



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

수 산 학 석 사 학 위 논 문

Copepods의 산란력과 영양



2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 물 학 과

양 성 진

수 산 학 석 사 학 위 논 문

Copepods의 산란력과 영양

지도교수 허 성 범

이 논문을 수산학석사 학위 논문으로 제출함

2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 물 학 과

양 성 진

양성진의 수산학석사 학위논문을 인준함

2011년 12월 일



주 심 수산학박사 남 윤 권 (인)

위 원 농학박사 공 승 표 (인)

위 원 이학박사 허 성 범 (인)

목 차

Abstract	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 미세조류의 선정	3
1. 1 원종 배양	3
1. 2 온도별 성장률 측정	5
1. 3 지방산 분석	5
2. Copepods의 채집 및 배양	6
3. 먹이생물로 적합한 copepods 선택	8
3. 1 Nauplius와 성체의 크기 측정	8
3. 2 암컷의 산란력 및 생존일수	8
3. 3 아미노산과 지방산 분석	9
4. 통계처리	10
III. 결 과	11
1. 미세조류의 선정	11

1. 1 온도별 성장률	11
1. 2 온도별 지방산 조성	14
2. 먹이생물로 적합한 copepods 선택	17
2. 1 종별 nauplius와 성체의 크기	17
2. 2 포란한 암컷의 생존기간 및 산란일수	20
2. 3 암컷의 산란력	23
2. 4 아미노산과 지방산 조성	26
IV. 고 찰	35
V. 요 약	44
VI. 감사의 글	46
VII. 참고문헌	47



Fecundity and nutrition of copepods

Sung Jin Yang

Department of Fisheries Biology, Graduate School,
Pukyong National University, Busan, Korea

Abstract

In the natural food web, copepod constitutes a major part of the diet for marine fish larvae. Recently, many studies on copepods as live food for seedling production of marine fish larvae have been performed, because copepods have many advantages in terms of various size and high nutritional value compared to rotifer and *Artemia* nauplius.

This study was carried out not only to investigate suitable copepod species, but also to find optimum *Isochrysis* strain for copepod feeding.

The growth rate and fatty acids content of *Isochrysis* cultured at three different temperature (25, 29, 33 °C) were analyzed. Microalgae were grown with f/2 medium in batch culture at 23 psu and continues light with 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Microalgae were harvested in stationary phase and analysed for fatty acid composition. Among the *Isochrysis* strains, *Isochrysis galbana* (KMMCC-12) was the best strain due to high growth rate and n-3 HUFA content.

In order to find suitable copepod as live food, size of nauplius, nauplius production, amino acid and fatty acid content of 16 strains of copepods fed *Isochrysis galbana* (KMMCC-12) were examined.

Sixteen copepods strains were divided into two size group: small (nauplius length 45.9~97.3 μm) group and large (nauplius length 119.6~187.6 μm) group. Harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus* and *Nitokra spinipes* showed the highest fecundity

with 151.1 and 139.6 nauplius production from a gravid female. With regard to nutrient, the protein and essential amino acids were the highest in Cyclopoid copepod, *Paracyclops nana* and n-3 HUFA was the highest in *P. nana* and Calanoid copepod, *Pseudodiaptomus inopinus*.



I. 서론

수산자원의 남획과 수계의 오염으로 인해 자연산 어획량은 매년 감소하고 있어 양식 산업의 중요성이 더욱 부각되고 있다. 특히 해산어류와 갑각류의 양식은 수요량이 증가함에 따라 산업적으로 중요하다. 이러한 양식 산업이 발전하기 위해서는 종묘의 대량생산이 필수적이다. 종묘 대량생산을 위해서는 효율적인 자치어 사육이 이루어져야하며, 이를 위해서는 양질의 초기먹이생물의 배양이 매우 중요하다.

이러한 초기먹이생물로는 식물먹이생물과 동물먹이생물이 있는데, 이 중 식물먹이생물은 많은 종이 확보되어 있지만 동물먹이생물의 경우는 rotifer와 *Artemia*에 한정 되어있다. 이 두 종의 먹이생물은 보관이 용이하며 배양이 간단하다는 장점으로 해산어 종묘생산 시 널리 이용되어 왔다. 그러나 이 두 먹이생물은 해산 자치어의 필수지방산인 n-3 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA), 즉 DHA(docosahexaenoic acid)와 EPA(eicosapentaenoic acid)함량이 적어 먹이로 공급하기 전에 영양 강화를 해줘야하며, 어중에 따라서는 자치어가 포식하기에 크기가 적당하지 않아 다양한 어종의 종묘를 생산하기에 한계가 있다(Doi et al., 1997; Toledo et al., 1999).

또한 담수나 기수에서 서식하는 rotifer와 염전에서 서식하는 *Artemia*는 해양의 천연먹이생물이 아니기 때문에 다양한 해산어의 종묘를 생산하기 위해서는 해양에서 서식하는 천연의 먹이생물 개발이 매우 중요하다고 할 수 있다. 또한 계속되는 *Artemia* cyst 생산량 감소와 소비의 증가에 의해 cyst가격이 매년 상승하고 있다.

이러한 기존의 먹이생물을 대체할 수 있는 것으로는 담수나 해수 등 대부분의 수역에서 관찰되는 동물성플랑크톤인 copepods (요각류)를 들 수

있다. 절지동물문 중 갑각류인 copepods는 해양의 먹이사슬에서 자치어의 먹이원으로 중요한 역할을 하며(Nanton and Castell, 1998; Pinto et al., 2001), 영양가가 높아 해산 자치어의 먹이생물로 적합한 것으로 알려져 있다(Sargent and Henderson, 1986; Fraser et al., 1989; Evjemo et al., 2003). 특히, n-3 HUFA인 DHA와 EPA를 많이 함유하고 있으며, 비타민 B1이 풍부한 것으로 알려져 있어 동물먹이생물로 널리 이용되고 있는 rotifer와 *Artemia* 보다 질적으로 높은 영양가치가 있다. 또한 copepods는 종이 매우 다양하고 nauplius단계에서 성체단계까지 여러 단계를 거쳐 성장하므로 이용할 수 있는 크기가 매우 다양하다.

이러한 copepods는 오래전부터 어류나 갑각류 종묘생산시 먹이로 사용되었으며, 예를 들어 노르웨이에서는 자연수역에서 직접 채집한 copepods를 대서양 넙치와 대구의 종묘생산에 초기먹이생물로 이용해 왔다.

이러한 여러 가지 장점으로 인하여 해산어 양식에 사용하기 위한 copepods 대량배양에 관한 연구가 Calanoid copepod 배양에 관한 연구를 시작으로 지금까지 국내외의 많은 연구자들에 의해 연구가 되어왔지만 아직까지 copepods를 먹이생물로 산업적으로는 이용되지 못하고 있어 여전히 rotifer와 *Artemia*에 의존하고 있는 실정이다.

따라서 다양한 해산어류를 키우기 위해선 기존의 두 동물먹이생물을 대체할 수 있는 copepods 개발이 필수적이다.

본 연구의 목적은 rotifer와 *Artemia*를 대체할 수 있는 copepods 종을 개발하기 위하여 copepods 배양에 가장 적합한 *Isochrysis* 종을 선별하였다. 또 이를 먹이로 공급한 다양한 copepods의 크기, 산란력 및 영양가를 분석하여 rotifer 와 *Artemia*를 대체할 수 있는 copepods를 선별하고자 했다.

II. 재료 및 방법

1. 미세조류의 선정

1. 1 원종배양

미세조류는 부경대학교 한국해양미세조류은행 에서 보유중인 종중에서 고도불포화지방산함량이 높아 무척추동물 유생 사육 시 가장 널리 사용되는 착편모조류인 4 strains의 *Isochrysis*를 선별하였다(Table 1).

선별한 종의 원종 배양은 2 L 삼각 플라스크(배양액 1 L)에 23 psu (Park and Hur, 2000)의 f/2 (Guillard and Ryther, 1962; Table 2)배지를 넣고 20℃에서 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 연속 조명으로 2주간 정치배양하였다.

Table 1. Microalgae species for the experiment

Species	KMMCC ¹ No.	Sources	Size	Sequence length (18S rDNA)	Accession number
<i>Isochrysis galbana</i>	12	Japan (Institute)	3.7±1.5	1635bp	HQ877903
<i>Isochrysis</i> aff. <i>galbana</i>	213	North atlantic (CCMP ² 463)	4.6±1.2	1635bp	HQ877911
<i>Isochrysis galbana</i>	214	China (Qingdao Institute)	3.7±1.5	1635bp	HQ877910
<i>Isochrysis</i> sp.	1072	Thailand (2004-08-16)	3.6±1.1	1635bp	HQ877920

¹KMMCC : Korea Marine Microalgae Culture Center; ²CCMP : Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine phytoplankton.

Table 2. Chemical composition of the f/2 medium (Guillard and Ryther, 1962)

Component	Concentration
NaNO_3	150.0 mg
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	8.69 mg
Ferric EDTA	10.0 mg
MnCl_2	0.22 mg
CoCl_2	0.11 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0196 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.044 mg
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	50.0 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.012 mg
Vitamine B12	1.0 μg
Biotin	1.0 μg
Thiamine-HCl	0.2 μg
Filtered seawater	1 L

1. 2 온도별 성장률 측정

온도에 따른 *Isochrysis* 4 strains의 성장 실험을 위해 정치배양한 원종을 250 mL(배양액 100 mL) 플라스크에 50%의 접종량으로 동일한 23 psu의 f/2배지에 접종하여 원종 배양 시와 동일한 빛 조건 하에서 온도를 25℃, 29℃, 33℃로 구분하여 3반복으로 정치배양 하였다.

각 온도 구간에 따른 세포 성장은 혈구계산판 (hemacytometer)을 이용해서 매일 동일한 시간에 세포수를 3반복 측정하였고 최고 세포 밀도 시까지의 일간 성장률(specific growth rate, SGR)을 구하였다(Guillard, 1973). ($SGR/day = 3.322 \times \log(N_2/N_1)/(t_2-t_1)$, N_2 : t_2 시의 세포수, N_1 : t_1 시의 세포수)

1. 3 지방산 분석

25℃, 29℃, 33℃의 온도에서 배양한 *Isochrysis* 4 strains 중에서 세포 성장률이 높으면서 고온인 온도 구간에서 높은 성장률을 보인 2종을 선별하여 세포수 측정이 끝난 후 3000 rpm으로 25분간 원심 분리하여 세포만을 수확해서 -80℃에 보관한 후 지방산을 분석하였다.

지방산은 lipid class에서 추출된 지질을 Metcalfe et al. (1966)의 방법에 따라 BF_3 -methanol로 methylation 시킨 후 auto sampler가 장착된 gas chromatograph (6890 plus, Agilent, U.S.A)로 분석하였다. GC의 분석조건으로 column은 ω -wax column (30 m×0.1 mm I.D length, 0.1 μ m thickness, Supleco, U.S.A)을 사용하였고, 표준 지방산은 37 component FAME mix. (Supleco, U.S.A)를 사용하였다. Carrier gas는 N_2 (30 mL/min)를 사용하였고, oven 온도는 200℃에서 230℃까지 1℃/min 증가시켰고,

injector와 detector의 온도는 모두 250℃로 설정하였다.

2. Copepods의 채집 및 배양

실험에 사용된 copepods는 2001년 1월부터 2009년 2월까지 강원도에 위치한 기수호 인 송지호와 화진포, 충청남도 태안의 염전지역, 전라북도 부안의 기수지역 그리고 부산 연안인 해운대 동백섬과 용호만에서 40 μm 와 80 μm plankton net을 사용하여 채집되었다(Table 3).

채집한 copepods는 포란한 암컷 1마리를 순수분리한 후 배양하여 강릉대학교 생물학 실험실에서 동정하였다. 동정된 copepods는 부경대학교 유용플랑크톤기탁등록보존기관의 동물플랑크톤 배양실에서 배양수가 1 L든 2 L 비커에 수용하여 각 중별로 채집시의 염분을 고려하여 20℃에서 배양하였다.

먹이로는 4 strains의 *Isochrysis* 중에서 대량배양이 용이하고 영양가가 높은 종인 *Isochrysis galbana* (KMMCC-12)를 선정하여 f/2배지를 사용하여 20℃, 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 에서 1 L 삼각플라스크, 3 L 삼각플라스크, 20 L 원형 아크릴 수조 순으로 순차적으로 배양하였고 copepods의 먹이로 80×10^4 cells/mL씩 2일 1회 공급하였다.

Table 3. Source of the copepods for the study

Order	Species	CCUMP ¹ No.	Sampling area	Habitat
Calanoid	<i>Pseudodiaptomus inopinus</i>	C-1	Nakdong river	Estuary
	<i>Pseudodiaptomus inopinus</i>	C-5	Baeksu	Salt pond
	<i>Pseudodiaptomus inopinus</i>	C-10	Songji lake	Lagoon
Harpacticoid	<i>Tachidius triangularis</i>	C-83	Buan	Lagoon
	<i>Tigriopus japonicus</i>	C-23	Haeundae	Tidal pool
	<i>Amphiascus kawamurai</i>	C-26	Yeongduk	Tidal pool
	<i>Amphiascus</i> sp.	C-30	Hwajinpo	Lagoon
	<i>Nitokra spinipes</i>	C-28	Goseong	Tidal pool
	<i>Nitokra spinipes</i>	C-29	Songji lake	Lagoon
	<i>Tisbe teuera</i>	C-65	Yongho bay	Marine
Cyclopoid	<i>Paracyclops nana</i>	C-12	Nakdong river	Estuary
	<i>Paracyclops nana</i>	C-13	Baeksu	Salt pond
	<i>Paracyclops nana</i>	C-70	Wangpo	Estuary
	<i>Paracyclops nana</i>	C-73	Okgu	Salt pond
	<i>Apocyclops royi</i>	C-79	Buan	Estuary
	<i>Apocyclops</i> sp.	C-20	Taeon	Salt pond

¹CCUMP: Culture Collection of Useful Marine Plankton.

3. 먹이생물로 적합한 copepods 선택

3. 1 Nauplius와 성체의 크기 측정

Copepods의 각 strain별 nauplius와 성체의 크기는 입체현미경 하에서 마이크로미터를 사용하여 전장과 갑폭을 측정하였다. 전장은 두부 끝에서 미부 끝까지, 갑폭은 두흉부의 가장 넓은 폭으로 나타내었다.

크기 측정에 사용된 nauplius는 2 L 비커(배양수 1 L)에 포란한 암컷을 수용하고 24℃의 각 종별 적정염분에서 *Isochrysis galbana*를 2일 1회 공급하여 배양하였다. 배양 24시간 후 120 μm sieve를 사용하여 빠져나온 nauplius와 걸러진 암컷을 각 각 50개체씩 수거하여 전장과 갑폭을 측정하였다.

3. 2 암컷의 산란력 및 생존일수

Copepods의 nauplius 생산력 및 생존기간을 알아보기 위해 12개 지역에서 채집 분리된 16 strains의 copepods를 이용하였다. 배양수가 5 mL든 12 hole cell chamber에 갓 포란한 암컷 1마리씩을 한 hole에 6반복으로 수용하여 채집시의 염분으로 24℃, 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 조도에서 배양하였다. 먹이로는 *I. galbana*를 $80 \times 10^4 \text{ cells/mL}$ 로 1일 1회 공급하면서 폐사할 때까지 배양하였다. 매일 동일한 시간에 마이크로 피펫을 이용하여 암컷만 남기고 생산된 nauplius를 배양수와 함께 뽑아 입체현미경하에서 계수하였고 새로운 배양수를 공급하여 전량 환수 후 먹이를 공급하였다. 측정 항목으로 각 copepods 암컷 한 마리의 nauplius 산란력과 산란기간을 조사하였으며, 폐사할 때까지의 생존기간을 조사하였다.

3. 3 아미노산과 지방산 분석

실험에 사용된 16 strains 중, 암컷의 nauplius 산란력과 크기가 적합한 9 종에 대한 아미노산과 지방산을 분석하였다.

분석에 사용된 copepods는 2 L 비커(배양수 1 L)에 배양중인 원종을 2 개의 20 L 원형 아크릴 수조(배양수 18 L)에 각 각 500 mL씩 나눠서 접종한 후 24℃, 각 종별 적정염분으로 배양하였다. 먹이로는 *I. galbana*를 1일 1회 충분히 공급하였으며, 이틀마다 50%씩 환수하였고 약하게 폭기된 상태로 30일 이상 배양하였다. 수확 시 120 µm, 150 µm, 200 µm 그리고 300 µm sieve를 각 종의 크기에 맞게 사용하여 성체만 수확하였다.

대조군으로는 rotifer (*Brachionus plicatilis*, CCUMP-46)와 *Artemia* nauplii를 사용하였다. Rotifer는 20 L 원형 아크릴 수조(배양수 15 L)에 1 ind/mL 밀도로 접종한 후 24℃, 20 psu로 배양하였으며, 먹이로는 *I. galbana*를 1일 1회 충분히 공급하였으며, 이틀마다 50%씩 환수하였고 약하게 폭기된 상태로 2주간 배양 후 수확하여 사용하였다. *Artemia* nauplius는 INVE(Great Salt Lake, USA)에서 구입한 *Artemia* cyst를 부화절차에 의해 부화시킨 후 부화 후 10시간이 지나지 않은 nauplius를 수확하여 분석에 사용하였다. 수확한 sample은 여과해수로 헹군 뒤 GF/C 필터 (0.45 µm)에 거른 후 -80℃에 보관하여 아미노산과 지방산을 분석하였다.

아미노산은 시료 50 mg 을 시험관에 넣고 6 N HCl을 가하여 밀봉한 후 110℃로 24시간동안 가수분해 하였다. 건조 후 0.02 N HCl 5 mL를 넣고 혼합한 뒤 0.45 µm syringe filter로 여과 하였다. 여과 후 용액을 20 µL 취하여 amino acid analyzer (HSAAA, Hitachi L-8800, Japan)를 이용하여 ninhydrin 방법으로 분석하였다. 지방산은 미세조류와 동일한 방법으로 분석하였으며, 영양성분은 아미노산과 지방산 모두 각 시료 당 3회 반복 분석하였다.

4. 통계처리

모든 실험 결과는 One-way ANOVA test를 실시하였으며, 평균 간의 유의성($P < 0.05$)은 Duncan test (Duncan, 1955)로 검정하였다. 통계 분석은 SPSS program (ver 17.0)을 사용하여 분석하였다.



Ⅲ. 결 과

1. 미세조류의 선정

1. 1 온도별 성장률

온도에 따른 *Isochrysis* 4 strains의 성장률은 Fig. 1에 나타내었다. *Isochrysis* 종은 25℃에서 29℃로 높아짐에 따라 성장률이 높게 나타났지만 33℃에서는 29℃보다 낮아지는 것으로 나타났었다.

25℃에서 *Isochrysis galbana* (KMMCC-12)가 성장률이 0.2287로 유의하게 가장 높았고($P<0.05$), 그 다음으로 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)의 성장률이 0.2124로 높게 나타났다. *Isochrysis galbana* (KMMCC-213)와 *Isochrysis* aff. *galbana* (KMMCC-214)는 성장률이 각각 0.1481과 0.1646으로 4 strains 중 성장률이 비교적 낮게 나타났으며, *I. galbana* (KMMCC-213)는 0.1481의 성장률로 유의하게 가장 낮았다.

29℃에서 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)와 *I. galbana* (KMMCC-12)의 성장률이 각각 0.2904와 0.2811로 유의하게 가장 높았고, *I. galbana* (KMMCC-213)가 성장률이 0.2137로 가장 낮게 나타났지만 *Isochrysis* aff. *galbana* (KMMCC-214)와는 유의한 차이가 없었다.

33℃에서는 *I. galbana* (KMMCC-12)가 성장률이 0.2277로 유의하게 가장 높았고, 그 다음으로 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)의 성장률이 0.2007로 높게 나타났었다. *Isochrysis* aff. *galbana* (KMMCC-214)의 성장률은 0.1754로 가장 낮게 나타났으며, 성장률이 0.1897인 *I. galbana* (KMMCC-213)와는 유의한 차이가 없었다($P<0.05$).

I. galbana (KMMCC-213)는 전 온도 구간 (25℃, 29℃, 33℃)에서 다른 3 strains 보다 낮은 성장률을 보였다. *I. galbana* (KMMCC-12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 전 온도 구간에서 다른 종에 비해 높은 성장률을 보였고, 33℃의 고온에서도 비교적 성장이 좋게 나타나 *Isochrysis* 종 중 이 두 종이 광온성으로 나타났다.



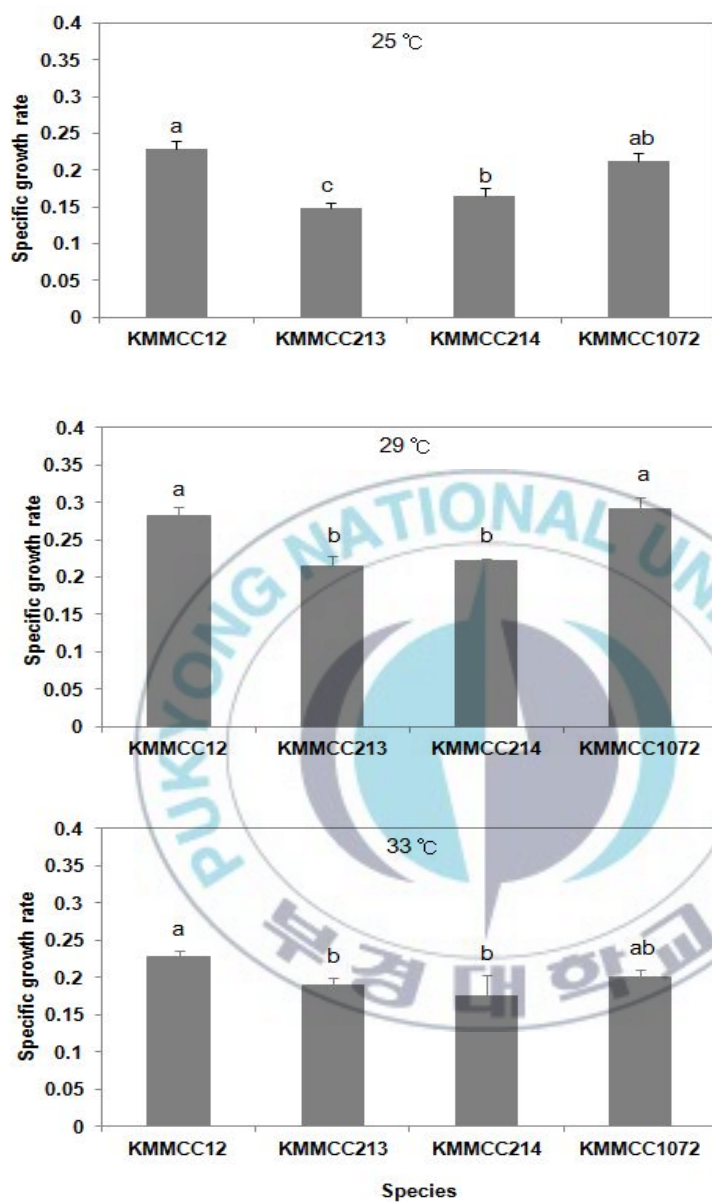


Fig. 1. Specific growth rate of *Isochrysis* species at 25°C, 29, and 33°C. KMMCC12, *Isochrysis galbana* ; KMMCC213, *Isochrysis* aff. *galbana* ; KMMCC214, *Isochrysis galbana* ; KMMCC1072, *Isochrysis* sp. Different letter on the bar means significantly difference (P<0.05).

1. 2 온도별 지방산 조성

25℃, 29℃, 33℃의 온도에서 배양한 *I. galbana* (KMMCC-12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)의 지방산 조성은 Table 4 와 같다. *I. galbana* (KMMCC-12)의 경우 oleic acid (C18:1n9)가 전 온도 구간에서 약 23.84-37.03%로 가장 높은 비율을 보였다. 지방산 성분 중에서 polyunsaturated fatty acid (PUFA)의 함량은 33℃에서 25.25%로 가장 높았고, 29℃에서 15.61%로 가장 낮았다. Eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n3)함량은 33℃에서 10.97%로 가장 높았고, 25℃, 29℃에서는 각각 0.54%와 0.51%로 비슷하게 나타났다. Docosahexaenoic acids (DHA, C22:6n3)함량은 25℃에서 5.37%로 가장 높았고, 33℃에서 4.21%로 가장 낮았다. n-3 HUFA의 함량은 33℃에서 15.18%로 가장 높았고, 25℃, 29℃에서는 5.31~5.91%로 나타났다.

Isochrysis sp. (KMMCC-1072)는 29℃에서 PUFA의 함량이 24.93%로 가장 높았고, 33℃에서 15.82%로 가장 낮았다. EPA의 함량도 29℃에서 3.45%로 가장 높았으며 33℃에서 0.28%로 가장 낮았다. DHA 함량은 25℃, 29℃에서 각각 7.07%와 7.02%로 비슷하게 나타났고, 33℃에서는 4.44%로 가장 낮았다. n-3 HUFA는 29℃에서 10.47%로 가장 높았고, 33℃에서 4.72%로 가장 낮았다.

I. galbana (KMMCC-12)는 25℃, 29℃에서 EPA의 함량은 0.5%로 비슷하였지만 33℃에서는 10.97%로 높아지는 경향을 보인 반면 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 EPA의 함량이 29℃일 때 3.45%에 비해 33℃에서는 0.28%로 감소하는 경향이 나타났다. DHA의 함량은 두 종 모두 25℃일 때 가장 높게 나타났고 온도가 증가할수록 감소하는 경향이 나타났다. PUFA의 함량은 *I. galbana* (KMMCC-12)는 25℃보다 33℃에서 증가하였고,

반면에 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 감소하였다. n-3 HUFA 함량도 *I. galbana* (KMMCC-12)는 25℃에 비해 33℃에서 약 두 배 이상 높았지만, *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 29℃일 때 함량이 가장 높았고 33℃에서는 25℃보다 낮게 나타났다.



Table 4. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of *Isochrysis* species at 25°C, 29°C and 33°C

Fatty acid	<i>Isochrysis galbana</i> (KMMCC 12)			<i>Isochrysis</i> sp. (KMMCC 1072)		
	25°C	29°C	33°C	25°C	29°C	33°C
C14:0	10.89	11.62	13.89	11.14	9.08	14.89
C15:0	1.36	1.98	2.42	1.23	1.07	3.03
C16:0	20.97	21.98	16.17	21.62	21.01	22.34
C16:1n3	0.09	-	0.16	0.04	-	0.09
C16:1n5	0.75	-	0.06	0.11	-	-
C16:1n7	3.45	5.2	5.7	5.61	8.59	8.34
C16:1n9	-	0.15	0.26	0.3	0.26	0.23
C16:2	4.88	-	1.06	0.77	6.38	1.45
C17:0	0.27	-	1.13	0.06	0.26	-
C17:1	0.75	0.92	0.82	0.84	-	1.04
C18:0	0.94	1.33	2.32	1.17	1.03	3.06
C18:1n7	3.25	3.99	7.66	36.66	3.21	4.55
C18:1n9	34.75	37.03	23.84	2.18	29.05	26.06
C18:2n4	2.16	2.07	2.76	0.14	1.9	3.24
C18:2n6	0.19	0.14	0.05	0.19	0.16	0.32
C18:3	0.06	-	-	0.08	-	0.11
C18:4	7.28	8.09	6.2	7.61	6.02	5.98
C20:0	-	0.19	-	0.12	0.1	0.18
C20:5n3	0.54	0.51	10.97	0.37	3.45	0.28
C22:0	0.73	-	0.07	0.75	1.41	0.32
C22:1n11	1.07	-	0.25	1.57	-	-
C22:5	0.21	-	-	0.3	-	-
C22:6n3	5.37	4.8	4.21	7.07	7.02	4.44
C24:1n9	0.06	-	-	0.07	-	0.07
Saturated	35.16	37.1	36	36.09	33.96	43.82
Monounsaturated	44.17	47.29	38.75	47.38	41.11	40.38
Polyunsaturated	20.69	15.61	25.25	16.53	24.93	15.82
n-3 HUFA	5.91	5.31	15.18	7.44	10.47	4.72

HUFA: highly unsaturated fatty acid (C $\geq$ 20).

2. 먹이생물로 적합한 copepods 선택

2. 1 종별 nauplius와 성체의 크기

실험에 사용된 copepods 16 strains의 nauplius와 성체의 크기는 Table 5와 같다. Copepods는 갑장 길이에 따라 10 strains의 small size group (S-group)과 6 strains의 large size group (L-group)으로 구분하였다. S-group의 경우 nauplius의 갑장은 45.9~97.3 μm , 갑폭은 42.1~87.7 μm 범위였고, 성체 갑장의 범위는 431.8~707.3 μm , 갑폭은 125.1~238.3 μm 범위였다. S-group 중 nauplius의 갑장 크기는 *Amphiascus* sp. (C-30)가 45.92 μm 로 유의하게 가장 작게 나타났다($P<0.05$). 갑장이 유의하게 가장 크게 나타난 strain은 *Paracyclopina nana* (C-12)로 97.33 μm 였다. 갑폭은 *P. nana* (C-70)가 42.16 μm 으로 가장 작고, *Amphiascus* sp. (C-30)가 87.72 μm 로 가장 컸다.

S-group 성체의 갑장은 *Tachidius triangularis* (C-83)가 431.87 μm 로 유의하게 가장 작았고($P<0.05$), *Nitokra spinipes* (C-28)가 707.39 μm 로 가장 컸다. 갑폭의 경우 *N. spinipes*(C-29)가 125.19 μm 로 가장 작고, *Tisbe teura*(C-65)는 238.35 μm 로 가장 크게 나타났다.

한편 L-group의 strain의 경우 nauplius 갑장의 범위는 119.6~187.6 μm , 갑폭은 82.9~101.6 μm 였고, 성체는 갑장이 832~1157.8 μm , 갑폭은 299~382.1 μm 의 범위였다. L-group의 strain중 nauplius 갑장은 *Apocyclops royi* (C-79)가 119.68 μm 로 가장 작게 나타났지만, 갑장이 119.72 μm 인 *Tigriopus japonicus* (C-23)와는 유의한 차이가 없었다($P<0.05$). *Pseudodiaptomus inopinus* (C-5)는 갑장이 187.65 μm 로 가장 컸으나, 갑장이 186.32 μm 인 *P. inopinus* (C-10)와 유의한 차이는 나타나지 않았다.

($P < 0.05$). 갑폭의 경우 *T. japonicus* (C-23)가 101.68 μm 로 가장 컸고, *P. inopinus* (C-1)가 82.96 μm 로 가장 작았다.

L-group의 성체 갑장 크기는 *T. japonicus* (C-23)가 832.03 μm 로 가장 작았고, *P. inopinus* (C-5)가 1157.84 μm 로 가장 컸으나 각장이 1156.2 μm 인 *P. inopinus* (C-10)와 유의한 차이는 없었다($P < 0.05$). 갑폭은 *P. inopinus* (C-1)가 299.03 μm 로 가장 작고, *A. royi* (C-79)가 382.12 μm 로 가장 크게 나타났다.



Table 5. Size of nauplius and adult of the copepods in the study

Size group	CCUMP No.	Nauplius		Adult	
		Body length (μm)	Body width (μm)	Body length (μm)	Body width (μm)
Large	C-1	167.28±8.30 ^b	82.96±5.18 ^e	1128.87±49.12 ^b	299.03±36.21 ^e
	C-5	187.65±8.30 ^a	93.84±10.16 ^b	1157.84±53.55 ^a	330.73±22.41 ^c
	C-10	186.32±7.05 ^a	89.08±10.00 ^c	1156.20±46.73 ^a	310.51±24.72 ^d
	C-23	119.72±9.77 ^d	101.68±10.01 ^a	832.03±27.55 ^e	311.60±8.61 ^d
	C-79	119.68±7.05 ^d	89.76±10.16 ^c	1075.29±26.44 ^c	382.12±16.62 ^a
	C-20	122.73±10.21 ^{cd}	86.10±7.06 ^{cde}	1017.35±44.02 ^d	341.67±18.31 ^b
Small	C-83	76.84±8.78 ⁱ	59.16±6.22 ^h	431.87±16.86 ^m	166.19±7.12 ^j
	C-26	64.23±5.73 ^j	85.55±9.06 ^{cde}	680.60±37.24 ^g	139.13±9.75 ^l
	C-30	58.82±7.89 ^k	87.72±8.72 ^{cd}	656.00±14.92 ^h	135.03±10.27 ^l
	C-28	61.20±2.68 ^{jk}	83.98±6.39 ^{de}	707.39±25.75 ^f	149.79±8.32 ^k
	C-29	45.92±5.94 ^l	64.51±5.99 ^g	519.88±24.42 ^j	125.19±8.04 ^m
	C-65	85.55±11.33 ^g	70.79±9.75 ^f	657.64±28.03 ^h	238.35±10.31 ^f
	C-12	97.33±4.50 ^e	49.00±3.05 ⁱ	587.12±24.89 ^j	214.29±11.34 ^g
	C-13	91.33±3.46 ^f	49.00±4.03 ⁱ	645.61±16.39 ^h	201.72±10.68 ^h
	C-70	81.92±6.52 ^h	42.16±5.18 ^j	537.37±31.85 ^k	178.21±13.44 ⁱ
	C-73	90.67±2.54 ^f	52.00±4.07 ⁱ	613.91±18.62 ^j	197.35±6.79 ^h

Values (mean±SD of 50 replications) in the same row mean not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

2. 2 포란한 암컷의 생존기간 및 산란일수

포란한 암컷의 생존기간과 산란일수는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 생존기간과 산란일수는 종에 따라 차이가 났으며, 같은 종일지라도 strain에 따라 다르게 나타났다. 생존기간은 *Amphiascus* sp. (C-30)가 20.8일로 유의하게 가장 길었으며($P<0.05$), *N. spinipes* (C-29), *T. japonicus* (C-23)의 순으로 길게 나타났다. *P. nana*의 경우 4 strain(C-12, C-13, C-70, C-73) 중 C-70은 다른 3 strain에 비해 생존일수가 짧게 나타났다. 산란일수는 *Amphiascus* sp. (C-30)가 20.6일로 유의하게 가장 길었고($P<0.05$), *N. spinipes* (C-29), *T. japonicus* (C-23) 순으로 길게 나타나 생존일수와 유사한 경향을 보였다. 산란일수가 가장 짧게 나타난 strain은 *P. inopinus*(C-1, C-5, C-10)와 *Apocyclops* sp.(C-20)으로 산란일수는 2~3일이었다.

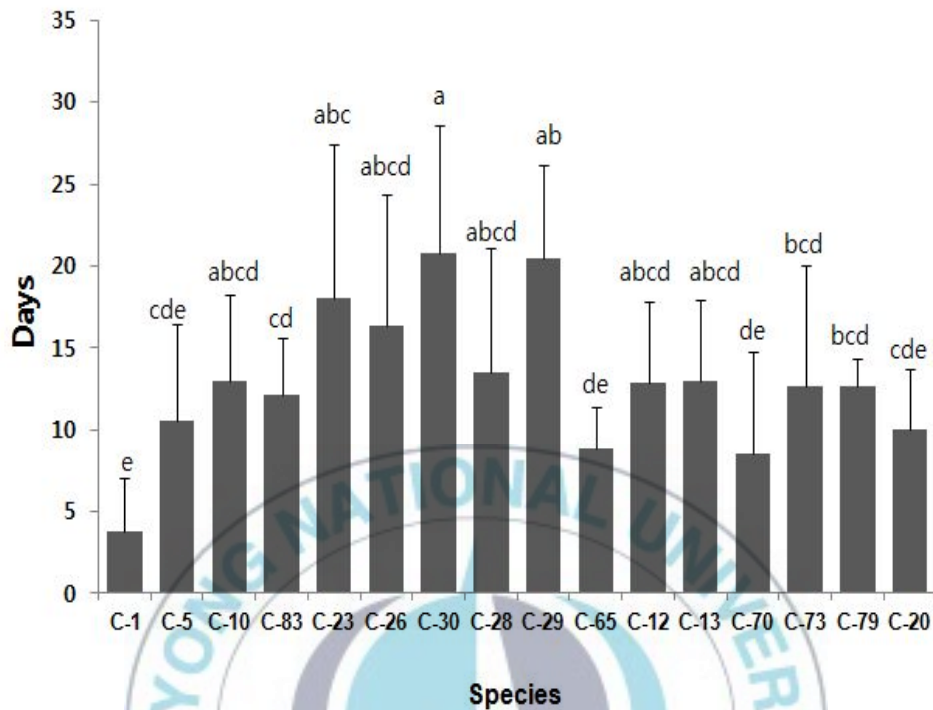


Fig. 2. Survival days of a gravid female of copepods

C-1,5,10 : *Pseudodiaptomus inopinus*; C-83 : *Tachidius triangularis*; C-23 : *Tigriopus japonicus*; C-26 : *Amphiascus kawamurai*; C-30 : *Amphiascus* sp.; C-28 : *Nitokra spinipes*; C-29 : *Nitokra spinipes*; C-65 : *Tisbe teura*; C-12,13,70,73 : *Paracyclops nana*; C-79 : *Apocyclops royi*; C-20 : *Apocyclops* sp.

Different letter on the bar means significantly difference ($P < 0.05$).

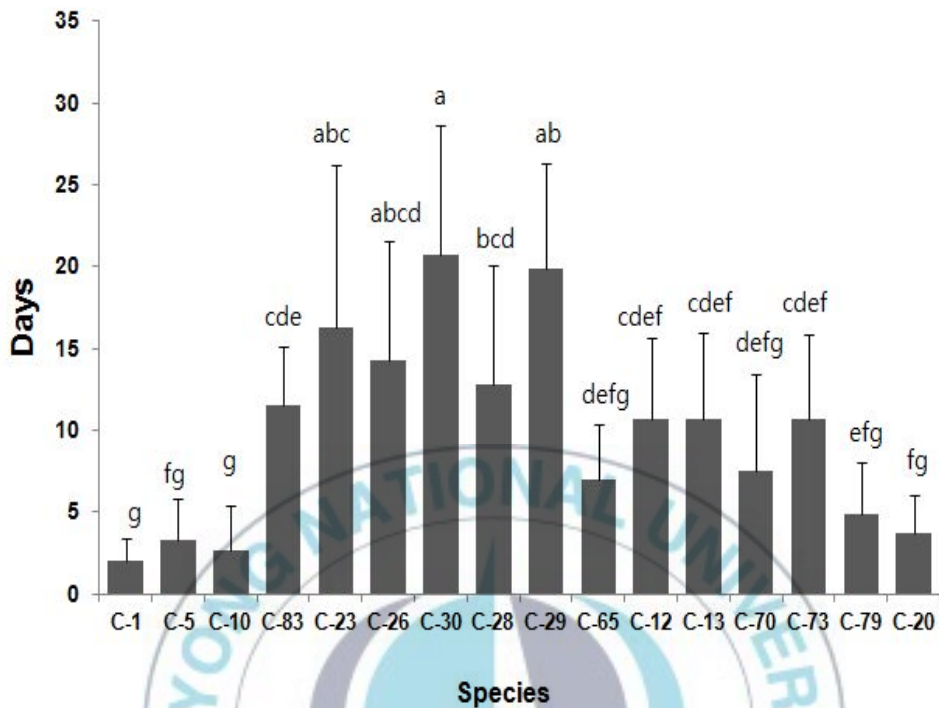


Fig. 3. Reproductive period of a gravid female of copepods

C-1,5,10 : *Pseudodiaptomus inopinus*; C-83 : *Tachidius triangularis*; C-23 : *Tigriopus japonicus*; C-26 : *Amphiascus kawamurai*; C-30 : *Amphiascus* sp.; C-28 : *Nitokra spinipes*; C-29 : *Nitokra spinipes*; C-65 : *Tisbe teura*; C-12,13,70,73 : *Paracyclops nana*; C-79 : *Apocyclops royi*; C-20 : *Apocyclops* sp.

Different letter on the bar means significantly difference ($P < 0.05$).

2. 3 암컷의 산란력

포란한 암컷 한 개체당 총 nauplius 산란력과 일일 산란력은 Fig. 4 와 5에 나타내었다. 암컷 한 마리가 총 생산한 nauplius의 수는 *T. japonicus* (C-23)가 151.1개체로 유의하게 가장 높았으며($P < 0.05$), 그 다음으로 *N. spinipes* (C-29)와 *Amphiascus* sp. (C-30)가 각각 139.6개체와 105.1개체로 높았다. *P. inopinus* (C-10)는 총 nauplius 생산량이 9.3개체로 가장 낮게 나타났지만, *T. japonicus* (C-23), *N. spinipes* (C-29) 그리고 *Amphiascus* sp. (C-30)를 제외한 나머지 strain과 유의한 차이를 보이지 않았다($P < 0.05$). 일일 산란력도 *T. japonicus* (C-23)가 8.9개체로 가장 높았고 다음으로 *N. spinipes* (C-29)가 7.3개체로 높게 나타났다.



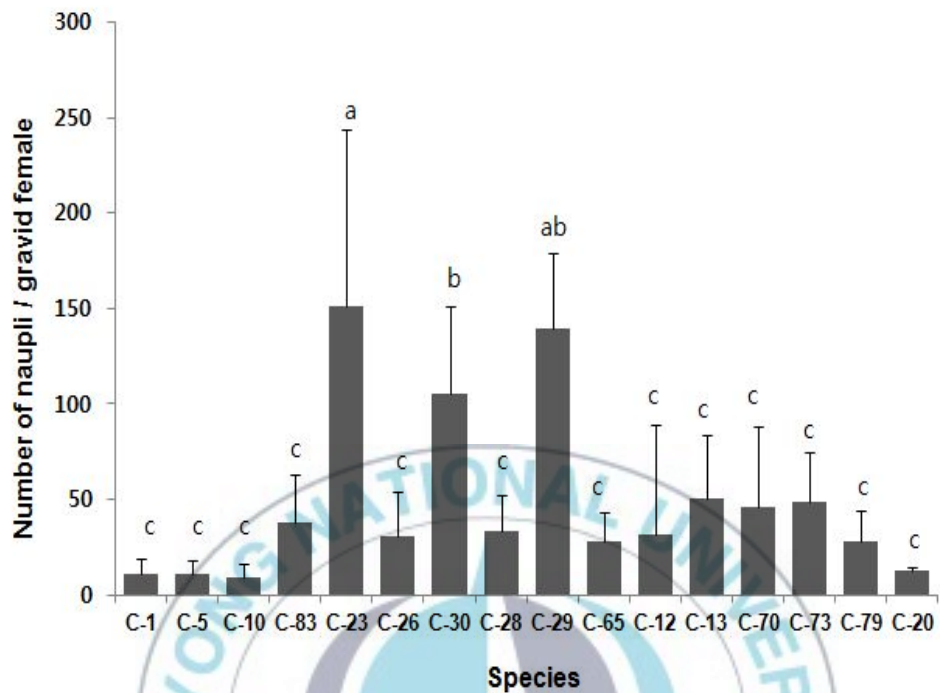


Fig. 4. Fecundity of a gravid female of copepods

C-1,5,10 : *Pseudodiaptomus inopinus*; C-83 : *Tachidius triangularis*; C-23 : *Tigriopus japonicus*; C-26 : *Amphiascus kawamurai*; C-30 : *Amphiascus* sp.; C-28 : *Nitokra spinipes*; C-29 : *Nitokra spinipes*; C-65 : *Tisbe teura*; C-12,13,70,73 : *Paracyclopina nana*; C-79 : *Apocyclops royi*; C-20 : *Apocyclops* sp.

Different letter on the bar means significantly difference ($P < 0.05$).

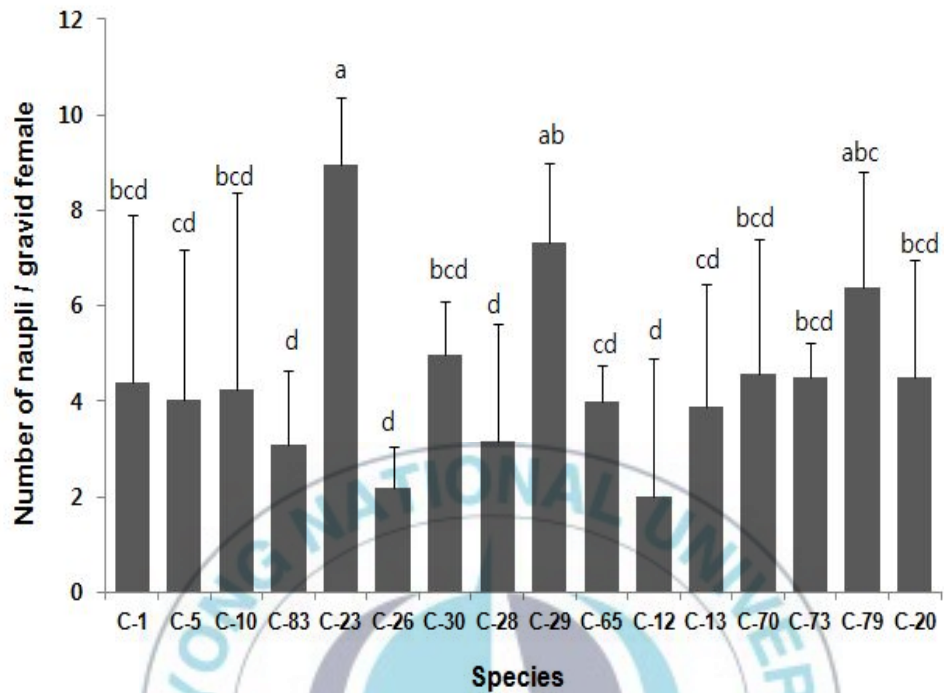


Fig. 5. Daily fecundity of a gravid female of copepods

C-1,5,10 : *Pseudodiaptomus inopinus*; C-83 : *Tachidius triangularis*; C-23 : *Tigriopus japonicus*; C-26 : *Amphiascus kawamurai*; C-30 : *Amphiascus* sp.; C-28 : *Nitokra spinipes*; C-29 : *Nitokra spinipes*; C-65 : *Tisbe teura*; C-12,13,70,73 : *Paracyclopina nana*; C-79 : *Apocyclops royi*; C-20 : *Apocyclops* sp.

Different letter on the bar means significantly difference ($P < 0.05$).

2. 4 아미노산과 지방산 조성

9종의 copepods와 대조군인 rotifer (*Brachionus plicatilis*)와 *Artemia* nauplius의 아미노산 조성과 단백질 함량은 Table 6에 나타내었다. 9종의 copepods의 전체 아미노산 조성 중 glutamic acid가 47~68%로 가장 높은 조성을 보였다. Cysteine은 2~3%로 가장 낮은 조성을 보였으며 *P. nana* (C-70)에서는 검출되지 않았다. *P. nana* (C-70)를 제외한 나머지 8종의 copepods의 경우 필수아미노산 중에서는 arginine이 27~35%로 가장 높은 비율이었고, *P. nana* (C-70)는 leucine이 37.4%로 가장 높은 조성을 보였다. *Artemia* nauplius는 전체 아미노산 조성 중 glutamic acid가 37.5%로 가장 높고 cysteine이 2.6%로 가장 낮아 copepods와 유사한 경향을 보였지만, *B. plicatilis*는 methionine이 1.5%로 가장 낮아 차이를 보였다. 필수아미노산 함량은 *P. nana* (C-70)가 21.2%로 가장 높았으며, *B. plicatilis*, *P. inopinus* (C-5)의 순으로 높게 나타났지만 두 종간의 유의한 차이는 없었다($P < 0.05$). *Artemia* nauplius는 필수아미노산 함량이 14%로 가장 낮았고, copepods 중에서는 *T. japonicus* (C-23)와 *Amphiascus* sp. (C-30)가 약 15%로 가장 낮았다. 단백질 함량은 *P. nana* (C-70)가 51.3%로 가장 높았고, *B. plicatilis*, *P. inopinus* (C-5)의 순으로 높게 나타났다. 그 밖의 copepods의 단백질 함량은 37~45%로 비슷하였고, *Artemia* nauplius는 31.5%로 가장 낮았다.

Table 6. Amino acids composition (%) of nine copepod species, *Artemia* nauplius and *Brachionus plicatilis*

Amino acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Pseudo- diaptomus inopinus</i>	<i>Tachidius triangularis</i>	<i>Tigriopus japonicus</i>	<i>Amphiascus sp.</i>
Threonine	19.8 $\pm$ 0.29 ^b	19.8 $\pm$ 0.80 ^b	16.8 $\pm$ 0.29 ^d	16.8 $\pm$ 0.47 ^d
Valine	21.7 $\pm$ 0.31 ^d	22.4 $\pm$ 0.91 ^{cd}	19.0 $\pm$ 0.73 ^f	20.6 $\pm$ 0.73 ^e
Methionine	8.7 $\pm$ 0.22 ^a	4.5 $\pm$ 0.18 ^{cd}	5.8 $\pm$ 0.59 ^b	3.7 $\pm$ 0.69 ^e
Isoleucine	16.8 $\pm$ 0.29 ^b	15.9 $\pm$ 0.65 ^c	13.4 $\pm$ 0.63 ^{ef}	12.1 $\pm$ 0.45 ^g
Leucine	31.9 $\pm$ 0.33 ^b	30.6 $\pm$ 1.24 ^c	24.9 $\pm$ 0.71 ^f	24.3 $\pm$ 0.92 ^{fg}
Phenylalanine	18.6 $\pm$ 0.25 ^c	17.0 $\pm$ 0.69 ^d	17.7 $\pm$ 0.38 ^d	15.0 $\pm$ 0.43 ^e
Lysine	30.6 $\pm$ 0.48 ^b	26.7 $\pm$ 1.08 ^{de}	24.1 $\pm$ 0.45 ^{gh}	23.3 $\pm$ 0.79 ⁱ
Histidine	10.4 $\pm$ 0.12 ^b	9.4 $\pm$ 0.38 ^d	8.4 $\pm$ 0.23 ^f	8.0 $\pm$ 0.11 ^g
Arginine	35.7 $\pm$ 0.33 ^a	31.1 $\pm$ 1.27 ^{bc}	27.4 $\pm$ 0.61 ^d	29.8 $\pm$ 1.67 ^c
Aspartic acid	39.2 $\pm$ 0.33 ^b	35.2 $\pm$ 1.43 ^d	32.7 $\pm$ 0.63 ^{ef}	32.0 $\pm$ 1.22 ^f
Serine	19.2 $\pm$ 0.26 ^c	18.9 $\pm$ 0.77 ^{cd}	16.5 $\pm$ 0.44 ^{efg}	15.9 $\pm$ 0.73 ^h
Glutamic acid	59.5 $\pm$ 0.88 ^b	54.3 $\pm$ 2.21 ^c	50.9 $\pm$ 1.49 ^d	47.3 $\pm$ 2.76 ^e
Glycine	26.4 $\pm$ 0.31 ^a	22.1 $\pm$ 0.90 ^{de}	21.7 $\pm$ 0.71 ^{de}	23.1 $\pm$ 1.62 ^{cd}
Alanine	29.0 $\pm$ 0.40 ^{bc}	29.6 $\pm$ 1.21 ^{ab}	22.6 $\pm$ 0.60 ^e	23.4 $\pm$ 0.63 ^e
Cystein	3.5 $\pm$ 0.16 ^a	2.5 $\pm$ 0.10 ^{cd}	3.5 $\pm$ 0.14 ^a	2.4 $\pm$ 0.39 ^{cd}
Tyrosine	19.5 $\pm$ 0.30 ^b	17.4 $\pm$ 0.71 ^c	18.1 $\pm$ 0.30 ^c	13.9 $\pm$ 1.36 ^d
NH ₃	5.1 $\pm$ 0.09 ^b	5.1 $\pm$ 0.21 ^b	4.6 $\pm$ 0.21 ^c	4.6 $\pm$ 0.19 ^c
Proline	22.7 $\pm$ 0.23 ^g	24.6 $\pm$ 1.00 ^f	27.2 $\pm$ 0.07 ^{cd}	23.0 $\pm$ 0.32 ^g
EAA (%)	19.4 $\pm$ 0.22 ^b	17.7 $\pm$ 0.72 ^{cd}	15.7 $\pm$ 0.32 ^f	15.4 $\pm$ 0.54 ^f
Protein (%)	46.5 $\pm$ 0.57 ^{bc}	43.0 $\pm$ 1.75 ^d	39.5 $\pm$ 0.79 ^e	37.7 $\pm$ 1.62 ^e

EAA ; essential amino acid.

- ; not detected.

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

Table 6. continued

Amino acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Nitokra spinipes</i>	<i>Tisbe teuera</i>	<i>Paracyclopina nana</i>	<i>Apocyclops royi</i>
Threonine	18.8 $\pm$ 0.11 ^c	18.9 $\pm$ 0.16 ^c	22.7 $\pm$ 0.57 ^a	20.0 $\pm$ 0.47 ^b
Valine	23.2 $\pm$ 0.18 ^c	22.5 $\pm$ 0.20 ^{cd}	25.0 $\pm$ 0.63 ^b	21.6 $\pm$ 0.38 ^d
Methionine	4.7 $\pm$ 0.18 ^{cd}	4.0 $\pm$ 0.15 ^{de}	2.4 $\pm$ 0.06 ^f	4.8 $\pm$ 0.62 ^c
Isoleucine	13.1 $\pm$ 0.40 ^f	14.0 $\pm$ 0.37 ^{de}	20.3 $\pm$ 0.51 ^a	15.9 $\pm$ 0.34 ^c
Leucine	27.5 $\pm$ 0.27 ^e	26.9 $\pm$ 0.47 ^e	37.4 $\pm$ 0.94 ^a	29.1 $\pm$ 0.58 ^d
Phenylalanine	18.6 $\pm$ 0.74 ^c	16.9 $\pm$ 0.24 ^d	23.1 $\pm$ 0.58 ^b	17.4 $\pm$ 0.32 ^d
Lysine	25.0 $\pm$ 0.13 ^{fg}	27.6 $\pm$ 0.59 ^d	34.5 $\pm$ 0.87 ^a	27.7 $\pm$ 0.52 ^d
Histidine	9.9 $\pm$ 0.08 ^c	8.8 $\pm$ 0.19 ^e	12.0 $\pm$ 0.30 ^a	9.8 $\pm$ 0.36 ^{cd}
Arginine	31.1 $\pm$ 0.20 ^{bc}	30.1 $\pm$ 0.53 ^c	34.3 $\pm$ 0.87 ^a	31.4 $\pm$ 1.10 ^{bc}
Aspartic acid	34.2 $\pm$ 0.38 ^{de}	36.8 $\pm$ 0.35 ^c	47.0 $\pm$ 1.19 ^a	34.1 $\pm$ 0.82 ^{de}
Serine	16.9 $\pm$ 0.10 ^{ef}	17.2 $\pm$ 0.36 ^e	21.9 $\pm$ 0.55 ^b	18.3 $\pm$ 0.16 ^d
Glutamic acid	51.2 $\pm$ 0.41 ^d	53.6 $\pm$ 1.26 ^{cd}	68.8 $\pm$ 1.74 ^a	53.3 $\pm$ 1.21 ^{cd}
Glycine	24.1 $\pm$ 0.16 ^{bc}	21.9 $\pm$ 1.82 ^{de}	24.7 $\pm$ 0.62 ^b	20.2 $\pm$ 0.25 ^f
Alanine	27.8 $\pm$ 0.30 ^{cd}	27.4 $\pm$ 1.05 ^d	30.8 $\pm$ 0.78 ^a	27.9 $\pm$ 0.68 ^{cd}
Cystein	3.4 $\pm$ 0.29 ^a	2.8 $\pm$ 0.60 ^{bc}	-	2.7 $\pm$ 0.05 ^{bcd}
Tyrosine	17.0 $\pm$ 0.84 ^c	19.3 $\pm$ 0.22 ^b	24.0 $\pm$ 0.61 ^a	20.1 $\pm$ 0.34 ^b
NH ₃	5.1 $\pm$ 0.18 ^b	5.1 $\pm$ 0.13 ^b	6.1 $\pm$ 0.15 ^a	4.8 $\pm$ 0.06 ^{bc}
Proline	27.9 $\pm$ 0.13 ^c	24.7 $\pm$ 0.21 ^f	26.2 $\pm$ 0.66 ^{de}	26.0 $\pm$ 0.87 ^e
EAA (%)	17.2 $\pm$ 0.15 ^{de}	17.0 $\pm$ 0.14 ^e	21.2 $\pm$ 0.53 ^a	17.8 $\pm$ 0.35 ^{cd}
Protein (%)	42.1 $\pm$ 0.34 ^d	42.1 $\pm$ 0.61 ^d	51.3 $\pm$ 1.29 ^a	42.8 $\pm$ 0.80 ^d

Table 6. continued

Amino acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Apocyclops</i> sp.	Control	
		<i>Artemia</i> nauplius	<i>Brachionus</i> <i>plicatilis</i>
Threonine	20.1 $\pm$ 0.51 ^b	14.9 $\pm$ 0.34 ^e	20.0 $\pm$ 0.40 ^b
Valine	22.0 $\pm$ 0.56 ^d	14.7 $\pm$ 0.57 ^g	28.6 $\pm$ 0.58 ^a
Methionine	5.6 $\pm$ 0.14 ^b	4.6 $\pm$ 0.26 ^{cd}	1.5 $\pm$ 0.03 ^g
Isoleucine	16.4 $\pm$ 0.42 ^{bc}	14.2 $\pm$ 0.47 ^d	19.9 $\pm$ 0.40 ^a
Leucine	29.6 $\pm$ 0.75 ^{cd}	23.5 $\pm$ 0.60 ^g	37.1 $\pm$ 0.75 ^a
Phenylalanine	18.6 $\pm$ 0.47 ^c	13.3 $\pm$ 0.49 ^f	24.2 $\pm$ 0.49 ^a
Lysine	29.3 $\pm$ 0.74 ^c	25.6 $\pm$ 0.39 ^{ef}	29.9 $\pm$ 0.60 ^{bc}
Histidine	9.7 $\pm$ 0.24 ^{cd}	7.0 $\pm$ 0.17 ^h	8.6 $\pm$ 0.17 ^{ef}
Arginine	32.6 $\pm$ 0.82 ^d	22.3 $\pm$ 0.62 ^e	28.3 $\pm$ 0.57 ^d
Aspartic acid	35.4 $\pm$ 0.89 ^{cd}	25.1 $\pm$ 0.95 ^g	39.2 $\pm$ 0.79 ^b
Serine	18.0 $\pm$ 0.46 ^d	16.3 $\pm$ 0.60 ^{fg}	26.5 $\pm$ 0.53 ^a
Glutamic acid	54.8 $\pm$ 1.38 ^c	37.5 $\pm$ 1.56 ^f	58.1 $\pm$ 1.17 ^b
Glycine	21.3 $\pm$ 0.54 ^{ef}	14.6 $\pm$ 0.33 ^h	16.5 $\pm$ 0.33 ^g
Alanine	28.7 $\pm$ 0.72 ^{bc}	16.9 $\pm$ 0.42 ^g	20.9 $\pm$ 0.42 ^f
Cystein	3.1 $\pm$ 0.08 ^{ab}	2.6 $\pm$ 0.31 ^{cd}	2.3 $\pm$ 0.05 ^d
Tyrosine	20.3 $\pm$ 0.51 ^b	8.4 $\pm$ 0.66 ^e	13.1 $\pm$ 0.26 ^d
NH ₃	5.1 $\pm$ 0.13 ^b	3.7 $\pm$ 0.11 ^d	6.3 $\pm$ 0.13 ^a
Proline	35.4 $\pm$ 0.89 ^b	18.6 $\pm$ 0.39 ^h	52.2 $\pm$ 1.05 ^a
EAA (%)	18.4 $\pm$ 0.46 ^c	14.0 $\pm$ 0.37 ^g	19.8 $\pm$ 0.40 ^b
Protein (%)	45.1 $\pm$ 1.14 ^c	31.5 $\pm$ 0.99 ^f	48.1 $\pm$ 0.97 ^b

Copepods 9종과 rotifer 그리고 *Artemia* nauplius의 지방산 조성은 Table 7에 나타냈다. 전체 지방산 조성 중 C17:0이 *N. spinipes* (C-29)와 *T. teura* (C-65)를 제외한 나머지 7종에서 건조중량당 2~5 µg/mg으로 가장 높았으며, *N. spinipes* (C-29)와 *T. teura* (C-65)는 linoleic acid (18:2n6)가 2.2~3.8 µg/mg으로 가장 높았다. Palmitic acid (16:0) 함량은 *Apocyclops* sp. (C-20)에서 2 µg/mg로 가장 높게 나타났으며 *A. royi* (C-79), *T. teura* (C-65), *T. japonicus* (C-23)의 순으로 높게 나타났지만 3 종간의 유의한 차이는 없었다($P < 0.05$). Stearic acid (18:0)의 함량은 *P. nana* (C-70)가 2.9 µg/mg로 가장 높았고, 다른 종들에서는 비슷하게 나타났으며, *B. plicatilis*에서는 검출되지 않았다. Oleic acid (18:1n9) 함량은 *T. teura* (C-65)와 *T. triangularis* (C-83)가 1.1~1.7 µg/mg로 가장 높았다. Linoleic acid (18:2n6) 함량은 *P. nana* (C-70)가 4.3 µg/mg로 가장 높게 나타났으나, *T. teura* (C-65)의 3.8 µg/mg과는 유의한 차이가 없었다($P < 0.05$). α-Linoleic acid (18:3n3) 함량은 *P. inopinus* (C-5), *P. nana* (C-70) 그리고 *Artemia* nauplius에서 2.6~3 µg/mg으로 가장 높았고, 나머지 종들에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다.

Arachidonic acid (20:4n6) 함량은 *Artemia* nauplius에서 0.6 µg/mg로 *Amphiascus* sp. (C-30)의 0.4 µg/mg보다 유의하게 높게 나타났으며, 나머지 종에서는 검출되지 않았다. EPA 함량은 *P. nana* (C-70)와 *T. japonicus* (C-23)에서 1.7~1.8 µg/mg로 유의하게 가장 높았고, *T. triangularis* (C-83)에서 0.6 µg/mg로 가장 낮았다($P < 0.05$). 나머지 종들 간에는 EPA 함량의 유의한 차이가 없었다($P < 0.05$). DHA 함량은 *P. nana* (C-70)에서 4.3 µg/mg로 유의하게 가장 높았고($P < 0.05$), 다음으로 *P. inopinus* (C-5)가 3.8 µg/mg로 높았다. DHA 함량은 *B. plicatilis*에서 가장 낮았으며, *Artemia* nauplius에서는 검출되지 않았다.

총 지질 함량은 *P. inopinus* (C-5), *P. nana* (C-70) 그리고 *Artemia* nauplius에서 79~96 µg/mg로 가장 높게 나타났다.

포화지방산(saturated fatty acids) 함량은 *P. nana* (C-70)에서 15 µg/mg으로 유의하게 가장 높았고($P<0.05$), *P. inopinus* (C-5)가 12.1 µg/mg으로 다음으로 높게 나타났으며, *B. plicatilis*에서 가장 낮았다. 단순불포화지방산(monounsaturated fatty acids)함량은 *Artemia* nauplius에서 11.9 µg/mg으로 가장 높았고, 나머지 종들 간은 유의한 차이가 없었다($P<0.05$). 다가불포화지방산(polyunsaturated fatty acids) 함량은 *P. nana* (C-70), *P. inopinus* (C-5), *Artemia* nauplius의 순으로 높게 나타났으나 3 종간의 유의한 차이는 없었다($P<0.05$). n-3 HUFA 함량은 *P. nana* (C-70)와 *P. inopinus* (C-5)에서 각 각 8.8 µg/mg과 8.5 µg/mg으로 유의하게 가장 높았고, *Artemia* nauplius에서 3.5 µg/mg로 가장 낮게 나타났다($P<0.05$).

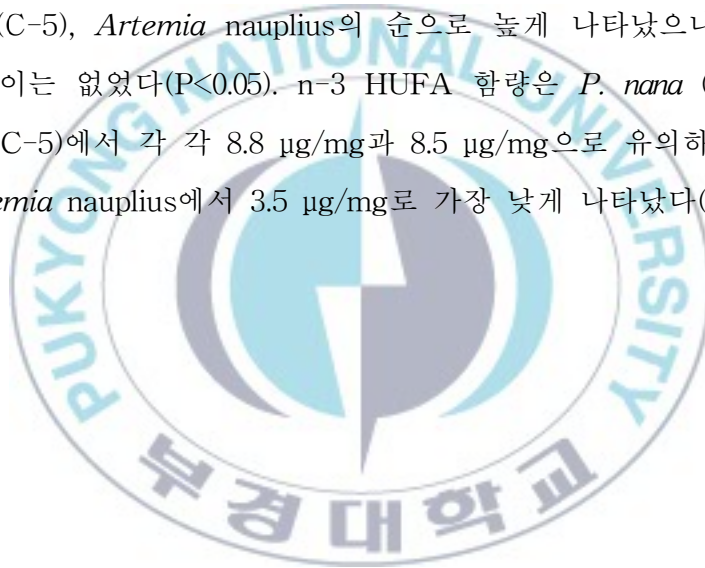


Table 7. Fatty acids contents ($\mu\text{g}/\text{mg}$ in dry matter) of nine copepod species, *Artemia* nauplius and *Brachionus plicatilis*

Fatty acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Pseudo- diaptomus inopinus</i>	<i>Tachidius triangularis</i>	<i>Tigriopus japonicus</i>	<i>Amphiascus sp.</i>
C14:0	3.4 $\pm$ 0.15 ^a	1.3 $\pm$ 0.08 ^{de}	1.4 $\pm$ 0.38 ^{cd}	1.0 $\pm$ 0.10 ^e
C14:1	1.1 $\pm$ 0.09 ^a	-	0.7 $\pm$ 0.20 ^b	0.4 $\pm$ 0.06 ^c
C15:1	-	-	-	-
C16:0	-	1.1 $\pm$ 0.12 ^{bc}	1.6 $\pm$ 0.46 ^{ab}	0.9 $\pm$ 0.18 ^{cd}
C16:1	-	-	-	0.3 $\pm$ 0.07 ^b
C17:0	4.0 $\pm$ 0.11 ^b	2.8 $\pm$ 0.05 ^{cd}	2.8 $\pm$ 0.61 ^{cd}	2.7 $\pm$ 0.16 ^{cde}
C18:0	1.1 $\pm$ 1.00 ^c	0.9 $\pm$ 0.08 ^c	1.2 $\pm$ 0.34 ^c	0.8 $\pm$ 0.10 ^c
C18:1n9	-	1.1 $\pm$ 0.12 ^{ab}	0.7 $\pm$ 1.17 ^{bc}	0.9 $\pm$ 0.19 ^c
C18:2n6	2.4 $\pm$ 0.15 ^b	2.1 $\pm$ 0.07 ^{bc}	1.7 $\pm$ 0.42 ^c	2.0 $\pm$ 0.06 ^{bc}
C18:3n6	2.8 $\pm$ 0.08 ^b	1.6 $\pm$ 0.07 ^{bc}	2.5 $\pm$ 0.63 ^{bc}	1.9 $\pm$ 0.08 ^{bc}
C18:3n3	3.0 $\pm$ 0.08 ^a	1.3 $\pm$ 0.06 ^b	1.5 $\pm$ 0.35 ^b	1.6 $\pm$ 0.07 ^b
C20:0	2.6 $\pm$ 0.16 ^b	1.0 $\pm$ 0.08 ^{de}	1.2 $\pm$ 0.33 ^{cde}	0.8 $\pm$ 0.26 ^e
C20:1	1.6 $\pm$ 0.08 ^b	0.8 $\pm$ 0.04 ^b	0.8 $\pm$ 0.22 ^b	0.8 $\pm$ 0.18 ^b
C20:2	-	-	-	-
C20:4n6	-	-	-	0.4 $\pm$ 0.08 ^b
C21:0	1.1 $\pm$ 0.15 ^a	-	-	-
C20:5n3	1.7 $\pm$ 0.25 ^a	0.6 $\pm$ 0.05 ^b	1.7 $\pm$ 0.36 ^a	1.2 $\pm$ 0.08 ^{ab}
C22:6n3	3.8 $\pm$ 0.10 ^b	2.6 $\pm$ 0.17 ^{cd}	2.5 $\pm$ 0.55 ^{de}	2.0 $\pm$ 0.14 ^{fg}
Saturated	12.1 $\pm$ 0.85 ^b	7.0 $\pm$ 0.41 ^{ef}	8.2 $\pm$ 2.12 ^{def}	6.1 $\pm$ 0.54 ^{fg}
Monounsaturated	2.7 $\pm$ 0.16 ^b	1.9 $\pm$ 0.15 ^b	2.2 $\pm$ 1.59 ^b	2.4 $\pm$ 0.44 ^b
Polyunsaturated	13.7 $\pm$ 0.50 ^a	8.2 $\pm$ 0.36 ^b	9.8 $\pm$ 2.29 ^b	9.1 $\pm$ 0.35 ^b
n-3 HUFA	8.5 $\pm$ 0.29 ^a	4.6 $\pm$ 0.24 ^{cd}	5.6 $\pm$ 1.25 ^{bc}	4.8 $\pm$ 0.29 ^c
DHA/EPA	2.2 $\pm$ 0.32 ^b	4.3 $\pm$ 0.40 ^a	1.5 $\pm$ 0.02 ^{cde}	1.6 $\pm$ 0.03b ^{cde}
Total lipid ($\mu\text{g}/\text{mg}$ dry matter)	79.9 $\pm$ 2.8 ^{ab}	48.1 $\pm$ 2.19 ^{cd}	56.7 $\pm$ 16.7 ^{cd}	49.1 $\pm$ 3.01 ^{cd}

HUFA ; highly unsaturated fatty acid ($C \geq 20$).

- ; not detected.

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

Table 7. continued

Fatty acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Nitokra</i> <i>spinipes</i>	<i>Tisbe</i> <i>teuera</i>	<i>Paracyclopina</i> <i>nana</i>	<i>Apocyclops</i> <i>royi</i>
C14:0	1.4 $\pm$ 0.06 ^{cd}	1.4 $\pm$ 0.27 ^{cd}	3.7 $\pm$ 0.41 ^a	1.5 $\pm$ 0.16 ^{cd}
C14:1	0.7 $\pm$ 0.04 ^b	0.7 $\pm$ 0.15 ^b	-	-
C15:1	-	-	-	-
C16:0	0.5 $\pm$ 0.83 ^{de}	1.7 $\pm$ 0.38 ^{ab}	-	1.7 $\pm$ 0.20 ^{ab}
C16:1	-	-	-	-
C17:0	1.9 $\pm$ 0.04 ^e	3.5 $\pm$ 0.38 ^{bc}	5.2 $\pm$ 0.25 ^a	2.7 $\pm$ 0.22 ^{cde}
C18:0	1.2 $\pm$ 0.08 ^c	2.2 $\pm$ 0.34 ^b	2.9 $\pm$ 0.42 ^a	1.3 $\pm$ 0.14 ^c
C18:1n9	-	1.7 $\pm$ 0.41 ^a	-	-
C18:2n6	2.2 $\pm$ 0.03 ^{bc}	3.8 $\pm$ 0.52 ^a	4.3 $\pm$ 0.42 ^a	1.9 $\pm$ 0.16 ^{bc}
C18:3n6	1.8 $\pm$ 0.03 ^{bc}	1.4 $\pm$ 0.18 ^{bc}	2.3 $\pm$ 0.23 ^{bc}	1.3 $\pm$ 0.11 ^c
C18:3n3	1.7 $\pm$ 0.01 ^b	1.3 $\pm$ 0.20 ^b	2.8 $\pm$ 0.23 ^a	1.5 $\pm$ 0.14 ^b
C20:0	1.3 $\pm$ 0.08 ^{cd}	1.3 $\pm$ 0.23 ^{cd}	3.1 $\pm$ 0.44 ^a	1.3 $\pm$ 0.16 ^{cd}
C20:1	0.9 $\pm$ 0.02 ^b	0.8 $\pm$ 0.14 ^b	2.0 $\pm$ 0.22 ^b	0.9 $\pm$ 0.10 ^b
C20:2	-	-	-	-
C20:4n6	-	-	-	-
C21:0	0.7 $\pm$ 0.06 ^b	-	-	0.4 $\pm$ 0.33 ^c
C20:5n3	1.2 $\pm$ 0.11 ^{ab}	1.4 $\pm$ 0.16 ^{ab}	1.8 $\pm$ 1.53 ^a	1.0 $\pm$ 0.21 ^{ab}
C22:6n3	1.7 $\pm$ 0.08 ^g	2.9 $\pm$ 0.40 ^c	4.3 $\pm$ 0.24 ^a	2.1 $\pm$ 0.24 ^{ef}
Saturated	7.1 $\pm$ 0.61 ^{ef}	10.1 $\pm$ 1.58 ^{bcd}	15.0 $\pm$ 1.52 ^a	8.7 $\pm$ 0.58 ^{cde}
Monounsaturated	1.5 $\pm$ 0.07 ^b	3.3 $\pm$ 0.71 ^b	2.0 $\pm$ 0.22 ^b	0.9 $\pm$ 0.10 ^b
Polyunsaturated	8.6 $\pm$ 0.09 ^b	10.8 $\pm$ 1.44 ^b	15.5 $\pm$ 0.52 ^a	7.9 $\pm$ 0.85 ^b
n-3 HUFA	4.6 $\pm$ 0.10 ^{cd}	5.6 $\pm$ 0.75 ^{bc}	8.8 $\pm$ 1.08 ^a	4.7 $\pm$ 0.59 ^{cd}
DHA/EPA	1.3 $\pm$ 0.15 ^{de}	2.1 $\pm$ 0.10 ^{bc}	1.1 $\pm$ 0.92 ^{ef}	2.1 $\pm$ 0.18 ^{bc}
Total lipid ($\mu\text{g}/\text{mg}$ dry matter)	48.4 $\pm$ 1.57 ^{cd}	67.7 $\pm$ 10.4 ^{bc}	91.0 $\pm$ 3.96 ^a	49.0 $\pm$ 4.08 ^{cd}

Table 7. continued

Fatty acids ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	<i>Apocyclops</i> sp.	Control	
		<i>Artemia</i> nauplius	<i>Brachionus</i> <i>plicatilis</i>
C14:0	1.8 $\pm$ 0.18 ^c	1.0 $\pm$ 0.15 ^e	2.2 $\pm$ 0.21 ^b
C14:1	-	0.8 $\pm$ 0.16 ^b	1.1 $\pm$ 0.13 ^a
C15:1	-	0.6 $\pm$ 0.10	-
C16:0	2.0 $\pm$ 0.28 ^a	1.2 $\pm$ 0.15 ^{bc}	-
C16:1	-	0.6 $\pm$ 0.10 ^a	-
C17:0	4.1 $\pm$ 0.08 ^b	4.0 $\pm$ 1.23 ^b	2.0 $\pm$ 0.12 ^{de}
C18:0	1.5 $\pm$ 0.18 ^c	1.0 $\pm$ 0.15 ^c	-
C18:1n9	-	1.4 $\pm$ 0.21 ^{ab}	-
C18:2n6	2.5 $\pm$ 0.17 ^b	2.6 $\pm$ 0.71 ^b	2.2 $\pm$ 0.23 ^{bc}
C18:3n6	1.5 $\pm$ 0.09 ^{bc}	7.1 $\pm$ 2.34 ^a	1.5 $\pm$ 0.12 ^{bc}
C18:3n3	1.6 $\pm$ 0.09 ^b	2.6 $\pm$ 0.82 ^a	1.7 $\pm$ 0.12 ^b
C20:0	1.5 $\pm$ 0.19 ^c	0.9 $\pm$ 0.13 ^e	-
C20:1	0.9 $\pm$ 0.09 ^b	8.6 $\pm$ 3.16 ^a	1.1 $\pm$ 0.12 ^b
C20:2	-	0.3 $\pm$ 0.27	-
C20:4n6	-	0.6 $\pm$ 0.10 ^a	-
C21:0	-	0.5 $\pm$ 0.08 ^c	-
C20:5n3	1.6 $\pm$ 0.11 ^{ab}	0.9 $\pm$ 0.20 ^{ab}	0.8 $\pm$ 0.73 ^{ab}
C22:6n3	2.9 $\pm$ 0.10 ^c	-	1.1 $\pm$ 0.13 ^h
Saturated	10.9 $\pm$ 0.91 ^{bc}	8.5 $\pm$ 1.86 ^{de}	4.2 $\pm$ 0.33 ^g
Monounsaturated	0.9 $\pm$ 0.09 ^b	11.9 $\pm$ 3.71 ^a	2.2 $\pm$ 0.26 ^b
Polyunsaturated	10.2 $\pm$ 0.57 ^b	13.7 $\pm$ 4.16 ^a	8.9 $\pm$ 0.07 ^b
n-3 HUFA	6.1 $\pm$ 0.31 ^b	3.5 $\pm$ 1.01 ^d	5.3 $\pm$ 0.31 ^{bc}
DHA/EPA	1.9 $\pm$ 0.07 ^{bcd}	-	0.5 $\pm$ 0.45 ^{fg}
Total lipid ($\mu\text{g}/\text{mg}$ dry matter)	61.3 $\pm$ 4.42 ^{bcd}	96.3 $\pm$ 28 ^a	43.0 $\pm$ 1.74 ^d

IV. 고 찰

1. 온도에 따른 *Isochrysis*의 성장률

먹이로 사용되는 미세조류를 대량으로 얻기 위해서는 옥외에서 대량 배양을 해야 하지만 이러한 옥외 대량배양에서 수온은 자연조건에 의존해야 하는 문제점이 있다(Richmond et al., 1993). 하지만 배양온도에 따른 미세조류의 성장률은 같은 종이라 하더라도 strain에 따라 다르기 때문에 (Grima et al., 1994; Renaud et al. 1995), 옥외에서 대량 배양을 할 경우 그 지역의 기후 조건에 적합한 종의 선택은 매우 중요하다(Park and Hur, 2000).

한국에서 고수온기에 안정적인 옥외 대량배양을 하기 위해서는 25℃ 이상의 고온에서도 배양이 용이한 종이어야 한다. 고온과 저온에서 배양 가능한 식물 먹이생물을 파악한 연구에서 *I. galbana*는 저온과 고온에서의 일간성장률이 상대적으로 큰 차이가 없고(Hur, 1991), 25℃일 때 *Isochrysis* sp.의 세포밀도가 가장 높았으며(Grima et al. 1994), 33℃로 온도가 높아짐에 따라 세포 밀도가 급격히 감소하여 35℃에서는 성장하지 못한다고 보고되었다(Renaud et al. 2002).

본 연구에 이용된 *Isochrysis*의 경우 4종 모두 배양온도가 25℃일 때보다 29℃일 때 최대밀도까지의 성장률이 증가하였지만 33℃일 때는 성장률이 감소하였다. Claquin et al. (2008)는 35 psu f/2 배지를 50 mL 넣은 150 mL 삼각플라스크에서 130 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 연속조명으로 배양 시 *I. galbana*와 *Isochrysis* aff. *galbana*의 성장이 각 각 22℃와 30℃에서 가장 좋았다고 하여 본 연구의 결과와 차이를 보였다. 그러나

Renaud et al. (2002)은 *Isochrysis* sp.가 27℃에서 성장이 가장 양호하였으며 30℃부터는 성장이 서서히 감소하여 33℃ 이상에서는 폐사하였다고 하여 본 연구 결과와 비슷한 경향이였다. 이와 같은 차이는 strain에 따른 유전적인 차이와 배양환경의 차이 때문으로 볼 수 있다. 본 연구에서 4 strains의 *Isochrysis* 중 *I. galbana* (KMMCC-12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 *Isochrysis* aff. *galbana* (KMMCC-213)와 *I. galbana* (KMMCC-214)에 비해 전 온도구간에서 성장률이 높으며, 33℃ 고온에서도 비교적 잘 자라 한국의 고수온기에 옥외대량배양시 적합한 종으로 판단되었다.

2. 온도별 지방산 조성

미세조류의 고도불포화지방산 함량은 식물먹이생물의 질을 좌우하는 매우 중요한 요소라고 볼 수 있다. 미세조류의 지방산 함량은 배양환경에 따라 달라지는데 그 중 수온이 대표적이다 (Yongmanitchai and Ward, 1989; Roessler, 1990; Renaud et al., 2002).

본 연구에서 2 종의 *Isochrysis*의 포화지방산 함량에서 *I. galbana* (KMMCC-12)는 전 온도 구간에서 35-37%로 비슷하게 나타났으며 EPA 함량 역시 33℃에서 다른 온도에 비해 매우 높게 나타났다. 그러나 DHA의 함량은 25℃에서 가장 높게 나타났다. *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 33℃에서 포화지방산 함량이 가장 높게 나타났으며, EPA 함량도 29℃에서 가장 높게 나타났다. DHA함량은 33℃에서 가장 낮게 나타났고 나머지 두 온도에서는 비슷하게 나타났다. Renaud et al. (2002)은 *Isochrysis* sp.의 EPA 함량이 25℃에서 가장 높으며 DHA함량은 30℃에서 가장 높다고 보고하여 본 연구 결과와 차이가 있지만, arachidonic acids (AA, C20:4n6)는 검출되지 않아 본 실험결과와 일치하였다.

I. galbana (KMMCC-12)의 EPA 함량은 온도가 증가할수록 높게 나타났다으나, *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 33℃일 때 29℃에 비해 크게 낮아지는 경향을 보였다. DHA 함량은 *I. galbana* (KMMCC-12)의 경우 전 온도구간에서 비슷했지만 *Isochrysis* sp. (KMMCC-1072)는 33℃의 고온에서는 함량이 크게 떨어지는 것으로 나타났다.

미세조류는 해산어 치어의 먹이(Reitan et al., 1997), 그리고 rotifer와 copepods 같은 동물플랑크톤의 먹이로도 사용된다(Watanabe, 1983; Volkman et al., 1989) copepods는 난 생산을 위해 다가불포화지방산(PUFA)을 요구하며(Støttrup and Jensen, 1990), 그 중 고도불포화지방산(HUFA)인 EPA와 DHA는 copepods의 생산력과 난 발달에 중요하게 작용하여 해산 copepods를 위한 필수 영양소로 알려져 있다(Lacoste et al., 2001; Pinto et al., 2001). 본 연구 결과로 볼 때 *Isochrysis* 4 strain 중 *I. galbana* (KMMCC-12)가 일반적인 25℃에서 EPA와 PUFA함량도 높고 성장률이 좋기 때문에 copepods의 먹이생물로서 이용하기에 적합한 종으로 판단되었다.

3. 먹이생물로서 적합한 copepods 선정

3. 1 Nauplius와 성체의 크기

해산어 종묘의 효율적인 생산을 위해서는 어중에 따라 먹이생물의 종류와 공급시기, 영양가를 고려하여 먹이를 공급하는 것이 매우 중요하다. 일반적으로 종묘생산과정에서 먹이공급은 rotifer → *Artemia* nauplius → 배합사료 순서로 이루어진다. 그러나 종묘 생산 시 자어의 입 크기가 작아 지금까지 먹이로 많이 이용되는 *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*의 크

기가 적합하지 못하여 이들보다 더 작은 먹이생물이 요구되고 있다. 예를 들어 입이 작은 능성어류(Duray and Kohno, 1988., Duray et al., 1997)와 돌돔(Park and Hur 1999)에 있어서는 기존의 rotifer보다 더 작은 먹이생물의 개발이 요구된다.

해산 copepods는 종류가 매우 다양하고 초기 nauplius에서 성체까지 성장할 때 여러 성장 단계를 거치므로 그 크기가 다양해서 자치어의 성장 단계에 맞추어 적절한 크기를 선택하여 공급할 수 가 있다(Holt, 2003; Fleeger, 2005; Rajkumar and Kumaraguru, 2006). Schipp et al. (1999)은 red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*)는 rotifer보다 크기가 작은 Calanoid copepod인 *Acartia* sp.를 먹이로 공급했을 때가 rotifer 공급구보다 생존율이 더 높다고 보고하였다.

Copepods의 크기는 종에 따라 난의 크기와 발달단계가 다르기 때문에 다양하게 나타난다. 본 연구에서 copepods의 nauplius와 성체의 크기는 일반적으로 Calanoid목, Cyclopoid목, Harpacticoid목 순으로 작게 나타나 Mckinon (2003)의 결과와 유사하였다. Nauplius 크기는 16 strains 중 10 strains의 small group의 경우 갑장의 크기가 50~100 μm 로 S-type rotifer인 *B. rotundiformis* (120~150 μm)보다 작게 나타나, *B. rotundiformis*를 포식하기에 입이 작은 어류 자어에 적합한 크기의 먹이로 판단된다. 6 strains의 large group 중 *A. royi* (C-79)와 *Apocyclop* sp. (C-20)는 갑장이 112~130 μm 으로 *B. rotundiformis*와 비슷하게 나타났고, *P. inopinus* (C-1, 5, 10)는 약 160~190 μm 로 *B. rotundiformis*보다는 크게 나타났지만, L-type rotifer인 *B. plicatilis* (200~250 μm)와 비슷하게 나타났다.

Copepods의 경우 *Artemia* nauplius와 rotifer에 비해 영양적으로 우수하며, 어류 자어시기에 있어 먹이의 소화를 돕는 외부 소화 효소원을 포함하고 있으므로(Munilla-Moran et al., 1990), 같은 크기의 rotifer를 공급할

때보다 어류 자어의 성장과 생존율이 더 높아질 것으로 판단된다.

또한 어류 자어의 초기 사육에 있어 배합사료 공급 전까지의 먹이전환은 성장단계에 따라 점차 크기가 큰 다음 단계의 먹이생물 공급이 필요한데, copepods의 경우 크기가 작은 nauplius 단계부터 copepodite 단계를 거쳐 성체에 이르기까지 다양한 크기를 가지므로, 자어의 성장에 맞는 발달단계의 copepods를 먹이로 공급하는 방안도 고려할 필요가 있을 것이다.

3. 2 암컷의 산란력

11,500여종에 이르는 copepods는 크게 Calanoid목, Cyclopoid목, Harpacticoid목으로 나뉜다(Humes, 1994). 이 중 Calanoid copepod와 Cyclopoid copepod는 부유성이며 먹이로 주로 식물플랑크톤을 섭취하며, 배양환경에 균일하게 분포하는 반면, Harpacticoid copepod는 잡식성이며 대부분 표면에 부착하는 습성을 가진다. 현재까지 이러한 copepods의 배양에 대한 연구가 많은 연구자들에 의해 시도 되었지만(Mauchline, 1998; Rhodes, 2003; Peck and Holste, 2006; Jepsen et al., 2007; Steenfeldt, 2008), 그 중 먹이생물로 이용하기에 적합하며, 대량배양에 성공한 종은 그 수가 매우 적다(støttrup, 2006).

먹이생물로 이용되기 위해서는 배양 시 많은 양을 얻을 수 있어야 하므로 배양에 대한 연구에 앞서 우선 산란력이 높아 대량배양이 용이한 종의 선정이 필요하다. 본 연구에서는 16 strains의 copepods 암컷 한 마리의 총 nauplius 생산량을 조사한 결과 Harpacticoid copepod인 *T. japonicus* (C-23), *N. spinipes* (C-29) 그리고 *Amphiascus* sp. (C-30)가 100~150 개체로 가장 높게 나타났으며, 다음으로 Cyclopoid copepod인 *P. nana*와 *A. royi*가 30~50개체로 높게 나타났으며 Calanoid copepod인 *P. inopinus*는 10

개체로 가장 낮게 나타났다. 포란한 암컷의 산란기간과 생존기간도 Harpacticoid copepod인 *T. japonicus* (C-23), *N. spinipes* (C-29), *Amphiascus* sp. (C-30)가 약 16~20일로 가장 길었으며, Calanoid copepod인 *P. inopinus* (C-1)가 3일로 가장 짧게 나타났다.

Rhodes (2003)는 Harpacticoid 목인 *Nitokra lacustris*의 경우 266 L 규모 배양 시 하루에 최대 6백만 개체까지 얻을 수 있다고 하였고, Cyclopoid copepod인 *Apocyclops panamensis*는 배양 시 얻을 수 있는 nauplius 수가 773 ind/L로 동일한 조건에서 배양한 Calanoid copepod인 *Arcatia tonsa*의 325 ind/L 보다 높다고 보고된 바 있어(Lipman, 2001) 본 연구와 유사하게 나타났다.

Copepods의 최대 배양 가능 밀도는 Harpacticoid copepod가 10000~400,000 ind/L (støttrup, 2003), Cyclopoid copepod가 5000 ind/L (Phelps et al., 2005; Su et al., 2005), Calanoid copepod가 100~1000 ind/L (støttrup and Mcevoy, 2003)로 보고된바있는데 이는 본 연구에서 조사한 산란력의 결과와 유사한 경향이였다. 이는 부착성인 Harpacticoid copepod의 경우 다른 목의 copepod보다 광온성 광염성이며, 낮은 산소농도에 대한 적응력도 뛰어나, 배양 시 다른 copepods에 비해 더 높은 밀도로 배양이 가능하다고 판단된다.

3. 3 아미노산과 지방산 조성

일반적으로 먹이생물 가치에 대한 잠재성 평가는 그들의 화학적 조성에 관련되어 있다. 단백질과 필수아미노산은 해산어류 자어의 성장에 있어 중요한 역할을 하며, 에너지원으로 사용된다. 또한 해산어류 자어는 체조 직중 단백질의 함량이 대부분을 차지하므로, 정상적인 성장을 위해서는 난황이 흡수되고 난 이후, 외부로부터 먹이를 포식하는 단계에서 단백질

과 아미노산 공급이 요구된다(Rønnestad et al., 1999; Wright and Fyhn, 2001; Aragao et al., 2004). Naess et al. (1995)는 copepods의 단백질과 아미노산 함량은 *Artemia nauplius*에 비해 월등히 높다고 보고하였고, 본 실험에서도 copepods 9종 모두 *Artemia nauplius*의 31.5%에 비해 단백질 함량이 약 6~20% 높게 나타났으며, 필수 아미노산 함량 역시 높게 나타났다.

그러나 *B. plicatilis*의 경우 Drillet et al. (2006)은 copepods보다 단백질과 아미노산 함량이 더 높게 나타난다고 보고하였고, 본 논문에서도 9종의 copepods중 8종의 copepods에서 *B. plicatilis*에 비해 단백질과 아미노산 함량이 낮게 나타나 유사한 결과를 보였다. Cyclopoid copepod인 *P. nana*의 경우는 단백질과 필수아미노산의 함량이 각각 21%와 51%로 나타나, *B. plicatilis*의 단백질과 필수아미노산 함량인 19%와 48%보다 높게 나타나서 실험에 사용된 9종의 copepods중 영양적 가치가 가장 높다고 판단된다.

또한 해산어 자치어의 정상적인 성장과 발달을 위해서는 EPA와 DHA같은 n-3 HUFA를 필수 지방산으로 요구한다(Watanabe, 1982; Koven et al., 1990; Rainuzzo et al., 1992; Sargent et al., 1999). 일반적으로 해산어류의 경우 C18:0 지방산으로부터 n-3 HUFA와 n-6 HUFA 같은 고도불포화지방산을 합성하지 못해 해산어의 성공적인 생산을 위해서는 이들 필수 지방산을 충분히 공급하는 것이 매우 중요하다(Sargent et al., 1997; Olivotto et al., 2008). 이중 DHA는 자어의 정상적인 신경발달과 기능에 관여하며 특히 망막발달과 시력에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Mcevoy et al., 1998).

Furuita et al., (1998)의 실험에서 EPA와 DHA 첨가 시 넙치의 성장과 생존율이 높아지는 것으로 나타났으며, Payne and Rippingale (1998)은

pipe fish (*Stigmatopora argus*)의 경우 EPA와 DHA 함량이 낮은 *Artemia*를 먹이로 공급 시 성장과 생존율이 낮다고 하였고, n-3 HUFA의 함량이 seabass (*Lates calcarifer*) 자어의 성장과 생존율에 영향을 끼친다고 보고된 바 있다(Rajkumar, 2003).

본 연구에서 EPA 함량은 *T. triangularis*를 제외한 모든 copepods 중에서 *Artemia* nauplius와 rotifer에 비해 높게 나타났으며, 그 중 *P. nana*, *P. inopinus*, *T. japonicus*가 건조중량당 1.7~1.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높았다. *T. triangularis*는 EPA함량이 0.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 *Artemia* nauplius와 rotifer의 0.8~0.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 보다 낮았다. DHA 함량은 *P. nana*와 *P. inopinus*가 각각 4.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 과 3.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높았고, rotifer가 1.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 로 가장 낮았다. *Artemia* nauplius의 경우는 DHA가 검출되지 않았으며, *N. spinipes*는 1.7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 로 copepods중에 DHA 함량이 가장 낮았다. Todelgo et al. (1999)은 Calanoid copepod인 *Pseudodiaptomus* sp.와 *Acartia* sp.의 경우 EPA와 DHA함량이 *Artemia* nauplius와 rotifer보다 2~3배 가량 높다고 보고하여 본 실험 결과와 유사하였다.

한편 AA는 *Amphiascus* sp.를 제외한 모든 종에서 검출되지 않았는데 이는 copepod 체내의 화학적 조성은 먹이에 영향을 받는 것으로 사료되며, 먹이로 공급한 *Isochrysis galbana*에서도 지방산 분석결과 AA가 검출되지 않았다. 반면에 *Amphiascus* sp.의 경우는 같은 먹이를 공급하였음에도 불구하고, AA 함량이 0.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 로 나타났는데 이는 체내에서 자체적으로 합성된 경우로 판단된다.

일반적으로 해산 어류 자어는 DHA:EPA 비가 약 2:1인 먹이를 요구하는 것으로 알려져 있다(Mcevoy et al., 1996; Sargent et al., 1997). 본 실험에서 rotifer의 DHA:EPA 비는 Mcevoy et al., (1998)의 실험에서 0.5와 동일한 0.5로 낮은 수치를 보였다. Copepods의 경우 *T. triangularis*가 4.3

으로 가장 높았으며 *Apocyclops* sp., *A. royi*, *T. teura*, *P. inopinus*가 1.9 ~2.2로 나타났다. 그러나 *P. nana* 는 DHA:EPA 비가 1.1로 가장 낮게 나타났다는데, 이는 Lee (2004)의 실험에서의 *P. nana* 성체의 DHA:EPA 비인 9.0에 비해 큰 차이를 보였고, 이는 먹이로 공급한 미세조류의 종류에 따른 차이로 판단된다.

본 실험 결과 copepods 먹이로는 4 strains의 *Isochrysis* 중 *Isochrysis galbana* (KMMCC-12)가 광온성이며 고도불포화지방산 함량도 높아 먹이로 적합하다고 판단되었다. Copepods의 크기 측정결과 small size group의 copepods (*T. triangularis*, *Amphiascus* sp., *N. spinipes*, *T. teura*, *P. nana*)는 nauplius의 크기가 50~100 μm 로 S-type rotifer인 *B. rotundiformis*로는 사육이 어려운 입이 작은 자어의 초기 먹이생물로 적합하다고 판단된다. 또한 large size group의 copepods (*P. inopinus*, *T. japonicus*, *A. royi*)는 nauplius 크기가 110~200 μm 로 *B. rotundiformis*와 크기가 비슷해 이를 대체하기에 적합한 크기로 판단된다.

포란한 암컷 한개체당 산란력은 small size group copepods 중에서는 *N. spinipes*가 가장 높았고, large size group copepods 중에서는 *T. japonicus*가 가장 높게 나타났다. 또한 필수아미노산 함량과 HUFA의 함량은 small size group copepods 중에서는 *P. nana*가 가장 높게 나타났으며, large size group copepods 중에서는 *P. inopinus*가 가장 높게 나타났다.

결론적으로 small size group copepods인 *N. spinipes*와 *P. nana*는 S-type rotifer인 *B. rotundiformis*를 공급하기에 어려운 능성어류와 돌돔 등의 자어에 적용 가능하며, large size group copepods인 *T. japonicus*와 *P. inopinus*는 입의 구경이 큰 자어의 사육에 있어 rotifer와 *Artemia* nauplius를 대체하기에 적합하다고 판단된다. 차후에는 본 실험에서 선별한 copepods를 입의 크기가 다양한 어류 자어를 대상으로 먹이효율실험을 수행할 필요가 있다.

V. 요약

Rotifer와 *Artemia*를 대체하기 위한 copepods 종을 개발하기 위해 copepods의 사육을 위하여 다양한 copepods 종의 크기, 산란력, 영양성분을 조사하였다.

4 strains의 *Isochrysis* 중 광온성이며 지방산 함량이 높은 *Isochrysis galbana* (KMMCC-12)를 선별하여 copepods의 먹이로 공급하였다. 총 16 strains의 copepods의 nauplius와 성체의 갑장과 갑폭, 포란한 암컷의 생존기간, 산란일수, 총 산란력 및 일일 산란력을 조사하였다. 총 nauplius 산란수를 고려하여 9종 (*Pseudodiaptomus inopinus*, *Tachidius triangularis*, *Tigriopus japonicus*, *Amphiascus* sp. *Nitokra spinipes*, *Tisbe teuera*, *Paracyclops nana*, *Apocyclops royi*, *Apocyclops* sp.)을 선정하여 아미노산과 지방산을 분석하였고 대조군으로 사용된 rotifer와 *Artemia* nauplius의 영양성분과 비교하였다.

Copepods는 nauplius와 성체의 갑장이 각각 45.9~97.3 μm 와 431.8~707.3 μm 인 small size group (*T. triangularis*, *Amphiascus kawamurai*, *Amphiascus* sp., *N. spinipes*, *T. teuera*, *P. nana*)과 nauplius와 성체 갑장이 각각 119.6~187.6 μm 와 832~1157.8 μm 인 large size group (*P. inopinus*, *T. japonicus*, *A. royi*, *Apocyclops* sp.)로 구분되었다. 이 중 *P. inopinus*의 nauplius 크기가 187 μm 로 가장 크게 나타났으며, *N. spinipes*의 nauplius 크기는 45 μm 로 가장 작게 나타났다.

포란한 암컷의 생존기간과 산란일수는 Harpacticoid 목의 copepods가 약 10~20일로 가장 길었으며, 다음으로 Cyclopoid 목, Calanoid 목의 순이었다.

암컷 한 개체당 일일 산란력은 Harpacticoid 목인 *T. japonicus*와 *N.*

*spinipes*가 약 8개체로 가장 높았다. 총 nauplius 생산량은 *T. japonicus*와 *N. spinipes*가 약 100~150 개체로 가장 높았으며, 그 다음으로 Cyclopoid 목인 *P. nana*와 *A. royi*가 약 30~50 개체로 나타났으며, Calanoid 목인 *P. inopinus*가 10개체로 가장 낮았다.

9종의 copepods의 아미노산과 지방산 조성에 있어서 단백질과 필수 아미노산 함량은 *P. nana* 에서 각각 51.3%와 21.2%로 가장 높았고, 대조군으로 사용된 *Artemia* nauplius에서 각각 31.5%와 14%로 가장 낮았다. 총 지질 함량은 *P. inopinus*, *P. nana* 그리고 *Artemia* nauplius에서 79~96 µg/mg으로 가장 높았다. 다가불포화지방산 함량은 *P. inopinus*, *P. nana* 그리고 *Artemia* nauplius에서 13~15 µg/mg으로 가장 높았다. EPA 함량은 *P. inopinus*, *T. japonicus* 그리고 *P. nana*에서 1.7~1.8 µg/mg로 가장 높았으며, *T. triangularis*에서 0.6 µg/mg으로 가장 낮았다. DHA 함량은 9종의 copepods 모두 대조군인 rotifer와 *Artemia* nauplius보다 유의하게 높게 나타났다($P < 0.05$), 그 중 *P. inopinus*와 *P. nana*에서 3.8~4.3 µg/mg으로 가장 높게 나타났으며, *Artemia* nauplius에서는 DHA가 검출되지 않았다.

포란 암컷의 산란력은 small size group copepods 중에서는 *N. spinipes*가 가장 높았으며, large size group copepods 중에서는 *T. japonicus*가 가장 높게 나타났다. 필수아미노산과 고도불포화지방산함량은 small size group과 large size group에서 각각 *P. nana*와 *P. inopinus*가 가장 높게 나타나 *N. spinipes*와 *P. nana*는 S-type rotifer를 대체하기에 적합하다고 판단되며, *T. japonicus*와 *P. inopinus*는 rotifer와 *Artemia* nauplius를 대체하기에 적합한 copepods 종으로 판단된다.

VI. 감사의 글

실험실에 들어온 이후로 지금까지 저에게 학문적 사고의 폭을 넓혀 주셨고 학문에 정진 할 수 있도록 많은 도움을 주시며, 본 논문이 완성될 수 있게 논문의 연구 과정에서 결과에 이르기까지 끊임없는 충고와 세심하고 따뜻한 가르침으로 저를 이끌어주신 허성범 교수님께 가장 먼저 깊은 감사의 마음을 전하며, 항상 건강하시기를 기도드립니다. 또한 바쁘신 와중에도 논문을 심사해주시면서 많은 조언을 해주신 남윤권 교수님, 공승표 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 석사과정을 마칠 때까지 많은 가르침을 주신 조재윤 교수님, 김동수 교수님, 장영진 교수님, 배승철 교수님, 김창훈 교수님, 김종명 교수님께 감사의 마음을 전합니다.

바쁜 가운데도 실험이 무사히 완료될 수 있도록 많은 부분에서 도움을 주신 실험실의 배진희 박사님, 주연이 누나, 종운 선배, 기숙이 누나, 혜정이 누나 그리고 민진이, 대근이, 현수와 후배 은별이, 태경이 에게 진심으로 감사드립니다. 또한 실험실은 다르지만 세미나 준비부터 실험까지 같은 실험실 후배처럼 아껴주며 저에게 많은 도움을 주신 종균 선배, 용현 선배 그리고 기태 형에게 고마움을 전합니다.

끝으로 이 논문이 완성되기까지 부족한 저를 항상 믿어주시며 언제나 곁에서 따뜻한 사랑과 격려를 주신 부모님과 누나, 매형, 귀여운 조카 소연이, 여러 친척 분들 그리고 지금은 세상에 없지만 항상 친동생처럼 함께 해온 사촌동생 민서에게 이 논문을 바칩니다.

VII. 참고문헌

- Aragao, C., Conceicao, L.E.C., Fyhn, H.J., Dinis, M.T., 2004. Estimated amino acid requirements during early ontogeny in fish with different life styles: Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 242, 589 - 605.
- Claquin, P., Probert, I., Lefebvre, S. and Veron, B. 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquat. Microb. Ecol.*, vol. 51, 1-11.
- Drillet, G., Joergensen, N.O.G., Sorensen, T.F., Ramloev, H., Hansen, B.W., 2006. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. *Aquac. Res.* 37, 756 - 772.
- Doi, M., Ohno, A., Taki, Y., Singhagraiwan, T., Kohno, H., 1997. Nauplii of the calanoid copepod, *Arcartia sinjiensis* as an initial food organism for larval red snapper *Lutjanus argentimaculatus*. *Suisan Zoshoku* 45, 31-40.
- Duncan, D.B. 1995. Multiple-range and multiple F tests *Biometrics*, 11, 1-42.
- Duray, M. and Kohno, H. 1988. Effects of continuous lighting on growth and survival of first-feeding larval rabbit fish, *Siganus guttatus*, *Aquaculture*, 72, 73-79.
- Duray, M.N., Estudillo, C.B. and Alpasan, L.G. 1997. Larval rearing of the grouper, *Epinephelus suillus* under laboratory conditions.

- Aquaculture, 150, 63–76.
- Evjemo, J.O., Reitan, K.I., Olsen, Y. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of haddock larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value.
- Fleeger, J.W. 2005. The potential to mass-culture harpacticoid copepods for use as food for larval fish. In: Lee, C.S. O'Bryen, P.J., Marcus, N.H. eds, Copepods in aquaculture. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA.
- Fraser, A.J., Sargent, J.R., Gamble, J.C. 1989. Lipid class and fatty acid composition of *Calanus finmarchicus*(Gunnerus), *Pseudocalanus* sp. and *Temora longicornis* Muller from a nutrient-enriched seawater enclosure.
- Furuita, H., Takeuchi, T., Uematsu, K. 1998. Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder(*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture, 161, 269–279.
- Grima, E.M., F.G. Camacho. and J. A. S. Perez. 1994. Biochemical productivity and fatty acid profile of *Isochrysis galbana* Parke and *Tetraselmis* sp. as a function of incident light intensity. Process Biochem., 29, 119–126.
- Guillard, R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229–239.
- Guillard, R.L. 1973. Growth measurement. In: Handbook of Phycological Methods. J.R. Stein, ed. Cambridge University press, London,

302-306.

- Holt, G.J. 2003. Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: Cato, J.C., Brown, C.L. eds. Marine ornamental Species: Collection, culture and Conservation. Iowa State Press, Ames, IO, pp. 251-254.
- Hur, S.B. 1991. The selection of optimum phytoplankton species for rotifer culture during cold and warm season and their nutritional values for marine finfish larvae. In: Rotifer and Microalgae culture systems. W. Fulks and K. Main, eds. The Oceanic Institute, Hawaii, 163-173.
- Humes, A.G. 1994. How many copepods?. *Hrdrobiologia*. 292/293, 1-7.
- Jepsen, P.M., Anderson, N., Holm, T., Jørgensen, A.T., Højgaard, J.K. Hansen, B.W. 2007. Effect of adult stocking density on egg production and viability in cultures of the calanoid copepod *Acartia tonsa* (Dana). *Aqua. Res.* 38, 764-772.
- Koven, W.M., Tandler, A., Kissil, G.Wm., Sklan, D., Friezlander, O., Harel, M., 1990. The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture* 91, 131-141.
- Lacoste, A., S.P. Poulet, A. Cueff, G.K. Kattner, A. Ianora and M. Laabir. 2001. New evidence of the copepod maternal food effect on reproduction. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 259: 85-107
- Lee, K. W. 2004. Mass culture and food value of the cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* Smirnov. Ph. D. thesis, Kangnung National University, 124 pp.

- Lipman, E.E. 2001. Production of the copepod *Apocyclops panamensis* under hatchery conditions. MSc. Thesis. 68 pp. Auburn University, Alabama.
- Mauchline, J. eds, 1998. Advances in Marine Biology. The biology of calanoid copepods. Academic Press, 710 pp.
- McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Hontoria, F., Amat, F. and Sargent, J.R. 1996. Two novel *Artemia* enrichment diets containing polar lipid. *aquaculture*, 144, 339–352.
- McEvoy, L.A. Naess, T., Bell, J.G. and Lie, ø. 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented atlantic hailbut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163, 237–250.
- McKinnon, A.D., Duggan, S., Nichol, P.D., Rimmer, M.A., Semmens, G., Robino, B. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. *J. Aqua*. 223, 89–106.
- Metcalf, L.D., Schmitz, A.A. and Pelka, J.R. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38(3), 514–515.
- Munilla-Moran, R., J.R. Stark and A. Barbour. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultures turbot larvae (*Seophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 88, 337–350.
- Nanton, D.A., Castell, J.D. 1998. The effect of dietary fatty acids on the fatty acid composition of the harpacticoid copepod, *Tisbe* sp., for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture*. 163, 251–261.

- Naess, T., Germian-Henry, M., Naas, K.E., 1995. First feeding of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinations of *Artemia* and wild plankton. *Aquaculture* 130, 235 - 250.
- Olivotto, I., Capriotti, F., Buttino, I., Avella, A.M., Vitiello, V., Maradonna, F., Carnevali, O. 2008. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. *Aquaculture* 274, 347-352.
- Park, H.G., Lee, S.M., Hur, S.B. 1999. Dietary value of neonates from Rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis* Resting eggs for flounder and parrot fish larvae. *J. Aqua*, 12(1):31-38.
- Park, J.E. and Hur, S.B. 2000. Optimum culture conditions of species of microalgae as live food from china. *J. Aquacult.*, 13 (2), 107-117.
- Payne, M.F., Rippingale, R.J., Longmore, R.B. 1998. Growth and survival of juvenile pipe fish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. *Aquaculture* 167, 237-245.
- Peck, M.A., Holste, L. 2006. Effect of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): optimizing intensive. *Aquaculture* 255, 341-350.
- Pheip, R.P., Sumiarsa, G.S., Lipman, E.E., Ian, H.P., Moss, K.K., Davis, A.D. 2005. Intensive and extensive production techniques to provide copepod nauplii for feeding larval Red snapper *Lutjanus campechanus*. In: Lee, C.S., O'bryen, P.J., Marcus, N.H. eds,

- Copepods in Aquaculture, pp. 151-168.
- Pinto, C.S.C., L.P. Souza-Santos and P.T.P. Santos. 2001. Development and population dynamics of *Tisbe biminiensis* (Copepoda: Harpacticoida) reared on different diets. Aquaculture, 198, 253-267.
- Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Jorgensen, L. 1992. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae. Comp. Biochem. Physiol. 103B, 21-26.
- Rajkumar, W. and Kumaraguru vasagam, K.P. 2006. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live-food organisms with emphasis on the nutritional value. Aquaculture. 261, 649-658.
- Renaud, S.M., Zhou, H.C., Parry, D.L., Luong-Van, T. and Woo, K.C. 1995. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp., (clone T.ISO). J. Appl. Phycol., 7, 595-602.
- Reitan, K.L., Rainuzzo, J.R., Oie, G. and Olsen, Y. 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. Aquaculture, 155, 207-221.
- Renaud, S.M., Luong-Van, T., Lambrinidis, G. and Parry, D.L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch culture. Aquaculture, 211, 195-214.
- Rhodes, A. 2003. Methods for high density batch culture of *Nitokra lacustris*, a marine harpacticoid copepod. In: Browman, H., Berit

- Skiftesvik, A. eds. 26th Annual Larval Fish Conference. IMR, Bergen, Norway, pp. 449-465.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A. and Kopel, R. 1993. A new tubular reactor for mass production of microalgae out doors. J. applied phycology, 5, 327-332.
- Roessler, P.G. 1990. Environmental control of glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions. J. Phycol., 26, 393-399.
- Rønnestad, I., Thorsen, A., Finn, R.N., 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. Aquaculture 177, 201 - 1216.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J. 1986. Lipids In: Corner, E.D.S., O'Hara, S.C.M. eds. The Biological Chemistry of Marine Copepods. Oxford Univ. Press, New York, NY, pp. 59-108.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A., Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Aquaculture 155, 117-127.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A., Estevez, A., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., tocher, D.R. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. Aquaculture 179, 217-229.
- Schipp, G.P., Bosmans, J.M.P., Marshall, A.J. 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepoda, *Acartia* spp. Aquaculture 174, 81-88.
- Støttrup, J.G. and J. Jensen. 1990. Influence of algal diet on feeding

- and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 141, 87-105.
- Støttrup, J.G. 2003. Production and nutritional value of copepods. In: Live feeds in marine aquaculture. J.G. Støttrup & L.A. McEvoy, eds. Blackwell science, Oxford, UK, pp. 145-205.
- Støttrup, J.G., McEvoy, L.A. 2003. Live feeds in marine Aquaculture. Blackwell science, Oxford, UK. pp. 318.
- Støttrup, J.G. 2006. A review on the status and progress in rearing copepods for marine larviculture. Advantages and disadvantages among calanoid, harpacticoid and cyclopoid copepods. pp. 62-83.
- Steenfeldt, S. 2008. Production of vandlopper til anvendelse ved opdræt af marin fiskeyngel (in Danish). DTU Aqua-rapport nr. 57, 201-08.
- Toledo, J.D., Golez, Ma.S., Doi, M., Ohno, A., 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *epinephalus coioides*. Fish. Sci. 65, 390-397.
- Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.L. and Garland C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 128, 219-240.
- Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physiol. 73B, 3-15.
- Watanabe, T. 1983. The importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. J. World Aquaculture. Soc., 24, 152-161.
- Wright, P.A., Fyhn, H.J., 2001. Ontogeny of nitrogen metabolism and excretion. In: Wright, P.A., Anderson, P.M. eds. Nitrogen

Excretion. Fish Physiology Series, vol. 20. Academic Press, San Diego, pp. 149 - 8201.

Yongmanitchai, W. and Ward, O.P. 1989. Omega-3 fatty acids: alternative sources of production. Process Biochem., August, 117-25.

