

잡식성 및 플랑크톤 섭식어류의 간접노출 강도가 *Microcystis aeruginosa*의 microcystin 함량변화에 미치는 영향

장민호 · 정종문¹ · 윤주덕² · 이유정¹ · 하 경*

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

Changes in Microcystin Production in *Microcystis aeruginosa* Exposed to Different Concentrations of Filtered Water from Phytoplanktivorous and Omnivorous Fish. Jang, Min-Ho, Jong-Mun Jung¹, Ju-Duk Yoon², You-Jeong Lee¹ and Kyong Ha* (Institute for Environmental Technology and Industry, Pusan National University, Busan 609-735, Korea; 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 *Microcystis aeruginosa* in response to three different levels of indirect (0, 10, 50% of fish cultured media filtrate; control, FCMF1 and FCMF2) exposures to omnivorous and planktivorous fish (*Carassius gibelio langsdorfi* and *Hypophthalmichthys molitrix*, CCMF and HCMF, respectively). The cell biomass, intracellular microcystin (MC) and extracellular MC were measured everyday. The intracellular MC contents of all treatments were significantly increased than the controls (CCMF1, $P=0.015$; CCMF2, $P<0.001$; HCMF1, $P<0.001$; HCMF2, $P<0.001$). The intracellular MC contents of *M. aeruginosa* were significantly higher in CCMF2 than in CCMF1 ($P=0.023$). Those of *M. aeruginosa* in HCMF2 were significantly higher than that in HCMF1 ($P<0.001$). The extracellular MC contents were not significantly different between control and CCMFs but those of *M. aeruginosa* in HCMF1 and HCMF2 were significantly higher than that in control (HCMF1, $P=0.003$; HCMF2, $P<0.001$). This study strongly supports that induced-defensive MC production (intra and extracellular MC) of potentially toxic cyanobacteria in response to kairomone concentration and this results can consider the biomani-pulation of eutrophic waters as well as an information concerning strategies for recovering eutrophic waters.

Key words : *Microcystis aeruginosa*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Carassius gibelio langsdorfi*, intracellular microcystin, extracellular microcystin, kairomones

서 론

여름철 식물플랑크톤의 대변성으로 발생하는 수화 현

상은 담수생태계뿐 아니라, 기수역 및 해양생태계에서도 빈번히 관찰되는 현상으로 (Wiegand and Pflugmacher, 2005) 이러한 현상을 일으키는 대표적인 종인 *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* 등은 일부

* Corresponding author: Tel: 051) 510-3617, Fax: 051) 583-0172, E-mail: kha216@hanmail.net

균주에서 신경독소 또는 간독소를 생성해내는 것으로 알려져 있다(Codd, 1995). *Microcystis*가 생성하는 간독성 유발 독소인 microcystin (MC, 마이크로시스틴)은 대부분이 세포 내에 존재하므로(Rapala *et al.*, 1997), 이를 포식하는 동물플랑크톤, 무척추동물, 어류 등 상위 포식자를 사망케 할 수 있을 뿐 아니라, 독성남조 세포 내의 낮은 영양분으로 인해, 포식압 감소 등을 초래하여, 부영양호에서 경쟁적 우위를 차지할 수 있게 된다(DeMott *et al.*, 1991).

최근 수생태계 내의 피·포식자간 상호인지 기작에 대해 많은 연구가 수행되어왔다. 수생태계 내에서 피식자는 포식자에 대하여 다양한 방법으로 스스로를 방어 하는데(Endler, 1986), 이러한 포식의 위협을 감지하는 기작 중 하나가 포식자로부터 분비되는 화학물질을 인지하는 것이다. 이러한 화학물질은 단순히 어떤 종을 인식하거나 포식자의 섭식습성을 인지하는 역할을 한다(Smith, 1997). 또한 대부분의 피식자들은 이러한 화학물질을 인지한 후에 위협을 알리는 화학물질(alarm substance)을 분비하게 된다. 이러한 위협을 경고하는 화학물질은 주로 직접적 섭식에 의한 부상부위나 위협을 인지한 후, 피부나 배설물을 통해 분비되기도 하고, 포식자에서 포식된 후 소화과정이나 이후 포식자의 배설물을 통해 유출되기도 한다(Henrikson and Stenson, 1993). 이러한 화학물질에 대한 방어수단으로 형태 및 생리적 특성이 변화 될 수 있다는 연구는 동물플랑크톤 및 무척추동물(infocchemical)과 어류(kairomones; Dicke and Sabelis, 1988)를 대상으로 활발히 진행되고 있다(Larsson and Dodson, 1993; Loose *et al.*, 1993; Lampert *et al.*, 1994; Verity and Smetacek, 1996; Lürling and van Donk, 1997; Kats and Dill, 1998; Brönmark and Hansson, 2000; Burks *et al.*, 2000; 하 등, 2003; Jang *et al.*, 2003a, b, 2004).

현재까지 활발히 진행되고 있는 독성 남조군집과 포식자 또는 경쟁자간의 상호작용에 대한 연구 중 경쟁관계에 관한 연구는 수생식물이나 독성을 생성하지 않는 다른 종류의 남조 균주에 직, 간접적으로 독소 생성 남조 균주를 노출시켰을 때, 독소 생성량이 변화된다는 보고가 있었다(Jang *et al.*, 2006, 2007a). 포식자와의 관계에 관한 연구는 남조 균주의 독성유무에 따른 동물플랑크톤의 포식력 차이, 독성 남조 균주가 동물플랑크톤의 생존 또는 성장률에 미치는 영향 등에 대하여 수행되어왔다(Lampert, 1987; De Bernardi and Giussani, 1990). 또한, 독성 남조 균주에 대한 동물플랑크톤의 반응이 종에 따라 다르다는 연구도 있었으며(DeMott *et al.*, 1991), 수심에 따라 독성을 가진 *Microcystis*의 분포에 차이가 있

며, 이에 따라 동물플랑크톤의 여과율에도 차이를 보인다는 연구도 있었다(Haney *et al.*, 1994). 독성 *Microcystis*가 동물플랑크톤의 섭식 강도(밀도와 배양 여과액의 농도)에 따라 독소 생성량에 차이를 보인다는 보고도 있었다(Jang *et al.*, 2007b).

식물플랑크톤과 어류의 상호작용에 대한 연구는 대부분 식물플랑크톤의 대량번성에 따른 수자원 관리를 위하여 생물조절 위주로 진행되어 왔다. 특히, 어류에 의한 식물플랑크톤의 생체량 변화가 대부분이었으며(Starling, 1993; Proulx *et al.*, 1996; Datta and Jana, 1998), 일부 연구자들에 의하여 남조 균주로부터 생성되는 독소가 어류의 배발생 과정, 치어기 또는 성체에 미치는 영향에 관한 연구가 수행되기도 하였다(Williams *et al.*, 1997; Fisher and Dietrich, 2000; Fisher *et al.*, 2000; Zimba *et al.*, 2001; Xie *et al.*, 2004). 최근, 잡식성 어류와 플랑크톤 섭식 어류의 유무에 따라 남조 균주의 독소 생성량이 변한다는 보고도 있었으며(Jang *et al.*, 2004), 실험실 내에서 어류의 직접 노출 결과 남조 *Microcystis*의 성장 및 형태 변화가 보고 되기도 하였다(김 등, 2005). 이러한 결과들은 향후 생물조절을 통한 수환경 관리를 위해 중요한 생태적 자료로 활용될 수 있다.

그러나 남조독소 생성은 수자원 관리를 위해 가장 중요하게 고려되어야 할 사항임에도 불구하고, 생물적 조절을 통한 수환경 관리를 위해 가장 많이 사용하는 어류가 남조 균주의 독소함량 변화에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 현재까지 물고기의 밀도나 배양 여과액의 농도 차이가 독소를 생성하는 남조 균주에 영향을 주어 독소 생성량에 차이가 있는지는 밝혀지지 않았다. 따라서, 본 연구는 식물플랑크톤을 여과 섭식하는 *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes (백연)와 잡식성으로 알려진 *Carassius gibelio langsdorfi* Temminck and Schlegel (일본붕어)를 이용하여 각기 다른 농도의 배양 여과액을 독소 생성 남조 균주 *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Lemmermann에 노출시켰을 때 남조균주의 생체량 및 세포 내부와 외부에 존재하는 독소 마이크로시스틴(MC, microcystin)량의 변화를 파악하였다.

재료 및 방법

1. 식물플랑크톤 및 어류 배양

실험을 위해 사용된 *M. aeruginosa* (Kützing) Lemmermann (No. 90) 균주는 일본국립환경연구소의 미생물배양센터에서 단일세포로 순수배양한 균주로 분양받은 후,

CT 배지 (Kasai *et al.*, 2004; pH 8.2)에 접종하여 27°C의 배양기 (120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)에서 16:8h 명암주기로 배양하였다. 배지에 접종한 *M. aeruginosa* 균주는 14일 후에 실험에 사용하였다. 본 실험을 위해 사용한 어류는 모두 2종으로 *H. molitrix*와 *C. gibelio langsdorfi*를 일본 사이다마현 수산농장으로부터 분양 받아 일본국립환경연구소의 수생생물 연구실에서 사육중인 부화후 1년이 경과하지 않은 개체들을 사용하였다. 각 종은 50-L의 순환여과 유리수조에 염소를 제거한 물을 사용하여 사육하였다. 어류들을 실험에 사용하기 전에 *H. molitrix*의 먹이는 *Scenedesmus*를 이용하였으며, *C. gibelio langsdorfi*는 시판되는 사료 (Crumble 4C, Nihon-Haigou-Shiryu Co., Ltd., Yokohama, Japan)를 매일 09:00에 급여하였다. 실험에 이용되는 개체는 먹이에 대한 영향을 줄이기 위하여 실험시작 24시간 전에 먹이 급여를 중단하였다.

2. 물고기 간접노출 실험

간접노출 실험을 위하여, 실험에 이용할 어류 배양여과액을 얻기 위하여 2개의 20-L 수조에 염소가 제거된 물 12 L를 각각 넣고 *H. molitrix* (평균±표준편차: 전장, 96.2±1.3 mm; 체중, 7.3±0.4 g)와 *C. gibelio langsdorfi* (평균±표준편차: 전장, 88.6±1.6 mm; 체중, 8.7±0.5 g)를 8개체씩 넣어 3일간 먹이 급여 없이 배양하였다. 배양 3일 후 배양액을 여과지 (GF/F, 0.45 μm , Whatman, Japan KK, Tokyo)로 1차 여과한 후, 그 여과액을 다시 미세여과지 (0.2 μm , Whatman, Japan KK, Tokyo)로 여과하여 30분간 무균상태의 UV하에 멸균하였다. 이렇게 얻어진 어류 배양여과액 (fish cultured media filtrates: FCMF)은 각기 다른 농도로 두가지 처리군을 설정하였고, 대조군 (0%)과 비교하였다. 각 처리군은 FCMF의 부피비를 10% (처리군 1, CCMF1, *C. gibelio langsdorfi* cultured media filtrates; HCMF1, *H. molitrix* cultured media filtrates), 50% (처리군 2, CCMF2, HCMF2)로 맞추어 (각 샘플당 n=3) 최종부피에 대조군과 동일량의 배지성분이 들어갈 수 있도록 조절하였다. 무균상태에서 *M. aeruginosa*를 각각 $0.2 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ 밀도로 접종한 후 배양기에서 27°C, 16:8h 명암주기로 배양하며, 하루 3회 삼각플라스크를 교반하였다. 매일 대조군과 처리군을 각각 임의로 선택하여, 원심분리 (12,000 \times g, 4°C) 후 여과지 (GF/F, Whatman, Japan KK, Tokyo)로 여과하였다. 여과지에 남은 *M. aeruginosa* 시료는 -70°C에서 동결 건조 후 건조량 (dry weight)을 측정하였으며, 독소 (세포내 MC) 분석을 위해 -20°C에 보관하였다. 동결 건조한 세포내 독

소분석을 위해서 5% (v/v) 초산 30 mL로 약 16시간 교반 (140 rpm)하여 12,000 \times g로 4°C에서 원심분리 후 상등액을 카트리지에 통과시켰다. 이 과정을 2회 반복한 후 각 카트리지를 독소 추출 전까지 4°C 암소에 보관하였다. *M. aeruginosa* 배양액 중 여과지를 통과한 여과액은 독소 (세포외 MC)를 측정하기 위하여 카트리지를 통과시키고 독소분석 전까지 카트리지를 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 측정된 결과, DIN은 3.9~5.3 mg L⁻¹ (n=9), DIP는 0.1~0.3 mg L⁻¹ (n=9)의 범위로 검출되어, *M. aeruginosa* 성장에 영향을 줄만큼 감소하지 않은 것으로 나타났다.

3. 세포내 및 세포외 MC함량분석 및 통계분석

독소 추출 및 분석은 Harada *et al.* (1988)의 방법을 변형하여 Oh *et al.* (2000)과 Jang *et al.* (2004)에 서술된 방법으로 수행하였다. 대조군과 각 처리군의 건조량, 세포내 독소 및 세포외 독소 생성량의 차이를 통계적으로 검증하기 위하여, repeated measured ANOVA, one-way ANOVA (동일성 여부 파악), Tukey 분산분석법 (크고 작음을 파악) 등을 이용하였으며 (SPSS, Release 12.0; SPSS inc., Chicago, IL, USA), 실험 시작일인 0일째의 결과값은 실험시작 1시간 미만이며 대조군과 처리군이 동일한 샘플이기에 비교분석시 제외하였다.

결 과

1. 어류 배양여과액 농도차에 따른 남조균주의 생체량 변화

실험이 진행된 동안 *M. aeruginosa* 균주의 건조량은 대조군과 각 두 처리군에서 시간의 경과에 따라 증가 후 감소하는 경향을 보였으며, 대조군과 처리군들에서 통계적으로 유의한 수준의 차이가 있는 것으로 나타났다 (rm-ANOVA, $P=0.003$; Fig. 1). 대조군과 처리군 CCMF1과 HCMF1은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나 (Tukey test, CCMF1, $P=0.272$; HCMF1, $P=0.302$), CCMF2와 HCMF2는 대조군에 비하여 모두 통계적으로 유의한 수준의 건조량 증가를 보였다 (CCMF2, $P<0.001$; HCMF2, $P<0.001$). 처리군인 CCMF1과 CCMF2의 건조량은 통계적으로 유의한 차이를 보였고 ($P=0.007$), HCMF1과 HCMF2의 건조량 역시 차이가 있었다 (P

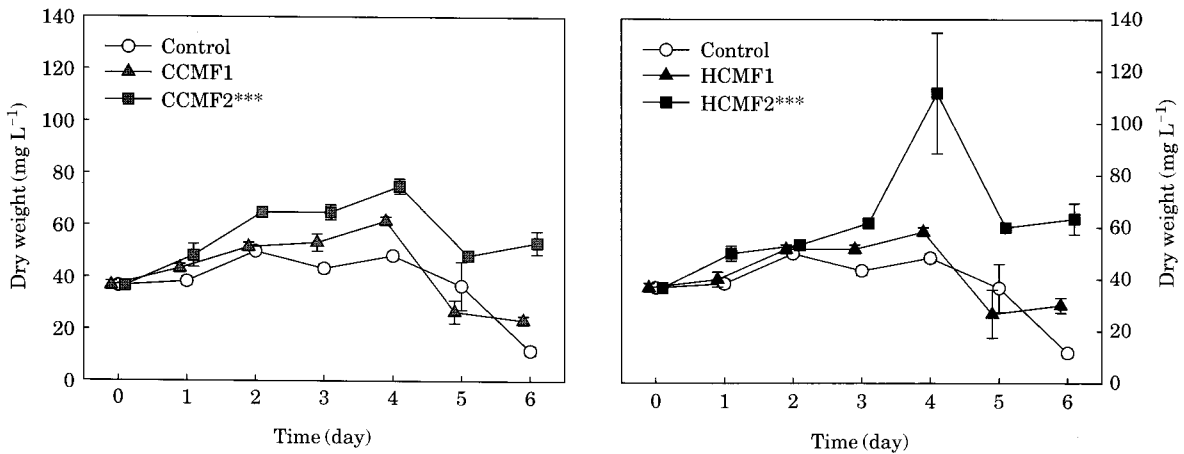


Fig. 1. Changes in dry weight of *Microcystis aeruginosa* when exposed to three different level of culture media filtrate of *Carassius gibelio langsdorfi* and *Hypophthalmichthys molitrix*. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

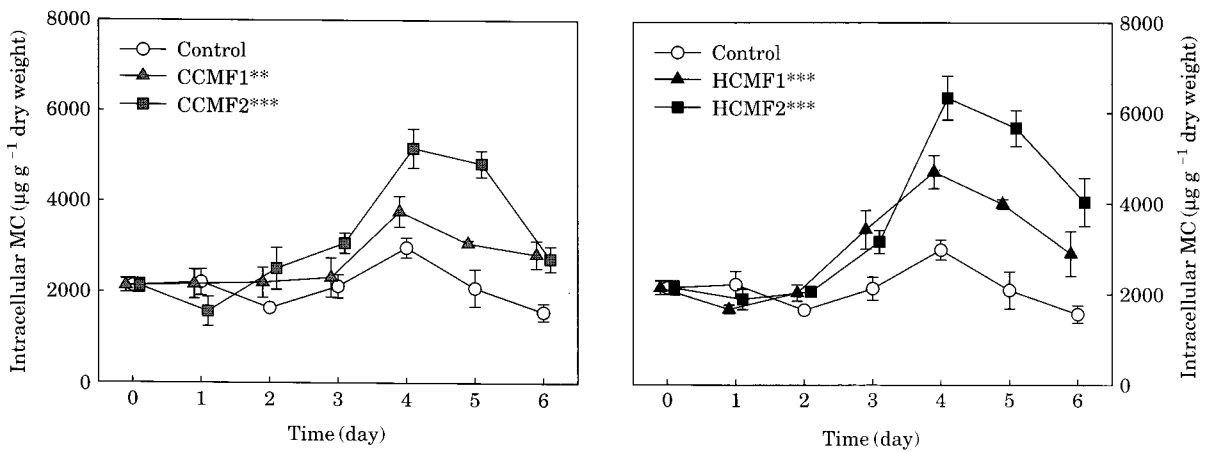


Fig. 2. Changes in intracellular MC of *Microcystis aeruginosa* when exposed to three different level of culture media filtrate of *Carassius gibelio langsdorfi* and *Hypophthalmichthys molitrix*. P value for each graph was the result of rm-ANOVA. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

< 0.001). 하지만 처리군중 종간의 비교에서는 CCMF1과 HCMF1의 건중량 및 CCMF2와 HCMF2의 건중량은 모두 차이가 없는 것으로 나타났다.

대조군과 함께 4일째 모든 처리군에서 가장 높은 건중량을 보였으며, 대조군과 CCMF1, CCMF2에는 통계적으로 차이가 있는 것으로 나타났다(One-way ANOVA, $P < 0.001$). 4일째의 건중량은 대조군과 HCMF1, HCMF2 역시 유의한 차이를 보였다($P = 0.032$). 가장 높은 건중량을 보인 4일째 CCMF1과 CCMF2의 건중량은 대조군의 건중량보다 통계적으로 유의한 수준으로 높게 나타났다(CCMF1, $P = 0.011$; CCMF2, $P < 0.001$). 또한 CCMF1의 건중량보다 CCMF2의 건중량이 높게 나타났다($P =$

0.011). 대조군과 *H. molitrix*의 배양여과액을 처리한 HCMF1과 HCMF2의 건중량 역시 4일째 가장 높은 값을 나타내었으며, 이들은 통계적으로 차이가 있는 것으로 나타났다(One-way ANOVA, $P = 0.032$). 그러나, 대조군과 HCMF1의 건중량은 큰 차이를 보이지 않았고($P = 0.862$), HCMF2의 건중량은 대조군의 건중량보다 높게 나타났다($P = 0.036$).

2. 어류 배양여과액 농도차에 따른 남조균주의 독소함량 변화

실험기간동안 *M. aeruginosa*균주의 세포내 MC 함량은

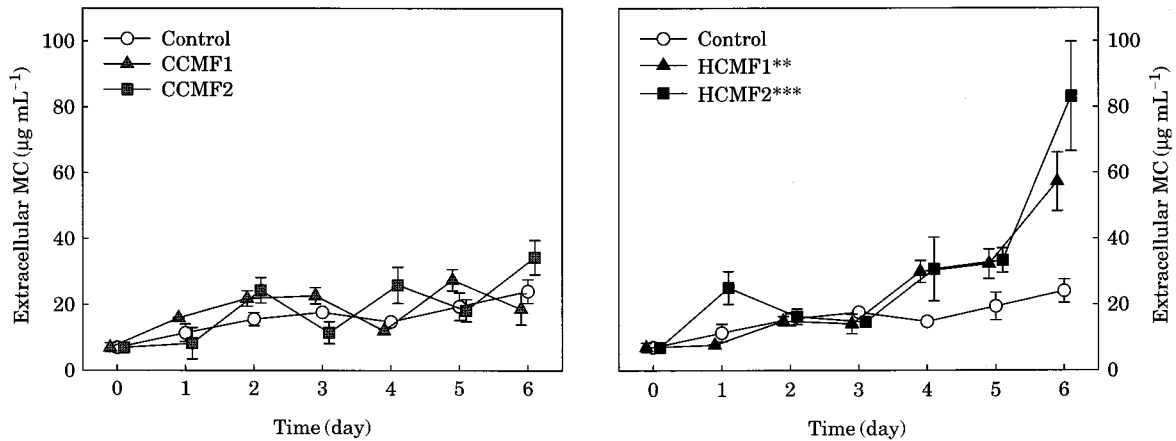


Fig. 3. Changes in extracellular MC of *Microcystis aeruginosa* when exposed to three different levels of culture media filtrate of *Carassius gibelio langsdorfi* and *Hypophthalmichthys molitrix*. *P* value for each graph was the result of rm-ANOVA. Upper marks denote the results of rm-ANOVA test, where **P*<0.05, ***P*<0.01 and ****P*<0.001.

모든 처리군에서 증가한 것으로 나타났다(CCMF1, *P*=0.015; CCMF2, *P*<0.001; HCMF1, *P*<0.001; HCMF2, *P*<0.001; Fig. 2). 처리군간의 비교에서는 CCMF1보다 CCMF2의 세포내 MC 함유량이 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다(*P*=0.023). 또한 HCMF2의 세포내 MC 함유량이 HCMF1보다 증가한 것으로 나타났다(*P*<0.001). 종간비교에서는 CCMF1과 HCMF1의 세포내 MC 함량은 차이가 없는 것으로 나타났으나(*P*=0.163), HCMF2의 세포내 MC 함유량이 CCMF2의 세포내 MC 함유량보다 높은 것으로 나타났다(*P*<0.001).

대조군을 포함해 모든 처리군에서 4일째 가장 높은 세포내 MC 함량을 보였으며 그 후에는 감소하는 양상이 관찰되었다. 가장 높은 MC 함량을 보인 4일째, 대조군과 CCMF1, CCMF2에는 통계적으로 차이가 있는 것으로 나타났으며 (One-way ANOVA, *P*=0.011), 대조군과 HCMF1, HCMF2 역시 동일하지 않은 것으로 나타났다(*P*=0.001). 그러나, 대조군의 세포내 MC 함량은 *C. gibelio langsdorfi*의 배양여과액을 처리한 CCMF1의 세포내 MC 함량과 비교할 때에 차이가 없었으며(*P*=0.294) CCMF2의 세포내 MC 함량은 대조군보다 높은 것으로 나타났다(*P*=0.009). 그러나 CCMF1과 CCMF2의 세포내 MC 함량은 통계적으로 유의한 만큼의 차이는 보이지 않았다(*P*=0.061). *H. molitrix*의 배양여과액을 처리한 HCMF1 역시 CCMF1과 마찬가지로 대조군의 세포내 MC 함량과 비교하여 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보이지 않았다(*P*=0.053). 하지만 HCMF2의 세포내 MC 함량은 대조군의 세포내 MC 함량보다 높은 것으로 나타났다(*P*=0.011).

실험이 진행된 기간동안 *M. aeruginosa*균주의 세포의 MC 함량은 대조군과 *C. gibelio langsdorfi*의 배양여과액을 처리한 CCMF1과 CCMF2에서 차이를 보이지 않았고 (CCMF1, *P*=0.564; CCMF2, *P*=0.368), *H. molitrix*의 배양여과액을 처리한 HCMF1과 HCMF2의 세포의 MC 함량이 대조군보다 높은 것으로 나타났다(HCMF1, *P*=0.003; HCMF2, *P*<0.001; Fig. 3). 각 처리군간 비교에서는 CCMF1의 세포의 MC 함량과 CCMF2의 세포의 MC 함량은 차이를 보이지 않았으며(*P*=0.995), HCMF2의 세포의 MC 함량이 HCMF1의 MC 함량보다 증가한 것으로 나타났다(*P*=0.007). 처리군의 종간 비교에서는 HCMF1의 세포의 MC 함량이 CCMF1의 MC 함량보다 높은 것으로 나타났다(*P*=0.027). 또한, HCMF2의 세포의 MC 함량이 CCMF2의 세포의 MC 함량보다 높은 것으로 나타났다(*P*<0.001).

대조군을 기준으로 *M. aeruginosa*균주의 세포외부에 존재하는 MC 함량이 가장 높은 시기는 실험 후 6일째로 나타났다(Fig. 3). 이를 기준으로 6일째 각 처리군의 세포외부에 존재하는 MC 함량을 비교해 보면, 대조군과 *C. gibelio langsdorfi*의 배양여과액을 처리한 CCMF1, CCMF2의 세포의 MC 함량은 차이가 없는 것으로 나타났다(One-way ANOVA, *P*=0.121). 하지만 *H. molitrix*의 배양여과액을 처리한 HCMF1, HCMF2의 세포의 MC 함량은 통계적으로 유의한 수준의 차이를 보였다(*P*=0.026). *C. gibelio langsdorfi*의 배양여과액을 처리한 처리군 내에서도 CCMF1과 CCMF2간의 유의한 차이는 보이지 않았다(*P*=0.111). 또한, 대조군의 세포외 MC 함량은 HCMF1의 세포외 MC 함량과 차이가 없었다(*P*=

0.167). HCMF2의 세포의 MC 함량은 대조군의 세포의 MC 함량보다는 높은 것으로 나타났으나 ($P=0.022$), HCMF1과는 유의한 차이를 보이지 않았다 ($P=0.296$).

고 찰

본 연구는 잡식성 어류로 알려진 *C. gibelio langsdorfi* 와 식물플랑크톤 섭식 어류로 알려진 *H. molitrix*의 각기 다른 농도의 어류 배양여과액을 이용한 간접 노출을 통해 독성 남조의 독소량이 높은 농도의 배양여과액 조건 하에서 독소량이 더 증가한다는 가설과 잡식성 어류인 *C. gibelio langsdorfi*보다 플랑크톤 섭식 어류인 *H. molitrix* 배양여과액에서 더 높은 양의 독소가 증가한다는 가설을 증명하였다. 어류를 간접 노출한 처리군에서 세포내 MC 함량이 4일째 최대값을 보인 후 서서히 감소하였다. 이러한 현상은 배양여과액 내에 존재하는 화학물질이 미생물 분해와 관련이 있을 것으로 생각된다 (Loose *et al.*, 1993; Jang *et al.*, 2003a). 어류에서 분비되거나 어류 배양여과액 내의 화학물질 (kairomones)은 이미 동물플랑크톤의 형태변화, 성장도 변화 (growth rate) 등을 유발하는 것으로도 알려져 있다 (Parejko and Dodson, 1990; Loose *et al.*, 1993; Gliwicz and Maszczyk, 2007). 이러한 포식자에 대한 피식자의 방어기작이 포식자의 노출밀도 및 강도에 의해 조절될 수 있다는 연구는 1990년대 이후부터 육상식물과 곤충, 식물플랑크톤, 포식자 동물플랑크톤 및 섬모충, 동물플랑크톤과 무척추동물 및 어류를 대상으로 이들의 형태 및 행동 변화를 중심으로 연구가 진행되어 왔다 (Lampert *et al.*, 1994; Wiackowski and Starońska, 1999; 김 등, 2005). 또한 동, 식물플랑크톤 및 어류에 대한 독성 남조의 방어기작의 일환으로 독소를 생성한다는 연구 역시 수행되어 왔다 (Jang *et al.*, 2006; 2007a, b). 이러한 연구들은 수생태계의 피·포식자간의 상호관계에 대한 수 많은 현상들 중 하나의 가능성으로 설명할 수 있는 연구들이다.

본 실험에서는 배양 후 4일째 *H. molitrix*의 배양여과액의 농도가 10%인 경우 *Microcystis*의 세포내 독소량이 대조군보다 1.6배 높았으며, 50%의 경우는 대조군에 비해 2.4배 높게 나타났다. 또한, 50% 배양여과액 처리군이 10% 처리군보다 1.5배 높게 나타나 어류 배양여과액의 농도에 따른 차이를 증명하였다. 또한 *H. molitrix* 배양여과액 농도가 50%인 처리군이 *C. gibelio langsdorfi* 50% 처리군보다 독소생성 함량이 1.4배 높게 나타나 Jang *et al.* (2004)의 결과와 유사한 경향을 보였다. 아울러 Jang

et al. (2007b)의 동물플랑크톤 개체수 및 배양여과액의 농도별 직, 간접 노출 결과와도 유사하게 나타났다.

부영양호에서 번성하는 *Microcystis*는 어류에게 있어 비교적 좋은 먹이원이 되지는 못한 것으로 알려져 왔다. Kamjunke *et al.* (2002)은 유럽산 잉어과 어류인 *Rutilus rutilus*에게 *Microcystis*를 먹이로 공급하였으나 먹이를 굶여하지 않은 것과 유사한 수준인 -0.87% 의 1일 성장율을 보고하였다. 대부분의 어류들은 독소가 있는 균주나 없는 균주 모두에서 성장율이 감소하게 되는데, 이는 해독을 위한 작용이나 유영 등 섭식에 필요한 에너지가 많이 소실되기 때문으로 알려져 있다 (Bury *et al.*, 1995; Carbis *et al.*, 1997; Bagnaz *et al.*, 1998; Wiegand *et al.*, 1999). 이러한 이유로 많은 연구자들은 어류를 이용한 생물적 조절로 *Microcystis*의 저감에 의문을 제기하기도 하였다. 하지만, 몇몇 연구자들은 *Oreochromis niloticus*, *Aristichthys nobilis*, *H. molitrix* 등의 어류가 *Microcystis*의 저감에 유용하다는 보고도 있다 (Datta and Jana, 1998; Lu *et al.*, 2006)

본 실험결과 세포의 MC 함량이 매우 작아 ($83.19 \pm 16.65 \mu\text{g mL}^{-1}$) 독성학 측면에서는 중요성을 가지고 있지 않다고도 볼 수 있지만 (Dittmann and Börner, 2005), 세포 외부에서 검출된 독소량이 대상 어종에 따라 2.4배까지 차이가 나타나 어종에 따른 섭식압의 차이를 나타낸 *Microcystis* 세포 내부에서 검출된 독소량 비율과 유사한 양상을 나타냈다. 이는 Jang *et al.* (2004)에서 언급된 바와 같이 남조 *M. aeruginosa*는 플랑크톤 섭식 어류에서 더 높은 섭식압을 받을 것이라는 내용을 뒷받침하는 결과이기도 하다. 이러한 이유로 조류저감을 위해 플랑크톤 섭식 어류를 선택하였을 때 수체내의 독소량이 증가할 수 있음이 고려될 수 있으며, 생물적 조절에 있어 대상 어종을 선별할 때 고려되어야 할 사항으로 생각된다. 세포외부에 존재하는 MC의 양적 변화는 물리, 화학적으로 *Microcystis* 세포를 분해 또는 제거하는 과정에서 수체내의 MC 함량이 증가될 수 있음을 보여주고 있다. 이러한 수체내의 MC 함량의 증가는 같은 수체내에 서식하는 먹이사슬 내의 다른 생물들에게 심각한 영향을 초래할 수 있으므로, 부영양호에서 세포내 MC 뿐만 아니라, 세포외 MC 함량에 대한 지속적인 모니터링과 더불어 생물학적 및 생태학적 관계에 대해서도 지속적인 연구가 요구된다. 따라서, 본 실험 결과를 통해 독성 *Microcystis*의 경우 어류의 간접노출 농도에 따라 세포 내, 외부의 독성이 증가될 수 있는 가능성을 고려하여, 부영양호에서 생물적 조절을 통한 조류저감을 실시할 경우 *Microcystis*가 생성하는 독소의 변화를 검토한 후, 생물적 조절이 이루어져

야 할 것으로 보인다.

적 요

잡식성 및 플랑크톤 섭식 어류 (*Carassius gibelio langsdorfi*, *Hypophthalmichthys molitrix*)의 간접노출(CCMF, HCMF) 농도차(0, 10, 50%)에 따른, 남조 *Microcystis aeruginosa*의 생체량과 세포내부와 외부의 마이크로시스틴(microcystin, MC) 함량을 1일 간격으로 관찰하였다. 실험기간동안 *M. aeruginosa*균주의 세포내에 함유된 MC의 양은 대조군 보다 모든 처리군에서 증가한 것으로 나타났다(CCMF1, $P=0.015$; CCMF2, $P<0.001$; HCMF1, $P<0.001$; HCMF2, $P<0.001$). 처리군간의 비교에서는 CCMF1의 세포내 MC 함량 보다 CCMF2의 세포내 MC 함량이 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다($P=0.023$). 또한 HCMF2의 세포내 MC 함량이 HCMF1의 MC 함유량보다 증가한 것으로 나타났다($P<0.001$). *M. aeruginosa* 균주의 세포외 MC 함량은 대조군과 CCMF1과 CCMF2에서 차이를 보이지 않았고, HCMF1과 HCMF2의 세포외 MC 함량이 대조군보다 높은 것으로 나타났다(HCMF1, $P=0.003$; HCMF2, $P<0.001$). 본 연구결과, 독성 *Microcystis*의 경우 어류의 분비화학물질(kairomone) 농도에 따라 세포 내, 외부의 독성이 증가될 가능성이 있으며, 부영양호에서 생물적 조절을 통한 조류저감을 실시할 경우 *Microcystis*의 독소 변화를 고려해야 할 것으로 보인다.

사 사

이 논문은 2006년도 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2006-353-C00056)입니다.

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.
- Bagnaz, D., G. Staaks and C. Steinberg. 1998. Impact of the cyanobacteria toxin, microcystin-LR on behaviour of zebrafish, *Danio rerio*. *Water Res.* **32**: 948-952.
- 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.
- Bury, N.R., F.B. Eddy and G.A. Codd. 1995. The effects of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR, and ammonia on growth rate and ionic regulation of brown trout. *J. Fish Biol.* **46**: 1042-1054.
- Carbis, C.R., G.T. Rawlin, P. Grant, G.F. Mitchell, J.W. Anderson and I. McGauley. 1997. A study of the feral carp, *Cyprinus carpio* L., exposed to *Microcystis aeruginosa* at Lake Mokoan, Australia and possible implications for fish health. *J. Fish Dis.* **20**: 81-91.
- Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties, and biological significance. *Water Sci. Technol.* **32**: 146-159.
- Datta, S. and B.B. Jana. 1998. Control of bloom in a tropical lake: grazing efficiency of some herbivorous fishes. *J. Fish Biol.* **53**: 12-24.
- 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.
- Dicke, M. and M.W. Sabelis. 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?. *Funct. Ecol.* **2**: 131-139.
- Dittmann, E. and T. Börner. 2005. Genetic contributions to the risk assessment of MC in the environment. *Toxicol. Appl. Pharm.* **203**: 192-2000.
- Endler, J.A. 1986. Defense against predators.-In: Feder, M.E. and Lauder, G.V. (eds.), *Predator-prey relationships: perspectives and approached from the study of lower vertebrates*. Univ. of Chicago, Chicago, p. 109-134.
- 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.
- Fisher, W.J. and D.R. Dietrich. 2000. Pathological and biochemical characterization of Microcystin-induced hepatopancreas and kidney damage in Carp (*Cyprinus*

- carpio*). *Toxicol. Appl. Pharm.* **164**: 73-81.
- Fisher, W.J., B.C. Hitzfeld, F. Tencalla, J.E. Eriksson, A. Mikhailov and D.R. Dietrich. 2000. Microcystin-LR toxicodynamics, induced pathology, and immunohistochemical localization in livers of blue-green algae exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol. Sci.* **54**: 365-373.
- Gliwicz, Z.M. and P. Maszczyk. 2007. *Daphnia* growth is hindered by chemical information on predation risk at high but not at low food levels. *Oecologia* **150**: 706-715.
- 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.
- Harada, K.I., K. Matsuura, M. Suzuki, H. Oka, M.F. Watanabe, S. Ohshi, 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.
- Henrikson, B.I. and J.A.E. Stenson. 1993. Alarm substance in *Gyrinus aeraus* (Coleoptera, Gyrinidae). *Oecologia* **93**: 191-194.
- 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.
- Jang, M.-H., K. Ha, J.-M. Jung, Y.-J. Lee and N. Takamura. 2006. Increased microcystin production of *Microcystis aeruginosa* by indirect exposure of nontoxic cyanobacteria: Potential role in the development of *Microcystis* bloom. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **76**: 957-962.
- Jang, M.-H., K. Ha and N. Takamura. 2007a. Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*). *Toxicon* **49**: 727-733.
- Jang, M.-H., J.-M. Jung and N. Takamura. 2007b. Changes in microcystin production in cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical concentrations. *Limnol. Oceanogr.* **52**(4): 1454-1466.
- Kamjunke, N., K. Schmidt, S. Pflugmacher and T. Mehner. 2002. Consumption of cyanobacteria by roach (*Rutilus rutilus*): useful or harmful to the fish? *Freshwater Biol.* **47**: 243-250.
- Kasai, F., M. Kawachi, M. Erata and M.M. Watanabe. 2004. NIES Collection List of Strains: Microalgae and Protozoa. 7th ed. NIES Environment Agency, Tsukuba, Japan.
- Kats, L.B. and L.M. Dill. 1998. The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience* **4**: 361-394.
- 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.
- Larsson, P. and S. Dodson. 1993. Chemical communication in planktonic animals. *Arch. Hydrobiol.* **129**: 129-155.
- 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.
- Lu, K., C. Jin, S. Dong, B. Gu and S.H. Bowen. 2006. Feeding and control of blue-green algal blooms by tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Hydrobiologia* **568**: 111-120.
- Lüring, M. and E. van Donk. 1997. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. *Limnol. Oceanogr.* **42**: 783-788.
- 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.
- Parejko, K. and S. Dodson. 1990. Progress towards characterization of a predator/prey kairomone: *Daphnia pulex* and *Chaoborus americanus*. *Hydrobiologia* **198**: 51-59.
- Proulx, M., F.R. Pick, A. Mazumder, P.B. Hamilton and D.R.S. Lean. 1996. Effects of nutrients and planktivorous fish on the phytoplankton of shallow and deep aquatic systems. *Ecology* **77**: 1556-1572.
- 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.
- Smith, R.J.F. 1997. Avoiding and deterring predators. -In: Godin, J.-G.J. (ed.) Behavioural ecology of teleost fishes. Oxford Univ. Press. Oxford, p. 163-190.
- Starling, F. 1993. Control of eutrophication by silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes) in the

- tropical Pranao Reservoir (Brasila, Brazil): a mesocosm experiment. *Hydrobiologia* **257-258**: 143-152.
- Verity, P.G. and V. Smetacek. 1996. Organism life-cycles, predation, and the structure of marine pelagic ecosystems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **130**: 277-293.
- 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., S. Pflugmacher, A. Oberemm, N. Meems, K.A. Beattie, C.E.W. Steinberg and G.A. Codd. 1999. Uptake and effects of microcystin-LR on detoxification enzymes of early life stages of the zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Toxicol.* **14**: 89-95.
- Wiegand, C. and S. Pflugmacher. 2005. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. *Toxicol. Appl. Pharm.* **203**: 201-218.
- Williams, D.E., M. Craig, S.C. Dawe, M.L. Kent, R.J. Andersen and C.F.B. Holmes. 1997. ¹⁴C labeled microcystin-LR administered to atlantic salmon via intraperitoneal injection provides in vivo evidence for covalent binding of microcystin-LR in salmon livers. *Toxicol.* **35**: 985-989.
- Xie, L., P. Xie, K. Ozawa, T. Honma, A. Yokoyama and H.-D. Park. 2004. Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment. *Environ. Pollut.* **127**: 431-439.
- Zimba, P.V., L. Khoo, P.S. Gaunt, S. Brittain and W.W. Carmichael. 2001. Confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from *Microcystis* toxins. *J. Fish Dis.* **24**: 41-47.

(Manuscript received 15 May 2007,
Revision accepted 8 June 2007)