

동물플랑크톤 노출 강도가 유해남조 *Microcystis aeruginosa*와 *Planktothrix agardhii*의 생체량 및 세포내 microcystin 함량변화에 미치는 영향

장 민 호 · 정 종 문¹ · 주 기 재^{2,*}

(일본국립환경연구소, ¹부산시 상수도사업본부 수질연구소, ²부산대학교 생물학과)

Effect of Zooplankton Exposures on the Biomass and Intracellular Microcystin in *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii*. Jang, Min-Ho, Jong-Mun Jung¹ and Gea-Jae Joo^{2,*} (National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba 305-8506, Japan; ¹Pusan Water Quality Institute, Waterworks HQ, Busan 621-813, Korea; ²Department of Biology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea)

This study was to evaluate microcystin production by two strains of cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii*) in response to three different levels of direct (0, 4, 8 inds.) or indirect (0, 25, 50% of zooplankton culture media filtrate) exposures to zooplankton (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*). The cell biomass and intracellular microcystin (MC) were measured everyday. The survival rates of zooplankton were evaluated for daily intervals for the direct exposure. The intracellular MC produced peaked on the day 3 or 4, and then decreased over the both exposure experiment. In the direct experiment, the MC values were significantly different among the control and zooplankton treatments (ZT; repeated measures-ANOVA: $P < 0.039$). The MC contents of *P. agardhii* strain (No. 204) were significantly higher (Tukey test, $P < 0.082$) in ZT2 (8 inds.) than in ZT1 (4 inds.). On the peak day, the intracellular MC exposed to both zooplanktons was significantly higher than the control (One-way ANOVA, $P < 0.021$). Higher zooplankton survivals were observed in the *M. aeruginosa* strain (No. 111) rather than in high toxic *P. agardhii* strain. In the indirect experiment, the intracellular MC of the *M. aeruginosa* strain was significantly different among the control and zooplankton culture media filtrate (ZCMF) treatments (rm-ANOVA: $P < 0.004$). The MC exposed ZCMF2 (50%) were significantly higher than in ZCMF1 (25%; Tukey test, $P < 0.025$) for both strains. This study strongly supports the induced-defensive MC production of potentially toxic cyanobacteria in response to the presence of zooplankton.

Key words : *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*, *Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, growth, intracellular microcystin, infochemical

서 론

남조군집에 의한 수화 현상은 담수생태계 뿐만 아니라,

기수역 및 해양생태계에서도 빈번히 관찰되는 현상이다 (Wiegand and Pflugmacher, 2005). *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* (*Oscillatoria*), *Nostoc* 등으로 대표되는 이 군집 중 일부 종들은 신경독소 또는

* Corresponding author: Tel: 051) 510-2258, Fax: 051) 583-0172, E-mail: gjjoo@pusan.ac.kr

간독소를 생성해내는 것으로 알려져 있다(Codd, 1995). 간독성을 유발하는 microcystin (MC)은 대부분 세포 내에 존재하고 있어(Rapala *et al.*, 1997), 이를 포식하는 동물플랑크톤, 무척추동물, 어류 등 상위 포식자의 치사율 증가를 유발할 수 있으며, 독성남조 세포내의 낮은 영양분으로 인해, 포식압 감소 등을 초래하여, 부영양호에서 경쟁적 우위를 차지할 수 있게 된다(DeMott *et al.*, 1991).

최근들어, 수생태계내의 피·포식자간 상호인지 기작에 대해 많은 연구가 수행되어 왔다. 특히, 피식자는 직접적인 포식압 뿐 아니라, 포식자의 분비화학물질(Infochemical)에 대한 방어수단으로 형태 및 행동 특성이 변화될 수 있다는 연구가 어류, 무척추동물 및 동물플랑크톤을 대상으로 활발히 진행되어왔다(Loose *et al.*, 1993; Lampert *et al.*, 1994; Tollrian and Dodson, 1999; Brönmark and Hansson, 2000; Burks *et al.*, 2000). 이러한 '분비화학물질' 기작을 밝히는 연구는 동물플랑크톤과 군체성 녹조류를 대상으로 형태변화의 관점에서 활발히 진행되어왔다(Lüring and van Donk, 1997).

부영양호에서 동물플랑크톤과 독성 남조군집간의 상호작용에 대한 연구는 현재까지도 활발히 진행되고 있으며, 주로 남조 군주의 독성유무에 따른 동물플랑크톤의 포식력차이에 관한 연구와 독성 남조가 동물플랑크톤의 생존률 혹은 성장률에 미치는 영향 등을 중심으로 연구가 수행되어왔다. 실험실내 연구를 통해, 독소를 함유하고 있는 남조 *Microcystis aeruginosa* 군주는 동물플랑크톤들의 포식력을 저해시키거나, 사멸률을 증가시킨다는 결과가 보고되기도 하였다(Lampert, 1987; de Bernardi and Giussani, 1990). 또한, 독성 남조 군주에 대한 반응은 동물플랑크톤 종에 따라 다르게 나타난다는 연구결과가 발표되기도 하였으며(DeMott *et al.*, 1991), 야외현장 실험을 통해, 수심에 따라 독성남조 *Microcystis*의 분포에 차이가 나며, 이에 의해 동물플랑크톤의 여과율에도 차이를 보인다는 연구결과가 발표되기도 하였다(Haney *et al.*, 1990). 그러나, 최근 들어, 남조류의 방어기작에 의한 포식자와의 상호관계를 밝히는 방향으로 연구가 수행되기 시작하였다. 그 결과 동물플랑크톤의 섭식압에 대한 방어기작으로 남조류가 군체를 형성하거나(DeMott *et al.*, 2001), 세포내 지방산의 함유량을 낮추거나(Müller-Navarra *et al.*, 2000), MC의 생성량이 증가되는 현상(Jang *et al.*, 2003a) 등이 실험적으로 증명되었다. 특히, 포식자에 대한 방어기작으로 생성량이 증가되는 독소 MC은 동물플랑크톤의 섭식여과능력 저하(DeMott *et al.*, 1991), 성장 저하(DeMott, 1999), 섭식행동을 저하시키는 것으로 나타났다(Ghadouani *et al.*, 2004). 그러나, 최근에

수행된 연구에 의하면, 동물플랑크톤 역시 고농도의 MC에 노출되지 않는 경우, 남조독성에 대해 내성을 가지게 되며(Sarnelle and Wilson, 2005), 이러한 동물플랑크톤의 특성은 다음세대로 전달될 수 있다는 보고도 있다(Gustafsson *et al.*, 2005).

상위 포식자인 동물플랑크톤과 남조군집의 상호작용 및 독성남조의 독소 발생기작에 관한 연구를 토대로 현재 생물조절을 통한 부영양호 수환경 관리연구가 활발히 진행되고 있는 현 상황을 고려할 때, 중요한 생태적 기초자료로 이용될 수 있다. 현재까지 상위포식자의 직·간접적 노출에 의해 유도되는 'induced defences'(유도방어기작)에 관한 연구는 동물플랑크톤 직·간접노출에 의한 독성 남조의 성장률(하 등, 2003) 및 세포내 MC함량의 변화(Jang *et al.*, 2003a), 실험실 내에서 어류의 직접 노출에 의한 남조 *Microcystis*의 성장 및 형태 변화(김 등, 2005), 세포내 MC함량의 변화(Jang *et al.*, 2004)가 수행되었으며, 특히, 어류의 직접 노출에 의한 독소함량의 변화현상은 야외현장실험을 통해 증명되기도 하였다(Jang *et al.*, 2003b). 그러나, 연구대상 남조종이 모두 *M. aeruginosa*에 한정되어 있었으며, 상위포식자인 동물플랑크톤의 직·간접 노출 강도차이에 따른 독소생성함량의 변화에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서, 본 연구는 두종의 남조 *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann와 *Planktothrix agardhii* Anagnostidis et Komárek를 성체시기까지 배양한 두 종의 동물플랑크톤, *Daphnia magna* Straus와 *Moina macrocopa* Straus의 직접노출 밀도차이 및 배양여과액(zooplankton culture media filtrate; ZCMF)의 농도차이에 따른 두 남조종의 생체량과 세포내 MC함량의 변화를 파악하고자 하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 실험용 동·식물플랑크톤

본 실험에 사용된 *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann (No. 111)와 *Planktothrix agardhii* Anagnostidis et Komárek (No. 204) 군주는 일본국립환경연구소의 미생물배양센터에서 분양받아, CT 배지(Kasai *et al.*, 2004)에 접종한 후 27°C의 배양기(120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)에서 16:8 h 명암주기로 배양하였다. 배지에 접종한 *M. aeruginosa*군주와 *P. agardhii*군주는 14일 후에 실험에 사용하였다. 본 실험을 위한 동물플랑크톤은 일본국립환경연구소의 수생생물 연구실에서 계대 사육중인 부화후

4일 경과한 알을 갖지 않은 *Daphnia magna* Straus와 부화후 1일 경과한 알을 갖지 않은 *Moina macrocopa* Straus 성체를 실험에 사용하였다. 먹이로는 CT배지에서 배양한 *Scenedesmus acutus* Meyen (평균밀도, $\times 10^3$ cells mL⁻¹)을 사용하였다.

2. 동물플랑크톤 직접노출 실험

직접노출 실험을 위하여, 하나의 대조군과 각 동물플랑크톤 직접노출 정도에 따른 두 처리군을 설정하였다. 실험에 사용되는 300 mL 삼각플라스크 93개에 각각 200 mL의 CT배지를 넣어 멸균한 후 무균상태에서 *M. aeruginosa*균주 또는 *P. agardhii*균주를 0.2×10^5 cells mL⁻¹ 밀도로 접종하였다. 대조군은 이들 93개의 삼각플라스크 중에 무작위로 21개를 선택하였으며 (n=3×7일; 0~6일), 나머지 72개 (n=3×2종×2처리군×6일; 1~6일)는 동물플랑크톤 처리군으로 사용하였다. 처리군으로는 각 *D. magna*와 *M. macrocopa*를 각각 4개체 (처리군 1; DT1, MT1), 8개체 (처리군 2; DT2, MT2)를 무균상태에서 접종 후, 대조군과 처리군 모두 배양기에서 27°C, 16:8 h 명암 주기로 배양하였으며, 하루 4회 삼각플라스크를 교반시켜 주었다. 매일 대조군과 처리군을 각각 임의로 선택하여, 각 처리군의 동물플랑크톤 생존율을 파악 후, 원심분리 (12,000×g, 4°C) 후 여과지 (GF/C, Whatman, UK)로 여과하였다. 이 시료는 -70°C에서 동결 건조 후 건조량 (dry weight)을 측정하였으며, 독소(세포내 MC) 분석을 위해 -20°C에 보관하였다. 동결 건조한 세포내 독소분석을 위해서 5% (v/v) 초산 30 mL로 약 16시간 교반 (140 rpm)한 후에 12,000×g로 4°C에서 원심분리 후 상등액을 카트리지에 통과시켰다. 이 과정을 2회 반복한 후 각 카트리지를 독소 추출 전까지 4°C 암소에 보관하였다. 실험 개시일과 종료일의 대조군과 처리군 샘플에서 여과액 중 20 mL은 다시 GF/F로 여과한 후, 질소(DIN: NO₃-N, NO₂-N, NH₄-N)와 인(DIP: PO₄-P) 농도를 측정하였다.

3. 동물플랑크톤 간접노출 실험

간접노출 실험을 위하여, 알을 갖지 않고 부화 후 4일이 경과한 *D. magna*와 부화 후 1일이 지난 *M. macrocopa*를 각각 400개체씩 4 L에 배양한 배양액을 여과지 (GF/C, 0.45 µm)로 1차 여과한 후, 그 여과액을 다시 미세여과지 (0.1 µm, Millipore, HA)로 여과하여 30분간 무균상태의 UV하에 멸균하였다. 이렇게 얻어진 배양여과액 (Zooplankton Culture Media Filtrate; ZCMF)은 각기 다른 농도로 두 처리군을 설정하였고, 대조군 (0%)과 비

교하였다. 각 처리군은 ZCMF의 부피비를 25% (처리군 1, DCMF1, MCMF1), 50% (처리군 2, DCMF2, MCMF2)로 맞추어 (각 샘플당 n=3) 최종부피에 동일량의 배지성분이 들어갈 수 있도록 조절하였다. 무균상태에서 각 *M. aeruginosa*와 *P. agardhii*균주를 각각 0.2×10^5 cells mL⁻¹ 밀도로 접종한 후 배양기에서 27°C, 16:8 h 명암 주기로 배양하며, 하루 4회 삼각플라스크를 교반하였다. 생체량(건조중량), 질소, 인의 농도 분석 및 독소분석을 위한 전처리는 직접 노출실험 방법과 동일하게 수행하였다.

4. 세포내 MC함량분석 및 통계분석

독소 추출 및 분석은 Oh *et al.* (2000)과 Jang *et al.* (2004)에 서술된 방법으로 수행하였다. 대조군과 각 처리군의 세포내 독소 생성량의 차이를 통계적으로 검증하기 위하여, repeated measured ANOVA, one-way ANOVA, Tukey 분산분석법 등을 이용하였으며 (SPSS, Release 12.0; SPSS inc., Chicago, IL, USA), 실험시작일인 0일째의 결과값은 비교분석시 제외하였다.

결 과

1. 동물플랑크톤 직접노출 밀도차에 따른 남조균주의 생체량과 독소함량의 변화

실험기간동안 *M. aeruginosa*균주에서 대조군과 두 처리군에서 남조 생체량은 시간경과에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 동물플랑크톤 두 처리군에서 *P. agardhii*균주의 *Moina*처리군 (rm-ANOVA, $P=0.491$)을 제외하고, 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의할만한 수준으로 높은 값이 관찰되었다 (rm-ANOVA, $P<0.001$; Figs. 1, 2). *M. aeruginosa*균주에서는 두 *Daphnia*처리군에서 생체량 값이 통계적으로 유의한 수준의 차이가 관찰되었으나 (Tukey test, DT1<DT2, $P<0.001$; MT, $P=0.760$), *P. agardhii*균주에서는 두 처리군 간에 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보이지 않았다 (Tukey test, DT, $P=0.857$; MT, $P=0.988$). 접종한 두 종의 동물플랑크톤은 두 균주에서 모두 초기 치사율이 높아, 실험 시작 1일째부터 사멸하기 시작하여, 3일째 두 균주에서 모두 생존률 20%를 넘기지 못한 것으로 관찰되었다 (Figs. 1, 2 C-D). 균주별로 비교해볼 때, *P. agardhii* 균주에서는 3일째 접종개체가 모두 사멸한 반면, *M. aeruginosa*균주에서는 *Moina*처리군에서 5일째까지 살아남는 개체가 관찰되었다. 실험

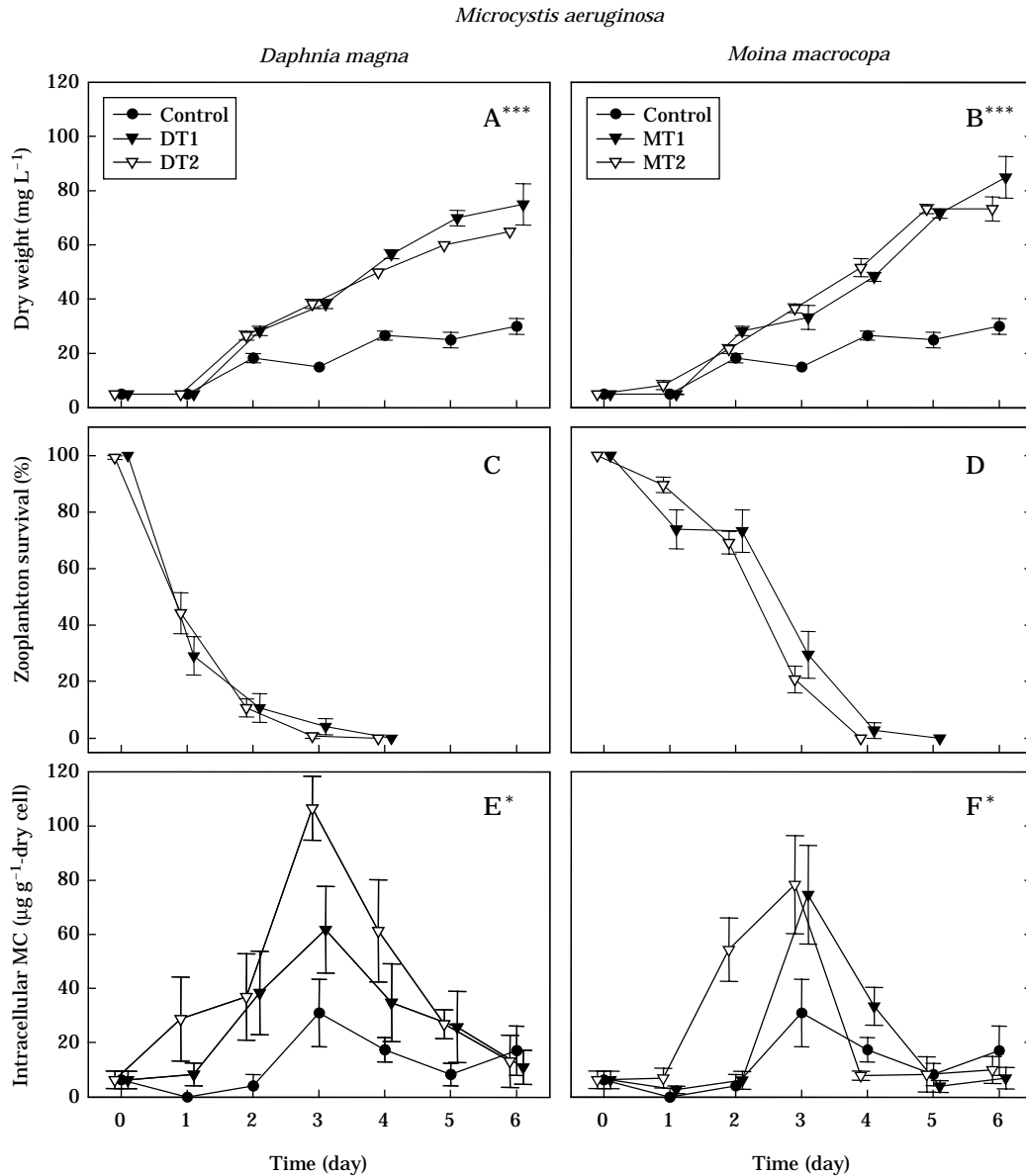


Fig. 1. Changes in dry weight, zooplankton survival rate and intracellular MC of *Microcystis aeruginosa* strain when directly exposed to three different densities of *Daphnia magna* and *Moina macrocopa* (means \pm SE; n=3). Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where * p <0.05, ** p <0.01 and *** p <0.001.

시작일과 종료일에 측정된 질소(DIN; NO₃-N, NO₂-N, NH₄-N)와 인(DIP; PO₄-P)의 농도는 대조군과 동물플랑크톤이 첨가된 처리군 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며 (rm-ANOVA, DIN, $P=0.789$; DIP, $P=0.171$), 실험 종료시기까지 조류가 성장하기에 충분한 정도의 농도가 검출되었다 (DIN: 0일째 33 mg L⁻¹, 6일째 27~32 mg L⁻¹; DIP: 0일째 1.0 mg L⁻¹, 6일째 1.3~2.6 mg L⁻¹).

두 남조군주에서 동물플랑크톤 직접노출에 의해 세포내 MC함량이 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다 (rm-ANOVA: Fig. 1E, $P=0.038$; 1F, $P=0.039$; 2E, $P=0.001$; 2F, $P=0.028$). 실험기간 동안 가장 높은 세포내 MC 값은 두 군주의 ZT1처리군(DT1 또는 MT1)보다 ZT2처리군(DT2 또는 MT2)에서 더 높은 세포내 MC 값이 관찰되었으나, *P. agardhii*군주에서만 통계적으로 유의한 수준을 보였다 (Tukey test, DT1<DT2 $P=0.045$;

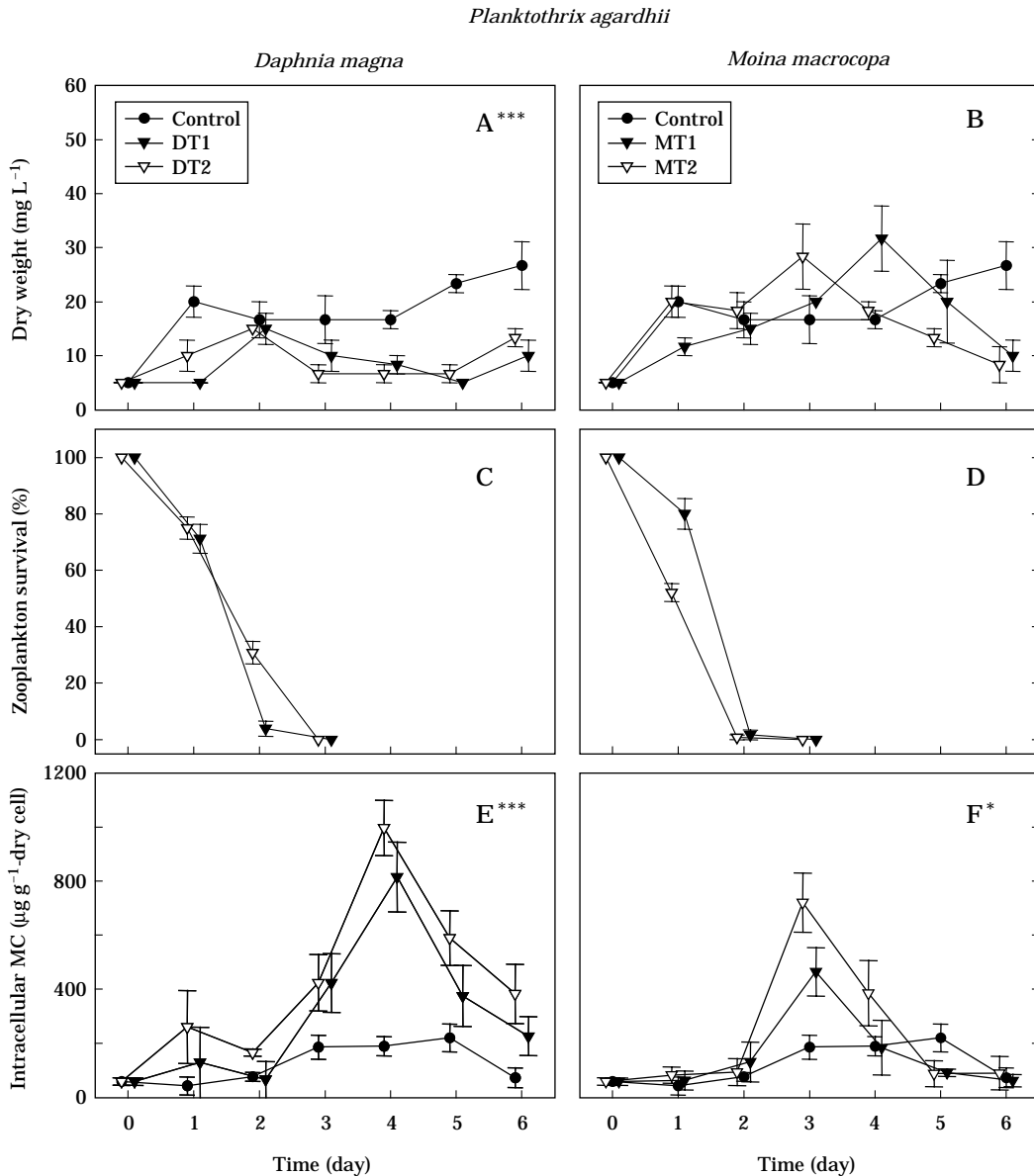


Fig. 2. Changes in dry weight, zooplankton survival rate and intracellular MC of *Planktothrix agardhii* strain when directly exposed to three different densities of *Daphnia magna* and *Moina macrocopa* (means±SE; n=3). *P* value for each graph was the result of rm-ANOVA. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001.

MT1<MT2 *P*=0.082). 세포내 MC값은 *D. magna*에 노출된 204균주에서 4일째 최고값을 보인 것을 제외하고는, 모든 처리군에서 3일째 최고값을 보인 후, 감소하는 양상이 관찰되었다. *M. aeruginosa*균주의 *Moina*처리군 (One-way ANOVA, *P*=0.158)을 제외하고, 최고값을 보인 시기에 처리군들의 세포내 MC는 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (One-way ANOVA, *P*<0.021). 처리군별로 비교해볼 때, ZT2에서 측정된 세포내

독소값이 ZT1에서보다 통계적으로 유의한 정도의 차이는 보이지 않았다 (Tukey test, *P*>0.125).

2. 동물플랑크톤 배양여과액 농도차에 따른 남조균주의 생체량과 독소함량의 변화

실험기간 동안 대조군과 처리군에서, 두 균주의 생체량은 시간이 지남에 따라 증가하는 양상을 보였다 (Figs. 3,

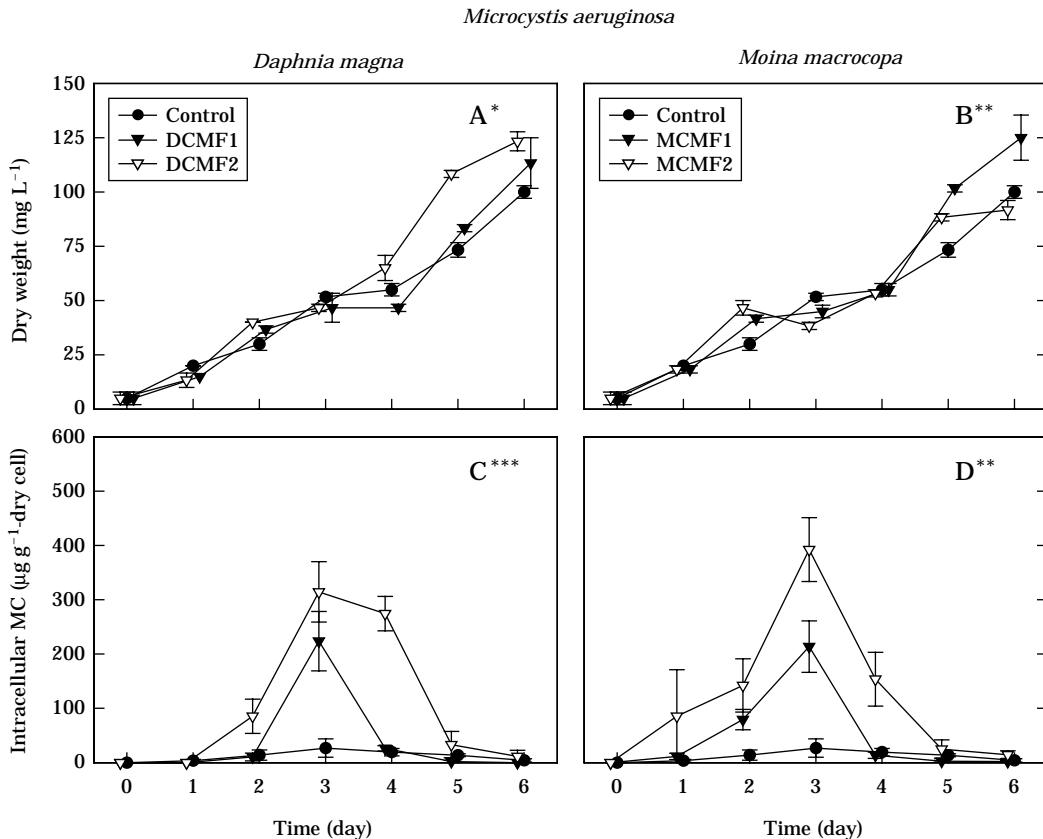


Fig. 3. Changes in dry weight and intracellular MC of *Microcystis aeruginosa* strain when exposed to three different levels of culture media filtrate of *Daphnia magna* and *Moina macrocopa* (means \pm SE; n=3). *P* value for each graph was the result of rm-ANOVA. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001.

4A-B). 실험기간동안 *P. agardhii*균주의 *Daphnia*처리군을 제외하고는 (rm-ANOVA, *P*=0.178), 두 균주의 동물플랑크톤 처리군에서 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의할 만한 수준으로 높은 값이 관찰되었다 (rm-ANOVA: Fig. 3A, *P*=0.019; 3B, *P*=0.003; 4B, *P*<0.001). 처리군별로 비교해볼 때, *M. aeruginosa*균주에서는 모든 처리군에서 생체량값이 통계적으로 유의한 수준의 차이가 관찰되었으나 (Tukey test, DCMF1 < DCMF2, *P*=0.046; MCMF1 > MCMF2, *P*=0.007), *P. agardhii*균주에서는 *Moina*처리군만이 통계적으로 유의할 만한 수준의 차이를 보였다 (Tukey test, MCMF1 < MCMF2, *P*=0.022; DCMF, *P*=0.876). 직접노출 실험과 마찬가지로 질소 (NO₃-N, NO₂-N, NH₄-N)와 인 (PO₄-P)의 농도는 대조군과 동물플랑크톤 처리군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며 (rm-ANOVA, DIN, *P*=0.879; DIP, *P*=0.128), 실험 종료시기까지 조류가 성장하기에 충분한 정도의 양이 검출되었다 (DIN: 0일째 32 mg L⁻¹, 6일째 25~30 mg L⁻¹;

0일째 DIP: 1.8 mg L⁻¹, 6일째 1.8~2.6 mg L⁻¹).

동물플랑크톤 배양여과액에 노출시킨 *M. aeruginosa*균주에서 세포내 MC 함량이 대조군과 처리군 간에 유의한 수준의 차이가 있었다 (rm-ANOVA: Fig. 3C, *P*=0.001; 3D, *P*=0.004). *P. agardhii*균주에서는 대조군과 차이는 있었으나, 통계적으로 유의할 수준은 아닌 것으로 나타났다 (Fig. 4C-D). 실험기간 동안 두 균주 모두에서 ZCMF1 (DCMF1 또는 MCMF1)처리군보다, ZCMF2 (DCMF2 또는 MCMF2)처리군에서 더 높은 세포내 MC 값이 관찰되었으며, *M. aeruginosa*균주에서는 통계적으로 유의한 수준으로 높게 나타났다 (Tukey test, DCMF1 < DCMF2 *P*=0.003; MCMF1 < MCMF2 *P*=0.025). 세포내 MC값은 두 균주의 DCMF와 MCMF처리군 모두에서 3일째 최고값을 보인후, 감소하는 양상이 관찰되었다. *M. aeruginosa*균주는 세포내 MC값이 최고값을 보인 3일째에 DCMF와 MCMF가 대조군보다 높은 것으로 나타났다 (One-way ANOVA, DCMF, *P*=0.012; MCMF, *P*=0.024). 그러

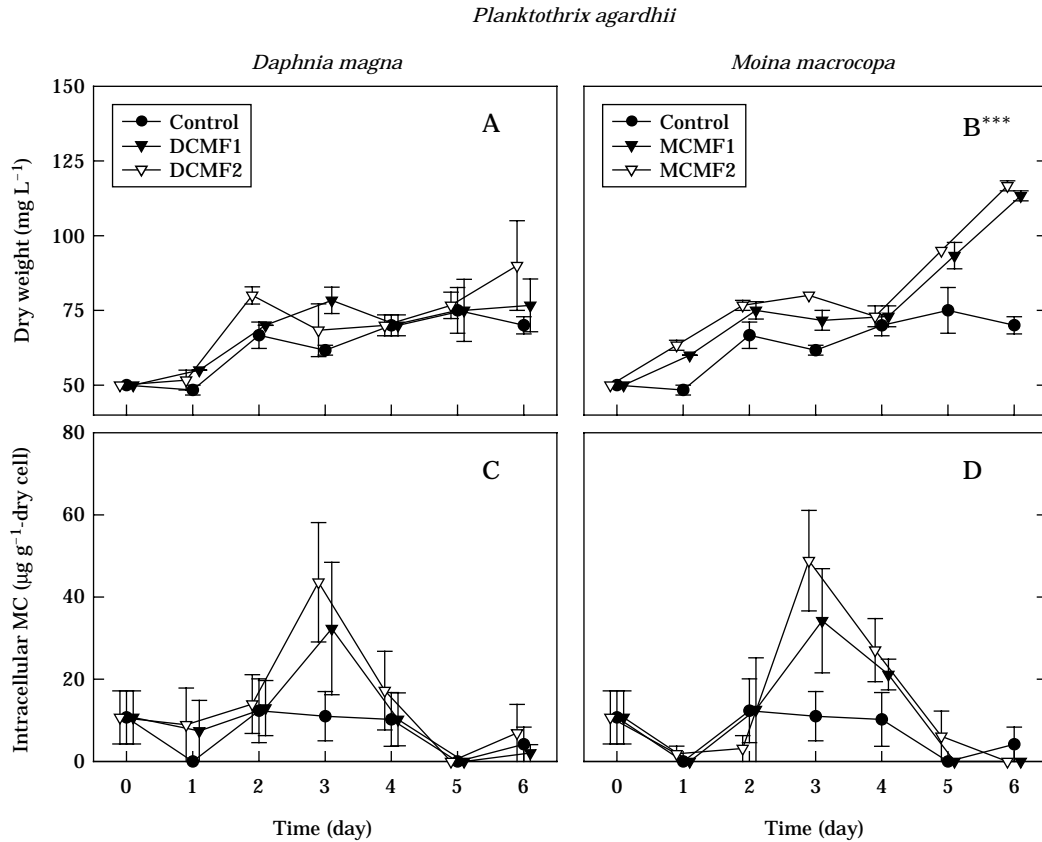


Fig. 4. Changes in dry weight and intracellular MC of *Planktothrix agardhii* strain when exposed to three different levels of culture media filtrate of *Daphnia magna* and *Moina macrocopa* (means \pm SE; n=3). *P* value for each graph was the result of rm-ANOVA. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001.

나, *P. agardhii*균주에서는 통계적으로 유의할 만큼의 차이는 나타나지 않았다. 처리군별로 비교해볼 때, *M. aeruginosa*균주의 MCMF2에서 측정된 세포내 독소값이 MCMF1에서보다 통계적으로 유의할 만큼 높게 나타났다(Tukey test, *P*=0.033).

고찰

현재까지, 피식자의 방어기작이 포식자의 노출밀도에 의존될 수 있다는 연구는 1990년대 이후부터 동물플랑크톤과 무척추동물 및 어류, 또는 군체성 조류(*Scenedesmus*, *Phoridinium*)와 포식자 동물플랑크톤 및 섬모충(*Furgasonia*)을 대상으로 하여, 이들의 형태 및 행동 변화를 중심으로 비교적 활발한 연구가 수행되어 왔고(Lampert *et al.*, 1994; Fialkowska and Pajdak-Stós, 1997; Wiackowski and Starońska, 1999), 최근에는 동물

플랑크톤에 대한 독성 남조의 방어기작을 독소생성의 측면에서 밝히는 연구가 수행되기 시작하였다. 본 연구는 수생생태계의 피·포식자간의 상호관계를 설명하기 위한 연구의 일환으로, 초식성 동물플랑크톤 *D. magna*와 *M. macrocopa*의 직·간접 노출 강도가 증가함에 따라, 독성 남조의 세포내 MC양이 증가됨을 보여주었으며, 이 결과는 동물플랑크톤의 존재 하에서 이에 대한 방어기작으로 독성 남조의 MC 분비량이 증가된다는 유도방어기작(inducible defensive mechanism) 가설(DeMott, 1999; Jang *et al.*, 2003a)을 입증할만한 중요한 연구자료가 될 수 있다고 판단된다.

동물플랑크톤 직·간접 노출한 두 균주의 처리군 모두에서, 세포내 MC함량이 3~4일째 최대값을 보인 후, 감소하는 양상을 보였다. 이러한 ‘독소 증가 후 감소’ 양상은 동물플랑크톤의 사멸 또는 동물플랑크톤으로부터 분비된 화학신호물질의 미생물 분해 현상(microbial degradation)과 관련이 있을 것으로 생각된다(Jang *et al.*, 2003a).

이 현상은 보통 37°C에서 24시간 이후 일어난다고 보고되고 있으나 (Loose *et al.*, 1993), 본 실험시 이보다 낮은 27°C에서 배양 및 실험이 이루어졌으므로, 이들의 활성이 더 장시간 유지되었기 때문인 것으로 사료된다. 동물플랑크톤의 분비화합물질 (infochemicals) 성분에 대한 연구내용들은 여전히 많은 논쟁 중에 있어 (Wiltshire and Lampert, 1999; Lüring and von Elert, 2001), 향후 연구 및 분석을 통한 재규명이 필요하다.

부영양호에서 남조군집의 번성시, 이 군집의 군체 형성 현상이 흔히 관찰되며, 이는 초식성 동물플랑크톤의 포식을 감소에 영향을 줄 수 있다 (Fulton and Paerl, 1987). 본 연구 결과에서도, 간접노출 실험시 동물플랑크톤 배양 여과액 (ZCMF) 처리군에서 실험 중반기 이후부터 군체 형성 현상이 관찰되었다. 선행 연구에 의하면, 이 현상은 동물플랑크톤의 포식 혹은 이들의 분비화합물질에 의해 유도 (Jang *et al.*, 2003) 및 남조세포 자체 내의 점액질 (mucilage) 생성 또는 분비과정과 연관되었을 가능성 (Porter, 1975)에 대하여 보고하였다. *M. aeruginosa* 군주의 경우 동물플랑크톤의 직접노출 실험결과, 대조군에 비해 처리군에서 생체량의 증가가 관찰되었으며, 이는 동물플랑크톤의 섭식 속도에 비해 이 군주의 성장속도가 더 빨랐기 때문으로 사료된다. 이러한 현상은 군체성 녹조 *Scenedesmus*의 연구에서도 보고되어 있다 (Lüring and von Elert, 2001). 독성 남조군집이 동물플랑크톤 군집의 사멸률 증가와 여과율 감소를 초래하는 현상은 야외현장 및 실험실 연구를 통해 잘 알려져 왔다 (Codd and Poon, 1988). 그러나, 본 실험에 이용된 두 군주에 대해서도, 유전학적 분석은 수행된 적이 있으나 (Neilan *et al.*, 1995; Yoshida *et al.*, 2003), 이 두 군주가 동물플랑크톤에 미치는 영향에 대한 선행연구는 수행된 적은 없었다. 본 실험 결과, 동물플랑크톤 직접노출시, *P. agardhii* 군주 (No. 204)에 비하여 *M. aeruginosa* 군주 (No. 111)에서 더 높은 동물플랑크톤 생존률이 관찰되었는데, 이는 실험 2일째부터 *P. agardhii* 군주에서 *M. aeruginosa* 군주보다 약 2배 이상 높은 양의 MC (MC-LR, MC-RR) 값이 유지되었던 것으로 관찰되어, *Planktothrix* 군주에서 더 높은 동물플랑크톤 사멸률이 관찰되었던 것으로 사료된다.

본 연구결과에는 나타나지 않았으나, 세포의 MC는 세포내 MC 함량에 비해 아주 소량으로 나타나 (총 MC량의 약 10% 이하, 자료 미제시), 독성학의 측면에서는 큰 중요성을 가지고 있지 않다고도 볼 수 있다 (Dittmann and Börner, 2005). 그러나, 야외현장에서는 독성 남조 군집의 번성 초기에 세포내 MC가 증가하고, 이후 이 군집이 노쇠 및 사멸되어감에 따라 세포용해 (cell lysis) 과정 등을

통해, 세포의 MC유출량이 증가될 경우, 동일한 곳에서 서식하는 다른 생물들에게 심각한 영향을 초래할 수 있으므로, 부영양호에서 세포내 MC 뿐만 아니라, 세포외 MC 함량의 지속적인 모니터링은 물론 생물학적 관계 및 생태학적 기능은 지속적으로 연구되어야 할 것으로 생각된다.

수생생태계의 1차 생산자인 식물플랑크톤은 생물(포식, 경쟁, 기생) 혹은 무생물적 환경요소가 점진적으로 변화하고 있는 생태계 내에서 생존을 위해 다양한 형태의 적응 및 방어전략을 가진다 (하 등, 2003). 식물플랑크톤은 포식자의 영향에 대한 피해를 최소화하기 위해, 다양한 생태적 전략을 가지며, 이러한 특성은 세대를 거듭할수록 적응·진화될 수 있다. 특히, 부영양호에서 여름철 흔히 번성현상 일으키는 남조군집은 형태, 군집변화 및 독소분비 등의 독특한 방어전략을 통해, 우점을 유지할 수 있다. 남조군집의 중요한 방어기작인 MC는 동물플랑크톤의 직접적인 포식뿐 아니라, 이들이 분비해내는 화합물질 (infochemicals)에 의해서도 유도될 수 있으며 (Jang *et al.*, 2003a), 본 연구결과 세포내 MC함량의 변화는 동물플랑크톤의 직접노출 밀도차와 분비화합물질의 농도차에 의존하는 것으로 나타났다. 최근 연구에 의하면, 부영양호에서 서식하는 초식성 동물플랑크톤은 일정량의 독성 남조에 대해 내성을 가지게 되며, 이러한 특성은 다음세대로 진화될 수 있다고 한다 (Gustafsson *et al.*, 2005). 이러한 남조군집과 동물플랑크톤간의 상호관계로 인해 부영양호에서 두 군집의 공존이 가능해질 수 있는 것으로 사료된다. 현재까지, 국내외의 부영양화 호수에서 동물플랑크톤 등 상위생물을 조절하여 남조를 제어하는 기법이 활발히 수행되어오고 있으나 (Kozak *et al.*, 2004), 본 실험 결과를 통해, 독성남조의 경우 동물플랑크톤 노출 밀도에 따라 독성이 더욱 증가될 수 있는 가능성을 고려하여, 부영양호에서 조류저감을 위한 생물조절시 남조가 생성하는 독성변화를 검토한 후, 생물적용이 이루어져야 할 것으로 보인다.

적 요

두 종의 초식성 동물플랑크톤 (*Daphnia magna*, *Moina macrocopa*)의 직접노출 밀도차 (0, 4, 8 개체)와 동물플랑크톤 배양여과액 (ZCMF) 농도차 (0, 25, 50%)에 따른, 두 남조 *Microcystis aeruginosa*와 *Planktothrix agardhii*의 생체량과 세포내 microcystin (MC)을 1일 간격으로 측정하였고, 직접노출실험의 경우 동물플랑크톤 생존률을 1

일 간격으로 관찰하였다. 동물플랑크톤 직접노출 실험 결과, 두 군주에서 세포내 MC함량이 증가하였으며 (rm-ANOVA: $P < 0.039$), *P. agardhi* 군주에서는 4개체 처리군 (ZT1)보다 8개체 처리군 (ZT2)에서 통계적으로 유의한 수준으로 높은 세포내 MC 값이 관찰되었다 (Tukey test, $P < 0.082$). 세포내 MC가 최고값을 보인 3일 또는 4일째에, 처리군들은 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (One-way ANOVA, $P < 0.021$). ZCMF에 노출시킨 *M. aeruginosa* 군주에서 세포내 MC함량이 통계적으로 유의한 수준으로 차이가 있었다 (rm-ANOVA: $P < 0.004$). 실험기간동안 세포내 MC값은 *M. aeruginosa* 군주에서 25% 처리군 보다 50% 처리군에서 통계적으로 유의한 수준으로 높게 나타났다 (Tukey test, $P < 0.025$). 본 연구결과, 세포내 MC량은 초식성 동물플랑크톤의 직접노출 밀도차와 분비화합물질 (infochemical) 농도차에 의존하여 증가 혹은 변화될수 있는 가능성이 있는 것으로 나타났으며, 부영양호에서 독성 남조 번성 조절시, 이러한 가능성을 고려하여 생물조절이 이루어져야 할 것으로 보인다.

인 용 문 헌

김백호, 김보라, 한명수. 2005. 박테리아와 어류가 유해조류 *Microcystis aeruginosa*의 성장 및 형태변화에 미치는 영향, *육수지* **38**: 420-428.

하 경, 장민호, 정종문, 주기재. 2003. 동물플랑크톤 배양여과액에 의한 *Microcystis aeruginosa*의 성장, 형태 및 microcystin 생성량의 변화, *육수지* **36**: 1-8.

Brönmark, C. and L.-A. Hansson. 2000. Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos* **88**: 103-109.

Burks, R.L., E. Jeppesen and D.M. Lodge. 2000. Macrophyte and fish chemicals suppress *Daphnia* growth and life history traits. *Oikos* **88**: 139-147.

Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties, and biological significance. *Water Sci. Technol.* **32**: 146-159.

Codd, G.A. and K.G. Poon. 1988. Cyanobacterial Toxins, p. 283-296. *In: Biochemistry of the Algae and Cyanobacteria* (L.J. Rogers and J.R. Gallon, eds.). Clarendon Press, Oxford, England.

De Bernardi, R. and G. Giussani. 1990. Are blue-green algae suitable food for zooplankton? A review. *Hydrobiologia* **200/201**: 29-41.

DeMott, W.R., Q.X. Zhang and W.W. Carmichael. 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the

survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* **36**: 1346-1357.

DeMott, W.R. 1999. Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of toxic cyanobacterium and green alga. *Freshw. Biol.* **42**: 263-274.

DeMott, W.R., R.D. Gulati and E. Van Donk. 2001. *Daphnia* food limitation in three hypertrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria. *Limnol. Oceanogr.* **46**: 2054-2060.

Dittmann, E. and T. Börner. 2005. Genetic contributions to the risk assessment of MC in the environment. *Toxicol. Appl. Pharm.* **203**: 192-2000.

Fialkowska, E. and A. Pajdak-Stós. 1997. Inducible defence against a ciliate grazer, *Pseudomicrothorax dubius*, in two strains of *Phormidium* (cyanobacteria). *Proc. R. Soc. Lond. B.* **264**: 937-941.

Fulton, R.S. and H.W. Paerl. 1987. Effects of colonial morphology on zooplankton utilization of algal resources during blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) blooms. *Limnol. Oceanogr.* **31**: 1132-1138.

Ghadouani, A., B. Pinel-Alloul, K. Plath, G.A. Codd and W. Lampert. 2004. Effects of *Microcystis aeruginosa* and purified MC-LR on the feeding behaviour of *Daphnia pulex*. *Limnol. Oceanogr.* **49**: 666-679.

Gustafsson, S., K. Rengefors and L.-A. Hansson. 2005. Increased consumer fitness following transfer of toxin tolerance to offspring via maternal effects. *Ecology* **86**: 2561-2567.

Haney, J.F., D.J. Forsyth and M.R. James. 1994. Inhibition of zooplankton filtering rates by dissolved inhibitors produced by naturally occurring cyanobacteria. *Arch. Hydrobiol.* **132**: 1-13.

Jang, M.-H., K. Ha, G.-J. Joo and N. Takamura. 2003a. Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biol.* **48**: 1540-1550.

Jang, M.-H. K. Ha and G.-J. Joo. 2003b. Toxin-mediated between cyanobacteria and native fish in the eutrophic Hoedong Reservoir, South Korea. *J. Freshwater Ecol.* **18**: 639-646.

Jang, M.-H., K. Ha, M.C. Lucas, G.-J. Joo and N. Takamura. 2004. Changes in MC production by *Microcystis aeruginosa* exposed to phytoplanktonivorous and omnivorous fish. *Aquat. Toxicol.* **68**: 51-59.

Kozak, A. and R. Goldyn. 2004. Zooplankton versus phyto- and bacterioplankton in the Maltański reservoir (Poland) during an extensive biomanipulation experiment. *J. Plankton Res.* **26**: 37-48.

Lampert, W., K.O. Rothhaupt and E. von Elert. 1994. Che-

- mical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnol. Oceanogr.* **39**: 1543-1550.
- Lampert, W. 1987. Laboratory studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. *New. Zeal. J. Mar. Fresh.* **21**: 483-490.
- Loose, C.J., E. Von Elert and P. Dawidowicz. 1993. Chemically-induced diel vertical migration in *Daphnia*: a new bioassay for kairomones exuded by fish. *Arch. Hydrobiol.* **126**: 329-337.
- Lürling, M. and E. van Donk. 1997. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. *Limnol. Oceanogr.* **42**: 783-788.
- Lürling, M. and von Elert. 2001. Colony formation in *Scenedesmus*: no contribution of urea in induction by a lipophilic *Daphnia* exudates. *Limnol. Oceanogr.* **46**: 1809-1813.
- Müller-Navarra, D.C., M. Brett, A. Liston and C.R. Goldman. 2000. A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature* **403**: 74-76.
- Neilan, B.A., D. Jacobs and A.E. Goodman. 1995. Genetic Diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Appl. Environ. Microb.* **61**: 3875-3883.
- Oh, H.-M., S.J. Lee, M.-H. Jang and B.-D. Yoon. 2000. MC production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Appl. Environ. Microb.* **66**: 176-179.
- Porter, K.G. 1975. Viable gut passage of gelatinous green algae ingested by *Daphnia*. *Verh. Int. Verein. Limnol.* **19**: 2840-2850.
- Rapala, J., K. Sivonen, L. Christina and S.I. Niemelä. 1997. Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. As a function of growth stimuli. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 2206-2212.
- Sarnelle, O. and A.E. Wilson. 2005. Local adaptation of *Daphnia pulicaria* to toxic cyanobacteria. *Limnol. Oceanogr.* **50**: 1565-1570.
- Tollrian, R. and S.I. Dodson. 1999. Inducible defenses in cladocera: constraints, costs, and multipredator environments, p. 177-202. *In: Ecology and Evolution of Inducible Defense* (Tollrian, R. and C.D. Harvell, eds.) Princeton University Press, Princeton, USA.
- Kasai, F., M. Kawachi, M. Erata and M.M. Watanabe. 2004. NIES-Collection List of Strains. 7th (ed.) Microalga and Protozoa. National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan.
- Wiackowski, K. and A. Starońska. 1999. The effect of predator and prey density on the induced defence of a ciliate. *Funct. Ecol.* **13**: 59-65.
- Wiegand, C. and S. Pflugmacher. 2005. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicol. Appl. Pharm.* **203**: 201-218.
- Wiltshire, K.H. and W. Lampert. 1999. Urea excretion by *Daphnia*: A colony-inducing factor in *Scenedesmus*? *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1894-1903.
- Yoshida, T., Y. Yuki, S. Lei, H. Chinen, M. Yoshida, R. Kondo and S. Hiroishi. 2003. Quantitative detection of toxic strains of the cyanobacterial genus *Microcystis* by competitive PCR. *Microb. Environ.* **18**: 16-23.

(Manuscript received 24 April 2006,
Revision accepted 30 May 2006)