

해산어류 자어의 초기 먹이생물인 로티퍼의 최초 섭이 일령과 포식 수 분석을 위한 새로운 관찰 및 계수 방법

정민민*, 위종환¹, 지영주², 민광식³

국립수산과학원 제주수산연구소, ¹경상북도 수산자원개발연구소

²국립수산과학원 제주수산연구소 패류육종연구센터

³국립수산과학원 남해수산연구소 패류연구센터

Studies about New Observation and Counting Method for Analysis of First Feeding Day and Daily Feeding Numbers of Rotifer by Marine Fish Larvae

Min-min Jung*, Chong-hwan Wi¹, Young-ju Ji² and Kwang-sik Min³

*National Fisheries Research and Development Institute (NFRDI), Jeju Fisheries Research Institute, Jeju-do 690-192, Korea

¹Gyeongsangbukdo Fishery Resources Development Institute, Gyeongsangbuk-do 766-850, Korea

²National Fisheries Research and Development Institute (NFRDI), Jeju Fisheries Research Institute, Shellfish genetics and Breeding Research Center, Jeju-do 695-835, Korea

³National Fisheries Research and Development Institute (NFRDI), South Sea Fisheries Research Institute, Shellfish Research Center, Gyeongsangnam-do 668-820, Korea

We studied new observation method about take process of rotifer by marine fish larvae. Till now, we can not accurate observation and count of first rotifer feeding day and/or feeding numbers of rotifer by marine fish larvae. Because take rotifer is ingested and disappeared in the digestive system of fish larvae. However we suggest possible observation method for these problems. The trophi is mastication organ of rotifer, and has only one in each rotifer individual. The trophi is left in the mastication organ because sole indigestible organ of rotifer. Therefore we can accurate observation and count of first rotifer feeding day and/or feeding rotifer numbers of marine fish larvae by trophi observation method (RTCM; Rotifer Trophi Counting Method).

Keywords: First feeding, Live food organism, Marine fish larvae, Rotifer, RTCM, Rotifer trophi counting method, Trophi

서 론

오늘날 넙치양식과 같은 해산어 양식 산업이 고부가가치 산업으로서 인정을 받게 된 것은 여러 분야의 수산 양식기술, 예를 들면 친어 확보 및 양성 기술, 친어 성숙 유도 및 양질의 수정란 대량생산 그리고 인공 증묘생산 등의 기술이 확립되어 현장에 적용 가능하였기에 이루어진 것이다. 그 중에서도 자어의 생존율을 획기적으로 향상시켜 대량의 인공증묘생산을 가능하게 한 기술은 해산어의 부화 초기 자어가 먹을 수 있는 먹이생물로서 로티퍼(rotifer)가 개발되어 이용 가능하였기 때문이다(Fujita, 1973). 만약 해산어의 초기단계 먹이생물로서 로티퍼가 개발되지 않았다면 오늘날과 같은 양식 산업의 번영은 불가능하였을 것이다.

그렇지만 지금까지 진행되어온 로티퍼의 먹이생물에 관련된

연구는 로티퍼의 최적 배양조건(Hirayama, 1985; Yamasaki et al., 1987), 대량배양 기법 개발(Kitajima, 1983), 로티퍼의 영양강화(Watanabe et al., 1979) 그리고 로티퍼 배양수조의 생태학적 분석(Jung et al., 1997) 등에 관하여 주로 이루어져 왔으며 그 결과, 20,000개체/ml 이상의 초고밀도 배양이 가능하게 되었다(Yoshimura et al., 1996).

그러나 현장에서 실제로 먹이생물로 이용되는 과정에서는 단순히 자어의 사육수조에 배양된 로티퍼를 먹이로서 첨가할 뿐, 자어가 먹이로서 첨가된 로티퍼를 먹는지? 먹는다면 얼마나 먹는지? 그리고 언제부터 언제까지 로티퍼를 먹이로서 이용하는지? 등의 의문점에 대해서는 연구가 이루어져 있지 않다. 왜냐하면 섭이된 로티퍼를 확인할 수 있는 명확한 관찰 방법이 없었기 때문이다.

이 연구에서는 해산어류 중에서 가장 많이 이루어지고 있는 돌돔과 넙치를 대상으로 증묘생산과정에서 초기 단계의 자어를 이용하여 로티퍼를 최초 섭이할 수 있는 자어의 일령과 일령별

*Corresponding author: jungminmin@hanmail.net

로티퍼 포식 수를 정확하게 분석할 수 있는 새로운 관찰 및 계수 방법을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

로티퍼 저작기(trophi) 확인

넙치와 돌돔을 주요 대상어종으로 하는 해산어 종묘생산 시설에서 먹이생물로 사용중인 *Brachionus*속의 로티퍼를 실험실 내에서 배양하면서 체내의 저작기를 관찰하였다. 로티퍼 배양은 50 ml의 유리 비커(유효 수량 40 ml)에서 실시하였고 저작기 관찰은 광학현미경(Olympus, SZH)을 이용하였다. 배양조건은 수온 25°C 전후, 염분 30 ppt 그리고 광주기 12L:12D의 조건하에서 16일 동안 정치배양 하였다. 배양수 중의 로티퍼 밀도는 2일 간격으로 배양수중의 총 개체수를 계수하였다. 배양 개시 시 로티퍼의 접종 밀도는 20 ind./40 ml 이었고 2일 간격으로 배양수의 잔존 먹이량을 혈구계수판을 이용하여 3회 반복 계수 한 후 배양수의 먹이 농도가 7×10^5 cells/ml가 되도록 시판되고 있는 농축 미세조류 *Nannochloropsis oculata*를 첨가하였다.

로티퍼 저작기의 형태

해산어의 종묘생산 현장에서 먹이생물로 널리 이용되고 있는 로티퍼 중 일명 SS (super small) type 로티퍼 스트레인 중에서 대표적으로 이용되고 있는 타이산 로티퍼 스트레인(*Brachionus rotundiformis*, Thai rotifer strain)을 대상으로 몸통 속에 있는 저작기의 형태를 관찰하였다.

돌돔 자어 소화기관내의 저작기 관찰 및 계수

로티퍼를 먹이로 첨가하고 돌돔 자어가 섭이한 후 소화기관내의 저작기 잔존 여부를 확인하였다. 아울러 돌돔 자어의 소화기관내에서 저작기가 소화효소에 대하여 어느 정도까지 그 형태를 유지하는지 알아보기 위하여 자어의 항문 주변을 절개하여 저작기의 잔존 여부를 확인하였다. 관찰용 돌돔 자어는 개구 후 첫 먹이로서 로티퍼를 첨가한 후 7~10일 경과된 자어를 대상으로 하였다.

넙치 초기 자어 소화기관내의 저작기 관찰 및 계수

해산어 양식 산업의 대표어종인 넙치의 초기 자어를 대상으로 로티퍼가 가지고 있는 저작기를 이용하여 로티퍼를 처음 섭이하는 일령과 섭이된 로티퍼의 개체수를 계수 가능한지 검토하였다. 관찰용 넙치 자어는 개구 후 첫 먹이로서 로티퍼를 첨가한 후 24시간 경과된 사육수조의 자어를 이용하였다.

결 과

로티퍼 저작기 확인

실험 개시 시 20 ind./40 ml로 접종한 로티퍼의 밀도는 16일

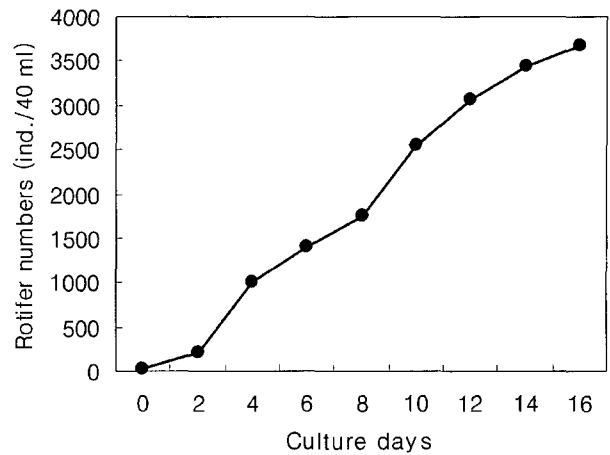


Fig. 1. Culture of rotifer for the trophi observation.

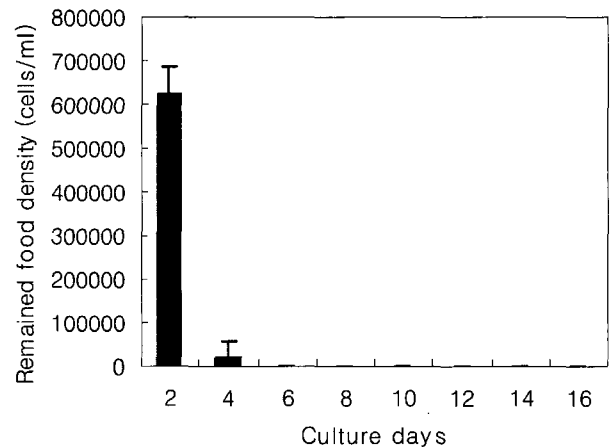


Fig. 2. Remained cell numbers of *N. oculata* in the rotifer culture tank.

동안의 배양 기간 중 빠르고 급격한 증식 곡선을 나타내었으며, 16일째까지 지속적으로 증가하여 배양 종료일에는 3,674 ind./40 ml 개체로 증가하였다(Fig. 1). 한편 먹이로 첨가한 농축 *N. oculata*는 배양 개시 후 2일째에는 거의 이용되지 않고 잔존하였으나 배양 개시 후 6일째부터는 잔존 *N. oculata*의 양이 zero (0) 상태였다(Fig. 2).

로티퍼 체내의 저작기 존재 유무 확인을 위하여 실험실내에서 배양된 로티퍼를 대상으로 광학현미경하에서 저작기의 유무를 관찰한 결과, 현미경 검경 대상(n=100 이상)의 모든 로티퍼는 1개체 당 1개의 저작기를 가지고 있었다(Fig. 3).

로티퍼 저작기의 형태

타이산 로티퍼 스트레인(*B. rotundiformis*, Thai rotifer strain)으로부터 분리한 저작기의 형태는 전형적인 *Brachionus*속에서 볼 수 있는 형태적 특징을 가지고 있었다. 관찰된 저작기의 incus 부분은 현미경하에서 정확한 형태를 구분하기가 어려웠으나 malleus 부분은 뚜렷하게 형태를 구분할 수 있었다. 특히 malleus

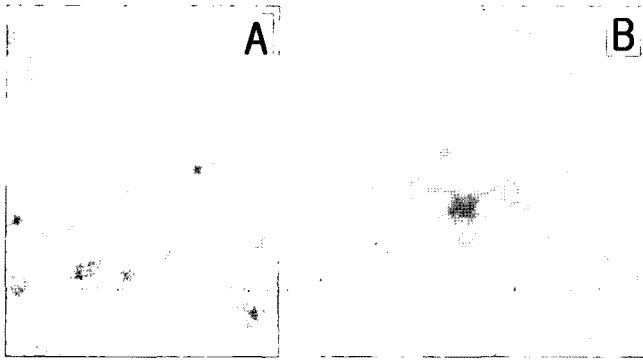


Fig. 3. Confirmed trophi (oval circles) existence in the each rotifer bodies. A; existed trophi in the rotifer body ($\times 100$ magnification), B; location of rotifer trophi ($\times 400$ magnification).



Fig. 4. The malleus of rotifer, *B. rotundiformis* trophi. A; uncus, B; manubrium in malleus ($\times 1,000$ magnification).

를 구성하는 manubrium과 uncus는 거의 그 형태가 유지된 상태였다. 해산어의 종묘생산 현장에서 초기 자어의 먹이생물로 이용되고 있는 타이산 로티퍼 스트레인은 갈비뼈 모양의 uncus (Fig. 4-A)와 사람의 견갑골과 유사한 모양의 manubrium (Fig. 4-B)에 연결되어 있는 것이 확인되었다.

돌돌 자어 소화기관내의 저작기 관찰 및 계수

해산어(돌돌) 자어가 먹이로서 로티퍼를 섭취한 후 소화기관내에 잔존하는 저작기를 확인하고 그 수를 계수할 수 있는 방법을 확립하였다. 우선 관찰하고자 하는 자어를 슬라이드글라스 위에 놓고 가능한 자어의 주변에 있는 해수를 제거한다. 이때 해수의 제거는 카필라리피펫을 얇게 늘인 모세관피펫을 이용하면 거의 대부분의 해수를 제거하고 관찰하고자 하는 시료로서 자어만을 남길 수 있었다. 그리고 커버 글라스를 덮는다. 커버 글라스를 덮을 때에는 자어가 밀리지 않도록 한 쪽 방향을 먼저 내리면서 천천히 덮는다. 마지막으로 커버글라스를 직각으로 살짝 눌러 시료를 압착시킨다(Fig. 5-A). 압착된 시료는 광학현미경에서도 관찰이 가능한데 Fig. 5의 B는 제작된 시료를 광학현미경하에서 관찰한 것으로 소화기관 부분을 확대하여 검경하면 Fig. 5의 C와 같이 소화기관내에 잔존하는 로티퍼의 저작기



Fig. 5. Development of trophi observation method in the gut of marine fish larvae. A; compression of marine fish larvae. B; observation of gut ($\times 40$ magnification). C; counting of trophi in the gut ($\times 100$ magnification).



Fig. 6. Confirmed rotifer trophi (oval circle) in the excretion of marine fish larvae ($\times 100$ magnification).

를 관찰할 수 있었다. 관찰 결과, 로티퍼의 몸통은 이미 소화되어 관찰은 물론 계수가 어려웠으나 저작기는 잔존하여 관찰과 계수가 가능하였다.

뿐만 아니라, 항문 주위에서 절개하여 확보한 시료에서도 저작기는 그 모양이 거의 원형 그대로 잔존하는 것을 알 수 있었다(Fig. 6).

넙치 초기 자어 소화기관내의 저작기 관찰 및 계수

로티퍼를 먹이생물로 급여한 넙치의 초기 자어를 대상으로 소화기관내의 저작기 유무와 저작기 수를 계수한 결과 첫 먹이를 급여한 후 24시간 경과된 시점에서 넙치의 자어는 로티퍼를

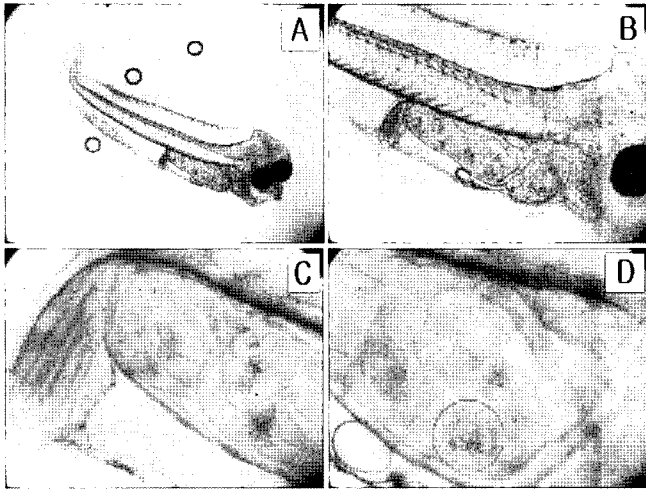


Fig. 7. Confirmed rotifer trophi in the gut of early flat fish larvae. A; opened mouse flat fish larvae ($\times 40$ magnification). B; gut of flat fish larvae ($\times 100$ magnification). C; confirmed rotifer trophi in the gut ($\times 400$ magnification). D; rotifer trophi ($\times 1,000$ magnification).

섭이한 증거로서 소화기관내에서 저작기가 확인되었다. 또한 섭이한 로티퍼의 개체 수도 저작기의 계수를 통해 확인할 수 있었다(Fig. 7).

고 찰

해산어의 인공 종묘생산을 위한 초기 자어 사육 단계에서는 로티퍼와 알테미아와 같은 동물플랑크톤을 먹이생물로 이용한다. 일반적으로 로티퍼는 자어가 부화한 후 개구 한 날로부터 약 15일간, 알테미아는 부화 후 개구한 날을 기준으로 일령 15일을 전후하여 로티퍼와 함께 급이하다가 점차 로티퍼의 급이량을 줄이고 알테미아의 급이량을 늘리는 방법을 이용하고 있다. 그리고 배합사료는 알테미아를 급이하면서 일령 20일째부터 소량 급이 하기 시작하는 것이 일반적이다(Eda et al., 1990; Han et al., 1998).

이와 같은 과정에서 사육중인 해산어의 초기 자어가 첫 먹이로 급이한 로티퍼를 성공적으로 섭이하지 못할 경우 기아와 영양 결핍 등이 원인이 되어 자어는 가까운 시일 내에 폐사하게 된다. 그러므로 개구가 예상되는 날의 전후시기를 기준으로 첫 먹이로서 로티퍼를 급이하고 있다. 그리고 급이량은 부화일령 5일 이내의 초기 단계에서는 사육수 1 ml 기준으로 5개체 이내를 첨가하다가 일령이 높아짐에 따라 첨가하는 로티퍼의 양도 증가시키고 있다.

하지만 자어를 사육하고 있는 과정에서 실제로 첫 먹이를 급이하는 자어의 일령을 알아내기는 매우 어려우며 더욱이 먹이로 첨가한 로티퍼를 사육중인 자어가 정말 먹었는지 그리고 얼마나 먹었는지를 정확하게 분석하는 방법은 지금까지 없었다. 단지 자어의 소화기관내에 존재하는 로티퍼의 몸통을 계수하는

것이 고작이었다. 그러나 이 방법은 소화기관내에서의 섭이된 로티퍼의 개체 식별이 어려워져서 정확한 결과를 얻을 수는 없었다.

로티퍼는 지구상에 약 2,500여종이 존재하는 것으로 알려져 있는데 해산어의 종묘생산 현장에서 먹이생물로 이용되고 있는 *Brachionus* 속 로티퍼는 기수역에서 채집된 종을 해수에 순치 사육한 것이다(Ito, 1958a; 1958b; 1960). 이들 대부분의 로티퍼는 2~20 μm 크기의 미세조류나 효모 그리고 세균덩어리와 같은 먹이현탁액을 섬모환을 이용하여 모은 후 먹이로 이용하는데 섭이된 먹이는 저작기라고 하는 부속 기관을 이용하여 잘게 부수어 소화기관으로 보내어진다(Fulks and Main, 1991). 이처럼 로티퍼의 섭이 활동에 있어서 주요한 역할을 담당하는 저작기는 모든 로티퍼의 체내에 1개씩 있으며 그 형태는 종에 따라 다른 모양을 하고 있어 로티퍼 분류의 기준이 되기도 한다(Wallace and Snell, 1991).

이 연구에서는 해산어의 초기 자어가 첫 먹이로 로티퍼를 언제 처음으로 섭이하는지? 그리고 일령의 경과에 따라 어느 정도의 로티퍼를 먹이로 이용하는지를 분석하는 방법으로서 저작기를 이용하였다. 왜냐하면 지구상에 존재하는 모든 로티퍼는 태어나면서부터 체내에 오직 1개의 저작기를 반드시 가지고 있어 해산자어의 소화기관내에 존재하는 저작기 한개는 한 개체의 로티퍼를 의미하여 섭이한 로티퍼의 개체수를 정확하게 확인할 수 있기 때문이다. 뿐만 아니라 자어에 의하여 섭이된 로티퍼는 소화기관을 통과하면서 몸통은 소화액에 의하여 소화되어 없어져도 저작기는 배설물과 함께 최종적으로 배설되는 것을 확인하였다. 결국 앞에서 설명한 바와 같이 간단한 시료 처리와 현미경 관찰만을 통하여 해산어 자어의 로티퍼 섭이 유무의 분석은 물론 섭이한 로티퍼의 개체수도 손쉽게 분석이 가능하게 되었다.

그러므로 이번 연구 결과를 통하여 소화기관내에 잔존하는 로티퍼의 몸체만을 계수 관찰하던 기존의 불명확한 섭이 유무 관찰 방법과 달리 로티퍼 저작기 계수법(RTCM; Rotifer Trophi Counting Method)을 이용할 경우 해산자어의 로티퍼 최초 섭이 일령 분석은 물론 일령의 경과에 따른 자어의 로티퍼 섭이 개체 수를 보다 명확하게 분석할 수 있어 신뢰도 높은 연구 결과를 도출할 수 있었다.

요 약

이 연구에서는 해산어 초기 자어 사육 과정에서 자어가 섭이하는 로티퍼의 새로운 관찰 및 계수방법을 제시한다. 지금까지는 해산어 자어를 사육하면서 언제부터 로티퍼를 먹이로 이용 가능한지? 그리고 일령이 경과함에 따라 어느 정도 양의 로티퍼를 섭이하는지? 정확하게 분석할 수는 없었다. 왜냐하면 자어가 섭이한 로티퍼(몸통)는 소화기관내에서 소화되어 연구자가 관찰할 수 없었기 때문이다. 그러나 이 연구에서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 새로운 관찰 방법으로서 로티퍼의 저작기

(trophi)를 이용하는 방법을 제시한다. 로티퍼는 각 개체마다 한 개의 저작기를 가지며 이 저작기는 해산어 자어의 소화기관내에서도 소화되지 않고 그 형태를 유지한다. 따라서 이 연구 결과에 의하면 자어의 소화기관내의 저작기를 관찰하여 계수하는 방법(RTCM; Rotifer Trophi Counting Method)을 이용하여 로티퍼를 최초로 섭이하는 일령은 물론 자어의 일령이 경과함에 따른 포식 로티퍼 개체수를 정확하게 분석할 수 있다.

감사의 글

이 연구는 국립수산과학원(수산생명물질 정보센터, 먹이생물 분리 보존 및 배양, RP-2006-AQ-013)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참고문헌

- Eda, H., R. Murashige, Y. Oozeki and A. Hagiwara, 1990. Factors affecting intensive larval rearing of striped mullet, *Mugil cephalus*. *Aquaculture*, 91, 281-294.
- Fujita, S., 1973. Importance of zooplankton mass culture in producing marine fish seed for fish farming. *Bull. Plank. Soc. Japan*, 20, 49-53.
- Fulks, W. and K. L. Main, 1991. Rotifer and microalgae culture systems. *Proceedings of a U. S.-Asia workshop*. Honolulu, Hawaii, 355 pp.
- Han, H.-K., H.-W., Kang and K.-H., Ryee, 1998. A study on early growth in seedling production of the greenling, *Hexagrammos otakii*. *Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Inst.*, 54, 69-77.
- Hirayama, K., 1985. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seedling. *Coll. Fr.-Japon. Oceanogr.*, 8, 41-50.
- Ito, T., 1958a. Studies on the "Mizukawari" in eel-culture ponds. X. The density of dormant eggs of rotifer on bottom deposit in eel-culture ponds. *Report Fac. Fish. Pref. Univ. Mie.*, 3, 170-177.
- Ito, T., 1958b. Studies on the "Mizukawari" in eel-culture ponds. XI. The hatching activity of dormant eggs of *Brachionus plicatilis* O. F. Muller. *Report Fac. Fish. Pref. Univ. Mie.*, 3, 178-192.
- 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 rotifer microcosm. *Hydrobiologia*, 358, 121-126.
- Kitajima, C., 1983. Mass culture-actual examples. (in) *Japan Soc. Sci. Fish. (ed.), The Rotifer Brachionus plicatilis Biology and Mass Culture*. Koseisha Koseikaku, Tokyo, pp. 102-128.
- Wallace, R. L. and T. W. Snell, 1991. Rotifera. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press, Inc. pp. 187-248.
- Watanabe, T., F. Oowa, C. Kitajima, S. Fujita and Y. Yone, 1979. Relationship between the dietary value of rotifers *Brachionus plicatilis* and their content of 3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 45, 883-889.
- Yamasaki, S., D. H. Secor and H. Hirata, 1987. Population growth of two types of rotifer (L and S) *Brachionus plicatilis* at different dissolved oxygen levels. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 1303.
- Yoshimura, K., A. Hagiwara, T. Yoshimatsu and C. Kitajima, 1996. Culture technology of marine rotifers and the implications for intensive culture of marine fish in Japan. *Mar. Freshwater Res.*, 47, 217-222.

원고접수 : 2006년 5월 24일

수정본 수리 : 2006년 8월 11일