

로티퍼 *Brachionus plicatilis* O. F. Müller 급이 밀도에 따른 넙치 *Paralichthys olivaceus* TEMMINCK et SCHLEGEL 자어의 전장, 건중량 그리고 생존율의 비교

정민민* · 노섬

*제주대학교 해양연구소, 제주대학교 해양과학대학 증식학과

Comparison of Notochord Length, Dry Weight and Survival Rate of Flat Fish, *Paralichthys olivaceus* TEMMINCK et SCHLEGEL Larvae on Different Food Densities of Rotifer, *Brachionus plicatilis* O. F. Müller

Min-Min Jung* and Sum Rho

*Marine Research Institute of Cheju National University, 3288 Hamdok-ri, Chochon-eup, Pukjeju-gun,
Cheju-do 695-810, Korea

Department of Aquaculture, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

The flat fish *Paralichthys olivaceus* TEMMINCK et SCHLEGEL is an economically important species in Korea. Flat fish juveniles are produced in the many hatcheries for sea farming. In larval rearing, the rotifer *Brachionus* species are used as food for the early stage of flat fish larvae. In this study, we investigated optimum rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller (formely called L-type *Brachionus plicatilis*) feeding density for the larval rearing of flat fish, *P. olivaceus*.

We compared the notochord length, dry weight and survival rate of *P. olivaceus* larvae at three different feeding densities of 0.5, 5 and 10 rotifers/ml. Temperature, salinity, pH and photoperiod maintained about 16.9-17.3°C, 35‰, 7.99-8.50 and 12L:12D, respectively. Culture volume was 80 liter in 100 liter larval rearing tanks. During the experimental periods, *Nannochloropsis oculata* will be added to a density of 1×10^6 cells/ml/day.

The highest notochord length and dry weight were observed at the rotifer densities 5, 10 ind./ml/day rather than at 0.5 ind./ml/day. Specially dry weights increased 5 and 6 times in the 5 and 10 ind./ml/day compare with 0.5 ind./ml/day on 20 days from hatching. However, survival rates did not differ significantly among three feeding densities.

These results suggest management of feeding density is needed with especially rearing days of fish larvae. The management of feeding density could be helpful for the intentionally larval rearing and rotifer culture.

Key words : *Brachionus plicatilis*, dry weight, feeding density, flat fish, larval rearing, *Paralichthys olivaceus*

서론

넙치 종묘 대량 생산의 성공은 먹이 생물인 로티퍼

의 성공적인 연구 진척 (Ito, 1960; Watanabe et al., 1983; Hirayama, 1985; Rumengan et al., 1991; Hirayama and Rumengan, 1993; Segers, 1995)과 해

산어 자어 사육을 위한 먹이 급여 계열 (로티퍼→알테미아 또는 코페포다→민짜육 또는 인공 초미립자 사료)의 확립에서 비롯된 것이라고 해도 과언이 아니다 (Tsukashima et al., 1983; Fukuhara, 1986; Takahashi, 1990; Mito and Oda, 1994).

이와 같이 계획적으로 이루어지고 있는 종묘 생산 과정에서 자어에게 급여 할 먹이가 모자라는 경우가 초래되는 것은 가장 위험한 일이다. 이러한 위험 요인을 해소하기 위한 한 방법으로서 인공 미립자 사료의 개발과 이용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Takahashi, 1990). 그러나, 아직 인공 배합 사료만으로는 해산어 종묘 생산의 전 사육 단계를 완전히 보완해줄 수 없는 것이 현실이다. 그러므로 초기 먹이 생물로서 이용되고 있는 로티퍼의 안정적인 배양은 계획적인 종묘 생산을 위해서는 필수적으로 이루어져야 한다.

자어는 성장과 더불어 보다 많은 양의 먹이를 요구하게 되는데 (Kayano, 1992) 그에 따른 안정적인 로티퍼 공급을 위해서는 자어가 성장함에 따라 필요로 하는 적정량의 로티퍼 급여 밀도를 조절하여야 한다. 이 연구에서는 넙치 자어의 사육 과정에서 로티퍼 급여 시기라고 할 수 있는 일령 20일까지의 착저 전 후기자어를 사육하면서 각 일령별로 요구되는 로티퍼의 적정 급여 밀도를 알아보았다. 적정 급여량을 산출하기 위한 방법으로는 급여 밀도별 자어의 성장, 체중 증가 (건중량 비교) 그리고 생존율을 비교하였다.

재료 및 방법

넙치의 수정란은 500/ 폴리카보네이트 원형 수조에 수용하여 부화시킨 후 부화한 자어를 각 실험 수조에 30ind./가 되도록 수용하였다. 실험 수조는 100/의 폴리카보네이트 원형 수조를 사용하였고, 사육수의 양은 80였다. 실험은 로티퍼 급여량의 0.5, 5, 10ind./ml/day 인 조건하에서 실시하였다. 넙치 자어에의 로티퍼 급여는 1일 급여량이 0.5, 5, 10ind./ml/day의 밀도가 되도록 1일 2회 즉, 오전 9시와 오후 5시 2차례로 나누어서 급여하였다. 먹이로 이용한 로티퍼는 *B. plicatilis* (일령 L-type 로티퍼)로 50-100m³의 대형 배양조에서

빵이스트를 먹이로 배양한 후, 매일 일정량을 수확하여 다시 100/의 플라스틱 용기에 옮겨 먹이 생물 영양 강화용 오징어 간유 (Leekenn chemical, Japan)를 먹이로 급여하여 영양 강화시켰다. 사육수에는 자어의 스트레스 방지와 기아 상태 로티퍼의 영양 보충을 목적으로 매일 1x10⁶cells/ml의 *Nannochloropsis oculata*를 넣어주었다 (Sakai et al., 1996; Takahashi, 1990; Yoshimatsu et al., 1995).

실험기간 중 넙치 자어의 사육 환경으로 수온은 16.9-17.3°C의 범위였고, 염분 농도는 35‰, 사육수의 pH는 7.99-8.50의 범위를 유지하였으며, 팜주기는 12L:12D로 타이머가 부착된 인공 조명을 사용하여 조절하였다. 조도는 300-400lux의 범위였다. 환수는 다음 로티퍼 급여시 그전에 급이한 로티퍼가 사육수조 중에 남는 것을 방지하기 위하여 사육 개시일부터 환수하여주었다. 환수율은 부화 자어의 일령 10일까지는 0.3-0.5 회전/day, 부화 후 일령 11일부터 실험 종료일인 부화 일령 20일까지는 3.5-5회전/day 시켰다.

실험 개시 당시 자어의 전장은 2.90±0.12 (Avg±SD)mm였다. 성장의 지표로서 전장의 측정은 각 실험 구별로 5일마다 10개체를 임의로 샘플링하여 측정하였다. 실험 기간 중 사육중인 자어의 건조 중량을 측정하기 위하여 실험 개시 후 0, 5, 10, 15, 20일되는 날에 10마리씩 임의 샘플링하여 측정하였다. 넙치 자어의 건조 중량 측정은 먼저 사육조에서 각 실험 조건별로 자어를 샘플링하여 수 차폐 증류수로 세정하였다. 그리고 60°C의 항온기에서 24시간 건조시킨 후 0.1 μg까지 측정 가능한 마이크로 전자 저울 (Metra-AT electronic micro balance, Japan)을 이용하여 자어의 건조중량을 측정하였다. 실험 결과는 student-t test로 실험값간의 유의성을 검정하였다.

결 과

실험 개시 당시 2.90±0.12 (Avg±SD)mm였던 부화 자어의 전장은 먹이 급여 밀도에 따라 그 성장에 차이가 있음을 알 수 있었다. 특히, 로티퍼의 급여량이 0.5ind./ml/day인 실험구에서 넙치 자어는 부화 후 일령 20일째의 전장이 5.19±0.49 (Avg±SD)mm

였으나, 로티퍼 급이량 5, 10ind./ml/day인 실험구에서는 7.58 ± 0.55 (Avg \pm SD)mm와 7.94 ± 0.52 (Avg \pm SD)mm로 0.5ind./ml/day인 실험구와 비교하여 현저한 성장의 차이가 관찰되었다 (Fig. 1, $p < 0.05$). 성장의 차이는 사육일수가 거듭될수록 커져 실험 종료일인 일령 20일째 로티퍼 0.5ind./ml/day 급이구의 넙치 자어는 다른 급이 밀도 조건에 비하면 2mm 이상 성장의 저조가 관찰되었다. 그러나, 로티퍼의 급이량 5ind./ml/day와 10ind./ml/day의 실험구 사이에서는 실험 기간 20일 동안의 사육기간 동안에 큰 차이를 관찰할 수 없었다 (Fig. 1, $p < 0.05$). 넙치 자어의 성장은 부화 후 일령 5일째부터 그 차이가 나타나기 시작하였고 일령 5일까지는 전 실험 조건하에서 성장에 뚜렷한 차이는 관찰할 수 없었으나, 일령 5일 이후부터는 로티퍼 0.5ind./ml/day 급이구에서 넙치 자어의 전장이 3.35 ± 0.23 (Avg \pm SD)mm로 다른 급이 조건의 3.62 ± 0.24 (Avg \pm SD)mm와 3.62 ± 0.27 (Avg \pm SD)mm에 비하여 성장이 둔화되기 시작하였다 (Fig. 1).

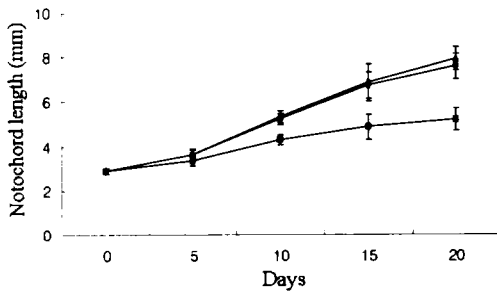


Fig. 1. Notochord length (mm) of flat fish *Paralichthys olivaceus* in the each feeding densities of *Brachionus plicatilis*. The rotifer *B. plicatilis* feeding densities were indicate that 0.5 ind./ml/day (■), 5 ind./ml/day (●) and 10 ind./ml/day (▲).

각각의 로티퍼 급이 조건별 사육 자어의 건중량의 비교에서도 로티퍼 급이 밀도 0.5ind./ml/day 조건과 5, 10ind./ml/day 급이 조건사이에는 현격한 차이가 관찰되었다. 로티퍼 급이량 0.5ind./ml/day 급이 조건에서 넙치의 자어는 실험 종료일까지 0.060mg/ind.에 불과하였으나, 5, 10ind./ml/day 급이 조건하에서는

일령 10일째에 0.055-0.056mg/ind.까지 성장하였고, 일령 15일째 사육 자어의 성장 비교에서는 현격한 차이를 보여, 0.5ind./ml/day 급이구에서는 건중량이 0.042mg/ind.에 불과하였으나, 5, 10ind./ml/day 급이구에서는 0.167mg/ind.와 0.169mg/ind.로 약 4배의 성장을 보였으며, 일령 20일째에는 0.5ind./ml/day 급이구의 건중량 (0.060mg/ind.)에 비교하면 5ind./ml/day 급이구에서는 건중량이 0.306mg/ind.로 5배, 10ind./ml/day 급이구에서는 0.367mg/ind.로 6배의 성장이 관찰되었다 (Fig. 2, $p < 0.05$).

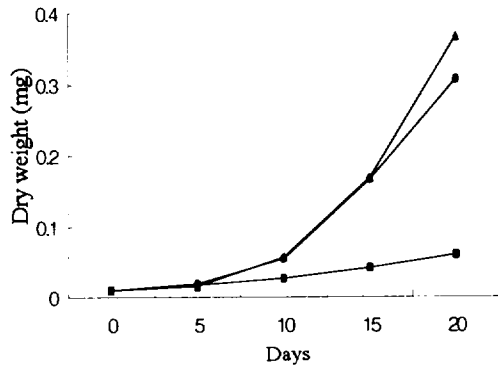


Fig. 2. Dry weight (mg/ind.) of flat fish *P. olivaceus* in the each feeding densities of *B. plicatilis*. The rotifer *B. plicatilis* feeding densities were indicate that 0.5 ind./ml/day (■), 5 ind./ml/day (●) and 10 ind./ml/day (▲).

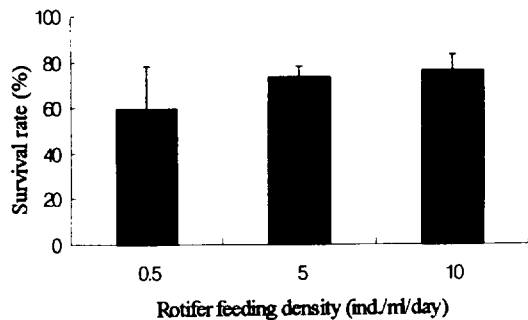


Fig. 3. Survival rates (%) of flat fish *P. olivaceus* under the each feeding densities of *B. plicatilis* at 20th day from hatching. The bars and vertical bars were represent Mean \pm SD of the replicate.

각 급이 조건별 최종 생산율을 비교해보면 0.5ind./ml/day 급이구에서는 $59.8 \pm 18.2\%$ (Mean \pm SD)이고, 5ind./ml/day 급이구에서는 $73.4 \pm 4.7\%$, 10ind./ml/day 급이구에서는 $76.2 \pm 7.1\%$ 로 로티퍼 급이 밀도 0.5ind./ml/day의 조건에서는 반복구간 생존율의 차이가 현격하여 안정적이지 못하였다 (Fig. 3).

고찰

해산어의 계획적인 종묘 생산을 위해서 가장 중요한 것은 먹이로서 급이 되는 먹이 생물 (예를 들면 로티퍼)의 안정적인 배양과 원활하고 충분한 양의 공급이 뒷받침되어야 한다. 넙치의 종묘 생산 과정에서 초기 먹이 생물인 로티퍼는 부화 자어가 개구(開口)한 후부터 일령 20-30 일경까지 급이하는 것이 일반적이며, 부화 후 10-15 일경부터는 로티퍼와 알테미아를 병용 급이한다 (Dedi et al., 1997). 그리고 로티퍼의 급이 시간은 보통 1일 2회 오전 11시 전후와 오후 4시 전후의 두 차례에 걸쳐서 급이한다 (Mito and Oda, 1994).

이와 같이 사육중인 자어에게는 먹이 계열, 먹이의 종류 그리고 급이 시간을 계획적으로 정하여 급이 하고 있다. 그러나, 자어의 성장과 더불어 급이 되는 먹이의 양도 증가하는 것이 일반적이지만 어느 정도의 양이 증가되어야 하는 지에 대하여는 관련된 연구 보고가 드물다. 자연 해역에 서식하는 넙치 자어의 소화관 내용물을 조사한 결과에 의하면, 부유기의 자어는 주로 코페포다의 노플리우스 유생을 먹이로 하며, 착저의 전 단계인 형태적 변태기의 자어는 코페포다의 노플리우스 유생 이외에도 코페포다의 성체나 해산 기각류와 같은 다소 대형의 동물플랑크톤도 먹이로서 이용하고 있는 것을 알 수 있었다 (Minami, 1982). 그러므로 부화한 자어는 성장함에 따라 대형의 먹이를 선택적으로 섭식하는 것을 알 수 있다.

즉, 넙치 자어는 성장과 더불어 더욱 큰 크기의 먹이 또는 다량의 먹이를 필요로 하며 (Kayano, 1992), 또는 여러 크기의 먹이 생물을 먹이로서 급이 하였을 때 자어는 선택적으로 먹이를 섭식한다 (Tsukashima et al., 1983). 이에 따라 현행의 종묘 생산 과정에서

는 로티퍼보다 큰 크기의 알테미아를 급이하거나, 아니면 양적으로 충족시키기 위하여 많은 양의 로티퍼를 급이하여주어야 한다. 이러한 상황에서 성장에 따른 적정 로티퍼 급이량의 증가 추이를 해명하는 것은 큰 의미를 지닌다.

이 연구에서는 적정 급이 밀도를 알아보기 위하여 일반적으로 사용하고 있는 사육 자어의 전장 (Takahashi, 1985)과 생존율을 측정함과 동시에 사육한 자어의 건강도를 알아보는 방법으로서 자어의 건중량을 비교하여 보았다. 이 연구에서 20일 동안의 사육 기간중 전장만의 비교에서는 일령 5일째까지는 로티퍼의 급이 밀도가 5ind./ml/day로 충분하였고, 부화 일령 10일경부터는 10ind./ml/day의 로티퍼 급이 방법이 가장 좋은 성적을 보였다. 그러나, 체중의 비교에서는 일령 15일까지는 급이 밀도 5ind./ml/day와 10ind./ml/day 사이에는 별다른 차이를 관찰할 수 없었으나, 일령 20일째의 측정에서는 체중에 현격한 차이를 보여 로티퍼 5ind./ml/day 급이구 (자어의 건중량 0.306mg/ind.)보다 10ind./ml/day 급이구 (0.367mg/ind.)에서는 건중량이 0.061mg/ind. 높았다.

이 연구에서 전 사육 기간중 급이한 로티퍼의 양은 0.5ind./ml/day 급이구에서 8×10^5 ind./ml이고, 5ind./ml/day 급이구에서는 8×10^6 ind./ml 그리고 10ind./ml/day 급이구에서는 16×10^6 ind./ml였다. 그러나, 결과를 종합해보면 넙치 자어를 20일령까지 사육하기 위해서는 일령 10일까지는 로티퍼의 급이 밀도를 5ind./ml/day로, 일령 11일째부터 20일까지는 10ind./ml/day의 로티퍼를 급이 해주으로써 자어의 최적 성장을 유지할 수 있을 것이다. 또한 이런 방법으로 넙치 자어를 사육한다면 전 사육 과정에 필요한 로티퍼의 급이 밀도는 12×10^6 ind./ml로, 가장 생존율이 높고 건중량이 높았던 10ind./ml/day 급이구와 같은 좋은 성장을 보일것으로 추측된다. 그리고 이 방법을 사용하게 되면 치어기까지 로티퍼의 급이량을 일률적으로 하던 방법에 비하여, 로티퍼의 사용량을 약 25% 감소 가능하게 하여 결국 계획적이고 효율적인 넙치 자어의 생산에 도움이 될 것이다.

한편, Takahashi (1985)의 보고에 의하면, 인공 종묘 생산 과정에서 넙치의 자어는 5ind./ml 이상의 로티퍼 급이 조건하에서 섭식 활동이 왕성하여지고, 전

장이 7mm 이상이어야만 에어레이션의 힘에 의하지 않고 자어 자신의 힘으로 유영이 가능하여 낮은 먹이 밀도하에서도 먹이를 찾아내어 먹는 정상적인 활동 즉, 먹이를 찾는 탐식(探食) 행동과 찾아낸 먹이를 잡아먹는 섭식(攝食) 활동이 가능해진다고 한다. 이 연구에서와 같이 넙치 자어의 사육 과정에서는 일령 약 20일 까지 또는 전장 약 7mm까지 성장하기 이전까지는 자어가 먹이로 급이한 로티퍼와 만나는 기회를 증가시켜, 간접적으로 급이한 로티퍼가 자어의 입 속으로 들어갈 수 있는 확률을 높여주어야 함을 알 수 있었다. 즉, 자어의 적극적인 탐식 행동과 섭식 행동을 기대할 수 없는 어린 시기에는, 자어가 먹이(로티퍼)와 만날 수 있는 기회를 조성하기 위해서는 이 연구의 로티퍼 급이 밀도 10ind./ml/day와 같이 가능한 높은 밀도의 먹이가 사육수중에 존재하도록 하여 주는 것이 필요하다. 그러나, 과다 급이로 인하여 로티퍼가 사육수조내에 남아서 시간이 경과함에 따라 기아 로티퍼의 수가 증가하여, 먹이로 급이한 로티퍼의 영양가가 저하되었을 경우에는 자어가 로티퍼를 섭이 하더라도 영양적인 가치는 없는 오히려 섭이 활동을 통해 소모되는 에너지보다 적은 양의 에너지를 섭이하는 결과를 초래하여 에너지 수치 차원에서 마이너스의 효과를 초래할 수 있다. 그러므로 이 연구에서와 같이 실험 개시일로부터 사육수의 적당한 환수를 통하여 사육수조내에 영양이 결핍된 기아 로티퍼가 잔존하지 않도록 하여야 한다.

대체로 해산어의 종묘 생산 과정에서 먹이 생물로서 로티퍼의 급이는 그날 수확 가능한 로티퍼의 밀도에 의존하여 그날의 급이량이 결정되거나, 부화 후 후기 자어기까지 사육수의 수량에 맞추어 계산된 매일 일정 밀도의 로티퍼가 급이되었다. 그러나, 이 연구의 결과, 로티퍼의 적정 급이 밀도는 사육 수량에 의하여 결정되어서는 안되고, 사육하고 있는 자어의 개체수와 그 자어들의 일령(활력 및 섭이량)에 따라서 로티퍼의 급이 밀도를 정하여야 함을 알 수 있었다. 특히 로티퍼의 급이 밀도를 정하는 기준으로서 일반적으로 사용되고 있는 사육 자어의 생존율이나 전장 이외에도 자어의 건중량의 비교는 자어에게 급이되는 로티퍼의 급이 밀도를 결정하는데 중요한 지표로서 이용 가능함을 알 수 있다.

요 약

양식 산업에서 중요한 위치를 차지하고 있는 넙치 *Paralichthys olivaceus*는 많은 시설에서 만들어지는 종묘로부터 시작된다. 이와 같은 넙치의 종묘 생산 과정에서 로티퍼는 없어서는 안될 초기 먹이 생물이다.

이 연구에서는 넙치의 종묘 생산 과정에서 자어 사육에 필요한 일령별 로티퍼의 적정 급이 밀도를 알아보기 위하여 20일간의 사육 과정에서 급이 밀도에 따른 넙치 자어의 성장(전장과 건중량)과 생존율을 비교하였다. 로티퍼 *Brachionus plicatilis*의 급이 밀도는 각각 0.5, 5, 10ind./ml/day였다. 넙치 자어의 사육수는 16.9-17.3°C, 염분 농도 35‰, pH 7.99-8.50의 범위였고, 광주기는 12L:12D로 조절하였다. 사육수량은 80/로 실험기간 중에는 *Nannochloropsis oculata*를 1×10^6 cells/ml/day의 농도가 되도록 첨가하였다.

넙치 자어 성장의 비교 척도로서 20일간의 사육 기간중 생존율과 건중량의 비교에서는 0.5ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건에 비하여 5, 10ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건하에서 높은 생존율과 건중량을 관찰할 수 있었다. 특히, 건중량은 0.5ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건에 비하여 5ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건하에서는 5배, 10ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건하에서는 6배나 높은 건중량이 관찰되었다. 그러나, 실험 종료일인 일령 20일째의 각 급이 조건별 생존율에는 유의적인 차이를 관찰할 수 없었으나, 5, 10ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건에 비하여, 0.5ind./ml/day의 로티퍼 급이 조건에서는 반복구간 결과의 차이가 많았다.

이 연구의 결과, 로티퍼의 적정 급이 밀도는 사육하고 있는 자어의 개체수나 일령에 따라서 결정되어야 함을 알 수 있었다. 특히 로티퍼의 적정 급이 밀도를 정하는 기준으로서 사육 자어의 생존율이나 전장 이외에도 자어의 건중량의 비교는 자어에게 급이되는 로티퍼의 급이 밀도를 결정하는데 중요한 지표로서 이용 가능함을 알 수 있다.

참 고 문 헌

Dedi, J., T. Takeuchi, T. Seikai, T. Watanabe and

- K. Hosoya, 1997. Hypervitaminosis a during vertebral morphogenesis in larval Japanese flounder. *Fisheries Science*, 63, 466~473.
- Fukuhara, O., 1986. Morphological and functional development of Japanese flounder in early life stage. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 52, 81~91.
- Hirayama, K., 1985. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seedling. *Coll. Fr.-Japan. Oceanogr.* 8, 41~50.
- Hirayama, K. and I. F. M. Rumengan, 1993. The fecundity patterns of S and L type rotifers of *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 255/256, 153~157.
- Ito, T., 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller in the seawater. *Rep. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie*, 3, 708~740.
- Kayano, Y., 1992. Food intake and changes of gastric digesta in young red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Suisanzoshoku*, 40, 377~381.
- Minami, T., 1982. The early life history of a flounder *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 48, 1581~1588.
- Mito, T. and T. Oda, 1994. Mass production of seedlings of the flounder *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Fish. Exp. Okayama Prefec. of Japan*, 9, 160~164.
- Rumengan, I. F. M., H. Kayano and K. Hirayama, 1991. Karyotypes of S and L type rotifers *Brachionus plicatilis* O. F. Müller. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 154, 171~176.
- Sakai, Y., S. Saito, M. Shimizu, J. Yamada and I. Minato, 1996. Occurrence and properties of urinary calculi found in laboratory-raised larvae of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 62, 754~760.
- Segers, H., 1995. Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). *Hydrobiologia*, 313/314, 121~122.
- Takahashi, Y., 1985. Morphological and behavioral changes with growth in reared larvae and juveniles of a flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Suisanzoshoku*, 33, 43~52.
- Takahashi, Y., 1990. Reduction of the amount of food organisms supplied and simplification of rearing operations in the seedling of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Suisanzoshoku*, 38, 23~33.
- Tsukashima, Y., N. Yoshida, C. Kitajima, S. Matsumura and C. L. Besch III, 1983. Mass-rearing of the fry of Japanese whiting, *Sillago japonica* initially fed with smaller size rotifer, *Brachionus plicatilis*, filtered with a fine mesh net. *Suisanzoshoku*, 30, 202~210.
- Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita, 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, 34, 115~143.
- Yoshimatsu, T., M. Hayashi, K. Toda, M. Furuichi and C. Kitajima, 1995. Preliminary experiment on the requirement of larval redlip mullet for essential fatty acids and the supplemental effect of *Nannochloropsis* to rearing water. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 61, 912~918.