

한해성 품종 종묘생산을 위한 로티퍼의 적정 영양강화 수온 및 미세조류 선택

박진철·이배익·박흠기¹·권오남^{2*}
국립수산과학원, ¹강릉원주대학교 해양생명공학부,
²강릉원주대학교 해양생물연구교육센터

Optimal Enrichment Temperature for Rotifer and Microalgae Selection for Cold-Water Species Culture

Jin-Chul Park, Bae-Ik Lee, Heum-Gi Park¹ and O-Nam Kwon^{2*}
National Fisheries Research and Development Institute, Jinhae 645-805, Korea
Faculty of Marine Bioscience & Technology, Gangneung-Wonju
National University, Gangneung 210-702, Korea
²Marine Biology Center for Research and Education, Gangneung-Wonju
National University, Gangneung 210-853, Korea

The purpose of this study is to establish methods for enhancing the survival and growth of cold-water fish and crustacean larvae based on the nutritional components of zoo and phyto live foods. Rotifers, *Brachionus rotundiformis*, were cultured with a supplement of freshwater condensed *Chlorella vulgaris* at 28°C and enriched with Algamac 2000[®] at 16, 20 and 26°C, respectively. *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* and *Chlorella ellipsoidea* were centrifuged for component analysis after being cultured for approximately one week with conway medium at 20°C. The crude protein and lipid contents of the rotifers were 58.4% and 10.9%, respectively, before enrichment. After enrichment at each temperature, total protein and essential amino acid contents were increased by reducing the enrichment temperature. However, unsaturated fatty acids and multiple fatty acid index (UI) showed their highest values at 20°C. Mono-unsaturated fatty acid content was highest (72.6%) at 16°C. The total protein contents of *C. calcitrans* and *C. ellipsoidea* were higher, 33.0% and 35.2%, respectively, than that of *I. galbana*, 27.8%. Methionin, leusine and histidine, essential amino acids of *C. ellipsoidea*, had considerably higher values, 50.2, 287.2 and 68.1 mg/g dry matter, respectively, compared to other microalgae. Total lipids, UI, DHA and n-3 PUFA of *I. galbana* had higher values, 23.6, 272.0, 12.9% and 45.2%, respectively, than other microalgae. Therefore, for cold-water fish and crustacean larvae that require high n-3 PUFA and DHA contents, enrichment of rotifers is desirable at 20°C. Fish larvae would also need more *I. galbana* than other microalgae.

Key words: Cold-water species culture, Enrichment, Rotifer, *Isochrysis galbana*, DHA

서 론

강원도 해역에는 수심 200 m 이하에서 주로 어획되는 대구 (*Gadus macrocephalus*), 도루묵 (*Arctoscopus japonicus*), 명태 (*Theragra chalcogramma*), 대게 (*Chionoecetes opilio*), 도화새우 (*Pandalus hypsinotus*) 등과 같은 어류 및 갑각류를 포함한 유용 한해성 해양동물이 많이 분포하고 있다 (Park et al., 2007). 하지만 동해 수심 200 m 이하의 심해는 저수온, 고염분과 무광층의 해양환경특성상 낮은 생물 다양성과 적은 서식생물량 보여 어획강도가 강화되면 수산자원이 고갈되기 쉬운 구조에 있어 (Choi et al., 2009; Park et al., 2007), 저인망과 통발에 의한 남획으로 수산자원량이 급격히 감소하여 어업인들의 수입은 날로 감소하고 있는 추세이다. 이에 정부와 수산연구기관은 한해성 수산자원을 회복하기 위하여 도루묵 등에 대한 총허용어획량 (TAC) 설정, 대게의 금어기 설정과 같은

적극적 노력과 더불어 대구 (*G. macrocephalus*), 줄가자미 (*Clidoderma asperimum*), 명태 (*T. chalcogramma*), 대게 (*C. opilio*), 쥐노래미 (*Hexagrammos otakii*) 등 고부가가치 한해성 품종의 종묘생산개발에 많은 노력을 기울이고 있으며, 강원도에서는 한해성 수산자원연구소 설립을 추진 중에 있어 한해성 수산자원증강을 위한 유용수산동물의 종묘생산 기술개발의 필요성이 크게 부각되고 있다.

하지만 갑각류와 어류를 포함한 한해성 수산동물에 적합한 먹이생물 배양기술에 대한 지견은 아직도 확립되어 있지 않은 실정으로 그 동안 여러 한해성 어종에게 넙치, 참돔과 같은 서식환경이 다른 온수성 어류에 적용되는 먹이생물 배양 기술 및 영양강화 기술을 적용하고 있어 사육초기에 대량폐사가 빈번하게 발생하여 생존율이 매우 낮은 결과를 보여왔다 (Baskerville-Bridges and Kling, 2000; Hamasaki, 2003; Kogane et al., 2007). 이러한 사육 초기 폐사율 감소를 위하여 많은 연구자들이 한해성 수산동물에 적합한 DHA (docosahexaenoid

*Corresponding author: onamkwon@yahoo.com

acid, C22:6n-3), EPA (eicosapentaenoic acid-20:5n3), 및 n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acid)와 같은 지방산의 영양강화방법, 사육수 교반과 소독 및 소화효소 활성 증가 등 여러 분야에서 연구를 시도하고 있으나 (Reitan et al., 1997; Cahu et al., 1998; Kogane et al., 2007) 아직도 해결해야 할 문제가 많다. 본 연구는 영양강화 수온에 따른 로티퍼의 지방산 조성 변화와 한해성 수산동물 먹이생물로 유효한 미세조류 3종의 영양조성을 분석하여 한해성 수산동물에 적합한 로티퍼 영양강화 수온과 미세조류 선택에 필요한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

로티퍼 배양과 영양강화와 시료 채취

실험에 사용한 로티퍼 (*Brachionus rotundiformis*)는 강릉원주대학교에서 계대 배양중인 Uljin strain을 사용하였으며, 28°C에서 자동먹이공급장치에 장착된 5 L 배양 수조에서 batch 배양하였다. 먹이로는 담수산 농축 클로렐라 (*Chlorella vulgaris*, 대상주식회사)를 로티퍼 2,000 개체 당 일일건조중량 2 mg이 공급되도록 조절하여 공급하였다. 영양강화는 16, 20 및 26°C로 조절된 20 L 수조에서 mL당 2,000 개체로 수용한 후 100만 마리 당 *Schyzochitrium* sp.를 주원료로 한 Algamac 2000® (Aquafauna Biomarine Inc, Hawthorne, California, USA)을 0.3 g을 사용하여 6시간 동안 3회 반복하여 영양강화하였다.

로티퍼 시료는 영양강화를 마친 후 1~2시간 동안 방치하여 로티퍼의 장과 위에 있는 영양강화제가 소화된 것을 확인한 후 40 µm sieve에 걸러서 여과 해수로 로티퍼 외부에 묻혀 있는 영양강화제 등 이물질질을 깨끗이 세척한 후 glass vial에 넣고 분석 시까지 -20°C에 보관한 것을 사용하였다.

미세조류 배양과 시료채취

실험에 사용한 미세조류는 *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*와 *Chlorella ellipsoidea*으로 강릉원주대학교 해양생명공학부 먹이생물연구실에서 보관된 종을 사용하였다. 배양은 conwy 배지를 이용하여 20°C, 2,500 lx의 환경에서 5 vvm 이상으로 통기하여 접종 후 정체기에 이르렀을 때 수확하여 실험에 사용하였다. 배양과 수확은 3회 반복하여 실시하였다. 각 미세조류의 수확은 원심분리기 (VS-24SMTI, VISION, U.S.A)를 이용하여 6,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 수확 한 후 -20°C에 분석 시까지 보관하였다.

로티퍼와 미세조류의 성분분석

로티퍼와 미세조류 시료는 동결 건조 후 사용하였으며 아미노산분석은 10 mg 이상, 지방산은 20 mg 이상의 건조 시료를 이용하였다. 총단백질, 아미노산 함량은 HCl 가수분해법으로 분해된 시료를 자동아미노산분석기 (L-8800, Hitachi, Japan)로 분석된 구성 아미노산들을 정량하여 계산하였으며, 총지질은 TLC (thin layer chromatography, Iatrosan MARKnew, Iatron, Japan)로 분석한 지질클래스의 함을 이용하여 계산하였다. 그리고 지방산 조성은 자동샘플공급기가 장착된 가스크로마

토그래피 (gas chromatography, HP6890, U.S.A.)를 이용하여 분석하여 총지방산 내 백분율로 나타내었다 (Parrish, 1987). 또한 성분분석은 3회 이상 반복하여 실시하였다.

통계처리

28°C에서 배양되고 온도별로 영양강화한 로티퍼와 20°C에서 배양된 미세조류의 총단백질, 아미노산, 총지질 및 지질조성의 평균을 Duncan (1955)의 다중검정 후 SPSS program Ver. 14.0 (SPSS Inc., 2000, Michigan Avenue, Chicago, Illinois, U.S.A.)을 이용하여 one way ANOVA test에 의한 평균 간의 유의성을 유의수준 95%로 처리하였다.

결과 및 고찰

일반적으로 어류는 낮은 수온에서 DHA와 같은 높은 n-3 HUFA의 체내 축적률과 세모막 인지질 불포화도가 높아지며, 특히 발육초기에 이들의 함량이 높은 먹이를 요구한다 (Pruitt, 1988; Malak et al., 1989; Guderley, 2004). 또한 어류의 생활사 초기에는 단백질, 지질 등의 소화효소 활성량이 낮으며 (Kwon et al., 2003; Bolasina et al., 2006; Vagner et al., 2007), 영양적으로 먹이생물이 가지고 있는 n-3 HUFA 함량에 따라 이들의 성장과 생존율이 크게 영향을 받게 된다.

따라서 초기 자어의 생존율을 높이기 위해 HUFA 함량이 높은 다양한 영양강화제를 이용해서 지질 영양강화를 해 주고 있지만, 영양강화제 종류에 따라 기초 원료가 다르기 때문에 영양 강화 시 HUFA 함량에도 영향을 주게 된다 (Park et al., 2006). 현재 영양강화제는 오일과 세균체제로 개발되어 있는데, Park et al. (2006)은 오일체제와 세균체제에 의한 영양 강화 시 사용하는 원료에 따라서 로티퍼의 DHA와 같은 n-3 HUFA 함량이 다소 다른 것을 보고하고 있다. 그리고 일부 연구자들에 의해 영양강화 시간 등 영양강화 방법에 따라서도 같은 영양강화제를 사용하여도 배양된 로티퍼가 다른 영양조성을 보이고 있다 (Kwon and Park, 2008). 이것은 영양강화 과정에서 로티퍼와 같은 먹이생물에 공급된 영양강화제 중 소화기관에 남아 있는 영양강화제의 잔존 여부에 따라 분석 결과가 달라지는 것으로 사료된다. 그렇지만 소화효소 활성, 특히 지질분해효소 활성이 낮은 발육초기 유생과 자어는 소화기관에 지질의 형태로 존재하는 영양강화제를 직접 소화 흡수하기에는 소화력이 부족한 것으로 사료되고 있다 (Kwon et al., 2003; Bolasina et al., 2006). 결국 먹이생물이 소화기관 내에 보유하고 있는 지질 성분의 영양강화제는 유생과 자어가 충분히 소화할 수 있을지에 대한 여지는 남아 있다. 로티퍼는 성체 비율이 높은 것을 의미하는 포란율이 높을 때, 소화효소 특히 지질 분해효소의 활성이 높은 것으로 보고되고 있다 (Kwon and Park, 2008). 따라서 영양강화제로 지질을 강화할 때는 이러한 로티퍼의 높은 지질 분해효소 특성을 이용해서 자어가 소화흡수하기 쉬운 형태 (높은 지방산불포화도, unsaturated index)의 지질원으로 바꾼 후에 먹이로 공급해 줄 필요가 있는 것이다.

본 실험에서는 소화기관 내 영양강화제를 모두 흡수시킨

후에 지방산 분석을 하였음에도 불구하고 Table 1에서와 같이 동일한 시간 동안 영양강화 시 영양강화 수온 조건에 따라 단백질과 지질 조성이 유의하게 ($P<0.05$) 다른 것을 알 수 있다. Malak et al. (1989)은 저온에서 사육된 무지개송어에서 EPA와 같은 HUFA 축적이 높으며, Vagner et al. (2007)은 sea bass, *Dicentraechus labrax*에서 특히 n-6 HUFA 축적이 유의적으로 높은 것으로 보고하였다. 또한 대구, 강도다리과 같은 한해성 어류의 종묘생산시 EPA와 DHA 영양강화를 통한 생존율 향상과 흑화 개체의 출현이 감소되는 사실이 사육현장에서는 경험되고 있다.

Table 1. Biochemical contents (Mean±S.D. of triplication) of the rotifers, *Brachionus rotundiformis* enriched with Algamac 2000[®] that the main gradient is microalgae, *Schizochytrium* sp. for 6 hours at 16°C, 20 and 26°C, respectively*

	Before enrichment	Enriched Temperature (°C)					
		16 °C	20 °C	26 °C			
Protein contents (% DW)	58.4 ± 0.17	58.4	1.03 ^c	52.5 ± 0.04 ^b	40.5 ± 2.23 ^a		
Essential amino acid contents (% of DW)	21.4 ± 0.72	21.2 ± 0.41 ^c	19.3 ± 0.01 ^b	11.7 ± 2.11 ^a			
Amino acids (mg/g Dry matter)							
Methionine	12.3 ± 0.03	12.8 ± 0.64 ^c	6.2 ± 0.17 ^b	4.1 ± 0.35 ^a			
Leusine	20.7 ± 0.15	20.0 ± 0.41 ^a	39.7 ± 0.27 ^c	31.1 ± 1.80 ^b			
Histidine	13.9 ± 0.01	14.0 ± 0.38 ^c	10.3 ± 0.23 ^b	8.6 ± 0.83 ^a			
Total lipid (% DW)	10.9 ± 0.89	12.0 ± 3.37 ^c	8.0 ± 0.30 ^b	5.2 ± 0.50 ^a			
Unsaturated index ¹	165.9 ± 5.17	137.1 ± 8.79 ^a	200.8 ± 9.77 ^b	128.8 ± 6.31 ^a			
P/S ratio ²							
C18:2n6	56.6 ± 0.32	24.8	1.45 ^b	32.2	1.61 ^c	15.7	0.31 ^a
C18:3n3	2.3 ± 0.29	0.6	0.00 ^a	2.8	0.42 ^b	0.4	0.04 ^a
C20:4n6	0.8 ± 0.36	0.4	0.00 ^a	0.9	0.17 ^b	0.8	0.02 ^b
C20:5n3	0.2 ± 0.00	0.6	0.17	0.8	0.14	0.5	0.00
Fatty acids (% of total fatty acids area)							
C22:6n3	0.0 ± 0.00	4.4	0.62 ^a	10.1	0.63 ^b	3.1	0.50 ^a
DHA/EPA	0.0 ± 0.00	7.1 ± 0.84 ^a	12.5 ± 1.75 ^b	6.9 ± 1.11 ^a			
EPA/ARA	0.3 ± 0.15	2.1 ± 0.53 ^b	1.0 ± 0.21 ^{ab}	0.6 ± 0.01 ^a			
SFA	9.4 ± 3.73	12.6	3.70 ^b	23.8	1.93 ^b	16.2	0.76 ^a
MFA	28.6 ± 2.47	72.6	0.47 ^b	3.1	0.86 ^a	3.2	0.14 ^a
PUFA	71.1 ± 1.26	34.8	3.23 ^a	53.0	2.74 ^b	32.6	0.63 ^a
n-3 PUFA	2.5 ± 0.28	5.8	0.79 ^a	13.8	0.58 ^b	5.2	0.53 ^a

* The different superscript are significantly difference ($P<0.05$) by ANOVA and Duncan's multiple comparison.

¹ Unsaturated index were indicated the \sum (the number of double bond×the fatty acid contents).

² P/S ratio indicated the ratio between poly and saturated fatty acids.

³ SFA, MFA and PUFA indicated the saturated, mono-unsaturated and poly-unsaturated fatty acids, respectively. The data of 20°C and 26°C were cited from Kwon and Park (2009)'s study.

하지만 본 실험에 사용된 로티퍼는 28°C가 적정 성장 온도인 온수성 플랑크톤으로 (Hur and Park, 1996; Hagiwara et al. 1991), 20°C 미만인 16°C에서는 20°C와 비교하였을 때 총 지질량은 높았지만, mono-unsaturated fatty acid 함량을 제외하곤 DHA, EPA 함량을 포함한 지방산 불포화도와 n-3 HUFA 함량이 20°C보다 낮았다 ($P<0.05$). 이러한 결과로부터 한해성 동물 초기 유생과 자어에게 생존율을 향상시키기 위해 DHA와 같은 HUFA 함량이 높은 먹이생물을 공급하기 위해서는 20°C에서 영양강화하는 것이 적합할 것으로 판단된다. 한편

winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* 자어 사육에서는 로티퍼 배양온도와 자어 사육 온도차에 의한 로티퍼, *B. plicatilis*의 영양과 자어의 성장 및 생존에는 문제가 되지 않았으며 (Mercier et al., 2004), Kwon and Park (2008)은 rotifer, *B. rotundiformis*의 지질분해효소 (TG-lipase) 개체별 활성 (individual activity)은 오히려 낮은 온도에서 높은 것으로 보고되어 있다. 결국 로티퍼의 지질 분해효소 활성과 지질축적 정도를 고려하였을 때, 20°C에서 영양강화하는 것이 자어 사육수조의 온도에 적응하는 것과 DHA 등 영양적인 문제에서도 유의할 것으로 판단된다.

Table 2. Biochemical contents (Mean±S.D. of triplication) of some microalgae *Isochrysis lutheri*, *Chaetoceros calcitrans* and *Chlorella ellipsoidea*, respectively*

	<i>Isochrysis lutheri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	<i>Chlorella ellipsoidea</i>
Protein contents (% DW)	27.8 ± 1.32 ^a	33.0 ± 2.93 ^b	35.2 ± 0.71 ^b
Essential amino acid contents (% of DW)	13.1 ± 0.75	14.4 ± 1.27	12.1 ± 1.03
Amino acids (mg/g Dry matter)			
Methionine	5.9 ± 1.82 ^a	6.2 ± 3.36 ^a	50.2 ± 1.00 ^b
Leusine	33.0 ± 1.66 ^a	30.0 ± 3.48 ^a	287.2 ± 5.74 ^b
Histidine	7.6 ± 0.62 ^a	6.8 ± 0.92 ^a	68.1 ± 1.36 ^b
Total lipid (% DW)	23.6 ± 2.35 ^b	21.5 ± 1.95 ^b	6.1 ± 1.65 ^a
Unsaturated index ¹	272.0 ± 9.77 ^b	177.5 ± 2.60 ^a	166.6 ± 3.27 ^a
P/S ratio	0.5 ± 0.03 ^a	1.0 ± 0.01 ^a	3.8 ± 0.25 ^b
Fatty acids (% of total fatty acids area)			
C18:2n6	1.2 ± 0.24 ^a	1.1 ± 0.02 ^a	10.8 ± 3.03 ^b
C18:3n3	1.5 ± 0.09 ^a	- ± -	20.8 ± 4.21 ^b
C20:4n6	- ± -	- ± -	0.4 ± 0.64
C20:5n3	30.7 ± 0.20 ^b	25.9 ± 0.64 ^b	1.4 ± 1.25 ^a
C22:6n3	12.9 ± 1.40 ^b	- ± - ^a	0.7 ± 0.20 ^a
DHA/EPA	0.4 ± 0.04	- ± -	0.2 ± 0.03
EPA/ARA	104.0 ± 8.83 ^b	- ± -	3.8 ± 0.07 ^a
SFA	23.7 ± 2.34 ^b	28.7 ± 0.26 ^b	12.8 ± 2.59 ^a
MFA	28.1 ± 2.31 ^a	43.6 ± 0.33 ^b	29.1 ± 8.72 ^a
PUFA	47.8 ± 0.65 ^b	27.7 ± 0.53 ^a	49.1 ± 5.49 ^b
n-3 PUFA	45.2 ± 0.38 ^b	26.0 ± 0.55 ^a	25.9 ± 2.20 ^a

* The different superscript are significantly difference ($P<0.05$) by ANOVA and Duncan's multiple comparison.

일반적으로 한해성 어류에 있어서도 종묘생산 초기 자어를 사육하는 동안에는 사육수에 *C. ellipsoidea*와 *Nannochloropsis oculata* 등의 첨가로 성장과 생존율이 높아지는 green water 효과를 유도하고 있으며 (Reitan et al., 1997), green water로 인해 자어는 면역력 증가에 따른 생존율의 향상뿐만 아니라 먹이섭취, 영양의 소화, 흡수 시 소화효소 활성이 높아지는 것으로 보고되어 있다 (Cahu et al., 1998; Reitan et al., 2001; Huervana et al., 2006). 그리고 많은 연구자들에 의해 green water 효과를 위해서는 해수산 *C. ellipsoidea* 보다 *I. galbana*가 영양적으로 더 좋은 것으로 밝혀져 있다 (Tytler et al., 1997; Meeren et al., 2007). 본 연구에서 분석된 미세조류의 영양조성을 보면 *C. ellipsoidea*는 단백질 함량이 높고 필수아미노산인 methionin, leusine 및 histidine 함량이 다른 미세조류의 것 보다 8~8.9배 높은 것을 알 수 있다 (Table 2). 그리고 지방산 중 DHA 함량은 0.7%로 낮았고, linolenic acid (C18:3n3)의 함량이 높은 특징을 보였으며, *I. galbana*는 단백질 함량은 가장

낮았고, 필수 아미노산 함량 또한 *C. ellipsoidea* 보다 모두 낮았다. 또한 지방산 중 linolenic acid의 함량은 낮은 반면, DHA 함량은 Brown (2002) 결과와 동일한 12.9%를 나타내어 다른 미세조류에 높은 함량을 나타내었다. 또한 *C. ellipsoidea* 은 *I. galbana* 보다 지방산불포화도 (unsaturated fatty acid index, UI)가 272.0%로 높은 결과인 것을 보았을 때는 자어에게 linolenic acid 함량이 높은 것 보다는 DHA 함량이 많아서 지방산불포화도를 충분히 높여 줄 수 있는 것이 더 좋은 것으로 판단된다. 그렇지만 미세조류는 기능성을 가진 색소를 가지고 있기 때문에 지방산 조성과 불포화도만을 가지고 어류 자어에게 미치는 영향을 얘기하기에는 부족한 면이 있다. Table 3과 같이 각각의 미세조류는 다양한 기능성을 가진 색소를 보유하고 있다. 이 색소는 항산화, 항바이러스, 시력보호 기능이 밝혀져 있지만 수산양식에 적용된 경우가 없기 때문에 수산양식에 있어서 충분히 고려해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다. 또한 초기 성장이 늦고, 생존율이 낮은 한해성 어족 자원의 종묘생산을 위해서는 먹이생물의 영양, 자어의 기본적인 소화력뿐만 아니라 자어의 소화력과 면역력을 증강시켜 줄 수 있는 다양한 미세조류를 다각적으로 적용해서 극복해 나갈 필요가 있을 것으로 판단된다.

Table 3. Some carotenoid pigments owned in microalgae analyzed on Table 2*

Classification/Species		Pigments	Reference cites
<i>Isochrysis galbana</i>	Flagellates	Neofucoxanthin	Phillips Dales (1960) Flynn et al. (1993)
		Fucoxanthin	
		Diadinoxanthin	
		Diatoxanthin	
		Echinenone	
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Diatoms	Fucoxanthin	Denis et al. (2007)
		Diadinoxanthin	
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	Chlorophyte	β-carotene	Watanabe et al. (2009)
		Lutein	
		Zeaxanthin	
		Violaxanthin	
		Neoxanthin	

* These microalgae were included some chlrophylls.

결과적으로 한해성 품종의 초기 사육을 위해서는 이들의 영양요구에 맞도록 20℃에서 지질 영양강화를 해 주고, *I. galbana*와 같은 DHA 함량이 높은 미세조류를 함께 사육 수조에 넣어 주는 것이 보다 효과적일 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업 (RTI05-01-02) 및 국립수산과학원 (어류양식기술개발 RP-2010-AQ-091) 지원으로 수행되었음.

참고문헌

Baskerville-Bridges B and Kling LJ. 2000, Larval culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*) at high stocking

densities. *Aquaculture* 181, 61-69.

Bolasina S, Prez A and Yamashita Y. 2006. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 252, 503-515.

Brown MR. 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Gaxiola-Cortés MG, Simoes N, eds. *Advances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium International de Nutrición Acuicola. 3 al 6 de Septiembre del 2002, Cancún, Quintana Roo, México*, 281-292.

Cahu CL, Zambonino Infante JL, Péres A, Quazuguel P and Le Gall MM. 1998. Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes. *Aquaculture* 161, 479-489.

Choi, JH, Hong BK, Jun YY, Kim JN, Choi YM and Yoo OH. 2009. Feeding comparison of three deep-sea fish, *Lumpenella longirostris*, *Malacocottus gibber* and *Bothrocara hollandi*, in the East Sea. *J Kor Fish Soc* 42, 151-156.

Denis L, Desroy N and Ropert M. 2007. Ambient flow velocity and resulting clearance rates of the terebellid polychaete *Lanicecon chilega* (Pallas, 1766). *J Sea Res* 58, 209-219.

Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F-tests. *Biometrics* 11, 1-42.

Flynn KJ, Zapata M, Garrido JL, Öpik H and Hipkin CR. 1993. Changes in carbon and nitrogen physiology during ammonium and nitrate nutrition and nitrogen starvation in *Isochrysis galbana*. *Eur J Physio* 128, 47-52.

Hagiwara A and Lee CS. 1991. Resting eggs formation of the L-type and S-type rotifer *Brachionus plicatilis* under different water temperature. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57, 1645-1650.

Hamasaki K. 2003. Effects of temperature on the egg incubation period, survival and developmental period of larvae of the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) (Brachyura: Portunidae) reared in the laboratory. *Aquaculture* 219, 561-572.

Huervana FH, Joana JY and Cruz DL. 2006. Inhibition of luminous *Vibrio harveyi* by "Green water" obtained from tank culture of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *ACTA Ich Pisc* 36, 17-23.

Hur SB and HG Park. 1996. Mass production of resting egg of Korean rotifer *Brachionus plicatilis* (LandStype). *J Aquaculture* 9, 345-351.

Guderley H. 2004. Metabolic responses to low

- temperature in fish muscle. *Biol Rev* 79, 409-427.
- Kogane T, Hamasaki K and Dan S. 2007. Improvement of larval survival rates by water agitation and medication in the seed production of snow crab *Chionecetes opilio*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 73, 226-232.
- Kwon ON and Park HG. 2008. The optimal enrichment condition of rotifer *Brachionus rotundiformis*. *J Aquacult* 21, 41-46.
- Kwon ON, Park HG, Lee JH. 2003. Biochemical changes of a fish (sweet fish) cultured on the ordinary method. 2003 Abstract, Ann Meet Kor Soc Fish. *Aquat Sci*, 191-192.
- Malak NA, Bricchon G, Meister R and Zwingelstein G. 1989. Environmental temperature and metabolism of the molecular species of phosphatidylcholine in the tissue of the Rainbow trout. *Lipid* 24, 318-324.
- Meeren T, Mangor-Jensen A and Pickova J. 2007. The effect of green water and light intensity on survival, growth and lipid composition in Atlantic cod (*Gadus morhua*) during intensive larval rearing. *Aquaculture* 265, 206-217.
- Mercier L, Audet C, Noe J, Parent B, Parrish CC and Ross NW. 2004. First feeding of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae: use of *Brachionus plicatilis* acclimated at low temperature as liveprey. *Aquaculture* 229, 361-376.
- Park HH, Jeong EC, Bae BS, Yang YS, Hwang SJ, Park JH, Kim YS, Lee SI and Choi SH. 2007. Fishing investigation and species composition of the catches caught by a bottom trawl in the deep East Sea. *J Kor Soc Fish Tech* 43, 183-191.
- Park HG, Puvanendran V, Kellett A, Parrish CC and Brown JA. 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *ICES J Marine Science* 285-295.
- Parrish CC. 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Can J Fish Aquat Sci* 44, 722-731.
- Pruitt NL. 1988. Membrane lipid composition and overwintering strategy in thermally acclimated crayfish. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 254, 870-876.
- Reitan KH, Kjorsvik E and Reitan KI. 2001. Development of the pH in the intestinal tract of larval turbot. *Mar Biol* 139, 1159-1164.
- Reitan KI, Rainuzzo JR, Gunvor Ø and Olsen Y. 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture* 155, 207-221.
- Tytler P, Ireland J and Murray L. 1997. A study of the assimilation of fluorescent pigment of microalgae *Isochrysis galbana* by the early larvae stages of turbot and herring. *J Fish Biol* 50, 999-1009.
- Vagner M, Robin JH, Zambonino Infante JL and Ruyet JP. 2007. Combined effects of dietary HUFA level and temperature on sea bass (*Dicentraechus labrax*) larvae development. *Aquaculture* 266, 179-190.
- Watanabe Y, Yamada N, Machida T, Honjoh K and Kuwano E. 2009. Influence of cold hardening on chlorophyll and carotenoid in *Chlorella vulgaris*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 54, 195-200.
- Zapata M and Garrido JL. 1996. Occurrence of phytylated chlorophyll c in *Isochrysis galbana* and *Isochrysis* sp. (clone T-Iso) (Prymnesiophyceae). *J Phycol* 33, 209-214.

2010년 8월 12일 접수
 2010년 10월 25일 수정
 2010년 11월 6일 수리