

기수산 요각류 *Paracyclops nana*의 대량배양

이균우*, 최영웅
한국해양과학기술원

Mass culture of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov

Kyun-Woo Lee*, Young-Ung Choi

Marine Life & Ecosystem Division, Korea Institute of Ocean Science & Technology

요 약 해산 copepod는 어류 양식을 위한 초기먹이생물로 가장 이상적인 것으로 알려져 있으며 최근 이들의 대량배양에 관한 연구가 많이 시도되고 있다. 따라서 본 연구는, 기수산 copepod인 *Paracyclops nana*의 대량생산을 위해, 실용화 가능한 배양방법개발의 일환으로 rotifer 대체를 위한 *P. nana*의 nauplius 생산법과 *Artemia* 대체를 위한 *P. nana*의 C4-성체 생산법으로 나누어 대량배양을 시도하였다. *P. nana*의 nauplius 생산 시, 수확된 nauplius는 약 95% 이상이 N1-N2였다. 15일 동안 수확된 nauplius의 일일 평균 생산량은 1, 2차 각각 6.9×10^6 , 7.2×10^6 였으며, 배양수 내의 암컷과 포란한 암컷의 수는 시간이 경과할수록 약간 감소하는 경향을 보였으나 15일 동안 비교적 일정한 개체수를 유지하는 것으로 나타났다. C4-성체의 생산 시, 수확된 copepod의 비율은 C4-수컷, 암컷 및 포란한 암컷이 각각 약 49%, 28% 및 18%였으며 일일 평균 생산량은 1, 2차 각각 8.2×10^5 , 9.0×10^5 개체였다. 결과적으로, *P. nana* 대량배양 방법에서 nauplius와 C4-성체의 일정한 생산이 가능하였으며 어류의 입 크기에 따라 배양 방법의 선택에 의해 연속적인 먹이 공급이 가능할 것으로 판단된다.

Abstract Marine copepods are ideal live prey for fish larvae, and many studies on the mass culture of the organism have been reported. This study performed a mass culture of the brackish copepod *Paracyclops nana* containing nauplius and C4-adult production methods. In nauplius production, the harvested nauplii over 95% were comprised of N1 and N2. Daily mean nauplius production of two trials for 15 days were 6.9×10^6 and 7.2×10^6 individuals, respectively. The densities of the adult females were maintained at a similar level of the initiation during production. In C4-adult production, the proportion of harvested copepods containing C4-adult males, females and ovigerus females were 49%, 28%, and 18%, respectively. The daily mean nauplius production of the two trials for 16 days were 8.2×10^5 and 9.0×10^5 individuals, respectively. As a result, the continuous production of *P. nana* using the mass production system was successful. Therefore, the continuous and stable feeding for fish larvae in aquaculture would be possible by the selection of the copepod culture method depending on the mouth size of the fish.

Keywords : Copepod, *Paracyclops nana*, Mass culture

1. 서론

해양 먹이망에서 copepod는 1차 소비자로서 생산자와 2차 소비자를 연결시켜주는 가교역할을 한다[1]. 즉,

어류나 갑각류 유생의 초기 먹이원으로 중요한 위치에 있다[2-3]. 이들은 유생기부터 성체까지 다양한 크기분포를 가지고 있을 뿐 아니라 자어의 성장에 필수적인 n-3 HUFA (highly unsaturated fatty acid) 지방산 특히,

본 논문은 한국해양과학기술원 연구과제(PE99411)로 수행되었음.

*Corresponding Author : Kyun-Woo Lee(Korea Institute of Ocean Science & Technology)

Tel: +82-31-400-7827 email: kyunu@kiost.ac.kr

Received May 24, 2016

Revised (1st June 24, 2016, 2nd July 20, 2016, 3rd July 22, 2016, 4th August 1, 2016)

Accepted August 11, 2016

Published August 31, 2016

EPA (eicosapentaenoic acid, 20:5n-3)와 DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3)를 다량 함유하기 때문에 어류자어의 최적 먹이로 알려져 있다[4-7]. 따라서 세계적으로 이러한 copepod에 대한 관심이 고조되고 있고 해산어류의 배양장에서 상업적으로 사용하기 위해 대량 배양에 관한 연구가 최근 시도된 바 있다. 예를 들면, calanoid copepod인 *Acartia* sp., *Gladioferens imparipes*[8-9], harpacticoid copepod인 *Amphiascoides atopus*, *T. holothuriae*, *Tisbe biminiensis*[2, 10-11] 그리고 cyclopoid copepod인 *Oithona* sp., *Apocyclops* sp.[12-13]등에 대한 대량배양 연구가 수행된 바 있다.

기수산 cyclopoid copepod인 *Paracyclopsina nana*는 우리나라의 기수지역에서 흔히 출현하고 대부분 부유성이며, 그 크기는 발달단계에 따라 nauplius(N1-N6)기가 84-161 μm , copepodid(C1-C5)기부터 성체가 274-624 μm 로 다양하기 때문에 해산어와 갑각류의 먹이생물로 주로 사용하는 rotifer[14]는 물론 *Artemia* nauplius의 대체 원으로써 충분한 잠재성을 가지고 있다[15]. 이러한 이유로 국내에서 *P. nana*의 최적배양조건에 관한 연구가 이미 수행된 바 있다[16-19]. 요약하면, 염분, 수온 및 조도 등의 최적 물리학적조건과 strain, 먹이, 먹이밀도 및 배양밀도 등의 최적 생물학적 조건 등 다양한 최적배양조건이 확립되어 있다.

본 연구는 *P. nana*의 대량생산을 위해, 실용화 가능한 배양방법개발의 일환으로 위의 최적배양조건을 적용하여, rotifer 대체를 위한 *P. nana*의 nauplius 생산법과 *Artemia* 대체를 위한 *P. nana*의 C4-성체 생산법으로 나누어 대량배양을 시도하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 *P. nana*의 유지 및 미세조류배양

실험에 사용된 *P. nana*는 2001년, 강원도의 송지호에서 채집되어 현재까지 실험실에서, 24°C, 15‰에서 먹이로 *Tetraselmis suecica*를 공급하면서 배양/유지하고 있다. 먹이로 사용된 *T. suecica*는 수온 18-23°C, 염분 15‰ 및 조도 4000 lx (광주기 12L:12D)의 조건에서 f/2 배지를 공급하여 배양하였다. 사용된 여과해수 (1 μm)는 autoclave를 사용하여 멸균하였으며 염분은 1차 증류수를 사용하여 조절하였다[18].

2.2 실험방법

2.2.1 *P. nana*의 nauplius 생산

500 L 수조에 *P. nana* 암컷[copepodid 4기 암컷(C4우)부터 성체 암컷]이 5 개체/mL가 되도록 150 μm sieve로 걸러 접종시킨 다음, 28°C, 15-17‰에서 배양하였으며 배양 5일째부터 3일 마다 포란한 암컷 2×10^5 개체를 보충하였다. 먹이로 $3-5 \times 10^6$ cells/mL인 *T. suecica*를 일일 30 L씩 공급하였다. 접종 24시간 후부터 배양수를 400 L씩 수확하고 다시 새로운 배양수로 보충하였다. 수확 시, 120 μm sieve를 사용하여 암컷은 남겨두고 nauplius만 빠지게 하여 다시 40 μm sieve로 걸러 *P. nana* (N1-C3 (98% 이상 nauplius))를 수확하였다(Fig. 1).

2.2.2 *P. nana*의 C4-성체 생산

앞서 설명한 nauplius 생산 방법으로 수확된 nauplius 6×10^6 개체를 2개의 20 L 수조로 나누어 옮겨 수온 20°C, 25‰에서 배양하였다. 먹이로 *T. suecica*를 1일 마다 공급량을 증가시켜가면서 공급하였다. Nauplius를 접종한 다음 배양 15일 후 C4 이상 성장한 *P. nana*를 수확하였으며 총 16일간 실시하였다.

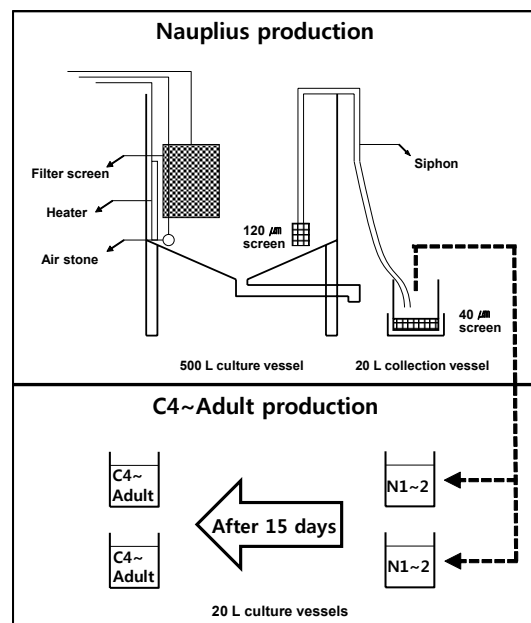


Fig. 1. A schematic diagram of *Paracyclopsina nana* production system in 500 L. N = nauplius stage, C = copepodite stage.

3. 연구결과

3.1 *P. nana*의 nauplius 생산

*P. nana*의 nauplius 생산 시, 수확된 nauplius는 약 95% 이상이 N1-N2였다. 15일 동안 수확된 nauplius의 일일 평균 생산량은 1, 2차 각각 6.9×10^6 , 7.2×10^6 였으며 (Fig. 2), 배양수 내의 암컷과 포란한 암컷의 수는 시간이 경과할수록 약간 감소하는 경향을 보였으나 15일 동안 비교적 일정한 개체수를 유지하는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

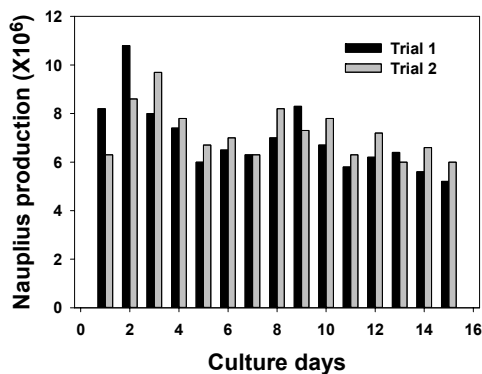


Fig. 2. Production of *Paracyclopsina nana* nauplii at 500 L tank for 15 days.

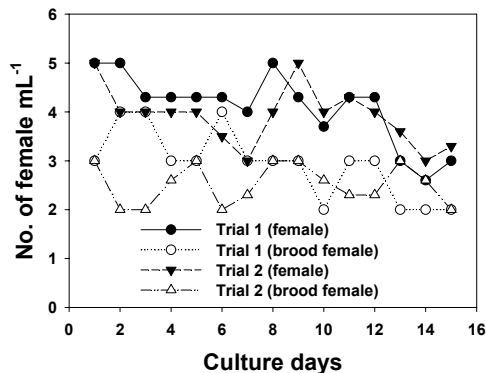


Fig. 3. Changes of *Paracyclopsina nana* female and brood female density at 500 L culture.

3.2 *P. nana*의 C4-성체 생산

C4-성체의 생산 시, 수확된 *P. nana*의 발달단계별 비율은 C4-수컷, 암컷 및 포란한 암컷이 각각 약 49%, 28% 및 18%였으며 일일 평균 생산량은 1, 2차 각각

8.2×10^5 , 9.0×10^5 개체를 생산해 집중 개체수의 약 28.5%를 생산하였다(Fig. 4).

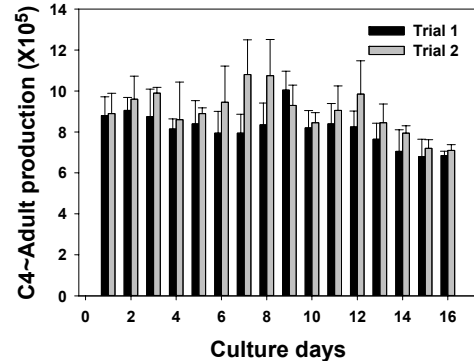


Fig. 4. Production of *Paracyclopsina nana* C4-adult stage at 20 L vessel for 16 days after 15 days of inoculation.

4. 고찰

Nauplius 생산 시스템에서 15일 동안 수확된 nauplius (N1-N2)의 일일 평균 생산량은 약 7×10^6 개체로 리터당 일일생산량으로 환산하면 약 17,500 개체/L/day였다. 이 생산량은 현재까지 보고된 최대 생산량인 *Tisbe biminiensis* (28,000 개체/L/day)[11] 다음으로 높은 결과이며 다음 순위는 250-2000 개체/L/day로 매우 낮은 편이다[2, 8-9]. 이는 *P. nana*가 요각류 대량생산에 매우 적합한 종임을 입증해 준다.

밀집배양 시, 갓 포란한 *P. nana* 암컷의 산란기간은 28℃, 15%에서 4-5일로 짧은 편이다[16]. 따라서 *P. nana*의 nauplius 생산 시, 일정한 일일 nauplius 생산량을 확보하기 위해 성체암컷의 생산력이 감소하기 시작하는 배양 5일째부터 3일 간격으로 성체암컷 200,000 개체를 배양수조 내에 보충하였고, 그 결과 배양수조 내 암컷과 포란한 암컷의 수는 비교적 일정하게 유지되는 경향을 보였다. 그러나 시간이 경과함에 따라 다소 감소하는 경향을 보였기 때문에 차후에 성체암컷의 적정 보충량 설정에 관한 세밀한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

C4-성체 생산 수조에서 생산된 요각류는 95% 이상이 성체였으며 이 중, 암수비율은 약 1:1을 유지하였다. 생산된 성체 중 먹이로 수컷만 사용하고 암컷은 nauplius

생산수조로 따로 옮겨서 nauplius 생산에 사용하면 *P. nana*의 생산효율을 높일 수 있다. 실제로 본 연구에서 생산된 성체암컷을 nauplius 생산 수조내 번식 가능한 성체암컷의 보충을 위한 용도로 사용하였으며 그 결과 비교적 일정한 nauplius 생산량을 유지할 수 있었다. 그러나 현재까지는 암수를 분리/수용할 수 있는 간편한 방법은 생물크기를 이용한 sieve를 사용하는 것이며 이때 분리되는 암컷은 대부분 난을 달고 있는 암컷만 분리가 가능하므로 본 실험에서는 생산된 성체암컷의 약 40% 정도만 사용이 가능하였다. 따라서 생산효율을 보다 극대화하기 위해서는 차후 수컷과 암컷의 완벽한 분리방법에 대한 보충연구가 요구된다.

일반적으로 부화율이 80%인 *Artemia* cyst 1 can (500 g)을 500 L 수조에서 부화시켰을 때, 1×10^8 개체를 확보할 수 있다. 한편, Chung (2001)의 실험[18]에서, *P. nana*를 500 L에서 batch 배양한 결과, 배양 10일째, 총 개체수가 약 80 개체/mL의 copepod를 생산하였는데, *Artemia* nauplius와 비슷한 크기의 성체는 약 22 개체/mL 즉, 1×10^7 개체였다. 따라서 *Artemia* cyst 1 can의 개체수를 얻기 위해서는 약 5 ton의 배양수조가 필요하게 된다. 이렇게 batch 배양방법으로 배양할 경우, 한번 집중으로 10일 후, 1회의 수확만 가능해지며 어류의 중요생산 시 요구되는 하루에 필요한 일정량의 먹이 확보가 어려워진다. 따라서 일정한 수확량을 얻기 위해서는 여러 개의 5 ton 수조가 필요하게 된다. 본 연구에서 실시한 배양방법은 성체 배양수조 (500 L) 외에 nauplius의 성장을 위한 소규모의 배양수조 (20 L)를 사용하여 최적 nauplius 접종밀도인 150 nauplii/mL로 접종한 후, 16일간 배양한 결과[19], 20 L 수조 2개에서 수확된 copepod는 일일평균 약 1.7×10^6 개체였으며 수확직전 밀도는 mL 당 40 개체 이상으로 비교적 고밀도로 생산되었다. 이 밀도는 다른 copepod에 대한 연구보고에서 보다 월등히 높은 밀도이다. 예를 들어, Ohno and Okamura (1988)는 *Acartia tsuensis* 성체를 94 개체/L까지 배양하였고[20] Sun and Fleeger (1995)는 *Amphiascoides atopus*를 1,144 개체/L까지 배양하였으며[2] Støttrup and Norsker (1997)는 *Tisbe holothuriae*의 nauplius와 copepodid를 3,333 개체/L까지 배양하였다[10]. 또한 Schipp et al. (1999)은 *Tisbe holothuriae*의 nauplius와 성체를 1,071 개체/L까지 배양하였으며[8] Santhanam and Perumal (2012)은 *Oithona rigida* 성체

를 412 개체/L까지 배양한 바 있다[21]. 한편, 10일 동안 성체 생산량을 Chung (2001)의 batch 배양[18]과 비교하면 본 실험에서의 배양이 1.7배 더 높은 것을 알 수 있다.

본 연구에서, 일일 평균 성체 생산수는 집중한 nauplius 개체수의 약 28.5%에 해당하며, 500 L 배양수조에서 생산된 nauplius는 일일 평균 약 7×10^6 개체였으므로 이것을 모두 집중했다고 가정하면 약 2×10^6 개체를 생산할 수 있게 된다. 따라서 하루에 *Artemia* cyst 1 can에 해당하는 copepod의 개체수를 생산하기 위해서는, nauplius 생산 수조가 약 25 ton 규모는 되어야 하며 성장을 위한 수조는 1 ton 규모가 필요하게 된다. 이러한 배양규모는 많은 배양공간을 차지하게 되며 그에 따른 시설비와 노동력 및 시간의 손실을 가져오게 된다. 그러므로 이러한 배양규모를 줄이기 위해서는 *P. nana*를 *Artemia*의 부분대체목적 즉, 보조먹이의 형태로의 사용을 고려할 수 있으며, 완전대체를 위해서는 nauplius의 생존율 향상과 같은 앞으로 보다 구체적인 고밀도배양에 관한 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

5. 결론

결과적으로, 본 실험에서의 *P. nana* 대량배양 방법에서 *P. nana*의 nauplius와 C4-성체의 일정한 생산이 가능하였으며 어류의 먹이 섭취 단계에 따라 배양 방법의 선택에 의해 양식 대상종으로의 연속적인 먹이 공급이 가능할 것으로 판단된다.

References

- [1] W. C. M. Breteler, N. Schogt, and S. R. Gonzalez, "On the role of food quality in grazing and development of life stages, and genetic change of body size during cultivation of pelagic copepods", *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 135, pp. 177-189. 1990.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981\(90\)90117-U](http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981(90)90117-U)
- [2] B. Sun and J. W. Fleeger, "Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus* a marine harpacticoid copepod in a recirculating system", *Aquaculture* 136, pp. 313-321. 1995.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01064-5](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(95)01064-5)
- [3] C. S. C. Pinto, L. P. Souza-Santos, and P. J. P. Santos, "Development and population dynamics of *Tisbe biminiensis* (Copepoda : Harpacticoida) reared on different diets", *Aquaculture* 198, pp. 253-267. 2001.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00582-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00582-2)

- [4] R. S. J. Gapasin and M. N. Duray, "Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*)", *Aquaculture* 193, pp. 49-63. 2001.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00469-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00469-5)
- [5] J. D. Toledo, M. S. Golez, M. Doi, and A. Ohno, "Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*", *Fish. Sci.* 65, pp. 390-397. 1999.
DOI: <http://dx.doi.org/10.2331/fishsci.65.390>
- [6] M. V. Barroso, C. V. A. de Carvalho, R. Antonias, and V. R. Cerqueira, "Use of the copepod *Acartia tonsa* as the first live food for larvae of the fat snook *Centropomus parallelus*", *Aquaculture* 388, pp. 153-158. 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.01.022>
- [7] O. Karlsen, T. van der Meeren, I. Ronnestad, A. Mangor-Jensen, T. F. Galloway, E. Kjorsvik, and K. Hamre, "Copepods enhance nutritional status, growth and development in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae - can we identify the underlying factors?", *PeerJ* 3 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.902>
- [8] G. R. Schipp, J. M. P. Bosmans, and A. J. Marshall, "A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp", *Aquaculture* 174, pp. 81-88. 1999.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00508-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00508-0)
- [9] M. F. Payne and R. J. Rippingale, "Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*", *Aquaculture* 201, 329-342. 2001.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00608-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00608-1)
- [10] J. G. Stottrup and N. H. Norsker, "Production and use of copepods in marine fish larviculture", *Aquaculture* 155, pp. 231-247. 1997.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00120-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00120-8)
- [11] A. C. B. Ribeiro and L. P. Souza-Santos, "Mass culture and offspring production of marine harpacticoid copepod *Tisbe biminiensis*", *Aquaculture* 321, pp. 280-288. 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.016>
- [12] E. E. Lipman, K. R. Kao, and R. P. Phelps, "Production of the copepod *Oithona* sp. under hatchery conditions", *Aquaculture* 2001, 2001.
- [13] G. Drillet, S. Frouel, M. H. Sichlau, P. M. Jepsen, J. K. Hojgaard, A. K. Joarder, and B. W. Hansen, "Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed", *Aquaculture* 315, pp. 155-166. 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.027>
- [14] K. W. Lee and S. M. Sim, "Effect of salinity and used medium on the induction of sexual reproduction in the rotifer *Brachionus rotundiformis*", *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 17, pp. 692-697. 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2016.17.4.692>
- [15] K. W. Lee, H. G. Park, S. M. Lee, and H. K. Kang, "Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov", *Aquaculture* 256, pp. 346-353. 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.015>
- [16] K. W. Lee, "Mass culture and food value of the cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov", *Kangnung University, Ph. D. thesis*, 2004.
- [17] K.-W. Lee, J.-H. Kang, and H. G. Park, "Effect of food concentration on grazing, growth and fecundity of cyclopoid copepod *Paracyclops nana*", *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.* 13, pp. 5206-5210. 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2012.13.11.5206>
- [18] J. H. Chung, "Culture of copepods for use as a live food of marine fish larvae", *Kangnung University, Master thesis*, 2001.
- [19] K.-W. Lee and H. G. Park, "Optimum culture density for the intensive mass production in cyclopoid copepod, *Paracyclops nana*", *J. Aquacult.* 18, 19-25. 2005.
- [20] A. Ohno and Y. Okamura, "Propagation of the Calanoid Copepod, *Acartia-Tsuensis*, in Outdoor Tanks", *Aquaculture* 70, pp. 39-51. 1988.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(88\)90005-1](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(88)90005-1)
- [21] P. Santhanam and P. Perumal, "Evaluation of the marine copepod *Oithona rigida* Giesbrecht as live feed for larviculture of Asian seabass *Lates calcarifer* Bloch with special reference to nutritional value", *Indian J. Fish.* 59, pp. 127-134. 2012.

이 군 우(Kyun-Woo Lee)

[정회원]



- 2001년 2월 : 강릉원주대학교 해양생명공학과 (이학석사)
- 2004년 2월 : 강릉원주대학교 해양생명공학과 (이학박사)
- 2013년 8월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 선임연구원

<관심분야>

해양생물학, 해양환경독성학

최 영 응(Young-Ung Choi)

[정회원]



- 2002년 2월 : 제주대학교 수산생물학과 (이학석사)
- 2006년 8월 : 제주대학교 수산생물학과 (이학박사)
- 2012년 7월 ~ 현재 : 한국해양과학기술원 책임연구원

<관심분야>

해양생물학, 번식생리학