

생물적 환경정화를 위한 부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장에 미치는 광학적 특성과 그에 따른 인산염 성장 동력학

오석진 · 강인석¹ · 윤양호^{1*} · 양한섭 · 박종식¹

부경대학교 해양과학공동연구소

¹전남대학교 대학원 수산과학과

Effects of Optical Characteristics on the Growth of Benthic Microalga, *Nitzschia* sp. and Its Growth Kinetics of Phosphate for Bioremediation

SEOK JIN OH, IN SEOK KANG¹, YANG HO YOON^{1*}, HAN-SOEB YANG AND JONG SICK PARK¹

Korea Inter-University Institute of Ocean Science, Pukyong National University, Daeyeon-dong, Nam-gu, Busan 608-737, Korea

¹Department of Fisheries Science, Graduate School of Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

부착미세조류에 의한 생물적 환경정화의 가능성을 시험하기 위해서 *Nitzschia* sp.(진해만 클론원종)을 이용하여, 성장에 미치는 광도 및 파장의 영향과 인산염 성장 동력학 실험을 수행하였다. 파장은 발광다이오드를 이용하여 청색(450 nm), 황색(590 nm), 적색(650 nm) 그리고 형광등을 이용한 복수파장이었다. 청색파장에서 *Nitzschia* sp.의 성장은 다른 파장보다 높았으나, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상의 광량에서는 광저해현상을 보였다. 복수파장에서도 높은 광량(100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상)에서 최대세포밀도가 감소하는 현상이 나타났다. 진해만에서 복수파장의 보상광량(I_0)에 해당하는 수심은 4-10 m이며, 부유물질에 따라 하계에는 수심(약 4 m)이 극히 낮았다. 따라서 최대생장을 보일 수 있는 수심은 제한될 것으로 보인다. 성장동력학 실험에 따라 유도된 파장별 최대성장속도는 달랐지만, 반포화상수(K_s)는 큰 차이가 없었다. K_s 는 다른 부유성 미세조류와 비교하여 높아, 높은 인산염 환경에 적응되어 있으며, 세포내 인의 축적효율이 높을 것으로 보인다. 따라서 저층에 특정파장(성장 촉진효과를 보인 청색파장 등)을 주사함으로써 *Nitzschia* sp.의 성장을 촉진시켜 부영양화 된 저질의 영양염을 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 보이며, 이에 따라 빈산소 문제도 해소할 수 있어 생물적 환경정화에 유용한 대상 종으로 생각된다.

To suggest possible to bioremediation by benthic microalgae *Nitzschia* sp. isolated from the Jinhae Bay, the studies investigated the effects of light quality and quantity on the growth of *Nitzschia* sp. and its growth kinetics for phosphate investigated. The *Nitzschia* sp. was cultured under blue (450 nm), yellow (590 nm) and red wavelength (650 nm) using light emitting diode (LED) and mixed wavelengths using a fluorescent lamp. The maximum specific growth rate showed the *Nitzschia* sp. under blue wavelength, although photoinhibition was observed above 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mixed wavelengths were also observed by decreasing the maximum cell density from high irradiances ($>100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The compensation photon flux density (I_0) calculated from the mixed wavelengths equated to a depth of 4-10 m in Jinhae Bay, and was lower in the summer season than the depth due to suspended matter (ca. 4 m). Thus, the suitable depth for maximum growth of *Nitzschia* sp. might be extremely limited. In the growth kinetics for phosphate, half-saturation constant (K_s) was similar among different wavelengths, although the maximum growth rate was varied among different wavelengths. Because the K_s was high than that of the phytoplankton, *Nitzschia* sp. might have adapted to the high nutrient concentrations, and have effective nutrient storage in the cell quota. Thus, *Nitzschia* sp. may be a useful species for bioremediation of the benthic layer in polluted inner bays by means of irradiated specific wavelength as blue.

Keywords: Bioremediation, *Nitzschia* sp., Wavelength, Growth Rate, Growth Kinetics, Phosphate

서 론

부착미세조류는 조간대나 해양의 표층퇴적물에서 서식하는 중요한 일차생산자로, 일부지역에서는 총일차생산량의 50% 이상을

*Corresponding author: yoonyh@chonnam.ac.kr

차지한다(Brotas and Catarino, 1995). 부착미세조류는 대부분이 부착성 조류로서 운동성이 비교적 뛰어나며, EPS(Extracellular Polymeric Substances)라는 점액질을 분비한다. EPS는 해양생태계에서 퇴적물의 표면에 바이오필름을 형성하여 퇴적물의 산란을 막는 안정제로 작용(Smith and Underwood, 1988; Paterson, 1989)

할 뿐만 아니라, 상위 영양단계의 저서동물에게 중요한 탄소 공급원이 된다(Decho, 1990). 더욱이 최근에는 저질 부영양화 및 빈산소수괴 문제를 해소하기 위하여 저서 미세조류를 이용한 생물적 환경정화(bioremediation)를 시도하고 있다(오 등, 2007; Yamamoto et al., 2007). 진해만과 같이 여러 가지 환경문제가 발생하는 해역의 경우, 하계에 빈산소수괴 형성으로 저서생물이 거의 소멸되기 때문에 1년 주기의 생존이 불가능하다. 더욱이 저서생물의 사멸은 유기물 부하와 산소 소비를 촉진시키기 때문에 빈산소수괴는 더욱 발달되어, 환경악화의 “negative spiral”이 진행된다. 저서생물의 서식은 퇴적물을 혼합시켜 산소를 공급함과 동시에 식물연쇄를 통한 유기물을 제거하는 역할도 한다. 그래서 빈산소수괴가 해소된다면 저서생물의 서식으로 환경상태는 빨리 복원되어 “potential spiral”로 전환될 수 있다(Yamamoto et al., 2007). 하지만 진해만의 경우, 높은 육원부하 및 자가 오염으로 자연정화는 기대하기 어려워, negative spiral에서 potential spiral로 전환시킬 수 있는 적극적인 환경개선 대책이 필요할 것이다. 이러한 해역에서 생태계의 회복은 여러 가지 방법이 있겠지만, 자연 시스템이 가지는 자정능력을 최대한으로 발휘하는 친환경적인 개선방법이 필요하다.

국내에서 부착미세조류를 이용한 생물적 환경정화에 관련한 연구는 오 등(2007)이 발광다이오드(LED)를 이용하여 생장에 미치는 광량과 파장의 실험 결과로 부착미세조류를 이용한 저서환경개선 이론을 처음으로 언급하였다. 또한 오(2008)는 실제 영양염 흡수 동력학 실험을 통하여, 부착미세조류가 생장에 필요한 영양염보다 많은 영양염을 체내에 흡수하기에 부영양화된 퇴적물을 효과적으로 개선할 수 있을 것으로 기대하였다. 오 등(2009)은 *Nitzschia* sp.의 기질 부착력이 그렇게 강하지 않기 때문에 저질 개선을 위해 대량으로 배양한 세포를 살포하거나, 발광체에 따라 생장이 촉진되어도 포식에 따라 상위영양단계로 유기물은 전송되어 2차 오염보다는 해역 생산성 향상에 도움이 될 것으로 고찰하였다.

국내의 대부분의 부착미세조류의 연구는 분포나 일차생산력, 그리고 HPLC를 이용한 색소 분석과 같은 연구에 국한되어 있다. 생물적 환경정화에 대한 유용성을 평가하기 위해서 실험적인 해석에 따라 얻어진 생리적인 결과는 필수적이다. 하지만 우리나라에서 부착미세조류의 생리학적 데이터는 위에 언급한 소수의 보고를 제외하고는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 *Nitzschia* sp.의 생물적 환경정화 중의 유용성을 평가하기 위해, 진해만에서 분리한 원종을 이용하여 광량과 파장에 따른 성장실험 및 영양염에 따른 성장 특성을 파악하였다.

재료 및 방법

부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 분리와 유지배양

Nitzschia sp.는 2007년 7월 진해만 서쪽 연안(35°6'9.43"N, 128°47'24.93"E)에서 채집된 저질시료로부터 pasteur pipette(ca. ϕ 50-100 μ m)를 이용하여 분리하였다. 분리된 세포는 여과해수(Sterivex-GS; 0.22 m filter unit, Millipore, MA USA)에 4-5회 세척한 후 배양튜브(TB-2800, Tokyo, Japan)에 이식하였으며, 실험용 배지는 옥지도 남방 50 km 해역의 해수를 바탕으로 한 f/2-Si(Guillard and Ryther, 1962)배지로, selenium(H_2SeO_3)의 최종농도가 0.001 μ M 되게 첨가하였다. 유지배양을 위한 수온과 염분은 현

장에 상응하는 조건(20 °C, 30 psu)으로 하였으며, 광량은 약 60 μ mol $m^{-2} s^{-1}$ (12L:12D; cool-white fluorescent lamp)로 조절하였다. *Nitzschia* sp.는 피펫세척법에 따라 무균화를 수행하였으며, 2차 생물학 오염을 막기 위하여 모든 실험기구는 고압증기멸균기(202 Kpa, 20 min) 또는 건조멸균(185 °C, 1 hr)하여 사용하였다.

광 조건에 따른 부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장속도 변화

광량과 파장에 따른 *Nitzschia* sp.의 성장속도는 현미경을 이용한 직접 검정이 아닌, *in vivo* chlorophyll 형광값과 세포수의 관계로 평가하였다. 이는 형광광도계에서 직접 측정이 가능한 배양튜브를 이용하기에 세포밀도의 확인을 위한 배양튜브의 개폐가 없어 초기 배양상태를 계속 유지 할 수 있으며, 대량의 표본을 신속히 처리 할 수 있는 장점이 있다(Brand et al., 1981). *Nitzschia* sp.를 수온 20 °C, 염분 30 psu 그리고 광량 60 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (12L:12D; cool-white fluorescent lamp; FL400, Kum-Ho, Seoul, Korea)의 조건에서 대수성장기(exponential growth phase)까지 배양한 후 농축과 희석을 통해 여러 가지 세포밀도로 조제하였으며, 형광광도계(Model 10-AU-005, Turner Designs, USA)로 *in vivo* chlorophyll 형광 값을 측정하였다. 측정은 안정한 형광 값을 얻기 위해서 약 5분 동안 암조건에서 방치한 후 측정하였다(Brand et al., 1981). 그리고 현미경을 통해서 측정된 세포수를 이용하여 세포밀도와 형광 값의 상관관계를 알아보았다. 그 결과 *Nitzschia* sp.의 세포밀도와 *in vivo* chlorophyll 형광 값 사이의 관계는 Fig. 1과 같은 관계식이 성립되었다.

수온 20 °C, 염분 30 psu 그리고 광량 60 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (12L:12D; cool-white fluorescent lamp; FL400, Kum-Ho, Seoul, Korea)의 조건에서 유지 배양을 한 *Nitzschia* sp.를 9 ml 배양튜브(10×100 mm)에 f/2-Si 배지 5 ml를 주입하여, 최종 세포밀도는 약 1×10^2 cells ml^{-1} 되도록 접종하였다. 광 조건은 가시광선 파장 중 대표적인 4개 파장(청색, 황색, 적색, 복수파장)을 선택하여 광량에 따른 성장실험을 실시하였다. 청색은 450 nm, 황색은 590 nm, 적색은 650 nm, 그리고 형광등은 복수파장에 해당한다. 이들 파장은 발광다이오드(light emitting diode; LED)와 형광등을 이용하여 조사하였으며, 광량은 가시광선 차단 필름을 이용하여 복합파장은 10, 25, 50, 75, 100, 150, 300, 400 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (QSL-2100, Biospherical Instrument Inc., CA USA)의 총 8 단계, 청색파장과 황색파장 그리고 적색 파장은 10, 20, 50, 75, 100, 200, 300 μ mol photons m^{-2} 의 총 7 단계에서 조절하였다. 그리고 매일 1회 오전 10시에 형광광도계로 *in vivo* chlorophyll 형광 값을 측정하였다. 성장속도는 대수생장을 보이는 기간 동안의 세포수를 이용하여 식 (1)에 의해 계산하였다.

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

N_0, N_t : 대수성장기에서 초기와 t시간(day) 후의 세포수(cells ml^{-1})
 Δt : 대수성장기의 배양시간(day)

각각의 광조건 실험은 triplicate로 수행하였으며, 성장속도는 이들의 평균값으로 나타냈다(단, triplicate중 명백히 오류로 판명된 값은 평균시 제외함). 성장속도와 광량의 관계는 Lederman and

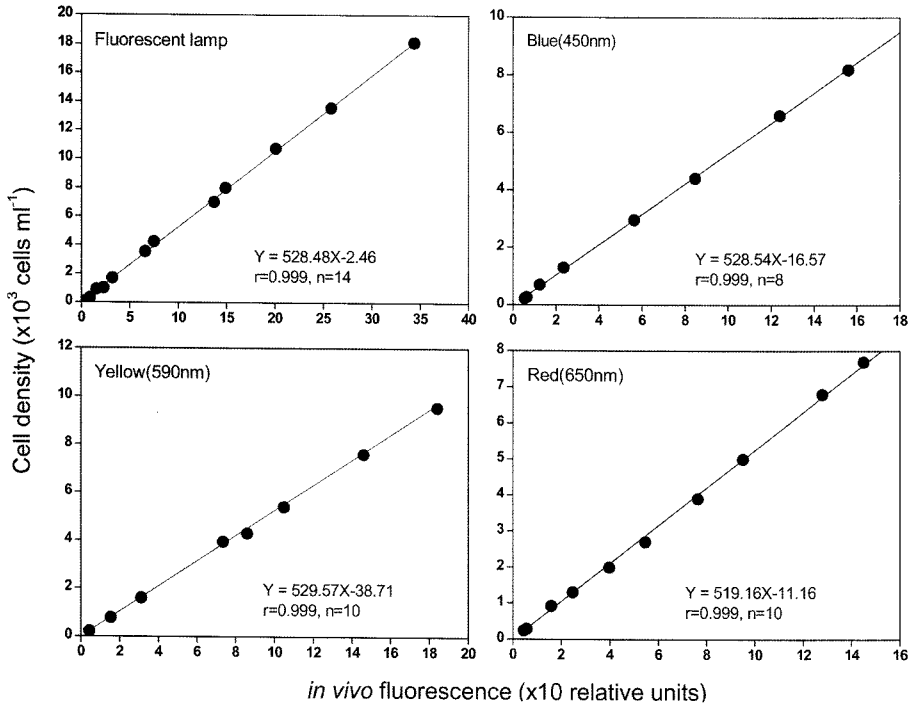


Fig. 1. Relationship between cell density and *in vivo* chlorophyll fluorescence of *Nitzschia* sp.

Tett(1981)의 모델을 개량한 다음 식 (2)을 이용하여 계산하였다.

$$\mu = \mu_m \frac{I - I_0}{(K_I - I_0) + (I - I_0)} \quad (2)$$

- μ : 상대성장속도(specific growth rate; day⁻¹)
- μ_m : 최대성장속도(maximum specific growth rate; day⁻¹)
- I : 광량(irradiance; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- I_0 : 보상광량(compensation photon flux density (PFD); $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- K_I : 반포화광량(half-saturation light intensity; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

하지만 미세조류의 상대성장속도(day⁻¹)는 최적광량에 도달할 때까지 광량에 의존하여 높아지나, 그 이상의 광량에서는 성장속도가 낮아지는 광 저해현상이 일어나는 경우도 있다. 이러한 광저해 현상이 있을 경우는 Steele(1962)식인 식 (3)을 이용하여 계산하였다.

$$\mu = \mu_m \frac{I}{I_{opt}} \exp\left(1 - \frac{I}{I_{opt}}\right) \quad (3)$$

- μ : 상대성장속도(specific growth rate; day⁻¹)
- μ_m : 최대 성장속도(maximum specific growth rate; day⁻¹)
- I : 광량(irradiance; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- I_{opt} : 최적광량(optimum PFD; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
- μ_m : 최대 성장속도(maximum specific growth rate; day⁻¹)

부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 광조건에 따른 인산염 성장 동력학

광량과 파장에 따른 *Nitzschia* sp.의 영양염 성장동력학 특성을 파악하기 위해 광조건 실험과 같이 *in vivo* chlorophyll 형광 값과 세포수의 관계로 평가하였다. 식물플랑크톤에 따른 영양염의 흡수

는 기본적으로 환경수 중의 영양염 농도에 의존하지만, 세포내에 영양염 pool을 가지는 경우 그 pool의 크기에 따라 달라진다(Eppley *et al.*, 1969). 따라서 세포내 인원을 고갈시키기 위하여, 수온 20 °C, 염분 30 psu 그리고 광량 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12L: 12D; cool-white fluorescent lamp; FL400, Kum-Ho, Seoul, Korea)의 조건에서 유지 배양을 한 *Nitzschia* sp.를 인공해수(AK)를 바탕으로 한 인 제한 L1배지에서 7일 동안 전배양(pre-culture)을 수행하였다(Keller *et al.*, 1987; Guillard and Hargraves, 1993). 그리고 세포 생장이 정지할 때까지 배양을 수행하였으며, 인산염이 1, 2, 5, 10, 12, 15, 20 μM 로 조제된 L1 배지를 9 ml 배양튜브(10×100 mm)에 5 ml를 주입하였고, 인원이 제거 된 *Nitzschia* sp.를 최종 세포 밀도가 약 $1 \times 10^2 \text{ cells ml}^{-1}$ 가 되도록 각각 접종하였다. 광 조건은 가시광선 파장 중 대표적인 4개 파장인 복합파장(Fluorescent lamp), 청색파장(450 nm), 황색파장(590 nm), 적색파장(650 nm)에서 실시하였으며, 광량은 20과 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 총 두 단계에서 실시하였다. 그리고 매일 1회 오전 10시에 형광광도계로 *in vivo* chlorophyll 형광 값을 측정하였으며, 성장속도는 대수생장을 보이

Table 1. Comparison of growth kinetic parameters for phosphate of *Nitzschia* sp.

Wavelength (nm)	Irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	μ_{max} (day ⁻¹)	K_s (μM)
Fluorescent lamp		0.26	0.94
Blue(450 nm)	20	0.37	1.14
Yellow(590 nm)		0.05	0.94
Red(650 nm)		0.21	0.51
Fluorescent lamp		0.60	0.90
Blue(450 nm)	100	0.80	0.89
Yellow(590 nm)		0.22	1.17
Red(650 nm)		0.60	0.90

는 기간 동안의 형광 값을 이용하여 식 (1)에 의해 계산하였다. 성장속도와 영양염의 관계는 Monod 식에 대입하여 농도 의존성을 정량적으로 파악하였다(Dugdale, 1967). 그리고 변수 값을 구하여진 실험값을 식 (4)에 대입하여 비선형최소자승법으로 계산하였다(Abe, 1985).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (4)$$

μ_{\max} : 최대 성장속도(maximum specific growth rate; day⁻¹)
 K_s : 반포화상수(half-saturation constant; μM)
 S : 영양염 농도(nutrient concentration; μM)

결 과

광조건에 따른 부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장속도 변화
 복수 파장에서 *Nitzschia* sp.의 세포밀도는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 초기 세포밀도와 유사한 약 $2 \times 10^2 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 변화가 없었으며, 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 까지는 광량이 증가함에 따라 최대세포밀도도 증가하였다(Fig. 2). 하지만 더 높은 광량에서는 광량의 증가에 따라 최대세포밀도는 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 성장속도는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광 조건에서 생장이 0.07 day⁻¹로 미약하였으며, 더 높은 광 조건에서는 광량의 증가에 따라 성장속도가 증가하였다(Fig. 3). 광 조건에 의해 유도된 성장식에 따라 μ_m 은 0.60 day⁻¹, I_0 는 5.59 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, K 는 55.4 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났다(Fig. 3).

적색파장에서 *Nitzschia* sp.의 세포밀도는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 초기 세포밀도와 거의 유사한 약 $0.3 \times 10^2 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 변화가 없었으며, 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 까지는 광량이 증가함에 따라 증가하였다(Fig. 2). 하지만 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서는 최대세포밀도가 약 $5 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 나타나 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 성장속도는 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 까지 광량의 증가에 따라 성장속도가 증가하였으며(Fig. 3), 그 이상의 광 조건에서는 광량이 증가 할수록 성장속도가 감소하는 광 저해 현상이 보였다(Fig. 3). 광 조건에 의해 유도된 성장식에 따라 μ_m 은 0.89 day⁻¹, I_{0pt} 는 127.19 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났다(Fig. 3).

적색파장에서 *Nitzschia* sp.의 세포밀도는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 초기 세포밀도와 거의 유사한 약 $2 \times 10^2 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 변화가 없었으며, 그 이상의 광 조건에서는 광량이 증가함에 따라 최대세포밀도는 증가하였다(Fig. 2). 성장속도는 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 광 조건에서 생장이 0.05 day⁻¹로 미약하게 생장을 하였지만, 그 이상의 광 조건에서는 광량의 증가에 따라 성장속도가 증가하였다(Fig. 3). 광 조건에 의해 유도된 성장식에 따라 μ_m 은 0.84 day⁻¹, I_0 는 4.01 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, K 는 120.98 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났다(Fig. 3).

황색파장에서 *Nitzschia* sp.의 세포밀도는 10과 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 초기 세포밀도와 거의 유사한 약 $2 \times 10^2 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 변화가 없었으며, 그 이상의 광 조건에서는 광량의 증가에 따라 최대세포밀도는 증가하였다(Fig. 2). 성장속도는 10과 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광 조건에서 0.02-0.04 day⁻¹로 미약하게 생장을 하였지만, 그 이상의 광 조건에서는 광량의 증가에 따라 성장속도가 증

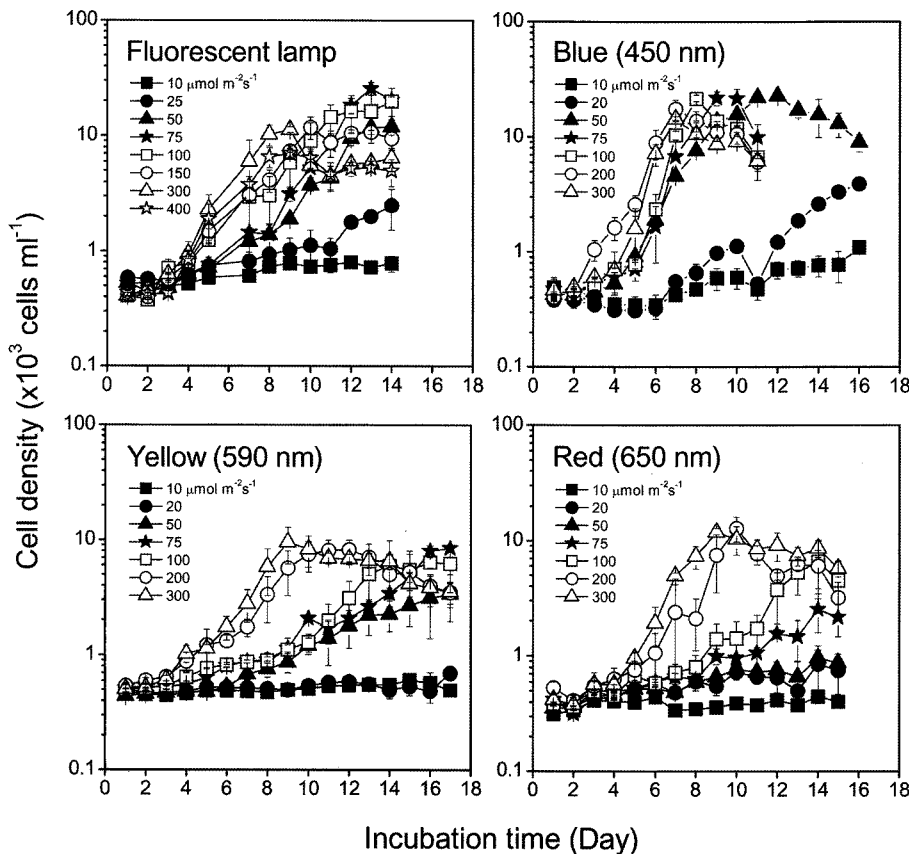


Fig. 2. Growth curves of *Nitzschia* sp. grown at various irradiance (12L: 12D light cycle) and wavelengths. Error bars indicate standard deviation (n=3). Temperature: 20 °C, salinity: 30 psu.

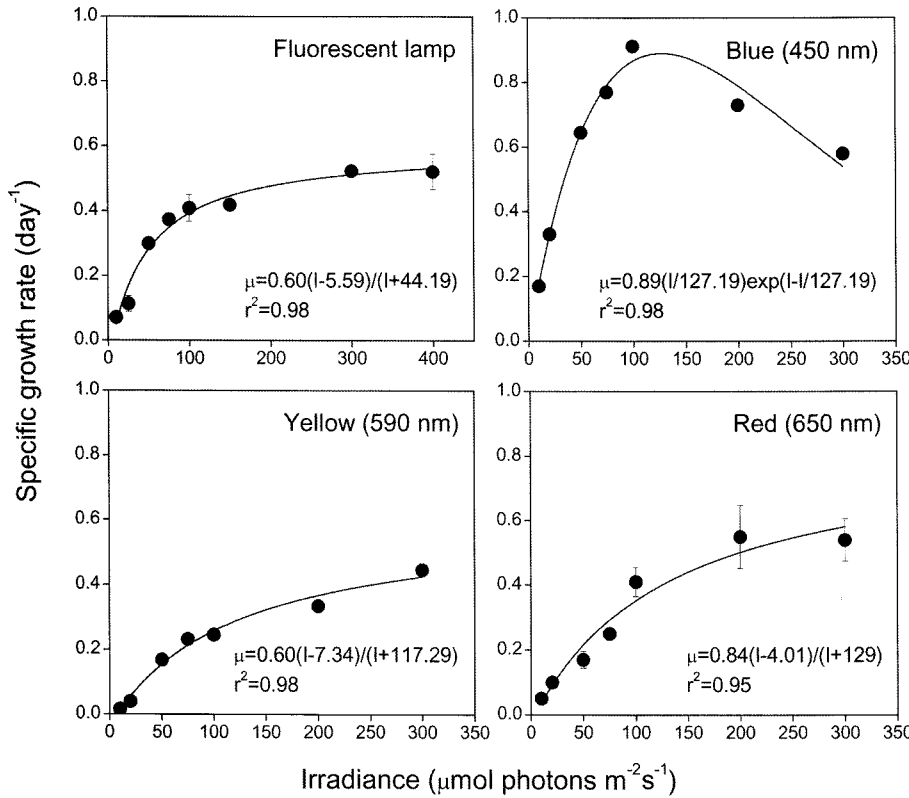


Fig. 3. Specific growth rate of *Nitzschia* sp. according to the light intensity of blue (450 nm), yellow (590 nm), red (650 nm) and cool-white fluorescent light. Error bars indicate standard deviation(n=3).

가하였다(Fig. 3). 광 조건에 의해 유도된 성장식에 따라 μ_{max} 은 0.60 day⁻¹, I_0 는 7.34 μmol photons m⁻² s⁻¹, K_I 는 131.97 μmol photons m⁻² s⁻¹로 나타났다(Fig. 3).

부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 광조건에 따른 인산염 성장 동력학

복수파장에서 인산염의 농도에 따른 *Nitzschia* sp.의 성장속도는 20 μmol photons m⁻² s⁻¹의 광량에서 인산염 농도가 5 μM까지 증가할수록 성장속도도 증가하였으며(0.12~0.25 day⁻¹; Fig. 4), 5 μM 이상의 농도에서는 비슷한 성장속도를 보였다. 인산염 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu = 0.26S/(0.94+S)$ ($r^2 = 0.94$)로, μ_{max} 는 0.26 day⁻¹, K_S 는 0.94 μM로 나타났다(Fig. 4). 100 μmol photons m⁻² s⁻¹의 광량에서는 15 μM 까지 인산염농도가 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.34~0.59 day⁻¹; Fig. 4), 그 이상의 농도에서는 비슷한 성장속도를 보였다. 인산염의 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu = 0.60S/(0.90+S)$ ($r^2 = 0.95$)로 μ_{max} 는 0.60 day⁻¹, K_S 는 0.90 μM로 나타났다(Fig. 4).

청색 파장에서 *Nitzschia* sp.는 20 μmol photons m⁻² s⁻¹의 광량에서 인산염 농도가 5 μM까지 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.19~0.37 day⁻¹; Fig. 4), 인산염 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu = 0.37S/(1.14+S)$ ($r^2 = 0.94$)로, μ_{max} 는 0.37 day⁻¹, K_S 는 1.14 μM로 나타났다(Table 2). 100 μmol photons m⁻² s⁻¹의 광량에서는 인산염 농도가 10 μM까지 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.41~0.82 day⁻¹; Fig. 4), 인산염의 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu = 0.80S/(0.89+S)$ ($r^2 = 0.92$)로 μ_{max} 는 0.80 day⁻¹, K_S 는 0.89 μM로 나타났다(Fig. 4).

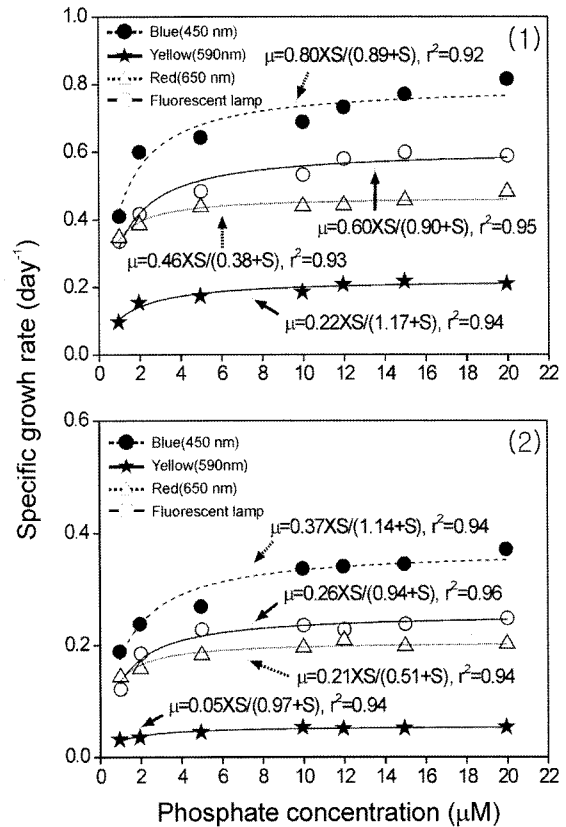


Fig. 4. Specific growth rate of *Nitzschia* sp. according to the phosphate concentration of blue (450 nm), yellow (590 nm), red (650 nm) and cool-white fluorescent lamp ((1): 100 μmol photons m⁻² s⁻¹, (2): 20 μmol photons m⁻² s⁻¹).

적색과장에서 *Nitzschia* sp.는 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광량에서 인산염 농도가 10 μM 까지 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.14~0.20 day^{-1} ; Fig. 4), 인산염 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu=0.21S/(0.51+S)$ ($r^2=0.94$)로, μ_{max} 는 0.21 day^{-1} , K_s 는 0.51 μM 로 나타났다(Fig. 4). 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광량에서는 인산염 농도가 10 μM 까지 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.35~0.48 day^{-1} ; Fig. 4), 인산염의 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu=0.60S/(0.90+S)$ ($r^2=0.95$)로 μ_{max} 는 0.60 day^{-1} , K_s 는 0.90 μM 로 나타났다(Fig. 4).

황색과장에서 *Nitzschia* sp.는 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광량에서 인산염 농도에 따라 비슷한 성장속도를 보였으며(0.03~0.05 day^{-1} ; Fig. 4), 인산염 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu=0.05S/(0.94+S)$ ($r^2=0.94$)로, μ_{max} 는 0.05 day^{-1} , K_s 는 0.94 μM 로 나타났다(Fig. 4). 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 광량에서는 인산염농도가 5 μM 까지 증가할수록 성장속도 또한 증가하였으며(0.09~0.20 day^{-1} ; Fig. 4), 인산염의 조건에 따라 유도된 성장식은 $\mu=0.22S/(1.17+S)$ ($r^2=0.95$)로 μ_{max} 는 0.22 day^{-1} , K_s 는 1.17 μM 로 나타났다(Fig. 4).

고찰

광 조건에 따른 부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장속도 변화

본 실험 결과 *Nitzschia* sp.는 복합과장(형광램프), 청색과장(450 nm), 황색과장(590 nm)에서 광량이 증가 할수록 성장속도 또한 증가하였다. 하지만 청색과장 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상 광량에서 성장속도가 감소하는 광 저해 현상이 나타났다. 또한 높은 광량에서 최대세포밀도 감소는 청색과장뿐만 아니라 복합과장에서 나타났었다. Hiroshima만의 퇴적물(수심 약 10 m)에서 분리한 *Nitzschia* sp.는 복합과장에서 최대성장속도가 보이는 광량은 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이었지만, 400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상에서는 성장하지 않았다(Yamamoto *et al.*, 2004). 또한 일본 Hakoziaki만에서 분리된 *Nitzschia* sp.는 청색과장과 복합과장 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상에서 광 저해 현상이 나타났다. 진해만에서 분리된 *Nitzschia* sp.는 동일 속이지만, 광 저해현상이 일본에서 분리한 두 *Nitzschia* sp.보다는 크지 않았다. 이와 같은 결과는 일부 미세조류에서도 보고된 것과 같이 분리된 해역에 따라 나타나는 생리적인 특성의 차이로(노 등, 2006; Gallagher, 1982), 일본의 *Nitzschia* sp.는 비교적 깊은 수심(약 10 m)의 낮은 광원에서 성장하였지만, 진해만 *Nitzschia* sp.는 수심 3 m로 비교적 높은 광원(여름 평균 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)에 노출되어 광 저해현상이 일본의 *Nitzschia* sp.보다 낮은 것으로 보인다.

외양해역에서 광 저해현상의 50%가 390 nm~430 nm이하에서 발견되어, 광 저해현상을 일으키는 파장은 자외선과 가시광선이 각각 절반정도 비율을 차지한다(Smith and Baker, 1980). 하지만, 연안해역과 같이 부유물질이 많은 경우, UV의 대부분이 부유물질에 흡수되기에 광 저해현상은 가시광선에서 주로 발생하는 것으로 알려져 있다(Koblents-Mishke, 1979). 만약 가시광선대에서 광 저해현상이 있다면, UV와 가까운 짧은 파장과 에너지가 높은 보라색 및 청색과장에서 주로 발생할 것으로 보이며, 본 실험 결과는 이를 잘 반영하고 있다. 따라서 *Nitzschia* sp.는 낮은 광량의 청색과장에 적응되어 있어, 같은 광량이라도 다른 파장대보다 효

율적으로 광합성에 이용하여 성장속도가 촉진되지만, 높은 광량에서는 광합성의 명반응을 방해하여 성장효율이 저하될 것으로 보인다. 하지만 일본 Fukuoka현의 Hakoziaki만 수심 3 m의 퇴적물에서 분리한 원종의 광흡수스펙트럼 분석(Quantitative Filter Technique에 따라 분석)은 청색 파장에서 높은 흡수계수를 보이거나, 녹색 및 적색 파장에서도 다른 부유생물 보다 잘 흡수하는 것이 나타나(오 등 2007), 안테나 복합체에 작용중심으로 전달할 수 있는 주색소 뿐만 아니라 보조색소도 다른 부유생물보다 잘 발달되어 있는 것으로 보인다. 따라서 황색 및 적색 파장의 높은 광량에서도 광저해현상이 발생할 가능성이 있을 것으로 생각된다.

한편, 복합과장에서 진해만 *Nitzschia* sp.의 I_0 와 K_d 에 해당하는 수심을 Lambert-beer식($I_z=I_0e^{-kz}$; I_z 은 수심 z 에서의 광량, I_0 는 해면에서 광량, z 는 수심, k 는 빛의 소산계수; Nybakken and Bertness, 2004)에 대입하여 간접적으로 알아보았다. 이때 소산계수(extinction coefficient)는 박 등(2001)이 1998년 3월부터 9월까지 매월 1회씩 측정된 총 수직소산계수를 이용하였으며, 표층광량은 기상청에서 발표한 기상월보 중 진해만과 가장 가까운 진주 지상관측지점의 일별 수평면 일사량을 이용하였다(기상청, 2007-2008). 수평면 일사량 단위는 MJ m^{-2} 이기에 본 연구에서 사용한 광량 단위 환산할 필요가 있다. 광합성에 이용하는 약 400-700 nm의 파장에서 일사량과 광량 사이에서 $1 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}=2 \times 10^{-1} \text{ J m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Nishikawa and Yamaguchi, 2006)의 관계가 있어 환산이 가능하며, 해수면에 입사광은 반사 등에 따라 15%가 광합성 유효 파장으로 해수면에 입사한다고 가정 하였다(Nishikawa *et al.*, 2002). 해수면에 입사된 조도는 전형적인 온대해역의 특성에 따라서 계절적인 변화를 보였다. I_0 에 해당하는 수심은 3월에서 4월까지 5-7 m, 5월에서 6월까지 8-10 m, 그리고 7월에서 9월은 약 4 m 수준으로 나타나 계절적인 변화에 따라서 I_0 에 해당하는 수심이 달라졌으며, 비교적 소산계수가 높았던 7월과 8월 그리고 9월의 I_0 에 해당하는 수심이 낮게 나타났다(Fig. 5). 진해만 중앙부의 평균 수심은 20 m 이지만, 연안쪽(부도와 잠도 서편)은 평균 10 m 내외로 저층까지도 다른 성장 제한 요소가 없다면 충분히 성장 가능할 것으로 보이나, 하계에 나타나는 높은 부유물질은 소산계수

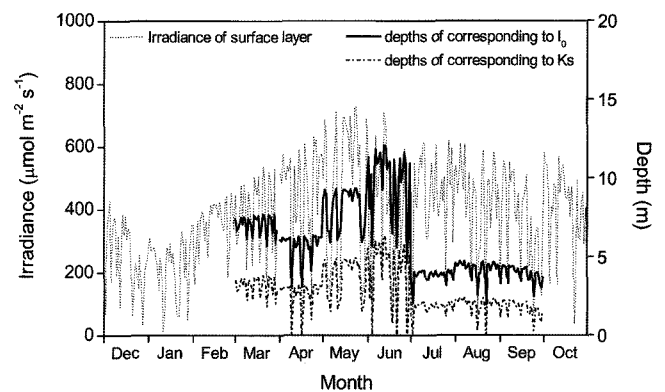


Fig. 5. Change of irradiance and depth of corresponding to I_0 and K_d of *Nitzschia* sp. from March 2007 to September 2008. The irradiance was calculated using horizontal surface radiation in surface synoptic station of Jinju from December 2007 to October 2008. This data was cited from "Monthly Weather Report" in Korea Meteorological Administration.

를 높여서 이들의 생장에 제한 요소로 작용할 것으로 생각된다. 그리고 K_s 에 해당하는 수심은 3 m 전후 수심이나, $150 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 광량에서는 세포밀도에 대한 광 저해 현상을 보여, 최대 생장을 보일 수 있는 수심 층은 극히 제한될 것으로 사료된다. 따라서 부영양화가 진행된 진해만과 같은 해역에서는 부유물질에 따른 광 투과율이 *Nitzschia* sp.의 생장에 크게 영향을 미칠 수 있는 제한요인으로 작용 할 것으로 보인다.

부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 광 조건에 따른 인산염 성장 동력학

각각의 파장에서 광량이 높고, 인산염 농도가 높을수록 *Nitzschia* sp.의 성장속도는 높았으며(Fig. 4), 특히, 영양염 농도와 광량이 같은 조건이었을 때 청색파장이 다른 파장보다 높은 성장속도를 보였다. 이는 영양염이 제한인자로 작용하지 않는 환경이라도 파장에 따라 *Nitzschia* sp.의 생장이 제한되거나 촉진될 가능성이 있음을 시사한다. K_s 는 제한 영양염에 대한 친화성을 나타내는 기준으로(Dugdale, 1967), K_s 가 높을수록 영양염에 대한 친화성이 낮고, 세포크기가 큰 종이 대략 높은 K_s 를 보인다(Epply et al., 1969). 인산염 성장 동력학 실험결과 북서파장에서 *Nitzschia* sp.에 대한 K_s ($0.90 \mu\text{M}$)는 우리나라 연안에서 연중 출현하고 있는 부유성 규조류 *Skeletonema costatum*($0.32 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종), *Thalassiosira* sp.($0.23 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종), *Chaetoceros didymus*($0.09 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종), *Ditylum brightwellii*($0.16 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종)보다 높았으며, 진해만에서도 어류폐사의 원인종인 *Karenia mikimotoi*($0.14 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종), 신경성 독성을 지닌 *Gymnodinium breve*($0.18 \mu\text{M}$; 미국 Florida 원종), 침편모조류 *Chattonella antiqua*($0.29 \mu\text{M}$; 일본 Hiroshima 만 원종)보다도 높았다(Vargo and Howard-Shanblott, 1990; 山口, 1994). 앞서서도 기술하였듯이 분리된 해역에 따라 종의 생리적인 현상이 변화하지만, 일본 Fukuoka 연안역의 퇴적물에서 분리한 *Nitzschia* sp.의 인산염 흡수 동력학 실험결과에 따른 K_s 값은 부유성 규조류보다 통상 100배 높았던 점과 비교하여도(오, 2008), 부착미세조류가 부유성 미세조류 보다 인산염에 대한 친화성이 낮아, *Nitzschia* sp.가 극도로 높은 인산염 환경에 적응되어 있다는 것을 알 수 있다.

Sommer(1989)는 영양염 단계 및 섭취 전략을 2가지로 제시하였는데, 첫 번째는 흡수한 영양염을 바로 흡수하여 생장에 이용하는 성장전략(growth strategist)이며, 두 번째는 흡수한 영양염을 생장에 바로 이용하지 않고 세포내에 저장하는 저장전략(storage strategist)이다. 영양염에 대한 K_s 가 낮은 종은 성장전략에 해당되며, 세포내 영양염 함유량이 높은 종은 저장전략에 해당된다. 따라서 *Nitzschia* sp.의 높은 K_s 는 성장전략보다 저장전략을 가지는 것으로 보이며, 세포내 축적이 높음에 따라서 환경수 중의 영양염 변동에 크게 영향을 받지 않고 성장할 수 있을 것으로 보인다.

생물적 환경정화를 위한 부착미세조류 *Nitzschia* sp.의 이용 진해만은 육지의 부하량이 높아 유기물은 부유물질에 흡착하여 퇴적되나, 퇴적물 내의 물질 이동은 분자확산 수준에 머물기 때문에 유기물 분해에 필요한 산소의 공급은 매우 제한적이다. 따라서 분해효율이 낮은 혐기성 분해가 지배가 되기 때문에, 분해를 위해

서는 많은 시간이 필요하다. 더욱이 표층의 기초생산이 높기 때문에 투명도 감소에 따라 저층으로 입사하는 광량은 제한된다. 그로 인하여 부착미세조류의 생장은 크게 억제되기에 환원적인 환경을 산화환경으로 전환시키지 못하여 빈산소화 및 부영양화는 더욱 가속화된다. Yamamoto et al.(2007)은 이러한 해역의 생태계의 회복은 육원 부하량의 삭감만으로 해결할 수 없기 때문에 저질 자체의 적극적인 개선이 필요하다고 하였다. 좁은 해역이라면 준설 및 복사 또는 생물의 기능을 이용한 저질 개선도 가능할지 모르나, 준설 및 복사는 저서생태계 파괴 등의 제 2차 환경문제를 발생시킬 우려가 있기 때문에 친환경적인 복원이 필요하다(오 등, 2007).

이러한 환경은 미세조류의 생장에 부적합한 환경으로, 대량으로 배양시킨 부착미세조류를 살포하여도 바로 폐사하여 제 2차 오염을 발생시킬 수도 있다. 그래서 Fukami et al.(2002)는 optical fiber를 이용하여 태양 에너지를 저층에 인위적으로 도달하게 하여 부착미세조류에 의한 빈산소 수괴 해결의 가능성을 제시하였다. Ruangdej and Fukami(2004)는 저층에 할로겐램프를 투입하여 20일간 조사한 결과, 기초 생산력과 용존산소가 증가하는 것을 보고 하였다. 이를 더욱 개선하여, 오 등(2007)은 발광다이오드를 이용하여 저층에 특정 파장을 주사함으로써 미세조류의 파장에 따른 성장특이성을 이용하여 저층환경을 개선을 하는 방안을 제시하였다. 본 영양염 성장 동력학 실험결과 얻어진 *Nitzschia* sp.의 K_s 값을 고려할 때 모든 파장대에서 영양염 이용성 측면에는 큰 차이가 없었다. 따라서 저층에 특정 파장(성장 촉진효과를 보인 청색 파장 등)을 주사함으로써 *Nitzschia* sp.의 성장을 촉진시켜 부영양화 된 저질의 영양염을 효과적으로 제거할 수 있을 것으로 보이며, 이에 따라 빈산소문제도 해소할 수 있어 생물적 환경정화에 유용한 대상 종으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2006년도 학술진흥재단의 지원(KRF-2006-353-C00060)과 2007년 교육인적자원부의 국립대학(부경대학교 해양과학공동연구소) 운영비 지원에 따라 수행된 연구로 지원기관에 감사를 표한다.

참고문헌

- 기상청. 2006-2007. 기상월보.
 노일현, 윤양호, 김대일, 오석진, 2006. 가막만에서 분리한 유해성 침편모조류 *Chattonella marina* (Subrahmanyn) Hara et Chihara (Raphidophyceae)의 성장에 미치는 수온, 염분 및 빛의 영향. 한국수산학회지, **39**: 487-494.
 오석진, 박달수, 양한섭, 윤양호, 2007. 발광다이오드(LED)를 이용한 저서미세조류의 성장촉진에 의한 오염해역 저지환경개선 1. 저서규조류 *Nitzschia* sp. 성장에 영향을 미치는 광량과 파장. 해양환경공학회지, **10**: 93-101.
 오석진, 2008. 저질 환경 개선을 위한 *Nitzschia* sp.의 영양염 흡수 동력학. 한국수산학회지, **41**: 301-304.
 오석진, 윤양호, 山本民次, 양한섭 2009. 실내 배양시 부착기질 크기에 따른 저서성 미세조류 *Nitzschia* sp.의 성장 특성. 한국해양환경공학회지, **12**: 91-95.

- 박종규, 허성희, 정해진, 2001. 진해만의 식물플랑크톤: I. 광 환경에 따른 광합성 특성과 일차생산력. 한국조류학회지(Algae), **16**: 189-196.
- 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.
- Brotas, V. and F. Catarino, 1995. Microphytobenthos primary production of Tagues estuary intertidal flats (Portugal). *Net. J. Aquat. Ecol.*, **29**: 333-339.
- Decho, A.W., 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments. Their role(s) in foodwebs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **28**: 73-153.
- Dugdale, R.C., 1967. Nutrient limitation in the sea: dynamic, identification, and significance. *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 685-695.
- Epply, R.W., J.N. Roger and J.J. McCarthy, 1969. Half saturation constants for uptake of nitrate and ammonium by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **14**: 912-920.
- Fukami, K., N. Murata, Y. Morio and T. Nishijima, 2002. Improvement of eutrophic coastal bottom environments by using an optical fiber and effective psychrophilic bacteria. *Fish. Sci.*, **68**: 617-620.
- Gallagher, J. C., 1982. Physiological variation and electrophoretic banding patterns of genetically different seasonal populations of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. phycol.*, **18**: 148-162.
- Guillard, R.R.L. and D. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* **8**: 229-239.
- Guillard, R.R.L. and P.E. Hargraves, 1993. *Strichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia*, **32**: 234-236.
- 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.
- Koblents-Mishke, O.I., 1979, Photosynthesis of marine phytoplankton as a function of underwater irradiance. *Soviet Plant Physiol.*, **26**: 737-746.
- Lederman, T.C. and P. Tett, 1981. Problems in modeling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton. *Bot. Mar.*, **24**: 125-134.
- Nishikawa, T., K. Miyahara and S. Nagai, 2002. The growth response of *Coscinodiscus wailesii* Gran (Bacillariophyceae) as a function of irradiance isolated from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. *Bulletin of Plankton Society of Japan* **49**: 1-8.
- Nishikawa, T. and M. Yamaguchi, 2006. Effect of temperature on light-limited growth of the harmful diatom *Eucampia zodiacus* Ehrenberg, a causative organism in the discoloration of *Porphyra thalli*. *Harmful Algae*, **5**: 141-147.
- Nybakken J.W. and M.D. Bertness, 2004. Marine biology: An ecological approach, 6th ed. Benjamin Cummings, NY, 592 pp.
- Paterson, D.M., 1989, Short-term change in the erodibility of intertidal cohesive sediments related to the migratory behaviour or epipellic diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, **34**: 223-234.
- Ruangdej, U. and K. Fukami, 2004. Stimulation of photosynthesis and consequent oxygen production in anoxic bottom water by supply of low-intensity light through an optical fiber. *Fish. Sci.*, **70**: 421-429.
- Smith, D.J and G.J.C. Underwood, 1988. Exopolymer production by intertidal epipellic diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, **43**: 1578-1591.
- Smith, R.C. and K.S. Baker, 1980. Biologically effective dose transmitted by culture bottles in ¹⁴C productivity measurements. *Limnol. Oceanogr.*, **25**: 364-366.
- Steele, J.H., 1962. Environmental control of photosynthesis in sea. *Limnol. Oceanogr.*, **7**: 137-150.
- Sommer, U., 1989. The role of competition for resources in phytoplankton succession. In: *Plankton Ecology*, edited by Sommer, U., Springer-Verlag, Berlin, pp. 57-106.
- Yamamoto, T., S.J. Oh and I. Goto, 2004. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of microphytobenthos *Nitzschia* sp. *Jpn. J. Phycol. (Sru)*, **52**: 5-11.
- Yamamoto, T., I. Goto, O. Kawaguchi, K. Minagawa, E. Ariyoshi and O. Matsuda, 2007. Phytoremediation of shallow organically enriched marine sediments using benthic microalgae. *Mar. Poll. Bull.*, **57**: 108-115.
- Vargo, G.A. and D. Howard-Hamblott, 1990. Phosphorus dynamics in *Ptychodiscus brevis*: Cellphosphorus, uptake and growth requirements. In: *Toxic Marine Phytoplankton*, Proc. 4th Int. Conf., Elsevier, New York, pp. 324-329.
- 山口峰生, 松山幸彦, 1994. 珪素類における養の利用特性及び *Chattonella*との養競合. 有害赤潮の生態的制御による被害防止技術の開にする究報告書, 77-91.

2009년 4월 13일 원고접수

2009년 9월 29일 수정본 채택

담당편집위원: 이준백