

<Note>

연안해역에서 인공부착기질을 이용한 부착미세조류 모니터링기법 - 유류오염의 생태위해성 평가적용 -

백승호* · 손문호 · 정승원¹ · 강정훈 · 김영옥 · 심원준

한국해양연구원 남해특성연구부
¹한국해양연구원 해양시료도서관기획단

The Development of Monitoring Method of Attached Micro-algae Using Artificial Substrates in Coastal Water - Ecological Risk Assessments for Oil Pollutant -

Seung Ho Baek*, Moonho Son, Seung Won Jung¹, Jung Hoon Kang,
Young Ok Kim and Won Joon Shim

South Sea Environment Research Department, Korea Ocean Research and Development Institute
¹Library of Marine Samples, Korea Ocean Research and Development Institute

Abstract - Spills of *M/V Hebei Spirit* on 7th December 2007 caused a seriously damage to the eco-system of Korean coast. Of these, microbial communities (i.e., attached benthic micro-algae) were reported to be sentive to the environmental change so it can be used for ecological risk assessment. Our experiment was designed to examine the ecological risk assessments for oil pollutant using benthic attached algal community on the artificial substrates of acrylic plates. Field monitoring in the culture system was conducted in Jangmok Bay. The abundances of attached micro-algae on artificial substrates gradually increased with increasing of sampling times. Among them, diatoms were the most important colonizer of coastal water, with the genera *Cylindrotheca* and *Navicular* most abundant. In particular, developed the culture system has correctly measured qualitative and quantitative abundance of attached micro-algae because same acrylic plates as artificial substrates were used. Thus, this culture system may be directly applied to the ecological risk experiments of microbial community structure from oil pollutants.

Key words : artificial substrate, benthic micro-algae, Jangmok Bay, oil pollutant, recruitment pattern

서 론

1995년 남해안에서 씨프린스호가 좌초하여 5천톤의 대형 유류오염을 일으킨 12년 뒤 2007년 12월에는 서

해안에서 홍콩선적 147,000톤급 유조선 허베이 스피리트호가 삼성중공업 소속 12,000톤급 대형 해상 크레인선과 충돌해 1만 5,800 kL가 바다로 유출되었다. 이는 씨프린스호 침몰사고의 3배에 해당되는 양으로 국내 최대 해양사고로 기록되었다. 유출된 기름은 조류를 따라 동남쪽으로 확산되었고, 이로 인하여 태안지역뿐만 아니라 서해안 주변해역의 갯벌과 해변에 심각한 수준의 오염

* Corresponding author: Seung Ho Baek, Tel. 055-639-8513, Fax. 055-639-8509, E-mail. baeksh@kordi.re.kr

이 발생하였다 (Lee and Kim 2008; Lee *et al.* 2009).

상기와 같이 우리나라 연안 해역에서는 유류와 유해 화학물질의 유출사고가 매년 증가하고, 대형화하는 추세를 보이고 있다. 뿐만 아니라 육상으로부터 유입되는 막대한 오염부하로 인하여 각종 독성유해물질의 해양유입이 계속되고 있는 실정이다. 급, 만성 독성을 가지고 있는 중금속과 유류, 유기독성물질들은 연안해역으로 유입된 후 장기적으로 생태계에 여러 가지 악영향을 미치게 된다. 최근에는 일부 해역에서 각종 독성물질에 의한 수산자원 피해가 가시화되고 있음에도 불구하고, 오염의 영향과 피해를 정량적으로 파악하고 추정할 수 있는 체계적인 연구는 매우 미흡한 실정이다.

최근까지 우리나라에서는 유류유출사고 이후 잔류하는 독성물질에 의한 장기적인 생태계 영향을 명확하게 파악하지 못하고 있었으며, 오염피해에 대한 정확한 근거자료를 확보하지 못하여 국제기금 (IOPC fund), 외국보험사 및 오염행위자로부터 정당한 보상을 받지 못하였다. 이와 같은 점을 개선하기 위해서는 오염물질의 위해성·노출여부를 체계적이고 과학적으로 평가하는 것이 매우 중요하다고 하겠다. 유류사고 이후 현장에서 유류 오염상태와 생태계위해성을 평가하는 것은 말할 것도 없이 매우 중요하지만, 폐쇄인공생태계를 모의적으로 만들어 평가하는 것 또한 어떤 생물군이 어떠한 영향을 받는 지 구체적인 결과를 도출하는 데 중요하다.

이와 같은 일련의 유류오염사고는 해양에 서식하는 부유성 생물보다는 저서성 부착미소생물군집에 보다 큰 영향을 미치게 될 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 유류오염이 저서미소생태계에 미치는 영향을 파악하기 위해 새롭게 제작된 부착기판을 이용하여 저서성 부착미생물군집을 해양에서 직접배양하여 부착조류의 생물군집을 정량적으로 모니터링 할 수 있는 기법을 개발하여 유류오염 환경 위해성 평가에 활용하고자 하는 사전연구를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

해양 부착 미소생물 배양장치의 외부구조 (900×320 mm)와 부착판에 부착생물이 부착된 사진을 정리하여 Fig. 1에 나타내었다. 배양장치의 외각프레임은 아크릴로 만들었고, 6면에는 부착형 미소생물을 포함한 해수가 유동할 수 있도록 일정 크기의 망으로 (mesh 200 μm) 제작되었다. 6면이 망으로 제작되었기 때문에 mesh 사이즈보다 큰 해양생물(어류)이나 각종 이물질의 유입을 차단하는 기능을 가졌다. 내부구조는 복수로 배열되는 기

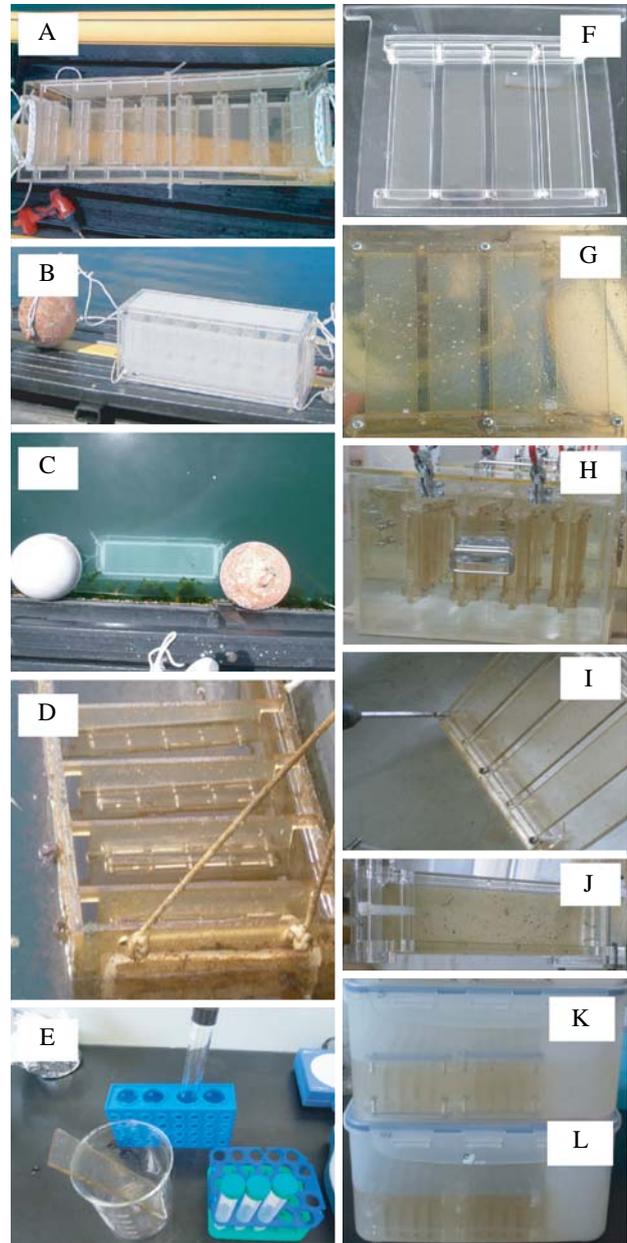


Fig. 1. Specific materials images for culturing and monitoring of attached micro-algae: A-E, the frame of substrates; F, algae scraping and gathering equipments from substrate; G, H, before and after of algal adhesion; I-L, the equipments for oil test in laboratory.

판 (Fig. 1G; 315×250 mm)이 8개 있고, 그 기판에 다시 아크릴 기질부착기판 (170×40 mm)이 한 면에 4개씩 (양면; 8개씩) 부착되어 있어 한 개의 배양장치에 총 64개의 부착기판을 장착할 수 있다. 본 장치의 장점은 기질 부착기판의 크기가 균일하여 부착한 생물의 군집조성은 물론 생물량을 정량적으로 평가가능한 장점이 있다.

2011년 5월 24일 준비된 배양장치를 장목만 (한국해

양연구원 남해분원 어장용피어) 바다 속에 넣고 저서성 부착미세조류가 부착할 수 있도록 자연상태에서 배양하였다. 배양장치가 수면에서 일정 깊이(1 m)에 위치할 수 있도록 본체에는 로프로 연결하여 끝부분에 부양체를 장착시켜 부유할 수 있도록 하였다.

수온과 염분은 한국해양연구원 남해분원 피어 시설에 장착된 실시간 관측장비(CTD)로부터 얻었다. 배양장치 설치후 3~4일 간격으로 기질부착기판을 하나씩 떼어내어 부착판에 부착된 미세조류를 모니터링하였다. 현장 모니터링은 부착기질에 부착된 생물을 떼어내기 위해서 부착된 기질아크릴판을 500 mL 비이커에 넣고 새로운 아크릴기판으로 교체하면서 여과해수로 씻는 과정을 반복하여 부착된 미세조류를 깨끗하게 탈착시켰다. 최 등(2004)에 의하면, 담수에 부착한 미세조류를 모니터링하는 과정에서 부드러운 솔을 이용하였다. 본 연구에서는 부드러운 솔은 이용하지 않았지만, 부착면이 평탄한 아크릴기판이라 다른 아크릴판의 각면을 이용하여 깨끗하게 긁어 낼 수 있었고, 해부현미경을 이용하여 아크릴판에 부착한 미세조류가 존재하지 않았다는 것을 확인하였다. 각 기판에 부착한 미세조류에 대한 균일한 형광값을 얻기 위해서 탈착된 부착미세조류의 최종농도를 60 mL로 균일하게 만든 후 두께가 달린 70 mL의 시험관 ($\phi 22 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$; PYREX®)에 넣고, Turner Designs 10-AU Fluorometer로 형광값 (*in vivo* fluorescence; units: FSU)을 측정하였다. 그 후 저서미세조류의 종조성과 생물량을 측정하기 위해서 10 mL sub-sample을 1% 루골용액으로 고정하였고, 나머지 50 mL은 Chlorophyll *a* (Chl. *a*)를 측정하기 위해서 GF/F필터(25 mm Whatman glass fiber filters)로 여과하여 15 mL 튜브에 넣어 냉동보관하였다. Chl. *a* 농도는 냉동 보관한 여과지를 90% acetone에 넣고 24시간 냉암소에서 엽록소를 추출한 후 형광측정기(Turner Designs 10-AU Fluorometer)로 분석하였다(Parsons *et al.* 1984).

저서부착조류의 종조성 및 현존량을 파악하기 위해서 100~300 μL 분주하여 $\times 20$ 또는 $\times 40$ 배율로 동정 및 계수하였다. 광학현미경하에서 동정이 어려운 종은 전자현미경(SEM)으로 사진을 찍어 평가하였다. 부착미세조류의 종 동정은 극히 어렵기 때문에 속 수준으로 평가하였다.

결과 및 토의

현장에서 부착판을 설치하여 모니터링하는 동안 수온은 16.5°C에서 22.2°C로 조금씩 상승하였고, 염분은 29.1 psu에서 33.0 psu의 변동폭을 보였다. 염분은 조사 31일

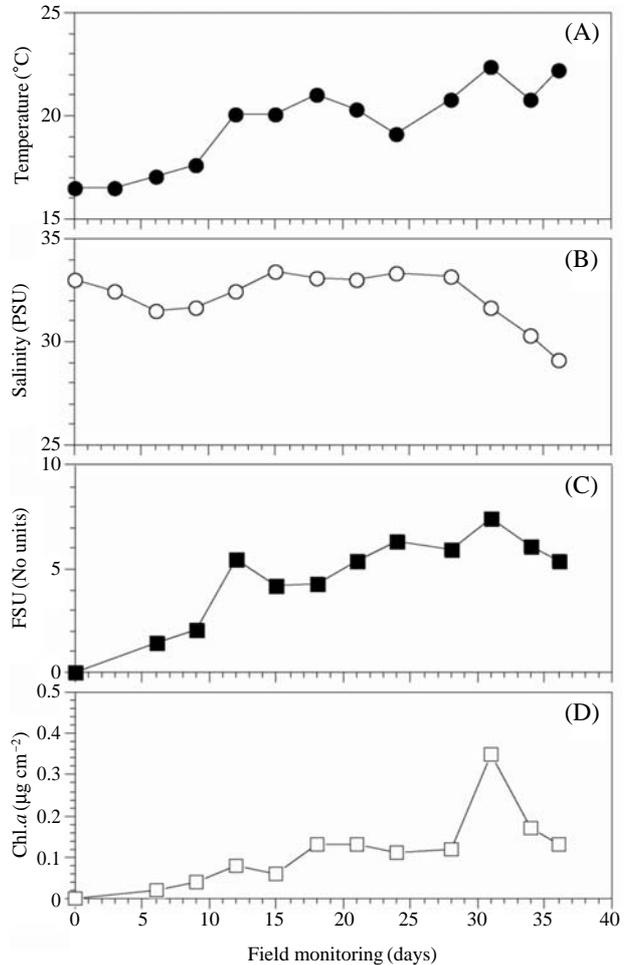


Fig. 2. The variations of environmental factors in the culture experiments. A: temperature, B: salinity, C: *in vivo* fluorescence, D: chlorophyll *a*.

째(6월 24일)에 점차적으로 하강해 조사 종료시점에는 가장 낮은 값을 기록하였다(Fig. 2). 부착판에 부착한 미세조류의 증감경향을 파악할 수 있는 형광광도계의 형광값은 9일까지 서서히 증가하였고, 12일째는 1차 정점(5.45)를 보였다. 그 후 일시적인 감소를 보인 후 천천히 증가하여 31일째 최고치(7.43)를 기록하였다. 부착미세조류의 현존량을 기능할 수 있는 Chl. *a* 값은 형광값과 유사한 증감 경향을 나타내었고, 최고치 또한 조사 31일째 최고치 0.35 $\mu\text{g cm}^{-2}$ 를 나타내었다. 부착한 미세조류의 개체수와 우점한 5속의 천이양상과 전자현미경사진을 Fig. 3과 4에 나타내었다.

부착판 설치 5일 경과후에는 *Cylindrotheca* 속과 더불어 다양한 조류가 부착기질에 부착되었으나, 1주 경과후부터 우점목 규조류 *Cylindrotheca* spp.과 *Navicula* spp.가 점차적으로 우점하였고, 3주일 경과후에는 *Cylindrotheca* spp., *Navicula* spp.을 포함하여 *Cocconeis* spp. *Synedra* spp.,

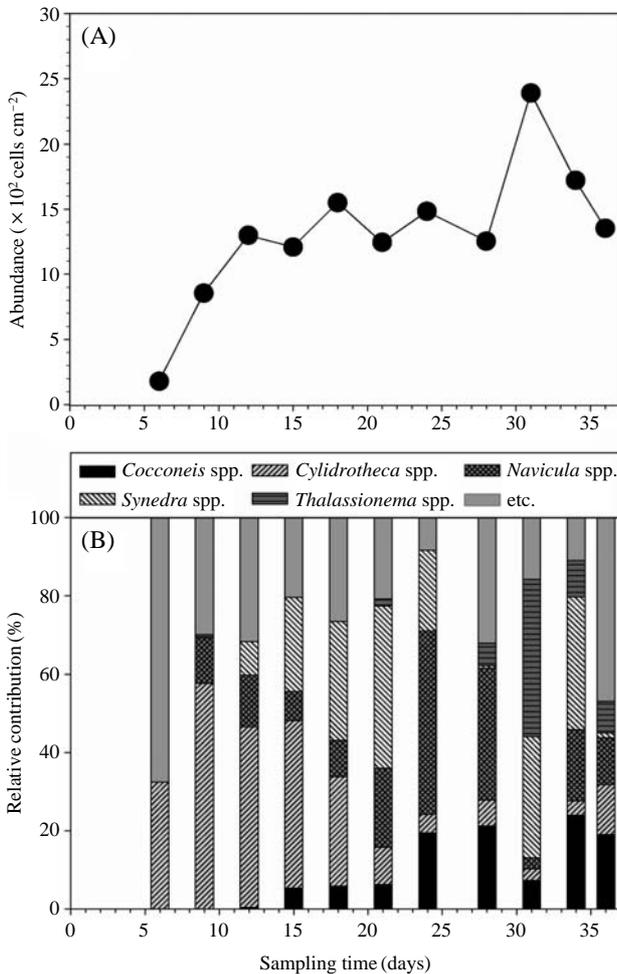


Fig. 3. The variations of abundance and species composition of attached micro-algae.

Navicula spp., *Nitzschia* spp. *Thalassionema* spp. 등이 순차적으로 다양한 조류가 출현하는 경향을 관찰하였다. Lowe and Gale (1980)의 보고에 의하면, 담수성 부착미세조류중 아크릴 기판에 부착하여 우점하는 종은 계절에 따라서 다를 수 있겠지만, 본 연구기간 동안의, 주요우점종은 *Nitzschia*와 *Navicula* 속으로 나타났다. Marker and Casey (1982)와 Watermann *et al.* (1999)는 빨질과 같은 세립질 퇴적물의 기질에서 미세조류의 생물량이 증가하고, 반대로 모래질과 같은 조립질 기질에서는 생물량이 낮아지는 결과를 보고하였다. 또한 Suzuki and Yamamoto (2005)와 오 등 (2009)은 부착기질의 특이성에 따라서 생물량 및 성장속도가 차이를 보였으나, galss bead의 크기와 존재유무에 따라서 성장속도뿐만 아니라 단위면적당 세포밀도에도 큰 영향을 미치는 것으로 판단되었고, 그들 또한 부착기질의 중요성을 강조하였다. 본 연구에서 사용한 배양장치에는 아크릴 기질부착기판을 총 64개를

부착할 수 있을 뿐만 아니라 기질부착기판의 크기가 균일하여 부착한 생물의 군집조성을 정량적으로 평가할 수 있어 해양에 서식하는 주요 부착조류의 가입시기와 주요 구성종을 상세하게 파악할 수 있었다. 결과적으로 해양미세부착조류는 부착기판설치 5일후 다양한 생물군이 부착하였고, 시간의 경과와 더불어 (극상에 근접함) 어떤 특정종이 우점하고 난 후에는 다양한 미세조류군집이 형성된다는 것을 파악할 수 있었다. Underwood and Chapman (2006)과 Fairchild and Lowe (1984)가 언급한 저서부착미세조류가 부착 후 경쟁에 의해서 군집구조가 변화하는 천이과정을 거치게 된다는 보고와 본 연구결과는 잘 일치하였다.

Shim and Jeong (1987)은 부착생물의 계절성 및 부착 후 성장율이 부착생물군집의 발달에 중요하다고 언급하였고, 대형오손생물 군집의 시간별 천이과정은 초기에 미생물과 부착규조류가 우선적으로 부착하는 경향이 강하고, 다음으로 따개비, 담치류, 다모류 등의 순으로 부착생물군집의 천이가 일어남을 보고하였다. 이와 같이 해양부착생물이 인간이 이용하는 시설물에 부착하여 어떤 악영향을 미칠 경우 이를 생물오손(biofouling)이라 하고, 선박의 선체, 양식장 그물과 시설물 등 다양한 형태로 악영향을 미치고 있다. 부착기질에 물리적인 요인에 의해서 빈공간이 생기거나 새로운 해양시설물이 설치되면 그곳에 부착생물군집이 형성되는 일련의 천이과정을 거쳐 최종적으로 안정된 계(system)를 형성한다. 특히 선박평형수에 의한 외래종의 성공적인 침입은 배출 해역에 토착화되어 시간의 경과와 더불어 인근 해역으로 확산될 소지가 크지만 부착성 미세조류를 정량적으로 모니터링하는 기법이 충분히 마련되어 있지 않는 것이 현실적이다(백 등 2011). 따라서 본 연구에서 개발한 배양장치를 국내 주요 항만환경에 노출시키면, 외래기원 유입 종의 가입시기와 더불어 그들을 정량적으로 평가할 수 있을 것으로 사료된다.

허베이 스피리트호와 같은 대형유류사고의 오염실태와 생태계위해성을 평가하기 위해서는 피해현장을 집중 모니터링하는 것도 중요하지만, 폐쇄인공생태계를 구축하여 단기간에 생태계위해성을 평가하는 것도 매우 중요하다고 하겠다. 해양생물의 대부분은 대형유류오염사고에 치명적인 손상을 입을 수 있고, 그 중에서도 저서성 생물(부착미세조류-저서생물의 에너지 흐름의 출발)에 보다 큰 영향을 미치게 된다. 현장에서 부착면적이 균일하지 않는 기질에서 부착미세조류생물을 정량적으로 모니터링하고 그 생물을 유류오염에 노출시키는 것은 불가능에 가깝다. 본 연구의 배양장치에서 얻은 부착조류를 Fig. II-L과 같이, 부착기판을 하나씩 떼어내어 새로운

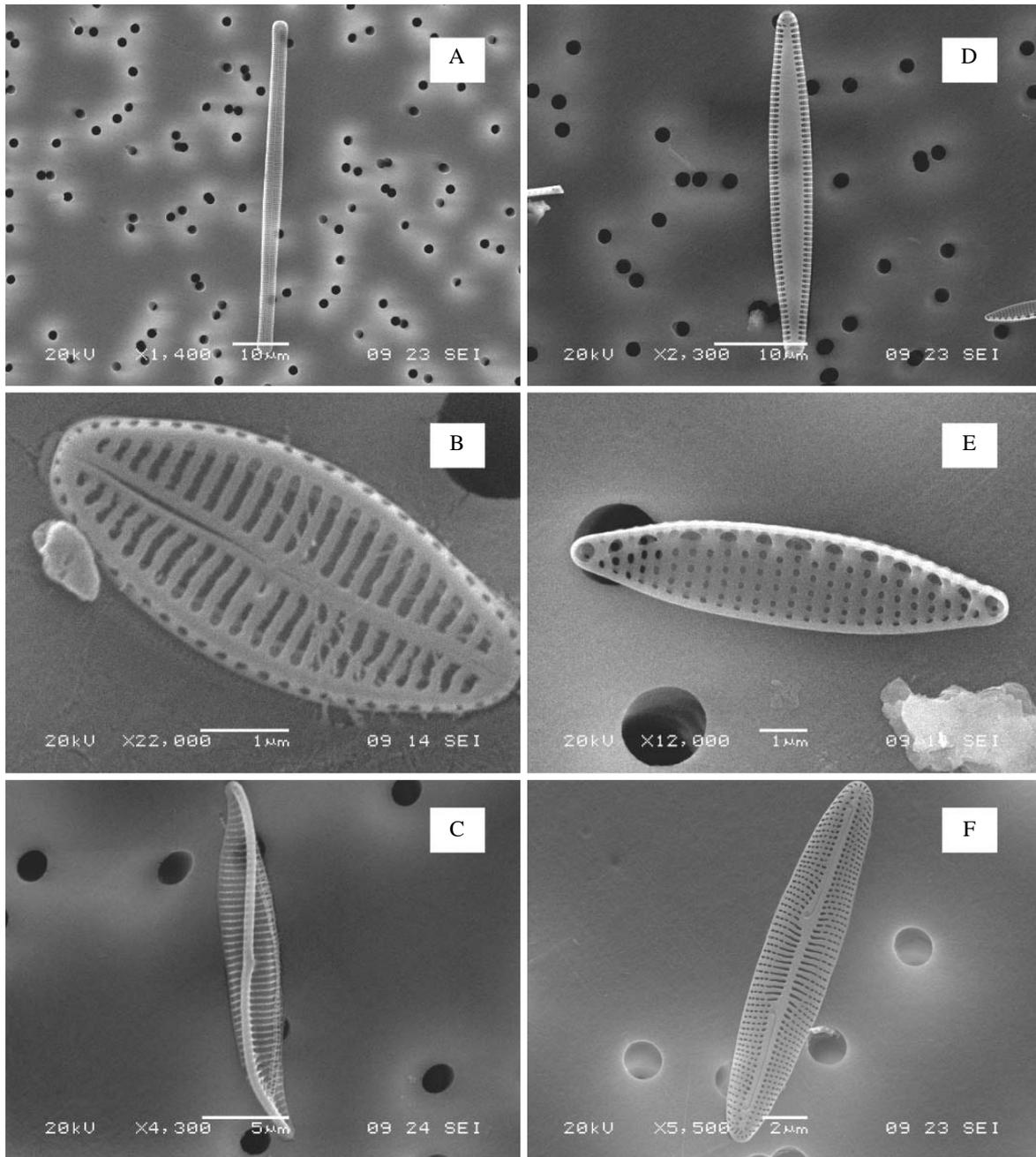


Fig. 4. The SEM (scanning electron microscope) images of dominant species: A: *Neosynedra provincialis*, B: *Navicula* sp., C: *Entomoneis* sp., D: *Synedra* sp., E: *Nitzschia* sp., F: *Berkeleya rutilans*.

프레임(좁은 공간에 부착관을 밀집시킴)에 옮긴 후 유류가 든 배양용기에 넣고 농도가 다른 유류에 노출시켜 부착미세조류의 적응능을 평가할 수 있는 장점이 있다. 상기와 같은 방법으로 다양한 해양생물에게 직·간접적으로 영향을 미치는 오염물질에 대한 평가를 수행하면 정량적인 결과를 도출할 수 있는 획기적인 배양장치라고 판단된다.

사 사

본 연구는 “해양유류오염사고 대응기술 개발을 통한 깨끗한 바다만들기 사업(PE98673)”와 전략무인도서 해양생태계 기반 관리기술 개발 연구(PE98746)으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 백승호, 장민철, 장풍국, 신경순. 2011. 울산과 평택항에 정박된 국제상선의 평형수에서 소형식물플랑크톤의 활성능력. *Ocean Polar Res.* 33:113-125.
- 오석진, 윤양호, Yamamoto T, 양한섭. 2009. 실내 배양시 부착기질 크기에 따른 저서성 미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장특성. *한국해양환경공학회지.* 12:91-95.
- 최철만, 박연규, 문성기. 2004. 인공기질 부착조류에 의한 대천의 수질평가. *환경생물.* 22:242-245.
- Fairchild GW and RL Lowe. 1984. Artificial substrates which release nutrients: Effects on periphyton and invertebrate succession. *Hydrobiologia* 114:29-37.
- Lee CI and MC Kim. 2008. Oceanographic and atmospheric conditions the *Hebei* oil spill in the West Sea of Korea. *Korea. Ass. Ocean Sci. Technol. Soc.* 239.
- Lee CI, Kim MC and HC Kim. 2009. Temporal variation of chlorophyll a concentration in the coastal waters affected by the *Hebei Spirit* oil spill in the West Sea of Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 58:496-502.
- Lowe RL and WF Gale. 1980. Monitoring river periphyton with artificial benthic substrates. *Hydrobiologia* 69:235-244.
- Marker AFH and H Casey. 1982. The population and production dynamics of benthic algae in an artificial recirculating hard-water stream. *Thal. Trans. R. Soc. Lond. B.* 298:265-308.
- Parsons TR, Y Maita and CM Lalli. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford, 173p
- Shim JH and MS Jeong. 1987. Development and succession of marine fouling organisms on artificial substrata. *J. Oceanol. Soc. Korea* 22:257-270.
- Suzuki M and T Yamamoto. 2005. Effects of grain size of substrate on the growth of a benthic microalgae *Nitzschia* sp. *J. Grad. Sch. Bioshp. Sci. Hiroshima. Uni.* 44:31-38.
- Underwood AJ and MG Chapman. 2006. Early development of subtidal macrofaunal assemblages: relationships to period and timing of colonization. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 330: 221-233.
- Watermann F, H Hillebrand, G Gerdes, WE Krumbein and U Sommer. 1999. Competition between benthic cyanobacteria and diatoms as influenced by different grain sizes and temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 187:77-87.

Received: 19 January 2012

Revised: 20 February 2012

Revision accepted: 24 February 2012