

수산학박사 학위논문

피조개 *Scapharca broughtonii*의 종묘 생산을  
위한 3종 미세조류의 먹이효율



2012년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

민 병 희

수산학박사 학위논문

피조개 *Scapharca broughtonii*의 종묘 생산을  
위한 3종 미세조류의 먹이효율



2012년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

민병희

# 민병희의 수산학박사 학위논문을 인준함

2011년 12월 일



주 심 수산학박사 김 철 원



위 원 농 학 박 사 장 영 진



위 원 영 양 학 박 사 배 승 철



위 원 이 학 박 사 김 종 명



위 원 이 학 박 사 허 성 범



# 목 차

<b>Abstract</b> .....	v
<b>제1장 서론</b> .....	1
<b>제2장 재료 및 방법</b> .....	7
<b>1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과</b> .....	7
1.1. 배양환경조건에 따른 미세조류의 성장 .....	7
1.1.1. 수온과 염분 .....	7
1.1.2. 조도 .....	8
1.2. 농업용 비료 농도에 따른 미세조류의 성장 .....	8
1.3. 미량원소와 비타민의 첨가 효과 .....	10
1.4. 비료 배지로 배양시 중간시비에 따른 미세조류의 성장 .....	12
1.5. 배양기간 동안 Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화 .....	12
<b>2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙</b> .....	12
2.1. 비만도 .....	12
2.2. 생식소 발달 .....	13
2.3. 성숙유도 .....	13
<b>3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율</b> .....	14
3.1. 유생의 성장과 생존 .....	14
3.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	15

3.3. 미세조류와 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성 .....	15
3.3.1. 미세조류의 아미노산 및 지방산 조성 .....	15
3.3.2. 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성 .....	16
<b>4. 피조개 부착치패의 중간양성 .....</b>	<b>17</b>
4.1. 보호망 형태별 중간양성 .....	17
4.1.1. 중간양성장의 환경조사 .....	17
4.1.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	17
4.2. 유실 방지망 종류별 중간양성 .....	17
4.2.1. 중간양성장의 환경조사 .....	17
4.2.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	19
<b>5. 통계처리 .....</b>	<b>19</b>
<b>제3장 결 과 .....</b>	<b>20</b>
<b>1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과 .....</b>	<b>20</b>
1.1. 배양환경조건에 따른 미세조류의 성장 .....	20
1.1.1. 수온과 염분 .....	20
1.1.2. 조도 .....	32
1.2. 농업용 비료 농도에 따른 미세조류의 성장 .....	34
1.3. 미량원소와 비타민의 첨가 효과 .....	36
1.4. 비료 배지로 배양시 중간시비에 따른 미세조류의 성장 .....	38
1.5. 배양기간 동안 Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화 .....	46
1.5.1. 농업용 비료 배지에 의한 미세조류의 성장 .....	46
1.5.2. Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화 .....	49

<b>2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙</b> .....	54
2.1. 비만도 .....	54
2.2. 생식소 발달 .....	54
2.3. 성숙유도 .....	60
<b>3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율</b> .....	62
3.1. 유생의 성장과 생존 .....	62
3.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	64
3.3. 미세조류와 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성 .....	66
3.3.1. 미세조류의 아미노산 및 지방산 조성 .....	66
3.3.2. 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성 .....	70
<b>4. 피조개 부착치패의 중간양성</b> .....	74
4.1. 보호망 형태별 중간양성 .....	74
4.1.1. 중간양성장의 환경조사 .....	74
4.1.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	74
4.2. 유실 방지망 종류별 중간양성 .....	74
4.2.1. 중간양성장의 환경조사 .....	74
4.2.2. 부착치패의 성장과 생존 .....	76
<b>제4장 고찰</b> .....	79
<b>1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과</b> .....	79
<b>2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙</b> .....	89
<b>3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율</b> .....	91
<b>4. 피조개 부착치패의 중간양성</b> .....	94

제5장 요약 .....	99
감사의 글 .....	104
참고문헌 .....	105



Dietary Value of Three Microalgal Species for Seedling Production of the Ark Shell  
*Scapharca broughtonii*

Byeong Hee Min

Department of Fisheries Biology, Graduate School,  
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

**Abstract**

Microalgae were used as live food for larvae and spats of bivalve. Optimum culture conditions for microalgae and concentrations of the practical media composed of agricultural fertilizers for efficacious rearing of larvae and spats of the ark shell *Scapharca broughtonii* were investigated. In addition, growth and survival rates of *S. broughtonii* spat were compared when different shapes of protective nets and types of nets for preventing spat loss were applied in the intermediate culture.

In order to investigate the live-food value of microalgae for bivalve larvae culture, growth rates of five microalgal species [*Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* (Haptophyceae), *Chaetoceros simplex*, *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae), *Tetraselmis tetrahele* (Prasinophyceae)] were investigated in different environmental conditions. These include changes in temperatures (20, 25, 30 and 35°C), salinities (20, 25, 30 and 33 psu) and light intensities (3,000, 5,000 and 7,000 lux).

Growth rate of *I. galbana* was faster at 25°C than that of 20°C. The highest growth rate of *I. galbana* was observed at 33 psu (0.413) although that was not significantly different from that of at 30 psu (0.404). Similar temperature and salinity-dependent changes were also found in *P. lutheri* and *T. tetrahele*.

Growth rate of *C. simplex* was faster at 30°C than that of 25°C. The highest growth rate was observed at 33 psu (0.428) and the lowest at 20 psu (0.389) in 10

days of culture. *P. tricornutum* showed a faster growth rate at 20°C than that of 25°C. In addition, growth rate of *P. tricornutum* at 20°C was significantly higher at 33 psu (0.420) than that of at 20 psu (0.363) in 10 days of culture ( $P<0.05$ ). Incubation of *P. tricornutum* at 30 and 35°C resulted in cell death in 5 days of culture. Upon exposure to the light with different intensities, all five microalgal species showed a significantly faster growth rate at 7,000 lux than at 5,000 lux ( $P<0.05$ ).

Growth rates of microalgae were compared in media commonly used for mass culture. These include agricultural fertilizer media composed of different contents of agricultural compound, urea fertilizer (FM, 0.5 FM, 0.25 FM media), and mineral elements and vitamin (0.25 FMM and 0.25 FMV media). A practical medium (0.25 FMM) composed of agricultural fertilizer which is cheaper and easier to make up as compared to that of common medium (Conwy medium) was prepared for mass culture of microalgae. Growth rate of *I. galbana* was the fastest in Conwy medium (0.396) with different contents of agricultural compound and urea fertilizer (FM, 0.5 FM, 0.25 FM) in 10 days ( $P<0.05$ ). Growth rate of *I. galbana* in 0.25 FM medium (0.368) was significantly higher than those of FM (0.294) and 0.5 FM (0.311) fertilizer media ( $P<0.05$ ). Such a change in the growth rate in different media varies with microalgal species although a similar tendency in the growth of *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum* and *T. tetrahele* was observed.

Growth rate of *I. galbana* in 0.25 FMM (0.25 FM+mineral element) and 0.25 FMV (0.25 FM+vitamin) media was significantly higher than that of Conwy medium (0.393) suggesting an improvement in growth of microalgae in agricultural fertilizer media ( $P<0.05$ ). However, growth rate of *I. galbana* in f/2 medium (0.387) was not significantly different from those in 0.25 FMM (0.379) and 0.25 FMV (0.384) media. Furthermore, the growth rate of *I. galbana* cultured in 25% intermediate fertilization medium (0.136) was significantly ( $P<0.05$ ) higher than that of *I. galbana* in 75% intermediate fertilization (0.086) upon 7 days culturing with different contents (75, 50 and 25%) of 0.25 FMM medium. A similar tendency in changes of growth rate

in different media was observed in *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum* and *T. tetrathele*.

A similar growth rates of *I. galbana* and *P. lutheri* was observed upon culturing in Conwy medium as well as in 0.25 FMM medium for 10 days. Meanwhile, growth rate of *C. simplex*, *P. tricornutum* and *T. tetrathele* in 0.25 FMM medium was significantly faster than that of Conwy medium ( $P < 0.05$ ). Therefore, 0.25 FMM (0.25 FM+mineral element) medium seemed to be the practical medium that was cheaper, more economical and easier to make up than Conwy medium for mass culture of microalgae.

Factors affecting the development of gonad and rate of induced sexual maturation in *S. broughtonii* broodstock were investigated upon feeding with three microalgal species (*I. galbana*, *P. tricornutum* and *T. tetrathele*) between May 10 and June 26, 2007.

At 45 rearing days, the highest frequency (87%) of ripe stage in *S. broughtonii* female was observed upon feeding with mixed diet although the results is not significantly different from that of female one fed on the single diet, *T. tetrathele* (83%). Frequency of ripe stage of *S. broughtonii* male fed on the mixed diet was 95% and fed on the single diet, *T. tetrathele* was 90%.

The highest rate of induced sexual maturation in *S. broughtonii* broodstock was observed upon feeding with mixed diet (65.6%). The rate of induced sexual maturation of *S. broughtonii* broodstock fed on the single diet of *T. tetrathele* (61.1%) was significantly higher than that of *S. broughtonii* fed on the single diet of *I. galbana* or *P. tricornutum* ( $P < 0.05$ ). However, no significant difference in the rate of induced sexual maturation of *S. broughtonii* broodstock was observed upon feeding with either the single diet of *T. tetrathele* or the mixed diet.

At 45 rearing days, frequency of the ripe stage of gonadal phases, the rate of induced sexual maturation and survival of *S. broughtonii* broodstock fed on either the mixed diet with three microalgal species or single diet of *T. tetrathele* were the

highest.

Growth and survival rates of larvae and spats of *S. broughtonii* fed on three microalgal species (*I. galbana*, *P. lutheri* and *C. simplex*) were investigated to determine whether the composition of amino and fatty acid in microalgal species improve the seedling production of *S. broughtonii*. The highest growth and survival rates of larvae (pediveliger stage) was observed upon feeding with the mixed diet ( $261.3 \pm 13.5 \mu\text{m}$  and  $27.4 \pm 5.3\%$ , respectively), at 24 rearing days. Growth (shell length) and survival rates of larvae fed on the single diet of *C. simplex* were significantly higher ( $240.5 \pm 15.4 \mu\text{m}$  and  $14.5 \pm 2.3\%$ ), respectively, than those of larvae fed on the single diet of either *I. galbana* or *P. lutheri* ( $P < 0.05$ ). The highest growth (shell length) and survival rate of *S. broughtonii* spats fed on the mixed diet was observed ( $1,114.8 \pm 128.0 \mu\text{m}$  and  $61.3 \pm 5.5\%$ , respectively) was observed upon rearing for 30 days, followed by *C. simplex*, *I. galbana* and *P. lutheri*.

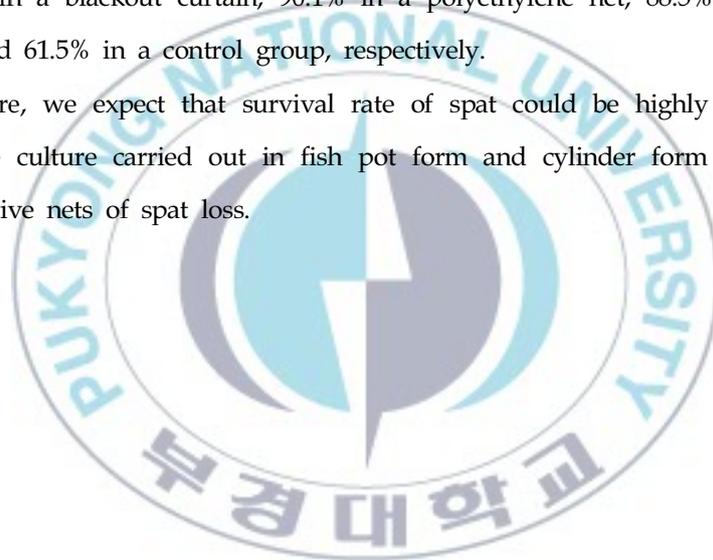
The content of eicosapentaenoic acid (20:5n3, EPA) in *C. simplex* was  $25.9 \pm 0.64\%$  together with high contents of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) and highly unsaturated fatty acid (HUFA). The highest amount ( $13.5 \pm 1.97\%$ ) of stearic acid (18:0) was observed in the spats fed on the single diet of *C. simplex*. Saturated fatty acid (SFA) content in the spat fed on the single diet of *C. simplex* was higher than those fed on other single or mixed diet. The highest content of arachidonic acid (20:4n6, AA) was found in the spat fed on the single diet of *C. simplex* ( $8.1 \pm 7.08\%$ ).

To improve the survival rate of *S. broughtonii* spat in intermediate culture, different shapes of protective nets and types of nets for preventing spat loss were applied. Growth of *S. broughtonii* spat was observed at 60 days by using different forms of protective nets. These include the exposure form with an average shell length of  $12.8 \pm 3.2 \text{ mm}$ , which was the fastest, the fish pot form with  $12.2 \pm 3.5 \text{ mm}$ , the cylinder form with  $11.9 \pm 3.8 \text{ mm}$  and the rectangular form with  $10.9 \pm 3.7 \text{ mm}$ , respectively. However, the result did not show any marked difference among each other. Regarding the survival rate of the spat, the fish pot form resulted in the

highest survival (43.7%) and the lowest for the exposure form (5.4%). Survival rates of the spat for the cylinder and rectangular forms were 41.2 and 31.6%, respectively.

In the intermediate culture by using different forms of nets for preventing spat loss, the highest growth of spat was observed in a blackout curtain with average shell length of  $13.9 \pm 3.1$  mm followed by a balsam pear net with  $12.9 \pm 3.0$  mm, polyethylene net with  $11.8 \pm 3.1$  mm and the control with  $12.6 \pm 3.3$  mm, which was not installed by preventive nets of spat loss for 163 days. The survival rate of spat was 91.5% in a blackout curtain, 90.1% in a polyethylene net, 88.5% in a balsam pear net and 61.5% in a control group, respectively.

Therefore, we expect that survival rate of spat could be highly improved in intermediate culture carried out in fish pot form and cylinder form of protective and preventive nets of spat loss.



## 제1장 서론

한국에서 생산되는 고막류에는 피조개, 큰이랑피조개, 꼬막 및 새꼬막 등이 있다. 피조개는 고막류 중에서 가장 크고 육질이 연하고 색도 가장 붉은 편이며 방사능수는 41조 내외로서 한국의 남해안과 동해안의 내만이나 내해, 홋카이도 이남의 일본, 산둥반도와 발해 등 중국에 분포하는 조개류이다(유, 2000).

한국의 피조개 양식은 1970년대 중반 이후 자연채묘에 의한 피조개 종묘생산업이 시작된 이래, 1980년대는 양식생산량과 수출물량이 지속적으로 증가하여 1986년도에는 58,393톤을 생산하여 수출액은 151,730천불에 이르는 고부가수출 전략 품종이었다. 그러나 피조개 양식생산량은 1998년에 23,023톤으로 최근에 이른 후 급격히 감소하여 2010년의 경우 1,561톤에 그치고 있어 피조개 양식 산업의 존립마저 위태로운 실정이다(농림수산식품부, 2011; Fig. 1).

이러한 생산량 격감원인은 양식장의 노후화에 따른 환경악화와 빈산소수괴 발생 등 급격한 환경변화로 인한 생산성의 저하에 기인하는 것으로 추정된다. 산란 가능한 어미자원의 감소에 따른 자연채묘 부진, 오랜 기간의 연작에 의한 양식장의 노후화 및 집중호우에 의한 저염분의 장기 지속 등이 중요한 원인일 것으로 생각된다.

특히, 피조개 양식장의 이용은 자연채묘 부진에 의한 양식용 종패의 부족으로 인하여 2010년에 580 ha (살포가능 면허면적 : 4,000 ha)로 급격히 감소하였으며, 살포면적 대비 살포비율이 14.5%에 불과하여 생산에 이용되지 않는 유휴어장의 증가(피조개양식수산업협동조합, 2011; Table 1)로 양식 생산량이 감소하고 있어 이에 대한 해결책이 요구되고 있다.

자연채묘의 부진, 종패의 대량폐사 그리고 성패의 낮은 생존율 등에 대한 원인구명을 위해 수온, 염분, 지질변화 등의 해양환경요인 외에 어미자원의 현존량,

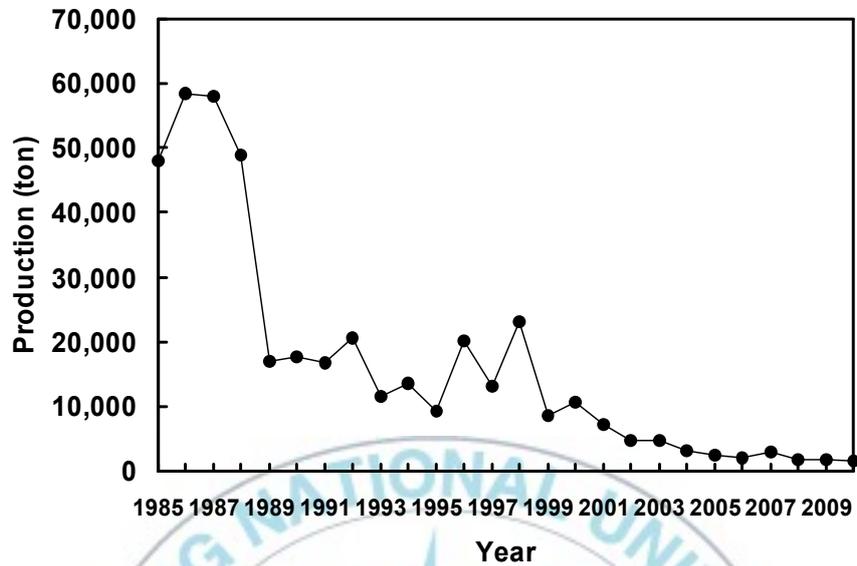


Fig. 1. Variations of annual production of *Scapharca broughtonii* in Korea.

Table 1. Variations of annual production of seed and area of seed scattering of *Scapharca broughtonii*

Year	Seed production ( $\times 10^6$ seeds)			Area of seed scattering (ha)*	Rate of scattering (%)
	Total	Natural	Artificial		
2001	1,780	1,780		3,560	89.0
2002	1,350	1,350		2,700	67.5
2003	553	553		1,106	27.6
2004	350	350		700	17.5
2005	550	300	250	1,100	27.5
2006	580	280	300	1,160	29.0
2007	1,500	1,100	400	3,000	75.0
2008	750	400	350	1,500	37.5
2009	700	600	100	1,400	35.0
2010	290	20	270	580	14.5

\*Scattering density : 500,000 seeds/ha

Total licensed area for seed scattering : 4,000 ha

먹이생물의 변화 등 생물학적 요인들에 대해 체계적인 연구가 지속적으로 이루어져야 한다. 이에 대한 보다 적극적인 해결책의 일환으로 자연채묘가 불확실하던가 또는 불가능할 때는 종패의 품종개량을 통한 우량 인공종묘 생산기술의 확립(Fig. 2)이 중요하다. 또 산업화를 위한 피조개 양식업계의 관심과 정부차원의 지원도 요구된다.

피조개는 다른 조개류와 같이 미세조류를 여과섭식하고, 유생사육 초기에는 일시 부착하는 생태적인 습성을 가지고 있으므로 인공종묘생산을 위해서는 이러한 유생의 생태적 습성에 맞는 과학적인 관리와 경제성이 수반되어야 한다.

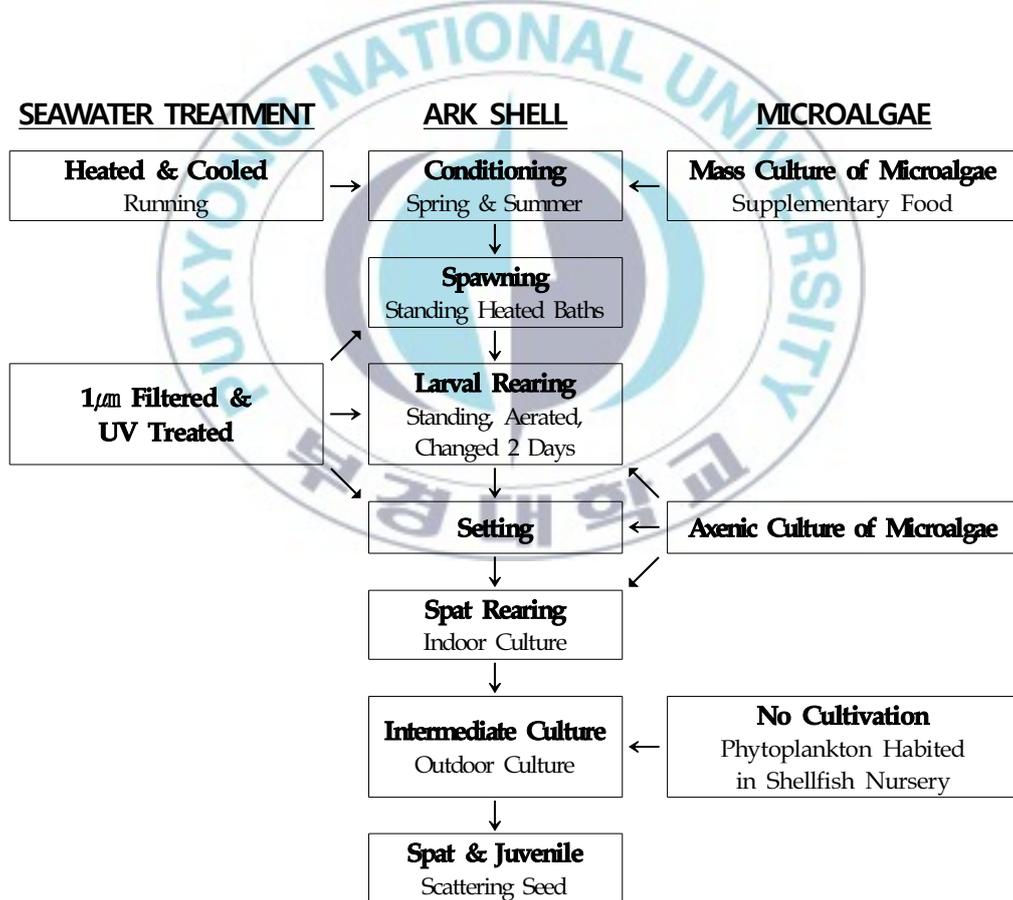


Fig. 2. Outline for the artificial seedling production of *Scapharca broughtonii*.

그러나 인공종묘는 자연종묘에 비해 생산원가가 높고 먹이생물 배양 등 고난도의 기술을 필요로 하므로 대량생산에 많은 어려움과 부착치패의 중간양성 중 낮은 생존율 등으로 산업화가 지연되어 왔다. 따라서 단위 생산성을 높이고 초기 유생의 폐사를 최소화 시킬 수 있는 최적 사육조건의 구명과 중간양성 기법의 개발은 피조개 양식 산업에서 시급히 해결해야 할 현안 과제이다.

조개류 인공종묘생산은 미국과 유럽 각국에서 굴과 바지락 및 담치류를 대상으로 오래 전부터 산업화되고 있으나, 한국, 일본 그리고 중국의 연안에만 서식하는 피조개는 1970년대부터 한국과 일본에서 채란방법, 초기 유생사육과 먹이생물 배양 등에 대한 연구(今井·西川, 1969; Pyen et al., 1976; Cheong et al., 1982)를 수행하였으나, 1980년대에는 자연채묘의 호조로 체계적인 연구가 거의 이루어지지 않았다. 그러나 최근에 이르러 자연채묘의 부진과 생산량 격감 등으로 이에 대한 연구의 필요성이 제기되고 있으나, 단위 생산성 향상에 의한 원가절감, 중간양성 기법개발에 의한 치패의 생존율 향상 등 해결하여야 할 많은 과제를 안고 있다.

조개류 유생의 성장과 생존은 굴의 경우 난질(Lannan et al., 1980a, b; Gallagher and Mann, 1986), 환경요인(Breese and Malouf, 1977; Helm and Millican, 1977; Nell and Holliday, 1988; Robert et al., 1988; His et al., 1989), 사육밀도(Min et al., 1995) 등의 영향을 받으며, 유생의 생존율을 높이는 가장 중요한 요인은 먹이의 양과 질(Wilson, 1978; Helm and Laing, 1987; Laing, 1995; Min et al., 1995), 공급횟수(Powell et al., 2002)에 따라 크게 영향을 미친다고 하였다. 먹이생물이 함유하고 있는 영양소는 미세조류의 종류, 배지, 수확시기 및 배양 환경조건에 따라 달라진다. 특히 사육대상 생물에 따른 적정 먹이생물의 선정은 대상생물의 최적 성장과 생존율을 높이는데 매우 중요하다 (Ballantine et al., 1979; Brown et al., 1997; Hur, 2004).

이와 같이 조개류 종묘생산과정에서 어미성숙, 유생 및 치패사육에 필요한

먹이로 이용되고 있는 미세조류의 질적 및 양적 대량배양은 매우 중요하다. 그러나 미세조류의 대량배양은 고난도의 기술이 요구되며 배양비용이 매우 높을 뿐만 아니라 많은 공간(유생사육시설의 1/3~1/2 점유)을 필요로 한다 (Donaldson, 1991; Hur et al., 2008). 특히 미세조류의 배양원가는 미세조류의 종류와 배양방법 및 배양용기의 크기에 따라 다르나 대체적으로 상업적 조개류 종묘생산과정에서 전체 인공종묘생산 원가의 15~85%를 점유하고 있다 (Donaldson, 1991; Benemann, 1992; Coutteau and Sorgeloos, 1992). 그러나 지금까지 피조개의 성숙과 유생 및 치패의 성장과 생산성을 높일 수 있는 먹이 생물로서 미세조류의 평가에 대한 체계적인 연구는 보고된 바 없는 실정이다.

그리고 채묘기에 부착된 치패는 성장함에 따라 먹이 섭취량이 급증하여 실내에서 배양된 먹이만으로는 필요한 먹이를 충분히 공급할 수 없으므로 부착치패를 바다에 내어 중간양성을 하여야 한다. 부착치패의 중간양성은 각장 1 mm 내외의 부착치패를 바로 양식장에 살포하면 생존율이 너무 낮기 때문에 본 양성에 들어가기 전에 일정기간 동안 양성해서 각장 1 cm 내외로 성장시키는 과정이며, 인공종묘의 양식 산업화 추진의 현안 애로기술이다.

피조개 부착치패의 중간양성에 관한 연구는 菅野 (1963)가 육상수조에서 사육된 부착치패의 초기성장과 바깥바다에서 중간양성한 치패의 성장 및 생존에 관해 보고한 이래, 치패의 중간양성에 관한 몇몇 연구자에 의한 보고(田中等, 1974; 寺嶋等, 1978)가 이루어져 왔다. 최근 피조개 부착치패의 중간양성에 관한 연구는 중간양성 시설장소, 수심, 망목 크기 및 부착치패의 크기 등 실용적인 방법(Min et al., 2004; Kim et al., 2006; Kim et al., 2008)을 제시하였으나, 피조개 중간양성시 생존율이 낮아 산업화에는 다소 미흡하였다.

따라서 본 연구의 목적은 피조개 어미 성숙과 유생사육을 위한 적정 먹이생물의 구명과 부착치패의 중간양성기법을 확립코자 하였다. 이를 위하여 본 연구는 조개류 종묘생산시 먹이생물로 주로 이용하고 있는 미세조류 5종을 선정

하여 이에 대한 배양환경조건과 미세조류 배양시 어업인들이 손쉽게 조제할 수 있고 경제적이며, 세포증식이 기존의 배지(f/2, Conwy 배지 등)에 버금갈 수 있는 농업용 비료를 이용한 실용배지(농업용 비료 배지)의 적정 농도와 세포증식을 향상시킬 수 있는 방안을 모색하였다.

그리고 서로 다른 미세조류를 먹이로 공급하며 피조개의 어미성숙과 유생 및 부착치패 사육시험을 실시하고 성숙유도율, 유생과 부착치패의 성장 및 생존율 등 미세조류 종류에 따른 사육효과를 비교, 분석하여 적정 먹이생물을 구명하고자 하였다. 또한 피조개 부착치패의 중간양성 시 보호망 형태와 유실 방지망 종류에 따른 치패의 성장과 생존율을 조사하여 중간양성 관리기법을 확립코자 하였다.



## 제2장 재료 및 방법

### 1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과

#### 1.1. 배양환경조건에 따른 미세조류의 성장

피조개의 성숙유도 및 유생사육을 위하여 이용된 미세조류는 한국해양미세조류은행(Korea Marine Microalgae Culture Center, KMMCC)과 국립수산과학원 남해특성화연구센터에 보유하고 있는 종류 중에서 피조개의 발생단계 및 크기 등을 고려하여 착편모조류 2종(*Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*), 규조류 2종(*Chaetoceros simplex*, *Phaeodactylum tricornutum*)과 담녹조류 1종(*Tetraselmis tetraathele*)으로 총 5종을 선정하여 이용하였다(Table 2).

이들 5종은 Conwy 배지(Walne, 1974; Table 3)로 20°C, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명하에서 배양하였으며, 세포밀도는 hemacytometer를 사용하여 세포수를 계수하고, 성장률은 Guillard (1973)의 방법으로 specific growth rate (SGR)를 계산하였다. 단, 규조류인 *C. simplex*와 *P. tricornutum* 배양 시에는 기본배지 외에 규산나트륨 용액( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  : 증류수 1 L에 100 g 용해)을 배양수 1 L에 1 mL를 첨가해 주었다.

$$SGR = 3.322 \times \frac{\log(N_1/N_0)}{t_1 - t_0} \quad (\text{Guillard, 1973})$$

( $N_1$ ,  $t_1$ 시의 세포수/mL;  $t_1$ , 접종 후 일시;  $N_0$ ,  $t_0$ 시의 세포수/mL;  $t_0$ , 접종일)

#### 1.1.1. 수온과 염분

수온과 염분에 따른 미세조류별 적정 성장조건을 조사하기 위하여 5종의 미세조류를 수온 20, 25, 30, 35°C와 염분 20, 25, 30, 33 psu에서 250 mL 삼각플라스크에  $50 \times 10^4$  cells/mL의 세포밀도로 접종하여 10일간 3반복으로 성장을 측정하였다.

Table 2. Microalgal species used in the study

Strain No.	Species	Cell size (mean±s.d., μm)	
		Major axis	Minor axis
KMMCC-12*	<i>Isochrysis galbana</i>	5.0±0.6	4.5±0.5
CCMP 1325**	<i>Pavlova lutheri</i>	5.1±0.8	4.5±0.6
KMMCC-723	<i>Chaetoceros simplex</i>	5.5±0.6	4.7±0.7
CCMP 1327	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	16.6±2.5	3.0±0.2
KMMCC-53	<i>Tetraselmis tetrathele</i>	15.1±0.8	10.3±1.1

\*KMMCC, Korea Marine Microalgae Culture Center

\*\*CCMP, Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton

### 1.1.2. 조도

조도에 따른 미세조류별 적정 성장조건을 조사하기 위하여 5종의 미세조류를 3,000, 5,000, 7,000 lux의 조도하에서 연속 조명하여 250 mL 삼각플라스크에  $50 \times 10^4$  cells/mL의 세포밀도로 접종하여 10일간 3반복으로 성장 변화를 조사하였다.

### 1.2. 농업용 비료 농도에 따른 미세조류의 성장

미세조류 5종(*I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrathele*)에 대하여 대량배양 시 조제가 용이하며 경제적인 실용 배지를 개발하기 위하여 농업용 요소비료와 복합비료를 이용하여 실험하였다. 요소비료의 질소 함량은 46%, 복합비료의 질소, 인, 칼륨의 함량은 각각 21%, 17%, 17%인 제품을 사용하였다. Schreiber (1927) 배지의 질산염과 인산염의 농도(해수 1 L에  $\text{NaNO}_3$  100 mg,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  20 mg)를 기준으로 비료의 양을 환산하면 해수 1 L

Table 3. Chemical composition of Conwy medium (Walne, 1974)

A solution	NaNO <sub>3</sub>	100.00 g
	EDTA (Na Salt)	45.00 g
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33.60 g
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	20.00 g
	FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1.30 g
	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.36 g
	Trace metal solution	1 mL
	Vitamin mix	100 mL
	Distilled water (to make)	1 L
B solution (Trace metal solution)	ZnCl <sub>2</sub>	2.10 g
	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	2.10 g
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O	2.10 g
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	2.00 g
	Distilled water (acidify with 1N HCl until solution is clear)	100 mL
C Solution (Vitamin mixed)	Vitamin B <sub>1</sub>	20 mg
	Vitamin B <sub>12</sub>	10mg
	Distilled water	200 mL
Utilization : 1 mL Conwy medium/liter of seawater		

당 복합비료 117.6 mg, 요소비료 163.7 mg에 해당하며, 이를 농업용 비료 배지(fertilizer-based medium, FM)로 간주하였다.

농업용 비료를 배지로 활용하여 미세조류를 배양할 시 배지로서의 적정 농도를 구명하기 위하여 FM 배지, 0.5 FM 배지, 0.25 FM 배지, f/2 및 Conwy 배지를 이용하여 미세조류의 성장을 측정하였다(Table 4). 배양조건은 250 mL 삼각플라스크, 20°C, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명하에서 접종밀도는 50×10<sup>4</sup>

cells/mL이었으며, 10일간 3반복으로 배양하였다.

### 1.3. 미량원소와 비타민의 첨가 효과

농업용 비료를 배지로 이용하여 미세조류의 성장을 향상시키기 위하여 농업용 비료 0.25배 배지(0.25 FM : 복합 비료 0.0294 g/L, 요소 비료 0.0409 g/L)와 0.25 FM 배지에 미량원소를 첨가한 0.25 FMM 배지(fertilizer-based medium added mineral element), 0.25 FMM 배지에 비타민을 추가한 0.25 FMV 배지(fertilizer-based medium added mineral element and vitamin), f/2 및 Conwy 배지를 이용(Table 5, 6)하여 미세조류의 성장을 측정하였다. 위의 실험과 동일한 환경에서 10일간 3반복으로 배양하였다.

Table 4. Composition of media made with agricultural fertilizer

Media	Concentration
FM* (fertilizer 1.0 times)	compound fertilizer 0.1176 g/L urea fertilizer 0.1637 g/L
0.5 FM (fertilizer 0.5 times)	compound fertilizer 0.0588 g/L urea fertilizer 0.0820 g/L
0.25 FM (fertilizer 0.25 times)	compound fertilizer 0.0294 g/L urea fertilizer 0.0409 g/L
f/2	
Conwy	control

\*FM medium : conversion on the equivalent composition ratio as Schreiber medium [(NaNO<sub>3</sub> 100 mg/L)+(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 20 mg/L)]

Table 5. Composition of media made with agricultural fertilizer, mineral element and vitamin

Media	Concentration
0.25 FM (fertilizer 0.25 times)	compound fertilizer 0.0294 g/L + urea fertilizer 0.0409 g/L
0.25 FMM (added mineral element)	compound fertilizer 0.0294 g/L + urea fertilizer 0.0409 g/L + mineral element 0.1 mL/L
0.25 FMV (added mineral element and vitamin)	compound fertilizer 0.0294 g/L + urea fertilizer 0.0409 g/L + mineral element 0.1 mL/L + vitamin 0.1 mL/L
f/2 Conwy	control

Table 6. Final composition of culture media for the study

Division	Component	Weight	Solution	Additive contents
Agricultural fertilizer (0.25 FM)	Compound fertilizer	0.0294 g	1 L	1 mL/L
	Urea fertilizer	0.0409 g	sea water	sea water
Mineral element	ZnCl <sub>2</sub>	2.10 g	1 L distilled water	0.1 mL/L sea water
	CoCl <sub>2</sub>	2.10 g		
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	2.10 g		
	CuSO <sub>4</sub>	2.00 g		
Vitamin mixed	Vitamin B <sub>1</sub>	20 mg	200 mL distilled water	0.1 mL/L sea water
	Vitamin B <sub>12</sub>	10 mg		
Silicate (for diatom)	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	100 g	1 L distilled water	1 mL/L sea water

#### 1.4. 비료 배지로 배양시 중간시비에 따른 미세조류의 성장

위의 2.2 실험에서 성장률이 높은 0.25 FM 배지에 중간 시비 효과를 알아보기 위하여, 대조구인 Conwy 배지와 0.25 FM 배지[(복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)+미량원소 0.1 mL/L]를 이용하여 7일간 배양 후 각각 배지의 75%, 50%, 25%를 첨가, 중간 시비하였으며, 20°C, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명 하에서 10일간 3반복으로 배양하였다.

#### 1.5. 배양기간 동안 Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화

Conwy 배지와 농업용 비료를 이용한 실용배지에서 미세조류 종류별 배양기간 중의 배지 내 영양염의 변화를 알아보기 위하여, Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM) [0.25 FM (복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)+미량원소 0.1 mL/L]로 30 L 원형용기에 20°C, 5,000 lux 연속 조명하에서 10일간 3반복으로 미세조류 5종을 배양하였다. 접종밀도는  $50 \times 10^4$  cells/mL이었다. 시료는 접종 후 0, 3, 7, 10일째 시료를 300 mL 채취하여 GF/F filter (0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 여과된 배양액만 수거하여,  $\text{NH}_4^+$ -N,  $\text{NO}_2^-$ -N,  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P를 Strickland and Parsons (1972)의 방법에 의하여 분석하였다.

## 2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙

### 2.1. 비만도

실험에 사용한 피조개는 2007년 4월에 경남 진해만에서 채집하여 2007년 5월 10일부터 2007년 6월 26일까지 미세조류 3종(*I. galbana*, *T. tetraathele*, *P. tricornutum*)을 단독 또는 혼합 공급하였으며, 성 성숙 유도중인 피조개 어미의 성숙과 관련한 부위별 크기 변화를 조사하였다.

각장(shell length, SL), 각고(shell height, SH) 및 각폭(shell breadth, SB)은

vernier caliper로 0.1 mm까지 측정하였고, 전중(total weight, TW), 육중(flesh weight, FW) 및 각중(shell weight, SW)은 전자저울로 0.01 g까지 측정하였다.

산란기를 간접으로 추정하기 위해 조사하는 비만도 조사는 Akashige and Fushimi (1992)의 방법에 따라, 아래와 같이 연체부지수(flesh weight index)와 각부용적지수(volumetric index)의 공식을 사용하여 측정하였다.

$$\text{Flesh weight index} = \frac{\text{FW (g)}}{\text{SW (g)} + \text{FW (g)}} \times 100$$

$$\text{Volumetric index} = \frac{\text{FW (g)}}{\text{SL (mm)} \times \text{SH (mm)} \times \text{SB (mm)}} \times 1,000$$

## 2.2. 생식소 발달

2007년 5월 10일부터 2007년 6월 26일까지 미세조류 3종을 단독 또는 혼합 공급하며 성 성숙 유도중인 피조개 어미(100마리/실험구)의 조직학적 변화를 관찰하기 위하여, 15일 간격으로 실험구 마다 30마리씩 paraffin 절편법에 의해 조직표본을 제작하였으며, Harris hematoxylin과 0.5% eosin으로 비교 염색하여 암·수 생식세포의 발달 및 성숙정도를 광학현미경으로 판정하였다. 어미의 생식소 발달단계는 초기활성기, 후기활성기, 완숙기, 부분산란기 및 퇴화/휴지기의 5단계로 구분하였다.

## 2.3. 성숙유도

실험에 사용한 피조개 어미는 경남 진해만산 1,200마리(평균 각장 65.3±3.6 mm)를 2007년 4월 30일 실내수조에 수용하여 5월 3일부터 자연수온(14.5℃)에서 매일 0.5~0.7℃씩 수온을 서서히 상승시켜 설정수온(20℃)까지 이르게 하였다.

시험 기간은 2007년 5월 10일부터 6월 26일까지 45일간이었고, 사육방법은

FRP 사각수조(용량 : 1.5 m<sup>3</sup>)에 바구니(크기 : 80×60×60 cm) 3개를 띄워서 각각 100마리씩 총 300마리 수용하였다. 수온조절은 생물환경조절장치(Aquatron YW-0275675, Yoowon Electronic)를 사용하였다. 실내 조도는 자연 채광으로 100 lux 내외로 조절하였으며, 사육수조의 유수량은 1일 4~5회전 되게 조절하였다.

먹이생물은 *I. galbana*, *T. tetrathele*, *P. tricorutum*의 3종류로 0.25 FMM [0.25 FM (복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)+미량원소 0.1 mL/L] 배지를 이용하여 5~500 L 규모에서 20°C, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명하에서 배양하였다. 먹이공급은 3종류를 단독 또는 혼합(동일 비율로 혼합)하여 20×10<sup>4</sup> cells/mL/일 농도가 유지될 수 있도록 먹이생물 자동공급장치로 조절하였다.

생존율은 매일 오전 10시에 폐사된 개체수를 계수하여 환산하였고, 시험 시작일부터 자연 방정·방란 일까지를 성숙소요일로 하였으며, 반응 개체수를 계수하여 성숙 유도율을 조사하였다.

### 3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율

#### 3.1. 유생의 성장과 생존

유생 실험에 사용된 유생은 경남 진해만산 피조개 어미로부터 2005년 8월 8일 수정란을 얻어 D형 유생으로 발생시켰으며, 이를 수거하여 5마리/mL로 100 L 사각수조에 수용하였다. 먹이로 사용한 미세조류는 *I. galbana*, *C. simplex*와 국립수산과학원 남해특성화연구센터에서 보유한 *P. lutheri*를 0.25 FMM [0.25 FM (복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)+미량원소 0.1 mL/L] 배지로 5~500 L 규모에 20°C, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명하에서 배양한 후 이용하였다. 먹이공급은 단독 또는 3종 미세조류를 세포수 기준 1:1:1로 혼합하여 공급하였다. 실험기간 중 먹이공급량은 유생의 밀도와 성장에 따라 0.5~5×10<sup>4</sup>

cells/mL로 유지하며 부착기까지 유생의 성장과 생존율을 조사하였다. 유생은 수온 25±1℃에서 20일 동안 지수식으로 사육하며 매 2일 마다 전환수를 실시하였다.

유생의 성장은 2일 마다 30마리의 유생을 무작위로 택하여 Profile-Project (Nikon-v12, Japan)와 Quadra-Chek 4000 Program (Metroics, USA)을 이용하여 각장과 각고를 0.1 μm 단위로 측정하였다.

### 3.2. 부착치패의 성장과 생존

부착치패는 유생 사육 실험과 동일한 어미로부터 얻은 유생을 부착기 유생까지 사육하여 8월 25일 채묘 후 실내에서 사육한 평균 각장 556.6±60.8 μm의 부착치패를 이용하였다. 부착치패의 사육밀도는 채묘연에 붙어있는 상태로 100 L 사각수조 당 1,000마리를 수용하였다. 유생 사육 실험과 동일한 미세조류와 먹이공급구로 구분하여 30일 동안 사육하였다. 사육기간 중 수온 변화는 19.5~25.0℃였고, 10일 마다 부착치패의 성장과 생존율을 조사하였다. 미세조류를 매일 2회 공급하였고 먹이 공급 후 4시간 동안 지수 상태를 유지하였고, 그 후에는 유수식(0.35 L/min)으로 하였다. 수조 내 먹이 농도는 5~20×10<sup>4</sup> cells/mL로 유지하였다. 부착치패의 성장은 10일 마다 30마리의 부착치패를 무작위로 택하여 유생의 성장과 동일한 방법으로 측정하였다.

### 3.3. 미세조류와 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성

#### 3.3.1. 미세조류의 아미노산 및 지방산 조성

미세조류는 0.25 FMM [0.25 FM (복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)+미량원소 0.1 mL/L] 배지로 30 L 원형용기에 20℃, 33 psu, 5,000 lux 연속 조명하에서 10일간 배양하여 대수기에 원심분리하여 수거하였다.

총 단백질 함량은 원소분석기(Elemental analyzer, CHNS-O Mode, CE

instruments EA 1110)를 이용하여 상온진공건조를 통해 얻은 시료의 C, H, N의 함량 중 N의 함량[ $N\% \times 6.25 = \text{protein } (\%)$ ]으로 계산하였다(Coulter, 1989). 아미노산은 high speed amino acid analyzer (L-8800, Hitachi)를 이용하여 측정하였다.

지질은 flame ionization detector가 장착된 thin layer chromatography (TLC/FID MARK V new, Iatron Laboratories, Tokyo, Japan)를 이용한 Parrish (1987)의 방법을 사용하였다. 지방산 분석은 15 mL test tube에 일정량의 시료(20 mg 이상)를 수용한 후 10%  $\text{BF}_3$ -methanol 2 mL로 첨가하고 질소로 충전한 다음 85°C에서 1시간 30분간 가열하여 methyl ester화 하였다. 시료는 약 30~40°C로 냉각한 후 물과 hexane을 첨가하여 지방산을 분리 추출하였다. 추출된 지방산은 HP autosampler가 설치된 HP GC 6890 plus (Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다. 지방산 분석에 사용된 GLC는 DB-225 (20 m×0.1 mm, i.d., 0.1  $\mu\text{m}$  film thickness, J&W Scientific, Agilent Technologies, USA)를 이용하였다. 분석 조건은 column 온도 60~195°C (25°C/min), 195~205°C (3°C/min) 그리고 205~230°C (8°C/min)의 승온 조건으로 injector와 detector 온도는 250°C, 그리고 carrier gas는 He (60 cm/sec)을 사용하였다. 지방산의 분석은 동일조건에서 분석한 standard (PUFA 1, 10 및 37 component FAME Mix, Supelco, Ontario, Canada)를 이용하여 동정하였다.

### 3.3.2. 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성

위의 실험에서 4개의 실험구(3개의 단일 공급구, 1개의 혼합 공급구)로 사육한 부착치패를 실험 종료 시 수거하였다. 이들 시료는 아미노산과 지방산 분석 전까지 -80°C에 냉동 보관하였고, 2반복으로 분석하였다. 부착치패의 아미노산 및 지방산 분석은 위의 미세조류의 아미노산 및 지방산 조성에서 이용한 분석 방법과 동일하게 하였다.

## 4. 피조개 부착치패의 중간양성

### 4.1. 보호망 형태별 중간양성

#### 4.1.1. 중간양성장의 환경조사

피조개의 보호망 형태별 중간양성시험의 부착치패는 남해 강진만산 피조개 어미로부터 2005년 6월 20일에 수정란을 얻어 실내에서 사육한 각장  $1.6 \pm 0.7$  mm를 사용하였다. 중간양성 시험 기간은 2005년 8월 9일부터 10월 7일까지 60일간 이었고, 경남 창원시 마산합포구 진동면 앞바다(Fig. 3)에 연승수하식으로 시설하였으며(Fig. 4), 치패를 부착시킨 채묘망을 보호망(크기 :  $50 \times 80$  cm, 망목 : 1.5 mm)에 수용하여 수심 5 m에 양성하였다. 보호망의 형태별 중간양성시험의 실험구를 통발형, 원통형, 직사각형, 노출형으로 각각 설정하였다(Fig. 5). 양성장 환경조사는 15일 간격으로 성장 및 생존 조사시 수온, 염분, 용존산소를 측정하였다.

#### 4.1.2. 부착치패의 성장과 생존

모든 실험구는 3반복으로 설정하였으며, 성장 및 생존을 조사는 보호망 1매당 부착치패 30마리씩을 무작위로 채집하여 vernier caliper로 성장을 계측하였고, 생존율은 단위면적당( $10 \times 10$  cm) 생존개체수를 조사하여 환산하였다.

### 4.2. 유실 방지망 종류별 중간양성

#### 4.2.1. 중간양성장의 환경조사

유실 방지망 종류별 중간양성시험은 남해 강진만산 피조개 어미로부터 2005년 8월 7일에 수정란을 얻어 실내 사육한 부착치패(각장  $1.8 \pm 0.9$  mm)를 사용하였고, 2005년 11월 14일부터 2006년 5월 22일까지 163일간 보호망 형태별 중간양성시험과 동일한 장소에서 동일한 방법으로 실시하였다. 유실 방지망 종류

별 중간양성시험의 시험구를 여자망, 차광막, PE망으로 각각 설정하였다(Fig. 6). 양성장 환경조사는 15일 간격으로 성장 및 생존 조사시 수온, 염분, 용존산소를 측정하였다.

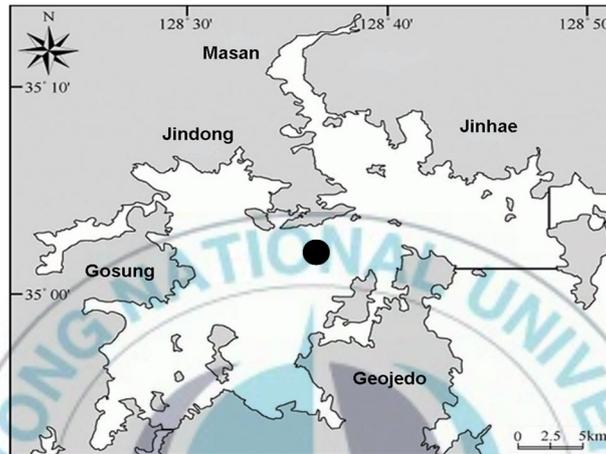


Fig. 3. Location of intermediate culture area.

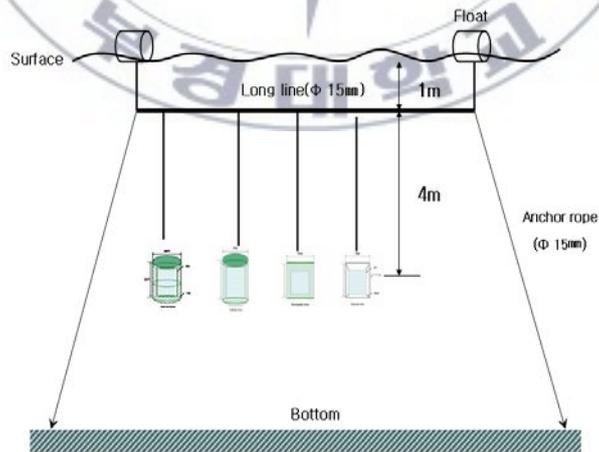


Fig. 4. Facilities for intermediate culture of *Scapharca broughtonii* spats.

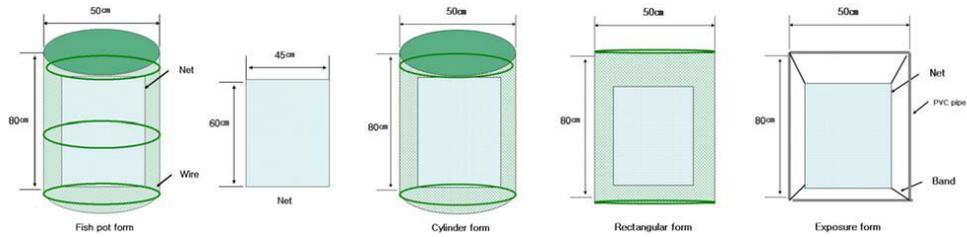


Fig. 5. The shapes of protective nets used for intermediate culture of *Scapharca broughtonii* spat.

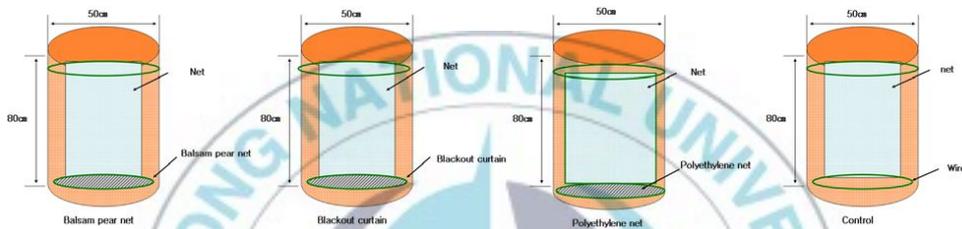


Fig. 6. The types of preventive nets used for intermediate culture of *Scapharca broughtonii* spat.

#### 4.2.2. 부착치패의 성장과 생존

모든 실험구는 3반복으로 설정하였으며, 성장 및 생존을 조사는 보호망 1매 당 부착치패 30마리씩을 무작위로 채집하여 vernier caliper로 성장을 계측하였고, 생존율은 단위면적당(10×10 cm) 생존개체수를 조사하여 환산하였다.

### 5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 하였고, 실험 결과는 one-way ANOVA test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로서 평균 간의 유의성( $P < 0.05$ )을 SPSS (SPSS Inc., 1997) program (Ver. 10.1)으로 검정하였다.

## 제3장 결 과

### 1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과

#### 1.1. 배양환경조건에 따른 미세조류의 성장

##### 1.1.1. 수온과 염분

*Isochrysis galbana*를 수온과 염분을 서로 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 7과 같다. 세포의 성장은 수온이 20℃일 때 배양 10일째 염분 33 psu에서  $785.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $751.0 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $629.5 \times 10^4$  cells/mL로 낮았다( $P < 0.05$ ). 일간 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.397로 가장 높았고, 20 psu에서 0.365로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

수온이 25℃일 때 *I. galbana*의 세포밀도는 배양 8일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 8일째 염분 33 psu에서  $966.7 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $937.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $637.0 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.413으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.368로 가장 낮았다( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었고, 25 psu에서 성장률은 0.383으로 30 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

수온이 30℃일 때 *I. galbana*의 세포밀도는 배양 5일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 5일째 염분 33

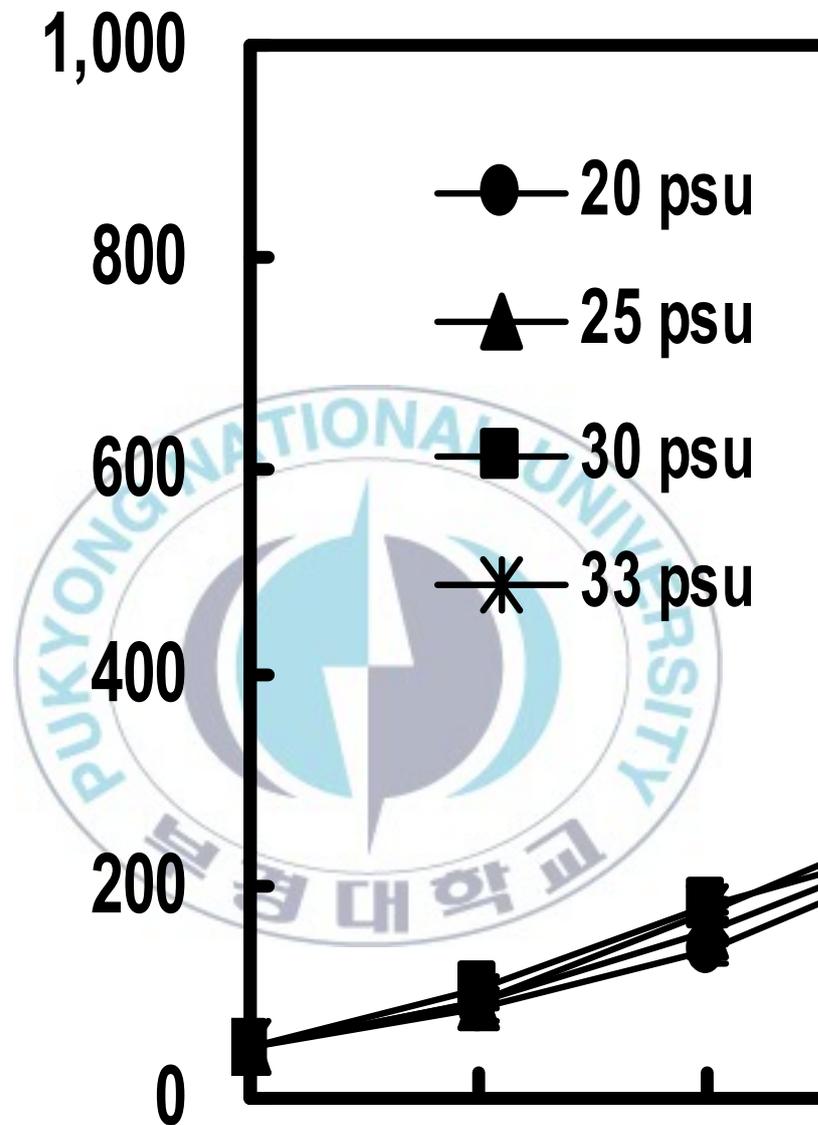


Fig. 7. Growth of *Isochrysis galbana* at different temperatures and salinities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

psu에서  $745.0 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $739.7 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $648.3 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.361로 가장 높았고, 20 psu에서 0.256으로 가장 낮았다( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었고, 25 psu에서 성장률은 0.328로 30 psu 보다 낮았으며 20 psu 보다 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

수온이 35°C일 때 *I. galbana*의 세포 성장은 배양 4일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 4일째 염분 33 psu에서  $691.7 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $687.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $428.4 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.353으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.019로 가장 낮았다( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었고, 염분 25 psu에서 성장률은 0.108로 30 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

*Pavlova lutheri*를 수온과 염분을 서로 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 8과 같다. 세포의 성장은 수온이 20°C일 때 배양 10일째 염분 33 psu에서  $817.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $794.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $678.5 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 일간 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.404로 가장 높았고, 20 psu에서 0.377로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

수온이 25°C일 때 *P. lutheri*의 세포밀도는 배양 10일째 염분 33 psu에서  $948.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $925.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는

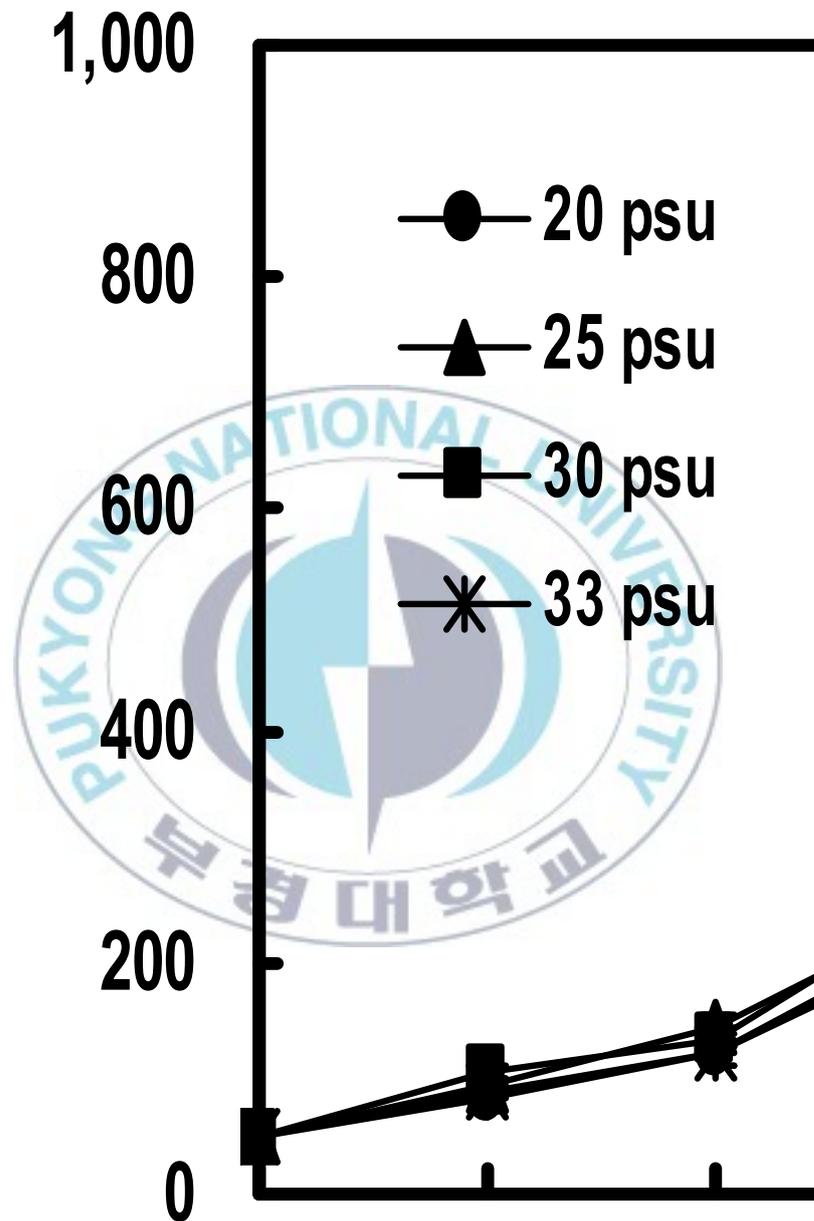


Fig. 8. Growth of *Pavlova lutheri* at different temperatures and salinities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

838.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 낮게 나타났다가(P<0.05). 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.425로 가장 높았고, 20 psu에서 0.408로 가장 낮게 나타났다가(P<0.05). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

수온이 30℃일 때 *P. lutheri*의 세포밀도는 염분 30 psu와 33 psu에서 배양 7일째 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하였고, 25 psu에서는 배양 8일째 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하였으며, 20 psu에서는 배양 10일째까지 증가하는 경향을 보였다. 배양 7일째 염분 33 psu에서 930.3×10<sup>4</sup> cells/mL로 높게 나타났으며(P<0.05), 30 psu에서는 915.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는 718.0×10<sup>4</sup> cells/mL로 낮게 나타났다가(P<0.05). 배양 10일째 염분 30 psu에서 638.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 낮게 나타났으며(P<0.05), 33 psu에서는 675.0×10<sup>4</sup> cells/mL로 30 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는 875.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 높게 나타났다가(P<0.05). 성장률은 염분 30 psu에서 0.371로 가장 낮았고, 20 psu에서 0.414로 가장 높게 나타났다가(P<0.05). 염분 30 psu와 33 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 25 psu에서 성장률은 0.394로 30 psu 보다 높게 나타났으나(P<0.05), 20 psu와는 유의한 차이가 없었다.

수온이 35℃일 때 *P. lutheri*의 세포 성장은 염분 30 psu와 33 psu에서 배양 6일째 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하였고, 20 psu와 25 psu에서는 배양 6일째 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 6일째 염분 33 psu에서 917.0×10<sup>4</sup> cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며(P<0.05), 30 psu에서는 903.3×10<sup>4</sup> cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는 805.6×10<sup>4</sup> cells/mL로 낮게 나타났다가(P<0.05). 배양 10일째 염분 30 psu에서 553.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 낮게 나타났으며(P<0.05), 33 psu에서는 586.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 30 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는 766.5×10<sup>4</sup> cells/mL로 높게 나타났다가(P<0.05). 성장률은 염분 30 psu에서 0.350으로 가장 낮았고,

20 psu에서 0.395로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 25 psu에서 성장률은 0.378로 30 psu 보다 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 20 psu와는 유의한 차이가 없었다.

*Chaetoceros simplex*를 수온과 염분을 서로 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 9와 같다. 세포의 성장은 수온이 20°C일 때 배양 10일째 염분 33 psu에서  $730.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 30 psu에서는  $718.0 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $615.5 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 일간 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.388로 가장 높았고, 20 psu에서 0.362로 가장 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

수온이 25°C일 때 *C. simplex*의 세포밀도는 배양 10일째 염분 33 psu에서  $816.5 \times 10^4$  cells/mL로 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 30 psu에서는  $783.3 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $704.0 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.402로 가장 높았고, 20 psu에서 0.382로 가장 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

수온이 30°C일 때 *C. simplex*의 세포밀도는 배양 10일째 염분 33 psu에서  $972.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며, 20 psu에서는  $762.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.428로 가장 높았고, 20 psu에서 0.389로 가장 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 염분 25 psu에서 성장률은 0.414로 33 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다 높은 경향을 보였다( $P<0.05$ ).

수온이 35°C일 때 *C. simplex*의 세포 성장은 배양 5일째 염분 30 psu와 33 psu에서는 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하였고, 20 psu와 25 psu에서는

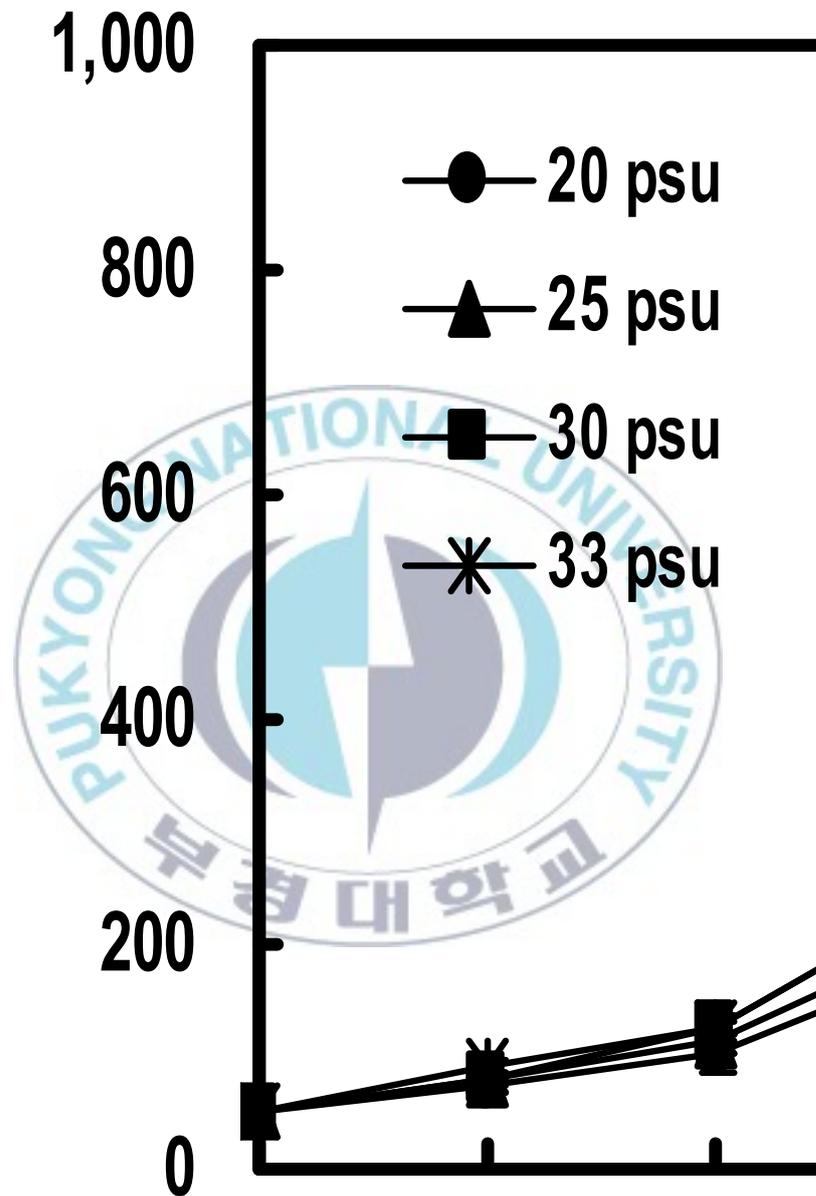


Fig. 9. Growth of *Chaetoceros simplex* at different temperatures and salinities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

배양 6일째까지 증가하다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 5일째 염분 30 psu에서  $908.3 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 33 psu에서는  $887.5 \times 10^4$  cells/mL로 30 psu와 유의한 차이가 없었고, 25 psu에서는  $704.2 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 배양 10일째 염분 25 psu에서  $832.5 \times 10^4$  cells/mL로 높게 나타났으나 다른 염분 실험구와 유의한 차이가 없었다. 배양 10일째 염분 33 psu에서 세포밀도가  $453.3 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났으며 25 psu에서  $550.5 \times 10^4$  cells/mL로 높게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 20 psu에서 0.341로 가장 높았고, 33 psu에서 0.319로 가장 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 염분 30 psu와 33 psu와의 성장률은 유의한 차이가 없었으며, 20 psu와 25 psu와도 유의한 차이가 없었다.

*Phaeodactylum tricornutum*를 수온과 염분을 서로 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 10과 같다. 세포의 성장은 수온이 20°C일 때 배양 10일째 염분 33 psu에서  $925.7 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $865.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $623.0 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 일간 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.420으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.363으로 가장 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 20 psu에서 성장률은 0.363으로 25 psu 보다 낮게 나타내었다( $P < 0.05$ ).

수온이 25°C일 때 *P. tricornutum*의 세포밀도는 배양 7일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 10일째 염분 33 psu에서  $576.5 \times 10^4$  cells/mL로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $536.0 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $358.7 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.352로 가장 높았고, 20 psu에서 0.283으로 가장 낮게 나타났다가( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 25 psu에서 성장률은 0.306

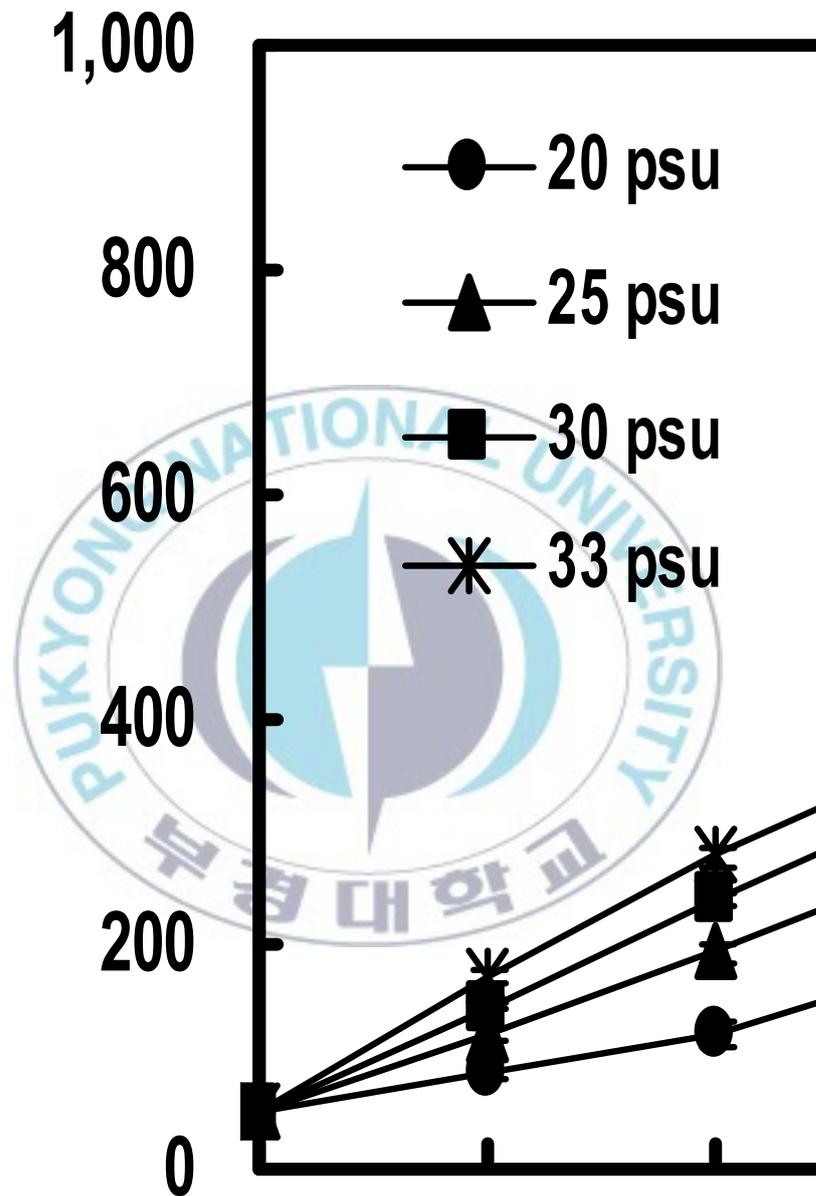


Fig. 10. Growth of *Phaeodactylum tricornutum* at different temperatures and salinities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

으로 30 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다는 높은 경향을 보였다 ( $P < 0.05$ ).

수온이 30°C일 때 *P. tricornutum*의 세포밀도는 배양 2일째 염분 30 psu와 33 psu에서 다소 밀도 증가를 보였으나 배양 3일째 이후로 감소하여 배양 6일째 전량 폐사하였으며, 염분 20 psu와 25 psu에서도 배양 3일째 다소 밀도 증가를 보였으나 배양 4일째 이후로 급격히 감소하여 배양 6일째 모든 실험구에서 전량 폐사에 이르렀다. 그리고 수온이 35°C일 때 *P. tricornutum*의 세포밀도는 배양 3일째 모든 염분 실험구에서 다소 증가 경향을 나타내었으나 이후로 급격히 감소하여 배양 5일째 모든 실험구에서 세포의 성장은 정체 상태를 나타내었다.

*Tetraselmis tetrathele*를 수온과 염분을 서로 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 11과 같다. 세포의 성장은 수온이 20°C일 때 배양 10일째 염분 33 psu에서  $605.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $581.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $495.0 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 일간 성장률은 염분 33 psu에서 배양 10일째 0.358로 가장 높았고, 20 psu에서 0.332로 가장 낮게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 20 psu와 25 psu 간에는 유의한 차이가 없었다.

수온이 25°C일 때 *T. tetrathele*의 세포밀도는 배양 8일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 8일째 염분 33 psu에서  $966.7 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며 ( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $937.5 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $853.0 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.413으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.368로 가장 낮게 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 25 psu에서 성장률은 0.383으로 30 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다는 높은 경향을 보였다 ( $P < 0.05$ ).

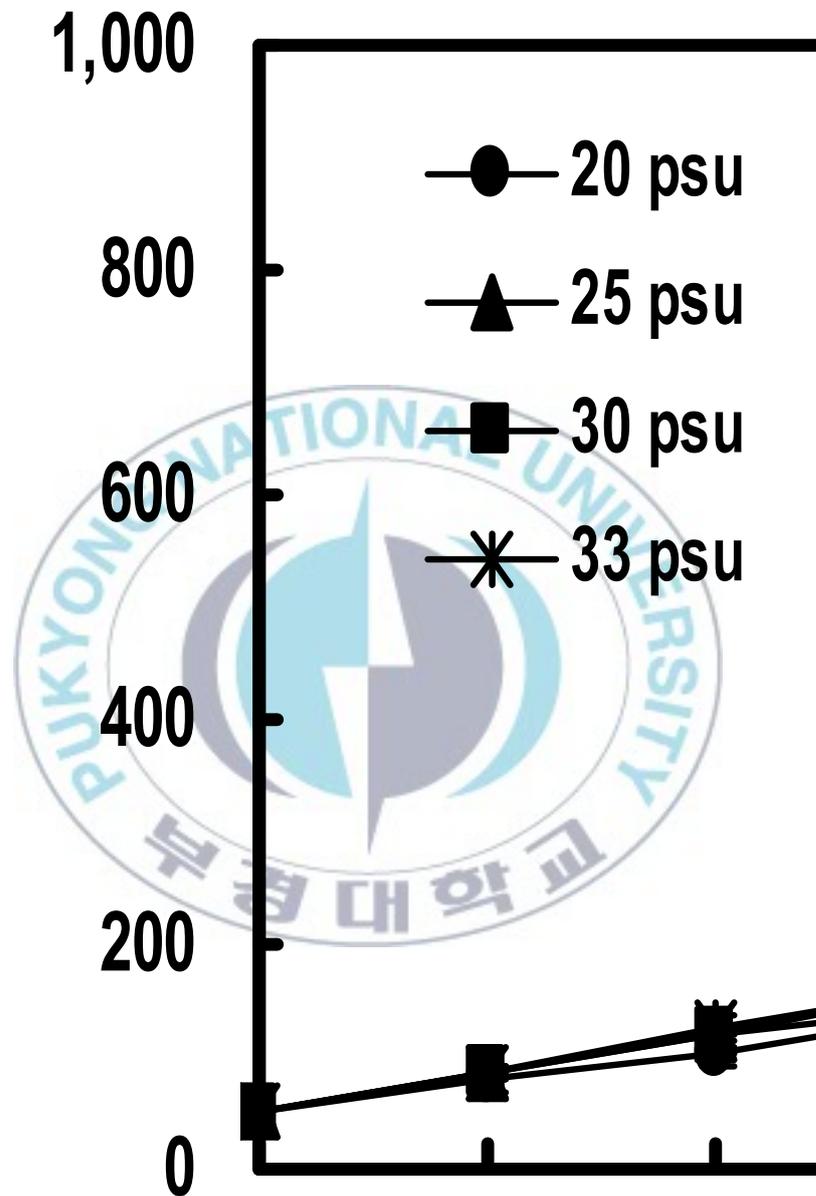


Fig. 11. Growth of *Tetraselmis tetrathele* at different temperatures and salinities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

수온이 30℃일 때 *T. tetrathele*의 세포밀도는 배양 7일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 7일째 염분 33 psu에서  $593.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $587.6 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $528.2 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.337로 가장 높았고, 20 psu에서 0.316으로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 25 psu에서 성장률은 0.329로 33 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다는 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

수온이 35℃일 때 *T. tetrathele*의 세포 성장은 배양 6일째 모든 염분 실험구에서 최고 밀도를 보였다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 배양 6일째 염분 33 psu에서  $537.5 \times 10^4$  cells/mL로 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 30 psu에서는  $516.0 \times 10^4$  cells/mL로 33 psu와 유의한 차이가 없었고, 20 psu에서는  $441.4 \times 10^4$  cells/mL로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 성장률은 염분 33 psu에서 0.316으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.273으로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 염분 33 psu와 30 psu와는 유의한 차이가 없었으며, 염분 25 psu에서 성장률은 0.301로 30 psu와 33 psu 보다 낮게 나타났으며 20 psu 보다는 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

### 1.1.2. 조도

미세조류를 조도(3,000, 5,000, 7,000 lux)를 달리하여 10일간 배양한 결과는 Fig. 12와 같다. *I. galbana*의 세포밀도는 배양 10일째 7,000 lux에서  $845.0 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 5,000 lux에서  $765.5 \times 10^4$  cells/mL이었고, 3,000 lux에서  $643.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그리고 성장률은 배양 10일째 7,000 lux에서 0.408로 가장 높았고, 3,000 lux에서 0.369로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*P. lutheri*의 세포밀도는 배양 10일째 7,000 lux에서  $887.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 5,000 lux에서  $813.5 \times 10^4$  cells/mL이었고, 3,000 lux에서  $733.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그리고 성장률은 배양 10일째 7,000 lux에서 0.415로 가장 높았고, 3,000 lux에서 0.387로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*C. simplex*의 세포밀도는 배양 10일째 7,000 lux에서  $815.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 5,000 lux에서  $738.0 \times 10^4$  cells/mL이었고, 3,000 lux에서  $668.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그리고 성장률은 배양 10일째 7,000 lux에서 0.403으로 가장 높았고, 3,000 lux에서 0.374로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*P. tricornutum*의 세포밀도는 배양 10일째 7,000 lux에서  $985.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 5,000 lux에서  $915.5 \times 10^4$  cells/mL이었고, 3,000 lux에서  $825.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그리고 성장률은 배양 10일째 7,000 lux에서 0.430으로 가장 높았고, 3,000 lux에서 0.405로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*T. tetrahele*의 세포밀도는 배양 10일째 7,000 lux에서  $685.5 \times 10^4$  cells/mL로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 5,000 lux에서  $611.5 \times 10^4$  cells/mL이었고, 3,000 lux에서  $547.0 \times 10^4$  cells/mL로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그리고

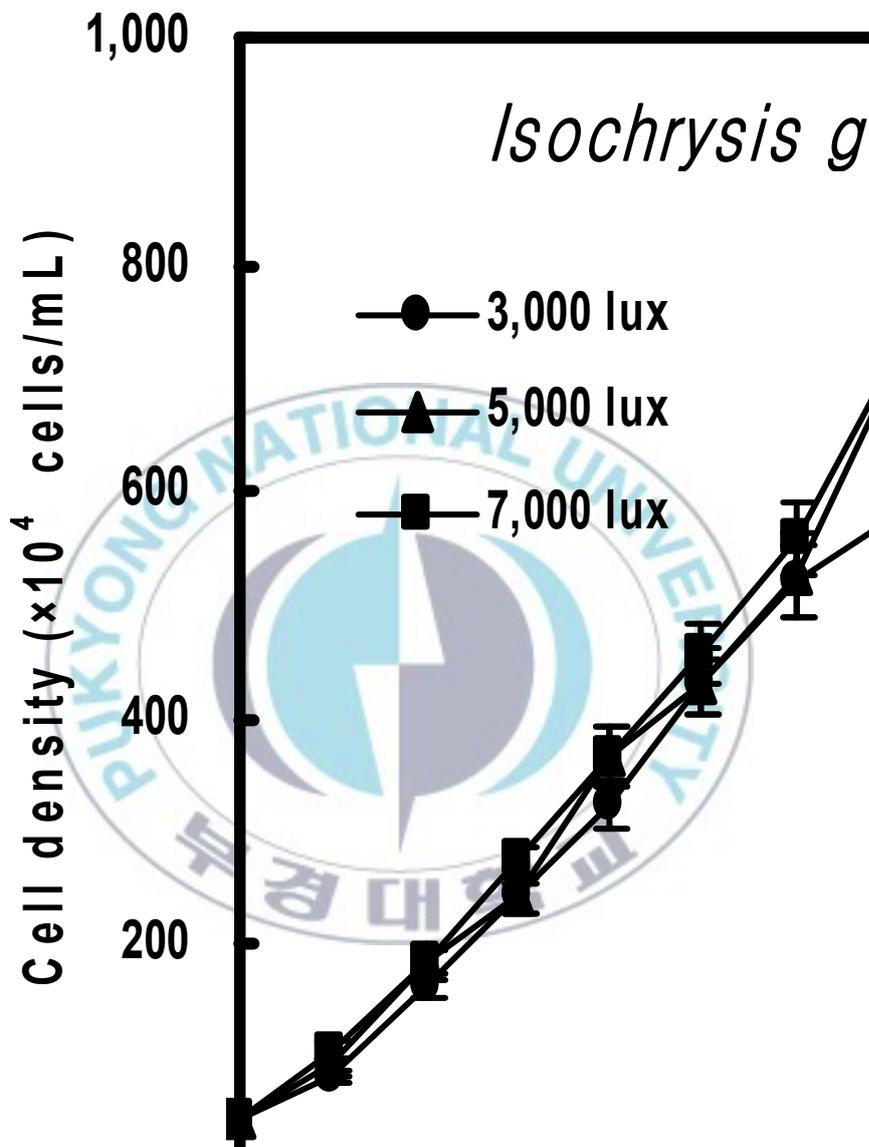


Fig. 12. Growth of five microalgal species at 20°C and 33 psu with different light intensities. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

성장률은 배양 10일째 7,000 lux에서 0.378로 가장 높았고, 3,000 lux에서 0.345로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ , Fig. 12).

## 1.2. 농업용 비료 농도에 따른 미세조류의 성장

미세조류의 대량배양 시 경제적인 적정 배지를 개발하기 위하여 Conwy, f/2 배지 및 농업용 복합비료와 요소비료의 농도를 1.0배, 0.5배, 0.25배로 첨가하여 10일간 배양한 미세조류의 성장 변화는 Fig. 13과 같다. *I. galbana*의 배지에 따른 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.396으로 유의하게 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), f/2 배지와는 유의한 차이가 없었다. 농업용 비료를 Schreiber 배지의 N과 P를 기준으로 0.25배(복합 비료 0.0294 g/L, 요소 비료 0.0409 g/L)를 첨가한 농업용 비료 배지(0.25 FM)의 경우 성장률은 0.368로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*P. lutheri*의 배지에 따른 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.402로 가장 높게 나타났으며, f/2 배지와는 유의한 차이가 없었다. 0.25 FM 배지의 성장률은 0.391로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

*C. simplex*의 배지에 따른 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.383으로 가장 높게 나타났으며, f/2 배지와는 유의한 차이가 없었다. 0.25 FM 배지의 성장률은 0.355로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 0.367인 f/2 배지의 성장률과 유의한 차이가 없었다.

*P. tricornutum*의 배지에 따른 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.408로 유의하게 가장 높게 나타났으며, f/2 배지는 0.382로 비료 배지보다 유의하게 높으나 Conwy 배지보다 낮았다( $P < 0.05$ ). 0.25 FM 배지의 성장률은 0.369로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 유의하게 높게 나타났으며, Conwy나 f/2 배지보다 낮았다( $P < 0.05$ ).

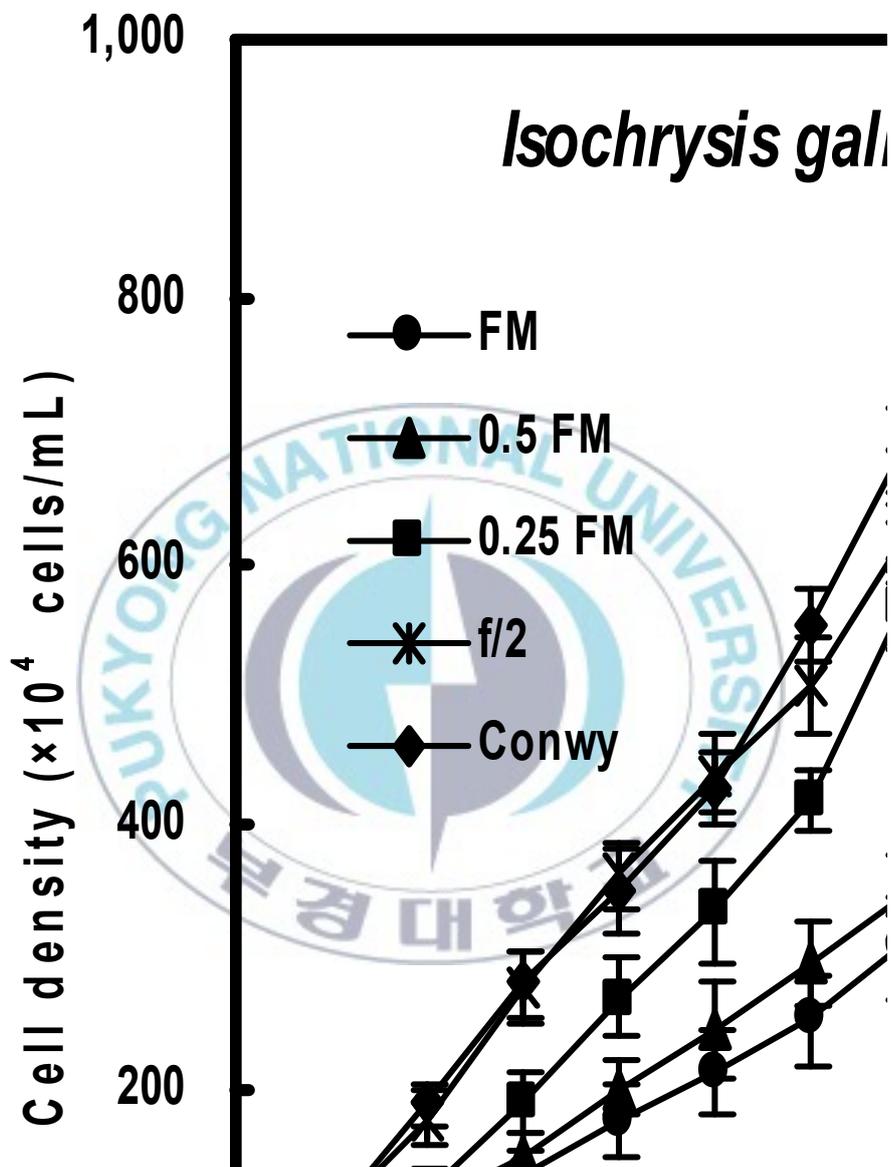


Fig. 13. Growth of five microalgal species at 20°C, 33 psu and 5,000 lux with different media. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ . FM medium : compound fertilizer 0.1176 g/L+urea fertilizer 0.1637 g/L.

*T. tetrahele*의 배지에 따른 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.355로 유의하게 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), f/2 배지와는 유의한 차이가 없었다. 0.25 FM 배지의 성장률은 0.324로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 유의하게 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 0.331인 f/2 배지의 성장률과는 유의한 차이가 없었으나 Conwy 배지 보다 유의하게 낮았다( $P<0.05$ , Fig. 13).

### 1.3. 미량원소와 비타민의 첨가 효과

농업용 비료 배지로 미세조류의 성장을 Conwy 배지의 수준으로 향상시키기 위하여 0.25 FM 배지(복합비료 0.0294 g/L, 요소비료 0.0409 g/L)에 미량원소와 비타민을 첨가한 배지로 배양한 미세조류의 성장 변화는 Fig. 14와 같다.

0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 *I. galbana*의 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.393으로 유의하게 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), f/2 배지와 0.25 FM 배지에 미량원소를 첨가한 비료 배지(0.25 FMM) 및 비타민을 첨가한 비료 배지(0.25 FMV)와는 유의한 차이가 없었다.

0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 *P. lutheri*의 성장 변화는 대조구인 f/2 배지에서 성장률이 0.407로 가장 높게 나타났으며, Conwy 배지와 0.25 FMM 배지 및 0.25 FMV 배지와는 유의한 차이가 없었다.

0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 *C. simplex*의 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.381로 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), f/2 배지의 성장률은 0.366으로 0.25 FMM 배지와 0.25 FMV 배지와 유의한 차이가 없었다.

0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 *P. tricornutum*의 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.421로 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), f/2 배지의 성장률은 0.404로 0.25 FMM 배지의 0.393 및 0.25 FMV 배지의 0.403과 유의한 차이가 없었다.

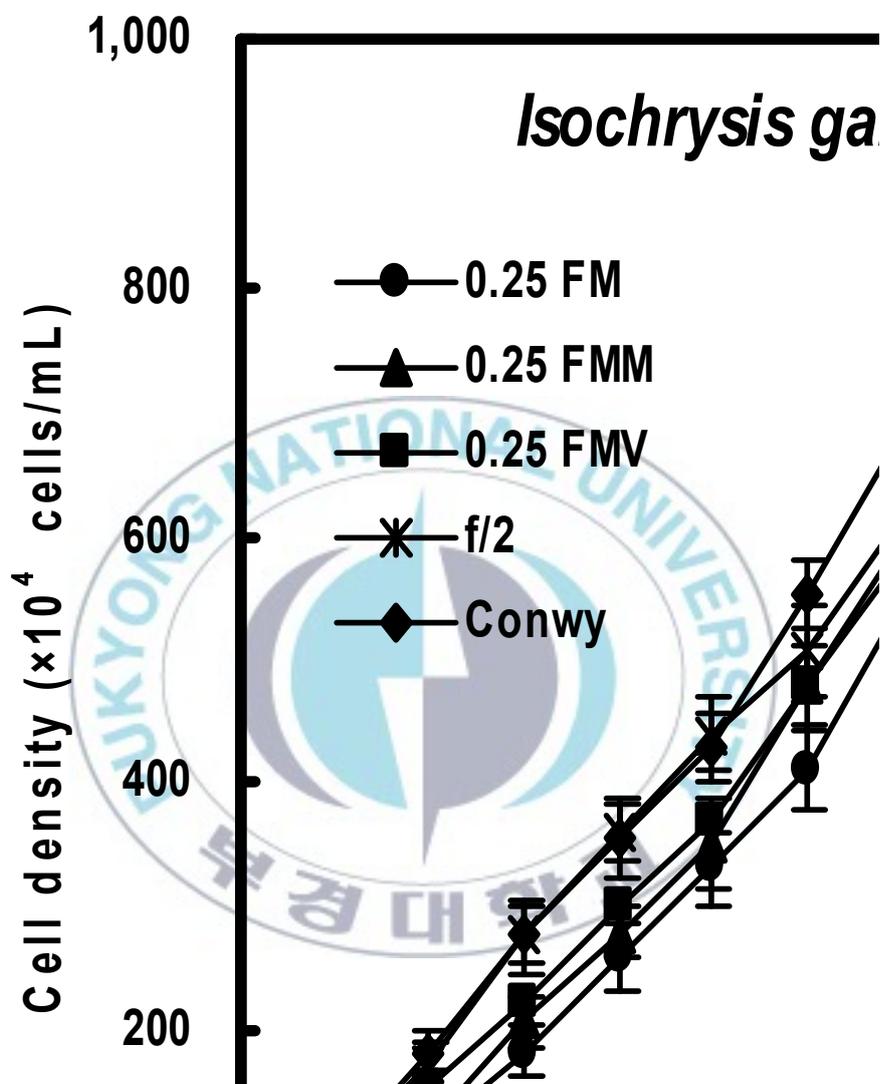


Fig. 14. Growth of five microalgal species at 20°C, 33 psu and 5,000 lux with different media added mineral element and vitamin. Specific growth rate (SGR) was shown in the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ . 0.25 FM medium : compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L, 0.25 FMM : 0.25 FM+mineral element, 0.25 FMV : 0.25 FMM+vitamin.

0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 *T. tetrahele*의 성장 변화는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.355로 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), f/2 배지의 성장률은 0.332로 0.25 FMV 배지의 0.335와 유의한 차이가 없었고, 0.25 FM 배지와 0.25 FMM 배지는 낮은 성장률을 보였다(Fig. 14).

#### 1.4. 비료 배지로 배양시 중간시비에 따른 미세조류의 성장

농업용 비료 배지로 미세조류의 성장을 Conwy 배지의 수준으로 향상시키기 위하여 농업용 비료 0.25배 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM)로 배양한 *I. galbana*의 성장 변화는 중간시비 없이 17일간 배양하였을 때 Conwy 배지의 성장률은 0.405로 비료 배지의 0.343 보다 높았다( $P<0.05$ , Fig. 15).

농업용 비료 배지(0.25 FMM)를 배양 7일째 75%, 50%, 25%로 중간 시비하여 10일간 배양하였을 때 25% 중간 시비 실험구의 성장률은 0.136으로 75% 시비한 0.086 보다 유의하게 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 50% 시비 실험구와는 유의한 차이가 없었다. 중간시비 없이 배양한 Conwy 배지의 세포밀도인  $1,032.0 \times 10^4$  cells/mL 보다 2~3일 정도 늦었지만 25% 중간 시비 실험구의 배양 6일째의 세포밀도는  $1,072.8 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았으며, 이후로는 세포밀도가 정체하는 경향을 보였다(Fig. 16).

농업용 비료 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM)로 배양한 *P. lutheri*의 성장 변화는 중간시비 없이 17일간 배양하였을 때 배양 10일째까지는 Conwy와 비료 배지의 세포밀도가 유의한 차이가 없었으나, 이후로 세포밀도가 차이가 나기 시작하였다. Conwy 배지의 성장률은 0.364로 비료 배지의 0.328 보다 유의하게 높게 나타났다( $P<0.05$ , Fig. 17).

농업용 비료 배지(0.25 FMM)를 배양 7일째 75%, 50%, 25%로 중간 시비하여 10일간 배양하였을 때 25% 중간 시비 실험구의 성장률은 0.070으로 75% 시비한 0.044 보다 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 50% 시비한 실험구와는 유의한 차이가

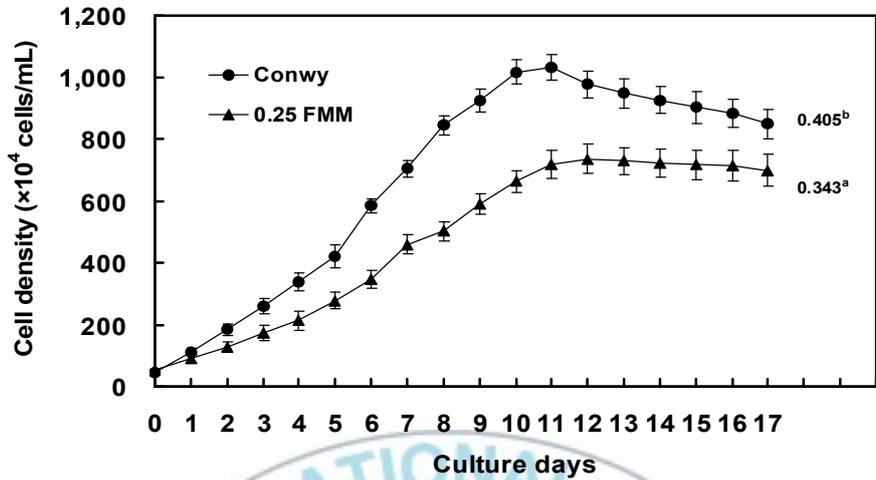


Fig. 15. Growth of *Isochrysis galbana* cultured with Conwy and fertilizer media added mineral element (0.25 FMM) during 17 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

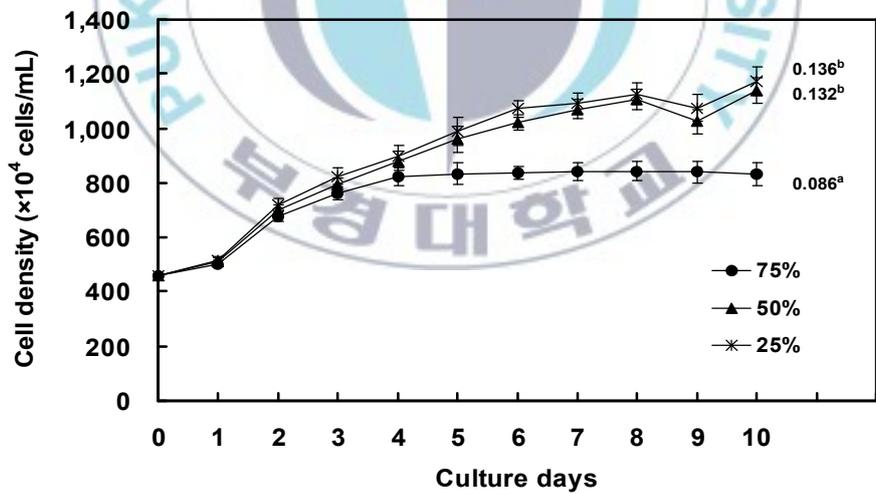


Fig. 16. Growth of *Isochrysis galbana* cultured with additional supplement of fertilizer medium (75, 50, 25%) added mineral element during 10 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

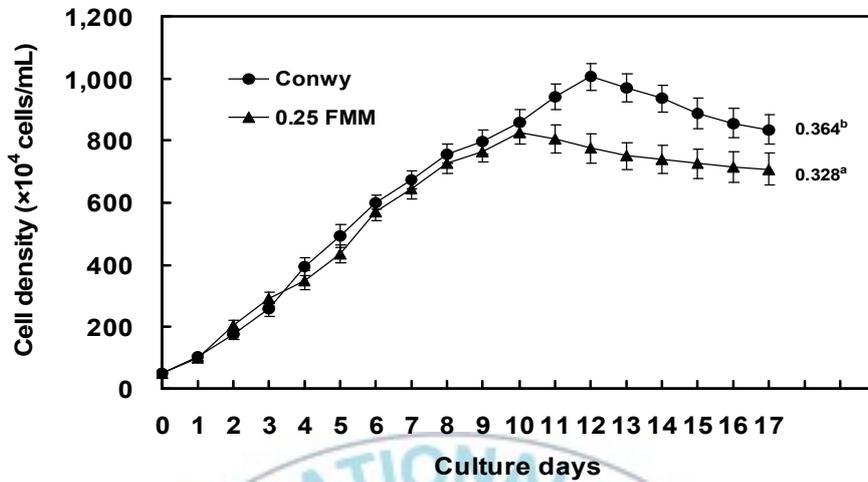


Fig. 17. Growth of *Pavlova lutheri* cultured with Conwy and fertilizer media added mineral element (0.25 FMM) during 17 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

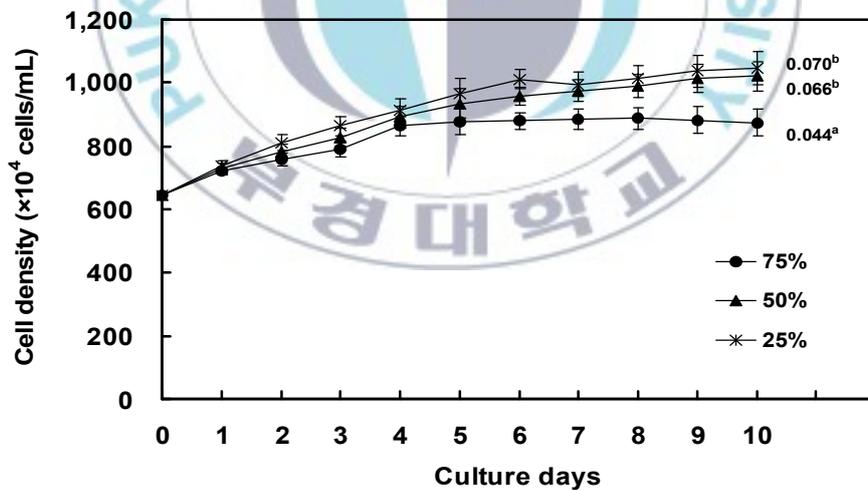


Fig. 18. Growth of *Pavlova lutheri* cultured with additional supplement of fertilizer media (75, 50, 25%) added mineral element during 10 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

없었다. 중간시비 없이 배양한 Conwy 배지의 세포밀도인  $1,005.3 \times 10^4$  cells/mL 보다 1일경 낮았으나, 25% 중간 시비 실험구의 배양 6일째의 세포밀도는  $1,009.9 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았으며, 이후로도 세포밀도가 서서히 증가하는 경향을 보였다(Fig. 18).

농업용 비료 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM)로 배양한 *C. simplex*의 성장 변화는 중간시비 없이 17일간 배양하였을 때 비료 배지가 Conwy 배지 보다 배양 3일째 이후로 더 높게 나타났으며, 배양 7일째 이후로는 비료 배지가 유의하게 높게 나타났고, 비료 배지의 성장률은 0.344로 Conwy 배지의 0.328 보다 높게 나타났다( $P < 0.05$ , Fig. 19).

농업용 비료 배지(0.25 FMM)를 배양 7일째 75%, 50%, 25%로 중간 시비하여 10일간 배양하였을 때 25% 중간 시비 실험구의 성장률은 0.092로 75% 시비한 0.049 보다 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 50% 시비한 실험구와는 유의한 차이가 없었다. 중간시비 없이 배양한 Conwy 배지의 세포밀도인  $972.7 \times 10^4$  cells/mL 보다 2일 정도 더 빠른 25% 중간 시비 실험구의 배양 4일째의 세포밀도는  $982.3 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았고, 비료배지의 세포밀도인  $1,128.1 \times 10^4$  cells/mL 과 동일한 배양 6일째 25% 중간 시비 실험구에서는  $1,166.6 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았으며, 이후로도 세포밀도가 서서히 증가하는 경향을 보였다(Fig. 20).

농업용 비료 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM)로 배양한 *P. tricornutum*의 성장 변화는 중간시비 없이 17일간 배양하였을 때 비료 배지가 Conwy 배지 보다 더 높게 나타났으며, 비료 배지의 성장률은 0.458로 Conwy 배지의 0.434 보다 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). Conwy 배지는 배양 11일, 비료 배지는 배양 14일 이후로 세포밀도가 감소하는 경향을 보였다(Fig. 21).

농업용 비료 배지(0.25 FMM)를 배양 7일째 75%, 50%, 25%로 중간 시비하여 10일간 배양하였을 때 25% 중간 시비한 실험구의 성장률은 0.081로 50% 시비한 실험구의 0.065 보다 높게 나타났으며, 75% 시비한 실험구는 0.018로 낮게

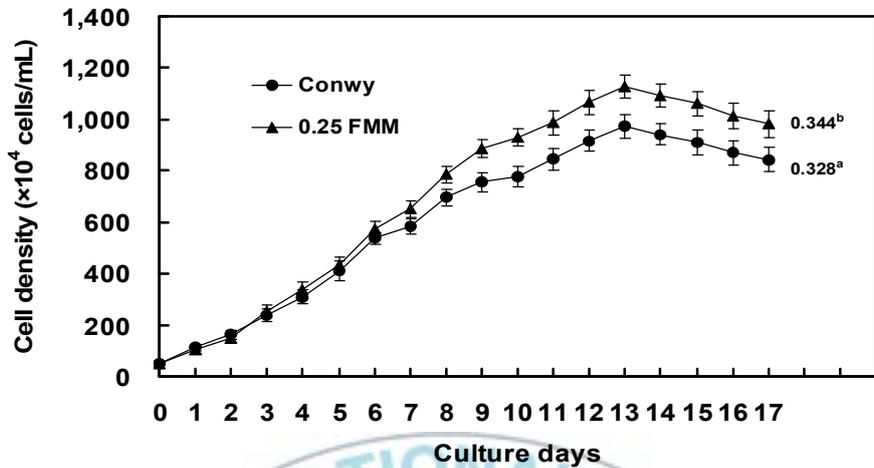


Fig. 19. Growth of *Chaetoceros simplex* cultured with Conwy and fertilizer media added mineral element (0.25 FMM) during 17 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

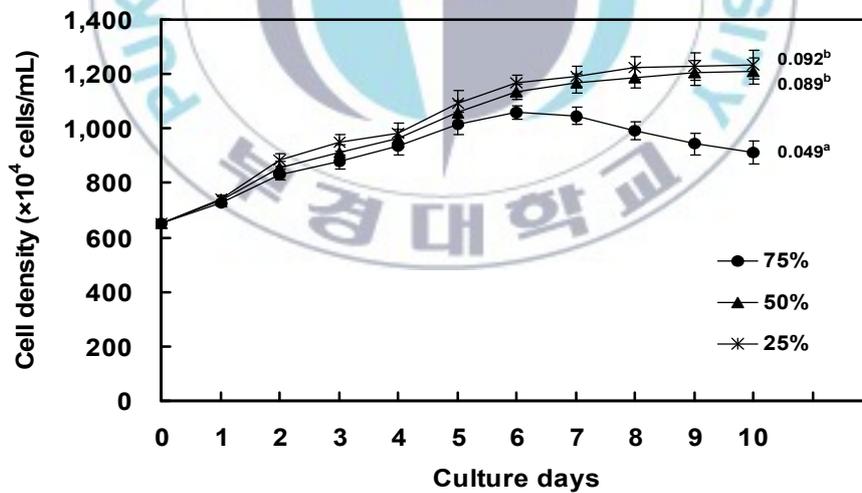


Fig. 20. Growth of *Chaetoceros simplex* cultured with additional supplement of fertilizer media (75, 50, 25%) added mineral element during 10 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

나타났다( $P < 0.05$ ). 중간시비 없이 배양한 Conwy 배지의 배양 10일째 세포밀도인  $1,021.5 \times 10^4$  cells/mL과 동일한 중간 시비 3일째 25% 중간 시비 실험구에서는  $1,062.3 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았고, 중간시비 없이 배양한 비료 배지의 배양 13일째 세포밀도인  $1,226.0 \times 10^4$  cells/mL과 동일한 중간 시비 6일째 25% 중간 시비 실험구에서는  $1,240.6 \times 10^4$  cells/mL로 더 높았으며, 이후로도 세포밀도가 서서히 증가하는 경향을 보였다. 75% 중간 시비한 실험구의 세포밀도는 배양 3일째  $1000.6 \times 10^4$  cells/mL이었고, 이후로는 세포밀도가 점차 감소하는 경향을 보였다(Fig. 22).

농업용 비료 배지에 미량원소를 첨가한 배지( $P < 0.05$ )로 배양한 *T. tetraathele*의 성장 변화는 중간시비 없이 17일간 배양하였을 때 Conwy 배지의 성장률은 0.295로 비료 배지의 0.285와 유의한 차이가 없었다. 배양 12일째까지는 비료 배지의 세포밀도가 Conwy 배지 보다 더 높게 나타났으며, Conwy 배지는 배양 14일, 비료 배지는 배양 12일 이후로 세포밀도가 점차 감소하는 경향을 보였다(Fig. 23).

농업용 비료 배지( $P < 0.05$ )를 배양 7일째 75%, 50%, 25%로 중간 시비하여 10일간 배양하였을 때 25% 중간 시비 실험구의 성장률은 0.096으로 75% 시비한 실험구의 0.078 보다 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 50% 시비한 실험구는 0.092로 25% 시비한 실험구와 유의한 차이가 없었다. 중간 시비 없이 배양한 Conwy 배지의 세포밀도는 배양 13일째까지 지속적으로 증가하였으나, 이후 감소하는 경향을 나타내었고, 중간 시비 25% 실험구의 세포밀도는 배양 3일째 중간 시비 없이 배양한 Conwy 배지의 최대 세포밀도와 유사한 증가를 보였으며 이후에도 서서히 증가 추세를 나타내었다(Fig. 24).

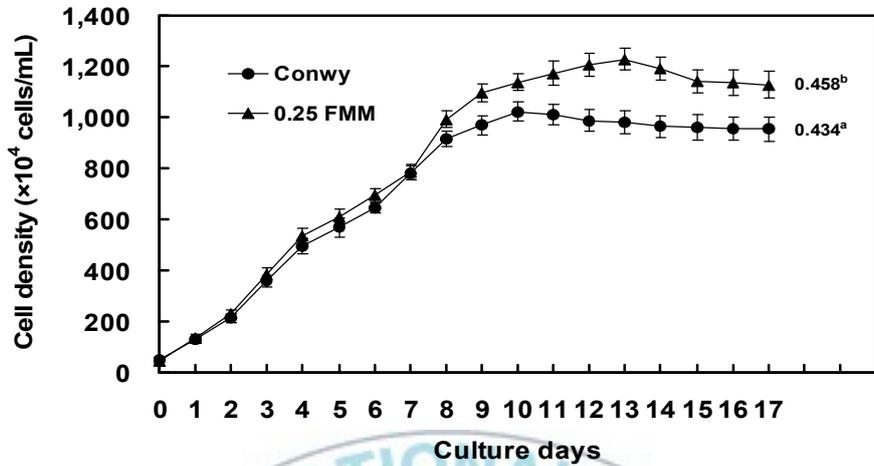


Fig. 21. Growth of *Phaeodactylum tricornutum* cultured with Conwy and fertilizer media added mineral element (0.25 FMM) during 17 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

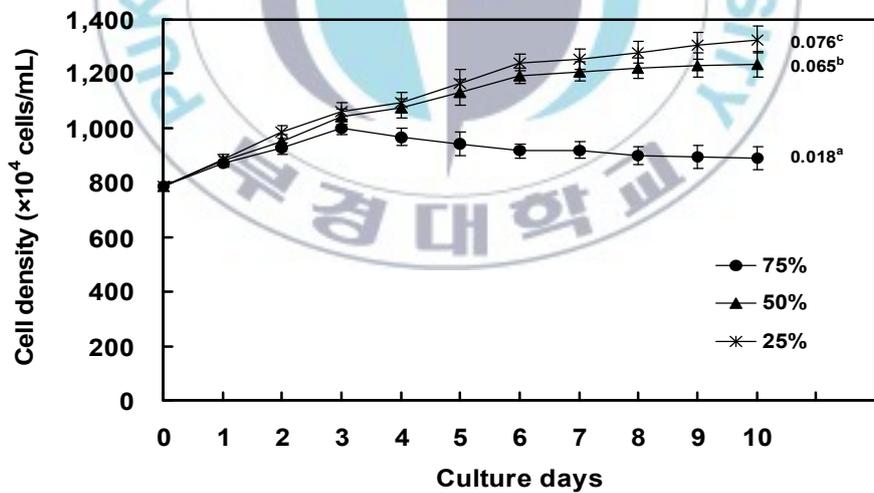


Fig. 22. Growth of *Phaeodactylum tricornutum* cultured with additional supplement of fertilizer media (75, 50, 25%) added mineral element during 10 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

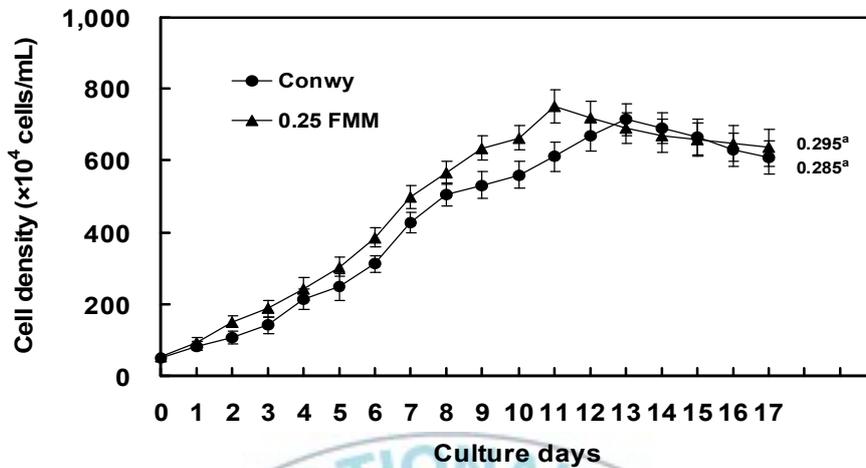


Fig. 23. Growth of *Tetraselmis tetrathele* cultured with Conwy and fertilizer media added mineral element (0.25 FMM) during 17 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

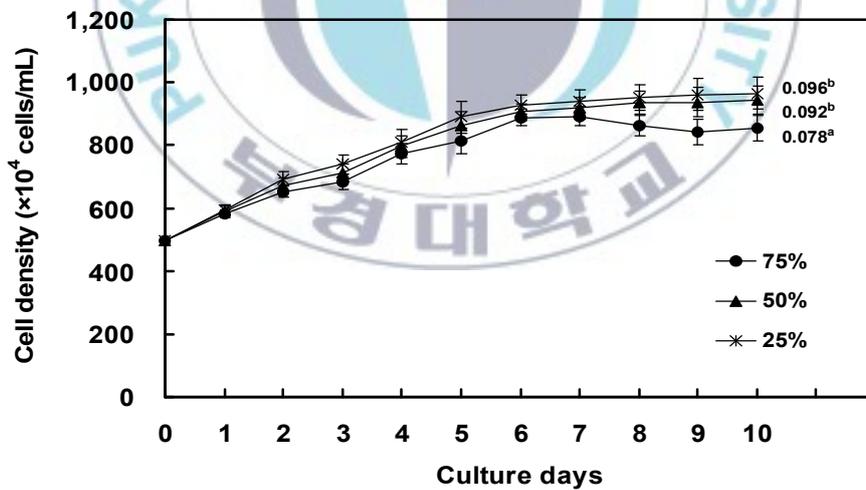


Fig. 24. Growth of *Tetraselmis tetrathele* cultured with additional supplement of fertilizer media (75, 50, 25%) added mineral element during 10 days. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at  $P < 0.05$ .

## 1.5. 배양기간 동안 Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화

### 1.5.1. 농업용 비료 배지에 의한 미세조류의 성장

배지별 영양염의 변화를 알아보기 위하여 Conwy 배지와 농업용 비료 배지를 이용하여 10일간 배양한 미세조류의 성장 변화는 Fig. 25와 같다. *I. galbana*를 10일간 배양한 결과, Conwy 배지의 세포밀도는  $1,032.0 \times 10^4$  cells/mL로 비료 배지의  $949.4 \times 10^4$  cells/mL 보다 높았으나 유의한 차이는 없었고, 성장률은 Conwy 배지에서 0.435로 비료 배지의 0.431에 비해 높았으나 유의한 차이는 없었다. Conwy 배지의 세포밀도는 배양 초기부터 기하급수적으로 증가하지만, 비료 배지는 배양 5일이 지나서 급격히 증가하기 시작하였다.

*P. lutheri*를 10일간 배양한 결과, Conwy 배지의 세포밀도는  $969.5 \times 10^4$  cells/mL로 비료 배지의  $930.7 \times 10^4$  cells/mL 보다 높았으나 유의한 차이는 없었고, 성장률에 있어서도 Conwy 배지에서 0.431로 비료 배지의 0.420에 비해 높았으나 유의한 차이는 없었다. 배양 3일째까지는 비료 배지가 Conwy 배지의 세포밀도 보다 높게 나타났으나 4일째 이후로는 Conwy 배지가  $30 \sim 70 \times 10^4$  cells/mL 더 높게 나타났다.

*C. simplex*를 10일간 배양한 결과, 비료 배지의 세포밀도는  $1117.5 \times 10^4$  cells/mL로 Conwy 배지의  $938.5 \times 10^4$  cells/mL 보다 유의하게 높게 나타났으며, 성장률은 비료 배지에서 0.446으로 Conwy 배지의 0.421에 비해 높았다 ( $P < 0.05$ ). Conwy 및 비료 배지의 세포밀도는 배양 초기부터 기하급수적으로 증가하였고, 배양 7일 이후로는 비료 배지의 세포밀도가 Conwy 배지보다  $80 \sim 100 \times 10^4$  cells/mL 내외로 높은 경향을 보였다.

*P. tricornutum*을 10일간 배양한 결과, 비료 배지 배지의 세포밀도는  $1,232.1 \times 10^4$  cells/mL로 Conwy의  $1,151.5 \times 10^4$  cells/mL 보다 유의하게 높게 나타났으며, 성장률은 비료 배지에서 0.470으로 Conwy 배지의 0.451 보다 높았다 ( $P < 0.05$ ). Conwy 및 비료 배지의 세포밀도는 배양 초기부터 기하급수적으로

증가하였고, 배양 5일 이후로는 비료 배지의 세포밀도가 Conwy 배지보다  $60\sim 80\times 10^4$  cells/mL 내외로 높은 경향을 보였다.

*T. tetraathele*를 10일간 배양한 결과, 비료 배지 배지의 세포밀도는  $771.5\times 10^4$  cells/mL로 Conwy의  $651.5\times 10^4$  cells/mL 보다 유의하게 높게 나타났으며, 성장률은 비료 배지에서 0.386으로 Conwy 배지의 0.370 보다 높았다( $P<0.05$ ). Conwy 및 비료 배지의 세포밀도는 배양 초기부터 기하급수적으로 증가하였고, 배양 5일 이후로는 비료 배지의 세포밀도가 Conwy 배지보다  $60\sim 120\times 10^4$  cells/mL 내외로 높은 경향을 보였다.



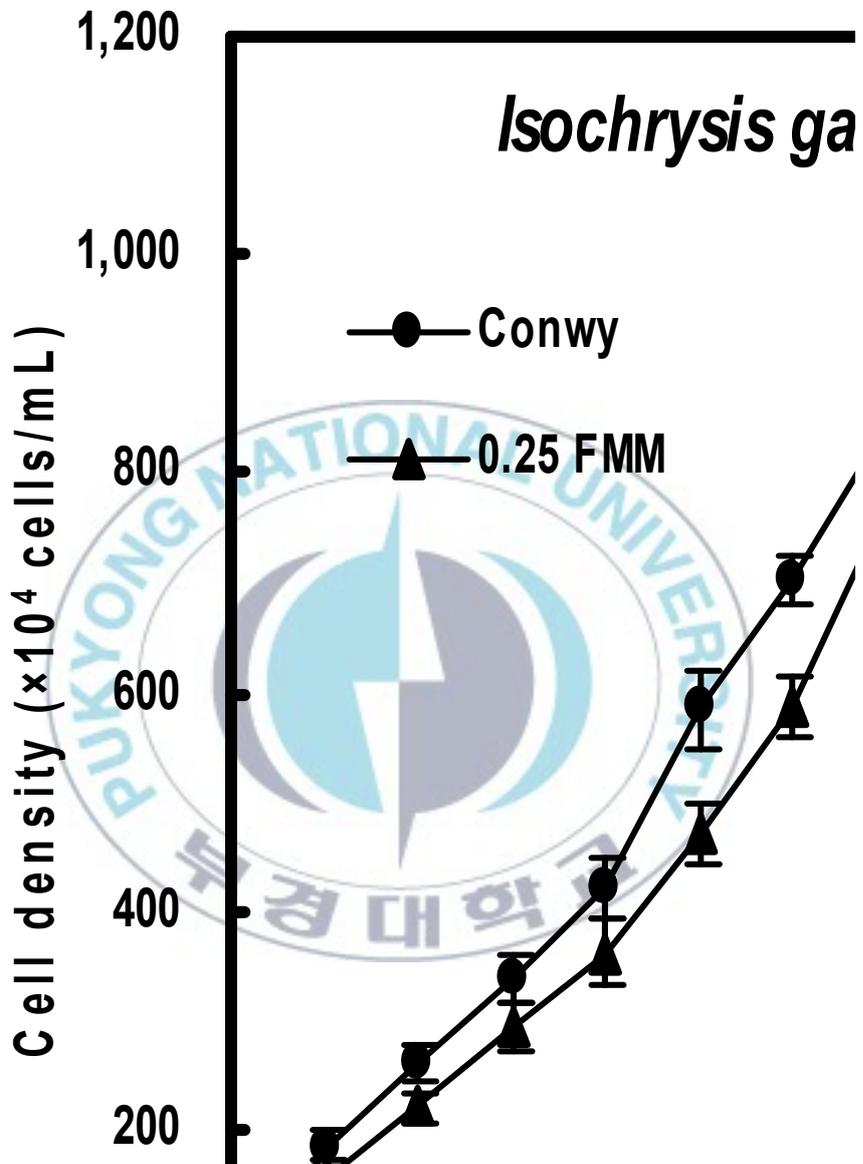


Fig. 25. Growth of five microalgal species at 20°C, 33 psu and 5,000 lux with Conwy and 0.25 FMM media for the analysis of nutrients in the media. Specific growth rate (SGR) was shown on the final culture day. Different letter in the SGR means significantly difference at P<0.05.

### 1.5.2. Conwy와 농업용 비료 배지의 영양염 변화

Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *I. galbana*의 배양기간 동안 영양염의 변화는 Table 7과 같다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.020 mg/L, 비료 배지(0.25 FMM)는 0.590 mg/L로 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 29.5배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.043 mg/L, 비료 배지는 0.105 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 2.4배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.795 mg/L, 비료 배지는 0.194 mg/L로 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.064 mg/L, 비료 배지는 0.111 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.5배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 인산염 농도는 2.016 mg/L, 비료 배지는 1.210 mg/L로 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 인산염 농도는 0.794 mg/L, 비료 배지는 0.413 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.9배 높았다.

Table 7. Variations of nutrient concentration in Conwy and 0.25 FMM media for *Isochrysis galbana* at 20°C, 33 psu and 5,000 lux during 10 days (unit : mg/L)

Media	Culture days	Ammonia	Nitrite	Nitrate	Phosphate
Conwy	0	0.020	0.006	0.795	2.016
	3	0.020	0.056	0.218	2.234
	7	0.029	0.070	0.088	1.568
	10	0.043	0.008	0.064	0.794
Fertilizer (0.25 FMM)	0	0.590	0.008	0.194	1.210
	3	0.247	0.006	0.175	1.101
	7	0.170	0.003	0.147	0.696
	10	0.105	0.003	0.111	0.413

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *P. lutheri*의 배양기간 동안 영양염의 변화는 Table 8과 같다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.020 mg/L, 비료 배지(0.25 FMM)는 0.590 mg/L로 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 29.5배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.065 mg/L, 비료 배지는 0.259 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 약 4배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.795 mg/L, 비료 배지는 0.194 mg/L로 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.074 mg/L, 비료 배지는 0.128 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 인산염 농도는 2.016 mg/L, 비료 배지는 1.210 mg/L로 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 인산염 농도는 0.810 mg/L, 비료 배지는 0.493 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 약 2배 높았다.

Table 8. Variations of nutrient concentration in Conwy and 0.25 FMM media for *Pavlova lutheri* at 20°C, 33 psu and 5,000 lux during 10 days (unit : mg/L)

Media	Culture days	Ammonia	Nitrite	Nitrate	Phosphate
Conwy	0	0.020	0.006	0.795	2.016
	3	0.035	0.008	0.341	1.572
	7	0.042	0.006	0.168	1.079
	10	0.065	0.006	0.074	0.810
Fertilizer (0.25 FMM)	0	0.590	0.008	0.194	1.210
	3	0.467	0.007	0.178	0.905
	7	0.326	0.009	0.152	0.682
	10	0.259	0.008	0.128	0.493

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *C. simplex*의 배양기간 동안 영양염의 변화는 Table 9와 같다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.024 mg/L, 비료 배지(0.25 FMM)는 0.542 mg/L로 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 22.6배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.061 mg/L, 비료 배지는 0.211 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 3.4배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.995 mg/L, 비료 배지는 0.171 mg/L로 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4.6배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.067 mg/L, 비료 배지는 0.113 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 인산염 농도는 1.935 mg/L, 비료 배지는 1.239 mg/L로 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 인산염 농도는 0.784 mg/L, 비료 배지는 0.371 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 2.1배 높았다.

Table 9. Variations of nutrient concentration in Conwy and 0.25 FMM media for *Chaetoceros simplex* at 20°C, 33 psu and 5,000 lux during 10 days (unit : mg/L)

Media	Culture days	Ammonia	Nitrite	Nitrate	Phosphate
Conwy	0	0.024	0.009	0.995	1.935
	3	0.032	0.008	0.449	1.160
	7	0.041	0.008	0.127	1.012
	10	0.061	0.007	0.067	0.784
Fertilizer (0.25 FMM)	0	0.542	0.009	0.171	1.239
	3	0.425	0.008	0.151	0.956
	7	0.357	0.007	0.130	0.661
	10	0.211	0.007	0.113	0.371

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *P. tricorutum*의 배양 기간 동안 영양염의 변화는 Table 10과 같다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.024 mg/L, 비료 배지(0.25 FMM)는 0.542 mg/L로 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 22.6배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.074 mg/L, 비료 배지는 0.128 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 1.3배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.795 mg/L, 비료 배지는 0.171 mg/L로 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4.6배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.083 mg/L, 비료 배지는 0.110 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.5배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 인산염 농도는 1.935 mg/L, 비료 배지는 1.239 mg/L로 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 약 1.6배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 인산염 농도는 1.088 mg/L, 비료 배지는 0.308 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 3.5배 높았다.

Table 10. Variations of nutrient concentration in Conwy and 0.25 FMM media for *Phaeodactylum tricorutum* at 20°C, 33 psu and 5,000 lux during 10 days (unit : mg/L)

Media	Culture days	Ammonia	Nitrite	Nitrate	Phosphate
Conwy	0	0.024	0.007	0.795	1.935
	3	0.043	0.008	0.410	1.655
	7	0.068	0.007	0.184	1.215
	10	0.074	0.006	0.083	1.088
Fertilizer (0.25 FMM)	0	0.542	0.009	0.171	1.239
	3	0.513	0.008	0.152	0.964
	7	0.270	0.007	0.126	0.617
	10	0.128	0.007	0.110	0.308

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *T. tetrahele*의 배양기간 동안 영양염의 변화는 Table 11과 같다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.020 mg/L, 비료 배지(0.25 FMM)는 0.590 mg/L로 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 29.5배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 암모니아 농도는 0.077 mg/L, 비료 배지는 0.015 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 5.1배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.795 mg/L, 비료 배지는 0.194 mg/L로 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 질산염 농도는 0.232 mg/L, 비료 배지는 0.127 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.8배 높았다. 배양 시작 시 Conwy 배지의 인산염 농도는 1.316 mg/L, 비료 배지는 1.210 mg/L로 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 약 1.1배 높았다. 배양 10일째 Conwy 배지의 인산염 농도는 0.095 mg/L, 비료 배지는 0.392 mg/L로 나타났으며, 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 4.1배 높았다.

Table 11. Variations of nutrient concentration in Conwy and 0.25 FMM media for *Tetraselmis tetrahele* at 20°C, 33 psu and 5,000 lux during 10 days (unit : mg/L)

Media	Culture days	Ammonia	Nitrite	Nitrate	Phosphate
Conwy	0	0.020	0.006	0.795	1.316
	3	0.034	0.007	0.601	0.650
	7	0.058	0.007	0.260	0.311
	10	0.077	0.008	0.232	0.095
Fertilizer (0.25 FMM)	0	0.590	0.008	0.194	1.210
	3	0.320	0.0075	0.180	0.916
	7	0.172	0.006	0.158	0.705
	10	0.015	0.006	0.127	0.392

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

## 2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙

### 2.1. 비만도

피조개 어미의 연체부지수는 사육초기에는 변화가 없었으나, 사육 15일부터 모든 실험구에서 먹이생물을 활발히 섭취하는 경향이 있었고, 사육 15일째 혼합먹이 공급구(mixed : *I. galbana*+*P. tricornutum*+*T. tetrahele*)의 연체부지수가 58.49로 다른 먹이 공급구에 비해 유의하게 높게 나타났( $P<0.05$ ). 사육 30일째 연체부지수는 혼합먹이공급구에서 64.17로 *T. tetrahele* 공급구의 61.37 보다 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), *I. galbana*와 *P. tricornutum* 공급구에서는 유의한 차이가 없었다. 사육 45일째 연체부지수는 혼합먹이공급구에서 67.58로 *T. tetrahele* 공급구의 64.05 보다 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 연체부지수가 급격히 증가하는 경향을 보였다(Fig. 26).

각부용적지수는 사육 15일째 먹이 실험구 간에 차이가 없었고, 사육 30일째 부터 혼합먹이공급구와 *T. tetrahele* 공급구에서 각부용적지수가 21로 증가하기 시작하여 사육 45일째 각부용적지수는 혼합먹이공급구와 *T. tetrahele* 공급구에서 22로 증가하였으나, 실험구 간에 유의한 차이는 없었다(Fig. 26).

### 2.2. 생식소 발달

피조개 어미의 생식소 발달단계는 생식세포의 형태, 크기 및 분화의 조직학적 특징을 토대로 하여 초기활성기, 후기활성기, 완숙기, 부분산란기의 4단계로 구분할 수 있었다.

#### 초기활성기(early active stage)

암컷의 경우, 난소는 크고 작은 수많은 원형 또는 타원형의 난자형성소낭(oogenic follicle)으로 구성되어 있으며, 초기 난모세포들의 난경은 15  $\mu\text{m}$  내외로 호염기성의 세포질 내에 뚜렷한 인을 가진 핵이 대부분을 차지하였고, 소낭의 벽에서 활발히 증식되고 있었다(Fig. 27A).

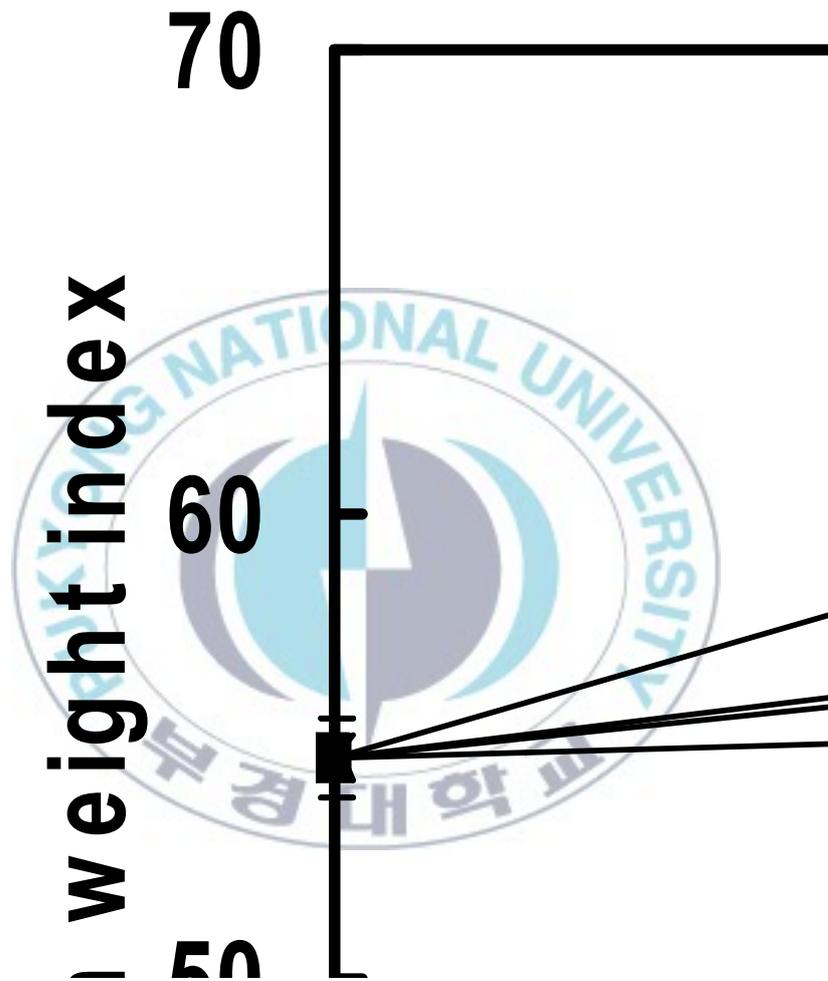


Fig. 26. Flesh weight index (up) and volumetric index (bottom) of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species (mixed : *Isochrysis galbana*+*Phaeodactylum tricornutum*+*Tetraselmis tetrahele*). Different letter on the final day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

수컷의 경우, 정소에는 새로운 세관이 형성되고, 이들의 생식상피 위에서 정원세포가 활발히 분열하여 그 수가 증가하며, 정자형성소낭(spermatogenic follicle) 벽에서 대부분의 정원세포들과 일부 정모세포들의 불규칙한 배열 상을 관찰할 수 있었다(Fig. 27E).

그리고 미세조류 종류에 따른 초기활성기 출현율은 암컷과 수컷의 경우 사육 45일 경과 후 *I. galbana* 공급구에서만 15%로 나타났다.(Fig. 28).

#### **후기활성기(late active stage)**

암컷의 경우, 난자형성소낭벽은 초기활성기에 비해서 얇아져 있었으며, 소낭의 면적은 증가되어 나타났다. 이 시기에는 주로 직경 크기가 40  $\mu\text{m}$  내외인 호산성의 세포질을 가지는 난모세포들이 난병으로 연결되어 내강 쪽으로 발달된 양상을 보였다(Fig. 27B).

정자의 경우, 정자형성소낭은 난소에서와 같이 얇아진 상태였으며, 소낭벽 근처에서는 일부 정원세포들이 관찰되었고, 소낭의 내강 쪽은 대부분 정원세포보다 크기가 큰 작은 호염기성의 정모세포들이 차지하고 있었다(Fig. 27F).

그리고 미세조류 종류에 따른 어미의 생식소 발달단계는 암컷의 경우, 사육 45일 경과 후 *P. tricornutum* 공급구에서 후기활성기 출현율은 27%로 가장 높게 나타났으나 *I. galbana* 공급구의 24%와 유의한 차이가 없었고, *T. tetrathele* 공급구에서는 12%로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 혼합먹이공급구에서는 후기활성기가 관찰되지 않았다.

수컷의 경우, 후기활성기 출현율은 *I. galbana* 공급구에서 20%로 가장 높았고, *P. tricornutum*은 15%로 *I. galbana* 공급구와 유의한 차이가 없었다(Fig. 28).

#### **완숙기(ripe stage)**

암컷의 경우, 호산성의 미세한 난황과립으로 채워진 난모세포들이 난병에서

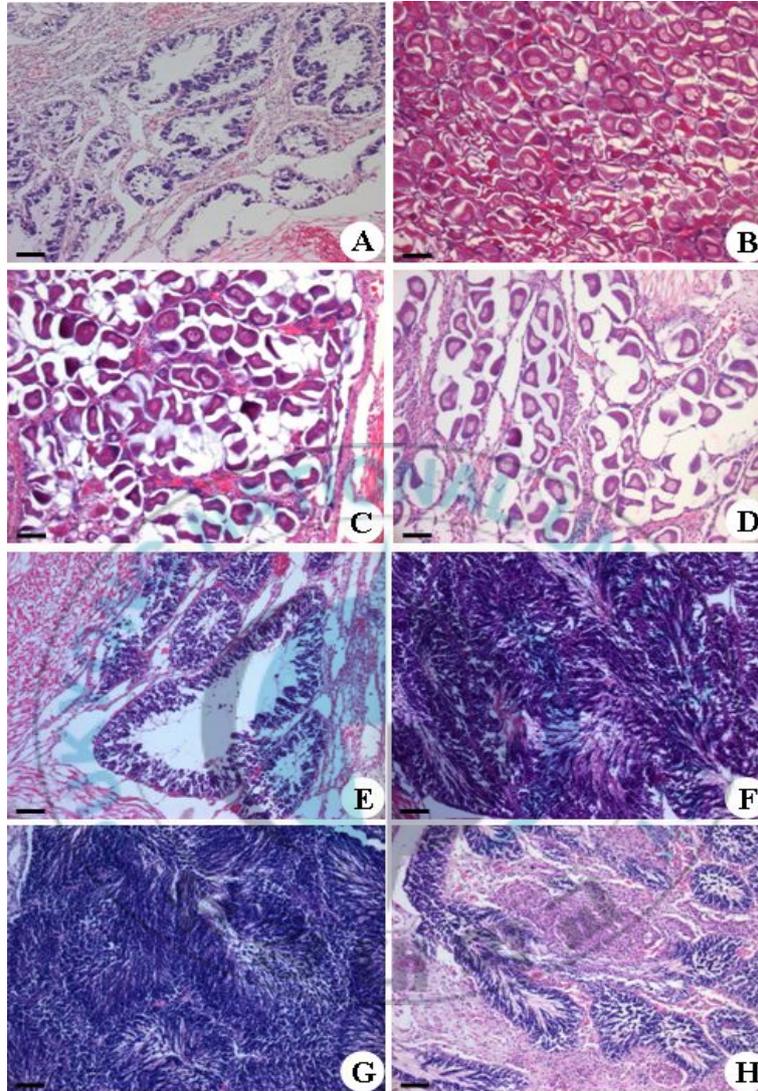


Fig. 27. Photomicrographs of gonadal phases of the female (A-D) and male (E-H) of *Scapharca broughtonii*. A, section of oogenic follicles in the early active stage; B, section of the ovarian sacs in the late active stage; C, section of the ovarian sacs in the ripe stage; D, section of the ovarian sacs in the partially spawned stage; E, section of testicular tubules in the early active stage; F, section of the tubules in the late active stage; G, section of the tubules in the ripe stage; H, section of the tubules in the partially spawned stage. Scale bar = 50  $\mu$ m.

분리되어 소낭 안쪽까지 분포하며, 소낭 내강에는 난경이 60  $\mu\text{m}$  내외인 완숙 난모세포로 가득 채워져 최대로 비후해 있었다. 이들 완숙난모세포들의 핵은 세포질의 절반을 차지하고 있었다(Fig. 27C).

수컷의 경우, 성숙분열을 마친 정세포가 생식상피 주변에 층만 되었고, 성숙 변태한 정자들이 세정관을 채움으로써 물결모양의 흐름을 이루었다. 성숙한 정자의 두부는 강한 염기성 반응을 나타내었으며, 소낭의 벽쪽을 향하고 있었고, 산성 색소에 염색되는 미부는 중앙내강을 향하고 있었다(Fig. 27G).

그리고 미세조류 종류에 따른 어미의 생식소 발달단계는 암컷의 경우, 사육 45일 경과 후 혼합먹이공급구에서 완숙기 출현율이 87%로 가장 높았고 ( $P<0.05$ ), *T. tetrathele* 공급구는 83%로 혼합공급구와 유의한 차이가 없었으며, *P. tricornutum* 공급구에서 73%였으며, *I. galbana* 공급구의 완숙기 출현율은 61%로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ).

수컷의 경우, 혼합먹이공급구에서 완숙기 출현율이 95%로 가장 높았고 ( $P<0.05$ ), *T. tetrathele* 공급구는 90%로 혼합공급구와 유의한 차이가 없었으며, *P. tricornutum* 공급구에서 82%였으며, *I. galbana* 공급구의 완숙기 출현율은 65%로 낮게 나타났다( $P<0.05$ , Fig. 28).

#### **부분산란기(partially spawned stage)**

암컷의 경우, 난소에서는 산란기에 이르러 난소소낭의 내강중앙에 자리 잡고 있던 완숙난모세포들이 방출되므로 소낭의 내강은 거의 빈 공간으로 되고, 일부 방출 중인 난모세포가 나타났다(Fig. 27D).

수컷의 경우, 정소에서는 정자의 방출이 일어나면서 물결모양의 정자배열은 없어지고 세관 내에 빈 곳이 생겨났으며, 일부 방출 중인 정자가 관찰되는 방정기의 조직상을 보였다. 이 시기에 정자형성소낭벽 근처에서는 다수의 정원세포와 정모세포들을 관찰할 수 있었다(Fig. 27H).

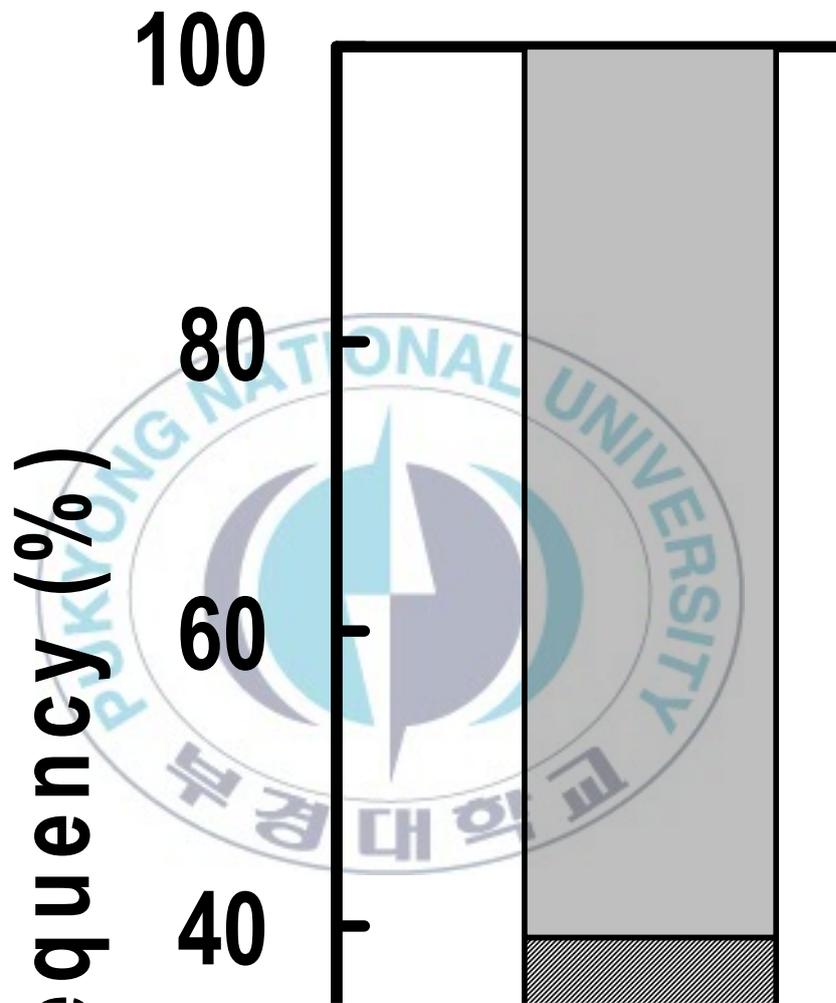


Fig. 28. Frequency of gonadal phases of *Scapharca broughtonii* fed different microalgal species during 45 days (mixed : *Isochrysis galbana*+*Phaeodactylum tricornutum*+*Tetraselmis tetraele*).

그리고 미세조류 종류에 따른 어미의 생식소 발달단계는 암컷의 경우, 사육 45일 경과 후 혼합공급구에서 부분산란기 출현율이 13%로 *T. tetrathele* 공급구의 5% 보다 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

수컷의 경우, *T. tetrathele* 공급구의 부분산란기 출현율이 10%로 가장 높았고 ( $P < 0.05$ ), *P. tricornutum* 공급구에서 3%로 가장 낮게 나타났으며, *I. galbana* 공급구에서는 부분산란기가 관찰되지 않았다.

### 2.3. 성숙유도

미세조류의 종류에 따른 피조개 어미의 성 성숙유도율은 자연 방란·방정 후 조사한 결과, 3종의 미세조류를 혼합한 혼합 먹이공급구의  $65.6 \pm 1.2\%$ 로 다른 실험구에 비해 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), 단독 먹이공급구에서는 *T. tetrathele* 공급구가  $61.1 \pm 2.4\%$ 로 *I. galbana*나 *P. tricornutum*을 단독으로 공급한 것 보다 높게 나타났으나( $P < 0.05$ ), 혼합 먹이공급구와 *T. tetrathele* 공급구와는 유의한 차이가 없었다(Fig. 29).

피조개 어미의 생존율은 사육기간 동안 혼합 먹이공급구가 가장 높았으며, 단독 먹이공급구에서는 *T. tetrathele* 공급구가 높았다( $P < 0.05$ ). 혼합 먹이공급구의 생존율이 88.3%로 가장 높았고, 그 다음으로 *T. tetrathele* 공급구에서 83.3%, *P. tricornutum* 공급구에서 72.7%로 나타났다. 혼합 먹이공급구와 *T. tetrathele* 공급구 간에는 유의한 차이가 없으며, *I. galbana* 공급구는 61.0%로 다른 실험구에 비해 낮게 나타났다( $P < 0.05$ , Fig. 30).

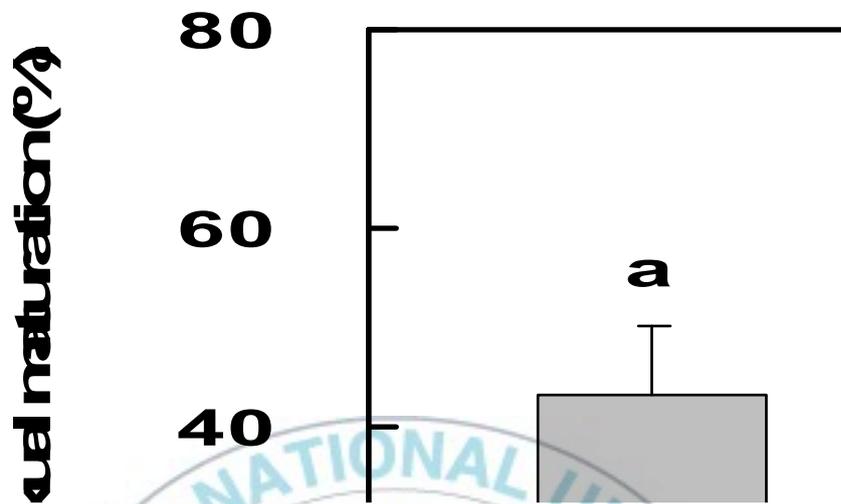


Fig. 29. Percent of induced sexual maturation of *Scapharca broughtonii* broodstock fed single and mixed microalgal species during 45 days. (mixed : *Isochrysis galbana*+*Phaeodactylum tricirrutum*+*Tetraselmis tetrathele*). Different letter on the bar means significantly difference at  $P < 0.05$ .

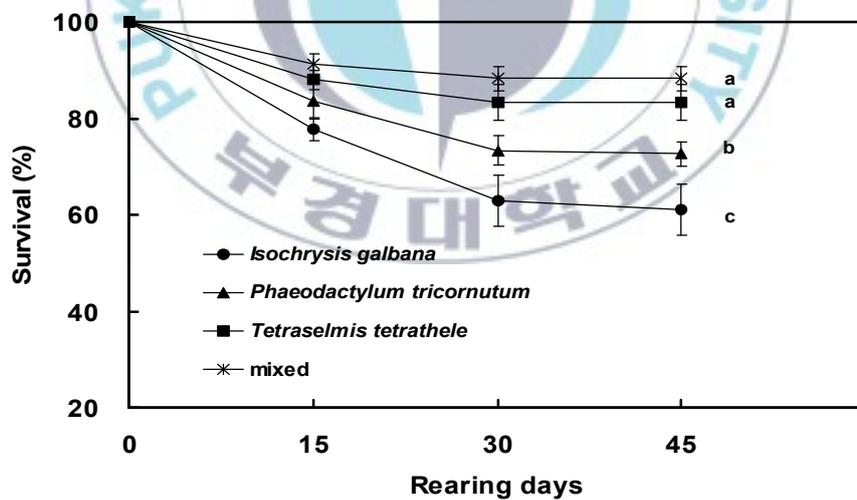


Fig. 30. Survival of *Scapharca broughtonii* broodstock fed single and mixed microalgal species during 45 days (mixed : *Isochrysis galbana*+*Phaeodactylum tricirrutum*+*Tetraselmis tetrathele*). Different letter on the final day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

### 3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율

#### 3.1. 유생의 성장과 생존

서로 다른 미세조류를 먹이로 공급한 피조개 유생의 성장은 Fig. 31과 같다. 사육 6일째 유생(D형 유생 단계)의 성장은 혼합 공급구에서  $106.2 \pm 9.5 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으나 다른 실험구와 유의한 차이는 없었다.

사육 18일째 유생(각정기 단계)의 성장은 혼합 공급구에서 평균 각장  $219.7 \pm 21.7 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 그 다음으로 *C. simplex*, *I. galbana*, *P. lutheri*의 순으로 나타났다.

사육 20일째 유생의 성장은 혼합 공급구에서 평균 각장  $230.8 \pm 17.1 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 단일 공급구에서 *C. simplex* 공급구의 평균 각장  $205.8 \pm 14.2 \mu\text{m}$ 로 나타났고, 그 다음으로 *I. galbana*, *P. lutheri*의 순으로 나타났다. 그리고 혼합 공급구는 부착기 유생 단계( $230 \mu\text{m}$ )까지 매우 빠른 성장을 나타내었으나 단일 먹이공급구는 각장  $200 \mu\text{m}$  내외의 느린 성장을 나타내었다.

사육 24일째 유생(부착기 유생 단계)의 성장은 혼합 공급구에서 평균 각장  $261.3 \pm 13.5 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 단일 공급구에서 *C. simplex* 공급구는 평균 각장  $240.5 \pm 15.4 \mu\text{m}$ 로 혼합공급구 보다 낮게 나타났으나 다른 단일 공급구인 *I. galbana*, *P. lutheri* 공급구 보다 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

서로 다른 미세조류를 먹이로 공급한 피조개 유생의 생존율(Fig. 31)은 사육 6일째(D형 유생 단계) 혼합 공급구에서  $69.7 \pm 8.2\%$ 로 가장 높았으나( $P < 0.05$ ), 단일 공급구인 *C. simplex*와 *I. galbana* 공급구와는 유의한 차이가 없었고, *P. lutheri* 공급구에서  $58.8 \pm 10.0\%$ 로 가장 낮게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 이후로는 생존율이 점차 감소하는 경향을 보였다.

사육 18일째 유생(각정기 단계)의 생존율은 혼합 공급구에서  $28.0 \pm 6.7\%$ 로 *C. simplex* 공급구의  $17.6 \pm 3.0\%$  보다 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), *I. galbana*와 *P. lutheri* 공급구는 각각  $10.2 \pm 3.9\%$ 와  $5.0 \pm 2.4\%$ 로 낮게 나타났으며 두 실험구 간에는

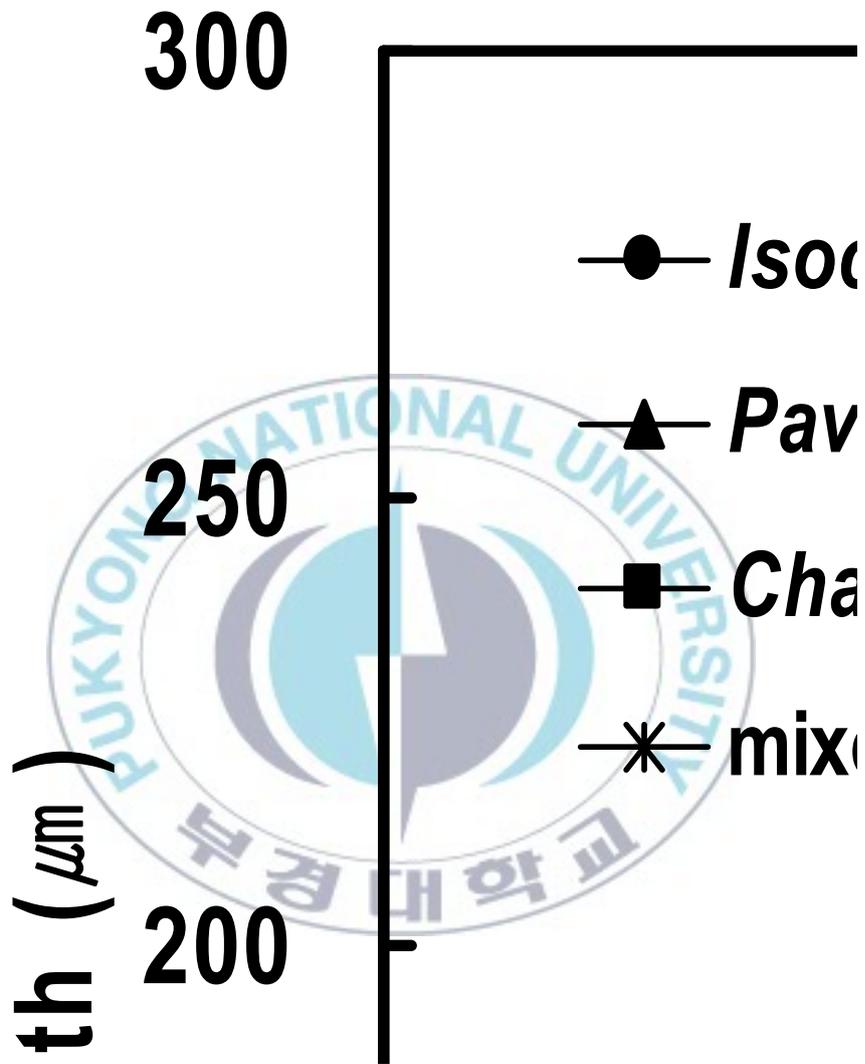


Fig. 31. Growth (up) and survival (bottom) of the larvae of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species during 24 days (mixed; *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*). Different letter on the final day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

유의한 차이가 없었다.

사육 24일째 유생(부착기 유생 단계)의 생존율은 혼합 공급구에서  $27.4 \pm 5.3\%$ 로 *C. simplex* 공급구의  $14.5 \pm 2.3\%$  보다 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), *I. galbana*와 *P. lutheri* 공급구는 각각  $6.3 \pm 1.1\%$ 와  $3.0 \pm 1.2\%$ 로 낮게 나타났으며 두 실험구 간에는 유의한 차이가 없었다.

### 3.2. 부착치패의 성장 및 생존

서로 다른 미세조류를 먹이로 공급한 피조개 부착치패의 성장은 Fig. 32와 같다. 사육 10일째 부착치패의 성장은 혼합 공급구에서 각장  $707.4 \pm 84.10 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구가  $689.5 \pm 76.9 \mu\text{m}$ 로 높았으나 다른 단일 공급구와 유의한 차이는 없었다. 사육 20일째 부착치패의 성장은 혼합 공급구에서 각장  $819.7 \pm 85.5 \mu\text{m}$ 로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구가  $789.0 \pm 98.9 \mu\text{m}$ 로 *P. lutheri* 공급구의  $759.1 \pm 90.8 \mu\text{m}$  보다 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 사육 30일째 부착치패의 성장은 혼합 공급구에서 각장  $1,114.8 \pm 128.0 \mu\text{m}$ 로 *C. simplex* 공급구의  $897.9 \pm 89.7 \mu\text{m}$  보다 유의하게 더 빨랐으며( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구의 성장은 *P. lutheri* 공급구의  $801.3 \pm 106.9 \mu\text{m}$  보다 유의하게 높았고( $P < 0.05$ ), *I. galbana* 공급구의  $876.2 \pm 76.3 \mu\text{m}$ 와 유의한 차이는 없었다.

서로 다른 미세조류를 먹이로 공급한 피조개 부착치패의 생존율(Fig. 32)은 사육 10일째 혼합 공급구에서  $85.4 \pm 5.2\%$ 로 *P. lutheri* 공급구의  $76.3 \pm 4.5\%$  보다 유의하게 높았으나( $P < 0.05$ ), 단일 공급구인 *C. simplex*나 *I. galbana* 공급구와 유의한 차이는 없었다. 사육 20일째 부착치패의 생존율은 혼합 공급구에서  $69.9 \pm 5.6\%$ 로 *C. simplex* 공급구의  $62.7 \pm 6.6\%$  보다 유의하게 높았고( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구의 생존율은 *P. lutheri* 공급구의  $54.9 \pm 7.6\%$  보다 유의하게 높았으나( $P < 0.05$ ), *I. galbana* 공급구의  $61.9 \pm 6.5\%$ 와 유의한 차이는 없었다. 사육 30일째 부착치패의 생존율은 혼합 공급구에서  $61.3 \pm 5.5\%$ 로 *C. simplex* 공급구의

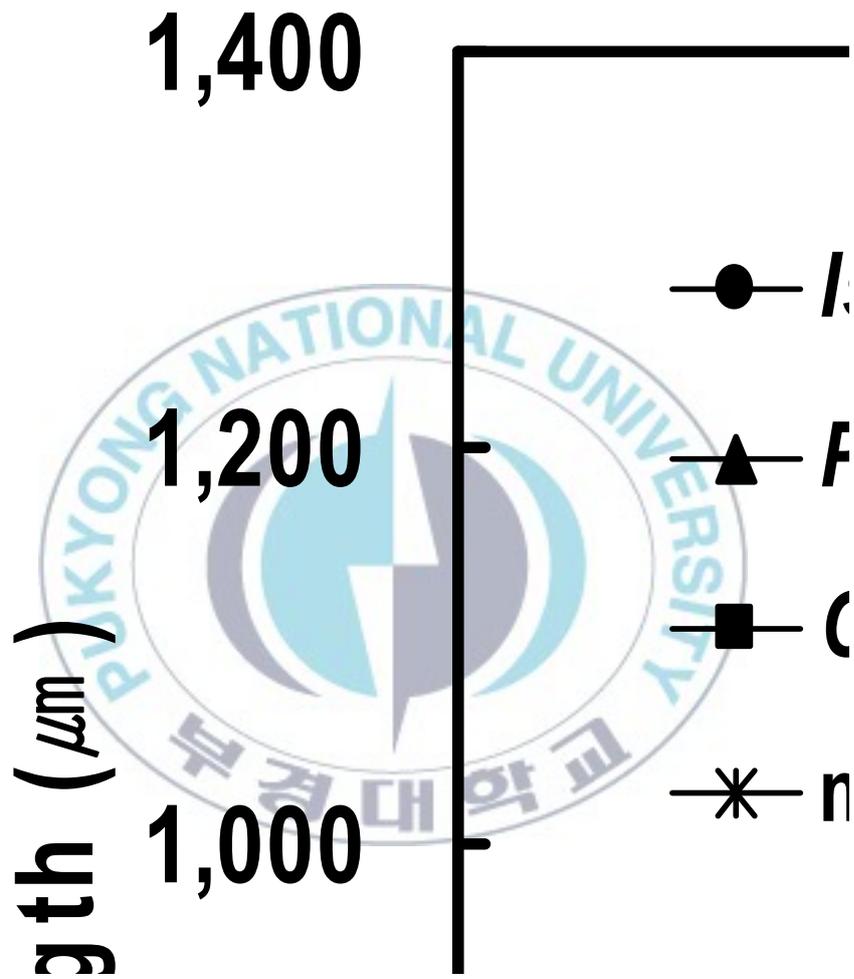


Fig. 32. Growth (up) and survival (bottom) of the spat of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species during 30 days (mixed : *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*). Different letter on the final day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

54.4±6.1% 보다 유의하게 높았고(P<0.05), *C. simplex* 공급구의 생존율은 *I. galbana* 공급구의 49.2±4.7% 보다 높았으며(P<0.05), *P. lutheri* 공급구에서 43.7±7.0%로 가장 낮게 나타났다(P<0.05).

### 3.3. 미세조류와 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성

#### 3.3.1. 미세조류의 아미노산 및 지방산 조성

피조개 유생 및 부착치패의 먹이로서 *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex* 등 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합한 미세조류의 아미노산 조성은 Table 12에 나타내었다. 아미노산 조성은 미세조류의 종류에 관계없이 비슷한 경향을 보였으나, aspartic acid와 glutamic acid가 24.4±0.37~47.6±0.30%로 가장 높은 조성을 보였고, methionine, tyrosine과 histidine은 5.5±2.97~10.8±0.15%로 비교적 낮은 조성을 보였다. 착편모조류인 *I. galbana*와 *P. lutheri* 중에서 *P. lutheri*가 아미노산 함량이 높은 경향을 보였고, 착편모조류인 *P. lutheri*와 규조류인 *C. simplex* 중에서 아미노산 함량은 전반적으로 *P. lutheri*가 유의하게 높게 나타났으나(P<0.05), glutamic acid, threonine, methionine 등에서는 유의한 차이가 없었다. 혼합 먹이는 *C. simplex*와 비슷한 경향을 보였고, glutamic acid의 경우 혼합 먹이 보다 *C. simplex*에서 44.8±14.97%로 매우 높게 나타났다.

피조개 유생 및 부착치패의 먹이로서 *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex* 등 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합한 미세조류의 지방산 조성은 Table 13에 나타내었다. Palmitic acid (16:0) 함량은 *P. lutheri*에서 17.9±0.46%로 가장 높았고(P<0.05), *I. galbana*와 혼합구인 I+P+C는 각각 15.2±1.72%, 15.4±0.87%로 *C. simplex* 보다 유의하게 높았으나(P<0.05) 두 실험구 간에는 차이가 없었으며, *C. simplex*는 7.2±0.26%로 가장 낮게 나타났다. Stearic acid (18:0) 함량은 *P. lutheri*에서 2.0±0.59%로 가장 높게 나타났고(P<0.05), 다음으로 *C. simplex*가 0.7±0.11%, 혼합구가 0.5±0.05%였으며, *I. galbana*에서는 나타나지 않았다.

Oleic acid (18:1n9) 함량은 *I. galbana*에서  $15.9 \pm 0.60\%$ 로 혼합구의  $6.4 \pm 0.14\%$  보다 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), *P. lutheri*와 *C. simplex*는 각각  $1.9 \pm 0.40\%$ ,  $1.6 \pm 0.16\%$ 로 유의하게 낮게 나타났다. Linoleic acid (18:2n6) 함량은 다른 미세조류보다 *I. galbana*에서  $7.3 \pm 0.48\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 혼합구의  $3.5 \pm 0.11\%$ , *P. lutheri*의  $2.0 \pm 0.48\%$ , *C. simplex*의  $1.1 \pm 0.04\%$  순으로 나타났다.  $\alpha$ -linolenic acid (18:3n3) 함량은 다른 미세조류보다 *I. galbana*에서  $8.2 \pm 0.38\%$ 로 가장 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), 다음으로 혼합구의  $3.4 \pm 0.11\%$ , *P. lutheri*의  $1.7 \pm 0.46\%$  순이었으며, *C. simplex*에서는 나타나지 않았다.

Arachidonic acid (20:4n6, AA) 함량은 혼합구에서  $3.1 \pm 0.07\%$ 로 *P. lutheri*의  $1.2 \pm 0.67\%$  보다 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), eicosapentaenoic acid (20:5n3, EPA) 함량은 *C. simplex*에서만  $25.9 \pm 0.64\%$ 로 나타났다.

포화지방산(saturated fatty acids) 함량은 *P. lutheri*에서  $42.8 \pm 0.99\%$ 로 *I. galbana*의  $36.1 \pm 2.34\%$  보다 유의하게 높게 나타났으나( $P < 0.05$ ), 혼합구의  $42.4 \pm 0.87\%$ 와는 유의한 차이를 보이지 않았으며, *C. simplex*에서는  $28.7 \pm 0.26\%$ 로 가장 낮게 나타났다. 단순불포화지방산(mono - unsaturated fatty acids) 함량은 다른 미세조류보다 *P. lutheri*에서  $52.2 \pm 2.34\%$ 로 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acids, PUFA) 함량은 *C. simplex*에서  $27.7 \pm 0.53\%$ 로 *I. galbana*의  $17.9 \pm 0.65\%$  보다 유의하게 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), 다음으로 혼합구의  $11.2 \pm 0.32\%$  순이었으며 *P. lutheri*에서  $4.9 \pm 1.35\%$ 로 가장 낮게 나타났다. n - 3 고도 불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA) 함량은 *C. simplex*에서  $26.0 \pm 0.55\%$ 로 가장 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), 다음으로 *I. galbana*의  $8.2 \pm 0.38\%$ , 혼합구의  $3.4 \pm 0.11\%$  순이었으며, *P. lutheri*에서  $1.7 \pm 0.46\%$ 로 가장 낮게 나타났다.

Table 12. Amino acids composition (% of total amino acid) of single and mixed microalgal species

Amino acids	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros simplex</i>	mixed*
Aspartic acid	24.4±0.37 <sup>a</sup>	38.7±0.47 <sup>d</sup>	30.7±0.56 <sup>c</sup>	29.4±0.10 <sup>b</sup>
Threonine	14.1±0.53 <sup>a</sup>	19.0±0.18 <sup>a</sup>	17.7±4.13 <sup>a</sup>	15.3±0.13 <sup>a</sup>
Serine	11.0±0.64 <sup>a</sup>	16.4±0.50 <sup>b</sup>	14.3±2.49 <sup>ab</sup>	13.9±0.60 <sup>ab</sup>
Glutamic acid	27.8±1.84 <sup>a</sup>	47.6±0.30 <sup>a</sup>	44.8±14.97 <sup>a</sup>	33.8±0.22 <sup>a</sup>
Glycine	17.6±0.33 <sup>a</sup>	24.3±0.15 <sup>b</sup>	19.2±2.13 <sup>a</sup>	19.6±0.44 <sup>a</sup>
Alanine	23.3±2.15 <sup>a</sup>	34.3±0.08 <sup>b</sup>	28.5±3.30 <sup>a</sup>	24.9±0.52 <sup>a</sup>
Valine	19.5±1.31 <sup>a</sup>	27.3±0.58 <sup>b</sup>	21.4±0.34 <sup>a</sup>	21.1±0.14 <sup>a</sup>
Methionine	5.9±1.82 <sup>a</sup>	7.7±4.60 <sup>a</sup>	6.2±3.36 <sup>a</sup>	5.5±2.97 <sup>a</sup>
Isoleucine	18.0±1.10 <sup>a</sup>	22.0±0.42 <sup>b</sup>	20.9±1.68 <sup>ab</sup>	19.1±0.50 <sup>ab</sup>
Leucine	33.0±1.66 <sup>a</sup>	40.1±0.07 <sup>b</sup>	30.0±3.48 <sup>a</sup>	33.6±0.16 <sup>a</sup>
Tyrosine	6.1±1.99 <sup>a</sup>	10.8±0.15 <sup>a</sup>	8.4±1.75 <sup>a</sup>	8.1±3.80 <sup>a</sup>
Phenylalanine	19.4±0.71 <sup>a</sup>	23.1±0.28 <sup>b</sup>	18.7±2.48 <sup>a</sup>	20.3±0.35 <sup>ab</sup>
Lysine	13.2±0.13 <sup>a</sup>	24.2±1.08 <sup>b</sup>	22.7±2.99 <sup>b</sup>	16.7±0.34 <sup>a</sup>
Histidine	7.6±0.26 <sup>ab</sup>	8.6±0.01 <sup>b</sup>	6.8±0.92 <sup>a</sup>	7.8±0.05 <sup>ab</sup>
Arginine	17.1±1.71 <sup>a</sup>	27.2±0.19 <sup>c</sup>	20.9±0.26 <sup>b</sup>	19.8±1.13 <sup>ab</sup>
Proline	13.8±1.71 <sup>a</sup>	17.0±0.93 <sup>a</sup>	9.3±5.86 <sup>a</sup>	13.1±0.84 <sup>a</sup>
EAA**	13.1±0.75 <sup>a</sup>	17.2±0.47 <sup>b</sup>	14.4±1.27 <sup>a</sup>	13.9±0.26 <sup>a</sup>
Total	27.8±1.32 <sup>a</sup>	39.7±0.48 <sup>c</sup>	33.0±2.93 <sup>b</sup>	30.8±0.94 <sup>ab</sup>

Values (mean±s.d. of three replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

\* mixed : *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*.

\*\*EAA : essential amino acids.

Table 13. Fatty acids composition (% of total fatty acid) of single and mixed microalgal species

Fatty acids	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros simplex</i>	mixed*
C12:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.1±0.08 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C13:0	2.1±0.10 <sup>b</sup>	2.0±0.07 <sup>b</sup>	1.1±0.25 <sup>a</sup>	1.2±0.26 <sup>a</sup>
C14:0	18.0±2.09 <sup>b</sup>	15.8±0.54 <sup>a</sup>	17.4±0.02 <sup>ab</sup>	21.8±0.59 <sup>c</sup>
C15:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	1.7±0.35 <sup>c</sup>	0.4±0.03 <sup>b</sup>	0.4±0.05 <sup>b</sup>
C16:0	15.2±1.72 <sup>b</sup>	17.9±0.46 <sup>c</sup>	7.2±0.26 <sup>a</sup>	15.4±0.87 <sup>b</sup>
C17:0	0.8±1.43 <sup>a</sup>	3.4±0.88 <sup>b</sup>	1.9±0.08 <sup>ab</sup>	3.0±0.23 <sup>b</sup>
C18:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	2.0±0.59 <sup>c</sup>	0.7±0.11 <sup>b</sup>	0.5±0.05 <sup>ab</sup>
C21:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.1±0.11 <sup>a</sup>
C14:1	0.5±0.84 <sup>a</sup>	2.0±0.51 <sup>b</sup>	0.6±0.31 <sup>a</sup>	0.2±0.01 <sup>a</sup>
C15:1	0.0±0.00 <sup>a</sup>	2.1±0.47 <sup>b</sup>	0.6±0.42 <sup>a</sup>	0.7±0.38 <sup>a</sup>
C16:1	8.0±0.18 <sup>a</sup>	24.5±1.25 <sup>c</sup>	27.6±0.49 <sup>d</sup>	21.1±0.23 <sup>b</sup>
C17:1	1.0±0.83 <sup>a</sup>	6.1±0.36 <sup>b</sup>	11.1±0.22 <sup>c</sup>	5.6±0.34 <sup>b</sup>
C20:1	1.7±0.23 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.2±0.32 <sup>a</sup>
C18:1n9	15.9±0.60 <sup>c</sup>	1.9±0.40 <sup>a</sup>	1.6±0.16 <sup>a</sup>	6.4±0.14 <sup>b</sup>
C24:1	18.9±1.23 <sup>d</sup>	15.6±2.31 <sup>c</sup>	2.1±0.07 <sup>a</sup>	12.2±0.42 <sup>b</sup>
C18:2n6	7.3±0.48 <sup>d</sup>	2.0±0.48 <sup>b</sup>	1.1±0.04 <sup>a</sup>	3.5±0.11 <sup>c</sup>
C18:3n6	2.4±0.00 <sup>d</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.7±0.10 <sup>b</sup>	1.3±0.09 <sup>c</sup>
C18:3n3	8.2±0.38 <sup>d</sup>	1.7±0.46 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	3.4±0.11 <sup>c</sup>
C20:3n3	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.1±0.11 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C20:4n6 (ARA)	0.0±0.00 <sup>a</sup>	1.2±0.67 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	3.1±0.07 <sup>c</sup>
C20:5n3 (EPA)	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	25.9±0.64 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
Saturated	36.1±2.34 <sup>b</sup>	42.8±0.99 <sup>c</sup>	28.7±0.26 <sup>a</sup>	42.4±0.87 <sup>c</sup>
monounsaturated	46.0±2.31 <sup>a</sup>	52.2±2.34 <sup>b</sup>	43.6±0.33 <sup>a</sup>	46.4±0.62 <sup>a</sup>
PUFA**	17.9±0.65 <sup>c</sup>	4.9±1.35 <sup>a</sup>	27.7±0.53 <sup>d</sup>	11.2±0.32 <sup>b</sup>
n-3 HUFA***	8.2±0.38 <sup>c</sup>	1.7±0.46 <sup>a</sup>	26.0±0.55 <sup>d</sup>	3.4±0.11 <sup>b</sup>
n-6 HUFA	9.7±0.48 <sup>d</sup>	3.2±0.99 <sup>b</sup>	1.7±0.12 <sup>a</sup>	7.8±0.21 <sup>c</sup>
n-3/n-6	0.8±0.05 <sup>a</sup>	0.6±0.11 <sup>a</sup>	15.1±1.14 <sup>b</sup>	0.4±0.00 <sup>a</sup>

Values (mean±s.d. of three replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

\*mixed : *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*.

\*\*PUFA : polyunsaturated fatty acids, \*\*\*HUFA : highly unsaturated fatty acids.

### 3.3.2. 부착치패의 아미노산 및 지방산 조성

피조개 부착치패의 먹이로서 *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex* 등 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합하여 공급한 피조개 부착치패의 아미노산 조성은 Table 14에 나타내었다. 아미노산 조성은 미세조류의 종류에 관계없이 비슷한 경향을 보였으며, 먹이공급구 간에 유의한 차이는 없었다. Methionine은 *C. simplex* 공급구에서  $1.4 \pm 0.10\%$ 로 다른 실험구 보다 유의하게 높게 나타났다.

서로 다른 미세조류를 먹이로 공급한 피조개 부착치패의 지방산 조성은 Table 15에 나타내었다. Palmitic acid (16:0) 함량은 혼합먹이공급구에서  $21.0 \pm 0.44\%$ 로 가장 높게 나타났으나, *C. simplex* 공급구의  $20.7 \pm 2.74\%$ 와 *P. lutheri* 공급구의  $19.9 \pm 1.34\%$ 와 유의한 차이는 없었다. 그리고 stearic acid (18:0)함량은 *C. simplex* 공급구에서  $13.5 \pm 1.97\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 혼합먹이공급구와 *P. lutheri* 공급구와는 유의한 차이가 없었고, *I. galbana* 공급구에서  $10.3 \pm 1.18\%$ 로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ).

Oleic acid (18:1n9) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $10.5 \pm 1.02\%$ 로 가장 높게 나타났고, *C. simplex* 공급구에서  $5.4 \pm 0.07\%$ 로 가장 낮게 나타났으며( $P < 0.05$ ), *P. lutheri* 공급구와 혼합공급구와는 유의한 차이가 없었다. Linoleic acid (18:2n6) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $8.6 \pm 0.78\%$ 로 가장 높게 나타났고, 혼합공급구에서  $5.9 \pm 0.33\%$ 로 낮게 나타났으나 유의한 차이는 없었다.  $\alpha$ -linolenic acid (18:3n3) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $4.5 \pm 0.54\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 그 다음으로 *P. lutheri* 공급구가  $3.1 \pm 0.70\%$ , 혼합공급구가  $3.0 \pm 0.32\%$ , *C. simplex* 공급구가  $2.5 \pm 0.31\%$ 의 순이었다.

Arachidonic acid (20:4n6, AA) 함량은 *C. simplex* 공급구에서  $8.1 \pm 7.08\%$ 로 가장 높게 나타났으나 다른 먹이공급구와 유의한 차이는 없었다. Eicosapentaenoic acid (20:5n3, EPA) 함량은 *I. galbana* 공급구에서만  $1.5 \pm 0.23\%$ 로 나타났고, docosahexaenoic acid (22:6n3, DHA) 함량은 *I. galbana* 공급구와 혼합공급구에서

각각  $30.3 \pm 2.89\%$ 와  $30.0 \pm 2.12\%$ 로 나타났으나 유의한 차이는 없었다.

포화지방산(saturated fatty acids) 함량은 *C. simplex* 공급구에서  $41.0 \pm 5.78\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 혼합공급구의  $40.3 \pm 1.82\%$ 와 유의한 차이는 없었다. 단 순불포화지방산(mono-unsaturated fatty acids) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $21.7 \pm 2.15\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 혼합공급구가  $13.2 \pm 0.80\%$ 로 가장 낮은 함량을 보였다. 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acids, PUFA) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $50.3 \pm 4.29\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구가  $42.9 \pm 4.85\%$ 로 가장 낮은 함량을 보였다. n-3 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acids, HUFA) 함량은 *I. galbana* 공급구에서  $36.3 \pm 3.38\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), *C. simplex* 공급구가  $28.0 \pm 3.76\%$ 로 가장 낮은 함량을 보였고, 혼합공급구와 *P. lutheri* 공급구는 각각  $33.0 \pm 2.43\%$ 와  $32.7 \pm 1.48\%$ 로 유의한 차이가 없었다.

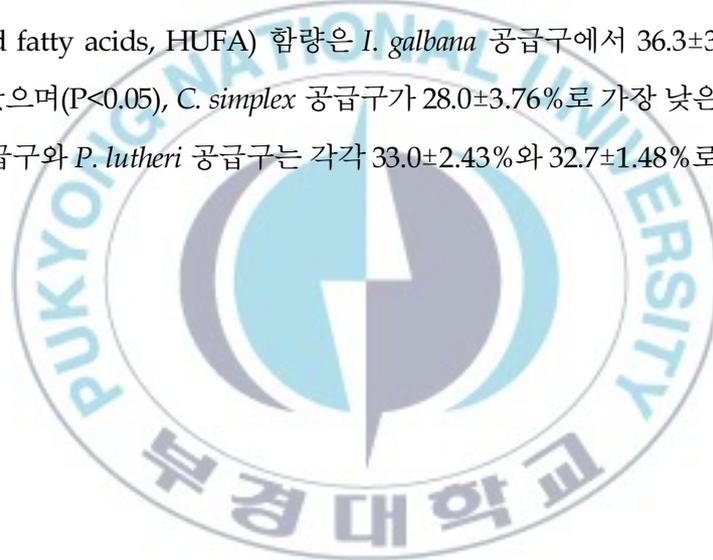


Table 14. Amino acids composition (% of total amino acid) of the spat of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species during 30 days

Amino acids	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros simplex</i>	mixed*
Aspartic acid	6.7±0.73 <sup>a</sup>	6.1±1.24 <sup>a</sup>	6.7±0.68 <sup>a</sup>	7.0±0.42 <sup>a</sup>
Threonine	2.7±0.25 <sup>a</sup>	3.2±0.27 <sup>a</sup>	3.0±0.01 <sup>a</sup>	2.9±0.21 <sup>a</sup>
Serine	2.6±0.26 <sup>a</sup>	2.8±0.05 <sup>a</sup>	2.9±0.06 <sup>a</sup>	2.8±0.18 <sup>a</sup>
Glutamic acid	7.6±0.98 <sup>a</sup>	7.9±0.10 <sup>a</sup>	7.9±0.03 <sup>a</sup>	7.9±0.35 <sup>a</sup>
Glycine	4.0±0.46 <sup>a</sup>	4.1±0.20 <sup>a</sup>	4.2±0.20 <sup>a</sup>	4.3±0.21 <sup>a</sup>
Alanine	3.2±0.39 <sup>a</sup>	3.3±0.01 <sup>a</sup>	3.3±0.08 <sup>a</sup>	3.3±0.18 <sup>a</sup>
Valine	3.3±0.39 <sup>a</sup>	3.1±0.23 <sup>a</sup>	3.6±0.07 <sup>a</sup>	3.4±0.26 <sup>a</sup>
Methionine	1.1±0.04 <sup>ab</sup>	0.7±0.53 <sup>ab</sup>	1.4±0.10 <sup>b</sup>	0.5±0.21 <sup>a</sup>
Isoleucine	2.8±0.36 <sup>a</sup>	2.9±0.12 <sup>a</sup>	2.9±0.05 <sup>a</sup>	2.9±0.10 <sup>a</sup>
Leucine	4.2±0.54 <sup>a</sup>	4.2±0.16 <sup>a</sup>	4.4±0.17 <sup>a</sup>	4.4±0.21 <sup>a</sup>
Tyrosine	2.0±0.25 <sup>a</sup>	1.8±0.44 <sup>a</sup>	2.2±0.47 <sup>a</sup>	1.9±0.00 <sup>a</sup>
Phenylalanine	2.6±0.33 <sup>a</sup>	2.6±0.11 <sup>a</sup>	2.7±0.11 <sup>a</sup>	2.8±0.21 <sup>a</sup>
Lysine	4.8±0.75 <sup>a</sup>	5.0±0.31 <sup>a</sup>	4.8±0.15 <sup>a</sup>	5.3±0.25 <sup>a</sup>
Histidine	1.3±0.14 <sup>a</sup>	1.3±0.07 <sup>a</sup>	1.3±0.13 <sup>a</sup>	1.3±0.15 <sup>a</sup>
Arginine	4.2±0.50 <sup>a</sup>	4.2±0.36 <sup>a</sup>	4.6±0.33 <sup>a</sup>	4.5±0.27 <sup>a</sup>
Proline	2.0±0.40 <sup>a</sup>	1.5±0.60 <sup>a</sup>	1.7±0.15 <sup>a</sup>	2.0±0.07 <sup>a</sup>
EAA**	2.3±0.28 <sup>a</sup>	2.3±0.06 <sup>a</sup>	2.4±0.06 <sup>a</sup>	2.3±0.06 <sup>a</sup>
Total	5.6±0.69 <sup>a</sup>	5.6±0.34 <sup>a</sup>	5.9±0.30 <sup>a</sup>	5.9±0.22 <sup>a</sup>

Values (mean±s.d. of three replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

\* mixed : *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*

\*\*EAA : essential amino acids.

Table 15. Fatty acids composition (% of total fatty acid) of the spat of *Scapharca broughtonii* fed single and mixed microalgal species during 30 days

Fatty acids	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	<i>Chaetoceros simplex</i>	mixed*
C14:0	6.2±0.49 <sup>c</sup>	3.6±0.40 <sup>a</sup>	4.0±0.34 <sup>ab</sup>	4.4±0.23 <sup>b</sup>
C15:0	0.1±0.26 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C16:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	19.9±1.34 <sup>b</sup>	20.7±2.74 <sup>b</sup>	21.0±0.44 <sup>b</sup>
C17:0	2.1±0.35 <sup>a</sup>	2.2±0.28 <sup>a</sup>	2.4±0.47 <sup>a</sup>	2.2±0.15 <sup>a</sup>
C18:0	10.3±1.18 <sup>a</sup>	11.5±0.53 <sup>ab</sup>	13.5±1.97 <sup>b</sup>	12.7±1.85 <sup>ab</sup>
C22:0	9.3±6.93 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C23:0	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.4±0.74 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C16:1	3.0±0.58 <sup>a</sup>	2.7±0.25 <sup>a</sup>	3.1±0.24 <sup>a</sup>	2.5±0.20 <sup>a</sup>
C17:1	5.0±1.54 <sup>a</sup>	6.4±5.73 <sup>a</sup>	4.5±2.02 <sup>a</sup>	1.4±1.31 <sup>a</sup>
C20:1	3.2±1.12 <sup>a</sup>	2.8±0.70 <sup>a</sup>	3.1±1.42 <sup>a</sup>	3.2±0.93 <sup>a</sup>
C18:1n9	10.5±1.02 <sup>b</sup>	6.8±2.06 <sup>a</sup>	5.4±0.07 <sup>a</sup>	6.1±0.27 <sup>a</sup>
C18:2n6	8.6±0.78 <sup>a</sup>	8.5±2.77 <sup>a</sup>	6.7±0.84 <sup>a</sup>	5.9±0.33 <sup>a</sup>
C18:3n6	1.0±0.02 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.4±0.72 <sup>ab</sup>
C18:3n3	4.5±0.54 <sup>b</sup>	3.1±0.70 <sup>a</sup>	2.5±0.31 <sup>a</sup>	3.0±0.32 <sup>a</sup>
C20:2	0.6±0.48 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.6±0.53 <sup>a</sup>
C20:4n6 (ARA)	3.9±1.37 <sup>a</sup>	2.9±2.58 <sup>a</sup>	8.1±7.08 <sup>a</sup>	6.6±0.52 <sup>a</sup>
C20:5n3 (EPA)	1.5±0.23 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
C22:6n3 (DHA)	30.3±2.89 <sup>a</sup>	29.5±1.48 <sup>a</sup>	25.5±3.87 <sup>a</sup>	30.0±2.12 <sup>a</sup>
Saturated	28.0±5.47 <sup>b</sup>	37.2±2.17 <sup>a</sup>	41.0±5.78 <sup>a</sup>	40.3±1.82 <sup>a</sup>
monounsaturated	21.7±2.15 <sup>c</sup>	18.7±4.09 <sup>bc</sup>	16.1±1.03 <sup>ab</sup>	13.2±0.80 <sup>a</sup>
PUFA**	50.3±4.29 <sup>b</sup>	44.1±3.09 <sup>ab</sup>	42.9±4.85 <sup>a</sup>	46.5±1.18 <sup>ab</sup>
n-3 HUFA***	36.3±3.38 <sup>b</sup>	32.7±1.48 <sup>ab</sup>	28.0±3.76 <sup>a</sup>	33.0±2.43 <sup>ab</sup>
n-6 HUFA	13.5±1.45 <sup>a</sup>	11.4±3.05 <sup>a</sup>	14.8±7.85 <sup>a</sup>	12.9±0.87 <sup>a</sup>
n-3/n-6	2.7±0.12 <sup>a</sup>	3.0±0.82 <sup>a</sup>	2.7±2.41 <sup>a</sup>	2.6±0.35 <sup>a</sup>

Values (mean±s.d. of three replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

\*mixed : *Isochrysis galbana*+*Pavlova lutheri*+*Chaetoceros simplex*

\*\*PUFA : polyunsaturated fatty acids, \*\*\*HUFA : highly unsaturated fatty acids.

## 4. 피조개 부착치패의 중간양성

### 4.1. 보호망 형태별 중간양성

#### 4.1.1. 중간양성장의 환경조사

2005년 8월 9일부터 2005년 10월 7일까지 60일간에 걸친 피조개 부착치패의 중간양성시험 기간 중의 수온범위는 22.5~27.7°C이었으며, 8월 23일에 27.7°C로 가장 높았고, 10월 7일에 22.5°C로 가장 낮았다. 염분범위는 24.5~32.5 psu이었으며, 10월 7일에 32.5 psu로 가장 높았고, 8월 9일에 24.5 psu로 가장 낮았다. 용존산소의 변화는 5.4~8.5 mg/L로 부착치패의 생존율에 영향을 미치지 않았다(Fig. 33).

#### 4.1.2. 부착치패의 성장과 생존

보호망 형태를 서로 달리하여 60일간 중간양성한 부착치패의 성장은 노출형이 평균 각장 12.8±3.2 mm로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 통발형이 12.2±3.5 mm, 원통형이 11.9±3.8 mm, 직사각형이 10.9±3.7 mm 순으로 큰 차이를 나타내지 않았다(Fig. 34). 생존율은 통발형이 43.7%, 원통형이 41.2%, 직사각형이 31.6%로 보호망 형태에 따라서는 통발형 및 원통형이 직사각형 보다 유의하게 높았으며, 노출형이 5.4%로 매우 낮았다( $P < 0.05$ , Fig. 35).

### 4.2. 유실 방지망 종류별 중간양성

#### 4.2.1. 중간양성장의 환경조사

2005년 11월 14일부터 2006년 5월 22일까지 163일간에 걸친 피조개 부착치패의 중간양성시험 기간 중의 수온범위는 9.8~18.3°C이었으며, 1월 13일에 9.8°C로 가장 낮았고, 5월 22일에 18.3°C로 가장 높았다. 염분범위는 30.2~32.9 psu이었으며, 1월 13일에 32.9 psu로 가장 높았고, 5월 22일에 30.2 psu로 비교적 낮았으나 부착치패 생존에 크게 영향을 미치지 않았다. 용존산소의

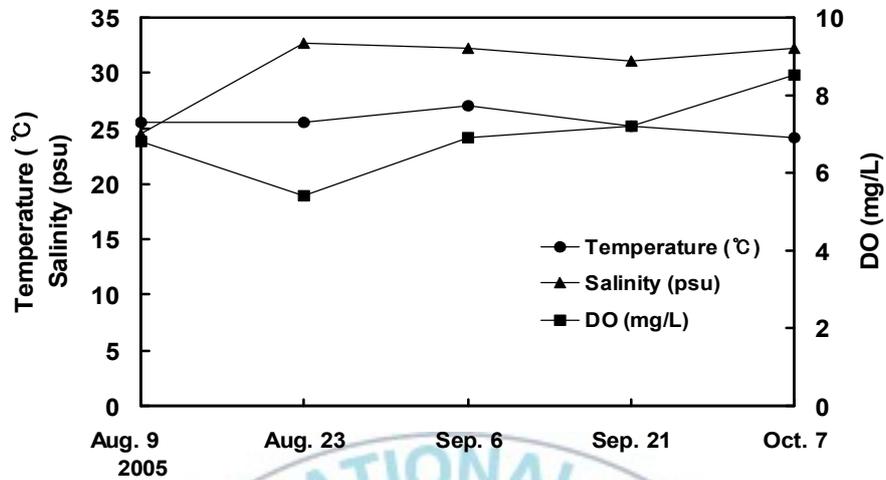


Fig. 33. Variations of temperature, salinity and dissolved oxygen concentration in the intermediate culture area, Jindong Bay.

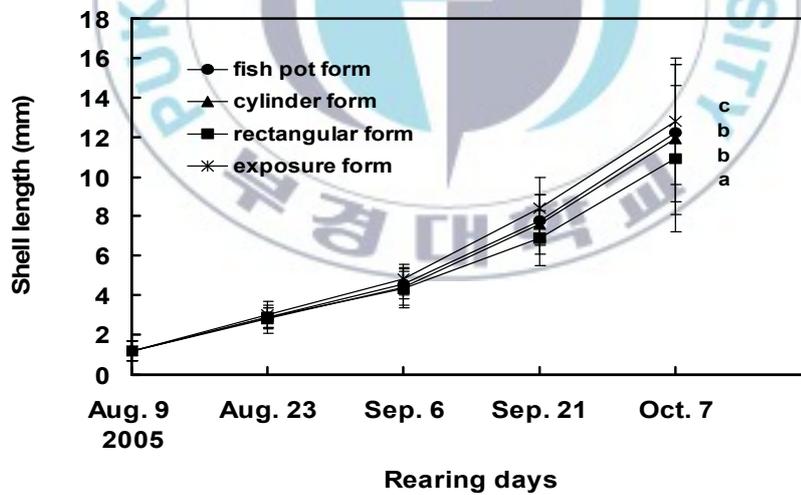


Fig. 34. Growth in shell length of *Scapharca broughtonii* spat during 60 days cultivation in different shapes of protective nets for spat in intermediate culture. Different letter on the final rearing day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

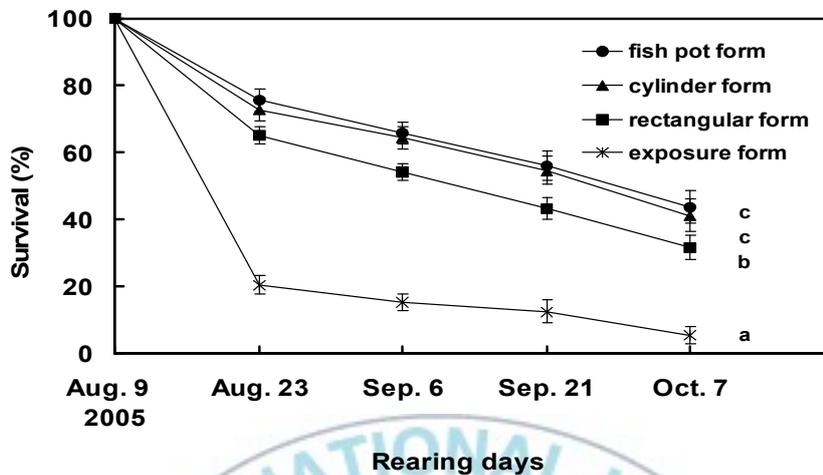


Fig. 35. Survival of *Scapharca broughtonii* spat during 60 days cultivation in different shapes of protective nets for spat in intermediate culture. Different letter on the final rearing day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

변화는 8.1~12.2 mg/L로 비교적 높아 생존율에 영향을 주지는 않았다(Fig. 36).

#### 4.2.2. 부착치패의 성장과 생존

유실 방지망 종류별로 163일간 중간양성한 부착치패의 성장은 차광막이 평균 각장  $13.9 \pm 3.1$  mm로 가장 빨랐고( $P < 0.05$ ), 여자망이  $12.9 \pm 3.0$  mm, PE망이  $11.8 \pm 3.1$  mm 및 대조구가  $12.6 \pm 3.3$  mm 순으로 나타났으며(Fig. 37), 생존율은 차광막이 91.5%, PE망이 90.1%, 여자망이 88.5%로 유의한 차이가 없었다. 그러나 유실 방지망을 설치하지 않은 대조구에서는 61.5%로 설치한 시험구보다 유의하게 낮았다( $P < 0.05$ , Fig. 38).

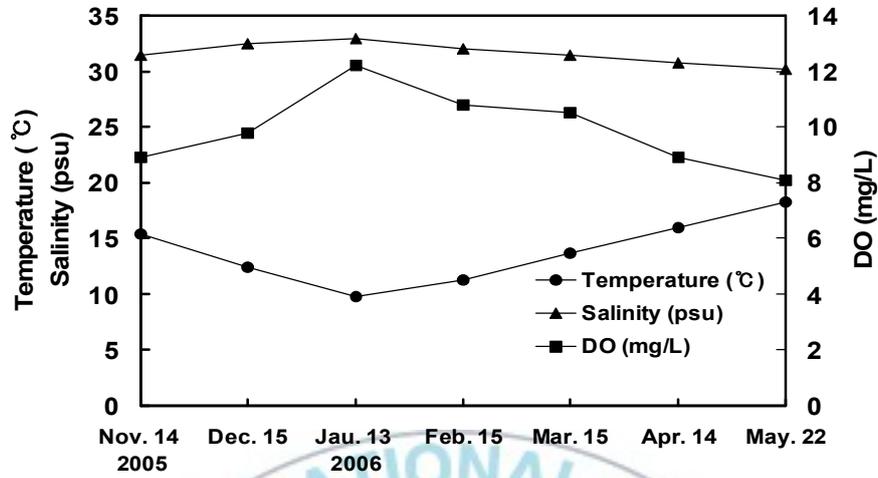


Fig. 36. Variations of temperature, salinity and dissolved oxygen concentration in the intermediate culture area, Jindong Bay.

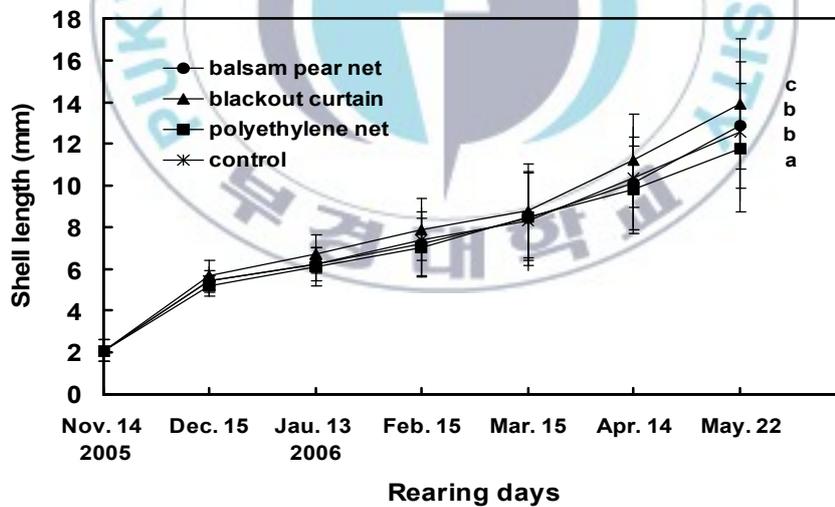


Fig. 37. Growth in shell length of *Scapharca broughtonii* spat during 163 days cultivation in different types of nets for preventing spat loss in intermediate culture. Different letter on the final rearing day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

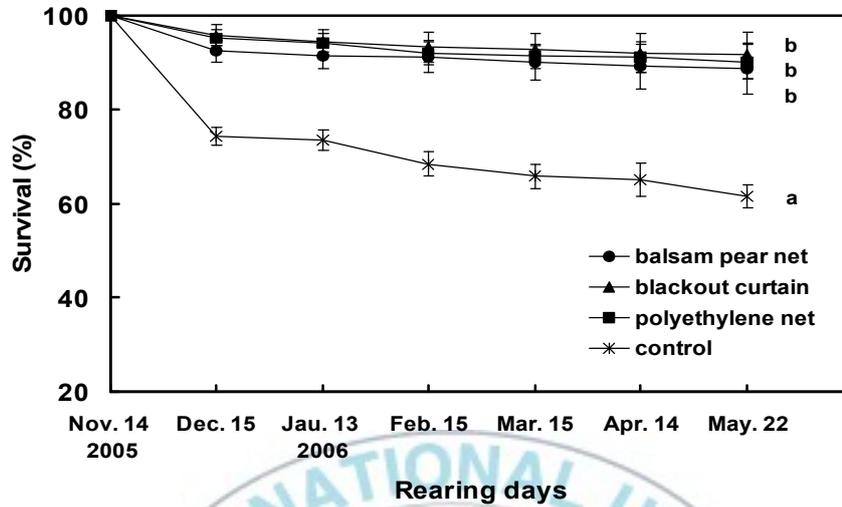


Fig. 38. Survival of *Scapharca broughtonii* spat during 163 days cultivation in different types of nets for preventing spat loss in intermediate culture. Different letter on the final rearing day means significantly difference at  $P < 0.05$ .

## 제4장 고찰

### 1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과

미세조류는 중요한 수생 먹이사슬, 특히 먹이사슬의 에너지 흐름에서 생물학적인 출발점이 되므로 조개류의 먹이로서 미세조류의 배양관리는 인공종묘생산과정에서 필연적으로 없어서는 안 될 부분이다(De Pauw and Pruder, 1986). 이러한 이유로 지금까지 미세조류 40여종이 순수분리 되어 양식현장에서 이용되고 있다(Hur, 2004).

조개류 먹이로서 이용되는 미세조류는 세포내에 함유된 영양 가치에 따라 유생의 성장, 변태 그리고 생존율에 영향을 미치게 된다. 따라서 조개류 인공종묘생산에 유생 및 치패 사육에 이용되는 미세조류의 영양가를 결정하는 것은 매우 중요하다(Walne, 1974; Webb and Chu, 1983; Whyte, 1987), 미세조류의 먹이가치를 결정하는 요소는 영양, 크기, 독성유무, 소화성, 부유성 및 대량배양 가능성 등이 있지만, 특히 이들 중 크기, 영양성, 소화성 및 대량배양 가능성은 생산과정에서 먹이생물의 가치를 판단하는 가장 중요한 요소이다(Jeffrey et al., 1990).

일반적으로 미세조류의 영양소 조성은 종, 배양조건, 수확시기 등에 따라 다르므로(Webb and Chu, 1983), 본 연구에서는 조개류의 종묘생산 시 많이 이용되고 있는 5종의 미세조류(*Isochrysis galbana*, *Paolova luthri*, *Chaetoceros simplex*, *Phaedactylum tricornutum*, *Tetraselmis tetrathele*)에 대하여 수온, 염분 및 조도 등 배양환경에 따른 종별 성장시험을 실시하고 미세조류 종류별 적정 배양환경조건을 구명하였다.

수온, 염분 및 조도는 해양 미세조류의 성장에 중요한 영향을 미치며, 이들 미세조류의 성장률은 해양의 생산력을 결정하는 가장 큰 근본적인 요인들이다

(Admiral, 1977). 또한 미세조류 배양에 있어서도 수온과 조도는 성장을 지배하는 가장 중요한 변수들이다(Jitts et al., 1963; Smayda, 1969; Durbin, 1974).

Kain and Fogg (1958)은 *I. galbana*의 성장 최적수온을 20~25°C라고 하였고, Ukeles (1961)는 이 종이 15°C에서 성장이 가장 빨랐으며, 24~25°C에서는 성장이 정체된다고 하였다. 그리고 Ryu (1987)는 *I. galbana*를 15, 20, 25°C의 수온 및 1,000, 3,000, 6,000, 9,000 lux의 조도 조건에서 7일간 배양한 1일 단위의 세포수의 증가는 4개의 실험구 모두 25°C에서 가장 높았다. 1,000과 3,000 lux의 실험구에서는 25, 20, 15°C의 순으로 세포수의 증가가 빠르게 나타났으며, 6,000, 9,000 lux 실험구에서는 20°C에서 세포의 증가가 제일 느리게 나타났고, 성장률은 조도에 따라서 크게 달라졌다고 보고하였다.

본 연구에서 수온 20, 25, 30, 35°C와 염분 20, 25, 30, 33 psu에 따른 5종 미세조류의 성장을 조사한 결과, *I. galbana*의 성장률은 20°C 보다 25°C에서 높았고 염분 30 psu와 33 psu에서 높았으며, 20 psu에서 가장 낮은 성장률을 보였다. 30°C 이상에서는 성장률이 낮게 나타났다. *I. galbana*를 배양하는 적정 배양 수온과 염분은 20~25°C, 30~33 psu이었다. 25°C에서 배양 시 배양 8일째부터 가장 높은 성장률을 보였다가 정체하였으므로 Kain and Fogg (1958) 및 Ukeles (1961)의 연구와 유사한 결과를 보였다. 그러나 위의 연구는 배양기간이 7일이었으며, 최초 접종밀도가  $10^4$  cells/mL로 본 연구의 배양기간 10일과 최초 접종밀도  $50 \times 10^4$  cells/mL와는 차이가 있으므로 성장률에는 차이가 있지만 경향은 비슷하였다.

조개류의 유생사육 시 *P. lutheri*는 초기 먹이생물로서 크기 및 영양가 측면에서 우수한 먹이로 알려져 있지만, 배양환경의 변화에 민감하여 안정적인 대량배양이 쉽지 않은 종이다(Enright et al., 1986).

Park (1985)은 *P. lutheri*의 성장에 미치는 조도의 영향 연구에서 28°C, 5,000 lux의 연속 조명에서 배양하였을 때 최대 성장은  $659 \times 10^4$  cells/mL였으며, 낮

은 조도일수록 성장이 저조하다고 하였다. Park (1994)은 *Pavlova* sp.는 23°C, 23 psu, 6,000 lux에서 최고의 성장을 보였고 수온과 염분이 동일하고 조도가 다소 낮은 4,000 lux일 때는  $764 \times 10^4$  cells/mL로 성장률은 크게 감소한다고 보고하였다. 그리고 Yun (2005)은 *P. lutheri*를 7일간 배양하였을 때 19°C, 30 psu, 6,000 lux, Conway 배지에서  $654 \times 10^4$  cells/mL로 최고의 성장을 보였다고 하였다.

본 연구에서 *P. lutheri*는 25°C, 33 psu일 때  $948.5 \times 10^4$  cells/mL의 세포밀도로 최고의 성장을 보여 Park (1985, 1994)의 연구와 유사한 결과를 보였으나 Yun (2005)의 연구 결과 보다 높은 수온으로 나타나 차이가 있었다. 성장률은 20°C의 0.404 보다 25°C에서 0.425로 높았고 염분 30 psu와 33 psu에서 높았으며, 20 psu에서 가장 낮은 성장률을 보였다. 30°C 이상에서는 성장률이 낮게 나타났으나, 염분이 낮을수록 성장률이 높게 나타났다. *P. lutheri*의 적정 배양 수온과 염분은 각각 25°C, 30~33 psu이었다.

Kongkeo (1991)는 *Chaetoceros calcitrans*의 최적수온이 28~30°C, 최저수온이 24°C였고, 최적염분은 22~28 psu, 조도는 10,000 lux이하라고 보고하였다. Yun (2005)은 *C. simplex*를 7일간 배양 시 25°C, 20 psu, 4,000 lux에서 최고의 성장을 보였다. 본 연구에서 *C. simplex*는 30°C, 33 psu에서  $972.5 \times 10^4$  cells/mL로 최고의 성장을 보여 Kongkeo (1991)의 연구와 일치하였으나 Yun (2005)의 연구 보다 높은 수온과 염분으로 다소 차이를 나타내었다.

*C. simplex*의 성장률은 25°C 보다 30°C에서 더 높았고, 염분 30 psu와 33 psu에서 높았으며, 20 psu에서 가장 낮은 성장률을 보였다. *C. simplex*는 30°C, 33 psu에서 성장률이 0.421과 0.428로 가장 높게 나타났다. *C. simplex*의 적정 배양 수온과 염분은 각각 25~30°C, 30~33 psu이었다.

Fawley (1984)는 *P. tricorutum*의 배양가능수온이 14.1~24.9°C로, Kudo et al. (2000)은 *P. tricorutum*의 최적 배양수온이 10~20°C로 보고하였다. 본 연구

에서 *P. tricornutum*의 성장은 20°C, 33 psu일 때  $925.7 \times 10^4$  cells/mL로 최고의 성장을 보여 위의 연구와 유사한 결과를 보였다. 성장률은 20°C에서 가장 높았으며, 25°C에서는 배양 7일째 가장 높았다가 이후로 감소하는 경향을 보였다. 염분 30 psu와 33 psu에서 높았으며, 염분이 낮을수록 낮은 성장률을 보여 *P. tricornutum*의 적정 배양 수온과 염분은 20°C, 30~33 psu이었다.

Kim and Hur (1998)는 *Tetraselmis* sp.의 대량배양을 위한 배양환경 실험에서 성장은 수온이 24~30°C, 염분이 27~33 psu에서 빠르게 나타내었고, *T. tetrathele*는 수온 30°C, 염분 27 psu에서  $112 \times 10^4$  cells/mL (성장률 0.35)로 가장 빠른 성장을 보였다고 보고하였다. 본 연구에서 *T. tetrathele*는 25°C, 33 psu에서  $966.7 \times 10^4$  cells/mL (성장률 0.413)로 성장이 빠르게 나타내었으며, *T. tetrathele*를 배양하는 적정 배양 수온과 염분은 25°C, 30~33 psu로 나타나 Kim and Hur (1998)의 결과와 차이를 보였다. 이와 같은 결과는 *Tetraselmis* sp.의 배양 수온 범위를 12~32°C로 보고한 Ukeles (1961)의 결과와 유사하였다. Maddux and Raymond (1964)는 *Tetraselmis* sp.의 성장률이 23~25°C에서 가장 높았으며, 17°C이하와 29°C이상에서는 성장률이 낮았다고 보고하여 본 연구 결과와 유사하였다.

3,000, 5,000, 7,000 lux의 조도에서 배양한 결과, 5종의 미세조류 모두 7,000 lux의 조도에서 가장 높은 성장률을 보였다. 이는 조도가 높을수록 성장이 빠르다고 보고한 Park (1985, 1994)와 Kongkeo (1991)의 연구 결과와 유사한 결과를 보였다.

조개류의 인공종묘생산을 위해서는 양·질적으로 우수한 먹이생물을 안정적으로 공급해 주어야 하며, 이 경우 먹이생물의 배양을 위한 경비는 양식 총 생산단가의 30%를 차지하고 있는 실정이다(Coutteau and Sorgeloos, 1992). 이러한 먹이생물 생산의 경제적인 문제를 해결할 수 있는 방법으로는 미세조류의 배지에 소요되는 비용을 절감하기 위해 농업용 비료 등을 이용한 경제적인 배

지개발 및 기존의 배양 보다 미세조류 배양기간을 단축시키면서 동시에 단위 부피당 생산량을 높일 수 있는 배양기술을 개발하는 것 등이 있다. 특히, 미세조류 배양의 효율을 높이기 위해서는 고밀도 배양이 요구되어지고 이러한 배양 형태는 자연 상태 보다 배양 밀도가 높기 때문에 광합성에 필요한 영양염의 결핍이 빠르므로 배양을 유지하기 위해서는 이에 필요한 영양염의 요구량을 구명하여 배지의 형태로 첨가해야 한다.

해양 미세조류를 배양하는데 이용 가능한 배지의 종류는 약 50여 가지가 개발되어 이용되고 있지만, 주로 f/2, Conwy, ES-medium 등이 많이 이용되고 있고, 이용성 및 비용 절감 면에서 최근에는 농업용 비료를 조개류 종묘생산 현장에서 대량배양용 배지원으로 많이 이용하고 있다(Guillard and Ryther, 1962; Walne, 1970; Guillard, 1975; González-Rodríguez and Maestrini, 1984; Valenzuela-Espinoza et al., 1999).

농업용 비료는 주요 성분이 질소와 인으로 구성되어 있으며(Ukeles, 1980; González-Rodríguez and Maestrini, 1984), 농업용 비료 배지에는 미세조류의 성장에 필수적인 미량원소나 비타민 등이 함유되어 있지 않다(Stein, 1973). 본 연구에 사용된 농업용 비료의 경우, 요소비료는 질소 함량 46%, 복합비료는 질소 21%, 인 17%, 칼륨 17%로 구성되어 있어, *I. galbana* 등 미세조류의 성장에 필요한 미량원소는 거의 함유되어 있지 않아 Conwy 배지에 비하여 낮은 성장을 나타내었다. 또한, Conwy 배지에서는 접종 후 2~3일째부터 세포밀도가 기하급수적으로 증가하지만, 농업용 비료 배지에서는 접종 후 5일 이상이 경과해야 세포밀도가 빠르게 증가하여 Conwy 배지에 비해 초기 성장의 지연이 문제점으로 나타났다.

Gonzalez-Rodríguez and Maestrini (1984)의 보고에서 12종의 비료를 이용하여 16종의 미세조류를 배양한 결과, *Nannochloris oculata*, *I. galbana*, *Chlamydomonas palla*, *Chaetoceros* sp.에서는 본 연구의 결과와 같이 비료 배지

에서 매우 낮은 성장률을 나타내었으나 *Phaeodactylum tricornutum*, *Skeletonema costatum*, *Tetraselmis striata*, *Thalassiosira pseudonana*는 비료의 종류에 따라 약간의 차이는 있지만, 대조구인 Conwy 배지에서의 성장과 유사하거나 성장률이 더 높았다.

Bae (2004)는 해수산 *Chlorella*의 대량배양용 배지로서 복합비료와 요소비료만을 사용할 경우 농업용 비료의 적정 농도가 Schreiber 배지의 N과 P 농도의 1.25배라고 보고하였다.

미세조류의 대량배양시 배지 조제가 용이하고 가격이 저렴한 경제적인 실용 배지를 개발하기 위하여 Conwy, f/2 배지를 대조구로 하여 농업용 복합비료와 요소비료의 함량을 1.0배, 0.5배, 0.25배로 서로 달리한 비료 배지(FM, 0.5 FM, 0.25 FM 배지)에 의한 10일간에 걸친 *I. galbana*의 성장은 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.396으로 유의하게 가장 높게 나타났으며, f/2 배지와는 유의한 차이가 없었다. 0.25 FM 배지(복합 비료 0.0294 g/L, 요소 비료 0.0409 g/L)에서 성장률이 0.368로 FM 배지나 0.5 FM 배지에 비해 높게 나타났다.

이와 같은 성장변화는 실험구에 따라 약간의 차이는 있으나 *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrahele*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다. 본 연구에서 대량배양용 농업용 비료의 적정 농도는 Schreiber 배지의 N과 P 농도의 0.25배(0.25 FM)로 나타나 Bae (2004)의 결과와 일치하지 않았고, 이는 본 연구에 이용된 미세조류 5종이 *Chlorella* 보다 영양염인 N과 P의 요구량이 더 낮은 것으로 판단된다.

Yun (2005)은 미세조류 3종(*C. simplex*, *Chlorella* sp., *P. lutheri*)을 7일간 배양하였을 때 3종 모두 f/2 배지 보다 Conwy 배지에서 성장이 양호하다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서 *P. lutheri*를 제외한 나머지 4종에 있어서는 f/2 배지에 비해 Conwy 배지에서 성장이 빨랐고, *P. lutheri*의 성장은 Conwy 배지

보다 f/2 배지에서 빠르게 나타났으나 유의한 차이는 없었다.

Bae (2004)는 농업용 비료 배지의 암모니아 농도를 낮추고 질소공급원으로서 질산염( $\text{NaNO}_3$ )을 첨가하고 미량원소 중 첨가 효과가 가장 좋았던 구리 3.0배 (0.0588 mg/L)를 추가로 첨가하여 *Chlorella*를 배양하였을 때 비료 0.25배 + $\text{NaNO}_3$  (200 mg/L)+ $\text{CuSO}_4$  3.0배(0.0588 mg/L) 배지의 실험구는 f/2 배지 성장의 약 96%를 나타내었다고 보고하였다.

본 연구에서 농업용 비료에 미량원소 4가지를 농축하여 소량 첨가된 0.25 FMM 배지에 의한 5종의 미세조류를 10일간 배양한 결과, *I. galbana*의 성장은 Conwy 배지에서 0.435로 0.25 FMM 배지의 0.431에 비해 높았으나 유의한 차이는 없었다. Conwy 배지의 세포밀도는 배양 초기부터 기하급수적으로 증가하지만, 0.25 FMM 배지는 배양 5일이 지나서 급격히 증가하기 시작하였다. 이와 같은 성장변화는 실험구에 따라 약간의 차이는 있으나 *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrathele*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

Bae (2004)는 배지의 중간 시비 효과를 알아보기 위하여 *Chlorella*를 배양 후 8일째 비료 0.25배+ $\text{NaNO}_3$  (200 mg/L)+ $\text{CuSO}_4$  3.0배(0.0588 mg/L) 배지를 25~100%의 중간 시비를 한 결과, 중간 시비를 하지 않은 f/2 배지에서는 총 배양기간 19일째부터 세포밀도가 감소하였으나, 25%와 50%를 중간 시비한 경우는 세포밀도가 계속 증가하여 장기간 배양 시 접종 후 7~8일째 위와 동일한 비료 배지 초기 농도의 25%를 시비하여 주는 것이 안정적으로 배양밀도를 높일 수 있는 방법이라고 보고하였다.

본 연구에서 농업용 비료 배지로 배양 시 미세조류의 성장을 Conwy 배지의 수준으로 향상시키기 위하여 0.25 FM 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM)를 배양 7일째 함량을 75%, 50% 그리고 25%로 서로 달리하여 중간 시비에 의한 10일간에 걸친 *I. galbana*의 성장 변화는 25% 중간 시비한 실험구의

성장률이 0.136으로 75% 시비한 0.086 보다 높았고, 50% 시비한 실험구와는 유의한 차이가 없었다. 이러한 성장변화의 양상은 *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrathele*의 성장실험에서도 동일한 경향을 나타내었다. 이러한 중간 시비 결과는 Bae (2004)의 결과와 일치하였으며, 미세조류 5종의 배양 시 접종 후 7일째 0.25 FM 배지에 미량원소를 첨가한 배지(0.25 FMM) 초기 농도의 25%를 시비하여 주는 것이 안정적으로 배양밀도를 높일 수 있는 방법일 것으로 판단된다.

농업용 비료 배지로 미세조류를 배양 시 성장을 Conwy 배지의 수준으로 향상시키기 위하여 0.25 FM 배지(복합 비료 0.0294 g/L, 요소 비료 0.0409 g/L)에 미량원소(0.25 FMM)와 비타민(0.25 FMM)을 첨가한 배지로 배양한 *I. galbana*의 성장은 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.393으로 가장 높게 나타났으며, f/2 배지와 0.25 FM 배지에 미량원소 및 비타민을 첨가한 비료 배지와는 유의한 차이가 없었다. 이와 같은 성장의 변화는 실험구에 따라 성장률의 차이는 있으나, *P. lutheri*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

한편 0.25 FM 배지에 미량원소와 비타민을 첨가한 배지로 배양한 *T. tetrathele*는 대조구인 Conwy 배지에서 성장률이 0.355로 가장 높게 나타났으며, f/2 배지의 성장률은 0.332로 0.25 FM 배지에 비타민을 첨가한 비료 배지(0.25 FMV)의 0.335와 유의한 차이가 없었고, 0.25 FM 배지와 0.25 FM 배지에 미량원소를 첨가한 비료 배지(0.25 FMV)는 낮은 성장률을 보였다. 이와 같은 성장의 변화는 실험구에 따라 성장률의 다소의 차이는 있으나, *C. simplex*와 *P. tricornutum*에서도 *T. tetrathele*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

미세조류 중 어떤 종류는 높은 암모니아 농도(1 mg · atom N/L 암모니아)에 매우 민감하며, 성장이 저해된다고 보고된 바 있다(Kalpan et al., 1986). 암모니아 농도가 0.5 mg · atom N/L 보다 높으면 높은 조도와 pH의 배양환경

에서 배양되는 10여종 부착 규조류의 성장을 저해한다고 보고하고 있다 (Admiraal, 1977). 특히, 높은 조도, pH 및 암모니아 농도와의 상관관계에 대해서 주목해야 하며, 높은 pH와 암모니아 농도는 복합적으로 미세조류에 독성을 끼친다고 보고하였다(Kalpan et al., 1986).

미세조류 배양시 배지 내의 암모니아가 질산염의 흡수를 저해하는 것으로 보고되고 있다(Caperon and Meyer, 1972; Epply and Renger, 1974; Bienfang, 1975; Conway, 1977; Terry, 1982). 광합성을 하는 대부분의 미세조류는 질소 공급원으로서 질산염 또는 암모니아를 이용하며, 여러 종류의 미세조류 (*Anabaeba variabilis*, *Nostoc muscorum*, *Chlorella ellipsoidea*, *C. pyrenoidosa*, *Chaetoceros simplex*, *Cyclotella cryptica*, *Skeletonema* sp.)는 질소 공급원으로서 질산염 또는 암모니아에서 유사한 성장률을 나타낸다고 보고된 바 있다(Leftley, 1980). 그러나 Paasche (1971)는 *Dunaliella tertiolecta*는 질산염 보다 암모니아 환경에서 10~30% 정도 더 빨리 성장한다고 보고하였다. 또한 Anita et al. (1975)은 미세조류를 배양할 경우 질산염을 함유한 배지에서 더 성장률이 높다고 보고하였다. 이와 같이 미세조류의 종과 연구자에 따라 질소원으로서의 질산염과 암모니아의 효과는 다른 것으로 보고되었다.

본 연구에서 Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에 의한 *I. galbana*의 배양 기간 동안 영양염의 변화는 배양 시작 시 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 29.5배 높았고, 배양 10일째 비료 배지의 암모니아 농도가 Conwy 배지 보다 2.4배 높았다. 배양 시작 시 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 4배 높았고, 배양 10일째 비료 배지의 질산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.5배 높았다. 배양 시작 시 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.7배 높았고, 배양 10일째 비료 배지의 인산염 농도가 Conwy 배지 보다 1.9배 높았다. 배양 10일째 암모니아, 질산염 및 인산염 농도가 배양 초기 보다 월등히 감소하였으며, 특히 암모니아의 농도가 약 10배

정도 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 영양염으로 질산염 보다 암모니아의 흡수율이 높아 이에 대한 영양 요구가 높은 것으로 판단된다.

이와 같은 영양염의 변화는 실험구에 따라 다소의 함량 차이는 있으나, *P. lutheri*, *C. simplex*와 *P. tricornutum*에서도 *I. galbana*의 영양염 변화와 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 *T. tetrathele*의 경우 Conwy 배지와 농업용 비료 배지(0.25 FMM)에서 질산염의 감소량은 적은 반면 배양 기간 동안 암모니아의 농도는 급격히 감소하는 경향을 나타내어 *T. tetrathele*는 성장에 필요한 영양염으로 질산염 보다 암모니아를 더 많이 요구하는 것으로 판단된다.

Valenzuela-Espinoza et al. (1999)은 f/2배지와 농업용 비료 배지로 *I. galbana*를 배양 시 비료 배지에 비해 f/2배지로 미세조류를 배양하는데 소요되는 비용이 약 8배 더 소요된다고 보고하였다. 본 연구에서 Conwy 배지와 농업용 비료를 이용한 0.25 FMM 배지(복합 비료 0.0294 g/L+요소 비료 0.0409 g/L+미량원소 0.1 mL/L)로 미세조류 1톤 배양할 경우에 소요되는 비용은 Conwy 배지가 약 1,747원, 0.25 FMM 배지가 약 105원이었으며, Conwy 배지가 농업용 비료 배지 보다 약 16.6배의 비용이 더 많이 소요되었다(Table 16). 농업용 비료 배지가 Conwy 배지 보다 조제가 용이하며 조개류 종묘생산 시 미세조류 배양에 소요되는 비용을 절감할 수 있으므로 종묘생산에 소요되는 비용을 낮출 수 있어 생산원가 절감에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

Table 16. Comparison of cost per 1 m<sup>3</sup> between Conwy and 0.25 FMM media for microalgal culture

Conwy medium		0.25 FMM medium	
Component	Cost (won)	Component	Cost (won)
NaNO <sub>3</sub>	550.00	compound fertilizer	48.51
EDTA(Na Salt)	495.00	urea fertilizer	51.13
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	258.72	ZnCl <sub>2</sub>	0.23
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	110.00	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1.99
FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	15.73	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O	3.00
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	6.34	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.26
ZnCl <sub>2</sub>	0.23		
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1.99		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O	3.00		
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.26		
Vitamin B <sub>1</sub>	3.00		
Vitamin B <sub>12</sub>	302.50		
Total	1,746.77		105.12

0.25 FMM medium, (compound fertilizer 0.0294 g/L+urea fertilizer 0.0409 g/L)+mineral element.

## 2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙

조개류에서 생식주기 및 성 성숙은 외인성 요인(exogenous factor)과 내인성 요인(endogenous factor)의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 외인성 요인으로는 수온, 빛, 조석주기, 수심, 먹이, 밀도, 질병, 염분 및 기질 등이 있으며, 내인성 요인으로는 유전학적 요인과 내분비성 요인 등을 들 수 있는데, 수온은 이러한 여러 요인들 가운데 가장 중요하게 작용하는 요인이다(Mackie, 1984). 본 연구에서는 수온 20℃에서 피조개 모패를 수용하여 먹이생물로서 공급한 미세조류의 종류에 따른 성 성숙을 조사하였다.

조개류에서 생식주기는 주로 생식소지수, 비만도 및 생식소 발달단계 빈도의

월 변화 등으로 구분되어 왔다(García-Domínguez et al., 1994; Behzadi et al., 1997; Villalejo-Fuerte and García-Domínguez, 1998; Marsden, 1999; Chung and Kim, 2000; Chung et al., 2001; Park et al., 2003).

조개류의 비만도는 생식소의 발달과 함께 증가하며, 생식세포의 방출 후에는 감소한다(Chang and Lee, 1982; Lee et al., 1997). 본 연구에서 피조개 모패의 연체부지수와 각부용적지수는 사육초기에는 변화가 없었으나, 사육 15일부터 전 실험구에서 먹이생물을 활발히 섭취하여 실험 종료 시에는 연체부지수가 급격히 증가하였다.

피조개의 생식주기는 생식소지수의 월 변화와 생식소 발달단계 빈도의 월 변화를 기초로 11~3월의 비활성기, 3~5월의 초기활성기, 5~7월의 후기활성기, 6~8월의 완숙기, 8~10월의 방출 및 퇴화기로 구분할 수 있으며, 산란 및 방정은 주로 6~8월에 일어난다(Chung, 1997; Park et al., 1998; Lee, 2000; Park et al., 2001).

본 연구에서 서로 다른 미세조류를 단일 또는 혼합 공급한 피조개 어미의 생식소 발달단계는 생식세포의 형태, 크기 및 분화의 조직학적 특징을 볼 때 초기활성기, 후기활성기, 완숙기 및 부분산란기의 4단계로 관찰할 수 있었다. *T. tetrathele* 단일 또는 3종의 먹이생물을 혼합 공급할 경우 45일 경과 후 암컷은 83%, 수컷은 90%이상의 완숙기를 보였다.

피조개 어미의 성 성숙은 Kim et al. (2006)의 수온에 의한 성숙유도에 관한 연구가 있을 뿐 먹이생물별 성숙유도에 관한 연구가 미흡한 실정이다. Moon et al. (2009)은 미세조류 3종(*Chlorella ellipsoidea*, *T. tetrathele*, *P. tricornutum*)을 단독 또는 혼합 공급하여 키조개(*Atrina pectinata*) 어미 성숙을 조사한 결과, 실험 종료 시 성숙유도율이 *T. tetrathele* 단독공급구에서 82.0%로 가장 높았고, *C. ellipsoidea* 공급구에서 72.0% 및 혼합공급구에서 58.0%로 나타났다. 또 키조개 어미의 생존율은 혼합공급구에서 94.4%로 가장 높게 나타났고, *P. tricornutum*

단독공급구에서 90.0%, *T. tetrathele* 단독공급구에서 83.1% 및 *C. ellipsoidea* 단독공급구에서 78.8% 순으로 나타났다(Moon et al., 2009).

그러나 본 연구에서는 미세조류 3종(*I. galbana*, *T. tetrathele*, *P. tricornutum*)을 단독 또는 혼합 공급하여 피조개 어미성숙을 조사한 결과, 성숙유도율은 혼합공급구에서 65.6%로 가장 높게 나타났고, 어미의 생존율도 혼합공급구에서 88.3%로 가장 높았다. 그러나 *T. tetrathele* 단독공급구는 혼합 먹이공급구와 유의한 차이가 없을 정도의 좋은 먹이효율을 보였다(Min et al., 2011). 본 연구에서 일반적으로 조개류 먹이생물로 양호한 종으로 널리 알려진 *I. galbana*가 낮은 성 성숙유도율과 생존율을 보인 결과가 특이하였다.

이와 같은 결과로 보아 채란을 위한 피조개 어미의 사육은 *T. tetrathele* 단독공급 또는 *T. tetrathele*를 포함한 2~3종을 혼합하여 공급하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

### 3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 먹이효율

조개류 부유유생기의 성장에 미치는 중요한 요인은 수온, 염분, 조도, 유생의 밀도 및 먹이생물 등이 있으나 그중에서 수온이 성장을 지배하는 가장 중요한 요인이며, 수온에 따라 먹이생물의 섭취량이 달라지고 성장도 큰 영향을 받는다(Loosanoff, 1950; Loosanoff and Davis, 1963; Walne, 1974).

조개류는 미세조류를 여과 섭식하므로 실내에서 유생 및 어미 사육을 위해서는 미세조류의 확보가 가장 중요하며(Epifanio, 1979), 이러한 미세조류는 세포 내에 함유된 영양 가치에 따라 성장, 생식소의 성숙, 유생의 변태 및 생존율에 영향을 미치게 된다(Holland, 1978; O'Connor et al., 1992).

조개류 유생사육시 *I. galbana* 와 *P. lutheri* 는 초기 먹이생물로서 크기 및 영양 가치면에서 우수한 먹이로 알려져(Enright et al., 1986), 주로 많이 이용되는 종류이다(Delaunay et al., 1992; Marty et al., 1992). 따라서 본 연구는 3종(*I.*

*galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex*)의 미세조류가 피조개 유생과 부착치패의 성장, 생존에 미치는 영향을 아미노산 및 지방산 조성으로 연계하여 조사하였다.

본 연구에서 이들 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합한 미세조류의 지방산 조성 분석 결과, eicosapentaenoic acid (20:5n3, EPA)는 *C. simplex*에서만 25.9±0.64%로 나타났고, 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acids, PUFA)과 n - 3 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA)도 *C. simplex*에서 가장 높게 나타났다.

피조개의 유생기 먹이생물에 관하여 今井·西川 (1969)은 *P. lutheri*는 번식속도가 늦고 배양하기 어려운 반면 먹이효율이 높다고 보고하였다. 또 田中等 (1974)은 먹이 종류별 유생 사육시험에서 먹이를 단독으로 공급한 실험구에 비하여 혼합 공급 실험구 쪽에서 양호한 결과를 얻었다고 보고하였다. Helm and Laing (1987)은 *I. galbana*와 *C. calcitrans*의 먹이공급에 따른 조개류 유생의 성장에 관한 비교 연구에서 2종을 혼합 공급한 것 보다 단일종을 공급한 경우가 영양적인 측면에서 중요한 요소가 결핍되었기 때문에 부진한 성장을 나타내었다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 3종을 혼합하여 먹이로 공급한 유생과 부착치패의 성장과 생존율은 혼합 공급구에서 가장 높았고, 단일 공급구 중에서는 *C. simplex*, *I. galbana*, *P. lutheri*의 순이었다.

n-3 HUFA 계열 지방산은 양식에 필요한 미세조류를 선택하는데 중요한 요건이며(Watanabe et al., 1983; Rezeq and James, 1987), 미세조류의 성장률과 영양성분의 변화, 특히 지방함량과 불포화지방산은 배양 환경에 관여하는 여러 가지 조건과 관련이 있다고 보고된 바 있다(Iwamoto and Sugimoto, 1955; De Pauw et al., 1984). 본 연구에서 *C. simplex*는 다른 2종의 미세조류 보다 포화지방산 및 n - 3 고도 불포화 지방산의 함량이 높으므로 피조개 유생 사육시 단일 공급구 중에서 빠른 성장을 나타내었고 생존율도 높은 것으로 사료된다.

미세조류의 지방산 함량 중 HUFA, 특히 EPA와 DHA는 조개류 유생의 성장과 생존율에 영향을 준다(Langdon and Waldock, 1981; Enright et al., 1986;

Brown et al., 1989).

n-3 HUFA 계열 지방산은 양식에서 필요한 미세조류를 선택하는데 중요한 요건이다(Watanabe et al., 1983). 그러나 미세조류의 성장률과 영양성분의 변화, 특히, 지방함량과 불포화지방산은 배양환경에 관여하는 여러 가지 조건과 관련이 있다고 보고되고 있다(Iwamoto and Sugimoto, 1955; De Pauw et al., 1984).

지방산 조성은 먹이가치와 영양요구량을 결정하는 매우 중요한 요소이며, 먹이가치 판단의 직접적인 평가 요소이다. Palmitic acid, 단일불포화지방산은 주로 성장 및 활동에너지로 이용(Enright et al, 1986; Thompson et al., 1993)되며, 고도불포화지방산, EPA, DHA는 조개류, 새우류, 어류 등 해산동물(Volkman et al., 1993; Castell et al., 1994)의 유생과 치패의 성장에 관여하는 필수지방산으로 밝혀져 있다(Langdon and Waldock, 1981; Thompson et al., 1993; Brown et al., 1997). 그리고 arachidonic acid는 포유동물, 해산어류 및 무척추동물의 생명활동에 매우 중요한 prostaglandin의 전구물질, 이온 수송 및 삼투조절에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 필수지방산으로 보고되고 있다(Castell et al., 1994).

본 연구에서 피조개 부착치패의 먹이로서 *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex* 등 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합하여 공급한 피조개 부착치패의 아미노산 조성은 미세조류의 종류에 관계없이 비슷한 경향을 보여 먹이공급구 간에 유의한 차이는 없었다.

본 연구에서 서로 다른 미세조류 3종을 단일 또는 혼합하여 먹이로 공급한 피조개 부착치패의 stearic acid (18:0) 함량은 *C. simplex* 공급구에서 13.5±1.97%로 가장 높게 나타났으며 ( $P<0.05$ ), 포화지방산 함량은 *C. simplex* 공급구에서 다른 실험구 보다 높은 경향을 나타내었다. Arachidonic acid (20:4n6, AA) 함량은 *C. simplex* 공급구에서 8.1±7.08%로 가장 높게 나타내었고, 불포화지방산 함량은 *C. simplex* 공급구에서 arachidonic acid의 함량이 다른 실험구에 비해 높은 경향을 보였다.

*C. simplex* 공급구에서 빠른 성장을 보였고, 혼합공급구에서 가장 빠른 성장을 보였고, *I. galbana*, *P. lutheri* 공급구는 상대적으로 성장이 부진하였으며, 실험구별 유생의 생존율도 성장과 동일한 경향을 나타내었다. 그리고 부착치패의 경우에도 유생에서와 동일한 경향을 나타내었다.

이와 같은 결과를 나타낸 것은 먹이생물로서 *C. simplex*는 *I. galbana*, *P. lutheri* 보다 포화지방산 및 n-3 고도불포화지방산의 함량이 높아 빠른 성장과 높은 생존율에 영향을 미친 것으로 판단된다. 포화지방산, 단일불포화지방산은 주로 성장 및 활동에너지로 이용되므로(Enright et al, 1986; Thompson et al., 1993) 단일공급구 중 *C. simplex* 공급구에서 불포화지방산 함량이 높아 성장과 활동에너지로 이용되어 빠른 성장을 보였고, 무척추동물의 생명활동에 매우 중요한 역할을 하는 arachidonic acid의 함량도 다른 단일공급구에 비해 높아 다른 실험구에 비해 부착치패의 성장과 생존이 높은 것으로 판단된다. 그러나 먹이생물의 공급은 단일종만을 공급하는 것 보다는 *C. simplex*를 포함한 2~3종을 혼합하여 공급할 경우 빠른 성장과 높은 생존율로 생산성을 더욱 향상시킬 수 있었다.

#### 4. 피조개 부착치패의 중간양성

피조개는 다른 조개류와 같이 미세조류의 여과 섭식자로서 유생사육 초기에 일시 부착하는 생태적 습성을 가지고 있어 인공종묘 생산을 위해서는 유생의 생태특성에 적합한 관리 및 경제성이 확보되어야 하는 어려움이 있으며, 부착치패의 중간양성기간 중 치패의 낮은 생존율은 종패 원가 상승의 요인으로 이를 개선하기 위한 기술 확립이 시급한 실정이다. 특히, 채묘기에 부착된 치패는 성장함에 따라 먹이 섭취량이 급증하여 실내에서 배양된 먹이만으로는 필요한 먹이를 충분히 공급할 수 없으므로 부착치패를 바다에 내어 중간양성을 하여야 한다.

부착치패의 중간양성은 각장 1 mm 내외의 부착치패를 바로 양식장에 살포

하면 생존율이 너무 낮기 때문에 본 양성에 들어가기 전에 일정기간 동안 양 성해서 각장 1 cm 내외로 성장 시키는 과정이며, 인공종묘의 양식 산업화 추진의 현안 애로기술이다.

피조개 부착치패의 중간양성에 관한 연구는 菅野 (1963)가 육상수조에서 사육된 부착치패의 초기성장과 바깥바다에서 중간양성한 치패의 성장 및 생존에 관하여 보고한 이래, 치패의 중간양성에 관한 다수의 연구(田中等, 1974; 寺嶋等, 1978)가 이루어져 왔다. 최근에는 국립수산과학원에서 피조개 인공종묘생산의 산업화 기술개발을 위해 중간양성 장소, 수심, 망목 및 성숙관리 기법 등에 관한 연구(Min et al., 2004, Kim et al., 2006)가 추진되었으나 피조개 부착치패의 중간양성 시 풍파에 의한 부착치패의 탈락과 유실 등으로 생존율이 낮아 산업화에는 미흡하였다. 따라서 본 연구에서는 부착치패의 중간양성 시 보호망 형태와 유실 방지망 종류에 따른 치패의 성장과 생존율을 조사하여 중간양성 관리기법을 확립코자 하였다.

2005년 8월 9일부터 2005년 10월 7일까지 60일간에 걸친 보호망 형태별 피조개 부착치패의 중간양성시험 기간 중의 수온범위는 22.5~27.7°C이었으며, 8월 24일에 27.7°C로 가장 높았고, 10월 7일에 22.5°C로 가장 낮았다. Jeong and Cho (2003)는 2002년부터 2003년까지 조사에서 연중 수온의 범위는 5.3~29.0°C 이었고, 7~8월에 가장 높은 것으로 보고하였다. 본 연구에서의 고수온시기와 일치하였고, 중간양성 기간 중 평균 수온은  $25.1 \pm 7.4$ °C로 부착치패 성장에 적합한 수온이었다. 염분범위는 24.5~32.5 psu이었으며, 10월 11일에 32.5 psu로 가장 높았고, 8월 9일에 24.5 psu로 가장 낮았다. Min et al. (2004)은 2004년 8월 11일에 여수해역에서 염분이 15.2 psu로 가장 낮게 나타났으며, 이는 태풍으로 인한 집중호우로 대부분의 해역에서 낮은 염분을 보였고, 낮은 염분이 성장과 생존에 영향을 미친 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 가장 낮은 염분이 24.5 psu로 비교적 높아 부착치패 생존에 크게 영향을 미치지 않는다고 생각된다.

산소의 변화는 5.4~8.5 mg/L이었으며, 8월 23일에 5.4 mg/L로 가장 낮았고, 10월 7일에 8.5 mg/L로 높게 나타났으며, 빈 산소수피는 나타나지 않아 이로 인한 대량폐사는 확인되지 않았다.

보호망 형태를 서로 달리하여 60일간 중간양성한 부착치패의 성장은 노출형이 평균 각장 12.8±3.2 mm로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 통발형이 12.2±3.5 mm, 원통형이 11.9±3.8 mm, 직사각형이 10.9±3.7 mm 순으로 큰 차이를 나타내지 않았다. 이 결과는 Ryu et al. (1993)이 보고한 해중채룡수하관리로 55일째 11.0 mm로 성장한 것과 유사한 결과를 나타내었다. 중간양성 기간 중 보호망 형태를 서로 달리한 부착치패의 생존율은 통발형 43.7%, 원통형 41.2%, 직사각형 31.6%로 보호망 형태에 따라서는 통발형 및 원통형이 직사각형 보다 유의하게 높았으며, 노출형이 5.4%로 매우 낮았다( $P < 0.05$ ). 高見 等 (1977, 1978)은 중간양성 기간 중 생존율이 1975년도에 6.5%, 1976년도에 26.6%였고, Kim et al. (1980)은 각장 1 mm 부착치패를 55일간 중간양성 시험한 결과, 생존율이 23.9~25.0%로 보고 한 바 있다.

낮은 생존율의 원인으로서는 피조개 부착치패의 중간양성 시 보호망에 부착된 부니와 부착생물로 인한 해수소통의 부진 등이 보고된 바 있다(Ryu et al., 1993). Min et al. (2004)은 피조개 부착치패의 하계 중간양성에 관한 연구에서 낮은 생존율의 원인은 중간양성 30일 후 태풍의 내습으로 심한 풍파와 집중호우에 의한 부착치패의 탈락과 저염분 그리고 빈산소수피에 기인한 것으로 보고하였다.

동 연구는 하계에 수행되었고, 앞에서 보고 된 시험조건과 해역특성에 차이가 있어 이들의 연구결과와 비교하여 고찰하기는 어려우나, 이들 연구결과 보다는 비교적 높은 생존율을 나타내었다. 본 연구에서는 채묘망과 보호망 간의 공간이 확보되어 마찰에 의한 탈락이 방지되고, 해수의 소통이 원활하여 부착치패의 생존율이 높은 것으로 추정되며, 피조개 부착치패의 보호망은 통발형

및 원통형을 사용하면 높은 생존율을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

유실 방지망 종류별로 163일간 중간양성한 부착치패의 성장은 차광막에서 평균 각장  $13.9 \pm 3.1$  mm로 가장 빨랐고( $P < 0.05$ ), 여자망  $12.9 \pm 3.0$  mm, PE망  $11.8 \pm 3.1$  mm 및 대조구에서  $12.6 \pm 3.3$  mm의 순으로 나타났으며, 서로 다른 유실방지망으로 163일간 중간양성한 부착치패의 생존율은 차광막에서 91.5%, PE망 90.1%, 여자망에서 88.5%로 유의한 차이가 없었다. 그러나 유실 방지망을 설치하지 않은 대조구에서는 61.5%로 설치한 시험구보다 유의하게 낮았다( $P < 0.05$ ).

Ryu et al. (1993)은 생존율이 낮은 원인으로 중간양성 시 부착치패의 크기가 작아 탈락에 따른 유실이 문제가 된다고 보고한 바 있다. 그러나 부착치패의 탈락을 막기 위하여 보호망의 망목 크기를 부착치패 크기보다 작게 할 경우 해수의 소통이 원활하지 않아 대량폐사가 일어날 가능성이 많다. 따라서 본 연구에서는 보호망목의 크기는 2 mm 내외를 사용하여 해수의 유통이 비교적 원활히 되도록 하였으며, 일시적으로 탈락하는 개체의 유실을 방지하기 위하여 부착치패 채묘망과 직각으로 설치한 결과 높은 생존율을 올릴 수 있었다. 또한 실내에서 사육한 부착치패를 중간양성장까지 수송 후 바다에 중간양성을 하게 됨에 따라 온도의 차이, 건조, 스트레스 등에 의한 부착치패의 활력저하와 탈락으로 인한 폐사가 발생됨으로 이러한 문제점에 관한 더 많은 연구가 수행되어야 할 것이다.

유실 방지망 종류별 중간양성시험은 시험기간이 겨울에서 봄철 사이이었기 때문에 태풍, 빈산소수괴 및 저염분 등의 영향을 전혀 받지 않았고, 보호망에 부착 물질이 거의 없어 생존율이 매우 높았다. 따라서 여름철 중간양성 보다 생존율에서는 월등히 높은 결과를 나타내어 겨울철 중간양성이 우리나라에서 주로 행하여지는 봄철에 살포 시기와 일치하므로 겨울철 중간양성이 유리할 것으로 사료된다. 따라서 피조개 부착치패 중간양성 시기는 태풍 등의 위험한 시기를 피하여 조절

하고, 보호망과 유실 방지망을 병행하여 설치하면 높은 생존율을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.



## 제5장 요약

조개류의 먹이생물로 주로 이용되고 있는 미세조류 5종에 대한 배양환경조건과 농업용 비료 배지의 적정 농도를 구명하고, 피조개 성숙과 유생 및 부착치패에 미치는 미세조류의 먹이효율과 부착치패의 중간양성시 생존을 향상을 위한 실험을 실시하였다.

### 1. 미세조류 5종의 대량배양을 위한 농업용 비료 배지의 효과

실험에 사용된 미세조류는 조개류 유생과 부착치패의 먹이생물로 주로 이용되고 있는 착편모조류 2종(*Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*), 규조류 2종(*Chaetoceros simplex*, *Phaeodactylum tricornutum*)과 담녹조류 1종(*Tetraselmis tetrahele*) 등 5종을 선정하였으며, 배양환경은 수온(20, 25, 30, 35°C), 염분(20, 25, 30, 33 psu) 그리고 조도(3,000, 5,000, 7,000 lux)를 서로 달리하여 5종의 미세조류에 대한 성장을 조사하였다.

*I. galbana*의 성장은 수온 20°C 보다 25°C에서 빠른 성장을 나타내었으며, 수온 25°C일 때 일간 성장률은 염분 33 psu에서 0.413으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.368로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 25 psu에서 일간 성장률은 0.383으로 30 psu 보다 낮게 나타났고, 20 psu 보다 높은 경향을 보였다( $P < 0.05$ ). 이와 같은 수온과 염분에 따른 미세조류의 성장률은 종별로 다소 차이는 있으나 *P. lutheri*, *T. tetrahele*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

한편, *C. simplex*의 성장은 수온 25°C 보다 30°C에서 빠른 성장을 나타내었으며, 수온 30°C에서 일간 성장률은 배양 10일째 염분 33 psu에서 0.428로 가장 높았고, 20 psu에서 0.389로 가장 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 또한 *P. tricornutum*의 성장은 수온 25°C 보다 20°C에서 빠른 성장을 나타내었으며, 수온 20°C에서

일간 성장률은 배양 10일째 염분 33 psu에서 0.420으로 가장 높았고, 20 psu에서 0.363으로 가장 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 수온 30°C, 35°C에서는 배양 5일을 전후로 하여 모두 폐사하였다. 그리고 서로 다른 조도에서 배양한 5종의 미세조류의 성장은 5,000 lux의 조도 보다 7,000 lux의 조도에서 가장 빠른 성장을 나타내었다( $P<0.05$ ).

농업용 복합비료와 요소비료의 함량을 서로 달리한 비료 배지(FM, 0.5 FM, 0.25 FM)와 미량원소와 비타민을 첨가한 배지(0.25 FMM, 0.25 FMV)로 미세조류의 성장을 기존 배지와 비교하여 미세조류 대량배양시 조제가 용이하고 경제적이며 Conwy 배지 등 기존 배지에 버금갈 수 있는 농업용 비료 배지(0.25 FMM)의 배양효과를 확인하였다.

농업용 복합비료와 요소비료의 함량을 서로 달리한 비료 배지(FM, 0.5 FM, 0.25 FM)에 의한 *I. galbana*의 10일간에 걸친 성장률은 대조구인 Conwy 배지에서 0.396으로 가장 높게 나타내었으며( $P<0.05$ ), 비료 배지의 경우 0.25 FM 배지에서 0.368로 FM 배지와 0.5 FM 배지에 비해 높게 나타내었다( $P<0.05$ ). 이와 같은 배지에 따른 미세조류의 성장변화는 약간의 차이는 있으나 *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrahele*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

농업용 비료 배지에 의한 미세조류의 성장을 향상시키기 위하여 0.25 FM 비료 배지에 미량원소 첨가 배지(0.25 FMM)와 비타민 첨가 배지(0.25 FMV)로 배양한 *I. galbana*의 성장률은 Conwy 배지에서 0.393으로 높게 나타내었으나 ( $P<0.05$ ), f/2 배지와 미량원소 및 비타민을 첨가한 비료 배지(0.25 FMM, 0.25 FMV)와는 유의한 차이가 없었다. 또한 미세조류 배양 7일째 0.25 FMM 배지 함량을 서로 달리하여(75%, 50%, 25%) 중간 시비할 경우에 25% 중간 시비 실험구의 성장은 75% 중간 시비 실험구 보다 높게 나타나( $P<0.05$ ), 중간 시비의 효과를 확인할 수 있었다. 이와 같은 미세조류의 성장 변화는 다소의 차이는

있으나, *P. lutheri*, *C. simplex*, *P. tricornutum*, *T. tetrathele*에서도 *I. galbana*의 성장과 유사한 경향을 나타내었다.

농업용 비료에 미량원소가 첨가된 0.25 FMM 배지에 의한 5종의 미세조류를 10일간 배양한 결과, *I. galbana*와 *P. lutheri*의 성장은 0.25 FMM 배지 보다 Conwy 배지에서 다소 빠른 성장을 나타내었으나 유의한 차이는 없었다. 그러나 *C. simplex*, *P. tricornutum* 그리고 *T. tetrathele*의 성장은 Conwy 배지 보다 0.25 FMM 배지에서 빠른 성장을 나타내었다( $P < 0.05$ ).

따라서 이상의 결과에서 미세조류를 산업현장에서 대량배양할 때 조제가 용이하고 경제적이며 f/2, Conwy 배지 등 기존의 배지에 버금갈 수 있는 배지는 농업용 비료에 미량원소가 첨가된 0.25 FMM 배지임을 확인할 수 있었다.

## 2. 미세조류 3종에 따른 피조개 어미의 성숙

미세조류 3종(*I. galbana*, *P. tricornutum*, *T. tetrathele*)을 먹이로 공급하며 미세조류 종류에 따른 피조개 어미의 비만도, 생식소 발달 및 성숙유도율을 조사하였다.

피조개 어미의 연체부지수는 어미사육 45일째에 미세조류 3종을 혼합한 혼합먹이공급구에서 67.58로 *T. tetrathele* 단일 먹이공급구 64.05 보다 유의하게 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 각부용적지수는 혼합먹이공급구와 *T. tetrathele* 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다.

어미사육 45일 경과 후 암컷의 완숙기 출현율은 혼합공급구에서 87%로 가장 높았으며( $P < 0.05$ ), *T. tetrathele* 단일공급구는 83%로 혼합공급구와 유의한 차이가 나타나지 않았다. 수컷의 완숙기 출현율은 혼합공급구에서 95%로 높게 나타내었고( $P < 0.05$ ), *T. tetrathele* 단일공급구는 90%로 혼합공급구와 유의한 차이는 나타나지 않았다.

피조개 어미의 성숙유도율은 혼합공급구에서  $65.6 \pm 1.2\%$ 로 다른 실험구에 비

해 높았고( $P < 0.05$ ), *T. tetrathele* 단일공급구는  $61.1 \pm 2.4\%$ 로 *I. galbana*나 *P. tricornutum* 단일먹이를 공급한 것 보다 높았으나( $P < 0.05$ ), 혼합공급구와 *T. tetrathele* 단일공급구와는 유의한 차이가 없었다.

따라서 피조개 어미의 성숙은 5월 초순에 어미를 수용하여 수온  $20^\circ\text{C}$ 에서 *T. tetrathele* 단일먹이를 공급하거나 *T. tetrathele*를 포함한 3종을 혼합하여 먹이생물을 공급할 경우에 45일 경과 후 암·수 모두 완숙기에 이르러 어미관리에 의한 안정적인 채란이 가능하였다.

### 3. 미세조류 3종에 따른 피조개 유생과 부착치패의 성장 및 생존

*I. galbana*, *P. lutheri* 그리고 *C. simplex* 등 미세조류 3종을 먹이로 공급하며, 미세조류 종류에 따른 유생과 부착치패의 성장, 생존 등 생산성 향상을 위한 적정 먹이생물을 아미노산 및 지방산 조성과의 연계하여 구명하였다.

서로 다른 미세조류 3종을 단일 또는 혼합하여 먹이로 공급한 피조개 유생의 성장은 사육 6일째(D형 유생 단계), 18일째 유생(각정기 단계), 사육 24일째 유생(부착기 유생 단계)의 성장은 혼합 공급구에서 가장 빠르게 나타내었고, 단일 공급구 중에서 *C. simplex* 공급구에서 가장 높은 성장을 보였다.

그리고 서로 다른 미세조류 3종을 단일 또는 혼합하여 먹이로 공급한 피조개 유생의 생존율은 사육 6일째(D형 유생 단계), 18일째 유생(각정기 단계), 24일째 유생(부착기 유생 단계)의 생존율은 혼합 공급구에서 가장 높게 나타내었고, 단일 공급구 중에서 *C. simplex* 공급구에서 가장 높은 생존율을 보였다.

피조개 유생 및 부착치패의 먹이로서 *I. galbana*, *P. lutheri*, *C. simplex* 등 3종을 단일 또는 동일비율로 혼합한 미세조류의 지방산 조성은 eicosapentaenoic acid ( $20:5n3$ , EPA) 함량이 *C. simplex*에서만  $25.9 \pm 0.64\%$ 로 나타났고, 다불포화지방산 (polyunsaturated fatty acids, PUFA)과 n-3 고도불포화지방산 (highly unsaturated fatty acid, HUFA) 함량은 *C. simplex*에서 가장 높게 나타났다.

서로 다른 미세조류 3종을 단일 또는 혼합하여 먹이로 공급한 피조개 부착치패의 stearic acid (18:0) 함량은 *C. simplex* 공급구에서  $13.5 \pm 1.97\%$ 로 가장 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 포화지방산 함량은 *C. simplex* 공급구에서 다른 실험구 보다 높은 경향을 나타내었다. Arachidonic acid (20:4n6, AA) 함량은 *C. simplex* 공급구에서  $8.1 \pm 7.08\%$ 로 가장 높게 나타내었고, 불포화지방산 함량은 *C. simplex* 공급구에서 arachidonic acid의 함량이 다른 실험구에 비해 높았다.

#### 4. 피조개 부착치패의 중간양성

피조개 부착치패의 중간양성 시 생존율을 향상시키기 위하여 보호망의 형태 및 유실 방지망의 종류에 따른 부착치패의 성장 및 생존을 조사하였다. 보호망의 형태별로 60일간 중간양성한 부착치패의 성장은 노출형에서 평균 각장  $12.8 \pm 3.2$  mm로 가장 빨랐으며( $P < 0.05$ ), 통발형  $12.2 \pm 3.5$  mm, 원통형  $11.9 \pm 3.8$  mm, 직사각형  $10.9 \pm 3.7$  mm의 순으로 큰 차이를 나타내지 않았다. 생존율은 통발형에서 43.7%, 원통형 41.2%, 직사각형 31.6%로 보호망의 형태에 따라 통발형 및 원통형이 직사각형보다 높았으며, 노출형이 5.4%로 매우 낮았다( $P < 0.05$ ).

유실 방지망 종류별로 163일간 중간양성한 부착치패의 성장은 차광막에서 평균 각장  $13.9 \pm 3.1$  mm로 가장 빨랐고( $P < 0.05$ ), 여자망  $12.9 \pm 3.0$  mm, PE망이  $11.8 \pm 3.1$  mm 및 대조구에서  $12.6 \pm 3.3$  mm의 순으로 나타났으며, 생존율은 차광막에서 91.5%, PE망 90.1%, 여자망 88.5%로 유의한 차이가 없었다. 그러나 유실 방지망을 설치하지 않은 대조구에서의 생존율은 61.5%로 유실방지망을 설치한 실험구보다 낮았다( $P < 0.05$ ).

따라서 피조개 부착치패의 중간양성은 통발형 및 원통형의 보호망과 유실 방지망을 병행하여 사용할 경우 치패의 높은 생존율을 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 아낌없이 지도하여 주신 허성범 교수님께 먼저 감사드리며, 바쁘신 중에도 부족한 논문을 정성껏 다듬어 주신 김철원 교수님, 장영진 교수님, 배승철 교수님, 김종명 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한, 기회가 있을 때 마다 가르침을 주시고 여러 가지 조언을 해 주신 손철현 교수님, 조재윤 교수님, 김동수 교수님, 김창훈 교수님, 남윤권 교수님께 감사의 말씀을 드립니다.

그리고 본 연구를 수행함에 있어 실험과 현장 조사 및 분석에 이르기까지 항상 헌신적인 도움을 주신 최낙중 박사님, 오봉세 박사님, 김병학 박사님, 신윤경 박사님, 박기열 박사님, 이승주 박사님, 김민철님, 임영섭님, 김숙경님, 조현효님, 권상훈님, 문수범님께 감사를 드리며, 박흥기 교수님, 조성환 교수님, 권오남 박사님, 배진희 박사님께 진심으로 감사드립니다.

어려운 여건 속에서도 연구를 수행할 수 있도록 주위에서 많은 도움을 준 김태진 연구사, 신호진 연구사에게 고마움을 전하며, 항상 업무와 연구에 매진할 수 있도록 격려하여 주신 이상운 소장님과 부산광역시 수산자원연구소 직원분들께 감사드립니다.

오늘의 저를 있게 하여 주신 외할머니와 항상 사랑으로 보살펴 주신 부모님, 장인어른과 장모님 그리고 여동생 내외 및 기도로 응원하여 주신 여러 친지분들과 이 기쁨을 같이 하고자 합니다.

끝으로 사랑하는 아내와 항상 저와 함께 하시며 가장 좋은 것을 주시는 주님께 이 영광을 돌립니다.

## 참고문헌

- Admiraal W. 1977. Tolerance of estuarine benthic diatoms to high concentrations of ammonia, nitrite ion, nitrate ion and orthophosphate. *Mar Biol* 43, 307-315.
- Admiral W. 1977. Influence of light and temperature on the growth rate of estuarine benthic diatoms in culture. *Mar Biol* 39, 1-9.
- Akashige S and Fushimi T. 1992. Growth, survival and glycerol content of triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the waters of Hiroshima, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58, 1063-1071.
- Anitia NJ, Berland BR, Bonin DJ and Maestrini SY. 1975. Comparative evolution of certain organism and inorganic sources of nitrogen for phototrophic growth of marine microalgae. *J Mar Biol Assoc UK* 55, 519-539.
- Bae JH. 2004. Selection seasonal optimum *Chlorella* and *Nannochlorosis* species and development of media for mass culture. Ph. D. thesis, Pukyong National University, 105pp.
- Ballantine JA, Lavis A and Morris RJ. 1979. Sterols of the phytoplankton-effects of illumination and growth stage. *Phytochemistry* 18, 1459-1466.
- Behzadi S, Parivar K and Roustaian P. 1997. Gonadal cycle of pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould) in northeast Persian Gulf, Iran. *J Shellfish Res* 16, 129-135.
- Benemann JR. 1992. Microalgae aquaculture feeds. *J Appl Phycol* 4, 233-245.

- Bienfang PK. 1975. Steady-state analysis of nitrate-ammonium assimilation by phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 20, 402-411.
- Breese WP and Malouf RE. 1977. Hatchery rearing techniques for oyster *Crassostrea rivularis* Gould. *Aquaculture* 12, 123-126.
- Brown MR, Jeffrey SW and Garland CD. 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, 44pp.
- Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK and Dunstan GA. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315-331.
- Carperon J and Meyer J. 1972. Nitrate-limited growth of phyto-plankton. II. Uptake kinetics and their role in nutrient limited growth of phytoplankton. *Deep-Sea Res* 19, 619-632.
- Castell JD, Bell JG, Tocher DR and Sargent JR. 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.
- Chang YJ and Lee TY. 1982. Gametogenesis and reproductive cycle of the cockle, *Fulvia mutica* (Reeve). *J Kor Fish Soc* 15, 241-253.
- Cheong SC, Kang HW and Lee JM. 1982. Experiments on the early artificial seedling production of ark shell *Anadara broughtonii* (SCHRENCK). *Bull Fish Res Dev Agency* 28, 185-197.
- Chung EY and Kim YM. 2000. Ultrastructural study of germ cell development and sexual maturation of hard clam, *Meretrix lusoria* (Bivalvia: Veneridae), on the west coast of Korea. *J Med Appl Malacol* 10, 181-202.

- Chung EY. 1997. Ultrastructural study of germ cell development and reproductive cycle of the hen clam, *Macrta chinensis* on the west coast of Korea. *Develop Reproduct* 1, 141-156.
- Chung EY, Hur SB, Hur YB and Lee JS. 2001. Gonadal maturation and artificial spawning of the manila clam, *Ruditapes Philippinarum* (Bivalvia: Veneridae), in Komso Bay, Korea. *J Fish Sci Technol* 4, 208-218.
- Conway HL. 1977. Interaction of inorganic nitrogen in the uptake and assimilation by marine phytoplankton. *Mar Biol* 39, 221-232.
- Coulter TP. 1989. *Food : the chemistry of its components*. Royal Society of Chemistry Editors, Letchworth, Herts (England), 325pp.
- Coutteau P and Sorgeloos P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in hatchery and nursery rearing bivalve molluscs : an international survey. *J Shellfish Res* 11, 467-476.
- Delaunay F, Marty Y, Moal J and Samain JF. 1992. Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* (L) Larvae grown under hatchery conditions. *J Exp Mar Biol Ecol* 163, 209-219.
- De Pauw N, Morales J and Persoone G. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems : progress and constraints. *Hydrobiologia* 116/117, 121-134.
- De Pauw N and Pruder G. 1986. Use and production of microalgae as food in aquaculture: practices, problems and research needs. In: Bilio M, Rosenthal H and Sinderman CJ (Eds.). *Realism in aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives*. European Aquaculture Society, Bredene, 77-106.

- Donaldson J. 1991. Commercial production of microalgae at coast Oyster company. In: Fulks W and Main KL (Eds.). Proceedings of US-Asia Workshop on Rotifer and Microalgae Culture, Honolulu, Hawaii. The Oceanic Institute, HI, USA, 229-236.
- Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1-42.
- Durbin EG. 1974. Studies on the adtecology of the marine diatom *Thalassiosira nordenskoldii* Cleve: I. The influence of daylength, light intensity and temperature on growth. *J Phycol* 10, 220-225.
- Enright CT, Newkirk GF, Craigiel JS and Castell JD. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *J Exp Mar Biol Ecol* 96, 1-13.
- Epifanio CE. 1979. Comparison of yeast and algal diets for bivalve molluscs. *Aquaculture* 16, 187-192.
- Epply RW and Renger EH. 1974. N assimilation of an oceanic diatom in N limited continuous culture. *J Phycol* 10, 15-23.
- Fawley M. 1984. Effects of light intensity and temperature interactions on growth characteristics of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). *J Phycol* 20, 67-72.
- Gallager SM and Mann R. 1986. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to brood conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture* 56, 105-121.
- García-Domínguez F, García-Gasca SA and Castro-Ortiz JL. 1994. Spawning cycle of the red clam, *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby, 1831) (Veneridae) at Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, Mexico. *J Shellfish Res* 13, 417-423.

- González-Rodríguez E and Maestrini SY. 1984. The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. *Aquaculture* 36, 245-256.
- Guillard RRL and Ryther JH. 1962. Studies of marine planktonic diatoms, I: *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve). *Can J Microbiol* 8, 229-239.
- Guillard RRL. 1973. Division rates. In: Handbook of phycollogical methods. Culture method and growth measurement. Stein JR. (Ed.). Cambridge University Press, Cambridge, 289-311.
- Guillard RRL. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrate. In: Smith WL and Chanley MH (Eds.). Culture of marine invertebrates animals. Plenum, New York, 296-360.
- Helm MM and Millican PF. 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture* 11, 1-12.
- Helm MM and Laing L. 1987. Preliminary observation on the nutritional value of "Tahiti *Isochrysis*" to bivalve larvae. *Aquaculture* 62, 281-288.
- His E, Robert R and Dinet A. 1989. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Biol* 100, 455-463.
- Holland DL. 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In: Malins DC and Sargent JR (Eds.). Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology Vol 4, Academic Press, London and New York, 85-123.
- Hur YB. 2004. Dietary value of microalgae for larvae culture of Pacific

- oyster, *Crassostrea gigas*. Ph.D. thesis, Pukyong National University, 133pp.
- Hur YB, Min KS, Kim TE, Lee SJ and Hur SB. 2008. Larvae growth and biochemical composition change of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, larvae during artificial seed production. *J Aquacult* 21, 203-212.
- Iwamoto H and Sugimoto H. 1955. Fat synthesis in unicellular algae: Part II. Chemical composition of nitrogen deficient *Chlorella* cells. *Bull Agric Chem Soc Japn* 19, 247-252.
- Jeffrey SW, Garland CD and Brown MR. 1990. Microalgae in Australian mariculture. *Biology of Marine Plants*. Longman Cheshire, Melbourne, 400-414.
- Jeong WG and Cho SM. 2003. The physiochemical characteristics of seawater and sediment of marine shellfish farm in Jindong Bay. *Korean J Malacol* 19, 161-169.
- Jitts HR, Mcalister CD, Stephens K and Strickland JDH. 1963. The cell division rates of some marine phytoplanktons as a function of light and temperature. *Fish Res Bd Canada* 21, 139-157.
- Kain JM and Fogg GE. 1958. Studies on the growth of marine phytoplankton. II. *Isochrysis galbana* (Parke). *J Mar Biol Ass U.K* 37, 781-788.
- Kalpan D, Richmond AE, Dubinsky Z and Aaronson S. 1986. Algal nutrition. In: A. Richmond (Ed.). *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press, Boca Raton, FL, 147-197.
- Kim BH, Min KS, Lee SJ, Park KY, An CM and Min BH. 2006. Effect of temperature on induced sexual maturation of the ark shell, *Scapharca*

- broughtonii*. (Schrenck) broodstock. Kor J Malacol 22, 175-182.
- Kim BH, Shin YK, Park KY, Choi NJ, Oh BS and Min BH. 2008. Growth and survival of the spat of ark shell, *Scapharca broughtonii* in intermediate culture with different shapes of protective net and type of preventive net of spat loss. Kor J Malacol 24, 131-136.
- Kim CW and Hur SB. 1998. Selection of optimum species of *Tetraselmis* for mass culture. J Aquacult 11, 231-240.
- Kim JD, Cheong SC and Kang HW. 1980. Studies on the artificial mass seed production of the ark shell, *Anadara broughtonii* on the intermediate culture of the artificial seed. Bull Nat'l Fish Res Dev Agency 25, 45-53.
- Kongkeo H. 1991. An overview of live feeds production system design in Thailand, Rotifer and Microalgae Culture systems. Proceedings of a U.S-Asia Workshop. Honolulu, Hawaii, January, 28-31.
- Kudo I, Myyamoto M, Noiri Y and Maita Y. 2000. Combined effects of temperature and iron on the growth and physiology of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae). J Phycol 36, 1096-1102.
- Laing I. 1995. Effect of food supply on oyster spatfall. Aquaculture 131, 315-324.
- Langdon CJ and Waldock MJ. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas*. J Mar Biol Ass UK 61, 431-448.
- Lannan CJ. 1980a. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. I. Genetic and environmental variation in survival in the larval rearing system.

- Aquaculture 21, 323-336.
- Lannan CJ. 1980b. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. III. Selective breeding for improved larval survival. Aquaculture 21, 347-351.
- Lee JM. 2000. Morphology, genetic characteristics and reproductive cycle of local populations in the arkshell, *Scapharca broughtonii* (Schrenck) (Pelecypoda: Arcidae) from Korea. 119 pp. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Busan.
- Lee JY, Chang YJ and Lee CS. 1997. Reproductive cycle of surf clam, *Spisula sachalinensis*. J Kor Fish Soc 30, 132-138.
- Leftley JW. 1980. Studies on urea metabolism in some unicellular algae. Ph.D. thesis, University of Wales, Wales.
- Loosanoff VL. 1950. Rate of water pumping and shell movements of oyster in relation to temperature (Abstract). Amat Rec 108, 620pp.
- Loosanoff VL and Davis HC. 1963. Rearing of bivalve molluscs. Adv Mar Biol 1, 1-136.
- Mackie GL. 1984. Bivalves. In: The Mollusca, Vol. 7. Reproduction, Tompa, A.S., Verdonk, N.H. and Van Den Biggelaar, J.A.M., eds. Academic Press, New York, pp. 351-418.
- Maddux WS and Raymond FJ. 1964. Some interaction of temperature, light intensity and nutrient concentration during the continuous culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp. Simnol Oceanogr 9, 79-86.
- Marsden ID. 1999. Reproductive cycle of the surf beach clam, *Paphies donacina* (Spengler, 1973) from New Zealand. J Shellfish Res 18, 539-546.
- Marty Y, Delaunay F, Moal J and Samain JF. 1992. Changes in the fatty

- acid composition of *Pecten maximus* (L) during larval development. J Exp Mar Biol Ecol 163, 221-234.
- Min BH, Kim BH, Kim SY, Shin YK and Hur SB. 2011. Effect of three microalgal species on gonadal development and sex maturation of ark shell *Scapharca broughtonii*. Korean J Malacol 27, 143-148.
- Min KS, Chang YJ, Park DW, Jung CG, Kim DH and Kim GH. 1995. Studies on Rearing conditions for mass seedling production in Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Bull Nat Fish Res Dev Agency 49, 91-111.
- Min KS, Kim BH, Lee SJ, Park KY and Kim BG. 2004. Intermediate culture of the spat of arkshell, *Scapharca broughtonii* in summer. Kor J Malacol 20, 125-130.
- Moon TS, Jo PG, Kim BH, Park KY, Ku HD, Shin YK and Lym YS. 2009. Induction of sex maturation and growth in comb pen shells, *Atrina pectinata* per microalgae classes. Kor J Malacol 25, 105-112.
- Nell JA and Holliday JE. 1988. Effects of salinity on the growth and survival of Sydney rock oyster (*Saccostrea commercialis*) and Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) larvae and spat. Aquaculture 68, 39-44.
- O'Connor WA, Nell JA and Diemar JA. 1992. The evaluation of twelve algal species as food for juvenile Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). Aquaculture 108, 277-283.
- Paasche E. 1971. Effect of ammonia and nitrate on growth, photosynthesis and ribulosediphosphate carboxylase content of *Dunaliella tertiolecta*. Physiol Plant 25, 294-299.
- Park DY. 1985. The Effect of light intensity on the quantitative and qualitative growth of phytoplanktonic food organism, *Monochrysis*

- lutheri* (Droop). Bull Nat Fish Res Dev Ins 39, 73-88.
- Park JE. 1994. The optimum culture environment of four species of phyto-food organism. Master thesis, National Fisheries University of Busan, Busan. 34pp.
- Park MS, Lim HJ and Kim PJ. 1998. Effect of environmental factors on the growth, glycogen and hemoglobin content of cultured askshell, *Scapharca broughtonii*. J Kor Fish Soc 31, 176-185.
- Park MS, Kang CK and Lee PY. 2001. Reproductive cycle and biochemical of the askshell, *Scapharca broughtonii*. (Schrenck) in a southern coastal bay of Korea. J Shellfish Res 20, 177-184.
- Park JJ, Lee JY and Chang YJ. 2003. Gonadal development and gametogenic cycle of the equilateral venus, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). J Kor Fish Soc 36, 352-357.
- Parrish CC. 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by latroscan flame ionization detection. Can J Fish Aquat Sci 44, 722-731.
- Powell EN, Bochenek EA, Klinck JM and Hoofmann EE. 2002. Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae a modeling approach. Aquaculture 210, 89-117.
- Pyen CK, Rho YG and Yoo YK. 1976. Studies on spat collection and rearing of the larvae, *Anadara broughtonii* (SCHRENCK) in tank. Bull Fish Res Dev Agency 15, 7-20.
- Rezeq TA and James CM. 1987. Production and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* in relation to different cell densities of marine *Chlorella* sp. Hydrobiologia 147, 257-261.

- Robert R, His E and Dinet A. 1988. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the European flat oyster *Ostrea edulis*. Mar Biol 97, 95-100.
- Ryu HY. 1987. The effects of light intensity and temperature on the growth of phytoplanktonic food organism *Isochrysis galbana* (Parke). Bull Nat Fish Res Dev Ins 40, 21-42.
- Ryu HY, Park DW, Jeon CY, Jeong CK, Kim DH, Kim KH, Im YS, Kim MC and Kim SH. 1993. Studies on the artificial seedling production of ark shell, *Scapharca broughtonii* (SCHRENCK). Gyeongsangnam-do, Report of Commission Research, 221pp.
- Schreiber E. 1927. Die Reinkultur von marinem phytoplankton und deren bedeutung für die erforschung der produktionsfähigkeit des meerwassers. Wiss Meersuntersuch NF 16, 1-34.
- Smayda TJ. 1969. Experimental observations on the influence of temperature, light and salinity on cell division of the marine diatom, *Detonula confervacea* (Cleve). Gran J Phycol 5, 150-157.
- Stein JR. 1973. Handbook of phycological methods: Culture Methods and Growth Measurement. Cambridge University Press, Cambridge, 431pp.
- Strickland JDH and Parsons TR. 1972. A Practical handbook of seawater analysis. Bull Fish Res Bd Can 167, 49-80.
- Terry KL. 1982. Nitrate uptake and assimilation in *Thalassiosira weissflogii* and *Phaeodactylum tricornutum*: interaction with photosynthesis and with the uptake of other ions. Mar Biol 69, 21-30.
- Thompson PA, Guo M and Harrison PJ. 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.
- Ukeles R. 1961. The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species. Bull 120, 255-264.
- Ukeles R. 1980. American experiment in the mass culture of microalgae for feeding larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. In: Algae Biomass: Production and Use. Shelef G and Soeder CJ (eds.), Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, 287-306.
- Valenzuela-Espinoza E, Millán-Núñez R and Núñez-Cebrero F. 1999. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis* aff. *galbana* (Clone T-ISO) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. Aquacult Eng 20, 135-147.
- Villalejo-Fuerte M and García-Domínguez F. 1998. Reproductive cycle of *Spondylus leucacanthus* (Broderip, 1833) (Bivalvia: Spondylidae) at Isla Danzante, Gulf California. J Shellfish Res 17, 1037-1042.
- Volkman JK, Brown MR, Dunstan GA and Jeffrey SW. 1993. The biochemical composition of marine microalgae from the class eustigmatophyceae. J Phycol 29, 69-78.
- Walne PR. 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. Fish Invest London Ser 2 24, 1-62.
- Walne PR. 1974. Culture of bivalve molluscs. Whitefriars Press Ltd., London and Tondridge, 173pp.
- Watanabe T, Kitajima C and Fujita S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review.

- Aquaculture 34, 115-143.
- Web KL and Chu FLE. 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In: Pruder GD, Langdon C, Conklin D (Eds.), Proceedings of the 2nd International Conference of Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. World Maricult Soc Spec Publ 2, 272-291.
- Whyte JNC. 1987. Biochemical composition and energy content six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture 60, 231-241.
- Wilson JH. 1978. The food value of *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin to the larvae of *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea gigas* Thunberg. Aquaculture 13, 313-323.
- Yun HY. 2005. Growth of culture environment on food organism. M.S. thesis, Mokpo National University, 60pp.
- 高見東洋・岩本哲二・中村達夫・井上 泰. 1977. アカガイの増殖に関する研究. 山口内海水試報告, 7-14.
- 高見東洋・岩本哲二・中村達夫・中村雅人・陣之内征龍・富山 昭・桃山和夫・井上泰. 1978. アカガイ増養殖に関する研究. 山口内海水試報告, 8-18.
- 菅野尚. 1963. アカガイ *Anadara broughtonii* (SCHRENCK)の水槽採苗. 東北水産研究報告, 23, 108-116.
- 今井丈夫・西川信良. 1969. ホタテガイ *Patinopecten yessoensis*, アカガイ *Anadara broughtonii*の種苗生産. 水産増殖, 16(6), 309-316.
- 田中邦三・須田恭光・庄司泰雅. 1974. アカガイの成長歩留りについて. 水産増殖, 21(4), 155-156.
- 寺嶋 朴・小野 秀次郎・土屋 豊. 1978. アカガイ人工種苗の中間育成について.

岡山縣水試事報, 199-206.

농림수산물부. 2011. 수산통계연보.

유성규. 2000. 천해양식. 구덕출판사, 203-208.

피조개양식수산업협동조합. 2011. 통계자료.

