

動物플랑크톤 Harpacticoid, *Tigriopus japonicus* Mori 培養에 有効한 海洋細菌의 探索

李 原 在・多 賀 信 夫*
釜山水産大學

Investigation of marine bacteria for the food of *Tigriopus japonicus* Mori(Harpacticoida)

Won - Jae LEE and Nobuo TAGA*

Department of Oceanography, National Fisheries University of Pusan
Pusan 608-023, Korea

In order to find some proper bacterial food for *Tigriopus japonicus*, bacterial flora of the tide pool inhabited by the copepod has been isolated and tested as bacterial food. Food effect and optimum density of the bacteria in terms of survival rate of the copepod was measured in the larval and the adult stages. Among the 264 strains of isolated bacteria, *Acinetobacter* spp., *Moraxella*, spp., *Flavobacterium* spp. and *Pseudomonas* spp. were certified as effective food for the copepod.

According to the experimental results, *Acinetobacter* spp. AG-3 was the most effective food for all the stages from nauplius to adult, while *Moraxella* spp. and *Flavobacterium* spp. were effective for copepodite stage, and *Pseudomonas* spp. for the adult stage only. The optimum density of bacteria for the food was about 10^6 cell/ml, which was the same average density of bacteria in the tide pool.

서 론

稚魚의 초기먹이로서, 有用하게 사용되는 동물플랑크톤 배양에 관한 연구는 현재까지 많이 보고되어 있다. 예로서 脂肪魚粉, 微小藻類, 小麥粉 등을 먹이로 한 *Tigriopus japonicus*의 배양 실험에는 Takano (1971), 빵효모, 油脂酵母, *Chlorella minutissima* 등을 첨가한 먹이로서 *Tigriopus*와 *Rotifer*의 혼합배양 실험에는 福所등(1978), 福所(1980), 또한 寺本와 河盛(1980)은 alcohol 발효모액을 먹이로 사용하여 *Tigriopus japonicus*를 배양실험한 결과를 보

고 하였다.

한편 小川(1977 a), Yasuda and Taga (1980)은 동물플랑크톤에 해양세균을 이용하여 배양한 결과를 보고 하였고 Provasoli et al.(1959)은 수 중의 微小藻類의 먹이 가치를 비교하기 위하여 *Artemia* 및 *Tigriopus japonicus*를 無菌化시켜 기초적인 배양 실험한 결과를 보고 하였다.

그러나, 종래의 연구 결과등을 보면 일반적으로 無菌化시킨 동물플랑크톤을 이용한 捕食실험이나, 이들에 유용한 먹이가 되는 해양세균을 적극적으로 探索하여 동물플랑크톤의 먹이로 사용한 실험은 드물었다.

*東京大學 海洋研究所

(Ocean Research Institute, University of Tokyo, Japan)

그래서, 본 실험은 無菌化시킨 *Tigriopus japonicus*에, *T. japonicus*가 서식하는 tide pool에서 분리 동정된 해양세균을 먹이로 사용(투여)하여 유용한 먹이 菌株를 探索한 결과이다.

결 과

*T. japonicus*가 서식하는 tide pool의 해수 및 녹조류에서 분리·동정한 264 균주를 *T. japonicus*의 먹이로서 有効性 有·無에 관한 실험을 하였던 결과, 4 종류의 세균인 *Acinetobacter* spp.(8 균주), *Moraxella* spp.(4 균주), *Flavobacterium* spp.(3 균주), *Pseudomonas* spp.(3 균주)가 먹이로서 효과가 있었다.

이 菌株들은 生長段階(各 stage) 별로 아래와 같이 상세한 실험을 하였다.

멸균 해수중에 無菌化시킨 nauplius 유생을 넣어 방치했을 때, nauplius 生殘率을 시간의 경과에 따른 변화를 관찰한 결과는 Fig. 1 과 같다.

그림에서 보는 바와 같이 먹이를 투여치 않을 경우 거의 일정속도로 사멸되어 4일 뒤에는 全滅되었다.

연구방법

1. *Tigriopus japonicus*의 無菌化

무균화 실험은 熟成된 *Tigriopus japonicus*의 卵을 실체현미경하에 取한 후, 250ppm의 殺菌劑(Merthiolet)가 든 10ml용 시험관 속에 이 卵을 넣어 3분간 흔들면서 알 주위의 부착 세균을 살균시킨 다음, 멸균해수에 다시 數回 세척한다. 세척이 끝나면 다시 멸균 해수가 들어있는 petri접시에 넣어 無菌의 nauplius를 부화시켜 세균의 捕食실험에 사용하였다. 살균제 농도 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Effect of bactericide "Merthiolet" on *T. japonicus*

Concentrations (ppm)	Time of death (min.)		
	Nauplii	Copepodites	Adults
1000	1	2	2
500	1	3	3
250	2	5	7
100	5	8	15

2. 먹이용 세균의 선택실험

*T. japonicus*가 서식하는 tide pool의 해수 및 조류에서 분리, 培養(李·多賀, 1985)한 264 菌株를 供試料로 사용, 그 有効性을 다음과 같이 실험하였다.

직경 9cm의 petri접시에 멸균해수 9ml를 넣고, 여기에 遠心分離(10,000rpm)에 洗淨한 供試菌株의 농도를 $10^5 - 10^8/ml$ 되도록 조정된 菌液 1ml를 넣은 다음 無菌化된 nauplius 幼生 20個體를 이 petri접시에 넣어 4일간 배양한 후 幼生의 生殘率을 구하였다.

또한 copepodite 幼生과 成體의 捕食試驗의 시료는, 無菌化된 nauplius 幼生의 일부에 *Acinetobaeto*-sp. AG-3 균을 먹이로 배양한 것을 각 stage 幼生별로 사용하였다.

즉 培養된 *T. japonicus* 개체를 멸균해수 중에 옮기면서 수회 세척한 후, 다시 멸균 海水 中에 4-8 시간 絶食·脱糞시킨 다음 멸균해수에 재차 유영시킨 것을 시료로 하였다.

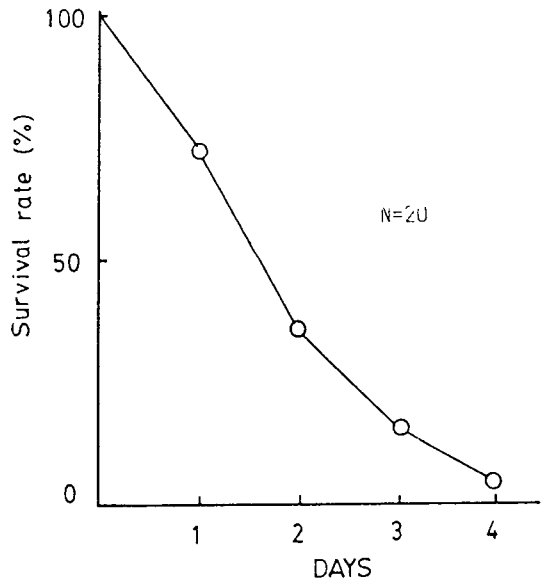


Fig. 1. Survival rate of *Tigriopus* nauplii in starved condition.

Flavobacterium spp. AG-62, AG-81를 무균화시킨 nauplius에 $10^5 - 10^8$ cell/ml의 농도로 투여 배양했을 때 nauplius 유생의 生殘率은 Fig. 2와 같다. 이 균주들은 어느쪽이든 먹이로서 큰 효과가 없었고 고농도 일수록 生殘率이 급격히 감소하였다.

Fig. 3은 동일한 방법으로 *Flavobacterium* spp.를 멸균해수중에 4-8 시간 游泳시킨 *Tigriopus* copepodite의 유생에 먹이로 투여 10일간 배양한 실험 결과이다.

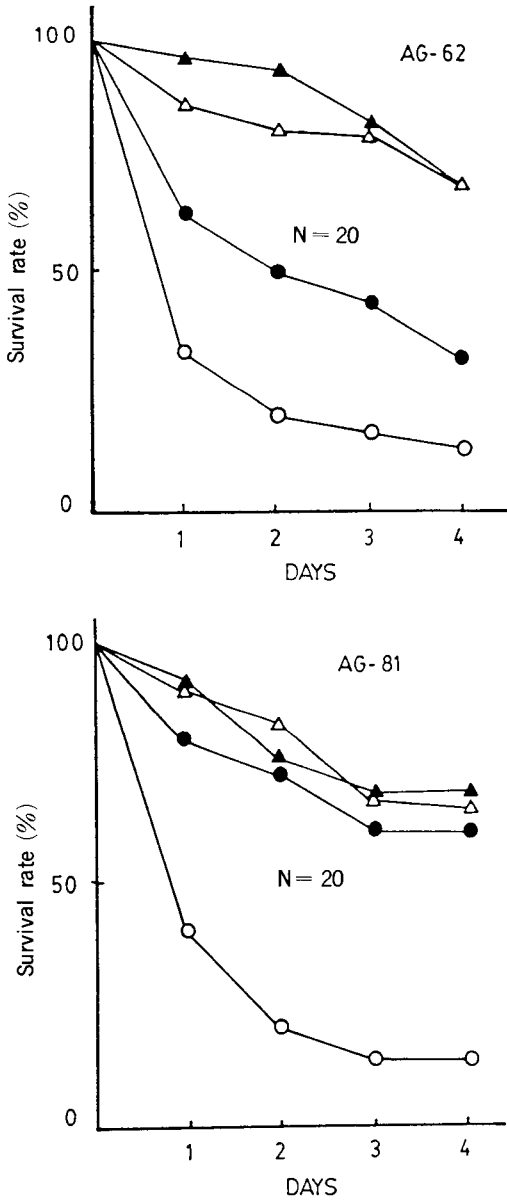


Fig. 2. Effect of different concentrations of *Flavo bacterium* spp. given as food on survival rate of *Tigriopus* nauplii.
 ○: 10^8 cell/ml ●: 10^7 cell/ml
 △: 10^6 cell/ml ▲: 10^5 cell/ml

이 결과를 보면, copepodite기 유생에 대해서는 nauplius기 유생과는 달라서 10^6 cell/ml로 투여된 *Flavobacterium* sp. AG-62 및 AG-81 균주가 먹이로서 상당한 효과를 보였다. 또한 멸균 해수중에 4~8

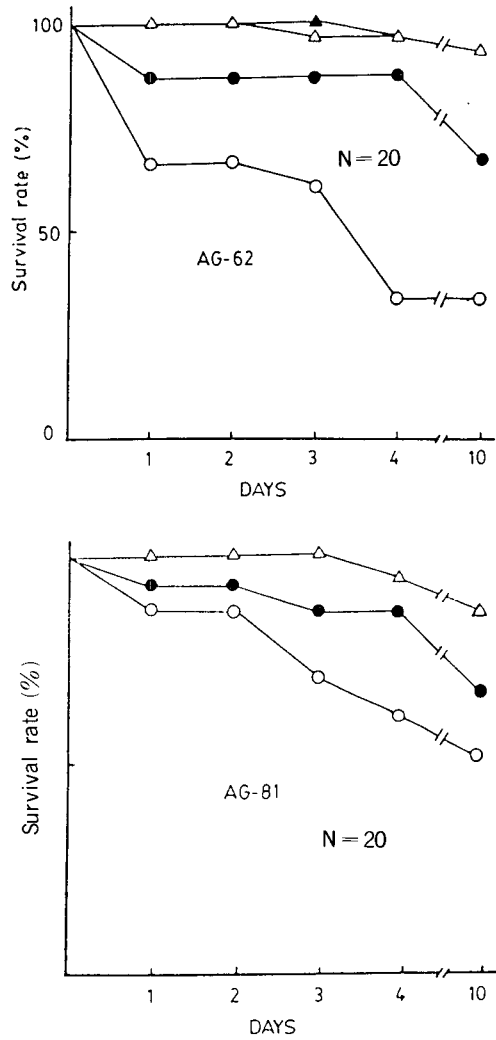


Fig. 3. Effect of different concentrations of *Flavo bacterium* spp. given as food on survival rate of *Tigriopus* copepodites.
 ○: 10^8 cell/ml ●: 10^7 cell/ml
 △: 10^6 cell/ml ▲: 10^5 cell/ml

시간 유영시킨 *T. japonicus* 成體에 대해서도 copepodite기 유생의 경우와 같이 $10^5 - 10^6$ cell/ml 투여했던 결과의 먹이 효과가 있었다. (Fig. 4).

Acinetobacter sp. AG-3, *Moraxella* sp. AG-36, *Pseudomonas* sp. AG-57, *Vibrio* sp. AG-41의 균주들을 동일한 방법으로 $10^5 \sim 10^8$ cell/ml 농도로써 nauplius기, copepodite기 및 成體의 먹이로 투여한 후 4~10일간 배양했던 결과 Fig. 5, Fig. 6 및 Fig. 7과 같다.

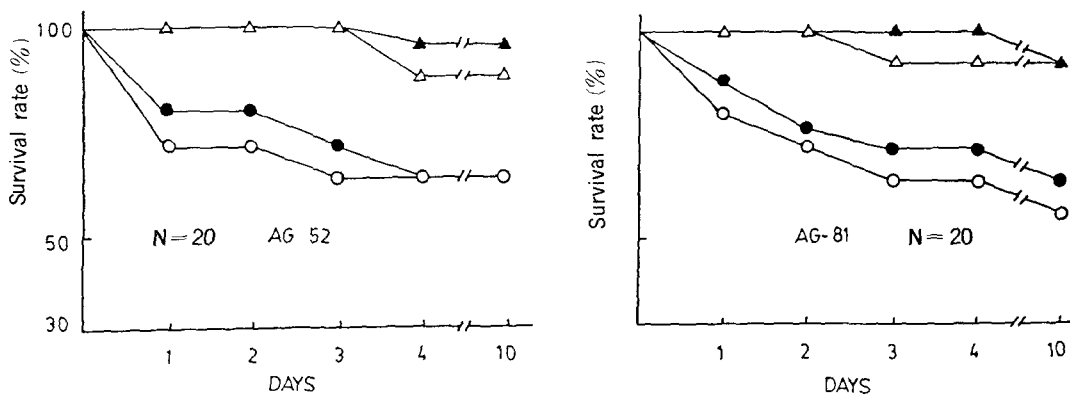


Fig. 4. Effect of different concentrations of *Flavobacterium* spp. given as food on survival rate of *Tigriopus* adults.

○: 10^8 cell/ml ●: 10^7 cell/ml
 △: 10^6 cell/ml ▲: 10^5 cell/ml

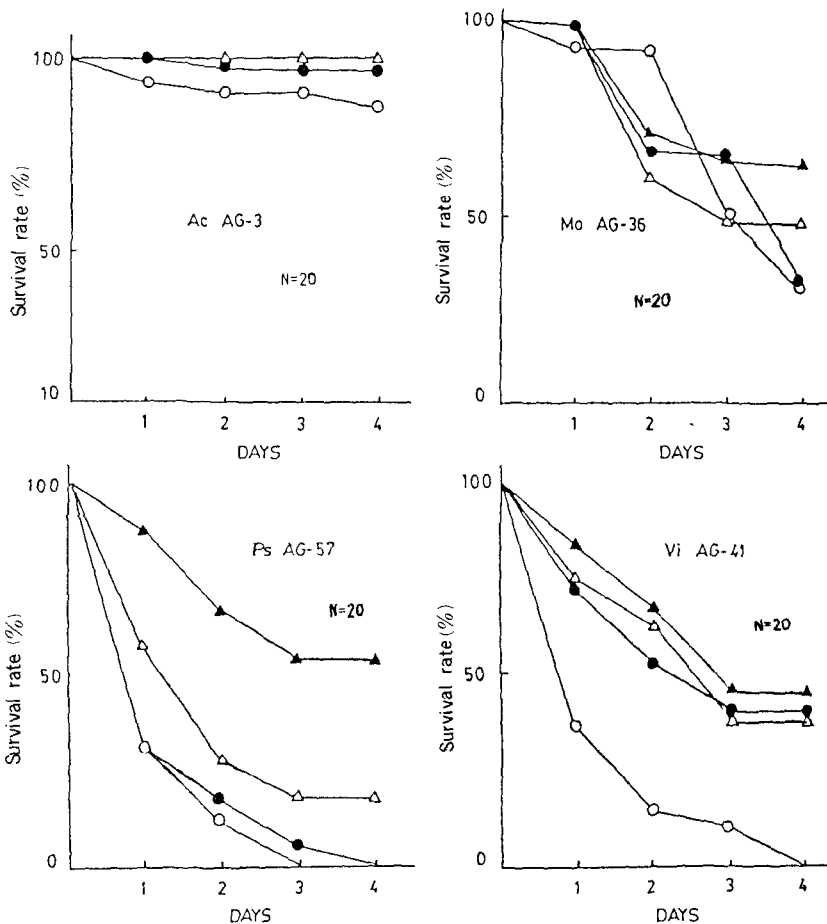


Fig. 5. Effect of different concentrations of *Acinetobacter* spp.(Ac), *Moraxella* spp.(Mo), *Pseudomonas* spp.(Pse.) and *Vibrio* spp.(Vi) given as food on survival rate of *Tigriopus* nauplii.

○: 10^8 cell/ml ●: 10^7 cell/ml
 △: 10^6 cell/ml ▲: 10^5 cell/ml

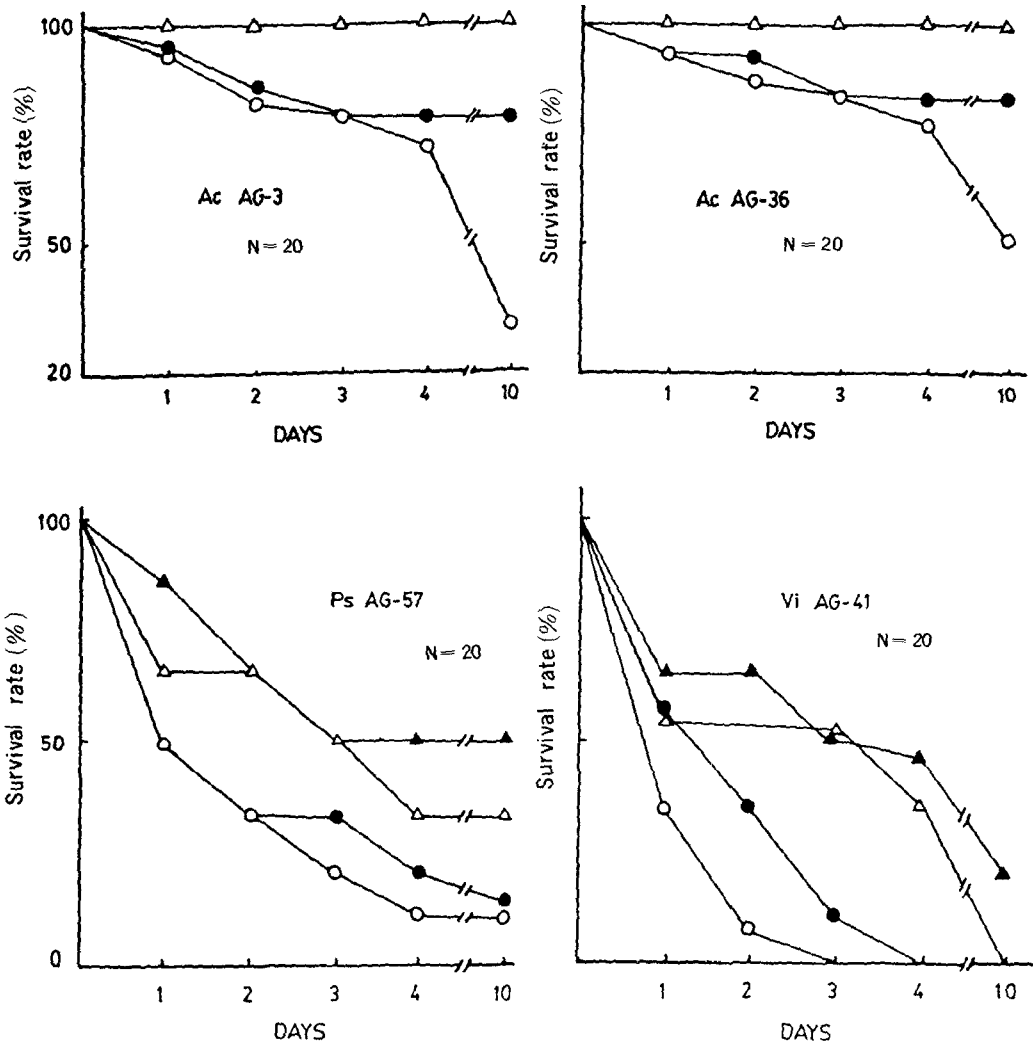


Fig. 6. Effect of different concentrations of *Acinetobacter* spp.(Ac), *Moraxella* spp.(Mo), *Pseudomonas* spp.(Pse) and *Vibrio* spp.(Vi) given as food on survival rate of *Tigriopus* copepodites.
 ○ : 10⁸ cell/ml ● : 10⁷ cell/ml, △ : 10⁶ cell/ml, ▲ : 10⁵ cell/ml

이 그림에서 보여주는 바와같이 *Acinetobacter* sp. AG-3 균주는 10⁶cell/ml의 투여 농도에 nauplius기의 유생에서 成體까지 각 성장기의 *T. japonicus* 먹이로서 가장 효과가 있음을 알 수 있었다. 또 *Moraxella* sp. AG-36 菌株은 copepodite기 유생 및 성체에, *Pseudomonas* sp. AG-57 균주는 成體에만 각각 10⁶cell/ml의 투여농도에서 먹이의 효과가 양호함을 알 수 있다.

Vibrio sp. AG-41 균주는 *T. japonicus* 성장단계에 있어서 먹이의 효과가 거의 없었다.

고 찰

종래의 연구결과에 의하면, *Tigriopus*는 여과 구조가 미발달 함에도 불구하고, 高濃度の 菌體懸濁液中에 생활하며 세균의塊(floc)를 직접 포식(섭취)하고 糞排出이나 알의 형성도 정상적으로 진행되었다고 한다. 또 nauplius기의 유생이 세균의塊에 부착하여, 이것을 먹이로 성체까지 성장한 것을 관찰한 보고가 있었다(小川, 1977 b). Rieper(1978)는 *Tisbe halothuriae* 및 *Paramphiascella vararensis* 등의

Tigriopus japonicus 培養에 有効한 海洋細菌

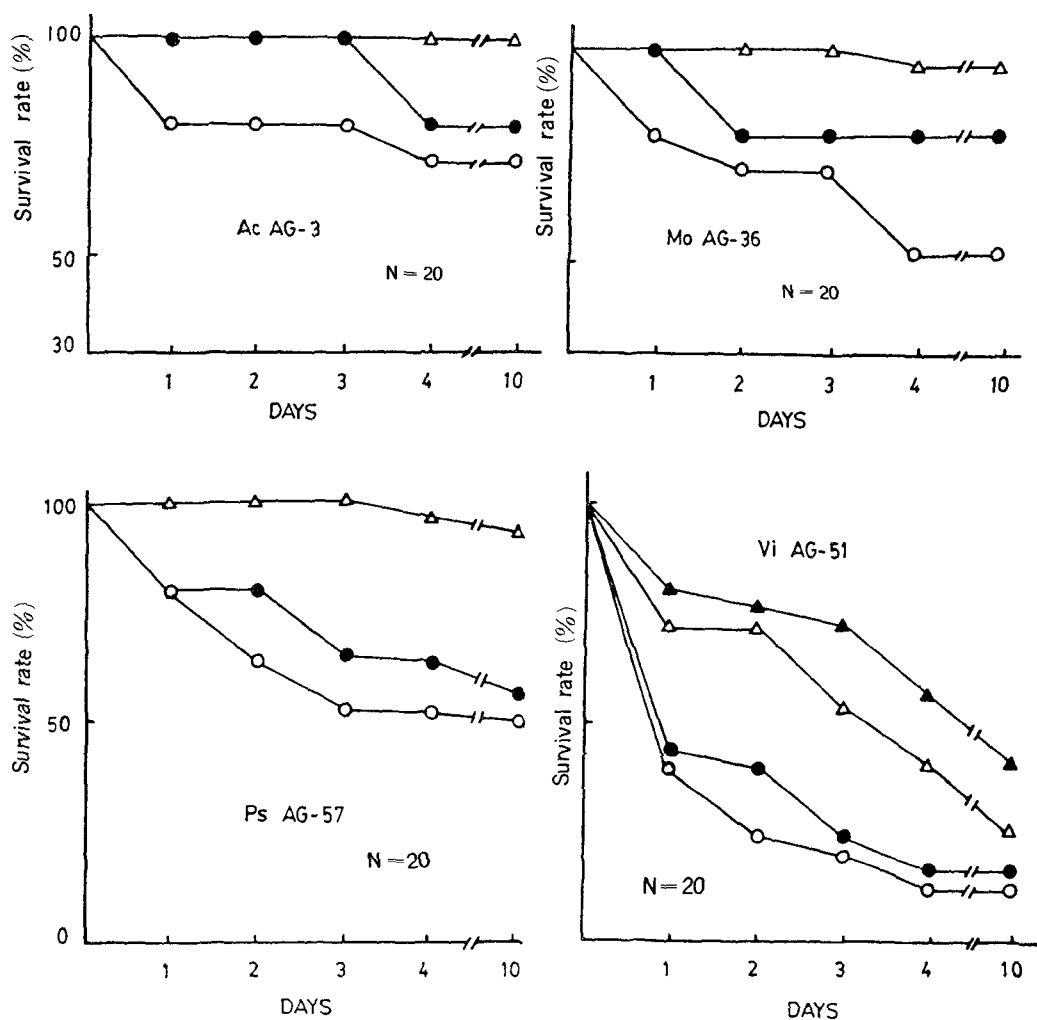


Fig. 7. Effect of different concentrations of *Acinetobacter* spp.(Ac), *Moraxella* spp.(Mo), *Pseudomonas* spp.(Ps) and *Vibrio* spp.(Vi) given as food on survival rate of *Tigriopus* adults.
 \circ : 10^8 cell/ml, \bullet : 10^7 cell/ml, \triangle : 10^6 cell/ml, \blacktriangle : 10^5 cell/ml

Harpactic copepod 들이 수종의 세균주를 포식한다고 하였고, Brown and Sibert(1977)는 저서성 Harpactic copepod가 labelling된 自然群集 세균을 포식하는 것을 보고하였으며 Gophen et al.(1974) 역시 동물플랑크톤은 labelling된 자연군집 세균을 잘 포식한다고 보고 하였다.

Peterson and Hobbie(1978)는 담수성 플랑크톤 *Daphnia pulex* 및 *D. middendorffiana*가 自然細菌群集을 포식하는 것을 직접세균 計數法으로 관찰하였다고 보고 하였다.

이상의 연구보고에 의하면, 동물플랑크톤이 세균

을 포식하는 것은 사실이지만 지금까지의 실험이 대부분 단시간의 관찰이기 때문에, 세균의 포식으로 동물플랑크톤의 생명이 장시간 유지될 것인지 어떤가는 연구의 대상이 된다고 생각된다. 이러한 점을 감안할 때 본 연구에서는, 無菌화된 *T. japonicus*를 사용하여 4-10일간 배양한 후 생산율로서 먹이의 효과를 판정한 점이 종래의 연구방법과는 다르고, 판정 결과도 명확하다고 생각된다.

본 연구에서 주요한 몇가지를 고찰해 본다면 *T. japonicus*가 서식하는 tide pool현장에서 분리된 自然細菌群集中 극히 일부의 세균이 *T. japonicus*의 먹

이로서 有効한 세균株라는 것과, *T. japonicus*의 生長段階에 따라서 有効한 세균종이 다르다는 점, 그리고 세균의 捕食농도가 거의 10^6 cell/ml이라는 점을 들 수 있다. 즉 nauplius기의 유생에는 *Acinetobacter* sp. AG-3 만이 有効한 먹이였고, Copepodite기에는 *Acinetobacter* sp. AG-3, *Moraxella* sp. AG-36, *Flavobacterium* sp. AG-62, *Flavobacterium* sp. AG-81의 3層의 균주가, 또한 成體에는 *Acinetobacter* sp. AG-3, *Moraxella* sp. AG-36, *Flavobacterium* sp. AG-62, *Flavobacterium* sp. AG-81, *Pseudomonas* sp. AG-57의 4層의 균주가 有効한 먹이로 판단되었다.

본 연구결과 특히 有効한 먹이로서 選別된 *Acinetobacter* sp. AG-3 균주는 액체배지에서는 微小한塊(floc)를 形成하여 증식하는 특성이 있어, *T. japonicus*의 먹이에 더욱 적합한 것으로 생각된다. 또 tide pool 해수중의 세균의 평균 농도(李 · 多賀, 1985)와 최적 捕食세균의 농도가 거의 일치된다는 점이 매우 흥미있는 결과로 생각된다.

요 약

*T. japonicus*의 培養에 有効한 먹이 미생물을 탐색하기 위하여, *T. japonicus*가 서식하는 tide pool 현장 해수 및 해조류에서 264균주를 分離, 각 菌株에 대한 먹이효과 실험을 하였던 결과, 각 生長段階로 세균種이 달랐다. 즉 nauplius기, copepodite기 및 成體의 各期에 가장 有効한 먹이 세균은 *Acinetobacter* sp. AG-3뿐이고, *Moraxella* spp., *Flavobacterium* spp.는 copepodite기 이후에, *Pseudomonas* spp.는 成體기의 먹이 효과가 있었다. 이것은 tide pool속의 많은 세균중 극히 일부에 속하며, 먹이 세균의 최적 농도는 10^6 /ml로 tide pool 평균 生균수 농도에 거의 일치 하였다.

문 헌

Brown, T. J. and T. B. Sibert. 1977. Food of some benthic Harpactic copepod. J. Fish. Res. Can., 34, 1028~1031.

Gophen, M., B. Z. Cavari and T. Berman. 1974. Zooplankton feeding on differentially labelled algae and bacteria. Nature, 247, 393~394.

Peterson, B. J. and J. E. Hobbie. 1978. *Daphnia* grazing on natural bacteria. Limnol. Oceanogr., 23, 1039~1044.

Provasoli, L., K. Shiraishi and J. R. Lance. 1959. Nutritional Idiosyncrasies of *Artemia* and *Tigriopus* in monoxenic culture. Ann. New York Acad. Sci., 77, 250~261.

Rieper, M. 1978. Bacteria as food for marine Harpacticoid copepods. Mar. Biol. 45, 337~345.

Takano, H. 1971. Breeding experiment of a marine littoral copepod *Tigriopus japonicus* Mori. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 64, 71~80.

Yasuda, K. and N. Taga. 1980. A mass culture for *Artemia salina* using bacteria as food. La Mer, 18, 7~14.

李原在, 多賀信夫. 1985. 動物性플랑크톤 Harpacticoid, *Tigriopus japonicus* Mori가 棲息하는 Tide pool 生態系의 調査. 韓水誌 18, 57~62.

福所邦彦, 岩本浩, 青海忠久, 北島力. 1978. 벤酵母によるティグリオプ스生産におけるクロレラ添加ノ効果. 長崎水産研報., 4, 47~56.

福所邦彦. 1980. 油脂酵母によるティグリオプ스의シオズッボワムンとの混合生産. 日本誌., 46, 625~629.

小川數せ. 1977a. 動物プランクトン 飼料としてのバクテリアフロックの効果. 日本誌., 43, 395~407.

小川數せ. 1977b. 海中有機懸濁物 生成に關與する 消化管由菌の役割—1. 大腸菌によるイオン 吸着 現象 とバクテリア フロックの形成. 日本誌., 43, 1081~1088.

寺本賢一郎, 河盛好昭. 1980. アルコール發酵母液を用いたティグリオフスの培養., 27, 191~194.

1988년 2월 10일 수리
1987년 12월 29일 접수