

**열대 태평양기지 자원생물생산 및 기본연구활동 지원**

**Culture of Marine Living Resources and Supports on related  
Basic Studies in Pacific Research Base**

**한국해양과학기술원**

**열대 태평양기지 자원생물생산 및 기본연구활동 지원**

**Culture of Marine Living Resources and Supports on related  
Basic Studies in Pacific Research Base**

**한국해양과학기술원**

# 제 출 문

## 한국해양과학기술원장 귀하

이 보고서를 “열대 태평양기지 자원생물 생산 및 기본연구활동 지원”의 2013년도 단계보고서로 제출합니다.

2014. 3. 31

총괄연구책임자 : 박홍식

참 여 연 구 원 : 강도형, 김경태, 김광석, 김계림, 김동성, 김민석,  
김선욱, 김성근, 김지형, 김종훈, 김용권, 김윤철,  
김의열, 김한준, 김태훈, 고아라, 고영호, 금병철,  
권문상, 권석재, 권영경, 나공태, 나희정, 노충환,  
노재훈, 박미례, 박신영, 박승일, 박영제, 소재귀,  
신동혁, 신준호, 신희재, 신혜정, 안성민, 안유환,  
안찬미, 엄진아, 엄태양, 이건섭, 이대원, 이승용,  
이정호, 이재형, 이종석, 이연주, 이영득, 이용국,  
이윤경, 이은경, 이택건, 이희승, 이혜미, 오승용,  
오정희, 오철홍, 우선욱, 우한준, 유주형, 윤건탁,  
예보람, 장 석, 장 만, 장찬주, 정윤환, 조나현,  
조성빈, 조진형, 주세종, 천성준, 최동한, 최종국,  
최영웅, 최현우, 허수진, 홍민지, 황진익,  
Maran, Ying Cui

위탁연구기관 : 태국 출라롱콘 대학 - Suchana Chavanich  
미국 괌대학 - Laurie Raymondo

# 요 약 문

## I. 제 목

2013년도 열대 태평양기지 자원생물 생산 및 기본연구활동 지원

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구개발의 필요성

#### ○ 기술적 측면

- 열대 산호초 지역의 지속가능한 이용 체계 필요성
- 미래 생물 생산 연구 체계 확보
- 해외생물 자원의 체계적 확보를 위한 기초 연구
- 생명 소재 확보를 위한 정보 네트워크 구성

#### ○ 경제·산업적 측면

- 생물 소재 추출 및 정제를 위한 기반 구축
- 생물 확보가 어려운 기능성 생물의 맞춤형 생산
- 해외 소재 생산 공간 확보
- 소유하지 못한 환경의 접근
- 해양 소재 기반 신산업 및 기술에 대한 수요 창출

#### ○ 사회·문화적 측면

- 태평양 도서국가 대상으로 국가 이익 창출
- 전지구적 국가 역할 증진
- 과학 활동을 통한 국가 홍보 및 대국민 자부심고취

#### ○ 연구소 고유기능 발전과의 연관성

- 출연연의 고유 기능 부합
- 태평양 해역 해양 연구 거점 확보
- 해양생명공학의 네트워크 구축으로 한국해양연구원의 역할 확대

## 2. 연구개발의 목적

- 열대 해양 환경은 산호초 분포를 비롯하여 해양에서 가장 높은 생물 다양성과 생산성을 지니는 해역으로, 해양 생물 소재를 개발의 대상이 되어온 공간임.
- 이미 선진국에서는 바이오 신소재 산업 및 기능성 생물 육성을 통해 열대 식민지, 저개발 국가에 진출하여 산업기반을 조성하고 있으며, 향후 국제 기구를 통한 생물다양성 협약 강화(CBD, COP8)로 인해 국가간 주요 생물 이동금지조약(CITES)등이 발효되는 시점에서 열대지역으로의 해양 생물 소재 선점은 국내 생명공학 산업 발전에 중추적 역할을 수행할 것임.
- 특히 국내에서 확보할 수 없는 환경이지만 우리나라 하계 기후변동과 직접적 연관을 가진 해역에 연구 기지를 운영하는 것은 향후 해양연구 영역의 확대를 통해 국가 기후 관측망의 근원적 해석과 더불어 태평양 국가의 국가 책임으로 전지구적 환경네트워크에 동참하는 공간을 확보하는 것임.

### Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

#### 1. 연구기간

2013년 1월 1일 ~ 2013년 12월 31일

#### 2. 연구개발의 내용 및 범위

##### 가. 센터주변 환경감시

###### 1) 해양 지화학변화

- 웨노섬 주변해역 잘피 내 중금속 농축도 조사
- 듀블론 지역내 용존영양염, 중금속의 공간변화 조사
- 덩핑사이트 조사

###### 2) 원격탐사

- 웨노섬 주변 해수 및 광학특성 조사
- 산호초 서식지 지표조사

###### 3) 공간정보 구축

- 공간자료, 위성영상, 온라인정보, 현지조사를 종합한 지도제작(공간자료 구축)
- 연구, 조사 텍스트 자료의 가공, 변환을 통한 공간자료 제작
- 전문 공간자료 제작 툴(ArcGIS Desktop10.x)을 이용한 주제도 제작
- 아틀라스 원고 초안 작성을 위한 자료 수집 및 디자인

##### 나. 생태계 감시 및 생물응용연구

###### 1) 열대 미세생물

- 축 라군 해역의 일차생산력 평가
- 축 라군 해역의 박테리아 생산력 평가
- *Halimeda*속 다양성 조사
- 잘피의 광합성 변수의 변화 조사

###### 2) 산호 다양성 및 MPA

- 웨노섬 북동부 연안 리프 서식지 분포조사
- 웨노섬 북동부 연안 잘피 서식지 분포조사
- 지선별 서식지 분포상 비교

###### 3) 어류자원관리

- Humbug damselfish의 월별 생식소 속도 조사
- Humbug damselfish의 월별 생식소 성숙상 조사
- Humbug damselfish의 생식주기 조사

4) 유용미생물탐색

- 균주의 분리 및 배양
- 16S rRNA를 이용한 유전학적 계통분석

5) 미세조류 생산

- 스피롤리나의 최대 비성장률
- 요소를 사용하여 배양된 스피롤리나 생산량

다. 프론티어 연구

1) 망그로브 중 동정 및 산호질병 연구

- 웨노섬에 서식하는 망그로브 종판별
- 해양바이러스 밀도 분석 및 산호질병유발 바이러스 검출

2) 망그로브 생태계 구조 및 기능

- 주요 영양원 및 저서생물의 주요 지방산 구성
- 탄소 및 질소 안정동위원소 비

## IV. 연구개발결과

### 1. 센터주변 환경감시

#### 가. 해양 지화학변화

마이크네시아 축주 내 해양지화학 변화를 조사하기 위해 잘피내 중금속 농축도 조사, 듀블론 지역내 용존영양염, 중금속 변화 조사, 그리고 덩핑사이트 조사를 실시하였다. 잘피 *C. rotundata*, *E. acoroides*, 그리고 *T. hemprichii* 잎과 뿌리에 축적된 중금속 농도 조사에서 *C. rotundata*가 Cr, Zn, Cd, Pb, Hg의 원소가 각각 1.01 mg/kg, 26.7 mg/kg, 0.093 mg/kg, 1.53 mg/kg, 0.014 mg/kg로 다른 잘피종에 비해 상대적으로 높은 농도가 관찰되었다. 그리고 Co, Ni, Cu, As는 *E. acoroides* 종에서 최대농도를 나타내었고, *T. hemprichii*는 모든 중금속 원소에서 다른종에 비해 상대적으로 농도를 낮았다. 잘피 뿌리에서는 Cr, Co, Ni, Pb는 *E. acoroides*에서 Cu, Cd, Hg는 *C. rotundata*에서 Zn와 As는 *T. hemprichii*에서 각각 최대 농도가 관찰되었다. 듀블론 지역내 용존영양염, 중금속의 공간변화 조사에서 영양염은 만의 내측인 D1 정점에서 NO<sub>2</sub> 0.004 mg/L, NO<sub>3</sub> 0.011 mg/L, NH<sub>4</sub> 0.019 mg/L, SiO<sub>2</sub> 0.696 mg/L, PO<sub>4</sub> 0.006 mg/L의 최대농도를 보이고 있으며 외해역으로 갈수록 감소하는 경향을 보였다. 용존유기탄소는 D1정점에서 2.21 mg/L의 최대농도를 보이고 용존영양염과 마찬가지로 외해역으로 갈수록 농도가 감소하여 가장 외해역인 D7 정점에서는 0.92 mg/L의 농도를 보여 약 2.4배의 농도 차이가 존재하였다. 용존중금속(Pb 제외) 역시 만의 내측인 D1 정점에서 최대 농도를 보이며 외해역으로 갈수록 급격히 농도가 감소하고 있으나, Pb는 외해역이 만 내측에 비해 상대적으로 높은 농도를 보였다. 덩핑사이트 침출수 지역 퇴적물 내 중금속의 농도는 해양에 비해 1.9~4.0 배 높은 농도를 보였다. 덩핑사이트 인근 해양퇴적물 채취지역이 맹그로브가 발달되어 환초로 구성된 다른 연안에 비해 높은 농도를 보이는 특성을 고려할 때 덩핑사이트 내 퇴적물 중금속 오염도는 매우 높은 것으로 판단된다.

#### 나. 원격탐사

웨노섬 주변 해역을 3개의 구역으로 나누어 2013년 5월 31일부터 6월 05일까지 해수 환경과 해양 광학 특성에 대한 현장조사를 수행하였다. 웨노섬 주변 해역의 CHL는 0.11 - 0.49 mg/m<sup>3</sup>, 평균 0.26 mg/m<sup>3</sup>이고, SS는 0.03 - 0.31 g/m<sup>3</sup>, 평균 0.16 g/m<sup>3</sup>으로 한반도 주변 해역들 중에서 동해 연안 해역보다 상당히 낮았다.  $a_p(443)$  평균값은 0.0308 m<sup>-1</sup>으로 한반도 주변 해역들 중에서 동해 연안 해역보다 약 0.5배 이상 낮은 값을 나타내어 웨노섬 주변 해역은 유기물질의 농도가 상당히 낮을 것으로 사료된다.  $a_{dom}(1)$ 의 스펙트럼 기울기 값은 한반도 주변 해역들보다 상당히 큰 값을 나타내어 웨노섬 주변 해역은 해양 기원의 용존유기물이 주를 이루는 것으로 사료된다. 해수반사도 스펙트럼 형태는 한반도 주변 해역의 동해 연안과 유사한 CASE-1 성향의 스펙트럼 형태를 잘 보여주었다. 산호초 서식지 지표조사는 베네딕트 해역에서 수행하였다. 베네딕트 해역의 연안에서 외해역 방향으로 잘피 → 모래 & 산호 → 러블 순으로 분포하고 있었다. 위성영상의 녹회색 부분은 긴 잘피 구역, 인접한 검은색 부분은 짧은



잘피 구역으로 확인되었고, 하늘색 부분은 모래 구역, 회색 부분은 러블 구역으로 확인되었다.

#### 다. 공간정보 구축

해양, 연안, 육지가 공존하는 태평양 산호섬 지역에서의 다양한 해양연구 활동을 위해서는 우선적으로 위치정보 기반의 정보 관리, 활용체계가 먼저 선행적으로 구축되어야 한다. 본 연구는 정보가 부재한 지역에서의 자료를 구축하기 위해 위성영상이미지와 종이지도 및 현지측량, 조사정보를 이용해 공간데이터를 제작하여 기본 공간프레임워크데이터를 구성하였다. 고해상도 위성영상의 GCP보정을 통해 해안선도를 제작하였고 종이지도를 디지털화하여 축 환초 및 대상 섬의 정밀등고선도, 수계망도 등을 제작하였으며 현지에서 차량을 이용한 좌표라우팅 조사를 실시하여 웨노섬의 전체 도로망도를 완성하였다. 또한 연구센터를 중심으로 한 Sapuk 지역에 대하여는 현지방문 조사를 통해 건물도, 인구분포도, 폐차분포도, 빵나무서식분포도 등 주요 인문사회적 환경정보들을 제작하여 연구조사활동을 종합적으로 지원할 수 있도록 하였다.

### 2. 생태계 감시 및 생물응용연구

#### 가. 열대미세생물

축 라군의 기초 생태계의 특성을 이해하기 위해 2013년 6월에 홍수림 주변 및 잘피 해역을 중심으로 식물플랑크톤, 박테리아, 잘피의 생산력 및 *Halimeda*의 다양성 조사를 수행하였다. 홍수림 주변 해역에서 식물플랑크톤 생물량과 박테리아 생산력은 홍수림 내만에서 높고 멀어지며 급격히 감소하여 영양염 및 유기물의 공급이 홍수림 내만에서 높음을 시사하였다. 초미소 식물플랑크톤의 개체수 및 식물플랑크톤의 지시색소 분포는 홍수림 내만의 높은 식물플랑크톤의 생물량이 초미소플랑크톤 보다는 규조류, 와편모류와 은편모류 등의 비교적 큰 크기의 식물플랑크톤의 기여도가 큰 반면, 홍수림 외측에서는 초미소플랑크톤의 기여도가 큰 것으로 파악되었다. *Halimeda*의 분자계통학적 다양성은 축 라군에서 11종의 *Halimeda*가 분포하는 것으로 나타났으며, 수심과 서식지의 환경에 따라 다른 종조성이 나타났다. Diving PAM을 이용한 조사결과 잘피 생산력의 48.6%를 잘피에 부착하여 살아가는 부착성 조류가 기여하였다. 또한, 잘피밭에서 기인하는 CO<sub>2</sub> 고정은 20.6±4.9 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>로 나타났다.

#### 나. 산호 다양성 및 MPA

세계적으로 연안 서식지에 대한 중요성이 증가되어, 장기 모니터링 프로그램이 진행 중이며, 정부 차원에서 효과적인 관리와 보호가 필요하다는 인식이 증대되고 있다. 그러나 현재 웨노섬 연안 서식지에 대한 가치 평가는 전무하다. 따라서 이 연구는 웨노섬 북동부 연안 잘피밭과 산호초 서식지의 정량적인 분포조사를 통해 연안 서식지를 효과적으로 관리하기 위한 자료를 제공하기 위해 실시되었다. 그 결과 2013년 8월, 산호초 서식지에서 공간 분포는 산호파편이 26.9%로 가장 높고, 떼조류가 23.5%, 돌산호가 16.5%, 모래가 15.5%, 할리메다 12.6%, 연

산호 1.9%, 대형조류 1.5%, 그 외 1% 이하로 나타났다. 산호초를 구성하는 조초성 산호는 *Acropora nobilis*, *Porites rus*, *Porites cylindrica*가 대부분인 것으로 나타났고, 그 외에 *Acropora* spp., *Pavona danai*, *Porites mayeri* 등이 부분적으로 분포하는 것으로 나타났다. 잘피 서식지에서 공간분포는 잘피 36.7%, *Halimeda* 3.3%, 떼조류 1.3%로 나타났다. 이 지역 잘피 서식지에 서식하는 잘피는 총 5종으로 *Cymodocea rotundata*와 *Syringodium isoetifolium*이 주요 우점종이고, *Thalassia hemprichii*와 *Enhalus acoroides*는 부분적으로 패치를 형성하여 분포하며, *Cymodocea serrulata*는 드물게 분포하는 것으로 나타났다. 이 결과를 바탕으로 장기적인 모니터링으로 이어지면, 웨노섬 연안 서식지 변동을 감지하기 위해 중요한 자료가 될 것으로 기대된다.

#### 다. 어류자원관리

열대 산호초 어류의 번식양상은 환경과 종에 따라 복잡하다. 이들 어류의 산란은 주로 달주기, 강수량 변화와 같은 환경요인에 자극을 받는다. 열대 산호초 어류의 번식양상을 이해하는 것은 어류자원관리에 있어서 중요한 관건이다. *Humbug dascyllus*, *Dascyllus aruanus*는 대표적인 산호초 거주종으로 축 환초내에서 주요 우점어종중에 하나이다. 이 종은 축 연안에 서식하고 있는 산호초 어류의 번식양상을 추정할 수 있는 기초적 자료를 제공해 줄 수 있을 것이다. 이 연구에서는 1년동안 *Humbug dascyllus*의 생식소 숙도지수 및 생식소 조직검경으로 번식주기를 조사하였다. 생식소 숙도지수의 월별 변화상, 그리고 생식소 조직상 조사에서 이 종은 수온, 강수량과 같은 환경요인 변화가 번식양상에 미치는 영향은 미미하며, 번식기는 연중 계속되는 것으로 조사되었다. 향후 월 단위 범위내에서 번식양상이 조사되어 자료가 첨부된다면 이 종의 번식특성을 보다 명확하게 이해하는데 도움이 될 것으로 판단된다.

#### 라. 유용미생물 탐색

마이크로네시아 웨노섬 연안에서 채집된 해수로부터 호기성, 그람음성 및 편모가 없는 해양 박테리아 S354를 분리하였다. 이 균주는 한천배지 상에서 한천을 분해하는 능력을 가지고 있었다. 16s ribosomal RNA 유전자를 가지고 유전학적 계통을 분석한 결과 이 균주는 *Flammeovirgaceae* 과에 속하는 종으로 *Limibacter armeniacum* YM 11-185 및 *Sediminitomix flava* Mok-1-85 균주와 각각 92.5%, 88.4%의 상동성을 나타내었다. S354는 형태학적/생화학적/생리학적/유전학적 분석을 통해 신속 균주인 *Algiverga pacifica*로 명명하였다.

#### 마. 미세조류 생산

사육환경 조건에 따른 스피룰리나 생산량 조사에서 배양 일주일 만에 사멸한 B2를 제외하고는 배지 조성에 따라 0.71 - 1.05 g L<sup>-1</sup>의 범위에서 서로 다른 바이오매스를 나타냈으며, 실험군의 단위시간 당 최대 비성장률( $\mu_{max}$ )은 0.47 - 0.50 day<sup>-1</sup>범위를 기록하였으며 전반적으로 배양 12일에서 14일차에 나타났다. 최대비성장률 및 바이오매스는 A2에서 각각 0.5 day<sup>-1</sup>과 1.05

g L<sup>-1</sup>로 가장 높았고, 대조군 R1보다 높게 나타났으며, 일간 최대성장률 또한 A2에서 가장 높게 나타났다. A, B 그룹에서는 7.5 g L<sup>-1</sup>, C그룹에서는 10.0 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨을 첨가한 배지에서 성장이 가장 높았다. 배양기간 중 현미경 관찰 결과 다른 미세조류에 의한 오염은 실험 종료일까지 없었다. 사상체의 나선 횡수는 7.55 - 11.95를 기록하였는데, C3에서 11.95로 가장 높게 나타났고, B1, A1순으로 높게 나타났다. 중탄산나트륨이 10 g L<sup>-1</sup>첨가된 A3에서는 7.75, B3에서는 7.55를 나타냈는데, C3를 제외하고 전반적으로 높은 농도의 중탄산나트륨이 첨가된 실험구에서 나선 횡수가 적은 것으로 나타났다. 일반성분 분석결과 단백질 56.14%, 탄수화물 16.21%, 지방 0.75%, 수분 4.92%, 회분은 20.98%를 각각 기록하였으며, 아미노산 중에서는 glutamic acid가 14.93%로 가장 높았고, aspartic acid (10.42%), arginine (10.42%)이 그 다음을 차지하였다.

### 3. 프론티어 연구

#### 가. 망그로브 종 판별 및 산호 질병 연구

이 연구에서는 망그로브, 산호, 그리고 박테리아의 생물학적 특성을 조사하고 위해 형태 및 분자마커(*rbcL*)를 이용한 웨노섬 서식 망그로브 식물 종판별 및 분류키 작성, 인간유래 산호 질병 유발 바이러스 목록 작성 및 Direct counting을 통한 웨노섬 인근 연안 5개 정점에서의 바이러스 밀도 분석을 실시하였다. 첫 번째, 망그로브 종판별 연구에서, 우리는 망그로브 분류를 위해 *rbcL* 유전자를 분자마커로 사용했으며, *rbcL* 유전자에 대한 프라이머를 디자인하였다. 우리가 도출한 자료는 망그로브 6종에서 *rbcL* 유전자를 검색하는데 효과적이었다. 둘째, 인간유래 산호질병 유발 바이러스를 검색하기 위하여 프라이머를 디자인하였다. qRT-PCR 분석결과 7종의 연산호에서 인간유래 산호질병 유발 바이러스를 분리해 내었다. 그러나 이것의 최종 영향 판별하기 위해서는 더 연구가 진행되어야 한다. 마지막으로 우리는 Pyrosequencing을 통해 남태평양 해수내에 산호질병 유발 해양박테리아를 조사하였다. 조사결과 우점종 *Proteobacteria*을 비롯한 9 문을 확인하였다. 흥미롭게도, 시기적으로 6월보다 2월에 훨씬 많은 박테리아 종이 검출되었다. 특히 병원성 박테리아 종은 *Acrobactermytil* 과 *Vibrio*가 각각 2월과 6월에 지배적이었다.

#### 나. 망그로브 생태계 구조 및 기능

산호로 둘러싸인 마이크로네시아 웨노섬 내해는 외양으로부터의 영향이 매우 적어 자체적인 물질 및 에너지 순환이 일어나는 것으로 추정된다. 따라서 이러한 웨노섬 내해의 자체적인 생지화학적 특징을 이해하기 위해서는 열대/아열대 해역의 에너지 근원으로 알려진 망그로브가 웨노섬에서 어떤 역할을 하는지 파악되어야 한다. 본 연구에서는 웨노섬 주변의 망그로브 숲에서 서식하는 주요 무척추동물의 에너지원을 이해하고자, 2012년 5월(우기)에 주요 무척추동물(집게 *Pagurus* sp. 및 고둥류 *Littorina* cf. *scabra*, *Strombus* sp., *Terebralia* cf. *palustris*)과 이

들의 에너지원으로 추정되는 맹그로브, 잘피, 표층퇴적물, 부유성 입자유기물을 채집하였으며, 이들의 지방산 추적자와 안정동위원소를 분석하였다. 맹그로브(잎, 호홉근)와 잘피(잎, 뿌리)는 16:0, 18:2 $\omega$ 6, 18:3 $\omega$ 3의 지방산을 가장 많이 함유하고 있었으며, 유관식물에서 기원하는 것으로 알려진 긴 사슬 지방산(LCFA: long-chain fatty acid)도 미량 검출되었다. 반면, 표층퇴적물과 부유성 입자유기물에서는 규조류(20:5 $\omega$ 3), 와편모조류(22:6 $\omega$ 3), 박테리아(Branched, 18:1 $\omega$ 7) 등에서 기원하는 것으로 알려진 다양한 지방산이 검출되었다. 이러한 맹그로브, 잘피, 표층퇴적물 그리고 부유성 입자유기물의 지방산 구성은 맹그로브 숲에 서식하는 집게 및 고둥류의 지방산과 유사하였다. 탄소, 질소 동위원소를 활용한 혼합 모델(mixing model)로 무척추동물의 에너지원 기여도에 대해 살펴본 결과, 고둥 *L. cf. scabra*와 집게 *Pagurus* sp.는 맹그로브로부터 가장 많은 에너지를 흡수하였으며, 이를 제외한 나머지 고둥류(*Strombus* sp., *T. cf. palustris*)는 맹그로브보다 잘피와 표층퇴적물에 더 많이 의존하는 것으로 나타났다. 지방산 및 안정동위원소를 통해 확인된 집게와 고둥류의 에너지원은 이들의 섭식 형태(퇴적물식자, 부유물식자, 유기 쇄설물식자 등)와 밀접한 관계를 보였다. 본 연구 결과, 맹그로브 숲에서 채집된 무척추동물의 먹이(에너지) 기원은 직·간접적으로 맹그로브로부터 기원하는 것으로 추정된다. 웨노섬 맹그로브 생태계에서의 에너지 흐름과 먹이망 구조를 더 자세하게 이해하기 위해서는 추가적인 서식 생물군의 분석이 수행되어야 할 것이다.

## V. 연구개발결과의 활용계획

- 해외 연구기지에서 연구개발 사업 및 산업화 소재 생산
- 국외 해양 생물 소재 은행 운영을 통한 국내 연구기관에 원천재료 제공
- 안정적 해외 해양생물 소재 공급망 조성
- 소재 확보를 통한 MBT 기반 연구 범위 확대
- 기능성 생물 소재 확보를 통한 산업 시료 공급 시스템 운영
- 국외 해양생물 산업 경영 토대 마련

# SUMMARY

## **I . Title**

Culture of Marine Living Resources and Supports on related Basic Studies in Pacific Research Base

## **II. Objectives of the Study**

The tropical environment, including coral reef area, have high diversity and productivity with more than three hundred thousands marine organisms living, and it has been focused to space for the bio materials development since 1060s when animals protein structure found out. In developed countries, it have already been developing the industrial infrastructure by policy to promote bio industrial after advanced to the underdeveloped countries. Hereafter, marine-bio materials supply from tropical area will play a pivotal role on domestic biotech industries development at came into effect of Convention on International trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). Particularly, the operations of research station in this area where correlate with climate change of internal summer season have something to do with the construction of national climate monitoring network, and the securement of join-space to the global environmental network as state responsibility of Pacific nation.

The purpose of this study to device of sustainable coral reef ecosystem use planing which included the against to the global climate change and pollution, establish the application base to realization of higher value-added industrial for bio material. And also, it is to join the improvement of nation prestige as emerging donor by provide advanced develop techniques for marine resources to Southwestern Pacific nations and establish the ocean research station where it can conduct to the international studies.

### III. Contents and Extent of the Research

#### A. Establishment of the environmental monitoring network

##### 1. Spatial variation of heavy metal concentrations

- Survey for heavy metal concentrations
- Dissolved nutrients and heavy metals around Dublon
- Nutrients (dissolved phase, TN, and TP), organic carbon and heavy metals at dumping site

##### 2. Coral reef habitats map using remotely sensed data

- Observation for ocean environments and optical properties
- Ocean reflectance spectrum shapes

##### 3. Building spatial framework data

- Map dataset for Chuuk lagoon topography map
- Survey dataset of Sapuk in Weno island
- CTD data analysis

#### B. Ecosystem monitoring and applied bio research

##### 1. Tropical microorganisms

- Picophytoplankton abundance
- Bacterial production and primary production
- Phylogenetic relation ship of chloroplast *turfA* sequences of *Halimeda*

##### 2. Coral diversity and MPA

- Evaluate quantitative distribution of coral reefs
- Evaluate quantitative distribution of seagrass beds
- Assess the current habitat status

##### 3. Management for fish resources

- Monthly variation of gonadosomatic incies of humbug damselfish
- Change of development stages of gonads of humbug damselfish
- Reproductive cycle of humbug damselfish

4. Usefulness microorganism survey

- Isolation of bacteria strain S354
- Phylogenetic analyses of S354 belongs to the family *Flammeovirgaceae*

5. Microalgae culture

- Maximum specific growth rate and biomass of *Spirulina platensis*
- Biomass production of *Spirulina platensis* using by Urea

C. Frontier study

1. Mangroves species identification and coral disease organisms

- Identification of Mangroves species
- Identification of human-originated virus in soft coral

2. Ecosystem structure and function of Mangroves

- Fatty acid, carbon, and nitrogen stable isotopes of mangrove leaf & seagrass leaf

## IV. Research Result

### A. Establishment of the environmental monitoring network

#### 1. Spatial variation of heavy metal concentrations

The heavy metal concentration were studied in specimens of the seagrass *C. rotundata*, *E. acoroides* and *T. hemprichii* of Chuuk, Federated States of Micronesia (FSM). For *C. rotundata*, *E. acoroides* and *T. hemprichii*, Zn showed the highest metal concentration among nine metals. The mean of heavy metal concentrations in both seagrass species decreased following the order of Zn>Cu>As>Ni>Pb>Cr>Co>Cd>Hg. Heavy metals of Cr, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb and Hg in leaf were higher than those in roots whereas As showed the higher concentration in roots relative to leaf. Co, Ni, Cu, As showed the highest concentrations in *E. acoroides*. However, *T. hemprichii* showed the lowest concentrations of metals in leaf comparing with other seagrasses. The heavy metal concentrations are highly variable in each sampling site but metal contents in three species of seagrass are comparable. Dissolved nutrients and heavy metals around Dublon showed highly variable concentration in each sampling site. Except for dissolve Pb, nutrients and metals showed a decreasing trends from inside of bay to the outer sea. However, dissolved heavy metal levels were still very low comparing with the seawater quality criteria. Nutrients (dissolved phase, TN, and TP), organic carbon and heavy metals in leachatge, seawater and sediments at dumping site of Chuuk, FSM were also analyzed. The relatively higher concentration of nutrients, organic carbon and metals was observed in leachate at dumping site. These data showed a decreasing trend toward to ocean side. The dissolved heavy metal concentrations in leachate were 1.7~36.0 times higher than those in seawater around coastal region. The mean metal concentration of Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Pb and Hg in leachate sediments were 154, 19.8, 82.6, 280.2, 1421.5, 14.10, 1.11, 349.6, 0.430 µg/g individually. These data are 1.9~4.0 times higher than those in marine sediments of Chuuk, FSM.

Keywords : Heavy metal concentration, Dissolved nutrient, Organic carbon, Total nitrogen, Total phosphorus

#### 2. Coral reef habitats map using remotely sensed data

We conducted a field observation for ocean environments and optical properties such as chlorophyll concentration, suspended sediment concentration, remote sensing reflectance spectrum and so on, in three different areas around Weno Island from May 31<sup>st</sup> 2013 to



June 5<sup>th</sup> 2013. While the chlorophyll concentration values ranged from 0.11 to 0.49 mg/m<sup>3</sup> (the mean value is 0.26mg/m<sup>3</sup>), suspended sediment concentration values ranged from 0.03 to 0.31 g/m<sup>3</sup> (the mean value is 0.16 g/m<sup>3</sup>). These values are very low compared with the East sea around Korean peninsula. The mean of  $a_p(443)$  is 0.0308 m<sup>-1</sup> which is half of that of the East sea. This indicates that the concentration of organic matter around Weno Island is very low. On the other hand, the spectrum slope value of  $a_{dom}(l)$  is very high compared with the East sea. This means that oceanic dissolved organic matters dominate around Weno Island.

The ocean reflectance spectrum shapes are similar to those of East sea and show those of typical CASE-I. The field observation for coral reef habitat type were undertaken in Benedict region. Sea grass, sand+coral and rubble were distributed sequentially along the direction toward the outer sea, in the Benedict sea area. The area of grayish-green, black, sky-blue and gray color in satellite image correspond with long sea grass, short sea grass, sand and rubble, respectively.

Keywords : Chlorophyll concentration, Sediment concentration, Spectrum slope value, Dissolved organic matter, Reef habitat type

### 3. Building spatial framework data

In order to conduct a diversity of oceanic scientific activities in the pacific coral reef island area that the ocean, coast and land coexist, a location based information management and application system should first be established in advance. This study configures fundamental spatial framework data by producing spatial data with satellite images, paper maps, site survey and investigation information for building data in the area having no information. A coasting was produced through the GCP calibration of high-resolution satellite images, paper maps were digitized to produce a detailed contour map and drainage system map etc. for Chuuk reef and the target island, and an entire road map was completed for Weno island by carrying out a coordinate routing investigation using on-site vehicles. In addition, it made the research investigation activities etc. could be supported comprehensively by producing the major human-social environment information such as the building map, population map, map of a junk car location and map of breadfruit tree habitat through the site visiting investigation for Sapuk region around the research center.

Keywords : GIS, Spatial framework data, Ocean research, Coral reef island

## B. Ecosystem monitoring and applied bio research

### 1. Tropical microorganisms

To understand the fundamental characteristics of the Chuuk lagoon ecosystem, ecological variables of phytoplankton and bacteria, seagrass productivity and genetic diversity of *Halimeda* were investigated in June, 2013. Phytoplankton biomass and bacterial production were highest in the inner bay surrounded by mangrove but steeply decreased as the distance increased from the mangrove forests. Based on distribution of picophytoplankton abundances and phytoplankton pigments, large phytoplankton such as diatom, dinoflagellates and cryptophytes were found to mainly contribute to high chlorophyll a in the inner bay whereas picophytoplankton did in outer lagoon waters. In 3 studied areas, total of 11 *Halimeda* species were identified by phylogenetic analyses and distribution of the species differed among the areas. Using Diving PAM, epiphytes on seagrass were estimated to contribute to 48.6% of total productivity of seagrass. In addition, CO<sub>2</sub> fixation by seagrass was estimated to be 20.6±4.9 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Keywords : Nutrient concentration, Chlorophyll a, Primary production, Bacterial abundance

### 2. Coral diversity and MPA

Long Term Monitoring Programs are increasing all around the world due to importance of coastal habitats value. As well, effective management and conservation should be made progress as the government level. While, any researches and assessments of coastal habitats were not implemented in Weno Island, Federated States of Micronesia. This monitoring was carried out to evaluate quantitative distribution of coastal habitats such as seagrass beds and coral reefs, and to assess the current habitat status around Weno Island. As the results, coral reefs habitat was defined by groups were composed of Rubble 26.9%, Turf Algae 23.5%, Hard Coral 16.5%, Sand 15.5%, Halimeda 12.6%, Soft Coral 1.9%, Macro Algae 1.5%, Others < 1%. Hermatypic coral, *Acropora nobilis*, *Porites rus*, *Porites cylindrica* were mainly dominated and *Acropora* spp., *Pavona danai*, *Porites mayeri* partially distributed. Seagrass beds habitat was defined by groups were composed of seagrass 36.7%, Halimeda 3.3%, Turf Algae 1.3%. Dense seagrass meadow was made up by *Cymodocea rotundata* and *Syringodium isoetifolium*. *Thalassia hemprichii* and *Enhalus acoroides* form the patch, *Cymodocea serrulata* was sparsely distributed. These monitoring data are likely to have important implication that detect to fluctuation of coastal habitats around the Weno Island.

Keywords : Coastal habitat, Seagrass beds, Coral reefs, Evaluate quantitative distribution

### 3. Reproductive characteristics of coral reef fish

Reproduction of coral reef fish is varied and quite complex. The spawning of many species in coral reef area was influenced by stimuli of environmental cues, such as lunar cycle and rainfall. The Humbug dascyllus, *Dascyllus aruanus* is one of major components in coral reef fish assemblages of Chuuk Lagoon, Micronesia. In this study, we investigated the reproductive characteristics of *D. aruanus* in Weno Island of Chuuk Lagoon. Reproductive patterns of *D. aruanus* exhibited multiple spawner characteristics, including coexistence of various maturity stages in maturity process of ovary and testis. However, our knowledge was not clear understanding the relationship between spawning activity and environmental cues. Therefore, it needed to further studies.

Keywords : Humbug dascyllus, *Dascyllus aruanus*, Spawning season

### 4. Usefulness microorganism survey

An aerobic, Gram-negative, coccoid-shaped, and non-flagellated marine bacterial strain S354 was isolated from seawater of Micronesia. The strain was capable of degrading agar forming slight depressions on agar plates while growing into colonies. Phylogenetic analyses based on 16S rRNA gene sequences suggested that S354 belongs to the family *Flammeovirgaceae*. The sequence of our type strain was most closely related to that of *Limibacter armeniacum* YM11-185T and *Sediminitomix flava* Mok-1-85T with similarity of 92.5% and 88.4%, respectively.

Key words: *Flammeovirgaceae*, *Algivirga pacifica*, Phylogenetic, Seaweed, Micronesia

### 5. Microalgae production

One of the most important challenges facing the *Spirulina* mass cultivation industry is to find a way to reduce the high production costs involved in production. Although the most commercial medium (Zarrouk's medium) for *Spirulina* cultivation is too expensive to use, it contains higher amount of  $\text{NaHCO}_3$  ( $16.80 \text{ g L}^{-1}$ ), trace metals and vitamin solutions. The purpose of this study was to increase the efficiency of *Spirulina platensis* biomass

production by developing a low-cost culture medium at an isolated tropical island such as Chuuk State, Federated States of Micronesia (FSM). This study set out to formulate a low-cost medium for the culture of *S. platensis*, by substituting nutrients of Zarrouk's medium using fertilizer-grade urea and soil extract with a different concentration of carbon source under natural weather condition. In order to select a low-cost culture medium of *S. platensis*, 10 culture media were prepared with different concentrations of nitrogen (urea and  $\text{NaNO}_3$ ) and  $\text{NaHCO}_3$ . The highest maximum specific growth rate ( $\mu_{\text{max}}$ ) and mass production were  $0.50 \text{ day}^{-1}$  and  $1.05 \text{ g L}^{-1}$  in modified medium ( $\text{NaHCO}_3$   $7.50 \text{ g L}^{-1}$ , urea  $2.00 \text{ g L}^{-1}$  without  $\text{NaNO}_3$ ) among all the synthesized media. Protein (56.14%) and carbohydrate (16.21%) concentrations of the lyophilized standard samples were estimated with highest concentration of glutamic acid (14.93%). This study revealed that the use of a low concentration of urea and  $\text{NaHCO}_3$  with soil extract was an affordable medium for natural mass cultivation in the FSM.

Keywords : *Spirulina platensis*, cyanobacteria, low-cost medium, protein, urea

### C. Frontier study

#### 1. Mangroves species identification and coral disease

In this study, we investigated the biological characteristics for organisms such as Mangroves, corals, and bacteria which are present in Weno island in the Federated States of Micronesia, in terms of three research aims: species identification of Mangroves using molecular marker, *rbcL* gene, identification of human-originated virus in corals and a profiling of marine bacteria from the seawater using pyrosequencing analysis. Firstly, in the study of species identification of Mangroves, we designed species-specific primer against *rbcL* gene and conducted qRT-PCR assay to demonstrate if they can act as useful markers to identify Mangroves. Our data revealed that they could efficiently detect *rbcL* gene in the six types of Mangroves, working as specific-primers. Secondly, we designed novel primers (18 sets) to detect human-originated virus in soft corals. As a result of qRT-PCR assay with genomic DNAs extracted from several soft corals, some candidates for human-originated virus were found. However, further studies will be needed to demonstrate conclusively that. Lastly, we adopted a 16S rRNA gene tag-pyrosequencing technique to investigate the bacterial communities associated with two different seasonal seawater from Chuuk island in Micronesia. Our results revealed that 9 bacterial phyla were recovered from the seawaters, of which *Proteobacteria* was the most dominant group. Interestingly, the number of pathogenic bacteria was significantly increased in the month of February

compared to June, suggesting that pathogenic bacteria were increasingly emerging in February. In particular, *Acrobacter mytili* and *Vibrio* were determined as predominant pathogenic bacteria in February and June, respectively.

Key words: 16 rRNA, taq-pyrosequencing, *Proteobacteria*, *Acrobacter mytili*, *Vibrio*

## 2. Ecosystem structure and function of Mangroves

Carbon cycling and productivity within Weno Island of Micronesia enclosed by the coral reef may be likely self-maintained and insignificantly affected by the open ocean. Therefore, it is important to understand the role of the mangrove known as providing the organic matter and habitats for many organisms in this enclosed area. In order to trace the nutritional source of fauna (mostly invertebrates) in the mangrove forest of Weno island, we analyzed the fatty acid (FA) and carbon and nitrogen stable isotopes of potential nutritional sources (mangrove leaf & pneumatophore, seagrass leaf & root, surface sediment, and particulate organic matter (POM) in water) and consumers (4 gastropods and anomura). The mangrove and seagrass contained the abundance of 18:2 $\omega$ 6, and 18:3 $\omega$ 3, whereas FAs associated with phytoplankton and bacteria were accounted for a high proportion in the surface sediment and POM. FA composition of consumers was found to be similar to those of the surface sediment, mangrove, and seagrass. These were also confirmed through the mixing model of stable isotope for contribution of nutritional sources to consumers. Overall results with the feeding types of investigated mangrove fauna indicate that investigated mangrove fauna obtained their nutrition from the various sources, i.e. the

Mangrove for *Littorina* cf. *scabra*, the microalgae for *Strombus* sp., and omnivorous *Pagurus* sp. and *Terebralia* cf. *palustris*. However, it is obvious that the nutrition of most species living in the mangrove ecosystem is highly dependent on the mangrove, either directly or indirectly. More detail food-web structure and function of the mangrove ecosystem would be established with the analysis of additional fauna and flora.

Key words: Mangrove, nutritional source, fatty acid, stable isotope, Weno Island of Micronesia

# 목 차

요약문 .....	II
목차 .....	X X
표목차 .....	X XII
그림목차 .....	X X III
제 1 장 서론 .....	1
제 1 절 연구개발의 필요성 .....	1
제 2 절 연구의 목표 및 내용 .....	7
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	9
제 1 절 국내 연구동향 .....	9
제 2 절 국외 연구동향 .....	9
제 3 절 현재까지의 연구개발 동향 .....	12
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	15
제 1 절 센터주변 환경감시 .....	15
1. 해양 지화학변화 .....	15
2. 원격탐사 .....	23
3. 공간정보 구축 .....	31
제 2 절 생태계 감시 및 생물응용연구 .....	37
1. 열대 미세생물 .....	37
2. 산호 다양성 및 MPA .....	52
3. 어류자원관리 .....	62
4. 유용미생물탐색 .....	67
5. 미세조류생산 .....	73
제 3 절 프론티어 연구 .....	82
1. 망그로브 종 동정 및 산호질병 연구 .....	82
2. 망그로브 생태계 구조 및 기능 .....	96
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도 .....	100
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	101

제 6 장 참고문헌 ..... 102

위탁연구과제 ..... 103

## 표 목차

표 1-1-1. 웨노섬 잘피 내 중금속 농도 비교 .....	16
표 1-3-1. 2013년의 축 지역 공간 데이터셋 제작 목록 .....	34
표 1-3-2. 지난 미팅 시 아틀라스 제작 추진계획 주요사항 .....	35
표 1-3-3. 아틀라스 원고 초안 구성안 .....	35
표 2-1-1. 이 연구에 이용된 Oligonucleotide 프라이머 .....	40
표 2-1-2. 이 연구에서 관찰된 <i>Halimeda</i> species .....	46
표 2-2-1. 잘피 분포 면적 계산을 위한 기준과 수식 .....	54
표 2-2-2. 서식지 그룹과 저서생물 분류표 .....	55
표 2-2-3. 웨노섬 북동부 연안 리프에서 우점하는 돌산호 5종 .....	59
표 2-2-4. 웨노섬 북동부 연안에서 분포하는 잘피 종 리스트 .....	61
표 2-4-1. S354와 <i>Flammeovirgaceae</i> 과의 유사한 종들간의 지방산 성분 비교 .....	71
표 2-4-2. S354와 <i>Flammeovirgaceae</i> 과의 유사한 종들간의 표현형적 특성 비교 .....	72
표 2-5-1. <i>S. platensis</i> 배양을 위한 배지 조성 .....	75
표 2-5-2. <i>S. platensis</i> 배양기간 중 광량 및 수온, 염분, pH 값의 범위 .....	77
표 2-5-3. 실험기간 동안의 최대 비성장률, 나선 횟수 및 생물생산량 .....	78
표 2-5-4. A2 실험구의 일반 성분 및 아미노산 조성 .....	78
표 2-5-5. 요소를 사용하여 배양된 <i>S. platensis</i> 와 이 실험과의 생물 생산량 비교 .....	81
표 3-1-1. Mangrove 종 판별을 위한 프라이머 목록 .....	83
표 3-1-2. 인간 유래 바이러스 검출을 위한 프라이머 리스트 .....	89
표 3-1-3. 2013. 2월과 6월에 분리된 박테리아 종 목록 .....	95



## 그림 목차

그림 1-1-1. 웨노섬 주변 해역 깔피 채취 지역 .....	15
그림 1-1-2. <i>C. rotundata</i> 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교 .....	17
그림 1-1-3. <i>E. acoroides</i> 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교 .....	17
그림 1-1-4. <i>T. hemprichii</i> 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교 .....	18
그림 1-1-5. 듀블론 지역 용존영양염 및 용존 유기탄소의 공간분포 .....	19
그림 1-1-6. 듀블론 지역 용존중금속 공간분포 .....	19
그림 1-1-7. 축 덩핑사이트 용존영양염의 공간분포 .....	21
그림 1-1-8. 축 덩핑사이트 유기탄소, 총인 및 총질소의 공간분포 .....	21
그림 1-1-9. 축 덩핑사이트 용존중금속의 공간분포 .....	22
그림 1-1-10. 축 덩핑사이트 퇴적물 중금속의 공간분포 .....	22
그림 1-2-1. 해수 특성 조사 정점도 .....	23
그림 1-2-2. 웨노섬 주변 Chlorophyll 농도와 총 SS양 .....	24
그림 1-2-3. 웨노섬 주변 N 과 E 해역 Chlorophyll 농도와 총 SS양 .....	24
그림 1-2-4. 한반도 주변해역과 웨노섬 주변해역의 해수환경특성 비교 .....	25
그림 1-2-5. 성분별 해수 흡광 특성비교 .....	25
그림 1-2-6. 용존유기물의 흡광 특성 .....	26
그림 1-2-7. 해수 원격반사도 스펙트럼 특성 .....	27
그림 1-2-8. 웨노섬 주변 베네딕트 지역 서식지 지표 조사 정점도 .....	27
그림 1-2-9. Sand 우점지역 .....	28
그림 1-2-10. Sea grass 우점지역 .....	28
그림 1-2-11. Rubble 우점지역 .....	29
그림 1-2-12. Turf Algae 우점지역 .....	29
그림 1-2-13. Coral 우점지역 .....	30
그림 1-2-14. 대표적인 식생사진 .....	30
그림 1-3-1. 축 지역의 공간 프레임워크 구축을 위한 작업절차 .....	31
그림 1-3-2. 마이크로네시아 축주 웨노섬 기본도 기반 해안조사 공간구획도 .....	32
그림 1-3-3. 2013년 추가 제작된 기본도, a) 해안선 유형도 b) 수치지도 c) 축 환초 기본도 .....	33
그림 1-3-4. 추가 구축 주제도 a) 난파선 위치도, b) 산호초 서식지도(Sapuk), c) 퇴적물 채취 지점도 .....	33
그림 1-3-5. 마이크로네시아 기본도 웹서비스(GFOR) 구성 예시 .....	33
그림 1-3-6. 축 아틀라스 초안 샘플 예 .....	36

그림 2-1-1. 조사 정점을 나타낸 지도 .....	37
그림 2-1-2. HPLC chromatogram .....	38
그림 2-1-3. 각 조사정점의 표층 수온 및 염분 .....	41
그림 2-1-4. 각 조사정점의 Pico-fraction 과 chlorophyll a 농도 .....	42
그림 2-1-5. 각 조사정점의 초미소식물플랑크톤 개체수 .....	43
그림 2-1-6. 표층 식물플랑크톤 지시색소 농도 .....	44
그림 2-1-7. 각 조사정점 표층의 박테리아 생산력 .....	45
그림 2-1-8. 산호와 모레 지역 <i>Halimeda</i> .....	47
그림 2-1-9. 잘피지역 <i>Halimeda</i> .....	47
그림 2-1-10. 암반 지역 <i>Halimeda</i> .....	48
그림 2-1-11. <i>Halimeda</i> species의 계통분류학적 유연 관 .....	48
그림 2-1-12. 잘피 엽체의 위치에 따른 최대 전자 전달율 .....	49
그림 2-1-13. 부착성 조류 제거 전후 잘피 엽체의 최대 전자 전달율 .....	50
그림 2-1-14. 잘피 엽체의 양자 수율과 상대 전자 전달율 .....	51
그림 2-2-1. 웨노섬 북동부 연안 서식지 모니터링을 위한 영구 지선 .....	52
그림 2-2-2. 웨노섬 북동부 연안 리프 서식지 분포 .....	57
그림 2-2-3. KSORC 리프와 Benedict 리프 비교 .....	57
그림 2-2-4. KSORC 리프 지선별 서식지 분포 .....	58
그림 2-2-5. Benedict 리프 지선별 서식지 분포 .....	58
그림 2-2-6. 웨노섬 북동부 연안 잘피 서식지 분포 .....	60
그림 2-2-7. KSORC 리프와 Benedict 리프 잘피 서식지 비교 .....	61
그림 2-3-1. <i>Dasyllus aruanus</i> 난모세포 발달과정 .....	63
그림 2-3-2. <i>Dasyllus aruanus</i> 정모세포 발달과정 .....	64
그림 2-3-3. <i>Dasyllus aruanus</i> 의 생식소 숙도지수 월변화 .....	65
그림 2-3-4. <i>Dasyllus aruanus</i> 의 생식소 발달단계의 월변화 .....	66
그림 2-4-1. 16S rRNA 서열을 이용한 strain S354의 유전학적 계통도 .....	69
그림 2-4-2. S354의 scanning electron microscopy 사진 .....	69
그림 2-5-1. <i>Spirulina platensis</i> 실외 배양을 위한 연구 지역 .....	73
그림 2-5-2. 배지 준비 과정 및 배양 .....	74
그림 2-5-3. 현미경으로 관찰된 <i>S. platensis</i> 모습(좌: 40배율, 우: 100배율) .....	76
그림 2-5-4. <i>S. platensis</i> 의 생물생산량 .....	79
그림 3-1-1. Mangrove 채집지점 .....	82
그림 3-1-2. 레드 망그로브의 잎과 뿌리구조 .....	84
그림 3-1-3. <i>Rhizophora</i> sp. and <i>Xylocarpus</i> sp. 의 잎과 뿌리구조 .....	84
그림 3-1-4. 블랙 망그로브의 잎과 뿌리구조 .....	85

그림 3-1-5. 화이트 망그로브의 잎과 뿌리 구조 .....	85
그림 3-1-6. 웨노섬에 서식하는 망그로브 종의 형태적인 분류키 .....	86
그림 3-1-7. 망그로브 6종의 유전체 추출. ....	86
그림 3-1-8. RBCL primer를 이용한 PCR 수행 .....	86
그림 3-1-9. 웨노섬에 서식하는 망그로브 6종의 계통분류 .....	87
그림 3-1-10. Viral concentration 모식도 .....	88
그림 3-1-11. 조사지점 .....	88
그림 3-1-12. 웨노섬에 서식하는 연산호 .....	90
그림 3-1-13. 웨노섬 주변 정점에서 확인된 바이러스 .....	91
그림 3-1-14. 연산호 샘플에서 분리된 바이러스 유전자 .....	92
그림 3-1-15. 연산호에서 분리된 인간유래 바이러스 유전자 .....	92
그림 3-1-16. 해양박테리아 추출과정 .....	93
그림 3-1-17. 해양박테리아 계통분류 .....	93
그림 3-1-18. 2013. 2월에 해수에서 분리된 박테리아 조성 .....	94
그림 3-1-19. 2013. 6월에 해수에서 분리된 박테리아 조성 .....	94
그림 3-1-20. 해양박테리아에 감염된 산호 .....	95
그림 3-2-1. 채집 지역 .....	95
그림 3-2-2. 웨노섬 북부 잘피밭, 저질 입자, 망그로브에서 주요 지방산 .....	97
그림 3-2-3. 웨노섬 북부에서 채집된 무척추 동물의 주요 지방산 .....	98
그림 3-2-4. 주요 영양원과 고동류 및 집계의 탄소·질소 안정동위원소( $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ ) 비 99	

# CONTENTS

Summary .....	II
Contents .....	X X
List of Tables .....	X XII
List of Figures .....	X X III
Chapter I. Objectives of the study .....	1
Section 1. Purposes and needs of the study .....	1
Section 2. Scope of the study .....	7
Chapter II. State of the Art of the study .....	9
Section 1. Present status of domestic technology .....	9
Section 2. Present status of oversea technology .....	9
Chapter III. Result of the study .....	15
Section 1. Establishment of the environmental monitoring network .....	15
1. Spatial variation of heavy metal concentrations .....	15
2. Coral reef habitats map using remotely sensed data .....	23
3. Building spatial framework data .....	31
Section 2. Ecosystem monitoring and applied bio research .....	37
1. Tropical microorganisms .....	37
2. Coral diversity and MPA .....	52
3. Management for fish resources .....	62
4. Usefulness microorganism survey .....	67
5. Microalgae culture .....	73
Section 3. Frontier study .....	82
1. Mangrove species identification and coral disease organisms .....	82
2. Ecosystem structure and function of Mangroves .....	96
Chapter IV. Achievements and Contributions .....	100

Section 1. Achievements .....	100
Section 2. Contribution to relative fields .....	100
Chapter V. Application of research output .....	101
Chapter VI. References .....	102
Contract Research .....	103

# List of Tables

Table 1-1-1. Comparison of mean concentration of nine heavy metals measured in <i>C. rotundata</i> , <i>E. acoroides</i> and <i>T. hemprichii</i> collecting from Chuuk coastal environments, FSM .....	16
Table 1-3-1. List of spatial datasets of Chuuk area building in 2013 .....	34
Table 1-3-2. Description of planning to create contents for draft about chuuk's atlas .....	35
Table 1-3-3. Configuration for the atlas manuscript draft .....	35
Table 2-1-1. Oligonucleotide primers used in this study .....	40
Table 2-1-2. <i>Halimeda</i> species found in this study .....	46
Table 2-2-1. Criteria and formula for Seagrass coverage calculation .....	54
Table 2-2-2. Classification of benthic habitat and taxon group .....	55
Table 2-2-3. Main dominant Hard Coral species around South-east Reef of Weno Island .....	59
Table 2-2-4. Main dominant Seagrass species around South-east coast of Weno Island .....	61
Table 2-4-1. Comparison of cellular fatty acid compositions (%) of strain S354T and other closely related strains from the family <i>Flammeovirgaceae</i> .....	71
Table 2-4-2. Phenotypic differences between strain S354 and related taxa of the family <i>Flammeovirgaceae</i> .....	72
Table 2-5-1. Media composition for <i>S. platensis</i> culture .....	75
Table 2-5-2. The range of light intensity, water temperature, salinity and pH during the culture of <i>S. platensis</i> .....	77
Table 2-5-3. The Maximum specific growth rate, number of coil and biomass during the study period .....	78
Table 2-5-4. The composition of major nutrients and amino acids in A2 experimental tank .....	78
Table 2-5-5. The comparison of biomass production in <i>S. platensis</i> culture by urea composition and the results of this study .....	81
Table 3-1-1. A list of primers to identify rbcL gene from Mangroves .....	83
Table 3-1-2. A list of primers for identification of human-originated virus .....	89
Table 3-1-3. A list of pathogenic bacteria in February and June seawater .....	95

# List of Figures

Fig. 1-1-1. Map showing the seagrass sampling sites of Chuuk, FSM .....	15
Fig. 1-1-2. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in <i>C. rotundata</i> of Chuuk, FSM .....	17
Fig. 1-1-3. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in <i>E. acoroides</i> of Chuuk, FSM .....	17
Fig. 1-1-4. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in <i>T. hemprichii</i> of Chuuk, FSM .....	18
Fig. 1-1-5. Spatial distribution of dissolved nutrients and organic carbon in surface seawater of Dublon Island in Chuuk, FSM .....	19
Fig. 1-1-6. Spatial distribution of dissolve heavy metals in surface seawater of Dublon Island in Chuuk, FSM .....	19
Fig. 1-1-7. Spatial distribution of dissolved nutrients in leachate (DC-0~4) at dumping site and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk .....	21
Fig. 1-1-8. Spatial distribution of dissolved organic carbon, total nitrogen and total phosphorus in leachate (DC-0~4) and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk .....	21
Fig. 1-1-9. Spatial distribution of dissolved heavy metals in leachate (DC-0~4) and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk .....	22
Fig. 1-1-10. Spatial distribution of heavy metals of sediments at dumping site (CD-1~4) and coastal sediment (CD-5~7), Chuuk .....	22
Fig. 1-2-1. The observation map .....	23
Fig. 1-2-2. Graph of chlorophyll concentration (CHL) and total suspended particles concentration (SS) obtained from W area of WENO island .....	24
Fig. 1-2-3. Graph of chlorophyll concentration (CHL) and total suspended particles concentration (SS) obtained from N area (left) and E area (right) of WENO island .....	24
Fig. 1-2-4. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using ocean environmental parameters (CHL & SS) .....	25
Fig. 1-2-5. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using absorption coefficient of total particle matter ( $a_p$ ) spectrum (Left) and comparison of WENO with the Korean Peninsula using $a_p(l)$ value at 443 nm (Right) ·	25
Fig. 1-2-6. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using absorption	

coefficient of dissolved organic matter ( $a_{\text{dom}}$ ) spectrum (Left) and comparison of WENO with the Korean Peninsula using slope value of $a_{\text{dom}}$ (1) (Right) .....	26
Fig. 1-2-7. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using spectrum of remote sensing reflectance ( $R_{\text{rs}}$ ) .....	27
Fig. 1-2-8. The observation map .....	27
Fig. 1-2-9. Sand dominant region .....	28
Fig. 1-2-10. Sea grass dominant region .....	28
Fig. 1-2-11. Rubble dominant region .....	29
Fig. 1-2-12. Turf algae dominant region .....	29
Fig. 1-2-13. Coral dominant region .....	30
Fig. 1-2-14. Photos of typical species .....	30
Fig. 1-3-1. Work flow for building the spatial framework of Chuuk area .....	31
Fig. 1-3-2. Spatial zoning for the scientific coastal survey based on the basemap of Weno island in Chuuk state, Micronesia .....	32
Fig. 1-3-3. Additional basemap in 2013. a) coastal line type map b) digital chart map c) Chuuk reef map .....	33
Fig. 1-3-4. Additional thematic map in 2013. a) wrecksite location map, b) coral reef habitat map in Sapuk, c) sediment sampling station map .....	33
Fig. 1-3-5. Configuration examples of the Micronesia's basemap on the KIOST intranet webGIS system named as GFOR .....	33
Fig. 1-3-6. Manuscript examples of Chuuk atlas draft .....	36
Fig. 2-1-1. A map showing the sampling stations. Long-term monitoring station (K1) is located at the same position to stn 4 .....	37
Fig. 2-1-2. HPLC chromatogram .....	38
Fig. 2-1-3. Temperature and salinity measured at surface water of each station .....	41
Fig. 2-1-4. Total and pico-fraction ( $<3.0 \mu\text{m}$ ) chlorophyll a (Chl a) concentrations measured at surface water of each station .....	42
Fig. 2-1-5. Picophytoplankton abundances measured at surface water of each station .....	43
Fig. 2-1-6. Phytoplankton indicator pigment distribution for surface water .....	44
Fig. 2-1-7. Bacterial productions (BP) measured at surface water of each station .....	45
Fig. 2-1-8. <i>Halimeda</i> species in a coral and sand area .....	47



Fig. 2-1-9. <i>Halimeda</i> species in seagrass areas Map showing sampling stations in Chuuk lagoon in August 2009 .....	47
Fig. 2-1-10. <i>Halimeda</i> species in a rocky area .....	48
Fig. 2-1-11. Phylogenetic relationship of chloroplast <i>tufA</i> sequences of <i>Halimeda</i> species by neighbor-joining method .....	48
Fig. 2-1-12. Maximum electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip .....	49
Fig. 2-1-13. Maximum electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip, before and after removed fouling species .....	50
Fig. 2-1-14. Electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip at Staton SG1 .....	51
Fig. 2-2-1. Permanent Transects around Weno Island for coastal habitat monitoring .....	52
Fig. 2-2-2. Percent coverage of benthic habitat around South-east Reef of Weno Island .....	57
Fig. 2-2-3. Comparison between KSORC Reef and Benedict Reef .....	57
Fig. 2-2-4. Percent coverage of benthic habitat as transects at the KSORC Reef .....	58
Fig. 2-2-5. Percent coverage of benthic habitat as transects at the Benedict Reef .....	58
Fig. 2-2-6. Percent coverage of benthic habitat around South-east seagrass beds of Weno Island .....	60
Fig. 2-2-7. Seagrass habitat comparison between KSORC Reef and Benedict Reef .....	61
Fig. 2-3-1. Photomicrographs of <i>Dascyllus aruanus</i> oocytes at different developmental stages .....	63
Fig. 2-3-2. Photomicrographs of <i>Dascyllus aruanus</i> testes at different developmental stages .....	64
Fig. 2-3-3. Monthly variation of Gonadosomatic indices of <i>Dascyllus aruanus</i> .....	65
Fig. 2-3-4. Monthly variation of gonad development stages of <i>Dascyllus aruanus</i> .....	66
Fig. 2-4-1. Phylogenetic tree constructed by neighbor-joining algorithm based on analyzed 16S rRNA gene sequences showing the position of strain S354 among other related members and strains in the family <i>Flammeovirgaceae</i> .....	69

Fig. 2-4-2. Scanning electron microscopy picture of a coccoid-shaped and non-flagellated S354 cells .....	69
Fig. 2-5-1. A location of outdoor culture facility for <i>Spirulina platensis</i> .....	73
Fig. 2-5-2. Preparation of media preparation and outdoor culture .....	74
Fig. 2-5-3. Photomicrographs of <i>S. platensis</i> .....	76
Fig. 2-5-4. Biomass production of <i>S. platensis</i> .....	79
Fig. 3-1-1. A map showing the sampling location for Mangrove in Weno Island .....	82
Fig. 3-1-2. A root and leaf structure of red mangrove .....	84
Fig. 3-1-3. A leaf structure of <i>Rhizophora</i> sp. and <i>Xylocarpus</i> sp. ....	84
Fig. 3-1-4. A root and leaf structure of black mangrove .....	85
Fig. 3-1-5. A root and leaf structure of white mangrove .....	85
Fig. 3-1-6. Physiological standards to classify mangroves living in Weno Island	86
Fig. 3-1-7. Genomic extraction from six different Mangrove .....	86
Fig. 3-1-8. Amplification of RBCL gene by PCR assay from Mangroves .....	86
Fig. 3-1-9. Phylogenetic tress between six magroves present in Weno Island .....	87
Fig. 3-1-10. Schematic diagram for viral concentration .....	88
Fig. 3-1-11. Maps showing the sampling location .....	88
Fig. 3-1-12. Soft corals living in Weno island .....	90
Fig. 3-1-13. Identification of virus from Weno island using fluorescence microscope .....	91
Fig. 3-1-14. Genomic DNA extraction from soft corals present in Weno Island	92
Fig. 3-1-15. Identification of human-originated virus in soft coral(sc; soft coral, 1~18; primers) .....	92
Fig. 3-1-16. Schematic procedure to extract marine bacteria from seawater .....	93
Fig. 3-1-17. Pyrosequencing analysis for marine bacteria .....	93
Fig. 3-1-18. Bacterial composition in February seawater .....	94
Fig. 3-1-19. Bacterial composition in June seawater .....	94
Fig. 3-1-20. Corals infected with marine pathogenic bacteria .....	95
Fig. 3-2-1. Sampling area located in the northern part of Weno Island which indicated by a black square .....	96
Fig. 3-2-2. Relative abundance of major source-specific fatty acids in mangrove, sediment, particulate organic matter(POM), and seagrass at the northern part of Weno Island .....	97
Fig. 3-2-3. Relative abundance of major source-specific fatty acids in	

invertebrates collected at the northern part of Weno Island .....	98
Fig. 3-2-4. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of potential nutritional sources and consumers from Weno Island. Nutritional sources include mangrove ( <i>Rhizophora stylosa</i> ) and sediment. Consumers include 4 gastropods ( <i>Littorina</i> cf. <i>scabra</i> , <i>Strombus</i> sp.1, <i>Strombus</i> sp.2, and <i>Terebralia</i> cf. <i>palustris</i> ) and anomura ( <i>Pagurus</i> sp.) .....	99

# 제 1 장 서 론

## 제 1 절. 연구개발의 필요성

### 1. 연구개발의 경제·사회 기술적 필요성

열대 환경, 특히 산호초 지대는 해양에서 가장 높은 생물 다양성과 생산성을 지니는 해역으로 30만종이상의 해양생물이 서식하고, 국내에서 확보할 수 없는 환경으로 1060년대 동물단백질 구조규명이후에 다양한 생물 소재를 개발의 대상이 되어온 공간임. 이미 선진국에서는 바이오 신소재 산업 및 기능성 생물 육성을 통해 열대 식민지, 저개발 국가에 진출하여 산업기반을 조성하고 있다. 향후 국제 기구를 통한 생물다양성 협약 강화 (CBD, COP8)로 인해 국가간 주요 생물 이동금지조약(CITES)등이 발효되는 시점에서 열대지역으로의 해양 생물 소재 공급은 국내 생명공학 산업 발전에 중추적 역할을 수행할 것임. 특히 우리나라 하계 기후변동과 직접적 연관을 가진 해역에 연구 기지를 운영하는 것은 향후 해양연구 영역의 확대를 통해 국가 기후 관측망의 근원적 해석과 더불어 태평양 국가의 국가 책임으로 전지구적 환경네트워크에 동참하는 공간을 확보하는 것임.

#### ○ 기술적 측면

#### ● 열대 산호초 지역의 지속가능한 이용 체계 필요성

열대 남태평양 산호초 생태계는 다양한 해양생물들의 서식장소로서 생물 다양성과 생산력이 매우 높은 특징을 나타내고 있음. 최근 들어 바이오산업의 발달에 따라 열대 산호초 생태계는 매우 중요한 생물자원의 보고로 인식되고 있음. 그러나 기후 변동과 해수면 상승 등 지구적 규모의 환경변화와 오염 등에 민감한 반응을 보이는 생태적 취약성이 나타나고 있다. 따라서 CO2증가에 따른 생태계 변화의 모니터링과 서식지별 종 다양성 및 생산력을 유지시키는 생태 과정의 이해를 통해 산호초 생태계의 지속적 이용방안이 병행되어야 할 것임.

#### ● 미래 생물 생산 연구 체계 확보- 미세조류 분야

미세조류는 해양에서의 기초생산, 즉 태양에너지를 이용하여 무기물로부터 유기물을 생산하며, 그 종류도 수 만종에 이르고 있을 뿐만 아니라 그 종류 (남조류, 녹조류 및 편모조류)가 다양한 관계로 단백질, 지방, 탄수화물과 같은 1차 대사성분은 물론, 이들로부터 먹이연쇄에 따라 2차적으로 만들어지는 2차 대사성분과 그 생물활성도 매우 다양함.

이들 미세조류는 환경조건에 따라 폭발적인 증식력을 가지고 있으며, 배양이 가능하기 때문에 기존의 생태계를 손상시키지 않고, 유용물질을 생산하거나 환경문제해결 등 다각적 방면에 이용될 수 있음. 그러므로 미세조류의 산업적 이용은 대체 에너지원 및 식품으로의 이용성 외에도 건강보조식품, 수산양식용 사료, 의약 원료물질, 생화학물질 등으로 그 응용분야가 넓어지고 있음.

이런 미세조류 중 클로렐라와 스피롤리나는 건강식품으로 널리 사용되고 있으며 체내 중금

속의 축적억제 및 배설, 환경독성 물질의 생물학적 분해, 동맥경화 및 간장 장애의 억제, 항암 활성, 면역기능 강화, 세포의 부활작용, 식품의 보습효과와 활성산소종이나 자유 라디칼과 같은 유해물질을 소거함으로써 노화를 억제할 수 있는 성분들이 함유되어 있는 것으로 알려져 있음.

### ● 해외생물 자원의 체계적 확보를 위한 기초 연구

열대 해역 생물자원의 활용을 위해서는 정확한 종 동정과 계통진화관계 파악과 같은 생물학적 기초자료가 필수적으로 필요함. 따라서, 국제 표준의 분자마커(COI 유전자, 18SrDNA)를 사용하여 다양한 열대 해양생물을 식별할 수 있는 기술과 자료를 개발. 열대해역에 적응하여 진화한 해양생물은 유전적으로 특이한 고유의 유전자를 갖고 있을 것으로 예상됨 본 연구에서는 열대 생물 유전자의 구조적 특성을 분석하고, 다양한 유전자원을 확보하여 그 활용기반을 구축.

### ● 생명 소재 확보를 위한 정보 네트워크 구성

열대해역 생물소재 개발은 타국에서 진행되는 활동으로 소재지 국가와 지적소유권 및 기술 이전에 대한 규범적 정비가 필요함. 또한 시너지 효과 창출을 위하여 고부가가치 생물과 기능성 소재 자원 개발에 대한 과학지식의 축적을 통한 해양개발기술 확보 및 고난도 기술의 다원화 체제 구축이 필요함.

○ 경제·산업적 측면

### ● 생물 소재 추출 및 정제를 위한 기반 구축

현재 시판되고 있는 의약품의 약 50%가 천연물 자체이거나 천연물의 합성유도체라는 사실은 천연물연구의 경제적, 산업적 필요성을 강조하고 있음. 유기합성 기술과 조합 화학의 발전으로 수많은 유기화합물이 새로이 만들어지고 있지만 이들은 생물이 주변 환경에 적응하고 진화하는 과정에서 만들어내는 생리활성물질과 구조의 다양성 측면에서 비교할 수 없음. 해양천연물 연구는 해양생물 산업의 필수 기반기술로서 장차 해양생명공학의 핵심 분야로 자리매김할 것임. 특히, 열대 해역에 서식하는 생물은 활성물질 추출에 용이한 구조적 특징을 가지고 있어, 적은 노력에도 생리활성 검색, 연구대상 시료 확보, 천연물 분리정제에 유리한 위치를 차지할 수 있음. 2003년도 국내 생물산업 생산규모는 2조 791억 원으로, 특히 바이오식품이 전체 45%로 가장 많았으며, 생물의약품이 41%로 다음으로 많아 이 두 분야가 전체 생산규모 중 86%를 차지하고 있음(생물산업통계, 2005). 세계적으로 의약품 시장은 약 6,000억 달러이며, 천연물의약품 시장은 540 억 달러의 시장가치가 형성되어 있음.

### ● 생물 확보가 어려운 기능성 생물의 맞춤형 생산

해양생물은 단백질 공급원 차원에서 수산업이라는 1차 산업구조에 한정되어 그 가치를 제한하고 있으나, 최근 들어 기능성 소재로서 부각되면서, 흑진주 등 고급 약세서리 생산(연 300

역분) 과, 관상생물 산업 분야(연 500억불 시장 형성)로 확대되고 있음. 이미 오래전부터 소재 산업 가공 기술을 확보한 우리나라는 자원 고갈과 민간 기술개발 한계로 인하여 일부 산업에서는 존폐 위기를 겪고 있으며, 이러한 신산업 창출을 위해서는 육종학 등 첨단 생물 생산 기술을 적용하여, 생산력이 높은 열대 해역에서 신산업을 육성하여 민간 기업에 기술이전을 시도할 수 있음. 이러한 가능성은 기본사업으로 진행된 ‘열대해역생물소재 실용화기술개발’ 사업을 통해 개발된 흑진주 시험생산에서 언론의 반응과 기업의 관심도에서 입증되고 있음.

### ● 해외 소재 생산 공간 확보

해외 연구 기지 및 연구 시스템 구축은 국내에서 한정된 공간을 벗어나 국제협력을 통한 복잡한 절차를 넘어설 수 있는 획기적인 구조임. 남극연구 등 국외연구 기반을 활용하여 타국에서 국가 홍보 및 기술 보급을 통한 국가 간 상호 협력구조는 국내 산업 및 소재 공간을 국토의 개념에서 벗어나 확장시키는 개념으로 해석해야 할 것임. 향후 ‘경제적 국가 영토’ 개념을 도입한다면, 태평양에서 3번째로 넓은 배타적 경제수역을 지닌 마이크로네시아 연방에서의 해외 기지는 국가 영토 확대의 잠재적 기능을 내포할 수 있음.

### ● 소유하지 못한 환경의 접근

남태평양의 해양환경은 다양한 산호초 시스템, 홍수림, 잘피밭, 큰 참치어장, 깊은 해양해구 등 다양한 종류의 생태계로 이루어지며 이곳의 해양생물자원은 높은 생산성과 풍부한 유전자원을 가지고 있다. 대기가스의 균형을 조절하고 이산화탄소를 격리시키며 모든 해양생물의 기초가 되고 해양생태계의 기본이 되는 작은 식물플랑크톤에서부터(Scripps 002), 연안선을 보호하고 다양한 생물종의 생태시스템을 형성하는 산호(NOAA 2005), 세계수산업이 의지하고 있는 원양어류에서부터(FAO 1997, 2002b) 미래의 생명공학에 기여할 중요한 자원가능성을 보유한 심해 열수지역에서의 생물군집(Broad 1997)에 이르기까지 다양한 구조를 소유함. 남태평양의 높은 해양생물다양성 또는 생태 다양성 자원은 경제적, 산업적으로 무궁한 잠재적 가치가 있어 우리에게 연구 및 개발의 기회를 제공하고 있다. 하지만, 비교적 청결하고 다양한 가능성을 보여 주고 있는 남태평양도 기후변화, 도시화 및 문명화로 인한 환경파괴 등으로 그 가능성이 완전히 파악되거나 개발이 되기 전에 파괴될 수도 있기 때문에 연구 및 개발 대상지로서 빠른 추진이 요구되고 있다(Swanson and Luxmore 1997; UNEP 1999). 또한 산호초 생태계를 보호하기 위한 남태평양 국가들과의 공동노력은 국가 간 유대강화에 큰 도움을 줄 것으로 확신함.

### ● 해양 소재 기반 신산업 및 기술에 대한 수요 창출

새로운 소재의 탐색 및 고부가가치 산업화의 실현을 위하여 세계 해양수산 선진국들은 해양바이오산업을 미래 생물 산업의 핵심 분야로 부각시켜 활발한 연구 활동을 전개하고 있음. 산업화 가능한 다수의 국제특허 취득 가능 의료용, 향장용, 건강보조 식품 시장 수입대체 효과.

○ 사회·문화적 측면

● 태평양 도서국가 대상으로 국가 이익 창출

열대 도서국가지역은 1982년에 채택된 유엔해양법협약에 따라 200해리 배타적 경제수역을 선포함으로써 광대한 해양관할구역을 확보하고 있을 뿐 아니라 참치 등의 풍부한 원양어업자원과 열수광상과 같은 막대한 새로운 광물자원이 부존된 지역임과 동시에 지구환경 및 해양기후변화에 대한 연구중심지이며 산호초 및 망그로브 등 생물 종 다양성이 가장 높은 지역으로서 그 가치가 매우 높은 지역 임. 바이오 산업 등 해양 산업 개발 분야에서의 발전 전략을 성공적으로 수행하기 위해서 동 지역의 자원 잠재력에 대한 조사, 연구 및 관련기술의 개발과 병행하고, 개발된 소재의 경제성 평가를 통한 이익 창출 방안을 제시.

● 전 지구적 국가 역할 증진

개별 국가별 정치, 경제 사회제도 전반에 대한 이해가 성공적인 남태평양 해양진출사업에 필수적인 요소이며 국제사회에 진출하기 위한 연구 및 시장개발을 실시하여, 신산업 창출 시스템을 개발하고, 바이오산업을 대양 진출 교두보로서 활용하여 국가 위상을 증진.

● 과학 활동을 통한 국가 홍보 및 대국민 자부심고취

향후 해양생물자원에 대한 정보 검색이 가능한 열대 해양생물 데이터베이스시스템은 해양생태계보전에 대한 이해와 일반 국민들에게 해양이 주는 혜택이 무엇인가를 구체적으로 알리는데 크게 기여하게 될 것임.

우리나라 다목적위성(Kompsat-2) 등 국가 기관 산업 연계를 통해 대상지역의 위성사진과 분석 결과를 제공함으로써 우리나라 위성기술 등 과학기반기술의 우수성과 분석기술을 알릴 수 있음.

○ 연구소 고유기능 발전과의 연관성

● 출연연의 고유 기능 부합

한국 해양연구원은 정부 출연 연구기관으로 전 지구적인 기후변화에 대응하기위한 국제사회의 공동 노력에 함께해야할 의무를 갖고 있음. 전 지구상에서 기후변화에 가장 취약한 남태평양의 산호초 생태계에서의 환경 모니터링을 통해 전 지구적 환경문제에 동참하는 우리 연구원의 활동을 국내외에 알리는 노력이 요구됨.

특히, 우리나라 해역에서 찾을 수 없는 열대해역 생물소재 실용화 및 환경연구는 축적된 해양과학기술을 바탕으로 해양자원을 지속적으로 개발할 수 있는 능력을 배양하여 국부를 창출하기 때문에 우리연구원의 고유기능에 적합함. 국가출연연구기관으로서 국가의 준 국토개념의 연구 활동 및 경제활동 지역으로 남태평양지역 진출을 촉진하기 위해 남태평양 지역사회에 우호

적인 관계 활성화에 적극 활용. 한국해양연구원의 고유기능 중 해양자원의 관리·이용·개발에 관한 연구 및 해양공간자원개발연구에 완전히 부합되며, 향후 지구온난화에 따른 국가적 대응 전략수행에 해양분야에서 선두적 위치 확보.

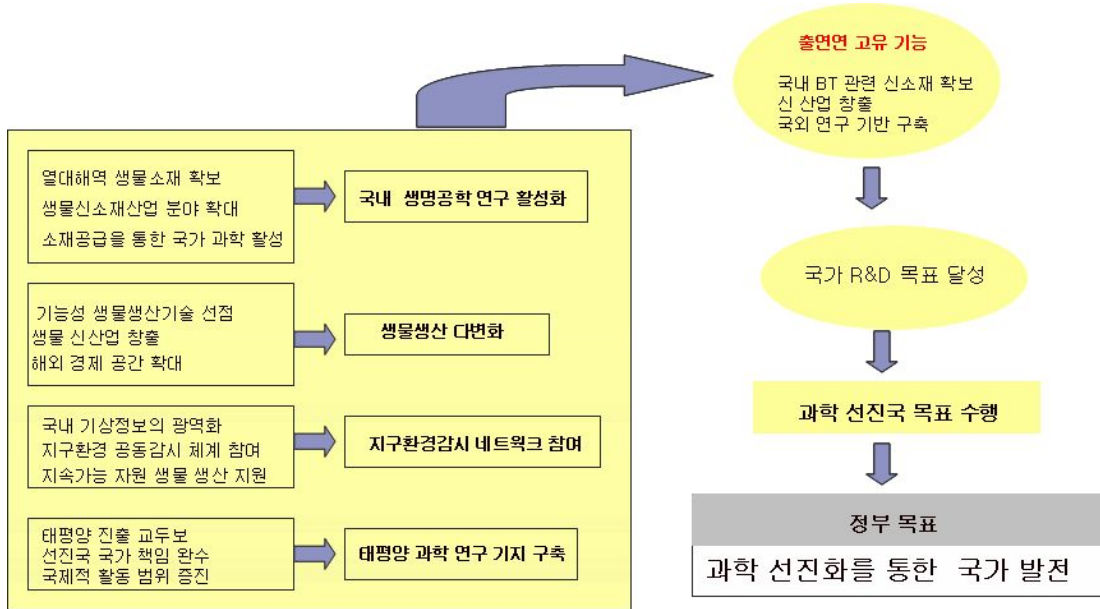


그림 1. 연구 고유 기능의 연계성.

● 태평양 해역 해양 연구 거점 확보

생물자원을 대상으로 한 열대해역 진출은 우선적으로 원양어업이 근간이 됨. 1960년대부터 참치 등 단백질원 확보를 통한 수출 증대차원에서 남태평양에 진출하게 되었으며, 1994년 유엔 해양법협약 발효는 연안국에게 새로운 해양영토개념을 부각됨. 우리나라는 1998년부터 배타적 경제수역 내 자원탐색 및 잠재성 자원 확보를 위해 남태평양을 대상으로 해양자원개발 조사를 계획·진행하고 있으며, 2000년에 마이크로네시아 측주에 한·남태평양해양연구센터를 개소하였고, 측 주와의 MOU교환을 통해 국가 간 생물 이동 문제를 해결하여, 산호초 주변에서의 생물 탐색연구를 위해 매년 기초적인 범위에서 기능성 생물 검색과 예비 생태계 연구를 수행하여, 일부 생물 연구 분야에서는 실용화를 위한 타당성 검토를 마친 상태임.



표 1. 한국해양연구원에서의 남태평양 관련 연구 진행 현황

기 간	내 용
1996년-1998년	배타적 경제수역 확대에 따른 해외어장 확대 정책과제 수행
1999년-2005년	남서태평양해양생물자원연구 수행 - 해양수산부 (마이크로네시아 전반 수산생물 분포 조사)
2000년- 현재	마이크로네시아 축 주에 한·남태평양 해양과학연구센터 운영
2006년- 현재	열대해역 생물소재 실용화기술 개발 등 3건 - 해양연구원

● 해양생명공학의 네트워크 구축으로 한국해양연구원의 역할 확대

국내외 해양생물자원을 이용한 생명과학소재 개발연구는 축적된 우리의 해양과학기술을 바탕으로 해양생물자원을 지속가능한 방법으로 활용할 수 있는 주제로 국내외 해양생물자원의 효율적 관리와 활용 뿐 아니라 국가의 생명자원 확보와 관리 측면에서 정부출연연구기관으로서 마땅히 추진하여야 할 임무이며 해양자원의 관리·이용·개발이라는 한국해양연구원의 고유기능과도 부합하는 과제임. 한국해양연구원은 국내의 연안은 물론 큰 바다인 오대양을 대상으로 심해까지 탐사할 수 있는 능력을 보유하고 있음. 이를 바탕으로 열대에서 극지에 이르는 다양한 해양생태계를 대상으로 생물을 채집, 생리활성 생체물질을 확보, 활용하는 것은 국내 해양생명공학 뿐 아니라 국가의 생명공학 발전의 큰 역할을 담당할 수 있으며, 특히 한남태평양해양연구센터는 해양연구뿐 아니라 국외 과학연구 기반역할을 수행할 수 있는 공간임.

## 제 2 절. 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 최종목표

- 태평양 거점 국가 과학 인프라 구축 및 운영
- 해외 연구협력 구축을 통한 대외활동 및 국가 융복합 과학 연구개발 공간 유지
- 국가 기후환경과 연관된 온난화 영향 모니터링을 통한 태평양 해양과학 기반 동참
- 고부가가치 산업 소재 양산시스템을 구축하고, 기능성 소재 생산 기반을 마련하여 연구개발 및 산업화 추진
- 국가 간 또는 해외 기관과 협력을 통한 국가 홍보

### 2. 연구원의 장기목표/전략과의 연계성

○ 세계 10대 해양연구기관으로 도약하기 위해서는 우선적으로 전 지구적 해양환경 및 생태계 변화에 대한 연구능력을 강화가 필수적임. 태평양 환경연구는 기후변화의 대응에 요구되는 연구능력의 획득과 국제사회에 연구원의 활동을 홍보하는 중요한 기회를 제공 할 것으로 판단됨.

○ 열대해양생물을 대상으로 하는 해양생물소재 생산연구는 한국해양연구원이 중점 추진하는 MT(Marine Technology)의 중요분야인 MBT (Marine Bio-Technology)의 핵심 기술임. 현재 추진되는 MBT 연구 분야는 포괄적인 연구 내용과 목표를 지니고 있어, 방법론이나 목표에서는 연관성을 가짐 다만, 국가 R&D 사업의 특성상 실용화 보다는 연구중심의 체계로 구성되어 논문 양산과 연구 인프라에 초점을 맞추고 있음. 하지만 이번 연구는 열대해역이라는 지역적 특성이 우선 차별을 나타내며, 물질 생산, 생물 생산이외에 구조 변경, 활성화 검색, 기업 이전 등 2차적인 실용화 단계 가능성까지 접근할 것임.

○ 연구원의 중장기 발전목표 및 추진전략 중 해양과학기술 연구개발의 완성도를 제고시키기 위한 타 분야와의 연계 연구체계 구축에도 포함되어 있어 연구원의 중장기 연구개발사업의 하나로 자리매김하고 있음.

○ 열대해역을 거점 연구 지역으로 확보하고, 이번 연구를 통한 인프라를 구축함으로써 향후 목적 지향적 연구 항목을 개발하여 국가 과학발전을 위한 공공성 확보와 해양생물산업의 실용화를 추진할 것임.

### 3. 연차별 연구개발 목표 및 내용

구 분	목 표	내용 및 범위
1 차년도 (2009)	연구 인프라 구축 환경 및 생태계 감시망 구축	미세조류 배양시스템 구축 이동계적 및 조위 관측 생물다양성 파악 (중 조성 분포 범위) 고해상도 위성을 이용한 object-based 분류 기술 적용 표층해수의 CO <sub>2</sub> 분압 및 산성도 측정 산호 서식지의 생물생산력 파악 추출방법별 시료의 제조 추출물에 대한 다양한 생리활성분석 (항노화, 항고혈압, 항암, 항당뇨, 미백효과 등) 공간정보구축, 자료 목록 정리 및 통합 DB 시스템 설계
2 차년도 (2010)	센터 운영 체제 확립 지속적 기초연구 지원 연구과제 지원 인프라 구축	조류관측, 해상모니터링부이 설치, 해수유동모형 입력 해양생물 목록 작성 및 지역별 생물정보 데이터베이스화 시계열 고해상도 위성자료 산호초 환경 변화 분석 표층-대기간 CO <sub>2</sub> 플럭스 및 산성도 측정 산업생물 배양기능 고도화 축주 협력사업인 gis구축망 설계
3 차년도 (2011)	배양 생산 체제 확립	유속연직분포 조사, 해상모니터링부이 운용 지역별 유전자 염기서열 분석 SAR 위성자료와 망그로브와의 특성 분석 서식지별 플랑크톤 다양성 및 일차생산력 특징 연구 유용성분의 대량생산을 위한 최적의 조건 확립 안정성 검사를 통한 제품화 이용가능성 확인 경제성 분석
4 차년도 (2012)	인프라 운영 및 기반 연구수행	한남태평양해양연구센터 운영 인프라 개선 및 구축(매립 완료, 설계) 태평양 시료관 운영을 통한 소재 자원확보 기후변화 모니터링 산호초 생태계 변동 및 서식처 감시 주요 생물자원 관리 및 배양 천문연, NOAA 등 연구 자료 관리 대상국 협력사업 진행 및 홍보 활동
5 차년도 (2013)	기반 연구 수행	기후변화 모니터링 산호초 생태계 변동 및 서식처 감시 망그로브지역 먹이망 해석 주요 생물자원 관리 및 배양 축 환초 퇴적연대 규명 생리활성물질 추출 및 유용 미생물 분류

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절. 국내 연구동향

#### ▶ 국내 동향

· 국내는 07년 우리나라에 서식하는 다양한 해양생물 정보를 제공하기 위한 해양생물의 종 목록을 체계적으로 정리한 한국 해양생물다양성 정보시스템(KoMBIS-Korea Marine Biodiversity Information System)을 운영하고 있음.

· 2004년부터 2013년까지 10년 동안 총 2,500억 원의 연구비를 투자하는 마린바이오21사업이 진행됨으로 인해 첨단해양생명공학기술의 중점개발을 통해 해양생명공학산업을 21세기 미래 주도형 고부가가치 성장 동력 산업으로 육성을 목표로 하고 있음.

· 국내외적으로 해양생물자원을 이용한 생리활성물질의 개발 분야는 성장가능성이 큰 도입단계이기 때문에 집중적인 투자와 기술적인 개발을 통한 활성물질 확보노력이 절실함.

### 제 2 절. 국외 연구동향

#### ▶ 국제적 동향

· 1992년 생물다양성 협약에서 발표된 세 가지 기본 목표 즉, 1) 생물다양성 보존, 2) 지속 가능한 이용, 3) 자원이용의 평등한 혜택 등이 채택된 후 1990년 중반부터 미국과 영국을 비롯한 선진국에서는 자국의 생물다양성 확보는 기본이며, 인근 외국 의 생물다양성 확보에도 연구를 집중하고 있고, 생물자원이 식물 및 유전적인 측면 에서 차세대 자원의 개념으로 부각되면서 더욱더 가속화되고 있는 실정임.

· 미국의 주도로 세계 70여 국가가 참여한 COML 프로그램의 일환으로 전 지구적 해양생물자원 지리정보시스템(Ocean Biogeographic Information System: OBIS)을 구축하고 있으며, OBIS는 해양생물 종과 지리적 분포 정보, Barcode of Life의 유전자 정보를 연계한 종합적인 해양생물자원 지리정보 시스템을 계획, 시도하고 있음.

· 남태평양 군도의 기후 변동은 UN유엔 산하의 IPCC(기후변화에 관한 정부간 회의)에서 심도 있게 다루어지고 있음. IPCC위원회는 기후변화에 관한 과학적인 증거를 요약해서 각각의 국가들이 기후변화에 대응하기 위한 결정을 내리거나 기후변화에 관련된 정책결정에 도움을 주고 있음. IPCC는 전 지구적 기후변동이 남태평양상의 작은 섬들에 미칠 지역적 환경적 영향을 조사하고 있으며, 특히 산호초 생태계와 망그로브 생태계 등 연안생태계가 처한 위기상황을

경고하고 있음. UNDP, UNEP, WWF등도 남태평양 도서국들의 산호초 및 산호초 생태계의 생물 다양성 보호를 포함한 연안생태환경을 보존하기 위한 지원 계획을 마련하고 있음.

UNEP의 지역해 연구 계획(Regional Seas Programmes)은 태평양 도서국들의 개발상황을 포함시켰으며, 남태평양 지역환경계획(SPREP)을 통해 자연 자원과 생물 다양성의 보존과 지속 가능한 관리를 통해 태평양 섬 지역의 자연 유산을 효과적 보호하기 위해 지역국가 들이 협력 할 수 있도록 기술적, 재정적 지원을 하고 있음.

· 국가별 생명공학과제에 대해 요약해 보면, 미국 해양생명공학을 21세기 4대 생명공학 과제로 선정해 해양대기청(NOAA), 국가과학재단(NSF) 등을 중심으로 집중적인 투자가 이루어지고 있음. 우즈홀 해양연구소, 스크립스 해양연구소 등 국책 연구소를 중심으로 잠수정과 탐사선을 이용해 세계 각 지역으로부터 해양생물자원을 확보하고 있으며 ODP 사업을 통해서도 다양한 미생물 들을 수집. 열대해역에 속하는 팔라우와 미국령에 속하는 태평양의 여러 도서지역에는 미국의 연구 소가 설치되어 유용 해양생물자원 발굴에 활용되고 있음. 일본은 정부와 민간 24개 기업이 출자 하여 해양생명공학연구소를 설립, 해양생물로부터 신의약품 및 유용신물질 개발에 주력하고 있 으며, JAMSTECH의 경우 보유하고 있는 연구선과 잠수정을 이용하여 마리아나 해구, 오키나와, 동해 연안 및 일본 남해 해구 등 다양한 해양환경으로부터 미생물 다양성자원을 확보하기 위한 노 력을 진행함. IODP 프로그램을 통해 해저지각으로부터도 다양한 미생물자원을 확보 중임. 중국은 해양생명공학 819계획을 통해 양식, 육종, 생물공정 및 기술개발에 주력. 러시아는 과학아카데 미 극동지부 산하 태평양생화학연구소에서 해양 유용물질 탐색. 스페인은 PharMar사 주도로 해양유래 신의약품 개발에 주력. 호주, 영국, 독일, 프랑스 등도 해양생명공학분야에 집중적 투자. 1980년대부터 인도·태평양 영역에서 다양한 탐사활동을 통해 생물자원을 확보하였고, 최 근까지도 지속적인 탐사를 실시하고 있음.

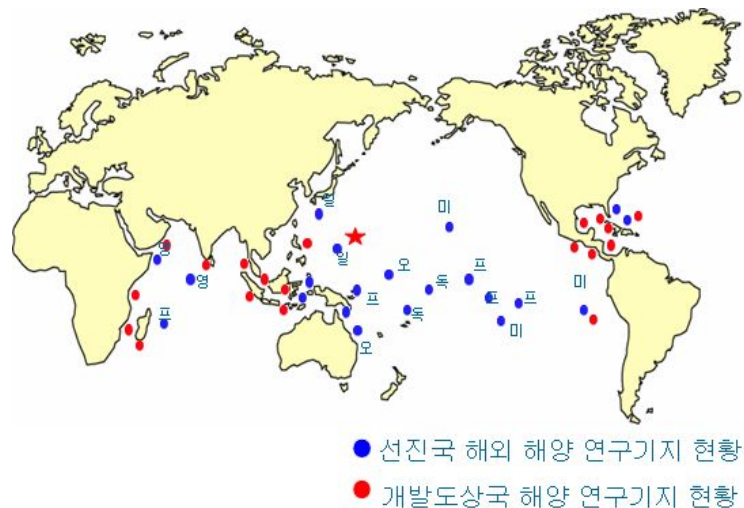


그림 2. 대양에서의 해양연구기지 현황.



그림 3. 열대해역과 관련된 국제기구.



그림 4. 팔라우에 위치한 일본 산호초연구센터 전경.

### 제 3 절. 현재까지의 연구개발 동향

- 국내에서도 여러 기관에서 특정 소재생물의 BANK를 구축하고 있음. 서울대학교 천연물과학연구소는 4,000 여종의 자생식물에 대한 데이터베이스 구축하였으며, 한국화학연구원은 화합물은행을 구축하여 국내외에서 생산된 화합물 15만종이상을 확보하였고, 생명공학연구원은 프론티어사업인 자생식물이용 기술개발 사업단을 수행하면서 국내 식물 추출물 수 천만종 이상을 확보하여 신약개발 등 생명산업의 핵심적인 자원으로 이용하고 있음. 보건복지부는 2010년까지 6개의 세계적인 신약을 만들어 세계 7대 천연물 연구 강국으로 도약하는 목표를 설정하고 있어서, 부처간 생물자원에 대한 중장기적인 계획이 수립되어 있음. 따라서 정부에서는 국가 생물자원정보망을 구축하는 법안을 제시하였으나, 방대한 범위와 활용에 대한 상호 이기적 관점으로 인하여 효과를 거두지 못하고 있음.

- 특히 해양생물에 관련된 소재 확보 노력은 이미 국토해양부의 생물다양성 연구를 토대로 특히 국립해양생물자원관 건립 등 해양생물자원확보에 노력하고 있으나 국외생물자원에 대한 준비는 원활하지 못함. 결과적으로 한국해양연구원의 한남태평양해양연구센터 등의 역할이 생물소재 확보에 매우 중요하게 작용할 것임.

- 우리나라에서는 1990년대 초반부터 해양생물의 천연물연구가 본격적으로 진행되고 있으며 서울대, 부산대, 해양대 등의 대학 연구실과 한국해양연구원, 한국과학기술원 등 정부출연연구원을 중심으로 해양생물을 대상으로 정밀화학 및 생명공학기술을 적용하여 생리활성 물질을 분리하고, 생명의학 소재로 응용하고자하는 시도가 진행됨. 하지만 아직까지 연구의 역사가 짧고, 체계적인 지원이 이루어지지 않아 산업적 이용이라는 가시적인 성과를 내지 못하고 있음. 한국과학기술정보연구원(KISTI)의 자료에 의하면 연구된 원료 소재 중 미세조류를 포함한 해조류가 303건으로 가장 많이 연구되었으며 다음으로 어류관련 연구가 140건으로 비교적 많이 수행된 것으로 나타났으며, 패류, 수산 무척추동물, 수생미생물 및 갑각류가 30 내지 20건의 연구가 수행된 것으로 나타나 총 540 여 건의 연구 중 해조류와 어류를 대상으로 한 연구가 전체의 약 82%에 달해 주류를 이루고 있음. 이와 같은 결과는, 해양생물자원의 다양한 종류와 막대한 양을 감안 할 때 육상생물을 대상으로 한 연구에 비하여 지금까지의 해양생물 관련 연구는 아직 시작단계에 있다 해도 과언이 아니다. 원료 소재 중 어류(32건), 미세조류를 포함한 해조류(29건) 및 수생미생물(20건) 관련 특허가 비교적 많이 출원되었으며 다음으로 갑각류 8건, 패류 7건 및 무척추동물이 5건을 보여 원료 별로 비교적 고르게 출원된 것으로 나타났다. 그림 2의 원료별 문헌 분류에서 비교적 높은 연구 빈도를 가졌던 해조류 및 어류가 특허에서도 높은 건수를 보이는 가운데 연구에 따른 기술 개발이 원활하게 이루어지고 있음을 확인 할 수 있음.

표 2. 해양생물유래 기능성 소재에서 확보한 성과

활성	기능성물질	해양생물
항암	lyngbyatoxin, aplysiatoxin, curacin, halomon, depsipeptide, stypoldione, 5-deoxy-5-iodotubercidin, carageenan, alginate, Ara-C, dercitin, halichondrin, theopederin, cribostatin, mimosamycin, spongistatin, neoamphimedine, makaluvamine, discodermolide, hamacanthin, concolutamide, 1-vinyl-8-hydroxy-B-carboline, perfragilin, flustramine, tambjamine, bryostatin, dolastatin, ulapualide, chromodorolide, didemnin, ecteinascidin, staurosporine, trithiane, pentathiepin, bistratene, lissoclinamide, aplidine, granulativamide,	미세조류 해조류 해면동물 태형동물 연체동물 척삭동물
항균, 항진균	brevetoxin, gambieric acid, psammaphin, bengazole, bengamide, oceanapiside, theopederin, spongistatin, concolutamide, 1-vinyl-8-hydroxy-B-carboline, perfragilin, flustramine, tambjamine, diemenensin, myticin	미세조류 해면동물 태형동물 연체동물
항혈소판	maitotoxin, sulfated fucan, linear fucan	미세조류 해조류 극피동물
항바이러스	N-palmitoyl-2-amino-1,3,4,5-tetrahydroxyoctadecane, Carageenan, alginate, batzelladine, papuamide, sulfated $\beta$ -galactan, eudistomin, lissoclinamide, lamellarin, $\alpha$ -20-sulfate, polycitone, poly-hydroxysteroid	해조류 해면동물 연체동물 척삭동물 극피동물
항염증, 항관절염	manoalide, scalaradial, leucettamine, 15-acetylthioxyfurodysin lactone, cacospongiolide, palinurin, pseudopterosin, fuscocide, trithiane, pentathiepin	해면동물 자포동물 척삭동물
면역억제	microcolin, carageenan, alginate, simplexides, discodermolide, bryostatin, didemnin	미세조류 해조류 해면동물 태형동물 척삭동물
항알리지	xestobergsterol, pseudopterosin, fuscocide	해면동물 자포동물
심혈관기능	halenaquinol	해면동물
신경조절	palytoxin, lophotoxin	자포동물

· 2006년부터 2008년 까지 수행된 한국해양연구원 고유사업인 ‘남태평양 열대해역생물소재실용화기술개발’ 연구를 통해 해양생물에서의 소재 가능성을 파악함. 총 15여종의 생물에서 77종의 활성 천연물을 분리하였고, 방선규를 300여종 분리한 것 중에 항비만물질인 mch를 분리하였음. 또한 스피룰리나, 흑진주를 생산한 성과를 냄. 특히 한남태평양해양연구센터 운영이 해양생물 뿐아니라 열대환경 감시를 위한 연구에서 이산화탄소 플럭스 측정, 열대해역의 기초생산력 연구 등을 수행함으로써 지구환경연구에 동참하는 중요한 기반으로서 역할을 수행함.



표 3. 응용산업분야별 효소의 기술발전 추이

기술분야	1980년대	1990년대	2000년대
식품산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶발효유</li> <li>▶효소를 이용한 단백질의 처리</li> <li>▶효소를 함유한 식품</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 이용한 단백질의 처리</li> <li>▶식품용 단백질의 끝마무리</li> <li>▶가수분해 생성물</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 이용한 단백질의 처리</li> <li>▶효소가 첨가된 기능성 식품</li> </ul>
세제산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 함유하는 계면 활성제 이외의 세제 제품</li> <li>▶효소를 함유하는 조제품</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 함유하는 계면 활성제 이외의 세제 제품</li> <li>▶표백제</li> <li>▶섬유의 생화학적 처리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 함유하는 계면 활성제 이외의 세제 제품</li> </ul>
의약산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소결합체의 생성</li> <li>▶펩티드 또는 단백질</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소 전구체를 함유한 약품</li> <li>▶효소결합체의 생성</li> <li>▶효소의 유도체</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶재조합 유전자를 통한 신규한 효소의 생산</li> </ul>
진단 및 시약 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소 함유한 측정</li> <li>▶생물화학적 재료의 화학적 분석</li> <li>▶효소결합체의 생성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소 함유한 측정</li> <li>▶효소결합체의 생성</li> <li>▶효소 표식을 지는 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 함유한 측정</li> <li>▶바이오칩등의 진단기기에 적용</li> </ul>
환경산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶탄화수소유의 정제</li> <li>▶탄화수소의 이용방법</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶고체 폐기물의 처리</li> <li>▶섬유의 생화학적 처리</li> <li>▶미생물에 특징이 있는 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶축산분뇨 처리용 효소</li> </ul>
농축산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소를 함유하는 것</li> <li>▶효소가 첨가된 것</li> <li>▶특정의 동물용인 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶효소 전구체를 암호화</li> <li>▶식물 단백질을 암호화</li> <li>▶식물세포에 관련된 것</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶사료용 효소</li> <li>▶효소 유전자를 사용하여 식물의 형질 변환</li> </ul>
화학산업	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶술포닐 요소</li> <li>▶광학 이성체의 분리</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶광학 이성체의 분리</li> <li>▶술포닐 요소</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶제지공정에서 사용</li> <li>▶효소의 촉매 반응을 이용한 화합물 제조</li> </ul>

# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

## 제 1 절. 센터주변 환경감시

### 1. 해양 생지화학변화

#### 가. 웨노섬 주변해역 잘피 내 중금속 농축도 조사

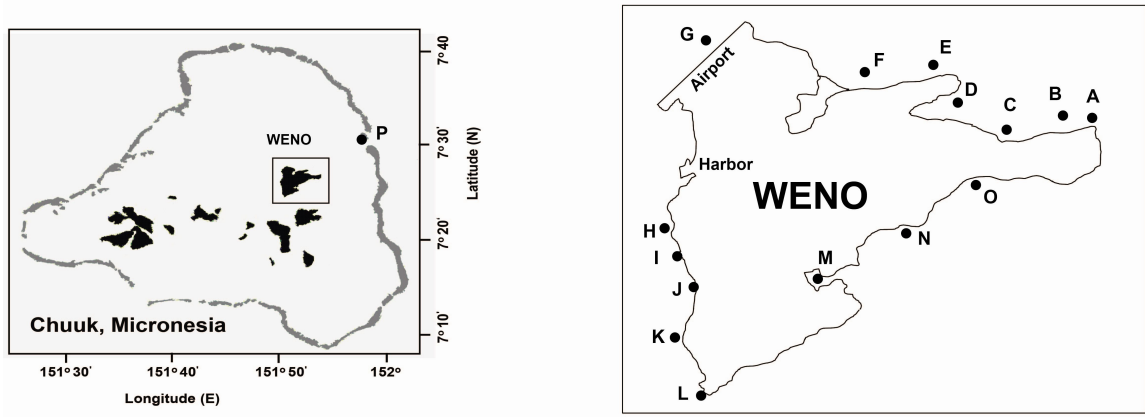


그림 1-1-1. 웨노섬 주변 해역 잘피 채취 지역.

Fig. 1-1-1. Map showing the seagrass sampling sites of Chuuk, FSM.

- 웨노섬 주변해역에서 채취한 *C. rotundata*의 잎 부위에서의 중금속 농도는 Zn이 26.7 mg/kg으로 가장 높고 Zn>Cu>As>Ni>Pb>Cr>Co>Cd>Hg의 농도순으로 나타났다. 뿌리 부위 역시 Zn가 가장 높은 평균농도를 보였으며 Cd를 제외한 모든 중금속 원소가 웨노섬 서측 정점 H에서 최대 농도를 나타내고 있었다(그림 1-1-2). As를 제외한 중금속 원소가 잎에서의 평균농도가 뿌리에 비해 높은 것으로 나타났다.
- *E. acoroides*의 잎 부위에서의 중금속의 평균농도는 *C. rotundata*와 마찬가지로 Zn가 23.3 mg/kg의 최대농도를 보이고 있으며 Zn>Cu>As>Ni>Co>Pb>Cr>Cd>Hg의 농도순이었으며, 중금속 원소에 따라 최대농도를 보이는 정점이 약간 다르게 나타나는 특성을 보였다(그림 1-1-3). Cr와 As의 평균농도는 뿌리가 잎에 비해 상대적으로 높았으며 나머지 중금속 원소는 잎이 뿌리보다 농도가 높은 결과를 보였다.
- *T. hemprichii*의 잎 내 중금속의 평균농도는 Cr 0.41 mg/kg, Co 0.64 mg/kg, Ni 2.35 mg/kg, Cu 2.33 mg/kg, Zn 18.83 mg/kg, As 2.26 mg/kg, Cd 0.076 mg/kg, Pb 0.59 mg/kg, Hg 0.010 mg/kg으로 다른 종과 마찬가지로 Zn의 농도가 가장 높고 Hg가 가장 낮은 평균농도를 보이고 있음. 잎과 뿌리에서 As의 평균농도는 각각 2.25 mg/kg와 5.16 mg/kg으로 뿌리가 잎에 비해 약 2배 높은 농도를 나타냈다(그림 1-1-4). 분석된 중금속 원

소에 따라 최대농도를 보이는 정점이 다른 특성을 보였다.

- 잘피 잎의 경우 *C. rotundata*가 Cr, Zn, Cd, Pb, Hg의 원소가 각각 1.01 mg/kg, 26.7 mg/kg, 0.093 mg/kg, 1.53 mg/kg, 0.014 mg/kg로 다른 잘피종에 비해 상대적으로 높은 농도를 보였다(표 1-1-1). Co, Ni, Cu, As는 *E. acoroides* 중에서 최대농도를 보이며, *T. hemprichii*는 모든 중금속 원소에서 다른종에 비해 상대적으로 낮은 농도를 보였다.
- 잘피 뿌리의 경우, Cr, Co, Ni, Pb는 *E. acoroides*에서 Cu, Cd, Hg는 *C. rotundata*에서 Zn와 As는 *T. hemprichii*에서 각각 최대 농도를 나타내었다(표 1-1-1).

표 1-1-1. 웨노섬 잘피 내 중금속 농도 비교

Table 1-1-1. Comparison of mean concentration of nine heavy metals measured in *C. rotundata*, *E. acoroides* and *T. hemprichii* collecting from Chuuk coastal environments, FSM

	Species	Cr	Co	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb	Hg
잎	<i>C. rotundata</i>	1.01	0.40	1.74	2.88	26.7	2.73	0.093	1.53	0.014
	<i>E. acoroides</i>	0.86	1.50	2.62	3.65	23.3	3.06	0.055	1.32	0.008
	<i>T. hemprichii</i>	0.41	0.64	2.35	2.33	18.8	2.26	0.076	0.59	0.010
뿌리	<i>C. rotundata</i>	0.84	0.34	1.29	1.66	16.4	3.16	0.040	0.95	0.010
	<i>E. acoroides</i>	0.95	0.72	1.45	1.36	13.9	4.20	0.021	1.29	0.007
	<i>T. hemprichii</i>	0.57	0.41	1.28	1.10	18.0	5.16	0.033	0.46	0.005

나. 듀블론 지역 내 정선 조사(용존영양염, 중금속의 공간변화)

- 웨노섬 남측 듀블론 지역에서 영양염은 만의 내측인 D1 정점에서 NO<sub>2</sub> 0.004 mg/L, NO<sub>3</sub> 0.011 mg/L, NH<sub>4</sub> 0.019 mg/L, SiO<sub>2</sub> 0.696 mg/L, PO<sub>4</sub> 0.006 mg/L의 최대농도를 보이고 있으며 외해역으로 갈수록 감소하는 경향을 보였다(그림 1-1-5). 조사정점에 따라 용존영양염의 농도는 2.2~19.2배의 큰 농도차이를 보이며 SiO<sub>2</sub>의 농도변화가 가장 큰 것으로 나타났다.
- 용존영양염의 평균농도는 NO<sub>2</sub> 0.002 mg/L, NO<sub>3</sub> 0.005 mg/L, NH<sub>4</sub> 0.010 mg/L, SiO<sub>2</sub> 0.198 mg/L, PO<sub>4</sub> 0.003 mg/L로 SiO<sub>2</sub>>NH<sub>4</sub>>NO<sub>3</sub>>PO<sub>4</sub>>NO<sub>2</sub>의 농도순으로 나타났다.
- 용존유기탄소의 경우, D1정점에서 2.21 mg/L의 최대농도를 보이고 용존영양염과 마찬가지로 외해역으로 갈수록 농도가 감소하여 가장 외해역인 D7 정점에서는 0.92 mg/L의 농도를 보여 약 2.4배의 농도차이가 관찰되었다.

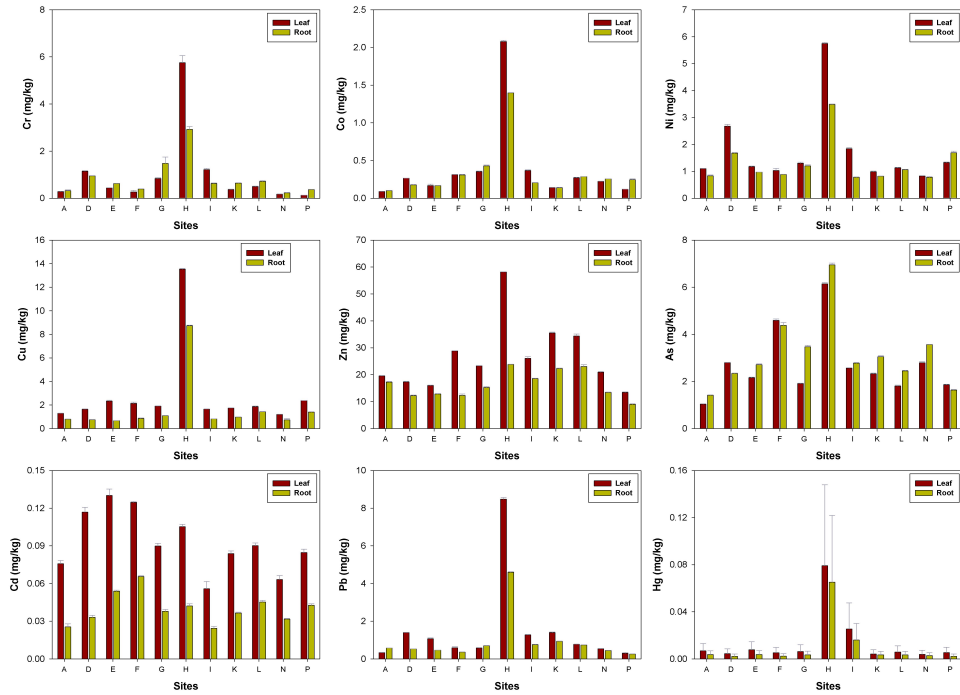


그림 1-1-2. *C. rotundata* 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교.

Fig. 1-1-2. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in *C. rotundata* of Chuuk, FSM.

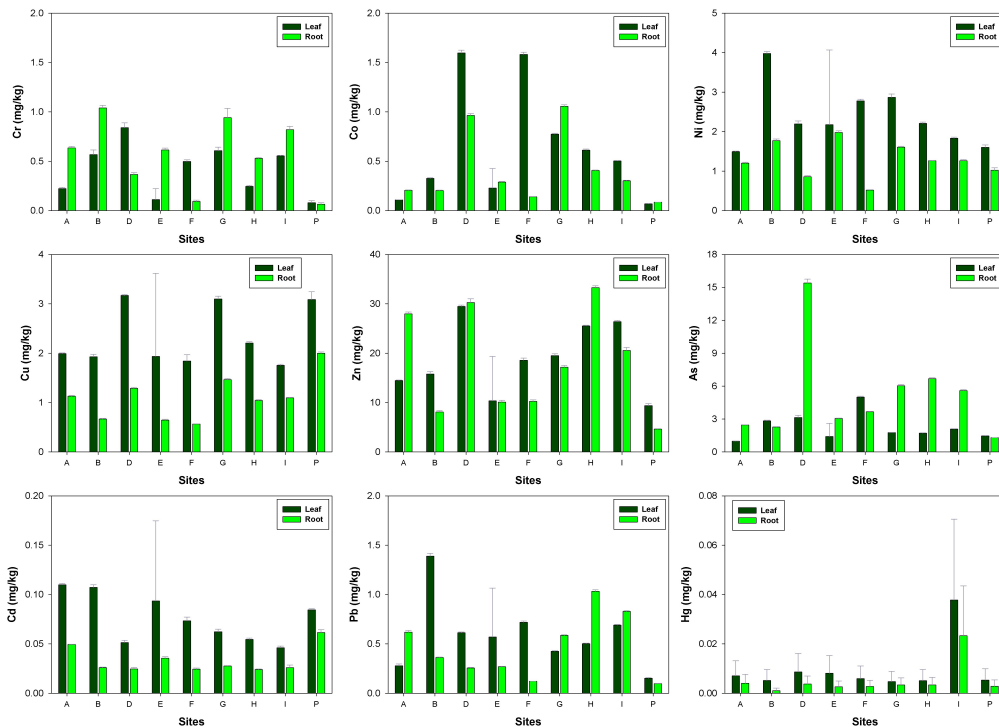


그림 1-1-3. *E. acoroides* 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교.

Fig. 1-1-3. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in *E. acoroides*

of Chuuk, FSM.

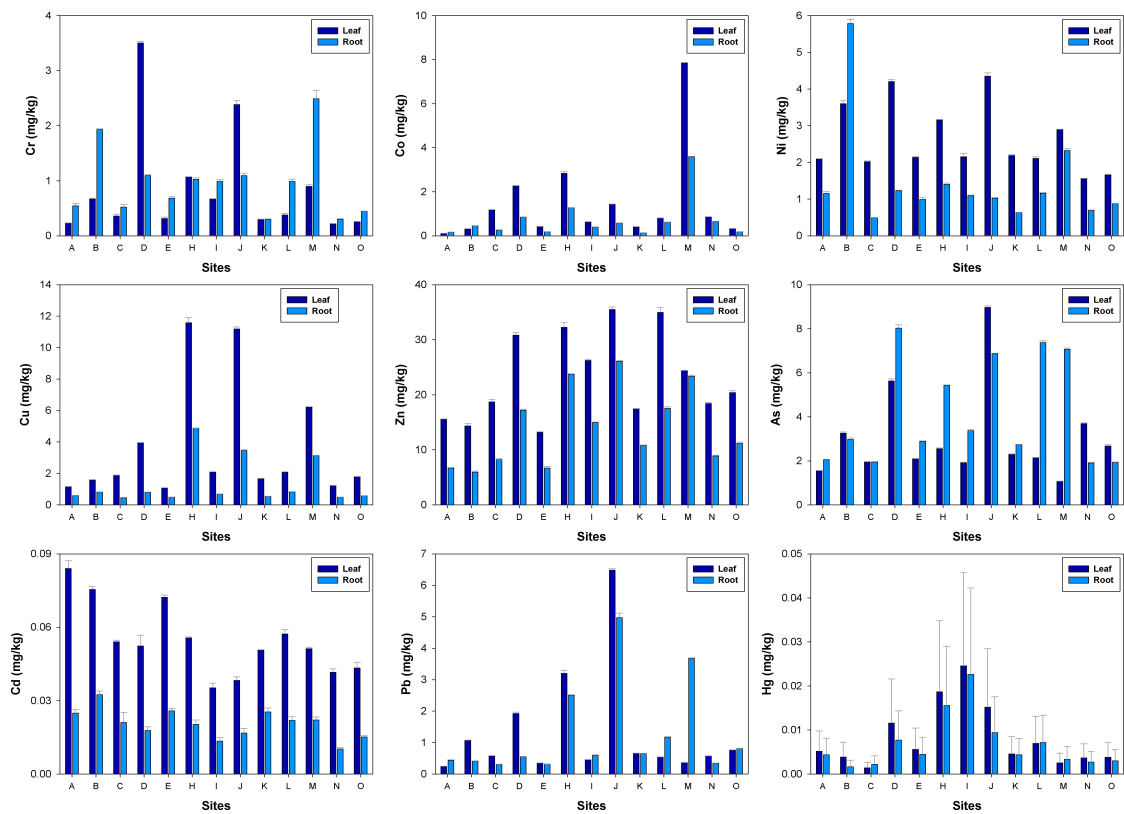
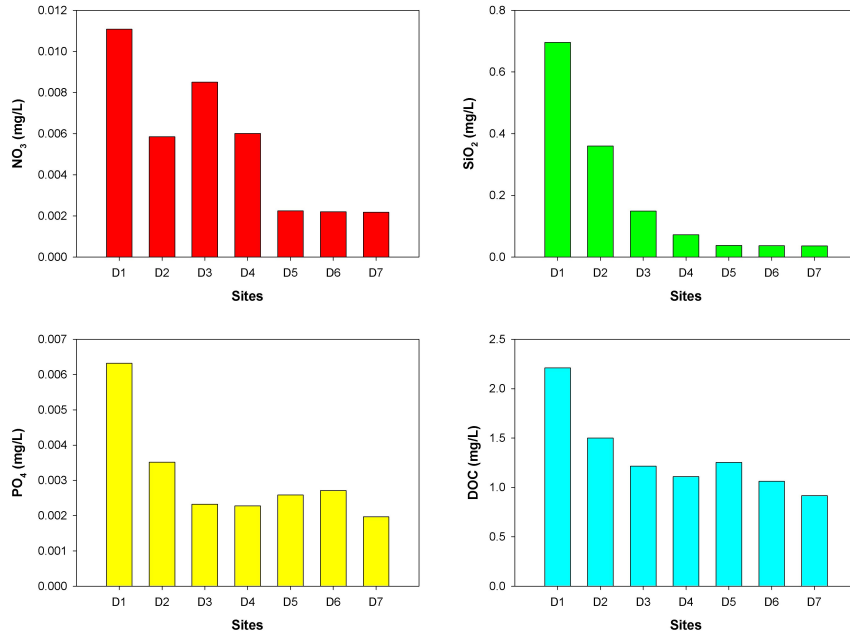


그림 1-1-4. *T. hemprichii* 내 중금속 농도의 조사 정점별 비교.

Fig. 1-1-4. Spatial variation of heavy metal concentrations of leaf and root in *T. hemprichii* of Chuuk, FSM.

- 용존중금속의 평균농도는 Co 0.091  $\mu\text{g/L}$ , Ni 0.269  $\mu\text{g/L}$ , Cu 0.084  $\mu\text{g/L}$ , Zn 0.141  $\mu\text{g/L}$ , Cd 0.002  $\mu\text{g/L}$ , Pb 0.005  $\mu\text{g/L}$ 로 Ni이 가장 높은 평균농도를 보이며 Ni>Zn>Co>Cu>Pb>Cd의 농도순을 보였다.
- 용존중금속(Pb 제외) 역시 만의 내측인 D1 정점에서 최대 농도를 보이며 외해역으로 갈수록 급격히 농도가 감소하고 있으나, Pb는 외해역이 만 내측에 비해 상대적으로 높은 농도를 보였다.



1-1-5. 듀블론 지역 용존영양염 및 용존 유기탄소의 공간분포.

Fig. 1-1-5. Spatial distribution of dissolved nutrients and organic carbon in surface seawater of Dublon Island in Chuuk, FSM.그림.

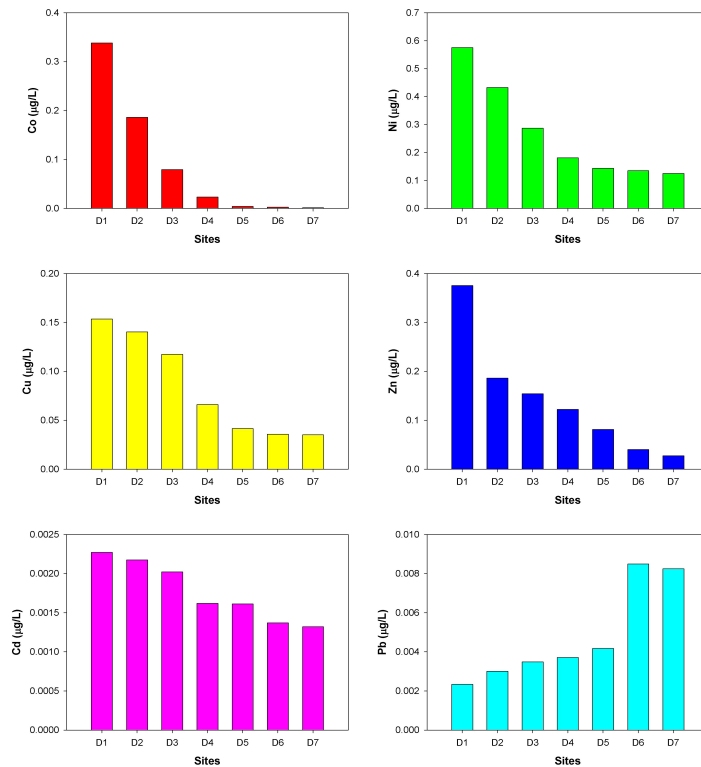


그림 1-1-6. 듀블론 지역 용존중금속 공간분포.

Fig. 1-1-6. Spatial distribution of dissolve heavy metals in surface seawater of Dublon Island in Chuuk, FSM.

#### 다. 덩핑사이트 조사

- 웨노섬 덩핑사이트 매립지 침출수(DC-0) 내 용존영양염 농도는  $\text{NO}_2$  0.047 mg/L,  $\text{NO}_3$  0.013 mg/L,  $\text{NH}_4$  2.208 mg/L,  $\text{SiO}_2$  3.328 mg/L,  $\text{PO}_4$  0.003 mg/L의 농도를 나타내었다.  $\text{NO}_2$ 와  $\text{NO}_3$ 는 DC-3과 DC-4 정점에서 각각 0.280 mg/L와 0.494 mg/L의 최대농도를 나타내며  $\text{NH}_4$ 와  $\text{SiO}_2$ 는 DC-0 정점에서 각각 2.208 mg/L와 3.328 mg/L의 최대농도를 보였다.
- $\text{PO}_4$ 의 경우, DC-5 정점에서 0.011 mg/L의 최대농도를 보였다. 덩핑사이트 매립지 침출수에서 상대적으로 높은 농도를 보이며 해양(DC-5~7)으로 갈수록 농도가 급격히 감소하고 있었다(그림 1-1-7).
- 용존유기탄소(DOC)의 경우, 침출수인 DC-0에서 최대농도인 17.41 mg/L을 보이고 해양으로 갈수록 감소하는 경향을 보여 DO-7에서는 0.85 mg/L으로 급격히 감소해 침출수에 비해 약 5%의 농도 수준으로 감소하였다(그림 1-1-8).
- 총인의 경우, DC-0에서 0.096 mg/L의 최대농도를 보이고 다른 영양염과 마찬가지로 해양으로 갈수록 농도가 감소하여 DC-7 정점에서는 0.013 mg/L의 낮은 농도를 보였다(그림 1-1-8).
- 총질소 역시 총인과 마찬가지로 DC-0정점에서 4.065 mg/L의 최대농도를 보이고 해양으로 갈수록 농도가 감소하여 DC-7 정점에서는 0.118 mg/L로 농도가 감소하는 공간분포 특징을 나타내었다.
- 덩핑사이트 침출수가 해양으로 흘러가는 조사정점에서의 용존중금속의 농도는 용존영양염과 마찬가지로 DC-0 정점에서 Co 1.046  $\mu\text{g/L}$ , Ni 5.849  $\mu\text{g/L}$ , Cu 2.229  $\mu\text{g/L}$ , Zn 7.063  $\mu\text{g/L}$ , Cd 0.0077  $\mu\text{g/L}$ , Pb 0.987  $\mu\text{g/L}$ 의 최대농도를 나타내고 있었다. 침출수 내 용존중금속의 농도가 해양에 비해 1.7~36.0 배 높은 농도를 보였다(그림 1-1-9).
- 덩핑사이트 침출수 지역 퇴적물 내 중금속의 평균농도는 Cr 154 mg/kg, Co 19.8 mg/kg, Ni 82.6 mg/kg, Cu 280.2 mg/kg, Zn 1421.5 mg/kg, As 14.10 mg/kg, Cd 1.106 mg/kg, Pb 349.6 mg/kg, Hg 0.430 mg/kg이었다. Co, Ni, Pb는 CD-2 정점에서 최대농도를 보였으며 Cu, Zn, As는 CD-4 정점에서 최대농도를 나타내고 있었다(그림 1-1-10). 덩핑사이트 인근 해양 퇴적물 내 중금속의 평균농도는 Cr 57.0 mg/kg, Co 7.45 mg/kg, Ni 30.6 mg/kg, Cu 150.7 mg/kg, Zn 353.9 mg/kg, As 14.82 mg/kg, Cd 0.328 mg/kg, Pb 143.9 mg/kg, Hg 0.118 mg/kg로 덩핑사이트 침출수 지역이 해양에 비해 1.9~4.0배 높은 농도를 보였다. 덩핑사이트 인근 해양퇴적물 채취지역이 맹그로브가 발달되어 환초로 구성된 다른 연안에 비해 높은 농도를 보이는 특성을 고려할 때 덩핑사이트 내 퇴적물 중금속 오염도는 매우 높은 것으로 나타났다.

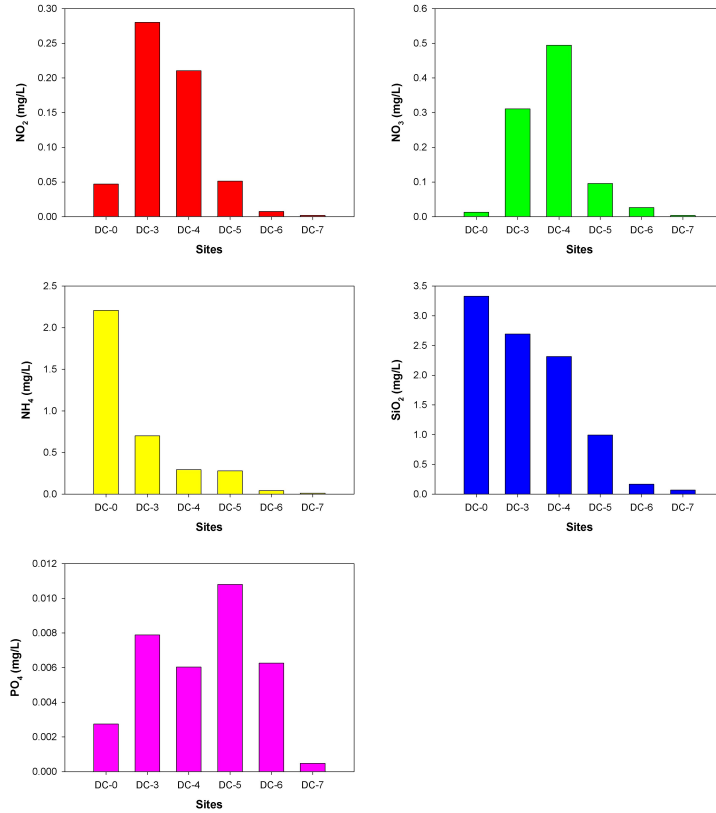


그림 1-1-7. 축 덩핑사이트 용존영양염의 공간분포(DC-0~4: 침출수 및 매립지).

Fig. 1-1-7. Spatial distribution of dissolved nutrients in leachate (DC-0~4) at dumping site and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk.

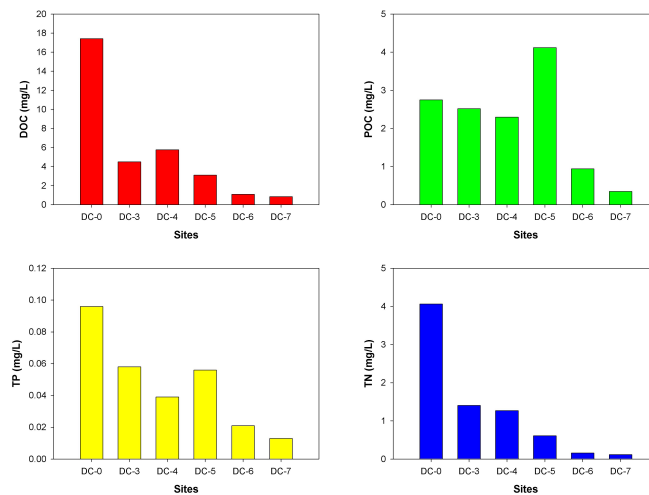


그림 1-1-8. 축 덩핑사이트 유기탄소, 총인 및 총질소의 공간분포(DC-0~4: 침출수 및 매립지).

Fig. 1-1-8. Spatial distribution of dissolved organic carbon, total nitrogen and total phosphorus in leachate (DC-0~4) and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk.



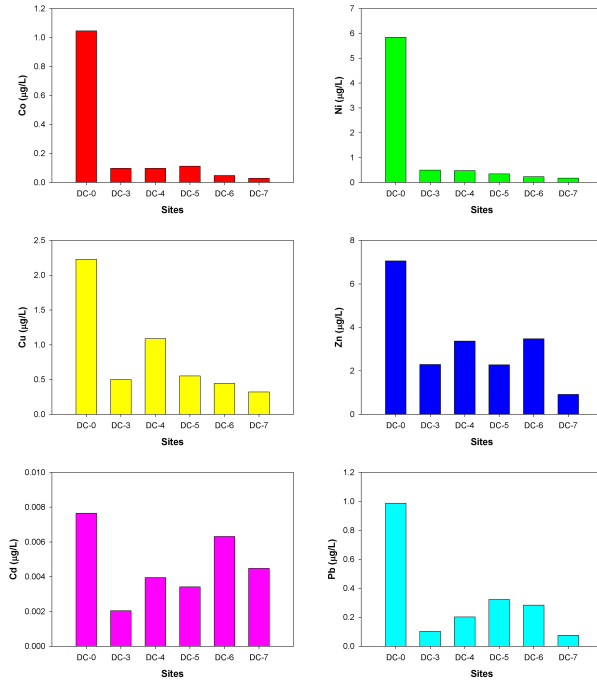


그림 1-1-9. 축 덩핑사이트 용존중금속의 공간분포(DC-0~4: 침출수 및 매립지).

Fig. 1-1-9. Spatial distribution of dissolved heavy metals in leachate (DC-0~4) and coastal seawater (DC-5~7), Chuuk.

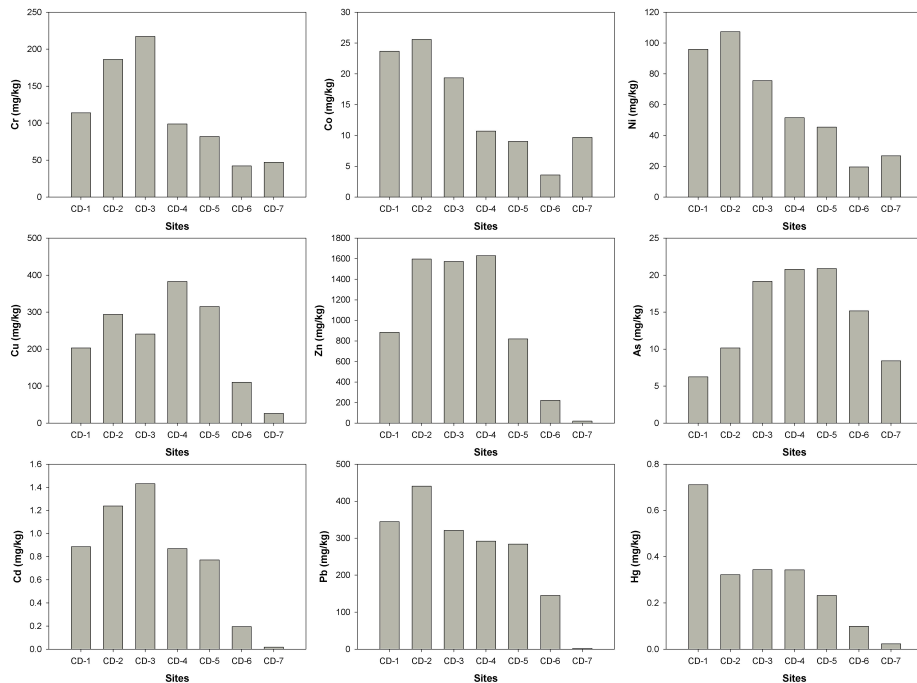


그림 1-1-10. 축 덩핑사이트 퇴적물 중금속의 공간분포(CD-1~4: 매립지).

Fig. 1-1-10. Spatial distribution of heavy metals of sediments at dumping site (CD-1~4) and coastal sediment (CD-5~7), Chuuk.

## 2. 원격탐사를 활용한 열대해역 서식환경 연구

가. 해수 특성 분석 : 웨노섬 주변 해수 환경 현장조사를 수행하고, 분석한 엽록소 및 부유물 농도와 성분별 해수 흡광 특성, 원격반사도 스펙트럼 등을 한반도 주변 해역과 비교하여 웨노섬 주변 해수 특성을 이해하고, 경험적인 방법으로 지역 해수 특성에 특화된 해수 분석 알고리즘 개발의 기초자료로 활용하고자 한다.

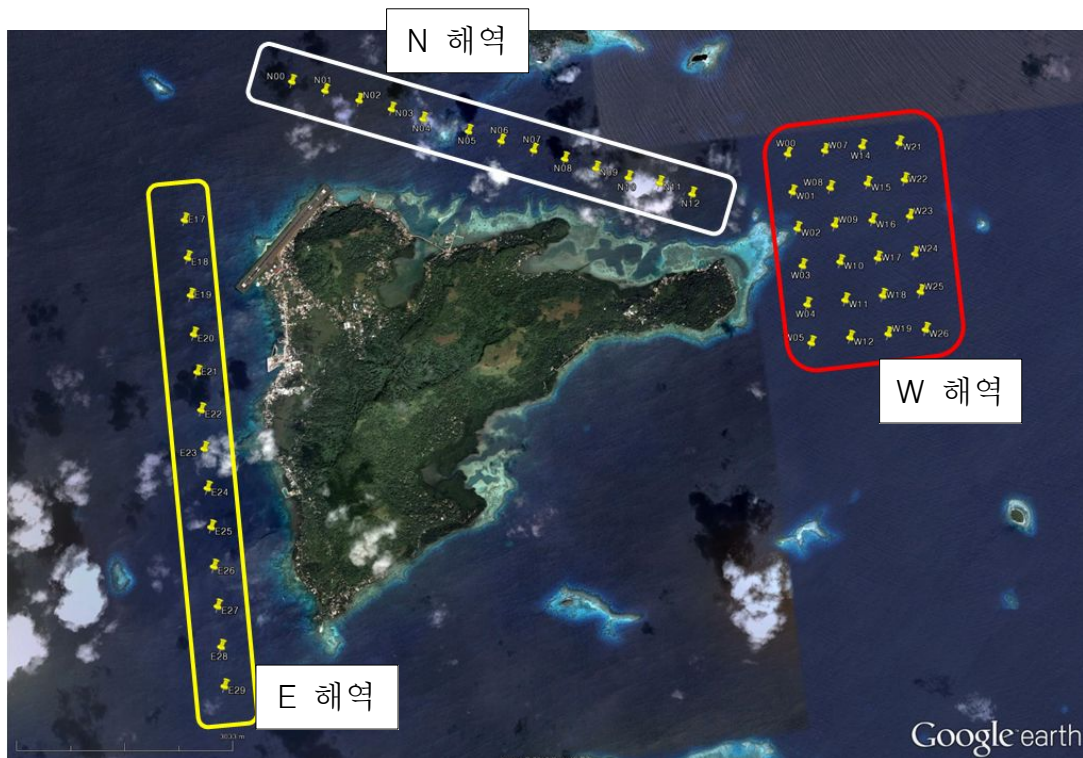


그림 1-2-1. 해수 특성 조사 정점도.

Fig. 1-2-1. The observation map.

- 해역별 해수 환경 특성

① W 해역

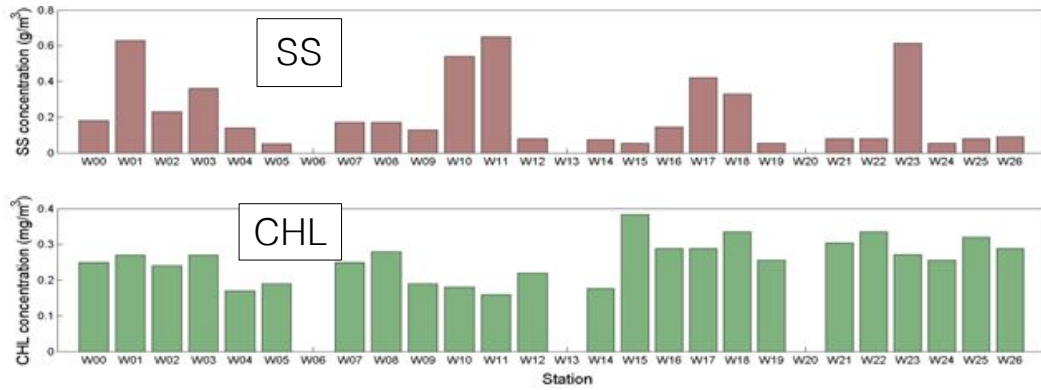


그림 1-2-2. 웨노섬 주변 Chlorophyll 농도와 총 SS양.

Fig. 1-2-2. Graph of chlorophyll concentration (CHL) and total suspended particles concentration (SS) obtained from W area of WENO island.

② N 해역과 E 해역

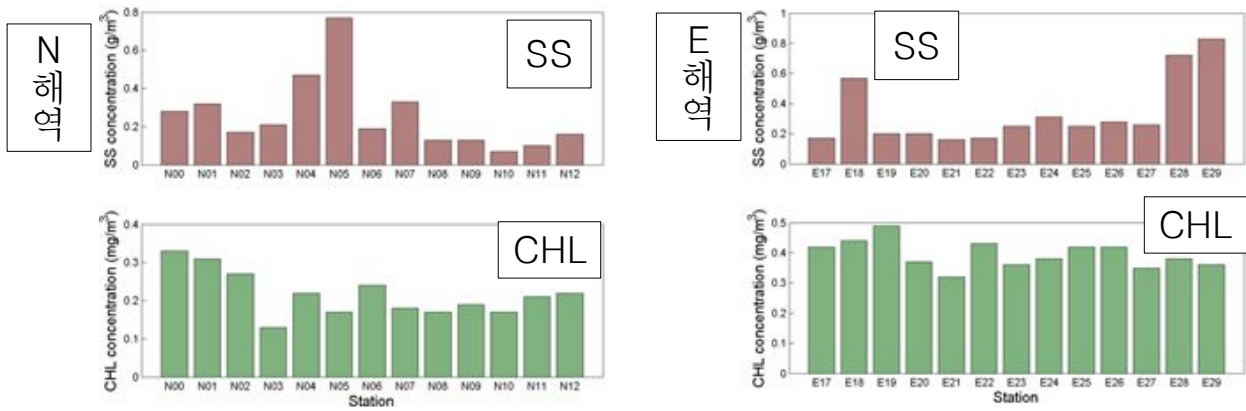


그림 1-2-3. 웨노섬 주변 N 과 E 해역 Chlorophyll 농도와 총 SS양.

Fig. 1-2-3. Graph of chlorophyll concentration (CHL) and total suspended particles concentration (SS) obtained from N area (left) and E area (right) of WENO island.

③ 한반도 주변 해역과의 비교

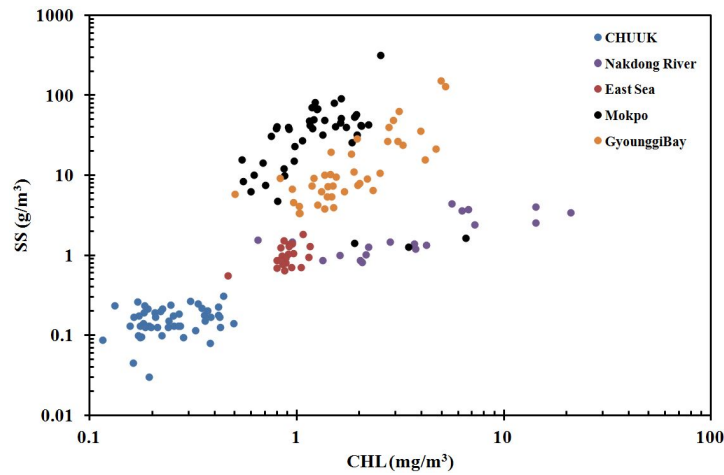


그림 1-2-4. 한반도 주변해역과 웨노섬 주변해역의 해수환경특성 비교.

Fig. 1-2-4. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using ocean environmental parameters (CHL & SS).

- 맹그로브 구역을 제외한 산호초와 해초지 해역의 엽록소 농도(CHL)는 0.11 - 0.49 mg/m<sup>3</sup>, 평균 0.26 mg/m<sup>3</sup> 이고, 부유물 농도(SS)는 0.03 - 0.31 g/m<sup>3</sup>, 평균 0.16 g/m<sup>3</sup> 으로 동해 연안 해역(CHL 평균값 0.90 mg/m<sup>3</sup>, SS 평균값 1.02 g/m<sup>3</sup>)을 포함한 한반도 주변 해역들보다 상당히 낮았다.

- 성분별 해수 흡광 특성

① 색소를 포함한 모든 부유물질의 흡광 특성

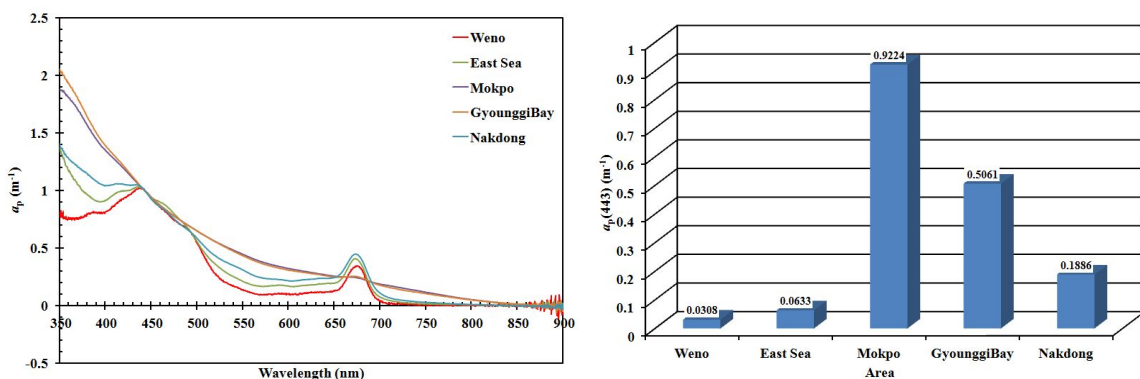


그림 1-2-5. 성분별 해수 흡광 특성비교.

그림 1-2-5. Comparison of WENO with the Korean Peninsula using absorption coefficient of total particle matter ( $a_p$ ) spectrum (Left) and comparison of WENO with the Korean

Peninsula using  $a_p(l)$  value at 443 nm (Right).

- 웨노섬 주변 연안해역은 해수 성분들 중에서 색소의 영향에 의해 파장 443 nm에서 최대 흡광계수값이 나타나고 파장 667 nm에서 색소의 형광에 의해 형광 peak 값이 나타나는 전형적인 흡광 스펙트럼 형태를 보였고 한반도 주변 해역들 중에서 동해 연안 해역과 유사한 형태를 보였다.

- 웨노섬 주변 연안해역의 파장 443 nm의 흡광계수값은 한반도 주변 해역의 동해 연안의 흡광계수값보다 약 0.5배 이상 작은 값으로 웨노섬 주변 해역은 생물입자를 포함한 유기물질의 입자가 상당히 낮은 농도를 형성하고 있을 것으로 사료된다.

② 용존유기물의 흡광 특성

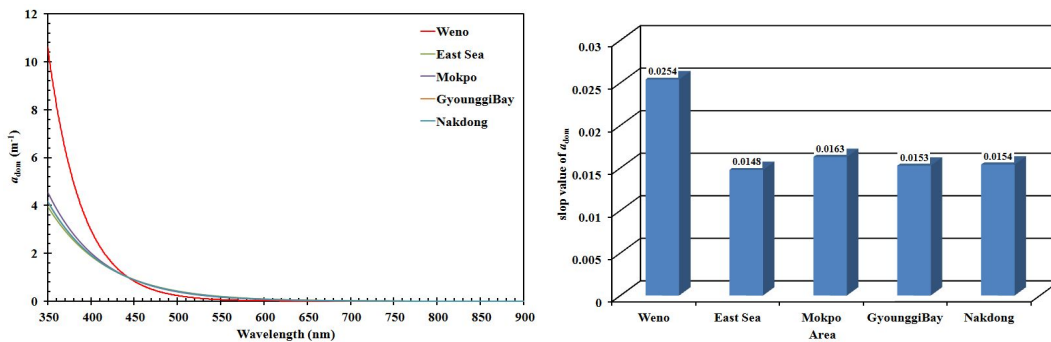


그림 1-2-6. 용존유기물의 흡광 특성.

Fig. 1-2-6 Comparison of WENO with the Korean Peninsula using absorption coefficient of dissolved organic matter ( $a_{dom}$ ) spectrum (Left) and comparison of WENO with the Korean Peninsula using slope value of  $a_{dom}(l)$  (Right).

- 웨노섬 주변 연안해역의 용존유기물의 흡광 스펙트럼은 파장이 증가할수록 지수함수적으로 감소하는 전형적인 스펙트럼 형태를 잘 보여주었고, 그 기울기 값은 한반도 주변 연안해역들보다 상당히 큰 값을 나타내어 육상기원의 용존유기물이 주를 이루는 한반도 주변 연안해역과 달리 웨노섬은 해양기원의 용존유기물이 주를 이루는 것으로 사료됨.

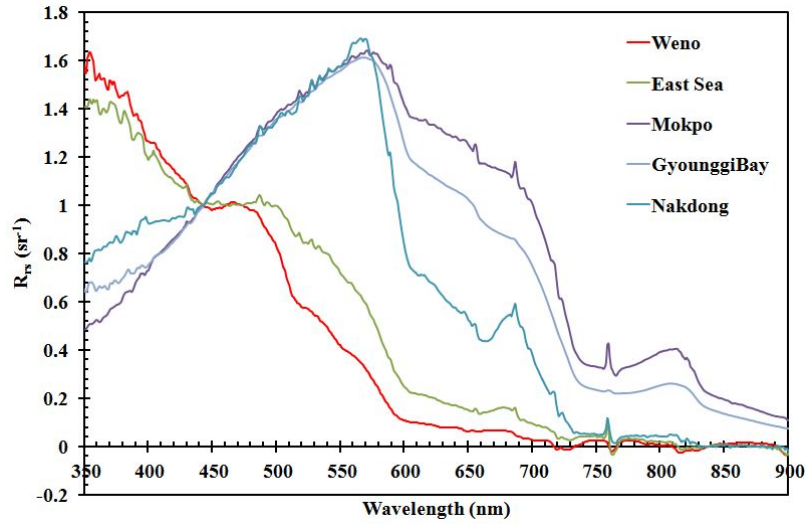


그림 1-2-7. 해수 원격반사도 스펙트럼 특성.

Fig. 1-2-7 Comparison of WENO with the Korean Peninsula using spectrum of remote sensing reflectance ( $R_{rs}$ ).

· 웨노섬 주변 연안해역의 파장 443 nm에서 규격화한 해수 원격반사도 스펙트럼 형태는 한반도 주변 연안해역들 중에서 동해 연안해역과 매우 유사한 형태로 해양광학적인 특성에 의한 해수 구분 중에서 CASE-I 성향이 아주 강한 해수의 특성과 유사하였다.

나. 서식지 분포 상관관계 분석 : 광학영상을 기반으로 분석된 산호 서식지의 각 지표별 분포와 해수 환경 특성 간 상관관계 분석을 실시하여, 종합적인 서식지 분포 및 서식 환경 분석.

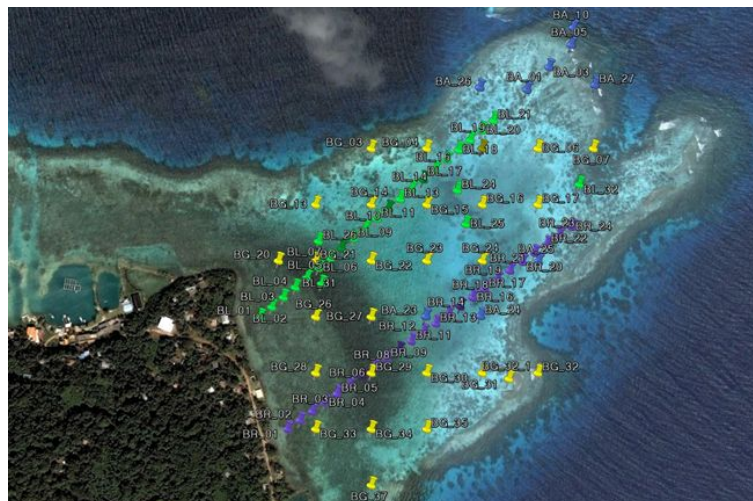


그림 1-2-8. 웨노섬 주변 베네딕트 지역 서식지 지표 조사 정점도 (실측 정점).

Fig. 1-2-8. The observation map.

① 위성영상에서 녹회색으로 보이는 부분은 긴 잘피 지역이고, 검은색으로 보이는 지역은 짧은 잘피가 우점종인 곳이며, 하늘색으로 보이는 지역은 모래 지역이며 회색으로 보이는 지역은 러블 지역이다.

② 베네딕트 지역의 경우 육지와 가까운 지역에서 외해역으로 갈수록 긴 잘피, 짧은 잘피, 모래와 산호의 혼합지역과 러블의 순으로 위치하였다.

③ sand 우점지역



그림 1-2-9. Sand 우점지역.

Fig. 1-2-9 Sand dominant region.

- 짧은 잘피가 우점지역인 지역을 제외하고 고루 분포되어 있었다.

- 지표 조사 실측 정점 중 약 50% 정도를 차지하였다.

④ Sea grass 우점지역



그림 1-2-10. Sea grass 우점지역.

Fig. 1-2-10. Sea grass dominant region.

- 육지에 접해 있는 녹회색 지역은 긴 잘피 우점 지역이고 검은색으로 보이는 지역은 짧은 잘피가 우점중인 지역이었다.
- 잘피의 경우 육지에서 멀어짐에 따라서 분명한 생물상 변화가 일어남을 알 수 있었다.

⑤ Rubble 우점지역



그림 1-2-11. Rubble 우점지역.

Fig. 1-2-11. Rubble dominant region.

- 위성 영상에서 회색으로 보이는 부분이 러블이 우점인 지역으로 수심이 깊어지는 경계 부분에 존재하였다.
- 베네딕트 지역의 경계부분인 보초 지역 대부분이 러블 지역이었다.

⑥ Turf Algae 우점지역



그림 1-2-12. Turf Algae 우점지역.

Fig. 1-2-12. Turf algae dominant region.



- Turf Algae는 잘피나 산호 주변에 주로 분포하였다.
- 최근에 급속도로 많이 증가하였다.

⑦ Coral 우점지역



그림 1-2-13. Coral 우점지역.

Fig. 1-2-13. Coral dominant region.

- 짧은 잘피의 외해역에서 산호가 많이 발견되었다.
- Turf Algae의 증가로 인하여 산호의 백화 현상이 증가하였으며 러블로 변화하였다.
- 다른 생물들에 의하여 우점종에서 제외되었다.

⑧ 대표적인 식생 사진



BL24 (Halimeda, Turf Algae)



BL26 (잘피)



BG31 (덩어리산호, 경산호)



BG35 (Turf algae)



BR24 (Rubble)

그림 1-2-14. 대표적인 식생사진.

Fig. 1-2-14. Photos of typical species.

### 3. 공간정보 구축

#### 가. 연구방법 및 절차

##### (1) 방법

- 기 구축 공간자료, 위성영상, 온라인정보, 현지조사를 종합한 지도제작(공간자료 구축)
- 연구, 조사 텍스트 자료의 가공, 변환을 통한 공간자료 제작
- 전문 공간자료 제작 툴(ArcGIS Desktop10.x)을 이용한 주제도 제작
- 아틀라스 원고 초안 작성을 위한 자료 수집 및 디자인

##### (2) 추진절차

축의 공간프레임워크를 구축하기 위해 무엇을 어떻게 처리할지에 대한 주제성 기획을 수행한 후, 이를 기반으로 연구조사 자료와 공간정보를 수집해야한다. 연구조사 자료는 연구 분야별 기존의 현장 조사결과 자료를 수집한 후 전문적인 공간자료 편집, 가공과정을 거쳐 공간레이어 데이터로 제작하였다. 공간정보는 기존의 디지털지도, 종이지도, 위성영상자료를 수집하여 일련의 편집과정을 거쳐 공간레이어 데이터로 제작하였다. 특히 웨노섬에 대한 육지부의 디지털 자료는 부재하여 2011년과 2012년 3차례 방문을 통해 직접 GPS tracking, 현지주민 탐문조사 등을 통해 공간정보를 구축하였다. 2013년도에는 이전에 구축한 공간자료를 기반으로 고해상도 인공위성 이미지, 온라인지도 서비스 및 현지 탐방 조사 경험을 바탕으로 해안선 유형도를 제작하였으며, 위치기반의 연구조사 정보들을 가공, 변환하여 신규 GIS 공간 레이어를 구축하였다. 이러한 정보를 활용하여 축 아틀라스 제작을 위한 초안을 작성하였으며, 이를 위한 기본 추진절차는 그림 1-3-1과 같다.

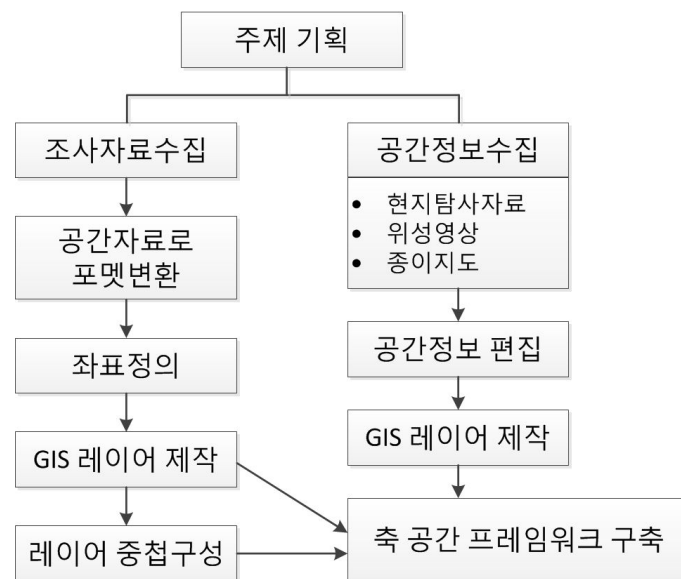


그림 1-3-1. 축 지역의 공간 프레임워크 구축을 위한 작업절차.

Fig. 1-3-1. Work flow for building the spatial framework of Chuuk area.

○ 2013년도 자료제작 및 성과

Chuuk 환초(reef)도 제작을 비롯하여 기존의 제작 성과물을 기반으로 한 기본도를 대폭 추가 제작 하였으며, 현장탐방조사를 통해 취득된 인문사회적 자료를 포함한 환경정보 및 기상정보(AWS) 분석자료 등을 추가 제작하였다.

(가)기본도 구축

기본도는 WGS84(GCS), UTM56N(PCS) 좌표체계에 따라 기 구축된 웨노섬 해안선도와 고 해상도 위성영상(KOMPSAT-2), 현지탐방 경험 등을 종합하여 자연해안선과 인공해안선을 구분한 기본도를 추가로 구축하였으며 축 해역의 수치해도를 변환 가공하여 데이터 셋에 함께 구성하였다.

또한 관련 연구팀과의 기본도 제공 및 공유를 위해 축 해역에 포함된 기본 해안도를 별도로 제작하였다. 기본도 구축은 현지 연구업무 및 관리, 운영을 위한 기반 지원정보로 사용될 수 있으며 각종 연구, 조사 결과를 가시화 하고 비교, 평가 할 수 있는 정보인프라이다.

그림 1-3-2는 지금까지 구축된 웨노섬의 기본도로 지형도, 도로망도, 수계망 및 호소도, 맹그로브서식도, 관리구획도 및 해안경관도로 구성되어 있다.

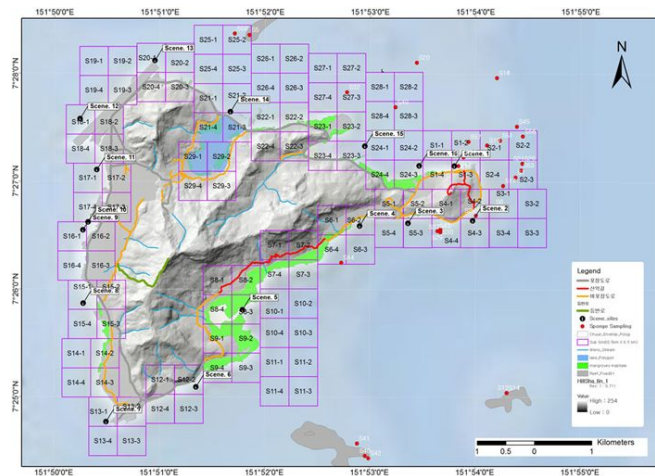


그림 1-3-2. 마이크로네시아 축주 웨노섬 기본도 기반 해안조사 공간구획도.

Fig. 1-3-2. Spatial zoning for the scientific coastal survey based on the basemap of Weno island in Chuuk state, Micronesia.

(나) 연구 및 조사 주제도 구축

웨노섬의 연안을 자연해안선과 인공해안선으로 구분하여 선형 공간레이어를 구축하였으며, 각각의 총 길이(연장)을 산출하였다. 또한 USGS의 종이지도를 기반으로 기 제작한 마이크로네시아 전 지역 기본도 공간데이터 중 축 환초(Chuuk reef)해역을 대상으로 별도 GIS 레이어로 제작하였다. 본 기본도는 참여 연구진과의 자료를 공유하기 위해 제작하게 되었다(그림

1-3-3). 또한, 태평양연구센터에서 수행된 연구, 조사 활동을 가시화 할 수 있는 콘텐츠를 제작 하기 위해 연구조사 활동의 정보를 가공, 변환하여 공간 레이어 데이터셋으로도 제작하였다(그림 1-3-4). 마이크로네시아 연방국 기본도는 현재 우리원 인트라넷 상에서 서비스 운영 중인 클라우드 웹GIS인 GFOR (GIS For Ocean Research) 시스템에 추가 구성하였다. 이로써 각 연구자들이 직접 온라인상에서의 신속하고 편리하게 공간정보 활용과 주제도 제작 작업이 가능하도록 하였다. 현재 각 섬 이름에 의한 위치 검색과 조사계획도 제작, 주제도제작 기능을 이용할 수 있다(그림 1-3-5).

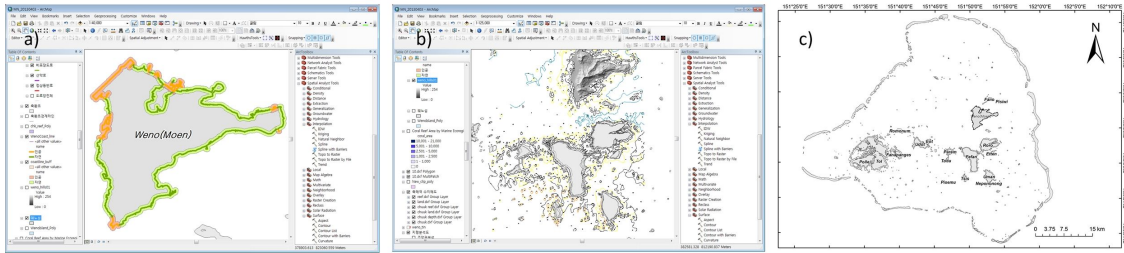


그림 1-3-3. 2013년 추가 제작된 기본도. a) 해안선 유형도 b) 수치지도 c) 축 환 초 기본도.  
 Fig. 1-3-3. Additional basemap in 2013. a) costal line type map b) digital chart map c) Chuuk reef map.

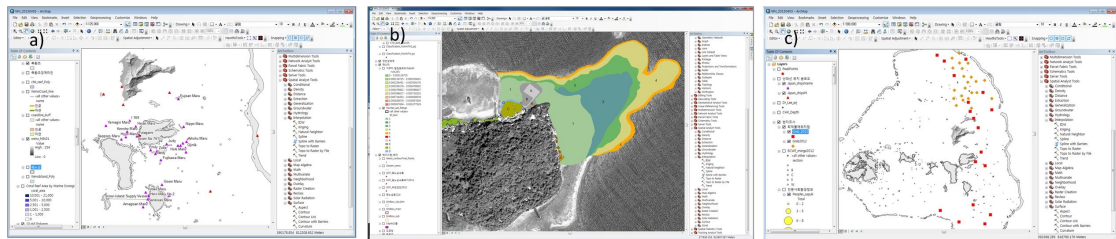


그림 1-3-4. 추가 구축 주제도 a)난파선 위치도, b)산호초 서식지도(Sapuk), c)퇴적물 채취 지점도.  
 Fig. 1-3-4. Additional thematic map in 2013. a) wrackship location map, b) coral reef habitate map in Sapuk, c) sediment sampling station map.

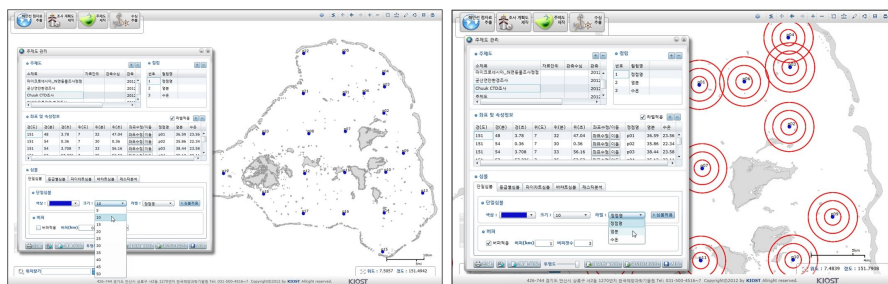


그림 1-3-5. 마이크로네시아 기본도 웹서비스(GFOR) 구성 예시.  
 Fig. 1-3-5. Configuration examples of the Micronesia’s basemap on the KIOST intranet webGIS system named as GFOR.

(다) 공간데이터 구축 목록

2013년도 연구에서는 연구, 조사정보를 가공, 변화한 10여종의 추가 공간데이터를 구축하였으며 세부 내용은 표 1-3-1과 같다. 추후 Chuuk Atlas의 콘텐츠로 함께 구성할 예정이며 양질의 Atlas를 제작하기 위한 지속적인 작업이 진행될 예정이다.

표 1-3-1. 2013년의 축 지역 공간 데이터셋 제작 목록

Table 1-3-1. List of spatial datasets of Chuuk area building in 2013

구 분	No.	항 목	공간범 위	비 고
기본도	1	연방국 도서섬 해안선	FSM	
	2	축환초도	Chuuk	
	3	웨노섬 정밀해안선	Weno	면적산출
	4	등고선도	Weno	등고수치 산출
	5	도로도	Weno	포장,비포장,선악로,등반로 종류별, 총연장 산출
	6	건물도	Sapuk	사북지역의 건물용도별 구분
	7	수집도	Weno	IDW분석레이어
	8	연안 공간관리구획도	Weno	
	9	수계도	Weno	
	10	호소도	Weno	북측 기수역 호안지대
	11	자연해안선	Weno	
	12	인공해안선	Weno	
	13	고해상도 위성컬러영상	Weno	천문연 입수자료 활용(미 입수)
분석도	14	고해상도 위성흑백영상	Weno	KOMPSAT2 흑백영상
	15	주 공간구획도	Weno	1km x 1km
	16	부 간구획도	Weno	0.5km x 0.5km
	17	음영기복도	Weno	
	18	향분석도	Weno	
	19	경사분포도	Weno	
	20	3차원 지형도(DEM)	Weno	
특성도	21	해양생태서식지도	Sapuk	
	22	빵나무 서식분포도	Sapuk	
	23	거주자(인구) 분포도	Sapuk	
	24	상수관정 위치도	Sapuk	
	25	전신주 위치도	Sapuk	
	26	폐차분포도	Sapuk	
	27	웨노섬 주변 경관도	Weno	
	28	축환초대 CTD조사주제도	Chuuk	
	29	산호초 서식지 매핑지도	Sapuk	
	30	난파선 위치분포도	Chuuk	
	31	퇴적물채취 지점도	Weno	2011(19개), 2012(22개)
	32	축 해역 수치해도 일부	Chuuk	사용여부 불투명
	33	정선조사 위치도	Sapuk	사북해안 정선조사 정점
	34	글로벌 산호서식지도	World	산호초서식면적 분포 (외부 공개용 자료)
자료	35	기상정보분석자료	Weno	바람장미도(1년간)

(라) 축 아틀라스 설계

축 아틀라스의 제작 관련 업무는 표 1-3-2와 같이 태평양연구센터와 추진계획을 협의하였으며, 최종발간 시기는 차기년도(2014)에 수행할 예정이다. 또한 각종 관련 문헌자료, 사진자료, 인공위성영상 및 항공사진자료 등을 포함한 공간자료제작콘텐츠를 기반으로 한 축 아틀라스 원고의 구성방안(표 1-3-3) 및 자료목록, 초안원고 샘플 작성 등의 업무를 진행하였다.

표 1-3-2. 지난 미팅 시 아틀라스 제작 추진계획 주요사항

Table 1-3-2. Description of planning to create contents for draft about chuuk's atlas

구분	주요내역
1. 아틀라스 성격규정	과학적 성향의 역사, 환경자료
2. 구성목차	인문사회역사소개 주요연구활동 향후계획
3. 시나리오(스토리 텔링) 작성	태평양 연구팀에서 초안작성(GIS부문 제외)
4. 데이터 담당	오정희, 김윤철, 이수환
5. 초안작성(안)	80p(양면 스프링)-외주 외주전 초안구성(취합구성) : 데이터센터
6. 번역 및 그래픽 작업	태평양 연구센터(최종 감수 포함)

표 1-3-3. 아틀라스 원고 초안 구성안

Table 1-3-3. Configuration for the atlas manuscript draft

구분	분량(pages)	주요내용
도입부1	5pp	인문사회, 역사, 지리정보(GIS콘텐츠) 마이크로네시아~축 역사 및 인문사회관련 소개
도입부2	10 pp	KSORC 연혁(History) 기본연혁에 따른 주요 핵심 이벤트 정리 및 사진과 함께 구성
본론부	40~50 pp	주요연구분야별 간략한 설명(연구실적, 그래프, 표 활용) 분야1, 분야2, 분야3 .....분야n까지 장르별로 구분하여 작성!(그림, GIS콘텐츠 활용)
맺음부	1~2 pp	향후 (연구~협력)계획 이미지메이킹적 도표나 글, 그림으로 구성
기타	1~2 pp	홍보성 페이지나 기타 필요한 용도가 있을 경우 구성

그림 1-3-6은 축아틀라스의 원고초안내용 작성 예시로서 연구조사활동내용과 기 제작한 공

간자료정보, 관련 사진 등을 함께 구성하여 현지에서의 연구수행활동을 좀 더 효과적으로 전달 하고 홍보하기 위한 쏏점으로 작성하고 있다.

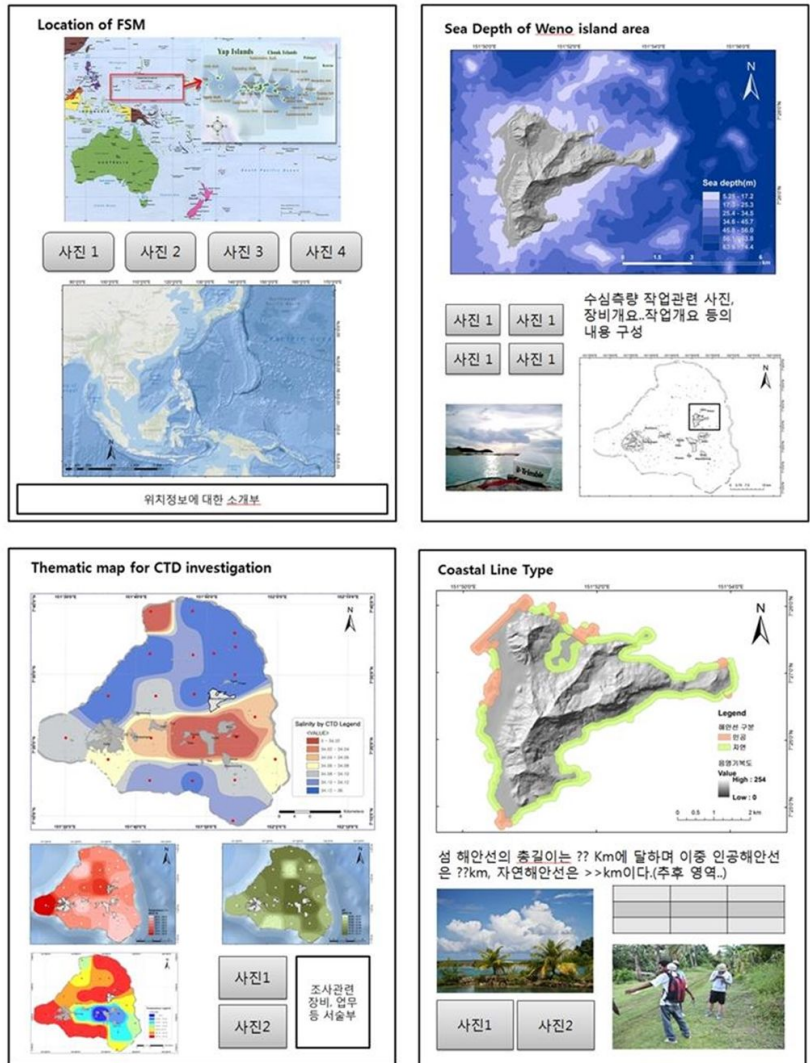


그림 1-3-6. 축 아틀라스 초안 샘플 예.

Fig. 1-3-6. Manuscript examples of Chuuk atlas draft.

## 제 2 절 생태계 감시 및 생물 응용연구

### 1. 열대 미세생물

#### 가. 재료 및 방법

##### (1) 조사 정점

홍수립 주변 해역에서의 박테리아의 유기물 이용성의 공간 분포의 변화 양상을 파악하기 위해 홍수립 주변 7개 정점과 잘피가 발달된 해역의 표층 (정점 SG1과 SG2)에서 엽록소 a, 지시 색소, 초미소식물플랑크톤 개체수 및 박테리아 생산력을 측정하였다(그림 2-1-1). 정점 SG1, SG2, CS와 베네딕트 인근 섬 주변에서는 추가적으로 잠수를 통해 다양한 *Halimeda* 시료를 채취하여, 이들의 다양성을 조사하였고, 또한 잘피 분포 정점에서는 Diving PAM(Walz, Germany)을 이용하여, 잘피의 광합성 변수를 조사하였다.

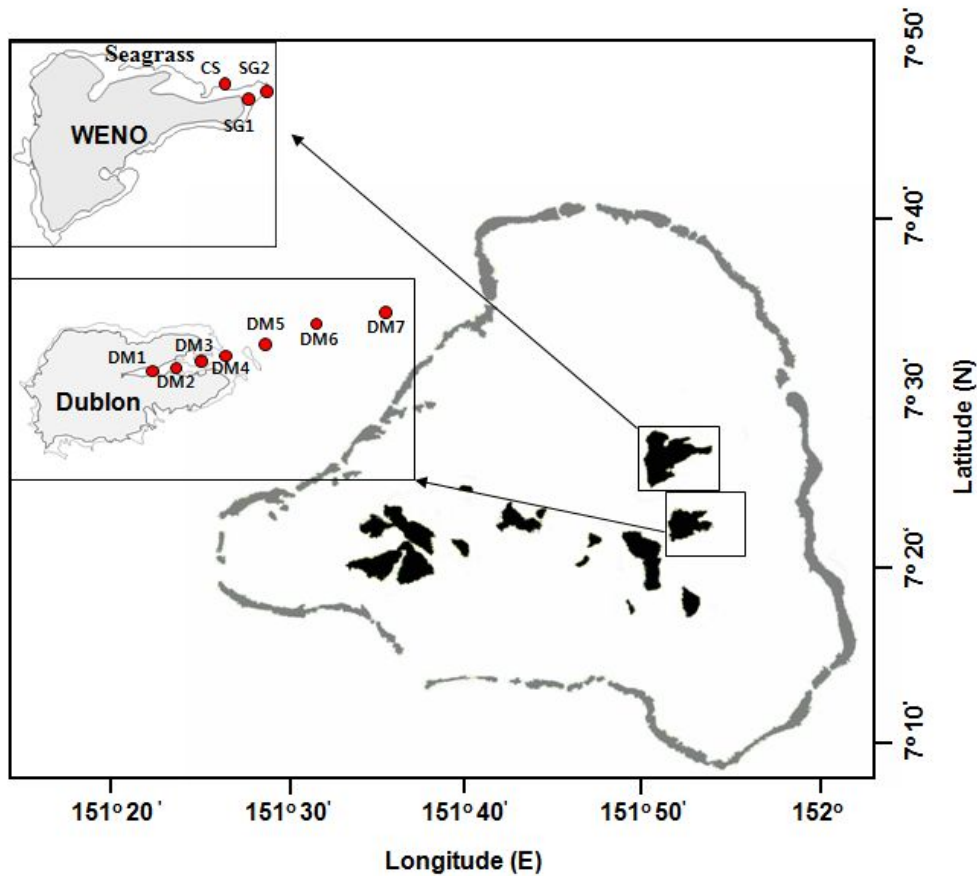


그림 2-1-1. 조사정점을 나타낸 지도.

Fig. 2-1-1. A map showing the sampling stations in June, 2013.

##### (2) 수온, 염분 및 엽록소 a 농도

조사 정점의 수층에서 수온 및 염분은 CastAway CTD (YSI)를 이용하여 측정하였다. 식물플랑크톤의 엽록소 a 측정은 현장에서 채수한 해수 1~2 리터를 직경 47 mm의 GF/F 여과



지로 거른 후 Turner fluorometer (Turner designs model, 10-AU)을 이용하여 형광법으로 정량적인 엽록소 a 값을 구하였다(Parsons et al, 1984).

### (3) 식물플랑크톤 색소

HPLC를 이용한 식물플랑크톤 색소분석은 Zapata et al.(2000)의 방법을 기초로 이루어 졌다. 식물플랑크톤 색소는 Whatman GF/F filter로 거른 후 액체 질소로 냉동 보관하였다. 색소 추출은 실험실에서 시료를 파쇄한 후 3ml의 95% methanol을 넣고 -20°C 냉장고에서 4시간 추출하는 방법을 이용하였다. 추출물에 포함된 식물플랑크톤이나 여과지 조각들을 직경 25mm의 teflon(PTFE) syringe filter(MFS, 0.2  $\mu$ m pore size)를 이용 제거하였다. 색소 peak의 변형을 막기 위해 여과된 추출물 1ml에 증류수(milie-Q water) 400 $\mu$ l를 넣어 잘 혼합하였다. 준비된 시료 200 $\mu$ l를 HPLC system(Shimadzu LC-10A system)에 주입하였으며 색소 분리는 Waters C8 column(150x4.6mm, 3.5 $\mu$ m particle size, 100Å pore size)을 이용하였다. Column 온도는 항온순환기를 이용 25°C를 유지하였다. Chromatogram의 peak에 대한 동정은 표준색소(DHI water & Environment, Hørsholm, Denmark.)의 retention time과 비교하여 결정하였다(그림 2-1-2).

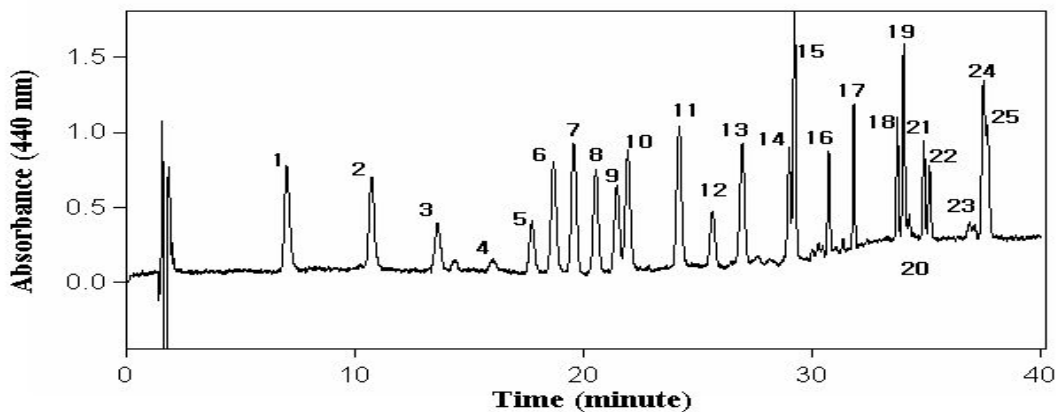


그림 2-1-2. HPLC chromatogram.

Fig. 2-1-2. HPLC chromatogram of an aqueous mixture of pigment standards. Codes to pigment identities are: 1=chl.c3, 2=chl.c2, 3=peridinin, 4=Pheophobide, 5=19'-but., 6=Fucoxanthin, 7=Neoxanthin, 8=Prasincoxanthin, 9=Violaxanthin, 10=19'-hex., 11=Diadinoxanthin, 12= Antheraxanthin, 13= Alloxanthin, 14= Zeaxanthin, 15=Lutein, 16=Cantaxanthin, 17=Gyroxanthin-diester, 18=B-cryptoxanthin, 19=Chlorophyll-b, 20=Echinenone, 21=Divinyl chlorophyll a, 22=Chlorophyll a, 23=Pheophytin a, 24= $\alpha$ -carotene, 25= $\beta$ -carotene.

#### (4) 초미소식물플랑크톤 개체수

측 시료에서 초미소 식물플랑크톤의 개체수는 BD Acury flow cytometer (CA)를 이용하여 측정하였다. 이때, 내부 표준물질로 0.5  $\mu\text{m}$ 와 1.0  $\mu\text{m}$ 의 형광 구슬을 이용하였으며, *Synechococcus*, *Prochlorococcus* 및 광합성 초미소진핵생물(photosynthetic picoeukaryotes)은 forward light scattering (FLS), 엽록소의 적색 형광 및 phycoerythrin의 오렌지 형광의 세기의 차이에 의해 구분하였다.

#### (5) 박테리아 생산력

박테리아 생산력은  $^3\text{H}$ -thymidine 고정법으로 측정하였다(Ducklow et al., 1992). 현장에서 채수된 시료 5 ml을 멸균된 배양 용기에 넣은 후  $^3\text{H}$ -thymidine (Specific activity 84 Ci/mmol)을 최종농도 10 nM이 되도록 넣어 현장온도에서 1-2시간 정도 배양하였다. 배양이 끝난 시료는 최종농도 2%의 중성포르말린을 넣어 배양을 중지한 후, 냉장고에서 15분간 고정하였다. 냉장된 시료를 0.2  $\mu\text{m}$  cellulose nitrate filter (Whatman)에 여과하였으며, 여과지는 5% ice-cold TCA 5 ml씩 3번, 80% ice-cold ethanol로 2번 헹군 후 scintillation vial에 보관하였다. 그 후 ethylacetate 1 ml과 Lumagel<sup>®</sup> 10 ml을 넣어 섬광계수기로 방사능량을 측정하였다. 박테리아에 의한 thymidine 고정율로부터 생산된 박테리아 세포수의 계산은  $1.1 \times 10^{18}$  cells (mol TdR)<sup>-1</sup>의 전환상수를 이용하였으며(Riemann et al., 1987), 탄소량으로의 계산은 20 fg C cell<sup>-1</sup> (Lee & Fuhrman, 1987)의 전환상수를 이용하였다.

#### (6) *Halimeda* 속의 다양성

*Halimeda* 속의 형태 분류는 Verbruggen(2004)의 분류 체계를 이용하였으며 서식지의 환경, 잎의 크기와 모양, 뿌리의 형태 및 부착방법, 성장 형태, 석회질 정도, 뿌리와 접하고 있는 줄기의 형태 및 크기 등 다양한 형태와 생태적 특성을 기준으로 분류하였다. 분자 계통학적 분석을 위해 약 10 cm를 잘라 냉동보관(-70°C)하였다. 냉동된 샘플을 LaboPass™ Tissue mini kit를 이용하여 DNA를 추출하였다. 계통분류학적 분석을 위해 추출된 DNA와 plastid DNA marker인 *tufA* 유전자에 특이적인 primer (표 2-1-1)를 이용하여 PCR로 증폭한 후 염기서열을 분석하였다(Fama, 2002). 얻어진 염기서열은 기존에 알려진 *Halimeda* 속의 *tufA* 유전자 염기서열과 비교 분석되었으며, 계통 분석은 ARB 프로그램(Ludwig, 2004)을 이용하여 수행되었다.

표. 2-1-1. 이 연구에 이용된 Oligonucleotide 프라이머

Table 2-1-1. Oligonucleotide primers used in this study

Name	Sequence (5'→3')	T <sub>anneal</sub> (°C)	References
tufAf (forward)	TGAAACAGAAMAWCGTCATTATGC	52	Fama et al. 2002
tufAr (reverse)	CCTTCNCGAATMGCRAAWCGC		

(7) 잘피의 개체별 광합성 변수의 변화

바닥에서 표면에 이르는 잘피의 형태와 부착성 조류가 잘피에 미치는 영향을 알아보기 위해 Diving Pam을 이용해 현장과 실험실에서 양자수율과 최대 전자 전달율(ETR, electron transfer rate)을 측정하였다. SG1정점에서 임의의 3개의 개체에서 엽체가 시작되는 지점으로 부터 약 10cm 간격으로 실험을 진행하였다. dark leaf clip을 이용해 10분 동안 암 적응시켜 현장에서 상대적인 양자수율을 측정하여 최대 전자 전달율을 구하였다. 옆체의 표면에 부착한 부착조류의 일차생산력에 대한 기여도를 파악하기 위해 1개 개체(148cm)를 실험실 수조로 옮긴 후 약 10cm간격으로 dark leaf clip을 이용해 15분 동안 암 적응시켜 상대적인 양자 수율을 측정하고, 표면을 닦아 물리적으로 부착성 조류를 최대한 제거한 후 위와 동일한 방법으로 측정하였다. SG1 정점의 1m<sup>2</sup>의 잘피 생산력을 측정하기 위해 무작위로 잘피를 선택한 후 수직적으로 엽체의 양자 수율과 전자 전달율을 측정하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 수온 및 염분

조사 정점의 표층에서 수온은 28.9~32.5°C의 범위로 약 3°C의 변이를 나타내었다(그림 2-1-3). 홍수립 주변 해역에서는 28.9~29.7°C 범위로 비교적 낮았으나, 잘피 해역에서는 30.6~32.5°C로 비교적 높은 값을 보였는데, 수심이 얇은 잘피 해역에서 낮 동안 태양열에 의해 표층 해수의 수온이 증가한 것으로 보인다. 염분은 홍수립 내만에 정점들에서 28.5~33.8 psu로 낮았으나, 외측과 잘피 해역에서는 33.9~34.2 psu 범위를 나타내 비교적 높았다. 특히, 홍수립 내만에서 외측으로 가면서 염분이 증가하는 양상이 나타나 홍수립 내만에서 담수의 영향이 뚜렷하게 나타났다.

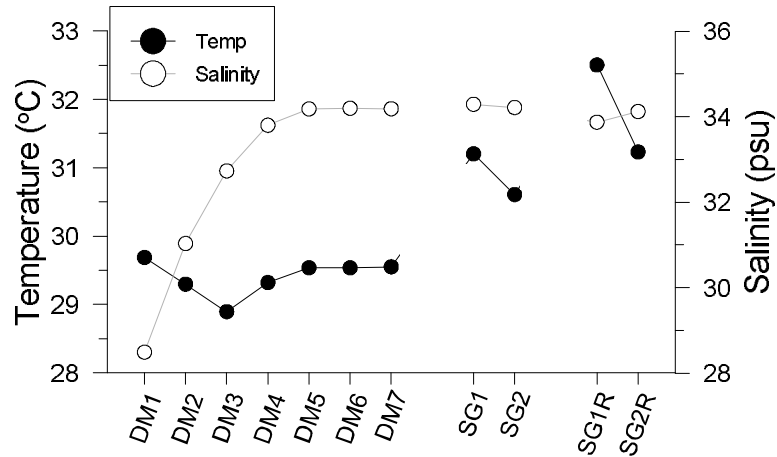


그림. 2-1-3. 각 조사정점의 표층 수온 및 염분.

Fig. 2-1-3. Temperature and salinity measured at surface water of each station.

(2) 엽록소 a의 분포

홍수림 주변과 잘피 해역에서 총엽록소 a의 농도는  $0.2 \sim 2.6 \mu\text{g l}^{-1}$  범위로 정점에 따라 약 10배의 변이를 나타내었다(그림 2-1-4). 정점별로는 홍수림 내만에서  $2.1 \mu\text{g l}^{-1}$  이상의 높은 값을 나타내었으며, 이후 외측으로 가면서 급격히 감소하여 외측에서는  $0.2 \mu\text{g l}^{-1}$ 의 수준까지 낮아졌다. pico-fraction에서의 엽록소 a의 기여도는 홍수림 내만에서 24~33%의 값을 보여, 외측에서 측정된 64~99%에 비해 매우 낮았다. 이는 홍수림 내만에서 주로  $3 \mu\text{m}$  이상의 비교적 큰 크기를 갖는 식물플랑크톤이 중요하며, 내만의 엽록소 a 농도 증가에 이들 식물플랑크톤 생물량의 기여도가 큼을 시사한다. 이는 영양염의 공급이 많고 재순환이 빠른 홍수림 내만 해역에서 이들 큰 크기의 식물플랑크톤들이 초미소식물플랑크톤에 비해 성장에 유리하였기 때문으로 파악된다. 반면, 외측에서는 영양염의 농도가 상대적으로 낮아, 낮은 수준의 영양염의 흡수에 유리한 작은 초미소 플랑크톤이 절대적으로 우점하는 것으로 나타났다. 잘피 해역의 수층에서 측정된 엽록소 a도  $0.2 \sim 0.6 \mu\text{g l}^{-1}$ 의 범위를 나타내어 라군 수역과 유사하거나 다소 높았다(그림 2-1-4). 그러나, 초미소플랑크톤의 기여도는 20~57%로 라군내 수층에서 보다 낮은 범위의 값을 나타내었는데, 이는 잘피 해역이 초미소플랑크톤 보다 큰 크기의 식물플랑크톤의 비중이 높으며, 잘피 해역에서 빠른 영양염 순환이 큰 크기의 식물플랑크톤의 성장에 유리하였기 때문으로 여겨진다.

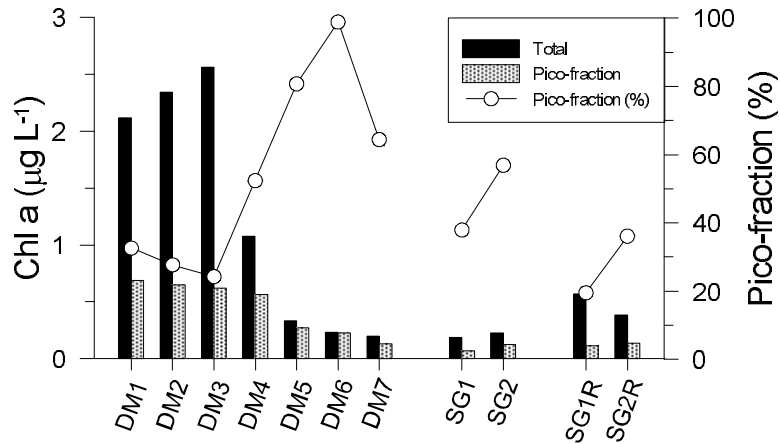


그림. 2-1-4. 각 조사정점의 Pico-fraction 과 chlorphyll a 농도.

Fig. 2-1-4. Total and pico-fraction (<3.0 µm) chlorophyll a (Chl a) concentrations measured at surface water of each station.

### (3) 초미소식물플랑크톤의 개체수

조사 해역에서 3.0 µm 이하의 크기를 갖는 초미소식물플랑크톤 중 *Synechococcus* 개체수는 2.2~16.2 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 범위로 가장 높은 개체수를 보였다(그림 2-1-5). 정점별로는 홍수립 내만과 인접 정점에서 11.2 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 이상의 높은 값을 나타냈으며, 외측으로 가면서 감소하는 경향을 나타내었다. 잘피 해역에서는 2.2~6.7 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 범위로 전형적인 라군 수역인 정점 DM6과 DM7에서보다 다소 낮은 값을 보였다. 광합성 초미소진핵생물의 개체수는 0.2~2.7 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 범위로 *Synechococcus* 보다 약 10배 정도 낮은 개체수를 보였으나, 홍수립에서 멀어지면서 감소하는 양상을 나타내어 *Synechococcus*와 유사한 공간 변화 양상을 보였다(그림 2-1-5). 잘피 해역에서는 0.2~0.6 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 범위로 라군 수역인 정점 SM6과 SM7에서의 값과 유사한 범위의 값을 나타내었다. *Prochlorococcus*의 개체수는 *Synechococcus* 및 광합성 초미소진핵생물과는 대조적인 양상이 나타났다(그림 2-1-4). 홍수립 내만과 인접한 정점에서는 1000 cells ml<sup>-1</sup> 이하의 매우 낮은 값을 보였으나, 외측으로 가면서 3.2 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup>로 크게 증가하는 양상을 보였는데, 이는 빈영양 열대 환경에서는 가장 우점하나 연안 환경에서는 거의 나타나지 않는 생물지리적 분포 양상과 일치하는 결과이다. 한편, 잘피 해역에서의 개체수도 0.2~0.4 x10<sup>4</sup> cells ml<sup>-1</sup> 범위로 전형적인 라군 수역에서 나타난 값보다 약 10배 정도 낮은 값을 보였다. 이상의 결과는 영양염의 공급과 순환이 활발한 홍수립 해역이 미소플랑크톤 이상의 큰 크기의 식물플랑크톤과 *Synechococcus*와 광합성 초미소진핵생물의 성장에 우호적인 환경이 조성되지만, 상대적으로 큰 크기의 식물플랑크톤의 성장이 상대적으로 더 유리한 것으로 보인다.

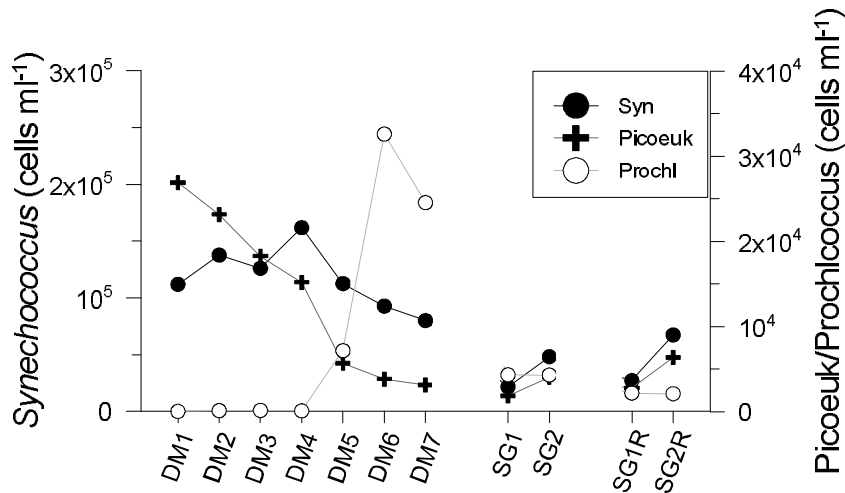


그림 2-1-5. 각 조사점의 초미소식물플랑크톤 개체수.

Fig. 2-1-5. Picophytoplankton abundances measured at surface water of each station.

#### (4) 식물플랑크톤 색소

HPLC를 이용한 식물 플랑크톤 지시색소의 정점별 농도 분석 결과 Fucoxanthin, Peridinin, Alloxanthin, Zeaxanthin, chlorophyll-b과 같은 지시색소는 홍수립 내만에서 외측으로 가면서 감소하는 추세를 보였다(그림 2-1-6). 반면, *Prochlorococcus*를 지시하는 지시색소인 divinyl chlorophyll a는 홍수립 내만에서 검출되지 않았지만 측 라군 수역 정점인 DM5, DM6, DM7에서 67.0~75.0 ng  $\ell^{-1}$ 로 비교적 높게 검출되었다. 잘피 해역에서 divinyl chlorophyll a는 정점 DM5, DM6, DM7에 비해 낮게 나타난 반면 Fucoxanthin, Peridinin, Alloxanthin과 같은 지시색소는 높게 나타났다. 홍수립 내만에서 규조류 지시색소인 Fucoxanthin은 내만 정점인 DM1과 DM2에서 약  $1.0 \times 10^3$  ng  $\ell^{-1}$ 로 정점 DM5, DM6, DM7에 비해 약 100배 이상 높게 나타났다. 후각편모조류 및 일부 와편모조류를 지시하는 지시색소인 19'-Hexanoyloxyfucoxanthin은 정점 사이에 경향성을 나타내지 않았으나, 홍수립과 라군 수역 경계 정점인 DM4에서 33.8 ng  $\ell^{-1}$ 로 비교적 높게 검출되었다. 식물플랑크톤 지시색소 결과를 살펴봤을 때 영양염 공급과 순환이 활발한 홍수립 내만 정점에서 와편모조류, 규조류, 후각편모조류, 황색편모 조류, 은편모조류, 녹조류등의 생물군이 외측 정점에 비해 높은 생물량을 보이는 반면, *Prochlorococcus*는 홍수립 내만에 비해 외측 수역에서 높은 생물량을 나타내는 것으로 추정되었다. 잘피 해역은 초미소 남세균의 색소량이 라군 수역에 비해 낮게 나타난 반면, 상대적으로 크기가 큰 식물 플랑크톤인 와편모조류, 규조류, 은편모조류 등의 색소량이 높게 나타나 상대적으로 크기가 큰 식물플랑크톤이 우점하는 환경으로 나타났다.

(5) 박테리아 생산력

박테리아 생산력은  $0.8 \sim 105.6 \mu\text{g C } \ell^{-1} \text{ d}^{-1}$  범위의 값을 보여 정점에 따라 100 배 이상의 큰 차이를 나타내었다(그림 2-1-7). 홍수립 내만에서는  $85.7 \sim 105.6 \mu\text{g C } \ell^{-1} \text{ d}^{-1}$  범위로 다른 정점에 비해 매우 높은 값이 나타났으며, 만 입구에서부터 외측으로 가면서 급격히 감소하는 양상이 나타나, 홍수립 해역으로부터 박테리아가 이용 가능한 유기물의 공급이 매우 크며, 이 해역에서 박테리아에 의한 유기물의 이용과 이를 통한 재무기화 과정이 매우 활발히 일어날 가능성을 시사하였다.

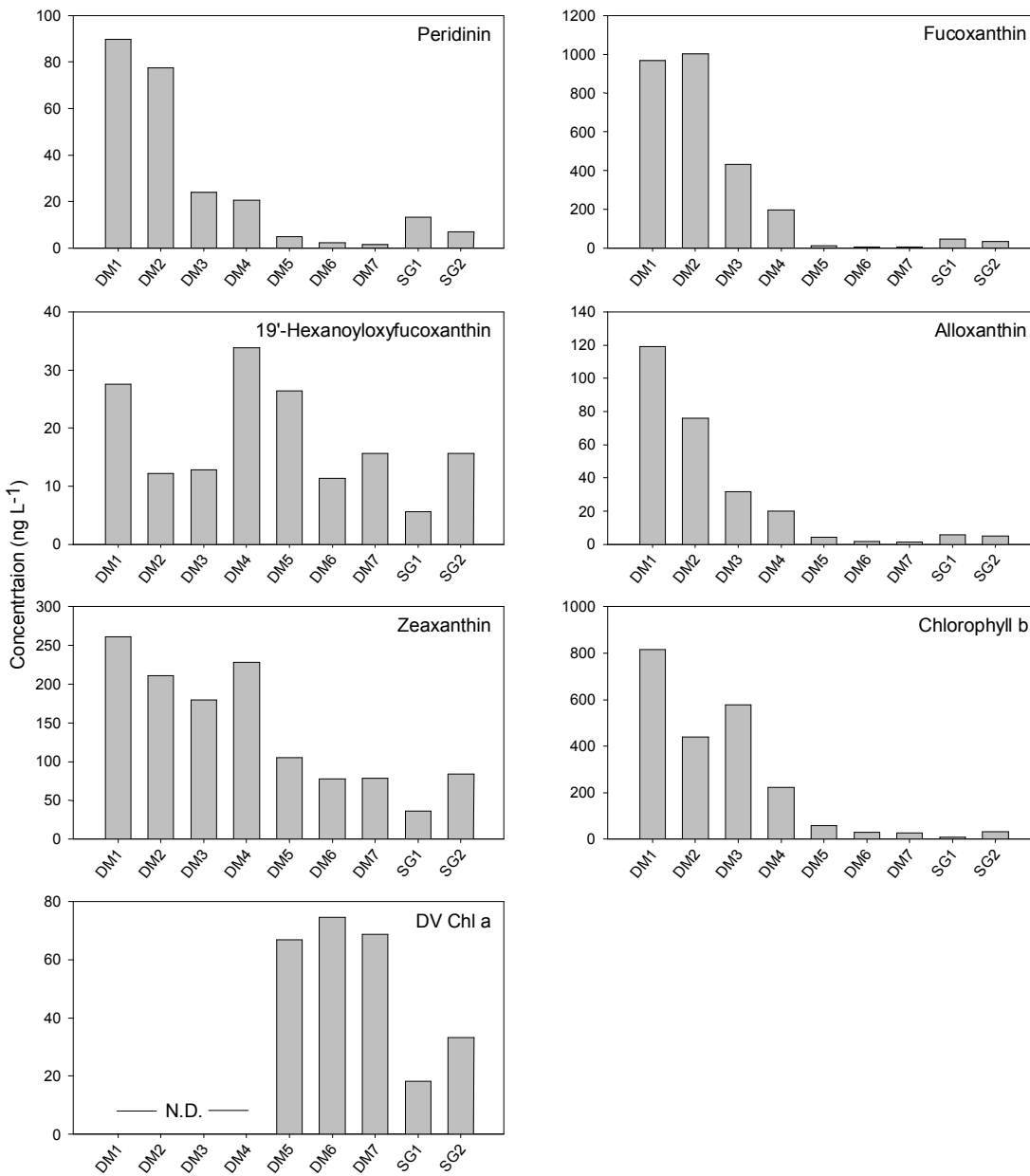


그림 2-1-6. 표층 식물플랑크톤 지시색소 농도.

Fig. 2-1-6. Phytoplankton indicator pigment distribution for surface water.

한편, 잘피 해역에서도 박테리아 생산력은 정점 DM6과 7에 비해 수십 배 높은 값을 보였는데, 이는 잘피로부터의 유기물의 분비, 서식 동물로부터의 유기물 배설, 죽은 잘피의 분해 과정에서 공급된 유기물 등의 영향으로 박테리아의 성장이 촉진된 결과로 여겨지나, 각각의 과정의 중요성을 판단하기 위해서는 용존유기물의 공급원에 대한 면밀한 조사가 필요할 것으로 여겨진다. 그러나, 공간적으로 매우 인접한 잘피 해역에서도 약 10배의 생산력 차이가 나타났는데, 이러한 차이는 주변 라군수와의 혼합 및 입자 부착성 박테리아의 기여도가 영향을 미쳤을 것으로 판단된다.

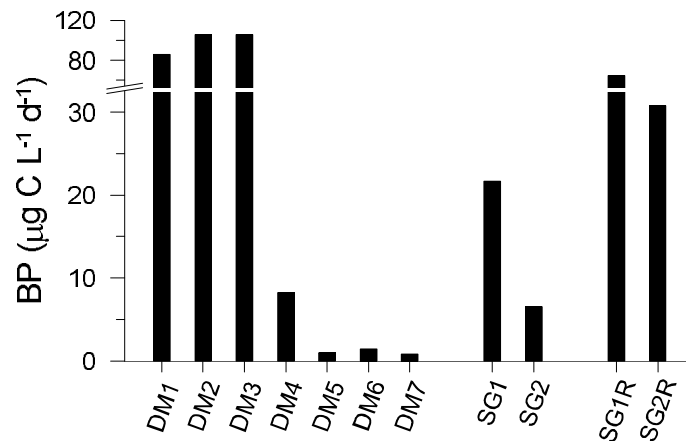


그림 2-1-7. 각 조사정점 표층의 박테리아 생산력.

Fig. 2-1-7. Bacterial productions (BP) measured at surface water of each station.

#### (5) *Halimeda* 속의 다양성

*Halimeda* 속의 다양성 연구 결과 분자계통학적 분석과 형태 분석을 통해 11종의 *Halimeda* 속이 분포하고 있음이 밝혀졌다(표 2-1-2). 수심이 낮은 산호 및 산호사 해역에는 *H. discoidea*, *H. melanesia*, *H. macrophyta* 3종이 분포하였다. 이들 종의 형태는 뿌리를 가지지 않고 산호에서 솟아난 듯 줄기만 있는 형태를 나타냈다(그림 2-1-8). 수심이 얇은 잘피 수역에선 *H. cylindracea*, *H. macroloba*, *H. borneensis*, *H. opuntia* 4종이 분포하였다. 이들 종은 통통한 뿌리를 가졌으며, 잎은 길쭉하거나 콩팥 모양을 나타냈다. 간혹 작은 잎들이 모여 큰 덩어리를 만들며 수염뿌리를 가지는 종도 있었다(그림 2-1-9). 수심 10~15m의 암반 지역에선 *H. lacunalis*, *H. gigas*, *H. distorta*, *H. cylindracea*, *H. sp.* 5종이 분포하였다(그림 2-1-10). 이들 중 H4-2 시료의 경우 형태적으로 보았을 때 *H. magnidisca*와 유사하고 *H. lacunalis*와 확인한 차이를 보였으나, 분자계통학적으로는 *H. lacunalis*로 나타나, 추후 내부구조를 포함한 보다 정밀한 분석을 통해 차이를 확인할 필요성이 있는 것으로 사료된다. 한편, 분자계통학적으로 *H. borneensis* 로 확인된 H11 시료의 경우 기존에 미크로네시아 연방 내에서 출현이 보고된 적이 없으나 이번 조사를 통해 출현이 확인되었다. 문헌에 따르면 형태적으로 *H. borneensis* 와 *H. simulans*의 차이를 찾을 수 없으나 분자생물학적 접근을 통해 *H. borneensis* 는 남서태



평양에서 출현하는 것으로 보고되었고, *H. simulans* 는 카리브해와 일부 인도양에 출현한다고 보고되었다. *H. simulans* 는 축, 폰페이, 코스레 등 미크로네시아 연방에서 출현이 확인된 것으로 판단했을 때 인도양과 남서태평양 사이에 위치한 지정학적 특성을 고려해 추후 연구가 진행될 필요성이 있다. 축 해역에서 다양성 연구 결과를 통해 서식지와 수심에 따라 *Halimeda*의 종 분포가 다름을 확인하였으며, 생태적 특성을 파악하기 위해서는 종 분포, 생체량 등에 대한 추가적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

표 2-1-2. 이 연구에서 관찰된 *Halimeda* species

Table 2-1-2. *Halimeda* species found in this study

Sampling site	Sample name	<i>tufA</i> phylogeny	Morphology
Seagrass area (SG1, SG2)	H1	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H2	<i>H. macroloba</i>	<i>H. macroloba</i>
	H3	<i>H. macroloba</i>	<i>H. macroloba</i>
	H4	<i>H. macroloba</i>	<i>H. macroloba</i>
	H5	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H6	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H7	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H8	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H9	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H10	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
	H11	<i>H. borneensis</i>	<i>H. borneensis</i>
	H12	<i>H. macroloba</i>	<i>H. macroloba</i>
	H13	<i>H. opuntia</i>	<i>H. opuntia</i>
Rocky area (CS)	H2-2	<i>H. gigas</i>	<i>H. gigas</i>
	H3-2	<i>H. distorta</i>	<i>H. distorta</i>
	H4-2	<i>H. lacunalis</i>	<i>H. magnidisca</i>
	H5-2	<i>H. sp.</i>	<i>H. distorta</i>
	H6-2	<i>H. cylindracea</i>	<i>H. cylindracea</i>
Coral and sand area	H1-1	<i>H. discoidea</i>	<i>H. discoidea</i>
	H2-1	<i>H. melanesica</i>	<i>H. melanesica</i>
	H3-1	<i>H. macrophysa</i>	<i>H. macrophysa</i>



그림 2-1-8. 산호와 모래 지역 *Halimeda*.

Fig. 2-1-8. *Halimeda* species in a coral and sand area (1: H1-1, 2: H2-1, 3: H3-1).

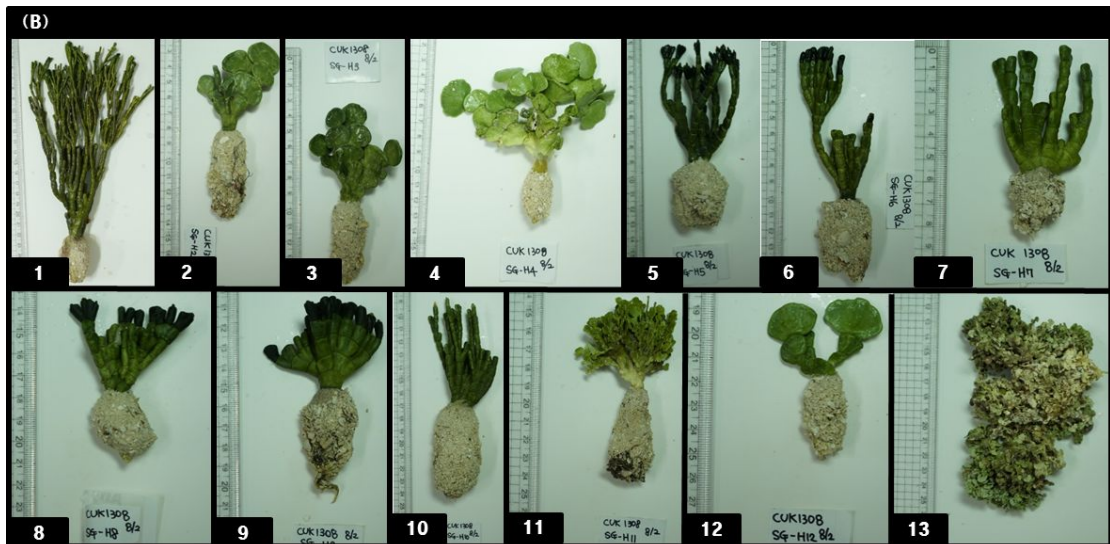


그림 2-1-9. 갈피지역 *Halimeda*.

Fig. 2-1-9. *Halimeda* species in seagrass areas (1: H1, 2: H2, 3: H3, 4: H4, 5: H5, 6: H6, 7: H7, 8: H8, 9: H9, 10: H10, 11: H11, 12: H12, 13: H13).



(6) 잘피의 개체별 광합성 변수의 변화

(가) 잘피 엽체의 위치에 따른 최대 전자 전달율 분포

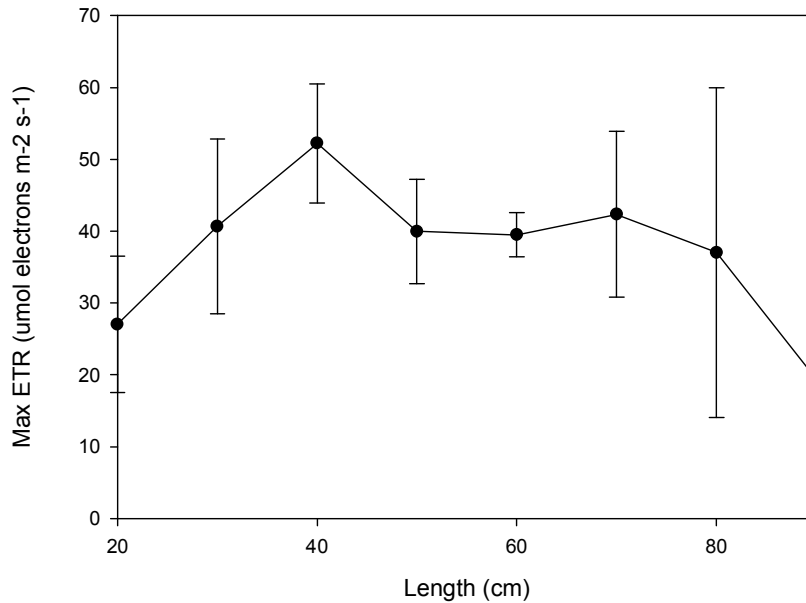


그림 2-1-12. 잘피 엽체의 위치에 따른 최대 전자 전달율.

Fig. 2-1-12. Maximum electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip.

현장에서 측정한 잘피 엽체의 위치에 따른 최대 전자 전달율은 하부로부터 40 cm 높이까지 증가하는 경향을 나타내었다(그림 2-1-9). 최대값은 40cm부근에서 약  $50 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이었으며 엽체의 말단 부분에서  $20 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  이하로 낮아졌다. 개체간에 변이가 크게 나타나, 위치에 따른 최대전자전달율은 통계적으로 유의하지는 않았다.

(나) 잘피 엽체에 부착성 조류가 미치는 영향 연구

실험실 수조에서 부착성 조류를 제거하기 전과 후에 최대 전자 전달율을 측정한 결과 엽체가 시작되는 0 cm에서 부착성 조류가 부착하기 시작하는 60cm 까지는 서서히 증가하는 경향을 보였다. 약 20~60cm 구간에서  $44.8 \pm 3.3 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 를 유지하지만, 조류의 부착이 뚜렷한 60cm 이후 구간에서는 최대 전자 전달율이  $77.4 \pm 15.8 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 증가하였다(그림 2-1-9). 부착성 조류를 물리적으로 제거할 때 최대 전자 전달율은 0~60cm 구간에서는 큰 차이를 보이지 않지만 60 cm 상부에서는  $39.8 \pm 6.2 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 제거 전에 비해 약  $37.6 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  감소하였다. 이러한 경향을 봤을 때 부착성 조류를 물리적으로 제거한 잘피의 전체 평균 최대 전자 전달율은 약  $38.9 \pm 7.9 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 제

거 전 최대 전자 전달율인  $52.4 \pm 20.6 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에 비해  $13.6 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  감소가 나타났다. 이로부터 잘피 표면에서 잠재적인 광합성 능력을 의미하는 상대 전자 전달율의 25.6%를 부착성 조류가 기여하는 것으로 추정할 수 있었으며, 부착성 조류가 확연하게 증가하는 60 cm 상부에서는 전자 전달율의 48.6%를 부착성 조류가 기여하는 것으로 추정되었다. 조류의 부착이 심한 잘피의 경우, 최대  $104.0 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 값을 보여, 부착성 조류가 제거된 잘피에 비해 약  $67.3 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 높게 나타나기도 하였다. 70 cm 이후 구간을 살펴보면 잘피 엽상체 말단 부분의 조직이 붕괴되며 최대 전자 전달율에 잘피가 기여하던 비중이 사라지면서 급격히 감소하는 경향을 보이는 특징이 나타났다. 이는 잘피로부터 기인하는 생산력의 48~56%가 부착성 조류의 생산력으로 기인한다는 기존의 논문과 유사한 결과를 보여(Morgan, 1980), Diving PAM이 잘피의 생산력을 연구하는데 매우 효과적으로 이용될 수 있음을 보여주었다.

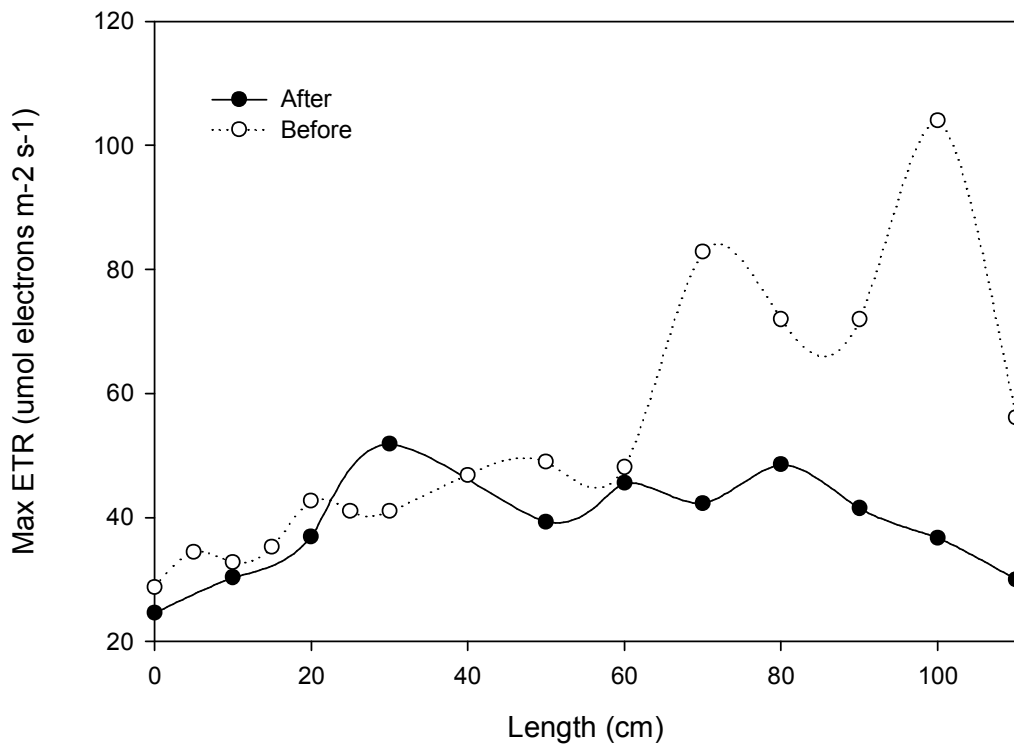


그림 2-1-13. 부착성 조류 제거 전후 잘피 엽체의 최대 전자 전달율.

Fig. 2-1-13. Maximum electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip, before and after removed fouling species.

(다) Diving Pam을 통한 잘피말 생산력 측정

단위 면적당 잘피 생산력을 측정하기 위해 현장에서 무작위로 잘피를 선택하여 수심에 따라 양자 수율과 상대 전자 전달율을 무작위로 측정하였다. 10시 이후 15개 개체 103회 측정 결과 광량은 평균  $607 \pm 117 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났는데, 표층에서 최대  $1443 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  이었고, 하부에서 최소  $117 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  로 나타났다. 양자 수율은 평균  $0.35 \pm 0.11$ 로 최대 0.64, 최소 0.11로 나타났다. 상대 전자 전달율은 평균  $103.2 \pm 24.5 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  로 최대  $253.83 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 최소  $24.51 \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났다. 이 때  $1 \text{ m}^2$  방형구 안의 잘피를 제거한 후 측정한 잎의 면적은  $0.58 \text{ m}^2$  이었다. 이들 값과 식물의 광학적 반응식(이론적으로  $4 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  는  $1 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 를 발생,  $\text{O}_2/\text{ETR}=0.25$ )을 이용할 때, 잘피 잎의 면적당 산소 발생율은  $25.8 \pm 6.1 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 으로 추정되었다.  $1 \text{ m}^2$  안의 잘피 잎 면적을 고려할 때, 10시 무렵 이로부터 기인하는 산소 발생량은 약  $15.0 \pm 3.6 \mu\text{mol O}_2 \text{ s}^{-1}$ 로 나타났으며,  $\text{O}_2$  발생과  $\text{CO}_2$  고정은 1:1을 가정할 때,  $1 \text{ m}^2$  안의 잘피밭에서 기인하는  $\text{CO}_2$  고정은  $15.0 \pm 3.6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 나타났다. 부착성 생물이 잘피에 미치는 영향과 잘피밭으로부터 기인하는 이산화탄소 고정을 토대로 추가적인 연구를 통해 열대 해역 연안 잘피밭의 생리적 특성과 라군 생태계에 미치는 영향을 연구할 수 있을 것이다.

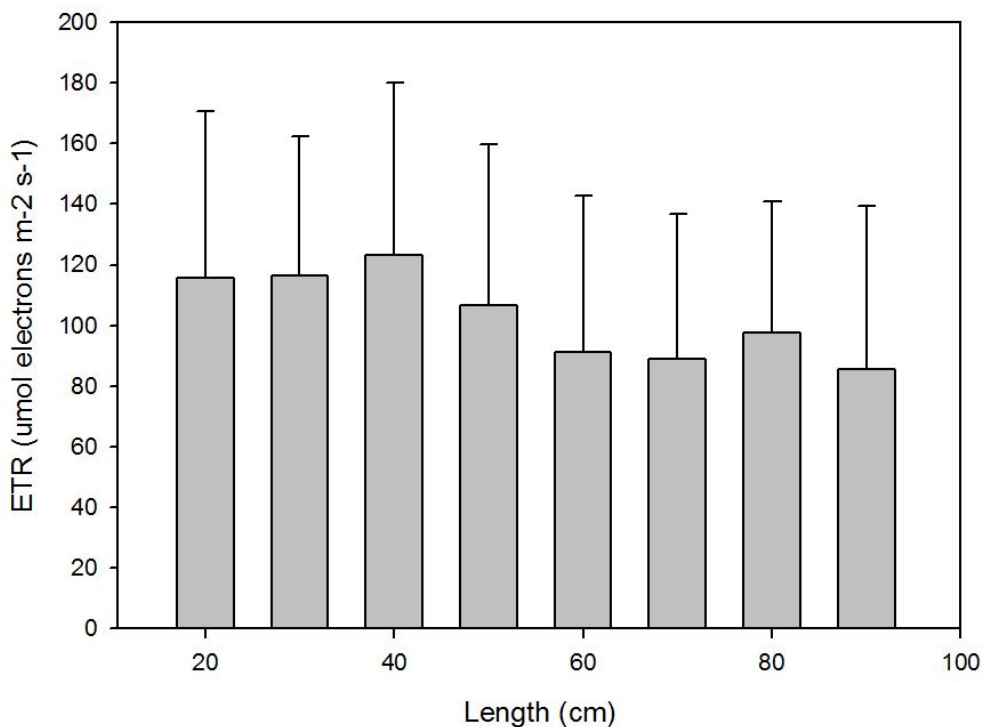


그림 2-1-14. 잘피 엽체의 양자 수율과 상대 전자 전달율.

Fig. 2-1-14. Electron transfer rate measured at seagrass leaf blade from the ligule to leaf tip at Staton SG1.

## 2. 산호 다양성 및 MPA

### 가. 재료 및 방법

#### (1) 조사 지역

조사지역은 태평양 적도 부근에 위치한 마이크로네시아 연방국(Federated States of Micronesia) 측 환초(Chuuk Atoll) 내에 위치한 웨노섬(Weno Island) 연안을 대상으로 하였다. 마이크로네시아 연방국은 측(Chuuk), 코스래(Kosrae), 폰페이(Pohnpei), 얍(Yap) 4개의 주로 이루어져 있고, 607개의 화산섬과 산호섬, 그 외의 크고 작은 무인도가 존재한다. 측 주는 15개의 주요 섬과 250여개의 크고 작은 섬으로 이루어져 있다. 측 주에 속한 측 환초는 둘레가 225km로 남서태평양에서 가장 오래 전에 형성된 환초이며, 환초 내에는 11개의 큰 섬이 위치하고 있다. 연안 기수역에는 맹그로브 군락이 분포하고, 연안에는 잘피밭과 산호초가 발달한 열대 지역의 서식지 특성을 가지고 있다. 또한, 이 지역 연평균 기온은 27°C이고, 연평균 수온은 28-29°C이며, 연평균 강수량은 3,000 mm로 열대기후 특성을 가진다. 조사지역은 해안선 주변에 모래가 퇴적되어 잘피밭이 형성되어 있고, 리프에는 산호초가 발달된 웨노섬(Weno Island) 북동부 연안 베네딕 리프(Benedict Reef)와 태평양해양연구센터 앞에 형성된 리프(KSORC House Reef)를 대상으로 하였다(그림 2-2-1).



그림 2-2-1. 웨노섬 북동부 연안 서식지 모니터링을 위한 영구 지선 (노란선; 리프 조사지선, 빨간선; 잘피 조사지선) (Kompsat-2 위성영상, 2013).

Fig. 2-2-1. Permanent Transects around Weno Island for coastal habitat monitoring (Yellow Lines; Transects for Coral Reef monitoring, Red Lines; Transects for Seagrass Beds monitoring).

## (2) 연안 지형 및 서식지 특성

축 환초 내에 위치한 11개의 섬 연안에는 맹그로브숲이 분포하고, 파도의 영향을 받는 리프에는 산호초가 광범위하게 발달되어 있으며, 그 사이 연안 모래지역에는 잘피밭이 형성된 열대해안의 서식지 특성을 가지고 있다. 조사지역인 웨노섬 또한 동일한 서식지 특성을 가지는 거초(fringing reef) 형태의 지형을 가지고 있다(김 등 2013). 지형에 따라 구분하면 해안선 주변에 형성되는 호(moat), 이어지는 평평한 리프평원(reef flat), 파도와 만나는 지점에 형성된 리프언덕(reef crest), 언덕부에서 라군으로 이어지는 곳에 형성된 리프경사(reef slope)로 나누어지며, 해안선에서 리프까지 거리는 짧게는 300 m에서 길게는 1000 m 까지이다.

## (3) 연구방법

웨노섬 연안 수중 서식지인 산호초와 잘피 지역 공간 분포를 모니터링하기 위하여 아세안-호주 연안 자원 평가를 위한 프로젝트(ASEAN-Australia Living Coastal Resources project)에서 제시한 방법을 따랐다(Hill and Wilkinson 2004). 잘피 서식지와 산호초 서식지를 나누는 기준은 2013년 진행된 웨노섬 해안 서식지 맵핑 자료를 기반으로 하였고, 각 서식지 특성에 맞게 조사방법이 적용되었다.

### (가) 산호초 서식지

산호초 지역 모니터링을 위해 해안선과 수평하게 20 m X 2 지선을 설치하여 LIT(Line Intercept Transect)에 의해 서식지 분포를 확인하는 것으로 이 방법은 육상 생태계 조사에서 활용된 방법을 응용한 것이다(Loya 1972). 산호초 경사면을 따라 리프 안쪽(back reef), 리프 언덕(reef crest), 리프 경사면(reef slope)에 조사 지선을 설치하고, 서식지 분류 기준에 따른 길이의 합을 전체 길이에 대비하여 백분율로 환산하여 분포 정도를 산출하였다.

$$\text{Percent cover} = \frac{\text{Total length of category}}{\text{Length of transect}} \times 100$$

### (나) 잘피 서식지

잘피 서식지 모니터링을 위해 해안선과 수평하게 20 m X 2 지선을 설치하였다. 장기 모니터링을 위해 0.5 m X 0.5 m 방형구를 5 m 단위로 4반복 설치하여 수중카메라(S100, Canon)로 사진촬영을 실시하여 영상을 확보한다. 각 방형구내 소방형구 0.1 m X 0.1 m 내에 존재하는 잘피, 해조류 등의 피도를 Saito와 Atobe(1970)가 제시한 등급으로 나누어 합산한 후, 전체 분포 정도를 산출하였다(표 2-2-1).



표 2-2-1. 잘피 분포 면적 계산을 위한 기준과 수식

Table 2-2-1. Criteria and formula for Seagrass coverage calculation

Class	Amount of substratum covered	% substratum covered	Mid point % (M)
5	1/2 to all	50 - 100	75
4	1/4 to 1/2	25 - 50	37.5
3	1/8 to 1/4	12.5 - 25	18.75
2	1/16 to 1/8	6.25 - 12.5	9.38
1	less than 1/16	< 6.25	3.13
0	about	0	0

$$Coverage(\%) = \frac{\sum (M_i \times f_i)}{\sum f}$$

$M_i$  = mid point percentage of Class i

$f$  = frequency (number of sectors with the same class of dominance (i))

(다) 서식지 분류 코드

웨노섬 연안 서식지 대상분포 모니터링에서 사용되었던 분류 코드를 적용하였다(한국해양과학기술원 2013). 이 방법은 호주해양국, 리프чек, GCRMN 등에서 제시한 분류를 현지 서식지 특성에 맞게 재조정 한 것으로 잘피를 해조류에서 따로 분리하여 잘피 서식지 조사에도 적용시킬 수 있도록 조정하였고, 해조류 분류를 세분화하였다(표 2-2-2).

① 무생물 (Abiotic)

- 무생물 기질에 해당되는 분류로 모래(Sand), 죽은 산호파편(Rubble), 죽은 산호(Dead Coral), 암반(Rock)이 포함되어 있음. 산호파편은 크기가 0.5cm ~ 15cm 이하이며, 때조류와 석회조류 등이 가입되지 않은 상태임. 죽은 산호는 돌산호가 폐사하여 흰색 또는 황백색을 띠.

② 산호 (Coral)

- 산호는 기질인 동시에 서식지 역할을 하는 무척추동물로 탄산칼슘 외골격을 가지는 돌산호(Hard Coral)와 조직에 골편을 가지는 연산호(Soft Coral)로 구분됨. 돌산호는 가장 많은 종수를 포함하는 Acropora(속 수준)와 나머지 종을 Non Acropora로 구분하였고, 성장형에 따라 다양하게 나누어짐.

③ 해조류 (Algae)

- 해조류는 광합성을 하는 식물로 대형 갈조류, 녹조류, 홍조류로 나누어지며, 특히, 때조류(Turf Algae), 석회조류(Coralline Algae), 할리메다(Halimeda)는 세분화 함.

④ 잘피 (Seagrass)

- 잘피는 해조류와 같이 광합성을 하기 때문에 일반적으로 해조류로 분류되지만 해조류와 달리 현화식물이고, 이번 연구에서는 동일한 분류표로 모니터링하기 위해 세분화 함.

⑤ 기타 (Other)

- 서식지 또는 기질에 포함되지 않는 모든 분류군으로 정주성 대형 무척추동물과 이동성 대형 무척추동물이 포함됨.

⑥ 미분류 (Indeterminate)

- 미분류는 조사 및 분석시 구분이 명확하지 않는 것을 미분류(Indeterminate)로, 지선 아래 1m에 기질이 존재하나 확인이 어려운 부분은 물(Water)로 분류함.

표 2-2-2. 서식지 그룹과 저서생물 분류표

Table 2-2-2. Classification of benthic habitat and taxon group

Group	Benthic Habitat	Code	Taxon	Life form
Abiotic	Sand	S		
	Rubble	R		
	Dead Coral	DC		
	Rock	R		
Coral	Hard Coral	HC	Acropora	Bottlebrush Branching Digitate Tabulate Encrusting Submassive
			Non Acropora	Branching Encrusting Foliaceous Massive Submassive Mushroom Solitary
	Soft Coral	SC	Soft Coral	
Algae	Macro Algae	MA	Brown Macro Algae	
			Red Macro Algae	
			Green Macro Algae	
	Coralline Algae	CA		
Turf Algae	TA			
Halimeda	HA			
Seagrass	Seagrass	SG	Seagrass	
Other	Macro Fauna	MF	Sponge Fire Coral Blue Coral Tunicates Echinodermata	

			Arthropoda Mollusca Zoanthids	
Indeterminate	Water	W		
	Indeterminate	IN		

## 나. 연구결과

### (1) 산호초 서식지 분포, 종조성

전체 산호초 서식지에서 산호파편이 26.9%로 가장 높고, 떼조류가 23.5%, 돌산호가 16.5%, 모래가 15.5%, 할리메다 12.6%, 연산호 1.9%, 대형조류 1.5%, 그 외 1% 이하로 나타났다(그림 2-2-2). 산호초를 구성하는 돌산호는 *Acropora nobilis*, *Porites rus*, *Porites cylindrica*가 대부분인 것으로 나타났고, 그 외에 *Acropora* spp., *Pavona danai*, *Porites mayeri* 등이 부분적으로 나타났다(표 2-2-3). 연산호는 돌산호와 비교해 적은 분포를 나타내고 있었고, 주 우점종은 *Sinularia* sp.인 것으로 나타났다. 반면에 산호초 지역에 가장 높은 피도로 분포하는 산호파편과 떼조류는 리프 경사면을 따라 주로 분포하는 것으로 나타났다. 이는 조사 지역이 과거에 강한 태풍의 영향을 받았거나, 자원 남획을 위한 인위적인 산호초 파괴로 인해 죽은 산호파편이 넓게 분포하고, 그 위에 떼조류가 가입한 것으로 보인다.

KSORC 리프와 Benedict 리프를 비교해보면, 모래 분포 범위에서 가장 많은 차이를 나타내고 있었다(그림 2-2-3). 이는 Benedict 리프 안쪽(Back Reef)에는 기질이 모래이고, 산호초가 패치(patch)를 이루고 분포하는 지역이지만 KSORC 리프는 거리가 짧고 이와 같은 지역이 나타나지 않고, 돌산호 밀도가 높기 때문이다. 따라서 KSORC 리프에서 Benedict 리프와 비교해 돌산호가 높은 피도를 나타내고 있었다. 특히, 리프 언덕과 수로를 중심으로 *Acropora*가 군락을 이루는 것으로 나타났다. *Halimeda*는 *Acropora* 가지 형태 산호 사이 공간에 분포하는 것으로 나타났고, KSORC 리프에 *Acropora* 분포가 높기 때문에 *Halimeda* 분포 또한 높게 나타난 것으로 보인다.

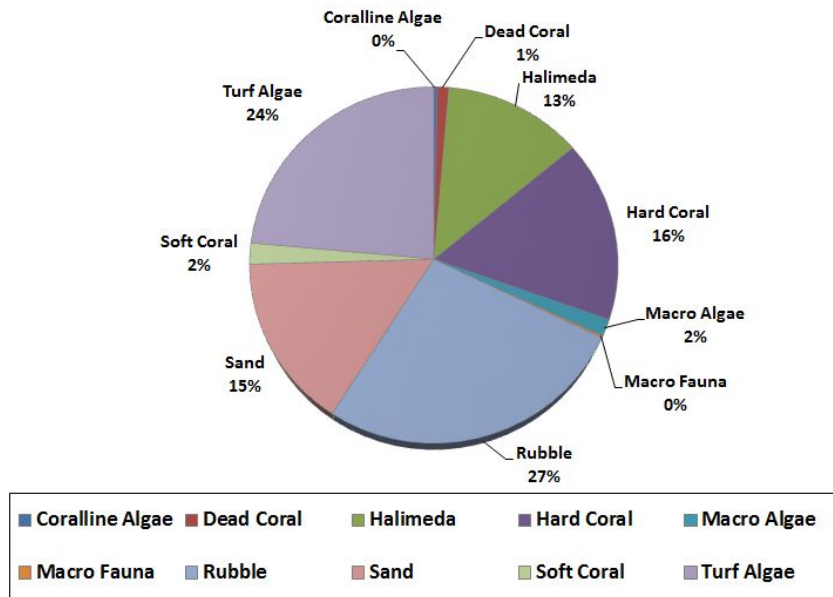


그림 2-2-2. 웨노섬 북동부 연안 리프 서식지 분포.

Fig. 2-2-2. Percent coverage of benthic habitat around South-east Reef of Weno Island.

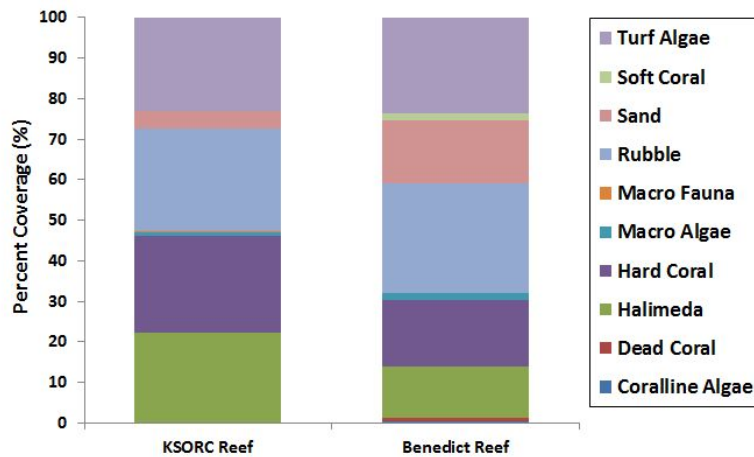


그림 2-2-3. KSORC 리프와 Benedict 리프 비교.

Fig. 2-2-3. Comparison between KSORC Reef and Benedict Reef.

KSORC 리프에서 지형별 서식지 분포 결과를 살펴보면(그림 2-2-4), 리프 언덕에서 돌산호와 Halimeda 피도가 리프 경사면과 비교해 높은 것으로 나타났다. 이 지역은 조류의 영향이 작고 파도가 약하기 때문에 가지 형태 산호인 *Acropora nobilis*, *A. robusta*, *A. formosa* 가 군락을 형성하기 쉬웠던 것으로 보인다. 그러나 리프 경사면에는 죽은 산호 파편과 그 위에 부착되어 성장하는 때조류가 대부분을 차지하고 있는 것으로 나타났다. 이 지형에는 어린 산호 개체 가입이 관찰되지 않고 있으며, 수심 5 m부터 경사면을 따라 모래가 나타나는 지역으로 향후 지속적인 모니터링과 보호가 필요한 지역이다.

Benedict 리프에서 지형별 서식지 분포 결과를 살펴보면(그림 2-2-5), 리프 경사면에는 죽은

산호 파편이 가장 넓게 분포하는 것으로 나타났다. 이 지역은 강한 파도가 형성되고 노출된 지역으로 물리적인 영향에 의해 돌산호가 파괴되었기 때문인 것으로 보인다. 반면에, 모래는 리프 안에서 가장 넓게 분포하는 것으로 나타났는데 이 지역은 파도가 상쇄되는 지역으로 기질이 모래로 리프 평원에 해당되는 지형적 특성을 가지고 있기 때문이다. 돌산호는 리프 경사면 5 m에서 가장 낮은 피도로 분포하고 있었고, 수심 10 m와 리프 안에서 높게 나타났다. 리프 슬로프에는 *Porites rus*, *Porites cylindrica*가 우점하고, 백리프에서는 *Porites cylindrica*, *Acropora nobilis*가 우점하고, 그 외에 *Pavona danai*, *Pocillopora damicornis*, *Porites mayeri* 등이 분포하는 것으로 나타났다. 메조류는 산호 파편 위를 피복하고 있기 때문에 산호파편 분포가 넓은 리프 경사면에서 높게 나타났고, *Halimeda*는 리프 경사면에 가장 넓게 분포하는 것으로 나타났다. 반면에 연산호는 리프 안쪽에만 패치 형태로 분포하고 있었고, 이는 돌산호와 공간경쟁에 의한 선택인 것으로 보인다.

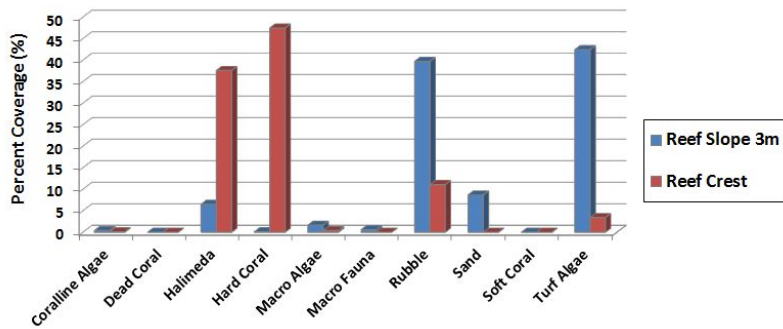


그림 2-2-4. KSORC 리프 지선별 서식지 분포.

Fig. 2-2-4. Percent coverage of benthic habitat as transects at the KSORC Reef.

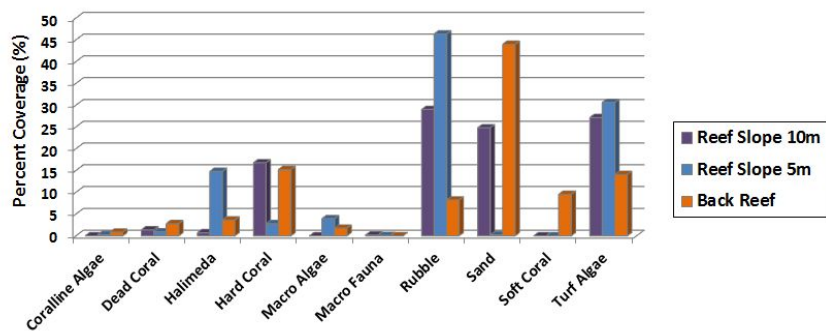







그림 2-2-5. Benedict 리프 지선별 서식지 분포.

Fig. 2-2-5. Percent coverage of benthic habitat as transects at the Benedict Reef.

표 2-2-3. 웨노섬 북동부 연안 리프에서 우점하는 돌산호 5종

Table 2-2-3. Main dominant Hard Coral species around South-east Reef of Weno Island

돌산호 종명	분포	사진
<i>Acropora nobilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- KSORC 리프 언덕에 대형 군락 형성</li> <li>- Benedict 리프 안쪽에 패치 형성</li> <li>- 웨노섬 연안 주요 우점종</li> <li>- 전체 돌산호 대비 62.2%</li> </ul>	
<i>Porites rus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Benedict 리프 경사면에 우점</li> <li>- 웨노섬 연안 리프 경사면에 분포</li> <li>- 웨노섬 연안 주요 우점종</li> <li>- 전체 돌산호 대비 19.9%</li> </ul>	
<i>Porites cylindrica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Benedict 리프 경사면에 우점</li> <li>- Benedict 리프 안쪽 패치 형성</li> <li>- 웨노섬 연안 주요 우점종</li> <li>- 전체 돌산호 대비 9.0%</li> </ul>	
<i>Pavona danai</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Benedict 리프 안쪽에 분포</li> <li>- 전체 돌산호 대비 2.4%</li> </ul>	
<i>Pocillopora damicornis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- KSORC 리프 안쪽에 분포</li> <li>- 전체 돌산호 대비 2.2%</li> </ul>	

(2) 잘피 서식지 분포와 종조성

잘피 서식지에서 잘피는 36.7%, Halimeda는 3.3%, 때조류는 1.3%로 나타났다(그림 2-2-6). 잘피는 해산식물의 일종으로 모래지역에 뿌리를 내리고 서식하기 때문에 이 지역 기질은 모래인 것으로 나타났다. 이 지역의 모래 성분은 대부분 Halimeda가 침식되어 형성된 것으로 육지에서 공급되는 침전물과 Halimeda 기원인 모래가 1 m 이상 퇴적되어 잘피가 서식하기 적합한 지형적 특성을 가지고 있다. 또한 잘피 서식지는 육지에서 리프로 공급되는 침전물을 여과하는 역할을 하여 산호초 형성에 중요한 역할을 하고 있다. 이 지역 잘피 서식지에 서식하는 잘피는 총 5종으로 *Cymodocea rotundata*와 *Syringodium isoetifolium*이 우점종이고, *Thalassia hemprichii*와 *Enhalus acoroides*는 부분적으로 패치를 형성하여 분포하며, *Cymodocea serrulata*는 드물게 분포하는 것으로 나타났다(표 2-2-4).

KSORC 앞에 조성된 잘피 서식지와 Benedict 지역 잘피 서식지를 비교해 보면(그림 2-2-7), KSORC 지역에 분포하는 잘피의 밀도가 Benedict 지역보다 높은 것으로 나타났다. 이는 연안에서 리프까지 거리가 짧아 공간에 제약을 받기 때문에 조밀하게 분포하고 있는 것으로 보인다. 반면에 Benedict 지역은 잘피가 분포하기 충분한 공간이 형성되어 있고, 연안에서 가까운 쪽(Benedict-2)이 먼쪽(Benedict-1)보다 밀도가 높게 나타났다. 이는 연안에서 충분한 영양 공급이 이루어지기 때문에 서식하기 적합한 반면 리프에 가까워질수록 빈영양 상태의 해수가 공급되어 분포 면적에 제한이 되었을 것으로 생각된다. Halimeda는 잘피가 밀집되어 있는 지역에서는 서식피도가 낮지만 연안에서 멀수록 분포가 잘피 보다 높게 나타났다. 이는 잘피와 공간 경쟁에 의한 선택인 것으로 보인다. 또한 연안에서 멀리 떨어지고 리프에 가까운 쪽(Benedict-1)에 연산호가 소량 분포하는 것으로 나타났다. 이 지역은 잘피와 Halimeda 분포가 제한되기 시작하며 연산호와 돌산호가 패치를 형성하는 곳으로 공간 경쟁에 의해 형성되는 점 이치대인 것으로 생각된다.

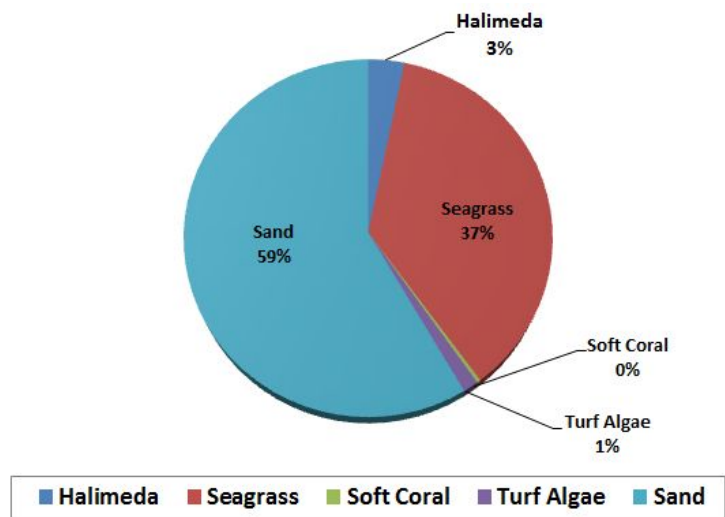


그림 2-2-6. 웨노섬 북동부 연안 잘피 서식지 분포.

Fig. 2-2-6. Percent coverage of benthic habitat around South-east seagrass beds of Weno Island.

표 2-2-4. 웨노섬 북동부 연안에서 분포하는 잘피 종 리스트

Table 2-2-4. Main dominant Seagrass species around South-east coast of Weno Island

잘피 종명	분포	사진
<i>Cymodocea rotundata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연안에 밀집하여 분포하는 우점종</li> <li>- <i>Syringodium isoetifolium</i>와 혼재하여 분포</li> <li>- 얇은 모래 바닥 0-5 m 수심</li> </ul>	
<i>Syringodium isoetifolium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연안에 밀집하여 분포하는 우점종</li> <li>- <i>Cymodocea rotundata</i>와 혼재하여 분포</li> <li>- 내만 얇은 모래 바닥 0-3 m 수심</li> </ul>	
<i>Enhalus acoroides</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연안에 부분적으로 patch를 형성하여 분포</li> <li>- 모래 또는 펄 바닥 0-3 m 수심</li> </ul>	
<i>Thalassia hemprichii</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연안에서 떨어진 가장자리에 부분적 분포</li> <li>- 모래, 펄 또는 산호파편 바닥 0-3 m 수심</li> </ul>	
<i>Cymodocea serrulata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 연안에서 떨어진 모래 지역에 부분적 분포</li> <li>- 모래 바닥 0-3 m 에 분포</li> </ul>	

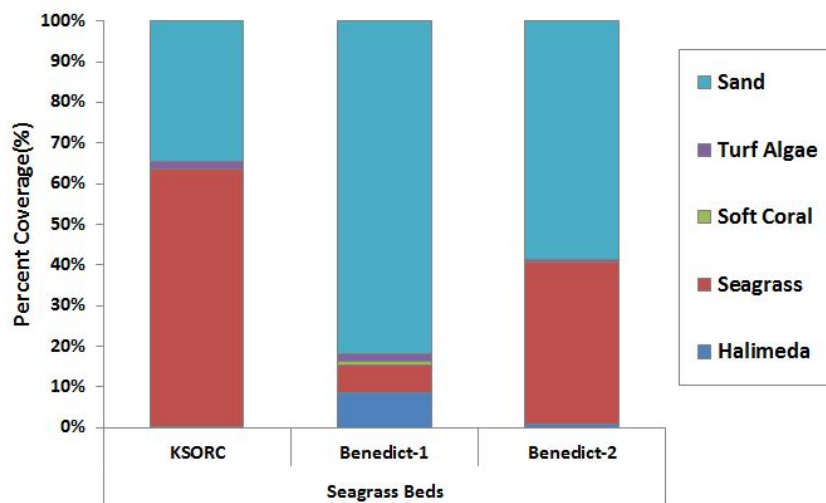


그림 2-2-7. KSORC 리프와 Benedict 리프 잘피 서식지 비교.

Fig. 2-2-7. Seagrass habitat comparison between KSORC Reef and Benedict Reef.



### 3. 어류자원관리

#### 가. 재료 및 방법

##### (1) 조사 방법

이 연구에 사용된 어류는 대표적인 산호초 거주 어종 Humbug damselfish *Dascyllus aruanus*로서 2009년 8월부터 2010년 7월까지 매월 20~30일 사이에 채집하였다. 채집은 마이크로네시아의 축 환초내에 위치한 웨노섬 (7°27'N, 151°22'E)의 수심 2.7~3.2 m 사이의 얇은 연안에서 이루어졌고, 오후 14:00~17:00시 사이에 hand net으로 실시하였다. 채집한 어류는 0.05% 2-phenoxyethanol 용액에 마취한 다음 10% 포르말린 용액에 플라스틱 포장용기에 고정하였다. 샘플은 실험실로 옮겨와서 표준체장 (Standard length, SL)은 0.1 cm까지, 체장 (Body wet weight, BW)는 0.1g까지, 생식소 중량지수는 (Gonad wet weight, GW)는 0.001g까지 측정하였다.

생식소의 조직학적 관찰을 위해 생식소를 Bouin's 용액에 고정 후, 에탄올에서 탈수 하였고, 파라핀에 심은 후, 5-7  $\mu$ m으로 박편을 제작하였음. 이 생식소 박편은 헤마톡실린과 에오진으로 염색하였고, 모든 과정의 조직박편제작과정은 표준방법에 의하였다. 난모세포의 발달단계와 정모세포의 발달단계의 관찰은 최소성숙크기 (성숙개체군의 50% 이상이 성숙에 도달하여 재생산에 가담하는 크기 즉, 군 성숙도 50%인 개체군의 크기)는 성숙개체를 대상으로 하였다. 최소성숙크기는 비선형 방정식에 의한 로지스틱 곡선에서 암컷과 수컷의 표준체장 체급별 누적개체수로 결정하였다. 로지스틱 곡선의 유의성 검정은 MicroCal Origin Software (OriginLab, Northampton, MA)를 이용하여 실시하였다. 로지스틱 곡선의 식은 다음과 같다.

$$Y_{SL} = 100 / 1 + \exp\{(a - SL)\} / b$$

여기서  $Y_{SL}$  은 체장계급별 성숙개체의 누적퍼센트,  $a$  는 개체수의 50 %가 성숙한 체장,  $b$  는 기울기이다.

산란기의 추정은 생식소 중량지수 (Gonadosomatic Index, GSI)와 성숙단계의 월 변화를 기초로 하였다. GSI는 다음과 같이 계산하였다.

$$GSI = GW (g) \times 100 / BW (g)$$

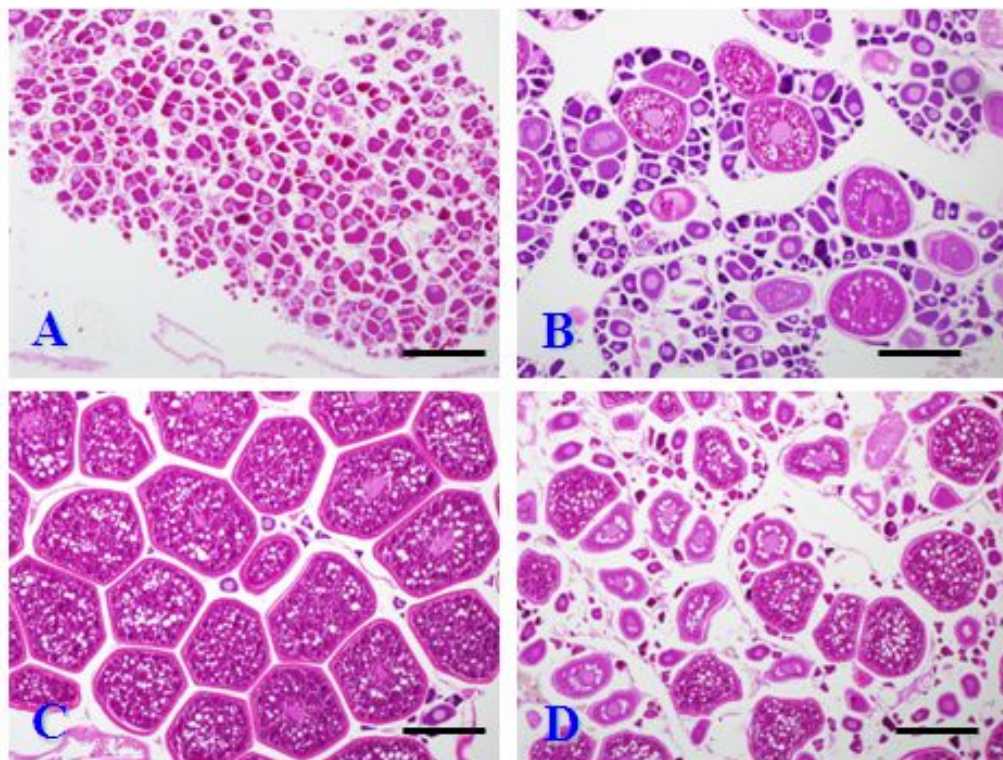
GSI의 월 변화는 최소성숙크기 이상의 개체들만을 대상으로 조사되었고, 자료는 one-way ANOVA test를 이용하여 유의성 검정을 하였고, SPSS version 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)를 이용하였다.

#### 나. 연구결과

##### (1) 생식소 발달단계

조사기간 동안 총 224개체가 채집되었다. 이것들 중에서 113개체가 암컷으로 50.4%를 차지하였고, 나머지 111개체가 수컷으로 49.6%를 차지하였다. 난소내 난모세포 성장은 다음과 같이 4단계로 구분할 수 있었다.

- 미성숙기(Immature stage, stage I): 난원세포, 주변인기 난모세포들이 난소소엽내에 출현하였음(그림 2-3-1A).
- 발달기(Developing stage, stage II): 난소소엽내에 세포질내에는 제1차, 제2차 난황구를 함유한 난황구기 난모세포들이 출현하였음(그림 2-3-1B).
- 성숙 및 산란기(Ripe and Spawning stage, stage III): 난모세포의 발달상태는 제 3차 난황구기 난모세포, 핵 이동기에 도달하였음(그림 2-3-1C).
- 회복 및 휴지기(Spent and Resting stage, stage IV): 산란을 마친 후 난소소엽내에는 난황포기 및 난황구기 난모세포들의 퇴화, 붕괴, 흡수가 일어났음(그림 2-3-1D).



Scale bar 100  $\mu\text{m}$

그림 2-3-1. *Dascyllus aruanus*의 난모세포 발달과정.

Fig. 2-3-1. Photomicrographs of *Dascyllus aruanus* oocytes at different developmental stages.

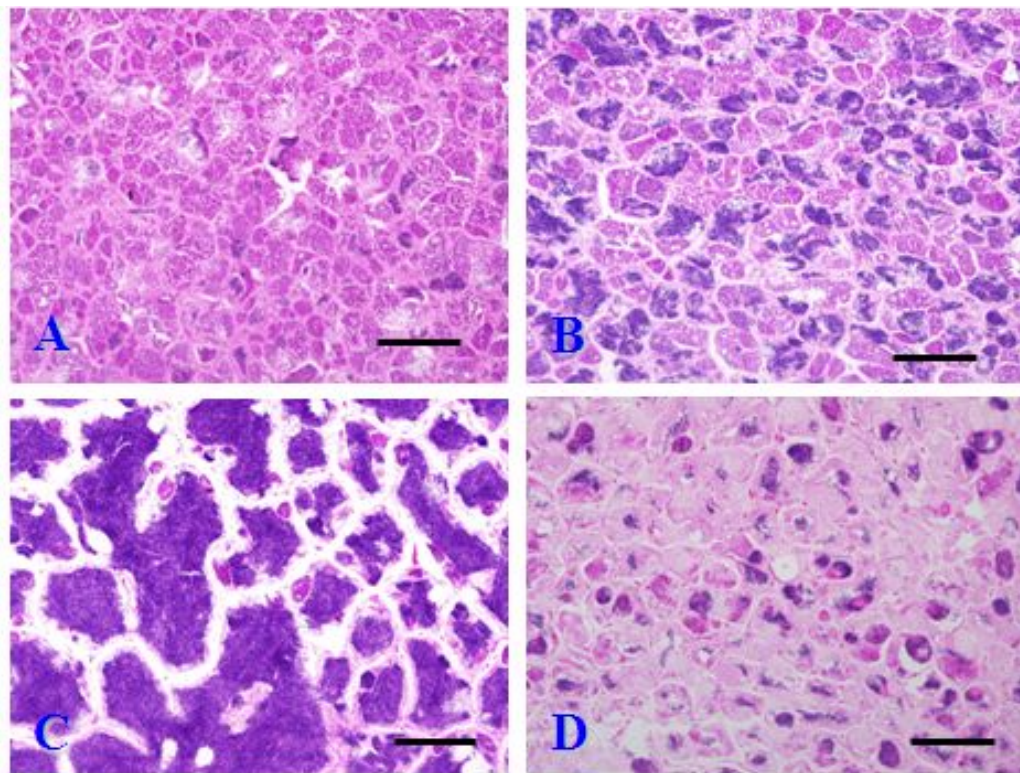
정소내 정모세포 성장은 다음과 같이 4단계로 구분할 수 있었다.

- 미성숙기(Immature stage, stage I): 정소소엽내에 정원세포가 대부분을 차지하고 정모세포와 정세포가 혼재하여 있었음(그림 2-3-2A).

- 발달기(Developing stage, stage II): 정소소엽내에 정세포와 정자들이 가득차 있었음(그림 2-3-2B).

- 성숙 및 산란기(Ripe and Spawning stage, stage III): 정소소엽은 정자로 가득차 있으며, 정자들이 배정되어 정소 소엽내 포낭은 비어가기 시작했다(그림 2-3-2C).

- 회복 및 휴지기(Spent and Resting stage, stage IV): 이 시기에 정소소엽은 퇴화되고, 미방출 정자들은 퇴화, 흡수되었으며 소수의 정원세포가 배치되고 있었음 (그림 2-3-2D).



Scale bar 200  $\mu\text{m}$

그림 2-3-2. *Dascyllus aruanus*의 정모세포 발달과정.

Fig. 2-3-2. Photomicrographs of *Dascyllus aruanus* testes at different developmental stages.

(2) 번식주기

*D. aruanus* 수컷의 월별 GSI는 2010년 2월과 6월에 높았고, 4월에 가장 낮은 값을 나타내었다. 이러한 GSI의 월변화는 강수량 변화와 상관관계가 없었다(그림 2-3-3,  $P>0.05$ ). 암컷의 월별 GSI는 2010년 2월과 4월에 높았고, 5월에 가장 낮은 값을 나타내었다. 그러나 GSI의 월변화는 강수량 변화와 상관관계가 없었다(그림 2-3-3,  $P>0.05$ ).

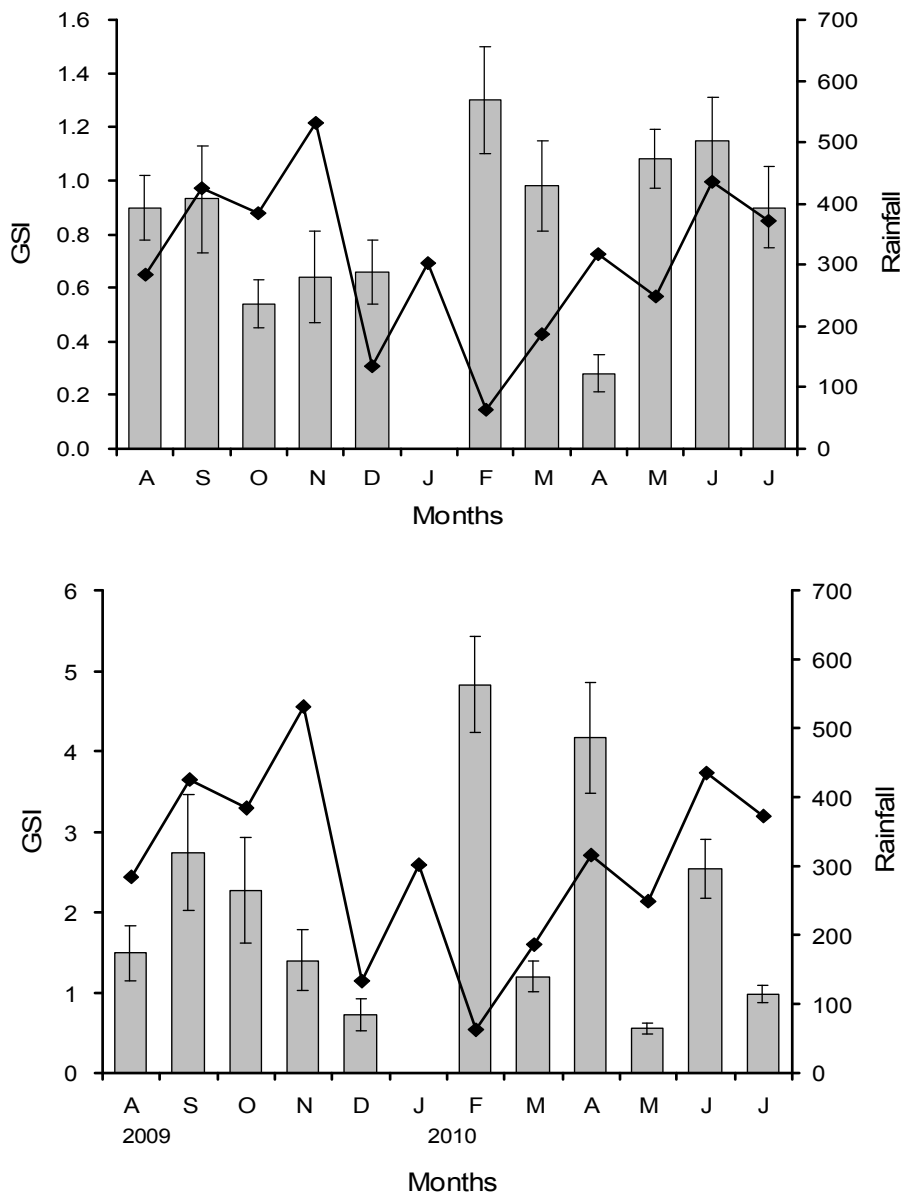


그림 2-3-3. 수컷(상)과 암컷(하)의 월별 GSI 변화.

Fig. 2-3-3. Monthly variation of Gonadosomatic indices of *Dascyllus aruanus*.

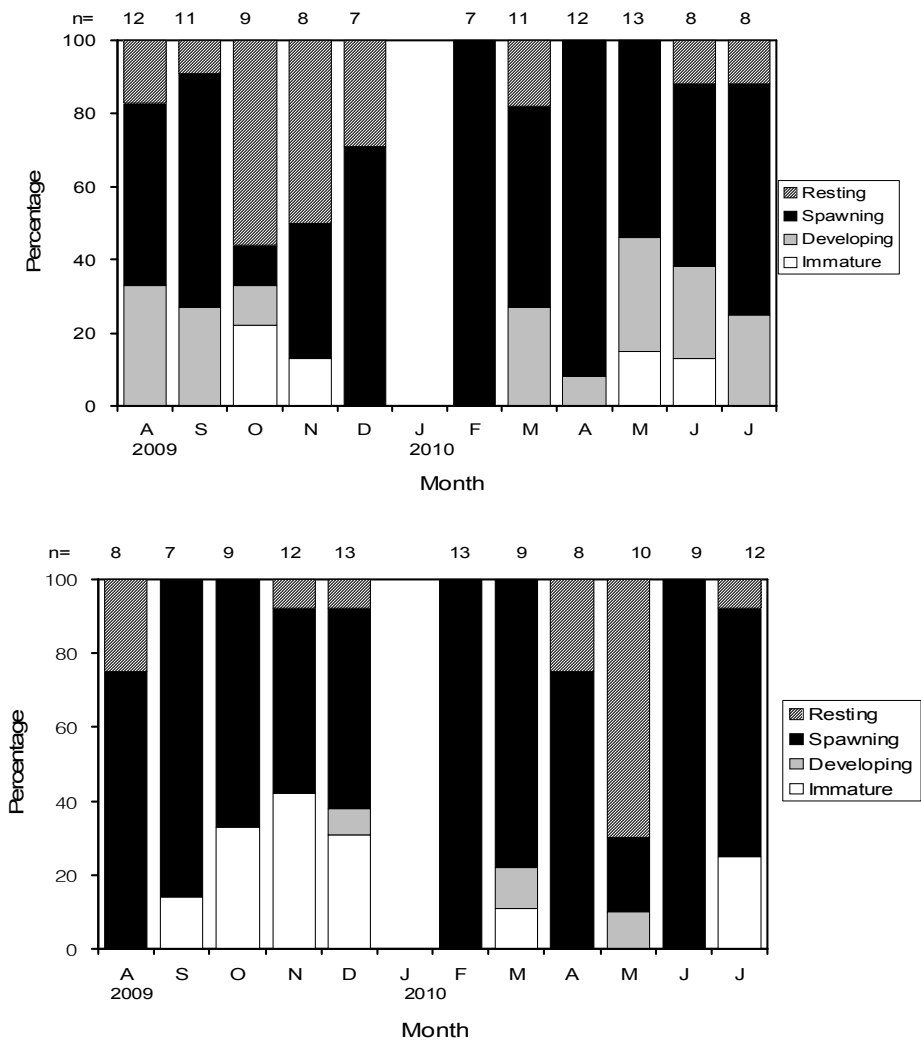


그림 2-3-4. 수컷(상)과 암컷(하)의 생식소 발달단계 월 변화.

Fig. 2-3-4. Monthly variation of gonad development stages of *Dascyllus aruanus*.

수컷의 산란기 (spawning stage)는 조사기간 동안 연중 관찰되었다. 또한 암컷에 있어서도 산란기는 연중 지속되고 있었다(그림 2-3-4). 위의 결과에서 *D. aruanus* 수컷과 암컷의 GSI 변화, 생식소 발달단계 월 변화에 따르면 이종은 축 연안에서 연중 번식활동에 참여하고 있는 것으로 판단되어진다.

#### 4. 유용미생물 탐색

##### 가. 재료 및 방법

###### (1) 연구방법

###### (가) 균주의 분리 및 배양

마이크로네시아 연안으로부터 해조류를 포함하는 해수를 채집하여 해수에 한천만을 포함하는 배지에서 미생물을 초기 배양하였다. 30°C에서 하루간 배양된 미생물 중 한천분해능을 나타내는 미생물을 0.2% 효모추출물, 1.5% 한천과 해수로 만든 배지에 옮겨 배양하고 single colony를 0.2% 효모추출물과 해수로 만든 액체 배지에 순수 배양하였으며 이를 S354 균주로 명명하였다. 배양된 균주는 20% 글리세롤 용액을 가지고 사용될 때까지 -80°C에 보존하였다. 향후 실험을 위해 분리된 S354 균주는 marine agar와 broth에 30°C에서 1-2일간 배양되어졌고 Korean Culture Center of Microorganisms (KCCM)와 Japan Collection of Microorganisms (JCM)에 기탁하였다.

###### (나) 16S rRNA를 이용한 유전학적 계통분석

S354 균주로부터 유전체를 분리하고 16S rRNA 유전자 부분서열을 증폭해 1448bp의 유전자를 확보하였고 이를 GenBank에 등록 (등록번호 JQ639084)하였다. 분석된 유전자는 nucleotide BLAST 프로그램을 이용해 계통적으로 가까운 종들을 확인하였고 Clustal W2와 MEGA version 5.05를 이용해 유전적 계통을 분석하였다. Phylogenetic tree는 neighbor-joining, maximum-parsimony와 maximum-likelihood 알고리즘을 이용해 Flammeovirgaceae 과에 속하는 종들을 가지고 분석하였다. matrix distance는 Kimura-2 parameter model을 사용하였고, 1000번 반복된 bootstrap value는 tree topology 분석에 각각 활용하였다.

###### (다) 형태학, 생리학, 생화학적 특성 분석

그람 반응은 Gram staining kit을 가지고 진단하였으며 형태적 관찰을 위해 light microscope와 field emission scanning electron microscope를 활용하였다. 운동성은 Bowman 방법에 따라 수행하였으며 catalase와 oxidase test는 ID Color Catalase 및 oxidase 시약을 사용하여 진단하였다. 박테리아의 성장 최적 온도 테스트는 5-50°C 범위에서 5°C 간격으로 성장속도를 측정하였고 최적 pH는 3-11 범위에서 2씩 증가시켜 marine agar 상에서 진단하였다. 염도는 peptone yeast extract agar plate 상에서 NaCl 0, 0.5, 1, 2, 3, 5%를 가지고 진단하였다. 항생제 내성 측정은 amikacin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), tetracycline (30 µg), meropenem (10 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), ciprofloxacin (5 µg), ofloxacin (5 µg), cefoxitin (30 µg), cefuroximesodium (30 µg), cephalothin (30 µg), ampicillin (10 µg), amoxicillin-clavulanic acid (20/10 µg), ampicillin-sulbactam (10/10 µg), and piperacillin (100 µg)을 내포하고 있는 disk를 이용해 agar plate 상에서 clear zone 유무를 가지고 진단하였다. 그 밖의 생화학적인 테스트는 API 20NE와 API ZYM kit을 이용해 확인

하였다. API test는 30℃에서 24시간 배양해 수행하였다.

(라) 지방산 함량, Isoprenoid quinone 및 G+C 함량 분석

지방산 함량, Isoprenoid quinone 및 G+C 함량 분석은 KCCM에 의뢰하여 분석을 수행하였다. 세포질내 지방산 함량은 Microbial Identification System (MIDI) 프로토콜을 가지고 수행하였으며, isoprenoid quinone은 동결건조된 균주에 chloroform/methanol (2:1)용액을 처리하여 TLC와 reverse-phase HPLC를 이용해 분석하였다. DNA G+C 함량은 Mesbah에 의해 서술된 HPLC 방법으로 수행하였다.

나. 연구결과

(1) 유전학적 계통분석

유전학적 계통도는 neighbor-joining 알고리즘 기본하에 제작하였고 S354 균주의 유전자를 *Flammeovirgaceae* 과에 속하는 27개의 type strain 과 비교하여 계통도를 작성하였다. *Acidobacterium capsulatum* ATCC 51196 균주는 outgroup으로 사용하였다. 계통도 분석 결과 S354 균주는 *Limibacter armeniacum* YM 11-185와 *Sediminitomix flava* Mok-1-85에 각각 92.5%와 88.4%의 유사성을 나타내었다. 우리 균주의 유전자 서열은 GenBank에 accession number JQ639084로 등록하였다. 유전학적 계통도 분석 결과 S354는 *Flammeovirgaceae* 과에 속하는 새로운 종으로 신속 *Algivirga pacifica*로 명명하였다.

S354의 유전자 서열은 같은 family인 *Flammeovirgaceae* 과에 속하는 표준균주들과 비교되어졌다. neighbor-joining 알고리즘을 기본으로 작성되었으며 closed circle은 maximum-parsimony, maximum-likelihood tree와 결과가 겹치는 부분을 표시한 것이다. bootstrap은 1000번 반복하였고 괄호안은 accession number를 나타내었다.

(2) 표현형적 특성분석

S354는 marine agar plate 상에서 밝은 오렌지 색 콜로니를 가지며 30℃에서 2일간 배양했을 때 콜로니 크기는 0.5-2mm의 크기를 가졌다. S354는 marine agar plate에서 한천을 분해하는 능력을 나타냈으며 현미경으로 관찰시 편모가 없는 둥근형태에서 짧은 간균 형태를 나타냈다.

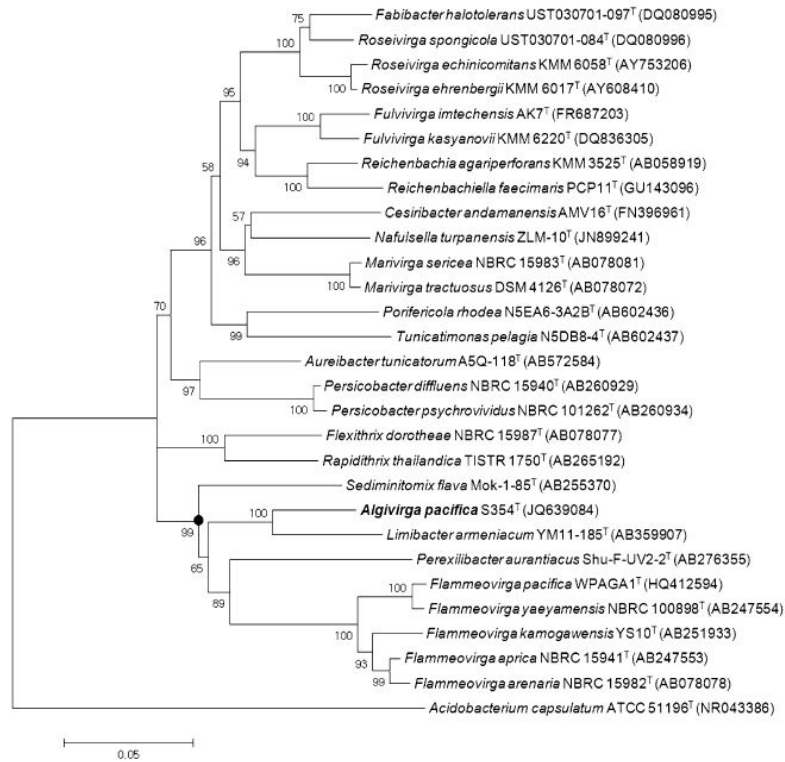


그림 2-4-1. 16S rRNA 서열을 이용한 strain S354의 유전학적 계통도.

Fig. 2-4-1. Phylogenetic tree constructed by neighbor-joining algorithm based on analyzed 16S rRNA gene sequences showing the position of strain S354 among other related members and strains in the family *Flammeovirgaceae*.

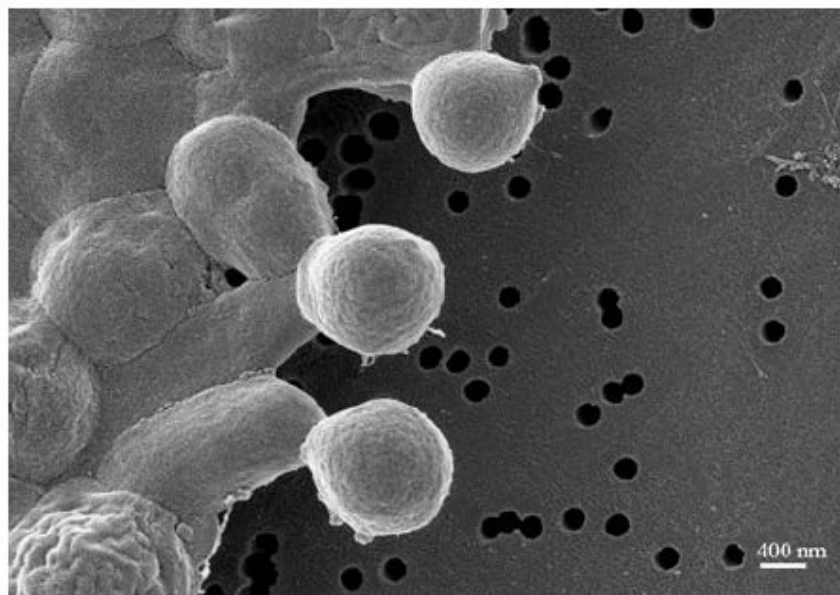


그림 2-4-2. S354의 scanning electron microscopy 사진.

Fig. 2-4-2. Scanning electron microscopy picture of a coccoid-shaped and non-flagellated S354 cells.



### (3) 화학 분류학적 특성 분석

S354는 호기성, 운동성이 없는 그람 음성균이었다. 성장 범위는 12-44°C, pH5-9 그리고 NaCl 1-5%에서 성장하였다. 지방산의 주 구성 성분은 (>10%) iso-C15:0과 C16:1w5c로 나타났으며, 항생제 테스트에서는 chloramphenicol (30 µg), tetracycline (30 µg), meropenem (10 µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), ciprofloxacin (5 µg), ofloxacin (5 µg), ceftiofuran (30 µg), cefuroximesodium (30 µg), cephalothin (30 µg), ampicillin (10 µg), amoxicillin-clavulanic acid (20/10 µg), ampicillin-sulbactam (10/10 µg), and piperacillin (100 µg)에는 저항성이 없었으며 amikacin (30 µg)에만 저항성을 나타냈다. API 20NE 테스트 결과, S354는 인돌을 생산하지 않았고 arginine dihydrolase 와 urease의 활성을 나타내지 않았다. 또한 β-galactosidase 활성을 나타낼 때 β-glucosidase와 protease 활성은 없었으며 D-mannitol, D-maltose, adipic acid와 malic acid 동화작용이 나타났다. 하지만 for D-glucose, L-arabinose, D-mannose, N-acetyl-glucosamine, potassium gluconate, capric acid, trisodium citrate와 phenylacetic acid에서는 나타나지 않았다. API ZYM 테스트에서 alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, and N-acetyl-β-glucosaminidase. In contrast, it developed negative response for lipase (C14), α-chymotrypsin, α-galactosidase, β-glucuronidase, β-glucosidase, α-glucosidase, α-mannosidase 와 α-fucosidase는 발현되어졌고 lipase (C14), α-chymotrypsin, α-galactosidase, β-glucuronidase, β-glucosidase, α-glucosidase, α-mannosidase와 α-fucosidase는 활성을 나타내지 않았다. catalase는 negative, oxidase는 positive로 나타났다.

### (4) 신속 Algivirga에 대한 서술

*Algivirga* (Al.gi.vir'ga. L. n. alga seaweed; L. fem. n. virga, rod; N.L. fem. n. Algivirga, a rod from seaweed) 세포는 호기성, 운동성이 없는 그람음성균으로 둥근형태에서 짧은 간균 형태를 나타냈고 marine agar plate 상에서 밝은 오렌지색을 나타냈다. 주세포질 지방산 성분은 iso-C15:0과 C16:1w5c로 나타났으며 주 menaquinone은 MK-7이었고 극성지질은 알려지지 않은 극성지질 1개와 세 개의 알려지지 않은 glycolipid를 가지고 있었다. G+C 함량은 43.8mol% 였다. *Flammeovirgaceae* 과에 포함되는 속으로 표준균주는 *Algivirga pacifica*로 명명되었다.

### (5) 신종 *A. pacifica*에 대한 서술

*Algivirga pacifica* (pa.ci'fi.ca. N.L. adj. pacifica pacific; L. fem. adj. pacifica pertaining to the Pacific Ocean, where the strain was isolated from) 속에서 기술한 내용에 특징들을 첨가 하면, 세포 크기는 0.8-1.2µm이고, 세포성장조건은 12-44°C (최적 25-30°C), pH5-9 (최적 7-8) 과 NaCl 1-7% (최적 2-4%)로 나타났다. 질산염은 질소나 아질산염으로 감소되지 않았고 젤

라틴을 가수분해하지 않았다.  $\beta$ -galactosidase 는 positive로 나타났으나  $\beta$ -glucosidase, arginine dihydrolase와 urease는 negative로 나타났다. 인들은 생산하지 않았다.

동화작용에서 D-mannitol, D-maltose, adipic acid와 malic acid은 positive로 나타났지만 D-glucose, L-arabinose, D-mannose, N-acetyl-glucosamine, potassium gluconate, capric acid, trisodium citrate와 phenylacetic acid는 negative로 나타났다. alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase와 N-acetyl-b-glucosaminidase에 대한 효소 활성은 나타냈지만 a-chymotrypsin, a-galactosidase, b-glucuronidase, a-glucosidase, a-mannosidase, and a-fucosidase에 대한 효소 활성은 나타내지 않았다. oxidase는 positive이고 catalase는 negative였다. *Algivirga pacifica* S354는 마이크로네시아 웨노섬에 있는 해수샘플로부터 분리되었다. (= KCCM 90107<sup>T</sup> = JCM 18326<sup>T</sup>).

표 2-4-1. S354와 *Flammeovirgaceae* 과의 유사한 종들간의 지방산 성분 비교

Table 2-4-1. Comparison of cellular fatty acid compositions (%) of strain S354T and other closely related strains from the family *Flammeovirgaceae*. Strains: 1, S354; 2, *Limibacter armeniacum* YM11-185; 3, *Sediminitomix flava* MOK-1-85, *Perexilibacter aurantiacus* Shu-F-UV2-2; 5, *Flammeovirga aprica* NBRC15941

Fatty acid	1	2	3 <sup>d</sup>	4	5
C <sub>12:0</sub> 3-OH	-	-	-	1.0	-
iso-C <sub>13:0</sub>	-	-	-	-	3.2
C <sub>13:1</sub> at 12-13	-	1.6	-	-	-
iso-C <sub>14:0</sub>	-	-	-	-	1.8
C <sub>14:0</sub>	3.5	1.1	5	1.9	8.1
iso-C <sub>15:1</sub> G	3.4	-	-	2.9	-
iso-C <sub>15:0</sub>	28.4	28.1	23	50.6	37.3
anteiso-C <sub>15:0</sub>	-	-	1	-	1.2
C <sub>15:0</sub>	1.1	1.7	-	-	1.3
C <sub>16:1</sub> $\omega$ 7c-OH	-	2.3	-	-	-
iso-C <sub>16:1</sub> H	2.9	2.2	-	-	-
C <sub>16:0</sub> N-OH	1.6	3.2	-	-	-
C <sub>16:1</sub> $\omega$ 7c	-	23.2	-	16.7	-
C <sub>16:1</sub> $\omega$ 5c	26.1	9.9	21	4.9	2.3
C <sub>16:0</sub>	2.8	3.5	6	3.8	-
iso-C <sub>15:0</sub> 3-OH	1.0	3.7	2	2.2	4.0
C <sub>15:0</sub> 3-OH	-	-	-	-	1.3
iso-C <sub>17:1</sub> $\omega$ 9c	6.9	1.6	-	-	-
iso-C <sub>17:0</sub>	2.0	-	-	-	-
C <sub>17:1</sub> $\omega$ 6c	-	1.0	-	-	-
C <sub>16:0</sub> 3-OH	1.1	4.9	18	-	8.6
iso-C <sub>17:0</sub> 3-OH	3.6	4.5	2	2.4	-
C <sub>20:4</sub> $\omega$ 6,9,12,15c	-	-	-	-	24.2
Summed feature 2 <sup>a</sup>	-	-	2	-	-
Summed feature 3 <sup>b</sup>	2.9	-	10	-	-
Summed feature 4 <sup>c</sup>	5.5	-	-	-	-
Unknown ECL 13.565	1.5	-	-	-	-

Fatty acids that comprise <1.0 % in amount in each strain were all omitted

Summed features are groups that had two fatty acids inseparable by GC with the MIDI system

Strains: 1, S354<sup>T</sup> (*A. pacifica* gen. nov., sp. nov.); 2, *Limibacter armeniacum* YM11-185<sup>T</sup> [28]; 3, *Sediminitomix flava* MOK-1-85<sup>T</sup> [7]; 4, *Perexilibacter aurantiacus* Shu-F-UV2-2<sup>T</sup> [27]; 5, *Flammeovirga aprica* NBRC 15941<sup>T</sup> [24]

- Omitted or data not given

<sup>a</sup> C<sub>14:0</sub> 3-OH and/or iso-C<sub>16:1</sub> I

<sup>b</sup> C<sub>16:1</sub> $\omega$ 7c and/or iso-C<sub>15:0</sub> 2-OH

<sup>c</sup> iso-C<sub>17:1</sub> I and/or anteiso-C<sub>17:1</sub> B

<sup>d</sup> Decimal places were not given in the original publication

표 2-4-2. S354와 *Flammeovirgaceae* 과의 유사한 종들간의 표현형적 특성 비교

Table 2-4-2. Phenotypic differences between strain S354 and related taxa of the family *Flammeovirgaceae*. Strains:1, S354;2, *Limibacter armeniacum* YM11-185; 3, *Sediminitomix flava* MOK-1-85, *Perexilibacter aurantiacus* Shu-F-UV2-2;5, *Flammeovirga aprica* NBRC15941

Characteristic	1	2	3	4	5
Isolation source	Seaweed-containing seawater	Marine sediment	Marine sediment	Marine sediment	Marine
Colony color	Transparent light orange	Apricot to pale orange	Orange	Dull orange	Orange to reddish orange
Cell morphology	Coccus to short rods	Long rods	Long rods	Rods	Long rods
Cell length (μm)	0.8–1.6	15–40	15–40	10–20	1.7–96
Cell width (μm)	0.7–1.2	0.3–0.5	0.5–0.7	0.3–0.5	0.5–0.9
Temperature range for growth (°C)	12–44	17–37	15–35	30–37 <sup>a</sup>	15–30
NaCl range for growth (% w/v)	1–7	1–6.5	2–4	0–3.5	1–5
Catalase	–	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+
Hydrolysis of Agar	+	–	W	–	+
DNA G+C content (mol%)	43.8	27.9	38	43.0	34.2

Strains: 1, S354<sup>T</sup> (*A. pacifica* gen. nov., sp. nov.); 2, *Limibacter armeniacum* YM11-185<sup>T</sup> [28]; 3, *Sediminitomix flava* MOK-1-85<sup>T</sup> [7]; 4, *Perexilibacter aurantiacus* Shu-F-UV2-2<sup>T</sup> [27]; 5, *Flammeovirga aprica* NBRC 15941<sup>T</sup> [24]

+ positive, – negative, W weakly positive

<sup>a</sup> Only optimal temperature range was given in the original publication

## 5. 미세조류 생산

### 가. 재료 및 방법

#### (1) 연구지역

스피룰리나 균주(*Spirulina platensis*)의 배양은 마이크로네시아 연방 축 주에 위치한 웨노섬에서 (7°27'08.8"N, 151°53'53.8"E)에서 수행하였다(그림. 2-5-1). 축 주는 육지 면적이 49.2 평방 마일, 연평균 기온이 29 - 30°C이며, 강수량은 연평균 약 3,650 mm로 국지성 호우(squall)가 잦은 지역이다. 7월부터 11월사이에는 무역풍이 부는 시기이며, 이 시기에는 태양광이 보다 강하다. 1월부터 3월이 건기에 해당하며, 2월이 연중 가장 건조한 시기인데(Eroarome 2009), 본 실험은 9월에 실외배양조건에서 14일 동안 진행 되었다.

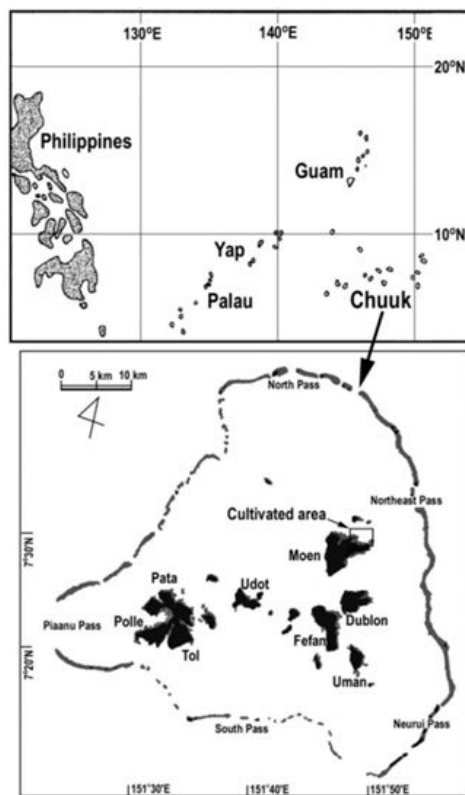


그림. 2-5-1. *Spirulina platensis* 실외 배양을 위한 연구 지역.

Fig. 2-5-1. A location of outdoor culture facility for *Spirulina platensis*.

#### (2) 연구방법

##### (가) 배지 준비

현지에서 지하 50 m에서 채수한 지하수를 이용하여 배양수와 산의 표층부에서 채취한 일반 토양을 각각 500:1 (w/w) 비율로 희석시키고 90°C까지 가열한 후 실온에서 12시간 보관하여 침전물을 가라앉게 하였고 토양 희석액의 상등액만을 멸균된 20-L 플라스틱 용기에 옮겨 담아

토양 추출물을 만들었고, 스피롤리나 배양에 필요한 다른 영양염들을 추가로 첨가하여 배지로 사용하였다.

일반적으로 토양추출물은 토양에 포함된 영양염을 배양수에 녹여 배지로 사용하는 것으로 다양한 미세조류의 배양에 활용되어 왔으며, 미세조류 원종 관리를 위해 일부 종에 한해 현재 까지도 계속 사용되고 있다. 간단하게 인과 질소원에 토양추출물 만을 첨가하여 미세조류를 배양하기도 한다(Andersen 2004).



토양 추출물 준비



스피롤리나 배양 배지 준비



실험을 위한 원종 실외배양



배양 9일째 스피롤리나

그림. 2-5-2. 배지 준비 과정 및 배양.

Fig. 2-5-2. Preparation of culture media and outdoor culture.

실험에 사용된 요소( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , 남해화학(주))는 농업용으로 사용되는 등급이며, 요소 외의 다른 시약은 모두 실험용(Junsei Chemical, Japan)으로 사용되는 등급으로 배지에 첨가하였다. 실험구 A에는 요소  $2 \text{ g L}^{-1}$ , 실험구 B는 요소  $4 \text{ g L}^{-1}$ , 실험구 C는 요소  $6 \text{ g L}^{-1}$ 를 유지하였고, A - C 실험구의 1,2,3에는 각각  $5, 7.5, 10 \text{ g L}^{-1}$ 의 중탄산나트륨을 첨가하여 A1, A2, A3, B1,

B2, B3, C1, C2, C3, 질소원으로 요소 대신 질산나트륨을 첨가한 대조군 R1까지 총 10개의 실험을 실외에서 진행하였다. 탄소원으로 탄산나트륨(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)을 추가로 첨가하였으며 질소원 및 탄소원 외에 다른 영양염들은 Zarrouk's 배지와 동일하게 첨가하였다(표 2-5-1).

표 2-5-1. *S. platensis* 배양을 위한 배지 조성

Table 2-5-1. Media composition for *S. platensis* culture

Medium Components	Urea used as nitrogen source						NaNO <sub>3</sub> used as nitrogen source				
	A1	A2	A3	B1	B3	C1	C2	C3	R1	R2	R3
NaHCO <sub>3</sub>	5.00	7.50	10.00	5.00	10.00	5.00	7.50	10.00	9.00	16.80	13.61
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	4.03	-	4.03
NaNO <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	2.50	2.50	2.50
Urea	2.00	2.00	2.00	4.00	4.00	6.00	6.00	6.00	-	-	-
NaCl	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.50
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.50	0.50	0.50
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Na <sub>2</sub> EDTA	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Vitamin B12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00015
A5 Solution(ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.00	-
Metal solution(ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.00
Micronutrient solution(ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.00
Soil extract	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	-	-

Added medium components unit : g L<sup>-1</sup>

R1: Control group in this study

R2: Raof et al (2006) / Zarrouk's medium, 2.5 L erlenmayer flask, 30°C, 12L:12D, 18 days growth duration

R3: Celekli and Yavuzatmaca (2009) / Modified Zarrouk's medium (Schlösser. 1982), 250 ml erlenmayer flask, 30°C, 10 days growth duration

미량원소는 토양 추출물로 대체하였으며(Andersen 2004), 배지 내 토양 추출물의 농도는 A, B, C 실험구 및 대조구(R1)에 동일하게 2 g L<sup>-1</sup> 이 유지 되도록 하였다. 표 2-5-1에서 R2 (Raof et al 2006)의 배지 조성은 일반적으로 스피롤리나를 배양하기 위해 사용 되는 Zarrouk's 배지 이며, R3 (Celekli and Yavuzatmaca 2009)의 배지 조성은 Zarrouk's 배지에서 일부 개량된 형태의 배지 조성이다.

#### (나) 배양환경 측정

스피롤리나의 배양환경 중 광량변화는 조도측정기(Lux/Fc Light Meter - 205, TENMARS, Electronics CO., LTD, Taiwan)를 사용하여, 2일 간격으로 오전 9시, 오후 1시, 오후 5시에 각각 측정하였다. 배양액의 수온, pH 및 염분은 광량 측정과 동일한 시간에 수질측정기(MPS556, YSI Incorporated, USA)를 사용하여 측정하였다.

(다) 성장 및 바이오매스 평가

스피룰리나 배양 실험은 투명한 원통형 플라스틱 재질의 용기(20-L)에서 진행되었다. 용기 속에서 지속적인 교반을 위해 브로워 펌프(AD60, Air high-tech)를 사용하였다. 초기 접종량은 건조 중량으로  $0.001 \text{ g L}^{-1}$ 이었다. 각각의 배양용기에서 20 mL씩 2일 간격으로 시료를 채수 하였고, 수집된 시료는 미리 무게를 잰 GF/F (Whatman) 필터를 통과시킨 후  $60^{\circ}\text{C}$  조건의 건조 오븐에서 24시간 건조하였으며 증류수 20 ml을 통과시킨 GF/F 필터를 대조구로 사용하였다. 건조된 필터의 무게를 측정하였고,  $\text{g L}^{-1}$ 로 환산하여 표기하였다.

단위 시간당 바이오매스의 증가는 최대 비성장률[maximum specific growth rate:  $m_{\max} (\text{day}^{-1}) = \ln (X_1/X_0) / (t_1 - t_0)$ ]을 이용하여 산정하였다(Pirt 1975).  $X_0$ 와  $X_1$ 은 최초 접종 시점부터 최대성장 사이에 선택된 시간 중 실험시작( $t_0$ )과 종료( $t_1$ )시의 바이오매스 생산량을 의미한다.

(라) 현미경 관찰

실험 종료일에 오염생물 출현 여부 및 스피룰리나 각 개체의 나선 횟수는 1- ml의 샘플을 혈구계수판에 넣어 도립현미경(Olympus, CKX41, Japan)으로 관찰하였다. 최종적으로 각 실험구별 배양 스피룰리나는 실험 종료일에 20 mm 망목의 물러가제를 사용하여 모두 수확하였고,  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 초저온냉동고에 보관하였다. 보관 48시간 후, 스피룰리나의 생화학적 분석을 위해 동결건조기(Ilshin biobase, FD8518)로 건조하였다.

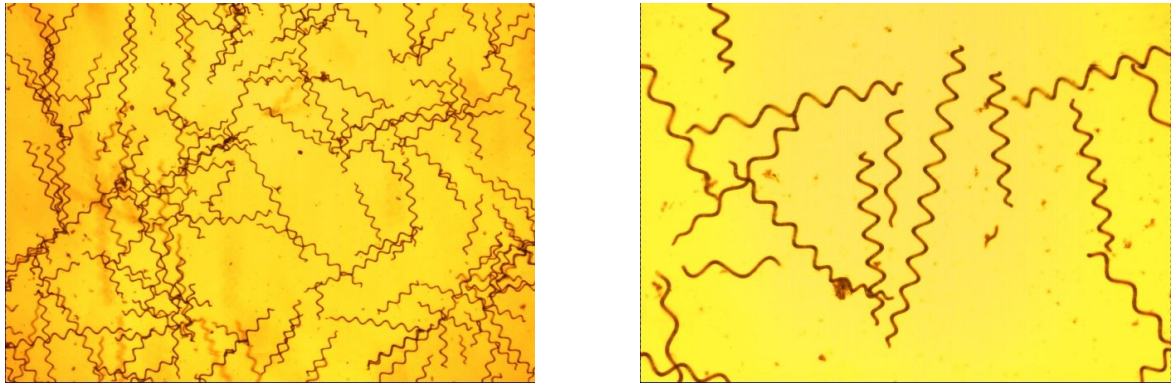


그림. 2-5-3. 현미경으로 관찰된 *S. platensis* 모습(좌: 40배율, 우: 100배율).

Fig. 2-5-3. Photomicrographs of *S. platensis*.

(마) 일반성분 및 아미노산 분석

배양기간 중 성장이 가장 우수했던 실험구 A2의 건조분말을 우선적으로 선택하여 AOAC (Association of Official Analytical Chemists: Thompson and Merola 1993) 방법에 따라 조체의 단백질, 지방, 탄수화물, 수분, 회분 및 아미노산 함량을 분석하였다.

나. 결과 및 고찰

(1) 배양 환경

실험 및 배양기간 동안 광량은 479 - 2,492, 429 - 3,300 및 182 - 660  $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (9:00am, 1:00pm 및 5:00 pm)을 각각 나타냈다. 실험구별 수온의 변화는 유의한 차이가 없었으며, 전 실험구의 배양 수온은 평균 29.22 - 29.47°C 범위에서 유지 되었다. 요소를 질소원으로 사용한 실험구들(A - C)의 염분은 평균 3.85 - 5.76 psu의 범위를 보였고, 배양기간 동안 C2 배지에서 가장 높게 나타났다(6.28±0.42 psu). 질산나트륨을 질소원으로 사용한 대조군 R1의 염분 값은 평균 8.46±0.54 psu로 요소를 질소원으로 사용한 실험구보다 유의하게 높은 값을 나타냈다. pH의 범위는 모든 실험구에서 큰 차이가 없었다. 요소를 질소원으로 사용한 실험구에서는 평균 7.94 - 8.19의 범위를 나타냈고, 평균값은 8.12±0.32로서 질산나트륨을 질소원으로 사용한 대조군 R1의 평균값 8.14±0.23와 유사하였다(표 2-5-2).

표 2-5-2. *S. platensis* 배양기간 중 광량 및 수온, 염분, pH 값의 범위

Table 2-5-2. The range of light intensity, water temperature, salinity and pH during the culture of *S. platensis*

Light intensity	0	2	4	6	8	10	12	14	(day)		
9:00 am	2260.5	2310.0	478.5	2491.5	2491.5	2112.0	2062.5	1897.5			
1:00 pm	2491.5	2970.0	429.0	3300.0	3300.0	2491.5	1584.0	1617.0			
5:00 pm	346.5	330.0	181.5	379.5	429.0	297.0	643.5	660.0			
	R1	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	
Temperature	29.26±0.83	29.47±0.83	29.38±0.82	29.28±0.79	29.26±0.81	29.32±0.83	29.22±0.83	29.33±0.80	29.35±0.83	29.22±0.88	
Salinity	8.46±0.54	3.85±0.26	4.43±0.24	4.26±0.38	4.97±0.21	4.92±0.24	4.08±0.33	5.76±0.27	6.28±0.42	3.97±0.18	
pH	8.14±0.23	8.18±0.35	8.14±0.36	8.07±0.32	8.17±0.30	7.94±0.27	8.12±0.31	8.19±0.30	8.14±0.29	8.08±0.31	

\*Light intensity unit :  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$  day<sup>-1</sup>, water temperature unit : °C, salinity unit : psu

(2) 배지에 따른 성장 및 바이오매스 수득량

스피롤리나는 배양 일주일 만에 사멸한 B2를 제외하고는 배지 구성에 따라 0.71 - 1.05 g L<sup>-1</sup>의 범위에서 서로 다른 바이오매스를 나타냈으며, 실험군의 단위시간 당 최대 비성장률 ( $\mu_{\text{max}}$ )은 0.47 - 0.50 day<sup>-1</sup>범위를 기록하였으며 전반적으로 배양 12일에서 14일차에 나타났다. 최대비성장률 및 바이오매스는 A2에서 각각 0.5 day<sup>-1</sup>과 1.05 g L<sup>-1</sup>로 가장 높았고, 대조군 R1보다 높게 나타났으며, 일간 최대성장률 또한 A2에서 가장 높게 나타났다(표 2-5-3). A, B 그룹에서는 7.5 g L<sup>-1</sup>, C그룹에서는 10.0 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨을 첨가한 배지에서 성장이 가장 높았다.

배양기간 중 현미경 관찰 결과 다른 미세조류에 의한 오염은 실험 종료일까지 없었다. 사상체의 나선 횡수는 7.55 - 11.95를 기록하였는데, C3에서 11.95로 가장 높게 나타났고, B1, A1순으로 높게 나타났다(표 2-5-3). 중탄산나트륨이 10 g L<sup>-1</sup>첨가된 A3에서는 7.75, B3에서는 7.55



를 나타냈는데, C3를 제외하고 전반적으로 높은 농도의 중탄산나트륨이 첨가된 실험구에서 나선 횟수가 적은 것으로 나타났다.

표 2-5-3. 실험기간 동안의 최대 비성장률, 나선 횟수 및 생물생산량

Table 2-5-3. The Maximum specific growth rate, number of coil and biomass during the study period

Factors	Experimental groups								
	R1	A1	A2	A3	B1	B3	C1	C2	C3
$\mu_{max}(\text{day}^{-1})^*$	0.49	0.47	0.50	0.47	0.48	0.49	0.48	0.48	0.49
Coil No.	8.55	9.45	8.55	7.75	10.30	7.55	9.60	7.80	11.95
Biomass (g L <sup>-1</sup> )	0.97	0.75	1.05	0.71	0.85	0.97	0.87	0.80	1.02

\*  $\mu_{max} (\text{day}^{-1})$ : Maximum specific growth rate in a day

### (3) 일반 성분 및 아미노산 조성

일반성분 분석결과 단백질 56.14%, 탄수화물 16.21%, 지방 0.75%, 수분 4.92%, 회분은 20.98%를 각각 기록하였으며, 아미노산 중에서는 glutamic acid가 14.93%로 가장 높았고, aspartic acid (10.42%), arginine (10.42%)이 그 다음을 차지하였다(표 2-5-4).

표 2-5-4. A2 실험구의 일반 성분 및 아미노산 조성

Table 2-5-4. The composition of major nutrients and amino acids in A2 experimental tank

Major nutrients	Protein		Lipid		Carbohydrate			Ash		Moisture								
	56.14		0.75		16.21			20.98		4.92								
	Asp	Thr <sup>e</sup>	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Cys	Val <sup>e</sup>	Met <sup>e</sup>	Iso	Leu	Tyr	Phe <sup>e</sup>	Lys <sup>e</sup>	His <sup>e</sup>	Arg	
Amino acids	10.40	5.92	4.79	14.90	4.51	5.07	7.61	0.56	6.76	3.10	6.76	0.85	0.56	6.76	7.04	2.54	10.40	

\* <sup>e</sup>: Essential amino acids

스피롤리나(*S.platensis*)의 최대 배양을 위해서는 우선 적정량의 광량, 영양염, 탄소원의 지속적인 공급 및 높은 배양온도(30 - 35°C)가 필요하지만(Oliveira et al 1999), 이 연구에서는 축 주 현지의 자연환경을 이용하고 경제적인 배양방식을 고려하는 것이 목적이므로 온도 및 광량, 자연으로부터 유입되는 우수까지도 현지의 자연적인 기후조건에 의존하여 실험을 수행하였다. 광량은 일반적으로 맑은 날과 흐린 날의 최대값이 각각 3,300과 429  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 그 차이가 꽤 크게 나타났으며, 수온은 실험구별 유의한 차이는 없었다. 염분은 배지에 첨가된 영양염의 함량에 따라 다르게 나타났는데, 요소를 첨가한 배지 보다 질산나트륨을 첨가한 배지(R1)에서 높게 나타났다. pH는 B2 실험구에서 다른 실험구에 비해 낮은 값을 나타냈다. 실험이 진행된 지역의 실외 배양환경은 연중 기온이 일정하게 유지되기는 하나 강수량이

많고, 조도가 높다는 점은 미세조류를 안정적으로 배양하는데 있어서 고려되어야 할 부분으로 생각 된다. 또한 실외배양 시 배양 대상종 외 다른 동·식물 플랑크톤에 대한 오염은 배양배지의 영양염 이용에 대한 경쟁, 독성물질 생성 및 포식현상 등 생물생산량이 감소하는 심각한 문제를 야기할 수 있지만(Becker 2008), 이번 연구에서는 실험 종료일까지 현미경으로 관찰한 결과 다른 생물에 의한 오염은 관찰되지 않았다.

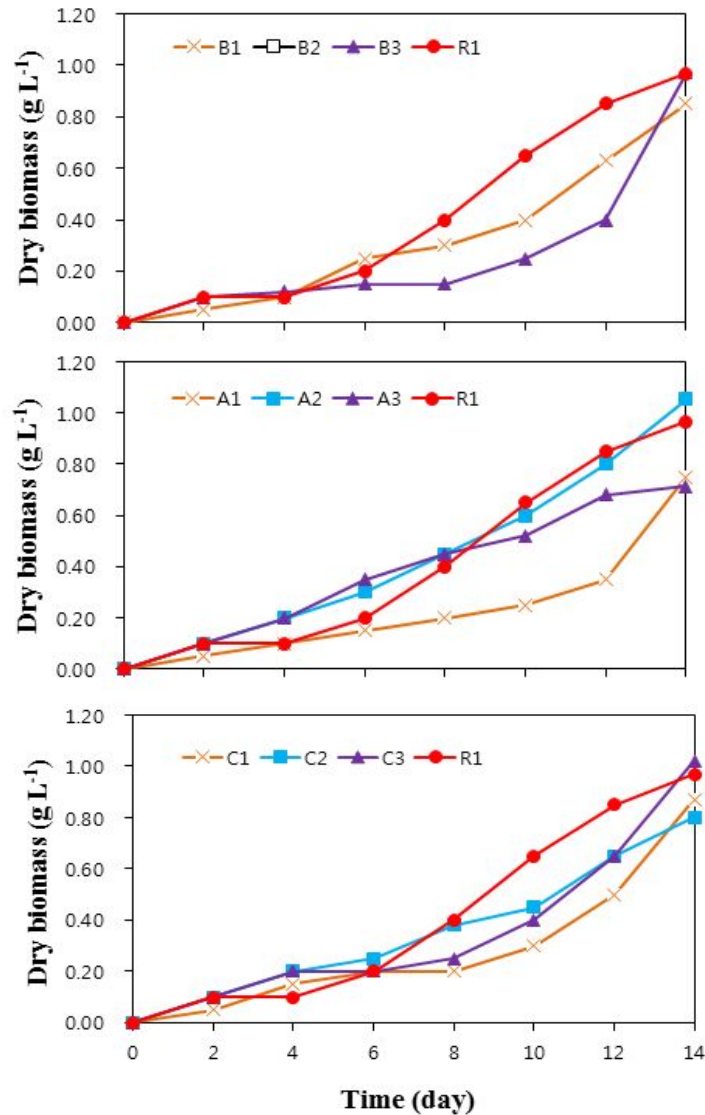


그림. 2-5-4. *S. platensis*의 생물생산량.

Fig. 2-5-4. Biomass production of *S. platensis*.

요소는 질소원으로 중탄산나트륨은 탄소원으로 모두 미세조류의 성장과 밀접한 관계가 있기 때문에(Becker 2008) 저비용으로 최대 성장을 이끌어 내기 위해서는 두 영양염의 상관관계도 향후 실험에서 고려되어야 할 것으로 생각된다. 2 g L<sup>-1</sup>의 요소가 첨가된 배지(A1 - A3)

에서는 7.5 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨의 첨가된 배지(A2)에서 1.05 g L<sup>-1</sup>의 바이오매스를 생산하여 5 g L<sup>-1</sup> 및 7.5 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨을 첨가한 배지(A1, A3)보다 높은 값을 나타낸 반면, 6 g L<sup>-1</sup>의 요소가 첨가된 배지(C1 - C3)에서는 7.5 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨이 첨가된 배지(C2)에서 0.80 g L<sup>-1</sup>의 바이오매스를 생산하였는데 이는 10 g L<sup>-1</sup>의 중탄산나트륨을 첨가한 배지(C3, 1.02 g L<sup>-1</sup>)보다 낮은 바이오매스로 스피롤리나의 최대 성장 도달에 중탄산나트륨이 부족했던 것으로 생각된다. 요소를 질소원으로 사용한 배양배지 내에서 높은 농도의 요소로부터 전환된 암모니아에 의해 일부 성장저해 현상이 일어나는데(Danesi et al. 2002), 본 실험에서는 암모니아에 의한 성장 저해는 없었던 것으로 관찰되었다(그림. 2-5-4). 또한 성장 저해의 원인 중 인산암모늄, 황산암모늄 및 요소 등을 이용한 다른 스피롤리나의 배양 연구에서 인산암모늄의 농도가 0.01 M 환경에서 사상체가 잘게 잘리거나 세포벽이 녹는 현상이 관찰된 바 있는데, 이는 요소의 일부가 암모니아 가스(NH<sub>3</sub>) 또는 암모늄 이온(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)으로 전환되어 스피롤리나의 형태에 영향을 주는 것으로 보고되고 있으나(Costa et al. 2001, Faintuch et al. 1992), 본 실험에서는 현미경 상에서 사상체가 잘게 잘리거나 녹는 현상은 관찰되지 않았다. 또 다른 측면에서 Avila-Leon et al. (2012)는 배지 내 요소의 농도에 따른 스피롤리나의 성장을 비교하였는데, 배양 배지 내 높은 잔류 암모니아 농도에 의해 성장이 느려지는 것이 관찰되었고, 0.3 g L<sup>-1</sup>의 낮은 농도로 요소를 첨가한 경우가 1.415 g L<sup>-1</sup>로 가장 높은 바이오매스를 나타냈다. 이는 2.5 g L<sup>-1</sup>의 질산나트륨을 첨가하여 1.63 g L<sup>-1</sup>의 바이오매스를 얻은 R2배지에 첨가된 질산나트륨에 비해 약 8배나 적은 양이며, 결과적으로 요소는 질소원으로서의 경제적 가치를 유의하게 나타내고 있다. 이와 유사한 연구로 Danesi et al. (2002)는 배지 내 요소를 24시간 및 48시간 그리고 지속적으로 공급한 실험에서 일별 첨가 보다는 2.5 g L<sup>-1</sup>의 요소를 14일 동안 나누어 지속적으로 첨가하였을 경우가 1.591g L<sup>-1</sup>으로 가장 높은 바이오매스를 나타냈는데(표 2-5-5), 결과적으로 많은 양의 요소가 높은 성장을 가져오지는 않으며, 역시 배지 내 높은 암모니아 농도가 스피롤리나의 성장을 저해한다고 하였다.

Costa et al. (2001)은 결과적으로 질산나트륨을 첨가한 실험구에서 스피롤리나의 성장이 높은 것으로 나타났지만, 대량배양 시 경제적인 측면을 생각해 볼 때, 요소는 좋은 질소원이 될 것으로 전망하였다. 이 연구뿐만 아니라 선행연구들에서 보고된 결과로부터 요소를 질소원으로 사용한 미세조류의 대량배양에 있어서 주요 문제점으로 높은 농도의 요소가 배양 배지에 녹아 있을 때 발생하는 암모니아의 독성으로 파악되며, 이를 해결하기 위해서는 낮은 농도의 요소가 배양환경에 계속해서 유지 될 수 있도록 소량의 요소를 지속적으로 공급하는 fed-batch 공정 과정으로 배양하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

표 2-5-5. 요소를 사용하여 배양된 *S. platensis*와 이 실험과의 생물 생산량 비교

Table 2-5-5. The comparison of biomass production in *S. platensis* culture by urea composition and the results of this study

Urea (g L <sup>-1</sup> )	Culture period (day)	Biomass (g L <sup>-1</sup> )	Culture scale	References	
0.03	18	0.683	Laboratory	Avila-Leon et al. (2012)	
0.30	18	1.415			
2.50	14	1.591	Laboratory	Danesi et al. (2002)	
5.60	14	1.490			
0.60	28	0.910	Laboratory	Costa et al. (2001)	
1.80	28	0.091			
3.00	28	0.059			
2.00	14	1.050		A2	
4.00	14	0.970	Outdoor	B3	(In this study)
6.00	14	1.020		C3	

NaNO <sub>3</sub> (g L <sup>-1</sup> )	Culture period (day)	Biomass (g L <sup>-1</sup> )	Culture scale	References
2.5	18	1.630	Laboratory	R2, Raouf et al. (2006)
2.5	10	3.495	Laboratory	R3, Celekli and Yavuzatmaca (2009)

결론적으로 본 연구에서 실내 배양에 비해 현저하게 불안정한 실외 배양환경에서도 실내배양 못지 않거나, 보다 양호한 성장이 이루어졌고(표 2-5-5), 이 연구에 사용되었던 A2 배지(요소 2.00 g L<sup>-1</sup> 및 중탄산나트륨 7.50 g L<sup>-1</sup>, 토양 추출물 2.00 g L<sup>-1</sup>)가 향 후 열대환경에서 스피룰리나의 경제적인 생산을 위한 기초자료로 이용이 가능할 것으로 생각된다. 또한 이 연구에서의 단백질 함량은 56.14%를 나타내었는데, 일반적으로 스피룰리나(*S.platensis*)의 단백질 조성이 46 - 63% (Becker 2008)인 것을 감안할 때 상대적으로 높은 함량이다. 따라서 실험에 사용된 배지 조성은 스피룰리나의 생산량 및 생화학적 조성을 고려했을 때, 향 후 대량배양 연구 및 상용화 단계에 있어 활용이 가능할 것으로 생각된다.

### 제 3 절 프론티어 연구

#### 1. 웨노섬 서식 망그로브 종판별 및 산호 질병 병원체 연구

##### 가. 형태 및 분자마커를 이용한 웨노섬 서식 망그로브 종판별

##### (1) 재료 및 방법

망그로브 식물체 채집: 망그로브는 태평양연구센터가 위치하고 있는 웨노섬 부근에서 채집했다. 웨노섬의 망그로브는 섬을 둘러싸고 전체적으로 분포하지만 망그로브림 즉 홍수림을 이루는 3개의 지점을 선정하여 채집을 수행하였다(그림 3-1-1). 채집한 망그로브는 줄기와 껍질 그리고 잎으로 구분해 형태적인 동정을 수행했고, 분자생물학적 분류를 위해 진공팩으로 포장하여 실험실로 옮겼다.



Sampling point	Latitude	Longitude
# 1	7.4584	151.8904
# 2	7.4580	151.9004
# 3	7.4411	151.8838

그림 3-1-1. Mangrove 채집지점.

Fig. 3-1-1. A map showing the sampling location for Mangrove in Weno Island.

망그로브 genomic DNA 추출: 망그로브 gDNA 추출은 매뉴얼 방법인 CTAB extraction method와 plant genomic DNA kit를 사용하였다. 망그로브 시료는 액체질소하에서 막자사발을 사용하여 분쇄했고, 미세분쇄를 위해 cover glass를 첨가하였다. 망그로브 샘플 20 µg과 CTAB buffer[2 g Hexadecyl trimethyl-ammonium bromide (CTAB), 10 ml 1 M Tris PH8.0, 4 ml 0.5 M EDTA PH 8.0, 28 ml 5 M NaCl] 500 µl를 혼합하고 55°C에서 1시간 배양했다. 배양 후 500 µl chloroform을 첨가하고 10분 동안 원심분리(13,000 rpm) 하였다. 원심분리에서 얻어진 상층액을 수거해서 새로운 튜브에 옮겼다. 7.5 M 50 µl ammonium acetate, 200 µl isopropanol을 첨가하고 얼음에서 1시간동안 배양했고, 다시 10분간 원심분리하였다. 상층액을

제거하고 70% 에탄올을 사용해서 두 차례 세척한 후 50 µl 증류수로 pellet을 녹여 gDNA를 추출했다.

분자마커를 이용한 망그로브 종판별: 남태평양의 서식하는 망그로브의 분자생물학적 종판별을 위해 *rbcL* (1,5-bisphosphate carboxylase large subunit) 유전자를 분자마커로 사용했으며, *rbcL* 유전자에 대한 프라이머를 디자인하고(표 3-1-1), PCR을 수행하였다. 실험대상으로는 웨노섬에서 채집한 6종의 망그로브를 사용했으며, PCR 조건은 annealing 온도 55°C에서 40 cycle 수행하였다.

표 3-1-1. Mangrove 종 판별을 위한 프라이머 목록

Table 3-1-1. A list of primers to identify *rbcL* gene from Mangroves

Primer( <i>rbcL</i> )	Sequence
Forward	5'-AAATTGACTTATTATACTCCT-3'
Reverse	5'-AAAGTTCCTCCACCGAATTGTAG-3'

## (2) 결과 및 고찰

### (가) 형태적인 망그로브 동정

① 레드 망그로브: 레드 망그로브는 망그로브 중 가장 큰 종으로 25 m 높이까지 자란다. 잎의 아랫면과 윗면은 진한 녹색과 연한 녹색으로 확연히 구분되며 줄기는 어두운 붉은 색을 띤다. 레드 망그로브의 큰 특징 중 하나는 stilt나 buttress 뿌리라고 불리는 지지근을 갖는 것이다(그림 3-1-2). 웨노섬에서 형태적으로 분류된 레드 망그로브는 4종으로 *Rhizophora stylosa*, *Rhizophora apiculata*, *Xylocarpus moluccensis*, *Xylocarpus granatum*이 포함된다. 네 종 모두 지지근을 갖지만 *Rhizophora stylosa*, *Rhizophora apiculata*의 경우 줄기에서 뻗어 나온 stilt root를 가지고 *Xylocarpus moluccensis*, *Xylocarpus granatum*는 줄기 밑 부분에 판처럼 발달된 buttress 뿌리를 가진다. (그림 3-1-3). *Rhizophora* SP. 두 종의 구분은 잎맥 부분과 잎 아래의 갈색반점으로 구분할 수 있다. *Rhizophora stylosa*의 경우 잎맥부분에 둥근모양의 단단한 구조를 가지고 있으며 *Rhizophora apiculata*와 달리 잎 아래 부분에 선명한 갈색 반점을 가진다. *Xylocarpus* SP.는 잎 모양으로 구분할 수 있다. *Xylocarpus moluccensis*는 잎 끝이 뾰족한 침두 형태를 가지고 *Xylocarpus granatum*은 잎 끝이 둔한 둔두나 원두 형태를 갖는다(그림 3-1-2).

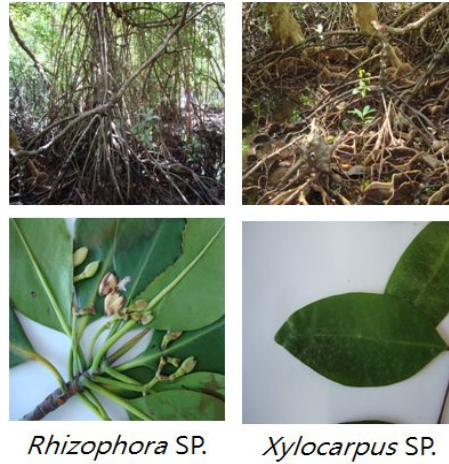


그림 3-1-2. 레드 망그로브의 잎과 뿌리구조.  
 Fig. 3-1-2. A root and leaf structure of red mangrove.

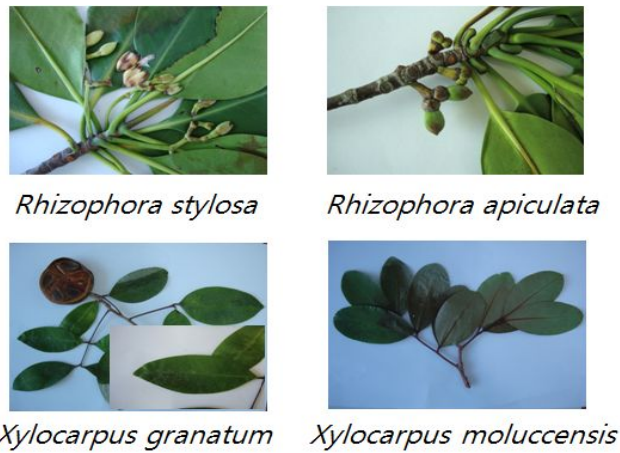


그림 3-1-3. *Rhizophora* sp. and *Xylocarpus* sp. 의 잎과 뿌리구조.  
 Fig. 3-1-3. A leaf structure of *Rhizophora* sp. and *Xylocarpus* sp.

②블랙 망그로브: 블랙 망그로브의 잎 모양은 레드 망그로브에 비해 작은 편으로 잎의 아랫면에 부드러운 털을 가지며, 종종 염분이 응집한 흰색 결정 무늬를 가진다. 나무껍질은 비늘로 뒤덮인 모양의 어두운 색을 띤다. 블랙망그로브 중 구분에서 가장 중요한 부분인 뿌리는 pneumatophores 형태로 나무 주변에 가시밭처럼 솟아 올라있다. 웨노섬에서 형태적으로 분류된 블랙 망그로브는 1종으로 *Sonneratia alba*가 포함된다. *Sonneratia alba*는 전형적인 블랙 망

그로브의 뿌리 구조를 가지며 잎은 둥근 타원 모양이다(그림 3-1-4).

③화이트 망그로브: 화이트 망그로브의 크기는 레드와 블랙에 비해 작은 편이다(높이 6 m, 직경 30 cm). 잎의 연한 녹색을 띄며, 다른 종에 비해 두껍다. 염분이 많은 환경에 적응하기 위해 잎에는 땀샘(glands)과 같은 특이한 구조를 가지며, 이를 통해 염분을 제거한다. 뿌리는 레드 망그로브와 같이 원 줄기 기부에서부터 사방으로 퍼진 stilit, buttress 형태를 가진다. 웨노섬에서 형태적으로 분류된 화이트 망그로브는 1종으로 *Excoecaria agallocha*가 포함된다(그림 3-1-5). *Excoecaria agallocha*의 큰 특징 중의 하나는 잎과 줄기를 자르면 맹 독성의 유즙이 발생되고, 이는 사람의 눈을 멀게 할 수 있는 독성을 가진다. 또한 줄기는 밝은 갈색으로 다른 종과는 확연히 구분된다.



*sonneratia alba*

그림 3-1-4. 블랙 망그로브의 잎과 뿌리구조.

Fig. 3-1-4 A root and leaf structure of black mangrove.



*Excoecaria agallocha*

그림 3-1-5. 화이트 망그로브의 잎과 뿌리 구조.

Fig. 3-1-5. A root and leaf structure of white mangrove.

④ 웨노섬에 서식하는 망그로브 종의 형태적인 분류키: 태평양 해양 연구센터가 위치한 웨노섬에 서식하는 망그로브 6종의 구분은 형태적으로 뿌리의 구조, 잎의 모양으로 나뉘어 구분할 수 있다(그림 3-1-6). 뿌리는 아치나 긴 막대모양과 판상 그리고 원뿔 모양으로 구분되고 잎은 잎의 모양과 광택, 그리고 잎 끝은 돌기나 가시 모양을 구분하여 종을 판단할 수 있다.



- 1. Roots grow from the stem on the ground
- 2. Toxic substrates from leaf and stem after cut  
.....*Excoecaria agallocha*
- 2. No toxic substrates from leaf and stem
- 3. The shape of Root is arch and stilt  
...*Rhizophora stylosa/ Rhizophora apiculata*
- 3. Root is buttress
- 4. The edge of leaf has round shape  
.....*Xylocarpus granatum*
- 4. The edge of leaf has sharp shape  
.....*Xylocarpus moluccensis*
- 1. Roots originate from underground  
.....*Sonneratia alba*

그림 3-1-6. 웨노섬에 서식하는 망그로브 종의 형태적인 분류키.

Fig. 3-1-6. Physiological standards to classify mangroves living in Weno Island.

(나) 분자마커를 이용한 망그로브 식물 종판별

웨노섬에 서식하는 망그로브의 형태적인 동정 후 보다 정확한 종 분류를 위해 망그로브로부터 *rbcL* 유전자를 클로닝하고 염기서열을 분석하였다. 샘플링을 수행한 총 6종의 망그로브로부터 CTAB method를 통해 genomic DNA를 추출하였고(그림 3-1-7), *rbcL* primer를 이용하여 PCR을 수행했다(그림 3-1-8).

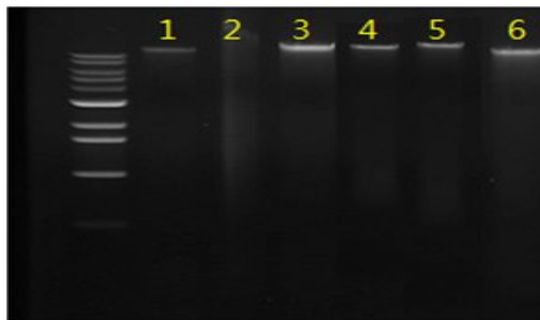


그림 3-1-7. 망그로브 6종의 유전체 추출.

Fig. 3-1-7. Genomic extraction from six different Mangrove (1 *Rhizophora stylosa*, 2 *R. apiculata*, 3 *Xylocarpus granatum* 4 *X. moluccensis*, 5 *sonneratia alba*, 6 *Excoecaria agallocha*).

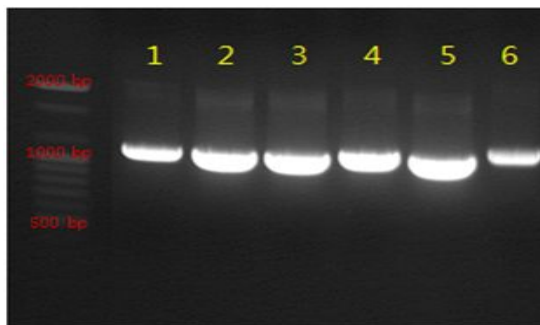


그림 3-1-8. RBCL primer를 이용한 PCR 수행.

Fig. 3-1-8. Amplification of RBCL gene by PCR assay from Mangroves (1 *Rhizophora stylosa*, 2 *R. apiculata*, 3 *Xylocarpus granatum* 4 *X. moluccensis*, 5 *sonneratia alba*, 6 *Excoecaria agallocha*).

약 1000 bp의 사이즈로 증폭된 *rbcL* 유전자는 바이오니아 서열 분석팀을 통해 염기서열이 분석되었다. 분석한 염기서열은 NCBI blast를 통해 상동성이 높은 유전자와 matching하였고, 유전학적으로 분석된 망그로브 종은 형태학적으로 구분된 망그로브와 비교하여 최종 종판별을 하였을 때 일치하는 것으로 나타났다.

분석된 염기서열은 mega 5 program을 통해 계통발생학적(maximum likelihood tree method)인 구분을 수행하였다. 계통발생학적으로 각 두 종의 *Rhizophora* SP. *Xylocarpus* SP. 는 같은 분지의 계통학적 발생을 나타냈고 *Excoecaria agallocha*, *R. stylosa*, *R. apiculata*, *Sonneratia alba*, *X. granatum*, *X. moluccensis* 순으로 발생된 것으로 분석되었다(그림 3-1-9).

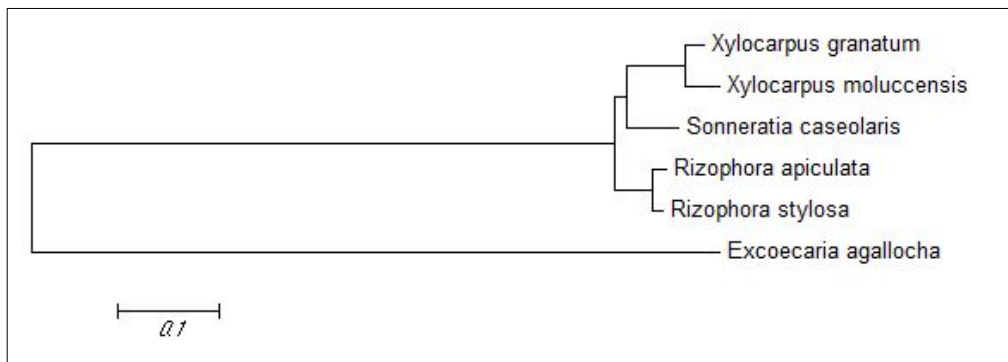


그림 3-1-9 웨노섬에 서식하는 망그로브 6종의 계통분류.

Fig. 3-1-9. Phylogenetic trees between six mangroves present in Weno Island.

#### 나. 웨노섬 서식 해양바이러스 밀도분석 및 산호질병유발 바이러스 검출

##### (1) 재료 및 방법

①해수 채집 및 필터: 태평양 해양 연구센터 연안의 5개 지점에서 해수 120 L를 채수하고 0.45 μm 필터를 사용해 이물질을 제거했다. 이물질이 제거된 해수는 0.2 μm 필터를 이용하여 박테리아를 제거하였으며, 바이러스 농축을 실시하였다. 바이러스 농축과정은 1M FeCl<sub>3</sub>를 제조한 후 해수 10 L에 제조한 1 ml FeCl<sub>3</sub>를 혼합하여 바이러스가 응집되게 하였다. 응집된 바이러스는 polycarbonate (0.8 μm isopore membrane) 재질인 필터를 사용해 농축하였다(그림 3-1-10).

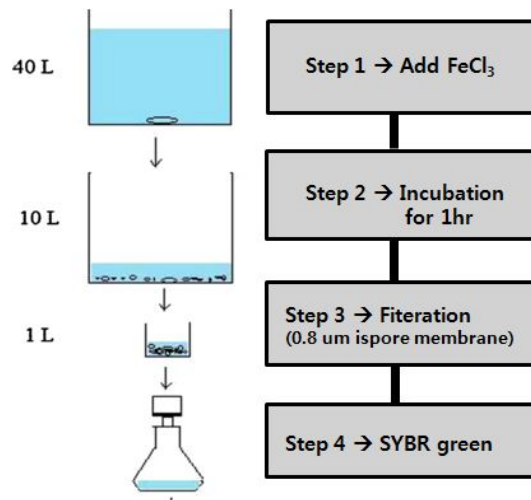


그림 3-1-10. Viral concentration 모식도.

Fig. 3-1-10. Schematic diagram for viral concentration.

②해양 바이러스 direct counting: 5개 정점의 바이러스의 분포를 확인하기 위해 direct counting 실험을 수행했다. Direct counting 실험을 위해 태평양 해양 연구센터 연안의 5개 정점에서 각 1 ml 씩 해수를 채수하였고(그림 3-1-11), 채수한 해수는 위에서 설명한 필터과정을 통해 바이러스를 농축했다. 농축한 바이러스는 200 µl resuspension buffer (ascorbic acid)를 사용해 재부유하였고 SYBR green을 첨가하여 10분 후 형광현미경을 통해 바이러스 분포를 확인했다.



그림 3-1-11. 조사지점.

Fig. 3-1-11. Maps showing the sampling location.

③인간유래 산호 질병 유발 바이러스 검출을 위한 프라이머 디자인 및 PCR: NCBI 논문 검색 및 유전자 검색을 통해 산호에 감염 가능한 인간유래 바이러스 18종의 목록을 작성하

고, 인간유래 바이러스 검출을 위해 18종 유전자의 프라이머를 제작했다(표 3-1-2). PCR 증폭 반응은 10X reaction buffer 2 ul, 2.5 mM dNTPs 2 ul, Taq DNA polymerase 0.5 ul, 산호에서 추출한 viral DNA/RNA를 혼합하여 total 20 ul로 수행하였다. 반응 조건은 94°C에서 1분, 55°C에서 30초 그리고 72°C에서 1분씩 각각 40 사이클을 수행하였다.

표 3-1-2. 인간 유래 바이러스 검출을 위한 프라이머 리스트

Table 3-1-2. A list of primers for identification of human-originated virus

species		primers	
1	Acanthamoeba polyphaga mimivirus	TGGCTTTGACAAAAACGTCG	GCAATGGAAAATGCTCATGG
2	Ambystoma tigrinum virus	GAAAACACCGGACGTGAGTG	GTTGTCCACAAGCACAGGG
3	Amsactamooreientomopoxvirus	AATCATCCAATAATTCGTCTACAA	GGTTGTGGTCATGGTAAATAACA
4	Bovine herpesvirus 5	CTACACCCGTGCACTTCGTT	GGCATCGGCAGTACAGTCAC
5	Bovine herpesvirus 5	TGCATGTACACGGGAACCA	TCTACCGCATGTTTCGAGGTG
6	Canarypox virus	CGGCGATCAATAACTCTTGG	ATGCATGTAGGAACCGACGA
7	Macacine herpesvirus 1	GCTGCTCTCCCGCTACTTCT	CTGTCGCTCTCGTCTCGT
8	Cercopithecine herpesvirus 2	ATCTCATTCAAAGCGTTGCG	GTTTCTTCTGGGCTTCGGTC
9	Ectocarpus siliculosus virus 1	CATCTCCCCAACCCCTTCTA	CATGCATGGGAAACTGGAG
10	Equid herpesvirus 2	GTGGTACCCGCCCTGTATCT	GCCATAATGAGCAGAGGCCAA
11	Human herpesvirus 1	AGTCCCAGGTAACCTCCACG	GAGGCCCAGACCACCAGG
12	Human herpesvirus 2	TGTCTGTTGGGCTTGTCTGT	CACGTTGACGTGGTGTGG
13	Melanoplus entomopoxvirus sanguinipes	CCAATAATATCCATACCAATAACAA	TTTCTGAATGTGTGTTACCTAATTTCAA
14	Nosemaceranae	TAAGAGGAGCAAATGGCACG	GACGCTTCGTAAGACGTTCAA
15	Shrimp white spot syndrome virus	AAGGAGATGGGGTTCGTGTC	CGTGTGGAGGGGTAACCTCGT
16	Singapore grouper iridovirus	GTGAGAAACGCGCATCTGTT	TCCTCGGATTTGTTGTTGGA
17	Suid herpesvirus 1	ATGCCTCCACAACGAGCC	GCAGGATCAGAAACACGAGG
18	Tupaiaid herpesvirus 1	AGCGCGGCTACTGGTTAAG	GTCCTCTCCCACTTCTCGG

④산호 채집: 산호의 채집은 총 3곳에서 이루어졌다. 정점 1(N 07.45088, E 151.90414)에서는 *Clavularia* sp., *Sinularia* sp. 정점 2(N 07.478, E151.90164)에서는 *Sinularia* sp.을 채집하였으며, 정점 3(N07.51563, E151.96608)에서 *Sarcophyton* sp.를 채집하였다(그림 3-1-12). 모든 산호는 병증이 확인되는 종과 확인되지 않는 종으로 나누어 주변 바닷물과 같이 비닐 팩에 담아 채집하였으며, 채집 후 현지 실험실에서 막자사발을 이용해 산호만 잘게 부수어 RNA later solution에 담아 -70°C에 보관하였다.

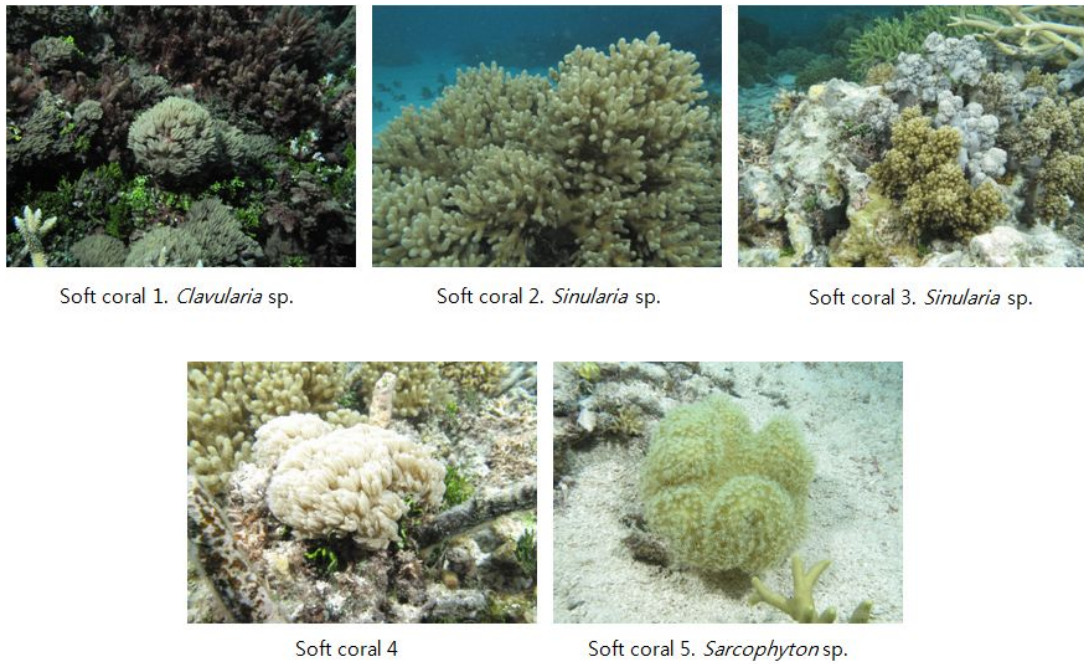


그림 3-1-12. 웨노섬에 서식하는 연산호.

Fig. 3-1-12. Soft corals living in Weno island.

⑤산호 Viral DNA/RNA 추출: 산호에서의 viral DNA/RNA 추출은 페놀법과 IQ easy Plus Viral DNA/RNA Extraction kit (intron), Viral Gene-Spin™ Viral DNA/RNA Extraction kit (intron)을 사용했다. 산호 샘플은 막자사발과 액체질소를 사용하여 분쇄했고, homogenizer로 미세분쇄하였다. 산호 샘플 50 µg과 lysis buffer 500 µl를 혼합하고 상온에서 20분 배양했다. 배양 후 700 µl binding buffer를 첨가하고 1분 동안 원심분리(13,000 rpm)하였다. 원심분리에서 얻어진 상층액은 spin column으로 옮기고 원심분리를 통해 column membrane에 binding되게 유도했다. Membrane에 binding된 Viral DNA/RNA는 washing buffer를 사용해 두 차례 세척했고, 50 µl elution buffer를 사용해서 추출했다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 웨노섬 연안 5개 정점 해양 바이러스 direct counting

5개의 정점에서 바이러스 밀도를 분석한 결과, 오사쿠라 섬에서 가장 많은 바이러스 개체가 존재하였고, 8번 > 7번 > 3번 > 6번순으로 바이러스 개체수가 감소하는 경향을 나타내었다. 오사쿠라 섬 인근 해수에서의 바이러스 개체수는 약 17만개/ml이었으며, 나머지 4정점은 평균적으로 8~10만개/ml로 나타났다.

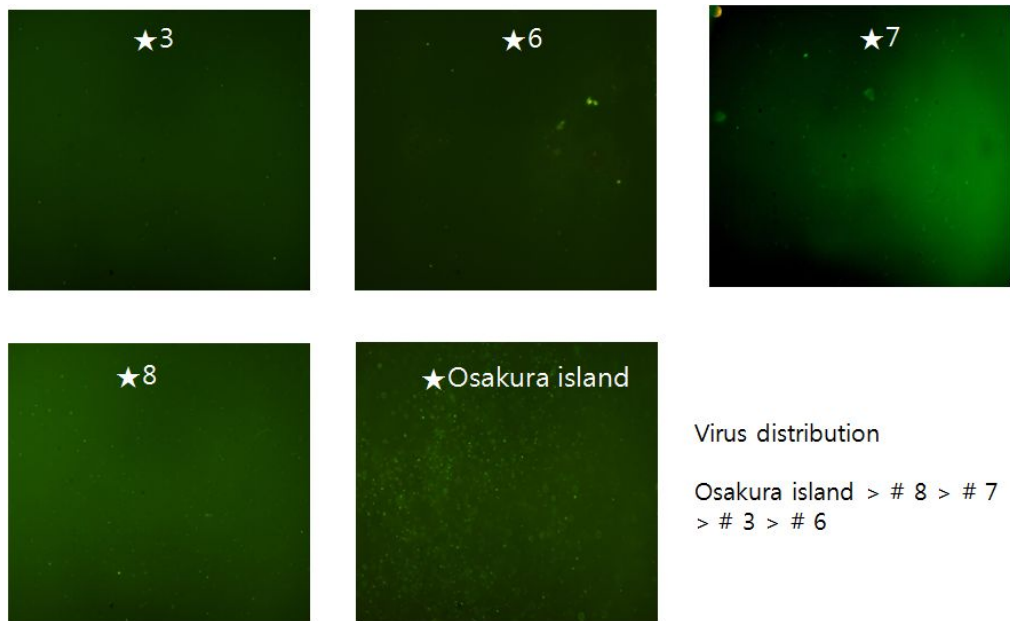


그림 3-1-13. 웨노섬 주변 정점에서 확인된 바이러스.

Fig. 3-1-13. Identification of virus from Weno island using fluorescence microscope.

(나) 산호 viral DNA/RNA 추출

페놀법과 IQ easy Plus Viral DNA/RNA Extraction kit (intron), Viral Gene-Spin™ Viral DNA/RNA Extraction kit (intron) 3 가지 추출 방법을 사용하여 산호 샘플로부터 바이러스 유전자를 분리했다. 3 가지 방법 중 IQ easy 방법으로는 바이러스를 검출 할 수 없었지만, 나머지 두 방법을 사용해 바이러스 유전자를 검출 했다(그림 3-1-14).

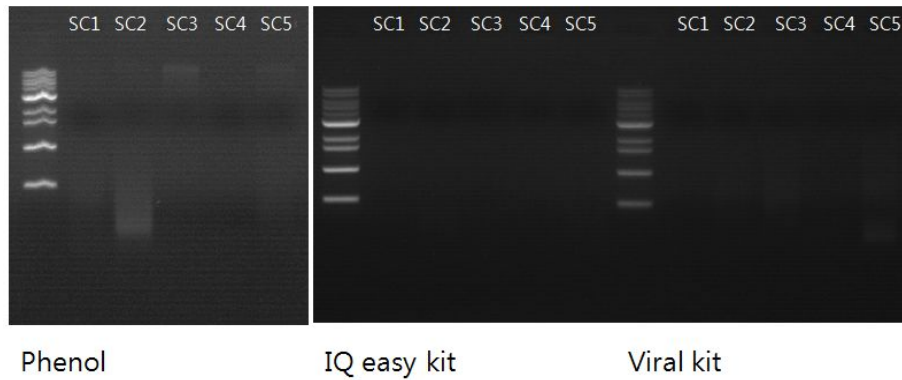


그림 3-1-14. 연산호 샘플에서 분리된 바이러스 유전자.

Fig. 3-1-14. Genomic DNA extraction from soft corals present in Weno Island.

(다) 산호에서 인간유래 바이러스 검출.

산호로부터 분리된 viral DNA는 미리 준비한 인간 유래 바이러스 프라이머를 사용하여 증폭했다. 증폭에는 PCR 기법을 사용하였고 annealing 온도는 56°C로 하여 40사이클을 수행하였다. 증폭 결과 4종(sc; soft coral 2~5)의 산호에서 2 종(*Amsacta moorei* entomopoxvirus, Bovine herpesvirus 5)의 인간유래 바이러스가 검출 되었고, 유전자 서열로 확인하기 위해 bioneer 서열 분석 팀에 분석을 의뢰했다(그림 3-1-15).

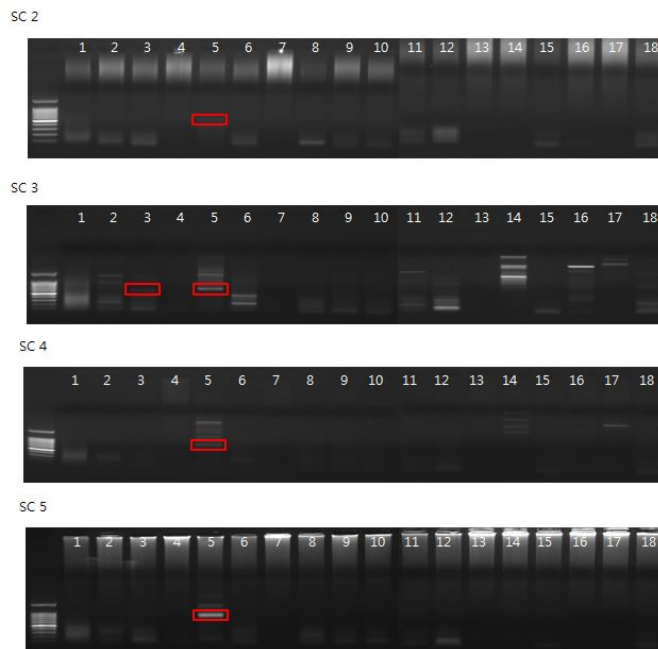


그림 3-1-15. 연산호에서 분리된 인간유래 바이러스 유전자.

Fig. 3-1-15. Identification of human-originated virus in soft coral(sc; soft coral, 1~18: primers).

다. Pyrosequencing을 통한 산호질병유발 해양박테리아 탐색

(1) 재료 및 방법

Pyrosequencing을 통한 해양박테리아 병원체 탐색: 해양박테리아 채집을 위해서 마이크로네시아 웨노섬 4개 정점에서 해수를 채취하였으며, 각 정점에서 표층, 중층 및 저층 해수를 채취한 후 모두 모아 pyrosequencing을 위한 시료로 사용하였다. 남태평양 해수 샘플은 각각 2월, 6월에 채취되었으며 2월 샘플은 일배수로 6월은 이배수로 준비되었다. 채집된 해수는 0.22 µm 폴리카보네이트 필터를 사용하여 filtering하였고, PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio, Solana Beach, CA, USA)를 이용하여 gDNA를 추출하였다(그림 3-1-16). GS Junior Sequencing system (Roche Branford, CT, USA)를 이용하여 Chunlab, Inc에서 pyrosequencing을 수행하였다(그림 3-1-17).

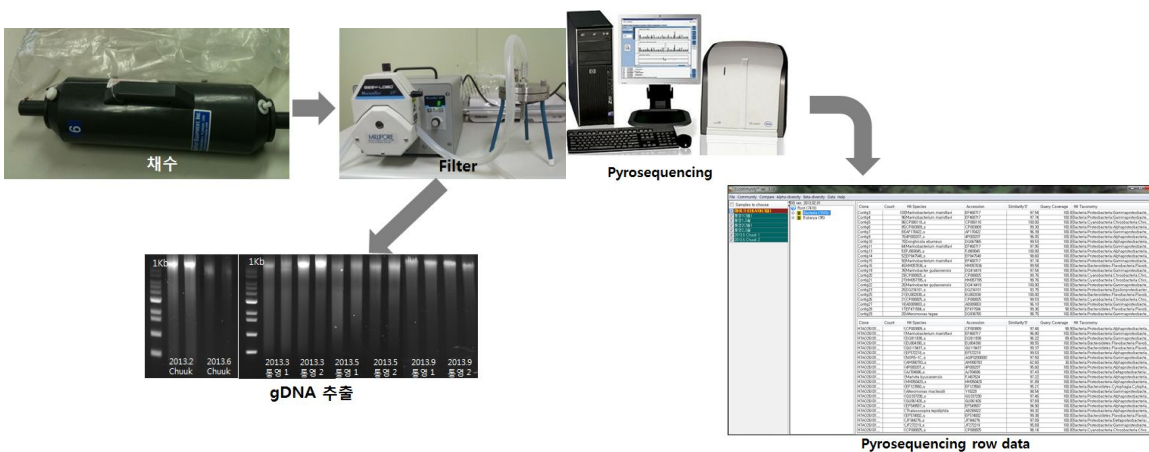


그림 3-1-16. 해양박테리아 추출과정. 그림 3-1-17. 해양박테리아 계통분류.

Fig. 3-1-16. Schematic procedure to extract marine bacteria from seawater. Fig. 3-1-17. Pyrosequencing analysis for marine bacteria.

(2)결과 및 고찰

(가) Pyrosequencing을 통한 웨노섬 연안의 해양 병원성 박테리아 탐색

Pyrosequencing 결과 2월과 6월 1900 이상의 OTUs(operational taxonomic units)가 분류되었다. 두 계절에서 51 문(phylum) 이상의 박테리아가 검출되었고 2월은 125종, 6월은 84종이 검출되었다(그림 3-1-18, 19). 검출된 박테리아는 proteobacteria가 73%로 지배적이었고, 6월보다 2월에 박테리아의 종이 훨씬 많이 검출되었다. 검출된 박테리아 목록에서 병원성을 지닌 박테리아는 전체에 약 1% 비율로 차지했다. 병원성 박테리아의 종은 크게 *Arcobacter*, *Desulfovibrio*, *Rickettsia*, *Vibrio* and *Zunongwangia*로 나타났고 vibiro가 지배적이었다. 2월에 나타난 병원성 박테리아는 총 13종, 6월은 9종으로 나타났다(표 3-1-3).



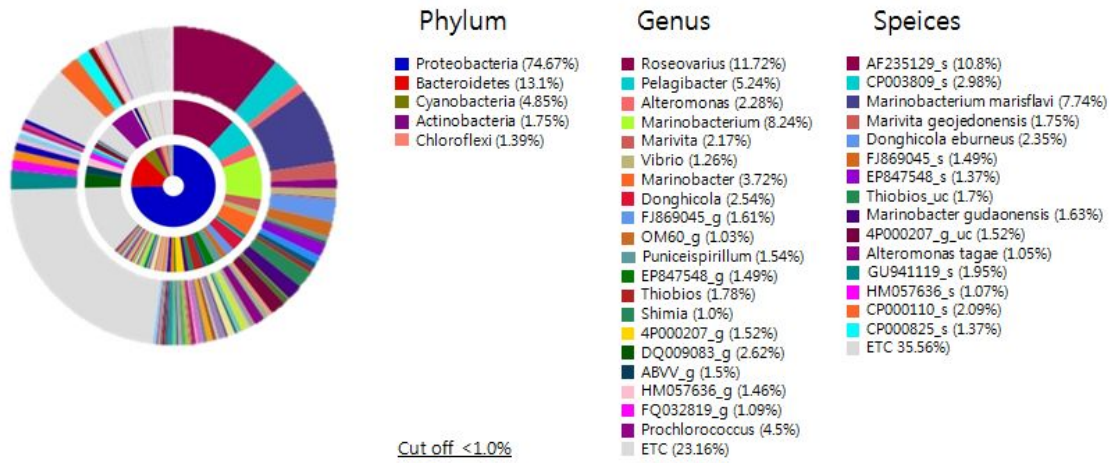


그림 3-1-18. 2013. 2월에 해수에서 분리된 박테리아 조성.  
 Fig. 3-1-18. Bacterial composition in February seawater.

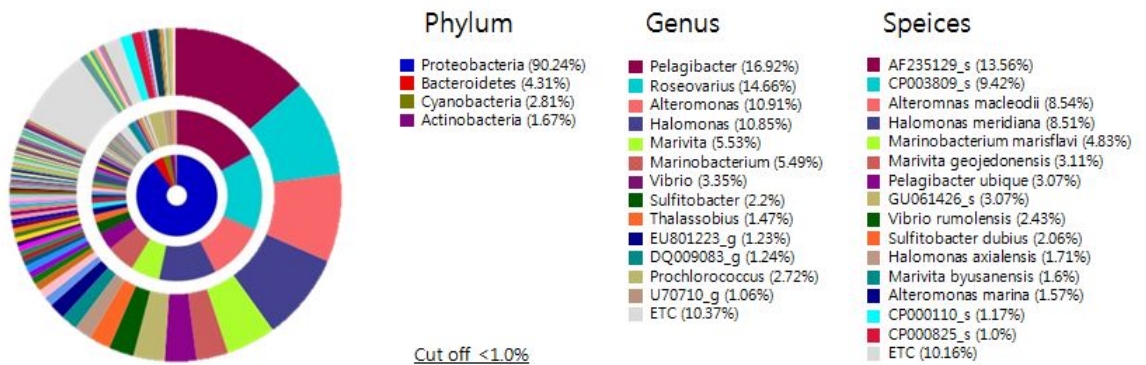


그림 3-1-19. 2013. 6월에 해수에서 분리된 박테리아 조성.  
 Fig. 3-1-19. Bacterial composition in June seawater.

표 3-1-3. 2013. 2월과 6월에 분리된 박테리아 종 목록

Table 3-1-3. A list of pathogenic bacteria in February and June seawater

Pathogenic bacteria in Feb	Read	Pathogenic bacteria in Jun	Read
<i>Arcobacter mytili</i>	34	<i>Flexibacter litoralis</i>	2
<i>Vibrio penaeicida</i>	10	<i>Legionella steelei</i>	2
<i>Arcobacter cloacae</i>	6	<i>Vibrio fortis</i>	5
<i>Vibrio communis</i>	6	<i>Vibrio plantisponsor</i>	8
<i>Vibrio campbellii</i>	4	<i>Vibrio rumoiensis</i>	116
<i>Vibrio inihbens</i>	4	<i>Vibrio shilonii</i>	3
<i>Vibrio fortis</i>	3	<i>Vibrio tubiashii</i>	2
<i>Vibrio maritimus</i>	3	<i>Vibrio vulnificus</i>	2
<i>Vibrio owensii</i>	3		
<i>Desulfovibrio aespoeensis</i>	2		
<i>Rickettsia rickettsii</i>	2		
<i>sym_Inanidrilus leukodermatus</i>	2		
<i>Zunongwangia profunda</i>	2		
<i>Vibrio gazogenes</i>	2		
<i>Vibrio plantisponsor</i>	2		
<i>Vibrio tubiashii</i>	2		
Total 16 species 87 reads		Total 8 species 140 reads	

(나) 산호 감염 위험성을 가진 병원성 박테리아 목록

Pyrosequencing으로 확인 된 병원성 박테리아 중 산호 질병에 영향을 미치는 박테리아를 구분했다. 산호 질병 유발 박테리아는 총 3종으로 *Vibrio campbellii*, *Vibrio owensii*, *Desulfovibrio aespoeensis* 박테리아가 확인되었다. *Vibrio campbellii* 는 주로 *Pocillopora damicornis* 산호에 백화나 조직용해 현상을 발병시키고, *Vibrio owensii* 는 *Montipora* 산호에 white syndrome 증상을 유발한다. 또한 *Desulfovibrio aespoeensis*는 대부분의 경산호에 black band 질병을 유발한다. 그림 20은 *Vibrio campbellii*, *Vibrio owensii*, *Desulfovibrio aespoeensis* 박테리아가 유발한 산호의 질병 사진이다. 향후 경산호의 채집을 통한 산호 질병에 영향을 미치는 해양 병원성 박테리아나 바이러스의 연구가 수행되어야 할 것이다.



그림 3-1-20. 해양박테리아에 감염된 산호.

Fig. 3-1-20. Corals infected with marine pathogenic bacteria.

## 2. 망그로브 생태계 구조 및 기능

### 가. 연구 지역 및 시료 채집

태평양 서북부에 위치한 마이크로네시아 웨노섬의 북쪽 망그로브 숲(151°53' E, 7°27' N; 그림 3-2-1)에서 2012년 우기(5월)에 레드 망그로브(*Rhizophora stylosa* Griff) 잎과 호흡근, 잘피(*Enhalus acoroides*) 잎과 뿌리, 표층 퇴적물, 입자유기물 그리고 망그로브 주변에 서식하는 고둥류(4종; *Littorina* cf. *scabra*, *Strombus* sp.1, *Strombus* sp.2, *Terebralia* cf. *palustris*) 및 집게(1종; *Pagurus* sp.)를 채집하였다. 또한 2013년 우기(7월)에 웨노섬 북쪽 망그로브 숲(151°53' E, 7°27' N)과 남쪽 망그로브 숲(151°53' E, 7°26' N)에서 망그로브를 포함한 여러 해조류와 다양한 어류(약 30종) 및 저서생물(약 10종), 그리고 표층 퇴적물과 입자유기물을 채집하였다.

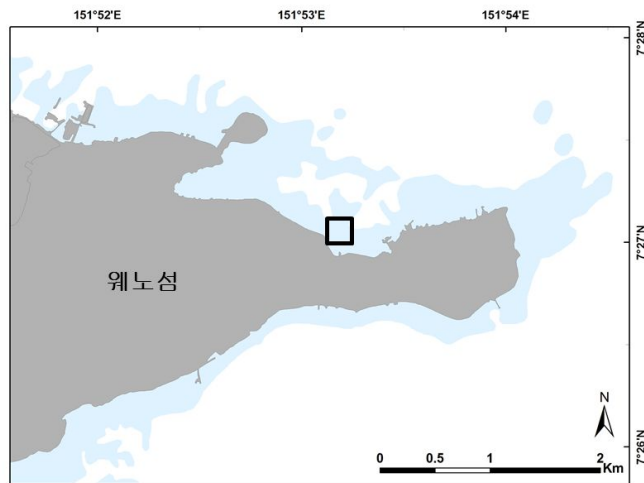


그림 3-2-1. 채집 지역.

Fig. 3-2-1. Sampling area located in the northern part of Weno Island which indicated by a black square.

### 나. 결과

#### (1) 주요 영양원 및 저서생물의 주요 지방산 구성

2012년 우기에 웨노섬 북쪽 망그로브 숲에서 채집한 망그로브 잎과 호흡근, 잘피 잎과 뿌리, 표층 퇴적물 그리고 입자유기물의 주요 지방산 구성을 살펴보았다. 망그로브 잎과 호흡근은 18:2 $\omega$ 6과 18:3 $\omega$ 3이 총 지방산의 18%과 46%로 가장 우점하였으며, branched 지방산과 긴 사슬 지방산(LCFA: Long chain fatty acid)도 미량 검출되었다(그림 3-2-2). 이러한 망그로브의 지방산 구성비는 잘피 잎과 뿌리에서도 유사하게 나타났다. 그러나 표층 퇴적물의 지방산은 주로 branched 지방산, 18:1 $\omega$ 7 그리고 긴 사슬 지방산으로 구성되었으며, 긴 사슬 지방산은 전체 지방산의 약 18%로 가장 우점하였다. 반면에 입자유기물에서는 branched 지방산과 18:1 $\omega$ 7

이 가장 우점하였고, 이 밖에 18:1 $\omega$ 9를 포함한 다양한 지방산이 검출되었다. 타 지역의 열대/아열대 해역에서 맹그로브 생태계 연구 결과를 살펴보면, 18:2 $\omega$ 6과 18:3 $\omega$ 3은 잘피로부터, 그리고 긴 사슬 지방산은 맹그로브와 같은 유관식물로부터 기원하는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 지방산은 에너지 기원을 추적하는데 지방산 바이오 마커로 사용된다. 그러나 타 지역과는 달리 웨노섬 북쪽 맹그로브 숲에서는 18:2 $\omega$ 6과 18:3 $\omega$ 3 지방산이 맹그로브 및 잘피에서 기원하였을 것으로 추정된다.

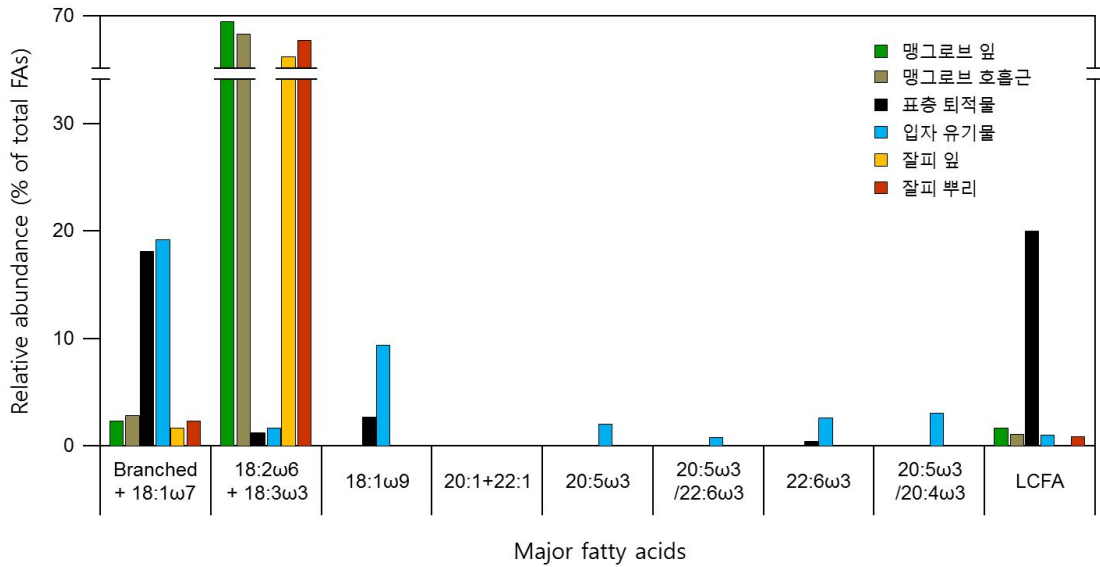


그림 3-2-2. 웨노섬 북부 잘피밭, 저질 입자, 망그로브에서 주요 지방산.

Fig. 3-2-2. Relative abundance of major source-specific fatty acids in mangrove, sediment, particulate organic matter(POM), and seagrass at the northern part of Weno Island.

주요 영양원뿐만 아니라, 맹그로브 및 잘피 주변에 서식하는 고둥류와 집게는 14~22개의 다양한 지방산을 함유하고 있었으며, 생물에 따라 각 지방산의 상대적 구성비는 차이를 보였다 (그림 3-2-3). 대부분의 고둥류와 집게에서 박테리아로부터 기원하는 branched 지방산과 18:1 $\omega$ 7, 그리고 규조류 기원의 20:5 $\omega$ 3 지방산이 우점하게 나타났으며, 특히 고둥 *T. cf. palustris*는 다량의 branched 지방산과 18:1 $\omega$ 7을 함유하고 있었다. 또한 고둥 *L. cf. scabra*는 18:2 $\omega$ 6과 18:3 $\omega$ 3이, 고둥 *Strombus* sp.2는 18:1 $\omega$ 9가 우점하였으며, 집게 *Pagurus* sp.와 고둥 *Strombus* sp.2는 20:5 $\omega$ 3이 총 지방산의 13-15%로 나타났다. 그러나 주요 영양원에서 미량 검출된 긴 사슬 지방산은 고둥류와 집게에서 검출되지 않았다. 따라서 주요 영양원과 고둥류 및 집게의 지방산 구성을 통해 이들이 맹그로브 또는 잘피를 직·간접적으로 섭취하였을 것으로 추정할 수 있다.

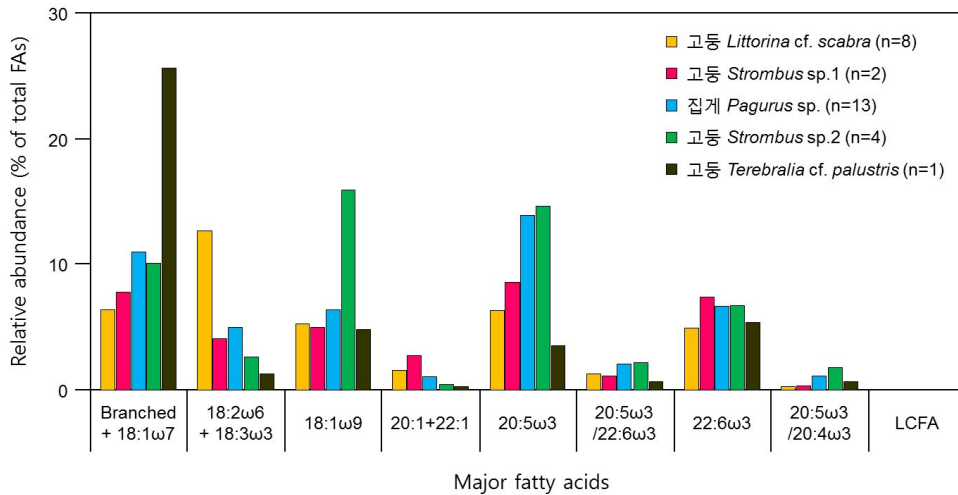


그림 3-2-3. 웨노섬 북부에서 채집된 무척추 동물의 주요 지방산.

Fig. 3-2-3. Relative abundance of major source-specific fatty acids in invertebrates collected at the northern part of Weno Island.

## (2) 탄소 및 질소 안정동위원소 비

주요 영양원과 고둥류 및 집게의 탄소·질소 안정동위원소( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) 비를 분석한 결과, 맹그로브 잎과 호흡근의  $\delta^{13}\text{C}$ 가  $-31.6\text{‰}$ 과  $-28.2\text{‰}$ 로 가장 낮았다. 그러나  $\delta^{15}\text{N}$ 은 맹그로브 잎이  $-1.1\text{‰}$ , 호흡근은  $4.1\text{‰}$ 로 맹그로브 자체에서도 잎과 호흡근 사이에 큰 차이를 보였다(그림 3-2-4). 웨노섬 맹그로브 숲 주변에서 표층 퇴적물의  $\delta^{13}\text{C}$ 와  $\delta^{15}\text{N}$ 은  $-16.4\text{‰}$ 과  $1.8\text{‰}$ 로 나타났으며, 이처럼 맹그로브보다 표층 퇴적물에서  $\delta^{13}\text{C}$ 와  $\delta^{15}\text{N}$ 이 높은 것은 대부분 무거운 동위원소인  $^{13}\text{C}$ 와  $^{15}\text{N}$ 이 풍부한 미생물, 해양 기원의 질산염, 그리고 수생식물로부터 유기물이 전달되었기 때문인 것으로 추정된다.

웨노섬 맹그로브 숲 주변에서 채집한 고둥 *L. cf. scabra*와 집게 *Pagurus sp.*의  $\delta^{13}\text{C}$ 는  $-24.3\text{‰}$ 과  $-21.1\text{‰}$ 이며,  $\delta^{15}\text{N}$ 은  $3.5\text{‰}$ 과  $2.6\text{‰}$ 로 나타났다. 5종의 고둥류 및 집게 중에서 가장 낮은  $\delta^{13}\text{C}$ 를 가진 고둥 *L. cf. scabra*는 맹그로브(잎 또는 호흡근)의  $\delta^{13}\text{C}$ 와 가장 근사한 값을 나타냈다. 반면에, 고둥 *T. cf. palustris*( $-16.9\text{‰}$ )의  $\delta^{13}\text{C}$ 는 표층 퇴적물( $-16.4\text{‰}$ )과 거의 유사하였고, 고둥 *Strombus sp.2*( $-16.6\text{‰}$ )도 표층 퇴적물의  $\delta^{13}\text{C}$ 와 약  $0.2\text{‰}$ 의 차이를 보이며 거의 같은 값을 보였다. 일반적으로 생태계 먹이망에서 같은 기원의 유기물을 가질 경우, 유사한  $\delta^{13}\text{C}$  값을 나타낸다. 따라서 웨노섬에서 고둥류 및 집게의 탄소 안정동위원소 비를 통해 고둥 *L. cf. scabra*와 집게 *Pagurus sp.*는 표층 퇴적물(수층기원유기물)보다 맹그로브에서 더 많이 기원하였고, 고둥 *T. cf. palustris*와 *Strombus sp.2*는 표층 퇴적물과 유사한 유기물 기원을 가질 것으로 추정된다. 질소 안정동위원소 비는 먹이망 내에서 영양학적 위치를 나타내지만, 웨노섬 북쪽 맹그로브 숲에 서식하는 5종의 고둥류 및 집게의 질소 안정동위원소 비를 통해서 그들의

영양단계를 파악할 수 없었다. 따라서 잘피와 입자유기물을 비롯하여 다양한 동·식물의 탄소·질소 안정동위원소 비를 추가적으로 분석하여 동위원소 모델을 적용한다면, 맹그로브 생태계의 에너지 흐름과 그들의 영양학적 관계를 좀 더 자세히 이해할 수 있을 것이다.

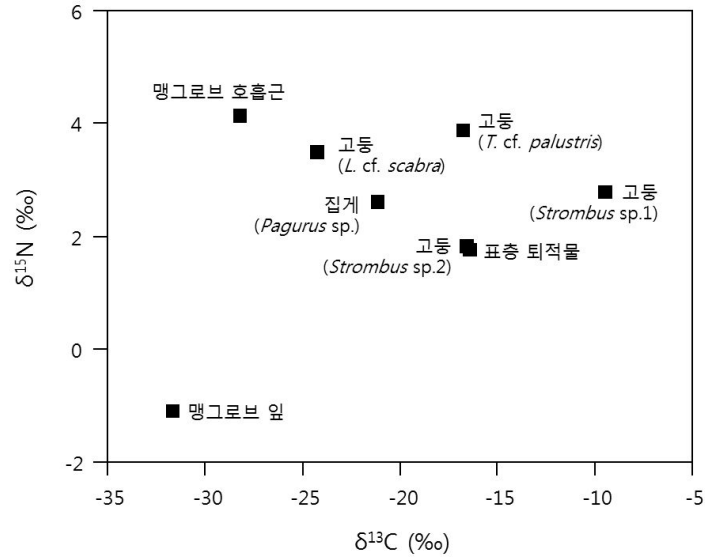


그림 3-2-4. 주요 영양원과 고둥류 및 집게의 탄소·질소 안정동위원소( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) 비.

Fig. 3-2-4.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of potential nutritional sources and consumers from Weno Island. Nutritional sources include mangrove (*Rhizophora stylosa*) and sediment. Consumers include 4 gastropods (*Littorina* cf. *scabra*, *Strombus* sp.1, *Strombus* sp.2, and *Terebralia* cf. *palustris*) and anomura (*Pagurus* sp.).

## 제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

### 제 1 절 목표 달성도

#### 1. 목표달성 내역

구 분	%	성취도 판단		특기사항 (우수성 또는 부진사유 등)
		정상	부진	
당해연도 목표달성도	(93)	•		현지 냉동 시료 국내 반입 지연(7월-11월)
최종목표 대비 달성도	(80)	•		

#### 2. 목표달성 내역

성과목표(가중치)	2013년 연구성과	연차목표 달성도	최종목표 달성도
1. 산업소재생물생산 (30%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 바이오디젤 추출용 미세조류 생산(0.5 ton)</li> <li>• 열대 기능성 어류 생산체계구축</li> </ul>	100	90
2. 생물다양성정보 및 시료확보 (30%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 열대 해양 생물 반입(400점)</li> <li>• 초호 서식처 구조 민 변동 감시</li> </ul>	70	70
3. 생태계 장기 감시기술(20%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 라군내부 물리 화학적 변동 감시</li> <li>• 망그로브 구성 및 먹이망감시</li> </ul>	100	80
4. 계량 지표(20%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 논문 생산</li> <li>• 홍보자료 발간</li> </ul>	100	80
합계(100%)		(93)%	(80)%

### 제 2 절 대외 기여도

#### ○ 기술적 측면

- 국내에서 확보할 수 없는 연구개발 소재 안정적 확보
- 안정적인 연구 소재 공급망 확보, 열대 환경 정보 기술 확보
- 생물자원의 지속 가능한 이용을 위한 기반자료 제공
- 산호초 환경 연구 기술 축적

○ 경제 산업적 측면

- 열대해역 생물자원의 국내 활용기반 홍보를 통한 연구 및 산업체 제공
- 고단백질원, 기능성 생물 소재 생산을 통한 국내 해양 산업 활성화 및 국제 경영 토대 마련
- 신소재 산업 구축을 통한 신 해양 생물 산업 기술 이전
- 남태평양 지역과 상호이익의 연구 및 산업개발 활동을 전개하도록 지원
- 태평양 국가 해양 생물 산업 증진을 위한 기초 연구 인프라 확보

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

가. 센터주변 환경감시

- 자료 표준화를 통한 연속 관측 실시 및 자료 온라인 제공
- 서식환경 감시를 위한 항목별 모니터링 실시
- 대상국 애로사업 수행을 통한 협력증대 및 현지 정보 확보

나. 생태계 감시 및 생물응용연구

- 서식지 생태 변동 모니터링 및 자료제공
- 남태평양 지역해 모니터링 및 평가를 위한 연구 네트워크 구성
- 신산업 창출을 위한 고부가가치 생물자원 탐색자료로 활용
- 유용 생물자원의 생활사 및 기능성 탐색으로 자원활용을 위한 기반마련
- 생물자원의 서식생태 환경조건 탐색으로 고부가가치 생물생산기술 개발 단계에 자료제공

다. 프론티어 연구

- 망그로브 군락 모니터링 및 자료제공
- 열대 해양환경 유래 산호질병 유발 바이러스 자료 제공



## 제 6 장 참고문헌

- 김태훈, 최영웅, 최종국, 권문상, 박홍식. 2013. 마이크로네시아 웨노섬 연안 서식지 분포의 현  
장조사와 위성영상 분석법 비교. Ocean and Polar Research 35(4), 1-11
- Andersen, R.A. 2004. Algal culturing techniques : ELSEVIER Academic Press 15 - 28 p
- Avila, L.I., M.M. Chuei, S.J. Sato, and C.M. de Carvalho. 2012. *rthrospira platensis* biomass  
with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen  
source. J Appl Microbiology ISSN1364 - 5072
- Becker, E.W. 2008. Microalgae: Biotechnology and microbiology 9 - 41p, 128 - 142p, 178p
- Costa, J.A.V., K.L. Cozza, L. Oliveira, and G. Magagnin. 2001. Different nitrogen sources  
and growth responses of *Spirulina platensis* in microenvironments. World J Microbiol and  
Biotechnol 17, 439 - 442
- Danesi, E.D.G. C.O. Rangel-Yagui, J.C.M. Carvalho, and S. Sato. 2002 An investigation of  
effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by  
*Spirulina platensis*. Biomass and Bioenergy 23, 261 - 269
- Ducklow, H.W., D.L. Kirchman, and H.L. Quinby, 1992. Bacterioplankton cell growth and  
macromolecular synthesis in seawater cultures during the North Atlantic spring  
phytoplankton bloom, May, 1989. Microb Ecol 24, 125-144.
- Eroarome, M. A. 2009. Country Pasture/Forage Resource Profiles, Federated States of  
Micronesia FAO
- Lee, S., and J.A. Fuhrman. 1987. Relationships between biovolume and biomass of naturally  
derived marine bacterioplankton. Appl Environ Microbiol 53, 1298-1303.
- Morgan, M.D., and C.L. Kitting. 1984. Productivity and utilization of the seagrass *Halodule*  
*wrightii* and its attached epiphytes. Limnol Oceanogr 29, 1066-1076.
- Riemann, B., P.K. Bjornsen, S. Newell, and R. Fallon. 1987. Calculation of cell production of  
coastal marine bacteria based on measured incorporation of [<sup>3</sup>H]thymidine. Limnol  
Oceanogr 32, 471-476
- Saito, Y., and S. Atobe. 1970. Phytosociological study of intertidal marine algae. Bulletin of  
the Faculty of Fisheries Hokkaido University 21, 37-69

## 위탁연구과제

○ 위탁연구과제 개요

위탁연구 1	산호초 복원 연구 (Coral reef restoration via coral fragmentaion)		
위탁기관	태국 출라롱콘 대학		
연구책임자	Suchana Chavanich	연구기간	2013. 2. 1~2013. 11. 30
위탁연구 2	축 산호초 건강도 조사연구 (Baseline assessment of health impacts to Chuuk corals)		
위탁기관	괌 대학		
연구책임자	Laurie Raymundo	연구기간	2013. 2. 1~2013. 11. 30

위탁연구 1

**Report of the activities conducted  
at Korea South Pacific Ocean Research Center (KSORC)**

By

Dr. Suchana Apple Chavanich

Dr. Voranop Viyakarn

Mr. Pataporn Kuanui

Mr. Narainrit Chinfak

September 11-21, 2013

Reef Biology Research Group

Department of Marine Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Bangkok, Thailand

## Summary

During September 11-21, 2013, several activities including field surveys and experiments were conducted by a team from Reef Biology Research Group, ChulalongkornUniversity. The objectives of the study were 1) to conduct research on coral biology (growth, photosynthesis, and zooxanthellae of corals) in Chuuk, 2) to follow up the reef monitoring areas where permanent lines and quadrats have been established since last year, 3) to do experiments on coral restoration technique using both sexual and asexual techniques, and 4) to investigate the species diversity of soft corals, *Sinularia* and *Sarcophyton* in Chuuk. All activities were completed and the details of the results were shown in the next section of the report.

For the photosynthesis rate and density of zooxanthellae of corals, the results showed that densities of zooxanthellae varied depending on coral species. In addition, there was no correlation between density of zooxanthellae and photosynthesis rates of each coral species. During the reef monitoring surveys, it is interesting to note that coral bleaching particular on the reef in front of KSORC and high density of *Drupella* sp were observed. More than 35% of coral population experienced the bleaching. However, overall from the field surveys, coral coverage in 3 sites ranged between 15-39 % of the total substrates.

For the experiments on coral restoration technique, small coral fragments attached to the PCV were transplanted into the ocean. The growth and survival of corals will be monitored throughout the year.

Finally, we would like to thank all staff at KSORC for their kindness and generous assistance both in the field and in the laboratory to make our activities possible. This project was funded by a grant from KIOST to ChulalongkornUniversity. We also would like to special thank to Dr. Heung Sik Park for allowing us to come to KSORC and for providing all logistic arrangement to make our project possible.

## **Objectives**

### **Activities**

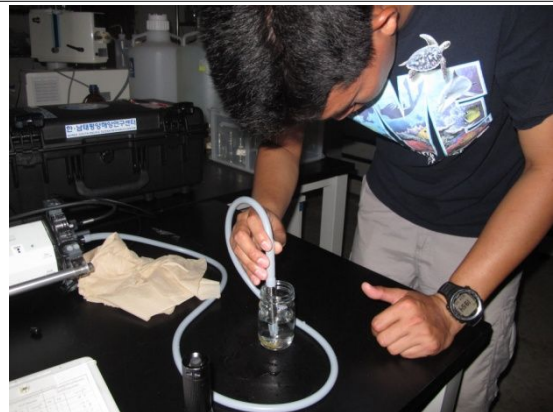
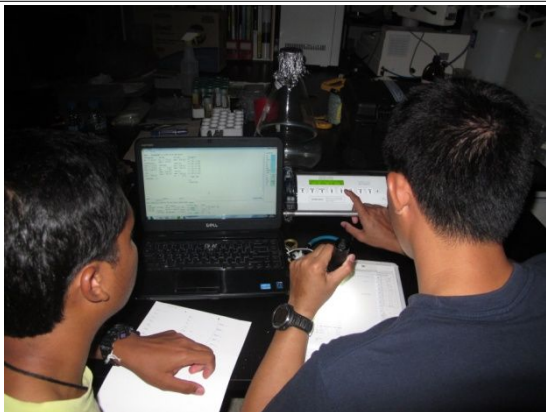
The activities can be divided into 4 parts:

- I Photosynthesis rate and density of zooxanthellae of corals
- II Monitoring reefs using Reef Check method and permanent line transects
- III Experiment on coral restoration technique using both sexual and asexual reproduction
- IV Species diversity of soft corals

## I Photosynthesis rate and density zooxanthellae of corals

### Methods

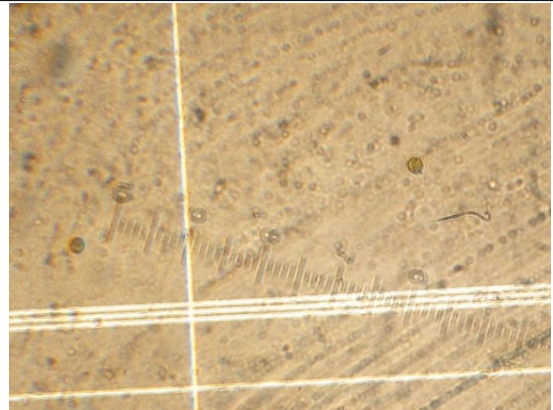
- Corals (*Pocillopora damicornis*, *Acropora nubilis*, *Porite cylindrica*) were collected to measure the photosynthesis rate by using the diving PAM and the density of Zooxanthellae.
- At least 10 coral fragments in each species were collected.



Setting the PAM equipment and measuring photosynthesis rates of corals



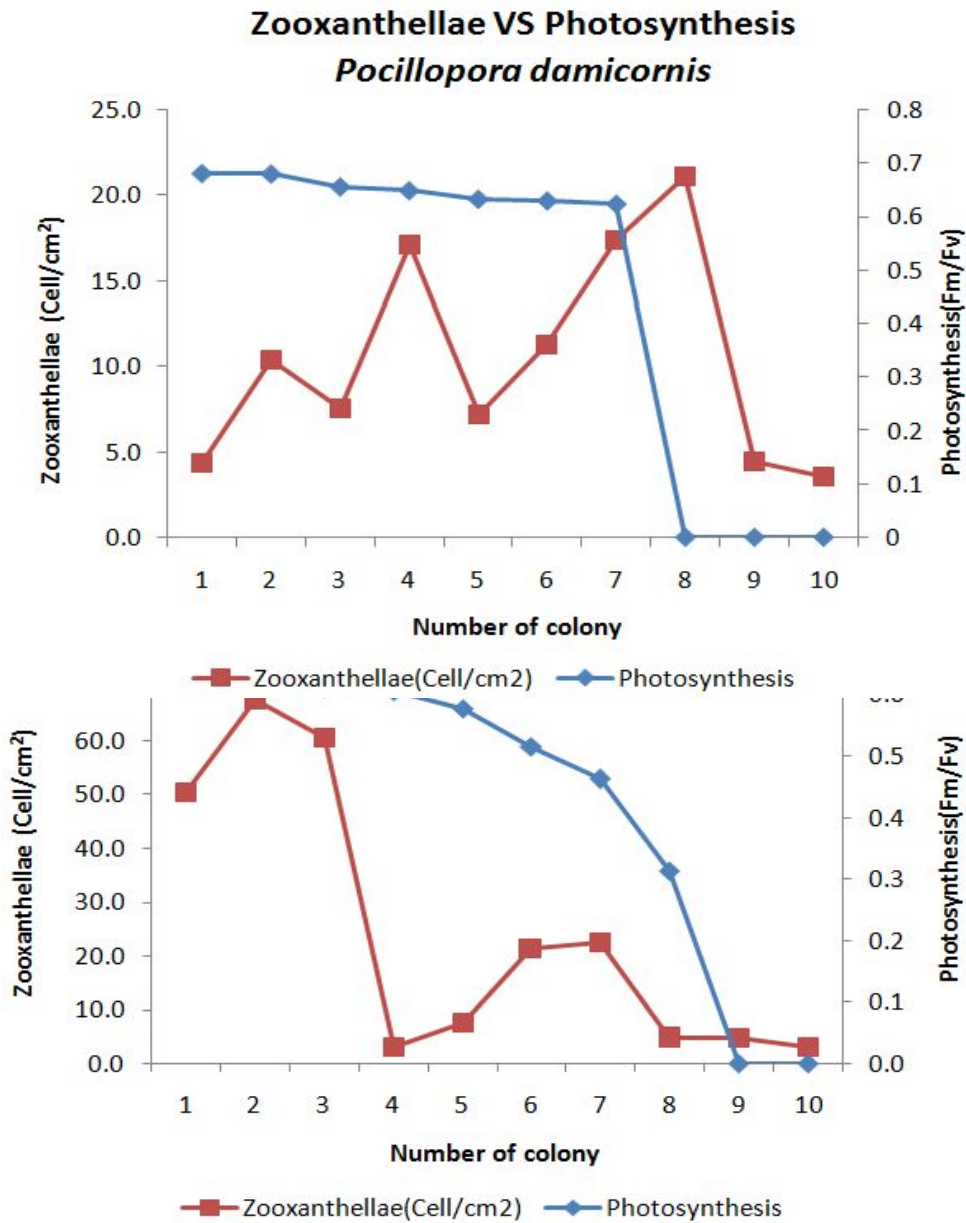
Extracting coral tissues using high pressure water



Counting numbers of zooxanthellae in each coral species

## Results

The results showed that densities of zooxanthellae varied depending on coral species. However, there was no correlation between density of zooxanthellae and photosynthesis rates of each coral species.



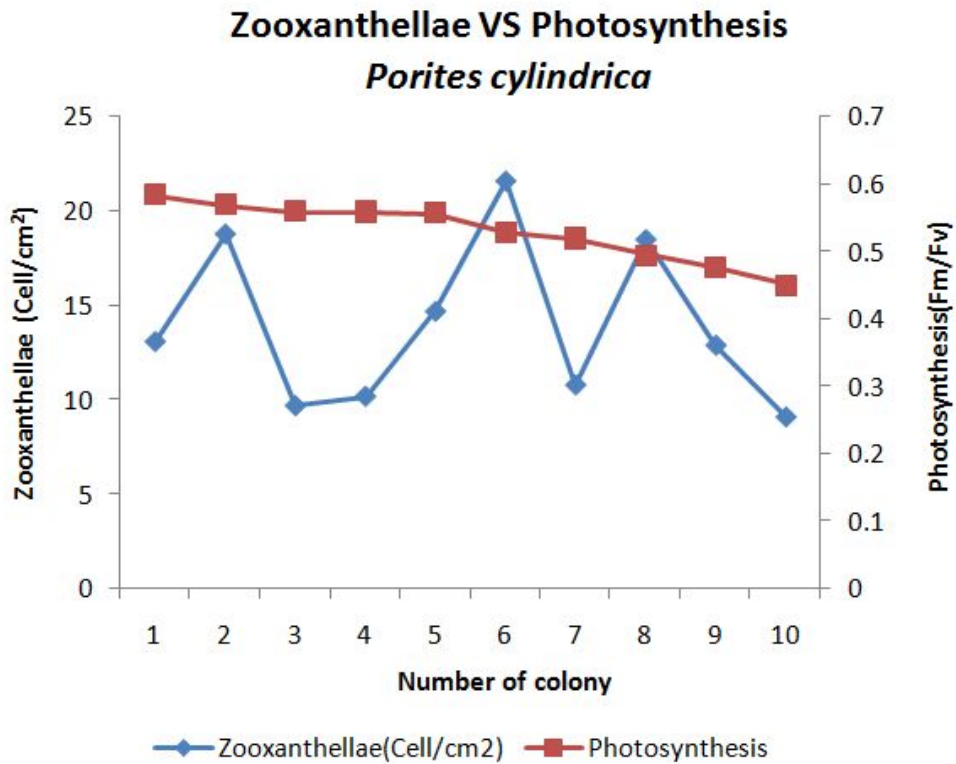


Fig 1. Densities of zooxanthellae depending on coral species.

## II Monitoring reefs using Reef Check method and permanent line transects

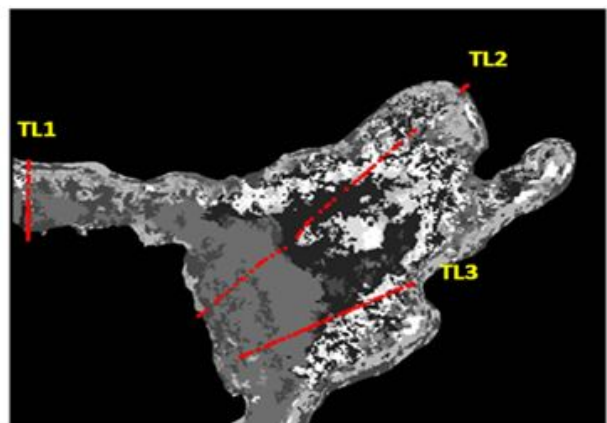
- Surveys of reef health including coral cover, invertebrates, and fish along the permanent line transects were conducted at 3 permanent study sites.
- These permanent sites were established last year (2012), and were chosen based on Mr. Taihun Lee’s previous study.
- Reef Check method was used to monitor the reef health.

The details of 3 permanent sites were below:

Site 1 Permanent line (pole) (GPS N 7.45501  
E 151.896702)

Site TL2 (GPS N 7.457040 E 151.906819)

Site TL3 (GPS N 7.45183 E 151.905586)





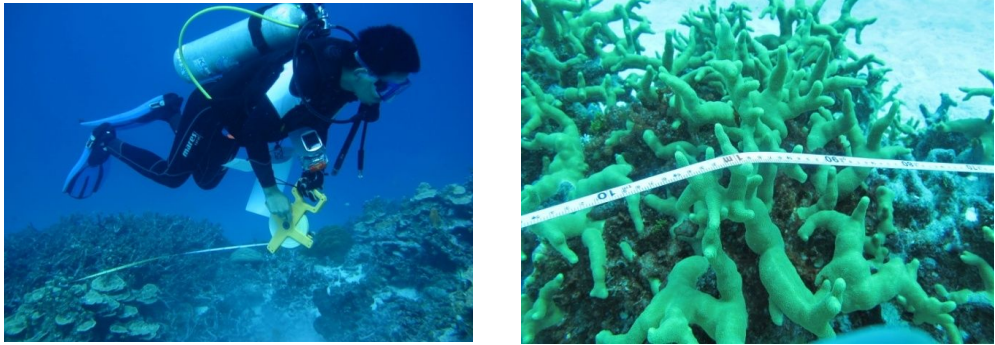
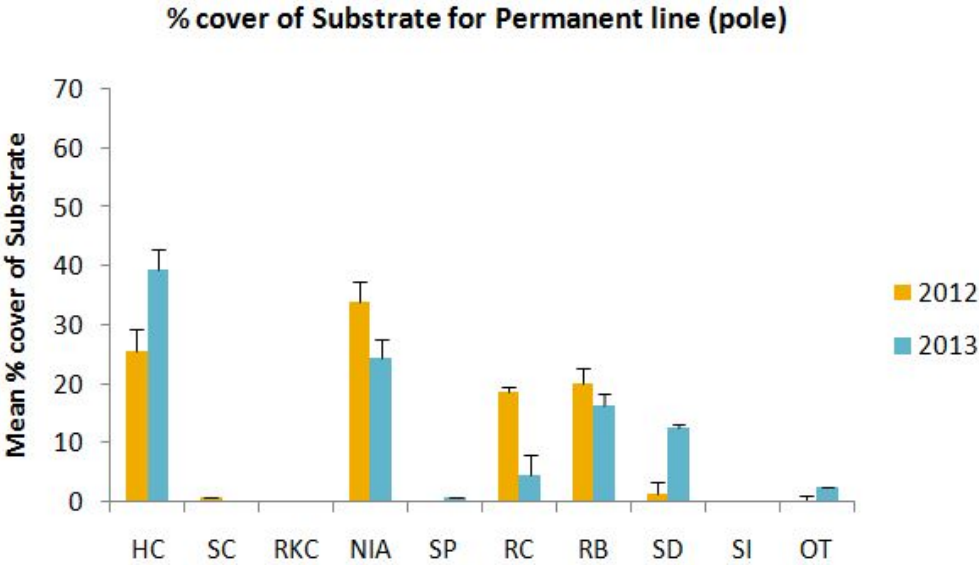


Fig 2. During the surveys, coral bleaching was also observed.

**Results**

The results from the field surveys were shown below. In addition, the data were compared between the year 2012 and 2013.

**Site 1: Permanent line (pole) (GPS N 7.45501 E 151.896702)**  
**Reef in front of KSORC**



Percent cover of substrate: Hard coral = 39.38±3.68%, Algae = 23.38±3.61%, Rubber= 16.25±2.72 and Sand = 12.50±2.16%

HC = Hard coral	SC = Soft coral	RKC = Recently Killed coral
NIA = Nutrient indicator algae	SP = Sponge	RC = Rock
RB = Rubble	SD = Sand	SI = Silt/Clay
OT = Other		

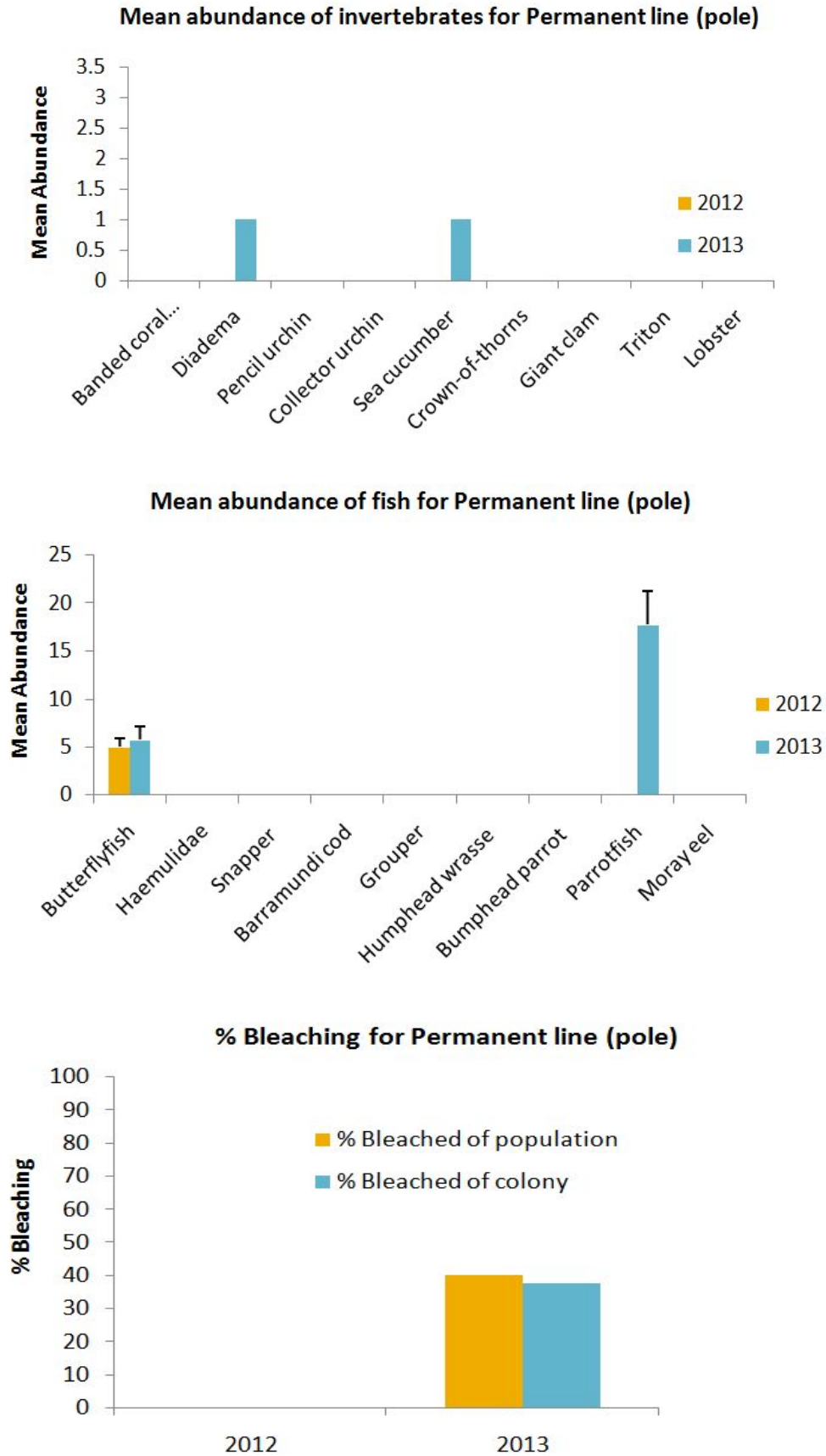
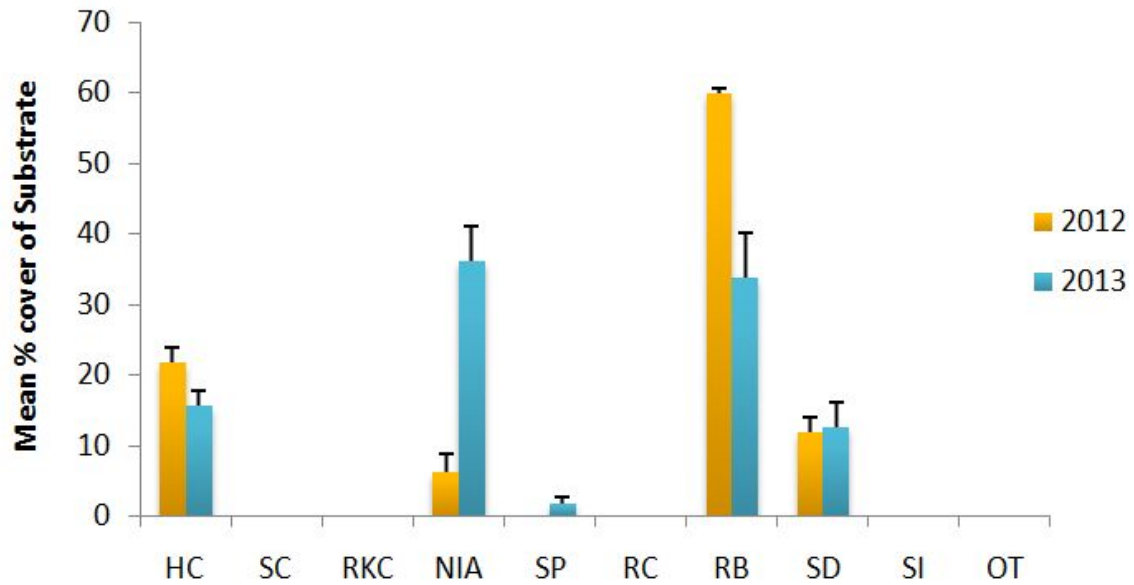


Fig. 3. Results from the site 1 (perment line) surveys onbetween the year 2012 and 2013.

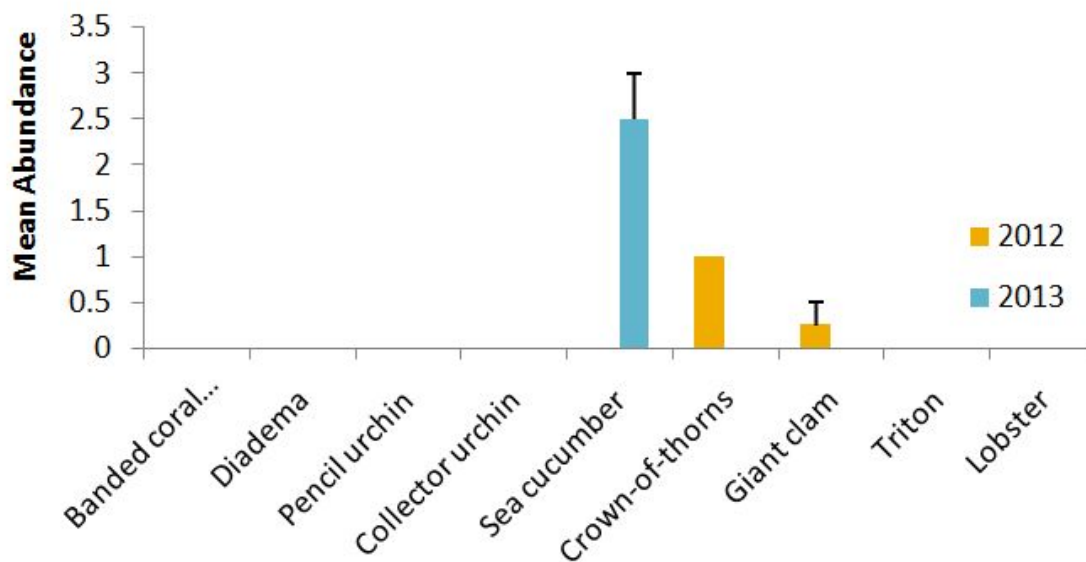
Site 2: Site TL2 (GPS N 7.457040 E 151.906819)

Benedict's point

**% cover of Substrate for Benedict's point (TL2)**



**Mean abundance of invertebrates for Benedict's point (TL2)**



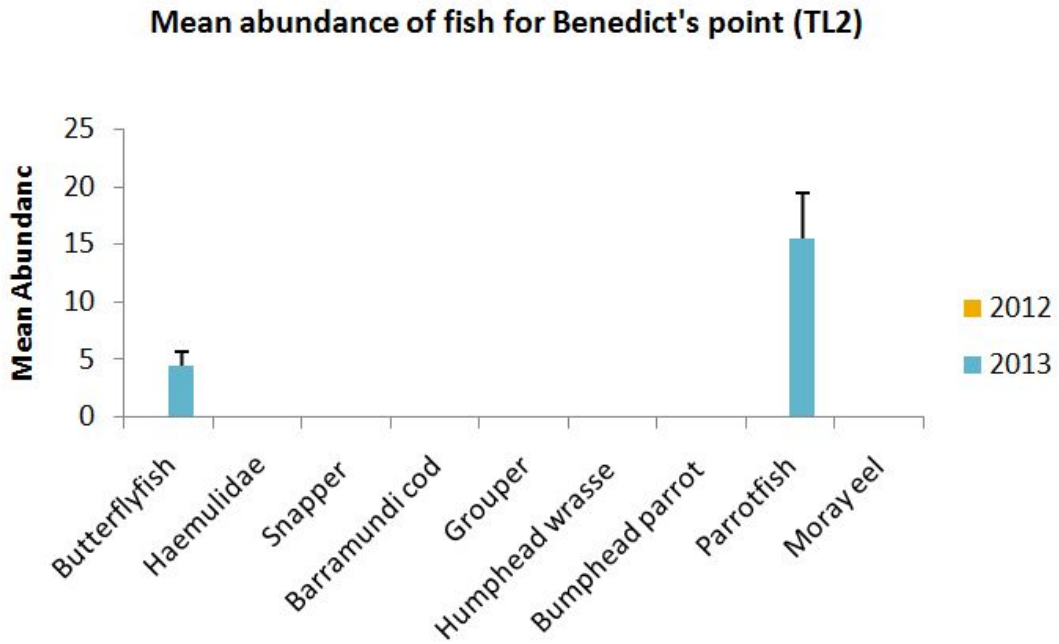
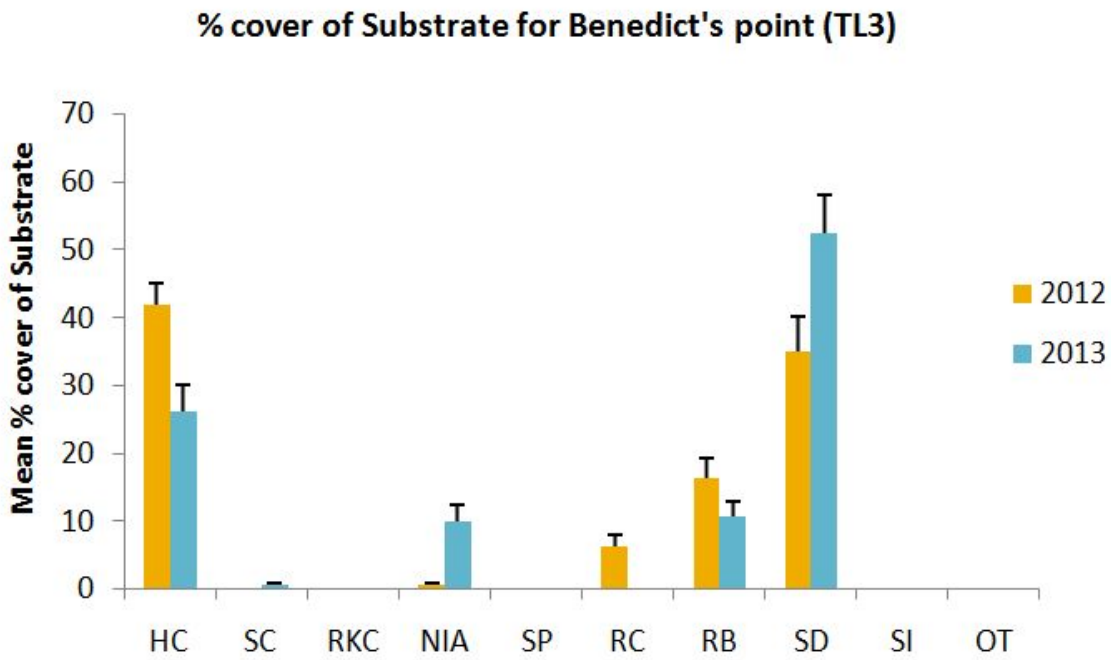


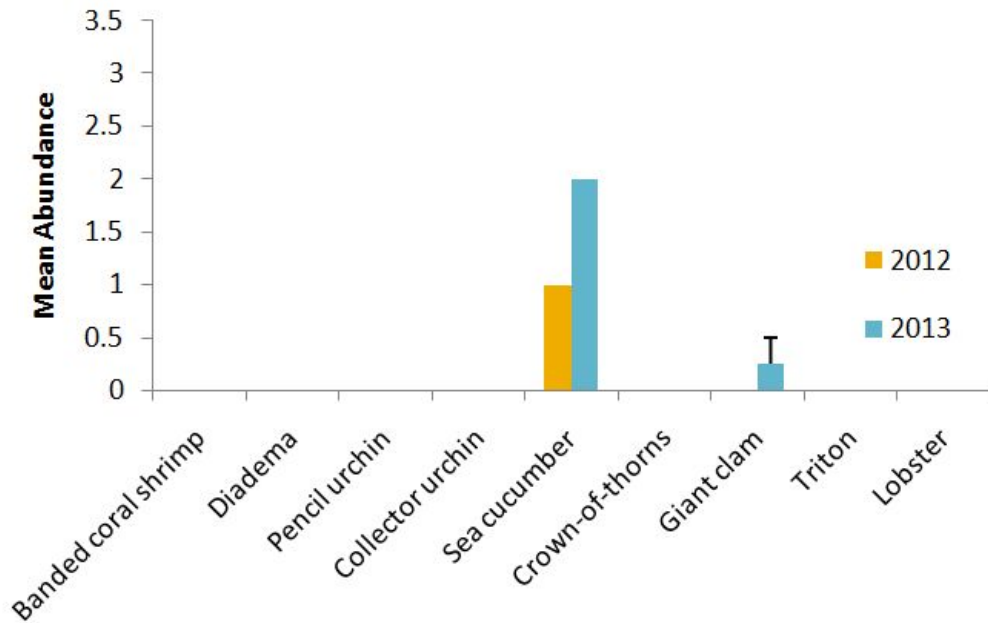
Fig. 4. Results from the site 2 (Benedict's point) surveys onbetween the year 2012 and 2013.

Site 3: Site TL3 (GPS N 7.45183 E 151.905586)

Benedict's point



**Mean abundance of invertebrates for Benedict's point (TL3)**



**Mean abundance of fish for Benedict's point (TL3)**

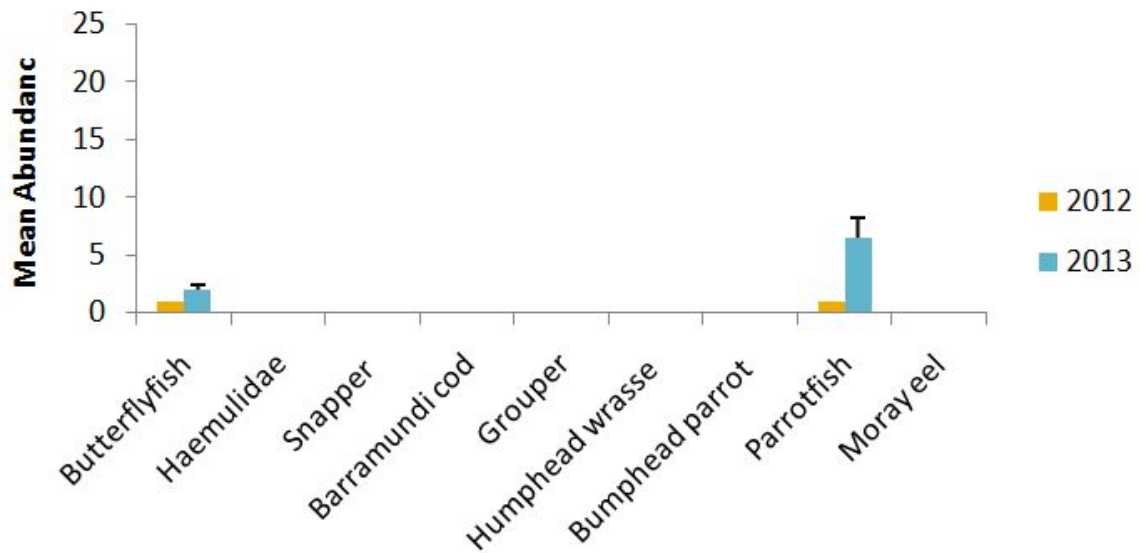


Fig. 5. Results from the site 3 (Benedict's point) surveys onbetween the year 2012 and 2013.

### Important Notes

During the field surveys, we observed coral bleaching particular in the reef in front of KSORC and high density of *Drupella* sp. More than 35% of coral population experienced the bleaching.



Coral bleaching



*Drupella* sp.

### III Experiments on coral restoration technique using both sexual and asexual reproduction

#### Methods

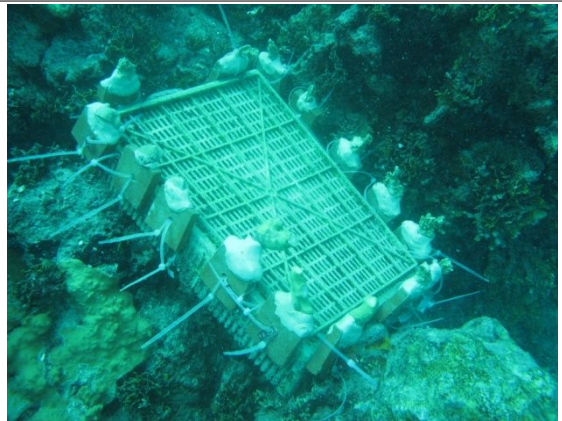
- Small coral fragments were collected and attached on to the substrates (PVC). Then, they were transplanted into the ocean. The growth and survival of corals will be monitored throughout the year. In addition, the attachment time by corals themselves will also be investigated.
- In addition, small coral fragments were collected to observe the development of coral gametes.
- Three coral species (*Porites cylindrical*, *Acropora nubilis*, *Pocillopora damicornis*) were chosen for the experiments.



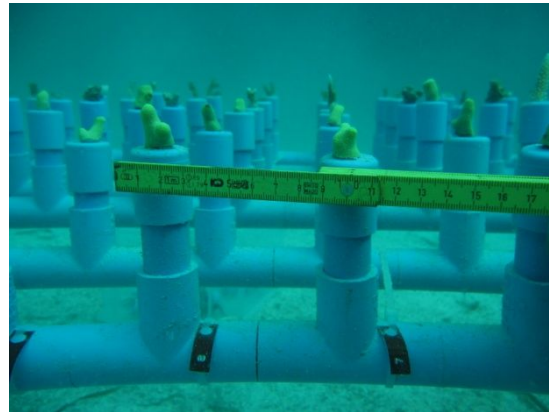
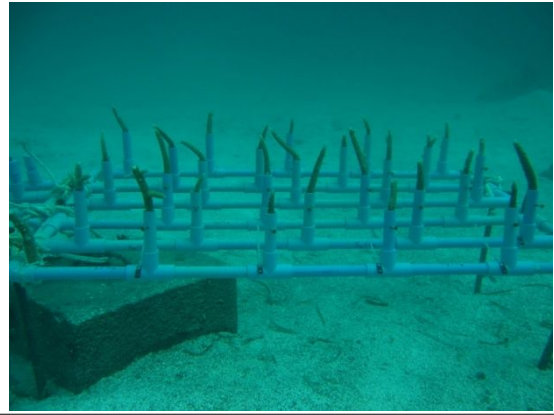
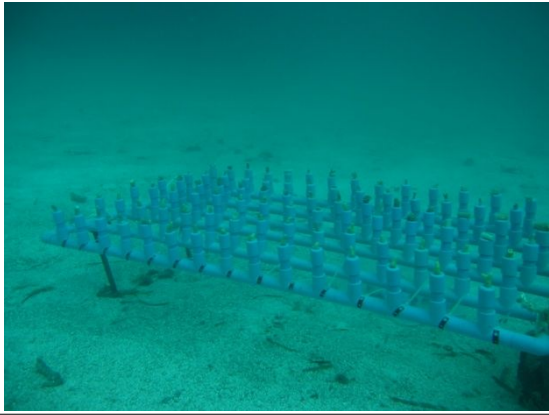
Preparing PVC pipe bases



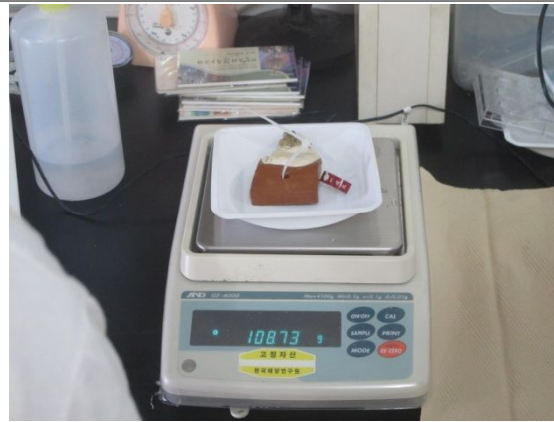
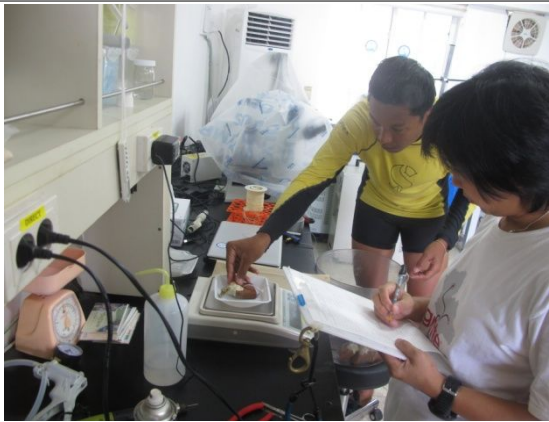
Prepare coral fragments



Transfer coral fragments to the coral nursery



Measuring coral fragments



Weighting coral fragments



## Results

Results of measuring of coral fragments at the beginning of the experiment were shown below. In addition, the measuring of coral growth is planned to be continued monthly.

### Coral fragments (ramets) on the pipe caps

NO.	Species	Height (cm)	
		15-09-13	Measure to be continued monthly
1	<i>Porites cylindrica</i>	2.3	
2	<i>Porites cylindrica</i>	2.5	
3	<i>Porites cylindrica</i>	2.5	
4	<i>Porites cylindrica</i>	2.5	
5	<i>Porites cylindrica</i>	1.6	
6	<i>Porites cylindrica</i>	2.5	
7	<i>Porites cylindrica</i>	1.6	
8	<i>Porites cylindrica</i>	2.0	
9	<i>Porites cylindrica</i>	2.0	
10	<i>Porites cylindrica</i>	3.0	
11	<i>Acropora nubilis</i>	1.6	
12	<i>Acropora nubilis</i>	2.8	
13	<i>Acropora nubilis</i>	3.4	
14	<i>Acropora nubilis</i>	2.6	
15	<i>Acropora nubilis</i>	2.3	
16	<i>Acropora nubilis</i>	2.0	
17	<i>Acropora nubilis</i>	1.5	
18	<i>Acropora nubilis</i>	2.3	
19	<i>Acropora nubilis</i>	2.0	
20	<i>Acropora nubilis</i>	1.5	
21	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.5	
22	<i>Pocillopora damicornis</i>	3.0	
23	<i>Pocillopora damicornis</i>	2.5	
24	<i>Pocillopora damicornis</i>	2.1	
25	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.6	
26	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.3	
27	<i>Pocillopora damicornis</i>	0.9	
28	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.9	
29	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.0	
30	<i>Pocillopora damicornis</i>	1.5	

**Coral fragments in the pipes (*Acroporanubilis*)**

NO.	Species	Height (cm)		
		15-09-13	Measure to be continued monthly	
1	<i>Acropora nubilis</i>	11.9		
2	<i>Acropora nubilis</i>	4.6		
3	<i>Acropora nubilis</i>	5.7		
4	<i>Acropora nubilis</i>	5.9		
5	<i>Acropora nubilis</i>	11.8		
6	<i>Acropora nubilis</i>	5.0		
7	<i>Acropora nubilis</i>	6.3		
8	<i>Acropora nubilis</i>	4.3		
9	<i>Acropora nubilis</i>	6.1		
10	<i>Acropora nubilis</i>	6.2		

**Coral fragments on the cotta tiles**

No	Species	15-09-13		Measure to be continued monthly	
		Wet weight (g)	Length (cm)	Wet weight (g)	Length (cm)
A1	<i>Acropora nubilis</i>	112.33	2.5		
A2	<i>Acropora nubilis</i>	133.62	3.0		
A3	<i>Acropora nubilis</i>	107.97	4.5		
A4	<i>Acropora nubilis</i>	99.34	3.5		
A5	<i>Acropora nubilis</i>	101.94	3.5		
A6	<i>Acropora nubilis</i>	121.28	2.7		
P1	<i>Porites sp.</i>	127.77	3.5*3.0		
P2	<i>Porites sp.</i>	95.24	7.5*2.0		
P3	<i>Porites sp.</i>	97.29	2.3*2.0		
P4	<i>Porites cylindrica</i>	151.11	4.5		
P5	<i>Porites cylindrica</i>	121.98	3.0		
P6	<i>Porites cylindrica</i>	121.77	3.0		
PA1	<i>Montipora spumosa</i>	108.73	2.1		
PA2	<i>Montipora spumosa</i>	116.86	2.5		
PA3	<i>Montipora spumosa</i>	110.95	2.8		
PA4	<i>Montipora spumosa</i>	99.62	2.4		
PA5	<i>Montipora spumosa</i>	110.17	3.5		
PA6	<i>Montipora spumosa</i>	118.74	3.0		
PA7	<i>Montipora spumosa</i>	130.20	4.0		
PA8	<i>Montipora spumosa</i>	108.44	2.1		
PA9	<i>Montipora spumosa</i>	109.69	2.7		

#### IV Species diversity of soft corals

##### Methods

- Soft coral fragments were collected to investigate the diversity of soft corals in Chuuk.


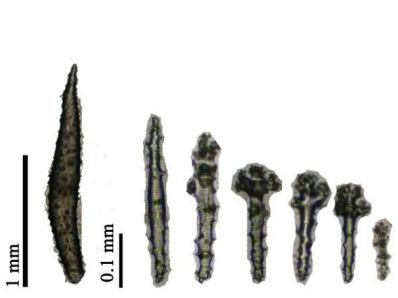

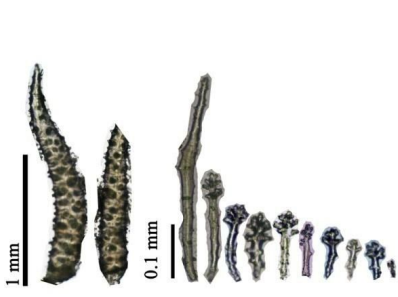

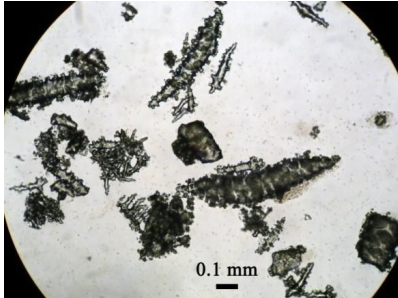



##### Results

- 25 samples of soft corals were collected and identify to genus level. More identification will be carried on to species level later.


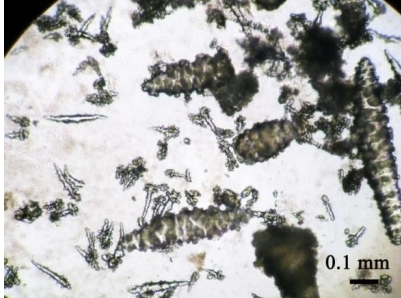

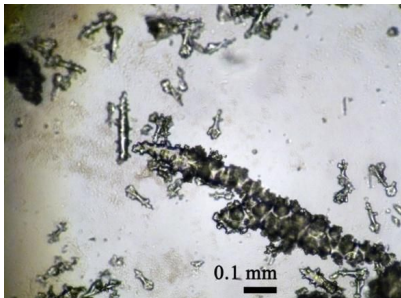


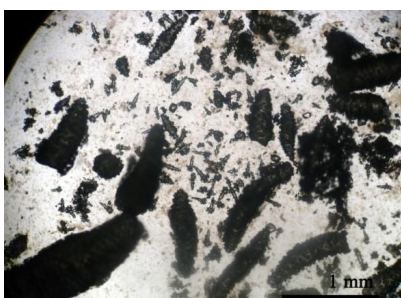
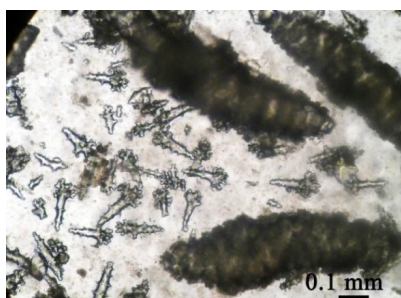
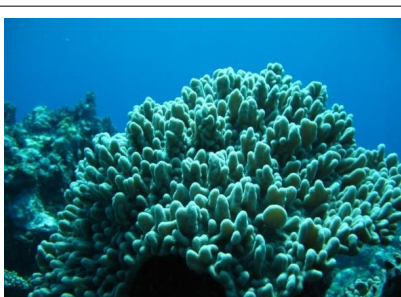


- Below is the preliminary information of soft coral diversity found in the surveys.

1. F. Alcyoniidae: (~4 genera) *Sinularia*(~15 sp.), *Klyxum??* (~2 sp.), *Sarcophyton*(1sp.), *Lobophytum*(1sp.)
2. F. Nephtheidae: (~2 genera) *Scleronephthya??*(2-3sp.) or one is may be *Dendronephthya* ( 1 sp.), *Lemnalia*(1sp.)
3. F. Xenidae: (1 genus) *Anthelia??*(1sp.)





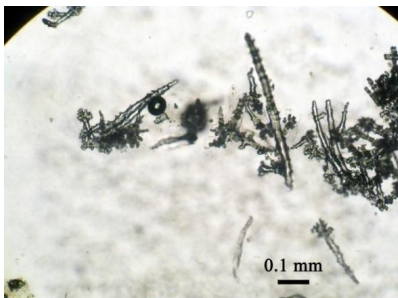



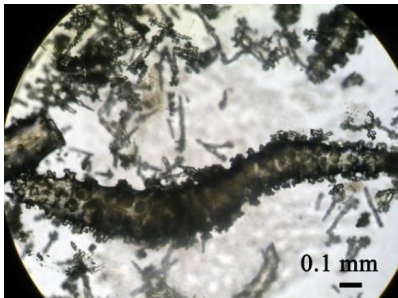

Appendix 1. Identification of gene level from soft coral fragments

<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.1	sample #01
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.2	sample #02
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.3	sample #05
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.4	sample #07
		




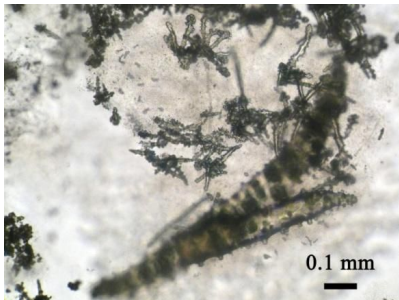
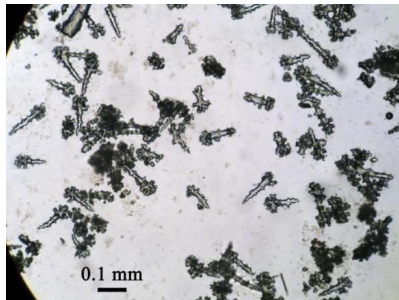

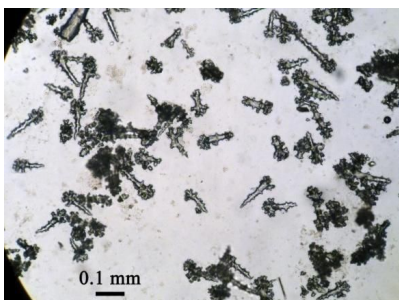
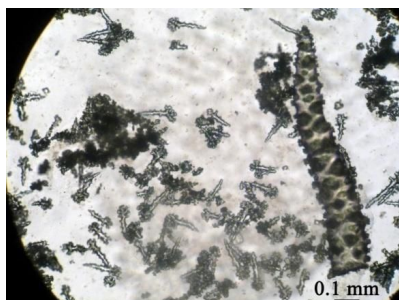

Appendix 1. continued

<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Simularia</i> sp.5</p> 	<p>sample #09</p>
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Simularia</i> sp.6</p> 	<p>sample #10</p> 
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Simularia</i> sp.7</p> 	<p>sample #11</p> 
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Simularia</i> sp.8</p> 	<p>sample #13</p> 


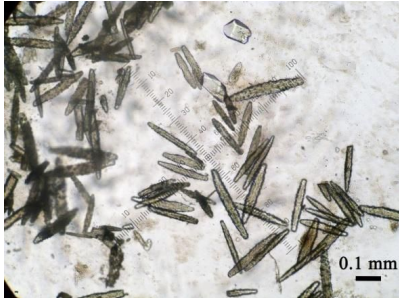






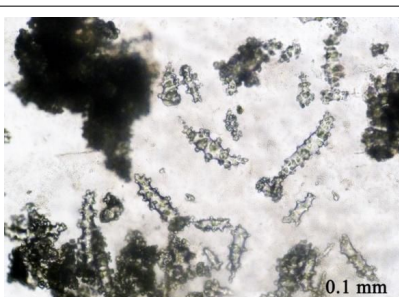
Appendix 1. continued

<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.9	sample #16
		
<i>F. Alcyonidae</i>	<i>Simularia</i> sp.10	sample #18
		
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Simularia</i> sp.11	sample #19
		

Appendix 1. continued




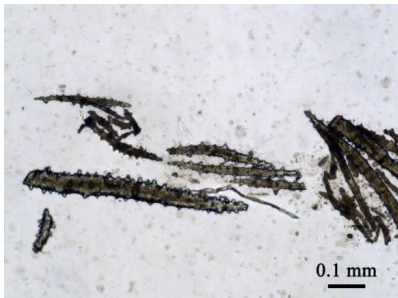



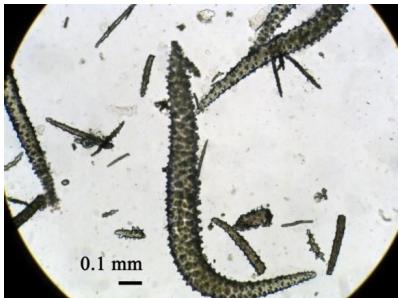

<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Sinularia</i> sp.12</p> 	<p>sample #21</p>
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Sinularia</i> sp.13</p> 	<p>sample #22</p> 
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Sinularia</i> sp.14</p> 	<p>sample #23</p> 
<p><i>F. Alcyoniidae</i></p> 	<p><i>Sinularia</i> ?? sp.15</p> <p>No preserved specimen</p>	<p>sample #14</p>

Appendix 1. continued





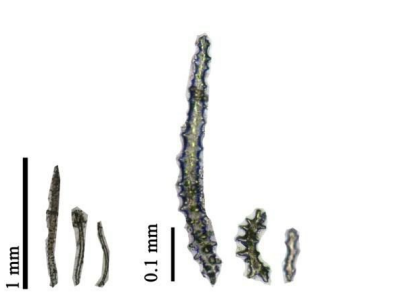




<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Klyxum</i> ??sp.1	sample #04
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Klyxum</i> ??sp.1	sample #20
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Sarcophyton</i> sp.1	sample #08
		
<i>F. Alcyoniidae</i>	<i>Lobophytum</i> sp.1	sample #15
		



Appendix 1. continued

<i>F. Nephtheidae</i>	??	sample #06
		
<i>F. Nephtheidae</i>	<i>Scleronephthya</i> ??sp.1	sample #24
		
		
<i>F. Nephtheidae</i>	<i>Scleronephthya</i> ??sp.2	sample #25
		

Appendix 1. continued

<p><i>F. Nephtheidae</i></p>	<p><i>Scleronephthya??sp.3/ Dendronephthya??sp.1</i></p>	<p>sample #12</p>
		
<p><i>F. Nephtheidae</i></p>	<p><i>Lemnalia sp.1</i></p>	<p>sample #03</p>
		
<p><i>F. Xenidae</i></p>	<p><i>Anthelia?? sp.1</i></p>	<p>Sample#17</p>
		

**The Shallow-water Holothuroids of Chuuk,  
Federated States of Micronesia**

Results of a Survey Performed 30 June to 9 June 2013

A Report Prepared for the Korea South Pacific Ocean Research Center, Korea  
Institute of Ocean Science and Technology

Submitted by

Alexander M. Kerr<sup>1</sup>, Sun W. Kim<sup>2</sup> and Allison K. Miller<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Marine Laboratory, University of Guam

<sup>2</sup>Korea Institute of Ocean Science and Technology



December 2013

**University of Guam Marine Laboratory Technical Report 155**

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the late Hon. Alanso Cholymay, former Chief-at-large and Senator of Chuuk State, as well as Mr. Tesime Kofot, Director of the Department of Marine Resources, for their interest in, and efforts to conserve, the beche-de-mer resources of Chuuk. We especially thank the Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST) and Korea South Pacific Ocean Research Center (KSORC), for facilitating our visit, indeed, for making this survey a reality. We also appreciate Dr. Heung-sik Park, Director of KSORC, for overseeing our day-to-day planning and logistics, and also the staff of KSORC for their assistance with navigation and collecting, especially outside the reef, at night, and in big swell and strong currents. This project was funded in part by a grant from KIOST to the University of Guam Marine Laboratory (PE 99161) and a U.S. National Science Foundation Assembling the Tree of Life grant to AMK (DEB 1036229).

*Kinissow* and 감사합니다.!

## EXECUTIVE SUMMARY

The islands of Chuuk in the Caroline Islands of central Micronesia possess a diverse array of echinoderms, including holothuroids (sea cucumbers). We were invited to perform a survey to assess the diversity of holothuroids in Chuuk's shallow-water marine environments. In six days of surveying between 30 June to 9 July 2013, we surveyed 11 sites around the islands and barrier coral reefs and found a minimum of 34 species of holothuroids, several of them new records for the island and for Micronesia. The commercially most valuable species were very rare, almost certainly because of overfishing. These species include *Bohadschia vitiensis*, *Thelenota anax* and *Holothuria (Microthele) whitmaei*. The most interesting finds included a potentially speciose assemblage of small apodan species from Synaptidae abundant in seagrass. Another unexpected find was an unusual species from the subgenus *Metriatyla*, *H. (M.) albiventer*, not known from elsewhere in Micronesia. Including previous surveys by us (SWK and AKM), a total of 42 morphological units attributable to species of holothuroids have now been identified from Chuuk's waters. We also uncovered an additional minimum of 46 species of other echinoderms: 11 echinoids (sea urchins), 18 asteroids (sea stars), 12 ophiuroids (brittle stars) and five crinoids (feather stars). Several of the holothuroids from the family Synaptidae appear to be new to science and formally undescribed. Based on our initial survey, we estimate that Chuuk's holothuroid fauna may well be in excess of 60 species.

## TABLE OF CONTENTS

Acknowledgements

Executive Summary I

Table of Contents

Introduction

Methods

Site selection

Biodiversity inventory

Results

Stock assessment

Biodiversity inventory

Discussion

Prospects for a sustainable beche-de-mer fishery

Chuuk's diverse echinoderm fauna

Literature Cited

Appendix 1: Checklist of Chuuk's Holothuroids

Appendix 2: Locality data

Appendix 3: Authors' contact information

## INTRODUCTION

In early 2013, we were invited to submit a proposal to the Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST) to study the echinoderms of Chuuk, Federated States of Micronesia (FSM), at their field station, Korea South Pacific Ocean Research Center (KSORC) in Chuuk State, FSM. We reasoned that the starting point of any biological investigation is the taxonomic identification of the organism or organisms involved. However, a major impediment in Micronesia, including Chuuk State, to initiating conservation and management measures has been the identification of the islands' rich natural resources. This is not a trivial problem. Many organisms on Indo-Pacific coral reefs are poorly known. Unidentified and formally undescribed species abound. Recent genetic work (e.g., Kim et al. 2013) indicates that even large, common animals belong to species complexes or are hybrids. Without an understanding of the systematics of the organisms in Chuuk, without an ability to ascribe a stable nomenclature to these organisms, even an inventory of the islands' biodiversity is impossible. How diverse are Chuuk's coral reefs. No one knows, primarily because of the difficulty in identifying most organisms living there.

A second major impediment for conservation and management is then relaying information about taxonomy in a non-technical format of maximum use to resource managers and local scientists. Most information on the identification of coral-reef organisms lies buried in an old, labyrinthine literature written in several languages. Recently, illustrated invertebrate guides to Indo-Pacific coral reefs have been produced (e.g., Colin & Arneson 1995), but while often evincing beautiful illustrations suffer from incorrect names and are not comprehensive for any one locality.

Hence, the primary goal of this project is to produce an illustrated guide to the echinoderms in the habitats surrounding the main islands of Chuuk, its lagoon and outer barrier reefs. We will first collect and identify an exhaustive sampling of the islands' echinoderms and then produce a published volume providing illustrations and accounts of the taxonomy, biology and distribution of each species.

The proposed survey would also form part of our U.S. National Science Foundation-sponsored efforts, in collaboration with other holothuroid taxonomists worldwide, to document the global diversity of holothuroids inhabiting coral reefs. Thus, from 30 June to 9 July 2013, we surveyed the holothuroids and other echinoderms around the islands of Chuuk. In sum, during this period, we

- surveyed 11 reef sites around the island for their echinoderm fauna,
- assembled a preliminary checklist of the island' echinoderms,
- collected and preserved voucher specimens of each species,
- photographed vouchers or representative specimens of each species,

At least three other types of work products also should be anticipated, with various timelines to completion:

- A final report documenting our surveys and collections.
- An illustrated field guide to the island' holothuroid fauna, primarily as a tool for marine resource personnel.
- Peer-reviewed scientific publications, to include, minimally, the first comprehensive faunistic treatment of the island' echinoderms and the formal taxonomic description any species new to science.

The following report provides a provisional checklist to the island' echinoderms, then discusses the scientific significance of these findings. The term "provisional" indicates that the checklist consists of identifications of specimens made in the field. Hence, a few of the designations will, in all likelihood, change, or in instances where a species could not be immediately assigned, even provisionally, species' identities will be clarified after full laboratory examination. Still, most species designations provided here are trustworthy and thus, on whole, the list is useful for scientific and public discussion of Chuuk' echinoderms, particularly holothuroids, now under harvesting pressure. Indeed, as far as we know, this is the first attempt at a comprehensive compilation of Chuuk' echinoderms.



## METHODS

### *Site selection*

Sites were selected around the islands and barrier reef for the presumed high density and species richness of holothuroids. GPS coordinates of each site were recorded. Most major shallow-water marine habitats were investigated, including reef flats, forereef slopes to 25 m depth, seagrass beds, channels and areas adjacent to mangroves. Given the time constraints, we eschewed mangrove channels, rivermouths, steep drop-offs and elsewhere with little accumulation of well-sorted sediment, since such areas, while in some cases having a possibly rich echinoderm fauna (e.g., crinoids in the case of drop-offs), were likely to have few holothuroids, the focus of the survey.

### *Biodiversity inventory*

Divers recorded all species of echinoderms that they observed at each site to a maximum of 25 m in depth. Collected specimens, or representatives thereof, from nearly all species were photographed *in situ*. One or two voucher specimens of each species were collected, photographed against a black background and preserved in 95% ethanol.



Figure 1. Chuuk, showing concentration of survey sites around the island of Weno. Sites are numbered according to Appendix 2. Map from <http://http://elblogdealquimias.blogspot.com/>

Before preservation, holothuroids were first relaxed in seawater laced with magnesium chloride or chilled to near freezing. No special methods were used to assess infaunal species; divers fanned sediment to uncover such forms or combed the sediment' surface for the tests of burrowing echinoids. Divers looked through rubble and in crevices to find cryptic forms. Night snorkels and dives were used extensively as most coral-reef invertebrates, including echinoderms, are nocturnally active and exposed.

## RESULTS

In a total of six days of surveying, 11 sites were visited around Weno island and the northwest barrier reef. In the subsection below, *Stock survey*, we outline the species composition and ecology of commercially valuable species. In the second and final subsection, *Biodiversity inventory*, we report on the species composition and ecology of other holothuroids and echinoderms.

### *Stock survey*

Several commercially valuable species of holothuroids occurred in Chuuk' waters. The most valuable species seen in moderate abundance were *Holothuria (Halodeima) atra* (trade name: lolly fish) and *Stichopus chloronotus* (green fish). Both of these occurred on the reef flats around the island.

*Holothuria (Microthele) whitmaei*, the black teat fish occurred much less frequently (only a few animals were observed during the entire survey) on mid- to outer reef flats islandwide. In other parts of Micronesia, this species also is found on the forereef slope to a maximum depth of about 23 m. In older literature, this species goes by the name of *H. (M.) nobilis*, a name now reserved for a closely related species from the western Indian Ocean.

The sand fish (*Holothuria (Metriatyla) scabra*) (Figure 2A) was not found during this survey, but has been found previously in seagrass beds adjacent to mangroves (SWK).

Animals were usually quite large and were usually found on sand bottoms, though individuals were still occasionally seen on forereef slopes on rubble or amongst corals.

Other commercial species, however, occurred at low densities. These included *Bohadschia argus* (spotted fish) (Figure 2B) and *Bohadschia vitiensis* (brown sandfish). The redfish (*Thelenota anax*) (Figure 2C) was also quite rare, occurring on the outer reef slopes. *Stichopus hermannii* (curry fish) (Figure 2D) was very rare, as were most other species in this genus.

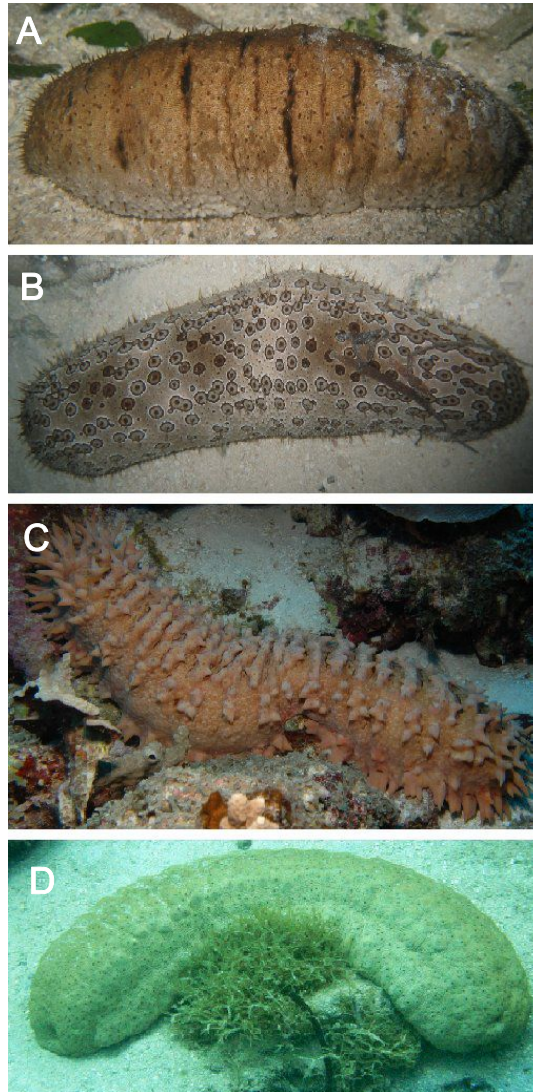


Figure 2. Some commercially valuable species of holothuroids found on Chuuk. A) *Holothuria (Metriatyla) scabra*. B) *Bohadschia argus*. C) *Thelenota anax*. D) *Stichopus hermannii*.

In sum, Chuuk appears to have several commercially important species of holothuroids that could be harvested in large numbers. How much of these resources can be sustainably harvested is, however, a separate question and should be addressed in a separate study.

#### *Biodiversity inventory*

A total of 88 provisional taxonomic units attributable to species of echinoderms were identified from Chuuk' waters, 63 of them during this survey: 34 holothuroids, five echinoids (sea urchins), 14 asteroids (sea stars), seven ophiuroids (brittle stars) and three crinoids (sea lilies). (See Appendix 1 for species list). The high number of holothuroids is probably due to an outsized collection effort for these species on our part, rather than a true representation of their proportional richness in the island' echinoderm fauna.

Several unexpected finds were made. The first was an unusual species from the subgenus *Metriatyla*, *H. (M.) albiventer*, not known from elsewhere in Micronesia. At least five (15%) of the holothuroids are in all probability new to science and formally undescribed. Two were forms usually ascribed to *Holothuria (Thymiosycia) impatiens* (Figure 3A). The second group, all unidentified species from the family Synaptidae (Figure 3B), was seen in seagrass and algae at several sites. These appear closest to the genera *Synaptula* or *Polyplectana*. No potential new specimens were members of the other classes of echinoderms.

## DISCUSSION

### *Prospects for a Sustainable Beche-de-mer Fishery*

Chuuk has very few commercially valuable species of holothuroids. We observed populations of some desirable commercial species, occurring at most of the sites we visited around the island. While most of these species are not the most valuable varieties or remain in great abundance, they, nevertheless, constitute an important and valuable resource for the island.

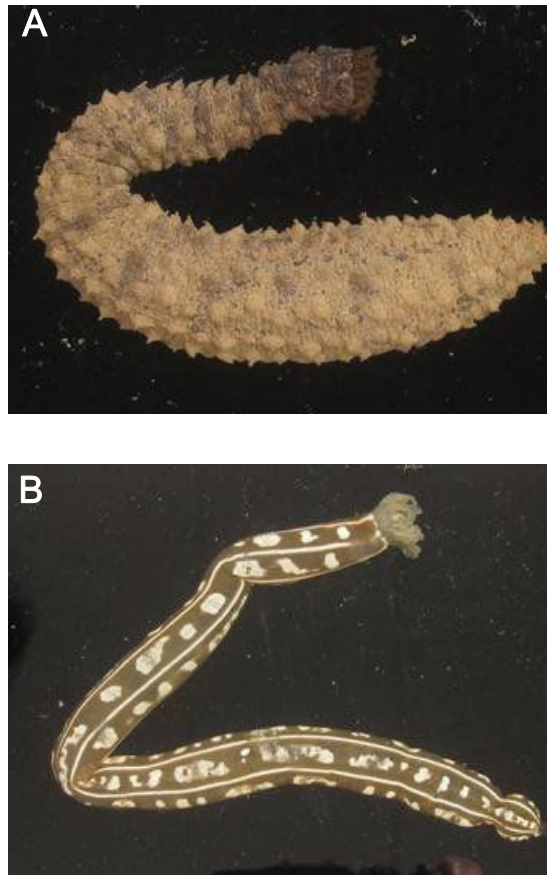


Figure 3. Some undescribed species of holothuroids found on Chuuk. A) *Holothuria (Thymiosycia) sp. cf. impatiens* and B) an unidentified synaptid, cf. *Synaptula sp.*

### *Chuuk' Diverse Echinoderm Fauna*

Chuuk now has at least 88 species of echinoderms recorded from its waters, including at least 42 species of holothuroids. These counts are likely large underestimates. Yet, the most interesting results from the survey were the new species discovered, all of them holothuroids. At least four species encountered appear to be unknown to science. With the possible exception of the unusual small synaptids, none appear to be restricted to Chuuk. While uncommon enough to have long avoided formal taxonomic treatment, most of these species have nevertheless been observed at other localities in the tropical western Pacific by us and others (Kerr et al. 2006, 2007; G. Paulay, personal communication).

In sum, Chuuk' biodiversity is both rich and under-explored. The present survey is one of the most complete marine surveys of the island' reefs and indicates that the Chuukese marine fauna is unique and of considerable scientific merit. Surveys of other groups of marine organisms on Chuuk will undoubtedly reveal a comparable number of interesting discoveries, many of them species new to science.

### LITERATURE CITED

- Colin, P. L. and Arneson, C. 1995. *Tropical Pacific Invertebrates*. Coral Reef Press, Beverly Hills CA, 296 pp.
- Kerr, A. M. 1994. The shallow-water holothuroids (Echinodermata) of Kosrae, Eastern Caroline Islands. *Pacific Science* 48: 161-174.
- Kerr, A. M., K. H. Netchy and A. M. Gawel. 2006. Survey of the Shallow-water Sea Cucumbers of the Central Philippines. *University of Guam Marine Laboratory Technical Report* 119: 1-51.
- Kerr, A. M., K. H. Netchy and S. M. Hoffman. 2007. Survey of the Shallow-water Sea Cucumbers of Yap. *University of Guam Marine Laboratory Technical Report* 121: 1-34.
- Kerr, A. M., S. W. Kim and F. Michonneau. 2008. Survey of the Shallow-water Sea Cucumbers of Kosrae. *University of Guam Marine Laboratory Technical Report* 123: 1-27.
- Kim, S. W., A. M. Kerr and G. Paulay. 2013. Color, confusion and crossing: resolution of species problems in *Bohadschia* (Echinodermata: Holothuroidea). *Zoological Journal of the Linnean Society* 286: 81-97.
- Kim, S. W., A. K. Miller, C. Brunson, K. Netchy, R. M. Clouse, D. A. Janies, E. Tardy and A. M. Kerr. 2014. Shallow-water holothuroids (Echinodermata) of Yap, Federated States of Micronesia. *Pacific Science* 68(3): in the press.
- Paulay, G. 2003. Asteroidea, Echinoidea and Holothuroidea of Guam. *Micronesica* 35-36: 563-576.

Appendix 1. Provisional Checklist of Shallow-water Echinoderms from Chuuk, Central Caroline Islands, Micronesia. FLMNH and KSORC indicate locations of vouchers from previous surveys overseen by us (SWK and AKM). Quoted descriptors following the scientific names are informal names used by the authors until a proper name can be designated. Vouchers are housed at KSORC, the University of Guam Invertebrate Collection (UGI), and the Florida Museum of Natural History (FMNH)

Species	Survey		
	This study	FLMNH	KSORC
HOLOTHUROIDEA			
<i>Actinopyga mauritiana</i>	X		X
<i>Actinopyga</i> cf. <i>palauensis</i>	X		
<i>Afrocucumis africana</i>	X	X	X
<i>Bohadschia argus</i>	X	X	X
<i>Bohadschia argus</i> X <i>B. vitiensis</i>	X		
<i>Bohadschia kellokeri</i>	X		
<i>Bohadschia ocellata</i>	X	X	X
<i>Bohadschia vitiensis</i>	X	X	X
<i>Chiridota</i> sp.	X		X
<i>Euapta godeffroyi</i>		X	X
<i>Euapta tahitiensis</i>	X		X
<i>Holothuria (Acanthotrapezia) coluber</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Cystipus) rigida</i>	X		
<i>Holothuria (Halodeima) atra</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Halodeima) edulis</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Lessonothuria) lineata</i>	X		X
<i>Holothuria (Mertensiothuria) hilla</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Mertensiothuria) leucospilota</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Metriatyla) albiventer</i>	X		
<i>Holothuria (Metriatyla) scabra</i>		X	
<i>Holothuria (Microthele) fuscopunctata</i>		X	X
<i>Holothuria (Microthele) whitmaei</i>	X		
<i>Holothuria (Platyperona) difficilis</i>	X	X	X
<i>Holothuria (Semperothuria) flavomaculata</i>			X

Appendix 1. Continued

Species	Survey		
	This study	FLMNH	KSORC
HOLOTHUROIDEA			
<i>Holothuria (Semperothuria) roseomaculata</i>		X	X
<i>Holothuria (Stauropora) fuscocinerea</i>		X	X
<i>Holothuria (Stauropora) pervicax</i>	X		X
<i>Holothuria (Theelothuria) turriscelsa</i>			X
<i>Holothuria (Thymiosycia) impatiens</i> "ESU2"	X		
<i>Holothuria (Thymiosycia) impatiens</i> "ESU3"?	X	X	X
<i>Holothuria (Thymiosycia) impatiens</i> "ESU4"	X		
<i>Labidodemas</i> sp(p)	X		X
<i>Opheodesoma grisea</i>	X	X	X
<i>Pearsonothuria graeffei</i>	X	X	X
<i>Polyplectana</i> sp.	X	X	X
<i>Stichopus chloronotus</i>	X	X	X
<i>Stichopus herrmanni</i>	X	X	X
<i>Stichopus horrens</i>	X	X	X
<i>Stichopus vastus</i>	X	X	X
<i>Synapta maculata</i>	X	X	X
Synaptidae gen. sp(p)	X	X	X
<i>Thelenota ananas</i>			X
<i>Thelenota anax</i>		X	X
ASTEROIDEA			
<i>Acanthaster planci</i>	X		
<i>Asteropsis carinifera</i>			X
<i>Choriaster granulatus</i>	X		X
<i>Culcita novaguineae</i>	X	X	
<i>Echinaster callosus</i>			X
<i>Echinaster luzonicus</i>	X	X	X
<i>Fromia milleporella</i>	X	X	X
<i>Fromia monilis</i>	X		X
<i>Fromia nodosa</i>	X		X
<i>Fromia</i> sp.	X		
<i>Gomophia</i> cf. <i>egyptiaca</i>	X		X
<i>Leiaster speciosus</i>			X
<i>Linckia guildingii</i>	X	X	



## Appendix 1. Continued

Species	Survey		
	This study	FLMNH	KSORC
ASTEROIDEA			
<i>Linckia laevigata</i>	X	X	X
<i>Linckia multifora</i>	X	X	X
<i>Mithrodia clavigera</i>			X
<i>Ophidiaster granifer</i>	X		
<i>Ophidiaster duncani</i>	X	X	
CRINOIDEA			
<i>Cenometra bella</i>		X	
<i>Colobometra perspinosa</i>			X
Comasterid spp	X		X
<i>Oxycomathmus bennetti</i>	X		X
<i>Phanogenia</i> sp	X		X
			X
ECHINOIDEA			X
<i>Clypeaster</i> sp			X
<i>Echinometra mathaei</i>			X
<i>Echinoneus cyclostomus</i>			X
<i>Echinostrephus aciculatus</i>			X
<i>Eucidaris metularia</i>			X
<i>Diadema savygnii</i>	X	X	X
<i>Echinothrix diadema</i>	X		X
<i>Maretia planulata</i>	X		X
<i>Mespilia globosus</i>			X
<i>Metalia spatangus</i>	X		X
<i>Paraselenia gratiosa</i>	X		X
OPHIUROIDEA			
<i>Ophiarachnella gorgonia</i>			X
<i>Ophiocoma dentata</i>	X		X
<i>Ophiocoma scolopendrina</i>	X		X
<i>Ophiocoma erinaceous</i> "red feet"	X		X
<i>Ophiocoma</i> sp			X
<i>Ophiolepis suberba</i>	X		X

Appendix 1. Continued

Species	Survey		
	This study	FLMNH	KSORC
OPHIUROIDEA			
<i>Ophiomyxa australis</i>	X		X
<i>Ophionereis</i> sp.			X
<i>Ophiothela danae</i>			X
<i>Ophiotylos leucus</i>			X
<i>Ophiuroid</i> spp.	X		X
<i>Macrophiothrix</i> sp.	X		X

Appendix 2. Locality data. Numbers in the first column correspond to those in Figure 1. Station  
 Locality Habitat Depth range (m) Latitude Longitude

	Station	Location	Habitat	Depth range (m)		Latitude	Longitude
1	CHUK-01	Osakura, fronting KSORC	reef flat, sea grass, reef moat	0	1	7.47795	151.90176
2	CHUK-02	Benedict Pt. "1"	fringing reef slope	7	25	7.45097	151.90668
3	CHUK-03	Benedict Pt. "1"	reef flat	0	1	7.27170	151.54334
4	CHUK-04	Shark Island	reef flat and fringing reef	0	1	7.43020	151.93134
5	CHUK-05	Fannuk	barrier reef fore slope	15	22	7.51598	151.97145
6	CHUK-06	Fannuk	reef flat	0	1	7.51969	151.96843
7	CHUK-07	Fannuk	barrier reef fore slope	15	22	7.51598	151.97145
8	CHUK-08	Alanelimo	reef flat	0	1	7.42558	151.99356
9	CHUK-09	Founumwo	silty bottom	2	12	7.27891	151.534262
10	CHUK-10	Osakura	fringing reef slope	1	7	7.47795	151.90176
11	CHUK-11	West of Osakura	night dive, fringing reef slope	2	20	7.28497	151.53523

### Appendix 3: Authors' contact information

Alexander M. Kerr, Ph.D.

Associate Professor of Invertebrate Zoology

Marine Laboratory

University of Guam

Mangilao GU 96923 USA

<http://www.guammarinelab.com/alexkerr.html>

Sun Wook Kim, M.Sc.

Research Scientist

Korea Institute of Ocean Science and Technology

Ansan, Gyeonggi-do, Republic of Korea