

## 장기 해양 생태계 연구계획 수립 연구 보고서

주관연구기관	부산대학교
발행년월	2010-06
주관부처	국토교통부
사업관리기관	한국해양과학기술진흥원
NDSL URL	<a href="http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201100004172">http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201100004172</a>
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 14:07:11

### 저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

# 장기 해양 생태계 연구계획 수립 연구 보고서

---

2010. 6. 30

주관연구기관 / 부 산 대 학 교  
협동연구기관 / 서 울 대 학 교  
성균관대학교

국 토 해 양 부  
한국해양과학기술진흥원

해양환경기술개발사업 기획과제 최종보고서

# 장기해양생태계연구 계획 수립 연구보고서

---

2010. 6. 30.

주관 연구기관 / 부산대학교  
협동 연구기관 / 서울대학교  
성균관대학교

국 토 해 양 부  
한국해양과학기술진흥원





# 제 출 문

국토해양부 장관 귀하

이 보고서를 “장기해양생태계연구 계획 수립” 과제의  
최종보고서로 제출합니다.

2010. 6. 30.

주관연구기관명 : 부산대학교

주관연구책임자 : 이근섭

연구원 : 강창근, 김운숙,  
곽정현, 박미란,  
최광식, 김봉규,  
홍현기

협동연구기관명 : 서울대학교

협동연구책임자 : 조병철

연구원 : 황청연, 장광일,  
배기덕

협동연구기관명 : 성균관 대학교

협동연구책임자 : 김정하

연구원 : 이창호, 성건희,  
김영훈, 김영균,  
김종협



# 보고서 요약서

과제고유번호		해당단계 연구기간	2009. 7. 1 - 2010.6.30	단계구분	(해당단계)/ (총 단계)
연구사업명	중사업명	해양환경관리			
	세부사업명	해양환경복원기술개발사업			
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	장기해양생태계연구 계획 수립			
연구책임자	이근섭	해당단계 참여 연구원수	총 : 18명 내부 : 18명 외부 : 명	해당단계 연구비	정부 : 95,520천원 기업 : 천원 계 : 95,520천원
		총연구기간 참여 연구원수	총 : 18명 내부 : 18명 외부 : 명	총연구비	정부 : 95,520천원 기업 : 천원 계 : 95,520천원
연구기관명 및 소속부서명	부산대학교 산학협력단 성균관대학교 산학협력단 서울대학교 산학협력단		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위탁연구	연구기관명 :		연구책임자 :		
<ul style="list-style-type: none"><li>- 장기해양생태계 연구를 효율적으로 진행하기 위한 장기 로드맵을 작성하고, 사업단을 구성하여 통합생태계 연구추진체계를 구축하고 적절한 예산 투입과 연차별 사업을 조정하는 방안을 제시함</li><li>- 5가지 주요 연구주제를 선별함 : 1) 해양의 물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용, 2) 개체군 생리 생태 연구, 3) 생물 다양성 변동 이해, 4) 먹이망 변동 역학, 5) 기후/물리/화학 환경요인의 조사 및 모니터링</li><li>- 3개 연구대상지를 선정하고 각 대상지별 연구주제를 제시함 : 1) 해양생태 모니터링[동해(4정점), 남해(2정점), 서해(3정점)], 2) 연안생태 모니터링[동해(5정점), 남해(5정점), 서해(5정점)], 3) 아열대생태 모니터링[제주연안(4정점)]</li><li>- 장기해양생태 연구기반 구축 방안을 제시하고 목표달성을 위한 추진전략 구조를 제시함</li></ul>				보고서 면수	
색인어 (각 5개 이상)	한글	장기생태연구, 해양생태계, 해양생물다양성, 해양환경관리, 해양생태계 구조와 기능			
	영어	Long-Term Monitoring of Ecosystems, Marine Ecosystems, Marine Biodiversity, Marine Environment Management, Structure and Function of Marine Ecosystem			

# 요 약 문

## I. 제목

장기해양생태계연구 계획 수립

## II. 사업 필요성

- 기후변화에 의한 해양순환 시스템과 해양환경 변화는 물질순환 및 영양염 분포 변화를 수반하며, 이러한 변화는 생물생산성, 군집구조, 생물다양성으로 이어지는 일련의 해양생태계 변화를 초래함
- 수온 상승과 영양환경의 변화는 어패류를 포함하는 상위영양단계의 포식자 동물군의 직접적인 생리생태 변화를 유도하여 성장기, 산란기 등의 변화를 초래하여 해양생태계가 교란되게 되며, 생물자원의 이용과 관련하여 인간의 경제·사회적 활동에까지 영향을 미치게 됨
- 한반도 연근해에서는 해수면 상승, 플랑크톤 장기변동, 수온상승과 아열대성 저기압 등 외래종 유입으로 인한 생태계 교란, 주요어종의 연간 어획량 변화 및 해조류 갯녹음 현상에 의한 해조류 유실 등 장기적인 해양생태계 구조 변동 현상이 관찰되고 있으나 변동과 원인에 대한 과학적이고 구체적인 자료는 매우 빈약한 상태임
- 한반도 연근해 해양관측자료로부터 환경변화가 해양생태계에 미치는 영향을 파악하고, 주요 해양과정의 변화양상을 규명하여 해양환경변동에 의한 미래의 한반도 해양생태계 변화를 예측하고 이에 적합한 해양생태계 관리 방안을 마련하기 위해서는 광범위한 영역에서 장기적인 조사연구가 필요함

## III. 사업 목표

- 한반도 해양생태계 변화에 대한 과학적이고 체계적인 자료를 획득할 수 있는 장기적인 해양생태변화 조사·연구·모니터링 체제의 구축
- 생태계기반의 해양정책 추진, 지구적 환경변화에 대한 공동 대응방안 수립 및 해양환경 보전과 지속가능한 발전을 위한 해양정책 발굴을 위한 해양생태계

가 .  
가 .  
변화관련 정보 제공

#### IV. 사업 개요

- 목적 : 기후변화 및 환경변화로 인한 해양생태계의 장기변동을 파악하고 그 영향을 이해하기 위한 광범위한 영역에 걸친 장기 해양생태 조사·연구·모니터링
- 계획기간 : 1단계(5년, 2011~2015), 2~3단계(각 10년, 2016~2035)
- 사업예산 : 1단계 약 205억원
- 사업추진 : <장기해양생태계 연구> 및 <장기해양생태계 연구지침서>에 따라 체계적이고 장기적인 연구사업 추진

#### V. 사업 내용 및 범위

- 5개 주요 연구내용: 해양생지화학적 순환과 먹이망 역학의 상호작용, 지구적 변화에 대한 해양생태계의 반응, 생태계변동에 의한 환경으로의 피드백 현상을 이해하기 위한 조사·연구·모니터링을 연구주제로 하여 연구내용 선정
  - － 해양의 물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용
  - － 개체군 생리생태 연구
  - － 생물 다양성 변동 이해
  - － 먹이망 변동 역학
  - － 기후/물리/화학 환경요인의 조사 및 모니터링
- 3개 연구대상지(연차별 확대 조정)
  - － 해양생태 모니터링 : 동해(4정점), 남해(2정점), 서해(3정점)
  - － 연안생태 모니터링 : 동해(5정점), 남해(5정점), 서해(5정점)
  - － 아열대생태 모니터링 : 제주연안(4정점)
- 연구대상지(연차별 확대) 조정위한 순위선정

	동해 외양	동해 연안	남해 외양	남해 연안	제주 도	서해 외양	서해 연안
기후변화 취약성	10	6	8	6	10	6	6
고유 생태지역	8	8	6	8	8	4	6
과거연구 자료 축적	10	10	10	10	6	8	10
유용수산자원 관리 필요성	8	8	8	8	8	6	8
인간활동(어업 및 인위적 교란)	10	10	10	10	6	8	6
서식지 보전 및 복원 필요성	10	8	8	8	8	6	8
외래종 유입	6	6	8	6	10	4	6
환경변화 민감도	10	8	8	6	8	6	6
합계	72	64	66	62	64	48	56
순위	1	3	2	5	3	7	6

\* 8개 항목의 평가를 연구대상해역에 대하여 실시하고 이들 평가는 1-10사이에서  
해양생태계연구의 시급성이 높을수록 높은 수치를 가짐

\* 각각의 항목은 가중치를 두지 않고 균등한 중요도를 가진다고 판단

- 연구대상지별 연구내용: 5가지 연구내용을 적절히 고려하여 연구대상 해역별  
특성(해양, 연안, 아열대)에 맞추어 세부연구내용을 선정

### [해양생태 연구]

- 해양물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용
  - 수주 연직구조 변동성과 이에 따른 기초생산력 변동 연구
  - 수주구조와 영양염 공급 구조 변동에 따른 바이러스/박테리아/식물/동물플랑크톤/어류에 이르는 전체 먹이연쇄(end-to-end food web)를 구성하는 각 생물군의 군집구조 변동 연구
  - Sediment trap을 통한 수직적 물질플럭스와 생태계 구조변동
- 생물다양성 변동 이해
  - 심해저 평원에서 benthopelagic fish abundance의 장기변동 연구
  - Camera Pod 계류 통해 심해생물 모니터링
  - AUV와 ROV를 이용한 수중촬영 및 시료 채집
  - 여객선이나 조사선에 연속플랑크톤 채집기(CPR)를 장착하여 표층 플랑크톤

### 종조성 및 장기변동 모니터링

- 침강유기물 입자에 부착된 박테리아의 다양성과 항생제 내성유전자의 분포 변화

#### ○ 먹이망 변동 역학

- 저차생태 구성요소 변동에 따른 표영생태계의 먹이연쇄 변동 연구
- 심해저 평원에서 다양한 먹이원 공급에 대한 저서생물 군집의 반응 이해
- 저서/표영생태계 먹이망의 영양연결과정 변동 이해
- 저서 혹은 심해 먹이망 구조분석 및 표영생태계와의 연결고리 규명
- 해양구조 변동과 먹이망 구조변동의 관련성 연구 및 저서/표영생태계 먹이망의 연결고리 규명을 통한 먹이망 기능 및 모델링 연구

#### ○ 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링

- 수온, 염분, 용존산소 등 기본조사항목의 장기관측 및 모니터링
- 종합 계류 관측 시스템 운용(East-I 과제에서 개발한 super station의 mooring 관측 응용) 통한 연속관측
- 기후변화에 대한 지표종 선정과 해양환경 변화와의 연계를 통한 연구대상 지에서의 통합생태계 변동 이해

### [연안생태 연구]

#### ○ 개체군 생리생태 연구

- 해양 환경 변화로 인한 해양 식물의 개체군 구조 및 생산성 변동 측정
- 생산성과 엽체 내 탄소, 질소 및 인의 함량 분석을 통한 전체 생산량 변화 연구
- 연안 환경변동에 따른 해산 식물군의 광합성 특성 및 호흡률 연간 변동양상 등 생리생태학적 phenology 변화 규명
- 변화하는 환경에서 서식생물의 생리생태 변화 및 생체에너지 대사 분석을 통한 생존과 적응 전략 이해
- 온난화에 따른 주요 연안 생물종의 재생산과 대사활동 변동 조사
- 외래 유입종의 생리생태변동 연구
- 연안생태계 외래 유입 해산무척추동물의 번식생물학적 특성 규명
- 제주 및 동/서/남해안에 분포하는 이매패류의 산란주기 비교 및 면역학적

### 방법에 의한 번식량 측정

- 생물 다양성 변동 이해
  - 해양 식물의 분포 및 현황의 계절 변동
  - 해산식물 군집 내 생물군의 정량/정성조사 및 생물다양도 변화 추적
  - 해산식물 군집의 경쟁구도, 섭식작용, 개체군 변동 및 군집 안정성 등 기능 생태학적 분석
  - 염습지 식생 분포, 구조, 생산성 및 기능 파악
  - 제주도 및 동/서/남해안의 외래 유입 해산식물 및 무척추동물 발굴
  - 저서무척추동물 및 유영동물(어류, 갑각류, 두족류) 군집구조 변동 조사
- 먹이망 변동 역학
  - 연안 생태계의 먹이연쇄 구조 변동 파악
- 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링
  - 주요 해양 식물 서식처의 물리화학적 환경 요인 변동 파악

### [아열대생태 연구]

- 개체군 생리생태 연구
  - 연안저서생태계에 있어 지표종으로 이용할 수 있는 연체동물 (굴, 바지락, 전복 등)의 생식세포에 관한 주기적인 조직학적 관찰
  - 항원-항체 반응을 이용한 주요 해산 연체동물의 번식량 측정
  - 외래유입 고착성 저서생물의 연간번식주기 및 면역학적 방법에 의한 번식량 측정
  - 변화하는 환경에서 서식생물의 생리생태 변화 및 생체에너지 대사 분석을 통한 생존과 적응 전략 이해
  - 기후변화로 인한 산란시기의 변화 예측 모델 개발
  - 외래 유입종의 생리생태변동 연구
- 생물 다양성 변동 이해
  - 해산식물 군집 내 생물군의 정량/정성조사 및 생물다양도 변화 추적
  - 해산식물 군집의 경쟁구도, 섭식작용, 개체군 변동 및 군집 안정성 등 기능 생태학적 분석
  - 기후변화를 예측할 수 있는 해산 연체동물 지표종 발굴



- 제주연안 유입종의 분자생물학적 동정 및 이들의 유입경로 추정
- 제주도 및 동/서/남해안의 외래 유입 해산식물 및 무척추동물 발굴
- 동남아시아와 제주연안에 분포하는 무척추동물 (연체동물, 산호류)의 분자생물학적 계통분류 실시
- 먹이망 변동 역학
  - 연안 생태계의 먹이연쇄 구조 변동 파악

### [장기해양생태 연구기반 구축]

- 센터 운영
  - 장기해양생태 전담 연구센터 운영
  - 복합 해양부이 운용
  - 조사선 운용
  - 채집장비 운영 지원
- 기초생태 DB 구축
  - 기초생태 DB 프로그램 개발
  - 홈페이지 운영
- 국제 협력
  - 국제회의, 전문가 초청
  - 국제 공동연구 수행 지원
- 보고서 발간
  - 홍보물 제작
  - 자료집, 보고서 등 발간



# 목 차

보고서 요약서 .....	iii
요약문 .....	iv
 1. 서 론 .....	 1
1.1. 배경 .....	1
1.2. 연구개발 필요성 .....	4
1.3. 국내·외 연구사례 및 현황 .....	9
가. 국외연구 .....	11
나. 국내연구 .....	25
다. 국내연구 분석 결론 .....	26
라. 장기해양생태계연구사업 차별화 방안 .....	27
 2. 비전과 연구목표 .....	 30
2.1. 비전 .....	30
2.2. 단계별 사업목표 .....	30
2.3. 로드맵/주요사업 .....	32
2.4. 연구 최종목표 .....	32
 3. 연구내용 및 분야 .....	 34
3.1. 연구주제 .....	34
3.2. 연구내용 및 분야 .....	35
가. 주요 연구내용 .....	35
나. 기본연구대상 분야 및 항목 .....	43
 4. 연구대상지 선정 .....	 44
4.1. 연구대상지 선정 .....	44
가. 선정기준 .....	44
4.2. 선정 연구대상지 특징 .....	48
가. 동해장기생태 모니터링 연구대상지 : 동해외양과 연안역 .....	48
나. 남해장기생태 모니터링 연구대상지 : 남해외양과 연안역 .....	48

다. 아열대생태 모니터링 연구대상지 : 제주연안역 .....	49
라. 서해장기생태 모니터링 연구대상지 : 서해외양과 연안역 .....	49
4.3. 연구대상지별 연구 필요성과 연구내용 .....	50
5. 사업추진체계 및 전략 .....	60
5.1. 사업추진체계 구성방안 .....	60
가. 연구추진체계 구축 .....	61
나. 연구사업 추진범위 .....	62
다. 연구사업 추진방법 .....	63
라. 사업성과 관리방안 .....	67
5.2. 연구기반 구축전략 .....	69
가. 연구 및 관측 추진전략 및 방법 .....	69
나. 연구조사의 표준방법 제시 .....	72
다. 장기해양생태연구 사업기반구축 방안 제시 .....	73
6. 사업추진일정 .....	77
6.1. 연구대상지에 대한 연구사업 수행 .....	77
가. 연구대상지에 대한 연구사업 계획 .....	77
나. 사업 세부조사내용 및 추진일정 .....	79
7. 소요예산 .....	82
7.1. 연도별 소요예산 .....	82
7.2. 소요예산 세부내역 .....	82
가. 해양생태계 변동현상 연구 및 과정 연구 .....	82
나. 인프라 구축(1~2차년도) .....	83
다. 연구단계별 소요예산 세부내역 .....	87
8. 기대효과 .....	86
가. 기대효과 .....	86
나. 관련 후속연구개발의 전망 .....	87
9. 참고문헌 .....	88

※부 록 : 장기해양생태 연구지침서

## 표 목차

표 1. 주요국가의 해양정책 중점분야 및 해양과학기술 현황 .....	10
표 2. 장기해양생태연구 기본 조사항목 및 연구대상 항목 .....	43
표 3. 연구대상 해역의 순위선정 매트릭스 .....	46
표 4. 장기해양생태계연구 사업단의 연구사업 기본성과지표 .....	68
표 5. 연구대상지 및 장기생태연구 기본계획 .....	78
표 6. 연차별 세부조사내용 및 계획 .....	79
표 7. 동해, 남해, 제주도, 서해를 연구대상지로 고려한 예산 .....	84
표 8. 동해, 남해, 제주도를 연구대상지로 고려한 예산 .....	85

## 그림 목차

그림 1. IMBER의 연구목적 .....	2
그림 2. Biotic system에서 스트레스에 대한 평균 반응 시간 .....	2
그림 3. 지난세기동안 지구시스템 변화 양상 .....	4
그림 4. 수산업의 세계적 추세 .....	6
그림 5. 동해에서 주요 어종의 연간 어획량 변화 .....	7
그림 6. BISMaL 사이트 검색 예시 .....	14
그림 7. 몬테레이만 수족관 해양연구소의 다양한 연구장비/방법의 상호 협력적인 연안샘플링 적용 .....	17
그림 8. 몬테레이만(Monterey Bay)에서 수행하고 있는 해양관측 .....	18
그림 9. 해양생지화학 및 생태계 통합연구(IMBER)의 연구프로젝트 방향 .....	19
그림 10. 2009년 PICES 조직도 .....	20
그림 11. 연안해역 지구해양관측 시스템 이행 .....	22
그림 12. NERRS SWMP의 timeline (1995-2005) .....	23
그림 13. 장기해양생태계 연구의 비전과 목표 .....	30
그림 14. 장기해양생태계 연구 단계별 목표 .....	31
그림 15. 장기해양생태계 연구의 단계별 목표와 연구내용의 장기로드맵 .....	32
그림 16. 장기해양생태계 연구의 주제 .....	34

그림 17. 장기해양생태계연구 주요연구내용 .....	36
그림 18 식물플랑크톤 생체량의 공간적 분포를 나타내는 Phytoplankton Colour Index (PCI)의 분포양상 .....	37
그림 19. North Adriatic Sea에서 'end-to end trophic web'의 주요 구성성분의 생태학적 역할의 증명 모식도 .....	39
그림 20. 4 단계로 단순화된 해양먹이망의 반응 모식도 .....	40
그림 21. 지구온난화로 인한 질소순환 변화 .....	40
그림 22. 해양의 수심 2000m 상층의 수온과 염분을 측정하도록 세팅된 ARGO ....	42
그림 23. 몬테레이만 수족관 해양연구소의 MOOS의 일환으로 계류중인 부이 .....	42
그림 24. 해양보호구역 지정현황 .....	44
그림 25. 국립수산물과학원 정선해양관측조사 정점도 .....	45
그림 26. 장기해양생태계연구를 위해 선정된 연구대상지 .....	47
그림 27. 수온 상승에 따른 수주성충구조 변화와 그에 따른 기초생산력 변동 및 표영과 저서생태계 변동과 관련한 일련의 과정에 대한 모식도 .....	51
그림 28. 발틱해에서 염분과 수온변화에 따른 우점 주요어종의 변화 .....	52
그림 29. Benthic-Pelagic coupling 연구 모식도 .....	53
그림 30. 장기해양생태계 연구사업의 삼원화 체계 .....	60
그림 31. 통합생태계 연구체계 .....	61
그림 32. 장기해양생태계연구 추진체계 .....	62
그림 33. 장기해양생태연구 사업단의 단계별 추진목표설정 .....	64
그림 34. 장기해양생태계연구 사업의 관리 및 보고 흐름도 .....	65
그림 35. Interdisciplinary cruise 및 Biophysical moorings 모식도 .....	69
그림 36. 국가해양환경관측망 .....	70
그림 37. OceanSITES에 등록된 Global ocean time-series stations .....	70
그림 38. MBARI's ROV Ventana .....	71
그림 39. 통합 모델링 연구전략 모식도 .....	72
그림 40. 장기해양생태계연구 DB 시스템 .....	75
그림 41. MBARI에서 수행하고 있는 해양관측 시스템/데이터관리 시스템의 연계 모식도 .....	75
그림 42. 연구대상사업 연구 추진 모식도 .....	77

# 1. 서 론

## 1.1. 배경

### ○ 해양의 가치 인식과 국제적인 해양환경 보전 움직임

- 해양이 인류에게 제공하는 경제적 가치(이산화탄소 흡수를 통한 온실가스 저감, 신약 및 천연물질 개발, 식량개발, 기후, 연안보호, 의약품, 신기술 제공)는 연간 21조 달러에 이룸(세계자연보호기금(WWF; World Wide Fund for Nature)의 「우리 해양의 가치」 보고서)
- 특히, 해양의 생물학적 활동이 사라지면 대기 중 이산화탄소 농도는 지금 보다 50% 이상 증가할 것으로 예측
- 영국의 과학전문지 『Nature』에서 해양의 기후조절 능력, 해양생태계의 재생산 능력, 오염물질 자정능력 등 해양의 생태적 가치는 인류가 매년 경제활동을 통해 생산하는 GDP의 1.3배에 달하는 것으로 평가(Costanza et al., 1997; Costanza, 1999)
- 이러한 고부가가치를 가지는 해양환경을 보존하고 장기적으로 관리/경영 하고자하는 움직임이 선진국을 중심으로 나타나고 있음
- 우리나라 역시 최근 국가발전 모토인 녹색성장을 위한 해양환경정책 수립이 절실히 필요한 시점

### ○ 전 지구적인 기후변화에 의한 해양생태계의 구조와 조성 변화 감지

- 기후변화에 의한 해양환경의 변동으로 인해 해양생태계가 어떻게 반응하고 변화하는지에 대한 관심이 집중되고 있음
- 한반도에 기후변화에 의한 수온 상승으로 국내 연안 어장의 약 23%(7,427 ha)가 갯녹음 현상에 의한 해조류 유실 피해를 입은 것으로 보고
- 이와 같은 수온 상승은 어병 발생과 확산을 가속화시키고 해양생태계의 구조와 조성에 변화를 가져올 것으로 예상됨(국립수산과학원, 2007)

### ○ 해양생태계 장기변동 현상은 피드백을 통해 기후변동 등 환경변화 유발

- 해양환경 변화는 해양생태계 변화를 유도하고, 해양생태계 변화는 피드백을 통해, 기후 변동 등의 환경변화를 유발 할 수 있음(그림 1)
- 해양생태계 변화는 대부분 서서히 일어나므로 장기적인 모니터링을 통해

서만 변화를 감지할 수 있음(그림 2)

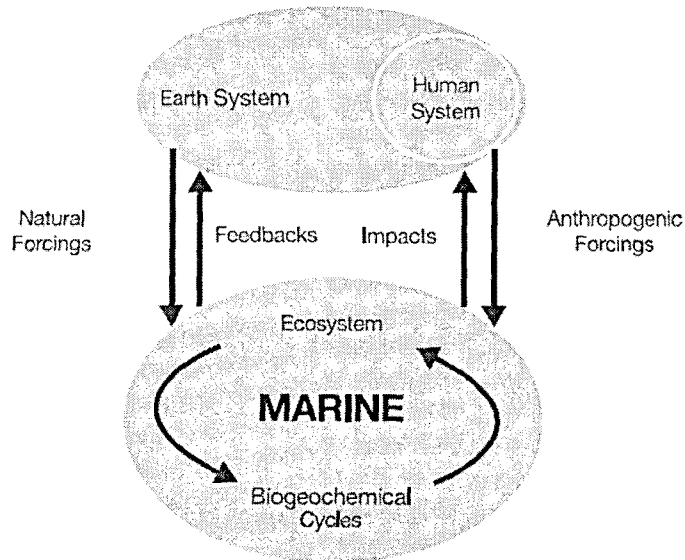


그림 1. IMBER의 연구목적(IMBER IGBP report 52, 2005).

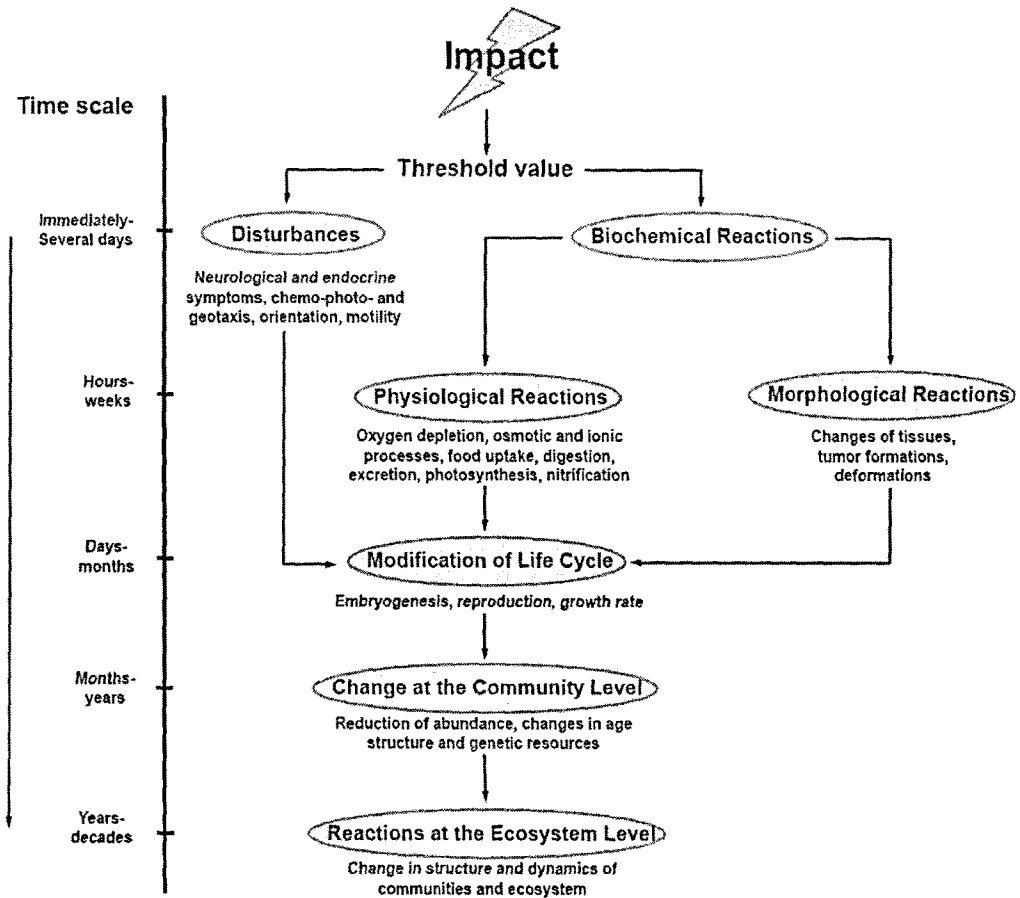


그림 2. Biotic system에서 스트레스에 대한 평균 반응 시간 (Fränze, 2006).



- 생태계 변동요인이 다양하기 때문에 장기적인 관측자료가 있어야 변화의 평가가 가능하므로 기후변화 및 환경변화로 인한 해양생태계의 장기변동을 파악하고 그 영향을 이해하기 위해서는 광범위한 영역에 걸친 장기해양생태계 연구가 중요함
- 국외에서는 이미 국가별로 다양한 장기해양생태연구 프로그램이 성공적으로 운영되고 있음
- 미국의 경우 1980년 미국국립과학재단(NSF)에서 시작한 장기생태연구(LTER)를 지속적으로 수행하며 연구프로그램을 확대해왔으며, 이를 통해 얻어진 과학적 지식과 생태계에 대한 이해는 생태학적 지식을 통합하고 그에 대한 이론적 토대를 마련하는데 큰 기여를 했으며 환경문제들에 대해 적절한 해결책을 제공하였다고 평가받고 있음
- IMBER(Integrated Marine Biogeochemistry and Ecosystem Research)의 경우 먹이망 전체 생물군의 군집구조 및 현존량 변화, 먹이망 내에서의 물질흐름 이해, 영양물질 공급 변화에 의한 영향 연구 및 해양물리역학이나 기후에 미치는 생태계의 피드백 현상의 이해를 통해 natural forcing과 anthropogenic forcing이 해양 생지화학적 순환과 생태계에 미치는 영향과 그들의 상호작용 및 인간사회로의 피드백에 대한 연구를 장기적으로 수행하며 성공적인 통합생태계연구를 이끌어나가고 있음

#### ○ 해양생태계의 효율적 관리를 위한 한반도 장기해양생태계연구 필요

- 한반도의 경우 삼면이 바다로 둘러싸여 있고 주변국들과 인접한 영해로 인해 경제수역의 마찰과 불법어획 등의 외교적 문제를 안고 있으므로 해양 위주의 장기해양생태계 연구를 통한 21세기 해양환경정책 수립이 시급히 요구됨
- 해양관련 제반기술 및 해양 관리와 연구에 있어서 국제적으로 우위를 차지하고, 해양생물 다양성을 보존하며 해양생태계를 효율적으로 관리·경영하기 위해서는 한반도의 해양수온 변화와 수산자원 분포, 해양생태계 변동 등의 장기해양생태계연구가 필요
- 실제 한반도에서 해수면 상승, 동물플랑크톤 장기변동, 수온상승과 유입장피의 출현, 외래종 유입으로 인한 생태계 교란, 주요어종의 연간 어획량 변화 등의 장기적 변동현상이 관찰되고 있음(Hahn, 1997; Jeong et al., 2003; Kang, 2000; Kang et al., 2002; Kim et al., 2009)

- 현재 우리나라는 해양생태계 연구의 필요성을 인식하고 있는 초기단계라고 평가할 수 있으며 선진국에 비해 그 연구가 20~30년 뒤져 있음
- 2004년부터 환경부에서 『국가 장기생태 연구(NLTER)』가 수행되고 있으나 육상생태계위주로 구성되어 있으며 해양생태계 연구는 미흡

## 1.2. 연구개발 필요성

### ○ 해양 물리화학적 환경변화에 따른 생태계 전반의 구조변동 분석 필요

- 해수온의 상승으로 인한 해양구조의 변화는 다양한 형태로 해양환경에 영향을 줌(그림 3)

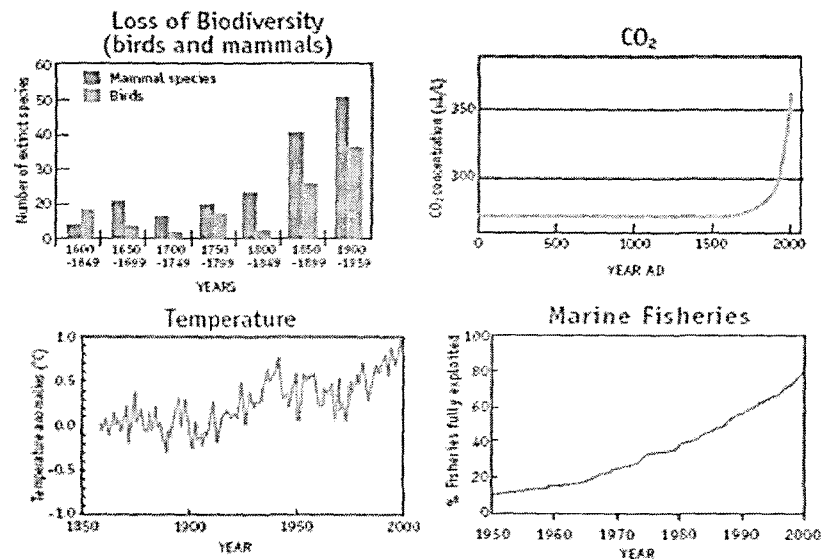


그림 3. 지난세기동안 지구시스템 변화 양상(FAO, 2000).

- 환경변화에 민감하게 반응하는 저차소비자인 동물플랑크톤에서부터 고차 소비자인 어류까지 각각의 단위 생물군의 군집구조 뿐만 아니라 생태계 구조 및 개체군의 생리생태 특성이 변함. 이에 대해 해양의 물리화학적 환경변화에 따른 생물군집(다양성)과 먹이망을 포함하는 생태계 구조의 변동 분석이 요구됨
- 단위생물군 변동연구 만으로는 생태계구조 및 기능 변화를 이해하는 데는 한계가 있으므로 장기적인 생태계 변화의 지속적인 모니터링과 함께 최근 세계적으로 중심 연구주제가 되고 있는 'end-to-end food web' 연구를 통해서 해양환경변화와 생태계변동의 상호작용을 이해해야 함

## ○ 기후변화와 같은 환경변화에 따른 해양생태계 변화 예측을 위한 종합적 연구시스템 구축 필요

- 기후변동과 환경오염으로 인한 해양환경변화는 해양순환 구조의 변동을 초래하고 물질순환과 이화학적 환경요인의 시·공간적 분포의 변화를 유발하여 해양생태계 전반에 영향을 주므로 기후변동에 따른 생태계 구조 변동, 생태계 구성 요소들의 기능 변동과 이와 관련한 생물생산구조 변동과 같은 해양생태계 반응 연구가 요망됨
- 한반도 연근해의 과거 및 현재의 해양관측자료를 분석하여 환경변화가 해양생태계에 미치는 영향을 파악하고, 주요 해양과정의 변화양상을 규명하여 해양환경변동에 의한 미래의 한반도 해양생태계 변화를 예측하기 위해서는 광범위한 영역에서 장기적인 연구조사가 필요함
- 이를 바탕으로 한반도 연근해 해양생태계의 과거와 현재의 상황을 진단하고 기후변화와 같은 환경변화에 따른 해양생태계 변화를 예측할 수 있는 효과적이고 종합적인 연구시스템을 구축해야 함

## ○ 생태계 기반관리를 통한 생물다양성 관리 전략을 마련하여 유용 수산자원의 지속적인 이용과 관리 필요

- 해양순환 시스템의 변화와 같은 물리적인 해양환경 변화는 해양 내 물질순환 및 영양염 분포 등의 화학적 변화를 수반하며, 이와 같은 물리화학적 변화에 의해 박테리아, 식물플랑크톤, 동물플랑크톤 같은 하위영양단계 생물들의 생산성과 종 다양성, 군집구조 변동이 일어남
- 이는 어류 등을 포함하는 상위영양단계의 포식자 동물군의 종다양성 및 생리생태 변화를 유도하게 되며, 이런 과정을 통해 인간이 이용할 수 있는 경제적으로 중요한 수산자원의 질과 양이 결정되며, 결국 인간의 경제·사회적 활동에까지 영향을 줌
- 유엔식량농업기구(FAO)가 2000년에 발표한 자료에 따르면 전 세계 어족의 10%는 사실상 고갈상태이고 과잉개발로 자원량이 줄고 있는 어족은 18%에 달하며 47%는 더 이상 어획량을 늘리기 어려운 상황임(그림 4)
- 수산자원고갈과 해양환경 오염 등에 대한 우려가 날로 높아지고 있는 가운데 20세기 말부터 세계적으로 해양과 해양환경보전의 중요성이 부각
- 이에 대한 노력의 일환으로 유엔 해양법협약, 리우선언, 아젠다 21, 지속

가능발전세계정상회의(World Summit on Sustainable Development, WSSD)와 주요 선진 8개국 정상회의(G8)에서 해양환경보전을 위한 다양한 이행계획을 논의하는 등 해양환경 보전을 위한 여러 가지 조치들을 장구하고 있음

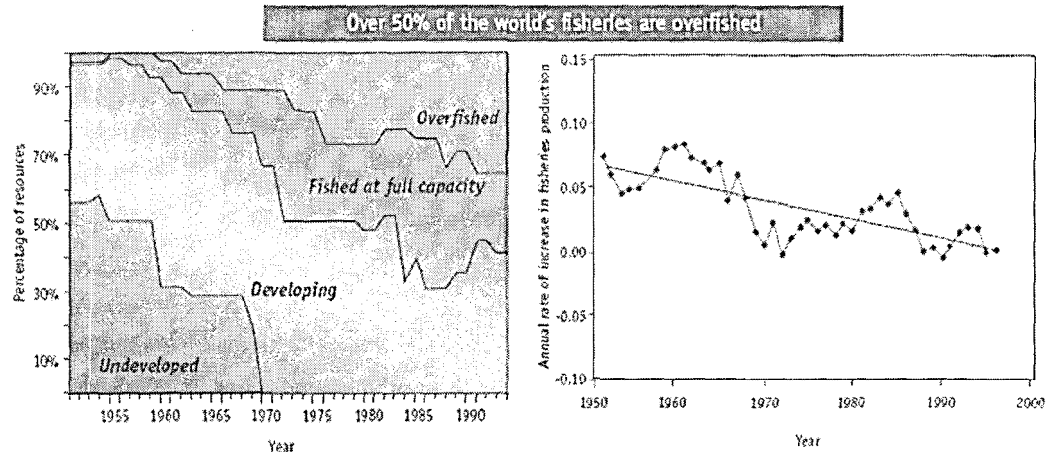


그림 4. 수산업의 세계적 추세. 과잉어획이 증가하고 수산자원량은 줄어드는 추세임 (FAO, 2000).

- 해수온 상승과 같은 해양환경의 변화는 어장의 기후경계를 무너뜨려 난류성 어종인 전갱이, 돔과 같은 어종들은 북쪽으로 이동하게 되어 기존의 어로작업으로는 어업이 불가능해 질 수 있음. 게나 심해 저어류 등에 비해 연안에 서식하면서 환경변화에 대한 반응이 느린 연안어장의 어패류들(넙치, 성게, 전복 등)은 심각한 생산량 감소를 가져올 수 있음
- 해양생태계연구를 통해 상업적 중요 수산자원의 수확시기, 치패의 방류시기에 대한 정보를 획득하고 나아가 주요종의 생산량 변화나 어종변화 예측을 통해 수산자원을 효율적으로 관리할 수 있는 정보를 확보해야 함
- 현재 한반도에서 해양환경 변화에 따른 생물군집 구조 특히 수산자원생물의 주요종 변화 혹은 종 대체 현상이 감지되고 있음(그림 5).
- 실제 수온상승으로 인하여 최근 남해와 동해에서 발생하는 주요 어업어종의 변화는 한반도 연근해 어업생산 구조 변화를 초래하고 있음
- 현재 지구온난화와 그에 따른 환경변동과 한반도 해양생태계 교란에 대한 구체적이고 과학적인 자료가 매우 빈약한 상태이므로 유용수산자원을 비롯한 해양생물자원의 지속적인 이용과 관리를 위해 생태계 기반 관리

를 통한 생물다양성 관리 전략 마련이 절실히 요구됨

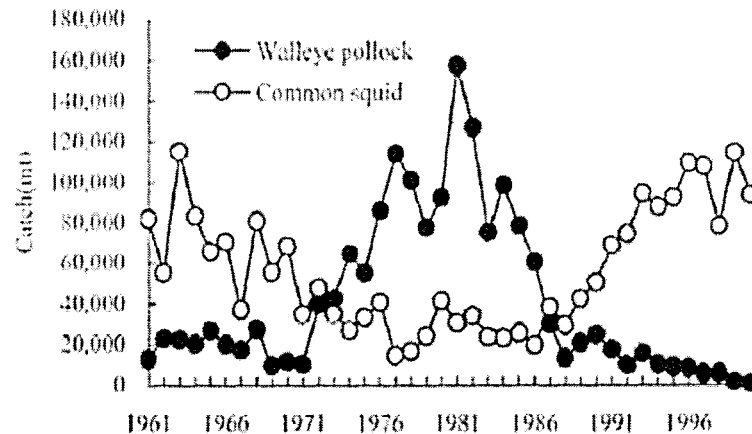


그림 5. 동해에서 주요 어종의 연간 어획량 변화(Kang et al., 2002).

- 수산자원 중 특히 어류나 패류의 경우 고부가 가치 생물로 어업인들의 경제생활과 밀접하게 연관되어 있고, 산란기 변화 등의 자료는 수확시기, 어획금지시기의 선정 등 해양, 수산 관련 정책 결정에 있어서 중요한 과학적 기초자료로 사용될 수 있음
- 따라서 해양구조 변화, 어류의 회유경로, 난·자치어 분포, 기후변화에 의한 산란시기의 변화, 주요 어류에 대한 산란장 환경조사 등이 요구되어지며 자원생물의 생산 관리 및 예측과 관련한 장기해양생태 연구가 필요함

#### ○ 장기적이고 종합적인 한반도 해양생태계 조사 연구 및 관리시스템 개발 계획 수립 필요

- 20세기 후반에 들어서면서 지속가능한 발전, 지구환경 보전 및 생물다양성 증진 등과 같은 보다 근원적이고 장기적인 환경문제 해결에 각국이 적극적으로 나서고 있음
- 전 세계적으로 21세기의 가장 중요한 환경문제로 손꼽히고 있는 지구온난화와 생태계 변화문제에 대해서 이제 우리나라도 적극적인 대책을 마련해야할 시점에 이르렀음
- 선진국형 환경정책의 수립에 있어서 무엇보다도 국내 해양환경과 생태계에 대한 깊이 있는 정보와 차세대 해양강국을 이끌어 갈 국제수준의 인력 인프라의 구축이 요구됨
- 국제적으로 1970년대부터 각 나라들이 고유한 체계적 연구 계획을 수립·

실천해오고 있는바, 이런 선진국들의 경험에 비추어볼 때 우리나라도 본격적인 해양생태계 변동 연구의 필요성을 인식하고 장기적이고 종합적인 차원에서 해양생태계 조사연구 활동이 필요한 시점임

- 다년생인 주요종(핵심종)의 생활사 같은 오랜 시간이 요구되는 생물학적 과정의 이해나 물리화학적 요인의 변화로 인해서 일어나는 현상의 이해, 기후변화 같은 연간 변이성에 의한 생태계 변화를 이해하기 위해서는 장기적인 생태연구가 중요
- 연안해역의 생태환경연구의 경우 이를 통하여 연안오염 관리 및 예방이 가능하며, 이는 레저 활동과 관광 등의 인류복지와 관련된 연안역 관리 및 이용을 위한 기본 자료 제공을 통해 건강한 바다를 지속/유지할 수 있는 기반을 마련하여 효율적인 해양자원의 관리를 가능하게 함
- 이외에도 생물종 다양성 유지 및 생물종 DNA 등의 유전자 확보를 통해 해양바이오산업의 기초자료를 축적할 수 있으며 이는 국내 해양바이오산업의 기반을 다지는 중요한 연구활동이 될 수 있음
- 해양산성화 등 국제적으로 민감한 대기 중 CO<sub>2</sub> 농도 증가와 관련된 해양의 CO<sub>2</sub> 저장능력에 대한 연구를 통하여 녹색성장과 더불어 기후변화에 대응하는 연구결과 도출 및 효과적인 정책 고안이 요구되며 이런 장기해양생태계연구를 통해 한반도 해양환경변화에 대한 미래예측과 그와 관련된 해양관리 정책 구축이 요구됨
- 21세기 선진국형 환경정책을 수립하는데 있어서 환경친화적인 해양생태계의 관리·경영을 가능하게 하려면 기후변화 등 주요 외부요인에 의한 해양생태계의 반응과 그에 따른 환경으로의 피드백 현상 이해를 통해 해양생태계의 변동과정을 이해해야 하며 궁극적으로 해양생태계 변동이 사회적으로 미치는 영향에 대해 이해해야함
- 이와 같은 장기해양생태계연구를 효과적으로 수행하기 위해서 한반도 해양생태계 변화에 대한 과학적이고 체계적인 자료를 획득할 수 있는 지속적인 해양생태변화 조사·연구·모니터링 체제의 구축이 필요
- 한반도 고유의 장기해양생태계연구를 위해서는 국가차원의 장기해양생태계 연구 종합계획 수립과 이를 위한 장기해양생태연구 지침서 작성 및 연구 대상지 선정 등을 통해 동 사업의 체계적인 연구추진체제를 구축해하는 것이 선결되어야 함

### ○ 생태계변동성과 기능적 특성 파악을 위한 국제수준의 첨단 연구 필요

- 한반도 장기해양생태계 연구는 해양국토의 보전과 지속가능한 이용을 위해 필수적인 사업이며 단순한 조사사업이 아닌 과정 연구 중심의 생태계 기능적인 측면을 연구하여 미래 해양생태계 예측을 통해 다가올 한반도 변화를 대비하고 생태계 기반의 해양관리(ecosystem-based management) 정책을 수립하여 해양관리와 자원관리형 어업을 위한 체계구축 등을 통해 국민의 삶의 질 향상에 기여할 것임
- 해양생태계의 보전과 복원 및 관리를 위해 생태계 보전·복원기술 연구 개발을 통한 3세대 환경정책을 추진하고 있으나 육상장기생태연구에 비해 많이 늦은 감이 있음
- 장기적인 해양생태계 조사 중 국립수산물과학원이 주축으로 수행하고 있는 해양생태계 기본조사의 경우 10년 주기의 변화를 인식하는 것을 목적으로 수행되고 있어 생태계 변화는 탐지가 가능하나 그 원인을 이해하지 못하는 아쉬움이 있으며 이외에도 국립수산물과학원에서 연안관측망, 정선 해양관측 등을 장기에 걸쳐 수행하고 있으나 이 사업들은 해양생태계 구성요소들 대부분이 조사되지 못하고 있는 실정임
- 이와 더불어 생태계의 현황분석에 그치는 것이 아니라 생태계변동성 및 기능적 특성을 이해하기위해 필요한 항목들에 대한 연구와 첨단 과학기술을 이용한 관측도 수행되어야 하며 조밀하고 빈번한 장기조사를 통한 지속적인 장기해양생태연구가 이루어져야 함
- 국제적인 환경정책과 연구방법들을 적극 활용하여 국가의 지속가능한 발전기반을 확충하고 해양과 관련된 다양한 국제규약을 이행하고 국제협약 실천에 기여하여 국가위상을 제고해야 함

### 1.3. 국내 · 외 연구사례 및 현황

- 해양관련 국제협력 및 관련 국제협약의 의제 분석을 통한 해양정책 및 국가연구개발 사업 방향성을 제시하기 위해 우리나라를 비롯한 주요 국가의 해양정책 및 해양과학기술 현황을 파악하였음(표 1)

표 1. 주요국가의 해양정책 중점분야 및 해양과학기술 현황

	해양환경정책 중점분야	해양과학기술 수준 및 국제협력
미국	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 국토의 보전 및 복원</li> <li>• 건전한 사회와 생태계 조성</li> <li>• 환경에의 순응과 관리책임 확립</li> <li>• 해양산업의 지속적 우위 유지와 생태계 기반의 해양정책</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 연안환경과학기술, 해저조사, 수계 기상학, 청정에너지 등 다양한 분야에서 세계 선두</li> <li>• 러시아, 중국, 일본 등과 폭넓은 국제협력 활동</li> </ul>
일본	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 환경교육/학습, 환경보전 활동</li> <li>• 환경과 경제의 통합</li> <li>• 해양보호/이용/이해의 균형잡힌 정책으로 전환</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해상공항 건설 등 다양한 분야에서 세계 선두를 지향</li> <li>• 아시아태평양 지역협력 및 국제협력 활동</li> </ul>
EU	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 기후 및 에너지 패키지 (온실가스 감축, 재생에너지 사용, 에너지 효율 향상)</li> <li>• 생물 다양성 (야생동물 보호, 토착종 보호)</li> <li>• 폐기물 관리</li> <li>• 수질오염, 대기오염 관리</li> <li>• 신화학물질 관리제도(REACH; 화학물질 등록/평가/허가/제한 제도)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 청정 대체에너지 개발과 지속가능한 어업 및 양식, 메탄수화물 등 광물자원 개발 등에 주력</li> <li>• 유럽연안의 대륙붕, 연안역, 생물 종 다양성, 기후변화, 나노기술과 신형물질을 이용한 센서개발 등의 연구 수행</li> </ul>
중국	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 경제개발 주요 핵심기술 중 하나로 MT(해양과학기술) 선정</li> <li>• 생물 다양성 보호</li> <li>• 해양환경(해양생태계 환경 보호/관리, 해양환경 재앙 보호/관리, 토양기반 오염의 바다로 배출 저감)</li> <li>• 정부에 의해 직접적으로 관리하며 환경보호와 경제개발의 균형을 강조</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해양관측 전용위성 발사, 해양환경 변화와 생물자원의 지속가능한 이용 및 대양, 심해연구에 대한 연구 및 기술개발을 강화하고 있으며 지속적이고 빠른 해양산업의 발전을 이루고 있음</li> </ul>



한국	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해양과학기술(Marine Technology) 개발계획 추진</li> <li>• 첨단 해양산업 육성기술 분야(동북아 물류중심국가 건설을 위한 기술기반 구축), 해양자원 개발 및 이용기술 분야(국가성장동력 확보에 필요한 자원 및 에너지원 확보), 해양환경 관리·보전 기술 분야(안전하고 쾌적한 바다환경 조성)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 해양조선 1위, 컨테이너 화물 처리량 5위 등 세계 10위권 해양력 보유</li> <li>• 해양관련 연구자 및 연구기관 통한 국제협력 활동</li> </ul>
----	---	--

## 가. 국외연구

- 한반도 해양장기생태연구 사업 계획을 수립하기 위해 외국에서 진행되고 있는 대표적인 장기해양생태 연구사례들을 조사하고 국제적 연구사업, 국외연구소 및 연구위원회의 연구현황을 참조할 필요가 있음
- 미국 이외에도 이웃나라 일본과 중국, 유럽 국가 등 선진국을 중심으로 LTER 사업과 유사한 연구들이 성공적으로 수행되고 있음
- 우리나라의 경우 주요 선진국과 비교할 때 장기생태연구 착수가 20~30년 정도 뒤쳐져 있고 특히 해양생태분야는 더 미비한 실정이며 선진국들의 앞선 경험과 기술, 성공사례들을 살펴보고 한반도 특성에 맞는 장기해양생태연구 계획을 수립하여야 함

### (1) 미국 장기생태연구(LTER)와 국제장기생태연구 네트워크(ILTER)

- 미국 국립과학재단(NSF)이 「장기적으로 넓은 공간에 걸쳐 다양하게 변화하는 생태계 제반과정, 패턴, 현상 등에 관하여 과학적으로 기록/분석하고 이런 검토를 통해서 생태계에 대한 이해 증진」이라는 목적으로 시작한 연구프로그램
- 이들 연구사업은 생태학적 지식을 통합하고 이론적 토대를 마련하는데 큰 기여를 했으며 환경문제들에 대해 적절한 해결책을 제공하였다고 평가받고 있으며 지난 20년간 얻어진 정보와 자료들을 통합과학적으로 활용해서 향후 장기적인 생태계변화를 이해할 수 있도록 목표를 생태계변동 예측에 두고 추진

할 것이라고 밝힘(LTER Twenty Year Review Report, 2002)

- 2004년 Pew Center on Global Climate Change에서 미국 산업부문에 대한 기후변화의 영향을 종합적으로 평가한 결과 기후변화가 농업, 수자원, 공중보건, 육상생태계, 바다생태계에 영향을 미친다고 평가하였음(Smith, 2004). 실제 해수면의 기온상승으로 산호 백화현상(coral bleaching)이 나타나 산호초가 소실되고 있으며 이로 인해 산호초와 공생하는 어패류의 서식환경도 변화하고 있음. 기후변화에 의해 사회 전반에서 나타난 손실에 대한 연구를 실시하여 대책안을 마련하고 분야별로 기후변화 시나리오를 작성하여 예측
- 미국의 경우 해양과학 분야에서는 기후 변화, 해양과 인간건강과의 관계, 해양생물의 복잡성, 해양순환모델링 등의 연구에 주력하는 한편, 해양기술 분야에서는 해양탐사를 위한 차세대 심해잠수정 개발 등을 추진 중임. 인공위성과 초고속컴퓨터 등을 활용한 해양지도화 작업에도 투자를 지속하고 있음
- 세계 각국의 유사한 장기생태연구 프로그램들이 서로 연계하여 국제장기생태연구(ILTER) 네트워크를 구축하여 상호교류를 통해 생태적 변화를 상호 비교 분석하고 관련 정보의 통합을 추진하고 있음. 참여연구원들의 국제적 상호교류를 추진하고 각 국가들의 LTER 연구의 국제적 협력을 촉진하고 ILTER 네트워크 미가입 국가나 연구지역을 대상으로 장기생태연구 프로그램이 운영될 수 있도록 지원

## (2) 중국 장기생태계 연구 네트워크(CERN)

- 국제 장기생태연구 네트워크의 멤버로 중국정부와 세계은행 론의 후원으로 1988년 설립. 36개의 야외조사지역을 연구하고 있으며 환경보전과 지속가능한 자원 이용에 관한 과제 연구 수행을 목적으로 함
- 통합생태연구센터는 수집된 생태자료를 슈퍼컴퓨터에 의해 통합/관리하고 분석하여 중국과학원 및 ILTER에 제공
- 중국의 경우 1999년 제10차 5개년 계획을 수립하면서 해양과학기술 정책을 5대 중점 연구분야로 선정하여 해양과학기술 연구개발을 적극적으로 추진. 연근해 위주의 연구에서 심해 대양과 극지 해역으로 연구영역을 확대하고 있으며 해양과학연구에 대한 투자를 확대하고 해양공동조사선 및 해양의 입체적 관측시스템 등 연구 인프라를 구축. 2006년에는 중국의 해상왕(정허)의 대항

해 600주년을 기념하여 '항해의 날'을 지정하는 등 해양과학 및 해양산업의 발달에 적극적으로 투자하고 있음

- 신중국 건립이래 중국의 해양사업은 눈부시게 발전하였음. 해양경제 규모가 확대되어 1978년 약 60억 위엔 이던 해양경제 생산액이 2008년 2조 9,600만 위엔으로 증가하였으며 국내총생산의 약 10%를 차지하고 있음. 해역사용 및 해양생태환경에 대한 보호가 강화되어 해양보호구 약 200개를 구축하여 3만 8,000 km<sup>2</sup>에 달하는 해역의 생태환경을 보호하고 있으며 이외에도 남극과 북극에 극지연구소를 구축하여 운영하고 있음
- 해양기술의 경우 1996년 '863계획'에 편입된 후 급속히 발전하고 있으며 해양 기술영역에 투입된 국가차원의 경비는 약 28억 위엔에 달함. 해양 유전·가스 탐사개발, 해양환경모니터링, 해양생물자원 이용 등의 분야에서 다량의 기술성과가 창출되고 산업화 응용을 실현하였음. 이를 바탕으로 2010년 4월 말에 산둥성 청도 국제전시회센터에서 개최된 「'863계획' 해양분야 과학기술성과 이전·보급 및 제품 소개·매칭 상담회」에서 과학기술 성과 310여 건을 선보였으며 위탁기술개발(이전) 계약 18건, 기술개발 협력 및 기술이전에 대한 협의 또는 의향서 42건이 체결되었고 계약액은 2억 4천만 위엔에 달함(출처, 한중과학기술협력센터)

### (3) 일본 장기생태계 연구 네트워크(JaLTER)

- 보존과 지속가능한 환경개발, 생태계, 생산력, 생물 다양성 측면의 과학적 지식을 제공하는 것을 목적으로 하며 국제 장기생태계연구 네트워크와 긴밀하게 연계되어 있음
- 국가적으로 일본 열도 전역에 걸쳐 100개가 넘는 LTER 연구대상지를 확보하여 운영하고 있으며 산림은 물론 호수, 하천, 습지, 섬 등 다양한 성격의 생태계를 모두 포함하여 운영하고 있음
- 자국뿐 아니라 말레이시아, 태국, 인도네시아 등 동남아시아 국가들에도 해외 연구대상지를 두고 운영하고 있음
- 우리나라와 자연환경이 유사하고 같은 문화권으로 많은 해양조사 연구대상지를 운영하고 있으므로 많은 참조가 될 것으로 보임
- 자연환경보전 기초조사에서 지형/지질의 분포, 항만 등의 지역계획, 해상/기

상 조건, 하천 유입상황, 수질/저질의 상황, 생물분포, 주요생물의 생리·생태 특성을 연안생태계의 조사항목으로 선정하여 장기적으로 수행 중

- 차세대 해양탐사기술을 인공위성 등 우주관련 기술과 결합시켜 지구온난화 등 환경 변화와 지진 등에 대비하고 해저자원을 개발해 활용함으로써 국민의 삶의 질을 개선하는 것을 해양과학정책의 목표로 하고 있으며 이런 활동의 최전선에 있는 기관이 문부과학성 산하 연구기관인 일본해양개발연구기구(Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology: JAMSTEC)임
- 일본해양연구개발기구(JAMSTEC)에서는 2009년 5월 해양생물의 다양성 및 분포 정보 등을 취급하는 「BISMaL (Biological Information System for Marine Life)」라는 통합 데이터베이스 사이트를 공개하여 운영 중임. 이 사이트(BISMaL URL: <http://www.godac.jp/bismal/>)에서 이용자(일반인)는 생물의 학명(이름) 검색을 통해 각종 심해해양생물의 출현 위치 등을 검색하고 분류학적 특성, 생태 및 생리학적 특성, 분포 정보, 잠수조사선 등에 의해 촬영된 영상 등 대상 생물에 대한 다양한 정보를 얻을 수 있음(그림 6)

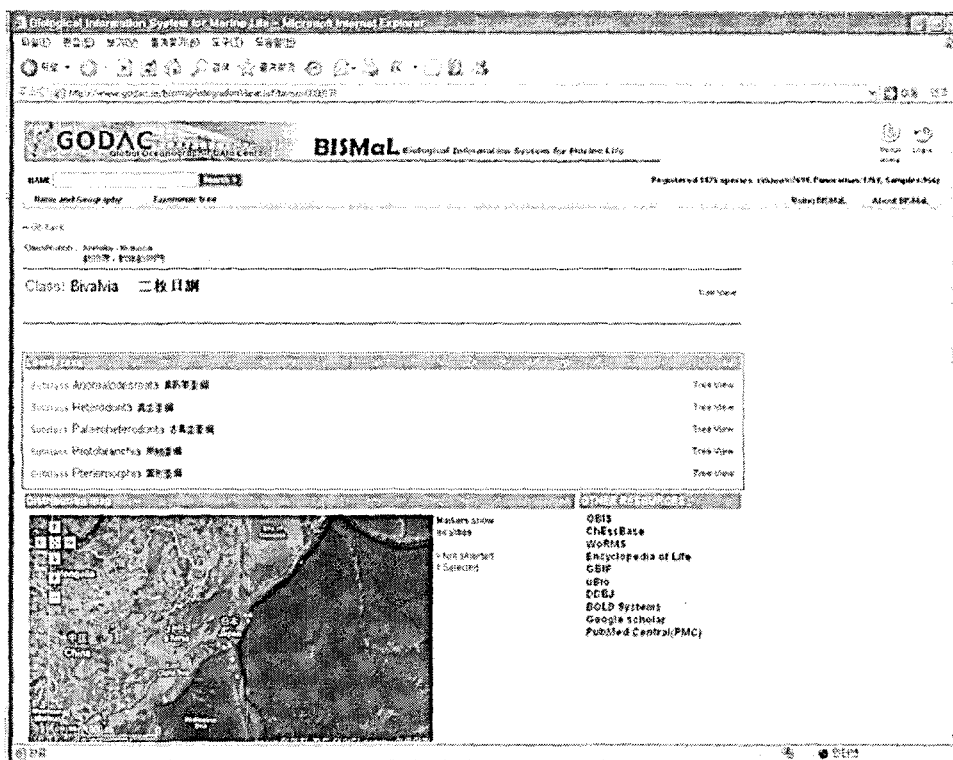


그림 6. BISMaL 사이트 검색 예시.

- 지속적인 데이터 공급과 수온과 염분 등의 환경정보의 통합기능을 추가하고

국제적인 데이터베이스와의 연계를 추진하고 있으며 이를 통해 지구규모의 환경변화가 해양 생물다양성에 미치는 영향을 평가하고 연구하는데 공헌할 것으로 기대되고 있음

- 국토교통성 산하기관인 해상기술안전연구소(National Maritime Research Institute: NMRI)도 일본 해양과학기술 분야의 한축을 담당하고 있으며 해양 방제 및 안전 등 해사문제, 해양환경, 선박기술, 부유식 해상구조물 건설기술 개발 등 응용과학연구에 중점을 두고 있음. 해양자원 및 해양공간의 활용과 해양권의 보호, 다양화되고 고도화된 해양환경 보전 요구에 부응할 수 있는 연구를 수행하는 것을 목표로 함

#### (4) 호주의 연안생태계 조사

- 호주는 연방국가의 특성을 반영하여 대부분의 조사가 주정부가 주관하고 연방정부가 지원·감독·평가를 하는 체제로 구성되어 있음
- 환경유산부(Department of Environment and Heritage, DEH) 주도의 연안생태 조사는 생물지표(biomarker)의 개발, 대형무척추동물 군집을 이용한 습지 영향 평가 등 주로 수질 기준 마련과 생태건강성 평가기법 개발에 집중하는 ‘국가 수질관리 전략(National Water Quality Management Strategy, NWQMS, 1992년)’ 관련 프로그램을 수행하고 있음. 생물학적 자료에 기반을 둔 수질관리와 개별 생태계의 특성에 맞는 수질관리 세부지침의 원칙하에 개별 주정부 차원의 현장조사가 이루어지고 있고, 호주정부가 현장조사의 목표, 방법, 계획, 실험분석, 자료처리 및 해석, 자료발표 및 보고에 관한 과정을 구체적으로 제시한 수질현장조사 및 보고(Water Quality Monitoring and Reporting) 지침을 제시하여 생태계 자료의 수집이 체계적으로 이루어지고 있음
- 자연자원관리심의회(Natural Resources Management Ministerial Council)가 주도하여 자원관리가 필요한 우선지역을 선정한 후 심의회에서 의결된 사안은 연방정부, 주정부, 지방자치단체의 합의과정을 거쳐 ‘관리우선지역’으로 선정되며, 호주가 소유하고 있는 자연자원의 가치를 지속가능한 방식으로 이용하고자 하는 ‘자연자원관리프로그램(Natural Resources Management Program, NRM Program)’을 운영하고 있음
- 자연자원관리프로그램과 국가 수질관리전략 프로그램의 경우 개별 현장조사

사업은 주정부 주도로 이루어지며 연방정부는 주정부가 신청한 사업에 대한 승인, 예산지원, 결과 검토를 담당하는 구조로 운영되고 있으며 연방정부-주정부-관련지자체가 공동으로 현장조사와 연구계획을 수립하여 효과적으로 관리감독하고 있음. 이러한 방식을 효과적으로 정착시키기 위해 각종 현장조사 관련지침을 개발하고 연방정부 기관간 혹은 연방정부-주정부간 협약서 등을 체결 하여 진행함

- 2003년 호주 환경위원회에서는 기후변화에 대응한 국가 생물다양성 행동계획(2004-2007)을 수립하고(Natural Resource Management Ministerial Council, 2004) 기후변화가 생물다양성에 미치는 영향을 평가하고 행동계획의 목적과 전략을 수립하여 운영하고 있음.
- 호주의 경우 관광수입이 국가경제에 미치는 영향이 크기 때문에 모니터링을 통한 자국관광산업의 피해를 예측하고 이에 대한 대책을 수립하고 있음. 실제로 2002년에 해안 산호군락의 60%에 백화현상이 발생하여 320억 달러 규모의 관광산업에 타격을 입었음. 이에 대해 지속적인 모니터링을 실시하여 백화현상에 대한 원인을 규명하고 산호 보전 정책을 수립하여 대책을 마련하고 있음. 또한 장기생태모니터링을 통하여 멸종위기종이면서 주요 생태관광 상품 중 하나인 펭귄 개체수 감소의 원인이 천적과 애완동물에 의한 것으로 밝혀지자 천적의 퇴치 및 공원 지역 내의 개, 고양이 사육 금지 규정을 마련하는 등의 정책을 수립하여 펭귄 개체수 보존을 위한 노력을 하고 있음
- 호주의 생태적 특성을 고려하여 잠재적 기후변화 지표, 생리적 지표, 현상학적 지표 등 세부적으로 구분되고 특화된 지표를 선정하여 장기 모니터링하고 있으며 해수 표면의 온도의 생리적 지표로 산호초 백화현상 등을 장기적으로 연구하고 있음

##### (5) 몬테레이만 수족관 해양연구소(MBARI)

- 1987년 데이비드 패커드(휴렛-패커트사의 설립자)에 의해 설립된 연구소로 해양관련 연구자와 과학자, 공학자, 기술자로 구성되어 현존 기술에 의해 제약받고 있는 중요한 해양과학의 여러 문제점들을 과학자와 기술자가 동시에 해결하고자 하는 목적을 가짐
- 침단센서와 카메라, 시료채취 장치 등을 장착한 원격조정기구(ROV)와 자동 잠항기구(AUV)등을 자체 개발해 사용하고 있으며(그림 7), 해양생태계와 기

후변화, 지구의 지질학적 변화 등에 대한 광범위한 연구를 수행하고 있으며, 그 외에 해양실험 장비 개발은 물론 엘니뇨 규명 및 예측, 심해 이산화탄소 저장, 해양미생물 유전학, 해중산사태, 지진학 등에서 획기적 발견들을 보고하고 있음

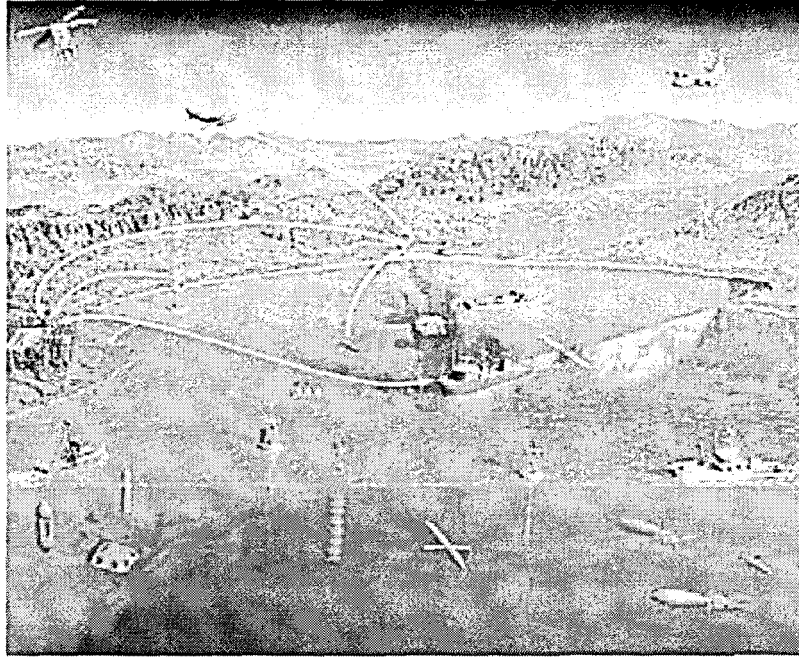


그림 7. 몬테레이만 수족관 해양연구소의 다양한 연구장비/방법의 상호 협력적인 연안샘플링 적용(IGOS Coastal Theme Report, 2005).

- 20년간 몬테레이만(Monterey Bay)에서 시계열관측 모니터링을 수행하여 자연적인 힘과 외부적인 힘에 의해 해양의 물리적 변화가 어떻게 화학과 생물에 영향을 주는지를 연구하여 표층수온의 작은 증가도 해양표층에서 식물생산의 상대적으로 큰 감소를 가져옴을 밝혔으며, 지구온난화에 의한 수온증가의 장기적 경향을 밝힘
- 몬테레이만에서 기후변화, 생지화학적 순환, 생태계변동, 환경적 위해요소들에 대한 연구 정보를 제공하기 위한 해양관측 시스템을 운영하고 있음(그림 8).
- 다양한 분야(저서생태학, 해양화학, 생물해양학, 지질학, 해양생물학, 분자생물학, 진화생물학, 분자미생물생태학, 첨단기술/기계)의 연구진과 첨단기술들을 이용하여 얻어진 연구성과들을 1997년부터 연차보고서(annual report)로 매년 출판하고 있으며 홈페이지(<http://www.mbari.org>)에 계류(mooring) 데이터와 비디오 관측 자료, 심해 생물 사진 등을 공개하고 있음

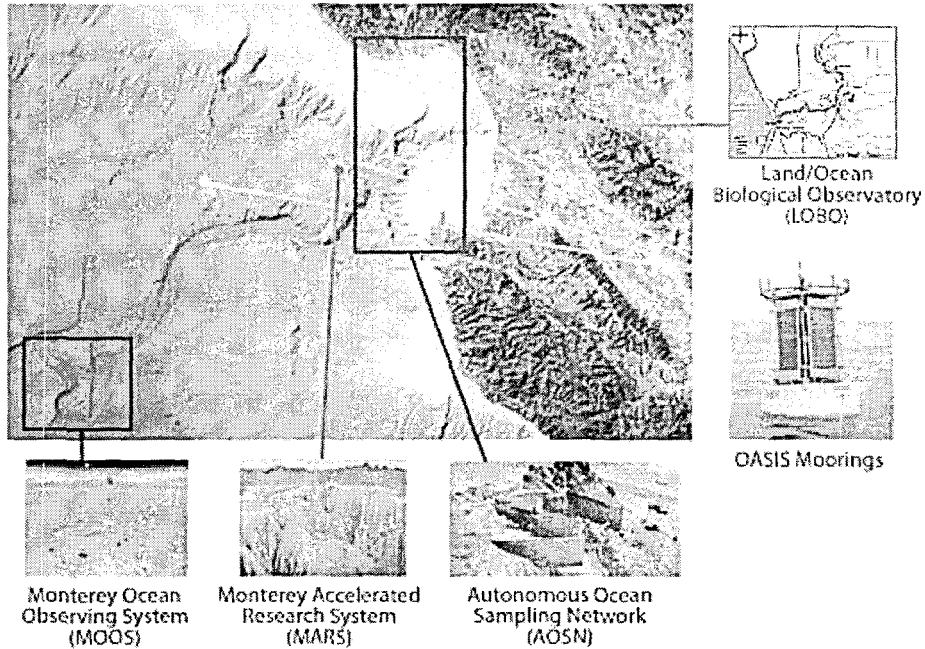


그림 8. 몬테레이만(Monterey Bay)에서 수행하고 있는 해양 관측.

#### (6) 해양생지화학 및 생태계 통합연구(IMBER)

- 해양 생지화학적 순환과 생태계 민감성의 장기간에 걸친 조사를 목적으로 하며, 국제생지권프로그램(International Geosphere-Biosphere Program, IGBP)과 SCOR (Scientific committee on Ocean research;국제해양연구과학위원회)로부터 지원받는 기후변화 관련 국제해양연구 프로그램
- 총 24개국이 참여하고 있고 기후변화나 연안오염 등에 의한 해양변화 연구를 통해 이 변화가 지구환경과 인간사회에 미칠 영향을 예측하는 것을 목표로 하며 큰 4가지 테마는 아래 [그림 9]와 같음
- JGOFS(기후변화와 생지화학, 1987~2003)나 GLOBEC(기후변화와 해양생태계 변동, 1995~2009)의 후속 프로젝트로 JGOFS와 GLOBEC의 연구주제를 통합하여 2016년 까지 계속 됨
- IMBER에 의해 밝혀진 중요한 영역중의 하나는 continental margin 임. 대륙붕과 사면에서의 물리, 화학, 생물학적 과정에 의해 외양으로 물질들의 수송과 변형에 대한 다양한 반응을 밝혔고 이들 과정은 지구적 변화에 대해 민감하게 반응하여 생지화학적 순환과 먹이망 변화를 야기함



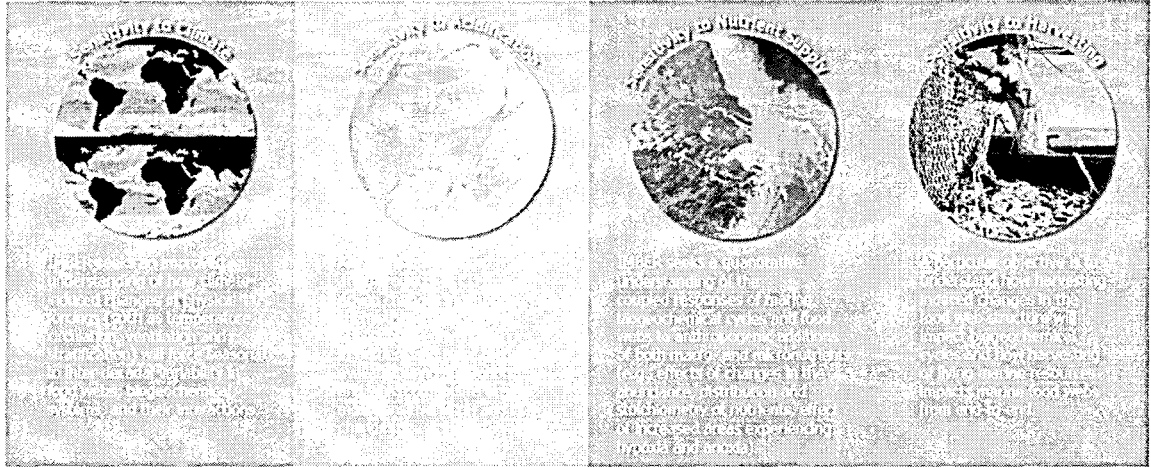


그림 9. 해양생지화학 및 생태계 통합연구(IMBER)의 연구프로젝트 방향.

#### (7) 국제해양연구 과학위원회(SCOR)

- 해양학 관련 현안 문제를 해결하기 위한 실무그룹을 실행기구로 갖고 있는 학술기구로 국제과학연맹 이사회(International Council for Science: ICSU) 산하의 과학위원회 중 하나임
- 해양관련 과학자 및 연구기관들이 참여하여 활동하며 정부간의 협정과 별개로 해양분야의 과제들을 주관/관리하고 있음
- JGOFS, GEOTRACES planning Group, GLOBEC, SOLAS, IOCCP, LOICZ 등의 대형 국제협력 해양연구프로그램과 프로젝트들을 기획/주도/(공동)수행
- UNESCO, FAO, WMO, IAEA, NAFO, ICES, IHO, ICSU 등의 국제기구와 비정부기구 IUGS, IABO, IUBS, IAMAP 등과 긴밀한 과학기술협력관계를 유지하고 있음. 정부간 학술기구(IOC, ACMPR 등)의 고문역할을 수행. 특히 기후변동에서의 해양역할 위원회, JGOFS 등을 통해 지구환경변화연구와 국제과학연맹이사회의 국제지권생물연구의 중추역할을 하고 있음

#### (8) JGOFS (Joint Global Ocean Flux Study)

- 탄소순환을 중심으로 대양에서의 생물/지구화학적 과정이 기후변화에 미치는 영향과 반응을 연구하는 국제적/다학제적 연구사업으로 20개국 이상이 참여하고 있으며 1987년 SCOR과 ICSU의 지원 아래 수행된 연구프로그램
- 1989년 국제생지권프로그램(IGBP)의 중심사업이 되었고, 1988년 가을부터 하

와이 버뮤다 근처 정점에서 장기해양시계열 프로젝트를 실시하였으며 주요연구내용은 이산화탄소의 대기-해양간의 상호작용과 해양의 표층-심층간의 탄소순환 연구 임. 전지구적 탄소순환 연구를 통해 지구온난화에 대한 경각심을 일깨우고 있음

- 해양의 경우 대기의 50배 이상의 이산화탄소를 함유하고 있고 해양에서 탄소순환의 작은 변화는 대기에서의 큰 변화를 유도할 수 있음. 이러한 변화는 기후에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 왔으며 대기중 이산화탄소와 온실가스들의 급격한 증가는 빙하기에서부터 향후 50-100년간의 전 지구적 기후와 환경변화, 인간 활동에 영향을 미칠 것으로 예상되고 있음

### (9) 북태평양 해양과학기구(PICES)

- 북태평양 해양연구 촉진과 국가간 협력 촉구를 위해 설립된 정부간 국제기구
- 해양 환경, 지구 온난화, 해양생태계 등 북태평양 지역에서의 해양연구 능력향상을 목적으로 함
- 미국, 캐나다, 일본, 중국, 러시아, 한국 총 6개국으로 구성
- 행정절차, 재정상의 규제를 개정하며 관할 수역상의 문제점 확인/해결방안 모색 및 연구사업 우선순위 설정
- 6개위 위원회를 운영(조직도 참조, 그림 10)

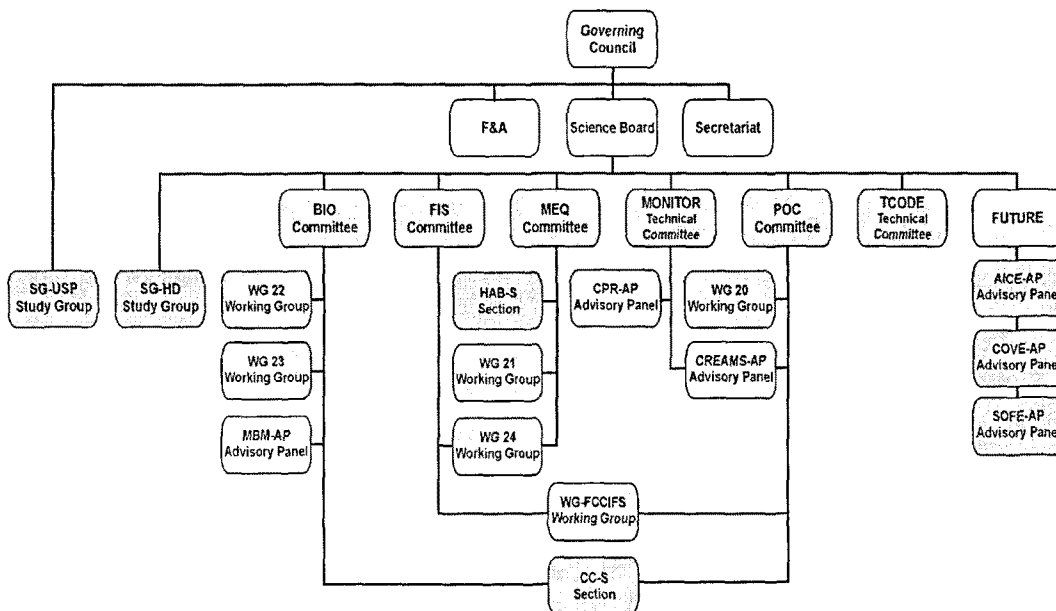


그림 10. 2009년 PICES 조직도.

- 2004년 PICES 공식프로그램 CREAMS (Circulation Research of East Asian Marginal Seas)/PICES가 탄생하여 동해를 대상으로 EAST-1 (East Asian Seas Time-series 1) 프로그램을 수행 중임
- 물리해양 및 기후변동 위원회(Physical Oceanography & Climate Scientific Committee: POC)는 북태평양해역 물리해양학, 화학해양학, 대기과학의 학제간 연구와 연안, 대륙붕, 대양의 기후변동과 물리역학을 조사하여 생물자원과 환경에 미칠 영향을 파악하고자 하는 활동을 추진
- 생물해양위원회(Biological Oceanography Committee: BIO)에서는 PICES의 다른 위원회와의 중간연결 역할을 수행함. 특히 저차영양단계연구의 경우 물리해양학과 기후변화연구의 영향을 크게 받으며 수산위원회와 협력하여 저차-고차 영양단계의 생물 생태학적 역할에 관한 과학적 지식을 어업활동을 위해 제공
- 수산과학위원회(Fishery Science Committee: FIS)에서는 식용을 목적으로 하는 수산자원생물의 생물학 및 생태연구(예, 분류학, 유전학, 행동양식, 영양관계, 서식지, 분포, 풍부도, 개체수 역학, 개체수 산출 등)를 수행하고 인간활동과 기후변화가 수산자원에 미치는 영향을 파악하는 연구를 수행
- 해양환경위원회(Marine Environmental Quality Committee: MEQ)에서는 해양환경에서 발견되는 물질들의 근원과 변화과정, 비토착종 생물의 이동경로와 도입, 양식이 해양환경에 미치는 질적인 영향, 유해적조 생태학 등을 연구
- 해양환경, 지구기후변화, 해양생태계 등에 관한 연구능력 향상을 목표로 연례 정기총회와 임시과학평의회 회의를 통해 과학평의회 관련 현안들을 논의하여 처리함

#### (10) 지구해양관측 시스템(GOOS)

- 전지구관측시스템(GEOSS)의 해양분야로 정부간 해양학위원회(IOC), 유엔 환경프로그램(UNEP), 세계 기상기구(WMO), 세계 식량농업기구(FAO), 국제 과학위원회(ICSU)에 의해 해양관련 데이터와 정보의 수집/분석/분배의 목적으로 개발된 종합관측시스템으로 각 국가기관과 프로젝트 사업자금을 바탕으로 운영되며 해양생태계 변화 탐지/예측 및 지구 기후변화 예측기술 향상을 목표로 함

- 연안해역의 지구해양관측 시스템(Coastal GOOS)을 이행(그림 11)
- 실시간 해양자료를 제공하고 지속적으로 해양상태를 관측하여 기후변화를 예측하기위한 기초자료를 제공. 해양관측데이터의 분석, 데이터 수집/획득/교환을 위한 공동전략 개발 및 시행, 데이터 산물을 이용하여 해양환경보호에 적용, GOOS 해양데이터 수집 및 사용을 위한 개도국의 능력 배양, 전지구적 관측 및 환경 경영전략의 통합을 실현할 수 있을 것으로 기대됨

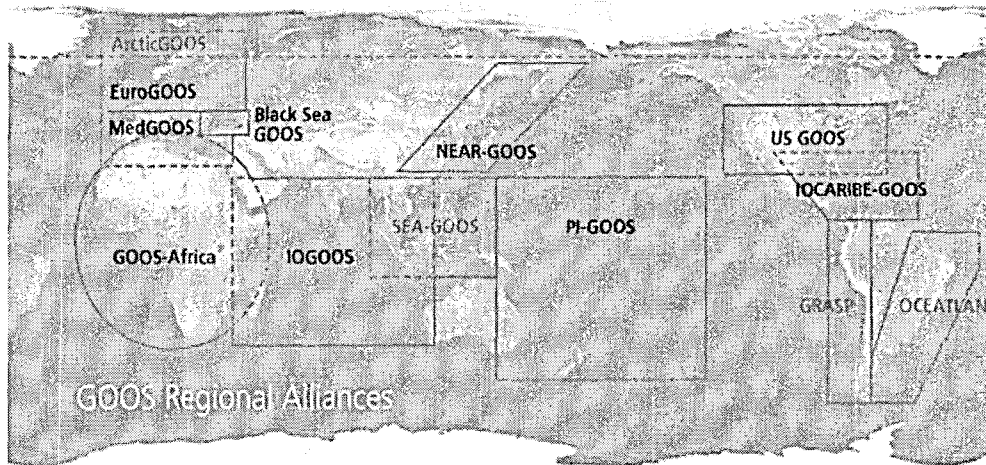


그림 11. 연안해역 지구해양관측 시스템 이행.

#### (11) 해양연구 및 보존협회

(ORCA; Ocean Research & Conservation Association)

- 혁신적인 기술 개발과 과학 기반의 보존 활동을 통해 해양 생태계 및 종의 보호와 복원에 전념하는 비영리 단체
- 현재 세계 최초의 해양 서식지 수질 모니터링 시스템인 Kilroy를 개발

#### (12) National Estuarine Research Reserves (NERRS)

- 미국해양대기관리처(NOAA)의 National Ocean Service (NOS)가 1972년부터 수행하던 연안역 관리(Coastal Zone Management, CZM)활동의 일환으로 수립된 프로그램으로 27 지역의 네트워크를 가지고 있음
- NERRS System-Wide Monitoring Program(SWMP)을 1995년부터 수행하고 있으며(그림 12) 이 프로그램에서 얻어진 데이터는 연구자, 정책입안자, 학계

등에 제공되고 있고 엘니뇨, 기후변화 같은 광범위한 요인뿐 아니라 허리케인이나 오염물질 유출 같은 국지적인 요인에 의한 영향의 감지와 경향분석에 이용되고 있음

- 해양대기관리처를 중심으로 주정부의 주무관청, 비영리단체, 지역대학 및 지역사회 구성원 등 다양한 파트너의 참여와 협조로 운영되고 있으나 각 하구의 실질적인 보호활동은 지역적인 차원에서 이루어지고 있음. 비영리단체, 지역대학, 기타 지역사회 구성원 등이 대상 하구의 지정 및 운영 전반에 걸쳐 다양한 참여와 지원을 하고 있음

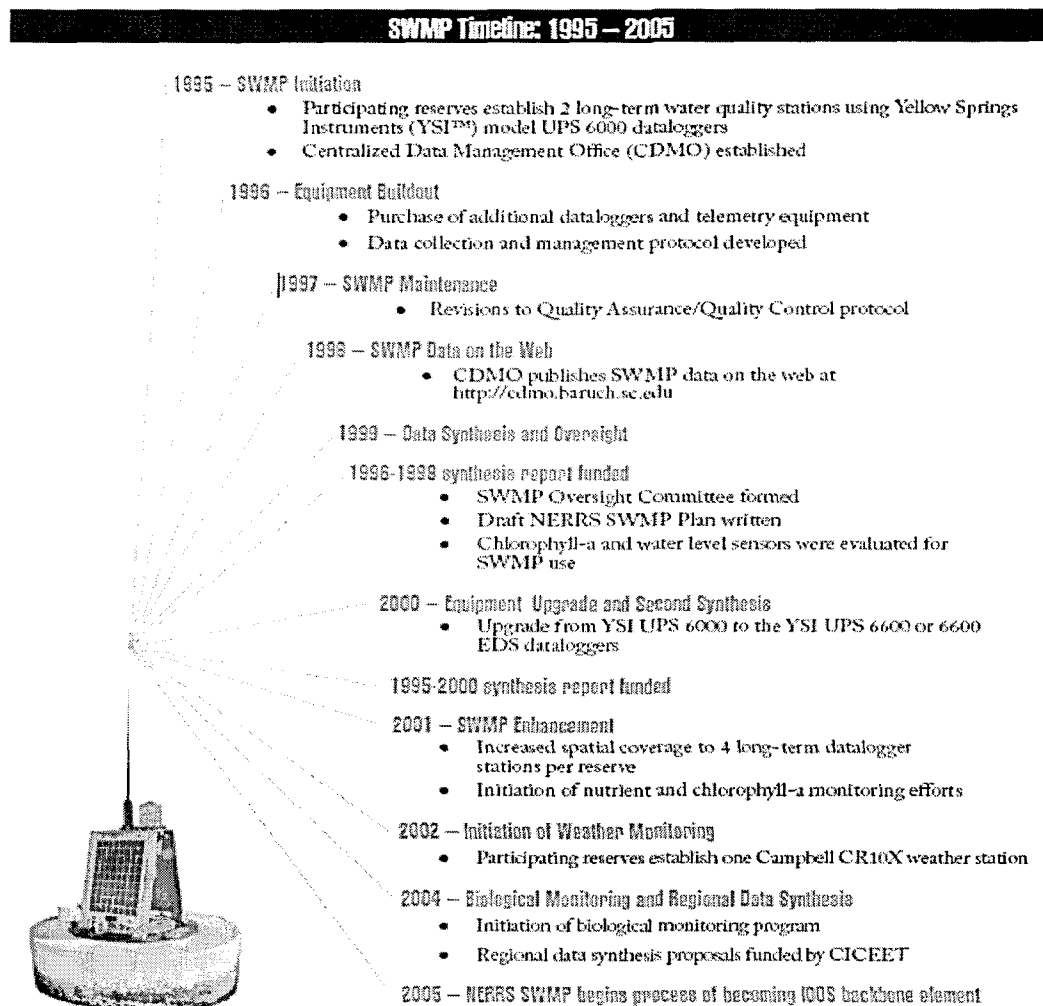


그림 12. NERRS SWMP의 timeline (1995-2005) (Owen and White, 2005).

### (13) California Cooperative Oceanic fisheries Investigation (CalCOFI)

- NOAA-NMFS (National Marine Fisheries Science), SIO (Scripps Institution

of Oceanography), CDF&G (California Department of Fish and Game), CCE-LTER (California Current Ecosystem)과 함께 미국 캘리포니아 해역을 대상으로 1949년부터 진행되어 온 장기연구프로그램

- 총 66개의 정점을 조사하며 수온, 염분, 용존산소, 인, 광량, 영양염류(인산염, 질산염, 아질산염, 규산염), 클로로필, transmissometer,  $^{14}\text{C}$  일차생산력, 식물 플랑크톤 다양성, 동물플랑크톤 현존량 및 다양성 항목에 대한 데이터를 수심 500 m까지 획득함
- SCIMS (continous underway sea surface & meterological measurements), ADCP (Acoustic Doppler Current Profiler), 봄과 여름철에 CUFES (Continous Underway Fish Egg Sampler), 미량금속, 퇴적물, MOCNESS (Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sampling System), 바이오 광학 (bio-optics),  $p\text{CO}_2$  air-sea interface, 대기측정으로 보조 데이터를 조사
- 지난 60년간의 조사에서 캘리포니아 바다의 동물플랑크톤의 개체수는 천분의 일로 줄었고 해수 온도는  $12^\circ\text{C}$ 에서  $15\text{-}16^\circ\text{C}$ 로 상승하였으며 수산자원 어획량의 변화가 나타나고 있고, 그 외에도 엘니뇨가 페루 연안에만 영향을 미치는 것이 아니라 캘리포니아 연안에도 영향을 미친다는 것을 인식하게 함. 이런 중요한 변화들을 제대로 파악하고 있어야 어업, 기후 등에 대한 예측이 가능하며 이를 통해 인류가 그 변화에 대응할 수 있음을 시사해 주고 있음

#### (14) 전지구해양생태계 역학연구(GLOBEC)

- JGOFS의 후속조치로서 해양과학위원회(SCOR)와 정부간 해양학위원회(IOC)의 후원을 받고 국제생지권프로그램(IGBP)의 핵심과제로 지정되어 기후변화에 따른 해양생태계 변화를 예측하기위한 국제연구프로그램으로 수행되었음
- 원양에서 대부분 수행되었던 JGOFS에 비해 GLOBEC은 주로 대륙붕 지역에서 수행되었으며 크게 과거자료분석(Retrospective analysis), 과정연구(Process studies), 예측과 모델링(Prediction and modeling), 피드백현상(Feedback from ecosystem changes)에 초점을 맞춰 연구
- 연구 목적은 1) 다양한 물리적 환경변화가 해양생태계에 미치는 영향을 이해, 2) 다양한 해양생태계의 구조 및 역학의 관계를 파악, 3) 물리, 생물, 화학 모델을 사용하여 미래 예측능력 개발, 4) 피드백 메커니즘을 규명하여 해양생

태계의 변화가 지구 시스템에 미칠 영향을 파악하는 것임

- 남극해 GLOBEC(Southern Ocean GLOBEC), 소형표층어류와 기후변화(Small pelagic fishes and climate change), 대구와 기후변화(Cod and climate change), 기후변화와 환경수용력(Climate change and carrying capacity)등 4개의 국제 지역프로그램이 진행되었으며 우리나라를 포함한 18개 국가가 활동
- 최근 많은 연구가 진행되고 있는 해양산성화와 관련하여 해양이 대기중의 이산화탄소를 흡수함으로 인해 가속화된  $p\text{CO}_2$ 로 인하여 탄산칼슘 포화(calcium carbonate saturation)가 일어난다는 연구결과를 발표하여 해양생물군에 있어서 해양산성화의 영향에 대한 경각심을 일깨움

## 나. 국내연구

- 자연환경의 생태적 가치, 자연성, 경관적 가치 등을 파악함으로써 각종 해정 및 개발 계획의 수립에 활용하기 위하여 환경부에서 환경보전법을 근거로 1986부터 시작한 국가차원의 생태계 조사사업으로 전국을 육지와 해안선, 무인도서로 나누어 “전국자연환경조사사업”을 시행
- 지구온난화 등 환경변화에 대한 국토의 생태변화 조사/연구 및 모니터링의 일환으로 생물다양성 유지, 지속가능한 발전, 생태계 복원, 지구환경 보전 등 21세기 국가 환경목표 달성을 위한 합리적이고 효율적인 정책 수립에 요구되는 제반 생태학적 정보를 체계적·조직적으로 제공하기 위한 한반도 자연생태계에 대한 장기적이고 기초적인 조사연구 활동인 “국가장기생태연구사업”(환경부, 2004~)이 진행 중
- 국가장기생태연구사업은 총 연구비 39,600백만원으로 생태계 유형별로 육지, 담수, 연안생태계 장기변화 및 동물 생태를 연구하고 있으며 육상(8), 담수(5), 연안(2), 동물(2)의 17개 연구지소를 운영하고 있음
- 개인과제 연구로 한반도 주변 해양 표면수온의 경년 혹은 10년 주기 변화와 엘니뇨와의 관련성(Park and Oh, 2000), 동해 표면수온 변동과 ENSO 사이의 관계(Hong et al., 2001) 등의 연구에서 해수 표면온도의 장기 변동을 연구
- 1970년대 중반 및 1980년대 후반의 기후변화에 따른 climatic regime shifts 등 해양생태계의 반응과 수산자원 변동 특성 연구(Zhang et al., 2000; Kang et al., 2000; Zhang et al., 2004)가 수행되었음

- 한국 GLOBEC 위원회는 '동해의 해양생태계, 수산자원 그리고 한반도 기후 변동의 역학관계', '한반도 기후의 변화와 동해생태계의 변동', '기후변화가 해양수산에 미치는 영향' 등 해양생태계에 기후변동이 미치는 영향에 대한 심포지엄과 워크숍을 개최하고 있음
- 국립해양조사원(NORI)에서 1996년 이래 현재까지 한반도 해양의 국가해양기본도 작성을 위한 종합조사를 시행 중
- 한국해양연구원에서 1982년부터 1997년까지 16년에 걸쳐 한반도 동서남해에 대한 조사를 수행하여 해양환경도를 작성하였고 최근 「기후변화와 동해의 반응」, 「황해 광역생태계 조사」 등의 기관단위의 연구가 진행 중
- 서울대 외 대학위주로 「동해해류 및 환경특성 연구(EAST-1)」연구가 진행 중
- 국립수산물과학원에서 2003년부터 기후변동에 따른 해양생태계 및 수산자원에 미치는 영향과 대응 연구를 수행 중이며 1930년대 이래 지속적으로 연안정지 관측조사사업을 수행하고 있으며 1960년대부터 정기적으로 정선헬양관측을 수행하고 있음
- 해양생태계 기본조사 (해양수산부, 2006~)는 육상 국토의 4.5배에 달하는 광활한 면적의 EEZ 해양국토의 생태계를 조사하여 자료의 가공을 통한 정책적 활용을 목표로 하는 조사연구사업으로 근해역 보다는 연안환경 위주의 생태계 조사사업 임
- 해안 염습지에 관한 연구는 1980년대 말부터 국가적으로 실시되었지만 초기 염습지 생태계에 대한 연구는 개발을 위한 기초 조사수준이거나 개발을 합리화하기 위한 연구들이 포함되었으며, 장기적인 연구가 아닌 1년 단위의 연구로 진행되면서 각 연구의 연계성이나 통합적인 관리방안을 제시하지 못해 갯벌의 환경변화를 파악하거나 예측하는 것은 거의 불가능한 실정
- 갯벌에 대한 연구는 생물상을 파악하는데 그치고 있고 갯벌생태계에서 생물들의 상호작용이나 물리/화학적 환경요인과 생물간의 상호작용을 규명하지 못하고 있음

#### 다. 국내연구 분석 결론

- 연안습지에 관한 연구는 1980년대 말부터 국가적으로 실시되었지만 대부분이 기초조사 수준이었거나 연안 개발의 합리화를 위한 연구들이었음



- 또한 대부분의 연구들이 1년 단위의 단기적으로 진행되면서 각 연구의 연계성이나 통합적인 관리방안을 제시하지 못하고 있으며 각 사업마다 사용하는 분석방법이 달라서 도출된 자료의 비교분석에 어려움이 있음
- 1990년대 말부터 갯벌에 서식하는 생물군집을 중심으로 한 연구가 진행되었는데 이러한 연구는 생물상을 파악하는데 그쳤고 생물 상호간이나 물리화학적 환경과 생물간의 관계를 결정짓는 과정에 관한 연구들은 거의 수행되지 못했음
- 한반도 외양의 연구들도 연구 당시의 생물군집 분포와 물리적 환경과의 상관성을 밝히는 연구들이었으며, 기후변동과 관련한 장기변동 연구들이 일부 수행되어 왔지만 대부분이 몇몇 수산자원생물(어업종)에 국한된 연구들이었음
- 따라서 기후변화 및 환경오염에 따른 해양생태계의 장기적인 변화를 파악하고 미래의 변화를 예측하여 국가적 차원의 대책을 마련하기 위해서는 한반도 해양생태계 교란에 대한 과학적이고 구체적인 자료를 획득할 수 있는 장기해양생태변화 조사·연구·모니터링 체제를 갖추는 것이 시급히 요망됨

## 라. 장기해양생태계연구사업 차별화 방안

### (1) 중복방지를 위한 조사 및 검토결과

- 해양오염과 기후변화에 따른 해양생태계 반응은 「온도변화에 따른 재생산력 변동과 같은 직접적인 영향」 「저차에서 고차에 이르는 생물생산 구조와 피-포식관계의 변화」 「피드백 구조 변화에 따른 생태계 구조와 먹이망의 장기적인 변화」 등과 같이 다양하게 나타나며, 특히 연안역의 다양한 서식처에서 동식물의 생리생태에 직·간접으로 더욱 큰 영향을 유발함
- 따라서 해양오염과 기후변화에 대한 생태계 변화의 생물학적 지표의 개발이 필요함
- 본 연구사업은 물리, 화학, 생물학적 해양현상을 포괄하는 연구내용을 구성하고 있어 기존의 대부분의 과제에서 수행된 생물학적 요소 중 생태계 구조의 일부분만을 대상으로 하는 연구와는 차별됨
- 기후변화에 민감한 고유종의 감소와 다양한 외래종(아열대종)의 유입이 현실화되고 있는 한반도 연안역과 외양역을 핵심 연구대상 해역으로 선정하여 생태계의 구조와 함께 기능적인 변화에 대한 생태학적 연구가 시급히 요구됨

- 본 연구과제는 **시간 연속성**을 가진 연구와 **시계열관측**을 연구내용으로 하므로 10년 주기의 변화를 인식하는 것을 목적으로 수행되고 있는 해양생태계 기본조사와는 차별화 됨
- 단위생물군 변동연구만으로는 생태계구조 및 기능 변화를 이해하는 데는 한계가 있으므로 본 연구과제에서는 장기적인 생태계 변화를 **지속적인 모니터링**과 함께 최근 **'end-to-end food web'** 연구를 통해서 해양환경변화와 생태계변동의 상호작용을 이해하고자 하며, 이와 더불어 생태계의 현황분석에 그치는 것이 아니라 **생태계변동성 및 기능적 특성**을 이해하기위해 필요한 항목(안정동위원소를 이용한 먹이망 구조분석, 개체군 생리생태 연구 등)들에 대한 연구와 **첨단 과학기술을 이용한 관측**이 수행되도록 계획하였고 조밀하고 빈번한 장기조사를 수행하도록 하여 해양생태계 기본조사와 차별화 방안을 마련하였음
- 국립수산물과학원에서 연안 관측망, 정선관측 등을 장기에 걸쳐 수행하고 있으나 이 사업들은 해양생태계 구성요소들 대부분이 조사되지 못하고 있으므로 해양생태계를 구성하는 대부분의 요인을 연구대상으로 하는 본 과제와는 차별화 됨
- 본 연구과제와 관련된 연구들의 주요 목표는 해양환경의 변화에 대응한 해양생태계 변화를 이해하는데 있으며, 이로부터 학제적이고 상호보완적인 통합된 데이터를 수집하여 과학적인 정책결정에 주요한 자료로써 활용될 것임
- 이를 위하여 장기적인 해양생태계 변화에 관한 데이터를 수집, 통합, 관리하고 응용하는 능력을 증대시키는 것이 중요하며 국제적인 수준의 데이터 수집 프로그램의 개발과 인프라 구축이 요망됨
- 본 과제에는 **효율적인 데이터의 QA/QC 확보와 시료 보존 및 보관을 위한 기반구축방안** 수립에 대한 내용을 포함하고 있어 향후 각 연구팀의 활동은 국제적인 프로그램을 통하여 네트워크화하고 생물다양성, 지구온난화 등 환경문제나 자원의 효율적인 관리와 배분과 관련하여 효과적으로 자료를 교환할 수 있는 체제를 구축하게 될 것으로 예상됨

## (2) 차별화 방안

- 해양생태계의 장기적인 변화를 예측하는 일은 광범위한 영역에 걸친 장기연

구조사를 필요로 함

- 생물의 산란과 가입에 영향을 미칠 수 있는 주요 환경인자들에는 수온 이외에도 먹이, 일조시간, 피포식자, 해수유동 등이 있으며, 이들이 상호 복잡하게 작용하면서 영향을 미침
- 따라서 이런 다양한 환경요인들 사이에서 그 인과관계를 정량적으로 파악하기 위해서는 사전에 수립한 면밀한 연구계획에 의거하여 장기적이고 체계적인 생태계 연구의 수행이 요구됨
- 본 연구사업에서는 해양환경변화가 생태계를 구성하는 개개 생물종, 단위 개체군 나아가 군집구조 변동에 미치는 영향을 밝히기 위한 연구계획을 수립하였음
- 특히 생물 군집을 유지하는데 있어서 가장 중요한 요소인 가입을 결정하는 산란 기작과 관련하여 강수량과 해양변화, 플랑크톤 생산기후 변동 등과 같은 환경의 변이와 연안의 다양한 생물들의 생리생태 변동, 산란기 및 개체군 역학 변동 등을 밝히게 될 것임
- 또한 유입 외래종이 국내 연안에서 나타내는 생리생태적 특성과 이들의 유입으로 인한 연안생태계 먹이망 변동이 어떻게 일어나는지 등을 밝히기 위한 계획을 수립
- 외양에서의 연구는 그 동안의 국내 연구들이 대부분 생태계 구조를 밝히는데 집중되었던 반면 본 연구에서는 기능적인 측면에서의 연구도 병행하여 수행할 수 있도록 계획을 수립하였음
- 이와 같은 기능적인 연구를 통하여 해양의 변화와 함께 생산자→소비자→분해자에 이르는 해양생태계의 전체 구성요소의 변화에 미치는 영향을 구체화하여 제시하게 될 것임

## 2. 비전과 연구목표

### 2.1. 비전

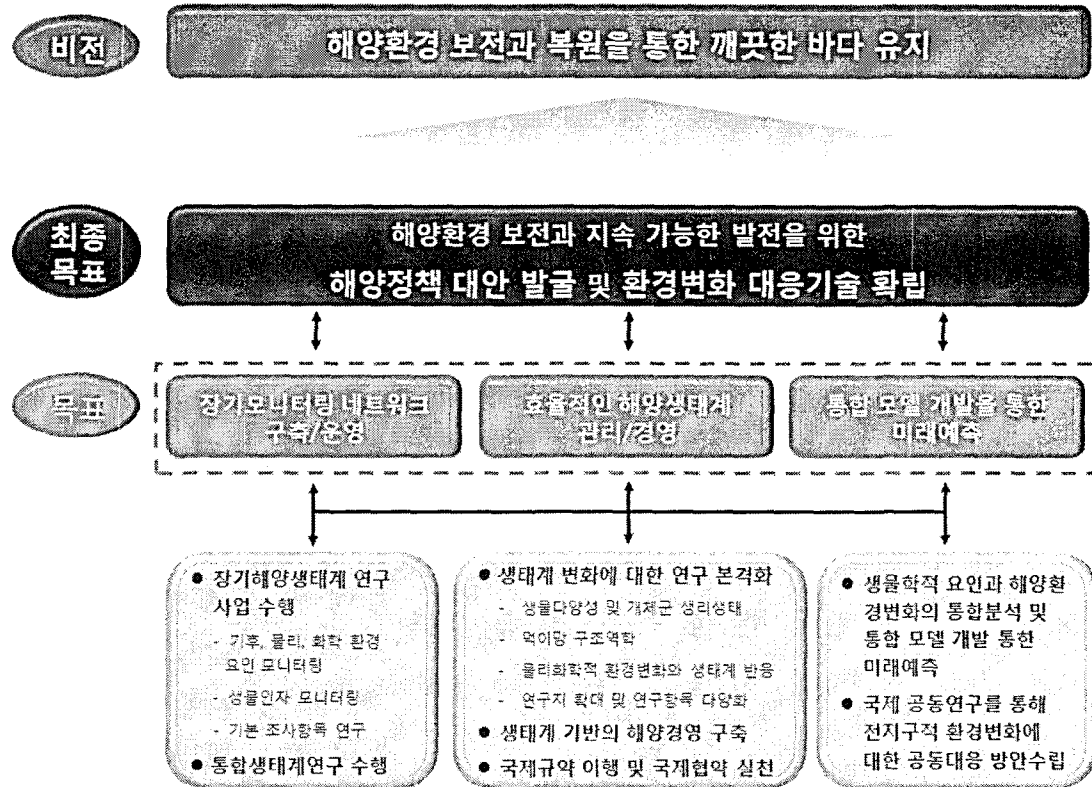


그림 13. 장기해양생태계 연구의 비전과 목표.

### 2.2. 단계별 사업목표(그림 14)

(1) 제 1단계 : 장기해양생태계 연구사업 수행(2011년~2015년)

- ① 연구대상해역 조사
- ② 기후, 물리, 화학 환경요인 모니터링
- ③ 기본조사항목 모니터링
- ④ 특정생물종(외래종, 멸종위기종, 핵심종 등) 실태 조사
- ⑤ 특정생물종 연구사업 실시
- ⑥ 자료관리(DB화) 및 통합생태계 모델개발 기반 구축
- ⑦ 장기해양생태 기반구축 지원

(2) 제 2단계 : 장기해양생태계 연구사업 본격화(2016년~2025년)

- ① 통합생태계 연구체계 구축을 통한 장기해양생태계 연구 확대 수행
- ② 물리화학적 환경변화에 따른 생태계 반응 연구
- ③ 핵심종, 보호종, 위기종 등의 생리생태 연구
- ④ 먹이망 구조분석
- ⑤ 연구항목의 다양화
- ⑥ 조사연구해역 확대
- ⑦ 첨단 해양관측 기술 도입 및 이용

(3) 제 3단계 : 환경변화 대응기술 확립(2026년~2035년)

- ① 지속적인 장기변동현상 연구
- ② 먹이망 기능 및 모델링
- ③ 해양생태계 장기변동 이해
- ④ 생물학적 요인과 해양환경변화의 통합분석 및 모델링
- ⑤ 효율적인 해양생태계 관리 및 경영 기반 구축
- ⑥ 전지구적 환경변화에 대한 국제적 공동대응 방안 수립

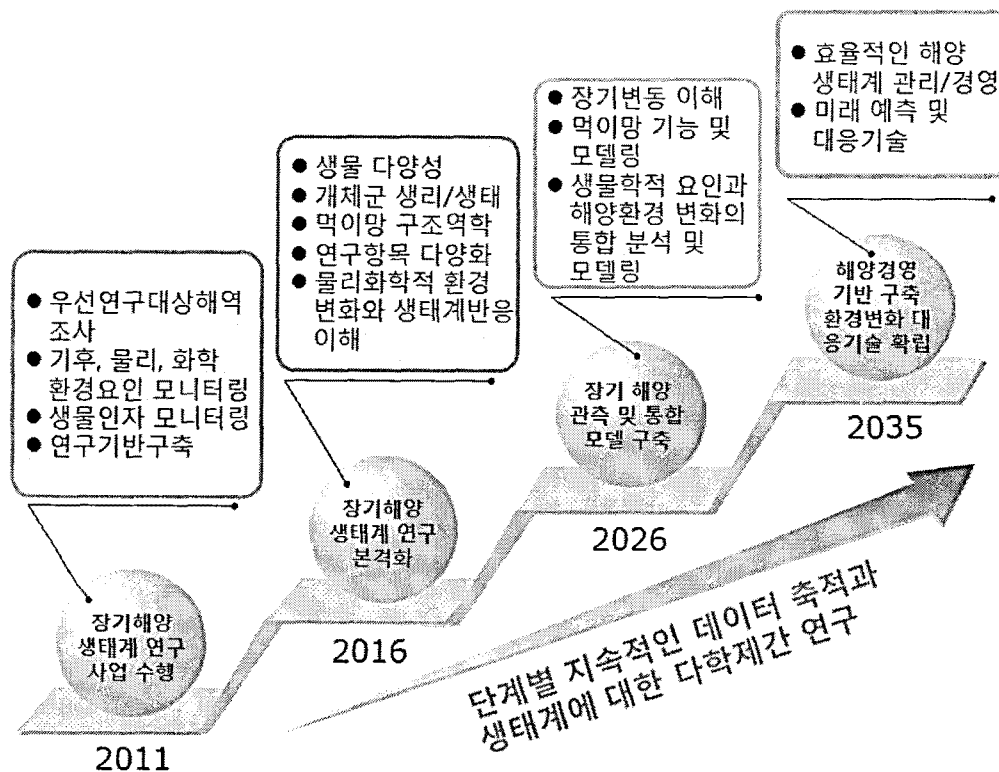


그림 14. 장기해양생태계 연구 단계별 목표.

## 2.3. 로드맵/주요사업

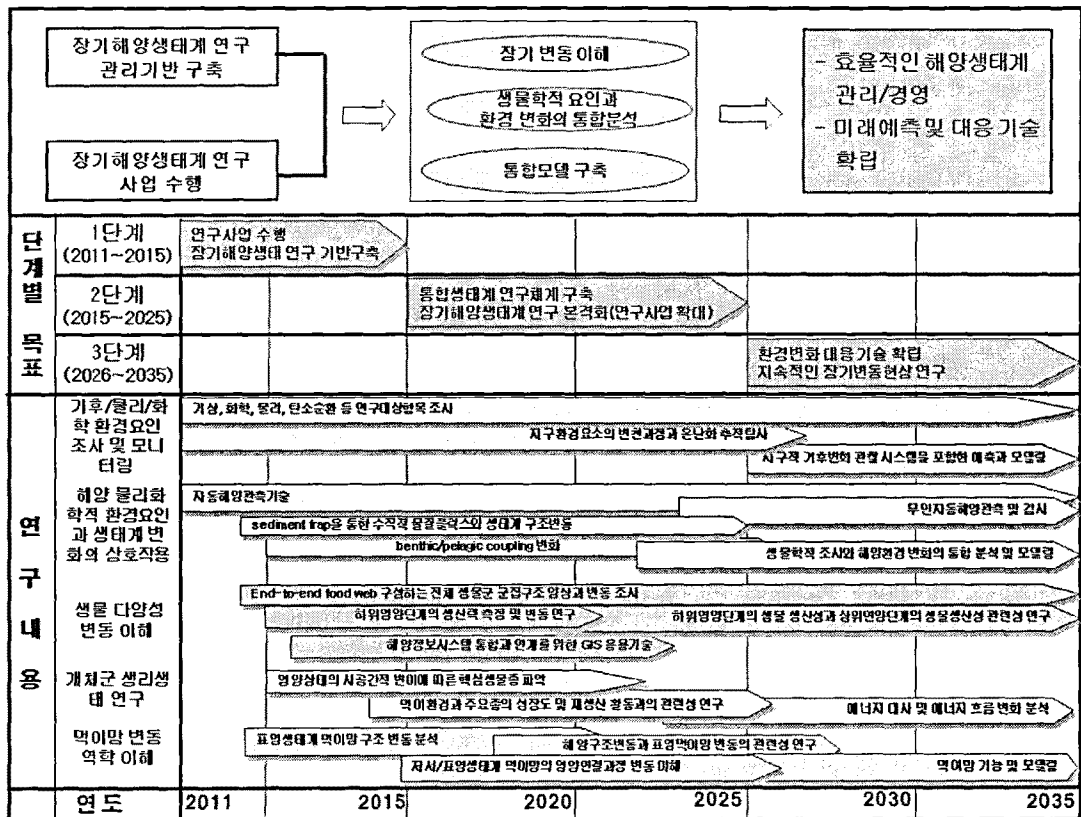


그림 15. 장기해양생태계 연구의 단계별 목표와 연구내용의 장기로드맵.

## 2.4. 연구 최종목표

### ○ 한반도 해역의 주요 해양생태계에 대한 장기모니터링 네트워크를 구축/운영

- 고유생태지역, 보호구역에 대한 장기모니터링
- 핵심종 및 위기종의 개체군 생태학적 연구체계 구축 운영
- 기초생태연구 심화와 연구 활성화
- 다학제간 연구를 통해 통합생태계연구 수행

### ○ 효율적인 해양생태계 관리 및 경영 기반 구축

- 해양정책 수립에 해양생태계 관련 과학적 근거 제시하여 수산자원의 효율적 이용 관리 및 생태계 기반의 해양정책 추진
- 국가들간의 연구협력 및 정책교류를 통해 국제규약 이행 및 국제협약 실

천 기반 마련

○ 미래예측 및 환경변화 대응기술 확립

- 국제 공동연구를 통해 지구적 환경변화에 대한 국제 공동 대응 기반 확보
- 해양환경 보전과 지속가능한 발전을 위한 해양정책 대안을 발굴
- 통합생태계연구 및 모델개발을 통해 미래해양환경 예측
- 해양환경 보전과 지속가능한 발전을 위한 대응기술 확립

### 3. 연구내용 및 분야

#### 3.1. 연구주제

- 해양생지화학적 순환과 먹이망 역학의 상호작용, 지구적 변화에 대한 해양생태계의 반응, 장기적 변화에 의한 환경으로의 피드백 현상을 이해하기 위해 해양생물군의 환경변화에 대한 생리생태연구와 benthic-pelagic coupling을 연구테마(그림 16)로 하여 주요 연구주제를 선별

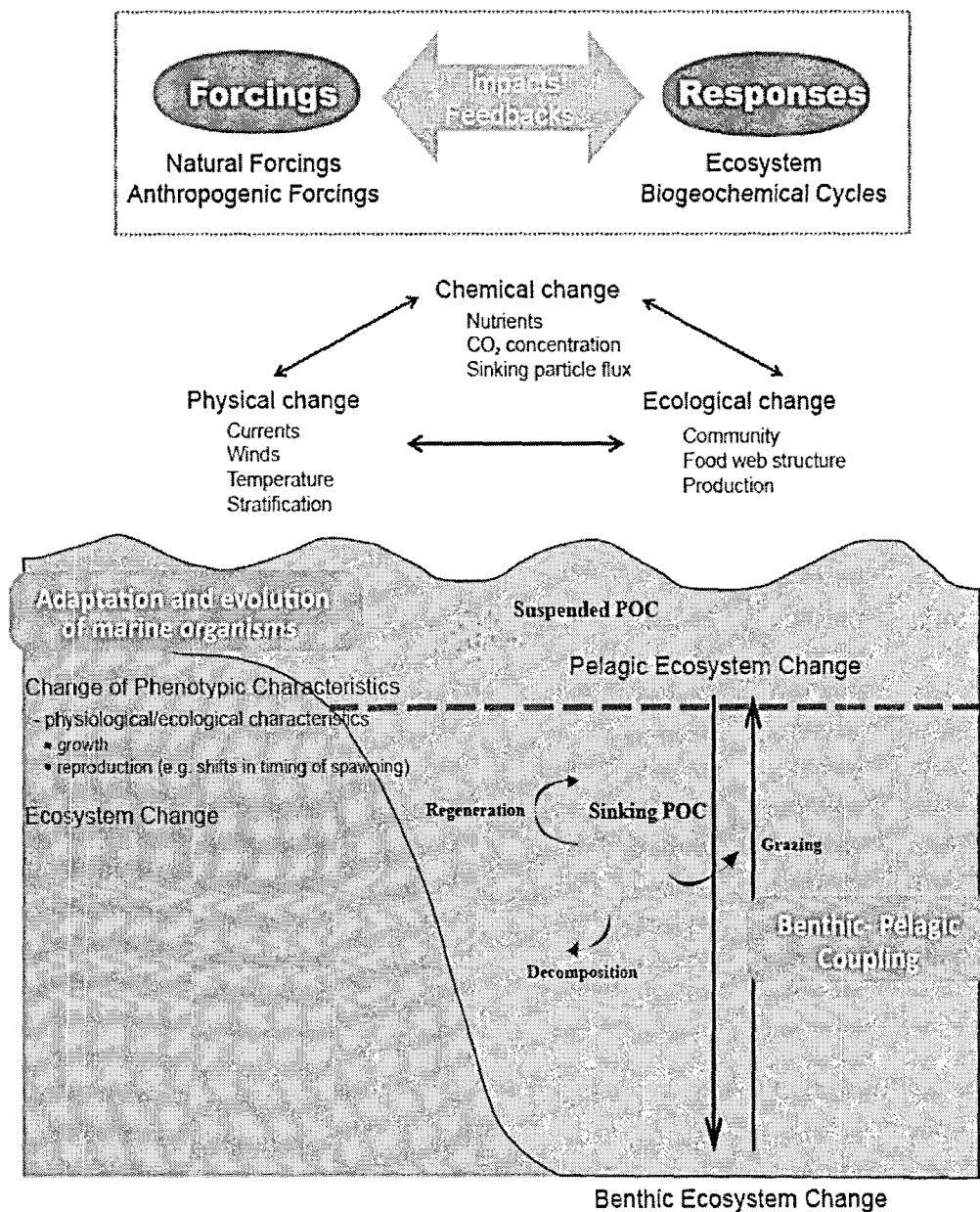


그림 16. 장기해양생태계 연구의 주제.



### 3.2. 연구내용 및 분야

- 연구주제를 기준으로 연구내용을 선정하였음. 향후 진행되는 사업 예산에 따라 연구내용을 조절하여 수행함
  - 해양물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용
  - 개체군 생리생태
  - 생물 다양성 변동 이해
  - 먹이망 변동 역학
  - 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링

#### 가. 주요 연구내용(그림 17)

##### (1) 물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용

###### (가) 연구 필요성

- 물리적 환경변동은 화학환경 변화를 수반하고 이런 환경 변화에 의해 야기된 표층생태계의 변화는 수층으로의 물질 및 에너지 전달 변화를 유발하여 저층생태계 변화를 초래하고 이러한 생태계 변화는 물리화학적 환경 변화에 영향을 미쳐 feedback loop를 형성하므로 생태계의 장기적인 변동을 이해하기 위해서는 생태계와 물리/화학적 환경요인의 상호작용에 대한 이해가 필수적임
- 표층과 저층 사이의 coupling 혹은 decoupling 현상 이해를 위해서는 물리/화학/생물의 다학제간 연구를 통해 통합적인 생태계 변화의 이해가 필요함

###### (나) 연구 목적

- 생물펌프의 현재 구조와 기여도를 파악하고 환경변화에 따른 변동성 규명
- 유기물입자플럭스 및 생태계 구조의 변화와 혼합층 변화와의 연관성 이해
- 물리화학적 환경변화에 따른 저차 및 고차의 생물군집구조 변동 파악

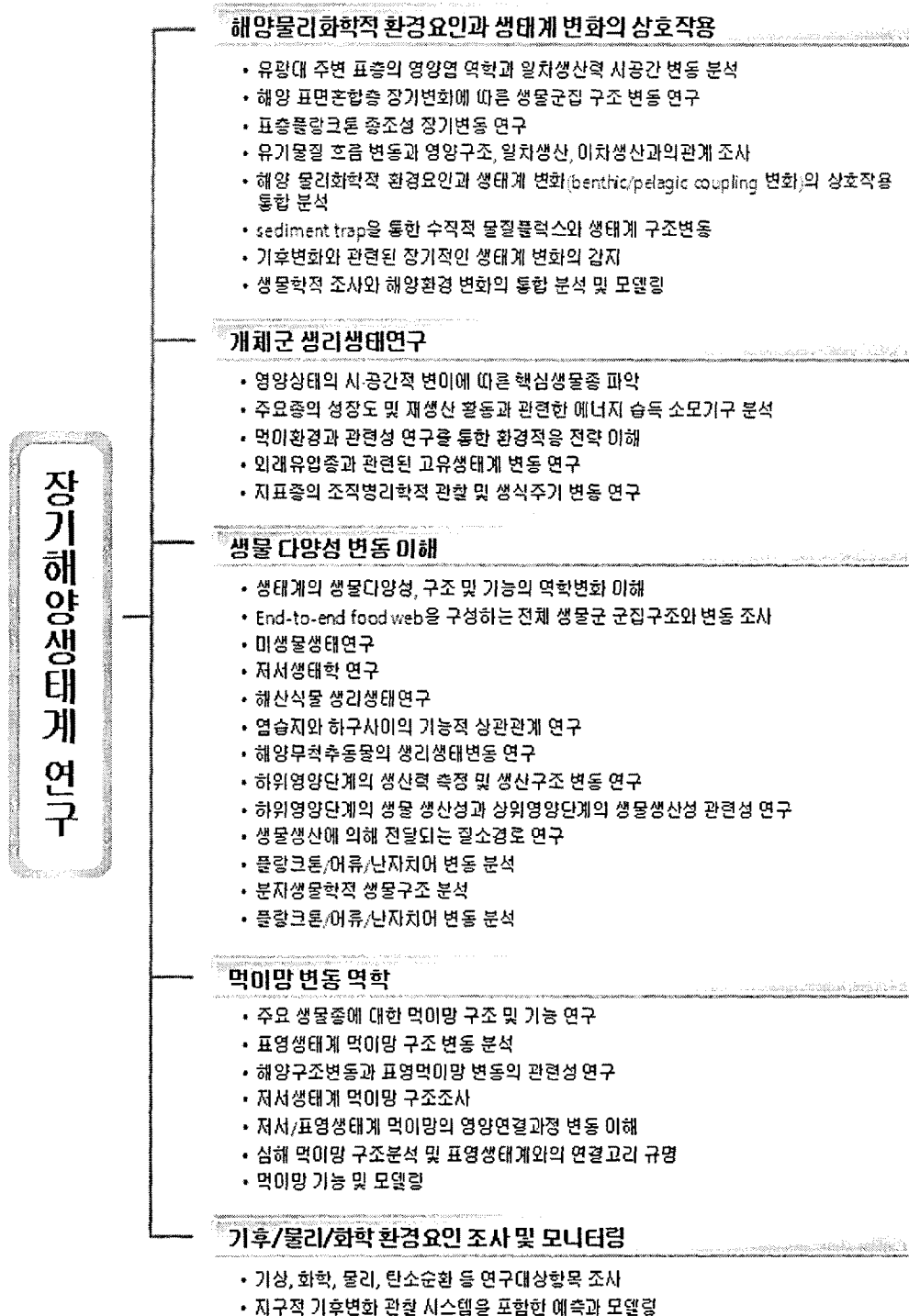


그림 17. 장기해양생태계연구 주요 연구내용.

#### (다) 세부 연구내용

- 유광대 주변 표층의 영양염 역학과 일차생산력 시·공간 변동 분석
- 부유생태계로의 영양염 공급율을 결정하는 물리적 요인 규명

- 해양 표면혼합층 장기변화에 따른 생물군집 구조 변동 연구
- 표층플랑크톤 종조성 장기변동 연구(그림 18)
- 유기물질 흐름 변동과 영양구조, 일차생산, 이차생산과의 관계 조사
- 해양 물리화학적 환경요인과 생태계 변화(benthic/pelagic coupling 변화)의 상호작용 통합 분석
- Sediment trap을 통한 수직적 물질플럭스와 생태계 구조변동
- 기후변화와 관련된 장기적인 생태계 변화의 감지
- 생물학적 조사와 해양환경 변화의 통합 분석 및 모델링

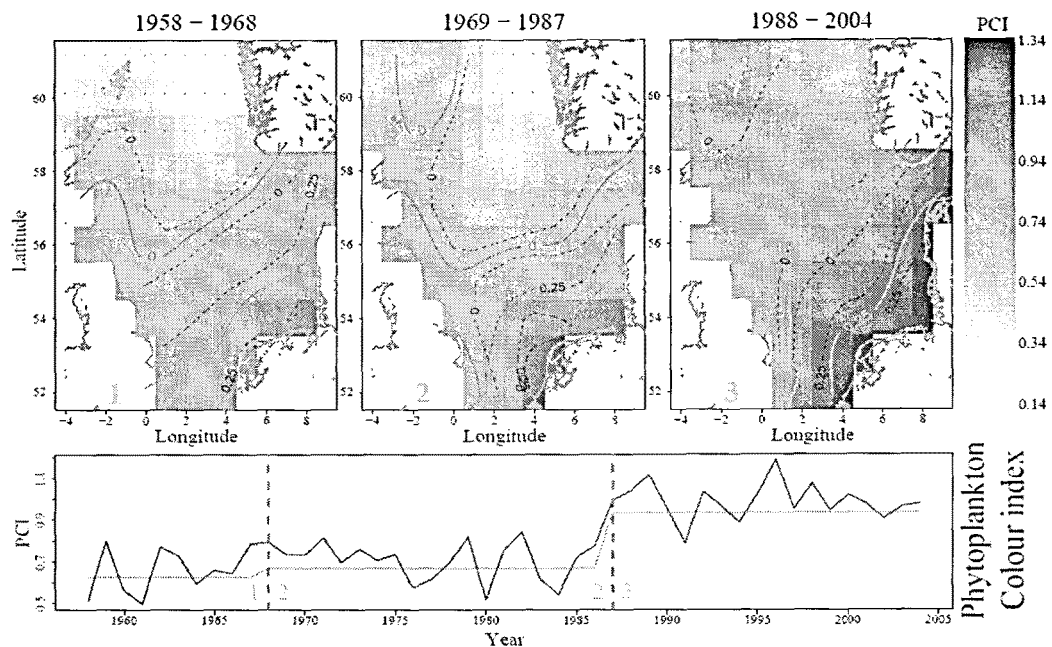


그림 18. 식물플랑크톤 생체량의 공간적 분포를 나타내는 Phytoplankton Colour Index (PCI)의 분포양상(SAHFOS annual report, 2009).

## (2) 개체군 생리생태 연구

### (가) 연구 필요성

- 환경변화에 대한 개체군의 적응을 이해하기 위해서는 보다 근본적인 차원에서의 개체군의 생리생태를 이해하는 것이 필요함
- 개체군 생리생태 연구를 통해 각 생물종의 적응전략 이해 가능
- 지구온난화로 아열대종이 유입, 정착되고 있으나 이에 대한 연구 미비

### (나) 연구 목적

- 개체군 생리생태 연구를 통해 환경변화에 대한 개체군 적응전략 이해
- 난류수의 확장에 따른 아열대성 유입종의 분포 및 서식처 연구를 통한 지표종의 풍도 및 분포해역 확장과의 연관성 파악
- 개체군 생리생태 연구를 위해 개체군의 성장도, 재생산 활동 분석과 이와 관련된 에너지 습득, 소모기구 분석을 통한 먹이환경과의 관련성 이해

### (다) 세부 연구내용

- 영양상태의 시·공간적 변이에 따른 핵심생물종 파악
- 주요종의 성장도 및 재생산 활동과 관련한 에너지 습득 소모기구 분석
- 먹이환경과의 관련성 연구를 통한 환경적응 전략 이해
- 외래 유입종과 관련된 고유생태계 변동 연구
- 지표종의 조직병리학적 관찰 및 생식주기 변동 연구

## (3) 생물 다양성 변동 이해

### (가) 연구 필요성

- 생물다양성은 환경의 안정도/변동과 밀접하게 연관되어 있으며 환경 건전성(health)의 척도가 되므로 이의 변동을 이해하는 것이 장기적인 생태계의 변동을 이해하는데 필수적임
- 각 연구대상항목들의 군집구조 양상, 장기변동과 그 요인에 대한 이해가 부족함
- End-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 군집구조와 변동의 이해가 필요
- 생물 다양성과 환경요인과의 기능적 상관관계 규명을 통해 한반도 해양 생태계 전반에 관한 이해가 요구됨
- 종다양성과 군집구조변화 연구를 통해 환경변화에 대한 생태계를 구성하는 생물종들의 반응(적응 또는 사멸)이해

### (나) 연구 목적

- 특정해역의 end-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 군집구조 변동 구명

- 환경변화에 대한 생물종들의 반응(적응 혹은 사멸) 연구를 통한 생물 다양성 및 적응전략 이해
- 핵심생물종의 생물지리학적 변동 파악
- 식물플랑크톤 생산력 구조변동 분석
- 환경변동과 해양생물의 적응과 사멸기작 연구

#### (다) 세부 연구내용

- 생태계의 생물다양성, 구조 및 기능의 역학 변화 이해(그림 19)

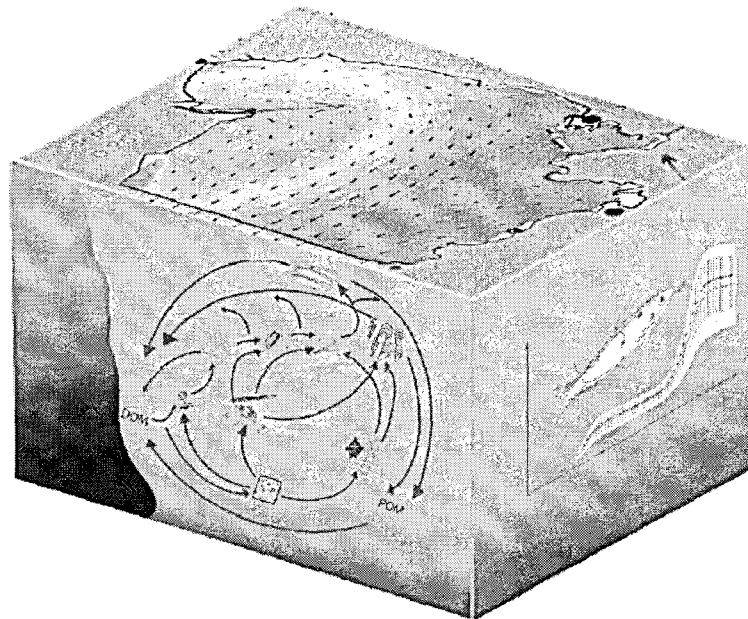


그림 19. North Adriatic Sea에서 통합 관찰된 데이터와 통계분석결과  
의 시뮬레이션 모델 기초데이터로의 입력과 모델링을 통한 'end-to end trophic web'의 주요 구성성분의 생태학적  
역할의 증명 모식도(Solidoro and Umani, 2006).

- End-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 군집구조와 변동 조사  
(그림 20)
- 미생물 생태 연구(그림 21)
- 저서생태 연구
- 해산식물 생리생태 연구
- 염습지와 하구사이의 기능적 상관관계 연구
- 해양무척추동물의 생리생태 변동 연구

- 하위영양단계의 생산력 측정 및 생산구조 변동 연구
- 하위영양단계의 생물 생산성과 상위영양단계의 생물생산성 관련성 연구
- 생물생산에 의해 전달되는 질소경로 연구
- 플랑크톤/어류/난자치어 변동 분석
- 분자생물학적 생물구조 분석

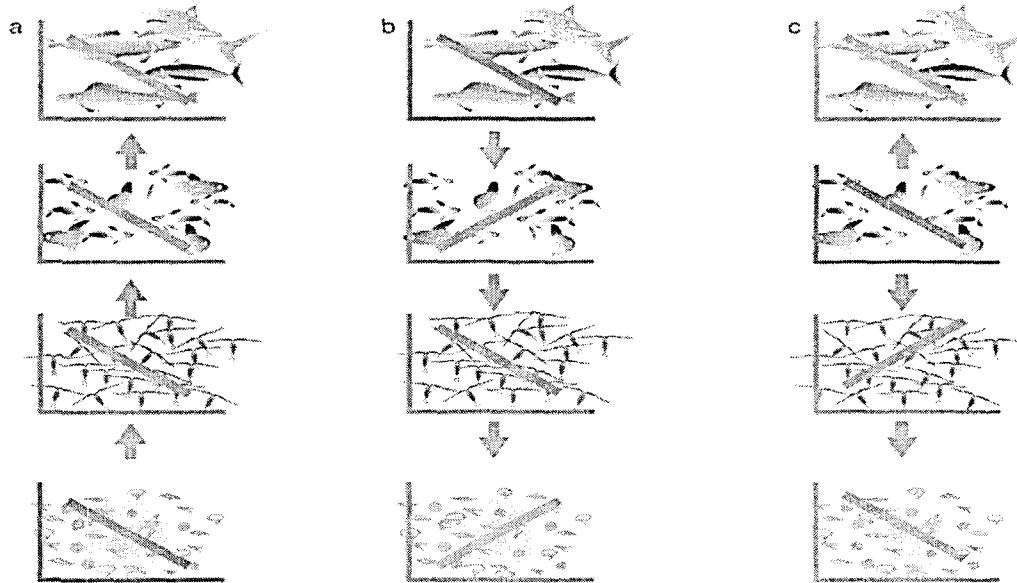


그림 20. 식물플랑크톤, 동물플랑크톤, forage fish, predatory fish의 4 단계로 단순화된 해양먹이연쇄의 반응 모식도. (a) bottom-up control, (b) top-down control, (c) wasp-waist control (Cury et al. 2003).

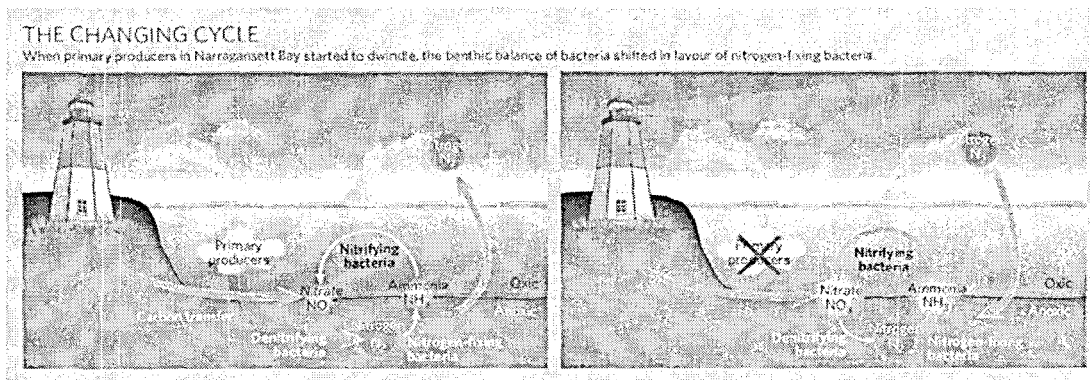


그림 21. 지구온난화로 인한 질소순환 변화. 표층의 일차생산력이 감소되면, 표층 박테리아에 의한 질산염 이용이 상대적으로 증대됨. 침강하는 유기 질소원의 양이 줄어들고, 저층에서는 질산염 이용 박테리아보다 질소 고정 박테리아가 상대적으로 성장하기 좋은 여건으로 변화됨. 질소 고정 박테리아와 질화박테리아의 대사 결과, 저층에서 질산염이 생산되어 방출.

#### (4) 먹이망 변동 역학 이해

##### (가) 연구 필요성

- 생물종간 상호관계는 피식과 포식에 의해 결정되며, 영양환경변화는 생산 환경 변화(표영생산 vs 저서생산)를 유도하여 생물의 기능군 변화를 통해 군집구조 변동을 수반하고 궁극적으로 먹이망 구조변동이 일어나므로 먹이망 변동역학은 생태계반응 이해에 있어 필수적임
- 생물이 서식하는 환경요인의 변화와 현상을 이해하기 위해서는 표준화된 방법을 통한 정확하고 장기적인 자료가 요구됨

##### (나) 연구 목적

- 해역별 기초생산자-소비자-분해자를 연결하는 먹이연쇄 비교연구
- 생태계 먹이망 시·공간 변동성 이해
- 심해 먹이망 구조분석 및 표영생태계와의 연결고리 규명

##### (다) 세부 연구내용

- 주요 생물종에 대한 먹이망 구조 및 기능 연구
- 표영생태계 먹이망 구조 변동 분석
- 해양구조변동과 표영먹이망 변동의 관련성 연구
- 저서생태계 먹이망 구조조사
- 저서/표영생태계 먹이망의 영양연결과정 변동 이해
- 심해 먹이망 구조분석 및 표영생태계와의 연결고리 규명
- 먹이망 기능 및 모델링

#### (5) 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링

##### (가) 연구 필요성

- 생태계반응을 이해하기 위해서는 현재 시스템 파악이 우선되어야 함
- 생물이 서식하는 환경요인의 변화와 현상을 이해하기 위해서는 표준화된 방법을 통한 정확하고 장기적인 관측과 자료가 요구됨
- 해양환경변화에 의한 생태계반응의 이해를 위해 환경요인의 장기적 모니터링이 필요함

### (나) 연구 목적

- 장기 해양관측을 통해 한반도 해양의 변화과정 이해를 위한 정확한 기초 자료를 제공
- 관측기술과 분석법의 표준화를 통한 일관성 있는 관측자료 제공
- 해양생태계 내의 주요 이화학적과정의 시·공간적 변동 모니터링체계 구축

### (다) 세부 연구내용

- 기상, 화학, 물리, 탄소순환 등 연구대상항목 조사와 기본조사항목 장기 관측 및 모니터링(그림 22, 23)
- 지구적 기후변화 관찰 시스템을 포함한 예측과 모델링

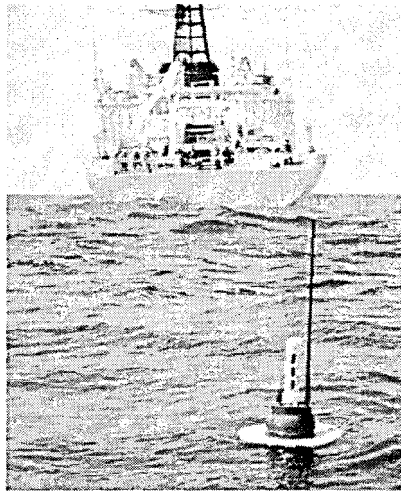


그림 22. 해양의 수심 2000m 상층의 수온과 염분을 측정하도록 세팅된 ARGO (Philippart, 2007).

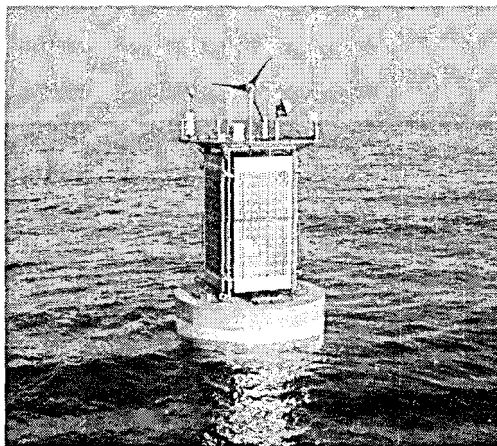


그림 23. 몬테레이만 수족관 해양연구소의 MOOS (Monterey Ocean Observing System)의 일환으로 계류중인 부이.



## 나. 기본연구대상 분야 및 항목

- 생산구조 변동과 각 생물군의 기능변화 조사를 위해 적절한 생태학적 혹은 수산학적 주요종, 연구대상 분야, 항목을 기본조사항목으로 선정(표 2)
- 주요 조사항목은 영양염류의 생지화학적 순환, 일차생산, 유기탄소원의 전달과정, 각 영양단계 핵심종의 생체량, 군집구성, 생물 종다양성을 고려하여 선정

표 2. 장기해양생태연구 기본 조사항목 및 연구대상 항목

연구영역	세부분야	세부조사 항목 및 내용
환경조사 (물리·화학 환경)	부유환경	수온, 염분, 영양염류, 용존산소, 총부유입자물질, 부유입자성유기탄소 및 질소, CO <sub>2</sub> , 중금속, 시·공간적 패턴 분석
	저서환경	입도, 유기탄소, 총질소, 탄산염, 중금속, 시·공간적 패턴분석
해양식물	해조류	해조군락 정성, 해조류 및 부착생물 정량, 생태학적 지수(다양도, 풍부도, 균등도), 생산성, 광합성 특성 및 탄소 흡수능
	잘피류	
	염습지식생	
저차생태	박테리아	계수, 군집구조, 생산력, 종 규명
	바이러스	계수, 군집구조, 생산력, 용원성 박테리아
	식물플랑크톤	Chl <i>a</i> , 생체량, 군집구조
	동물플랑크톤	종조성, 생체량
고차생태	저서무척추동물	종조성, 밀도, 생체량, 생태지수, 시·공간적 패턴분석
	어류/유영동물	종조성, 생태지수, 현존량
	주요 수산자원생물	종조성, 생태지수, 현존량
생태기능	생산력	기초생산력, 이차생산
	먹이연쇄	먹이연쇄 구조, 기능
	침강입자유기물 플럭스 및 기원	침강입자 채집기를 이용한 물질플럭스 및 기원

## 4. 연구대상지 선정

### 4.1. 연구대상지 선정

#### 가. 선정 기준

- 환경변화가 비교적 크게 나타나고 장기모니터링이 가능하며 지속적인 관리가 필요한 해역을 연구대상지로 선정
- 장기해양생태계 연구의 최적 연구대상지로 자연 상태의 해양생태계가 잘 유지, 보전되도록 엄격한 보호와 관리를 받고 있는 해양보호구역을 우선적으로 고려하였으며, 해양보호구역의 경우 인위적 교란의 위험성이 낮고 장기적 환경 변화를 잘 반영할 것으로 예상되므로 자연적 생태계 변동관측을 위한 적지라고 할 수 있고, 고려대상인 현재 해양환경보호구역으로 지정된 해역을 [그림 24]에 나타내었음

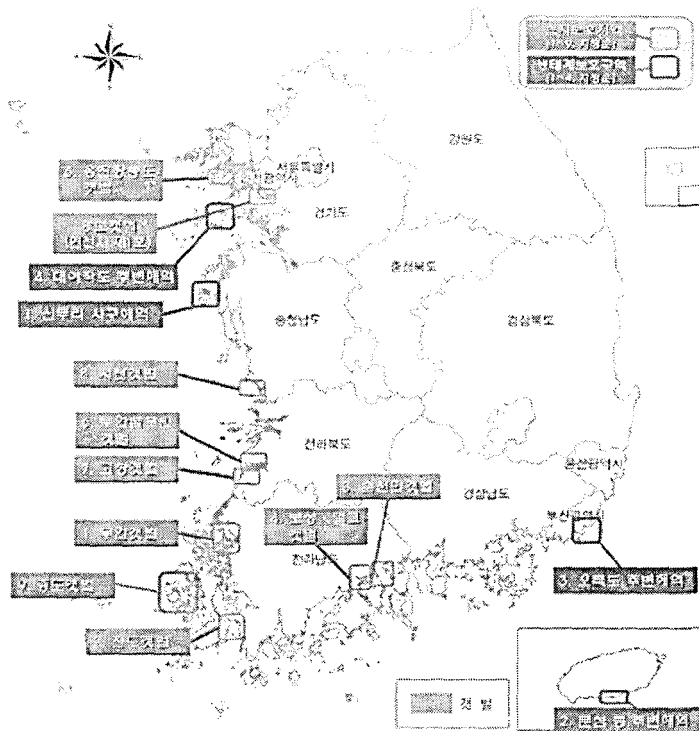


그림 24. 해양보호구역 지정현황(출처: 국토해양부 보도자료).

- 다음으로 환경오염이나 외래종의 유입으로 인한 생태계 교란지역의 경우 고유해양생태지역과 비교하여 생태계 변동 현상을 이해하고 복원하기 위해 관리가 필요한 해역을 연구대상지로 고려하였음

- 전국적으로 모든 지역에서 연구를 수행할 수 없으므로 주요 해양과정, 인간 활동, 서식지 보존 및 복원, 종/개체군 관리를 고려하였고, 해양환경 연구 자료가 잘 축적된 해역(예, 국립수산물과학원 정선해양관측, 그림 25)이나 외국에 비하여 비교우위에 있는 인위적 교란위험이 낮은 고유한 생태특성을 나타내는 주요 해양생태지역을 연구대상지로 고려하였음

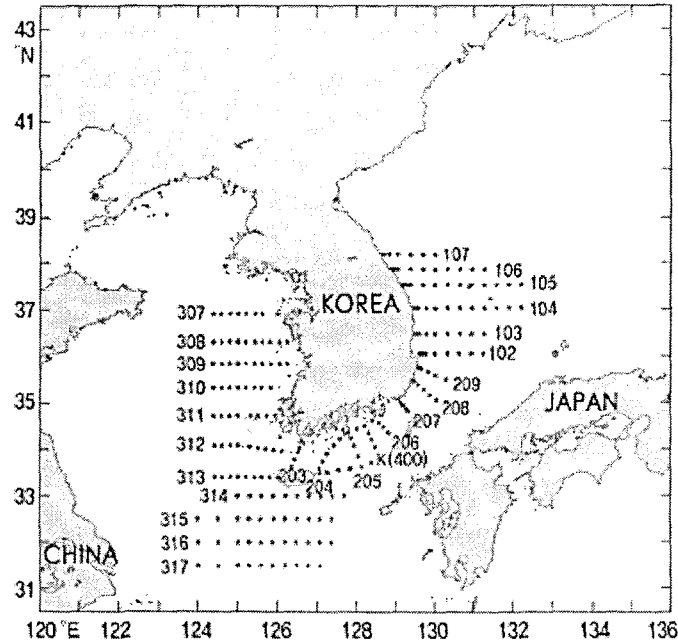


그림 25. 국립수산물과학원 정선해양관측조사 정점도.

- 연구대상지의 선정은 국내 해양생태학 전문가들의 5~6회에 걸친 자문회의에서 심도 깊은 토의를 거쳐 한반도 해양환경 변화를 대표할 수 있는 해역을 선정하고 그동안의 연구 결과들을 전체적으로 검토하여 적절한 조사 해역들을 선정함
- 조사정점 설계 기본원칙 수립과 연구지침서에 따른 각 연구항목별 조사시기 및 정점을 고려하여 연구정점을 선정
- 연구대상 해역의 연구순위를 결정하기 위하여 기후변화 취약성, 고유생태지역 보유, 과거연구 자료 축적, 유용수산자원 관리 필요성, 인간활동(어업 및 인위적 교란), 서식지 보존 및 복원 필요성, 외래종 유입, 환경변화 민감도의 8개 항목을 선정하여 이에 대한 평가를 실시하였음
- 8개 항목에 따른 한반도 해역별 매트릭스를 [표 3]에 나타내었으며, 평가수치에 따라 우선순위를 두고 연구해역을 선정하였음

표 3. 연구대상 해역의 순위선정 매트릭스

	동해 외양	동해 연안	남해 외양	남해 연안	제주 도	서해 외양	서해 연안
기후변화 취약성	10	6	8	6	10	6	6
고유 생태지역	8	8	6	8	8	4	6
과거연구 자료 축적	10	10	10	10	6	8	10
유용수산자원 관리 필요성	8	8	8	8	8	6	8
인간활동(어업 및 인위적 교란)	10	10	10	10	6	8	6
서식지 보전 및 복원 필요성	10	8	8	8	8	6	8
외래종 유입	6	6	8	6	10	4	6
환경변화 민감도	10	8	8	6	8	6	6
합계	72	64	66	62	64	48	56
순위	1	3	2	5	3	7	6

\* 8개 항목의 평가를 연구대상해역에 대하여 실시하고 이들 평가는 1-10사이에서 해양생태계연구의 시급성이 높을수록 높은 수치를 가짐

\* 각각의 항목은 가중치를 두지 않고 균등한 중요도를 가진다고 판단

- 이 과정에서는 문헌 조사 결과 및 장기적인 연구자료가 축적된 해역을 고려하여 고유생태지역, 생태계교란지역, 생태계 변동관측에 적합한 해역을 연구대상지로 선별하고 물리, 해양, 지질, 생물 분야의 전문가들에게 자문을 요청하였음
- 고유한 특성을 잘 나타내는 생태계 보호구역과 환경오염 및 외래종 유입으로 인한 생태계 교란작용이 나타나고 있는 제주도와 장기적인 해양생태계 연구자료 축적 및 생태계 변동현상 관측을 위한 남해/동해의 연안과 외양을 연구대상지로 선정하였음(그림 26).
- 연안과 외양은 환경특성뿐 아니라 기후변화, 인간 활동 등에 의한 영향이 다르기 때문에 한반도 장기해양생태계 연구를 효율적으로 운영하기 위해 선정된 연구대상지를 크게 연안생태, 해양생태, 아열대생태 연구대상지로 구별하였음
- 실시간 해양환경 특성을 지속적으로 모니터링 하기 위해, 동해와 남해의 연안역과 외해역에 각각 해양부이를 설치하고자 함. 해양부이에는 기상, 물리, 생물, 화학인자를 모니터링 할 수 있는 관측장비를 설치함으로써 해양생태변동에 영

향을 미치는 각종 해양인자를 관측하고자 함

- 해양부이와 함께 부이가 설치된 해역에서 부정기적으로 집중적인 다학제간 process study를 실시함으로써 다양한 해양생태 역학을 규명하고자 하며 이러한 다학제간 process study는 장기생태모니터링을 통해 관측되는 현상파악의 원인을 규명함으로써 향후 생태계 변동을 예측하는데 기여하리라 고려됨
- 개체군의 분포, 기후변화 등의 환경변화에 대한 생태적 반응을 이해하기 위해 1년에 한번 고정정점 이외에 남해 전 해역을 대상으로 저서생물 연구를 수행함

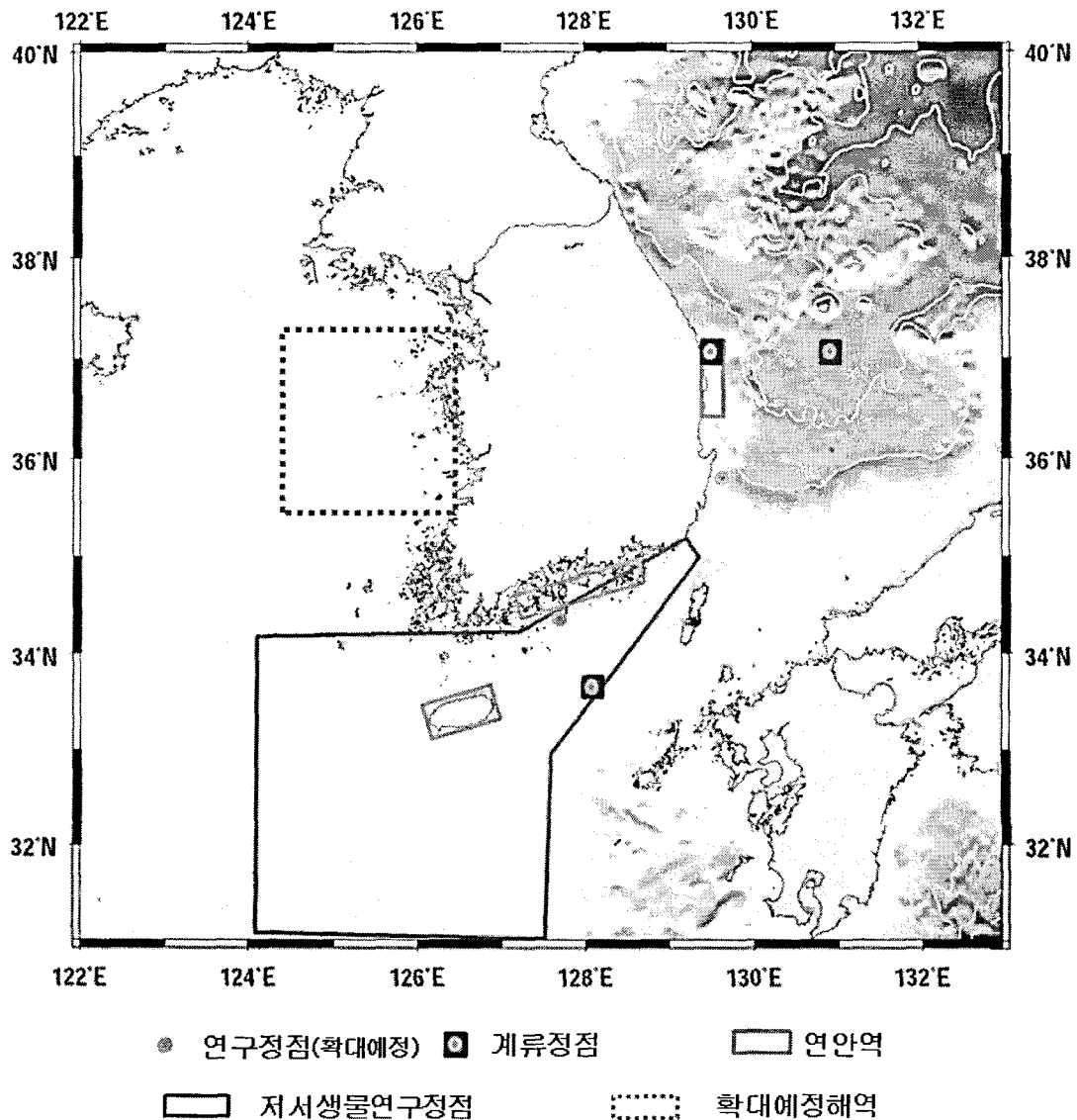


그림 26. 장기해양생태계연구를 위해 선정된 연구대상지.

## 4.2. 선정 연구대상지 특징

### 가. 동해장기생태 모니터링 연구대상지 : 동해외양과 연안역(그림 26)

- 동해는 대양의 순환구조와 매우 유사한 축소판 해양으로서, 기후변화에 대한 대양의 반응을 파악할 수 있는 최적지로 최근에 세계 해양학계에서 주목을 받고 있음.
- 동해에 명태 등 한류성 어종의 어획이 급감하고, 열대성 어종이 최근에 등장하기 시작함.
- 후포뱅크로 상징되는 수심 200m 미만의 천해, 수심 2000m 이상의 심해 환경을 동시에 관측할 수 있는 해역이므로 표영생태계와 심해생태계사이의 생지화학적 순환과 영양연결고리를 이해하기위한 연구에 적합.
- 한류(북한한류)와 난류(대마난류, 동한난류)가 교차하는 해역으로 기후변화에 따른 해양순환 변화와 해양생태계 반응을 파악하기에 적합한 해역임.
- 국립수산물과학원 장기 정선관측선(500m 이내)과 유사한 위치에 편성하여 상층의 경우, 기존에 축적된 장기(1960-) 정선관측자료 활용 가능함
- 동물플랑크톤의 장기변동현상, 주요 어종의 연간 어획량변화 등의 장기데이터가 보고되어 있어 해양환경변화 및 기후변화에 의한 해양생물의 장기변동현상을 비교분석하기에 적합
- 후포뱅크-외해 기준점의 경우 후포뱅크 내에 위치한 연안역은 북한한류와 동한난류가 활발히 교차하는 해역으로 북한한류의 발달에 따라 동한난류의 진로변동이 일어나는 특징을 가지고 있으며, 외해역은 동한난류와 극전선의 사행에 의해 형성되는 난수성 소용돌이 등 상층 해양순환 변동에 따른 심해생태계의 변동이 고려되는 해역이며, 동시에 benthic-pelagic coupling 연구에 적합한 조건임
- 감포-외해 기준점의 경우 연안역의 경우 해저지형과 바람에 의해 저층의 북한한류가 표층으로 용승하는 용승현상이 매우 활발한 해역으로 생태학적으로 중요한 해역이며, 외해역은 대마난류의 직접적인 영향을 받는 해역이라는 특징을 가지고 있음

### 나. 남해장기생태 모니터링 연구대상지 : 남해외양과 연안역(그림 26)

- 동해, 서해 및 동중국해와 연결되는 해양학상 매우 복잡한 해양구조를 이루는

## 해역

- 한반도 연안해역 중 가장 인간활동에 영향을 많이 받는 해역임
- 양식산업이 활발한 해역으로 고밀도 양식으로 인한 환경파괴 및 양식생물 집단폐사 발생
- 부영양화 해역으로 적조 발생이 잦음
- 국내외 각종 선박의 왕래가 빈번한 해상교통의 요충지로 주로 쿠로시오(Kuroshio)로부터 분지되는 대마난류수와 중국대륙 연안수, 한국 남해연안수 등의 성쇠와 분지되는 해류의 방향과 세기에 따라 해황이 변화되지만 아직까지 그 변화과정과 계절별 특성은 명확하지 않음
- 남해의 경우, 남해연안수의 영향을 직접 받는 연안역과 대마난류수의 영향을 주로 받는 외해역 사이에 형성되는 전선의 위치에 따라 해양생태환경이 크게 달라지므로 연안역과 전선역, 외해역에 대한 생태계 모니터링이 필요로 함

### 다. 아열대생태 모니터링 연구대상지 : 제주연안역(그림 26)

- 생태계 보호지역으로 황근 염생식물 자생지역
- 제주연안에는 약 900 여종의 해산연체동물이 분포하고 있으며, 이 중 15% 정도는 제주에만 국한되어 출현
- 아열대 지역으로부터 산호류나 갑각류 등이 유입되어 정착하고 번식하는 현상이 보고되고 있음
- 해안에 다양한 형태의 기질이 존재하고 있으며, 대마난류 영향을 크게 받지만 다른 여러 수괴의 영향도 동시에 받고 있어 생물다양성이 높을 수 있는 여건을 갖추고 있고, 열대와 아열대 생물인자를 온대해역으로 수송하는 대마난류의 영향권에 위치함에 따라 한반도의 해안과는 다른 종조성을 가지고 있음
- 아열대해안으로 겨울최저수온이 10-13℃로 높은 관계로 제주에만 국한되어 분포하는 종이 많고 온대와 아열대 및 열대 생물이 공존함
- 제주도의 경우 생태계 보호구역과 함께 외래종 유입에 의한 교란생태계도 동시에 나타나고 있어 개체군 생리생태 연구에 적합함

### 라. 서해장기생태 모니터링 연구대상지 : 서해외양과 연안역(그림26)

- 넓은 갯벌과 특이한 해양환경을 가지는 해역으로 남해나 동해와 다른 독특한

생태계 특성을 보이고 있어 단계적으로 사업을 확대하여 서해장기생태모니터링을 실시하는 것이 반드시 필요함

### 4.3. 연구대상지별 주요 연구내용

- 연구대상지별 특성이 다르기 때문에 세부연구내용을 조절할 필요가 있음
- 연구주제에서 언급되었듯이 외양의 경우 benthic-pelagic coupling에 중점을 둔 장기적인 관측 및 조사연구를 중점적으로 실시할 수 있도록 해양생태연구 내용을 선별하였음
- 연안의 경우 양식사업 등 어민들의 생활과 밀접한 관련이 있으므로 개체군 생리생태 연구에 초점을 맞춰 연안생태연구 내용을 선별하였음
- 제주도의 경우 연안생태와 유사하나 아열대기후의 특징을 보이고 있기 때문에 따로 구별하여 아열대 생태연구 내용을 선별하였음

#### (1) 해양생태연구

##### (가) 연구 필요성

- 한반도 주변의 표층수온 장기변동과 엘니뇨에 관한 연관성과 관련하여 엘니뇨 발생시기에 여름과 겨울에 동해의 표층수온이 영향을 받으며(Hong et al., 2001), 엘니뇨와 표층수온의 상관성이 연변동~수십년 변동까지 유의하게 나타나고 있음(Park and Oh, 2000)이 보고된 바 있음
- 초대형 엘니뇨는 동해의 기후변동 및 해양환경 변동에 직접적인 영향을 미치고 이장환경 등 국가경제에도 영향을 미칠 것으로 예상됨
- 엘니뇨 발생과 일차생산(Yamada et al., 2004), PDO와 동해 해양환경은 서로 밀접한 연관성(Gordon and Giulivi, 2004; Andres et al., 2009)이 있다고 보고되고 있으며 이런 해양 물리화학적 환경변화에 따른 생태계의 반응을 이해할 필요가 있음
- 우리나라는 중위도에 위치하고 대륙과 대양의 가장자리에 위치하여 몬순 기후의 영향이 크고 북태평양의 대규모 순환의 일부분인 쿠로시오의 지류가 유입되는 거의 고립된 좁은 바다로 한반도 주변 해에서의 지구온난화 영향은 대양에서보다 훨씬 증폭되어 나타날 것으로 예상되고 있음
- 표층 수온상승은 수주 성층구조를 변화시켜 표면혼합층을 더욱 깊게 함.



수온 안정도의 증가는 표면혼합층의 빈영양화를 가속화하여 표면의 기초 생산력의 감소를 가져올 수 있음

- 침강입자유기물은 심층 및 저서 생물에게 에너지와 물질을 공급하는 주된 기작으로 표층 생태계와 저서 생태계를 연결하는 고리역할을 하며 표층 기초생산의 저하는 침강유기물 공급을 감소시킴
- 따라서 표층의 일차생산이 저서생물의 군집구조 및 영양구조에 영향을 줄 수 있으며 이를 관찰하기 위해서는 표영과 저서환경에 대한 장기적인 관측, 조사연구가 필요(그림 27)

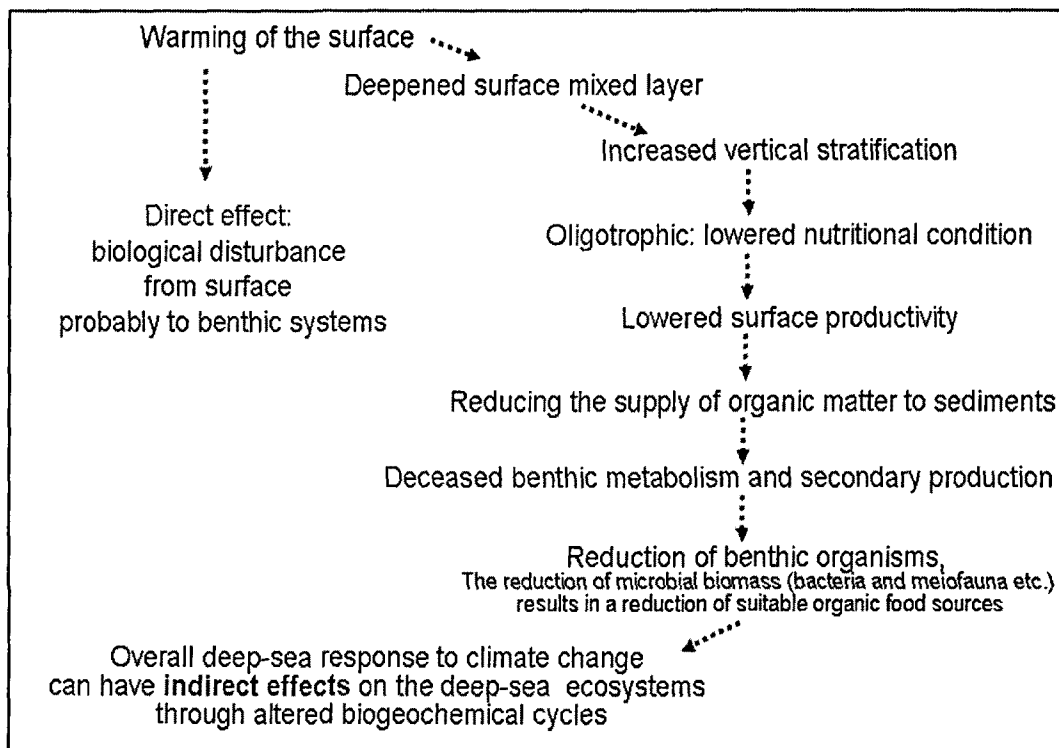


그림 27. 수온 상승에 따른 수층성층구조 변화와 그에 따른 기초생산력 변동 및 표영과 저서생태계 변동과 관련한 일련의 과정에 대한 모식도.

- 특히 심해의 저어류는 궁극적으로 표층에서 생산된 phytodetritus의 침강에 의해 공급되는 타지성(allochthonous) 먹이에 의존하며 phytodetritus는 퇴적물섭식자에 의해 소비된 후, 1차 소비자로 전달되고 다양한 어류를 포함한 상위영양단계로 연결되는 일반적인 영양 경로를 갖는다. 그러나 표층에서 공급되는 epipelagic food와는 관계없는 또 다른 영양 경로가 존재하며, 일부 연구에서는 어류 사체(carrion)이 그들의 먹이라고 보고되었

음(Haedrich and Henderson, 1974; Priede and Bagley, 2000; Bjelland et al., 2000)

- 저어류가 저서 혹은 표영 먹이공급 중 어느 쪽에 우선하는가에 대한 연구는 이회활동과 기후변화 같은 외부요인에 의해 심해 생태계가 어떻게 반응하고 변화하는지에 대한 이해를 위해 매우 중요함(그림 28)
- 심해저 평원에서의 장기시계열관측을 통한 동물 풍도와 크기 조성 변동에 대한 연구들로부터 기후변화 등에 의해 심해 생태계에 나타날 수 있는 반응을 밝힐 수 있음(Billett et al., 2001; Ruhl and Smith, 2004; Bailey et al., 2006; Darzen et al., 2008, 2009)

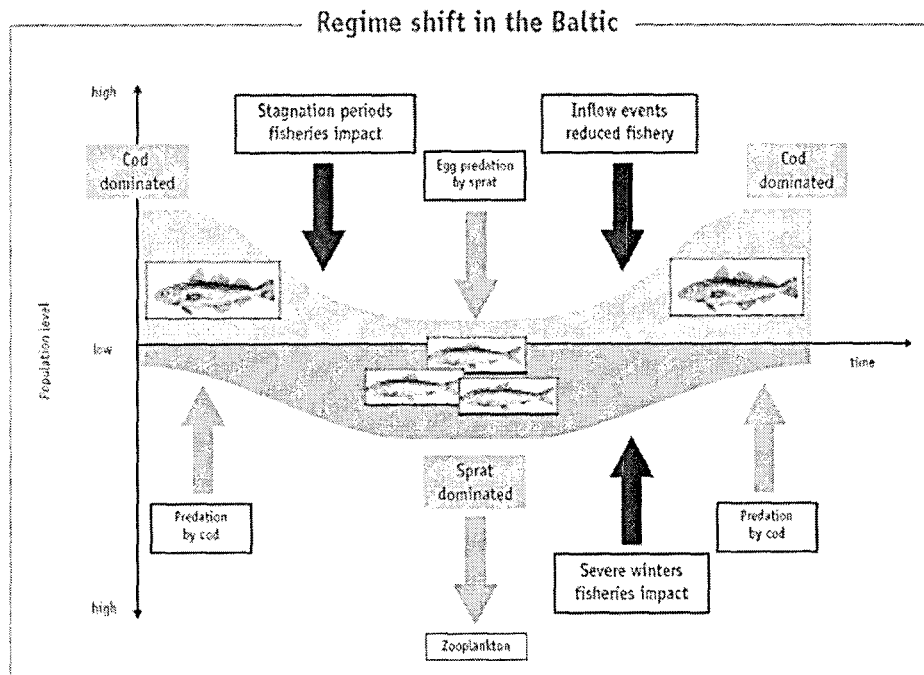


그림 28. 발틱해에서 염분과 수온변화에 따른 우점 어종의 변화 (IGBP Science No. 5. 2003).

#### (나) 연구 목적

- 관측기술과 분석법의 표준화를 통한 일관성 있는 장기 해양관측을 수행 하여 한반도 해양의 변화과정 이해를 위한 정확한 기초자료를 제공
- 해양생태계내의 주요 이화학적과정의 시·공간적 모니터링체계 구축
- 부유 생태계로의 영양염 공급을 결정하는 물리적 요인 규명
- 표층 플랑크톤의 장기변동 파악

- 해양 표면 혼합층 장기변동에 따른 생물군집 구조 변화 파악
- 표영생태환경 변화와 저서 혹은 심해생태계 변동의 관련성 및 먹이연쇄 변동 규명
- 연속관측 정점 연구를 통하여 동해 대륙사면과 심해저 평원 및 남해 대륙 봉역의 **Benthic-Pelagic Coupling** 연구(그림 29)
- 생물펌프의 구조와 기여도를 파악하고 환경변화에 따른 변동성을 규명
- 유기물입자플럭스 및 생태계 구조 변화와 혼합층 변화와의 연관성 이해

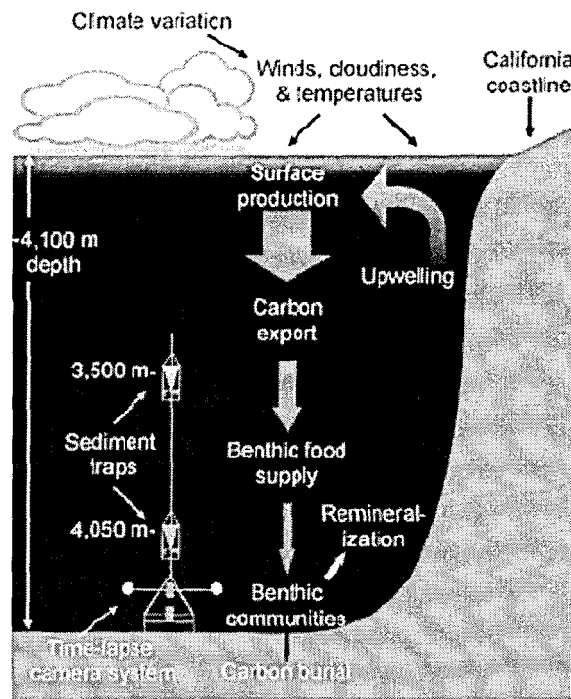


그림 29. Benthic-Pelagic Coupling 연구 모식도 (MBARI Report, 2007).

#### (다) 세부 연구내용

- 해양물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용
  - ① 수주 연직구조 변동성과 이에 따른 기초생산력 변동 연구
  - ② 수주구조와 영양염 공급 구조 변동에 따른 바이러스/박테리아/식물/동물플랑크톤/어류에 이르는 전체 먹이연쇄(end-to-end food web)를 구성하는 각 생물군의 군집구조 변동 연구
  - ③ Sediment trap을 통한 수직적 물질플럭스와 생태계 구조변동
- 생물다양성 변동 이해
  - ① 심해저 평원에서 benthopelagic fish abundance의 장기변동 연구

- ② Camera Pod 계류 통해 심해생물 모니터링
- ③ AUV와 ROV를 이용한 수중촬영 및 시료 채집
- ④ 여객선이나 조사선에 연속플랑크톤 채집기(CPR)를 장착하여 표층 플랑크톤 종조성 및 장기변동 모니터링
- ⑤ 침강유기물 입자에 부착된 박테리아의 다양성과 항생제 내성유전자의 분포 변화
- 먹이망 변동 역학
  - ① 저차생태 구성요소 변동에 따른 표영생태계의 먹이연쇄 변동 연구
  - ② 심해저 평원에서 다양한 먹이원 공급에 대한 저서생물 군집의 반응이해
  - ③ 저서/표영생태계 먹이망의 영양연결과정 변동 이해
  - ④ 저서 혹은 심해 먹이망 구조분석 및 표영생태계와의 연결고리 규명
  - ⑤ 해양구조 변동과 먹이망 구조변동의 관련성 연구 및 저서/표영생태계 먹이망의 연결고리 규명을 통한 먹이망 기능 및 모델링 연구
- 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링
  - ① 수온, 염분, 용존산소 등 기본조사항목의 장기관측 및 모니터링
  - ② 종합 계류 관측 시스템 운용(East-I 과제에서 개발한 super station의 mooring 관측 응용) 통한 연속관측
  - ③ 기후변화에 대한 지표종 선정과 해양환경 변화와의 연계를 통한 연구대상지에서의 통합생태계 변동 이해

## (2) 연안생태연구

### (가) 연구 필요성

- 연안역은 육지로부터 공급되는 담수와 해수의 혼합이 이루어지며 다양한 물질이 집적되고 유출되는 육상과 해양사이의 여과장치로서의 역할을 수행
- 수온 상승 등 환경변화에 따른 생태계의 생리생태기능 변화는 여과장치로서의 역할에도 변화를 초래할 수 있어 연안의 부영양화와 오염 정도에 영향을 미칠 수 있음
- 따라서 효율적인 연안관리를 위해서는 연안역의 생리생태 변화를 이해하는 것이 중요함
- 이와 함께 수온상승에 따른 해양생물들의 적응, 서식처 변화, 질병, 생리활동 변화와 외래종 유입에 의한 생태계 변화를 이해할 필요가 있음

- 일반적으로 생태학적인 관점에서 생물지표는 환경상태의 양/질적 상태를 판단하는데 적합한 세포소기관, 개체 혹은 개체군을 의미하고 좁은 의미로는 외부적인 환경 스트레스의 개체군 징후를 의미하며(Franzle, 2006), 지표종은 환경상태 혹은 환경변화를 평가하거나 표현하기 위해 사용되는 환경과 관련된 현상[OECD (2003)에 의해 외부압력, 상태, 반응으로 정의]의 측정이나 구성성분을 의미함
- 지표종은 종종 변동성 연구를 통해 교란에 대한 생태계 반응 종료 시점을 측정하거나, 생태계내 변동성의 요인으로 고려됨(Burger, 2006; Ulrich and Ingo, 2010)
- Biophysical change는 연안자원(종 개체수, 생체량, 분포, 접근성) 등의 변화와 연안 육지의 손실 등의 사회경제적 변화를 야기할 수 있고, 이런 생태계 변동을 지표종을 통하여 효과적으로 확인할 수 있음
- 따라서 지표종의 장기모니터링을 통해 생태계변동을 이해할 필요가 있음
- 수온 상승의 환경 변화를 볼 수 있는 온대 연안의 조사해역을 선정하여 생물 생리생태 변화를 비교하고 또한 지표종에 대한 다양한 정보로부터 환경변화에 대한 우리나라 연안생태계 변동을 정확하게 파악할 수 있음
- 또한 주요 식물군의 생물량과 군집 변화는 생태계 내에서의 기능 변화를 유발하여 생물생산구조를 변화시키게 될 것으로 예측되며, 이는 유용생물 자원의 변동을 초래할 수 있음
- 따라서 연안의 생물다양성과 생명자원 관리 및 이와 관련한 정책 수립을 위해서는 구체적이고 과학적인 자료의 축적이 필요함
- 현재, 한반도 연안은 지속적인 개발 압력하에 놓여 있고 수온상승으로 인한 환경변화에 노출되어 있어 이러한 해양환경변화의 강도(intensity)에 따라 연안생태계는 급격한 변동이 다양하게 나타날 수 있음
- 따라서 자연적이거나 인위적인 환경변화 모두에 가장 크게 영향을 받고 있는 연안 습지 생태계의 구조와 기능을 정확히 파악하는 것은 범지구적인 기후변화로부터 우리의 생태계를 보호하고 유지 시킬 수 있는 필수조건이 됨
- 20세기 후반에 들어서면서 지속가능한 발전, 지구환경 보전 그리고 생물다양성 증진 등과 같은 보다 근원적이고 장기적인 생태계 기능과 기후 변화와 같은 환경문제에 대해 관심이 집중되고 있음. 이러한 추세는 21세기에

들어 점차 강화되어 전 세계적으로 가장 중요한 환경문제로 손꼽히고 있는 지구온난화와에 따른 생태계 기능과 역할에 대해서 우리나라도 기존에 비해 구체적이고 실질적인 연안해양생태에 관한 과학적 자료 축적이 요구됨

#### (나) 연구 목적

- 해양 식물의 분포에 관한 기초 조사
- 기후 변화로 인한 해양 식물의 분포 및 생물량 변화 측정
- 변화된 환경에 대한 적응 능력 평가
- 수온 상승에 따른 연안 동식물 서식처 분포 및 종 조성 변화 분석
- 연안 동식물의 생식 전략 파악을 통한 개체군 유지 전략을 비교 분석하고 생리생태학적 특성의 변동양상이 연안생태계에 미치는 영향 평가
- 외래종 유입으로 인한 지표종 서식처 변화를 이해하고 서식처 내 고유종과 유입종의 생태적 지위와 생물종간 경쟁 이해
- 유입된 유입 해양식물의 생리생태학적 특성 파악
- 지표종의 해양환경변화에 대한 장기 변동 이해
- 연안식물군 서식처 변동과 저서/유영 동물 군집구조 변동의 관련성 규명
- 유입 가능성이 높은 동남아시아와 일본지역의 식물과 비교
- 수온 상승에 따른 연안 습지 식물의 생리변화와 생물 생산력과 동물 군집 구조 변동 및 먹이망 구조 변동을 파악하고 습지 식물의 시간에 따른 변동을 추적하여 수온 상승 등 환경변화가 연안 생태계에 미치는 영향을 종합적으로 이해함

#### (다) 세부 연구내용

- 개체군 생리생태 연구
  - ① 해양 환경 변화로 인한 해양 식물의 개체군 구조 및 생산성 변동 측정
  - ② 생산성과 엽체 내 탄소, 질소 및 인의 함량 분석을 통한 전체 생산량 변화 연구
  - ③ 연안 환경변동에 따른 해산 식물군의 광합성 특성 및 호흡률 연간 변동 양상 등 생리생태학적 phenology 변화 규명
  - ④ 변화하는 환경에서 서식생물의 생리생태 변화 및 생체에너지 대사 분석

을 통한 생존과 적응 전략 이해

- ⑤ 온난화에 따른 주요 연안 생물종의 재생산과 대사활동 변동 조사
- ⑥ 외래 유입종의 생리생태변동 연구
- ⑦ 연안생태계 외래 유입 해산무척추동물의 번식생물학적 특성 규명
- ⑧ 제주 및 동/서/남해안에 분포하는 이매패류의 산란주기 비교 및 면역학적 방법에 의한 번식량 측정

• 생물 다양성 변동 이해

- ① 해양 식물의 분포 및 현황의 계절 변동
- ② 해산식물 군집 내 생물군의 정량/정성조사 및 생물다양도 변화 추적
- ③ 해산식물 군집의 경쟁구도, 섭식작용, 개체군 변동 및 군집 안정성 등 기능생태학적 분석
- ④ 염습지 식생 분포, 구조, 생산성 및 기능 파악
- ⑤ 제주도 및 동/서/남해안의 외래 유입 해산식물 및 무척추동물 발굴
- ⑥ 저서무척추동물 및 유영동물(어류, 갑각류, 두족류) 군집구조 변동 조사

• 먹이망 변동 역학

- ① 연안 생태계의 먹이연쇄 구조 변동 파악
- 기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링
  - ① 주요 해양 식물 서식처의 물리화학적 환경 요인 변동 파악

### (3) 아열대생태연구

#### (가) 연구 필요성

- 우리나라 연안은 위도 33~38도에 걸쳐 분포하는 온대 지역으로 제주도의 경우 수온이 연중 14~27℃ 범위를 갖는 반면, 남해안의 경우 8~25℃, 서해안의 경우 5~25℃ 및 동해안의 경우 4~23℃의 연중 수온 범위를 가짐
- 제주 연안역에는 다양한 저서동물이 서식하며, 이 중, 연체동물문의 이매패류나 복족류 등은 수산자원으로 연안 어업 및 양식 산업에 이용 됨
- 굴, 바지락, 가리비, 홍합, 전복, 소라 등 연체동물은 우리나라 연안역에 널리 분포하나, 이들의 번식 주기는 지역의 수온변화와 밀접한 관계를 가짐
- 참굴, 바지락 등과 같은 고착성 이매패류의 연중생식 주기는 수온 및 환경인자에 의하여 결정되며, 성공적인 번식 및 산란은 저서동물의 개체

군 유지에 있어 매우 중요한 요소로 작용함

- 최근들어 기후변화와 관련하여 이런 지역적 산란시기가 바뀌고 있으나, 이에 대한 연구는 현재 전무한 실정임
- 해수면의 수온상승은 특히 연안에 서식하는 이매패류나 복족류의 산란시기를 앞당기게 되며, 이에 따라 유생의 성장도 해양환경변화에 의하여 심각하게 영향을 받게 됨
- 따라서 연안에 서식하는 저서동물의 번식패턴 및 산란량의 주기적 모니터링이 기후변화가 연안 해양생태계에 미치는 영향을 파악함에 있어 매우 유용한 지수로 이용될 수 있음
- 제주도의 경우 해양학적 위치가 아열대 지역의 북방한계점에 위치하였으나, 기후변화에 의한 수온상승으로 인하여 아열대 지역의 저서생물들이 유입되고 있으며, 이들이 단순히 유입될 뿐만 아니라 번식을 통하여 하나의 개체군으로 점차적으로 정착해 가고 있는 경향을 보임
- 따라서 이러한 유입종들의 단순한 분포 양상 조사를 벗어나 이들의 연중 번식주기와 산란량 등을 측정할 경우 향후 이들 생물이 제주연안에 정착하여 생태계의 일원으로 가입하게 되는지 여부를 알게 됨
- 수온상승은 단순히 연안 저서생물의 번식주기만 변화 시킬 뿐 아니라 이들의 번식량에도 영향을 미침. 특히 주요 연체동물 수산자원 (예, 굴, 바지락, 소라, 전복 등)의 번식양상 변화는 향후 수산 산업 전반에 지대한 영향을 미칠 것으로 파악되어 이에 대한 연구가 절실한 실정임
- 번식량 변화는 생태계의 먹이사슬과도 밀접한 관계를 가짐
- 따라서 향후 기후변화가 연안역의 저서생물생태계에 미치는 영향 모니터링을 통하여 연체동물의 번식량 측정을 지속적으로 수행할 경우 연안 어장 환경 평가에 유용한 자료로 활용될 것으로 판단 됨
- 또한 동남아지역 및 제주연안에 분포하는 유입종의 DNA 분석을 통하여 이들의 유입경로 추정.

#### (나) 연구 목적

- 기후변화가 연안의 유용 패류 번식에 미치는 영향 파악
- 기후변화로 인하여 제주지역에 유입되는 아열대 및 열대성 해산 무척추동물 목록 작성



- 외래유입종의 집단형성 가능성 여부 판단
- 계절에 따른 패류의 번식 주기 및 산란량 측정
- 번식주기와 산란량의 공간적 변이 추정
- 먹이환경과의 관련성 연구를 통해 개체군 환경적응전략 연구
- 환경변화에 대한 생물종의 적응과 진화 연구를 통한 생태계 반응 연구
- 지구온난화로 인하여 아열대로부터 유입되는 저서동물의 기원 규명

#### (다) 세부 연구내용

- 개체군 생리생태 연구
  - ① 연안저서생태계에 있어 지표종으로 이용할 수 있는 연체동물 (굴, 바지락, 전복 등)의 생식세포에 관한 주기적인 조직학적 관찰
  - ② 항원-항체 반응을 이용한 주요 해산 연체동물의 번식량 측정
  - ③ 외래유입 고착성 저서생물의 연간번식주기 및 면역학적 방법에 의한 번식량 측정
  - ④ 변화하는 환경에서 서식생물의 생리생태 변화 및 생체에너지 대사 분석을 통한 생존과 적응 전략 이해
  - ⑤ 기후변화로 인한 산란시기의 변화 예측 모델 개발
  - ⑥ 외래 유입종의 생리생태변동 연구
- 생물 다양성 변동 이해
  - ① 해산식물 군집 내 생물군의 정량/정성조사 및 생물다양도 변화 추적
  - ② 해산식물 군집의 경쟁구도, 섭식작용, 개체군 변동 및 군집 안정성 등 기능생태학적 분석
  - ③ 기후변화를 예측할 수 있는 해산 연체동물 지표종 발굴
  - ④ 제주연안 유입종의 분자생물학적 동정 및 이들의 유입경로 추정
  - ⑤ 제주도 및 동/서/남해안의 외래 유입 해산식물 및 무척추동물 발굴
  - ⑥ 동남아시아와 제주연안에 분포하는 무척추동물 (연체동물, 산호류)의 분자생물학적 계통분류실시
- 먹이망 변동 역학
  - ① 연안 생태계의 먹이연쇄 구조 변동 파악

## 5. 사업추진체계 및 전략

### 5.1. 사업추진체계 구성방안

- 장기해양생태계 변동연구 사업은 국가의 관리감독과 지원하에 추진되는 연구 사업이므로 연구수행에서도 일사불란한 조사와 연구결과의 체계적인 수집·관리가 요망됨
- 국내 해양생태계 통합정보관리 및 해양생태계 변화현황을 분석·평가하여 국가가 필요로 하는 보고서를 작성하기 위해서 연구사업의 기획과 전반적인 감독 업무는 국토해양부가 맡고, 사업예산의 관리와 정산은 한국해양과학기술진흥원이 위탁 집행하며, 연구사업단에서 실제 연구 사업을 수행하도록 하는 **3원화된 사업관리체계를 구성(그림 30)**
- 생태계 연구와 모니터링을 포함하는 주요 연구활동은 국가와 사업단으로부터 지속적으로 지원받도록 계획 수립
- 예산의 적절한 투입을 통하여 기존의 연구인력 이외의 추가적인 연구내용에 대하여 우수한 전문연구 인력을 연차별로 투입하여 연구목적 달성에 합당한 연구가 수행될 수 있고 목표달성이 효율적으로 이루어 질 수 있도록 연차별/단계별로 사업을 조정할 수 있는 방안을 제시

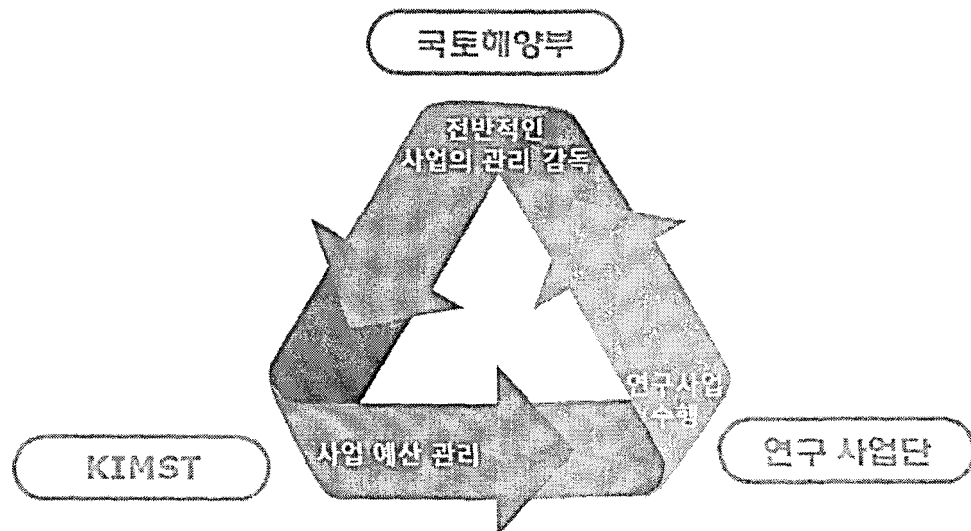


그림 30. 장기해양생태계 연구사업의 삼원화 체계.

## 가. 연구추진체계 구축

- 통합생태계 모니터링 체제를 구축하고 연구사업 목적 달성과 효율적인 연구 진행을 위하여 사업단에서 연차별 모니터링 체계에 대한 단계별 로드맵을 작성하고 연구내용에 따른 주요 사업을 선정 제시함
- 해양환경보전과 지속가능한 이용에 관한 조사 및 연구에 대한 핵심과제의 연구수행이 효율적으로 이루어지도록 관리감독 체계 마련
- 해수순환 및 생지화학적 변동과 생태계 구조와 기능변동을 연계한 생태계 통합 조사·연구를 추진할 수 있는 통합생태계 연구체제 구축(그림 31)
- 자문위원회와 각 연구팀 사이의 연계를 강화하여 양질의 연속자료를 확보할 수 있도록 연구팀을 구성하고 국토해양부, 한국해양과학기술진흥원, 연구사업단의 3원화된 사업관리체계 구성하여 전반적인 연구사업 관리(그림 32)
- 적절한 예산 투입과 연차별/단계별로 사업을 조정하는 방안 제시
  - 연차별 보고서와 논문 실적 등 연구결과 관리감독을 통해 예산 분배
  - 각 연구분야의 유기적 관계유지를 위한 주기적인 워크숍 개최
  - 자료 수집, QC, DB화 시스템 구축

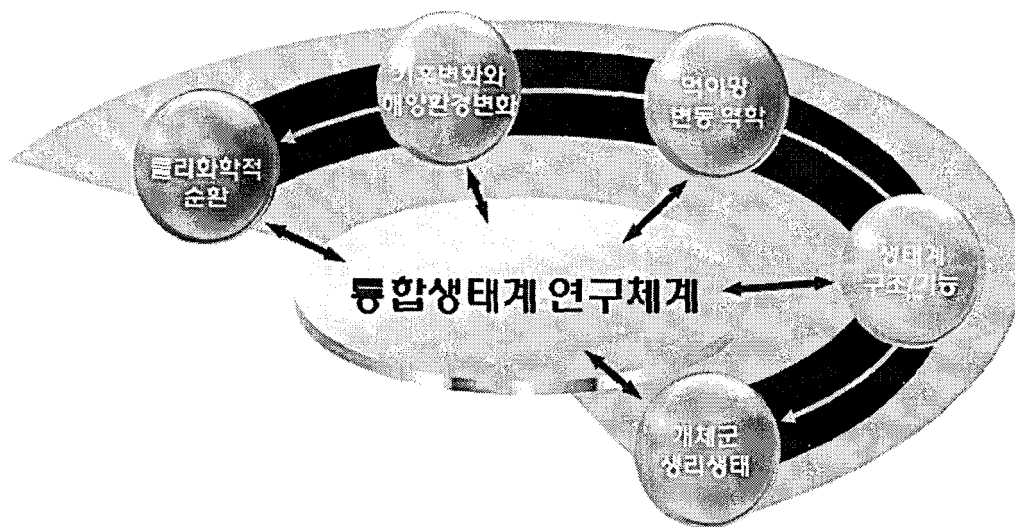


그림 31. 통합생태계 연구체제.

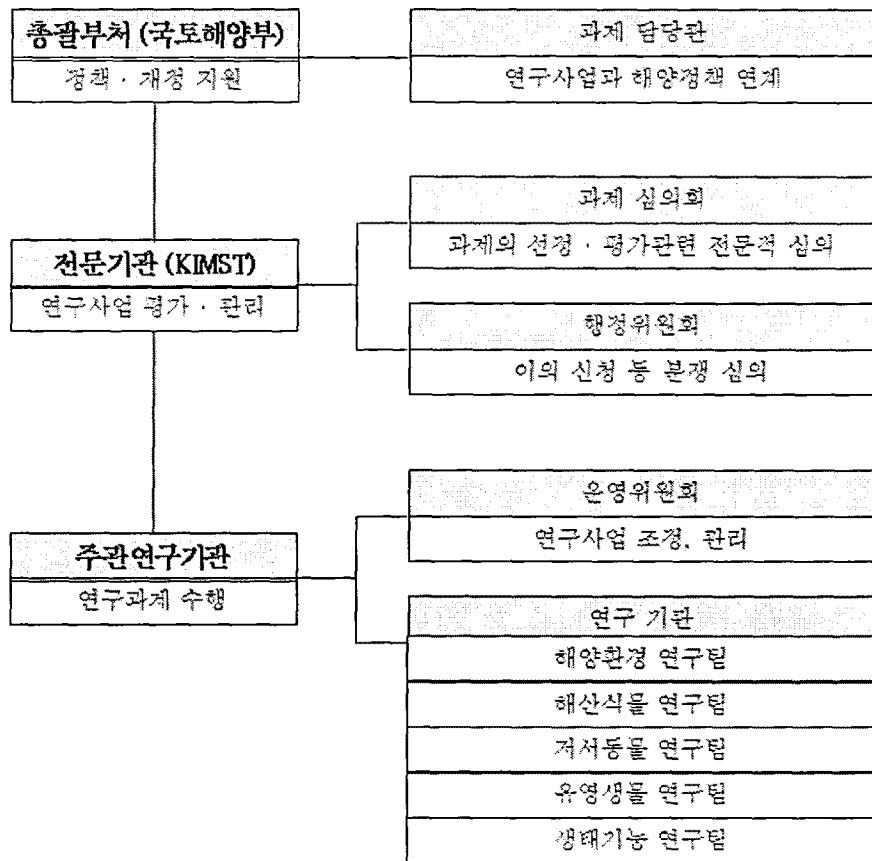


그림 32. 장기해양생태계연구 추진체계.

## 나. 연구사업 추진범위

### (1) 연구대상지의 장기모니터링 네트워크 구축 및 운영

- 연구대상지의 기본조사항목 모니터링
- 보호구역에 대한 장기모니터링 수행
- 환경오염, 기후변화, 외래종 유입 등으로 인한 관리대상 지역 및 생태계 교란 지역에 대한 기초적 생태연구 수행
- 특정생물종(외래종, 멸종 위기종, 핵심종 등)의 개체군 생리생태 연구 수행
- 데이터베이스를 효율적으로 관리 운영할 수 있는 관리운영 시스템 구축

### (2) 기초생태 연구의 심화 및 장기해양생태계연구 활성화를 위한 사업

- 장기해양생태계 연구 심화
- 다학제간 통합연구체계 구축을 통해 통합생태학적 연구수행

- 물리화학적 환경변화에 따른 생태계 구조 변동 및 반응연구
- 지속적인 장기변동현상 연구를 기반으로 생물학적 요인과 해양환경변화의 통합분석수행
- 각 연구분야 사이의 원활한 네트워크 운영과 더불어 국제적 연구 추진
- 제반 학술정보의 수집/정리 및 데이터 DB 구축
- 후진연구인력 양성을 위한 해양생태학 전공 연구자의 교육 및 훈련 수행

### (3) 연구결과의 홍보 및 환경변화 대응기술 확립과 정책반영을 위한 사업

- 온라인상의 자료 관리시스템 구축하여 국민들에게 기초해양생태자료 공개
- 해양환경 보전 및 지속 가능한 개발을 위한 해양생태 정책 개발
- 국제협력연구를 통한 다양한 국가/지역의 장기적인 해양생태계 변동 데이터의 통합분석과 해양생태연구자들 간의 교류 촉진
- 국내외 전문가를 초청하여 심포지움 및 워크숍을 개최하여 국내 해양생태계의 장기변동 현상 발표를 통해 한반도 생태계 변화를 국제적으로 홍보하고 그와 더불어 외국의 성공사례를 수용하여 지속적인 생태계 연구계획을 발전시키고 정책수립을 위한 보다 양질의 과학기초 데이터를 제공

## 다. 연구사업 추진방법

### (1) 사업단 운용

- 생태계연구는 여러 가지 측면에서 다른 환경관련 연구들보다 장기적이고 집중적으로 연구되어야 한다는 차이점을 가지므로 장기해양생태연구 조사지점 선정 후 연구 수행시에 연구팀은 그 조사지역에 대해 계절적 변화(4계절)를 포함하여 적어도 10년 이상의 기간에 걸쳐 연간 수회 내지는 수십회의 현장조사를 수행해야하므로 연구전담 조직의 가동이 필요
- 외국의 성공적으로 운영되고 있는 장기해양생태연구 사업의 조직도를 참고하여 사업단을 조직하여 운영할 필요가 있으며, 외국의 경우 장기적이고 집중적인 현장조사를 수월하게 진행하고 지속적인 국가(정부)의 지원을 받기위해 연구를 전담하는 생태연구센터를 각 지역마다 설립하여 장기생태연구사업을 추진하고 있음

- 각 분야의 연구전담팀을 구성하고 그들을 통합/관리 할 '장기해양생태계 연구 사업단' 설립하여 연구사업의 단계별 추진목표 설정(그림33)을 통해 한반도 해양생태계 변화의 장기적인 모니터링 체제를 수립하고 한반도 고유의 해양환경 및 생태계 변화 평가 및 저감대책을 마련

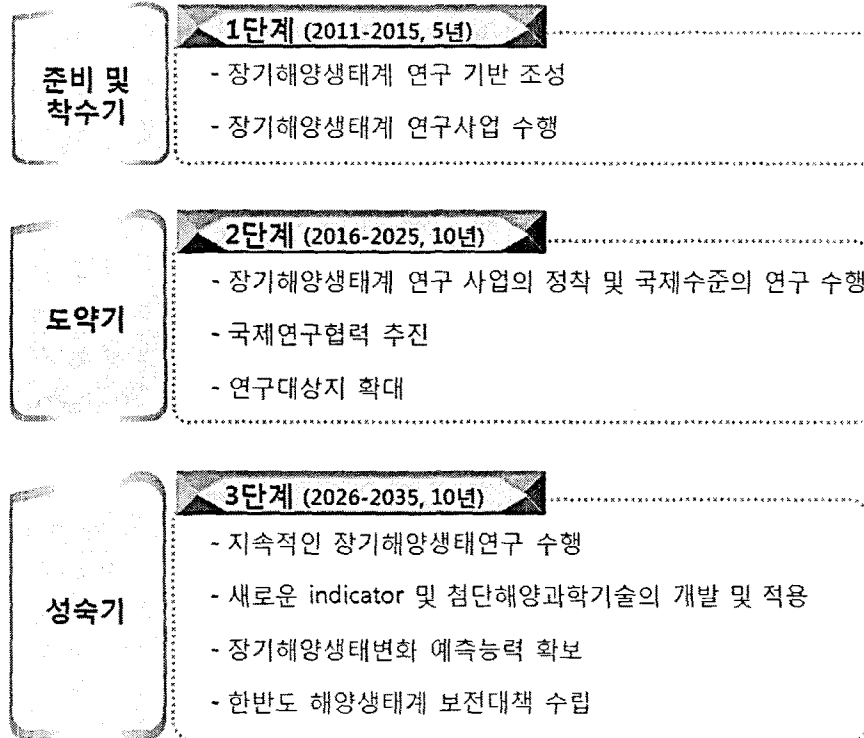


그림 33. 장기해양생태연구 사업단의 단계별 추진목표설정.

- 연구사업 범위, 연구 주제 및 내용은 향후 진행되는 사업 예산에 따라 조절하여 수행하도록 함. 예산 범위에 맞추어 사업을 추진하고 예산이 확보되면 연구지를 확대함. 예산 변동에 맞추어 연구 및 관측 추진 방법의 변화를 고려하고, 예산 및 관측기술발달 정도에 따라 첨단 장비를 도입하거나 관측 항목을 추가하고 관측기술 보완 및 개발 등을 고려하여 장기적인 연구사업을 추진
- 매년 내부 및 외부 연차 평가를 실시하여 연구결과 등급화를 통해 연구 지속 여부 결정 및 새로운 연구 목표와 주제 설정(그림 34)
- 평가기준은 계획서 대비 연구결과물, 연구팀 공헌도, 연구비 사용 적절성, 국내외 학회 발표 및 논문 투고, 대학원생 학위논문, 세부 및 총괄책임자 역할 실행정도 등을 모식화하여 투명한 평가기준을 마련하여 심사 실시

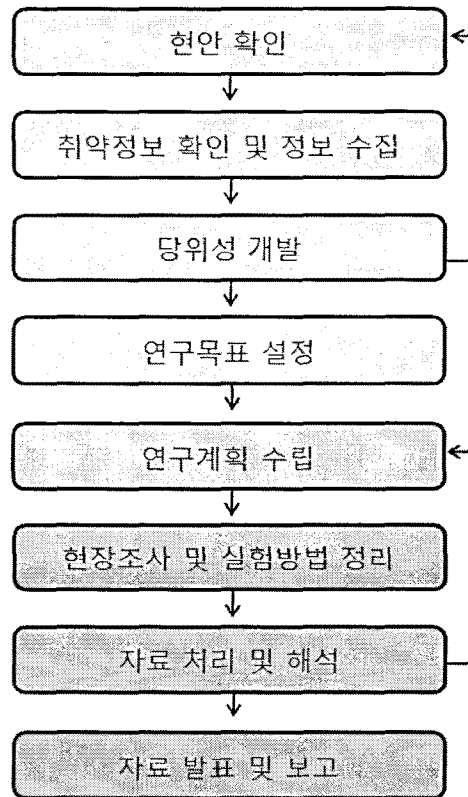


그림 34. 장기해양생태계연구 사업의 관리 및 보고 흐름도.

- 국제학술지(SCI급) 투고 의무화 등 가시적 연구결과물 제출 원칙 및 연구성과에 따른 연구비 투입의 차등화방안을 계획
- 생태계 기능적 연구는 자료의 신뢰성 제고를 위하여 동일 연구자가 연구 수행할수 있도록 고려하여 지속적으로 일관성있는 연구와 데이터가 산출될 수 있도록 관리 감독
- 각 연구팀에서 수집된 정보를 분석 및 평가하여 국가보고서를 작성하고, 시료 관리 및 보존, 데이터 관리 등 제반적인 사항을 총괄적으로 관리감독하여 장기해양생태계연구 사업이 원활하게 운영될 수 있도록 사업단 및 전문연구팀의 적절한 관리 감독
- 연구의 질적 수준향상과 더불어 국제적 수준의 연구프로그램으로 수행될 수 있도록 자문위원단을 구성하여 정기적으로 연구항목 및 연구결과, 국내외 연구동향에 대한 자문을 구하도록 하는 시스템 구축
- 구축된 자문위원단 시스템을 통해 새로운 첨단 기술들을 체크하여 연구에 적용할 수 있도록 추진하고 외국의 선진기술의 도입뿐 아니라 국내 기술수준

향상을 위한 연구도 지속적으로 추진하여 첨단기술을 보유할 수 있도록 추진  
(예를 들어 ESROB, HF-radar, Glider, Satellite drifter, surface CO<sub>2</sub> observation system 등)

## (2) 다학제간 연구 수행

- 생태계 변동현상은 한 분야의 연구만으로 이해하고 예측하기는 어려우며 다학제간 연구가 필수적인 분야라 할 수 있음
- 이에 해양순환 변동과 연계 연구, 물질순환과 먹이망 내에서의 유기물질 흐름현상 이해 등의 해양생태계 연구를 수행하기위하여 물리해양학 및 화학해양학 등 다양한 분야의 전문가들의 연구 참여를 유도하여 연차별로 다학제간 연구가 확대되어 실행될 수 있도록 계획
- 각 연구 생물군별로 적절한 연구 집단을 구성하고, 학제간 연구가 성사될 수 있도록 추진하여 다학제간 연구를 통한 통합생태계연구체계 구축

## (3) 국제 공동 연구

- 다학제간 원활한 네트워크 운영과 국제장기해양생태 프로그램과의 연계 및 공동연구 협력 추진
- 국제적으로 다양한 장기해양생태계연구 프로그램이 수행되고 있으며 오랜기간의 연구수행을 통해 다양한 연구성과를 발표하고 있으며 이렇게 축적된 과학적 기초조사 데이터는 실제 국가 환경 정책 등에 반영되어 지속가능한 환경개발정책을 효율적으로 운영하는데 도움이 되고 있음
- 선진국들의 앞선 연구경험을 받아들여 한반도 고유의 연구시스템으로 전환/발전시켜 수행할 필요가 있으며, 현재의 환경문제는 개인이나 한 국가 차원의 문제가 아니라 전 지구적 문제이므로 이러한 전 지구적인 환경변화에 대응하기 위해서는 국가들간의 연구협력 및 정책교류가 필요하며 국제 공동연구 추진을 통하여 이를 수행
- 일례로 SeagrassNet 모니터링 프로그램의 경우 가장 활발하게 수행되고 있는 글로벌 수준의 잘피 서식지 모니터링 프로그램으로 약 30개국의 100여개 이상의 조사지점에서 조사가 수행되고 있으며, 우리나라 남해안 거제만이 조사정점으로 2008년 7월부터 모니터링이 수행되고 있음. SeagrassNet 모니터링



프로그램과 연계하여 잘피 서식지를 대표할 수 있는 세 개의 transect을 설치하여 random sampling을 통해 전 세계의 모든 조사정점에서 동일한 조사 방법을 이용하여 분기별로 모니터링하여 국제공동연구 가능

#### (4) 산학연 협력 연구 활성화

- 국립수산물학원 정선관측 조사와 연계하여 효율적으로 해양생태계 조사를 수행하고 협력연구를 활성화
- 어민과 어업담당공무원과의 협력을 통해 해양환경 변화에 따른 해양생물 및 양식생물의 생리·생태 변동에 관한 연구 등을 활성화하여, 양식장 환경변화와 생태계 반응을 이해하고 궁극적으로 어민 소득증대 및 해양환경 보전 및 관리에 기여할 수 있도록 양식어장을 활용한 조사/연구 활성화
- 시료채집이 용이하지 않은 어류 군집에 대해서 연안의 정치망과 연근해 트롤 어선과 연계한 조사 활성화

### 라. 사업성과 관리방안

- 사업단 차원에서 공정하고 엄격한 진도관리 수행
  - － 연차별, 단계별 연구목표와 향후 진행되는 사업예산에 의거한 연구내용 및 달성 목표 수립
  - － 사업단의 추진정책 및 과학기술 개발의 주요 정보제공
  - － 연구결과 등급화 등을 통해 유연한 목표 및 연구주제 관리 체제 수립
- 신뢰성 있는 장기연구데이터 확보방안
  - － 연구분야의 수월성과 전문성을 고려한 연구인력 확보방안 마련
  - － 자료의 신뢰성 제고를 위해 가능한 동일연구자가 수행하여 일관성있는 데이터 산출되도록 관리 감독
  - － 자문위원단을 구성하여 연구의 질적 수준향상과 국제수준 연구프로그램 수행 방안 마련
  - － 예산 및 관측기술 발달 정도에 맞춰 연구 및 관측 추진 방법의 변화 고려
- 책임감 있는 성과관리 방안 마련
  - － 달성 가능한 성과지표에 따른 성과관리 방안 마련
  - － 투명한 평가기준을 마련하여 연구결과 심사 실시

- 국제학술지(SCI급) 투고 의무화 등 가시적 연구결과물 제출 원칙 마련
- 연구성과에 따른 연구비 투입의 차등화방안 마련 및 인센티브 부여
- 연구결과 등급화를 통해 연구 지속여부 결정
- 성과지표 설정 및 성과측정
  - 기본지표는 국토해양기술 연구개발사업 연구성과지표 인정기준을 참조하여 설정(표 4)
  - 연구개발 목표 및 내용의 타당성, 연구관리체계의 적절성 등의 공통성과 부분을 평가
  - 연구결과에 관한 성과부분은 추가지표로 설정하고 가중치를 부여하여 성과를 효율적으로 측정
  - 단계별 달성목표치를 재설정하여 효율적인 성과측정 및 사업 관리 수행

표 4. 장기해양생태계연구 사업단의 연구사업 기본성과지표(1단계: 2011~2015)

속성	성과목표	성과지표	달성 목표치	가중치	
공통 성과 부분	연구 집행 성과	연구개발 목표 및 내용의 타당성	-	0.1	0.2
		연구수행 방법의 타당성	-	0.05	
		연구사업 관리체계의 적절성	-	0.05	
연구 결과 성과 부분	과학기술 연구성과	국내외 학술대회 발표	100건	0.05	0.25
		국내 학술지 논문게재	50건	0.05	
		SCI 논문게재	50건	0.15	
	연구인력 양성	석사급 연구인력 양성 배출실적	20명	0.05	0.13
		박사급 연구인력 양성 배출실적	10명	0.08	
	국제협력	외국 연구자 유치	5명	0.02	0.07
		국제회의 개최 실적	5회	0.03	
		공동연구 논문 건수	5건	0.02	
	기술개발 사업화 및 파급효과	국내외 특허 등록 및 인용	3건	0.1	0.19
		산업지원 기술지도 및 이전	-	0.03	
		산업지원 기술평가	-	0.03	
		정책 반영 건수	4건	0.03	

## 5.2. 연구기반 구축전략

### 가. 연구 및 관측 추진전략 및 방법

#### (1) Interdisciplinary cruise(그림 35) 추진으로 통합생태계 데이터 획득

- 물리-생물-화학 통합(physical-biological-chemical coupled) 현장관측
- 주요 연구주제와 관련된 과정이해를 위한 데이터의 획득
- 계절(Seasonal), 년(Annual), 격년(Interannual) 변동성의 이해
- 지속적이고 정기적인 관측선의 설정
- 시·공간적인 규모에서 장기적인 mooring 정점과의 상호보완적인 관측

#### (2) Biophysical moorings 추진을 통해 시계열 자료 획득과 모델 검증 및 산출자료를 활용하여 해양관측 선진화 시도

- Physical, optical, biological 자료의 연속적인 획득
- 고정점에서 process 관측 전후의 지속적인 fine-scale 시계열 자료를 획득함으로써 cruise data와의 상호 보완
- Modeling 검증자료 및 Model 개선을 위한 최적 parameter 산출연구 자료로 활용
- 국가해양관측망과 연계 및 전세계 관측망과 network 구축시도(그림 36와 37)
- 선진국의 최신 mooring 장비 및 기법 적용을 통한 해양관측의 선진화 시도

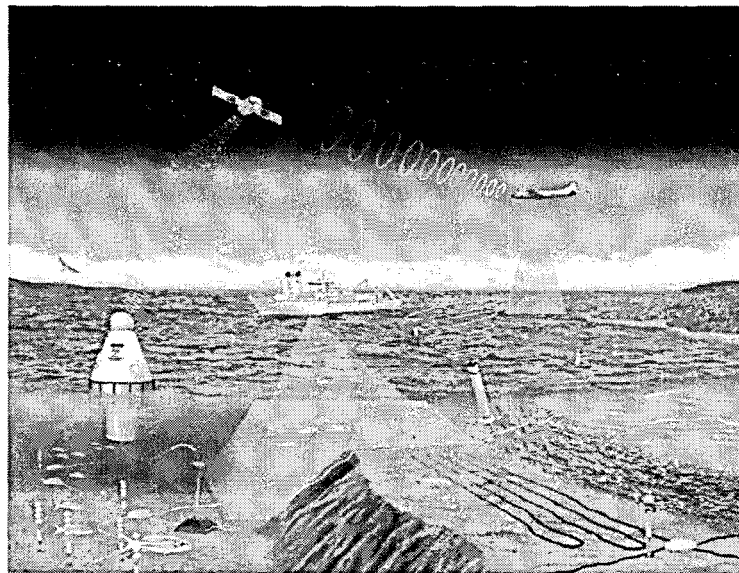


그림 35. Interdisciplinary cruise 및 biophysical mooring 모식도.

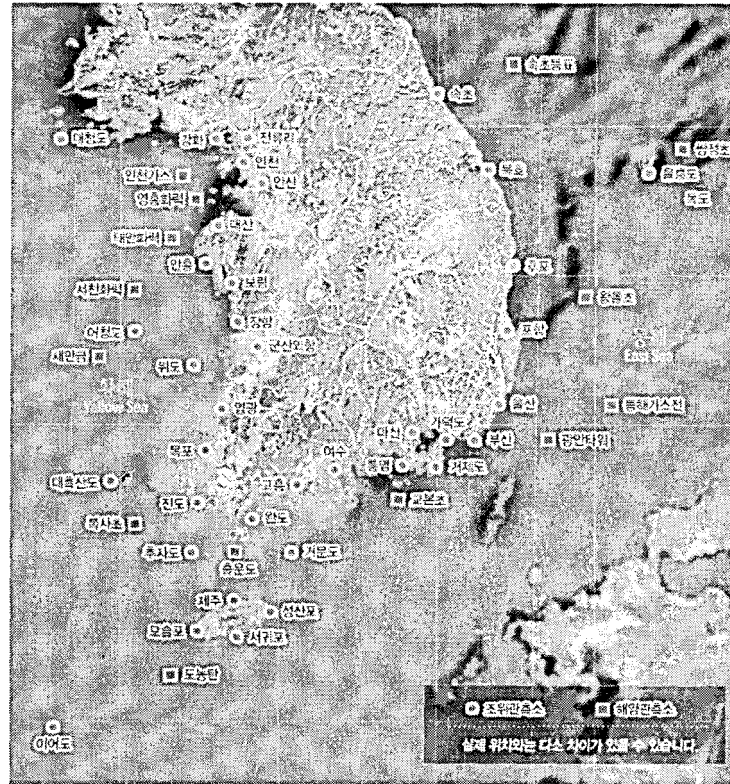


그림 36. 국가해양환경관측망(출처: 국립해양조사원).

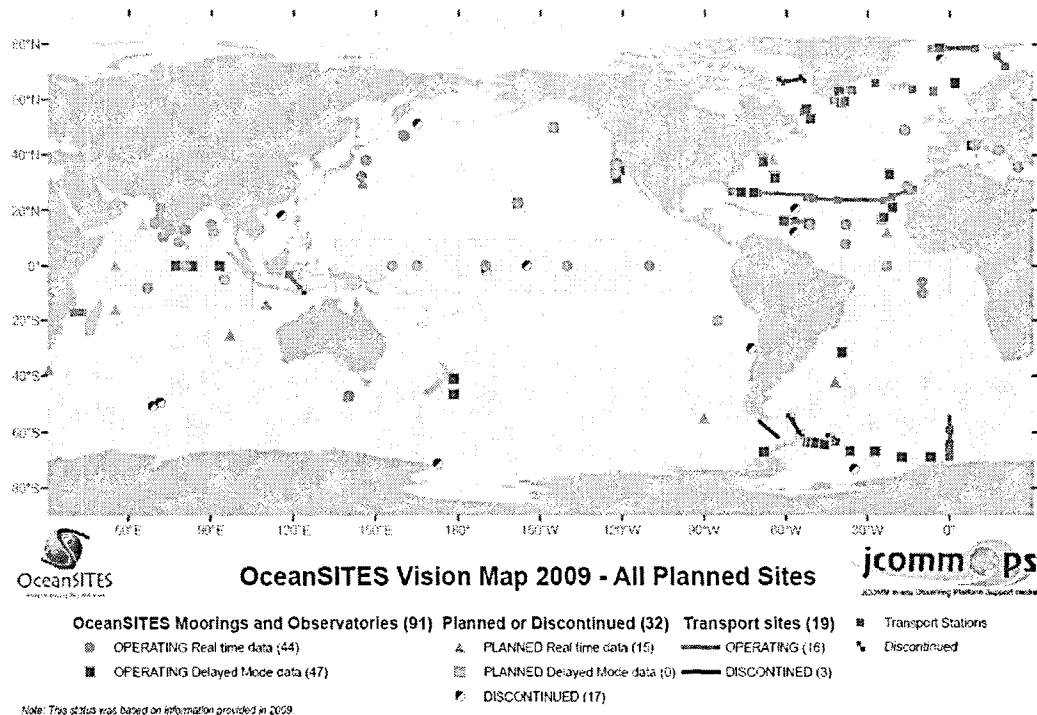


그림 37. OceanSITES에 등록된 Global ocean time-series stations.

(3) Satellite remote sensing, Remotely operating sensing 연구를 도입하여  
관측영역 확대와 첨단 관측장비 활용을 통한 해양과학기술 발전 선도

- Cruise 및 mooring 자료와의 비교검증을 통한 관측영역의 공간적 확대 가능
- Cruise 전/후의 remote sensing 자료를 통한 process-oriented 연구의 시도 및 최적의 sampling data 획득(예, SeaWIFS image)
- ROV (Remotely Operated Vehicle)와 AUV (Autonomous Underwater vehicles) 등 첨단무인 관측장비를 활용한 관측기법의 다양화 시도(그림 38)

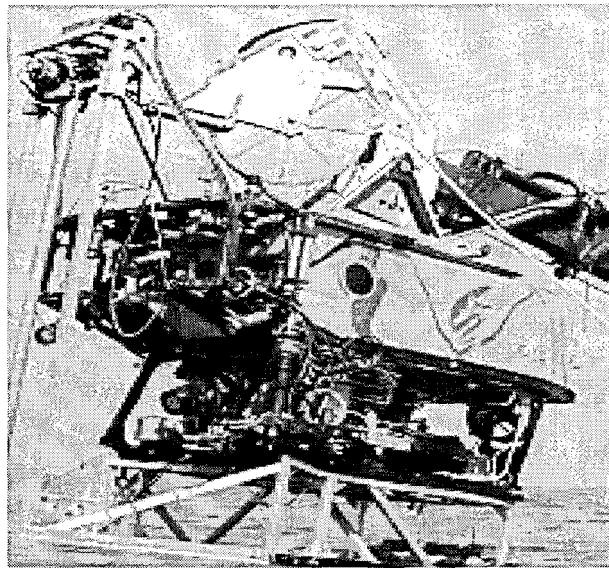


그림 38. MBARI's ROV Ventana (MBARI Strategic plan 2006).

(4) 생물다양성과 먹이연쇄의 변동성 연구로 생물다양성 정보 획득과 해양  
생태계 보전 대책 마련

- End-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 군집구조 양상과 변동 조사
- 하위영양단계의 생산력 측정 및 변동 연구
- 하위영양단계의 생물 생산성과 상위영양단계의 생물생산성 관련성 연구
- Physical-biological coupling
- 과학적 연구자료를 기반으로 생물 다양성 및 보전 대책 방안 연구

(5) 해수유동과 생태계 통합 modeling(그림 39)으로 미래예측능력 확보

- 생물학적 조사와 해양환경 변화의 통합 분석 및 모델링

- 지구적 기후변화에 따른 해양시스템을 포함한 생태계 변동 예측 모델링
- 현장관측 자료와의 비교 분석

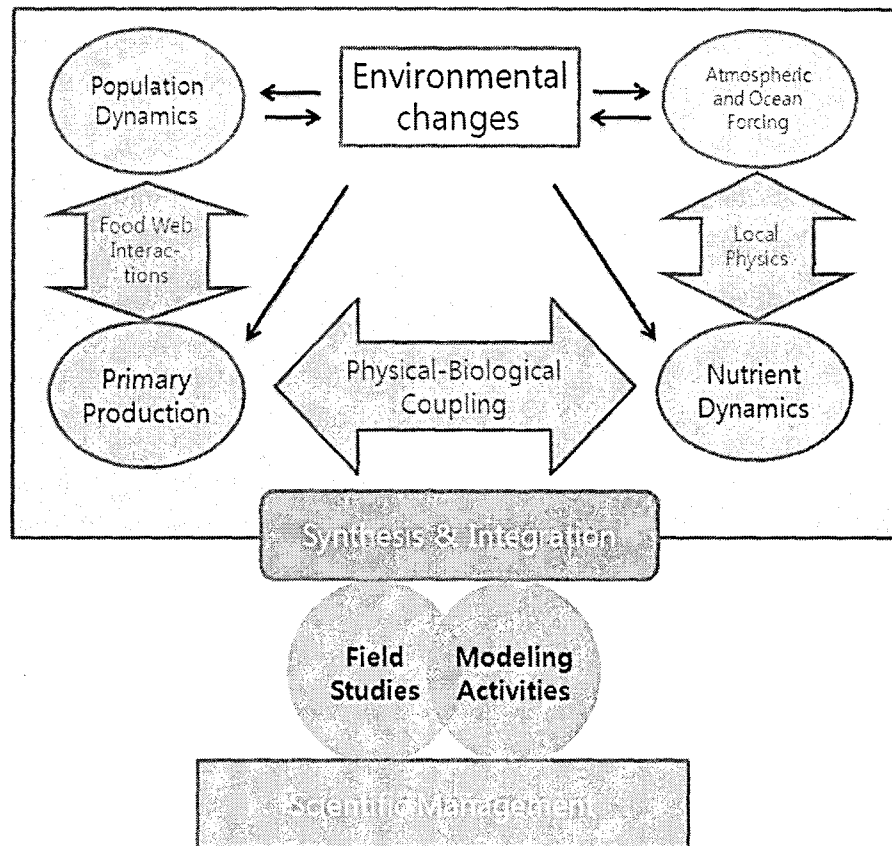


그림 39. 통합 모델링 연구전략 모식도.

#### 나. 연구조사의 표준방법 제시

- 시료채취 방법에서 실험방법 및 자료의 처리에 이르는 일련의 조사과정 각각에 대한 구체적 연구방법을 정리 제시하여 조사, 연구, 모니터링의 통일성과 일관성을 유지할 수 있도록 표준방법 제시
- 각 연구대상 및 항목별 조사의 적정 시간간격과 공간규모 제시
- 현장조사 방법과 실험실 연구의 방법에 있어서 통일성과 일관성을 유지할 수 있는 지침 마련
- 대상 생물군별 차별화된 모니터링 방법론제시
- 단위 생물개체, 개체군별, 군집별, 생태계 유형별 연구방법 지침서 작성
- 장기적인 연구계획이므로 연구조사방법의 발전 수준 및 최첨단 기술/장비의 도입에 대비하여 현재 제시된 지침서 내용에 발전된 연구조사방법

및 지침을 적절히 개정해 나가는 것이 필요함

- 이를 위해 자문위원단을 구성하여 정기적으로 연구항목 및 연구결과, 국내외 연구동향에 대한 자문을 구하도록 하는 시스템 구축. 구축된 자문위원단 시스템을 통해 새로운 첨단 기술들을 체크하여 연구에 적용할 수 있도록 추진하고 외국의 선진기술의 도입뿐 아니라 국내 기술수준 향상을 위한 연구도 지속적으로 추진하여 첨단기술을 보유할 수 있도록 추진. 그 외에도 정기적인 워크숍 및 국제 심포지움을 통해 연구의 질적 수준을 향상시키고 더불어 국제적 수준의 연구프로그램을 수행할 수 있는 역량을 구축해야 함

#### ※ 장기해양생태연구 지침서 : 별첨 부록

### 다. 장기해양생태연구 사업기반구축 방안 제시

#### (1) 조사 및 모니터링 효율성 극대화 방안

- 국립수산물과학원 정선해양관측 조사 등과의 연계를 통한 정기적인 해양조사
- 국립수산물과학원, 수협, 어촌계 등 관련기관 및 어민들과의 자료교환 및 공유를 통해 주요 수산자원 어획변동 자료를 확보
- 이와 같이 시료 채집 및 보관에 부처별/기관별 협력방안 마련 시행
- 다학제간 통합연구를 수행하여 기상/물리/생지화학분야 전문가들의 참여 유도
- 현장 어업인과 연계성을 통해 정치망을 활용하여 양식장 활용 및 연안 수산자원 변동을 모니터링 및 연안생물의 생리생태학 연구 수행
- 각 연구분야의 국내외 전문가들로 자문위원단을 구성하여 최신 연구정보 확보 및 연구방향 설정에 자문을 얻도록 시스템화

#### (2) 시료보존과 보관

- 국립해양박물관(국토해양부), 국립해양생물자원관(국토해양부)등에 시료를 기증하여 보관하여 후손들이 해양환경변화에 따른 생물자원변화를 이해할 수 있는 기반을 구축할 수 있도록 체계적인 보관시스템 마련
- 해양박테리아 등에 대한 Archive DNA sample 장기 보관

- 신종 박테리아 등의 생물자원을 국내 culture collection center에 기탁

### (3) QA/QC 확보 방안

- 국가의 관리감독/지원하에서 추진되는 연구사업이므로 연구결과의 체계적인 수집과 관리가 요구되므로 통합생태계 정보관리, 보전을 담당하는 연구팀 운영
- 온라인상의 자료관리 시스템 구축하고 장기해양생태연구 결과 중에 대국민 서비스가 가능한 항목을 선별하여 인터넷을 통하여 일반인들이 해양생태정보를 조화할 수 있는 체계를 구성하여 대국민 홍보 및 해양생태계의 중요성에 대한 교육의 장을 마련
- 연구자료의 DB화와 관리(그림 40)를 위해 외국 관측시스템과 데이터관리시스템(그림 41)을 참조하여 안정된 데이터베이스 구축을 위한 Data Schema를 설계
  - ① 연구 분야별로 기본조사 데이터와 환경변화에 따른 생태계 반응 및 변동에 대한 자료가 축적되면 각 연구자가 분석을 통해 종합정보시스템에 입력을 통해 일반국민, 학계, 정책 입안자 등이 인터넷을 통하여 쉽게 정보를 이용할 수 있도록 DB 구축
  - ② 데이터베이스 구축은 공정초기에 조직적인 구축방안을 마련하여 효율적인 데이터베이스 구축이 가능해야 하므로 1차년도 사업진행 1년 이후에 획득된 일부 종합자료를 바탕으로 시험 구축하여 점진적인 방법으로 안정된 데이터베이스를 설계 하도록 함
  - ③ 방대한 양의 자료를 통합/관리하기 위해 ArcGIS 및 Oracle을 이용하여 구축
  - ④ 국토해양부 데이터와의 연동성을 고려
  - ⑤ GIS-DB를 효율적으로 관리하기 위한 공간데이터베이스인 GeoDataBase (GDB) 포맷을 이용하여 구축
  - ⑥ 데이터베이스 구축 및 관리시스템 개발은 Web-GIS를 적용하여 인터넷을 통해 자료의 검색/이용의 수월성을 증진시켜 정보의 공유를 용이하게 함
- 관련 연구기관들과 교차분석을 통해 연구결과들에 대한 QA/QC를 확보
- 자문위원을 초청하여 장기해양생태연구 관련 워크샵과 세미나 주기적 개최를 통해 국내외 연구동향을 파악하고 첨단 연구기법과 기술의 도입
- QA/QC를 확보하고 장기적으로 분석 자료의 일관성과 연속성을 유지하기 위해서는 연구인력의 양성방안을 마련하여 이행하는 것이 반드시 필요함



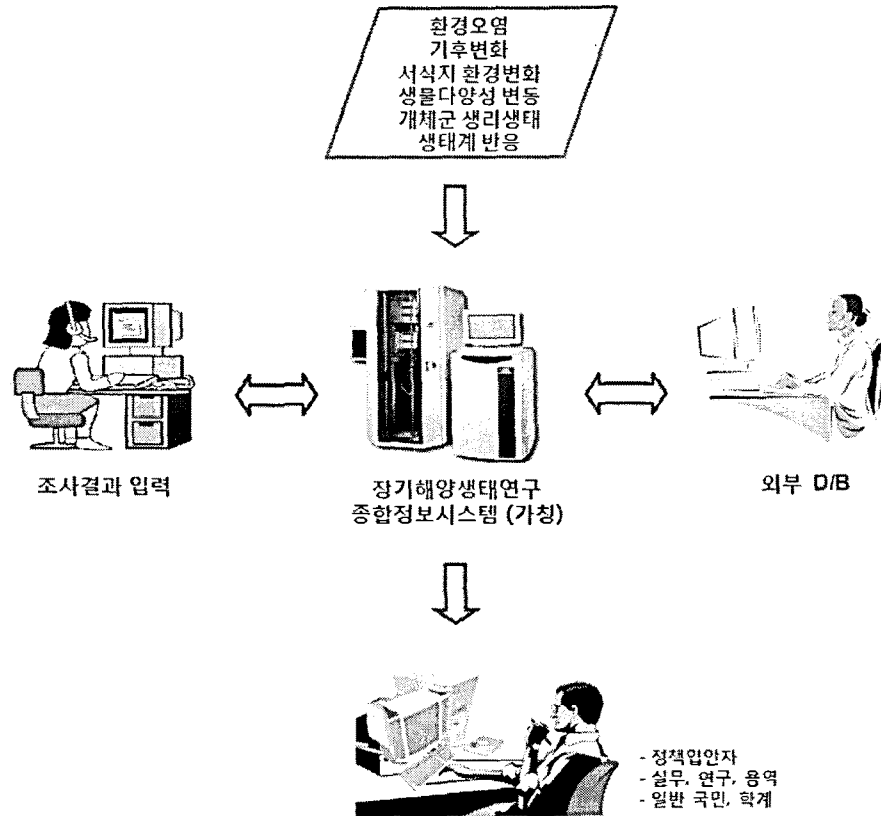


그림 40. 장기해양생태계연구 DB 시스템.

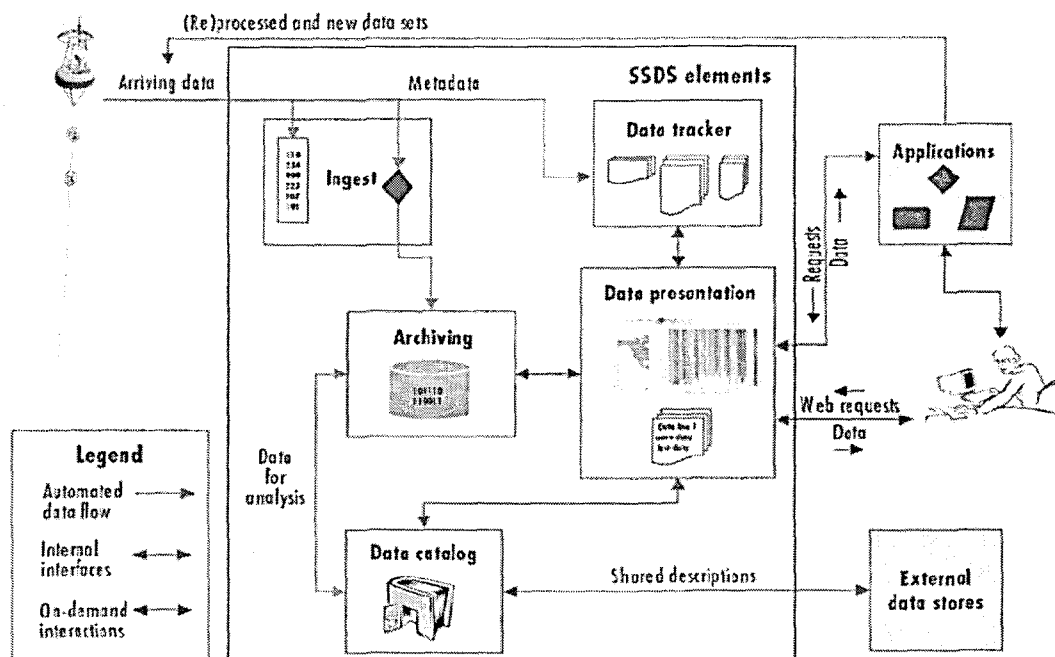


그림 41. MBARI (Monterey Bay Aquarium Research Institute)에서 수행하고 있는 해양관측 시스템/데이터관리 시스템(MBARI Ocean Observing System (MOOS) Shore-Side Data System (SSDS))의 연계 모식도.

#### (4) 전문연구인력과 연구연속성 확보 방안

- 후진양성을 통해 장기적으로 요구되는 전문연구인력 및 연구 연속성 확보
  - ① 대학원생들의 연구참여를 유도하여 전문연구인력 배양
  - ② 양성된 대학원생들의 계속적인 연구참여로 연구 연속성 확보
- 자료의 연계성 확보를 통한 연구의 지속성 유지
  - ① 기존의 해양조사기관과 연구지역을 대상으로 하여 자료의 연계성 확보
  - ② 연구결과의 체계적인 수집·관리를 담당하는 연구팀을 운영하여 연구팀이 교체되더라도 연구 연속성이 유지될 수 있도록 관리

## 6. 사업추진일정

### 6.1. 연구대상지에 대한 연구사업 수행

#### 가. 연구대상지에 대한 연구사업 계획

- 통일되고 표준화된 방법과 도구에 의해 수행되도록 연구지침서를 기본으로 하여 연구 수행
  - ① 현장조사의 적절한 시간간격, 연구항목 및 공간규모 제시
  - ② 선정된 특정해역과 주요 해양생태지역 모니터링 대상항목 조사 계획
  - ③ 연구대상지의 기본연구항목의 장기적 변동 관측
- 현장 자료의 수집은 통일된 데이터의 자료수집 포맷, 질 유지, 공급, 통합 및 분석 등을 총체적으로 고려하여 시행
- 종합 계류 관측 시스템 운용(East-I 과제에서 개발한 super station의 mooring 관측 응용)
- 시계열 관측 네트워크 구축하고 해양환경 변화와 생태계 변동현상의 상호작용 이해를 위한 연구를 수행(그림 42)

Q: 외부요인에 의한 생태계 변동??

- 변동현상, 적응전략, 환경으로의 feedback

Q: 생태계 변동 이유?? - 변동 원인 규명

Q: 생태계 변동 후에 생태계 기능/구조의 변화??

예) 외래종 유입에 의한 생태계 교란 이후 생태계 변화

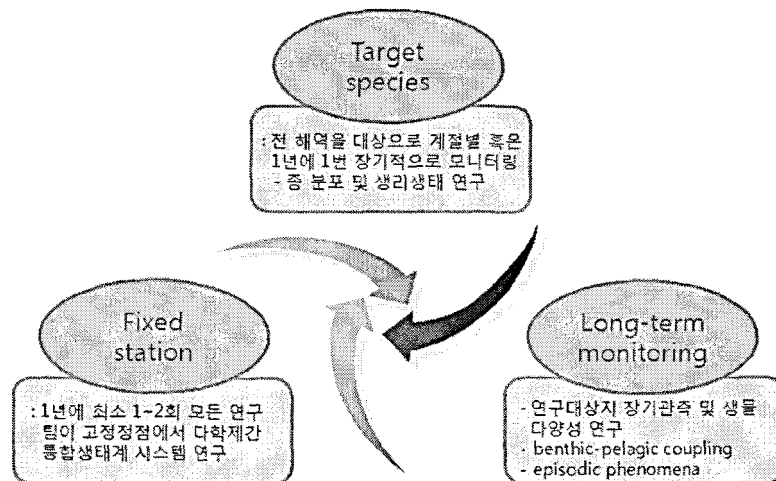


그림 42. 연구대상사업 연구 추진 모식도.

- 생태계 변동 현상의 원인과 변동에 의한 생태계 기능/구조 변화 및 생물들의 적응전략을 한반도 전체 해역을 대상으로 장기적으로 수행하는 것은 현실적으로 어렵기 때문에 환경변화의 특성을 잘 나타낼 수 있는 대표적인 해역과 정점을 연구대상지로 하여 사업을 수행하는 것이 필요함
- 연구대상지에서 사업을 수행하고 1단계 사업으로 끝나는 것이 아니라 장기해양생태계연구 대상지로 지속적으로 운영. 장기연구사업 수행기간동안 얻어진 연구결과를 바탕으로 전문가의 자문과 예산을 고려하여 개체군, 지표종, 조사항목 및 연구대상지를 확대하여 장기해양생태계연구를 수행
- 동해와 남해의 고정정점을 선정하여 장기적인 모니터링과 개체군 생리생태연구를 수행하고 지표종을 선정하여 연안해역을 중심으로 1년에 최소 1회 이상 정기적 조사를 실시
- 주요해양생태지역에 대한 연구조사 기본계획을 [표 5]에 요약하였음

표 5. 연구대상지 및 장기생태연구 기본계획

분 야	연구대상지	정점	세부 연구 내용
해양생태	동해	4(2)	• 해양 물리화학적 환경요인과 생태계 변화의 상호작용
	남해	2(1)	• 생물다양성 변동
	서해	3(2)	• 먹이망변동 역학 • 기후/물리/화학 환경요인
연안생태	동해	5	• 개체군 생리생태연구
	남해	5	• 생물다양성 변동
	서해	5	• 먹이망변동 역학 • 기후/물리/화학 환경요인
아열대생태	제주도	4	• 개체군 생리생태연구 • 생물다양성 변동 • 먹이망변동 역학
기반구축	센터운영		• 장기해양생태 연구센터 운영
	기초생태 DB구축		• 기초생태 DB 프로그램 개발
	국제협력		• 국제회의, 전문가 초청 • 국제공동연구 수행 지원
	보고서 발간		• 홍보물 제작, 자료집/보고서 등 발간

( ), Mooring 정점

## 나. 사업 세부조사내용 및 추진일정

- 주요 연구대상지별 년차별 세부조사내용 및 추진일정을 [표 6]에 요약하였음

표 6. 연차별 세부조사내용 및 계획

구 분	세 부 조 사 내 용	횟수	조사 계획		
			1단계	2단계	3단계
해 양 생 태	<b>해양 물리화학적 환경 요인과 생태계 변화의 상호작용</b>				
	◦ 수주의 연직구조와 기초생산력 변동	4회/년	→	→	→
	◦ 전체 먹이연쇄(end-to-end food web) 내 단위생물군 군집구조 변동 및 상호 연관성 연구	2회/년	→	→	→
	◦ 표층 플랑크톤의 종조성과 장기변동	1회/년	→	→	→
	◦ Sediment trap을 이용한 수직 물질플럭스와 생태계 구조변동	수시/년	→	→	→
	<b>생물다양성 변동</b>				
	◦ benthopelagic fish 및 해양포유류의 장기변동	2회/년	→	→	→
	◦ 심해생물 모니터링	4회/년	→	→	→
	◦ AUV와 ROV를 이용한 수중촬영 및 시료 채집	수시/년		→	→
	◦ CPR을 이용한 플랑크톤 종조성 및 장기변동 모니터링	수시/년	→	→	→
	◦ 침강유기물 입자에 부착된 박테리아의 다양성과 항생제 내성유전자의 분포 변화	4회/년	→	→	→
	<b>먹이망 변동 역학</b>				
	◦ 저차생태 구성요소 변동에 따른 표영 생태계의 먹이연쇄 변동	2회/년	→	→	→
	◦ 심해저 평원의 다양한 먹이원 공급에 의한 저서생물 군집의 반응	2회/년	→	→	→
	◦ 저서/표영 생태계 먹이망의 영양연결과정 변동	2회/년	→	→	→
	◦ 저서/심해 먹이망 구조 및 표영 생태계와의 연결고리 규명	2회/년	→	→	→
	◦ 해양구조 변동에 따른 먹이망 기능 및 모델링 연구	2회/년	→	→	→

해양생태	기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링				
	◦ 해양순환 모델링	매일/년	→	→	→
	◦ 종합 계류관측 체제를 응용한 연속관측	1회/년	→	→	→
	◦ 기후변화에 대한 지표종 선정 및 해양환경 변화와의 연계를 통한 통합생태계 변동	4회/년	→	→	→
연안생태	개체군 생리생태 연구				
	◦ 영양상태의 시·공간적 변이에 따른 핵심생물종 파악	4회/년	→		
	◦ 해양식물의 개체군 구조 및 생산성 변동	4회/년	→	→	→
	◦ 염체 내 무기영양염 분석을 통한 해양식물의 생산량 변동	3회/년	→	→	→
	◦ 해산 식물군의 생리생태학적 phenology 변화 규명	4회/년	→	→	→
	◦ 환경변동에 따른 서식생물의 생존과 적응 전략	수시/년	→	→	→
	◦ 외래 유입종의 생리생태변동	4회/년	→	→	→
	◦ 온난화에 따른 생물의 재생산과 대사활동 변동	4회/년	→	→	→
	◦ 외래 유입 해산무척추동물의 번식생물학적 특성 규명	4회/년	→	→	→
	◦ 이매패류의 산란주기 및 면역학적 방법을 통한 번식량 추정	4회/년	→	→	→
	생물 다양성 변동 이해				
	◦ 해양식물의 분포 및 현황의 계절변동	4회/년	→	→	→
	◦ 해산식물 서식지의 생물 군집 및 다양성 연구	4회/년	→	→	→
	◦ 해산식물 군집의 기능생태학적 연구	4회/년	→	→	→
	◦ 염습지 식생 분포, 구조, 생산성 및 기능 연구	4회/년	→	→	→
	◦ 저서무척추동물 및 유영동물 군집구조 변동	4회/년	→	→	→

연 안 생 태	<b>먹이망 변동 역학</b>				
	◦ 먹이연쇄 구조 변동	2회/년	→	→	→
	<b>기후/물리/화학 환경요인 조사 및 모니터링</b>				
	◦ 주요 해양식물 서식지의 물리화학적 환경요인 변동	4회/년	→	→	→
아 열 대 생 태	<b>개체군 생리생태 연구</b>				
	◦ 연체동물(지표종) 생식세포의 조직학적 연구	4회/년	→	→	→
	◦ 항원-항체 반응을 이용한 연체동물 번식량 측정	2회/년	→	→	→
	◦ 기후변화에 따른 산란주기 예측 모델개발	매월/년		→	→
	◦ 외래유입 고착성 생물의 번식 및 면역학적 방법을 통한 번식량 측정	4회/년	→	→	→
	◦ 환경변화에 따른 생물의 생리생태 및 생체에너지 대사 분석을 통한 생존과 적응 전략	4회/년	→	→	→
	◦ 외래 유입종의 생리생태변동	4회/년	→	→	→
	<b>생물 다양성 변동 이해</b>				
	◦ 해산식물 군집의 다양도 및 서식 생물군의 변동	4회/년	→	→	→
	◦ 해산식물 군집의 기능생태학적 분석	4회/년	→	→	→
	◦ 기후변화를 예측 할 수 있는 지표종 발굴	4회/년	→		
	◦ 외래 유입종의 분자생물학적 동정 및 유입경로 추적	4회/년	→	→	→
	◦ 외래 유입 해산식물 및 무척추동물 발굴	4회/년	→		
	◦ 무척추동물의 분자 생물학적 계통분류	4회/년	→	→	→
	<b>먹이망 변동 역학</b>				
	◦ 먹이연쇄 구조 변동	4회/년	→	→	→

## 7. 소요예산

### 7.1. 연도별 소요예산

년차(연도)	1단계(2011~2015)					2단계 (2016~2025)	3단계 (2026~2035)
	2011	2012	2013	2014	2015		
예산액 (단위 : 억원)	45	40	40	40	40	400	400

### 7.2. 소요예산 세부내역

가. 해양생태계 변동현상 연구 및 과정 연구 : 연 40억원

- 해양생태 연구 : 17억원
  - ① 계류정점 관측(매월) : 6억원
    - 계류정점 관측(선박 용선료 및 여비) : 6억원 (0.5억원/회)
  - ② 복합 해양부이 운용 : 년 2억원 x 3기 = 6억원
    - 부이 운용 및 장비 유지 보수(보험료, 통신비, 장비유지보수) : 1억원
    - 장착장비 개선 : 1억원
  - ③ sediment trap 운용 : 1억원
  - ④ 침단 관측장비(AUV, ROV) 운용 : 1억원
  - ⑤ 먹이망 변동(2회/년) : 1억
  - ⑥ 해양순환 및 생태계 접합 모델링 연구 : 2억
- 연안생태 연구 : 4억원
  - ① 개체군 생리생태 모니터링 : 4회/년
    - 핵심생물종 탐색
    - 지표종 생존전략 연구
    - 재생산활동 연구
  - ② 생물 다양성 변동 : 4회/년
    - 해양식물 분포



- 외래유입종에 의한 토착생물 군집변화
- 저서무척추동물, 유영동물 군집구조
- ③ 먹이망 변동 : 2회/년
  - 먹이연쇄 연구
- 아열대(제주연안) 연구 : 4억원
  - ① 개체군 생리생태 모니터링 : 4회/년
    - 지표종 조직학적 연구
    - 외래유입종의 생리생태 연구
    - 산란주기 예측 모델 개발
  - ② 생물 다양성 변동 : 4회/년
    - 외래유입종의 유입경로 추적
    - 분자생물학적 계통분류
    - 외래유입종에 의한 생물 다양성 변동 연구
  - ③ 먹이망 변동 : 2회/년
    - 먹이연쇄 연구
- 장기해양생태연구 기반 구축 : 7억원
  - ① DB/홈페이지 구축 및 자료 QA/QC 관리: 1억원
  - ② 홍보, 학술행사 : 1억원
  - ③ 사업단 운영비 : 1.5억원
  - ④ 후속세대 양성 : 3억원
  - ⑤ 국제협력 : 0.5억원
- 간접비 : 8억

#### 나. 인프라 구축 (1~2차년도) : 5억원

- 복합 해양부이 및 sediment trap 도입 : 년 2기

#### 다. 연구단계별 소요예산 세부내역

- 장기해양생태계 연구의 연구대상지 선정에 따라 다음의 2가지 예산안[표 7, 8]을 가짐

표 7. 동해, 남해, 제주도, 서해를 연구대상지로 고려한 예산(단위: 백만원)

주요연구내용	세 부 연 구 내 용	단계별 예산		
		1단계 (5년)	2단계 (10년)	3단계 (10년)
해양환경요인과 생태계 변화의 상호작용	물리화학적 환경요인 연구	500	1,000	1,000
	생태계, 해양환경변동의 상호 연관성 연구	750	1,000	1,000
	Sediment trap 이용 수직물질플럭스와 생태계 구조변동	500	1,000	1,000
개체군 생리생태 연구	핵심생물종 탐색	150		
	해양식물의 분포 및 현황의 계절변동	300	700	700
	환경변동에 따른 서식생물 생존과 적응 전략	725	1,400	1,400
	외래 유입종의 생리생태변동	525	900	900
	지표종 번식량 측정, 생식세포의 조직화 연구	1,050	1,900	1,900
	기후변화에 따른 산란주기 예측 모델개발		500	500
생물다양성 변동	군집구조 변동 및 생물 다양성 연구	1,950	3,750	3,750
	해산식물 군집의 기능생태학적 연구	500	1,000	1,000
	침단관측장비 이용한 심해생물 모니터링		1,000	1,000
	CPR 이용 플랑크톤 장기변동 모니터링	500	1,000	1,000
	염습지 생물 생산성 및 기능 연구		500	500
	기후변화를 예측 할 수 있는 지표종 발굴	400		
	외래유입종의 동정 및 유입경로 추적	200	400	400
	무척추동물의 분자 생물학적 계통분류	200	350	350
먹이망 변동 역학	먹이망 구조연구	500	1,000	1,000
	먹이망 기능 및 모델링 연구	750	1,600	1,600
기후/물리/화 학 환경요인 조사 및 모니터링	주요 생물 서식지의 물리화학적 환경요인 변동	1,000	2,000	2,000
	통합모델링	1,000	2,000	2,000
	종합 계류관측 체제를 응용한 연속관측	4,000	8,000	8,000
	기후변화에 대한 지표종 선정 및 해양환경 변화와의 연계를 통한 통합생태계 변동 연구	1,000	1,500	1,500
연구기반구축	DB/홈페이지 구축 및 자료 QA/QC 관리	500	1,000	1,000
	홍보 및 학술행사	500	1,000	1,000
	사업단 운영비	750	1,500	1,500
	후속세대 양성	1,500	3,000	3,000
	국제협력	250	500	500
인프라 구축	복합 해양부이 및 sediment trap 도입	500	500	500
합 계		20,500	40,000	40,000

표 8. 동해, 남해, 제주도를 연구대상지로 고려한 예산(단위: 백만원)

주요연구내용	세 부 연 구 내 용	단계별 예산		
		1단계 (5년)	2단계 (10년)	3단계 (10년)
해양환경요인과 생태계 변화의 상호작용	물리화학적 환경요인 연구	200	400	400
	생태계, 해양환경변동의 상호 연관성 연구	300	500	500
	Sediment trap 이용 수직물질플럭스와 생태계 구조변동	400	1,000	1,000
개체군 생리생태 연구	핵심생물종 탐색	100		
	해양식물의 분포 및 현황의 계절변동	200	400	400
	환경변동에 따른 서식생물 생존과 적응 전략	300	500	500
	외래 유입종의 생리생태변동	300	500	500
	지표종 번식량 측정, 생식세포의 조직학 연구	250	400	400
	기후변화에 따른 산란주기 예측 모델개발		500	500
생물다양성 변동	군집구조 변동 및 생물 다양성 연구	500	700	700
	해산식물 군집의 기능생태학적 연구	200	400	400
	첨단관측장비 이용한 심해생물 모니터링		700	700
	CPR 이용 플랑크톤 장기변동 모니터링	200	500	500
	염습지 생물 생산성 및 기능 연구		400	400
	기후변화를 예측 할 수 있는 지표종 발굴	150		
	외래유입종의 동정 및 유입경로 추적	150	300	300
	무척추동물의 분자 생물학적 계통분류	100	200	200
먹이망 변동 역학	먹이망 구조연구	250	500	500
	먹이망 기능 및 모델링 연구	250	500	500
기후/물리/화 학 환경요인 조사 및 모니터링	주요 생물 서식지의 물리화학적 환경요인 변동	400	700	700
	통합모델링	500	1,000	1,000
	종합 계류관측 체제를 응용한 연속관측	3,000	6,000	6,000
	기후변화에 대한 지표종 선정 및 해양환경 변화와의 연계를 통한 통합생태계 변동 연구	500	900	900
연구기반구축	DB/홈페이지 구축 및 자료 QA/QC 관리	350	600	600
	홍보 및 학술행사	400	800	800
	사업단 운영비	400	800	800
	후속세대 양성	1,000	2,000	2,000
	국제협력	200	400	400
인프라 구축	복합 해양부이 및 sediment trap 도입	400	400	400
합 계		11,000	22,000	22,000

## 8. 기대효과

### 가. 기대효과

#### ○ 장기해양생태계 관리기준 제시

- 연안 생태계의 영양기저와 먹이망을 통한 유기물 혹은 에너지의 흐름 경로에 대한 기본적인 정보 수집이 가능한 효율적이고 정확한 연구지침서를 마련하여 기초조사 계획 수립에 기여함으로써 연안역의 관리기준을 제시
- 장기적인 해양생물의 적응전략 분석기술 확보를 위한 연구계획 수립으로 사업추진체계 구성 방안 연구제시하여 장기해양생태변화 모니터링 시스템 구축을 위한 종합적인 연구추진 방안 모색에 기여

#### ○ 지구환경변화에 대한 기술역량 강화 방안 마련

- 해양 생태계 관리 및 보전을 위한 기반 기술 확보를 위한 종합계획 수립을 통해 지구환경 변화에 대한 해양생태계 보존을 위한 한반도 기초 해양생태자료 축적으로 효과적이고 종합적인 대응방안을 수립할 수 있는 기술역량 강화방안 제시
- 조사 및 모니터링 효율성 극대화를 위한 협력연구 네트워크 구축방안 연구로 체계적 관측의 추진 및 협력 강화

#### ○ 해양생태자료 확보 통한 수산자원의 효율적 이용, 관리

- 환경변화에 따른 한반도 해양생태계의 변화를 파악, 예측함으로써 특정 수산자원생물종의 효율적인 이용과 관리에 대한 국가 차원의 대응전략 수립을 위한 장기 해양생태자료 확보 방안을 제시
- 자연적, 사회적 특성 변화에 따라서 수산해양자원을 효과적으로 관리하고, 자원활용을 인위적으로 조절하여 한반도 해양생태계를 유지할 수 있는 전략 마련
- 한반도 연안의 해양생태계 반응을 파악, 예측함으로써 특정 수산자원생물종의 효율적인 이용과 관리에 대한 국가 차원의 대응전략 수립을 위한 자료 제공
- 자연적, 사회적 특성 변화에 따라서 해양자원을 효과적으로 관리 및 활용하여 해양생태계를 지속적으로 유지할 수 있는 과학적 역량확보와 연구정책 수

립을 통하여 해양생태계를 유지할 수 있는 전략 마련

- 사회, 경제, 환경 정책수립 시 장기해양생태연구문제를 고려할 수 있도록 하는 과학적 기초 자료 및 정책방안 제공

#### ○ 해양생태계 관리 책임 및 인식 강화

- 장기해양생태계변화의 원인, 결과와 시기에 대한 예측을 위한 연구지침을 마련하여 장기적인 해양생태계 변화에 대한 국가적 정책 수립과 시행의 사회경제적 영향에 대한 이해 증진
- 해양환경과 생태계 변동의 중요성에 대한 범국민적 의식 변화 고취 및 교육 효과 증대

#### ○ 해양과학기술 발전 및 해양생태계 종합관리의 선도국가로 도약

- 장기생태연구에 대한 국제적인 활동이 전 세계적으로 활발히 진행되고 있고 수행 국가간에 네트워크 구축을 통하여 정보를 공유하고 장기생태연구의 효율성을 극대화하고 있으므로 장기적인 해양생태연구의 국제적 흐름에 동참하여 차세대 해양 강국으로 도약
- 한반도 해양생태계가 지니는 제반 특성을 정확하게 파악해서 그 변화에 대한 풍부한 이해를 바탕으로 해양의 지속가능한 발전, 지구환경 보전 그리고 생물다양성 증진을 위한 효과적인 선진국형 정책 수립에 기여

#### 나. 관련 후속연구개발의 전망

- 연안 및 해양생태계의 변동양상 파악을 위한 연구지침서와 연구사업 계획 수립에 따라 국가적인 장기해양생태연구 사업의 진행이 가능해 짐
- 한반도 연안에서 생물군집의 변동과 외래종의 유입 및 고유종과 외래종의 생물학적 적응 기작을 밝히고 향후의 변화를 예측하는 연구를 수행할 것임
- 해양생태계가 지니는 제반 특성을 정확하게 파악하고 그 변화의 원인, 결과와 대응 전략 마련
- 해양환경 변화에 따른 생물군집 구조와 먹이원(먹이생물)의 중요한 종변화 혹은 종 대체 현상에 대한 대책마련을 위한 지속적인 모니터링 연구 필요

## 9. 참고문헌

- Andres M., Park J.-H., Wimbush M., Zhu X.-H., Nakamura H., Kim K., Chang K.-I. 2009. Manifestation of the Pacific Decadal Oscillation in the Kuroshio. *Geophysical Research Letters* 36, L16602, doi:10.1029/2009GL039216.
- Billett D.S.M., Bett B.J., Rice A.L., Thurston M.H., Galeron J., Sibuet M., Wolff G.A. 2001. Long-term change in the megabenthos of the Porcupine Abyssal Plain (NE Atlantic). *Progress in Oceanography* 50:325
- Bjelland O., Bergstad O.A., Skjaeraasen J.E., Meland K. 2000. Trophic ecology of deep-water fishes associated with the continental slope of the eastern Norwegian Sea. *Sarsia* 85:101-117.
- Burger J. 2006. Bioindicators: a review of their use in the environmental literature 1970-2005. *Environmental Bioindicators* 1:136-144.
- Costanza R., d'Arge R., Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O'Neill R.V., Paruelo J., Raskin R., Sutton P., Belt M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387:253-260.
- Costanza R. 1999. The ecological, economic, and social importance of the oceans. *Ecological Economics* 31:199-213.
- Cury P., Shannon L. Shin Y.J. 2003. The functioning of marine ecosystems: a fisheries perspective. In: Sinclair M. and Valdimarsson G. (Eds), Responsible Fisheries in the Marine Ecosystem. FAO.
- Drazen J.C., Phleger C.F., Guest M.A., Nichols PmD. 2009. Lipid composition and diet inferences in abyssal macrourids of the eastern North Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 387:1-14.
- Drazen J.C., Popp B.N., Choy C.A, Clemente T. Forest L.De, Smith K.L. 2008. Bypassing the abyssal benthic food web: Macrourid diet in the eastern North Pacific inferred from stomach content and stable isotopes analyses. *Limnology & Oceanography* 53:2644-2654.
- FAO. 2000. Agriculture: Towards 2015/30. Technical Interim Report, Global

- Perspective Studies Unit, FAO, Rome.
- Fränze O. 2006. Complex bioindication and environmental stress assessment. *Ecological Indicators* 6:114-136.
- Gordon, A.L. and Giulivi C.F. 2004. Pacific decadal oscillation and sea level in the Japan/East Sea. *Deep-Sea Research I*, 51:653-663.
- Hahn S.D. 1997. Role of SST warming for living resources in Korean coastal waters. *KODC Newsletter*, 30: 19-28.
- Haedrich R.L., Henderson N.R. 1967. Pelagic food of *Coryphaenoides armatus*, a deep benthic rattail. *Deep-Sea Reserch* 21:739-744,
- Hong C.H., Cho K.D., Kim H.J. 2001. The relationship between ENSO events and sea surface temperature in the East (Japan) Sea. *Progress in Oceanography* 49:21-40.
- IMBER. 2005. Science plan and implementation strategy. IGBP Report No. 52. IGBP Secretariat. Stockholm, Sweden. 76 pp.
- IGBP. 2003. Marine ecosystems and global change. IGBP Science No. 5. Stockholm, Sweden. 36 pp.
- IGOS. 2005. Costal theme report. 66 pp. [http://igos-cryosphere.org/docs/theme\\_reports/Coastal\\_Theme\\_Report.pdf](http://igos-cryosphere.org/docs/theme_reports/Coastal_Theme_Report.pdf).
- Jeong H.D., Hwang J.D., Jung K.K., Heo S., Sung K.T., Go W.J., Yang J.Y., Kim S.W. 2003. Long term trend of change in water temperature and salinity in coastal waters around Korean Peninsula. *The Korean Society Of Marine Environment & Safety* 9:59-64.
- Kang S.K., Kim S., Bae S.W. 2000. Changes in ecosystem components induced by climate variability off the eastern coast of the Korean Peninsula during 1960-1990. *Peninsuess in Oceanography* 47:205-222.
- Kang Y.Q. 2000. Warming trend of coastal waters of Korea during recent 60 years (1936-1995). *Journal of Fisheries Science and Technology* 3:173-179.
- Kang Y.S., Kim, J.Y., Kim, H.G., Park, J.H., 2002. Long-term changes in zooplankton and its relationship with squid, *Todarodes pacificus*, catch in

- Japan/East Sea. *Fisheries Oceanography* 11:337-346.
- Kim J.B., Park J.I., Jung C.S., Lee P.Y., Lee K.S. 2009. Distributional range extension of the seagrass *Halophila nipponica* into coastal waters off the Korean peninsula. *Aquatic Botany* 90:269-272.
- LTER. 2002. LTER 20 year review report. 20-Yr. Review Committee. Albuquerque, New Mexico, USA. 39 pp.
- MBARI. 2006. MBARI strategic plan. Monterey Bay Aquarium Research Institute. CA, USA. 14 pp.
- MBARI. 2008. MBARI annual report 2007. Monterey Bay Aquarium Research Institute. 71 pp. [http://www.mbari.org/news/publications/ar/2007AnnRpt\\_lowres.pdf](http://www.mbari.org/news/publications/ar/2007AnnRpt_lowres.pdf).
- Noble R.T., Steward G.F. 2001. Estimating viral proliferation in aquatic samples. In: Paul J.H., ed. *Methods in microbiology*, Vol 30. Academic Press, San Diego, CA, pp 67-83.
- Owen B., White S. (Eds) 2005. National Estuarine Research Reserve System 10 Anniversary Report on the System-wide Monitoring Program (SWMP): 1995-2005. NOAA. Silver Spring, USA. 25 pp.
- Park W.S., Oh I.S. (2000) Interannual and interdecadal variations of sea surface temperature in the east Asian marginal sea. *Progress in Oceanography* 47:191-204.
- Philippart C.J.M. (Ed.). 2007. Impacts of climate change on the European marine and coastal environment: ecosystems approach. European Science Foundation Marine Board Position Paper. European Science Foundation, Marine Board: Strasbourg, France. 82 pp.
- Priede I.G., Bagley P.M. 2000. In situ studies on deep-sea demersal fishes using autonomous unmanned ladder platforms. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 38:357-392.
- Ruhl H.A., Smith K.L. 2004. Shifts in deep-sea community structure linked to climate and food supply. *Science* 305:513-515.



- SAHFOS. 2009. SAHFOS annual report 2008. Edwards M., John A.W.G., Johns D.G., McQuatters-Gollop A. (Eds) The Sir Alister Hardy Foundation for Ocean Science(SAHFOS). Plymouth, England. 32 pp.
- Smith J.B. 2004. A Synthesis of the Potential Impacts of Climate Change on the United States. Pew Center on Global Climate Change, Arlington, VA. USA.
- Solidoro C., Umani S. 2006. Ecological role of key components in the “end to end” trophic food web of North Adriatic Sea. IMBER Update 4.
- Ulrich H., Ingo K. 2010. What are indicators? On the definition of indicators in ecology and environmental planning. *Ecological Indicators* 10:584-593
- Yamada K., Ishizaka J., Yoo S., Kim H., Chiba S. 2004. Seasonal and interannual variability of sea surface chlorophyll a concentration in the Japan/East Sea (JES). *Progress in Oceanography*, 61, 193-211.
- Zhang C.I., Lee J.B., Kim S., Oh J.H. 2000. Climatic regime shifts and their impacts on marine ecosystem and fisheries resources in Korean waters. *Progress in Oceanography* 47:171-190.
- Zhang C.I., Lee J.B., Seo Y.I., Yoon S.C., Kim S. 2004. Variations in the abundance of fisheries resources and ecosystem structure in the Japan/East Sea. *Progress in Oceanography* 61:245-265.



## 부록

# 장기해양생태계 연구

## - 연구지침서 -



# 목 차

기본조사 지침 .....	1
환경조사 .....	4
부유환경 .....	5
저서환경 .....	39
저차생태 .....	58
바이러스 .....	59
박테리아 .....	76
식물플랑크톤 .....	96
저서미세조류 .....	108
동물플랑크톤 .....	113
해양식물 .....	122
해조류 .....	123
잘피류 .....	131
염습지식생 .....	138
고차생태 .....	141
중형 저서동물 .....	142
대형 저서동물 .....	150
저서무척추동물 .....	154
어류/유형동물/주요수산자원생물 .....	159
생태기능 .....	167
생물 생산력 .....	168
먹이망 .....	178
침강입자유기물 플럭스 및 기원 .....	181



---

## 기본조사 지침

---

- 1) 연구대상지를 대상으로 기본조사항목 연구를 수행한다.
- 2) 연구대상지는 제주도, 동해연안과 외양, 남해연안과 외양을 선정하였다.
- 3) 조사정점 설계 기본원칙
  - 연안해역의 경우 거리상 조밀하게 정점 설계
  - 근해역의 경우 연안해역보다 변화폭이 크지 않으므로 넓은 거리간격을 두고 설계
  - 혼합역, front, 성층역을 대표하는 정점을 반드시 포함하여 정점을 선정
- 4) 연구대상 해역별 시료채취
  - 연안해역의 경우 조류에 의한 수층 혼합 등을 고려하여 상층과 하층 채집으로 시료채집 최소화하고 상층은 표층수로, 하층은 해저에서 1 m 상부수층으로 규정 함
  - 여름철 근해역의 경우 수온약층 형성 등을 고려하여 수온약층 상부, 수온약층 부근 혹은 수온약층 하부의 중층, 저층 3개의 수층에서 시료 채집하며, 중층은 수심기준 상층과 하층의 중간 깊이, 하층은 해저면에서 10 m 상부 수층으로 규정 함
  - 동해 심해에서는 수온약층을 중심으로 계절에 따라 상부 2-3개, 하부 4개, 기본적으로 수심 0, 30, 50, 100, 200, 500, 저층(해저면 200 m 상부층)의 최소 총 7개 수심에서 채취하며 식물플랑크톤의 경우 수심 0, 20, 50, 75, 100, 200 m에서 시료를 채취함

5) 기본조사는 5개의 소분야로 구성되며, 각 분야의 세부조사항목은 표 1에 의한다.

표 1. 장기해양생태연구 기본 조사항목 및 연구대상 항목

분과	세부분야	세부조사내용
환경조사 (물리·화학 환경)	부유환경	수온, 염분, 영양염류, 용존산소, 총부유입자 물질, 부유입자성유기탄소 및 질소, 중금속, 시·공간적 패턴 분석
	저서환경	입도, 유기탄소, 총질소, 탄산염, 중금속, 시·공간적 패턴분석
해양식물	해조류	해조군락 정성, 생육지 분포와 구조 및 기능, 생태학적 지수(다양도, 풍부도, 균등도), 생산성, 광합성 특성 및 탄소 흡수능, 외래 유입종 확인,
	잘피류	
	염습지식생	
저차생태	바이러스	계수, 군집구조, 생산력, 용원성 박테리아
	박테리아	계수, 군집구조분석, 생산력, 종 규명
	식물플랑크톤	클로로필 <i>a</i> , 생체량, 군집구조
	동물플랑크톤	종조성, 생체량
고차생태	저서무척추동물	종조성, 밀도, 생체량, 생태지수, 시·공간적 패턴분석
	어류/유영동물	종조성, 생태지수, 현존량
	주요수산자원생물	종조성, 생태지수, 현존량
생태기능	생물 생산력	기초생산력, 이차생산
	먹이망	먹이망 구조, 기능
	침강입자 유기물 플럭스 및 기원	침강입자 채집기를 이용한 물질플럭스 및 기원



6) 4계절 조사를 기본 원칙으로 한다(표 2).

표 2. 장기해양생태계 기본조사에서 4계절의 정의

4계절	표기	최적시기
봄	5월	4월말~5월초
여름	8월	7월말~8월초
가을	11월	10월말~11월초
겨울	2월	1월말~2월초

7) 기본조사항목과 항목별 조사정점은 예산 범위 내에서 조절한다.

8) 연구사업 범위, 연구 주제 및 내용은 향후 진행되는 사업 예산에 따라 단계별로 조절하여 수행

---

# 환경조사

---

## ◆ 목적 및 필요성

- 해양의 물리특성은 해양생물이 살아가는 데 중요한 영향을 끼침
- 태양광은 식물플랑크톤의 광합성에 반드시 필요한 요소이며 해수의 온도는 생물의 번식과 분포에 영향을 끼침
- 해양물리환경은 해양생태계에 매우 중요한 역할을 하므로 종합 생태계를 파악하기 위해서는 기본적으로 관측되어야 함
- 해양생태계 구조의 최하위 단계로 시·공간적 자료 구축
- 수질의 변화특성과 조절요인 이해

## ◆ 조사항목

- 부유환경 (해양물리화학적 특성)
- 저서환경

## ◆ 정점의 선정

- 연구대상지의 기본조사정점과 동일

---

## 부유환경

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해양의 물리특성은 해양생물이 살아가는 데 중요한 영향을 끼침
- 2) 태양광은 식물플랑크톤의 광합성에 반드시 필요한 요소이며 해수의 온도는 생물의 번식과 분포에 영향을 끼침
- 3) 해양물리환경은 해양생태계에 매우 중요한 역할을 하므로 종합 생태계를 파악하기 위해서는 기본적으로 관측되어야 함
- 4) 해양생태계 구조의 최하위 단계로 시·공간적 자료 구축
- 5) 수질의 변화특성과 조절요인 이해

### 나. 조사항목

- 1) 수온, 염분
- 2) 아질산염
- 3) 질산염
- 4) 암모니아
- 5) 인산염
- 6) 규산염
- 7) 용존산소
- 8) 총부유입자물질
- 9) 부유입자유기탄소 및 질소
- 10) 중금속

### 다. 정점의 선정

- 1) 연구대상지의 기본조사정점과 동일
- 2) 중금속의 시료 채취 수심은 표층

## 라. 정점의 선정

- 1) 기본조사 지점의 시기 및 횟수와 동일
- 2) 부유입자유기탄소, 질소 함량 및 중금속은 겨울과 여름을 필수 조사시기로 함
- 3) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 수온

가) 전기전도도 원리를 이용한 CTD를 사용하며 기기 제작회사의 작동요령에 따라 측정

나) 일반적인 관측 방법

- CTD 관측야장에 위치, 수심들을 기록 (부록 1)
- 전원을 공급하여 Deck unit의 각 부분을 작동시킴
- PC를 켜서 관측용 프로그램을 작동시킴
- CTD Winch를 이용하여 선상에서 수면으로 센서를 하강시킴
- 해표면 아래 약 2 m 수심에서 1분정도 정지하여 주위 온도에 센서부분 적응시킴
- 관측용 프로그램에서 자료수집 명령을 내림
- 원하는 수심에서 해수를 채취(Rosette Sampler 작동)
- PC상 Error가 발생하면 작업을 중지하고 원인을 확인하거나 전문가에게 문의
- 최대하강수심에서 10초 정도 정지 (해지면 도착시 정보 울림)
- 관측이 끝나면 표층까지 인양하여 해표면에서 대기
- PC에서 자료수집 종료명령을 내림
- 인양준비 후 센서를 선상에 끌어올림
- Deck unit의 전원을 끄
- PC에 자료수집이 잘 되었는지 확인 후 전원 끄

다) 각 센서들 사이의 단주기성 불일치

- 이중 수온센서와 전기전도도 센서간의 불일치는 자료 처리 시 염분이 튀는 결과를 나타내므로 센서사이의 시간지연을 조절하여 줌으로서 해결 가능

#### 라) 수압의 요동

- 수압센서의 정밀도 또는 주위 동압력(Dynamic pressure)의 변동에 기인하여 수압이 불규칙적이고 또한 소규모로 변함
- 센서의 하강속도가 약 1.0 m/s가 되도록 원치 속도를 조절하고 자료 처리시 임계하강속도 범위를 벗어나는 자료는 제거함으로써 해결 가능

#### 마) 하강 시와 상승 시 관측자료의 차이

- 전기전도도센서의 열관성(Thermal inertia)에 기인하여 센서를 내릴 때와 올릴 때 관측치가 서로 상당한 차이를 보임
- 재귀필터(Recursive filter) 사용으로 하강과 상승시의 수온과 염분구조를 일치시킴으로서 해결 가능
- 환경파일(Configuration file)의 모든 상수는 보정값을 사용

#### 바) 참고사항

- 기기제작사의 온도센서의 감응시간을 고려하여 CTD 강하(Down casting)와 상승(Up casting) 속도 조절 필요함
- 수온관측은 정밀도가 요구되므로 관리, 유지, 보수 등을 목적으로 특수한 임무를 부여받은 전문기술자 1인이 계속 담당함으로서 기술 축적이 가능
- 정기적인 검교정은 가급적 완벽한 시설을 갖춘 국가공인기관에서 계속 받도록 권장함

## 2) 염분

가) 전기전도도 원리를 이용한 CTD 사용(기기제작회사의 작동요령에 따라 측정)

#### 나) 시약

- 표준해수: IAPSO 인증 검정용 표준해수

#### 다) 시료의 보관 및 전처리

- 시료병은 플라스틱 마개로 단단히 봉하여 15-20℃의 온도가 유지되는 상태로 약 10일간 보관가능

#### 라) 검정

- 염분 검정은 항온측정에 의해 정확도와 정밀도가 높은 실험실용 전기전도도 염분측정계인 Salinometer와 IAPSO 인증 검정용 표준해수를 이용하여

## 실시

### 마) 측정

- 시료를 Salinometer 기기조작 요령에 따라 측정
- 시료측정 시 온도는 기기내부에서 일정하게 유지
- 검정시료를 측정하기 전에 반드시 두 개의 표준해수를 측정한 염분값이  $\pm 0.003$  이내에서 일치되는 것을 확인한 후 시료 측정
- 시료측정이 완료되고 나면 다시 두 개의 표준해수를 측정한 염분값이  $\pm 0.003$  이내에서 일치되는 것을 확인
- 측정된 전기전도도 비( $R_T$ )를 다음 계산식에 따라 시료염분(S) 계산

$$S = a_0 + a_1 R_T^{1/2} + a_2 R_T + a_3 R_T^{3/2} + a_4 R_T^2 + a_5 R_T^{5/2}$$

$$S = \frac{T-15}{1+k(T+15)} \{b_0 + b_1 R_T^{1/2} + b_2 R_T + b_3 R_T^{3/2} + b_4 R_T^2 + b_5 R_T^{5/2}\}$$

$$a_0 = +0.0080$$

$$b_0 = +0.0005$$

$$k = + 0.0162$$

$$a_1 = - 0.1692$$

$$b_1 = - 0.0056$$

$$a_2 = +25.3851$$

$$b_2 = - 0.0066$$

$$a_3 = +14.0941$$

$$b_3 = - 0.0375$$

$$a_4 = - 7.0261$$

$$b_4 = + 0.0636$$

$$a_5 = + 2.7081$$

$$b_5 = - 0.0144$$

$$\sum a_i = 35.0000$$

$$\sum a_i = 0.0000$$

$$2 < S < 42$$

$R_T$  = 시료의 전기전도도비

$T$  = 염분측정계의 항온 (°C)

- 검정이 완료된 후, 측정된 시료를 부표준시료로 하여 현장에서 사용하는 CTD의 염분보정에 이용

### 바) 참고사항

- CTD가 열평형상태에 도달 되도록 표층에서 CTD가 동작된 후 1분 이상의 대기시간을 두어 안정화된 상태에서 장비를 운용
- 기기제작사의 전기전도도 센서의 감응시간을 고려하여 CTD 강화와 상승 속도를 조절

- 관측 전과 후에 CTD 장비회사 또는 공인된 기관에서 센서를 교정받아 계수 조정
- 불가피한 경우, 최소한 년 1회 이상의 검교정을 받아서 수온·염분자료 보정
- CTD의 보조센서에서 구하는 값은 그 당시의 생태환경을 해석하기 위한 보조자료로만 활용하는 것이 바람직

### 3) 아질산염(Nitrite)

#### 가) 측정범위 및 정밀도

- 램버트-비어(Lambert-Beer)의 이론에 따른 흡광도와 농도의 직선관계는 1 cm 셀을 기준으로 0.5 mg N/L 이하 적용
- 유효 측정범위는 검출한계에서 0.5 mg N/L까지임
- 시료농도가 0.5 mg N/L 초과 시, 바탕용액으로 희석하여 측정하여 최종 발색된 용액의 몰흡광계수는  $45,000(\text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}) \pm 10\%$ 가 되어야 함
- 일반적인 검출한계는 1 cm 셀 사용 시 99% 신뢰구간에서 0.001 mg N/L 이며 정밀도는 0.050 mg N/L에서  $\pm 0.001 \text{ mg N/L}$  정도임

#### 나) 기구 및 기기

- 시험 및 시약용기: 50 mL 경질 유리시험관 및 시약병 등 분석에 사용되는 모든 초자기구류 및 플라스틱용기는 반드시 0.1N 염산용액으로 세척한 후 초순수로 3회 이상 반복 세척
- 피펫: 시료 및 시약을 분주할 때 가능한 정밀도가 높은 디지털식 피펫과 교차오염을 방지하기 위해 일회용 피펫 팁을 사용
- 와류혼합기(Vortex mixer): 시료와 시약을 혼합할 때 사용
- 분광광도계(Spectrophotometer)

#### 다) 시약

- 설퍼닐아마이드 용액: 설퍼닐 아마이드( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$ ) 5 g을 염산 50 mL과 초순수 300 mL를 혼합한 용액에 녹인 후 실온으로 냉각, 초순수로 최종부피를 500 mL로 하여 플라스틱 용기에 넣어 수개월간 보관 및 사용
- 염화나프틸에틸렌디아민용액: 염화나프틸에틸렌디아민( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ) 0.493 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만든 후 차광용기에 넣어 냉장보관

(8℃ 이하)하며 유효기간은 한달 이상이나 용액이 갈색으로 변색될 경우 새롭게 만들어야 함

- 아질산 질소 표준원액(100 mg N/L): 105~110℃에서 1시간 동안 건조 후 데시케이터에서 방냉한 아질산나트륨( $\text{NaNO}_2$ ) 0.439 g을 정확히 취하여 적당량의 초순수에 녹인 후 정확히 1,000 mL로 맞춤

#### 라) 시료의 보관 및 전처리

- 현장에서 채취된 해수시료는 유리 또는 폴리에틸렌(HDPE)용기에 보관하되 냉장보관이 불가할 때는 수 시간 이내에 실험실로 옮겨 분석
- 시료는 GF/F 여과지로 여과한 후 분석
- 만일 수 시간내에 분석이 불가할 경우 냉동보관(-20℃ 이하)
- 냉동보관 할 경우 수주일 안정하지만, 질소화합물 중 암모니아질소와 아질산질소는 불안정하므로 급속냉동 시키거나 또는 채수 후 여과한 다음 가능한 한 빠른 시간내에 분석

#### 마) 시험방법

- 시험관에 시료 50 mL를 넣고 설퍼닐 아마이드용액 1 mL를 첨가, 약 2분 이상 방치한 후 8분 이내에 염화나프틸에틸렌디아민(NED) 용액 1 mL를 첨가
- 염화나프틸에틸렌디아민용액 1 mL를 첨가하여 혼합한 후에 약 10분 이상 2시간 이내에 543 nm의 파장에서 흡광도 측정
- 흡광도와 농도의 상관관계식을 이용하여 시료의 아질산질소 농도를 환산

#### 바) 검량선

- 흡광도와 농도의 상관관계식을 구하기 위하여 바탕용액용 초순수와 검정 범위 내에서 4등분 농도의 아질산 질소표준용액(예: 0.025, 0.050, 0.075, 0.100 mg N/L)을 준비
- 표준용액은 반드시 분석 당일에 아질산 질소 표준원액을 초순수로 희석
- 준비된 표준용액은 위의 과정에 따라 분석(다만, 바탕용액과 표준용액은 각 농도별로 2개 이상 복수로 분석)
- 측정된 자료를 회귀직선법으로 해석하여 검량선식을 구함
- 검출한계는 바탕용액을 7개 복수 분석하여 농도의 표준편차를 구한 후 3.143을 곱한 값에(99% 신뢰구간) 평균농도를 더한 후 유의숫자 첫 자리로 표현



- 정밀도는 검정범위의 중간 표준용액을 7개 복수 분석하여 표준편차를 구한 후 3.143을 곱하여(99% 신뢰구간)  $\pm$ 유의숫자 첫 자리로 표현
- 결과 보고 시에는 검량선식, 상관계수( $r^2$ ), 정밀도, 검출한계를 기재

#### 사) 참고사항

- 이 방법에 의한 아질산 질소 측정은 시료 중에 높은 농도의 황화수소에 의해 간섭될 수 있으므로 무산소 환경에서 채취된 시료의 경우 염화나프틸에틸렌디아민 첨가 직후 질소기체로 황화수소를 탈기시킨 다음 분석
- 다수의 시료분석이 필요하거나 또는 현장에서 직접 측정할 경우 이 방법과 측정원리가 같은 영양염 자동분석기(Nutrient autoanalyzer)를 이용하는 것이 효율적
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

### 4) 질산염(Nitrate)

#### 가) 측정범위 및 정밀도

- 아질산 질소의 경우와 같이 램버트 비어의 이론에 따른 흡광도와 농도의 직선관계는 1 cm 셀을 기준으로 할 때 0.5 mg N/L 이하에서 적용되므로 유효 측정범위는 검출한계에서 0.500 mg N/L 까지임
- 최종 발색된 용액의 몰흡광계수는  $45,000(\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}) \pm 10\%$
- 일반적인 검출한계는 1 cm 셀 사용 시 99% 신뢰구간에서 0.001 mg N/L 이며 정밀도는 0.100 mg N/L에서  $\pm 0.001$  mg N/L 정도임

#### 나) 기구 및 기기

- 시험 및 시약용기: 50 mL 경질 유리시험관 및 시약병 등 분석에 사용되는 모든 초자기구류 및 플라스틱용기는 반드시 0.1N 염산용액으로 세척한 후 초순수로 3회 이상 반복 세척
- 피펫 : 시료 및 시약을 분주할 때 가능한 정밀도가 높은 디지털식 피펫과 교차오염을 방지하기 위해 일회용 피펫 팁을 사용
- 와류혼합기(Vortex mixer): 시료와 시약을 혼합할 때 사용
- 분광광도계(Spectrophotometer)

- 환원관(Reduction column): 경질유리로 다음의 그림과 같이 제작(그림 1)

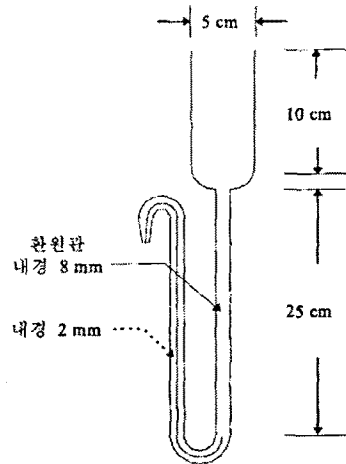


그림 1. 질산염 환원을 위한 환원관 모식도

#### 다) 시약

- 진한 염화암모늄 완충용액: 염화암모늄( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 125 g을 초순수에 녹여 500 mL로 하여 유리 또는 플라스틱 용기에 넣어 보관
- 묽은 염화암모늄 완충용액: 진한 암모늄 완충용액 25 mL를 증류수로 희석하여 1,000 mL로 만들어 유리 또는 플라스틱 용기에 넣어 보관
- 카드뮴 입자: 환원관에서 충전 할 카드뮴 입자의 크기는 대략 직경 1 mm 내외로 직접 제작하거나 상업적으로 제작되어 있는 것을 이용하며, 준비된 카드뮴 입자는 불순 산화물을 제거하기 위해 2N 염산용액으로 세척한 후 초순수로 3회 이상 세척하여 염산기를 완전히 제거
- 황산구리용액: 황산구리( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 10 g을 초순수에 녹여 500 mL를 만듦
- 카드뮴-구리 충전물: 카드뮴 입자 약 50 g을 황산구리용액 200 mL가 담긴 비이커에 넣고 황산구리용액의 옅은 푸른색이 없어질 때까지(약 3분간) 충분히 흔들어, 촉매 역할을 하는 구리가 충분히 흡착되면 카드뮴 입자는 검은색을 띄게 되며, 완성된 카드뮴-구리 충전물이 담긴 비이커에 남은 황산구리용액을 따라버리고 초순수로 여러 번 세척하여 미세입자를 제거, 제작된 환원관에 묽은 염화암모늄용액을 채우고 하부에 적당량의

유리섬유를 밀어 넣어 하부마개를 만든 다음 준비된 카드뮴구리 충전물을 환원관의 약 20정도까지 환원관 중간부분을 연필 등으로 부드럽게 두드리며 집어넣음

최종적으로 충전된 환원관의 상부에 적당량의 유리섬유를 이용하여 윗마개를 만들고 충전된 환원관의 정상 유속은 분당 약 10 mL 내외가 되게 함

- 설퍼닐 아마이드 용액: 설퍼닐 아마이드 ( $C_6H_8O_2N_2S$ ) 5 g을 염산 50 mL과 초순수 450 mL에 녹인다음, 플라스틱 용기에 넣어 보관하며 수개월간 사용
- 염화나프틸에틸렌디아민용액: 염화나프틸에틸렌디아민( $C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$ ) 0.5 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만든 후, 차광용기에 넣어 냉장보관(유효기간은 한 달정도)하며 용액이 갈색으로 변색될 경우 새롭게 만들어야 함
- 질산질소 표준원액(100 mg N/L): 105~110℃에서 약 4시간 동안 건조 후 데시케이터에서 방냉한 질산칼륨( $KNO_3$ ) 약 0.7218 g을 정확히 취하여 적당량의 초순수에 녹인 후 정확히 1,000 mL로 만듦

라) 시약 시료의 보관 및 전처리

- 아질산염 시료 보관 및 전처리 과정과 동일

마) 시험방법

- 삼각플라스크에 담긴 시료 100 mL에 진한 염화암모늄 완충용액 2 mL를 첨가하고 혼합한 다음 먼저 약 30 mL의 혼합시료를 환원관에 통과시켜 흘려보냄(①)
- 나머지 혼합시료를 환원관에 모두 통과시킨 후 얻어진 시료를 복수의 시험관에 나누어 넣음(②)
- 시료 10 mL에 설퍼닐 아마이드용액 0.2 mL를 첨가하고 혼합한 후 약 2분간 반응시킴(③)
- 염화나프틸에틸렌디아민용액 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 후에 약 15분에서 30분 동안 반응시킨 다음 발색된 시료를 분광광도계의 셀에 넣고 543 nm의 파장에서 흡광도 측정(④)
- 흡광도와 농도의 상관관계식을 이용하여 시료의 농도를 환산
- 질산질소의 농도는 상기의 과정에서 구해진 농도에서 이미 측정된 아질산

질소 농도를 뺀 나머지 값이 됨(상기의 농도는 환원된 질산 질소 농도와 시료중의 기존 아질산 질소 농도가 포함된 값)

#### 바) 검량선

- 흡광도와 농도의 상관관계식을 구하기 위하여 바탕용액용 초순수와 검정 범위 내에서 4등분 농도의 질산질소 표준용액(예: 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 mg N/L)을 준비
- 표준용액은 반드시 분석 당일에 질산질소 표준원액을 초순수로 희석
- 준비된 표준용액은 시험방법 ①, ② 과정에 따라 분석하지만 바탕용액과 표준용액은 각 농도별로 2개 이상 복수로 분석
- 측정된 자료를 회귀직선법으로 해석하여 검량선식을 구함
- 검출한계는 바탕용액을 7개 복수 분석하여 농도의 표준편차를 구한 후 3.707을 곱한 값에(99% 신뢰구간) 평균농도를 더한 후 유의숫자 첫 자리로 표현
- 정밀도는 검정범위의 중간 표준용액을 7개 복수 분석하여 표준편차를 구한 후 3.707을 곱하여(99% 신뢰구간)  $\pm$ 유의숫자 첫 자리로 표현
- 결과보고 시에는 검량선식, 상관계수( $r^2$ ), 정밀도, 검출한계를 기재
- 환원관의 효율(Reduction column efficiency) 검정: 질산 질소의 환원정도는 구리촉매로 처리된 카드뮴 구리입자의 활성면적과 반응용액의 pH에 의해 좌우되고, 반응용액의 pH는 완충용액에 의해 일정하게 유지되므로 최적의 질산질소 환원효율(90% 이상)은 적절한 카드뮴-구리입자의 활성면적을 조절함으로써 얻음
- 환원관 효율 검정을 위해 0.1 mg N/L의 아질산 질소 표준용액을 ③과 ④의 과정에 따라 처리하여 흡광도( $A_1$ )를 구함
- 0.1 mg N/L의 아질산 질소 표준용액을 환원과정까지 포함한 ①~④항의 과정에 따라 처리하여 흡광도( $A_2$ )를 구함
- $A_2/A_1$ 의 비율을 백분율로 계산할 때, 만일 이 비율이 95%보다 작을 경우에는 과도한 환원(Over reduction)이 일어나는 것이므로 환원관의 카드뮴-구리 충전물의 일부를 결손율에 비례하여 덜어낸 후 바로 전단계의 과정을 반복하여 카드뮴-구리입자의 활성면적을 감소시킴으로써 과도한 환원을 교정
- $A_2/A_1$ 의 비율이 95%보다 같거나 클 경우에는 다음 단계를 실행, 0.1

mg N/L의 질산질소 표준용액을 환원과정까지 포함한 ①~④항의 과정에 따라 처리하여 흡광도( $A_3$ )를 구함

- $A_3/A_1$ 의 비율을 백분율로 계산하여, 이 비율이 95%보다 작을 경우에는 불충분한 환원(Under reduction)이 일어나는 것이므로 환원관의 카드뮴-구리 충전물의 일부를 결손율에 비례하여 더해준 후 바로 진단계의 과정을 반복하여 카드뮴-구리입자의 활성면적을 증가시킴으로써 충분한 환원을 유지하며, 만일  $A_2/A_1$ 의 비율이 95%보다 같거나 클 경우에는 정상효율을 유지하는 환원관으로써 사용

#### 사) 참고사항

- 완성된 환원관은 어떤 경우에도 충전물이 건조되지 않도록 보관 시 항상 묽은 염화암모늄 완충용액으로 채운 후 환원관의 시료 주입구와 배출구를 비닐랩이나 알루미늄호일 등으로 막아 놓음
- 이전 시료가 고농도일 경우 잔류영향(Carryover effect)을 없애기 위해 시료를 환원관에 통과시키기 전에 매번 약 20 mL의 묽은 염화암모늄 완충용액을 미리 통과시켜 환원관을 세척
- 환원관의 효율은 측정당일에 매번 위의 측정법에 따라 확인하고 만일 카드뮴-구리 충전물이 부주의에 의해 건조되어 충전물의 색깔이 붉은색으로 변하거나 장기간의 사용으로 환원효율의 저하가 확인되면 충전물을 꺼내어 재활성화 시켜야 하며 그래도 환원효율의 검증에 문제가 지속되면 카드뮴-구리 충전물을 시약제조방법에 따라 새로 만들어 사용
- 다수의 시료분석이 필요하거나 또는 현장에서 직접 측정할 경우 이 방법과 측정원리가 같은 영양염자동분석기를 이용
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

### 5) 암모니아(Ammonia)

#### 가) 측정범위 및 정밀도

- 램버트-비어의 이론에 따른 흡광도와 농도의 직선관계는 0.500 mg N/L 이하에서 적용

- 유효 측정범위는 검출한계에서 0.5000 mg N/L까지임
- 시료농도가 0.500 mg N/L 초과 시 , 암모니아에 의해 오염되지 않은 바탕용액으로 희석하여 측정하며 이 방법으로 최종 발색된 용액의 몰흡광계수는  $20,000(\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1}) \pm 10\%$  임

#### 나) 기구 및 기기

- 시험 및 시약용기: 50 mL 경질 유리시험관 및 시약병 등 분석에 사용되는 모든 초자기구류 및 플라스틱용기는 반드시 0.1N 염산용액으로 세척한 후 암모니아에 의해 오염되지 않은 초순수로 3회 이상 반복 세척하여 사용하며 보관 및 분석·반응 시 모든 시약과 시료에 사용되는 초자기구류는 마개로 단단히 봉하여 실험실 대기환경으로부터의 암모니아 오염을 차단
- 피펫: 시료 및 시약을 분주할 때 가능한 정밀도가 높은 디지털식 피펫과 교차오염을 방지하기 위해 일회용 피펫 팁을 사용
- 와류혼합기(Vortex mixer): 시료와 시약을 혼합할 때 사용
- 항온조: 발색 반응 대기시간(1시간)의 균일화를 위해 가능한 35℃를 유지할 수 있는 항온조 이용
- 분광광도계(Spectrophotometer)

#### 다) 시약

- 페놀용액: 무색의 페놀( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) 20 g을 에틸알코올(95%, v/v) 200 mL에 녹인 다음 유리용기에 유리마개로 단단히 봉하여 보관하면 수개월간 안정
- 니트로프러시드용액: 니트로프러시드나트륨( $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 1.0 g을 초순수 200 mL에 녹인 다음 차광용기에 보관하여 2-3개월 정도 기간 동안만 사용 가능
- 염기성 용액: 구연산나트륨( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 100 g과 수산화나트륨( $\text{NaOH}$ ) 5 g을 초순수 500 mL에 녹인 다음 폴리에틸렌(HDPE) 용기에 보관
- 차아염소산용액: 차아염소산나트륨( $\text{NaOCl}$ , 1.5N) 또는 일반적으로 상용의 표백제(예, Chlorox) 등을 사용할 수 있으나 시간의 경과에 따라 점차 차아염소산의 유효농도(0.1M의  $\text{NaOH}$ 용액 중 3.5%의 염소농도 이상)가 낮아지기 때문에 가능한 새로운 시약을 분석직전 구입하여 사용

- 티오황산나트륨 적정시험을 통하여 유효농도에 대한 점검을 위해 티오황산나트륨( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 12.5 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만듦
- 요오드화칼륨(KI) 2 g을 50 mL의 초순수에 녹이고 1 mL의 차아염소산용액을 첨가한 후 혼합
- 염산 0.5 mL를 KI용액에 첨가·혼합한 후 위의 티오황산나트륨용액으로 노란색이 사라질 때까지 적정하며 이때 적정에 소요된 티오황산나트륨용액이 12 mL 이상이어야 함
- 산화용액: 산화용액은 앞서의 염기성용액과 차아염소산용액을 4:1의 비율로 혼합하여 만들며 분석 직전 매번 새롭게 준비하여 사용
- 암모니아질소 표준원액(100 mg N/L): 105~110℃에서 1시간 건조한 후 데시케이터에서 방냉한 염화암모늄( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 0.3819 g을 정확히 취하여 적량의 초순수에 녹인 후 정확히 1,000 mL로 만듦

#### 라) 시약 시료의 보관 및 전처리

- 현장에서 채취된 해수시료는 유리 또는 폴리에틸렌용기에 보관하되 냉장보관이 불가할 때는 수 시간 이내에 실험실로 옮겨 분석
- 대부분의 시료의 경우 여과지의 암모니아 오염가능성 때문에 여과해서는 안되며 부유물질 등에 의한 혼탁도가 심한 시료는 원심분리 후 상등액을 취하여 분석
- 수 시간내에 분석이 불가할 경우 페놀용액을 시료에 1:25의 비율(예, 페놀용액 4 mL:해수시료 100 mL)로 넣거나 또는 냉동보관(-20℃ 이하)할 경우 15일 정도 보관이 가능

#### 마) 시험방법

- 시험관에 시료 10 mL를 넣고 0.4 mL의 페놀용액을 첨가한 후 혼합
- 니트로프러시드용액 0.4 mL를 첨가하여 혼합
- 산화용액을 1.0 mL 넣고 혼합
- 이상의 모든 시약이 순차적으로 혼합되고 나면 시험관을 마개 또는 밀봉필름으로 봉한 후 항온조에 넣고 1시간 동안 발색시킨 다음 발색된 시료는 30시간 정도 안정시킴
- 분광광도계의 셀에 넣고 640 nm의 파장에서 흡광도 측정
- 흡광도와 농도의 상관관계식과 염분보정식(참고사항)을 이용하여 시료의 암모니아 농도를 환산

$$\text{최종농도(mg N/L)} = \text{상관관계식을 이용하여 구한 농도} \times (1 + 0.007 \times \text{염분})$$

#### 바) 검량선

- 흡광도와 농도의 상관관계식을 구하기 위하여 암모니아가 제거된 바탕용액용 초순수와 검정범위 내에서 4등분 농도의 암모니아 질소표준용액(예: 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 mg N/L)을 준비
- 표준용액은 반드시 분석 당일에 암모니아 질소 표준원액을 초순수로 희석
- 준비된 표준용액은 위의 과정에 따라 바탕용액과 표준용액은 각 농도별로 2개 이상 복수로 분석하며, 분석된 바탕용액의 흡광도는 0.075 (1 cm 셀 기준)를 초과해서는 안됨
- 측정된 자료를 회귀직선법으로 해석하여 검량선식을 구함
- 검출한계는 바탕용액을 7개 복수 분석하여 농도의 표준편차를 구한 후 3.707을 곱한 값에(99% 신뢰구간) 평균농도를 더한 후 유의숫자 첫 자리로 표현
- 정밀도는 검정범위의 중간 표준용액을 7개 복수 분석하여 표준편차를 구한 후 3.143을 곱하여(99% 신뢰구간) ±유의숫자 첫 자리로 표현
- 결과보고 시에는 검량선식, 상관계수( $r^2$ ), 정밀도, 검출한계를 기재

#### 사) 참고사항

- 해수시료는 기수역과 외해역 등에 따라 다양한 염분의 변화를 보이므로, 자연해수시료의 염분증가는 마그네슘 이온과 산·염기 완충능력을 증가시켜 결과적으로 분석 시 인도페놀의 산화반응 단계에서 최종 반응액의 pH를 10.8보다 낮게 하여 인도페놀의 발색을 저해하므로 초순수를 검정용으로 사용하였을 경우 다양한 해수시료의 염분변화에 따른 농도계산의 보정이 필요

$$\text{염분 보정식} = (1 + 0.007 \times \text{염분})$$



- 시료채취해역의 염분이 기수역 등과 달리 시료의 염분변화가 크지 않고 비교적 일정한 외해역 시료에 한하여 현장의 해수를 검정용 바탕용액으로 이용 가능하며, 이때 암모니아를 완전히 제거하기 위해 표층해수를 채수·여과하여 수산화나트륨용액으로 pH를 13까지 높이고 부피가 70%로 줄어들 때까지 끓인 다음 초순수로 증발된 30%만큼 보충하고 0.1N 염산용액으로 적정하여 중화
- 이렇게 만들어진 검정용 해수는 초순수 대신 검정과정(검량선 참고)에 필요한 바탕용액으로 사용될 수 있으며 이 경우에는 염분보정관련에 언급된 염분변화에 따른 농도계산의 보정이 필요하지 않음
- 휘발성인 페놀용액은 인체에 위해한 관계로 암모니아 분석 시험은 공기의 유통이 원활한 장소나 후드 내에서 이뤄져야 하며 암모니아는 대기로부터 이전되어 오염될 수 있기 때문에 암모니아 시료 분석 시 주변에 암모니아수( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) 등을 이용한 기타의 시험이 병행되지 않도록 실험실 환경에 주의
- 미량의 암모니아 시료를 분석하고자 할 때는 1 cm 셀보다 긴 5 cm 또는 10 cm 길이의 셀을 사용할 수 있음
- 이 경우 대체로 검출한계와 정밀도가 향상될 수 있으며 이때 시료 및 시약의 양을 비례적으로 증가시킴
- 다수의 시료분석이 필요하거나 또는 현장에서 직접 측정할 경우 영양염 자동분석기를 이용하는 것이 효율적
- 자동분석기로 해수시료중의 암모니아 질소를 측정할 경우 감지기의 플로우셀(Flow cell) 내부에서 시료의 염분변화에 의해 발생하는 굴절을 변화가 흡광도에 영향을 주지 않아야 함
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

## 6) 인산염(Phosphate)

### 가) 측정범위 및 정밀도

- 램버트-비어의 이론에 따른 흡광도와 농도의 직선관계는 1 cm 셀을 기

준으로 0.500 mg P/L 이하 적용

- 유효 측정범위는 검출한계에서 0.500 mg P/L까지임
- 시료농도가 0.500 mg P/L 초과 시 , 바탕용액으로 희석하여 측정하여 최종 발색된 용액의 몰흡광계수는  $22,000(\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1}) \pm 10\%$ 임
- 일반적인 검출한계는 1 cm 셀 사용 시 99% 신뢰구간에서 0.002 mg P/L이며 정밀도는 0.100 mg P/L에서  $\pm 0.002 \text{ mg P/L}$  정도임

#### 나) 기구 및 기기

- 시험 및 시약용기: 50 mL 경질 유리시험관 및 시약병 등 분석에 사용되는 모든 초자기구류 및 플라스틱용기는 반드시 0.1N 염산용액으로 세척한 후 초순수로 3회 이상 반복 세척
- 피펫: 시료 및 시약을 분주할 때 가능한 정밀도가 높은 디지털식 피펫과 교차오염을 방지하기 위해 일회용 피펫 팁을 사용
- 와류혼합기(Vortex mixer): 시료와 시약을 혼합할 때 사용
- 분광광도계(Spectrophotometer): 적어도 분광범위가 근적외선인 900 nm 까지 가능해야 함

#### 다) 시약

- 몰리브덴산암모늄용액: 파라몰리브덴산암모늄  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  15 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만든 후 플라스틱용기에 넣어 암소에서 보관하면 수개월간 안정
- 황산용액: 황산( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 140 mL을 적량의 초순수에 잘 혼합하여 열을 식힌 다음 증류수로 1,000 mL로 만들어, 용액을 식힌 후 유리용기 또는 플라스틱 용기에 보관
- 아스코르빈산용액: 아스코르빈산( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) 27 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만든 후 유리용기 또는 플라스틱용기에 넣어 냉장 보관하며 일주일 이내에 사용
- 타르타르산안티모닐칼륨용액: 타르타르산안티모닐칼륨  $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6]$  0.34g을 초순수에 녹여 250 mL로 만든 다음 플라스틱 용기에 수개월간 보관 가능
- 혼합용액: 몰리브덴산암모늄용액 100 mL와 황산용액, 그리고 아스코르빈산용액 100 mL와 타르타르산안티모닐칼륨용액 50 mL을 모두 혼합하여 만들며 분석 직전 매번 새롭게 준비하여 사용

- 인산 인 표준원액(100mg P/L): 105~110℃에서 미리 건조한 후 데시케이터에서 방냉한 인산칼륨( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.439 g을 정확히 취하여 적당량의 초순수에 녹인 후 정확히 1,000 mL로 맞춤

#### 라) 시료의 보관 및 전처리

- 아질산 질소의 시료 보관 및 전처리와 동일하며 이 경우 15일 정도 보관 가능

#### 마) 시험방법

- 시험관에 시료 10 mL를 정확히 취하고 혼합용액 1 mL를 첨가한 후 발색
- 반응 후 10분에서 1시간 사이에 분광광도계의 셀에 넣고 885 nm의 파장에서 흡광도 측정
- 흡광도와 농도의 상관관계식을 이용하여 시료의 인산 인 농도를 환산

#### 바) 검량선

- 흡광도와 농도의 상관관계식을 구하기 위하여 바탕용액용 초순수와 검정범위 내에서 4등분 농도의 인산 인 표준용액(예: 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 mg P/L)을 준비
- 표준용액은 반드시 분석 당일에 인산 인 표준원액을 초순수로 희석
- 준비된 표준용액은 위의 과정에 따라 바탕용액과 표준용액은 각 농도별로 2개 이상 복수로 분석하며 이때 분석된 바탕용액의 흡광도는 0.002(1 cm 셀 기준)를 초과해서는 안됨
- 측정된 자료를 회귀직선법으로 해석하여 검량선식을 구함
- 검출한계는 바탕용액을 7개 복수 분석하여 농도의 표준편차를 구한 후 3.707을 곱한 값에(99% 신뢰구간) 평균농도를 더한 후 유의숫자 첫 자리로 표현
- 정밀도는 검정범위의 중간 표준용액을 7개 복수 분석하여 표준편차를 구한 후 3.707을 곱하여(99% 신뢰구간) ±유의숫자 첫 자리로 표현
- 결과보고 시에는 검량선식, 상관계수( $r^2$ ), 정밀도, 검출한계를 기재

#### 사) 참고사항

- 이 방법에 의한 인산 인 측정은 시료 중에 높은 농도의 규산규소, 비소, 그리고 황화수소에 의해 간섭되므로 이 경우 희석하여 측정
- 일단 발색된 시료는 수 시간 동안 안정하나 그 이후에는 점차 규산규소의 간섭에 의해 발색정도가 증가될 수 있으므로 가능한 1시간 이내에 흡광도

를 측정

- 다수의 시료분석이 필요하거나 또는 현장에서 직접 측정할 경우 이 방법과 측정원리가 같은 영양염자동분석기를 이용하는 것이 효율적
- 자동분석기로 해수시료중의 인산인을 측정할 경우 암모니아 질소의 경우와 같이 감지기의 플로우셀 내부에서 시료의 염분변화에 의해 발생하는 굴절률 변화가 흡광도에 영향을 주지 않아야 함
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

## 7) 규산염(Silicate)

### 가) 측정범위 및 정밀도

- 램버트-비어(Lambert-Beer)의 이론에 따른 흡광도와 농도의 직선관계는 1cm 셀을 기준으로 할 때 4.000 mg Si/L 이하에서 적용
- 유효 측정범위는 검출한계에서 4.000 mg Si/L까지임
- 시료농도가 3.000 mg Si/L 초과 시, 바탕용액으로 희석하여 측정하여 최종 발색된 용액의 몰흡광계수는  $11,000(\text{cm}^{-1} \text{ M}^{-1}) \pm 10\%$ 가 되어야 함
- 일반적인 검출한계는 1 cm 셀 사용 시 99% 신뢰구간에서 0.003 mg Si/L 이며 정밀도는 0.200 mg Si/L에서  $\pm 0.003 \text{ mg Si/L}$  정도임

### 나) 기구 및 기기

- 시험 및 시약용기: 50 mL 경질 유리시험관 및 시약병 등 분석에 사용되는 모든 초자기구류 및 플라스틱용기는 반드시 0.1N 염산용액으로 세척한 후 초순수로 3회 이상 반복 세척
- 피펫: 시료 및 시약을 분주할 때 가능한 정밀도가 높은 디지털식 피펫과 교차오염을 방지하기 위해 일회용 피펫 팁을 사용
- 와류혼합기(Vortex mixer): 시료와 시약을 혼합할 때 사용
- 분광광도계(Spectrophotometer): 적어도 분광범위가 근적외선인 900 nm 까지 가능해야 함

### 다) 시약

- 몰리브덴산용액: 파라몰리브덴산암모늄  $[(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  4 g을 초

순수 300 mL에 녹인 후 염산 12 mL를 첨가하고 혼합하여 500 mL로 만든 후 플라스틱용기에 넣어 암소에서 수개월간 보관·사용

- 메톨-무수아황산나트륨용액: 무수아황산나트륨( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) 6 g을 초순수 500 mL에 녹이고 메톨(Metol: p-methylaminophenol) 10 g을 첨가한 후 혼합한 다음 여과지(Whatman, NO. 5C)로 걸러 플라스틱용기에 보관하며 분석직전 매번 새롭게 만듦
- 옥살산용액: 옥살산  $[(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  50 g을 초순수에 녹여 500 mL로 만든 후 플라스틱용기에 넣어 실온에서 보관
- 황산용액(1+1): 황산( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )을 초순수와 1:1 비율로 혼합하여 용액을 식힌 후 플라스틱용기에 보관
- 환원용액: 메톨-무수아황산나트륨용액 100 mL와 옥살산용액 60 mL를 혼합한 다음 천천히 황산용액 60 mL와 혼합하여 최종용량이 300 mL이 되도록 초순수로 채우고 혼합하여 만들며 분석 직전 매번 새롭게 준비하여 사용
- 규산 규소 표준원액(100 mg Si/L): 105~110°C에서 미리 건조한 후 테시케이터에서 방냉한 불화규소나트륨( $\text{NaSiF}_6$ ) 0.671 g을 정확히 취하여 적당량의 초순수에 녹인 후 정확히 1,000 mL로 맞춤

#### 라) 시료의 보관 및 전처리

- 현장에서 채취된 해수시료는 반드시 폴리에틸렌용기에 보관하고 냉장보관이 불가할 때는 수 시간 이내에 실험실로 옮겨 분석
- 시료는 Nuclepore 여과지 또는 Membrane 여과지로 여과한 후 분석
- 만일 수 시간내에 분석이 불가할 경우 냉동보관(-20°C 이하)해야 하며 이 경우 15일 정도 보관
- 저염분(15 이하) 혹은 규산규소의 농도가 매우 높은(120  $\mu\text{mol/L}$  이상) 시료는 급속냉동시 중합반응을 일으키므로 24시간 이상 정치한 후 냉동보관 해야 하며 이러한 경우 규산규소 분석용 시료를 별도로 채취하여 보관

#### 마) 시험방법

- 시험관에 시료 10 mL를 넣고 몰리브덴산용액 4 mL를 첨가 혼합하고 약 10분간 반응
- 분광광도계의 셀에 넣고 810 nm의 파장에서 흡광도 측정
- 흡광도와 농도의 상관관계식을 이용하여 시료의 규산규소 농도를 환산

$$\text{최종농도(mg Si/L)} = \text{검량선 식을 이용하여 구한 농도} \times (1 + 0.0044 \times \text{염분})$$

#### 바) 검량선

- 흡광도와 농도의 검량선 식을 구하기 위하여 바탕용액용 초순수와 검정범위 내에서 4등분 농도의 아질산 질소표준용액(예: 0.100, 0.200, 0.300, 0.400 mg Si/L)을 준비
- 표준용액은 반드시 분석 당일에 규산규소 표준원액을 초순수로 희석
- 준비된 표준용액은 위의 과정에 따라 분석(다만, 바탕용액과 표준용액은 각 농도별로 2개 이상 복수로 분석)
- 측정된 자료를 회귀직선법으로 해석하여 검량선식을 구함
- 검출한계는 바탕용액을 7개 복수 분석하여 농도의 표준편차를 구한 후 3.707을 곱한 값에(99% 신뢰구간) 평균농도를 더한 후 유의숫자 첫 자리로 표현
- 정밀도는 검정범위의 중간 표준용액을 7개 복수 분석하여 표준편차를 구한 후 3.707을 곱하여(99% 신뢰구간) ±유의숫자 첫 자리로 표현
- 결과 보고시에는 검량선식, 상관계수( $r^2$ ), 정밀도, 검출한계를 기재

#### 사) 참고사항

- 이 방법에 있어서 염분변화는 규소몰리브덴산 착화합물 환원과정에서 푸른색의 발색을 감소시켜 몰흡광계수가 낮아지므로 다양한 염분변화를 보이는 해수시료의 규산규소 분석은 다음과 같은 염분에 대한 보정(염분보정식 참조)이 필요
- 유리용기로부터 미량의 규산규소가 용출될 수 있으므로 규산규소 분석을 위한 모든 시료병과 시약병 그리고 시험관 등은 반드시 플라스틱(예, HDPE) 재질을 이용
- 다수의 시료분석이 필요하거나 또는 현장에서 직접 측정할 경우 이 방법과 측정원리가 같은 영양염자동분석기를 이용하는 것이 효율적
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

## 8) 용존산소(DO: Dissolved Oxygen)

### a. 윙클러-아지드화 나트륨 적정법

#### 가) 측정범위 및 정밀도

- 유효 측정범위는 0.1 mg O<sub>2</sub>/L 이상이고 일반적인 검출한계는 99% 신뢰 구간에서 0.1 mg O<sub>2</sub>/L이며 정밀도는 7.00 mg O<sub>2</sub>/L에서  $\pm 0.008$  mg O<sub>2</sub>/L 정도 임

#### 나) 기구 및 기기

- DO병: 용량이 정확히 기재되어 있고 유리마개가 있는 차광용 산소병
- 1,000 mL 메스플라스크
- 250 mL 삼각플라스크
- 데시케이터
- 뷰렛
- 자석교반기
- 피펫

#### 다) 시약

- 염화망간용액: 염화망간(MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O) 426 g을 증류수에 녹여 1,000 mL로 한 뒤 플라스틱용기에 넣어 보관하며 염화망간 대신 황산망간(MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O) 480 g을 증류수에 녹여 1,000mL로 한 후 사용가능
- 알칼리 요오드화나트륨용액: 600 g의 요오드화나트륨(NaI)과 320 g의 수산화나트륨(NaOH)을 적당량의 증류수에 먼저 녹이고 방냉한 후 시료중의 아질산질소 방해를 제거하기 위해 아지드화나트륨(NaN<sub>3</sub>) 10 g을 첨가하여 녹인 다음 증류수로 1,000 mL로 만듦(수산화나트륨이 증류수에 용해될 때 상당한 열이 발생하므로 주의하며 차광용기에 보관)
- 황산용액(1+1): 황산(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 증류수에 1:1 비율로 발생하는 열을 식혀가며 혼합
- 0.025N 티오황산나트륨 표준용액: 티오황산나트륨(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) 6.205 g을 증류수에 녹여 정확히 1,000 mL로 만듦
- 0.01N 요오드산칼륨 표준용액(1.667 mM): 적당량의 요오드산칼륨(KIO<sub>3</sub>)을 120℃에서 약 2시간동안 건조시킨 후 데시케이터에서 방냉한 후 요오드산칼륨 약 0.357 g을 정확히 취하여 증류수에 녹여 정확히

1,000 mL로 만들며 이때 쓰이는 증류수는 약 10분간 끓인 다음 식혀서 사용

- 1% 녹말 지시약: 수용성 녹말 1 g을 증류수 10 mL에 혼합하여 열수 90 mL 중에 넣고 액이 투명해질 때까지 끓인 후 상온으로 방냉하여 사용
- 장기간 보관하여야 할 경우에는 방부제( $\text{Hg}_2\text{I}_2$ )를 소량 첨가

#### 라) 시료의 보관 및 전처리

- 용존산소 시료는 제일먼저 채수기로부터 받아야 하며, 시료병은 시료의 일부로 2~3회 세척
- 시료를 시료병에 받을 때 기포가 발생하지 않도록 채수기에서 20 cm 정도의 고무관을 연결하고 시료병 바닥에 정치하여 바닥에서부터 천천히 시료를 받아 시료가 충분히 넘치게(overflow) 함
- 시료병에 담긴 시료에 염화망간용액과 알칼리 요오드화나트륨용액을 각각 1 mL씩 정확히 첨가한 후 기포가 포함되지 않도록 즉시 유리마개를 닫고 상하로 여러 번 뒤집어 혼합
- 전처리가 끝난 시료는 암소에 보관하며 가능한 한 10시간 이내에 분석

#### 마) 시험방법

- 준비된 시료에 황산용액(1+1) 1 mL을 첨가하고 흔들어 침전된 수화물을 녹이며 이때 시료는 담황색을 띠
- 시료 50 mL을 정확히 취하여 250 mL 삼각플라스크에 옮기고 0.025N 티오황산나트륨용액으로 옅은 노란색이 될 때까지 적정
- 녹말지시약 1 mL을 넣고 푸른색이 없어질 때까지 조심히 적정
- 시료의 용존산소 농도는 다음과 같이 계산

$$\text{용존산소 농도}(\text{mg O}_2/\text{mL}) = A \times f \times V_1 / (V_1 - R) \times 10^3 / V_2 \times 0.2$$

A = 시료 적정에 사용한 0.025N 티오황산나트륨 용액의 양(mL)

$V_1$  = 전체 시료의 양(mL)

$V_2$  = 적정에 사용한 시료의 양(mL)

R = 시료 고정액에 사용한 시약 첨가량(mL)

f = 시료 적정에 사용한 0.025N 티오황산나트륨용액의 역가

0.2 = 산소 0.025meq에 해당되는 양(mg)



바) 시험방법-티오황산나트륨용액의 표정

- 요오드산칼륨 표준용액 20 mL를 정확히 삼각플라스크에 취한 다음 증류수 30 mL를 더하여 50 mL가 되게 만들며 동 용액에 요오드화 칼륨용액(KI) 2 mL를 첨가하고 잘 혼합한 다음 황산용액(1+1) 1 mL를 첨가하여 혼합
- 유리되어 나온 요오드를 0.025N 티오황산나트륨 표준용액으로 엷은 노란색이 될 때까지 적정
- 표정시료에 녹말지시약 1 mL를 넣고 푸른색이 없어질 때까지 계속 적정
- 검정시료 적정에 사용한 0.025N 티오황산나트륨의 양을  $V_f(\text{mL})$ 라 할 때 티오황산나트륨의 표준용액의 농도계수  $F$ 는 다음과 같음

$$F = (0.01 \times 20 \times f_{\text{KIO}_3}) / (0.025 \times V_f)$$

$$F_{\text{KIO}_3} = \text{KIO}_3 \text{의 표준시약의 factor에서 취한 KIO}_3 \text{의 g수}(0.3567)$$

$$V_f = 0.025\text{N 티오황산나트륨 표준용액 적가량}(\text{mL})$$

사) 참고사항

- 해수중의 용존산소는 염분과 수온에 따라 포화율이 변하므로 기수지역과 같이 염분변화가 큰 해역에서의 용존산소 변화, 계절에 따른 해수의 용존산소 변화 또는 유기물 산화에 의한 용존산소 감소 등을 알기위해 용존산소의 절대농도 이외에 포화율의 변화를 파악해야 함
- 주어진 염분과 수온에서의 용존산소 포화농도(DS)는 다음의 식에 의하여 계산

$$\ln(C) = -173.4292 + 249.6339(10^2 \cdot T^{-1}) + 143.3483 \ln(T \cdot 10^{-2}) - 21.8492(T^{10^{-2}}) - S(0.033096 - 0.014259) \cdot T \cdot 10^{-2} + 0.0017 \cdot T^2 \cdot 10^{-4}$$

$$C = \text{주어진 염분과 수온에서의 100\% 포화 용존산소량}(\text{mL O}_2/\text{L})$$

$$T(^{\circ}\text{K}) = 273.15 + \text{수온}(^{\circ}\text{C})$$

$$S = \text{염분}$$

$$\text{DS}(\text{mg O}_2/\text{L}) = (C \cdot 32)/22.4$$

- 측정된 시료의 용존산소 농도가  $D_M$ 일 때 용존산소 포화율은 다음과 같음

$$\text{시료의 포화율(\%)} = (D_M/D_S) \cdot 100$$

- 시료 채취시 조사해역의 수온이 15.2℃, 염분이 31.5이고 측정된 시료의 용존산소 농도가 8.50 mg  $O_2$ /L이라면 시료의 용존산소 포화율은 「(8.50÷8.27)×100」 으로서 102.8% 임
- 이 방법 이외의 분석방법 또는 자동화 분석기기를 포함한 기타 분석기기에 의한 분석은 검출한계와 정밀도를 이 방법과 비교하였을 때 동등 이상일 경우 사용

## b. 격막 전극법

### 가) 측정범위 및 정밀도

- 유효 측정범위는 기기에 따라 다소 상이하나 일반적으로 0.2 mg  $O_2$ /L 이상이고 일반적인 검출한계는 99% 신뢰구간에서 0.1 mg  $O_2$ /L이며 정밀도는 7.00 mg  $O_2$ /L에서  $\pm 0.1$  mg  $O_2$ /L 정도 임

### 나) 기구 및 기기

- 자석교반기
- 격막 전극센서를 이용한 용존산소 측정기(예, DO meter 또는 CTD 부착 용존산소센서 등): DO meter의 경우 염분 보정용 조절꼭지가 필요

### 다) 시약

- 5% 아황산나트륨용액: 무수아황산나트륨( $Na_2SO_3$ ) 5 g을 증류수에 녹여 100 mL로 만듦
- 용존산소 포화 증류수: 약 500 mL 증류수를 비이커에 담고 실온에서 약 1시간 정도 자석교반기를 이용하여 세게 교반

### 라) 시험방법

- 염분보정 조절꼭지로 염분을 맞춤
- 격막 전극센서가 시료에 완전히 잠기게 함
- 측정하는 동안 센서 주변에 와류가 일어나도록 격막 전극센서를 천천히 저어주거나 자석교반기를 이용

- 기기에 따라 센서의 감응시간이 다소 다르기 때문에 이를 고려하여 측정치가 일정하게 유지할 때까지 기다린 후 측정

#### 마) 보정

- 5% 아황산나트륨용액을 가득 채운 용기에 격막전극을 용기에 넣고 용기 입구를 밀봉 필름으로 봉한 후 자석교반기로 천천히 교반하면서 측정값이 일정해지면 기기의 영점을 맞춤
- 격막 전극센서를 증류수로 세척한 후 용존산소가 포화된 증류수를 가득 채운 용기에 격막 전극을 넣고 자석교반기로 천천히 교반하면서 측정값이 일정해지면 기기의 지시값을 용존산소 포화 증류수의 온도에 해당되는 용존산소 포화농도에 맞춤
- 이러한 격막 전극센서의 포화수 검정은 현장 조사 전에 매번 시행
- 이와 같은 기기 검정 이외에 현장에서 측정한 동일지점의 시료를 채취하여 원클러 적정법에 따라 분석한 후 격막 전극센서로 측정한 값과 비교 검정

#### 바) 참고사항

- 격막 전극센서는 격막이 항상 건조하지 않도록 증류수가 담긴 바이알에 보관
- 기름 등이 시료에 포함되어 있을 때는 격막 센서 사용 불가
- 관리부주의로 격막 센서가 건조하여 센서 내에 기포가 들어있거나 이물질이 격막에 묻어 있는 경우에는 센서를 분해한 후 센서내의 용액을 다시 보충하고 새로운 격막을 씌워 사용

### 9) 부유입자물질(SPM: Suspended Particulate Matter)

#### 가) 측정범위 및 정밀도

- 유효 측정범위는 5 mg/L 이상이며 표준편차는 대체로 200 mg/L에서  $\pm 10$  mg/L 정도임

#### 나) 기구 및 기기

- 여과기
- 유리섬유 여과지 (GF/F)
- 진공펌프

- 데시케이터
- 건조기: 105~110℃
- 전자저울: 0.1 mg까지 측정 가능해야 함
- 1,000 mL 메스실린더
- 여과지 핀셋
- Capsule 또는 Petri dish

#### 다) 시료의 보관

- 현장에서 채수기에 의해 채취된 시료는 폴리에틸렌용기에 넣어 미생물에 의한 입자의 분해를 방지하기 위해 냉장상태에서 보관하며, 채수 후 가능한 빠른 시간 내에 여과

#### 라) 시험방법

- 진공으로 흡입되는 여과기에서 여과지를 증류수로 염분이 완전히 제거될 때까지 반복하여 여과 세척
- 건조기를 이용 105~110℃에서 1시간 이상 건조시킨 후 데시케이터에 넣어 방냉한 다음 전자저울로 무게(mg)를 측정
- 일정부피의 잘 혼합된 해수시료를 준비된 여과지에 진공으로 흡인되는 여과기로 여과한 후 여과지의 염분을 제거하기 위해 약 10 mL의 증류수로 3회 반복하여 여과 세척
- 시료 여과 시에는 여과지의 물기가 거의 제거되도록 추가로 3분간 흡입·여과
- 건조기를 이용 105~110℃에서 1시간 이상 시료 여과지를 건조시킨 후 데시케이터에 넣어 방냉한 다음 전자저울로 무게(mg)를 측정
- 부유물질의 양을 여과 전(B)과 후(A)의 무게차이를 여과한 시료의 부피(V)로 나누어 계산

$$\text{부유물질의 양(mg/L)} = (A-B)/V$$

$$V = \text{여과한 시료의 부피(L)}$$

#### 마) 참고사항

- 시료에 2 mm 이상의 고형물질이 포함되어 있을 경우에는 2 mm 망목의

스크린으로 시료를 걸러낸 후 시험

- 혼탁한 해역에서 많은 부유물질로 인하여 여과 시 여과지가 막히는 경우는 시료의 부피를 조절하며 대체로 여과되는 부유물질의 양은 200 mg 이하가 적당
- 시료의 양은 여과되는 부유물질의 농도가 5 mg/L 이상이 될 수 있도록 조정

## 10) 부유입자유기탄소(Suspended Particulate Organic Carbon)

가) 측정범위 및 정밀도

- 유기탄소량의 측정범위는 시험할 때 사용하는 시료의 양과 사용하는 산화제의 농도에 따라 달라짐
- 검출한계는 0.1N 산화제를 사용할 경우 0.02%이며 표준편차율은 5% 정도임

나) 기구 및 기기

- 초자기구
- 열판: 50~120℃의 범위에서 온도조절이 가능
- 자석교반기 및 교반용 자석
- 피펫
- 유리섬유 여과지(GF/F)
- 진공펌프
- 데시케이터
- 건조기: 105~110℃
- 전자저울: 0.1 mg까지 측정이 가능해야 함

다) 시약

- 황산
- 인산
- 0.1N 중크롬산칼륨용액: 중크롬산칼륨( $K_2Cr_2O_7$ ) 0.904 g을 초순수에 녹이고 여기에 황산 10 mL를 가한 다음 정확히 1,000 mL로 만듦
- 0.1N 황산암모늄 제2철 용액: 황산암모늄 제2철  $[Fe(NH_4)_2(SO_4)_2]$  39.2 g을 정확히 취하여 초순수 200 mL에 녹이고 여기에 진한 황산 10 mL를

가하여 완전히 녹인 다음 정확히 1,000 mL로 만들며 이 이시약은 수화되어 있기 때문에 정확한 농도를 알기 위해 중크롬산칼륨용액에 대해 검정을 실시해야함

- 0.3% 글루코오즈 용액: 글루코오즈( $C_6H_{12}O_6$ ) 0.3 g을 초순수로 녹인 후 100 mL로 만듦
- 페로인 지시약

#### 라) 시료의 보관 및 전처리

- 현장에서 채수기에 의해 채취된 시료는 폴리에틸렌용기에 넣어 미생물에 의한 입자의 분해를 방지하기 위해 냉장상태에서 보관하며, 채수 후 가능한 빠른 시간 내에 여과

#### 마) 시험방법

- 여과지를 진공으로 흡인되는 여과기에서 증류수로 염분이 완전히 제거될 때까지 반복하여 여과 세척
- 건조기를 이용 105~110℃에서 1시간 이상 건조시킨 후 데시케이터에서 방냉한 다음 전자저울로 무게(mg)를 측정
- 일정 부피의 잘 혼합된 해수시료를 준비된 무게 측정한 여과지에 진공으로 흡인되는 여과기로 여과한 후 여과지의 염분을 제거하기 위하여 약 10 mL의 증류수로 3회 반복하여 여과 세척하며, 시료 여과 시에는 여과지의 물기가 거의 제거되도록 추가로 3분간 흡입·여과
- 건조기를 이용 105~110℃에서 1시간 이상 시료여과지를 건조시킨 후 데시케이터에 넣어 방냉한 다음 전자저울로 무게(mg)를 측정
- 시료 여과지 무게에서 여과지 자체 무게를 빼어 부유입자 무게를 계산
- 건조한 시료 여과지를 100 mL 삼각플라스크에 담고 0.1N 중크롬산칼륨 용액 10 mL를 넣고 메스피펫으로 황산 5 mL를 플라스크의 벽을 따라 천천히 넣은 후 잘 흔들
- 시료 여과지와 시약이 담긴 플라스크를 열판위에 올리고 90~100℃의 온도로 30분간 가열 후, 플라스크를 실온으로 식힌 후 인산 1 mL를 넣고 여기에 초순수 10 mL를 플라스크의 입구와 벽면을 세척하면서 넣음
- 플라스크에 페로인 지시약을 2~3방울 넣음
- 0.1N 황산암모늄 제2철 용액을 50 mL 용량의 뷰렛에 채운 후 이 용액으로 적정하며, 적정 시 밝은 파란색에서 진한 갈색으로 바뀔 때까지를 종

말점으로 하며 유기탄소량은 다음과 같은 식으로 계산

$$\text{유기탄소량}(\%) = \frac{(C \times (A - B)) \times F}{M}$$

C = 황산암모늄용액 농도(N)

A = 바탕시료 적정시 소모된 양(mL)

B = 시료 적정시 소모된 양(mL)

F = 글루코오즈 용액을 이용하여 구하는 시험계수

M = 시료의 무게(g)

#### 바) 표정

- 황산암모늄 제2철 용액의 농도와 위 식에서 F를 구하기 위한 글루코오즈 용액에 대한 두 가지 검정을 시행
- 황산암모늄용액의 농도를 구하기 위한 시험방법은 위 시험방법과 동일하나 가열은 하지 않음
- 시험이 끝난 후 황산암모늄의 농도는 다음과 같이 구함

$$\text{황산암모늄용액 농도(N)} = \frac{(\text{중크롬산용액농도} \times 10)}{(\text{적정시소모된양})}$$

- F를 구하기 위한 글루코오즈 용액에 대한 검정은 위 시험방법과 동일하나, 해저퇴적물 시료 대신 글루코오즈 용액 0.5mL를 넣음
- 시험이 끝난 후 시험계수 F는 다음과 같은 식으로 구함

$$F = (0.3 \times \frac{1}{100} \times \frac{72}{180}) \div (C \times (A - B))$$

C = 황산암모늄용액 농도(N)

A = 바탕시료 적정시 소모된 양(mL)

B = 시료 적정시 소모된 양(mL)

### 사) 참고사항

- 부유입자에 유기탄소량이 많아 걱정이 되지 않을 경우 다음 표에 따라 시약의 농도와 넣어주는 양을 달리하여 같은 방법으로 시험하며(표 1), 이때 계산은 위와 동일
- 부유입자물질의 유기탄소 및 질소 함량 측정은 정밀도와 정확도가 더 좋은 기기분석, 즉 원소분석기(CHN analyzer)등을 이용하여 분석할 수 있음

표 1. 부유입자 유기탄소 함량에 따라 가해지는 시약의 농도 양

부유입자 내 유기탄소량	각 시약의 농도	중크롬산 용액의 양
3% 이하	0.1N	10 mL
3-6%	0.2N	10 mL
6-9%	0.3N	10 mL
9% 이상	0.4N	10 mL

### 11) 중금속

: 장기해양생태계 연구 기본조사에서 해수 중 중금속의 분석은 Cd(카드뮴), Cu(구리), Pb(납), Zn(아연)을 실시하며 표층수 중의 용존성 중금속을 측정

#### 가) 초자의 세척

- 해수 시료 채취를 위한 모든 초자기구는 1N 이상 HNO<sub>3</sub> 용액, 1N 이상 HCl, 염산질산 및 황산으로 혼합된 왕수에서 24시간 이상 산세척 한 후 중금속 분석 전용 증류수로 3~4회 세척
- 증류수로 행군 초자는 플라스틱 재질로 만들어진 건조기내에서 건조시키거나 Clean-booth내에서 자연건조 시켜 지퍼백에 넣어 보관
- 필요한 경우 산통에서 꺼내 직후 1% DDTC 또는 1% APDC 용액으로 세척했을 때 흑색 혹은 옅은 갈색을 띠는 경우 산용액에 하루 정도 더 담가 두고 꺼내 1% DDTC 또는 1% APDC 용액으로 3~4회 세척하고 중금속 분석용 증류수로 3~4회 행군 후 건조 보관



#### 나) 해수 시료의 채취 및 보관

- 해수 시료의 채취는 선박이 영향을 미치는 장소에서 채수해서는 안되므로 바람이 불어오는 방향 및 해류가 흘러오는 방향에서 채수
- 바람이 불어오는 방향 및 해류가 흘러오는 방향에서 배의 후미에서 채취할 경우 선박으로부터 금속의 용출 영향을 받을 수 있으며 선박의 연료 연소의 분진이 극미량이라도 시료내로 유입될 경우 시료 오염의 직접적인 원인이 됨
- 채수는 PVC 장대 혹은 카본 재질의 장대에 PE tube로 끝을 싸고 1 L LDPE bottle을 PE tube 등으로 묶어 채수하거나 혹은 중금속 전용 수중 펌프(예, NIAgARA Submersible & Inline pump)를 사용하여 채수
- 수층별 채수를 위해서는 주변오염을 방지하기 위해 go-flow Niskin sampler를 사용
- PVC 장대 혹은 카본 재질의 장대를 사용하여 1 L LDPE 시료병을 사용하여 직접 채수할 경우 2~3회 소량의 현장해수로 헹구고 채수한 다음 마개를 하여 지퍼백에 담아 즉시 동결 보관
- 수중펌프를 사용하여 채수할 경우 현장해수를 약 20L정도 흘려보낸 후 중금속용 전용 필터인 groundwater sampling capsule을 연결한 다음 2~3분 정도 해수를 흘려보낸 후 1 L HDPE bottle에 시료를 받아 Ultra Pure HNO<sub>3</sub> 2.5 mL를 첨가한 후에 지퍼백에 담아 수일동안 상온에서 보관 가능하며, 만약 즉시 시료를 처리 할 수 없을 경우 냉장보관하면 2년간 유효

#### 다) 여과 및 여과 공시료

- 여과는 반드시 Class 100이하의 Laminar flow clean booth 또는 Clean room에서 실시
- 여과지는 0.45  $\mu$ m Membrane filter (Millipore HA type)를 사용하며, 여과지의 산세척을 위해 Screw cap으로 만들어진 PFA 120 mL beaker에 5% HNO<sub>3</sub> 용액을 70~80 mL를 채우고 여과지를 넣어 48시간 이상 담가둔 후에 여과 직전에 중금속 전용 초순수로서 3~4회 헹구어 사용
- 여과장치(Nalgene filter unit)를 사용할 경우에는 O-ring도 반드시 산세척을 하여 사용하여야만 하며, 고무재질(붉은색 O-ring)일 경우 사용직전에 1% HNO<sub>3</sub> 용액에 10분 정도만 담구어 산세척하고 초순수로 3~4회

세척하여 사용하고, 가급적 O-ring은 테플론 혹은 무색 실리콘을 사용하며 초자기 산세척과 같은 방법으로 산세척

- Laminar flow clean booth내에서도 여과 시 오염의 문제를 장담할 수 없을 경우 아크릴로 여과보조 시스템을 만들어 사용
- Filter Blank는 시료 여과 전, 후에 사용하던 초순수를 해수시료와 동일하게 여과, Filter Blank로 사용하기 위하여 준비

#### 라) 중금속의 분석

- 해수 중 중금속의 추출을 위한 전처리와 분석은 '해양환경공정시험방법(2005)'에 따라 실시
- 중금속 추출 및 분석에 사용되는 시약은 반드시 중금속 분석용 이상의 등급으로 사용하며, '해양환경공정시험방법(국토해양부)'에 따라 선택하여 사용
- 해수 중 중금속은 미량이므로 분석 시에는 반드시 고감도의 유도결합플라즈마 질량분석기를 이용하여 측정하며, ICP-MS를 사용할 경우 각 금속의 표준용액 외에 내부 표준용액으로 이트륨(Y-89)과 인듐(In-115)을 사용

#### 마) 분석 시 참고사항

- 해수중의 중금속 농도는 매우 미량이기 때문에 실험실 환경에서 분진에 의한 오염가능성이 상존하므로 중금속의 분석환경은 HEPA 여과 시설 및 수평기류가 가능한 청정시설의 구비가 필요
- 만일 시료를 상당기간 동안 보관해야할 때는 시료를 여과한 다음 질산으로 pH를 1.5~2.0 범위로 조절한 후 냉장보관하며, 이 경우 최대 2년까지 보관 가능
- 중금속 분석에 사용되는 대부분의 시약과 용제는 이미 미량의 금속이 함유되어 있는 경우가 많으므로, 낮은 농도의 미량금속 시료를 분석하는 경우 유리로 된 증류장치를 이용하여 시약과 용제를 재증류하거나 재결정하는 등의 정제과정이 필요
- 해수중 휴믹산(Humic acid) 같은 유기물의 농도가 높을 경우, 해수중의 중금속은 안정된 유기금속 착화합물의 형태로 존재할 가능성이 있으며, 이 경우에는 시료를 자외선을 조사하거나 산화제로 처리하여 착화합물을 분해시킨 후 분석

## ※ 분석 신뢰도 확보방안

- 아질산염, 질산염, 암모니아, 인산염, 규산염: 분석 신뢰도를 확보하기 위해서 모든 시료를 두 번이상 분석하여 평균값을 이용하고 해수 표준용액을 이용하여 보정
- 용존산소: 먼저 CTD에 달려있는 DO 센서를 이용하여 격막전극법으로 용존 산소 농도를 측정하고 2-3정점 모든 수심에서 해수를 채집하여 윙클러-아지드화나트륨 적정법으로 용존산소를 측정하여 격막전극법으로 측정한 용존 산소 농도를 보정
- 해수 중 중금속 분석에 있어서 분석신뢰도 확보를 위해서 반드시 표준물질 (SRM, Standard Reference Material)을 사용하여 회수율을 구하여 중금속 농도를 분석하고, 동일 채취지점에서 시료의 통계적 유의성을 확보하기 위하여 주변 환경에 따라 시료의 반복 횟수를 증감시킴(예, 미량 농도 시료의 경우 시료의 개수를 증가시켜 정밀도가 높은 평균 분석치를 얻음)

부록 1. CTD 관측 야장

CTD 관측 야장												
연구과제명 :		기록자 :										
정점번호 :		File Name :										
관측장비명 :		연구선 :										
관측시작위치 : 위도(		), 경도 ( )										
관측시작시각 :		년	월	일	일	시	분	정점수심 :				
해저도착시각 :		년	월	일	일	시	분	관측수심 :				
관측종료위치: 위도(		), 경도 ( )										
관측종료시각 :		년	월	일	일	시	분	정점수심 :				
채수병번호												
수심(m)												
채수병번호												
수심(m)												
기타 :		풍향 :		풍속 :		기압 :		파고 :		투명도 :		

## 저서환경

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해저 퇴적물 입도와 종류는 해저생태환경 이해를 위한 기본적인 저질특성이며 저서생물 분포 이해와 예측에 매우 유용하며 수분함량, 산소공급량, 부착세균수, 유기물 함량 등 여러 환경요소들의 함량분포가 달라짐에 따라 그 변화는 저서환경 변화의 일차적 요인이 됨
- 2) 퇴적물에 함유된 유기탄소, 총질소 및 탄산염 함량은 저서환경 및 상층 해양에서의 생산량에 대한 간접적 지표이며, 이는 해저퇴적물 중 유기물의 산소요구량을 반영하며 저서환경 질 평가 척도의 하나로 널리 사용
- 3) 퇴적물 내의 유기물 및 탄산염은 퇴적 후의 각종 속성작용(Diagenetic processes) 조절요인으로 영양염, 중금속 등 각종 물질의 해저유출량(Benthic flux)에 영향을 주어 상층 해양에서의 1차생산과 수질환경에 영향을 주는 요인으로 해양생태계 이해에 매우 중요 함

### 나. 조사항목

- 1) 입도
- 2) 유기탄소 함량
- 3) 총질소 함량
- 4) 탄산염 함량
- 5) 중금속 원소 함량

### 다. 정점의 선정

- 1) 수평분포 변화가 잘 표현되도록 채취지점 간격과 시료 수 결정
- 2) 연안의 경우 퇴적물의 지역적 공간변화가 클 가능성이 존재하므로 이 변화가 관찰될 수 있도록 시료채취 간격을 충분히 고려
- 3) 연구대상지의 기본조사정점과 동일

- 4) 중금속의 시료 채취 수심은 표층
- 5) 조사점의 위도 및 경도는 DgPS (Differential global Positioning System) 이용하여 정확하게 기록

## 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침의 시기 및 횟수와 동일
- 2) 주위여건을 고려하여 조정 가능
- 3) 중금속원소는 겨울과 여름을 필수 조사시기로 함
- 4) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 시료 채취 및 보관방법

- 표층 퇴적물은 최상부 2 cm 두께의 표면 퇴적물로 정의
- 시료채취 장비는 가능한 시료교란이 자강 적은 스미스-맥킨타이어 채취기(Smith-McIntyre grab sampler) 또는 상자형 코아 채취기(Box core) 이용
- Depth profile이 필요하거나 core-top 시료채취가 중요할 경우 multi-core를 이용
- multi-core 이용 시 plastic core에서 1 cm 간격으로 퇴적물을 밀어 올리면서 section을 채취하고 유리 jar 또는 plastic bag에 넣고 heat sealing 한 후 냉동보관
- box core 이용 시 직경 10 cm 가량의 plastic corer로 2개 정도의 subcore를 채취하고 multi-core와 마찬가지로 1 cm 간격으로 section을 채취하여 냉동 보관
- 채취과정에서 오염방지를 위해 금속재질과 접촉한 부분에서는 시료 채취 자제
- 플라스틱 재질의 도구를 사용하여 충분한 양의 시료를 폴리에틸렌병에 담아 냉장(또는 냉동) 보관
- 금속원소 함량분석을 위한 시료는 미리 산으로 세척된 폴리에틸렌병에 담

아 지퍼백에 넣어 냉동보관

- 해저 퇴적물은 비록 동일한 한 지점의 시료를 채취하더라도 여러 가지 크기의 다양한 입자들이 모여 있기 때문에 부시료를 채취·보관하고, 시료 분석과정에서 시료의 동질성(Homogeneity)이 유지되도록 잘 혼합하여 사용
- 모든 시료에 관한 정보(시료 정보기재)는 다른 연구자들이 충분히 이해할 수 있도록 양식(부록 1)에 따라 기재하여 퇴적물 시료와 함께 보관

## 2) 입도(Grain size)

- 62  $\mu\text{m}$  이상 모래입자, 건식체질 방법 적용
- 62  $\mu\text{m}$  이하의 니질 입자, 침강법(피펫법) 적용
- 체질-침강법에 의한 입도분석 방법, 국토해양부 ‘해양환경공정시험방법’ 참고
- 입자크기 구분은 기준표(부록 2) 참고

가) 측정 범위 및 정밀도

- 표준편차율은 5% 이하

나) 기구 및 기기

- 초자기구
  - 1,000 mL 용량의 경질유리의 눈금이 표시된 매스실린더
  - 50, 100, 500 mL 용량의 경질유리의 바닥이 넓은 비이커
  - 50 mL 용량의 경질유리의 홀피펫
  - 1,000 mL 용량의 경질유리의 삼각플라스크
- 증류수병: 폴리에틸렌 재질의 흰색 증류수병 사용
- 가열판
  - 표준체는 1Φ 간격으로, 4Φ에서 -2Φ까지 순서대로 구비되어 있는 체 세트(Sieve set)
  - 체의 재질은 2Φ보다 큰 체는 스텐레스 재질, 3Φ와 4Φ는 나일론 재질
  - 체 지름 25.4 cm 표준체 사용
- 깔때기
  - 지름 25.4 cm로 표준체와 같은 크기
  - PVC 재질 사용
  - 높이 30 cm 이하 권장

- 건조기: 온도 60~150℃ 범위의 온도조절 가능한 기구
- 전자저울: 무게가 디지털로 표시, 0.001 g까지 측정 가능한 것
- 젓개: 머리부분은 고무재질로 자루는 PVC로 만든 것
- 진탕기

#### 다) 시약

- 과산화수소수( $H_2O_2$ )
- 2% 칼콘용액
  - 인산나트륨( $NaPO_3$ )<sub>6</sub> 20 g을 500 mL 유리 비이커에 넣고 증류수 300 mL를 첨가
  - 가열판 위에서 인산나트륨이 다 녹을때 까지 90℃로 가열
  - 용액이 끓어 넘치지 않도록 주의
  - 인산나트륨이 다 녹으면 방냉하여 식히고 실온으로 식으면 1,000 mL 용량플라스크에 넣고 증류수로 표선까지 채움

#### 라) 시료보관 및 전처리

- 현장 채취시료는 별도의 전처리 필요 없음
- 가능하면 신속히 실험실로 옮겨 분석
- 단, 보관기간이 길어질 경우 냉장 보관

#### 마) 시료내의 유기물 제거방법

- 500 mL 비이커에 적은 상태의 채취시료 약 20~30 g을 취한 후 비이커에 약간의 과산화수소 첨가
- 과산화수소 첨가 시 유기물 분해로 인해 회연기와 거품 발생하며 이때, 거품이 비이커를 넘지 않도록 과산화수소를 천천히 조금씩 주입
- 유기물 분해 반응이 완전히 끝나 더 이상 시료에서 거품이 올라오지 않을 때 까지 반응을 지속시킴
- 실온 반응완료 후, 가열판 위에서 시료가 끓지 않을 정도인 90℃로 반응이 더 이상 일어나지 않을 때까지 가열하며 이때 거품이 가열판을 넘지 않도록 그리고 시료가 가열되어 마르지 않도록 주의
- 가열판 반응완료 후 가열판에서 내려놓고 실온으로 식힌 후 상등액을 제거하고 증류수를 주입하며, 상등액 제거 시 퇴적물이 부유되어 흘러나가지 않도록 주의



- 증류수로 채워 시료를 가라앉힌 후, 상등액 제거과정 3회 반복 후 세척
- 탄산염 함량 10% 이상인 경우, 10% 염산을 첨가하여 탄산염제거 후 3회 이상 시료세척하며 탄산염 제거는 연구목적에 따라 생략 가능 함

#### 바) 습식체질법

- 4Φ(0.062 mm) 표준체를 깔때기 위에 끼우고 이를 매스실린더 위에 걸침
- 전처리가 끝난 시료를 500 mL 비이커로부터 표준체 위로 조심해서 붓고 이때 비이커 벽면 부착입자를 증류수와 붓으로 모두 씻어내어 표준체 위로 부어야 함
- 체질 중 깔때기 밑으로 나오는 용액 혼탁도 관찰하면서 더 이상 혼탁액이 나오지 않을 때까지 체질, 체질 후 부피가 950 mL 이상 되지 않도록 주의
- 체질 완료 후, 표준체와 깔때기 분리한 후, 깔때기에 묻은 입자는 증류수를 이용하여 실린더 안으로 세척
- 표준체 내 잔존 4Φ(0.062 mm) 이상 크기 입자는 표준체를 500 mL 유리비이커에 대고 증류수병으로 위에서 아래로 씻어 내리면서 옮겨 담고 이때 비이커 밖으로 시료가 나가지 않도록 주의
- 500mL 비이커에 담긴 4Φ(0.062 mm) 이상트기 입자(모래)는 아래 건식체질법을 이용하여 분석
- 1,000 mL 매스실린더에 담긴 시료는 피펫-침강 분석법 이용

#### 사) 피펫-침강 방법

- 4Φ체를 통과하여 1,000 mL 실린더에 담긴 시료(니질시료)는 다음과 같이 처리
- 담긴 시료 부피를 증류수로 950 mL까지 정확히 조정한 후, 2% 칼콘용액을 1,000 mL 매스실린더에 첨가하여 1,000 mL로 조정하여 젓개를 이용 실린더 내부의 시료를 잘 혼합
- 너무 세게 저어 시료가 밖으로 튀어나가지 않도록 주의
- 저은 후 24시간 실온에 방치 후, 한 시료 당 7개의 100 mL 비이커를 준비해 미리 비이커 무게(0.001 g까지)를 측정해 둠
- 실린더 내 시료 응결이나 침전 없이 잘 확산되었는지를 확인 후 젓개를 이용하여 1분간 잘 젓고 50 mL 흡피펫 사용하여 아래에 제시된 시간과

깊이에서 정확하게 50 mL 씩 흡입 후, 미리 준비된 100 mL 유리 비이커에 담으며 이때 실린더가 흔들리거나 흡피펫이 흔들림에 따른 시료 교란에 주의해야 함

- 피펫팅 후 시료가 담긴 비이커를 건조기에 넣어 건조 후, 건조후 무게 (0.001 g까지) 측정
- 실린더 당 7개의 비이커를 피펫팅 한 순서에 따라 비이커 무게를 측정하여 기록
- 측정무게는 입도분석지 기록

	1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회
시간	0초	2분	8분	32분	2시간 8분	5시간 58분	24시간
깊이	25cm	10cm	10cm	10cm	10cm	7cm	7cm

#### 아) 자료분석 방법

- 4Φ 체에 걸린 사질 시료 무게측정 자료와 피펫팅 후 100 mL 비이커의 무게측정 자료를 부록3에 제시된 표에 적은 다음 각 입자 크기별 무게 계산
- 건식체질 한 자료와 피펫팅한 자료로 입도 분석지를 작성
- 부록 4에 입도분석지 기록방법 제시되어 있음
- 입도분석그래프에 가로축은 각 입자의 크기, 세로축은 입도분석지에서 계산된 누적비율로 점을 찍고 각 점을 부드러운 곡선으로 연결
- 이때 10Φ보다 작은 입자크기는 14Φ까지 직선으로 연장하여 직선으로 표시
- 곡선 완성 후 각각 5, 16, 25, 50, 75, 84, 95 퍼센타일에 해당하는 입자 크기를 그래프에서 읽어 기록
- 각 퍼센타일에 해당하는 입자의 크기를 이용하여 평균입도와 분급도 산출

$$\text{평균입도}(\varphi) = \frac{(\varphi_{16} + \varphi_{50} + \varphi_{84})}{3}$$

$$\text{분급도}(\varphi) = \frac{(\varphi_{84} - \varphi_{16})}{4} + \frac{\varphi_{95} - \varphi_5}{6.6}$$

※ Φ5, Φ16, Φ50, Φ95: 각 퍼센타일 해당 입자크기

#### 자) 참고사항

- 입도분석의 경우 정밀도와 정확도가 더 좋은 기기분석, 즉 입도분석기 등을 이용하여 분석할 수 있음

### 3) 유기탄소(Organic carbon)

- 현재 가장 널리 이용되는 원소분석기(CHN analyzer)를 이용한 분석법을 기본으로 함

#### 가) 측정 범위 및 정밀도

- 2 mg 정도 시료 분석 시 유기탄소 측정범위 0.002~100%까지 분석가능
- 최신 기기 사용 시 100 ppm까지 측정가능한 유지 가능
- 2 mg 정도 시료 분석 시 1% 미만의 % RSD (Relative Standard Deviation, 상대표준편차) 획득 가능
- 고순도 표준물질을 이용하여 고순도의 캐리어 가스, 깨끗한 기체 배관, 용기, 장비 등을 사용할 경우 이 방법의 바탕값은 5 µg·C 정도로 유지됨

#### 나) 기구 및 기기

- 원소분석기
- 아게이트 모르타르 분쇄기(Agate mortar)
- 정밀전자저울(Microbalance)
- 컴퓨터: 시료측정 소프트웨어가 장착/포함
- 연소용 용기(Tin capsule)
- 핀셋
- 동결건조기(Freeze dryer)
- 데시케이터(Desiccator)
- 가열판(Hot plate)

#### 다) 시약

- 헬륨가스(He)(99.99%)
- 산소가스(O<sub>2</sub>)(99.99%)
- 압축공기(기름이나 수분이 없어야 함)
- 금속구리(Cu)
- 산화구리(CuO<sub>2</sub>)
- 과염화마그네슘(MgClO<sub>4</sub>)
- 바나듐산은(AgVO<sub>4</sub>)
- 표준물질
- 10% 염산(HCl)

#### 라) 시료보관 및 전처리

- 냉동보관된 퇴적물 시료를 냉동건조기 내에서 냉동건조
- 완전한 건조를 위하여 40~45℃에서 48시간 이상 건조
- 건조가 완료된 시료는 아게이트 모르타르를 이용하여 곱게 분말화
- 이때 125 μm 체를 사용, 체에 걸리는 부분은 다시 분말 과정을 되풀이
- 분말화 한 시료를 균질하게 섞어 깨끗한 용기에 넣어 데시케이터 내에 보관

#### 마) 시험방법

- 건조된 퇴적물 약 0.2 g에 약 10% 염산용액 5 mL를 가하여 탄산염 광물 제거
- 가열판위에 올려놓고 온도를 50℃에서 반응이 일어나지 않을 때까지 처리
- 시료를 가열판 위에서 말린 후 냉각
- 건조시료 2~5 mg 정도를 0.01 mg까지 측정하여 연소용 용기에 담음
- 집게 사용, 시료가 들어있는 용기가 오염되지 않도록 주의
- 기기가 안정될 때까지 바탕값(Blank)을 분석
- 기기안정 후 3~5개의 시료가 들어있는 연소용 용기를 분석하고 다시 3~5개의 빈 용기를 분석
- 빈 용기분석 시의 값을 바탕값으로 책정
- 표준물질을 연소용 용기에 넣고 3~5회 정도 분석한 후 이 값을 이용하여

### 편차(Drift) 보정

- ※ 시료에 포함된 염분 양이 퇴적물 중량 및 농도에 영향을 줄 수 있으므로 퇴적물 시료의 염분함량을 측정하여 퇴적물 염분에 대한 보정 필요

### 바) 기기보정(Calibration)

- 설퍼닐 아마이드(Sulfanilamide) 또는 L-Cystine 등의 표준물질 또는 동급 이상의 표준물질을 구입하여 사용

### 사) 참고사항

- 총 질소함량을 분석하지 않을 경우, 유기탄소 함량은 탄소분석기를 이용하여 분석가능
- 원소분석기를 사용하여 유기탄소 함량을 분석할 경우 소량의 시료를 사용하기 때문에 시료의 중량특징에 의한 오차가 매우 클 가능성 존재
- 분석에 사용한 것과 동일한 시료를 실험실에서 수개월간 보관한 후 유기탄소 분석을 실시할 경우, 경우에 따라 유기탄소 함량이 25%까지 차이가 나기도 함
- 따라서 시료의 안정적인 보관(습기방지 등)과 정확한 중량측정이 매우 중요
- 시료의 건조는 냉동건조법 추천

## 4) 총질소(Total nitrogen)

- 원소분석기(CHN analyzer)를 이용한 퇴적물 내 총질소 함량분석법을 기본으로 함

### 가) 측정 범위 및 정밀도

- 2 mg 정도 시료 분석 시 유기탄소 측정범위는 0.02~50%까지 분석가능
- 최신 기기 사용 시 100 ppm까지 측정 하한 유지 가능
- 2 mg 정도 시료 분석 시 1% 미만의 % RSD 획득 가능

### 나) 기구 및 기기

- 유기탄소 함량 분석과 동일

### 다) 시약

- 유기탄소 함량 분석과 동일

라) 시료보관 및 전처리

- 유기탄소 함량 분석과 동일

마) 시험방법

- 유기탄소 함량 분석과 동일

바) 기기보정(Calibration)

- 유기탄소 함량 분석과 동일

사) 참고사항

- 유기탄소 함량 분석과 동일

## 5) 탄산염( $\text{CaCO}_3$ )

- 현재 무기탄소함량을 직접 측정할 수 있는 탄소분석기를 이용한 방법을 기본으로 함

가) 측정 범위 및 정밀도

- 탄소 분석기 측정범위는 1~10,000  $\mu\text{g-C}$ 이며 적절한 분석농도는 1,000~3,000  $\mu\text{g-C}$
- 시료중에 함유된 탄산염의 양에 따라 분석 시 사용하는 시료의 양을 적절히 조절할 필요가 있음
- 탄산염 함량 1% 이하의 시료에서 좋은 결과 획득 가능

나) 기구 및 기기

- 탄소분석기
- 산처리장치(Acidification Unit)
- 아게이트 모르타르
- 정밀전자저울
- 컴퓨터: 시료측정 소프트웨어가 장착/포함
- 동결건조기(Freeze dryer)
- 데시케이터(Desiccator)

다) 시약

- 수산화칼륨(KOH)용액
- 2N 황산은용액: 황산은( $\text{AgSO}_4$ ) 311.74 g을 초순수에 녹여 1,000 mL로 만듦

- 2N 염산용액: 분석등급의 진한염산(32% HCl)과 초순수를 1:5의 비율로 희석하여 제도
- 표준물질(99.9% 이상의 분석급  $\text{CsCO}_3$ )
- 질소가스( $\text{N}_2$ )
- 백금전극 및 은전극
- Monoethanolamine 용액
- pH 지시용액(Thymolphthalein indicator)

#### 라) 시료보관 및 전처리

- 유기탄소 및 유기질소의 시료보관 및 전처리 절차와 동일

#### 마) 시험방법

- 산처리 장치의 'Pre-scrubber'에 15~20 mL의 수산화칼륨 용액을 채우고 'Post-scrubber'에는 15~20 mL의 2N 황산은 용액을 채움
- 산 주입장치(Acid dispenser)에 2N 염산 주입
- 산처리 장치 어셈블리를 연결
- 삼각플라스크에 아무것도 넣지 않고 분석을 실시하여 바탕값을 계산
- 바탕값을 구한 후 표준물질( $\text{CaCO}_3$ ), 시료의 순으로 분석을 실시
- 시료분석 시 시료의 무게를 정확하게 측정하여(0.1 mg까지) 삼각플라스크에 넣고 어셈블리에 연결한 다음 2N 염산 4 mL를 넣고 'Coulometer'를 재시동(Reset)시켜 분석 시작

#### 바) 농도계산

- 시료 내 탄산염 탄소 함량의 계산

$$TIC(\%) = \frac{\text{실측값}(\mu\text{g}) - \text{바탕값}(\mu\text{g})}{\text{시료중량}(mg)} \times 100$$

$$\text{CaCO}_3(\%) = \frac{TIC \times 100}{12}$$

#### 사) 참고사항

- 적정 측정범위 초과 양의 탄산염이 있을 경우 분석 시간이 길어질 수 있으므로 높은 탄산염 함량이 예상되는 시료는 적은 양을 분석하도록 권장

- 적정 측정범위 이하의 탄산염 시료의 경우 역시 전기적 신호의 변화폭이 작아 분석 시간이 길어질 수 있으므로 이 경우에는 시료의 양을 많이 하는 것을 권장

#### 6) 금속원소(Metal elements: Cd, Co, Cr, Cu, Pb, Ni, Al)

- 정밀도가 높고 한번에 여러 원소를 동시에 분석할 수 있는 유도결합 플라즈마 방법을 기본으로 함

##### 가) 측정 범위 및 정밀도

- ICP-AES는 측정 범위가 선택한 파장에 따라 매우 다르지만 가장 감도가 좋은 파장을 선택하는 경우 0.001~10 mg/L 범위에서 검량선이 가능
- 측정상의 정밀도는 3번 이상에서 2% 이하의 상대 표준편차를 보임
- ICP-MS는 측정 범위가 선택하는 질량수에 따라 다르지만 간섭이 거의 없고 동위원소의 풍부도가 가장 높은 질량수를 선택하는 경우 0.0001~0.1 mg/L 범위에서 검량선이 가능
- 용액의 농도가 더 높은 경우는 희석하거나 ICP-AES를 사용권장
- ICP-MS는 ICP-AES보다 낮은 측정하한을 보이지만 총 용존고체가 0.1%를 넘지 말아야하는 단점 존재
- 퇴적물 시료를 분석할 때는 매질효과를 보정하는 내부 표준물질을 반드시 사용하여야 함

##### 나) 기구 및 기기

- 분석장비: 유도결합 플라즈마 원자방출기(ICP-AES)/유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS)
- 용기: 테플론 용기/플라스틱 용기(PE 혹은 PP 재질)
- 전자저울
- 원심분리기: 최소 50mL 용량 원심관을 랙에 담아 원심분리 할 수 있는 것으로 최소 중력단위 2,000×g 까지 회전 가능한 기종
- 피펫
- 용량플라스크
- 플라스틱용기



#### 다) 시약

- 진한 질산(65%  $\text{HNO}_3$ ), 진한 염산(30%  $\text{HCl}$ ), 진한 과염소산(70%  $\text{HClO}_4$ ), 진한 불산(48%  $\text{HF}$ )
- 1N 질산용액: 71 mL의 질산을 1,000 mL의 초순수로 희석
- 1% 질산용액: 10 mL의 질산을 1,000 mL의 초순수로 희석
- 표준원액: 유도결합 플라즈마 원자방출기용 표준원액
- 2 해저퇴적물 표준물질(Standard reference material, SRM)

#### 라) 시료보관 및 전처리

- 유기탄소 함량분석에서의 방법과 동일

#### 마) 시험방법

- 채취 후 냉동보관중인 시료를 동결건조기에 넣어  $-80^\circ\text{C}$ 에서 동결건조
- 건조시료는 볼밀(Ballmill) 또는 막자사발을 사용하여 곱게 분쇄 후 폴리에틸렌병에 보관
- 가능한 빠른 산분해를 위해 시료를 62  $\mu\text{m}$  체에 모두 통과될 때까지 분쇄
- 분마된 퇴적물 시료 약 0.2 g을 테프론 비이커에 넣고 질산 10 mL, 진한 과염소산 5 mL, 진한 불산 10 mL을 첨가하여 퇴적물 시료가 완전히 용해될 때까지 반복 반응
- 초단파 분해장치(Microwave)를 사용할 경우 테프론 셀에 질산 5 mL, 과염소산 5 mL를 첨가하거나 기기의 최적상태 또는 기기회사에서 지정한 용량을 준수
- 퇴적물이 완전히 분해되면 질산 2 mL을 가하여 남아있는 불산을 완전히 휘발시킨 다음 1N 질산 50 mL를 가하여 가열판 위에서 따뜻한 상태로 하여 완전 분해된 원소들을 용존시키고 1N 질산용액을 사용하여 100 mL로 정용하여 측정용 시료액으로 함
- 바탕용액 및 해저퇴적물 표준물질도 시료와 동일한 조작을 행하여 시료 개수의 10%에 해당하는 개수를 준비- 이외의 산분해방법은 표준방법(Standard methods)에 준함
- 준비된 시료액을 유도결합 플라즈마 원자방출기 질량분석기 또는 원자흡광광도계로 분석
- 원자흡광광도계를 이용한 분석은 '해양환경공정시험법'에 제시된 지침에

## 준합

### 바) 기기보정(Calibration)

- 표준액의 조제, 시료측정

### 사) 참고사항

- 퇴적물 용해 시료는 총 용존고체가 매우 높은 시료로써 ICP-AES는 22%, ICP-MS는 0.1% 이하로 조정하여야 함
- ICP 및 ICP-MS 이용시 기기최적화 과정을 반드시 거친 후 시료를 분석하여야 함
- 시료분석 중간에 공시료 표준용액, 반복시료 등 자료의 정도 관리용 시료를 함께 분석함
- 불산은 수 mL만 몸에 닿아도 치명적이므로 반드시 온몸을 감싸는 보호장구를 착용하도록 하고 실험실에 칼슘글루코네이트 연고를 비치하여 실험자는 반드시 이 연고를 실험복에 휴대하고 실험을 행한 날은 항상 몸에 휴대하도록 함
- 실험실에 HF의 MSDS(Material Safety Data Sheet)를 반드시 비치하여 유사시에 대비함

## ※ 분석 신뢰도 확보방안

- 모든 시료의 중복분석(Dual 또는 Triple analysis)을 통한 분석방법의 정밀도 검증
- 표준시료 분석을 통한 분석법의 정확도 검증
- 실험실 간 교차분석(Inter-lab calibration)을 통한 재현성 검증
- 외부 전문가를 이용한 자료 검증 등의 수행 필요
- 정확도(Accuracy) 검증
  - 공인된 해저 퇴적물 표준시료(BCSS-1, PACS-1, MESS, MEG-1 등)나 고순도 합성물질(Acetanilide,  $\text{CaCO}_3$  등)을 동시분석하여 정확도를 항상 확인
  - 총시료수의 10%에 해당하는 개수의 표준시료를 분석
  - 그 결과와 제시된 농도 값을 비교한 후 회수율(Recovery ratio)을 계산하여 분석된 시료의 결과와 함께 제시

### ※ 정밀도(Precision) 검증

- 일정농도의 측정값에서 신뢰구간에 해당되는 확률변수를 표준편차에 곱한 값으로 표현하는 것을 원칙
- 그 외 표준편차 또는 표준편차율로도 표현 가능
- 동일 시료를 3회 이상 반복측정하여 평균값 사용
- 유기탄소, 총질소 및 탄산염 함량의 분석에서는 전체 시료의 20% 이상을 중복 분석 하여 정밀도를 검증
- 시료개수 10개당 표준시료를 분석하여 정확도를 검증
- 입도의 경우에는 전체 시료의 10% 이상을 중복 분석하여 정밀도를 검증
- 국내 외부 전문가에게 결과를 공개-검증

## 부록 1. 퇴적 및 지화학 조사 시료정보 기록장

시료 정보	
· 시료번호:	채취일시:    년    월    일    시
· 조사구역:	위치:            N,            E
· 정점수심:                            m	시료채취장비:
· 시료채취 전/후의 일기현황: 예) 폭풍후 2일, 태풍전 5일, 홍수 후 3일 등	
· 기타사항:	
· 작성자 소속 및 성명:	
현장에서 관찰한 일반적 시료특성	
· 시료의 색	· 퇴적상:
· 시료의 냄새: (예, 황화수소나 유기물 썩은 냄새 등)	
· Bioturbation 정도 (눈에 보이는 생물 구멍이 표면에 있는지 등)	
· 패각편 함량: 많다 (    ), 적다 (    ), 산재 (    ), 없다 (    )	
· 자갈 함량: 많다 (    ), 적다 (    ), 산재 (    ), 없다 (    )	
· 모래 함량: 많다 (    ), 적다 (    ), 산재 (    ), 없다 (    )	
· 니질 함량: 많다 (    ), 적다 (    ), 산재 (    ), 없다 (    )	
· 기타 특이 사항:	

## 부록 2. 퇴적물 입자크기 구분 기준표

입자크기 구분 기준표			
입자크기	입자구분	메쉬	파이( $\Phi$ )
256 mm 이상	거력(boulder)		-8
64 mm 이상	왕자갈(cobble)		-6
4 mm 이상	자갈(pebble)	5	-2
2 mm 이상	왕모래	10	-1
1 mm 이상	극조립질모래	18	0
1/2 mm 이상 (0.5 mm)	조립질모래	35	1
1/4 mm 이상 (0.25 mm)	중립질모래	60	2
1/8 mm 이상 (0.125 mm)	세립질모래	120	3
1/16 mm 이상 (0.062 mm)	미세립질모래	230	4
1/32 mm 이상 (0.031 mm)	조립질실트		5
1/64 mm 이상 (0.016 mm)	중립질실트		6
1/128 mm 이상 (0.008 mm)	조립질실트		7
1/256 mm 이상 (0.004 mm)	세립질실트		8
1/256 mm 이하 (0.004 mm 이하)	점토		9

※ 파이는  $-\log_2(\text{입자직경})$ 로서 산출하며, 메쉬는 길이 1인치에 들어가는 눈금의 수

## 부록 3. 퇴적물 입도 분석지

입도 분석지								
시료번호					실린더번호			
500 mL 비이커 번호								
입자크기						시료무게 ⑥	무게비율 ⑦	누적비율 ⑧
-2						a		
-1						b		
0						c		
1						d		
2						e		
3						f		
4						g		
	비이커 번호 ①	비이커 무게	비이커 +시료 무게	시료무 게 ②	시료무 게×20 ③	크기별 무게 ④		
5 (1회)					h	h-i		
6 (2회)					i	i-j		
7 (3회)					j	j-k		
8 (4회)					k	k-l		
9 (5회)					l	l-m		
10 (6회)					m	m-n		
11 (7회)					n	n-l ⑤		

## 부록 4. 퇴적물 입도 분석지 기록방법

## 입도 분석지 기록방법

- 사용되는 100 mL 유리 비이커는 실린더의 순서와 피펫팅하는 순서에 따라 기록
- 시료무게는 (비이커+시료무게)-(비이커의 무게)의 식'으로 산출
- 1,000 mL의 시료에서 50 mL만 뽑아냈으므로 20을 곱함
- 중력에 의해 무거운 입자가 먼저 떨어지므로 각 피펫팅 횟수에 따라 가라앉은 입자들의 무게를 빼주기 위해 1회 피펫팅 시료에서 2회 피펫팅 시료를 빼고, 2회에서 3회 시료를 빼는 식으로 점차적으로 산출
- 건식체질에 의해 얻은 자료를 크기별로 기록
- 각 입자 크기의 무게를 모두 더한 다음 각 크기의 입자무게에서 총 무게를 나누어 계산

$$(\text{무게비율} = \frac{\text{크기별 무게}}{\text{크기별 무게의 합}} \times 100)$$

- 누적비율은 무게비율을 점차 더해가며 계산. 따라서 맨 마지막 누적비율은 100이 됨

## &lt;참고사항&gt;

- 강법(피펫법)의 경우, 조립질 실트 입자들의 빠른 침전, 측정시작 이전에 실시하는 혼합과정에서 야기되는 난류(Turbulence)가 잔존하는 효과 등이 복합적으로 나타날 수 있음
- 니질부분의 입도분석에 있어서 침강법(피펫법) 대신 레이저 회절법을 이용한 기기분석법을 활용하고자 하는 경우에는 통계적 자료분석이 충분하도록 일부 시료에 대하여 침강법과 기기분석법을 동시에 실시한 후 서로의 결과에 대하여 편차 보정을 반드시 실시하여야 함

---

## 저차생태

---

### ◆ 목적 및 필요성

- 저차생태는 해양생태계에 기초생산자, 분해자 및 생산자와 소비자를 연결하는 먹이사슬의 축으로서 물질순환과 해양생태계 이해에 매우 중요한 역할을 하므로 종합 생태계를 파악하기 위해서는 기본적으로 관측되어야 함
- 해양생태계 구조의 저차단계로 시·공간적 자료 구축

### ◆ 조사항목

- 바이러스
- 박테리아
- 식물플랑크톤
- 저서미세조류
- 동물플랑크톤

### ◆ 정점의 선정

- 연구대상지의 정점과 동일



---

## 바이러스

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해양바이러스는 연안 표층에서 약  $10^7$  viruses/mL 로 많이 존재하며, 해양생태계를 구성하는 대부분의 생물군을 숙주로 하여 번식함으로써 해양에서의 생지화학적 물질 순환에 중요한 역할을 담당
- 2) 해양바이러스의 생태적인 기능과 다양성의 연구는 해양생태계의 하부구조를 이해하기 위해서 반드시 수행하여야 할 조사항목임

### 나. 조사항목

- 1) 바이러스 개체수
- 2) 바이러스 생산력
- 3) 용원성(lysogeny) 박테리아
- 4) 바이러스 군집구조(PCR-DGGE)

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 기본조사 지침 시기 및 횟수 시동일
- 2) 바이러스 군집구조(PCR-DGGE)는 대표적인 정점의 3개 수심(0, 20, 100 m)을 채수 분석함
- 3) 모든 채수와 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 바이러스 개체수 측정

가) 바이러스 개체수 측정을 위한 해수시료 채수 및 수심

- 채수기(Niskin bottle, 10 L)를 이용한 해수시료 채수
- 정점 별로 수심(0, 10, 25, 50, 100 m)을 고려하여 채수
- 채집된 해수는 멸균된 4 L 폴리에틸렌 무균 채수병에 4 L의 해수를 보관

나) 바이러스 개체수 측정시 필요한 시약 및 재료

- SYBR<sup>®</sup> Gold (Invitrogen, Ca. S-11494) 또는 SYBR<sup>®</sup> Green I
- 증류수: 공치수(pore size)가 0.02  $\mu\text{m}$ 인 syringe filter (Whatman Syringe Filter 6809-4102)로 여과후 고압멸균기를 이용하여 121°C에서 15분간 멸균된 3차 증류수를 사용함
- SYBR<sup>®</sup> Gold (또는 SYBR<sup>®</sup> Green I)의 작업용액(working solution) 준비.  
SYBR<sup>®</sup> Gold 염색 시약의 농도는 10,000×의 고농도이기 때문에 아래의 희석 과정을 통하여 작업 용액(최종 농도 4×)을 제작:
  - ① SYBR<sup>®</sup> Gold 시약은 빛에 민감하므로 아래의 실험은 어두운 곳에서 수행한다. 증류수를 이용하여 SYBR<sup>®</sup> Gold를 10배 희석한다(예, SYBR<sup>®</sup> Gold 10  $\mu\text{l}$  + 증류수 90  $\mu\text{l}$ ). -20°C에서 냉동 보관 가능함
  - ② 10배 희석된 SYBR<sup>®</sup> Gold 시약 용액을 증류수를 이용하여 250배 희석한다(예, 10배 희석된 SYBR<sup>®</sup> Gold 시약 용액 100  $\mu\text{l}$  + 증류수 24.9 ml). -20°C에서 냉동 보관 가능하다. 이 용액을 본 실험의 작업 용액으로 이용
- 공치수가 0.02  $\mu\text{m}$ 이고 여과지의 지름이 25 mm인 아노디스크 필터( $\text{Al}_2\text{O}_3$  Anodisc Filter (Whatman, 6809-6002))
- 공치수가 0.45  $\mu\text{m}$ 이고 여과지의 지름이 25 mm인 cellulose mixed ester membrane filter
- 포르말린 완충용액: 시그마알드리치코리아에서 포르말린 용액 (Sigma, F8775)을 구입한 후 sodium borate를 30 g/L로 첨가하여 포르말린 완충용액을 제작한다. 제작된 포르말린 완충용액은 0.02  $\mu\text{m}$  filter로 여과하여 시료의 고정시약으로 사용
- 5% (w/v) p-phenylenediamine (Sigma, D9740): p-phenylene diamine

을 증류수에 녹여 사용한다. 제작한 시약은 1.5 ml Eppendorf tube에 1 ml씩 분주한 후, 냉동 보관함(냉동과 해동을 반복하면 시약의 색깔이 짙어지는데, 제작할 때에 비해 색깔이 뚜렷하게 짙어진 시약은 사용하지 말아야 함)

- Pipette, Tips , Slide glasses, Cover glasses, Petri dish

- 진공 펌프(vacuum pump)

- Antifade mounting oil의 제작

1.5 ml Eppendorf tube에 100% glycerol과 PBS (0.05 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.85% NaCl, pH 7.5) 완충용액을 1:1로 혼합 함. 제작된 glycerol+PBS 용액에 최종 농도 0.1%가 되도록 5% p-phenylenediamine을 첨가한 후 공치수 0.02  $\mu\text{m}$ 인 syringe filter로 여과하여 Antifade mounting oil을 제작한다. Antifade mounting oil은 실험 당일에 제작하여 사용함

다) 선상 시료처리 및 보관

- 채취된 해수 시료는 최종농도 2%가 되도록 포르말린을 이용하여 고정

- cellulose mixed ester membrane filter를 유리 재질의 여과장치인 filter holder 위에 올려놓음

- Cellulose mixed ester membrane filter 위에 아노디스크 필터를 올려놓음

- Pipette을 이용하여 포르말린으로 고정한 시료 0.7 mL을 아노디스크 필터의 정중앙 부분에 조심스럽게 떨어뜨림(외양 시료 또는 수심 100 m 시료의 경우에는 0.7 mL씩 2-5회 여과하여 총 1.4-3.5 mL의 시료를 여과함)

- 20 kPa 정도로 진공펌프를 작동시켜 시료를 여과

- 해수 시료가 아노디스크 필터에 완전히 여과되면, 진공 펌프가 작동 중인 상태에서 핀셋을 이용하여 아노디스크 필터를 filter holder로부터 분리시켜 염색 단계를 준비

<주의사항> 수직으로 급하게 들어 올리면 아노디스크 filter가 깨질 수 있으니, 바깥쪽 대각선 방향으로 천천히 들어올린다.

- SYBR® Gold 시약의 작업용액을 100 µl 정도를 오염되지 않은 Petri dish 위에 떨어뜨림
  - 해수 시료 0.7 ml을 여과한 아노디스크 필터의 여과한 면이 위를 향하도록 하여 놓은 다음, 암조건에서 15분간 염색
  - 염색이 완료되면, 시료가 여과된 면이 위를 향하도록 아노디스크 필터를 Kimwipes 위에 놓아 아노디스크 필터에 묻어 있는 여분의 SYBR® Gold 용액을 제거
  - 염색 완료된 아노디스크 필터를 여과한 면이 위로 향하도록 하여 슬라이드글라스에 올린 후, 커버글라스에 Antifade mounting oil을 적당량(2-3 방울) 떨어뜨린 후 덮어 슬라이드 제작을 완료(제작된 슬라이드글라스는 슬라이드 보관함에 넣어 -20℃ 냉동 보관 가능)
- 라) 에피형광현미경을 이용한 바이러스 개체수 측정 분석
- 현장에서 제작된 슬라이드를 실험실로 운반한 후, 1,000-1,250배 배율로 에피형광현미경을 이용하여 관찰
  - 에피형광현미경의 Blue 파장(450-475 nm)에서 green 형광색으로 관찰되는, 0.2 µm 정도 크기의 바이러스 개체수를 측정
  - 측정 오차를 줄이기 위해 최소 바이러스 개체수 측정은 전체 500 counts 이상이 되도록 계수함
  - 아래 수식을 이용해 해수 1 mL당 평균 바이러스 개체수를 계산

$$\text{바이러스 개체수} = \text{전환 상수} \times \text{각 field의 바이러스 평균 수} / \text{filter volume (mL)}$$

## 2) 바이러스 생산력 측정

가) 바이러스 생산력 측정을 위한 해수시료 채수 및 수심

- 채수기(Niskin bottle, 10 L)를 이용한 해수시료 채수
- 바이러스 생산력을 측정하기 위해서는 박테리아 생산력의 자료가 필수적으로 필요하기 때문에, 바이러스 생산력 측정을 위한 시료는 박테리아 생산력 측정을 위한 시료와 동일한 수심에서 채수

## 나) 바이러스 생산력 측정시 필요한 시약 및 기기

- 전자 현미경 grade의 glutaraldehyde (70%): 냉동 보관함
- 1% (w/v) uranyl acetate: 멸균된 증류수에 녹이며, 0.02  $\mu\text{m}$  공치수의 syringe filter에 여과한 후 사용함. 빛을 차단시켜 냉장 보관
- 1% (w/v) poly-L-lysine: 멸균된 증류수에 녹이며, 0.02  $\mu\text{m}$  공치수의 syringe filter에 여과한 후 사용함. 냉동 보관
- 200 (or 400) mesh Formvar-coated (또는 carbon-coated) copper (또는 nickel) grid
- 증류수: 0.02  $\mu\text{m}$  공치수의 syringe filter에 여과하고 autoclave한 후 사용
- 초고속 원심 분리기 (ultracentrifuge)
- 초고속 원심 분리용 시험관
- 초고속 원심 분리용 swinging-bucket rotor
- grid platform: 원심 분리용 시험관의 바닥에 밀착되며 grid를 올려놓을 수 있는 편평한 면을 갖는 테플론 재질의 platform (그림 1)
- 투과전자현미경 (transmission electron microscope; TEM): 가속 전압 80-100 kV의 성능
- 정밀 저울: 10 mg 단위까지 측정 가능한 성능
- 전자 현미경 용 핀셋
- 멸균된 50 ml, 15 ml conical 시험관
- Parafilm, Whatman No. 1 여과지, pipette, pipette tips, grid를 저장할 상자

## 다) 선상 시료처리 및 저장

- 해수 시료 20-50 ml를 최종농도 2%가 되도록 전자 현미경 grade의 glutaraldehyde를 첨가하여 고정한다.
- 해수 시료를 고정한 후 일주일 이내에 초고속 원심 분리를 이용하여 실험실에서 시료 처리('라. 실험실에서의 시료 처리' 참조)가 가능한 경우, 고정된 시료는 4°C 또는 냉동 저장하여 실험실로 운송한다.

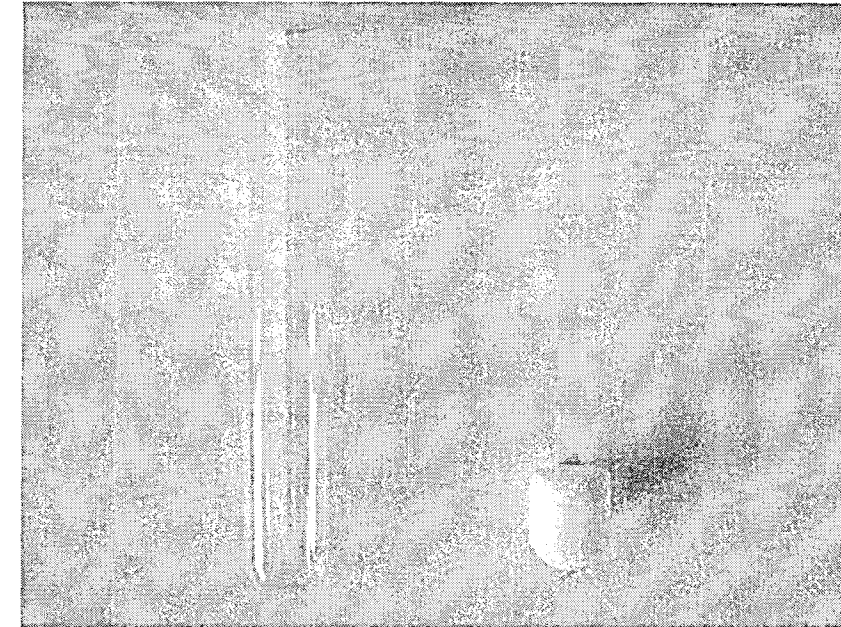


그림 1. 초고속 원심 분리용 시험관 (왼쪽) 및 grid platform (오른쪽)

- 해수 시료를 고정된 후 장기 저장(일주일-한달)이 불가피할 경우, 고정된 시료는 4°C에 저장하며 저장 기간 동안의 박테리아 개체수의 감소율을 측정하여 투과전자현미경으로 관찰 가능한 감염된 박테리아의 비율 (frequency of visibly infected bacteria; FVIB)을 보정('사. 장기 저장된 시료에 대한 FVIB값의 보정'을 참고)한 후 바이러스 생산력을 추정

라) 실험실에서의 시료 처리

- TEM grid의 Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면이 친수성을 갖게 하기 위하여, parafilm에 한 방울(약 20  $\mu$ l)의 1% (w/v) poly-L-lysine 떨어뜨린 후 Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면을 1분 동안 접촉시킴[Suttle 1993; Enumeration and isolation of viruses. In: Kemp, P. F., B. F. Sherr, E. B. Sherr, and J. J. Cole. (eds) Handbook of methods in aquatic microbial ecology. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 127-129]
- grid를 poly-L-lysine에서 떼어내고, grid에 묻어 있는 용액을 여과지 (Whatman No. 1)로 흡수시켜 제거(Formvar-coated 면에 직접 접촉시키지 않고, grid의 테두리 부분에 여과지를 접촉시켜 용액을 흡수시킴)
- 고정된 해수 시료(10 ml)을 초고속 원심 분리용 시험관에 넣는다(냉동된

- 해수 시료의 경우 cold tap water로 시료를 천천히 녹여 사용)
- grid platform을 넣고, Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면이 위를 향하도록 TEM grid를 넣음
  - rotor에 초고속 원심 분리용 시험관을 넣은 후, rotor의 시험관 무게를 측정한다. 모든 시험관의 무게가 동일하도록 각 초고속 원심 분리용 시험관에 해당 시료를 첨가한다. 균형(balance)이 맞지 않을 경우, 원심 분리 중에 rotor의 이탈에 의한 심각한 기기의 파손이 발생할 수 있음
  - 초고속 원심 분리를 이용하여 원심 분리(25°C, 30,000 x g, 30분)를 수행
  - 원심 분리가 종료된 후, rotor에서 초고속 원심 분리용 시험관을 꺼내고, pipette을 이용하여 해수 시료를 제거
  - 전자현미경 용 핀셋을 이용하여 grid를 꺼낸 후, grid에 묻어 있는 염분을 제거하기 위해 parafilm에 세 방울(각각 약 20  $\mu$ l)의 증류수를 떨어뜨린 후, 각 증류수 방울에 대해 Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면을 30초 접촉시키고, grid에 묻어 있는 용액을 여과지(Whatman No. 1)로 흡수시켜 제거
  - grid 상의 박테리아를 염색하기 위하여, parafilm에 한 방울(약 20  $\mu$ l)의 1% (w/v) uranyl acetate 용액을 떨어뜨린 후 grid의 Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면을 1분 동안 접촉시킴
  - grid에 묻어 있는 uranyl acetate 용액을 제거하기 위해 parafilm에 세 방울(각각 약 20  $\mu$ l)의 증류수를 떨어뜨린 후, 각 증류수 방울에 대해 Formvar-coated (또는 carbon-coated) 면을 30초 접촉시키고, grid에 묻어 있는 용액을 여과지(Whatman No. 1)로 흡수시켜 제거
  - grid를 저장 상자에 넣은 후, 실온에서 건조 시킴(약 12시간)
- 마) 투과전자현미경을 이용한 관찰 가능한 감염된 박테리아의 비율(FVIB)과 burst size 측정
- 투과전자현미경의 가속 전압을 80-100 kV로 조절한 후, grid 시료를 넣음. 30000-50000배의 배율로 박테리아를 관찰하며, 박테리아의 내부에 virus-like particle (VLP; electron-dense particles, 그림 2)이 적어도 5개 이상이 관찰된 경우 바이러스에 감염된 박테리아로 판정함

- 적어도 감염된 박테리아가 20개체 이상이 될 때까지 또는 관찰한 전체 박테리아 개체수가 700개체 이상이 될 때까지 관찰
- FVIB는 아래와 같이 계산

$$\text{FVIB} = \frac{\text{TEM으로 관찰하여 측정한 바이러스에 감염된 박테리아의 개체수}}{\text{관찰한 전체 박테리아의 개체수}}$$

- burst size (박테리아를 용균시키고 방출될 때의 바이러스 개체수)는 감염이 관찰된 박테리아의 내부에 존재하는 바이러스의 평균 개체수로 결정



그림 2. 투과전자현미경으로 관찰한 바이러스에 감염된 박테리아의 예시

#### 바) 바이러스의 생산력

- 바이러스의 생산력(VP)은 아래와 같이 계산 [Noble & Steward 2001; Estimating viral proliferation in aquatic samples. In: Paul, J. H. (ed) Methods in microbiology, Vol 30. Marine microbiology. Academic



Press, London, pp 67-83].

$$VP = Z \times FMVL \times BP$$

Z: burst size

FMVL : the fraction of mortality from viral lysis

BP : 박테리아 생산력

여기에서 FMVL은 아래와 같이 FVIB로부터 계산될 수 있다.

$$FIB = FVIB \times 7.11$$

[Weinbauer et al. 2002; Reconsidering transmission electron microscopy based estimates of viral infection of bacterioplankton using conversion factors derived from natural communities. Aquat. Microb. Ecol., 27:103-110]

$$FMVL = (FIB + 0.6FIB^2) / (1 - 1.2FIB)$$

[Binder 1999; Reconsidering the relationship between virally induced bacterial mortality and frequency of infected cells. Aquat. Microb. Ecol., 18:207-215]

사) 장기 저장된 시료에 대한 FVIB값의 보정

- 장기 저장된 시료에 대한 FVIB값의 보정은 Hwang & Cho (2008)에 의해 제안된 방법을 이용한다. 즉, 시료의 저장 기간 동안 전체 박테리아 개체수의 감소율(decay rate)를 측정하고, 초기 박테리아 개체수, 저장이 종료된 시점에서 측정된 박테리아 개체수 및 FVIB의 값으로부터 초기의 FVIB 값을 추정하는 방법이다.
- 박테리아 개체수의 감소율을 측정하기 위해서 저장 초기(예를 들면, 일주일 저장)에는 1-2일 간격으로, 일주일 이상 경과된 경우에는 3-4일 간

격으로 고정된 시료를 subsampling하여 박테리아 개체수를 측정한다. 현장에서 측정이 불가능한 경우, glass slide preparation을 하여 냉동 보관

- 아래의 방법으로 초기의 FVIB 값( $FVIB_i$ )을 추정(자세한 내용은 'Hwang & Cho (2008); Effects of storage on the estimates of virus-mediated bacterial mortality based on observation of preserved seawater samples with TEM. Aquat. Microb. Ecol., 52:263-271'의 논문을 참고)

$$FVIB_i = 1 - \frac{BA_f(1 - FVIB_f)}{BA_i \cdot e^{D_{OBA} \times t}}$$

$D_{OBA}$  : 저장 기간 동안의 non-infected or not visibly infected 박테리아 개체수의 감소율. 이를 대신하여 전체 박테리아 개체수의 감소율을 이용함 ( $d^{-1}$ )

$t$  : 저장 기간 (d)

$BA_i$  : 저장을 시작할 시점에서의 박테리아 개체수

$BA_f$  : 저장을 종료할 시점에서의 박테리아 개체수

$FVIB_f$  : 저장을 종료할 시점에서 측정된 FVIB 값

### 3) 용원성(lysogeny) 박테리아의 개체수 측정

#### 가) 해수시료 채수 및 수심

- 채수기(Niskin bottle, 10 L)를 이용한 해수시료 채수
- 표층 또는 혼합층 내의 1-2개 수심과 혼합층보다 깊은 1개 수심(예, 100 m)

#### 나) 시약 및 기기

- Mitomycin C (1 mg/ml): 0.02  $\mu$ m 공치수의 syringe filter로 여과한 후 고압 멸균한 증류수를 이용하여 녹여 이를 작업 용액(working solution)으로 사용함. 작업 용액은 빛을 차단시키고 냉동 보관
- 포르말린 완충용액: 포르말린 용액에 sodium borate를 30 g/L로 첨가하

여 포르말린 완충용액을 제작함. 제작된 포르말린 완충용액은 0.02  $\mu\text{m}$  filter로 여과하여 시료의 고정시약으로 사용

- 바이러스 개체수 측정에 필요한 시약 및 기기('1) 바이러스 개체수' 참조)
- 바이러스 생산력 측정에 필요한 시약 및 기기('2) 바이러스 생산력' 참조)
- 멸균된 50 ml, 15 ml conical tube
- pipette, pipette tips

#### 다) 선상 시료처리 및 저장

- 해수 시료를 4개의 멸균된 50 ml conical tube에 50 ml씩 나누어 넣는다. 2개의 해수 시료에 50  $\mu\text{l}$ 의 mitomycin C (1 mg/ml)를 첨가한다(최종 농도 1  $\mu\text{g/ml}$ ; 실험구). 나머지 2개의 해수 시료에는 50  $\mu\text{l}$ 의 증류수를 첨가(대조구)
- 대조구와 실험구 시료를 현장 해수의 수온으로 암배양한다. 배양을 시작한 시점에서의 박테리아와 바이러스 개체수를 측정하기 위하여 각 시료에서 8 ml을 subsampling하여 최종 농도가 2%가 되도록 포르말린 완충용액을 첨가하여 고정한다. 본 지침서의 '1) 바이러스 개체수'에서의 방법에 따라 glass slide preparation을 수행하여,  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관
- 8시간 간격으로 각 시료에서 8 ml을 subsampling하여 최종 농도가 2%가 되도록 포르말린 완충용액을 첨가하여 고정한다. 본 지침서의 '1) 바이러스 개체수'에서의 방법에 따라 glass slide preparation을 수행하여,  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관
- 배양 후 24시간이 경과할 때까지 실험을 수행(100 m 수심의 시료의 경우에는 추가로 48시간 배양 시료까지 확보함)
- 본 지침서의 '바이러스 개체수 측정' 방법에 따라 에피형광현미경을 이용하여 바이러스의 개체수를 측정하여, 대조구와 실험구에서 배양 시간에 따른 바이러스 개체수의 변화를 분석
- 현장 박테리아의 burst size (박테리아를 용균시키고 방출될 때의 바이러스 개체수)를 측정하기 위한 시료로써 현장 해수 시료(20-50 ml)를 최종농도 2%가 되도록 전자 현미경 grade의 glutaraldehyde를 첨가하여 고정(이후 burst size 측정 방법은 '2) 바이러스 생산력' 방법을 참조)

#### 라) 용원성 박테리아의 개체수 분석

- 용원성 박테리아의 개체수는 실험구에서의 바이러스 개체수가 대조구에 비해 유의하게 높은 배양 시점에서의 자료를 대상으로 다음과 같이 계산

$$\text{용원성 박테리아의 개체수} = (\text{실험구 시료에서의 바이러스 개체수} - \text{대조구 시료에서의 바이러스 개체수}) / \text{burst size}$$

- 또한 현장의 박테리아에서 용원성 박테리아가 차지하는 비율(%)은 다음과 같이 계산

$$(\text{용원성 박테리아의 개체수} / \text{현장의 박테리아 개체수}) \times 100$$

#### 4) 바이러스 군집구조(PCR-DGGE)

##### 가) 시료채집

- 니스킨 채수기(Niskin bottle, 10 L)로 해수를 채수
- 정점 별로 수심을 고려하여 채수 (기본적으로 0 m: 10 L 이상, 20 m: 10 L 이상, 100 m: 20L 이상 채수)
- 채수된 해수는 멸균된 4 L 폴리에틸렌 시료병에 보관

##### 나) 선상 시료처리

- 공치수 0.2μm Cellulose acetate filter에 해수를 prefilter하여 VLP (viral like particle) 보다 큰 박테리아와 동·식물 플랑크톤 등을 제거
- 바이러스 농축: Proflux M-12 (Amicon)과 같은, 또는 이와 유사한 Ultrafiltration을 이용해 prefilter 된 해수를 약 200 mL 까지 농축시킴. 농축된 시료는 4℃, 압조건에서 보관하거나 또는 현장에서 바로 Centriplus YM-100 (Amicon)을 이용하여 원심분리기로 3000 rpm에서 30-90초 정도로 수 회 농축하여, 최종적으로 약 2 mL까지 농축시킴

##### 다) 시료 분석

- 바이러스 핵산 추출 단계: 바이러스의 genomic DNA 추출 및 정제는

Allawi et al. (2006) 방법에 따라 농축한 해수 시료를 QIAamp minielute virus spin kit (Qiagen) 또는 이와 유사한 kit를 사용하여 DNA를 추출

- 특정 바이러스 군집의 유전자에 특이적인 degeneracy primer set를 이용하여 PCR을 수행

바이러스	Degeneracy primer	서열
Algal virus	AVS1	5'-GA[A/G]GGIGCIACIGTI(T/C)TIG A(T/C)GC-3'
	AVS2	5'-GCIGC(A/G)TAIC(G/T)(T/C)TT( T/C)TTI(G/C)(A/T)(A/G)TA-3'
Cyanophage	CPS1	5'-GTAG(T/A)ATTTTCTACATTGA (C/T)GTTGG-3'
	CPS8	5'-AAATA(C/T)TT(G/A/T)CCAACA (A/T)ATGGA-3'
T4 bacteriophage	Mzia1	5'-TGTTATIGGTATGGTICGICGTGC TAT-3'
	CAP8	5'-TGAAGTTACCTTCACCACGAC CGG-3'
T7 bacteriophage	PARISpol25F	5'-ATACTACACGCTACTCTGG-3'
	PARISpol701R	5'-GAGTGGCAAGAGGAGTTAT-3'

- 추출된 DNA의 1-2  $\mu\text{L}$  (10-30 ng)를 주형으로 하여 degeneracy primer set를 이용하여 PCR을 수행한다. 10% (v/v)  $\text{MgCl}_2$  가 포함된 10x PCR buffer (RBC Korea) 2  $\mu\text{L}$ , dATP, dTTP, dCTP, dGTP를 각 2.5 mM의 농도로 맞춘 dNTP mixture 0.1-0.4  $\mu\text{L}$ , 15-60  $\mu\text{M}$ 의 primer set (Bioneer), 2 unit의 *Taq* polymerase (RBC Korea) 그리고 멸균된 3차 증류수를 혼합하여 reaction mixture (전체 부피: 20  $\mu\text{L}$ )로 사용함
- PCR은 다음과 같은 과정을 통해서 이루어짐
  - ① Algal virus 군집 구조: AVS1과 AVS2 primer set은 초기 변성은 95 $^{\circ}\text{C}$

에서 1분 30초, 50℃에서 45초 그리고 72℃에서 60초 동안 수행하고, 모두 32 cycle을 반복함. 최종 extension을 72℃에서 5분간 수행

② Cyanophage 군집 구조: CPS1과 CPS8 primer set은 초기 변성은 94℃에서 3분, 36℃에서 15초 그리고 73℃에서 60초 동안 수행하고, 모두 35 cycle을 반복함. 최종 extension을 73℃에서 4분간 수행

③ T4 bacteriophage 군집 구조: Mzia1과 CAP8 primer set은 초기 변성은 94℃에서 3분, 62℃에서 2분 그리고 72℃에서 3분 동안 수행하고, 모두 28 cycle을 반복함. 최종 extension을 72℃에서 5분간 수행

④ T7 bacteriophage 군집 구조: PARISpol25F와 PARISpol701R primer set은 초기 변성은 94℃에서 5분, 66℃에서 1분 그리고 72℃에서 1분 동안 수행하고, 모두 35 cycle을 반복함. 최종 extension을 72℃에서 10분간 수행

- PCR 산물을 PCR-purification kit를 이용해 정제하고 농축한 뒤, DGGE-2000 system (CBS Scientific Company)을 사용하여 DGGE gel 제작과 전기영동을 수행
- 약 500 ng의 PCR 산물을 이용하여 DGGE gel에 loading함. DGGE gel의 제작 방법은 다음과 같다. 우선 denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액과 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액을 다음과 같이 만든다.

시 약	Denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액	100% Denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액
38% acryamide/bisacrylamide	6.32 mL	6.32 mL
25X TAE buffer	0.8 mL	0.8 mL
Urea	-	16.8 g
중성 포름아마이드	-	16 mL
삼차중류수	32.88 mL	4.48 mL
총 량	40 mL	40 mL

Denaturant의 농도 gradient (20-60%)를 만들기 위해, 위 표의 두 용액을 혼합하여 20% denaturant 용액(denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드

드 용액 19.2 mL + 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액 4.8 mL, 총 25 mL)과 60% denaturant 용액(denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액 9.6 mL + 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액 14.4 mL, 총 25 mL)을 제작한다. 각 농도의 gel 용액에 0.03% ammonium persulfate와 0.06% TEMED를 넣은 뒤, DGGE gradient gel maker (CBS Scientific Company) 또는 이와 유사한 장치에 gel 용액을 넣고 DGGE gel을 제작한다. PCR product를 loading 하기 위한 부분의 gel은 denaturant가 없는 6% 폴리아크릴아마이드를 사용하여 제작한다. DGGE gel을 약 2-3시간 정도 실온에서 굳힌 뒤, DGGE-2000 system의 gel-electrophoresis tank에 DGGE gel 판을 넣는다. 각 loading well에 동일 양의 PCR 산물을 6X Loading buffer (0.25% bromophenol blue, 40% sucrose)와 섞은 후에 DGGE gel 상에 loading을 함. Loading 후에 초기 well 부분까지는 전압을 50 V로 약 30 분간 전기영동을 수행하며, 이후 PCR 산물이 20%의 gradient가 있는 부분까지 내려가면, 전압 100 V로 16시간 동안 전기영동을 수행

- DGGE gel은 SYBR Gold (1:10,000으로 희석)를 이용하여 염색한 후 UV조사 장치로 관찰하여 폴라로이드 사진을 찍은 후 gel 상의 각 band를 멸균한 면도칼로 절개한 뒤, 멸균된 1.5 mL microtube에 넣고 1X SSC buffer (Standard Sodium Citrate buffer; NaCl: 3 M, sodium citrate: 300 mM, pH 7) 약 500  $\mu$ L로 2회 washing 하여 절개한 band를 씻어냄. washing 후에, 약 200  $\mu$ L의 삼차 증류수 또는 1X SSC buffer를 넣고 3 5°C에서 약 10시간-12시간 정도 놔두어 band 내의 DNA를 추출함
- 추출한 핵산을 동일한 프라이머를 사용하여 다시 PCR로 증폭한 후 direct PCR을 하거나 또는 TA cloning kit를 이용하여 클로닝 함. 얻어진 클론은 배양 후 Plasmid purification kit로 플라스미드를 정제한 후, 염기서열을 분석
- 분석된 염기서열에 가장 가까운 유전자는 NCBI (National Centre of Biotechnology Information) website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 BLAST 검색을 통해서 결정됨. 분석된 염기서열은 EMBOSS Transeq (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/transeq/index.html>)에서 아미노산

서열로 번역한 후, jPHYDIT program (Jeon et al, 2005)을 이용하여 염기서열 database 상의 참고 분류군(reference taxa)과 GenBank에 존재하는 관련 바이러스의 해당 유전자의 아미노산 서열들과 함께 수작업을 통해서 정렬함

- 정렬된 아미노산 서열들은 PAUP 4.0 (Swofford, 1998)에서 Maximum-likelihood method (Felsenstein, 1981)를 이용하여 phylogenetic tree를 구축
- 계통분류학적 분석(phylogenetic analysis)를 이용하여 각 유전자 간의 유연관계를 분석함
- Cluster 분석: Gel-Pro Analyzer Version 4.0 (Media Cybernetics, L.P.) 프로그램을 이용하여 Gel 상에 나타난 band 의 상대적 위치를 결정한다. 각각의 band profile에서 상대적 intensity 가 0.2% 이하인 band 는 분석에서 제외시킴
- Cluster 분석을 위해 SPSS 12.0 프로그램을 사용한다. 모든 profiles에서 관찰된 band 로부터 각각의 profile에서 band 존재의 유무를 binary (1/0) matrix 로 만들고, 이를 Dice (Czekanowski or Sorenson) measure 을 사용하여 similarity matrix로 전환 시킨다. Dendrogram 은 그룹 간 평균 연결법 (Average Linkage Between Groups)을 사용하여 만들어짐

#### 라) 시료 보관

- 자료의 검증과 시료 제공 등을 위해 추출한 핵산은 장기보관(-70℃ 냉동 보관)
- PCR-DGGE band의 염기서열 분석 결과는 부록 1과 같은 방법으로 작성





---

## 박테리아

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해양박테리아는 해양생태계 구성의 매우 중요한 생물군으로 박테리아 생산은 일차생산의 50%에 해당하며 해양의 에너지 흐름과 물질 순환에 중요한 역할을 담당
- 2) 해양박테리아 개체수와 생산력에 대한 조사는 저차 해양생태계의 구조와 기능을 이해하는 기초 토대
- 3) 박테리아 분류군의 정량, 정성적인 분포 연구는 해양생태계의 변이와 이에 대한 박테리아의 반응을 이해하기 위해 기본적으로 수행하여야 할 조사항목임

### 나. 조사항목

- 1) 박테리아 개체수
- 2) 박테리아 군집구조(PCR-DGGE)
- 3) 박테리아 군집 정량분석(CARD-FISH)
- 4) 박테리아 분리 및 동정
- 5) 박테리아 생산력

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 기본조사 지침 시기 및 횟수와 동일
- 2) 보호구역 및 생태계 교란지역(2개 정점), 장기계류관측을 위해 선정된 정점을 대상으로 하며 3계절(봄, 여름, 가을) 시료를 채집/분석 함. 필요시엔 겨울에도 시료를 채집/분석함.

- 3) 장기계류관측을 위해 선정된 3개 정점과 보호구역 및 생태계 교란지역 2개 정점에서는 분석 항목 중 박테리아 개체수, 생산력, 군집 정량분석(CARD-FISH)은 총 5개 정점, 5개 수심(0, 10, 25, 50, 100m)을 채집 분석하고, 박테리아 군집구조(PCR-DGGE)와 박테리아 종 조성은 대표적인 정점의 3개 수심(0, 50, 100m)을 채집 분석함
- 4) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 박테리아 개체수 측정

#### 가) 시료채집

- 니스킨 채수기(Niskin bottle, 10 L)로 해수 채수
- 정점 별로 수심을 고려하여 채수(기본적으로 0, 10, 25, 50, 100 m 수심에서 채수)
- 채집된 해수는 멸균된 4 L 폴리에틸렌 시료병에 보관

#### 나) 선상 시료처리 및 보관

- 박테리아 개체수는 입자 부착성(attached bacteria)과 자유 유영성(free-living bacteria)으로 나누어서 시료처리를 수행함
- 박테리아 총 개체수는 Porter and Feig (1980) 방법에 따라 현장에서 붕산염나트륨(sodium borate, 포르말린에 30 g/L의 농도로 첨가)로 완충시킨 포르말린으로 최종 농도 2%가 되도록 고정한다. 시료 20 mL 중 입자 부착성 박테리아의 경우에는 시료 5 mL를 3  $\mu$ m 공치수(pore-size)의 Polycarbonate black membrane filter에 여과하며, 총 개체수는 시료 5 mL를 0.2  $\mu$ m 공치수의 Polycarbonate black membrane filter에 여과
- 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, 농도 10 mg/mL)을 멸균한 3차 증류수에 1:1000의 비율로 희석(최종농도 10  $\mu$ g/mL)하여 작업 용액(working solution)으로 사용(-20℃ 보관)
- 시료를 여과한 Polycarbonate black membrane filter에 DAPI 작업 용액을 약 500  $\mu$ L를 여과한 면에 흘려 넣고 암조건에서 15분간 염색한다. 염색이 완료된 후 DAPI 작업 용액을 여과 시켜 제거한다. Polycarbonate black membrane filter의 여과한 면이 위로 향하게 하여 슬라이드글라스

(Slide glass)에 올린 후, mounting oil을 3-4방울 떨어뜨린 후 커버글라스(Cover glass)를 덮음

- 제작된 슬라이드글라스는 슬라이드 보관함에 넣어 -20℃ 냉동 보관

#### 다) 시료 분석

- 현장에서 제작한 슬라이드글라스(Slide glass)를 1,000배 배율의 에피형광 현미경에서 UV파장으로 박테리아 개체수를 측정
- 측정 오차를 줄이기 위해 박테리아를 1000 개체 이상이 되도록 계수(>30 fields)
- 입자 부착성 박테리아의 개체수 측정 시에는 관찰된 개체수에 2를 곱한 값을 사용함
- 측정된 개체수는 아래 수식을 이용해 해수 1mL 당 평균 박테리아 개체수를 계산함
- 분석된 결과는 부록 1의 양식으로 작성·정리함

박테리아 개체수 = 전환 상수 × 각 field의 cell 평균 수 / filter volume (mL)

자유 유평성(Free-living) 박테리아 개체수

= 전체 박테리아 개체수 - 입자 부착성(Attached) 박테리아 개체수

## 2) 박테리아 군집 분석(PCR-DGGE)

### 가) 시료채집

- 니스킨 채수기(Niskin bottle, 10 L)로 해수 채수
- 정점 별로 수심을 고려하여 채수 (기본적으로 0, 50, 100m 수심에서 채수)
- 채수된 해수는 멸균된 4 L 폴리에틸렌 시료병에 보관

### 나) 선상 시료처리

- 공치수 0.2 μm Sterivex-GS filter에 50 mL 주사기를 이용하여 해수 400 mL (수심 0, 50 m), 1 L (수심 100 m)를 여과한 후, 10 mL의 SET buffer (20% Sucrose, 50 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl [pH

7.6])를 여과 후,  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관

#### 다) 시료 분석

- 세포 용균 및 핵산 추출 단계: 현장 박테리아를 농축한 Sterivex-GS 필터를 실온에서 녹인 후, 약 1.6 cm 바늘 길이의 주사기를 이용하여 입구(inlet)를 통해 1.8 mL의 SET buffer와 62  $\mu\text{L}$ 의 라이소자임 용액(lysozyme solution)을 첨가 후, 입구를 막고 Sterivex-GS 필터를 상하로 뒤집어 섞은 후, 얼음에 15분 동안 반응시킴. 16  $\mu\text{L}$ 의 도데실황산나트륨(sodium dodecyl sulfate, 25%)를 넣은 후, 전체 필터가 시약과 접촉할 수 있도록 일정하게 회전시키며(32 rpm) 실온에서 1시간 동안 반응시킴
- 단백질분해효소 K 용액(Proteinase K solution) 50  $\mu\text{L}$ 를 첨가한 후, 추가로 3-4시간 동안 일정하게 회전시키며(32 rpm) 실온에서 반응시킴. 추출된 시료를 필터로부터 뽑아내기 위해, 5 mL의 주사기를 출구에 꼽고, 추출액을 주사기로 뽑아냄
- 추출한 핵산의 정제와 농축과정: 초산암모늄(ammonium acetate) 처리 후 에탄올을 이용해 핵산을 정제한 뒤, 핵산을 완전히 건조시키고, Tris-EDTA (pH 8.0) 또는 멸균된 3차 증류수를 넣어(30-50  $\mu\text{L}$ ) 녹인 후,  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관
- 박테리아와 고세균(archaea)의 16S rRNA 유전자에 대한 PCR을 아래와 같이 수행함:

##### ① 박테리아

박테리아의 16S rRNA 유전자에 특이적인 GC-clamped 341F primer (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3')와 907R primer (5'-CCG TCA ATT CMT TTG AGT TT-3')를 사용하여 Touch-Down PCR을 다음과 같이 수행함: PCR의 반응 혼합 용액은 10% 염화마그네슘( $\text{MgCl}_2$ )이 포함된 1x PCR buffer, 200  $\mu\text{M}$ 의 dNTP 혼합액, 1  $\mu\text{M}$ 의 primers, 2 unit의 *Taq* 중합효소(*Taq* polymerase), 추출된 핵산 그리고 멸균된 3차 증류수를 혼합하여 제작함. Touch-down PCR은  $94^{\circ}\text{C}$  (5분), 20회의 cycles [초기 변성( $94^{\circ}\text{C}$ 에서 1분),  $65-55^{\circ}\text{C}$ 에서 1분(각 cycle 당  $0.5^{\circ}\text{C}$  감소),  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 3분], 15회의 cycles [초기 변성( $94^{\circ}\text{C}$ 에서 1

분), 55℃에서 1분, 72℃에서 3분], final extension (72℃에서 7분)으로 수행

② 고세균(archaea)

고세균의 16S rRNA 유전자에 특이적인 GC-clamped 344F primer (5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAC GGG GYG CAG CAG GCG CGA-3')와 915R primer (5'-GTG CTC CCC CGC CAA TTC T-3')를 사용함. PCR의 반응 혼합 용액은 박테리아에 대한 실험에서와 동일함. Touch-down PCR은 94℃ (5분), 20회의 cycles [초기 변성(94℃에서 1분), 71-61℃에서 1분(각 cycle 당 0.5℃ 감소), 72℃에서 3분], 15회의 cycles [초기 변성(94℃에서 1분), 61℃에서 1분, 72℃에서 3분], final extension (72℃에서 10 분)으로 수행

- PCR 산물을 PCR product purification kit 또는 에탄올 precipitation 방법을 이용하여 정제하고 농축한 뒤, DGGE-2000 system (CBS Scientific Company)을 사용하여 DGGE를 수행함: 500 ng의 PCR 산물을 이용하여 DGGE gel에 loading 함. DGGE gel의 제작 방법은 다음과 같다. 우선 denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액과 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액을 다음과 같이 만듦

시 약	Denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액	100% Denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액
38% acryamide/bisacrylamide	6.32 mL	6.32 mL
25X TAE buffer	0.8 mL	0.8 mL
Urea	—	16.8 g
중성 포름아마이드	—	16 mL
삼차중류수	32.88 mL	4.48 mL
총 량	40 mL	40 mL

- Denaturant의 농도 gradient (20-80%)를 만들기 위해, 위 표의 두 용액

을 혼합하여 20% denaturant 용액(denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액 20 mL + 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액 5 mL, 총 25 mL)과 80% denaturant 용액(denaturant가 없는 6% 아크릴아마이드 용액 5 mL + 100% denaturant를 포함한 6% 아크릴아마이드 용액 20 mL, 총 25 mL)을 제작한다. 20% denaturant 용액과 80% denaturant 용액에 0.03% ammonium persulfate와 0.06% TEMED를 넣은 뒤, DGGE gradient gel maker (CBS Scientific Company) 또는 이와 유사한 장치에 gel 용액을 넣고 DGGE gel을 제작한다. PCR product를 loading 하기 위한 부분의 gel은 denaturant가 없는 6% 폴리아크릴아마이드를 사용하여 제작한다. DGGE gel을 약 2-3시간 정도 실온에서 굳힌 뒤, DGGE-2000 system의 gel-electrophoresis tank에 DGGE gel 판을 넣는다. 각 loading well에 동일 양의 PCR 산물을 6X Loading buffer (0.25% bromophenol blue, 40% sucrose)와 섞은 후에 DGGE gel 상에 loading을 함. Loading 후에 초기 well 부분까지는 전압을 50 V로 약 30 분간 전기영동을 수행하며, 이후 PCR 산물이 20%의 gradient가 있는 부분까지 내려가면, 전압 100 V로 16시간 동안 전기영동을 수행함

- DGGE gel은 SYBR Gold (1:10,000으로 희석)를 이용하여 염색한 후 UV조사장치에서 관찰하여 UV로 gel을 조사하여 폴라로이드 사진을 찍은 후 gel 상의 각 band를 절개한 뒤, 핵산을 추출함
- 추출한 핵산을 GC-clamp가 없는 동일한 프라이머를 사용하여(박테리아; 341F와 907R, 고세균; 344F와 915R) 다시 PCR로 증폭한 후 direct sequencing을 수행하거나, 또는 TA cloning kit를 이용하여 클로닝하여 Plasmid purification kit로 플라스미드를 정제한 후, 염기서열을 분석
- 획득된 염기서열에 가장 가까운 서열들은 Genbank의 BLASTN 프로그램 (Altschul *et al.*, 1990, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)을 사용하여 검색
- 각 염기 서열들 간의 유연관계는 다음과 같은 계통분류학적 분석 (phylogenetic analysis)을 이용하여 분석함: 분석할 염기 서열들을 16S rRNA의 secondary-structure를 고려하여 alignment를 수행함. Phylogenetic trees는 neighbor-joining 방법, maximum-parsimony 방

가  
가  
법, maximum likelihood 방법을 이용하여 구축함

라) 시료 보관

- 자료의 검증과 시료 제공 등을 위해 추출한 핵산은 장기보관(-70℃ 냉동 보관)
- 분석된 자료는 부록 2의 양식으로 작성·정리함

3) 박테리아 군집 정량분석(Catalyzed Reporter Deposition Fluorescence in situ Hybridization [CARD-FISH])

가) 시료채집

- 채수기와 채집수심은 박테리아 개체수 채집방법과 동일

나) 선상 시료처리

- 해수에 공치수 0.2  $\mu\text{m}$ 로 여과한 포르말린을 최종농도 2%가 되도록 고정 후, 4℃에서 dark 상태로 보관(1-24시간)
- 고정된 시료(표층-50 m 수심: 15 mL, 100 m 수심: 25 mL)를 25 mm 지름의 공치수 0.2  $\mu\text{m}$  polycarbonate white membrane filter에 여과한 후, 멸균된 3차 증류수 5 mL로 두 차례 여과하여 씻어냄
- 상온에서 충분히 말린 후 멸균된 conical tube에 보관하여 -20℃에 냉동 상태로 보관

다) 시료 분석

- 각 실험단계를 거치는 동안 필터에 부착된 박테리아와 고세균의 손실을 막기 위해, 낮은 용융점의 아가로스 젤(low-gelling-point agarose, 0.2% [wt/vol])을 이용하여 냉동 보관한 필터를 코팅하고/vo분자물질에 대한 세포벽의 투과력(permeabilization)을 높이기 위해, 필터를 라이소자임 용액(lysozyme solution; 0.05 M EDTA, 0.1 M Tris-HCl [pH 7.5] 용액에 넣어 최종 농도가 10 mg mL<sup>-1</sup>이 되도록 제작함)에 37℃에서 30 분 이상 배양함
- 호오스래디쉬 퍼옥시다아제(HRP, horseradish peroxidase)가 부착된 특이적 탐침(probe)을 필터에 부착된 세포에 혼성화(hybridization) 시키는 과정을 다음과 같이 수행함



- 10-20개로 잘려진 필터 조각들을 0.5 mL의 반응 용기에 담고, 400  $\mu$ L 혼성화 완충용액(hybridization buffer, 0.9 M 염화나트륨, 20 mM Tris-HCl [pH 7.5], 10% 황산 텍스트란 [wt/vol], 0.02% [wt/vol] sodium dodecyl sulfate [SDS], 55% [vol/vol] 포름아마이드 [Fluka], 1% [wt/vol] Blocking Reagent [Boehringer, Mannheim, Germany])에 15  $\mu$ L의 HRP 탐침(HRP probe working solution, 50 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> ThermoHybaid)을 첨가하여 35°C에서 12-15시간 동안 회전(4-5 rpm)시켜 혼성화 시킴

박테리아 탐침 종류		고세균 탐침 종류
Eub 338 (eubacteria)	CF 319 (CFB group)	Cren 537 (crenarchaea)
Alf 968 ( $\alpha$ -proteobacteria)	SAR86 (SAR86 group)	Eury 806 (euryarchaea)
Gam 42a ( $\gamma$ -proteobacteria)	Non 338 (non-specific probe)	Arch 915 (archaea)

- 혼성화 된 필터 조각들을 미리 준비된 완충 세척 용액(washing buffer, 3 mM NaCl, 5 mM EDTA [pH 8.0], 20 mM Tris-HCl [pH 7.5], 0.01% [wt/vol] SDS)에 넣어 35°C 에서 10분 동안 세척시킴
- 형광시약(Alexa)이 부착된 tyramide를 HRP 탐침이 부착된 세포에 다량으로 부착시키기 위해, 필터 조각을 tyramide amplification buffer (0.05% Triton X100, 10% dextran sulfate, 2M NaCl, 0.1% blocking, 0.0015% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Alexa-labelled tyramide, PBS buffer)에 넣어 빛을 차단시키고 37°C에서 45분 동안 반응시킴
- 필터에 여과된 전체 원핵생물(박테리아와 고세균)의 개체수를 측정하기 위해 DAPI 형광시약(최종농도 5  $\mu$ g/ml)으로 염색한다. 에피형광현미경을 이용하여 DAPI로 염색된 원핵생물은 UV 파장에서, 특정 그룹의 원핵생물은 blue 파장에서 관찰하여 개체수를 측정함

#### 라) 시료 보관

- 시료 분석 후, 슬라이드 보관함에 넣어  $-20^{\circ}\text{C}$  냉동 보관
- 분석된 자료는 부록 1의 양식으로 작성·정리함

### 4) 박테리아 분리 및 동정

#### 가) 시료채집

- 채수기와 채집수심은 박테리아 개채수 채집방법과 동일
- 해수는  $0.2\ \mu\text{m}$  filtered로 여과하고 멸균한 해수를 이용하여 10배 희석하여 사용

#### 나) 선상 시료처리

- 배양 가능한 박테리아의 분리는 평판 배양법을 이용
- 다양한 배지(Marine Agar, 3% NaCl을 첨가한 R2A medium)를 이용
- 각 배지에 해수를 멸균된 공치수  $0.2\ \mu\text{m}$ 로 필터한 해수를 이용해 10배 희석하여 도말함( $50-100\ \mu\text{L}$ )
- 시료의 도말은 현장에 설치한 이동 가능한 청정작업대(portable clean bench) 내에서 수행
- 도말한 배지는 Parafilm으로 밀봉 후, 현장 온도에서 배양

#### 다) 시료분석

- 박테리아를 도말한 배지는 실험실 내의 배양기에서 배양
- 1주일 간격으로 Plate내의 박테리아 군락(colony)의 수를 측정함
- 각 박테리아 군락(colony) 중 형태적으로 구분되는 군락을 선별한 후, 순수분리를 위해 4회 이상 계대 배양을 실시
- 순수 분리된 박테리아에 대한 동정은 16S rRNA 유전자의 염기 서열을 기반으로 함. 박테리아의 16S rRNA 유전자에 대한 PCR은 박테리아에 대한 universal primers (27F and 1492R)를 이용함. PCR에 이용할 박테리아 DNA는 boiling method로 추출함. PCR mixture ( $20\ \mu\text{L}$ )는 DNA template ( $2.5\ \mu\text{L}$ ),  $400\ \mu\text{M}$  (최종 농도)의 dNTP,  $1.5\ \text{mM}$  (최종 농도)의  $\text{MgCl}_2$ ,  $0.5\ \mu\text{M}$  (최종 농도)의 각각의 primer, 1 unit의 Taq DNA polymerase (Fermentas),  $10\times$  PCR buffer로 구성함. PCR 반응은 초기 denaturing 단계 ( $94^{\circ}\text{C}$ , 5분), 증폭 단계 [30 cycles: denaturation

(94°C, 1분), annealing (55°C, 1분), extension (72°C, 3분)], 최종 extension 단계 (72°C, 5분)로 진행함. 전기영동 방법을 이용하여 DNA의 증폭 여부를 확인하고, PCR product는 direct sequencing을 하기 위해 PCR purification kit로 정제함

- 분석된 16S rRNA 유전자 염기 서열은 BLAST-N 검색을 통해 NCBI에 deposit되어 있는 염기 서열들과 비교함. 대상 균주와 관련된 박테리아의 16S rRNA 유전자 염기 서열은 NCBI에서 확보하고, 16S rRNA의 secondary-structure를 고려하여 alignment를 수행함. Phylogenetic trees는 neighbor-joining 방법, maximum-parsimony 방법, maximum likelihood 방법을 이용하여 구축함
- 모든 균주 확보 및 보관

#### 라) 시료 보관

- 순수 분리된 균주는 2 mL Cryovial에 최종농도 30%의 글리세롤을 넣은 뒤, -70°C에 냉동보관
- 분석된 자료는 부록 3의 양식으로 작성·정리함

### ■ 배지 성분 및 제작 방법

#### -Difco™ Marine Agar 2216 (MA)

조성 성분: 펩톤(peptone) 5.0 g/L, 효모 추출성분(yeast extract) 1.0 g/L, 구연산철(ferric citrate) 0.1 g/L, 염화나트륨(sodium chloride) 19.45 g/L, 염화마그네슘(magnesium chloride) 8.8 g/L, 황산나트륨(sodium sulfate) 3.24 g/L, 염화칼슘(calcium chloride) 1.8 g/L, 염화칼륨(potassium chloride) 0.55 g/L, 탄산수소나트륨(sodium bicarbonate) 0.16 g/L, 브롬화칼륨(potassium bromide) 0.08 g/L, 염화스트론튬(strontium chloride) 34.0 mg/L, 붕산(boric acid) 22.0 mg/L, 규산나트륨(sodium silicate) 4.0 mg/L, 플루오린나트륨(sodium fluoride) 2.4 mg/L, 질산암모늄(ammonium nitrate) 1.6 mg/L, 인산나트륨(disodium phosphate) 8.0 mg/L, agar 15.0 g/L

배지 제작 방법: Difco™ Marine Agar 2216를 2차 증류수에 55.1 g/L의 양으로 넣은 뒤, 121℃에서 15분간 멸균 후, 청정 실험대에서 페트리접시(직경 90 mm)에 약 20mL씩 분주하여 충분히 굳혀 사용

#### -3% NaCl을 첨가한 Difco™ R2A Agar

조성 성분: 효모 추출성분(yeast extract) 0.5 g/L, 프로테오스 펩톤(proteose peptone No.3) 0.5 g/L, Casamino acids 0.5 g/L, 덱스트로스(dextrose) 0.5 g/L, 가용성 전분(soluble starch) 0.5 g/L, sodium pyruvate 0.3 g/L, 디칼륨인산염(dipotassium phosphate) 0.3 g/L, 황화마그네슘(magnesium sulfate) 0.05 g/L, 염화나트륨(sodium chloride) 30.0 g/L, agar 15.0 g/L

배지 제작 방법: Difco™ R2A Agar를 2차 증류수에 18.2 g/L의 양으로 넣은 뒤, 121℃에서 15분간 멸균 후, 청정 실험대에서 페트리 접시(직경 90mm)에 약 20mL씩 분주하여 충분히 굳혀 사용

## 5) 박테리아 생산력 측정

### a. $^3\text{H}$ -thymidine (TdR) incorporation과 $^{14}\text{C}$ -leucine (Leu) incorporation 방법

#### 가) 시료채집

- 채수기와 채수 수심은 ‘박테리아 개체수의 측정’ 방법과 동일

#### 나) 선상 시료처리

- 현장에서 채수된 시료는 10 mL씩 3개의 15 mL conical tube에 넣은 후  $^3\text{H}$ -thymidine (specific activity 84 Ci/mmol)과  $^{14}\text{C}$ -leucine (specific activity 315 mCi/mmol)을 최종농도 10 nM이 되도록 첨가함(연안 시료의 경우 20 nM). 대조구로는 채수된 시료를 10 mL씩 2개의 15 mL conical tube에 넣은 후 최종농도 2%의 포르말린을 첨가한 후  $^3\text{H}$ -thymidine과  $^{14}\text{C}$ -leucine을 위에서의 동일한 농도로 첨가함. 채수한 현장 수온에서 암배양함(연안 시료: 0.5-1시간, 외양 시료: 2시간)
- 포르말린(최종 농도 2%)을 넣어 배양을 종료시킴
- 배양이 끝난 시료는 0.2  $\mu\text{m}$  공치수의 cellulose nitrate filter (Advantec)에 여과
- 여과지는 5% ice-cold 트라이클로로아세트산(trichloroacetic acid; TCA)으로 5 mL 씩 3회, 80% ice-cold 에탄올로 5 mL 씩 3회 넣어 여과한 후 섬광계수병(scintillation vial)에 보관

#### 다) 시료 분석

- 여과지가 들어 있는 섬광계수병에 에틸아세테이트(ethyl acetate) 1 mL과 Lumagel<sup>®</sup> 9 mL을 넣고, 액체 섬광 계수기(liquid scintillation counter)를 이용하여 붕괴된 방사능량을 측정
- 박테리아에 의한 thymidine 고정율로부터 생산된 박테리아 세포수의 계산은 Ducklow 등(1992)에 의해 측정된  $2.65 \times 10^{18}$  cells (mol TdR)<sup>-1</sup>의 전환상수를 이용하여 추정하며, leucine 고정율로부터 생산된 박테리아 탄소량으로의 추정은 Simon and Azam (1989)의 식을 이용

■ 측정된  $^3\text{H}$ -thymidine (TdR) 고정율( $\text{mol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )

$$= \frac{dpm \times 10^{-3} \times 60}{S.A \times 2.22 \times 10^{12} \times t \times V}$$

dpm: 분당 붕괴수

S.A: specific activity ( $\text{Ci mmol}^{-1}$ )

t: 배양 시간 (분)

V: 배양 시료의 용량 (liter)

박테리아 생산력 ( $^3\text{H}$ -TdR) ( $\text{cells l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )

$$= \text{측정된 TdR 고정율}(\text{mol l}^{-1} \text{ h}^{-1}) \times \text{TdR inc. 전환상수}$$

$$\text{TdR inc. 전환상수} = 2.65 \times 10^{18} \text{ cells produced (mol TdR inc.)}^{-1}$$

■ 측정된  $^{14}\text{C}$ -Leucine ( $^{14}\text{C}$ -Leu) 고정율( $\text{mol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )

$$= \frac{dpm \times 10^{-3} \times 60}{S.A \times 2.22 \times 10^{12} \times t \times V}$$

dpm: 분당 붕괴수

S.A: specific activity ( $\text{Ci mmol}^{-1}$ )

t: 배양 시간 (분)

V: 배양 시료의 용량 (liter)

박테리아 생산력 ( $^{14}\text{C}$ -Leu) ( $\text{cells l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )

$$= \text{측정된 Leu 고정율}(\text{mol l}^{-1} \text{ h}^{-1}) \times \text{Leu inc. 전환상수}$$

$$\text{Leu inc. 전환상수} = 0.18 \times 10^{18} \text{ cells produced (mol Leu inc.)}^{-1}$$

$$\text{Bacteria Turnover Time (BTT)} = \frac{BA(\text{cells l}^{-1})}{BP(\text{cells l}^{-1} \text{ d}^{-1})}$$

BA: 박테리아 개체수 (Bacteria abundance)

BP: 측정된 박테리아 생산력 (Bacteria production)

BTT: 군집회전시간 (day)

라) 시료 보관

- 실험에서 발생된 방사성 폐기물은 관련 처리 방법에 의거하여 별도 분류 및 처리

### 마) 주의 사항

- 방사성 동위원소 특히  $^{14}\text{C}$ 에 의한 연구선의 오염은 자연상태의  $^{14}\text{C}$ 을 이용한 연구를 불가능하게 만드므로 각별한 주의가 요구되며 국제적으로는 미국의 경우 동위원소 컨테이너(isotope van)을 연구선에 싣고 그 안에서만 동위원소 실험을 할 수 있도록 제한하고 있음. 가능하면  $^{14}\text{C}$ 을 사용하지 않는 방법을 권장

## b. BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine)를 이용한 박테리아 생산력의 측정

### 가) 시료채집

- 니스킨 채수기(Niskin bottle, 10L)로 해수 채수
- 정점 별로 수심을 고려하여 채수 (기본적으로 0, 10, 25, 50, 100 m 수심에서 채수)
- 채수된 해수는 멸균된 4 L 폴리에틸렌 시료병에 보관
- 현장에서 방사성 물질( $^3\text{H}$ -thymidine 또는  $^{14}\text{C}$ -Leucine)을 사용하지 않는 방법으로 대신 채택할 수 있음

### 나) 전상 시료처리

- 각 정점의 해수 시료 2 mL를 마이크로 튜브(micro-tubes, 2 mL)에 넣고, 2  $\mu\text{M}$ 의 BrdU를 20  $\mu\text{L}$  첨가하여(최종 농도 20 nM) 현장의 수온에서 2-9시간 배양시키고,  $-20^\circ\text{C}$ 에 냉동시켜 배양을 종결함
- 공치수 0.22  $\mu\text{m}$ 의 나일론 막(nylon transfer membrane, GE Osmonics Magnagraph)과 크로마토그래피 종이(chromatography paper, Whatman 3MM)를 각각  $8 \times 12$  cm의 크기로 자른 후, 6배의 표준 구연산염 나트륨 완충 용액(SSC buffer, Standard sodium citrate buffer, 20배의 SSC buffer를 멸균된 3차 증류수로 희석하여 제작함)에 10분 동안 흡수시킨 뒤, 블로터(Blotter)에 크로마토그래피 종이를 올려놓고, 그 위에 나일론 막을 올려놓은 후, 블로터 장치를 고정시킴
- 배양이 종료된 시료를 녹인 후, 10번 위·아래로 흔들어 섞은 후, 블로터에 시료를 넣고, 진공 펌프(vacuum pump)를 작동(100-200 mmHg) 시켜 시료를 여과함. 또한 BrdU의 표준 용액(참고 1)을 동일한 나일론 막에 여과함

- 1-3장의 크로마토그래피 페이퍼를 겹쳐놓은 후, 충분히 흡수될 정도로 세포 용균 용액[lysis solution; 증류수에 NaCl (최종 농도 1.5 M)와 NaOH (최종 농도 0.5 M)를 첨가하여 녹이고, 0.2  $\mu$ m 공치수로 여과한 후 멸균하여 제작용]을 페이퍼 위에 부은 뒤, 나일론 막을 블로터에서 옮김. 시료가 여과된 면이 아래로 향하도록 크로마토그래피 종이에 살짝 놓아 적신 후, 곧바로 시료가 여과된 면이 위로 향하도록 나일론 막을 뒤집어, 용균 용액이 젖어 있는 크로마토그래피 페이퍼에 10분 동안 반응시킴
- 용균 용액 처리에서와 동일한 방법으로 중화 용액[neutralization solution; 증류수에 NaCl (최종 농도 1.5 M), Tris-HCl (최종 농도 0.5 M)을 첨가하여 녹이고, 0.2  $\mu$ m 공치수로 여과한 후 멸균하여 제작용. pH 7.8]을 처리함
- 새로운 크로마토그래피 종이 한 장에 8 mL FixDenat (Roche; 4°C 냉장 보관)를 떨어뜨려 적신 후, 시료가 여과된 면이 위로 향하도록 나일론 막을 30분 동안 반응시킴. 두 장의 새 크로마토그래피 종이의 사이에 나일론 막을 끼어 넣은 후, 83°C에서 1시간 동안 반응시킴
- 반응 후 나일론 막을 화학발광 현상(chemiluminescent development) 실험을 수행하기 전까지 지퍼백에 넣어 빛을 차단시키고 저장함 (4°C에 저장함)

#### 다) 시료 분석

- 냉장 보관된 나일론 막을 15 mL 차단 용액[blocking solution; maleic acid buffer (조성은 다음 단계의 실험에서 제시함)에 2% skim milk를 녹여 제작용]에 1시간 동안 옮겨 넣은 후, 6 mL의 항체 용액[antibody solution; blocking solution에 Tween 20 (최종 농도 0.3%)과 antibody (최종 농도 0.5%; Roche BrdU-antibody-POD)를 첨가하여 녹여 제작용]을 첨가하고 3시간 동안 반응시킴. 항체 용액을 다 버리고, 15 mL의 세척 용액[wash solution; maleic acid buffer에 Tween 20 (최종 농도 0.3%)를 첨가하여 제작용]을 첨가한 후 5-10분 동안 나일론 막을 두 차례 씻어냄
- 세척 용액을 다 버리고, 15 mL의 말레산 완충 용액[maleic acid buffer; 증류수에 NaCl (최종 농도 150 mM)과 maleic acid (최종 농도 100



mM)를 첨가하여 녹인 후 0.2  $\mu$ m 공치수로 여과한 후 멸균하여 제작함.  
pH 7.5]을 첨가한 후 5-10분 동안 배양함. 이를 총 2회 수행함

- 현상(develop) 과정: 시료가 여과된 면이 위로 향하게 나일론 막을 놓고, 2 mL의 현상 기질(development substrate; Supersignal West Femto, Pierce Biotechnology)을 나일론 막의 전체에 골고루 퍼지게 한 후, 2분 동안 반응시킴. 투명한 플라스틱 필름으로 나일론 막을 덮어 여분의 시약을 제거함
- 엑스레이필름을 이용해 감광한 후, Gel-Pro analyzer Ver. 4.0 (Media cybernetics, L.P.)를 이용하여 각 시료의 감광 강도를 측정함
- Brdu 표준 용액에서 얻어진 감광 광도와 농도로부터 표준 곡선을 작성하여, 해수 시료에서 얻어진 감광 광도로 부터 박테리아에 고정된 BrdU의 양을 계산함

#### 라) 시료 보관

- BrdU의 표준 용액 제작 과정에서 발생된 방사성 폐기물은 관련 처리 방법에 의거하여 별도 분류 및 처리

## &lt;참고 1&gt;

## ※ BrdU의 표준용액

- 표준 용액은 실험실에서 제작한 후, 현장 조사에 가져감.
- 표준 해수 200-400 mL를 각각 2개의 병에 나누어 넣음. 1개의 병(A시료)에는 20 nM BrdU를 첨가하고, 나머지 병(B 시료)에는 18 nM BrdU와 2 nM 6-<sup>3</sup>H-BrdU를 첨가함
- 현장 수온에서 8-9시간 배양하고, 배양이 끝나면 2 mL 냉동 보관용 바이얼(cryovials)에 나누어 넣어 -70°C에 저장함 (3개월 동안 저장 가능함)
- 저장된 3개의 냉동 보관용 바이얼의 시료(B 시료)를 녹여, 나일론 막에 여과하고, 지침서에 제시된 방법 (시료를 나일론 막에 고정하는 과정, 세포 용해, 핵산 혼성화 과정)을 수행함
- 나일론 막에서 B 시료가 여과된 부분을 잘라내어, 에틸아세테이트 1mL과 Lumagel<sup>®</sup> 9mL을 넣고, 액체 섬광 계수기(liquid scintillation counter)를 이용하여 붕괴된 방사능량을 측정함. 측정된 dpm과 6-<sup>3</sup>H-BrdU의 specific activity로부터 고정(incorporation)된 BrdU의 양을 계산함(예를 들면, 2 mL의 시료에서 8시간의 배양 후 20 fmol의 6-<sup>3</sup>H-BrdU가 고정되었다고 가정)
- 고정된 6-<sup>3</sup>H-BrdU의 양은 전체 고정된 BrdU의 10%이므로(식 [1]), 시료 B에서 전체 고정된 BrdU의 양을 계산할 수 있음(즉, 200 fmol).

$$\frac{2nM\ 6\ [^3H]BrdU}{18nM\ BrdU + 2\ nM\ 6\ [^3H]BrdU} = 0.1 \quad [1]$$

- 따라서 시료 A와 B에서의 BrdU 고정 속도가 동일하다는 가정으로, 시료 A에 고정된 BrdU의 총 양은 200 fmol이 됨.
- 현장 조사에서는 냉동 저장된 시료 A를 냉동 상태로 운반하여 실험 직전에 녹인 후, 순차적인 농도(예: 2, 6, 13, 25, 50, 100 fmol)의 양이 되도록 나일론 막에 여과함(즉, 100 fmol의 경우에는 시료 A를 1 mL 여과하고, 2 fmol의 경우에는 시료 A를 20  $\mu$ L 여과함. 나일론 막에 여과할 시료 A의 부피가 100  $\mu$ L 미만인 경우(예를 들면, 20  $\mu$ L)에는 0.2  $\mu$ m 공치수로 여과한 후 멸균한 해수(예를 들면, 100  $\mu$ L)에 여과하고자 하는 시료 A의 부피(20  $\mu$ L)를 우선 첨가하여 혼합한 후, 혼합된 시료(120  $\mu$ L)를 나일론 막에 여과함).
- BrdU 표준 용액에서 얻어진 감광 광도와 농도로부터 표준 곡선을 작성하여, 해수 시료에서 얻어진 감광 광도로 부터 박테리아에 고정된 BrdU의 양을 계산함.

부록 1. 박테리아 정량시료 분석표 (개체수, 박테리아 생산력, CARD-FISH) (예시)

조사년도 <sup>1)</sup> : 2009 조사월 <sup>2)</sup> : 08															
조사정점 <sup>3)</sup>	조사수심 <sup>4)</sup> (m)	Total BA (SD) <sup>5)</sup>	Free-living BA (SD)	Attached BA (SD)	CARD-FISH (each probe / total DAPI Count, %) <sup>6)</sup>									<sup>3</sup> H TdR (SD) <sup>7)</sup>	<sup>14</sup> C Leu (SD) <sup>8)</sup>
					EUB (SD)	Alf (SD)	Gam (SD)	CFB (SD)	SAR86 (SD)	NON (SD)	Eury (SD)	Cren (SD)	Arc (SD)		
01 (37.3°N/131.0°E)	0	1.0 (0.0)			90.0 (0.8)	36.9 (10.6)	31.3 (7.4)	15.8 (1.2)	21.1 (7.6)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.4 (0.1)	0.5 (0.0)	0.27 (0.02)
	10														
	25														
	50														
	100														
07 (위도/경도)	0														
	10														
	25														
	50														
	100														

1) 조사연도 : 2009

2) 조사월 : 08

3) 조사정점 : 01 (37.3°N/131.0°E)

4) 조사수심 : 0 m

5) Total BA (SD) : 전체 박테리아 개체수 (평균 박테리아의 표준편차)  $\times 10^9$  cells L<sup>-1</sup>

6) CARD-FISH (each probe / total DAPI Count, %) : DAPI 염색된 전체 박테리아 count 중 각 probe 수의 비율. (EUB: eubacteria, Alf: alphaproteobacteria, Gam: gammaproteobacteria, CFB: Cytophaga-Flexibacteria-Bacteroides group, SAK86: uncultured marine gammaproteobacterial subgroup, NON: non specific probe, Eury: euryarchaea, Cren: crenarchaea, Arc: Archaea)

7) <sup>3</sup>H TdR (SD) : <sup>3</sup>H-thymidine 박테리아 생산 평균값 (<sup>3</sup>H-thymidine 생산된 박테리아 평균값의 표준편차)  $\times 10^9$  cells L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>

8) <sup>14</sup>C Leu (SD) : <sup>14</sup>C Leucine 박테리아 생산 평균값 (<sup>14</sup>C Leucine 생산된 박테리아 평균값의 표준편차)  $\times 10^9$  cells L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>





## 식물플랑크톤

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 식물플랑크톤은 해양생태계 구성의 매우 중요한 생물군으로 육상생태계의 식물과 같은 역할을 수행
- 2) 일차생산자로 광합성을 통해 유기물을 생산하며, 동물플랑크톤의 먹이가 되어 어류, 포유류 등 상위 영양단계로 이어지는 먹이망의 기초를 제공
- 3) 식물플랑크톤은 해양생태계를 이해하기 위해 가장 기본적으로 수행하여야 할 조사항목임

### 나. 조사항목

- 1) 클로로필  $a$
- 2) 현존량, 종다양성, 시·공간 분포

### 다. 정점의 선정

연구 대상지의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 4계절 시료를 채집/분석 함
- 2) 일조량과 같은 환경요인에 의해서 깊이별 분포가 변화할 수 있으므로 현장조사 및 채집은 항상 같은 시기 및 시간에 실시하는 것이 좋음
- 3) 장기계류관측을 위해 선정된 3개 정점과 보호구역 및 생태계 교란지역 2개 정점에서는 분석 항목 중 플랑크톤 군집분석은 총 5개 정점, 5개 수심(0, 10, 25, 50, 100 m)을 채집 분석하고, 수심이 얕은 경우 표층과 저층을 채집 분석 함
- 4) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 정성분석

#### 가) 시료채집

- 식물플랑크톤 네트(Kitahara type net: 구경 30 cm, 망목 20  $\mu$ m)를 이용하여 수온약층 상층부(30 m 이내)에서 표층까지 수직 인양
- 윈치(Winch)로 네트를 인양할 경우에는 가급적 초당 50 cm 이하로 인양 속도 유지
- 채집된 식물플랑크톤 시료는 250 mL 원형 폴리에틸렌(Polyethylene) 시료병에 보관

#### 나) 선상 시료처리

- 포르말데하이드 용액을 최종농도 1%가 되도록 주입하여 시료 고정

#### 다) 시료 분석

- 시료 적당량을 분취하여 슬라이드글라스(Slideglass)에 떨어뜨린 후, 커버글라스(Cover glass)로 덮고 200~1,000배 배율 광학현미경으로 검경하여 분석야장에 기입 (부록 1)
- 가능한 한 종명까지 동정하고 필요시에는 명명자를 기입
- 우점종(정점 총 현존량의 10% 이상)은 검증을 거쳐 종명까지 기입하되, 정점별로 우점종 제시
- 분류도감은 Cupp (1943), Dodge (1982), Norman (1985), Throndsen (1993), 심 (1994), Chihara and Murano (1997), Tomas (1997) 등을 참조하며, 동종이명은 Tomas (1997), Throndsen (1993), 이 등 (1995)을 참조함

#### 라) 시료 보관

- 자료의 검증과 시료 제공 등을 위해 시료를 장기보관
- 침전된 네트 채집시료를 스포이드로 20 mL 바이알병(Vial)에 옮겨 담아 서 보관

### 2) 정량분석

#### 가) 시료채집

- Niskin 채수기로 원하는 수심의 해수 채수

- 연안정점은 상하층에서 채수
- 근해정점은 상, 중, 하층에서 시료를 채집 (단, 동해는 깊은 수심을 고려하여 0, 20, 50, 75, 100, 150, 500 m 수심에서 채수)
- 채집한 식물플랑크톤 시료는 1L 폴리에틸렌 시료병에 보관

#### 나) 선상 시료처리

- 루골용액을 최종농도 1%(10 mL/L)가 되도록 주입하여 시료 고정
- 직사광선에 노출되어 루골용액이 탈색되는 것을 방지하기 위해 시료병을 암소나 알루미늄 호일로 싸서 보관

#### 다) 시료 분석

- 시료병을 최소 48시간 이상 정치하여 식물플랑크톤을 충분히 침전시킴
- 직경 5 mm 이하 사이펀으로 최종 시료량이 100 mL가 될 때까지 상등액 제거
- 현미경 관찰하기 전까지 100 mL 시료병에 보관
- 식물플랑크톤이 적을 때에는 최종 시료량을 20 mL로 조절할 수 있으며, 상등액 제거 후 20 mL 바이알병에 보관
- 현미경 관찰을 위해 분취하기 전 농축 시료병을 조심스럽게 흔들어 시료 분포가 균일하게 함
- 시료 일정량(1 mL/100 mL 또는 0.1 mL/20 mL)을 분취하여 Sedgewick Rafter chamber 계수판에 넣음
- 광학현미경으로 200~400 배에서 동정·계수하여 분석 야장(부록 2)에 기입하며, 최종 단위는 cells/L로 표기

#### 라) 시료 보관

- 자료의 검증과 시료 제공 등을 위해 최소 3년간 시료보관
- 시료 검경 후, 루골용액을 첨액하여 20 mL 바이알병에 보관
- 100 mL 시료를 20 mL에 분주하여 보관할 때 원 농축비율을 필히 명기
- 시료목록은 부록 3과 같은 방법으로 작성하여 보관

### 3) 클로로필 *a*

#### 가) 시료채집

- 채수기와 채집수심은 정량시료 채집방법과 동일



- 채수용량은 해역의 상황과 분석기기에 따라 250 mL~2 L 채수

#### 나) 선상 시료처리

- 해수 250 mL~2 L를 직경 45 mm GF/F 여과지로 여과하며 여과압력은 200 mmHg 이하로 유지
- 클로로필 산화방지를 위해 여과하기 직전에 1% 탄산마그네슘( $MgCO_3$ ) 용액 약 1 mL를 첨가
- 해수여과 후 증류수 약 20 mL를 여과하여 여과지 위의 염분 세척
- 여과지는 페트리디쉬나 바이알병에 담아 빛 차단 후 냉동보관

#### 다) 시료분석

- 클로로필 a 분석 시 흡광도 측정기기는 분광광도계(UV spectrophotometer)를 기본으로 함
- 냉동보관한 여과지를 상온에서 녹인 후, 시험관에 넣고 90% 아세톤 10 mL을 주입
- 교반기로 강하게 교반한 다음 20~24시간 동안 냉암소에서 클로로필 추출
- 2000 rpm 으로 10분간 원심분리
- 상등액을 1 cm 큐벳(Cuvette)에 넣고 분광광도계로 750, 665, 645, 630 nm의 흡광도 측정 후 아래 계산식으로 농도 측정

$$(Ca) \text{ Chlorophyll } a = 11.6 E_{665} - 1.31 E_{645} - 0.14 E_{630}$$

※  $E_{665}$ ,  $E_{645}$ ,  $E_{630}$ 은 각각 665, 645, 630 nm의 흡광도에서 750 nm 흡광도(탁도 blank)를 빼준 값

$$\text{Chlorophyll } a (\mu\text{g/L}) = \frac{C \times v}{V}$$

C : Ca

v : 아세톤 부피 (mL 단위)

V : 여과한 해수 부피 (L 단위)

※ 클로로필-a는 빛에 산화되므로 최대한 빛을 차단한 상태에서 실험을 수행해야 함  
 ※ 최근 측정감도가 높고 측정방법도 간편한 형광측정기(Fluorometer)를 많이 사용

하므로, 이 측정방법(부록 2 참조)도 병행할 수 있음. 단, 형광측정기와 분광광도계 측정값을 보정하여 기기 사이 오차를 최대한 줄여야 함

※ 보다 자세한 클로로필 a 분석법은 해양환경공정시험방법 (국토해양부)을 참조함

라) 형광분석기(Fluorometer)를 이용한 클로로필 a 분석방법

- 90% 아세톤을 측정시험관(cell)에 채운 후 blank 값 기록
- 추출액을 cell의 2/3 가량 채우고 측정
- 측정이 끝난 cell에 5% HCl 4방울 정도 넣고 잘 섞어 준 다음, 90초 후 다시 측정
- 클로로필 a는 아래 수식으로 계산

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (}\mu\text{g/L)} = F_D \times \frac{r}{r-1} \times (R_b - R_a) \times \frac{V_a}{V_s}$$

$$\text{Phaeopigment (}\mu\text{g/L)} = F_D \times \frac{r}{r-1} \times (rR_a - R_b) \times \frac{V_a}{V_s}$$

$F_D$  : 클로로필 표준용액으로 구한 검정상수

(분광광도계 측정치와의 보정수치:

$F_D = \text{분광광도계로 구한 농도} / \text{형광광도계 농도}$ )

$r$  : 클로로필 표준용액으로부터 구한  $R_b/R_a$  비

$R_b$  : HCl을 가하기 전의 측정값

$R_a$  : HCl을 가한 후의 측정값

$V_a$  (mL 단위) : 식물색소 추출에 사용한 아세톤량

$V_s$  (L 단위) : 여과된 해수 시료량

#### 4) 지시색소(marker pigment)를 이용한 식물플랑크톤 군집분석

가) 시료채집

- 채수기와 채집수심은 정량시료 채집방법과 동일
- 채수용량은 해역의 상황에 따라 250 mL~2 L 채수

나) 선상 시료처리

- 해수 250 mL~2 L를 직경 45 mm GF/F 여과지로 여과하며 여과압력은

200 mmHg 이하로 유지

- 해수여과 후 증류수 약 20 mL를 여과하여 여과지 위의 염분 세척
- 여과지는 반으로 접어 알루미늄 호일에 싸서 빛 차단 후 냉동보관

다) 시료분석

- 냉동보관한 여과지를 상온에서 녹인 후, 시험관에 넣고 95% 메탄올 5 mL을 주입 (내부표준물질로  $\beta$ -apo-8'-carotenal을 50  $\mu$ L 주입)
- 유리막대로 분쇄한 후 초음파파쇄기(Sonicator)로 파쇄한 다음 12~24시간 동안 냉암소에서 광합성 색소 추출
- 2000 rpm 으로 10분간 원심분리 후 상등액 1 mL을 액체크로마토그래피 용 바이알에 넣고 증류수 300 $\mu$ L를 첨가한 후 고성능액체크로마토그래피 (HPLC; High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 분석
- 클로로필 a와 다른 지시색소의 양은 아래 수식으로 계산하여 정량

$$\text{Standard pigment concentration } (\mu\text{g/L}) = \frac{\text{Abs}}{E \times l} \times \frac{10^6 \mu\text{g}}{g}$$

E : 흡광계수(extinction coefficient) [ $1 \text{ g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ]

l : 큐벳 길이, [1cm]

Abs : 표준색소의 흡광도(Absorbance)

$$\text{Pigment concentration } (\mu\text{g/L}) = \text{Area} \times R_f \times (V_e / V_s)$$

C : 지시색소의 농도 [ $\mu\text{g/L}$ ]

Area : 크로마토그램 피크(peak)의 면적(area)

Rf : 반응계수 [ $\mu\text{g L}^{-1} \text{ area}^{-1}$ ]

Ve : 시료에 첨가한 내부표준물질(Internal standard; IS)의 양 [L]

$$V_e = \frac{\text{AIS}}{\text{peak area of IS added}} \times \text{volume of IS added to sample}$$

AIS : 내부표준물질의 크로마토그램 피크면적

(내부표준물질 1mL에 증류수 300 $\mu$ L 주입시)

Vs : 여과된 해수 시료량 [L]

※ 각각의 표준색소는 유기용매에 녹여 분광광도계로 측정한 흡광도와 크로마토

그램 피크 면적 값의 비를 이용하여 반응계수(Response factors; Rf)를 구함

## 5) 분자생물학적 picoplanton 군집분석

### 가) 시료채집

- 채수기와 채집수심은 정량시료 채집방법과 동일
- 채수용량은 해역의 상황에 따라 250 mL~2 L 채수

### 나) 선상 시료처리

- 해수 250 mL~2 L를 직경 0.45  $\mu$ m NC filter 여과하며 여과압력은 200 mmHg 이하로 유지
- 해수여과 후 증류수 약 20 mL를 여과하여 여과지 위의 염분 세척
- 여과지는 반으로 접어 알루미늄 호일에 싸서 빛 차단 후 냉동보관

### 다) Genomic DNA 추출

- 미리 준비한 1.5 mL 의 Tissue lysis buffer 200  $\mu$ l에 막자로 간 여과지를 넣음
- Proteinase K 20  $\mu$ l를 넣고 vortexing 함
- 60°C heating block에서 세포가 완전히 녹을 때 까지 기다림
- spin down 시킨 뒤 Binding buffer를 200  $\mu$ l 넣고 vortexing
- 60°C heating block에서 10분
- Isopropanol 100  $\mu$ l를 넣고 가볍게 뒤집어줌(inverting)
- Spindown 시켜서 윗부분의 맑은 상층액만 Binding column tube로 옮김
- 원심분리를 8000 rpm에서 1분
- Binding Column을 새로운 2 mL tube로 옮김
- Washing buffer 1용액을 500  $\mu$ l 넣고 원심분리를 8,000 rpm에서 1분
- Tube를 통과한 액을 버리고 column을 다시 tube에 끼움
- Washing buffer 2를 500  $\mu$ l 넣고 원심분리를 8,000 rpm에서 1분
- Tube를 통과한 액을 버리고 추가 원심분리를 12,000 rpm에서 1분
- Column을 새로운 1.5 mL tube에 옮기고 elution buffer를 50~100  $\mu$ l 첨가
- 1분간 정치 후 8000 rpm에서 1분 원심분리

### 라) 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)

### PCR mixture

주형 DNA	2 $\mu$ l
Forward primer (10picomole)	1 $\mu$ l
Reverse primer (10picomole)	1 $\mu$ l
Taq polymerase	0.2 $\mu$ l
10X PCR buffer	2 $\mu$ l
dNTP	1.5 $\mu$ l
D.W	<u>12.3 <math>\mu</math>l</u>
total volume	20 $\mu$ l

### Program

- 94℃ 5분
- 94℃ 30초
- 50~60℃ 30초 (primer의 Tm값에 따라 온도 조절)
- 72℃ 30초~2분( 증폭될 염기의 길이에 따라 시간 조절)
- 2번부터 4번을 40번 반복한다.
- 72℃ 5분
- 4℃  $\infty$

#### 마) 실시간 중합효소연쇄반응(Real-time PCR)

- 측정하고자하는 종의 특이적인 primer를 제작
- Chromo4 real-time thermocycler 프로그램을 작동
- Hexamer로 합성한 cDNA 를 50 ng/ $\mu$ l 를 다음과 같이 PCR tube를 만듦

**PCR mixture**

template(50 ng/μl)	2 μl
forward primer (4p)	2 μl
reverse primer (4p)	2 μl
Syber green (2X)	10 μl
<u>D.W</u>	<u>4 μl</u>
total volume	20 μl

※ Syber green (SYBR® Premix Ex Taq™ II (Perfect Real Time))을 사용

- 기존의 program은 일반 PCR 방법과 동일하게 만듦







### 3. 시료목록집 (예시)

[illegible]

1) 시료코드 : 2-8을 순서대로 표기

2) 조사연도 : 2009

3) 조사월 : 08

4) 생물군 : 식물플랑크톤-P(Phytoplankton), 동물플랑크톤-Z(Zooplankton), 저서동물-B(Benthos), 해조류-A(Algae), 갑각류-C(Crustacean), 어류-F(Fish), 유영두족류-Ce (Cephalopoda), 난자치어-FL(Fish Larvae), 어란(E), 자치어(L)

5) 조사해역 : 서해북부-WN, 서해중부-WM, 서해남부-WS

6) 조사정점 (조사지역, 채집횟수) : 01 (1)

7) 채집수심 (채집망버) : 표층상부 -S, 중층-M, 저층하부-B, 정성-OL, 정량-QN

8) 종명 : 예) Ns (*Noctiluca scintillans*), 저서동물의 경우 부근 동물, 연체동물, 절지동물, 극피동물...)

(9) 모관상태 : 세(세)투각(정량), 포르말린 (정성)

---

## 저서미세조류

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 저서미세조류는 연안의 갯벌 지역에서 총 일차생산의 약 60%를 차지할 정도로 주요한 분류군의 하나
- 2) 해양생태계의 일차 생산자로서 갯벌 생태계의 생물생산력을 좌우하며 동물플랑크톤의 먹이가 되어 상위 영양단계로 이어지는 생태계 먹이망의 기초를 제공
- 3) 저서미세조류는 연안 갯벌지역 생태계를 이해하기 위해 가장 기본적으로 수행하여야 할 조사항목 임

### 나. 조사항목

- 1) 생물량
- 2) 종 다양성

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침 시기 및 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

### 마. 세부 조사방법

- 1) 생물량 측정
  - 퇴적물 주사기 코어(지름 1.4 cm)를 이용하여 퇴적물 표층 0.5 cm를 4회 채취하여 50 mL 튜브에 넣어 냉동보관 상태로 실험실로 운반하며 반복수는 3회

- 퇴적물 시료에 100% 아세톤 15 mL를 넣고 약 1분간 초음파 처리를 한 후 4℃ 암실에 24시간 동안 저온 추출함
- 추출이 끝나면 시료를 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하고 상등액을 따라내어 Scintillation vial로 옮겨서 4℃ 저온상태로 보관
- 분광광도계(Spectrophotometer)를 이용하여 추출시료의 흡광도를 665, 750 nm에서 각각 측정
- 시료에 1N HCl 2방울을 떨어뜨리고 잘 흔들어 주고 약 5분 후 665, 750 nm에서 시료의 흡광도를 재측정
- Lorenzen 식(1967)을 이용하여 클로로필 a의 농도와 pheopigment의 농도를 계산

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (}\mu\text{g/g)} = \frac{A \times K \times (665o - 665a) \times V}{Ws \times L}$$

$$\text{Phaeopigment (}\mu\text{g/g)} = \frac{A \times K \times [R(665o) - 665a] \times V}{Ws \times L}$$

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (mg/m}^2\text{)} = \frac{A \times K \times (665o - 665a) \times V}{(S/10) \times L}$$

$$\text{Phaeopigment (mg/m}^2\text{)} = \frac{A \times K \times [R(665o) - 665a] \times V}{(S/10) \times L}$$

A: 1l, absorption coefficient of chlorophyll *a*

K: 2.43, Factor to equate the reduction in the absorbancy to initial chlorophyll concentration (1.7:0.7)

665o: absorbance before acidification

665a: absorbance after acidification

v: volume of acetone used for extraction (mL)

S: Surface area of sediment sampler (cm<sup>2</sup>)

Ws: sample weight (wet or dry wt)

L: 1, path length of cuvette (cm)

R: 1.7, maximum ratio of 665o:665a in the absence of phaeopigment

## 2) 종다양성 조사

### 가) 미세조류 분리

- 퇴적물 시료가 들어있는 scintillation vial에 인공해수를 채운 후 잘 섞일 때까지 흔들어 주고 시료의 절반 가량을 100 mL 플라스틱병에 넣고 나머지 절반은 커버 슬라이드 테크닉으로 처리하기 위해 따로 놓아 둠
- 파라포르말린 10% 용액을 시료에 첨가하며 이때 첨가하는 양은 시료에 첨가한 인공해수의 10% 이상이 되도록 하여 파라포르말린의 최종농도가 1% 이상이 되도록 함(예, 시료부피 20 mL)
- 시료가 고정될 때까지 몇 시간 기다린 후 증류수 10 mL을 첨가하여 잘 흔들어준 후 3~5초 가량 침전 시키고 100 mL 매스실린더에 상등액을 따라냄
- 남은 퇴적물에 증류수를 적당량(약 10 mL 정도) 첨가하여 1분간 sonication을 실시하고 시료를 잘 흔들어 3~5초간 침전시킨 뒤 상등액을 매스실린더에 따라내고 증류수를 조금 더 첨가한 뒤 같은 방법으로 상등액을 한번 더 따라 냄
- 증류수를 첨가하여 5분간 sonication을 실시하고 시료를 잘 흔들어 3~5초간 침전시킨 뒤 상등액을 따라내며 상등액이 맑아질 때까지 이 과정을 반복하며 이때 매스실린더에 따라낸 시료의 총량이 100 mL가 넘지 않도록 주의
- 매스실린더에 약간의 파라포르말린 용액을 넣어 다시 고정시키고, 플라스틱병에 남아있는 퇴적물(퇴적물만 남아있어야 정상)에도 약간의 파라포르말린 용액을 첨가한 후 이 퇴적물을 과산화수소로 처리하여 저서미세조류를 분리해 냄
- 매스실린더에 종이 등을 덮어 먼지가 들어가지 않도록 입구를 막은 뒤 하루 동안 방치한 후 매스실린더를 바닥에 약하게 세 번 내려침
- 이때 물방울과 함께 벽에 붙어있던 일부 시료가 침전하게 되며 경우에 따라 30분정도 정치시킴
- 피펫을 이용하여 상등액을 최대한 따라냄, 시료를 잘 흔들어 준 뒤 최대한 빠른 속도로 scintillation vial에 따라내고 아주 약간의 증류수로 매스실린더에 남은 시료를 씻어내어 scintillation vial에 따라내고 파라포르말

린 용액을 넣어 고정

나) 퇴적물내 유기물 제거

- 매스실린더를 이용해 분리한 시료를 100 mL 비이커에 붓고 증류수를 채워 시료 부피가 30 mL이 되도록 함(단, 시료가 실트를 많이 함유하고 있으면 바닥을 덮을 정도로 그렇지 않으면 그 이상을 부음)
- Hot plate를 150℃에 맞춘 뒤 비이커를 올려놓고 3시간동안 가열한 뒤 증류수를 채워 시료부피가 100 mL 이상이 되도록 맞추고 하루 동안 정치시킴
- 피펫을 이용하여 상등액을 제거하며 이때 상등액이 20 mL 이상 남지 않도록 하고 가능하면 약 10 mL 정도만 남김
- 증류수를 채워 시료의 부피가 약 40 mL가 되도록 하고 약 10초간 sonication 시킨 뒤 증류수를 100mL까지 채움
- 2시간 뒤 상등액을 제거하고 증류수를 채우고 다시 3시간 뒤에 상등액을 제거하고 증류수를 채우고 하루 동안 정치시킴
- 상등액을 제거한 뒤 증류수를 40 mL까지 채우고 과산화수소 20 mL를 첨가하여 시료부피가 60 mL이 되도록 함
- 시료를 150℃로 맞춰진 Hot plate에서 2시간 동안 가열(단, 가열시간은 통상 시료의 색이 하얗게 될 때까지이며 실트가 많은 시료의 경우 오래 가열해도 색이 하얗게 되지 않을 수 있으므로 주의)
- 가열 후 3시간 동안 정치시키며 3시간 간격으로 5~6번 중화과정(상등액 제거 증류수 첨가) 반복
- 상등액을 제거하고 시료 10 mL을 scintillation vial에 담으며 이때 비이커 내벽까지 깨끗하게 씻어서 넣은 후 20초간 sonication 한 뒤 3시간 동안 침전시킴
- 상등액 제거한 뒤 무수에탄올을 첨가하고 15초간 sonication 하고 3시간 동안 침전시키며 3시간 간격으로 상등액을 최대한 제거한 뒤 증류수를 첨가하며 이 과정을 2회 반복

다) 슬라이드 제작 및 현미경 관찰

- 고정시키지 않은 퇴적물 시료를 비이커에 담음
- 커버글라스를 퇴적물 표면에 살짝 떨어뜨리며 되도록 퇴적물 표면에 물이

많지 않도록 하되 물이 많을 경우에는 핀셋으로 살짝 눌러주어 커버글라스가 퇴적물 표면에 닿게 함

- 1시간 이상(예, 2시간) 기다림
- 핀셋으로 집어내어 증류수에 조심스럽게 씻음
- 슬라이드글라스에 약간의 해수(20  $\mu$ l 미만)를 떨어뜨린 후 커버 글라스를 덮어 관찰하며 이때 저서미세조류를 움직이지 않게 하고 싶으면 약 3% 프로말린(1% 포름알데히드용액)을 사용
- 슬라이드 글라스에 붙은 저서 규조류의 각을 관찰하고 싶으면 400℃ 오븐에서 24시간 가열한 후 pleurorax resin으로 mounting하여 현미경으로 관찰하며 현미경 관찰시 노출시간은 감도 40으로 놓고 노출시간은 2단계 증가시켜 결과적으로 감도 25 기준 노출시간의 세배 정도를 노출시켜 사진을 촬영

## 동물플랑크톤

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 동물플랑크톤은 해양생태계에 있어 생산자와 소비자를 연결하는 먹이사슬의 중요한 축으로 출현종의 다양성과 높은 밀도가 해양생태계를 건강하게 유지시키는 기반이 되므로 해양생태계 연구에 있어서 동물플랑크톤의 종다양성을 비롯한 여러 요인에 대한 연구는 반드시 수반되어야 함

### 나. 조사항목

- 1) 현존량, 종조성, 시·공간 분포

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침 시기 및 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

### 마. 세부 조사방법

#### 1) 시료 채집

- 원추형 네트(망구 60 cm, 망목 200  $\mu$ m) 사용
  - 네트 입구에 유량계(Flowmeter) 부착, 네트 통과한 해수 양 계산
  - 유량계 부착 위치는 네트 링 2/3 높이
- 채집방법은 수직 채집으로, 정지해 있는 배위에서 네트를 해저바닥으로부터 약 1 m 위까지 내린 후 약 1 m/sec 속도로 예망
  - 수직채집시 예망 횟수는 수심이 비교적 얇은 겨우는 2회 이상 실시하고 동

해의 경우는 연안정점의 경우는 2회 이상, 근해 정점의 경우는 1~2회 실시(중 동정 및 생체량 측정에 필요한 충분한 양의 동물플랑크톤 시료 확보 필요)

- 동해의 경우 수심이 500 m 이상인 정점에서는 수심 500 m까지만 네트를 내려서 수직채집 실시
- 채집통에 모여진 동물플랑크톤 시료를 약 2 L 용량 폴리에틸렌 재질의 손잡이가 달린 용기로 옮김
  - 채집통을 네트에 부착시킨 후 펌프 해수로 네트의 아래쪽을 다시 세척하여 네트의 아래쪽에 남아있는 시료를 채집통으로 다시 모은 후, 내용물을 폴리에틸렌 용기로 옮김
  - 네트가 한번 올라오면 이 세척과정을 2회 실시
  - 첫 번째 수직 채집 후 2회의 세척과정이 끝나면 네트를 다시 채집수심까지 내려서 두 번째 수직채집 실시
  - 동일한 방법으로 네트를 2회 세척한 후 시료를 동일한 폴리에틸렌 용기로 옮긴 후 내용물이 든 용기를 안전한 장소에 일시보관
  - 2회의 수직채집이 모두 끝나면, 채집통을 분리한 후 네트 및 채집통을 펌프해수로 깨끗이 세척하여 다음 정점에서 채집 시 앞 정점에서 채집된 시료가 섞이지 않도록 주의
  - 세척이 끝나면 채집통을 다시 네트에 부착하여 다음 정점을 위한 채집 준비
  - 한 정점에서 채집이 끝나면 네트에 부착된 유량계 회전수를 기록
  - 네트 세척과정에서 유량계의 눈금이 돌아가지 않도록 주의
- 2L 폴리에틸렌 용기에 모아둔 시료를 500~1,000 mL 용량의 입구가 넓은 폴리에틸렌 시료병으로 옮김
  - 폴리에틸렌 용기에 남은 시료는 여분의 현장해수 등으로 세척한 후 시료병으로 옮김
  - 유량계는 Hydro-Bios사(독일)의 수직용 유량계(Vertical flowmeter) 또는 general Oceanics사(미국)의 표준형 사용가능
  - 네트를 통과한 해수의 양은 사용한 유량계의 계산 방법에 따라서 계산
- 시료채집 시간의 경우 주간 야간 및 조석주기에 대한 구분없이 실시



- 근해역의 경우는 낮 또는 밤에 실시할 수도 있는데 시료채집시간을 기록하여 필요할 경우 자료해석 시 시료채집의 주야에 따른 차이를 고려함을 권장

#### - 선상에서 시료처리

- 폴리에틸렌 시료병 내의 동물플랑크톤 시료 용량은 가급적 전체 시료병 용량의 1/4을 넘지 않도록 하고 넘을 경우는 다른 병에 나누어 보관
- 고정하기 전에 magnesium chloride 용액을 시료와 같은 부피로 첨가한 후 채집된 생물이 충분히 마취되도록 하여 20분간 유지
- 마취된 시료를 200  $\mu$ m의 sieve를 사용하여 여과한 후 조사정점의 해수를 이용하여 폴리에틸렌 시료병에 시료를 옮김
- 고정 후 최종농도가 5%가 되도록 중성 포르말린 용액으로 고정
- 형태적 분류 이외에 유전자 분석을 위한 시료확보를 위하여 전체 정점의 약 1/4 이상의 정점에서 별도의 표본을 채집 한 후 고정 후 최종농도가 10%가 되도록 100% 메틸알코올로 고정
- 각 1시간 간격으로 30, 50%가 되도록 100% 메틸알코올 추가
- 실험실로 옮긴 후 alcohol series 70, 80, 90, 100%의 순차적인 탈수과정을 거침
- 채집정점의 선정은 전체조사해역이 지리적 분포를 고려하여 결정
- 고정된 시료에 대한 처리는 포르말린 고정의 절차에 준용
- 시료 고정 후 채집된 시료가 담긴 폴리에틸렌 시료병의 뚜껑과 병의 표면에 시료라벨을 부착하거나 유성펜으로 기록
- 시료 라벨에 들어갈 내용은 조사해역, 조사날짜, 채집시간, 조사정점 번호, 수직채집횟수, 예망거리 등

## 2) 시료 분석

- 실험실에서 생체량을 전체 시료에 대하여 측정
  - 전체 시료의 양에 따라 시료 분할기를 이용하여 1/4~1/32로 분할하여 1/4~1/32은 생체량 측정용 시료, 나머지 3/4~31/32은 분류군 동정에 사용한 후 보관
  - 생체량은 현장에서 채집 및 고정한 후 약 30일 경과 후 측정

- 생체량으로 습중량, 건중량 및 건조유기물중량을 측정

#### 가) 시료분할

- 시료분할기 사용
- Folsom형과 Motoda식이 있으나, Motoda식 시료 분할기 사용 권장

#### 나) 습중량(Wet weight)

- 측정할 시료보다 5개 이상 많은 유리섬유 여과지(GF/C Whatman, 47mm)를 준비한 후 연필이나 유성펜을 사용하여 각 여과지에 일련번호를 적어 Dry Oven에 60℃로 24시간 유지한 후 정밀전자저울로 0.0001 mg까지 각각의 무게를 측정
- 전체 시료의 양에 따라 시료분할기를 이용하여 1/4~1/32로 취한 시료를 여과장치에 부은 후 유리막대를 사용하여 천천히 저어줌
- 시료에 포함된 해수는 진공펌프(압력은 보통 250 mmHg를 넘지 않도록)를 이용하여 조심스럽게 제거하며 시료의 수분이 빠져나가기 직전에 펌프의 작동을 멈춤(작업자에 따라 오차가 가장 높게 발생할 수 있는 과정이므로 주의할 것)
- 시료는 여과 직후 여과지 채로 Wiping towel에 올려놓은 후 1분 동안 여분의 해수제거(시간을 정확하게 유지)
- 여분의 해수가 제거된 시료+여과지를 정밀전자저울로 0.0001 mg까지 측정
- 준비된 여분의 5~6개의 여과지에 여과해수를 이용하여 같은 과정으로 진행한 후 습중량을 측정
- 측정된 값은 평균을 내어 참고값(reference 또는 control)으로 사용
- 습중량은 시료+여과지 무게에서 참고값을 빼면 얻어지는데 나중에 정량적인 환산을 위해서는 시료 분할비를 다시 곱해준 후 여수량( $m^3$ )으로 나누어 산출
- 습중량은  $mg/m^3$ 으로 표시

#### 다) 건중량(Dry weight)

- 습중량 측정이 끝난 시료+여과지를 전기오븐에 넣고 60℃에서 24시간 건조
- 건조가 끝난 후, 무게 측정 때까지 시료+여과지를 건조기(Desiccator) 안

에 보관

- 무게 측정은 정밀전자저울을 이용하여 0.0001 mg까지 측정
- 건중량은 시료+여과지 무게에서 여과지의 무게를 뺀 후 시료 분할비를 곱하고 다시 여수량( $m^3$ )을 나누어 산출
- 건중량은  $mg/m^3$ 으로 표시

라) 건조유기물 중량(Ash-free dry weight)

- 건중량 측정이 끝난 시료+여과지를 전기로(Electric furnace)에 넣어 400°C에서 3시간 태운 후 상온까지 냉각시켜 정밀전자저울로 무게 측정
- 참고값을 위한 여분의 여과지도 같은 과정을 거쳐 무게를 측정한 후 평균값을 취해 건조 유기물 중량환산을 위한 참고값으로 사용
- 건조유기물 중량은 정량적으로 환산하지 않은 건중량에서 재(Ash) 무게를 뺀 중량이며 여기에 시료 분할비를 곱하고 다시 여수량으로 나누어 산출
- 계산시에 여과지가 전기로에서 처리되는 과정에서 발생하는 중량의 감소분을 감안
- 건조유기물 중량은  $mg/m^3$ 으로 표시

### 3) 동물플랑크톤 동정 및 계수

- 대형 동물플랑크톤(난바다곤쟁이류, 곤쟁이류, 단각류, 모악류, 해파리류, 살파류)과 중형 동물플랑크톤(요각류, 지각류, 미색류 및 유생 분류군)으로 구분하여 동정 및 계수 (부록 1)
- 분할된 시료를 페트리디쉬에 적당량씩 놓은 후 대형동물플랑크톤 분류군에 속하는 플랑크톤들을 각각 5% 중성 해수-포르말린 수용액이 첨가된 4~20 mL Vial에 넣고 라벨을 부착하여 별도 보관
- 대형 동물플랑크톤 분류군의 경우 시료의 동정은 Vial에 포함된 전체시료에 대하여 동정과 계수를 실시한 후, 시료 분할비 및 여수량을 고려하여  $ind./m^3$  단위로 표시
- 대형 동물플랑크톤 분류군의 경우(특히, 모악류) 채집 시 시료의 양이 충분할 경우는 분할된 시료를 관찰하여도 동정 및 계수에 문제가 없지만 채집된 시료의 양이 매우 적을 경우에는 분할되어지는 과정에서 Subsample의 개체

- 수 차이가 클 수 있기 때문에 가능하면 분할되기 전의 전체 시료 관찰 권장
- 대형 동물플랑크톤 분류군별 시료는 대분류군별 담당 전문가에게 보내서 동정 및 계수 권장
- 중형 동물플랑크톤 분류군의 경우, 대형 동물플랑크톤을 분리하고 남은 시료를 500 mL 메스실린더 또는 높이가 낮고 입구가 넓은 눈금이 새겨진 비이커에 부어 용량(부피) 측정
- 메스실린더 또는 비이커의 내용물을 유리막대로 잘 섞은 후, 입구가 넓은 10 mL 용량의 피펫(예, Stempel 피펫)을 이용하여 적당량을 계수판(예, Bogorov chamber)에 옮긴 후 야광충(*Noctiluca scintillans*)를 제외한 최우점종의 개체수가 100개체 이상 될 때까지 동정 및 계수한 후, Subsample 용량, 시료분할비, 여수량을 고려하여 ind./m<sup>3</sup> 단위로 표시
- 야광충의 개체수는 대형 또는 중형 동물플랑크톤 개체수와 구분하여 별도로 표시
- 동정이 어려운 중형 동물플랑크톤의 경우, 시료를 5% 중성 해수-포르말린 수용액이 첨가된 Vial에 넣고 라벨을 부착하여 보관한 후 해당 전문가에게 분석 의뢰
- 시료에 대한 분류 및 동정 수준은 가급적 종 수준까지를 기본으로 하지만 동정이 어려운 분류군이나 국내 전문가가 없는 분류군의 경우는 보다 상위 분류단계까지만 표시

#### 4) 시료 보관

- 분석이 끝난 시료는 통풍이 원활한 암소에 보관한 후 주기적으로 결정 침전물의 유무나 고정액의 상태를 확인
- 액상 시료의 경우, pH가 중성 또는 약알칼리성으로부터 많이 벗어나 있거나 고정액이 20%이상 감소한 경우, 고정액에 침전물이 발생한 경우 새로운 고정액을 첨가하거나 교체
- 알콜 고정의 시료는 실험실로 옮긴 후 알콜을 교체하여 수밀이 되는 적당한 크기의 Vial에 넣은 후 증발방지를 위하여 뚜껑 부위에 파라필름(Parafilm)을 이용하여 밀봉하여 보관
- 시료목록은 부록 2와 같은 방법으로 작성하여 보관

##### 5) 분석 신뢰도 확보 방안

- 대형 동물플랑크톤 분류군 및 중형 동물플랑크톤 분류군에 대한 동정 및 계수는 국내 동물플랑크톤 전문가 그룹에 의하여 이루어짐
- 동물플랑크톤에 대한 분류 및 동정은 정량적으로 평가할 수 없기 때문에 분석에 대한 신뢰도를 높이기 위하여 국내 동물플랑크톤 전문가 그룹이 얻어진 자료를 충분히 검토하여 신뢰성 있는 최종 결과를 도출

## 부록 1. 동물플랑크톤 생물 선별 야장

Zooplankton Sorting Sheet				
Sampling Area			Station No.	
Sampling Date			Sampling Time	
Towing Distance(Flowmeter)			Towing Type	(V), (H) (O)
Net Mesh ( $\mu\text{m}$ )			Net Diameter (cm)	
Sample Vol. (mL)			Subsample Vol. (mL)	
Settled Vol. (mL)			Wet Weight ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ )	
Dry Weight ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ )			Ash-free Weight ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ )	
No.	Category	Number	Species	Number
1	<i>Noctiluca</i>			
2	<i>Foraminifera</i>			
3	<i>Hydroida</i>			
4	<i>Siphonophora</i>			
5	<i>Medusae</i>			
6	<i>Ctenophora</i>			
7	<i>Polychaeta</i>			
8	<i>Chaetognatha</i>			
9	<i>Cladocera</i>			
10	<i>Ostracoda</i>			
11	<i>Copepoda</i>			
12	<i>Amphipida</i>			
13	Decapoda, Lucifer			
14	<i>Mysidacea</i>			
15	<i>Euphausiacea</i>			
16	<i>Mesogastropoda</i>			
17	<i>Pteropoda</i>			
18	<i>Heteropoda</i>			
19	<i>Appendicularia</i>			
20	<i>Thaliacea</i>			
21	Trochophora larvae			
22	Veliger larvae			
23	Cimipedia larvae			
24	Decapoda, zoea			
25	Decapoda, megalopa			
26	Decapoda, alima			
27	Decapoda larvae (others)			
28	Bipinnaria larvae			
29	Brachiolaria larvae			
30	Auricularia larvae			
31	Ophiopluteus larvae			
32	Echinopluteus larvae			
33	Ascidacea larvae			
34	Fish egg			
35	Fish larvae			

부록 2. 시료목록집 (예시)

[illegible]

- 1) 시료코드 : 2-8을 순서대로 표기
- 2) 조사연도 : 2009
- 3) 조사월 : 08
- 4) 생물군 : 식물플랑크톤-P(Phytoplankton), 동물플랑크톤-Z(Zooplankton), 저서동물-B(Benthos), 해조류-A(Algae), 갑각류-C(Crustacean), 어류-F(Fish), 유영두족류-Ce (Cephalopoda), 난자치어-FL(Fish Larvae), 어란(E), 자치어(L)
- 5) 조사해역 : 서해북부-WN, 서해중부-WM, 서해남부-WS
- 6) 조사점 (조사지역, 채집횟수) : 01 (1)
- 7) 채집수심 (채집방법) : 표층상부 -S, 중층-M, 저층하부-B, 정성-OL, 정량-QN
- 8) 종명 : 예) Ns (*Noctiluca scintillans*), 저서동물의 경우 동물군별 분류 (환형동물, 연체동물, 절지동물, 극피동물...)
- 9) 보관형태 : 예) 루골액 (정량), 포르말린 (정성)

---

## 해양식물

---

### ◆ 목적 및 필요성

- 식물플랑크톤을 제외한 해양의 중요한 일차생산자 역할을 하므로 종합 생태계를 파악하기 위해서는 기본적으로 관측되어야 함
- 하구의 기능적 역할을 이해하기 위해서는 염습지식생의 군집구조 변동 양상 이해와 환경요인 변화에 의한 해양식물 구조 변화의 상호관계 연구가 중요
- 갯녹음 현상을 파악하고 그 대책 마련이 필요

### ◆ 조사항목

- 해조류
- 잘피류
- 염습지식생

### ◆ 정점의 선정

- 기본조사지침의 정점과 동일



---

## 해조류

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 식물플랑크톤을 제외한 해양의 중요한 일차생산자 역할을 하므로 종합 생태계를 파악하기 위해서는 기본적으로 관측되어야 함
- 2) 외래 유입종에 의한 고유종의 분포 및 생리생태적 특성변화 연구가 필요함
- 3) 갯녹음 현상의 확산 및 자연복원 양상을 파악하고 생태학적 메카니즘의 모델화 수립

### 나. 조사항목

- 1) 군집 내 생물군의 정량조사
- 2) 종별 정성조사 및 생물다양도 변화 추적
- 3) 군집의 기능생태학적 분석: 경쟁구도, 섭식작용, 개체군변동 및 군집안정성

### 다. 정점의 선정

- 기본조사지침의 정점과 동일
- 각 항목별 연구대상지 고려
- 예산에 맞추어 정점 선정

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 기본조사 지침 시기 및 횟수와 동일
- 2) 보호구역, 고유생태지역, 관리대상지역: 4계절 조사 원칙
- 3) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 군집기초조사 분석

#### 가) 해조생태계의 지역별 생물량과 계절적 변동

- 보호구역, 고유생태지역, 관리대상지역을 대상으로 하여 최적조사지점을 선정 (예, 대표군집)
- 선정된 조사해역내의 지형과 암반 등 저질 종류별 면적을 산출
- 육상장기생태(LTER) 프로젝트를 참고로 한 정보수집
  - 모니터링지역의 이름 (저질 특성번호, 할당번호, 지방명 등)
  - 지역의 지도 (도면 양식 또는 수치지도 양식)
  - 지리적 좌표
  - 총 면적 (암반, 갯벌, 사질 등)
  - 선택된 조사지역의 과거내력 (이용 및 경영 이력) 조사
  - 지역 경계 식별을 위해 원격 탐사자료 (가능한 경우), GPS 자료 이용
- 조사 지역별 모니터링 기한을 전 조사지역을 통일하여 설정
  - 매년 1, 4, 7, 10월의 간조 시점을 기준
  - 중요 대형해조류는 종별 데이터 수집, 소형해조류는 속별 데이터 수집
- 생물량 조사는 비파괴 샘플링(non-destructive sampling) 기법 활용
  - Size class 별 건조중량을 실험실내에서 측정
  - 현장에서 개체별 size class 측정
  - 두 개의 parameter를 회귀분석(regression)으로 생물량 측정
- 현장조사의 세부방법은 국제적 통용(공인) 방법으로 조사
  - DIWPA-IBOY에서 작성된 해양생물 inventory 조사법의 manual (NaGISA Handbook) 중 해조류 부분에 의거해서 조사
  - 조하대 해조류는 대형 갈조류(예, 다시마, 미역, 감태, 곰피 등)는 1 m<sup>2</sup> 단위로 random sampling하여 개체별 size class를 SCUBA 다이빙을 이용하여 현장에서 기록
  - 이후 종별 regression equation으로 생물량 추산(표 1, 2 참조)
  - 조하대 소형 해조류(예, <50 cm 길이)는 50×50 cm 방형구를 이용하여 % cover를 현장에서 기록

표 1. 제주 연안의 해조류 생물량 산출을 위한 회귀공식 ( $Y = aX + b$  ; Y: 습중량, X: 피도 또는 size class)

Species	Coverage		Size class	
	a	b	a	b
<i>Ecklonia cava</i>			38.90	-75.97
<i>Plocamium</i> sp.	2.44	15.68		
<i>Ulva pertusa</i>	2.45	22.73		
<i>Pachymeniopsis</i> sp.	11.29	-31.46		
<i>Sargassum</i> sp.	5.41	-88.30	25.59	-22.60
<i>Acanthopeltis japonica</i>	4.73	-3.01		
<i>Gelidium elegance</i>	5.83	-6.10		
<i>Prionitis patens</i>	3.25	-3.24		
<i>Chondrus</i> sp.	30.72	-82.57		
<i>Codium fragile</i>			180.40	-260.2
<i>Gloiopeltis furcata</i>	1.02	2.31		
<i>Sargassum thunbergii</i>	17.96	-24.30		
<i>Hizikia fusiformis</i>	8.61	80.82		
<i>Ishige okamurae</i>	3.61	-3.60		
<i>Pachydictyon coriaceum</i>			23.94	-21.13

표 2. 동해 북부 연안의 해조류 생물량 산출을 위한 회귀공식 ( $Y = aX + b$   
; Y: 습중량, X: 피도 또는 size class)

Species	Coverage		Size class	
	a	b	a	b
<i>Schizymenia dubyi</i>	8.90	0.98	-9.83	34.37
<i>Dilophus okamurae</i>	0.33	10.59		
<i>Pachymeniopsis lanceolata</i>				
<i>Chondria crassicaulis</i>	14.65	7.36		
<i>Sargassum horneri</i>			28.29	-18.25
<i>Ulva pertusa</i>	8.36	62.59	1.87	32.91
<i>Porphyra sp.</i>	6.56	-37.36		
<i>Enteromorpha compressa</i>	4.73	50.17		
<i>Laminaria japonica</i>	2.74	114.97	-6.41	79.01
<i>Dictyopteris divaricata</i>	5.77	13.37	7.05	-2.32
<i>Grateloupia turuturu</i>	8.84	-0.03	3.98	-0.48
<i>Undaria pinnatifida</i>	51.24	-120.80	119.35	-92.75
<i>Delesseria violacea</i>	14.41	53.38		
<i>Ahnfeltiopsis flabelliformia</i>	7.33	42.01		
<i>Coccophora langsдорфii</i>	12.79	50.55	25.82	-41.21
<i>Phyllospadix iwatensis</i>	13.64	-41.41	7.38	-1.95
<i>Sargassum kjellmanianum</i>	14.26	-42.37	32.63	-49.33
<i>Sargassum confusum</i>	13.77	24.78	14.81	11.62
<i>Chaetomorpha moniligera</i>	15.35	-34.14		
<i>Sargassum yezoense</i>	11.52	120.11	26.69	-21.66
<i>Gelidium amansii</i>	25.64	-7.45		
<i>Sargassum thunbergii</i>	28.16	-84.77	31.74	25.52
<i>Chondrus ocellatus</i>	3.01	15.42		
<i>Corallina officinalis</i>	19.07	-142.70		
<i>Grateloupia filicina</i>	14.77	-0.03		
<i>Codium fragile</i>	30.46	-11.16	31.40	-5.50

## 나) 갯녹음 지역의 정량정성조사(그림 1)

- 조사방법 : 과학잠수 조사(수중관찰, 촬영, 방형구조사 등)
- 연안역 갯녹음 분포
- 갯녹음 분포현황 및 상황
  - SCUBA 다이빙과 수중촬영 영상분석 동시 수행
  - 수중CCTV 카메라 이용, 격자법 조사
  - 지점 내 격자법 적용 정량조사
    - ※ 대상 어장면적 고려, 적정 격자 수 결정
    - ※ 최소 8개 격자점(정점)/어장
  - 경성기질에서의 백분율(%) 조사
  - 조사지점 내 갯녹음 분포현황 도면작성
- 갯녹음 우점종
  - 수중방형구(50 X 50 cm) 사용 정량조사(SCUBA Diving survey)
  - 조간대 ⇒ 조하대(해당지역 최대수심까지) 대상
    - ※ 대상 지점면적 고려, 적정 격자 수 결정
    - ※ 최소 8개 격자점(정점)/지점
  - 갯녹음 유발 출현 종 피도 및 생체량(건중량) 조사

### 『건중량 측정법』

80℃에서 48시간 동안 완전건조 시킨 후에 건중량 측정. 건중량은 평균 단위 면적당(g·dry/m<sup>2</sup>)으로 환산

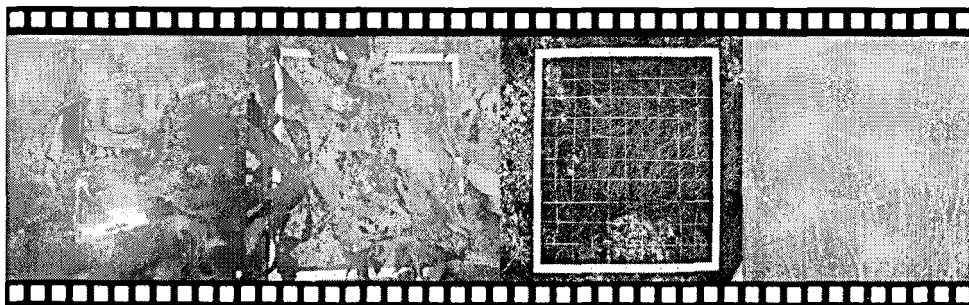


그림 1. 조하대 대형해조류 정량조사 방법

## 2) 군집 기능생태학적 조사분석

### 가) 해조군집구조 조사

- SCUBA Diving survey
- 조사지역 별 자연암반 5개소 4개 정점(조간대 1개 정점, 조하대 3개 수심 (5, 10, 15 m))
- 전 정점 5회 반복 채집(5개의 반복구, 평균생물량+표준오차 산출; 3회 반복구(replication)는 향후 통계분석 시 불충분한 sample size로서 유의한 결론 도출에 어려움 예상)
- 수중 방형구(50 X 50 cm) 사용
- 출현 종 피도, 생체량 조사;
  - “회귀분석 allometry를 이용한 비파괴 샘플방법” 적용
  - [참조 : 한국조류학회지 (2008) 23(4); 289-294]
- 피도 및 습중량 기준 해조군락 특성조사
- 피도 또는 중요도 기준 우점종 추출 및 우점종 생태특성 파악
- 주요 구성종의 생장 및 생식상태의 계절적 변화 파악
- 잠수관찰, 채집 및 수중영상 분석을 통한 해조군락의 정성조사
- 모든 결과는 단위면적으로 산출

#### 『중요도 값 산출(Barbour *et al.* 1987)』

피도(C)=(출현종 i가 차지하는 면적/방형구의 면적)x100

빈도(F)=(출현종 i가 있는 소방형구의 수/소방형구의 수)x100

상대피도(RC)=(i종의 피도 합/전 종의 피도 합)x100

상대빈도(RF)=(i종의 빈도 합/전 종의 빈도 합)x100

중요도 값(IV)=(RC+RF)/2

(C, coverage; F, frequency; RC, relative coverage; RF, relative frequency,

IV, importance value)

## 나) 해조 엽체 부착 생물상 조사

- SCUBA Diving survey
- 대상종: 우점하는 해조류 3종
- 조하대 3개 수심(5, 10, 15 m)
- 각 수심별 최소 5개 반복정점 설정
- 잠수를 통한 해조엽체 및 부착생물 전수 포획법(정량) 적용
  - ※ 전수 포획법: 수중에서 포획망을 이용하여 대상 해조류와 해조류 엽체 부착생물을 통째로 포획하는 방법. 향후, 실험실에서 엽체면적 및 부착생물 종류와 개체수 분석, 산출
- 해조 종류별, 단위 엽체면적 당 부착생물 군집구조 파악
- 분류군별 개체수 기준
- 생태학적 지수(다양도, 풍부도, 균등도 지수)산출 - Primer v. 6 사용
- 모든 결과는 단위면적으로 산출

## 다) 중요 초식동물과 바다숲 구성종의 섭식 형태 파악

- 자연해조군집을 구성하는 중요한 해조류(3종)와 초식동물(종)의 먹이 선호도를 실내배양에서 확인
- 현장에서 중요한 해조류 3종에서 초식동물의 출현빈도의 파악
- 해조류 vs 초식동물의 상관관계식 계산:
  - 단위면적 당 특정 초식동물에 의해 소비되는 해조 생물량 추정
- 초식동물(예, 성게)을 제거하는 실험구를 만들기 위해서 닭장에 사용되는 철망을 이용하여 fence(울타리)를 만들고 암반에 볼트로 고정함
- Stable isotope을 이용한 먹이망 분석
- 자연암반 해조숲 생태계 먹이그물 구조를 조사지역 간 비교·분석함으로써 생태계의 기능과 역할을 일반화하고 군집의 안정성을 정량화 시킴

## 라) 갯녹음 군집의 천이모델링

- 갯녹음 해역에서 초식동물 제거 군(treatment)과 대조군(control)에 갯녹음 해역의 암반에서의 천이과정을 해조류(무절석회조류 포함)와 무척추동물(초식동물 포함)의 계절별 조사로 확인함
- 각 실험지역에 각각 3개의 영구 방형구를 설치하여 계절별로 해조류(무절석회조류 포함)와 무척추동물의 피도와 출현종을 비디오카메라로 촬영한

후에 현장에서 기록함

- 두 지역에 출현한 해조류와 무척추 동물의 생태학적 군집지수를 분석함
- 해조류의 출현 종 및 생물량과 초식동물(성게, 전복, 소라 등)의 개체수와  
의 상관관계를 통계적으로 분석(Correlation 분석, ANOVA test 수행)



---

## 잘피류

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 외래 유입종에 의한 고유종의 분포 및 생리생태적 특성변화 연구가 필요함
- 2) 기후 변동에 의한 잘피 생육지의 분포, 구조, 생산성 및 기능의 변동 파악이 필요함

### 나. 조사항목

- 1) 생육지 분포 파악
- 2) 생육지 구조 파악
- 3) 외래 유입종 확인
- 4) 국외 장기 모니터링 프로그램과 연계
- 5) 잘피 생육지 기능 파악
- 6) 광합성 특성 및 호흡률 측정

### 다. 정점의 선정

- 1) 장기 모니터링 지역 - 진동만, 고성만
- 2) 국외 장기 모니터링 프로그램과 연계 지역- 거제만
- 3) 생태계 보호지역 (*Phyllospadix japonicus*)- 방어진
- 4) 외래 유입종 분포 지역 (*Halophila nipponica*)- 남해도 미조면

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본적으로 월별 조사
- 2) 국외 장기 모니터링 프로그램과 연계하여 모니터링을 실시하는 거제만 지역은 분기별 조사

## 마. 세부 조사방법

### 1) 잘피 생육지 분포 파악

- 수중관찰 및 촬영을 통한 한반도 연안의 잘피 생육지 분포를 파악하고 서식면적을 추정을 위한 mapping을 실시
- 동해, 남해, 서해의 각 조사지점의 장기적인 모니터링을 통해 최근 기후변동에 따른 잘피 생육지 분포 및 잘피 종 조성의 변동 양상을 파악
- 최근 IUCN에 의해 endangered species로 분류된 *Phyllospadix japonicus*의 서식지를 선정하여 장기적인 모니터링을 통한 개체군 동태를 파악

### 2) 잘피 생육지의 구조 파악

#### 가) 환경요인 모니터링

- 수온은 수중용 온도계 (Onset computer Corp. Bourne, USA)를 현장에 설치하여 매 15분 간격으로 측정
- 수중 광량은 잘피 서식수심에 광도계 (Submersible Odyssey Photosynthetic Irradiance Recording System)를 설치하여 매 15분 간격으로 측정

#### 나) 생육밀도 및 생체량

- 방형구 (고유종: 35 × 35 cm, 유입종: 20 × 20 cm) 내에 서식하는 개체를 모두 채취
- 생육밀도는 방형구 내 채집된 개체수를 세어 단위 면적 당 개체수를 추정
- 생체량 측정은 방형구 내 모든 잘피의 부착생물과 퇴적물을 제거한 후, 지상부와 지하부로 분리하고, 60℃에서 건조시켜 무게를 측정하여 단위 면적 당 생체량 (g dry weight m<sup>-2</sup>)을 추정

#### 다) 생산성

- Plastochrone method (Short and Durate 2001; Park et al. 2009)를 이용
- 약 15개체의 엽초 부분에 blade marking technique를 이용해서 표시한 후, 2-4주 후 표시된 개체에서 새로 생성된 잎 (new leaf)의 수를 세어 plastochrone interval (P<sub>L</sub>)을 계산

$$P_L = T_1 - T_0 / N$$

- N은 새로 생성된 잎의 수,  $T_0$ 는 실험시작 시점이며  $T_1$ 은 채집한 시기를 말함.  $P_L$  및 성숙한 잎과 지하경의 건중량을 이용하여 지상부와 지하부의 개체 당 일일 생산성을 ( $\text{mg dry weight shoot}^{-1} \text{ day}^{-1}$ )을 계산

$$\text{Above-ground productivity (mg DW shoot}^{-1} \text{ day}^{-1}) = \frac{\text{Dry weight of a mature leaf (mg dry weight shoot}^{-1})}{P_L \text{ (day)}}$$

$$\text{Below-ground productivity (mg DW shoot}^{-1} \text{ day}^{-1}) = \frac{\text{Dry weight of a mature rhizome (mg dry weight shoot}^{-1})}{P_L \text{ (day)}}$$

#### 라) 형태학적 특성

- 10-15개체를 채취하여 전체길이 (shoot height), 엽초길이 (sheath length), 잎의 너비 (blade width)와 잎의 수(leaf number) 등을 측정

### 3) 외래 유입종 확인

#### 가) 유입 잘피의 분포조사

- 수중관찰 및 촬영을 통해 한반도 연안으로 유입된 잘피의 분포를 파악하고, 이들 유입 잘피 생육지의 환경 모니터링을 통해 기후 변동과의 연관성을 분석
- 장기 관측을 통해 유입 잘피 생육지의 변동 양상을 분석하고, 유입종의 확산에 따른 한반도 연안의 잘피 군집구조 변동 양상을 파악

#### 나) 유전자 분석을 이용한 유입종의 유입경로 추정

- 국내 미기록 종이었던 외래 유입종이 발견되면서 계통지리학적 연구를 통해 이들의 유입경로 추정
- 계통분류학적 유연관계를 파악을 위해 유입종의 세계적인 분포 및

GenBank DB 검색을 통해 유전자 염기서열에 관한 자료를 수집

- 국내에 분포하는 유입종의 유전자 염기서열을 분석하고 GenBank DB에 등록되어 있는 자료를 대상으로 주변 지역의 자료들과 비교 분석하여 계통도를 작성
- 염기서열 자료를 가지고 최적의 계통수를 구축. 계통수를 기반으로 지리적 분포와 염기서열 변이의 정도 (p-distance)를 계산하고 종내 지역집단 간 다양성과 개체군내 haplotype diversity 및 DNA diversity를 판단
- Haplotype 수 와 p-distance를 최적의 parsimony network analyses에 반영하고, Parsimony network tree를 통해 지역 집단 간 유전적 다양성을 측정하여 다양성이 높은 지역을 판단하며 종의 기원 중심지를 예측
- 다양성 중심지에서 분포지역까지의 종의 치환, 분산 또는 종 분화 현상을 설명
- 유전자 염기서열 분석을 통한 계통분류학적 유연관계는 PAUP V.4.0 b10을 이용하여 최대절약 계통분석 (Maximum Parsimony analysis, MP) 및 최대 유사 분석 (Maximum Likelihood analysis, ML)을 통해 분석
- MP 분석에서는 모든 형질을 동일한 가중치로 처리하고, gap은 상실형질로 처리하고 최적계통수는 heuristic search를 통해 추적하며, Branch-swapping은 TBR algorithm을 이용. 1000회의 random sequence addition으로 최대절약수를 구축. 각각의 계통수에서 각 분지의 신뢰도를 평가하기 위하여 1000회의 bootstrap 분석을 실시하며, 형질간의 불일치 정도를 판단하는 일관지수 (consistence index, CI)와 보존지수 (resistance index, RI) 등의 계통수 정보를 얻어 비교
- ML 분석은 Modeltest V.3.6을 이용하여 최적 치환 model하에서 실시. 최적 계통수의 신뢰도는 ML bootstrap analyses와 Bayesian analyses (MrBayes V.3.0)로 평가. 이러한 계통지리학적 연구 결과를 통해 지역에 따른 염기서열 다양성을 확인할 수 있어 유입종의 유입경로를 파악하는데 유용

다) 유입종이 한반도 연안생태계에 미치는 영향 파악

- 고유종과 유입종의 중간 경쟁 관계 분석
  - 고유종과 유입종이 함께 서식하는 지역을 선정하고, 영구 방형구

- (50×50 cm)를 설치하여 고유종과 유입종의 개체군 동태를 파악
- 밀도 및 생체량 분석을 통한 고유종과 유입종의 군집구조 변화 양상을 분석하여 기후 변화에 따른 고유종과 유입종의 종간 경쟁 양상을 파악
- 유입 잘피종 출현에 따른 잘피의 생리적 특성 변화 분석
- 잘피 조직 내 탄소와 질소 함량을 분석하여 고유종과 유입종의 영양물질 순환과 관련된 대사작용의 변동 양상을 파악
- 조사 지역에서 잘피를 10개체를 채취한 후 부착생물 및 퇴적물을 제거
- 지상부와 지하부를 60℃에서 건조시킨 후 막자사발을 이용해 곱게 갈아 CHN elemental analyzer (Flash EA1112)를 이용해 각 부분의 탄소 및 질소 양과 C:N 비율을 측정

#### 4) 국외 장기 모니터링 프로그램과 연계

##### 가) SeagrassNet 모니터링 프로그램

- 가장 활발하게 수행되고 있는 글로벌 수준의 잘피 서식지 모니터링 프로그램으로 약 30개국의 100여개 이상의 조사지점에서 조사가 수행되고 있으며, 우리나라 남해안 거제만이 조사정점으로 2008년 7월부터 모니터링이 수행되고 있음
- 잘피 서식지를 대표할 수 있는 세 개의 transect를 설치하여 random sampling을 통해 각 계절별로 서식지의 잘피의 종 조성, 피도, 생체량, canopy height 등을 전 세계의 모든 조사정점에서 동일한 조사 방법을 이용하여 분기별로 모니터링

#### 5) 잘피생육지의 기능 파악

##### 가) 잘피의 이산화탄소의 흡수능 추정

- 잘피는 생산성이 높은 해양 자원으로 무기탄소의 흡수제거 능력이 뛰어난 것으로 보고됨 (Durate and Cebrian 1996; Short and Neckles 1999)에 따라 한반도 연안의 잘피 생육지에서 흡수하는 이산화탄소량 추정을 통해 잘피 생육지의 기능을 평가
- 잘피 잎 조직에 의한 무기탄소 흡수량은 잎 생산성과 조직 내 탄소 함량을 이용하여 추정

$$\text{무기탄소 흡수량} = \text{잎의 생산성 (g DW m}^{-2} \text{ mo}^{-1}) \times \text{C contents (\%)}$$

#### 나) 잘피 생육지의 정화능력 추정

- 잘피는 연안 및 하구 생태계에서 가장 큰 오염원인 영양염류를 흡수하여 수질 정화에 크게 기여함
- 잘피에 의한 영양염류의 정화능력은 잘피의 생산성과 조직 내 무기질소 함량을 이용하여 추정
- 잘피는 영양염류를 지상부와 지하부 조직을 통해 각각 50%씩 흡수된다고 알려져 있기 때문에 수층 내 영양염류 흡수량 추정 시 0.5를 곱해줌

$$\text{수층 내 영양염류 흡수능} = \text{생산성(g DW m}^{-2} \text{mo}^{-1}) \times \text{N contents(\%)} \times 0.5$$

### 6) 광합성 특성 및 호흡률 측정

#### 가) 광합성 특성

- Pulse Amplitude Modulation fluorometer (PAM fluorometer, Walz)를 이용해 현장에서 측정
- 광계 II의 최대양자수율 (maximum quantum yield;  $F_v/F_m$ )은 10분간 암적응시킨 후 측정하며, 다음 식에 의해 계산

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

- $F_o$ 는 암적응된 시료의 최소형광,  $F_m$ 는 암적응된 시료에서 포화광에 의해 야기된 최대형광을 말함
- 광계 II의 양자수율(effective quantum yield;  $\Delta F/F_m'$ )은 명적응 상태에서 측정하며, 다음 식에 의해 계산

$$\Delta F/F_m' = (F_m' - F_t)/F_m'$$

- $F_m'$ 는 명적응 상태에서 포화광에 의해 유도된 최대형광을 의미하며,  $F_t$ 는 명적응 후에 매우 낮은 광도에서의 초기형광을 의미함
- Rapid Light Curves (RLCs)은 0 - 1200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$  범위 내에서 총 9단계로 측정되며, 상대전자전달속도 (Electron Transport Rate - ETR)는 다음 식으로 계산

$$\text{rETR} = \Delta F/F_m' \times \text{PAR} \times 0.84 \times 0.5$$

- PAR는 광량 (photosynthetic active radiation:  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )이고 0.84는 엽체에 평균 흡수되는 빛을 의미하며, 엽록소에 흡수된 빛은 광계 I 과 광계 II 에 똑같은 비율로 나뉜다고 가정하기 때문에 0.5를 곱해줌

#### 나) 호흡률

- 호흡률은 시료를 채취한 후 6시간 이내에 현장의 평균수온의 조건으로 Fibox 3, 2mm Dipping Probe (DP)와 spot sensor (PreSens, Denmark)를 사용하여 측정
- 약 10개체를 채취하여 부착생물과 퇴적물을 제거한 후, 0.2  $\mu\text{m}$  여과지로 여과한 해수와 함께 300 mL 배양기에 넣어 3시간동안 암처리 상태에서 배양
- 호흡률 ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ dry weight h}^{-1}$ )은 실험 전후 배양기 안의 산소 농도 변화와 개체 당 건중량으로 계산

---

## 염습지 식생

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 하구의 기능적 역할을 이해하기 위해서는 염습지식생의 군집구조 변동 양상 이해와 환경요인 변화에 의한 해양식물 구조 변화의 상호관계 연구가 중요

### 나. 조사항목

- 1) 염습지 식생 분포
- 2) 염습지 식생 구조 파악
- 3) 염생식물의 생산성
- 4) 염생식물의 광합성 특성
- 5) 염습지 식생의 기능파악

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 기본조사 지침 시기 및 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

### 마. 세부 조사방법

- 1) 염습지 식생 분포 조사
  - 장기적인 모니터링을 통해 특정 하구에서 전체 조사장소 내의 염생식물 분포를 GPS를 이용하여 mapping
  - 종 다양성 및 각 종의 분포 면적을 추정



## 2) 염습지 식생의 구조 파악

### 가) 염생식물의 생육밀도 및 생체량

- 방형구 (35 × 35 cm) 내에 서식하는 개체를 모두 채취
- 생육밀도는 개체수를 세어 측정하여 단위 면적 당 개체수를 추정
- 생체량은 방형구 내 모든 잔피의 부착생물과 퇴적물을 제거한 후, 지상부와 지하부로 분리해서 60℃에서 건조시켜 무게를 측정하여 단위 면적 당 생체량 (g dry weight m<sup>-2</sup>)을 추정

### 나) 형태적 특성

- 조사 지역에서 10-15개체의 염생식물을 채취한 후 전체길이를 측정하여 계절적 변동을 파악

## 3) 염생식물의 생산성 측정

- 다년생 초본은 봄에 새로 잎이 자라서 가을에 최대 생체량을 보임. 따라서 가을까지 자란 생체량이 다년생 초본의 연간 총생산량임
- 최대 생체량을 보이는 시점에 생체량을 측정하여 연간 생산성 (g dry weight m<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>)을 추정
- 염생식물의 성장시기동안 월별로 방형구 내 서식하는 개체를 채취하여 월간 생체량의 차이를 통해 염생식물의 생산성을 추정

## 4) 염생식물의 광합성 특성 측정

- 위도 차이에 따라 염생식물의 종 분포 양상을 파악
- 조사 지역에서 PAM fluorometer를 이용하여 광계 II의 최대양자수율과 양자수율 및 Rapid Ligth Curves를 측정하여 rETR<sub>max</sub>, initial slope, E<sub>k</sub> 등을 측정해 종별 광합성 특성을 파악
- 염생식물 생육지의 환경을 고려하여 mesocosm을 만들고 수심 및 온도구배를 고려하여 염생식물을 실험실에서 배양
- 수심 및 온도구배에 따른 시간대별 광합성 특성을 측정하여 기후변동에 따른 염생식물의 생리적 특성을 파악

## 5) 염습지식생의 기능 파악

### 가) 염생식물의 무기탄소 흡수능 측정

- 조사 지역에서 10개체의 염생식물을 채취한 후 부착생물 및 퇴적물을 제거
- 지상부와 지하부를 60℃에서 건조시킨 후 막자사발을 이용해 곱게 갈아 CHN elemental analyzer (Flash EA1112)를 이용해 각 부분의 탄소 및 질소 양과 C:N 비율을 측정
- 염생식물의 무기탄소 흡수 능력은 생산성과 조직 내 탄소 함유량으로 추정

$$\text{무기탄소 흡수량} = \text{생산성 (g DW m}^{-2} \text{ y}^{-1}) \times \text{C contents (\%)}$$

### 나) 염생식물의 무기영양염류 흡수능 측정

- 염생식물에 의한 무기영양염류의 정화능력은 염생식물의 생산성과 조직 내 무기질소 함량을 이용하여 추정
- 잘피는 영양염류를 지상부와 지하부 조직을 통해 각각 50%씩 흡수된다고 알려져 있기 때문에 수층 내 영양염류 흡수량 추정 시 0.5를 곱해줌

$$\text{무기영양염류 흡수능} = \text{생산성 (g DW m}^{-2} \text{ mo}^{-1}) \times \text{N contents (\%)} \times 0.5$$

---

## 고차생태

---

### ◆ 목적 및 필요성

- 개체군 성장도 및 재생산 활동 분석과 생리생태연구는 각 생물종의 적응전략 이해를 위해 필요함
- 난류수 확장에 따른 아열대성 유입종의 분포 및 서식처 파악을 통해 고유종의 생리생태와 보존을 위한 연구가 고유생태를 보호하기 위해 중요함

### ◆ 조사항목

- 중형/대형 저서동물
- 저서무척추동물
- 어류/유영동물/주요수산자원생물
- 연구비 예산을 고려하여 조사항목 선정

### ◆ 정점의 선정

- 기본조사지침의 정점과 동일

## 중형저서동물

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 중형저서동물은 일반적으로 1 mm 체를 통과하고 42  $\mu\text{m}$  체에 남는 크기를 갖는 저서생물을 총칭하며 해저 퇴적물 1 m<sup>2</sup>당 10만 개체 이상의 높은 밀도를 가짐
- 2) 저서성 어류의 치어단계에서 매우 선호하는 먹이원으로 이들은 섭식하는 무척추동물과 어류의군집조성에 영향을 미치며 생리활성이 높아 대형저서동물의 5배에 달하는 에너지 소비량을 보유하여 저서생태계 전체 에너지 소비의 약 50%를 차지하며 에너지 수지 측면에서도 중요한 역할을 수행
- 3) 박테리아, 단세포 및 다세포조류 등을 주로 포식하는 1차 소비자로 저서생태계 물질 순환에 중요한 역할을 담당하며 특히, 저서성 요각류, 저서성 유공충은 중형저서동물군내 다른 어떤 분류군보다 환경변화에 민감하여 오염현황과악을 위한 지표종으로 인식되고 있음

### 나. 조사항목

- 1) 출현분류군
  - 분류군 및 분류군별 개체수
  - 저서성 요각류의 과 수준 분류
  - 분류군별 총 생물량
- 2) 입도분석
- 3) 자료분석
  - 다양도, 균등도, 종풍부도 지수 산출(요각류 기준)
  - 군집구조 비교/분석(중형저서동물 기준)
  - 각 분류군 및 환경요인간의 상관관계 분석
  - 정점간 유사도 분석

- 4) 저서성 유공충의 각질 분포, 중 조성 분포, 유공충 군집의 계절별, 지역별 분포

## 다. 정점의 선정

- 1) 기본조사지침의 정점과 동일
- 2) 유공충은 정점 2개당 한 정점을 해황여건에 따라 고려하여 결정

## 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침의 시기, 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 채집방법

- Smith-Mcintyre grab 또는 van Veen grab 사용
- 퇴적물 시료 채취후 내구 6.15 cm<sup>2</sup>의 주사기를 사용하여 2차 시료 채취
- 모든 정점에서 4개 주사기를 사용하여 채집한 후 3개는 생물분석을 위하여 5% 중성 해수-포르말린 수용액에 고정
- 나머지 1개는 입도분석을 위하여 그대로 보관
- 유공충 분석용으로 Gravity corer(코아내관: 아크릴관, 내경 45 mm, 외경 50 mm) 사용
- 코아밀대, 코아절단기 등을 이용하여 코아상부 1 cm를 2차 시료 채취
- Rose Bengal을 첨가한 에탄올 고정액(1 g/L Rose Bengal stain)을 시료량의 2배 분량으로 넣고 잘 흔들어 냉장보관

### 2) 시료분석

#### 가) 시료추출

- 실험실로 옮겨진 시료는 중형저서동물만을 분리해내기 위해 루독스(Ludox)를 이용한 추출법에 따라서 처리
- 채집한 시료를 1 L 비이커에 넣은 후 물을 채움

- 상층액 800 mL 정도를 망목크기 42  $\mu\text{m}$ 체에 붓고 다시 비이커에 물을 채우고 이런 과정을 3회 반복
- 체 위에 남아있는 시료를 50 mL 원심분리용 튜브 A에 옮기고 1 L 비이커에 남아있는 나머지 시료를 체로 걸러 같은 규격의 B 튜브에 주입
- A, B 튜브의 상층액을 침전물이 나오지 않게 조심하여 체에 부음
- 체에 남은 시료를 A번 튜브에 약 10 mL 정도 되도록 주입하고 이때 거의 모든 생물은 A 튜브에 모이게 됨
- 비중을 1.15로 적정한 Ludox-AM이나 Lodox HS 40을 각 튜브에 35 mL 주입하고 이때 튜브는 약 45 mL 정도가 채워지게 됨
- 교반기를 이용하여 약 1분간 섞어준 후, 무거운 입자가 가라앉을 때까지 1분 정도 큐브를 방치
- 튜브를 2,000 rpm으로 15분간 원심분리 함
- 상층액을 체에 거르며 이런 과정을 2~3회 반복

#### 나) 유공충추출

- 채집한 시료를 망목크기 63  $\mu\text{m}$  체에 붓고 물세척(Wet sieving)하여 뿔을 완전히 씻어냄
- 체 위에 남아있는 잔사(유공충 포함)를 60°C의 오븐에 건조시킴
- 적정 개체의 유공충(200개체 이상) 추출을 위해 건조시료를 분각기(Splitter)로 분할

#### 다) 시료동정

- 위 과정을 거친 후 체에 남은 시료는 다시 1 mm 체에 거른 후, 각 분류군 별로 분류하기 위해 해부현미경하에서 미세피펫을 사용하여 골라낸 후 작은 페트리디쉬에 모음
- 좀 더 세부적인 분류군으로 동정이 필요한 요각류의 경우 다시 에틸알코올과 글리세린의 혼합액이 담겨진 페트리디쉬 속에서 1~3일 경과시켜 점차 글리세린으로 치환시킨 뒤 H-S slide 위에 프레파라팅을 함
- 고배율 광학현미경 k에서 400배 이상의 배율로 관찰하여 분류(부록 1)
- 중형 저서동물의 일반적 분류는 Higgins and Thiel (1988)과 Giere (1993)에 따라 분류
- 요각류는 Lang (1948), R. Huys et al. (1996) 그리고 G.A. Boxshall

and S.H. Halsey (2004)를 기준으로 분류

라) 유공충 시료동정

- 적정 분할시료를 실택현미경 하에서 가는 붓으로 200개체 이상의 저서성 유공충을 추출(단 분할시료에 포함되어 있는 부유성 유공충도 함께 추출)
- 추출한 유공충을 Assemblage slide에 모음
- Assemblage slide에 모인 유공충 개체를 분류 기재 함(부록 2, 3)

마) 생물량 측정

- 중형저서동물 분류후 각 분류군별로 페트리디쉬에 모은 뒤 이미지분석 프로그램(MetaMorph 6.0r5)을 이용하여 단위당 탄소량( $\mu\text{g}\cdot\text{C}\cdot 10/\text{cm}^2$ )을 측정

바) 군집구조 분석

- 군집분석을 위하여 종다양도는 Shannon 다양도 지수(H')를 이용하여 분석하고 풍부도(RI)는 Margalef 지수를 사용

$$\text{종다양성지수: } H' = \sum_{i=1}^S \pi_i \times \ln(\pi_i)$$

(Shannon and Weaver, 1963)

$\pi_i$ : i번째 종의 점유율( $n_i/N$ ),

S: 출현종수

$n_i$ : i번째 종의 개체수,

N: 전체군집의 개체수

$$\text{종풍부도지수: } RI = (S-a)/\ln(N) \text{ (Margalef, 1958)}$$

- 각 집괴별 온도와 입도, 그리고 생물종간의 상관관계를 파악하기 위해 SPSS(v. 12.0.1)에서 Spearman 계수를 이용하여 상관관계 분석
- 중형 저서동물을 기초로 정점간 유사도를 Bray-Curtis의 유사도 지수를 기초로 계보적 집괴분석과 NMDS 배열법을 이용하여 분석

사) 시료보관

- 분석한 시료는 요각류와 그 외 중형 저서동물을 나누어 70% 에틸알코올이 들어있는 바이알에 액침상태로 보관

- 각 연도별로 총 종목목을 작성하여 미동정 시료를 포함하여 종별로 5개체 이상 표본을 영구보관(단, 5개체 이하로 출현하였을 경우 최소개체를 보관)

아) 분석 신뢰도 확보방안

- 분류군에 대한 동정 및 계수는 국내 중형 저서생물 전문가 그룹에 의하여 이루어져야 함
- 다양도지수, 풍부도지수, 균등도지수 등을 통하여 종다양성을 추정하도록 함



중형저서동물 분석지			
시료번호			
채집지 및 고정액	St.      rep      depth	날짜 & 확인자	
Extraction	Water (       )	날짜 & 확인자	
	Ludox (       )	날짜 & 확인자	
시료 분석 (시료명:                          )			
Nematoda		Copepida	
Sarcomastigophorans		Polychaetes	
Oligochaetes		Amphipids	
Halacaloideans		Kinorhynchs	
Bivalves		Ostracods	
Cumaceans		Nauplius	
Isopida		Others	
비고(Vial number)			

## 부록 2. 저서성 유공충 분석결과 기록표

유공충 일반 분석표		
시료번호		
채집지		
채집일시	채니기	선명
수심	저질	
고정액	착색제	
채망목	습시료(cc)	분할
Benthic Foraminifera		
Total (living + dead)	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Living	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Hyaline	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Porcelaneous	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Calcareous	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Agglutinated	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
Planktonic Foraminifera		
Total (living + dead)	추출 개체수	
	단위부피(10cc) 개체수	
부유성 유공충 비율(P/P + B, %)		
비고		
분석자(년 월 일)		

저서성 유공충 종조성 분석표					
시료번호					
채집지					
채집일시		채니기			선명
수심				저질	
고정액				착색제	
채망목		습시료(cc)			분할
셀 번 호	종 명		생체수		전체수
비고					
분석자(년 월 일)					

---

## 대형저서동물

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 대형 저서동물은 해양생태계의 먹이사슬 내에서 1차 생산자를 소비하여 상위 단계로 전달하는 생태계 에너지 전달과정에서 매우 중요한 역할을 차지
- 2) 환경적 측면에서는 섭식활동을 통하여 해수와 퇴적물의 유기물을 감소시키거나 정화시키는 역할을 하며, 이동능력이 매우 낮아 급격한 환경변화로부터 도피할 수 없기 때문에 해역의 건강성을 평가하는데 매우 효과적인 지시자임
- 3) 유용 수산자원의 직접적인 먹이원이 됨

### 나. 조사항목

- 1) 환형동물, 연체동물, 절지동물, 극피동물에 대한 종 분류
- 2) 종별 개체수, 생체량
- 3) 군집의 종 다양도
- 4) 저서생태계 건강도
- 5) 우점종 목록 및 분포

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침의 시기, 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 표본채집방법

#### 가) 채니기

- van Veen grab, Smith McIntyre grab 또는 Box core를 사용
- 채니기의 선정기준, 연안역의 경우 국내에서 가장 널리 쓰이는 van Veen grab 선정
- 근해역 조사 시 수심이 깊으므로 Smith McIntyre grab이나 Box core 사용
- 모든 채니기는 채집면적이 0.1 m<sup>2</sup>인 것으로 통일

#### 나) 채집면적

- 집지면적 0.1 m<sup>2</sup>인 채니기를 사용하여 3회 반복채집

#### 다) 표본의 현장처리 및 현장고정

- 채니기에 인양된 퇴적물은 현장에서 해수펌프를 이용하여 퇴적물과 잔존물을 분리
- 잔존물의 분리는 망목이 원형이며 지름이 1 mm인 체를 사용
- 체질 후 남은 잔존물은 현장에서 10% 중성 해수-포르말린 수용액으로 고정

### 2) 시료분석

#### 가) 생물표본의 선별(Sorting)

- 환형동물, 연체동물, 절지동물은 강(Class) 수준까지 선별하고 그 외 기타 동물군은 문(Phylum) 수준으로 선별
- 선별작업 후 시료는 70~80%의 에틸알코올이 담긴 유리병에 보관

#### 나) 생체량 측정

- 종별 동정 후 생체량으로서 습중량을 측정
- 습중량의 측정은 거름종이를 이용하여 물기를 제거 후 소숫점 세자리의 저울을 사용하여 측정

#### 다) 종동정

- 환형동물, 연체동물, 절지동물, 극피동물에 대해서는 가능한 한 종 수준까지 동정함을 원칙으로 함

#### 라) 시료보관

- 각 연도별로 총 종목록을 작성하여 미동정 시료를 포함하여 종별로 5개체 이상 표본을 영구보관(단, 5개체 이하로 출현하였을 경우 최소개체를 보관)
- 표본시료는 70~80%의 에틸알코올이 담긴 유리병에 넣어 보관하되 시료 병 안에는 트레이싱지에 연필로 채집장소, 채집일시, 종명을 기입
- 시료목록은 부록 1과 같은 방법으로 작성하여 보관
- 시료보관은 냉암소에 하며, 1년에 2~3회 보존액 상태를 확인

#### 마) 분석 신뢰도 확보방안

- 주요 분류군에 대한 분류학적 지식을 갖춘 연구자가 사업에 참여
- 여의치 않을 경우 분류전문가에게 동정 의뢰
- 추후 검증을 위하여 채집된 모든 시료는 보관

부록 1. 시료목록집 (예시)

[illegible]

1) 시료코드 : 2-8을 순서대로 표기

2) 조사연도 : 2009

3) 조사일 : 08

4) 생물군 : 식물플랑크톤-P(Phytoplankton), 동물플랑크톤-Z(Zooplankton), 저서동물-B(Benthos), 해조류-A(Algae), 갑각류-C(Crustacean), 어류-F(Fish), 유성두족류-Ce(Cephalopoda), 난자치어-FL(Fish Larvae), 어란(E), 차치어(L)

5) 조사해역 : 서해북부-WN, 서해중부-WM, 서해남부-WS

6) 조사정점 (조사지역, 채집횟수) : 01 (1)

7) 채집수심 (채집방버) : 표층상부-S, 중층-M, 저층하부-B, 정성-OL, 정량-QN

8) 종명 : 예) Ns (*Noctiluca scintillans*), 저서동물의 경우 동물군별 분류 (환형동물, 연체동물, 절지동물, 극피동물...)

(9) 보관형태 : 예) 투글형 (정량), 포르말린 (정성)

## 저서무척추동물

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 세계적으로 연안환경에서의 중금속 오염 및 해양환경 변화를 모니터링 하는 데에는 NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration)의 Mussel watch Program 을 중심으로 해양 이매패류가 사용됨. 특히, 굴이나 담치 종류는 여과 섭식을 하는 고착성 동물로서 좋은 지표 종으로 알려져 있으며, 유류사고 및 연안환경 오염 심각 시, 이들을 통해 간접적인 피해까지 유추해 볼 수 있음. 또한 기후 변화에 따른 이매패류의 생리 상태를 파악함으로써, 개체군들의 번식 패턴 변화, 질병 및 건강도 측정
- 2) 따라서 이 연구는 장기적인 모니터링을 통하여 해양생태계 변화에 따른 이매패류의 생리 및 생화학적 기작변화(성장, 번식)를 파악하고자 함

### 나. 조사항목

- 1) 주요 저서생물의 생식주기 파악
- 2) 대상종의 번식량 및 포란수 측정 (ELISA)
- 2) 조직병리학적 관찰
- 3) 체조성 성분 분석

### 다. 정점의 선정

- 1) 우리나라 지역별 (서해안, 남해안, 동해안, 제주도) 굴과 바지락 군집을 대표할 수 있다고 판단되는 지점
  - 예비 현장답사과정을 거친 후 선정
  - 서해안 (5 지역): 선재, 황도, 보령, 신두리, 고창
  - 남해안 (5 지역): 여수, 광양, 마산, 통영, 거제



동해안 (3 지역): 포항, 울산, 임원

제주도 (3 지역): 성산항, 서귀항, 제주항

## 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 산란시기 (5월-8월)에 맞추어 연 2-3회
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부조사방법

- 1) 채집된 시료의 번식주기 및 병리학적 증상을 조사하기 위해 조직학적 관찰을 실시
  - 생식소 부분이 포함된 조직 그림 1과 같이 5 mm를 절취하여 Davidson's solution에 48시간 고정.
  - 고정이 끝난 시료는 각기 다른 농도의 에탄올 탈수과정을 거쳐 파라핀으로 포매.
  - 포매가 끝난 블록은 마이크로톰을 이용하여 6  $\mu$ m 절편을 제작.
  - 준비된 슬라이드 절편을 hematoxylin과 eosin Y로 비교 염색하고, 광학현미경으로 생식소의 발달 정도를 관찰하고 조직 내 기생충 감염 정도를 조사

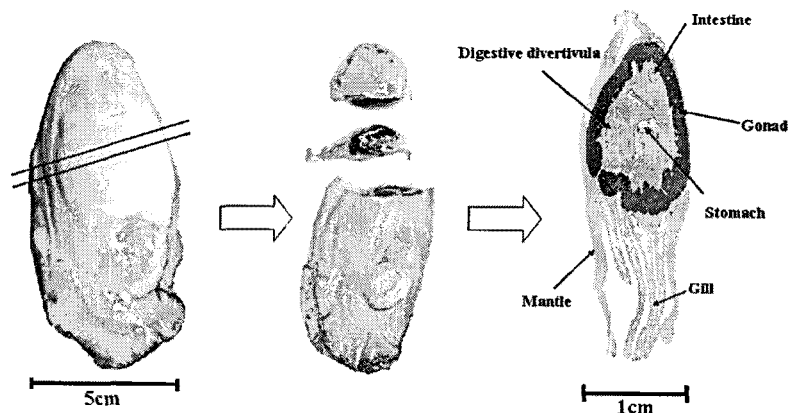


그림 1. 슬라이드 관찰을 위한 절취 부위 (좌)와 완성된 조직 슬라이드 (우)

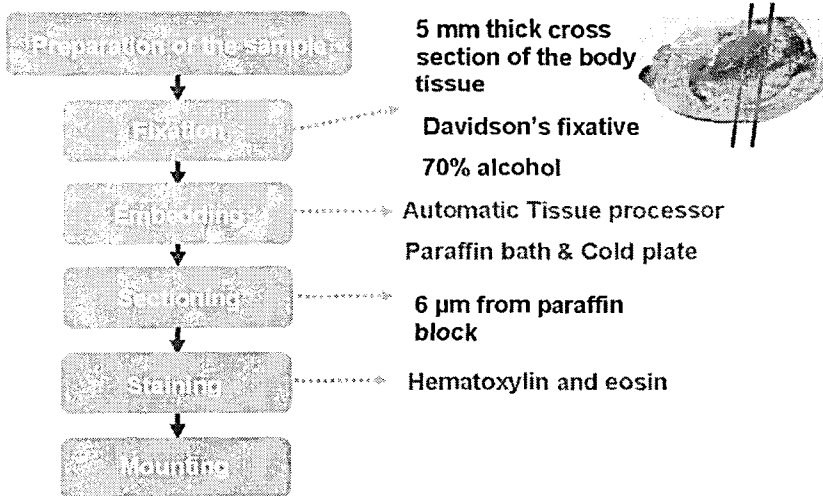


그림 2. 조직병리학적 관찰을 위한 슬라이드 제작 모식도

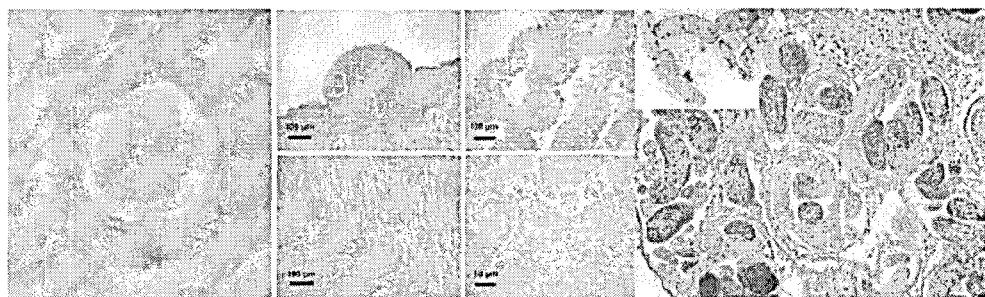


그림 3. Major pathogens in clam (*Perkinsus olseni* & Trematode)

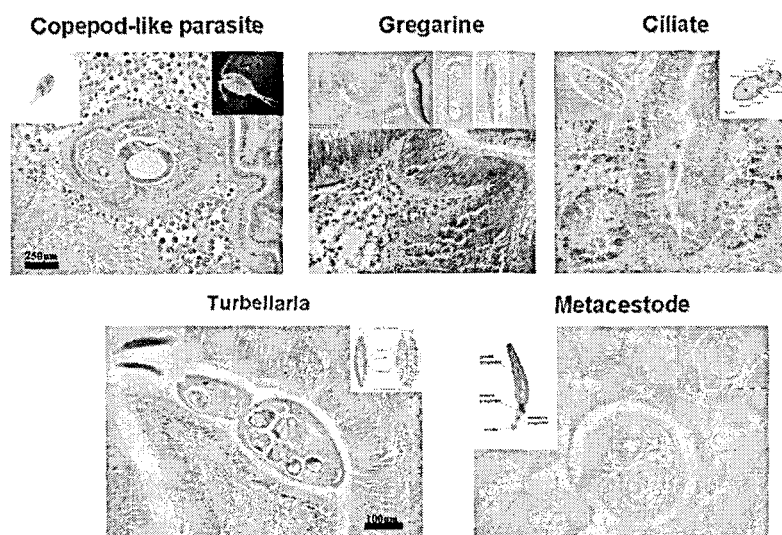


그림 4. Minor pathogens in mollusc

## 2) 유용 이매패류의 번식량 측정

- 유용이매패류의 포란수 또는 번식량 측정은 양식종의 생활사 및 자원관리 측면에서 필수 불가결한 생물학적 정보로 간주 됨. 어류나 다른 무척추동물과 상대적으로 이매패류의 정량적 번식생물학적 연구는 세계적으로 아직 미미한 실정임
- 이미 개발된 바지락과 굴 egg에 특이적으로 반응하는 항체를 이용하여, 효소면역측정법 (ELISA, Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)으로 산란시기 전, 후의 번식량 및 포란수 측정 가능(그림 5)

### Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

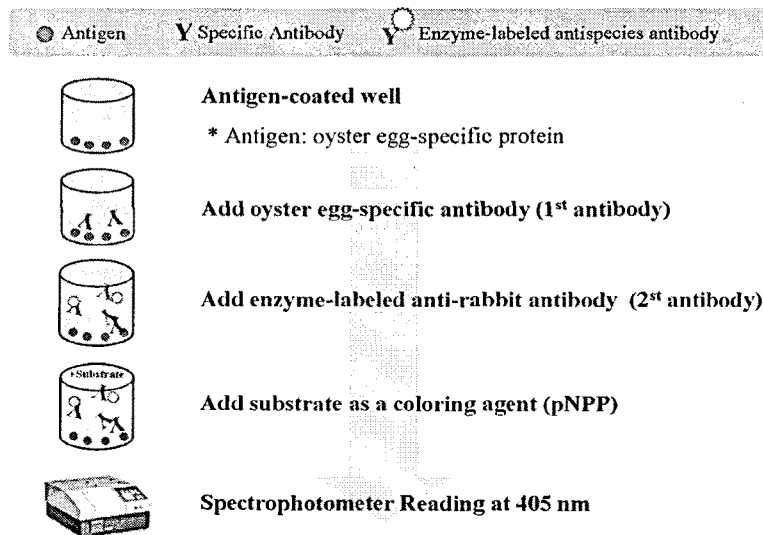


그림 5. 번식량 측정을 위한 ELISA 모식도

## 3) 이매패류의 체조성 성분 분석

- 대상 종에 대한 계절별 단백질 및 탄수화물 함유량 분석. 이를 장기적으로 관찰 하여 해양환경 변화에 따른 체조성 성분 변화 패턴 파악.

4) 노화색소로 잘 알려져 있는 lipofuscin은 과산화 지질이 단백질과 결합하여 적갈색의 색소형식으로 조직에 축적이 되는 물질을 말함. 이러한 과산화 지질은 유해 산소를 무해 산소로 바꿔주기 위한 항산화 작용의 산물로서 항산화 작용은 환경오염, 스트레스 등의 이유로 유발이 됨. 따라서 이매패류의 장기적인 모니터링을 통하여 lipofuscin의

형성을 확인함으로써, 환경변화 및 오염이 저서생물의 생리 작용에 미치는 영향을 조직학적인 방법으로 관찰을 할 수 있음 (Koehler et al., 2008; Limpanont, 2010).

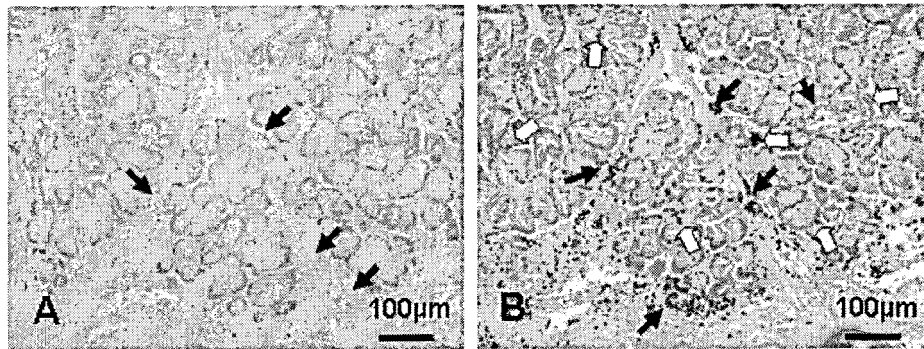


그림 6. A: The brown pigment granules in connective tissue of digestive glands (H&E). B: Schmorl's staining of digestive gland compare with figure 6-A showed the lipofuscin granules stained with dark blue color in connective tissue (black arrows)

## 어류/유형동물/주요수산자원생물

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 유형동물(어류 등)이 국민 식생활에서 차지하는 비중은 높지만 지금까지 해양조사는 물리, 화학, 지질에만 초점이 맞추어져 왔음
- 2) 해양생태계란 수서환경의 특성과 그 환경에 적응한 수산동물의 다양성이 지속될 때 비로소 건강한 생태계가 유지될 수 있으며, 그 건강도는 장기에 걸친 어류상 모니터링을 통해 가능
- 3) 어류 등 유형동물의 종조성 변동에 관한 연구는 1차적으로 이들 자원의 상태평가, 나아가 이들 자원의 합리적인 관리방안 마련을 위한 기초자료를 제공
- 4) 최근 자율관리어업제도의 확대에 따라 연안 해양생태계의 상태평가가 시급하고 이를 위해 어류상의 지속적인 모니터링이 필요함
- 5) 장기해양생태계 조사는 이런 연속성 측면에서 중요한 기초자료를 제공할 수 있음

### 나. 조사항목

- 1) 어류
- 2) 두족류
- 3) 갑각류
- 4) 난·자치어

### 다. 정점의 선정

- 1) 기본조사지침의 정점을 기본으로 어류 샘플링이 가능하고 해양특성을 고려하여 주변해역을 대표할 수 있는 정점을 선정
- 2) 제주도는 우리나라 최대의 아열대성 어종이 출현하는 지역이므로 연구 수행
- 3) 난·자치어 정점은 일반조사 정점 2개당 1개씩 주변 여건을 고려하여 선정

## 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 기본조사 지침의 시기 및 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

## 마. 세부 조사방법

### 1) 개요

가) 조사대상: 어류, 갑각류, 두족류

나) 연안 샘플링

- 동해와 남해의 경우 정치망, 새우조망, 자망 중 한 어구 또는 복수의 어구를 선택하여 샘플링
- 서해는 자망, 개량안강망 혹은 연안낭장망 중 한 어구 또는 복수의 어구를 선택하여 샘플링
- 여건 허용범위내에서 조사지역에서 저층 트롤에 의한 종조성 계절변동 조사를 병행
- 근해 샘플링은 예산범위 내에서 상업선을 이용하며 트롤조사를 수행하고 여의치 않을 경우에는 국립수산물과학원에서 매년 수행하는 배타적 경제수역 어업자원조사 결과를 참고
- 조사항목은 '수산자원조사지침'에 근거하여 크게 종조성 조사 및 체장조성 조사로 구분
- 종조성 조사를 통하여 해역별 종조성의 계절변동 파악이 가능하고 나아가 난류성, 온대성, 한대성 어종으로의 grouping이 가능
- 최종적으로 연안생태도 작성
- 한정된 샘플링 방법을 보완하기 위하여 조사해역을 대표할 수 있는 수협 위판장 1곳을 정하여 가능한 어획위치를 확인한 후 표본 확보

### 2) 어류(Fish)

가) 샘플링 및 전처리

- 샘플양은 연구원이 상황에 따라 전량 수거하거나 표본 채집하며 이때 표본채집은 5L 3통을 준비해서 무작위 방식 수행

- 샘플은 가능한 병장 상태로 실험실로 운반한 후 유사종끼리 대분류한 다음 표본번호 부여
- 표본번호는 특별한 목적이 없는 한 종당 최대 5마리까지 부여하며 만일 어떤종의 채집된 개체수가 5마리 이하인 경우는 모든 개체를 대상으로 표본번호 부여
- 표본번호 부착방법은 일단 라벨 라이터로 적당한 크기의 표본번호를 출력한 후 표본번호를 바늘에 꿰어 아가미로 넣고 입으로 꺼낸 다음 단단히 묶는 방식으로 함
- 부착이 끝나면 어체를 흐르는 물로 씻고 각 지느러미를 편 다음 사진촬영을 하며 이때 머리는 좌측, 꼬리는 우측으로 향하게 해서 촬영
- 촬영이 끝나면 반대편 가슴지느러미를 가위로 자른 후 20mL Vial에 넣고 그 안에 99% 알코올을 첨가
- 이 모든 작업이 끝나면 표본번호가 부착된 표본을 포르말린액이 담긴 용기에 넣고 고정
- 어체 크기에 따라 고정시간이 다르겠지만 17일 가량 10~20% 중성 포르말린액에 고정시킨 다음 표본을 꺼집어내어 흐르는 물에 12일 세척한 다음 최종적으로 70% 알코올에 넣어 보존
- 시료목록은 부록 1에 의거하여 작성하여 보관

#### 나) 분류

- 종 분류는 Masuda et al. 1984), Nakabo (2002), 김 등 (2005a, b)의 자료를 참고하여 동정 및 분류
- 분류체계는 Nelson (1994)과 김 등 (2005a, b)을 부분적으로 따름

#### 다) 측측 및 계수

- 측측형질로는 전장(TL), 가랑이체장(FL), 체장(SL), 체중(BW), 체고(BD), 체반길이(DL), 체반폭(DW), 두장(HL), 주둥이 길이(SnL), 등지느러미 앞까지의 거리(PDFL), 가슴지느러미 앞까지의 거리(PTFL), 배지느러미 앞까지의 거리(PPFL), 뒷지느러미 앞까지의 거리(PAFL), 항문 앞까지의 거리(PAL), 양안간격(IL), 안경(ED), 윗턱길이(UJL) 등이 있고 이들 형질들은 모든 표본을 대상으로 측정할 필요는 없음(단, 계군분석과 같은 특정 연구가 필요시 상기형질의 측정 및 분석이 필요)

- 계측은 Vernier calipers로 1/20mm 단위까지 측정하고, 어체 크기가 작은 경우에는 입체해부현미경 아래에서 정확한 위치를 확인하면서 측정
- 계수형질로는 등지느러미, 가슴지느러미, 배지느러미, 뒷지느러미, 척추골수, 새파수, 옆줄비늘 수, 상횡렬린 수, 하횡렬린 수 등을 계수
- 계측형질과 마찬가지로 모든 표본을 대상으로 계수할 필요는 없고 특정연구가 필요시 계수
- 어체 크기가 작은 경우는 가능한 입체해부현미경 아래에서 계수하고 용이한 식별을 위하여 Alizarin Red 시약으로 염색한 후 계수 권장
- 척추골수는 X-ray 촬영기기(Hitex Co.)를 이용하여 촬영후 계수

### 3) 두족류(Cephalopoda)

#### 가) 샘플링 및 전처리

- 두족류는 활어상태로 채집하였을 경우, 해수에 넣어 냉동보관하여 기절시킨 후 사진 촬영 및 측정
- 채집된 두족류를 오랫동안 보관하기 위해서는 90% 알코올에 넣어 보존

#### 나) 계측 및 계수

- 외투장·동장·몸통길이: 몸통의 복부선단에서 외투부 끝까지 길이
- 지느러미 길이(FL)L 외투부 끝부터 지느러미 선단부 까지 길이
- 지느러미 폭(FW): 지느러미 폭이 가장 넓은 왼쪽 가장자리부터 오른쪽 가장자리까지의 길이
- 완장식: 각 팔(완)의 길이는 종에 따라 다르므로 완장식에 의해 종의 특성이 나타남
- 촉완: 3완과 4완 사이에 있음

### 4) 갑각류(Crustacean)

#### 가) 표본 처리

- 개는 종류에 따라 고정과 보관방법을 달리하여야 함
- 꽃게류는 성질이 사나워 채집 즉시 고정을 하면 다리를 절단하게 되므로 기절시킨 후 고정하는 것을 권장
- 꽃게류를 제외한 무리들은 채집 즉시 90% 알코올로 고정하여도 무방



- 집게는 고등갑질을 제거하여 고정하며 새우류는 채집 즉시 90% 알코올로 고정하여 처리
- 알코올에 보관하게 되면 모든 갑각류는 탈색이 되므로 사진 촬영을 원할 경우 해수에 넣어 냉동보관하여 사용

#### 나) 분석 신뢰도 확보방안

- 기본적으로 모든 시료는 사진촬영 후 필요시 언제든지 사진제공
- 기존에 잘 알려진 종에 대해서는 별도의 공신력이 필요 없고, 새롭게 밝혀진 종의 경우는 학회에 발표하여 공신력 확보
- 유영동물의 계절변동 양상을 파악하기 위하여 통계프로그램(SAS, SYSTAT 등)을 이용, 다변량분석기법인 주성분분석(PCA) 또는 군집분석 등을 수행
- 이때 개체수 자료는 표준화를 위하여 적절한 변환과정을 거침
- 그 외 다양도 지수, 풍부도지수, 균등도지수 등을 통하여 군집특성 파악

### 5) 난·자치어(Fish eggs and larvae)

#### 가) 표본 채집

- 다양한 어란 및 자치어 시료 채집을 위하여 RN80네트(망구직경 80 cm, 망목 300  $\mu$ m)를 이용하여 경사인망 하되, 수심이 낮다고 판단되는 경우에는 수평인망을 실시
- 네트의 예망 깊이는 수심이 200 m 이하인 해역은 표층에서 저층 상부 20 m 이내, 200 m 이상의 수심에서는 표층에서 수심 300 m 이내
- 근해의 경우 조사 수층 내에 계절수온약층과 연구수온약층 포함시킴
- 표본수집을 위해 네트 전개 초기의 선박속도는 최소 0.5 m/sec 유지
- 네트 예망속도는 약 1 m/sec를 유지하고 네트의 이동궤적을 표층 저층(조사제한 수층) 표층의형 유지(단, 수심이 얕은 연안에서는 표층예망)
- 네트의 예망시간 10분(단, 동물플랑크톤 밀도가 높아 네트의 막힘 현상이 발생할 때는 예망시간 감소 권장)
- 네트 입구에 유량계 부착하고 유량계의 부착위치는 네트 직경의 1/3 가장 자리에 부착
- 유량계(Hydro-Bios사, general Oceanics사 등)를 예망 전과 후에 읽어

### 네트를 통과한 해수의 양 측정

- 네트를 선상으로 끌어올린 후 선상에서 펌프를 이용하여 해수를 네트 밖에서 안쪽으로 분사하여 세척
- 네트 끝에 부착된 채집통에 모인 표본은 1 L 용량 플라스틱 용기에 담음
- 채집통은 다음 채집에 오염을 최소화하기 위해 2회 세척
- 새로 채집 시간은 주간과 야간 또는 조석주기를 고려하지 않음
- 성어 조사시 난·자치어 조사를 하며 이는 성어중에서 산란유무 확인 차원의 조사는 필요하고 양적인 것보다는 정성적인 측면의 조사 수행

### 나) 선상 표본처리

- 1 L 용량의 플라스틱 용기 내 표본을 에탄올(최종농도 70% 이상)로 고정
- 폴리에틸렌 표본병에 표본의 용량이 1/4을 넘지 않도록 하고 넘을 경우 다른 병에 나누어 담음
- 표본의 고정이 끝난 후, 각각의 표본병에 조사해역, 조사날짜, 조사정점 번호, 고정액의 종류를 기록
- 운반도중 표본병 뚜껑 열림을 방지하기 위해 표본병과 뚜껑사이를 절연테이프 포장

### 다) 실험실내 표본처리

- 현미경을 이용하여 전량의 에탄올 고정 표본에서 자치어 분리
- 현미경을 이용하여 동정한 자치어 표본을 에탄올(최종농도 70%)이 들어 있는 20 mL 유리병에 보관
- 유리 표본병에 조사해역, 조사날짜, 조사정점, 학명, 표본병의 고유번호를 기록한 기록지를 넣어 밀봉 보관
- 자치어 분류의 정밀도를 높이기 위해 대표 분류군의 사진 촬영
- 분류가 불가능한 표본은 별도의 고유번호를 부여하여 보관
- 자치어의 생물량은 유량계로부터 측정된 여수량을 이용하여 표준화(단위: ind./1,000m<sup>3</sup>)
- 촬영된 표본과 사진은 DB화를 위해 고유번호를 부여하고 조사해역, 조사날짜, 조사정점, 학명, 체장을 기록
- 채집된 난·자치어 중에서 상업적 가치가 크거나 학술적으로 유전자 분석이 필요한 종을 선별

- 유전자 분석을 위한 표본은 99% 에탄올에 별도 보관, 연구의 효율성을 증대시킴

라) 자치어의 형태분류의 정확성 검증

- 자치어의 종분류의 정확성 검증이 필요한 종을 선정
- 선정한 자치어와 유사한 종류의 성어표본 수집, DNA Bank에서 염기서열 정보를 수집
- 유전정보가 없는 종은 유사종의 성어표본에서 DNA를 추출하여 염기서열을 분석
- 자치어 표본의 종 정확성 검증은 다음과 같이 진행
  - 연구대상 자치어를 선정하고 유사종의 성어 표본을 수집
  - 자치어는 발생단계별 형태변화를 이용하여 분류하고 사진을 촬영
  - 자치어의 DNA를 추출하여 염기서열을 분석
  - DNA Bank에서 유사종으로 추정되는 성어의 염기서열자료 수집 또는 직접 분석한 DNA 염기서열과 자치어의 염기서열을 비교하여 검증 대상 자치어 형태 분류의 정확성 여부를 규명
  - 자치어 발생단계별 사진, 염기서열자료 등을 DB 구축에 제공



# 생태기능

## ◆ 목적 및 필요성

- 생물종간 상호관계와 물리적 환경의 영향으로 군집구조 결정하며, 영양 환경변화는 생산환경 변화(표영생산 vs 저서생산)를 유도하며 이는 기능군 변화를 통해 군집구조 변동을 수반하여 궁극적으로 먹이망 구조변동이 일어남
- 먹이망 변동역학은 생태계반응 이해에 필수적임
- 해역별 기초생산자, 소비자, 분해자를 연결하는 먹이연쇄 비교 연구
- 생태계 먹이망의 시·공간 변동성 이해
- End-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 군집구조 양상과 변동 이해가 필요

## ◆ 조사항목

- 생물 생산력
- 먹이망
- 침강입자유기물 플럭스 및 기원

## ◆ 정점의 선정

- 기본조사지침의 정점과 동일
- 침강입자유기물 플럭스 및 기원 연구의 경우 침강입자 트랩 설치가 가능한 동해 심해 평원에 정점을 선정하여 계류

## 생물 생산력

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해양에서 식물플랑크톤에 의한 유기물 생산은 전체 일차생산의 약 95% 정도로 해양생태계를 유지하는 가장 기본적인 요소
- 2) 생물 생산력은 현재의 환경을 진단하고 향후 변화 가능한 해양환경의 예측 및 발전적 보전정책을 수립하는 근거자료로 제공 될 수 있음
- 3) 생물 생산력 변동은 End-to-end food web을 구성하는 전체 생물군 변동 이해에 필수적임

### 나. 조사항목

- 1) 일차생산력

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 4계절 시료를 채집/분석 함
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

### 마. 세부 조사방법

- 1) 일차생산력 측정
  - 일차생산력은 명암병 속의 용존산소량의 변화량을 측정하는 방법(Gaarder and Gran, 1927)이 일찍부터 이용되었으나, 박테리아에 의한 산소소모가 많고, 산소량 변화에서 광합성이 차지하는 비율의 변화 등의 문제점이 있음
  - 이를 보완하기 위해 Steemann-Nielsen(1952)에 의해 도입된 방사성 동위원소인  $^{14}\text{C}$ 을 이용하여 일차생산력을 평가하는 방법이 오랫동안 사용되어 왔음, 이

- 방법은 측정 감도가 높아 생산력이 낮은 대양에서의 생산력 및 입자물질의 크기에 따른 생산력 측정이 가능한 장점이 있지만, 방사성 동위원소 사용의 어려움과  $^{14}\text{C}$ 와  $^{12}\text{C}$ 가 동화되는 비의 정확성 등의 문제점이 있음
- 이러한 문제점으로 친환경적인 안정동위원소인  $^{13}\text{C}$ 을 이용한 방법이 자연 환경에서 보다 널리 사용되고 있음
  - 따라서 안정동위원소를 이용한 일차생산력 측정법을 기본으로 함

#### 가) 시료채집

- 표층 광량의 100%, 50%, 30%, 15%, 5%, 1%에 상응하는 수심의 해수를 10 L 가량 채수한다. (부록 1 참조)

#### 나) 현장 시료처리

- 해수 3 L를 직경 200  $\mu\text{m}$  sieve에 여과하여 수층별로 500 mL 씩 5개의 polycarbonate bottle에 분취하고 표층수는 dark bottle에 5개를 더 분취
- 각 수심의 해수 bottle에 시약을 분취한 후, 빛의 소상조건에 맞춰 제작된 스크린을 사용하여 표층수가 흐르는 incubator에서 3-4 시간 배양(수온 조절) (그림 1 참고)

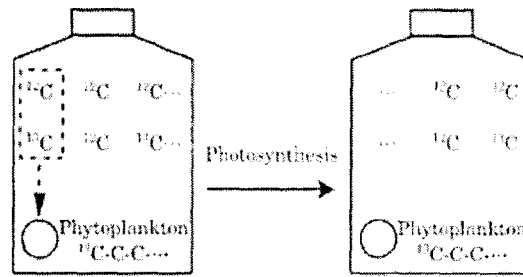
ex) 각 수심에서 다음과 같이 시약을 첨가한다.

$\text{Na}^{15}\text{NO}_3$  (0.5 mL)  $\times$  2 bottle,  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  (0.5 mL)  $\times$  2 bottle,

$\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$  (1 mL)  $\times$  1 bottle

- 배양 후, 해수는 직경 25 mm GF/F 여과지에 여과하되 여과압력을 70 mm Hg 이하로 유지
- 여과를 마치면 잔류물을 제거하기 위해 여과해수로 반드시 세척
- 여과지는 알루미늄 호일에 싸서 냉동보관하거나 즉시 60°C에서 건조

(A) Natural condition



(B) Enriched condition

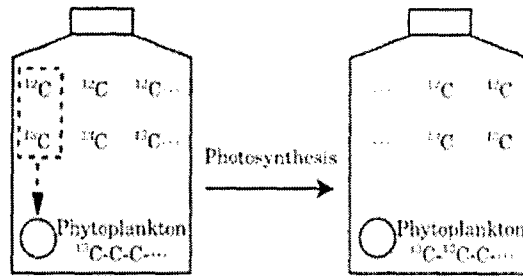


그림 1. 현장에서  $^{13}\text{C}$  tracer를 이용한 식물플랑크톤 광합성 배양 실험 모식도 (Hama *et al.* 1983)

#### 다) 시료분석

- 여과 후, 건조된 여과지를 CNS 원소분석기와 연결된 안정동위원소 질량 분석기(IRMS, Isotope Ratio-Mass Spectrometer)를 이용하여 분석
- $^{13}\text{C}$ 를 첨가한 배양시료 내에서 새로 생성된 유기물에는  $^{13}\text{C}$ 를 첨가하지 않은 것에 비해 더 많은  $^{13}\text{C}$ 가 존재하게 되고, 증가된  $^{13}\text{C}$  원자의 백분율을 측정함으로써 식물플랑크톤의 1차생산량과 단위 시간당 단위 면적 내에서 만들어 내는 유기탄소의 양, 즉 1차 생산 속도를 다음 식을 통해 계산(Productivity는 배양 시간과 수주의 깊이, 광조건 및 클로로필 *a* 농도를 고려하여 계산)



$$a_{is} \cdot C = a_{ns}(C - \Delta C) + a_{ic} \cdot C \quad (1)$$

Photosynthetic production ( $\Delta C$ )

$$\Delta C = C \cdot \frac{(a_{is} - a_{ns})}{(a_{ic} - a_{ns})} \quad (2)$$

Photosynthetic rate,  $P$  ( $\mu\text{gC} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

$$\begin{aligned} P &= \frac{\Delta C}{t} = \frac{C \cdot (a_{is} - a_{ns})}{t \cdot (a_{ic} - a_{ns})} \\ &= \frac{\Delta POC(t)}{t} = \frac{(a_{is} - a_{ns})}{(a_{ic} - a_{ns})} \times \frac{\Delta POC(t)}{t} \quad (3) \end{aligned}$$

$a_{is}$  : 배양 후 입자유기물 중의  $^{13}\text{C}$  비율(%)

$a_{ns}$  : 자연상태의 시료내의  $^{13}\text{C}$  비율(%)

$a_{ic}$  : 배양후 용존무기탄소에대한  $^{13}\text{C}$ 의 비율(%)

$t$  : 배양시간

$C = \text{POC}(t)$  : 배양후 입자유기탄소 농도( $\mu\text{gC} \cdot \text{L}^{-1}$ )

$\Delta C = \Delta\text{POC}(t)$  : 배양하는 동안 증가한 입자유기탄소 농도( $\mu\text{gC} \cdot \text{L}^{-1}$ )

$$\text{Nitrogen uptake (nmol L}^{-1}\text{t}^{-1}) = (^{15}\text{N}_{\text{xs}} \cdot \text{PNt}) / (^{15}\text{N}_{\text{enr}} \cdot t)$$

t : 배양시간 (hours)

$^{15}\text{N}_{\text{xs}}$  : 배양후 입자상 시료의  $^{15}\text{N}$  측정치 -  $^{15}\text{N}$  natural abundance  
(0.366 atom %)

PNt : 배양후 시료의 입자질소 함량 (nmol L<sup>-1</sup>)

$^{15}\text{N}_{\text{enr}}$  : 용존부에서  $^{15}\text{N}$  enrichment

$$^{15}\text{N}_{\text{enr}} = [(100 \cdot ^{15}\text{N}) / (^{15}\text{N} + ^{14}\text{N})] - ^{15}\text{N}_{\text{n}}$$

$^{15}\text{N}$  : 표지된 N의 농도, nmol L<sup>-1</sup>

$^{14}\text{N}$  : 표지되지 않은 N의 농도, nmol L<sup>-1</sup>

$^{15}\text{N}_{\text{n}}$  :  $^{15}\text{N}$ 의 natural abundance

$$\text{nmol L}^{-1}\text{D}^{-1} = (\text{주간배양결과} \times \text{주간 시간}) + (\text{암배양결과} \times \text{암 시간})$$

#### <참고>

- Light와 dark의 독립적인 측정은 동일한 수괴(수주)에서 시료채취가 있을 때만 가능
- 그렇지 않을 때 계산 값은 chlorophyll level로 표준화되어야 함

$$\text{TCO}_2 \text{ uptake (nmol L}^{-1}\text{t}^{-1}) = (^{13}\text{C}_{\text{xs}} \cdot \text{PNt}) / (^{13}\text{C}_{\text{enr}} \cdot t)$$

$^{13}\text{C}_{\text{xs}}$  : 배양후 입자상 시료의  $^{13}\text{C}$  측정치 -  $^{13}\text{C}$  natural abundance  
(1.1 atom %)

PCt : 배양후 시료의 입자탄소 함량(nmol L<sup>-1</sup>)

$^{13}\text{C}_{\text{enr}}$  : 용존부에서  $^{13}\text{C}$  enrichment

#### - Definition

New production	: $\text{NO}_3^-$	uptake
Regenerated production	: $\text{NH}_4^+$	uptake
Primary production	: $\text{CO}_3^{2-}$	uptake

## <참고>

Nitrate uptake rate	1) 초기 $\text{NO}_3$ 농도 2) 입자상 질소의 최종농도 3) 입자물질의 최종 $^{15}\text{N}$ 농도
Ammonium uptake rate	1) 초기 $\text{NH}_4$ 농도 2) 입자상 질소의 최종농도 3) 입자물질의 최종 $^{15}\text{N}$ 농도
$\text{TCO}_2$ uptake rate	1) Alkalinity (pH, 온도, 염분) 2) 입자상 질소의 최종농도 3) 입자물질의 최종 $^{13}\text{C}$ 농도

### - Reagent

$^{15}\text{NO}_3$	: $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ or $\text{K}^{15}\text{NO}_3$
$^{15}\text{NH}_4$	: $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ or $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
$^{13}\text{CO}_3$	: $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$

### - Tracer 제조방법

#### ※ $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ (FW: 85.99)

- Stock solution:  $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$  171.97 mg을 1 L 정용병에 증류수로 정용(2 mmol/L  $^{15}\text{N}$ )
- Working solution: Stock solution을 100 mL 분취하여 다시 1 L 정용병에 증류수로 정용(200 mmol/L  $^{15}\text{N}$ )
- 시료내에 0.2 mmol/L  $^{15}\text{N}$ 농도가 되도록 working solution을 첨가(예, Working solution 0.5 mL을 sample 500 mL에 분취 후 배양)

#### ※ $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ (FW: 54.49)

- Stock solution:  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  108.98 mg을 1 L 정용병에 증류수로 정용(2 mmol/L  $^{15}\text{N}$ )
- Working solution: Stock solution을 100 mL 분취하여 다시 1 L 정용병에 증류수로 정용(200 mmol/L  $^{15}\text{N}$ )
- 시료내에 0.2 mmol/L  $^{15}\text{N}$ 농도가 되도록 working solution을 첨가(예, Working solution 0.5 mL을 sample 500 mL에 분취 후 배양)

#### ※ $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (FW: 85)

- Stock solution:  $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$  850 mg을 1 L 정용병에 증류수로 정용(100 mmol/L  $^{13}\text{C}$ )
- 시료내에 200  $\mu\text{mol/L}$   $^{13}\text{C}$ 농도가 되도록 stock solution을 첨가(예, stock solution 1mL을 sample 500 mL에 분취 후 배양)

<참고 - total alkalinity 측정 방법>

; standard 해수의 일부와 standard acid의 일부를 분취하여 섞는다. 시약을 분취하기 전과 후의 pH를 이용하여 total alkalinity와 carbonate alkalinity를 계산

- sample은 200 mL wide mouth, screw-capped polyethylene bottle에 담고, 빠른 시간 내에 분석해야 함
- Phosphate buffer를 이용하여 pH meter를 표준화하고, 상온에서 sample의 pH를 측정(측정온도 기록)
- Carbonate alkalinity를 계산하기 위해 현장에서 sample의 온도와 염분(salinity)측정
- 200 mL bottle에 pipette을 이용하여 0.01N HCl을 25 mL 넣고, 해수 sample을 100 mL 분취하여 섞어줌
- Phosphate buffer를 이용하여 pH meter를 표준화하고, 전극(electrodes)을 증류수로 씻어낸 다음 상온에서 산처리한 sample의 pH를 측정(측정온도 기록)

$$\text{total alkalinity (meq/L)} = 2.500 - 1250 \frac{aH}{f}$$

aH: the hydrogen ion activity,  $10^{-\text{pH}}$ : pH는 산처리 후 측정한 값

f: the empirical activity coefficient, 측정된 pH와 sample의 염분을 이용하여 표 1에서 찾음

$$\text{Initial pH (meq/L)} = \text{pH } t1 + 0.0114 (t1 - t2)$$

pH t1은 상온(t1)에서 pH, t2는 현장온도

$$\text{Carbonate alkalinity (meq/L)} = \text{total alkalinity} - A$$

- A는 표 3에 있는 boric acid를 이용한 milliequivalent correction이다.

※ 산을 추가한 후의 pH가 4.0보다 크다면, 0.01N 산 5.0 mL을 추가하여 넣고 total alkalinity를 다음과 같이 계산

$$\text{total alkalinity (meq/L)} = 3.00 - 1300 \times \frac{aH}{f}$$

※ 염분이 22 - 33 ‰ 범위에 있을 경우, 상당한 error (appreciable error) 없이 total alkalinity를 표 2에서 찾을 수 있음

※ 온도 수정 식은 Gieskes (1969)를 기초로 하였고, 이 방법의 정밀도 내에서 염분과 독립적임

표 1. Total alkalinity 측정을 위한 factors

pH range	Cl ‰ = S ‰ =	2	4	6	8	10	12-18	20
		3.5	7	11	14.5	18	21-33	36
		<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>
2.8-2.9		0.865	0.800	0.785	0.775	0.770	0.768	0.773
3.0-3.9		0.845	0.782	0.770	0.760	0.755	0.753	0.758
4.0		0.890	0.822	0.810	0.800	0.795	0.793	0.798

표 2. Total alkalinity (meq/L, 20°C) 계산

pH	Total alkalinity	pH	Total alkalinity	pH	Total alkalinity
2.80	(0.00)	3.20	1.45	3.60	2.08
2.82	0.08	3.22	1.50	3.62	2.10
2.84	0.12	3.24	1.55	3.64	2.12
2.86	0.27	3.26	1.59	3.66	2.14
2.88	0.36	3.28	1.63	3.68	2.15
2.90	0.45	3.30	1.67	3.70	2.17
2.92	0.54	3.32	1.71	3.72	2.18
2.94	0.61	3.34	1.74	3.74	2.20
2.96	0.69	3.36	1.77	3.76	2.21
2.98	0.76	3.38	1.81	3.78	2.23
3.00	0.84	3.40	1.84	3.80	2.24
3.02	0.92	3.42	1.87	3.82	2.25
3.04	0.99	3.44	1.90	3.84	2.26
3.06	1.06	3.46	1.93	3.86	2.27
3.08	1.12	3.48	1.95	3.88	2.28
3.10	1.19	3.50	1.98	3.90	2.29
3.12	1.24	3.52	2.00	3.92	2.30
3.14	1.30	3.54	2.02	3.94	2.31
3.16	1.35	3.56	2.04	3.96	2.32
3.18	1.40	3.58	2.06	3.98	2.33
				4.00	2.34

표 3. carbonate alkalinity에 대한 total alkalinity의 전환

S=10‰																
pH:	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8
T=0°C	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3
T=2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3
T=4	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=6	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=8	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=10	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=12	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=14	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=16	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=18	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=20	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=22	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=24	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=26	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=28	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4
T=30	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	4

S=20‰																
pH:	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8
T=0°C	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=2	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=4	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=6	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=8	0	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=10	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=12	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=14	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=16	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=18	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=20	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=22	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=24	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=26	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=28	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6
T=30	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	6

S=25‰																
pH:	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8
T=0°C	1	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	11
T=2	1	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12
T=4	1	1	1	1	2	2	2	3	4	4	5	6	8	9	10	12
T=6	1	1	1	1	2	2	2	3	4	5	5	7	8	9	11	12
T=8	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	11	13
T=10	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	12	13
T=12	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14
T=14	1	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	8	9	11	12	14
T=16	1	1	1	2	2	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	14
T=18	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	11	13	15
T=20	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	12	13	15
T=22	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14	15
T=24	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	8	9	11	12	14	16
T=26	1	1	2	2	2	3	4	4	5	7	8	9	11	12	14	16
T=28	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	9	11	13	14	16
T=30	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	11	13	15	16

S=30‰																
pH:	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8
T=0°C	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	13	15
T=2	1	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	7	8	9	11	13
T=4	1	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	7	8	10	12	13
T=6	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14
T=8	1	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	11	12	14
T=10	1	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	8	9	11	13	15
T=12	1	1	1	1	2	2	3	4	5	6	7	8	10	11	13	15
T=14	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16
T=16	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14	16
T=18	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	12	14	17
T=20	1	1	1	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	13	15	17
T=22	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	8	9	11	13	15	17
T=24	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	7	8	10	12	14	16
T=26	1	1	1	2	2	3	4	4	5	6	7	8	10	12	14	16
T=28	1	1	1	2	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16
T=30	1	1	1	2	2	3	4	5	6	7	8	9	11	13	14	17

S=35‰																
pH:	7.3	7.4	7.5	7.6	7.7	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8
T=0°C	1	1	1	2	2	3	4	4	5	7	8	9	11	13	15	18
T=2	1	1	2	2	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	19
T=4	1	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14	17	19
T=6	1	1	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	13	15	17	20
T=8	1	1	2	2	3	4	4	5	6	8	9	11	13	15	18	20
T=10	1	2	2	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	18	21
T=12	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	14	16	19	21
T=14	1	2	2	3	3	4	5	6	7	9	11	13	15	17	19	22
T=16	1	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	13	15	17	20	22
T=18	1	2	2	3	4	4	5	7	8	10	11	13	16	18	20	23
T=20	2	2	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	18	21	23
T=22	2	2	3	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	19	21	24
T=24	2	2	3	3	4	5	6	7	9	10	12	15	17	19	22	24
T=26	2	2	3	3	4	5	6	7	9	11	13	15	17	20	22	24
T=28	2	2	3	3	4	5	6	8	9	11	13	15	18	20	22	25
T=30	2	2	3	4	4	5	7	8	10	11	13	16	18	20	23	25

## 부록 1. Secchi depth를 이용한 광량측정

$$\bullet \quad I_d = I_0 e^{(-kl)}$$

$I_d$  : light intensity at depth d (%)

$I_0$  : light intensity at water surface (100%)

$k$  : light attenuation coefficient ( $m^{-1}$ )

$d$  : depth of photic zone (m)

$$\bullet \quad k = \frac{f}{(\text{Secchi depth})}$$

$f$  : clear ocean - 1.7

turbid coastal water - 1.4

$$\bullet \quad d = \frac{\ln I_0 - \ln I_d}{k}$$

$f = 1.7$	Depth					
광량 (%)	100	50	30	15	5	1
Secchi depth (m)						
0	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	0	0.4	0.7	1.1	1.8	2.7
2	0	0.8	1.4	2.2	3.5	5.4
3	0	1.2	2.1	3.4	5.3	8.1
4	0	1.6	2.8	4.5	7.1	10.8
5	0	2.0	3.5	5.6	8.8	13.5
6	0	2.4	4.2	6.7	10.6	16.2
7	0	2.8	4.9	7.8	12.4	18.9
8	0	3.2	5.6	8.9	14.1	21.6
9	0	3.7	6.4	10.1	15.9	24.4
10	0	4.1	7.1	11.2	17.6	27.1
11	0	4.5	7.8	12.3	19.4	29.8
12	0	4.9	8.5	13.4	21.2	32.5
13	0	5.3	9.2	14.5	22.9	35.2
14	0	5.7	9.9	15.6	24.7	37.9
15	0	6.1	10.6	16.8	26.5	40.6
16	0	6.5	11.3	17.9	28.2	43.3
17	0	6.9	12.0	19.0	30.0	46.0
18	0	7.3	12.7	20.1	31.8	48.7
19	0	7.7	13.4	21.2	33.5	51.4
20	0	8.1	14.1	22.4	35.3	54.1
21	0	8.5	14.8	23.5	37.1	56.8

## 먹이망

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 해역별 기초생산자, 소비자, 분해자를 연결하는 먹이연쇄 비교 연구
- 2) 먹이망 변동역학은 생태계반응 이해에 필수적 임
- 3) 생태계 먹이망 시·공간 변동성 이해
- 4) End-to-end food web 구성하는 전체 생물군 군집구조 양상과 변동 이해를 통해 먹이망 구조변화와 기능 이해가 필요

### 나. 조사항목

- 1) 소화관 내용물 분석
- 2) 안정동위원소 분석

### 다. 정점의 선정

기본조사지침의 정점과 동일

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 연구대상지의 기본조사지침의 시기 및 횟수와 동일
- 2) 모든 채집과 분석의 총 횟수는 예산 범위 내에서 조정

### 마. 세부 조사방법

#### 1) 소화관 내용물 검사

##### 가) 시료채취 및 분석

- 소화관 내용물을 해부현미경을 사용하여 떼어낸 후(단각류의 경우) 증류수에 2시간 동안 담궈 시료내 염분을 제거
- 염분이 제거된 시료는 ethanol과 t-butyl alcohol을 사용하여 1시간 간격으로 단계별 탈수시킨 다음 동결건조하여 보관(단, 어류의 소화관 내용물



분석 시 알코올을 이용한 탈수 불필요)

- 동결건조된 시료는 광학현미경 관찰을 통해 분석(단, 단각류의 소화관내용물은 gold palladium coating하여 chamber에 넣은 후 주사전자현미경으로 관찰)
- 먹이원 종류별로 동정한 후 계수
- 전체 개체수에 대한 각각의 먹이원을 백분율로 환산하여 계산

## 2) 안정동위원소 분석을 통한 먹이원 연구

### 가) 시료채취 및 분석

- 잠재 먹이원으로써 수주(water column)내의 부유입자유기물은 수심 약 1 m의 아표층수 20 L를 채수하여 200  $\mu$ m 망목으로 동물플랑크톤이나 크기가 큰 입자물질을 제거한 후 미리 450℃에서 4시간동안 미리 태워서 준비한 GF/F 여과지(47 mm, 0.7  $\mu$ m)를 이용하여 여과한 후 10% HCl 2~3방울을 가해서 CaCO<sub>3</sub>을 제거하고 다시 증류수로 세척한 후 동결건조하여 데시케이터에 보관
- 식물플랑크톤은 플랑크톤 net(mesh size 20  $\mu$ m)를 이용하여, 수중에서 직접 채집하고 시료에 포함되어 있는 입자성 유기물과 동물플랑크톤을 제거하기위해 체(mesh size 63  $\mu$ m)를 이용하여 걸렀으며, 해부현미경 아래에서 남아있는 입자들을 모두 제거
- 동물플랑크톤은 플랑크톤 net(mesh size 20  $\mu$ m)를 이용하여 채집했으며, 해부현미경 아래에서 동물플랑크톤을 분류하여 따로 채집
- 무척추동물은 van Veen grab과 hand-held net(150  $\mu$ m)를 이용하거나 SCUBA diving을 통하여 채집하고, 요각류, 단각류 등의 시료는 망목 0.1 mm 체에 체질해서 포집하고 연체동물, 절지동물, 갯지렁이류 등의 대형 저서생물은 손으로 직접 채집
- 채집한 동물들은 여과한 현장 해수에 하룻밤 담귀 소화관 내용물을 완전히 배설하도록 하여 소화관에 남아있는 먹이를 제거
- 각각의 시료는 가능한 중 단위까지 분류한 후 패각, 갑각 및 기타 이물질 등을 제거하고 조심스럽게 근육부위를 절개 혹은 절단
- 모든 시료는 60℃에서 48시간동안 건조 시키고 그라인더를 이용하여

2-3분 동안 곱게 가루로 만들며 각 시료는 10% HCl에 잠시 동안 처리하여  $\text{CaCO}_3$ 을 제거하고 다시 증류수로 세척한 후 동결건조한 후 막자사발로 갈아서 미세한 분말로 준비

- 낮은 탄소 안정동위원소 비값을 가지는 지질성분은 생물종에 따라 큰 함량변화를 보이므로 대부분의 저서동물들의 분말시료는 다시 메탄올, 클로로포름 및 증류수(2:1:0.8) 혼합액을 이용하여 지방성분을 제거한 후 증류수로 세척하고 다시 동결건조 함
- 건조분말 시료 10~20mg을 tin capsule에 넣고 밀봉하여 자동원소분석기(Automated elemental analyzer)에 주입하여 고온( $1,030^\circ\text{C}$ )에서 연소시키며 동위원소 분석을 위한 유도기체는 헬륨(He)을 이용
- 연소후 발생하는  $\text{CO}_2$ 와  $\text{N}_2$  가스에 대하여 안정동위원소 질량분석기를 장착한 continuous flow-through inlet system isotope ratio mass spectrometer(CF-IRMS, Micromass Isoprime)을 이용하여 탄소와 질소 안정동위원소 비를 분석
- 잠재먹이원과 소비자 동물군이 가지는 안정동위원소비 값은 다음과 같은 식에 의해 국제표준물질(International standard material)에 대한 시료의 그 비 값 변위를 천분율(‰)로 나타내어  $\delta$  기호로 표현

$$\delta X (\text{‰}) = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 10^3$$

X:  $^{13}\text{C}$  혹은  $^{15}\text{N}$

R:  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  혹은  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  비

※ 이때 사용한 표준물질은 탄소의 경우 PDB(PeeDee Belmnite)와 질소의 경우 air  $\text{N}_2$  등 국제표준 기준을 사용

※ pepton과 urea를 이용한 20회 이상 반복실험에서 얻어진 값들에 대한 표준편차는  $\delta^{13}\text{C}$ 가 0.2‰ 그리고  $\delta^{15}\text{N}$ 가 0.3‰ 이하를 나타냄

---

## 침강입자유기물 플럭스 및 기원

---

### 가. 목적 및 필요성

- 1) 입자유기물의 침강은 생물펌프의 주요 구성요소로서 대기로부터 표층해수로 흡수된 이산화탄소를 심층해수 및 해저로 이동시키는 주요한 기작임
- 2) 침강입자유기물은 심층 및 저서 생물에게 에너지와 물질을 공급하는 주된 기작으로 표층 생태계와 저서 생태계를 연결하는 고리역할을 함
- 3) 기후변화에 기인한 표층 생태계의 변화가 입자유기물의 침강을 통하여 저서 생태계의 변화로 이어지므로 기후변화에 따른 저서 생태계 변화를 연구하는데 매우 중요한 요소임

### 나. 조사항목

- 1) 침강입자의 조성 및 플럭스
- 2) 방사성 탄소동위원소를 이용한 침강 입자의 기원 연구

### 다. 정점의 선정

- 침강입자 채집기(Sediment Trap, 퇴적물 트랩) 계류가 가능한 동해 심해 평원에 정점을 선정

### 라. 조사시기 및 횟수

- 1) 침강입자 채집기의 계류를 통하여 연속적인 침강입자 시료 채집
- 2) 연구해역의 수심에 따라 시료채집 수심 결정: 보통 심해에서 침강입자의 플럭스를 조사할 경우 2000 m 이하에 퇴적물 트랩을 계류하고, 저서환경으로 전달되는 입자 플럭스를 조사하기 위하여 해저에서 50 m, 600 m 높이에 퇴적물 트랩을 계류함

## 마. 세부 조사방법

### 1) 퇴적물 트랩 계류

- 시료 채집 수심에 따라 크게 세가지 형태의 퇴적물 트랩 계류로 구분됨. 표층의 경우 표층부이에 계류하는 방식을 사용하거나 자유롭게 떠다니는 방식을 사용함. 심층의 경우에는 해저에 계류하는 방식을 사용함 (그림 참조)
- 심해에서의 침강입자 채집을 위해서는 보통 McLane Lab 회사에서 만든 고깔 모양의 퇴적물 트랩(Mark-7)을 사용함.

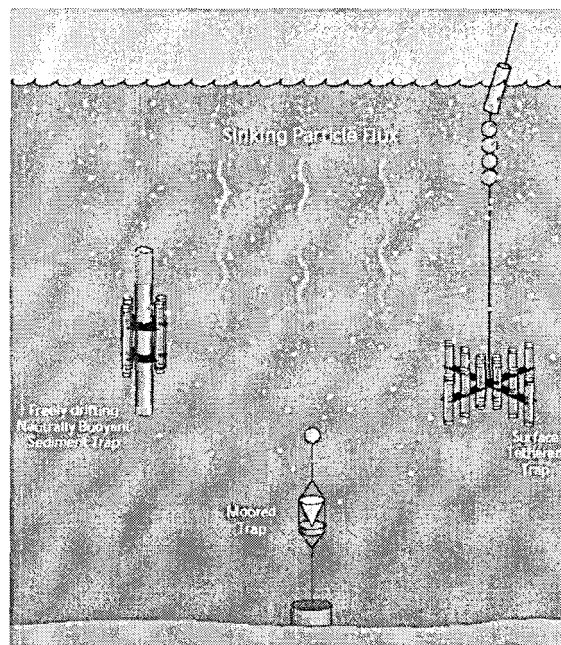


그림 1. 퇴적물 트랩의 세가지 주요 유형. 표층부이에 계류하는 방식과 해저에 계류하는 방식, 자유롭게 떠다니는 방식 등이 있음

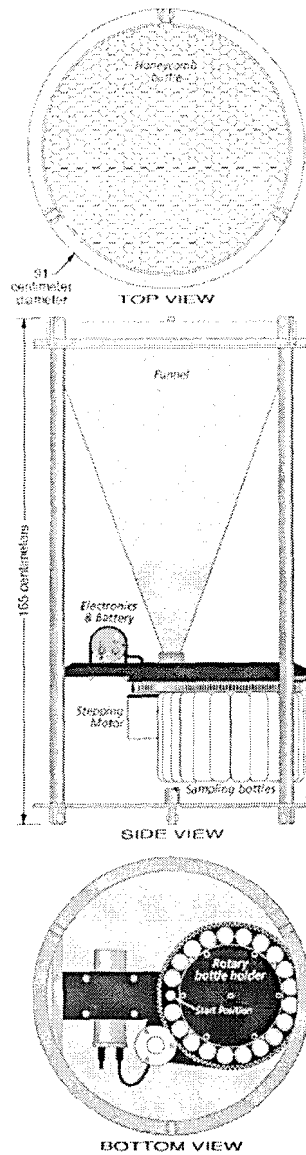


그림 2. 고압형태의 퇴적물 트랩. 깔때기 하부에 시료를 채집하는 병이 장착되며 이들 병들은 프로그램에 따라 정해진 시간 후 다음 병으로 회전하여 침강입자의 시계열 시료 채집이 가능함

### 가) 시료채집

- 보통 21개의 채집병이 장착되며 이들은 계류기간에 따라 적절한 시간 간격으로 회전하도록 프로그램 함. 예를 들어 1년간 계류할 경우 보통  $365 \text{ 일} / 21 \text{ 병} = 17.4 \text{ 일}$ 마다 한 번 씩 회전하도록 함
- 채집병에 채우는 해수는 심층해수나 여과한 표층해수에 NaCl을 리터당 5g 가량 첨가하여 사용
- 유기물의 보존을 위하여 채집병에 채우는 해수에 보통 포르말린이나 염화수은을 첨가한다. 포르말린은 생물시료 보존에 탁월하나 탄소를 포함하고 있어 시료의 탄소동위원소 측정을 계획할 경우에는 포르말린보다 염화수은을 첨가하는 것이 적절함

### 나) 시료처리

- 퇴적물 트랩을 인양한 후 시료 채집병들을 트랩에서 분리하여 마개를 잘 닫은 후 오염을 방지하기 위하여 비닐봉지에 몇 겹으로 싸 후 냉장 보관
- 시료를 실험실에서 1 mm mesh size의 여과망으로 걸러서 1 mm보다 큰 입자와 작은 입자로 구분한다. 시료를 McLane Wet Splitter 를 이용하여 10개의 동일한 시료로 분리

## 2) 침강 입자 분석

### 가) 전체입자 플럭스 분석

- 전체 침강입자 플럭스를 측정하기 위하여 1/10으로 분리한 시료를 미리 무게를 잰 여과지를 이용하여 여과한 후 Milli-Q water를 이용하여 염분을 완전히 제거
- 여과지와 시료를 50°C의 온도에서 건조한 후 무게를 측정하여 시료의 무게를 계산하고 이를 이용하여 전체 침강입자 플럭스를 계산

### 나) 침강입자의 탄소 플럭스

- 건조한 시료를 적당량 무게를 측정하여 CHN analyzer를 이용하여 전체 탄소량을 정량

### 다) 침강 유기물 플럭스

- 건조한 시료의 적당량 무게를 측정한 후 HCl 증기와 함께 데시케이터 안에 6시간 이상 24시간 이하 방치하여 무기탄소를 제거

- 무기탄소가 제거된 시료의 유기탄소 함량을 CHN analyzer를 이용하여 정량
- 유기탄소 함량에 2.5를 곱하여 유기물의 함량을 계산하고 이를 이용하여 유기탄소 플렉스를 계산

라) 무기탄소 플렉스

- 전체 탄소량과 유기탄소량의 차로부터 무기탄소량을 정량

마) 금속원소 분석

- 입자중의 금속원소(Al, Si, Ca)를 ICP-ES를 이용하여 분석
- 측정한 Al농도와 지각의 평균적인 Al 대 광물의 농도비를 이용하여 lithogenic component 의 농도를 계산
- Si 와 Ca 의 농도를 Al의 농도와 지각의 평균적인 Al 대 Si, Ca 농도를 이용하여 계산한 광물기원의 Si와 Ca 량을 전체 Si 와 Ca 량으로부터 빼주면 생물기원의 Si 와 Ca 농도를 얻을 수 있다. 이 값을 이용하여 생물기원의 Opal과 Calcium Carbonate 플렉스를 계산

바) 유기물의 탄소 동위원소 측정

- 동결건조한 입자 시료를 미리 450°C에서 태운 GF/F 여과지에 얇게 펼친 후 HCl 증기와 함께 데시케이터 내에 6시간 이상 24시간 이내로 방치하여 무기탄소를 제거
- 시료를 Quartz 튜브로 옮긴 후 CuO와 Ag를 추가한 후 진공라인에서 튜브내의 공기를 제거한 후 flame-seal 함
- 시료를 850°C 오븐에서 6시간 이상 태워 유기물을 CO<sub>2</sub>를 산화시킴
- 진공라인에서 드라이아이스와 이소프로필알콜을 혼합한 수증기트랩을 이용하여 수증기를 제거하고 순수한 CO<sub>2</sub>만을 포집
- CO<sub>2</sub> 시료는 가속질량분석기 (Acceleration Mass Spectrometry) 센터에 의뢰하여 방사성 탄소 동위원소비를 분석





### 주 의

1. 이 보고서는 국토해양부에서 시행한 해양환경복원기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 국토해양부에서 시행한 해양환경복원기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개 하여서는 아니됩니다.

