

교육학석사 학위논문

물벼룩(*Moina macrocopa*)의 생활사
와 먹이에 따른 지방산과
아미노산 조성

이 논문을 교



출함

2003년 2월

부경대학교 교육대학원

생물교육 전공

이 정 숙

이정숙의 교육학석사 학위논문을 인준함

2002년 12월

주 심 농학박사 김진상



위 원 이학박사 김영태



위 원 농학박사 이원재



목 차

Abstract.....	1
I. 서 론.....	3
II. 재료 및 방법.....	5
1. 시료.....	5
2. 방법.....	5
2.1 효모의 분리.....	5
2.2 Moina 의 먹이사료.....	8
2.3 life cycle 분석.....	8
2.4 지방산과 아미노산 분석.....	9
1) 지방산 분석.....	9
2) 아미노산 분석.....	12

III. 결과 및 고찰.....	14
1. 효모의 분리 및 동정	14
2. 물벼룩(<i>Moina macrocopa</i>)의 life cycle.....	15
3. 먹이에 따른 <i>Moina</i> 의 체장과 체폭변화.....	20
4. 효모와 <i>Moina</i> 체내의 지방산 조성.....	23
5. 효모와 <i>Moina</i> 체내의 아미노산 조성.....	27
IV. 요약.....	31
V. 감사의 글.....	33
VI. 참고문헌.....	34

The life cycle of Cladoceran *Moina macrocopa* and compositions
of fatty acids and amino acids fed on marine food

Jung-Sook Lee

Graduate School of Education

Pukyong National University

Abstract

We have investigated the life cycle of *Moina macrocopa* and analyzed the compositions of fatty acids and amino acids after the enrichment of *Moina macrocopa* feeding on marine yeast and bacteria.

The reproductive cycle of *Moina macrocopa* had both sexual and asexual phase in the laboratory. After hatching, *Moina macrocopa* had grown about 8~10 days and most females produced 6~8 broods per 2~3 days during the lifetime. Thus, fecundity was detected 40~60 broods in their 6~8 reproduction. However, there are not much

differences on the reproduction that *Moina macrocopa* fed on three different types of food (*Candida* sp., *Saccharomyces* sp. and *Erythrobacter* S π - I)

The patterns of body length (BL) and body width (BW) of *Moina macrocopa* fed on *Candida* sp. and *Saccharomyces* sp. were similar, but a little larger in *Moina macrocopa* fed on *Erythrobacter* S π - I .

The maximum BL and BW of *moina* fed on *Erythrobacter* S π - I was 2.5~2.7 mm and 1.2~1.32 mm while 2.02~2.8 mm, 1.32~1.4 mm on *Candida* sp. and 2.8~3 mm, 1.4~1.7 mm on *Saccharomyces* sp.

The ratio of docosahexaenoic acid (DHA, C_{22:6 ω 3}) to fatty acids in *Moina macrocopa* fed on *Saccharomyces* sp. and *Candida* sp. was higher than that in *moina* fed on *Erythrobacter* S π - I . The contents of DHA in *moina* fed on *Saccharomyces* sp. and on *Candida* sp. were 0.56% and 5.51%, respectively. Whileas the contents of EPA(eicosapentaenoic acid, C_{20:3 ω 3}) in *moina* fed on *Erythrobacter* S π - I and *Saccharomyces* sp. were 4.27% and 2.08%, respectively.

The total contents of amino acids in *Candida* sp. and *Saccharomyces* sp. were relatively high 4.62% and 4.63%, respectively, compared to those of dried yeast (3.49%) and *Erythrobacter* S π - I (1.8%).

I. 서론

양식산업에서 해산 어류의 초기 먹이로서 중요한 역할을 하고 있는 요각류를 자연 수역에서 직접 채집하여 먹이로 이용하였으나, 인공배양 rotifer와 artemia가 먹이 생물로 이용되기 시작하면서 이들이 가장 널리 이용되고 있다. 특히 rotifer는 크기가 적당하고 영양이 풍부하여 대량 배양이 용이하기 때문에 해산 어류 종묘 생산시 초기 단계 먹이생물로 많이 연구되어져 왔다 (Teshima *et al.*, 1981; Watanabe *et al.*, 1983; Snell and Carrillo, 1984; Whyte and Warren, 1990). Artemia는 cyst를 쉽게 부화시켜 먹이로 공급할 수 있고, 장기간 보관이 가능하여 해산 어류 종묘 생산시 매년 그 수요량이 늘고있는 실정이다.

Artemia나 rotifer의 대량 배양을 위한 연구는 주로 baker's yeasts (Hirayama *et al.*, 1973; Watanabe *et al.*, 1979; Hirayama and Funamoto, 1982), *Chlorella* (Takano, 1976; Sick, 1976; Ben-Amotz *et al.*, 1987; James and Abu-Rezeq, 1988), 광합성 세균 등을 이용하여 배양이 시도되고 있다. 그러나 최근 artemia는 원산지에서의 무분별한 남획과 엘리뇨와 같은 기상이변으로 인하여 적합한 서식 수역이 줄어들었고, cyst의 생산량이 감소하여 그 공급 단가가 평균 4~5배로 상승되었다. 또한 환경단체에서 자연보호의 차원으로 채집을 억제하고 있기 때문에 이에 따른 대체 먹이생물을 개발하는 것이 매우 시급한 실정이다. 따라서 그 대응책의 하나로 호기성 광합성세균의 일종인 *Erythrobacter* S π -I (이와 김, 1998 특허) 를 먹이로 *Moina macrocopa*를 배양하여

국내는 물론 일본·중국 등 에 수출 단계이다.

이런 해양 광합성 세균 (*Erythrobacter* S π -I) 을 먹이생물로 이용했을 때 Rotifer개체수가 높게 배양되었으며, 체장과 체중의 비교에 있어서도 약 40 ng/indi 더 높게 측정되었으며 다른 먹이사료 투여시보다 rotifer는 더 많은 지방산을 함유한다고 보고하였다 (Lee *et al*, 1997; Kang *et al*, 1999).

먹이 생물의 고도 불포화지방산은 치어 생체 내에서 직접 합성되기가 힘들기 때문에 기초 먹이사료에 의해서 섭취되는 것이 중요한 것으로 알려져 있다 (Moti Harel *et al*, 2001). 또한 고도 불포화 지방산의 결핍은 자치어의 폐사 원인중의 한 요인이기 때문에 대단히 중요시되고 있다. 현재 Artemia의 수입값의 폭등으로 대체 먹이로 *Moina macrocopa* 등 영양가 높은 먹이생물을 배양하는 연구가 진행되고 있다. 본 연구는 이러한 *Moina macrocopa* 의 생활사를 조사함과 동시에 몇 종의 먹이에 대한 *Moina macrocopa* 의 지방산 조성과 아미노산 분포를 분석한 결과이다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

떡이가 되는 해양효모는 다대포, 통영, 여수 가막만의 해수 및 이토를 주상 채니기와 MB 채수기를 이용하여 채취하여 Ice box에 넣어 실험실에 옮긴 후 시료로 사용하였다. 지각류인 *Moina macrocopa*는 ((주) 제은 제품)에서 분양 받았다.

2. 방법

2.1 효모의 분리

다대포, 통영, 여수에서 분리한 시료 (Fig. 1) 를 Fig. 2 의 방법과 같이 10진법으로 희석한 후 YM (Wickerham, 1951) agar plate에 접종하고 20℃에서 일주일 간 배양한 후 형성된 특징 있는 colony를 분리하였다. 효모의 동정은 Yeast : Characteristics and Identification 2nd ed. (Barnett *et al.* 1990)에 의하였다.

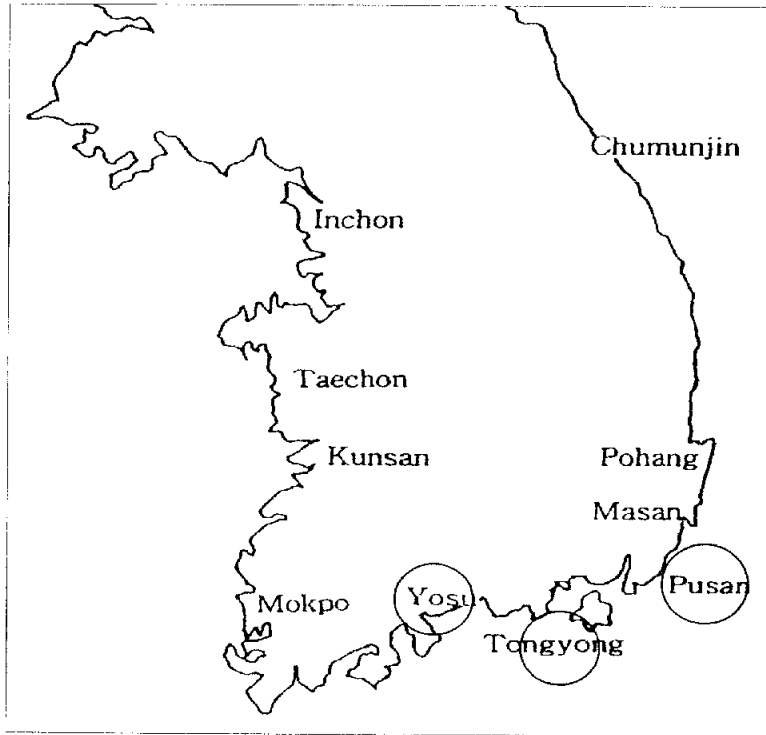


Fig. 1. Location of sampling stations.

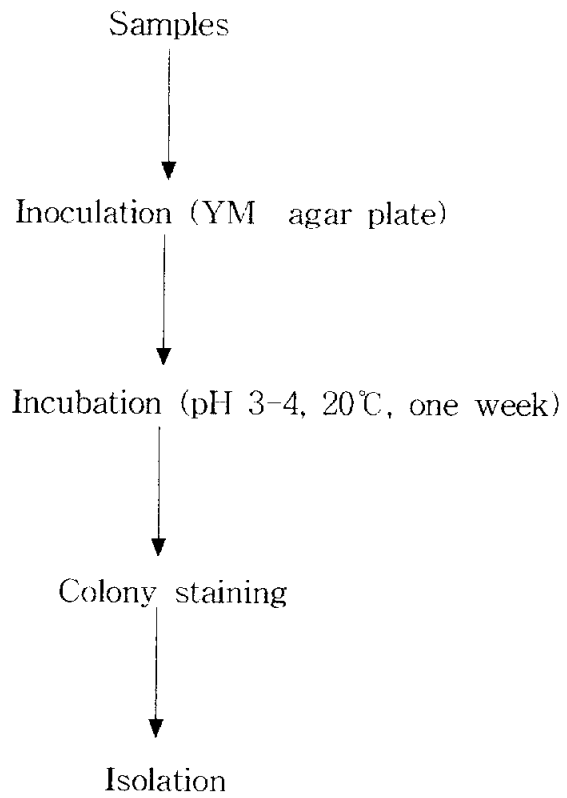


Fig. 2. Isolation scheme for Marine Yeasts.

2.2 Moina 의 먹이사료

분리 동정된 효모 (*Candida* sp., *Saccharomyces* sp.)를 YM broth에서 25℃, 14일간 증류수로 배양하여 총균수가 $10^8 \sim 10^9$ cells/ml 정도되면, 7000rpm에서 10분간 원심분리로 세척하여 배지성분을 제거 후 집균된 균체를 먹이로 사용하였다.

2.3 Life cycle 분석

2 l beaker, 20 ℃에서 전배양한 *Moina macrocopa* 중에서 알을 가진 어미를 골라내어 cell culture (6 well, 3개) 에 한 마리씩 넣고 세 가지 먹이 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.와 *Erythrobacter* Sπ-I ((주)제은 제품)를 각각 3 μl 씩 투여하였다.

새끼가 부화되어 나와서 성체가 될 때까지의 life cycle 단계를 광학 현미경으로 촬영하였다.

각각의 먹이 당 10 여 마리의 *Moina macrocopa*의 체장과 체폭을 접안 마이크로미터로 1세대까지 측정해 평균계산하고, 산란수도 세어 각 먹이에 따른 성장곡선을 얻었다.

2.4 지방산과 아미노산 분석

1) 지방산 분석

각각의 먹이사료로 배양한 moina를 filter ($0.2 \mu\text{m}$) 상에 여과한 후 지방산 분석에 사용하였다. 총 지질의 추출은 Bligh and Dyer (1959) 법에 따라 실시하였다. 시료를 CHCl_3 : MeOH (2:1, V/V) 혼합액으로 추출하고 다음에 CHCl_3 만으로 3회 반복 추출하였다. 여기에 1% NaCl용액을 가하여 수용성 물질을 제거한 다음, CHCl_3 층만 모아서 rotatory vacuum evaporator에서 용매를 제거하여 총지질을 얻었다.

FAME (Fatty acid methyl ester) 의 조제는 Metcalfe와 Schmisz (1949) 의 방법에 따라 10% BF_3 - methanol용액으로 100°C 에서 2시간 Methyl화하였다. 여기에 hexane을 첨가하여 FAME을 hexane층으로 전이시킨 다음 10% BF_3 - methanol층은 버린다. 이 hexane층을 NaOH로 깨끗이 씻은 다음 vial tube에 옮겨 분석 전까지 냉장보관 한다 (Fig. 3).

조제된 FAME의 Gas chromatography의 분석은 SRI 86110C Gas Chromatograph로 하였으며, 이때 사용된 column은 carbowax ($0.25 \times 0.2 \mu\text{m}$) 를 사용하였고, carrier gas는 He을 사용하였다 (Tabel 1).

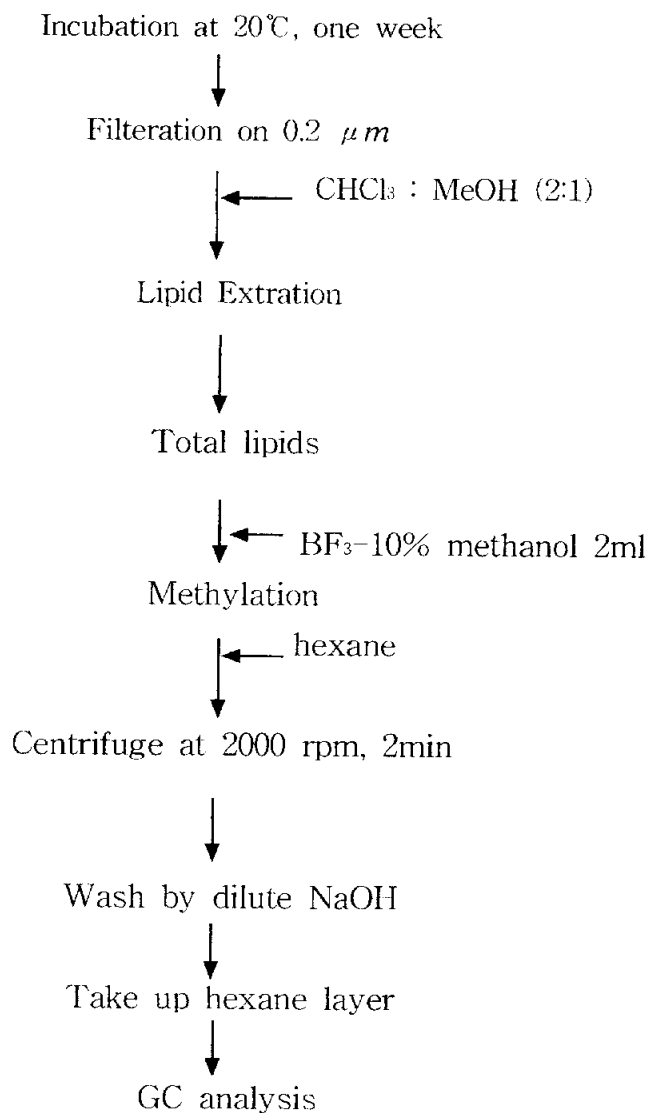


Fig. 3. The procedure for preparation fatty acid methyl ester (Bligh and Dyer, 1959; Metcalfe and Schmisz, 1949).

Table 1. Operating conditions of gas chromatography for analysis of methyl esters fatty acid

Instrument	SRI 86110C Gas Chromatograph
Column	Quadrex, 30M, Bonded carbowax (0.25mm×0.2 μ m)
Injector temp.	250°C
Detector temp.	280°C
Injection temp.	250°C
Carrier gas flow (gas pressure)	18 psi. Helium
Split Ratio	1 : 50

2) 아미노산 분석

지방산 분석시와 같이 배양, 여과 수집한 *Moina macrocopa* 시료 일정량 (0.1 g~0.2 g) 에 6N 염산 10 ml를 가한 다음, 질소가스로 공기를 치환시키면서 밀봉하고 110 °C의 sand bath에서 24시간 가수분해 시켰다. 분해액은 여과지로 여과하고 회전 진공 농축기로 감압농축하여 염산을 완전히 제거한 다음, 0.02 N HCl을 사용하여 25~50 ml 정용한 후 아미노산 자동분석기 HPLC : High performance liquid chromatography 를 이용하여 측정하였다 (Table 2).

Table 2. Operating conditions of amino acid analyzer for amino acids

Instrument	S433 (Sykam, Germany)
Column size	4 mm ×150 mm
Absorbance	570nm and 440 nm
Reagent flow rate	0.25 ml / min
Buffer flow rate	0.45 ml /min
Reactor temp.	120°C
Reactor size	15m

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 효모의 분리 및 동정

나대포 등의 시료에서 분리한 총 94종 중에서 형태적으로 효모로 생각되는 12종을 분리하였고, 각각 지방산 분석을 한 결과 EPA와 DHA 함량이 높은 두 종을 선별하였다.

분리된 2종의 효모는 형태학적 특징과 생화학적 특징을 조합하여 Barnett *et al* (1990)의 방법에 준하여 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp. 인 것으로 동정하였다.

분리된 해양효모의 형태학적 특징을 살펴보면, *Candida* sp.는 불완전균 아문(*Deuteromycotina*) 효모로서 유성포자를 형성하지 않았고 가성균사체(pseudohyphae)를 형성하는 형태학적 특징을 보였다. *Saccharomyces* sp. 은 자낭포자를 여러 개 형성함을 관찰할 수 있었다.

2. 물벼룩 (*Moina macrocopa*) 의 life cycle

물벼룩의 생활사 ("Biology of cladocera" 참조, Fig. 4) 와 각 생활사에 따른 물벼룩의 모습은 Fig. 5, 6과 같다. .

물벼룩은 유성생식 무성생식 (단위생식) 과정 모두를 거치는데 환경이 좋을 땐 수컷이 생기지 않고 암컷만 있으며 암컷은 혼자서 복상 (2n) 의 알을 생성하는 단위생식 (parthenogenesis) 을 한다. 환경이 좋지 않으면 (수온이 낮거나 물이 말라가거나 물벼룩의 밀도가 높아질 때) 수컷이 나타나고 암컷은 수정을 필요로 하는 약간 검은색의 단상 (n) 의 알인 내구란 (Resting eggs, Ehipippia) 을 생성한다. 내구란은 극심한 환경에 견디기 위해서 생성되며 환경이 좋아지면 다시 번식한다 (Kankaala, 1983; Z. H. He *et al*, 2001).

본 실험은 20 ℃, 2 l beaker에서 물벼룩을 전배양한 후, 알을 가진 이미에서 부화된 새끼를 cell cluster (6 cell) 에 한 마리씩 넣고 관찰하였는데, 역시 단위생식과 유성생식과정이 모두 관찰되었다.

부화된 새끼는 계속 자라다가 *Erythrobacter* S π -I 을 먹인 moina는 10~11일 만에 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.를 먹인 moina는 8~9일 정도에 알을 가지기 시작했으며 그 후 2~3일 마다 발생이 진행되었다. *Erythrobacter* S π -I 에 비해 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.를 먹인 moina의 산란시기가 1~2일 빠른 차이를 보였다.

한번 부화될 때 평균적으로 5~15개의 새끼를 낳았으며, 총 6~8번의 생식기간동안 40~60여 마리의 새끼를 낳았다.

*Moina*의 성장 최적 수온은 25~28℃이며, 20℃에서 배양 시 개체가 성숙하기까지 5.8일, 28℃에서는 4일정도 걸린다고 보고하였으나 (Yoo

et al. 1996; Z. H. He *et al.* , 2001) 본 실험에서는 이와 약간 다르게 나타났다. 이는 먹이 공급량, 개체밀도, 먹이종류 등에 의해 차이가 나타났다고 생각된다 (Zuzana Stuchlikava, 1991; Nam, 1997).

무성생식과정에서 나타나는 수컷의 모습은 Fig. 5.에 나타나있는데, 암컷과 비교해 모양이 약간 틀렸다. 크기는 암컷보다 작았으며 (1.5~1.7 mm, 0.7 mm), 부리는 암컷에 비해 둥글고, 눈이 머리 앞부분의 대부분을 차지하며 눈 바로 밑에는 짧고 끝이 뚱뚱한 안테나가 있었다.

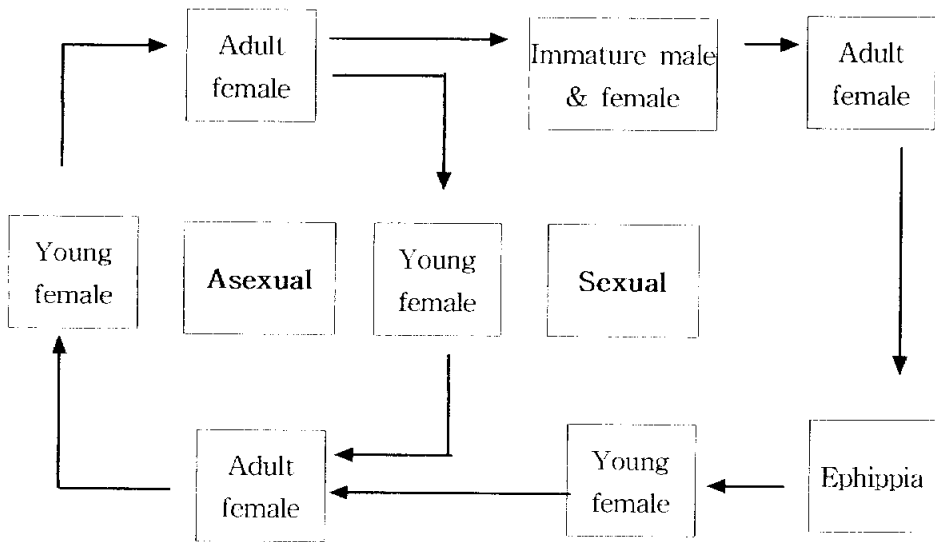


Fig. 4. Life cycle of *Moina macrocopa*.

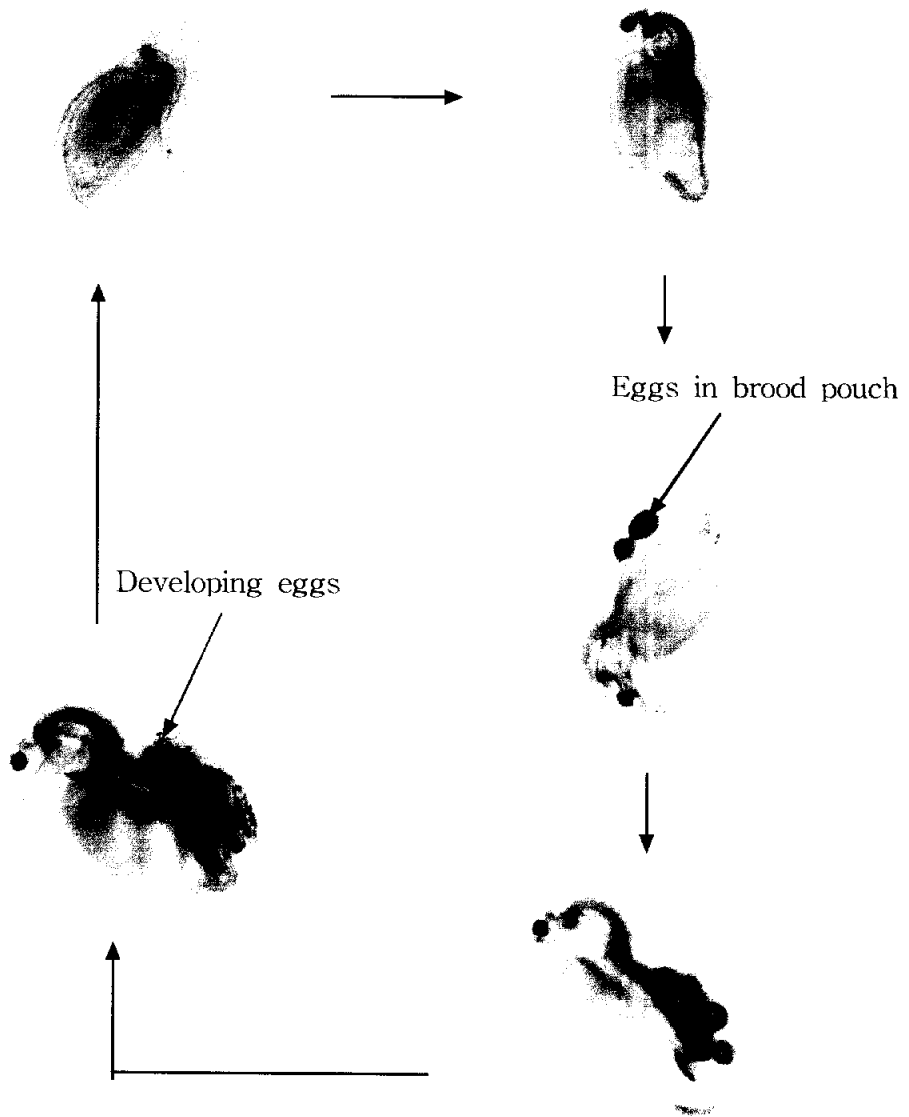


Fig. 5. Pictures of moina's Asexual life cycle.



Ephippia



Male (juvenile)



Female



Male

Fig. 6. Pictures of moina's Sexual life cycle.

3. 먹이에 따른 Moina의 체장과 체폭변화

세 가지 먹이에 따른 체장과 체폭의 증가 패턴은 거의 유사했다. 다만 먹이로서 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.를 먹인 moina의 체장과 체폭이 *Erythrobacter* S π -I를 먹인 moina에 비해 약간씩 크게 나타났다. 체장과 체폭의 변화는 Fig. 7, 8에 표시하였다

Erythrobacter S π -I를 먹인 moina의 최대 체장과 체폭은 2.5~2.7 mm, 1.2~1.32 mm 였으며, *Candida* sp.를 먹이로 한 moina는 2.02~2.8 mm, 1.32~1.4 mm, *Saccharomyces* sp.를 먹이로 했을때는 2.8~3 mm, 1.4~1.7 mm 였다.

체장과 체폭은 부화된 후 성체가 될 때까지 꾸준히 증가하다가 알을 가졌을 때 최대가 되었다. 알을 부화한 후 체장과 체폭은 약간 감소했다가 알을 가지면 다시 증가하는 양상을 반복했다

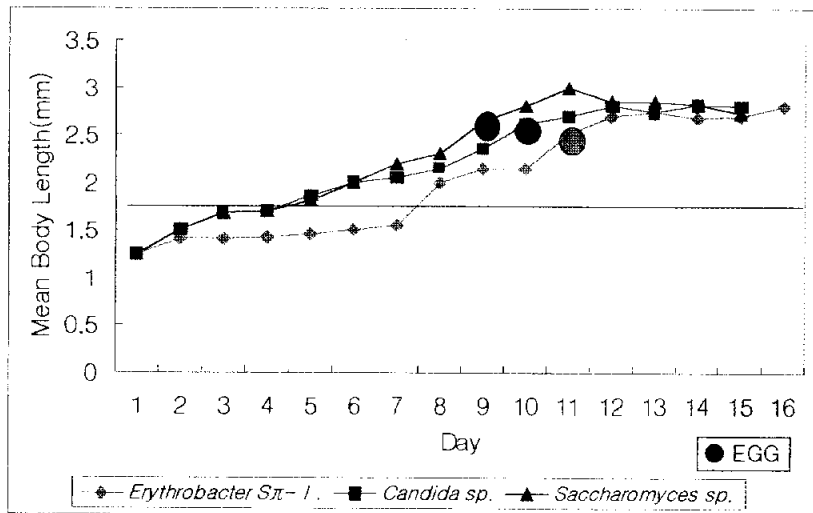


Fig. 7. Mean body length of *Moina macrocopa* with three different food ("EGG" is first day that eggs appear).

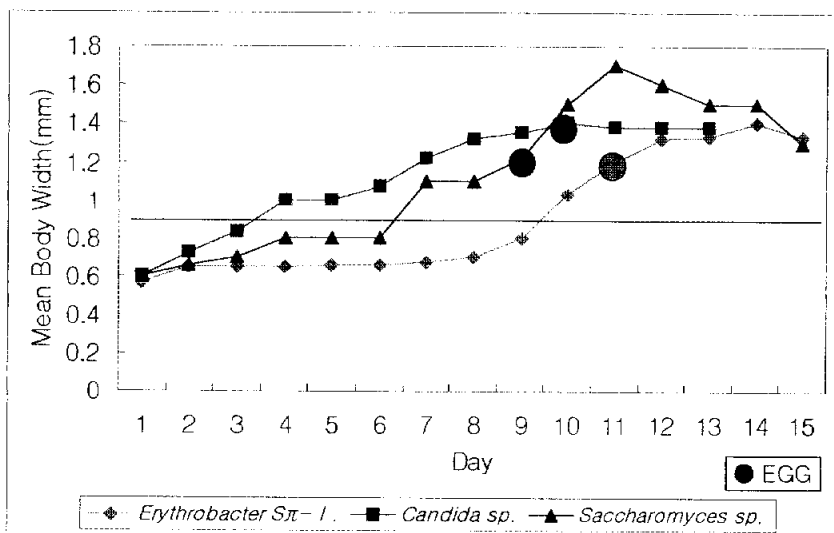


Fig. 8. Mean body width of *Moina macrocopa* with three different food ("EGG" is first day that eggs appear).

4. 효모와 Moina 체내의 지방산 조성

본 실험에서 분리한 *Candida* sp.와 *Saccharomyces* sp. 의 해양효모와 대조군으로 사용한 dried yeast (Duksan Pure Chemical co. LTD제품), *Erythrobacter* S π -1 ((주) 제은 제품) 의 지방산 분석결과와 이들 각각을 먹이사료로 이용한 moina체내 지방산 분석결과는 Table 3, 4 와 같았다.

대부분 미생물 균체 내 지방산 조성은 탄소 20개 이하의 사슬로 이루어져 있으며 일부 미생물을 제외하고는 균체 지방산 중 가장 많이 차지하고 있는 것은 포화 지방산과 단순 불포화 지방산이다 (Shaw, 1974).

분리한 *Saccharomyces* sp. 의 경우 C_{18:1} (Oleic acid) 이 39.41 %로 가장 높은 지방산 조성을 보였으며, C_{18:1} (Elaidic acid)이 17.69 %, C_{16:0} (Palmitic acid) 이 15.81%, C_{16:1} (Palmitoleic acid) 이 11.20 %로 주지방산 함량을 보였다. 이러한 결과는 Shin *et al.* (1997) 의 연구 결과에 따르면 *Candida* 속 효모 27종의 표준 균주를 대상으로 각 균주의 세포를 구성하고 있는 지방산의 종류와 함량비를 조사한 결과 모든 균주는 세포를 구성하는 지방산으로 C_{16:0} (Palmitic acid), C_{16:1}(Palmitoleic acid), C_{18:1} (Elaidic acid) 그리고 C_{18:2}등이 주지방산 조성을 나타내는 연구결과와 거의 일치함을 보였다. 분리한 *Candida* sp. 또한 C_{18:1}(Elaidic acid)이 39.10 %로 가장 높은 지방산 조성을 보였고 C_{16:0} (Palmitic acid)이 22.94%, C_{18:1} (Oleic acid)이 10.38%, C_{18:0} (Stearic acid)이 10.10%의 주지방산 조성을 나타냈다.

해산 어류의 치자어의 성장과 생존은 공급되는 초기 먹이생물의 크기나 영양가에 의해 결정된다. 특히 최근의 연구에서 필수 지방산 (essential fatty acid) 인 고도 불포화 지방산 (highly unsaturatinal fatty acid) 이 해산 치자어의 성장과 생존에 필수적인 영양성분이라고 밝혀졌으며 (Navarro *et al.*, 1988), 특히 해산 어류에 있어서 EPA (eicosapentaenoic acid, C_{20:5 ω 3}) 와 DHA (docosahexaenoic acid, C_{20:6 ω 3}) 는 중요한 고도 불포화 지방산 (HUFA) 이라고

알려져 있다. 이러한 해산 치자어의 생육에 있어 필수지방산인 DHA($C_{20:6\omega3}$)가 *Candida* sp.에서 3.55 % 검출되었다.

분리한 해양효모 *Saccharomyces* sp.을 먹이사료로 이용했을 때 지방산 조성을 살펴보면 $C_{18:1}$ (Oleic acid) 이 28.91%, $C_{16:1}$ (Palmitoleic acid) 이 14.93 %, $C_{18:1}$ (Palmitic acid) 이 14.02 % 검출되었고, 또한 해산 치자어의 생육에 있어 필수 지방산이라고 알려진 (Navarro *et al.* 1988) EPA (eicosapentaenoic acid, $C_{20:5\omega3}$) 는 2.08%, DHA ($C_{20:6\omega3}$) 은 0.56% 검출되었다. 분리한 해양효모 *Candida* sp. 를 moina 먹이사료로 이용했을 때 지방산 조성을 살펴보면 역시 $C_{18:1}$ (Oleic acid)이 25.65%, $C_{16:0}$ (Palmitic acid) 이 17.52%로 높게 나타났고, 특히 DHA ($C_{20:6\omega3}$) 는 5.51% 로 높은 함량이 검출되었다. 대조구로 사용된 *Erythrobacter* S π - I 를 먹이사료로 moina 배양에 이용했을 때 지방산 조성을 분석한 결과 역시 $C_{18:1}$ (Oleic acid)이 24.53%, $C_{16:1}$ (Palmitoleic acid)이 22.18 %로 조금씩 낮게 검출되었고 EPA 는 4.27 % 로 높은 편이었으나, DHA 는 검출되지 않았다. 따라서 해양효모 *Candida* sp.를 먹이사료로 사용했을 때 해산 치자어 생육에 필수 지방산이라고 알려진 DHA 함량이 0.51 %, *Saccharomyces* sp.를 먹이 사료로 했을때 DHA 0.56 %, EPA가 2.98 %로써 대조구로 사용한 *Erythrobacter* S π - I 보다 높은 함량을 보였기 때문에 moina의 먹이사료로서 충분한 가치가 있음을 보여주었다. 또한 먹이생물에서 높게나온 지방산($C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$)이 moina체내에서도 역시 높게나왔는데, 이는 먹이생물이 moina의 체지방산 조성에 영향을 미치는 것을 보여주는 것이다.

Table 3. Fatty acid compositions(%) of *Saccharomyces* sp.(A), *Candida* sp.(B)

Fatty acids	A	B
Capric acid C _{10:0}	1.44	2.76
Lauric acid C _{12:0}	-	1.10
Myristic acid C _{14:0}	1.61	0.93
Myristoleic acid C _{14:1}	-	-
Pentadacanoic acid C _{15:0}	0.58	-
<i>cis</i> -10-Pentadacanoic acid C _{15:1}	-	-
Palmitic acid C _{16:1}	15.81	22.94
Palmitoleic acid C _{16:1}	11.20	1.36
Magaric acid C _{17:0}	0.36	1.12
Magaroleic acid C _{17:1}	0.99	-
Stearic acid C _{18:0}	4.33	10.10
Oleic acid C _{18:1}	39.41	39.10
Elaidic acid C _{18:1, trans-9}	17.69	10.38
Linoleic acid C _{18:2}	2.06	3.49
Linolenic acid C _{18:3}	-	-
Arachidic acid C _{20:0}	-	-
<i>cis</i> -11,14,17-Eicosatrienoic acid C _{20:3}	1.35	-
Eicosapentaenoic acid (EPA C_{20:5})	0.41	-
Docosahexaenoic acid (DHA C_{22:6})	-	3.55
Unknown	2.73	3.18
Total	100	100

Table 4. Fatty acid compositions(%) of *Moina macrocopa* fed on *Erythrobacter* S π - I (A), *Saccharomyces* sp.(B), *Candida* sp.(C)

Fatty acids	A	B	C
Capric acid C _{10:0}	-	-	-
Lauric acid C _{12:0}	-	0.64	-
Myristic acid C _{14:0}	3.54	2.75	-
Myristoleic acid C _{14:1}	-	1.53	-
Pentadecanoic acid C _{15:0}	-	1.69	-
<i>cis</i> -10-Pentadecanoic acid C _{15:1}	-	1.26	-
Palmitic acid C _{16:0}	22.18	14.93	17.52
Palmitoleic acid C _{16:1}	9.80	14.02	8.48
Magaric acid C _{17:0}	-	1.04	-
Magaroleic acid C _{17:1}	-	1.28	-
Stearic acid C _{18:0}	8.54	5.30	-
Oleic acid C _{18:1}	24.53	28.91	25.65
Elaidic acid C _{18:1, trans-9}	13.69	11.26	6.69
Linoleic acid C _{18:2}	-	0.59	-
Linolenic acid C _{18:3}	-	0.95	-
Arachidic acid C _{20:0}	2.88	0.76	-
<i>cis</i> -11,14,17-Eicosatrienoic acid C _{20:3}	-	3.92	-
Eicosapentaenoic acid (EPA C_{20:5})	4.27	2.08	-
Docosahexaenoic acid (DHA C_{22:6})	-	0.56	5.51
Unknown	10.56	6.51	36.15
Total	100	100	100

5. 효모와 Moina 체내의 아미노산 조성

Table 5, 6.는 분리한 해양효모 *Candida* sp, *Saccharomyces* sp. 대조구로써 비교 실험한 dried yeast, *Erythrobacter* S π -I 의 아미노산 분석 결과이다. 벽이실험에 근거하여 아미노산 Leusine, Isoleusine, Lysine, Histidine, Tryptophan, Phenylalanine, Threonine 그리고 Methionine 은 일련의 어류 종의 성장에 필수적인 것이라 하였다 (Coway and Tacon, 1983).

Moina의 지방산 및 아미노산 함량은 해산 치자어의 성장에 큰 영향을 미치므로 Moina의 벽이 사료로 이용할 수 있는 해양효모가 아미노산 함량이 높을수록 치자어에 더 많은 아미노산을 전달 할 수 있을 것이다.

해양효모의 아미노산 조성을 보면 *Saccharomyces* sp.의 아미노산 조성은 Aspartic acid (0.43 %), Threonine (0.30 %), Serine (0.18 %), Glutamic acid (0.52 %), Proline (0.16 %), Glycine (0.26 %), Alanine (0.39 %), Valine (0.33 %), Isoleusine (0.31 %), Leusine (0.37 %), Tyrosine (0.16 %), Phenylalanine (0.21 %), Histidine (0.44 %), Lysine (0.36 %), Arginine (0.13 %), Cystine (0.02 %), Metionine (0.07 %)등의 함량을 보였고 총 아미노산 함량은 4.63 %로 가장 높게 나타났다. *Candida* sp.은 총 아미노산 함량이 4.62 %로 *Saccharomyces* sp. 와 거의 유사하게 나타났고, 대조구 dried yeast는 3.49 %, *Erythrobacter* S π -I 은 1.81 %으로 낮게 나타났다.

대부분의 아미노산 조성에 있어서, *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.이 대조구보다 높은 함량을 보였으며 *Erythrobacter* S π -I 에 비해서는 상당히 아미노산 함량이 높음을 알 수 있었다.

해양효모인 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp. 그리고 대조구로서 사용된 *Erythrobacter* S π -I, dried yeast를 먹이사료로 공급하여 배양한 후 *moina* 의 아미노산 조성을 비교 분석한 결과 (Table 5) 를 보면, *Candida* sp.를 먹이사료로 이용한 *moina*의 총 아미노산 함량이 3.03 %, *Saccharomyces* sp.를 먹이사료로 이용한 *moina*의 총 아미노산 함량이 4.92 % 로 다른 대조군 보다 높게 검출되었다.

Table 5. Essential Amino acid compositions(%) of dried yeast (A),
Erythrobacter Sπ - I (B), *Candida* sp.(C), *Saccharomyces* sp.(D)

Amino acids	A	B	C	D
Aspartic acid	0.35	0.05	0.41	0.43
Threonine	0.18	0.03	0.24	0.30
Serine	0.17	0.02	0.16	0.18
Gutamic acid	0.62	0.08	0.43	0.52
Proline	0.12	0.09	0.17	0.16
Glycine	0.16	0.15	0.25	0.26
Alanine	0.31	0.29	0.38	0.39
Valine	0.21	0.19	0.26	0.33
Isoleusine	0.16	0.16	0.25	0.31
Leusine	0.24	0.21	0.32	0.37
Tyrosine	0.12	0.04	0.14	0.16
Phenylalanine	0.17	0.10	0.17	0.21
Histidine	0.08	0.36	0.48	0.44
Lysine	0.28	0.02	0.47	0.36
Arginine	0.26	0.01	0.34	0.13
Cystine	0.01	0.06	0.06	0.02
Metionine	0.04	0.09	0.11	0.07
Total	3.49	1.81	4.62	4.63

Table 6. Essential Amino acid compositions(%s) of Moina fed on dried yeast(A), *Erythrobacter* S π - I (B), *Candida* sp (C), *Saccharomyces* sp (D)

Amino acids	A	B	C	D
Aspartic acid	0.28	0.37	0.30	0.48
Threonine	0.16	0.24	0.16	0.26
Serine	0.19	0.20	0.19	0.32
Glutamic acid	0.30	0.42	0.33	0.57
Proline	0.28	0.19	0.15	0.25
Glycine	0.18	0.27	0.20	0.34
Alanine	0.15	0.25	0.20	0.35
Valine	0.13	0.21	0.17	0.32
Isoleusine	0.15	0.15	0.12	0.18
Leusine	0.28	0.24	0.30	0.47
Tyrosine	0.14	0.17	0.14	0.18
Phenylalanine	0.14	0.18	0.14	0.18
Histidine	0.24	0.28	0.16	0.29
Lysine	0.13	0.18	0.15	0.29
Arginine	0.07	0.15	0.18	0.26
Cystine	0.06	0.05	0.05	0.07
Metionine	0.13	0.08	0.09	0.13
Total	3.02	3.64	3.30	4.92

IV. 요약

본 실험에서 분리한 해양효모인 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp. 그리고 대조구로서 *Erythrobacter* S π -I 및 dried yeast 을 먹이사료로 *Moina macrocopa* 를 배양하여 그 먹이사료로서의 특성을 조사하였다.

물벼룩 (*Moina macrocopa*) 은 유성생식과 무성생식 과정을 모두 보였으며, *Erythrobacter* S π -I 에 비해 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp. 를 먹인 moina의 산란시기가 1~2일 정도 빨랐다.

Erythrobacter S π -I 를 먹인 moina의 최대 체장·체폭은 2.5~2.7 mm, 1.2~1.32 mm 였으며, *Candida* sp.를 먹이로 한 moina는 2.02~2.8 mm, 1.32~1.4 mm, *Saccharomyces* sp.를 먹이로 했을 때는 2.8~3 mm, 1.4~1.7 mm 으로, *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.를 먹인 moina의 체장과 체폭이 *Erythrobacter* S π -I 를 먹인 moina에 비해 약간씩 크게 나타났다. 그러나 먹이에 따른 체장과 체폭의 증가 패턴은 거의 유사했다.

지방산 분석결과 *Saccharomyces* sp.를 먹이로 한 moina 체내 지방산에서 EPA가 2.08%, DHA가 0.56%, *Candida* sp.를 먹이로 했을 때는 DHA가 5.51%로 *Erythrobacter* S π -I 를 먹이로 했을 때 보다 고도의 불포화 지방산이 높게 나타났으며, 아미노산 분석에 있어서도 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.의 총 필수 아미노산 함량이 4.62 %, 4.63 %로 dried yeast (3.49 %) , *Erythrobacter* S π -I (1.81 %) 보다 높게 나왔으며, 특히 *Saccharomyces* sp.를 먹이로 한 moina의 아미노산 함량 (4.92%) 은 *Erythrobacter* S π -I (3.64 %) 을 먹이 사료로 공급했을 때 보다 훨씬 높은 아미노산 조성을 보였다.

*Moina macrocopa*의 먹이사료로서 해양효모 *Candida* sp., *Saccharomyces* sp.는 moina의 산란시기를 앞당기며, 고도 불포화 지방산 (EPA, DHA) 과 필수 아미노산도 높게 검출되어 영양가 면에서도 우수하여 먹이사료로서 가치가 있음을 보여주었다.

V. 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 끝없는 사랑과 이해로서 지도편달을 아끼지 않으셨던 이원재 교수님께 먼저 존경과 감사를 드립니다. 또한 부족한 논문을 세심한 지도와 배려로 다듬어 주신 김진상 교수님과 김영태 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 아울러 본 논문에 많은 지도를 해주셨던 미생물학과와 해양생물학과 교수님 모두께도 깊이 감사 드립니다.

실험 과정에서 많은 도움을 주고, 가르쳐주어 큰 힘이 되어준 박혜영, 김윤숙, 이대성, 김경석 선배님, 임지현, 김영미 등 모든 해양미생물 실험실 가족 여러분들께 진심으로 고마움을 표합니다. 또한 논문 마무리부터 발표까지 세심하게 신경써 주신 강원배 선배님과, 대학원 선배님이신 김수명 선생님께도 감사의 말씀을 드립니다.

임용시험과 논문이라는 두 마리 토끼를 잡으려니 많은 힘이 들었지만 끝나고 보니 교수님 말씀처럼 인생에 큰 경험을 얻은 것 같아 기쁩니다. 옆에서 힘들 때마다 조언과 격려를 아끼지 않았던 친구 형두와 여태껏 제가 공부할 수 있도록 뒷바라지 해주셨던 부모님께 이 작은 결실을 바칩니다.

VI. 참고문헌

- Ben-Amotz, B., R. Fishler, and A. Schneller, 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Marine Biology*, 95, 31-36.
- Bligh, E. G. and W. J. Dyer, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37(8), 911-917.
- Dominic A. Nanton, John D. Castell. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 175 : 167~181.
- Hirano, R, 1966. Plankton culture and aquatic animals seeding production. *Inform. Bull. Plankton. Japan*, 13. 72~75.
- II. W. Nam and J. H. Lee 1998. Effects of Acidification on the Zooplankton Community of Freshwater Ecosystem1. *Freshwater Cladoceran Moina irasasa*. 110-743

- H. Kyong, M. H Jang, G. J. Joo and Takamura. 2001. Growth and Morphological Changes in *Scenedesmus dimorphus* Induced by Substances Released from Grazers, *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. 609-735.
- Hirayama, K., K. Watanabe and T. Kusano. 1973b. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture-IV: Nutritional effect of yeast on population growth of rotifer. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 39, 1129-1133.
- Igor Hudec. 1991. A comparison of populations from the *Daphnia similis* group(Cladocera : Daphniidae) 9-22.
- James, C. M. and T. S. Abu-Rezeq. 1988. Effect of different cell densities of *Chlorella capsulata* and a marine *Chlorella* sp. for feeding the rotifer, *Brachionus plicatillis*. *Aquaculture*, 69, 43-56.
- Jung. M. M. , H. S. Kim and S.R 2001. Survival and Growth Responses on Jumping of the Each Saline Concentrations of Freshwater Cladoceran *Moina macrocopa* and Estuarine Cladoceran *Diaphanosoma celebensis*. 697~704.
- Kurokura H. M. E. C. Paez and S. Kasahara, 1991. The population growth of a rotifer *Brachionus plicatillis* and life history of amictic females. *Nippon Suisan Gakkaisi* 57(9), 1629~1634.

- Kitajima. C, 1973. Experimental trial on mass culture of copepods.
Bull. plankton Soc. Japan 20: 54~60.
- 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*, 567~573.
- Lee. W. J. , Y. S. Park, Y. T. Park, S. J. Kim and K. Y. Kim. 1997. Studies on the Availability of Marine Bacteria and the Environmental Factors for the Mass Culture of the High Quality of Rotifer and Artemia. 319-327.
- Moti Harel, William Koven, Ingrid Lein, Yoav Bar, Paul Behrens, John Stubblefield, and Yoni Zohar. 2002. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. 8-14.
- Metcalfe, L. D. and A. A Schmitz, ., 1949. The rapid preparation of fatty acids esters for gas chromatographic analysis. Anal. Chem., 177, 751.

- Navarro, J. C., F. Hontoria, I. Varo, and F. Amat, 1988. Effect of alternate feeding with a poor long-chain polyunsaturated fatty acid *Artemia* strain and a rich one for sea bass(*Dicentrarchus labrax*) and prawn(*Penaeus Kerathurus*) larvae. *Aquaculture*, 74, 307-317.
- Park, H. G, S. B Hur and C. W. Kim, 1988. Culturing method and dietary value of benthic copepod, *Tigriopus japonicus*. *J. Korean Aquaculture(KAS)*, 11, 261~269
- Se-Wha Kim, Kwang-Il Yoo and Chung-Il Choi 1994. Preliminary Note on the Biology of a Freshwater Cladoceran *Moina irassa*. 285~290.
- Snell, T. W. and K. Carrillo, 1984. Body size variation among strains of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 37, 359-306.
- Sick, L. V., 1976. Nutritional effect of five species of marine algae on the growth, development and survival of the brine shrimp *Artemia salina*. *Mar, Biol.*, 35, 69-78.
- Shaw, N. 1974. Lipid composition as a guide to the classification of bacteria. *Adv. Appl. Microbiol.*, 17, 63-108.

- Teshima, S., A. Kanazawa and M. Sakamoto. 1981. Attempt to culture the rotifers with microencapsulated diets. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 47, 1575-1578
- Takano, 1967. Rearing experiments of brine shrimp on deatom diet. Bull. Tokai. Rg.Fish. Res. Lab., 52, 1-11.
- Yoo. K. I. and H. W. Nam and S.W.Kim 1996. Effects of Acidification on the Growth and Reproduction of a Freshwater Cladoceran *Moina irrasa*, 225~231
- Yoo. K. I. and H. W. Nam 1996. Changes on Growth and Reproduction of a Freshwater Cladoceran *Moina irrasa*, 225~231
- Yoo. K.I. and H.W. Nam. 1997. Microcosm Studies on the Population Dynamics of a Freshwater Cladoceran *Moina irrasa* with Various Food Concentrations. 235-242.
- Whyte, J. N. C. and W. K. Warren, 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of ω the rotifer, *Brachionus plicatilis* fed monospecific diets of yeast or phyto plankton. Aquaculture, 89, 236-272.

- Won-Jae LEE 1991. Efficiency of Various Microbial Foods for
Tigriopus japonicus Mori 608-737
- Watanabe, T. F. Oowa, C. Kitajima, S. Fujita and Y. Yone. 1979.
Relationship between the dietary value of rotifers, *Brachionus*
plicatilis and their content of ω 3 highly unsaturated fatty acids.
Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 45, 883-889.
- Z. H. He, J. G. Qin, Y. Wang, H. Jiang & Z. Wen. 2001. Biology of
Moina mongolica (Moinidae, Cladocera) and perspective as live
food for marine fish larvae. 25-37.