

조류성장잠재력 시험에 의한 사량도 연안 *Cochlodinium polykrikoides* 적조의 제한영양염

김형철* · 김동명* · 이대인* · 박청길* · 김학균
국립수산진흥원 어장환경부, *부경대학교 환경공학과

Limiting Nutrients of *Cochlodinium polykrikoides* Red Tide in Saryang Island Coast by Algal Growth Potential (AGP) Assay

Hyung Chul KIM⁺, Dong Myung KIM*, Dae In LEE*, Chung Kil PARK* and Hak Gyoon KIM

Marine Environment, Oceanography and Harmful Algal Blooms Department, National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-902, Korea

*Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Algal growth potential (AGP) assay using *Cochlodinium polykrikoides* was conducted in Saryang Island coast where *C. polykrikoides* red tide occurred annually from July to October 1998. The effects of macro- and micro-nutrients on the growth of *C. polykrikoides* were specifically evaluated by the algal assay method. Two different types of growth response of *C. polykrikoides* for the addition of nutrients were clearly observed. For both before and after *C. polykrikoides* occurrence, the growth of *C. polykrikoides* was significantly stimulated by the addition of either nitrate or ammonium of 50 μM with phosphate of 5 μM . The addition of a single nutrient had no clear effect on the growth of *C. polykrikoides* and the addition of trace metals, vitamins, and EDTA etc. did not stimulate the algal growth, also. This result indicates that both N and P potentially limited the growth of *C. polykrikoides* in this period. However, during a bloom of *C. polykrikoides*, the growth was unlikely to be stimulated by the addition of both macro- and micro-nutrients. At that time, the nutrient concentration of Saryang Island coast was 24.33 μM for ammonium, 1.61 μM for phosphate, and 0.58 μM for nitrate, respectively. The concentrations of nutrients increased, on average, 8.2-fold for ammonium and 4.8-fold for phosphate, decreased 3.3-fold for nitrate compared to both before and after the red tide. This result shows that the growth of *C. polykrikoides* was not limited by the nutrients during the bloom in September. Therefore, our results suggest that the *C. polykrikoides* red tide may outbreak especially when the water is fertilized due to the increased N and P.

Key words: Algal growth potential (AGP), *Cochlodinium polykrikoides*, Red tide, Saryang Island coast, Limiting nutrients, N and P

서 론

식물플랑크톤의 이상증식현상 (적조, red tide)은 부영양화가 진행되고 있거나 이미 부영양화된 해역에서 일어나는 것으로 알려져 있으나, 최근에는 외해역과 같이 영양염 농도가 비교적 낮은 곳에서도 빈발하고 있다 (Boesch et al., 1997; NFRDI, 1997).

이와 같은 적조현상의 발생기구를 밝히기 위한 시도로서 해역의 식물플랑크톤 성장 제한인자에 대한 연구가 다양한 방법으로 진행되고 있는데, 그 방법들은 크게 다음의 네 가지 범주로 정리될 수 있다. 첫째, 적조생물 군집의 생리 상태를 나타내는 지표 (indicator)로서 입자 단백질과 탄수화물의 비를 사용하는 방법 (Myklestad, 1977; Healey and Hendzel, 1980), 둘째, 식물플랑크톤 생체 중의 원소조성비 (C:N:P)로부터 자연수 중의 식물플랑크톤의 성장 제한영양염을 평가하는 방법 (Myklestad, 1977; Sakshaug and Holm-Hansen, 1977; Goldman et al., 1979; Hecky and Kilham, 1988; Fong et al., 1993), 셋째, 생물검정법이 이용되고 있으며

(Moss, 1969; Ryther and Dunstan, 1971; Schindler and Fee, 1974; Maestrini et al., 1984; D'Elia et al., 1986; Hecky and Kilham, 1988), 넷째, 생태계의 수치모델을 이용한 제한영양염 평가도 시도되고 있다 (O'Connor et al., 1977; O'Connor, 1981).

조류성장잠재력 (algal growth potential, AGP) 시험은 생물증식이 필수영양물질 중에서 충족도가 가장 낮은 물질에 의해 제한된다는 리비히의 최소율법칙 (Liebig's law of the minimum)에 기초한 생물검정법 중의 하나이다. 이 시험법은 자연수가 가진 조류생산의 잠재능력에 따라 호수 및 연안해역의 부영양화 정도를 평가하고, 조류가 성장하는데 있어 영양염류의 이용성을 결정하고 제한영양염을 가장 정확하게 추정할 수 있는 것으로 알려져 있기 때문에 보편적으로 이용되고 있으며, 이 실험의 결과로부터 조류발생의 예측도 가능한 것으로 알려져 있다 (Kondo et al., 1984; Klapwijk et al., 1989; Taylor et al., 1990; Lukavsky, 1992; Iwata et al., 1997).

미국 환경보호청 (EPA, USA)은 *Selenastrum capricornutum* 을 공시 조류종으로 이용하여 자연계의 시료에서 조류성장을 측정할 수 있는 AGP 시험을 개발하여 1971년에 공식시험법으로 발표하였고 (Shiroyama et al., 1971), 'Standard Methods for the

⁺Corresponding author: khch072@chollion.net

Examination of Water and Wastewater'에 생물검정의 한 부분으로 포함되어 있다 (APHA, 1981).

일반적으로 호수, 저수지, 강 등의 담수생태계에서는 인산염이 조류성장의 주요 제한영양염으로 작용하는 반면 (Lange, 1971; Chiaudani and Vighi, 1974; Parr and Smith, 1976; Sridharan and Lee, 1977; Schindler, 1977), 해양생태계에서는 질소계 영양염이 조류성장을 제한하는 것으로 알려져 있다 (Ryther and Dunstan, 1971; Goldman, 1976; Yentsch et al., 1977; Nixon, 1981; Granéli et al., 1990). 그러나, 연안 해역은 외양 또는 육상으로부터의 영양염 공급에 의해 크게 영향을 받기 때문에 이러한 사실을 일반화하기는 어려울 것으로 보이는데 (Kang et al., 1999), 실제로 복잡 다양한 연안생태계 내에서 인이 식물플랑크톤의 성장을 제한하거나 (Myers and Iverson, 1981; Harrison et al., 1990; Krom et al., 1991; Thingstad et al., 1993; Karl et al., 1995), 질소와 인이 계절적으로 변동하여 제한하기도 하며 (D'Elia et al., 1986; Caraco, 1988; Doering et al., 1995), 질소와 인의 동시 제한도 일어난다 (Nishijima et al., 1990; Nishijima and Hata, 1991; Maestrini et al., 1997). 또한 trace metals에 성장제한을 받기도 한다 (Tranter and Newell, 1963; Martin and Fitzwater, 1988; Maestrini et al., 1997). 이러한 생태계 내에서 적조현상을 일으키는 식물플랑크톤의 성장 제한영양염을 밝히는 것은 적조발생 환경 예측과 나아가 적조현상의 제어에 필요한 가장 기본적인 과학적 정보가 된다.

우리 나라 남해안에 위치한 사랑도 수역은 점차 부영양화 되어 1990년대에 *Cochlodinium polykrikoides* 와편모조류에 의한 적조가 자주 발생하는 지역으로 알려져 있다 (NFRDI, 1999; 2000). 본 연구는 이 수역에서 *C. polykrikoides* 적조발생기구를 밝히고, 연안해역 수질관리 방안을 도출하기 위하여 적조 발생 전, 발생 중 그리고 소멸 후의 환경을 파악하고, AGP 시험을 통하여 성장 제한영양염을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 대상해역

사랑도 수역은 북쪽의 자란만, 동쪽의 통영, 서쪽의 남해도 사이에 위치하고 남쪽으로는 외양과 면해 있는데, 대상해역은 Fig. 1과 같이 사랑도 북서부 고정점에서 채취한 시료를 사용하여 수질환경조사 및 AGP 시험을 실시하였다.

2. 시료 채취

시험에 사용한 해수 시료는 1998년 *C. polykrikoides* 적조가 출현하기 전인 7월 23일과 8월 22일, 적조가 발생한 9월 25일 그리고 적조가 소멸한 후인 10월 15일 등 총 4회에 걸쳐 표면하 0.5 m 수심으로부터 채취하였다.

3. AGP 시험

시험에 사용한 *C. polykrikoides*는 국립수산진흥원이 보유하고 있는 배양주로 f/2-Si (Guillard and Ryther, 1962) 배지에서 계대 배양 (sub-culture)하여 사용하였다.

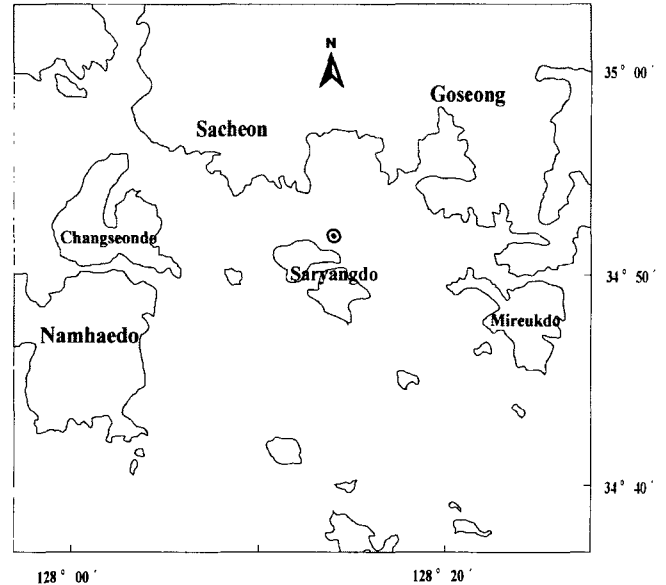


Fig. 1. Location of the sampling station in Saryang Island coast.

채취한 시료들은 membrane filter (공경, 0.45 μm)로 여과하고 다시 millipore filter (공경, 0.2 μm)로 여과해 무균해수를 조제하여 이것을 대조구로 설정하였고, 무균해수 50 mL씩을 무균 배양용기 (Nunc)에 분취한 후, f/20-Si배지에 2세대 이상, 7 ± 1 일 사전 배양하여 대수성장상태에 있는 *C. polykrikoides*의 세포를 배양배지에 접종하였다. 이때 사용된 29가지의 서로 다른 영양염 조합은 Table 1과 같다. 대조구를 제외한 나머지 28가지 조합들은 여과해수에 Table 2에 나타나 있는 농도로 영양물질을 첨가하여 준비하였다.

배양은 배양기 (DBO 232 SP)내 평양주기를 14 hr light: 10 hr dark로 하고 수온 23°C, 조도 7,500 lux에서 12~15일 동안 배양하여 조류가 최대밀도에 도달할 때까지 수행하였다. 세포의 성장조

Table 1. Nutrient combinations for enrichment culture experiments

Code number	Nutrient symbol	Code number	Nutrient symbol
1	Control	16	Fe
2	NO ₃ (10)	17	Mn
3	NO ₃ (10), PO ₄ (1)	18	EDTA
4	NO ₃ (10), PO ₄ (5)	19	Fe, Mn
5	NO ₃ (50)	20	Mn, EDTA
6	NO ₃ (50), PO ₄ (1)	21	Fe, EDTA
7	NO ₃ (50), PO ₄ (5)	22	Fe, Mn, EDTA
8	PO ₄ (5)	23	Bio
9	PO ₄ (1)	24	Thia
10	NH ₄ (10)	25	B ₁₂
11	NH ₄ (10), PO ₄ (1)	26	Bio, Thia
12	NH ₄ (10), PO ₄ (5)	27	B ₁₂ , Bio
13	NH ₄ (50)	28	B ₁₂ , Thia
14	NH ₄ (50), PO ₄ (1)	29	B ₁₂ , Bio, Thia
15	NH ₄ (50), PO ₄ (5)		

Table 2. Nutrient concentrations for enrichment culture experiments

Substance	Nutrient symbol	Final concentration
Macro-nutrient		
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	PO ₄ (1)	1.0 μM
	PO ₄ (5)	5.0 μM
NaNO ₃	NO ₃ (10)	10.0 μM
	NO ₃ (50)	50.0 μM
NH ₄ Cl	NH ₄ (10)	10.0 μM
	NH ₄ (50)	50.0 μM
Trace-metal		
FeCl ₃ · 6H ₂ O	Fe	0.21 μM
Na ₂ -EDTA	EDTA	0.21 μM
MnCl ₂ · 4H ₂ O	Mn	0.18 μM
Vitamin		
B ₁₂	B ₁₂	0.10 μg/L
Biotin	Bio	0.10 μg/L
Thiamine · HCl	Thia	20.0 μL

사는 2~3일에 한 번씩 배양용기에서 배양액을 균일하게 섞은 뒤 0.1 mL씩 subsampling한 후, 루골용액으로 세포를 고정하여 광학 현미경하에서 counting chamber를 사용하여 계수하고, 일간성장률 (specific growth rate, SGR)을 계산하였다 (Stein, 1973).

4. 수질분석법

대상해역과 배지조성 및 실험 후 배양액의 성분조사를 위한 분석항목과 분석법은 다음과 같다.

수온, 염분, pH는 현장에서 Hydrolab (Survey-III)으로 측정하였고, 화학적 산소요구량 (COD)은 알칼리성 과망간산 칼륨법으로 측정하였다 (수질오염·폐기물 공정시험방법, 1995). 총부유물질 (total suspended solids, TSS)은 Whatman GF/C 여과지를 사용하여 일정량의 시료를 여과한 후 여과지를 105~110°C의 건조기에서 2시간 건조시켜 측정하였고 (APHA, 1981), 휘발성부유물질 (volatile suspended solids, VSS)은 건조된 Whatman GF/C 여과지를 550°C의 전기로에서 회화시킨 후 총부유물질과의 무게 차이로 구하였다 (APHA, 1981). 질산질소 (NO₃⁻-N)는 Cadmium Reduction법으로, 아질산질소 (NO₂⁻-N)는 Sulfanilamide-NED법으로, 인산인 (PO₄³⁻-P)은 Ascorbic Acid법으로 각각 비색정량하였다 (APHA, 1981). 암모니아질소 (NH₄⁺-N)는 Indophenol법 (Solórzano, 1969)으로, Chlorophyll *a*는 Parsons and Strickland (1963)법으로 각각 비색 정량하였다.

결 과

1. 대상해역의 적조 및 이·화학적 환경특성 변동

1998년 남해안에서 *C. polykrikoides* 적조 변동은 8월 30일 전남 고흥군 거금도 동안에서 전남 여수시 돌산도 남단에 이르는 해역에서 처음 발생하여 9월 12일에 외나로도에서 여수 돌산도 남단에 이르는 해역에서는 고밀도의 적조로 발전하였다. 이 적조는 9월 16일에 옥지도 서방까지 확산되었고 9월 20일에는 통영 서방해역, 9월 21일에는 사량도 북서부 고정점에서 350~850 cells/mL로 나타났다. 이후 사량도 주변해역에 1주일 가량 진행되다가 태풍 예니가 한반도를 통과한 후인 10월 7일에 소멸하였다 (NFRDI, 1999).

적조가 발생하기 전인 1998년 7월 23일부터 적조가 소멸한 10월 15일까지 총 4회에 걸쳐 조사한 사량도 해역의 수질은 Table 3과 같다.

C. polykrikoides 적조가 출현하기 전인 7월과 8월의 수질은 수온과 염분이 25°C 내외와 30‰ 이상으로 나타났으며, 암모니아질소는 0.29~3.00 μM로 비교적 낮은 농도 범위를 나타냈고, 질산질소 농도는 1.29~1.79 μM이었으며, 인산인 농도는 0.33~0.39 μM로 나타났다. 적조가 발생한 9월의 수질은 수온과 염분이 25°C와 30‰ 이상으로 나타났으며, 암모니아질소 농도는 24.33 μM로 적조발생 전보다 거의 8배 이상의 농도를 나타내었고, 질산질소 농도는 0.58 μM로 2.6배 낮아졌으며, 인산인 농도는 1.61 μM로 거의 4배 이상 증가하였다. 그리고, *C. polykrikoides*의 높은 밀도와 함께 적조생물에 의한 Chlorophyll *a*, COD, TSS, VSS의 높은 증가가 나타났다. 적조가 소멸한 10월의 수질은 수온이 23°C 이하로 낮아졌고, 염분은 31.3‰으로 나타났다. 암모니아질소와 인산인 농도는 각각 적조가 발생하기 전 수준인 5.67 μM과 0.29 μM로 각각 낮아졌고, 질산질소 농도는 2.72 μM로 높아졌다.

2. 조류성장잠재력 측정

7월 23일에 채취한 시료에 단독 또는 복합적으로 영양물질을 첨가하여 *C. polykrikoides*의 조류성장잠재력을 측정한 결과를 Fig. 2A에 나타내었다. 대조구에서 *C. polykrikoides* 일간성장률은 0.115 divisions (div.)/day로 나타났다. 10 μM 질산질소 단독 또는 인산인의 복합첨가에 의한 일간성장률은 0.125~0.144 div./day로 대조구보다 약간 높게 나타났고, 50 μM 질산질소와 5 μM 인산인의 복합첨가는 일간성장률이 0.343 div./day로 더욱 높게 나타났다. 10 μM 암모니아질소와 1 μM 인산인의 단독첨가는 대조구의 90~93%로 성장을 하였지만, 50 μM 암모니아질소와 인산인의 복합첨가는 일간성장률이 0.200 div./day와 0.371 div./day로 대조구에 비

Table 3. The analysis results of sea water in Saryang Island coast in 1998

Collected Date	Water Temp. (°C)	Sal. (‰)	pH	NH ₄ ⁺ -N (μM)	NO ₂ ⁻ -N (μM)	NO ₃ ⁻ -N (μM)	PO ₄ ³⁻ -P (μM)	Chl. <i>a</i> (mg/m ³)	COD (mg/L)	TSS (mg/L)	VSS (mg/L)
23th July	24.29	30.06	8.21	0.29	0.14	1.79	0.33	5.03	2.47	0.86	0.37
22th Aug.	25.86	30.14	8.59	3.00	0.07	1.29	0.39	1.25	3.00	1.78	0.81
25th Sep.	25.29	30.31	8.25	24.33	0.27	0.58	1.61	74.55	20.35	38.13	30.62
15th Oct.	22.81	31.32	8.04	5.67	1.04	2.72	0.29	2.59	3.65	4.64	2.78

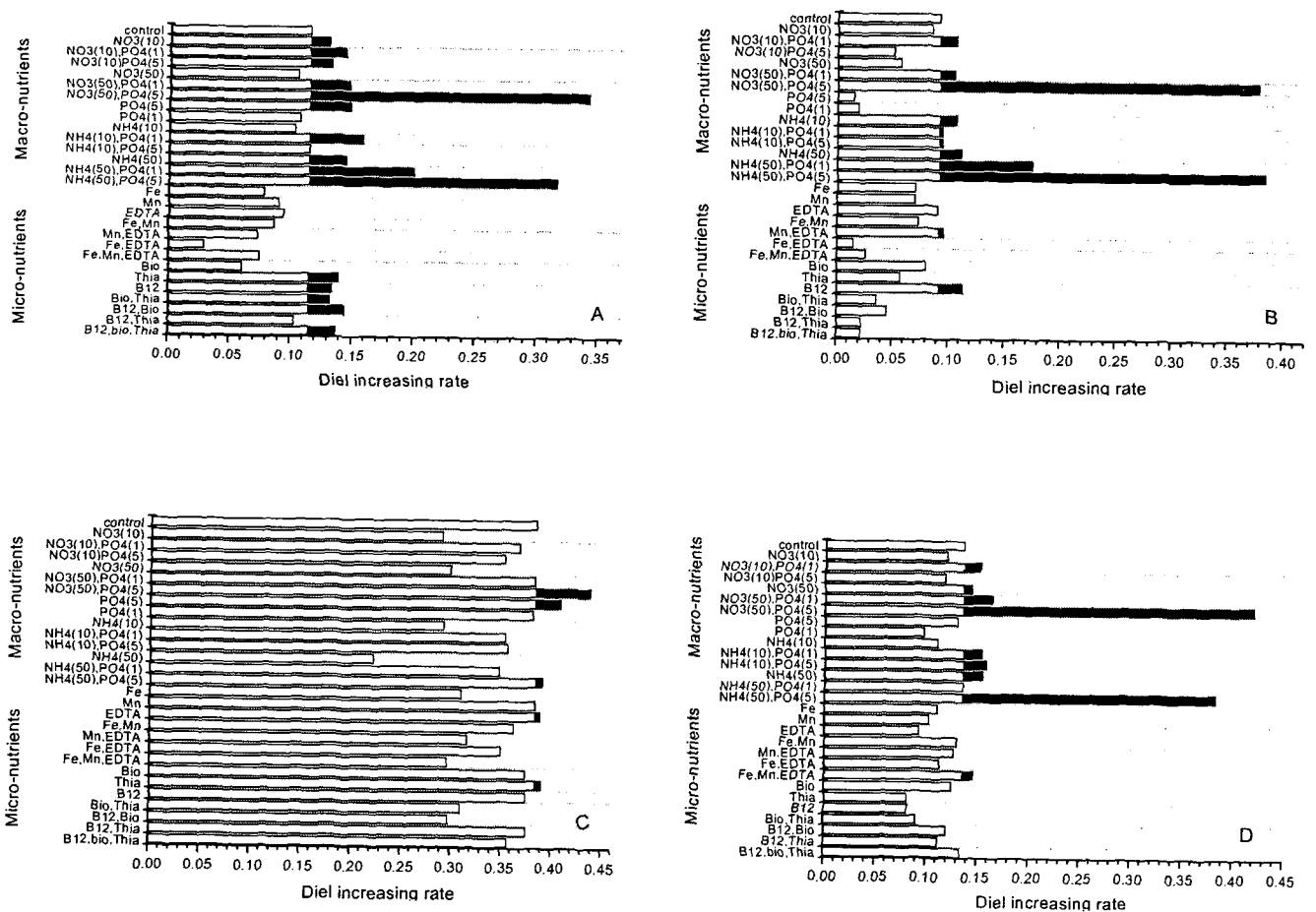


Fig. 2. Diel increasing rates of *C. polykrikoides* by algal growth potential test under various nutrient additions. Increasing rate exceeding the control is shown by black bar. A: 23th July, B: 22th Aug., C: 25th Sep., D: 15th Oct.

해 1.7배, 3.2배 증가하였으며, macro-nutrients의 다른 실험구보다 훨씬 높은 성장률을 보였다. 주목할 만한 것은 고농도의 질산질소와 고농도의 인산인의 동시첨가에 의해 성장이 더욱 촉진되었는데, 특히 50 μM 암모니아질소와 인산인의 동시첨가가 성장에서 두드러진 결과를 보였다. *C. polykrikoides* 성장에 미치는 micro-nutrients의 영향을 살펴보면 trace-metals는 오히려 성장을 감소시키는 저해요인으로 나타났고, vitamin은 biotin의 단독첨가와 B₁₂와 thiamine·HCl의 복합첨가를 제외하고는 모든 구간에서 1.15~1.25배 성장을 촉진시켰다.

8월 22일에 채취한 시료에 대한 실험결과는 Fig. 2B에서 볼 수 있듯이, 대조구에서 *C. polykrikoides* 일간성장률은 0.092 div./day로 계산되었다. 질산질소와 인산인의 단독첨가는 일간성장률이 0.015~0.085 div./day로 다소 감소하였지만, 암모니아질소 단독첨가는 그 성장률을 약 16~21% 증가시켰다. 50 μM 질산질소와 인산인, 그리고 50 μM 암모니아질소와 인산인의 복합첨가에 의한 일간성장률은 0.105~0.378 div./day, 0.175~0.384 div./day로 각각 14~311%, 90~317%로 성장률을 증가시켰다. Trace-metals의 첨가에 의한 성장률을 조사한 결과, Mn, EDTA의 복합첨가로 증식을 다소 증가시켰지만 그 외는 성장률을 감소시켰고, Fe, EDTA의

복합첨가의 경우 84%의 성장률의 감소를 보였다. Vitamin B₁₂는 성장률을 다소 증대시키는 효과를 나타내었다.

C. polykrikoides 적조가 발생한 9월 25일에 채취한 시료에 대한 AGP 시험은 7월 23일, 8월 22일과는 상이한 실험결과를 나타내었다. 대조구의 일간성장률은 0.384 div./day이었고, 이것은 7월의 실험결과보다 3.3배, 8월의 실험결과보다 약 4.2배 큰 값이었다 (Fig. 2C). 질산질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM)의 복합첨가와 인산인 (5 μM)의 단독첨가, 그리고 암모니아질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM)의 복합첨가에 의한 일간성장률은 다소 미약한 증가를 나타내었다. Micro-nutrients에서는 EDTA와 thiamine·HCl에 의해서 일간성장률이 다소 증가하는 듯 하였지만, 그 외의 macro-, micro-nutrients에 대한 모든 실험구에서의 일간성장률은 대조구와 비슷하거나 오히려 감소하였다. 특히 50 μM 암모니아질소는 일간성장률이 0.222 div./day까지 성장률을 저하시켰다. 7월과 8월의 실험결과와 비교해 영양염 첨가에 의한 특별한 증식이 없는 것으로 보아 질소와 인의 영양염 결핍은 나타나지 않는 것으로 판단되었다.

적조가 소멸된 후인 10월 15일의 현장해수에 영양물질을 첨가 후 *C. polykrikoides*를 접종하여 AGP를 측정된 결과를 Fig. 2D에 나타내었다. 10 μM 질산질소와 암모니아질소 단독첨가에 의한 증

식보다 50 μM 질산질소와 암모니아질소 단독첨가에서 다소 높은 성장률을 나타내었다. 그리고 질산질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM), 암모니아질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM)의 복합첨가에서 일간성장률이 각각 0.421, 0.384 div./day로 가장 큰 값을 나타내었다. 이것은 적조가 발생한 9월 25일의 해수를 이용한 실험과는 다른 결과로 *C. polykrikoides* 성장에 질소와 인과 같은 영양염의 제한이 다시 일어나고 있다는 것을 가리켰다. Micro-nutrients에 대한 평가에서는 Fe, Mn, EDTA 복합첨가에 의해 성장률이 미약하나마 다소 증가되는 효과를 나타내었다.

고 찰

본 연구에서 나타난 가장 흥미있는 결과는 *C. polykrikoides*에 의한 적조가 발생하기 전, 후의 경우와 적조발생 중의 영양염에 의한 조류성장 제한이 뚜렷한 차이를 보인다는 것이었다.

적조가 발생하기 전과 소멸 후의 해수에 대한 영양염 첨가실험 결과, 질소와 인의 단독첨가에 의해서는 *C. polykrikoides*의 성장이 크게 촉진되지 않았던 반면, 질산질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM), 암모니아질소 (50 μM)와 인산인 (5 μM)의 복합첨가에 의해 그 성장률은 뚜렷하게 증가하였다 (Fig. 2). 따라서, 이 때는 질소와 인이 동시에 조류의 성장을 제한하는 영양염으로 판명되었다. 질소와 인의 동시제한은 여러 연구자들에 의해 다양한 연안 해양에서 확인되고 있다 (Nishijima et al., 1990; Nishijima and Hata, 1991; Maestrini et al., 1997). 그러나, 적조가 발생한 해수에 대한 macro-nutrients의 첨가실험 결과는 어떤 영양염도 *C. polykrikoides*의 성장에 뚜렷한 효과를 나타내지 않아 이때의 *C. polykrikoides*의 성장은 실험에 이용된 영양염에 의해 제한을 받지 않는 것으로 평가되었다 (Fig. 2C). Iwata et al. (1997)에 의하면 Gokasho만에서 *Gymnodinium mikimotoi* 적조가 발생하기 전에는 인산인이 성장 제한영양염으로 판명되었지만, 적조 발생 중에는 인산인 제한은 해제되었으며, 적조가 소멸된 후에는 질산질소가 제한영양염으로 확인되었다. 이와 같은 사실로부터 적조가 발생하는 해역에서 제한영양염은 적조발생 단계별로 변동하리라 예상되며, 이것은 본 연구를 통해서도 확인되었다.

한편, micro-nutrients는 적조의 발생단계에 관계없이 조류의 성장을 촉진시키지 않았다. 이러한 결과는 Maestrini et al. (1997)이 *Nitzschia closterium*과 *Thalassiosira pseudonana*의 성장에 있어 유기태 영양염과 micro-nutrients는 제한영양염으로 중요한 역할을 하지 않는다고 하였고, Takahashi and Fukazawa (1982)는 *Skeletonema costatum*과 *Thalassiosira* sp.의 성장에 있어 macro-nutrients는 성장을 크게 촉진시켰으나 micro-nutrients에 의해서는 그 영향이 작았다고 하는 결과와 잘 일치하였다. Frey and Small (1980)은 macro-nutrients (N, P, Si)는 최종적인 조류 생산량을 결정하지만 micro-nutrients는 자연조류군집에서 종의 구성에만 실질적인 영향을 미친다고 하였다. 한편, Yamochi (1984)에 의하면 *Prorocentrum micans*는 iron-EDTA를 제외한 micro-nutrients 및 macro-nutrients에 의하여 성장이 촉진되지 않았고, *Eutreptiella* sp.는 thiamine, vitamin B₁₂와 iron-EDTA의 조합에 의해서, *Chat-*

*tonella marina*는 iron-EDTA와 인산인의 단독 혹은 조합에 의해서 성장이 잘된다고 하였다.

한편, 영양염 첨가에 의해 조류성장의 불규칙적인 저해작용이 관찰되기도 하는데 (Moss, 1969; Granéli, 1978; Granéli et al., 1990), 특히 영양염 조합에 의한 첨가실험 (multi-enrichment combinations)에서 조류성장의 뚜렷한 저해효과가 확인되었다 (Gonzalez-Rodríguez, 1982; Le Rouzic, 1993). 이러한 사실은 본 연구를 통해서도 확인되었는데, 적조가 발생하기 전인 7월과 8월의 경우 micro-nutrients의 복합첨가에 의해 성장의 저해현상이 뚜렷이 나타났다. 이것은 영양염 경쟁이 조류 성장에 있어 현저한 저해작용을 일으킨다고 한다 (Granéli, 1978; Sterner, 1989). Le Rouzic and Bertru (1997)는 조류군집 성장에 있어 영양염 첨가시 저해작용은 두 가지에 기초를 두었는데, 첫째는 영양염의 세포내 축적은 영양염 제한 또는 비제한에 필수적으로 고려되어지고, 둘째는 한 조류 종의 성장에 비제한적인 영양염이 다른 조류 종의 성장에 있어서는 영양염 경쟁측면에서 제한영양염으로 작용한다는 것이다.

연안 해양에서 질소와 인의 계절적인 제한영양염 변동은 퇴적물에서 인 용출의 계절성에 기인하기도 하며 (Jensen et al., 1995), 외부로부터의 부하에 의한 N:P 비에 기인하기도 한다 (Doering et al., 1995).

본 연구해역에서 *C. polykrikoides* 적조가 발생하기 직전에 성층현상이 사라지면서 활발한 수주 (water column)의 연직혼합에 의해 저층수로부터 다량의 영양염 공급이 이루어지고 (Kim et al., 1999; NFRDI, unpublished data), 이와 함께 *C. polykrikoides* 적조가 군집을 이루며 군중식과 사멸을 되풀이하는 동안 생물 사체의 분해 (Kim et al., 2001)에 의해 오히려 적조가 진행중인 이 시기 (9월)에 암모니아질소 농도가 더욱 증가하는 것으로 보인다. 그리고, 성층이 강하게 형성된 시기에 표층수로의 인산인 공급은 억제되지만, 성층현상이 사라지면 퇴적물로부터 용출되어 저층수에 축적되어 있던 높은 농도의 인산인이 표층으로 공급되면서 (Yang and Hong, 1982; Kemp and Boynton, 1984; Lee, 1993; Iwata et al., 1997; Kang et al., 1999; Kim et al., 1999) 이 시기 (9월)에 암모니아질소와 함께 인산인 농도도 높게 나타났다. 한편, 이 시기 (9월)에 질산질소 농도가 암모니아질소 농도에 비하여 상대적으로 낮게 나타난 것은 *C. polykrikoides* 적조가 발생하기 직전에 질소계 영양염 중 암모니아질소 농도가 높게 나타났던 것을 고려할 때 (Kim et al., 1999), 질산질소의 표층으로의 유입이 상대적으로 적은 것으로 보이고, 또한 암모니아질소뿐만 아니라 질산질소도 *C. polykrikoides*의 성장시 유효한 영양염으로 선택되어 흡수가 이루어진 결과 (Kim et al., 2001)도 한 원인으로 설명될 수 있을 것이다.

규조류와 타 와편모조류에 의한 적조의 일반적인 발생환경은 마산만, 진해만, 진동만, 가막만 등의 반폐쇄성 내만의 부영양 또는 과영양상태의 수역에서 발생하는 것으로 알려져 왔으나, *C. polykrikoides*에 의한 적조는 해가 갈수록 부영양화가 진행되고 있는 외측수역에서 자주 발생하고 있으며 최근에는 거의 매년 같은 장소인 전남 외나로도 외측수역에서 발생하고 있는 실정이다 (Kim

et al., 1999). 이러한 사실로 미루어 실험대상해역인 사랑도 해역은 최근 부영양화가 진행되고 있으며 (Kim et al., 1999) 언제라도 적조발생이 가능한 수질로 오염이 진행되고 있어 *C. polykrikoides* 적조가 자주 발생하는 것으로 사료된다. 이와 같은 사실은 본 AGP 시험을 통하여 저농도 보다는 고농도의 macro-nutrients 복합첨가에 의해 성장률이 높게 나타난 것으로 나타나 이와 같은 사실이 간접적으로 증명이 되었으며, 그것이 제한영양염으로 확인되었다.

적조가 발생하는 해역의 조류성장 제한영양염은 지역별 또는 시기별로 변화할 수 있으므로 적조발생 가능 농도 이하로의 수질 관리 및 적조발생 예측을 위해서는 정점별 및 시기별로 어떤 영양물질이 조류성장의 제한요소인가를 확인하여 보다 신속한 대비가 필요하다. 그리고, 본 AGP 시험은 조류가 지수성장기에 이르면 걸리는 시간이 12~14일 정도 걸리기 때문에 담수산 종의 경우 (Schultz et al., 1994)처럼 시간을 단축시킬 수 있는 새로운 AGP 시험법 개발 등이 필요하다.

또한, AGP는 조류의 종류와 배양조건에 따라 달라지는 것이 당연하지만, 같은 조류를 사용해도 접종시의 생리상태와 접종량에 따라 그 결과가 달라진다. 특히, 사전배양으로 영양염의 기아처리를 충분히 하지 않은 조류는 세포 내에 필수영양물질을 과잉축적하고 있는 경우가 있다. 이와 같은 조류를 접종하면 분명히 지나치게 큰 AGP를 나타낼 뿐만 아니라, 증식에 대한 저해·촉진 등의 효과가 은폐될 가능성도 있다 (Nishijima and Hata, 1991). 그리고, 시료의 보존, 멸균처리 등 시료의 전처리에 의해 시료 중의 영양물질이 질적·양적으로 변화하여 시험결과에 영향을 미치기 때문에 보다 세심한 주의를 요한다.

본 연구에서 *C. polykrikoides* 종의 성장제한 영양염은 적조발생 전, 중, 그리고 소멸 후에 각각 다르게 나타나 적조발생 단계별로 실시간 모니터링을 통한 영양염 변동을 파악할 필요가 있으며, 적조발생 직전 (Kim et al., 1999) 및 진행 중에 보다 높은 N, P 영양염 농도가 확인되어 사랑도 해역의 생물·화학적 N, P의 순환 과정을 밝힐 필요가 있다. 또한 단순한 해수중의 N, P 양으로부터 식물플랑크톤의 성장 제한영양염을 추측하기보다는 실질적으로 식물플랑크톤이 이용할 수 있는 영양염의 양을 구명할 필요가 있다.

C. polykrikoides 적조발생은 부영양화가 진행되고 있는 외측수역에서 발생하고 있기 때문에 점차 연안으로부터 외해로 수질오염이 진행되고 있는 실정을 감안할 때 이 종의 적조발생 가능성은 점차 커진다고 볼 수 있다. 따라서, 내나로도, 사랑도, 거제도 동안 등에서 상습적으로 발생하는 해역을 인접하는 지역으로부터의 부하량을 감소시키고, 저질을 개선하는 등, 적조발생해역의 부영양화 방지를 위한 시책이 필요하며, 질소, 인에 대한 수질목표를 설정하여 부하량을 삭감하려는 근본적인 노력과 관련 연구의 계속적인 진행이 필요하다.

요 약

우리나라 남해안에서 매년 유해 외편모조류인 *Cochlodinium polykrikoides*에 의한 적조가 발생하고 있는데, 본 연구에서는 남

해안의 사랑도 주변 해역을 대상으로 AGP 시험을 통하여 *C. polykrikoides*의 성장 제한영양염을 평가하였다.

Macro- 및 micro-nutrients 첨가에 의한 적조 발생 단계별 *C. polykrikoides*의 성장은 두 가지의 서로 다른 반응으로 나타나 조류성장 제한영양염이 명확하게 확인되었다. 사랑도 해역의 고정점에서 적조가 발생하기 전인 7월과 8월, 적조가 소멸한 후인 10월의 AGP 시험에서는 질산질소 ($50 \mu\text{M}$)와 인산인 ($5 \mu\text{M}$), 암모니아질소 ($50 \mu\text{M}$)와 인산인 ($5 \mu\text{M}$)의 복합첨가에 의해 성장률이 크게 증가하였다. Macro-nutrients의 단일첨가에 대해서는 뚜렷한 성장을 나타내지 않았고 micro-nutrients도 성장을 촉진시키지 않았다. 이러한 결과로 이 시기에는 질소와 인이 동시에 *C. polykrikoides*의 성장 제한영양염으로 작용하였다는 것이 확인되었다. 그러나, 적조가 발생한 9월의 AGP 시험에서는 성장에 필요한 macro- 및 micro-nutrients의 결핍이 나타나지 않아 이 기간 중에 *C. polykrikoides*의 성장은 영양염의 제한을 받지 않는다는 것이 확인되었다. 이때 사랑도 연안의 영양염 농도는 암모니아질소와 인산인 농도가 각각 $24.33, 1.61 \mu\text{M}$ 로 적조가 발생하기 전과 소멸한 후에 비해 평균 8.2, 4.8배 높은 값을 나타냈고, 질산질소 농도는 $0.58 \mu\text{M}$ 로 평균 3.3배 낮은 값을 나타냈다. 그러므로, *C. polykrikoides* 적조는 N, P 농도 증가에 기인한 부영양화가 진행되는 해역에서 발생할 가능성이 높다는 것을 시사한다.

감사의 글

본 연구를 수행하는데 있어 시료를 제공해 주신 국립수산진흥원 임기혁 연구사님과 참고문헌의 제공과 함께 많은 조언을 해 주신 강창근 박사님께 감사의 말씀을 올립니다. 그리고, 본 논문의 심사를 맡아주신 익명의 심사위원들에게도 감사를 표합니다.

참 고 문 헌

- American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. 1981. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th ed. American Public Health Association, Washington DC, 1134pp.
- Boesch, D.F., D.M. Anderson, R.A. Horner, S.E. Shumway, P.A. Tester and T.E. Whitledge. 1997. Harmful algal blooms in coastal waters: Option for prevention, control and mitigation. NOAA coastal ocean program, decision analysis series No. 10, 5pp.
- Caraco, N.F. 1988. What is the mechanism behind the seasonal switch between N and P limitation in estuaries? Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45, 381~382.
- Chiaudani, G. and M. Vighi. 1974. The N:P ratio and tests with *Selenastrum* to predict eutrophication in lakes. Water Res., 8, 1063~1069.
- D'Elia, C.F., J.G. Sanders and W.R. Boynton. 1986. Nutrient enrichment studies in a coastal plain estuary: Phytoplankton growth in large-scale, continuous cultures. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 43, 397~406.
- Doering, P.H., C.A. Oviatt, B.L. Nowicki, E.G. Klos and L.W. Reed. 1995. Phosphorus and nitrogen limitation of primary production

- in a simulated estuarine gradient. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 124, 271~287.
- Fong, F., J.B. Zedler and R.M. Donohoe. 1993. Nitrogen vs. phosphorus limitation of algal biomass in shallow coastal lagoons. *Limnol. Oceanogr.*, 38, 906~923.
- Frey, B.E. and L.F. Small. 1980. Effects of micro-nutrients and major nutrients on natural phytoplankton populations. *J. Plankt. Res.*, 2, 1~22.
- Goldman, J.C. 1976. Identification of nitrogen as a growth-limiting nutrient in waste waters and coastal marine waters through continuous culture algal assays. *Water Res.*, 10, 97~104.
- Goldman, J.C., J.J. McCarthy and D.G. Peavey. 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, 279, 210~215.
- Gonzalez-Rodriguez, E. 1982. La résurgence de Cabo Frio (R.J. Brésil): Fertilité, facteurs nutritionnels limitant la biomasse algale: Essai d'amélioration. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Aix-Marseille II, 112pp.
- Granéli, E. 1978. Algal assay of limiting nutrients for phytoplankton production in Öresund. *VATTEN*, 2, 117~128.
- Granéli, E., K. Wallstrom, U. Larsson, W. Granéli and R. Elmgren. 1990. Nutrient limitation of primary production in the Baltic Sea area. *Ambio*, 19, 142~151.
- Guillard, R.R.L. and J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella naan* HUSTEDT and *Detonula confervacea* (CLEVE) GRAN. *Can. J. Microbiol.*, 8, 229~239.
- Harrison, P.T., M.H. Hu, Y.P. Yang and X. Lu. 1990. Phosphate limitation in estuarine and coastal waters of China. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 140, 79~87.
- Healey, F.P. and L.L. Hendzei. 1980. Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37, 442~453.
- Hecky, R.E. and P. Kilham. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.*, 33, 796~822.
- Iwata, Y., I. Sugahara, T. Kimura, K. Silapajarn, M. Sano, T. Mizuguchi, A. Nishimura, M. Inoue and T. Takeuchi. 1997. Growth potential of *Gymnodinium mikimotoi* in Gokasho Bay. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 63, 578~584 (in Japanese).
- Jensen, H.S., P.B. Mortensen, F.φ. Andersen, E. Rasmussen and A. Jensen. 1995. Phosphorus cycling in a coastal marine sediment, Aarhus Bay, Denmark. *Limnol. Oceanogr.*, 40, 908~917.
- Kang, C.K., P.J. Kim, W.C. Lee and P.Y. Lee. 1999. Nutrients and phytoplankton blooms in the southern coastal waters of Korea: I. The elemental composition of C, N, and P in particulate matter in the coastal bay system. *J. Oceanol. Soc. Korea*, 34, 86~94.
- Karl, D.M., R. Leteller, D. Hebel, L. Tupas, J. Dore, J. Christeian and C. Winn. 1995. Ecosystem changes in the North Pacific subtropical gyre attributed to the 1991~92 El Niño. *Nature*, 373, 230~234.
- Kemp, W.M. and W.R. Boynton. 1984. Spatial and temporal coupling of nutrient inputs to estuarine primary production: The role of particulate transport and decomposition. *Bull. Mar. Sci.*, 35, 522~535.
- Kim, H.C., C.K. Lee, S.G. Lee, H.G. Kim and C.K. Park. 2001. Physico-chemical factors on the growth of *Cochlodinium polykrikoides* and nutrient utilization. *J. Korean. Fish. Soc.*, 34, 445~456 (in Korean).
- Kim, H.G., W.J. Choi, Y.G. Jung, C.S. Jung, J.S. Park, K.H. An and C.I. Baek. 1999. Initiation of *Cochlodinium polykrikoides* blooms and its environmental characteristics around the Narodo Island in the western part of South Sea of Korea. *Bull. Nat'l. Fish. Res. Dev. Inst. Korea*, 57, 119~129 (in Korean).
- Klapwijk, S.P., G. Bolier and J. van der Does. 1989. The application of algal growth potential tests (AGP) to the canals and lakes of western Netherlands. *Hydrobiologia*, 188/189, 189~199.
- Kondo, M., T. Sakai, H. Yamamoto and Y. Arakawa. 1984. Algal growth potential and the limiting nutrient in Mikawa Bay. *J. Oceanogr. Soc. Jap.*, 40, 391~396.
- Krom, M.D., N. Kress and S. Brenner. 1991. Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 424~432.
- Lange, W. 1971. Limiting nutrient elements in filtered Lake Erie water. *Water Res.*, 5, 1031~1048.
- Le Rouzic, B. 1993. Limitation par l'azote et le phosphore de la croissance des algues planctoniques en zone littorale. Thèse Doct., Univ. Rennes I, 193pp.
- Le Rouzic, B. and G. Bertru. 1997. Phytoplankton community growth in enrichment bioassay: Possible role of the nutrient intracellular pools. *Actaologica*, 18, 121~133.
- Lee, P.Y. 1993. Occurrence and seasonal variation of oxygen-deficient watermass in Wonmun Bay. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 26, 392~400 (in Korean).
- Lukavsky, J. 1992. The evaluation of algal growth potential (AGP) and toxicity of water by miniaturized growth bioassay. *Water Res.*, 26, 1409~1413.
- Maestrini, S.Y., B.R. Berland, M. Breret, C. Béchemin, R. Poletti and A. Rinaldi. 1997. Nutrients limiting the algal growth potential (AGP) in the Po River plume and an adjacent area, Northwest Adriatic Sea: Enrichment bioassays with the test algae *Nitzschia closterium* and *Thalassiosira pseudonana*. *Estuaries*, 20, 416~429.
- Maestrini, S.Y., D.J. Bonin and M.R. Droop. 1984. Phytoplankton as indicator of sea water: Bioassay approaches and protocols. In *Algae as Ecological Indicators*, L.E. Shubert, ed. Academic Press Inc., London, pp. 71~132.
- Martin, J.H. and S.E. Fitzwater. 1988. Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific Subarctic. *Nature*, 331, 341~343.
- Moss, B. 1969. Limitation of algal growth in some central African waters. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 591~601.
- Myers, Y. and R. Iverson. 1981. Phosphorus and nitrogen limited phytoplankton productivity in northeastern Gulf of Mexico coastal estuaries. In *Estuaries and Nutrients*, B.J. Neilson and L. E. Cronin, eds. Humana, Clifton, pp. 568~582.
- Myklestad, S. 1977. Production of carbohydrate by marine planktonic diatoms. I. Influence of the N/P ratio in the growth medium on the assimilation ratio, growth rate, and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. *willei* (Gran) Hustedat and *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 29, 161~179.
- NFRDI. 1997. Recent red tides in Korean coastal waters. National

- Fisheries Research and Development Institute, Korea, 280pp (in Korean).
- NFRDI. 1999. Harmful algal blooms in Korean coastal waters from 1997 to 1998. National Fisheries Research and Development Institute, Korea, 215pp (in Korean).
- NFRDI. 2000. Harmful algal blooms in Korean coastal waters in 1999. National Fisheries Research and Development Institute, Korea, 206pp (in Korean).
- Nishijima, T. and Y. Hata. 1991. Growth potentials of red tide phytoplankters in coastal seawater by AGP assay. *Mar. Poll. Bull.*, 23, 175~179.
- Nishijima, T., T. Yamatogi and Y. Hata. 1990. Studies on the nutritional requirements of *Skeletonema costatum* and its preparation of inoculum for AGP assay. *Jpn. J. Wat. Poll. Res.*, 13, 173~179 (in Japanese).
- Nixon, S.W. 1981. Remineralization and nutrient cycling in coastal marine ecosystems. In *Estuaries and Nutrients*, B.J. Neilson and L.E. Cronin, eds. Humana, Clifton, pp. 111~138.
- O'Connor, D.J. 1981. Modeling of eutrophication in estuaries. In *Estuaries and Nutrients*, B.J. Neilson and L.E. Cronin, eds. Humana, Clifton, pp. 183~223.
- O'Connor, D.J., R.V. Thomann and D.M. Ditoro. 1977. Water-quality analysis of estuarine systems. In *Estuaries, Geophysics, and the Environment*. National Academy of Sciences, Washington DC, pp. 71~83.
- Parr, M.P. and R.V. Smith. 1976. The identification of phosphorus as a growth-limiting nutrient in Lough Neagh using bioassays. *Water Res.*, 10, 1151~1154.
- Parsons, T.R. and J.D.H. Strickland. 1963. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *J. Mar. Res.*, 21, 155~163.
- Ryther, J.H. and W.M. Dunstan. 1971. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environment. *Science*, 171, 1008~1013.
- Sakshaug, E. and O. Holm-Hansen. 1977. Chemical composition of *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve and *Pablova* (*Monochrysis*) *lutheri* (Droop) Green as a function of nitrate-, phosphate-, and iron-limited growth. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 29, 1~34.
- Schindler, D.W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*, 195, 260~262.
- Schindler, D.W. and E.J. Fee. 1974. Experimental lakes area: Whole-lake experiments in eutrophication. *J. Fish. Res. Board Can.*, 31, 937~953.
- Schultz, D.A., R.L. Raschke and R. Jones. 1994. A shortened algal growth potential test. *Environmental Monitoring and Assessment*, 32, 201~205.
- Shiroyama, T., W.E. Miller and J.C. Greene. 1971. The effects of nitrogen and phosphorus on the growth of *Selenastrum capricornutum* Printz. In *Biostimulation Nutrient Assessment Workshop*, EPA 606/3075-034, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, pp. 132~142.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 799~801.
- Sridharan, N. and G.F. Lee. 1977. Algal nutrient limitation in Lake Ontario and tributary waters. *Water Res.*, 11, 849~858.
- Stein, J.R. 1973. *Handbook of Phycological Methods-19: Division rates*. Cambridge University Press, pp. 289~311.
- Sterner, R.W. 1989. Resource competition during seasonal succession toward dominance by cyanobacteria. *Ecology*, 70, 229~245.
- Takahashi, M. and N. Fukazawa. 1982. A mechanism of 'red-tide' formation. II. Effect of selective nutrient stimulation on the growth of different phytoplankton species in natural water. *Mar. Biol.*, 70, 267~273.
- Taylor, M.F., W.J. Clark and L. Ho. 1990. Nutrient availability and the algal growth potential (AGP) in a small microcosm. *Water Res.*, 24, 529~532.
- Thingstad, T.F., E.F. Skjoldal and R.A. Bohne. 1993. Phosphorus cycling and algal-bacterial competition in Sandsfjord, western Norway. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 99, 239~259.
- Tranter, D.J. and B.S. Newell. 1963. Enrichment experiments in the Indian Ocean. *Deep-Sea Res.*, 10, 1~9.
- Yamochi, S. 1984. Nutrient factors involved in controlling the growth of red tide flagellates *Prorocentrum micans*, *Eutreptiella* sp. and *Chattonella mirina* in Osaka Bay. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 31, 97~106 (in Japanese).
- Yang, D.B. and G.H. Hong. 1982. Nutrients and chlorophyll *a* variation at a fixed station during the red tides in the Jinhai Bay. *J. Oceanol. Soc. Korea*, 17, 19~26.
- Yentsch, C.M., C.S. Yentsch and L.R. Strube. 1977. Variations in ammonium enhancement, an indication of nitrogen deficiency in New England coastal phytoplankton populations. *J. Mar. Res.*, 35, 537~555.
- 수질오염 · 폐기물 공정시험방법. 1995. 동화기술. 565pp.

2001년 4월 18일 접수

2001년 9월 4일 수리