

## 육상 기반 해양 폐쇄형 인공생태계를 활용한 해양생태계 위해성 평가: 객관적인 영향 평가 tool 제시

윤성진\*

한국해양과학기술원 울릉도·독도해양연구기지

## Marine ecosystem risk assessment using a land-based marine closed mesocosm: Proposal of objective impact assessment tool

Sung-Jin Yoon\*

Ulleungdo-Dokdo Ocean Science Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Ulleung 40205, Republic of Korea

**\*Corresponding author**

Sung-Jin Yoon

Tel. 054-791-8404

E-mail. [sjyon@kiost.ac.kr](mailto:sjyon@kiost.ac.kr)

**Received:** 22 February 2021

**Revised:** 11 March 2021

**Revision accepted:** 11 March 2021

**Abstract:** In this study, a land-based marine closed mesocosm (LMCM) experiment was performed to objectively assess the initial stability of an artificial ecosystem experiment against biological and non-biological factors when evaluating ecosystem risk assessment. Changes in the CV (coefficient of value) amplitude were used as data to analyze the stability of the experimental system. The CV of the experimental variables in the LMCM groups (200, 400, 600, and 1,000 L) was maintained within the range of 20–30% for the abiotic variables in this study. However, the difference in CV amplitude in biological factors such as chlorophyll-a, phytoplankton, and zooplankton was high in the 600 L and 1,000 L LMCM groups. This result was interpreted as occurring due to the lack of control over biological variables at the beginning of the experiment. In addition, according to the ANOVA results, significant differences were found in biological contents such as COD (chemical oxygen demand), chlorophyll-a, phosphate, and zooplankton in the CV values between the LMCM groups ( $p < 0.05$ ). In this study, the stabilization of biological variables was necessary to control and maintain the rate of changes in initial biological variables except for controllable water quality and nutrients. However, given the complexity of the eco-physiological activities of large-scale LMCMs and organisms in the experimental group, it was difficult to do. In conclusion, artificial ecosystem experiments as a scientific tool can distinguish biological and non-biological factors and compare and analyze clear endpoints. Therefore, it is deemed necessary to establish research objectives, select content that can maintain stability, and introduce standardized analysis techniques that can objectively interpret the experimental results.

**Keywords:** ecosystem risk assessment, mesocosm, LMCM, stability, CV

## 서 론

인공생태계 연구는 해양, 대기, 육지와 같은 대규모 환경의 심각한 시공간적 변화 및 생태계 현상의 다양한 이벤트 영향 예측의 어려움을 해결하기 위한 대안으로서 인위적으로 조절된 환경을 조성하여 정량화된 자료를 수집하고 평가할 수 있는 장점이 있다(Tsiaras *et al.* 2017; Passarelli *et al.* 2018; Pansch and Hiebenthal 2019). 이와 같은 연구 tool로서 mesocosm을 활용한 연구가 진행되고 있는데, mesocosm 연구는 생태계 가설검증, 화학적 교란에 따른 생태 반응 연구 및 수중생태계에 수온상승, 이산화탄소 농도 증가 등 다양한 환경조건에 노출된 수중생태계에서의 지화학적 반응, 수치모델을 통한 생태계 구성요소 사이의 상호 반응을 검증하기 위한 연구 등 생물 분야뿐만 아니라 다양한 분야에서 수행되었다(Andersson *et al.* 2015; Falkenberg *et al.* 2016; Bellworthy and Fine 2018; Louvado *et al.* 2019). 국내에서는 초창기에 생태계 하위 단계인 동·식물플랑크톤, 담수생태계를 대상으로 이루어졌으나 최근에는 연구 대상 및 적용범위가 광범위해져 생태계 건강 평가, 물질순환, 조간대 및 갯벌을 대상으로 한 연구, 지구온난화 관련 연구가 수행된 바 있다(Sim *et al.* 2013; Ryu and Lee 2018; Kim *et al.* 2018; Lee *et al.* 2018). 그러나 mesocosm 활용 연구는 대부분 좁은 공간 또는 규모의 제한성 때문에 실험초기 안정화 단계부터 다양한 요인이 변동하는 현장 상황을 재현하는데 한계가 있어 재현성(replicability), 반복성(repeatability) 및 생태적 현실성(ecological realism) 사이의 적절한 균형을 반영할 수 있는 합리적인 실험방법 개발의 필요성이 요구되고 있다(Kraufvelin 1999; Harris *et al.* 2007; Stewart *et al.* 2013). 또한 대부분의 현장에서 수행된 mesocosm 연구는 실험그룹 간 물리·화학적, 생태학적 조건의 균질성을 고려하지 않았는데, 현장에서의 인공생태계 연구를 고려할 때 실험환경의 복잡성을 고려하여 이를 해결할 수 있는 실험전략을 수립하는 것이 중요하다(Sharma *et al.* 2021). 특히 육상생태계의 경우, 옥외 또는 실험실 환경에서 다양한 형태의 mesocosm 연구가 수행되고 있는 반면 해양생태계를 대상으로 한 연구는 대부분 현장 실험을 수행하고 있어 실험조건의 균질화가 어려운 상황이다. 이에 해양생태계를 대상으로 한 mesocosm 연구는 생태계의 불확실성 및 변동성을 고려한 연구 목적 및 측정요소(endpoint)를 명확하게 규정할 필요가 있다. 또한 부유생물이나 저서생물 군집

변화 등과 같이 연구목적이 맞게 측정요소를 한정시킨 경우 mesocosm 연구는 육상 기반의 폐쇄된 해양 mesocosm 시스템 도입하여 실험환경의 균질성 유지 및 노출 전과 후 영향 유무를 명확하게 판단할 필요가 있다(Cappello and Yakimov 2010). 따라서 육상 기반 폐쇄형 해양 mesocosm 실험의 재현성을 높이기 위해서는 실험규모, 시공간적 변동성, 실험 그룹에서 허용 가능한 통계적 오류의 범위를 감안한 인공생태계 내에서의 실제 반응 범위를 반영할 필요가 있다(Carpenter 1996; Raygosa-Barahona *et al.* 2019).

인공생태계의 개념이 도입된 후, 생태계 군집구조, 생물의 성장 및 외부 스트레스에 노출된 생물 반응 등을 대상으로 한 mesocosm 연구는 ANOVA 분석기법을 기반으로 하여 실험의 통계적 유효성(effectiveness)을 검증한 후 영향 여부를 판단하기 위한 수단으로 사용되었다(Duggan *et al.* 2018). 또한 변동계수(coefficient of variation; CV)는 실험의 재현성(또는 안정성)을 객관적으로 해석하기 위한 방법으로써 제안되어 왔다(Lehtinen *et al.* 1998). 특히 인공생태계 내 다양한 이화학적, 생물학적 환경요인은 항목별 반응특성의 차이로 인해 균질한 상태로 유지되기가 어렵기 때문에 CV 산출을 통한 변동성 분석은 다양한 실험그룹 간의 초기 안정화 과정에서 환경스트레스 노출 시 행동, 대사활동 및 급성 독성 영향 평가를 실시함에 있어 노출 전과 후 생물의 영향 유무를 판단하기 위한 자료의 신뢰성(credibility) 또는 유용성(usefulness of result)을 판단에 중요한 비교 기준이 될 수 있다(Watts and Bigg 2001; Sanchís *et al.* 2018). 따라서 인공생태계 실험에 있어서 객관적인 분석을 통한 실험초기 안정화 또는 균질성을 유지할 수 있는 판단 기법 및 기준을 제시할 필요가 있다.

이에 본 연구에서는 생물학적, 비생물학적 요인을 대상으로 한 해양생태계 위해성 영향 평가 시 실험초기 자료의 안정성 확보를 위한 객관적인 평가 tool을 제시하고자 하였다. 인공생태계 실험은 4종류의 육상 기반 해양 폐쇄형 인공생태계를 제작하여 반복 실험을 실시하였으며, 실험그룹 간의 CV 값 변동패턴을 분석함으로써 노출 전 초기 실험결과가 현장 생태계를 반영할 수 있는지에 여부를 판단하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 육상 기반 해양 폐쇄형 인공생태계 설계

본 연구는 실험실 주변 육상 부지에 10 m × 50 m × 20 m

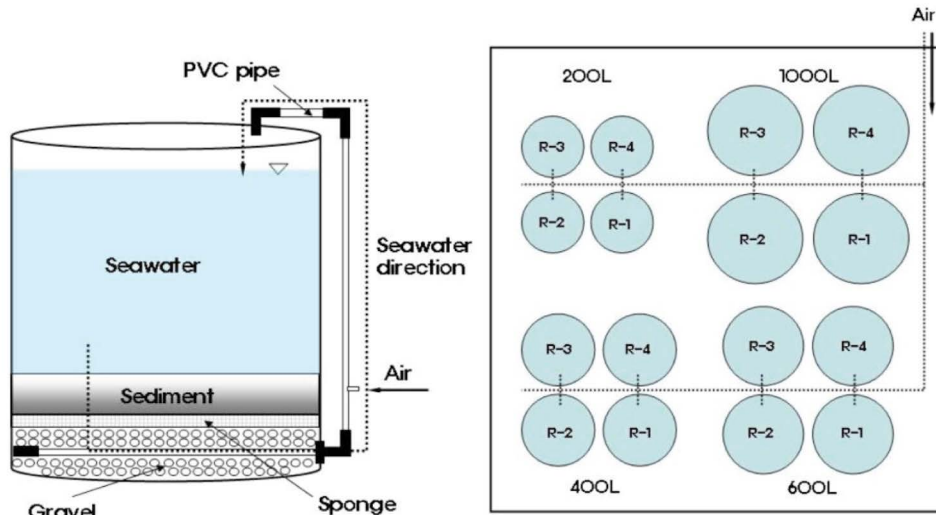


Fig. 1. Schematic description of the land-based marine closed mesocosm (LMCM) system.

규모의 비닐하우스 온실을 만들고 인위적으로 제작한 실험수조를 넣고 실시하였다. 육상 기반 해양 폐쇄형 인공생태계 (land-based marine closed mesocosm; LMCM)는 총 4개 부피로 구분하여 200, 400, 600, 1,000 L를 제작하였는데, 불투명한 원통형 폴리에틸렌 수조 상부를 절단하여 각각의 그룹별로 4개의 수조를 제작하였으며, 조도는 상부에서만 영향을 받을 수 있도록 설계하였다.

## 2. 육상 기반 해양 폐쇄형 인공생태계 활용 실험방법

LMCM 연구는 mesocosm을 육상에 설치한 후 총 11주 동안 수행하였다. 본 연구에서 제작한 LMCM은 총 16개이며, 200, 400, 600, 1,000 L 부피의 LMCM 그룹별로 4개의 반복 실험구를 설치하여 동일 그룹 및 각각의 그룹별 실험자료를 바탕으로 CV 값을 산출하여 실험기간 동안 발생한 실험항목별 변동 패턴을 비교 분석하였다. LMCM 실험은 mesocosm 내부에 서해안 강화 갯벌에서 직접 채취한 15 cm 해양퇴적물을 바닥에 이식하고, 상부에는 현장 퇴적물 채취 정점에서 직접 채수한 천연 해수를 5 µm 망목 필터로 여과하여 각각의 LMCM에 채운 후 실시하였다 (Fig. 1). 해수는 PVC 파이프 프레임으로 제작된 회전식 시스템을 사용하여 1시간마다 혼합하면서 내부의 해수를 주기적으로 혼합시켰다. 실험기간 동안 각각의 LMCM 내 수온은 20.0~31.0°C 범위를 유지하였으며, 염분은 23.0~31.0 psu, 조도는 인위적으로 제어하지 않고 자연 조도를 유지하였다. LMCM 안에서 자연적인 변화를 관찰하기 위해 내부

에 영양염류, 수질조절, 추가 퇴적물 투입 및 생물학적 요소들은 임의적으로 주입하거나 조절하지 않았다. 해수 시료는 수질과 플랑크톤 군집구조를 분석하기 위해 일주일에 한 번 채취하였다. 실험기간 동안 해수 시료(동물·식물플랑크톤 포함)는 오전 10시(±1시간)에 채수하였으며, 동시에 각각의 실험구 내 수온, 염분, pH, 용존산소(DO)와 같은 주요 수질 매개 변수를 측정하였다. 또한 해수의 암모늄, 아질산염, 질산염과 화학적 산소 요구량(COD) 등의 추가 항목은 해양환경표준시험 방법에 따라 측정하였다 (MLTM 2008).

식물플랑크톤은 실험기간 동안 총 3회 채집하였는데, 시료는 해수를 500 mL 채수한 후 50 µm 망목 크기의 네트로 제작한 소형 채집기구를 사용하여 여과하였으며, 즉시 로즈 벵골 용액으로 염색한 후 분석 전까지 보관하였다. 식물플랑크톤은 주요 분류군으로 계수하였으며 세포 수는 cells L<sup>-1</sup> 단위로 표준화하였다. 동물플랑크톤은 250 µm 망목 크기 네트(입구 0.32 m<sup>2</sup>)를 제작하여 실험구에서 2~3 m 거리로 움직이며 해수를 여과한 후 채집하였으며, 1시간 이내에 현장에서 직접 주요 분류군으로 분류 및 계수하였다. 동물플랑크톤 시료는 inds. m<sup>-3</sup>로 단위를 표준화하였으며, 현장 계수 후 본래의 LMCM에 다시 투입하였다.

## 3. 자료분석

실험기간 동안 생산된 각각의 실험항목은 평균으로 표준편차(SD)를 나눈 CV 값으로 환산하여 % 단위로 환산

**Table 1.** Descriptive statistics of the experimental parameters in each LMCM\* group

Variables	LMCM (L)	Mean $\pm$ SD**	N	Ranges	CV (%)
Temperature (°C)	200	24.88 $\pm$ 0.07	44	22.66–28.27	0.3
	400	25.14 $\pm$ 0.08	44	23.11–28.99	0.3
	600	25.52 $\pm$ 0.21	44	23.24–29.61	0.8
	1,000	25.88 $\pm$ 0.12	44	23.35–30.42	0.5
Salinity (psu)	200	29.03 $\pm$ 0.54	44	25.36–30.94	1.9
	400	29.83 $\pm$ 1.04	44	26.89–30.49	3.5
	600	28.57 $\pm$ 0.59	44	23.98–30.41	2.1
	1,000	28.91 $\pm$ 1.13	44	24.75–30.45	3.9
pH	200	8.05 $\pm$ 0.04	44	7.75–8.33	0.5
	400	7.88 $\pm$ 0.07	44	7.55–8.05	0.9
	600	7.86 $\pm$ 0.05	44	7.55–8.22	0.6
	1,000	7.91 $\pm$ 0.08	44	7.53–8.25	1.0
DO*** (mg L <sup>-1</sup> )	200	6.49 $\pm$ 0.06	44	5.69–6.93	0.9
	400	6.11 $\pm$ 0.14	44	4.97–6.72	2.2
	600	6.02 $\pm$ 1.09	44	5.13–6.47	1.1
	1,000	5.74 $\pm$ 0.05	44	5.08–6.20	1.0
COD*** (mg L <sup>-1</sup> )	200	3.61 $\pm$ 0.70	44	1.20–7.20	19.4
	400	3.82 $\pm$ 0.21	44	0.90–8.50	5.5
	600	3.80 $\pm$ 0.17	44	0.95–8.35	4.4
	1,000	4.67 $\pm$ 0.61	44	1.60–9.55	13.1
Chlorophyll-a ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	200	3.10 $\pm$ 1.59	44	1.51–4.69	51.3
	400	3.52 $\pm$ 1.18	44	0.64–5.79	33.6
	600	2.65 $\pm$ 0.72	44	0.50–6.33	27.0
	1,000	3.18 $\pm$ 2.03	44	0.34–8.09	63.8

\*LMCM is an abbreviation for Land-based marine closed mesocosm.

\*\*All data in this table is expressed mean  $\pm$  standard deviation.

\*\*\*DO and COD are abbreviations for dissolved oxygen and chemical oxygen in seawater, respectively.

하였으며, 실험초기 LMCM 그룹 간 실험자료의 반복성 및 재현성 구현 여부를 분석하였다. CV는 각각의 LMCM 부피마다 설치된 4개의 반복구에서 측정된 값으로 계산하였다. 또한 실험기간 동안 각각의 LMCM 실험그룹별 측정요소의 변동 패턴은 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하여 비교하였다.

## 결 과

실험기간 중 LMCM 그룹의 환경요인과 동물성 플랑크톤의 평균값은 Table 1과 2에 수록하였다. 실험결과 각 실험그룹의 평균 수온, 염분 pH, DO, COD 등의 환경 요인

은  $\pm 2.0$  범위로 큰 차이가 나타나지 않았다. 그러나 실험기간 중 측정된 값의 범위는 각각의 측정항목별로 다소 차이를 보였는데, 수온과 염분의 경우, LMCM 규모가 큰 600L와 1,000L 실험그룹에서 최대-최소 수온 차이가 큰 것으로 분석되었으며, 용존산소는 400L 그룹에서 측정값의 편차가 높은 것으로 조사되었다. 해수의 COD 농도는 200L와 1,000L 실험그룹에서 각각 1.20~7.20 mg L<sup>-1</sup>와 1.60~9.55 mg L<sup>-1</sup>로 실험기간 동안 측정값 변동이 큰 것으로 나타났다. 실험기간 동안 chlorophyll-a는 200L 그룹에서 1.51~4.69  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, 1,000L 그룹에서 0.34~8.09  $\mu$ g L<sup>-1</sup>로 비교적 큰 농도 차이를 보였다(Table 1).

본 연구에서 영양염류는 암모니아성 질소, 질산성 질소 및 아질산성 질소의 경우 평균 값의 차이는 크지 않았다.

**Table 2.** Descriptive statistics of the nutrients and marine organism biomass in each LMCM\* group

Variables	LMCM (L)	Mean ± SD**	N	Ranges	CV (%)
Ammonium (μM)	200	8.01 ± 1.52	44	5.73–92.66	18.9
	400	7.06 ± 0.65	44	4.81–29.66	9.2
	600	7.77 ± 0.65	44	6.93–42.71	8.4
	1,000	7.20 ± 0.65	44	2.62–13.36	9.0
Nitrite (μM)	200	0.46 ± 0.07	44	0.07–1.00	15.2
	400	0.45 ± 0.04	44	0.05–0.78	8.6
	600	0.49 ± 0.07	44	0.10–1.09	14.5
	1,000	0.53 ± 0.11	44	0.13–0.93	20.9
Nitrate (μM)	200	2.82 ± 1.05	44	0.42–11.03	37.0
	400	2.10 ± 0.42	44	0.08–8.70	20.2
	600	1.97 ± 0.59	44	0.29–6.17	30.0
	1,000	2.11 ± 1.09	44	0.52–6.60	51.7
Phosphate (μM)	200	5.80 ± 0.83	44	0.95–9.76	14.3
	400	7.27 ± 0.26	44	0.52–11.91	3.6
	600	10.02 ± 2.75	44	0.42–13.61	27.4
	1,000	5.25 ± 2.00	44	0.22–9.24	38.1
Phytoplankton (cells L <sup>-1</sup> )	200	188 ± 270	12	3–499	141.9
	400	586 ± 1073	12	12–1,030	126.2
	600	14 ± 32	12	13–41	135.5
	1,000	32 ± 50	12	7–68	121.9
Zooplankton (inds. m <sup>-1</sup> )	200	13 ± 12	44	2–32	89.3
	400	47 ± 44	44	17–115	85.2
	600	124 ± 115	44	7–346	71.8
	1,000	95 ± 96	44	21–330	100.2

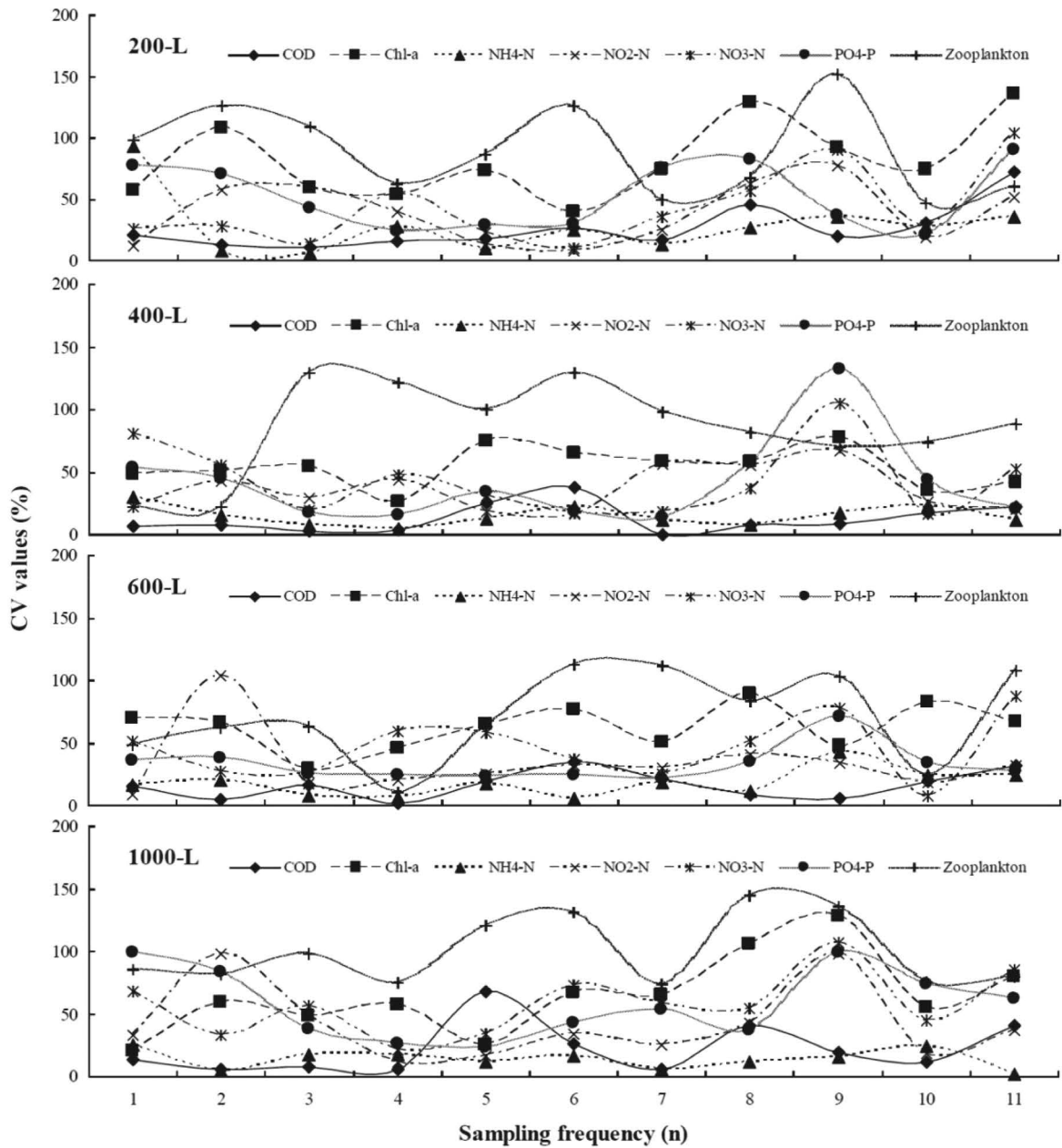
\*LMCM is an abbreviation for Land-based marine closed mesocosm.

\*\*All data in this table is expressed mean ± standard deviation.

그러나 인산염 인의 평균 농도는 실험그룹에 따라 다소 차이를 보였는데, 200 L 그룹에서 2.11 ± 1.09 μM로 가장 낮았으며, 600 L 그룹에서 10.02 ± 2.25 μM로 가장 높았다. 식물플랑크톤 현존량은 400 L 실험그룹에서 586 ± 1073 cells L<sup>-1</sup>로 가장 많았으며 600 L와 1,000 L 그룹에서 낮은 값이 분석되었다. 동물플랑크톤 개체수는 600 L와 1,000 L 그룹에서 각각 124 ± 115 inds. m<sup>-3</sup>과 95 ± 96 inds. m<sup>-3</sup>으로 많았으며, 200 L와 400 L 그룹에서는 개체수가 적은 것으로 분석되었다. 실험항목별 측정값은 질산성 질소의 경우 1,000 L 그룹에서 비교적 큰 차이를 보였으며, 식물플랑크톤은 200 L와 600 L 실험그룹에서 측정값의 범위가 넓었으며, 동물플랑크톤은 LMCM 규모가 큰 600 L와 1,000 L에서 범위 차이가 큰 것으로 조사되어 평균값의 비교 자료와

유사한 경향을 보였다(Table 2).

본 연구에서 수온, 염분, pH, DO, COD 등의 환경요인을 제외한 영양염류, chlorophyll-a 및 동물플랑크톤의 CV 값은 대부분 LMCM의 크기와 상관없이 타 측정요소보다 높은 것으로 분석되었다. 또한 각각의 LMCM 그룹에서 영양염류, chlorophyll-a와 동물플랑크톤 개체수의 CV 진폭은 시계열에 따라 증감을 반복하며 뚜렷한 변동 패턴을 보였는데, 동물플랑크톤 개체수의 최대 정점(peak)은 chlorophyll-a의 정점이 나타난 후 다음 시료 채집시기(1주 정도)에 지연되어 관찰되었다(Fig. 2). 이와 유사하게 식물플랑크톤 현존량의 CV 값은 모든 LMCM 그룹에서 시료채집 빈도에 따라 chlorophyll-a의 농도와 유사한 변동 패턴을 보였다(unpublished data). 영양염류의 CV 값



**Fig. 2.** Coefficients of variation (CVs) of chlorophyll-a, nutrients, and zooplankton variables in the replicated land-based marine closed mesocosm (LMCM) groups during the experiment. COD, chemical oxygen demand; and Chl-a, chlorophyll-a in seawater.

은 측정항목별로 다소 구분이 되었는데, 암모니아성 질소, 아질산성 질소 및 인산염 인의 CV 값은 실험시간이 경과함에 따라 동물플랑크톤의 CV 진폭 변화와 유사하게 진행되었으며, 질산성 질소는 COD와 더불어 실험기간 동안 chlorophyll-a와 유사한 변동 패턴을 보였다.

본 연구에서 수온, 염분, pH, DO와 같은 비생물학적 환

경요인의 CV 값은 30%를 초과하지 않았으며 LMCM 실험그룹 사이에 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 유기물질의 변동 특성에 큰 영향을 받는 chlorophyll-a, 질산염, 인산염, 식물플랑크톤 및 동물플랑크톤 측정값의 CV 값은 대부분의 LMCM 그룹에서 상대적으로 높은 값이 산출되었다. 특히 COD, chlorophyll-a 농도, 암모니아성 질소, 인

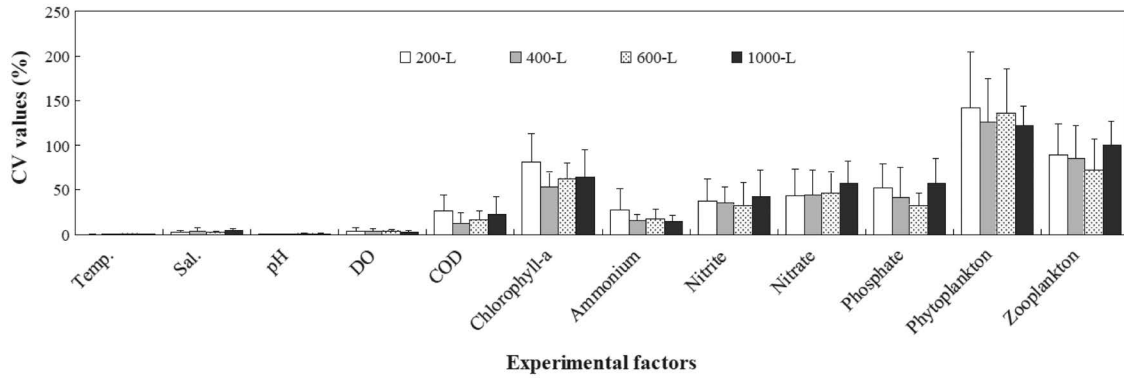


Fig. 3. Differences in coefficients of variation (CVs) of the experimental factors in each land-based marine closed mesocosm group. Temp., temperature; Sal., salinity; DO, dissolved oxygen; COD, chemical oxygen demand; and Chl-a, chlorophyll-a in seawater.

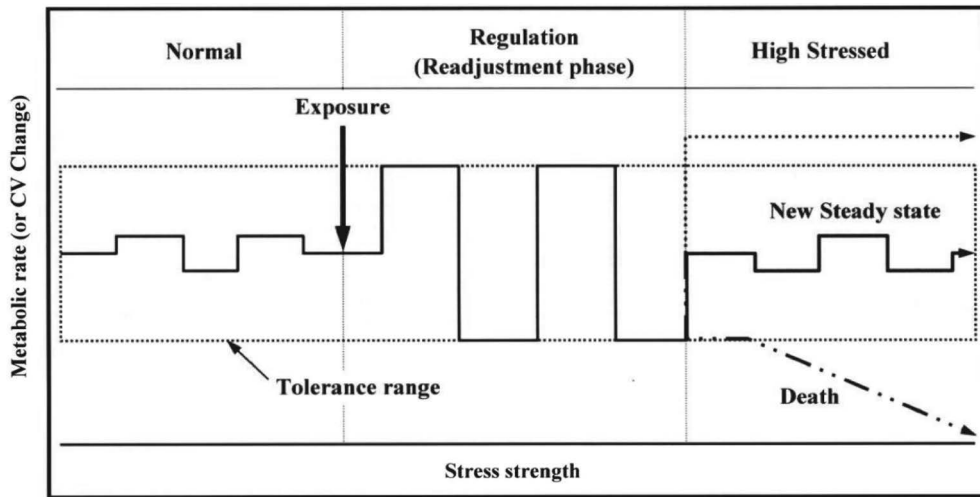


Fig. 4. Metabolic responses and adaptation of general marine organisms to sudden changes in various environmental stresses.

산염, 동·식물플랑크톤 생물량과 같이 생물의 생태와 직접적으로 관련이 있는 요인은 실험그룹별로 뚜렷한 변화를 보여 LCMC의 규모가 클수록 CV의 변동폭이 큰 것으로 분석되었다. 또한 식물플랑크톤과 동물플랑크톤의 CV 값은 LCMC 그룹 내에서 타 실험요인보다 유의하게 높은 것으로 분석되었는데, 두 분류군의 CV 범위는 각각 121.9~141.9%와 71.8~100.2%로 높게 산출되었다. 본 연구기간 중 동일한 크기의 LCMC 그룹에서 산출된 CV 값은 식물플랑크톤 > 동물플랑크톤 > chlorophyll-a > 영양염류 > COD > DO > 염분 > pH > 수온의 순서대로 감소하였다(Fig. 3).

통계분석 결과, 수질항목과 플랑크톤 생물량 차이는 LCMC의 규모가 클수록 변동폭이 큰 것으로 분석되었는

데, ANOVA 분석에 따르면, 대부분 LCMC 규모가 큰 그룹의 CV 값 변화는 COD, chlorophyll-a, 인산염 및 동물플랑크톤 분석항목에서 유의한 차이를 보이는 것으로 분석되었다( $p < 0.05$ ). 그러나 타 실험요인은 LCMC 그룹 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ).

## 고찰

인공생태계 실험은 다양한 환경스트레스 노출에 따른 생태-생리학적 영향을 신속하게 예측하여 정량화된 증거를 제공할 수 있으나 현실적으로 시스템의 재현 정도, 피해 영향의 규모, 허용 가능한 통계 오차 범위에 따른 현실

성의 문제점이 발생할 수 있다(Carpenter 1996; Raygosa-Barahona *et al.* 2019). 특히 노출 전과 후 영향 평가는 초기 실험조건의 통계적 편차를 최소로 유지할 필요가 있으나 이를 해결하기에는 환경조건의 균질화, 현장 생태 환경의 재현, 평가의 표준화 등 다양한 어려움이 존재한다. 일부 연구자들은 통계적 편차를 줄이기 위해 AVOVA 분석과 CV 값을 이용하여 반복 실험구 사이의 변동성을 최소화하고 노출 전과 후 평가를 효율적으로 분석하고자 하였다(Lehtinen *et al.* 1998; Duggan *et al.* 2018). 예를 들어 Giddings and Eddlemon (1979)은 실험초기 CV 값은 거의 30%를 초과하지 않았으며, 심지어 20~30% 범위가 microcosm의 초기 안정된 환경변수(규모)로 판단하기에 적합한 “정상적인” CV 범위라고 제안하였다. 반면 Kraufvelin (1998)은 인공생태시스템 내에서 노출 전 macrofauna 서식밀도와 생물량 자료를 통해 평균 CV 값을 산출한 결과 15.4~115.8%로 분석 값의 변화가 큰 것으로 보고하였다. 이와 같이 인공생태계 내 각각의 환경요인들이 다양하게 변하는 이유는 실험초기 환경변수를 최대한 균질화시켰을지라도 비생물학적 요인과 생물학적 요인들 사이에 영향을 미치는 다양한 인자가 존재하는 것으로 해석할 수 있다.

본 연구에서 각각의 실험그룹 내 초기 안정성 유지는 수온, 염분 등 일부 환경요인은 LMCM 규모가 거대할수록 변동폭이 큰 것으로 나타나 타 실험요소에 중요한 영향을 미치는 것으로 분석되었다. 이는 실험초기에 환경조건을 통제하고, 격리시키기 위한 시도가 적었기 때문에 발생하는 결과로 해석된다. 또한 일부 비 생물학적 요인은 LMCM 규모와 상관없이 측정값의 변동폭이 크지 않은 것으로 분석되었는데, 일반적으로 낮은 CV 값은 DO, 질산염, 아질산염, 인산염, 용존 유기탄소, 다양한 화합물의 농도, 전도도 및 pH와 같이 변동성이 낮은 환경요인에서 산출된다고 보고된 바 있다(Giesy and Allred 1985; Lehtinen *et al.* 1998). 이와 같은 현상은 본 연구결과에서도 유사하게 분석되었는데, 실험초기 CV 값은 LMCM 규모와 상관없이 용존산소, 질산염, 아질산염, 인산염, 염분 및 pH와 같은 변동성이 적은 비생물학적 요인에서 타 연구자의 실험결과와 유사하게 30%를 초과하지 않는 것으로 분석되었다. 이와 반면 규모가 다른 각각의 LMCM 그룹에서 생물학적 요인과 관계된 chlorophyll-a, 플랑크톤 생물량 등의 CV 비율은 규모가 큰 실험그룹일수록 타 환경요인보다 훨씬 높

게 산출되어 타 연구와 유사한 결과를 보였다. 특히 본 연구에서 동물과 식물플랑크톤 생물량 자료로부터 계산된 CV 값은 상대적으로 규모가 큰 600 L, 1,000 L LMCM 그룹에서 각각 121.9~141.9%와 71.8~100.2% 범위로 높게 산출되어 Kraufvelin (1999)의 결과와 유사한 경향을 보였는데, 이러한 결과는 mesocosm의 규모가 클수록 시간이 경과함에 따라 생물 상호 간의 먹이구조, patch 형성, 생물의 번식생태의 차이로 인해 적절한 생물량 유지가 불가능한 것으로 해석할 수 있다. 따라서 본 연구결과에서는 실험초기 대상생물의 생물량을 일정하게 유지시킬 수 있는 source가 무제한 공급되거나 생태독성평가와 같이 한정된 개체수를 대상으로 극단적인 연구를 수행하지 않은 한 규모가 큰 인공생태계를 활용한 연구에서는 효과적인 생물량 제어는 불가능한 것으로 판단되었다.

본 연구기간 동안 생물학적 분석항목 중 측정값의 진폭 차이가 큰 실험구는 주로 600 L와 1,000 L 부피의 규모가 큰 LMCM 그룹으로 조사되었는데, 대부분 chlorophyll-a, 동물과 식물플랑크톤과 같이 생물학적 요인에서 높은 CV 값이 산출되었다. Kraufvelin (1998)은 mesocosm 실험에 적합한 변수의 CV 범위는 적어도 20~30% 이하로 유지시킬 것을 제안하였다. 이와 같이 적절한 CV 값이 유지되는 실험변수는 통계적으로 유의성 여부를 판단하는데 중요하게 작용하여 대조군 그룹과 처리군 그룹 사이의 진폭 차이를 감소시킨다. 여러 연구자들은 측정변수(endpoint)의 변동성을 알 수 있거나 추정할 수 있으면 최적의 실험 그룹(반복구의 규모와 수)을 결정할 수 있다고 제안하였다(Schindler 1998; Šorf *et al.* 2013; Sharma *et al.* 2021). 한편 현장 생태계에서 발생하는 다양한 event는 mesocosm의 규모가 클수록 생태계 재현성을 증가시킬 수 있으나 실험환경을 제어하는 경우에는 생태계의 재현성이 감소할 수 있음을 보고하였는데, 대규모 mesocosm 실험 시 초기 다양한 실험요소들의 안정화 단계에서는 개별 실험변수의 변동 프로세스에 대한 자료가 적고, 실험 인자에 영향을 주는 원인과 결과를 명확하게 구분하기 어려우며, 생물군의 밀도를 정확하게 정의할 수 없어 결국 실험결과를 해석하기 어렵게 만든다(Crossland and La Point 1992). 따라서 본 연구에서 안정화 단계의 생물학적 변수는 규모가 큰 LMCM와 실험그룹에 가입된 생물의 생태-생리 활동의 복잡성을 감안할 때, 일부 수질과 영양염 항목을 제외하면 초기 생물학적 변수의 변동비율을 20~30% 범위로 조절하



고 유지하는 것은 매우 어려운 것으로 판단된다.

ANOVA 분석에 따르면, 실험구의 규모가 다른 LMCM 실험그룹 간 CV 값은 COD, chlorophyll-a, 인산염 및 동물플랑크톤 등 생물 활동과 관련된 분석 항목에서 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 또한 비교적 규모가 큰 LMCM 그룹의 chlorophyll-a와 동물플랑크톤 생물량 변화는 시간이 경과함에 따라 뚜렷하게 관찰되었으며, 동물플랑크톤 생물량의 최대 밀도는 chlorophyll-a 변화시기보다 1 주 정도 늦게 나타났다. 이와 같은 chlorophyll-a (또는 식물플랑크톤)와 동물플랑크톤 생물량의 정점(peak) 간 차이는 해양생태계에서 생산자와 1차 소비자(특히 유생 단계)의 생활사에서 관찰되는 전형적인 먹이의 수요-공급 시스템 중 하나인 것으로 해석된다(Sommer *et al.* 2007). 이에 일부 연구자들은 대규모의 폐쇄된 수중 시스템일지라도 질산염과 인산염 등 일부 비생물학적 요인은 CV 값의 관리를 통해서 각 구성 요소의 역할을 구분하고, 폐쇄된 순환시스템 관리자의 연구 지침변경 및 실험의 영향을 예측하는데 효과적이라고 제안하였다(Parent and Morin 2000; Trépanieret *et al.* 2002). 본 연구에서 LMCM 그룹의 chlorophyll-a와 동물플랑크톤 군집 변화는 실험초기부터 인위적으로 영양염류를 공급하지 않았기 때문에 실험과정에서 실험요소의 변화에 대한 명확한 원인을 증명할 수 없었다. 그러나 chlorophyll-a의 주기적인 CV 변화는 LMCM 규모에 따라 다소 차이를 보일지라도 저층 퇴적물에서 공급되는 영양분이 chlorophyll-a 변동의 주요 원인일 것으로 판단된다. 따라서 LMCM 활용 연구에 있어 초기 실험환경의 안정성 유지를 위한 조건은 정기적인 해수 수질 관리(퇴적물 포함)와 식물플랑크톤의 1차 생산력을 유지시키기 위한 영양염류 관리가 필요한 것으로 판단되었다.

Mesocosm의 규모에 따라 차이를 보이겠지만 생물학적 요인들의 CV 값의 진폭 차이는 노출된 스트레스 강도와 함께 두 가지 유형의 반응을 보일 수 있다(Fig. 4). 첫 번째, 안정된 환경에서 서식하는 생물은 일시적으로 상승된 스트레스 요인에 노출되었을 때 행동이나 대사활동을 최소화하여 스트레스에 적응하기 위한 전략을 사용하는데, 이러한 반응은 결국 CV 진폭 차이를 낮추는 결과를 보일 수 있다(Pagés *et al.* 2010; Sanchís *et al.* 2018). 두 번째, 내성 한계보다 높은 위해성 스트레스에 노출된 생물은 분류군에 따라 다소 차이를 보이거나 서식처를 회피하는 행동을 보

이거나 급성 반응으로써 사망에 도달하는 반응을 보인다(Yoon 2021). 이와 같은 반응은 결국 CV 진폭 차이를 높이는 결과로 나타날 것이다. 그러나 자연 환경에서 해양생물(특히 부유생활을 하는 종)의 적응 차이는 개체 또는 분류군의 내에서도 다양하게 진행되기 때문에 LMCM 실험초기 안정화 단계에서 생물의 번식, 행동 및 대사활동에 대한 객관적인 정보를 확보하여 노출 전과 후 생태-생리적 변동 패턴을 예측할 필요가 있다.

지금까지 인공생태계 연구의 실험변수는 대부분 화학적 변수에 의한 영향이 반영되어왔으며, mesocosm 규모와 생물학적 요소의 상관성을 고려한 중요한 변수는 거의 도입된 바 없다. 그러나 생물학적 변수에는 이러한 실험 시스템과 살아있는 생물이 모델인 자연 시스템의 기능을 제어하는데 충분한 주의를 기울이지 않았다. 일반적으로 생물학적 변수는 변동성이 높으므로 생태계 영향을 감지하는데 예상되는 다양한 문제점은 실험초기에 집중적으로 제어할 필요가 있다(Pratt and Browers 1992; Yoon and Park 2012). 또한 실험초기 생태계 재현성 및 반복성을 최적으로 구현하기 위해서는 인공생태계의 규모가 생태계를 정확하게 반영하는지 여부가 포함되지만 현실적으로 반영하기에는 미흡하였다(De Lafontaine and Legget 1987).

일부 연구자들은 mesocosm의 과학적 활용을 위해서는 기본적으로 재현성, 반복성, 생태학적 현실성이 구비되어야 함을 언급하였다(Stewart *et al.* 2013; Sanchís *et al.* 2018). 또한 mesocosm 연구는 실험그룹의 규모, 퇴적물과 해수의 조성, 광량, 난류, 물 교환, 포식자 등 다양한 기술적인 문제가 해결되어야 함을 강조하였는데, 현실적으로 100% 자연을 재현할 수 없으나 연구목적에 부합할 수 있는 규모의 시스템을 구성하도록 제안하였다(Yang and Jeong 2011). 본 연구에서 생물학적 요인의 불안정한 변동 패턴은 주로 600 L와 1,000 L의 규모가 큰 LMCM 그룹에서 관찰되었다. 이러한 패턴의 주요 요인은 규모(또는 부피)가 큰 mesocosm 내에서 가입 생물 군집 간의 초기 변동성, 실험 설계 및 실행의 오류, 우연한 사건 또는 실험 시스템의 비정상적인 운영 방법으로 구분될 수 있다. 본 연구에서는 CV 산출 값을 이용해 인공생태계 실험에서 초기 발생하는 다양한 변수들의 적절성 및 변동성을 평가하고 이를 제어할 수 있는 방안을 모색하고자 하였으나 LMCM 규모의 차이로 인해 대부분의 생물학적 요인들은 실험초기부터 그룹 간 변동폭이 크게 나타난 관계로 뚜렷한 결론에 도달

하지 못하였다. 이에 본 연구에서는 실험그룹의 규모가 상이할 경우 위의 3가지 기본사항(재현성, 반복성, 생태학적 현실성)을 적용한 영향 평가는 불가능한 것으로 생각된다. 그러나 동일한 규모의 인공생태계 시스템을 활용하여 연구목적에 적합하게 제한된 측정요소(endpoint)를 반영할 경우, 해양생태계 위해성 평가는 생태학적 현실성을 재현하지 못할지라도 실험초기 균질화된 생물/비생물학적 요인을 제어가 가능하며, 반복 실험그룹 내에서 생산된 실험자료의 안정성 확보를 통한 객관적인 평가가 이루어질 것으로 판단되었다.

결론적으로 과학적인 도구로써 인공생태계 실험은 생물학적 요인과 비생물학적 요인을 구분하여 명확한 endpoint를 비교 분석할 수 있는 연구목적 수립, 안정된 실험조건을 유지시킬 수 있는 source의 공급 또는 제어가 가능한 인공생태계의 규모와 반복 실험그룹의 수, 실험항목 선정 및 실험의 안정성을 객관적으로 해석하기 위한 표준화된 분석 기법의 도입이 필요한 것으로 판단된다. 향후 인공생태계 연구에서 실험초기 생물학적 변수의 적절성을 유지하면서 해양환경 및 생물군집의 영향 평가를 위해서는 본 주제에 대한 더 많은 토론과 연구가 필요할 것이다.

## 적 요

본 연구에서는 해양생태계 위해성 평가 시 생물학적, 비생물학적 요인에 대한 인공생태계 실험의 초기 안정성을 객관적으로 평가하기 위해 육상 기반 해양 폐쇄형 메조코즘(LMCM) 실험을 수행하였다. 변동계수(CV)의 진폭 변화는 실험의 안정성 분석 자료로 사용하였다. 본 연구에서 LMCM 그룹(200, 400, 600, 1,000L) 내 비생물학적 실험변수에 대한 CV 값은 20~30% 범위로 유지되었다. 그러나 엽록소-a, 식물플랑크톤 및 동물플랑크톤과 같은 생물학적 요인의 CV 진폭 파이는 600L와 1,000L LMCM 그룹에서 높게 분석되었다. 이와 같은 결과는 실험 초기에 생물학적 변수에 대한 제어가 부족하여 발생한 것으로 해석된다. 또한 ANOVA 분석에 따르면, LMCM 그룹 간 CV 값은 생물학적 요인과 연관된 실험변수들에서 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 본 연구에서 생물학적 변수의 안정화는 LMCM 그룹의 크기와 그룹 내 생물의 생태-생리학적 활동의 복잡성을 감안할 때 수질 및 영양염 성분을 제

외하면 실험 초기 생물학적 변수의 변동성을 제어하고 유지할 필요가 있으나 현실적으로 어려운 부분이 많았다. 결론적으로 해양에서 과학적 도구로써 인공생태계 실험은 생물학적, 비생물학적 요인을 구분하여 명확한 측정요소(endpoint)를 비교 분석할 수 있는 연구목적 수립, 실험조건 안정성 유지 및 실험결과를 객관적으로 해석할 수 있는 표준화된 분석 기법의 도입이 필요한 것으로 판단된다.

## 사 사

본 논문은 한국해양과학기술원 기관목적사업(PE 99913)의 연구비 지원으로 수행하였습니다.

## REFERENCES

- Andersson AJ, DI Kline, PJ Edmunds, SD Archer, N Bedenaršek, RC Carpenter, M Chadsey, P Goldstein, AG Grotoli, TP Hurst, AL King, JE Kübler, IB Kuffner, KRM Mackey, BA Menge, A Paytan, U Riebesell, A Schnetzer, ME Warner and RC Zimmerman. 2015. Understanding ocean acidification impacts on organismal to ecological scales. *Oceanography* 28:16-27.
- Bellworthy J and M Fine. 2018. The red sea simulator: A high-precision climate change mesocosm with automated monitoring for the long-term study of coral reef organisms. *Limnol. Oceanogr. Meth.* 16:367-375.
- Cappello S and MM Yakimov. 2010. Mesocosm for oil simulation. pp. 3513-3521. In: *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* (Timmis KN, ed.). Springer-Verlag, Berlin.
- Carpenter SR. 1996. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77:677-680.
- Conquest LL. 1983. Assessing the statistical effectiveness of ecological experiments: Utility of the coefficient of variation. *Int. J. Environ. Stud.* 20:209-221.
- Crossland NO and TW La Point. 1992. The design of mesocosm experiments. *Environ. Toxicol. Chem.* 11:1-4.
- De Lafontaine Y and WG Leggett. 1987. Evaluation of in situ enclosures for larval fish studies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44:54-65.
- Duggan SB, CJ Kotalik and WH Clements. 2018. Integrating results of field biomonitoring and mesocosm experiments to validate postspill impacts of petroleum hydrocarbons on stream benthic communities. *Environ. Sci. Technol.*

- 52:13584–13590.
- Falkenberg LJ, BD Russel and SD Connell. 2016. Design and performance evaluation of a mesocosm facility and techniques to simulate ocean acidification and warming. *Limnol. Oceanogr. Meth.* 14:278–291.
- Giddings JM and GK Eddlemon. 1979. Some ecological and experimental properties of complex aquatic microcosms. *Int. J. Environ. Stud.* 13:119–123.
- Giesy JP and PM Allred. 1985. Mutispecies Toxicity Testing. pp. 18–24. In: *Replicability of Aquatic Multispecies Test Systems* (Cairns J, ed.). Pergamon Press. New York.
- Harris RML, PD Armitage, AM Milner and M Ledger. 2007. Replicability of physiochemistry and macroinvertebrate assemblages in stream mesocosms: implications for experimental research. *Freshw. Biol.* 52:2434–2443.
- Kim JH, EJ Kang, KY Kim and KY Kim. 2018. A continuous-flow on-site mesocosm for ocean acidification experiments on benthic organisms. *Algae* 33:359–366.
- Kraufvelin P. 1998. Model ecosystem replicability challenged by the “soft” reality of a hard bottom mesocosm. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 222:247–267.
- Kraufvelin P. 1999. Baltic hard bottom mesocosms unplugged: replicability, repeatability and ecological realism examined by non-parametric multivariate techniques. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 240:229–258.
- Lee IC, HE Woo, KM Kim, JH Lee and KH Kim. 2018. A study on changes in pore water quality of polluted sediment due to mixing ratio of granulated coal ash. *J. Korean Soc. Coast. Ocean Eng.* 30:201–206.
- Lehtinen KJ, K Mattsson, J Tana, C Grotell and C Engström. 1998. Effects on ecosystem structure and function of fish farming as simulated in littoral brackish water mesocosms. *Aquaculture* 165:179–202.
- Louvado A, FJRC Coelho, V Oliveira, H Gomes, DFR Cleary, MMQ Simões, A Cunha and NCM Gomes. 2019. Microcosm evaluation of the impact of oil contamination and chemical dispersant addition on bacterial communities and sediment remediation of an estuarine port environment. *J. Appl. Microbiol.* 127:134–149.
- MLTM. 2008. Marine environment standard test method. Ministry of Land Transport and Maritime Affairs. p. 516.
- Pagés JF, M Pérez and J Romero. 2010. Sensitivity of the seagrass *Cymodoceanodosa* to hypersaline conditions: A microcosm approach. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 386:34–38.
- Pansch C and C Heibenthal. 2019. A new mesocosm system to study the effects of environmental variability marine species and communities. *Limnol. Oceanogr. Meth.* 17:145–162.
- Parent S and A Morin. 2000. N budget as water quality management tool in closed aquatic mesocosms. *Water Res.* 34:1846–1856.
- Passarelli MC, I Riba, A Cesar, A Newton and TA del Valles. 2018. Using a mesocosm approach to evaluate marine benthic assemblage alteration associated with CO<sub>2</sub> enrichment in coastal environments. *Ecotox. Environ. Safe.* 157:29–39.
- Pratt JR and NJ Browsers. 1992. Variability of community metrics: Detecting change in structure and function. *Environ. Toxicol. Chem.* 11:451–457.
- Raygosa-Barahona RR, S Putzeys, J Herrera and D Pech. 2019. Technical note: Low mesocosms design for studies of tropical marine environments. *Biogeosci. Discuss.* (preprint) <https://doi.org/10.5194/bg-2019-59>.
- Ryu SH and IC Lee. 2018. Estimation of nutrient mass balance in a *Phragmites australis* community in Jindo through a mesocosm experiment. *J. Korean Soc. Mar. Environ. Safe.* 24:545–552.
- Sanchis J, M Llorca, M Olmos, GF Schirinz, C Bosch-Orea, E Adad, D Barceló and M Farré. 2018. Metabolic responses of *Mytilus galloprovincialis* to fullerenes in mesocosm exposure experiments. *Environ. Sci. Technol.* 52:1002–1013.
- Schindler DW. 1998. Replication versus realism: The need for ecosystem-scale experiments. *Ecosystems* 1:323–334.
- Sharma KV, B Kumar and SR Marigoudar. 2021. A review of mesocosm experiments on heavy metals in marine environment and related issues of emerging concerns. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28:1–13.
- Sim JH, JN Kwon, JM Park and SN Kwak. 2013. The effects of ocean acidification on early growth of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*): in suit mesocosm experiemt. *Korean J. Environ. Biol.* 31:353–361.
- Sommer U, N Aberle, A Engel, T Hansen, K Lengfellner, M Sandow, J Wohlers, E Zöllner and U Riebesell. 2007. An indoor mesocosm system to study the effect of climate change on the late winter and spring succession of Naltic Sea phyto- and Zooplankton. *Oecologia* 154:665–667.
- Šorf M, Z Brandl, P Znachor and M Vašek. 2013. Floating large-volume mesocosms as a simple, low-coast experimental design suitable for the variety of lakes and reservoir. *Fundam. Appl. Limnol.* 183:41–48.
- Stewart RIA, M Dossena, DA Bohan, E Jeppesen, RL Kordas, ME Ledger, M Meerhoff, B Moss, C Mulder, JB Shurin, B Suttle, R Thompson, M Trimmer and G Woodward. 2013. Mesocosm experiments as a tool for ecological climate-change research. pp. 71–181. In: *Advances in Ecological Research* (Woodward G and EJ O’Gorman, eds.). Academic Press. Amsterdam.
- Trépanier C, S Parent, Y Comeau and J Bouvrette. 2002. Phosphorus budget as a water quality management tool for closed aquatic mesocosms. *Water Res.* 36:1007–1017.

- Tsiaras KP, S Christodoulaki, G Petihakis, C Frangoulis and G Triantafyllou. 2017. Model simulations of a mesocosm experiment investigating the responses of a low nutrient low chlorophyll (LNLC) marine ecosystem to atmospheric deposition events. *Front. Mar. Sci.* 4:1–19.
- Watts MC and GR Bigg. 2001. Modelling and the monitoring of mesocosm experiments: two case studies. *J. Plankton Res.* 23:1081–1093.
- Yang JS and YH Jeong. 2011. Mesocosm as a scientific tool for marine science: Focused on the soft-bottom environment. *J. Kor. Soc. Mar. Environ. Engineer.* 14:93–106.
- Yoon SJ and GS Park. 2012. Microcosm approach for brine impact assessment from seawater desalination on benthic assemblages. *Desalin. Water Treat.* 43:102–112.
- Yoon SJ. 2021. Critical low temperature and response of behavioral tolerance in red seabream *Pagrus major* fingerlings exposed to cold shock. *J. Korea Acad. Indust. Coop. Soc.* 22:575–584.