

Lugol's Iodine Solution 첨가 후 보존 기간별 남조류 세포부피 변화 및 수축비를 이용한 생세포 부피 산정

박혜경** · 이현재* · 이해진* · 신리영**

*국립환경과학원 낙동강물환경연구소

**대구대학교 생물교육전공

Effect of Lugol's Iodine Preservation on Cyanobacterial Biovolume and Estimate of Live Cell Biovolume Using Shrinkage Ratio

Hae-Kyung Park** · Hyeon-Je Lee* · Hae-Jin Lee* · Ra-Young Shin**

*Nakdong River Environment Research Center, National Institute of Environmental Research

**Department of Biology Education, Daegu University

(Received 12 April 2018, Revised 8 June 2018, Accepted 12 June 2018)

Abstract

The monitoring of phytoplankton biomass and community structure is essential as a first step to control the harmful cyanobacterial blooms in freshwater systems, such as seen in rivers and lakes, due to the process of eutrophication and climate change. In order to quantify the biomass of phytoplankton with a wide range in size and shape, the measurement of cell biovolume along with cell density is required for a comprehensive review on this issue. However, most routine monitoring programs preserve the gathered phytoplankton samples before analysis using chemical additives, because of the constraint of time and the number of samples. The purpose of this study was to investigate the cell biovolume change characteristics of six cyanobacterial species, which are common bloom-causing cyanobacteria in the Nakdong River, after the preservation with Lugol's iodine solution. All species showed a statistically significant difference after the addition of Lugol's iodine solution compared to the live cell biovolume, and the cell biovolume decreased to the level of 34.0~56.3% at maximum in each species after the preservation. The nonlinear regression models for determining the shrinkage ratio by a preservation period were derived by using the cell biovolume measured until 180 days preservation of each target species, and the equation to convert the cell biovolume measured after preservation for a certain period to the cell biovolume of viable cell was derived using that formula. The conversion equation derived from this study can be used to estimate the actual cell biovolume in the natural environment at the time of sampling, by using the measured biovolume after the preservation in the phytoplankton monitoring. Moreover this is expected to contribute to the final interpretation of the water quality and aquatic ecosystem impacts due to the cyanobacterial blooms.

Key words : Cell biovolume, Cyanobacteria, Lugol's iodine solution, Preservation, Shrinkage

1. Introduction

녹조(Harmful Cyanobacterial Blooms)는 하천, 호수 및 연안과 같은 지표수에서 영양염류의 농도가 높아지는 부영양화에 따라 특정 남조류가 대량 발생하는 현상을 일컫으며, 전 지구적으로 갈수기간의 증가, 기온과 수온의 상승과 같은 기후변화 현상과 맞물려 세계 각국의 지표수에서 빈번히 발생되어 큰 이슈가 되고 있다(O'Neil et al., 2012; Paerl and Otten, 2013; Yan et al., 2017). 우리나라에서도 20세기

후반부터 부영양화된 호수에서 녹조현상이 보고되기 시작하여 최근에는 하천에서도 녹조현상이 빈번히 발생하고 있으며, 이런 녹조현상으로 다양한 이수장해 문제가 제기되고 있다(Choi et al., 2013; Park et al., 2015; Ryu et al., 2016).

녹조 문제 해결을 위해서는 그 첫 단계로 조류발생 현황 파악을 위한 조류모니터링이 반드시 필요하다. 대부분의 상수원수를 호수나 하천과 같은 지표수에 의존하고 있는 우리나라는 녹조에 의한 정수처리 기능 저하 및 일부 남조류의 독성유발 가능성에 따라 조류발생 상황을 사전에 관계기관 등에 신속하게 전파하여 취·정수장의 정수처리 강화 등 대응조치를 통해 조류발생으로 인한 피해를 최소화하고 먹는물의 안전성을 확보하기 위한 제도로 1998년부터 주요 상수원 호수와 하천을 대상으로 조류경보제를 시행하고 있으며, 경보 기준 지표항목으로 남조류 세포밀도(cell density)

* To whom correspondence should be addressed.
parkhknier@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

를 모니터링하고 있다(Park et al., 2015). 그런데 실제 다양한 남조류는 종에 따라 세포 크기가 다르고 따라서 경보기준 설정의 근간이 되는 남조류 독소와 같은 유해물질의 세포내 함량도 다를 수 있다. 즉 세포 크기가 다른 다양한 종의 현존량을 mL당 세포개수로 표현하는 세포밀도보다 각 종별 세포크기가 반영된 세포부피(cell biovolume)를 모니터링 기준으로 적용할 필요가 있다. WHO와 스코틀랜드, 호주 등의 조류경보제에서 남조류의 세포밀도와 함께 세포부피가 발령기준으로 사용되고 있어 보다 정확한 조류현존량 파악과 위해성 평가를 위해 우리나라에서도 세포부피 기준의 도입이 조속히 필요할 것으로 생각된다. 뿐만 아니라 수생태계 먹이망의 에너지 흐름, 물질 순환 등의 연구에서 조류의 세포밀도보다는 세포부피가 더 좋은 추정치로 알려져 왔다(Chitari and Anil, 2017; Montagnes et al., 1994).

그런데, 조류의 세포부피를 측정하기 위해서는 현미경 시야에서 특정 형태의 부피 산정을 위한 세포지름, 세포길이와 폭 등의 단위 크기를 측정한 후 각 형태별 기하학 모델을 이용해 계산해야 하므로 상당한 시간이 소요된다. 따라서 현장 시료의 조류 모니터링에서 대부분의 경우 채수 직후 즉시 분석이 불가능하기 때문에 조류의 증식 및 파괴를 막기 위해 화학 보존제를 사용하여 보존처리한 뒤 시간을 두고 분석한다. 그러나 이런 보존 처리는 조류 세포부피의 수축 또는 팽창과 같은 변화를 초래하여 보존 처리 후 측정된 세포부피는 자연상태의 조류현존량을 적절히 반영할 수 없는 것이 알려져 왔다(Chaput and Carrias, 2002; Fiocca et al., 2014; Yang et al., 2017; Zarauz and Irigoien, 2008).

따라서 본 연구에서는 낙동강에서 출현하는 대표적인 녹조원인 남조류를 대상으로 가장 일반적으로 사용되고 있는 보존제인 루골용액(Lugol's iodine solution)(Eaton et al., 2005; Fiocca et al., 2014; Hawkins et al., 2005; Thronsen, 1978; Zarauz and Irigoien, 2008) 으로 보존처리한 후 보존 처리 기간에 따른 세포부피를 측정하여 각 대상 종별 세포

부피 변화 특성을 조사하였다. 또한 각 대상 종별 보존기간에 따른 세포부피 수축 모델을 유도하여, 일정 기간 루골용액으로 보존 후 측정된 세포부피를 생세포의 세포부피로 변환하는 관계식을 도출하였다. 본 연구에서 도출된 관계식은 조류모니터링에서 보존처리 후 측정된 결과를 이용하여 녹조 발생시 자연상태에서의 실제 세포부피를 추정하는데 활용될 수 있으며, 녹조에 따른 수질 및 수생태계 영향 등을 해석하는데 실질적인 기여를 할 수 있을 것으로 기대된다.

2. Materials and Methods

2.1 대상 남조류

본 연구의 대상 남조류는 낙동강에서 빈번히 출현하여 대량 번성하는 남조류 3속 6종, *Dolichospermum flos-aquae* (Brébisson ex Bornet et Flahault) Wacklin et al., 2009 (*D. flos-aquae*), *Dolichospermum smithii* (Komárek) Wacklin et al., 2009 (*D. smithii*), *Dolichospermum crassum* (Lemmermann) Wacklin et al., 2009 (*D. crassum*), *Aphnizomenon flos-aquae* Ralf ex Bornet et Flahault, 1888 (*A. flos-aquae*), *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger, 1846 (*M. aeruginosa*), *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek in Kondratieva, 1968 (*M. wesenbergii*)을 선정하였다(Fig. 1).

2.2 분석방법

남조류 시료 채취를 위해 낙동강 본류의 낙단보에서 함안보 구간에서 2015년 10월부터 2016년 1월까지 총 8회 식물플랑크톤 네트를 이용해 표층수를 여과하여 조체를 채취하였다. 채취한 시료는 냉장상태로 즉시 실험실로 운반 후 생 시료 분석을 위한 시료를 제외한 나머지 시료를 루골용액을 0.3%농도(v/v)로 첨가하여 보존처리하였다(Eaton et al., 2005).

남조류의 세포부피 측정을 위해 현미경 하(ZEISS M1)에서

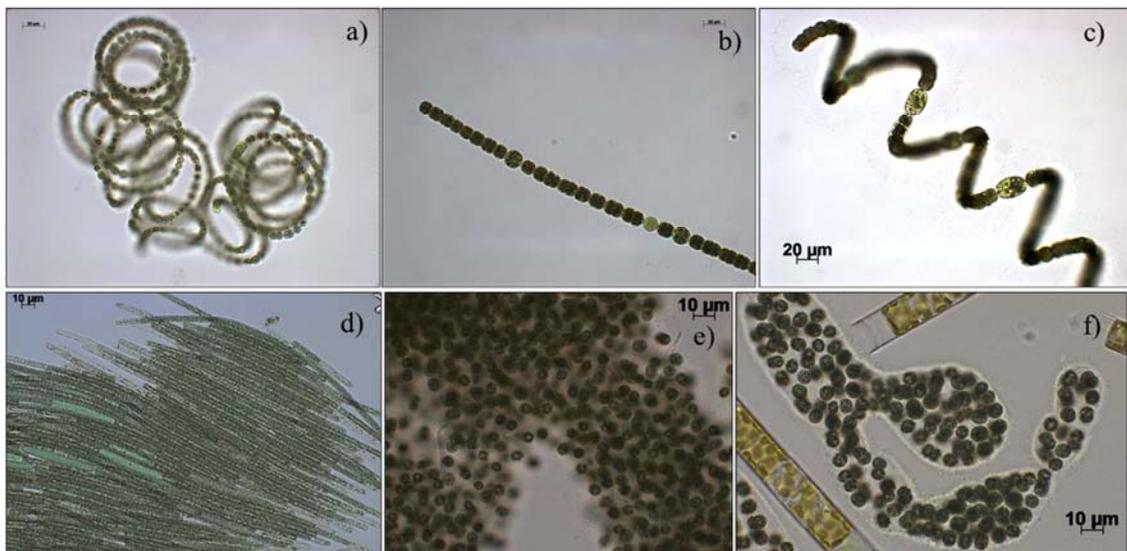


Fig. 1. The microphotograph of the target cyanobacterial species from the Nakdong River (live cells); a) *D. flos-aquae*, b) *D. smithii*, c) *D. crassum*, d) *A. flos-aquae*, e) *M. aeruginosa*, f) *M. wesenbergii*.

이미지 분석장치(AxioCam HRc, AxioVision version 4.8.2)를 사용하여 각 남조류 종별 세포 사진을 촬영하고 각 세포의 단위 크기를 측정하였다. 루골용액 첨가 후 보존 기간에 따른 세포부피의 변화를 측정하기 위해 채취 후 고정하지 않은 생시료(0일), 루골용액 첨가 후 0.5일(Lugol 용액 첨가 후 12시간 이내 측정), 2일, 7일, 14일, 28일, 90일 그리고 180일 경과 후 각 종별 세포의 단위 크기를 측정하였다. 각 종별 세포부피는 Hillebrand et al. (1999)가 제안한 기하학 모델에 따라 *Dolichospermum* (basionym, *Anabaena*) 속과 *Microcystis* 속의 세포는 구체의 지름을, *A. flos-aquae* 세포는 원통의 지름과 길이를 단위 크기로 측정하였으며 측정된 크기를 아래의 기하학 모델에 대입하여 세포부피를 구하였다.

$$\text{Sphere} : V = \frac{\pi}{6} \times a^3$$

a : diameter

$$\text{Cylinder} : V = \frac{\pi}{4} \times a^2 \times c$$

a : diameter of cylinder

c : length of cylinder

2.3 통계분석

루골용액 첨가 및 첨가 후 보존기간에 따른 세포부피의 변화의 유의성을 판단하기 위해 SPSS 12.5 프로그램을 사용하여 각 측정 시기별 결과를 일원배치 분산분석(ANOVA)하였다. 각 측정결과들의 분산이 동질하지 않았기 때문에(Test of homogeneity of variances, $p < 0.05$) Brown-Forsythe 방법으로 평균의 동질성을 검정하였고, 사후 검정은 Dunnett T3 방법을 사용하였다.

3. Results and Discussion

3.1 낙동강에서 출현한 남조류의 세포 크기

낙동강에서 빈번히 출현하여 녹조현상을 유발하는 대표적인 남조류 3속, 6종을 채집하여 보존처리를 하지 않고 즉시 세포 단위크기를 측정된 후 Hillebrand et al. (1999)가

제시한 기하학 모델을 이용하여 세포부피를 계산한 결과, *Dolichospermum* 속에서는 *D. flos-aquae* 세포가 평균 242 μm^3 로 가장 작았고, *D. smithii*가 평균 2,930 μm^3 로 가장 큰 세포부피를 보였다(Table 1). 낙동강에서 채집된 *A. flos-aquae*의 세포부피는 평균 146 μm^3 이었으며, *M. aeruginosa*와 *M. wesenbergii*는 각각 96 μm^3 과 139 μm^3 이었다. 6종의 세포부피 측정값의 변동계수(CV)는 19.9%에서 43.7%까지로 나타났다. *Dolichospermum* 속의 종들이 20% 내외로 세포간 부피의 변동계수가 적었고, 20 μm 이상까지 길어지는 말단세포는 측정에서 제외했으나 trichome내의 위치에 따라 세포 길이에서 편차가 컸던 *A. flos-aquae* 세포부피의 변동계수가 가장 컸다. 또한 낙동강에서 채집된 *Dolichospermum* 속의 세포들은 일반적으로 알려진 세포크기에 비해 다소 큰 것으로 조사되었다(Komárek, 2013; Komárek and Anagnostidis, 1999).

3.2 루골용액으로 보존처리 후 세포부피 변화

낙동강에서 채취한 남조류 시료에 루골용액을 첨가한 후 최장 180일까지 보존하며 세포부피 변화를 비교한 결과, 모든 종들이 루골용액 첨가 전의 세포부피에 비해 첨가 후에 통계적으로 유의한 수준에서 차이를 보였으며, 각 종별로 최대 34.0~56.3%로 세포부피가 감소하였다(Table 2). *D. flos-aquae*가 34.0%로 대상 남조류 종 중에서 가장 적은 수축율을 보였고 *D. smithii*가 56.3%로 최대 수축율을 보였다. 최대 수축율을 보인 시기는 2종은 루골용액 첨가 후 28일간 보존한 때에, 나머지 4종은 180일간 보존한 후 나타났다.

보존 기간에 따른 세포부피 변화를 보면 루골용액 첨가 직후에 적게는 11.8%에서 많게는 31.3%까지 수축되어 루골용액 첨가가 세포부피에 즉시 영향을 주는 것으로 나타났다. 이후 보존기간 경과에 따라 더욱 수축되는 것으로 조사되었다(Fig. 2). 특히 루골용액 첨가 후 7일간 보존한 남조류의 세포부피가 *M. wesenbergii* (17.5%)를 제외하면 모두 25% 이상의 수축율을 보였다(Table 2). 즉 남조류 시료채취 후 일반적으로 분석에 소요되는 기간으로 볼 수 있

Table 1. Dimensions of the live (unpreserved) cyanobacterial cells collected from the Nakdong River

Species	Sample No.	Breadth (μm) (average)	Breadth (%CV)	Length (μm) (average)	Length (%CV)	Biovolume (μm^3) (average)	Biovolume (%CV)
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	83	6.7~8.9 (7.7)	6.9	-	-	156~369 (242)	21.0
<i>Dolichospermum smithii</i>	111	14.5~20.7 (17.6)	8.3	-	-	1,586~4624 (2930)	24.8
<i>Dolichospermum crassum</i>	191	11.4~16.8 (14.3)	7.0	-	-	768~2461 (1548)	19.9
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	311	2.7~6.3 (4.7)	15.4	4.0~11.9 (8.0)	22.4	49~353 (146)	43.7
<i>Microcystis aeruginosa</i>	472	4.3~7.4 (5.6)	8.8	-	-	41~215 (96)	26.5
<i>Microcystis wesenbergii</i>	456	4.4~7.8 (6.4)	9.6	-	-	46~252 (139)	28.3

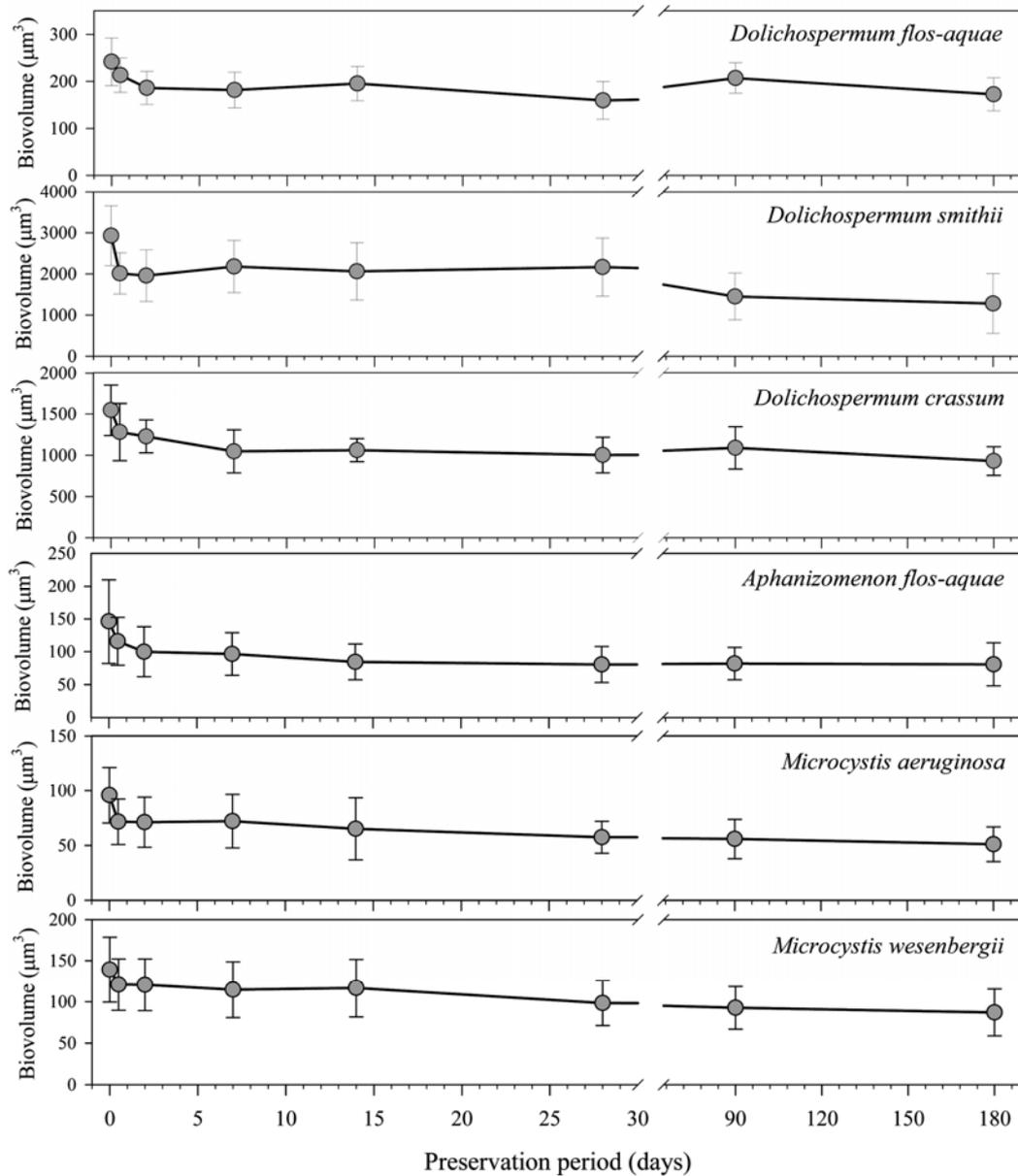


Fig 2. The cell biovolume changes of the target cyanobacterial species according to the preservation periods with Lugol's iodine solution.

는 7일간의 보존에서도 25% 이상의 세포부피의 감소가 나타나고 있기 때문에 루골용액으로 보존 처리된 시료의 세포부피를 이용해 자연수계 먹이망에서의 물질 순환 등을 추정할 경우 과소평가될 가능성이 매우 높음을 알 수 있다.

한편 *D. smithii*의 경우 루골용액 첨가 후 2일까지 수축되었으나 이후 28일까지 첨가 직후보다 세포부피가 증가하였고 90일 이후부터는 다시 크게 감소하였다. *D. flos-aquae*의 경우에도 루골용액 첨가 후 7일까지 세포부피가 점진적으로 감소하였으나 14일에 다소 증가한 후 28일째에 다시 크게 감소하고 90일째에는 루골 첨가 직후 수준으로 증가하였다. *D. crassum*도 루골용액 첨가 후 90일째에 29일째보다 세포부피가 다소 증가한 후 다시 감소하는 현상을 보였다. 그러나 이런 현상은 *A. flos-aquae*와 *Microcystis* 속의 종들에서는 뚜렷이 나타나지 않고 보존 기간 경과에 따라

계속 수축되는 패턴을 보여 종별로 루골용액 보존에 따른 세포부피의 변화패턴이 다른 것으로 나타났다. 보존 처리 후 식물플랑크톤 세포크기의 변화를 조사한 대부분의 연구에서 세포부피의 변화는 종특이성이 있으며, 세포의 크기가 클수록 수축율도 더 커질 수 있음을 시사하였다(Booth, 1987; Menden-Deuer et al., 2001; Verity et al., 1992). Hawkins et al. (2005)는 루골용액 보존처리 후 남조류 세포부피가 30~40% 수축되었으며, *Aphanocapsa incerta*와 같이 세포크기가 작으면 수축율이 적고 *Anabaena circinalis*와 같이 세포크기가 크면 수축율도 크다고 보고하였다. 본 조사의 경우 *Dolichospermum* 속내에서는 세포크기가 클수록 수축율이 커지는 결과를 보였으나, 세포크기가 상대적으로 작은 *M. aeruginosa*와 *M. wesenbergii* 그리고 *A. flos-aquae*는 *Dolichospermum* 속과 수축율에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Shrinkage results after the preservation with Lugol's iodine solution of the cyanobacterial species from the Nakdong River

Species	Cell biovolume (μm^3) (unpreserved)	Significance of Brown-Forsythe test	Shrinkage ratio after 7days preservation (%)	Maximum shrinkage (%)	Preservation period of maximum shrinkage (days)
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	242	0.000	24.9	34.0	28
<i>Dolichospermum smithii</i>	2930	0.000	25.6	56.3	180
<i>Dolichospermum crassum</i>	1548	0.000	32.4	39.9	180
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	146	0.000	33.9	44.8	28
<i>Microcystis aeruginosa</i>	96	0.000	24.8	46.8	180
<i>Microcystis wesenbergii</i>	139	0.000	17.5	37.4	180

식물플랑크톤 시료의 보존처리 시 세포부피가 달라지는 이유로는 보존처리에 의해 세포의 삼투압 조절기능이 파괴되고(Booth, 1987; Verity et al., 1992), 특히 남조류의 경우

루골용액 첨가에 의해 gas vesicles가 파괴되어 부피가 감소하기 때문으로 알려져 있다(Hawkins et al., 2005). 편모충류나 섬모충류 같은 원생동물과 외편모조류의 경우 루골

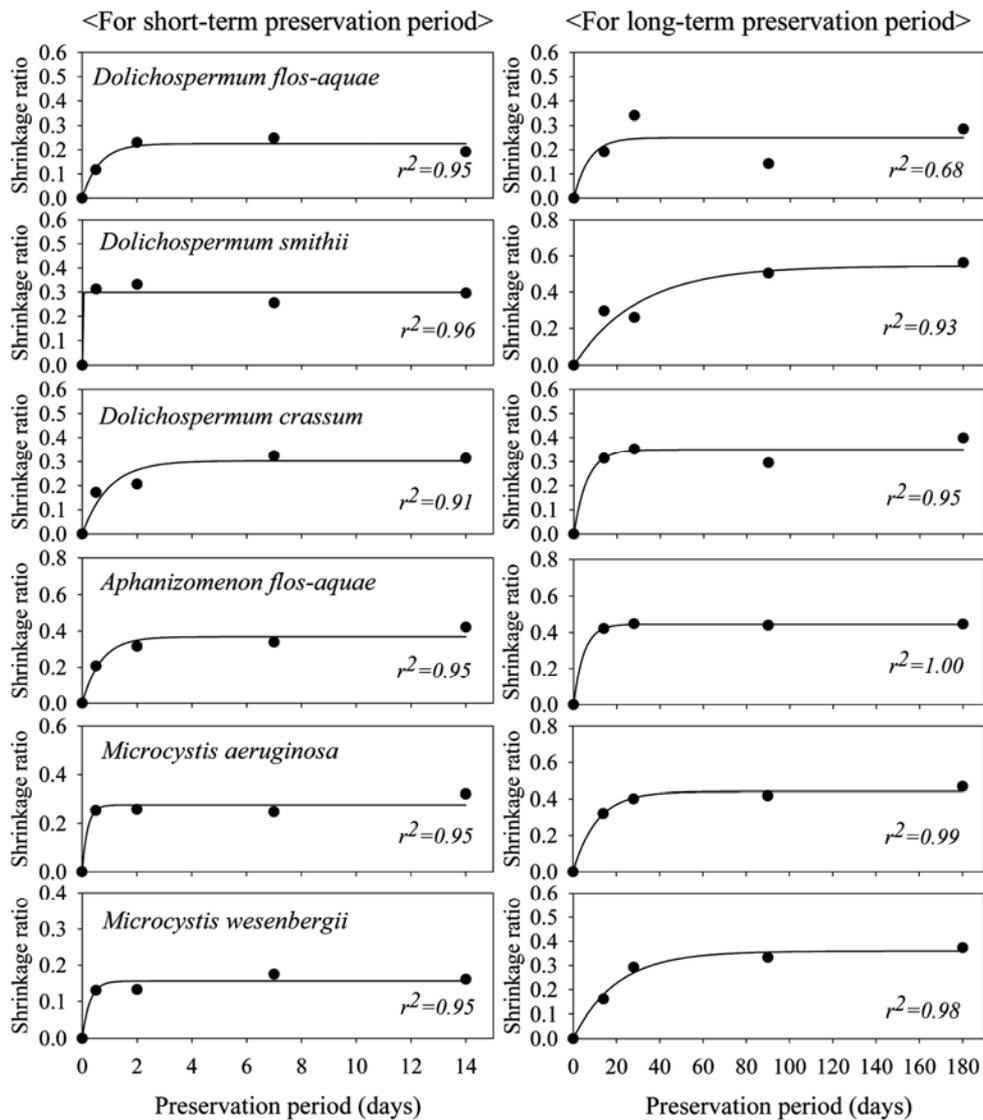


Fig 3. The Non-linear regression curves for the cell biovolume shrinkage ratio of the target cyanobacterial species by the preservation period (black circles indicate the observed shrinkage ratios, black line indicates the regression curve and r^2 indicates the coefficient of determination of each regression curve).

용액으로 보존처리를 했을 때 생세포에 비해 오히려 세포부피가 커지는 팽윤(swelling)현상이 나타났다는 보고가 있으며 (Chaput and Carrias, 2002; Yang et al., 2017; Menden-Deuer et al., 2001), 남조류의 경우에도 gas vesicles가 없는 *Aphanocapsa incerta*의 경우 고농도(1%)의 루골용액으로 보존처리한 경우 161일후에 생세포에 비해 세포부피가 더 팽창하였다고 보고되었다(Hawkins et al., 2005). 그러나 본 연구의 대상 남조류들은 루골용액 첨가 후 보존 기간 중에 일시적으로 세포부피가 전 측정 시점보다 다소 증가한 경우는 있으나 생세포의 부피보다 더 크게 증가하지는 않았다. 이는 대상 남조류가 모두 세포내 gas vesicles를 가지고 있는 종들로 루골용액에 의해 세포내 gas vesicles가 파괴되어 세포부피가 수축되었기 때문이며, 각 종의 세포벽의 내구성 차이 등에 따라 종 및 기간에 따른 수축율의 변이가 있을 수 있으나 전체 보존기간으로 볼 때 본 연구의 대상 남조류 종들은 루골용액 첨가에 따라 지속적으로 수축하는 경향을 보인다고 할 수 있다. 따라서 이런 결과로 볼 때 gas vesicles를 가지고 있는 남조류의 세포부피 산정에서는 반드시 보존처리에 의한 수축율을 고려해야 수축에 따른 과소평가를 피할 수 있을 것이다.

3.3 루골용액 첨가 후 보존 기간별 수축모델 산정

본 연구의 최종 목표는 루골용액으로 일정기간 보존처리한 후 남조류의 세포부피를 측정할 경우 세포 수축으로 인해 초래되는 과소평가를 보정할 수 있는 변환식을 유도하는 것이다. 따라서 본 연구에서 얻어진 보존기간별 남조류 종들의 세포부피를 사용해 비선형 회귀분석을 통해 수축 모델을 구하였다. 보존 초기에 상당한 수축이 일어나는 점을 감안하여 수축 모델은 단기간 보존(14일간 보존) 및 장기간 보존(180일간 보존)으로 나누어 2가지 회귀모델을 구하였으며 각 회귀모델과 결정계수를 Fig. 3과 Table 3에 나타내었다. 단기간 보존에 대한 수축 회귀모델의 결정계수는 *D. crassum*을 제외한 모든 대상 종에서 0.95 이상의 높은 값을 보여 유도된 회귀모델이 실제 수축비를 잘 설명하고 있는 것으로 나타났다. 장기간 보존에 대한 수축 회귀모델의 결정계수도 *D. flos-aquae*를 제외한 5종에서는 모두 0.93이상의 높은 값을 보여 장기간 보존에 따른 세포부피

수축을 잘 설명하고 있었다. 따라서 Table 3에 제시된 회귀 모델을 이용하면 루골용액을 사용해 보존처리한 남조류 시료의 보존기간별 수축비를 유의한 수준으로 구할 수 있을 것으로 판단된다. 최종적으로 특정 기간 동안 보존 후 측정된 남조류 세포부피를 시료 채취 당시 생세포의 부피로 환산하기 위해서, 회귀모델을 통해 구해진 수축비를 이용하는 아래의 변환식을 도출하였다.

$$BV_{live} = \frac{BV_t}{1-y}$$

BV_{live} : cell biovolume of live cell

BV_t : cell biovolume after t days preservation with Lugol's iodine solution

t : preservation period (days)

y : shrinkage ratio for t days preservation from the regression models of Table 3

보존제 처리에 따른 플랑크톤 세포의 수축 결과 유발되는 세포부피의 오차를 보정하기 위해 1.4, 1.6 또는 1.7 등의 변환계수(conversion factor)들이 제안되고 있다(Chaput and Carrias, 2002; Modigh and Castaldo, 2005; Yang et al., 2017). 그러나 본 연구 결과 보존 기간에 따라서 세포부피의 변화가 지속적으로 일어나고 있는 것으로 나타났으며, 보존기간별 변환계수를 산정하면 종에 따라 최소 1.2에서 최대 1.4 (*D. flos-aquae*) 또는 최소 1.2에서 최대 1.9 (*A. flos-aquae*)로 차이가 커, 보존기간을 고려하지 않은 단일의 변환계수로는 실제 자연수체내 살아있는 세포의 생부피를 반영하는 데는 한계가 있을 수 있다. 따라서 본 연구에서 보존기간에 따라 실측된 세포부피를 기반으로 제시한 회귀식에서 도출된 수축비를 이용한다면 보다 정확하게 실제 세포 부피로 환산할 수 있을 것으로 기대된다.

4. Conclusions

부영양화 및 기후변화로 인해 하천 호수 등의 담수 수계에서 심화되는 남조류의 대발생을 제어하기 위한 첫 단계로 조류 현존량에 대한 모니터링이 필수적이다. 세포크기가

Table 3. Non-linear regression models of the cell biovolume shrinkage ratio of the target cyanobacterial species according to the preservation period

Species	Regression model of shrinkage ratio (for short-term preservation)	r ²	Regression model of shrinkage ratio (for long-term preservation)	r ²
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	$y = 0.226(1 - e^{-1.582t})^*$	0.95	$y = 0.250(1 - e^{-0.144t})$	0.68
<i>Dolichospermum smithii</i>	$y = 0.299(1 - e^{-102.789t})$	0.96	$y = 0.544(1 - e^{-0.033t})$	0.93
<i>Dolichospermum crassum</i>	$y = 0.303(1 - e^{-1.039t})$	0.91	$y = 0.350(1 - e^{-0.165t})$	0.95
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	$y = 0.368(1 - e^{-1.478t})$	0.95	$y = 0.445(1 - e^{-0.211t})$	1.00
<i>Microcystis aeruginosa</i>	$y = 0.276(1 - e^{-5.040t})$	0.95	$y = 0.441(1 - e^{-0.091t})$	0.99
<i>Microcystis wesenbergii</i>	$y = 0.156(1 - e^{-3.568t})$	0.95	$y = 0.359(1 - e^{-0.050t})$	0.98

* t : the preservation period by Lugol's iodine solution (days), y : cell biovolume shrinkage ratio at t days preservation

매우 다양한 조류의 현존량 파악을 위해 세포 밀도와 함께 세포부피 측정이 요구되고 있으나 이에 소요되는 시간 등의 문제로 대부분의 조류모니터링에서는 화학 첨가제를 사용하는 보존처리가 일반적이다. 본 연구에서는 낙동강에서 출현하는 대표적인 녹조원인 남조류를 대상으로 루골용액으로 보존 처리한 후 보존처리 기간에 따른 세포부피를 측정하여 각 대상 종별 세포부피 변화 특성을 조사하였다. 모든 종들이 루골용액 첨가 전의 세포부피에 비해 첨가 후에 통계적으로 유의한 수준에서 차이를 보였으며, 각 종별로 최대 34.0~56.3%로 세포부피가 감소하였다. 또한 보존 기간 경과에 따라 약간의 증감을 반복하거나 계속 수축되는 패턴을 보여 종별로 루골용액 보존에 따른 세포부피의 변화패턴이 다른 것으로 나타났다.

한편 각 대상 종별 보존기간별로 측정된 세포부피를 이용하여 수축비 회귀모형을 유도하였고, 특정 기간 루골용액으로 보존 후 측정된 세포부피를 생세포의 세포부피로 변환하는 관계식을 도출하였다. 본 연구에서 도출된 관계식은 조류모니터링에서 보존처리 후 측정된 결과를 이용하여 녹조 발생시 자연상태에서의 실제 세포부피를 추정하는데 활용될 수 있으며, 녹조 발생에 따른 수질 및 수생태계 영향 및 수생태계 먹이망내 물질 거동 등을 해석하는데 실질적인 기여를 할 수 있을 것으로 기대된다.

Acknowledgement

본 논문은 환경부의 재원으로 국립환경과학원의 지원을 받아 수행하였습니다(NIER-2018-03-03-003). 루골용액 첨가 후 보존기간별 남조류 세포부피의 수축비 회귀모형 유도에 도움을 주신 경기대학교 공동수 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

References

- Booth, B. C. (1987). The Use of Autofluorescence for Analyzing Oceanic Phytoplankton Communities, *Botanica Marina*, 30, 101-108.
- Chaput, O. and Carrias, J. F. (2002). Effects of Commonly Used Fixatives on Size Parameters of Freshwater Planktonic Protists, *Archiv für Hydrobiologie*, 155, 517-526.
- Chitari, R. R. and Anil, A. C. (2017). Estimation of Diatom and Dinoflagellate Cell Volumes from Surface Waters of the Northern Indian Ocean, *Oceanologia*, 59, 389-395.
- Choi, Y. A., Han, N. S., Lim, E. G., Kim, Y. M., Choun, C. J., and Lee, B. H. (2013). Characteristics of Cyanobacterial Occurrence and Concentration Distribution of Cyanotoxins in Hoeya Reservoir, *Journal of Korean Society of Environmental Engineering*, 35, 943-952. [Korean Literature]
- Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Rice, E. W., and Greenberg, A. E. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed., American Public Health Association, Washington, D. C.
- Fiocca, A., Vadrucchi, M. R., and Mazziotti, C. (2014). Influence of Chemical Fixative on the Cell Size of Phytoplankton Guilds, *Transitional Waters Bulletin*, 8, 1-9.
- Hawkins, P. R., Holiday, J., Kathuria A., and Bowling L. (2005). Change in Cyanobacterial Biovolume Due to Preservation by Lugol's Iodine, *Harmful Algae*, 4, 1033-1043.
- Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U., and Zohary, T. (1999). Biovolume Calculation for Pelagic and Benthic Microalgae, *Journal of Phycology*, 35, 403-424.
- Komárek, J. (2013). *Freshwater Flora of Central Europe Vol. 19/3 Cyanoprokaryota, 3rd Part: Heterocytous Genera*, Springer, Berlin.
- Komárek, J. and Anagnostidis, K. (1999). *Freshwater Flora of Central Europe Vol. 19/1 Cyanoprokaryota, 1st Part: Chroococcales*, Gustav Fischer Verlag Jena.
- Menden-Deuer, S., Lessard, E. J., and Satterberg, J. (2001). Effect of Preservation on Dinoflagellate and Diatom Cell Volume and Consequences for Carbon Biomass Predictions, *Marine Ecology Progress Series*, 222, 41-50.
- Modigh, M. and Castaldo, S. (2005). Effects of Fixatives on Ciliates as Related to Cell Size, *Journal of Plankton Research*, 27, 845-849.
- Montagnes, D. J. S., Berges, J. A., Harrison, P. J., and Taylor, F. J. R. (1994). Estimating Carbon, Nitrogen, Protein and Chlorophyll a from Volume in Marine Phytoplankton, *Limnology and Oceanography*, 39, 1044-1060.
- O'Neil, J. J., Davis, T. W., Burford, M. A., and Gobler, C. J. (2012). The Rise of Harmful Cyanobacteria Blooms: The Potential Roles of Eutrophication and Climate Change, *Harmful Algae*, 14, 313-334.
- Paerl, H. W. and Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls, *Microbial Ecology*, 65, 995-1010.
- Park, H. K., Shin, R. Y., Lee, H. J., Lee, K. L., and Cheon, S. U. (2015). Spatio-temporal Characteristics of Cyanobacterial Communities in the Middle-downstream of Nakdong River and Lake Duldong, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 31, 286-294. [Korean Literature]
- Ryu, H. S., Park, H. K., Lee, H. J., Shin, R. Y., and Cheon, S. U. (2016). Occurrence and Succession Pattern of Cyanobacteria in the Upper Region of the Nakdong River; Factors Influencing *Aphanizomenon* Bloom, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 32, 52 - 59. [Korean Literature].
- Thronsdon, J. (1978). Preservation and Storage, In Sournia, A. (ed.), *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Paris, 69-74.
- Verity, P. G., Robertson, C. Y., Tronzo, C. R., Andrews, M. G., Nelson, J. R., and Sieracki, M. E. (1992). Relationships Between Cell Volume and the Carbon and Nitrogen Content of Marine Photosynthetic Nanoplankton, *Limnology and Oceanography*, 37(7), 1434-1446.
- Yan, X., Xu, X., Wang, M., Wang, G., Wu, S., Li, Z., Sun, H., Shi, A., and Yang, Y. (2017). Climate Warming and Cyanobacteria Blooms: Looks at their Relationships from a New Perspective, *Water Research*, 125, 449-457.
- Yang, Y., Sun, X., and Zhao, Y. (2017). Effects of Lugol's Iodine Solution and Formalin on Cell Volume of Three Bloom-forming Dinoflagellates, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 35, 858-866.
- Zarauz, L. and Irigoien, X. (2008). Effects of Lugol's Fixation on the Size Structure of Natural Nano-microplankton Samples, Analyzed by Means of an Automatic Counting Method, *Journal of Plankton Research*, 30, 1297-1303.