

제한영양염 첨가에 따른 자생 적조 식물플랑크톤의 증식

이 영 식

국립수산과학원 양식환경연구소
(2006년 2월 9일 접수; 2006년 8월 28일 채택)

Growth of the Indigenous Red-tide Phytoplankton Assemblage with the Addition of Limiting Nutrients

Young-Sik Lee

Aquaculture Environment Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Kyeongnam 650-943, Korea
(Manuscript received 9 February, 2006; accepted 28 August, 2006)

An algal assay procedure using an indigenous phytoplankton assemblage was tested to estimate the propagation of red tide phytoplankton species and determine the optimal time interval at which to measure growth yield in eutrophic marine waters where red tides frequently occur. Various red tide phytoplankton species were propagated on a large scale by adding nitrogen or phosphorous. This procedure was useful for estimating the limiting nutrient, elucidating the mechanisms underlying red tides, and determining the levels of increases in organic matter in eutrophic coastal waters. The algal assay using indigenous *C. polykrikoides* showed that this species did not always propagate, apparently because of very low concentrations of trigger elements that are necessary for its growth, rather than as a result of other environmental characteristics, e.g., water temperature or stress from sampling. In the winter, when water temperatures are lower than in spring, summer, or autumn, maximum propagation and the limiting nutrient could be estimated by measuring phytoplankton biomass at 2-3-day intervals. However, in the other seasons, when water temperatures are higher, phytoplankton biomass should be measured at 2-day intervals. In particular, daily monitoring will be required to determine precise growth yields in warm seasons.

Key Words : Algal assay, Estuary, Limiting Nutrient, Indigenous phytoplankton

1. 서 론

연안해역에서 식물플랑크톤의 증식 메커니즘을 이해하는 것은 연안해역의 수질관리, 적조발생의 제어, 생태계의 이해의 측면에서 아주 중요하다. 식물플랑크톤의 증식 메커니즘을 이해하기 위해서는 제한영양염을 조사할 필요가 있으며, 그 방법으로는 DIN/DIP비, Mesocosm실험, Nutrient turnover time, Alkaline phosphatase activity, Algal assay 등이 있다^{1~5)}.

이 중에서 가장 널리 사용되고 있는 Algal assay 는 과거에는 배양하기 쉬운 특정 식물플랑크톤을

이용하여 제한영양염을 검토하였으나⁶⁾, 현장의 상태를 충분히 반영한다고 보기는 어려운 점이 있어 자생 식물플랑크톤을 이용한 Algal assay가^{2,3,5)} 널리 사용되고 있다. 하지만 이 경우에도 *Chaetoceros* spp., *S. costatum*과 같이 규조류의 몇몇 종이 우점하고, 우점한 종으로 연구대상해역의 제한영양염을 판단한다^{5,7)}. 그러나, 현장에는 여러 종의 식물플랑크톤이 서식하며, 특히 오염된 연안해역에서는 *C. furca*, *C. polykrikoides*, *G. catenatum*, *H. akashiwo*, *L. danicus*, *P. dentatum*, *S. costatum*, *T. rotula* 등의 다양한 종이 원인이 되어 적조가 발생한다^{8,9)}. 따라서, 적조발생메커니즘이나 연안해역의 생태계를 철저히 이해하기 위해서는 대상해역에서 우점하는 종에 대하여 제한영양염 등을 검토해야 할 것이다. 그러나, 자생 식물플랑크톤을 이용한 Algal assay에

Corresponding Author : Young-Sik Lee, Aquaculture Environment Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Kyeongnam 650-943, Korea
Phone: +82-55-641-2142
E-mail: leeys@momaf.go.kr

서 *C. polykrikoides*, *G. catenatum*, *H. akashiwo*, *P. dentatum*과 같은 종에 대한 보고서는 지금까지 거의 없어 이들 종에 대한 정확한 Algal assay가 가능한지에 의문이 있다. 그리고, Algal assay는 최대 증식량으로 제한영양염 등을 판단하기 때문에 최대 증식량을 모니터링한다²⁾. 따라서, 많은 시료를 대상으로 매일 증식량을 측정하고 또 언제까지 배양을 계속할지를 예측하는 것은 효율적인 연구를 위해 중요하다.

이번 연구에서는 비교적 오염된 해역을 대상으로 자생식물플랑크톤을 이용하여 Algal assay로 다양한 적조 원인 식물플랑크톤이 우점하여 증식하는지와 증식량의 측정 시기는 어느 정도가 적당한지에 대하여 검토하였다.

2. 재료 및 방법

이번 연구에서 대상해역은 다양한 종에 의해 적조가 자주 발생하고, 시료운반에 많은 시간이 소요되지 않는 가막만으로 하였다(Fig. 1). 자생식물플랑크톤의 상태를 자연상태로 유지하기 위해 밀폐형 10L 용기에 해수 5L를 넣고 4시간 이내에 실험실로 옮겼다. 실험실에서 표층 해수를 Pore size가 60 μm 인 나일론 여과막으로 대기압 하에서 자연 여과하여 동물플랑크톤을 제거하였다. 자생 식물플랑크톤의 농도가 높은 시료는 10 μm 의 여과지로 여과한 해수를 첨가하여 농도를 낮추었다(Chl. *a* 농도 : <20 $\mu\text{g/L}$). 영양염 첨가계는 영양염을 첨가하지 않은 대조군(Control), 질소 첨가계(+N), 인 첨가계(+P) 및 식물플랑크톤의 증식을 확인하기 위하여 질소와 인을 함께 첨가한 계(+N+P)를 설정하였다. 질소 첨가

계는 80 mg $\text{NH}_4\text{NO}_3/\text{L}$ 원액 0.2ml 첨가하여 첨가 후의 농도를 20 μM 로, 인 첨가계는 27 mg $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{L}$ 원액 0.2 ml 첨가하여 첨가 후의 농도를 2.0 μM 로 하였다. 동물플랑크톤을 제거한 자생 식물플랑크톤이 들어있는 해수 20 mL를 영양염을 첨가한 시험관에 넣고 Silicon막개로 막았다. 배양은 70 mL의 시험관(22 mm Φ ×200 mm)을 이용하였다. 온도는 20 $^{\circ}\text{C}$, 빛은 백색형광등을 이용하여 140 \pm 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 의 조명에서 12시간 명·암의 조건에 정지 배양하였다. 단, 매일 1회 시험관 교반기를 사용하여 시험관 바닥에 침전한 식물플랑크톤을 교반시켰다¹⁰⁾. 증식량은 분광광도계(UVIKON 930 : 660 nm)로 O.D.(Optical Density)와 Phyto-Pam으로 Chlorophyll *a*을 측정하였다¹¹⁾. 모든 배양은 같은 시료에 대하여 3회 실시하여, 그 평균치를 결과로 하였다. 배양실험에 따른 우점종(세포 수 >40%)은 증식량 측정시 일정시료를 채취하여 현미경(Olympus, BX 50)으로 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 우점종 변동

Fig. 2에 자생 식물플랑크톤을 이용한 Algal assay에서 주요 우점종의 증식 곡선을 나타냈다. 또 Table 1에는 1월부터 12월까지 제한영양염과 그때의 우점종을 나타냈다. 1월부터 5월까지의 모든 정점에서 *L. danicus*가 우점하였다. 6월에는 st. 2에서 *H. akashiwo*와 *S. costatum*이 같이 우점하였으며, st. 7에서는 *G. mikimotoi*가 우점하여 증식하였다. 7월에는 st. 3에서 우리나라의 대표적인 적조생물인 *C. polykrikoides*가 우점하여 증식하였다^{12,13)}. 그리고, 8월에는 *Rizosolenia* sp., *Pseudonitzschia* sp. 등이 우점하였다. 9월에는 *P. pungens*, 10월에는 *S. costatum*, *R. fragilissima*가 우점하였다. 11월과 12월에는 *R. fragilissima*가 우점하였다. 일반적으로 자생 플랑크톤을 이용하여 Algal assay에서는 규조류가 우점한다¹⁰⁾. 그러나, 이번 조사결과에서 오염된 해역에서 자생 식물플랑크톤을 이용하여 실험한 결과 다양한 종이 우점종으로 증식하였다. 따라서, 자생 플랑크톤을 이용하여 Algal assay로 조사 대상해역에서 자주 출현하는 종에 대한 제한영양염이나 그 발생 메커니즘을 이해할 수 있을 것으로 보인다. 특히, *C. polykrikoides*의 경우 *C. polykrikoides* 적조발생시기에 여러 차례 자생 *C. polykrikoides*를 이용하여 질소와 인을 첨가하여 Algal assay를 시도하였으나 증식하지 않고 오히려 감소하였다. 그러나, 2005년 7월 27일 시료에서는 배양에서 2일 후에 모든 계에서 증식하였으며(Fig. 2, D), 질소와 인을

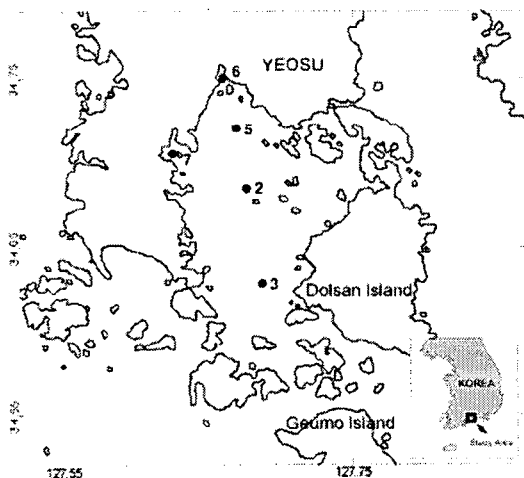


Fig. 1. Sampling site of indigenous phytoplankton assemblage for algal assay procedure.

제한영양염 첨가에 따른 자생 적조 식물플랑크톤의 증식

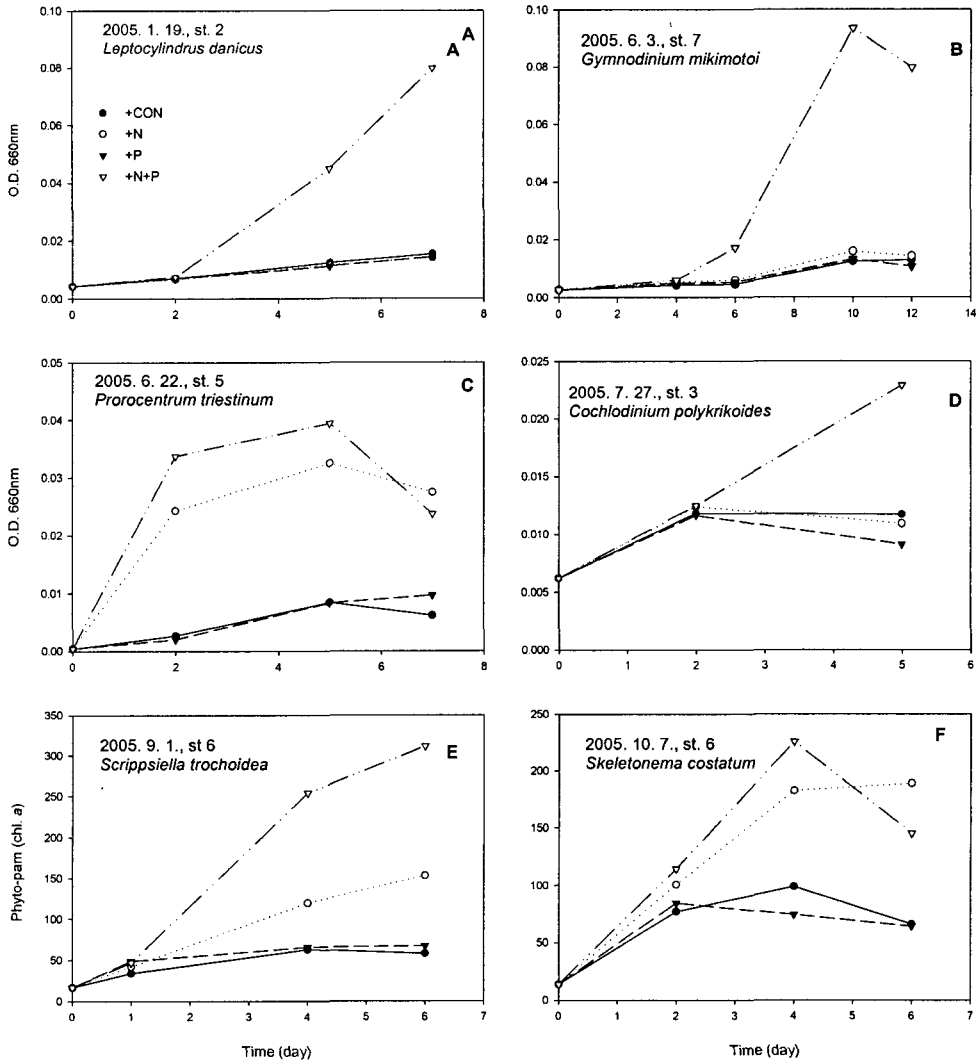


Fig. 2. Growth responses of various phyoplankton species to nutrient spikes(n=3).

동시에 첨가한 계에서는 4배 이상 증식하였다. 즉, 자생 *C. polykrioides*를 이용하여 Algal assay가 가능하였다. 2005년 7월 27일의 시료는 *C. polykrioides* 적조 발생 직후의 *C. polykrioides* 적조해수이다. 따라서, 자생 *C. polykrioides*를 이용한 Algal assay에서 *C. polykrioides*가 증식하지 않은 것은 다른 환경변화보다는 질소와 인을 제외한 *C. polykrioides*의 증식에 필요한 물질이 부족하여 질소와 인을 첨가해도 증식하지 않은 것으로 보인다^{12,13}.

3.2. 증식량의 측정 시기

Fig. 3에 가막만 소호(st. 6)와 나진주변해역(st. 7)의 자생 식물플랑크톤을 이용한 Algal assay의 시기별 결과를 나타냈다. 1월의 경우 배양 후 2일부터

뚜렷하게 증식하기 시작하였으며, 3~4일부터 질소와 인을 함께 첨가한 계는 무첨가계, 질소첨가계, 인첨가계 보다 뚜렷하게 증식량이 증가하였다. 수온이 1월보다 높은 4월, 6월, 10월의 경우 실험시작부터 증식하기 시작하여 2~3일 후에는 첨가 계별 뚜렷한 차이가 나타났다. 특히, 2005년 6월의 st. 5(Fig. 2, C)의 경우 증식량이 실험시작에서 1일 후에 질소첨가계, 인첨가계 별 뚜렷하게 차이가 나타났으며, 3일 후에는 최대 증식량에 가깝게 도달하였다. 수온이 낮은 12월에는 실험시작에서 3일 후부터 뚜렷하게 증식하기 시작하였으며, 4~5일경에 첨가계별 차이가 나타났다.

7, 8월에 히로시마만에서 자생플랑크톤을 이용한 실험에서는 배양 후 2일부터 영양염 첨가별 증식량

Table 1. Seasonal variations of main species and limiting nutrients by algal assay(2005)

Station Date	St.2	St.3	St.5	St.6	St.7
January 19	N or P (<i>Leptocylindrus danicus</i>)	N or P (<i>L. danicus</i>)	N or P (<i>L. danicus</i>)	N or P (<i>L. danicus</i>)	N or P (<i>L. danicus</i>)
February 16	"	"	"	"	"
March 9	"	"	"	"	"
March 23	"	"	"	"	"
April 12	"	N (<i>L. danicus</i>)	"	N (<i>L. danicus</i>)	"
April 21	"	N or P (<i>L. danicus</i>)	"	N or P (<i>L. danicus</i>)	"
May 10	"	"	"	N (<i>L. danicus</i>)	"
June 3	N or P (<i>Skeletonema costatum</i> , <i>Heterosigma akashiwo</i>)	N or P (<i>S. costatum</i> , <i>Heterosigma akashiwo</i>)	N (<i>S. costatum</i>)	N or P (<i>Chaetoceros</i> spp., <i>Scrippsiella trochoidea</i> , <i>S. costatum</i>)	N or P (<i>Gymnodinium mikimotoi</i>)
June 22	N (<i>L. danicus</i>)	N (<i>S. costatum</i>)	N (<i>Prorocentrum triestinum</i>)	N (<i>P. triestinum</i>)	N (<i>L. danicus</i> , <i>P. triestinum</i>)
July 7	N or P (<i>Pseudonitzschia closterium</i>)	N (<i>L. danicus</i>)	N (<i>P. closterium</i>)	N (<i>P. closterium</i>)	N or P (<i>Rhizosolenia fragilissima</i>)
July 27	N (<i>Rhizosolenia</i> sp.)	N or P (<i>Cochlodinium polykrides</i>)	N (<i>Navicula</i> sp.)	"	N (<i>Procentrum minimum</i>)
August 11	"	N (<i>Rizosolenia</i> sp.)	N (<i>Chaetoceros</i> sp.)	"	N (<i>Rizosolenia</i> sp.)
August 22	"	"	N (<i>Pseudonitzschia</i> sp.)	N (<i>Pseudonitzschia</i> sp.)	N (<i>Pseudonitzschia</i> sp.)
September 12	N (<i>Pseudonitzschia pungens</i>)	N (<i>S. costatum</i>)	N (<i>P. pungens</i>)	N (<i>P. pungens</i>)	N (<i>P. pungens</i>)
September 22	P (<i>S. costatum</i>)	"	"	"	"
October 7	"	"	N (<i>S. costatum</i>)	N (<i>S. costatum</i>)	N (<i>S. costatum</i>)
October 21	N (<i>R. fragilissima</i>)	N (<i>R. fragilissima</i>)	N (<i>R. fragilissima</i>)	N (<i>R. fragilissima</i>)	N (<i>R. fragilissima</i>)
November 8	N or P (<i>Eucampia zoodiacus</i>)	N or P (<i>R. fragilissima</i>)	"	"	"
December 1	N (<i>R. fragilissima</i>)	"	N or P (<i>R. fragilissima</i>)	N or P (<i>R. fragilissima</i>)	"
December 16	N (<i>S. costatum</i>)	N or P (<i>S. costatum</i>)	P (<i>R. fragilissima</i>)	"	N or P (<i>R. fragilissima</i>)

에 뚜렷한 차이가 발생하였으며⁷⁾, 11월 시료에 대한 Algal assay에서 자생 및 *H. akashiwo* 모두 3일 후부터 증식하기 시작하였으며, 6일 후에 영양염 첨가 계별 뚜렷한 차이가 나타났다¹⁰⁾. 또 염분농도가 다른 염호의 자생식물플랑크톤을 이용한 실험에서는 같은 시기인 7월에 염분이 3.5%와 32%에서 각각 5일과 2일 후에 증식량이 뚜렷하게 증가하였다¹⁾. 그리고, 이번 실험에서도 같은 시기와 같은 종이 우점

하는 경우에도 시료에 따라 증식속도가 약간씩 다르게 조사되었다(Fig. 3, 2005. 10. 7.).

이상의 결과로부터 정확히 구별하기는 어려우나 비교적 수온이 낮은 겨울보다 수온이 높은 봄, 여름, 가을에는 식물플랑크톤의 증식속도가 빠른 것으로 보인다. 따라서, Algal assay에서 증식량의 모니터링은 수온이 낮은 겨울철에는 2~3일정도의 간격으로 측정해도 최대 증식량이나 제한영양염을 판단할

제한영양염 첨가에 따른 자생 적조 식물플랑크톤의 증식

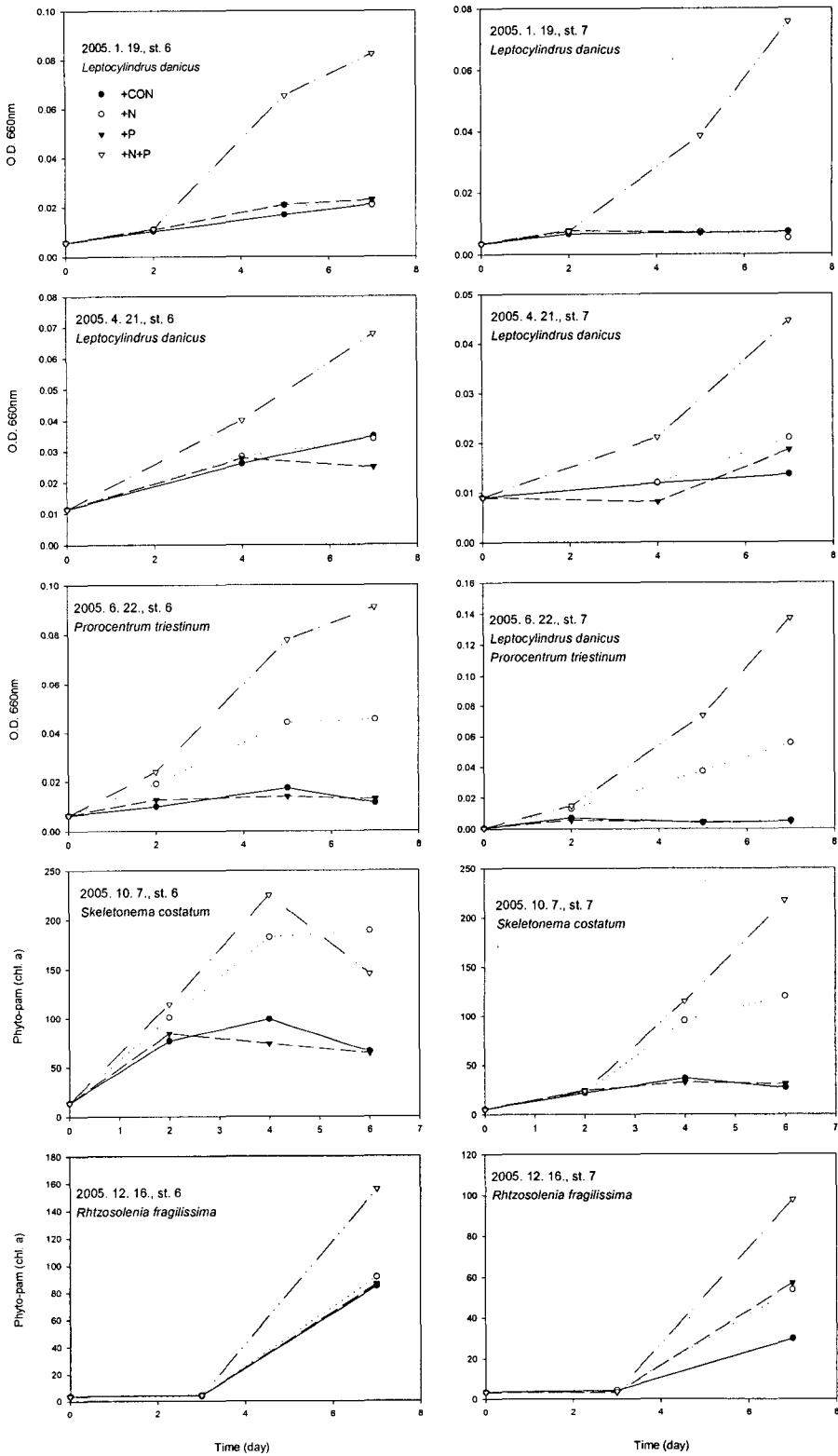


Fig. 3. Seasonal variation of growth responses of indigenous phytoplankton assemblages biomass to nutrient spikes(n=3).

수 있을 것으로 보인다. 그러나, 수온이 겨울보다 높은 봄부터는 최소 2일 간격으로 증식량의 모니터링이 필요한 것으로 보이며, 보다 정확한 결과를 위해서는 매일 측정하는 것도 필요한 것으로 보인다.

4. 요 약

오염된 해역에서 자생식물플랑크톤을 이용한 Algal assay에서 다양한 적조생물이 우점하여 증식하는지와 증식량의 측정 시기는 어느 정도가 적당한지에 대하여 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 아래와 같다.

1) Algal assay 결과 다양한 종이 우점하여 증식하였으며, 자생 식물플랑크톤을 이용하여 Algal assay로 제한영양염, 적조발생 메커니즘, 유기물 증가원인 등을 이해하는데 중요한 정보를 얻을 수 있을 것으로 보인다.

2) 질소와 인을 첨가한 자생 식물플랑크톤의 Algal assay에서 식물플랑크톤이 증식하지 않는 것은 다른 환경변화보다는 식물플랑크톤이 증식하기 위해 필요한 성분 중에서 질소와 인을 제외한 물질의 농도가 아주 낮았기 때문으로 생각된다.

3) 증식량의 모니터링은 수온이 낮은 겨울철에는 2~3일 정도의 간격으로 측정해도 최대 증식량이나 제한영양염을 판단할 수 있었다. 그러나, 수온이 겨울보다 높은 봄부터는 최소 2일 간격으로 증식량의 모니터링이 필요하였으며, 보다 정확한 결과를 얻기 위해서는 매일 측정하는 것도 필요하였다.

감사의 글

이 연구는 국립수산과학원(RP-2006-ME-005)에 의해 운영되었으며, 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Caraco, N., A. Tamse, O. Boutros and I. Valiela, 1987, Nutrient limitation of phytoplankton growth in brackish coastal ponds, *Can. J. Fish. Aqua. Sci.*, 44, 473-476.
- 2) Fisher, T. R., E. R. Peele, J. W. Ammerman and L. Harding, 1992, Nutrient limitation of phytoplankton in Chesapeake Bay, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 82, 51-63.
- 3) Graneli, E., K. Wallstrom, U. Larsson, W. Graneli and R. Elmgren, 1990, Nutrient limitation of primary production in the Baltic Sea Area, *AMBIO*, 19, 142-151.
- 4) Harrison, P. J., 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.
- 5) Lee, Y. S., T. Seiki, T. Mukai, K. Takimoto and M. Okada, 1996, Limiting nutrients of phytoplankton community in Hiroshima Bay, Japan, *Wat. Res.*, 30, 1490-1494.
- 6) Mahoney, J. B., 1989, Algal assay of relative abundance of phytoplankton nutrients in northeast United States coastal and shelf waters, *Wat. Res.*, 23, 603-615.
- 7) Lee, Y. S., T. Yamada, T. Seiki, T. Mukai, K. Takimoto and M. Okada, 1996, Effect of freshwater due to heavy rain on phytoplankton growth in Hiroshima Bay, *Jpn. Soc. Water Environ.*, 19, 995-1003.
- 8) Lee, C. K., O. H. Lee and S. G. Lee, 2005, Impacts of Temperature, Salinity and Irradiance on the Growth of Ten Harmful Algal Bloom-forming Microalgae Isolated in Korean Coastal Waters, *Journal of Korean Society of Oceanography*, 10, 79-91.
- 9) Park, G. H., K. Lee, C. M. Koo, H. W. Lee, C. K. Lee, J. S. Koo, T. Lee, S. H. Ahn, H. G. Kim and B. K. Park, 2005, A sulfur hexafluoride-based Lagrangian study on initiation and accumulation of the red tide *Cochlodinium polykrikoides* in southern coastal waters of Korea, *Limnol. Oceanogr.*, 50, 578-586.
- 10) Lee, Y. S., T. Mukai, K. Takimoto and M. Okada, 1996, Estimation of limiting nutrient by algal assay procedure with indigenous phytoplankton assemblage, *Jpn. Soc. Water Environ.*, 19, 373-380.
- 11) Schreiber, U., R. Gademann, P. Bird, P. J. Ralph, A. W. D. Larkum and M. Kuhl, 2002, Apparent light requirement for activation of photosynthesis upon rehydration of desiccated beachrock microbial mats, *J. Phycol.*, 38, 125-134.
- 12) Lee, Y. S. and S. Y. Lee, 2006, Factors affecting outbreaks of *Cochlodinium polykrikoides* blooms in coastal areas of Korea, *Marine pollution bulletin*, 52, 626-634.
- 13) Lee, Y. S., 2006, Factors affecting outbreaks of high-density *Cochlodinium polykrikoides* red tides in the coastal seawaters around Yeosu and Tongyeong, Korea, *Marine pollution bulletin*, 52, 1249-1259.