

Rotifer 반 연속 고밀도 배양에 있어서 담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*와 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*의 생산성

이균우 · 박흥기 · 조성환*
강릉대학교 해양생명공학부, *국립수산진흥원 울진 증묘시험장

Productivity of Freshwater Rotifer, *Brachionus calyciflorus* and Marine Rotifer, *B. rotundiformis* in the Semi-continuous High Density Culture

Kyun Woo LEE, Heum Gi PARK and Sung Hwaon CHO*
Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University,
Kangnung 210-702, Korea
*Uljin Marine Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute,
Uljin, Kyungbook 767-863, Korea

The experiment was carried out to investigate the productivity of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* and marine rotifer, *B. rotundiformis* at various temperatures, initial inoculation and pH in a 5 L semi-continuous high density culture. Rotifers were fed by commercial condensed freshwater *Chlorella*. When pH was not controlled, average daily productions of freshwater and marine rotifers increased with temperature. The highest production, 44×10^6 rotifers, was achieved of *B. calyciflorus* at 32°C and the possible production lasting period of *B. calyciflorus* was shorter than that of *B. rotundiformis*. Under the adjustment of pH at 7, the possible production lasting periods of *B. calyciflorus* and *B. rotundiformis* inoculated with 5,000 inds./mL were longer than those of rotifers inoculated with 10,000 inds./mL, and the daily production rate of the former was higher than that of the latter. The results from this study indicated that optimum density of the initial inoculation for the cultivation of *B. calyciflorus* and *B. rotundiformis* was 5,000 inds./mL under the controlled conditions of pH 7 and at 32°C in a semi-continuous high density culture, in terms of production rate and food cost aspects.

Key words: Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, *Brachionus rotundiformis*, Initial inoculation, Semi-continuous high density culture

서 론

담수산 및 해수산 어류와 갑각류 증묘 생산에 있어서 자어와 유생의 초기 동물먹이생물로 담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*와 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*가 가장 많이 이용되고 있다 (Mitchell, 1986; Lubzen, 1989; Rico-Martinez and Dodson, 1992; İşik et al., 1999). 많은 수산 증묘 배양장에서 먹이생물로 공급되는 rotifer 생산 방법은 batch와 반 연속 배양 방법을 선호하고 있지만 이러한 배양 방법은 많은 노동력과 공간 및 시간을 요구한다. 또 rotifer 배양 기간 중 갑작스러운 배양 환경 변화 (Yu and Hirayama, 1986; 山内, 1993)로 rotifer가 급격히 감소하는 경향이 빈번히 발생되어 경제적이면서 안정적인 rotifer 배양 방법이라고 할 수 없다 (Park et al., 1999a, Fu et al., 1997).

따라서 최근 안정적이고 경제적인 rotifer 생산을 위한 다양한 배양 방법 연구가 수행되고 있다 (Fu et al., 1997; Yoshimura et al., 1997; Park et al., 1999a, 1999b; Suantika et al., 2000). 그 중에서도 rotifer 배양 시 산소 공급, 현탁부유물질 제거, 자동 먹이 공급 및 pH 제어 장치 등을 이용한 rotifer 고밀도 배양은 대단히 효율적인 rotifer 배양 방법이라고 할 수 있다 (Park et al., 1999a). 그러나 이러한 rotifer 고밀도 배양 방법에 있어서도 배양 수온,

rotifer의 초기 접종밀도 및 pH 조절 유무에 따라서 rotifer 생산 효율에 차이가 있을 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 담수 및 해수산 rotifer, *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis*를 대상으로 rotifer 반 연속 고밀도 배양에 있어서 보다 안정적이고 효율적인 rotifer 생산을 위해서 배양 수온, 초기 접종밀도 및 pH 조절에 따른 rotifer의 생산성을 비교 조사하였다.

재료 및 방법

Rotifer는 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*와 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*를 실험에 사용하였다. Rotifer 배양 수조는 6 L 원형 수조 (배양수 5 L)를 사용하였다. 수온에 따른 rotifer의 생산성 실험은 초기 접종밀도 5,000 개체/mL로 하였고, 실험 수온은 28°C와 32°C에서 각각 2반복 실시하였으며 pH는 제어하지 않았다. 또한 접종밀도에 따른 rotifer의 생산성 실험은 수온 32°C에서 초기 접종밀도 5,000 개체/mL와 10,000 개체/mL로 각각 1회 실시하였고, pH는 자동 pH 조절기 (천세, Model P-808SE)를 이용하여 7로 제어하였다.

모든 실험은 산소 발생기 (NIDEK Medical, Model Mark 5 plus, 산소 농도 95% 이상)를 사용하여 각 수조에 0.3 VVM (통

기량/배양수량/분)으로 DO가 5 ppm 이상 유지 되게 공급하였다. 해수산 *B. rotundiformis*의 경우, 배양수의 염분을 23‰로 조정하였다. 모든 실험은 배양 수조 내의 현탁부유물질을 제거하기 위해 filter mat (10×15×0.5 cm, KS 185N, Aqua Culture System, Japan)를 설치하여 1일 2회 세척하였다. 먹이 공급은 자동 먹이 공급기 (Eyela, Model MP-N)를 사용하여 담수 농축 *Chlorella* (주식회사, 대상; PCV, 610 mL/L)를 하루에 rotifer 1,000 개체 당 *Chlorella* 건조 중량 0.7842 mg (담수 *Chlorella* 1.92×10⁸ cells)을 공급하였다. Rotifer의 계수는 입체 현미경 하에서 rotifer 개체 밀도가 200 개체/mL 전후가 되도록 희석한 후 3회 계수하였고, 계수 후 초기 접종밀도를 유지하면서 1일 동안 증가한 rotifer량은 수확하고 수확량만큼의 배양수를 보충하는 반 연속 고밀도 배양으로 하였다. 또한 배양수의 용존산소, pH, NH₃-N (Orion, Model 920A)는 매일 측정하였다.

수온별 반 연속 rotifer 고밀도 배양에서 담수산 *B. calyciflorus*와 해수산 *B. rotundiformis*의 생산량에 대한 실험 결과는 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리 평균간의 유의성 (P<0.05)을 SPSS (SPSS Inc., 1997) program (Ver. 7.5)으로 검정하였다.

결 과

pH를 조절하지 않으면서 수온에 따른 반 연속 rotifer 고밀도 배양에서 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 1일 평균 생산량은 32°C 실험구에서 44.5×10⁶ 개체로 28°C 실험구보다 약 2배 이상 높게 나타났고, 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*의 1일 평균 생산량도 32°C 실험구에서 24.1×10⁶ 개체로 28°C 실험구보다 높게 나타났으며 모든 실험구 중에서 *B. calyciflorus*의 32°C 실험구가 가장 높게 나타났다 (P<0.05). 또한 rotifer 생산 기간은 담수산 *B. calyciflorus*의 경우 28°C와 32°C 실험구에서 모두 2일로 나타났고 해수산 *B. rotundiformis*의 생산 기간은 28°C와 32°C 실험구에서 각각 10일과 5일로 수온이 낮을 수록 생산 기간이 긴 것으로 나타났다 (Table 1). 한편, 배양기간 동안 rotifer 증가량의 변화는 담수산 *B. calyciflorus*의 경우, 28°C와 32°C에서 각각 8,500~10,300 개체/mL, 13,600~14,400 개체/mL로 나타났고 해수산 *B. rotundiformis*의 경우, 28°C와 32°C에서 각각 7,300~10,700 개체/mL, 6,600~12,300 개체/mL로 나타났다. 또한, 각 rotifer 배양수의 NH₃-N의 변화는 배양 기간이 경과할수록 증가하는 경향을 보였고, 배양 종료 시 NH₃-N의 농도는 담수산 *B. calyciflorus*의 경우, 22~32 ppm, 해수산 *B. rotundiformis*는 24.9~31.8 ppm로 나타났다 (Fig. 1, 2).

또한 pH를 7로 조절하면서 초기 접종밀도에 따른 반 연속 rotifer 고밀도 배양에서 담수산 *B. calyciflorus* 경우 5,000 개체/mL 접종하였을 경우, 12일간 평균 33.1×10⁶ 개체를 생산하였고 10,000 개체/mL 접종하였을 때 2일간 평균 43.1×10⁶ 개체를 생산하였다. 또한 해수산 *B. rotundiformis*의 경우 5,000 개체/mL 접종하였을 경우, 11일간 평균 32.4×10⁶ 개체를 생산하였고 10,000 개체/mL 접종하였을 때 8일간 평균 33.2×10⁶ 개체를 생산하였다 (Table 2). 한편, 배양기간 동안 rotifer 증가량의 변화는 담수산 *B. calyciflorus*의 경우, 접종밀도 5,000 개체/mL와 10,000 개체/mL 실험구에서

Table 1. Production rate and possible production lasting period of the rotifers, *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus rotundiformis* at different temperatures in a semi-continuous high density culture without pH adjustment¹

Species	Temperatures (°C)	Daily production (×10 ⁶ inds./day/5 L)	Daily production rate (%)	Possible production lasting period (days)
<i>Brachionus calyciflorus</i>	28	21.6±1.08 ^{ab}	86.5±0.04 ^{ab}	2
	32	44.5±2.30 ^c	78.0±0.09 ^c	2
<i>Brachionus rotundiformis</i>	28	18.1±0.38 ^a	72.3±0.02 ^a	10
	32	24.1±0.88 ^b	96.3±0.04 ^b	5

¹Values (mean±s.e. of replication) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

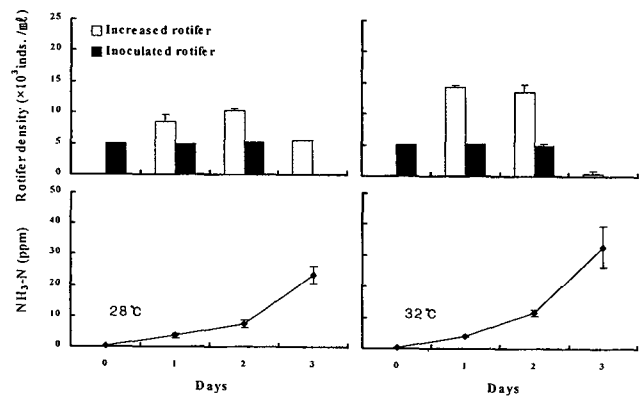


Fig. 1. Changes in density and NH₃-N of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* at the different temperatures in a semi-continuous high density culture without pH adjustment.

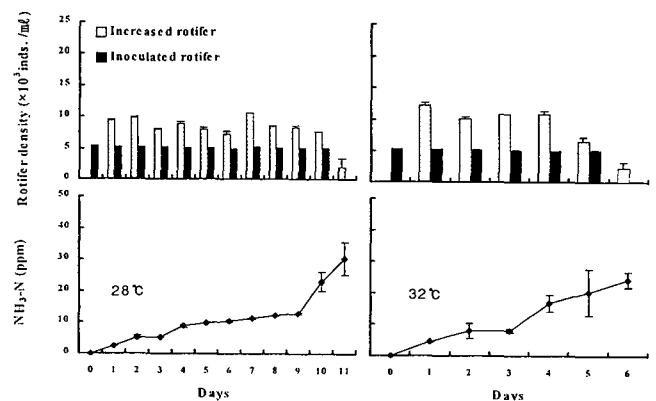


Fig. 2. Changes in density and NH₃-N of the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis* at the different temperatures in a semi-continuous high density culture without pH adjustment.

각각 8,600~13,200 개체/mL, 14,200~23,900 개체/mL로 나타났고, 해수산 *B. rotundiformis*의 경우, 초기접종밀도 5,000 개체/mL와 10,000 개체/mL 실험구에서 각각 8,500~15,700 개체/mL, 11,800~

Table 2. Production rate and culture period of the rotifers, *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus rotundiformis* at different amount of inoculation densities in a semi-continuous high density culture with pH adjustment at 7

Species	Initial inoculation densities (inds./mL)	Daily production ($\times 10^6$ inds./day/5L)	Daily production rate (%)	Possible production lasting period (days)
<i>Brachionus calyciflorus</i>	5,000	33.1 \pm 4.90	132.4 \pm 0.08	12
	10,000	43.1 \pm 24.63	86.3 \pm 0.49	2
<i>Brachionus rotundiformis</i>	5,000	32.4 \pm 9.26	129.5 \pm 0.14	11
	10,000	33.2 \pm 9.64	66.4 \pm 0.09	8

20,200 개체/mL로 나타났다. 한편, 배양 종료 시 각 rotifer 배양수의 NH₃-N의 농도는 담수산 *B. calyciflorus*의 경우, 5,000 개체/mL 접종 시 23.0 ppm, 10,000 개체/mL 접종 시 7.5 ppm으로 나타났으며, 해수산 *B. rotundiformis*는 5,000 개체/mL 접종 시 14.9 ppm, 10,000 개체/mL 접종했을 때 23.0 ppm으로 나타났다 (Fig. 3, 4).

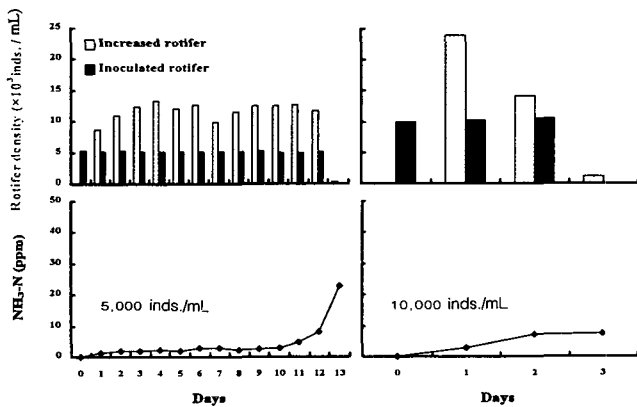


Fig. 3. Changes in density and NH₃-N of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* at the different inoculation density in a semi-continuous high density culture with pH adjustment at 7.

고 찰

담수 및 해수산 rotifer, *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis*는 수온이 증가할수록 증식율이 빠르게 나타난다 (Park, 1998; Park et al., 1999b). 따라서 본 실험에서도 일일 생산률이 수온 32°C에서 *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis* 각각 178%, 96%로 수온 28°C에서 86%와 72%보다 높게 나타났다 (Table 1). 특히, rotifer 고밀도 배양에 있어서 같은 수온일 때 담수산 *B. calyciflorus*가 해수산 *B. rotundiformis*보다 증식율이 높은 것으로 보고되었다 (Park et al., 1999b, 2000). 따라서 이러한 이유로 본 실험에 있어서도 담수산 *B. calyciflorus*가 해수산, *B. rotundiformis*보다 높은 생산량을 보였던 것으로 판단된다. 그러나 rotifer 생산 기간은 담수산 *B. calyciflorus*의 경우 28°C와 32°C 실험구 모두 2일로 나타났지만 해수산 *B. rotundiformis*의 경우 28°C와 32°C 실험구에서 각각 10일과 5일로 담수산 *B. calyciflorus*보다 오랜 기간 동안

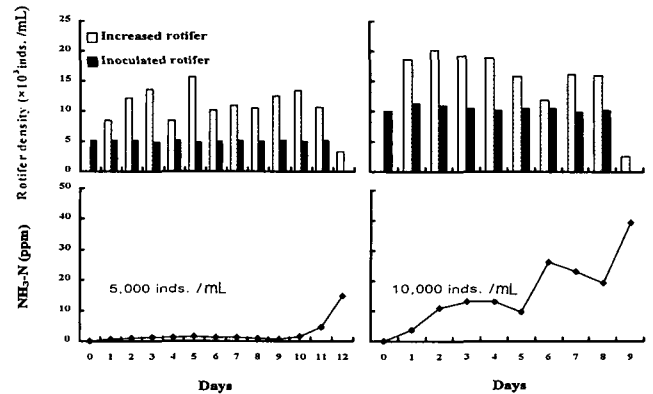


Fig. 4. Changes in density and NH₃-N of the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis* at the different inoculation density in a semi-continuous high density culture with pH adjustment at 7.

생산하였고 수온이 낮을 수록 생산 기간이 길게 나타났다. 이처럼 해수산 rotifer가 담수산 rotifer보다 생산 기간이 길게 나타난 것은 rotifer 증식에 영향을 미치는 이온화되지 않은 암모니아 (NH₃-N)가 일반적으로 같은 수온, 같은 pH에서 해수가 담수보다 1/5 가량 적게 나타나는 점 (Bower and Bidwell, 1978)과 담수에서 *B. calyciflorus*의 빠른 증식으로 인해 배출되는 NH₃-N 농도가 해수산 *B. rotundiformis*보다 빨리 증가했기 때문으로 판단된다. 한편 Rotifer, *B. rotundiformis*와 *B. calyciflorus*의 성장에 영향을 미치는 NH₃-N의 농도는 16~25 ppm으로 알려져 있고 (Park et al., 1999b, 2000), rotifer의 급성 독성을 유발하는 NH₃-N의 반수 치사 농도는 17 ppm이고 2.1 ppm 이상의 농도에서는 성장이 억제되는 것으로 보고된 바 있다 (Yu and Hirayama, 1986). 따라서 본 연구에서도 NH₃-N의 농도가 *B. calyciflorus*의 경우 22~32 ppm, *B. rotundiformis*는 15~32 ppm에서 rotifer가 감소하였다고 할 수 있다.

이와 같이 rotifer의 증식 억제 요인인 NH₃-N의 농도를 줄이기 위해 pH 7로 조절한 반 연속 rotifer 고밀도 배양에서 5,000 개체/mL를 접종하였을 경우, *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis* 각각 12일과 11일의 생산 기간으로 일일 평균 약 130%의 생산량을 보였다. 그러나 10,000 개체/mL를 접종하였을 경우, *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis* 각각 2일과 8일의 생산 기간, 86%와 66%의 일일 생산량으로 5,000 개체/mL로 접종했을 때 보다 짧은 생산 기간과 낮은 생산량을 보였다. 이는 10,000 개체/mL 접종 시, 해수산 *B. rotundiformis*는 NH₃-N의 농도가 5,000 개체/mL 접종 시보다 전반적으로 높게 유지되어 NH₃-N의 만성 독성에 영향을 받은 것 (Yu and Hirayama, 1986)으로 판단되지만, 담수산 *B. calyciflorus*의 경우, NH₃-N의 농도가 rotifer의 성장에 영향을 미치는 농도보다 낮게 유지되었지만 2일째 감소하는 경향을 보였는데 이것은 rotifer의 성장에 영향을 미치는 NH₃-N보다는 어떤 다른 요인이 담수 rotifer의 성장에 영향을 미친 것으로 판단되며, 이에 대한 더 구체적인 연구가 선행되어야 할 것으로 판단된다. 한편, 배양기간 동안 일일 rotifer 증가량의 변화폭이 해수산 *B. rotundiformis*의 접종밀도별 실험에서 약 2배 정도로 크게 차이가 났는데 이러한 원인은 배양수 내의 유해 미생물의 번식과 rotifer의 포란상태 등

에 의한 것으로 판단되지만 더 구체적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

최근 Suantika et al. (2000)은 해수산 *B. plicatilis*를 순환 여과 방식으로 일일 평균 20%의 생산률을 보고하였고, Fu et al. (1997)은 연속 고밀도 배양으로 *B. rotundiformis*와 *B. plicatilis*를 각각 일일 평균 약 56%, 22%를 생산하였다. 그러나 Park et al. (1999a)은 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*를 반 연속 고밀도 배양한 결과, 일일 평균 98%의 생산률을 보여 타 배양 방법보다 생산 효율적인 측면에서 우수함을 보였다. 따라서 본 실험에서도 수온 32°C, pH 7 조절 하에 초기 접종밀도 5,000 개체/mL로 배양한 결과, Park et al. (1999a)에서의 연구 결과와 유사한 130%의 높은 생산률을 보였다.

본 연구를 종합하여 볼 때, 반 연속 고밀도 배양에 있어서 담수산 *B. calyciflorus*는 반드시 pH 조절이 이루어져야, 이로 인한 배양 기간의 연장으로 생산의 안정성을 확보할 수 있으며, 수온 32°C에서 초기 접종밀도 5,000 개체/mL로 하여 pH를 7로 조절하는 것이 가장 효과적이고 안정적인 배양이 될 것으로 판단된다. 또한 해수산 *B. rotundiformis*의 경우는 수온이 높을수록 성장이 양호하지만 생산 기간이 단축되는 경향을 보였고 이렇게 단축된 생산 기간은 pH 조절로 연장되었다. 따라서 수온 32°C에서, pH 7 조절 하에서 일일 생산 효율이 높고 안정적인 초기 접종밀도는 5,000 개체/mL이며, 생산 효율과 먹이 비용을 고려할 때 10,000 개체/mL로 배양하는 것보다 효과적이고 안정적인 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 반 연속 rotifer 고밀도 배양에 있어서 배양 수온, 초기 접종밀도 및 pH조절에 따른 담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*와 해수산 rotifer, *B. rotundiformis*의 생산성을 비교 조사하였다. 실험은 6L 배양용기 (배양수 5L)에 담수산 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급하였다.

pH를 조절하지 않은 반 연속 rotifer 고밀도 배양에서 *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis*의 일일 평균 생산량은 수온이 높을수록 높게 나타났고 수온 32°C 실험구에서 *B. calyciflorus*가 일일 44×10⁶ 개체로 가장 높은 생산량을 보였다 (P<0.05). 또한 이들의 생산 기간은 *B. rotundiformis*가 *B. calyciflorus*보다 상당히 길게 나타났다. 한편 pH를 7로 조절하면서 *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis*의 초기 접종밀도를 5,000 개체/mL로 할 경우, 생산 기간이 각각 12일과 11일로 초기 접종밀도 10,000 개체/mL의 2일과 8일보다 길게 나타났고, 생산률도 130%로 높게 나타났다.

본 연구를 종합하여 볼 때, *B. calyciflorus*와 *B. rotundiformis*의 반 연속 고밀도 배양에 있어서 생산 효율과 먹이 비용을 고려할 때 32°C에서 pH 7 조절 하에 초기 접종밀도를 5,000 개체/mL로 하는 것이 가장 효과적이고 안정적인 반 연속 rotifer 고밀도 배양이 될 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부에서 시행한 1998년도 수산특정연구개발 사업과제에 의해 수행된 연구 결과이며 연구비를 지원해 주신 해양수산부에 심심한 사의를 표합니다.

참 고 문 헌

Bower, C.E. and J.P. Bidwell. 1978. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. J. Fish. Res. Board Can., 35, 1012~1016.

Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics, 11, 1~42.

Fu, Y., A. Hada, T. Yamashita, Y. Yoshida and A. Hino. 1997. Development of a continuous culture system for stable mass production of the marine rotifer *Brachionus*. Hydrobiologia, 358, 145~151.

Işık, O., E. Sarihan, E. Kuşvuran, Ö. Gül and O. Erbatur. 1999. Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. Aquaculture, 174, 299~311.

Lubzens, E. 1989. Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia, 186/187, 387~400.

Mitchell, S.A. 1986. Experiences with outdoor semicontinuous mass culture of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). Aquaculture, 55, 289~297.

Park, H.G. 1998. Growth and production of resting eggs of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas at the different temperatures. J. Korean Fish. Soc., 31, 779~784 (in Korean).

Park, H.G., K.W. Lee and S.K. Kim. 1999a. Growth of rotifer by the air, oxygen gas-supplied and the pH-adjusted productivity of the high density culture. J. Korean Fish. Soc., 32, 757~283 (in Korean).

Park, H.G., K.W. Lee, H.S. Kim and M.M. Jung. 2000. Possibility of high density culture of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*. Hydrobiologia (in press).

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. Korean Fish. Soc., 32, 280~283 (in Korean).

Rico-Martinez, R. and S.I. Dodson. 1992. Culture of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas. Aquaculture, 105, 191~199.

SPSS Inc. 1997. SPSS Base 10.0 for Window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611.

Suantika, G., P. Dhert, M. Nurhudah and P. Sorgeloos. 2000. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. Aquacultural Engineering, 21, 201~214.

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.

Yu, J. and K. Hirayama. 1986. The effect of un-ionized ammonia on the population growth of the rotifer in mass culture. Nippon Suisan Gakkashi, 52, 1509~1513.

山内梧. 1993. 抗菌剤の添加によるシオミズツワムシの増殖促進効果. 日水誌, 59, 1001~1006.

2000년 11월 14일 접수

2001년 3월 19일 수리