

패류 종묘의 대량 생산시에 필요한 먹이 생물의
배양에 관한 연구

1. *Phaeodactylum*, *Platymonas* 및 *Chlorella*

柳 晟 奎

(釜山水產大學)

THE GROWTH OF FOOD ORGANISMS FOR THE MASS
PRODUCTION OF MOLLUSCAN SEEDLINGS

1. *Phaeodactylum*, *Platymonas* and *Chlorella*

by

Sung Kyoo Yoo

(Pusan Fisheries College)

A series of experiments have been made on the mass culture of *Phaeodactylum tricornerutum*, *Platymonas* sp. and *Chlorella* sp. in the laboratory.

The shortest lag phase was found in the culture of *Ph. tricornerutum* followed by *Platymonas* sp. and *Chlorella* sp. As compared to the aeration culture, the stagnant culture, in general, showed long duration of the lag phase, short period of the exponential phase and extremely small daily increment.

The relative growth constants of *Ph. tricornerutum*, *Chlorella* sp. and *Platymonas* sp. were 0.302 ± 0.028 , 0.226 ± 0.013 , and 0.151 ± 0.008 , respectively.

The maximum daily increment of the three species and then daily ages are as follows:

	Maximum daily increment	Daily age
<i>Ph. tricornerutum</i>	47.5	10
<i>Platymonas</i> sp.	5.6	14
<i>Chlorella</i> sp.	21.1	14

Comparing the packed cell volume with a certain number of cells, the largest value was found in the population of *Ph. tricornerutum* followed by *Platymonas* sp. and *Chlorella* sp. A straight line relationship exists between the two values, and the magnitude of the relationship coincides well with the size of the cells.

The culture of *Ph. tricornerutum* was proved satisfactory for feeding the larvae of bivalves at about 12 days after inoculation and both of *Platymonas* sp. and *Chlorella* sp. were about 16 days respectively.

머 리 말

양식용 종묘를 인위적으로 생산하려면 대상이 되는 종류들의 생태는 물론, 유생 사육법 등을 잘 알아야 할 것은 두말할 필요도 없다. 유생 사육을 제대로 하기 위해서는 유생기에 알맞는 먹이 생물의 확보가 앞서야 한다. 이와 같이 먹이 생물에 관한 연구는 직접적으로는 그들의 생물학적인 제문제들을 구명한다는 것뿐만 아니라, 간접적으로는 양식용 종묘 생산의 기본 문제를 해결한다는 중요성을 포함하고 있다. 여기에서는 1969년 3월부터 10월까지 사이에 걸쳐서 해산인 *Phaeodactylum tricornutum*, *Platymonas* sp. 및 *Chlorella* sp. 등의 배양 실험을 했다. 먹이 생물 배양 연구의 간접적인 중요성은 오래 전부터 Allen and Nelson(1910)들에 의해서 인식되어 왔으며, 현재 종묘 생산시에 유생들의 먹이로 넓게 사용되고 있는 중요한 먹이 생물의 종류수만 하더라도 10여종 이상이나 되는데(柳 1969a), *Phaeodactylum*, *Platymonas* 및 *Chlorella* 등도 Davis and Guillard(1958), Walne(1963), 菊地(1963), Imai(1967) 및 Davis(1953) 등에서 보는 바와 같이 유생 사육시에 많이 사용하고 있다. 한편 먹이 생물 배양 연구의 직접적인 생물학적 제문제에 관해서는 Droop(1955, 1958), Joyce(1958) 및 Joyce, Lewin and Philpott(1958) 등 여러 사람에게 의한 많은 연구들을 볼 수 있다. 그러나 모두 분리, 형태변이 및 미량성분의 요구 등에 대한 연구들이다. 그래서 여기에서는 이들의 직접 간접적인 제문제들을 구명하기 위해서 이들의 성장 곡선, 세포수에 대한 칩집 세포량과의 관계 등과 같은 몇 가지 배양 실험을 했다. 끝으로 먹이 생물들의 Strain 을 제공해 준 Takeo Imai, Yuchi Morimura 양박사와 본실험을 거들어 준 본대학 천해양식학 교실의 제연구원 들에게 각각 사의를 표하는 바이다.

재료 및 방법

실험 방법은 정지 배양은 1l 들이 三角 Flask 에다 500ml 의 배양액을 넣어서 배양 도중에는 하루에 두 번 3분간씩 흔들어 주었다. 유동 배양은 500ml 들이 액체 배양용 편평 Flask 를 사용해서 배양하고, 배양 도중에는 Aeration 을 계속해 주었다. 배양은 실험실 내에서 무균적으로 시행했는데 실온은 $20 \pm 2.4^{\circ}\text{C}$ 였고, 조도는 2,000Lux 였다. 배양액의 조성은 Table 1에서 보는 바와 같다.

Table 1. Composition of Culture Media for the Three Species

Composition		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>Platymonas</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
Arnon's A ₅	(ml)	1	—	1
Bristol solution	(ml)	—	250	—
CaCl ₂	(mg)	147	—	—
Distilled water	(ml)	1,000	—	—
FeSO ₄	(mg)	5	—	2.8
Filtered sea water	(ml)	250	250	1,000
KHCO ₃	(g)	2	—	—
KNO ₃	(g)	1.68	—	1.68
K ₂ HPO ₄	(g)	0.16	—	0.125
MgSO ₄	(g)	2.5	—	—
NaCl	(g)	30	—	—
Sodium silicate	(mg)	50.6	—	—
Soil extract	(ml)	—	50	—

배양 개시시의 접종용 먹이 생물은 각종마다 후기에 들어간 급속 성장기(Exponential phase)인 세포들인데 *Phaeodactylum*은 T_{148} , *Platymonas*는 T_{240} 및 *Chlorella*는 T_{240} 이었다.

그리고 접종한 세포의 수는 각종마다 배양 개시 당시 ml 당 6×10^4 세포를 기준으로 했는데 *Phaeodactylum*은 ml 당 61,800 세포, *Platymonas*는 ml 당 62,100 세포 및 *Chlorella*는 ml 당 62,400 세포였다. 한편 배일 또는 적일마다 한번씩 세포수와 침전 세포량(Packed cell volume)을 조사했는데 세포수는 Thoma의 혈구 계산기를 사용했고, 침전세포량은 원심분리관과 Hematocrit를 사용해서 각각 조사했다.

결 과

조사한 자료로서 성장 곡선을 만들면 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 유동 배양인 경우 *Phaeodactylum*은 유도기(Lag phase)가 아주 짧아서 그 기간이 2일밖에 안되나, *Chlorella*는 아주 길어서 6일이나 되고 *Platymonas*는 4일간이었다. 각종마다 이 유도기를 지나면 곧 급속 성장기로 되는데 그 기간은 *Phaeodactylum*은 2일부터 8일까지의 사이이고, *Chlorella*는 6일부터 12일까지이며 *Platymonas*는 4일에서 12일까지의 사이인데, 이 급속 성장기의 성육 속도 정수(kg)를 비교해보면 Table 2에서 보는 바와 같다.

Table 2. The Relative Growth Constant (kg) of Food Organisms, *Phaeodactylum tricoratum*, *Platymonas* sp. and *Chlorella* sp.

Food organisms	kg
<i>Phaeodactylum tricoratum</i>	0.302 (± 0.028)
<i>Platymonas</i> sp.	0.151 (± 0.008)
<i>Chlorella</i> sp.	0.226 (± 0.013)

즉 *Phaeodactylum*이 3종중 성육 속도 정수가 가장 커서 0.302이고 다음이 *Chlorella*로서 0.226이며, *Platymonas*가 0.151로서 가장 작다. 급속 성장기의 말기인 때의 세포수를 보면 *Phaeodactylum*은 ml 당 7,500,000세포(8일)로서 가장 많고, *Chlorella*가 ml 당 6,200,000세포(12일)로서 다음이며 *Platymonas*가 ml 당 1,700,000세포(12일)로서 가장 적었다.

이와 같이 발육 속도는 *Phaeodactylum*이 가장 빠르고 다음이 *Chlorella*이며, *Platymonas*가 가장 느다. 완상기(Stationary phase)로 되는 시기와 그때의 세포수는 *Phaeodactylum*이 14일부터 시작되어서 ml 당 28,100,000 세포, *Chlorella*가 16일부터로서 ml 당 13,100,000세포 및 *Platymonas*가 16일부터로서 ml 당 3,800,000세포로서 *Phaeodactylum*이 세포수가 가장 많고, *Platymonas*가 나머지 2종에 비해 현저히 적다. 한편 정지 배양의 경우에는 일반적으로 유동 배양에 비해서 유도기가 길며, 급속 성장기가 짧다. 그리고 세포수는 유동 배양의 경우에 비해 현저히 적어서 급속 성장기의 말기인 때의 세포수를 보면 *Phaeodactylum*(8日)은 유동 배양인 경우의 약 1/8, *Chlorella*(10日)는 1/8 및 *Platymonas*(12日)는 1/3에 불과하다. 완상기로 되는 때의 세포수 역시 유동 배양에 비해 현저히 적어서 *Phaeodactylum*(12日)은 약 1/12, *Chlorella*(14日)는 1/6 및 *Platymonas*(16日)는 1/4에 불과

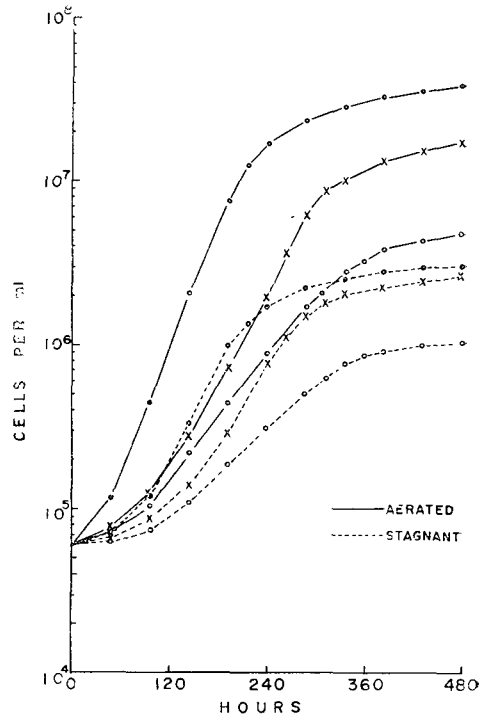


Fig. 1. The growth curves of cultures of *Phaeodactylum tricoratum* (●), *Platymonas* sp. (○) and *Chlorella* sp. (×).

하다. 이와 같이 전기간을 통해서 ml 당 세포수는 유동 배양에 비해 현저히 적은데 완상기 초기에 있어서 그 차는 *Phaeodactylum* 이 가장 심하고 여기에 비해 나머지는 적은 편이나 그래도 1:4 이상으로서 그 순서는 *Chlorella*, *Platymonas* 로 된다. 한편 유동 배양인 경우 배양 기간 사이에 있어서 세포수(N)의 일간(T) 증가량(Daily increase: $\Delta N/\Delta T$)을 보면 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

Phaeodactylum 에 있어서는 배양 개시 후 10일째가 세포수의 일간 증가량이 가장 많아서 그 값이 47.5이고, 12일째는 30.9, 8일째는 27.1의 순서였다. *Chlorella* 에 있어서는 배양 개시 후 14일째가 세포수의 일간 증가량이 가장 많아서 그 값이 21.1이고 12일째는 20.0, 16일째는 13.3의 순서이다. *Platymonas* 는 배양 개시 후 14일째가 세포수의 일간 증가량이 가장 많아서 그 값이 5.6이고 16일째는 4.9, 12일째는 4.0의 순서이다.

즉 각종에 있어서 세포수의 일간 증가량이 가장 큰 것은 *Phaeodactylum* 10일째(47.5), *Chlorella* 14일째(21.1) 및 *Platymonas* 14일째(5.6)이다. 이와 같이 세포수의 일간 증가량은 *Phaeodactylum* 이 가장 크고, 다음이 *Chlorella* 이며 *Platymonas* 는 이들 2종에 비해서 현저히 적다. 세포수와 침전 세포량과 관계를 보면 Fig. 3에서 보는 바와 같다.

즉 세포수(X)와 침전세포량(Y)과의 관계는 직선으로서 표시되는데 *Phaeodactylum* 이 $Y=0.0002158X+2.3950 \times 10^{-5}$ 로서 가장 크고, 다음이 *Platymonas* 로서 $Y=0.0001363X$

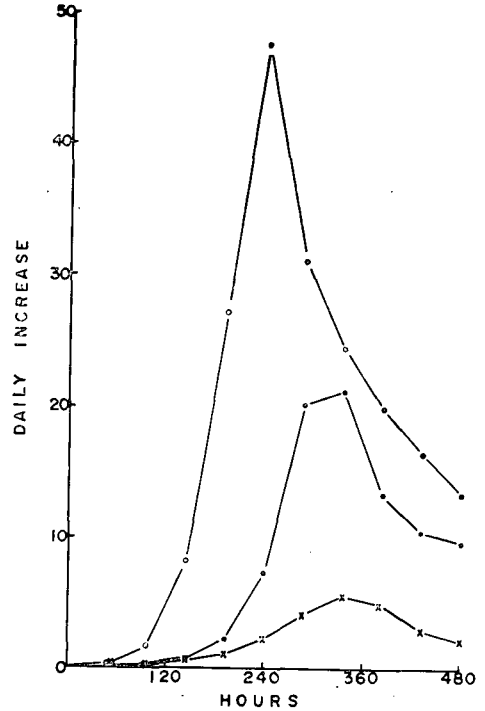


Fig. 2. The daily increase of cultures of *Phaeodactylum*(●), *Platymonas*(○) and *Chlorella*(×).

+3.0082 $\times 10^{-5}$ 이며, *Chlorella* 가 $Y=0.00006521X+3.2743 \times 10^{-5}$ 로서 3종중 가장 작았다. 한편 본실험 기간 중에 조사한 세포의 크기를 보면 *Phaeodactylum* 이 $3.1 \times 26.2 \sim 3.7 \times 35.4\mu$, *Platymonas* 는 $5.1 \times 7.5 \sim 7.8 \times 10.7\mu$ 및 *Chlorella* 는 $2.9 \times 4.1 \sim 3.6 \times 6.8\mu$ 이었다. 이와 같이 세포의 크기는 대체로 *Phaeodactylum* 이 가장 크고 *Platymonas* 및 *Chlorella* 의 순서이다. 각종에 있어 그들의 세포수에 대한 침전세포량의 크기는 세포 크기의 순서와 대체로 일치되고 있다. 이상에서 보는 바와 같이 정지 배양은 유동 배양에 비해 유도기가 길고 급속 성장기가 짧은 편이며, 또 완상기의 ml 당 세포수도 현저히 적다(Fig. 1). 유동 배양에 있어서 유도기가 가장

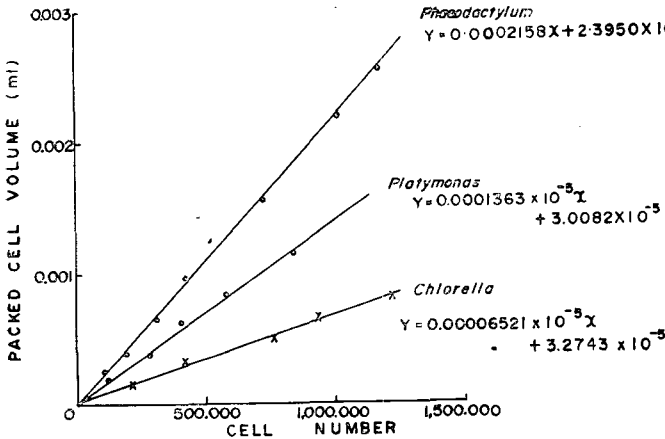


Fig. 3. The relationship between cell number and packed cell volume.

짧고 발육 속도 정수와 일간 증가량이 제일 크며, 세포수에 대한 침전 세포량이 가장 큰 것은 *Phaeodactylum* 이고 다음이 *Chlorella*이다(Fig. 1-3 및 Table 2).

고 찰

성장 곡선은 배양 조건에 따라서 각각 다르지만 특별한 예를 제외하고는 *Chaetoceros calcitrans* 나 *Cyclotella nana* 등과 같은 Diatom 에 있어서는 유도기가 없고 성장 주기가 빠르다고 한다(Takano 1965, 1967, 柳 1968). 그러나 본실험에 있어서 유도기가 가장 짧은 *Phaeodactylum* 은 짧은 사이나마 이를 볼 수 있다. 이와 같은 유도기의 제거 문제는 *Nitzschia closterium* 에서 보는 바와 같이 (Tokuda 1967) 특정 시약을 사용함으로써 가능할 것인지는 알 수 없으나 앞으로의 연구가 필요하다고 생각된다. 한편 본실험에서 유도기가 길고 성장 주기가 가장 늦은 *Platymonas* 는 기묘한 Colored flagellate 인 *Monochrysis lutheri* (柳 1968)의 그것과 거의 비슷하다. 정치 배양이 유동 배양에 비해 유도기가 길고 급속 성장기가 짧은 편이며, 또 완상기의 ml 당 세포수가 현저히 적은 것은 *Chaetoceros calcitrans*, *Cyclotella nana* 및 *Monochrysis lutheri* 등의 연구에서 지적하고 있는 원인들(柳 1968)로 인한 결과라고 믿어진다. 한편 증묘 생산시에는 매일 막대한 먹이의 양이 필요하다(柳 1969a). 이와 같은 점으로 보아서 유생이 먹을 수 있는 먹이로서 유도기가 짧거나 없고, 발육 속도 정수와 일간 증가량이 크며 세포수에 대한 침전 세포량이 큰 것이 좋기 때문에 *Platymonas* 나 *Chlorella* 보다는 *Phaeodactylum* 이 먹이로서 알맞다고 할 수 있으며, 또 배양법은 정치 배양보다는 유동 배양이 효과적이라고 할 수 있다. 그리고 배양된 먹이를 사용하는 적당한 시기는 배양 농도가 가장 큰 때가 좋겠으나, 유생이 먹은 다음의 먹이 효과로서 일령이 높은 사멸기(Death phase)에 가까운 것보다는, 완상기(Stationary phase)에 가까운 일령이 낮은 것이 좋다는 사실(柳 1969b)을 고려하지 않을 수 없다. 이와 같은 점들로부터 이들을 먹이로 사용하는 알맞은 일령은 다음과 같다. 즉 *Phaeodactylum* 은 일간 증가량이 가장 큰 일령을 지난 다음의 12일 (ml 당 23,000,000 세포)내외가 알맞고, *Chlorella* 는 16일 (ml 당 13,000,000세포), *Platymonas* 역시 16일(ml 당 3,800,000세포)이 각각 알맞다고 할 수 있다.

요 약

1969년 3월부터 10월까지의 사이에 먹이 생물인 해산의 *Phaeodactylum tricorutum*, *Platymonas* sp. 및 *Chlorella* sp. 등의 배양 실험을 한 결과는 다음과 같다.

1. 유도기는 *Phaeodactylum tricorutum* 이 가장 짧고 다음이 *Platymonas* sp., *Chlorella* sp.의 순서였다.
2. 정치 배양은 유동 배양에 비해 대체로 유도기가 길며 급속 성장기가 짧고 일간 증가량이 현저히 작다.
3. 발육 속도 정수는 *Phaeodactylum tricorutum* 이 0.302 ± 0.028 로서 가장 크고, *Chlorella* sp.가 0.226 ± 0.013 , *Platymonas* sp.가 0.151 ± 0.008 의 순서였다.
4. 3종에 있어 가장 큰 일간 증가량과 일령은 각각 다음 표에서 보는 바와 같다.

종 류	최대 일간 증가량	일 령
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	47.5	10
<i>Platymonas</i> sp.	5.6	14
<i>Chlorella</i> sp.	21.1	14

5. 세포수에 대한 침전 세포량은 직선으로서 표시되고, 그 크기 순서는 *Phaeodactylum tricorutum*, *Platymonas* sp. 및 *Chlorella* sp.이며 세포 크기의 순서와 일치한다.

6. 먹이로 사용하는데 알맞은 일령은 *Phaeodactylum tricorutum* 에서는 12일, *Platymonas* sp.와 *Chlorella* sp.는 각각 16일 내외이다.

문 헌

- Allen, E.J. and E.W. Nelson (1910): On the artificial culture of marine plankton organisms. J. Mar. biol. Ass. U. K. 8: 421-474.
- Davis, H.C. (1953): On food and feeding of larvae of the American oyster, *C. virginica*. Biol. Bull., Woods Hole 104: 334-350.
- Davis, H.C. and R.R. Guillard (1958): Relative value of ten genera of micro-organisms as foods for oyster and clam larvae. Fish. Bull. 136: 293-304.
- Droop, M.R. (1955): Some new supra-littoral protista. J. Mar. biol. Ass. U.K. 34: 233-245.
- Droop, M.R. (1958): Requirement for thiamine among some marine and supra-littoral protista. J. Mar. biol. Ass. U.K. 37: 323-329.
- Imai, T. (1967): Mass production of molluscs by means of rearing the larvae in tanks. Jap. J. Malaco. Soc. 25: 159-167.
- Joyce, C.L. (1958): The taxonomic position of *Phaeodactylum tricornerutum*. J. gen. Microbiol. 18: 427-432.
- Joyce, C.L., R.A. Lewin, and D. E. Philpott (1958): Observations on *Phaeodactylum tricornerutum*. J. gen. Microbiol. 18: 418-426.
- 菊地省吾 (1963): エゾアワビのタンク採苗について. 水産増殖, 臨時号 2, 15-18.
- Takano, H. (1965): Diatom culture in artificial sea water-III. Growth of diatoms in small flasks. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 44: 17-24.
- 高野秀昭 (1967): 珪藻キクロテラ・ナナの培養. 日本プランクトン研究連絡会報, 松江吉行博士記念号, 231-237.
- Tokuda, H. (1967): Elimination of lag phase from the growth of *Nitzschia closterium*, a marine pennate diatom, with glycolic acid. Inform. Bull. Plank. Japan, Commemoration Number of Dr. Y. Matsue, 261-269.
- Walne, P.R. (1963): Observations on the food value of seven species of algae to the larvae of *Ostrea edulis*. 1. Feeding experiments. J. Mar. biol. Ass. U.K. 43: 767-784.
- 柳 晟 奎 (1968): 먹이생물 *Cyclotella nana*, *Chaetoceros calcitrans* 및 *Monochrysis lutheri* 의 培養에 關한 研究. 釜山水産大學研究報告 8: 123-126.
- 柳 晟 奎 (1969a): 重要조개류 幼生期の 먹이와 成長. 釜山水産大學研究報告. 9: 65-87.
- 柳 晟 奎 (1969b): 담치의 飼育條件과 成長. 韓國海洋學會誌 4: 36-48.