

최 종  
연구보고서

먹이생물로써 초소형 rotifer의 개발

Development of ultra small size rotifer as live food

2008. 7

주연구기관  
강릉대학교

해 양 수 산 부

# 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “먹이생물로써 초소형 rotifer의 개발” 과제의 최종  
보고서로 제출합니다.

2008 년      월      일

주관연구기관명 : 강릉대학교

주관연구책임자 : 박    흠    기

연    구    원 : 권오남, 이균우, 박진철,  
박정은, 노문환, 김두호,  
오정수, 김봉학, 이항섭,  
김형근, 김근덕, 이상민,  
전옥희, 한정훈, 김남용

# 요 약 문

## I. 제 목

먹이생물로서 초소형 rotifer의 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

현재 우리나라의 주요 양식 대상종은 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 조피볼락(*Sebastes schlegelii*) 및 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*) 등과 같은 특정 어류에만 한정되어 있다. 그러나 WTO 출범에 따른 개방화에 따라 중국 등의 상대적인 비교 경쟁에서 매우 불리하게 작용하고 있어 국내 양식 산업의 위기를 초래하고 있다. 이러한 문제점의 해결책으로 최근 고부가 대상 어종의 개발이 점차 중요한 차세대 산업으로 각광받게 되었다. 이러한 현실 상황에서 고부가 대상종의 양식이 산업적으로 발전하기 위해서는 우선 종묘의 계획적인 수급이 성공적이어야 하며, 이 경우 양식생물의 인위적인 번식제어기술과 더불어 유생 초기의 먹이생물의 질적 및 양적 확보는 매우 중요한 과제이다.

그러나 비교적 고급어종으로 분류되고 있는 붉바리(*Epinephelus akaara*), 강담돔(*Oplegnathus punctatus*), 쥐치(*Stephanolepis cirrifer*), 독가시치(*Siganus fuscens*) 및 능성어(*Epinephelus septemfasciatus*) 등은 난의 크기가 다른 해산 어류에 비해 소형으로 부화 후 입의 크기가 작기 때문에 알맞은 크기의 먹이생물을 확보하기가 매우 어려워 지금까지도 종묘생산에 어려움을 겪고 있는 실정이다. 현재 해산어류 및 갑각류의 초기 먹이생물로 가장 널리 이용되고 있는 rotifer, *Brachionus plicatilis* (L-type)와 *B. rotundiformis* (S-type 및 SS-type)의 경우, 피갑장의 크기가 각각 140-300  $\mu\text{m}$ , 120-200 및 100-150  $\mu\text{m}$ 로 입이 작은 고급 어종의 먹이로도 비교적 크기가 대형에 속하기 때문에 이들보다 작은 새로운 먹이생물의 개발과 안정적인 대량배양의 기술이 절실히 필

요한 것이다.

따라서 본 연구는 입이 작은 고급어종의 종묘생산에 있어 매우 중요한 초소형 먹이생물을 개발하는데 그 목적이 있다. 본 연구를 통한 초소형 rotifer, *Synchaeta kitina*의 대량배양기술은 안정적인 양질의 먹이생물을 확보하게 해주어 그 동안 입의 크기가 작아 종묘생산이 되지 않았던 어종들에게 있어 원활한 종묘생산이 이루어지도록 도움을 줄 것이다. 또한 이로 인해 고소득 신품종 개발 및 생산성을 높여 주어 수입 대체, 수출 증대 및 농어촌의 소득증대에 크게 기여를 할 뿐만 아니라, 국적 있는 연구로 학술적인 가치도 높여 줄 것으로 기대된다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양 및 먹이효율 조사

본 연구는 초소형 rotifer, *Synchaeta kitina*의 대량배양을 위한 최적 환경조건을 규명하기 위해 내재적(strain 선택) 및 외재적 요인(염분, 수온, 먹이종류와 공급량, 접종밀도, 환수일 및 환수율 등)으로 나누어 수행되었다. 뿐만 아니라, 입의 크기가 작아 종묘생산이 어려웠던 동갈돛돔(*Hapalogenys nitens*), 쥐치 및 능성어류 자어에게 공급하여 그에 따른 먹이효율을 조사해 보았다. 또한 본 종을 대량배양 함에 있어 배양용기(규모) 및 배양방법을 각각 달리 하여 그 생산성을 평가해 보았으며, 염분변화에 따른 내성력을 함께 조사해 보았다. 마지막으로 초소형 rotifer를 대량보관할 시 그에 따른 방법과 주 먹이인 *Tetraselmis suecica*의 대량배양을 위한 조건도 조사해 보았다.

#### 2. Rotifer, *S. kitina*의 영양분석 및 영양강화 기술개발

본 연구는 해산 초기 자어의 정상적인 성장을 위해 반드시 필요로 하는

먹이 내 n-3계 고도불포화지방산의 함량을 효율적으로 개선시켜 주기 위하여 다양한 영양강화제 및 공급량에 따라 영양강화를 행하였으며, 그에 따른 초소형 rotifer의 체내조성 변화를 분석해 보았다.

### 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산 및 부화율 조사

본 연구에서는 초소형 rotifer의 내구란 대량생산과 적정 부화조건 등을 규명하기 위해 수온, 염분 및 먹이공급량에 따른 환경조건을 조사해 보았다.

## IV. 연구개발 결과

### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양 및 먹이효율 조사

초소형 rotifer의 대량배양을 위한 내재적 요인은 화진포 및 송지호 strain에 비해 크기가 작으며, 높은 생산력과 긴 수명을 보인 경포 strain이 최적의 strain인 것으로 조사되었다.

외재적 요인 중 염분에 따른 실험 결과로 본 종의 대량배양을 위한 최적 염분조건은 최고밀도, 산란기간, 수명 및 산란수가 가장 높았던 5‰로 조사되었다. 한편, 고염분일수록 이들의 염분에 대한 내성은 낮아지는 경향을 보여 성장의 저하로 나타났다. 그러나 20 및 25‰의 비교적 고염분에서 순치했을 때 자연해수에서의 생존율은 분명 향상되는 것으로 나타났다.

수온에 따른 실험에서 수온이 증가함에 따라 성장률은 증가하였으며, 또한 발달시간이 단축되는 것으로 조사되었다. 그러나 최고밀도 및 포란율은 저온일수록 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 본 종을 대량배양하기 위한 최적 수온조건은 최고밀도, 산란기간, 수명 및 산란수가 가장 높았던 16℃로 조사되었다.

먹이종류에 따른 실험 결과, 본 종의 최적 먹이생물은 *T. suecica*인 것으로

나타났으며, 그에 따른 적정 공급량은 개체 당 10,000 세포인 것으로 조사되었다.

초기 접종밀도에 따른 실험에서는 200 및 1,000 개체/mL 접종구에서 낮은 성장을 보인 반면 600 개체/mL 접종구에서는 높은 성장을 보이는 것으로 나타났다. 또한 최적 환수일은 3일이며, 환수율은 배양수의 40%인 것으로 나타났다.

0.1 및 0.5 ton의 큰 수조에서도 7일 이상 배양이 가능하였으며, 각각  $60 \times 10^6$  및  $90 \times 10^6$  개체의 높은 밀도를 보이는 것으로 조사되었다.

또한 반 연속배양방법으로 초기 접종밀도를 달리하여 실험을 행한 결과, 7일째까지의 일일생산량은 900 개체/mL 접종구에서 가장 높은 것으로 나타났다. 그러나 8일째부터는 모든 실험구간의 유의적인 차이가 없는 것으로 조사되었다( $P > 0.05$ ).

아울러, 1 ton 규모에서 회분 및 반 연속배양방법을 통한 총 수확량은 각각 87,304,400, 427,680,000 개체인 것으로 나타났다. 그리고 두 배양방법을 통해 rotifer 1억 개체를 생산할 시 소요되는 비용은 각각 77,121 및 66,051원인 것으로 조사되었다. 따라서 본 종을 대량배양 함에 있어 생산성 및 경제성을 고려해 볼 때, 반 연속배양방법이 회분 배양방법에 비해 더욱 효과적인 것으로 나타났다.

이렇게 대량배양을 통해 생산된 초소형 rotifer 개체들을 장기간 보존·저장하기 위해서는 저온인 6°C에서 먹이인 *T. suecica*를 개체 당 360 세포로 공급하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

초소형 rotifer, *S. kitina*의 주 먹이인 *T. suecica*를 대량배양하기 위해 배양 형태에 따른 실험을 행한 결과, 100 L 관형배양기가 30 L 원형수조 및 1 ton 야외수조에 비해 높은 세포농도를 보였다. 또한 pH 조절을 하지 않은 대조구가 pH를 각각 6, 7로 조절한 실험구에 비해 높은 세포농도를 보였다.

초소형 rotifer, *S. kitina*를 동갈돔돔 자어에게 공급하여 먹이효율을 조사해 본 결과, 전장 및 생존율은 *B. rotundiformis* 공급구에서 높은 것으로 나타났다. 그러나 *S. kitina* 공급구와 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

취치의 먹이효율 실험결과, 전장 및 체폭은 *S. kitina* 공급구와 *B. rotundiformis* 공급구가 서로 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다( $P>0.05$ ). 그러나 생존율에서는 *S. kitina* 공급구가 *B. rotundiformis* 공급구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 또한 자어를 지방산 분석한 결과, *S. kitina* 공급구는 영양강화를 하지 않았음에도 불구하고 영양강화를 행한 *B. rotundiformis* 공급구와 ARA, EPA 및 DHA 등의 함량이 유의적인 차이가 없는 것으로 조사되었다( $P>0.05$ ).

농성어류의 먹이효율 조사결과, 전장은 모든 실험구에서 차이가 없는 것으로 나타났다( $P>0.05$ ). 그러나 생존율에서는 분명히 *S. kitina* 공급구가 *B. rotundiformis* 공급구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

## 2. Rotifer, *S. kitina*의 영양분석 및 영양강화 기술개발

초소형 rotifer, *S. kitina*의 체내조성을 분석해 보았다. 그 결과, 초기 자어의 성장에 중요한 sterol, phospholipids 및 DHA 함량이 *B. rotundiformis*에 비해 높은 것으로 나타났다. 또한, 필수아미노산 중에서는 threonine, valine, methionine, arginine 및 histidine의 함량이 *B. rotundiformis*에 비해 높게 나타났으며, 특히 어류의 성장에 긍정적인 영향을 미치는 taurine의 함량이 매우 높은 것으로 조사되었다.

또한, 초소형 rotifer, *S. kitina*에게 영양강화제 및 공급량, 시간을 각기 달리하여 그에 따른 개체밀도와 지방산 조성을 비교 분석해 보았다. 그 결과, 모든 실험구에 있어 영양강화 시간이 증가함에 따라 EPA 및 DHA의 함량은 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 반대로 개체밀도는 점차 감소하는 것으로 나타났다.

결론적으로 본 종을 영양강화함에 있어 개체밀도는 Aquarich 제품을 rotifer  $10^6$  개체 당 2 g으로 공급하여 12시간 영양강화한 실험구가 다른 실험구에 비해 급격한 감소를 보이지 않았으며, 또한 지방산 분석에서도 n-3 HUFA의 함량이 가장 높은 것으로 조사되었다.

### 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산 및 부화율 조사

초소형 rotifer의 내구란 생산 및 부화율을 조사하기 위해 염분(5, 10, 15, 20, 25 및 34‰), 수온(8, 12, 16, 20 및 24℃) 및 먹이량(0.1, 0.2, 0.4, 0.8 및 1.6 mg/dry weight/*T. suecica*/10<sup>3</sup> rotifers)을 달리하여 실험을 행하였다.

그에 따른 결과, 초소형 rotifer 내구란의 대량생산을 위한 배양조건은 배양수 5, 10%로 하여 16℃ 조건하에서 rotifer 1,000 개체 당 먹이를 0.4 mg 공급하면 되는 것으로 나타났다. 이 때 최적 부화율은 10% 및 16℃로 조사되었다.

## V. 연구개발 결과의 활용계획

1. 종묘생산업자가 초소형 rotifer를 쉽게 배양함에 따라 고부가가치의 입이 작은 어류의 종묘생산이 안정으로 수행가능해지며, 그로 인해 종묘생산국가로서 경쟁력을 확보
2. 다양한 양식어종을 개발함으로써 양식어민의 소득증대
3. 새로운 먹이생물의 안정적인 대량배양으로 먹이생물의 사업화를 추진
4. 새로운 먹이생물을 국제 특허화하여 다른 국가로의 수출 증대 효과
5. 미래 수산 양식과 이와 관련된 산업 개발에 기여
6. 본 연구를 통해 얻어진 성과는 실제 교육현장에서 활용



# SUMMARY

## I . Title

Development of ultra small size rotifer as live food

## II . Objects and importance

Currently, South Korea's major fish farming is targeted toward only the certain types of fish such as olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), rockfish (*Sebastes schlegelii*), striped beakperch (*Oplegnathus fasciatus*) and etc.. However, due to the WTO agreements forcing the various nations to open their doors, Korea's fish farming is also in insecure status in competition with other countries such as China. In order to solve these problems, which are threatening Korea's fish farming, it is necessary to develop highly valued fish farming. A well-planned method of supplying the seedling is needed to develop fish farming as an industry in this state of period, and it is necessary to secure the qualitative and quantitative live food for artificial reproduction technique for larvae.

However, the highly-valued fish such as red spotted grouper (*Epinephelus akaara*), spotted parrot fish (*Oplegnathus punctatus*), file fish (*Stephanolepis cirrhifer*), rabbit fish (*Siganus fuscescens*) and grouper (*Epinephelus septemfasciatus*) had difficulties in seedling production due to their small size eggs comparing to other fish; Once, they are hatched-out, the size of their mouth are too small to intake live food supplied. At the moment, *Brachionus plicatilis* (L-type) and *B. rotundiformis* (S-type and SS-type) are most widely used as an initial live food for marine fish and

crustacean larvae. However, their lorica length are 140-300  $\mu\text{m}$ , 120-200 and 100-150  $\mu\text{m}$ , respectively, which are too large to be intaken by the highly-valued fish. Therefore, development of new stable cultivating method of the smaller size live food is in a highly demand.

Development of ultra small size of rotifer *S. kitina* through this research will help to make the stable mass seedling production of the highly-valued fish, which seedling production has not been successfully achieved so far. In addition, it will create the new fish species making high income to fish farmers, replacing e huge import sales and expanding export sales. Therefore, this research will greatly contribute to fish farming and step-up in a scholastic field as well.

### III. Contents and scopes

#### 1. Mass culture and feed efficiency of ultra small rotifer, *Synchaeta kitina*

The main purpose of this study was investigated the optimum environmental conditions for mass culture of ultra super small type rotifer *Synchaeta kitina* such as the internal factors (strain) and the external factors (salinity, temperature, kinds and amount of food, inoculation density, exchanging interval days and rates of culture medium) but also its feed efficiency for black grunt (*Hapalogenys nitens*), file fish and grouper larvae, which seedlings production is difficult due to their small mouth sizes. Besides, the productivity of this rotifer depending on the different mass culture vessels and culture types was determined. Finally, salinity tolerance and mass storage method of this rotifer was investigated depending on its mass culture methods and mass culture methods of *Tetraselmis suecica* as the feed for this rotifer.

## **2. Development of enrichment technique and biochemical composition of ultra small rotifer, *S. kitina***

This study was carried out to investigate changes in biochemical composition of ultra small type rotifer enriched with the commercial enrichments at various durations and amount of enrichment to improve contents of n-3 HUFA of live food that certainly is need for the normal growth of the early marine fish larvae.

## **3. Optimum culture condition for mass production of resting egg of ultra small rotifer, *S. kitina* and its hatching rate**

This study was conducted to investigate the external factors (temperatures, salinities and amount of food) for the mass production and hatching conditions for resting egg of ultra small type rotifer.

# **IV. Results and practical device**

## **1. Result**

### **1-1. Mass culture and feed efficiency of ultra small rotifer, *S. kitina***

In results of the internal factors for mass culture of Gyeong-po rotifer strain was small in body size, high in productivity and long in lifespan, in comparison with Sonji rotifer strain and Hwajin-po rotifer starin. At this point, the best optimal strain for mass production of ultra small rotifer, *S. kitina* was estimated to be Gyeong-po rotifer strain.

In the external factor for mass production of rotifer, the optimum

salinity condition was estimated to be at 5‰ showing the highest in the maximum density, the longest reproductive period, lifespan and maximum offspring at the various salinities. On the other hand, rotifer was shown the lowest growth rate at high salinity (e.g., natural sea water) because the more salinity increased, the more their salinity tolerance decreased. However, if rotifer was acclimated at 20 and 25 ‰ culture medium for a day, its survival rate was improved in natural sea water.

The growth rate of rotifer increased and development period of rotifer decreased as temperature increased in the community and individual cultures, but the maximum density and fecundity of rotifer increased as temperature decreased. The optimum temperature condition for mass production of this rotifer were at 16°C that was showed the highest in the maximum density, the longest reproductive period, lifespan and maximum offspring at the various temperatures.

The optimum diet for this rotifer was *T. suecica*, and the optimum density of was estimated to be 10,000 cells per rotifer.

The growth of rotifer at the initial inoculation densities of 200 and 1,000 rotifers/mL seemed to be low, but high at the initial inoculation density of 600 rotifers/mL.

The optimal exchanging interval days and rate of culture medium were 3 days and 40%, respectively.

Rotifer could be cultured more than 7 days after inoculation in 0.1 and 0.5 ton tank, and its total number reached up to  $60 \times 10^6$  and  $90 \times 10^6$  rotifers, respectively at each culture tank.

Also, in the semi-continuous culture system, daily harvesting amount depending on the different inoculation densities was the highest in the 900 rotifers/mL at 7<sup>th</sup> day after inoculation, but all treatments were not significantly different after 8<sup>th</sup> day ( $P > 0.05$ ).

Total harvesting rotifer of batch and semi-continuous culture systems in 1 ton tank each produced 87,304,400 and 427,680,000 rotifers. And the production cost for 100 million rotifer in batch culture system and semi-continuous culture systems were 77,121 and 66,051 won, respectively. Therefore, it was concluded that productivity and economical efficiency of rotifer in the semi-continuous culture system was more effective than in the batch culture system.

For the long storage of ultra small type rotifer *S. kitina*, *T. suecica* seemed to be effective at the density of 360 cells per rotifer at 6°C.

We investigated the culture types for mass culture of *T. suecica* used as food for ultra small type rotifer, *S. kitina*. The cell concentration of *T. suecica* cultured in 100 liter flat photobioreactor was higher than that cultured in 30 liter round vessel and 1 ton outdoor tank. Also, the cell concentration of *T. suecica* in treatment, in which pH was not adjusted was higher than in which pH was controlled at 6 and 7.

As a result of food efficiency of ultra small rotifer, *S. kitina* for black grunt, total length and survival rate of larvae fed by small rotifer was low compared to that fed by *B. rotundiformis*, but there was no significant difference between *B. rotundiformis* and *S. kitina* ( $P>0.05$ ).

As a result of food efficiency of ultra small rotifer, for file fish, total length and total width ( $P>0.05$ ). However, the survival rate of larvae fed by *S. kitina* was significantly higher than that fed by *B. rotundiformis* ( $P<0.05$ ). Also, in the analysis of fatty acid, though *S. kitina* treatment had not enrichment progress, ARA, EPA and DHA contents of the larvae fish was not significant different with enriched *B. rotundiformis* ( $P>0.05$ ).

As a result of food efficiency of ultra small rotifer for grouper larvae, total length was no significantly different with all treatments ( $P>0.05$ ). But the survival rate of larvae fed by *S. kitina* was higher than *B.*

*rotundiformis*.

### **1-2. Development of enrichment technique and biochemical composition of ultra small rotifer, *S. kitina***

We investigated the biochemical composition of ultra small type rotifer, *S. kitina*. As a result, the content of sterol, phospholipids and DHA which is important for growth of fish pre-larvae in *S. kitina* were higher than in *B. rotundiformis*. Also, the essential amino acids, such as threonine, valine, methionine, arginine and histidine in *S. kitina* were higher than in *B. rotundiformis*. Especially, taurine content which positively affects growth of fish larvae was high in *S. kitina*.

We also carried out to compare the growth and fatty acid composition of the rotifer *S. kitina* depending on the enrichments (Aquarich and Astomega, Aquanet Ltd.) and the different enrichment conditions (concentrations and times). As a result, EPA and DHA contents of rotifer in all experiments increased as enrichment time increased. However, rotifer density was gradually decreased as enrichment time increased.

Conclusively, rotifer enriched with 2 g Aquarich per rotifer  $10^6$  inds. did not sharply decrease compared with other treatments, and content of n-3 HUFA of rotifer enriched for 12 hours was the highest in all treatments.

### **1-3. Optimum culture condition for mass production of resting egg of ultra small rotifer, *S. kitina* and its hatching rate**

We investigated production and hatching rate of the resting egg of ultra small type rotifer depending on different salinities (5, 10, 15, 20, 25 and 34‰), temperatures (8, 12, 16, 20 and 24°C) and food amounts (0.1,

0.2, 0.4, 0.8, and 1.6 mg/dry weight/*T. suecica*/10<sup>3</sup> rotifers). The optimum salinity, temperature and food amount conditions for mass production of resting egg were at 5 and 10‰ and 16°C with 0.4 mg/10<sup>3</sup> rotifers, respectively. And the optimum salinity and temperature conditions for hatching of resting egg were at 10‰ and 16°C, respectively.

## **2. Device for practical use**

- a. Since seedling producers can easily culture the ultra small rotifer, seedling production of the small mouth size larvae which is high-valued fish can be stable and gain competitive country for seedling production.
- b. It can improve income of fish farmers by developing various fish species for aquaculture.
- c. New live food industry can be set-up by developing new technique for the stable mass production of live food.
- d. It can improve an increase in export by registering international patent of new live food organism.
- e. It can contribute into the future development of aquaculture and related industries.
- f. It can be useful for the practical education.

# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	24
Chapter 2. Present status of research .....	27
Chapter 3. Achievement of goals and contribution of related fields	29
Section 1. Mass culture and feed efficiency of ultra small rotifer, <i>Synchaeta kitina</i> .....	29
1. Introduction .....	29
2. Materials and methods .....	30
3. Result .....	46
4. Discussion .....	98
Section 2. Development of enrichment technique and biochemical composition of ultra small rotifer, <i>Synchaeta kitina</i> .....	117
1. Introduction .....	117
2. Materials and methods .....	118
3. Result .....	122
4. Discussion .....	135
Section 3. Optimum culture condition for mass production of resting egg of ultra small rotifer, <i>Synchaeta kitina</i> and its hatching rate .....	144
1. Introduction .....	144
2. Materials and methods .....	145
3. Result .....	147
4. Discussion .....	155
Chapter 4. Achievement and expectable effects of the research .....	161
Chapter 5. Application plans of the results .....	168
Chapter 6. Reference .....	171



## List of Tables

### Section 1. Mass culture and feed efficiency of ultra small rotifer, *Synchaeta kitina*

Table 1.	Source of collected <i>S. kitina</i> on Gangwon-province for this study .....	3
Table 2.	The sizes ( $\mu\text{m}$ ) on <i>S. kitina</i> strains cultured with feed <i>T. suecica</i> at 20°C .....	31
Table 3.	Number of offsprings of <i>S. kitina</i> 3 strains cultured with <i>T. suecica</i> at the different salinities .....	47
Table 4.	Lifespan of <i>S. kitina</i> 3 strains cultured with <i>T. suecica</i> at the different salinities .....	47
Table 5.	Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different salinities .....	49
Table 6.	The developmental phases, offsprings and lifespans of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured with <i>T. suecica</i> at the different salinities .....	50
Table 7.	Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different temperatures .....	52
Table 8.	The developmental phases, offsprings and lifespans of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured with <i>T. suecica</i> at the different temperatures .....	53
Table 9.	Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets .....	55
Table 10.	The developmental phases, offsprings and lifespans of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets .....	56

Table 11. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations .....	58
Table 12. The developmental phases, offsprings and lifespans of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations .....	59
Table 13. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at various exchanging interval days of culture medium .....	61
Table 14. Salinity tolerance of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured with <i>T. suecica</i> at 15‰ for a week .....	68
Table 15. Salinity tolerance of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured with <i>T. suecica</i> at 20‰ for a week .....	69
Table 16. Salinity tolerance of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured with <i>T. suecica</i> at 25‰ for a week .....	70
Table 17. Maximum density and specific growth rate (SGR) of <i>T. suecica</i> at the different culture vessels .....	72
Table 18. Maximum density and specific growth rate (SGR) of <i>T. suecica</i> at the different pH controlled by CO <sub>2</sub> gas .....	73
Table 19. Growth and survival rate of the black grunt larvae, <i>Hapalogenys nitens</i> fed with the different diets .....	90
Table 20. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of file fish <i>Stephanolepis cirrhifer</i> larvae, fed on different diets .....	93

**Section 2. Development of enrichment technique and biochemical composition of ultra small rotifer, *Synchaeta kitina***

Table 1.	Total lipid and lipid class composition of rotifers .....	123
Table 2.	Fatty acid composition of the rotifers .....	125
Table 3.	Protein-bound amino acid and total protein compositions of the rotifers .....	127
Table 4.	Free amino acid compositions of the rotifers .....	129
Table 5.	Fatty acid composition (area %) of rotifer fed on the different enrichment diet at duration of enrichment .....	134

**Section 3. Optimum culture condition for mass production of resting egg of ultra small rotifer, *Synchaeta kitina* and its hatching rate**

Table 1.	Growth, sexual rate and production of resting eggs of <i>S. kitina</i> on the different salinities .....	148
Table 2.	Growth, sexual rate and production of resting eggs of <i>S. kitina</i> on the different temperatures .....	151
Table 3.	Growth, sexual rate and production of resting eggs of <i>S. kitina</i> on the different feed quantities .....	154

## List of Figures

### Section 1. Mass culture and feed efficiency of ultra small rotifer, *Synchaeta kitina*

Fig. 1.	Size comparison of rotifers, <i>B. plicatilis</i> , <i>B. rotundiformis</i> and <i>S. kitina</i> . A picture of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain	26
Fig. 2.	The schematic diagram of flat growth chamber supporter	38
Fig. 3.	The schematic diagram of flat growth chamber .....	38
Fig. 4.	The schematic diagram of pH control box .....	39
Fig. 5.	Population growth of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different salinities .....	49
Fig. 6.	Population growth of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different temperatures .....	52
Fig. 7.	Population growth of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets .....	55
Fig. 8.	Population growth of <i>S. kitina</i> Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations .....	58
Fig. 9.	Population growth of <i>S. kitina</i> and changes of DO, pH and NH <sub>3</sub> -N at the different exchange interval days of culture medium .....	62
Fig. 10.	Total harvested of rotifer, <i>S. kitina</i> at the different exchange culture water rates .....	63
Fig. 11.	Relationship between food concentrations and growth rate of <i>S. kitina</i> at the different exchange culture water rates	64
Fig. 12.	Relationship between NH <sub>3</sub> -N and growth rate of <i>S. kitina</i> at the different exchange water rates .....	64
Fig. 13.	Population growth of <i>S. kitina</i> and changes of fecundity and NH <sub>3</sub> -N at the different inoculations .....	66
Fig. 14.	Growth of <i>T. suecica</i> at the different culture vessels .....	72

Fig. 15. Growth of <i>T. suecica</i> at the different pH controlled by CO <sub>2</sub> gas .....	73
Fig. 16. Population growth of rotifer, <i>S. kitina</i> at the different initial inoculation density .....	75
Fig. 17. Daily harvesting density of rotifer, <i>S. kitina</i> on the different initial inoculation density .....	75
Fig. 18. Total harvesting density of rotifer, <i>S. kitina</i> at the different initial inoculation density (from 1 <sup>st</sup> to 7 <sup>th</sup> days) .....	76
Fig. 19. Total harvesting density of rotifer, <i>S. kitina</i> at the different initial inoculation density (from 8 <sup>th</sup> to 14 <sup>th</sup> days) .....	76
Fig. 20. Production of <i>S. kitina</i> at 0.1 ton tank during ten days .....	78
Fig. 21. Production of <i>S. kitina</i> at 0.5 ton tank during seven days .....	79
Fig. 22. Production cost of <i>S. kitina</i> on the mass culture .....	80
Fig. 23. Rotifer density obtained in the batch and semi-continuous culture system .....	82
Fig. 24. Daily production of rotifer, <i>S. kitina</i> in the batch culture system .....	83
Fig. 25. Daily increasing density of rotifer, <i>S. kitina</i> in the batch culture system .....	83
Fig. 26. Daily harvesting density of rotifer, <i>S. kitina</i> in the semi-continuous culture system .....	84
Fig. 27. Total production of rotifer, <i>S. kitina</i> in the batch and semi-continuous culture system (from 1 <sup>st</sup> to 5 <sup>th</sup> days) .....	84
Fig. 28. Variation of DO, NH <sub>3</sub> -N and pH during the culture period of rotifer, <i>S. kitina</i> in the batch and semi-continuous culture system .....	85
Fig. 29. Production cost of <i>S. kitina</i> in batch and semi-continuous culture system .....	86
Fig. 30. Growth of rotifer, <i>S. kitina</i> on the different food concentrations at the low temperature (6°C) .....	87

Fig. 31. Growth rate of <i>S. kitina</i> on the different food concentrations at the low temperature (6°C) .....	88
Fig. 32. Survival rate of the file fish larvae, <i>S. cirrhifer</i> fed on the different diets at 20 L culture tanks (Trial 1) .....	90
Fig. 33. Growth of the file fish larvae, <i>S. cirrhifer</i> fed on the different diets at 20 L culture tanks (Trial I) .....	91
Fig. 34. Total length and weight of the file fish larvae, <i>S. cirrhifer</i> fed on the different diets at 12 ton culture tanks (Trial 2) .....	92
Fig. 35. Growth of the grouper larvae, <i>E. septemfasciatus</i> fed on <i>S. kitina</i> and <i>B. rotundiformis</i> after hatching 4 days (Trial 1) .....	95
Fig. 36. Survival rate of the grouper larvae, <i>E. septemfasciatus</i> fed on <i>S. kitina</i> and <i>B. rotundiformis</i> after hatching 4 days (Trial 1) .....	95
Fig. 37. Growth of the grouper larvae, <i>E. septemfasciatus</i> fed on <i>S. kitina</i> and <i>B. rotundiformis</i> after hatching 7 days (Trial 2) .....	96
Fig. 38. Survival rate of the grouper larvae, <i>E. septemfasciatus</i> fed on <i>S. kitina</i> and <i>B. rotundiformis</i> after hatching 7 days (Trial 2) .....	96
Fig. 39. Confirmed rotifer trophi in the gut of grouper larvae fed <i>S. kitina</i> and <i>B. rotundiromis</i> on 4 days .....	97
 <b>Section 2. Development of enrichment technique and biochemical composition of ultra small rotifer, <i>Synchaeta kitina</i></b>	
Fig. 1. Population growth of rotifer with the different enrichment supplements for 24 hours .....	133
 <b>Section 3. Optimum culture condition for mass production of resting egg of ultra small rotifer, <i>Synchaeta kitina</i> and its hatching rate</b>	
Fig. 1. Hatching rate of the resting eggs on the different salinities .....	149
Fig. 2. Hatching rate of the resting eggs on the different temperatures .....	152

# 목 차

제 1 장	연구과제의 개요 .....	24
제 2 장	국내·외 기술개발 현황 및 과학기술정보 .....	27
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 .....	29
제 1 절	초소형 rotifer, <i>Synchaeta kitina</i> 의 대량배양 및 먹이효율 .....	29
I.	서 론 .....	29
II.	재료 및 방법 .....	30
III.	결 과 .....	36
IV.	고 찰 .....	98
제 2 절	초소형 rotifer, <i>S. kitina</i> 의 영양분석 및 영양강화 기술개발 .....	117
I.	서 론 .....	117
II.	재료 및 방법 .....	118
III.	결 과 .....	122
IV.	고 찰 .....	135
제 3 절	초소형 rotifer, <i>S. kitina</i> 의 내구란 생산 및 부화율 조사 .....	144
I.	서 론 .....	144
II.	재료 및 방법 .....	145
III.	결 과 .....	147
IV.	고 찰 .....	155
제 4 장	연구개발 목표달성도 및 관련분야의 기여도 .....	161
제 5 장	연구개발결과의 활용계획 .....	168
제 6 장	참고문헌 .....	171

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

우리나라는 전통적으로 수산물에 대한 수요가 많은 편이며, 수산물 생산도 세계 10위권에 드는 수산생산국이다. 그러나 최근 들어 국내·외 수산업의 여건이 바뀌면서 어업생산량의 증가는 한계상황에 이르렀고, 양식수익성도 고비용 저효율 경영구조와 WTO 출범에 따른 수산물 가격의 하락으로 점점 나빠지고 있는 현실이다. 사실 그 동안 우리나라의 양식어업은 양식어장 개발확대를 중심으로 이루어져 고효율 양식어업의 발전을 저해하였으며, 그로 인해 양식어업의 경쟁력을 점차 떨어뜨리고 있었다. 이러한 국내·외 여건을 타파하기 위해서는 고부가 어종의 양식업을 집중 육성하고 차별하여 그 가치를 높여 나가야 할 것이다. 현재 우리나라의 주요 양식 대상종은 넙치, 조피볼락 및 돌돔 등과 같이 특정 어류에만 한정되어 있다. 이러한 종들은 현재 세계 양식 생산량의 절반을 차지하는 중국에서 싼 가격으로 대부분 수입되고 있으며, 가격 경쟁력에서 국내산이 매우 불리하게 작용하고 있어 국내 양식산업의 위기를 초래하고 있다. 이러한 현실 속에서 우리나라의 양식산업이 경쟁력을 확보하기 위해서는 그 동안 단순히 어장확대 중심의 증산을 위한 노동집약형이 아닌 경쟁력을 갖춘 양식 대상종(고부가 어종)을 개발하는 기술집약형으로의 전환이 요구되는 것이다.

이러한 인식 속에 고부가 대상 어종의 양식이 산업적으로 발전하기 위해서는 우선 종묘의 계획적인 수급이 성공적이어야 하며, 이 경우 양식생물의 인위적인 번식제어기술과 초기 자·치어 시기에 공급되는 먹이생물의 질적 및 양적 확보는 매우 중요한 과제라 할 수 있다. 해산어류 자어의 입 크기는 종에 따라 매우 다양하고 또한 까다로운 영양을 요구하기 때문에 초기 단계에서의 먹이생물을 확보하는데 있어 많은 어려움을 겪게 된다. 현재 해산어류의 종묘생산에 있어 초기 먹이생물로는 크기가 비교적 작고, 대량배양이 가능하며, 영양 가치가 높은 *rotifer*, *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*를 가장 많이 이용하고 있다(Lubzens, 1987; Lubzens et al., 1989; Hagiwara et al., 2001). 그러나 고부가 어종인 쥐치, 붉바리, 독가시치, 강담돔 및 능성어류 등은 난의 크기가 다른 해산어류에 비해 매우 작아 부화 후 입의 크기가 작기



때문에 *B. plicatilis* (140~320  $\mu\text{m}$ )와 *B. rotundiformis* (100~240  $\mu\text{m}$ )를 정상적으로 섭취하는데 있어 문제점을 가지게 된다. 그로 인해 이들 자어에게 공급할 먹이생물의 확보가 어려워 지금까지도 인공종묘생산에 많은 어려움을 겪고 있다(Duray et al., 1997; Kohno et al., 1997; Suchar and Chigbu, 2006). 따라서 그 동안 부화 후 입의 크기가 작아 인공종묘생산이 불가능했던 고부가어종들의 성공적인 종묘수급을 위해선 반드시 새로운 먹이생물의 개발과 그들의 안정적인 대량배양기술이 확립되어야 할 것이다.

최근 이런 입의 크기가 작은 어류의 종묘생산을 위해 전 세계적으로 많은 노력을 하고 있는데, 주로 무척추동물의 난이나 유생, nauplius 단계의 요각류 유생, 원생동물(protozoa)이 후보 먹이 생물로 연구되어지고 있다(Schipp et al., 1999; Nagano et al., 2000; Toledo et al., 2002; Yoo and Hur, 2002). 그러나 무척추동물의 난이나 유생은 초기 자어의 소화불량 및 장애에 따른 폐사를 유발시키며, 요각류의 nauplius는 이들의 배양밀도가 낮아 대량생산에 많은 문제점을 가지게 된다(Payne and Rippingale, 2001; Lee et al., 2006). 또한 원생동물은 *Euplotes* sp. 및 *Fabra salina*와 같은 유망종이 배양되기도 하였지만 유해한 박테리아를 섭취하는 특성과 체내에 독성을 유발하는 색소를 가지고 있기 때문에 자어에게 악영향을 미칠 가능성이 있어 널리 이용되지는 못하고 있는 실정이다(Yoo, 1992; Lawrence and Snyder, 1998).

이러한 관점에서 최근 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*를 대체할 수 있는 rotifer, *Synchaeta* 속에 대한 관심이 고조되고 있다. *Brachionus* 속과 같은 단생식강(Monogononta)인 *Synchaeta* 속은 기존의 *Brachionus* 속과는 달리 피갑(lorica)이 없는 것이 특징이며, *S. cecilia* (123-188  $\mu\text{m}$ ), *S. oblonga* (225-250  $\mu\text{m}$ ), *S. hutchingsi* (165-200  $\mu\text{m}$ ), *S. littoralis* (192-290  $\mu\text{m}$ ), *S. neapolitana* (109-213  $\mu\text{m}$ ) 및 *S. grimpei* (400-520  $\mu\text{m}$ ) 등과 같이 크기가 비교적 다양한 것으로 알려져 있다(Egloff, 1986, 1988; Brownell, 1988; Shiel and Koste, 1993; Oltra and Todolí, 1997; Rougier et al., 2000). 그러나 지금까지 *Synchaeta* 속에 연구는 주로 종 동정을 위한 분류학적인 연구이거나 종에 대한 기초적인 연구에만 치중되어 있는 실정으로 새로운 먹이생물의 개발을 위한 배양 연구 사례는 국내·외적으로 전무한 상태라 할 수 있다. 이러한 맥락에서 본 연구에 사용

된 초소형 rotifer, *S. kitina*는 성체의 크기가 60~80  $\mu\text{m}$ 로 기존의 다른 어떠한 *Synchaeta* 속의 종들에 비해 작은 형태적 잇점을 가지고 있어 적정 환경규명을 통한 대량배양만 이루어진다면 입의 크기가 작은 자어에게 새로운 먹이생물로서 공급 가능성이 클 것으로 판단된다(Fig. 1).

따라서 본 연구는 앞서 기술한바와 같이 고부가 대상종의 인공종묘생산이 현재 적당한 먹이생물의 미개발로 인해 이루어지지 않고 있는 점을 착안하여 새로운 먹이생물인 초소형 rotifer의 개발을 위해 안정적인 배양에 의한 양적 확보(특히, 경제적·생산적 및 효율적인 대량배양)와 차질없는 원종보급을 위한 내구란 생산, 또한 영양강화를 통한 질적 향상을 중요한 핵심 연구로 선정하여 행하게 되었다.

본 연구과제를 통해 초소형 rotifer인 *S. kitina*의 대량배양 기술개발이 성공적으로 수행된다면 새로운 먹이에 의해 그 동안 미개발된 다양한 수산생물, 특히 부화 후 입의 크기가 작은 고부가 어종들의 종묘생산을 할 수 있는 기회의 폭을 넓혀 줌으로써 수산업 종사자들의 신제품 생산이 늘어날 것으로 기대된다. 또한 국내 양식기술이 한 단계 높아지는 한편 어가의 소득 증대와 생물종의 생산기술 특허로 그 활용도에 따른 전망은 매우 밝을 것으로 판단된다.

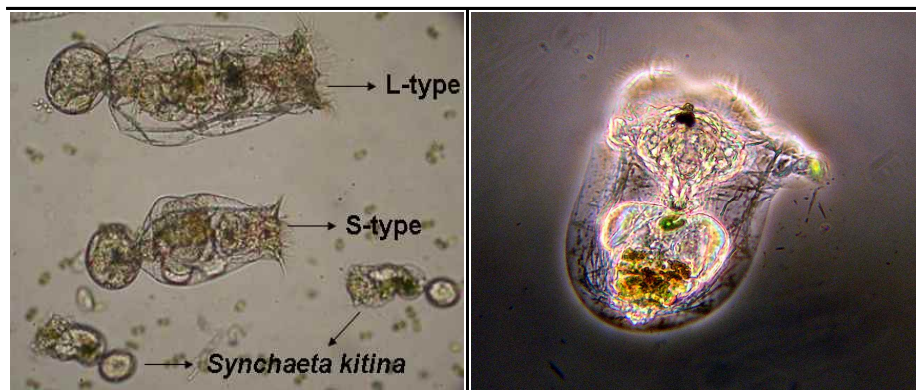


Fig. 1. Size comparison of rotifers, *B. plicatilis* (L-type), *B. rotundiformis* (S-type) and *S. kitina* (left). A picture of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain (right).

## 제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황 및 과학기술정보

최근 입의 크기가 작은 어류의 종묘생산을 위해 전 세계적으로 많은 연구가 행해지고 있다. 그만큼 고부가가치 산업이라 초소형 먹이생물 개발에 대한 관심은 국내 · 외적으로 높다고 할 수 있겠다. 현재까지 국내 · 외적으로 주로 연구되고 있는 후보 종들을 살펴보면, 소형 SS-type의 rotifer, 소형 copepod nauplius 단계의 요각류 유생, 무척추동물의 난이나 유생 및 원생동물 등을 들 수 있겠다. 예를 들어 Doi et al. (1997) 및 Toledo et al. (1999)의 연구결과에 의하면, 붉바리의 초기 먹이생물로 rotifer, *B. rotundiformis* (SS-type, tropical strain)를 사용했을 경우 매우 낮은 생존율을 보이나 copepod nauplius 단계의 요각류 유생 공급구는 그보다 높은 생존율을 보인다고 하였다. 또한, Yoo (1992)는 넙치 자어에게 원생동물인 *Euplotes* sp. 및 *F. salina* 종을 공급한 사례가 있으며, Kungvankij et al. (1986) 및 Tamaru et al. (1995)는 굴, 홍합, 성게 및 따개비 등의 무척추동물에 난이나 유생을 능성어류에게 공급한 예가 있다.

하지만 copepod는 산란하기 전까지의 발달단계가 너무 길고 배양밀도가 낮아서 대량배양이 되지 않고 있으며, 무척추동물의 난, 유생은 자어의 소화 불량 현상과 종묘생산 시기에 일정한 양과 양질의 영양을 함께 공급하기에는 불충분한 것으로 알려져 있다. 또한, 원생동물인 *Euplotes* sp. 및 *Fabra salina* 종은 유해한 박테리아를 섭취하는 특성과 체내에 독성을 유발하는 색소를 가지고 있기 때문에 자어에게 악영향을 미칠 가능성을 내포하고 있어 널리 이용되지는 못하고 있다. 이러한 이유들로 인해, 초소형 먹이생물의 개발이라는 관련분야에서 현재까지의 국내 · 외 기술개발 현황은 만족할 만큼의 성과를 내지는 못하고 있는 실정이다.

그러나 본 연구에 사용된 초소형 rotifer, *S. kitina*는 성체의 크기가 60~80  $\mu\text{m}$ 로 형태적 잇점을 가지고 있을 뿐만 아니라, 다른 후보 먹이생물들의 단점

을 가지고 있지 않아 대량배양기술만 확보된다면 그 과급효과는 매우 클 것으로 판단된다. 또한, 아직까지 국내·외적으로 *Synchaeta* 속에 대한 연구가 미흡한 실정이고, 먹이생물로써 배양한 사례도 거의 전무한 실정이기 때문에 본 연구를 통한 초소형 rotifer의 대량배양기술개발 확보는 현재 시점에서 국내·외적으로 그 차지하는 위치가 높다고 할 수 있겠다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양 및 먹이효율

#### I. 서론

현재 해산어류의 종묘생산에 있어 초기 먹이생물로는 크기가 비교적 작고, 대량배양이 가능하며, 영양 가치가 높은 rotifer, *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*를 가장 많이 이용하고 있다(Lubzens, 1987; Lubzens et al., 1989; Hagiwara et al., 2001). 그러나 비교적 고부가 어종인 쥐치, 붕바리, 독가시치, 강담돔 및 능성어류 등은 난의 크기가 다른 해산 어류에 비해 매우 작아 부화 후 입의 크기가 작기 때문에 *B. plicatilis* (140~320  $\mu\text{m}$ , L-type)와 *B. rotundiformis* (100~240  $\mu\text{m}$ , S-type 및 SS-type)를 정상적으로 섭취하는데 있어 문제점을 가지게 된다. 그로 인해 이들 자어에게 공급할 먹이생물의 확보가 어려워 지금까지도 인공종묘생산에 많은 어려움을 겪고 있다(Duray et al., 1997; Kohno et al., 1997; Suchar and Chigbu, 2006).

최근 이런 입의 크기가 작은 어류의 종묘생산을 위해 전 세계적으로 많은 노력을 하고 있는데 주로 nauplius 단계의 요각류 유생과 원생동물이 후보 먹이 생물로 연구되어지고 있다(Schipp et al., 1999; Nagano et al., 2000; Toledo et al., 2002; Yoo and Hur, 2002). 그러나 요각류의 nauplius는 이들의 배양밀도가 낮아 대량생산에 많은 문제점을 가지고 있으며(Payne and Rippingale, 2001; Lee et al., 2006), 원생동물은 *Euplotes* sp. 및 *Fabra salina*와 같은 유망종이 배양되기도 하였지만 유해한 박테리아를 섭취하는 특성과 체내에 독성을 유발하는 색소를 가지고 있기 때문에 자어에게 악영향을 미칠 가능성이 있어 널리 이용되지는 못하고 있는 실정이다(Yoo, 1992; Lawrence

and Snyder, 1998).

이처럼 새로운 후보 종의 필요성을 인식하여 동해안 인근 기수지역을 채집한 결과, 화진포호, 송지호 및 경포호에서 초소형 rotifer, *S. kitina*를 발견할 수 있었다. 본 연구에 사용된 초소형 rotifer, *S. kitina*는 성체의 크기가 60~80  $\mu\text{m}$  전후로 쥐치 및 능성어류의 종묘생산을 위한 먹이생물로서의 형태적 잇점을 가지고 있기 때문에 적정 환경규명을 통한 대량배양만 이루어진다면 입의 크기가 작은 자어에게 새로운 먹이생물로서 공급 가능성이 클 것으로 판단된다.

일반적으로 대량배양에 영향을 미치는 요인은 여러 가지이며, 대량배양의 성공을 위한 여러 가지 환경요인의 규명은 대량배양의 안정성을 위해 우선 충족되어야 할 필수조건이다. 따라서 본 연구에서는 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 최적 조건을 규명하는데 있어 내재적으로는 strain을 조사하였고, 외재적으로는 수온, 염분, 먹이종류, 먹이량, 접종밀도, 환수일, 환수율 및 먹이인 *T. suecica*의 대량배양 등에 대해 조사하였으며, 이를 바탕으로 대량배양(0.1, 0.5 및 1 ton)을 실시하였다. 또한, *S. kitina*는 일반적으로 낮은 염분에서 배양이 잘되는 경향을 보여 자연해수에서 사육되는 자어에게 공급될 경우, 이들의 활력이 저하되어 자어가 잘 섭취하기 어려운 경우가 발생할 것으로 판단되어 이들의 염분변화에 대한 내성을 함께 조사해 보았다. 아울러, 초소형 rotifer, *S. kitina*의 먹이가치를 조사하기 위해 동갈돔돔, 쥐치 및 능성어류 자어를 대상으로 기존에 이용되는 먹이생물(*B. rotundiformis* 등)과 비교 실험하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 채집 및 순수 분리

초소형 rotifer, *S. kitina*는 2004년 3월에서 2005년 5월까지 동해안 기수호에서 채집되었다. 채집된 지역은 기수호인 강원도의 화진포호, 송지호 및 경

포호였으며, 20  $\mu\text{m}$  식물 플랑크톤 채집용 네트를 이용하여 채집하였다(Table 1).

채집된 초소형 rotifer, *S. kitina*는 실험실로 옮긴 후 입체현미경(SZ 4025 TRPT, OLYMPUS, Japan)하에서 한 마리씩 순수 분리하여 12 cluster chamber에 각각 수용한 후, 24°C 및 15‰ 조건에서 계대 배양하였다. 먹이로는 식물 플랑크톤인 *T. suecica* ( $2 \times 10^3$  세포/mL)와 *Isochrysis galbana* ( $1 \times 10^3$  세포/mL)를 혼합하여 1일 1회 공급하였다. 이 때 식물 플랑크톤의 배양 염분은 15‰로 rotifer와 동일한 배양수를 이용하였다.

개체밀도에 있어 안정기에 도달한 이 후, 각 strain에 따른 성체, 어린 개체 및 난의 크기를 측정하여 비교해 보았다(Table 2).

Table 1. Source of collected *Synchaeta kitina* on Gangwon-province for this study.

Strain	Sampling areas	Habitats (salinity)	Sampling dates
H	Hwajin-po-lake	Lagoon (5‰)	10 May, 2005
S	Songji-lake	Lagoon (15‰)	10 May, 2005
G	Gyeong-po-lake	Lagoon (25‰)	20 Mar, 2004

Table 2. The size on *S. kitina* strains cultured with feed *T. suecica* at 20°C\*

Strain <sup>1</sup>	Adult		Neonate		Egg	
	length ( $\mu\text{m}$ )	width ( $\mu\text{m}$ )	length ( $\mu\text{m}$ )	width ( $\mu\text{m}$ )	length ( $\mu\text{m}$ )	width ( $\mu\text{m}$ )
H	95.0±1.33 <sup>b</sup>	42.5±2.78 <sup>a</sup>	71.4±0.92 <sup>b</sup>	21.0±1.07 <sup>a</sup>	56.4±0.50 <sup>b</sup>	48.2±0.89 <sup>b</sup>
S	106.4±2.49 <sup>c</sup>	58.2±4.68 <sup>b</sup>	70.0±1.88 <sup>b</sup>	23.9±1.07 <sup>a</sup>	56.0±1.32 <sup>b</sup>	47.5±0.77 <sup>b</sup>
G	85.0±1.33 <sup>a</sup>	48.2±1.70 <sup>a</sup>	63.9±1.20 <sup>a</sup>	23.2±0.71 <sup>a</sup>	51.7±0.46 <sup>a</sup>	43.9±0.50 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of 24 individuals) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>H : Hwajin-po-lake; S : Songji-lake; G : Gyeong-po-lake

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 최적 성장 환경 실험

*S. kitina*의 대량배양을 위한 최적 성장 환경을 규명하고자 내재적 요인 (strain) 및 외재적 요인(수온, 염분, 접종밀도, 환수일, 환수율, 먹이 종류 및 공급량 등)을 조사하였다. 조사방법은 기본적으로 개체배양 및 군집배양으로 나누어 수행하였으나 접종밀도, 환수량 등과 같이 개체배양이 불필요한 실험은 군집배양만 행하였다.

먼저 군집배양에서의 *S. kitina*는 Rico-Martinez and Stanley (1992)의 방법에 따라 성장률을 계산하였고[SGR =  $(1/T) \ln(N_T/N_0)$  (T = 접종 이후 *S. kitina*가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수;  $N_T = T$  days의 *S. kitina* 개체 밀도;  $N_0 = S. kitina$ 의 접종밀도)], 매일 개체수와 포란수를 조사하여 mL 당 개체수 및 포란율로 나타내었다.

개체배양 실험은 20°C 및 15‰에서 계대 배양하던 개체들 중에서 난을 달고 다니는 암컷을 따로 분리 수용하여 30분 간격으로 갓 부화된 개체를 확인한 뒤, 12 cluster chamber에 한 마리씩 접종하여 폐사할 때까지 관찰하였다. 실험기간은 각각의 암컷이 폐사하는 시기까지로 하여 부화 시부터 첫 번째 알을 달게 되는 시간까지를 생식 전 단계(Pre-reproductive phase), 첫 번째 알을 달 때부터 생존기간 내에 마지막 알이 부화할 때까지를 순 생식 단계(Reproductive phase), 마지막 알이 부화한 후부터 각 개체가 폐사하기까지를 생식 후 단계(Post-reproductive phase), 암컷의 수명(Lifespan) 및 생존기간 내의 총 산란수(Offspring)로 각각 구분하여 관찰하였다. 관찰간격은 생식 전 단계는 1시간 간격으로 관찰하였으며, 이 후부터는 12시간 간격으로 관찰하였다.

### 2. 1. Rotifer, *S. kitina*의 배양에 영향을 미치는 내재적 요인

초소형 rotifer, *S. kitina*의 3개 strain 중 대량배양에 적합한 strain 선발을 위해 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 각각의 strain에서 갓 부화한 *S.*



*kitina*의 neonate를 한 마리씩 접종하여 염분별(5, 10, 15, 20, 25 및 30%)에 따른 산란수와 평균 수명을 조사하였다. 수온은 20℃였으며 먹이는 개체 당 *T. suecica*를  $3 \times 10^3$  세포로 공급하였다. 그리고 첫 번째 알을 달은 이 후 암컷의 산란수를 체크하기 위해 매일 스포이드를 사용하여 cluster chamber에서 암컷 성체만 남기고 갓 부화한 어린 개체를 배양수와 함께 뽑아 입체현미경(SZ 4025 TRPT, OLYMPUS, Japan)하에서 계수하였고, 성체가 들어있는 cluster chamber에는 새로운 배양수와 먹이를 넣어주어 각 개체가 폐사하는 시기까지 실험을 행하였다.

## 2. 2. Rotifer, *S. kitina*의 배양에 영향을 미치는 외재적 요인

### 2. 2. 1. 염분

염분별 군집배양 실험은 5, 10, 15, 20, 25 및 30%로 한 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 *S. kitina*의 개체밀도가 10 개체/mL가 되도록 접종하였다. 먹이 공급은 rotifer 1,000 개체 당 *T. suecica*를 1일 1회  $1.5 \times 10^6$  세포로 공급하였으며, 실험 종료일까지 환수는 실시하지 않았다. 또한 실험은 다채널 배양기(EYELA, MTI-202, Japan)를 수온 20℃로 설정하여 7일간 3반복으로 행하였다. 개체배양 실험은 군집배양과 동일한 염분구로 행하여 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 갓 부화한 *S. kitina*의 neonate를 한 마리씩 접종한 후 발달단계, 산란수 및 수명을 조사하였다. 먹이 공급량은 *T. suecica*를 개체 당  $3 \times 10^3$  세포로 공급하였다.

### 2. 2. 2. 수온

군집배양 실험은 수온이 16, 20, 24, 28 및 32℃로 조절된 다채널배양기(EYELA, MTI-202, Japan)에서 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 15%의 배양수를 준비하여 개체밀도가 5 개체/mL가 되도록 접종하였다. 먹이 공

급은 rotifer 1,000 개체 당 *T. suecica*를 1일 1회  $8 \times 10^5$  세포로 공급하였으며, 환수는 2일마다 1회 전량환수를 시켜주었다. 실험은 10일간 이루어졌으며 모든 실험은 2회 반복하였다. 개체배양 실험은 균집배양과 동일한 실험구로 행하여 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 갓 부화한 *S. kitina*의 neonate를 한 마리씩 접종한 후 발달단계, 산란수 및 수명을 조사하였다. 실험조건은 염분 15‰에서 *T. suecica*를 개체 당  $3 \times 10^3$  세포로 공급하였다.

### 2. 2. 3. 먹이종류

균집배양에 있어서 먹이종류별 실험은 해수산 *Chlorella ellipsoidea* (CHL), *T. suecica* (TET) 및 *Isochrysis galbana* (ISO)를 이용하였다. 실험구는 각각의 단독구와 혼합구 3개(TET+ISO, TET+CHL, ISO+CHL)로 하였다. 접종밀도는 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 10 개체/mL로 하였고, 먹이량은 각각의 먹이를 원심분리하여 농축시킨 뒤 rotifer 1,000 개체 당 건조중량 0.4 mg을 기준으로 1일 1회 공급하였다. 실험은 13일간 이루어졌으며 모든 실험은 3회 반복하였다. 개체배양 실험은 밀집배양과 동일한 먹이 조건으로 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 갓 부화한 *S. kitina*의 neonate를 한 마리씩 접종한 후 발달단계, 산란수 및 수명을 조사하였다. 각각의 먹이 공급량은 개체 당 *T. suecica*를 건조중량 0.04  $\mu\text{g}$ 으로 기준하여 공급하였다.

### 2. 2. 4. 먹이 공급량

먹이 공급량에 따른 실험은 2. 2. 3.에서 가장 효과적인 먹이였던 *T. suecica*를 사용하여 rotifer 개체 당 2,500, 5,000, 10,000, 25,000 및 50,000 세포로 각각 나누어 실시하였다. 접종밀도는 1 L 비이커(배양수 900 mL)에 10 개체/mL로 하였고 배양조건은 15‰, 20℃로 설정하였다. 실험은 7일간 이루어졌으며 모든 실험은 3회 반복하였다. 개체배양의 실험은 균집배양과 동일한 실험구로 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 갓 부화한 *S. kitina*의 neonate

를 한 마리씩 접종한 후 발달단계, 산란수 및 수명을 조사하였다.

### 2. 2. 5. 환수일

환수일에 따른 실험으로 무환수구인 대조구와 1, 2, 3 및 4일 간격의 실험구를 두어 10일 동안 2반복으로 행하였다. 접종밀도는 1 L 비이커(배양수 500 mL)에 30 개체/mL로 하였고 배양조건은 15‰, 20°C로 설정하였다. 먹이는 2. 2. 3에서 결정된 *T. suecica*를 rotifer 1,000 개체 당 건조중량 0.45 mg으로 공급하였다. 실험기간 동안 배양수의 NH<sub>3</sub>-N 및 pH을 측정하기 위해서 다채널수질분석기(Orion Model 920A, Orion, USA)를 이용하여 ppm 단위로 나타내었다. 또한, 용존산소측정기(Model 330A, YSI, USA)를 사용하여 DO를 ppm 단위로 조사하였다.

### 2. 2. 6. 환수율

환수율에 따른 실험 구간은 배양수의 10, 20, 30, 40 및 50%으로 구분하였다. 6 L 배양수조(배양수 5 L)에 초기 접종밀도를 350 개체/mL로 하여 염분 25‰, 수온 17±1°C 및 용존산소 5 ppm 이상의 조건하에서 실험을 행하였다. 실험은 매일 배양수의 환수율에 따라 rotifer를 수확하였으며, 수확한 후 먹이는 배양수와 동일한 조건에서 배양된 *T. suecica* (100~170×10<sup>4</sup> 세포/mL)를 공급하여 배양수를 보충해 주었다. 그 외 부족한 수량은 25‰ 여과 해수를 첨가하여 항상 배양수의 수량을 5 L로 유지하였다. 매일 수확한 *S. kitina*의 개체수를 파악하였으며, 또한 일간 성장률을 조사하였다. 아울러, NH<sub>3</sub>-N 변화에 따른 성장률과 먹이량에 따른 성장률의 상관관계를 알아보았다. 실험기간 동안 환수를 하기 전에 배양수의 NH<sub>3</sub>-N 및 pH을 측정하기 위해서 다채널수질분석기(Orion Model 920A, Orion, USA)를 이용하였다.

### 2. 2. 7. 초기 접종밀도 (Batch 배양)

초기 접종밀도별 실험은 200, 600 및 1,000 개체/mL로 실험구를 나누어 2 반복으로 행하였다. 배양용기는 6 L 원형수조(배양수 3 L)를 이용하였으며 배양조건은 15% 및 18±1°C로 해주었다. 먹이는 *T. suecica*를 개체 당 3×10<sup>3</sup> 세포로 설정하였으며, 농축된 *T. suecica*를 4°C로 냉장 보관하면서 정량펌프(Eyela, Model MP-N, Japan)을 이용하여 12시간마다 먹이 공급량을 계산하여 공급하였다. 폭기는 소형 산소발생기(Model Mark 5 plus, NIDEX Medical, USA)를 이용하여 각 수조에 1 L/분 공급하였다. 실험기간 동안 배양수의 NH<sub>3</sub>-N을 측정하기 위해서 다채널수질분석기(Orion Model 920A, Orion, USA)를 이용하여 ppm 단위로 나타내었다.

### 2. 2. 8. 염분변화에 따른 내성력 조사

염분변화에 따른 내성력을 조사하고자 15, 20, 25%에서 각각 1주일간 계대 배양된 *S. kitina*를 15, 20, 25, 30 및 33%의 염분구로 옮겼을 때 이들의 시간대별 생존율을 조사하였다. 12 cluster chamber (배양수 2 mL)에 포란하고 있지 않은 *S. kitina*를 한 마리씩 접종하여 10, 20, 30, 60, 120 및 180분 단위로 나누어 측정하였다.

### 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 먹이인 *T. suecica*의 고밀도 대량배양

*S. kitina*의 먹이생물인 *T. suecica*를 대량배양 하기 위해 배양용기 및 pH 조절에 따른 생산량을 조사해 보았다. 본 실험에 사용한 *T. suecica*는 부경대 미세조류은행으로부터 분양 받은 종을 이용하였다. 실험에 사용한 *T. suecica*의 배양은 250 mL 삼각 플라스크(배양수 150 mL)에 conwny 배지로 하여 4,000 lux 조도 하에서 원종을 지속적으로 계대 배양한 뒤 이용하였다.

#### 3. 1. 배양용기에 따른 성장

배양용기에 따른 실험은 30 L 둥근 원형수조, 100 L 판형배양기 및 1 ton 원형 야외수조로 나누어 행하였다. conwny 배지가 들어간 각각의 배양용기에 *T. suecica*를  $2.0 \times 10^4$  세포/mL 밀도로 초기 접종하여  $23 \pm 2.0^\circ\text{C}$  상태에서 배양을 행하였다. 세포성장을 알아보기 위해 1일 1회 hemocytometer인 혈구 측정기를 이용하여 광학현미경(CH2, Olympus, Japan)하에서 세포수를 측정하였다.

### 3. 2. pH 조절에 따른 성장

3. 1.의 실험 결과, 세포성장이 높았던 판형배양기(Fig. 2, 3)를 사용하여 pH에 따른 *T. suecica*의 성장을 비교 조사해 보았다. *T. suecica*의 배양 시 최적 pH 조건을 규명하기 위한 실험은 공기와  $\text{CO}_2$ 를 혼합할 수 있는 pH control box (Fig. 4)를 이용하여 pH 6, 7로 조절한 실험구와 pH 조절을 하지 않은 대조구로 나누어 행하였다. 세포성장을 알아보기 위해 1일 1회 hemocytometer인 혈구 측정기를 이용하여 광학현미경(CH2, Olympus, Japan)하에서 세포수를 측정하였으며, 배양일에 따른 pH 변화는 control box에 장착한 pH 센서를 사용하여 매일 일정하게 유지시켜 주었다.

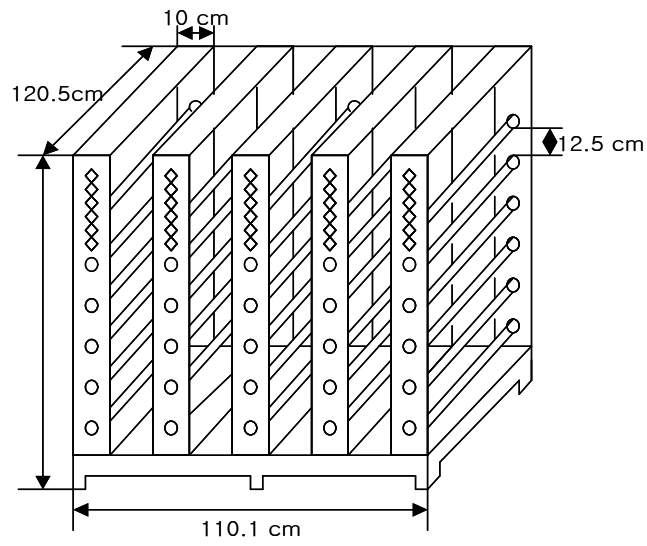


Fig. 2. The schematic diagram of flat growth chamber supporter.

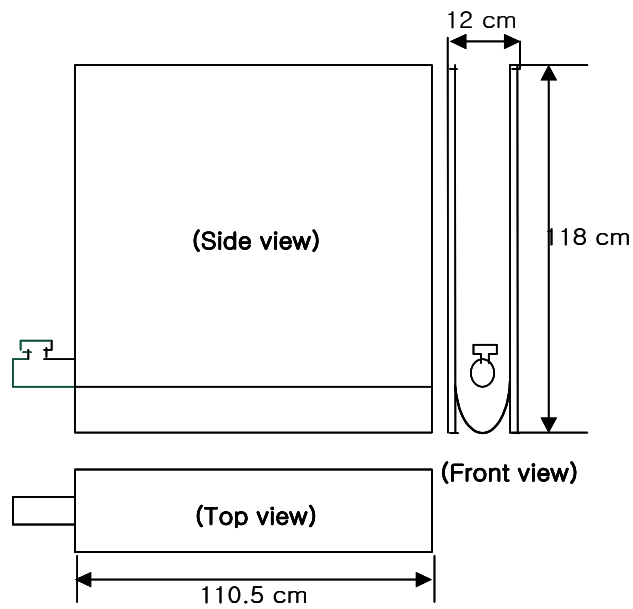


Fig. 3. The schematic diagram of flat growth chamber.

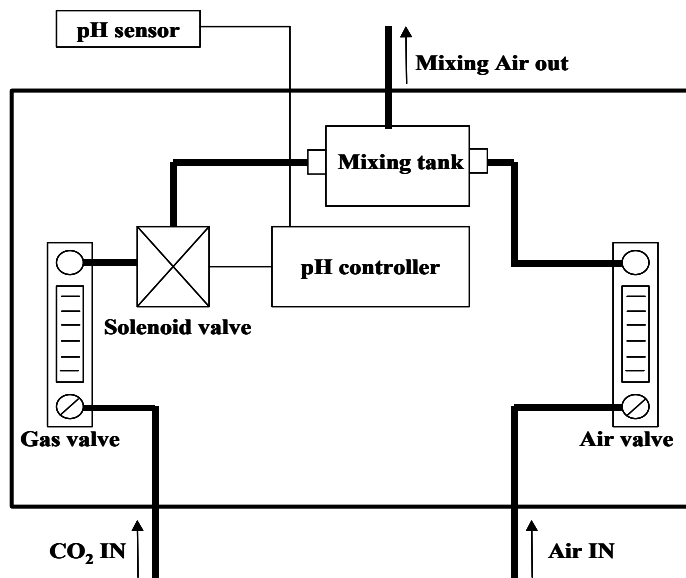
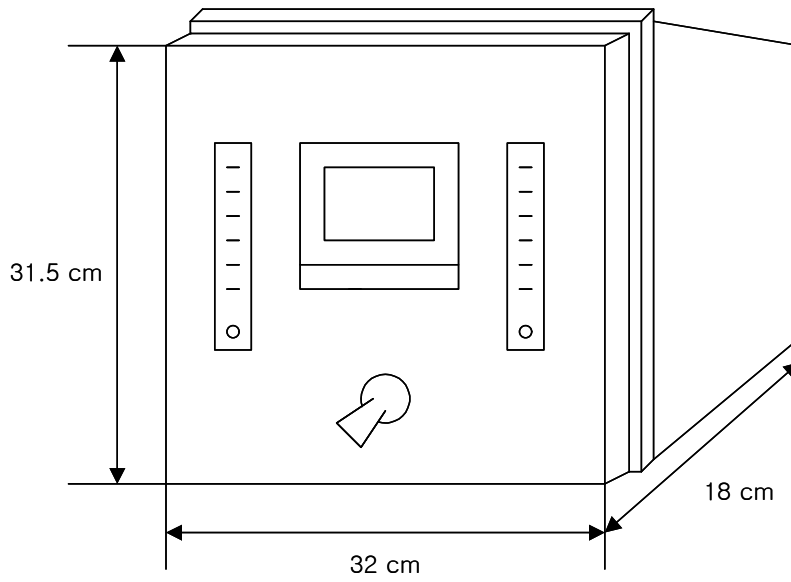


Fig. 4. The schematic diagram of pH control box.

#### 4. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양

##### 4. 1. 접종밀도에 따른 생산성 실험 (Semi-continuous 배양)

접종밀도에 따른 생산성 실험은 6 L 원형수조(배양수 5 L)에 초기 접종밀도를 250, 600 및 900 개체/mL로 각기 달리하여 행하였다. 실험수온은  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 염분은 15‰로 조절하였다. Rotifer 계수는 매일 입체현미경하에서 1회 3반복으로 측정하였고, 계수 후 각각의 배양수조를 2. 2. 6. 실험에서 높은 생산성을 보인 40% 환수율을 본 실험에도 적용하여 수확하였다. 먹이로는 *T. suecica* ( $160 \sim 340 \times 10^4$  세포/mL)를 매일 공급하였다.

실험기간 동안 배양수의 용존산소를 측정하기 위해 DO 측정기(YSI, 550A, USA)를 이용하였고, 그 외 수온, pH 및  $\text{NH}_3\text{-N}$ 는 기타수질분석기(Orion, model 920A, USA)로 매일 수확 직전에 측정하였다.

##### 4. 2. 0.1 및 0.5 ton 규모의 대량배양 (Batch 배양)

배양용기가 큰 0.1 및 0.5 ton 수조에서 대량배양이 가능한지를 알아보기 위해 일일 개체성장률 조사하였다. 우선, 0.1 ton 규모의 실험으로 0.1 ton 수조에 *S. kitina*를 총  $6.6 \times 10^6$  개체/mL로 접종시킨 다음  $20^\circ\text{C} \pm 1$ ,  $14 \pm 1\%$ 에서 배양을 행하였다. 먹이로는 *T. suecica*를 rotifer 한 개체 당  $2 \sim 3 \times 10^3$  세포로 설정하여 매일 늘어난 개체수 만큼 먹이량을 계산하여 공급하였다. 0.5 ton 수조에서 실험은 rotifer를 총  $4.0 \times 10^7$  개체가 되도록 접종시킨 다음  $16^\circ\text{C} \pm 1$ ,  $15 \pm 1\%$ 로 배양을 행하여 일일 개체밀도를 조사하였다. 수조 내에 존재하는 현탁물질을 제거하기 위해 filter mat (KS 185N, Aqua Culture System, Japan)를 2장 설치하였고, 하루에 한번 세척하여 다시 배양 수조에 넣어주었다. 먹이로는 *T. suecica*를 rotifer 한 개체 당  $1.3 \times 10^3$  세포로 설정하여 매일 늘어난 개체수 만큼 먹이량을 계산하여 공급하였으며 실험 종료일까지 환수는 실시하지 않았다.



#### 4. 3. 1 ton 규모의 배양 형태별 (batch 및 semi-continuous) 생산성 및 경제성 분석

1 ton 수조에서 batch 및 semi-continuous의 배양방법에 따른 생산성 및 경제성을 비교 조사하였다.

우선, batch 배양에 따른 대량배양은 1 ton 배양수조(배양수 600 L)에 초기 접종밀도를 30 개체/mL로 하여  $7\pm 1\%$  및  $19\pm 1^\circ\text{C}$ 의 조건하에서 실험을 행하였다. 먹이는 동일한 조건에서 배양된 *T. suecica* ( $180\sim 350\times 10^4$  세포/mL)를 매일 개체 당 600 세포가 되도록 공급하였다. 먹이를 배양수에 공급하기 전에 매일 rotifer를 실체현미경하에서 1일 5회 반복으로 계수하였다. 폭기는 산소발생기(NIDEL medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 이용하여 수조에 1 L/분 공급하였다.

30% 환수율에 따른 semi-continuous 배양은 1 ton 배양수조 (배양수 600 L)에 초기 접종밀도를 200 개체/mL로 하여  $7\pm 1\%$  및  $19\pm 1^\circ\text{C}$ 의 조건하에서 실험을 행하였다. 매일 rotifer를 계수한 뒤 배양수의 환수율에 따라 수확하였으며, 수확한 후 먹이는 배양수와 동일한 조건에서 배양된 *T. suecica* ( $95\sim 325\times 10^4$  세포/mL)를 매일 개체 당 600 세포가 되도록 공급하여 배양수를 보충해 주었다. 그 외 부족한 수량은 7% 배양수를 첨가하여 항상 배양수의 수량을 600 L로 유지하였다. 폭기는 산소발생기(NIDEL medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 이용하여 수조에 1 L/분 공급하였다.

실험기간 동안 배양수의 용존산소는 DO 측정기(YSI, 550A, USA)를 이용하였고, 그 외 수온 및 pH는 다채널수질분석기(Orion Model 920A, Orion, USA)를 이용하였으며, 이온화되지 않은 암모니아( $\text{NH}_3\text{-N}$ )는 Kit (HUMAS, HS- $\text{NH}_3\text{(N)-SW}$ , KOREA)를 사용하여 ppm 단위로 나타내었다.

#### 5. 대량생산된 *S. kitina*의 효과적인 저온 보관

대량생산된 초소형 rotifer, *S. kitina*를 효과적으로 보존하기 위해 저온인

6°C에서 먹이 공급량에 따른 성장을 조사하였다. 실험 구간은 총 5개 실험구로 먹이를 공급하지 않은 대조구와 *T. suecica*를 rotifer 한 개체 당 90, 180, 270 및 360 세포로 공급한 실험구로 각각 나누어 행하였다. 원형 20 L 수조(배양수 5 L)에 총  $3.1 \times 10^4$  개체가 되도록 rotifer를 접종하였다. 이 때 염분은 25‰이었으며 소형 산소발생기(Model Mark 5 plus, NIDEK Medical, USA)를 사용하여 용존산소가 항상 10 ppm 되도록 유지시켜 주었다. 배양수의 수위는 360 세포 공급구를 기준으로 하였으며, 배양수가 부족한 다른 실험구의 경우는 매일 25%의 여과 해수를 첨가하여 모든 실험구의 배양수 양을 동일하게 유지시켜 주었다.

## 6. 먹이효율

### 6. 1. 동갈뚝뚝(*Hapalogenys nitens*) 자어의 먹이효율

동갈뚝뚝 자어에 대한 먹이효율 실험은 *S. kitina*를 공급한 실험구(S), *B. rotundiformis*를 공급한 실험구(R) 및 copepod, *Paracyclops nana*의 nauplius를 공급한 실험구(C)로 나누어 3반복으로 실시하였다. 20 L 수조(40cm×30cm×25cm)에 동갈뚝뚝 난을 수용하여 부화시켰으며, 부화 후 각각의 실험수조에 1,800±100마리의 자어를 수용하였다. 이 때 초기 부화자어의 크기는 2.25±0.101 mm로 측정되었다. 사육수는 온풍기를 사용하여 25±1°C로 유지하였으며 약하게 통기하였다. 먹이 공급량은 10 개체/mL로 하루에 3번 나누어 공급하였으며, 하루에 사육수의 80% 정도를 환수해 주어 7일 동안 실험을 행하였다. 실험 종료일에 동갈뚝뚝 자어를 샘플링하여 전장 및 무게를 측정하였으며, 또한 각각의 실험구에 따른 생존율을 조사하였다.

### 6. 2. 쥐치(*Stephanolepis cirrhifer*) 자어의 먹이효율

쥐치 자어에 대한 먹이효율 실험은 *Chryptocodinium* sp.로 25±1°C에서 4

시간 동안 영양강화된 *B. rotundiformis*와 *T. suecica*로 배양한 *S. kitina*의 먹이 공급구로 나누어 20 L 수조와 12 ton 수조에서 각각 2회 실험을 실시하였다. 우선, 20 L 수조(40cm×30cm×25cm)에서의 실험으로 각 수조의 수온을 20±1.0℃로 맞춘 뒤, mL 당 0.5개의 난을 접종하였다(수조 당 총 1,500개의 난을 수용). 수조 내 green water 효과를 내기 위해 *T. suecica*를 30,000 세포/mL가 되도록 매일 확인한 후 추가 공급해 주었다. 먹이는 부화 2일째부터 공급하기 시작하였으며 공급량은 10 개체/mL로 하루에 2번 나누어 공급해 주었다. 매일 사이폰을 사용하여 바닥 청소와 함께 사육수의 50% 정도를 환수해 주어 8일 동안 실험을 행하였다.

12 ton 규모(2.5m×2.5m×3.14m×0.6m)에서의 실험은 수온을 22±1.0℃로 맞추어 L 당 2,500개의 난을 접종하였다. 먹이는 부화 3일째부터 공급하기 시작하였으며 공급량은 10 개체/mL로 하루에 2번 나누어 공급해 주었다. 매일 사육수의 1/3 정도를 환수해 주어 11일 동안 실험을 행하였다. 실험기간 동안 쥐치 자어의 크기와 무게를 알아보기 위해 먹이공급 1, 3, 5, 7 및 9일째 자어를 샘플링하여 측정하였다. 또한, 실험 종료일에는 쥐치 자어의 지방산 분석을 위해 각각의 실험구별로 샘플링하여 증류수로 행군 후 -80℃에서 보관하였다.

### 6. 3. 능성어류(*Epinephelus septemfasciatus*) 자어의 먹이효율

능성어류 자어에 대한 먹이효율 실험은 7일 동안 1, 2차로 나누어 수행되었다. 1차 실험은 제주도 해양수산자원연구소에서 인공 수정시킨 수정란 20,000 립을 각각의 500 L(해수량 450 L) 수조에 수용하여 실시하였다. 부화율은 98%였고 수용 후 사육 수온을 하루에 1℃씩 상승시켜 최종적으로 25℃ 내외가 되도록 유지하였다. 부화 당일 오후부터 수질악화를 방지하기 위하여 패화석을 사육수 1 ton 당 10 g의 비율로 해수에 희석하여 수조에 골고루 살포하였다. 또한 부화 자어가 표면장력에 의해 사망하는 것을 방지하기 위하여 피드오일(오징어 간유)을 부화 4일째부터 1일 2회로 나누어 각 수조 당

100~150  $\mu\text{l}$ 씩 공급하였다. 먹이 실험구로는 초소형 rotifer, *S. kitina*를 공급한 것과 *B. rotundiformis* (SS-type, Thai strain)를 공급하는 실험구로 두었다. 실험구로 사용된 *S. kitina*는 110 L 원형 플라스틱 수조(배양수 90 L)에서 8%, 18°C의 배양조건 하에서 대량배양하고 있는 것을 이용하였으며, 능성어류 자어의 먹이로서 이용하기 전에는 배양염분이 25%이 되도록 자연해수를 공급하여 순치시킨 후 먹이로 공급하였다. 대조구로 사용된 *B. rotundiformis*는 30 L 원형용기(배양수 25 L)에서 34%, 25°C 조건하에 배양하고 있던 것을 이용하였다. 각각의 실험구의 먹이 공급량은 수조 내 10~15 개체/mL가 유지되도록 1일 3회 나누어 공급해 주었다.

또한, 실험기간 동안 사육수의 수온 측정은 자동 온도조절장치를 사용하였으며 용존산소량은 DO측정기(YSI MODEL 58, USA)를 이용하였다. 실험 종료 후, 자어의 생존율을 조사하였으며 부화 당일과 부화 4일째에 30마리의 자어를 무작위적으로 취하여 전장을 측정하였다.

2차 실험은 제주대학교에서 인공 수정시킨 수정란 1,000 립을 각각의 100 L(해수량 50 L) 수조에서 수용하여 실시하였다. 부화율은 83.8%였고 수용 후 사육 수온을 하루에 1°C씩 상승시켜 최종적으로 사육수온이 25°C 내외가 되도록 유지시켜 주었다. 용존산소농도는 실험기간 동안 소형 산소발생기(NIDEK Medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 이용하여 5 ppm 이하로 떨어지는 것을 방지하였다. 조도는 사육기간 동안 300 lux를 유지하였으며, 부화 당일부터 수조 저면의 수질악화를 방지하기 위하여 패화석을 사육수 1 ton당 10 g의 비율로 해수에 희석하여 수조에 골고루 살포하였다. 또한, 수정란을 수용하기 1일 전부터 복합생균제(MIC, INVE, Belgium)를 사육수 1 L당 1 mg의 비율로 해수에 희석하여 수조에 넣어주었으며, green water를 위해 *T. suecica*를 부화 당일부터 공급하였다. 아울러, 먹이가 공급되는 부화 3일째부터 다른 복합생균제(PROW-W, INVE, Belgium)를 사육수 1 L당 2 mg의 비율로 해수에 희석하여 수조에 골고루 살포하였다. 자어의 크기 측정은 부화 당일과 부화 7일째에 10마리의 자어를 무작위적으로 취하여 전장을 측정하였고, 실험은 2반복으로 실시하였다.

## 7. 통계처리

결과의 통계처리는 SPSS (SPSS Inc., 1997) program을 사용하여 T-test 및 AVOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성( $P < 0.05$ )을 검정하였다.

### III. 결 과

#### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 최적 성장 환경 실험

##### 1. 1. Rotifer, *S. kitina*의 배양에 영향을 미치는 내재적 요인

각 strain의 개체배양에서 암컷의 총 산란수 및 평균 수명은 Table 3, 4에 나타내었다. 우선 화진포 strain의 경우, 산란수는 5~20%에서 3.3~6.5 개체/female을 보였으며 25% 이상 실험구에서는 모두 폐사하였다. 송지호 strain의 경우는 5~30%까지 광범위하게 산란하는 것으로 나타났으나 0.6~3.0 개체/female로 화진포보다 낮은 산란수를 보였다. 경포 strain의 경우, 5~20%에서 7.3~13.4 개체/female을 보여 앞선 두 strain보다 유의적으로 높은 산란수를 보였다( $P<0.05$ ) (Table 3).

염분에 따른 각 strain별 암컷의 평균 수명을 보면(Table 4), 화진포 strain은 5~15%에서 3.6~4.9일로 나타났으며, 25 및 30%에서는 생존하지 않아 이들의 수명을 관찰할 수 없었다. 송지호 strain의 경우, 10~20%에서 3.2~4.0일로 나타나 저염분에서 수명이 긴 것으로 나타났다. 경포 strain은 5~30%에서 3.9~5.9일로 나타나 각 염분별로 비교했을 때 화진포 및 송지호 strain보다 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

결과적으로 다른 strain에 비해 크기가 작고, 산란수 및 평균 수명이 유의적으로 높은 경포 strain이 대량배양을 위한 최적의 strain이라 판단된다 (Table 2, 3, 4).

Table 3. Number of offsprings of *S. kitina* 3 strains cultured with *T. suecica* at the different salinities\*

		Strains		
		Hwajin-po-lake	Songji-lake	Gyeong-po-lake
Salinities (‰)	5	6.5±0.52 <sup>b</sup>	0.6±0.23 <sup>a</sup>	13.4±0.75 <sup>d</sup>
	10	6.2±0.72 <sup>b</sup>	2.7±0.46 <sup>c</sup>	9.0±0.66 <sup>c</sup>
	15	5.5±0.67 <sup>b</sup>	3.0±0.43 <sup>c</sup>	7.3±0.89 <sup>c</sup>
	20	3.3±0.32 <sup>a</sup>	2.9±0.69 <sup>c</sup>	7.7±0.43 <sup>c</sup>
	25	-	2.1±0.30 <sup>bc</sup>	5.1±0.44 <sup>b</sup>
	30	-	0.7±0.31 <sup>ab</sup>	3.1±0.29 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

Table. 4. Lifespan of *S. kitina* 3 strains cultured with *T. suecica* at the different salinities\*

		Strains		
		Hwajin-po-lake	Songji-lake	Gyeong-po-lake
Salinities (‰)	5	4.9±0.19 <sup>b</sup>	2.6±0.12 <sup>a</sup>	5.9±0.25 <sup>c</sup>
	10	4.8±0.24 <sup>b</sup>	3.6±0.15 <sup>cd</sup>	5.3±0.20 <sup>b</sup>
	15	3.6±0.21 <sup>a</sup>	4.0±0.19 <sup>d</sup>	5.1±0.18 <sup>b</sup>
	20	3.7±0.12 <sup>a</sup>	3.2±0.17 <sup>bc</sup>	5.3±0.16 <sup>b</sup>
	25	-	3.1±0.14 <sup>bc</sup>	4.8±0.16 <sup>b</sup>
	30	-	2.8±0.90 <sup>ab</sup>	3.9±0.11 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## 1. 2. Rotifer, *S. kitina*의 배양에 영향을 미치는 외재적 요인

### 1. 2. 1. 염분

염분에 따른 경포 strain, *S. kitina*의 군집배양에서 개체 성장과 포란율은 Table 5와 Fig. 5에 나타내었다. 최고밀도는 5‰에서 390.1 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났( $P<0.05$ ). 그 뒤로 10‰이 272.2 개체/mL로 높게 나타났으나 15 및 20‰ 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 반면에 고염인 25 및 30‰의 실험구는 각각 133.3, 122.7 개체/mL로 다른 실험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났( $P<0.05$ ). 최고밀도까지의 평균 포란율은 25‰에서 23.0‰로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 15 및 30‰ 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 최고밀도까지의 개체 성장률(SGR)은 10‰에서 1.388으로 가장 높게 나타났으나 15 및 25‰ 실험구와 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ).

염분에 따른 경포 strain, *S. kitina*의 개체배양에서 발달단계, 산란수 및 수명은 Table 6에 나타내었다. 생식 전 단계는 염분이 낮을수록 유의적으로 단축되는 경향을 보여 5‰에서 18.2시간으로 가장 짧게 나타났( $P<0.05$ ). 순생식 단계는 5‰에서 3.9일로 유의적으로 가장 길게 나타났으나, 염분 상승과 같이 유의적으로 짧아져 30‰에서 1.7일로 가장 짧게 나타났( $P<0.05$ ). 생식 후 단계는 모든 실험구에서 각각 22.9~30.5시간으로 유의적인 차이가 없이 나타났( $P>0.05$ ). 염분에 따른 암컷 당 산란수 및 수명은 5‰에서 13.4개체와 5.9일로 유의적으로 높게 나타나 다른 실험구와의 유의적인 차이를 보였다( $P<0.05$ ).



Table 5. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different salinities\*

Salinity (‰)	Maximum density (inds./mL)	Fecundity (%)	Specific growth rate (SGR)
5	390.1±32.58 <sup>c</sup>	9.0±0.70 <sup>a</sup>	1.142±0.1386 <sup>ab</sup>
10	272.2±30.37 <sup>b</sup>	14.9±1.83 <sup>b</sup>	1.388±0.0308 <sup>c</sup>
15	258.8±11.87 <sup>b</sup>	18.9±1.29 <sup>bc</sup>	1.378±0.0117 <sup>bc</sup>
20	224.9±8.81 <sup>b</sup>	15.6±0.76 <sup>b</sup>	1.013±0.0544 <sup>a</sup>
25	133.3±5.08 <sup>a</sup>	23.0±2.14 <sup>c</sup>	1.203±0.0100 <sup>ab</sup>
30	122.7±5.79 <sup>a</sup>	20.4±1.18 <sup>c</sup>	1.071±0.0978 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

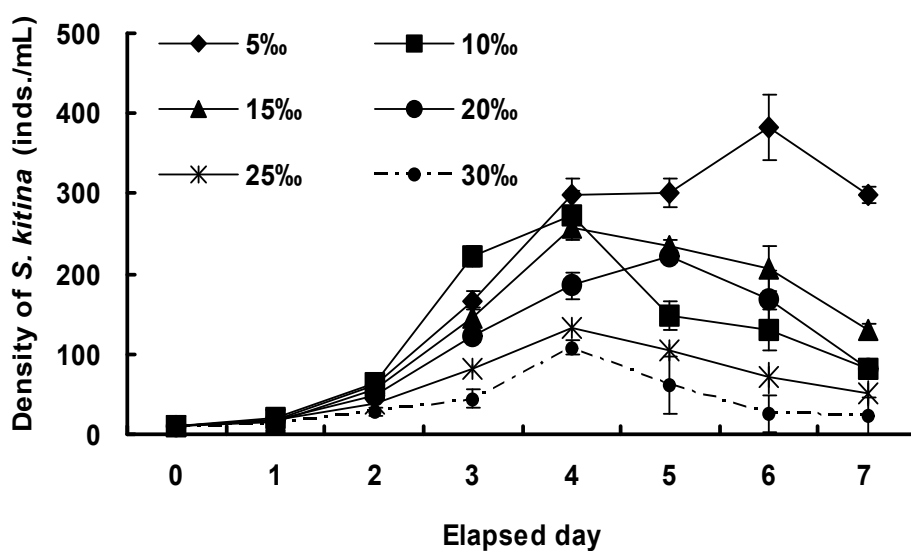


Fig. 5. Population growth of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different salinities.

Table 6. The developmental phases, offsprings and lifespans of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured with *T. suecica* at the different salinities\*

Salinity (%)	Pre-reproductive phase (hour)	Reproductive phase (day)	Post-reproductive phase (hour)	Offspring <sup>1</sup> (ind.)	Lifespan <sup>2</sup> (day)
5	18.2±0.20 <sup>a</sup>	3.9±0.21 <sup>d</sup>	28.9±2.57 <sup>a</sup>	13.4±0.75 <sup>d</sup>	5.9±0.25 <sup>c</sup>
10	19.4±0.20 <sup>b</sup>	3.2±0.19 <sup>c</sup>	30.5±3.06 <sup>a</sup>	9.0±0.66 <sup>c</sup>	5.3±0.20 <sup>b</sup>
15	20.5±0.29 <sup>c</sup>	3.2±0.18 <sup>c</sup>	24.0±2.23 <sup>a</sup>	7.3±0.89 <sup>c</sup>	5.1±0.18 <sup>b</sup>
20	22.2±0.24 <sup>d</sup>	3.4±0.17 <sup>c</sup>	22.9±2.60 <sup>a</sup>	7.7±0.43 <sup>c</sup>	5.3±0.16 <sup>b</sup>
25	25.6±0.20 <sup>e</sup>	2.6±0.14 <sup>b</sup>	25.5±2.17 <sup>a</sup>	5.1±0.44 <sup>b</sup>	4.8±0.16 <sup>b</sup>
30	26.3±0.15 <sup>f</sup>	1.6±0.13 <sup>a</sup>	27.4±2.88 <sup>a</sup>	3.0±0.29 <sup>a</sup>	3.9±0.11 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>Offspring was indicated the number of neonates born from a female during reproductive phase.

<sup>2</sup>Lifespan was indicated the total living period of a female.

## 1. 2. 2. 수온

수온에 따른 경포 strain, *S. ktina*의 균집배양에서 개체 성장과 포란율은 Table 7과 Fig. 6에 나타내었다. 최고밀도는 16°C 실험구에서 492.8 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났( $P<0.05$ ). 그러나 수온이 증가함에 따라 점차 유의적으로 낮아져 28°C에서 68.1 개체/mL로 가장 낮게 나타났( $P<0.05$ ). 한편, 32°C 실험구는 접종 2일째 모두 폐사하였다. 최고밀도까지의 평균 포란율은 28°C에서 17.4%로 가장 높게 나타났으나 32°C를 제외한 모든 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 또한, 개체 성장률의 경우 24°C에서 유의적으로 높게 나타난 반면에 고온인 28 및 32°C에서는 유의적으로 낮게 나타났( $P<0.05$ ).

수온에 따른 *S. Kitina*의 개체배양에서 발달단계, 산란수 및 수명은 Table 8에 나타내었다. 수온별 개체배양에서의 생식 전 단계는 수온이 높을수록 유의적으로 단축되는 경향을 보여 28°C에서 15.3시간으로 가장 짧게 나타내었다( $P<0.05$ ). 순 생식 단계는 16°C에서 3.6일로 유의적으로 가장 높게 나타났으나, 수온 상승과 더불어 유의적으로 짧아지는 경향을 보였다( $P<0.05$ ). 생식 후 단계는 모든 실험구에서 각각 20.0~28.3시간으로 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 또한 수온에 따른 암컷 당 산란수 및 수명은 저온에서 높게 나타나는 경향을 보여 16°C에서 9.2개체와 5.5일로 유의적으로 가장 높게 나타났( $P<0.05$ ). 반면에 28°C에서는 0.8개체와 2.2일로 유의적으로 낮게 나타났으며, 32°C 실험구는 균집배양과 마찬가지로 접종 2일째 모두 폐사하였다.

Table 7. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different temperatures\*

Temperature (°C)	Maximum density (inds./mL)	Fecundity (%)	Specific growth rate (SGR)
16	492.8±10.40 <sup>e</sup>	17.8±0.65 <sup>c</sup>	0.846±0.0340 <sup>c</sup>
20	392.2±40.30 <sup>d</sup>	15.2±0.89 <sup>bc</sup>	1.187±0.0204 <sup>d</sup>
24	259.2±43.74 <sup>c</sup>	12.4±0.57 <sup>ab</sup>	1.372±0.0430 <sup>e</sup>
28	72.0±17.26 <sup>b</sup>	17.4±3.27 <sup>bc</sup>	0.503±0.0146 <sup>b</sup>
32	10.0±0.00 <sup>a</sup>	10.0±0.00 <sup>a</sup>	0.000±0.0000 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

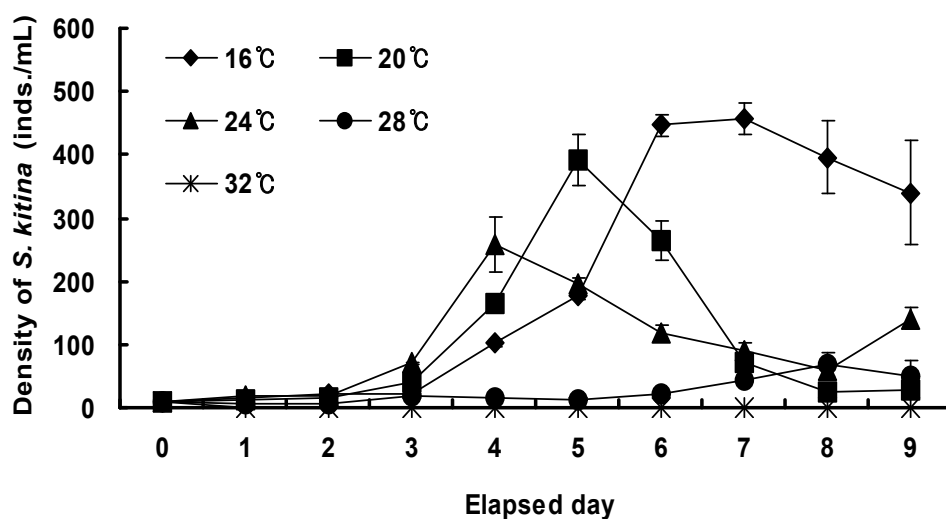


Fig. 6. Population growth of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different temperatures.

Table 8. The developmental phases, offsprings and lifespans of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured with *T. suecica* at the different temperatures\*

Temperature (°C)	Pre-reproductive phase (hour)	Reproductive phase (day)	Post-reproductive phase (hour)	Offspring (ind.)	Lifespan (day)
16	23.3±0.20 <sup>e</sup>	3.6±0.15 <sup>d</sup>	23.2±1.98 <sup>b</sup>	9.2±0.61 <sup>c</sup>	5.5±0.13 <sup>e</sup>
20	20.8±0.19 <sup>d</sup>	2.6±0.31 <sup>c</sup>	28.2±4.10 <sup>b</sup>	7.6±1.05 <sup>c</sup>	4.7±0.29 <sup>d</sup>
24	17.8±0.13 <sup>c</sup>	1.8±0.13 <sup>c</sup>	28.3±2.01 <sup>b</sup>	4.4±0.42 <sup>b</sup>	3.7±0.15 <sup>c</sup>
28	15.3±1.18 <sup>b</sup>	0.9±0.07 <sup>b</sup>	20.0±2.39 <sup>b</sup>	0.8±0.20 <sup>a</sup>	2.2±0.10 <sup>b</sup>
32	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

### 1. 2. 3. 먹이종류

먹이종류에 따른 균집배양에서 경포 strain, *S. kitina*의 개체 성장과 포란율은 Table 9과 Fig. 7에 나타냈다. 최고밀도는 TET+CHL 혼합 공급구에서 1569.4 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났으며( $P<0.05$ ), 그 뒤로 TET+ISO 혼합 공급구와 TET 단독구가 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 반면에 ISO의 단독구와 ISO+CHL의 혼합 공급구는 유의적으로 낮게 나타났으며( $P<0.05$ ), CHL 단독 공급구의 경우는 배양 2일째 모두 폐사하였다. 최고 밀도에 따른 포란율의 경우 TET+ISO의 혼합 공급구에서 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 최고밀도에 따른 개체 성장률은 TET+CHL, TET+ISO의 혼합 공급구와 TET 단독구가 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 그러나 *T. sueticica*가 들어가지 않은 다른 먹이 공급구는 전반적으로 낮게 나타났다.

먹이종류별에 따른 경포 strain, *S. kitina*의 개체배양에서 암컷의 발달단계, 산란수 및 수명은 Table 10에 나타내었다. 암컷의 산란수 및 수명은 TET를 공급한 실험구가 TET를 공급하지 않은 실험구보다 수명은 길고 산란수는 높게 나타나는 경향을 보였다. 특히, TET의 단독 공급구는 12.7개체와 5.8일로 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 반면에 ISO의 단독 공급구와 CHL+ISO 혼합 공급구는 유의적으로 낮게 나타났으며, CHL의 단독 공급구는 균집배양 때와 마찬가지로 배양 2일째 모두 폐사하였다. 이러한 경향은 암컷의 발달단계에서도 나타나 생식 전 단계와 순 생식 단계에서 TET가 들어간 실험구가 그렇지 않은 실험구보다 높은 성장을 보였다.

Table 9. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets \*

Diet <sup>1</sup>	Maximum density (inds./mL)	Fecundity (%)	Specific growth rate (SGR)
TET+CHL	1,569.4±266.99 <sup>d</sup>	18.7±1.60 <sup>c</sup>	0.628±0.0165 <sup>e</sup>
TET+ISO	993.3±74.09 <sup>c</sup>	25.0±0.86 <sup>d</sup>	0.591±0.0119 <sup>d</sup>
TET	998.8±157.49 <sup>c</sup>	14.8±0.74 <sup>b</sup>	0.624±0.0141 <sup>de</sup>
ISO+CHL	35.7±5.25 <sup>b</sup>	14.6±1.97 <sup>b</sup>	0.259±0.0060 <sup>b</sup>
ISO	44.4±3.47 <sup>b</sup>	18.2±0.62 <sup>bc</sup>	0.294±0.0083 <sup>c</sup>
CHL	10.0±0.00 <sup>a</sup>	10.0±0.00 <sup>a</sup>	0.000±0.0000 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>TET, *Tetraselmis suecica*; ISO, *Isochrysis galbana*; CHL, Marine *Chlorella ellipsoidea*.

\*Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

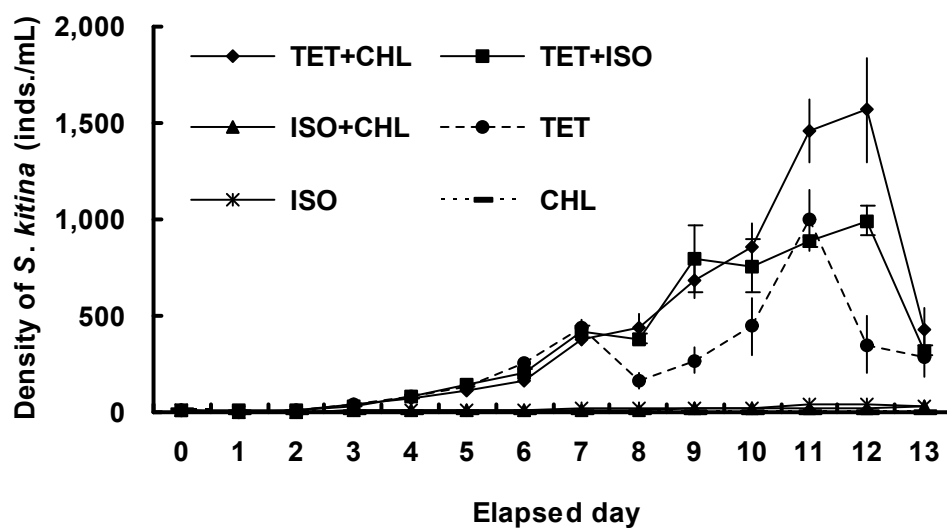


Fig. 7. Population growth of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets.

Table 10. The developmental phases, offsprings and lifespans of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different diets\*

Diet	Pre-reproductive phase (hour)	Reproductive phase (day)	Post-reproductive phase (hour)	Offspring (ind.)	Lifespan (day)
TET+CHL	18.8±0.27 <sup>b</sup>	4.0±0.29 <sup>c</sup>	22.0±2.12 <sup>b</sup>	10.0±0.88 <sup>b</sup>	5.6±0.28 <sup>b</sup>
TET+ISO	18.9±0.26 <sup>b</sup>	4.2±0.24 <sup>c</sup>	21.5±2.50 <sup>b</sup>	12.3±0.93 <sup>bc</sup>	5.8±0.24 <sup>b</sup>
TET	19.5±0.22 <sup>b</sup>	4.1±0.28 <sup>c</sup>	22.3±2.98 <sup>b</sup>	12.7±1.02 <sup>c</sup>	5.8±0.27 <sup>b</sup>
ISO+CHL	21.5±0.25 <sup>c</sup>	0.5±0.04 <sup>ab</sup>	15.7±2.11 <sup>b</sup>	0.5±0.25 <sup>a</sup>	2.1±0.10 <sup>a</sup>
ISO	21.1±0.44 <sup>c</sup>	0.8±0.07 <sup>b</sup>	21.6±2.23 <sup>b</sup>	2.1±0.19 <sup>a</sup>	2.6±0.08 <sup>a</sup>
CHL	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	2.6±0.15 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).



#### 1. 2. 4. 먹이 공급량

먹이 공급량에 따른 군집배양에서 *S. kitina*의 개체 성장과 포란율은 Table 11과 Fig. 8에 나타내었다. 군집배양 시 최고밀도는 10,000 세포/개체 공급구에서 298.9 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났었다( $P<0.05$ ). 반면에 2,500 및 25,000 세포/개체 공급구는 유의적으로 낮게 나타났으며( $P<0.05$ ), 50,000 세포/개체 공급구의 경우는 배양 3일째 모두 폐사하였다. 최고밀도에 따른 포란율은 50,000 세포/개체 공급구를 제외한 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 최고밀도에 따른 개체 성장률은 5,000 및 10,000 세포/개체 공급구에서 각각 0.911, 0.944로 유의적으로 가장 높게 나타났었다( $P<0.05$ ).

먹이 공급량에 따른 *S. kitina*의 개체배양에서 발달단계, 산란수 및 수명은 Table 12에 나타내었다. 먹이 공급량별 개체배양에서의 생식 전 단계는 먹이량이 가장 높은 50,000 세포/개체 공급구에서 19.9시간으로 가장 짧게 나타났으나 5,000 세포/개체 공급구를 제외한 다른 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 순 생식 단계는 25,000 세포/개체 공급구에서 2.8일로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 10,000 및 50,000 세포/개체 공급구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 생식 후 단계는 2,500 세포/개체 공급구를 제외한 모든 실험구에서 19.5~23.0시간으로 유의적인 차이가 없이 나타났었다( $P>0.05$ ). 또한 먹이량에 따른 암컷의 산란수 및 수명은 25,000 세포/개체 공급구에서 각각 7.1개체와 4.4일로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 10,000 및 50,000 세포/개체 공급구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 그러나 먹이량이 적은 2,500 및 5,000 세포/개체를 공급한 실험구의 경우는 유의적으로 낮게 나타났었다( $P<0.05$ ).

Table 11. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations\*

Food concentration (cells/ind./day)	Maximum density (inds./mL)	Fecundity (%)	Specific growth rate (SGR)
2,500	115.0±0.94 <sup>b</sup>	11.7±2.19 <sup>b</sup>	0.774±0.0146 <sup>c</sup>
5,000	246.6±2.88 <sup>c</sup>	13.2±1.92 <sup>b</sup>	0.911±0.0020 <sup>d</sup>
10,000	298.9±10.64 <sup>d</sup>	12.3±1.21 <sup>b</sup>	0.944±0.0060 <sup>d</sup>
25,000	97.2±22.0 <sup>b</sup>	15.6±2.09 <sup>b</sup>	0.645±0.2924 <sup>b</sup>
50,000	10.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.000±0.0000 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

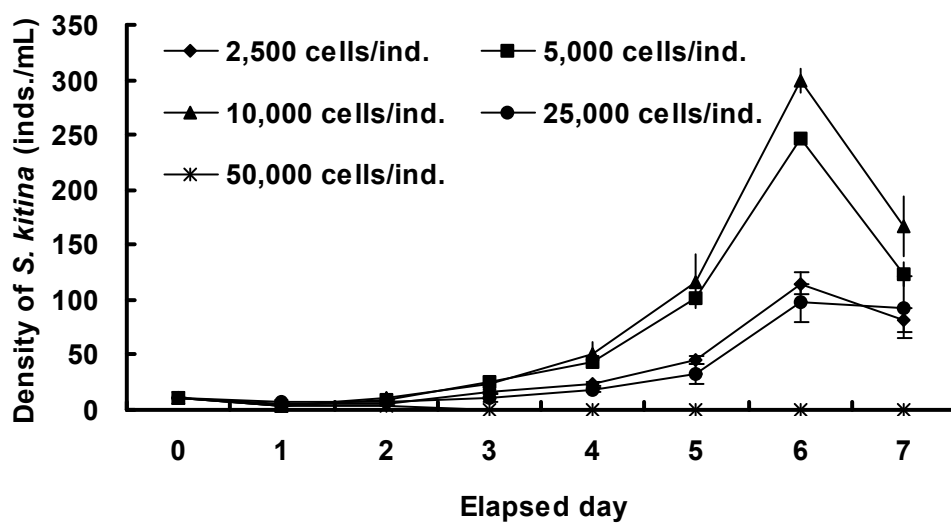


Fig. 8. Population growth of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations.

Table 12. The developmental phases, offsprings and lifespans of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at the different food concentrations\*

Food concentration (cells/rotifer/day)	Pre-reproductive phase (hour)	Reproductive phase (day)	Post-reproductive phase (hour)	Offspring (ind.)	Lifespan (day)
2,500	20.6±0.34 <sup>ab</sup>	1.3±0.09 <sup>a</sup>	39.0±3.70 <sup>b</sup>	2.1±0.19 <sup>a</sup>	3.5±0.14 <sup>a</sup>
5,000	21.1±0.59 <sup>b</sup>	2.0±0.20 <sup>b</sup>	22.0±1.71 <sup>a</sup>	3.7±0.43 <sup>b</sup>	3.9±0.21 <sup>ab</sup>
10,000	20.1±0.37 <sup>ab</sup>	2.5±0.16 <sup>c</sup>	20.5±2.44 <sup>a</sup>	6.8±0.60 <sup>c</sup>	4.2±0.16 <sup>bc</sup>
25,000	20.2±0.22 <sup>ab</sup>	2.8±0.14 <sup>c</sup>	19.5±1.88 <sup>a</sup>	7.1±0.43 <sup>c</sup>	4.4±0.16 <sup>c</sup>
50,000	19.9±0.21 <sup>a</sup>	2.6±0.16 <sup>c</sup>	23.0±2.49 <sup>a</sup>	6.0±0.59 <sup>c</sup>	4.4±0.15 <sup>c</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

### 1. 2. 5. 환수일

환수일에 따른 군집배양에서 개체 성장과 배양수 내의 환경 변화(pH, DO 및 NH<sub>3</sub>-N)는 Table 13와 Fig. 9에 나타내었다. 최고밀도는 1일 환수구에서 603.3 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 3일 환수구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 반면에 대조구인 무환수구와 2, 4일 환수구는 각각 450.8, 413.7 및 444.1 개체/mL를 보여 유의적으로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 최고밀도까지의 평균 포란율은 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 최고밀도까지의 개체 성장률은 2일 환수구에서 1.023을 보여 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 대조구 및 1, 3일 환수구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). DO 및 pH는 배양시간이 경과함에 따라 전반적으로 감소하는 경향을 보여 최고밀도 시 모든 실험구간에서 각각 4.4~5.9 ppm, 7.1~7.4의 범위로 나타났다. 한편, NH<sub>3</sub>-N는 배양시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였고 환수일의 간격이 커질수록 증가하는 폭이 크게 나타났다. 모든 실험구간에서 최고밀도 시 NH<sub>3</sub>-N는 0.2~0.4 ppm으로 나타났다. 배양기간 동안 모든 실험구간에서 원생동물이 출현하였으며 *S. kitina*의 개체 성장과 더불어 함께 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 9).

결과적으로 초소형 rotifer, *S. kitina*의 적정 환수일은 최고밀도가 가장 높았던 1, 3일 적당하나 효율적인 측면에서 3일이 최적이라 판단된다. 또한, 초기 접종밀도 실험에서와 같이 NH<sub>3</sub>-N 농도가 0.3~0.4 ppm 일 때 개체가 감소하는 경향을 보여 NH<sub>3</sub>-N 변화에 매우 민감한 것으로 조사되었다.

Table 13. Maximum density, fecundity and specific growth rate (SGR) *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured at various exchanging interval days of culture medium\*

Interval of water exchange (day)	Maximum density (inds./mL)	Fecundity (%)	Specific growth rate (SGR)
Control	450.8±0.85 <sup>a</sup>	7.4±0.70 <sup>a</sup>	1.007±0.0003 <sup>b</sup>
1	603.3±10.00 <sup>b</sup>	7.4±1.30 <sup>a</sup>	0.793±0.0022 <sup>ab</sup>
2	413.7±13.75 <sup>a</sup>	6.9±0.75 <sup>a</sup>	1.023±0.0049 <sup>b</sup>
3	565.0±12.50 <sup>b</sup>	5.3±1.34 <sup>a</sup>	0.768±0.1330 <sup>ab</sup>
4	444.1±24.15 <sup>a</sup>	6.5±2.00 <sup>a</sup>	0.691±0.0826 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

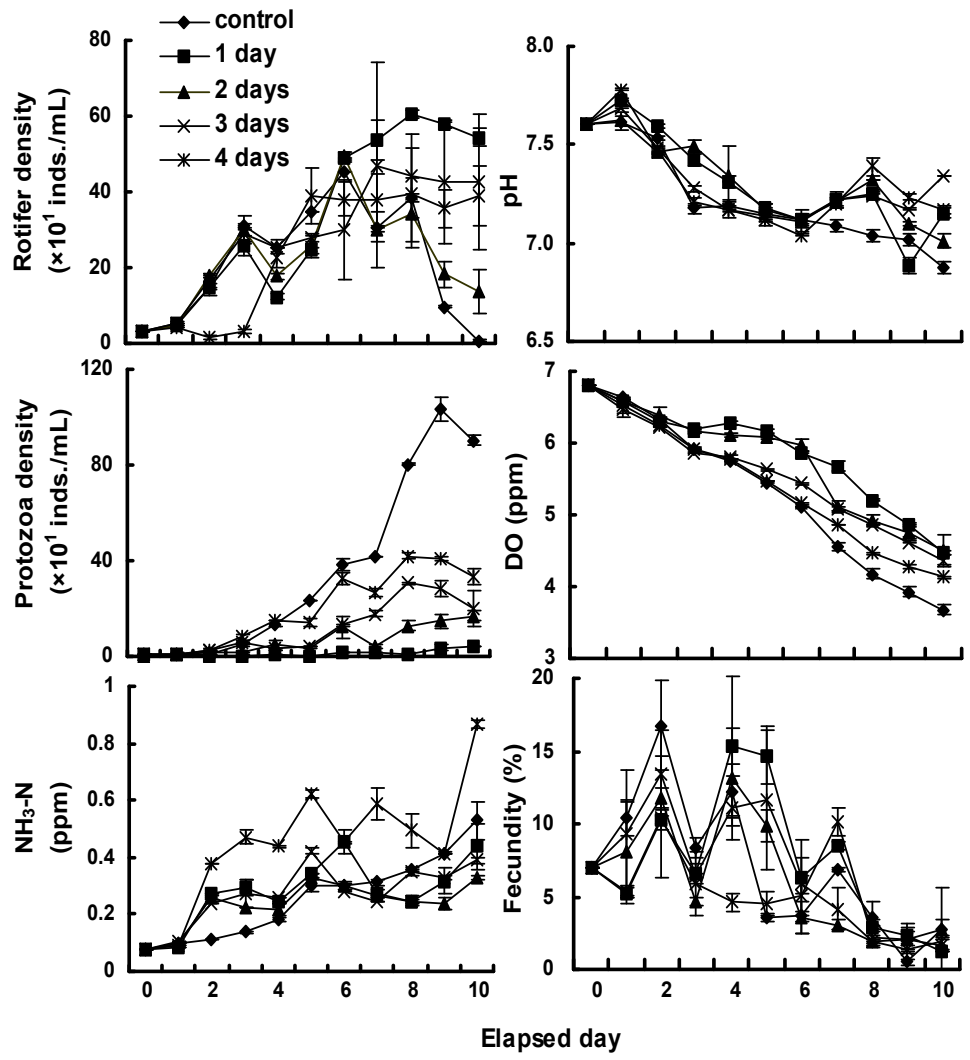


Fig. 9. Population growth of *S. kitina* and changes of DO, pH and NH<sub>3</sub>-N at the different exchange interval days of culture medium

### 1. 2. 6. 환수율

환수율에 따른 *S. kitina*의 총 수확량은 Fig. 10에 나타내었다. 총 수확량은 40% 실험구에서  $8.2 \times 10^6$  개체로 다른 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그 뒤로 30 및 50%가 각각  $7.4$ ,  $7.5 \times 10^6$  개체의 높은 수확량을 보였지만 두 실험구간에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ).

본 실험에서 나타난 성장률( $r$ )과 먹이인 *T. suecica* 개체수의 상호관계를 분석해 보면(Fig. 11),  $Y = 650.18X + 187.39$  ( $R^2 = 0.6419$ )로 먹이농도가 높을수록 성장률은 높아지는 경향을 보였다. 또한 성장률과  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 농도의 상호관계를 분석해 보면(Fig. 12),  $Y = -0.0625X + 0.1068$  ( $R^2 = 0.4961$ )로 배양수의  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도가 높을수록 성장률은 낮아지는 경향을 보였다.

결과적으로 경제적이고 효율적인 반 연속배양을 위해선 매일 배양수의 40%를 환수해 주는 것이 효과적일 것으로 판단된다. 또한 안정적인 대량 배양을 위해서 충분한 먹이공급과 더불어  $\text{NH}_3\text{-N}$  변화에 대한 신속한 대처가 필요할 것으로 판단된다.

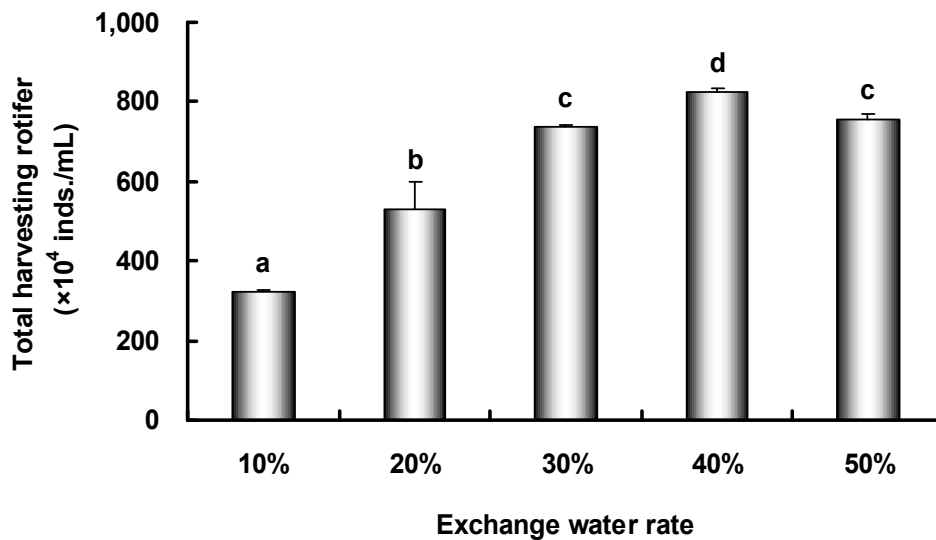


Fig. 10. Total harvested of rotifer, *S. kitina* at the different exchange culture water rates.

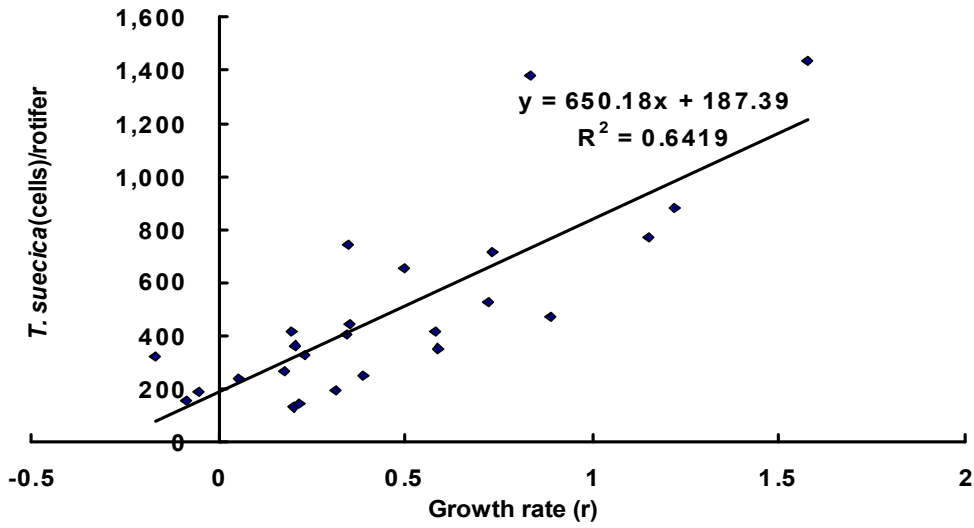


Fig. 11. Relationship between food concentrations and growth rate of *S. kitina* at the different exchange culture water rates.

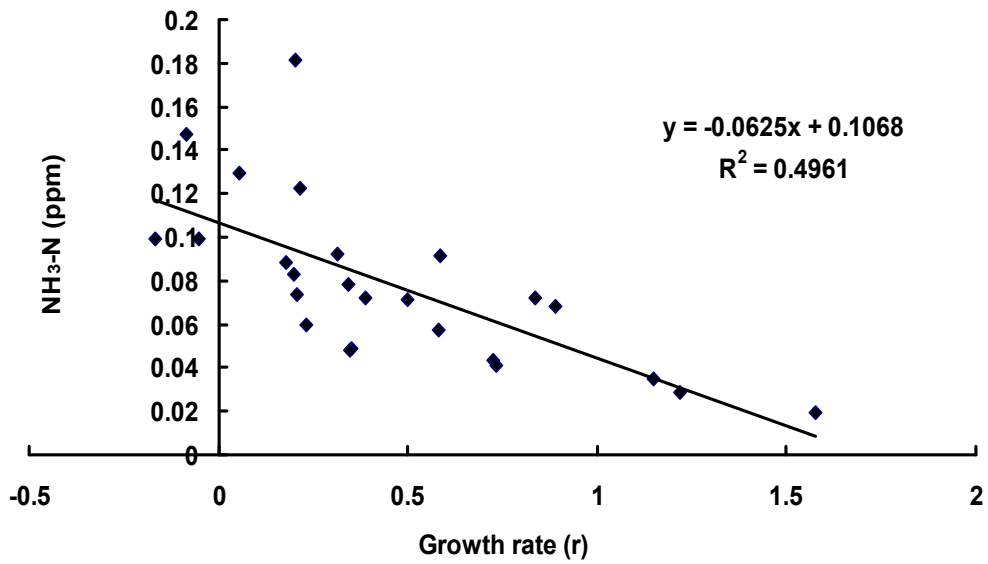


Fig. 12. Relationship between  $\text{NH}_3\text{-N}$  and growth rate of *S. kitina* at the different exchange water rates.



### 1. 2. 7. 초기 접종밀도 (Batch 배양)

초기 접종밀도에 따른 *S. kitina*의 개체 성장, 포란율 및  $\text{NH}_3\text{-N}$  값은 Fig. 13에 나타내었다. 최고밀도는 600 개체/mL 접종 실험구에서 2,767 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 반면 200 및 1,000 개체/mL 접종구의 최고밀도는 각각 772, 1,365 개체/mL를 보여 600 개체/mL 접종 실험구보다 유의적으로 낮게 조사되었다( $P<0.05$ ). 포란율은 배양기간 동안 모든 실험구에서 증감을 반복하였다. 모든 실험구간에서 일일 평균 포란율이 5% 이상이면 후일 개체수가 증가하는 경향을 보였으며, 1~4%의 낮은 포란율을 보일 때는 개체수가 감소하는 추세를 보였다. 한편,  $\text{NH}_3\text{-N}$ 는 모든 실험구간에서 배양 시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보여 최고밀도 시 0.3~0.5 ppm 범위를 나타내었다. 각 실험구간에서  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 농도가 1 ppm 이하 일 때 개체의 감소가 시작되어  $\text{NH}_3\text{-N}$  변화에 매우 민감한 것으로 나타났다.

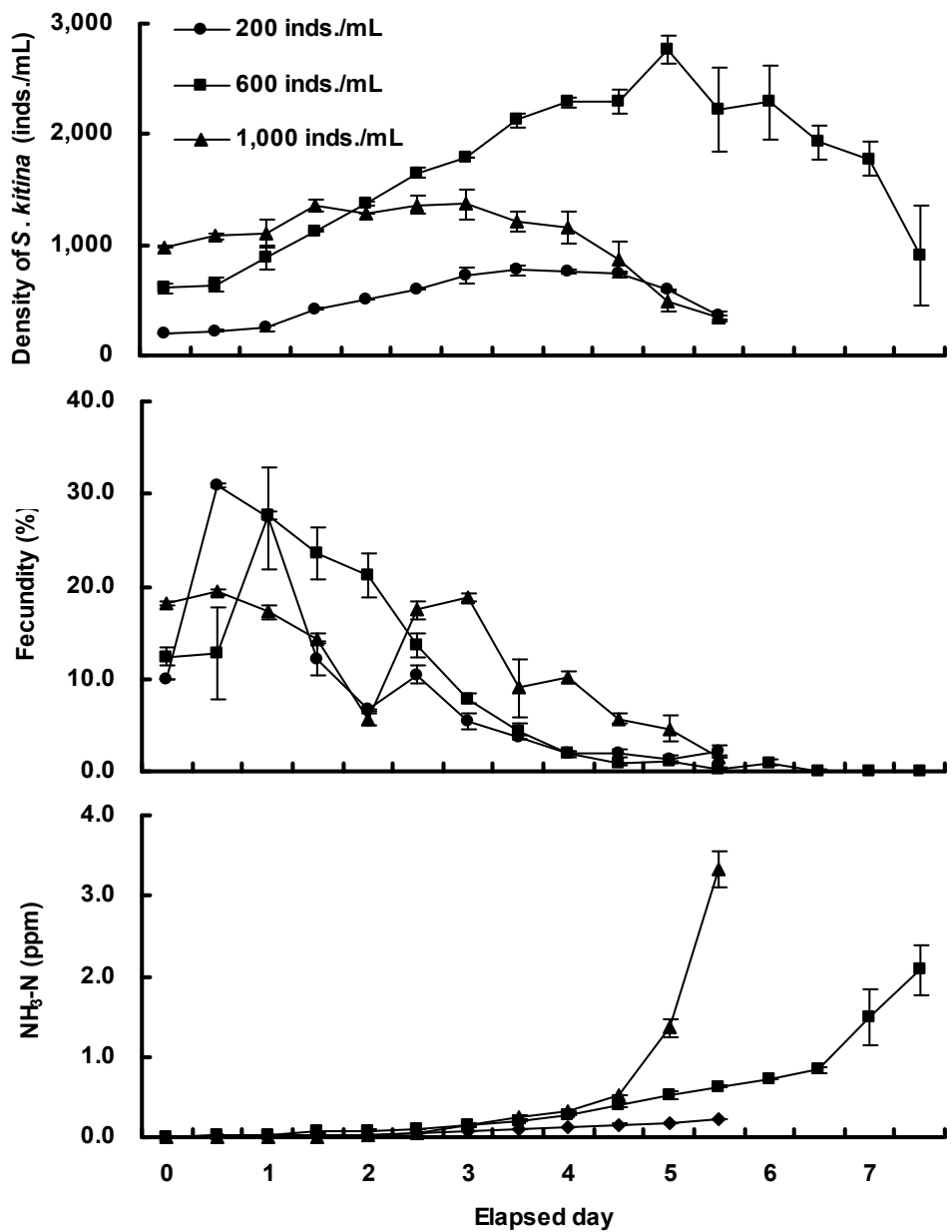


Fig. 13. Population growth of *S. kitina* and changes of fecundity and NH<sub>3</sub>-N at the different inoculation.

### 1. 2. 8. 염분 변화에 따른 내성력 조사

15%에서 배양하던 *S. kitina*를 5개의 염분구(15, 20, 25, 30 및 33%)로 옮겼을 때 시간별 생존률은 Table 14에 나타내었다. 접종 10분째 생존율은 15~25%에서 90% 이상 나타나 유의적으로 높게 나타난( $P<0.05$ ) 반면, 30 및 33%에서는 각각 75, 67.5%을 보여 유의적으로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ). 접종 180분째 조사 결과에서도 15~25%까지 72.5~97.5%의 비교적 높은 생존율을 보였으나 고염분인 30%와 33%에서는 45, 40%로 유의적으로 낮게 나타났다( $P<0.05$ ).

다음으로 20%에서 배양하던 *S. kitina*를 앞선 실험과 동일한 5개의 염분구로 옮겼을 때 시간별 생존율을 살펴보게 되면, 접종 10분째 30%와 33%의 실험구는 앞선 실험보다 각각 5, 12.5%씩 향상된 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 경향은 실험 종료 시간인 접종 180분까지 유지되어 앞선 실험에서의 생존율 40%보다도 각각 22.5, 15%씩 높게 나타났다(Table 15).

다음 실험으로 25%에서 배양하던 *S. kitina*를 5개의 염분구로 옮겼을 때 시간별 생존율을 살펴보게 되면, 접종 10분에서 30%와 33%의 실험구가 앞선 두 번째 실험보다 각각 5, 12.5%씩 향상된 87.5%의 높은 생존율을 보였다. 이러한 경향은 실험 종료 시간인 접종 180분까지 유지되었다(Table 16).

Table 14. Salinity tolerance of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured with *T. suecica* at 15‰ for a week\*

Salinity (‰)	10 min (%)	20 min (%)	30 min (%)	60 min (%)	120 min (%)	180 min (%)
15	100.0±0.00 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>b</sup>	97.5±2.50 <sup>b</sup>	97.5±2.50 <sup>d</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>
20	95.5±3.44 <sup>c</sup>	92.5±4.09 <sup>b</sup>	92.5±4.09 <sup>b</sup>	90.0±4.58 <sup>cd</sup>	90.0±4.58 <sup>bc</sup>	90.0±4.58 <sup>bc</sup>
25	90.0±4.58 <sup>bc</sup>	90.0±4.58 <sup>b</sup>	87.5±4.90 <sup>b</sup>	77.5±5.70 <sup>bc</sup>	75.0±5.73 <sup>b</sup>	72.5±5.70 <sup>b</sup>
30	77.5±6.76 <sup>ab</sup>	70.0±6.68 <sup>a</sup>	67.5±6.56 <sup>a</sup>	65.0±7.34 <sup>ab</sup>	50.0±8.88 <sup>a</sup>	45.0±8.81 <sup>a</sup>
33	67.5±6.56 <sup>a</sup>	60.0±5.84 <sup>a</sup>	57.5±5.47 <sup>a</sup>	52.5±5.70 <sup>a</sup>	45.0±7.16 <sup>a</sup>	40.0±7.77 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

Table 15. Salinity tolerance of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured with *T. suecica* at 20‰ for a week\*

Salinity (‰)	10 min (%)	20 min (%)	30 min (%)	60 min (%)	120 min (%)	180 min (%)
15	100.0±0.00 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	95.0±3.44 <sup>c</sup>
20	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	97.5±2.50 <sup>c</sup>	92.5±4.09 <sup>c</sup>
25	92.5±4.09 <sup>bc</sup>	87.5±4.96 <sup>bc</sup>	85.0±5.25 <sup>bc</sup>	82.5±5.47 <sup>bc</sup>	77.5±5.70 <sup>b</sup>	77.5±5.70 <sup>b</sup>
30	82.5±5.47 <sup>ab</sup>	80.0±4.96 <sup>ab</sup>	77.5±5.70 <sup>b</sup>	72.5±5.70 <sup>ab</sup>	70.0±5.61 <sup>ab</sup>	67.5±5.47 <sup>ab</sup>
33	75.0±8.50 <sup>a</sup>	67.5±8.33 <sup>a</sup>	62.5±8.00 <sup>a</sup>	60.0±7.77 <sup>a</sup>	57.5±7.50 <sup>a</sup>	55.0±7.16 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

Table 16. Salinity tolerance of *S. kitina* Gyeong-po-lake strain cultured with *T. suecica* at 25‰ for a week\*

Salinity (‰)	10 min (%)	20 min (%)	30 min (%)	60 min (%)	120 min (%)	180 min (%)
15	97.5±2.50 <sup>a</sup>	97.5±2.50 <sup>b</sup>	95.0±3.44 <sup>b</sup>	95.0±3.44 <sup>b</sup>	95.0±3.44 <sup>c</sup>	95.0±3.44 <sup>c</sup>
20	97.5±2.50 <sup>a</sup>	97.5±2.50 <sup>b</sup>	92.5±4.09 <sup>b</sup>	92.5±4.09 <sup>b</sup>	92.5±4.09 <sup>c</sup>	92.5±4.09 <sup>bc</sup>
25	95.0±3.44 <sup>a</sup>	92.5±4.09 <sup>b</sup>	90.0±4.58 <sup>b</sup>	90.0±4.58 <sup>b</sup>	85.0±6.38 <sup>bc</sup>	85.0±6.38 <sup>bc</sup>
30	87.5±4.96 <sup>a</sup>	85.0±5.25 <sup>ab</sup>	80.0±5.61 <sup>b</sup>	75.0±5.73 <sup>a</sup>	75.0±5.73 <sup>b</sup>	75.0±5.73 <sup>b</sup>
33	87.5±4.96 <sup>a</sup>	80.0±5.61 <sup>a</sup>	65.0±6.38 <sup>a</sup>	62.5±6.15 <sup>a</sup>	52.5±7.67 <sup>a</sup>	45.0±8.81 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of two replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 먹이인 *T. suecica*의 고밀도 대량배양

### 2. 1. 배양용기에 따른 성장

배양용기에 따른 *T. suecica* 세포성장은 Table 17과 Fig. 14에 나타내었다. 최고밀도는 100 L 관형배양기에서 배양 13일째에  $4.9 \times 10^6$  세포/mL로 유의적으로 높게 나타난 반면 1 ton 야외 원형수조에서는  $0.7 \times 10^6$  세포/mL로 낮은 밀도를 보였다( $P < 0.05$ ). 그러나 최고밀도에 따른 일일 개체 성장률은 1 ton 야외 원형수조에서 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

### 2. 2. pH 조절에 따른 성장

CO<sub>2</sub>를 공급하여 pH 6, 7로 조절한 실험구와 pH를 조절하지 않은 대조구의 *T. suecica* 세포성장은 Table 18과 Fig. 15에 나타내었다. 최고밀도는 pH를 조절하지 않은 대조구에서 배양 12일째에  $7.4 \times 10^6$  세포/mL으로 나타나 pH 6, 7 조절 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 개체 성장률은 모든 실험구간에서 유의적인 차이가 없는 것으로 조사되었다( $P > 0.05$ ).

Table 17. Maximum density and specific growth rate (SGR) of *T. suecica* at the different culture vessels\*

Culture vessels	Maximum density ( $\times 10^4$ cells/mL)	Specific growth rate (SGR)
30 L (Round-type)	225.0 $\pm$ 25.00 <sup>b</sup>	0.449 $\pm$ 0.0450 <sup>a</sup>
100 L (Plate-type)	490.0 $\pm$ 37.00 <sup>c</sup>	0.489 $\pm$ 0.0181 <sup>a</sup>
1 ton (Round-type)	70.0 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	0.652 $\pm$ 0.0001 <sup>b</sup>

\*Values (mean $\pm$ SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

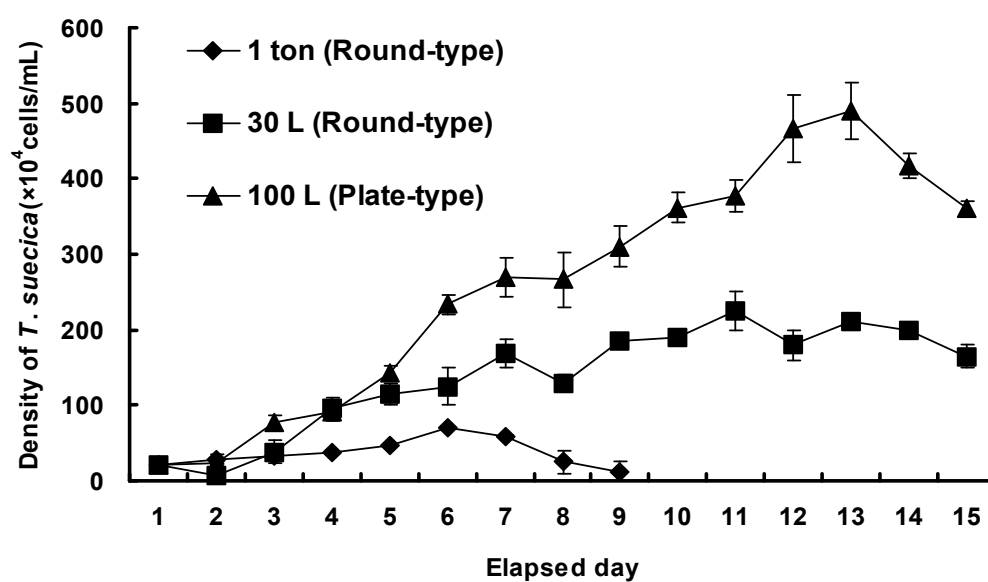


Fig. 14. Growth of *T. suecica* at the different culture vessels.



Table 18. Maximum density and specific growth rate (SGR) of *T. suecica* at the different pH controlled by CO<sub>2</sub> gas

pH	Maximum density ( $\times 10^4$ cells/mL)	Specific growth rate (SGR)
No control	740.0 $\pm$ 10.00 <sup>c</sup>	0.557 $\pm$ 0.0005 <sup>a</sup>
6	535.0 $\pm$ 15.00 <sup>a</sup>	0.543 $\pm$ 0.2600 <sup>a</sup>
7	657.5 $\pm$ 57.00 <sup>b</sup>	0.565 $\pm$ 0.0200 <sup>a</sup>

\*Values (mean $\pm$ SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

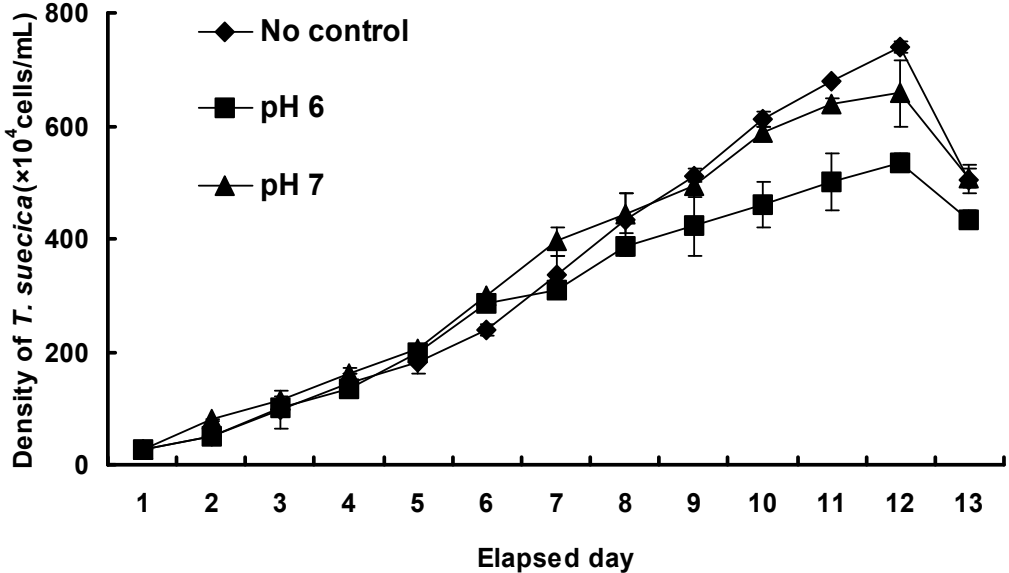


Fig. 15. Growth of *T. suecica* at the different pH controlled by CO<sub>2</sub> gas.

### 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양

#### 3. 1. 접종밀도에 따른 생산성 실험 (Semi-continuous 배양)

초소형 rotifer, *S. kitina*의 접종밀도에 따른 일일 개체밀도는 Fig. 16에 나타내었다. 배양기간 동안 일일 개체밀도는 250, 600 및 900 개체/mL에서 각각 277~1,675, 611~1,707 및 890~1,642 개체/mL를 보였다. 배양 4일째까지는 900 개체/mL 접종구가 250 및 600 개체/mL 접종구보다 유의적으로 높은 개체밀도를 보였다( $P < 0.05$ ). 배양 5일째부터는 600 및 900 개체/mL 접종구가 서로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으며, 배양 8일째부터는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없는 것으로 조사되었다( $P > 0.05$ ).

접종밀도에 따른 일일 수확량은 Fig. 17에 나타내었다. 접종 7일째까지는 900 개체/mL 접종구에서 유의적으로 가장 높은 일일 수확량을 보였으나, 250 개체/mL 접종구는 유의적으로 가장 낮은 일일 수확량을 나타내었다 ( $P < 0.05$ ). 한편, 접종밀도 600 개체/mL는 배양 5일째부터 접종밀도 900 개체/mL와 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 그리고 배양 8일 이후의 일일 수확량은 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

배양 7일째까지 접종밀도에 따른 총 수확량은 Fig. 18에 나타내었다. 총 수확량은 900 개체/mL 접종구에서 17,396,667 개체로 각각 7,436,667 및 14,029,667 개체를 보인 250, 600 개체/mL 접종구보다 유의적으로 높은 수확량을 보였다( $P < 0.05$ ).

배양 8일째부터 14일째까지의 총 수확량은 Fig. 19에 나타내었다. 250, 600 및 900 개체/mL 접종구에서 각각 18,260,000, 19,110,000 및 18,678,333 개체의 총 수확량을 보여 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났 ( $P > 0.05$ ).

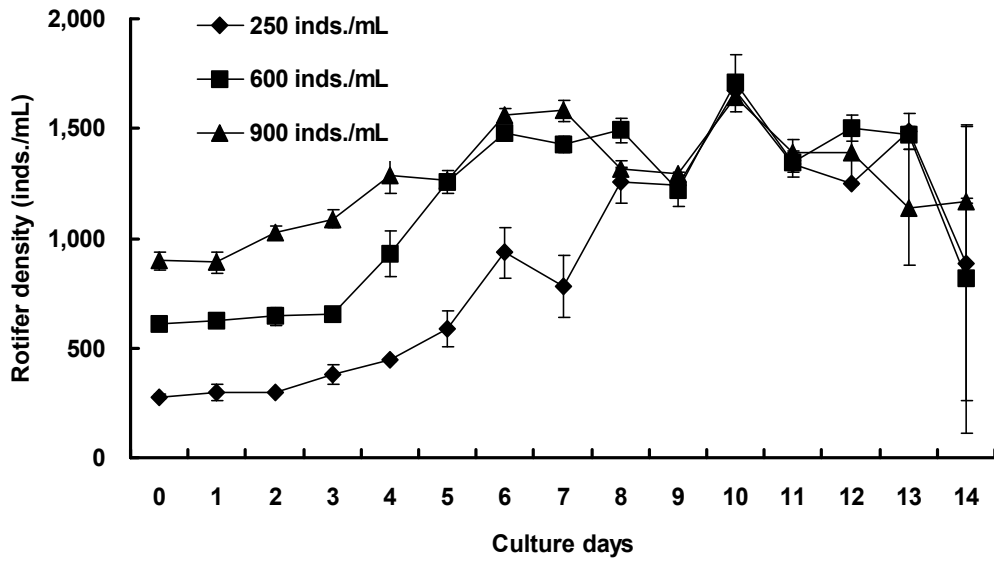


Fig. 16. Population growth of rotifer, *S. kitina* at the different initial inoculation density.

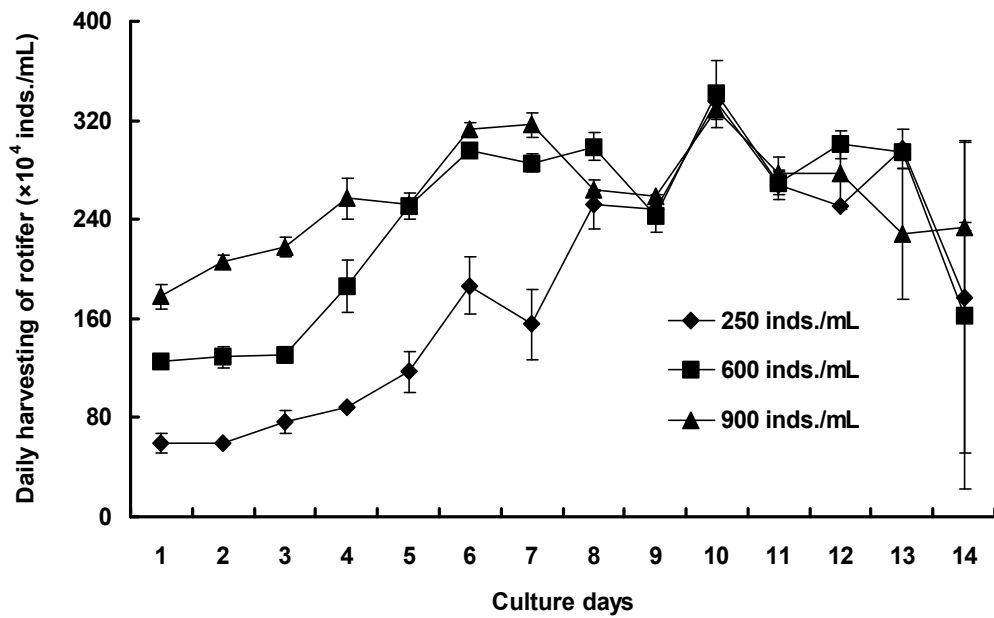


Fig. 17. Daily harvesting density of rotifer, *S. kitina* on the different initial inoculation density.

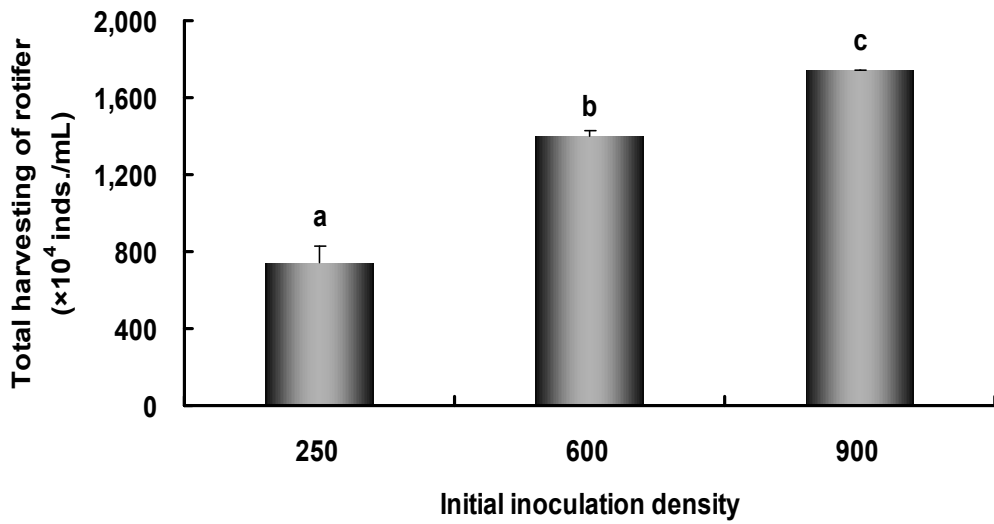


Fig. 18. Total harvesting density of rotifer, *S. kitina* at the different initial inoculation density (from 1<sup>st</sup> to 7<sup>th</sup> days).

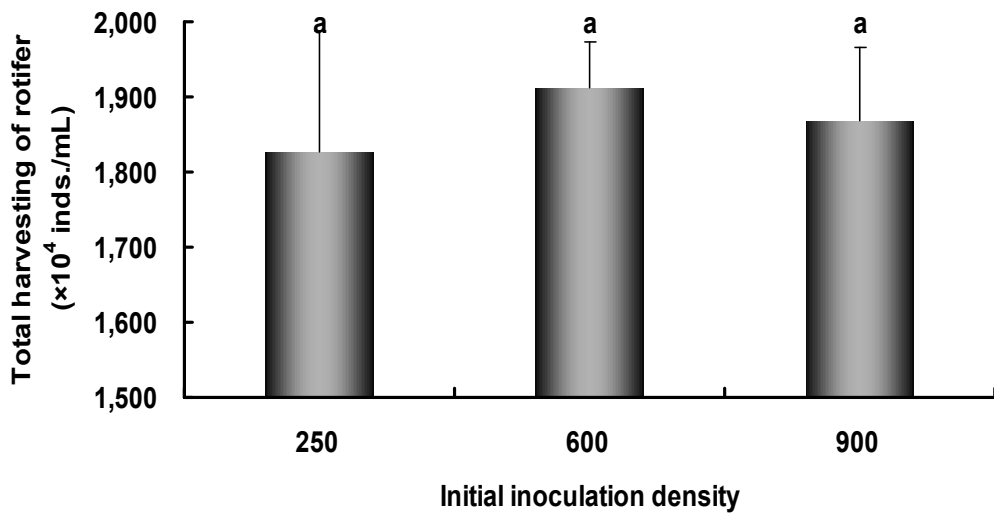


Fig. 19. Total harvesting density of rotifer, *S. kitina* at the different initial inoculation density (from 8<sup>th</sup> to 14<sup>th</sup> days).

### 3. 2. 0.1 및 0.5 ton 규모의 대량배양 (Batch 배양)

0.1 ton 수조에서 *S. kitina*의 일일 총 개체수는 Fig. 20에 나타내었다. 배양 2일째까지는  $6.6\sim 9.5\times 10^6$  개체로 비교적 성장 폭이 작게 나타났다. 그러나 배양시간이 지날수록 10~30%의 높은 포란율이 유지되어 배양 9일째  $60\times 10^6$  개체로 최고밀도를 보였다.

0.5 ton 수조에서 *S. kitina*의 일일 총 개체수는 Fig. 21에 나타내었다. 배양일이 지남에 따라 20~30%의 높은 포란율에 기인하여 개체의 성장이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 경향은 배양 5일째까지 지속되어  $90\times 10^6$  개체로 최고밀도를 나타내었다.

결과적으로 0.1 및 0.5 ton과 같이 큰 배양수조에서도 *S. kitina*의 성장은 이루어졌으며, 각각  $60\times 10^6$  및  $90\times 10^6$  개체의 최고밀도를 보여 대량배양이 가능함을 제시해 주었다.

한편, 0.5 ton에서 대량배양 시 경제성을 분석해 보면 rotifer 1억 개체를 생산할 때 드는 경비는 먹이가 3만2천원(46.4%), 인건비 3만6천원(52.2%) 및 연료비 1천원(1.4%)으로 총 6만9천원이 소요되었으며, 이 중 먹이비와 인건비가 대부분을 차지하는 것으로 조사되었다(Fig. 22).

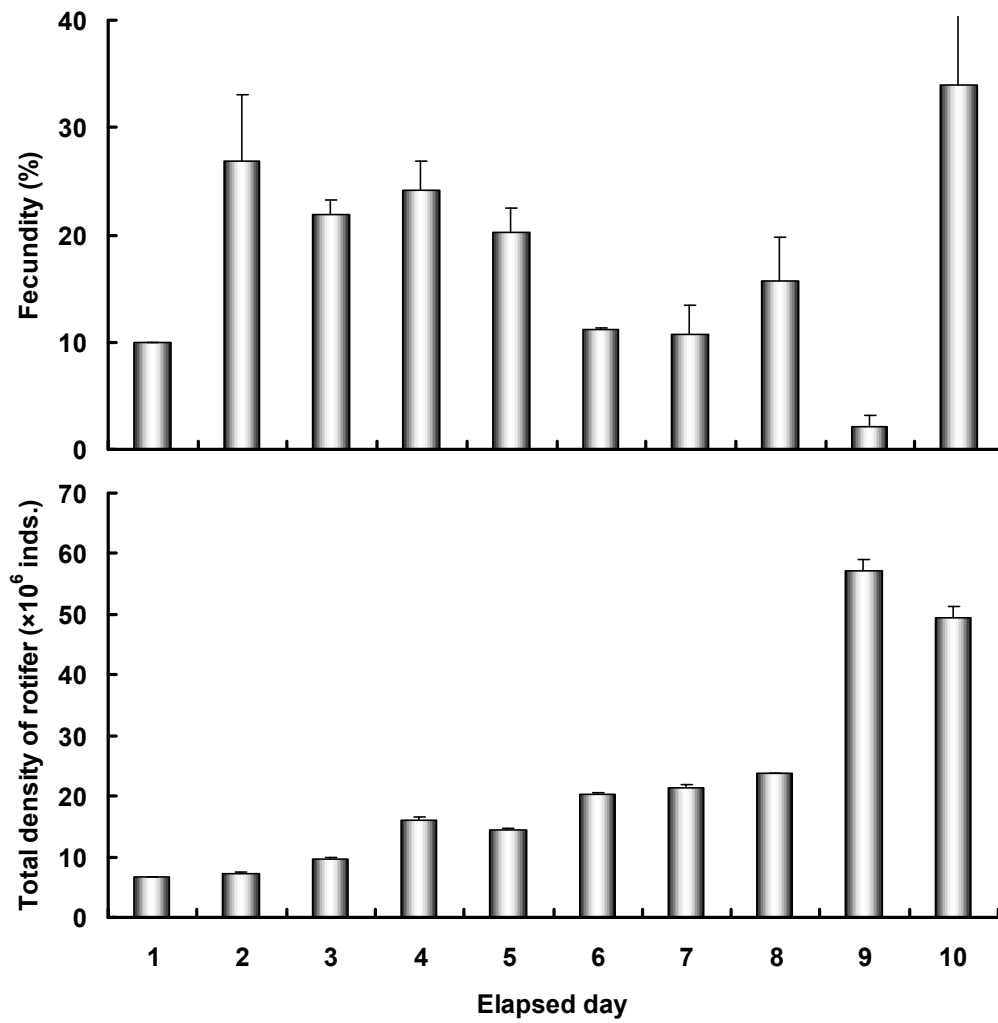


Fig. 20. Production of *S. kitina* at 0.1 ton tank during ten days.

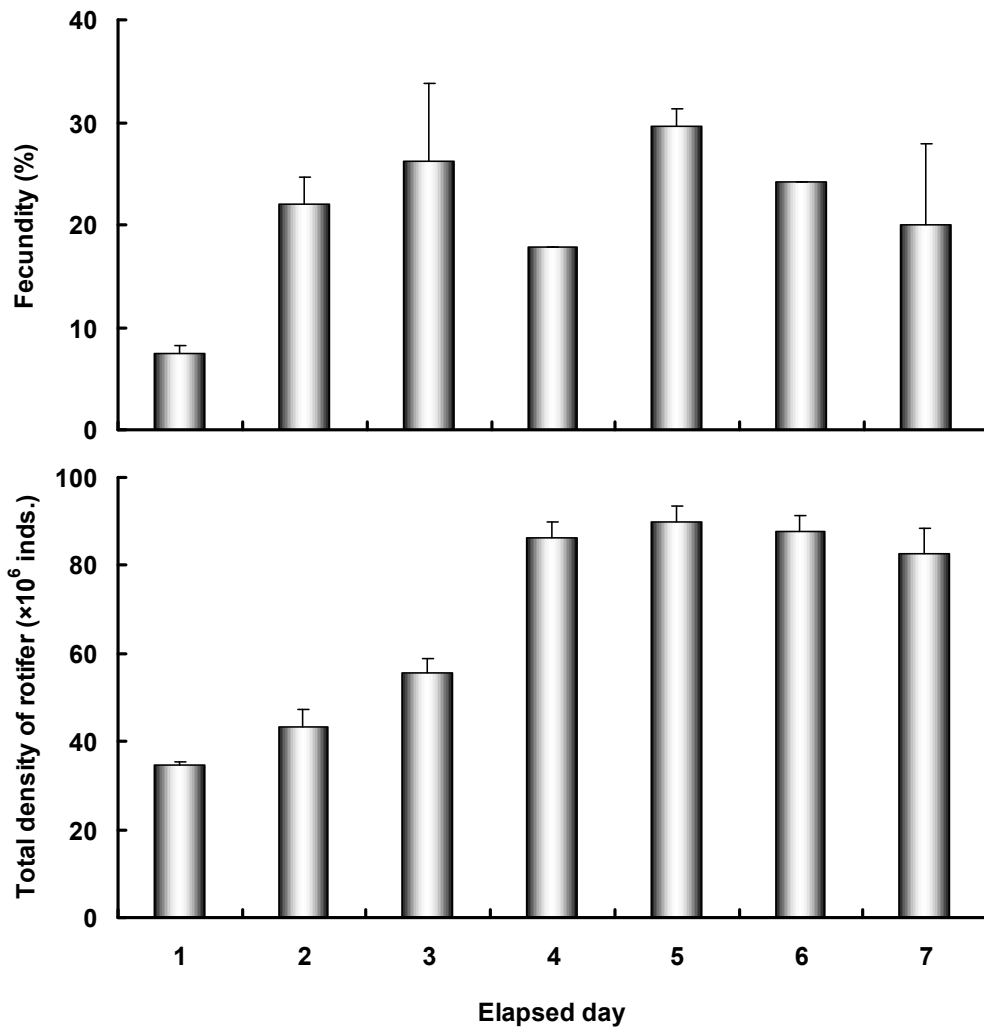


Fig. 21. Production of *S. kitina* at 0.5 ton tank during seven days.

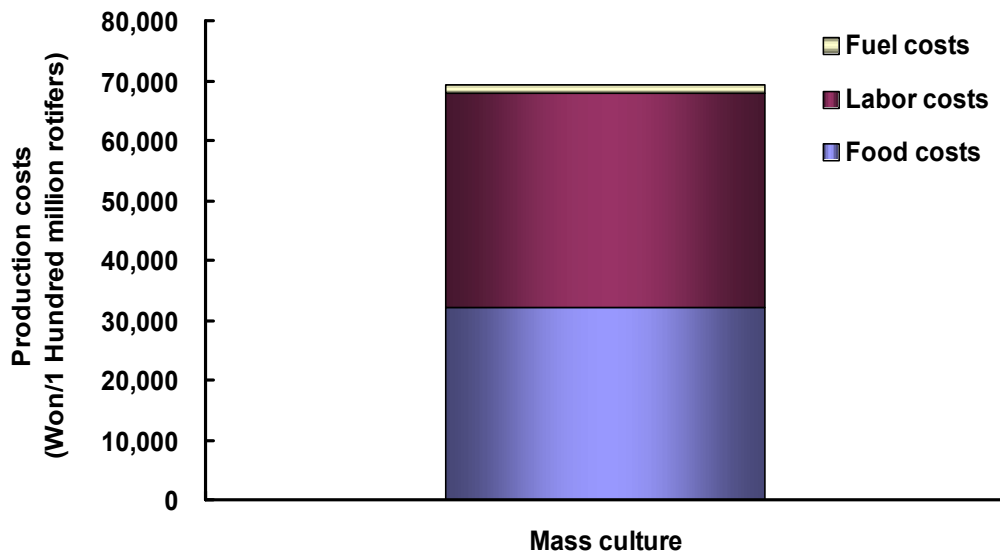


Fig. 22. Production cost of *S. kitina* on the mass culture.

### 3. 3. 1 ton 규모의 배양 형태별 (batch 및 semi-continuous 배양) 생산성 및 경제성 분석

초소형 rotifer, *S. kitina*의 batch 및 semi-continuous 배양에 따른 일일 개체밀도 변화는 Fig. 23에 나타내었다. Batch 배양에서 배양기간 동안 개체 밀도는 30~135 개체이였으며, 최고밀도는 배양 5일째에 135 개체로 나타났다. 반면, semi-continuous 배양에서 배양기간 동안 개체 밀도는 34~556 개체였으며 최고밀도는 배양 7일째에 556 개체로 나타났다.

Batch 배양에 따른 일일 생산량은 Fig. 24에 나타내었다. Batch 배양에서 배양기간 동안 일일 생산량은 18,000,000~87,304,400 개체를 보였으며, 최고 일일 생산량은 배양 5일째에 87,304,400개체로 나타났다. Batch 배양에서 배양일에 따른 개체수의 최고 일일 증가량은 배양 2일째에 27,935,400 개체를 나타냈다(Fig. 25).

한편, semi-continuous 배양에 따른 일일 생산량은 Fig. 26에 나타내었다. 배양기간 동안 일일 생산량은 6,120,000~100,080,000 개체로 나타났으며 최고



일일 수확량은 배양 7일째에 100,080,000 개체로 나타났다.

Batch 배양 및 semi-continuous 배양에 따른 배양 5일째까지의 총 생산량의 비교는 Fig. 27에 나타내었다. Batch 배양에 따른 총 생산량은 87,304,400 개체로 427,680,000 개체를 보인 semi-continuous 배양과 유의적인 차이를 보였다( $P < 0.05$ ).

그리고 각각 배양방법에 따른 배양수의 환경변화는 Fig. 28에 나타내었다. 우선, batch 배양에서 DO는 배양기간이 지날수록 서서히 증가하는 경향을 보여 실험기간 동안 6.56~17.30 ppm 사이의 범위를 보였다.  $\text{NH}_3\text{-N}$ 은 배양기간 동안 0.23~1.00 ppm 사이로 나타났으며 배양 당일부터 증가하는 경향을 보였다. 또한 pH는 배양기간 동안 6.97~7.37 사이의 범위를 보였다.

Semi-continuous 배양에서 배양일에 따른 DO는 배양 7일째까지 일정하게 유지되는 경향을 보였으며, 7일째 이후에 높아지는 경향을 보였다.  $\text{NH}_3\text{-N}$ 은 배양기간 동안 0.06~0.45 ppm 사이로 나타났으며 배양 3일째까지 급격한 감소를 보이다가 그 이후에 0.057~0.0093 ppm으로 일정하게 유지되는 경향을 보였다. 또한 pH는 배양기간 동안 6.6~7.1 사이의 범위를 보였다.

한편, batch 배양방법과 semi-continuous 배양방법의 경제성은 Fig. 30에 나타내었다. Rotifer 1억 개체를 생산할 시 batch 배양에서의 경비는 먹이 17,121원 (22%), 인건비 48,000원 (62%) 및 연료비 12,000원 (16%)으로 총 77,121원 중 인건비가 많은 비중을 차지하였다. 반면 semi-continuous 배양에서는 먹이 36,051원 (47%), 인건비 24,000원 (31%) 및 연료비 6,000원 (8%)으로 총 66,051원 중 먹이비가 대부분을 차지하였으며 batch 배양보다 총 경비에 있어 낮은 것으로 조사되었다.

결과적으로 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 적정 배양방법은 배양의 경제성과 안정성을 고려할 때 semi-continuous 배양이 적합할 것으로 판단되어진다.

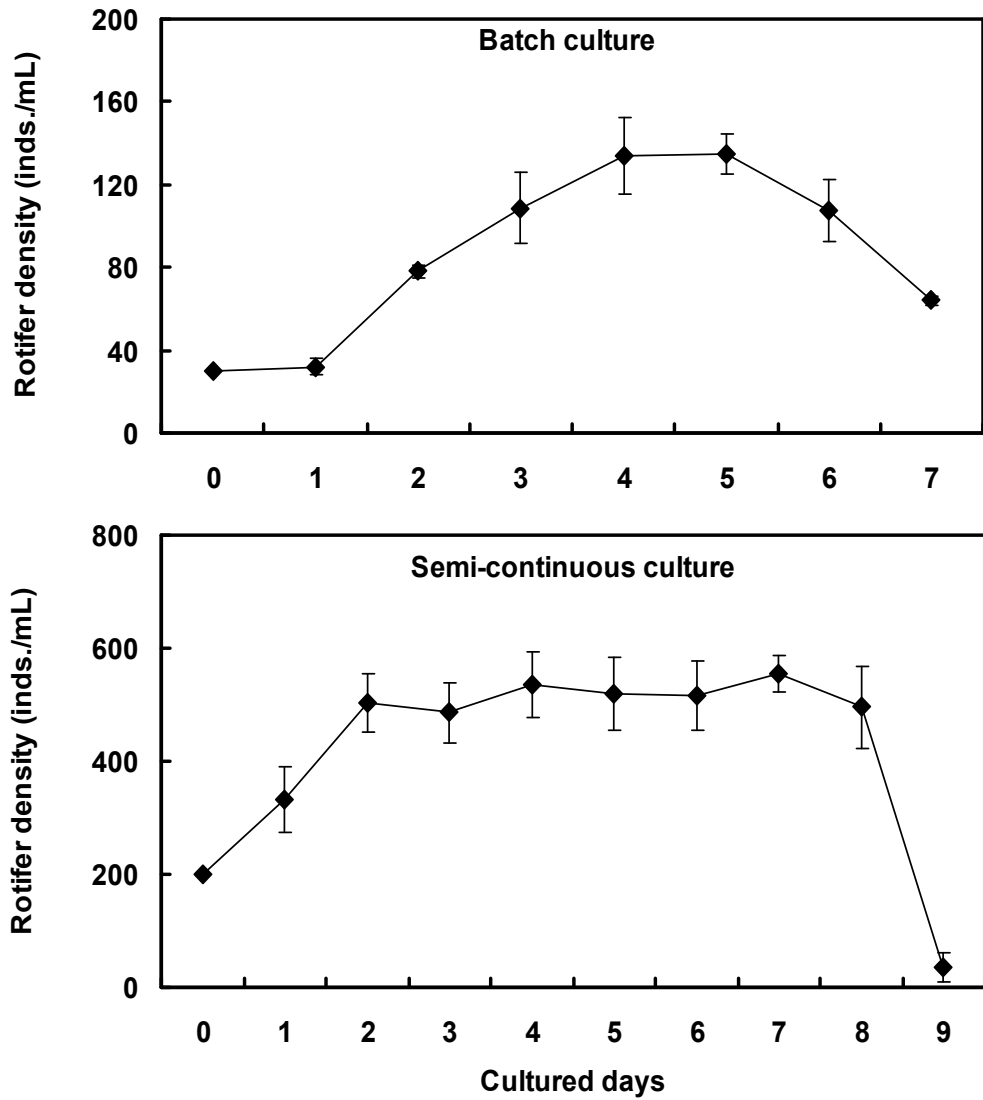


Fig. 23. Rotifer density obtained in the batch culture and the semi-continuous culture system.

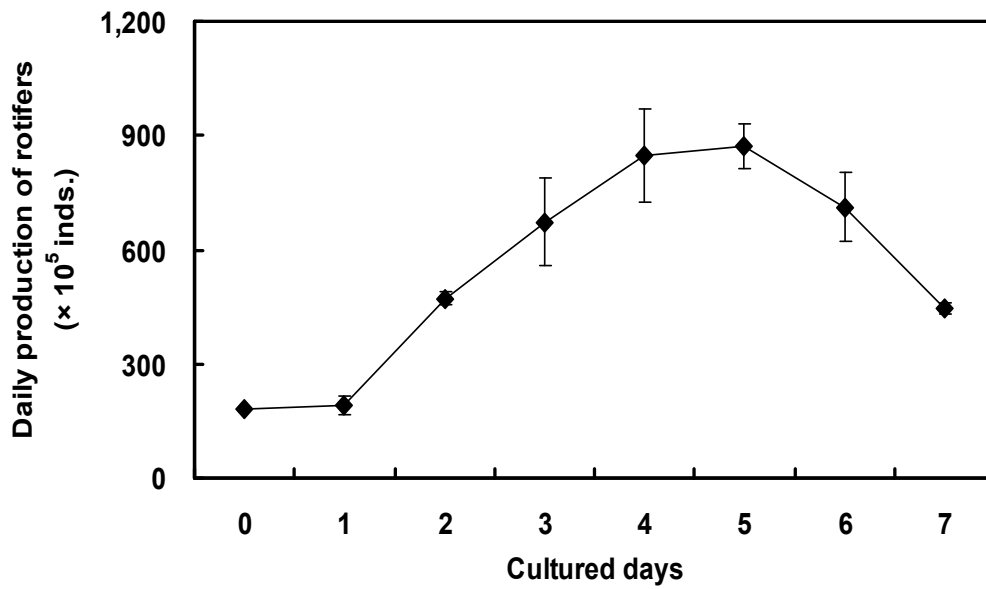


Fig. 24. Daily production of rotifer, *S. kitina* in the batch culture system.

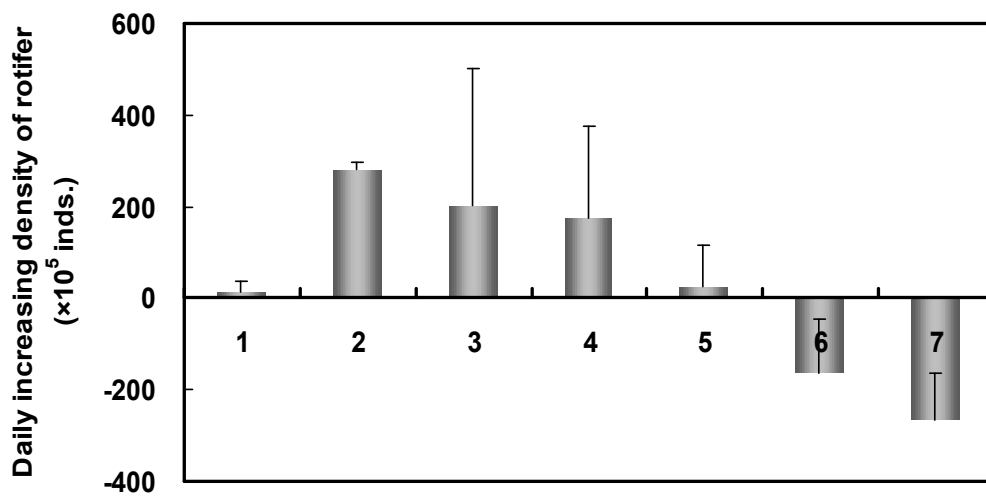


Fig. 25. Daily increasing density of rotifer, *S. kitina* in the batch culture system.

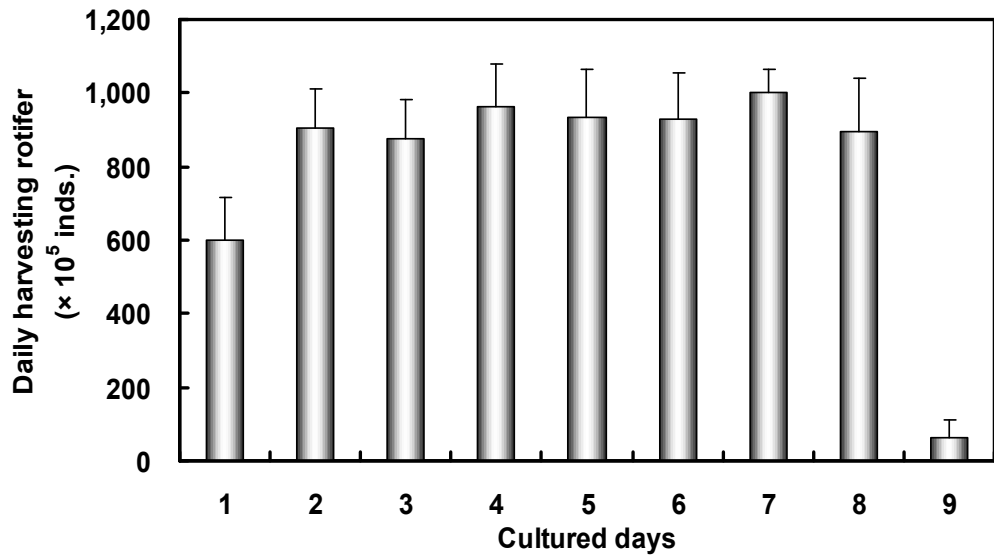


Fig. 26. Daily harvesting density of rotifer, *S. kitina* in the semi-continuous culture system.

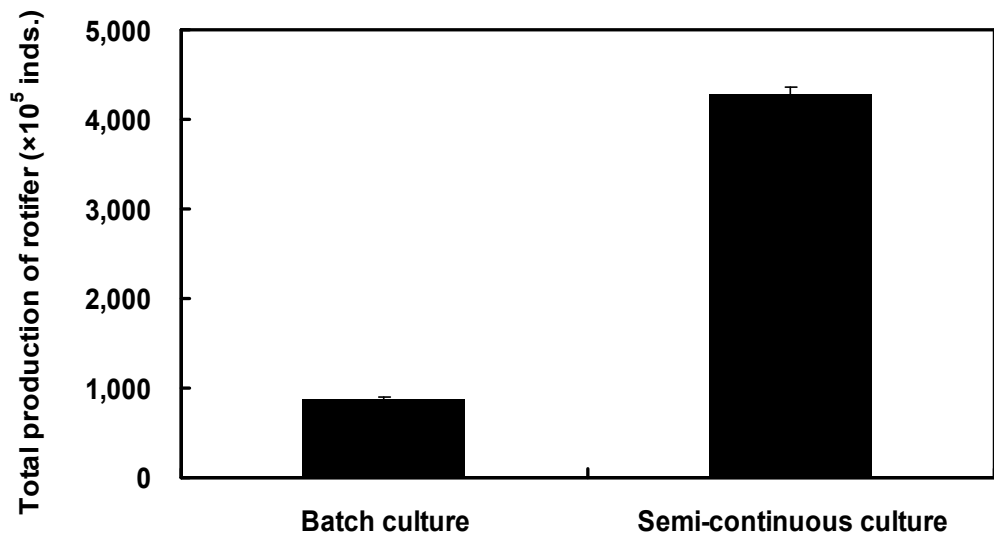


Fig. 27. Total production of rotifer, *S. kitina* in the batch and semi-continuous culture system at 1 ton tanks (from 1<sup>st</sup> to 5<sup>th</sup> days).

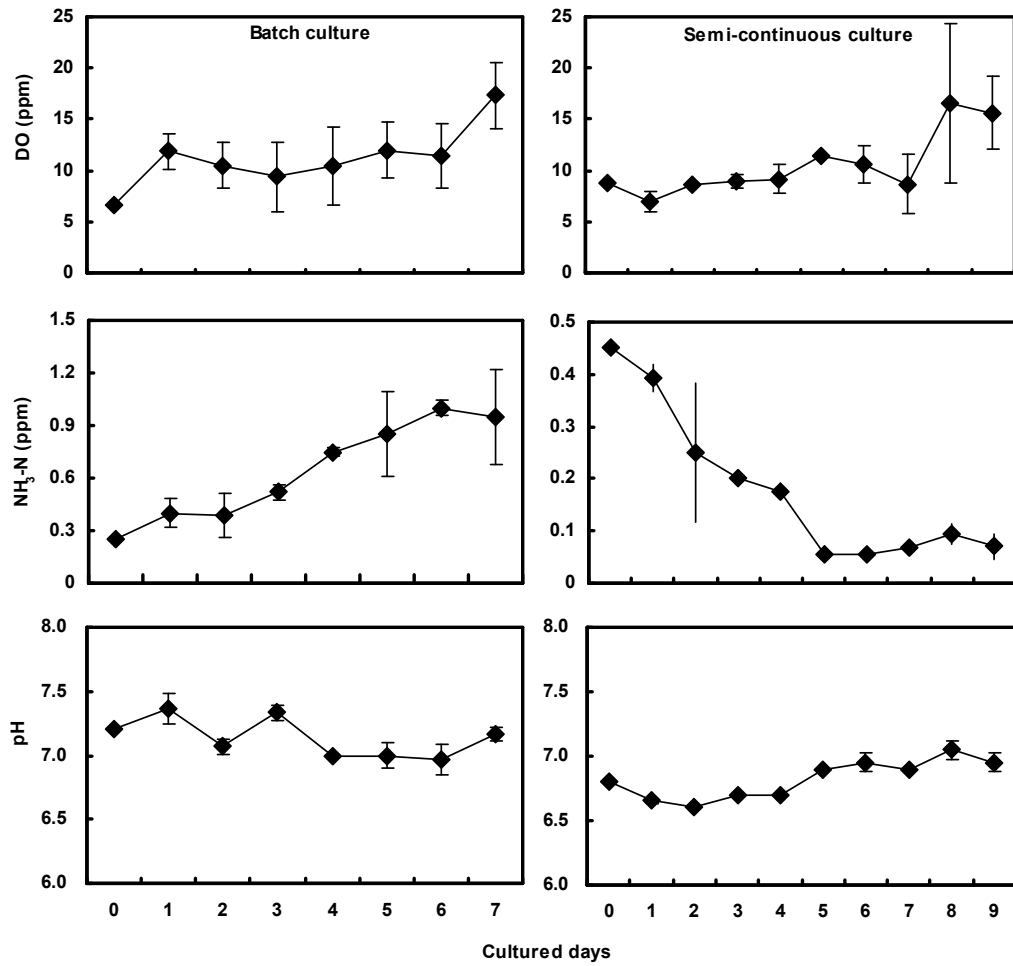


Fig. 28. Variation of DO, NH<sub>3</sub>-N and pH during the culture period of rotifer, *S. kitina* in the batch and semi-continuous culture system.

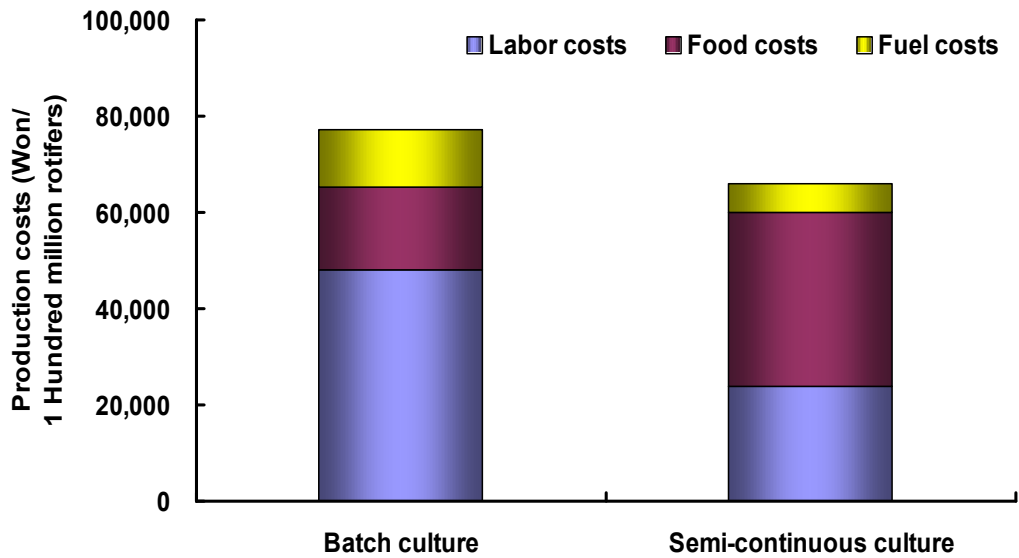


Fig. 29. Production cost of *S. kitina* in batch and semi-continuous culture system.

#### 4. 대량생산된 *S. kitina*의 효과적인 저온 보관

저온 상태에서 먹이 공급량에 따른 *S. kitina*의 성장은 Fig. 30에 나타내었다. 모든 실험구간의 개체성장은 배양 1일째에 증가하는 경향을 보였다. 그러나 먹이를 공급하지 않은 대조구는 배양 2일째부터 급격히 감소하는 경향을 보여 실험종료 시에는  $2.7 \times 10^4$  개체로 낮은 개체밀도를 보였다. Rotifer 한 개체당 90 세포를 공급한 실험구는 배양 3일째부터 감소하는 경향을 보였으며, 180 및 270 세포를 공급한 실험구는 배양 4일째부터 감소하는 경향을 보였다. 반면, 360 세포를 공급한 실험구는 배양 4일째부터 감소하였지만 다른 실험구에 비해 급격하게 감소하는 경향은 나타나지 않았다. 실험종료 시 360 세포를 공급한 실험구의 최종 개체수는  $4.3 \times 10^6$  개체로 초기 접종밀도보다 높게 나타난 반면, 다른 실험구는 초기 접종밀도보다 오히려 낮게 나타나는 경향을 보였다. 또한 먹이 공급량에 따른 일일 성장률( $r$ )은 먹이를 공급하지

않은 대조구에서 -0.8035로 가장 낮은 값을 보였다(Fig. 31).

결과적으로 저온에서 초소형 rotifer를 대량으로 보관할 경우, 먹이인 *T. suecica*를 rotifer 한 개체 당 360 세포로 공급하는 것이 적당할 것으로 판단된다. 이러한 결과를 통해 앞으로 대량배양된 초소형 rotifer의 보관·관리가 효율적으로 이루어질 것이며, 미리 보관 되어진 초소형 rotifer로 인해(seed 역할) 대량배양에 차질이 없을 것으로 판단된다.

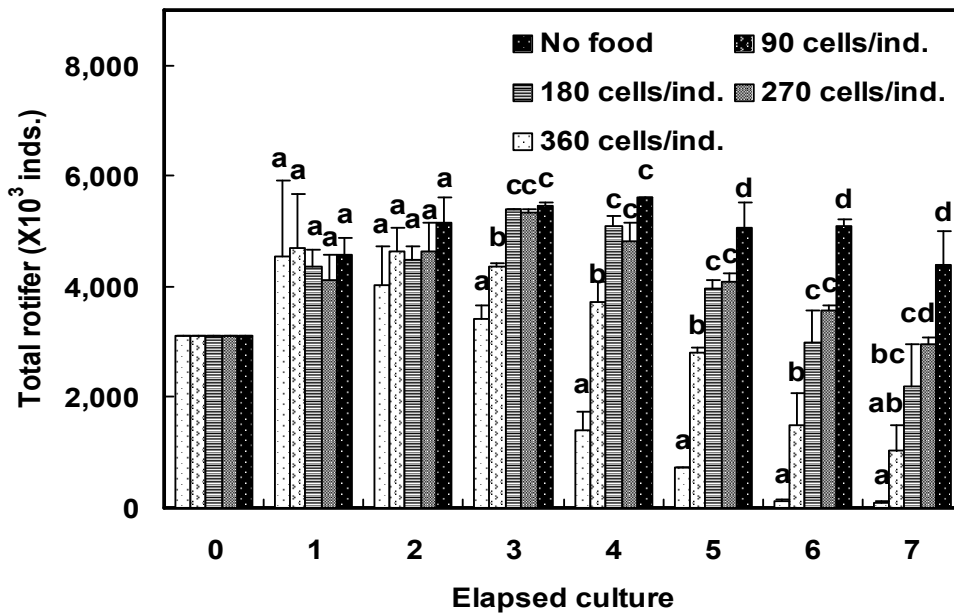


Fig. 30. Growth of rotifer, *S. kitina* on the different food concentrations at the low temperature (6°C).

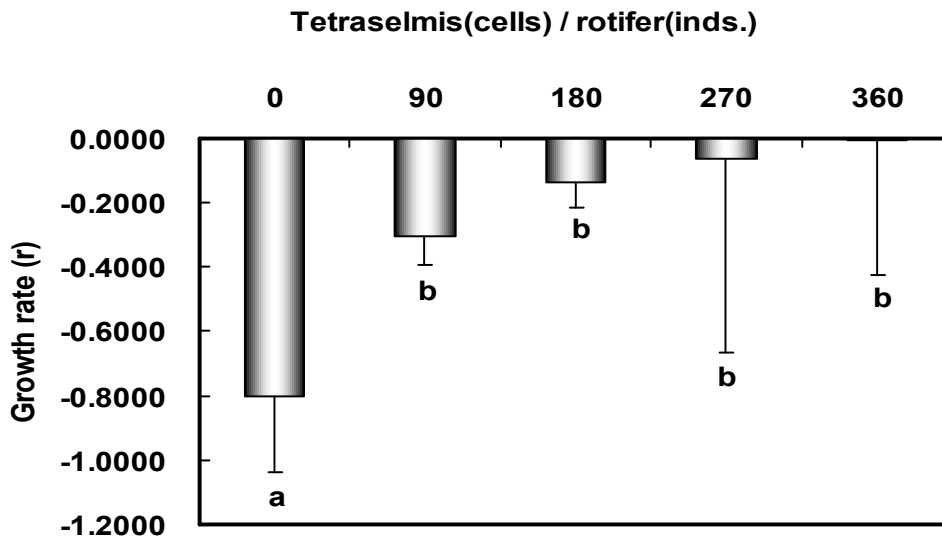


Fig. 31. Growth rate of *S. kitina* on the different food concentrations at the low temperature (6°C).

## 5 먹이효율

### 5. 1. 동갈돛돔 자어의 먹이효율

먹이종류를 달리하여 동갈돛돔 자어에게 공급하였을 때 이들 자어의 성장과 생존율은 Table 19에 나타내었다. 전장은 R 공급구에서 3.32 mm로 유의적으로 높게 나타났으나 모든 실험구와 유의적인 차이는 보이지 않았다 ( $P>0.05$ ). 동갈돛돔 자어 한 마리의 무게는 C 공급구에서 80  $\mu\text{g}$ 로 유의적으로 가장 높게 나타났으나 모든 실험구와 유의적인 차이는 보이지 않았다 ( $P>0.05$ ). 생존율은 R 공급구에서 52.3%로 유의적으로 가장 높게 나타났으나 ( $P<0.05$ ), S 실험구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 ( $P>0.05$ ). 그러나 C 공급구는 25.9%로 유의적으로 낮게 나타났다 ( $P<0.05$ ).



## 5. 2. 쥐치 자어의 먹이효율

20 L 수조에서 먹이 종류를 달리하여 쥐치 자어에게 공급하였 때 이들의 생존율 및 성장은 Fig. 32, 33에 나타내었다. 생존율은 *S. kitina* 공급구에서 8.2%로 유의적으로 높게 나타난 반면 *B. rotundiformis* 공급구에서는 2.1%로 낮게 조사되었다( $P < 0.05$ ). 그러나 전장 및 체폭은 두 먹이 실험구간에서 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났( $P > 0.05$ ).

12 ton 수조에서 부화일에 따른 쥐치 자어의 크기 및 무게는 Fig. 34에 나타내었다. 부화 후 3, 5, 7, 9 및 11일 동안 쥐치 자어의 무게와 크기는 두 개의 실험구간에서 각각 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ).

실험 종료 시 각각의 먹이에 따른 쥐치 자어의 지방산 분석은 Table 20에 나타내었다. 두 실험구간의 SFA (saturated fatty acid) 및 MUFA (mono-saturated fatty acid)은 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 또한 ARA(C20:4n6), EPA(C20:5n3) 및 DHA(C22:6n3) 함량도 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났( $P > 0.05$ ).

결과적으로 20 L 및 12 ton 실험에서 쥐치 자어의 성장(전장, 체폭 및 무게)은 *S. kitina* 공급구와 *B. rotundiformis* 공급구간에서 차이가 없는 것으로 나타났. 그러나 생존율면에서는 *S. kitina*의 공급구가 높게 나타났으며, 실험종료 후 쥐치 자어의 지방산 분석 결과 또한 영양강화된 *B. rotundiformis* 공급구와 비교했을 때 질적으로 전혀 떨어지지 않기 때문에 입이 작은 쥐치 자어의 새로운 먹이생물로써 그 가능성은 충분하리라 판단된다.

Table 19. Growth and survival rate of the black grunt larvae, *Haplogenys nitens* fed with the different diets\*

Diets <sup>1</sup>	Total length (mm)	Total weight ( $\mu\text{g}$ )	Survival rate (%)
S	3.18 $\pm$ 0.051 <sup>a</sup>	80.0 $\pm$ 11.00 <sup>a</sup>	44.9 $\pm$ 8.32 <sup>b</sup>
R	3.32 $\pm$ 0.463 <sup>a</sup>	100.0 $\pm$ 20.00 <sup>a</sup>	52.3 $\pm$ 3.88 <sup>b</sup>
C	3.21 $\pm$ 0.014 <sup>a</sup>	110.0 $\pm$ 43.00 <sup>a</sup>	25.9 $\pm$ 2.26 <sup>a</sup>

\*Values (mean $\pm$ SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>S, *Synchaeta kitina*; R, *Brachionus rotundiformis*; C, Copepod nauplius

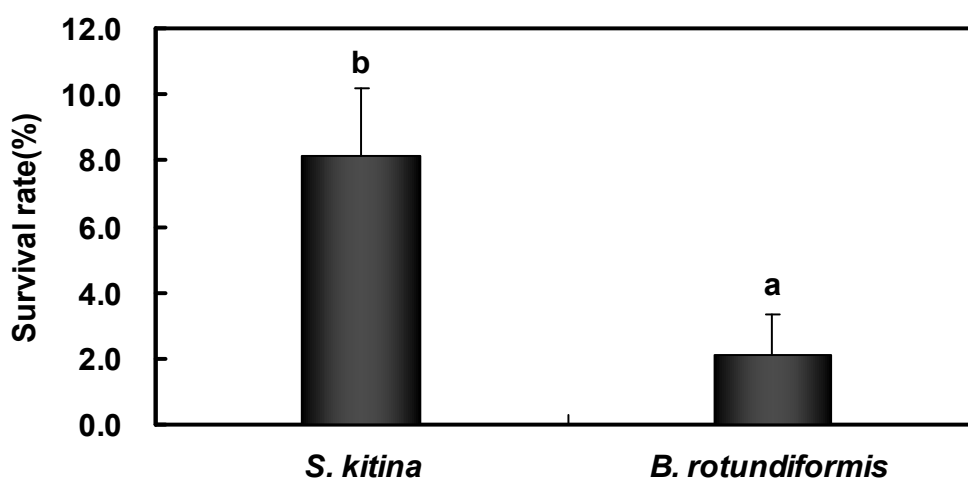


Fig. 32. Survival rate of the file fish larvae, *Stephanolepis cirrhifer* fed on the different diets at 20 L culture tanks (Trial 1).

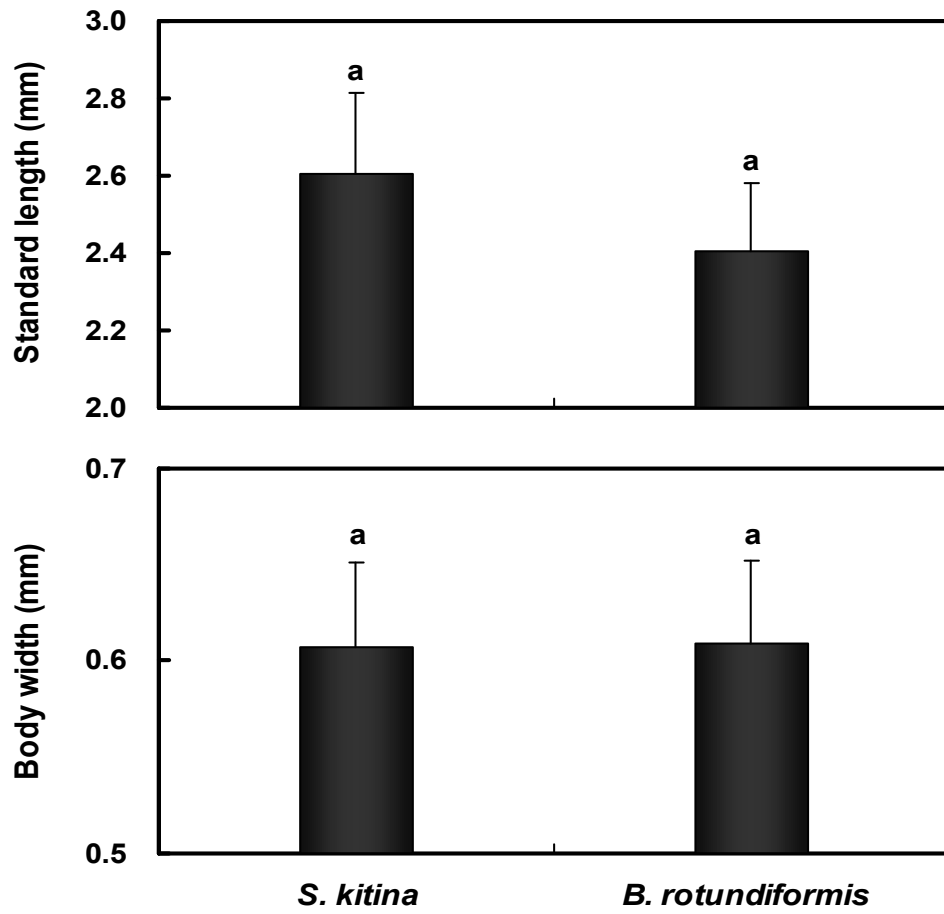


Fig. 33. Growth of the file fish larvae, *Stephanolepis cirrhifer* fed on the different diets at 20 L culture tanks (Trial I).

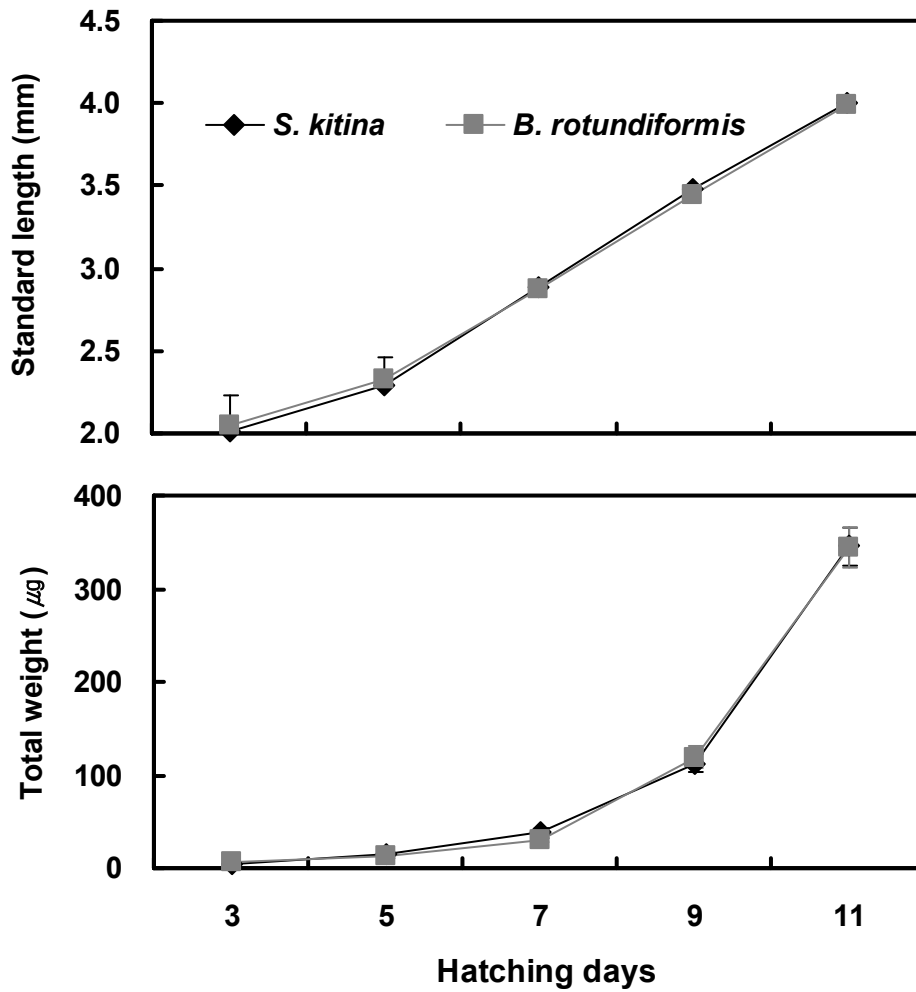


Fig. 34. Total length and weight of the file fish larvae, *Stephanolepis cirrhifer* fed on the different diets at 12 ton culture tanks (Trial 2).

Table 20. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of file fish *Stephanolepis cirrifer* larvae, fed on different diets\*

Diets	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>
Analysis		
C14:0	1.0±0.14 <sup>a</sup>	1.0±0.10 <sup>a</sup>
C16:0	15.9±0.55 <sup>a</sup>	16.2±0.56 <sup>a</sup>
C17:0	0.6±0.02 <sup>a</sup>	0.6±0.03 <sup>a</sup>
C18:0	6.7±0.37 <sup>a</sup>	6.6±0.19 <sup>a</sup>
ΣSFA	25.2±0.82 <sup>a</sup>	25.2±0.82 <sup>a</sup>
C16:1	4.6±0.15 <sup>a</sup>	4.9±0.01 <sup>b</sup>
C17:1	0.6±0.18 <sup>a</sup>	0.3±0.31 <sup>a</sup>
C18:1n9	6.5±0.21 <sup>a</sup>	6.4±0.02 <sup>a</sup>
C20:1	0.5±0.05 <sup>b</sup>	0.4±0.01 <sup>a</sup>
ΣMUFA	12.5±0.16 <sup>a</sup>	12.2±0.36 <sup>a</sup>
C18:2n6	4.2±0.75 <sup>b</sup>	3.0±0.32 <sup>a</sup>
C18:3n6	0.3±0.06 <sup>a</sup>	0.3±0.01 <sup>a</sup>
C18:3n3	0.2±0.05 <sup>a</sup>	0.2±0.01 <sup>a</sup>
C20:2	0.4±0.08 <sup>b</sup>	0.2±0.05 <sup>a</sup>
C20:3n3	0.7±0.07 <sup>a</sup>	0.6±0.06 <sup>a</sup>
C20:4n6	5.1±0.13 <sup>a</sup>	4.9±0.10 <sup>a</sup>
C20:5n3	12.7±0.38 <sup>a</sup>	12.9±0.63 <sup>a</sup>
C22:6n3	2.6±0.49 <sup>a</sup>	2.8±0.22 <sup>a</sup>
ΣPUFA	24.5±1.90 <sup>a</sup>	25.0±0.92 <sup>a</sup>
n-3 HUFA	16.3±0.26 <sup>a</sup>	16.6±0.46 <sup>a</sup>
n-6 HUFA	7.9±2.23 <sup>a</sup>	8.2±0.41 <sup>a</sup>
n-9 HUFA	6.5±0.21 <sup>a</sup>	6.4±0.02 <sup>a</sup>
DHA/EPA	0.2±0.04 <sup>a</sup>	0.2±0.03 <sup>a</sup>
EPA/ARA	2.5±0.04 <sup>a</sup>	2.6±0.07 <sup>a</sup>
n-3/n-6	2.2±0.79 <sup>a</sup>	2.0±0.05 <sup>a</sup>
n-6/n-9	1.2±0.38 <sup>a</sup>	1.3±0.06 <sup>a</sup>
Unsaturated index (%)	118.3±8.70 <sup>a</sup>	123.4±3.46 <sup>a</sup>

\*Values (mean±SE of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>Rotifer was enriched with *Chryptocodium* sp.

<sup>2</sup>*S. kitina* was cultured with *T. suecica*.

#### 4. 3. 능성어류 자어의 먹이효율

1차 실험에서 부화 4일째까지의 자어의 전장과 생존율은 Fig. 35, 36에 나타내었다. 난에서 갓 부화한 자어의 전장은 1.90 mm이었으며, 부화 4일째 *S. kitina* 공급구의 경우는 2.56 mm, *B. rotundiformis* 공급구는 2.49 mm로 나타나 두 실험구간의 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났( $P>0.05$ ). 그러나 생존율에 있어서는 *S. kitina* 공급구에서 11.40%로 높게 나타난 반면 *B. rotundiformis* 공급구에서는 0.03%로 매우 낮은 생존율을 보였다( $P<0.05$ ).

2차 실험에서 부화 7일째까지 자어의 전장과 생존율은 Fig. 37, 38에 나타내었다. 부화 당일 자어의 전장은 1.90 mm이었으며, 부화 7일째에는 *S. kitina* 공급구에서 2.67 mm, *B. rotundiformis* 공급구에서는 2.67 mm로 두 실험구간의 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났( $P>0.05$ ). 하지만 생존율에 있어서는 *S. kitina* 공급구에서 36.1%로 매우 높게 나타난 반면, *B. rotundiformis* 공급구에서는 낮은 4.4%로 나타나 두 실험구에서 유의적인 차이를 보였다( $P<0.05$ ).

한편, 본 실험에서 부화 4일째에 두 실험구의 자어 소화관 내에서 모두 rotifer의 저작기(trophi)를 관찰할 수 있었다(Fig. 39). 그러나 *S. kitina* 공급구에서 *B. rotundiformis* 공급구보다 더 많은 rotifer의 저작기를 발견하였다. 이를 통해 *S. kitina*가 능성어 초기 먹이생물로서 이용 가능하다는 사실을 확인할 수 있었다.

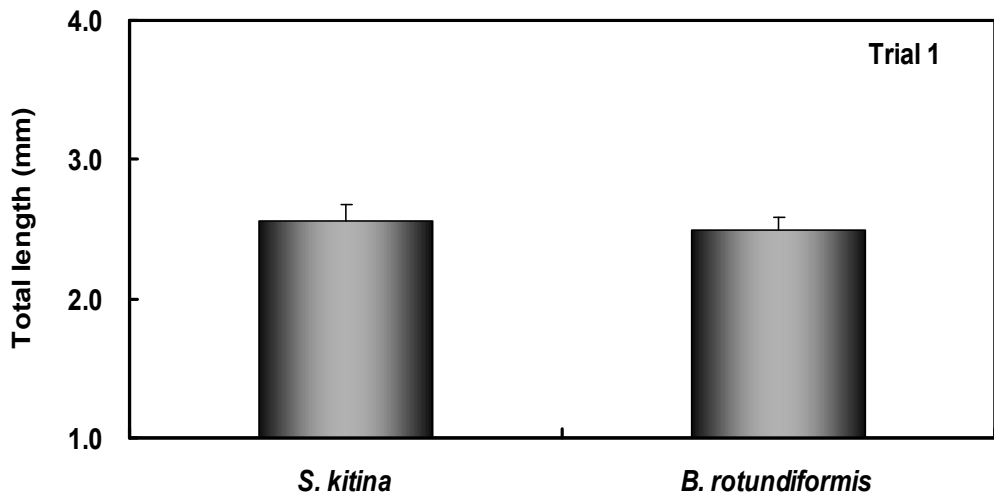


Fig. 35. Growth of the grouper (*Epinephelus septemfasciatus*) larvae fed on *S. kitina* and *B. rotundiformis* after hatching 4 days (Trial 1).

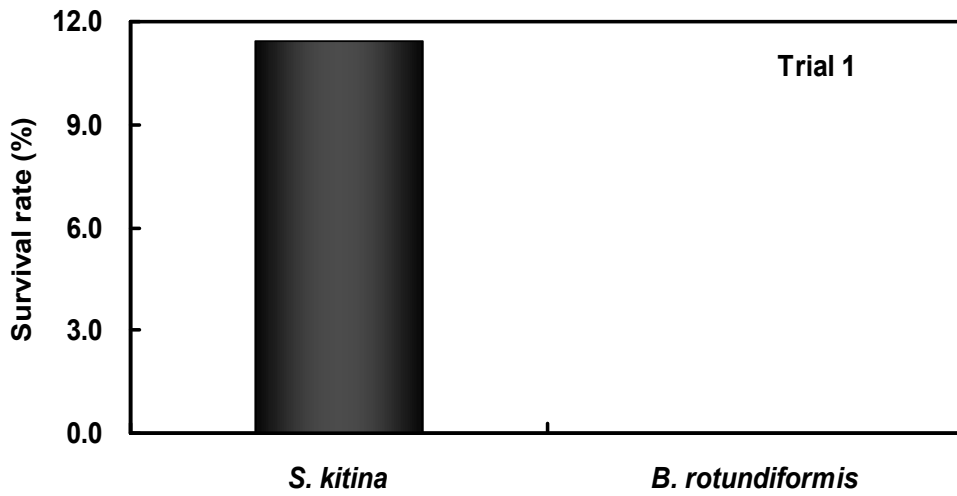


Fig. 36. Survival rate of the grouper (*Epinephelus septemfasciatus*) larvae fed on *S. kitina* and *B. rotundiformis* after hatching 4 days (Trial 1).

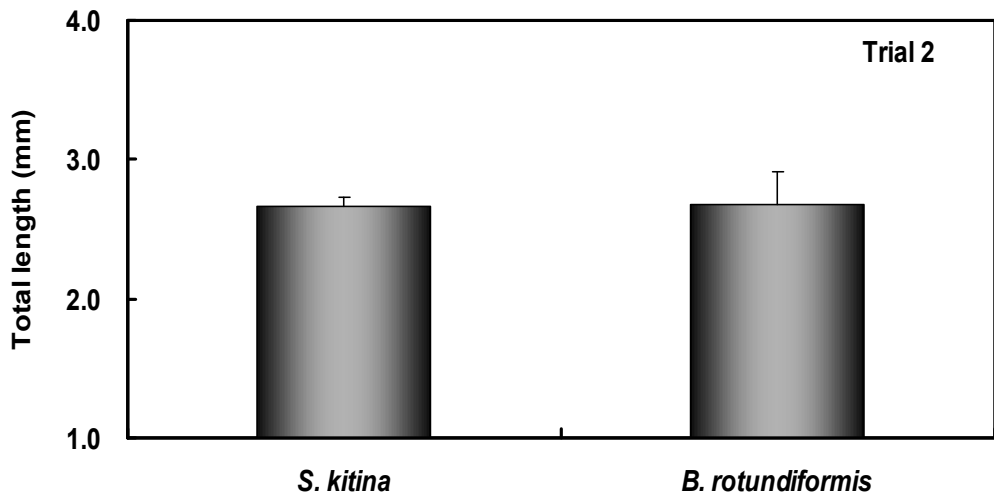


Fig. 37. Growth of the grouper (*Epinephelus septemfasciatus*) larvae fed on *S. kitina* and *B. rotundiformis* after hatching 7 days (Trial 2).

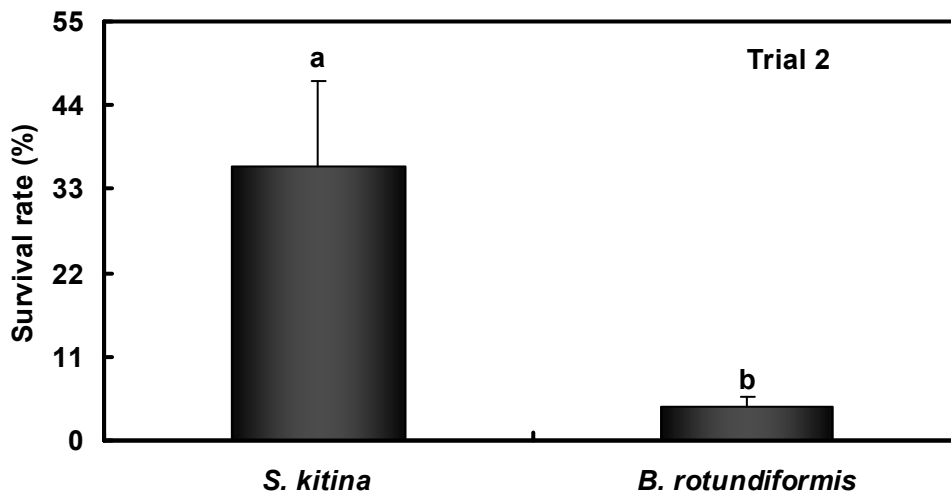


Fig. 38. Survival rate of the grouper (*Epinephelus septemfasciatus*) larvae fed on *S. kitina* and *B. rotundiformis* after hatching 7 days (Trial 2).



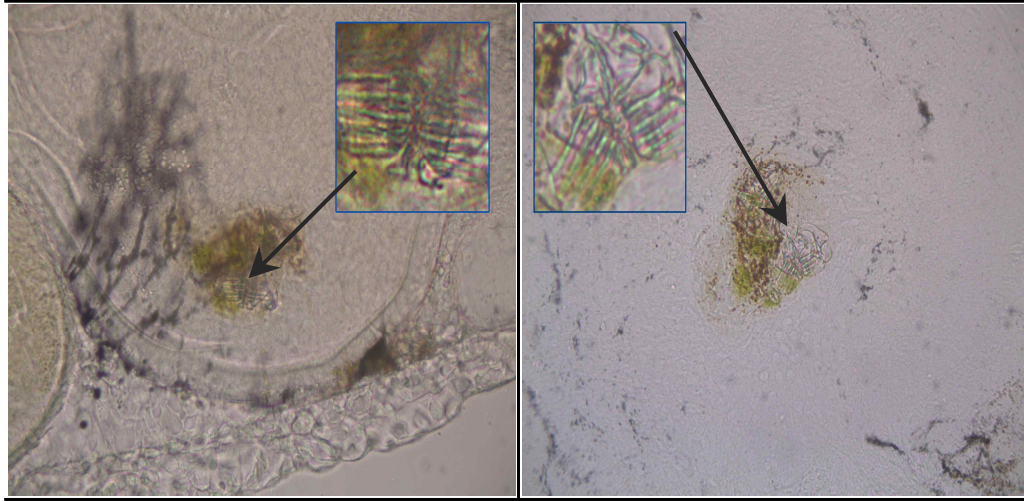


Fig. 39. Confirmed rotifer trophi in the gut of grouper larvae fed *S. kitina* (left) and *B. rotundiformis* (right) after hatching 4 days ( $\times 400$ , arrowhead).

## IV. 고찰

### 1. 1. *S. kitina*의 배양에 영향을 미치는 외재적 요인

#### 1. 1. 1. 염분

염분별 배양실험 결과로 5~30‰에서 생존 및 성장이 가능했던 초소형 rotifer, *S. kitina*는 광염성 종이라 판단된다. 그러나 고염분인 30‰에서 낮은 성장률을 보여 순수한 해수산 종은 아니며, 단지 염분에 대한 내성력이 있다는 사실을 알 수 있었다.

한편, Yin and Zhao (2008)에 의하면 *B. plicatilis*에 있어 염분 상승은 포란율 및 성장률의 저하로 이어진다고 하였다. 본 염분별 군집배양에서도 저염분인 5‰에서 성장이 좋았던 반면 염분이 증가할수록 최고밀도, 포란율 및 성장률은 유의적으로 낮아지는 경향을 보여 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 또한 *B. plicatilis*의 경우 10~20‰의 기수역 염분에서 생식률 및 성장률이 가장 높다는 보고가 있으며(Miracle and Serra, 1989), 이러한 이유로 지금까지도 배양은 17~25‰에서 주로 행해지고 있다(Fu et al., 1997; Lubzens et al., 1997). 본 실험에서도 5~20‰의 기수역 염분에서 성장이 25 및 30‰의 고염분 보다 높게 나타나 *S. kitina*는 낮은 기수역의 염분으로 배양하는 것이 더욱 효과적일 것으로 판단된다.

본 염분별 개체배양 실험에서 neonate가 성숙하여 포란하기 전까지의 생식 전 단계는 염분이 낮을수록 단축되는 경향을 보여 5‰에서 가장 단시간에 포란을 하였다. 또한 순 생식 단계, 산란수 및 수명도 염분이 낮아질수록 높아지는 경향을 보여 Oltra and Todolí (1997) 및 Bosque et al. (2001)의 연구자료와 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 한편 이들의 연구 자료에 의하면 25‰, 20℃의 조건하에서 *S. littoralis* 및 *S. cecilia valentina* 종들의 수명과 산란수는 각각 3.8~7.3일, 6.1~9.2개체로 나타난다고 보고하였는데 같은 환경조건인 본 실험에서는 각각 5.1일, 4.8개체로 나타나 이들 중에 비해 다소 낮은

것으로 조사되었다. 이러한 이유로 본 실험에서의 먹이량은 개체 당 *T. suecica*를  $3 \times 10^3$  세포로 공급한 반면 *S. cecilia valentina* 및 *S. littoralis*의 실험에서는 개체 당  $1.5 \sim 15 \times 10^4$  세포로 공급되어 먹이량에 따른 차이 때문인 것으로 판단된다. Schmid-Araya (1991)의 보고에서도 *B. plicatilis* 및 *Encentrum linnhei*에게 먹이량에 따른 개체배양을 행한 결과, 먹이량이 많아질수록 산란수가 높아지는 경향을 보여 먹이량이 산란수에 직접적인 영향을 미친 것으로 보고하였다.

본 염분별 개체 및 군집배양에서 *S. kitina*의 성장은 낮은 염분인 5‰에서 가장 높게 나타났으나 염분이 높아질수록 이들의 염분에 대한 내성은 낮아지는 경향을 보여 성장의 저하로 나타났다. 이는 곧 자연해수에서 사육되는 자어에게 공급될 경우 이들의 활력이 저하되어 자어가 잘 섭취하지 못하는 문제점으로 나타날 수도 있는 것이다. 그렇기 때문에 앞으로 염분변화에 따른 이들의 순치적응에 대한 실험이 필요할 것으로 판단된다.

본 연구를 종합해 볼 때, 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양에 있어 가장 안정적인 최적 염분 조건은 저염인 5‰이라 판단된다.

### 1. 1. 2. 수온

수온은 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*의 성장과 생식에 많은 영향을 미친다(Galkovskaja, 1987). Park (1998)의 자료에 의하면 *B. plicatilis*의 최적 성장은  $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 이며 *B. rotundiformis*는  $30^\circ\text{C}$ 라고 보고하였다. 또한 Kang et al. (1997)에 의하면 *B. calyciflorus*의 대량배양을 위한 최적 성장 수온은  $22 \sim 25^\circ\text{C}$ 이며 수온이 높아질수록 성장은 오히려 저하된다고 하였다. 그러나 Rico-Martinez and Dodson (1992)은 수온이 높아질수록 *B. calyciflorus*의 증식률이 높게 나타나  $30^\circ\text{C}$ 에서 가장 높은 증식률을 보인다고 보고하였다. 본 수온별 군집배양 실험에서는 배양기간이 경과될수록 저온인  $16^\circ\text{C}$ 에서 성장이 높았던 반면  $28$  및  $32^\circ\text{C}$ 의 고수온에서는 성장이 유의적으로 낮아지는 경향을 보여 Kang et al. (1997)의 연구 결과와 동일하게 나타났다. 한편, 본 군집배

양 실험에 있어 수온이 높아질수록 최고밀도가 낮게 나타난 것은 수온이 높아질수록 rotifer 증식에 악영향을 미치는 용존산소 및 이온화되지 않은 암모니아 농도(NH<sub>3</sub>-N)의 영향 때문인 것으로 판단된다(Schlüter and Groeneweg, 1985; Yu and Hirayama, 1986; Yoshimura et al., 1994). 따라서 앞으로 배양수 내의 용존산소 및 NH<sub>3</sub>-N 등과 같은 화학적 요인들에 의한 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다.

본 수온별 개체배양에서 neonate가 성숙하여 포란하기 전까지인 생식 전 단계와 순 생식 단계는 수온이 높아질수록 단축되는 경향을 보여 여러 연구자료와 유사한 것으로 나타났다(Awaiss and Kestemont, 1992; Oltra and Todolí, 1997; Bosque et al., 2001). 이러한 이유로는 수온에 따른 신진대사의 차이가 rotifer의 성장과 생식에 영향을 미친 것으로 판단된다(Miracle and Serra, 1989). 한편, Bosque et al. (2001)의 연구에 의하면 20%의 염분 조건하에서 *S. littoralis*의 산란수와 수명은 25°C(4.4~4.7일, 7.0~7.8개체)보다 20°C(6.3~7.3일, 8.5~9.1개체)에서 높았으며, Oltra and Todolí (1997)의 *S. cecilia valentina*도 24°C(3.2~4.7일, 2.1~6.2개체)에 비해 20°C(4.0~5.3일, 5.6~7.9개체)에서 보다 높은 값을 보인다고 하였다. 본 실험에서도 저온일수록 유의적으로 높은 값을 보여 유사한 양상을 보이는 것으로 조사되었다. 그러나 비슷한 환경에서 실험한 본 연구의 산란수와 수명은 *S. cecilia valentina* 및 *S. littoralis* 종에 비해 다소 낮게 나타났는데 이는 각기 서로 다른 종의 생리적 차이가 작용한 것으로 판단된다(Oltra and Todolí, 1997; Bosque et al., 2001). 해수산 rotifer, *Brachionus* 속에는 피갑장의 크기가 서로 다른 *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*이 존재한다고 보고하였는데(Fukusho and Okauchi, 1982; 1983), 이들은 각기 다른 종으로 수온에 대한 서로 다른 생리적 특징을 가지고 있다고 하였다(Gómez et al., 1995). 본 실험에 사용된 *S. kitina*도 *S. littoralis* 및 *S. cecilia valentina*와 전혀 다른 종으로서 수온에 대한 생리적 차이가 작용한 것으로 판단된다.

수온에 따른 군집 및 개체배양 실험에서 수온이 낮을수록 성장은 높아지는 경향을 보였다. 따라서 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 수온

은 최고밀도, 생식기간, 수명 및 산란수가 가장 높았던 16℃가 최적 수온이라 판단되며, 앞으로 냉수성 어종들의 먹이생물로 이용하기 위해서는 16℃ 이하 수온에서의 연구가 행해져야 할 것으로 판단된다.

### 1. 1. 3. 먹이종류

먹이종류에 따른 *S. kitina*의 개체 및 군집배양 실험에서 *T. suecica*를 공급한 실험구가 그렇지 않은 실험구에 비해 성장이 우수한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 *S. littoralis* (Bosque et al., 2001)와 *S. cecilia valentina* (Oltra and Todolí, 1997)을 배양하기 위한 먹이생물로 *T. suecica*가 효과적이라는 연구자료와 동일하게 나타난 것이다. 이는 *T. suecica*는 운동성을 가지고 있는 식물플랑크톤으로서 포식자인 rotifer가 유영을 하면서 먹이를 접할 빈도가 높았기 때문인 것으로 판단된다(Salt, 1987; Hotos, 2002). 또한 Egloff (1988)는 *S. cecilia*에게 *T. suecica*를 제외한 다른 먹이생물인 *I. galbana*를 공급했을 때 성장이 가능하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 *I. galbana*를 공급한 실험구에서 성장이 가능했던 점을 보아 *I. galbana*는 *S. kitina*의 보조먹이로서 사용이 가능한 것으로 판단된다.

그러나 해수산 *C. ellipsoidea*는 군집 및 개체배양 실험에서 접종 2일째 모두 폐사하는 경향을 보였기 때문에 본 종에게 있어 적합하지 않은 먹이생물이라 판단된다. 이러한 이유로는 종에 따른 세포벽의 두께, 성분 및 분해효소 등의 차이에 의한 것으로 판단된다. Chlorophyceae 강에 속하는 *Chlorella* sp.의 세포벽은 여러 겹의 두꺼운 cellulose로 이루어진 반면, Prasinophyceae 강에 속하는 *Tetraselmis* sp.는 가장 바깥쪽에 두꺼운 cellulose 세포벽 대신에 theca이라고 불리는 세포외벽을 가지고 있어 두 종간의 세포벽 구조와 두께가 다른 것으로 보고되고 있다(Sze, 1986; Boney, 1989; Maruyama et al., 1997). 또한 theca를 이루고 있는 주성분은 galactose 및 galacturonic acid로 성분에 있어서도 *Chlorella* sp.와 차이가 있는 것으로 알려져 있다(Becker et al., 1989). 아울러 Chun et al. (1996)은 *Brachionus* 속에는 peptidoglycanase

가 있기 때문에 세포벽이 다량의 peptidoglycan으로 이루어진 *Chlorella* sp.를 쉽게 소화시킬 수 있다고 보고하였다. 그러나 본 실험에 사용된 종은 *Brachionus* 속에 비해 이러한 분해효소 활성이 매우 적거나 없기 때문에 *C. ellipsoidea*을 분해할 수 없어서 성장이 낮았던 것으로 판단되며, 이 부분에 대해서는 추가적으로 이들의 효소적 방법을 이용한 증거가 필요할 것으로 판단된다.

그럼에도 불구하고 본 실험 중 균집배양에서의 최고밀도는 TET+CHL 혼합 공급구에서 유의적으로 가장 높게 나타났는데, 이는 *S. kitina*의 먹이 선택성이 강하여 자신에게 적합한 *T. suecica*만을 섭취한 결과라 판단된다. Egloff (1988)는 37가지의 먹이를 가지고 실험을 행하였을 때 2~3가지의 먹이만이 *S. cecilia* 성장에 영향을 미쳐 먹이선택에 있어 매우 민감함을 지적하였다. 본 실험에서도 예비실험을 통해 *C. ellipsoidea* 및 *T. suecica*를 같이 공급해 주어 섭취량을 조사해 본 결과, 선택적으로 *T. suecica*를 더 많이 섭취하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 TET+CHL 혼합 공급구에서 *T. suecica*의 먹이 공급량은 TET 및 TET+ISO 공급구의 먹이량에 비해 부족하지 않았기 때문에 성장에는 지장을 주지 않았던 것으로 판단된다.

한편, *Brachionus* 속의 종들은 먹이종류에 따라 개체발달 및 수명에 직접적인 영향을 받는 것으로 보고되고 있다(Yufera and Pascual, 1980; Korstad et al., 1989a, 1989b; Park et al., 1999b; Lee et al., 2000). 이러한 경향은 최근 연구에 의해 *Synchaeta* 속에서도 동일한 것으로 밝혀지고 있다(Egloff, 1988; Oltra and Todolí, 1997; Bosque et al., 2001). 이러한 먹이종류에 따른 성장 및 생식의 차이는 결국 먹이 내에 들어있는 영양소가 다르기 때문인 것으로 판단된다(Snell et al., 1983). 본 연구의 균집 및 개체배양에서 각각의 먹이를 단독 공급했을 때의 성장을 살펴보게 되면, 분명 *T. suecica*가 다른 단일 먹이에 비해 높은 성장과 생식률을 보이고 있다. 이는 결국엔 본 종의 성장에 있어 *T. suecica*가 다른 먹이에 비해 질적으로 우수하다는 사실을 확인시켜 주는 것이다.

본 실험을 종합해 볼 때, *S. kitina*의 대량배양에 있어 가장 안정적인

최적의 먹이는 *T. suecica*인 것으로 판단된다.

#### 1. 1. 4. 먹이 공급량

Rotifer를 배양함에 있어 적정 먹이량을 규명하는 것은 매우 중요한 과제라 할 수 있다. 적정 먹이량의 그 이상이나 이하로 공급될 경우에는 성장률, 포란율 및 생존율에 악영향을 미치기 때문이다(Halbach and Halbach-Keup, 1974; Stemberger and Gilbert, 1985; Rico-Martinez and Dodson, 1992). 본 연구의 군집 및 개체배양 실험에서는 *T. suecica*를 개체 당 10,000 세포로 공급한 실험구가 다른 실험구에 비해 높은 성장률, 산란수 및 수명을 보여 적정 먹이량은 개체 당 10,000 세포인 것으로 판단된다. 그러나 군집배양 시 10,000 세포/개체 이상의 먹이 공급구에서는 성장이 다소 낮게 나타난 반면, 개체배양에서는 산란수 및 수명에 효과적인 것으로 조사되어 두 실험간에 서로 상반된 결과로 나타났다. 이러한 이유는 군집배양 시 공급되는 먹이의 양이 급격히 증가하였기 때문인 것으로 판단된다. 일반적으로 rotifer의 성장과 번식은 먹이의 농도에 직접적인 영향을 받으며, 그로 인해 소화기능에도 영향을 받게 된다(Schlosser and Anger, 1982; Rothhaupt, 1990). 본 연구에서는 먹이량을 개체 당 25,000 및 50,000 세포로 공급하였는데 이는 개체배양 시에는 큰 문제가 없을 만큼의 공급량이었으나 군집배양에서는 먹이를 1일 1회로 공급하였기 때문에 한꺼번에 과도한 양이 들어가 성장에 악영향을 미친 것으로 판단된다. 이처럼 과도한 먹이량은 결국엔 rotifer 소화기능의 장애, 과잉의 먹이소실과 배설물 증가에 따른 배양수질 악화, 섬모를 통한 유영능력의 저하 및 비효율적인 동화작용 등으로 나타날 수 있기 때문이다(Halbach and Halbach-Keup, 1974; Pourriot, 1977; Starkweather and Gillbert, 1977; Starkweather, 1980).

한편, *S. littoralis* (Bosque et al., 2001)와 *S. cecilia valentina* (Oltra and Todolí, 1997)의 종을 가지고 개체배양 했을 때 먹이량은 산란수에는 영향을 미친 반면, 수명에는 영향을 미치지 않는 것으로 보고되었다. 이러한 경향은

rotifer, *Encentrum linnhei*을 이용한 실험에서도 동일하게 나타났다 (Schmid-Araya, 1991). Bosque et al. (2001)와 Oltra and Todolí (1997)에서 *S. littoralis* 및 *S. cecilia valentina*의 평균 크기는 180~238  $\mu\text{m}$ 이었으며 개체배양 실험 시 먹이량은 *T. suecica*를 개체 당 15,000~150,000 세포로 공급하였다. 그러나 이러한 먹이량은 비슷한 크기의 *B. plicatilis*를 개체배양 했을 때의 먹이량인 500,000 세포/개체(Carmona et al., 1994; Serra et al., 1994a) 보다 매우 적은 양으로 결국엔 생산력 대신 성장에만 먹이를 이용함으로써 산란수에 만 영향을 끼친 것이라고 결론을 내린 바 있다. 그러나 본 개체배양 실험에서는 이와 상반된 결과로 먹이량이 수명 및 산란수에 모두 영향을 미친 것으로 나타났다. 이러한 결과는 rotifer 종들 간에 크기(중량)와 먹이량에 따른 상관성 때문이라 판단된다(Stemberger and Gilbert, 1985). 본 실험에서 사용된 *S. kitina*는 *S. littoralis* 및 *S. cecilia valentina* 보다도 그 크기가 1/2~1/4의 수준이며, 그로 인해 먹이 섭취량이 적었을 것으로 판단된다. 따라서 본 개체배양 실험에서 공급된 먹이량은 *S. kitina*의 수명과 생산력에 있어 문제가 없을 만큼의 충분한 양이었고 그로 인해 Bosque et al. (2001) 및 Oltra and Todolí (1997)의 연구결과와는 다소 다르게 나타난 것으로 판단된다.

본 실험을 종합해 볼 때, *S. kitina*의 대량배양에 있어 최적 먹이 공급량은 개체 및 군집배양에서 높은 개체밀도와 성장률을 보인 10,000 세포/개체 공급구라 판단된다.

### 1. 1. 5. 환수일

환수일에 따른 *S. kitina*의 최고밀도는 1, 3일 환수구에서 평균 592.5~603.3 개체/mL를 보여 2, 4일 및 무환수구의 450.8~494.1 개체/mL 보다 유의적으로 높게 나타났다. 모든 실험구에서 시간이 경과할수록 개체밀도는 점차 증가하다가 최고밀도에 도달한 후 감소하였다. 이러한 이유로 시간이 지날수록 증가되는 이온화되지 않은 암모니아( $\text{NH}_3\text{-N}$ )와 용존산소의 감소 및 낮은 포란율의 영향 때문이라 판단된다.



해수산 rotifer, *B. plicatilis*는 무산소 상태에 강하지만 12시간이 지나면 모두 폐사한다고 보고하였다(今田, 1983). 또한 Yoshimura et al. (1994)와 Park et al. (1999a)은 안정적인 rotifer 성장을 위해서 용존 산소가 2 ppm 이상을, 中尾 (1995)은 4 ppm 이상을 유지하여야 한다고 보고하였다. 본 연구의 경우, 모든 실험구간의 최고밀도 시 용존산소는 5.5~6.0 ppm으로 나타났으며, 5.0 ppm 이하일 경우 rotifer의 개체수는 감소하기 시작하였다. 이러한 용존 산소 결핍에 따른 rotifer의 개체수 감소는 원생동물에 의한 영향 때문이라 판단된다. 본 실험에서 rotifer의 증식과 더불어 원생동물도 함께 증가하는 경향을 보였는데, 이는 *S. kitina* 및 원생동물의 크기가 비슷하여 환수하는 과정에서 원생동물을 충분히 제거하지 못함에 따른 결과로 판단된다. 다수의 원생동물이 배양수 내의 용존산소를 감소시켰으며, 그로 인해 rotifer의 개체수가 감소한 것으로 판단된다.

한편, Yoshimura et al. (1994)는 담수 *Chlorella*를 먹이로 공급할 때 배양 시간이 지날수록 pH 값이 상승하여 8.0 이상에서는 이온화되지 않은 암모니아( $\text{NH}_3\text{-N}$ )의 증가로 독성을 유발하는 농도가 20.0 ppm에 달하기 때문에 rotifer의 대량배양을 수행하는데 증식저해요인이 된다고 보고하였다. 또한, Park et al. (1999a)의 실험에서 *B. plicatilis*의 경우 이온화되지 않은 암모니아의 농도가 16.6~22.6 ppm일 때 rotifer 밀도는 감소한다고 하였다. 본 연구에서도 배양일이 경과할수록 모든 실험구에서 암모니아( $\text{NH}_3\text{-N}$ )의 농도는 증가하는 경향을 보였다. 그러나 본 실험에서 모든 실험구의 최고밀도 시 암모니아의 농도는 0.3~0.6 ppm으로 상기 자료들의 암모니아 농도에 비해 미미한 수준으로 나타났다. 그럼에도 불구하고, 개체수가 감소한 원인으로는 *S. kitina* 종의 생태적 특성 중에 하나인 피갑(lorica)의 유·무에 따른 것으로 판단된다. 피갑은 rotifer의 몸체를 감싸고 것으로써 외부의 환경으로부터 몸을 보호하는 것으로 알려져 있다(Roche, 1987). 그러나 *S. kitina* 종은 기존의 다른 rotifer와 달리 피갑이 없기 때문에 몸체에 암모니아가 직접적으로 접하여 아주 미미한 수준의 암모니아의 농도에도 민감하게 반응한 것으로 사료된다.

본 실험을 종합해 볼 때, 최고밀도와 그에 따른 성장률은 1 및 3일 환수

구에서 유의적으로 가장 높게 나타났다. 따라서 경제성과 효율적인 측면에서 볼 때 *S. kitina*의 적정 환수일은 3일이라 판단된다. 또한 대량배양 시 배양수 내의 용존산소는 5 ppm 이상, NH<sub>3</sub>-N 농도는 0.4 ppm 이하로 유지해야 할 것이다.

#### 1. 1. 6. 환수율

환수율에 따른 생산성 실험에서 이온화되지 않은 암모니아(NH<sub>3</sub>-N)는 배양일에 따라 증가하는 경향을 보였다. 하지만 본 실험에서는 일반적인 rotifer, *Brachionus* 속의 성장에 영향을 미치는 16~25 ppm (Park et al., 1999b)보다는 낮은 수치를 보였다. 이는 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis* 배양의 경우, 먹이로 공급되는 담수산 농축 *Chlorella*를 rotifer가 전부 섭취하지 못하고 배양수조 바닥으로 가라앉아 부패가 되고, 또한 rotifer 배설물에 의해 배양수 내 이온화되지 않은 암모니아 농도가 높아진 것으로 판단된다(Yoshimura et al., 1997). 반면 본 실험에서는 각각 350 및 500 L에서 고밀도로 배양하면서 담수산 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급하는 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*와는 달리(Yoshimura et al., 1996; Fu et al., 1997; Park et al., 1999a) 5 L에서 저밀도로 배양하여 암모니아 생성 원인물질인 배설물 발생이 적었고, 먹이로 공급한 *T. suecica*는 담수산 농축 *Chlorella*와는 달리 유향능력이 있어서 바닥에 가라앉은 먹이가 적어 기존의 rotifer 배양보다 이온화되지 않은 암모니아의 농도가 낮았던 것으로 판단된다(Salt, 1987; Hotos, 2002). 또한, 매일 40% 환수에 의해 암모니아 생성 원인물질인 먹이와 배설물이 배출되고 새로운 배양수가 공급되었기 때문에 이온화 되지 않은 암모니아의 농도가 낮았던 것으로 판단되어진다.

한편, Mitchell (1986)은 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 환수율에 따른 수확량은 16% 환수구에서 가장 높은 생산성을 보인다고 보고하였다. 반면 본 실험에서는 비교적 높은 40% 환수구에서 가장 높은 생산성을 보여 Mitchell (1986) 결과와는 상반되게 나타났다. 이는 Mitchell (1986)에 따르면 높은 환

수량은 rotifer가 배양수에 머무르는 시간이 짧아서 먹이를 많이 섭취할 수 없다고 하였으며, 낮은 환수량은 먹지 않은 먹이와 배설물에 의해 rotifer의 유영 속도가 느려지고 포란율이 급격히 낮아지는 노쇠화 현상이 일어난다고 보고하였다. 본 실험에 있어서 40% 환수구는 상대적으로 다른 환수구에 비해 배양수 내에 쌓여있는 유기물들이 많이 배출되어 배양의 노쇠화를 예방하였으며, 이에 따라 배양기간 동안 다른 환수구에 비해 높은 생산성을 유지할 수 있었던 것으로 판단된다.

한편, 50%의 높은 환수율은 40%에 비해 다소 낮은 개체밀도를 보였는데 이는 높은 환수량에 따른 스트레스 증가와 그에 따른 개체들의 포란율 및 수명에 영향을 미쳤기 때문인 것으로 판단된다(Araujo et al., 2001).

### 1. 1. 7 초기 접종밀도 (Batch 배양)

접종밀도에 따른 *S. kitina*의 최고밀도는 600 개체/mL를 접종 실험구에서 2,767 개체/mL로 높게 나타난 반면, 200 및 1,000 개체/mL로 접종한 실험구에서는 각각 772, 1,365 개체/mL로 낮게 나타났다. 모든 실험구의 개체밀도는 시간이 경과할수록 점차 증가하였으나 최고밀도에 도달한 후 감소하였다. 이러한 이유로는 이온화되지 않은 암모니아(NH<sub>3</sub>-N)의 증가와 전체밀도에 비해 매우 낮았던 포란율에 의한 것으로 판단된다.

Maschewitz (1982)의 연구에 의하면 수중 내에서 개체의 내성력은 암모니아에 의해 결정된다고 하였다. 본 실험에서도 최고밀도 이 후 증가된 암모니아에 의해 내성력이 약해져 개체의 감소로 이어진 것으로 판단된다. 본 연구의 환수일에 따른 실험에서 암모니아의 농도가 0.3~0.5 ppm일 때 개체는 감소하는 것으로 나타났다. 본 실험에서도 암모니아 농도가 0.3~1.5 ppm일 때 개체밀도가 감소되어 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

한편, Schlüter (1985)는 rotifer, *Brachionus rubens*를 이용한 실험에서 수중 내의 높은 암모니아는 낮은 포란율로 이어져 개체 감도의 원인이 된다고 보고하였다. 본 실험에서도 배양시간이 지남에 따라 증가되는 암모니아 농도가

배양수 내의 환경을 악화시켜 rotifer의 포란율에 영향을 미친 것으로 판단된다.

본 실험을 종합해 볼 때, 최고밀도를 보이고 포란율이 높았던 600 개체/mL 접종밀도 실험구가 초기 접종밀도로 적합할 것으로 판단되어진다.

#### 1. 1. 8. 염분변화에 따른 내성력 조사

Miracle and Serra (1989)의 보고에 의하면 rotifer, *B. plicatilis*의 염분에 대한 내성력은 채집 시 환경에 영향을 받아 석호와 같은 기수 지역보다 해안 연안 근처에서 채집된 것이 더 강하다고 하였다. 이러한 경향은 *Syncaheta* 속에 속한 종에게도 나타나 Gómez et al. (1995)는 *S. littoralis*가 채집된 지역은 매년 5~64‰이 나타나는 지역으로 내성력이 강해 60‰에서도 생존이 가능하다고 보고하였다. 반면에 Oltra and Todolí et al. (1997)의 *S. cecilia valentina*와 Egloff (1988)의 *S. cecilia*는 각각 13, 18‰의 기수역에서 채집되어 순수한 자연해수에서는 배양이 되지 않는다고 하였다. 본 연구에 사용된 경포 strain의 *S. kitina*도 저염에 비해 고염인 30 및 33‰(자연해수)에서 성장이 낮게 나타나 채집 시 환경에 영향을 받은 것으로 판단된다. 그러나 본 실험에서 고염분으로 점차 순치하였을 경우 생존률이 향상되는 것으로 나타나 염분변화에 따른 적응력은 있다고 판단된다. Lee (2001)는 담수산 *Brachionus calyciflorus* 종의 경우 4‰에서 성장이 가능하며, 4 및 6‰에서 순치한 다음 배양한 결과 6‰에서도 성장은 이루어졌다고 발표하였다. Williams (1998)은 이러한 염분 내성력에 대해 자신이 처한 환경에 적응하기 위한 생리적 및 화학적인 기작의 변화 때문이라 보고하였다.

본 실험을 종합해 볼 때, *S. kitina*도 고염분에서 순치할 경우 분명 30‰ 이상의 고염분에서 생존율이 높게 나타나 염분 내성력이 높다는 사실을 확인할 수 있었다. 따라서 초소형 rotifer, *S. kitina*를 해산어류 자어에게 먹이로 공급할 경우에는 미리 고염분에서 순치하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 먹이인 *T. suecica*의 고밀도 대량배양

### 2. 1. 배양용기에 따른 성장

*T. suecica*의 효과적인 배양을 위해서는 세포성장속도가 빨라야 하며, 고농도의 세포농도를 얻어야 한다. 그러기 위해서는 일차적으로 pH, 온도, 조도 (Gons and Mur, 1980)와 같은 환경요인과 질소, 인, 비타민과 같은 배지 성분에 따라 세포농도가 달라지기 때문에(Kirst, 1989) 우선 이들의 최적성장조건을 규명하고, 기존의 미세조류 배양방법보다 배양환경과 미세조류의 성장저해요인들을 효과적으로 제어할 수 있어야 한다. 특히, 빛은 미세조류의 성장에 있어서 필수적인 에너지원이지만 배양수조 내에 저장되지 않기 때문에 외부로부터 연속적으로 공급되어야만 한다. 또한, 빛은 미세조류에 의하여 쉽게 흡수 또는 산란되어 빛을 미세조류의 배양액 내부까지 효과적으로 공급하기 위해서 단위 면적 당 빛의 투과율이 높은 고밀도 배양기의 개발이 필요하다.

고밀도 배양기에 관한 연구는 Samon and Leduy (1985)가 *Spirulina maxima*를 평판형 광 반응기에서 다단연속배양을 하여 1.17 g/L/day의 수확량을 얻었으며, Javanmaridian and Palsson (1991)은 광섬유 생물 반응기를 이용하여 *Chlorella vulgaris*를  $1 \times 10^9$  세포/mL의 고농도로 배양한 실험결과를 보고하였다. 이러한 고밀도 배양장치는 광 에너지를 효율적으로 이용하기 때문에 미세조류의 세포 성장에 필요한 일정량의 CO<sub>2</sub> gas 및 필수 영양염의 요구량만 있으면 기존의 배양장치보다 안정적인 고농도 세포배양이 가능하다고 발표하였다.

이러한 관점으로 본 실험에서도 30 L 원형 및 1 ton 원형수조에 비해 100 L 판형 수조 실험구에서 보다 높은 *T. suecica*의 세포밀도를 얻을 수 있었다. 이는 배양용기가 다른 원형수조에 비해 판형으로 단위 면적 당 빛의 투과율이 높았기 때문인 것으로 판단되며, 앞으로 초소형 rotifer, *S. kitina*의 보다 안정적인 배양을 위해서는 판형 배양기를 이용한 *T. suecica*의 배양이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 2. 2. pH 조절에 따른 성장

미세조류의 배양시간이 경과함에 따라 지속적인 성장이 이루어지지 않고 pH의 상승으로 인한 성장저해 현상이 일어나기 때문에 인위적인 pH 제어가 필요하다(Fabregas et al., 1984).

Yoon (2002)의 연구에 의하면, CO<sub>2</sub>를 이용하여 pH를 제어해 주었을 때 *I. galbana*의 성장률은 pH 8.5 조건 하에서 좋게 나타났으며, pH 8 이하에서 성장이 저조하였다. 반면 Jung et al. (1999)는 *Dunaliella bardawil*의 경우 pH 8 실험구에서 가장 높은 세포밀도를 보였으며, pH 7 이하에서 성장률이 가장 낮게 나타났다. 이러한 결과는 모든 미세조류의 최적성장 pH가 다르다는 것을 의미하며, 낮은 pH 조건 하에서 성장이 둔화되는 이유는 탄소원으로 사용되는 NaHCO<sub>3</sub>가 식물플랑크톤의 세포성장 시 사용 가능한 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>이온으로 전환되는 반응을 저해하기 때문이다(Moroney et al., 1986).

그러나 본 실험에서 *T. suecica*의 최고 세포밀도는 pH를 조절하지 않은 대조구에서 높게 나타나 다른 연구자들과는 다소 상반된 결과를 보였다. 이는 종에 따른 차이로 판단된다. 여러 연구자들에 의하면, 각 종들의 최적 세포성장은 pH에 의해 직접적인 영향을 받게 되는데, 이 때 pH 값은 각 종들마다 요구하는 것이 매우 다양한 것으로 알려져 있다(Fabregas et al., 1984; Jung et al., 1999; Yoon, 2002).

따라서 본 실험을 종합해 볼 때, 초소형 rotifer, *S. kitina*의 먹이인 *T. suecica*를 보다 고밀도로 배양하기 위해서는 pH의 조절 없이 판형배양기를 이용한다면 보다 높은 세포농도를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

## 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양

Rotifer의 대량배양 시 이온화되지 않은 암모니아, pH, 수질변화에 따른 산소결핍 및 유해 세균의 이상 증식은 rotifer의 개체밀도를 감소시켜 종묘생산을 불안정하게 할 수 있다(Lee et al., 2001). 또한 배양시설 및 관리에 따른 인건비 지출은 종묘생산 단가의 큰 부분을 차지하고 있다(Hagiwara and

Lee, 1991). 따라서 안정적이고 경제적인 rotifer의 대량확보는 해산어류 종묘 생산에 있어 매우 중요한 과제라 할 수 있다.

### 3. 1. 접종밀도에 따른 생산성 실험 (Semi-continuous 배양)

접종밀도에 따른 생산성 실험에서는 배양 1~7일째까지 900 개체/mL를 접종한 실험구에서 가장 높은 생산성을 유지하였지만 배양 5일째부터는 600 개체/mL 접종구와 유의적인 차이가 없었다. 이는 가장 높은 접종밀도로 인해 900 개체/mL 접종구에서 배양 초기에 가장 높은 생산성을 유지하였지만 배양기간이 경과함에 따라 일정한 양의 먹이를 공급한 본 실험에서 600 개체/mL 접종구의 개체 당 먹이 이용성이 900 개체/mL에 비해 높아서 높은 성장률과 산란수를 보인 것으로 판단된다(Ooms-Wilms et al., 1998). 또한 배양 7일째부터 14일째까지의 일일 생산량은 모든 접종구에서 유의적인 차이가 없었고 배양 11일째부터는 개체수가 감소하는 경향을 보였다. 이는 잦은 환수로 인해 배양일이 지남에 따라 rotifer가 받는 스트레스의 증가, 개체수 및 rotifer 난의 손실 등에 대한 영향이 작용한 것으로 판단된다(Assavaaree et al., 2001).

본 실험을 종합해 볼 때, 초소형 rotifer, *S. kitina*를 반 연속배양 방법으로 높은 생산성을 유지하기 위한 접종밀도는 단기간 배양 시 900개체/mL로, 장기간 배양 시에는 600개체/mL로 하는 것이 보다 유리할 것으로 판단되어진다.

### 3. 2. 0.1 및 0.5 ton 규모의 대량배양 (Batch 배양)

국내·외적으로 100  $\mu\text{m}$  이하인 초소형 rotifer, *Synchaeta* 속의 대량배양에 관한 연구자료는 전무한 실정이다. 다만 *S. cecilia*, *S. oblonga*, *S. hutchingsi*, *S. littoralis*, *S. neapolitana* 및 *S. grimpei* 등과 같은 *Synchaeta* 속에 대한 연구가 발표는 되었지만 지금까지 연구는 주로 종 동정을 위한 분류학적인 연구이거나 종에 대한 기초적인 연구에만 치중되어 있는 실정(Egloff, 1986, 1988;

Brownell, 1988; Shiel and Koste, 1993; Oltra and Todolí, 1997; Rougier et al., 2000)으로 먹이생물로써의 개발을 위한 대량배양 사례는 없다고 해도 과언이 아니다. 비록 *S. littoralis* (Bosque et al., 2001), *S. hutchingsi* (Brownell, 1988), *S. cecilia* (Egloff, 1988) 및 *S. cecilia valentina* (Oltra and Todolí, 1997) 중을 배양한 몇몇 사례는 있지만 그 규모는 실험실 수준(5 L 이하, mL 당 100 개체 이하)으로 현장에 적용할 수 있을만한 대량배양기술은 아직 확보가 안된 상태이다.

또한 Arndt et al. (1990) 및 Dolan and Gallegos (1992)에 의하면, *Synchaeta* 속은 자연 상태에서 수온이 22°C일 때 1.4 day<sup>-1</sup>의 성장률을 보이며 10,000 개체/L 범위의 개체 증식을 보인다고 하였다. 그러나 이러한 값을 mL로 환산할 경우 겨우 10개체 수준 밖에 되지 않기 때문에 대량배양의 중요성이 강조되고 있는 것이다.

이러한 맥락으로 본 실험에서 초소형 rotifer, *S. kitina*를 0.1 및 0.5 ton에서 배양하였을 때 그 개체밀도는 수백개체/mL로 조사되었으며, 배양기간 또한 1주일 이상이 가능한 것으로 나타났다. 이러한 0.1 및 0.5 ton에서의 대량배양기술은 앞으로 *S. kitina*의 고밀도 대량배양을 위한 중요한 기초자료로써 그 이용성이 클 것으로 판단된다.

한편, Lee et al. (2001)은 batch 배양방법을 통해 rotifer를 배양할 경우, 많은 노동력과 공간 및 시간을 요구한다고 하였으며, 또한 배양기간 중 갑작스러운 배양환경 변화로 rotifer가 급격히 감소하는 경향이 빈번하다고 하여 경제적이면서 안정적인 rotifer의 대량배양기술 확보를 제안하였다. 본 실험의 대량배양은 batch 배양방법으로 인건비의 비중이 높은 것으로 조사되었다. 따라서 앞으로 종묘생산의 단가를 낮추기 위해 반 연속배양방법(semi-continuous)을 통한 *S. kitina*의 생산성 및 경제성을 비교 분석하여 보다 효과적인 대량배양 방법이 강구되어야 할 것으로 판단되어진다.

### 3. 3. 1 ton 수조에서의 배양방법 (batch 및 semi-continuous 배양)에 따른 생산성 및 경제성 비교



일반적으로 rotifer 배양 시 가장 큰 성장저해요인으로 용존산소 및  $\text{NH}_3\text{-N}$  등을 들 수 있다(Yoshimura et al., 1994). 본 실험에서 batch 배양 및 semi-continuous 배양에 따른 용존산소는 각각 6.5~17.3, 7.0~16.0 ppm 값으로 안정적으로 rotifer의 배양이 가능한 1 ppm 보다 높아 본 실험 시 용존산소의 영향은 없었던 것으로 판단된다(Park et al., 1999a).

한편, 본 실험에서  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도는 batch 배양 및 semi-continuous 배양에서 각각 0.2~1.0 및 0.06~0.45 ppm의 범위를 보이는 것으로 조사되었다. 우선, semi-continuous 배양에서  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도는 배양일이 지날수록 점차 감소하는 경향을 보여 높은 밀도의 수확량을 확보할 수 있었다. 이는 매일 배양수의 30% 환수를 행해주었기 때문에 새로운 배양수의 첨가가 기존의 배양수  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도에 긍정적인 영향을 미쳐 rotifer의 성장이 증가한 것으로 판단되어진다.

반면, batch 배양에 있어  $\text{NH}_3\text{-N}$ 은 배양일에 따라 점차 증가하는 경향을 보였다. Park (2007)에 따르면 6 L 원형수조에서 접종밀도에 따른 실험을 행한 결과, 1.0 ppm 전후의  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도에서 *S. kitina*의 개체밀도가 감소한다고 보고하였다. 이는 배양 7일째 0.9 ppm의  $\text{NH}_3\text{-N}$  농도에서 개체가 감소한 본 실험에서도 동일하게 나타난 결과라 할 수 있다.

한편, rotifer 1억 개체를 생산하기 위한 batch 배양 및 semi-continuous 배양의 생산비용은 각각 77,121원 및 66,051원으로 batch 배양에서 더 높게 나타났다. 이러한 결과는 1억 개체를 생산하기 위한 배양기간이 semi-continuous 배양보다 길어 인건비 부분에서 높은 비용을 보였기 때문이다. Hagiwara and Lee (1991)은 배양시설 및 관리에 따른 인건비 지출은 종묘생산 단가의 큰 부분을 차지한다는 문제점을 제시하였다(Hagiwara and Lee, 1991). 이러한 관점에서 본 실험에서 이용된 semi-continuous 배양방법은 batch 배양방법에 비해 rotifer 1억 개체를 생산할 때 소요되는 노동력이 덜 드는 장점을 보였다.

또한, 총 생산량에 있어서도 semi-continuous 배양방법에서는 427,680,000 개체를 보인 반면 batch 배양방법에서는 87,304,400 개체로 semi-continuous

배양에 비해 매우 적은 생산량을 보였다.

따라서 초소형 rotifer, *S. kitina*의 대량배양을 위한 적정 배양방법은 생산성 및 경제성을 고려해 볼 때 semi-continuous 배양이 적합할 것으로 판단되어진다.

#### 4. 대량생산된 *S. kitina*의 효과적인 저온 보관

대량생산된 rotifer의 효율적인 보관은 매우 중요하다. 그 이유로 rotifer에 배양일이 증가할수록 여러 증식저해 요인인  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 증가, 배양수질의 악화, DO 부족 및 과도한 bacteria의 증식 등이 작용하여 갑작스럽게 개체밀도가 붕괴될 수 있기 때문이다(Yu and Hirayama, 1986; Lee et al., 2001). 이렇게 된다면 종묘생산에 있어 안정적인 먹이의 공급확보가 어려워 결국 성공적인 인공종묘생산이 불가능해지게 된다.

또한, 당일 이용할 먹이의 개체수가 확보된 상태라면 그 이상의 개체수는 효과적으로 보관을 해야만 한다. 후일 먹이인 rotifer의 개체밀도가 갑작스럽게 감소하여 공급에 차질이 생긴다면 전일 저장·보관된 개체들을 먹이로 이용하여 별문제가 없기 때문이다. Lubzens et al. (1990)은 무성생식을 행하는 rotifer, *B. plicatilis*를 4°C에서 2,000 개체/mL의 밀도로 냉장 보관하여 효과적으로 이용하였다.

이러한 관점에서 원활한 먹이공급이 이루어져 종묘생산이 성공적으로 행해지기 위해서는 대량생산된 rotifer를 효과적으로 보관·저장해야 할 것이다. 이러한 목적으로 본 실험을 행한 결과, 개체 당 *T. suetic*를 360 세포로 공급하는 것이 성장률 및 개체밀도가 안정적인 것으로 나타났다.

이러한 결과를 통해 앞으로 대량배양된 초소형 rotifer의 보관·관리가 효율적으로 이루어질 것이며, 미리 보관 되어진 초소형 rotifer로 인해(seed 역할) 대량배양에 차질이 없을 것으로 판단된다.

#### 5. 먹이효율

최근 입의 크기가 작은 어류의 종묘생산을 위해 전 세계적으로 많은 연구가 행해지고 있다. 국내·외적으로 현재까지 주로 연구되고 있는 종들을 살펴보면, 소형 SS-type의 rotifer, 소형 copepod nauplius 단계의 요각류 유생, 무척추동물의 난이나 유생 및 원생동물 등을 들 수 있겠다. 예를 들어 Doi et al. (1997) 및 Toledo et al. (1999)의 연구결과에 의하면, 붉바리의 초기 먹이생물로 *B. rotundiformis*를 사용했을 경우 매우 낮은 생존율을 보이나 copepod nauplius 단계의 요각류 유생 공급구는 그보다 높은 생존율을 보인다고 하였다. 또한 Yoo (1992)는 원생동물인 *Euplotes* sp. 및 *F. salina* 종을 이용하여 공급한 사례가 있으며, Kungvankij et al. (1986) 및 Tamaru et al. (1995)는 굴, 홍합, 성게 및 따개비 등의 무척추동물에 난이나 유생을 능성어류에게 공급한 예가 발표되어 있다. 그러나 이들 먹이생물의 경우, 각각의 문제점들을 내포하고 있어 현재 널리 이용되지는 못하고 있는 실정이다.

그러나 *Synchaeta* 속에 속한 종은 크기가 비교적 작기 때문에 입의 크기가 작아 종묘생산이 어려운 능성어류 등과 같은 해산 자어의 먹이생물로써 그 가능성이 크다고 할 수 있겠다. Divanch and Kentouri (1983)의 보고에 의하면, sea bream (*Sparus auratus*) 자어에게 *B. plicatilis*, copepod nauplius 및 *Syncheta triophthalma*를 공급했을 때 *S. triophthalma*의 공급구에서 높은 성장률과 생존율을 보여 먹이생물로써의 가능성을 제시하였다.

본 실험에서도 *S. kitina*를 이용한 동갈돔돔, 쥐치 및 능성어류의 성장과 생존율을 조사한 결과, 전장과 무게와 같은 성장측정 요인에서는 다른 실험구와 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으나 생존율에서는 유의적으로 높게 나타나 *S. kitina*를 이용한 어류 자어의 먹이 가능성은 충분할 것으로 판단된다. 다만, 동갈돔돔 자어의 먹이효율 실험에서 *S. kitina*와 *B. rotundiformis* 실험구간의 생존율이 차이가 없었던 것은 동갈돔돔 자어의 입 크기가 *B. rotundiformis*를 섭취하지 못할 만큼 작지 않았기 때문인 것으로 판단된다.

쥐치 및 능성어류의 먹이효율 실험에서 *S. kitina* 공급구는 *B. rotundiformis* 공급구보다 유의적으로 높은 생존율을 보였다. 이는 *S. kitina*는 입의 크기가

작은 능성어류 자어의 먹이로써 그 가능성을 입증한 결과라 할 수 있겠다(특히, 능성어 실험에서 자어의 소화관 내에는 다수의 *S. kitina*의 저작기가 발견). *B. rotundiformis*의 실험구에서 생존율이 낮았던 것은 정상적인 먹이 섭취가 불가능했기 때문인 것으로 판단되어진다. 제주대학교 연구보고서(해양수산부, 1998)에 따르면 먹이 밀도가 낮을 경우, 능성어 자어는 먹이를 섭취하기 위해 체에너지를 많이 소모하게 되고, 결국 원활한 먹이 섭취가 이루어지지 않을 때에는 결국 사망률이 증가로 나타난다고 보고하였다. 따라서 자어가 먹이 섭취하기 위한 먹이 선택이 어려웠던 *B. rotundiformis*는 먹이 선택이 있어 어려움을 없었던 *S. kitina*에 비해 생존율이 낮았던 것으로 판단된다.

한편, Su et al. (1997)은 능성어 자어의 지방산 구성은 성장과 생존에 연관되어 있다고 보고하였다. 또한 높은 DHA 또는 EPA 함량은 낮은 함량에 비해 높은 생존율을 나타낸다고 보고하였다(Rimmer, 1999). 본 실험에 사용되어진 *S. kitina*는 n-3 HUFA의 함량이 20.5%로 2.6%를 보인 *B. rotundiformis*보다 높아 생존율에 있어 높은 경향을 보인 것으로 판단된다.

제주대학교 연구보고서(해양수산부, 1998)에 따르면 능성어 자어 성장은 부화 후 4일째부터 25°C 조건에서 점차 성장이 빨라지다가 변태가 시작되는 부화 11일째부터 빠른 성장을 보인다고 보고하였다. 본 실험에서는 부화 7일째 전장을 측정하여 두 실험구 모두 유의적인 성장의 차이가 없었던 것으로 판단되며, 따라서 추가적으로 변태가 시작되는 부화 11일째 이 후까지 실험을 실시하여 자어 성장의 차이를 비교해야 할 것으로 판단되어진다.

## 제 2 절 Rotifer, *S. kitina*의 영양분석 및 영양강화 기술개발

### I. 서 론

해산어류 종묘생산 시 자어의 초기 먹이생물로 rotifer의 질적 및 양적인 중요성은 증대되고 있으며 이들을 효율적으로 생산하기 위해서 많은 연구가 수행되었다(Fernandez-Reiriz et al., 1993; Rainuzzo et al., 1989; Yoshimura et al., 1994). 일반적으로 초기 먹이생물로 많이 이용되고 있는 *Brachionus* 속은 최근 담수산 농축 *Chlorella*를 이용한 고밀도 배양이 수행되었고, 이러한 배양방법을 통해 rotifer의 양적확보에 문제점을 해결하였다(Yoshimura et al., 1995, 1998). 그러나 해산어류 자·치어의 성장과 생존은 공급되는 먹이생물의 영양가에 의해 크게 좌우되기 때문에 먹이생물의 질적인 문제 또한 반드시 해결해 주어야 할 것이다(Cho and Hur, 1998). 특히, rotifer의 경우 그 자체만으로는 영양가가 부족하기 때문에 질적 향상의 중요성이 다시 한번 강조되는 것이다(Watanabe et al., 1983).

한편, 해산어류에게 있어 지질과 단백질은 어류의 배 발달과 먹이 섭취 전 자어시기 동안 신진대사 에너지로써 매우 중요하며, 이들의 함량은 외부로부터 먹이를 섭취하기 전까지 난황의 흡수와 동시에 급격히 감소하는 경향을 보인다(Evans et al., 2000). 따라서 어류 자어가 먹이를 섭취하는 시기에 공급되는 먹이내의 지질과 단백질 함량은 매우 중요하다고 할 수 있다.

특히, 지질의 구성 성분과 고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA)인 Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3), Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) 및 Arachidonic acid (ARA, 20:4n-6)는 세포막의 구성 물질, 생리활성 물질 생산에 관여하여 초기 자어의 성장, 생존 및 변태 등에 있어서 많은 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Watanabe et al., 1993; Takeuchi, 1997; McEvoy et al., 1998b; Estevez et al., 1999; Sargent et al.,

1999; Izquierdo et al., 2000). 또한 최근에는 해산어류 자어의 먹이에서 DHA, EPA 및 ARA의 함량과 이들의 상대적인 비율에 대한 관심이 높아지고 있는 추세이다(Sargent et al., 1997, 1999; Harel et al., 2001; Bell and Sargent, 2003).

한편, Rønnestad et al. (1999)은 단백질이 초기 자어에게 있어 이들의 성장에 매우 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 또한 아미노산은 어류 자어에게 있어 에너지원의 기질 역할과 특이적 생리활성의 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다(Aragão et al., 2004). 따라서 자어의 정상적인 성장을 위해서는 지질의 고도불포화지방산 뿐만 단백질 및 아미노산의 함량도 매우 중요하게 고려되어야 할 것으로 판단된다.

이러한 관점으로 본 연구는 초소형 rotifer, *S. kitina*의 질적 향상을 위해 이들의 체내 조성을 분석하였으며, 또한 초기 자어 시기에 꼭 필요한 n-3계 고도불포화지방산의 함량을 효율적으로 높이기 위해 영양강화 환경조건(영양강화제 선택, 공급량 및 영양강화 시간 등)을 조사해 보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양분석

초소형 rotifer, *S. kitina* 및 영양강화된 *B. rotundiformis*와 그렇지 않은 *B. rotundiformis*의 체내 조성을 비교 분석해 보았다. 실험에 사용된 *S. kitina*는 22±0.5℃에서 20,000 세포/mL/day의 농도로 *T. suecica*를 공급하여 연속 배양하였다. 반면, *B. rotundiformis*는 28℃에서 2.0 mg/1,000 rotifers/day의 양으로 담수산 농축 *Chlorella*를 공급하여 연속 배양한 것을 이용하였다. 또한 영양강화한 *B. rotundiformis*는 상온(20℃)에서 8시간 동안 *Schyzochitrium* sp.를 제품화한 Algamac 2000®을 0.3 mg/1,000,000 rotifers를 기준으로 영양강화한 후 사용하였다. 단백질과 지질 조성을 분석하기 위하여 각각의 샘플은 40 µm이하의 sieve를 이용하여 수확하였으며 증류수로 염분을 제거한 후 동

결 건조하여 사용하였다.

### 1. 1. 지질 클래스 및 총 지질

지질 클래스는 flame ionization detector가 장착된 thin layer chromatography (TLC/FID MARK Vnew, Iatron Laboratories, Tokyo, Japan)를 이용한 Parrish (1987)의 방법을 사용하였다. 지질 클래스를 분리하기 위해 Chloroform : Methanol (2:1) 용액으로 추출된 지질을 silica gel 코팅된 Chromarods에 spotting 하고 3단계 (1단계, 99:1:0.05=hexane: diethyl ether: formic acid; 2단계, 80:20:1=hexane:diethyl ether: formic acid; 3단계, 5:4:1=chloroform: methanol: water extracted chloroform)로 전개한다. 각 단계별로 분리되는 지질 클래스는 1단계에서 Hydro carbon, Setyl ester, ketone, 2단계에서 triglycerol, Free fatty acid, alcohol, sterol 그리고 3단계에서 an Mobile polar lipid, phospholipid가 각각 TLC로부터 scan된다. 분리된 지질 클래스는 각 단계에서 Iatrocolor® (Iatron Laboratories, Tokyo, Japan)에 의한 각각의 peak는 지질 클래스 표준물질(Cholesterol, ST, Cholesteryl palmitate, SE, tripalmitin, TAG, nonadecane, HC, 3-hexadecane, KET, 1-hexadecanol, ALC, palmitic acid, FFA, DL- $\alpha$ -phosphatidylcholine dipalmitoyl, PL, 1-monopalmitoyl-rac-glycerol, AMPL; Sigma)을 통해 정량하였다. Total lipid는 이들 표준곡선을 통해 얻어진 9가지 lipid class의 합으로 하였다.

### 1. 2. 지방산

지방산은 지질 클래스에서 추출된 지질을 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA)로 methylation 시킨 후 capillary column ( $\omega$ -Wax, 30m $\times$ 0.32mm $\times$ 0.5 $\mu$ m, SUPELCO)이 장착된 gas chromatograph (HP6890 plus, Agilent, USA)로 분석하였다. Carrier gas는 helium (30 mL/min)을 사용하였으며, oven 온도는 200 $^{\circ}$ C에서 237 $^{\circ}$ C까지 2 $^{\circ}$ C/min 증가시켰다. 그리고 injector의 온도는 250 $^{\circ}$ C,

detector (FID) 온도는 260°C로 설정하였다. 표준 지방산으로 37 component FAME mix. (Supelco™ 37, 100mg Neat 18919-1AMP, USA)를 사용하였다.

### 1. 3. 구성아미노산 및 총 단백질

동결건조된 각각의 샘플을 15 mL 유리 시험관에 10 mg 가량 정량하고, 10 mL 가량의 6 N HCl을 첨가하여 120°C에서 22시간동안 가수분해 시켰다. 다음 진공 증발기의 온도를 55°C로 조절한 후 HCl을 모두 증발시켰다. 이 때 15 mL 유리 시험관의 잔류량은 0.02N HCl로 세척하여 증발기의 수기에 담아 증발시켰다. HCl과 수분이 완전히 증발된 수기에 0.02 N HCl을 5 mL 정량하여 넣고 수기에 있는 구성아미노산을 녹였다. 이후 0.45 µm filter를 이용하여 녹아있는 아미노산을 1.8 mL vial에 1 mL 이상이 되도록 담았다. 이후 아미노산 분석기(Hitachi L-8800)를 이용하여 분석하였다.

총 단백질은 구성아미노산의 총량 (mg/g)을 기준으로 분석되지 않은 tryptophan과 같은 아미노산의 보정을 위해 0.9를 나누어 나온 값을 총 단백질 량으로 하였으며, 건조중량 당 백분율로 나타내었다.

### 1. 4. 유리아미노산

동결건조된 각각의 샘플을 15 ml 유리시험관에 10 mg 가량 정량하고, 10 mL 가량의 70% ethanol을 가하여 상온에 방치한다. 약 6시간이 경과 후 구성아미노산의 방법과 같이 증발시켰으며 1.8 mL vial에 담았다. 분석은 구성아미노산과 동일한 기기를 사용하였다.

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양강화 기술개발

### 2. 1. 영양강화제 공급량에 따른 rotifer의 밀도 변화

본 실험에 사용된 영양 강화제는 오일형태인 Aquarich® (AQU) 및



Astomega<sup>®</sup> (AST) (Aquanet Inc., Korea)를 이용하였다.

우선, 영양강화제 공급량에 따른 rotifer의 밀도 변화를 조사하기 위한 실험으로 6 L 원형수조(배양수 5 L)에 *S. kitina*를 400 개체/mL로 각각의 실험구에 접종하였다. 영양강화 시 배양조건은 15%, 20±1°C이었다. 다음으로 각각의 영양강화제인 Aquarich<sup>®</sup>를 rotifer 10<sup>6</sup> 개체 당 기준으로 1, 2, 4 및 8 g으로 공급하였으며, Astomega<sup>®</sup>의 경우는 0.01, 0.1, 1 및 2 g으로 설정하여 공급하였다. 이 때 영양강화를 하지 않은 대조구를 함께 두었다. 각 영양 강화제로 영양 강화된 rotifer의 시간대별(3, 6, 9, 12 및 24 hr)에 따른 개체밀도를 조사해 보았다.

## 2. 2. 영양강화 시간에 따른 지방산 분석

앞선 실험을 통해 규명된 영양강화제의 적정 공급량(Aquarich<sup>®</sup>, 2 g/10<sup>6</sup> rotifers, Astomega<sup>®</sup>, 0.1 g/10<sup>6</sup> rotifers)에 따라 영양강화된 rotifer의 시간대별(3, 6, 12 및 24 hr) 지방산 분석을 행하였다. 32 L 원형수조(배양수 30 L)에 rotifer를 1,000 개체/mL로 접종하여 15%, 20±1°C 조건하에서 영양강화를 하였다. 각 시간대별로 배양용기에서 영양강화된 rotifer를 일정량(7.5×10<sup>6</sup> rotifers) 수확하여 지방산 분석을 하였다.

지방산 분석은 test tube에 일정량의 시료를 수용한 후 BF3-methanol로 methyl ester화 하였다(Moririson and Smith, 1964; Budge, 1999). 시료는 약 30~40°C로 냉각한 후 증류수와 hexane을 첨가하여 지방산을 분리 추출하였다. 추출된 지방산은 capillary column ( $\omega$ -Wax, 30m×0.32mm×0.5 $\mu$ m, SUPELCO)이 장착된 gas chromatograph (HP6890 plus, Agilent, USA)로 분석하였다. 분석 조건으로 carrier gas는 helium (30 mL/min)을 사용하였으며, oven 온도는 200°C에서 237°C까지 2°C/min 증가시켰다. 그리고 injector의 온도는 250°C, detector (FID) 온도는 260°C로 설정하였다. 지방산의 분석은 동일 조건에서 분석한 표준 지방산으로 37 component FAME mix. (SupelcoTM 37, 100mg Neat 18919-1AMP, USA)를 사용하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양분석

##### 1. 1. 지질 클래스 및 총 지질

*S. kitina* 및 두 종류 *B. rotundiformis*의 지질 클래스 함량과 총 지질은 Table 1에 나타내었다. 지질 클래스 중 hydrocarbon, sterol 및 phospholipid는 *S. kitina*에서 유의적으로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), triacylglycerol은 영양강화 유무에 관계없이 *B. rotundiformis* 보다 유의적으로 낮은 함량을 보였다( $P < 0.05$ ). 그리고 영양강화 여부에 따른 클래스의 함량 차이는 *B. rotundiformis* 내에서는 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 또한, 총 지질함량에 있어서도 3종류의 rotifer에서 7.2~8.0%로 영양강화한 *B. rotundiformis*에서 가장 높게 나타났지만 모두 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

Table 1. Total lipid and lipid class composition of rotifers\*

Analysis	Rotifers		
	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>3</sup>
Total Lipid (mg/g DW)	72.7±2.51 <sup>a</sup>	71.6±13.50 <sup>a</sup>	80.0±2.9 <sup>a</sup>
TL/WW (%)	7.3±0.25 <sup>a</sup>	7.2±1.35 <sup>a</sup>	8.0±0.3 <sup>a</sup>
%Neutral Lipid	21.4±3.49	35.0±1.77	35.2±2.39
%Polar Lipid	78.6±3.49	65.0±1.77	64.8±2.39
Lipid Class (% total lipid)			
Hydrocarbons	2.7±0.5 <sup>b</sup>	1.2±0.66 <sup>a</sup>	1.1±0.87 <sup>a</sup>
Steryl Esters/Wax Esters	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
Methyl Ketones	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
Triacylglycerol	1.5±0.13 <sup>a</sup>	21.7±3.29 <sup>b</sup>	21.6±3.05 <sup>b</sup>
Free Fatty Acids	8.1±1.84 <sup>a</sup>	8.6±0.88 <sup>a</sup>	8.6±0.93 <sup>a</sup>
Alcohols	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
Sterols	9.1±1.42 <sup>b</sup>	3.5±2.08 <sup>a</sup>	3.9±1.34 <sup>a</sup>
Acetone Mobile Polar Lipids	5.3±1.04 <sup>a</sup>	4.5±0.25 <sup>a</sup>	4.5±0.28 <sup>a</sup>
Phospholipids	73.2±3.71 <sup>b</sup>	60.5±1.59 <sup>a</sup>	60.3±2.18 <sup>a</sup>

\*Values(mean±SE of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup>*S. kitina* cultured with *T. suecica* at 22°C.

<sup>2</sup>*B. rotundiformis* cultured with the freshwater *Chlorella* at 28°C.

<sup>3</sup>*B. rotundiformis* enriched with *Schyzochitrium* sp. during 8 hour at 20°C.

## 1. 2. 지방산

*S. kitina* 및 두 종류 *B. rotundiformis*의 지방산 함량과 각종 비율은 Table 2에 나타내었다. 지방산에서 포화지방산(SFA) 함량은 *S. kitina*에서 39.4%로 가장 높게 나타났으며, 특히 C16:0과 C18:0에서 함량의 차이를 많이 보였다. 단일 이중결합 지방산(MUFA)에서도 *S. kitina*에서 27.4%로 영양강화 여부에 관계없이 *B. rotundiformis* 보다 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 그 중 C18:1n9와 C20:1의 함량이 특히 많은 차이를 보였다. 다중불포화지방산(PUFA)의 함량에서는 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 담수산 농축 *Chlorella*를 섭취할 경우 축적되는 C18:2n6의 함량이 높았기 때문에 73.0%의 높은 함량을 보였다. 그러나 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*는 ARA에서는 유의적인 차이를 보이지 않았지만, EPA와 DHA 함량에서 영양강화한 *B. rotundiformis* 보다 훨씬 낮은 함량을 보였다. 한편, EPA와 DHA는 영양강화한 *B. rotundiformis*에서 유의적으로 가장 높은 것으로 조사되었다( $P<0.05$ ). 그렇지만 *S. kitina*는 지질 영양강화를 하지 않았지만 C18:3n3의 높은 함량에 기인된 DHA 함량이 8.4%로 높게 나타났다. 반면, EPA/DHA 비와 DHA/EPA 비는 영양강화한 *B. rotundiformis*에서 각각 1.5와 4.8로 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 그러나 *S. kitina* 및 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*는 유의적인 차이가 없이 낮게 나타났다( $P>0.05$ ).

Table 2. Fatty acid composition of the rotifers\*

Analysis	Rotifers	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>3</sup>
Fatty acids (% total)				
C14:0		2.4±0.07 <sup>b</sup>	1.4±0.18 <sup>a</sup>	2.8±0.44 <sup>b</sup>
C16:0		20.0±0.71 <sup>b</sup>	16.6±2.09 <sup>a</sup>	16.6±0.00 <sup>a</sup>
C17:0		1.1±0.02 <sup>c</sup>	0.3±0.06 <sup>a</sup>	0.7±0.21 <sup>b</sup>
C18:0		7.7±0.55 <sup>c</sup>	2.2±0.29 <sup>a</sup>	4.1±0.04 <sup>b</sup>
ΣSFA <sup>4</sup>		39.4±1.32 <sup>b</sup>	24.0±2.59 <sup>a</sup>	26.3±0.53 <sup>a</sup>
C16:1		0.7±0.12 <sup>a</sup>	0.4±0.18 <sup>a</sup>	1.3±0.02 <sup>b</sup>
C18:1n9		15.9±0.37 <sup>c</sup>	0.6±0.06 <sup>a</sup>	3.6±0.18 <sup>b</sup>
C20:1		8.8±0.18 <sup>c</sup>	0.6±0.12 <sup>a</sup>	1.1±0.04 <sup>b</sup>
ΣMUFA <sup>5</sup>		27.4±0.82 <sup>c</sup>	3.0±0.42 <sup>a</sup>	6.8±0.09 <sup>b</sup>
C18:2n6		8.0±0.04 <sup>a</sup>	59.8±2.53 <sup>c</sup>	32.0±3.71 <sup>b</sup>
C18:3n3		11.9±0.02 <sup>b</sup>	2.3±0.34 <sup>a</sup>	1.8±0.43 <sup>a</sup>
C20:2		1.9±0.05 <sup>a</sup>	5.8±1.29 <sup>b</sup>	4.5±0.51 <sup>b</sup>
C20:3n3		0.3±0.22 <sup>a</sup>	3.8±0.24 <sup>c</sup>	2.1±0.05 <sup>b</sup>
C20:4n6		2.2±1.94 <sup>a</sup>	1.0±0.06 <sup>a</sup>	2.6±0.04 <sup>a</sup>
C20:5n3		0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.3±0.06 <sup>a</sup>	3.8±1.02 <sup>b</sup>
C22:6n3		8.4±0.25 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	17.8±2.19 <sup>c</sup>
ΣPUFA		33.2±2.14 <sup>a</sup>	73.0±2.32 <sup>c</sup>	65.8±1.53 <sup>b</sup>
n-3 HUFA		20.5±0.26 <sup>b</sup>	2.6±0.39 <sup>a</sup>	25.5±2.72 <sup>c</sup>
n-6 HUFA		10.7±1.97 <sup>a</sup>	64.6±2.46 <sup>c</sup>	35.9±3.74 <sup>b</sup>
n-9 HUFA		15.9±0.37 <sup>c</sup>	0.9±0.07 <sup>a</sup>	3.8±0.02 <sup>b</sup>
DHA/EPA		0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	4.8±0.70 <sup>b</sup>
EPA/ARA		0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.3±0.07 <sup>a</sup>	1.5±0.42 <sup>b</sup>
Unsaturated Index(%)		144.4±7.14 <sup>a</sup>	158.0±5.15 <sup>a</sup>	231.5±8.08 <sup>b</sup>

\*Values(mean±SE of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup>*S. kitina* cultured with *T. suecica* at 22°C.

<sup>2</sup>*B. rotundiformis* cultured with the freshwater *Chlorella* at 28°C.

<sup>3</sup>*B. rotundiformis* enriched with *Schyzochitrium* sp. during 8 hour at 20°C.

<sup>4</sup>Includes 6:0, 8:0, 10:0, 12:0, 13:0, 15:0, 17:0, 20:0, 21:0, 22:0, 23:0, 24:0.

<sup>5</sup>Includes 14:1, 15:1, 17:1, 24:1, 22:1n9.

### 1. 3. 구성아미노산 및 총 단백질

*S. kitina* 및 두 종류의 *B. rotundiformis*의 구성아미노산은 Table 3에 나타내었다. 필수 아미노산 중 threonine, valine 및 methionine은 3종류 rotifer 실험구간에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). Ileusine, leusine, phenylalanine 및 lysine은 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 각각 가장 높은 함량을 나타내었다. 그리고 illeusine을 제외한 나머지 3종류는 *S. kitina*에서 유의적으로 가장 낮은 함량을 보였다( $P<0.05$ ). 반면 histidine의 함량은 *S. kitina*에서 유의적으로 가장 높은 함량을 나타내었다( $P<0.05$ ). 그리고 비필수 구성아미노산에 있어서는 cysteine과 tyrosine은 3종류 rotifer에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 aspartic acid 및 glutamine의 함량은 영양강화 여부에 관계없이 *B. rotundiformis*에서 높게 나타났으며, *S. kitina*는 유의적으로 낮은 것을 확인하였다. 또한, 필수아미노산 함량에서는 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 22.1%로 유의적으로 높게 나타났었다( $P<0.05$ ). *S. kitina*는 영양강화한 *B. rotundiformis*와 유의적인 차이는 보이지 않았지만, 가장 낮은 18.0%의 낮은 필수 구성아미노산의 함량을 보였다. 이로 인해서 단백질 함량에서도 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 57.6%로 유의적으로 가장 높은 값을 보였으며, *S. kitina*는 38.7%로 유의적으로 낮은 함량을 보였다( $P<0.05$ ).

Table 3. Protein-bound amino acid and total protein compositions of the rotifers\*

Analysis	Rotifers	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>3</sup>
Aspartic acid		30.0±9.79 <sup>a</sup>	56.0±0.37 <sup>b</sup>	50.3±0.16 <sup>b</sup>
Threonine		25.6±1.92 <sup>a</sup>	25.7±0.24 <sup>a</sup>	23.1±0.05 <sup>a</sup>
Serine		24.8±1.87 <sup>a</sup>	29.3±0.10 <sup>b</sup>	27.5±0.01 <sup>ab</sup>
Glutamic acid		61.7±3.34 <sup>a</sup>	72.0±0.04 <sup>b</sup>	69.0±0.54 <sup>b</sup>
Glycine		23.7±8.89 <sup>a</sup>	23.2±0.26 <sup>a</sup>	21.6±0.02 <sup>a</sup>
Alanine		24.3±0.79 <sup>a</sup>	27.3±0.17 <sup>b</sup>	23.3±0.32 <sup>a</sup>
Cysteine		13.0±18.36 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	7.4±1.31 <sup>a</sup>
Valine		16.9±13.38 <sup>a</sup>	34.4±0.64 <sup>a</sup>	26.1±0.48 <sup>a</sup>
Methionine		4.3±6.13 <sup>a</sup>	2.7±0.09 <sup>a</sup>	6.2±0.17 <sup>a</sup>
Isoleucine		23.7±0.39 <sup>b</sup>	28.0±0.44 <sup>c</sup>	21.0±0.05 <sup>a</sup>
Leucine		34.9±0.28 <sup>a</sup>	43.6±0.27 <sup>c</sup>	39.7±0.26 <sup>b</sup>
Tyrosine		15.7±5.37 <sup>a</sup>	14.6±0.15 <sup>a</sup>	14.6±0.90 <sup>a</sup>
Phenylalanine		21.3±0.37 <sup>a</sup>	27.4±0.20 <sup>c</sup>	24.4±0.40 <sup>b</sup>
Lysine		39.9±0.63 <sup>a</sup>	49.8±0.08 <sup>c</sup>	42.4±0.33 <sup>b</sup>
NH3		10.5±0.50 <sup>b</sup>	13.0±0.11 <sup>c</sup>	8.0±0.14 <sup>a</sup>
Histidine		13.1±1.36 <sup>b</sup>	10.4±0.06 <sup>a</sup>	10.3±0.23 <sup>a</sup>
Arginine		35.1±5.32 <sup>a</sup>	34.1±0.15 <sup>a</sup>	33.2±0.16 <sup>a</sup>
Proline		23.3±5.21 <sup>a</sup>	27.2±0.83 <sup>a</sup>	24.6±0.36 <sup>a</sup>
Essential amino acid(mg/g)		179.8±10.89 <sup>a</sup>	221.9±1.75 <sup>b</sup>	193.4±0.12 <sup>a</sup>
Total protein(%)		38.7±7.01 <sup>a</sup>	57.6±0.43 <sup>c</sup>	42.9±0.19 <sup>b</sup>

\*Values(mean±SE of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup>*S. kitina* cultured with *T. suecica* at 22°C.

<sup>2</sup>*B. rotundiformis* cultured with the freshwater *Chlorella* at 28°C.

<sup>3</sup>*B. rotundiformis* enriched with *Schyzochitrium* sp. during 8 hour at 20°C.

#### 1. 4. 유리아미노산

*S. kitina* 및 두 종류의 *B. rotundiformis*의 유리아미노산은 Table 4에 나타내었다. 필수아미노산인 histidine, leucine, arginine, valnine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, threonine 및 tryosine 등은 모두 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 유의적으로 가장 높게 나타났다 ( $P<0.05$ ). 비필수 유리아미노산에서는 taurine, glycine 및 proline을 제외한 나머지 종류에서는 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 유의적으로 높은 함량을 보였다( $P<0.05$ ). 그리고 glycine은 영양강화한 *B. rotundiformis*가 유의적으로 가장 낮은 것으로 나타났지만, taurine과 proline의 함량은 *S. kitina*에서 영양강화 유무에 상관없이 *B. rotundiformis* 보다 유의적으로 높은 함량을 보였다( $P<0.05$ ). 그리고 총 유리아미노산 함량은 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 가장 높은 6.49%로 나타났으며 영양강화한 *B. rotundiformis*에서 가장 낮은 1.67%로 조사되었다( $P<0.05$ ). 총 유리아미노산에서 taurine이 차지하는 함량은 *S. kitina*가 14%로 유의적으로 가장 높게 나타났으며 ( $P<0.05$ ), 영양강화하지 않은 *B. rotundiformis*에서 가장 낮은 1.5%로 조사되었다.



Table 4. Free amino acid compositions of the rotifers\*

Analysis	Rotifers		
	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>3</sup>
Phosphoserine	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.5±0.03 <sup>c</sup>	0.2±0.03 <sup>b</sup>
Taurine	5.8±0.28 <sup>b</sup>	1.0±0.02 <sup>a</sup>	1.2±0.15 <sup>a</sup>
Aspartic acid	1.6±0.09 <sup>b</sup>	2.5±0.06 <sup>c</sup>	0.4±0.02 <sup>a</sup>
Threonine	0.8±0.05 <sup>b</sup>	1.7±0.10 <sup>c</sup>	0.4±0.01 <sup>a</sup>
Serine	0.8±0.04 <sup>b</sup>	2.4±0.01 <sup>c</sup>	0.4±0.01 <sup>a</sup>
Glutamic acid	3.4±0.14 <sup>a</sup>	8.3±0.27 <sup>b</sup>	3.1±0.05 <sup>a</sup>
Amino adipic acid	0.3±0.19 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.2±0.04 <sup>a</sup>
Glycine	4.0±0.24 <sup>c</sup>	1.8±0.06 <sup>b</sup>	0.5±0.01 <sup>a</sup>
Alanine	3.6±0.21 <sup>b</sup>	3.7±0.15 <sup>b</sup>	0.7±0.01 <sup>a</sup>
Citruline	1.3±0.05 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.6±0.06 <sup>a</sup>
Valnine	0.6±0.04 <sup>a</sup>	3.5±0.12 <sup>b</sup>	0.7±0.10 <sup>a</sup>
Cysteine	0.3±0.04 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.1±0.00 <sup>a</sup>
Methionine	0.3±0.01 <sup>a</sup>	2.6±0.00 <sup>b</sup>	0.1±0.08 <sup>a</sup>
Cystathionine	0.5±0.04 <sup>a</sup>	2.5±0.20 <sup>b</sup>	0.2±0.06 <sup>a</sup>
Isoleucine	0.4±0.03 <sup>a</sup>	3.4±0.08 <sup>b</sup>	0.5±0.02 <sup>a</sup>
Leucine	0.7±0.04 <sup>b</sup>	4.5±0.01 <sup>c</sup>	0.6±0.04 <sup>a</sup>
Tryosine	0.6±0.05 <sup>a</sup>	4.0±0.12 <sup>b</sup>	0.7±0.02 <sup>a</sup>
Phenylalanine	0.6±0.05 <sup>a</sup>	3.6±0.27 <sup>b</sup>	0.4±0.04 <sup>a</sup>
β-Alanine	0.3±0.02 <sup>b</sup>	0.3±0.08 <sup>b</sup>	0.1±0.00 <sup>a</sup>
β-Amino isobutyric acid	0.2±0.02 <sup>c</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>

Table 4. Continue

Analysis	Rotifers		
	<i>S. kitina</i> <sup>1</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>2</sup>	<i>B. rotundiformis</i> <sup>3</sup>
γ-Amino-n-butyric acid	2.2±0.13 <sup>b</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.01 <sup>a</sup>
Ethanol amine	3.3±0.17 <sup>b</sup>	1.0±0.01 <sup>a</sup>	1.0±0.06 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub>	0.2±0.00 <sup>a</sup>	2.0±0.04 <sup>b</sup>	0.5±0.22 <sup>a</sup>
Hydroxylysine	0.1±0.03 <sup>a</sup>	1.7±0.01 <sup>b</sup>	0.2±0.00 <sup>a</sup>
Ornithine	0.2±0.01 <sup>b</sup>	0.3±0.01 <sup>c</sup>	0.1±0.01 <sup>a</sup>
Lysine	0.4±0.02 <sup>a</sup>	3.7±0.04 <sup>c</sup>	0.7±0.02 <sup>b</sup>
Histidine	0.1±0.02 <sup>a</sup>	0.6±0.01 <sup>b</sup>	0.2±0.03 <sup>a</sup>
Anserine	0.0±0.00 <sup>a</sup>	2.0±0.25 <sup>b</sup>	0.4±0.07 <sup>a</sup>
Carnosine	0.6±0.09 <sup>a</sup>	2.4±1.80 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>
Arginine	2.2±0.10 <sup>ab</sup>	2.5±0.23 <sup>b</sup>	1.9±0.14 <sup>a</sup>
Proline	6.1±0.37 <sup>b</sup>	1.0±0.10 <sup>a</sup>	0.5±0.01 <sup>a</sup>
Total FAA (% in DW)	41.4±2.14 <sup>b</sup>	64.9±1.66 <sup>c</sup>	16.7±0.18 <sup>a</sup>
Taurine (% in DW)	5.8±0.28 <sup>b</sup>	1.0±0.02 <sup>a</sup>	1.2±0.15 <sup>a</sup>
Taurine (%/FAA)	14.0±0.04 <sup>c</sup>	1.5±0.08 <sup>a</sup>	7.2±0.82 <sup>b</sup>

\*Values(mean±SE of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

<sup>1</sup>*S. kitina* cultured with *T. suecica* at 22°C.

<sup>2</sup>*B. rotundiformis* cultured with the freshwater *Chlorella* at 28°C.

<sup>3</sup>*B. rotundiformis* enriched with *Schyzochitrium* sp. during 8 hour at 20°C.

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양강화 기술개발

### 2. 1. 영양강화제 공급량에 따른 rotifer의 밀도 변화

두 종류 영양강화제의 공급량에 따른 *S. kitina*의 개체밀도는 Flg. 1에 나타내었다. 우선 AQU의 경우, 개체밀도는 9시간째까지 8 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구를 제외한 모든 실험구가 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다( $P>0.05$ ). 12시간째에는 4 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구의 개체밀도가 급격히 감소하는 경향을 보였다. 실험 종료 시에는 대조구를 제외한 영양강화된 실험구 중에서 2 g/10<sup>6</sup> rotifers가 가장 높은 개체밀도를 보였다.

AST의 경우, 실험 3시간째까지는 1 및 2 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구에서 유의적으로 가장 높은 개체밀도를 보였다( $P<0.05$ ). 그러나 6시간째부터 1 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구는 서서히 감소하는 경향을 보였으며, 2 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구는 급격한 개체감소를 보였다. 그 외 다른 실험구들은 큰 변화가 관찰되지 않았으며, 실험 종료 시에는 0.1 g/10<sup>6</sup> rotifers 실험구가 유의적으로 가장 높은 개체밀도를 나타내었다( $P<0.05$ ).

따라서 본 실험을 종합해 볼 때, 10<sup>6</sup> 개체를 기준으로 영양강화를 할 때 AQU의 적정 공급량은 2 g이며, AST는 0.1 g이라는 사실을 확인할 수 있었다.

### 2. 2. 영양강화 시간에 따른 지방산 분석

앞선 실험을 통해 두 영양강화제의 적정 공급량을 규명하였으며, 이러한 공급량을 통해 영양강화 시간대별에 따른 지방산 분석을 행하였다(Table. 5). 그 결과, AQU의 실험구에서 ARA(20:4n-6) 및 EPA(20:5n-3)은 영양강화의 시간이 늘어날수록 증가하다가 실험 종료 시인 24시간째 다시 낮아지는 경향을 보였다. 반면, DHA(22:6n-3) 및 n-3 HUFA 함량은 점차 증가하는 경향을 보여 12 및 24시간째 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). DHA/EPA 및

EPA/ARA 비율도 영양강화 시간이 늘어날수록 증가하는 경향을 보였다.

AST 실험구의 경우, ARA 및 EPA은 12시간째까지 증가하는 경향을 보인 반면, DHA, n-3 HUFA 함량 및 DHA/EPA 비율은 실험 종료시인 24시간째 유의적으로 가장 높게 나타났다( $P<0.05$ ). EPA/ARA 비율은 3시간째부터 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다( $P>0.05$ ). 또한 모든 실험구의 PUFA 함량도 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다( $P>0.05$ ).

본 실험을 종합해 보면, ARA, DHA, EPA, n-3 HUFA 함량, DHA/EPA 및 EPA/ARA 비율은 영양강화 시간이 늘어날수록 증가하는 경향을 보였다. 그러나 앞선 실험을 통해 영양강화 시간이 늘어날수록 rotifer의 개체밀도는 감소하는 경향을 보였고, 특히 실험 종료 시인 24시간째에는 급격히 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

따라서 초소형 rotifer, *S. kitina*의 최적 영양강화방법은 AQU을 이용하여  $2 \text{ g}/10^6$  rotifers의 농도로 12시간까지 행하는 것이 보다 안정적이고 효율적일 것으로 판단되어진다.

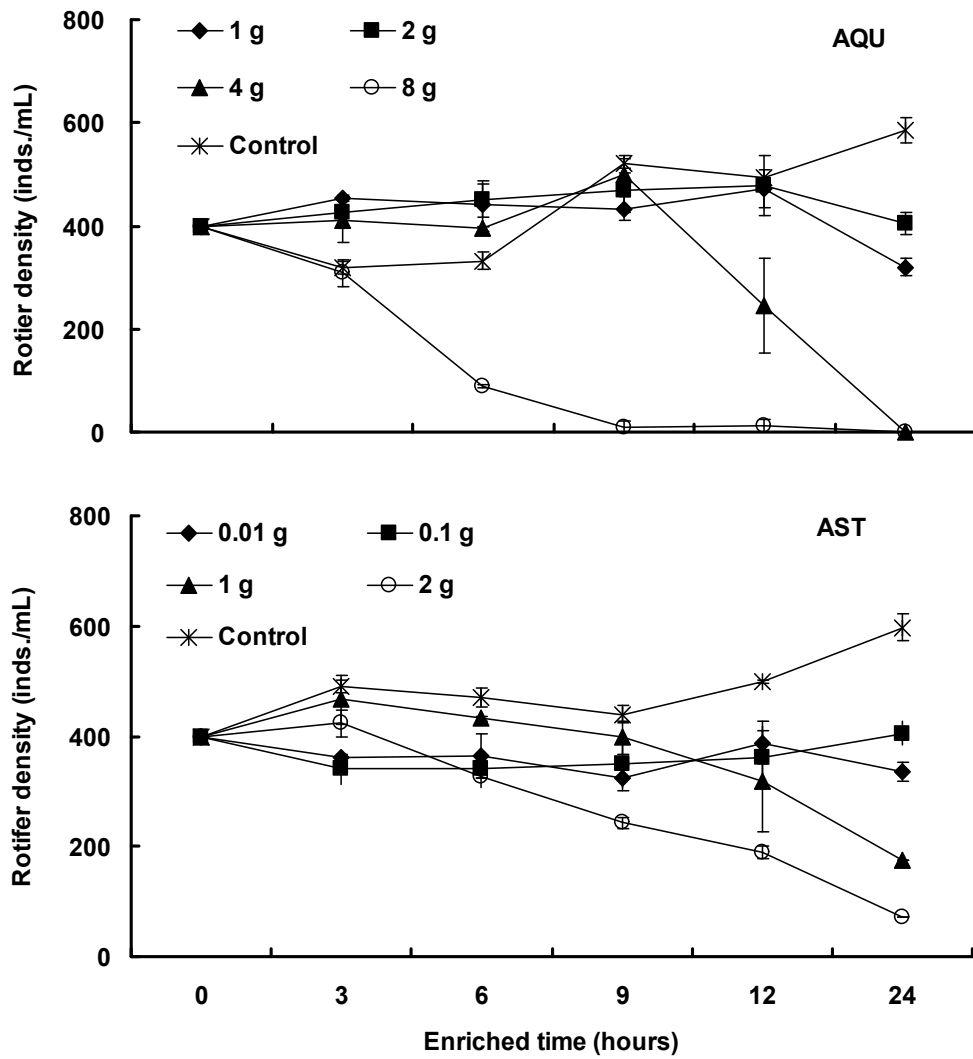


Fig. 1. Population growth of rotifer with the different enrichment supplements for 24 hours.

Table 5. Fatty acid composition (area %) of rotifer fed on the different enrichment diet at duration of enrichment\*

Fatty acid	Initial	Enrichment time (hour)							
		3 hr		6 hr		12 hr		24 hr	
		AQU	AST	AQU	AST	AQU	AST	AQU	AST
ΣSFA	39.4	26.8±1.45 <sup>bcd</sup>	23.8±0.64 <sup>abc</sup>	30.3±4.42 <sup>cd</sup>	26.3±2.05 <sup>abcd</sup>	30.6±0.62 <sup>d</sup>	23.1±0.84 <sup>ab</sup>	30.7±0.49 <sup>d</sup>	20.1±0.93 <sup>a</sup>
ΣMUFA	27.4	22.4±0.59 <sup>abc</sup>	26.0±1.69 <sup>a</sup>	23.8±2.93 <sup>bc</sup>	24.9±0.89 <sup>bc</sup>	18.2±0.08 <sup>a</sup>	22.8±0.63 <sup>abc</sup>	22.1±0.52 <sup>abc</sup>	20.3±0.96 <sup>ab</sup>
C20:4n-6	2.2	2.7±0.09 <sup>ab</sup>	3.2±0.24 <sup>b</sup>	3.0±0.48 <sup>b</sup>	3.4±0.09 <sup>b</sup>	2.7±0.03 <sup>ab</sup>	3.3±0.02 <sup>b</sup>	2.1±0.01 <sup>a</sup>	3.2±0.18 <sup>b</sup>
C20:5n-3	0.0	13.2±0.42 <sup>ab</sup>	18.5±1.84 <sup>c</sup>	14.5±2.31 <sup>b</sup>	21.1±0.22 <sup>c</sup>	11.7±0.14 <sup>ab</sup>	21.0±0.96 <sup>c</sup>	10.6±0.12 <sup>a</sup>	20.2±0.27 <sup>c</sup>
C22:6n-3	8.4	20.0±1.29 <sup>b</sup>	7.2±0.03 <sup>a</sup>	25.4±4.27 <sup>b</sup>	10.1±1.79 <sup>a</sup>	31.7±0.21 <sup>c</sup>	13.6±0.48 <sup>a</sup>	35.1±1.03 <sup>c</sup>	22.6±2.03 <sup>b</sup>
ΣPUFA	33.2	55.1±2.24	52.0±2.36	63.1±9.80	51.3±2.34	60.7±0.41	56.1±1.43	56.6±0.93	61.3±1.77
n-3 HUFA	20.5	36.3±1.73 <sup>abc</sup>	29.2±1.85 <sup>a</sup>	43.4±6.96 <sup>bcd</sup>	34.6±2.06 <sup>ab</sup>	46.0±0.15 <sup>cd</sup>	37.3±1.50 <sup>abc</sup>	48.0±1.02 <sup>d</sup>	45.2±2.27 <sup>cd</sup>
DHA/EPA	0.0	1.5±0.05 <sup>d</sup>	0.4±0.04 <sup>a</sup>	1.7±0.02 <sup>e</sup>	0.5±0.08 <sup>ab</sup>	2.7±0.05 <sup>f</sup>	0.6±0.01 <sup>b</sup>	3.3±0.14 <sup>g</sup>	1.1±0.09 <sup>c</sup>
EPA/ARA	0.0	4.9±0.02 <sup>ab</sup>	5.8±0.13 <sup>cd</sup>	4.8±0.00 <sup>ab</sup>	6.2±0.10 <sup>d</sup>	4.4±0.00 <sup>a</sup>	6.3±0.26 <sup>d</sup>	5.2±0.02 <sup>bc</sup>	6.4±0.45 <sup>d</sup>

\*Values(mean±SE of two replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

## IV. 고찰

### 3. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양분석 및 영양강화 기술개발

#### 1. 1. 지질 클래스 및 총 지질

초기 해산어류 자어의 먹이생물인 rotifer의 생화학적 조성에 대한 연구는 많이 이루어졌다. 특히, 지질과 n-3 HUFA인 DHA, EPA 및 ARA에 대한 관심이 집중되었다(Planas and Cunha, 1999).

Merciera et al. (2004)은 지질의 구성 성분 중 triacylglycerol은 자어의 주요한 에너지원으로 이용되지만 phospholipid는 세포막의 구성 및 신경조직의 유동성 역할을 한다고 보고하였다. 그러나 어류는 phospholipid를 자체적으로 합성할 수 없기 때문에 먹이를 통해 외부로부터 공급되어야만 한다(Fontagne et al., 1998). 몇몇 어류 자어의 성장과 생존율에 대한 phospholipid 공급 효과는 triacylglycerol보다 우수한 것으로 보고되고 있다(Kanazawa, 1997; Izquierdo et al., 2000; Bell and Sargent, 2003). 이러한 이유는 phospholipid 공급은 소화효소 분비와 관련하여 완전한 소화 기관 기능이 부족한 어류의 소화계에 긍정적인 영향을 미치기 때문이며(Bisbal and Bengtson, 1995), 특히 phospholipid는 사료섭취 개선, 장에서의 유화제로써의 역할, 장이나 영양강화 시 지질의 산화 방화 및 장의 장낭종에서의 lipoprotein 합성을 자극하는 것으로 보고되고 있다(Koven et al., 1993, 1998; McEvoy et al., 1995; Murai et al., 1988, Fontagne et al., 1998).

이러한 관점으로 볼 때, 본 연구에서 *S. kitina*의 phospholipid 함량은 전체 지질클래스 중 73.2%의 높은 값을 보여 영양강화 유무에 따른 *B. rotundiformis*의 각각의 값인 60.5, 60.3% 보다도 높게 나타나 어류 자어의 성장과 생존을 보다 개선시킬 수 있을 것으로 판단된다.

한편, sterol은 근육 내에 저장되어 성 성숙에 관여하며, 또한 세포의 막 형성과 세포 내의 대사작용을 하는 중요한 지질 구성성분 중에 하나이다

(Palacios et al., 2007). 이러한 역할을 하는 sterol의 함량은 본 연구에서 분명 *S. kitina* 실험구가 다른 실험구에 비해 높은 것으로 조사되었다.

결론적으로 초소형 rotifer, *S. kitina*와 영양강화 유무에 따른 *B. rotundiformis*의 총 지질 및 지질 클래스를 비교해 보면, 해산 자어의 성장과 생존에 절대적으로 필요한 phospholipid 및 sterol의 함량이 *S. kitina*에서 높아 질적으로 우수하였다. 또한 총 지질의 함량에서도 다른 실험구와의 유의적인 차이를 보이지 않았고, 대부분의 지질은 polar lipid로 이루어졌기 때문에 소화기관이 미발달한 초기 자어 시기에 먹이를 섭취함에 있어 유리할 것으로 판단되어진다.

## 1. 2. 지방산

해산어류 자어의 정상적인 성장 및 생존을 위해서는 필수 지방산으로 EPA 및 DHA를 포함하는 고도불포화지방산(n-3 HUFA, highly unsaturated fatty acid)이 필수적이며(Lee et al., 1993a, 1993b, 1994; Rainuzzo et al., 1997; Watanabe et al., 1983, Watanabe, 1993), 이 함량은 먹이생물이 섭취하는 먹이 중의 n-3 HUFA 함량에 따라서 차이가 날 수 있다(Rainuzzo et al., 1989). 특히 기존의 먹이생물인 rotifer, *Brachionus* 속은 n-3 HUFA 함량이 낮은 담수산 농축 *Chlorella* 및 빵효모로 대량배양이 되고 있기 이 때문에 많은 연구자들이 rotifer 지방산에 양적 및 질적인 문제에 초점을 맞추어 연구를 행한 것이다(Park et al., 1999a, 1999b, 1999c).

본 연구에서 지방산의 분석을 행한 결과, *S. kitina* 실험구에서 C18:3n-3의 높은 함량에 기인하여 DHA 함량이 8.4%로 영양강화를 하지 않은 *B. rotundiformis*보다 높은 것으로 나타났다. 물론 영양강화를 행한 *B. rotundiformis*에 비해 유의적으로 낮은 수치지만 영양강화를 행한다면 그 이상의 DHA 함량도 기대해 볼 수 있을 것이라 판단된다. 일반적으로 DHA는 정상적인 신경 발달과 기능에 중요하며, 특히 자어의 망막발달과 시력에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(McEvoy et al., 1998a, 1998b). 이처럼 중요한 DHA의 함량이 영양강화를 하지 않은 *S. kitina*에서 높게 나타났다는



것은 매우 흥미로운 일이며 그 가치 또한 높다고 할 수 있겠다.

또한, ARA 함량은 *S. kitina*가 영양강화를 행한 *B. rotundiformis*와 유의적인 차이가 없이 높게 나타난 반면, 영양강화를 하지 않은 *B. rotundiformis*는 다른 실험구에 비해 낮은 값을 보였다. 흔히, ARA는 어류 자어에게 있어 성장 및 생존과 관련된 생리활성 물질인 eicosanoid의 전구체로써 스트레스에 대한 저항성, 변태 등과 같은 다양한 생리적 역할을 수행하는 것으로 알려져 있어(Sargent et al., 1999; Bell and Sargent, 2003), *S. kitina*의 질적 우수성을 다시 한번 확인할 수 있었다.

한편, EPA, n-3 HUFA, DHA/EPA 및 EPA/ARA의 각각은 함량과 비율은 *S. kitina*가 영양강화를 행한 *B. rotundiformis*에 비해 유의적으로 낮은 것으로 조사되었다. 그러나 일반적으로 rotifer의 경우 먹이와 어떠한 영양강화제를 이용하느냐에 따라 이러한 지방산의 함량 및 비율을 조절할 수 있기 때문에 *S. kitina*에 있어 적절한 영양강화기술만 개발이 된다면 질적으로 매우 우수한 먹이생물이 될 수 있을 것이라 판단된다.

### 1. 3. 구성아미노산 및 총 단백질

일반적으로 먹이생물에 있어서 단백질보다는 지질에 많은 관심을 두고 연구되어 왔다. 그러나 단백질의 구성물질인 아미노산은 해산어류 자어가 난황을 모두 흡수한 이후, 외부로부터 먹이를 섭취할 시기에 신진대사 에너지원 및 근육 축적에 따른 성장에 매우 중요한 역할을 행하기 때문에 아미노산의 요구를 반드시 충족시켜야만 한다(Rønnestad et al., 1999).

구성아미노산은 총 아미노산(유리+구성아미노산)의 90% 이상을 차지하여 어류 자어의 주요 아미노산원을 이루고 있다(Aragão et al., 2004). 그만큼 구성아미노산은 어류의 주요 에너지원의 역할을 수행하고 있는 것이다. 그러나 본 실험에서 *S. kitina*의 경우, 다른 실험구에 비해 구성아미노산의 함량이 작거나 또한 일부 필수·비필수아미노산을 제외하곤 담수산 농축 *Chlorella*로 배양된 *B. rotundiformis*에 비해 낮은 것으로 나타났다. 이는 rotifer 간에 서로 달리 공급된 먹이종류에 따른 차이로 판단된다. 일반적으로 어류 자어의 초

기 먹이생물로 많이 이용되고 있는 rotifer는 이들에게 먹이를 어떠한 것을 주느냐에 따라 체내 조성이 달라지기 때문이다.

한편, *S. kitina* 실험구에서는 histidine의 함량이 다른 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Histidine은 준 필수아미노산이라고 불릴만큼 그 역할이 중요한 것으로 알려져 있는데, 우선 생리와 면역에 관여하는 histamine의 전구체이며 퓨린(purine)의 합성과정에서 탄소원자를 제공하는 역할을 한다(Rønnestad et al., 1999; Aragão et al., 2004). 또한 성장을 촉진시키고 체내 조직을 재생산하는데 관여하며 myelin과 같은 신경 세포를 유지하는 역할을 수행한다고 알려져 있다(Rønnestad et al., 1999). Osako et al. (2004)에 보고에 의하면, 어류에 있어 이러한 역할을 행하는 histidine의 함량은 자어의 성장이 진행될수록 더욱 많은 양을 요구한다고 하였다. Abe (1987)은 carp (*Cyprinus carpio*) 및 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) 종에게 있어 성장과 생존율은 histidine의 높은 함량에 의해 결정이 된다고 발표하였다. 또한 masu salmon (*Oncorhynchus masou*) 및 yellowtail도 근육 내에 histidine의 함량이 높아질수록 성장이 좋은 것으로 보고되고 있다(Ogata and Murai, 1994; Ogata, 2002).

해산 자어의 초기 먹이생물인 rotifer의 총 단백질 함량은 건조중량을 기준으로 28~67%로 매우 다양하게 나타나며, 이러한 값은 이들의 먹이종류 및 성장 상태에 따라 많은 영향을 받는 것으로 보고되고 있다(Øie et al., 1997). 본 연구에서도 총 단백질 함량은 *S. kitina*에서 38.7%로 다른 실험구의 57.6, 42.9%에 비해 낮은 것으로 나타났다. 이는 *S. kitina*의 경우 공급된 먹이가 *T. suecica*인 반면 다른 실험구인 *B. rotundiformis* 종들은 단백질 함량이 높은 담수산 농축 *Chlorella*를 공급해 주었기 때문에 먹이종류의 차이에 의한 것으로 판단된다.

어류 자어의 초기 먹이생물로 많이 이용되고 있는 rotifer는 이들에게 먹이를 어떠한 것을 주느냐에 따라 어류 자어의 성장을 위한 질적 향상을 꾀할 수 있게 된다. 따라서 초소형 rotifer, *S. kitina*에게 각기 다른 먹이를 공급하여 단백질 및 아미노산 조성의 함량을 극대화 시킬 수 있다면 어류 자어의

성장 및 생존을 향상에 큰 도움이 될 것으로 판단되어진다.

#### 1. 4. 유리아미노산

외부로부터 첫 번째 먹이를 섭취하는 자어 시기에 소화기관은 충분히 발달하지 않은 상태라 단백질을 완전히 소화는 할 수 없게 된다(Rønnestad et al., 1999). 그러나 성장을 위해선 근육 내 단백질을 저장해야 하기 때문에 자어에게 있어 먹이 내에 존재하는 유리·구성아미노산의 양적 및 질적인 문제는 매우 중요하다(Aragão et al., 2004). 특히 유리아미노산의 경우, 자연상태에서 채집된 어류 자어에서 높은 함량이 분석이 되기 때문에 난황을 흡수하는 시기부터 첫 번째 먹이를 공급하는 시기에 있어 매우 중요한 영양소 중에 하나인 것이다(Aragão et al., 2004). 왜냐하면 이 시기에는 소화체계가 완벽하지 않기 때문에 단백질 합성 및 에너지 생산을 위한 아미노산의 이용성을 극대화 시키려면 결국엔 유리아미노산의 함량이 높아야만 하기 때문이다. Cahu and Zambonino (1995)는 sea bass 자어의 먹이 내 유리아미노산 함량이 10% 이상이면 trypsin 분비가 증가되어 단백질의 소화효소활성이 높아지기 때문에 자어 시기에 유리아미노산 함량의 중요성을 강조하였다.

식물플랑크톤에는 높은 함량의 유리아미노산이 들어있다(Fyhn, 1993). 그렇기 때문에 자연상태에서 채집된 동물플랑크톤이나 이러한 식물플랑크톤을 먹고 배양된 동물플랑크톤의 유리아미노산 함량은 높게 나타나곤 한다(Fyhn and Serigstad 1987; Fyhn, 1989, 1993). *Tetraselmis* sp.의 경우 특히 유리아미노산의 함량이 높은데 그 중에서도 arginine이 높은 것으로 알려져 있다(Brown, 1991). 본 연구에서도 *S. kitina*의 경우 arginine의 함량이 다른 실험구에 비해 높은 것으로 나타났는데, 이는 먹이인 *T. suecica*에서 기인된 것이라 판단된다.

또한 유리아미노산은 어류 자어의 먹이섭취에 자극을 주는 것으로 보고되고 있다. Kolkovski et al. (1997a, 1997b) 및 Koven et al. (2001)에 의하면, sea bream (*Sparus aurata*), spotted goby (*Gobiusculus flavescens*) 자어에게 유리아미노산인 glycine, arginine, alanine이 풍부한 먹이생물을 공급했을 때

시각과 화학적인 자극을 주어 먹이섭취에 긍정적인 영향을 주었다고 보고하였다. 또한 turbot 자어의 경우는 aspartic acid 및 glycine이 영향을 미치며, dover sole (*Solea solea*)의 자어는 phenylalanine, lysine 및 aspartic acid에 영향을 받는다고 보고하였다(Knutzen, 1992; Kolkovski et al., 1997a). 본 연구에서도 *S. kitina* 실험구의 경우, glycine, arginine, aspartic acid 및 alanine의 함량이 다른 실험구에 비해 유의적으로 높거나 차이가 없는 것으로 나타나 질적으로 우수하게 조사되었다.

본 연구 결과 중에 흥미로운 사실은 비필수아미노산인 taurine의 함량이 다른 실험구에 비해 매우 높게 나타난 것이다. 비록 아직까지 taurine의 정확한 기작 및 역할이 규명되지는 않았지만 삼투압에 있어 세포의 조절기능, 담즙산염의 합성, 신경조직 및 세포막과 관련해 그 영향력은 크다고 보고되고 있다(Van Waarde, 1988; Huxtable, 1992). 난황을 지니고 있는 시기 및 입이 개구(開口)가 될 때 이러한 taurine이 중요한 역할을 수행한다는 연구결과가 발표되어 있다. 특히 이 시기에 몇몇 어류들의 경우, 전체 유리아미노산의 30~40%에 높은 taurine 함량을 요구하는 것으로 알려져 있다(Rønnestad et al., 1992a, 1992b, 1994, 1998)

이러한 taurine은 해산어류의 자·치어 시기에 반드시 필요한 영양소 중에 하나로 규명하고 있는데(Takeuchi et al., 2001), 이는 성장률에 직접적인 영향을 미치기 때문이다. Conceição et al. (1997)은 turbot 자어의 성장률은 taurine 함량과 연관이 있다는 연구결과를 발표하였다.

이처럼 초기 어류 자어의 성장과 생존에 중요한 taurine의 함량은 본 실험의 *S. kitina*에서 높게 나타나는 것으로 조사되어 그 가치를 입증하였다.

## 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양강화기술 개발

Rodríguez et al. (1996)은 rotifer의 영양강화는 영양 강화제의 공급량보다 시간이 중요하다고 지적하였으며, 다양한 유화오일을 영양 강화제로 이용한 실험에서 rotifer의 총 지질의 함량은 3시간 이후 큰 변화가 없는 것으로 보고하였다. 또한 Watanabe (1993)의 연구 보고에 의하면, 유화오일을 이용한

rotifer 영양강화 시 12시간 이후 n-3 HUFA의 함량은 변화가 없는 것으로 나타났다. 본 실험에서도 일부 지방산을 제외하고는 이러한 경향을 보였다. 우선 AQU 실험구의 n-3 HUFA, ARA 및 EPA 함량은 영양강화 3시간 이후 변화가 없었으며, DHA 함량은 12시간 이후 변화가 없었다. 한편 AST 실험구의 경우, ARA 및 EPA 함량은 3시간 이후, n-3 HUFA 함량은 6시간 이후 변화가 없는 것으로 조사되었다. 그러나 DHA 함량은 12시간 이후 증가하는 경향을 보였다.

한편, 영양강화 시간이 적정 이상이 된다면 용존산소 및 rotifer의 개체밀도를 급격히 감소되는 경향을 보이게 된다. 이러한 용존산소의 감소 원인은 유화오일의 첨가로 배양수내의 지방 산화과정 중 산소를 다량 소비하는 것과 산화된 지방산을 bacteria가 분해하는데 소비하는 산소에 의한 것으로 판단되어지며, rotifer 개체밀도의 감소는 기름성분에 의해 서로 흡착이 되어 폐사로 이어지게 되는 것이다(Park et al., 1999a, 1999b). 이처럼 영양강화제 및 시간에 따라 지방산의 함량이 다양하게 나타나고, rotifer의 개체밀도에 민감한 영향을 주기 때문에 영양 강화제의 선택과 영양강화 시간 등의 환경 조건은 반드시 규명되어야 한다.

최근 n-3 HUFA인 DHA, EPA 및 ARA은 많은 해산 어류 자어의 필수 지방산으로 이용되고 있으며, 특히 이들의 상대적인 비율이 매우 중요하다고 보고하였다(McEvoy et al., 1998a; Estevez et al., 1999; Sargent et al., 1999). 이것은 DHA와 EPA 뿐만 아니라 EPA와 ARA 간의 경쟁적인 상호 작용 때문이다. DHA와 EPA는 phospholipid 구조에서 fatty acid를 에스테르화 시키는데 같은 효소를 사용하는 경쟁물질로 알려져 있다(Sargent et al., 1999). 일반적으로 DHA는 신경조직에 많이 분포하고 있으며 신경막 조직과 기능에 중요한 역할을 한다(Bell and Dick, 1991). 그러므로 DHA보다 상대적 높은 EPA의 먹이는 자어의 신경 기능에 부정적인 효과를 줄 가능성이 높기 때문에 자어의 성장과 생존에 악영향을 미칠 수 있게 된다(Bell et al., 1995; Rodríguez et al., 1997). 본 연구결과에서 DHA의 함량은 모든 실험구에서 7.2~35.1%의 범위를 보여 영양강화를 행하기 전인 8.4%에 비해 향상된 것으

로 나타났다.

또한, 해산 자치어의 성장과 생존에 직접적인 영향을 미치는 n-3 HUFA 함량도 영양강화를 하기 전인 20.5%에 비해 모든 실험구에서 29.2~48.0%로 나타나 함량이 향상된 것으로 나타났다. 그 중에서 AQU를 24시간 영양강화한 실험구에서 48.0%로 유의적으로 가장 높은 값을 보였으나 12시간 영양강화 실험구인 46.0%의 값과 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

Sargent et al. (1999)은 일반적으로 해산 자어에 대한 먹이생물의 최적 DHA/EPA 비율은 2:1로 보고하고 있지만 어종에 따라 이들의 비율은 조금 차이가 있다고 보고하였다. 예를 들어 Estevez et al. (1999) 실험에서 turbot 자어의 경우, rotifer의 DHA/EPA (0.1~3.1) 비율에 따라서 성장과 생존율은 차이가 없는 것으로 나타났고, Furuita et al. (1999) 넙치 자어의 경우, DHA/EPA 비율은 성장과 생존율에 있어 차이는 나타나지 않았지만 염분 노출 stress 실험에서 DHA가 EPA보다 중요하다고 보고하였다. 그러나 Rodríguez et al. (1997)은 초기 githead seabream에서 DHA/EPA (0.3~1.4) 비율인 높을수록 이들의 성장은 높게 나타났고, 특히 Copeman et al. (2002)은 냉수성 어종인 노랑가자미의 경우 DHA/EPA의 비율은 7:1로 높은 DHA 함량을 요구하는 것으로 보고하였다. 또한 대구(*Gadus macrocephalus*) 자어와 대서양 halibut의 경우, DHA가 이들 어종의 높은 성장과 생존율을 위해서 EPA 보다 매우 높게 요구된다고 보고하였다(Zheng et al., 1996; Evjemo et al., 2003). 본 실험에서 *S. kitina*의 DHA/EPA 비율은 영양 강화제 및 영양강화 시간대에 따라 0.4~3.3 비율의 값을 보이는 것으로 나타났다. 그러나 AST 실험구의 값은 모든 시간대에서 1 이하의 낮은 값을 보인 반면 AQU 실험구에서는 12시간째 2.7 값을 보여 일반적으로 해산 자어가 요구하는 2:1에 가장 적합한 것으로 조사되었다(Sargent et al., 1999).

또한, EPA 및 ARA의 상호 경쟁적인 작용은 eicosanoid 형성에 있어서 매우 중요하다(Sargent et al., 1999). Eicosanoid는 자어의 성장, 생존, 난질, 면역, 스트레스에 대한 저항성, 변태 및 체색 변이 등 다양한 생리적 역할을 수행하는 것으로 보고되고 있다(Bell and Sargent, 2003). EPA 및 ARA은 이러

한 역할을 수행하는 eicosanoid의 기질이며, ARA이 EPA보다 높은 생리적 활성을 가지는 eicosanoid를 생성하는 것으로 알려져 있다(Bell et al., 1994). 이러한 측면에서 ARA의 비율이 높을수록 githead seabream의 성장, 생존 및 스트레스에 대한 저항성이 높은 것으로 보고되고 있다(Bessonart et al., 1999). 그러나 상대적으로 ARA가 EPA보다 높은 먹이를 섭취할 경우 flatfish인 turbut, 노랑 가자미 및 넙치 자어의 체색변이 현상이 높게 나타나는 것으로 보고되고 있는데(Estevéz et al., 1999; McEvoy et al., 1998b; Copeman et al., 2002), 이것은 지나친 eicosanoid 활성화에 의한 스트레스 상승의 결과로 보고되고 있다. 따라서 Bell and Sargent (2003)은 EPA/ARA 비율이 5:1 이상으로 하는 것이 어류 자어의 체색변이 현상을 감소시킬 수 있다고 보고하였다. 또한 최근 연구 보고에 의하면 자어 성장을 위한 EPA/ARA의 비율은 어종마다 다르지만 sea bass 및 striped bass는 각각 1:1, 3:1인 것으로 보고하였다(Sargent et al., 1999; Harel et al., 2001). 본 연구에서 EPA/DHA 비율은 모든 실험구에서 4.4~6.4로 나타나 이들 어종이 요구하는 수준인 것으로 조사되었다.

본 연구를 종합해 볼 때, 시간에 따른 rotifer의 질적 개선효과는 rotifer의 개체 밀도와 연관한 시간의 효율성을 고려해 할 때 AQU 실험구에서 12시간 영양강화 하는 것이 가장 효율적인 영양강화 방법이라 판단된다(Fig. 1, Table 5). 아울러 *Synchaeta* 속에 관한 영양강화에 관련된 자료는 거의 없는 실정이라 본 자료는 앞으로 *Synchaeta* 속의 영양강화에 관해 좋은 기초자료가 될 것이라 판단된다.

# 제 3절 Rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산 및 부화율 조사

## I. 서론

현재 해산 어류 및 갑각류의 초기 동물 먹이생물로서 많이 이용되고 있는 종은 rotifer, *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis*이며, 이 종의 대량배양을 위한 기초 연구가 활발히 수행되고 있다(Lubzens, 1987; Lubzens et al., 1989; Park et al., 1999a, 1999b; Hagiwara et al., 2001). 이들 종의 경우, 생활사와 같아 male에 관계없이 amictic female이 난을 생산하는 처녀생식과 male이 출현하여 미수정 mictic female과 교미에 의해 수정란(resting egg)을 형성하는 유성생식으로 나누어진다(Pourriot and Snell, 1983; Gilbert, 1967). 유성생식에 의해 형성된 내구란은 두터운 2차 난막으로 싸여져 있어 외부환경이 부화에 적합하지 않으면 강한 내구성을 지니고 있어 휴면상태를 계속 유지한다(Hagiwara et al., 1988a). 한편, rotifer 내구란은 종의 유전적 형질을 효율적으로 보관 할 수 있을 뿐만 아니라 대량배양용 종자와 생태독성학의 실험재료로 이용할 수 있다(Hagiwara and Hirayama, 1993; Hagiwara et al., 1993a, 1993b; Hur and Park, 1996a, 1996b; Snell and Janssen, 1995). 또한 Artemia cyst처럼 쉽게 부화시켜 자어에 직접 공급할 수 있는 장점으로 인해 rotifer 연속배양에서 오는 유해 bacteria와 원생동물의 자·치어에 대한 2차 감염을 방지할 수 있다.

이처럼 여러 가지 장점을 가지고 있는 rotifer의 내구란을 대량생산 할 수 있다면 먹이확보가 수월하여 보다 안정적인 종묘생산을 행할 수 있게 된다. 그러나 현재까지 rotifer에 대한 내구란의 형성에 대해서는 주로 *Brachionus* 속을 대상으로 행한 연구가 많을 뿐(Hino and Hirano, 1976, 1977; Hagiwara, 1994; Snell and Hoff, 1985, 1987; Hagiwara et al., 1988b; Snell and Boyer, 1988; Hamada et al., 1993; Hagiwara, 1994), *Synchaeta* 속에 대



해서는 매우 미진한 실정이라 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란을 대량생산하기 위해서 내구란의 형성요인들 중 수온, 염분 및 먹이 공급량에 따른 내구란 형성을 조사하였다. 또한 내구란의 최적 부화율을 함께 조사해 보았다.

## II. 재료 및 방법

모든 실험은 경포호 strain *S. kitina*를 사용하였다. 100 L에서 15%의 배양수로 대량배양하던 *S. kitina*의 내구란을 분리하여 3개월 간 냉장 보관한 후 15%, 20°C 및 3,000 lux 조건하에서 부화시켜 실험에 이용하였다. 모든 실험은 3회 반복하였으며, 각 실험구에서 rotifer가 최고밀도에 도달한 후 감소되는 날에 실험을 종료하였다.

내구란 생성 실험 시 rotifer의 유성생식율, 수정률, mL 당 내구란 생산량 및 일일생산량은 Hagiwara et al. (1988a)의 방법에 따라 계산하였다. 그리고 배양기간 중 rotifer의 최고밀도와 성장률[ $SGR = (1/T) \ln(N_T/N_0)$  ( $T =$  접종 이후 *S. kitina*가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수;  $N_T = T$  days의 *S. kitina* 개체밀도;  $N_0 = S. kitina$ 의 접종밀도)을 함께 조사하였다.

### 1. 염분에 따른 내구란 생성

#### 1. 1. 내구란 생산

염분별 내구란 생성 실험은 5, 10, 15, 20, 25 및 34‰로 한 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 *S. kitina*를 20 개체/mL가 되도록 접종한 뒤 행하였다. 수온이 20°C로 맞춰진 다채널배양기(EYELA, MTI-202, Japan)에서 이루어졌으며, 매일 *T. suecica*를 rotifer 개체 당 1,300 세포를 공급해 주었다.

#### 1. 2. 염분에 따른 부화율 조사

염분별 부화율 조사는 내구란 생성 실험과 동일한 염분 조건하에서 냉장 보관 중이던 내구란을 이용하였다. 24 cluster chamber (배양수 1mL)에 각 chamber 당 내구란을 150개 내외를 수용하여 24시간 이 후부터 부화율을 측정하였다.

## 2. 수온에 따른 내구란 생성

### 2. 1. 내구란 생산

수온별 내구란 생성 실험은 8, 12, 16, 20 및 24℃로 조절된 다채널배양기 (EYELA, MTI-202, Japan)에서 행해졌다. 15‰ 배양수를 준비하여 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 *S. kitina*를 20 개체/mL가 되도록 접종하였다. 이 때 먹이로는 *T. suecica*를 rotifer 개체 당 1,300 세포를 공급해 주었다.

### 2. 2. 수온에 따른 부화율 조사

수온별 부화율 조사는 내구란 생성 실험과 동일한 수온 조건하에서 냉장 보관 중이던 내구란을 이용하였다. 24 cluster chamber (배양수 1mL)에 각 chamber 당 내구란을 150개 내외를 수용하여 24시간 이 후부터 부화율을 측정하였다.

## 3. 먹이 공급량에 따른 내구란 생산

먹이 공급량에 따른 내구란 생성 실험은 *T. suecica*를 건조중량 기준으로 rotifer, 1,000 개체 당 일일 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 및 1.6 mg으로 공급하여 행하였다. 250 mL 삼각플라스크(배양수 150 mL)에 *S. kitina*를 20 개체/mL가 되도록 접종하였다. 이 때 배양조건으로는 염분 15‰, 수온 20℃였으며 먹이는 *T. suecica*를 rotifer 개체 당 1,300 세포로 공급해 주었다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 염분에 따른 내구란 생성

##### 1. 1. 내구란 생산

염분에 따른 *S. kitina*의 최고밀도, 성장률, 유성생식률, 수정률 및 내구란 생산에 대한 결과는 Table 1에 나타내었다. 최고밀도는 5‰에서 260 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 10‰ 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 반면 34‰ 실험구는 20 개체/mL로 유의적으로 낮게 나타났으나( $P<0.05$ ). 개체 성장률은 10‰ 실험구가 0.8로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 그 외 다른 실험구는 0.5~0.6으로 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 유성생식률에 있어서는 5‰ 실험구에서 44.3%로 유의적으로 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 10 및 15‰ 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 수정률은 5‰에서 33.6%로 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 10 및 15‰ 실험구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 반면 25 및 30‰ 실험구의 경우는 10% 미만의 낮은 수정률을 보였다. 일일 내구란 생산은 5‰에서 15.0 개로 유의적으로 가장 높게 나타났으나 10‰ 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 이와 달리 25 및 34‰의 경우는 유의적으로 낮은 것으로 조사되었다( $P<0.05$ ). mL 당 내구란 생산도 5‰에서 45.8 개로 유의적으로 가장 높았으며( $P<0.05$ ), 10‰ 실험구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 반면 25 및 34‰에서는 유의적으로 낮게 나타났으나( $P<0.05$ ).

Table 1. Growth, sexual rate and production of resting eggs of *S. kitina* on the different salinities\*

Salinity (%)	Maximum density (inds./mL)	Specific growth rate (SGR)	Mixis rate (%)	Fertilization (%)	No. of resting egg/day	No. of resting egg/mL
5	260±14.2 <sup>d</sup>	0.6±0.10 <sup>a</sup>	44.3±10.05 <sup>c</sup>	33.6±2.10 <sup>d</sup>	15.0±1.85 <sup>e</sup>	45.8±8.11 <sup>e</sup>
10	255±13.3 <sup>d</sup>	0.8±0.02 <sup>b</sup>	43.6±7.75 <sup>c</sup>	33.5±5.40 <sup>d</sup>	14.3±1.00 <sup>e</sup>	36.3±2.38 <sup>e</sup>
15	194±10.8 <sup>c</sup>	0.6±0.01 <sup>a</sup>	41.2±13.30 <sup>bc</sup>	31.1±8.00 <sup>cd</sup>	10.3±0.45 <sup>d</sup>	25.8±1.44 <sup>d</sup>
20	103±7.5 <sup>b</sup>	0.6±0.01 <sup>a</sup>	27.7±5.00 <sup>b</sup>	20.6±3.85 <sup>c</sup>	8.9±0.55 <sup>c</sup>	16.6±1.72 <sup>c</sup>
25	51±22.5 <sup>a</sup>	0.5±0.01 <sup>a</sup>	25.3±9.15 <sup>b</sup>	7.1±0.35 <sup>b</sup>	3.4±0.65 <sup>b</sup>	10.2±1.94 <sup>b</sup>
34	20±5.9 <sup>a</sup>	0.6±0.08 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.0±0.00 <sup>a</sup>	0.4±0.15 <sup>a</sup>	1.0±0.50 <sup>a</sup>

\*Values(mean±SD of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ )

## 1. 2. 염분에 따른 부화율 조사

염분에 따른 내구란의 부화율 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 최고 부화율은 10‰에서 66.6%로 유의적으로 가장 높은 값을 보였으며, 다음으로 5‰에서 45.5%의 값을 보였다( $P < 0.05$ ). 15, 20 및 25‰의 부화율 값은 각각 34.1, 32.9, 27.3%로 나타났는데 실험구간의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

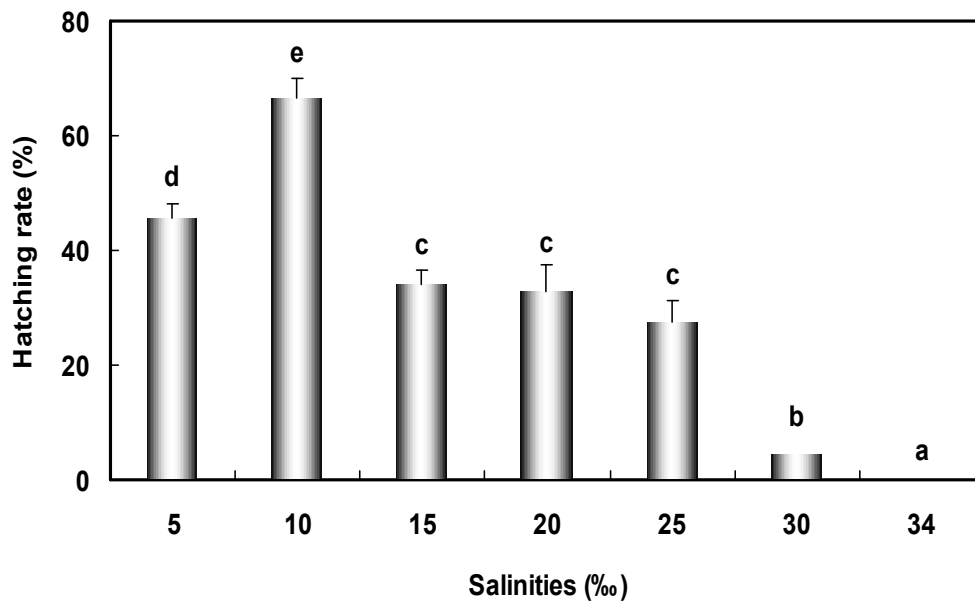


Fig. 1. Hatching rate of the resting eggs on the different salinities.

## 2. 수온에 따른 내구란 생성

### 2. 1. 내구란 생산

수온에 따른 *S. kitina*의 최고밀도, 성장률, 유성생식률, 수정률 및 내구란 생산에 대한 결과는 Table 2에 나타내었다. 최고밀도는 16°C에서 1,405 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났( $P < 0.05$ ). 그 뒤로 12 및 20°C에서 각각 508, 422 개체/mL로 높게 나타났다. 반면 8°C에서는 110 개체/mL로 유의적으로 낮게 조사되었다( $P < 0.05$ ). 개체 성장률은 16°C가 유의적으로 높게 나타났지만( $P < 0.05$ ), 20 및 24°C와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 유성생식률 및 수정률은 20°C에서 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P < 0.05$ ), 16°C와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 일일 내구란 생산은 20°C에서 31.3 개로 유의적으로 높게 나타났지만 16°C와 차이는 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 반면 8 및 12°C에서는 각각 1.0, 2.2 개로 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). mL 당 내구란 생산에 있어서도 20°C 실험구에서 62.6 개로 유의적으로 가장 높게 나타났( $P < 0.05$ ). 그러나 16°C 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

Table 2. Growth, sexual rate and production of resting eggs of *S. kitina* on the different temperatures\*

Tem. (°C)	Maximum density (inds./mL)	Specific growth rate (SGR)	Mixis rate (%)	Fertilization (%)	No. of resting egg/day	No. of resting egg/mL
8	110±23.0 <sup>a</sup>	0.3±0.02 <sup>a</sup>	28.3±10.45 <sup>a</sup>	10.4±2.10 <sup>a</sup>	1.0±0.26 <sup>a</sup>	4.2±0.27 <sup>a</sup>
12	508±103.3 <sup>c</sup>	0.5±0.02 <sup>b</sup>	17.7±10.75 <sup>a</sup>	8.3±0.10 <sup>a</sup>	2.2±0.43 <sup>a</sup>	9.8±0.06 <sup>a</sup>
16	1,405±38.3 <sup>d</sup>	0.6±0.00 <sup>c</sup>	50.0±11.15 <sup>b</sup>	29.2±4.15 <sup>b</sup>	26.3±7.38 <sup>c</sup>	52.6±12.2 <sup>c</sup>
20	422±51.5 <sup>c</sup>	0.6±0.01 <sup>c</sup>	53.0±11.30 <sup>b</sup>	44.5±13.85 <sup>bc</sup>	31.3±6.47 <sup>c</sup>	62.6±4.24 <sup>c</sup>
24	234±35.8 <sup>b</sup>	0.6±0.02 <sup>c</sup>	19.1±11.15 <sup>a</sup>	23.7±6.95 <sup>b</sup>	14.0±2.11 <sup>b</sup>	28.2±2.41 <sup>b</sup>

\*Values (mean±SD of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## 2. 2. 수온에 따른 부화율 조사

수온에 따른 내구란의 부화율 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 유의적으로 가장 높은 부화율은 16℃로 평균 32.8%의 값을 보였다( $P < 0.05$ ). 그 뒤로 20 및 24℃가 각각 17.1, 0.1%의 부화율을 보였다. 그러나 28 및 32℃의 경우, 내구란의 부화가 관찰되지 않았다.

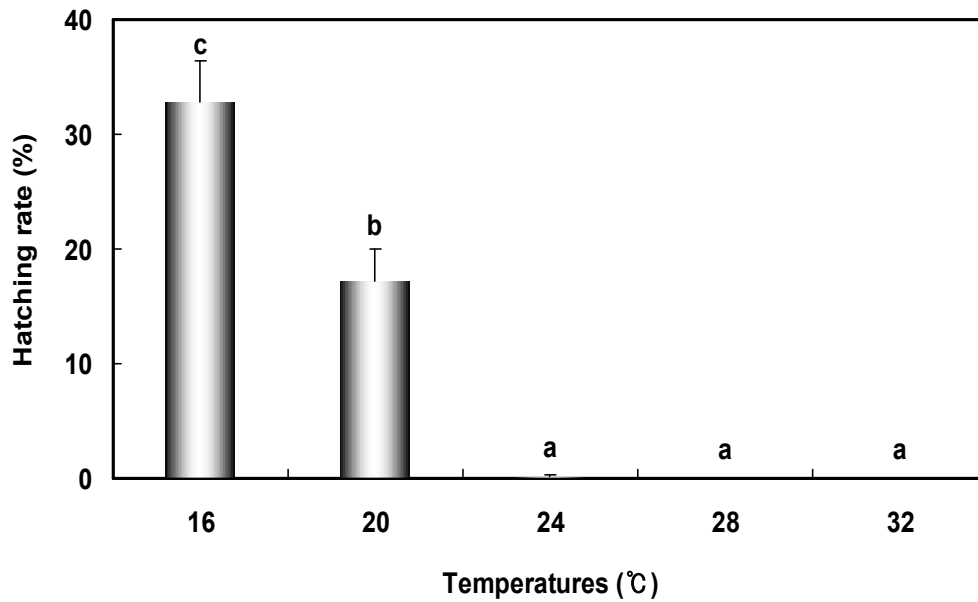


Fig. 2. Hatching rate of the resting eggs on the different temperatures.



### 3. 먹이 공급량에 따른 내구란 생산

먹이 공급량에 따른 *S. kitina*의 최고밀도, 성장률, 유성생식률, 수정률 및 내구란 생산에 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 최고밀도는 rotifer 1,000 개체 당 0.4 mg 공급구에서 542 개체/mL로 유의적으로 가장 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 0.8 및 1.6 mg 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 개체 성장률은 0.2 및 0.4 mg 공급구에서 0.6으로 유의적으로 높게 나타났으나( $P<0.05$ ). 유성생식률은 1.6 mg 공급구에서 41.1%로 높은 값을 보였으나( $P<0.05$ ), 0.8 mg 공급구와 유의적인 차이는 나타나지 않았다( $P>0.05$ ). 수정률은 0.8 mg 공급구에서 35.8%로 유의적으로 가장 높게 나타났으나 0.4 mg 공급구와 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 일일 내구란 생산에 있어서는 1.6 mg 공급구에서 33.0 개로 가장 높게 나타났지만 0.4 및 0.8 mg 공급구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ). mL 당 내구란 생산은 0.8 mg 공급구에서 62.0 개로 유의적으로 높게 나타났으나( $P<0.05$ ), 0.4 및 0.8 mg 공급구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다( $P>0.05$ ).

Table 3. Growth, sexual rate and production of resting eggs of *S. kitina* on the different feed quantities \*

Feed quantities (mg/1,000 rotifers)	Maximum density (inds./mL)	Specific growth rate (SGR)	Mixis rate (%)	Fertilization (%)	No. of resting egg/day	No. of resting egg/mL
0.1	226±67.5 <sup>a</sup>	0.4±0.02 <sup>a</sup>	20.9±2.90 <sup>a</sup>	7.8±3.62 <sup>a</sup>	1.0±0.26 <sup>a</sup>	8.0±2.24 <sup>a</sup>
0.2	316±20.1 <sup>b</sup>	0.6±0.01 <sup>c</sup>	22.4±3.95 <sup>a</sup>	10.2±3.14 <sup>a</sup>	2.2±0.43 <sup>a</sup>	16.4±6.80 <sup>a</sup>
0.4	542±32.8 <sup>c</sup>	0.6±0.01 <sup>c</sup>	28.8±3.14 <sup>ab</sup>	30.9±7.93 <sup>bc</sup>	26.3±7.38 <sup>b</sup>	52.6±2.82 <sup>b</sup>
0.8	532±24.5 <sup>c</sup>	0.5±0.02 <sup>b</sup>	32.9±5.21 <sup>bc</sup>	35.8±5.91 <sup>c</sup>	31.3±6.47 <sup>b</sup>	56.6±8.54 <sup>b</sup>
1.6	540±22.8 <sup>c</sup>	0.5±0.03 <sup>b</sup>	41.1±6.95 <sup>c</sup>	21.8±2.85 <sup>b</sup>	33.0±2.11 <sup>b</sup>	62.0±2.21 <sup>b</sup>

\*Values (mean±SD of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## IV. 고찰

### 4. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산

#### 4. 1. 염분에 따른 내구란 생산 및 부화율 조사

Rotifer의 유성생식률, male과 미수정 mictic female의 수정률 및 수정된 mictic female의 내구란 산란수는 내구란 생산에 많은 영향을 미치게 된다(Hagiwara, et al., 1989). 그렇기 때문에 내구란을 대량생산하기 위해서는 이러한 요인들의 수정률 및 생식률을 높여주어야 할 것이다.

한편, L-type rotifer인 *B. plicatilis* 종은 염분이 낮아질수록 유성생식률 및 내구란 산란수가 높아진다고 하였다(Hino and Hirano, 1984, 1985, 1988; Lubzen et al., 1985; Hagiwara et al., 1988a; Hagiwara and Lee, 1991). 이와 달리 S-type rotifer인 *B. rotundiformis* 종은 염분이 높아질수록 유성생식률 및 수정률이 높아져 많은 내구란을 생산할 수 있는 것으로 보고되고 있다(Snell, 1986; Hagiwara et al., 1989; Hagiwara and Lee, 1991). 다만 30% 이상이 되면 다시 감소하는 경향을 보이게 된다(Snell, 1986). 이처럼 *B. plicatilis* 및 *B. rotundiformis* 종의 내구란 생산은 같은 염분에 있어서 상반된 경향을 보이게 된다. 본 실험에서는 염분이 낮을수록 유성생식률, 수정률 및 내구란 산란수가 높아 L-type와 유사한 경향을 보이는 것으로 나타났다. 다만 15%에서 비교적 높은 유성생식률과 내구란 생산량을 보였는데 이는 내구란 형성 시의 염분이 차후 그 염분에 대한 유성생식률에 영향을 준다는 보고에 기인되는 것으로 판단된다(Hino and Hirano, 1988; Hagiwara et al., 1995).

일반적으로 rotifer의 내구란 부화율은 부화환경에 따라서 다양하게 나타나는 것으로 보고되고 있다(Hagiwara et al., 1985a, 1985b; Minkoff et al., 1983). Minkoff et al. (1983)에 의하면, *B. plicatilis*의 내구란 최적 부화 염분은 16%에서 40~70%이며(12~15°C), Hagiwara et al. (1985a)는 비교적 저염인 8%에서 90%라고 보고하였다(25°C). 반면 *B. rotundiformis*는 4~32%에서

83~100%의 부화율을 보인다고 하여 고염분에서도 내구란의 부화가 가능한 것으로 발표하였다(Hagiwara et al., 1989, 1995). 본 실험에서는 5~10%의 비교적 저염에서 내구란의 부화율이 가장 높게 나타나 Minkoff et al. (1983)에 연구결과와 유사한 것으로 조사되었다.

본 연구를 종합해 볼 때, 염분에 따른 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산은 최고밀도, 수정률, 유성생식률 및 내구란 산란수가 높았던 5~10%이며, 최적 부화율은 10%인 것으로 판단된다.

#### 4. 2. 수온에 따른 내구란 생산 및 부화율 조사

해수산 rotifer, *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*의 성장과 내구란 생산은 수온에 많은 영향을 받는데(岡彬, 1989; Hagiwara et al., 1988a; Hagiwara and Lee, 1991; Hino and Hirano, 1984), 피갑장의 크기가 큰 *B. plicatilis*는 수온이 낮을수록, 크기가 작은 *B. rotundiformis*는 수온 30℃ 부근에서 성장이 높은 것으로 각각 보고되었다(岡彬, 1989). 또한 Awsiss and Kestemont (1992)는 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 최적 성장 수온은 25℃라고 보고하였으며, Kang et al. (1997)은 수온 22, 25 및 28℃에서 *B. calyciflorus*의 성장률을 비교하였을 때 25℃가 22℃와 28℃보다 높다고 보고하였다. 그러나 Rico-Martines and Dodson (1992) 및 Park (1998)은 수온이 높을수록 *B. calyciflorus*의 증식율이 높게 나타났으며 수온 30℃ 이상에서 가장 높게 나타났다. 본 실험에서도 8, 12℃의 저온에 비해 16 및 20℃에서 rotifer의 성장이 높게 나타나는 것으로 조사되었다. 또한 유성생식률 및 내구란 산란수를 비교해 보더라도 16 및 20℃에서 높은 것으로 나타났다. 이는 본 수온에서 mictic female의 출현량 증가와 male의 활력이 향상되었기 때문인 것으로 판단된다. Hagiwara et al. (1988a, 1989)은 mictic female의 출현은 높은 수정률을 유도할 수 있게 되는데 이것은 mictic female의 밀도 증가에 따른 수컷과의 교미빈도가 증가하기 때문이라고 하였다. 또한 Snell and Garman (1986)은 rotifer의 유영력은 교미에 아주 중요한 요인이 된다고 하여 내구란 생산

이 높은 환경에서 male의 활력은 높게 나타났다고 하였다. 본 실험에서도 이러한 요인이 작용한 것으로 판단된다.

일반적으로 자연 상태에서의 rotifer 내구란은 90% 이상으로 높게 나타나지만 인위적으로 생산된 내구란은 50% 이하로 내구란의 부화율에 많은 차이가 있다고 한다(Hagiwara et al., 1997). 그렇기 때문에 적정 환경의 규명을 통한 부화율의 향상은 반드시 실행되어야 할 것이다. 한편 해수산 rotifer, *B. plicatilis*의 수온별 내구란 부화율은 28°C에서 가장 높은 부화율을 보였으며, 수온이 낮아질수록 감소하는 경향을 보인다고 하였다(Park and Hur, 1996). 그러나 본 실험에서는 가장 저염인 16°C에서 높은 부화율을 보여 상반된 결과를 나타냈는데, 이는 본 종의 특성에 따른 것으로 판단된다.

본 실험을 종합해 볼 때, 수온에 따른 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란 생산 및 최적 부화율은 16°C라 판단된다.

#### 4. 3. 먹이 공급량에 따른 내구란 생산













Rotifer는 먹이농도가 낮아질수록 수명이 길어지고 산란수는 낮아지며, 먹이량이 많을수록 rotifer 생산량이 증가한다고 보고하였다(Lee et al., 2001; Groeneweg and Schlüter, 1981; Guisande and Mazuelos, 1981; Galindo and Guisande, 1993). 본 실험에서도 먹이 공급량이 점차 증가할수록 rotifer의 성장이 높게 나타나 기존 연구와 유사한 경향을 보였다.






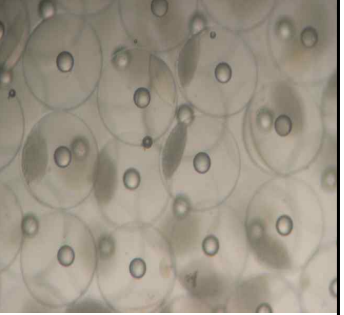



한편 Snell and Boyer (1988)에 의하면, 무성생식 female이 무성생식 female을 낳는 것보다 유성생식 female을 낳는데 약 10배 정도의 먹이를 더 요구한다고 보고하였다. 해수산 rotifer, *B. plicatilis*의 유성생식은 먹이농도가 0.1 및 0.5×10<sup>6</sup> 세포/mL 일 때 전혀 내구란 생산을 보이지 않았으나, 먹이농도가 10배 이상인 2×10<sup>6</sup> 세포/mL에서는 생산되는 것으로 보고되었다(Lubzens, 1981). 이러한 결과는 먹이농도가 높을수록 내구란 생산이 높은 것으로 판단되지만, 본 실험에서는 rotifer 1,000 개체 당 *T. suecica*를 건조중량 0.4 mg으로 공급한 실험구에서 최고밀도가 높게 나타났고, 유성생식율은 1.6

mg 공급구에서 가장 높은 41.1%로 나타났다. 또한 일일 내구란 생산량 및 mL 당 내구란 생산량은 1.6 mg에서 가장 많은 내구란 생산을 보였지만 0.4 및 0.8 mg 공급한 실험구와의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그러나 먹이 공급량이 높을수록 유성생식율은 분명 증가하는 것으로 경향을 보였기 때문에 앞으로 먹이 공급량을 더 증가시켜 실험할 필요성이 있는 것으로 판단된다.

본 실험을 종합해 볼 때, 먹이 공급량에 따른 초소형 rotifer, *S. kitina*의 최적 내구란 생산조건은 *T. suecica*를 rotifer 1,000개체 당 건조중량 0.8~1.6 mg으로 공급하는 것이 효과적일 것으로 판단되어진다.

※ 연구과제 수행 사진

		
<사진1> 균집배양 사진	<사진2> 0.5 ton 대량배양	<사진3> 수조 내 모습
		
<사진4> 12 ton 취치실험	<사진5> 20 L 취치실험	<사진6> 취치자어(8일령)
		
<사진7> 동갈뚝뚝(2일령)	<사진 8> 저온 띄기실험	<사진9> 0.1 ton 대량배양
		
<사진10> <i>T. suecica</i> 대량 배양(30 L 원형수조)	<사진11> <i>T. suecica</i> 대량 배양(100L 판형배양)	<사진12> <i>T. suecica</i> 대량 배양(1 ton 야외수조)

		
<사진13> 내구란 (400배)	<사진14>내구란 대량생산	<사진15> 환수율 실험
		
<사진16> 1 ton (batch 배양방법)	<사진17> 1 ton (반 연속 배양방법)	<사진18> 능성어 수정란
		
<사진19> 능성어류 실험	<사진20> 능성어류 자어 (부화 당일)	<사진21> 먹이섭취 모습



## 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야의 기여도

### ※ 1차년도의 연구목표 달성도 및 관련분야의 기여도

#### 1. 초소형 rotifer, *Synchaeta kitina*의 채집 및 분리

국내·외적으로 입의 크기가 작은 어류의 종묘생산을 위한 초소형 rotifer의 개발은 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 이러한 점을 인식하여 먹이생물로서 초소형 rotifer를 개발하기 위해 동해안의 기수호를 중심으로 후보 종들을 검색하였다. 그 결과, 경포호, 화진포호 및 송지호에서 성체의 크기가 100  $\mu\text{m}$  이하인 초소형 rotifer, *S. kitina*를 채집할 수 있었으며, 또한 이들을 성공적으로 분리할 수 있게 되었다.

이로 인해, 전 세계적으로 아직 수행되지 않은 초소형 rotifer의 대량배양을 위한 원종과 그에 따른 strain을 확보할 수 있게 되었다.

#### 2. 대량배양을 위한 초소형 rotifer, *S. kitina*의 최적배양환경 규명

본 연구계획을 성공적으로 수행하기 위해 이들의 배양환경을 유전적(strain 선별), 물리적(수온, 염분) 및 생물학적(먹이종류)인 요인들로 나누어 실험을 행하였다.

우선, 유전적 요인으로 대량배양을 위한 우수한 strain을 선택하게 되었다. 초소형 rotifer, *S. kitina*가 채집된 곳은 송지호, 화진포호 및 경포호로 각각의 strain은 산란수와 수명이 다르게 나타났다. 실험결과, 경포호 strain이 다른 strain에 비해 산란수 및 수명이 높게 나타나 대량배양을 위한 최적의 strain은 경포호라는 사실을 알 수 있었다. 물리적 요인인 수온 및 염분에 따른 이들의 성장은 저염, 저온인 5‰, 16°C에서 가장 높은 것으로 조사되었으며, 생

물학적 요인인 먹이종류에 따른 결과에서는 *Tetraselmis* sp.를 공급하는 것이 효과적인 것으로 조사되었다.

동물성 먹이생물을 배양함에 있어 가장 기본이 되는 사항은 염분, 수온 및 먹이종류이다. 물론 환수일, 접종밀도, 환수율 및 먹이공급량 등도 중요한 요인들이지만 이들 조건은 대량배양을 위해 충족시켜야할 기타조건들이라 할 수 있다.

본 연구목표의 실적은 대량배양을 위한 기초 자료의 초석을 제공함으로써 물론, 원종의 지속적인 유지와 안정적인 배양(기초배양→중간배양)이 가능하게 해 주었다. 현재까지 초소형 rotifer, *Synchaeta* 속을 배양한 사례는 몇몇 있긴 하지만 그 규모와 개체밀도는 극히 낮은 수준으로 먹이생물로서 이용이 불가능하였다. 하지만 본 연구계획을 통해 앞으로 대량배양의 가능성이 크다는 사실을 확인시켜 줄 수 있었다.

### 3. 염분변화에 따른 초소형 rotifer의 활력 조사

초소형 rotifer는 낮은 염분에서 배양이 잘되는 경향을 보여 일반적으로 자연해수에서 사육되는 자어에게 공급할 경우, 이들의 활력이 저하되어 자어가 잘 섭취하기 어려운 경우가 발생할 것으로 판단된다. 따라서 염분변화에 대한 이들의 내성을 함께 조사하여 자어의 먹이로 공급할 경우 최적 배양염분 조건을 규명하였다. 그 결과, 고염분에서 순치할수록 생존율은 높아지는 경향을 보여 자어의 먹이로 공급하기 전에는 고염분에서 순치하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

이러한 연구목표의 달성으로 인해 먹이효율 실험에서 발생될 시행착오(문제)를 해결할 수 있었으며, 아울러 고염분에서 순치되어 염분 내성력이 강한 새로운 strain을 확보할 수 있게 되었다.

## ※ 2차년도의 연구목표 달성도 및 관련분야의 기여도

### 1. 고밀도 대량배양 system 개발

초소형 rotifer, *S. kitina*를 먹이생물로써 개발하려는 목적은 결국 현장에서 시급히 요구되고 있는 애로사항이기 때문에 가능한 빠른 시일 내에 현장에서 활용할 수 있게끔 PILOT 규모로 발전시켜야 할 것이다. 이를 위해서는 본 종의 고밀도 대량배양이 선행되어야만 한다.

따라서, 본 연구목표에서는 고밀도 대량배양을 위해 이들의 최적 배양환경(접종밀도, 환수일 및 환수량 등)을 규명하였다. 또한 이러한 배양환경을 바탕으로 0.1 및 0.5 ton에서 대량배양을 행하여 본 종의 대량배양 system 개발을 완성하게 되었다.

이러한 연구목표 달성에 의해 보다 경제적이고 효율적인 배양 system이 개발되었으며, 또한 현장에서도 적용할 수 있는 고밀도 배양 system이 구축되었다. 또한 대량배양된 rotifer를 저온에서 효과적으로 보관·저장할 수 있는 기술을 확보함으로써 종묘생산 시 갑작스러운 개체붕괴로 인한 먹이부족 현상을 사전에 미리 예방할 수 있게 되었다.

결과적으로 초소형 rotifer의 고밀도 대량배양 system 개발로 인해 종묘생산 시 문제가 될 수 있는 먹이공급의 안정성을 확보할 수 있게 되었다. 아울러, 본 연구를 통한 초소형 rotifer의 대량배양기술개발 확보는 이와 관련된 분야에서 국내·외적으로 그 차지하는 위치가 높다고 할 수 있겠다.

### 2. 초소형 rotifer, *S. kitina*의 영양분석 및 먹이효율(동갈뚝뚝 및 쥐치)

초소형 rotifer, *S. kitina*의 질적인 우수성을 규명해 보고자 기존의 먹이생물인 rotifer, *Brachionus rotundiformis* (S-type 및 SS-type)에 영양강화를 행한 것과 그렇지 않은 실험구를 두어 비교 분석해 보았다. 그 결과, 총 지질 및 지질 class의 경우 초기 자어에게 중요한 strols, phospholipid의 함량은 *S.*

*kitina*에서 높은 것으로 나타났다. 또한 필수아미노산인 threonine, valine, methionine, arginine 및 histidine(준필수아미노산)의 함량이 높게 나타났으며, 비필수아미노산 중에서는 어류 자어의 성장에 직접적인 영향을 미치는 taurine 함량이 높은 것으로 조사되었다. 또한 DHA 함량이 기존의 먹이보다 높은 것으로 나타났다. 이처럼 영양강화를 행하지 않았음에도 불구하고 질적으로 매우 우수하다는 사실을 확인할 수 있었다.

이렇게 질적으로 우수하고 대량배양을 통해 얻어진 초소형 rotifer를 동갈돔돔 및 쥐치 자어에게 공급하여 먹이효율을 조사해 본 결과, 쥐치 자어의 생존율이 기존의 먹이보다 높은 것으로 나타났다.

본 연구목표의 달성을 통해 질적 향상을 위한 영양강화 방법을 강구하게 되었고, 비록 동갈돔돔 및 쥐치 자어의 성장에는 기존의 먹이와 차이가 없었지만 생존율 측면에서는 향상된 결과값을 보여 새로운 먹이생물로써의 그 가능성을 제시해 주었다.

### 3. 대량배양 시 경제성 분석

본 연구목표는 초소형 rotifer를 대량배양 함에 있어 보다 경제적이고 효율적으로 행하기 위해 이루어졌다. 0.5 ton 규모에서 초소형 rotifer를 1억 개체 생산시 드는 경비는 먹이가 32,000원(46.4%), 인건비 36,000원(52.2%) 및 연료비 1,000원(1.4%)으로 총 69,000원이 소요되는 것으로 조사되었다.

본 연구는 batch 배양방법을 통해 이루어졌기 때문에 인건비의 비율이 절반 이상으로 높게 나타났다. 종묘생산 시 먹이에 대한 비율은 30% 이상이며 이러한 비율 중에 대부분은 인건비가 차지하게 된다. 따라서 본 종에 있어 보다 경제적이고 효율적인 배양방법은 인건비의 지출을 최대한 줄이는 것이다.

이상의 결과를 통해 앞으로 경제적인 배양 system 구축의 중요성을 인식할 수 있었으며, semi-continuous 방법과 같은 다른 배양 system을 강구할 수 있게 만들어준 계기가 되었다.

## ※ 3차년도의 연구목표 달성도 및 관련분야의 기여도

### 1. 현장규모의 고밀도 대량배양기술 개발

Batch 및 semi-continuous의 배양방법에 따른 생산비용과 rotifer의 양적인 확보(안정성)에서 어떠한 방법이 우수한지를 조사해 보기 위해 본 연구가 계획되었다.

실험 결과, 1 ton에서 rotifer를 1억 개체 생산하는데 드는 비용은 batch 방법의 경우 먹이가 17,121원(22%), 인건비 48,000원(62%) 및 연료비 12,000원(16%)으로 총 77,121원으로 인건비가 대부분을 차지하는 것으로 조사되었다. 반면 semi-continuous 배양에서는 먹이가 36,051원(47%), 인건비 24,000원(31%) 및 연료비 6,000원(8%)으로 총 66,051원의 생산비용이 드는 것으로 나타났다. 또한, 이 중 인건비의 금액이 batch 방법에 비해 낮은 것으로 조사되었다. 또한, 총 생산량도 semi-continuous 배양방법에서 높게 나타나 양적인 측면에서도 우월하였으며 배양기간도 batch 방법에 비해 길게 나타나 지속성·안정성을 입증할 수 있었다.

본 연구계획을 달성함에 따라 초소형 rotifer, *S. kitina*를 현장에서 보다 안정적이고 경제적으로 대량배양하기 위해서는 semi-continuous 배양방법을 적용해야한다는 사실을 확인할 수 있었다.

### 2. 능성어류의 먹이효율

본 연구결과, *S. kitina*를 섭취한 능성어류 자어의 생존율은 기존의 먹이생물을 공급한 실험구에 비해 월등히 높은 것으로 나타났다. 이는 결국엔 입의 크기가 작은 능성어류 자어가 *S. kitina*를 원활히 섭취하였기 때문에 나타난 결과라 할 수 있다. 그 근거로 능성어류 자어의 장 내부에 *S. kitina*의 저작기가 많이 산재되어 있는 것을 관찰할 수 있었다.

이러한 결과를 통해 본 연구과제의 궁극적인 목적인 입이 작은 어류의 새

로운 먹이생물로써의 그 가능성·우수성·안정성을 입증할 수 있었다.

본 연구계획을 달성함에 따라 그 동안 초기 먹이문제로 인공종묘생산이 불가능했던 능성어류의 종묘생산이 가능해질 것으로 판단되어진다. 제주도를 중심으로만 이루어지던 능성어류의 종묘생산이 국내 어디에서나 가능해질 것이며, 또한 기타 다른 어종들의 종묘생산도 가능해져 새로운 신품종 개발로 인한 양식산업의 큰 파급효과를 기대해 볼 수 있을 것으로 사료된다.

### 3. 영양강화 기술개발

성공적인 인공종묘생산을 위해서는 초기 자·치어의 생존율을 높여주어야 한다. 그러기 위해서는 초기 먹이생물인 rotifer의 양적 및 질적인 문제를 충족시켜야만 할 것이다.

1, 2년차 연구수행을 통해 초소형 rotifer의 양적인 문제는 해결할 수 있게 되었으나, 해산자어가 요구하는 영양학적인 측면에 질적 개선을 위한 연구는 본 연구목표에 수행되기 전까지는 미미한 수준이었다. 따라서, 본 연구는 초소형 rotifer의 질적 향상을 위해 적절한 영양강화제의 선택, 농도 및 영양강화 시간 등의 환경조건을 규명하는데 그 목적을 두었다. 그 결과, 개체밀도에 큰 악영향을 주지 않고, 자어가 요구하는 ARA, DHA, EPA, n-3 HUFA 함량, DHA/EPA 및 EPA/ARA 비율의 최적 조건들을 확인할 수 있게 되었다.

본 연구계획을 통해 규명된 초소형 rotifer의 질적개선 효과는 앞으로 자어의 성장 및 생존율에 더욱 긍정적인 영향을 미친 것으로 기대된다. 아울러 *Synchaeta* 속에 관한 영양강화에 관련된 자료는 거의 없는 실정이라 본 자료는 앞으로 *Synchaeta* 속의 영양강화에 관해 좋은 기초자료가 될 것이라 판단된다.

### 4. 원종보급을 위한 내구란 생산

일반적으로 rotifer를 배양하다 보면 시간이 지날수록 배양수질의 악화, 먹

이부족에 따른 개체감소, bacteria의 개체 증식 및 오염 등의 문제를 가지게 된다. 그로 인해 갑작스러운 rotifer의 개체붕괴가 일어나게 되어 종묘생산에 큰 차질을 빚게 만든다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 본 연구에서는 초소형 rotifer, *S. kitina*의 내구란을 생산하기 위해 수온, 염분 및 먹이 공급량에 따른 생산량을 조사해 보았으며, 또한 최적 부화율을 함께 알아보았다. 내구란은 취급·보관이 용이하고 대량배양 시 seed 역할을 수행하며, 종의 유전적 형질을 효율적으로 보관할 수 있는 장점을 가지고 있어 초소형 rotifer의 내구란이 대량생산만 이루어진다면 보다 안정적인 종묘생산이 가능해질 것으로 판단되어진다.

본 연구목표를 달성함에 따라 현장에 계신 양식업자들에게 원활한 원종 보급을 행할 수 있게 되었으며, 그로 인해 종묘생산 시 원종 미확보에 따른 먹이의 불안정성 문제를 사전에 미리 해결할 수 있게 되었다. 또한 종묘생산이 진행되는 동안 갑작스러운 rotifer의 개체붕괴에 따른 먹이부족 문제도 신속하게 대처할 수 있게 되어 보다 안정적인 종묘생산을 가능케 해 줄 것이다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### ※ 활용방안 및 계획

- ◎ 본 연구의 최종 목표는 실험실 규모가 아닌 실제 종묘생산 현장에서의 애로를 해결하여 산업적 규모의 실용화 기술을 개발하는 것이므로 개발된 연구를 바탕으로 실용화 또는 사업화 되도록 추진하겠다.
- ◎ 개발된 배양기와 대량생산기법을 양식관련 학회, 설명회를 개최거나 또는 양식잡지 및 인터넷을 통하여 양식어민에게 홍보를 한다. 본 연구를 통해 얻어진 성과는 실제 교육현장에서 응용할 수 있는 자료로 그 활용 가능성이 높다고 할 수 있다.
- ◎ 해수 관상어와 관련하여 사업화 및 타연구 분야와의 응용이 가능할 것으로 판단된다. 해수 관상어 중에서도 flame angel fish, lemonpeel angelfish 및 three spot humbug (셋별돔) 등은 소비자들한테 기호성이 좋은 종이지만, 입의 크기가 작아 종묘생산이 거의 이루어지고 있지 않다. 따라서 본 연구과제를 통해 개발된 먹이생물을 해수 관상어의 초기 먹이생물로써 이용한다면 또 다른 새로운 고부가치의 산업화로 연계할 수 있을 것이라 판단된다.
- ◎ 본 종의 원종 strain 및 대량배양 시의 전 과정을 기술이전료를 지불할 수 있는 먹이생물업자[(주)아쿠아넷, (주)아쿠아티피드, (주)엔엘피 등]에게 기술이전을 고려할 수 있다. 이미 본 종에 대한 특허가 등록(제 10-0777242 호)이 되었기 때문에 충분한 가치가 있다고 할 수 있다.
- ◎ 현재까지 초소형 rotifer, *S. kitina*의 학술적인 연구는 거의 전무한 실정



이다. 따라서 많은 연구결과를 세계양식 관련 학회 및 저널 등에 투고함으로써 국적 있는 연구로 국가의 위상을 물론 관련 학술 자료의 축적에 크나큰 영향을 줄 것으로 기대된다.

- ◎ 초소형 먹이생물의 개발로 인해 입이 작은 어류의 종묘생산이 가능해짐에 따라 양식 대상종의 확대가 기대된다. 또한 멸종 단계의 어종에 자원 복구와 자원 조성에도 긍정적인 영향을 줄 것이다.
  
- ◎ 기타 다른 입의 크기가 작은 어종(자바리, 붉바리, 홍바리, 구실우럭, 도도바리 및 닳줄바리 등)들에게도 먹이효율을 조사해 볼 수 있겠다. 다만 이러한 어종들의 경우, 친어확보와 난을 구하기가 힘들기 때문에 남해안 및 제주도의 일반 양어장과 국공립 수산연구소를 중심으로 제휴를 통한 연구가 이루어져야 할 것이다. 이러한 다양한 어종의 종묘생산이 가능해진다면 경쟁력 있는 고소득의 신품종이 개발되는 것이므로 양어가의 소득증대에 큰 도움이 될 것이다.
  
- ◎ 새로운 먹이생물의 안정적인 대량배양으로 먹이생물의 사업화를 추진할 수 있게 된다(기타 양식 관련 소재 및 관련 분야 사업 발전). 특히, 본 종을 이용한 벤처사업 등을 고려해 볼 수 있겠다.
  
- ◎ 능성어류들은 우리나라뿐만 아니라 일본, 중국, 동남아시아 지역에서도 식용어로서 기호도가 높은 어종이기 때문에 종묘생산 기술 개발과 산업화에 적극적인 연구개발 투자가 이루어지고 있다. 우리나라의 경우, 최근 제주 연근해에 서식하는 능성어류의 자원이 급격히 감소하여 자바리 및 능성어는 어체중 kg 당 10만원 내외를 호가하고 있고, 이러한 수요급증으로 일부는 외국으로부터 수입되고 있는 실정이다. 일반 양어가에서도 능성어 양식에 대한 관심이 고조되고 있으나 친어확보의 어려움과 초기 먹이생물의 미개발로 인해 생산에 제한적이였다. 하지

만 본 연구과제를 통해 종묘생산업자가 자어의 먹이를 직접 배양함으로써 안정적인 종묘생산이 가능케 되어 양식산업의 국가 경쟁력을 확보해 줄 것으로 기대된다.

## ※ 추가연구의 필요성

- ◎ 본 연구과제를 수행함에 있어 대량배양 시 원인 모를 갑작스러운 개체 붕괴를 경험하게 되었다. 이러한 이유로 bacteria의 영향 때문이라 판단된다. Maeda and Hino (1991)에 따르면 rotifer 먹이로 사용되는 *Nannochloropsis* sp.에서 rotifer 성장을 강하게 억제하는 bacteria인 *Flavobacterium*<sup>o</sup>이 성장된다고 보고하였다. 또한 rotifer 배양수 내의 *Vibrio alginolyticus*도 rotifer의 급격한 개체 감소를 야기 시킨다고 하였다(Yu et al., 1994; Martínez-díaz et al., 2003). 따라서 본 실험에서도 이러한 bacteria가 실험기간 중에 rotifer 성장에 영향을 미친 것으로 판단되며 어떤 박테리아가 어떤 밀도에서 영향을 미치는가는 추가적인 실험을 통해 밝혀야 할 것으로 사료된다.
- ◎ 본 종의 경우, 비교적 낮은 NH<sub>3</sub>-N의 농도일 때 개체가 감소하는 것으로 조사되었다. 보다 정확히 ammonia의 영향을 알아보기 위하여 아질산 및 질산염의 수치를 측정하여 total ammonia 값을 조사해 봐야할 것으로 판단된다.
- ◎ 여러 가지 장점을 가지고 있는 내구란의 생산 및 부화율을 조사하였다. 하지만 현장에 지속적인 분양을 위해 내구란의 저장·보관 방법에 따른 *S. kitina*의 부화율을 추가적으로 조사해 봐야 할 것으로 판단된다. 종묘생산 기간은 일정기간에만 이루어지기 때문에 초소형 먹이생물이 필요로 하는 시기는 한정적이라 할 수 있다. 따라서 필요에 따라 내구란을 부화시켜 먹이로 이용하기 위해서는 저장 및 보관 시 최적의 환경조건으로 부화율을 극대화 시켜야 할 것이다.

## 제 6 장 참고문헌

- Abe, H., 1987. Effect of growth on the concentration of L-histidine and anserine in the white muscle of carp and rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 1657-1661.
- Aragão, C., L. E. C. Conceição, M. T. Dinis and H. J. Fyhn, 2004. Amino acid pools of rotifers and *Artemia* under different conditions: nutritional implications for fish larvae. *Aquaculture*, 234, 429-445.
- Araujo, A. B. de., A. Hagiwara and T. W. Snell, 2001. Effect of unionized ammonia, viscosity and protozoan contamination on reproduction and enzyme activity of the rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Hydrobiologia*, 446/447, 363-368.
- Arndt, H., C. Schöder and W. Schnese, 1990. Rotifers of the genus *Synchaeta* an important component of the zooplankton in the costal waters of the Southern Baltic. *Limnologia* 21, 233-235.
- Assavaaree, M., A. Hagiwara and E. Lubzens, 2001. Factors affecting low temperature preservation of the marine rotifer *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff. *Hydrobiologia*, 446/447, 355-361.
- Awaïss, A. and P. Kestemont, 1992. An investigation into the mass production of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. 2. Influence of temperature on the population dynamics. *Aquaculture*, 105, 337-344.
- Becker, B., K. Hard, M. Melkonian, J. P. Kamerling and J. F. G. Vliegthart, 1989. Identification of 3-deoxy-manno-2-octulosonic acid, 3-deoxy-5-O-methyl-manno-2-octulosonic acid and 3-deoxy-lyxo-2-heptulosaric acid in the cell wall (theca) of the green alga *Tetraselmis striata* Butcher

- (Prasinophyceae). Eur. J. Biochem., 182, 153-160.
- Bell, J. G. and J. R. Sargent, 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture, 218, 491-499.
- Bell, J. G., D. R. Tocher and J. R. Sargent, 1994. Effect of supplementation of 20:3(n-6), 20:4(n-6) and 20(n-3) on the production of prostaglandins E and F of the 1-, 2- and 3series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. Biochem. Biophys. Acta., 1211, 335-342.
- Bell, M. V. and J. R. Dick, 1991. Molecular species composition of the major diacylglycerophospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*). Lipids, 26, 565-573.
- Bell, M. V., R. S. Batty, J. R. Dick, K. Fretwell, J. C. Navarro and J. R. Sargent, 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). Lipids, 30, 443-449.
- Bessonart, M., M. S. Izquierdo, M. Salhi, C. M. Hernández-Cruz, M. M. González and H. Fernández-Palacios, 1999. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae. Aquaculture, 179, 265-275.
- Bisbal, G. A. and D. A. Bengston, 1995. Development of the digestive tract in larval summer flounder. J. Fish Biol., 47, 277-291.
- Boney, A. D., 1989. Phytoplankton. Edward Arnold, London, 2nd edn., 11-13.
- Bosque, T., R. Hernández, R. Pérez, R. Todolí and R. Oltra, 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.
- Brown, M. R., 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. J. Exp. Mar. Bio. Ecol., 145, 79-99.

- Brownell, C. L., 1988. A new pelagic marine rotifer from the southern Benguela, *Synchaeta hutchingsi*, n. sp., with notes on its temperature and salinity tolerance and methods of culture. *Hydrobiologia*, 162(3), 225-233.
- Budge, S. M., 1999. Fatty acid biomarkers in a cold water marine environment. PhD thesis. Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canada.
- Cahu, C. L. and J. L. Zambonino Infante, 1995. Effect of molecular form of dietary nitrogen supply in sea bass larvae: response of pancreatic enzymes and intestinal peptidases. *Fish Physiol. Biochem.*, 14, 209-214.
- Carmona, M. J., M. Serra and M. R. Miracle, 1994. Effect of population density and genotype on life-history traits in the rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 182, 223-235.
- Cho, S. H. and S. B. Hur, 1998. Effects of enrichment of rotifers and artemia on larvae mass production of rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Aquacult.*, 11(4), 437-447.
- Chun, C. Z., H. G. Park, S. B. Hur and Y. T. Kim, 1996. Biochemical studies of an endoglucanase from marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *J. Aquacul.*, 9(4), 453-459.
- Conceição, L. E. C., T. van der Meeren, J. A. J. Verreth, M. S. Evjen, D. F. Houlihan and H. J. Fyhn, 1997. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or Artemia. *Marine Biology*, 129(2), 255-265.
- Copeman, L. A., C. C. Parrish, J. A. Brown and M. Harel, 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment.

- Aquaculture, 210, 285-304.
- Divanach, P. and M. Kentouri, 1983. Influence des conditions trophiques initiales sur la resorption des reserves lipidiques, la croissance et la survie des larves de daurades, *Sparus auratus*, en elevage extensif. Aquaculture 35, 43-55.
- Doi, M., J. D. Toledo, S. N. Golez, M. de los Santos and A. Ohno, A. 1997. Preliminary investigation of feeding performance of larvae of early red-spotted grouper, *Epinephelus coioides*, reared with mixed zooplankton. Hydrobiologia, 358, 259-263.
- Dolan, J. R., C. C. Gallegos, 1992. Trophic role of plankton rotifers in the Rhode River Estuary, spring-summer 1991. Mar. Ecol. Prog. Ser., 85, 187-199.
- Ducan, D. B., 1955. Multiple-range and mutiple F tests. Biometrics, 11, 1-42.
- Duray, M. N., C. B. Estudillo and L. G. Alpasan, 1997. Larval rearing of the grouper *Epinephelus suillus* under laboratory conditions. Aquaculture, 150, 63-76.
- Egloff, D. A., 1986. Effects of *Olithodiscus luteus* on the feeding and reproduction of the marine rotifer *Synchaeta cecilia*. J. Plank. Res., 8, 263-274.
- Egloff, D. A., 1988. Food and growth relations of the marine microzooplankton, *Synchaeta cecilia* (Rotifera). Hydrobiologia, 157(2), 129-141.
- Estevez, A., L. A. McEvoy, J. G. Bell and J. R. Sargent, 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. Aquaculture, 180, 321-343.
- Evans, R. P., P. Zhu, C. C. Parrish and J. A. Brown, 2000. Lipid and amino acid metabolism during early development of marine fish. In Shahidi F. (Ed.), Seafood in Health and Nutritional-Transformation in Fisheries and

- Aquaculture: Global Perspectives, ScienceTech Publishing Company, St. John's, Newfoundland, 477-493.
- Evjemo, J. O., K. I. Reitan and Y. Olsen, 2003. Copepods as live food organism in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutrition value. *Aquaculture*, 227, 191-210.
- Fabregas, J., J. Abalde, C. Herrero, B. Cabezas and M. Veiga, 1984. Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquaculture*, 42, 207~215.
- Fernandez-Reiriz, M. J., U. Labarta and M. J. Ferreiro, 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 112, 195-206.
- Fontagne, S., I. Geurden, A. M. Escaffre and P. Bergot, 1998. Histological change induced by dietary phospholipids in intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture*, 161, 213-223.
- Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida and A. Hino, 1997. Developments of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358, 145-151.
- Fukusho, K. and M. Okauchi, 1982. Strain and size of the rotifer, *Brachionus plicatilis* being cultured in southeast asian countries. *Bull. Nat' l Res. Inst. Aquacult.*, 3, 107-109.
- Fukusho, K. and M. Okauchi, 1983. Symparty in natural distribution of the two strains of a rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Bull. Nat' l Res. Inst. Aquacult.*, 4, 135-138.
- Furuita, H., K. Konishi and T. Takeuchi, 1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder,

- Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 199, 59-69.
- Fyhn, H. J. and B. Serigstad, 1987. Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod, *Gadus morhua*. Mar. Bio., 96, 335-341.
- Fyhn, H. J., 1989. First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy?. Aquaculture, 80, 111-120.
- Fyhn, H. J., 1993. Multiple functions of free amino acids during embryogenesis in marine fishes. In: Walther, B. T., Fyhn, H. J. (Ed.), Physiological and Biochemical Aspects of fish Development. University of Bergen, Bergen, Norway, 299-308.
- Galindo, M. D. and C. Guisande, 1993. The reproductive biology of mictic females in *Brachionus calyciflorus* Pallas. J. Plankton Res., 15, 803-808.
- Galkovskaja, G. A., 1987. Planktonic rotifers and temperature. Hydrobiologia, 147, 307-317.
- Gilbert, J. J., 1967. Mictic female production in the rotifer, *Brachionus calyciflorus*. J. Exp. Zool., 153, 113-124.
- Gómez, A., M. Temprano and M. Serra, 1995. Ecological genetics of a cyclical parthenogen in temporary habitats. J. Evol. Biol., 8, 601-622.
- Gons, H. J. and L. R. Mur, 1980. Energy requirements for growth and maintenance of *Scenedesmus protuberans* Fritsch in light-limited continuous cultures. Arch. Microbiol., 125, 9~17.
- Groeneweg, J. and M. Schlüter, 1981. Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes II. Mass production of *Brachionus rubens* Ehrenberg 1838 in the effluent of high-rate algal ponds used for the treatment of piggery waste. Aquacult., 25, 25-33.
- Guisande, C. and N. Mazuelos, 1981. Patterns of sarcodine feeding in



- epipelagic oceanic plankton. *J. Plankton Res.*, 13, 287-312.
- Hagiwara, A. and A. Hino, 1989. Effect on incubation and preservation on resting egg hatching and mixis in the derived clones of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 186/187, 415-421.
- Hagiwara, A. and C. S. Lee, 1991. Resting eggs formation of the rotifer L-type and S-type rotifer *Brachionus plicatilis* under different water temperature. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1645-1650.
- Hagiwara, A. and K. Hirayama, 1993. Preservation of rotifers and its application in the finfish hatchery. In proceedings of finfish Hatchery in Asia '91. TML Conference Proceedings, 3, 61-71.
- Hagiwara, A., 1994. Practical use of rotifer cyst. *The Israel Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 46, 13-21.
- Hagiwara, A., A. Hino and R. Hirano, 1985a. Combined effects of environmental conditions on the hatching of fertilized eggs in the rotifer, *Brachionus plicatilis* collected from an outdoor pond. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 755-758.
- Hagiwara, A., A. Hino and R. Hirano, 1985b. Study on the appearance of floating fertilized eggs in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Suisan Zoshoku*, 32, 207-212.
- Hagiwara, A., A. Hino and R. Hirano, 1988a. Effects of temperature and chlorinity on resting egg formation in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 569-575.
- Hagiwara, A., A. Hino and R. Hirano, 1988b. Comparison of resting egg formation among five Japanese stocks of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 577-580.
- Hagiwara, A., C. S. Lee, G. T. Miyamoto and A. Hino, 1989. Resting egg

- formation and hatching of the S-type rotifer *Brachionus plicatilis* at varying salinities. Mar. Biol., 103, 327-332.
- Hagiwara, A., K. Hamada, A. Nishi, T. Imaizumi and K. Hirayama, 1993a. Mass production of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs in 50 m<sup>3</sup> tanks. Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 93-98.
- Hagiwara, A., K. Hamada, A. Nishi, T. Imaizumi and K. Hirayama, 1993b. Dietary value of neonates from rotifer *Brachionus plicatilis* resting eggs for red sea bream larvae. Nippon Suisan Gakkaishi, 59, 99-104.
- Hagiwara, A., K. Hamada, S. Hori and K. Hirayama, 1994. Increased sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera) with the addition of bacteria and rotifer extracts. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 181, 1-8.
- Hagiwara, A., M. D. Balompapueng, N. Munuswamy and K. Hirayama, 1997. Mass production and preservation of the resting eggs of the euryhaline rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis*. Aquaculture, 155, 223-230.
- Hagiwara, A., T. Kotani, T. W. Snell, M. Assava-Aree and K. Hirayama, 1995. Morphology, genetics and mating behavior of small tropical marine *Brachionus* strains (Rotifera). J. Exp. Mar. Bio. Ecol., 194, 25-37.
- Hagiwara, A., W. G. Gallardo, M. Assavaaree, T. Kotani and A. B. de Araujo, 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. Aquaculture, 200, 111-127.
- Halbach, U. and G. Halbach-Keup, 1974. Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populationsdynamik der Rotator *Brachionus calyciflorus* Pallas. Befunde aus Laboratoriumsexperimenten und Freilanduntersuchungen. Arch. Hydrobiol., 73, 272-309.
- Hamada, K., A. Hagiwara and K. Hirayama, 1993. Use of preserved diet for rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting egg formation. Nippon Suisan

- Gakkaishi, 59, 85-91.
- Harel, M., S. Gavasso, J. Leshin, A. Gubernatis and A. R. Place, 2001. The effect of tissue docosahexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 24, 107-113.
- Hino, A. and R. Hirano, 1976. Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. I. General aspect of bisexual reproduction inducing factors. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 42, 1093-1099.
- Hino, A. and R. Hirano, 1977. Ecological studies on the mechanism of bisexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. II. Effect of cumulative parthenogenetic generation on the frequency of bisexual reproduction. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, 1481-1485.
- Hino, A. and R. Hirano, 1984. Relationship between water temperature and bisexual reproduction rate in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, 1481-1485.
- Hino, A. and R. Hirano, 1985. Relationship between water temperature given at the time of fertilized egg formation and bisexual reproduction pattern in the deriving strain of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 511-514.
- Hino, A. and R. Hirano, 1988. Relationship between water chlorinity and bisexual reproduction rate in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1329-1332.
- Hotos, G. N., 2002. Selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed mixtures of algal species with various cell volumes and cell densities. *Aquat. Res.*, 33, 949-957.

- Hur, S. B. and H. G. Park, 1996a. Mass production of resting egg of Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* (L and S-type). J. Aquacult., 9(4), 345-351.
- Hur, S. B. and H. G. Park, 1996b. Size and resting egg formation of Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. calyciflorus*. J. Aquacult., 9(3), 187-194.
- Hur, S. B., H. J. Kim and T. Cabrera, 1993. Lifespan and fecundity of three types of rotifer, *Brachionus plicatilis* by an individual culture. Korean Fish. Soc., 26, 511-518.
- Huxtable, R. J., 1992. Physiological actions of taurine. Physiol. Rev., 72, 101-163.
- Izquierdo, M., S., J. Socorro, L. Arantazamendi and C. M. Hernandez-Cruz, 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. Fish Physiol. Biochem., 22, 97-107.
- James, C. M. and T. S. Abu-Rezeq, 1988. Effect of different cell densities of *Chlorella capsulata* and marine *Chlorella* sp. for feeding the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 69, 43-56.
- Javanmardian, M. and B. O. Palsson, 1991. High-Density Photoautotrophic Algal Culture: Design, Construction and Operation of a Novel Photobioreactor System, Biotechnology and Bioengineering, 38, 1182-1189.
- Jung, W. J., M. S. Wang, S. G. Choi, J. K. Kim and B. C. Jeong, 1999. High cell density cultures of micro-algal *Dunaliella bardawil*. Korean J. Biotech. Bio., 14, 160~166.
- Kanazawa, A., 1997. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. Aquaculture, 155, 129-134.
- Kang, E. J., B. I. Lee and E. O. Kim, 1997. Biological characteristics and growth of the Korean freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* at various temperatures. J. Aquacult., 10(4), 449-456.
- Kirst, G. O., 1989. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae, Annu. Rev.

- Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 40: 21~53.
- Knutsen, J. A., 1992. Feeding behaviour of North Sea turbot (*Scophthalmus maximus*) and Dover sole (*Solea solea*) larvae elicited by chemical stimuli, Marine Biology, 113, 543 - 548.
- Kohno, H., R. S. Ordonio-Aguilar, A. Ohno and Y. Taki, 1997. Why is grouper larval rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early life stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. Ichthyol. Res., 44, 267-274.
- Kolkovski, S., A. Ariel and A. Tandler, 1997a. Visual and chemical cues stimulate microdiet ingestion in sea bream larvae. Aquaculture International 5, 527-536.
- Kolkovski, S., W. Koven and A. Tandler, 1997b. The mode of Artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. Aquaculture, 155, 193-205.
- Korstad, J., Y. Olsen and O. Vadstein, 1989a. Life history characteristics of *Brachionus plicatilis* (rotifera) fed different algae. Hydrobiologia, 186/187, 43-50.
- Korstad, J., O. Vadstein and Y. Olsen, 1989b. Feeding kinetics of *Brachionus plicatilis* fed *Isochrysis galbana*. Hydrobiologia, 186/187, 51-57.
- Koven, W. M., G. Parra, S. Kolkovski and A. Tandler, 1998. The effect of dietary phosphatidylcholine and its constituent fatty acids on microdiet ingestion and fatty acid absorption rate in gilthead sea bream, *Sparus aurata*, larvae. Aquac. Nutr., 4, 39-45.
- Koven, W. M., S. Kolkovski, A. Tandler, G. Wm. Kissil and D. Sklan, 1993. The effect of dietary lecithin and lipase, as a function of age, on n-9 fatty acid incorporation in the tissue lipids of *Sparus aurata* larvae. Fish Physiol.

- Bichem., 10, 357-364.
- Koven, W., S. Kolkovski, E. Hadas, K. Gamsiz and A. Tandler, 2001. Advances in the development of microdiets for gilthead seabream, *Sparus aurata*. a review. *Aquaculture*, 194, 107-121.
- Kungvankij, P., L. B. Tiro, B. P. Pudadera and I. O. Potestas, 1986. Induced spawning and larval rearing of grouper (*Epinephelus salmoides*, Maxwell). In: Maclean, J. L., L. B. Dizon and L. V. Hosillos (eds.). Proceedings of the First Asian Fisheries Forum, 663-666. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Lawrence, J. R. and R. A. Snyder, 1998. Feeding behaviour and grazing impacts of a *Euplotes* sp. on attached bacteria. *Can. J. microbiol.*, 44(7), 623-629.
- Lee, K. W., 2001. High density culture and feed efficiency for freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. MS thesis, National Kangnung University, Korea.
- Lee, K. W., H. G. Park and K. Y. Park, 2000. Different combinations of condensed *Chlorella* and baker's yeast for mass culture of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. *J. Aquacult.*, 13(2), 147-152.
- 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. Korean Fish. Soc.*, 34, 156-159.
- Lee, S. M., J. Y. Lee and S. B. Hur, 1994. Essentiality of dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.*, 27, 721-726.
- Lee, S. M., J. Y. Lee, Y. J. Kang and S. B. Hur, 1993a. Effects of n-3 highly unsaturated fatty acids on growth and biochemical changes in the Korean rockfish *Sebastes schlegeli* II. changes of blood chemistry and properties of

- liver cells. *J. Aquaculture*, 6(2), 107-123.
- Lee, S. M., J. Y. Lee, Y. J. Kang, H. D. Yoon and S. B. Hur, 1993b. N-3 highly unsaturated fatty acid requirement of the Korean rockfish, *Sevastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.*, 26(5), 477-492.
- Lubzens, E., 1987. Rasing rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147, 245-255.
- Lubzens, E., A. Tandler and G. Minkoff, 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*, 186/187, 387-400.
- Lubzens, E., G. Kolodny, B. Perry, N. Galai, R. Sheshinski and Y. Wax, 1990. Factors affecting survival of rotifers (*Brachionus plicatilis* O. F. Muller) at 4 °C. *Aquaculture*, 91, 23 - 47.
- Lubzens, E., G. Minkoff and S. Marom, 1985. Salinity dependence of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Mar. Biol.*, 92, 123-126.
- Lubzens, E., G. Minkoff, Y. Barr and O. Zmora, 1997. Mariculture in Israel-past achievements and future directions in raising rotifers as food for marine fish larvae. *Hydrobiologia*, 358, 13-20.
- Maeda, M. and A. Hino, 1991. Environmental management for mass culture of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. In: W. Fulks and K. L. Main, Editors, Rotifer and microalgae culture systems, Proceedings of US - Asia Workshop, The Oceanic Institute, Honolulu, HI, 125 - 133.
- Martínez-Díaz, S. F., C. A. Álvarez-González, M. M. Legorreta, R. Vázquez-Juárez and J. Barrios-González, 2003. Elimination of the associated microbial community and bioencapsulation of bacteria in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture International*, 11, 95-108.
- Maruyama, I., T. Nakao, I. Shigeno, Y. Ando and K. Hirayama, 1997.

- Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358, 133-138.
- McEvoy, L. A., J. C. Navarro, J. G. Bell and J. R. Sargent, 1995. Autoxidation of oil emulsions during the *Artemia* enrichment process. *Aquaculture*, 134, 101-112.
- McEvoy, L. A., T. Naess, J. G. Bell and Ø. Lie, 1998a. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163, 237-250.
- McEvoy, L. A., T. Naess, J. G. Bell and Ø. Lie, 1998b. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163, 237-250.
- Merciera, L., C. Audeta, J. D. L., Noüeb, B. Parenta C. C. Parrishc and N. W. Rossd, 2004. First feeding of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) larvae: use of *Brachionus plicatilis* acclimated at low temperature as live prey. *Aquaculture*, 229, 361-376.
- Minkoff, G., E. Lubzens and D. Kaham, 1983. Environmental factors affecting hatching of rotifer resting eggs. *Hydrobiologia*, 104, 61-69.
- Miracle, M. R. and M. Serra, 1989. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186/187, 81-102.
- Mitchell, S. A., 1986. Experiences with outdoors semi-continuous mass culture of *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture*, 51, 289-297.
- Moroney V. M., H. H. David and N. E. Tolbert, 1986. CO<sub>2</sub> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> accumulation by microalgae. Alan R. Liss, Inc., 715~724.
- Morrison, W. R. and L. M. Smith, 1964. Preparation of fatty acid methyl esters



- and dimethylacetals from lipids with boron fluoride – methanol. *Journal of Lipid Research*, Vol. 5, 600-608.
- Murai, T., T. Akiyama, H. Ogata and T. Suzuki, 1988. Interaction of dietary oxidised fish oil and glutathione of fingerling yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 54, 145-149.
- Nagano, N., Y. Iwatsuki, T. Kamiyama, H. Shimizu and H. Nakata, 2000. Ciliated protozoans as food for first-feeding larval grouper, *Epinephelus septemfasciatus*; Laboratory experiment. *Plank. Biol. Ecol.*, 47, 93-99.
- Ogata, H. Y. and T. Murai, 1994. White muscle of masu salmon, *Oncorhynchus masou masou*, smolts possesses a strong buffering capacity due to a high level of anserine. *Fish Physiol. Biochem.*, 13, 285-293.
- Ogata, H. Y., 2002. Muscle buffering capacity of yellowtail fed diets supplemented with crystalline histidine. *J. Fish Biol.*, 61, 1504-1512.
- Oltra, R. and R. Todolí, 1997. Effects of temperature, salinity and food level on the life history traits of the marine rotifer, *Synchaeta cecilia valentina*, n. subsp. *J. Plank. Res.*, 19, 693-702.
- Ooms-Wilms, A., G. Postema and R. D. Gulati, 1998. Population dynamics of plankton rotifers in Lake Loosdrecht (The Netherlands) in relation to their potential food and predators. *Freshwater Biology*, 42, 77-97.
- Osako, K., T. Kurokawa, K. Kuwahara and Y. Nozaki, 2004. Seasonal variations in taurine and histidine levels of horse mackerel caught in the East China Sea. *Fisheries science*, 1180-1182.
- Palacios, E., I. S. Racotta, O. Arjona, Y. Marty, J. R. Le Coz, J. Moal and J. F. Samain, 2007. Lipid composition of the pacific lion-paw scallop, *Nodipecten subnodosus*, in relation to gametogenesis: 2. Lipid classes and sterols. *Aquaculture*, 266, 266-273.

- Parrish, C. C., 1987. Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 44, 722 - 731.
- 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(5), 779-784.
- Park, H. G., K. W. Lee and S. K. Kim, 1999a. Growth of rotifer by the air, oxygen gas-supplied and the pH adjusted productive of the high density culture. *J. Kor. Fish. Soc.*, 32, 757-784.
- Park, H. G., K. W. Lee, S. M. Lee, S. K. Kim and H. S. Kim, 1999c. Change of fatty acid compositions of rotifer according to enrichment diets and methods in the high density culture. *J. Korean Fish. Soc.*, 32(6), 748-752.
- 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.
- 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.
- Park, J. C., 2007. Mass culture of rotifer, *Synchaeta* sp.. MS thesis, National Kangnung University.
- Park, H. G. and S. B. Hur, 1996. Effects of temperature and salinity on production of resting eggs in Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* (L and S-type). *J. Aquacult.*, 9(4), 321-327.
- Payne, M. F. and R. J. Rippingale, 2001. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture*, 201, 329-342.
- Planas, M. and I. Cunha, 1999. Larviculture of marine fish: problems and

- perspectives. *Aquaculture*, 177, 171-190.
- Pourriot, R. and T. W. Snell, 1983. Resting eggs in rotifers. *Hydrobiologia*, 104, 213-224.
- Pourriot, R., 1977. Food and feeding habits of Rotifera. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 8, 243-260.
- Óie, G., P. Makridis, K. I. Reitan and Y. Olsen, 1997. Protein and carbon utilization of rotifers (*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 153, 103-122.
- Rainuzzo, J. R., K. I. Retain and Y. Olsen, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155, 103-115.
- 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*, 79, 157-161.
- Rico-Martinez, R. and S. I. Dodson, 1992. Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture*, 105, 191-199.
- Roche, K. F., 1987. Post-encounter vulnerability of some rotifer prey types to predation by the copepod *Acanthocyclops robustus*. *Hydrobiologia*. 147, 229-233.
- Rodríguez, C., J. A. Pérez, M. Diaz, M. S. Izquierdo, H. Fernandez-Palacios and A. Lorenzo, 1997. Influence of EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture*, 150, 77-89.
- Rodríguez, C., J. A. Pérez, M. S. Izquierdo, J. R. cejas, A. Bolaños and A. Lorenzo, 1996. Improvement of the nutritional value of rotifers by varying the type and concentration of oil and the enrichment period. *Aquaculture*, 147, 93-105.
- Rønnestad, I., A. Thorsen and R. N. Finn, 1999. Fish larval nutrition: a review of

- recent in the roles of amino acids. *Aquaculture*, 177, 201-216.
- Rønnestad, I., H. J. Fyhn and Gravningen, 1992b. Importance of free acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar. Biol.*, 114, 517-525.
- Rønnestad, I., R. N. Finn, E. P. Groot and H. J. Fyhn, 1992a. Utilization of free acids related to energy metabolism of developing eggs and larvae of lemon sole *Microstomus kitt* reared in the laboratory. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 88, 195-205.
- Rønnestad, I., W. M. Koven, A. Tandler, M. Harel and H. J. Fyhn, 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Mar. Biol.*, 120, 187-196.
- Rønnestad, I., W. M. Koven, A. Tandler, M. Harel and H. J. Fyhn, 1998. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 162, 157-170.
- Rothhaupt, K. O., 1990. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. *Limnol. Oceanogr.*, 35, 24-32.
- Rougier, C., R. Pourriot and T. Lam-Hoai, 2000. The genus *Synchaeta* (rotifer) in a north-western Mediterranean coastal lagoon (Etang de Thau, France): Taxonomical and ecological remarks. *Hydrobiologia*, 436, 105-117.
- Salt, G. W., 1987. The components of feeding behavior in rotifers. *Hydrobiologia*, 147, 271-281.
- Samon, R. and A. Leduy, 1985. Multistage continuous cultivation of blue-green alga *Spirulina maxima* in the flat tank photoreactors with recycle, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 63: 105~112.
- Sargent, J., J. G. Bell, L. A. McEvoy, D. Tocher and A. Estevz, 1999. Recent

- developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191-199.
- Sargent, J., L. A. McEvoy and J. G. Bell, 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feed. *Aquaculture*, 155, 117-127.
- Schipp, G. R., J. M. P. Bosmans and A. J. Marshall, 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp.. *Aquaculture*, 174, 81-88.
- Schlösser, H. J. and K. Anger, 1982. The significance of some methodological effects on filtration and ingestion rates of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Helgol. Meeresunters*, 35, 215-225.
- Schlüter, M. and J. Groeneweg, 1985. The inhibition by ammonia of population growth of the rotifer, *Brachionus rubens*, in continuous culture. *Aquaculture*, 46, 215-220.
- Schmid-Araya, J. M., 1991. The effect of food concentration on the life histories of *Brachionus plicatilis* and *Enicentrum linnhei* Scott. *Arch. Hydrobiol.*, 21, 87-102.
- Serra, M. and M. R. Miracle, 1989. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia* 186/187, 81-102.
- Serra, M., A. Gomez and M. J. Carmona, 1998. Ecological genetics of *Brachionus*. *Hydrobiologia* 387/388, 373-384.
- Serra, M. and M. R. Miracle, 1994a. 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.
- Serra, M., M. J. Carmona and M. R. Miracle, 1994b. Survival analysis of three clones of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Hydrobiologia*, 227, 97-105.
- Shiel, R. J. and W. Koste, 1993. Rotifera from Australian inland waters. IX.

- Gastropodidae, Synchaetidae, Asplanchnidae (Rotifera:Monogononta).  
Trans. Roy. Soc. S. Aust., 117(3), 111-139.
- Sivaloganathan, B., J. Walford, Y. K. Ip and T. J. Lam, 1998. Free amino acids and energy metabolism in eggs and larvae of seabass, *Lates calcarifer*. Marine Biology, 131, 695-702.
- Snell, T. W. and B. L. Garman, 1986. Encounter probabilities between male and female rotifers. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 97, 221-230.
- Snell, T. W. and C. R. Janssen, 1995. Rotifers in ecotoxicology: review. Hydrobiologia, 313/314, 231-247.
- Snell, T. W. and E. M. Boyer, 1988. Thresholds for mictic female production in the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 124, 73-85.
- Snell, T. W. and F. H. Hoff, 1985. The effect of environmental factors on resting egg production in the rotifer *Brachionus plicatilis*. J. World Maricult. Soc., 16, 484-497.
- Snell, T. W. and F. H. Hoff, 1987. Fertilization and male fertility in the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 147, 329-334.
- Snell, T. W., 1986. Effect of temperature, salinity and food level on sexual and asexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). Mar. Biol., 92, 157-162.
- Snell, T. W., C. 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., 1997. SPSS Bass 12.0 for window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611.
- Starkweather, P. L. and J. J. Gilbert, 1977. Radiotracer determination of feeding in *Brachionus calyciflorus*: the importance of gut passage times. Arch.

- Hydrobiol. Beih. Ergb. Limnol., 8, 261-263.
- Starkweather, P. L., 1980. Aspects of the feeding behavior and trophic ecology of suspension-feeding rotifers. *Hydrobiologia*, 73, 63-72.
- Stemberger, R. S. and J. J. Gilbert, 1985. Body size, food concentration and population growth in planktonic rotifers. *Ecology*, 66, 1151-1159.
- Su, H. M., M. S. Su and I. C. Liao, 1997. Preliminary results of providing various combinations of live foods to grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Hydrobiologia*, 358, 301 - 304.
- Suchar, V. A. and P. Chigbu, 2006. The effect of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 337, 96-102.
- Sze, P., 1986. A biology of the algae. Wm. C. Brown Publisher, 35-40.
- Takeuchi, T., 1997. Essential fatty acid requirements of aquatic animals with emphasis on fish larvae and fingerlings. *Fisheries Science*, 5, 1-25.
- Takeuchi, T., G. S. Park and M. Yokoyama, 2001. Taurine content in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* T. and S. red sea bream *Pagrus major* T. and S. during the period of seed production. *Aquac. Res.*, 32, 244-248.
- Tamaru, C. S., F. Cholik, J. C-M. Kuo and J. Jr. FitzGerald, 1995. Status of the culture of milkfish (*Chanos chanos*), striped mullet (*Mugil cephalus*) and grouper (*Epinephelus* sp.). *Reviews in Fisheries Science*, 3(3), 249 - 273.
- Tanaka Y., Y. Sakakura, H. Chuda, A. Hagiwara and S. Yasumoto, 2005. Food selectivity of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus* larvae fed different sizes of rotifers. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2005; 71: 911-916.
- Toledo, J. D., N. B. Caberoy, G. F. Qunitio, C. H. Choresca Jr. and H. Nakagawa, 2002. Effects of salinity, aeration and light intensity on oil globule

- absorption, feeding incidence, growth and survival of early-stage grouper *Epinephelus coioides* larvae. Fish. Sci., 68(3), 478-483.
- Toledo, J. D., S. N. Golez, M. Doi and A. Ohno, 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*. Fisheries Science, 65, 390-397.
- Van Waarde, A., 1998. Biochemistry of non protein nitrogenous compounds in fish including the use of amino acids for anaerobic energy production. Comp. Biochem. Physiol., B 91, 207-228.
- Watanabe, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. J. World. Aquacult. Soc., 24, 152-161.
- Watanabe, T., C. K. Kitajima and S. Fujita, 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish; a review. Aquaculture, 34, 115-143.
- Williams, D. D., 1998. The role of dormancy in the evolution and structure of temporary water invertebrate communities. Archiv., Hydrobiologie, Special Issues in Advanced Limnology, 52, 109-124.
- Yin, X. W. and W. Zhao, 2008. Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O. F. Müller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. Aquat. Ecol., 42, 165-176.
- Yoo, J. H. and S. B. Hur, 2002. Evaluation of ciliate *Euplotes* sp. as a live food for marine fish larvae. J. Kor. Fish. Soc., 35(5), 542-544.
- Yoo, J. H., 1992. Marine ciliate as a live feed for marine fish larvae. MS thesis, National Fisheries University of Pusan.
- Yoon, M. K., 2002. Mass culture of the *Isochrysis galbana* using flat photobioreactor. MS thesis, National Kangnung Univeersity, Korea.
- 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., 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.
- Yoshimura, K., C. Kitajima, Y. Miyamoto and G. Kishimoto, 1994. Factors inhibiting growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* in high density cultivation by feeding consensed *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 60(2), 207-213.
- 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.
- Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, K. Tanaka, A. Ishizaki and H. Kamimura, 1998. Change in the concentrations of ammonia and particulate organic matter and rotifer biomass in high density semi-continuous culture. *Suisan Zoshoku*, 46(2), 183-192.
- Yoshimura, K., T. Iwata, K. Tanaka, C. Kitajima and F. Ishizaki, 1995. A high density cultivation of the rotifer in an acidified medium for reducing undissociated ammonia. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 61(4), 602-607.
- Yu, J. P. and K. Hirayama, 1986. The effect of un-ionized ammonia on the population growth of the rotifer in mass culture. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52, 1509-1513.
- Yu, J. P., K. Hirayama and A. Hino, 1994. The role of bacteria in mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bull. Nat'l. Res. Inst. Aquaculture Suppl.*, 1, 67 - 70.
- Yufera, M. and E. Pascual, 1980. Estudio del rendimiento de cultivos del rotífero

- Brachionus plicatilis* O. F. Muller alimentados conlevadura de panificación.  
Invest. Pseq., 44(2), 361-368.
- Zheng, F., T. Takeuchi, K. Yosheda, M. Kobayashi, J. Hirakawa and T. Watanabe, 1996. Requirement of larval cod for arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using by their enriched *Artemia nauplii*. Nippon Suisan Gakkaishi, 62, 669-676.
- 岡 彬. 1989. 増殖環境. 初期餌料生物-シオミズツボワムシ(福所邦彦・平山和次編), 恒星社厚生閣, 東京, 28~38.
- 今田 克, 1983. 大量培養における飼料および環境. シオミズツボワムシ生物学と大量培養. 恒星社厚生閣, 東京, 129~155.
- 中尾 崇・萩原篤志, 1995. 空気通気によるワムシの高密度培養と短時間營養強化. 水産の研究, 14(9), 64~70
- 제주대학교, 1998. 능성어 번식기술을 통한 양식 산업화. 해양수산부 최종 연구보고서.

## 주 의

1. 이 보고서는 해양수산부에서 시행한 해양과학기술연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 해양수산부에서 시행한 해양과학기술연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용을 대외적으로 발표 또는 공개할 수 없습니다.

본 보고서와 관련하여 문의를 원하시는 분은 아래의 문의처로 연락을 주시기 바랍니다.

- 문의처 : 한국해양수산기술진흥원 TEL 02)3460-4000  
○○○○(주관연구기관명) TEL (보고서 관련 문의가 가능한 연락처)
- (협동연구기관명) TEL (보고서 관련 문의가 가능한 연락처)

R&D / \*\* -0000

( ) 연구보고서

- 발행일 / 20 . . .
- 발행처 / 대한수산 주식회사(주관연구기관명)  
서울시 중구 가동 1번지  
TEL : 02-777-7777(대)
- 인쇄처 / ○ ○ ○