

## Heterosigma akashiwo(Raphidophyceae)을 이용한 북만의 조류성장잠재력 시험

김무찬\*

경상대학교 해양환경공학과

### Algal Growth Potential(AGP) Assay Using *Heterosigma akashiwo*(Raphidophyceae) in Pukman Bay, Korea

Mu-Chan Kim

Department of Marine Biology & Aquaculture, Gyeongsang National University, Tongyeong, 650-160, Korea

**요약:** 본 연구는 남해안 북만 해역을 대상으로 조류성장잠재력(AGP) 시험을 통하여 *H. akashiwo*의 성장제한요인을 평가하였다. 영양물질의 첨가 및 미생물과의 동시배양에 의하면 적조발생 단계별 *H. akashiwo*의 성장은 서로 다른 제한요인에 의하여 영향을 받는 것으로 나타났다. 적조발생 전의 *H. akashiwo* 성장은 질산질소 50 $\mu$ M과 인산인 5 $\mu$ M을 복합첨가하면 크게 증가하였지만 인산인을 단독 첨가하거나 미생물과 동시에 배양하여도 전혀 영향이 없었다. 적조발생 전의 *H. akashiwo* 성장제한요인은 질산질소로 나타났다. 적조발생시기의 *H. akashiwo* 성장은 질산질소 50 $\mu$ M 또는 인산인 5 $\mu$ M을 단독첨가하면 증가하였지만 미량영양물질이나 vitamin B<sub>12</sub>를 첨가해도 전혀 영향이 없었다. 적조발생 시기의 *H. akashiwo* 성장제한요인은 질산질소와 인산인이 동시에 작용하는 것으로 나타났다. 반면에 적조소멸시기의 *H. akashiwo* 성장은 질산질소와 인산인을 첨가하면 약간 증가하였지만 미생물과 동시에 배양하면 현저히 감소하였다. 그러므로 적조소멸시기의 *H. akashiwo* 성장제한은 미생물요인에 의한 것으로 평가되었다.

**핵심용어:** 조류성장잠재력, *Heterosigma akashiwo*, 북만, 미생물, 동시배양, 생물검정

**ABSTRACT :** Algal growth potential(AGP) assay using *Heterosigma akashiwo* was conducted in Pukman Bay. The effects of nutrients and microorganisms on the growth of *H. akashiwo* were specifically evaluated by the algal bioassay method. The different types of growth response of *H. akashiwo* to the addition of nutrients and the co-incubation with microorganisms were clearly observed. Before *H. akashiwo* red tide occurrence, the growth of *H. akashiwo* was significantly stimulated by addition of nitrate of 50  $\mu$ M with phosphate of 5  $\mu$ M. The addition of single phosphate had no clear effect on the growth of *H. akashiwo*. And the co-incubation with microorganisms had no clear effect on the growth of *H. akashiwo*. This result indicates that nitrate potentially limited the growth of *H. akashiwo* before red tide occurrence. However, during a bloom of *H. akashiwo*, the growth was significantly stimulated by addition of either nitrate of 50  $\mu$ M or phosphate of 5  $\mu$ M. The addition of trace metals and vitamin B<sub>12</sub> had no clear effect on the growth of *H. akashiwo* in the period. This result indicates that both nitrate and phosphate potentially limited the growth of *H. akashiwo* during the bloom. On the other hand, during the termination period of *H. akashiwo* bloom, the growth of *H. akashiwo* was slightly stimulated by addition of phosphate and nitrate. But the growth of *H. akashiwo* was significantly enervated by the co-incubation with microorganisms. This result indicates that microorganisms potentially limited the growth of *H. akashiwo* in the period of bloom termination.

**Key Word:** AGP, *Heterosigma akashiwo*, Pukman Bay, Microorganisms, Co-incubation, Bioassay

### 1. 서 론

일반적으로 조류성장에 대한 제한요인으로 작용하는 영양물질이 담수생태계에서는 인산염이며(Parr and Smith, 1977; Schindler, 1977), 해양생태계에서는 주로 질소계 영양염인

것으로 알려져 있다(Goldman, 1976; Nixon, 1981). 그러나 연안 생태계에서는 질소와 인이 계절적으로 교체되면서 작용하거나(Caraco, 1988; Doering et al., 1995), 질소와 인이 동시에 작용하기도 하며(Nishijima and Hata, 1991; Maestrini et al., 1997), 인이 작용하는(Thingstad et al., 1993; Karl et al., 1995) 등 매우 복잡 다양하다. 그리고

\* 대표저자 : 정희원, kmc81@gsnu.ac.kr, 010-2586-0940

식물플랑크톤은 인이나 질소 등의 다량영양물질 이외에도 미량금속(trace-metal)에 의해 성장을 제한받기도 하며(Martin and Fitzwater, 1988), 비타민을 성장에 필수적으로 요구하기도 한다(Iwasaki, 1979; 西島, 1985).

조류성장잠재력(Algal Growth Potential: AGP) 시험법은 1964년 노르웨이의 조류학자 Skulberg에 의해 처음 시도된 후 미국환경보호청(EPA, USA)에 의해 1971년 담수시험법과 1974년에 해수시험의 표준법이 제정되었고(Shiroyama et al., 1971; Nishijawa and Chihara, 1979), "Standard Methods for the Examination of and Wastewater"에 생물검정의 한 부분으로 포함되어 있다(APHA, 1998). 이 시험법은 호수 및 연안해역의 부영양화 정도에 따라 잠재적 조류발생 정도를 미리 평가할 수 있다는 점에서 단순히 총인, 총질소 농도와 같은 이화학적인 평가방법보다 실제적이고 직접적이므로 보편적으로 널리 이용되고 있으며, 이 방법으로 조류발생의 예측도 가능한 것으로 보고되고 있다(Nilssen, 1978; Box, 1983; Kondo et al., 1984; Taylor et al., 1990; Iwata et al., 1997; Lopez-Lopez et al., 1998).

식물플랑크톤의 증식을 저해하거나 죽진하는 요인으로는 인산염, 질산염, 규산염 등의 다량영양물질, Mn, Fe, EDTA 등의 trace-metal, vitamin B12, thiamine, biotin 등의 미량 영양물질과 같은 이화학적 환경요인과 수온, 염분 등의 물리적 환경요인뿐 아니라 생물학적 환경요인도 깊이 관여한다(Doering et al., 1995; 西島, 1985; 三木, 1983; Riquelme et al., 1988; Kim et al., 1998). 그러므로 조류성장잠재력 시험은 이화학적 환경요인뿐 아니라 생물학적 환경요인도 고려하여야 할 것이다.

우리나라 남해안 연안해역인 통영시 북만은 1970년대부터 굴 수하식 양식이 시작되었으며, 1980년대부터 주변육지에 신도시가 조성되어 도시하수의 영향을 받음으로써 부영양화되어 있으며, 현재 굴 양식장, 진주조개 양식장 및 어류 양식장이 혼재하고 있는 해역이다. 국립수산과학원의 적조발생 자료에 의하면 1980년대 이후 거의 매년 적조가 발생하고 있으며, 대표적인 적조원인 생물은 침편모조류인 *Heterosigam akashiwo* 및 편모조류인 *Prorocentrum* spp.이며, 적조는 주로 5월에서 8월에 집중적으로 발생하고 있다.

본 연구는 통영 북만의 *H. akashiwo* 적조발생 전후의 수질 환경을 파악하고, AGP시험을 통하여 이화학적·생물학적 제한요인을 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료채취

시험에 사용한 해수시료는 북만의 채수점(Fig. 1)에서

2001년 *Heterosigam akashiwo* 적조가 발생하기 전인 4월 4일, 적조가 발생한 5월 28일 그리고 적조가 소멸한 6월 5일 등 총 3회에 걸쳐 표층하 0.5m의 수심으로부터 채취하였다.

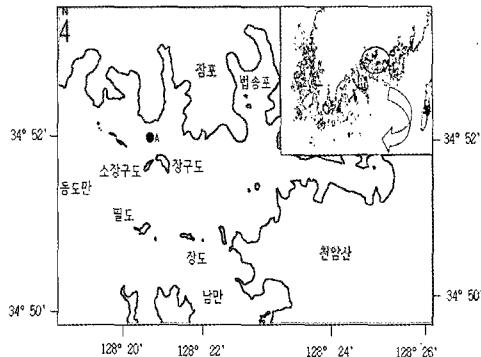


Fig. 1. Location of the sampling station in Pukman Bay.

### 2.2. 이화학적 환경요인 분석

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 알카리성 과망간산 칼륨법, 용존무기질소(DIN), 인산인 ( $\text{PO}_4^{3-}$ -P)은 Ascobic Acid법으로 각각 비색정량하였다 (APHA, 1988).

### 2.3. AGP 시험

실험에 사용한 *H. akashiwo*는 부경대학교 양식학과 양식환경실험실에 보유하고 있는 무균 배양주로 SWM-3배지(Itoh and Imai, 1987)의 1/10농도에서 15일간 전배양하여 빈아상태로 만들었다. 채취한 시료들은 공경  $0.8\mu\text{m}$ 의 millipore filter로 여과하여 대형의 포식동물이나 미세조류를 제거하였다. 이 시료는  $0.8\mu\text{m}$ 이하 미생물(세균이나 바이러스)을 포함하므로 유균용으로 하고, 이것을 공경  $0.2\mu\text{m}$ 의 millipore filter로 재여과한(세균 제거) 시료를 무균용으로 구분하였다. 이를 유균용 시료와 무균용 시료를 각각  $100\text{ml}$ 의 삼각 플라스크에  $40\text{ml}$ 씩 분취하여 빈아상태에 있는 *H. akashiwo*를 초기밀도가  $30\sim50\text{cells/ml}$  되도록 접종하여 대조구로 하였다. 실험에 이용한 삼각플라스크는 미리  $450^{\circ}\text{C}$ 에 1시간 동안 건열灭균하여 유기물을 제거한 것을 이용했다. 그리고 Table 1과 같은 영양염 조합으로 Table 2에 나타나 있는 농도로 영양물질을 첨가하여, 명암 주기  $14\text{hL}-10\text{hD}$ , 온도  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $50\mu\text{m} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 의 광조건 하에서 *H. akashiwo*가 최대밀도에 도달할 때까지 증식률을 측정하였다. 일간 증식률은 매일 배양용기에서 배양액을 균일하게 섞은 뒤  $0.1\text{ml}$ 를 취하여 광학현미경 하에서 counting chamber를 사용하여 개수한 후 계산하였다.

*Heterosigma akashiwo*(Raphidophyceae)을 이용한 북만의 조류성장잠재력 시험

Table 1. Nutrient combinations for enrichment culture experiments

Code number	Nutrient symbol	Code number	Nutrient symbol
1	Control	11	$\text{NO}_3^-$ -N(50)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)
2	$\text{NO}_3^-$ -N(10)	12	$\text{NH}_4^+$ -N(10)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)
3	$\text{NO}_3^-$ -N(50)	13	$\text{NH}_4^+$ -N(50)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)
4	$\text{NH}_4^+$ -N(10)	14	$\text{NH}_4^+$ -N(10)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)
5	$\text{NH}_4^+$ -N(50)	15	$\text{NH}_4^+$ -N(50)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)
6	$\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)	16	Fe
7	$\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)	17	Mn
8	$\text{NO}_3^-$ -N(10)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)	18	EDTA
9	$\text{NO}_3^-$ -N(50)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)	19	Fe+Mn+EDTA
10	$\text{NO}_3^-$ -N(10)+ $\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)	20	B <sub>12</sub>

\* Numerals in parenthesis concentration( $\mu\text{M}$ ).

Table 2. Nutrient concentrations for enrichment culture experiments

Substance	Nutrient symbol	Final concentration
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{PO}_4^{3-}$ -P(1)	1.0 $\mu\text{M}$
	$\text{PO}_4^{3-}$ -P(5)	5.0 $\mu\text{M}$
$\text{NaNO}_3$	$\text{NO}_3^-$ -N(10)	10.0 $\mu\text{M}$
	$\text{NO}_3^-$ -N(50)	50.0 $\mu\text{M}$
$\text{NH}_4\text{Cl}$	$\text{NH}_4^+$ -N(10)	10.0 $\mu\text{M}$
	$\text{NH}_4^+$ -N(50)	50.0 $\mu\text{M}$
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Fe	0.2 $\mu\text{M}$
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	Mn	0.2 $\mu\text{M}$
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	EDTA	0.2 $\mu\text{M}$
Vitamin B <sub>12</sub>	B <sub>12</sub>	0.1 $\mu\text{g/l}$

### 3. 결 과

#### 3.1. 이화학적 환경

조사해역인 북만에서 총 3회에 걸쳐 조사한 수질분석 결과는 Table 3에 나타내었다.

*H. akashiwo* 적조가 발생하기 전인 4월 4일의 수질은 수온과 염분이 13.7°C와 33‰ 이상이었고, 용존무기질소와 인산인이 3.24 $\mu\text{g-at N/L}$ 과 0.41 $\mu\text{g-at P/L}$ 이었고, N : P의 비가 7.9 : 1로 나타났다.

적조가 발생한 5월 28일의 수질은 발생 전과 비교하면 수온이 4.5°C 상승한 18.2°C이었고, 유사한 염분을 가졌으며, 용존무기질소가 2배 이상 증가한 6.98 $\mu\text{g-at N/L}$ 이었고, 인산인이 다소 감소한 0.34 $\mu\text{g-at P/L}$ 이었고, N : P의 비가 20.5 : 1로 나타났다.

적조가 소멸한 6월 5일의 수질은 발생 전과 발생시기에 비해 수온과 용존무기질소가 가장 높은 19.2°C와 7.34 $\mu\text{g-at N/L}$ 로 나타났으며, 인산인이 가장 낮은 0.21 $\mu\text{g-at P/L}$ 이었고, N : P의 비가 35.0 : 1로 나타났다.

#### 3.2. 조류성장 잠재력시험

적조가 발생하기 전인 4월 4일의 영양물질 평가용 및 미생물+영양물질 평가용 시료에 대하여 Table 1의 조합과 Table 2의 농도로 영양물질을 첨가하여 측정한 *H. akashiwo*의 조류성장잠재력을 각각 Fig. 2A와 2B에 나타내었다. 영양물질 평가용 대조구에서 *H. akashiwo*의 일간증식률은 0.25divisions (div.)/day로 나타났다. 영양물질 첨가에 따른 일간증식률의 변화는 질산질소 50 $\mu\text{M}$ 과 인산인 5 $\mu\text{M}$ 의 복합첨가한 배양액에서 대조구보다 2.36배 증가한 0.59div./day로 나타나 상대적으로 가장 높았다. 단독 첨가인 경우, 고농도 질산질소(50 $\mu\text{M}$ )를 첨가한 배양액은 대조구보다 2.2배 높은 0.59div./day으로 가장 높았으며, 인산인은 고농도로 첨가해도 대조구와 차이가 나타나지 않았다. 미량영양염류인 Vitamin B<sub>12</sub>를 첨가한 배양액은 대조구보다 1.16배 증가한 0.29div./day이며, trace-metal은 Fe를 첨가한 배양액에서만 미약한 증가가 나타났다. 그리고 50 $\mu\text{M}$ 의 암모니아질소를 첨가한 배양액에서는 오히려 증식을 저해하는 결과를 보였다. 이와 같은 결과를 종합하여 영양물질 평가용의 조류성장 잠재력을 평가하면 질산질소가 제한요인으로 작용하는 것으로 판단된다.

미생물+영양물질 평가용 대조구의 일간증식률은 영양물질 평가용 배양액과 유사한 0.24div./day로 나타났으며, 영양물질 첨가에 따른 일간증식률의 변화도 영양물질용 배양액과 유사한 결과를 보여 미생물에 의한 영향은 없는 것으로 나타났다.

*H. akashiwo*의 적조가 발생한 5월 28일 시료에 대한 영양물질 평가용 대조구의 일간증식률은 적조발생 전의 시료에 비해 1.68배 높은 0.42div./day로 나타났다(Fig. 2C). 질산질소 50 $\mu\text{M}$ 과 인산인 5 $\mu\text{M}$ 의 복합첨가한 배양액에서 일간증식

Table 3. The analysis results of sea water in Pukman in 2001

Date	water Tem. (°C)	Sal. (%)	pH	DO (mg/L)	DIN ( $\mu\text{g-at N/L}$ )	$\text{PO}_4^{3-}$ -P ( $\mu\text{g-at P/L}$ )	COD (mg/L)
4 Apr.	13.7	33.55	8.25	7.21	3.24	0.41	2.44
28 May	18.2	33.48	8.23	8.24	6.98	0.34	4.68
5 Jun.	19.2	33.92	8.11	6.01	7.34	0.21	3.95

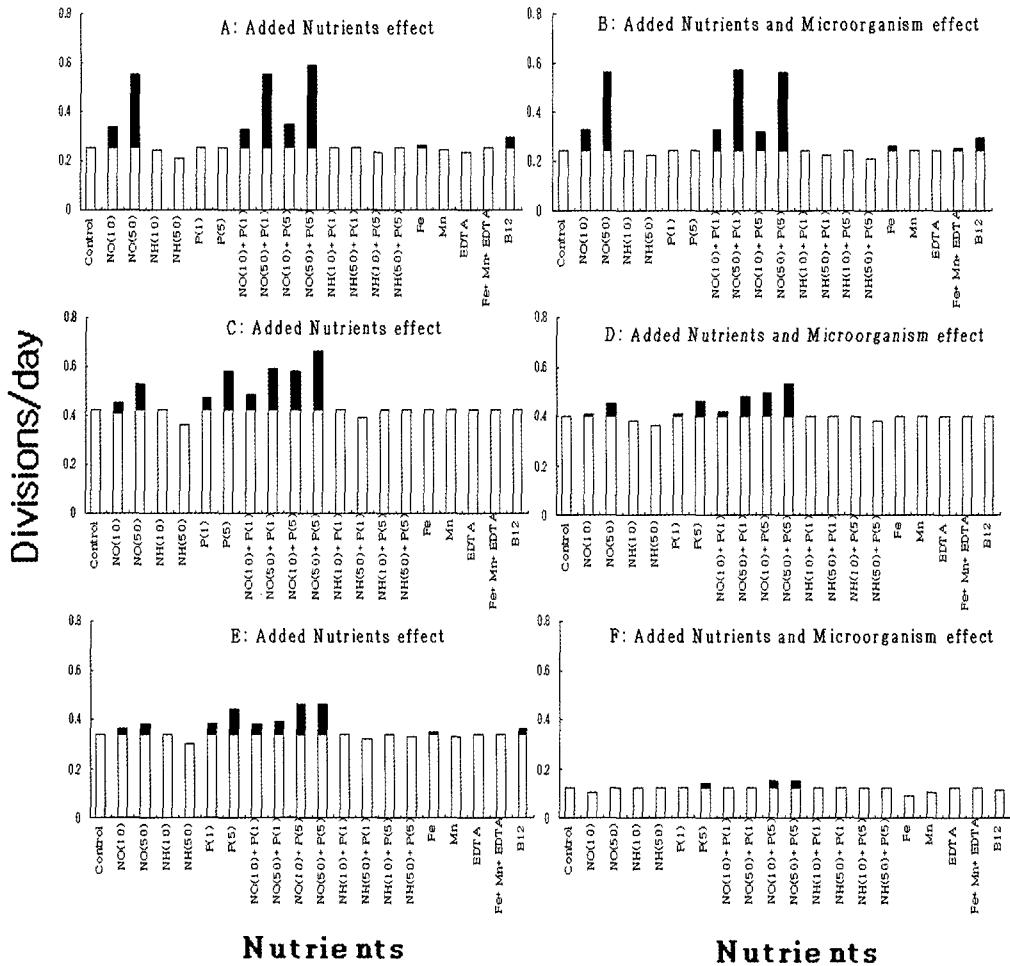


Fig. 2. Diel increasing rates of *H. akashiwo* by algal potential assay under various nutrient addition. Increasing rate exceeding the control is shown by black bar. A, B: 4th Apr., C, D: 28th May, E, F: 5th Jun. Samples of A, C, E are filtered through 0.2 $\mu\text{m}$  millipore filter and samples of B, D, F are filtered through 0.8 $\mu\text{m}$  millipore filter.

률이 가장 높은 0.66div./day로 나타난 것은 적조발생 전의 결과와 유사하지만 *H. akashiwo*의 증가에 미치는 요인은 적조발생 전과 다르게 나타났다. 고농도 인산인과 고농도 질산질소를 단독으로 첨가하면 각각 대조구보다 1.38배 및 1.26배 증가시켰다. 즉 적조발생 전의 경우 질산질소만이 제한요인으로 작용하였지만 적조발생시기에는 질산질소뿐 아니라 인산인도 제한요인으로 작용하였다. Vitamin B<sub>12</sub>와 Fe는 *H. akashiwo*의 성장에 전혀 영향을 미치지 않았으며, 고농도의 암모니아질소는 적조발생전과 같이 증식을 저해하는 결과를 보였다. 영양물질 첨가에 따른 일간증식률의 변화는 전반적으로 적조발생 전의 결과와는 다소 다른 경향으로 나타났으며, 영양물질 첨가에 따른 조류성장잠재력은 적조발생 전보다 다소 낮게 평가되었다.

*H. akashiwo*의 적조가 발생한 5월 28일 시료에 대한 미생물+영양물질 평가용 대조구의 일간증식률은 영양물질 평가용 배양액과 유사한 0.40div./day로 나타났으며, 미생물+영양물

질 첨가에 따른 일간증식률의 변화는 영양물질 평가용과 유사한 경향을 보이지만 다소 낮게 평가되었다(Fig. 2D).

*H. akashiwo*의 적조가 소멸한 6월 5일 시료에 대한 영양물질 평가용 대조구의 일간 증식률은 0.34div./day로 적조가 발생하기 전보다 1.36배 높지만 적조가 발생한 시기보다 1.23배 낮게 나타났다(Fig. 2E). 영양물질 첨가에 따른 일간증식률의 증가가 가장 높은 배양액은 적조발생 전과 적조발생 시의 결과와 동일하게 질산질소 50μM과 인산인 5μM의 복합첨가한 배양액에서 0.46div./day로 가장 큰 값을 나타내었다. 그러나 제한요인은 적조발생 시의 결과와 동일하게 나타났다. Vitamin B<sub>12</sub>와 Fe는 적조발생 전의 결과와 같이 미약하게 *H. akashiwo*증식을 촉진시켰다. 영양물질 첨가에 따른 조류성장잠재력의 증가는 적조발생 전과 적조발생 시의 결과와 비교하면 가장 낮게 평가되었다.

*H. akashiwo*의 적조가 소멸한 미생물+영양물질 평가용 대조구의 일간증식률은 적조발생 전과 적조발생 시의 결과와

비교해 현저하게 낮은 0.12div./day이었다(Fig. 2F). 영양물질 첨가에 따른 일간증식률의 변화가 대부분의 배양액에서 나타나지 않았으며 고농도의 인산인을 단독 혹은 복합 첨가한 배양액에서 미약한 증가를 나타냈다. 그리고 대부분의 배양액에서 실험시작 후 3-4일을 경과하였을 때, 운동성을 상실한 *H. akashiwo*가 많이 출현하였다 뿐 아니라 파괴된 세포도 발견되었고, 1주일이 경과하였을 때는 95% 이상의 *H. akashiwo*가 운동성을 상실하거나 파괴되었다.

#### 4. 고 찰

Table 3에 나타난 바와 같이 *H. akashiwo*의 적조 발생 전, 발생시기 및 발생 후의 수질에 대한 N : P의 비는 각각 7.9 : 1, 20.5 : 1 및 35.0 : 1로 나타났으므로, Redfield Ratio를 근거로 한 *H. akashiwo* 성장제한요인은 각각 질소, 인 및 인으로 나타났다. 그러나 貞鍋(1980)는 *Skeletonema costatum*의 C : N : P의 비가 50 : 8 : 1로 Redfield의 비와 다르며 특히 인의 함량이 많다고 보고하였고, 岡市와 門谷(1985)는 *Chattonella antiqua*의 N : P의 비가 11-17 : 1-1.5로 개체에 따라 차이가 있으며, 渡辺와 中村(1984)는 *H. akashiwo*의 세포내 최소 질소 함유량과 인 함유량이 각각 1.44-2.12 pM/cells와 95-220 fM/cells이라고 보고하였다. 이와 같이 식물플랑크톤은 화학적 성비가 좋마다 차이가 있을 뿐 아니라 동일종이라도 채취장소에 따라 다를 수 있고 용존태의 유기인과 요소 등 유기질소를 이용할 수 있는 종이 있으므로, Redfield 비를 근거로 한 제한요인의 규명은 오류를 있을 가능성이 있다.

Iwata et al. (1997)는 Gokasho만에서 *Gymnodinium mikimotoi* 적조가 발생하기 전에는 인산인이 성장 제한영양 염으로 판명되었지만, 적조 발생 중에는 인산인 제한은 해제되었으며, 적조가 소멸된 후에는 질산질소가 제한영양염이라고 보고하였다. 본 연구에서는 *H. akashiwo* 적조가 발생하기 전에는 질산질소가 제한영양염으로 작용하였고 적조가 발생 중에는 질산질소와 인산인의 동시제한이 확인되었다. 질소와 인의 동시제한은 여러 연구자들에 의해 다양한 연안 해양에서 확인되고 있다 (Nishijima et al., 1990; Nisbijiama and Hata, 1991; Maestrini et al., 1997). 이와 같은 사실로부터 적조가 발생하는 해역에서 제한영양염은 적조발생 단계별로 변동하리라 예상되며, 이것은 본 연구를 통해서도 확인되었다.

적조가 발생한(9,000 cells/ml)환경의 시료에 질산질소(50μM)와 인산인(5.0μM)을 단독 혹은 복합으로 첨가하면 *H. akashiwo*가 각각 12.5%, 15.0% 및 32.5%의 증가를 가져왔다는 것은 북만에 외부나 저층으로부터 질산질소나 인산인이 공급된다면 10,000cells/ml 이상의 고밀도 적조도 발생할 수도 있다고 예측하게 한다.

적조가 발생하기 전과 적조가 소멸한 시료에 Trace-metal

인 Fe나 미량영양물질인 vitamin B<sub>12</sub>를 첨가하면 *H. akashiwo*의 증식을 촉진시켰으나 적조가 발생 중인 시료에 첨가하여도 증식에 영향을 미치지 않았다. 그리고 *H. akashiwo*는 증식에 vitamin B<sub>12</sub>를 필수적으로 요구한다(西島, 1985). 이것은 적조가 발생한 환경에서는 vitamin B<sub>12</sub>나 Fe가 충분히 공급되었음을 추측할 수 있고, vitamin B<sub>12</sub>나 Fe의 모니터링은 *H. akashiwo* 적조발생을 예측할 수 있는 하나의 요인으로 작용할 수도 있을 것이다.

본 연구에서 가장 흥미로운 결과는 영양물질 평가용 시료와 미생물+영양물질 평가용 시료의 조류성장잠재력을 비교하면 적조발생전이나 적조발생시기에는 유사하지만 적조소멸 직후에는 현저한 차이를 보이는 것이다(Fig. 2E, 2F). 미생물+영양물질 평가용 배양액을 광학현미경으로 관찰하면 운동성을 상실한 *H. akashiwo*가 많이 출현하였다 뿐 아니라 파괴된 세포도 발견되었다. 또한 이 배양액을 ST10<sup>-1</sup>한천평판배지(Yoshinaga et al., 1995)에 도말하여 배양한 후 형성된 colony 중에서 *H. akashiwo*를 죽이는 세균이 분리되었다. 이 세균을 간이 동정(繪面, 1990)한 결과 *Flavobacterium*속으로 나타났다. 적조생물의 증식을 저해하거나 사멸하는 미생물에 관한 연구는 여러 연구자들에 의해 다양한 연안환경에서 확인되고 있다(Sakata et al., 1991; Fukami et al., 1992; Mitsutami et al., 1992; Imai et al., 1995, 1998; Yoshinaga et al., 1995; 박 등, 1998; Bratbak et al., 1996; Nagasaki et al., 1999; 김무찬 등, 1999; 정성윤 등, 2000). 또한 일본 히로시마만에서 발생한 *H. akashiwo* 적조의 소멸시기에 γ-proteobacteria 군에 속하는 살조세균이 증가하여 적조소멸에 기여한다는 보고도 있다(Kim et al., 1998; Yoshinaga et al., 1998). 그러므로 미생물+영양물질 평가용 시료의 조류성장잠재력이 영양물질 평가용보다 3배정도 감소한 것은 미생물+영양물질 평가용 배양액에 포함된 미생물이 *H. akashiwo*의 증식을 저해하거나 죽이기 때문이다. 즉 적조소멸 직후에는 이화학적 제한요인보다 생물학적 요인이 더 크게 작용하였다고 할 수 있을 것이다. 그리고 미생물+영양물질 평가용 시료의 조류성장잠재력이 영양물질 평가용보다 증가한 것은 본 연구결과에서 나타나지 않았다. Riquelme et al., (1988)에 의하면 적조생물인 *Asterionella glacialis*는 특정세균(*Flavobacterium* sp. NAST)과 동시 배양을 하면 2배정도 세포수가 증가한다고 하였다. 이와 같이 해양환경에는 적조생물의 증식을 촉진하는 세균도 있다. 따라서 적조생물에 대한 조류성장잠재력을 평가하고자 할 경우는 이화학적 요인뿐 아니라 생물학적 요인도 고려해야만 한다.

三木(1983)의 보고에 의하면 17°C이하에서의 *H. akashiwo* 증식속도는 질소원으로 암모니아질소보다 질산질소를 이용하는 것이 30-100%정도 빠르지만 17°C이상에서의 증식속도는 질산질소보다 암모니아질소를 이용하는 것이 20-40%정도 빠르다고 하였다. *H. akashiwo*는 온도에 따라 다소 차이는 있으나 질산질소나 암모니아질소 모두 이용하여 증식할 수 있다. 그러나 본 연구에서는 암모니아질산이 오히려 증식을 저

해하는 경향이 있었다(Fig. 2). 이것은 아마도 영양염 첨가에 의한 조류성장의 불규칙한 저해작용(Granéli, 1990)과 배양조건의 차에 기인한 것으로 사료되지만 정확한 원인은 불명확하다.

## 참 고 문 헌

- [1] 김무찬·유홍식·옥미선·김창훈·장동석(1999), 진동만의 살조세균의 동태와 살조 특성, 한국수산학회지, 제32(3)권, pp. 359~367.
- [2] 박영태·박지빈·정성윤·송병철·임월애·김창훈·이원재(1998) 적조생물 살조세균 탐색. I. 유해 적조생물 *Coccolidinium polykrikoides* 살조세균 *Micrococcus* sp. LG-I의 분리와 살조특성. 한국수산학회지, 제31(5)권, pp. 767~773.
- [3] 정성윤·박영태·김무찬·최석철·성희경·김재영·김태운·이원재(2000), 적조생물 살조세균 탐색 IV. 살조세균 *Micrococcus* sp. LG-5가 생산하는 살조물질의 특성과 해양생물에 미치는 영향, 한국수산학회지, 제33(4)권, pp. 339~347.
- [4] 繪面良男(1990), 海洋細菌の 同定, 日本海洋學會編, 海洋環境調査マニュアルII-水質・微生物編, 恒星社厚生閣, pp. 358.
- [5] 眞鍋武彦(1980), 赤潮植物プランクトンの増殖の栄養塩利用特性. 日本プランクトン學會報, 第27券 pp. 135~136.
- [6] 三木克哉(1983), 連續培養系による環境遷移と植物プランクトン増殖の関係の解析. 筑波大學環境科學研究科修士論文, pp. 96.
- [7] 西島敏隆·畠 達彦(1984), *Heterosigma akashiwo* HADA のB群vitamin要求に関する増殖生理, 日本水產學會誌, 第43券 pp. 1505~1510.
- [8] 岡市友利·門谷 茂(1985), 播磨灘における化學物質の動態 丘赤潮發生環境, 内海域における赤潮發生環境のモデリングに関する研究. 環境科學研究報告書 B 264-R14-1, pp. 11~30.
- [9] 渡辺 信·中村泰男(1984), 赤潮鞭毛藻 *Heterosigma akashiwo* HADAの増殖特性. 2. 栄養塩利用. 國立公害研究所研究報告, 第63号, pp. 59~68.
- [10] APHA·AWWA·WPCF(1998), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th Ed. American Public Hearth Association.
- [11] Box J. D. (1983), Temporal variation in bioassays of wear from two productive lakes. Arch. Hydrobiol. Vol. 67, pp 81~103.
- [12] Bratbak G., Wilson W. and M. Heldal(1996), Viral control of *Emiliania huxleyi* blooms?. J. Mar. Syst., Vol. 9, pp 75~81.
- [13] Caraco, N.F.(1988), What is the mechanism behind the seasonal switch between N and P limitation in estuaries? Can. J. Fish. Aquat. Sci., Vol. 45. 381~382.
- [14] Doering P.H., Oviart C.A., Nowicki B.L., Klos E.G. and L.W. Reed(1995), Phosphorus and nitrogen limitation of primary production in a simulated estuarine gradient. Mar. Ecol. Prog. Ser., Vol. 124, 271~287.
- [15] Fukami K., Yuzawa A., Nishijima T. and Y. Hata(1992), Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi, Vol. 58, pp 1073~1077.
- [16] Goldman J.C., McCarthy JJ. and D.G. Peavey(1979), Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. Nature, Vol. 279, 210~215.
- [17] Granéli E., Wallström K., Larsson U., Granéli W. and R. Elmgren(1990), Nutrient limitation of primary production in the Baltic Sea area. Ambio. Vol. 19, pp 142~151.
- [18] Imai I., Ishida Y., Sakaguchi K. and Y. Hata(1995), Algalicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, Japan. Fish. Sci., Vol. 61, pp 624~632.
- [19] Imai I., Kim M.C., Nagasaki K., Itakura S. and Y. Ishida(1998), Detection and enumeration of killer microorganisms against harmful phytoplankton in the coastal sea. Plankton Biol. Ecol., Vol. 45(1), pp 15~25.
- [20] Itoh K. and I. Imai(1987), Raphido so (Raphidophyceae). In: Japan fisheries Resource Conservation Association(ed) A guide for studies of red tide organisms. Shuwa, Tokyo, pp 122~130(in Japanese).
- [21] Iwasaki H. (1979), Physiological ecology of red tide flagellates. In Biochemistry and Physiology of Protozoa 2ed. Vol. 1(M. Levandowsky ed), Academic press, New York, pp 357~393.
- [22] Iwata Y., Sugahara I., Kimura T., Silapajarn K., Sano M., Mizuguchi T., Nishimura A., Inoue M. and T. Takeuchi(1997), Growth potential of *Gymnodinium mikimotoi* in Gokasho Bay. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., Vol. 63, pp 578~584 (in Japanese).
- [23] Karl D.M., Leteller R., Hebel D., Tupas L., Dore J., Christeian J. and C. Winan(1995), Ecosystem changes in the North Pacific subtropical gyre attributed to the 1991~92 EI NIño Nature. Vol. 373. 230~234.
- [24] Kim M. C., Yoshinaga I., Imai I., Nagasaki K., Itakura S., Uchida A. and Y. Ishida(1998), A close relationship between algalicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) blooms in Hiroshima Bay, Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser., Vol.

- 170, pp 25~32.
- [25] Kondo M., Sakai T., Yamamoto H. and Y. Arakawa(1984), Algal growth potential and the limiting nutrient in Mikawa Bay. J. Oceanogr. Soc. Jap., Vol. 40, pp 391~396.
- [26] Lopez-Lopez E. and L. Dávalos(1998), Algal growth potential and nutrient limitation in a tropical river-reservoir system of the Central Plateau, Mexico. Aquatic Ecosystem Health Management Vol. 1, pp 345~351.
- [27] Maestrini S.Y., Bonin DJ. 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.
- [28] Martin J.H. and S.E. Fitzwater(1988), Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east Pacific Subarctic. Nature, Vol. 331, 341~343.
- [29] Mitsutani A., Takesue K., Kirita M. and Y. Ishida(1992), Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytopaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. Nippon Suisan Gakkaishi,, Vol. 58, pp 2158~2167.
- [30] Nagasaki K., Tarutani K. and M. Yamaguchi(1999), Growth characteristics of *Heterosigma akashiwo* virus and its possible use as a microbiological agent for red tide control. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 65(3), pp 898~902.
- [31] Nilssen J.P. (1978), Eutrophication, minute algae and inefficient grazers. Mem. 1st Ital. Idrobiol Vol. 36, pp 121~138.
- [32] Nishijawa K. and M. Chihara(1979), Methods of Phycological Studies. Kourits Press in Japan. pp 453~459.
- [33] Nishijima T. and Y. Hata(1991), Growth potentials of red tide phytoplankton in coastal seawater by AGP assay. Mar. Poll. Bull., Vol. 23, 175~179.
- [34] 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.
- [35] Parr M.P. and R.V. Smith(1976), The identification of phosphorus as a growth-limiting nutrient in Lough Neagh using bioassays. Water Res., Vol. 10, 1151~1154.
- [36] Riquelme C., Fukami K. and Y. Ishida(1988), Effects of bacteria on the growth of a marine diatom, *Asterionella glacialis*. Bull. Jap. Soc. Microb. Ecol. Vol. 3, pp 29~34.
- [37] Sakata T., Fujita Y. and H. Yasumoto(1991), Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. Nippon Suisan Gakkaishi,, Vol. 56, pp 1147~1152.
- [38] Schindler D.W.(1977), Evolution of phosphorus limitation in lakes. Science, Vol. 195, 260~262.
- [39] Taylor M.F., Clark W.J. and L. Ilo(1990), Nutrient availability and the algal growth potential (AGP) in a small microcosm. Water Res., Vol. 24, pp 529~532.
- [40] Thingstad T.F., Skjeldal E.F. and R.A. Bohne(1993), Phosphorus cycling and algal bacterial competition in Sandsfjord. western Norway. Mar. Ecol. Prog. Ser., Vol. 99, 239~259.
- [41] Yoshinaga I., Kim M.C., Katanozaka N., Imai I., Uchida A. and Y. Ishida(1998), Population structure of algicidal marine bacteria targeting *Heterosigma akashiwo*(Raphidophyceae) through restriction fragment length polymorphism analysis of the bacterial 16S ribosomal RNA genes, during *H. akashiwo* red tide. Mar. Ecol. Prog. Ser., Vol. 170, pp 33~44.
- [42] Yoshinaga I., Kawai T. and Y. Ishida(1995), Lysis of *Gymnodinium nagasakiense* by marine bacteria. In *Harmful Marine Algal Blooms*, Lavoisier, P. Lassus, G. Arzul, E. E. Denn, P. Gentien and C. M. Baut, ed. Paris, pp 687~692.

---

원고접수일 : 2006년 5월 23일

원고채택일 : 2006년 6월 21일