

Rotifer, *Brachionus plicatilis*, 성장을 위한 광합성세균의 첨가 효과와 넙치, *Paralichthys olivaceus*, 자어에 대한 먹이효율¹

김만수 · 김해영 · 허성범²
부경대학교 양식학과

Effect of Photosynthetic Bacterial Addition to Chlorella or ω -Yeast on Growth of Rotifer, *Brachionus plicatilis*, and its Dietary Value for Flounder, *Paralichthys olivaceus*, Larvae¹

Man Soo KIM, Hae Young KIM and Sung Bum HUR²
Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
youngkh@mail1.pknu.ac.kr, hurs@mail.pknu.ac.kr

This study was carried out to investigate the effect of photosynthetic bacteria to chlorella or ω -yeast on growth of the rotifer and its dietary value for flounder, *Paralichthys olivaceus*. The rotifer fed the chlorella (200,000 cells/ind./day) with the addition of 20 times the photosynthetic bacteria of the chlorella concentration showed the highest growth. But the specific growth rate of 100,000 chlorella/ind./day with the addition of 30 times the photosynthetic bacteria was the most economical feeding regime for mass culture of the rotifer. The rotifer fed ω -yeast with 200,000 cells/ind./day with the addition of 20 times the photosynthetic bacteria of the chlorella concentration showed the highest growth. Growth and survival rate of the larvae of *Paralichthys olivaceus* fed the rotifer reared on both chlorella and ω -yeast with the addition of photosynthetic bacteria were higher than those without the bacteria, and the chlorella had better dietary value than the ω -yeast for the larvae. The larvae fed the rotifer which was cultured with the chlorella of 200,000 cells/ind./day and the photosynthetic bacteria of 4×10^6 cells/ind./day showed the highest survival rate and growth. The larvae reared with the addition of the photosynthetic bacteria had higher total lipid and the total content of EPA and DHA than those reared without the bacteria. The larvae fed the enriched artemia nauplius with the photosynthetic bacteria also showed higher survival rate and growth than those fed the nauplius without the enrichment. The optimum enrichment concentration of the photosynthetic bacteria for artemia nauplius was 2×10^7 cells/ml. The addition of the photosynthetic bacteria to the chlorella and the ω -yeast was effective to growth of the rotifer and dietary value for the flounder larvae. However, an excessive addition of the bacteria decreased both the growth of the rotifer and the dietary of the larvae.

Key words: Rotifer, Flounder, Live food, Photosynthetic bacteria, Chlorella, ω -yeast

서 론

해산동물의 중요생산시 동물먹이생물로 이용되는 rotifer, *Brachionus plicatilis*의 대량 배양은 필수적인 과제이다. Chlorella는 대량배양이 쉬울 뿐 아니라 단백질과 고도불포화지방산의 함량이 높아 (Fulks and Main, 1991) rotifer의 대량배양에 가장 적합한 식물먹이생물이다. 그러나 chlorella의 대량배양은 비용이 높고 안전성의 문제가 있다. 특히, 수온 30°C 이상의 고온에서는 갑자기 폐사하는 예가 많아 대량배양에 어려움이 있다 (Hur, 1991). 따라서 rotifer의 대량배양시 chlorella를 대체하기 위하여 빵효모, *Saccharomyces cerevisiae*가 개발 (Hirata and Mori, 1967)된 이후 빵효모의 영양을 강화하기 위하여 불포화 지방산이 풍부한 오징어 유를 유화시켜 만든 유지효모 (ω -yeast)가 널리 이용되고 있다 (Hirayama and Funamoto, 1983).

그러나 유지효모는 저렴한 대량생산이 가능하고 저장성이 용이한 장점이 있긴 하나, 수질의 악화가 문제될 수 있고 먹이 효율의 면에서도 chlorella보다 못하여 (Furukawa and Hidaka, 1973; Hirayama and Funamoto, 1983; Hirayama, 1987) 중요생산업자들은

여전히 chlorella를 선호하고 있다. 따라서 이러한 단점을 보완하기 위하여 rotifer를 유지효모로 일차 배양한 후 자어에 공급하기 전에 해수산 chlorella로 영양강화하는 방법 (Fukusho et al., 1976; Fukusho, 1989)과 성장이 빠른 담수산 chlorella를 이용하는 방법 (Hirayama et al., 1989) 등이 개발되었다. 그러나 아직도 rotifer의 대량배양에 있어 경제적이고 질적으로 우수한 먹이의 개발은 이루어지지 않은 상태여서 이를 위한 연구가 시급한 실정이다.

한편 rotifer 배양시 사육수조내의 vitamin B를 생산하는 bacteria가 rotifer의 성장을 향상시킨다는 보고 (Yu et al., 1989, 1990) 이후 광합성세균 (photosynthetic bacteria)의 이용에 대한 연구가 시도되었다 (Fukusho, 1989; Fushimi, 1989). 무산소층에서 생산자 역할을 하는 광합성세균은 단백질과 vitamin B₁₂의 함량이 높고 대량배양이 가능하여 (Kobayashi et al., 1969) vitamin 합성 (Siefert and Koppinshagen, 1982; Sasaki et al., 1989)과 폐수의 정화 (Bolliger et al., 1985) 산업에 이용되며 또 최근에는 양식장의 수질정화 (Hiraishi et al., 1989)의 목적으로도 연구된 바 있다.

따라서 본 연구에서는 광합성 세균이 먹이생물로 이용될 가능성이 있을것으로 판단되어 해수산 chlorella와 유지효모로 rotifer

¹본 논문은 해양수산부 수산특정연구과제의 연구비 지원으로 수행되었음.

²Corresponding author.

배양시 광합성세균의 첨가효과와 *artemia nauplius*의 영양강화제로서의 광합성세균의 효율을 조사하였다. 또 광합성 세균을 첨가하여 배양한 rotifer와 *artemia nauplius*를 넘치 자치어에 공급하여 광합성세균의 먹이효율을 조사하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 광합성세균은 *Rhodospseudomonas capsulata*로 두산기술원에서 생산한 제품을 이용하였다. 광합성세균의 계수는 분광광도계를 이용한 optical density의 측정과 G-5배지 (Koglimiller and Gest, 1951)에 광합성세균을 도말한 후 30°C의 incubator에서 7일간 배양한 후 형성된 colony를 계수하는 방법을 이용하였다. 실험에 사용한 rotifer는 *Brachionus plicatilis*였고 먹이생물로는 한국해양미세조류은행에서 분양받은 *Chlorella ellipsoidea* (KMCC C-27)와 빵효모에 오징어유 15%를 유화시킨 이화유지공업주식회사의 유지효모 제품을 이용하였다. *Chlorella*는 F/2배지 (Guillard and Ryther, 1962)로 20 l carboy 병에서 25°C, 5,000 lux 연속조명의 조건에서 배양하였다.

Rotifer배양

*Chlorella*와 광합성세균을 혼합하여 rotifer를 배양할 경우 rotifer한 개체당 1 일 *chlorella*의 먹이량은 10,000, 50,000, 100,000, 200,000, 300,000 cells로 구분하여 공급하였다. 본 실험에 사용한 *chlorella*와 광합성세균의 평균 체적은 각각 약 60 μm^3 와 2 μm^3 로 *chlorella*의 체적은 광합성세균의 약 30배로 측정되었다. 따라서 광합성세균의 첨가량은 *chlorella* 세포수의 10, 20, 30배로 구분하여 공급하였다.

본 실험에 사용한 유지효모는 평균체적이 약 57 μm^3 으로 *chlorella*와 비슷하였다. 따라서 유지효모와 광합성세균을 혼합하여 rotifer를 배양할 경우 rotifer 1 개체당 1일 유지효모 먹이공급량은 100,000, 200,000, 30,000 cells을 공급하였고 광합성세균은 *chlorella* 실험에서와 같이 유지효모세포수의 10, 20, 30배로 구분하여 공급하였다.

Rotifer의 배양은 500 ml flask 용기에 30 ppt의 여과해수 200 ml를 넣고 rotifer 20개체/ml의 농도로 접종하였다. Rotifer의 성장은 각 실험구에서 매일 1 ml씩 3회 취하여 평균 성장을 8일간 측정하였다. 또, rotifer의 일간성장률 (specific growth rate, SGR)은 Guillard (1973)의 공식, $\text{SGR} = 3.322 \log (N_2/N_1)/t_2 - t_1$ (t_1 , t_2 : 접종후 일수, N_1 , N_2 : t_1 , t_2 일때의 밀도)을 이용하였다.

광합성세균의 먹이효율

*Chlorella*와 유지효모에 광합성세균을 첨가하여 배양한 rotifer의 먹이효율을 넘치 자어를 대상으로 조사하였다. Rotifer의 성장에 가장 좋았던 *chlorella*와 유지효모의 농도 (20×10^4 cells/ind./day)에 광합성세균 20배 즉 400×10^4 cells/ind./day를 첨가하여 rotifer를 배양한 후 먹이로 사용하였다 부화직후의 넘치 자어 1,000마리를 500 l의 원형수조에 수용한 후 매일 rotifer를 10개체/ml로 공

급하면서 17°C에서 약하게 공기를 공급하며 15일간 사육하였다.

또 rotifer 공급 이후의 먹이생물은 San Francisco Bay strain의 *artemia cyst*를 이용하였다. *Artemia nauplius*의 영양강화에 적합한 광합성세균 농도를 파악하기 위하여 갯 부화한 *nauplius* 200 개체를 여과해수 10 ml의 시험관에 수용한 후 2, 4, 6, 8, 10×10^7 cells/ml 농도의 광합성 세균을 첨가한 후 24시간 후의 *nauplius*의 생존율을 조사하였다. 그리고 가장 높은 생존율을 보인 실험구의 농도를 기준으로 부화직후의 *nauplius*를 6시간 동안 영양강화하였다.

영양강화된 *nauplius*는 여과해수에 세척한 후 넘치 자어에 공급하였다. 전장 4.56 ± 0.67 mm의 넘치 자어 1,000마리를 500 l 원형수조에 수용한 후 10일간은 *chlorella*로 배양한 rotifer를 10개체/ml로 공급하고 15일까지는 rotifer와 영양강화된 *nauplius*를 각각 5개체/ml씩 함께 공급하고 15일부터 30일까지는 *nauplius*만 5개체/ml로 공급하였다. 실험종료시 30마리의 치어에 대한 전장과 생존율을 측정하였다.

지방산 분석

*Chlorella*와 유지효모에 광합성세균을 첨가하여 배양한 rotifer를 15일간 넘치 자어에 공급후 어체를 모두 수거한 후 체내의 지방산 조성은 gas chromatography (Model 8700, Perkin Elmer Ltd. USA)와 diethyleneglycolpolyester column을 이용였고 지방의 추출 및 정제는 Folch et al. (1957)의 방법을 이용하였다.

통계처리

모든 실험은 2 반복구로 실시하였고 통계처리는 성장은 Duncan's multiple range test (Nie et al. 1975)로 생존율은 Daniel (1987)의 방법으로 통계처리하여 유의성 ($P < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

1. Rotifer 성장

*Chlorella*와 광합성세균의 혼합에 의한 rotifer 성장

*Chlorella*에 광합성세균을 첨가하여 rotifer를 배양한 결과 rotifer의 성장경향은 Fig. 1과 같다. *Chlorella*를 10,000 cells/ind./day로 공급한 경우 광합성세균을 *chlorella*의 30배 농도로 공급한 실험구에서 배양 6일째 rotifer가 87개체/ml로 가장 높았고 광합성세균을 첨가하지 않은 대조구에서는 7일째 43개체/ml로 가장 낮았다. *Chlorella*를 50,000 cells/ind./day로 공급한 경우 광합성세균을 *chlorella*의 20배 농도로 공급한 실험구에서 7일째 rotifer가 113개체/ml로 가장 높았고 대조구는 64개체/ml로 가장 낮았다.

*Chlorella*를 100,000 cells/ind./day로 공급한 경우 광합성세균을 30배 농도로 공급한 실험구에서 6일째 rotifer가 247개체/ml로 가장 높았고 대조구는 7일째 151개체/ml로 가장 낮았다. 200,000 cells/ind./day로 공급한 경우 6일째 광합성세균을 20배 농도로 공급한 실험구에서 316개체/ml로 가장 좋았고 대조구에서는 150개체/ml로 가장 낮았다.

Chlorella를 300,000 cells/ind/day로 공급한 경우 7일째 광합성 세균을 chlorella의 20배로 공급한 실험구에서 rotifer가 263개체/ml로 가장 좋은 성장을 보였고 대조구는 162개체/ml로 가장 낮았다. 대조구의 rotifer의 성장은 200,000 cells/ind/day의 실험구의 대조구와 비슷한 성장 경향을 보였고, 광합성세균을 첨가 할 경우 rotifer의 성장은 200,000 cells/ind/day를 공급할 때 보다 오히려 낮았다.

전체적으로 볼 때 chlorella의 공급량이 200,000 cells/ind/day인 실험구에서 rotifer의 성장경향이 가장 높았고 300,000 cells/ind/day 실험구에서는 100,000 cells/ind/day 실험구보다도 낮았다. 200,000 cells/ind/day이하를 공급한 경우는 chlorella의 공급량이 적을 수록 rotifer의 성장은 낮은 경향을 보였다.

유지효모와 광합성세균의 혼합에 의한 rotifer 성장

Chlorella의 실험결과 rotifer 개체당 1일 chlorella의 먹이농도가 10,000 cells 이하에서는 성장이 매우 낮았으므로 유지효모의 실험에서는 먹이농도를 100,000, 200,000, 300,000 cells 만을 실험하였다. 광합성세균을 유지효모 농도의 10, 20, 30배로 첨가하여 rotifer를 배양한 성장 경향은 Fig. 2와 같다.

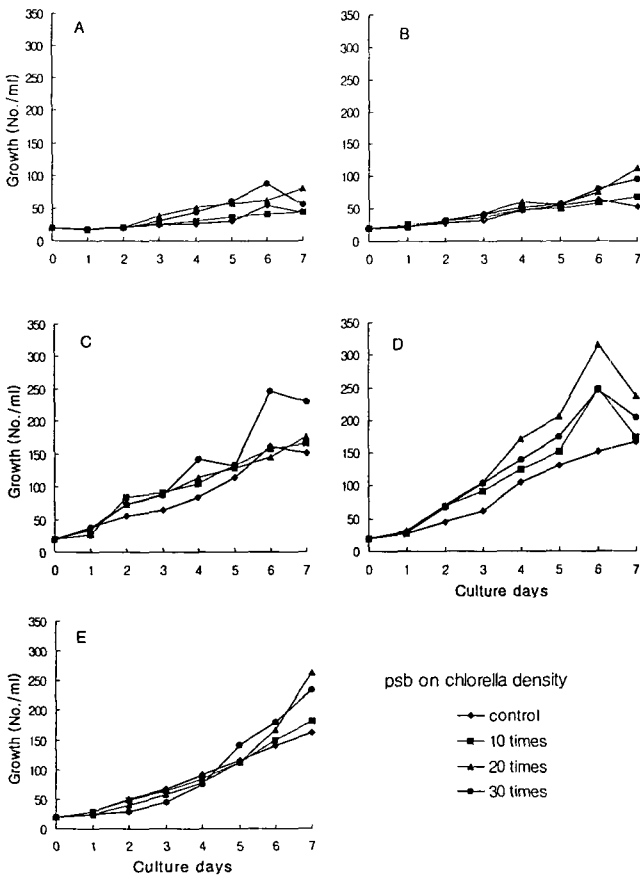


Fig. 1. Growth of rotifer fed *Chlorella ellipsoidea* with different photosynthetic bacteria (PSB) densities (A: 1×10^4 chlorella/ind./day, B: 5×10^4 chlorella/ind./day, C: 1×10^5 chlorella/ind./day, D: 2×10^5 chlorella/ind./day, E: 3×10^5 chlorella/ind./day).

유지효모를 100,000 cells/ind/day 공급한 경우 광합성세균을 유지효모의 30배로 공급한 실험구에서 배양 6일째 124개체/ml로 가장 좋았다. 특히 rotifer의 성장 peak가 광합성세균을 첨가하지 않은 대조구에서는 4일째 제일 먼저 최고에 달한 후 실험종료시에는 34개체/ml로 감소하였으나 광합성세균을 30배로 첨가한 실험구는 지속적으로 성장하여 접종 후 6일까지 지속적으로 성장하였다.

유지효모를 200,000 cells/ind/day 공급한 경우 배양 5~6일에 rotifer의 성장이 peak에 달 했다. 광합성세균을 20배 첨가한 실험구에서는 접종 후 6일에 181개체/ml로 가장 좋은 성장을 보였고 30배 첨가한 실험구에서는 대조구에서 5일째 104개체/ml로 낮은 성장 경향을 보였다. 300,000 cells/ind/day 공급한 경우 광합성세균을 10배로 첨가한 실험구에서 5일째 112개체/ml로 가장 좋았고 대조구에서는 103개체/ml로 10배를 첨가한 실험구에서와 비슷한 결과를 보였다. 광합성세균을 20배, 30배 첨가한 실험구에서는 77개체/ml, 70개체/ml로 가장 낮은 경향을 보였다.

전체적으로 볼 때 유지효모를 공급한 경우의 성장은 chlorella의 경우보다 낮은 성장을 보였다. Rotifer의 성장은 유지효모의 먹이농도가 200,000 cells/ind/day의 실험구에서 가장 높았고 300,000 cells/ind/day 실험구에서 가장 낮았다. 유지효모의 공급량이 많을 수록 광합성세균의 첨가량이 적은 실험구에서 rotifer의 성장이 좋은 경향을 보였으며 유지효모의 공급량이 적을 경우는 광합성세균의 첨가량을 높게한 실험구에서 성장이 양호한 경향을 보였다.

Rotifer의 일간성장을

Rotifer 1개체당 1일 먹이량으로 chlorella를 10,000~300,000 cells 공급한 rotifer의 일간성장율은 Fig. 3과 같다. Chlorella를 50,000 cells 이하로 공급하였을 때는 일간성장율이 0.6이하로 낮았으나 100,000 cells 이상으로 공급한 실험구에서는 0.9 이상으로

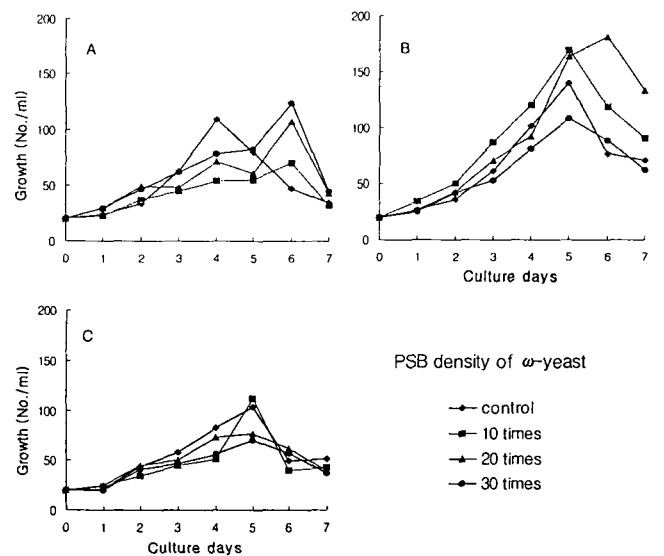


Fig. 2. Growth of rotifer fed ω -yeast with different photosynthetic bacteria (PSB) densities (A: 1×10^5 ω -yeast/ind./day, B: 2×10^5 ω -yeast/ind./day, C: 3×10^5 ω -yeast/ind./day).

급격히 높아지는 경향을 보였다. 그러나 *Chlorella*의 농도가 100,000 cells 이상에서는 *Chlorella*의 증가에 따른 일간성장율은 큰 변화가 없었다.

*Chlorella*를 100,000 cells 공급할 경우 광합성세균을 30배 농도로 첨가한 실험구에서는 가장 높은 성장률 (1.14)을 보였고 광합성세균의 첨가가 많을수록 높은 성장율을 보였다. 그러나 *Chlorella*를 200,000 cells 이상 공급한 실험구에서는 광합성세균을 20배 농도로 첨가한 실험구가 30배 첨가한 실험구보다 더 높은 성장율을 보였다.

유지효모의 경우 일간성장율은 *Chlorella*보다 낮았고 가장 높은 성장율 (0.9)은 200,000 cells에 광합성세균을 20배 농도로 첨가한 실험구에서였다. 그러나 *Chlorella* 실험에서와는 달리 광합성세균을 30배 첨가한 경우는 대조구보다도 낮은 가장 저조한 성장율을 보였다. 또 유지효모를 300,000 cells로 공급한 경우 일간성장율은 급격히 감소하며 광합성세균을 많이 첨가한 것일수록 낮은 성장율을 보였다 (Fig. 4).

2. 낚치자치어에 대한 광합성세균의 먹이효율

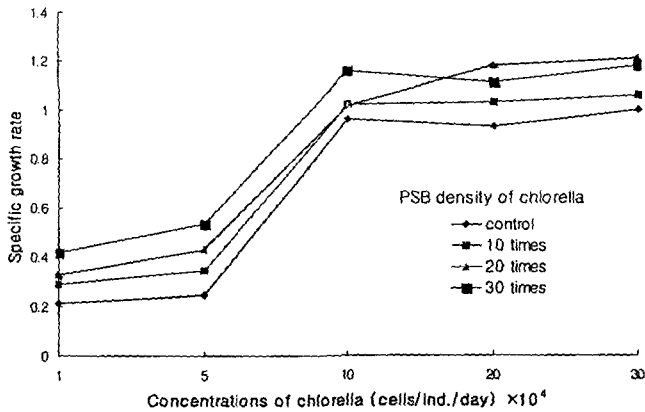


Fig. 3. Specific growth rate of rotifer fed *Chlorella ellipsoidea* with photosynthetic bacteria densities.

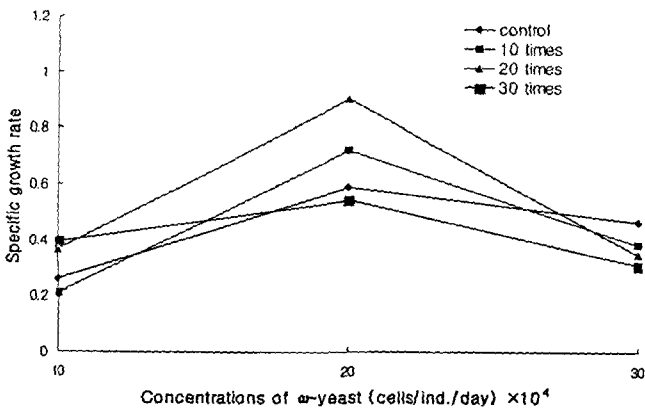


Fig. 4. Specific growth rate of rotifer fed ω -yeast with photosynthetic bacteria density.

Rotifer

앞의 실험 결과를 참고하여 *Chlorella*와 유지효모의 공급량 20×10^4 cells/ind./day에 광합성세균 20배 (4×10^6 cells/ind./day)를 첨가하여 배양한 rotifer를 15일간 낚치 자어에 공급한 결과는 Table 1과 같다. 생존율은 모든 실험구에서 94% 이상으로 *Chlorella*에 광

합성 세균을 첨가한 것이 96.8%로 가장 높았다. *Chlorella*에 광합성 세균을 첨가한 실험구의 생존율은 다른 실험구보다 유의적으로 높았다. *Chlorella*의 경우 광합성세균을 첨가한 것은 첨가하지 않은 대조구보다 높았다. 전장의 성장 역시 *Chlorella*에 광합성세균을 첨가한 실험구에서 7.28 mm로 가장 높았으며 유지효모만으로 배양한 실험구는 6.73 mm로 가장 낮았다. 유지효모에 광합성세균을 첨가하여 공급한 것이 *Chlorella*만을 공급한 실험구보다, 또 광합성세균을 첨가한 것은 첨가하지 않은 것보다 생존율과 성장이 높은 경향을 보였다.

Table 1. Growth and survival rate of flounder, *Paralichthys olivaceus*, larvae fed rotifer cultured with addition of photosynthetic bacteria (PSB) to *Chlorella ellipsoidea* and ω -yeast for 15 days (initial mean total length: $3.01 \text{ mm} \pm 0.58$)

Survival rate (%)	Total length (mm)	Diet for rotifer
95.0 ± 0.5^b	7.0 ± 0.1^{ab}	<i>C. ellipsoidea</i> (2×10^5 cells/ind./day)
96.8 ± 0.4^a	7.3 ± 0.2^a	<i>C. ellipsoidea</i> (2×10^5 cells/ind./day) + PSB (4×10^6 cells/ind./day)
94.2 ± 0.3^b	6.7 ± 0.2^b	ω -yeast (2×10^5 cells/ind./day)
95.2 ± 0.1^b	7.2 ± 0.2^a	ω -yeast (2×10^5 cells/ind./day) + PSB (4×10^6 cells/ind./day)

Values (means \pm sd) in column with same superscript letter are not different at $P < 0.05$.

Table 2. Fatty acid composition of flounder, *Paralichthys olivaceus*, larvae fed rotifer cultured with addition of photosynthetic bacteria (PSB) to *Chlorella ellipsoidea* and ω -yeast for 15 days

Fatty acid	Area %				Dry weight mg/g				
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
16:0		22.7	21.4	22.5	6.6	5.8	6.2		
18:0	13.0	12.4	13.0	14.1	3.5	3.6	3.5	3.9	
20:0	0.8	0.7	1.8	1.7	0.2	0.2	0.5	0.5	
24:0		0.1							
8:1 ω -9	8.5	7.7	12.8	12.6	2.3	2.2	3.5	3.5	
18:2 ω -6	4.5	4.2	5.0	4.9	1.2	1.2	1.4	1.4	
18:3 ω -3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	
20:4 ω -6	6.0	5.9	4.9	5.0	1.6	1.7	1.3	1.4	
20:5 ω -3 (EPA)	9.5	9.8	7.1	6.1	2.5	2.8	1.9	1.7	
22:6 ω -3 (DHA)	2.4	2.4	9.9	11.6	0.6	0.7	2.7	3.2	
EPA+DHA	11.9	12.2	17.0	17.7	3.1	3.5	4.6	4.9	

- I. Rotifer fed *C. ellipsoidea* (2×10^5 cells/ind./day).
- II. Rotifer fed *C. ellipsoidea* (2×10^5 cells/ind./day) with PSB (4×10^6 cells/ind./day).
- III. Rotifer fed ω -yeast (2×10^5 cells/ind./day).
- IV. Rotifer fed ω -yeast (2×10^5 cells/ind./day) with PSB (4×10^6 cells/ind./day).

한편 15일 사육 후 수거한 자어의 지방산 조성은 Table 2와 같다. 유지효모로 배양한 자어는 chlorella로 배양한 자어에 비하여 총 지방산이 적었으며 광합성 세균을 첨가한 것은 첨가하지 않은 것 보다 총지방산의 함량이 높았다. 20:5 ω 3 (EPA)는 chlorella의 실험구에서 높았던 반면 22:6 ω 3 (DHA)는 유지효모의 실험구에서 더 높았다 또 DHA는 광합성세균을 첨가한 실험구에서 보다 높게 나타났다. 그러나 유지효모 실험구에서의 EPA는 광합성세균이 첨가되지 않은 실험구가 첨가된 것보다 오히려 높게 나타난 점이 특이하였다.

Artemia nauplius의 영양강화

Artemia nauplius를 1 ml당 10⁷~10⁸ cells의 광합성세균에 24시간 수용한 후의 생존율은 Fig. 5와 같다. 10⁷ cells/ml에서 4×10⁷ cells/ml까지는 광합성세균의 농도가 높을수록 생존율이 높아 4×10⁷ cells/ml에서 98.5%로 가장 높았다. 그러나 이보다 더 높은 농도에서는 농도가 높을수록 생존율이 감소하여 10⁸ cells/ml에서는 78.3%의 가장 낮은 생존율을 보였다.

이와 같은 결과를 기초로 2, 4, 6×10⁷ cells/ml의 광합성세균으로 6시간 동안 영양강화하여 부화 10일째 되는 넙치 자어에 공급한

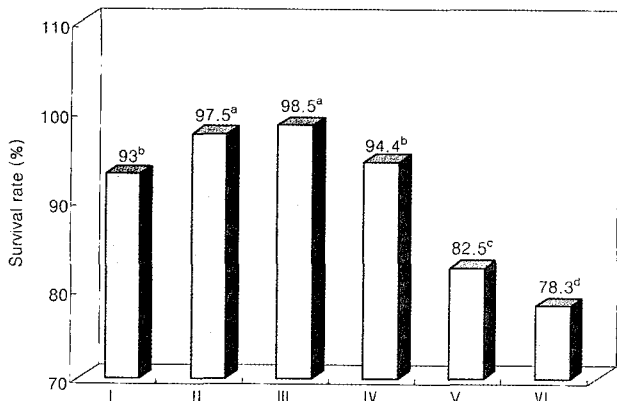


Fig. 5. Survival rate of artemia nauplius enriched with different photosynthetic bacteria densities for 24 hours (I: control, II: 2×10⁷ cells/ml, III: 4×10⁷ cells/ml, IV: 6×10⁷ cells/ml, V: 8×10⁷ cells/ml, VI: 10×10⁷ cells/ml).

Table 3. Survival rate and total length (mm) of flounder, *Paralichthys olivaceus*, larvae fed artemia nauplii enriched with different photosynthetic bacteria densities (initial larvae number: 1,000 individuals, initial mean total length: 4.56 ± 0.67 mm)

Concentration (cells/ml)	Survival rate (%)	Culture days			Daily growth gain (mm)
		Initial	10	20	
Control	43.6 ± 1.1 ^c	6.5 ± 2.0	9.9 ± 1.7	12.5 ± 1.1	0.30 ± 0.01 ^c
2×10 ⁷	62.0 ± 2.9 ^a	6.6 ± 1.7	11.5 ± 0.9	13.4 ± 1.2	0.34 ± 0.03 ^a
4×10 ⁷	50.8 ± 2.2 ^b	6.7 ± 1.9	9.7 ± 0.4	12.9 ± 1.6	0.31 ± 0.03 ^{ab}
6×10 ⁷	42.3 ± 1.5 ^c	6.5 ± 2.5	10.1 ± 1.8	12.7 ± 2.0	0.31 ± 0.01 ^b

Values (means ± sd) in column with same superscript letter are not different at P<0.05.

결과 생존율은 2×10⁷ cells/ml로 영양강화한 것은 62.0%로 가장 높았고 6×10⁷ cells/ml로 영양강화한 것은 42.3%로 가장 낮았다. 영양강화하지 않은 대조구는 43.6%로 최고의 농도로 영양강화한 실험구와 비슷한 결과를 보였다 (Table 3). 일간성장량을 보면 rotifer만 공급했던 10일 까지는 실험구별로 성장의 차이가 없었으나 artemia nauplius를 공급하면서부터는 성장의 차이가 보여 20일 후 2×10⁷ cells/ml 실험구의 일간성장량은 0.34 mm로 가장 높았고 대조구는 0.30 mm로 가장 낮았다.

고찰

현재 rotifer의 대량배양에는 chlorella와 유지효모가 널리 이용되고 있으나 chlorella는 경제성과 안전성에 문제가 있고 유지효모는 영양가와 수질오염의 질적인 문제가 있다. 따라서 이와 같은 단점을 보완할 수 있는 새로운 대체먹이생물의 개발이 요구되고 있으며 이와 같은 관점에서 광합성세균을 포함한 bacteria의 먹이 효율에 대해서 관심이 집중되고 있다.

Vitamin B12가 rotifer 성장에 필수적이라는 보고 (Hirayama and Funamoto, 1983) 이후 YU et al. (1989, 1990)은 배양수의 미생물 분포를 조사한 결과 rotifer의 성장이 좋았던 실험구에서는 vitamin B12를 생산하는 bacteria가 다량으로 존재함을 발견하고 vitamin B12의 함유량이 높은 bacteria는 rotifer의 성장을 향상시킬 수 있다고 하였다. Gatesoupe et al. (1989)는 rotifer 사육시 유산균을 공급할 경우 증식율이 빠르고, 이 rotifer로 넙치 자어를 사육한 결과 성장이 향상 되었다고 하였다. 또 Fukusho (1989)은 광합성세균중 *Thiocapsa roseopersicina*가 rotifer의 성장에 좋은 효과가 있다고 하였고 Fushimi (1989)는 빵효모에 광합성세균을 첨가하여 5톤 규모로 rotifer를 배양한 결과 성장이 향상되었다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 광합성세균 *Rhodospseudomonas capsulata*을 chlorella 공급농도의 10배에서 30배로 첨가할 경우 rotifer의 성장은 광합성세균을 첨가하지 않은 대조구에 비하여 모두 높았던 결과를 볼 때 광합성세균은 rotifer의 먹이생물로서의 효과가 있음을 알 수 있었다. 최적 광합성세균농도는 chlorella의 밀도에 따라 다르게 나타났다. Chlorella 먹이 농도가 100,000 cells/ind./day 이하에서는 광합성세균의 첨가량이 많을수록 rotifer의 성장률이 높았지만 200,000 cells과 300,000 cells의 실험구에서는 광합성세균을 30배로 공급한 실험구의 성장이 20배로 공급한 경우보다 오히려 낮았다. 이러한 결과를 볼 때 chlorella에 광합성세균을 첨가하는 것은 rotifer의 먹이효율을 향상시킬 수 있으나 과도한 광합성세균의 첨가는 오히려 rotifer의 성장을 저해하는 것으로 판단된다.

Hirayama et al. (1973)은 rotifer를 배양할 때 chlorella의 공급농도는 rotifer의 수정율, 산란율에 영향을 미친다고 하였다. 본 연구에서 chlorella를 rotifer 1개체당 일일 200,000 cells 공급하였을 때 가장 빠른 성장을 보였는데 이는 rotifer 한 개체당 일일 최적 chlorella 먹이량은 약 200,000 cells라는 보고 (Hirayama

and Ogawa, 1972)와 일치하였다. 그러나 100,000 cells 이상을 공급한 경우의 rotifer의 일간성장율이 큰 차이가 없었던 점을 볼 때 경제적인 chlorella의 공급량은 100,000 cells/ind/day로 판단된다.

유지효모로 rotifer를 배양할 경우의 성장은 이미 널리 알려진 바와 같이 chlorella로 배양할 때 보다 불량하였다. Chlorella의 실험에서는 100,000 cells/ind/day 이상을 공급한 실험구에서는 rotifer의 일간성장율이 일정한 수준을 유지하였던 것과는 달리 유지효모에서는 200,000 cells에서 성장율이 최고에 달한 후 300,000 cells에서는 급격히 감소하였는데 이러한 결과는 과다한 유지효모에 의한 수질 악화가 원인일 것으로 판단 되었다 (Hirayama and Funamoto, 1983). 유지효모를 200,000 cells/ind/day로 공급할 경우 광합성세균을 30배로 공급한 실험구는 대조구 보다도 성장률이 낮았던 점과 300,000 cells를 공급한 경우에서도 광합성세균을 많이 첨가한 실험구일수록 낮은 성장률을 보인 점이 특이하였다.

본 연구에서 chlorella 또는 유지효모로 rotifer를 배양할 때 광합성세균을 첨가하면 chlorella의 경우는 약 20%, 유지효모의 경우는 약 50% 정도 rotifer를 더 증식시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과는 광합성세균이 함유한 vitamin B₁₂와 rotifer 사육수조의 수질정화의 효과 때문으로 해석할 수 있다. 그러나 광합성세균을 다량으로 첨가할 경우 rotifer의 성장이 오히려 감소하였고 이러한 현상은 유지효모에서 더욱 뚜렷하였다.

한편 넙치 자어의 사육 결과를 보면 유지효모로 rotifer를 배양한 것은 chlorella로 배양한 것 보다 먹이효율이 저조하여 Hirayama (1987)의 결과를 뒷받침하였다. 그러나 chlorella에 광합성세균을 첨가하여 배양한 rotifer를 공급한 자어는 생존율이 향상되었다. 또 유지효모에 광합성세균을 첨가하여 배양한 rotifer를 공급한 넙치 자어는 chlorella 만을 공급한 경우와 차이가 없었던 점을 볼 때 광합성세균의 첨가는 자어의 먹이효율도 증가시킬 수 있었다.

넙치 자어의 지방산 조성 결과를 보면 광합성세균을 첨가하여 사육한 자어에서 20:5 ω 3 (EPA)와 22:6 ω 3 (DHA)의 함량이 높았고 이러한 결과는 EPA와 DHA가 해산어 자어의 성장과 생존율을 높인다는 결과 (Watanabe, 1991; Craig et al., 1994)를 뒷받침 하였다. 특히 본 연구에서 유지효모로 배양한 rotifer를 공급한 넙치 자어는 chlorella를 공급한 것에 비하여 DHA의 함량이 매우 높게 나타난 반면 EPA는 chlorella로 배양한 rotifer를 공급한 자어에서 높았는데 이러한 이유는 오징어 기름으로 유화시킨 유지효모의 DHA가 높기 때문으로 생각된다.

Watanabe (1991)와 Kraul et al. (1993)은 DHA는 EPA보다 자어의 생존율에 더 큰 역할을 한다고 하였다. 본 연구에서 넙치 자어의 생존과 성장에 미치는 EPA와 DHA의 독립적인 영향을 정확히 구명할 수는 없으나 EPA의 함량이 높았던 chlorella로 배양한 rotifer를 먹인 자어의 성장이 DHA가 높았던 유지효모의 경우 보다 빨랐던 점을 볼 때 자어의 성장에는 DHA보다는 EPA가 더 큰 역할을 하는 것으로 생각된다.

Artemia nauplius를 EPA나 DHA의 함량이 높은 물질로 영양강화하여 자어 사육에 널리 이용하고 있다 (Kraul et al, 1993; Stottrup and Attramadal, 1992). 본 연구에서 광합성세균으로

artemia nauplius를 6시간 영양강화하여 자어에 공급한 결과 대조구에 비하여 생존율은 43%, 전장의 증가는 14%가 향상된 점을 볼 때 광합성세균은 rotifer나 artemia의 영양강화제로도 적합한 것으로 판단되었다. 그러나 4×10^7 cells/ml 이상의 광합성세균으로 영양강화한 것은 자어의 성장과 생존율이 모두 감소하는 것으로 보아 rotifer의 성장에서와 같이 과다한 광합성세균은 오히려 부적합한 것으로 판단되었다.

광합성세균은 적당량을 첨가할 경우 먹이생물로서의 효과가 있으나 과다할 경우에는 오히려 독성효과가 있는 것으로 보이며 이와 같은 저해 요인은 보다 구체적인 광합성세균의 영양생리 특성과 배양수질의 분석에 의하여 구명되어야 할 것이다.

요 약

Rotifer의 대량배양에는 해산 chlorella가 가장 적합하나 비용이 높고, 유지효모는 경제적이긴 하나 먹이효율이 낮은 문제점이 있다. 이와 같은 문제점을 개선하기 위하여 본 연구에서는 광합성세균 (*Rhodospseudomonas capsulata*)의 첨가 효과를 조사 하였다. Rotifer 한 개체당 1일 먹이량으로 10,000, 50,000, 100,000, 200,000, 300,000세포의 *Chlorella ellipsoidea*를 공급하고 각 chlorella 수의 10, 20, 30배의 광합성세균을 첨가한 결과 200,000세포에 광합성세균 20배 (4×10^6 cell)를 공급한 것이 가장 성장이 높았으나 경제적인 측면에서는 chlorella 100,000세포에 광합성세균 30배를 공급하는 것이 더 효과적이었다. 또, rotifer 1개체당 1일 먹이량으로 유지효모를 100,000, 200,000, 300,000세포를 공급하고 각 유지효모 수의 10, 20, 30배의 광합성세균을 첨가한 결과 200,000세포에 광합성세균 20배를 첨가한 실험구에서 rotifer의 성장이 가장 높았다.

Chlorella와 유지효모를 각각 200,000 세포씩 그리고 chlorella와 유지효모에 광합성세균을 20배의 농도로 첨가하여 rotifer를 배양하여 넙치 자어를 사육한 결과 chlorella에 광합성세균을 첨가한 실험구의 생존율이 96.8%로 가장 높았으며 성장의 경우도 광합성세균을 첨가한 실험구에서 높은 경향을 보였다. 또 광합성세균을 첨가한 실험구에서의 넙치 자어는 총지질과 EPA와 DHA의 함량이 광합성세균을 첨가하지 않은 실험구에서보다 높게 나타났다. Artemia nauplius를 6시간동안 광합성세균으로 영양강화하여 넙치 치어를 20일간 사육한 결과 영양강화한 것은 하지 않은 것보다 생존율과 성장이 높았으며 광합성세균의 최적영양강화농도는 ml 당 2×10^7 cells로 나타났다. Chlorella와 유지효모에 광합성세균의 첨가는 rotifer의 성장과 자치어의 생존율과 성장에 효과적이었다. 그러나 과다한 양의 광합성세균은 오히려 negative effect가 있는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Bolliger, R., H. Zurrer and R. Bachfen. 1985. Photoproduction of molecular hydrogen from waste water of a sugar refinery by photosynthetic bacteria Appl. Microbiol. Biotech., 23, 147~151.
- Craig, S.R., C.R. Arnolds and G.J. Holt. 1994. The effect of enriching

- live feeds with highly unsaturated fatty acids in the growth and fatty acid composition of larval red drum *Sciaenops ocellatus*. J. World Aquaculture Soc., 25 (3), 431~424.
- Daniel, W. 1987. A foundation for analysis in the health sciences. 4th ed. J. Wiley & Sons Singapore, 734pp.
- Folch, J., M. Lees and G. Sloane. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 226, 497~509.
- Furukawa, I. and K. Hidaka. 1973. Technical problems encountered in the mass culture of the rotifer using marine yeast as food organisms. Bull. of the Plankton Soc., Jap., 20, 61~71.
- Fukusho, K. 1989. Biology and mass production of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. I. Int. J. Aqu. Fish. Technol., 1, 232~240.
- Fukusho, K., O. Hara and J. Yoshio. 1976. Mass production of rotifer, *Brachionus plicatilis*, by feeding *Chlorella* sp. and yeast using large-scale outdoor tanks. The Aquaculture, 24 (3), 96~101.
- Fulks, W. and K. Main. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. The Oceanic Institute. Hawaii, 364pp.
- Fushimi, T. 1989. Sytematizing large-scale culture methods. In *A Live Feed - the Rotifer*, Brachionus plicatilis, K. Fukusho and K. Hirayama, eds. Koseisha- Koseikaku, Tokyo, pp. 118~134.
- Gatescope, F.J., T. Arakawa and T. Watanabe. 1989. The effect of bacterial additives on the production rate and dietary value of rotifers as food for Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 83, 39~44.
- Guillard R.R.L. 1973. Division rates. In *Handbook of phycological methods*, J.R. Stein, ed. Cambridge University. Cambridge, pp. 289~311.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). Gran. Can. J. Microbiol., 8, 229~239.
- Hiraishi, A., J.L. Shi and M. Kitamura. 1989. Effects of organic nutrient strength on the purple nonsulfur bacterial content and metabolic activity of photosynthetic sludge for wastewater treatment. J. of Ferm. Bioeng., 68 (4), 269~276.
- Hirata, H. and Y. Mori. 1967. Mass culture of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed the bread yeast. Saibai-Gyogyo, 5, 36~40.
- Hirayama, K. 1987. A consideration of why mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with baker's yeast is unstable. Hydrobiologia, 147, 269~270.
- Hirayama, K. and H. Funamoto. 1983. Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of baker's yeast of population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49 (4), 505~510.
- Hirayama, K., I. Maruyama and T. Maeda. 1989. Nutritional effect of freshwater *Chlorella* on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 186/187, 39~42.
- Hirayama, K. and S. Ogawa. 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture (I). Filter feeding of rotifer. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 38 (11), 1207~1214.
- Hirayama, K., K. Watanabe and T. Kusano. 1973. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture - III. Influence of phytoplankton density on population growth. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39 (11), 1123~1127.
- Hur. S.B. 1991. The selection of optimum phytoplankton species for rotifer culture during cold and warm seasons and their nutritional value for marine finfish larvae. In *Rotifer and Microalgae Culture System*, W. Fulks and K. Main, eds. The Oceanic Institute. Hawaii, pp. 163~173.
- Kobayashi, M., A. Kawamura, S. Oya, K. Mikami, H. Nakanishi, K. Murata, Y. Kinugasa and T. Kawasugi. 1969. Sewage purification by photosynthetic bacteria and its use as a fish-feed. Bull. Jap. Soc. Fish., 35, 1021~1026.
- Koglimiller, E.F. and H. Gest. 1951. A comparative study of the light and dark fermentations of organic acids by *Rhodospirillum rubrum*. J. Bact., 61, 269~282.
- Kraul, S., K. Brittain, R. Cantrell, T. Nagao, H. Ako, A. Ogasawara and H. Kitagawa. 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Corphaena bippurus*. J. World Aquaculture Soc., 24 (2), 186~193.
- Nie, N.H., C.H. Hull, J.G. Jenkins, K. Steinbrenner and D.H. Bent. 1975. SPSS: Statistical Package for the Social Sciences, 2nd ed. McGraw Hill. New York, 675pp.
- Sasaki, K., M. Hayashi and S. Nagai. 1989. Conversion of cobalt-free corrinoid to vitamin B12 with the resting cells of *Rhodobacter sphaeroides*. J. of Ferm. Bioeng., 67 (4), 303~305.
- Siefert, E. and V.B. Copenhagen. 1982. Studies on the vitamin B12 auxotrophy of *Rhodocyclus purpureus* and Two other vitamin B12-requiring purple nonsulfur bacteria., Arch. Microbiol., 132, 173~178.
- Stottrup, J.G. and Y. Attramadal. 1992. The influence of different rotifers and Artemia enrichment diet on growth, survival and pigmentation in turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. J. World Aquaculture Soc., 23 (4), 307~316.
- Watanabe, T. 1991. Importance of docosahexenoic acid in marine larval fish. European Aquaculture Soc., Spec. Publ., 15, 19pp.
- Yu, J.P., A. Hino, R. Hirono and K. Hirayama. 1990. The role of bacteria in mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. In *The Second Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society*, R. Hirono and I. Hanyu, eds. Manila, Philippines., pp. 29~32.
- Yu, J.P., A. Hino, M. Ushiro and M. Maeda. 1989. Function of bacteria as vitamin B12 producers during mass culture of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 55, 1799~1806.

2000년 1월 20일 접수

2000년 3월 21일 수리