

고밀도 배양에 있어 먹이종류와 공급량 및 vitamin B₁₂ 첨가에 따른 담수산 rotifer (*Brachionus calyciflorus*)의 성장

이균우* · 박흥기
강릉대학교 해양생명공학부

Effects of Food and Vitamin B₁₂ on the Growth of a Freshwater Rotifer (*Brachionus calyciflorus*) in the High Density Culture

Kyun Woo LEE* and Heum Gi PARK

Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

This study investigated the effects of food type (condensed freshwater *Chlorella*, dried *Chlorella*, dried *Spirulina*, dried *Schizochytrium*, baker's yeast and ω -yeast) and amount, and supplementation of vitamin B₁₂ on the growth of freshwater rotifer (*Brachionus calyciflorus*) in high density culture. Growth of rotifers fed condensed freshwater *Chlorella* was the highest and its density ranged 7.65-8.14×10³ inds./mL. The primary lipid acids of rotifers fed condensed freshwater *Chlorella* were linoleic and linolenic, and their amount (% of total fatty acids) were 48.8% and 26.8%, respectively. This suggests that condensed freshwater *Chlorella* would be an effective diet for high quality and quantity rotifers, which in turn serve as live food for freshwater fish larvae. Growth rate of rotifers with *Chlorella* supplementation increased as amount of supplementation increased up to 1.5 and 2.5 mg at 28 and 32°C, respectively. However, undissolved ammonia toxicity and packing volume of *Chlorella* in culture medium, reached the optimal conditions for the stable and effective cultivation of rotifers when amount of condensed freshwater *Chlorella* was 1.5 mg in dry weight per 1,000 rotifers at 28°C and 32°C. Growth of rotifers in condensed freshwater *Chlorella* with vitamin B₁₂ supplementation was significantly higher than that of rotifers without supplementation. However, no significant difference was found among the different concentrations of vitamin B₁₂. Therefore, vitamin B₁₂ could improve the growth of rotifers (*B. calyciflorus*).

Key words: *Brachionus calyciflorus*, High density culture, Condensed freshwater *Chlorella*

서 론

담수산 rotifer (*Brachionus calyciflorus*)는 배양이 쉽고 어류 자어의 먹이로 적당한 크기이기 때문에 담수어류의 종묘생산 시기에 초기 먹이생물로 많이 이용되고 있다 (Rico-Martinez and Dodson, 1992; Mitchell, 1986; Lim and Wong, 1997; Dahril, 1997; Awaïss, 1998).

최근 해수산 rotifer (*Brachionus plicatilis*, *Brachionus rotundiformis*)는 배양수조 내에 산소 공급과 pH 조절, 농축 *Chlorella*의 공급, rotifer 배양 시 누적되는 다량의 유기물 찌꺼기 제거를 위한 filter의 사용 등으로 고밀도 배양이 가능해졌고 (Fu et al., 1997; Yoshimura et al., 1997; Park et al., 1999a, b), 이에 따라 현재 국내 일부 해산어 종묘배양장에서 고밀도 배양시스템을 사용하여 해수산 rotifer를 대량으로 생산하고 있다.

일반적으로 rotifer는 먹이로 공급한 미세 조류의 종류에 따라 번식률이 다르게 나타나며 (Snell et al., 1983), rotifer 먹이 내의 vitamin B₁₂ 함량도 rotifer의 성장에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다 (Yu et al., 1988, 1989; Maruyama and

Hirayama, 1993; Maruyama et al., 1997). 따라서 담수어 종묘생산을 위한 담수산 rotifer의 고밀도 배양 시, 안정적인 rotifer의 양적 및 질적 확보를 위해서는 이들에게 공급되는 적합한 먹이의 규명과 더불어 rotifer 성장을 위한 vitamin B₁₂의 최적 첨가량 규명이 요구된다.

한편, 담수산 rotifer (*B. calyciflorus*)는 배양수 내에 먹이가 풍부할지라도 과량의 먹이를 섭취하지 않는다 (Awaïss et al., 1992). 또한 Park et al. (1999a)의 연구에서 rotifer 고밀도 배양에서의 생산 경비 중, 먹이로 사용되는 담수산 농축 *Chlorella*가 경비의 약 87%로 대부분을 차지하였다. 그러므로 rotifer 고밀도 배양에 있어 적정 먹이공급량을 초과할 경우 먹이낭비는 물론 배양수의 오염으로 인한 성장저하로 배양기간의 단축을 가져올 수 있다. Yoshimatsu et al. (1997)은 먹지 않고 남은 먹이는 고밀도 배양 시, rotifer의 수확부터 자어로의 공급에 이르는 일일 운영을 방해하는 찌꺼기 형성의 원인이 된다고 보고하였다. 따라서 rotifer의 고밀도배양에서 *Chlorella*의 최적량 공급은 경제적 측면에서 매우 중요하다고 할 수 있다. 본 연구는 담수산 rotifer (*B. calyciflorus*)의 고밀도 배양 시, 적합한 먹이종류와 vitamin B₁₂의 첨가량 및 먹이의 적정 공급량에 대한 *B. calyciflorus*의 성장에 미치는 영향을 연구하였다.

*Corresponding author: hongch@pknu.ac.kr

재료 및 방법

실험에 사용된 rotifer는 담수산인 *Brachionus calyciflorus*로 1995년 전라북도 군산시 옥구군의 인근 메기 양식장에서 분리한 strain을 이용하였다 (Hur and Park, 1996). 실험수조는 6 L 원형수조 (배양수 5 L)로 최초 rotifer 1,000 개체/mL 내외로 접종하였으며 산소발생기 (NIDEK Medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 사용하여 각 수조에 0.3 VVM (통기량/배양수량/분)으로 DO가 5 ppm 이상 되게 공급하였다. 수조내의 부유물질을 제거하기 위해 filter mat (10×15×0.5 cm, KS 185N, Aqua Culture System, Japan) 1장을 설치하였으며 1일 2회 세척해 주었다. 수온조절을 위해 각 배양수조를 1 KW 히터로 조절, 유지되는 water bath (100 L)에 수용하였으며, 먹이공급은 정량펌프 (Eyela, Model MP-N)를 사용하여 rotifer 밀도측정 후 09:00와 21:00에 하루 두 번 나누어 자동 연속 공급하였다. rotifer의 밀도측정은 입체현미경하에서 rotifer 개체밀도가 200 개체/mL 전후로 되도록 희석한 후 3회 계수하였다. 또한 배양수의 용존산소와 pH, NH₃-N을 측정하기 위해 산소측정기 (YSI, Model 57)와 pH, NH₃-N 측정기, NH₃-N 측정기 (Orion, Model 920A)를 이용하였다.

먹이종류 및 vitamin B₁₂ 첨가에 따른 rotifer (*B. calyciflorus*)의 성장

최초 rotifer 1,000 개체/mL 내외로 접종하여 수온 28°C에서 실시하였다. 먹이는 담수 농축 *Chlorella* (Daesang Co. Ltd.), 건조 *Chlorella* (Daesang Co. Ltd.), 건조 *Spirulina* (Salt Creek, Inc. USA), 건조 *Schizochytrium* (Abank Co. Ltd.), 빵효모 (Jenico Co. Ltd.), 유지효모 (Ewha oil & fat industry Co. Ltd.)를 사용하였다. 농축 *Chlorella*와 건조된 먹이는 공급하기 전, 전기믹서를 사용하여 증류수와 혼합하였으며 냉장고(4°C)에 보관하면서 하루에 rotifer 1,000 개체 당 *Chlorella* 건조중량 1.07 mg을 기준으로 공급하였다. 실험기간은 48시간으로 하였으며, 실험 종료후 각 실험구 별로 rotifer를 깨끗이 세척하여 수확한 후 -75°C에서 보관하였다. 다시 냉동된 시료를 동결건조 후 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 지질을 추출하여 Lee (1997)의 방법으로 14% BF₃-methanol (Sigma, USA)로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (HP-INNOWax, 30 m×0.32 mm×0.5 μm, USA)이 장착된 gas chromatography (Shimadzu, GC-17A, Japan)로 지방산을 분석하였다. 표준 지방산으로 12:0, 13:0, 14:0, 14:1, 16:1, 17:0, 17:1, 18:0, 18:1, 18:2n-6, 18:3n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, 18:4n-6, 20:0, 20:1, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:0, 22:1, 22:4n-3, 22:5n-3, 22:6n-3 및 24:1 (Sigma, USA)을 사용하였다. Carrier gas는 helium (30 mL/min)을 사용하였으며, oven 온도는 170°C에서 225°C까지 1°C/min 증가시켰고, injector의 온도는 250°C, detector (FID) 온도는 270°C로 설정하였다.

Vitamin B₁₂ 첨가에 따른 *B. calyciflorus*의 성장실험은 수온 28°C에서 vitamin B₁₂가 첨가되지 않은 담수산 농축 *Chlorella*

에 vitamin B₁₂를 0 ppm, 0.75 ppm, 1.5 ppm, 3 ppm, 6 ppm으로 첨가하여 각 실험구에 rotifer 1,000 개체 당 농축 *Chlorella* 0.7842 mg/day로 일일 2회 나누어 공급하였으며 rotifer의 초기 접종밀도는 1,000 개체/mL로 하였다.

먹이량에 따른 rotifer (*B. calyciflorus*)의 성장

최초 rotifer 3,500 개체/mL내외로 접종하여 *B. calyciflorus*의 최적 성장수온인 (Park, 1998; Lee et al., 2001) 28°C, 32°C에서 각각 24시간 동안 배양하였다. 먹이는 담수 농축 *Chlorella*로 rotifer 1,000 개체 당 건조 중량 0.5 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg, 2.5 mg, 3.0 mg으로 각각 자동 연속 공급하였으며, rotifer에 의해 섭취되지 않고 남은 여분의 *Chlorella*는 rotifer 배양수 10 mL를 취하여 원심 분리 (VS-5000N, vision scientific)한 후 부피를 측정하였다. Rotifer의 성장률 (Specific growth rate, r)은 Rico-Martinez and Dodson (1992)의 식에 의해 계산되었다 [$r = (1/T) \ln(N_T/N_0)$ (T =접종 이후 rotifer가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수; N_T = T days의 rotifer 최고밀도; N_0 =rotifer 접종밀도)].

통계처리

실험 결과는 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리 평균간의 유의성 ($P < 0.05$)을 SPSS (SPSS Inc., 2000) program (Ver. 10.0)으로 검정하였으며, 또한 rotifer의 일일성장률과 먹이공급량과의 회귀관계를 SPSS program을 사용하여 2차식으로 수식화하였다.

결 과

먹이종류 및 vitamin B₁₂ 공급에 따른 rotifer (*B. calyciflorus*)의 성장

고밀도 배양에서 먹이 종류에 따른 담수산 rotifer의 성장 (Fig. 1)은 실험 I, II에서 실험종료 시에 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급한 실험구에서 $7.65-8.14 \times 10^3$ 개체/mL로 가장 높게 나타났으며 다음으로 유지효모를 공급한 실험구가 $2.53-3.67 \times 10^3$ 개체/mL로 나타났다. 배양시간 경과에 따른 배양수내의 pH 변화를 보면 유지효모 공급구를 제외한 나머지 실험구는 대체적으로 증가하는 경향을 보였고, 건조 *Spirulina*와 건조 *Chlorella* 공급구에서 실험 종료 시 8.46-8.48로 농축 *Chlorella*, 건조 *Schizochytrium*, 유지효모보다 높게 나타났다. 배양수내의 NH₃-N 변화는 모든 실험구에서 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 보였고, 농축 *Chlorella*, 건조 *Chlorella*, 건조 *Spirulina* 공급구는 실험 종료 시 28.8-46.4 ppm으로 높게 나타났으나 건조 *Schizochytrium*과 유지효모 공급구에서는 2.5-6.4 ppm으로 다른 실험구에 비해 낮게 나타났다.

여섯 종류의 먹이로 배양된 각 rotifer의 지방산 분석결과 (Table 1), 담수산 농축 *Chlorella*로 배양된 rotifer의 18:2n-6과 18:3n-3이 각각 48.8%와 26.8%로 높은 경향을 보였다.

Rotifer 고밀도 배양에서 vitamin B₁₂의 첨가량에 따른 rotifer

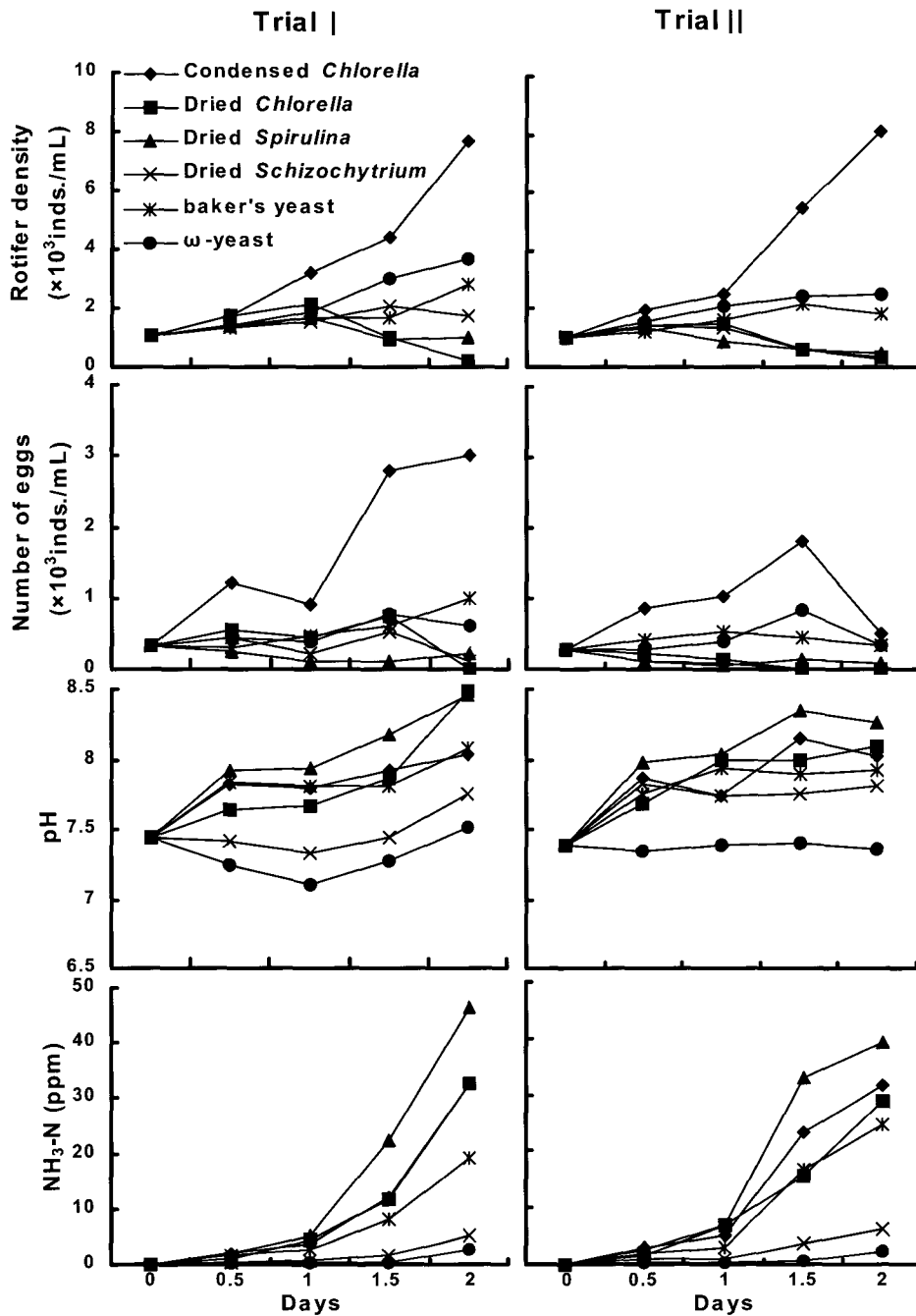


Fig. 1. Population growth of *Brachionus calyciflorus* and changes of pH and $\text{NH}_3\text{-N}$ in the culture medium with the different diets.

의 개체수 성장은 Fig. 2와 같다. Vitamin B_{12} 의 첨가량에 따른 rotifer의 개체수 성장을 보면 배양 2.5일째 3 ppm 공급구가 13,125 개체/mL로 가장 높게 나타났지만 0.75 ppm, 1.5 ppm, 6 ppm 공급구와 유의적인 차이는 보이지 않았고 ($P>0.05$) vitamin B_{12} 를 첨가하지 않은 대조구는 2.5일째 7,550 개체/mL로 vitamin B_{12} 를 첨가한 실험구와 차이를 보였다 ($P<0.05$). Rotifer의 개체수가 증가함에 따라 rotifer의 포란수도 증가하

였는데, 최고밀도는 vitamin B_{12} 를 3 ppm을 공급한 실험구에서 가장 높게 나타났지만 포란수는 1.5 ppm을 공급한 실험구가 다른 실험구에 비해 가장 높게 나타났다. Rotifer 성장에 따른 배양수의 환경변화에서 pH는 배양시간이 경과함에 따라 7.6에서 8로 서서히 증가하는 경향을 보였다. $\text{NH}_3\text{-N}$ 농도는 3 ppm의 vitamin B_{12} 첨가한 실험구에서 2.5일째 3.8 ppm로 가장 높게 나타났으나 다른 실험구와는 차이를 보이지 않았다.

Table 1. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of *Brachionus calyciflorus* fed the different sorts of diets

Fatty acid	Diets					
	Condensed <i>Chlorella</i>	Dried <i>Chlorella</i>	Dried <i>Schizochytrium</i>	ω -yeast	Baker's yeast	Dried <i>Spirulina</i>
14:0	1.7	1.8	8.1	6.4	2.0	6.5
16:0	-	23.6	34.7	23.6	8.5	38.9
16:1	0.9	0.9	5.3	24.8	39.8	9.8
18:0	5.5	5.0	5.6	4.9	3.9	8.1
18:1	3.4	1.3	7.2	22.5	34.5	9.5
18:2n-6	48.8	58.3	13.8	5.3	5.3	-
18:3n-3	26.8	1.3	-	0.8	-	-
20:1	2.3	0.7	2.7	2.6	3.7	10.2
20:2n-6	-	4.0	0.7	-	-	3.0
20:4n-6	1.1	1.5	4.1	1.1	-	11.2
20:5n-3	0.9	-	1.9	2.7	0.5	-
22:5n-3	-	-	0.9	-	-	-
22:6n-3	0.4	-	12.2	2.3	-	-
Others	8.2	1.6	2.8	3.0	1.8	2.8
EPA+DHA	1.3	0.0	14.2	5.0	0.5	0.0
n-3 HUFA*	1.3	0.0	15.1	5.0	0.5	0.0

*HUFA, highly unsaturated fatty acid (C \geq 20).
-, trace amount (\leq 0.05).

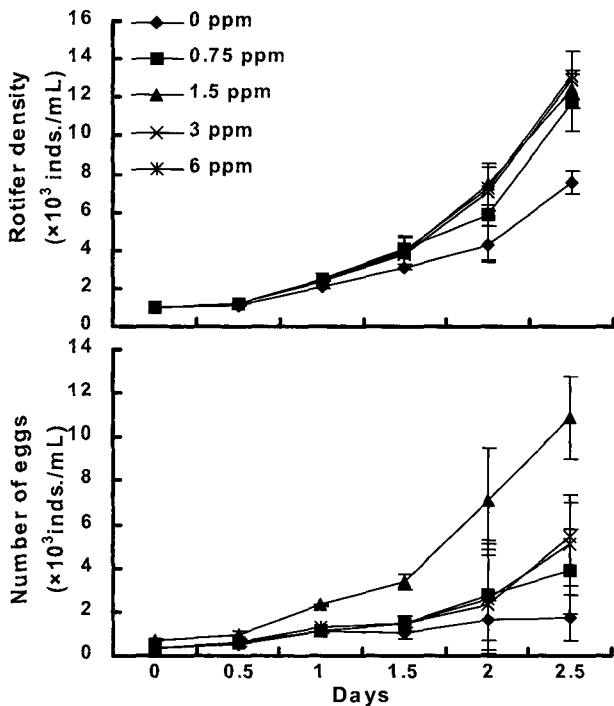


Fig. 2. Population growth of *Brachionus calyciflorus* with the supplementation of different vitamin B₁₂ concentrations in the condensed *Chlorella*.

먹이량에 따른 rotifer (*B. calyciflorus*)의 성장

수온 28°C에서 공급한 먹이량에 따른 *B. calyciflorus*의 성장과 배양수 환경, 여분의 *Chlorella*량을 Table 2에 나타내었다. 먼

지, 공급한 먹이량에 따른 rotifer의 최고밀도는 *Chlorella* 2.0 mg을 공급한 구에서 11.1×10^3 개체/mL로 가장 높게 나타났으나 1.5 mg, 2.5 mg, 3.0 mg을 공급한 구와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 ($P > 0.05$). Rotifer의 성장률은 *Chlorella* 2.0 mg을 공급한 구에서 1.13으로 가장 높게 나타났으나 1.0 mg, 1.5 mg, 2.5 mg, 3.0 mg을 공급한 구와는 유의적인 차이를 보이지 않았으며 ($P > 0.05$), 공급 먹이량과 성장률과의 관계식은 $y = -0.2039x^2 + 0.9660x - 0.0061$ ($R^2 = 0.782$, $P < 0.05$)로 나타났다 (Fig. 3). 배양수 내 여분의 *Chlorella*는 3.0 mg 공급구에서 0.1583 mL/10 mL로 가장 많이 남았고 먹이 공급량이 적을수록 적게 남는 경향을 보였다. 각 실험구 최고밀도에서 NH₃-N의 농도는 1.5 mg을 공급한 구가 12.1 ppm으로 가장 높게 나타났지만 실험구 사이에 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($P > 0.05$).

수온 32°C에서 공급한 먹이량에 따른 *B. calyciflorus*의 성장과 배양수 환경, 섭취되지 않고 남은 먹이량을 Table 3에 나타내었다. 공급한 먹이량에 따른 *B. calyciflorus*의 최고밀도는 먹이공급량이 많을수록 높게 나타나는 경향을 보여 3.0 mg 공급구에서 23.9×10^3 개체/mL로 높게 나타났지만 2.0 mg, 2.5 mg을 공급한 구와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 ($P > 0.05$). 또한 rotifer의 성장률은 *Chlorella* 3.0 mg을 공급한 구에서 1.93으로 가장 높게 나타났으나 2.0 mg, 2.5 mg을 공급한 구와는 차이를 보이지 않았으며 ($P > 0.05$), 공급 먹이량과 성장률과의 관계식은 $y = -0.2168x^2 + 1.2411x + 0.1370$ ($R^2 = 0.97$, $P < 0.05$)로 나타났다 (Fig. 3). 섭취하지 않고 남은 초과공급된 먹이량은 3.0 mg 공급구에서 0.0208 mL/10 mL로 가장 많이

Table 2. Growth of freshwater rotifer (*Brachionus calyciflorus*) fed on the different amount of *Chlorella* at 28°C¹

	Amount of <i>Chlorella</i> (dry weight mg)/1,000 rotifers					
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Initial density ($\times 10^3$ inds./mL)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Final density ($\times 10^3$ inds./mL)	5.4 \pm 0.1390 ^a	6.6 \pm 0.56 ^a	9.6 \pm 1.52 ^b	11.1 \pm 0.27 ^b	10.7 \pm 0.78 ^b	10.4 \pm 0.74 ^b
Specific growth rate	0.41 \pm 0.0249 ^a	0.78 \pm 0.2491 ^{ab}	0.98 \pm 0.1598 ^b	1.13 \pm 0.0248 ^b	1.09 \pm 0.0734 ^b	1.08 \pm 0.0846 ^b
Packed volume of <i>Chlorella</i> (mL/10 mL) ²	0.0002 \pm 0.0000 ^a	0.0013 \pm 0.0004 ^a	0.0021 \pm 0.0004 ^{ab}	0.0067 \pm 0.0017 ^{bc}	0.0096 \pm 0.0012 ^c	0.1583 \pm 0.0017 ^d
NH ₃ -N (ppm)	9.0 \pm 0.01 ^a	8.1 \pm 0.54 ^a	12.1 \pm 3.13 ^a	11.9 \pm 1.16 ^a	11.0 \pm 0.88 ^a	9.0 \pm 2.66 ^a

¹Values (mean \pm s.e. of replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

²Packed volume of *Chlorella* when culture medium of rotifer was centrifuged.

Table 3. Growth of freshwater rotifer (*Brachionus calyciflorus*) fed on the different amount of *Chlorella* at 32°C¹

	Amount of <i>Chlorella</i> (dry weight mg)/1,000 rotifers					
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Initial density ($\times 10^3$ inds./mL)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Final density ($\times 10^3$ inds./mL)	7.1 \pm 0.00 ^a	10.5 \pm 0.12 ^a	16.7 \pm 0.89 ^b	19.6 \pm 1.78 ^{bc}	19.6 \pm 2.63 ^c	23.9 \pm 0.28 ^c
Specific growth rate	0.71 \pm 0.0057 ^a	1.11 \pm 0.0028 ^b	1.59 \pm 0.0298 ^c	1.73 \pm 0.0970 ^{cd}	1.85 \pm 0.1241 ^d	1.93 \pm 0.0177 ^d
Packed volume of <i>Chlorella</i> (mL/10 mL) ²	0.0001 \pm 0.0001 ^a	0.0001 \pm 0.0001 ^a	0.0003 \pm 0.0001 ^a	0.0005 \pm 0.0002 ^{ab}	0.0011 \pm 0.0025 ^b	0.0208 \pm 0.0004 ^c
NH ₃ -N (ppm)	9.9 \pm 3.13 ^a	15.9 \pm 2.94 ^a	20.6 \pm 3.95 ^a	41.2 \pm 6.55 ^b	23.0 \pm 1.24 ^a	21.7 \pm 4.37 ^a

¹Values (mean \pm s.e. of replication) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ($P < 0.05$).

²Packed volume of *Chlorella* when culture medium of rotifer was centrifuged.

남았다 ($P < 0.05$). 각 실험구 최고밀도에서 NH₃-N의 농도는 2.0 mg을 공급한 구가 41.2 ppm으로 가장 높게 나타났고 ($P < 0.05$) 나머지 실험구는 차이가 없었다.

고찰

먹이 종류에 따른 *B. calyciflorus*의 고밀도 배양에서 담수산 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급하였을 때 다른 5종류(건조 *Chlorella*, 건조 *Spirulina*, 건조 *Schizochytrium*, 빵효모, 유지효모)의 먹이에 비해 성장이 우수하였다. Hirayama and Nakamura (1976)은 rotifer 대량배양을 위한 먹이로 *Chlorella* 분말이 효과적이라고 보고하였다. 그러나 이와 반대로 본 실험에서는 타 실험구에 비해 낮은 성장을 보여 고밀도 배양에 있어 배양먹이로 적합하지 않은 것으로 판단되며 이는 rotifer가 먹이섭취에 있어서 강한 선택성을 가지며 그들은 죽은 먹이생물보다 더 활동적인 미세조류같은 살아 있는 먹이생물

을 섭취하기 때문인 것으로 판단된다 (Yoshimatsu et al., 1997). 한편, Bower and Bidwell (1978)와 Yu and Hirayama (1986)은 온도도와 pH가 증가함에 따라 NH₃-N의 농도가 증가한다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서도 건조 *Schizochytrium* 공급구와 유지효모 공급구의 pH가 다른 실험구에 비해 낮게 유지되었으므로 NH₃-N 농도 또한 2.5-6.4 ppm으로 낮게 나타난 것으로 판단된다. 그러나 rotifer의 개체수가 NH₃-N 농도가 낮음에도 불구하고 *Chlorella* 공급구보다 낮게 나타난 것으로 보아 다른 증식억제요인이나 rotifer의 먹이에 대한 소화력, rotifer 증식에 필요한 영양소의 결핍에 문제가 더 있을 것으로 생각되고 이에 따른 보충적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

담수어류인 무지개 송어와 연어과 어류는 그들의 성장과 생존을 위해 필수지방산으로 n-3계의 linolenic acid (18:3n-3)를 요구하며 잉어, 뱀장어 및 연어 (chum salmon)는 효율적인 성장을 위해 linolenic acid (18:3n-3) 뿐만 아니라 linoleic acid

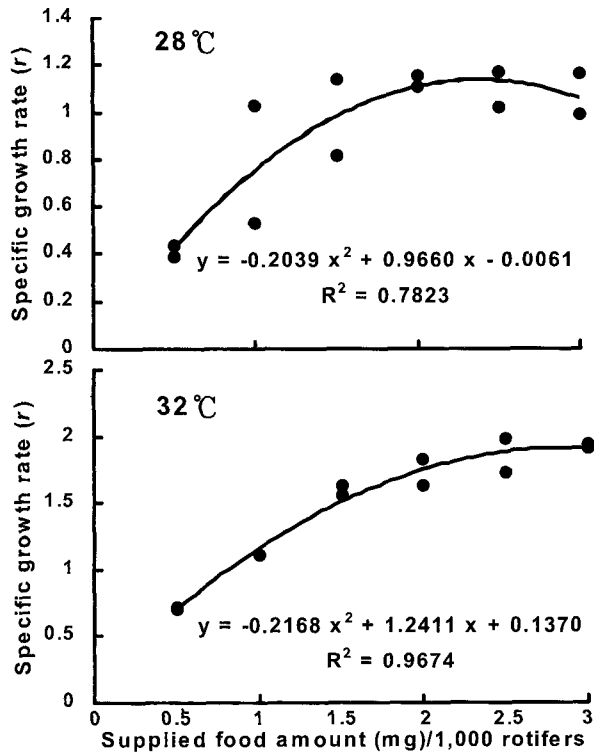


Fig. 3. Second order polynomial regression between specific growth rate (r) and supplied food amount in freshwater rotifer (*Brachionus calyciflorus*).

(18:2n-6)도 요구하는 것으로 알려져 있다 (Watanabe et al., 1983; I ik et al., 1999). 또한 Awaïss et al. (1996)은 담수어류에 있어 중요한 대사 기능을 가지는 DHA는 주로 linolenic acid로부터 합성된다고 보고하였으며, I ik et al. (1999)은 *Tilapia zillii* 자어에게 *Chlorella vulgaris*로 배양한 *B. calyciflorus*를 공급한 결과 *Tilapia zillii* 자어는 linoleic acid와 linolenic acid에서 DHA (22:6n-3)로의 합성이 가능한 것으로 보고하였다. 따라서 Table 1에서, 가장 높은 성장률을 보인 담수산 농축 *Chlorella*를 섭취한 rotifer는 18:2n-6과 18:3n-3이 각각 48.8%와 26.8%로 높은 비율을 보여 직접 담수어류의 먹이로 사용이 가능한 것으로 나타났다.

일반적으로 *Chlorella vulgaris*는 낮은 함량의 vitamin B₁₂를 포함하고 있고 (Maruyama et al., 1997), 배양수로 사용한 수돗물에도 소량의 vitamin B₁₂가 용존되어 있으나 이 농도는 rotifer가 성장하는데 충분하지 않다 (Yu et al., 1989). 따라서 rotifer 성장을 위한 vitamin B₁₂첨가에 대한 많은 연구가 수행되어왔다. 예를 들어, Yu et al. (1988, 1989)은 해수산 rotifer, *B. plicatilis*에게 vitamin B₁₂를 생산하는 박테리아를 먹이로 공급했을 때 높은 성장결과를 보였다. 또한 Maruyama et al. (1997)도 *B. plicatilis*의 성장은 *Chlorella*의 vitamin B₁₂ 함량에 의존하는 것으로 보고하였고 Maruyama and Hirayama (1993)은 *Chlorella*에 4.5 µg/g DW의 vitamin B₁₂를 첨가하여 rotifer

의 성장을 향상시켰다. 따라서 본 연구에서도 vitamin B₁₂를 첨가한 실험구가 첨가하지 않은 실험구보다 담수산 rotifer의 성장이 높게 나타나 vitamin B₁₂가 담수산 rotifer의 성장에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 그러나 vitamin B₁₂의 첨가량에 따라서는 모든 실험구가 유의적인 차이를 보이지 않았기 때문에 최적 vitamin B₁₂ 요구량을 규명하기 위해서 0.75 ppm 이하에서의 보충적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Rotifer 배양에 있어 일반적으로 먹이 농도가 증가됨에 따라 성장률도 증가하지만 rotifer는 낮은 먹이 농도에서 번식을 위한 먹이 사용을 보다 효율적으로 하고 또한 신선한 먹이 사용에 있어 유리하다 (Rico-Martinez and Dodson, 1992). 따라서 본 실험에서 담수산 rotifer 고밀도 배양에서 수온을 28°C로 유지하였을 때 2.0 mg 공급구가 1.13으로 가장 높은 성장률을 보였으나 1.0 mg, 1.5 mg, 2.5 mg, 3.0 mg 공급구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 또한 여분의 *Chlorella*량에서도 0.5 mg 공급구가 가장 적게 남았으나 1.0 mg, 1.5 mg을 공급한 실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았으므로 남은 먹이량이 적고 성장률과 최고밀도도 높으며 NH₃-N의 농도도 8.14 ppm으로 비교적 낮은 1.5 mg/1,000 rotifer를 공급하는 것이 28°C로 유지되는 rotifer 고밀도배양에 있어 가장 경제적이고 안정적인 최적의 먹이량으로 판단된다.

수온 32°C에서 0.5 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg을 공급한 실험구는 남은 먹이량에서 유의적인 차이를 보이지 않았으므로 남은 먹이량이 적고 성장률과 최고밀도도 높은 2.0 mg이 가장 최적의 먹이량으로 판단되지만 배양수 환경면에서 볼 때 2.0 mg을 공급한 구는 NH₃-N의 농도가 41.19 ppm으로 너무 높아 배양의 안정성이 없는 것으로 나타났다. Park et al. (1999a, 2001)에 의하면 *B. rotundiformis*와 *B. calyciflorus*의 성장에 영향을 미치는 NH₃-N의 농도는 16.6-22.6 ppm으로 알려져 있고 Yu and Hirayama (1986)의 연구에서는 rotifer의 급성 독성을 유발하는 NH₃-N의 반수치 농도는 17 ppm이라고 보고하였다. 이 모든 면을 고려할 때 수온 32°C에서의 적정 *Chlorella* 공급량은 1.5 mg/1,000 rotifer으로 하는 것이 가장 경제적이고 안정적인 공급일 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 해양수산부에서 시행한 1998년도 수산특정연구 개발사업과제에 의해 수행된 연구결과이며 연구비를 지원해 주신 해양수산부에 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

- Awaïss, A., P. Kestemont and J.C. Micha. 1992. An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. 1. An eco-physiological approach to nutrition. *Aquaculture*, 105, 325-336.
- Awaïss, A., P. Kestemont and J.C. Micha. 1996. Fatty

- acid profiles of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry diet. *Aquacult. Res.*, 27, 651-658.
- Awaiss, A. 1998. Feeding sequences (rotifer and dry diet), survival, growth and biochemical composition of African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell (Pisces: Clariidae), larvae. *Aquacult. Res.*, 29, 731-741.
- Bower, C.E. and J.P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 35, 1012-1016.
- Dahril, T. 1997. A study of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in Pekanbaru, Riau, Indonesia. *Hydrobiologia*, 358, 211-215.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Folch, J., M. Lees and G.H.S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida and A. Hino. 1997. Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358, 145-151.
- 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.
- Hur, S.B. and H.G. Park. 1996. Size and resting egg formation of Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. calyciflorus*. *J. Aquacult.*, 9, 187-194. (in Korean)
- Işik, O., E. Sarihan, E. Kuşvuran, Ö. Gül and O. Erbatur. 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture*, 174, 299-311.
- Lee, K.W., H.G. Park and S.H. Cho. 2001. Productivity of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* and marine rotifer, *B. rotundiformis* in the semi-continuous high density culture. *J. Kor. Fish. Soc.*, 34, 156-159. (in Korean)
- Lee, S.M. 1997. Effects of dietary lipid source and water temperature on nutrient digestibilities in juvenile and adult Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Kor. J. Anim. Nutr. Feed.*, 21, 381-390. (in Korean)
- Lim, L.C. and C.C. Wong. 1997. Use of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, in freshwater ornamental fish larviculture. *Hydrobiologia*, 358, 269-273.
- Maruyama, I., T. Nakao, I. Shigeno, Y. Audo and K. Hirayama. 1997. Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358, 133-138.
- Maruyama, I. and K. Hirayama. 1993. The culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with *Chlorella vulgaris* containing vitamin B₁₂ in its cells. *J. World Aquacult. Soc.*, 24, 194-198.
- Mitchell, S.A. 1986. Experiences with outdoor semi-continuous mass culture of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Aquaculture*, 55, 289-297.
- Park, H.G. 1998. Growth and production of resting eggs of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas at the different temperatures. *J. Kor. Fish. Soc.*, 31, 779-784. (in Korean)
- Park, H.G., K.W. Lee and S.K. Kim. 1999a. Growth of rotifer by the air, oxygen gas-supplied and the pH-adjusted productivity of the high density culture. *J. Kor. Fish. Soc.*, 32, 757-283. (in Korean)
- Park, H.G., S.K. Kim, K.Y. Park and Y.J. Park. 1999b. High density cultivation of rotifer, *Brachionus rotundiformis* in the different diets. *J. Kor. Fish. Soc.*, 32, 280-283. (in Korean)
- Park, H.G., K.W. Lee, S.H. Cho, H.S. Kim, M.M. Jung and H.-S. Kim. 2001. High density culture of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*. *Hydrobiologia*, 446/447, 369-374.
- Rico-Martinez, R. and S.I. Dodson. 1992. Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture*, 105, 191-199.
- Snell, T.W., 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.
- SPSS Inc. 2000. SPSS Base 7.5 for Window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611.
- Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, 34, 115-143.
- Yoshimatsu, T., H. Imoto, M. Hayashi, K. Toda and K. Yoshimura. 1997. Preliminary results in improving essential fatty acids enrichment of rotifer cultured in high density. *Hydrobiologia*, 358, 153-157.
- 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. *Hydrobiologia*, 358, 139-144.
- Yu, J. and K. Hirayama. 1986. The effect of un-ionized

- ammonia on the population growth of the rotifer in mass culture. Nippon Suisan Gakkashi, 52, 1509-1513.
- Yu, J., A. Hino and R. Hirano. 1988. Vitamin B₁₂-producing bacteria as a nutritive complement for a culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 54, 1873-1880.
- Yu, J., A. Hino and M. Ushiro. 1989. Function of bacteria as vitamin B₁₂ producers during mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 55, 1799-1806.

2003년 10월 30일 접수
2003년 12월 20일 수리