

저온 배양한 L-type 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 적정 영양강화 수온, 시간 및 영양강화제 종류

유해균* · 변순규**† · 최진** · 남명모** · 이해영** · 강희웅** · 이주**

*, ** 동해수산연구소 양식산업과

Optimal Enrichment Temperature, Time and Materials for L-type Rotifer (*Brachionus plicatilis*) Cultured at a Low Temperature

Hae-Kyun Yoo* · Soon-Gyu Byun**† · Jin Choi** · Myeong-Mo Nam** · Haeyoung Moon Lee**
· Hee Wong Kang** · Chu Lee**

*, ** Aquaculture Industry Research Division, East Sea Fisheries Research Institute, Gangneung, Gangwon-do 25435, Korea

요 약 : 본 연구는 유용 냉수성 어류 등의 종묘생산 시 초기의 성장과 생존률을 향상시키기 위하여, 저온에서 증식할 수 있는 저온 내성을 가진 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)를 배양하여, 수온 및 시간에 따른 영양강화 실험을 실시하였다. 로티퍼의 저온 배양은 20℃에서 배양하던 로티퍼의 수온을 점차적으로 낮추면서 활력이 있는 개체의 선별 배양을 반복하여 최종적으로 10℃에서 사육하였다. 영양강화는 상업적으로 이용되는 영양강화제인 A, S, SCV 및 SCP의 4종류를 사용하여 10, 15 및 20℃의 수온에서 6, 12 및 24시간 실시하였다. 수온 10℃에서 50일간 로티퍼의 증식률 실험을 한 결과 접종 밀도 350±7.9개체/ml에서 최종 배양 밀도는 1,064±5.7개체/ml로 약 3배 개체수가 증가하였다. 영양강화제에 포함된 지방산을 분석한 결과, n3계 고도불포화 지방산인 eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) 및 docosahexaenoic acid(DHA, C22:6n-3)는 SCP에서 각각 15.49%, 35.03%로 높게 나타났다. 영양강화한 로티퍼의 지방산 조성은 영양강화제에 따라 영향을 받았다. EPA는 SCP가 영양강화 수온 및 시간에 관계없이 2% 이상을 차지하여 다른 영양강화제보다 높은 비율을 나타냈다. DHA는 S가 15℃, 24시간 실험구에서 12.40%로 높게 나타났다. 영양강화 로티퍼의 EPA와 DHA의 비율을 고려하면 S를 20℃에서 12시간 영양강화한 실험구가 각각 3.09, 11.65%로 높게 나타났다.

핵심용어 : 로티퍼, 저온배양, 저온 내성, 영양강화, 고도불포화지방산

Abstract : This study was undertaken to improve the survival and early life growth rates of cold-water fish by culturing rotifer (*Brachionus plicatilis*) with low-temperature tolerance. The enrichment experiment was carried out at different temperatures and over different time intervals. Cultivation of the rotifer at low temperatures was repeated, with the selected and cultured as the water temperature was gradually lowered from 20℃ to 10℃. Enrichment of the rotifer was completed using A, S, SCV and SCP. Enrichment was carried out after 6, 12 and 24 hours at three different temperatures (10, 15 and 20℃). In the growth experiments, the rotifer increased to approximately triple their original size, from 350 ± 7.9 ind./ml to 1,064 ± 5.7 ind./ml at 10℃ over 50 days. The fatty acid composition of the four enrichment materials was species-specific, with the highest ratios belonging to eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3) in SCP. The fatty acid composition of the rotifers was affected by the enrichment materials. The EPA (% of total fatty acid) was more than 2% in SCP, which showed a higher ratio than the other enrichment materials. DHA was higher in S reaching 12.40% at 15℃ for 24 hours. The highest levels of EPA (3.09%) and DHA (11.65%) were obtained after the rotifers were enriched with S at 20℃ for 12hours.

Key Words : Rotifer, Low temperature culture, Low temperature tolerance, Enrichment, n-3 HUFA

* First author : sealeader77@gmail.com

† Corresponding Author : sgbyun@korea.com, 033-660-8542

1. 서론

로티퍼는 크기 및 형태가 자어의 먹이로서 적당하기 때문에, 유용어류의 종묘생산용 초기 먹이로서 널리 이용되고 있다. 그 배양 기술도 발전하여 다양한 배양 기술이 개발되어(Hirayama and Ogawa, 1972; Fu et al., 1997; Fielder et al., 2000; Altaff and Janakiraman, 2015; Önal et al., 2015), 안정적으로 대량 생산이 가능해져 양적인 문제도 해결되었다. 로티퍼의 영양학적인 측면과 배양방법에 대하여 다양한 연구가 진행되어 왔으며(Theilacker and McMaster, 1971; Fu et al., 1997; Takeuchi, 2001; Tomoda et al., 2007), 수온과 염분의 환경 변화에 의한 로티퍼의 증식률 상승에 대한 연구도 진행되어 왔다(Ito et al., 1981; Miracle and Serra, 1989; Snell, 1992; Hagiwara et al., 1995; Altaff and Janakiraman, 2015).

대부분의 해산어의 종묘생산은 수온 16~22°C의 해수(염분농도 32-34)를 이용하고 있으며, L-type 로티퍼의 경우 수온 20~25°C에서 증식을 시키고 있다(Ito et al., 1981). 이러한 수온 환경의 자어 사육수조에 고수온, 저염분에서 배양한 로티퍼를 공급하면, 수온과 염분조건의 차이에 영향을 받은 로티퍼는 쇠약해져 폐사하게 된다(Lubzens, 1987; Oie and Olsen, 1993). 폐사한 로티퍼는 부패하여 수질 악화로 인해 자어기 초기 폐사의 원인이 될 수 있다. 이를 피하기 위해서 일반적으로 로티퍼 배양 시 수온과 염분은 종묘생산 수조의 사육 조건에 비슷하게 유지하고 있다. 국내에서는 대구 자어 사육 시 로티퍼 배양 수온을 28°C에서 25°C로 낮추고 20°C에서 영양강화를 하여 10°C 내외의 사육수조에 공급하기도 하였다(Seo et al., 2007). 하지만, 냉수성 어종에 적합한 로티퍼의 배양기술과 영양강화 방법은 아직까지 확립되어 있지 않은 실정이다. 이를 보완하기 위해서 n-3 HUFA와 같은 지방산의 영양강화 및 로티퍼의 사육수온 보다 낮은 수온에서 영양강화하여 먹이공급을 시도하고 있으나(Reitan et al., 1997; Cahu et al., 1998; Assavaaree et al., 2001), 아직도 해결해야 할 문제가 많다.

EPA(eicosapentaenoic acid)와 DHA(docosahexaenoic acid) 같은 n-3 계열 지방산은 생체조절 기능에 있어 자어의 초기 성장과 생존에 중요한 역할을 한다. 그리고 highly unsaturated fatty acids(HUFA)는 생체막의 유동성 및 효소활성을 변화시키고, prostaglandin의 전구물질 등 그 역할이 매우 중요한 것으로 알려져 있다.

육상 동물과는 달리 어류의 경우, 일반적으로 필수지방산의 질적 및 양적 요구량은 어종, 온도 및 염분 등에 따라 달라질 수 있다(NRC, 1993). 담수어류는 Linoleic acid(LA,

C18:2n-6)과 Alpha-linoleic acid(ALA, C18:3n-3)을 전구 지방산으로 하여 체내에 필요로 하는 EPA나 DHA의 합성이 가능하지만, 해산어류는 EPA나 DHA와 같은 n-3 HUFA(n-3 highly unsaturated fatty acids)를 합성하는데 필요한 효소가 극히 제한적이거나 없기 때문에 먹이에 EPA와 DHA를 보충해 주어야 한다.

본 연구에서는 냉수성 어류의 종묘생산시 초기 먹이로 공급하여 성장과 생존율을 향상시키기 위하여, 10°C의 수온에서도 증식 능력과 활력을 갖는 로티퍼를 배양하고, 이 로티퍼를 사용하여 적합한 영양강화 수온, 시간, 영양강화제의 선택에 필요한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 로티퍼의 저수온 순치 배양

자연 환경에 있어서 냉수성 어류의 산란기는 주로 12~4월로 알려져 있으며, 이 때 수온범위는 5~10°C로 보고되어 있으며(Nakatani, 2008), 부화한 자어를 사육 할 때에도 이 수온대가 적합하다. 그러나 이 수온에서 로티퍼를 초기 먹이로 유용하게 이용하기 위해서는 표층에 부유하는 자어가 항상 섭취할 수 있는 상태로 사육수조 내에서 로티퍼의 활력이 필요하다. 그래서 냉수성 어류의 종묘생산을 고려하여 이러한 조건을 충족시키기 위해 저온에서도 증식 능력과 운동 능력을 가진 저온 내성 로티퍼를 배양하였다.

실험에 사용한 로티퍼는 2015년 강릉원주대학교에서 분양받은 L-type 로티퍼(*Brachionus plicatilis*, 울진 strain)로 1톤 배양수조에서 수온 22~23°C, 염분농도 18~20 ppt으로 계대 배양한 것을 사용하였다. 먹이로는 담수산 농축 클로렐라(*Chlorella vulgaris*, ㈜대상)를 2,000개체 당 1일 건조중량 2 mg 이 되도록 공급하였다.

로티퍼의 저수온 순치 배양은 저온성 먹이생물 배양 장치(특허 제10-1634354호)를 이용하였다. 이 배양장치는 내부 사육수조(Ø600×550 mm, 약 155 L)와 외부수조로 구성되어 수온이 조절된 물을 외부수조로 순환시켜 내부 수조의 수온을 조절하고 유지할 수 있는 2중 구조의 수조이다. 본 장치를 사용하여, 20°C에서 로티퍼를 배양하기 시작하였다. 1개월에 수온 1°C씩 낮춰 활력이 좋은 로티퍼를 선별하여 1차적으로 15°C에서 3개월간 배양하였다. 이 후부터는 1개월에 수온을 1°C씩 낮추며 활력이 좋은 로티퍼의 선별을 계속하여 2차적으로 10°C에서 3개월 이상 배양하였다. 실험에는 10°C에서 3개월 이상 배양한 로티퍼를 사용하였다. 실험에 사용한 해수는 여과해수를 사용하였고, 염분 농도는 20으로 일정하게

조절하였다. 사육기간 동안 배양수조 내에는 수온 데이터 로거(Onset HOBO, U-22-001, USA)를 설치하여 수온을 기록하였다.

2.2 수온 및 영양강화

영양강화는 10, 15, 20°C로 조절된 인큐베이터(Cryste, ㈜노바프로, Korea)에서 원형 배양수조(Ø220×220 mm, 약 6 L)에 염분농도 20ppt의 배양수를 준비하여 개체밀도가 5,000개체/ml가 되도록 접종하였다.

실험에 사용한 영양강화제는 상업적으로 이용되는 A(A사), S(S사), SCV(C사), SCP(C사)를 각각 50 ml/역, 17 g/역, 300 ml/역, 7 g/역의 용량으로 사용하였다.

로티퍼 시료는 영양강화 전, 영양강화 후 6, 12, 24시간 별로 샘플링하여 40 µm 체에 걸러서 담수로 세척한 후 15 ml tube에 넣고 분석 시까지 -20°C에 보관한 것을 사용하였다.

2.3 로티퍼 및 영양강화제의 지방산 분석

지방산 분석은 Folch et al.(1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF₃-methanol(Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column(SPTM-2560, 100 m×0.25 mm i.d., film thickness 0.20 µm, USA)이 장착된 gas chromatography(Perkin Elmer, Clarus 600, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, Oven 온도는 최초 140°C에서 240°C까지 4°C/min 증가시켰다. 이때, injector 온도는 240°C, detector (FID) 온도는 240°C로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 로티퍼의 저수온 순치 배양

일반적인 배양수온보다 낮은 수온에서 순치 및 선별 과정을 거친 로티퍼는 10°C에서 50일간 배양한 결과, 최초 접종밀도 350±7.9개체/ml에서 최종 배양밀도 1,064±5.7개체/ml(최대 1,794/ml)로 개체수가 약 3배 증가하는 증식률을 보였다(Fig. 1). 일반적인 로티퍼 배양 수온(20~25°C)(Ito et al., 1981)은 냉수성 어류의 부화 자어 사육 수온(5~10°C)과 수온 차이가 너무 크기 때문에 사육 수조에 공급한 로티퍼가 유용하게 먹이로 이용되지 않는다고 생각된다(Lubzens, 1987; Øie and Olsen, 1993). 이러한 로티퍼 배양은 자어 사육과 환경 조건이 다르기 때문에, 사육수조에 공급되는 로티퍼는

필연적으로 급격한 환경 변화에 노출된다. 로티퍼는 운동에 많은 대사 에너지를 사용하기 때문에(Epp and Lewis Jr, 1980), 급격한 환경의 변화는 대사 기능에 대한 영향을 주어 유영력 저하로 이어진다. 로티퍼의 증식 가능한 수온 범위는 5°C 이내의 변화(Fielder et al., 2000)이며, 염분의 경우 비교적 영향을 적게 받아(Koiso and Hino, 2001) 급격한 변화가 아니면 내성이 높아 염분 농도 1~97 ppt의 넓은 범위의 염분에 내성이 있다(Epp and Winston, 1977; Walker, 1981).

하지만, 본 실험에서는 냉수성 어류의 사육 수온과 유사한 수온에서도 증식을 보여주었다. 본 실험은 약 155 L의 소규모 수조에서 이루어졌기 때문에 대량 배양은 실시하지 않았다. 실제 종묘생산 시 로티퍼를 이용할 경우 10°C에서 연속 배양하고, 1차 배양 수조의 용량과 배양 밀도를 올림으로써 종묘생산 시 필요한 로티퍼 양을 생산할 것으로 기대된다.

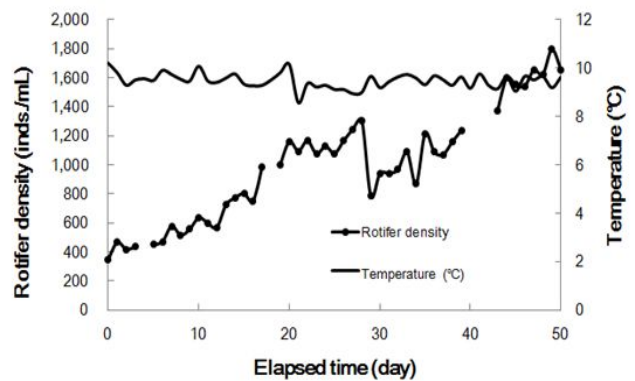


Fig. 1. Growth of rotifer cultured at 10°C.

3.2 수온 및 영양강화제에 따른 지방산 분석

EPA 및 DHA와 같은 n-3 HUFA의 함량은 해산 어류 자어의 정상적인 성장과 생존에 많은 영향을 미친다(Rainuzzo et al., 1989; Watanabe, 1993; Furuita et al., 1996; Rainuzzo et al., 1997; Furuita et al., 1998). 부화 자어가 건강하게 성장하기 위해서는 먹이생물의 n-3 HUFA 함량이 3~4% 이상을 요구한다(Yoshimatsu et al., 1997).

본 실험에서 사용한 영양강화제 네 종류의 지방산 조성을 Table 1에 나타내었다. 포화지방산의 일종인 Palmitic acid (PA, C16:0)은 A에서 높은 값을 보여주었다. 한편, ALA는 SCV와 SCP에서만 값이 나타났다. 또한, n-3계 고도불포화 지방산인 EPA는 SCP에서 15.49%로 높게 나타났으며, DHA는 SCP 35.03%, S 22.32%순으로 높았다. EPA와 DHA의 비율은 15.49, 35.03%로 powder type인 SCP에서 높게 나타났다.

저온 배양한 L-type 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 적정 영양강화 수온, 시간 및 영양강화제 종류

Table 1. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of four enrichments as raw material

Fatty acids	Oil type			Powder type
	A	S	SCV	SCP
C14:0	0.00	0.69	0.46	1.27
C16:0	36.94	19.22	18.66	7.49
C16:1	0.90	1.12	0.00	1.44
C18:0	0.00	0.21	13.41	0.88
C18:1n-9	6.33	19.63	10.58	7.61
C18:2n-6	5.64	14.65	29.28	0.69
C18:3n-3	0.00	0.00	7.85	5.98
C20:4n-6	1.18	0.28	0.00	0.79
C20:5n-3	2.67	1.85	3.08	15.49
C22:6n-3	19.67	22.32	8.99	35.03

한편, 10°C 에서 배양한 로티퍼의 영양강화 전 지방산 분석결과를 Table 2에 나타내었다. PA는 13.63 %, LA는 44.07 %로 높게 나타났다. 한편, EPA 및 DHA는 각각 0.36 %, 0.37 %로 낮게 나타났다.

Table 2. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of not enriched rotifer

Fatty acids	% of total fatty acids
C14:0	0.59
C16:0	13.63
C16:1	1.69
C18:0	8.68
C18:1n-9	2.85
C18:2n-6	44.07
C18:3n-3	0.00
C20:4n-6	1.09
C20:5n-3	0.36
C22:6n-3	0.37

각각의 영양강화제를 사용하여 영양강화 수온 및 시간에 따른 로티퍼의 지방산 조성을 Table 3~6에 나타내었다.

우선, Table 3의 A에서는 LA가 영양강화 수온 및 시간에 관계없이 37.63~48.04 %로 높은 비율을 차지하였다. PA는 20°C 에서 12시간 영양강화 한 실험구가 19.26 %로 높게 나타났다. ALA는 10°C 에서 6시간 영양강화한 실험구가 4.70 %로 높게 나타났다. Arachidonic acid(AA, C20:4n-6)는 수온 10, 15°C 에서 24시간, 20°C 에서 12시간 영양강화한 것이 각각 1.94 %,

2.00 %, 1.91 %로 나타났다. EPA는 20°C 에서 24시간 영양강화 실험구가 1.58 %, DHA는 20°C 에서 12시간 영양강화한 실험구가 4.79 %로 나타났다.

Table 3. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of the rotifer enriched with the A

Fatty acids	Temp. (°C)	Enrichment time (hour)		
		6	12	24
C14:0	10	1.45	0.34	0.99
	15	11.37	1.34	1.38
	20	1.37	1.87	1.59
C16:0	10	8.38	16.64	15.67
	15	13.69	15.00	15.76
	20	16.48	19.26	17.05
C16:1	10	1.76	2.06	2.12
	15	1.21	1.98	2.15
	20	1.61	2.50	8.60
C18:0	10	8.72	8.94	7.30
	15	7.33	7.02	6.46
	20	8.51	0.17	3.17
C18:1n-9	10	6.24	5.77	5.99
	15	4.72	6.30	5.62
	20	5.42	5.86	6.29
C18:2n-6	10	48.04	43.99	39.52
	15	37.76	39.65	37.63
	20	40.82	39.89	37.82
C18:3n-3	10	4.70	3.95	3.82
	15	3.14	3.75	3.40
	20	3.83	3.87	2.51
C20:4n-6	10	1.28	1.12	1.94
	15	1.04	1.38	2.00
	20	1.19	1.91	0.31
C20:5n-3	10	0.52	0.71	0.85
	15	0.53	0.78	1.19
	20	0.76	1.16	1.58
C22:6n-3	10	2.63	2.25	2.93
	15	2.25	3.57	4.08
	20	3.05	4.79	3.79

영양강화제 S를 사용하여 영양강화한 로티퍼의 수온 및 시간에 따른 지방산 함량을 Table 4에 나타내었다. LA가 전체 지방산 함량 중에서 가장 높은 비율을 차지하였으며 그 다음으로 PA가 차지하였다.

ALA는 10°C 실험구가 시간별로 4.03, 4.42, 3.48 %로 다른 수온보다 높게 나타났다. AA는 20°C 에서 6시간 영양강화 한 실험구가 0.82 %를 나타냈으나 12시간, 24시간 실험구에서는 0.0 %로 나타났다. EPA는 15°C 에서 6시간 영양강화한 실험구가 3.57 % 높았으며, DHA는 15°C 에서 24시간 영양강화한 실험구가 12.40 %로 높게 나타났다.

Table 4. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of the rotifer enriched with the S

Fatty acids	Temp. (°C)	Enrichment time (hour)		
		6	12	24
C14:0	10	1.09	0.98	1.62
	15	0.73	1.66	1.45
	20	1.52	0.00	1.17
C16:0	10	16.00	16.36	19.13
	15	10.11	22.30	15.04
	20	17.54	0.00	16.08
C16:1	10	1.46	1.69	3.65
	15	0.86	2.76	3.38
	20	1.77	0.00	1.98
C18:0	10	6.58	7.18	4.98
	15	3.67	5.26	5.18
	20	6.83	0.00	5.36
C18:1n-9	10	11.07	11.79	8.36
	15	7.33	10.43	8.10
	20	6.99	15.10	9.01
C18:2n-6	10	39.01	41.25	29.03
	15	23.97	34.15	29.42
	20	40.41	56.76	30.48
C18:3n-3	10	4.03	4.42	3.48
	15	2.22	1.50	3.74
	20	4.66	0.91	3.68
C20:4n-6	10	0.52	0.68	0.77
	15	0.28	0.41	0.68
	20	0.82	0.00	0.00
C20:5n-3	10	0.85	0.73	1.43
	15	3.57	1.42	1.89
	20	0.93	3.09	1.60
C22:6n-3	10	6.16	5.54	9.44
	15	4.79	6.09	12.40
	20	6.18	11.65	11.27

SCV를 사용하여 영양강화한 로티퍼의 시간 및 수온에 따른 지방산 함량을 Table 5에 나타냈다. LA가 전체 지방산 함량 중 가장 높은 비율을 차지하였다. ALA는 10°C에서 24시간 영양강화한 실험구가 7.82%, AA는 15°C에서 6시간 영양강화한 실험구가 1.51%로 높게 나타났다. EPA와 DHA는 15°C에서 6시간 영양강화한 실험구가 각각 2.33%, 4.46%로 높게 나타났으며, 영양강화 시간이 길어질수록 낮아지는 경향이 나타났다.

Table 5. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of the rotifer enriched with the SCV

Fatty acids	Temp. (°C)	Enrichment time (hour)		
		6	12	24
C14:0	10	0.61	0.74	0.71
	15	1.16	1.01	0.58
	20	0.26	1.02	0.34
C16:0	10	14.38	13.78	13.01
	15	13.19	14.82	9.94
	20	14.05	14.11	14.17
C16:1	10	1.53	1.53	1.73
	15	1.73	1.62	0.87
	20	0.00	1.45	1.45
C18:0	10	11.87	12.31	11.97
	15	7.92	11.80	8.21
	20	11.65	10.69	8.94
C18:1n-9	10	4.06	8.81	8.88
	15	6.81	8.79	6.12
	20	4.67	3.53	6.90
C18:2n-6	10	43.12	41.36	40.05
	15	36.61	40.26	25.05
	20	48.32	44.62	36.10
C18:3n-3	10	5.97	6.70	7.82
	15	5.84	6.53	4.94
	20	5.18	5.51	4.86
C20:4n-6	10	0.48	0.61	0.59
	15	1.51	0.70	0.00
	20	0.00	0.86	0.23
C20:5n-3	10	0.72	0.95	1.37
	15	2.33	1.05	1.02
	20	0.40	0.64	0.71
C22:6n-3	10	1.91	1.94	2.69
	15	4.46	2.11	1.96
	20	1.09	1.27	1.94

SCP를 사용하여 영양강화한 로티퍼의 시간 및 수온에 따른 지방산 함량을 Table 6에 나타냈다.

LA가 전체 지방산 함량중 높은 비율을 차지하였으며, PA가 다음 순으로 높았다. ALA는 20°C에서 영양강화 시간에 따라 6.06, 6.45, 6.64%로 다소 높아지는 경향을 나타냈다. AA는 15°C 6시간, 12시간 영양강화 실험구를 제외하고 비슷한 비율을 나타냈다. EPA는 20°C 24시간 실험구에서 3.78%, DHA는 20°C 실험구에서 영양강화 시간이 길어질수록 4.97, 5.00, 6.98%로 나타났다.

저온 배양한 L-type 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 적정 영양강화 수온, 시간 및 영양강화제 종류

Table 6. Major fatty acids composition (area % of total fatty acids) of the rotifer enriched with the SCP

Fatty acids	Temp. (°C)	Enrichment time (hour)		
		6	12	24
C14:0	10	1.03	1.16	1.32
	15	1.53	1.56	1.38
	20	1.33	1.12	0.96
C16:0	10	13.31	13.44	13.42
	15	14.70	15.35	14.41
	20	12.88	14.18	13.19
C16:1	10	1.84	2.38	3.01
	15	7.91	8.37	2.34
	20	1.96	2.58	3.29
C18:0	10	7.82	8.33	7.71
	15	3.02	3.40	7.75
	20	7.85	7.48	6.28
C18:1n-9	10	6.69	6.64	6.56
	15	7.31	5.40	6.95
	20	6.20	8.00	8.33
C18:2n-6	10	39.37	38.38	36.72
	15	39.94	39.73	37.00
	20	34.85	34.52	29.96
C18:3n-3	10	6.09	5.81	5.68
	15	3.81	3.37	5.37
	20	6.06	6.45	6.64
C20:4n-6	10	1.56	1.44	1.45
	15	0.33	0.31	1.46
	20	1.47	1.53	1.92
C20:5n-3	10	2.04	1.35	3.00
	15	2.87	2.83	2.59
	20	2.76	2.88	3.78
C22:6n-3	10	4.67	4.17	4.17
	15	4.19	3.21	3.64
	20	4.97	5.00	6.98

본 실험에서 사용한 네 가지의 영양강화제의 지방산 조성은 SCP의 EPA, DHA 함량이 15.49, 35.09%로 높았다(Table 1). 하지만, 로티퍼에 직접 영양강화를 하였을 경우에는 DHA 함량은 S에서 높게 나타났으며, 영양강화 시간과 수온이 높을수록 높게 나타내었다(Table 4). 이는 oil type의 S가 powder type의 SCP보다 로티퍼 체내에 농축이 쉽기 때문으로 사료된다.

각각의 영양강화제로 영양강화한 로티퍼의 전체 지방산 함량 중 EPA와 DHA의 함량을 영양강화 시간 및 수온별로 비교해보면, EPA는 SCP가 영양강화 수온과 시간에 관계없이 2% 이상을 차지하여 다른 영양강화제보다 전체적으로 높은 비율을 나타냈다. DHA는 S가 다른 영양강화제보다 높게 나타났으며, 15°C-24시간 실험구에서 12.40%, 영양강화 시간이 길어질수록 비율이 높아졌다. 그 다음으로 SCP를 20°C

에서 24시간 영양강화 한 실험구가 6.98%로 나타났다. 한편, 저온에서 순치시킨 로티퍼는 약 20°C 정도의 온도변화에도 14일간 50%가 살아남는다(Assavaaree et al., 2001).

결과적으로 냉수성 어종의 초기 먹이로서 로티퍼를 유용하게 활용하기 위해서는 부화 자어의 사육수온인 10°C에서 배양한 로티퍼에 EPA와 DHA의 지방산 함량이 높은 S와 SCP를 어종의 영양 요구량에 맞는 비율로 영양강화 후 사육수조에 공급하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는 냉수성 어류의 종묘생산시 초기 먹이로 공급되는 저온 내성을 가진 로티퍼의 배양과 이에 적합한 영양강화 방법에 대하여 검토하고 고찰하였다.

본 연구의 주요 결론은 다음과 같다.

1. 저온에서 장기간 배양한 로티퍼는 일반적인 배양 수온(20~25°C)보다 낮은 수온인 10°C에서도 높은 증식률을 보였다.

2. 10°C에서 배양한 로티퍼를 20°C의 수온에서 12~24시간 영양강화 한 실험구가 EPA 및 DHA 함량이 높게 나타났다.

이러한 결과는 냉수성 어류의 종묘생산시 자어 사육환경에 맞는 저온성 로티퍼에 적정 영양강화를 통하여 초기 먹이로서 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

향후, 영양강화제의 비율별로 영양강화제를 사용하여 저온에서 배양한 로티퍼의 지방산 함량을 분석하고, 이를 통해 자어에 공급시 어떠한 비율로 영양강화를 하는 것이 좋을지 검토해 볼 필요가 있다. 또한, 여기서 얻은 결과를 토대로 자어에 공급 후 자어에 대한 지방산 함량에 대해서도 알아볼 필요가 있다.

사 사

이 논문은 2016년 국립수산물과학원 수산과학연구사업(R201609)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

[1] Altaff, K. and A. Janakiraman(2015), Effect of temperature on mass culture of the three species of zooplankton, *Brachionus plicatilis*, *Cerodaphnia reticulata* and *Apocyclops dengizicus*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, Vol. 2, No. 4, pp. 49-53.

- [2] Assavaaree, M., A. Hagiwara, K. Ide, K. Maruyama and E. Lubzens(2001), Low-temperature preservation (at 4°C) of marine rotifer *Brachionus*, *Aquaculture Research*, Vol. 32, No. 1, pp. 29-39.
- [3] Cahu, C. L., J. L. Z. Infante, A. Peres, P. Quazuguel and M. M. Le Gall(1998), Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes, *Aquaculture*, Vol. 161, No. 1, pp. 479-489.
- [4] Epp, R. W. and P. W. Winston(1977), Osmotic regulation in the brackish-water rotifer *Brachionus Plicatilis* (Muller), *Journal of Experimental Biology*, Vol. 68, pp. 151-56.
- [5] Epp, R. W. and W. M. Lewis Jr(1980), Metabolic uniformity over the environmental temperature range in *Brachionus plicatilis* (Rotifera), *Hydrobiologia*, Vol. 73, pp. 145-147.
- [6] Fielder, D., G. Purser and S. Battaglione(2000), Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*, *Aquaculture*, Vol. 189, pp. 85-99.
- [7] Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane-Stanley(1957), A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 226, No. 1, pp. 497-509.
- [8] 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*, Vol. 358, No. 1-3, pp. 145-151.
- [9] Furuita, H., T. Takeuchi and K. Uematsu(1998), Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), *Aquaculture*, Vol. 161, No. 1-4, pp. 269-279.
- [10] Furuita, H., T. Takeuchi, T. Watanabe, H. Fujimoto, S. Sekiya and K. Imaizumi(1996), Requirements of Larval Yellowtail for Eicosapentaenoic Acid, Docosahexaenoic Acid, and n-3 Highly Unsaturated Fatty Acid, *Fisheries science*, Vol. 62, No. 3, pp. 372-379.
- [11] Hagiwara, A., T. Kotani, T. W. Snell, M. Assava-Aree and K. Hirayama(1995), Morphology, reproduction, genetics, and mating behavior of small, tropical marine *Brachionus strains* (Rotifera), *Journal of experimental marine biology and ecology*, Vol. 194, No. 1, pp. 25-37.
- [12] Hirayama, K. and S. Ogawa(1972), Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. 1. Filter feeding of rotifer, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, Vol. 38, No. 11, p. 1207.
- [13] Ito, S., H. Sakamoto, M. Hori and K. Hirayama(1981), Morphological characteristics and suitable temperature for the growth of several strains of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, *Bulletin of the Faculty of Fisheries Nagasaki University*, Vol. 51, pp. 9-16 (in Japanese with English abstract).
- [14] Koiso, M. and A. Hino(2001), Effects of salinity on population growth, nutritive value, and feeding cost of the enriched rotifer, *Brachionus plicatilis*, *Suisanzoshoku*, Vol. 49, No. 1, pp. 41-46 (in Japanese with English abstract).
- [15] Lubzens, E.(1987), Raising rotifers for use in aquaculture, *Hydrobiologia*, Vol. 147, No. 1, pp. 245-255.
- [16] Miracle, M. R. and M. Serra(1989), Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics, *Hydrobiologia*, Vol. 186/187, pp. 81-102.
- [17] Nakatani, T.(2008), Recent year class strengths of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) Pacific Population and oceanographic conditions for first-feeding pollock larvae, *Bulletin of Fisheries Sciences Hokkaido University*, Vol. 58, pp. 1-6 (in Japanese with English abstract).
- [18] NRC(1993), National Research Council, Nutrient requirements of fish National Academy Press, Washington, D.C, USA. pp. 1-124.
- [19] Øie, G. and Y. Olsen(1993), Influence of rapid changes in salinity and temperature on the mobility of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, Vol. 255/256, pp. 81-86.
- [20] Önal, U, G. Topaloğlu and A. Sepil(2015), The Performance of Continuous Rotifer (*Brachionus Plicatilis*) Culture System for Ornamental Fish Production. *Journal of Life Sciences*, Vol. 9, pp. 207-213.
- [21] Rainuzzo, J. R., Y. Olsen and G. Rosenlund(1989), The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Aquaculture*, Vol. 79, No. 1-4, pp. 157-161.
- [22] Rainuzzo, J. R., K. I. Reitan and Y. Olsen(1997), The significance of lipids at early stage of marine fish: a review, *Aquaculture*, Vol. 155, pp. 103-115.
- [23] Reitan, K. I., J. R. Rainuzzo, G. Oie and Y. Olsen(1997), A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae, *Aquaculture*, Vol. 155, pp. 207-221.
- [24] Seo, Y. S., M. E. Park, J. G. Kim and S. U. Lee(2007), Egg development and juvenile growth of the Pacific cod *Gadus macrocephalus* (Korean East Sea population), *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 40, No. 6, pp.

저온 배양한 L-type 로티퍼(*Brachionus plicatilis*)의 적정 영양강화 수온, 시간 및 영양강화제 종류

380-386 (in Korean with english abstract).

- [25] Takeuchi, T.(2001), A review of feed development for early life stages of marine finfish in Japan. *Aquaculture*, Vol. 200, No. 1-2, pp. 203-222.
- [26] Theilacker, G. H. and M. F. McMaster(1971), Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies, *Marine Biology*, Vol. 10, pp. 183-188.
- [27] Tomoda, T., M. Koiso and Y. Shima(2007), Dietary value of marine rotifer *Brachionus plicatilis* after enrichment produced by batch culture and extensive continuous culture methods, *Nippon Suisan Gakkaishi*, Vol. 73, No. 3, pp. 505-507 (in Japanese).
- [28] Walker, K. F.(1981), A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786, *Hydrobiologia*, Vol. 81, No. 1, pp. 159-167.
- [29] Watanabe, T.(1993), Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish, *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 24, No. 2, pp. 152-161.
- [30] 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*, Vol. 358, No. 1-3, pp. 153-157.

Received : 2016. 07. 29.

Revised : 2016. 08. 19. (1st)

: 2016. 08. 26. (2nd)

Accepted : 2016. 08. 29.