

유해조류 *Microcystis aeruginosa*에 대한 혼합영양 편모충 *Poterioochromonas malhamensis*의 성장과 섭식

김 보 라 · 한 명 수

한양대학교 생명과학과

Growth and Grazing of the Mixotrophic Flagellate *Poterioochromonas malhamensis* on the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*

KIM, Bo-Ra · Myung-Soo HAN

Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

ABSTRACT

To understand the ecological characteristics as herbivores of the mixotrophic chrysomonads, which are capable of both photosynthesis and phagotrophy in aquatic system, the grazing activity and growth rates of the mixotrophic chrysomonad, *Poterioochromonas malhamensis* feeding on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* were investigated under different temperatures. To gain more insight into the field conditions, we conducted grazing experiments with *P. malhamensis* and colony forming strain of *M. aeruginosa*(NIER-10010). The isolated flagellate preferred a similar range of water temperature degree as natural condition during the cyanobacterial bloom. Growth rates of the flagellate were highest 1.91 d^{-1} in 25°C . Interestingly, *P. malhamensis* effectively grazed on *M. aeruginosa* with two size fractions(smaller and larger than $30\text{ }\mu\text{m}$) regardless of size. These results may facilitate a better understanding of the ecological role of *Poterioochromonas malhamensis* in particular, as a grazer of cyanobacteria in eutrophic freshwater ecosystem.

Key words : mixotrophic flagellates, *Poterioochromonas malhamensis*, *Microcystis aeruginosa*

서 론

세계적으로 부영양화가 심화된 수계에서 남조 대발생 및 조류 독소의 생성은 생태계 교란이나 건강을 위협하는 수질 오염원이다. 특히 남조 *Microcystis aeruginosa*는 전 세계의 부영양화 수계에서 대발생을 일으키는 대표적인 남조로서 용존산소와 투명도를 현저히 감소시키고, 악취 및 독소를 생성하여 수중생물이나 가축은 물론 사람의 건강까지 위협하며, 결국 수자원 확보를 위한 수질관리에 커다란 장애요소로 세계 많은 나라에서 피해 사례가 보고되고 있다. 따라서 유해남조 *M. aeruginosa*의 대

발생을 제어하기 위한 효과적인 기술 및 방법 개발이 시급히 요구되고 있다. 지금까지 수중 내 이러한 유해 조류 대발생(harmful algal bloom)을 제어하기 위한 직접적인 방법으로 황산구리, 클로린 등과 같은 화학물질을 이용하여 왔으나, 이는 비특이적으로 다른 조류 및 어류 등과 같은 수서동물들에게도 독성을 나타내어 결국 수중 생태계를 파괴시키기 때문에 문제시 되고 있다(Singh *et al.*, 2001). 따라서 보다 생태친화적인 방법의 필요성이 대두되고 있으며, 동일 수계에 서식하고 있는 각종 생물을 이용한 생물학적 제어방법이 최근 국내·외적으로 활발하게 연구되고 있다. 대표적인 생물로는 어류(Northcott *et al.*, 1991), 동물플랑크톤(Hanazato and Yasuno, 1984), 원생동물(Jeong *et al.*, 2005), 박테리아(Manage *et al.*, 2001)등이 있다.

수서 생태계 내에서 중속영양생물(Protist)에 의한 섭식활동은 남조 대발생의 소멸과정에서 중요한 역할을 한다고 알려져 왔다(Caron *et al.*, 1991). 그러나 이러한 중요성에도 불구하고 현장에서 편모충이 유해남조 소멸과정에 미치는 영향은 아직까지 정확하지 않다. 본 연구는 유해 남조의 조류 섭식능이 매우 높은 편모충을 분리·동정하여, 이 편모충의 최적 성장조건을 확립하여, 이들의 생태학적 역할을 규명하였다.

재료 및 방법

1. 천적생물의 분리 및 배양

남조류 *Microcystis*를 섭식하는 천적 생물을 분리하기 위해 2006년 5월 25일 팔당댐 상류인 경안천 광동교 근접부에서 직접 20L plastic bucket으로 현장수를 채수하였으며, microplankton을 제거하기 위해 64 μ m mesh로 걸러 내었다. 이렇게 준비된 시료를 바로 연구실로 가져와 *Microcystis aeruginosa* NIER-10001(국립환경과학원)의 배양액에 2mL씩 넣고, 20 $^{\circ}$ C, 암상태에서 배양하였다. 3~4일 경과 후, 다시 *Microcystis aeruginosa* NIER-10001의 배양액에 이 전 배양액 2mL를 넣고 위와 같은 조건으로 배양하였으며, 이 과정을 여러 번 반복하였다. 이 과정을 통해 *Microcystis aeruginosa*를 먹이 생물로 하여 개체수가 증가한 천적생물을 inverted microscope(Aixotop, Zeiss, Germany) 하에서 Pasteur micropipette으로 순수 분리하였다. 이렇게 분리된 천적생물은 *M. aeruginosa*를 먹이로 주어, 20 $^{\circ}$ C, 12:12 L:D cycle의 조건 하에 유지하였다.

2. 천적생물의 동정

1) 형태학적 연구

천적생물 HYK0605-B2의 형태학적 특징을 확인하기 위하여, 배양중인 시료 1mL를 취해 25% 완충 글루타르알데하이드(buffered glutaraldehyde solution) 용액으로 최종농도 0.5%가 되도록 고정하고, 광학현미경(Axioplan, Zeiss, Germany) 400~1,000배 하에서 검경하였다. 시료 HYK0605-B2의 형태학적 특징을 기술하기 위하여 참고문헌 Patterson and Larsen(1991)등을 참고하였다.

2) 분리된 천적생물의 Genomic DNA 추출

본 실험에 사용할 strain의 DNA 추출을 위해, 30mL의 배양세포를 50mL Falcon 튜브에 넣어 3,000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 농축된 세포는 200 μ L 1X TE buffer 10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA)에 희석하여 -20°C 에서 DNA를 추출하기 전까지 보관하였다. Genomic DNA는 DNeasy Plant mini kit(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 추출하였다.

3) PCR과 염기서열 결정

PCR 프라이머는 Eukaryote의 18S rDNA 염기서열을 이용하여, 안정적으로 보존된 영역에서 T_m 값 55°C , 약 G+C 50% 비율이 되도록 고안하였다(Fig. 1). PCR 반응은 Ki *et al.*(2004)의 방법에 따라 각각 20 μ L씩 실시하였다[1X PCR buffer, ~ 0.1 mg genomic DNA, 0.2 mM dNTPs, 0.5 mM forward-reverse primers, 0.2 Units Taq polymerase (Promega Corp.)]. PCR 반응은 UNO-II Thermoblock (Biometra)를 이용하여 초기 95°C 5분간 DNA를 변성시키고, 이후 95°C 20초 \Rightarrow 52°C 30초 \Rightarrow 72°C 60초를 35회 반복하여 대상 유전자 영역을 증폭하였다. 증폭 반응이 종료되면 추가로 72°C 5분간 유지하여 반응을 종결하였다. 증폭된 PCR 산물은 1% 아가로스 겔에서 전기영동하여 관찰하였다 (Sambrook *et al.*, 1989). DNA 염기서열은 PCR 산물을 직접 이용하여 Ki *et al.*(2004)과 같은 방법으로 실시하였다. 이때 사용한 sequencing primer는 Fig. 1(b)와 같으며, 5'-말단에는 near infrared dye (IRD)가 형광표지되어 있다. DNA 단편분리는 자동유전자분석기(Model LONG READIR 4200, Li-cor, NE)를 이용하여 실시하였다.

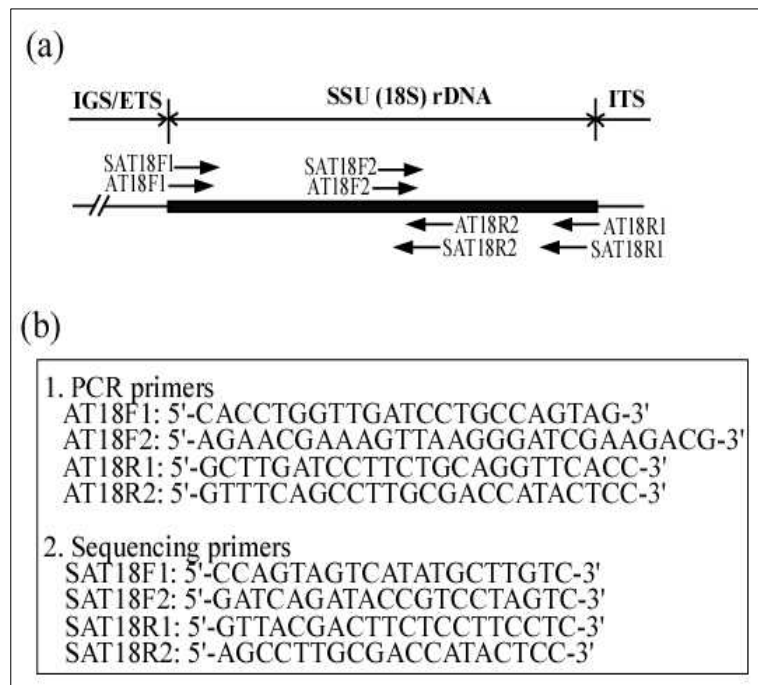


Fig. 1. Nuclear rDNA map showing localities of primers, which amplified nearly complete SSU rDNA in HYFJ0406-B1 (a) and list of primers (b). Darkened boxes indicate the SSU rDNA, and thin lines represent ITS or ETS region, based on the rDNA from *A. tamarense*(HY971028M). The arrows represent the positions of the primers described in this work. Scale=300bp

4) 18S rDNA 염기서열 분석

염기서열 기반 종동정(Sequence-based species diagnostics)을 위해 분석한 염기서열을 GenBank에서 BLAST search를 실시하였다. 유사도가 높은 염기서열 20개를 추출한 후, Clustal W 소프트웨어(자동 설정값)를 이용하여 동일한 염기서열이 되도록 재배치하였다. 이때 변이가 심한 영역은 BioEdit 5.09 (North Carolina State University)를 이용하여 육안으로 교정 및 제거하였다. 재배열된 염기서열을 이용하여 유전적 거리와 염기 유사도를 계산하였다. 계통분석은 PAUP v4.0b10(Swofford, 2002)에서 Neighbor-Joining(Saitou and Nei, 1987) 방법으로 실시하였다.

3. 천적생물의 온도별 최적 성장 조건 실험

분리된 천적생물의 최적 성장 조건을 찾기 위해 다양한 온도와 pH하에서 실험을 수행하였다. 최적 성장 온도를 찾기 위해 300mL 삼각 플라스크에 100mL의 CB media를 넣고 멸균하여 배양액을 준비하였다. 여기에 먹이로서 *Microcystis aeruginosa* NIER-10001을 $1 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ 의 농도로, 분리된 천적생물을 $1 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 의 농도로 접종하여 각기 배양액을 10, 15, 20, 25, 30°C의 조건아래 배양하였다. 모든 실험은 이배수로 이루어졌다. 실험은 5일 동안 이루어졌으며, 24시간마다 1mL씩 취하여 glutaraldehyde(최종농도 0.5%)로 고정하였다.

4. 천적생물의 조류 제어능 규명

1) 조류 배양

수계에서 군체형으로 존재하는 대상생물인 *M. aeruginosa*에 대한 분리된 천적생물의 조류 제어능을 규명하기 위해 국내에서 분리한 *M. aeruginosa* NIER-10010의 1종을 국립환경과학원에서 분양 받아 실험을 수행하였다. 본 연구에서 사용된 *M. aeruginosa* NIER-10010은 배양 중에 군체를 형성하는 종으로 세포의 크기는 $6.18 \mu\text{m}$ ($n=150$), 군체의 크기는 평균 $55.4 \mu\text{m}$ ($10 \sim 202.5 \mu\text{m}$, $n=150$)이다(Fig. 2).

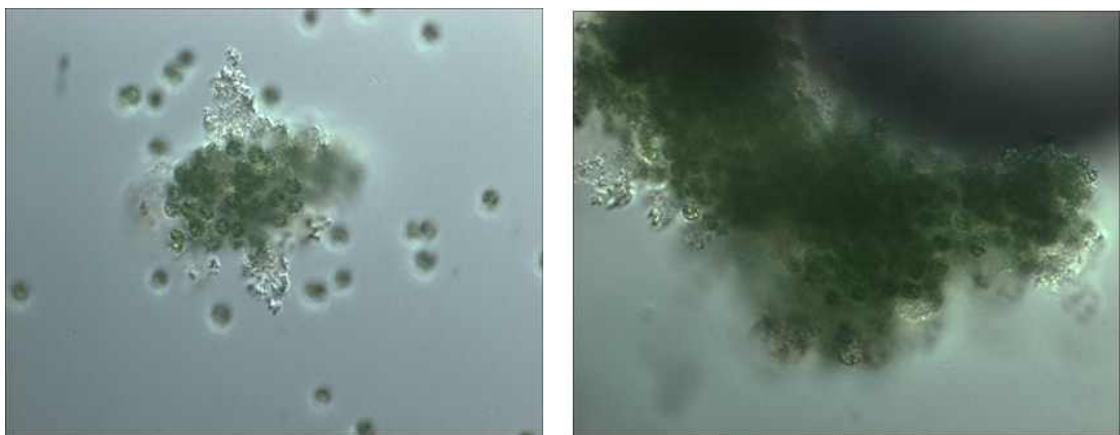


Fig. 2. Photomicrograph of the colony forming *Microcystis aeruginosa* NIER-10010.

Table 1. CB medium (Watanabe *et al.*, 2000)

Chemicals		Content
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O		15 mg
KNO ₃		10 mg
b-Na ₂ glycerophosphate		5 mg
HgSO ₄ · 7H ₂ O		4 mg
Vitamin B ₁₂		0.01 µg
Biotin		0.01 µg
Thiamine HCl		1 µg
Bicine		50 mg
PIV metals		0.3 ml
Distilled water		99.7 ml
PIV metals	FeCl ₃ · 6H ₂ O	19.6 mg/100 ml
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	3.6 mg/100 ml
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2.2 mg/100 ml
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.4 mg/100 ml
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25 mg/100 ml
	Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	100 mg/100 ml

* pH; 9.0

배양은 CB배지 Table 1를 사용하였으며, 25℃, 40~48 µE m⁻² s⁻¹, 12L:12D cycle 조건 하에서 배양하였으며, 실험은 대수 성장기 세포를 이용하였다.

2) 먹이농도 및 조류 제어능 실험

분리된 천적생물의 조류 제어능을 확인하기 위하여 *M. aeruginosa* NIER-10010의 한 종에 대해 현장에서 대발생을 일으키는 평균밀도 (213.2~646.4 µg · L⁻¹, 1×10⁶ cells · mL⁻¹, Nishibe *et al.*, 2002)를 고려하여 먹이로 제공하였다. 이 때 대수성장기 세포들의 군체를 크기별로 30 µm 이하인 것과 30 µm 이상인 것으로 나누어 13,000 rpm으로 20분 동안 원심분리한 후 배지를 제거하였고, 500mL의 Erlenmeyer flask에 300mL의 멸균 현상수와 함께 초기농도가 381.81 µg · L⁻¹ (1×10⁶ cells · mL⁻¹)가 되도록 접종하였다. 천적생물의 농도는 1×10⁴ cells · mL⁻¹의 농도로 접종하였고, 먹이로 공급된 조류와 천적생물의 개체수 변화를 관찰하기 위하여 12시간 간격으로 5 mL씩 배양액을 취하여 25% 완충 글루타르알데하이드(buffered glutaraldehyde solution) 용액으로 1%의 최종농도가 되도록 고정하였다. 군체형으로 존재하는 조류의 개체수 관찰을 용이하게 하기 위해 초음파 분쇄와 boiling method (Joung *et al.*, 2006)를 병행하여 혈구계수기(hemocytometer)로 광학현미경(Axioplan, Zeiss, Germany) 하에서 계수하였으며, 천적생물은 primulin(Caron, 1983)을 거쳐 형광현미경(CKX31, Olympus, Japan) 하에서 계수하였다.

결 과

1. 천적생물의 동정

1) 형태학적 특징

분리된 천적생물의 광학현미경 관찰 결과, 세포는 구형이고, 단일세포이거나 군체를 형성하며 세포의 크기는 직경 $5\sim 15\mu\text{m}$ 로 먹이를 섭식할 경우 세포의 크기 변화가 관찰된다. 정단부에 길이가 다른 2개의 편모를 가지며, 전방에 위치한 편모(anterior flagellum)의 경우 후방에 위치한 편모(posterior flagellum)보다 길이가 긴 특징을 가지고 있다(Fig. 3). 본 종은 형태적 특징으로 보아 *Poterioochromonas malhamensis*로 동정하였다.

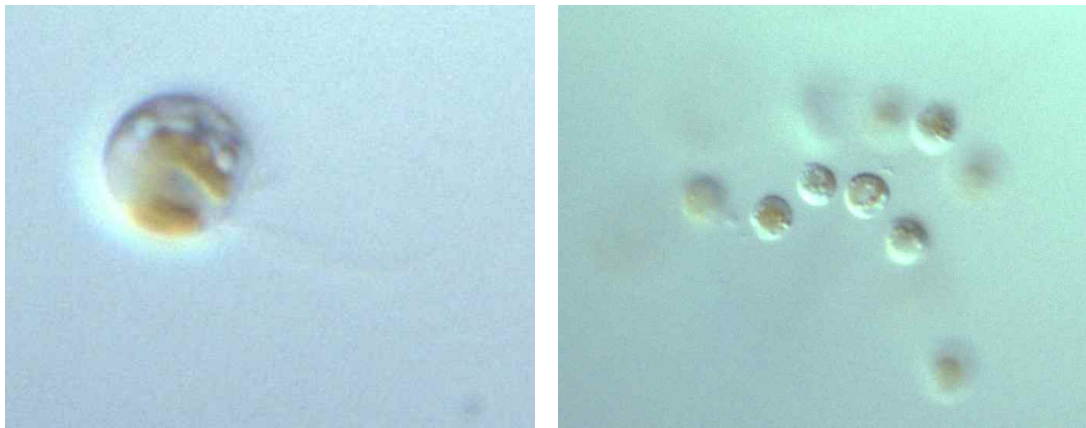


Fig. 3. The photo of unicellular form (left) and colony form (right) of *Poterioochromonas malhamensis*

2) 분자생물학적 특징

분리된 천적생물 HYK0605-B2의 동정을 위해 18S rDNA의 염기서열분석 방법을 이용하였으며, automated DNA sequencer로 얻어진 염기서열을 GeneBank의 database와 비교 분석하고 계통분류학적 분석을 통해 계통수 분석을 실시한 결과 *Poterioochromonas malhamensis*(GeneBank accession no. AB023070)와 99%로 가장 높은 유연관계를 보였다(Fig. 4). 따라서 형태학적, 분자생물학적 특징을 바탕으로 본 연구에서 분리한 천적생물 HYK0605-B2는 *Poterioochromonas malhamensis* HYK0605-B2로 최종 명명하였다.

2. 천적생물의 온도별 최적 성장 조건 실험

본 연구에서는 다양한 온도에 따라 *P. malhamensis*의 성장은 다른 양상을 보였다. 온도가 *P. malhamensis*의 성장에 미치는 영향을 살펴보면, 대수 성장기 동안 가장 높은 성장을 보인 온도는 25°C 로 순간성장률(μ)은 1.91d^{-1} 로 관찰되었고, 가장 낮은 성장을 보인 온도는 10°C 로 대수 성장기 동안 순간성장률(μ)이 0.24d^{-1} 로 관찰되었다. 15°C 와 20°C , 30°C 에서는 각각 순간성장률이 0.99d^{-1} , 1.85d^{-1} , 1.32d^{-1}

DNA ladder

AB023070	AGCCATGCATGTCTAAGTATAAAACAAC	TTTATACGTGAAACTGCGAATGGCTCATTATAT
HYK0605-B2	
AB023070	CAGTTATAGTTTATTTGATGGTCATTGCTACTTGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAA	
HYK0605-B2	
AB023070	TACATGCATAAAACCCTGACTTCTGGAAAGGGTGTACTTATTAGATGGAAACCAATGCGG	
HYK0605-B2	
AB023070	GGCAACCCGGATACTGGTGATTCATAATAATTTTCGGATCGATCGTAGGATCGATGCATC	
HYK0605-B2	
AB023070	ATTCAAGTTTCTGCCCTATCAGCTTTGGATGGTAGGGTATTGGCCTACCATGGCATTAAAC	
HYK0605-B2	
AB023070	GGGTAACGAGAAATTAGGGTTCGATTCCGAGAGGGAGCCTGAGAAATGGCTACCACATC	
HYK0605-B2	
AB023070	CAAGGAAGGCAGCAGGCGCGTAAATTACCCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACAATAA	
HYK0605-B2	
AB023070	ATAACAATGTCGGGCTTTTCTAAGTCTGACAATTGGAATGAGAACAATTTAAATCCCTTA	
HYK0605-B2	
AB023070	TCGAGGATCAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAATA	
HYK0605-B2	
AB023070	GCGTATACTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCTGGTCTCGAGACGC	
HYK0605-B2	
AB023070	GGCCAGCCTCAAGGGGCGATGCTGTGGATCGGGACCATCCTCGAGGAGAACATATCTGTC	
HYK0605-B2	AT.....
AB023070	ATTGAGTTGATGGGTATGGGACCCTCGTCATTTACTGTGAGCAA	
HYK0605-B2	

Fig. 4. An alignment of two SSU rDNA sequences from GenBank(Accession no. AB023070, *Poteroochromonas malhamensis*, 1737 bp) and analyzed here (strain HYK0605-B1, 1738 bp). Period (.) denotes a base identical to sequence located in the top line of each alignment. Sequence similarity between two sequences was recorded with 99%.

로 관찰되었다(Fig. 5). 현장에서 유해조류 *Microcystis aeruginosa*가 대발생을 일으키는 시기를 고려한다면 (수온 20~30℃, Nakano *et al.*, 1998), 분리한 천적생물의 최적성장 수온은 남조대 발생 시기의 평균 수온과 유사한 것으로 나타났다.

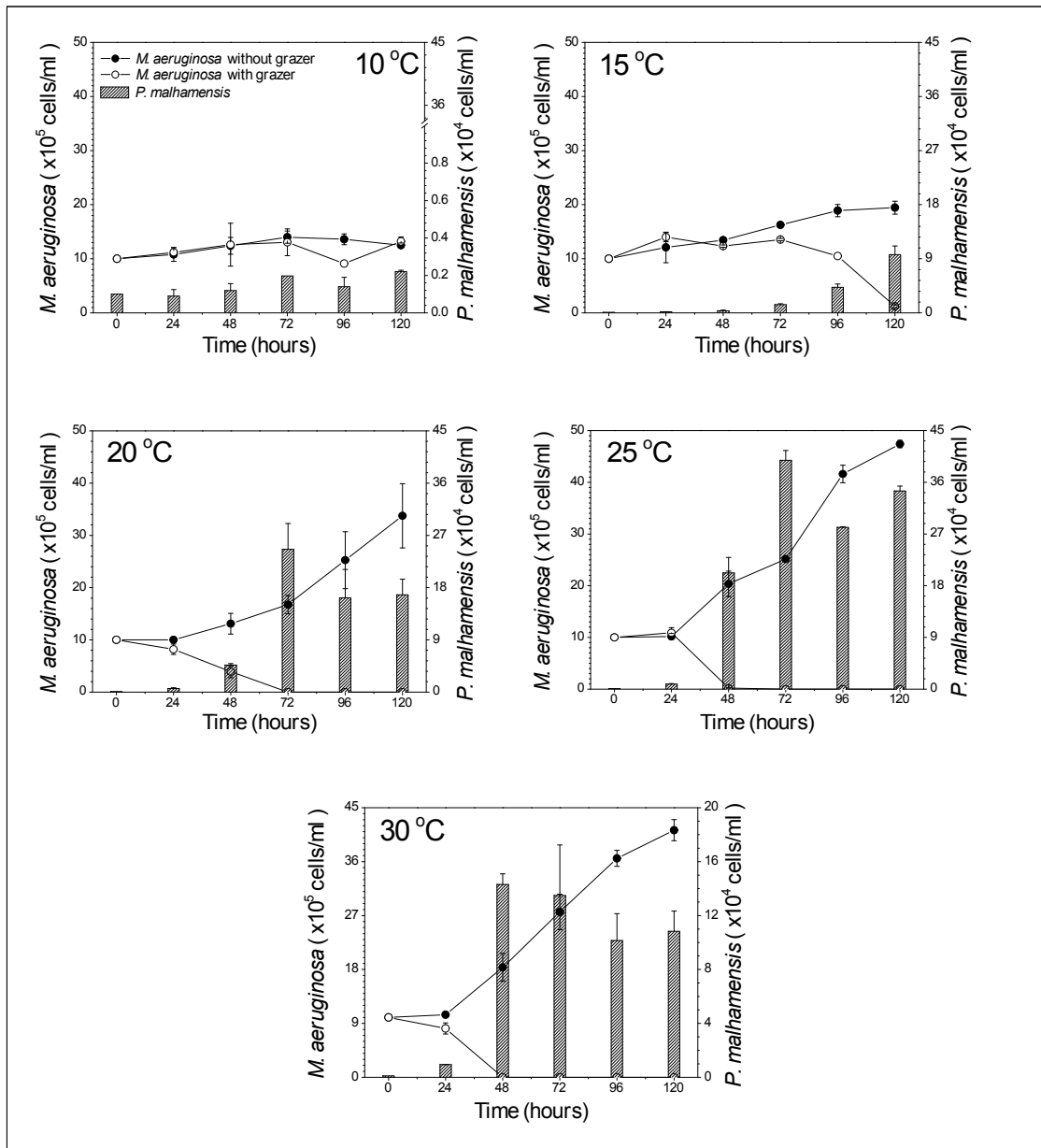


Fig. 5. Changes of *P. malhamensis* and *M. aeruginosa* cell densities according to several temperature conditions.

3. 천적생물의 조류 제어능 규명

분리된 천적생물의 조류 제어능을 확인하기 위하여 *M. aeruginosa* NIER-10010의 한 종에 대해 현장에서 대발생을 일으키는 평균밀도($213.2 \sim 646.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $1 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$)를 고려하여 대수성장기 세포들의 군체를 크기 별로 30 μm 이하인 것과 30 μm 이상인 것으로 먹이를 공급한 후, 섭식 여부를 관찰하였다.

30 μm 이하의 군체를 먹이로 공급하였을 때, *P. malhamensis*의 성장은 배양 72시간까지 2.5×10^5 cells $\cdot \text{mL}^{-1}$ 로 개체수가 계속적으로 증가하였다. 이 후 배양 96 시간에는 1.4×10^5 cells $\cdot \text{mL}^{-1}$ 로 감소하다가 다시 서서히 증가하는 양상을 보였다. 이 때 조류 섭식능은 84.2%로 섭식에 의한 조류 개체수의 감소가 관찰되었다(Fig. 6). 30 μm 이상의 군체를 먹이로 공급하였을 때, *P. malhamensis*는 배양 48 시간까지 1.7×10^5 cells $\cdot \text{mL}^{-1}$ 로 개체수가 서서히 증가하다가 이후 큰 변화를 보이지 않았다. 이 때 조류 섭식능은 89.9%로 30 μm 이하의 군체를 먹이로 주었을 때와 유사하게 섭식에 의한 조류 개체수의 감소가 관찰되었다(Fig. 7).

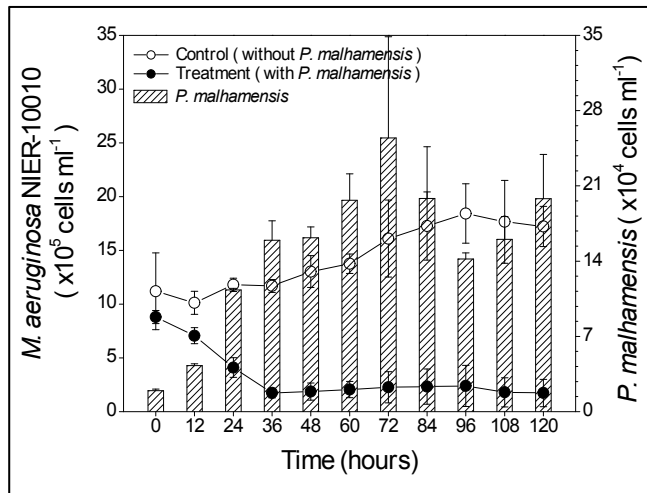


Fig. 6. Growth of *Poterioochromonas malhamensis* feeding on *Microcystis aeruginosa* NIER-10010(size fraction <30 μm) and changes in cell density of prey as a function of incubation time.

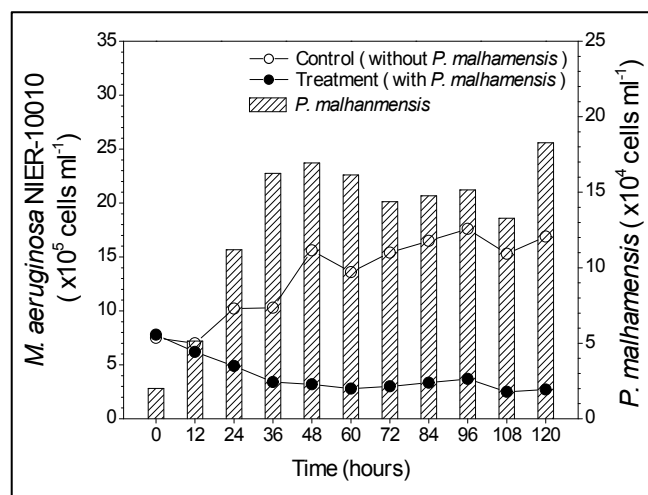


Fig. 7. Growth of *Poterioochromonas malhamensis* feeding on *Microcystis aeruginosa* NIER-10010 (size fraction >30 μm) and changes in cell density of prey as a function of incubation time.

고 찰

국내 담수역은 부영양화로 인한 미세 조류의 대발생으로 상습적으로 녹조현상이 야기되고 있다. 이러한 미세 조류의 대발생을 억제하는 방법은 다방면으로 제시되고 있으나, 최근에는 부작용이 가장 적은 자연 친화적 접근법이 강조되고 있다. 따라서, 미세 조류의 천적 생물을 이용한 이들의 대발생을 완화시키는 방법은 매우 효과적이라 할 수 있다. 국내 연안에서 적조생물의 천적생물로 섬모충 플랑크톤의 일종인 *Strombidinopsis*를 이용하는 연구가 이루어진 바 있으며(Jeong *et al.*, 1999), 본 연구실에서 또한 국내 담수역에서 유해조류의 천적생물로 담수산 섬모충 *Stentor roeselii*(가, 2005)와 편모충 *Diphyllia rotans*(김, 2005)에 대한 연구가 이루어졌다. 본 연구는 이 같은 선례를 바탕으로 국내 담수역으로부터 효과적으로 활용할 수 있는 천적생물을 분리 배양하여 이들의 천적 기능을 가늠하고자 하였다.

본 연구에서 분리된 천적생물인 *Poterioochromonas malhamensis*는 담수역에 분포하는 혼합영양 편모충(mixotrophic flagellates)으로서 광합성을 통한 자가영양뿐만 아니라 박테리아와 조류를 섭식하는 것으로 알려져 있다(Zhang and Watanabe, 2001). Zhang *et al.*(1996)의 연구 결과에 따르면 *P. malhamensis*는 남조 *Synechococcus*와 *Microcystis*, 규조 *Achnanthes*, 녹조 *Chlorella*와 *Carteria* 등의 조류를 섭식할 수 있는 것으로 관찰되었으며, 심지어 자신의 고유 세포 크기보다 2~3배 큰 조류를 섭식하여 먹이를 섭식할 때 세포의 크기가 정상적인 세포의 크기보다 10~30배 증가하는 것을 보고하였다. 또한, Ou *et al.* (2005)은 *Poterioochromonas* sp.가 수중 내 microcystin의 농도 증가에 따라 높은 성장을 보였으며, 이들은 microcystin 분해능을 갖는 것으로 보고하였다. 혼합 영양형 편모충이 남조 *Microcystis* (또는 microcystin)를 어떻게 먹이원으로 이용하는 지에 대한 정확한 기작은 밝혀지지 않았으나 본 연구에서 편모충과 군체가 아닌 단독형 세포뿐만 아니라 군체형의 세포를 동시에 넣었을 때 편모충의 높은 성장을 유도하였다. 따라서 남조가 분비하는 독소와 군체 형성으로 인한 생물학적 제어의 어려움을 극복할 수 있는 가능성을 추론해 볼 수 있으나, 편모충의 성장이 먹이의 크기에 따른 선택성 및 섭식능에 따라 결정되는지, 아니면 크기와 조류 독소가 관련된 더욱 복합적인 요인에 의해 결정되는지 실내 및 현장에서의 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

본 연구는 생물학적인 소재를 이용하여, 문제가 되는 유해 조류의 대 발생을 제어할 수 있다는 데 큰 의의를 두고 있다. 이것은 Microbial loops라는 생태학의 학문적 의미에서도 큰 비중을 둘 수 있으나, 무엇보다 현장 적용을 통해 실제적인 환경 문제 해결이라는 것에 초점을 맞추어야 할 것이다. 따라서 실험실의 제한된 곳에서의 실험뿐만 아니라 개방 생태계의 현장 실험이 반드시 이루어져야 한다. 그러나 실제 생태계에서는 여러 지질학적, 생화학적, 생물적 제한 요인에 의해 적용에 있어 많은 어려움이 예상되므로 Mesocosm과 같은 대형계 실험이 여러 번 이루어져야 할 것이며, 이를 통해 발생하는 여러 문제점을 인식하고, 해결한다면 앞으로 친환경적인 수질 개선에 큰 효과를 기대할 수 있을 것이다.

인용문헌

가순규. 2005. 유해 조류에 대한 담수산 섬모충 *Stentor roeselii*의 성장과 섭식. 한양대학교 석사학위 논문.

- 김보라. 2005. 유해 남조 *Microcystis aeruginosa*에 대한 종속영양 편모충 *Diphylllea rotans*의 성장과 섭식. 한양대학교 석사학위 논문.
- Caron, D. A., E. L. Lim, G. Miceli, J. B. Waterbury and F. W. Valois. 1991. Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community. Mar. Ecol. Prog. Ser. 76:205-217.
- Hanazato, T. and M. Yasuno. 1984. Growth, reproduction and assimilation of *Moina macropoda* fed on *Microcystis* and/or *Chlorella*. Jpn. J. Ecol. 34:195-202.
- Jeong, H. J., J. H. Shim, C. W. Lee, J. S. Kim and S. M. Koh. 1999. Growth and grazing rates of the marine planktonic ciliate *Strombidinopsis* sp. on red-tide and toxic dinoflagellate. J. Eukaryot. Microbiol. 46:69-76.
- Jeong, H. J., J. S. Kim, J. H. Kim, S. T. Kim, K. A. Seong, T. H. Kim, J. Y. Song and S. K. Kim. 2005. Feeding and grazing impact of the newly described heterotrophic dinoflagellate *Stoeckeria algicida* on the harmful alga *Heterosigma akashiwo*. Mar. Ecol. Ser. 295:69-79.
- Joung, S. H., C. J. Kim, C. Y. Ahn, K. Y. Jang, S. M. Boo and H. M. Oh. 2006. Simple method for a cell count of the colonial cyanobacterium, *Microcystis* sp.. J. Microbiol. 44(5):562-565.
- Ki, J. S., G. Y. Jang, and M. S. Han. 2004. Integrated method for single-cell DNA extraction, PCR amplification, and sequencing of ribosomal DNA from harmful dinoflagellates *Cochlodinium polykrioides* and *Alexandrium catenella*. Mar. Biotechnol. 6:587-59.
- Manage, P. M., Z. Kawabata and S. Nakano. 2001. Dynamics of cyanophage-like and algicidal bacteria causing *Microcystis aeruginosa* mortality. Limnology 2:73-78.
- Mischke, U. 1994. Influence of food quality and quantity on ingestion and growth rates of three omnivorous heterotrophic flagellates. Mar. Microb. Food Webs. 8:125-143.
- Nakano, S., N. Ishii, P. M. Manage, and Z. Kawabata, 1998. Trophic roles of heterotrophic nanoflagellates and ciliates among planktonic organisms in a hypereutrophic pond. Aquat. Microb. Ecol. 16:151-161.
- Nishibe, Y., Z. Kawabata and S. Nakano. 2002. Grazing on *Microcystis aeruginosa* by the heterotrophic flagellate *Collodictyon triciliatum* in a hypertrophic pond. Aquat. Microb. Ecol. 29:173-179.
- Northcott, M. E., M. C. M. Beveridge and L. G. Ross. 1991. A laboratory investigation of the filtration and ingestion rates of the tilapia *Oreochromis niloticus* feeding on two species of blue-green algae. Environ. Biol. Fishes. 31:75-85.
- Ou, D., L. Song, N. Gan and W. Chen. 2005. Effects of microcystins on and toxin degradation by *Poteroochromonas* sp.. Environ. Toxicol. 20:373-380.
- Patterson, D. J. and J. Larsen. 1991. The biology of free-living heterotrophic flagellates. Oxford University Press. 45:427-476.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic tree. Mol. Biol. Evol. 4:406-425.
- Singh, D. P., M. B. Tyagi, A. Kumar, J. K. Thakur and A. Kumar. 2001. Antialgal activity of a hepatotoxin

- producing cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. World J. Microbiol. Biotechnol. 17:15-22.
- Sworfford, D. L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony(* and other methods) 4.0 Beta. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Zhang, X., M. M. Watanabe and I. Inouye. 1996. Light and electron microscopy of grazing by *Poterioochromonas malhamensis*(chrysophyceae) on a range of phytoplankton taxa. J. Phycol. 32:37-46.
- Zhang, X. and M. M. Watanabe. 2001. Grazing and growth of the mixotrophic chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis*(chrysophyceae) feeding on algae. J. Phycol. 37:738-743.

요 약

본 연구는 부영양화 수역에서 유해조류 대발생의 환경 친화적, 생태 공학적 제어를 목적으로 유해 남조인 *Microcystis aeruginosa*를 대상으로 하여 천적생물을 분리, 배양하고 이들의 섭식 특성과 성장 특성을 조사하였다. 분리된 천적생물로는 *Poterioochromonas malhamensis*로 *Microcystis*의 최적 성장 조건과 유사한 25°C, pH 6~9인 조건에서 가장 높은 성장을 보였다. 또한 군체형의 세포를 크기 별로 공급하였을 때 각각 84.2% (<30µm), 89.9% (>30µm)의 조류 섭식능이 관찰되었다. 본 연구는 환경 친화적 미소생물소재를 이용하여 유해조류의 대발생을 제어할 수 있다는 점에 큰 의의를 둘 수 있으나, 실험실의 제한된 곳이 아닌 개방 생태계의 현장 적용을 통해 실제적인 환경 문제 해결에 초점을 맞추어야 할 것이다.

검색어 : 유해조류 대발생, *Poterioochromonas malhamensis*, 편모충