

Environmental Factors Affecting on Shrimp Cultivation and Bacterial Examination in Shrimp Aquaculture

Jae-Woo Chun, Chae-Woo Ma, Kye-Heon Oh

Department of Life Science, Soonchunhyang University

TEL: +82-41-530-1351, FAX: +82-41-530-1350

Abstract

Cultivation environment for effective production of shrimp in shrimp aquaculture, Institute of Marine & Fishery, Soonchunhyang University located at Tae-An, Chung-Nam Province, with the ultimate aim of probiotics development, was monitored. Several environmental factors including dissolved oxygen, water body temperature, pH, salinity, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, chlorophyll a affecting on the growth of shrimp were examined. Concentrations of NH₄-N, NO₂-N, and NO₃-N dissolved in water samples were determined to 0.024-0.034 mg/L, 0.03-0.20, and 0.004-0.009 mg/L, respectively. Chlorophyll a content was examined in the range of 0.002-0.118 ug/m³. In order to understand the distribution of different bacteria in water samples collected in shrimp aquaculture, bacteria were isolated and enumerated on the marine agar plates. Total number of bacteria were increased to approximately 6.5×10^4 . Thirteen predominant bacteria were isolated and identified. As the results of BIOLOG test of the isolates, these bacteria were identified as *Corynebacterium nitrilophilus*, *Clavibacter agropyri*, *Sphingomonas adhaesiva*, *Brevundimonas vesicularis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas bathycetes*, *Vibrio tubiashii*, *Sphingomonas macrogoltabidus*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Burkholderia glumae*, *Corynebacterium urealyticus*, *Rhodococcus fascians*, *Psychrobacter immobilis*, respectively. Further work will stimulate the elucidation of pathogenicity, corresponding bacteria related to environment and probiotics, providing good information for effective production of shrimp.

서 론

대하는 영양이 풍부하고 풍미가 탁월하기 때문에 전세계적으로 주목받는 어종이다. 그러나 무분별한 남획과 해양환경의 오염으로 인하여 자연산 대하의 생산

량은 지속적으로 감소하고 있으며 현재는 인공 종묘생산을 통한 대하의 양식으로 그 수요를 충족시키려는 시도를 하고 있으나 제한된 공간에서의 양식이 가져오는 환경오염과 각종 병원성 미생물에 의한 문제에 직면하고 있다.¹⁾ 양식장을 포함하는 수계에서 질소함량은 양식어류의 생장에 커다란 영향을 미친다. 이는 영양염류로서 질소와 인의 농도가 조류와 세균을 포함하는 다양한 미생물의 생장과 밀접한 관련이 있어 영양염류로서 일정농도 이내이어야 하며 과도한 농도에서는 어류양식 환경에 치명적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 보고되고 있다.²⁾ 클로로필 함량조사는 수계에서 식물성 부유플랑크톤의 기초생산을 지배하여 해양의 일차생산력과 밀접한 관계를 나타내고 있는 점에서 해양학적으로 매우 중요한 의미가지며 나아가 연안어장형성 및 연안 양식장의 생산성과 밀접한 관련이 있다.³⁾ 따라서 대하양식장에서 문제가 되는 이들 요인들을 모니터링하고 각 요인들이 대하생육에 미치는 영향에 대한 연구의 필요성이 제기되고 있다.

본 연구는 새우양식장의 생태계를 물리화학적 및 생물학적인 분석을 통하여 새우의 생장에 영향을 요인들이 새우의 생육에 영향을 미치는 효과를 조사하고자 본 연구를 수행하였다. 특히 새우양식에서 새우가 건강하도록 생육을 촉진시키고 수서 환경을 정화하는데 미생물을 이용하기 위한 유해 및 유용세균의 검색하여 궁극적으로 probiotics를 개발할 목적으로 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

새우양식장 환경요인 조사: 충남 태안군 순천향대학교 부설 해양수산 연구소 새우양식장 (면적 10,000 m²)에서 2003년 5월부터 9월 동안 실시하였다. 조사항목은 DO, 수온, pH, 염도, 탁도, 그리고 수질 (NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N) 이었다. 양식장 수질환경 조사는 사육용수의 취수지점 부근 연안수와 실내 수조 및 야외 사육지를 대상으로 취수하여 실험실에서 NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N을 조사 분석하였다. 총 질소(T-N)는 이들 농도를 합하여 결정하였다. 클로로필 a 량 변화를 조사하기 위하여 채취한 물시료 1 L를 membrane filter (pore size 0.45 μm)로 여과하였다. 50 ml 원심분리 튜브에 여과시킨 membrane filter와 90% 아세톤 10 ml를 튜브에 넣고 핀셋으로 membrane filter에 아세톤 용액에 잠기게 한 후, 튜브의 마개를 막고 4°C에서 24시간 방치한 후, 원심분리 하였다. 상등액을 석영 큐벳에 넣고 630 nm, 645 nm, 663 nm, 750 nm에서 각각의 흡광도를 측정하였다.

새우양식장 세균상 조사 및 분리·동정: 양식장에서 채취한 물시료를 marine agar plate 상에 100 ul를 도말하여 37°C에서 2-3 일간 배양하여 생성된 집락을 계

수하였다. 총균수와 세균의 종류에 따른 집락의 형태와 색소의 형성, 집락의 분포에 대하여 관찰하였다. Marine agar plate에서 분리된 이들 세균들에 대하여 다양한 형태학적 및 생리학적 시험을 실시하였다. 이 가운데 녹말과 젤라틴을 분해하는 세균에 대하여 분해 활성에 대하여 조사하였다.

분리 세균의 동정은 여러 가지 생리생화학적 시험과 GN2/GP2 Microplate™ Identification System을 이용하여 동정하였다. 배지는 BUG agar 와 5%의 sheep blood를 혼합한 평판에서 순수 배양한 균주를 GN/GP inoculation fluid에서 현탁한 후, Biolog turbidimeter를 이용하여 20-63%까지 맞추고 GN2/GP2 MicroPlate의 96개의 well에 150 ul씩 분주하여, 30-37°C에서 4-6시간 배양하였다. 배양된 MicroPlate의 결과는 직접 확인하였으며, MicroLog™ DB software를 통해 동정하였다.

결과 및 고찰

새우양식장의 수온, 염분 및 용존 산소 변화: 조사기간 동안 수온의 범위는 23.8 ~ 33.1°C로 최고수온이 30°C를 넘었으나, 수온의 변화는 완만해서 대하의 성장과 생존에 적합하였다. 염분은 17.5 ~ 31.2 ppt로 변화의 폭이 심하게 나타났는데, 6월말 이후 장마와 강우가 계속되었기 때문이며, 강우 후에도 저수된 바닷물의 혼합없이 계속 유지하므로 염분이 강우에 따른 영향을 많이 받는 것으로 조사되었으나 대하의 성장에 영향을 미칠 정도는 아니었다. 용존산소는 5.08 ~ 8.22 ppm의 범위를 나타내었다. 이와 같은 수치는 새우의 생존에 영향을 미칠 정도로 낮은 수치를 나타내지는 않았다. 7월 말경에 용존산소가 8.22 ppm으로 다소 높은 수치를 나타내었는데 이는 식물플랑크톤의 증식에 의한 것으로 추정된다.

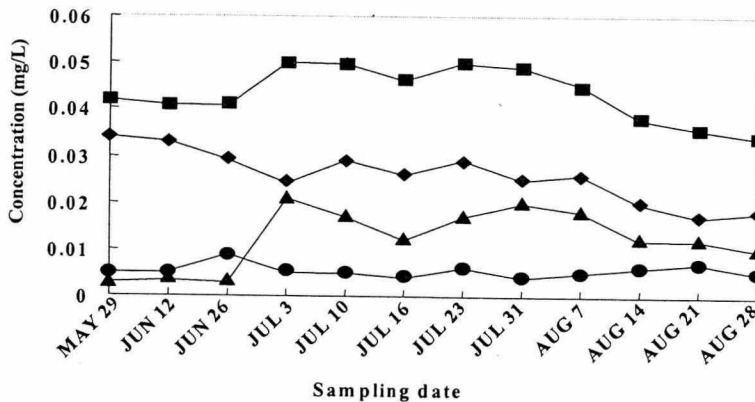


그림 1. 대하 양식장에서 T-N(■), NH₄-N(◆), NO₂-N(▲), NO₃-N(●)의 변화.

질소 농도의 변화: 질소 농도는 암모니아 질소, 아질산 질소, 질산 질소를 각각 측정하였다(그림 1). $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 농도는 0.024 ~ 0.034 mg/L의 범위였으며, $\text{NO}_2\text{-N}$ 의 농도는 0.003 ~ 0.021 mg/L, 또한 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 농도도 0.004 ~ 0.009 mg/L의 수치를 나타내었다. 양식장 내의 아질산은 최초 조사시에 0.005mg/L가 0.021 mg/L로 증가하는 것이 관찰되었으나, 암모니아 질소와 질산 질소는 다소 감소하였다. 그러나 총 질소의 양은 비교적 일정하게 유지되었다.

클로로필 a 측정: 대하 양식장에서 조류의 증식상태를 알아보기 위하여 클로로필 a의 양을 측정하였다(그림 2). 클로로필 a는 실험기간 중에 채취된 시료에서 비교적 일정하게 유지되었다. 클로로필 a의 농도는 양식장의 수질에서 질소와 인의 양과 밀접한 관련이 있다.

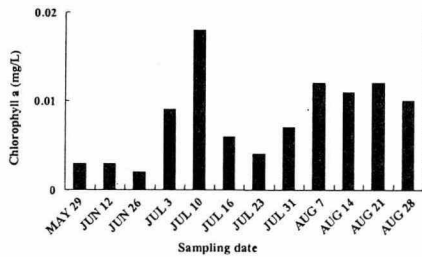


그림 2. 대하양식장의 클로로필 a 량 변화

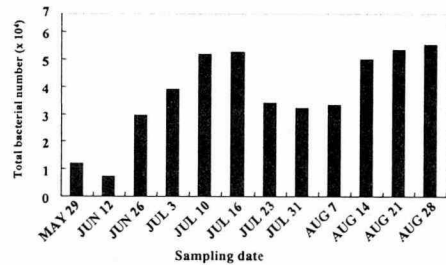


그림 3. 대하양식장의 총세균수 변화

대하양식장의 세균상 조사: 태안 대하양식장에서 채집한 시료를 marine agar plate 상에 자라난 집락의 총세균수를 계수하였으며, 집락의 분포와 형태, 그리고 각 세균의 색소 형성을 관찰하였다. 총 세균수의 변화추이는 그림 3에 나타나 있다.

분리세균의 특성조사 및 동정: 분리세균 13가지에 대한 형태학적 및 다양한 생리학적 특성조사를 실시하였으며, 동정은 일차적으로 그람염색의 결과를 토대로 하여 Biolog 시험의 다양한 기질 이용여부를 확인한 결과를 통하여 동정을 실시하였다. 그 결과에서 각 분리세균은 *Corynebacterium nitrilophilus*, *Clavibacter agropyri*, *Sphingomonas adhaesiva*, *Brevundimonas vesicularis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas bathycetes*, *Vibrio tubiashii*, *Sphingomonas macrogoltabidus*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Burkholderia glumae*, *Corynebacterium urealyticus*, *Rhodococcus fascians*, *Psychrobacter immobilis* 등으로 동정되었다.

요 약

충남 태안소재 순천향대학교 해양연구소의 해양수산연구소에서 probiotics 개발을 궁극적인 목표로 하여 대하양식장에서 대하의 효율적 생산을 위한 생육환경을 조사하였다. 대하의 생장에 영향을 미치는 용존산소, 수체온도, pH, 염도, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, 클로로필 a를 포함하는 몇가지 환경요인들을 조사하였다. 수 표본에 용존되어 있는 $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, 그리고 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 농도는 각각 0.024-0.034 mg/L, 0.03-0.20, 0.004-0.009 mg/L였다. 클로로필 a는 0.002-0.118 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 범위에 있었다. 양식장에서 채취한 수 표본에서 다른 세균들의 분포를 알아보기 위하여 marine agar plates에서 분리 계수하였다. 총세균수는 대략 6.5×10^4 까지 증가하였다. BIOLOG 시험들 통하여 13가지의 분리 세균들은 *Corynebacterium nitrilophilus*, *Clavibacter agropyri*, *Sphingomonas adhaesiva*, *Brevundimonas vesicularis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas bathycetes*, *Vibrio tubiashii*, *Sphingomonas macrogoltabidus*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Burkholderia glumae*, *Corynebacterium urealyticus*, *Rhodococcus fascians*, *Psychrobacter immobilis*로 각각 동정되었다. 향후 연구는 대하의 효율적인 생산을 위한 정보를 제공하기 위한 병독성이나 환경과 probiotics의 연관성을 규명에 집중될 것이다.

References

1. Gabriel, G.A. and A.V. Felipe, Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential (2000), *Resent Res. Devl. Microbiology* 4:333-348.
2. Endo, H., Y. Nakazawa, Y. Nagano, H. Ren, and T. Hayashi, Nitrate monitoring biosensor system for aquatic environment (2002), *J. Tokyo Univ. Fisheries* 88:33-38.
3. Yentsch, C.S. and J.H. Ryther, Short-term variations in phytoplankton chlorophyll and their significance (1957), *Limnol. Oceanogr.* 2(2):140-142.