

## 물벼룩(*Moina macrocopia*) 배양을 위한 해양효모의 유효성에 대한 안전 동위원소의 증거

김무찬<sup>1</sup> · 강창근<sup>2</sup> · 박혜영 · 이대성 · 김윤숙 · 이원재\*

부경대학교 미생물학과, <sup>1</sup>경상대학교 해양환경공학과, <sup>2</sup>부산대학교 생명과학부 생물학과

연안해역에서 분리된 해양효모 중 불포화 지방산을 함유한 두 종의 해양효모를 선정하여 물벼룩인 *Moina macrocopia*에 먹이로 투여하여 먹이의 유효성과 먹이의 선호도를 방사성 안전 동위원소를 사용하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다. 1. 두 종의 해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14는 전체 지방산 중 Docosahexaenoic acid (DHA)가 3.6%이고 총 아미노산 함량이 34.9%이며, *Candida* sp. Y-16는 지방산 중 Eicosapentaenoic acid (EPA)가 0.4%이고 총 아미노산이 46.2%였다. 2. *Debaryomyces* sp. Y-14로 배양한 *M. macrocopia*는 전체 지방산 함량 중 DHA가 5.5%, 총 아미노산 함량이 49.2%이고, *Candida* sp. Y-16으로 배양한 *M. macrocopia*는 전체 지방산 함량 중 EPA가 2.1%, DHA가 0.6%이고 총 아미노산 함량은 30.3%였다. 3. 탄소안정동위원소( $\delta^{13}\text{C}$ )는 *Debaryomyces* sp. Y-14는 -11.5‰이고 *Candida* sp. Y-16은 -10.1‰이고 대조구인 *Erythrobacter* sp. Sπ-I은 -24.1‰로 약 14‰ 정도의 차 이를 보였다. 4. 해양효모를 *M. macrocopia*에 먹이로 투여했을 때  $\delta^{13}\text{C}$ 값은 -10.9‰, *Erythrobacter* sp. Sπ-I을 먹이로 투여한 경우는 -21.8‰였다. 5. *M. macrocopia*의 생체내 탄소의 회전율은 실험초기에는 -15‰와 -13‰였지만 *Erythrobacter* sp. Sπ-I으로 바꾸어 20일 정도 배양한 결과 -19‰로 안정화되는 경향이 있었다. 6. 먹이의 선호도는 배양 4일부터 *M. macrocopia* 생체내의  $\delta^{13}\text{C}$ 값이 -13‰에서 -10‰사이의 범위로 나타나 해양효모에 가까운 값으로 대조구인 *Erythrobacter* sp. Sπ-I보다 선호하는 것으로 나타났다.

Key words □ DHA, EPA, marine yeast, *Moina macrocopia*, stable carbon isotope

종묘 생산업(種苗生產業)에서 자치어(仔稚魚) 먹이개발에 관한 연구가 많이 보고 되어있다. 초기먹이생물로서 식물성플랑크톤인 *Chlorella*와 동물성플랑크톤인 *Rotifer*나 *Artemia* 등이 많이 사용되고 있으며, 담수산물벼룩인 *Moina macrocopia*도 기초먹이로 사용되고 있다(8, 9). 또한 이들 먹이생물을 배양하면서 자치어(仔稚魚)에 꼭 필요한 불포화 지방산 등을 첨가하여 영양 강화시킨 기초 먹이 생물 개발에 대해 연구하고 있다(15).

본 연구에서는 연안해역의 해수와 이토(mud)에서 해양효모(海泮酵母)를 분리 동정하고 이를 효모 중 불포화 지방산 함량이 높은 효모 두 종을 선정하여 물벼룩인 *M. macrocopia*의 먹이로 투여 배양하면서 먹이의 유효성을 검토하였고, *Rotifer*나 *Artemia* 등의 먹이로 시판되고 있는 광합성세균인 *Erythrobacter* Sπ-1[특허 172183]과 분리한 두 종의 해양효모와의 선호도를 방사성 안전 동위원소를 사용하여 검토한 결과이다.

### 재료 및 방법

#### 시료

물벼룩(*M. macrocopia*)은 주식회사 제은에서 분양받았고 해양효모는 연안해역에서 분리된 효모 중 불포화 지방산 Eicoso-

pentaenoic acid (EPA), Docosahexaenoic acid (DHA)와 아미노산 함량이 높은 *Debaryomyces* sp. Y-14와 *Candida* sp. Y-16을 먹이로 사용하였으며, 대조구로 시판용 *Erythrobacter* Sπ-1[특허 172183]을 사용하였다. 배양은 YM agar plate (3 g of malt extract, 3 g of yeast extract, 10 g of dextrose, 5 g of peptone and 1 l seawater)를 사용하였다.

#### 방법

불포화 지방산 함량이 높은 유용한 해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14와 *Candida* sp. Y-16을 사용하여 물벼룩(*M. macrocopia*)에 먹이로 투여하였고 대조구로 시판용 먹이사료인 *Erythrobacter* sp. Sπ-1을 먹이로 투여하여 불포화 지방산의 함량과 아미노산 함량을 비교하였다. 또한 이들의 먹이 중 물벼룩의 선호도와 회전율 관계를 안전 동위원소로 분석하였다. 지방산 분석은 Bligh and Dyer (1959), Metcalfe and Schmitz (1961) 등에 의하였고 Gas chromatograph (Thermo, USA)로 분석하였다(2, 14). 아미노산 분석은 자동분석기(Sykam S4300)에 의하여 분석하였고, 방사성 안정 동위원소는 탄소안정동위원소 조성을 이용하였다. 분석치의 값은  $\delta^{13}\text{C} = [({^{13}\text{C}}/{^{12}\text{C}})_{\text{sample}} / ({^{13}\text{C}}/{^{12}\text{C}})_{\text{PDB-1}}] \times 10^3$  식으로 계산하였다(PDB; Pee Dee Belemnite의 약어, conventional standard gases). 시료의 탄소 안정동위원소의 비값을 분석하기 위하여, 건조분말 시료 1-2 mg을 tin capsule에 평량하여 CHN 원소 분석기에 주입한 뒤, 연소시켜 여기서 발생한 CO<sub>2</sub> gas를

\*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-51-620-6361, Fax: 82-51-611-6358

E-mail: wjlee@pknu.ac.kr

Isotope Ratio Mass Spectrometer System (Micromass, Ltd.)과 CHN Elemental Analyzer (EuroVector Co.)를 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 지방산 조성

물벼룩 *M. macrocopia*의 배양에 먹이로 사용된 해양효모와 대조구로 광합성세균 *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1의 지방산 조성과 물벼룩인 *M. macrocopia*에 먹이를 투여했을 때 물벼룩체내의 지방산을 분석한 결과는 Table 1 과 같다.

*Debaryomyces* sp. Y-14는 Oleic acid ( $C_{18:1}$ )가 39.1%, Palmitic acid ( $C_{16:0}$ )가 22.9%로 높은 함량을 보이고, DHA도 3.6% 존재하는 것이 주목 할 점이다. *Candida* sp. Y-16은 Oleic acid ( $C_{18:1}$ )가 39.4%, Palmitic acid ( $C_{16:0}$ )는 15.8%, EPA가 0.4% 함유되어 있다. 같은 조건에서 분석된 *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I은 Oleic acid가 70.5%로 높게 분석되었다.

이들 먹이를 *M. macrocopia*에 투여하여 지방산 함량의 변화를 본 결과 효모 *Debaryomyces* sp. Y-14의 경우는 Palmitic acid가 17.5%, Oleic acid 가 25.7%, DHA가 5.5%로 분석되었고, *Candida* sp. Y-16을 투여한 경우는 Palmitic acid 가 14.9%,

Oleic acid가 28.9%, EPA가 2.1%, DHA가 0.6%로 분석되었다. 대조구인 *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1의 경우는 Palmitic acid가 22.2%, Oleic acid가 24.5%, EPA가 4.3%로 분석되었다. 해양효모 Y-14나 Y-16을 투여했을 때 *M. macrocopia*의 생체 내에서는 시료중의 지방산이 전위가 일어나는 것을 알 수 있다. 즉 Y-14의 경우 시료중의 함량이 Palmitic acid 22.9%였으나 물벼룩 생체 내에서는 17.5%, Oleic acid의 경우 시료중의 함량이 39.1%가 25.7%로 감소되고, 반면 EPA는 3.6%에서 5.5%로 증가하였다. Y-16의 경우는 시료중의 Palmitic acid는 15.8%가 물벼룩의 생체 내에는 14.9%, Oleic acid는 39.4%가 물벼룩 생체 내에서는 28.9%로 감소되었지만, 물벼룩 생체 내에 다양한 지방산이 함유되었다. 특히 생체 내에 EPA가 0.4%에서 2.1%로 시료에 분석되지 않았던 DHA가 0.6%로 분석되는 특징을 보였다. 이러한 현상은 시료중의 지방산이 물벼룩 생체 내에서 전위(conversion)일어나고 있다는 증거이다. 해산 자치어의 성장과 생존에 중요한 역할을 하는 것이 고도의 불포화 지방산이라고 하였다. 고도의 불포화 지방산이 결핍될 경우 질병에 약하거나 면역성이 약하여 폐사되거나 성장이 잘 되지 않은 경우가 있다(3, 5, 11, 16, 19). 해수산 자치어의 성장과 생존에 필수적인 영양성분중의 하나가 불포화 지방산인 EPA와 DHA이며, 초기먹이생물에 있어서 이들 함량을 높이기 위하여 여러 가지 영양 강화제가 중대한 역할을 한다고 하

**Table 1.** Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the diets (*Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I, *Debaryomyces* sp. Y-14 and *Candida* sp. Y-16) cultured at 25°C with YM broth, and *Moina macrocopia* cultured at 25°C and fed different diets. S $\pi$ -I, Y-14 and Y-16

	Diets			<i>Moina macrocopia</i>		
	S $\pi$ -I	Y-14	Y-16	S $\pi$ -I	Y-14	Y-16
Capric acid $C_{10:0}$	-	2.8	1.48	-	-	-
Lauric acid $C_{12:0}$	-	1.1	-	-	-	0.6
Myristic acid $C_{14:0}$	0.7	0.9	1.6	3.5	-	2.8
Myristoleic acid $C_{14:1}$	-	-	-	-	-	1.5
Pentadecanoic acid $C_{15:0}$	-	-	0.6	-	-	1.7
cis-10-Pentadecenoic acid $C_{15:1}$	-	-	-	-	-	1.3
Palmitic acid $C_{16:0}$	2.6	22.9	15.8	22.2	17.5	14.9
Palmitoleic acid $C_{16:1}$	1.6	1.4	11.2	9.8	8.5	14.0
Magaric acid $C_{17:0}$	-	1.1	0.4	-	-	1.0
Magaroleic acid $C_{17:1}$	-	-	0.99	-	-	1.3
Stearic acid $C_{18:0}$	5.2	10.1	4.3	8.5	-	5.3
Oleic acid $C_{18:1}$	70.5	39.1	39.4	24.5	25.7	28.9
Elaidic acid $C_{18:1,trans-9}$	9.9	10.4	17.7	13.7	6.7	11.3
Linoleic acid $C_{18:2}$	-	3.5	2.1	-	-	0.6
Linolenic acid $C_{18:3}$	-	-	-	-	-	1.0
Arachidic acid $C_{20:0}$	-	-	-	2.9	-	0.8
Eicosenoic acid $C_{20:1}$	-	-	-	-	-	-
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid $C_{20:3}$	-	3.6	1.4	-	-	3.9
Heneicosanoic acid $C_{21:0}$	-	-	-	-	-	-
EPA $C_{20:5}$	-	0.4	4.3	-	-	2.1
Tricosanoic acid $C_{23:0}$	-	-	-	-	-	-
Lignoceric acid $C_{24:0}$	-	-	-	-	-	-
DHA $C_{22:6n3}$	-	3.6	-	-	5.5	0.6
Unknown	9.6	3.2	2.7	10.6	36.2	6.5

-: not detected

였다(13). 그리고 DHA:EPA의 비가 자치어의 성장과 생존에 중요하다고 보고되었다(1, 10, 17, 18). 특히 해양효모 *Candida* sp. Y-16를 *M. macrocopa*에 먹이로 투여 했을 때 EPA, DHA의 함량과 다양한 지방산이 분석되어 유용한 먹이인 것을 보여주고 있다.

### 아미노산 조성

해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14와 *Candida* sp. Y-16, 그리고 대조구로 *Erythrobacter* S $\pi$ -1의 아미노산 분석 결과와 이 시료를 물벼룩인 *M. macrocopa*에 투여했을 때 체내의 아미노산 함량의 분석결과는 Table 2와 같다. 해양효모 Y-14, Y-16과 *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1의 아미노산 조성을 보면 아미노산 총함량과 필수아미노산의 구성성분이 특징적으로 분석되었다.

Table 2의 분석결과를 보면 아미노산의 총 함량이 해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14가 34.9%, *Candida* sp. Y-16이 46.2%, *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1이 19.6%로 분석되었다. *Debaryomyces* sp. Y-14중에는 높은 분포로 분석된 것은 필수 아미노산중에 Histidine이 9.5%, 일반아미노산 중 Glutamic acid가 11.2%, Aspartic acid가 9.3%이고 Y-16중에는 Glutamic acid가 9.3%, 필수아미노산인 Histidine이 10.4%, Lysine이 10.2%이고, 대조구인 S $\pi$ -1은 Alanine이 14.8%, 필수아미노산인 Histidine이 18.3%, Leucine이 10.7%, Valine이 9.7%이다. 이 시료를 물벼룩에 먹이로 투여 했을 때 생체내의 아미노산 함량을 비교해 보면, Y-14를 투여했을 때 Aspartic acid가 9.8%, Glutamic acid가 11.6%, 필수 아미노산인 Leucine이 9.6%로 높게 나타났고, Y-16의 경우는 Aspartic acid가 9.9%, Glutamic acid가 10.9% 필수아미노산인 Leucine이 9.9%로 시료에서는 대조구의 필수아미노산인

Histidine, Leucine, Valine이 9.7-18.3%로 높게 분석되었으나, 물벼룩 생체 내에서의 필수 아미노산의 함량은 해양효모를 투여했을 때 Leucine의 함량이 9.6-9.9%로 나타나 해양효모가 유용한 것으로 나타났다. Histidine, isoleucine 그리고 lysine 등은 일련의 어류 종에서 필수아미노산으로서 요구된다(4). 따라서 해 수산 치자어의 생존과 성장에 필요한 아미노산을 많이 함유한 해양효모를 먹이 생물의 기초사료로서 이용하게 된다면 먹이 생물의 아미노산 함량이 높아질 것이며 이 두 효모는 치어 먹이 생물의 기초사료로서 적합하다고 생각된다.

### 먹이의 선호도

#### *M. macrocopa*와 먹이원의 $\delta^{13}\text{C}$ 조성

탄소동위원소의 비값( $\delta^{13}\text{C}$ )은 화학전 순환의 추적과 수계에서 동물의 먹이 원을 증명하는데 광범위하게 이용되어져왔다. 이와 같은 안정동위원소 조성은 일반적으로 생물 대사과정에서 보존되는 특성을 보여 동물의 생체내의 안정동위원소 조성은 그들이 섭취 동화한 먹이의 비값을 그대로 반영하게 된다. 따라서 어떤 동물의 생체 내 탄소안정동위원소 비값을 알게 되면 그들의 생체에 실제로 동화 이용된 탄소의 기원을 해석할 수 있다(6, 7, 12).

*M. macrocopa*의 기초먹이인 두 종의 해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14와 *Candida* sp. Y-16, 그리고 *Erythrobacter* S $\pi$ -1 (ESP-S)의 탄소동위원소의 비값( $\delta^{13}\text{C}$ )을 분석한 결과는 Table 3과 같다.  $\delta^{13}\text{C}$ 값은 Y-14가 -11.5‰, Y-16이 -10.1‰이고 대조구인 *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1은 -24.1‰로 나타나 해양효모와의 사이에는 약 14‰ 정도의 차이를 보였다. 또한 이 기초먹이들을 *M. macrocopa*에 먹이로 투여한 후  $\delta^{13}\text{C}$  값을 측정한 결과는 Table

Table 2. Amino acid composition [mg g<sup>-1</sup>sample (% of total amino acids)] of the diets (*Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I, *Debaryomyces* sp. Y-14 and *Candida* sp. Y-16) cultured at 25°C with YM broth, and *Moina macrocopa* cultured at 25°C and fed different diets S $\pi$ -I, Y-14 and Y-16

	Diets			<i>Moina macrocopa</i>		
	S $\pi$ -I	Y-14	Y-16	S $\pi$ -I	Y-14	Y-16
<b>Non-essential</b>						
Alanine	2.9 (14.8)	3.9 (8.4)	3.8 (8.2)	2.5 (6.9)	3.5 (7.1)	2.0 (6.6)
Aspartic acid	0.5 (2.6)	4.3 (9.3)	4.1 (8.9)	3.7 (10.2)	4.8 (9.8)	3.0 (9.9)
Cystein	0.6 (3.1)	0.1 (0.4)	0.6 (1.3)	0.5 (1.4)	0.7 (1.4)	0.5 (1.7)
Glutamic acid	0.8 (4.1)	5.2 (11.2)	4.3 (9.3)	4.2 (11.5)	5.7 (11.6)	3.3 (10.9)
Glycine	1.5 (7.7)	2.6 (5.6)	2.5 (5.4)	2.7 (7.4)	3.4 (6.9)	2.0 (6.6)
Serine	0.2 (1.0)	1.8 (3.9)	1.6 (3.5)	2.0 (5.5)	3.2 (6.5)	1.9 (6.3)
Proline	0.9 (4.6)	1.6 (3.5)	1.7 (3.7)	1.9 (5.2)	2.5 (5.1)	1.5 (5.0)
Tyrosine	0.4 (2.0)	1.6 (3.5)	1.4 (3.0)	1.7 (4.7)	1.8 (3.7)	1.4 (4.6)
<b>Essential</b>						
Arginine	0.1 (0.5)	2.6 (2.8)	3.4 (7.4)	1.5 (4.1)	2.6 (5.3)	1.8 (5.9)
Histidine	3.6 (18.3)	4.4 (9.5)	4.8 (10.4)	2.8 (7.7)	2.9 (5.9)	1.6 (5.3)
Isoleucine	1.6 (8.2)	3.1 (6.7)	2.5 (5.4)	1.5 (4.1)	1.8 (3.7)	1.2 (4.0)
Leucine	2.1 (10.7)	3.7 (8.0)	3.2 (6.9)	2.4 (6.6)	4.7 (9.6)	3.0 (9.9)
Lysine	0.2 (1.0)	2.8 (7.8)	4.7 (10.2)	1.8 (4.9)	2.9 (5.9)	1.5 (5.0)
Methionine	0.9 (4.6)	0.4 (1.5)	1.1 (2.4)	0.8 (2.2)	1.3 (2.6)	0.9 (3.0)
Phenylalanine	1.0 (5.1)	2.1 (4.5)	1.7 (3.7)	1.8 (4.9)	1.8 (3.7)	1.4 (4.6)
Threonine	0.3 (1.5)	3.0 (6.5)	2.4 (5.2)	2.4 (6.6)	2.6 (5.3)	1.6 (5.3)
Valine	1.9 (9.7)	3.3 (7.1)	2.6 (5.6)	2.1 (5.8)	3.2 (6.5)	1.7 (5.6)
Total	19.6	34.9	46.2	36.4	49.2	30.3

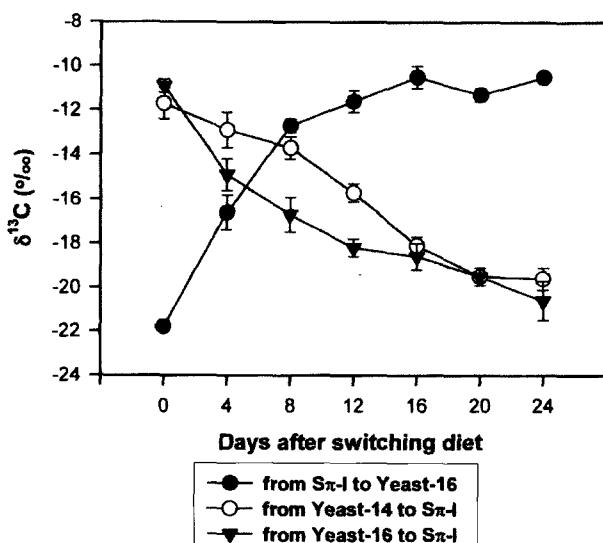
**Table 3.** Diet  $\delta^{13}\text{C}$  value (‰) of the diets (*Erythrobacter* sp. S $\pi$ -1, *Debaryomyces* sp. Y-14 and *Candida* sp. Y-16) cultured at 20°C with YM broth, and *Moina macrocopia* cultured at 25°C and fed on different diets S $\pi$ -1 and marine yeasts

Diets	$\delta^{13}\text{C}$ , ‰
<i>Debaryomyces</i> sp. Y-14	-11.5(±0.4)
<i>Candida</i> sp. Y-16	-10.1(±0.8)
<i>Erythrobacter</i> S $\pi$ -1	-24.1(±0.8)
<i>Moina macrocopia</i>	
<i>Debaryomyces</i> sp. Y-14	-11.7(±0.9)
<i>Candida</i> sp. Y-16	-10.9(±0.6)
<i>Erythrobacter</i> sp. S $\pi$ -1	-21.8(±1.4)

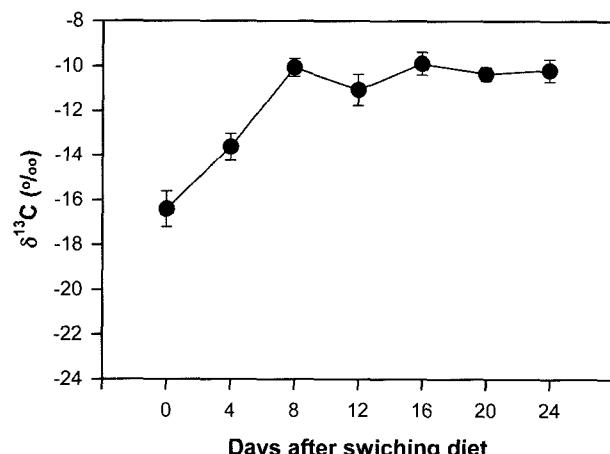
3과 같다. 해양효모를 먹이로 배양한 *M. macrocopia*의  $\delta^{13}\text{C}$ 의 값은 -10.9‰로 분석되었고, *Erythrobacter* S $\pi$ -1로 배양된 *M. macrocopia*의  $\delta^{13}\text{C}$  값은 -21.8‰로 차이를 보였다.

#### *M. macrocopia* 의 회전율

생체내에 탄소의 회전율을 살펴보기 위하여 두개의 배양용기에 각각 서로 다른 해양효모 *Debaryomyces* sp. Y-14와 *Candida* sp. Y-16으로 배양하다가 두 개의 배양용기에 모두 *Erythrobacter* S $\pi$ -1로 배양먹이를 바꿔서 배양한 후 시간경과에 따라 *M. macrocopia* 생체의  $\delta^{13}\text{C}$ 의 값을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 실험초기에 -15‰과 -13‰ 정도의  $\delta^{13}\text{C}$ 값을 보였던 *M. macrocopia* 생체내의 안전 동위원소 비 값은 먹이를 바꾸어 배양한지 20일 정도 경과한 후 -19‰ 정도로 유지가 되어 안정화되는 경향을 보였다. *M. macrocopia*의 수명이 20일 이하라는 점을 고려해 볼 때 한 세대 중에 생체구성 탄소의 완전한 회전(turnover)은 완성되지 않는 것으로 나타났다.



**Fig. 1.** Change of  $\delta^{13}\text{C}$  value in *Moina macrocopia* tissues depending on diet switch.



**Fig. 2.**  $\delta^{13}\text{C}$  value of *Moina macrocopia* offered a mixed diet of marine yeast ( $\delta^{13}\text{C} = -10.8\text{\textperthousand}$ ) and commercial feed (*Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I,  $\delta^{13}\text{C} = -24\text{\textperthousand}$ ).

#### *M. macrocopia*의 먹이선흐도

먹이의 선흐도를 평가하기 위하여 *Debaryomyces* sp. Y-14, *Candida* sp. Y-16 및 *Erythrobacter* S $\pi$ -I을 동시에 *M. macrocopia* 배양용기에 투여하여 배양한 후 시간경과에 따른 *M. macrocopia* 생체 탄소 안전 동위원소 조성의 변동을 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. 배양 4일 후부터 *M. macrocopia* 생체  $\delta^{13}\text{C}$  값은 -13‰에서 -10‰사이의 범위를 나타내었다. 이 값들은 해양효모의  $\delta^{13}\text{C}$  값에 매우 가까운 것으로서 *M. macrocopia*가 현재 시판중인 *Erythrobacter* S $\pi$ -1보다 분리된 해양효모를 선흐 한다는 것으로 판단되었다.

실험 결과를 바탕으로 살펴보면, 다른 실험구와 대조구에 비해 *Candida* sp. Y-16으로 배양한 *M. macrocopia*의 경우 필수 지방산과 필수 아미노산의 함량이 높았으며, 이는 치어의 먹이 사료로서 영양적인 면에서 우수한 먹이의 가능성이 있다고 판단되어진다.

#### 감사의 말

본 연구는 부경대학교 2002년도 동원학술연구재단의 학술연구비 지원에 의한 결과이므로 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

- Bell, M.V., R.J. Henderson, and J.R. Sargent. 1985. Changes in the fatty acid composition of phospholipida from turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies. *Comp. Biochem. Physiol.* 81B, 193-198.
- Bligh, E.C. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-927.
- Brinkmeyer, R.L. and G.H. Holt. 1998. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. *Aquaculture* 161, 253-268.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, and G.A. Dunstan.

1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315-331.
5. Coutteau, P. and P. Sorgeloos. 1997. Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshwater Biology* 38, 501-512.
6. Fry, B. and E. B. Sherr. 1984.  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Cont. Mar. Sci.* 27, 49-63.
7. Gearing, J.N. 1991. The study of diet and trophic relationships through natural abundance  $^{13}\text{C}$ , p. 201-218. D.C. Coleman and B. Fry (ed.), *Carbon Isotope Techniques*, Academic Press, San Diego, California.
8. He, Z.H., J.G. Qin, Y. Wang, H. Jiang, and Z. Wen. 2001. Biology of *Moina mongolica* (Moinidae, Cladocera) and perspective as live food for marine fish larvae : review. *Hydrobiologia* 457, 25-37.
9. Jung, M.M., H.S. Kim, S. Rho, S.I. Hur, Y.S. Yoon, and J.W. Kim. 2001. Originals : Effects of Saline Concentrations on the Culture Density and Feeding of Estuarine Cladoceran, *Diaphanosoma celebensis*. *J. Korean Fish. Soc.* 34, 605-610(in Korean).
10. Kanazawa, A. 1993. Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery-reared flatfish. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 162-166.
11. Koven, M.W., A. Tandler, G.Wm. Kissil, and D. Sklan. 1992. The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *Sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution. *Aquaculture* 104, 91-104.
12. Lajtha, K. and R. H. Michener. 1994. Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell Scientific Publications, London. p. 316.
13. Lee, S.M., J.Y. Lee, and S.B. Hur. 1994. Essentiality of Dietary Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Bull. Korean Fish Soc.* 27, 712-726.
14. Mettealfe, L.D. and A.A. Schmitz. 1961. The rapid preparation of fatty acids esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* 177, 751.
15. Nanton, D.A. and J.D. Castell. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 175, 167-181.
16. Rainuzzo, J.R., K.I. Reitan, and Y. Olsen. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish : a review, *Aquaculture* 155, 103-115.
17. Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo, and Y. Olsen. 1994. Influence of lipid composition live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquaculture International* 2, 33-48.
18. Watanabe, T. 1993. Importance of Docosahexaenoic Acid in Marine Larval Fish. *J. World Aquaculture Soc.* 24, 152-161.
19. Watanabe, T., T. Arakawa, T. Takeuchi, and S. Satoh. 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack, *Pseudocaranx dentex*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 75, 1989-1995.

(Received March 23, 2006/Accepted June 5, 2006)

---

**ABSTRACT: Isotopic Evidence of Marine Yeast to Artificial Culture of *Moina macrocopa***

**Mu Chan Kim<sup>1</sup>, Chang Keun Kang<sup>2</sup>, Hye Young Park, Dae Seong Lee, Yun Sook Kim and Won jae Lee\*** (Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Republic of Korea, <sup>1</sup>Department of Marine Environmental Engineering, Gyongsang National University, Tongyeong 650-160, Republic of Korea, <sup>2</sup>Division of Biological Science, Pusan National University, Busan 609-735, Republic of Korea)

A feeding trial was conducted to test the use of marine yeasts isolated from seawaters and sediments as a dietary source in cultivating a *Cladocera*, *Moina macrocopa* which is available as an alternative live food for fish larvae. The marine yeast-fed *M. macrocopa* had similar essential amino acid profiles to the documented values for *Rotifers* and *Artemia* enriched in microalgae and commercial diets. *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I lacked  $\omega$ -3 high unsaturated fatty acids (HUFAs), 20:5 $\omega$ -3 (EPA) and 22:6 $\omega$ -3 (DHA), which were also poor but detected in both the marine yeasts. An increase in the 20:5 $\omega$ -3 and 22:6 $\omega$ -3 levels, compared with the levels in marine yeast strains themselves, was more pronounced in the 22:6 $\omega$ -3 level of *Moina* fed the *Candida* sp. Y-16, resulting in a high DHA:EPA ratio. When the *Moina* diets were switched, their  $\delta^{13}\text{C}$  values shifted gradually toward the values of the switched diets. Diet switch from *Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I to *Candida* sp. Y-16 resulted in a more rapid turnover of *Moina* tissue carbon than that in the inverse case. When fed a mixed diet, the  $\delta^{13}\text{C}$  values of *Moina* tissue approached the value of marine yeasts immediately. These temporal changes in the  $\delta^{13}\text{C}$  values of *Moina* tissue indicate the preferential ingestion of marine yeasts and a selective assimilation of the carbon originated from marine yeasts. These findings suggest that marine yeasts, particularly *Candida* sp. Y-16, are highly available to mass cultures of *M. macrocopa*, providing better nutritional and dietary values than the commercial diet (*Erythrobacter* sp. S $\pi$ -I).