

메소코즘을 이용한 지각류, 요각류 및 패충류의 섭식 성향 분석; 탄소, 질소 안정동위원소비의 믹싱모델 (R package SIAR)을 이용한 정량 분석

장광현 · 서동일 · 고순미 · Sakamoto Masaki¹ · 남귀숙² · 최종윤³ · 김민섭⁴ · 정광석⁵
나금환⁶ · 김현우^{6,*}

경희대학교환경학 및 환경공학과, ¹토야마현립대학 환경공학과, ²농어촌공사 농어촌연구원,
³국립생태원, ⁴국립환경과학원, ⁵동주대학교 간호학과, ⁶순천대학교 환경교육과

Feeding Behavior of Crustaceans (Cladocera, Copepoda and Ostracoda): Food Selection Measured by Stable Isotope Analysis Using R Package SIAR in Mesocosm Experiment. Chang, Kwang-Hyeon (0000-0002-7952-4047), Dong-Il Seo (0000-0002-5530-9916), Soon-Mi Go (0000-0003-3601-4378), Masaki Sakamoto¹ (0000-0003-4493-5863), Gui-Sook Nam² (0000-0002-5799-1365), Jong-Yun Choi³ (0000-0001-6052-9473), Min-Seob Kim⁴ (0000-0002-0365-7468), Kwang-Seok Jeong⁵ (0000-0002-0365-7468), Geung-Hwan La⁶ (0000-0002-0512-1018) and Hyun-Woo Kim^{6,*} (0000-0003-3898-5864) (Department of Environmental Science and Engineering, Kyung Hee University, Yongin-si 17104, Republic of Korea; ¹Department of Environmental Engineering, Toyama Prefectural University, Kurokawa 5180, Imizu 939-0398, Japan; ²Rural Research Institute, Korea Rural Community Corporation, Ansan City 15634, Republic of Korea; ³National Institute of Ecology, Seo-Cheon Gun 33657, Republic of Korea; ⁴National Institute of Environmental Research, Environment Research Complex, Incheon 22689, Republic of Korea; ⁵Department of Nursing Science, Dongju College, Busan 49318, Republic of Korea; ⁶Department of Environmental Education, Suncheon National University, Suncheon 57922, Republic of Korea)

Abstract Stable Isotope Analysis (SIA) of carbon and nitrogen is useful tool for the understanding functional roles of target organisms in biological interactions in the food web. Recently, mixing model based on SIA is frequently used to determine which of the potential food sources predominantly assimilated by consumers, however, application of model is often limited and difficult for non-expert users of software. In the present study, we suggest easy manual of R software and package SIAR with example data regarding selective feeding of crustaceans dominated freshwater zooplankton community. We collected SIA data from the experimental mesocosms set up at the littoral area of eutrophic Chodae Reservoir, and analyzed the dominant crustacean species main food sources among small sized particulate organic matters (POM, < 50 μm), large sized POM (> 50 μm), and attached POM using mixing model. From the results obtained by SIAR model, *Daphnia galeata* and Ostracoda mainly consumed small sized POM while *Simocephalus vetulus* consumed both small and large sized POM simultaneously. Copepods collected from the reservoir showed no preferences on various food items, but in the mesocosm tanks, main food sources for the copepods was attached POM rather than planktonic preys including rotifers. The results have suggested that their roles as grazers in food web of eutrophicated

Manuscript received 27 September 2016, revised 30 November 2016,
revision accepted 12 December 2016
* Corresponding author: Tel: +82-61-750-3384, Fax: +82-61-750-3308,
E-mail: hwkim@suncheon.ac.kr

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

reservoirs are different, and *S. vetulus* is more efficient grazer on wide range of food items such as large colony of phytoplankton and cyanobacteria during water bloom period.

Key words: mixing model, food web, selective grazing, *Simocephalus vetulus*

서 론

탄소 및 질소 안정동위원소비는 생태계 먹이망 내 상호작용을 정량적으로 분석하는 방법으로 최근 널리 사용되고 있다. 탄소와 질소 안정동위원소비가 가지는 화학적 특성을 이용하면 생태계 먹이망을 정량적으로 해석할 수 있다(Chang and Doi, 2011). 먹이원이 가지는 탄소의 안정동위원소비는 섭식작용을 거쳐 포식자에 이르기까지 비교적 일정한 값을 유지하는 데 비해 질소 안정동위원소의 경우 피식자-포식자 간의 먹고 먹히는 과정을 거치며 일정 비율로 ^{15}N 이 농축되기 때문이다(Vander Zanden and Rasmussen, 2001). 이러한 안정동위원소비를 이용한 생태계 연구는 국내에서도 활발히 진행되고 있어, 어류의 섭식행동 분석(Yoon *et al.*, 2015), 동물플랑크톤의 먹이원분석(Lee *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2013)과 같은 특정 분류군을 중심으로 한 생물학적 상호작용의 정량적 분석뿐 아니라, 호소생태계(Kim *et al.*, 2015), 하천 생태계(Kang *et al.*, 2011; Gal *et al.*, 2012), 갯벌 생태계(Kang *et al.*, 2016) 및 하구(Lee *et al.*, 2013) 등과 같이 다양한 생태계를 대상으로 먹이망 구조와 유기물 기원 및 물질 흐름을 정량적으로 분석하는 데 활용되고 있다.

최근 안정동위원소비의 활용도가 높아짐에 따라, 분석을 위한 시료 채집, 전처리 및 해석과 관련한 방법들이 정리, 제시되고 있어(Kim *et al.*, 2013), 하천호수 관련 연구에 동위원소를 적용하는 데 도움을 주고 있다. 하지만, 먹이원의 기여율의 정량적 계산 등과 같은 정량적 적용 예와 이와 관련한 다양한 통계 소프트웨어와의 연동에 대해서는 그 방법과 관련하여 참고할 국내 논문 및 자료는 아직 부족한 실정이다.

본 논문에서는 다양한 국내 수생태계에서 우점하는 대형 지각류 및 요각류, 패충류의 식성을 메소코즘 배양조 내에서 분석하여, 이들 종의 섭식 특성을 정량적으로 평가하고자 하였다. 분석에는 탄소 및 질소 안정동위원소비를 측정, 이용하였고, R 패키지 SIAR이 제공하는 믹싱모델을 활용하여 정량적으로 분석하였다. 탄소와 질소 안정동위원소비는 먹이망 내 상호작용을 가지는 생물들의 위치를 2차원 좌표의 정량적 위치로 표시할 수 있으므로 다양한 계산을 통해 원하는 값을 추출하는 것이 가능하다. 본 논문에서는 이 과정에서 사용되는 SIAR의 분석과정과 필요 명

령어 사용법을 정리하여, 안정동위원소비를 이용하여 섭식행동 분석, 먹이경쟁 및 먹이원 추적의 정량적 접근에 있어 활용 방법을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 메소코즘 배양조(Mesocosm tanks)

우점 동물플랑크톤의 식성 분석은 충남 당진 소재 농업용 저수지인 초대저수지(저수량 100만 톤, 최대수심 약 3 m)에 설치된 지각류 증식용 대형 배양수조를 실험용 메소코즘으로 활용하였다. 이들 배양수조는 식물플랑크톤의 천적생물인 대형 지각류를 인공적으로 증식시켜 수질정화에 활용하기 위해 설치된 배양수조로, 본 연구는 배양수조에서 지각류를 증식시켜 저수지에 살포하기 전까지의 기간 동안 실시되었다(2014년 2월~6월). 메소코즘 배양장치의 규모는 10톤 규모 및 20톤 규모 수조로 각각 원수분리조, 식물플랑크톤 배양조, 동물플랑크톤(지각류) 배양조로 구성되었다.

식물플랑크톤 배양조는 장치 최상부에 개방형으로 설치되어, 저수지 원수를 채수하여 원수분리조를 통해 동물플랑크톤을 제거한 이후 식물플랑크톤을 충분한 일조량 하에서 배양할 수 있도록 설계하였다. 여기서 증식된 식물플랑크톤은 이송관을 통하여 자연 유하로 아래의 동물플랑크톤 배양조로 이송된다. 이때 개방형 식물플랑크톤 배양조를 통해 기타 생물, 특히 수서 곤충의 유입을 방지하기 위해 이송관에 500 μm 망목의 방지망을 설치하였다. 동물플랑크톤 배양조는 일정 수위를 유지하기 위해 자동 배출관을 설치하였고, 여기에는 증식된 동물플랑크톤의 유출을 막기 위해 70 μm 망목의 방지망을 설치하였다(Fig. 1). 식물플랑크톤 배양조의 체류시간은 2.5일, 동물플랑크톤 배양조의 체류시간은 4일로 유지하였다.

본 실험의 자료 분석은 동물플랑크톤 배양조(이하 배양조)를 대상으로 실시되었으며, 배양조의 수질변화를 모니터링하기 위해 배양시설이 설치된 2월 25일부터 안정동위원소비의 측정을 위해부유성 유기물(Particulate organic matters; POM) 및 동물플랑크톤 시료 채집이 실시된 6월 20일까지, 월 간격으로 수온, pH, 전기전도도, 용존산소농

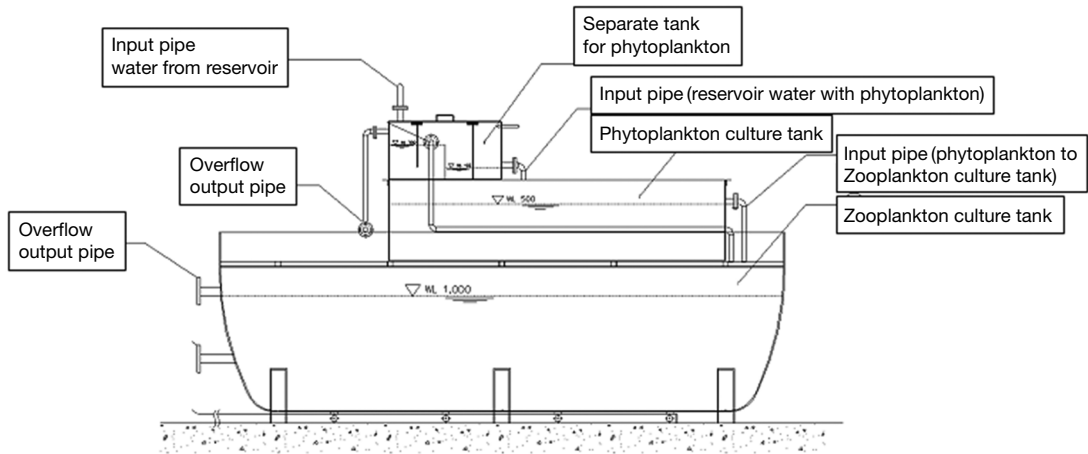


Fig. 1. Design of mesocosm tanks (phytoplankton supply system to zooplankton culture tank).

도 (Dissolved oxygen; DO) 를 현장에서 측정하였고 (YSI ProPlus, USA), 클로로필 농도 (Chl. *a*), 총질소 농도 (Total nitrogen; T-N) 및 총인 농도 (Total phosphorus; T-P)는 원수를 채수 후 수질공정법에 의거하여 측정하였다.

2. 동물플랑크톤 및 시료 채집

해양조에서의 플랑크톤 증식과 섭식관련 시료 채취는 실험 종료일 (6월 20일) 실시하였다. 해양조의 우점 동물플랑크톤 종은 배양수조에 따라 상이하게 나타났으며, 지각류인 *Daphnia galeata*, *Simocephalus vetulus*, 요각류인 Cyclopoids, 패충류 (Ostracoda) 등이 주요 우점종 및 아우점종으로 출현하였다. 출현 지각류 및 요각류의 개체군 밀도는 동물플랑크톤 네트 (망목 100 μm)를 이용하여 배양조 바닥으로부터 수면까지 수직인양하여 여과, 농축시킨 후 포르말린 (최종 농도 4%)으로 고정한 시료를 계수하여 측정하였다.

주요 출현 동물플랑크톤의 섭식 성향의 분석을 위해 잠재적 먹이원으로 부유성 일차생산자를 주로 하는 부유성 유기물 (POM)과 배양수조 표면의 부착조류 등을 포함하는 부착성유기물 (AttPOM)을 채집하였다. 부유성 POM은 수조 내 원수 500 mL를 미리 준비된 GF/F여과지로 여과한 후 적절한 전처리를 수행하였다 (Kim *et al.*, 2013, 2016). 지각류의 남조세균 섭식 능력은 녹조 발생과 관련한 물질순환 측면에서 뿐 아니라, 동물플랑크톤 섭식을 이용한 녹조 제어 측면에서 중요한 연구대상이 되어 왔다 (Lee *et al.*, 2010; Nam *et al.*, 2016). 본 연구에서는 동물플랑크톤이 섭식 가능한 소형의 식물플랑크톤과 남조세균과 같이 대형 군체를 형성하는 먹이원을 구별하기 위해 채수된 원수

를 50 μm 망목의 네트를 이용하여 여과, 50 μm 이상의 대형 먹이원 (Large particulate organic matters; LPOM)과 50 μm 이하의 소형 먹이원 (Small particulate organic matters; SPOM)으로 구분하였다. 채집된 원수를 현장에서 여과하여 (50 μm 네트), 네트를 통과한 식물플랑크톤 및 유기입자를 SPOM, 네트를 통과하지 않고 네트에 남은 식물플랑크톤과 유기입자를 LPOM으로 분류하였다. 이때, 물리적인 힘에 의해 입자들이 네트 망목을 통과하지 않도록 네트에 압력을 가하지 않고 원수를 천천히 유동시켜 조심스럽게 여과를 진행하였다. POM에 포함된 식물플랑크톤의 종류를 확인하기 위해 SPOM과 LPOM의 일부를 루골용액 (최종 농도 약 2%)으로 고정한 후 광학현미경 (Olympus BX51, Japan)에서 우점종을 속 수준에서 확인하였다. 부착조류 (Attached particulate organic matters; AttPOM)의 경우 배양수조 벽면의 부착조류 군집을 튜브를 이용하여 1 g 이상 직접 채취 후 전처리하였다. 수조 내 동물플랑크톤을 플랑크톤 네트 (망목 100 μm)를 이용하여 충분한 개체수를 채집 후, 해부현미경을 이용하여 주요 출현종을 직접 분류하여 종별 시료를 채취하였다. 채취된 시료는 동결건조 후 Kim *et al.* (2013)에서 제시된 방법을 따라 분석에 필요한 전처리를 수행하였고, POM 시료의 경우 무기탄소 제거를 위해 1N HCL을 처리한 후 분석하였다 (Kim *et al.*, 2016).

처리된 시료는 안정동위원소측정기 (EA-IRMS, UK)를 이용하여 동위원소비를 측정하였고, 측정값은 탄소, 질소 각 표준물질에 대한 천분율 (퍼밀; ‰) 값으로 환산하여 계산에 이용하였다 (Kim *et al.*, 2013). 모든 배양조에 초대저수지의 원수가 취수되어 처리, 공급되었으므로 측정된 안정동위원소 데이터의 배양조 간 차이를 검증하고, 풀링하

여 먹이 기여율을 분석하였다. 또한 저수지 내의 동물플랑크톤 군집을 배양조의 시료 채집과 동시에 저수지 중심부에서 채집하여 동일한 방법으로 탄소 및 질소 안정동위원소를 측정하여 메소코즘 결과와 비교하였다. 저수지의 경우 배양조에서 출현한 지각류 및 패충류가 출현하지 않아, 동위원소비 분석에 필요한 충분한 양이 채집된 요각류의 식성을 분석하였다.

3. R 패키지 SIAR를 이용한 믹싱모델의 적용

R은 무료로 제공되는 통계 및 모델용 소프트웨어로 현재 생태학 전반에 걸쳐 많은 연구자들이 사용하고 있다 (R Core Team, 2013). 특히, 다양한 데이터 처리, 시각화 및 통계검증에 대한 맞춤형 패키지 제공으로 통계 및 모델의 비전문가가 손쉽게 데이터 해석을 할 수 있다는 장점을 가지고 있다. SIAR 패키지는 IsoSource와 같은 기존의 linear isotopic mixing model과 달리 Bayesian isotopic mixing model을 사용한 해석결과를 제시하며 (Smith *et al.*, 2013), 최근 먹이원 및 오염원 분석에 널리 사용되고 있다 (Sakamoto *et al.*, 2015; Abernethy *et al.*, 2016; Colborne *et al.*, 2016; Hundey *et al.*, 2016). 초기 믹싱모델의 경우, 먹이원의 기여율에 대한 점추정 결과를 제공해 주지만, 안정동위원소 값에서 추출된 해석값에 대한 불확실성 레벨 (Uncertainty level)이 제공되지 않았다. 반면 최근의 SIAR과 같은 Bayesian 기반의 믹싱모델의 경우, 불확실성 및 농도에 따른 모델 결과를 제공해 주며, 비교적 많은 수의 먹이원에 대해 적용이 가능하다. 특히, 잠재적 먹이원의 기여율에 대한 통계적 신뢰구간을 제공해 주는 장점이 있다 (Phillips *et al.*, 2014). SIAR에서 사용하는 model fitting algorithm의 경우 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 모델을 사용하며, 먹이원의 비율값을 반복하여 추정, 데이터 값에서 확률적으로 일정하지 않은 경우를 제외시켜 준다 (Parnell *et al.*, 2010).

본 논문에서는 SIAR 패키지에서 제공되는 매뉴얼 (Inger *et al.*, 2010) 및 관련 논문을 바탕으로 사용자가 쉽게 사용할 수 있도록 실제 국내 저수지에서 측정된 데이터를 예시로 하여 적용방법을 제시하였다.

4. 안정동위원소 데이터 저장 및 R에서 사용

SIAR 패키지는 먹이원 분석의 주 대상이 되는 포식자의 안정동위원소비 (data), 먹이원이 되는 후보 생물의 안정동위원소비 (sources) 및 trophic enrichment factor (TEF) 데이터를 이용한다. R 및 패키지 사용 시 데이터의 이름은 임의로 작성이 가능하므로, 복수의 작업시 구별이 가능한 데

Table 1. Example of data preparation for mixing model in SIAR.

Predator's stable isotope ratio (copy from excel and save as text file "ConsumerData.txt" or read from clipboard in R)				
Code	d13C	d15N		
1	-19.19	12.17		
1	-19.26	12.07		
1	-19.55	12.34		
Prey's stable isotope ratio (copy from excel and save as text file "SourceData.txt" or read from clipboard in R with average and standard deviation)				
Means	Meand13C	SDd13C	Meand15N	SDd15N
SPOM	-21.39	0.28	8.1	0.15
LPOM	-20.32	0.06	7.35	0.31
Rotifers	-20.64	0.07	10.09	0.25
TEF (copy from excel and save as text file "TEFData.txt" or read from clipboard in R)				
Source	Meand13C	SDd13C	Meand15N	SDd15N
SPOM	1.63	0.63	3.54	0.74
LPOM	1.63	0.63	3.54	0.74
Rotifers	1.63	0.63	3.54	0.74

이터 이름을 지정하고, 모델 적용시 이에 따른 적절한 데이터 이름을 설정하여 사용하도록 한다. 포식자와 먹이원의 경우 각 종류별 3 이상의 반복수를 필요로 하며, TEF의 값은 경험적으로 얻어진 값을 사용할 수 있다. 포식자의 분석은 시공간 또는 특성별 그룹으로 구별하여 비교, 분석이 가능하다. Table 1은 6월 초대저수지 중심부에서 채집된 요각류의 식성을 분석하기 위해 포식자(요각류)의 6월 안정동위원소비(3개 시료), 대상 먹이원이 되는 SPOM (POM < 50 μ m), LPOM (POM > 50 μ m), Rotifers (윤충류)의 안정동위원소비의 평균과 표준편차를 입력한 예를 보여준다. 입력 작업은 엑셀에서 수행하고 이후 txt 형식으로 저장하거나, 데이터 입력 부분을 클립보드에 저장 후 R에서 입력해 주는 방식을 이용한다 (Table 2).

5. Bayesian model의 적용과 먹이원 기여율의 해석 (저수지 요각류에 대한 먹이 기여율의 해석)

Table 3에는 R의 인스톨, SIAR 패키지 불러오기와 이후 믹싱모델을 이용한 분석에 필요한 명령어를 정리하였다. 믹싱모델의 결과를 저장 후 (여기서는 model1을 결과로 사용하였으나 임의의 제목 사용 가능), Fig. 2의 A에서 D와 같이 구해진 대상 먹이원의 기여율을 다양한 형태의 차트로 나타내는 것이 가능하다. Fig. 2B는 모델결과를 진단할 수 있도록 각 대상 먹이원의 기여율 분포의 히스토그램과 각각의 상관관계를 등고선 차트로 나타내

Table 2. Process of data input for SIAR model.

Data name	Data input
Predator data (data) for single predator, data should be input in R	<code>data = rbind(c(carbon isotope ratio1, nitrogen isotope ratio1), c(carbon isotope ratio2, nitrogen isotope ratio2), c(carbon isotope ratio3, nitrogen isotope ratio3), ...)</code> <code>colnames(data) = c("d13C", "d15N")</code>
Predator data (data) for multiple predators *Copy and paste from excel using clipboard	<code>data = read.table("C:/ConsumerData.txt", header = T)</code> <code>*data = read.table("clipboard", header = T)</code>
Prey data (sources) *Copy and paste from excel using clipboard	<code>sources = read.table("C:/SourceData.txt", header = T)</code> <code>*sources = read.table("clipboard", header = T)</code>
TEF (sources) (Trophic Enrichment Factor) data *Copy and paste from excel using clipboard	<code>tef = read.table("C:/TEFData.txt", header = T)</code> <code>*tef = read.table("clipboard", header = T)</code>
Carbon and nitrogen concentrations data (conc) (concentration dependence model) *Copy and paste from excel using clipboard	<code>conc = read.table("C:/ConcData.txt", header = T)</code> <code>*conc = read.table("clipboard", header = T)</code>

Table 3. R commander for SIAR package and model processes.

SIAR contents	R command	Remarks
Install SIAR	<code>install.packages("siar")</code>	CRAN MIRROR (set as Korea)
Start package	<code>library(siar)</code>	R version 3.3.0 or higher version
SIAR menu	<code>siarmenu()</code>	Running demo (9) for beginner
Running mixing model	<code>model1 = siarmcmmdirichletv4</code> <code>(data, sources, tef, concdep = 0, 500000, 50000)</code>	Save result as model1
Running mixing model with concentrations	<code>model1 = siarmcmmdirichletv4</code> <code>(data, sources, tef, conc, 500000, 50000)</code>	
Running mixing model for single predator	<code>model1 = siarsolomcmv4</code> <code>(data, sources, tef, concdep = 0, 500000, 50000)</code>	
Plotting result	<code>siarplotdata(model1)</code>	Figure 2A
Plotting matrix	<code>siarmatrixplot(model1)</code>	Figure 2B
Plotting histogram	<code>siarhistograms(model1)</code>	Figure 2C
Plotting chart for sources contributions	<code>siarproportionbygroupplot(model1)</code>	
Option for contributions chart	<code>siarproportionbygroupplot</code> <code>(model1, prn = TRUE, probs = c(0.1, 50, 75, 95))</code>	Show average contribution Figure 2D
Summary model results	<code>out = model1\$output</code> <code>fix(out)</code>	Save result as out See model results and fix values
Average contribution of source	<code>mean(out[,1])</code> in this example, average of SPOM	Calculate average model results

고 구해진 상관관계수를 표시해 준다. 먹이원 기여율의 평균은 `model1$output` 명령어를 사용하여 출력 가능하며, `fix(out)` 명령어를 이용하여 모델결과값의 매트릭스 배열 확인이 가능하다. 이 결과를 확인 후 해당 열에 해당하는 먹이원 종류의 평균값은 `mean(out[,1])`; 제 1열-본 예시의 경우 SPOM-의 평균값을 구할 수 있다. 주어진 먹이원 기여율의 평균값을 계산하면 부영양화 저수지에 서식하는 요각류의 먹이원 기여율은 SPOM이 36%, LPOM이 28%, 윤충류가 36%로, 요각류의 먹이원 비중은 SPOM과 윤충류가 상대적으로 높다고 할 수 있다. 믹싱모델의 결과값은 히스토그램과 비율을 나타내는 막대 차트를 통

해 신뢰구간의 분포 경향을 확인할 수 있다 (Fig. 2C). 특히, `siarproportionbygroupplot(model1, prn = TRUE, probs = c(0.1, 50, 75, 95))`의 명령어를 이용해 50, 75 및 95%의 신뢰구간을 확인할 수 있으며, 계산값의 평균은 선으로 표시된다 (Fig. 2D). 이렇게 구해진 해석 결과에 따라, 저수지에서 채집된 요각류와 먹이원의 탄소, 질소 안정동위원소비를 이용한 믹싱모델의 적용 결과, 크기가 50 μm 이하의 SPOM과 윤충류의 기여율이 다소 높지만, 세 종류의 먹이원에 대해 뚜렷한 먹이 선택성은 존재하지 않는 것으로 판단할 수 있다.

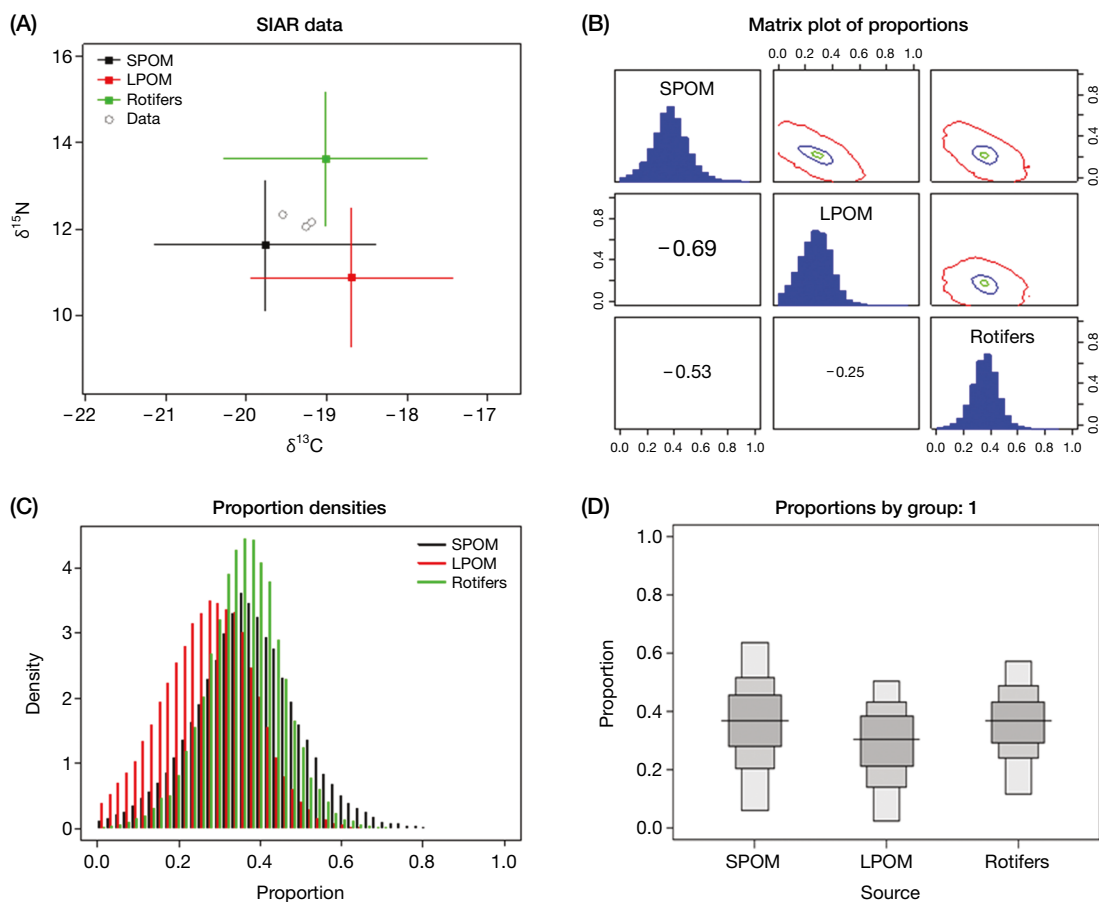


Fig. 2. Results of mixing model for cyclopid copepods in Chodae Reservoir (June) obtained from SIAR package of R software.

Table 4. Water quality in mesocosm tanks during the experiment (Feb.~June 2014).

		Water temp. (°C)	pH	DO (mg L ⁻¹)	EC (μS cm ⁻¹)	Chl.a (μg L ⁻¹)	T-N (mg L ⁻¹)	T-P (mg L ⁻¹)
T-1	Average	14.8	8.7	8.2	519	114.9	4.9	0.26
	SD	9.4	0.8	5.0	62	42.0	2.1	0.04
	Range	3.2-24.7	7.9-9.6	3.2-14.6	461-592	63.4-166.8	2.5-7.5	0.2-0.3
T-2	Average	14.6	8.7	8.4	518	101.7	4.9	0.24
	SD	9.1	0.8	4.8	63	40.5	2.1	0.04
	Range	3.5-24.5	7.9-9.5	3.8-14.7	459-594	47.3-153.6	2.5-7.6	0.19-0.28
T-3	Average	15.4	9.0	9.4	520	102.6	4.8	0.23
	SD	9.0	0.6	4.6	63	44.4	2.0	0.06
	Range	4.6-25.2	8.4-9.8	5.8-15.6	458-595	50.6-159.7	2.4-7.0	0.17-0.29
Reservoir	Average	16.0	9.6	14.8	498	167.9	5.3	0.23
	SD	7.7	0.3	3.9	56	9.1	1.7	0.07
	Range	4.7-29.2	9.2-10.3	8.3-20.3	446-595	83.0-340.4	2.5-7.1	0.17-0.39

결과 및 고찰

메소코즘 배양조를 가동한 기간 동안 동물플랑크톤이 증가한 배양조들의 주요 수질 항목에는 큰 차이가 없는 것

으로 나타났다 (Table 4). 모든 배양조에서 수온은 2월 최초 가동 시 3.2~4.6°C의 분포를 보였으나, 시료가 채집된 6월에는 모든 배양조에서 24°C 이상으로 상승하였다. 본 실험에서 먹이원으로 고려된 POM에 포함된 우점 식물플

랑크톤은 4월과 5월에는 *Oscillatoria* sp.였으나, 6월 이후 *Microcystis* spp.가 증가하여 먹이원의 유입원인 초대저수지에서 조류생체량의 80% 이상을 차지하고 있는 것으로 분석되었다. 따라서 본 실험에서 분석된 부유성 POM, 특히 LPOM은 대부분 *Microcystis* spp.가 포함된 것으로 판단된다.

부영양화된 저수지인 초대저수지의 경우 연중 윤충류가 우점하며 요각류가 일부 출현하였으나, 어류 포식압이 배제된 배양조의 경우 *D. galeata*와 요각류가 높은 개체군 밀도를 형성하였고, *S. vetulus* 역시 배양조에 따라 리터당 20개체 이상의 높은 개체군 밀도를 형성하였다. 반면, 패충류의 경우 지각류와 요각류에 비해 낮은 개체군 밀도를 나타냈다(Fig. 3). 배양조에 형성된 먹이망의 구성원은 먹이원 포함 $\delta^{13}\text{C}$ 값은 -19.1‰ 에서 -24.0‰ 범위를 나타내었다. $\delta^{15}\text{N}$ 값의 경우, 5.1‰ 에서 11.8‰ 의 범위를 나타내었

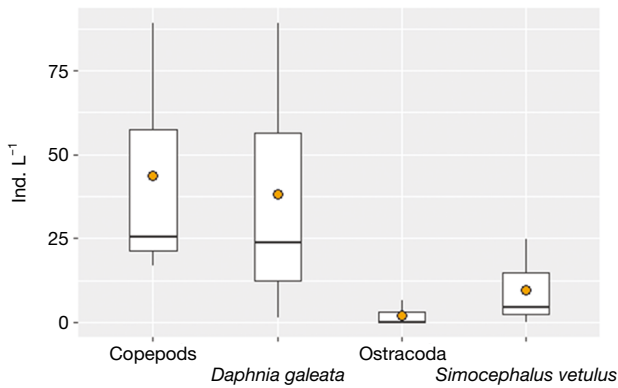


Fig. 3. Mean (○), median (line), 75% (box) and minimum and maximum individual density of major zooplankton species in the mesocosm tanks in June.

으며, SPOM에서 가장 낮은 반면, *D. galeata*에서 가장 높게 나타났다(Fig. 4). 일반적으로 영양단계가 한 단계 상승함에 따라 질소 동위원소비가 3.4‰ 증가하는 것으로 알려져 있으며 (Peterson and Fry, 1987), 본 결과에서도 지각류를 포함한 동물플랑크톤에서 높은 질소 안정동위원소비가 관찰되었다.

배양조 내의 먹이원의 $\delta^{13}\text{C}$ 값은 먹이원 종류에 따라 유의한 차이를 보였으며, 특히 AttPOM의 경우보다 무거운 값을 가지고 있는 것으로 나타났다(Fig. 5). 여과를 통해 크기로 분류한 부유성 POM의 경우에도 유의한 차이를 보였으나, 본 분석에서는 크기에 따른 종동정을 수행하지 않아 이들의 차이에 대해서는 향후 추가적인 분석이 필요할 것으로 사료된다. 먹이원의 $\delta^{15}\text{N}$ 값 역시 AttPOM에서 높

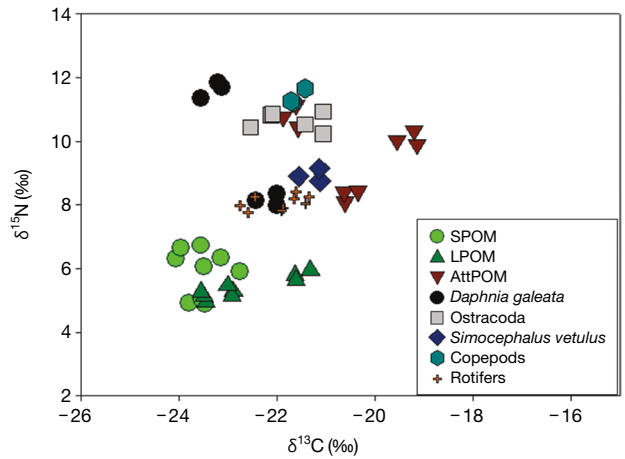


Fig. 4. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of sources, small sized POM (SPOM), large sized POM (LPOM), and attached POM (AttPOM), and consumers in the mesocosm tanks in June.

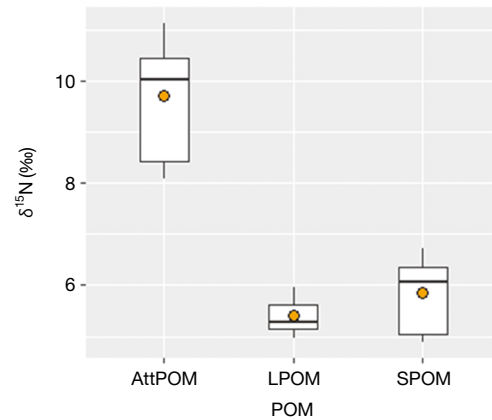
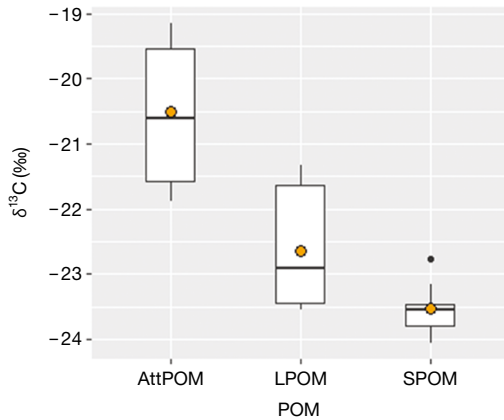


Fig. 5. Comparison of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of POM (SPOM), large sized POM (LPOM), and attached POM (AttPOM) in the mesocosm tanks in June.

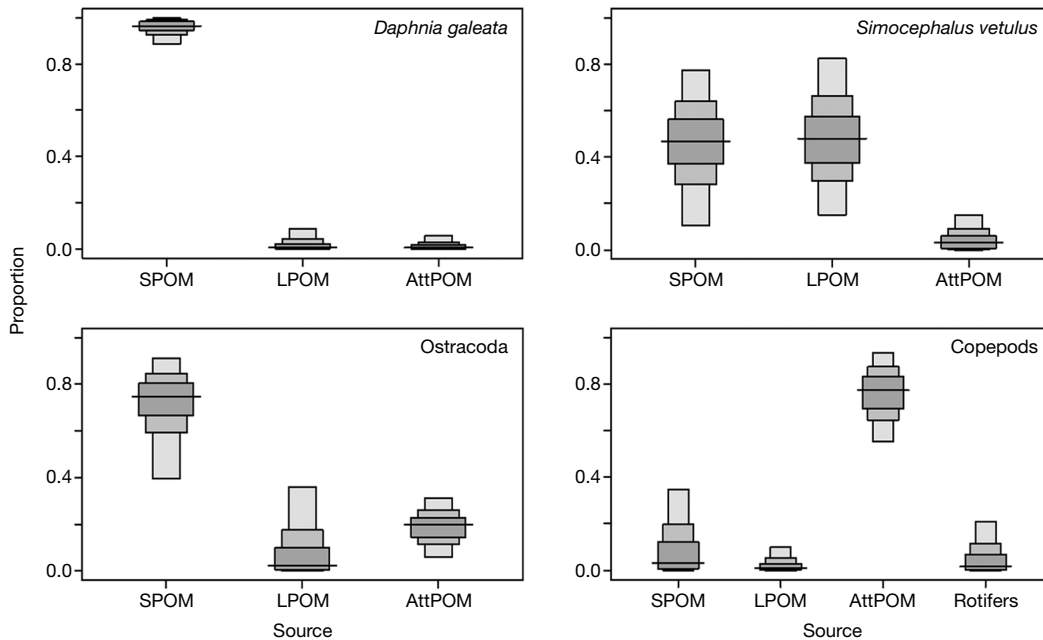


Fig. 6. Combination of estimated source proportions (0-1) for major zooplankton groups in mesocosm tanks in June. Lines and boxes indicate averages, 50, 75, and 95% Bayesian credibility intervals for means.

은 값을 나타내었고, 부유성 POM의 경우 크기에 따른 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다.

배양조에서 증가한 주요 동물플랑크톤에 대한 먹이 기여도를 믹싱모델을 통해 파악하여, 이들의 섭식 특성을 파악하였다(Fig. 6). 국내 호소 및 하천생태계에 널리 분포하는 대표적인 대형 지각류인 *D. galeata*의 경우 크기가 작은 SPOM을 주로 섭식하며 *Microcystis* spp.의 군체를 포함하는 LPOM과 AttPOM은 기여율이 각각 3%, 2%로 나타나 거의 섭식하지 않는 것으로 분석되었다. 기여율에 다소 차이는 있었으나, 패충류의 경우도 *D. galeata*와 유사한 섭식 성향을 나타내었다. 반면 요각류의 경우 배양조에서는 저수지와 달리 AttPOM을 주로 섭식하는 것으로 분석되었다. 대상 동물플랑크톤 중 *S. vetulus*는 유일하게 LPOM을 주요 먹이원으로 섭식하는 것으로 분석되었으며, 평균 먹이 기여도는 SPOM이 46%, LPOM이 48%로 유사한 비중을 차지하였고, AttPOM의 경우 1% 이하인 것으로 분석되었다.

지각류의 섭식 성향은 녹조발생과 관련하여 특히 녹조 발생시 군체를 형성하는 *Microcystis* 및 *Anabaena*와 같은 남조세균 군체의 섭식 여부에 대해 연구가 이루어져 왔다. 국내 대형 저수지에서 녹조현상이 발생할 경우, 특히 *Microcystis*가 번성할 경우 *D. galeata*를 포함한 동물플랑크톤이 직접 이용하기 어렵다는 점이 탄소 안정동위원소 소비 차이의 근거로 제시되었다(Lee *et al.*, 2010). 본 연구

결과에서도 믹싱모델을 적용한 결과, 배양조에서 증가한 *Microcystis*에 대한 *D. galeata*의 먹이 기여율이 낮게 분석되어 기존의 가설을 지지하는 것으로 나타났다. 반면, 동위원소 추적자를 이용하여 섭식관계를 분석한 결과 *Daphnia*가 *Microcystis*를 먹이로 이용하고 있다는 상반된 결과 역시 보고되고 있고(Yu *et al.*, 2013), 다양한 현장 섭식 실험을 통해서도 유사한 결과들이 보고되고 있어(Ekvall *et al.*, 2014), 대형 지각류 *Daphnia*의 남조세균의 섭식 효율은 섭식에 영향을 미칠 수 있는 다양한 환경요인을 고려한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

패충류는 담수와 건조가 반복되는 논 생태계에서 빈번히 관찰되는 갑각류로(La *et al.*, 2015), 섭식 성향을 포함 담수생태계와 관련한 이들 개체군 생태에 대한 국내 연구 결과는 전무한 수준이다.

Simocephalus 속은 습지에서 주로 서식하며, *Daphnia*와 유사한 체장인 대형 지각류이다. 유영과 부착의 두 가지 습성을 동시에 나타내며, 수초 등에 부착하여 생활하며 물리적인 자극에 의해 유영 행동이 유도된다(Choi *et al.*, 2012). 본 연구에서 분석된 *S. vetulus*는 AttPOM에 대한 섭식이 미미한 것으로 나타나, 비록 부착성을 나타내나 부착조류 등의 먹이원보다는 수중의 부유성 먹이를 여과하여 섭식하는 것으로 판단되어 *Daphnia*와 같은 유영성 지각류와 먹이경쟁 관계에 있는 것으로 여겨진다. 또한 *S. vetulus*의 경우 *Microcystis*와 같이 대형 먹이원에 대한 섭

식 능력이 있는 것으로 나타났다.

본 연구결과는 어류 섭식이 배제되고 기초 환경이 조절된 상황에서 주요 대형 지각류의 섭식 성향을 분석하여 제시하였지만, 일정 기간 배양 후 일회성 분석을 실시하여 배양조에 따른 세부적인 먹이조건의 변화 및 대상 동물플랑크톤의 상호작용 및 먹이원 선택의 메커니즘을 구체적으로 해석하기에는 한계가 있다. 향후 다양한 환경요인 및 생물학적 상호작용을 고려한 메소코즘 실험계와 안정동위원소비를 이용한 믹싱모델을 적절히 활용한다면 부영양화 생태계 먹이망에서의 물질순환에서의 동물플랑크톤의 역할에 대한 보다 자세한 정보들이 구축되리라 여겨진다.

사 사

이 논문은 2016년 순천대학교 학술연구비로 연구되었습니다.

적 요

탄소와 질소 안정동위원소비를 이용한 먹이망 구조 해석 기법은 수생태계 연구에서 폭 넓게 활용되고 있으며, 먹이원의 정량적 기여율을 분석하는 믹싱모델에 적용될 수 있다. 본 연구에서는 Bayesian 모델을 이용한 믹싱모델의 적용이 가능한 통계 패키지(R, SIAR package)의 사용 방법을 제시하고, 사용 예로 저수지 및 메소코즘 배양조에서의 동물플랑크톤과 먹이원의 탄소, 질소 안정동위원소비를 이용한 섭식 성향 분석 방법 및 결과를 제시하였다. 분석 결과, 국내 저수지 및 대형하천 등에서 주로 우점하는 *Daphnia galeata*는 소형의 POM (< 50 μm)을 주로 섭식하는 것으로 나타나, 부영양화된 환경에서 녹조 발생시 먹이로의 활용이 용이하지 않은 것으로 나타났다. 논 생태계 등에서 빈번히 출현하는 패충류의 경우 *D. galeata*와 유사한 섭식 성향을 나타내었다. 반면 습지 등에서 주로 출현하는 *Simocephalus vetulus*의 경우, 부착성 POM이 아닌 부유성 POM을 주로 섭식하며 *Microcystis*를 포함하는 대형의 POM (> 50 μm)을 섭식하는 것으로 분석되었다.

REFERENCES

Aberson, M.J.R., S.G. Bolam and R.G. Hughes. 2016. The effect of sewage pollution on the feeding behaviour and

diet of *Hediste (Nereis diversicolor)* (O.F. Müller, 1776) in three estuaries in south-east England, with implications for saltmarsh erosion. *Marine Pollution Bulletin* **105**: 150-160.

Bicknell, A.W.J., M.E. Knight, D.T. Bilton, M. Campbell, J.B. Reid, J. Newton and S.C. Votier. 2014. Intercolony movement of pre-breeding seabirds over oceanic scales: implications of cryptic age-classes for conservation and metapopulation dynamics. *Diversity and Distributions* **20**: 160-168.

Chang, K.H. and H. Doi. 2011. Water resource management, food web and stable isotope. *Water for Future* **44**: 46-51. (in Korean)

Choi, J.Y., G.H. La, K.S. Jeong, S.K. Kim, K.H. Chang and G.J. Joo. 2012. Classification by zooplankton inhabit character and freshwater microbial food web: importance of epiphytic zooplankton as energy source for high-level predator. *Korean Journal of Limnology* **45**: 444-452.

Choi, J.Y., S.K. Kim, S.W. Hong, K.S. Jeong, G.H. La and G.J. Joo. 2013. Zooplankton community distribution and food web structure in small reservoirs: influence of land uses around reservoirs and littoral aquatic plant on zooplankton. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**: 332-342. (in Korean)

Colborne, S.F., S.A. Rush, G. Paterson, T.B. Johnson, B.F. Lantry and A.T. Fisk. 2016. Estimates of lake trout (*Salvelinus namaycush*) diet in Lake Ontario using two and three isotope mixing models. *Journal of Great Lakes Research* **42**: 695-702.

Ekvall, M.K., P. Urrutia-Cordero and L.A. Hansson. 2014. Linking cascading effects of fish predation and zooplankton grazing to reduced cyanobacterial biomass and toxin levels following biomanipulation. *PLoS One* **9**: e112956.

Gal, J.K., M.S. Kim, Y.J. Lee, J. Seo and K.H. Shin. 2012. Foodweb of aquatic ecosystem within the Tamjin River through the determination of carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Korean Journal of Limnology* **45**: 242-251. (in Korean)

Hundey, E.J., S.D. Russell, F.J. Longstaffe and K.A. Moser. 2016. Agriculture causes nitrate fertilization of remote alpine lakes. *Nature Communications* **7**: 10571 doi: 10.1038/ncomms10571.

Inger, R., A. Jackson, A. Parnell and S. Bearhop. 2010. SIAR V4 (Stable Isotope Analysis in R): an ecologist's guide. Available at: http://www.tcd.ie/Zoology/research/research/theoretical/siar/SIAR_For_Ecologist.pdf

Jansen, O.E., L. Michel, G. Lepoint, K. Das, A.S. Couperus and P.J.H. Reijnders. 2013. Diet of harbor porpoises along the Dutch coast: a combined stable isotope and stomach contents approach. *Marine Mammal Science* **29**: E295-E311.

Kang, J.I., J. Kim and S.D. Lee. 2011. Studies on stream ecosystem in the Bukhan River using stable isotopes. *Journal of Wetlands Research* **13**: 515-522. (in Korean)

- Kang, S., B. Choi, Y. Han and K.H. Shin. 2016. Ecological importance of benthic microalgae in the intertidal mud flat of Yeongheung Island; application of stable isotope analysis (SIA). *Korean Journal of Ecology and Environment* **49**: 80-88. (in Korean)
- Kim, J., B. Kim, M. Kim and K. Shin. 2015. Evaluation of organic matter sources of phytoplankton in Paldang Reservoir using stable isotope analysis. *Journal of Korean Society on Water Environment* **31**: 159-165. (in Korean)
- Kim, M.S., J.Y. Hwang, O.S. Kwon and W.S. Lee. 2013. Analytical methodology of stable isotopes ratios: sample pretreatment, analysis and application. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**: 471-487. (in Korean)
- Kim, M.S., W.S. Lee, K. Suresh Kumar, K.H. Shin, W. Robarge, M. Kim and S.R. Lee. 2016. Effects of HCL pretreatment, drying, and storage on the stable isotope ratios of soil and sediment samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **30**: 1567-1575.
- La, G.H., E.J. Han, D.H. Won, J.H. Kim, J.R. Jeong and H.W. Kim. 2015. Life History and morphological responses of *Daphnia similis* against chemical compounds exuded by various cohabiting animals and *Triops longicaudatus* in the rice paddy ecosystem. *Korean Journal of Ecology and Environment* **48**: 272-279.
- Lee, J., J. Kim, Y. Jung and B. Kim. 2010. Isotopic differences among zooplankton taxa and seasonal variation of zooplankton community coexisting with *Microcystis*. *Korean Journal of Limnology* **43**: 1-10. (in Korean)
- Lee, Y.J., B.K. Jeong, Y.S. Shin, S.H. Kim and K.H. Shin. 2013. Determination of the origin of particulate organic matter at the estuary of Youngsan River using stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$). *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**: 175-184. (in Korean)
- Parnell, A.C., R. Inger, S. Bearhop and A.L. Jackson (2010) Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One* **5**: e9672.
- Peterson, B.J. and B. Fry. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 293-320.
- Phillips, D.L., R. Inger, S. Bearhop, A.L. Jackson, J.W. Moore, A.C. Parnell, B.X. Semmens and E.J. Ward. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology* **92**: 823-835.
- R Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. ISBN 3-900051-07-0 [http://www.R-project.org/].
- Sakamoto, M., T. Nagata, J.Y. Ha, S. Kimijima, T. Hanazato and K.H. Chang. 2015. Inducible defenses as factor determining trophic pathways in a food web. *Hydrobiologia* **743**: 15-25.
- Smith, J.A., D. Mazumder, I.M. Suthers and M.D. Taylor. 2013. To fit or not to fit: evaluating stable isotope mixing models using simulated mixing polygons. *Methods in Ecology and Evolution* **4**: 612-618.
- Syväranta, J., P. Hogmander, T. Keskinen, J. Karjalainen and R.I. Jones. 2011. Altered energy flow pathways in a lake ecosystem following manipulation of fish community structure. *Aquatic Sciences* **73**: 79-89.
- Vander Zanden, M.J. and J.B. Rasmussen. 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* **46**: 2061-2066.
- Xue, D., B. De Baets, O. Van Cleemput, C. Hennessy, M. Berglund and P. Boeckx. 2012. Use of a Bayesian isotope mixing model to estimate proportional contributions of multiple nitrate sources in surface water. *Environmental Pollution* **161**: 43-49.
- Yoon, J.D., S.H. Park, K.H. Chang, J.Y. Choi, G.J. Joo, G.S. Nam, J. Yoon and M.H. Jang. 2015. Characteristics of fish fauna in the lower Geum River and identification of trophic guilds using stable isotope analysis. *Korean Journal of Environmental Biology* **33**: 34-44. (in Korean)
- Yu, J., Y. Li, X. Liu, K. Li, F. Chen, R. Gulati and Z. Liu. 2013. The fate of cyanobacterial detritus in the food web of Lake Taihu: a mesocosm study using ^{13}C and ^{15}N labeling. *Hydrobiologia* **710**: 39-46.