *Rhaphoneis* sp., 그리고 담녹조류인 *T. suecica*로 각각 배양한 *T. japonicus*의 체내 아미노산과 지방산의 조성은 이들 미세조류 자체의 아미노산이나 지방산의 조성과의 뚜렷한 연관성이 없는 것으로 나타났다.

Ianora and Poulet (1993)과 Irigoien et al. (2000)은 다양한 종류의 미세조류를 이용하여 요각류 *Calanus helgolandicus*와 *Temora stylifera*를 배양한 결과, 요각류의 번식은 미세조류 중에 따라 일관성을 보이지 않았다고 보고한 바 있다. Lee (1991)는 미세조류나 yeast에 bacteria를 첨가한 실험구가 첨가하지 않은 실험구보다 *T. japonicus*의 성장과 번식이 양호하였다고 보고하였다. 본 연구에서 부착성이 높은 규조류가 다른 미세조류에 비하여 *T. japonicus* nauplii의 생산이 높았던 원인

은 미세조류 자체의 영양성분보다는 부착성 여부에 따른 *T. japonicus*의 섭식 생태 때문으로 판단할 수 있다. 그러나 10종의 규조류별로의 *T. japonicus* nauplii 생산이 차이가 없었던 원인에 대해서는 정확히 해석할 수 없었다. 따라서 *T. japonicus*의 생산에 관한 향후 연구에서는 규조류와 함께 공생하는 bacteria에 대한 먹이 효율도 보다 구체적으로 연구되어야 할 것이다.

본 조사 결과 nauplii 생산과 영양성분이 높았던 *Navicula* sp. (B-394), *Rhaphoneis* sp., *T. suecica*는 요각류 *T. japonicus*에 우수한 먹이 효율을 보였다. 또 이들 3종의 혼합 미세조류는 전복과 같은 포복성 저서 동물 유생의 사육에도 적합한 먹이 생물이 될 수 있을 것으로 예상된다.

## 사 사

본 연구는 국토해양부 수산특정연구개발사업 (과제번호 MNF12002015-3-3-SB010)과 해양생명공학 연구개발사업의 연구비 지원에 의해 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Brown, M.R. 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 145, 79-99.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey and C.D. Garland. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. C.S.I.R.O. Marine Laboratories Report 205. C.S.I.R.O., Australia, 1-44.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman and G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151, 315-331.
- Cabrera, T., J.H. Bae, S.C. Bai and S.B. Hur. 2005. Comparison of the nutritional value of *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata* for rotifer and *Artemia* nauplii. *J. Fish. Sci. Technol.*, 8(4), 201-206.
- 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.
- Ducan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F test. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Enright, C.T., G.F. Newkirk, J.S. Craigie and J.D. Castell. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 96, 1-13.
- Fleeger, J.W. 2005. The potential to mass-culture harpacticoid copepod for use as food for larval fish. In: *Copepods in Aquaculture*. Lee, C-S., P.J. O'Brien and N.H. Marcus, eds. Blackwell Publishing Oxford, UK, pp. 11-24.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine plankton diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). *Gran. Can. J. Microbiol.*, 8, 229-239.
- Hur, S.B. 2001. Live food-microalgae. In: *Algae of Korea Ecology and Application*. Lee, I.K., ed. Academy Books, Seoul, 267-285.
- Ianora, A. 2005. Birth control effects of diatoms on copepod reproduction: Implications for aquaculture studies. In: *Copepods in Aquaculture*. Lee, C-S., P.J. O'Brien and N.H. Marcus, eds. Blackwell Publishing Oxford, UK, pp. 31-48.
- Ianora, A and S.A. Poulet 1993. Egg viability in the copepod *Temora stylifera*. *Limnol. Ocean*, 38, 1615-1626.
- Irigoien, X., R.P. Harris, R.N. Head and D. Harbour. 2000. The influence of diatom abundance on the egg production rate of *Calanus helgolandicus* in the English Channel. *Limnol. Ocean*, 45, 1433-1439.
- Koga, F. 1970. On the life history of *Tigriopus japonicus* Mori (Copepoda). *J. Oceanogr. Soc. Jap.*, 26, 11-21.
- Langdon, C.J. 1982. New techniques and their application to studies of bivalves. In: *Proceedings of the Second International Conference of Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition*. Pruder, G.D., C.J. Landon and D.E. Conkilyn, eds. Louisiana State University, Baton Rouge, pp. 305-320.
- 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. UK*, 61, 431-448.
- Lee, K.W., S. Raisuddin, D.S. Hwang, H.G. Park, H.U. Dahms, I.Y. Ahn and J.S. Lee. 2008. Two-generation toxicity study on the copepod model species *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere*, 72, 1359-1365.
- Lee, W.J. 1991. Efficiency of various microbial foods for *Tigriopus japonicus* Mori. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 24, 117-122.
- Martínez-Fernández, E., H. Acosta-Salmón and C. Rangel-Dávalos. 2004. Ingestion and digestion of 10 species of microalgae by winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) larvae. *Aquaculture*, 230, 417-423.
- Metcalf, L.D., A.A. Schmitz and J.R. Pelka. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38, 514-515.

- Millar, R.M. and J.M. Scott. 1967. The larvae of the oyster *Ostrea edulis*, during starvation. J. Mar. Biol. Ass. UK, 47, 475-484.
- Min, B.H., H.G. Park, K.W. Lee and S.B. Hur. 2007. Selecting the optimal microalgal species for culturing the brackish water copepod *Paracyclops nana*. J. Kor. Fish. Soc., 40(1), 8-15.
- Ogawa, K. 1977. The role of bacterial floc as food for zooplankton in the sea. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43, 395-407.
- Park, H.G. and S.B. Hur. 1993. Optimum culture environment of the benthic copepod, *Tigriopus japonicus*. J. Aquaculture, 6, 149-159.
- Park, H.K., S.B. Hur and C.W. Kim. 1998. Culturing method and dietary value of benthic copepod, *Tigriopus japonicus*. J. Aquaculture, 11, 261-269.
- Poisson, L. and F. Ergon. 2001. Docosahexaenoic acid ethyl esters from *Isochrysis galana*. J. Biotechnol., 91, 75-81.
- Raisuddin, S., K.W.H. Kwok, K.M.Y. Leung, D. Schlenk and J.S. Lee. 2007. The copepod *Tigriopus*: A promising marine model organism for ecotoxicology and environmental genomics. Aquat. Toxicol., 83, 161-173.
- Takano, H. 1968. *Tigriopus japonicus*. Aquacult. Magaz., 5(8), 105-108.
- 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.
- Utting, S.D. 1985. Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance. Aquacult. Eng., 4, 175-190.
- Volkman, J.K., G.A. Dunstan, S.W. Jeffrey and P.S. Kearney. 1991. Fatty acids from microalgae of the genus *Pavlova*. Phytochemistry, 30, 1855-1859.

---

2009년 2월 24일 접수  
 2009년 4월 3일 수정  
 2009년 6월 8일 수리