

기수산 물벼룩 *Diaphanosoma celebensis*의 배양 밀도와 섭이에 미치는 염분 농도의 영향

정민민* · 김형신* · 노 섬** · 허성일** · 윤영석** · 김재우***
국립수산진흥원 남해수산연구소 증식과, *여수대학교 해양학과 부유생물생태학연구실
제주대학교 해양과학대학 증식학과, *국립수산진흥원 복제주수산증묘시험장

Effects of Saline Concentrations on the Culture Density and Feeding of Estuarine Cladoceran, *Diaphanosoma celebensis*

Min-Min JUNG⁺, Hyeung-Sin KIM^{*}, Sum RHO^{**}, Seoung-Il HUR^{**}
Young-Seok YOON^{**} and Jae-Woo KIM^{***}

South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Yosu 556-820, Korea

*Lab. of Phytoplankton Ecology, Department of Oceanography, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

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

***Pukjeju Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute, Cheju-do 695-835, Korea

We investigated the effects of salinity on an estuarine cladoceran, *Diaphanosoma celebensis* as a substitute live food organism of *Artemia*, which has been used for the next step of rotifer, in the course of seedling production of marine fishes. Culture density for growth, possibility of stable culture (RPGI: Relative Population Growth Index) and food feeding activity (RCN: Remaining Cell Numbers) of *D. celebensis* were investigated at intervals of 5 ppt under 10 steps of different saline conditions from 0 to 45 ppt. According to the results, the experimental group, which was regarded as the best condition of culture density for growth, stable culture possibility (RPGI) and good food feeding activity (RCN), was salinity culture condition of 20 ppt, and relative stable culture conditions were observed under saline concentrations 15~35 ppt. Their functions under culture conditions of lower or higher salinities than 20 ppt appeared remarkably to be decreased, while all individuals were dead under the saline condition of 0 ppt after the beginning of the experiment. From these results of this study, it is assumed that estuarine cladoceran, *D. celebensis* can be cultured easily as a substitute live food organism of *Artemia* in the course of seedling production of marine fishes.

Key words: *Artemia*, *Diaphanosoma celebensis*, Estuarine cladoceran, Live food organism, Saline, Substitute live food organism

서 론

재료 및 방법

해산어의 종묘를 성공적으로 생산하기 위해서는 사육 과정에서 초기 먹이생물로 rotifer와 함께 *Artemia*가 필수적으로 구비되어야만 한다. 그러나 최근 *Artemia* 가격의 급상승으로 인하여 *Artemia*를 대체할 수 있는 새로운 먹이생물의 개발이 시급한 실정이다.

현재 *Artemia*의 대체 먹이생물로서 연구 개발중인 동물 먹이생물은 부유성 요각류 (Jung and Rho, 1998; Jung et al., 2000)와 기수산 물벼룩 (Jung et al., 1999) 등이 주목을 받고 있다. 특히 기수산 물벼룩은 해수 배양 조건하에서도 배양이 가능한 것으로 알려져 있으며 (Segawa and Yang, 1987; Jung et al., 1999), 동남아시아 지역에서는 자연 채집 또는 인위적으로 배양되어 해산어의 종묘 생산 과정에서 *Artemia*의 대체 먹이생물로 이용되고 있다. 따라서 이 연구에서는 *Artemia*를 대체할 수 있는 동물 먹이생물로 주목을 받고 있는 기수산 물벼룩의 한 종인 *Diaphanosoma celebensis* (de la Pena et al., 1998)의 배양 가능 염분 범위와 적정 염분 배양 조건을 알아보았다.

염분 농도별 실험에 사용한 기수산 물벼룩 *D. celebensis*는 염분 20 ppt에서 증 보존 배양한 후 염분 배양 환경하에서 부화 직후의 단성생식 자충 한 개체를 분리하여 배양한 단일 배양주 (mono-culture strain)로 예비 실험을 통하여 각 실험 염분 농도별 (0~45 ppt)로 순치 배양하여 생존한 개체 중 증식중인 개체군을 대상으로 실시하였다. 단, 0 ppt의 염분 배양 환경하에서 실시한 실험에서는 *D. celebensis*가 0 ppt의 조건에서는 정상적인 생존 및 증식이 불가능하였으므로 비교적 정상적인 증식이 관찰된 5 ppt의 염분 배양 환경에서 미리 순치 배양한 개체군을 0 ppt의 염분 농도 실험구에 바로 이동시켜 사용하였다.

이 연구에서 *D. celebensis*의 염분 배양 환경은 증류수, 일반해수 및 증발시킨 해수를 이용하여 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 ppt의 10단계로 설정하였으며 각 염분 농도에서 사전 순치 배양된 개체군을 사용하여 염분 조절된 배양수에서 16일간에 걸쳐서 실시하였다. 그리고 실험 기간 중 사용한 *D. celebensis*의 먹이는 F/2 개량 배지를 이용하여 실험실내에서 단일종 배양한 *Nannochloropsis oculata*를 정기적으로 원심 분리한 후 냉장 보존하면서 급이

*Corresponding author: jungminmin@nfrdi.re.kr

하였는데, 먹이 농도는 배양수가 10^6 cells/mL/*N. oculata*가 되도록 2일 간격으로 실험 용기에 첨가하였다. 실험 개시시 각 조건별 접종 밀도는 염분 조정된 배양수 100 mL를 담은 용기에 미성숙 상태의 어린 *D. celebensis*를 10개체씩 수용하여 시작하였는데, 이때 배양 용기는 실험 기간 중 증발 현상으로 인한 염분 실험 조건의 변화를 막기 위하여 뚜껑이 달린 투명 플라스틱 용기를 사용, 3회 반복 실시하였다. 배양 수온은 항온 수조를 이용하여 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 가 유지되도록 하면서 실험실내에서 24시간 실내 형광등 조사 조건하(조도 300 lux 전후)에서 실시하였다.

관찰은 16일간의 실험 기간 중 2일 간격으로 이루어졌으며, 각 염분 배양 환경하에서 반복 실험구별로 먼저 급이한 먹이의 잔존량을 혈구계수판을 이용하여 계수 후 *D. celebensis*의 섭이 능력을 판단하는 RCN (Remaining Cell Numbers)를 계산하였고, 각각의 배양 용기에서 10 mL씩을 채수하는 방법으로 *D. celebensis*의 개체수를 3회 반복, 계수하였다. 한편, 배양의 안정도를 평가하는 방법으로서 실험 기간 중 각 계수일의 증식 밀도를 실험 개시시의 접종 밀도와 비교함으로써 상대적인 개체군 증식 지수 (RPGI: Relative Population Growth Index)를 산출하여 안정 배양의 가능성 정도를 비교하였으며, RPGI의 계산은 Jung et al. (1997)과 Jung et al. (1999)의 보고에 따랐다.

결 과

염분 농도 0 ppt에서 45 ppt까지 10단계의 염분 배양 환경하에서 가장 높은 증식 밀도가 관찰된 실험구는 염분 농도 20 ppt였다. 그리고 20 ppt를 중심으로 염분 농도 0 ppt 또는 45 ppt에 가까워질수록 *D. celebensis*의 증식은 20 ppt에서의 *D. celebensis*의 증식에 비교하여 감소되는 경향이 관찰되었으며 염분 농도 0 ppt에서는 실험 개시 직후 전 개체가 사망하였다 (Fig. 1).

*D. celebensis*는 5 ppt의 염분 농도에서도 느린 속도의 증식이 관찰되었는데 배양 개시 16일 경과 후 8 ± 0.8 ind./10 mL의 증식이 관찰 확인되었다. 그리고 일반적으로 수서생물의 배양 환경으로서 고염분 환경에 해당되는 40 ppt와 45 ppt에서도 증식이 관찰되었다 (Fig. 1).

각 염분 배양 환경별 *D. celebensis*의 증식 양상을 구체적으로 살펴보면, 0 ppt의 염분 배양 환경하에서는 배양 개시 후 2일 경과 후 전 실험구에서 모든 개체가 사망한 것이 관찰되었다. 그러나, 5 ppt 이상의 염분 배양 환경하에서는 모든 실험구에서 증식이 관찰되었다. 한편, 16일간의 배양 기간 중 최고 밀도를 기준으로 비교하면, 20 ppt에서 가장 높은 밀도가 관찰되었고 그 다음으로 25 ppt에서 18 ± 1.6 ind./10 mL, 30 ppt에서 16.3 ± 0.5 ind./10 mL, 35 ppt에서 15.6 ± 1.7 ind./10 mL, 15 ppt에서 14.3 ± 0.9 ind./10 mL, 10 ppt에서 12.3 ± 1.7 ind./10 mL, 40 ppt에서 10.3 ± 0.47 ind./10 mL, 45 ppt에서 10 ± 0.8 ind./10 mL 그리고 5 ppt에서 8 ± 0.8 ind./10 mL의 순으로 최고 밀도가 관찰되었다 (Fig. 1).

증식의 안정도를 알아보기 위한 각 염분 배양 환경별 RPGI의 계산 결과, 전 실험구에서 16일간의 배양 기간 중 지속적인 증식 추세를 보였을 뿐 안정 배양을 방해하는 갑작스런 밀도 감소 현

상이나 빈번하고 급격한 밀도 변화 현상은 관찰할 수 없었다. 그러나, RPGI의 분석 결과 *D. celebensis*가 가장 빠른 밀도 증식을 나타내는 염분 배양 환경은 20 ppt임을 알 수 있었다. 20 ppt에서 *D. celebensis*는 실험 개시시의 접종 밀도를 RPGI값 1이라고 하였을 때, 16일간의 배양 종료시 RPGI값은 20.3으로 20배 이상의 빠른 증식이 관찰되었다 (Fig. 2).

16일간의 배양기간 중 2일 간격으로 급이 후 잔존 먹이량 (RCN: Remaining Cell Numbers/mL)의 결과를 분석하면 10 ppt, 15 ppt, 25 ppt, 30 ppt의 염분 배양 환경하에서는 20 ppt의 종 보존 배양 환경에 비교하여 매우 유사한 속도의 섭이 패턴이 관찰되었다. 그러나, 5 ppt, 40 ppt, 45 ppt에서는 앞에서의 섭이 패턴에 비교하여 비교적 경사도가 낮은 섭이 패턴이 관찰되었다. 특히, 0 ppt에서는 실험구 중의 *D. celebensis* 전 개체가 사망한 것으로 보아 *D. celebensis*는 0 ppt의 염분 배양 환경에서는 거의 섭이 활동을 하지 않은 것으로 판단된다 (Fig. 3).

고 찰

*D. celebensis*는 매우 희귀한 동물플랑크톤으로서 분류학적으로도 최근 재확립 보고 (Korovchinsky, 1989; 1993) 되었으며 단성생식 (처녀생식)에 의해서 증식하는 기수산 물벼룩의 일종이다 (Shrivastava et al., 1999). 단성생식에 의하여 증식이 가능하다는 것은 양성생식의 생활사를 취하는 다른 동물 플랑크톤에 비교하여 비교적 배양이 쉽다는 장점이 있다. 대표적인 예로는 수산 증양식 분야에서 초기 먹이생물로서 널리 이용되고 있는 *Brachionus*속의 rotifer를 예로 들 수 있는데 (Fukusho and Hirayama, 1992), 이러한 생물학적 특성 때문에 대량 배양 (Hirayama, 1985)과 고밀도 배양 (Yoshimura et al., 1997)이 가능하여 지금은 전세계의 해산 어종묘 생산 시설에서 없어서는 안될 중요한 동물 먹이생물로서 이용되고 있다.

오늘날 해산어의 종묘 생산 과정에서 부화 직후 어린 자어의 초기 먹이생물로 널리 이용되고 있는 rotifer도 처음 분리 배양된 곳은 염분 농도 2 ppt 전후의 뱀장어 양만장이었다. 뱀장어 양만장에서 대발생하여 물만들기를 방해하는 해적 생물로서 널리 알려진 rotifer가 염분 농도에 광범위하게 적응 가능한 것이 관찰된 이후 해산어의 먹이로서 해수에의 순치가 시도되었으며, 그리고 해수 순치 후 배양에 성공 (Ito, 1960)된 rotifer가 오늘날 해산 자어의 초기 먹이생물로서 이용 가능하게 되었다.

한편, 이 연구에서 배양의 안정도를 평가하기 위한 RPGI의 계산 결과에서 16일간의 배양 기간 중 갑작스럽게 배양 밀도가 감소하거나 RPGI값의 변동이 심한 경우는 관찰할 수 없었다. 뿐만 아니라 전 실험 개체가 실험 개시 직후 사망한 0 ppt의 염분 배양 조건을 제외한 그 외의 다른 실험 염분 농도 구간에서 안정된 대수 증식 양상이 관찰되어 *D. celebensis*는 염분 농도의 변화에 매우 광범위한 적응 내성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 아울러 이러한 현상은 잔존 먹이량의 관찰에서도 마찬가지로의 결과가 관찰되었는데 0 ppt를 제외한 그 외의 전 실험 염분 농도에서 *D. celebensis*의 섭이 행동이 관찰되었다. 그러나, RPGI와 잔존먹이량 (RCN)의

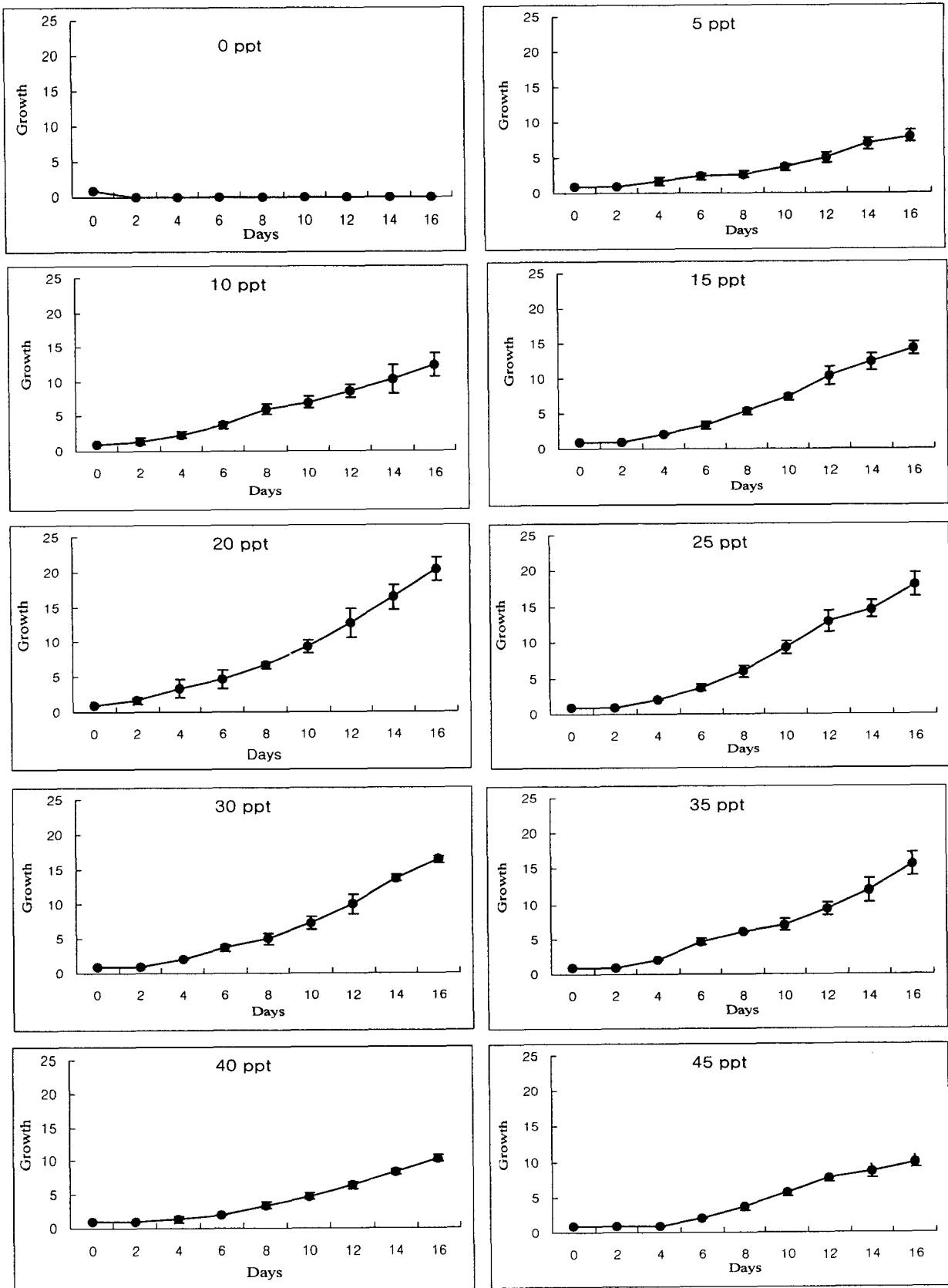


Fig. 1. Growth (numbers/10 mL) of the estuarine cladoceran *Diaphanosoma celebensis* at different salinities.

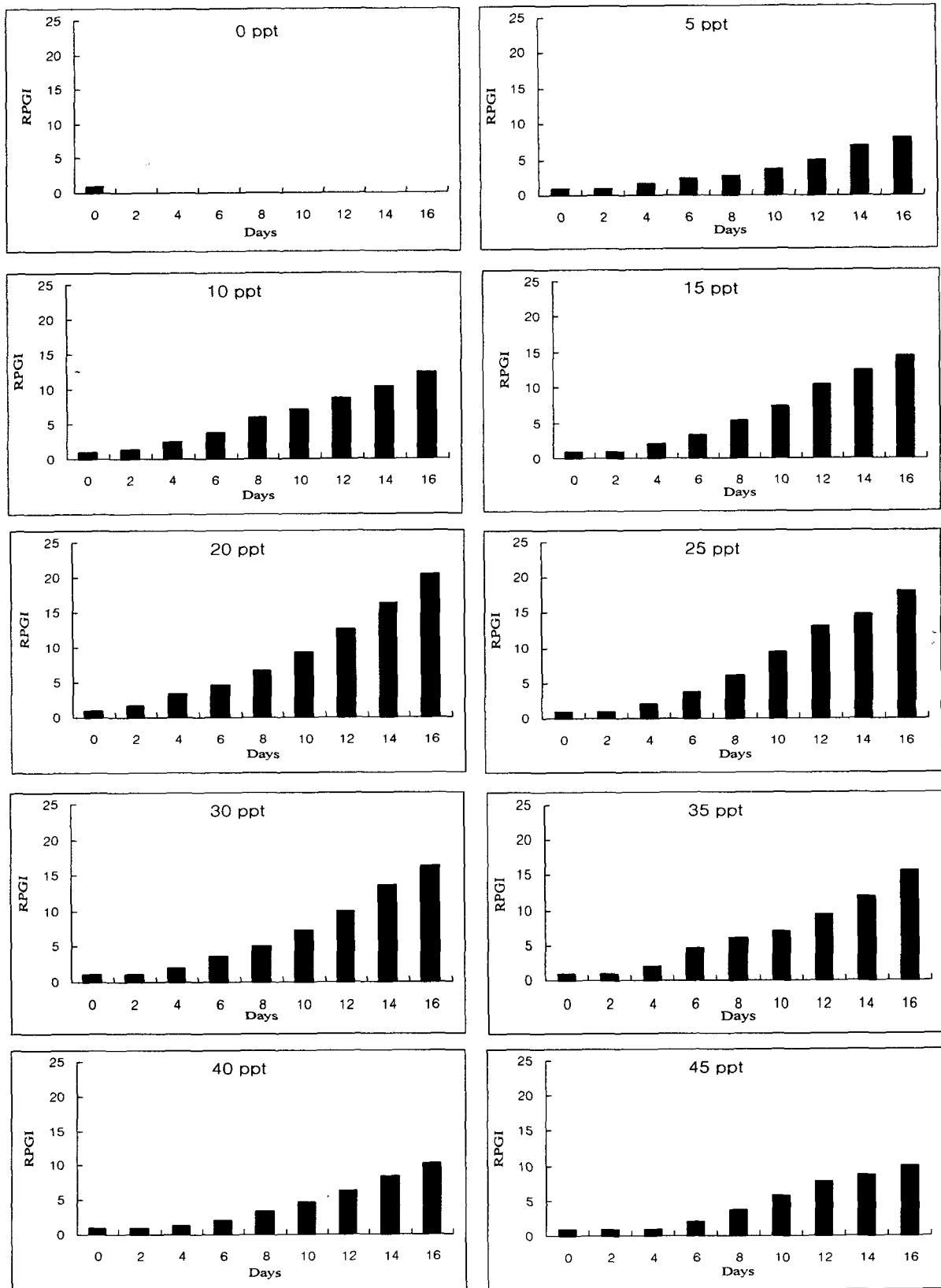


Fig. 2. Changes in relative population growth index (RPGI) during the culture of the estuarine cladoceran *Diaphanosoma celebensis* at different salinities.

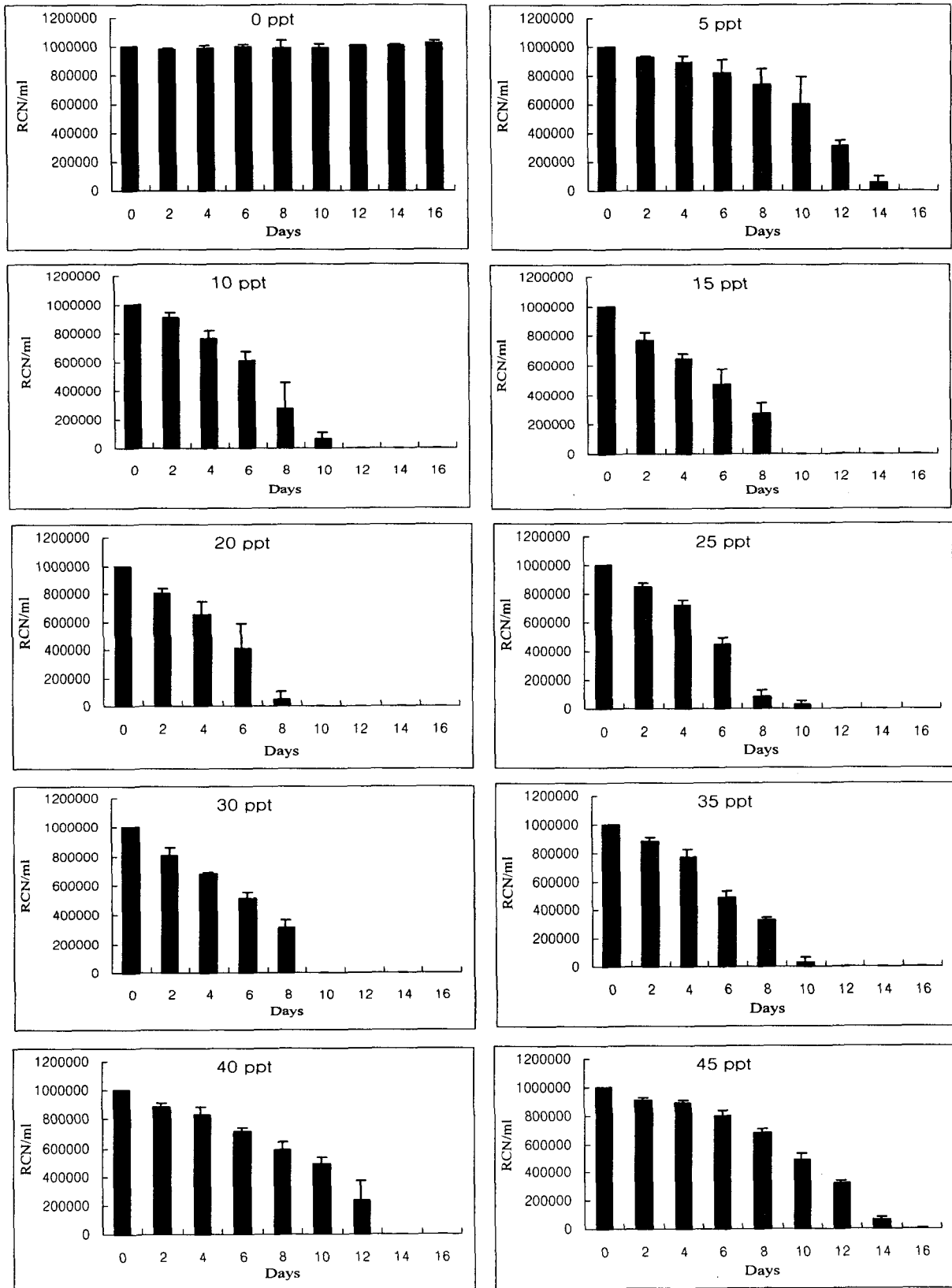


Fig. 3. Remaining cell numbers (RCN) of the food *Nannochloropsis oculata* in culture vessels after consumed by the estuarine *Diaphanosoma celebensis* at different salinities.

관찰 결과 20 ppt를 중심으로 저염분 또는 고염분으로 갈수록 RPGI의 경사도는 완만하여지고 잔존 먹이량 (RCN)의 농도도 높아지는 것을 알 수 있었다. 결국 *D. celebensis*의 배양에 있어서 배양 가능한 염분 환경은 매우 광범위하며 염분 농도 25 ppt 전후의 조건에서 가장 좋은 증식 (growth)과 안정된 증식 (RPGI) 그리고 높은 섭이 행동 (RCN)이 관찰됨을 알 수 있었다.

이 연구에서 *Artemia*의 대체 먹이생물로 이용하고자 하는 *D. celebensis*는 0 ppt를 제외한 광범위한 염분 농도에서 생존 및 증식이 관찰되었으며, 순치 과정을 거치면서 생존된 *D. celebensis*의 개체를 배양 초기 생물로 이용한다면 이 연구의 결과에서 알 수 있듯이 매우 광범위한 염분 농도에서도 손쉽게 안정된 증식이 가능하며 특히 15~35 ppt의 염분 배양 조건하에서는 먹이생물로 이용 가능할 정도의 높은 증식이 가능한 것으로 나타났다.

이상의 연구 결과를 지금까지 발표된 관련 보고와 종합하여 정리하여 보면, *D. celebensis*는 단성생식법으로 증식이 가능하고 (Shrivastava et al., 1999) 광범위한 염분 농도에서도 생존은 물론 증식이 관찰될 정도로 강한 종임을 알 수 있었다 (Segawa and Yang, 1987). 더욱이 대량 배양의 가능성도 확인되었고 (Jung et al., 1999) 동남아시아 지역에서는 농어류 (Chen et al., 1977) 및 능성어류 (de la Pena et al., 1998)와 같은 해산어의 종묘 생산 과정에서 *Artemia*의 대체 먹이생물로 이용되고 있다. 그러므로 기수산 물벼룩 *D. celebensis*는 해산어의 종묘 생산 과정에서 *Artemia*의 대체 먹이생물로서 광범위한 염분 농도하에서 비교적 손쉽게 배양 가능할 것으로 판단된다.

요 약

이 연구에서는 해산어의 종묘 생산 과정에서 rotifer의 다음 단계 먹이생물로 이용되고 있는 *Artemia*의 대체 먹이생물로서 *Diaphanosoma celebensis*의 배양 환경 중 염분 농도가 미치는 영향을 검토하였다.

염분 농도 0 ppt에서 45 ppt 사이에서 5 ppt 간격으로 염분 조정된 10단계의 조건하에서 *D. celebensis*의 증식 밀도, 안정배양 가능 정도 (RPGI: Relative Population Growth Index) 그리고 먹이섭이력 (RCN; Remaining Cell Numbers)을 비교 검토하였다.

그 결과, 염분 농도 0 ppt에서 45 ppt까지 10단계의 염분 배양 환경하에서 가장 높은 증식 밀도, 안정 배양도 (RPGI) 그리고 양호한 섭이력 (RCN)이 관찰된 실험구는 염분 농도 20 ppt였으며, 15~35 ppt의 염분 배양 환경하에서도 비교적 안정적인 배양 결과가 관찰되었고 20 ppt를 중심으로 저염분 또는 고염분 배양 조건으로 갈수록 증식, RPGI 그리고 RCN은 저하되는 경향이 뚜렷하였다. 그리고 염분 농도 0 ppt에서는 실험 개시 직후 전 개체가 사망하였다.

이 연구 결과 *D. celebensis*는 해산어의 종묘 생산 과정에서 *Artemia*의 대체 먹이생물로 광범위한 염분 농도 범위하에서 비교적 손쉽게 배양 가능할 것으로 판단되었다.

감사의 글

이 연구는 1999년 한국 학술진흥재단의 연구 지원에 의하여 수행되었음.

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* (Forsk.) in Singapore. J. Pri. Ind., 5, 1~21.
- de la Pena, M.R., A.C. Fermin and D.P. Lojera. 1998. Partial replacement of *Artemia* sp. by the brackishwater cladoceran, *Diaphanosoma celebensis* (Stingelin), in the larval rearing of sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Isr. J. Aquacult. Bamidgheh, 50, 25~32.
- Fukusho, K. and K. Hirayama. 1992. The first live feed-*Brachionus plicatilis*. The Asian Interchange Program. The Oceanic Institute of Hawaii University. 144p.
- 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.
- Ito, T. 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller in the seawater. Rep. Fac. Fish. Mie Pref. Univ., 3, 708~740.
- Jung, M.-M., A. Hagiwara and K. Hirayama. 1997. Interspecific interactions in the marine rotifer microcosm. Hydrobiol., 358, 121~126.
- Jung, M.-M. and S. Rho. 1998. Combination culture of rotifer *Brachionus rotundiformis* and copepod *Apocyclops* sp. J. Aquacult., 11, 449~455.
- Jung, M.-M., H.-S. Kim and S. Rho. 1999. Selection of culture scale for stable culture of an estuarine cladoceran *Diaphanosoma celebensis*. J. Korean Fish. Soc., 32, 466~469.
- Jung, M.-M., H.-S. Kim, S. Rho, I.F.M. Rumengan and A. Hagiwara. 2000. The culture of free-swimming copepod species *Apocyclops* sp. (copepod: cyclopoida) by baking yeast. J. Aquacult., 12, 303~307.
- Korovchinsky, N.M. 1989. Redescription of *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 (Crustacea, Cladocera). Hydrobiol., 184, 7~22.
- Korovchinsky, N.M. 1993. New records of *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 (Crustacea: Daphniiformes: Sididae) in tropical Asia with remarks on the morphological variability and biology of the species. Rev. Hydrobiol. Trop., 26, 119~125.
- 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.
- Shrivastava, Y.G., G. Mahambre, C.T. Achuthankutty, B. Fernandes, S.C. Goswami and M. Madhupratap. 1999. Parthenogenetic reproduction of *Diaphanosoma celebensis* (Crustacea: Cladocera). Effect of algae and algal density on survival, growth, life span and neonate production. Mar. Biol., 135, 663~670.
- Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, C. Kitajima and A. Hagiwara. 1997. Recent development of a high density mass culture system for the rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff. Hydrobiol., 358, 139~144.

2001년 5월 23일 접수

2001년 11월 8일 수리