

동물플랑크톤 배양여과액에 의한 *Microcystis aeruginosa*의 성장, 형태 및 microcystin 생성량의 변화

하 경^{1,2} · 장민호^{2,3} · 정종문³ · 주기재^{3,*}

(¹신라대학교 생명과학과, ²School of Biological and Biomedical Science, University of Durham, ³부산대학교 생물학과)

Changes of Growth, Morphology and Microcystin Production in *Microcystis aeruginosa* in Response to Zooplankton Culture Media Filtrate. Ha, Kyong^{1,2}, Min-Ho Jang^{2,3}, Jong-Mun Jung³ and Gea-Jae Joo^{3,*} (¹Dept. of Biological Science, Silla University, Busan 617-736, S. Korea, ²Present address: School of Biological and Biomedical Science, University of Durham, South Road, Durham DH1 3LE, UK, ³Dept. of Biology, Pusan National University, Busan 609-735, S. Korea)

Growth, colony formation and microcystin production of 'low-toxic' *Microcystis aeruginosa* Kützing were examined in relation to the 'info-chemicals' released by zooplankton. Algae were cultured in a medium with or without filtered water taken from cultures of *Daphnia magna* Straus (300 ind./L) or *Moina macrocopa* Straus (500 ind./L). The growth of *M. aeruginosa*, based on cell number, was also significantly different from populations cultured in the media with and without filtered zooplankton water from the exponential growth phase. In the 6-day experiment, the growth pattern of *M. aeruginosa* cultured with ZCMF was clearly different to control without ZCMF. Mean number of cells/particle and particle bio-volume of *M. aeruginosa* increased significantly from the day 2 for the *Daphnia*-CMF or *Moina*-CMF treatments. Microcystin production was promoted showing from 18.7 to 55 µg/g-dry cell in the zooplankton treatments relative to the controls. At peaked level on day 4, the highest level of up to 70.5 ± 16.8 µg/g-dry cell was observed in the *D. magna* treatment. This study suggested that 'info-chemicals' from zooplankton might induce the increase of algal growth rates, colony formation and microcystin production, these seem to be advantageous to the alga and thus as a grazing defense mechanism.

Key words : *Microcystis aeruginosa*, *Daphnia magna*, *Moina macrocopa*, growth rate, morphological change, microcystin, zooplankton culture media filtrate (ZCMF)

서 론

수생 생태계 내에서 상위 생물의 '포식 현상'은 많은 하위 피식자 생물들의 중요한 소멸요인(mortality factor)

이 된다. 이에 대해 피식자 생물들은 행동 및 형태 변화, 화학물질 분비 등을 통해 포식자의 섭식을 방해함으로써 포식 위험으로부터 최대한 대처하고자 한다. 식물플랑크톤 군집도 크기, 구조 및 생리적 특성변화 등의 다양한 방어수단을 통해 동물플랑크톤의 포식력과 성장률

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

을 떨어뜨릴수 있다 (de Bernardi and Guissani, 1990; DeMott and Moxter, 1991; Van Donk and Lüring, 1997). 반면, 동물플랑크톤은 선택적 포식·여과기작을 발달시켜 피식자의 방어기작을 극복하고, 이러한 특성은 세대를 거쳐감에 따라 적응·진화하게되므로 미생물 먹이환내의 구조·기능적 안정성이 유지된다 (Hairston *et al.*, 2001).

최근, 수생 생태계 내에서 포식자에 대한 피식자들의 방어기작이 화학적으로도 유도될 수 있다는 이론이 발표되고 있다. 피식자들은 포식자의 직접적인 포식압 외에도 이들이 분비해내는 화학물질 (info-chemicals)에 의해 행동, 형태 및 생활사를 변화시킴으로써 포식자에 대한 방어수단이 될 수 있다 (Tollrian and Dodson, 1999; Bronmark and Hansson, 2000)는 이론으로 어류, 무척추동물 및 동물플랑크톤을 대상으로 야외 현장 및 실험실 내에서 연구가 수행되어왔다 (Loose *et al.*, 1993; Lampert *et al.*, 1994; Burks *et al.*, 2000). 이러한 'info-chemicals'을 통한 군집간 신호전달 현상은 최근 동·식물플랑크톤 군집에서도 관찰되기도 하였다 (Lüring, 1998).

남조군집은 부영양단계의 호수나 저수지에서 수화현상을 유발하여 수질문제뿐 아니라 어류·동물플랑크톤 등 상위생물의 사멸률 증가와 여과율 감소 등을 초래할 수 있다 (Codd and Poon, 1988; Carmichael, 1992). 특히, *Anabaena*, *Microcystis* 등으로 대표되는 남조군집은 사상체나 거대군체를 형성하고 신경독소 (neurotoxin) 또는 간독소 (hepatotoxin) 등을 분비하며, 비교적 낮은 영양가를 가지고 있어 (Fulton and Paerl, 1987; Hanazato and Yasuno, 1987; de Bernardi and Giussani, 1990), 수생 생태계 내에서 공존하는 다른 식물플랑크톤 군집에 비해 포식압을 덜 받을 수 있는 잇점을 가질 수 있다 (Lampert, 1982; Nizan *et al.*, 1986; DeMott *et al.*, 1991). 현재까지 남조류와 동물플랑크톤의 상호작용에 대한 연구도 독성 남조류에 의한 동물플랑크톤의 여과율, 생존률, 행동 및 체내 섭취 후 생리적 특성 변화에 미치는 영향을 중심으로 이루어져왔다 (Haney, 1987; Lampert, 1987; Haney *et al.*, 1994). 그러나, 남조군집의 형태 및 생리적 특성들이 동물플랑크톤의 직·간접적 노출시에 피식자들이 방어수단으로서 발현할 수 있는 가능성에 대한 연구나 실험적 증명은 아직 발표되지 않았다.

따라서 본 연구에서는 성체시기까지 배양한 후 얻어낸 두 종의 동물플랑크톤 (*Daphnia magna* Straus, *Moina macrocopa* Straus) 여과액 (zooplankton culture media filtrate; ZCMF)을 소량의 독소가 검출되는 것으로 알려진 (Yasuno *et al.*, 1998) *M. aeruginosa* 균주를 배양하고

있는 배지에 첨가하여, *M. aeruginosa* 성장률, 군체 형성 및 독소생성 변화를 관찰하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험용 동·식물플랑크톤

본 실험에 사용된 *Micrcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann은 일본국립환경연구소 (NIES)의 수생 생물연구실에서 배양된 균주 (NIES strain No. 299)로서 10 mL을 분양 받았다. 분양된 균주는 무균실에서 CT 배지 (Watanabe *et al.*, 2000)에 접종한 후, 배양기 (28°C, 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)에서 16 h : 8 h 명암주기로 배양하였다. 실험용 동물플랑크톤은 NIES 수생 생물연구실에서 계대사육 중인 *Daphnia magna* Straus와 *Moina macrocopa* Straus를 분양 받아 미량원소 (trace element)가 포함되지 않은 C 배지 (Watanabe *et al.*, 2000) 각 2 L에 먹이원을 *Scenedesmus acutus* (평균밀도, $\times 10^3$ cells/mL)로 배양하였다. 이 중, 부화 후 8일이 경과한 알을 갖지 않은 성체 *D. magna* 500개체 (평균±편차: 체장, 2.1 ± 0.6 mm; 건중량, 0.4 ± 0.1 mg/ind, n = 30)와 부화 후 4일이 경과한 성체 *M. macrocopa* 300개체 (1.2 ± 0.2 mm; 0.1 ± 0.03 mg/ind, n = 30)가 배양되고 있는 배양액을 각 실험에 사용하였다.

2. 동물플랑크톤 배양 여과액 (Zooplankton

Culture Media Filtrate, ZCMF)의 농도에 따른 *M. aeruginosa* 성장률 비교실험

*D. magna*와 *M. macrocopa*의 배양액을 각각 0.1 μm 여과지 (Millipore HA)에 걸러 동물플랑크톤 배양 여과액 (ZCMF)을 추출해내었다. 각 실험군은 ZCMF의 부피비를 0, 4, 8, 16, 25%로 맞추어 (n = 3) 최종부피에 동일량의 배지가 들어가도록 배지양을 조절하였다. 무균상태에서 *M. aeruginosa* 균주를 0.5×10^7 cells/mL 밀도로 접종한 후 배양기에서 16 h : 8 h 명암주기로 배양하였다. 실험용 플라스크는 하루 4회 교반시켰다. 0, 4, 7, 9, 11, 20, 25, 27일째 각 실험군에서 *M. aeruginosa*의 세포밀도를 도립현미경 ($\times 400$, Nikon 114, Tokyo)하에서 계수하였다. 세포 밀도 단위는 cells/mL로 하였으며, 이후 log (cell number)로 치환하여 각 시기별 *D. magna*-CMF와 *M. macrocopa*-CMF의 부피비에 따른 *M. aeruginosa*의 세포밀도를 비교하였다.

3. 동물플랑크톤 배양 여과액 (ZCMF)에 의한 *M. aeruginosa*의 군체형성 및 독소생성 실험

동물플랑크톤 배양여과액 내의 분비물질에 의해 유도되는 *M. aeruginosa*의 형태 및 독소량의 변화를 관찰하기 위하여, 대조군은 멸균한 CT 배지 배양액 (500 mL, 단계별 n = 3)으로, 처리군으로는 ZCMF의 부피비를 20%로 맞추어 최종부피 500 mL에 동일량의 배지가 들어가도록 배지양을 조절하였다 (단계별 n = 3). 단일 배양한 *M. aeruginosa* 군주를 무균 상태에서 0.5×10^7 cells/mL 밀도로 접종한 후, 배양기에서 16h:8h 명암주기로 배양하였다. 실험용 플라스크는 하루 4회 교반시켰다. 0, 2, 4, 6일째에 각 플라스크를 수거하여 이중 50 mL을 성장변화와 군체형성 관찰을 위해 Lugol 용액으로 고정하였다. *M. aeruginosa*의 성장형 파악을 위하여 각 수거일에 pH, OD_{680 nm} 흡광도 (Shimadzu UV-160A, Kyoto, Japan) 및 세포밀도를 측정하였으며, 군체형성 정도를 파악하기 위하여, 입자당 세포수 (cells/particle)와 입자당 평균체적 ($\mu\text{m}^3/\text{particle}$)을 측정하였다. 입자의 평균 체적은 Kellar *et al.* (1980)의 식물플랑크톤 체적 측정공식에 따라 도립현미경 ($\times 400$, Nikon 114, Tokyo)하에서 각 처리군 당 최소 600회 측정한 평균값으로 나타내었다. Microcystin 분석을 위해, 0, 2, 4, 6일에 수거한 삼각플라스크 내의 배양액에서 *M. aeruginosa*의 성장형 파악을 위해 사용한 50 mL을 제외한 용액 내의 모든 *M. aeruginosa*를 4°C, 12000×g에서 원심분리하여 세포들을 모아 -70°C에서 동결 건조 후, 건조량 (dry cell weight)을 측정하였다. 이후 Harada *et al.* (1988)을 참고로 하여 Lee *et al.* (2000)과 Oh *et al.* (2000)에서 서술된 방법으로 microcystin 함량을 측정하였다.

4. 통계처리

ZCMF농도별 *M. aeruginosa*의 성장률의 차이 및 대조군과 처리군에서 형태변화와 독소생성량의 차이를 통계적으로 검증하기 위하여 one-, two-way ANOVA와 t-검정, Tukey 분산분석법을 이용하였다 (SPSS, Release 10.05).

결 과

1. ZCMF 농도에 따른 *M. aeruginosa* 성장률 비교

대조군과 *D. magna*-CMF 혹은 *M. macrocopa*-CMF를 첨가해준 처리군에서 배양한 *M. aeruginosa*는 성장

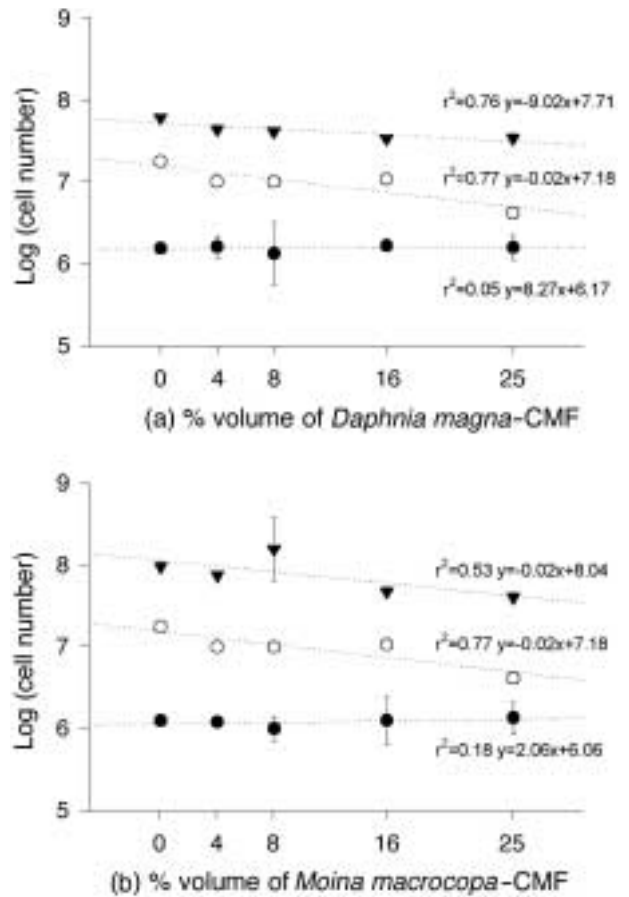


Fig. 1. Cell density of *Microcystis aeruginosa* (NIES strain No. 299) on day 4, 9, and 25 according to 0, 4, 8, 16 and 25% by volume of *Daphnia magna* (a) and *Moina macrocopa* (b) filtered water during the 27-day experiment. Data are means and standard error (SE) (n = 3). ●; day 4, ○; day 9, ▼; day 25.

률 (세포수 기준)에 있어서 통계적으로 유의할만한 차이가 관찰되었다 (one-way ANOVA, *D. magna*-처리군, $F = 240.5$, $P < 0.001$, $n = 45$; *M. macrocopa*-처리군, $F = 308.9$, $P < 0.001$, $n = 45$). 0~4일까지는 두 동물플랑크톤 처리군에서 ZCMF 농도비에 따른 *M. aeruginosa*의 성장에 뚜렷한 차이가 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 그러나, 지수성장이 관찰된 7일 이후부터 ZCMF의 농도가 높아짐에 따라 *M. aeruginosa* 성장률이 감소되기 시작했으며, 이러한 경향은 *M. aeruginosa* 성장의 평형 단계에서도 관찰되었다. 특히, 20일 이후의 안정적 평형단계에서 대조군과 동물플랑크톤 처리군 간에는 *M. aeruginosa* 군집의 수용력에 있어서도 통계적으로 유의할만한 차이가 있는 것으로 나타났다 (one-way ANOVA, *D. magna*-처리군, $F = 241.7$, $P < 0.001$; *M. macrocopa*-처리군, $F =$

74.1, $P < 0.001$).

2. ZCMF에 의한 *M. aeruginosa*의 성장형과 형태변화

*M. aeruginosa*의 성장은 대조군과 ZCMF 처리군 모두에서 실험이 끝나는 6일째까지 증가양상이 관찰되었지만, 대조군과 처리군 간에 통계적으로 유의할만한 차이를 보였다(OD_{680 nm}, Tukey 분산분석법, *D. magna*-처리

군, $P < 0.001$, $n = 24$; *M. macrocopa*-처리군, $P < 0.001$, $n = 24$; Fig. 2). 동물플랑크톤 여과액을 첨가한 처리군의 *M. aeruginosa*는 동물플랑크톤의 직접적인 포식영향을 받지 않아 pH, OD_{680 nm} 흡광도, log (cell number) 값이 모두 시간에 따른 증가양상을 보여주었다. 두 종의 동물플랑크톤 *D. magna*와 *M. macrocopa* 처리군 간에 *M. aeruginosa*의 성장에 있어서 통계적으로 유의할만한 차이가 나타나지 않았다.

두 종의 동물플랑크톤 배양 여과액을 첨가한 배지에서 *M. aeruginosa*의 군체형성 현상이 관찰되었다(one-way ANOVA, *D. magna*-처리군, $F = 40.5$, $P < 0.001$, $n = 24$; *M. macrocopa*-처리군, $F = 108.8$, $P < 0.001$, $n = 24$; Fig. 3). 대조군에서는 군체형성 현상이 관찰되지 않았으나, 처리군에서는 비록 높은 값은 아니었지만, 입자당 세포수의 증가가 관찰되었다(t -검정, $t = 3.0$, $P < 0.01$). 2~4일째 최고값이 관찰되었으며 이후 감소하는 양상을 보

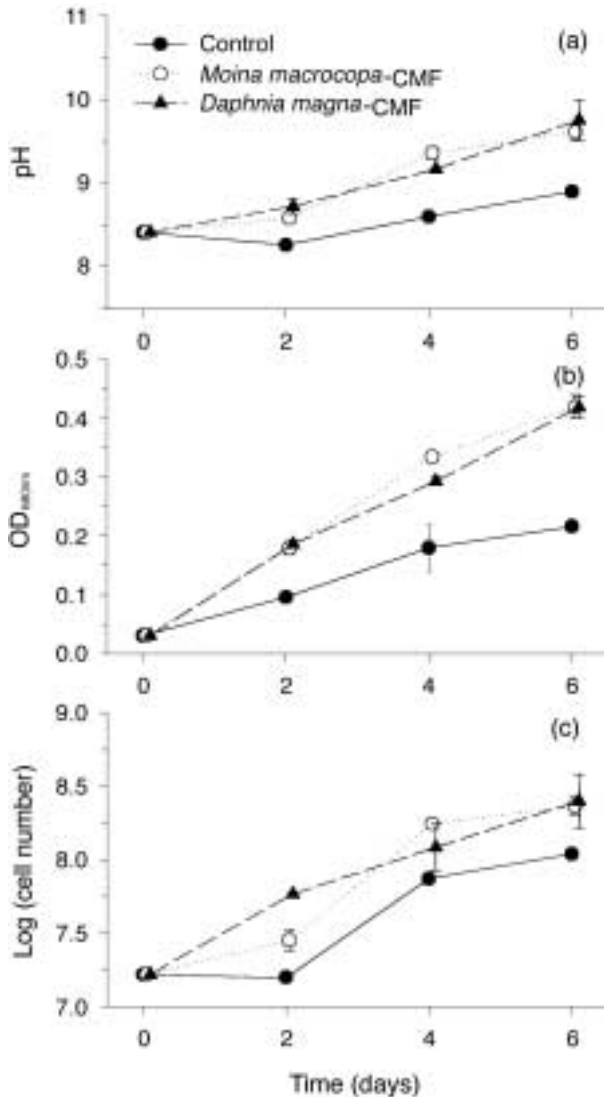


Fig. 2. Changes of pH (a), Optical density at 680 nm (OD_{680 nm}) (b), and log-transformed (cell number) (c) of *Microcystis aeruginosa* in response to zooplankton culture media filtrate (ZCMF) for 6 days. In each treatment, filtered *Daphnia magna* and *Moina macrocopa* culture media was used in this study. Data are means and SE ($n = 3$).

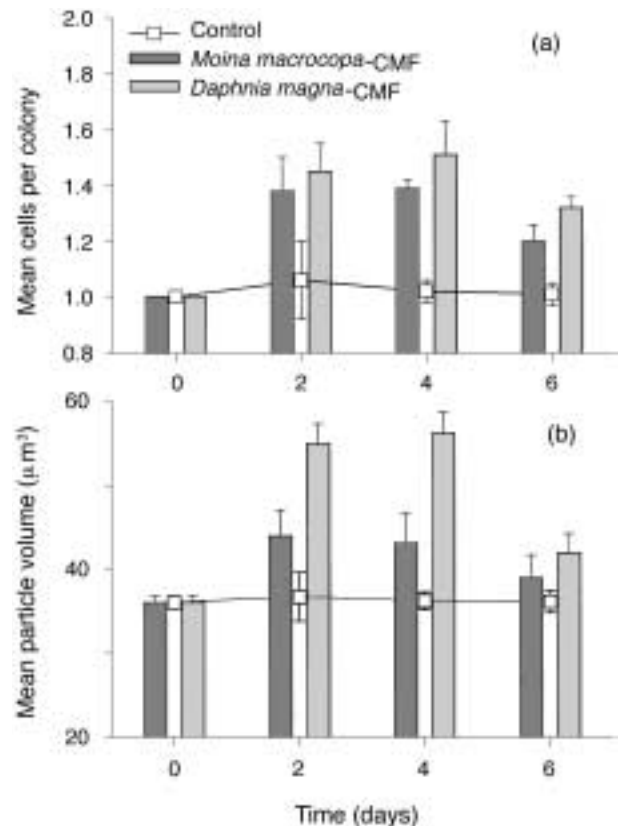


Fig. 3. Mean cell number per colony (a) and mean particle volume (b) of *Microcystis aeruginosa* dosed with 0% (control) and 20% by volume of *Daphnia magna* or *Moina macrocopa* culture media filtrate during the 6-day experiment. Data are means and SE ($n = 3$).

었다. 특히, *Daphnia*-처리군에서는 한입자당 최고 56~81개의 세포들이 응집되어 군체를 형성하고 있는 현상도 관찰되었다.

동물플랑크톤 처리군에서 *M. aeruginosa*의 평균 입자체적의 변화양상은 입자당 세포수의 증감과 유사한 양상으로 나타났다. 대조군에서 평균 입자체적은 실험기간 동안 거의 변화가 없었는데 반해, 처리군에서는 최고 $43 \pm 3.5 \mu\text{m}^3$ 까지 평균체적의 증가가 관찰되었으며, 군체형성이 가장 활발이 일어난 2~4일째 평균체적의 최고값이 관찰되었다. 이후, 실험이 종료되는 6일째에는 12~24시간의 수준으로 다시 감소하는 경향이 관찰되었다. 입자당 세포수 결과와 마찬가지로 평균 입자체적에서도 *M. macrocopa*보다 *D. magna*에서 높은 값을 보였다.

3. *M. aeruginosa*의 독소생성량 변화

25% *D. magna*-CMF와 *M. macrocopa*-CMF에서 6일간 생성되는 microcystin량을 이틀간격으로 관찰한 결과, 두 동물플랑크톤 처리군에서는 대조군에 비해 통계적으로 유의할만한 정도의 높은 microcystin량이 검출되었다 (two-way ANOVA, $F = 135.9$, $P < 0.001$, $n = 36$). 대조군에서는 실험 시작일부터 microcystin이 지속적 감소 후 6일째 증가하는 양상이 관찰되었으나, 처리군에서는 모두 4일째 최고값이 검출된 후, 다시 감소하였다. 두 종의 동물플랑크톤 처리군에서 마이크로시스틴 양의 절대량에서는 차이가 있었지만, 유사한 증감 양상을 보

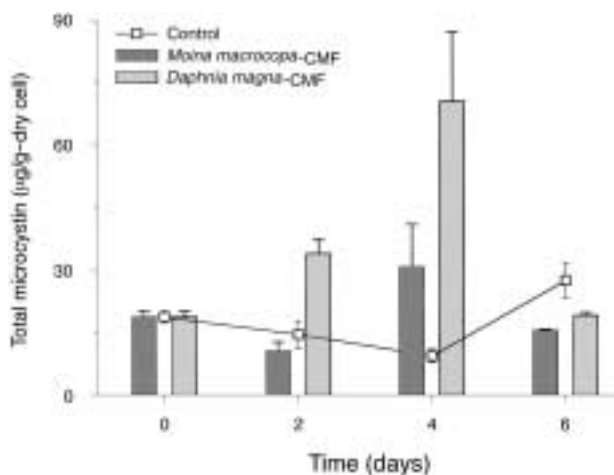


Fig. 4. Total microcystin content in the strain of *Microcystis aeruginosa* in response to zooplankton culture media filtrate (ZCMF) over 6 days. In each treatment, filtered *Daphnia magna* or *Moina macrocopa* culture media was used in this study. Data are means and SE ($n = 3$).

였다 (Fig. 4). 실험 시작일에 $18.7 \mu\text{g/g-dry cell}$ 로 비교적 낮은 함량이 검출되었지만, 4일째 *Daphnia*-처리군에서 $70.5 \pm 16.8 \mu\text{g/g-dry cell}$ 이 검출되었으며, *Moina*-처리군에서는 이보다 낮은 $30.6 \pm 10.4 \mu\text{g/g-dry cell}$ 이 검출되었다. 이후 6일째에는 두 처리군에서 모두 대조군에 비해 낮은 값이 검출되었다.

고 찰

본 연구에서는 수생생태계의 피·포식자간의 상호관계를 설명하기 위한 연구의 일환으로 동물플랑크톤 *D. magna*와 *M. macrocopa* 배양여과액 내의 분비물질에 의한 *M. aeruginosa*의 성장형, 군체형성 및 microcystin 생성량의 변화를 보여주었다. 동물플랑크톤의 분비물 내에는 화학물질 (info-chemicals)이 함유되어 있으므로 (Lampert *et al.*, 1994), *M. aeruginosa*의 성장 및 형태 변화와 독소생성량의 증가를 유도할 수 있다. 본 실험 결과 동물플랑크톤 배양 여과액 (ZCMF)의 농도 (0, 4, 8, 16, 25%)에 따라 *M. aeruginosa*는 특정 성장기 이후부터 성장률에서도 차이가 있는 것으로 나타났다. 성장 시기별로 볼 때, 정체 단계에는 *M. aeruginosa*의 성장률은 ZCMF 농도에 따라 뚜렷한 상관성은 없는 것으로 나타났다. 지수성장이 시작되는 7일 이후부터는 ZCMF와 세포수간에 반비례 관계를 보여주어, ZCMF를 첨가해주지 않은 대조군에서 가장 높은 세포성장이 관찰되었으며, ZCMF의 농도가 높을수록 낮은 세포성장이 관찰되었다. 이러한 경향은 안정적 평형시기에 도달하는 20일 이후부터 더욱 뚜렷하게 나타났다. 이는 세포 성장에 따른 배지 내 영양염류 (질소, 인)의 농도가 시간경과에 따라 고갈될 수 있으며, 이러한 영양염류의 부족 현상은 배지내 ZCMF 함량이 높을수록 초기에 영양염류 소모량의 증가로 인해 더 뚜렷하게 나타날 수 있기 때문으로 사료된다.

동물플랑크톤 배양 여과액 (ZCMF) 첨가에 따른 *M. aeruginosa*의 군체형성 실험 결과, ZCMF 처리 후 2일째부터 4일 이내에 군체 형성과 이로 인한 평균 입자체적의 증가현상이 관찰되었으며, 한 군체당 최고 81개의 세포들이 응집되어있는 현상까지 관찰되었다. 그러나, 동물플랑크톤 처리군에서 *M. aeruginosa*의 세포수당 평균 군체수는 2 정도로 비교적 약하게 관찰되어, 동물플랑크톤에 대한 방어기작으로는 뚜렷하게 작용하지 못할 것으로 생각된다. de Bernardi *et al.* (1980)은 남조군집에 대한 동물플랑크톤의 여과능력에 관한 실험에서 *M.*

*aeruginosa*의 군체당 세포수가 5 이상이 되지 않으면, *Daphnia*가 효율적으로 포식할 수 있다고 보고하였다. 현재까지 동물플랑크톤의 분비화합물질에 의한 식물플랑크톤의 군체 형성에 관한 연구는 *Daphnia*와 *Scenedesmus*군집을 중심으로 이루어져왔다(Lüring, 1998). 최근, Wiltshire and Lampert (1999)는 *Daphnia*에서 생성·분비되는 배설물(요소)에 의한 *Scenedesmus*의 군체(coenobia)형성 유도의 가능성을 실험적으로 증명하였으며, *Daphnia* 외의 동물플랑크톤 군집에 의해서도 이 군집의 군체형성 유도의 가능성이 제시된 적이 있다(Ha et al., 2001). 본 연구에서는 *Scenedesmus*와는 발생 형태 및 양상이 다른 *M. aeruginosa*에서도 동물플랑크톤이 분비해내는 화합물질들에 의해 군체형성 유도의 가능성이 관찰되었다. 그러나, 이 현상은 부영양화 수계의 수화현상 발생시기에 관찰되는 군체에 비해서 미약하게 나타났는데, 이는 야외현장에서 군체형성에 크게 기여할 것으로 보고되는 수괴의 정체(Ha et al., 1999), 남조표면에 부착하는 박테리아의 공생(Brunberg, 1999) 등이 실험실 내의 무균 배양하에서는 제한되기 때문으로 생각된다.

비교적 낮은 농도의 microcystin이 검출되는 것으로 알려진 *M. aeruginosa* 균주(NIES No. 299; Yasuno et al., 1998)에서 동물플랑크톤의 분비 화합물질에 의해 기존 독소 함량에 비해 2~3배 높게 검출되는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 *Microcystis*가 동물플랑크톤이 분비해내는 화합물질(info-chemicals)을 매개로 하여 그들의 방어기작 중의 하나인 microcystin 생성이 활성화되었기 때문으로 사료된다. 그러나, *Microcystis*가 동물플랑크톤의 직접적인 포식압을 받지 않았으므로 처리군의 pH, OD_{680 nm} 흡광도, 건조중량 및 *M. aeruginosa* 세포밀도가 모두 증가하는 경향을 보여주었다. 일반적으로 정상 배지 상태의 *Microcystis*는 지수합수적 성장기에 최고량의 microcystin이 검출되는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2000; Oh et al., 2000). 그러나, 본 연구결과 동물플랑크톤 처리군에서 선행 연구에서보다 비교적 빠른 시기인 4일째 최고값의 microcystin이 검출된 후, 급격히 감소하는 경향을 보였다. 이러한 '독소생성량 증가 후 감소' 현상은 동물플랑크톤 배양 여과액내의 분비물질들의 분해(degradation)현상과 관련이 있는 것으로 생각된다. 동물플랑크톤 행동변화에 영향을 미치는 어류와 무척추동물(*Chaoborous*)의 info-chemicals도 3~4일 후 분해되어 동물플랑크톤에 미치는 영향이 약화되는 것으로 알려져 있다(Dodson, 1988; Loose et al., 1993; Tollrian and Dodson, 1999). 이러한 info-chemicals의

미생물분해(microbial degradation) 현상은 37°C에서 24시간 경과한 후 일어난다고 보고되어 있으며(Loose et al., 1993), 이들의 활성은 낮은 온도(15°C)에서 더욱 장시간 유지될 수 있다고 한다(Mitchell and Carvalho, 2002). Microcystin의 생성량은 동물플랑크톤을 직접 첨가해준 *M. aeruginosa*에서 더 높게 나타난 것으로 보고되었으며, 첨가해준 동물플랑크톤이 과밀도의 *M. aeruginosa*와 높은 독소량에 의해 100% 사멸되는 4일 이후부터는 microcystin의 양도 급격히 감소하는 것으로 나타났다(Jang, 2002). 더욱이 담수생태계에서 높은 영양단계에 있는 여과섭식성(filter-feeding) 어류의 경우에도 *M. aeruginosa*가 어류의 포식압에 노출된 경우 그렇지 않은 경우보다 높은 독소생성을 보이는 것으로 보고되었다(Jang, 2002). 이러한 *Microcystis*의 성장, 형태, 독소생성량의 변화는 무생물적 환경요인인 빛의 강도, 영양염류 농도 등의 무생물 환경변화에 적응하기 위한 수단일 뿐 아니라, 생물적 요인인 동물플랑크톤, 어류 등에 대한 방어기작의 일환으로 생각된다.

수생생태계의 1차생산자인 식물플랑크톤은 생물(포식, 경쟁, 기생) 혹은 무생물적 환경요소가 점진적으로 변화하고 있는 생태계 내에서 생존을 위해 다양한 형태의 적응 및 방어전략을 가진다. 이중 '포식'은 조류를 감소시킬 수 있는 중요한 요소 중 하나로, 식물플랑크톤은 이에 대한 피식 영향을 최소화하기 위해, 다양한 생태적 전략을 가지고 있으며, 이러한 특성은 세대를 거쳐감에 따라 적응·진화될 수 있다. *M. aeruginosa*로 대표되는 남조군집은 성장형의 변화, 독소분비나 형태변화가 그들의 대표적인 방어전략이라 할 수 있으며, 본 연구를 통해 동물플랑크톤의 직접적인 포식 뿐 아니라 이들이 분비해내는 화합물질(info-chemicals)에 의해서도 유도될 수 있음이 관찰되었다. 그러나, 수생생태계 내 야외현장에서 관찰되는 군체 형성현상에 비해 미약하고, 미생물 먹이환 내에서 남조가 분비해내는 독소의 역할에 대해서는 여전히 많은 의문점이 남아 있다. 수생생태계 내의 남조-동물플랑크톤 군집으로 대표되는 미생물 먹이환 내에서 피·포식자간의 상호관계를 명확하게 밝혀내기 위하여, 야외현장에서 독소 생성 기작 및 역할에 대한 지속적인 연구가 필요하다. 또한, 포식자들의 섭식 전략 및 체내의 해독기작 등에 대한 연구도 진행되어야 할 것으로 생각된다.

적 요

동물플랑크톤 배양여과액 내의 분비물질(info-chemi-

als)에 의해 유도되는 *Microcystis aeruginosa*의 성장, 군체형성과 독소생성량의 변화를 관찰하였다. 성체까지 자란 동물플랑크톤 *Daphnia magna* Straus와 *Moina macrocopa* Straus의 배양 여과액 (ZCMF)을 비교적 낮은 독소를 생성하는 *M. aeruginosa* 배지에 첨가해준 후, ZCMF의 농도에 따른 성장시기별 세포밀도의 변화를 관찰한 결과, 지수성장기 (7일 이후)부터, ZCMF농도가 높아짐에 따라 세포밀도의 감소가 관찰되었다. 또한, 20% ZCMF를 *M. aeruginosa*배지에 첨가해준 후, 군체형성 변화 및 microcystin 생성량의 변화를 관찰한 결과, 동물플랑크톤 처리군에서 2~4일 쯤까지 군체당 세포수 및 평균 입자체적의 증가 현상이 관찰되었으며, 이 현상은 *Moina* 처리군보다는 *Daphnia*-처리군에서 더 뚜렷하게 관찰되었다. Microcystin 생성량의 경우 동물플랑크톤 처리군에서 4일째 최고값을 보여주었으며, 이후 감소하는 경향을 보였다. 특히, *Daphnia* 처리군에서는 4일째 최고 $70.5 \pm 16.8 \mu\text{g/g-dry cell}$ 까지 검출되었다. *M. aeruginosa*의 성장형의 변화, 군체형성과 microcystin 생성현상은 동물플랑크톤의 분비 화학물질을 매개로 한 *M. aeruginosa*의 방어수단으로 생각되며, 이러한 기작은 수생 생태계 내에서 피·포식자간의 상호관계를 설명할 수 있는 한 현상으로 생각된다.

사 사

본 연구는 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 수행되었습니다 (KRF-2001-043-D00005).

인 용 문 헌

- Bronmark, C. and L.-A. Hansson. 2000. Chemical communication in aquatic systems: an introduction. *Oikos* **88**: 103-109.
- Brunberg, A.-K. 1999. Contribution of bacteria in the mucilage of *Microcystis* spp. (cyanobacteria) to benthic and pelagic bacterial production in a hypertrophic lake. *FEMS Microbiol. Ecol.* **29**: 13-22.
- 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.
- Carmichael, W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins. *J. of Applied Bacteriol.* **72**: 445-459.
- Codd, G.A. and G.K. 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 Benardi, R., G. Guissani and E. Lasso Pedretti. 1980. The significance of blue-green algae as food for filter-feeding zooplankton: Experimental studies on *Daphnia* spp. fed *Microcystis aeruginosa*. *Ver. Theor. Angew. Limnol.* **21**: 477-483.
- De Benardi, R. and G. Guissani. 1990. Are blue-green algae suitable food for zooplankton? An over-view. *Hydrobiologia* **200/201**: 29-41.
- DeMott, W.R. and F. Moxter. 1991. Foraging on cyanobacteria by copepods: responses to chemical defense and resource abundance. *Ecology* **72**: 1820-1834.
- DeMott, W.R., Q.X. Zhang and W.W. Carmichael. 1991. Effect of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* **36**: 1346-1357.
- Dodson, S. 1988. The ecological role of chemical stimuli for the zooplankton: predator-avoidance behavior in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 1431-1439.
- Fulton, R.S. and H.W. Paerl. 1987. Effect of colonial morphology on zooplankton utilization of algal resources during blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) blooms. *Limnol. Oceanogr.* **32**: 634-644.
- Ha, K., M.H. Jang, G.J. Joo and N. Takamura. 2001. Morphological changes in *Scenedesmus dimorphus* induced by substances released from grazers, *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Korean J. Limnol.* **34**: 285-291.
- Ha, K., E.A. Cho, H.W. Kim and G.J. Joo. 1999. *Microcystis* bloom formation in the lower Nakdong River, South Korea: importance of hydrodynamics and nutrient loading. *Mar. Freshwater Res.* **50**: 89-94.
- Haney, J.F. 1987. Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. *New Zeal. J. Mar. Fresh.* **21**: 467-475.
- 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.
- Hanazato, T. and M. Yasuno. 1987. Evaluation of *Microcystis* as food for zooplankton in an eutrophic lake. *Hydrobiologia* **144**: 251-259.
- Harada, K.I., K. Matsuura, M. Suzuki, H. Oka, M.F. Watanabe, S. Oishi, A.M. Dahlem, V.R. Beasley and W.W. Carmichael. 1988. Analysis and purification of toxic peptides from cyanobacteria by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **448**: 275-283.

- Hairston, N.G., C.L. Holtmeier, W. Lampert, L.J. Weider, D.M. Post, J.M. Fischer, C.E. Caceres, J.A. Fox and U. Gaedke. 2001. Natural selection for grazer resistance to cyanobacteria: Evolution of phenotypic plasticity? *Evolution* **55**: 2203–2214.
- Jang, M.H. 2002. Ecological study of freshwater fish in Korea: Fish fauna, prey–predator interaction and the responses of cyanobacteria to fish grazing. Ph.D. dissertation, Pusan National University, Pusan.
- Kellar, P.E., S.A. Paulson and L.J. Paulson. 1980. Methods for Biological, Chemical and Physical Analyses in Reservoirs. Tech. Rep. 5, Lake Mead limnological Res. Center, Univ. Nevada, Las Vegas, USA.
- Lampert, W. 1982. Further studies on the inhibitory effect of the toxic blue–green *Microcystis aeruginosa* on the filtering rate of zooplankton. *Arch. Hydrobiol.* **95**: 207–220.
- Lampert, W. 1987. Laboratory studies on zooplankton–cyanobacteria interactions. *New Zeal. J. Mar. Fresh.* **21**: 483–490.
- Lampert, W., K.O. Rothhaupt and E. von Elert. 1994. Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnol. Oceanogr.* **39**: 1543–1550.
- Lee, S.J., M.H. Jang, H.S. Kim, B.D. Yoon and H.M. Oh. 2000. Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N : P ratio and growth stage. *J. Applied Microbiol.* **89**: 323–329.
- 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. 1998. Effect of grazing–associated infochemicals on growth and morphological development in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* **34**: 578–586.
- Michell, S.E. and G.R. Carvalho. 2002. Comparative demographic impacts of ‘info–chemicals’ and exploitative competition: an empirical test using *Daphnia magna*. *Freshwat. Biol.* **47**: 459–471.
- Nizan, S., C. Dimentman and M. Shilo. 1986. Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnol. Oceanogr.* **31**: 497–502.
- Oh, H.M., S.J. Lee, M.H. Jang and B.D. Yoon. 2000. Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus–limited chemostat. *Applied Environ. Microbiol.* **66**: 176–179.
- Tollrian, R. and S.I. Dodson. 1999. Inducible defenses in cladocera: constrains, 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.
- Watanabe, M.F., K.I. Harada, K. Matsuura, M. Watanabe and M. Suzuki. 1989. Heptapeptide toxin production during the batch culture of two *Microcystis* species (cyanobacteria). *J. Applied Phycol.* **1**: 161–165.
- Watanabe, M.M., M. Kawachi, M. Hiroki and F. Kasai. 2000. NIES–Collection List of Strains. 6th (ed.) Microalga and Protozoa. Environment Agency, Tsukuba, Japan.
- Wiltshire, K.H. and W. Lampert. 1999. Urea excretion by *Daphnia*: A colony–inducing factor in *Scenedesmus*? *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1894–1903.
- Yasuno, M., Y. Sugaya, K. Kaya and M.M. Watanabe. 1998. Variations in the toxicity of *Microcystis* species to *Moina macrocopa*. *Phycological Res.* **46**: 31–36.

(Received 6 Dec. 2002, Manuscript accepted 27 Feb. 2003)