

## 수온, 염분 및 보관방법에 따른 한국산 Rotifer, *Brachionus plicatilis* (S-type) 내구란의 부화율\*

박흥기 · 허성범  
부경대학교 양식학과

### Effect of Temperature, Salinity and Preservation Method on Hatching Rate of Resting Egg of Korean Rotifer, *Brachionus plicatilis* (S-type)\*

Heum Gi Park and Sung Bum Hur

Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

The effect of temperatures (24~36°C) and salinities (5~30 ppt) on hatching rate of resting egg of the Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* was investigated. The highest hatching rate of the resting egg was 85.7% at 28°C and 15 ppt. The hatching rates of the resting eggs with salinities were not significant at 32°C and 36°C. Hatching was faster at higher temperature. The resting eggs stored at 5°C in dark hatched simultaneously within two days, however, those at 28°C in dark hatched intermittently within 14 days. But, final hatching rate of the resting egg at 28°C was higher at 28°C than that at 5°C. With regard to drying temperature and time of resting egg, the resting egg dried at 30°C for 1 hour showed the highest hatching rate (46.4%).

Key words : Rotifer, *Brachionus plicatilis*, Resting egg, Hatching percentage

#### 서 론

Rotifer, *Brachionus plicatilis*는 해산 어류 종묘생산시 초기 먹이생물로 많이 이용되고 있다. Rotifer의 생활사는 male에 관계없이 amictic female이 난을 생산하는 처녀생식과 수컷이 출현하여 미수정 mictic female과 교미에 의해 수정란(resting egg)을 형성하는 유성생식으로 나누어 진다(日野 1981; Pourriot and Snell 1983). 유성생식에 의해 형성된 내구란은 두터운 2차난막으로 싸여져 있어 외부환경이 부화에 적

합하지 않으면 강한 내구성을 지니고 있어 휴면 상태를 계속 유지한다(Hagiwara et al. 1985b). 따라서 rotifer의 내구란 형성에 대한 연구는 정확한 기작은 밝혀져 있지 않지만 Pourriot and Snell (1983), Hagiwara and Hirayama (1993)와 Hagiwara (1994)가 외부환경과 유전적인 요인에 대하여 서술하였다. 내구란은 rotifer 종의 유전적 형질을 효율적으로 보관할 수 있으며 종묘생산시 *Artemia cyst*처럼 쉽게 부화시켜 자어에 직접 공급할 수 있다. 특히 내구란으로 부터 갓 부화된 rotifer는 크기가 작고

\* 본 연구는 한국과학재단 지정 우수 공학연구센터인 부경대학교 해양산업개발연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

일정할 뿐만 아니라 세균으로부터의 감염도 최소화 시킬 수 있으므로 먹이생물로서 장점이 많다. 따라서 높은 부화율을 유도할 수 있는 내구란의 부화 생태학적 연구가 중요하다.

Minkoff et al. (1983)과 Hagiwara et al. (1985a, 1985b)은 수온과 염분이 rotifer 내구란 부화에 영향을 준다고 보고한 바 있다. 또 내구란 형성시 먹이, 염분, 내구란 보관조건과 같은 환경조건이 부화율에 영향을 미친다는 보고도 있다 (Hamada et al., 1993; Hagiwara and Hino 1989; Hagiwara et al., 1989; Hagiwara and Hino 1990).

따라서 본 연구는 종묘생산시 효율적인 내구란 이용을 위하여 한국산 rotifer, *B. plicatilis* S-type 중 내구란 형성이 양호한 strain을 택하여 수온과 염분 그리고 보관방법에 따른 내구란의 부화율을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 수온과 염분에 따른 내구란 부화율

실험에 사용된 내구란은 전라남도 고흥군 재두 염전지역에서 채집된 rotifer, *B. plicatilis* S-type (C-S) strain으로 28°C, 15 ppt의 배양조건하에서 내구란을 확보하였다. 먹이는 부경대학교 한국해양미세조류은행에서 분양받은 *Tetraselmis* sp. (KMMCC-P-19)를 f/2 (Guillard and Rytter, 1962)배지로 배양하여 공급하였다. 형성된 내구란을 5°C, 15 ppt에서 3개월 동안 암냉장 상태로 보관하였다. 0.5 ml multi-culture camber에 내구란 10~20개를 수용하여 5, 10, 15, 20, 25, 30 ppt의 염분구과 24, 28, 32, 36°C의 수온구로 구분하여, 조도 2,000 lux에서 부화율과 부화속도를 조사하였다. 부화율은 24°C 수온구에서는 2시간 간격으로, 28, 32, 36°C 수온구에서는 1시간 간격으로 내구란에서 부화된 rotifer를 계수하여 조사하였고 각 실험은 4회 반복 하였다.

### 2. 내구란 보관 방법에 따른 부화율

내구란의 보관방법에 따른 부화율 조사는 실험

1에서 사용한 동일한 strain과 배양방법을 이용하였다. 내구란 보관은 28°C, 15 ppt, 0L : 24D로 15일간 보관(RA), -5°C, 염분 15 ppt로 30일간 냉동보관(RB), 5°C, 15 ppt로 30일간 냉장보관(RC), 28°C, 3,000 lux, 24L : 0D로 30일간 건조시키면서 보관(RD)하는 방법으로 구분하여 실험하였다. 이와 같이 서로 다른 환경조건에서 보관되어진 내구란은 15 ppt, 28°C, 2,000 lux, 24L : 0D에서 5 ml multi-culture plate에 63~128개를 수용한 후 14일 동안 배양하여 매일 부화한 rotifer를 계수하였다. 실험은 2회 반복 하였다.

### 3. 내구란 건조시 온도와 시간에 따른 내구란 부화율

실험 1에서 사용한 동일한 rotifer strain을 28°C, 15 ppt에서 배양하였다. 먹이는 부경대학교 한국해양미세조류은행에서 분양받은 *Chlorella* sp. (KMMCC-C-27)와 빵효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 공급하였다. 이와 같은 방법으로 형성된 내구란은 온도 30, 32, 34°C incubator에서 각각 1, 2시간동안 건조시킨 후 10 ml 시험관에 밀봉하여 온도 20°C, 암흑상태에서 4개월간 보관하였다. 부화율은 각 온도와 시간에 따라 건조된 내구란 300~500개를 10 ml multi-culture plate에 수용한 후 28°C, 15 ppt, 3,000 lux, 24L : 0D에서 36시간후 부화율을 조사하였다. 실험은 4회 반복하였다.

### 통계처리

모든 결과는 SPSS for Window program을 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

## 결 과

수온과 염분에 따른 rotifer 내구란의 부화율은 Fig. 1과 같다. 부화율은 28°C 수온구의 15 ppt

수온, 염분 및 보관방법에 따른 한국산 Rotifer, *Brachionus plicatilis* (S-type) 내구란의 부화율

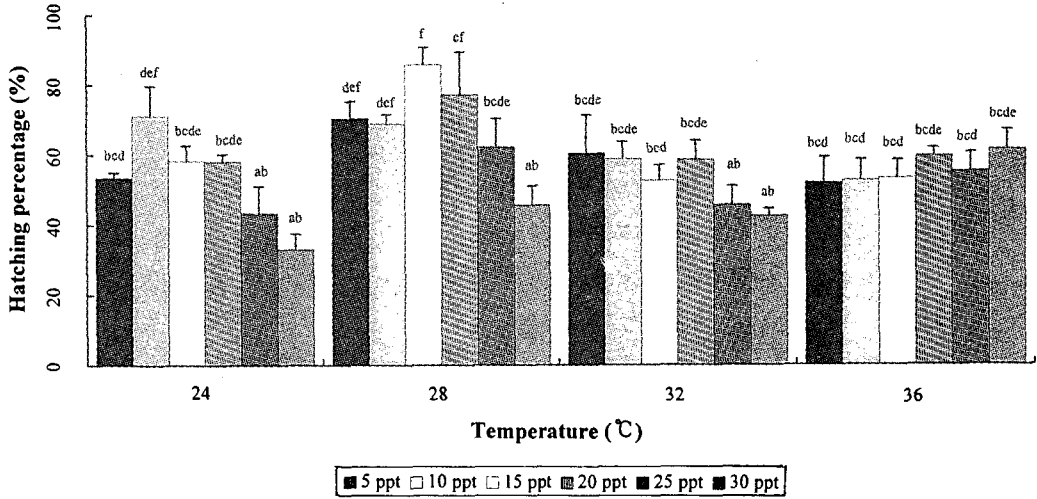


Fig. 1. Comparison of hatching percentage of the resting eggs of S-type rotifer, *Brachionus plicatilis* at different temperatures and salinities.

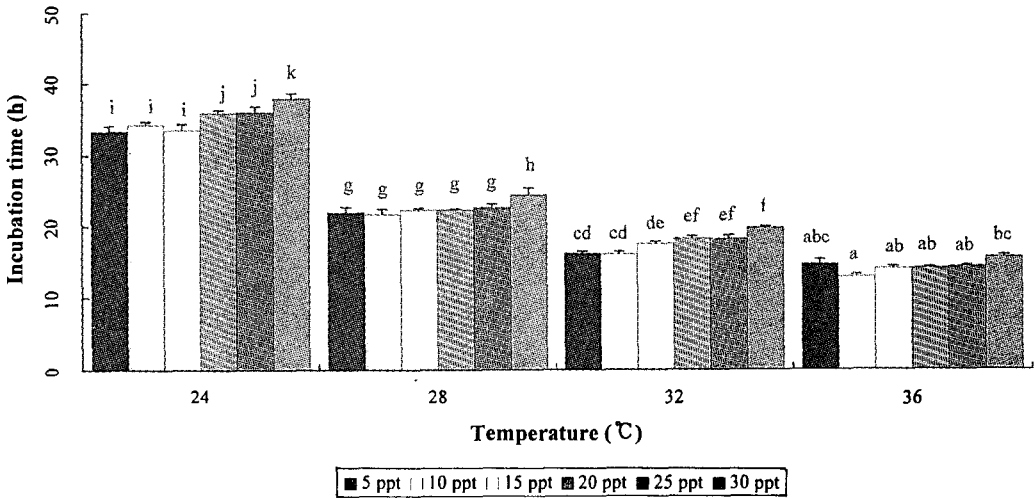


Fig. 2. Variations of incubation time (hour) for hatching of resting eggs of S-type rotifer, *Brachionus plicatilis* at different temperatures and salinities.

염분구에서 85.7%로 가장 높게 나타났고 24°C 수온구의 30 ppt 염분구에서 33.1%로 가장 낮은 부화율을 보였다. 각 수온구마다 염분에 따른 부화율은 24°C의 25, 30 ppt 실험구와 28°C 30 ppt 실험구를 제외하고는 뚜렷한 차이가 없었다. 또 30 ppt 염분구의 부화율은 수온이 증가할수록 높게 나타나는 경향을 보였고 36°C 수온구에서

61.4%로 가장 높게 나타났다. 특히 32°C 수온구와 36°C 수온구의 모든 염분구의 부화율은 42.8~61.8%로 염분에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다.

수온과 염분에 따른 내구란의 평균 부화 시간은 Fig. 2와 같다. 수온 24°C에서의 각 염분에 따른 내구란의 평균 부화시간은 33~37시간이고 28°C

은 20~24시간, 32°C은 16~19시간, 36°C은 13~14시간으로 수온이 높을수록 평균 부화시간은 짧게 나타났고 모든 수온구에서 염분이 높을수록 부화시간은 약간 긴 경향을 보였다.

내구란 보관 방법에 따른 부화율의 결과는 Fig. 3과 같다. 내구란을 28°C에서 15일 동안 0L : 24 D에서 보관한 경우 실험 1일째 2.3%가 부화되기 시작하여 14일째에 58.1%의 가장 높은 부화율을 보였고 실험기간동안 부화는 산발적으로 일어났다. 5°C 암흑상태로 냉장 보관한 내구란의 부화율은 1일과 2일째 각각 일시적으로 25.6%, 36.6%로 다른 실험구 보다 높은 부화율을 보였으나 14일째 40.1%로 28°C에서 15일 동안 0L : 24 D에서 보관한 경우보다 낮게 나타났다. 건조와 냉동상태로 보관한 내구란의 부화율은 14일 동안 각각 4.2%, 2.1%로 매우 낮게 나타났다.

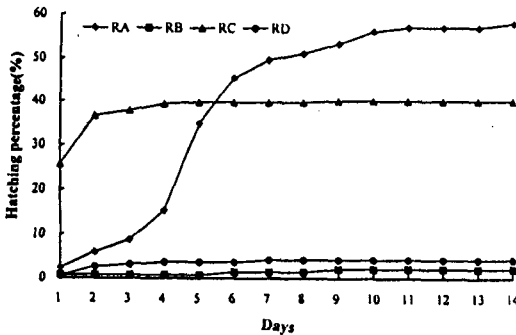


Fig. 3. Variation of hatching percentage of resting eggs of S-type rotifer, *Brachionus plicatilis*, preserved in different methods (RA ; eggs preserved at 28°C with continuous dark for 15 days, RB ; eggs preserved at -5°C with continuous dark for 30 days, RC ; eggs preserved at 5°C with continuous dark for 30 days, RD ; dried eggs preserved at 28°C with continuous light for 30 days).

내구란 건조시 온도와 시간에 따른 부화율은 Fig 4와 같다. 온도가 높을수록 부화율이 감소하는 경향을 보였고 각 온도에서 건조 시간이 2시간보다 1시간동안 건조하는 것이 부화율이 높게 나타났다. 가장 높은 부화율은 30°C, 1시간동안 건조시킨 내구란이 46.4%로 나타났고, 34°C, 2시간동안

건조시킨 내구란이 11.4%로 가장 낮은 부화율을 보였다.

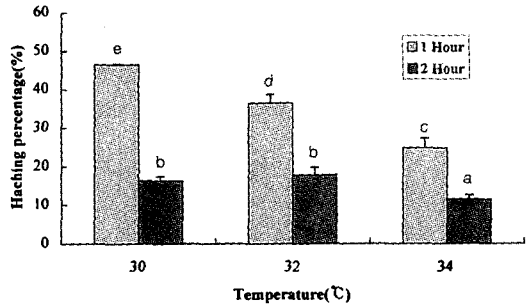


Fig. 4. Hatching percentage of resting eggs of S-type rotifer, *Brachionus plicatilis*, dried at different temperatures and drying hours.

## 고찰

Rotifer 내구란의 부화율과 부화기간은 부화 환경에 따라서 다양하게 나타난다(Hagiwara et al., 1985a). Hagiwara and Hirayama (1993)는 온도와 염분이 내구란의 부화율과 부화시간에 많은 영향을 미친다고 보고 하였다. Minkoff et al. (1983)은 L-type rotifer 내구란의 최적 부화온도와 염분에 대하여 12~15°C, 16 ppt에서 부화율 40~70%이며 Hagiwara et al. (1985a)과 Hagiwara and Hino (1990)는 25°C, 8%에서 부화율은 90%라고 보고 하였다. Hagiwara et al. (1985b, 1989)은 S-type rotifer 내구란의 최적 부화율은 25~30°C, 4~32 ppt에서 부화율 83~100%라고 보고하였다. 본 실험에서 S-type 내구란의 최적 부화율은 온도 24~28°C, 염분 5~20ppt로 Hagiwara et al. (1985b, 1989)의 결과와 비슷하였다.

또한 rotifer의 내구란 형성시 염분과 먹이종류는 차후 내구란의 부화율에 영향을 미친다는 보고도 있다(Hagiwara et al., 1989 ; Hagiwara and Hino, 1990). 그러나 Hamada et al. (1993)은 먹이 종류에 대한 내구란 부화율은 유의적인 차이가 없다고 보고하였다. Hagiwara et al. (1985b)은 30% 이하의 용존산소하에서

내구란 부화율이 감소하고 암모니아 10 ppm이 상이면 부화가 이루어지지 않는다고 하였다. Minkoff et al. (1983)과 Hagiwara and Hino (1989)는 빛이 없는 상태에서는 내구란이 부화되지 않아 빛이 내구란의 휴면상태를 자극하는 중요한 환경요인이라고 보고 하였다. 또한 Minkoff et al. (1983)은  $6.3 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ 에서 48시간 동안 조사하였을 때 내구란의 부화율 50%를 보고하였다. 그리고 Hagiwara and Hirayama (1993)는 내구란의 부화조도로  $100 \sim 200 \text{ E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 을 이용한다고 하였다. 그러나 Hagiwara et al. (1985a)은 빛이 부화율에는 영향을 미치지 않지만 부화시간에는 관계없고 다만 수온과 염분이 부화시간에 영향을 미친다고 보고 하였다. 본 실험에서도 수온과 염분에 따라서 부화시간이 다르게 나타났다.

Pourriot and Snell (1983)과 Hagiwara and Hino (1989)는 내구란의 부화가 일시적인 부화와 산발적인 부화형태가 있으며 내구란 보관방법이나 보관기간동안의 환경요인이 내구란의 부화형태와 부화율에 많은 영향을 미친다고 하였다. 내구란 형성후 바로 부화 시키거나 짧은기간 동안 보관할 때에는 장기기간 동안 산발적으로 부화하는 형태이며  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 15일 암기상태나  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 6개월 정도로 오랜기간 동안 보관할 때 resting egg는 단기간 동안 일시적으로 부화하는 형태를 보인다고 하였다. 이러한 차이는 내구란이 환경에 따라서 서로 다른 민감성을 갖고 있기 때문이라고 보고하였다(Hagiwara and Hino 1989).

그러나 본 실험에서는 내구란이 형성된 다음 암흑 상태로  $28^{\circ}\text{C}$ 에서 15일간 보관후 부화 시킬 때에는 산발적인 부화형태로 나타났고,  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 1개월 보관한 후 부화는 일시적으로 나타나 Hagiwara and Hino (1989)의 결과와 상반된 부화형태로 나타났다. Hagiwara and Hirayama (1993)는 내구란의 보관기간은 6개월이 지난 후에 높은 부화율을 얻을 수 있다고 하였다. 본 실험에서의 수온과 염분에 따른 부화율 실험에서

3개월 보관후 내구란의 부화율이 최고 85.7%였으나  $5^{\circ}\text{C}$ 에서 냉장보관한 경우의 부화율이 40% 정도로 낮았던 이유는 보관기간이 1개월로 짧았기 때문으로 생각해 볼 수 있다. 본 실험에서 내구란을 냉동, 건조보관하였을 때 5%미만의 아주 낮은 부화율로 나타나 부화율 50%였다는 Pourriot and Snell (1983)의 보고와는 큰 차이가 있었다. 그 이유는 본 실험의 냉동방법은  $-5^{\circ}\text{C}$ 로 천천히 냉동시켰고 건조방법도 온도  $28^{\circ}\text{C}$ 에서 30일간 계속하여 건조 보관되었기 때문에 실험방법의 차이가 원인일 것으로 생각된다. 한편 내구란 건조시 온도와 시간에 따른 부화율을 조사한 결과  $30^{\circ}\text{C}$ , 1시간에서 부화율이 46.4%로 가장 높게 나타나 Pourriot and Snell (1983)의 실험결과와 비슷하였다.

내구란을 자어의 먹이로 이용할 때에는 일시적인 부화형태가 자어에게 먹이공급하는데 편리한 것이므로 내구란을 저온이나 건조하여 보관하는 것이 효과적일 것으로 판단된다. 그리고 내구란 건조보관은 보관이 편리하기 때문에 앞으로 최적 건조온도와 시간에 대한 연구가 더 구체적으로 수행되어야 할 것이다.

## 요 약

한국산 rotifer, *Brachionus plicatilis* 내구란의 부화에 미치는 온도( $24 \sim 36^{\circ}\text{C}$ )와 염분(5~30 ppt)의 영향을 조사하였다. 가장 높은 내구란의 부화율은  $28^{\circ}\text{C}$ , 15 ppt에서 85.7%로 나타났다. 온도  $32^{\circ}\text{C}$ (42.6~60.5%)와  $36^{\circ}\text{C}$ (52.0~61.4%)에서는 염분과 수온에 따른 부화율은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 부화시간은 온도가 높을수록 짧게 나타났다.

$5^{\circ}\text{C}$  암흑상태로 내구란을 보존할 경우 2일 동안 일시적으로 부화하였다. 그러나  $28^{\circ}\text{C}$  내구란을 보존한 경우, 14일 동안 산발적으로 부화하였다. 또한, 부화율은  $28^{\circ}\text{C}$  (58.1%)가  $5^{\circ}\text{C}$  (40.2%)보다 높게 나타났다.

내구란의 건조온도와 시간에 따른 부화율은 30

℃에서 1시간동안 건조한 내구란이 46.4%로 가장 높은 부화율을 보였다.

### 참 고 문 헌

- Duncan, D. B., 1955. Mutiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11 : 1-42.
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detomnule conferracea* (Cleve). *Gram. Can. J. Microbiol.*, 8 : 229-239.
- Hagiwara, A., 1994. Practical use of rotifer cyst. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 46 : 13-21.
- Hagiwara, A. and A. Hino, 1989. Effect of 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 A. Hino, 1990. Feeding history and hatching of resting eggs in the marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 : 1965-1971.
- 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 apperance of floating fertilized eggs in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Suisan Zoshoku*, 32 : 207-212.
- Hagiwara, A. and K. Hirayama, 1993. Preservation of rotifers and its application in the finfish hatchery. *Proceedings of Finfish Hatchery in Asia '91. TML Conference Proceedings*, 3 : 61-71. *Tungkang Marine Labortory, Taiwan Fisheries Research Institute, Tungkang, Pingtung, Taiwan.*
- 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.
- 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.
- Minkoff, G., E. Lubzens and D. Kahan, 1983. Environmental factors affecting hatching of rotifer resting eggs. *Hadrobiologia*, 104 : 61-69.
- Pourriot, R. and T. W. Snell, 1983. Resting eggs in rotifers. *Hadrobiologia*, 104 : 213-224.
- 日野明德, 1981. シオミズツボワムシの分類, 變異および生活史について. *栽培技研*, 10 : 109-123.