

한국연안 산 구조 *Skeletonema costatum*의 조도에 대한 생태적지위 성분의 종내 변이*

이원호 · 심재형¹

군산대학교 자연과학대학 해양학과

¹서울대학교 자연과학대학 해양학과

Intraspecific Variation in the Light Intensity Niche Component of the Diatom *Skeletonema Costatum* from Korean Coastal Waters*

WONHO YIH AND JAE HYUNG SHIM¹

Department of Oceanography, Kunsan National University, Kunsan, 573-701 KOREA

¹Department of Oceanography, Seoul National University, Seoul, 151-742 KOREA

Final biomass yields (peak optical density) and growth rates (divisions/day) of seven clones of *Skeletonema costatum* from Korean coastal waters were measured to understand their intraspecific variations in the light intensity niche component under 25°C condition. Daily growth rates of 6 out of 7 *S. costatum* clones were maximum at 6000 lux while that of YS4, a neritic clone, was maximum at 9000 lux. The final biomass yields of 4 out of the 7 *S. costatum* clones were maximum at the lowest light intensity of 2000 lux. Minimum final biomass yields were found at 9000 lux in all the *S. costatum* clones other than an estuarine clone, HDC9. The intraspecific variations of the mean growth rate and mean final biomass yield under each of the three different light intensities in terms of the coefficient of variation were not greater than 10% in any of the 7 *S. costatum* clones.

25°C의 수온환경에서 조도에 대한 생태적지위 성분의 종내 변이성을 파악하기 위해, 한국연안 산 구조인 *Skeletonema costatum* 클론 7종류의 최종생물량 (흡광도 최대치)과 일일성장률 (일일 분열 횟수)을 측정하였다. 7가지 *S. costatum* 클론 중 6종류의 최대성장률이 적용한 중간 조도인 6000 lux에서 가장 높았고, 연해역에서 분리된 나머지 한 종류인 YS4는 9000 lux에서 최대치를 나타내었다. 적용한 최저 조도인 2000 lux에서 4종류의 *S. costatum* 클론들이 최종생물량 최대치를 기록하였다. 하구역에서 분리한 클론인 HDC9 한 종류를 제외한 모든 *S. costatum* 클론들은 9000 lux에서 가장 낮은 최종생물량 값을 나타내었다. 세 가지 조도 각각에서 구한 측정치의 변동계수로써 표시한 7가지 *S. costatum* 클론들의 평균 성장률 및 평균 최종생물량의 종내 변이도는 모두 10% 이내였다.

서 론

해양 식물플랑크톤의 생리생태학적 연구를 위한

최하위 분류 등급은 대체로 종 수준이다(McGowan, 1971). 따라서, 실제 현장에서 채집된 시료 가운데 동일한 종에 속하는 다양한 클론(유전자형이 동일한

*이 논문을 위한 연구는 1994년도 한국과학재단 핵심전문연구지원에(941-0400-017-2) 및 1994년도 교육부 기초과학연구소 학술연구조성비(제목: 황해 연안·연근해역의 기초해양학적 연구, 과제번호: BSRI-94-5409) 등의 일부지원에 의하여 수행되었음.

개체들의 모임)들의 특성도 동일한 것으로 가정하는 경우가 많다. 그러나 여러 종류의 생물군 가운데 동일한 종내의 클론들 간에도 유전적인 변이가 있음이 오래 전부터 밝혀지고 있으며 (Haldane, 1946; Jain and Bradshaw, 1966), 식물플랑크톤의 경우에도 개체군 내의 변화와 개체군간의 분화가 있다는 보고가 이어지고 있다 (Conte *et al.*, 1995; McQuoid and Hobson, 1995; Brand, 1982, 1981; Brand *et al.*, 1981; Murphy and Guillard, 1976; Guillard and Ryther, 1962). 식물플랑크톤에 대한 소수의 관련 연구 성과를 종합한 결과, 개체군 내의 변화는 대체로 그 폭이 그리 크지 않아서 클론 시료 하나가 그 개체군 전체를 대표한다고 볼 수 있는 정도인 것으로 보고된 바 있다 (Brand, 1991). 그러나 같은 종에 속한다 하더라도 시간이나 공간이 떨어져 있는 개체군 간의 분화는 큰 경우가 많아, 어느 클론 하나로 그 종을 대표한다고 볼 수 없게 되었다 (Brand, 1991). 본 연구에서는 공간적으로나 환경적으로 매우 근사한 서해 연안역 및 진해만에서 구한 *Skeletonema costatum* 클론들 간에 어느 정도의 변이가 있는지를 파악하고자 하였다. 즉, 25°C의 수온 환경에서 2000, 6000 및 9000 lux 등의 세 등급 조도를 대상으로 클론배양체들의 최대성장률(일일 분열 회수) 및 최종생물량(665 nm 파장광의 흡광도 최대치)을 정량 측정하고, 이들의 종내 변이에 대하여 논하였다.

재료 및 방법

종 수준 이하에서 특성의 차이를 나타내는 식물플랑크톤 세포들의 특성연구를 위해서는, 연구 재료로서 순수분리된 클론배양체가 필요하다. 군산대학교 해양부유식물 연구실에서 식물플랑크톤 클론배양체 확보사업을 1992년 3월에 시작한 이래 (Yih, 1993),

현재 한국 주변해역에서 순수분리한 식물플랑크톤 클론배양체가 110 여 종류에 달한다. 이들은 단세포 순수분리 과정을 거쳐 (Guillard, 1973), 부영양 배양액 내에서 유지되고 있다. 이 가운데 서해 연안역의 연중 주요 우점종에 속하는 *S. costatum* 클론배양체 7종류를 (Table 1) 대상으로 본 연구를 수행하였다. 배양액 제조를 위한 기반해수는 1992년 7월 서해 소청도 부근 해역에서 (36° 10.8' N, 126° 09.2' E) 채수하였다 (Yih *et al.*, 1994; Yih, 1993). 기반해수와 영양염 모액은 각 종류 별로 고압멸균 처리한 후에 사용하였다. 염분 32‰인 기반해수에 영양염 모액을 첨가하여, 10⁻⁴ M NaNO₃, 10⁻⁵ M NH₄Cl, 10⁻⁵ M NaH₂PO₄, 10⁻⁴ M Na₂SiO₃, 10⁻⁵ M EDTA, 10⁻⁶ M Fe-EDTA, 10⁻⁷ M ZnSO₄, 10⁻⁷ M MnSO₄, 10⁻⁹ M CuSO₄, 10⁻⁶ M CoSO₄, 10⁻⁹ M biotin, 10⁻⁷ M thiamine, and 10⁻⁸ M vitamin B₁₂ 등의 최종농도로 배양액을 조성하였다 (Brand, 1990). 실험에 쓰인 배양관은 고압멸균 용 두껍이 포함된 20x150 mm 규격의 유리관 제품으로 (Sigma, USA). 매번 다음의 청결과정을 거친 후 사용하였다. 즉, 세제 세척 후 0.1% 염산수로 씻고 4~5회 증류수로 행군 다음, 최종적으로 멸균된 기반해수로 씻는다. 전체 실험 기간 중 25°C의 일정한 수온 하에서, 백색 형광등으로 2000, 6000 및 9000 lux의 조도를 12:12의 명암주기로 적용하여 배양실험을 실시하였다. 세대간 배양체들의 성장특성을 일정하게 유지시키기 위해, 이전 세대의 흡광도 최대치를 확인하는 즉시, 새 배양액에 이전 세대의 배양체 0.05 ml 씩을 분양하여 다음 세대를 지속시켰다. 정밀한 측정치를 얻기 위하여, 각각의 실험 조건마다 처음의 2~3세대 순응기간을 거치고 난 다음의 세대부터 3~6세대를 측정대상으로 삼았다. 또한 실험오차를 최소화하여 자료의 신뢰도를 높이기 위해, 매 세대마다 24가지 실험 조건 (8개 클론×3등급 조도) 별로 각기 5조의

Table 1. The origin of the clonal cultures.

clone	species	location	date	isolator
KES10	<i>Skeletonema costatum</i>	Estuarine Weir of Kum River	06/02/94	W. Yih
H17	<i>Skeletonema costatum</i>	Estuarine Weir of Kum River	06/02/94	G.Y. Hahn
NC-37	<i>Skeletonema costatum</i>	Tidal pool, Naecho-Do, Kunsan	07/20/93	W. Yih
HDC9	<i>Skeletonema costatum</i>	inner Daechon Harbour	08/12/94	G.Y. Hahn
BRS1	<i>Skeletonema costatum</i>	near Boryong Thermal Power Plant	05/17/94	W. Yih
J9	<i>Skeletonema costatum</i>	inner Jinhae Harbour	07/04/93	W. Yih
YS4	<i>Skeletonema costatum</i>	off Tae Ahn peninsula	02/19/94	W. Yih

Table 2. The mean maximal growth rate (divisions/day) of each clone with its 95% confidential interval and coefficient of variation among replicate measurements.

clone	light (k lux)	mean maximal growth rate	95% confidence interval	*C.V. (%)	number of replicates
KES10	2	0.64	0.592-0.685	17.8	23
KES10	6	0.73	0.693-0.768	13.1	25
KES10	9	0.61	0.568-0.646	16.4	25
H17	2	0.70	0.665-0.731	12.2	25
H17	6	0.78	0.729-0.824	15.6	25
H17	9	0.71	0.675-0.745	12.7	25
NC37	2	0.62	0.574-0.674	16.9	17
NC37	6	0.73	0.693-0.772	13.6	25
NC37	9	0.66	0.617-0.695	14.7	23
HDC9	2	0.64	0.600-0.671	14.2	25
HDC9	6	0.70	0.656-0.741	14.9	23
HDC9	9	0.66	0.626-0.703	14.8	25
BRS1	2	0.69	0.643-0.742	18.1	25
BRS1	6	0.76	0.718-0.796	13.1	25
BRS1	9	0.72	0.687-0.762	13.2	25
J9	2	0.71	0.657-0.754	17.5	25
J9	6	0.77	0.735-0.810	12.5	25
J9	9	0.73	0.688-0.768	14.1	25
YS4	2	0.66	0.616-0.700	16.3	25
YS4	6	0.74	0.710-0.776	11.2	25
YS4	9	0.78	0.732-0.826	15.5	25

*C.V.(%) means the coefficient of variation in percentage.

복수 배양관을 유지하고, 이들 전체에 대해 일별 측정을 실시하였다. 매일 동일한 시각에 자외선/가시광선 분광광도계를 이용하여 배양관내 배양체의 665 nm 파장광에 대한 흡광도를 측정하고, 이를 근거로 성장률과 생물량을 파악하였다.

결과 및 토의

Table 2에 3가지 조도 각각에서 클론별 최대성장률의 평균, 평균의 95% 신뢰구간, 최대성장률의 변동계수 및 실험 횟수 등을 나타내었다. 반복 실험간의 편차를 나타내는 *S. costatum* 클론 최대성장률의 변동계수는 전체 실험을 통하여 11~18% 범위로 평균 15.6%였다(Table 2). 실험대상 *S. costatum* 클론들은 2000, 6000 및 9000 lux 등의 전체 조도구간에서 0.61~0.78 범위의 평균 최대성장률을 나타내었다(Table 2). 적용한 3가지 조도 각각에서 평균 최대성장률의 *S. costatum* 클론간의 종내 변이도를(평균치간의 변동계수) 계산한 결과 8% 이내였고, 환경적으로 다소 구별되는 특징을 띠는 연해역과(태안반도

외해역의 50 m 수심 수역) 남해안의 진해만에서 분리한 두 종류를(YS4 및 J9) 제외한 나머지 5종류 클론간의 종내 변이도는 6.5% 미만으로 더욱 낮아, 제외된 2 종류와 나머지 5종류 간에 다소 분화의 가능성이 있음을 시사하였다(Brand, 1982). 연해역에서 분리한 YS4 한 종류를 제외한 6종류의 *S. costatum* 클론들의 조도 변화에 따른 평균 최대성장률 변화 경향은 대체로 유사하였다. 즉, 2000 lux나 9000 lux의 조건에 비해 적용한 중간 조도인 6000 lux에서 월등히 높은 최대값을 나타내었다(Fig. 1의 상단). 이와는 대조적으로 YS4는 조도경사에 거의 직선적으로 비례하는 성장률 변화를 보였다(Fig. 1의 하단). 수심 50미터의 연해역 표층 기원의(Table 1) YS4는 9000 lux의 조도에서도 광저해를 받지 않는다. 반면, 보다 수심이 낮고 해수의 탁도가 심한 환경에서(Choi and Shim, 1986) 분리된 나머지 6종류 클론들은 9000 lux에서 현저한 광저해를 받음을 알게되었다. 이 결과는 인접해역의 같은 종이라 하더라도 개체군 간 또는 클론 간에 식물플랑크톤의 조도변화에 대한 반응에 있어 측정할 만한 종내 변이가 있음을 예증한

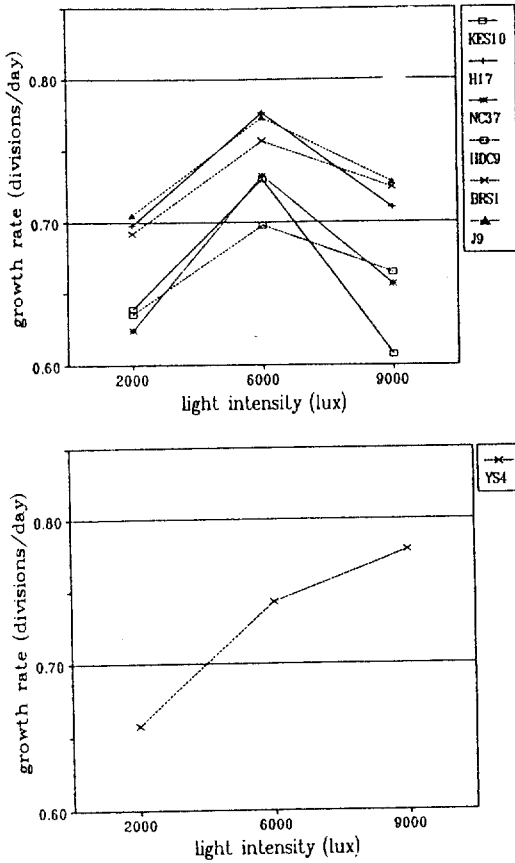


Fig. 1. The mean maximal growth rates of the seven *Skeletonema costatum* clones at 2000, 6000 and 9000 lux under 25°C. Refer Table 2 for the statistics of the original measurements.

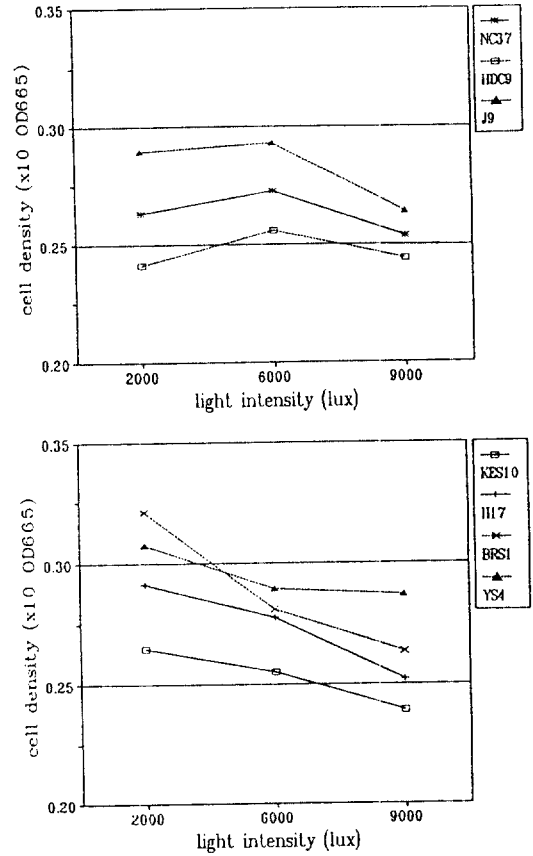


Fig. 2. The mean final biomass yields of the seven *Skeletonema costatum* clones at 2000, 6000 and 9000 lux under 25°C. Refer Table 3 for the statistics of the original measurements.

다(Brand, 1991).

Table 3에 3등급의 조도 각각에서 클론별 최종생물량의 (665 nm에서 측정된 흡광도의 10배 값으로 표시함) 평균, 평균의 95% 신뢰구간, 평균의 변동계수 및 실험 횟수 등을 나타내었다. 반복 실험간의 편차를 나타내는 *S. costatum* 클론 최종생물량의 변동계수는 전체 실험을 통하여 4~10% 범위로 평균 8.0%였다(Table 2). 실험대상 *S. costatum* 클론들은 2000, 6000 및 9000 lux 등의 전체 조도 구간에서 0.239~0.321 범위의 평균 최종생물량을 나타내었다(Table 3). 적용한 3가지 조도 각각에서 평균 최종생물량의 *S. costatum* 클론간의 종내 변이도를(평균치간의 변동계수) 계산한 결과 10% 이내의 값을 나타내었다. 금강 하구역 클론인 HDC9를 제외한 나머지

전체의 *S. costatum* 클론들은 적용한 최고조도인 9000 lux에서 최저의 최종생물량을 기록하였다(Fig. 2). 조도 변화에 따른 *S. costatum* 클론들의 평균 최종생물량 변화 경향을 크게 두가지 유형으로 구분되었다. 즉, 2000 lux 및 6000 lux에서 서로 비슷한 수준의 최종생물량을 기록한 종류와 (Fig 2의 상단) 2000 lux에서 월등히 높은 최종생물량을 기록한 종류의 (Fig. 2의 하단) 두 유형이 그것이다. 이 결과 역시 실험 대상 클론들 간에 조도에 따른 영양염 이용의 효율성에 있어 측정할 만한 종내 변이가 있음을 예측한다 (Brand, 1991; Brand and Guillard, 1982).

중 수준 이하의 유전자형 집단과 환경요인과의 관계를 다룬 기존의 연구들 중에는, 매우 정교한 실험을 통해 종류간의 미소한 특성차이를 잘 밝혀낸 예

Table 3. The mean final biomass yield (x10 optical density at 665 nm) of each clone with its 95% confidential interval and coefficient of variation among replicate measurements.

clone	light (k lux)	mean final biomass yield	95% confidence interval	^a C.V. (%)	number of replicates
ES10	2	0.265	0.257-0.273	7.9	25
KES10	6	0.255	0.250-0.261	5.7	25
KES10	9	0.239	0.233-0.245	6.6	25
H17	2	0.292	0.283-0.300	7.5	25
H17	6	0.278	0.270-0.285	6.7	25
H17	9	0.252	0.242-0.262	9.9	23
NC37	2	0.263	0.253-0.273	9.2	23
NC37	6	0.272	0.265-0.280	7.2	25
NC37	9	0.254	0.244-0.263	9.8	25
HDC9	2	0.241	0.232-0.249	8.9	25
HDC9	6	0.256	0.249-0.263	7.1	25
HDC9	9	0.244	0.236-0.252	8.2	25
BRS1	2	0.321	0.311-0.331	8.1	25
BRS1	6	0.281	0.274-0.288	6.3	25
BRS1	9	0.264	0.256-0.271	7.0	25
J9	2	0.290	0.280-0.299	8.6	25
J9	6	0.293	0.285-0.301	6.7	25
J9	9	0.264	0.255-0.273	8.2	25
YS4	2	0.308	0.299-0.316	7.0	25
YS4	6	0.290	0.285-0.294	4.0	25
YS4	9	0.287	0.280-0.294	6.0	25

^aCV.(%) means the coefficient of variation in percentage.

들이 있어, 본 연구의 후속 연구를 위해 참작할 만하다. 미국의 Narragansett 만에서 단세포분리한 *S. costatum*의 하계 클론과 동계 클론 간의 특성차에 관한 연구를 통하여, Gallagher는(1982) 이들 유전적으로 상이한 두 클론들 간에 성장률, 엽록소 함량, 동화상수 등의 값이 2배 정도의 차이를 보임을 규명하였고, 관련된 효소들의 전기영동 '띠분포 유형'에서도 이에 상응하는 구별성이 있음을 입증한 바 있다. 해양미소조류 클론 24종류의 성장과 광합성에 대한 조사광의 색상별 강도의 영향을 측정한 Glover 등은(1987) 대양의 진광대 하한에서 가장 성공적으로 경쟁할 수 있는 미소조류군이 남세균류 보다는 규조류 2종류를 포함한 진핵성 미세조류라고 하였다. Campbell과 Yentsch(1989a, 1989b)는 flow cytometer를 이용하여, 세포당 엽록소 형광치를 측정하는 기법을 통해, 클론 배양체의 성장 중 동조화된 배양체와 동조화되지 않은 배양체 간의 형광특성 차이를 구분해 낼 수 있었다(Campbell과 Yentsch, 1989b). 본 연구 결과와 위에 소개한 최근의 연구 사례들을 감안해 볼 때, 중수

준에서 동일한 분류군에 속한 해양식물플랑크톤 세포들이 모두 동일한 생리·생태적 특성을 지녔을 것이라는 기존의 가정을 일부 수정할 필요가 있음을 알게 되었다(Conte *et al.*, 1995; McQuoid and Hobson, 1995). 나아가, 앞으로는 종내 변이나 분화의 정도를 정밀하게 정량 측정하기 위한 더욱 새로운 기법과 이론이 요구된다.

감사의 글

본 논문을 위한 연구기간 내내, 여러모로 수고해 준 군산대학교 해양부유식물 연구실의 대학원생 한기연, 박용민, 성경아 그리고 학부 졸업반의 이창원, 박경희, 윤연숙 모두에게 깊은 감사를 드립니다. 또한 "서해의 해양환경학적 연구" 사업을 주관하시면서, 본 연구를 위해 조언과 격려를 하여주신 서울대학교 해양학과 박용안 교수님께 감사의 뜻을 표합니다. 두분 심사위원의 초고에 대해 많은 비평과 제언에 힘입어, 본 논문의 구성과 내용이 크게 개선되었

음을 밝혀두며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Brand, L. E., 1981. Genetic variability in reproduction rates in marine phytoplankton populations. *Evolution* **35**: 1117-1127.
- Brand, L. E., 1982. Genetic variability and spatial patterns of genetic differentiation in the reproductive rates of the marine coccolithophores *Emiliania huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*. *Limnol. Oceanogr.* **27**: 236-245.
- Brand, L. E., 1990. The isolation and culture of microalgae for biotechnological applications. In, Isolation of biotechnological organisms from nature, D. P. Labeda, ed. McGraw Hill Inc. pp. 81-115.
- Brand, L. E., 1991. Review of genetic variation in marine phytoplankton species and the ecological implications. *Biol. Oceanogr.*, **6**: 397-409.
- Brand, L. E., L. S. Murphy, R. R. L. Guillard and H. T. Lee, 1981. Genetic variability and differentiation in the temperature niche component of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Mar. Biol.* **62**: 103-110.
- Brand, L. E. and R. R. L. Guillard, 1982. The effect of continuous light and light intensity on the reproduction rates of twenty-two species of marine phytoplankton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **50**: 119-132.
- Campbell, J. W. and C. M. Yentsch, 1989a. Variance within homogeneous phytoplankton populations, I: Theoretical framework for interpreting histograms. *Cytometry* **10**: 587-595.
- Campbell, J. W. and C. M. Yentsch, 1989b. Variance within homogeneous phytoplankton populations, II: Analysis of clonal cultures. *Cytometry* **10**: 596-604.
- Choi, J. K. and J. H. Shim, 1986. The ecological study of phytoplankton in Kyeonggi Bay, Yellow Sea. II. Light intensity, transparency, suspended substances. *J. Oceanol. Soc. Korea* **21**: 73-84.
- Conte, M. H., A. Thompson, G. Eglinton and J. C. Green. Lipid biomarker diversity in the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) and the related species *Gephyrocapsa oceanica*. *J. Phycol.* **31**: 272-282.
- Gallagher, J. C., 1982. Physiological variation and electrophoretic banding patterns of genetically different seasonal populations of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* **18**: 148-162.
- Glover, H. E., M. D. Keller and R. W. Spinrad, 1987. The effect of light quality and intensity on photosynthesis and growth of marine eucaryotic and procaryotic phytoplankton clones. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **105**: 137-159.
- Guillard, R. R. L., 1973. Methods for microflagellates and nanoplankton. In: Handbook of phycolgical methods, J. R. Stein, ed. Cambridge University Press. New York, pp. 69-85.
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* **8**: 229-239.
- Haldane, J. B. S., 1946. The interaction of nature and nurture. *Ann. Eugen.* **13**: 197-205.
- Jain, S. K. and A. D. Bradshaw., 1966. Evolutionary divergence among adjacent plant populations. 1. The evidence and its theoretical analysis. *Heredity* **21**: 407-441.
- McGowan, J. A., 1971. Oceanic biogeography of the Pacific. In The micropaleontology of the oceans, B. M. Funnell and W. R. Riedel eds. Cambridge, pp. 3-74.
- McQuoid, M. R. and L. A. Hobson., 1995. Importance of resting stages in diatom seasonal succession. *J. Phycol.* **31**: 44-50.
- Murphy, L. S. and R. R. L. Guillard, 1976. Biochemical taxonomy of marine phytoplankton by electrophoresis of enzymes. 1. The centric diatoms *Thalassiosira pseudonana* and *T. fluviatilis*. *J. Phycol.* **12**: 9-13.
- Yih, W., J. S. Yang, S. G. Jo and E. Y. Chung, 1994. Effect of suspended solid and cadmium on the shallow-sea foodweb ecosystems. 1. Reduction of growth rate and biomass yield of coastal diatom clones by cadmium. *Bull. Korean Fish. Soc.* **27**: 373-379.
- Yih, W., 1993. The phytoplankton clones from the coastal Yellow Sea. (I) GSNU 0001-0028. Marine Development Res., Kunsan National University, 5: 33-45.