

Vitamin B₁₂ 첨가가 담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas의 내구란의 생산과 부화율에 미치는 영향

권오남 · 조수근* · 박흥기
 강릉대학교 해양생명공학부, *군산대학교 해양생명과학부

Effect of Vitamin B₁₂ Addition on the Hatching Rate and Production of Resting Eggs of Freshwater Rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas

O Nam KWON, Soo-Gun JO* and Heum Gi PARK

Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

*Faculty of Marine Life Science & Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

This study was performed to investigate the effect of vitamin B₁₂ addition on the production and hatching rate of resting egg of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*. Different concentrations of vitamin B₁₂ was added into concentrated freshwater *Chlorella* before fed to rotifer and rotifer was cultured in 250 mL flask. The maximum density of rotifer was 138 inds./mL at 6 ppm and it increased with an increase of vitamin B₁₂ addition. Mixis rate and fertilization rate of rotifer were 63.0% and 89.6%, respectively, at 6.0 ppm. The production of resting eggs per mL was 231 eggs/mL at 1.5 ppm, but there was no significant difference among vitamin B₁₂ addition levels. The highest production of resting eggs per 10,000 rotifers and *Chlorella* dry weight (g) were 11,289 eggs and 121,252 eggs, respectively, at the 6 ppm. The hatching rate of resting egg was not significantly different among vitamin B₁₂ addition levels, but significantly higher than the control (without addition of vitamin B₁₂). These results showed that vitamin B₁₂ addition could affect production and hatching rate of resting egg of freshwater rotifer, *B. calyciflorus*.

Key words: Freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*, Resting eggs, Hatching rate, Mixis rate, Vitamin B₁₂

서 론

담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*의 생활사는 amictic female이 난을 생산하는 처녀생식과 수컷이 출현하여 미수정 mictic female과 교미에 의해 내구란 (resting egg)을 형성하는 유성생식으로 나누어진다. 이러한 rotifer 내구란은 종의 유전적 형질을 효율적으로 보존할 수 있을 뿐만 아니라 rotifer 대량배양용 seed와 생태 독성학의 실험재료 및 어류 자어의 초기 먹이생물로 널리 이용될 수 있다 (Hagiwara and Hirayama, 1993; Hagiwara et al., 1993a, b; Park et al., 1999; Snell and Janssen, 1995).

한편 *Brachionus*속의 내구란 형성에 대한 기작은 정확하게 밝혀져 있지는 않지만 strain 및 clone과 같은 유전적 요인과 수온, 먹이종류, 배양밀도 등에 관한 환경적인 요인에 따라 많은 영향을 받는다고 알려져 있으며 (Hagiwara, 1996), 내구란 형성은 이들의 성장이 양호할 때 높다고 보고되어 있다 (Hagiwara et al., 1988, 1989; Hagiwara, 1996). 따라서 *Brachionus*속의 성장 촉진 물질로는 여러 종류가 있지만 특히, rotifer가 섭취하는 vitamin B₁₂와 관계가 많은 것으로 보고되고 있다 (Maruyama and Hirayama, 1993; Yu et al., 1988). 이처럼 rotifer의 성장을 향상시키는 중요한 역할을 하고 있는 vitamin B₁₂의 섭취는 세포내의 vitamin B₁₂의 함량이 높은 식물 먹이생물을 섭취하거나 배양수에 존재하면서 vitamin B₁₂를 생산하는 bacteria를 섭취함으로써 얻을 수 있다 (Yu and Cui, 1997). 이러한 섭취방법에 의하여 Hagiwara et al. (1994)은 rotifer 배양수조 내에 여러 종류의 bacteria를 순수 분리한 후 rotifer의 먹이로 공급하였을 때, vitamin B₁₂를 생산하는 bacteria가

rotifer의 유성생식 및 내구란 생산에 직·간접적으로 영향을 미친다고 보고하였다. 또한 Park et al. (2000)은 담수산 *B. calyciflorus*의 먹이에 vitamin B₁₂의 첨가가 유성생식 및 내구란 생산을 증가시킬 수 있다는 가능성을 제시하였는데 이것은 bacteria의 영양염인 vitamin B₁₂의 첨가가 bacteria의 증식을 향상시킴과 동시에 bacteria가 vitamin B₁₂를 흡수하여 rotifer가 vitamin B₁₂를 많이 함유한 bacteria를 섭취함으로써 유성생식율과 내구란 생산이 높았던 것으로 판단된다.

따라서 본 연구는 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 먹이로 많이 이용하는 담수산 농축 *Chlorella*에 농도별로 vitamin B₁₂를 첨가하여 rotifer의 유성생식율과 내구란 생산을 조사하였으며 vitamin B₁₂ 농도별로 생산된 내구란의 부화율도 조사하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*는 군산시 옥구 strain (Hur and Park, 1996)의 내구란을 5 mL multi culture chamber (배양수 3 mL)에 수용하여 27°C, 3,000 lux로 연속 조명된 상태에서 36시간 동안 부화시켰으며, 부화된 female 중 72마리를 2 mL multi culture chamber (배양수 1 mL)에서 배양을 하여 가장 내구란 생산이 높은 female을 실험에 사용하였다. 실험은 vitamin B₁₂가 첨가되지 않은 담수산 농축 *Chlorella* (대상, 주식회사) 1 L에 vitamin B₁₂ (Sigma, 99%)를 0.7, 1.5, 3.0 및 6.0 ppm이 되게 첨가하여 vitamin B₁₂의 무 첨가구인 대조구와 함께 rotifer의 먹이로 공급하였다. 먹이 공급량은 mL당 rotifer 10개체를 기준으로

하여 담수산 농축 *Chlorella*를 건조중량으로 8.881 mg이 되게 하루에 두 번 나누어서 공급하였다. 최초 rotifer의 접종밀도는 250 mL 삼각플라스크 (배양수 200 mL)에 1 개체/mL로 하였으며, 실험조건은 27°C, 3,000 lux로 하였다. 실험기간은 rotifer가 최고밀도까지 도달한 후 감소하는 날을 실험 종료일로 하였다. 실험은 3회 반복하였다.

배양기간 중 1일 1회 입체현미경 (stereo microscope, Olympus CH-2)하에서 rotifer female을 종류별로 계수하였으며 rotifer의 유성생식율, 수정률, rotifer 10⁴ 개체당 내구란 생산 및 먹이 건조중량 (g)당 내구란 생산은 Hagiwara et al. (1988)의 방법에 따라 계산하였다. 또한 배양기간 중 rotifer의 성장률 (specific growth rate, r) ($r = (1/T) \ln(N_T/N_0)$ (T=접종 이후 rotifer가 최고밀도에 도달하기까지의 배양일수; N_T=T days의 rotifer 최고 밀도; N₀=rotifer 접종밀도))을 조사하였다.

각 vitamin B₁₂ 첨가량에 따라 생산된 내구란의 부화를 실험은 내구란을 4°C, 암 조건에서 3개월 동안 보관한 후, 5 mL multi culture chamber (배양수 3 mL)에 내구란 100개 내외를 수용하였다. 내구란의 부화조건은 28°C, 3,000 lux로 하였고 36시간 후 내구란에서 부화한 rotifer를 조사하였다. 실험은 3회 반복하였다.

Vitamin B₁₂ 첨가량에 대한 *B. calyciflorus*의 최고밀도, 성장률, 유성생식율, 내구란 생산 및 부화율에 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) program으로 검정하였다.

결 과

담수산 rotifer *B. calyciflorus*의 vitamin B₁₂의 첨가량에 따른 rotifer의 최고밀도, 성장률, 유성생식율, 수정률은 Table 1과 같다. Rotifer의 최고밀도는 0.7 ppm구에서 가장 높은 594 개체/mL로 나타났지만 대조구와 1.5 ppm구와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (P>0.05). 그러나 3 ppm구의 362 개체/mL와 6 ppm구의 138 개체/mL와는 유의적인 차이를 보였다 (P<0.05). 성장률은 모든 실험구에서 0.837~1.107로 각 실험구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P>0.05).

유성생식율은 0.7 ppm구에서 25.8%로 가장 낮게 조사되었으나

대조구의 28.1%와 유의적인 차이는 없었으며 (P>0.05), vitamin B₁₂의 첨가량이 많아질수록 증가하여 6 ppm구에서 가장 높은 63.0%로 나타났다. 수정률에 있어서는 대조구에서 37.1%로 가장 낮게 나타났으며 vitamin B₁₂의 첨가량이 많아질수록 증가하는 경향을 보였으며 대조구와 비교하여 유의적으로 6 ppm구에서 가장 높은 89.6%로 나타났다 (P<0.05).

Vitamin B₁₂의 첨가량에 따른 일일내구란 생산, mL당 내구란 생산, rotifer 10,000 개체당 내구란 생산, *Chlorella* 건조 중량당 내구란 생산 및 부화율은 Table 2와 같다. 일일 내구란 생산량은 대조구에서 가장 낮은 6.9 개/일/mL로 vitamin B₁₂ 첨가구의 21.9~28.9 개/일/mL로 유의적인 차이를 보였지만 (P<0.05) vitamin B₁₂ 첨가구 간에서의 유의적인 차이는 볼 수 없었다 (P>0.05). 그리고 mL당 내구란 생산량에 있어서는 대조구에서 57.5 개/mL로 가장 낮게 나타났으며 1.5 ppm구에서 231.1 개/mL로 가장 높게 나타났지만 vitamin B₁₂ 첨가구 간에는 유의적인 차이를 볼 수 없었다 (P>0.05).

Rotifer 10,000 개체 당 내구란 생산은 대조구에서 1,198개로 가장 낮게 나타났으며 vitamin B₁₂ 첨가량이 증가할수록 높게 나타나는 경향을 보였다. 가장 높은 생산량은 6 ppm구에서 11,289개로 다른 실험구와 유의적인 차이를 보였다 (P<0.05). 또한 *Chlorella* 건조중량 (g)당 내구란 생산에 있어서는 대조구에서 15,757개로 가장 낮게 조사되었으나 0.7, 1.5와 3.0 ppm구와의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나, 6 ppm구에서 가장 높은 121,252개로 나타나 다른 실험구와 유의적인 차이를 보였다 (P<0.05).

부화율에 있어서는 vitamin B₁₂를 첨가해 주지 않은 대조구에서 48.2%로 가장 낮게 나타났으며, 6 ppm구에서 80.9%의 가장 높은 부화율을 보였으나 vitamin B₁₂ 첨가구들 간에서의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P>0.05).

고 찰

Rotifer의 성장 향상을 위한 다양한 첨가 물질로는 vitamin A, C, D, E 및 B₁₂ 등이 알려져 왔다 (Maruyama and Hirayama, 1993; Maruyama et al., 1997; Satuito and Hirayama, 1991; Yu et al., 1988; 吉村 等, 1994; 丸山 等, 1990). 이중에서도 특히 vitamin B₁₂는 해수산 rotifer, *B. plicatilis*와 *B. rotundiformis*의 안정적인

Table 1. Growth and sexual reproduction of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* cultured on the different vitamin B₁₂ concentrations¹

Concentration of vitamin B ₁₂ (ppm)	Culture days	Maximum density (inds./mL)	Specific growth rate (r)	Mixis rate (%)	Fertilization rate (%)
0 (Control)	8.5 ± 0.71 ^b	544 ± 198.0 ^b	0.837 ± 0.0283 ^a	28.1 ± 11.05 ^a	37.1 ± 4.39 ^a
0.7	8.0 ± 0.00 ^{ab}	594 ± 93.3 ^b	0.912 ± 0.0212 ^a	25.8 ± 4.36 ^a	44.0 ± 6.70 ^{ab}
1.5	8.0 ± 0.00 ^{ab}	539 ± 80.6 ^b	0.898 ± 0.0212 ^a	41.6 ± 8.15 ^{ab}	43.0 ± 4.63 ^{ab}
3.0	7.5 ± 2.12 ^{ab}	362 ± 172.5 ^{ab}	0.934 ± 0.2333 ^a	45.9 ± 10.65 ^{ab}	63.6 ± 37.65 ^{ab}
6.0	5.5 ± 0.71 ^a	138 ± 8.5 ^a	1.107 ± 0.1626 ^a	63.0 ± 12.23 ^b	89.6 ± 2.98 ^b

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

Table 2. Production of resting egg of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* cultured on the different vitamin B₁₂ concentrations¹

Concentration of vitamin B ₁₂ (ppm)	No. of resting (egg/day/mL)	No. of resting (egg/mL)	No. of resting (egg/rotifer 10 ³)	No. of resting egg/dry weight <i>Chlorella</i> (g)	Hatching rate (%)
0 (Control)	6.9 ± 2.74 ^a	57.5 ± 18.39 ^a	1,198 ± 774 ^a	15,757 ± 7,477 ^a	48.2 ± 9.50 ^a
0.7	23.8 ± 7.45 ^b	190.6 ± 59.57 ^b	3,170 ± 505 ^a	31,517 ± 5,681 ^a	75.3 ± 13.96 ^b
1.5	28.9 ± 6.26 ^b	231.1 ± 50.03 ^b	4,266 ± 290 ^a	44,335 ± 1,181 ^a	67.7 ± 6.18 ^b
3.0	21.9 ± 8.86 ^{ab}	154.6 ± 20.05 ^{ab}	4,966 ± 2,921 ^a	78,232 ± 43,330 ^{ab}	72.5 ± 16.03 ^b
6.0	8.6 ± 4.75 ^b	155.3 ± 5.92 ^{ab}	11,289 ± 1,123 ^b	121,252 ± 33,585 ^b	80.9 ± 7.58 ^b

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

배양을 위해서는 꼭 필요한 성장 요인으로 판명되었다 (Maruyama et al., 1997). Rotifer의 vitamin B₁₂의 섭취방법은 rotifer의 먹이인 *Chlorella* 배양시 배지내에 vitamin B₁₂를 첨가하여 *Chlorella* 세포내에 vitamin B₁₂의 함량을 높이게 한 후, 먹이로 공급하는 방법이 있다 (Maruyama and Hirayama, 1993; Maruyama et al., 1997; 吉村 等, 1994). 그러나 본 연구에 있어서 vitamin B₁₂를 rotifer의 먹이인 담수산 농축 *Chlorella*에 첨가하여 공급하였을 경우, 첨가량이 증가할수록 유성생식을 및 수정률이 높게 나타나는 경향을 보였다. 이것은 수용성인 vitamin B₁₂를 rotifer가 직접 섭취하는 것보다는 배양수내 rotifer의 먹이인 bacteria가 수용성 vitamin B₁₂를 섭취하여 간접적으로 rotifer가 섭취한 것으로 판단된다 (Maruyama et al., 1997; Yu et al., 1988; 丸山 等, 1990).

이러한 이유로써 Hagiwara et al. (1994)은 배양수내 여러 종의 bacteria를 단독으로 첨가하였을 경우, vitamin B₁₂를 생산하는 *Pseudomonas*속(屬)의 몇 종에 있어서 유성생식율과 내구란 생산이 높게 나타났음을 보고하였다. 그러나 Hagiwara et al. (1994)은 vitamin B₁₂를 함유한 bacteria의 섭취는 bacteria가 함유하고 있는 vitamin B₁₂의 흡수와 bacteria 군체 내 밝혀지지 않은 영양분이 모두 흡수되었기 때문에 vitamin B₁₂의 단독영양이라고 밝힐 수는 없었음을 보고하여 특정 bacteria가 함유하는 vitamin B₁₂ 외의 다른 군체 내 성분이 rotifer의 성장 향상시킬 수 있을 것이라는 가능성을 제시하였다. 앞으로 vitamin B₁₂를 배양수에 첨가하였을 경우, 배양수의 bacteria 종의 변화와 bacteria 군체 내의 vitamin B₁₂ 함량에 대한 구체적인 실험이 되어야 할 것으로 판단된다.

한편 본 실험에 사용된 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 내구란 생산은 vitamin B₁₂의 첨가량이 가장 높은 6 ppm 구에서 유성생식율과 수정률이 높게 나타났다. 그러나, 내구란 생산이 비교적 0.7과 1.5 ppm 구보다 낮게 나타난 것은 6 ppm 구에서 높아진 유성생식율로 인해 낮아진 개체밀도가 원인이었던 것으로 판단된다. 그러나 rotifer 10,000개체 및 *Chlorella* 건조중량당 내구란 생산은 낮은 개체수로 인하여 6 ppm 구에서 가장 높게 나타났다. 따라서 유성생식을 하는 rotifer 배양에 있어서 vitamin B₁₂는 유성생식을 향상시키는 역할을 하게 되며, 이는 내구란 생산에 직접적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. Rotifer 내구란의 부화율은 다양한 환경요인에 의해서 영향을 받을 수 있으며 이중에서도 rotifer 내구란 생산시 공급된 먹이종류에 따라서 차이가 있을 수 있다 (Minkoff et al., 1983; Hagiwara and Hino, 1989; Hagiwara et al.,

1995). 특히 Hagiwara et al. (1997)은 자연상태에서의 내구란 부화율은 90% 이상 높은 부화율을 보였지만 인위적인 내구란 생산 시에는 50% 이하의 낮은 부화율로 내구란을 생산하는 mictic female의 영양상태에 따라서 부화율에 많은 차이가 있다고 보고하였다. Park et al. (2000)은 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 먹이 종류에 따른 부화율을 조사한 결과, 내구란 생산시 vitamin B₁₂를 첨가한 농축 *Chlorella*의 경우, 병효모를 공급하여 생산된 내구란 보다 높은 부화율을 보였다. 본 실험에 있어서 vitamin B₁₂를 첨가하지 않았던 대조구에서 48.2%로 가장 낮은 내구란 부화율을 보였으며, vitamin B₁₂의 첨가량에는 관계없이 67.7~80.9%로 대조구보다 높게 나타나는 경향을 보여 내구란의 부화율 향상을 유도 할 수 있는 먹이내 한 요인인 것으로 판단된다.

따라서 본 실험을 종합하여 볼 때, vitamin B₁₂는 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 유성생식율, 수정률, 내구란 생산량 및 부화율을 높여주는 역할을 하였다는 것을 볼 수 있으며, Hagiwara et al. (1994), Maruyama and Hirayama (1993), Maruyama et al. (1997)의 연구에서와 같이 *Chlorella* 세포내 vitamin B₁₂가 함유된 상태로 먹이로 공급하는 방법과 본 연구에서와 같이 배양수에 vitamin B₁₂를 첨가하여 bacteria의 증식 혹은 bacteria 군체 내의 vitamin B₁₂ 함량을 높여서 rotifer의 먹이로 이용할 수 있을 것으로 판단된다. 본 실험에 따라 담수산 rotifer *Brachionus calyciflorus* 내구란의 효율적인 대량 생산을 위한 가장 효과적인 vitamin B₁₂의 첨가량은 유성생식율과 수정률이 높으면서 rotifer 개체 및 먹이공급량 당 가장 많은 내구란 생산을 보인 6 ppm으로 판단된다.

요 약

본 연구는 vitamin B₁₂의 첨가에 따른 담수산 rotifer, *Brachionus calyciflorus*의 유성생식율 및 내구란 생산을 조사하였다. Vitamin B₁₂의 첨가방법은 rotifer의 먹이생물인 농축 담수산 *Chlorella*에 첨가하여 공급하였고 실험용기는 250 mL 삼각플라스크에서 실시하였다.

Rotifer의 최고밀도는 vitamin B₁₂의 첨가량이 높을수록 낮게 나타났다 6 ppm구에서 가장 낮은 138 개체/mL를 보였다. 유성생식율과 수정률은 vitamin B₁₂의 첨가량이 많을수록 높아 6 ppm구에서 각각 63.0%와 89.6%로 조사되었다.

mL당 내구란 생산은 1.5 ppm구에서 231 개/mL로 가장 높게 나

타났으나 다른 vitamin B₁₂의 첨가구와의 유의적인 차이는 없었고, Rotifer 10⁴ 개체당, *Chlorella* 건중량 (g) 당 내구란 생산량은 6 ppm구에서 각각 11,289개, 121,252개로 가장 높게 나타났다. Vitamin B₁₂의 첨가량에 따라 형성된 내구란의 부화율은 vitamin B₁₂를 첨가한 실험구에서 67.7~80.9%의 부화율을 보여 첨가하지 않은 대조구 48.2%보다 높게 나타났다. 따라서 담수산 rotifer, *B. calyciflorus*의 내구란 생산과 내구란의 부화율에 vitamin B₁₂가 영향을 미친 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 한국과학재단 지정 군산대학교 새만금환경연구센터의 지원에 의해 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1~42.
- Hagiwara, A. 1996. Use of resting eggs for mass preservation of marine rotifers. *Saibai Giken*, 24, 109~120.
- Hagiwara, A., M.D. Balompapung, N. Munucswamy 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. 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., A. Hino and R. Hirano. 1988. Effects of temperature and chlorinity on resting egg formation in the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 569~575.
- 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., K. Hamada, A. Nishi, T. Imaizumi and K. Hirayama. 1993a. Mass production of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs in 50 m³ 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. and K. Hirayama. 1993. Preservation of rotifers and its application in the finfish hatchery. *Pro. Finfish Hatch. Asia '91. TML Conf.*, 3, 61~71. *Tungkang Mar. Lab., Taiwan Fish. Res. Inst., Tungkang, Pingtung, Taiwan.*
- Hagiwara, A., N. Hoshi, F. Kawahara, K. Tominaga and K. Hirayama. 1995. Resting eggs of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* Müller: development, and effect of irradiation on hatching. *Hydrobiologia*, 313/314, 223~229.
- Hagiwara, A., C.S. Lee, G. 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.
- Hur, S.B. and H.G. Park. 1996. Size and resting egg formation of Korean rotifer *Brachionus plicatilis* and *B. calyciflorus*. *Journal of Aquaculture*, 9, 187~194.
- Maruyama, I. and K. Hirayama. 1993. The culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with *Chlorella vulgaris* containing vitamin B₁₂ in its cells. *J. World Aquaculture Soc.*, 24, 194~198.
- Maruyama, I., T. Nagano, I. Shigeno, Y. Ando and K. Hirayama. 1997. Application of unicellulae algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 385, 133~138.
- Minkoff, G., E. Lubzens and D. Kahan. 1983. Environmental factors affecting hatching of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs. *Hydrobiologia*, 104, 61~69.
- Park, H.G., O.N. Kwon, K.Y. Park and K.Y. Kim. 2000. Production and hatching rate of resting egg of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas fed the different diets. *J. Korean Fish. Soc.*, 33, 225~229.
- Park, H.G., S.M. Lee and S.B. Hur. 1999. Dietary value of neonate from rotifer, *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis* resting eggs for flounder and parrot fish larvae. *Journal of Aquaculture*, 12, 31~38.
- Satuito, C.G. and K. Hirayama. 1991. Supplementary effect of vitamin C and squid liver oil on the nutrition value for the population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bull. Fac. Fish., (Nagasaki Univ)*, 69, 7~11.
- Snell, T.W. and C.R. Janssen. 1995. Rotifers in ecotoxicology: review. *Hydrobiologia*, 313/314, 231~247.
- SPSS Inc. 1997. *SPSS for Window*; SPSS Inc., 444N. Michico Avenue, Chicago, IL, 60611.
- Yu, J. and S. Cui. 1997. Ultrastructure of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 358, 95~103.
- Yu, J., A. Hino, R. Hirano and K. Hirayama. 1988. Vitamin B₁₂-producing bacteria as a nutritive complement for a culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1873~1880.
- 吉村研治・北島 力・宮本義次・岸本源次. 1994. 濃縮淡水クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの高密度培養における増殖阻害要因について. *日水誌*, 60, 207~213.
- 丸山功・金丸彦一郎・中村展男・安藤洋太郎・平山和次. 1990. ビタミン含有クロレラ給餌によるシオミズツボワムシの開放培養. *水産増殖*, 38, 227~231.

2001년 1월 18일 접수

2001년 3월 24일 수리