

## 고온기 배양에 적합한 *Isochrysis*와 *Pavlova* 종의 선정

양성진 · 허성범\*

부경대학교 해양바이오신소재학과

### Selection of *Isochrysis* and *Pavlova* Species for Mass Culture in High Temperature Season

Sung Jin Yang and Sung Bum Hur\*

Department of Marine Bio-materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Even though the microalgal species of *Isochrysis* and *Pavlova* are widely used as live food in bivalve hatcheries, they are difficult to culture in mass during the summer season. Therefore, the present study was conducted to determine the optimum species or strains of *Isochrysis* and *Pavlova* to produce good growth and high contents of fatty acids at temperatures over 30°C. Four species of *Isochrysis* (*I. galbana* KMMCC12, *I. galbana* KMMCC214, *I. aff. galbana*, and *Isochrysis* sp.) and four of *Pavlova* (*P. lutheri*, *P. gyrans*, *P. viridis*, and *Pavlova* sp.) were cultured at 25°C, 29°C, and 33°C, and then analyzed for specific growth rate and fatty acid composition. Microalgae were cultured in f/2 medium at 23 psu and continuous light of 80  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . For the *I. galbana*, growth rates were highest at 29°C and decreased at 33°C to the level observed at 25°C. *I. galbana* (KMMCC12) and *Isochrysis* sp. cultured at 29°C and 33°C, respectively, exhibited the highest growth rates of all *Isochrysis* species. In terms of fatty acids, *I. galbana* (KMMCC12) contained higher contents of PUFA and n-3 HUFA at 33°C than did *Isochrysis* sp. For species of *Pavlova*, growth rates of *P. gyrans* and *P. viridis* at 29°C and 33°C, respectively, were higher than those of the other *Pavlova* species. In particular, *P. viridis* grew as well at 33°C as it did at 29°C. However, *P. lutheri* and *Pavlova* sp. did not grow at 33°C. In terms of fatty acids, *P. viridis* cultured at 33°C also exhibited higher contents of PUFA and n-3 HUFA, as compared to *P. gyrans*. Based on these results, we suggest that *I. galbana* (KMMCC12) and *P. viridis* are suitable species for mass culture during the high temperature season.

Key words: Fatty acids, Growth rate, High temperature, *Isochrysis*, *Pavlova*

## 서론

조개류의 자연채묘 부진현상으로 조개류 인공종묘생산의 중요성이 더욱 부각되고 있다. 조개류 인공종묘생산에서 먹이생물의 공급은 수질 다음으로 중요한 요인(Berthelin et al., 2000; Dridis et al., 2007; Liu et al., 2008)으로 대량배양이 용이하고 영양가가 높은 미세조류의 선택이 필수적이다. 미세조류의 지방산조성은 조개류의 먹이 평가 기준이 된다(Langdon and Waldo, 1981; Watanabe et al., 1983; Lee, 2004). 특히 n-3 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA)인 docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n3)와 eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n3)는 유생의 변태에 중요한 역할을 한다

(Ackman, 1982; Castell et al., 1994; Brown et al., 1997). 조개류 유생 사육 시 먹이생물로는 현재까지 약 40종의 미세조류가 이용되고 있으나(Hur, 2004), 그 중 *Isochrysis* 와 *Pavlova* 속의 착편모조류는 크기가 작고 운동성이 느리며 EPA와 DHA 함량이 높아 가장 널리 사용되고 있다(Jeffrey et al., 1994; Brown et al., 1997; Ponis et al., 2006).

그러나 이들 두 속의 종들은 일반적으로 25°C 이상의 고수온에서는 배양이 어려워 여름철 옥외 대량배양 시 문제가 되고 있다(Sunderlin et al., 1976; Enright and Newkirk, 1986; Min, 2012). 따라서 본 연구에서는 한국의 여름철 조개류 유생 사육의 안정적인 먹이생물 확보를 위해 25°C 이상의 고온에서 고밀도의 대량배양이 가능하고, 고도불포화지방산 함량이 높은

#### Article history;

Received 8 March 2012; Revised 19 June 2012; Accepted 3 August 2012

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5911 Fax: +82. 51. 623. 8293

E-mail address: hurs@pknu.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 45(4) 343-350, August 2012

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2012.0343>

pISSN:0374-8111

© The Korean Society of Fishereis and Aquatic Science. All rights reserved

*Isochrysis* 와 *Pavlova* 속의 종을 개발하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 원종 배양

실험에 사용한 각 미세조류는 18S rDNA의 염기서열이 상이한 *Isochrysis* 4종과 *Pavlova* 4종을 부경대학교 한국해양 미세조류은행(Korea Marine Microalgae Culture Center, KMMCC)으로부터 분양받아 이용하였다(Table 1). 각 미세조류는 2 L 삼각 플라스크에 23 psu (Park and Hur, 2000)

분리하여 세포만을 수확하고 -80℃에 보관한 후 지방산을 분석하였다. 지방산은 lipid class에서 추출된 지질을 Metcalfe et al. (1966)의 방법에 따라 BF<sub>3</sub>-methanol로 methylation 시킨 후 auto sampler가 장착된 gas chromatograph (HP-6890 plus, Agilent, U.S.A.)로 분석하였다. GC의 분석조건으로 column은  $\omega$ -wax column (30 m×0.1 mm I.D length, 0.1 $\mu$ m thickness, Supleco, U.S.A.)을 사용하였고, 표준 지방산은 37 component FAME mix. (Supleco, U.S.A)를 사용하였다. Carrier gas는 N<sub>2</sub> (30 mL/min)를 사용하였고, Oven 온도는 200℃에서 230℃까지 1℃/min 증가시켰고, injector와 detector의 온도는 모두 250℃로 설정하였다.

Table 1. Microalgal species for the experiment

Species	KMMCC No.	Sources
<i>Isochrysis galbana</i>	12	Japan (Institute)
<i>Isochrysis galbana</i>	214	China (Qingdao Institute)
<i>Isochrysis aff. galbana</i>	213	North Atlantic (CCMP 463)
<i>Isochrysis sp.</i>	1072	Thailand
<i>Pavlova lutheri</i>	78	Japan (Institute)
<i>Pavlova gyrans</i>	215	U.S.A. (CCMP 607)
<i>Pavlova viridis</i>	220	China (Qingdao Institute)
<i>Pavlova sp.</i>	218	North Atlantic (CCMP 1390)

KMMCC, Korea Marine Microalgae Culture Center; CCMP, Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton.

의 f/2 (Guillard and Ryther, 1962)배지를 1 L 넣고 20℃, 80  $\mu$ mol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 의 연속 조명으로 2주간 정치배양 한 후 실험에 이용하였다.

### 온도별 성장률 측정

고수온의 온도별 성장 실험을 위해 정치배양한 각 원종을 250 mL 플라스크(배양액 100 mL)에 50%로 접종한(약 1×10<sup>6</sup> cell/mL-6×10<sup>6</sup> cell/mL) 후 원종 배양시와 동일한 조건 하에서 온도만을 25℃, 29℃, 33℃로 구분하여 세포수가 감소할 때까지 10-20일간 3반복으로 정치배양하며 성장을 조사하였다. 세포 밀도는 혈구계산판을 이용해서 매일 오전 10시경에 3반복 측정하였고 성장 대수기의 최고 세포 밀도시까지를 기준으로 일간성장률(specific growth rate, SGR)을 구하였다(Guillard, 1973). ( $SGR = 3.322 \log (N_2/N_1)/(t_2-t_1)$ , N<sub>2</sub>:t<sub>2</sub>시의 세포수, N<sub>1</sub>:t<sub>1</sub>시의 세포수, t<sub>1</sub>:배양 시작일, t<sub>2</sub> 최고 세포밀도 배양일).

### 지방산 분석

각 온도 구간에서 배양한 *Isochrysis* 4종과 *Pavlova* 4종 중에서 33℃ 고온에서 상대적으로 양호한 성장률을 보인 종을 각각 2종씩 선별하여 배양 종료 시 3,000 rpm으로 25분간 원심

### 통계처리

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

## 결 과

### 온도별 성장 변화

25℃, 29℃ 및 33℃에서 배양한 *Isochrysis* 4종과 *Pavlova* 4종의 성장률은 Fig. 1과 같다. *Isochrysis* 4종은 모두 25℃보다 29℃에서 성장률이 높았고, 33℃에서는 25℃ 수준으로 감소하는 것으로 나타났다. 25℃에서 *I. galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis sp.* (KMMCC1072)는 성장률이 0.229와 0.212로 다른 2종보다 유의하게 높았고, *I. aff. galbana* (KMMCC213)는 0.148로 가장 낮았다(P < 0.05). 29℃에서 *Isochrysis sp.* (KMMCC1072)와 *I. galbana* (KMMCC12)의 성장률이 각각 0.290와 0.281로 다른 2종에 비해 유의하게 높았다. *I. aff. galbana* (KMMCC213)는 0.214로 가장 낮았으나, *I. galbana* (KMMCC214)와는 유의한 차이가 없었다. 33℃에서는 *I.*

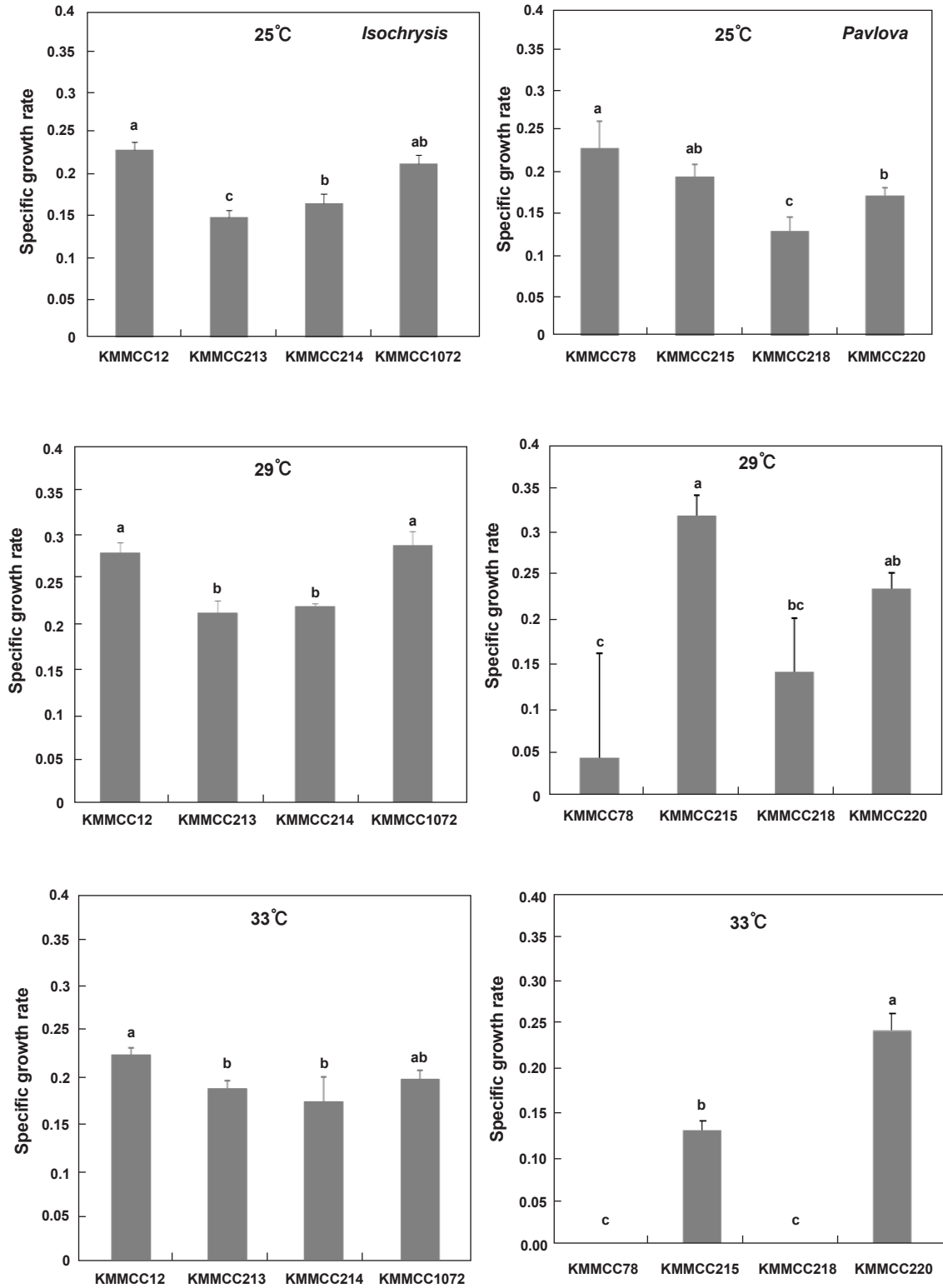


Fig. 1. Specific growth rate of *Isochrysis* and *Pavlova* species at 25°C, 29°C and 33°C. KMMCC12, *Isochrysis galbana*; KMMCC213, *I. aff. galbana*; KMMCC214, *I. galbana*; KMMCC1072, *Isochrysis* sp.; KMMCC78, *Pavlova lutheri*; KMMCC215, *P. gyrans*; KMMCC218, *Pavlova* sp.; KMMCC220, *P. viridis*. Different letters on the bar means significantly difference ( $P < 0.05$ ).

*galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 성장률이 0.228와 0.201로 다른 2종보다 유의하게 높은 성장률을 보였고( $P < 0.05$ ), *I. galbana* (KMMCC214)는 0.175로 가장 낮은 경향이었으나 *I. aff. galbana* (KMMCC213)와 유의한 성장 차이는 없었다.

*I. galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 전 온도 구간에서 다른 두 종에 비해 유의하게 높은 성장률을 보였고, 33°C의 고온에서도 성장률이 상대적으로 높아 광온성인 종으로 나타났다. 그러나 이 두 종 사이에 유의한 성장 차이는 없었다 ( $P < 0.05$ ).

*Pavlova* 종은 *Isochrysis* 종과는 달리 온도에 따라 4종의 성장률이 크게 변화했다. 25°C에서는 *P. lutheri* 와 *P. gyrans* 의 성장률은 각각 0.229와 0.195로 가장 낮은 성장률을 보인 *Pavlova* sp. (0.128)에 비해 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 29°C에서는 *P. gyrans*의 성장률이 0.317로 크게 증가하여 가장 높았고, *P. lutheri*는 0.043로 크게 감소하였다. 33°C에서는 *P. viridis*의 성장률이 0.249로 가장 높았고( $P < 0.05$ ), *P. lutheri*와 *Pav-*

*lova* sp.는 전혀 성장하지 못했다.

*P. lutheri*는 25°C에서는 가장 높은 성장률을 보였지만 온도가 높아질수록 성장률이 급격히 감소하여 고온에 가장 약한 종으로 나타났고, 25°C와 29°C에서 다른 종에 비해 낮은 성장률을 보였던 *Pavlova* sp.도 33°C에서는 전혀 성장하지 못했다. 이와는 대조적으로 *P. viridis*는 25°C에서는 비교적 낮았으나 고온이 될수록 성장률이 높아지는 경향이었고, *P. gyrans*는 29°C의 고온에서 성장률이 가장 높았을 뿐 아니라, 33°C에서도 0.130의 성장률을 유지하였다.

### 지방산 분석

성장 실험 결과 고온배양이 적합한 *I. galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)의 지방산 조성은 Table 2와 같다. Oleic acid (C18:1n9)의 경우 전 온도 구간에서 23.84-37.03%로 가장 높은 비율을 보였고, palmitic acid (C16:0)도 16.17-22.34%의 높은 비율을 보였다. EPA는 전 구간에

Table 2. Fatty acids composition (% in mg/g of total fatty acids) of two *Isochrysis* species cultured at 25°C, 29°C and 33°C

Fatty acid	<i>Isochrysis galbana</i> (KMMCC 12)			<i>Isochrysis</i> sp.(KMMCC1072)		
	25°C	29°C	33°C	25°C	29°C	33°C
C14:0	10.89	11.62	13.89	11.14	9.08	14.89
C15:0	1.36	1.98	2.42	1.23	1.07	3.03
C16:0	20.97	21.98	16.17	21.62	21.01	22.34
C16:1n3	0.09	-	0.16	0.04	-	0.09
C16:1n5	0.75	-	0.06	0.11	-	-
C16:1n7	3.45	5.20	5.70	5.61	8.59	8.34
C16:1n9	-	0.15	0.26	0.30	0.26	0.23
C16:2	4.88	-	1.06	0.77	6.38	1.45
C17:0	0.27	-	1.13	0.06	0.26	-
C17:1	0.75	0.92	0.82	0.84	-	1.04
C18:0	0.94	1.33	2.32	1.17	1.03	3.06
C18:1n7	3.25	3.99	7.66	2.18	3.21	4.55
C18:1n9	34.75	37.03	23.84	36.66	29.05	26.06
C18:2n4	2.16	2.07	2.76	0.14	1.90	3.24
C18:2n6	0.19	0.14	0.05	0.19	0.16	0.32
C18:3	0.06	-	-	0.08	-	0.11
C18:4	7.28	8.09	6.20	7.61	6.02	5.98
C20:0	-	0.19	-	0.12	0.10	0.18
C20:5n3	0.54	0.51	10.97	0.37	3.45	0.28
C22:0	0.73	-	0.07	0.75	1.41	0.32
C22:1n11	1.07	-	0.25	1.57	-	-
C22:5	0.21	-	-	0.30	-	-
C22:6n3	5.37	4.80	4.21	7.07	7.02	4.44
C24:1n9	0.06	-	-	0.07	-	0.07
Saturated	35.16	37.10	36.00	36.09	33.96	43.82
Monounsaturated	44.17	47.29	38.75	47.38	41.11	40.38
Polyunsaturated	20.69	15.61	25.25	16.53	24.93	15.82
n-3 HUFA	5.91	5.31	15.18	7.44	10.47	4.72

KMMCC, Korea Marine Microalgae Culture Center; HUFA, highly unsaturated fatty acid.

서 0.28-10.97%의 범위였으며 *I. galbana* (KMMCC12)는 33℃에서 가장 높았다. DHA는 4.21-7.07%의 범위였으며, *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 25℃에서 가장 높았다. Arachidonic acid (AA, C20:4n6)는 두 종에서 모두 나타나지 않았다.

PUFA 함량은 15.61-25.25%의 범위였고, *I. galbana* (KMMCC12)가 33℃에서 가장 높았다. 총 n-3 HUFA 함량은 4.72-15.18% 범위로 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072) 33℃에서 가장 높았다. *I. galbana* (KMMCC12)의 경우 PUFA와 n-3 HUFA는 33℃에서 가장 높았으나 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 29℃에서 가장 높은 함량을 나타내어 차이를 보였다. 전체적으로 EPA는 *I. galbana* (KMMCC12)에서, DHA는 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)에서 더 높은 결과를 보였다.

고온 배양이 적합한 *P. gyrans* 와 *P. viridis* 의 지방산 조성은 Table 3 과 같다. 두 종 모두 myristic acid (C14:0, 7.82-21.29%), palmitic acid (19.78-36.53%) 및 palmitoleic acid (C16:1n7, 7.63-26.53%)에서 높은 조성을 보였다. EPA는 *P. gyrans* 에서 1.45-9.93%, *P. viridis* 에서는 7.57-8.10%의 조성을 보였고, 33℃에서는 *P. viridis* 가 7.57%로 *P. gyrans* (1.45%)보다 높았다. DHA는 *P. gyrans* 의 경우 25℃와 29℃에서는 3.10-4.65% 였고 33℃에서는 검출되지 않은 반면, *P. viridis*는 33℃에서 7.69%로 가장 높은 값을 보여 대조적이었다. 33℃ 고온에서 *P. viridis*는 PUFA와 n-3 HUFA량이 증가한 반면, *P. gyrans*는 감소하는 대조적인 결과를 보였다.

### 고 찰

미세조류의 옥외 대량배양에서 온도의 조절은 자연조건에

Table 3. Fatty acids composition (% in mg/g of total fatty acids) of two *Pavlova* species cultured at 25℃, 29℃ and 33℃

Fatty acid	<i>Pavlova gyrans</i>			<i>Pavlova viridis</i>		
	25℃	29℃	33℃	25℃	29℃	33℃
C14:0	17.68	21.29	10.24	17.66	18.29	7.82
C15:0	2.37	5.27	1.11	1.31	0.40	2.50
C16:0	24.83	26.48	36.53	19.78	23.03	21.09
C16:1n3	0.30	0.83	1.67	0.28	0.09	0.80
C16:1n5	0.27	0.34	3.20	0.54	0.12	1.45
C16:1n7	20.76	18.82	25.71	26.53	19.13	7.63
C16:1n9	0.24	0.25	0.03	0.78	0.25	0.21
C16:2	-	-	3.30	-	-	14.23
C17:0	0.20	-	0.18	1.39	0.92	-
C17:1	-	-	-	1.70	0.03	-
18:00	1.22	2.19	4.64	2.72	6.07	4.59
18:1n5	-	-	0.27	-	-	-
18:1n7	3.76	1.05	2.31	6.13	2.79	1.81
18:1n9	8.81	2.64	5.50	2.12	6.12	15.90
18:2n4	0.87	1.16	0.28	4.52	2.94	1.29
18:2n6	-	0.49	0.11	0.10	0.38	0.61
C18:3	0.08	-	0.05	0.34	0.39	-
C18:4	6.81	3.31	3.41	0.51	4.11	4.82
C20:0	0.66	0.79	-	0.41	1.47	-
C20:5n3	8.04	9.93	1.45	8.10	7.95	7.57
C22:5	-	0.50	-	-	-	-
C22:6n3	3.10	4.65	-	5.00	5.51	7.69
Saturated	46.95	56.02	52.70	43.27	50.18	36.00
Monounsaturated	34.14	5.11	38.69	38.15	28.53	27.80
Polyunsaturated	18.90	38.86	8.60	18.57	21.28	36.21
n-3 HUFA	11.14	14.58	1.45	13.10	13.46	15.26

HUFA, highly unsaturated fatty acid.

의존해야 하는 문제점이 있다(Richmond et al., 1993). 하지만 온도에 따른 미세조류의 성장률은 같은 종이라 하더라도 strain에 따라 다르기 때문에(Grima et al., 1994; Renaud et al., 1995), 옥외에서 대량 배양을 할 경우 그 지역의 기후 조건에 적합한 종 또는 strain의 선택은 중요하다(Park and Hur, 2000). 한국에서 여름에 해양미세조류를 안정적으로 옥외 대량배양을 하기 위해서는 약 30℃의 고온에서도 배양이 용이한 종이어야 한다.

착편모조류에 속하는 *Isochrysis* 와 *Pavlova* 는 세포의 크기가 작고 지방산 함량이 높아 조개류의 부화장에서 먹이생물로 널리 이용되나 고온에 약한 문제점이 있다. *Isochrysis* sp. 는 25℃ (Grima et al., 1994) 또는 27℃ (Renaud et al., 2002) 일 때 세포 밀도가 가장 높았으며 온도가 높아짐에 따라 세포 밀도가 점점 감소하여, 33℃ 이상에서는 폐사한다(Renaud et al., 2002). 또한 *P. lutheri*의 경우 배양온도가 22℃일 때 성장률이 가장 좋으며, 그 이상에서는 온도가 높아질수록 성장률이 감소한다고 보고된바 있다(Carvalho and Malcata, 2003; Yoon, 2005).

본 연구에 이용된 *Isochrysis*의 경우 4종의 성장률은 모두 25℃보다 29℃에서 증가하였지만 33℃에서는 감소하였다. Claquin et al. (2008)은 130  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 연속 조명으로 35 psu의 f/2 배지로 배양 시 *I. galbana* 와 *I. aff. galbana*의 성장이 각각 22℃와 30℃에서 가장 좋았다고 하여 *I. aff. galbana*가 상대적으로 고온에 적합한 종으로 보고하였다. 그러나 본 연구에서의 *I. aff. galbana* (KMMCC213)는 다른 *Isochrysis* 종에 비해서 33℃의 고온에서 성장률이 높지는 않았지만 29℃의 성장률과 비교해서 감소 폭은 가장 낮은 특성을 보였다. 또 이러한 차이는 strain과 배양 환경의 차이 때문으로 판단된다.

*Pavlova*의 경우 *P. viridis* 를 제외한 3종은 배양온도가 33℃로 높아짐에 따라 성장률이 크게 낮아지는 경향을 보였다. 특히 *P. lutheri* 는 25℃보다 높은 온도에서 성장률이 가장 크게 감소하였고, 33℃에서는 전혀 성장하지 못하여 25℃ 이상에서는 성장률이 감소한다는 보고와 유사하였다(Carvalho and Malcata, 2003; Yoon, 2005; Claquin et al., 2008).

그러나 *P. viridis* 는 온도가 올라갈수록 성장률이 높아 다른 종과는 상반된 결과를 보였고, 옥외 대량 배양 시 *P. viridis*의 성장이 25℃보다 30℃에서 좋았다는 보고와 유사하였다(Hu et al., 2008). 이와 같은 결과로 보아 25℃에서는 *P. lutheri*, 29℃에서는 *P. gyrans*, 33℃에서는 *P. viridis*가 옥외대량배양에 적합한 것으로 판단된다. 이와 같이 *Pavlova*는 종에 따라 온도에 대한 성장특성이 *Isochrysis*에 비하여 더 예민함을 알 수 있었다.

미세조류의 PUFA는 대부분의 조개류 유생과 해산동물의 필수지방산이며(Webb and Chu, 1982), 그 중 EPA는 유생 발생 단계의 성장 에너지원으로 사용되며, DHA는 정상적인 생체조직의 발달과 기능에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다

(Helm et al., 1991; Whyte et al., 1991; Pernet and Tremblay, 2004). 또한 포화지방산과 단일불포화지방산은 무척추동물의 성장 및 활동 에너지원으로 이용된다(Thompson et al., 1993).

Renaud et al. (2002)은 *Isochrysis* sp. (T.ISO)의 경우 25-33℃의 온도 구간에서의 지방산 분석 결과 포화지방산함량은 전 온도 구간에서 함량이 약 39-44%로 비슷하고, 단일불포화지방산 함량은 25℃에서 가장 높으며, 온도가 증가할수록 감소한다고 보고하였다. 또한 PUFA 함량은 전 온도 구간에서 약 37%로 비슷하게 나타났다고 하였다. 이는 본 연구에서 *I. galbana* (KMMCC12)의 포화지방산함량이 전 온도구간에서 약 35-37% 였고 단일불포화지방산 함량도 온도가 증가할수록 낮게 나타난 결과와 유사하였다. 그러나 PUFA 함량의 경우 *I. galbana* (KMMCC12)는 29℃에서 15.61%로 가장 낮았고 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 29℃에서 24.93%로 가장 높게 나타나 차이를 보였다. 이러한 차이는 종의 유전적 특성과 배양환경의 차이 때문으로 생각된다. AA는 *I. galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)의 지방산 분석 결과 검출되지 않아 Renaud et al. (2002)의 *Isochrysis* sp.의 지방산 분석 결과와 일치하였다.

*Pavlova*의 경우 *P. gyrans* 와 *P. viridis* 의 주요 지방산은 C14:0, C16:0, C16:1으로 나타나 Hu et al. (2008)의 결과와 일치하였다. *P. viridis*의 경우 20℃보다 30℃에서의 성장률과 PUFA 함량이 더 높다고 보고하였는데(Hua et al., 1999), 본 연구에서도 33℃에서 성장률과 다가불포화지방산이 36.2%로 가장 높아 유사한 결과를 보였다. *P. viridis*의 EPA와 DHA 함량은 배양 온도가 높아질수록 낮아진다고(Hu et al., 2008) 하였으나 본 연구에서 DHA의 경우는 반대의 경향을 보였다. 또 AA는 *P. gyrans* 와 *P. viridis*에서는 검출되지 않아 *P. lutheri*의 분석 결과와는 차이를 보였다(Hidetaka and Etsuko, 1995).

온도는 미세조류의 지방산 함량에 큰 영향을 끼치며(Thompson et al., 1992), 미세조류의 불포화지방산함량은 일반적으로 온도에 반비례 한다고 보고하였으나(Thompson et al., 1993; Renaud et al., 1995), Hu et al. (2008)은 온도에 따른 미세조류의 지방산함량은 종에 따라 다양하게 나타나며, 온도와 지방산함량의 상관관계는 뚜렷하지 않다고 보고하였다. 본 연구 결과에서도 배양온도에 따른 지방산 조성변화는 종에 따라 다양하게 나타났다. 이러한 경향은 각 종의 최적온도가 다르고 성장 단계에 따라 지방산 조성이 다르기 때문으로 판단된다(Zhu et al., 1997; Lin et al., 2007; Xu et al., 2008).

본 연구 결과로 볼 때 4 종의 *Isochrysis* 중 *I. galbana* (KMMCC12)와 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)는 다른 두 종에 비하여 33℃의 고온에서 성장이 빨랐고, 이 중 *I. galbana* (KMMCC12)는 *Isochrysis* sp. (KMMCC1072)에 비해서 n-3 PUFA 함량도 약 3배 높게 나타났다. 한편 4 종의 *Pavlova* 종에서는 *P. gyrans* 과 *P. viridis* 는 29℃ 이상의 온도에서 다른 두 종에 비하여 성장이 빨랐다. 특히 *P. viridis* 는 온도가 높

아질수록 성장률이 높게 나타나 가장 광온성이었고, 33℃에서도 n-3 PUFA 함량이 *P. gyraus* 보다 약 10배 높게 나타났다. 따라서 한국의 여름철 옥외 대량배양을 위하여 성장이 빠르고 n-3 PUFA 함량이 높은 종은 *Isochrysis* 중에서는 *I. galbana* (KMMCC12)가, *Pavlova* 중에서는 *P. viridis* 가 가장 적합한 종으로 판단되었다.

## 사 사

이 논문은 2010학년도 부경대학교 연구년 교수지원사업에 의하여 연구되었음(PS-2010-0165).

## 참고 문헌

- Ackman RG. 1982. Fatty acid metabolism of bivalve. In: Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition. Pruder G, Langdon CJ and Conklyn DE, eds. World Mariculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA, 358-375.
- Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK and Dunstan GA. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquacult* 151, 315-331.
- Berthelin C, Kellner K and Mathieu M. 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (west coast of France). *Comp Biochem Physiol* 125, 359-369.
- Carvalho AP and Malcata FX. 2003. Kinetic modeling of the autotrophic growth of *Pavlova lutheri*: study of the combined influence of light and temperature. *Biotechnol Prog* 19, 1128-1135.
- 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*). *Aquacult* 128, 315-333.
- Claquin P, Probert I, Lefebvre S and Veron B. 2008. Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquat Microb Ecol* 51, 1-11.
- Dridis S, Romdhane MS and Elcafsi M. 2007. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. *Aquacult* 263, 238-248.
- Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1-42.
- Enright CT and Newkirk GF. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *O. Edulis*. *J Exp Mar Biol Ecol* 96, 1-13.
- Grima EM, Camacho FG and Perez JAS. 1994. Biochemical productivity and fatty acid profile of *Isochrysis galbana* Parke and *Tetraselmis* sp. as a function of incident light intensity. *Process Biochem* 29, 119-126.
- Guillard RL and Ryther JH. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). *Gran Can J Microbiol* 8, 229-239.
- Guillard RL. 1973. Growth measurement. In: Handbook of Phycological Methods. Stein JR, ed. Cambridge University Press, London, U.K., 302-306.
- Helm MM, Holland DL, Utting SD and East J. 1991. Fatty acid composition of early non-feeding larvae of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *J Mar Biol Assoc U.K.* 71, 691-705.
- Hidetaka T and Etsuko T. 1995. Changes in lipid and fatty acid composition of *Pavlova lutheri*. *Phytochemistry* 40, 397-400.
- Hua XM, Zhou HQ and Ding ZP. 1999. Effect of temperature and illumination on the microalgae's growth, total lipid and fatty acid composition. *J Shanghai Fish Univ* 8, 309-315.
- Hu C, Li M, Li J, Zhu Q and Liu Z. 2008. Variation of lipid and fatty acid compositions of marine microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae) under laboratory and outdoor culture conditions. *World J Microbiol Biotechnol* 24, 1209-1214.
- Hur YB. 2004. Dietary value of microalgae for larvae culture of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Jeffrey SW, Brown MR and Volkman JK. 1994. Haptophyte as feed stocks in mariculture. In: Leadbeater BSC, The Haptophyte Algae. Green JC, ed. Clarendon Press, Oxford, 287-302.
- Langdon CJ and Waldock MJ. 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J Mar Biol Assoc U.K.* 61, 431-448.
- Lee SM. 2004. Utilization of dietary protein, lipid and carbohydrate by abalone *Haliotis discus hannai*: A review *J Shellfish Res* 23, 1027-1030.
- Lin YH, Chang FL, Tsao CY and Leu JY. 2007. Influence of growth phase and nutrient source on fatty acid composition of *Isochrysis galbana* CCMP 1324 in a batch photoreactor. *J Biochem Eng* 37, 166-176.
- Liu WG, Li Q, Yuan YD and Zhang SH. 2008. Seasonal variations in reproductive activity and biochemical composition of the cockle *Fulvia mutica* (Reeve) from eastern coast of China. *J Shellfish Res* 27, 405-411.
- Metcalf LD, Schmitz AA and Pelka JR. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal Chem* 38, 514-515.
- Min BH. 2012. Dietary value of three microalgal species for seedling production of the ark shell *Scapharca broughtonii*. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Park JE and Hur SB. 2000. Optimum culture conditions of species of microalgae as live food from China. *J Aquat* 13, 107-117.
- Pernet F and Tremblay R. 2004. Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea

- scallop *Placopecten magellanicus*. J Exp Mar Biol Ecol 310, 73-86.
- Ponis E, Parisi G, LeCoz JR, Zittelli C and Tredici MR. 2006. Effect of the culture system and culture technique on biochemical characteristics of *Pavlova lutheri* and its nutritional value for *Crassostrea gigas* larvae. Aquac Nut 12, 322-329.
- Renaud SM, Zhou HC, Parry DL, Luong-Van T and Woo KC. 1995. Effect of temperature on the growth, total lipid content and fatty acid composition of recently isolated tropical *Isochrysis* sp., *Nitzschia closterium*, *Nitzschia paleacea*, and commercial species *Isochrysis* sp., (clone T.ISO). J Appl Phycol 7, 595-602.
- Renaud SM, Luong-Van T, Lambrinidis G and Parry DL. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch culture. Aquaculture, 211, 195-214.
- Richmond A, Boussiba S, Vonshak A and Kopel R 1993. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. J Appl Phycol 5, 327-332.
- Sunderlin JB, Baab PT and Partry EM. 1976. Growth of clam and oyster larvae on different algal diets in a tropical artificial upwelling mariculture system. In: Proceedings of the Seven Annual Meeting World Mariculture Society. San Diego California, January 25-29, 215-221.
- Thompson PA, Guo M, Harrison PJ and Whyte JNC. 1992. Effects of variation in temperature on the fatty acid composition of eight species of marine phytoplankton. J Phycol 28, 488-497.
- 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.
- Watanabe T, Kitajima C and Fujita S 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. Aquaculture, 34, 115-143.
- Webb KL and Chu FL. 1982. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. In: Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition. Pruder G, Langdon CJ and Conklin DE, eds. World Mariculture Society. Louisiana State University, Baton Rouge, L.A., 272-291.
- Whyte JNC, Bourne N and Ginther NG. 1991. Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis*. J Exp Mar Biol Ecol 149, 67-79.
- Xu Z, Yan X, Pei L, Luo Q and Xu J. 2008. Changes in fatty acids and sterols during batch growth of *Pavlova viridis* in photobioreactor. J Appl Phycol 20, 237-243.
- Yoon HY. 2005. Growth of culture environment on food organism. M.S. Thesis, University of Mokpo, Mokpo, Korea.
- Zhu CJ, Lee YK and Chao TM. 1997. Effect of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1. J Appl Phycol 9, 451-457.