

## 기수산 물벼룩 *Diaphanosoma celebensis*의 안정 배양을 위한 배양 용기의 크기 선택

정민민 · 김형신\* · 노 섬\*\*

제주대학교 해양연구소 먹이생물연구실, \*일본 나가사키대학 해양생산과학연구과, \*\*제주대학교 해양과학대학 증식학과

## Selection of Culture Scale for Stable Culture of an Estuarine Cladoceran *Diaphanosoma celebensis*

\*Min-Min JUNG, \*\*Hyeung-Sin KIM and Sum RHO

Food Organism Culture Lab., Marine Research Institute of Cheju National University, Cheju-do, 695-810, Korea

\*Graduate School of Marine Science and Engineering, Nagasaki University, Bunkyo, Nagasaki 852, Japan

\*\*Department of Aquaculture, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

Cladocera are important food organism for seed production of finfishes. Freshwater cladocera such as *Daphnia* and *Moina* are well known food organisms for the larval rearing of freshwater fishes and are easy for mass culture. However, mass culture technique for marine cladocera are not yet developed. The only mass produced food organisms available these days for the larval production of marine finfishes are rotifer and *Artemia*. An estuarine cladoceran, *Diaphanosoma celebensis*, has a high possibility of being used as a food organism for the larval rearing of marine finfishes because this species is much easier to mass culture than marine ones. Therefore many studies are needed for this species. In this study, the effects of the volumes of culture container, 40, 1,500 and 15,000 ml, on the stable production of this species were tested and results are as follow: The maximum densities of this species in each of the culture volumes were reached after 14 days in 40 ml, 12 days in 1,500 ml, and 21 days in 15,000 ml with values of  $3.4 \pm 0.4$ ,  $14.2 \pm 2.1$  and  $2.5 \pm 1.6$  per ml, respectively. The relative population growth index (RPGI) was stable in the culture volume of 1,500 ml. Moreover, possible harvesting number (individual/ml/day) was much higher in the 1,500 ml container than the other culture volumes. Therefore, optimum culture volume among the tested volumes for mass production of this species was 1,500 ml.

**Key words:** cladoceran, *Diaphanosoma celebensis*, food organism

### 서 론

해산어의 종묘 생산과정에서 자치어의 생존율을 좌우하는 것은 개구 후 자치어에게 공급되는 먹이생물이 얼마나 안정적으로 공급 가능할가에 달려있다 (Hirano, 1966; Hirayama, 1985; Watanabe et al., 1983). 현재 먹이생물로서 이용되는 동물 플랑크톤은 대량 배양이 용이한 로티퍼가 가장 널리 이용되고 있다. 그러나, 먹이 생물로서 연구 대상이 되었던 생물은 로티퍼 이외에도 다양한 종류의 생물이 있었다. 예를 들면 코페포다 (Kitajima, 1973), 따개비나 굴과 같은 해산 무척추동물의 부유 유생 (Hirano, 1966) 등이 있다. 그러나, 비교적 손쉽게 배양이 가능한 로티퍼의 배양과는 달리, 위의 먹이생물들은 필요한 시기에 필요한 양의 먹이를 안정적으로 배양 또는 확보하는 것이 어렵다.

한편, Korovchinsky에 의해 재분류되기 전에는 *Diaphanosoma aspinosum* Chiang로 알려져왔던 *D. celebensis* Stingelin은 중국의 담수역에서 처음으로 발견되어 분류 기재되었으나 (reviewed by Segawa and Yang, 1987), 말레이시아 연안역의 담수역에서도 서식이 확인될 정도로 염분에 강한 광염성의 동물 플랑크톤으로 능성어와 같은 해산어의 종묘생산 과정에서 로티퍼의 다음 단계 먹이생물로 이용하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있는 동물 플랑크톤의 일종이다 (Chen et al., 1977).

이 연구에서는 먹이생물을 배양할 때 안정 배양이 안되는 원인 중에서 배양 용기의 크기가 *D. celebensis*의 안정 배양에 미치는

영향을 검토하였다. 배양 용기의 크기는 종 보존 배양 수준인 40 ml의 소규모 정치 배양 (stock culture)과 대량 배양의 전 단계로 실시되는 1,500 ml와 15,000 ml의 준 대량 배양 (semi-mass culture)의 결과에 대하여 보고한다.

### 재료 및 방법

실험에 사용한 기수산 물벼룩 *D. celebensis*는 부화 직후의 단성 생식 자충 한 개체를 분리하여 배양한 단일 배양주 (mono-culture strain)를 이용하였으며, 실험 기간중 사용한 *D. celebensis*의 먹이는 실내에서 단일종 배양 (mono-species culture)한 *Nannochloropsis oculata*로 사육수의 농도가  $10^6$  cells/ml/*N. oculata* 전후가 유지 되도록 매일 급이하였다. 실험 개시시 각 조건별 접종 밀도는 40 ml의 배양에서는 0.075 ind./ml, 1,500 ml의 배양에서는 1.2 ind./ml이며, 15,000 ml의 배양 조건에서는 0.33 ind./ml였다.

기수산 물벼룩 *D. celebensis*의 배양은 종 보존 배양 수준의 40 ml 용량의 배양, 그리고 준 대량 배양 수준의 1,500 ml와 15,000 ml의 배양을 실시하였다. 배양은 수온 20°C 전후의 실험실내에서 24시간 실내 형광등 조사 조건하 (조도 300lux 전후)에서 실시하였다. 배양수는 GF/C로 필터한 염분 22ppt의 해수를 120°C, 0.11 Mpa의 압력하에서 20분간 고온 멸균 처리하였다. 배양 용기는 40 ml의 종보존 배양에서는 유리 비이커를 사용하였고, 1,500 ml와

15,000 ml의 준 대량 배양에서는 폴리카보네이트 재질의 원형 수조를 사용하였다.

배양의 안정도를 평가하는 방법으로서 실험 기간중 각 계수일의 증식 밀도를 실험 개시시의 접종 밀도와 비교함으로서 상대적인 개체군 증식 지수 (Relative Population Growth Index; RPGI)를 산출하였으며, RPGI의 계산은 Jung et al., (1997)의 보고에 따랐다. 또한, 3가지 배양 용기에 ind./ml/day를 단위로 하는 수확 가능량 (possible harvesting number)을 사육 기간을 기준으로 계산하였다. 그리고 모든 실험은 3회 반복하여 평균값과 표준 편차를 산출하였고, student-t test로 각 시험구간의 유의성을 검정하였다.

## 결 과

기수산 물벼룩 *D. celebensis*를 크기가 서로 다른 배양 용기에서 배양한 결과, 40 ml에서는 배양 개시후 14일경에 최고 밀도인  $3.416 \pm 0.396$  ind./ml가 관찰되었다 (Fig. 1). 그리고 1,500 ml의 배양에서는 배양 개시후 12일째에  $14.2 \pm 2.122$  ind./ml로 최고 밀도에 도달하였으며 (Fig. 2), 15,000 ml의 배양에서는 배양 개시후 21일째에  $2.489 \pm 1.618$  ind./ml의 최고 밀도가 관찰되었다 (Fig. 3).

한편, 실험 개시시 수용한 *D. celebensis*의 개체수를 1로하여 각 배양 일별 증식한 *D. celebensis*의 증식 정도를 계산한 relative population growth index (RPGI)의 비교 결과에서는 40 ml의 배양 조건에서 배양 개시후 6일째에 3.590으로 최고의 RPGI가 관찰되었고 (Fig. 4), 다음으로 높은 RPGI는 15,000 ml에서 배양 개시후 9일째에 3.166으로 관찰되었다 (Fig. 5). 그러나, 실험기간중 전반적인 RPGI의 변화 양상을 살펴보면 40 ml와 15,000 ml에서는 각 배양일간에 상하로 변동폭이 심하다 (Figs. 4, 5). 그러나, 1,500 ml의 배양 조건에서는 다른 배양조건에 비하여 2.646의 낮은 RPGI가 6일째에 관찰되었지만, 1,500 ml 배양 조건에서는 각 계수일간 RPGI의 변동 폭이 적고, 최고 RPGI를 보인 배양 개시후 6일째를 중심으로 안정적인 증식 양상을 보였다 (Fig. 6).

더욱이, 매일 수확 가능한 양을 계산한 possible harvesting number (ind./ml/day)에서도 1,500 ml에서 가장 높은  $3.567 \pm 0.607$  ind./ml/day를 나타낸 반면, 40 ml에서는  $0.867 \pm 0.129$  ind./ml/day,

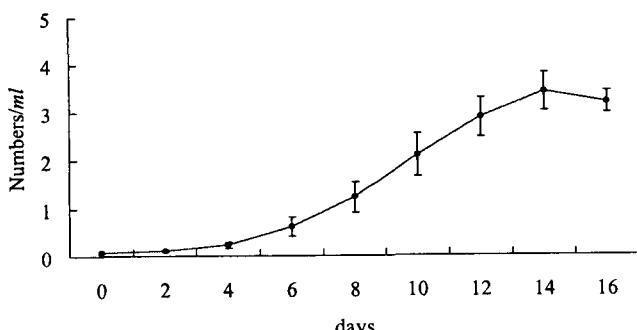


Fig. 1. Population growth of *Diaphanosoma celebensis* in the small scale culture of 40 ml.

그리고 15,000 ml에서는 가장 낮은  $0.243 \pm 0.116$  ind./ml/day가 수확 가능하였다 (Fig. 7, P<0.001).

## 고 칠

최근 해산어의 종묘 생산 과정에서 먹이 생물의 공급에 문제가 발생하였다. 그것은 로티퍼 (rotifer)의 다음 단계 먹이 생물로 이용되는 알테미아 (*Artemia*)가 원산지에서의 공급 부족 현상으로

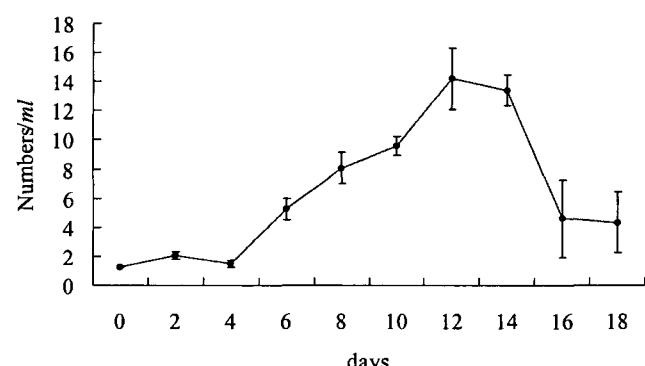


Fig. 2. Population growth of *D. celebensis* in the semi-mass culture of 1,500 ml.

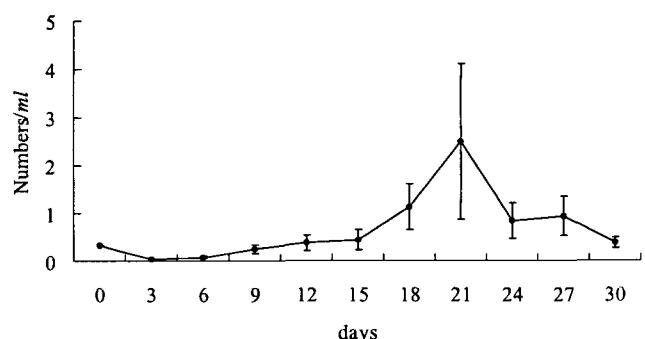


Fig. 3. Population growth of *D. celebensis* in the semi-mass culture of 15,000 ml.

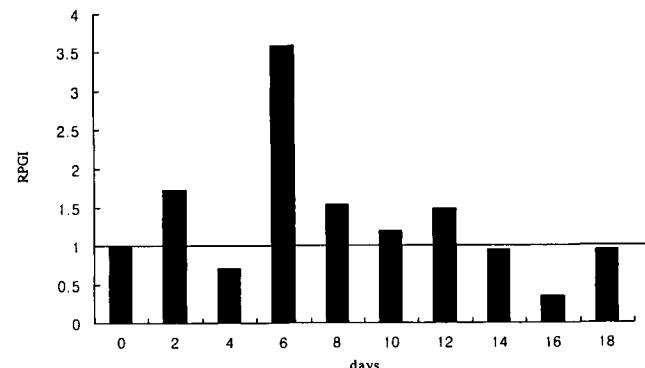


Fig. 4. Relative population growth index (RPGI) of *D. celebensis* in the small scale culture of 40 ml. The RPGI value 1 represents the density of this species at day 0 RPGI of this experiment.

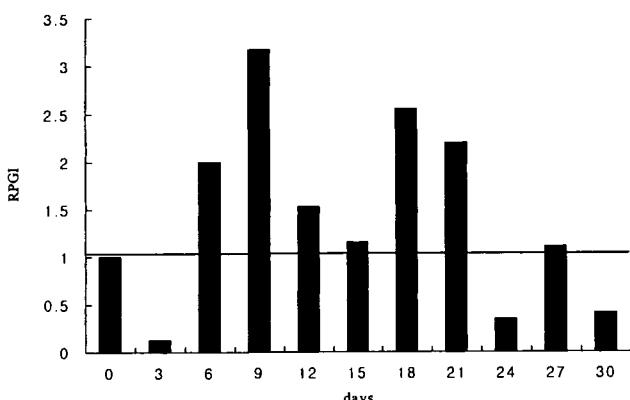


Fig. 5. Relative population growth index of *D. celebensis* in the semi-mass culture of 15,000 ml. The RPGI value 1 represents the density of this species at day 0 RPGI of this experiment.

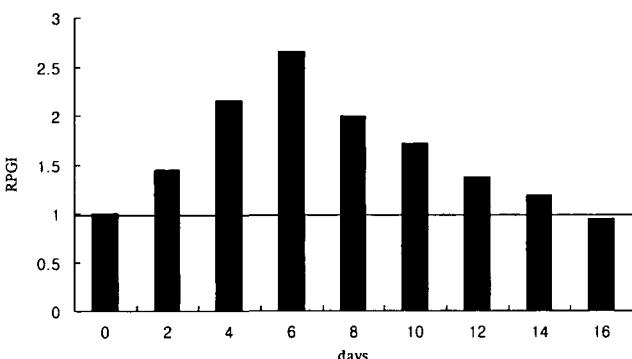


Fig. 6. Relative population growth index of *D. celebensis* in the semi-mass culture of 1,500 ml. The RPGI value 1 represents the density of this species at day 0 RPGI of this experiment.

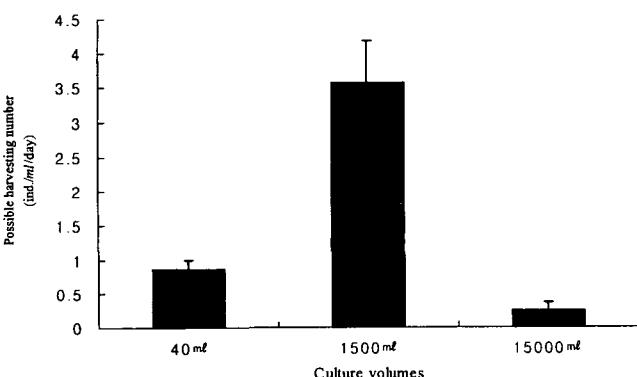


Fig. 7. Possible harvesting number (ind./ml/day) of *D. celebensis* in the three culture scales.

지금까지 수확되던 양의 1/10 수준 밖에 생산이 안되고 있다. 이런 현상은 수입에만 의존하고 있는 알테미아의 수입 가격을 상승시켜, 우리나라의 양식 산업에 커다란 경영 압박의 원인으로서 작용하고 있다. 이와 같은 현실은 알테미아를 대체할 수 있는 새로운 먹이 생물의 개발을 요구하고 있다. 그러나, 로티퍼 이외에는 안

정적으로 대량, 고밀도 배양이 가능한 종은 많지 않다. 현재, 로티퍼 이외에 먹이 생물로 이용하고자 연구중인 대표적인 동물풀랑 크론으로는 코페포다가 있으나, 코페포다도 아직 안정적인 배양이 이루어지지 않고 있다.

한편, 오랜 옛날부터 잉어, 붕어, 금붕어와 같은 담수어종의 양식 과정에서는 세계의 담수역에 널리 분포하며, 노지의 연못에 시비를 하는 간단한 방법만으로 대량 발생이 용이한 *Daphnia* (Yamada et al., 1972)나 *Moina* (岩井, 1985)와 같은 담수산 물벼룩이 먹이생물로서 널리 이용되어왔다. 이러한 물벼룩은 담수에만 존재하는 것이 아니고, 기수역과 해수역에도 몇종이 분포하는 것으로 알려져 있는데, 순수 해산종은 3속 8종이 존재하는 것으로 알려져 있다(日本資源保護協會, 1979). 그러나 해산의 물벼룩도 위에서 언급한 코페포다처럼 안정 배양이나 대량 배양이 용이하지 않다는 이유로 먹이생물로서의 이용 가치는 낮다고 할 수 있다. 예를 들면, 바다속의 퇴적물에서 분리한 내구란으로부터 부화시킨 해산 물벼룩 *Penilia avirostris*를 *Isochrysis galbana*의 식물 먹이생물 굽이 조건하에서 50일 이상에 걸쳐서 배양한 결과, 최고 밀도는 2 ind./ml에 불과하였다 (Takami and Iwasaki, 1978). 그러나, 이 연구에서 *D. celebensis*는 40 ml의 배양 용기에서는 배양 개시후 14 일째에  $3.416 \pm 0.396$  ind./ml, 15,000 ml의 배양 용기에서는 21일째에  $2.489 \pm 1.618$  ind./ml로 증식하였고, 1,500 ml의 배양 용기에서는 배양 개시후 12일째에  $14.2 \pm 2.122$  ind./ml로 증식하였다. 이것은 해산 물벼룩의 배양에 비교하면 기수산 물벼룩을 대량 배양하는 것이 용이함을 시사한다. 그리고 해산어의 종묘 생산 과정에서 로티퍼의 다음 단계 먹이생물로서 널리 이용되는 알테미아의 대체 먹이생물로서 기수산 물벼룩 *D. celebensis*의 이용 가능성을 시사한다.

이 연구에서 기수산 물벼룩 *D. celebensis*는 1,500 ml의 배양 용기에서  $14.2 \pm 2.122$  ind./ml의 비교적 높은 밀도의 배양이 가능하였을 뿐만 아니라, 배양기간중 안정적인 증식 양상을 나타내어 계획적이고 안정적으로 배양 관리가 가능함을 알 수 있었다. 이 연구에서 대량 배양에 이용한 기수산 물벼룩 *D. celebensis*는 담수산 물벼룩보다는 대량 배양이 안되지만, 해산의 물벼룩 보다는 인위적으로 관리 배양하기가 쉬운 것으로 알려져 있으며, 관련 보고로는, *D. celebensis*의 증식에 미치는 염분 농도에 관한 보고 (Segawa and Yang, 1987), 실험 개시시의 수용 개체수가 *D. celebensis*의 증식에 미치는 영향 (Segawa and Yang, 1988), *D. celebensis*의 성장, 탈피, 재생산 그리고 여과 섭식 속도 (Segawa and Yang, 1990)에 관한 연구가 보고되어 있다.

한편, 세가지의 크기가 서로 다른 배양 용기에서 *D. celebensis*는 40 ml의 작은 배양 용기에서는 낮은 밀도로 지속적인 성장을 보여, 장기간에 걸친 종 보존 배양을 위해서는 유용한 배양 규모라고 생각된다. 그러나, 1 m<sup>3</sup> 또는 10 m<sup>3</sup> 이상의 대형 탱크에서 배양하기 위한 전 배양 단계인 준대량 배양에서는 15,000 ml보다는 1,500 ml의 배양 용기가 효율적인 것을 알 수 있었다. 그리고 세가지의 배양 수량중에서 1,500 ml에서 가장 고밀도 배양이 가능하고 안정적인 증식 양상이 관찰된 원인에 대해서는 아직 뚜렷하게 밝혀진 것은 없지만, 먹이생물의 배양조가 개방화 또는 대형화 될수록 그 배양 용기내의 생태 구조는 복잡, 다양하여진다 (Hino, 1990)는

점에 근거하면, 배양조를 이루고 있는 생태 구조가 복잡해질수록 먹이생물 배양조를 관리하는 관리자는 인위적인 관리가 어려워져 결론적으로는 배양이 불안정해지고 배양밀도를 높이는 것이 어려워진다. 로티퍼의 배양 과정에서도 이와 같은 불안정한 증식 밀도가 관찰되는데, 로티퍼의 배양조가 대형화되고 개방화될수록 먹이생물 배양조내에서는 배양을 목적으로 하지 않는 혼재 생물이 출현하는 등의 복잡한 생태계가 구성된다 (Jung et al., 1997). 그러므로 기수산 물벼룩 *D. celebensis*의 높은 배양 밀도를 되도록 장기간에 걸쳐서 안정적으로 배양 가능하게 하기위해서는 생태적으로 안정적인 배양 환경을 유지할 수 있는 적정 크기의 배양 용기 선택이 중요하다고 할 수 있다.

## 요 약

전세계의 담수역에 널리 분포하는 *Daphnia*나 *Moina*와 같은 담수산 물벼룩은 잉어, 붕어, 금붕어와 같은 담수어의 종묘 생산 과정에서 먹이 생물로서 널리 이용되고 있다. 그러나, 해산어의 종묘 생산 과정에서는 안정 배양, 대량 배양이 어렵다는 이유로 로티퍼나 알테미아 이외에 널리 이용되는 먹이 생물은 거의 없다. 이 연구에서는 해산 물벼룩보다는 비교적 배양이 용이한 기수산 물벼룩 *D. celebensis*의 배양 용기의 크기가 안정배양에 미치는 영향을 검토하였다.

종 보존 배양 수준의 40 ml 배양에서는 16일간의 배양 기간중 14일째에 최고 밀도가  $3.416 \pm 0.396$  ind./ml에 달하였다. 1,500 ml와 15,000 ml의 준 대량 배양에서는 각각 배양 개시후 12일째와 21일째에  $14.2 \pm 2.122$  ind./ml와  $2.489 \pm 1.618$  ind./ml의 최고 밀도가 관찰되었다. 그리고 실험 기간중 배양의 안정도를 평가하기 위하여 실시한 세가지 배양 수량간 상대적 개체군 증식 지수 (RPGI)의 비교 결과에서는 1,500 ml의 배양 용기에서 가장 안정적인 증식 양상을 보였다. 뿐만 아니라, 매일 수확 가능한 기수산 물벼룩 *D. celebensis*의 개체수를 계산한 결과에서도 (possible harvesting number/ind./ml/day) 1,500 ml의 배양 용기에서 가장 높은  $3.567 \pm 0.607$  ind./ml/day가 수확 가능하였다.

한때 필요성에 의하여 담수산 물벼룩을 해산어의 종묘생산 과정에서 먹이생물로 이용한 시기가 있었다. 그러나, 앞으로는 기수산 물벼룩을 해수에서 배양하여 해산 자치어의 먹이생물로 이용할 수 있을 것이다.

## 참 고 문 헌

- Chen, F.Y., M. Chow, T.M. Chao and R. Lim. 1977. Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsskal) in Singapore. J. Pri. Ind., 5, 1~21.
- Hino, A. 1990. The function of microbial ecosystem in a mass culture pond of living food organisms. Suisanzoshoku, 38, 294~295.
- Hirano, R. 1966. Plankton culture and aquatic animals seedling production. Inform. Bull. Planktol. Japan, 13, 72~75.
- Hirayama, K. 1985. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seedling. Coll. Fr.-Japan. Oceanogr., 8, 41~50.
- Jung, M.-M., A. Hagiwara and K. Hirayama. 1997. Interspecific interactions in the marine rotifer microcosm. Hydrobiologia, 358, 121~126.
- Kitajima, C. 1973. Experimental trials on mass culture of copepods. Bull. Plankton Soc. Japan, 20, 54~60.
- Segawa, S. and W.-T. Yang. 1987. Reproduction of an estuarine *Diaphanosoma aspinosum* (Branchiopoda: Cladocera) under different salinities. Bull. Plankton Soc. Japan, 34, 43~51.
- Segawa, S. and W.-T. Yang. 1988. Population growth and density of an estuarine cladoceran *Diaphanosoma aspinosum*, in laboratory culture. Bull. Plankton Soc. Japan, 35, 67~73.
- Segawa, S. and W.-T. Yang. 1990. Growth, moult, reproduction and filtering rate of an estuarine cladoceran *Diaphanosoma celebensis*, in laboratory culture. Bull. Plankton Soc. Japan, 37, 145~155.
- Takami, A. and H. Iwasaki. 1978. Cultivation of marine cladocera, *Penilia avirostris* Dana. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44, 393.
- Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass production of fish: a review. Aquaculture, 34, 115~143.
- Yamada, N., H. Osuga, M. Ushiyama and Y. Shimoda. 1972. On the oxidation ponds for the reproduction of daphnid and some experiments related to this pond system. Bull. Shizuoka Pref., 1, 71~81.
- 岩井壽夫, 1985. 淡水產枝角類 *Moina dubia* de Guerne et Richard の 培養に関する基礎的研究. 水産増殖, 33, 31~42.
- 日本資源保護協會, 1979. 水産増養殖業書 28. 飼料用動物プランクトン の大量培養, 142pp.

---

1999년 2월 3일 접수

1999년 7월 3일 수리