

로티퍼 배양조 부산물을 이용한 *Tigriopus japonicus* (Copepod: Harpacticoida)의 배양

정민민 · 김형신* · 노 섭**

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

Cultivation of *Tigriopus japonicus* by Products of Rotifer Culture Tanks

Min-Min Jung, Hyeung-Sin Kim* and Sum Rho**

Food organism culture lab., Marine Research Institute of Cheju National University, 3288 Hamdok-ri,
Chochon-eup, Pukjeju-gun, 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

Tigriopus japonicus, harpacticoida copepod, was a common copepoda species as food organism for the marine fish larval rearing. However, *T. japonicus* was difficult to stable culture except for a mixed culture with rotifer. Available food source for the successfully stable culture of *T. japonicus* was investigated in this study.

T. japonicus did not utilization *Nannochloropsis oculata*, instead of that *T. japonicus* utilized to products from rotifer culture tank. The products from rotifer culture tank was composed of rotifer feces and co-existing aquatic bacteria. The nauplius I stage and copepodid I stage of *T. japonicus* showed grown when products from rotifer culture tanks was fed. Specially, we observed higher density of nauplii than that of copepodites and ovisac carrying females in the experimental culture populations.

Key words : Copepod, Feces, Food organism, *Tigriopus japonicus*

서 론

*Tigriopus japonicus*는 연안역에서 쉽게 관찰, 채집이 가능하며 (Takano, 1971), 해산어의 종묘 생산 과정에서는 로티퍼와 함께 자치어기의 먹이 생물로서 널리 배양, 이용되는 동물 플랑크톤의 한 종이다 (Hirano, 1966). 특히, *T. japonicus*의 열량은 로티퍼의 4.8cal/mg에 비하여 높은 5.8~6.0cal/mg 열량을 보유하고 있다 (Theilacker and Kim-

ball, 1984). 그러므로 로티퍼와 더불어 *T. japonicus*을 대량, 안정 배양하기 위한 연구가 오래전부터 진행되고 있다. 그러나, 아직 *T. japonicus*의 대량 배양 및 안정 배양에 관한 기술은 미확립된 상태로 로티퍼와 함께 혼합 배양하는 방법이 비교적 다량의 *T. japonicus*의 수확이 가능한 것으로 알려져 있는데 (Fukusho et al., 1977), 이 연구에서는 로티퍼와 혼합 배양조내에서 *T. japonicus*가 어떤 먹이원을 이용하여 성공적으로 증식 가능하였는지를 검토하였다.

이 연구는 한국과학재단 국내 Post-doc. 연수 사업 2311-4254의 지원으로 수행되었음.

재료 및 방법

실험에 사용한 코페포다 *T. japonicus*와 로티퍼 *B. rotundiformis*는 로티퍼의 대량 배양조에서 분리 후 단일 종 배양한 것으로 단일종 배양중인 *Nannochloropsis oculata*를 원심 분리하여 급이하거나, 원심 분리 후 -20°C 이하의 냉동고에 보관하면서 먹이로서 급이하면서 종보존하던 것이다.

배양은 수온 24.5~25.5°C, 염분 20-24ppt, 광주기 24L:0D 그리고 조도 850~1,350lux의 조건하에서 16-38일간에 걸쳐서 실시하였으며, 배양 해수는 GF/C로 여과 후 121°C에서 20분간 멸균 처리하였다. 배양 수량은 50ml의 비이커에 40ml 넣어 주었다.

*T. japonicus*의 계수는 2일 간격으로 노플리우스(nauplius stage), 코페포디드(copepodid stage), 포란 암컷(ovisac carrying female)으로 구분하여 배양수중의 전 개체를 계수하였으며, *N. oculata*는 2일 간격으로 7×10^5 cells/ml의 농도로 급이하었고, 2일 후 혈구계수판을 이용하여 배양수중의 잔존량을 계수하였다. 실험 개시시 *T. japonicus*의 수용 개체수는 *N. oculata* 단독 급이 실험에서는 포란 암컷 3개체/40ml였다.

그리고 로티퍼와의 혼합 배양조내에서 *T. japonicus*는 어떤 먹이원을 이용하여 증식하는지를 알아보기 위하여 난양에서 갓 부화시킨 20개체/40ml의 노플리우스 I 단계의 개체와 동일 시기에 코페포디드 I 단계로 탈피한 20개체/40ml의 코페포디드를 이용하여 로티퍼 배양조의 부산물만을 이용한 *T. japonicus* 각 발생 단계별 배양을 실시하였다. 한편, 자신의 부산물을 로티퍼가 이용하는지를 알아보기 위한 실험에서 이용한 로티퍼는 단성란을 포란중인 20개체/40ml씩을 실험 개시시 수용하였다.

한편, 코페포다의 먹이로서 이용한 로티퍼 배양조의 부산물은 로티퍼 단일종 배양조에서 2일 간격으로 채취 후 현미경하에서 살아있는 로티퍼나 로티퍼의 난(egg)은 물론 로티퍼의 사체까지도 모두 제거한 후 *T. japonicus*의 배양조에 먹이로서 첨가하였다. 로티퍼 배양조 부산물의 첨가량은 2일 간격으로 습중량 10g씩 첨가하였으며, 실험 기간 중 환수는 실시하지 않았다.

결 과

*T. japonicus*에 *N. oculata*를 급이하면서 단일종 배양한

결과, 배양 개시시 포란 암컷 3개체/40ml였던 *T. japonicus*는 배양 개시 후 8일째 최고 밀도인 178 ± 36.18 개체/40ml로 증식한 후 실험 종료일인 16일째까지도 102.6 ± 17.56 개체/40ml 이상의 밀도가 유지 되었다 (Fig. 1A). 이때 노플리우스는 8일째에 100.7 ± 28.99 개체/40ml의 최고 밀도가 관찰된 이후 급속도로 감소하였으며, 코페포디드는 배양 개시 후 10일째에 100.7 ± 16.36 개체/40ml의 증식을 보인 후 서서히 감소하는 경향을 보였다. 그러나, 포란 암컷의 개체수는 실험개시시 수용한 포란 암컷 이외의 새로운 포란 암컷 개체가 출현한 10일째 이후 지속적인 개체 증가가 관찰되었다 (Fig. 1B).

한편, *T. japonicus*의 먹이로 2일마다 급이한 *N. oculata*는 *T. japonicus*가 거의 이용하지 않아 16일간의 실험 기간 중 계속 먹이 첨가량 7×10^5 cells/ml 보다 높은 밀도인 $7.9 \times 10^5 \pm 1.47 \times 10^5$ cells/ml에서 $12.92 \times 10^5 \pm 2.59 \times 10^5$ cells/ml 농도의 *N. oculata* 잔존량이 관찰되었다 (Fig. 2).

*N. oculata*의 급이 조건하에서 배양한 로티퍼 *B. rotundiformis*는 실험 기간중 한번도 밀도가 감소하지 않고 계속 증식하여 실험 종료일인 16일째에는 2858.6±74.09개체/40ml로 증식 하였으나, 로티퍼 배양조의 부산물을 로티퍼의 먹이로서 급이한 실험에서는 무급이 실험구와 함께 지속적으로 폐사된 로티퍼 *B. rotundiformis*의 개체가

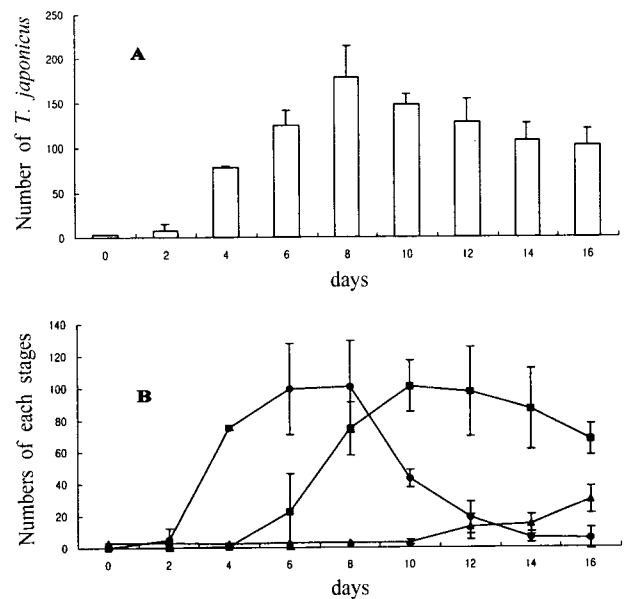


Fig. 1. Total number (A) and growth patterns of each developmental stages (B; nauplii-●, copepodites-■, ovisac carrying female-▲) of *T. japonicus* on the feeding with *N. oculata*.

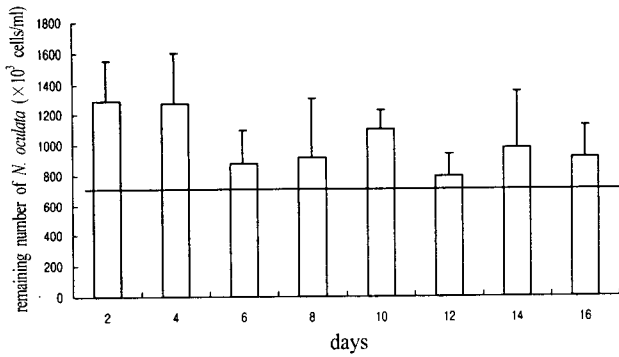


Fig. 2. Remaining cell numbers of *N. oculata* in the mixed culture of *T. japonicus*. The horizontal line was indicated to feeding density of *N. oculata* on every two days.

관찰되어 실험 종료일인 16일째에는 로티퍼 배양조의 부산물 급이 조건하에서 로티퍼의 밀도는 4.3 ± 3.4 개체/40 ml로 크게 감소하였다 (Fig. 3).

그러나, 로티퍼 배양조에서 채취한 부산물만을 먹이로 급이한 코페포다의 배양 결과, *T. japonicus*의 어린 노플리우스 I 단계의 개체는 물론 코페포디드 I 단계의 개체도 로티퍼 배양조에서 발생된 부산물만의 급이만으로도 정상적인 증식이 가능하였다 (Figs. 4-5). 난낭으로부터 부화된 어린 노플리우스는 38일간의 로티퍼 배양조 부산물만의 단독 급이 조건하에서 배양 개시 후 30일째에 226.3 ± 24.1 개체/40ml의 최고 밀도가 관찰된 것을 전후로 높은 밀도의 개체 유지가 가능하였다 (Fig. 4A). 특히, 각 발생 단계별로 계수한 결과에서는 코페포디드 단계나 포란 암컷 개체 보다는 노플리우스의 개체수가 높음을 알 수 있었다 (Fig. 4B). 한편, 노플리우스를 여과 멸균 해수만의 조건하에서 배양한 경우에는 배양 개시 후 14일째에 전개

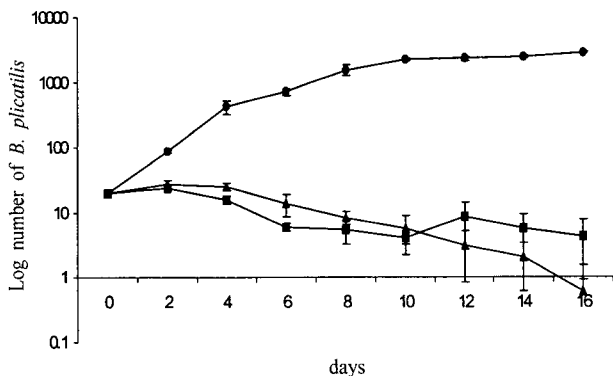


Fig. 3. Log number of *B. rotundiformis* under feeding conditions of *N. oculata* (●), products of rotifer culture tank (■) and no fed (▲).

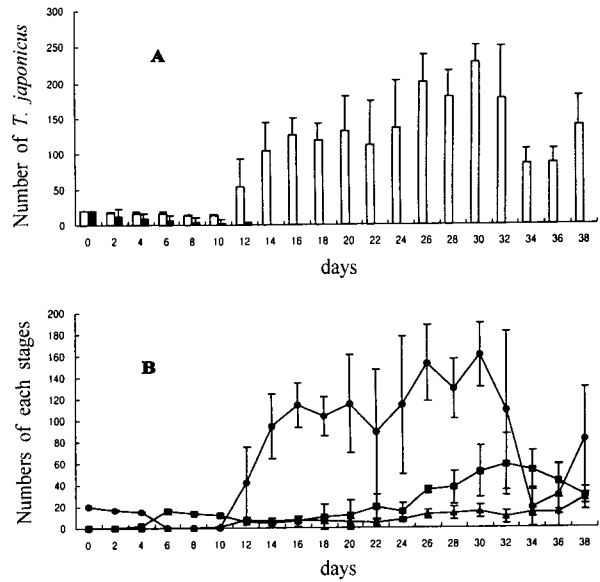


Fig. 4. Growth of *T. japonicus* from the culture started by nauplius I developmental stage. A: Total growth of *T. japonicus* under the two feeding conditions of products from rotifer culture tank (white bars) and no fed (black bars). B: numbers of each developmental stages of nauplii (●), copepodites (■) and ovisac carrying female (▲) of *T. japonicus* on the feeding with products of rotifer culture tank.

체가 폐사 하였다 (Fig. 4A).

*T. japonicus*의 코페포디드 I 단계의 개체에 로티퍼 배양조의 부산물만을 먹이로서 첨가한 결과에서도 32일간의 실험 기간동안 *T. japonicus*의 코페포디드는 로티퍼 배양조의 부산물만의 급이 조건하에서도 높은 증식이 관찰되었는데, 배양 개시 후 26일째에는 실험 기간중 최고 밀도인 193.33 ± 33.2 개체/40ml의 *T. japonicus*가 관찰되었다 (Fig. 5A). 그러나, 무급이의 조건하에서는 노플리우스 보다는 강할 것으로 판단되는 코페포디드 단계의 개체도 배양 개시 후 12일째에는 전개체가 폐사 하였다 (Fig. 5A). 한편, 코페포디드 단계의 배양조에 로티퍼 배양조의 부산물만을 먹이로서 첨가한 결과에서도 코페포디드 단계나 포란 암컷의 개체수보다는 노플리우스 단계의 개체수가 비교적 높은 증식 경향이 관찰되었다 (Fig. 5B).

고 찰

로티퍼의 배양조에서 관찰되는 부산물은 로티퍼의 사체, 로티퍼의 배설물 그리고 먹이로서 급이한 식물 먹이

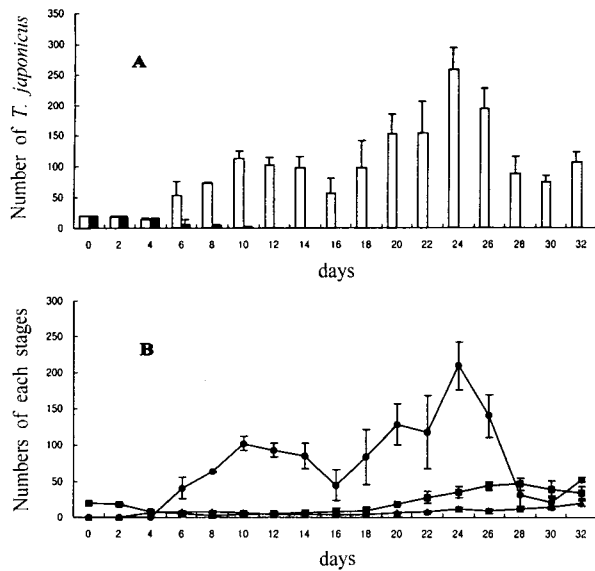


Fig. 5. Growth of *T. japonicus* from the culture started by copepodid I developmental stage. See Fig. 4 legend for further details.

생물이나 빵효모의 먹다 남긴 찌꺼기등이 있는데, 이 연구에서 사용한 로티퍼 배양조의 부산물 (products of rotifer culture tank)이라는 것은 로티퍼의 배설물을 주 구성물로한 먹이로서, 급이된 후 배양조내에서 자체적으로 사멸되어 가라 앉은 소량의 식물 먹이 생물 (*N. oculata*)이 포함되어 있는 것을 말한다.

넓은 해양에서는 위에서 설명한 바와 같은 물질을 디테라이터스라는 이름으로 부르고 있는데, 해양의 부산물인 디테라이터스에는 고밀도의 세균이 부착되어 물질을 분해하는 것으로 알려져 있다 (Nishizawa, 1980). 한편, 로티퍼 배양조의 부산물도 마찬가지로 특히, 로티퍼의 배설물에는 배설물을 분해중인 부착성 세균들이 고밀도로 부착되어 있는 것으로 알려져 있다 (Hino, 1990). 그런데, 이러한 부산물의 영양 가치는 부산물의 표면에 부착되어 있는 세균이 좌우하는 것으로 알려져 있다 (前田, 1986).

*T. japonicus*는 이용 가능한 유기물 형태의 먹이로서 전분만을 급이한 조건하에서는 배양이 불가능하였으나, 세균만을 먹이로 급이한 실험 결과에서는 정상적인 증식을 보였으며, 세균의 영양원으로서 전분과 세균을 섞어서 *T. japonicus*에게 급이한 경우에는 보다 높은 증식이 관찰되었다 (Hanaoka, 1973). 특히, 어린 노플리우스 시기의 생존율이나 포란하고 있는 어미의 난낭의 충실도는 배양수중에 혼재되어 있는 세균의 존재 유무가 크게 영향을 미치는 것으로 보고 되어 있다 (Jung et al., 1998). 즉, 이 연

구에서 *B. rotundiformis*는 배양조내의 부산물을 이용하여 증식하는 것이 불가능하였으나, *T. japonicus*는 로티퍼 배양조의 부산물만을 이용하여 증식이 가능하였다. *T. japonicus*가 먹이로서 이용한 로티퍼 배양조의 부산물은 비생물로서의 똥 (feces)과 생물 요소인 부착성 분해 세균이 직접, 간접적으로 먹이로서 이용되었으며, 배양수중의 세균의 존재는 *T. japonicus*의 먹이 이용 효율을 상승 시켜주는 역할을 할 뿐만 아니라, *T. japonicus*의 어린 노플리우스에게 적당한 먹이로서 이용되어 *T. japonicus*의 초기 생존율을 향상시켜주는 역할을 하는 것으로 판단된다. 이러한 현상은 이 연구에서 식물 먹이 생물인 *N. oculata*를 먹이로 배양한 *T. japonicus*의 노플리우스는 배양 개시 후 8일째 이후 급속도로 감소하기 시작하고 반대로 코페포디드가 급속도로 증가한 반면, 로티퍼 배양조의 부산물만을 먹이로서 급이한 경우에는 *T. japonicus*의 노플리우스와 코페포디드의 각 발생 단계에서 시작한 두 실험 모두 코페포디드 단계나 포란 암컷의 개체보다는 노플리우스의 개체수가 높은 결과에서도 알 수 있다. 한편, 사육 기간 중 로티퍼 배양조 부산물을 *T. japonicus* 배양조에 첨가하여 배양하는 과정에서 부산물의 첨가에서 기인하는 배양수의 악화 현상은 전혀 관찰할 수 없었다.

결국, 코페포다를 성공적으로 배양하기 위해서는 태어난지 얼마 안된 어리고 약한 노플리우스의 생존율을 높여야만 배양을 목적으로 하는 코페포다의 배양 밀도를 높일 수 있다 (Uchima and Hirano, 1986). 즉, *T. japonicus*의 배양 밀도를 높이기 위해서는 노플리우스의 정상적인 성장을 도모하여 주어야 하는데, 그 방법으로서 노플리우스가 먹을 수 있는 상태의 먹이인 로티퍼 배양조의 부산물과 같은 먹이원이 코페포다의 배양 과정에 이용되어야함을 의미한다.

이 연구의 결과, *T. japonicus*는 로티퍼 배양조에서 발생하는 부산물을 이용하여 증식 가능함을 알 수 있었다. 따라서 로티퍼 배양조의 부산물을 재이용한다는 관점에서 로티퍼와 *T. japonicus*를 혼합 배양하는 방법은 산업적으로 유효하며, 로티퍼 배양조와 같은 종묘 배양 시설에서 발생하는 디테라이터스성 부산물로도 먹이 생물 *T. japonicus*의 배양이 가능하였다.

요 약

연안역에서 쉽게 관찰되는 해산 코페포다 *Tigriopus*

*japonicus*는 해산어의 증묘 생산 과정에서 동물 먹이 생물로서 이용되는 동물 플랑크톤의 한 종이다. 그러나, 아직 *T. japonicus*의 대량 배양 및 안정 배양에 관한 기술은 미확립된 상태이며, 로티퍼와 함께 혼합 배양하는 방법이 비교적 다량의 *T. japonicus*의 수확이 가능한 것으로 알려져 있을 뿐이다. 이 연구에서는 로티퍼와의 혼합 배양조 내에서 *T. japonicus*가 어떤 먹이원을 이용하여 성공적으로 증식 가능하였는지를 검토하였다.

*T. japonicus*의 먹이로 급이한 *Nannochloropsis oculata*는 이용하지 않고 로티퍼 배양조의 부산물을 적극적으로 이용하였다. 로티퍼 배양조의 부산물을 먹이로 급이한 조건 하에서 로티퍼는 그 증식이 크게 억제된 반면, 부산물만을 먹이로 급이한 *T. japonicus*의 어린 노플리우스 I 단계의 개체는 물론 코페포디드 I 단계의 개체도 정상적인 증식이 가능하였다. 난양으로부터 갓 부화된 20개체의 어린 노플리우스는 38일간의 로티퍼 배양조 부산물만의 단독 급이 조건하에서 배양 개시 후 30일째에 226.3 ± 24.1 개체/40ml의 최고 밀도가 관찰된 것을 전후로 높은 밀도의 개체 유지가 가능하였다. 특히, 각 발생 단계별로 계수한 결과에서는 코페포디드 단계나 포란 암컷 개체 보다는 노플리우스의 개체수가 높음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 갓 탈피한 20개체의 코페포디드 I 단계에 로티퍼 배양조의 부산물만을 먹이로서 첨가한 결과에서도 유사한 결과가 관찰되었다.

결국 *T. japonicus*의 배양 밀도를 높이기 위해서는 노플리우스의 정상적인 성장을 도모하여 주어야 하며, 특히 노플리우스가 먹을 수 있는 상태의 먹이인 로티퍼 배양조의 부산물과 같은 먹이원이 코페포다의 배양 과정에 첨가되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- Fukusho, K., O. Hara, H. Iwamoto and C. Kitajima, 1977. Mass production of the copepod, *Tigriopus japonicus*, in combination with the rotifer, *Brachionus plicatilis*, feeding baking yeast and using large-scale outdoor tanks (April-August). Bull. Nagasaki Pref. Ins. Fish., 3: 33-40.
- Hanaoka, H., 1973. Cultivation of three species of pelagic micro-crustacean plankton. Bull. Plankton Soc. Japan 20: 19-29.
- 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 animal's seedling production. Inform. Bull. Planktol. Japan 13: 72-75.
- Jung, M.-M., S. Rho and P.-Y. Kim, 1998. Feeding of bacteria by copepod *Tigriopus japonicus*. J. Aquacult., 11: 113-118.
- Nishizawa, S., 1980. Keynote address-Microbial contribution to the dynamics of biological elements in marine environments. Lamer 18: 28-30.
- Takano, H., 1971. Breeding experiments of a marine littoral copepod *Tigriopus japonicus* Mori. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 64: 71-79.
- Theilacker, G. H. and A. S. Kimball, 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. CalCOFI Rep., 25: 80-86.
- Uchima, M. and R. Hirano, 1986. Food of *Oithona davisae* (Copepoda: Cyclopoida) and the effect of food concentration at first feeding on the larval growth. Bull. Plankton Soc. Japan 33: 21-28.
- 前田昌調, 1986. 水産増養殖と微生物. III. 餌料微生物. 8. 細菌. 日本水産學會監修. 水産學シリーズ 61. 恒星社厚生閣. 129pp.