

소형 rotifer, *Proales similis*의 대량배양을 위한 최적 염분 및 수온 조건

이배익 · 김대중 · 김신권 · 이남실 · Hagiwara Atsushi* ·
권오남** · 박흥기** · 박진철**†
(국립수산과학원 · *나가사키대학교 · **강릉원주대학교)

Optimal Salinity and Temperature Conditions for Mass Culture of Small Rotifer, *Proales similis*

Bae-Ik LEE · Dae-Jung KIM · Shin-Kwon KIM · Nam-Sil LEE · Atsushi HAGIWARA* ·
O-Nam KWON** · Heum-Gi PARK** · Jin-Chul PARK**†

(National Fisheries Research and Development Institute · *Nagasaki University · **Gangneung-Wonju National University)

Abstract†

We investigated the optimum salinity and temperature conditions for the mass culture of small rotifer, *Proales similis*. In the salinity experiment ranging from 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 33‰, growth tended to decrease with salinity increase. Most agreeable salinity for rotifer growth was 1‰ in which maximum density and specific growth rate (SGR) were obtained. In the temperature experiments ranging from 15, 20, 25, 30 and 35 °C, continuous growth of rotifer populations was found up to 35 °C. The highest maximum density (2,060 inds./mL) of rotifer was observed at 25 °C in given temperature regime. Also, the SGR of females showed increasing tendencies with the increase of temperature. These results suggest that the optimum salinity and temperature for mass culture of *P. similis* may be 1‰ and 25 °C, respectively.

Key words : Small rotifer, *Proales similis*, Maximum density, Salinity, Temperature

I. 서론

일반적으로 해산어류의 인공종묘생산과정에서 자어의 첫 먹이생물로는 rotifer, *Brachionus rotundiformis* (90~210 μm, SS-type 혹은 S-type으로 총칭) 및 *B. plicatilis* (130~340 μm, L-type으로 총칭)를 가장 많이 이용하고 있다(Hur and Park, 1996; Hagiwara et al., 2001). 하지만 이러한 먹이생물은 입의 크기가 비교적 작은 능성어류(*Epinephelus* spp.)나 그 외 다른 어종에게는 다소

부적합한 먹이생물로 인식되고 있다(Okumura, 1997). 이들 어종들을 위해서는 40~80 μm 정도의 작은 먹이가 적합하다는 의견이 제시되고 있다(Olivotto et al., 2006).

이러한 문제를 해결하기 위해 *Brachionus* 종의 피갑 크기를 줄이고자 행한 연구가 있었으나 유전적으로 종 고유의 크기가 있기 때문에 채집지역에 크게 의존해야 하는 문제점이 있으며(Serra and Miracle, 1983; Hagiwara et al., 2007), 딱개비, 굴, 이매패류 유생 및 성계 알 등과 같은 후보

† Corresponding author : 033-640-2345, telss88@naver.com

* 이 논문은 2014년 뱀장어 인공종묘생산기술개발(RP-2014-AQ-092)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

종들도 적용해 보았으나 영양학적인 측면과 대량 배양에 문제가 있어 아직까지는 널리 이용되지 못하고 있는 실정이다(Rimmer, 2000; Wullur et al., 2009). 다만, 최근 윤충류(rotifer) 중에서 크기(피갑장)가 작으면서 대량배양이 가능한 *Synchaeta kitina* (60~80 μm), *Keratella* sp. (90~140 μm), *B. angularis* (<150 μm) 및 *Colurella dicentra* (93 μm) 등의 종들이 활발하게 연구되고 있다는 점은 상당히 고무적이다(Chigbu and Suchar, 2006; Park and Park, 2008; Ogata et al., 2011; Lee et al., 2013).

이러한 맥락으로 본 연구에 이용되어진 rotifer, *Proales similis*는 그 크기(갑장 83 μm , 갑폭 40 μm)가 기존 먹이생물인 *B. rotundiformis*에 비해 갑장은 38.1%, 갑폭은 60.3% 정도 작으며, 무각(non-lorica)이라 자어가 원활하게 섭취 및 소화시킬 수 있고, 무성생식을 행하기 때문에 대량배양의 가능성도 높은 종으로 알려져 있다(Wullur et al., 2009). 이러한 장점을 지닌 본 종은 실제 입의 크기가 작은 능성어류(바리과)인 *E. septemfasciatus*, 놀래기과인 나폴레옹 피쉬(*Cheilinus undulatus*) 및 식도가 좁은 민물장어(*Anguilla japonica*)에 먹이적용까지 수행되어 기존 먹이원의 대체 가능성까지 평가되어 있는 상태이다(Wullur et al., 2011; Hirai et al., 2012; Wullur et al., 2013).

하지만 본 종을 현장 규모로 적용하기 위해서는 대량배양이 필수적인데, 아직 국내에선 본 종에 대한 배양사례가 전무하기 때문에 본 종에 대한 최적 배양조건은 반드시 행해야만 한다.

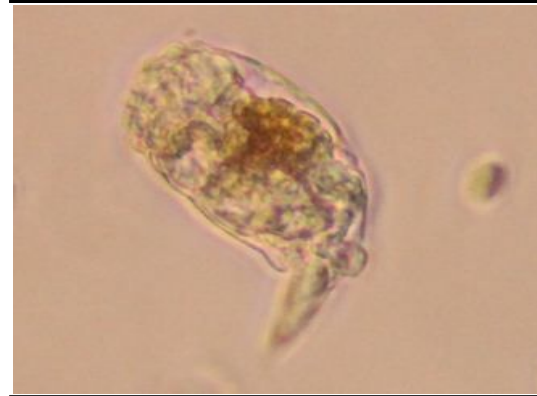
따라서 본 연구에서는 소형 rotifer, *P. similis* 종을 대량배양 하기 위한 일환으로 이들의 최적 염분 및 수온 조건을 조사하였다.

II. 연구내용 및 방법

1. 실험재료 및 방법

가. 실험 중

소형 rotifer, *P. similis*는 일본 오키나와 지역에서 채집되었으며, 나가사키 대학의 하기와라 연구팀에서 종을 분양 받아 이용하였다(Fig. 1). 분양 받은 종은 25°C로 맞춰진 인큐베이터에 염분 5 psu의 배양수로 개체밀도가 mL 당 500개체에 도달할 때까지 계대 배양을 행한 후 실험에 이용하였다.



[Fig. 1] Microscope of 200× magnifications of a female *Proales similis*

나. 실험구 및 실험방법

염분별 실험은 1, 5, 10, 15, 20, 25 및 33 psu로 각각 맞춰진 배양수 150 mL를 삼각플라스크에 넣고, 여기에 *P. similis*를 300개체/mL로 접종하여 25°C가 유지되는 인큐베이터(SANYO, MIR-553, Japan)에서 실시하였다. 먹이는 *Nannochloropsis oceanica*를 1일 1회로 rotifer의 배양수를 기준으로 mL당 1×10^6 cells로 공급하였으며, 실험 종료일까지 환수는 하지 않은 채 8일간 3회 반복구를 두어 배양하였다.

수온별 실험은 15, 20, 25, 30 및 35°C로 조절된 다채널배양기(EYELA, MTI-202, Japan)에서 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 1 psu의 배양수를 준비하여 개체밀도가 300개체/mL가 되도록 접종한 뒤 행하였다. 먹이 및 공급량은 염분 실험과 동일시 하여 환수는 행하지 않은 채 8일간 3회 반복하였다.

소형 rotifer, *P. similis*의 염분 및 수온별 배양 실험에서 성장률(specific growth rate, SGR)은 Rico-Martinez and Dodson (1992)의 방법에 따라 계산하였고[$SGR = (1/T) \ln(N_T/N_0)$ (T = 접종 이후 *P. similis*가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수; N_T = T days의 *P. similis* 개체밀도; N_0 = *P. similis*의 접종밀도)], 매일 개체수를 해부현미경 하에서 카운팅하여 mL 당 개체밀도로 나타내었다.

다. 통계처리

실험결과는 one-way ANOVA-test를 실시 후 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)를 실시하여 처리 평균 간의 유의성($P < 0.05$)을 SPSS Version 21 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program으로 검정하였다.

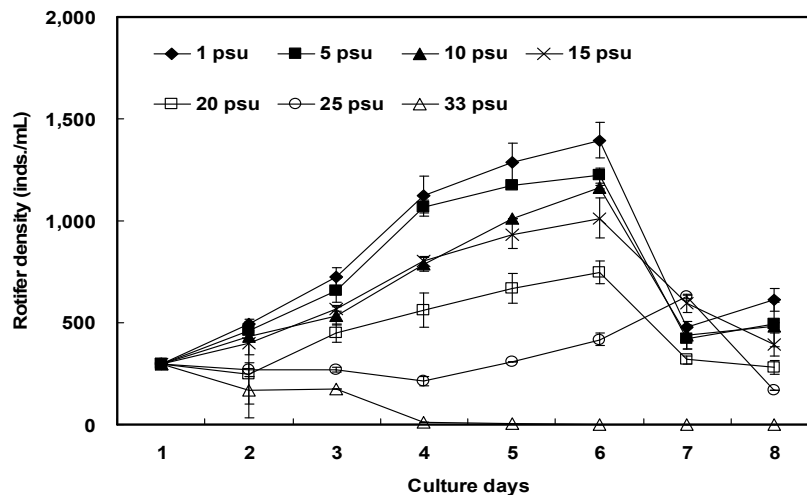
III. 결과 및 고찰

염분에 따른 개체밀도의 변화를 [Fig. 2]에 나타내었다. 개체밀도는 염분이 낮아질수록 높아지는 경향을 보여 1 psu에서 배양 6일째 1,396개체

/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났으며($P < 0.05$), 그 다음으로 5, 10 psu이 유의적인 차이 없이 각각 1,223, 1,165개체/mL로 높게 나타났다. 또한 15 psu도 배양 6일째 mL 당 1,000개체 이상 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 반면 33 psu는 실험개시 이후 지속적인 감소 추세를 보여 실험 6일째 전량 폐사하는 것으로 나타났다.

한편, 최고밀도까지의 개체 성장률(SGR)도 염분이 낮아질수록 유의적으로 높아지는 경향을 보여 1 psu에서 0.78로 가장 높게 나타났다($P < 0.05$)[Fig. 3]. 그 다음으로 염분별로 순차적으로 낮아지는 경향을 보였다.

이처럼 염분은 본 연구종인 *P. similis*의 성장에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 본 연구에서 최고 개체밀도 및 성장률은 1 psu에서 나타나는 것으로 보아 본 종의 최적 염분조건은 1 psu이라 판단된다. 다만, 5~15 psu까지는 mL 당 1,000개체 이상 배양이 가능한 것으로 보아 배양을 위한 염분범위는 15 psu까지도 가능하리라 판단되어진다. 이처럼 낮은 염분일 때 높은 개체밀도와 성장률을 보인 것은 다른 연구결과와 동일하게 나타난 것이다. Wullur et al. (2009)도 *P. similis*로 2, 15,



[Fig. 2] Population growth of rotifer, *Proales similis* cultured at the different salinities.

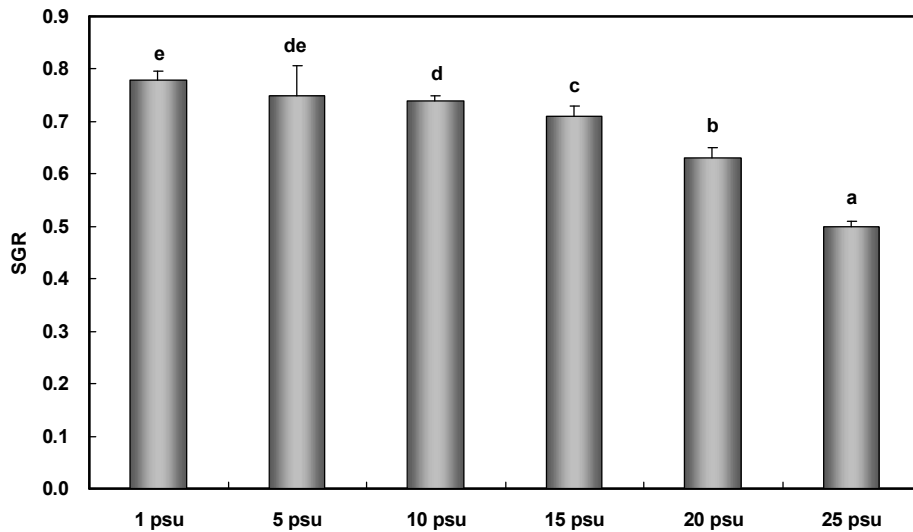
25 psu의 범위로 염분 실험을 했을 때 2 및 15 psu에서 성장률과 포란율이 높아지게 되어 25

psu에 비해 높은 개체밀도를 보인다고 하였다. 이는 저염분일수록 삼투압 조절에 소요되는 에너지가 낮게 소모되므로 이를 성장 및 생식에 이용하기 때문이며(Miracle and Serra, 1989), 또한 저염분일수록 먹이에 대한 여과섭식률이 증가하기 때문이라 보고하였다(Hirayama and Ogawa, 1972). 저염분일수록 성장률 및 포란율이 높은 사례는 다른 윤충류들에게서도 유사하게 나타난 결과이다. Park and Park (2008)에 의하면, 초소형 rotifer, *S. kitina*도 5~30 psu 중에서 가장 저염인 5 psu에서 최고밀도와 성장률이 높게 나타난다고 하였으며, 소형 rotifer인 *C. dicentra*도 10~35 psu 중 가장 저염구에서 최고밀도를 보인다고 하였다(Chigbu and Suchar, 2006). 또한 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*도 10~20 psu에서 성장률 및 포란율이 높아 대량배양을 위한 최적 염분이라 알려져 있으며(Yin and Zhao, 2008), 다른 rotifer, *S. cecilia valentina* 및 *S. littoralis*는 각각 20, 25 psu에서 최고 성장률을 보이는 것으로 보고되고 있다(Oltra and Todolí, 1997; Bosque et al., 2001).

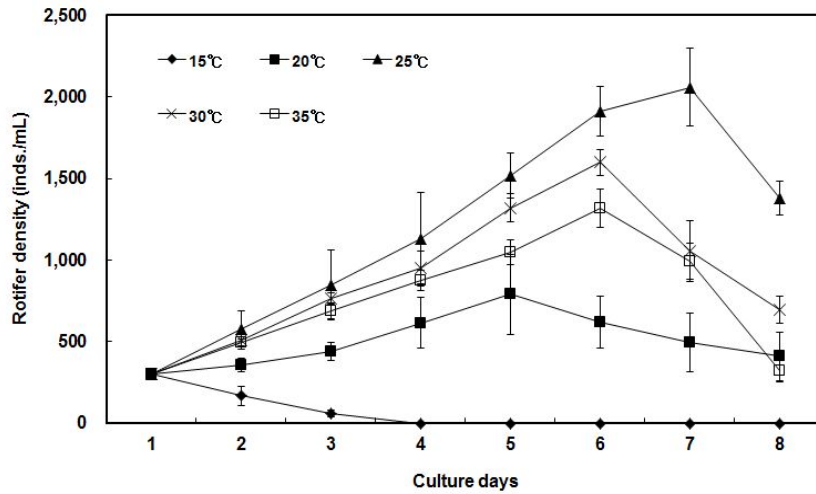
다만, 본 연구중인 *P. similis* 종은 1 psu에서

최고밀도 및 성장률을 보여 *S. cecilia valentina*, *S. littoralis* 종(20~25 psu)과 비교했을 때 다소 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 이는 아마도 채집 지역에 따른 차이 때문이라 판단되어진다. 본 종은 일본 오키나와 2 psu 지역에서 채집된 반면 *S. cecilia valentina* 및 *S. littoralis*는 22 psu에서 채집되어 채집시의 염분영향을 받아 다소 차이를 보이는 것으로 판단되어진다(Oltra and Todolí, 1997; Bosque et al., 2001; Wullur et al., 2009).

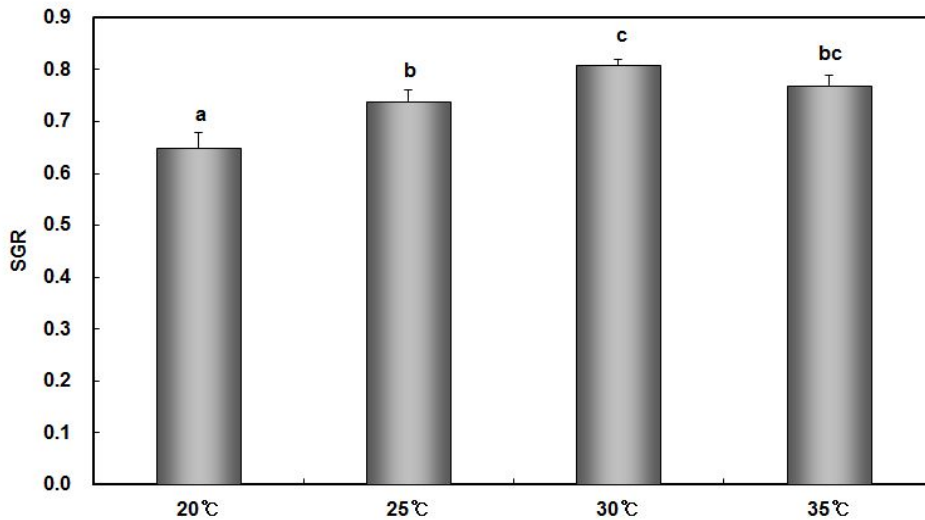
한편, 수온에 따른 개체밀도 변화를 [Fig. 4]에 나타내었다. 개체밀도는 수온이 증가할수록 높아지는 경향을 보여 25°C에서 2,060개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났다($P < 0.05$). 그 다음으로 30, 35°C 순으로 각각 1,600개체/mL, 1,320개체/mL로 높게 나타났다. 반면, 20°C는 790개체/mL로 다른 실험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며($P < 0.05$), 15°C는 배양 4일째 전량 폐사하였다. 한편, 개체성장률(SGR)을 [Fig. 5]에 나타내었다. 30°C에서 0.81로 유의적으로 가장 높게 나타났으나 35°C와의 유의적인 차이는 보이지 않았다($P > 0.05$).



[Fig. 3] Specific growth rate (SGR) of rotifer, *Proales similis* at the different salinities



[Fig. 4] Population growth of rotifer, *Proales similis* cultured at the different temperatures.



[Fig. 5] Specific growth rate (SGR) of rotifer, *Proales similis* at the different temperatures

그 다음으로 개체밀도가 가장 높았던 것은 25°C로 0.74의 값을 보였다. 반면 20°C는 다른 실험구에 비해 유의적으로 가장 낮게 나타났다($P < 0.05$)[Fig. 5].

일반적으로 수온은 rotifer에 생식기간, 산란수, 수명 및 성장률 등과 같은 생활사 전체적인 요인에 직접적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있기 때문에 대량배양을 위해서는 반드시 최적 수온을 규명해야만 한다(Miracle and Serra, 1989; Serra

and Miracle, 1994). 또한 rotifer는 종마다 각기 다른 서식 수온범위를 가지고 있기 때문에 해당 종의 적정 배양을 위해서는 서식 가능한 수온범위의 파악은 필수적이다. 실제 *B. plicatilis*는 15~30°C의 서식수온대를 보이지만 대량배양을 위한 최적 수온대는 25°C이며(Yuferá et al., 1997), *B. rotundiformis*는 28~35°C 중에서 30°C가 최적이라 보고되고 있다(Park, 1998; Chew and Lim, 2005). 본 연구에서 *P. similis*는 15°C에서 전량 폐사가

일어났으며 35℃에서는 mL당 1,000개체 이상 증가하는 것으로 보아 배양 가능한 수온범위는 최저 20℃에서 최고 35℃이나 최적 수온은 25℃인 것으로 확인되었다. 다만, 비교적 고온인 35℃에서도 높은 개체밀도를 보이는 것으로 보아 아열대 및 열대성 종의 특성을 지니고 있는 것으로 판단되어진다. 이러한 경향 때문에 개체밀도 및 성장률은 수온이 증가할 수록 높아졌는데, 이러한 결과는 Rico-Martinez and Dodson (1992)의 *B. calyciflorus*와 유사한 연구결과이다. 이는 수온이 증가할수록 체내 신진대사율이 높아지게 되며, 먹이 섭취량도 많아지게 되어 결국 증식률이 높아지기 때문인 것으로 판단되어진다(Miracle and Serra, 1989; Rico-Martinez and Dodson, 1992).

한편, 본 실험에서 개체밀도가 높았던 수온 25 및 30℃에서의 성장률(SGR)은 0.74~0.81로 대량 배양이 가능하여 기존 먹이생물로 널리 이용되어지고 있는 *Brachionus* 속의 0.36~0.82(Miracle and Serra, 1989)와 비교했을 때 큰 차이가 나타나지 않아 충분히 대량배양이 가능하여 새로운 먹이생물로서 이용 가능성이 클 것으로 판단되어진다.

이상의 모든 실험결과를 종합해 볼 때 소형 rotifer, *P. similis*의 대량배양을 위한 최적 염분 및 수온은 개체밀도와 성장률을 고려했을 때 1 psu, 25℃이라 판단되어진다.

References

- Bosque, T. · Hernández, R. · Pérez, R. · Todoli, R. & Oltra, R.(2001). Effects of salinity, temperature and food level on the demographic characteristics of the seawater rotifer, *Synchaeta littoralis* Rousselet. J. Exp. Mar. Biol. Ecol, 258, 55~64.
- Chew, W. Y. S. & Lim, H. S.(2005). Some improvement to the rotifer (*Brachionus rotundiformis*) mass culture method. Singapore J. Pri. Ind, 32, 52~58.
- Chigbu, P. & Suchar, V. A.(2006). Isolation and culture of the marine rotifer, *Colurella dicentra* (Gosse, 1887), from a mississippi gulf coast estuary. Aquacul. Res, 37, 1400~1405.
- Ducan D.B.(1955). Multiple-range and mutiple F tests. Biometrics, 11, 1~42.
- Hagiwara, A. · Gallardo, W. G. · Assavaaree, M. · Kotani, T. & de Araujo, A. B.(2001). Live food production in Japan: recent progress and future aspects. Aquaculture, 200, 111~127.
- Hagiwara, A. · Suga, K. · Akazawa, A. · Kotani, T. & Sakakura, Y.(2007). Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. Aquaculture, 268, 44~52.
- Hirai, N. · Koiso, M. · Teruya, K. · Kobayashi, M. · Takebe, T. · Saato, T. · Nakamura, K. · Goto, T. & Hagiwara A.(2012). Rearing conditions for humphead wrasse *Cheilinus undulatus* larvae, and introduction of the minute rotifer *Proales similis* as an initial live food. Journal of Fisheries Technology, 4(2), 57~64.
- Hirayama, K. & Ogawa, S.(1972). Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter feeding of rotifer. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish, 38, 1207~1214.
- Hur, S. B. & Park, H. G.(1996). Size and resting egg formation of Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. calyciflorus*. J. Aquaculture, 9, 187~194.
- Lee, B. I. · Kim, S. K. · Kwon, O. N. · Park, H. G. & Park, J. C.(2013). The optimal salinity and temperature conditions for the growth of rotifer, *Keratella* sp.. JFMSE, 25(5), 1205~1213.
- Miracle, M. R. & Serra, M.(1989). Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. Hydrobiologia, 186/187, 81~102.
- Ogata, Y. · Tokue, Y. · Yoshikawa, T. · Hagiwara, A. & Kurokura, H.(2011). A Laotian strain of the rotifer *Brachionus angularis* holds promise as a food source for small-mouthed larvae of freshwater fish in aquaculture. Aquaculture, 312, 72~76.
- Okumura, S.(1997). Seed production of groupers in Japan. In: Takashima, F. · Takeuchi, T. · Arimoto, T. & Itosu, T. (eds) Aquaculture in Asia, Tokyo Univ. Fisheries, Tokyo, Japan. 97~102.
- Olivotto, I. · Holt, S. A. · Carnevali, O. & Holt, G. J.(2006). Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. Aquaculture, 253, 270~278.

- Oltra, R. & Todolí, R.(1997). Effects of temperature, salinity and food level on the life history traits of the marine rotifer, *Synchaeta cecilia valentina*, n. subsp. J. Plankton. Res. 19, 693~702.
- 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.
- Park, J. C. & Park, H. G.(2008). The optimal salinity and temperature condition for growth of the ultra-small rotifer *Synchaeta kitina*. J. Aquaculture, 21, 70~75.
- Rico-Martinez, R. & Dodson, S. I.(1992). Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, Aquaculture, 105, 191~199.
- Rimmer, M.(2000). Review of grouper hatchery technology. SPC Live Reef Fish Inform. Bull, 6, 14~15.
- Serra, M. & Miracle, M. R.(1983). Biometric analysis of *Brachionus plicatilis* ecotypes from Spanish lagoons. Hydrobiologia, 104, 279~291.
- Serra, M. & Miracle, M. R.(1994). Effects of population density and genotype on life-history traits in the rotifer *B. plicatilis* O.F. Müller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol, 182, 223~235.
- Wullur, S. · Yoshimatsu, T. · Tanaka, H. · Ohtani, M. · Sakakura, Y. · Kim, H. J. & Hagiwara, A.(2013). Ingestion by Japanese eel *Anguilla japonica* larvae on various minute zooplankton. Aquaculture Science, 61(4), 341~347.
- Wullur, S. · Sakakura, Y. & Hagiwara, A.(2009). The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: culture and feeding to small mouth marine fish larvae. Aquaculture, 293, 62~67.
- Wullur, S. · Sakakura, Y. & Hagiwara, A.(2011). Application of the minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp in larval rearing of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. Aquaculture, 315, 355~360.
- Yin, X. W. & Zhao, W.(2008). Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O.F. Muller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. Aquat. Ecol, 42, 165~176.
- Yufera, M. · Parra, G. & Pascual, E.(1997). Energy content of rotifers (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in relation to temperature. Hydrobiologia, 358, 83~87.
-
- 논문접수일 : 2014년 09월 17일
 - 심사완료일 : 1차 - 2014년 10월 31일
 - 게재확정일 : 2014년 11월 05일