

유해 외편모조류 *Cochlodinium polykrikoides*와 규조류 *Skeletonema* sp.의 종간경쟁에서 용존 유기 영양염의 중요성

권형규¹ · 김현정² · 양한섭² · 오석진^{2,*}

¹부경대학교 해양과학공동연구소

²부경대학교 해양학과

The Importance of Dissolved Organic Nutrients on the Interspecific Competition between the Harmful Dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* and the Diatom *Skeletonema* sp.

HYEONG KYU KWON¹, HYUN JUNG KIM², HAN-SOEB YANG² AND SEOK JIN OH^{2,*}

¹Korea Inter-University Institute of Ocean Science, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-Gu, Busan, 608-737 Korea

²Department of Oceanography, Pukyong National University, 45 Yongso-ro, Nam-Gu, Busan, 608-737 Korea

본 연구는 유해 외편모조류 *Cochlodinium polykrikoides*와 규조류 *Skeletonema* sp.의 용존 유기 영양염에 대한 이용 및 흡수능력을 통해서 종간 경쟁관계를 파악하였다. *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 용존 무기 질소와 무기인 이외에 다양한 용존 유기 질소와 유기 인을 이용하여 성장하였다. 이는 용존 무기 질소 또는 무기 인이 제한 영양염으로 작용하는 환경에서 중요한 생존전략으로 작용할 것이다. Urea와 glycerophosphate(glycero-P)의 흡수동력학 실험으로부터 도출된 반포화상수(Ks) 값은 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 낮은 값을 보였다. 이는 *Skeletonema* sp.가 *C. polykrikoides*에 비해서 urea와 glycero-P와 같은 유기 영양염에 대한 친화성이 높음을 의미한다. 하지만 *Skeletonema* sp.가 유기 영양염에 대한 친화성이 높을지라도 *C. polykrikoides*가 α (ρ_{\max}/Ks) 값이 높아, 저농도의 영양염 조건(<Ks)에서 효율적으로 urea 및 glycero-P를 흡수 가능한 것으로 나타났다. 따라서 단일배양 조건에서 획득한 용존 유기 영양염의 이용능력과 저 농도에서 효율적인 유기 영양염의 흡수 능력을 바탕으로 *C. polykrikoides*는 *Skeletonema* sp.과의 종간경쟁에서 유리한 위치에 있을 것으로 생각된다.

We investigated the interspecific competition between the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* and diatom *Skeletonema* sp. based on the utilization and uptake of dissolved organic nutrients. *C. polykrikoides* and *S. costatum* were able to grow using dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphorus (DOP) as well as dissolved inorganic nitrogen (DIN) and dissolved inorganic phosphorus (DIP). This result indicates that the utilization of dissolved organic nutrients may play a role in surviving strategy in the DIN or DIP-limited environments. The half-saturation constants (Ks) of urea and glycerophosphate (glycero-P) calculated from uptake kinetics experiment of *C. polykrikoides* was lower than those of *Skeletonema* sp. This result indicates that *Skeletonema* sp. have higher affinity for dissolved organic nutrients, such as urea and glycero-P, than *C. polykrikoides*. Although *Skeletonema* sp. have higher affinity of dissolved organic nutrients, *C. polykrikoides* could effectively uptake for urea and glycero-P at sub-saturating nutrient concentrations (<Ks), because affinity coefficient, α (ρ_{\max}/Ks) of *C. polykrikoides* was higher than *Skeletonema* sp.. Therefore, *C. polykrikoides* by utilization and effectively uptake of dissolved organic nutrients under monoculture may have an advantageous position in the interspecific competition with *Skeletonema* sp. in the low nutrient environments.

Key words: *Cochlodinium polykrikoides*, *Skeletonema* sp., Dissolved organic nitrogen, Dissolved organic phosphorus

서론

해수 중 영양염은 용존 무기 영양염과 용존 유기 영양염으로 구분되며, 전자는 용존 무기 질소(DIN; dissolved inorganic nitrogen)와 용존 무기 인(DIP; dissolved inorganic phosphorus)과 같은 제한 영양염이며, 후자는 여러 가지 분자량을 가지는 화합물이다. 일반적으로 식물플랑크톤은 용존 무기 영양염을 성장에 이용하지만, 용존 무기 영양염이 부족한 환경에서는 수주 내 존재하는 다양한 기원의 용존 유기 질소(DON; dissolved organic nitrogen)와 용존 유기 인(DOP; dissolved organic phosphorus)와 같은 유기 영양염을 성장에 이용하게 된다(Antia *et al.*, 1991). 이러한 용존 유기 영양염은 미세 조류나 박테리아의 대사작용에 의한 배출(excretion), 동물플랑크톤의 섭식작용 및 육상으로부터 공급 등의 경로를 거쳐 해양으로 유입되며, 그 조성은 매우 복잡하고 다양하다(Antia *et al.*, 1991). 특히, 일부 해역에서 DON은 용존 총 질소(DTN; dissolved total nitrogen)의 89% (Berman and Bronk, 2003), DOP의 경우 용존 총 인(DTP; dissolved total phosphorus)의 75%(Benitez-Nelson, 2000)의 성분비를 보여 오히려 용존 무기 영양염에 비해서 높은 함량을 보이기도 하기에, DIN 또는 DIP가 제한된 환경에서는 DON 또는 DOP가 식물플랑크톤의 성장에 중요한 영양염 공급원일 가능성이 있다.

한편, 유해성 외편모조류 *Cochlodinium polykrikoides*는 우리나라 뿐만 아니라 북미 대서양연안, 일본, 캐나다, 멕시코, Guatemala의 태평양연안 등에서 전 세계적으로 적조를 일으키는 종으로 막대한 수산피해를 일으키고 있다(Yuki and Yoshimatsu, 1989; Whyte *et al.*, 2001; Garate-Lizarraga *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2013a). 우리나라에서는 1982년 진해만에서 처음 발생한 이래 매년 여름철 마다 광범위 하게 발생하여 경제적 손실과 해양생태계의 황폐화를 초래하고 있다. 특히, 지난 2013년에는 1995년의 746억원 이후 최고 규모인 약 249억원의 손실을 발생시켰다(Park *et al.*, 2013b). 반면 구조류 *Skeletonema* 속의 종은 광온 및 광염성을 지니며, 내만 뿐만 아니라 기수역에서 활발하게 증식을 하는 것으로 보고되어 있다(Hasle, 1973). *Skeletonema* 속의 종들은 이전까지 *Skeletonema costatum*과 동일시하였으나, 최근 분류기법의 발달로 *Skeletonema* 속에는 약 20여종으로 분화된 종이 포함되어있는 것으로 밝혀졌다(Hasle, 1973; Lee *et al.*, 1997). 우리나라 연안에서 출현하는 *Skeletonema* 속에는 *S. dohrnii*, *S. marinoi*, *S. subsalsam*, *S. japonicum* 및 *S. tropicum*이 출현 하는 것으로 알려져 있다(Jung *et al.*, 2009). 특히, *Skeletonema* 속의 종은 *C. polykrikoides* 적조가 대규모로 발생하는 시기에 종종 함께 출현하기도 한다(Lim *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2009). *Skeletonema* sp.는 *C. polykrikoides*가 높은 우점율을 보이는 7~8월에 함께 출현하기도 하며, *C. polykrikoides*와 혼합적조를 일으키는 것으로 보고된바 있다(Lim *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2009). 또한 Lim *et al.*(2002)은 이 두 종의 혼합적조가 중간 경쟁에 의해 발생한 것으로 보고하였다. 이와 같이 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.가 동시에 출현하는 경우, 이 두 종은 제한된 자원 및 공간 등에 대해 경쟁관계에 있음을 알 수 있다.

경쟁적 배타원리(competitive exclusion principle)에 따르면, 유사한 생태적 지위를 가지는 종들은 동일한 자원에 대해 서로 경쟁할 때 오직 한 종만이 생존이 가능하지만, 실제 해양에서 식물플랑크톤 군집은 제한된 자원보다 더 많은 종이 공존하고 있다

(Gause, 1932). 이와 같은 현상은 시·공간적으로 변화하는 자연환경에 의해 발생하며, 'Paradox of the phytoplankton'이라 표현한다(Hutchinson, 1961). 또한 자연생태계의 급변하는 환경은 자원의 일시적인 공급량을 변화시키며, 식물플랑크톤의 생태적 지위에 영향을 미친다. 그러나 해양 환경은 다양한 요인들로부터 복합적인 영향을 받기 때문에 실내 실험의 결과만을 이용하여 식물플랑크톤의 경쟁 관계를 단정 짓기는 어렵다. 하지만 Richerson *et al.*(1970)은 비 평형 경쟁 이론(non-equilibrium competition theory)에 근거한 모델을 이용하여 환경 조건에 따라 변화하는 식물플랑크톤의 증식을 재현함으로써 평형상태에서 수행된 실험의 결과가 해양생태계에서 적용 가능한 것을 확인하였다. 이처럼 단일 종에 대한 생리적 특성의 규명은 자연생태계에서 중간경쟁 및 생존전략을 이해하기 위해서 매우 중요한 과정이다. 따라서 본 연구에서는 연안해역에서 잠재적인 중간경쟁 관계에 위치한 유해 외편모조류 *C. polykrikoides*와 구조류 *Skeletonema* sp.의 단일 배양 조건하에서 용존 유기 영양염에 대한 이용 및 흡수능력의 결과를 바탕으로 중간 경쟁관계를 파악하였으며, 이러한 결과를 향후 수치모델을 구현하기 위한 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 분리 및 유지배양

*C. polykrikoides*는 한국해양과학기술원 해양시료도서관(No. LMBE-VI)에서 순수 분리한 종을 분양받아 이용하였으며, *Skeletonema* sp.는 2013년 4월 자란만의 서쪽 연안(34°55'30.59"N, 128° 12'17.77"E)의 표층해수에서 pasteur pipette(Ø 50~100 µm)을 이용하여 분리하였다. 분리한 세포는 여과해수를 이용하여 3~4회 반복 세척 하여 분리주를 확보하였다. 사용된 배지는 동해 외양수(36°0'0.02"N, 130°42'55.0"E)를 바탕으로 한 f/2 배지를 이용하였으며(Guillard and Ryther, 1962), selenium(H₂SeO₃)의 최종농도가 0.001 µM이 되게 첨가하였다(Doblin *et al.*, 1999). 배양온도와 염분은 현장 수온과 염분에 상응하는 조건인 20°C와 30 psu 였으며, 광량은 300 µmol m⁻² s⁻¹ (*C. polykrikoides*의 경우 14L : 10D; cool-white fluorescent lamp, *Skeletonema* sp.는 12L : 12D; cool-white fluorescent lamp)하에서 유지배양을 하였다. 또한 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 AM 9 항생제를 이용하여 무균화 작업을 수행하였으며(Provasoil *et al.*, 1959), 4',6'-diamidino-2-phenylindole(DAPI) 검사를 통하여 세포에 대한 무균화를 검증하였다(Poter and Feig, 1980). 더욱이 2차 오염을 막기 위해서 모든 실험 기구는 고압(202 kpa, 30 min) 및 건조멸균(120°C, 3 hr)후 사용하였으며, 모든 실험은 무균대에서 수행하였다.

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 용존 유기 질소 및 유기 인의 이용성 실험

용존 유기 질소와 유기 인에 대한 실험 종의 세포밀도 증감은 현미경을 이용한 직접 검경이 아닌 *in vivo* chlorophyll 형광값을 활용하였으며, 세포밀도는 *in vivo* chlorophyll 형광값과 세포밀도의 높은 상관관계로부터 도출되었다. 이러한 방법은 형광광도계에서 직접 측정이 가능한 배양튜브를 이용하기에 세포밀도의 확인을 위한 배양튜브의 개폐가 없이 초기 배양상태를 계속 유지 할 수 있으며, 대량의 표본을 신속히 처리할 수 있다(Brand *et al.*, 1981). 측정된 *in*

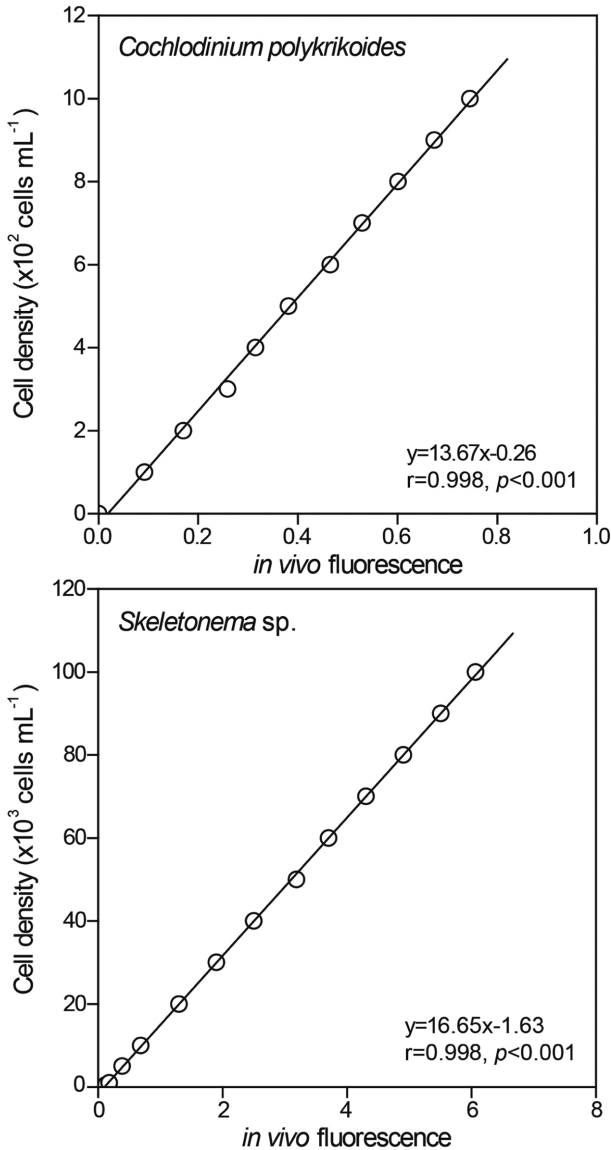


Fig. 1. Relationships between cell density and *in vivo* chlorophyll fluorescence of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp.

in vivo chlorophyll 형광값과 세포밀도 사이의 관계를 파악하기 위해, 각각의 세포를 유지배양과 동일한 조건하에서 대수성장기가 될 때까지 배양하였다. 배양된 세포는 농축과 희석을 통해 여러 단계의 밀도로 조제하고, 형광광도계(Model 10-AU-005, Turner Designs, USA)로 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였다. 안정적인 형광값을 얻기 위해서 배양된 세포를 약 5 분동안 암조건에서 방치한 후 측정하였으며(Brand *et al.*, 1981), 그 결과 세포밀도와 형광값 사이에는 통계적으로 매우 높은 유의성이 확인되었다(Fig. 1).

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 질소 원(nitrogen source)에 대한 이용능력을 알아보기 위해 무기 질소원 3종, 유기 질소 원으로 urea 1종과 dissolved free amino acids(DFAA) 17종을 이용하였다(Table 1). 또한 인 원(phosphorus source)으로 무기 인 4종, 유기 인으로 nucleotide 6종, phosphomonoester(PME) 6종을 이용하였다(Table 2). 실험에 사용된 배지는 인공해수(AK; artificial Keller)를 기반으로

Table 1. Nitrogen compounds used in this study

	Nitrogen source	Abbreviation	
Inorganic nitrogen	Nitrate	NO ₃	
	Nitrite	NO ₂	
	Ammonium	NH ₄	
Organic nitrogen	urea	Urea	
	Alanine	Ala	
	Arginine	Arg	
	Aspartic acid	Asp	
	Glutamic acid	Glu	
	Glycine	Gly	
	Histidine	His	
	Isoleucine	Ile	
	dissolved free amino acid (DFAA)	Leucine	Leu
	Lysine	Lys	
	Methionine	Met	
	Phenylalanine	Pal	
	Proline	Pro	
	Serine	Ser	
	Threonine	Thr	
Tryeonine	Try		
Tyrosine	Tyr		
Valine	Val		

Table 2. Phosphorus compounds used in this study

	Phosphorus source	Abbreviation	
Inorganic phosphorus	Orthophosphate	PO ₄	
	Metaphosphate	Meta-P	
	Pyrophosphate	Pyro-P	
	Tripolyphosphate	Tripoly-P	
	Organic phosphorus	nucleotide	Adenosine 5-monophosphate
Adenosine 5-diphosphate		ADP	
Adenosine 5-triphosphate		ATP	
Cytidine 5-monophosphate		CMP	
Uridine 5-monophosphate		UMP	
Guanosine-5-monophosphate		GMP	
phosphomonoester	Fructose 6-phosphate	F6P	
	Fructose 1, 6-diphosphate	FDP	
	Glucose 1-phosphate	G1P	
	Glucose 6-phosphate	G6P	
	Glycerophosphate	Glycero-P	
Ribose 5-phosphate	R5P		

반 L1 배지이며(Keller *et al.*, 1987), 질소원은 최종농도가 250 μM(NH₄⁺는 20 μM), 인원은 25 μM이 되도록 조제하였다. 각각의 화합물이 첨가된 배지 5 mL에 사전배양을 통해 세포 내 질소 또는 인을 고갈시킨 세포를 약 100 cells mL⁻¹이 되도록 접종하였다. 이후 이틀간격으로 동일한 시간(오전 10시)에 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였다. 세포의 성장속도(μ; specific growth rate)는 대수성장을 보이는 기간 동안의 형광값과 식 (1)을 이용하여 계산하였다. 모든 실험은 triplicate로 수행하였으며, 성장속도는 평균값으로 나타내었으며, 명백히 오류로 판단된 값은 평균치 제외하였다.

$$\mu = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{N_t}{N_0} \quad (1)$$

N_0, N_t : 대수성장기에서 초기와 t 시간 후의 세포밀도(cells mL⁻¹)
 Δt : 대수성장기의 배양시간(day)

C. polykrikoides와 Skeletonema sp.의 정치배양을 통한 urea 및 glycerophosphate의 단계별 흡수 실험

식물플랑크톤의 영양염 흡수는 기본적으로 환경수 중의 영양염 농도에 의존하지만, 세포내에 영양염 pool을 가지는 경우 그 크기에 따라 달라진다(Eppley *et al.*, 1969). 따라서 흡수속도의 농도 의존성을 평가할 때는 영양염 첨가 후 흡수속도가 일정한 시간 즉, 정속흡수(surge uptake)를 보이며 세포내 영양염의 변화가 없는 시간 내에 실험해야한다(Harrison *et al.*, 1989). 따라서 영양염 흡수 실험을 수행하기 전에 영양염 흡수의 경시적인 변화를 파악하였다. 먼저, 세포내 질소와 인을 고갈시키기 위해 질소 또는 인원이 포함되지 않은 AK 인공해수를 기반으로 한 L1배지에서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.를 사전배양 하였다. 세포의 성장이 정지할 때까지 배양을 실시하고 질소원 urea 6 μM과 인 원 glycerophosphate (Glycero-P) 3 μM로 함유된 L1배지에 세포내 질소 또는 인 고갈된 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.를 각각 접종하였다. Urea는 배양개시(0분), 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240분, glycero-P는 0, 15, 30, 45, 60, 60, 120, 150, 240분에 각각 배양액을 채수하여 urea와 glycero-P를 측정하였다. Urea는 diacetyl monoxime 법을 바탕으로 비색정량하였으며(Koroleff, 1983), glycero-P는 DIP와 DTP의 농도를 각각 측정 후(Strickland and Parsons, 1972), DTP에서 DIP를 제외한 DOP를 glycero-P로 간주하였다. 이 과정에서 흡수속도가 일정한 시간을 영양염 흡수실험을 위한 측정시간으로 정하였다.

영양염 흡수속도는 300 mL 배양용기(Pyrex, USA)에 urea가 1, 3, 5, 10, 20, 50, 100 μM의 7단계, glycero-P가 0.5, 1, 2, 5, 7, 10, 15 μM의 7단계로 조제된 L1 배지에 세포내 질소 또는 인 고갈 *C. polykrikoides* 및 *Skeletonema* sp. (>1,000 cells mL⁻¹)을 각각 접종하였다. 배양시간은 상기에 서술된 실험의 결과를 바탕으로 정속 흡수를 보이는 시간으로 하였다. 특히, 영양염 고갈 세포를 함유한 배양액을 첨가할 시 urea와 glycero-P 농도가 낮아지기 때문에 접종직후 배양액을 채수 하여 urea와 glycero-P를 측정하였으며, 실험 종료 후 재차 urea와 glycero-P를 측정하였다. 영양염 흡수속도와 영양염의 관계는 Michaelis-Menten 식에 대입하여 농도 의존성을 정량적으로 파악하였으며(Dugdale, 1967), 변수값(Ks)은 측정된 실험값을 식 (2)에 대입하여 비선형 최소자승법으로 계산하였다.

$$P = \rho_{max} \cdot \frac{S}{K_S + S} \quad (2)$$

ρ_{max} : 영양염 최대 흡수속도(pmol cell⁻¹ hr⁻¹)
 Ks: 반포화상수(μM)
 S: 영양염 농도(μM)

결 과

C. polykrikoides와 Skeletonema sp.의 용존 유기 질소 및 용존 유기 인의 이용성

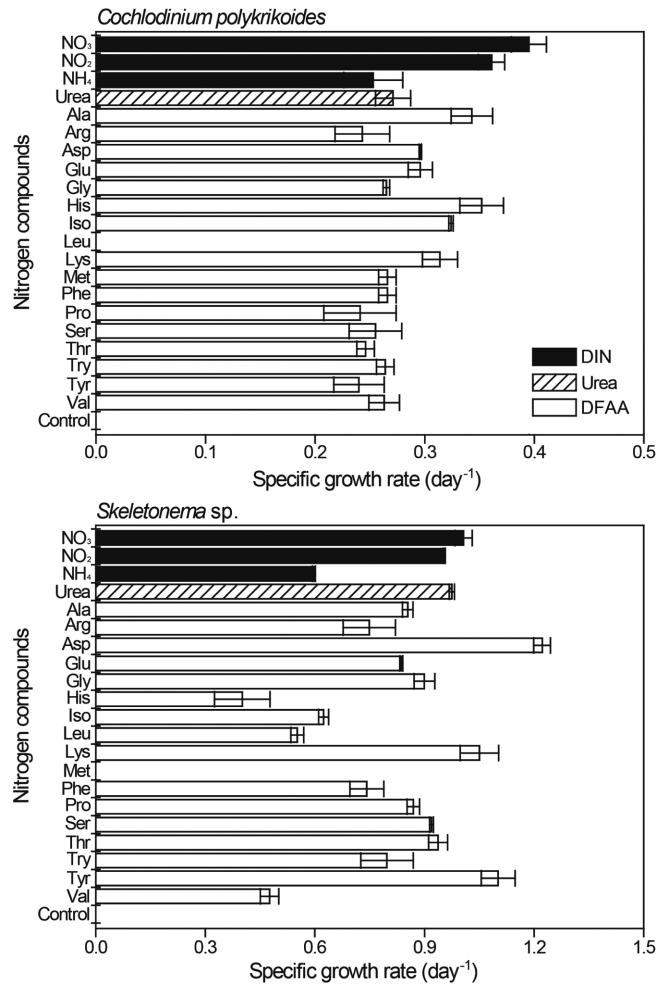


Fig. 2. Specific growth rate (day⁻¹) of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp. incubated with various nitrogen compounds.

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 용존 무기 영양염 뿐만 아니라 다양한 형태의 용존 유기영양염을 이용하여 성장하였다(Figs. 2, 3). 질소 화합물의 경우(Fig. 2), *C. polykrikoides*의 DIN(NO₃, NO₂, NH₄)에 대한 성장속도는 0.25~0.40 day⁻¹(0.34±0.02 day⁻¹)로 나타났다. Urea는 0.27±0.03 day⁻¹로, NO₃의 성장속도와 비교하여 약 68%에 해당하였다. DFAA는 0.24~0.35 day⁻¹(0.28±0.01 day⁻¹)의 성장속도를 보였으며 NO₃와 비교하여 약 71%에 해당하였다. *Skeletonema* sp.의 경우 DIN에서 0.60~1.01 day⁻¹(0.85±0.01 day⁻¹)로 나타났다. Urea는 0.98±0.01 day⁻¹로 NO₃와 비교하여 약 97%에 해당하였으며, DFAA는 0.40~1.22 day⁻¹(0.81±0.03 day⁻¹)로 NO₃에 대비하여 약 81%에 해당하였다. 특히, *C. polykrikoides*는 Leu, *Skeletonema* sp.는 Met에서 성장하지 않았다.

인 화합물의 경우(Fig. 3), *C. polykrikoides*는 DIP(Ortho-P, Meta-P, Pyro-P, Tripoly-P)에서 0.23~0.32 day⁻¹(0.26±0.02 day⁻¹)의 범위를 보였다. Nucleotide 계열 화합물(AMP, ADP, ATP, CMP, GMP, UMP)에서는 0.21~0.34 day⁻¹(0.28±0.02 day⁻¹)의 성장속도를 보여, Ortho-P와 비교하여 약 87%에 해당하였다. PME에서는 0.16~0.24 day⁻¹(0.21±0.01 day⁻¹)의 범위로 Ortho-P에 대비하여 약 67%에 해당하였다. 반면에, *Skeletonema* sp.은 DIP에서 0.85~1.09 day⁻¹(0.93±0.03

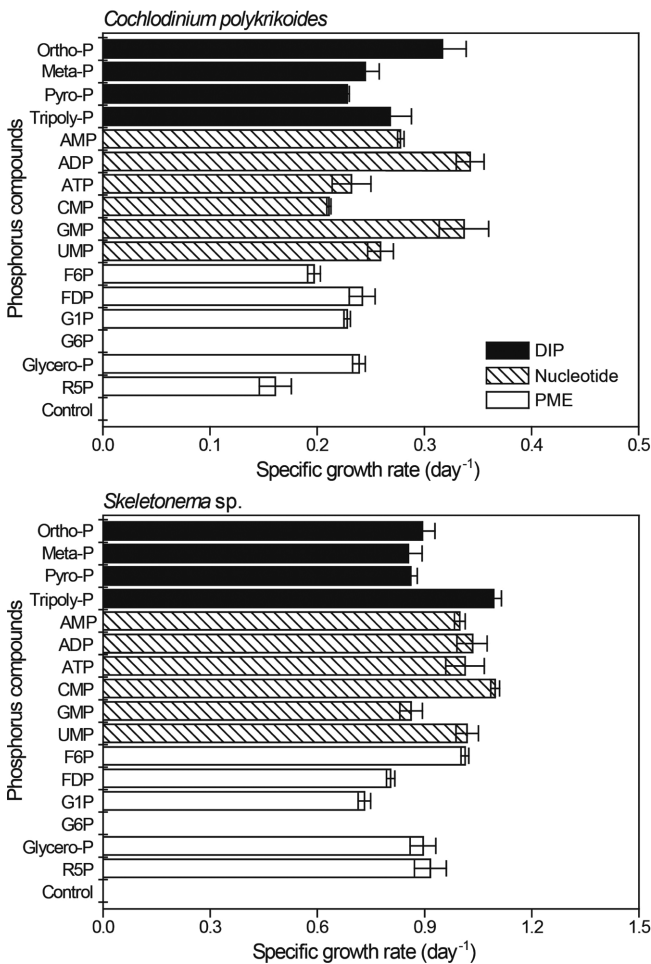


Fig. 3. Specific growth rate (day^{-1}) of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp. incubated with various phosphorus compounds.

day^{-1})의 성장속도를 보였다. Nucleotide 계열 화합물과 PME에 대한 성장속도는 각각 $0.86\sim 1.10 \text{ day}^{-1}$ ($1.00\pm 0.03 \text{ day}^{-1}$), $0.73\sim 1.01 \text{ day}^{-1}$ ($0.87\pm 0.02 \text{ day}^{-1}$)로 나타났으며, Ortho-P의 성장속도와 비교한 결과 각각 112%, 98%에 해당하였다. 특히, 두 종 모두 G6P에서 성장하지 않았다.

C. polykrikoides와 Skeletonema sp.의 정치배양을 통한 urea와 glycerol-P의 흡수실험

Urea에 대한 정속흡수 실험 결과(Fig. 4), *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 배양액 중 urea는 시간에 따라 점차 감소하였다. *C. polykrikoides*의 urea 흡수속도는 배양초기부터 20분 동안 $3.04\sim 6.08 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 나타났으나, 이후 $0.10\sim 0.81 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 현저히 낮아지는 경향을 보였다($t\text{-test}, p<0.05$). *Skeletonema* sp.의 경우 배양초기 부터 20분 동안 약 $0.44 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 일정하였으나, 이후 $0.15\sim 0.29 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 흡수속도가 현저히 감소하였다 ($t\text{-test}, p<0.05$). 따라서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 urea 흡수속도 실험 시간을 20분으로 설정하였다.

Glycerol-P에 대한 정속흡수 실험 결과의 경우(Fig. 5), 시간에 따라 배양액 중 glycerol-P의 농도는 감소하였다. *C. polykrikoides*의

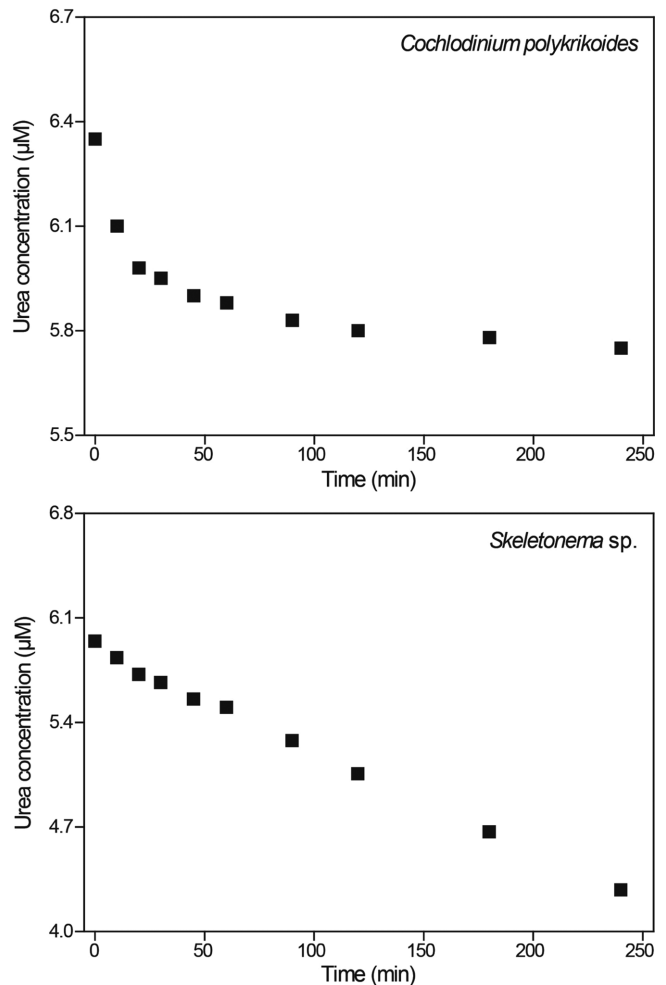


Fig. 4. Temporal changes in urea concentration after perturbing nitrogen-starved culture of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp.

glycerol-P 흡수속도는 배양초기부터 45분 동안 거의 일정하였으나 ($3.39\sim 4.01 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$), 이후에는 $0.46\sim 0.77 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 로 현저히 낮아졌다($t\text{-test}, p<0.05$). *Skeletonema* sp.의 경우 흡수속도는 배양개시 45분 동안 거의 일정하였으나($0.058\sim 0.087 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$), 이후 $0\sim 0.015 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 범위로 감소하였다($t\text{-test}, p<0.05$). 따라서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 glycerol-P 흡수 실험 시간을 45분으로 설정하였다.

*C. polykrikoides*의 urea 흡수속도는 약 $12 \mu\text{M}$ 까지 농도가 증가함에 따라 증가하였지만 그 이상의 농도에서는 유사하였다(Fig. 6). 이를 Michaelis-Menten 식으로 유도한 결과 ρ_{max} 는 $6.44 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, K_s 는 $3.94 \mu\text{M}$ 로 나타났다. *Skeletonema* sp. 또한 urea 농도에 따라 흡수속도가 증가하였으며, 약 $4 \mu\text{M}$ 이상의 농도에서는 일정한 흡수속도를 보였다(Fig. 6). 이를 Michaelis-Menten 식에 대입하여 본 결과 ρ_{max} 는 $0.042 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, K_s 는 $1.57 \mu\text{M}$ 이었다.

Glycerol-P의 경우(Fig. 7), *C. polykrikoides*는 대한 흡수속도는 약 $7 \mu\text{M}$ 까지 농도가 증가함에 따라 증가하였지만 그 이상의 농도에서는 유사하였다(Fig. 7). 이를 Michaelis-Menten 식으로 유도한 결과 ρ_{max} 는 $9.75 \text{ pmol cell}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, K_s 는 $3.43 \mu\text{M}$ 로 나타났다. *Skeletonema* sp. 역시 glycerol-P 농도에 따라 흡수속도가 증가하였으

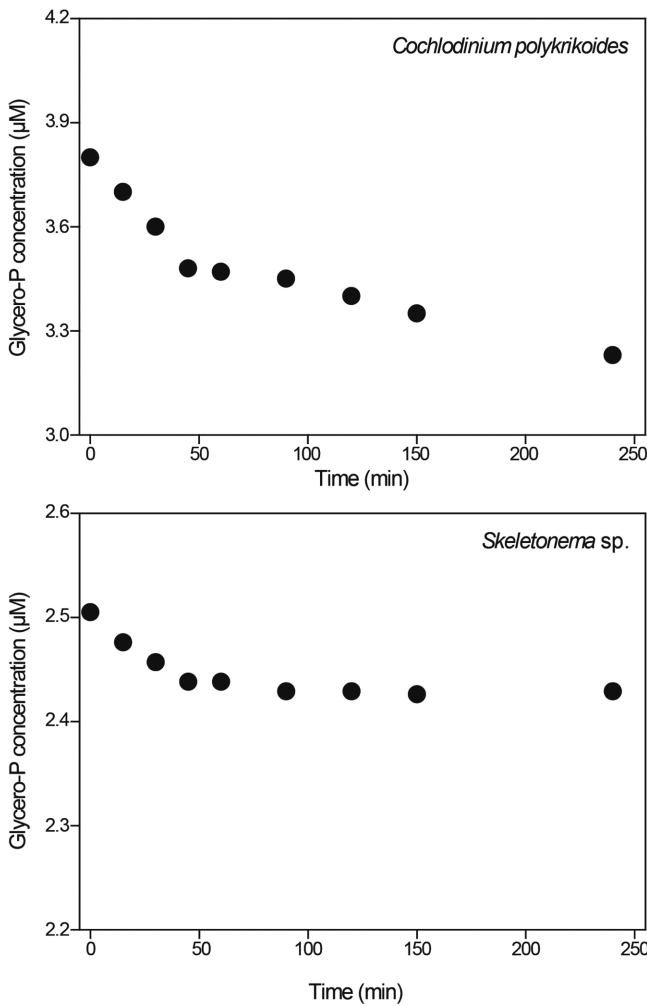


Fig. 5. Temporal changes in glycerophosphate concentration after perturbing phosphorus-starved culture of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp.

며, 약 2 μM 이상의 농도에서는 일정하였다(Fig. 7). 이를 Michaelis-Menten 식에 대입하여 본 결과 ρ_{max} 는 0.097 pmol cell⁻¹ hr⁻¹, K_s는 0.64 μM로 계산되었다.

고찰

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 용존 유기 질소 및 인의 이용성

해수 중 DON의 화학적 조성은 아직 명확히 알려져 있지 않지만, 일반적으로 고분자 DON(M.W.>1 kDa)과 저분자 DON으로 구분할 수 있다(Antia et al., 1991). 고분자 DON은 protein, nucleic acids(DNA, RNA), humic substance 등이 포함되고, 저분자 DON의 경우는 urea, peptides, DFAA, amino sugars, purines, pyrimidines, pteridines, amides, methyl amides 등이 포함된다(Antia et al., 1991). 특히, urea와 DFAA와 같은 저분자 DON은 식물플랑크톤의 중요한 질소공급원으로 알려져 있다(Antia et al., 1991). 본 연구 결과 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 다양한 유기질소 화합물을 이

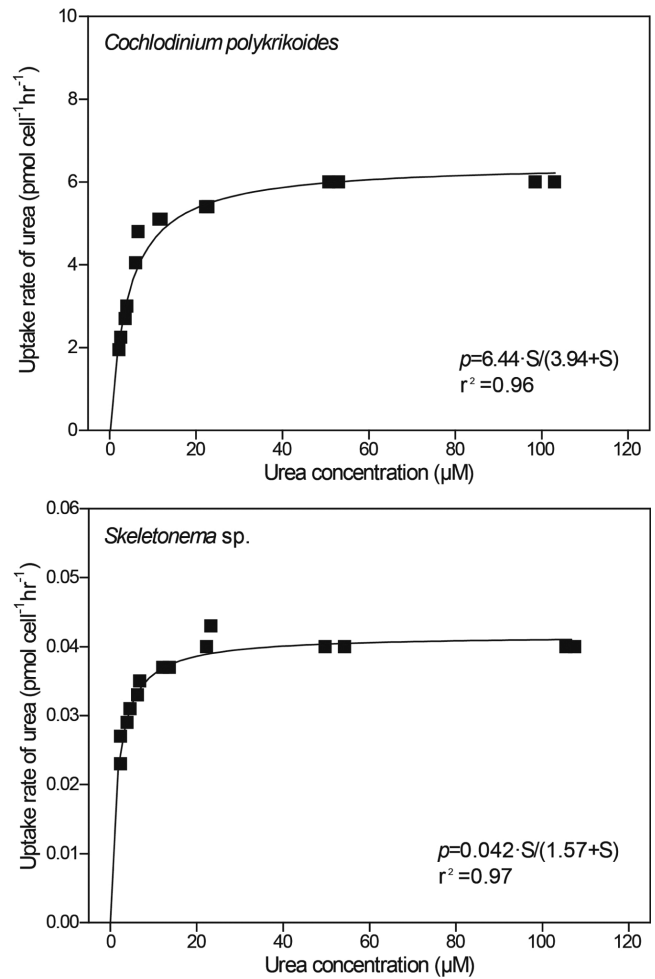


Fig. 6. Urea uptake rate of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp. as a function of the ambient urea concentration.

용하여 성장을 유지하였으며, urea의 경우 비교적 높은 이용능력을 보였다. 뿐만 아니라 와편모조류 *Alexandrium tamarense*, *A. catenella*(Park, 2013), *Gymnodinium breve*(Steidinger et al., 1998), 규조류 *Pseudo-nitzschia* sp.(Auro and Cochlan, 2012), *Thalassiosira weissflogii*(McCarthy, 1972) 등 다양한 식물플랑크톤이 이용 가능한 것으로 보고되었다. 반면에 와편모조류 *Gymnodinium instriatum*(Nagaoe et al., 2010)과 *Gambierdiscus toxicus*(Lartigue et al. 2009)는 성장에 urea를 전혀 사용하지 않아, urea를 성장에 이용하는 종과 그렇지 않은 종으로 구분되었다. Collier et al.(1999)에 따르면 urea의 가수분해 효소인 urease의 유전자 인코딩을 통해서 urea를 성장에 이용하는 남조류 *Synechococcus* 종주(WH7805)에서는 urease 효소가 검출된 반면 urea를 성장에 이용하지 않은 남조류 *Synechococcus* 종주(WH7803)는 urease 효소가 없는 것으로 밝혀졌다. 따라서 urea의 이용 유·무는 urease 효소의 보유 여부에 따라 다른 것으로 보인다. 하지만 urea를 이용하는 종 중에서도 그 이용능력에 차이를 보였다. 이러한 차이가 종 특이성(species-specific)인지, 또 다른 생리활성과 관련이 있는지 설명하기 힘들지만 urease 활성이 수온(Mobley and Hausinger, 1989), DIN 농도(Fan et al., 2003), 미량금속(Milligan and Harrison, 2000)에 민

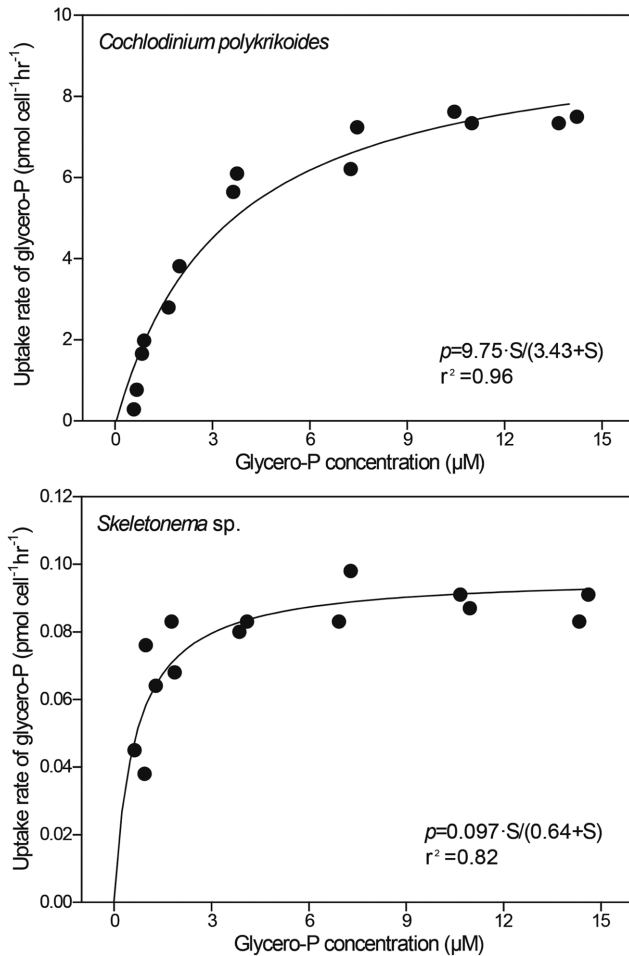


Fig. 7. Glycerophosphate uptake rate of *Cochlodinium polykrikoides* and *Skeletonema* sp. as a function of the ambient glycerophosphate concentration.

감하게 반응한다고 알려져 있기에, urease 활성의 차이가 urea의 이용능력과 밀접한 연관이 있을 것으로 생각된다.

해양환경에서 DFAA는 식물플랑크톤의 질소공급원으로서 매우 중요하며, 중속영양 미생물에 의한 유기물 순환 및 에너지 공급단계에서 중요한 작용을 한다(Williams, 1975). 본 연구 결과 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.은 성분별 차이는 보였지만 다양한 종류의 DFAA를 성장에 이용하였다. 본 연구 결과와 유사하게 규조류 *Chaetoceros debile*(Poulet and Martin-Jezequel, 1983), 와편모조류 *A. tamarense*, *A. catenella*(Park, 2013), 침편모조류 *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*(Noh, 2009)에서 다양한 성분의 DFAA를 이용하여 성장이 가능 하였다. 특히, 본 연구에서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 다양한 DFAA 중 Ala, Arg, Asp, Gly 및 Lys에서 NO₃에 대하여 비교적 높은 성장속도를 보였다. Cowey and Corner(1966)에 의하면 식물플랑크톤의 체내 아미노산의 비율은 Arg 성분이 가장 높으며 Asp, Gly, Ala, Lys 성분도 우점하는 것으로 보고되었다. 이러한 성분의 아미노산들은 식물플랑크톤 체내에 우점하는 동시에 해수 중에서도 우점하는 것으로 나타났다. 따라서 비교적 풍부한 성분을 효율적으로 흡수하여 성장에 이용하는 것으로 생각된다.

DOP 화합물은 분자량에 따라 고분자 DOP(M.W.>10 kDa)와 저분자 DOP로 구분된다. 저분자 DOP는 외양환경에서는 식물플랑크톤에 쉽게 이용되지만, 연안환경에서는 육상기원이 대부분이고 난분해성 물질이 많아 쉽게 이용되지 않는다. 고분자 DOP는 ester 결합수에 따라 phosphomonoester, phosphodiester와 같은 분해성 DOP 화합물과 화학적으로 안정되어 가수분해효소에 의해 분해되지 않은 phosphonate로 구성된다. 본 연구 결과 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 다양한 인 화합물을 이용하여 성장을 유지하였으며, nucleotide 계열 화합물의 경우 비교적 높은 이용능력을 보였다. 본 연구결과와 유사하게 와편모조류 *A. tamarense*, *Gymnodinium catenatum*(Oh et al., 2002), *Karenia mikimotoi*(Yamaguchi et al., 2004a), 규조류 *Chaetoceros didymus*(Kwon, 2010), *Eucampia zodiacus*(Nishikawa and Hori, 2004), 침편모조류 *C. ovata*(Noh, 2009)등에서 동일한 결과가 보고되었다. Nucleotide는 핵산의 구성성분으로, 핵산은 엽록체를 지니는 모든 식물플랑크톤에 존재한다(Coleman, 1985). 특히, 자연환경에서 ng L⁻¹ 농도 수준으로 존재하는 것으로 알려져 있지만, DOP 중 유일하게 다양한 종의 식물플랑크톤이 이용 가능한 것으로 생각된다.

본 연구의 결과와 유사하게 다수의 식물플랑크톤 중에서 PME를 이용하여 성장을 한다는 보고가 있다. 와편모조류 *A. tamarense*(Kwon, 2010), *Prorocentrum triestinum*(Nishijima et al., 1989), 규조류 *Chaetoceros ceratosporum*(Yamaguchi et al., 2005), *Eucampia zodiacus*(Nishikawa and Hori, 2004) 및 침편모조류 *C. antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*(Noh, 2009)에서 PME를 성장에 이용할 수 있는 것으로 보고되었다. 하지만 침편모조류 *Fibriocapsa japonica*(Yamaguchi et al., 2005), *Heterosigma akashiwo*(Yamaguchi et al., 2008)는 PME를 성장에 이용하지 않았다. 특히, 본 연구의 *Skeletonema* sp.와 동일 속에 속하는 Hiroshima 만에서 분리된 *S. costatum*은 성장에 PME를 전혀 이용하지 않았으며(Oh et al., 2005), 가막만에서 분리된 *S. costatum*(Kwon, 2010) 및 본 연구의 *Skeletonema* sp.는 이용 가능 하였다. 이처럼 동일 속 혹은 중 수준에서도 분리된 해역에 따라 PME를 이용하는 종과 그렇지 않은 종이 구분되었지만, 왜 이런 차이가 보이는지 명확히 설명하기는 힘들고 동일종일지라도 분리한 해역에 따라 다른 생리학적 특성을 보인다는 보고가 있어(Gallagher, 1982), 분리된 해역의 특성에 따라 그 이용능력이 달라지는 것으로 생각된다. 또한 Hiroshima 만에서 분리된 *S. costatum*은 PME의 가수분해효소인 phosphatase의 활성이 보이지 않았기에(Oh et al., 2005), PME를 이용하기 위한 phosphatase 활성 유무도 중요하게 작용할 것이다. 이상의 결과에서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.는 용존 무기 영양염 이외의 다양한 형태의 용존 유기 영양염을 이용하여 성장하였다. 따라서 이들 두 종의 유기 영양염의 이용능력은 무기 영양염이 제한된 환경에서 중요한 생존전략으로 생각되며, 종의 우점과정 및 중간경쟁에서 중요한 영향을 줄 것으로 생각된다.

*C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 정치배양을 통한 urea와 glycerophosphate의 흡수실험

Ks는 제한 영양염에 대한 친화성을 지시하는 지표로 이용되며, 일반적으로 Ks 값이 낮은 경우 저농도의 영양염 조건에서 성장에 유리한 생리특성을 갖는다(Dugdale, 1967). 또한 세포의 크기가 큰 종은 높은 Ks 값을 보이고, 외양성 종(oceanic species)의 Ks

Table 3. Comparison of uptake kinetic parameters for ammonium and urea uptake between *Cochlodinium polykrikoides*, *Skeletonema* sp. and various phytoplankton

Species	Nitrogen source	Constants			References	
		Ks (μM)	ρ_{max} (pmol cell ⁻¹ h ⁻¹)	α (ρ_{max}/Ks)		
<i>Alexandrium tamarense</i>	DIN	NH ₄	1.49	-	-	MacIsaac <i>et al.</i> , 1979
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>		NH ₄	2.69	-	-	Gobler <i>et al.</i> , 2012
<i>Gymnodinium catenatum</i>		NH ₄	33.6	3.37	0.10	Yamamoto <i>et al.</i> , 2004
<i>Skeletonema costatum</i>		NH ₄	0.8	-	-	Eppley <i>et al.</i> , 1969
<i>Alexandrium tamarense</i>	DON	Urea	0.6-2.3	-	-	Jauzein <i>et al.</i> , 2008
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>		Urea	2.90	-	-	Gobler <i>et al.</i> , 2012
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>		Urea	3.94	6.44	1.63	This study
<i>Skeletonema costatum</i>		Urea	1.41	-	-	McCarthy, 1972
<i>Skeletonema</i> sp.		Urea	1.57	0.042	0.03	This study

Table 4. Comparison of uptake kinetic parameters for phosphate and glycerophosphate uptake between *Cochlodinium polykrikoides*, *Skeletonema* sp. and various phytoplankton

Species	Phosphorus source	Constants			References	
		Ks (μM)	ρ_{max} (pmol cell ⁻¹ h ⁻¹)	α (ρ_{max}/Ks)		
<i>Alexandrium tamarense</i>	DIP	phosphate	2.60	1.40	0.54	MacIsaac <i>et al.</i> , 1979
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>		phosphate	1.19	0.35	0.29	Kim, 2003
<i>Gymnodinium catenatum</i>		phosphate	3.40	1.42	0.42	Yamamoto <i>et al.</i> , 2004
<i>Skeletonema costatum</i>		phosphate	0.68	-	-	Kwon, 2010
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	DOP	Glycero-P	3.43	9.75	2.84	This study
<i>Skeletonema</i> sp.		Glycero-P	0.64	0.0097	0.02	This study

낮은 연안성 종(neritic species)보다 낮고, 성장률이 높은 종일수록 낮은 종보다 Ks 값이 낮은 경향을 보인다(Eppley *et al.*, 1969). 기존에 보고된 *S. costatum*의 NH₄에 대한 Ks 값은 *C. polykrikoides*를 비롯하여 다른 외편모조류에 비해서 낮은 값을 보였다(Table 3). Urea에 대한 Ks 값 역시 *Skeletonema* sp. 및 *S. costatum*이 가장 낮아, *Skeletonema* 속의 종은 무기 및 유기 질소 영양염에 대한 친화성이 높은 것을 의미한다. 또한 본 연구 실험종 및 *S. costatum*와 *C. polykrikoides*에서 보고된 NH₄ 및 urea의 Ks 값을 보면(Table 3), 공통적으로 NH₄⁺의 Ks 값이 낮은 것을 알 수 있다. 실제 질소계 영양염 중 식물플랑크톤은 흡수에 있어서 열역학적 에너지가 높고 가장 환원된 형태인 NH₄를 선택적으로 선호하는 것으로 알려져 있다(McCarthy, 1980). 따라서 식물플랑크톤이 환원된 형태의 NH₄를 이용할 경우 소비되는 에너지를 절약할 수 있기에 NH₄의 Ks 값이 낮은 것으로 생각된다.

Ks 값이 영양염 제한 환경에서 식물플랑크톤의 영양염을 이용할 수 있는 정도를 나타내지만, 저농도 영양염 조건(<Ks)에서는 식물플랑크톤의 종간 경쟁관계를 평가하는데 있어서는 Ks 값보다 친화성 지수 α (ρ_{max}/Ks)가 더 유용하다(Harrison *et al.*, 1989). 연안 환경에서 urea 농도는 마산만 0.16~0.53 μM (Park, 2013), Great Peconic Bay, Flanders Bay 및 Shinnecock Bay에서 0.10~1.08 μM (Gobler *et al.*, 2012), Sagami Bay 0.45~0.70 μM (Mitamura and Saijo, 1980)로 보고되어, *Skeletonema* sp.와 *C. polykrikoides*의 urea에 대한 Ks 값보다 낮았다(Table 3). 하지만 α 값의 경우 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 매우 높은 값을 보였다. 따라서 무기 질소가 제한된 연안역의 낮은 urea 농도 환경에서는 urea를 성장에 이용하기 위해서 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 효율적으로 urea를

흡수 가능하기에 종 경쟁에서 유리한 위치에 있을 것이다.

기존에 보고된 *C. polykrikoides*와 *S. costatum*의 DIP에 대한 Ks 값을 보면(Table 4), *S. costatum*은 *C. polykrikoides*를 비롯하여 다른 외편모조류에 비해서 낮았으며, glycero-P의 경우도 본 연구의 *Skeletonema* sp.가 낮은 값을 보였다. 따라서 질소계 영양염과 유사하게 *Skeletonema* 속의 종은 무기 및 유기 인에 대한 친화성이 높은 것으로 보인다. 또한 본 연구 실험종 및 *S. costatum*과 *C. polykrikoides*에서 보고된 DIP의 Ks 값은 glycero-P의 Ks 값보다 낮았는데, 이 역시 부족한 DIP를 흡수하기 위해 glycero-P를 가수분해시키는 과정에서 소비되는 에너지를 절약할 수 있기에 DIP에 대한 친화성이 높은 것으로 보인다.

연안해역에서 glycero-P에 대한 측정자료가 전무한 관계로 DOP 중 phosphatase에 의해 가수분해 되는 DOP의 농도 즉, PME 농도는 가막만 0.02~0.17 μM (Kwon, 2010), California 연안해역 0.05~0.45 μM (Strickland and Solorzano, 1966), Hiroshima Bay 0.05~0.17 μM (Yamaguchi *et al.*, 2004b), Tokyo Bay 및 Sagami Bay에서 0.08~0.35 μM (Kobori and Taga, 1979)의 범위로, *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 glycero-P의 Ks 값에 비해서 낮았다(Table 4). 하지만 urea와 동일하게 α 값의 경우 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 매우 높았다. 따라서 무기 인이 제한된 연안역의 낮은 PME 환경에서는 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 효율적으로 glycero-P를 흡수 가능하기에 종 경쟁에서 유리한 위치에 있을 것이다.

Nakamura and Watanabe(1983)에 의하면 ρ_{max} 값은 세포의 크기에 따라 달라지기 때문에 식물플랑크톤의 상대적인 영양염 흡수능력을 비교하기 위해서는 세포내 영양염 함유량(cell quota; Q₀)를

바탕으로 계산된 최대 비흡수속도(specific uptake rate; $V_{\max} = \rho_{\max}/Q_0$)를 이용하여야 한다고 제시하였다. 본 연구에서 측정된 질소와 인에 대한 cell quota의 실측자료가 없기에 기존의 보고된 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp. (*S. costatum*의 자료 활용)의 자료를 바탕으로 계산하였다. 질소에 대한 cell quota(Q_{N0})는 *C. polykrikoides*는 5.25 pmol cell⁻¹ (Kim, 2003), *Skeletonema* sp.는 0.65 pmol cell⁻¹ (Lomas and Glibert, 2000)로 보고되어, urea V_{\max} 를 계산하면 각각 1.23, 0.06 day⁻¹로 계산된다. 또한 glycerol-P의 V_{\max} 는 *C. polykrikoides* ($Q_{P0}=0.37$ pmol cell⁻¹; Kim, 2003)와 *Skeletonema* sp. ($Q_{P0}=0.0033$ pmol cell⁻¹; Eppley et al., 1969)에서 각각 26.4와 2.9 day⁻¹로 계산된다. 이는 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 urea와 glycerol-P와 같은 유기 영양염의 흡수능력이 월등히 뛰어나다는 것을 의미한다. Sommer(1989)는 영양염 단계 및 흡수 전략을 바탕으로 영양염 흡수전략을 흡수한 영양염을 재빨리 성장에 이용하는 성장전략(growth strategy)과 공급된 영양염을 바로 성장에 이용하지 않고 세포 내에 저장하는 저장전략(storage strategy)로 구분하였다. 빠른 μ_{\max} 와 낮은 Ks 값을 보이는 *Skeletonema* sp.는 전자에 해당하고, 높은 V_{\max} 및 Q_0 값을 보이는 *C. polykrikoides*는 후자에 해당한다. 따라서 *C. polykrikoides*는 환경수 중 영양염 변동에 크게 영향을 받지 않고 성장 할 수 있는 생존전략을 보이는 것으로 생각된다. 또한 *C. polykrikoides*의 유영속도는 3.6 m hr⁻¹ (Kim, 2003)로, *G. catenatum* (1.2 m hr⁻¹; Baba et al., 2001) 및 *Gymnodinium mikimotoi* (2.2 m hr⁻¹; Koizumi et al., 1996)와 비교하여 비교적 빠른편에 속한다. 따라서 과잉의 유기 영양염의 흡수는 성장을 위한 부족한 질소 및 인의 보충 뿐만 아니라 유영에 필요한 탄소 에너지 원으로도 이용될 것이다.

한편, *C. polykrikoides*와 *S. costatum*은 대사과정에서 생성되는 이차 대사산물을 체외로 분비하여 경쟁종의 성장을 억제하거나 촉진시키는 영향을 미치며 이를 타감작용(allelopathy)이라고 한다 (Tameishi et al., 2009; Tang and Gobler, 2010). 실제로, *S. costatum*과 와편모조류 *Prorocentrum minimum*의 혼합배양에서, *S. costatum*이 분비하는 물질은 *P. minimum*과의 중간 경쟁에서 *P. minimum*의 증식을 촉진시키는 것으로 알려져 있지만, 반대로 *S. costatum*의 증식이 *P. minimum*에 의해 조절되기도 한다(Tameishi et al., 2009). 이와 같은 현상이 자연환경에서 어느 정도 개체군 증식에 영향을 주는지는 불명확하나, 식물플랑크톤이 고농도로 존재할 시 생물간의 간섭 및 타감작용은 충분히 개체군 증식에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 식물플랑크톤의 중간 경쟁에서의 타감작용의 영향을 파악하기 위해서는 더욱 세밀한 생리학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구는 단일배양의 조건에서 *C. polykrikoides*와 *Skeletonema* sp.의 용존 유기 영양염의 이용능력을 바탕으로 중간 경쟁 관계를 평가하였다. 그 결과, 정상상태에서 용존 유기 영양염 측면만 고려할 경우 *C. polykrikoides*가 *Skeletonema* sp.에 비해서 우점할 가능성이 있는 것으로 나타났다. 하지만 자연환경에서 물리·생물·화학적 요인이 상호복합적으로 영향을 미치고 있기에 특정 조건에서 획득한 식물플랑크톤의 생리특성만으로 자연환경에 적용시키기는 매우 힘들다. 하지만 앞서 설명한 바와 같이 단일배양의 조건에서 획득한 식물플랑크톤의 생리학적 자료를 이용하여 비평형 경쟁 이론에 근거한 모델의 구현은 해양생태계에서 중간경쟁 관계를

이해하는 데 유용한 도구로 활용할 수 있다(Richerson et al., 1970). 특히, Oh et al.(2007)은 *A. tamarense*, *G. catenatum* 및 *S. costatum*의 혼합배양 및 단일배양의 실험결과를 이용하여 종경쟁모델을 구축하였으며, 구축된 모델을 바탕으로 자연생태계에서 식물플랑크톤의 종천이를 검토하였다. 또한 Cermeno et al.(2011)은 *Thalassiosira pseudonana*와 *Coccolithus braarudii*의 생리학적 자료를 이용하여 비평형 조건인 주기적인 영양염 공급 조건(pulsed mode)에서의 모델을 구현하였으며, 이를 통해 제한된 자원의 일시적인 공급이 식물플랑크톤의 중간경쟁과 매우 밀접하게 연관되어 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구의 결과와 같이 평형상태의 단일 배양조건에서 획득한 결과는 수치모델을 활용하여 중간경쟁을 재현하기 위해서 활용할 수 있을 것이며, 이는 해양생태계에서 중간경쟁을 이해하는데 도움을 줄 것이다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2014년; C-D-2014-0422)에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌(References)

- Antia, N.J., P.J. Harrison and L. Oliveira, 1991. Phycological reviews: the role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology, and ecology. *Phycol.*, **30**: 1-89.
- Auro, M.E. and W.P. Cochlan, 2012. Nitrogen utilization and toxin production by two diatoms of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* complex: *P. cuspidata* and *P. fryxelliana*. *J. Phycol.*, **49**: 156-169.
- Baba, T., S. Hiyama and T. Tainaka, 2001. Vertical migration of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* and toxicity of cultures oyster in Senzaki Bay, Yamaguchi Prefecture. *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **48**: 95-99.
- Benitez-Nelson, C.R., 2000. The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems. *Earth Sci. Rev.*, **51**: 109-135.
- Berman, T., and D.A. Bronk, 2003. Dissolved organic nitrogen: A dynamic participant in aquatic ecosystems. *Aquat. Microbial Ecol.*, **31**: 279-305.
- Brand, L.E., R.R.L. Guillard and L.S. Murphy, 1981. A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. *J. Plankton Res.*, **3**: 193-201.
- Cermeno, P., J.B. Lee, K. Wyman, O. Schofield and P.G. Falkowski, 2011. Competitive dynamics in two species of marine phytoplankton under non-equilibrium conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **429**: 19-28.
- Coleman, A.W., 1985. Diversity of plastid DNA configuration among classes of eukaryote algae. *J. Phycol.*, **21**: 1-16.
- Collier, J.L., B. Brahmasha and B. Palenik, 1999. The marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH7805 requires urease(urea amidohydrolase, EC 3.5.1.5) to utilize urea as a nitrogen source: molecular-genetic and biochemical analysis of the enzyme. *Microbiol.*, **145**: 447-459.
- Cowey, C.B. and E.D.S. Corner, 1966. The amino-acid composition of certain unicellular algae, and of the faecal pellets produced by

- Calanus finmarchicus* when feeding on them. In: Some contemporary studies in marine science, edited by Barnes, H. Allen and Unwin, London, pp. 225–231.
- Dugdale, R.C., 1967. Nutrient limitation in the sea: dynamic, identification, and significance. *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 685–695.
- Eppley, R.W., J.N. Rogers and J.J. McCarthy, 1969. Half-saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **14**: 912–920.
- Fan, C., P.M. Glibert, J. Alexander and M.W. Lomas, 2003. Characterization of urease activity in three marine phytoplankton species, *Aureococcus anophagefferens*, *Prorocentrum minimum*, and *Thalassiosira weissflogii*. *Mar. Biol.*, **142**: 949–958.
- Gallagher, J.C., 1982. Physiological variation and electrophoretic banding patterns of genetically different seasonal populations of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. phycol.*, **18**: 148–162.
- Garate-Lizarraga, I., J.J. Bustillos-Guzmain, I. Morquecho and L. Deveze, 2000. First outbreak of *Cochlodinium polykrikoides* in the Gulf of California. *Harmful Algae News*, 7 pp.
- Gauge, G. E. 1932. Experimental studies on the struggle for existence. I. Mixed populations of two species of yeast. *J. Exp. Biol.*, **9**: 389–402.
- Gobler, C.J., A. Burson, F. Koch, Y. Tang and M.R. Mulholland, 2012. The role of nitrogenous nutrients in the occurrence of harmful algal blooms caused by *Cochlodinium polykrikoides* in New York estuaries (USA). *Harmful Algae*, **17**: 64–74.
- Guillard, R.R.L. and D. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatom I: *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229–239.
- Harrison, P.J., J.S. Parslow and H.L. Conway, 1989. Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **52**: 301–312.
- Hasle, G.R., 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Nor. J. Bot.*, **20**: 109–137.
- Hutchinson, G.E., 1961. The paradox of the plankton. *Am. Nat.*, **95**: 137–147.
- Jauzein, C., S. Loureiro, E. Garces and Y. Collos, 2008. Interactions between ammonium and urea uptake by five strains of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in culture. *Aquat. Microb. Ecol.*, **53**: 271–280.
- Jung, S.W., S.M. Yun, S.D. Lee, Y.O. Kim and J.H. Lee, 2009. Morphological characteristics of four species in the genus *Skeletonema* in coastal waters of South Korea. *Algae*, **24**: 195–203.
- Keller, M.D., R.C. Selvin, W. Claus and R.R.L. Guillard, 1987. Media for the culture of oceanic ultraphytoplankton. *J. Phycol.*, **23**: 633–638.
- Kim, D.I., 2003. Physiological and ecological studies on harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef). Ph. D. Thesis, Kyushu University, Fukuoka, 154 pp.
- Kobori, H. and N. Taga, 1979. Phosphatase activity and its role in the mineralization of organic phosphorus in coastal sea water. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **36**: 23–39.
- Koizumi, Y., T. Uchida and T. Honjo, 1996. Diurnal vertical migration of *Gymnodinium mikimotoi* during a red tide in Hoketsu Bay, Japan. *J. Plankton Res.*, **18**: 289–294.
- Koroleff, F., 1983. Determination of urea. In: *Methods of seawater analysis*, 2nd. edited by Grasshoff, K., M. Ehrhardt and K. Kremling, Verlag Chemie, Weinheim, pp 158–162.
- Kwon, H.K., 2010. Utilization of dissolved organic phosphorus and alkaline phosphatase activity of phytoplankton. M. Sc. Thesis, Pukyong National University, Busan, 86 pp.
- Lartigue, J., E.L.E. Jester, R.W. Dickey and T.A. Villareal, 2009. Nitrogen source effects on the growth and toxicity of two strains of the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *Harmful Algae*, **8**: 781–791.
- Lim, W.A., C.S. Jung, C.K. Lee, Y.C. Cho, S.G. Lee, H.G. Kim and I.K. Chung, 2002. The outbreak, maintenance, and decline of the red tide dominated by *Cochlodinium polykrikoides* in the coastal waters off Southern Korea from August to October, 2000. *J. Korean Soc. Oceanogr.*, **7**: 68–77.
- Lee, J.H., H.S. Song and E.H. Lee, 1997. Red-tide on phytoplankton diatoms in Incheon Dock of Korea. *Kor. J. Environ. Biol.*, **15**: 119–129.
- Lomas, M.W. and P.M. Glibert, 2000. Comparisons of nitrate uptake, storage, and reduction in marine diatoms and flagellates. *J. Phycol.*, **36**: 903–913.
- MacIsaac, J.J., G.S. Grunseich, H.E. Glover, C.M. and Yentsch, 1979. Light and nutrient limitation in *Gonyaulax excavata*: nitrogen and carbon trace results. In: *Toxic Dinoflagellate Blooms*, edited by Taylor, D.L. and H.H. Seliger, Elsevier, New York, pp. 107–110.
- McCarthy, J.J. 1972. The uptake of urea by marine phytoplankton. *J. Phycol.*, **8**: 216–222.
- McCarthy, J.J., 1980. Nitrogen. In: *The Physiological Ecology of Phytoplankton*, edited by Morris, I., Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 191–233.
- Milligan, A.S. and P.J. Harrison, 2000. Effects of non-steady state iron limitation on nitrogen assimilatory enzymes in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae). *J. Plankton Res.*, **36**: 78–86.
- Mitamura, O. and Y. Saijo, 1980. *In situ* measurement of the urea decomposition rate and its turnover rate in the Pacific Ocean. *Mar. Biol.*, **58**: 147–152.
- Mobley, H.L.T. and R.P. Hausinger, 1989. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiol. Rev.*, **53**: 85–108.
- Nakamura, Y. and M.M. Watanabe, 1983. Nitrate and phosphate uptake kinetics of *Chattonella antiqua* grown in light/dark cycles. *J. Oceanogr. Soc. Jpn.*, **39**: 167–170.
- Narasoe, S., T. Shikata, Y. Yamasaki, T. Matsubara, Y. Shimasaki, Y. Ohima and T. Honjo, 2010. Effects on growth of the red-tide dinoflagellate *Gymnodinium instriatum* Freudenthal et Lee and a possible link to blooms of this species. *Hydrobiol.*, **56**: 225–238.
- Nishijima, T., Y. Hata and S. Yamauchi, 1989. Physiological ecology of *Prorocentrum triestinum*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **55**: 2009–2014.
- Nishikawa, T. and Y. Hori, 2004. Effects of nitrogen, phosphorus and silicon on a growth of a diatom *Eucampia zodiacus* caused bleaching of seaweed *Porphyra* isolated from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **70**: 31–38.
- Noh, I.H., 2009. Physiological and ecological studies on the harmful algae *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) in the coastal waters

- of Korea. Ph. D. Thesis, Chonnam National University, Yeosu, 269 pp.
- Oh, S.J., T. Yamamoto, Y. Kataoka, O. Matsuda, Y. Matsuyama and Y. Kotani, 2002. Utilization of dissolved organic phosphorus by the two toxic dinoflagellates, *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). *Fish. Sci.*, **68**: 416–424.
- Oh, S.J., Y. Matsuyama, T. Yamamoto, M. Nakajima, H. Takatsuzi, and K. Hujisawa, 2005. Recent developments and causes of harmful dinoflagellates blooms in the Seto Inland Sea-Ecological importance of dissolved organic phosphorus (DOP). *Bull. Coast Oceanogr.*, **43**: 85–95.
- Oh S.J., H.S. Yang and T. Yamamoto, 2007. Use of a mathematical model to assess the effects of dissolved organic phosphorus on species competition among the dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium catenatum* and the diatom *Skeletonema costatum*. *J. Kor. Fish. Soc.*, **40**: 39–49.
- Park, J.A., 2013. DON utilization of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* isolated from Masan Bay. M. Sc. Thesis, Pukyong National University, Busan, 92 pp.
- Park, J.S., Y.H. Yoon and S.J. Oh, 2009. Variational Characteristics of Phytoplankton Community in the Mouth Parts of Gamak Bay, Southern Korea. *Kor. J. Environ. Biol.*, **27**: 205–215.
- Park, T.G., W.A. Lim, Y.T. Park, C.K. Lee and H.J. Jeong, 2013a. Economic impact, management and mitigation of red tides in Korea. *Harmful Algae*, **30S**: S131–S143.
- Park, K.W., J.W. Park, S.H. Yoon and Y.S. Seo, 2013b. Occurrence of *Cochlodinium polykrikoides* bloom, 2013. 2013 Autumn Meeting on the Korea Society of Oceanography, p. 95.
- Porter, K.G. and Y.S. Feig, 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 943–948.
- Poulet, S.A. and V. Martin-Jezequel, 1983. Relationships between dissolved free amino acids, chemical composition and growth of the marine diatom *Chaetoceros debile*. *Mar. Biol.*, **77**: 93–100.
- Provasoil, L., K. Shiraishi and J.R. Lance, 1959. Nutritional idiosyncrasies of *Artemia* and *Tigriopus* in monoxenic culture. *Ann. N. Y. Sci.*, **77**: 250–261.
- Richersons, P. R. Armstrong and C.R. Goldman, 1970. Contemporaneous disequilibrium, a new hypothesis to explain the ‘paradox of the plankton’. *Pro. Nat. Acad. Sci.*, **67**: 1710–1714.
- Sommer, U., 1989. The role of competition for resources in phytoplankton succession. In: *Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities*, edited by Sommer, U., Springer-Verlag, New York, pp. 57–106.
- Steidinger, K.A., G.A. Vargo, P.A. Tester and C.R. Tomas, 1998. Bloom dynamics and physiology of *Gymnodinium breve* with emphasis on Gulf of Mexico. In: *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*, edited by Anderson, D.M., A.D. Cembella and G.M. Hallegraeff, Springer, NewYork, pp. 135–153.
- Strickland, J.D.H. and L. Solorzano, 1966. Determination of monoesterase hydrolysable phosphate and phosphomonoesterase activity in sea water. In: *Some contemporary studies in marine science*, edited by Barnes, H., Allen and Unwin Ltd, London, pp. 665–674.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parson, 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 310 pp.
- Tameishi, M., Y. Yamasaki, S. Nagasoe, Y. Shimasaki, Y. Oshima and T. Honjo, 2009. Allelopathic effects of the Dinophyte *Proocentrum minimum* on the growth of the Bacillariophyte *Skeletonema costatum*. *Harmful Algae*, **8**: 421–429.
- Tang, Y.Z. and C.J. Gobler, 2010. Allelopathic effects of *Cochlodinium polykrikoides* isolates and blooms from the estuaries of Long Island, New York, on co-occurring phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **406**: 19–13.
- Whyte, J.N.C., N. Haigh, N.G. Ginther and L.J. Keddy, 2001. First record of blooms of *Cochlodinium* sp.(Gymnodiniales, Dinophyceae) causing mortality to aquacultured salmon on the west coast of Canada. *Phycol.*, **40**: 298–304.
- Williams, P.J.B., 1975. Biological and chemical aspects of dissolved organic material in sea water, In: *Chemical Oceanography*, edited by Riley, J.P. and G. Skirrow, Academic Press Inc., London, pp. 301–363.
- Yamamoto, Y., S.J. Oh and Y. Kataoka, 2004. Growth and uptake kinetics for nitrate, ammonium and phosphate by the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Fish. Sci.*, **70**: 108–115.
- Yamaguchi, H., T. Nishijima, H. Nishitani, K. Fukami and M. Adachi., 2004a. Organic phosphorus utilization and alkaline phosphatase production of 3 red tide phytoplankton. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **70**: 123–130.
- Yamaguchi, H., T. Nishijima, A. Oda, K. Fukami and M. Adachi, 2004b. Distribution and variation of alkaline phosphatase activity and phosphatase hydrolyzable phosphorus in coastal seawater. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **70**: 333–342.
- Yamaguchi, H., H. Sakou, K. Fukami, M. Adachi, M. Yamaguchi and N. Nishijima, 2005. Utilization of organic phosphorus and production of alkaline phosphatase by the phytoplankton, *Heptero capsa circularisquama*, *Fibrocapsa japonica* and *Chaetoceros ceratosporum*. *Plankton Biol. Ecol.*, **52**: 65–75.
- Yamaguchi, H., S. Sakamoto and M. Yamaguchi, 2008. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- and phosphorus-limited cultures of the novel red tide flagellate *Chattonella ovata* (Raphidophyceae). *Harmful Algae*, **7**: 26–32.
- Yuki, K. and S. Yoshimatsu, 1989. Two fish-killing species of *Cochlodinium* form Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. In: *Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*, edited by Okaichi, T., D.M. Anderson and T. Nemoto, Elsevier, NewYork, pp. 451–452.

2014년 8월 12일 원고접수

2014년 9월 23일 수정본 접수

2014년 10월 11일 수정본 채택

담당편집위원: 이준백