

高温期 및 低温期の rotifer, *Brachionus plicatilis* 培養을 위한 適種 植物 먹이生物 選擇

許 聖 範 · 李 昌 奎* · 李 應 昊**

釜山水産大學 養殖學科
國立水産 振興院 扶安種苗培養場*
釜山水産大學 食品工學科**

Selection of suitable phyto-food organisms for the rotifer, *Brachionus plicatilis* cultivation in high and low water temperature seasons

Sung Bum HUR, Chang-Kgu LEE* and Eung-Ho LEE**

Department of Aquaculture, National Fisheries
University of Pusan, Nam-gu, Pusan 608-737, Korea,

*National Fisheries Research and Development Agency
Puan Hatchery, Puan 579-850, Korea

**Department of Food Science and Technology
National Fisheries University of Pusan,
Nam-gu Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

Chlorella has been used as a very useful food for rearing rotifer which is an important live food for early stages of fish and crustacean larvae. But *Chlorella* does not grow well in higher or lower temperature such as during summer or winter season in this country. Therefore, cooling or heating facilities are needed for *Chlorella* culture during summer or winter, but it costs too much for the commercial scale fish farmers. To solve this problem, the growth rates of 34 different species of phytoplanktons were examined at the various levels of temperatures, salinities and light intensities to select suitable species as the food for rotifers for summer and that for winter. After the suitable species were selected, growth comparisons of rotifer groups which were fed the selected species of phytoplanktons against rotifer group fed *Chlorella* as a control were done. Fatty acid compositions of the selected phytoplanktons and rotifer groups which were fed these selected phytoplanktons were examined.

It was revealed that *Nannochloris oculata* was optimum for rotifers in summer season and *Phaeodactylum tricornerutum* was suitable for that in winter season. The optimum temperature, salinity and light intensity for former phytoplankton were 28°C, 33‰ and 5,000 lux and those for later were 10°C, 30‰ and 8,000 lux, respectively.

이 논문은 1987년도 재단법인 동원학술진흥 연구재단의 학술연구비 지원에 의해 연구되었음.

In the higher temperature condition, the growth of *N. oculata* fed rotifer group was better than *Chlorella ellipsoidea* fed group. In the lower temperature condition, however, the growth of *Chlorella* fed rotifer group was slightly better than *P. tricornutum* fed group.

Between two selected phytoplanktons, *N. oculata* has the highest content of linolenic acid (18 : 3 ω -3, ω -6) which is essential fatty acid for marine fish larvae. A rotifer group which was fed this plankton also showed the highest linolenic acid content among the other rotifer groups.

緒 論

海産魚類 및 甲殼類 養殖은 現在 技術의 向上 및 普及과 더불어 날로 擴大 되고 있다. 이러한 有用 海産動物의 人工種苗生産時 孵化直後 初期 段階의 動物먹이生物 確保는 매우 중요한 課題이다. 특히 이 時期에는 海産動物의 입이 작아 먹이 生物의 크기가 이에 맞아야 되고, 또 營養價値가 우수해야 한다. Rotifer, *Brachionus plicatilis* 의 경우 크기 및 영양가가 적합하며 또 高密度의 培養이 可能하므로 動物먹이 生物로 많이 利用되고 있다. 따라서 rotifer에 관한 많은 研究가 進行되어 왔다.

Rotifer 培養을 위한 먹이로는 動物性 플랑크톤(Hirayama et al., 1979 ; Gilberto and Mazzola, 1981 ; Fukusho et al., 1985 a), 酵母 (Hirayama and watanabe, 1973 ; Kitajima and Koda, 1975 ; Fukusho et al., 1976 ; Hirata and Mori, 1976 ; Kitajima et al., 1979 ; Bogdan et al., 1980), bacteria (Bogdan et al., 1976 ; Hirata and Mori, 1976 ; Kitajima et al., 1979 ; Bogdan et al., 1980), *Euglena*(Pourriot et al., 1980)등을 먹이로 利用할 수 있는데, 植物性 플랑크톤과 효모 이외의 것들은 實驗室 규모가 아닌 대규모 大量倍量에 있어 많은 어려움이 따르기 때문에 사실상 利用되지 못하고 있다.

Rotifer 培養에 利用된 植物性 플랑크톤은 주로 *Chlorella* (Fontaine and Revera, 1980 ; Lubzens and Fisrlen, 1980 ; Snell and King 1977 ; Pourriot et al., 1980)이고 그 외 *Chlamydomonas*(Hirayama et al., 1979 ; Bogdan et al., 1980 ; Snell and King, 1977), *Dunaliella tertiolecta* (Scott and Baynes, 1978 ; Hirayama et al., 1979 ; Senll et al., 1983 ; Reguera, 1984), *Tetraselmis suecica*(Gilberto and Mazzola, 1981 ; Trotta, 1983), *Tetraselmis tetrathele*(Okauchi and Fukusho, 1984 ; Fukusho et al., 1985 b), *Nannochloris* sp. (Witt et al., 1981 ; Ben-Amotz and Fishler, 1982)를 利用한 많은 예가 있다.

한편 藍藻類로서 *Synechococcus elongatus*(Hirayama et al., 1979), *Schizotrix*(Snell et al., 1983)를 利用한 경우가 있다. 또 黃色鞭毛藻類로서 *Isochrysis galbana*(Scott and Baynes, 1978 ; Segner et al., 1984), *Monochrysis lutheri*(Hirayama et al., 1979)와 그 밖에 *Phaeodactylum tricornutum*(Scott and Baynes, 1978)을 利用하여 rotifer를 培養한 報告도 있다.

Rotifer 배양에는 주로 *Chlorella*를 많이 이용해 왔으나 최근 고수온기 동안의 rotifer 배양을 위하여 Okauchi and Fukusho(1984)가 *Chlorella*보다 광염성 및 광온성인 *Tetraselmis tetrathele*로, Laing and Helm (1981)은 *Tetraselmis suecica*로, Witt et al.(1981)은 *Nannochloris*를 對象으로 하여 實驗한 報告가 있다.

Rotifer 배양時 먹이생물로서 *Chlorella*를 주로 쓰는 이유는 成長이 빠르고 培養이 容易하며 鹽分 變化에 耐性이 強하기 때문이다. 그러나 水溫이 30°C 以上이거나 10°C 以下일 때는 *Chlorella*의 成長 狀態가 극히 不良하다 (Okauchi and Fukusho, 1984). 有用海産魚類나 甲殼類 産卵時期가 이른봄 또는 초가을인 경우 이들의 初期 먹이인 rotifer 生産을 위해서는 植物性 먹이생물을 겨울이나 여름에 培養해야 한다. 따라서 *Chlorella* 培養탱크를 加溫이나 減溫시킴으로써만이 高濃度 大量培養이 可能할 수 있다.

本 實驗은 釜山水産大學 養殖學科 먹이生物 實驗室에서 保存하고 있는 植物性 플랑크톤을 對象

으로하여 이들중 低温과 高温에서 成長이 優秀한 種을 파악함으로써 高温期 및 低温期에 rotifer 培養을 위한 적합한 植物먹이生物을 개발하는데 本 研究의 目的이 있다. 따라서 高温및 低温에서 成長이 優秀한 種에 對한 溫度, 鹽分, 照度등의 最適環境要因을 調査하였고, 이 種들을 각각 大量培養한 後 rotifer에게 供給하여 rotifer의 成長을 調査하였다. 모든 實驗은 rotifer 배양시 주로 이용되는 海産 *Chlorella*인 *Chlorella ellipsoidea*를 대조구로 하여 서로 比較 하였다. 한편 각 식물 먹이생물 및 이들 종류로 배양한 rotifer의 지방산 분석을 실시하여 각각의 먹이생물에 대한 영양가를 비교 분석하였다.

材料 및 方法

本 實驗에 使用된 34種의 植物性 플랑크톤은 부산수산대학교 양식학과 먹이생물 실험실에서 보유하고 있는 종을 이용하였다. 培養液은 海産 플랑크톤의 경우 f/2(Guillard and Ryther, 1962)培地, 淡水産 플랑크톤은 액체비료 Complezal (中央農資村)을 1000배 희석하여 사용하였다. 1次 實驗에서는 $\phi 10\text{mm} \times 150\text{mm}$ 시험관에 培地를 10ml 정도 넣은 後 121°C, 15 lb/in²에서 30分間 滅菌하여 使用하였고, 海水는 釜山市 海雲台 동백섬 沿岸水 약 33%을 基準으로 하였다. 明暗週期는 24 : 0, 溫度 5, 10, 25, 30 °C에서 각 種에 對한 成長率을 調査 하였다. 細胞의 計數는 0.1mm깊이의 hemocytometer를 사용하였다. 2次 實驗에서는 海水를 蒸溜水로 稀釋하여 27, 30%로 낮추어 만든 f/2배지 및 NaCl을 添加해 鹽分을 36%로 높여 만든 f/2배지를 100ml flask에 50ml 정도 넣어 滅菌하여 사용하였다.

鹽分은 salinometer(SM-2000)를 利用하여 測定하였고, 照度는 水上 照度械(Model 23 AM 300) 및 水中 sensor (Model 268 WA 310), 電壓 電流械(DI-703, AC400V)를 이용하였으며 incubator는 Status Ser 2032-1을 使用하였다.

2次 實驗에서는 1次 實驗 結果 高温種으로 밝혀진 *Nannochloris oculata*와 *Palmella mucosa*를 對象으로 鹽分 27, 30, 33, 36%, 溫度 26, 28, 30, 32°C, 照度, 5,000, 2,500 lux, 明暗週期 24 : 0의 상태에서 成長을 조사 하였고 아울러 對照區로서 *Chlorella ellipsoidea*를 並行 實施하였다. 또한 高温適種으로 밝혀진 *Nannochloris oculata*에 대한 조도별 (8,000, 6,000, 5,000, 4,000, 2,000 lux) 成長을 조사함으로써 이 種의 最適 환경요인을 구하였다. 低温適種으로 밝혀진 *Phaeodactylum tricornutum*에 대해서도 鹽分 27, 30, 33, 36%, 照度 5,000, 2,500 lux, 溫度 4, 6, 8, 10°C에서의 成長率을 調査하고 아울러 鹽分 33%의 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*와 比較한 後 8°C에서 照度別 *Phaeodactylum tricornutum*의 成長을 구하였다.

高温種으로 밝혀진 *Nannochloris oculata*와 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*의 大量培養은 100ℓ FRP 수조($\phi 40\text{cm} \times 80\text{cm}$)에서 溫度 25°C, 照度 4,000lux로 하였고, 低温種인 *Phaeodactylum tricornutum* 및 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*는 20 ℓ vinyl sac을 利用, 水中에 약간 잠기게 하여 溫度 9°C, 照度 3,000 lux에서 培養 하였다.

Rotifer 培養 實驗에서는 V字形 vinyl sac에 먹이 濃度を 高温種인 *Nannochloris oculata*는 9×10^6 cells/ml, 對照區인 *Chlorella ellipsoidea* 는 4×10^6 cells/ml(33%)로 하여 각 종마다 4개의 sac에 5ℓ씩 넣은 후 ml당 rotifer 初期接種 密度를 10個體가 되도록 하였다. 먹이생물이 곧고루 稀釋되도록 通氣하여 (300-500ml/min) 溫度 23-25°C, 照度 2,000 lux에서 10日 以上 培養 後 成長率을 調査하였다. 低温種인 *Phaeodactylum tricornutum*의 먹이濃도는 2.5×10^6 cells/ml(30%)로 하고 *Chlorella ellipsoidea*는 4×10^6 cells/ml로 하여 高温種에서와 똑같은 方式으로 溫度 21~23°C, 照度 2,000 lux에서 培養하였다. 培養 sac은 매일 65 μm 망목의 망지로 培養液 1ℓ를 漚 後 먹이를 위의 濃도로 供給하였는데 rotifer 密度가 ml당 100個體 以上 到達했을 때는 12時間마다 實施 하였다. rotifer의 計數는 각 培養 sac에서 100ml를 취한 후 이중 1ml씩을 4번 取하여 Lugol 液으로 固定 後 計數하였다. 計數後 나머지는 다시 rotifer

sac에 넣었다.

植物性 플랑크톤 및 rotifer의 日間 specific growth rate는 Stein(1973)의 方式을 이용하였다.

$$\text{Specific growth rate/day} = \frac{2.3026}{0.6931} \times \frac{\log(N_2/N_1)}{t_2 - t_1}$$

t_1, t_2 : 接種後 日數

N_1, N_2 : 接種後 t_1, t_2 일때의 密度

結 果

1. 高溫性 및 低溫性 植物먹이生物 選擇

1次 實驗으로써 34種의 植物性 플랑크톤을 對象으로 高溫(25, 30°C) 및 低溫(5, 10°C)에서 照度 5,000 lux 및 2,500 lux로 하여 成長率을 조사한 결과는 Table 1 과 같다.

30°C의 高溫에서 *Nannochloris oculata*가 1.14의 specific growth rate를 보여 가장 좋았고 *Palmella mucosa*가 1.05이었으며 *Heterosigma* sp., *Chlorella stigmatophora*, *Microcystis aeruginosa*는 1.0 内外의 成長率을 보였다. 25°C에서는 全般的인 成長率이 0.5~0.8 정도로서 30°C에서 보다는 다소 높게 나타났다.

한편, 低溫에서의 成長率은 5°C에서 *Phaeodactylum tricornerutum*(NFUP-2)이 0.39로 가장 좋았고 그 다음이 *Skeletonema costatum* 0.34, *Dunaliella tertiolecta* 0.28 및 *Phaeodactylum tricornerutum*(NFUP-10) 0.26의 順이었다. 10°C에서는 全般的으로 5°C보다는 多少 良好한 成長을 보였는데 *Phaeodactylum tricornerutum* (NFUP-2)과 *Palmella mucosa*가 0.7 정도로 가장 좋았고 그 밖에 *Phaeodactylum tricornerutum*(NFUP-10)과 *Skeletonema costatum*이 0.6정도로 약간 낮은 성장을 보였다. *Dunaliella tertiolecta*, *Navicula incerta*, *Tetraselmis suecica*의 境遇 全般的으로 低溫 및 高溫에서 어느정도 增殖되어 광은 성으로 나타났는데 비해, 低溫에서 成長이 가장 좋았던 *Phaeodactylum tricornerutum*은 高溫에서의 成長이 不良했고 高溫에서 成長이 가장 良好했던 *Nannochloris oculata*는 低溫에서 거의 成長되지 않았다.

2. 高溫性 및 低溫性 植物먹이生物의 最適 環境要因

2-1. 高溫種의 最適 環境要因

1차 實驗을 통해 高溫에서 成長이 가장 良好했던 *Nannochloris oculata*와 *Palmella mucosa*를 選定하고 對照로서 *Chlorella ellipsoidea*를 포함하여 照度 5,000, 2,500 lux, 鹽分 27, 30, 33, 36‰ 및 溫度 26, 28, 30, 32°C에서의 成長率을 調査하였다.

對照區인 *Chlorella ellipsoidea*의 境遇 成長率이 溫度變化에 따라 많은 차이를 보여 28°C까지는 溫度가 높을수록 좋았으며 30°C부터 細胞數가 급격히 減少하는 傾向을 보였다. 照度는 30°C까지 5,000 lux가 2,500 lux에서보다 좋은 것으로 나타났고 32°C에서는 2,500 lux에서 越等히 좋았다. 鹽分變化에 따른 成長率은 30°C까지 27~36‰에서 서로 비슷함을 보였으며 32°C에서는 多少 차이를보여 27, 30‰의 낮은 鹽分에서보다는 33, 36‰의 높은 곳에서 좋게 나타나 33‰에서 가장 높았다(Table 2).

*Nannochloris oculata*의 境遇 照度, 溫度, 및 鹽分에 따른 成長率은 Table 3 과 같다. 먼저 溫度에 따른 成長率은 28°C, 5,000 lux, 33‰에서 가장 좋아 7일만에 最高 3.1×10^7 cells/ml까지 增殖하였다. 가장 高溫인 32°C에서는 1.7×10^7 cells/ml(30‰, 5,000 lux)로 28°C에서보다 細胞數가 減少하기는 하였지만 *Chlorella ellipsoidea* 境遇보다는 比較的 그 차이가 적었다. 照度에 따른 成長率은 2,500 lux에서보다 5,000 lux에서 항상 높은 것으로 나타났다. 鹽分에 따른 成長率은 30°C 以下에서는 서로 큰 차이가 없었고 33, 36‰에서 成長率이 약간 높았으나 30°C에서는 鹽分이 높은 곳에서 오히려 成長率이 낮은 것으로 나타났다.

Table 1. Specific growth rate of phytoplanktons cultured in low and high temperatures (Marine strain ; 33‰, LD 24 : O, f/2 medium, Fresh water strain ; 0‰, LD 24 : O ,Complesal medium)

Temperature(°C)	Low temperature		High temperature					
	5		10		25		30	
Light intensity(lux)								
Species	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500
<i>Caloneis schroderi</i>	-0.01	-0.50	-0.10	0.25	0.28	0.30	0.38	0.29
<i>Chaetoceros gracilis</i>	-0.01	-0.05	0.16	0.07	0.52	0.39	0.62	0.73
<i>Cheatoceros simplex</i>	-0.06	-0.01	0.27	0.55	0.47	0.52	0.54	0.63
<i>Cyclotella</i> sp. ¹	0.16	0.08	0.00	-0.10	0.00	0.00	-0.18	-0.19
<i>Cyclotella</i> sp. ²	-0.06	-0.20	0.12	0.16	0.57	0.58	0.42	0.26
<i>Hantzchia marina</i>	-0.36	-0.07	-0.68	-0.21	0.21	0.15	0.11	0.06
<i>Navicula incerta</i>	0.16	0.20	0.37	0.22	0.39	0.37	0.48	0.35
<i>Navicula</i> sp.	0.08	0.02	0.31	-0.01	0.29	0.26	0.30	0.43
<i>Nitzschia</i> sp.	-0.10	0.12	0.20	0.23	0.23	0.29	0.46	0.40
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> ³	0.37	0.39	0.71	0.63	0.85	0.84	-0.53	-0.53
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> ⁴	0.22	0.26	0.66	0.51	-0.03	-0.43	-0.45	-0.46
<i>Skeletonema costatum</i>	0.29	0.34	0.66	0.61	0.60	0.67	0.48	0.43
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	0.03	0.06	0.10	0.11	-0.03	0.10	0.28	0.23
<i>Thalassiosira</i> sp.	-0.29	-0.17	-0.04	-0.12	0.13	0.15	0.40	0.41
<i>Boekelovia</i> sp.	0.04	0.01	0.18	0.27	0.67	0.62	0.01	0.27
<i>Isochrysis galbana</i>	-0.57	-0.07	0.42	0.25	0.55	0.55	0.52	0.51
<i>Isochrysis</i> off. <i>galbana</i>	-0.62	-0.67	0.06	-0.14	0.78	0.81	0.76	0.74
<i>Nannochloris oculata</i>	0.01	-0.03	0.01	0.04	0.85	0.92	1.09	1.14
<i>Nannochloropsis salina</i>	0.06	0.07	0.04	0.54	-0.32	-0.34	0.46	0.06
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	0.03	0.02	0.58	0.53	0.88	0.85	0.98	0.94
<i>Chlorella stigmatophora</i>	0.01	0.24	0.36	0.24	0.78	0.56	0.66	0.39
<i>Chlorella vulgaris</i> *	-0.25	0.00	0.21	0.17	0.68	0.67	-0.29	-0.20
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	0.28	0.17	0.43	0.42	0.60	0.64	0.60	0.45
<i>Eudorina elegans</i>	-0.24	-0.23	0.15	0.13	0.28	0.35	0.05	0.05
<i>Gloeocystis</i> sp.	-0.20	0.01	0.14	0.25	-0.19	0.09	0.03	0.20
<i>Heterosigma</i> sp.	0.02	0.00	0.43	0.38	0.92	0.78	1.02	0.60
<i>Oocystis pusilla</i>	0.14	0.14	0.21	0.19	0.16	0.15	0.17	0.27
<i>Palmella mucosa</i>	-0.01	0.02	0.76	0.57	0.93	1.10	0.93	1.05
<i>Scenedesmus</i> sp.*	-0.18	-0.45	-0.26	-0.36	-0.25	-0.18	-0.16	-0.13
<i>Tetraselmis suecica</i>	0.04	-0.02	0.42	0.28	0.46	0.44	0.55	0.51
<i>Platymonas subcordiformis</i>	0.04	0.11	0.38	0.39	0.30	0.30	0.23	0.28
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0.08	0.04	0.10	0.03	0.94	0.87	0.91	0.59
<i>Protogonyaulax</i> sp.	-0.03	0.07	0.37	0.39	0.74	0.57	0.70	0.78
<i>Euglena</i> sp.	-0.24	-0.61	0.51	0.38	0.65	0.51	0.52	0.55

* Fresh water strain, ¹ NFUP-9, ² NFUP-13, ³ NFUP-2, ⁴ NFUP-10

Table 2. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Chlorella ellipsoidea* under high temperatures with different conditions of salinity and light intensity (LD ; 24 : O)

		(unit of cell number : $\times 10^4$ cells/ml)							
Temperature ($^{\circ}$ C)	Salinity(‰)	27		30		33		36	
	Light intensity (lux)	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500
26	Initial cell no.	13	15	13	14	11	14	14	13
	Maximum cell no.	2,641	2,080	2,686	1,893	2,218	1,771	2,256	1,338
	s.g.r.	1.09	1.01	1.09	1.01	1.09	0.99	1.04	0.95
28	Initial cell no.	13	10	11	9	7	8	8	7
	Maximum cell no.	2,706	1,725	2,877	2,459	2,663	2,334	2,326	1,368
	s.g.r.	1.10	1.06	1.14	1.15	1.22	1.17	1.16	1.08
30	Initial cell no.	11	10	9	9	10	11	10	8
	Maximum cell no.	2,366	1,556	2,360	1,305	2,234	1,575	2,374	1,418
	s.g.r.	1.10	1.04	1.14	1.02	1.11	1.02	1.12	1.06
32	Initial cell no.	9	9	9	9	8	11	8	10
	Maximum cell no.	61	935	59	911	182	1,305	113	1,112
	s.g.r.	0.39	0.95	0.38	0.95	0.64	0.98	0.54	0.97

Table 3. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Nannochloris oculata* under high temperatures with different conditions of salinity and light intensity (LD ; 24 : O)

		(unit of cell number : $\times 10^4$ cells/ml)							
Temperature ($^{\circ}$ C)	Salinity(‰)	27		30		33		36	
	Light intensity (lux)	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500
26	Initial cell no.	14	10	12	13	10	11	11	13
	Maximum cell no.	2,173	1,975	2,245	1,559	2,471	1,684	2,559	1,553
	s.g.r.	1.04	1.08	1.07	0.98	1.13	1.03	1.12	0.98
28	Initial cell no.	12	14	9	11	11	9	14	9
	Maximum cell no.	2,599	2,435	2,550	2,945	3,176	2,214	2,912	1,957
	s.g.r.	1.10	1.06	1.16	1.15	1.16	1.13	1.10	1.10
30	Initial cell no.	7	10	8	9	9	9	9	9
	Maximum cell no.	2,057	1,654	2,373	1,872	2,898	1,638	2,562	1,299
	s.g.r.	1.17	1.05	1.17	1.10	1.19	1.07	1.16	1.02
32	Initial cell no.	6	6	6	6	5	9	5	5
	Maximum cell no.	1,397	884	1,760	718	1,084	1,042	697	496
	s.g.r.	1.12	1.02	1.17	0.98	1.10	0.97	1.01	0.94

*Palmella mucosa*의 照度, 溫度 및 鹽分 變化에 따른 成長率은 Table 4와 같다. 溫度에 따른 成長率 變化는 크게 나타나 30°C부터는 成長率이 減少되기 始作하여 32°C에서는 매우 낮게 나타났으며 28°C, 30%, 5,000 lux에서가 細胞濃度 2.8×10^7 cells/ml로 가장 成長이 좋았다. 照度에 따른 成長率은 溫度에 관계없이 2,500 lux에서보다 5,000 lux에서 항상 높았고 鹽分 變化에 따른 細胞數 變化는 比較的 적은 편이었다.

Table 4. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Nannochloris oculata* under high temperatures with different conditions of salinity and light intensity (LD ; 24 : 0)

		(unit of cell number : $\times 10^4$ cells/ml)							
Temperature (°C)	Salinity(%)	27		30		33		36	
	Light intensity (lux)	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500
26	Initial cell no.	8	9	9	9	10	9	11	9
	Maximum cell no.	1,148	811	1,414	1,037	1,058	760	961	567
	s.g.r.	1.02	0.92	1.04	0.97	0.96	0.91	0.92	0.85
28	Initial cell no.	10	7	6	7	10	8	8	7
	Maximum cell no.	2,482	1,223	2,837	1,306	2,596	821	2,012	756
	s.g.r.	1.13	1.06	1.26	1.07	1.14	0.95	1.13	0.96
30	Initial cell no.	1	9	12	9	13	12	12	10
	Maximum cell no.	1,570	1,470	2,258	1,529	2,400	909	1,977	700
	s.g.r.	1.02	1.05	1.07	1.05	1.07	0.89	1.05	0.87
32	Initial cell no.	9	9	10	9	10	10	9	10
	Maximum cell no.	1,014	1,026	1,291	1,203	1,549	1,272	1,433	1,336
	s.g.r.	0.97	0.97	1.00	1.00	1.03	0.99	1.04	1.00

以上の 結果로써 *Nannochloris oculata*와 *Palmella mucosa*를 서로 비교해볼 때 全般的으로 成長이 비슷한 수준을 보였지만 *Nannochloris oculata*가 *Palmella mucosa*보다 細胞數 및 specific growth rate에 있어 더 높았음을 알 수 있었다. 따라서 最適 高温種으로서 *Nannochloris oculata*를 選定하게 되었고 이 種의 最適 照度를 파악하기 위하여 成長이 가장 좋았던 28°C, 33%를 기준으로 照度區間을 8,000, 6,000, 5,000, 4,000, 2,000 lux로 하여 成長度를 調査하였다(Table 5). 그결과 接種 7日後의 細胞濃度 및 7日間の specific growth rate는 5,000 lux에서 각각 2.9×10^7 cells/ml 및 1.21로 가장 좋았다. 따라서 *Nannochloris oculata*의 最適成長 環境要因은 溫度 28°C, 鹽分 33%, 照度 5,000 lux로 밝혀졌다.

2-2. 低温種의 最適 環境要因

1次 實驗을 통해 低温(5°C)에서 比較的 成長率이 좋았던 것은 *Phaeodactylum tricornerutum*(NFUP-2)과 *Skeletonema costatum*으로 밝혀졌는데 *Skeletonema costatum*은 細胞가 긴 사슬 형태로 增殖함으로 사실상 rotifer의 먹이로서는 부적당하다. 따라서 *Phaeodactylum tricornerutum*을 對象으로 照度 5,000, 2,500 lux, 鹽分 27, 30, 33, 36%에서 溫度區間을 4, 6, 8, 10°C로 하여 成長率을 調査하였고, 이것은 鹽分 33%에서 同照度, 同溫度로 培養한 *Chlorella ellipsoidea*와 比較 하였다.

溫度에 따른 *Phaeodactylum tricornerutum*의 成長은 溫度가 높을수록 좋은 것으로 나타났고, 照度는 溫度와 관계없이 모든 境遇 2,500 lux에서보다 5,000 lux에서가 좋았으며 鹽分은 30%에서 가장 좋았다.

*Phaeodactylum tricornerutum*의 最大 細胞濃度는 10°C, 30%, 5,000 lux에서 9.5×10^6 cells/ml로 가장

높았고 7日間の specific growth rate도 0.98로 최대치를 보였다. 한편 *Phaeodactylum tricorutum*의 成長率은 모든 경우에 있어 언제나 *Chlorella ellipsoidea*보다 좋았다 (Table 6).

Table 5. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Nannochloris oculata* under different light intensities (28.5°C, 33‰, LD ; 24 : 0)

Light intensity(lux)	Culture days								s.g.r. for 7 days
	0	1	2	3	4	5	6	7	
8,000	9	11	41	134	399	800	1384	2082	1.12
6,000	10	11	37	154	469	971	1811	2607	1.14
5,000	8	11	37	150	520	1026	1965	2917	1.21
4,000	11	12	42	155	502	1129	1571	2366	1.10
2,000	10	11	18	31	65	126	266	527	0.81

Table 6. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Chlorella ellipsoidea* and *Phaeodactylum tricorutum* under low temperature with different conditions of salinity and light intensity (LD ; 24 : 0)

Temp. (°C)	Species Salinity(‰)	(unit of cell number : ×10 ⁴ cells/ml)									
		<i>C. ellipsoidea</i>				<i>P. tricorutum</i>					
		33		27		30		33		36	
	Light intensity(lux)	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500
4	Initial cell no.	9	8	8	9	9	10	10	10	9	10
	Maximum cell no.	7	6	51	38	44	39	43	34	36	31
	s.g.r.	-0.05	-0.05	0.38	0.29	0.32	0.28	0.30	0.25	0.28	0.23
6	Initial cell no.	10	9	10	11	9	10	11	9	10	11
	Maximum cell no.	73	42	344	207	372	223	369	211	342	216
	s.g.r.	0.40	0.31	0.72	0.60	0.76	0.64	0.72	0.65	0.72	0.61
8	Initial cell no.	11	10	10	9	10	9	9	10	10	11
	Maximum cell no.	90	55	704	389	738	411	682	348	638	337
	s.g.r.	0.43	0.35	0.87	0.77	0.88	0.78	0.89	0.73	0.85	0.70
10	Initial cell no.	11	10	8	8	8	8	8	8	8	8
	Maximum cell no.	221	158	889	490	955	544	828	477	764	443
	s.g.r.	0.61	0.56	0.97	0.84	0.98	0.86	0.95	0.84	0.93	0.82

*Phaeodactylum tricorutum*의 最適 照度를 알아보기 위하여 照度區間을 8,000, 6,000, 5,000, 4,000, 2,000 lux로 하여 實施 하였는데 이것은 가급적 어느정도 成長이 가능하면서 低溫인 水準으로 하기 위해 溫度를 8°C로하고 鹽分은 가장 成長이 良好했던 30‰로 하였다. 8°C, 30‰에서의 照度에 따른 最大 成長率은 照度가 높을수록 좋았는데 接種 7日後 8,000lux에서 細胞濃度는 1.1×10⁷ cells/ml 였고 7日間の specific growth rate도 1.01로 최대치를 나타냈다. 한편, 가장 낮은 照度인 2,000 lux에서의 7日間 細胞濃度 및 7日間の 평균 日間 specific growth rate는 각각 3.3×10⁶ cells/ml 및 0.74로 저조 하였다 (Table 7).

Table 7. Cell number and specific growth rate (s.g.r.) of *Phaeodactylum tricorutum* under different light intensities (8°C, 33‰, LD ; 24 : 0)

Light intensity (lux)	(unit of cell number : $\times 10^4$ cells/ml)								s.g.r. for 7 days
	Culture days								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
8,000	9	12	59	227	588	950	1139	1182	1.01
6,000	8	11	27	40	124	305	498	879	0.96
5,000	9	9	19	36	79	251	400	781	0.92
4,000	9	9	19	33	71	184	307	566	0.85
2,000	9	9	14	25	50	113	198	330	0.74

3. 高温種 및 低温種의 大量培養

高温種으로 選定된 *Nannochloris oculata* 및 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*의 大量培養은 鹽分 33‰의 f/2 培地를 利用하여 溫度 25°C 照度 4,000 lux에서 培養液이 갈고루 희석되도록 通氣하면서 實施하였다. 初期接種濃度는 2×10^6 cells/ml를 기준으로 하여 10日間 培養하였다. 10日後의 細胞濃度는 *Nannochloris oculata*가 4.8×10^7 cells/ml로서 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*의 2.2×10^7 cells/ml보다 두배이상 높았고 10日間の specific growth rate 역시 각각 0.46, 0.33으로 *Nannochloris oculata*가 越等히 좋은 것으로 나타났다 (Table 8).

Table 8. Mass culture data of *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata* under 25°C, 4,000 lux and LD ; 24 : 0

Species	(unit of cell number : $\times 10_4$ cells/ml)										s.g.r. for 10 days	Salinity (%)	Container size(ℓ)	
	Culture days													
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
<i>C. ellipsoidea</i>	218	249	357	692	1032	1308	1716	2026	2194	2249	2206	0.33	33	100
<i>N. oculata</i>	189	224	408	811	1609	2481	3022	3864	4305	4762	4808	0.46	33	10

한편 低温種인 *Phaeodactylum tricorutum* 및 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*를 鹽分 30‰ 및 33‰의 f/2 培地로 平均 9°C의 低温海水에 침수시켜 照度 3,000lux로써 通氣시켜 주면서 10日間 培養한 結果는 Table 9와 같다. 10日後의 細胞濃度는 *Phaeodactylum tricorutum*의 境遇 1.3×10^7 cells/ml로 對照區 *Chlorella ellipsoidea*의 1.1×10^7 cells/ml보다 약간 많은 것으로 나타났고, 10日間の specific growth rate도 각각 0.28, 0.23으로 *Phaeodactylum tricorutum*이 약간 높은 것으로 나타났다.

4. 高温種과 低温種을 利用한 rotifer 培養 및 脂肪酸 分析

25°C의 高温에서 大量培養한 *Nannochloris oculata* 및 *Chlorella ellipsoidea*를 각각 9×10^6 cells/ml, 4×10^6 cells/ml 濃度로 하고 rotifer 初期 接種密度를 10個體/ml로 하여 10日間 培養한 實驗結果는 Fig. 1 과 같다.

Table 9. Mass culture data of *Chlorella ellipsoidea* and *Phaeodactylum tricornutum* under 9°C 3,000lux and LD ; 24 : 0

Species	Culture days										s.g.r. for 10 days	Salinity (%)	Container size(ℓ)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9				10
<i>C. ellipsoidea</i>	212	220	241	278	339	438	568	687	803	940	1091	0.23	33	20
<i>P. tricornutum</i>	184	209	288	381	475	610	752	876	1087	1188	1294	0.28	30	20

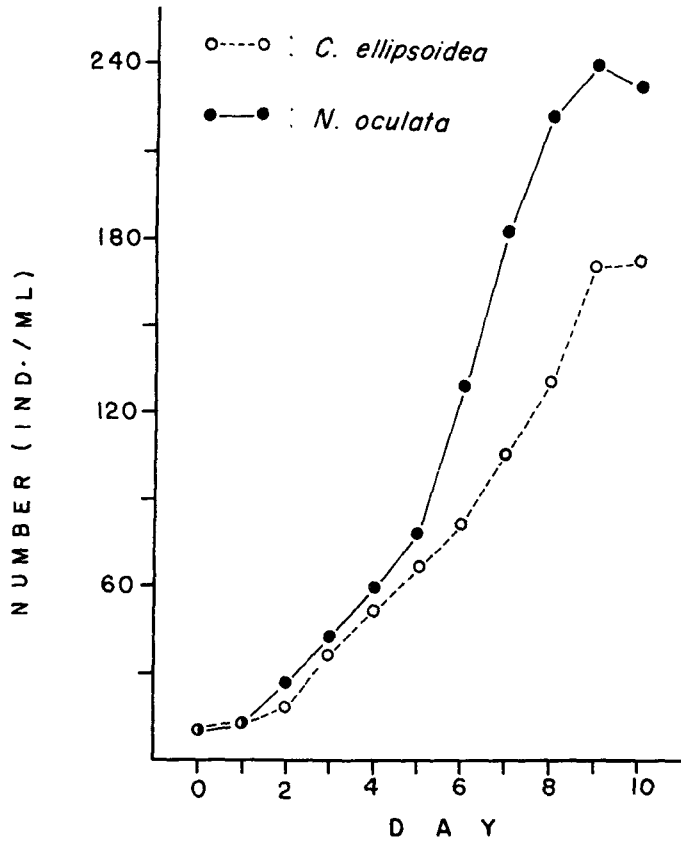


Fig. 1. Growth of rotifers fed on two different algal diets for 10 days in 5 l sacs (temperature : 23 25°C, light intensity ; 2,000 lux).

*Nannochloris oculata*를 먹이로 하여 培養한 rotifer 個體數는 接種 9日만에 最大 密度인 ml當 240 個體가 되었고 9日間の specific growth rate는 0.35로서, 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*를 먹인 경우(171 個體/ml, specific growth rate : 0.31)보다 優秀한 것으로 나타났다.

한편, 低温에서 大量培養한 *Phaeodactylum tricorutum*과 *Chlorella ellipsoidea*를 2.5×10^6 cells/ml 및 4×10^6 cells/ml의 濃度로 하여 11日間 培養한 rotifer 實驗結果는 Fig. 2와 같다. *Phaeodactylum tricorutum*을 먹이로 하여 培養한 rotifer의 最大密度는 接種 後 11日째 161 個體/ml였고 11日間の specific growth rate가 0.26이었는데 비하여, *Chlorella ellipsoidea*를 먹인 것은 각각 183 및 0.27로 오히려 *Chlorella ellipsoidea*를 먹인 것이 rotifer 增殖에 약간 더 좋았다.

한편, rotifer 培養에 利用된 *Chlorella ellipsoidea*, *Nannochloris oculata* 및 *Phaeodactylum triornutum*의 脂肪酸 造成에 있어서는 *Nannochloris oculata*의 境遇 해산어류 유생의 營養에 중요한 ω -3가 풍부한 polyene의 含量이 전체 脂肪酸 中 48.3%를 차지해 *Phaeodactylum tricorutum*이나 *Chlorella ellipsoidea*의 30.4% 및 20.2%보다 훨씬 높았다. 특히 linolenic acid(18 : 3 ω -3, ω -6)은 *Nannochloris oculata*에서 매우 풍부하였다. 또 이 3種의 植物性 먹이生物을 利用하여 培養한 rotifer의 脂肪酸 中 polyene 含量 역시 *Nannochloris oculata*를 먹인 것이 54.8%로서 *Phaeodactylum tricorutum*을 먹인 것의 32.7%나 *Chlorella ellipsoidea*를 먹인 것의 23.0%보다 越等히 좋았다. *Phaeodactylum tricorutum* 과 이 種을 먹여 培養한 rotifer의 脂肪酸 中 polyene 比率는 모두의 境遇 *Chlorella ellipsoidea* 보다 약간씩 높았다 (Table 10).

考 察

Rotifer 培養을 위한 植物 먹이生物에 대해서는 많은 研究가 되어 왔지만 특별히 高温期나 低温期 동안 rotifer 培養을 위한 研究는 Hirayama and Nakamura(1976)의 *Chlorella powder*를 利用한 rotifer 培養에 관한 研究, Gatesoup and Luquet(1981)의 人工飼料에 관한 研究, Okauchi and Fukusho(1984)의 高水温期 동안 rotifer 培養을 위한 植物 먹이生物로서 高温에서 특히 成長이 良好한 *Tetraselmis tetra-thele*에 관한 研究 등 이었으나 比較的 충분히 研究되지 않은 실정이다.

本 實驗에서 高温 適種으로 選定된 *Nannochloris oculata*는 30°C 및 32°C에서도 specific growth rate가 1.0 以上인데 비하여 *Chlorella ellipsoidea*의 境遇 水温이 30°C에서 32°C로 上昇함에 따라 specific growth rate가 1.0 内外에서 0.5 정도로 급격히 떨어지는 것과는 매우 對照的이다. 따라서 우리나라와 같이 여름철 氣温이 30°C 以上으로 上昇하는 境遇, 옥외 tank에서 *Nannochloris oculata*를 高濃度로 大量 培養하는 것이 얼마든지 可能할 것이다.

Witt et al. (1981)은 *Nannochloris* sp. 를 對象으로 하여 옥외 tank (1.4m³)에서 大量培養한(平均 培養溫度 : 17.4°C) 後 이것으로 rotifer를 培養하였는데 *Nonnochloris* sp. 의 濃度는 2×10^7 cells/ml 정도까지 培養이 可能하였고 rotifer 密度는 平均 158 (ind./ml) 정도로 優秀하였다고 報告한 바가 있다. 또 小規模 室內 實驗에서 最大 成長率은 鹽分 15%에서 었다고 하였는데 本 實驗에 用된 *Nannochloris oculata* 의 境遇 最大 成長率은 鹽分 33%에서였다. 이와같은 結果의 차이는 같은 *Nannochloris* 屬 일지라도 서로 다른 種때문으로 생각할 수 있다.

本 實驗에서 高温 適種으로 밝혀진 *Nannochloris oculata* 를 100l tank에서 大量培養한 結果 10日後 細胞濃度가 4.8×10^7 cells/ml 정도로 *Chlorella ellipsoidea*의 2.2×10^7 cells/ml에 비해 越等히 높았고 또한 이들을 利用한 rotifer 培養에 있어서도 9日後 rotifer 密度가 각각 240 ind./ml와 171 ind./ml로 *Nannochloris oculata*를 먹인 것이 훨씬 좋았다. 따라서 魚類나 甲殼類 早期 種苗生産을 위한 初期 먹이生物 rotifer를 培養하는데 있어 여름철 高温期에는 *Nannochloris*를 利用하는 것이 *Chlorella ellipsoi-*

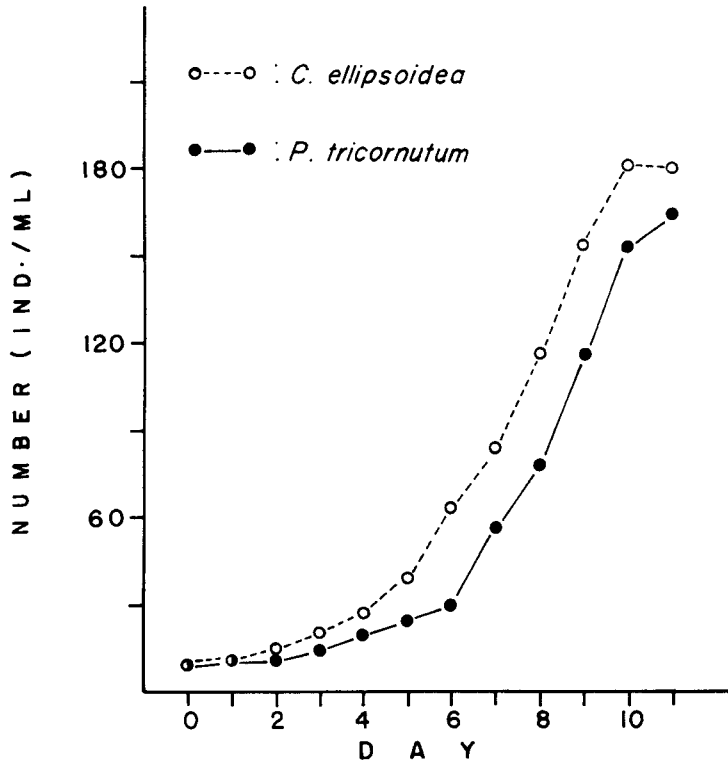


Fig. 2. Growth of rotifers fed on two different algal diets for 11 days in 5 l sacs (temperature ; 21–23°C, light intensity ; 2,000 lux).

dea 보다 量的인 면과 質的인 면을 考慮 할 때 훨씬有利하다고 思料된다.

本 實驗結果 低溫 適種으로 選定된 *Phaeodactylum tricornutum*은 低溫區間에서 溫度가 10, 8, 6°C로 낮아짐에 따라 7日間の specific growth rate가 0.95, 0.89, 0.72이었는데 비해 *Chlorella ellipsoidea*는 0.61, 0.43, 0.40으로 상당히 낮았다. 하지만 實驗 終了 1~3日前 *Chlorella ellipsoidea*의 성장폭은 *Phaeodactylum tricornutum*보다 큰 것으로 나타났다. 따라서 *Chlorella ellipsoidea*의 境遇 時間이 지남에 따라 低溫에 對한 適應力은 *Phaeodactylum tricornutum* 보다도 높은 것으로 생각된다.

*Phaeodactylum tricornutum*의 照度에 따른 成長率 實驗에 있어 最大成長은 가장 높은 照度인 8,000 lux에서 일어났는데 이것은 連續照明下에서 急速한 異常 細胞分裂로 因한 早速한 光酸化現象 (Yentsch and Vaccaro, 1958) 및 적은양의 蛋白質 含有量(Fogg, 1965) 등으로 因한 營養價置가 다른 照度의 것보다 낮을 可能性이 있다. 따라서 *Phaeodactylum tricornutum*의 大量培養時 사실상 6,000 lux 内外의 照度가 適當하리라 思料된다. 低溫種으로 選定된 *Phaeodactylum tricornutum*을 10°C에서 10日間 大量培養한 結果 低溫區間別 및 照度區間別 實驗에서보다 낮은 成長率을 보인 것은 3,000 lux 정도의 낮은 照度때문인 것으로 思料된다.

低溫에서 培養한 *Phaeodactylum tricornutum* 및 *Chlorella ellipsoidea*를 利用한 rotifer 培養 實驗에서는 *Phaeodactylum tricornutum*이 *Chlorella ellipsoidea*보다 rotifer 먹이로서 다소 나쁜 結果를 보였고 특히

Table 10. Fatty acid composition for the three kinds of phyto-food organisms and rotifers fed on these organisms

Fatty acid	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	<i>Nannochloris oculata</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Rotifer fed on		
				<i>C. ellipsoidea</i>	<i>N. oculata</i>	<i>P. tricornutum</i>
12:0	0.4	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2
14:0	5.7	1.0	5.3	5.1	2.0	4.5
15:0	0.7	0.2	0.5	1.0	1.4	0.6
16:0	29.9	22.7	16.9	24.3	17.6	18.9
17:0	0.8	7.3	1.6	4.1	3.8	0.6
18:0	1.5	1.3	2.3	15.5	3.7	5.0
20:0	0.2	—	0.7	—	—	0.4
22:0	—	0.2	0.5	0.7	3.4	1.8
saturated	39.2	32.9	27.9	51.0	32.1	32.0
16:1 ω -7	29.2	5.4	32.2	19.4	3.4	25.3
18:1 ω -7, ω -9	11.0	13.0	8.6	5.6	7.9	9.4
20:1 ω -9, ω -11	0.4	0.4	0.9	1.0	1.8	0.6
monoene	40.6	18.8	41.7	26.0	13.1	35.3
18:2 ω -6	3.9	24.0	3.6	3.8	25.8	7.4
18:3 ω -3, ω -6	0.2	22.7	0.7	1.1	23.0	5.9
18:4	0.1	0.1	0.5	4.0	2.0	1.4
20:4 ω -3	2.7	0.7	0.7	0.3	2.8	2.2
20:5 ω -3	13.3	0.8	24.9	13.8	1.2	15.8
polyene	20.2	48.3	30.4	23.0	54.8	32.7
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

初期 5~6日 동안의 rotifer 個體成長이 不良하였다. 이것은 *Chlorella ellipsoidea*만을 먹여 培養한 rotifer를 本 實驗에 利用하였기 때문에 細胞의 크기에 있어 *Chlorella ellipsoidea*보다 4~6배정도 큰 *Phaeodactylum tricornutum*에 對한 rotifer의 먹이 適應期間 影響이 어느정도 關係되었을 것으로도 思料된다.

Hirayama and Kusano(1972)는 rotifer 個體成長의 最適溫度가 25°C정도라고 報告하였고 Scott and Baynes(1978)는 rotifer 培養時 溫度를 달리함에 따라 rotifer의 蛋白質, 脂質, 炭水化物등의 生化學的 造成이 약간씩 달라진다고 報告하여 18°C정도에서 培養한 것이 23°C나 28°C에서보다 營養價値가 多少 優秀하다고 하였다. 또 *Dunaliella tertiolecta*를 먹여 培養한 rotifer가 *Phaeodactylum tricornutum*이나 *Pavlova lutheri*를 먹인 것보다 生化學的 造成이 多少 좋은 것으로 報告 하였다. 本 實驗에서는 低温에서 培養된 *Chlorella ellipsoidea*를 供給한 rotifer의 培養水溫이 高温에서 培養된 *Chlorella ellipsoidea*를 供給한 rotifer의 培養水溫보다 2~3°C 낮았고 實驗 최종일 rotifer 個體 密度는 前者의 境遇가 後者보다 약간 높은 것으로 나타났다.

低温期 동안의 rotifer 培養을 위한 植物性 먹이生物로서 *Chlorella ellipsoidea* 대신 *Phaeodactylum tricornutum*을 利用하는 것은 비록 *Phaeodactylum tricornutum*이 低温에서의 成長이 좋은 것으로 나

타났지만 rotifer 培養의 먹이로는 그리 좋지 않은 것으로 밝혀졌다. 따라서 低溫期 *Chlorella*를 대치시킬 수 있는 適種 選擇 研究는 보다 具體的으로 再調査할 必要性이 있을 것이다.

高溫適種으로 밝혀진 *Nannochloris oculata* 및 低溫適種 *Phaeodactylum tricornutum*은 앞으로 옥의 大規模 tank에서 大量培養하고 아울러 rotifer를 培養한 後 이것을 魚類나 甲殼類 幼生에게 供給하여 이들에 對한 生存率이나 成長率을 調査함으로써 그 營養價値 與否 등을 보다 자세히 알아볼 必要가 있다 하겠다.

要 約

海産魚類 및 甲殼類 幼生 飼育 時 初期 먹이로 要求되는 rotifer를 高溫期나 低溫期에 生産하고자 할 때 *Chlorella* 代用으로서 適한 植物性 먹이生物에 관한 實驗要約은 다음과 같다.

1. 高溫에서 가장 成長이 良好한 種은 *Nannochloris oculata*로 28°C, 33%, 5,000 lux가 最適 環境 要因으로 밝혀졌다.

2. 低溫에서 가장 成長이 良好한 種은 *Phaeodactylum tricornutum*이었고 이 種의 最大 成長要因은 實驗區間中 가장 高溫인 10°C, 8,000 lux 및 30%이었고 8°C에서도 成長이 良好한 편이었다.

3. *Nannochloris oculata* 와 *Phaeodactylum tricornutum*을 對照區인 *Chlorella ellipsoidea*와 함께 高溫 및 低溫에서 각각 大量培養하여 rotifer를 培養한 結果 rotifer 個體 密度는 *Nannochloris oculata*를 供給하여 培養한 것이 *Chlorella ellipsoidea*에 비해 越等히 높았고 *Phaeodactylum tricornutum*을 供給하여 培養한 境遇는 *Chlorella ellipsoidea*보다 약간 낮은 것으로 나타났다. 脂肪酸 造成에서도 *Nannochloris oculata*가 *Chlorella ellipsoidea*나 *Phaeodactylum tricornutum*보다 polyene의 비가 높아 營養的인 측면에서도 有利한 것으로 確認되었다.

參 考 文 獻

- Ben-Amotz, A. and R. Fishler, 1982. Induction of sexual reproduction and resting egg production in *Brachionus plicatilis* by a diet of saltgrown *Nannochloris oculata*. Mar. Biol., 67 : 289-294.
- Bogdan, K.G., J.J. Gibert and P.L. Starkweather, 1980. In situ clearance rates of planktonic rotifers. Hydrobiologia, 73 : 73-77.
- Fogg, C.E., 1965. Algal cultures and phytoplankton ecology. Madison : Univ. of Wisconsin Press, : 126.
- Fontaine, C.T. and D.B. Revera, 1980. The mass culture of the rotifer. *Brachionus plicatilis*, for use as food stuff in aquaculture. Proc. World Maricul. Soc., 11 : 211-218.
- Fukusho, K., M. Okauchi, H. Tanaka, P. Kraisingdecha, S.I. Wanyuni and T. Watanabe, 1985a. Food value of the small S-strain of a rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with *Tetraselmis tetrahele* for larvae of black sea bream *Acanthopargrus shlegeli*. Bull. Natl. Inst. Aquaculture, 8 : 5-13.
- Fukusho, K., M. Okauchi, H. Tanaka, S.I. Wanyuni, P. Kraisingdecha and T. Watanabe, 1985b. Food value of a rotifer *Brachionus plicatilis*, cultured with *Tetraselmis tetrahele* for larvae of a flounder *Paralichthys olivaceus*. Bull. Natl. Res. Aquaculture, 7 : 29-36.
- Fukusho, K., O. Hara and J. Yoshio, 1976. Mass production of rotifers fed *Chlorella* and yeast in the 40t tank. The Aquiculture, 24 : 96-101.
- Gatesoupe, F.J. and P. Luquet, 1981. Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* : application to larval rearing of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture, 22 : 149-163.

- Gilberto, S. and A. Mazzola, 1981. Mass culture of *Brachionus plicatilis* with an intergrated system of *Tetraselmis suecica* and *Saccharomyces cerevisiae*. J. World Maricul. Soc., 12(2) : 61~62.
- Guillard, R. R. L. and J.H.Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol., : 229~239.
- Hirata, H. and Y. Mori, 1976. Mass culture of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed the bread yeast. Saibai-Gyogyo, 5 : 36~40.
- Hirayama, K. and K. Nakamura, 1976. Fundamental studies on the physiology of rotifers in mass culture. V. Dry *Chlorella* powder as a food for rotifers. Aquaculture, 8 : 301~307.
- Hirayama, K., K. Takagi and H. Kimura, 1979. Nutritional effect of eight sppecies of marine physiology of on population growth of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 45(1) : 11~16.
- Hirayama, K. and K. Watanabe, 1973. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. IV. Nutritional effect of yeast on population growth of rotifer. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39(11) : 1123~1127.
- Hirayama, K. and T. Kusano, 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. II. Influence of water temperature on population growth of rotifer. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 38 : 1357~1363.
- Kitajima, C., S. Fujita, F. Ohwa, Y. Yone and T. Watanabe, 1979. Improvements of dietary value for red sea bream larvae of rotifers *Brachionus plicatilis* culured with bakers yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 45 : 469~472.
- Kitajima, C. and T. Koda, 1975. Influence of the rotifer produced by feeding yeast on the fry of red sea bream. Presented at the meeting of Jap. Soc. Fish., : 303.
- Laing, I. and M.M. Helm, 1981. Factors affecting the semicontinuous production of *Tetraselmis suecica* in 200L vessels. Aquaculture, 22 : 137~148.
- Lubzens, E. and R. Fisrlen, 1980. Induction of sexual reproduction and resting egg production in *Brachionus plicatilis* reared in seawater. Hydrobiologia, 73 : 55~58.
- Okauchi, M. and K. Fukusho, 1984. Environmental conitions and medium required for mass culture of a minute alga. *Tetraselmis tetraathele*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 5 : 1~11.
- Pourriot, R., C. Rougier and D. Benest, 1980. Hatching of *Brachionus rubens* O.F.Muller resting eggs (rotifer). Hydrobiologia, 73 : 51~54.
- Reguera, B., 1984. The effect of ciliate contamination in mass culture of the rotifer, *Brachionus plicatilis* O.F. Muller. Aquaculture, 40 : 103~108.
- Scott, A.P. and S.M. Baynes, 1978. Effect of algal diet and temperature on the biochemical composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 14 : 247~260.
- Segner, H., B. Orejana-acosta and J.V. Juario, 1984. The effect of *Brachionus plicatilis* grown on three different species of phytoplankton on the ultrastructure of the hepatocytes of *Chanos* (Forskal)fry. Aquaculture, 42 : 109~115.
- Snell, T.W. and C.E. King, 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers ; the cost of reproduction. Evolution, 31 : 882~890.
- Snell, T.W., C.J.Bieberich and R. Fuerst, 1983. The effects of green and blue-green algal diets on the reproductive rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 31 : 21~30.
- Stein, J.R., 1973. Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, : 303~306.

- Trotta, P., 1983. An indoor solution for mass production of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* Muller fed on the marine microalga *Tetraselmis suecica* Butcher. *Aquacultural Engineering*, 2 : 93~100.
- Witt, U., P.H. Koske, D. Kuhlmann, J. Lenz and W.Nellen, 1981. Production of *Nannochloris* sp. in large-scale outdoor tanks and its use as a food organism in marine aquaculture. *Aquaculture*, 23 : 171~181.
- Yasuda, K. and N.Tagu, 1980. Culture of *Brachionus plicatilis* using bacteria as food. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46 : 933~940.
- Yentsch, C. and R. Vaccaro, 1958. Phytoplanktonic nitrogen in the oceans. *Limnol. Oceanogr.*, 3 : 443~448.