

# 조류생산잠재력조사 방법개발에 의한 육수환경의 부영양화 방지대책에 관한 연구(I) - 순수분리종의 형태 및 증식특성 -

위인선 · 나철호 · 이종빈 · 주현수\*  
전남대학교 자연과학대학 생물학과, \*서남대학교 생물학과

## A Study on Protection Plan of Eutrophication in Fresh Water Environment by Development of Methods for Algal Growth Potential test (I) - Morphology and Growth Characteristics of Isolated algae -

In-Sun Wui, Chul-Ho Ra, Jong-Bin Lee and Hyun-Soo Joo\*  
Dept. of Biology, Chonnam National University,  
\*Dept. of Biology, Seonam University

### ABSTRACT

The isolation, morphological study and growth characteristics of the algae were investigated from Lake Chuam. The isolated algae were applied the Algal Growth Potential test. The method of isolation and purification of the algae were used to Agar plating(AP), nutrient enrichment(NE), dilution(DI) and micro capillary technique(MC). Total isolated algae were 21 species. They were composed of *Cyanophyceae*, *Dinophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Euglenophyceae* and *Chlorophyceae*. The numbers of algal strain by isolation technique were highest in dilution(21 species), and those of the rests were showed in order of NE > MC > AP. The sizes of isolated *Selenastrum* and *Scenedesmus* were  $1.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$ ,  $3.3 \pm 0.9 \mu\text{m}$  in diameter and  $6.4 \pm 2.3 \mu\text{m}$ ,  $13.6 \pm 1.9 \mu\text{m}$  in length respectively. The morphology of isolated algae and NIES-collection strain was very similar each other, but the size was smaller isolated algae than that of NIES-collection. The optimum culture condition of isolated *Selenastrum* and *Scenedesmus* was about  $30^\circ\text{C}(25^\circ\text{C}\sim 35^\circ\text{C})$  in temperature and the maximum growth was appeared between 7,000 lux and 8,000 lux in the light intensity. The comparison of  $\mu$ (specific growth rate) on the concentration of nutrients such as nitrate and phosphate, isolated *Selenastrum* was appeared maximum  $\mu$  at 1.0 mg  $\text{NO}_3\text{-N/l}$ , but NIES-collection strain was showed 95% of maximum  $\mu$  at same nitrate concentration. Maximum  $\mu$  of isolated algae and NIES-collection strain in *Scenedesmus* onto nitrate concentration were very similar with the result of *Selenastrum*. The specific growth rates of isolated algae and NIES-collection strain on the gradient concentration of phosphate were showed 0.72/day and 0.70/day at 0.02 mg  $\text{PO}_4\text{-P/l}$  in *Selenastrum* but those of *Scenedesmus* were appeared 0.61/day and 0.57/day at same concentration  $\text{PO}_4\text{-P}$ .

**Keywords** : Isolation, Morphology, Growth characteristics, *Selenastrum*, *Scenedesmus*

### I. 서 론

최근 용수사용량이 크게 증가됨에 따라 국내에 많은 인공호(다목적 댐)가 축조되어지고 있으며, 이러

\* 본 연구는 92년도 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 지원에 의해 수행된 것임.

한 호소는 수질이 악화되어 부영양화현상을 유발함으로써 수질의 악화뿐만 아니라 귀중한 수자원의 가치상실이라는 우려를 낳고 있다. 인공호는 인간의 편익에 따라 수량이 조절되어지기 때문에 수체의 안정성이 결여되기 쉽고,<sup>1)</sup> 특히 외부로부터 유입되는 오탁물질은 호소의 저니층에 침전, 퇴적되거나 호소

의 폐쇄적인 순환과정을 통해 축적되어지기 때문에 지속적인 수질관리가 이루어지지 않는다면 부영양 호로 전락되어 수화현상(water bloom)을 나타내는 것은 필연적이라고 할 수 있다.<sup>2,3)</sup>

조류에 의한 수화현상을 미연에 방지하기 위해서는 대상수역에 우점하여 출현하고 있거나 그 피해의 정도가 심한 조류에 대해 증식특성을 면밀히 조사하는 것이 반드시 요구되어지며, 동시에 다양한 물리적 환경인자를 조절할 수 있는 flask 수준의 배양실험에 의해 조류의 특성을 파악하는 것이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다.<sup>4)</sup>

현재까지의 조류배양시험은 대부분 표준종인 *Selenastrum capricornutum* P<sub>RINTZ</sub>를 사용하여 시행되어지고 있으며, 이외의 준표준종으로써, *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena flos-aque* De Brebisson 등이 이용되어지고 있으며 또한 표준종은 아니지만, 공시조류종으로써 사용되어지고 있는 종으로는 *Nostoc muscorum*, *Chlorella sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Asterionella formosa*, *Haematococcus pulvialis*, *Scenedesmus quadricauda*, *Stigeoclonium tenue*, *Chlamydomonas sp.* 등을 들 수 있다.<sup>5)</sup>

국내의 경우, 조류배양시험을 통한 수질판정 및 조사연구 등은 대부분이 시험종으로써 *Selenastrum capricornutum* P<sub>RINTZ</sub>를 사용하여 시행되어져 왔다.<sup>1)</sup> <sup>6-10)</sup> 그러나, 사용된 시험조류종들은 대개 국내종이 아닌 외국으로부터 도입되어진 종들로서 그 생리적 조건 및 환경특성의 조사가 폭넓게 밝혀진 것이나, 토착종이 아니라는 점 등을 고려할 때, 이를 이용한 배양시험 결과가 국내의 지역특성에 충분히 부합되지 못하였던 것이 사실이다.

따라서 본 연구는 국내의 토착종을 순수분리하고 순수분리된 조류종 가운데 표준종으로써 지금까지 사용되어져 온 녹조류의 일종인 *Selenastrum capricornutum*과 표준종 및 준표준종에는 속하지 않으나 공시종에 포함되며, 일반적인 호소나 하천에서 그 분포가 대단히 넓은 종의 하나인 *Scenedesmus*를 선정하여,<sup>11)</sup> 각 조류종에 대한 세포의 크기, 형태적 특징 및 증식특성 등을 NIES-collection(National Institute for Environmental Studies, Japan)의 공시종과 비교·고찰하고 그 결과를 분석하여, 국내의 토착종을 이용한 조류배양시험을 통해 생물학적 수질판정에 응용코져 시도되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 조류의 순수분리

#### 1) 시료의 채집

시료의 채집을 위한 채집장소는 광주광역시 및 전라남도의 상수원으로 활용되고 있는 주암호를 대상으로 하였으며, 주암호의 호소수역과 하천수역(동북천, 송광천, 이사천 등)에 대해 1993년 8월부터 1994년 7월까지 1년간에 걸쳐 실시하였다. 채집의 방법은 호소수 및 하천수의 채취나 plankton net (Müller gauze No. 25)를 이용하여 시료를 채취하였으며, 시료는 150 ml 크기의 polyethylene bottle에 옮기고, 전체의 시료량이 채집량의 1/3을 초과하지 않도록 조정하여,<sup>14)</sup> 4°C ice box에 보관·운반하였다. 시료의 부패 및 조성변화를 최소화하기 위하여 채집된 시료 내의 조류종에 대한 순수분리조작을 가능한 빠른 시간 내에 실시하였으며, 불가피하게 시료의 보존이 필요할 경우에 4°C의 저온실에 보관 후, 조속히 처리하였다.<sup>12)</sup>

#### 2) 순수분리 방법

순수분리방법은 agar plating, nutrient enrichment, dilution, micro capillary technique 등을 사용하여 실시하였다.

##### (1) Agar plating법

Agar plating은 담수산 조류의 일반배지인 Norris-Calvin 배지(Table, 1)에 한천 18 g/l를 첨가하여 autoclave 한 후, 멸균된 petridish에 분주하여 한천평판배지를 만들고 시료를 도말하였다. 시료를 도말한 배양접시를 온도 20~25°C, 조도 2,500 lux의 배양실에서 5~7일간 배양하여<sup>13)</sup> 나타난 조류의 군체를 광학현미경으로 검경·동정하고, 각 액체배지

**Table 1.** Composition of Norris-Calvin medium for algal culture.

Nutrients		Trace elements	
Composition	Amount(g)	Composition	Amount(g)
KNO <sub>3</sub>	0.505		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.087	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.43
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.068	MnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1.05
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.493	ZnCl <sub>2</sub>	0.05
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.005	CuSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.04
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.0003	H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	0.01
Norris T.E.	1.0 ml	D.W.	1,000 ml
D.W.	1,000 ml	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 drop
pH	6.8		

에 옮겨 배양하였다. 또한 무균배양을 위해 한천배지에서 발견된 colony를 동일한 한천배지에 2~3회 반복하여 접종·배양하였다.<sup>14)</sup>

#### (2) Nutrient enrichment법

조류는 각 종에 따라 요구하는 영양원의 종류 및 요구량에서 차이를 나타내게 되므로 이로 인하여 배양배지의 조성이 달라지게 된다. 따라서 여러종류가 혼입되어져 있는 시료로부터 이러한 조류의 특성을 이용하여 순수분리하는 방법을 응용할 수 있다. 본 연구에서 사용한 순수분리용 배양배지는 담수조류용 녹조류 배지로서 Sorokin-Krauss medium을, 규조류 배지로서 Lewin medium, 황색편모조류 배지로서 Provasoli-Pinter medium, 남조류 배지로서 Detmer medium을 각각 사용하였다. 각 순수분리용 배지는 액체배지와 한천배지를 공히 사용하였으며, 액체배지의 경우 1 ml의 시료를 무균접종하였고, 한천배지는 백금니로 도말하여 배양하였다.<sup>14)</sup>

#### (3) Dilution법

채취된 시료를 Sedgwick-Rafter Chamber(No. 2515C; #, 1.0 mm)을 이용하여 계수한 다음, 조체 밀도를 1 cell/ml가 유지되도록 멸균수로서 희석하였다. 희석된 시료의 1 ml 씩을 액체배양배지에 넣어 접종하고 배양조건이 온도 25°C와 조도 2,500 lux가 유지된 배양실에서 30일동안 배양하였다. 배양 후, 시료의 무균 및 단일종 배양(axenic culture)을 위해 백금니를 사용하여 재 접종한 다음 위의 과정을 3~5회 반복하였다.<sup>14)</sup>

#### (4) Micro capillary technique

micro capillary을 사용한 조류의 순수분리는 전

처리를 희석법과 동일하게 처리한 다음, 전처리된 시료를 현미경 100배하에서 micro capillary을 이용하여 0.1 ml의 무균수를 떨어뜨린 hole slide에 옮겼다. 이 조작을 5회 이상 반복하여 단일화된 세포를 각 배양배지에 접종하고 25°C, 2,500 lux에서 약 15일 이상 배양하여 배양된 세포를 현미경으로 확인하였다.

## 2. 증식특성 비교

증식특성의 조사에서 사용된 조류는 녹조류의 일종인 *Selenastrum capricornutum*과 *Scenedesmus quadricauda*로서 일본의 NIES-collection으로부터 분조받은 공시종과 1993년 8월부터 1994년 7월까지 주암호에서 순수분리한 것을 대상으로 하였다.

### 1) 배지

사용배지는 C-medium을 사용하였으며, 그 조성은 Table 2와 같다.

C-medium에서 영양염의 농도와 조류의 증식량과의 관계를 파악하기 위하여 인, 질소 및 미량원소 용액을 제외한 배지를 조제하였다. 또한 배지의 멸균은 습열멸균을 실시하였으며 멸균과정 중 침전방지 및 영양소의 열에 의한 파괴, 손실을 막기 위하여 미세알, 염류, 비타민류는 따로 여과 또는 습열멸균하여 냉각한 후 혼합하였다.

### 2) 전 배양 및 보존배양

전 배양은 250 ml 또는 100 ml 규격의 삼각 플라스크에 100 ml 또는 50 ml의 C-medium을 넣고, 25°C, 2,500 lux(*Selenastrum*의 경우 4,000 lux)의 조건 하에서 정치배양하였다. 전 배양시간은 7~10일간으로 하고, 대수증식기를 파악하여 이 때의

**Table 2.** Compositions of C-medium and PIV metal.

Nutrients		PIV metals	
Compound	Amount	Compound	Amount
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	15 mg		
KNO <sub>3</sub>	10 mg		
β-Na <sub>2</sub> glycerophosphate	5 mg	FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	19.6 mg
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	4 mg	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	3.6 mg
Vitamin B <sub>12</sub>	0.01 µg	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	2.2 mg
Biotin	0.01 µg	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.4 mg
Thiamine HCl	1.0 µg	NaMoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.25 mg
PIV metals	0.3 µg	NaEDTA · 2H <sub>2</sub> O	100 mg
Tris(hydroxymethyl aminomethane)	50 µg	D.W.	100
D.W.	99.7 ml		
pH	7.5		

조체를 배양시험에 사용하였다.

보존배양은 C-medium이 함유된 시험관을 사용하여 20°C, 500 lux의 조건 하에서 계대배양하였으며, 계대배양의 기간은 3개월에 1회씩 실시하였다.<sup>13)</sup>

### 3) 배양방법

100 ml의 삼각 플라스크에 50 ml의 배지를 가하고, 백색형광등을 사용하여 연속조명의 조건하에서 배양을 하였다. 특히 온도, 조도, 교반이 배양조건으로 설정된 실험을 제외한 나머지의 배양실험에서는 실험중에 상관없이 모두 온도는 25°C, 조도는 2,500 lux, 정치배양(1일 1회 손으로 교반)의 조건으로 실시하였다. 실험에 사용된 배양기는 shaking incubator를 사용하였다.

#### (1) 온도, 교반, 조도

배양조건 중 물리적 조건의 변화인자로서 온도를 설정한 경우, 15°C에서 40°C까지 5 °C의 간격으로 각 배양온도에 따른 비증식속도( $\mu$  : specific growth rate)를 구하였다. 교반은 정치배양의 결과와 비교하기 위해 120 rpm으로 조정하였다. 조도는 1,000 lux~8,000 lux까지 1,000 lux의 간격으로 총 8단계로 나누어 각 조도의 조건하에서 나타난 비증식속도를 구하였다.

#### (2) 질소, 인

배지내의 질소원 제거를 위해, C-medium의 배지성분 중 질소원으로 포함되어 있는  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 와  $\text{KNO}_3$ 를 각각 동량의  $\text{CaCl}_2$ 와  $\text{KCl}$ 로 바꾸어 기본배지(N free medium)를 조성하였으며, 질소의 양을  $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 형태로서 7단계(0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5 mg/l)로 구분하여 첨가한 다음 배양하여, 각 질소농도에 대한 조류의 증식특성을 파악하였다.

인의 경우는 기본 배지(P free medium)에  $\text{PO}_4\text{-P}$ 의 형태로써 인의 농도를 7단계(0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.25 mg/l)로 나누어 인 농도의 변화에 따른 시험조류의 비증식속도 및 최대증식량을 구하였다.

#### 4) 조류증식량의 측정

최대증식량 및 비증식속도를 구하기 위해 조체량의 측정은 직접계수법과 탁도측정법을 이용하였다. 직접계수법은 Haemocytometer를 사용하여 현미경(100~200 X)하에서 직접 계수하였으며, 탁도측정법은 배양액의 일부를 spectrophotometer(Gilford, U.S.A)을 이용하여, 660~750 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 조류의 순수분리

조류증식능 조사에 국내종의 적용을 위해 주암호와 유입하천 수역을 대상으로 1993년 8월부터 1994년 7월까지 1년간 시료를 채집하고 채집된 시료를 agar plating, nutrient enrichment, dilution 및 micro capillary법에 의해 순수분리한 결과, 총 21종을 순수분리 및 배양할 수 있었으며, 각 분류군별 및 분리방법에 의한 결과는 Table 3에 나타내었다.

순수분리된 종을 분류군별로 구분하여 보면, Cyanophyceae 3종, Dinophyceae 1종, Bacillariophyceae 5종, Euglenophyceae 1종, Chlorophyceae 11종으로 Chlorophyceae가 가장 많이 순수분리 되었으며, Bacillariophyceae, Cyanophyceae 등의 순으로 나타났다. 또한 순수분리 방법에 의한 결과에서는 dilution법이 21종으로 가장 많은 종이 순수분리되었으며, micro capillary과 nutrient enrichment법이 각각 19종, agar plating법이 15종으로 나타났다.

따라서 위의 결과로서는 dilution법을 사용할 경우 가장 많은 조류종이 순수분리되었으나, 단일화 및 무균배양이 매우 어렵고,<sup>14)</sup> 반복실험이 요구되어질 뿐만 아니라 다량의 실험기기가 소요되어지는 단점이 있다. Nutrient enrichment 법은 배양기간동안 여러 조류종의 증식속도 차이에 의해 다른 종류의 조류사이에서 경쟁이 일어날 수 있으며, 증식속도가 비교적 느린 조류를 순수분리하는데 난해한 점이 있었다. micro capillary 법은 현미경 하에서 직접 capillary를 조작, 분리하기 때문에 분리하고자 하는 단일종의 순수분리 측면에서는 우수하나, 현미경하에서 capillary 또는 manipulator의 조작기술이 어려우며, 조류가 사상성이거나 운동성이 클 경우에는 순수분리하기가 곤란하다. Agar plating은 분리방법이 단순하고 간편하나 한천배지에서 증식이 곤란한 종에 대해서는 순수분리를 적용할 수 없는 점, 세균이나 곰팡이 등에 의한 오염이 쉽고, 다른 colony와의 겹침에 의해 순수분리가 어려운 점 등이 있는 것으로 본 실험결과 나타났다.

따라서 이러한 분리방법을 분리하고자 하는 각 조류의 생육특성이나 분리과정에 적합하게 사용할 필요가 있으며, 본 연구에서 사용한 방법외에 항생물질법,<sup>15)</sup> 자외선 조사법,<sup>16)</sup> 조류의 운동성 및 생장을 이용하는 방법, 조류의 성장단계를 이용하는 방법<sup>17,18)</sup> 등을 이용한다면 보다 효과적이고 다양한 조류의 순수분리 및 배양이 가능할 것으로 생각된다.

**Table 3.** A list of algal cell isolation and purification from Lake Chuam and its watershed.

isolation technique species	AP	NE	DM	MC
<b>CYANOPHYCEAE</b>				
<i>Microcystis aeruginosa</i>			+	+
<i>Anabaena flos-aquae</i>	+	+	+	+
<i>Oscillatoria sp.</i>	+	+	+	+
<b>DINOPHYCEAE</b>				
<i>Peridinium sp.</i>			+	+
<b>BACILLARIOPHYCEAE</b>				
<i>Asterionella glacialis</i>		+	+	+
<i>Flagilaria sp.</i>		+	+	+
<i>Melosira granulata</i>	++	+	+	+
<i>Nitzshia sp.</i>	++	+	+	+
<i>Synedra ulna</i>		+	+	+
<b>EUGLENOPHYCEAE</b>				
<i>Euglena gracilis</i>		++	+	+
<b>CHLOROPHYCEAE</b>				
<i>Chlamydomonas fasciata</i>	+	++	+	+
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	++	++	++	++
<i>Chlorella vulgaris</i>	++	++	++	++
<i>Coelastrum sp.</i>	+	+	+	+
<i>Pediastrum duplex</i>	+	+	+	+
<i>P. simplex</i>	+	+	+	+
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	++	++	++	++
<i>S. quadricauda</i>	++	++	++	++
<i>Selenastrum minutum</i>	++	++	+	+
<i>Stigeoclonium sp.</i>	+	+	+	+
<i>Ulothrix sp.</i>	++	+	+	+
Total 21 species	15	19	21	19

AP : agar plating, NE : nutrient enrichment, DM : dilution method, MC : micro capillary, + : only isolated species, ++ : isolated and cultured species

**Table 4.** The comparativity of size and morphological characteristics of the isolated *Selenastrum* from Lake Chuam and NIES-collection.

characteristics species	diameter	length	color	shape
Isolated algae	1.8±0.4 μm	6.4±2.3 μm	light green	crescent shaped
NIES-collection	2.3±0.5 μm	7.6±2.8 μm	light green	crescent shaped

## 2. 순수분리종 및 공시종의 형태적 비교

주암호로부터 순수분리된 종을 조류증식능 조사에 사용되어져 왔던 NIES-collection의 공시종과 형태적 비교를 실시하였다. 본 연구에서 형태 및 증식 특성을 비교한 종은 순수분리된 종 가운데 *Selenastrum*과 *Scenedesmus*의 종으로 하였다.

주암호로부터 순수분리, 배양된 *Selenastrum*을 형태적으로 고찰한 결과, 단세포성으로 조체의 모양은 삼일월형(초승달 모양)을 나타내었고, 색깔은 연초

록을 나타내었다. 또한 조체의 크기는 폭이 1.8±1.4 μm, 길이가 6.4±2.3 μm로서 NIES-collection의 것과 비교할 때 폭과 길이에서 각각 0.5 μm, 1.2 μm정도 더 작은 것으로 나타났으며, 형태적인 특징에서도 조체의 만곡부가 공시종의 것에 비해 약간 더 두터운 것으로 나타났다(Table 4).

*Selenastrum capricornutum* P<sub>RENTZ</sub>(NIES-collection No. 35)의 형태적 특징은 단세포성으로 모양은 초승달의 형태를 나타내고 조체의 색깔은 연한

**Table 5.** The comparativity of size and mophological characteristics of the isolated *Scenedesmus* from Lake Chuam and NIES-collection.

characteristics species	unmatured cell				matured cell		
	diameter	length	color	shape	diameter	length	spine
Isolated algae	1.8±0.4 μm	6.4±2.2 μm	green	ellipsoid	13.6±1.9 μm	3.3±0.9 μm	+
NIES-collection	2.3±0.6 μm	7.6±2.1 μm	green	ellipsoid	14.2±3.4 μm	3.5±0.8 μm	+

연두색이다. 또한 조체의 크기는 폭이 2.3±0.5 μm, 길이가 7.6±2.8 μm로서 현미경하에서 검경시 약간 투명한 듯한 모양을 나타낸다(Table 4). 서식특성은 원래 단세포성이나 드물게 모세포로부터 형성된 2~4개의 딸세포가 불규칙하게 나열되어 있어 군체를 형성하고 있는 것처럼 보이기도 하며, 서식형태는 부유성이다.<sup>19)</sup>

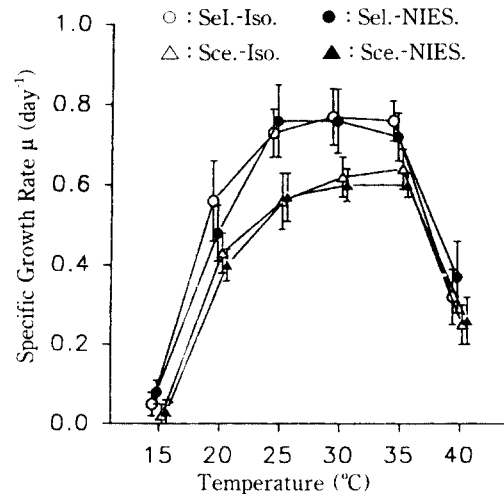
*Scenedesmus*에 있어서 공시종과 순수분리한 종의 크기와 형태를 비교한 결과, 순수분리종이 NIES-collection의 공시종에 비해 약간씩 작은 것으로 나타났다. 먼저 크기에서 세포의 길이가 공시종이 7.6±2.1 μm, 분리종이 6.4±2.2 μm로서 1.2 μm가 작으며, 폭의 경우, 공시종이 3.5±0.8 μm, 순수분리종이 3.3±0.9 μm로서 0.2 μm가 작은 것으로 나타났다(Table 5).

이러한 조체의 크기차이에 따라서 matured cell의 크기에 있어서도 길이가 각각 14.2±3.4 μm(공시종), 13.6±1.9 μm(분리종)으로서 1.4 μm정도의 차이를 나타내고 있다. 그러나 이러한 세포의 차이는 세포의 성장과정시 배지의 종류 및 조성, 영양염의 농도, 물리적 조건, 배양시간 등의 여러 가지 환경조건의 변화에 의해서도 나타날 수 있는 점<sup>20,21)</sup> 등을 고려하면 동일 종으로 간주할 수 있을 것으로 생각되며, 순수분리종을 이용한 조류증식능의 조사에 이용할 때에도 형태적인 차이로 인한 문제점은 없을 것으로 판단된다.

**3. 순수분리종 및 공시종의 증식특성**

순수분리된 종을 조류증식능의 조사에 적용키 위해 주암호로부터 분리, 배양된 종의 증식특성을 공시종으로 사용되어지고 있는 NIES-collection의 *Selenastrum*, *Scenedesmus*와 각각 비교하였으며, 본 연구에서 비교, 고찰한 증식특성의 항목은 물리적 요인 중 배양온도, 교반 및 조도를, 영양염으로서 질소와 인을 선정하였다.

1) 온도



**Fig. 1.** Effect of temperature on specific growth rate in culture test with isolated *Selenastrum*, *Scenedesmus* and NIES-collections. Data represents standard deviation.

NIES-collection으로부터 분조받은 공시종과 주암호로부터 순수분리한 *Selenastrum capricornutum*과 *Scenedesmus quadricauda*를 대상으로 C-medium을 배지로 하여 배양온도를 달리한 결과, NIES-collection의 *Selenastrum*의 경우 15°C에서 비증식속도가 0.08/day로 매우 낮았으나, 20°C와 25°C에서 0.56/day와 0.73/day로 크게 증가하였다. 또한 배양온도의 범위가 30°C~35°C의 범위에서는 일정한 비증식속도를 나타내었으며, 40°C에서는 0.32/day로 35°C에 비해 약 50%가량 낮아지는 결과를 보였다(Fig. 1). 순수분리종의 경우 각 배양온도에 따라 NIES의 공시종과 약간의 차이를 보였으나, 전체적으로 유사한 결과를 보였다. *Scenedesmus*의 온도별 배양결과에 있어서도 NIES의 공시종과 순수분리종간에 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다. 따라서 배양온도를 달리한 *Selenastrum*이 *Scenedesmus*에 비해 공시종과 순수

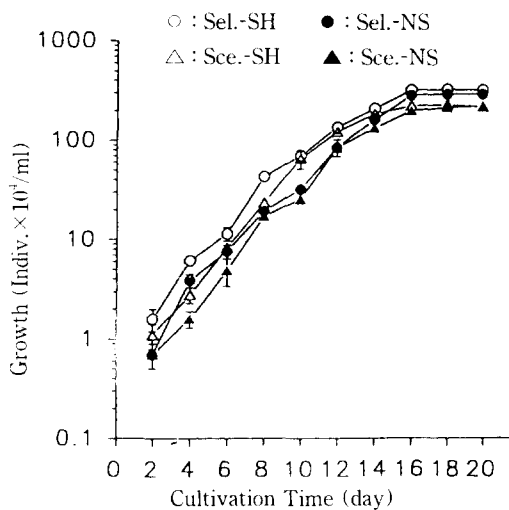
분리종 모두 동일한 온도에서 비증식속도가 약간씩 높게 나타남을 알 수 있었으며, 두 종에서 최적 배양온도는 25°C~30°C의 사이로 나타났다. 또한 배양온도가 35°C가 넘을 경우, 비증식속도가 급격히 감소되는 현상을 보임으로서 온도에 의한 조류증식의 저해를 보여주었다.

## 2) 교반

여러 가지 배양조건을 동일하게 처리한 후, 순수분리종을 대상으로 교반과 정지배양에 대한 증식량의 차이를 알아보기 위하여, 회전식 교반기를 이용한 교반 조건에서의 배양군(120 rpm)과 정지배양군(1일 1회 손으로 교반)과의 배양시간별 증식량을 비교하였다.

*Selenastrum* 교반군의 경우 배양 6일째까지는 11.5 Indiv.  $\times 10^4$ /ml로 낮은 증식을 보였으나, 배양 16일째에 313.5 Indiv.  $\times 10^4$ /ml로 최대증식점에 도달하였으며, 또한 정지배양군에 있어서도 최대증식점은 16일째에 279.5 Indiv.  $\times 10^4$ /ml로 나타났으나, 성장곡선 중 배양 10일째에 지체기가 교반군에 비해 약 3~4일 정도 연장되는 것으로 나타났다(Fig. 2).

*Scenedesmus*의 경우, 교반의 차이에 따른 교반군과 정지배양군 모두 배양 16일째에 최대증식점에 도달하였으며, 최대증식점은 교반군이 217.7 Indiv.  $\times 10^4$ /ml, 정지배양군이 195.4 Indiv.  $\times 10^4$ /ml로 교반군에서 더 높은 증식을 보였다. 지체기는 교반군이 약 8일 정도이며, 정지배양군이 10일정도로서 정지배양을 할 경우 지체기가 약 2일가량 늘어나는 것을

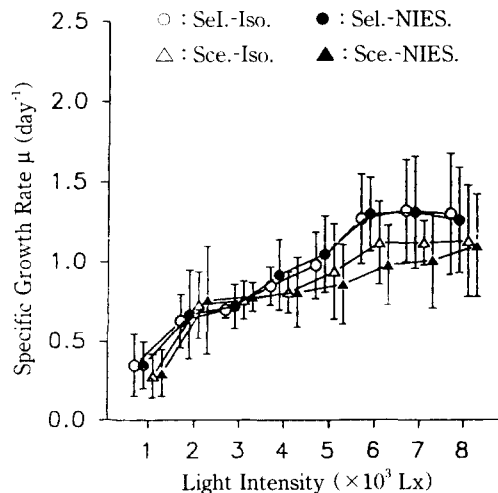


**Fig. 2.** Effect of shaking on growth of isolated *Selenastrum*, *Scenedesmus* and NIES-collections. Data represents standard deviation.

알 수 있었다. 따라서 교반에 의한 증식량의 차이는 두 시험종 모두 정지배양군에서 약간씩(*Selenastrum*의 경우 약 7.9%, *Scenedesmus*의 경우 11%) 저하되었으며, 지체기의 비교에 있어서도 2~4일 연장되어지는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 남조류의 일종인 *Microcystis aeruginosa*를 대상으로 실험하였던 失木과 須藤<sup>21)</sup>의 결과와 매우 유사한 것으로 판단된다.

## 3) 조도

*Selenastrum*과 *Scenedesmus*의 순수분리종 및 NIES-collection 공시종의 비증식속도에 미치는 조도의 영향을 조사한 결과, 먼저 *Selenastrum*의 경우, 순수분리종의 조도에 대한 비증식속도의 변화는 1,000 lux에서 0.35/day였으나, 2,000 lux에서 0.63/day, 3,000 lux에서 0.7/day으로 증가하여 7,000 lux에 이르기까지 점차적으로 증가하였다. 공시종의 경우에 있어서도 순수분리종의 경우와 매우 유사한 비증식속도의 곡선을 나타내므로서 두 종간에 조도에 대한 반응성이 거의 일치하고 있음을 보였다(Fig. 3). *Selenastrum*의 연구결과로서 須藤<sup>22)</sup>의 보고에 의하면, 4,000 lux를 배양시험기준으로 적용하고 있으나,<sup>23)</sup> 본 연구에서의 조도에 의한 결과는 須藤<sup>22)</sup>의 보고를 훨씬 초과하는 7,000 lux에서 비증식속도의 최대치를 나타내므로서 결과의 상이함을 보였다. 그러나 2,000 lux에서의 비증식속도가 공시종이나 순



**Fig. 3.** Effect of light intensity on specific growth rate in culture test with isolated *Selenastrum*, *Scenedesmus* and NIES-collections. Data represents standard deviation.

수분리종에서 모두 최대비증식속도의 50%에 달하는 점은 Watanabe 와 Satake<sup>23)</sup>의 연구결과와 일치하는 것으로 비교되었다. 한편 *Scenedesmus*를 시험조류종으로 사용하여 조도에 대한 영향을 살펴본 결과, 공시종 및 순수분리종 공히 *Selenastrum*의 결과와 유사하였으나, 전체적인 비증식곡선이 낮은 것으로 나타났으며, 최대비증식속도에 있어서도 8,000 lux의 배양조건에서 나타나 *Selenastrum*에 비해 조도의 요구가 비교적 높은 것으로 생각된다(Fig. 3). 이러한 이유는 *Scenedesmus*의 경우 *Selenastrum*에 비해 동일조건 하에서 분열속도가 느리고 물리적 환경 및 영양조건이 충분할 경우 polymorphism을 나타낼 뿐만 아니라,<sup>20)</sup> 개체의 부피가 *Selenastrum*에 비해 크기 때문에 autoshelding의 효과가 높아,<sup>24)</sup> 요구되어지는 조도의 세기가 더 큰 것으로 생각된다.

#### 4) 질소

*Selenastrum*과 *Scenedesmus*의 분리종 및 공시종을 사용하여 질소농도의 변화에 따른 비증식속도를 조사한 결과, *Selenastrum* 순수분리종의 경우 1.0 mg/l의 NO<sub>3</sub>-N의 농도에서 최대비증식속도에 도달하였으며, 공시종은 0.1 mg/l의 농도에서 최대비증식속도의 약 95%에 도달하여 질소원에 대한 두종간의 차이를 나타내고 있다. 또한 0.1 mg/l의 낮은 질산성 질소의 농도에서도 배양 개시일로부터 6일까지는 0.24/day(순수분리종), 0.27/day(공시종)으로 증식을 계속하였으나 더 이상의 증식은 확인할 수 없었다. *Scenedesmus*의 배양결과에서는 순수분리종 및 공시종 모두 1.0 mg/l의 질산성 질소의 농도에서 최대 비증식속도인 0.66/day, 0.65/day를 각각 나타내었으며, 0.1 mg/l의 낮은 질산성 질소의 농도에서는 *Selenastrum*에 비해 훨씬 낮은 비증식 속도인 0.12/day(순수분리종), 0.18/day(공시종)을 보여 두 종간에 질소의 농도에 따른 증식속도의 차이를 나타내었다(Fig. 4).

#### 5) 인

조류가 요구하는 영양염 가운데 인과 질소는 조체중의 함량이 높은 것으로 나타나 그 중요성이 큰 것으로 알려져 있다.<sup>25)</sup> 본 연구에서는 인의 농도변화에 따른 *Selenastrum*과 *Scenedesmus*의 공시종, 순수분리종의 비증식속도를 조사하였다(Fig. 5). 먼저 *Selenastrum*의 경우, 순수분리종은 인산성 인의 농도가 0.01 mg/l의 저농도에서 0.41/day를 나타내었고, 비증식속도의 최대치에 45.3%를 나타내었으며, 또한 0.02 mg/l의 농도에서는 비증식속도가 거의 최

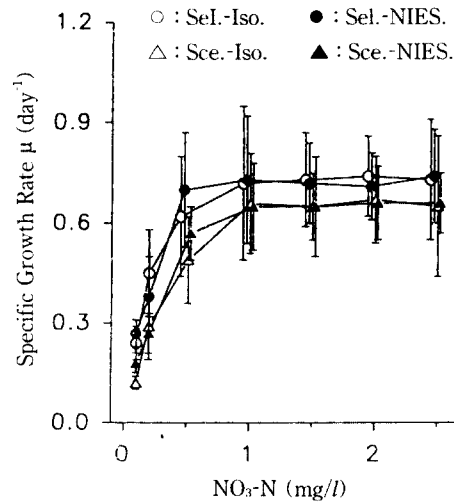
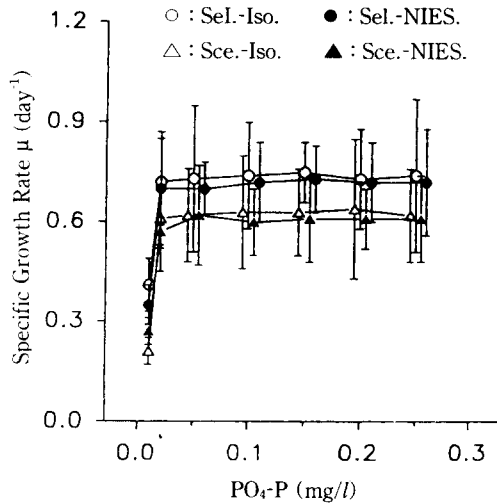


Fig. 4. Effect of nitrogen concentration on specific growth rate in culture test with isolated *Selenastrum*, *Scenedesmus* and NIES-collections. Data represents standard deviation.

대치에 가까운 0.72/day를 나타내었다. 이러한 비증식속도의 결과는 *Selenastrum*의 공시종에서도 동일하게 나타났으며, 인산성 인의 농도가 0.01 mg/l일 때, 0.35/day로 분리종에 비해 약간 낮았으나, 0.02 mg/l에서는 0.70/day로 최대 비증식속도에 이르렀다. *Scenedesmus*의 경우에서 비증식속도는 인산성 인의 농도가 0.01 mg/l에서 순수분리종이 0.21/day, 공시종이 0.27/day로 나타났으며, 0.02 mg/l에서 공시종 및 순수분리종 모두 비증식속도의 최대치에 가까운 0.61/day와 0.57/day를 보임으로서 *Selenastrum*의 배양결과와 유사하였다. 더욱이 *Selenastrum*이나 *Scenedesmus*의 두 종 모두에서 인산성 인을 첨가하지 않은 경우에서 0.18/day~0.33/day의 높은 비증식속도를 나타내어 세포내에 축적되어 들어 온 인산성 인이 상당량 존재하는 것을 암시하였다. 일반적으로 조류는 세포의 체적에 비해 과량의 인을 흡수하는 것으로 알려져 있으며,<sup>26)</sup> 본 연구에 이용된 *Selenastrum*의 경우도 별도의 인산성 인의 첨가없이 약 20회의 세포분열이 가능한 것으로 알려져 있다. 그러나 *Selenastrum* 및 *Scenedesmus*의 두 종에 대해서 세포의 용적당 어느정도의 인산을 축적할 수 있는가에 대해서는 명확히 밝혀지지 않고 있으며, 배양시험 중의 오차를 줄이기 위해 전 배양의 과정에서 인을 제한하게 되면 조체가 백색화 또는 황색화되고 분해되는 문제점이 있다. 일반적으로





**Fig. 5.** Effect of phosphorus concentration on specific growth rate in culture test with isolated *Selenastrum*, *Scenedesmus* and NIES-collections. Data represents standard deviation.

인을 함유하지 않는 배지 중에서 인산을 첨가하지 않은 무첨가군의 조체가 집종량의 5~10배까지는 증식하나 그 이상의 증식은 나타나지 않으며, 분해가 시작되는 현상은 矢木<sup>25)</sup>과 유사한 결과를 본 연구에서도 확인할 수 있었다.

#### IV. 적 요

주암호로부터 조류를 순수분리하여 조류증식능 조사에 활용코저 조류를 순수분리하고, 동정 및 분류하여, 그 형태와 증식특성을 비교, 분석한 결과는 다음과 같다.

조류의 순수분리를 위하여 실시한 분리방법은 agar plating, nutrient enrichment, dilution, micro capillary 법 등 4가지를 이용하였으며, 총 21종류의 조류를 순수분리하였다. 분리된 조류는 남조강 3종, 쌍편모조강 1종, 규조강 5종, 유글레나강 1종, 녹조강 11종이었으며, 각 순수분리법에 의해 분리되어진 조류의 종수는 희석법이 21종으로 가장 많고, nutrient enrichment>micro capillary>agar plating의 순이었다.

순수분리된 종 가운데 *Selenastrum*과 *Scenedesmus*을 대상으로 형태 및 증식특성을 NIES-collection의 공시종과 비교한 결과, *Selenastrum*의 경우, 단세포성으로 조체의 모양은 공시종과 동일하나,

조체의 크기에 있어 폭이  $1.8 \pm 1.4 \mu\text{m}$ , 길이가  $6.4 \pm 2.3 \mu\text{m}$ 로서 NIES-collection의 것과 비교할 때 폭과 길이에서 각각  $0.5 \mu\text{m}$ ,  $1.2 \mu\text{m}$ 정도 더 작았다.

*Scenedesmus*에 있어서도 세포의 길이가 공시종이  $7.6 \pm 2.1 \mu\text{m}$ , 분리종이  $6.4 \pm 2.2 \mu\text{m}$ 로서  $1.2 \mu\text{m}$ 가 작으며, 폭의 경우, 공시종이  $3.5 \pm 0.8 \mu\text{m}$ , 순수분리종이  $3.3 \pm 0.9 \mu\text{m}$ 로서  $0.2 \mu\text{m}$ 가 작은 것으로 나타났으나 배양조건 및 개체의 변이, 환경요인 등을 고려할 때, 동일종으로 취급할 수 있을 것으로 생각된다.

순수분리된 종을 조류증식능의 조사에 적용키 위해 주암호로부터 분리, 배양된 종의 증식특성을 공시종으로 사용되어지고 있는 NIES-collection의 *Selenastrum*, *Scenedesmus*와 각각 비교하였다. 먼저 온도의 경우 *Selenastrum*과 *Scenedesmus*의 공시종, 분리종 모두에서  $30^\circ\text{C}$ ~ $35^\circ\text{C}$ 의 온도범위에서 최대 비증식속도를 나타내었으며,  $35^\circ\text{C}$ ~ $40^\circ\text{C}$ 의 온도에서는 오히려 저해효과를 나타내었다. 교반에 따른 증식곡선의 변화에서 *Selenastrum*의 경우 공시종과 분리종 모두 정치배양시 지체기가 교반군에 비해 약 3~4일 정도 연장되는 것으로 나타났으며, 최대증식량의 변화는 거의 나타나지 않았다. *Scenedesmus*의 경우, 교반의 차이에 따른 교반군과 정치배양군 모두 배양 16일째에 최대증식점에 도달하였으며, 정치배양시 지체기가 약 2일가량 늘어나는 것을 알 수 있었다. 또한 교반에 의한 증식량의 차이는 두 시험종 모두 정치배양군에서 약간씩(*Selenastrum*의 경우 약 7.9%, *Scenedesmus*의 경우 11%) 저하되었다. 조도의 영향을 조사한 결과, *Selenastrum*의 경우, 순수분리종의 조도에 대한 비증식속도의 변화는 1,000 lux에서 7,000 lux에 이르기까지 점차적으로 증가하였으며, 공시종의 경우에 있어서도 순수분리종의 경우와 매우 유사한 비증식속도의 곡선을 나타내었다. *Scenedesmus*의 경우, 공시종 및 순수분리종 모두 *Selenastrum*의 결과와 유사하였으나, 전체적인 비증식곡선이 낮은 것으로 나타났으며, 최대비증식속도에 있어서도 8,000 lux의 배양조건에서 나타나 *Selenastrum*에 비해 조도의 요구가 비교적 높은 것으로 생각된다. 영양염류로서 질소와 인의 농도변화에 비증식속도를 조사한 결과, 먼저 질소의 경우, *Selenastrum* 순수분리종은  $1.0 \text{ mg/l}$ 의  $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 농도에서 최대비증식속도에 도달하였으며, 공시종은  $0.1 \text{ mg/l}$ 의 농도에서 최대비증식속도의 약 95%에 도달하여 질소원에 대한 두종간의 차이를 나타내고 있다. *Scenedesmus*의 배양결과에서는 순수분리종 및

공시종 모두 1.0 mg/l의 질산성 질소의 농도에서 최대 비증식속도인 0.66/day, 0.65/day를 각각 나타내었으며, 0.1 mg/l의 낮은 질산성 질소의 농도에서는 *Selenastrum*에 비해 훨씬 낮은 비증식 속도인 0.12/day(순수분리종), 0.18/day(공시종)을 보여 두 종간에 질소의 농도에 따른 증식속도의 차이를 나타내었다. 인의 경우, *Selenastrum*의 순수분리종은 인산성 인의 농도가 0.02 mg/l의 농도에서는 비증식속도가 거의 최대치에 가까운 0.72/day를 나타내었으며 *Selenastrum*의 공시종 역시 인의 농도가 0.02 mg/l에서 0.70/day로 유사한 결과를 나타내었다. *Scenedesmus*의 경우에서 비증식속도는 인산성 인의 농도가 0.01 mg/l에서 순수분리종이 0.21/day, 공시종이 0.27/day로 나타났으며, 0.02 mg/l에서 공시종 및 순수분리종 모두 비증식속도의 최대치에 가까운 0.61/day와 0.57/day를 보임으로서 *Selenastrum*의 배양결과와 유사하였다.

따라서 본 연구의 결과로부터 *Selenastrum capricornutum* 및 *Scenedesmus quadricauda*의 순수분리종을 이용한 조류증식능 조사가 가능할 것으로 판단되며, 보다 실질적인 생물학적 수질조사를 위하여 본 실험에 사용되었던 두 종류외에 조사하고자 하는 대상 수역의 출현종 또는 우점종, 수화현상을 유발하는 조류 등을 적용한 연구가 폭넓게 진행되어야 할 것이다.

### 참고문헌

- 1) 홍옥희, 김정옥: 생태학적 모델에 의한 호수의 수질예측 기법; 의암호의 수질예측. 한국육수학회지, **14**, 15-29, 1981.
- 2) Dart, R. K. and R. J. Stretton: Microbiological aspects of pollution control. 2nd ed., Elsevier, **184**, 1980.
- 3) 創澤秀夫, 清山莞爾: 湖沼の生物觀察 핸드ブック(湖沼の生物學入門). 日本, 東洋館出版社, **372**, 1984.
- 4) 失木修身, 須藤隆一: Microcystis의純粹分離. Res. Rep. Nat. Inst. Environ., **25**, 7-15, 1981.
- 5) 須藤隆一: 藻類의培養試驗法による AGP의測定. 日本國立公害研究所研究員報告, **26**, 1-10, 1981
- 6) 주현수: 주암댐 및 이사천댐 유역의 조류생산 잠재력에 관한 조사연구. 전남대학교 석사학위논문, 1990.
- 7) 위인선, 이종빈, 주현수: 주암댐 및 이사천댐 유역의 조류생산잠재력에 관한 조사연구 (II). 한국환경생물학회지, **9**, 104-112, 1991.
- 8) 정미랑: 광주천에 있어서 조류생산잠재력에 관한 조사연구. 전남대학교 석사학위논문, 1991.
- 9) 주현수, 위인선, 정미랑: 광주천 수계에 있어서의 AGP에 관한 연구. 한국환경생물학회지, **12**, 125-136, 1994.
- 10) 김현아, 이나나, 유춘만, 위성욱, 주현수, 이종빈, 위인선: 동북호 유입 하천의 조류증식능에 관한 연구. 한국환경생물학회지, **13**(1), 71-82, 1995.
- 11) Bold, H. and M. J. Wynne: Introduction to the algae. 2nd ed., Prentice-Hall, Inc., 720, 1985.
- 12) 岩本啓治: 上水試驗方法. 日本水道協會, 1019, 1985.
- 13) Watanabe M. M. and K. N. Satake: NIES-collection list of strain. 3rd ed. NIES, No. F-28, 163, 1991.
- 14) 渡邊 篤: 藻類實驗法. 南江堂, 日本, 455, 1973.
- 15) Ferris, M. J. and C. F. Hirsch: Method for isolation and purification of cyanobacterium. Appl. Environ. Microbiol., **57**, 1448-1452, 1991.
- 16) Pringsheim, E. G.: Pure cultures of algae. their preparation and maintenance. Cambridge Univ. Press, **119**, 1946.
- 17) Lewin, R. A.: The isolation of algae. Rev. Algal, **3**, 181-197, 1959.
- 18) 西澤一俊: 藻類研究法. 日本 公立出版, 東京, 754, 1979.
- 19) Yamagishi, T. and M. Akiyama: Photomicrographs of the fresh water algae. Uchida Rokakuho, Tokyo, Vol. 1-10, 100 plates. 1985.
- 20) Trainor, F. R.: *Scenedesmus* API(Chlorophyceae) polymorphic in the laboratory but not in the field. Phycol., **8**, 237-277, 1979.
- 21) Sandgren, C. D.: An ultrastructural investigation of resting cyst formation in Dinobryon cylindricum IMHOF(Chrysophyceae, Chrysophyta). Protoplasma, **16**, 259-276, 1980.
- 22) 須藤隆一: 霞ヶ浦における水の華に関する研究. 日本陸水學會誌, **41**, 124-131, 1980.
- 23) NIES: Comprehensive studies on the eutrophication of fresh-water areas. Res. Rep. NIES., No. **26**, 41, 1981.
- 24) Shubert, L. E.: Algae as ecological indicators. Academic Press, **434**, 1984.
- 25) 失木修身, 萩原富司, 高村義親, 須藤隆一: 霞ヶ浦カラ分離した Microcystis의 無菌株と單藻株の増殖特性. 水質汚濁研究, **7**, 496-503, 1984.
- 26) Okada, M., R. Sudo and S. Aiba: Phosphorus uptake and growth of blue-green algal. Microcystis aeruginosa. Biotech. Bioeng., **24**, 143-152, 1982.