



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

석사학위논문

희귀종 큰물개구리밥 (*Azolla japonica*
French.et Savant.)의 제주도 서식환경과 동
태 및 보전을 위한 서식지 활용방안 연구

제주대학교 대학원

생물학과

오 석 현

2022년 02월

희귀종 큰물개구리밥 (*Azolla japonica*
French.et Savant.)의 제주도 서식환경과 동
태 및 보전을 위한 서식지 활용방안 연구

지도교수 송 우 람

오 석 현

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2022년 02월

오석현의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장	김 세 재	
위 원	고 석 찬	
위 원	송 우 람	

제주대학교 대학원

2022년 02월

**A study on habitat and dynamics of rare species,
Azolla japonica French.et Savant., and utilization of
habitats for conservation in Jeju Island.**

SeokHyeon Oh

(Supervised by professor Uhram Song)

**A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree
of Master of Science**

2022. 02

This thesis has been examined and approved

Se Jae Kim

Chairperson of the Committee

Seok Chan Kwon

Uhram Song

(Name and signature)

Dec. 2021

DEPARTMENT OF BIOLOGY

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

ABSTRACT

Azolla japonica is a species of nitrogen-fixing aquatic fern that has not been found in the mainland of Korea since 2006. Various factors, such as rapid development, urbanization, climate change, and invasion of alien species, are threatening the survival of *A. japonica* in Jeju Island. In the field investigation, a total of five habitats for *A. japonica* were found, but they disappeared from the first habitat. The rest of the habitat is water dropwort fields, which are irrigated with spring water flowing from the underground of Jeju Island. The average water temperature of spring water was about 15°C, and it was kept constant throughout the year. but *A. japonica* living here showed a unique life cycle. In the early summer, not in the cold autumn or winter, the population decreased sharply, and the sporocarps for sexual reproduction was observed. We conducted habitat monitoring and experiments to identify the cause of *A. japonica* showing a unique life cycle. During habitat monitoring, water dropwort created a microenvironment for the optimal growth of *A. japonica*. The high vegetation density of water dropwort serves as a canopy, providing protection from high light intensity, temperature, wind, and rain. In addition, a stable environment was created by continuously supplying slightly cold and constant groundwater to the habitat. For the conservation of *A. japonica*, a growth experiment was performed to confirm a treatment method that can rapidly increase the population. In the commercial soil treatment group, which is commonly sold in the market, the biomass increased at least 2.9 times and the population increased by more than 2.4 times compared to the Hoagland solution and liquid fertilizer. Therefore, the nutrients leached from the soil at the bottom like wetlands formed the conditions for Azolla to grow better than the hydroponics nutrient solution, which is difficult to prepare. In the temperature reaction experiment, the water temperature and leaf temperature were measured in a high temperature environment treated with a halogen lamp. the temperature difference between the water temperature and the leaf temperature decreased from 6.8°C to 4.7°C in a high-temperature environment. It was confirmed that a constant difference was maintained even in a high-

temperature environment. In the greenhouse experiment, by continuously supplying cool water, it was possible to grow even in high-light intensity and high-temperature environment. In addition, the high-density treatment group of *A. japonica* showed a lower decrease in chlorophyll content than the low-density treatment group under high-light intensity and temperature stress and showed a stable state. Slightly cold and constant water increased the survival, proliferation and growth ability of *A. japonica* exposed to high temperature and light environment. In the habitat, the average temperature of 20 degrees or less, the average water temperature of 15 degrees, sufficient nutrients, and shading by water parsley led to explosive growth, but the rapid rise in temperature and water temperature due to seasonal changes and rapid changes in mineral seem to have caused population decline. Since the investigated habitat type of *A. japonica* is confined to the water dropwort field where spring water flows, it is necessary to improve the awareness of local farmers and come up with a coexistence plan to conserve Azolla. For the conservation of species, a branding method linking local specialties and *A. japonica* was made as a guideline and proposed to the local government. This provided the basis for regional environmental governance.

Keyword: *Azolla japonica*, Rare species, Water fern, Wetland, Environmental governance

목 차

ABSTRACT.....	1
LIST OF TABLES	5
LIST OF FIGURES.....	6
LIST OF APPENDX	8
I. 서 론	12
1. 큰물개구리밥 (<i>Azolla japonica</i> Franch. & Sav.).....	12
2. 서식지, 생태 및 보전 연구 필요성.....	15
II. 재료 및 방법	20
1. 큰물개구리밥 동정	20
2. 서식지 환경조사.....	21
2.1. 서식지 조사.....	21
2.2. 서식지 모니터링	23
3. 실내 실험	25
3.1. 생장 실험.....	25
3.2. 온도반응 실험.....	28
4. 온실 실험	30
5. 엽록소 함량 분석.....	34
6. 원소 분석.....	35
6.1. 토양, 수질 분석.....	35
6.2. 식물체 분석	36
7. 통계분석.....	37
III. 결과 및 고찰	38
1. 서식지 환경.....	38
1.1. 서식지 조사.....	38
1.2. 서식지 모니터링	43
2. 실내 실험	69
2.1. 생장 실험.....	69
2.2. 온도반응 실험.....	76
3. 온실 실험	82

4. 서식지 활용방안.....	90
IV. 요약	92
V. 참고문헌	94
VI. 부록	103

LIST OF TABLES

Table 1. Chemical composition of Hoagland's solution.	27
Table 2. Average light intensity and water characteristics of each treatment.	31
Table 3. Water quality environment, distribution area, and coverage of Azolla habitat were conducted in March 2020.	40
Table 4. Elemental content of water in March 2020.	61
Table 5. Elemental content of water in June 2020.	61
Table 6. Elemental content of water in September 2020.	62
Table 7. Elemental content of soil by season in 2020.	64
Table 8. Organic elemental content of soil by season in 2020.	65
Table 9. Elemental content of <i>A. japonica</i> in March, June, and July 2020.	65
Table 10. Chlorophyll content of <i>A. japonica</i> for each treatment after the indoor growth experiment	73
Table 11. Biomass of <i>A. japonica</i> in a greenhouse experiment conducted for 42days.	87
Table 12. Chlorophyll content of <i>A. japonica</i> in a greenhouse experiment conducted for 42days.	88
Table 13. Leaf temperature and other temperature measurement results.	89

LIST OF FIGURES

Figure 1. The location of <i>A. japonica</i> potential habitats and investigated population (Scale 1:250,000).	22
Figure 2. Photo of temperature reaction experiment. L: LED bar+halogen lamp. R: LED bar (Control).	29
Figure 3. The overall design of greenhouse experiment.....	32
Figure 4. The detail design of greenhouse experiment.....	32
Figure 5. Photo of greenhouse experiment.....	33
Figure 6. Photo of Yunnam pond(YN) on Mar 17, 2020	40
Figure 7. Photo of Jijangsam1(JJ1) on Mar 15, 2020.....	41
Figure 8. Photo of Jijangsam2(JJ2) on May 2, 2020.....	41
Figure 9. Photo of Gangjeong-dong1(KJ1) on May 2, 2020	41
Figure 10. Photo of Gangjeong-dong2(KJ2) on Mar 3, 2020.....	42
Figure 11. Aerial photo of JJ2 site using a drone on Sep 9, 21 (take-off altitute 100m).....	42
Figure 12. Changes in <i>A. japonica</i> distribution area at each habitat sites from March 2020 to August 2021.....	47
Figure 13. Changes in <i>A. japonica</i> coverage at each habitat sites from March 2020 to August 2021..	48
Figure 14. Photos of <i>A. japonica</i> sporophyte, sporulation observed on KJ1 site on May 18, 2020.....	48
Figure 15. Monitoring habitat temperature and water temperature at JJ2 and KJ2 site.....	51
Figure 16. Changes in habitat surface water temperature measured during the day.....	52
Figure 17. The internal and external light intensity of the shade by water dropwort.	54
Figure 18. The difference in <i>A. japonica</i> color for sun exposure.	55
Figure 19. Chlorophyll content according to sunlight exposure.....	55
Figure 20. Changes in pH at each habitat sites from March 2020 to August 2021.	60
Figure 21. Changes in electrical conductivity (EC) at each habitat sites from March 2020 to August 2021.....	60

Figure 22. Observed surrounding vegetation and amphibia.	68
Figure 23. Population of <i>A. japonica</i> during growth experiment.	74
Figure 24. Biomass of <i>A. japonica</i> during growth experiment.....	75
Figure 25. The leaf temperature and water temperature of <i>A. japonica</i> during irradiation 30 minutes using a halogen lamp (Above). Difference between Halogen + LED treated leaf temperature and water temperature (Bottom).....	79
Figure 26. Chlorophyll content of <i>A. japonica</i> after temperature response experiment.	80
Figure 27. Biomass of <i>A. japonica</i> before and after the temperature reaction experiment.	81

LIST OF APPENDX

Appendix 1. Coordinates of the site and habitat type.....	103
Appendix 2. Aerial photo of JJ1 site using a drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 50m).....	104
Appendix 3. Aerial photo of KJ1 site using drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 100m).....	104
Appendix 4. Aerial photo of KJ2 site using drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 50m).	105
Appendix 5. Photo of the JJ1 site on Mar 15, 2020.	105
Appendix 6. Photo of the JJ1 site on Jun 02, 2020.	106
Appendix 7. Photo of the JJ1 site on Jul 02, 2020.	106
Appendix 8. Photo of the JJ1 site on Nov 04, 2020.	107
Appendix 9. Photo of the JJ1 site on Feb 09, 2021.	107
Appendix 10. Photo of the JJ1 site on May 18, 2021.	108
Appendix 11. Photo of the JJ2 site on Mar 3, 2020.	109
Appendix 12. Photo of the JJ1 site on Jun 02, 2020.	110
Appendix 13. Photo of the JJ2 site on Nov 04, 2020.....	111
Appendix 14. Photo of the JJ2 site on Feb 09, 2021.....	112
Appendix 15. Photo of the JJ2 site on Jun 24, 2021.	113
Appendix 16. Photo of the KJ1 site on Mar 15, 2020	114
Appendix 17. Photo of the KJ1 site on May 02, 2020.....	115
Appendix 18. Photo of the KJ1 site on Jun 02, 2020.....	115
Appendix 19. Photo of the KJ1 site on Jul 02, 2020.....	116
Appendix 20. Photo of the KJ1 site on Feb 09, 2021.....	116
Appendix 21. Photo of the KJ1 site on May 18, 2021.....	117
Appendix 22. Photo of the KJ1 site on Jun 24, 2021.....	117

Appendix 23. Photo of the KJ1 site on Jul 28, 2021.....	118
Appendix 24. Photo of the KJ2 site on Mar 3, 2020.....	118
Appendix 25. Photo of the KJ2 site on May 02, 2020.....	119
Appendix 26. Photo of the KJ2 site on Jun 02, 2020.....	119
Appendix 27. Photo of the KJ2 site on Jul 02, 2020.....	119
Appendix 28. Photo of the KJ2 site on Nov 04, 2020.....	120
Appendix 29. Photo of the KJ2 site on Feb 09, 2021.....	120
Appendix 30. Photo of the KJ2 site on May 18, 2021.....	120
Appendix 31. <i>A. japonica</i> in a 20cm*20cm quadret collected from the JJ1 site on May 21, 2021.....	121
Appendix 32. A microsporocarps in a 20*20 cm quadret.....	121
Appendix 33. Relationship between biomass and microsporocarps. (n= 50, $p < 0.05$).....	122
Appendix 34. Photos of density treatments. L: 50%, R: 100%.....	122
Appendix 35. Plastic cup design and irrigation method in greenhouse experimental treatments.....	123
Appendix 36. <i>A. japonica</i> before temperature reaction experiment.....	123
Appendix 37. <i>A. japonica</i> on the 1st day of the temperature reaction experiment.....	124
Appendix 38. <i>A. japonica</i> on the 2nd day of the temperature reaction experiment.....	124
Appendix 39. <i>A. japonica</i> on the 3rd day of the temperature reaction experiment.....	125
Appendix 40. <i>A. japonica</i> on the 4th day of the temperature reaction experiment.....	125
Appendix 41. <i>A. japonica</i> on the 5th day of the temperature reaction experiment.....	126
Appendix 42. <i>A. japonica</i> on the 6th day of the temperature reaction experiment.....	126
Appendix 43. <i>A. japonica</i> on the 7th day of the temperature reaction experiment.....	127
Appendix 44. <i>A. japonica</i> on the 8th day of the temperature reaction experiment.....	127
Appendix 45. Photo of the 75/100 treatment before the greenhouse experiment.....	128
Appendix 46. Photo of the 75/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.....	128

Appendix 47. Photo of the 75/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	128
Appendix 48. Photo of the 75/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	128
Appendix 49. Photo of the 30/100 treatment before the greenhouse experiment.	129
Appendix 50. Photo of the 30/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	129
Appendix 51. Photo of the 30/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	129
Appendix 52. Photo of the 30/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	129
Appendix 53. Photo of the 15/100 treatment before the greenhouse experiment.	130
Appendix 54. Photo of the 15/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	130
Appendix 55. Photo of the 15/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	130
Appendix 56. Photo of the 15/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	130
Appendix 57. Photo of the 1/100 treatment before the greenhouse experiment.	131
Appendix 58. Photo of the 1/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	131
Appendix 59. Photo of the 1/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	131
Appendix 60. Photo of the 1/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	131
Appendix 61. Photo of the 75/50 treatment before the greenhouse experiment.	132
Appendix 62. Photo of the 75/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	132
Appendix 63. Photo of the 75/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	132
Appendix 64. Photo of the 75/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	132
Appendix 65. Photo of the 30/50 treatment before the greenhouse experiment.	133
Appendix 66. Photo of the 30/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	133
Appendix 67. Photo of the 30/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	133
Appendix 68. Photo of the 30/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	133
Appendix 69. Photo of the 15/50 treatment before the greenhouse experiment.	134
Appendix 70. Photo of the 15/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.	134

Appendix 71. Photo of the 15/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.	134
Appendix 72. Photo of the 15/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.	134
Appendix 73. Photo of the 1/50 treatment before the greenhouse experiment.	135
Appendix 74. Photo of the 1/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.....	135
Appendix 75. Photo of the 1/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.....	135
Appendix 76. Photo of the 1/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.....	135
Appendix 77. Habitat destruction at the JJ1 site due to stream improvement works.....	136
Appendix 78. English abridgement of guidelines proposed to local agricultural managers (Rural Guidance Division of Jeju Agricultural Research and Development Institute).	137

I. 서 론

1. 큰물개구리밥(*Azolla japonica* Franch. & Sav.)

큰물개구리밥(*A. japonica*)은 분류학상으로 물개구리밥과(*Azollaceae*)에 속하는 여러해살이 부유성 수생양치식물이다. 줄기는 수상으로 갈라져 전체적인 형태는 삼각형 또는 삼각상 타원형이며 크기는 1.5~7cm까지 자란다. 포자는 대포자과(megasporocarps)과 소포자과(microsporocarps)은 따로 발생하며 9~10월에 성숙한다 (NIBR 2021). 일반적으로 물개구리밥속(*Azolla*) 식물은 그늘지고 인(Phosphorus)이 많은 서식환경을 선호한다. 약 5~33°C에서 생존이 가능한 것으로 알려져 있으며 이런 조건들이 악화될 경우 잎이 붉게 단풍이 들어 만강홍(滿江紅)이라 불린다 (Park 2005). 물개구리밥속은 최적의 환경조건에서 생물량이 두 배가 되는데 2.5일 밖에 걸리지 않아 빠른 성장률을 보이지만(Shiomi and Kitoh 1987) 수생 식물은 개체군 유지와 번식을 위해 극한의 환경에서는 유성번식을 한다. 광도, 온도, pH, 질소 및 인산염 공급 등의 다양한 환경적 요인의 상호적인 작용으로 인한 스트레스가 물개구리밥속의 포자형성을 유도하여 유성생식을 하는 것으로 보고된다 (Janes 1998b). 큰물개구리밥 등엽(Dorsal lobe)에 있는 잎 내강(leaf cavity)에서 대기

중에 질소를 고정하는 남세균(Cyanobacteria)인 *Azolla anabaena* 가 공생한다 (Carrapiço 2010). 물개구리밥속 식물은 질소 고정은 따라 하루에 약 3.6 kg N/ha까지 가능한 것으로 보고된다(Watanabe 1982). 물개구리밥속은 질소 고정하는 부유성 수생식물이기 때문에 녹비식물로 연구들이 많이 진행되어 왔었고 과거 베트남, 태국 등의 동남아 국가에서 녹비식물로 활용되었다 (Lumpkin and Plucknett 1980; Talley, et al. 1977).

생물다양성은 생태계 서비스와 밀접하게 관련되어 있다. 담수 생물다양성은 생태계뿐만 아니라 인간에게 다양한 재화와 서비스를 제공한다. 담수 생태계의 생물다양성 특징은 육상생태계보다 높은 종 밀집도를 보이지만 수질오염과 인간 활동에 빠르게 감소하며 민감하게 반응한다(Dudgeon, et al. 2006). 물개구리밥속에 속하는 *A. filiculoids*, *A. pinnata*, *A. microphylla* 등을 포함한 7종이 있는 것으로 알려졌다. 국내에서는 물개구리밥(*Azolla imbricata* (Roxb. ex Griff.) Nakai)와 큰물개구리밥두 종이 서식하는 것으로 확인되었다 (Lee, et al. 2011). 국내에서 큰물개구리밥은 2003년 전라남도 무안군 백련지, 2006년 전라남도 진도군 저수지에 분포하는 것으로 확인되었으나 이후 같은 지역에서 개체군의 분포가 확인되지 않았다 (Lim 2010; Park and Lee 2005). 본 연구에서 발견된 큰물개구리밥의 서식지는 국내에서 보고된 유일한 서식지이기 때문에 종 보전을 위한 연구가 필요하다.

국제자연보전연맹(International Union for Conservation of Nature; IUCN)의 적색목록(Red

List)은 세계적 수준에서 전 지구적 멸종 위기종들을 정량적 기준을 통해 9개 범주로 나누어 분류하는 시스템으로 알려져 있다 (Butchart, et al. 2007). 일부 지역, 국가에는 적용에는 한계가 있기 때문에 지역적색목록(Regional Red List)이 개발되어 적용하고 있다. 지역적색목록에는 11개 범주로 평가를 하며 큰물개구리밥은 정보부족(Data Deficient; DD)으로 평가를 하기 위한 정보가 부족한 분류군으로 분류되어 있다 (NIBR 2012). 정보부족은 적색목록의 평가기준인 해당 분류군의 정량적 기준이 부족한 경우를 의미한다 (Butchart and Bird 2010). 본 연구에서 큰물개구리밥은 서식지가 제한적이며 개체군이 점차 감소하고 있다는 것을 확인했으며 종 보전을 위한 종의 서식지 발견, 연구는 정량적 평가가 이루어지기 위한 기초 자료로 활용될 수 있다.

2. 서식지, 생태 및 보전 연구 필요성

담수생태계는 지구상의 존재하는 물 중의 약 0.01%만 담수이며 100,000 여종이 사는 종 다양성에서 중요한 서식지이다. 담수생태계에서 수생식물은 먹이원과 정화를 통해 종 다양성에 매우 중요한 역할을 한다 (Oh, et al. 2021). 담수생태계는 기후변화로 인한 여러 요인에 의해 간접적으로 영향을 미치고 있다. 담수표면 온도 상승과 바람 패턴의 변화가 담수 내 열 균형과 분포에 영향을 미치며 화학적, 생물학적 특성에 영향을 미칠 수 있다 (Nickus, et al. 2010). 또한 개발과 도시화는 담수생태계에 물리적인 파괴를 통해 육상화 시키거나 유출수가 담수를 오염시켜 화학적 영향을 미친다 (Gál, et al. 2019). 제주도는 개발이 가속화되면서 동식물들의 서식지가 감소하며 도시 부지가 빠르게 증가하고 있다 (Hong, et al. 2021).

세계적인 환경 문제로 대두되고 있는 지구 온난화는 인간의 산업활동으로 화석연료 소비 증가와 대규모 삼림 벌채가 이루어지면서 대기 중으로 온실가스가 방출되어 나타난 현상이다. 지구 온난화로 인한 기후변화는 이상기후를 일으키며 생태계에 부정적인 영향을 미친다 (Houghton 2005). 제주지역 기후 변동 특성에 관한 연구에 따르면 우리나라는 평균기온이 근대 기상관측 이래 1.5°C 상승하였으며 제주의 기온은 1924년부터 2004년까지 약 1.6°C(0.02°C/year) 상승을 보였다. 이는 IPCC에서 발표한 기온보다 높은 상승을

보여주며 제주지역은 우리나라 중에서도 빠르게 온난화의 영향을 받고 있음을 보인다 (Kim, et al. 2006). 담수 생태계의 생물다양성은 기후 변화에 매우 취약하며 담수 생물종의 멸종은 육상 생물종보다 높은 것으로 보고 있다. 이러한 기후변화에 대한 생물다양성의 연구는 육상 생태계에 집중되어 있다. 그래서 제주도의 담수 생물종에 서식지와 종보전에 대한 생태적인 연구가 필요하다 (Heino, et al. 2009).

기후변화만이 아니라 제주도는 침입 외래종과 과도한 개발로 인해 생태계가 교란되고 파괴되고 있다. 발달된 교통 인프라를 바탕으로 무역경로를 통해 시장이 발달하면서 인간과 상품의 이동속도를 증가시킨다. 인간과 상품의 이동은 침입 외래종의 생물학적 침입 경로로 이용되면서 빠른 적응력을 통해 자생식물에 위협을 가하고 있다 (Meyerson and Mooney 2007). 제주 서식지 모니터링 연구에 따르면 1989년부터 2019년까지 30년 동안 도시부지가 약 1.7배 증가하였으며, 농업용 토지가 약 0.6배로 감소하였다. 그리고 초지는 0.3배, 숲은 0.2배 감소한 것으로 나타났으며 보호구역에서 관리구역으로 하향된 지역이 더 크다 (Hong, et al. 2021).

제주도는 가파른 남북사면을 따라 수계 형태가 발달하였다. 현무암질 용암류가 지표면을 구성하고 있어 물 저장능력이 떨어져 대부분 건천형태를 가지고 있다. 여름철의 높은 강수량은 건천이 고지대의 물을 해안가로 운반해주는 배수로 역할을 수행한다 (Choi, et al. 2018). 제주도의 특이 지형으로 형성된 지하수는 토지이용변화와 수질관리 방식이 수질

에 영향을 미치며 이는 제주도 수계 형태에 따라 해안가에 형성되어 있는 습지는 개발과 오염에 노출된다 (Koh, et al. 2017). 급격한 수위 변화와 해안가에 형성한 습지는 개발에 노출되어 수생식물의 안정적인 서식환경을 제공하지 못한다 (Kang, et al. 2015).

기후변화와 교통 인프라 발달 등으로 인해 침입성 외래종의 유입이 증가하였다. 전국에서 제주도는 침입성 외래식물이 320분류군 중 187분류군으로 가장 높았다. 습지에 서식하는 생태계 교란 식물로 지정된 귀화식물 털물참새피(*Paspalum distichum* var. *indutum* Shinnery)와 생태계 교란의 위협이 있는 미국가막사리(*Bidens frondosa* L.) 등이 서식지 우점하여 자생하는 다른 종을 위협하여 관리가 필요한 종이다 (Chung, et al. 2017). 수생식물은 다른 생물들의 서식처를 제공하며 먹이원이기도 하다. 그러나 침입성 외래종은 빠른 번식력과 수위 변화에 대한 내성을 가지는 특징을 보이며 제주도 담수생태계에 종 다양성을 위협하고 있다. 제주도는 기후변화와 난개발에 대하여 생물다양성 보전에 대한 관리가 필요하며 종 서식지에 대한 생태학적 연구는 보전을 위한 근거자료로 활용이 가능하다.

제주도에 서식하는 큰물개구리밥은 서식지 보고가 2006년 이후 보고가 되지 않았으며 국내에서 자생하는 서식환경에 대한 연구가 진행된 바가 없다. 이번 연구에서는 제주도 내에서 큰물개구리밥의 서식지를 확인하였다. 일반적으로 물개구리밥속은 붉게 단풍이 드는 추운 겨울은 낮은 온도로 인한 스트레스와 제한적인 유성생식으로 개체수가

감소하며 따뜻한 계절에 주로 영양번식을 통해 개체수를 늘린다 (Janes 1998a). 하지만 제주도 서식지에서는 5 월부터 개체수가 감소와 유성생식이 관찰되고 여름이 지나 다시 개체수가 증가하였다. 이런 현상은 과거 북베트남에서 물개구리밥을 벼생산을 위한 녹비식물로 대규모로 번식시켜 논의 질소원으로 사용하였는데 비슷한 시기에 많은 물개구리밥이 증가하고 감소한 사례와 유사하다 (Moore 1969). 녹비식물 활용에 관한 연구에서 매트 형성 후 단일 과인산염(Single super phosphate)을 투여한 후 8~10 일 내에 물개구리밥속 식물이 분해되어 고정된 질소를 방출한다고 보고했다 (Yadav, et al. 2014). 물개구리밥속은 질소고정 남조류와의 공생을 통해 대기 중의 질소를 고정하며 빠른 번식력과 생물량을 통해 두꺼운 매트를 형성하여 녹비식물로서 연구가 많이 이루어졌다 (Carrapiço 2010; Lumpkin and Plucknett 1980; Moore 1969; Talley, et al. 1977). 이는 친환경적인 농업으로서 지나친 화학비료 사용을 줄일 수 있다. 그리고 매립지 침출수, 축산 하수 등 주요 수질오염원이 되는 오염된 물을 식물정화에 적용이 가능한 종으로써 연구가 진행된 바가 있다 (Song, et al. 2012). 큰물개구리밥은 국내에서 생태적 환경에 대한 연구가 미흡하다. 따라서 제주도 내에서 자생하는 큰물개구리밥의 보전하기 위해서는 쉽게 번식시켜 개체수를 늘리고 이러한 독특한 생활사가 나타나는 원인에 대한 생태적인 연구가 필요하다.

큰물개구리밥은 제주도 서식지 조사에서 주로 미나리 밭에서 자생하는 것이 확인이 되었다. 큰물개구리밥이 녹비식물로서 가치가 있지만 현지 농부들은 현지에서는 퇴비 혹은 화학비료를 사용하며 큰물개구리밥이 온화한 기후에 형성된 두꺼운 매트(Mat)는 어린 작물들의 성장을 방해하는 잡초로 취급을 받는다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 매트가 형성되기 전에 수확이 이루어지거나 어린 작물들이 없는 장소로 이동을 시켜야 한다. 현지 농부 입장에서는 큰물개구리밥의 수확과 이동은 노동력을 과하게 소비하는 행위이다 (Yadav, et al. 2014). 이러한 인식은 종 보전에 좋은 결과를 낳을 수 없다. 따라서 희귀종 보전과 농부 사이에서 상생할 수 있는 방안을 고려할 필요가 있다. 종 보전을 하기 위한 방안으로 지역특산물과 보호가 필요한 희귀종을 연계한 브랜드를 창출하기 위해 농민, 연구자, 공공기관 사이의 지역거버넌스 형성을 제시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 큰물개구리밥 동정

한국에서 자생하는 물개구리밥속(*Azolla*)은 물개구리밥(*A. imbricata*)와 큰물개구리밥(*A. japonica*) 두 종이 있다. 두 종에 나타나는 형태적 차이점은 뿌리털(Root hairs)의 유무이다. 물개구리밥(*A. imbricata*)는 원줄기에서 가는 뿌리털이 존재하지만 큰물개구리밥(*A. japonica*)는 성장 과정에서 뿌리털이 조기 탈락한다(Park 2005). 정확한 종 동정을 위해 일본 농환경과학연구원(NIAES) Ikeda H. 에게 자문을 구했으며, 물개구리밥속 분류 지수를 따랐다 (Takano and Kadono 2005).

2. 서식지 환경조사

2.1. 서식지 조사

2019년 제주도 애월읍에 위치한 윤남못에서 큰물개구리밥 발견하였다. 제주도의 지형적 특성상 수계가 발달하지 않아 습지가 적다. 2006년 이후 서식지 보고가 이루어지지 않기 때문에 처음 발견한 윤남못을 기준으로 주변 서식지와 잠재적 서식 가능성이 있는 습지를 구글맵을 활용하여 확인하였으며, 최근 3년 이내의 소셜 네트워크 서비스(Social Networking Service; SNS)를 활용하여 2020년부터 서식지 조사를 시작하였다. 습지가 비교적 발달한 남북사면을 따라 해발고도 100 m를 중심으로 조사하였다. 윤남못을 포함한 제주시 내 습지는 8곳을 확인하였으며 서귀포시 7곳을 확인하여 총 15개 조사지를 선정하여 현장 조사를 실시하였다 (Figure 1, Appendix 1). 큰물개구리밥의 서식이 확인된 조사지에서 면적에 따라 고도를 달리하여 드론(SG906 max, ZLRC, China)으로 항공촬영을 실시하였다.

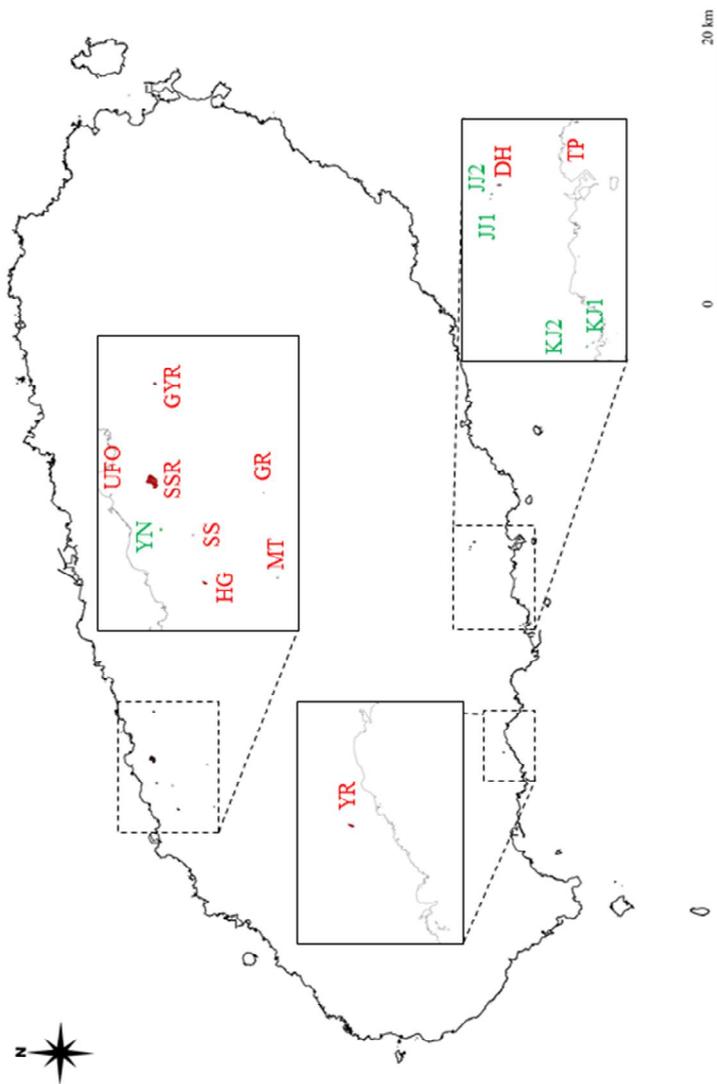


Figure 1. The location of *A. japonica* potential habitats and investigated population (Scale 1:250,000).

Green: *A. japonica* habitat, Red: non-habitat. Additional information on the investigated site is specified in Appendix 1.

2.2. 서식지 모니터링

현장 조사 결과에서 2020년 윤남못에서는 개체군이 발견되지 않아 윤남못을 제외한 4곳의 서식지의 비생물적·생물적환경 요인을 조사하였다. 20년 3월부터 2주마다 서식지의 pH, 전기전도도(Electrical Conductivity; EC), 표면 수온은 휴대용 측정기(Thermo orion star A329 Portable multiparameter, Thermo Fisher Scientific Inc., USA)로 측정을 하였다. 지속적인 수온 변화를 측정을 위해 Data logger(RC-5, Elitech, France)를 서식지에 설치하여 측정하였다. 광도와 엽온은 서식지 내에 자연광에 100% 노출된 곳과 수생식물로 인해 생긴 그늘진 곳에서 측정하였다. 광도 측정을 위해 광합성 유효량 광량자속밀도(Photosynthetic photon flux density; PPFd)를 측정할 수 있는 광도 측정기(LI-250, LI-COR, USA)를 사용하여 각각 5번씩 측정하였으며, 엽온은 휴대용 적외선 온도계(CS-302, ACUBA, China)로 각각 10번씩 측정하였다. 기온과 강수량은 기상청 국가기후데이터센터에서 제공하는 데이터를 활용하였다 (KMA 2021).

4곳 서식지에 서식하는 개체군의 피도는 한 달마다 각 사이트에 20 cm*20 cm 방형구를 10개씩 설치하여 피도의 변화를 관찰했으며 개체군 분포면적은 육안을 통해 관찰하였다. 큰물개구리밥은 수생 양치류로 방형구 안에 개체수와 소포자과(Microsporocarps) 생산량을 확인하였으며 겨울 토양 내 포자가 있는지 확인하였다. 매트가 형성된 방형구(20cm *

20cm) 안에 큰물개구리밥을 무게 구간별(0.01g~0.09g, 0.10g~0.19g, 0.20g~0.29g, 0.30g~0.39g, 0.40g~) 10개체씩 선별하여 평균 개수를 구하여 총 소포자과의 개수를 추정하였다. 큰물개구리밥의 서식에 영향을 미칠 가능성이 있는 동·식물을 확인하였다.

3. 실내 실험

3.1. 생장 실험

큰물개구리밥을 생장실에서 40 cm * 33 cm * 18.5 cm 크기의 용기에 생장실 온도에 1주일 간 적응 기간을 주었다. 이후 상단 직경 7 cm, 하단 직경 5 cm, 높이 10 cm 크기 플라스틱 컵에 증식실험을 실시하였다. 증식실험에서 대조군으로 증류수(Distilled water)를 사용하였으며 실험군으로 액체비료, 수도용 상토, Hoagland 용액, UV 램프를 사용하여 5반복, 28일 동안 진행했다. 또한 농도와 광도 구배를 주어 대상의 반응을 평가하였다. 수도용 상토는 접근성이 용이하고 시판되고 있는 상업용 토양(Shingi Industrial Co., KOR) 사용했으며, 침강 시간을 주기 위해 10g의 토양을 실험 1일 전에 넣었다. 수도용 상토의 화학적 특성은 pH 4.8~5.8, EC 2.0 dS/m 이하, 암모니아성 질소 500 mg/Kg 이하이다. 액체비료는 수경재배로 사용되는 Hyponex[Hyponex (6N-10P-5K), Hyponex Japan Ltd., Japan] 사용하였으며, 액체비료를 증류수로 1/2000[Hyp H (고농도)]와 1/4000[Hyp L (저농도)] 농도로 희석하였다. Hoagland 용액은 수생식물을 대상으로 실험에서 사용되는 비료이며 조성은 Table 1와 같다. Hoagland 용액을 증류수로 1:10[Hoag L (저농도)]으로 희석하여 사용하였다. 추가적으로 1:2[Hoag H (고농도)]로 희석하여 큰물개구리밥의 반응을 관찰하였다 (Forni, et al. 2001). 큰물개구리밥은 서식지에서 국지적으로나 실내에서 생육하는 동안 병

원균에 자주 감염되어 고사되는 경우가 많았다. 흰색 균사가 나타나고 엽록소가 파괴되어 갈색을 변한다는 점에서 *Rhizoctonia solani*에 의한 마름병과 병징이 유사하였다 (Lee, et al. 2011). 이러한 감염을 예방하기 위해 1/10 Hoagland 처리구에 254 nm 파장 수족관 자외선(UV) 살균 램프(UVC-307 aquarium UV sterilizer, Coospider, China) 설치하여 증식에 대한 반응을 관찰하였다.

생장실의 온도는 25°C를 유지하였으며 식물생장용 발광 다이오드(LED bar, Grinmax, Korea)를 높이를 다르게 설치하여 광도 구배를 주었다. 광도 측정을 위해 광도 측정기(LI-250, LI-COR, USA)를 사용하였다. 광도는 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, 고광도 처리(ILI)는 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 이 측정되었다. 각 플라스틱 컵에 용액은 150 mL씩 넣었으며 수심을 계속 유지시켰다. 실험 전 각 처리구에 있는 큰물개구리밥의 생물량(Biomass)을 티슈를 이용하여 물기를 제거하고 전자저울 (CB-200, AND, Korea)로 측정하였다. 초기 안정화 기간 3 일 후 실험용기에 옮겨 개체 수와 생물량을 측정하고 이후 매주 측정하였다. 실험 후 각 처리구의 큰물개구리밥을 수확하여 엽록소 함량을 측정하였다. 엽록소 함량 분석방법은 Ⅱ. 5 단락에 제시하였다.

Table 1. Chemical composition of Hoagland's solution.

Compound		Concentrations (mg/L)
Macronutrients	KNO ₃	45
	CaNO ₃	41
	KH ₂ PO ₄	3
	MgSO ₄	6
	Fe-EDTA	0.5
Micronutrients	MnCl ₂	0.5
	ZnSO ₄	0.05
	CuSO ₄	0.02
	Na ₂ MoO ₄	0.01

3.2. 온도반응 실험

큰물개구리밥이 열에 의한 생리적 반응과 엽온 반응을 관찰하기 위해 실시하였다. 생장실에서 40 cm * 33 cm * 18.5 cm 크기의 용기에 1주일 간 적응 기간을 주었다. 적응 후 PET 재질의 상단 지름 9.8 cm, 하단 지름 5.4 cm 높이 13.2 cm인 16온스 플라스틱 컵에 5개체씩 3반복으로 넣었다. 대조군으로 식물생장용 발광다이오드(LED)를 사용하였으며 실험군으로 LED+할로겐 전구(MR16 12V 50W, OSRAM, Germany)를 사용하였다. 수심은 10cm를 유지하였으며 수면에서 12 cm 높이에 할로겐 전구를 설치하였다. 할로겐 전구는 타이머를 활용하여 하루 4시간씩 작동하였으며 작동 시간 외에 대조군과 동일한 광조건을 주었다. 할로겐 전구로부터 조사되는 광과 열이 외부의 영향을 줄이기 위해 은박지रो 벽을 만들었다. 생리적 반응을 관찰하기 위해 8일간 실험을 실시하였으며 무게와 엽록소 함량을 측정하였다. 또한 엽온이 광에 의해 증가하는 것을 관찰하기 위해 5분 간격으로 휴대용 적외선 온도계(CS-302, ACUBA, China)로 3회씩 측정하였으며, 수온은 휴대용 측정기(Thermo orion star A329 Portable multiparameter, Thermo Fisher Scientific Inc., USA)를 활용하여 측정하였다. 생장실 내부 온도는 22°C를 유지하였다. 대조군의 광조건은 $78.3 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 이며, 실험군의 LED 광조건에서는 $78.7 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, LED+할로겐 광조건은 $314.3 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 이었다 (Figure 2).



Figure 2. Photo of temperature reaction experiment. L: LED bar+halogen lamp. R: LED bar (Control).

4. 온실 실험

현장 조사에서 큰물개구리밥은 자연광에 노출되는 정도에 따라 붉게 단풍이 드는 반응이 다르다는 것이 관찰되어 광도와 밀도 구배를 주고 대상의 반응을 관찰하였다. 광도는 온실 자체의 차광 효과를 활용한 표준광도($2000 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)의 75% 처리구와 차광막을 설치하여 표준광도($2000 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)의 30%, 15%, 1% 4개의 처리구를 만들었으며 각 처리구마다 밀도를 50%, 100%로 처리하여 총 8개 처리구, 5반복으로 진행하였다. 실험은 2021년 5월 24일~ 2021년 7월 5일까지 42일간 진행하였다. 각 처리구의 광도조건과 수체 특성은 Table 2와 같다. 실험 전 실내 생장실에서 PPFD $60 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 에서 3일간 안정화 기간을 가진 후 실험을 진행하였다. 생육상태를 확인하기 위해 실험 전, 중간, 후 생물량과 엽록소 함량을 측정하였다. 광도에 따른 엽은 상승을 확인하기 위해 휴대용 적외선 온도계(CS-302, ACUBA, China)로 측정하였다. 큰물개구리밥의 주요 서식지인 미나리 밭은 지속적으로 지하수를 공급하기 위한 관개시설이 설치가 되어있다. 조사지와 같이 일정한 수온을 유지하기 위해 온실 실험에서 지속적인 관수를 진행했다. 지속적인 관수를 진행하기 위해 내경 15 mm PVC 파이프를 이용하여 Figure 3-5, Appendix 34-35와 같이 설계하였다. 파이프로부터 플라스틱컵에 관수하고 물 표면의 영향을 최소화하기 위해 6 mm 호스를 컵 하단부까지 연결하였다. 컵 상단부에는 물을 배출하기 위해 3.5

cm*1.0 cm 크기의 타원형 구멍을 만들고 큰물개구리밥이 밖으로 유출되는 것을 막기 위해 망을 설치하였다. 탈락된 뿌리나 부유물 등의 이물질이 망을 막는 것을 방지하기 위해 지속적으로 청소하였다. 기온 변화를 측정하기 위해 Data logger(RC-5, Elitech, France)를 설치하였다. 수온과 pH 변화는 휴대용 측정기(EZ-9908, IT Caster Ltd, China)를 활용하여 측정하였다.

Table 2. Average light intensity and water characteristics of each treatment.

Treatments (Light intensity %)	Average light intensity ($\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)	Water pH	Water temperature ($^{\circ}\text{C}$)
75%	1454.8 \pm 3.7	7.29 \pm 0.04	17.3 \pm 0.2
30%	565.4 \pm 14.5	7.48 \pm 0.05	16.2 \pm 0.2
15%	240.8 \pm 7.3	7.45 \pm 0.07	16.10 \pm 0.16
1%	17.0 \pm 1.6	7.38 \pm 0.03	16.50 \pm 0.17

Values represent means \pm SE. The average light intensity was measured repeatedly 5 times, and the characteristics of water were repeated 9 times by repeating 3 times each in the morning, noon, and evening.

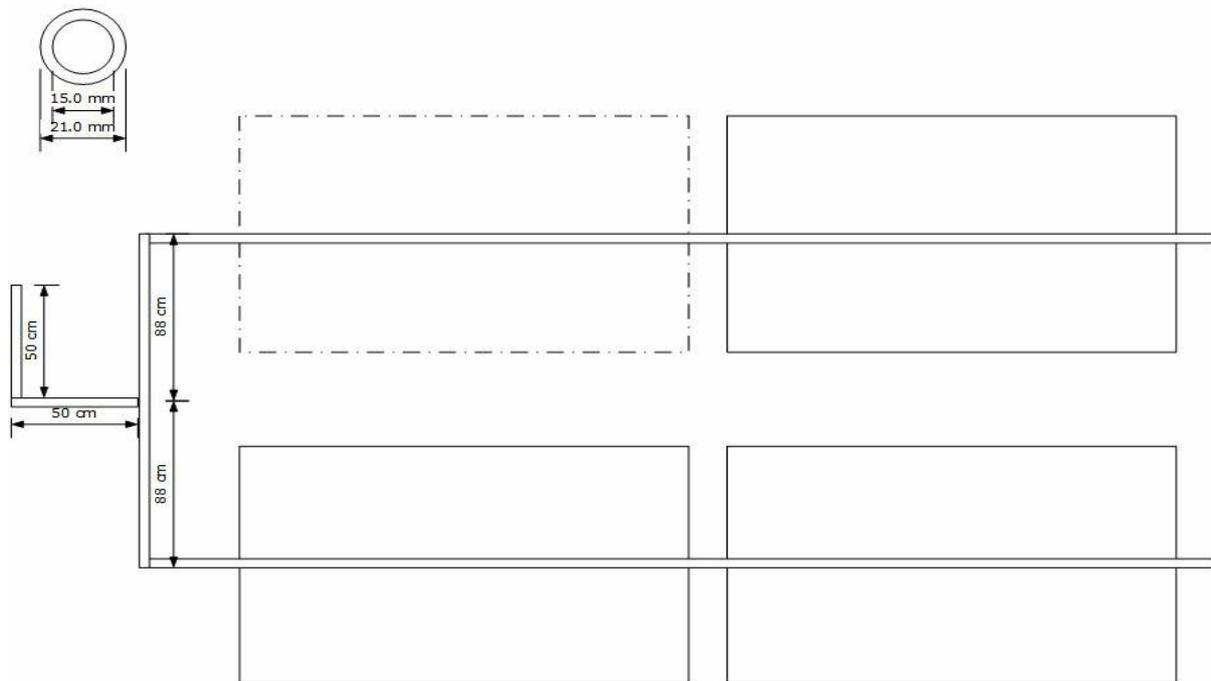


Figure 3. The overall design of greenhouse experiment.

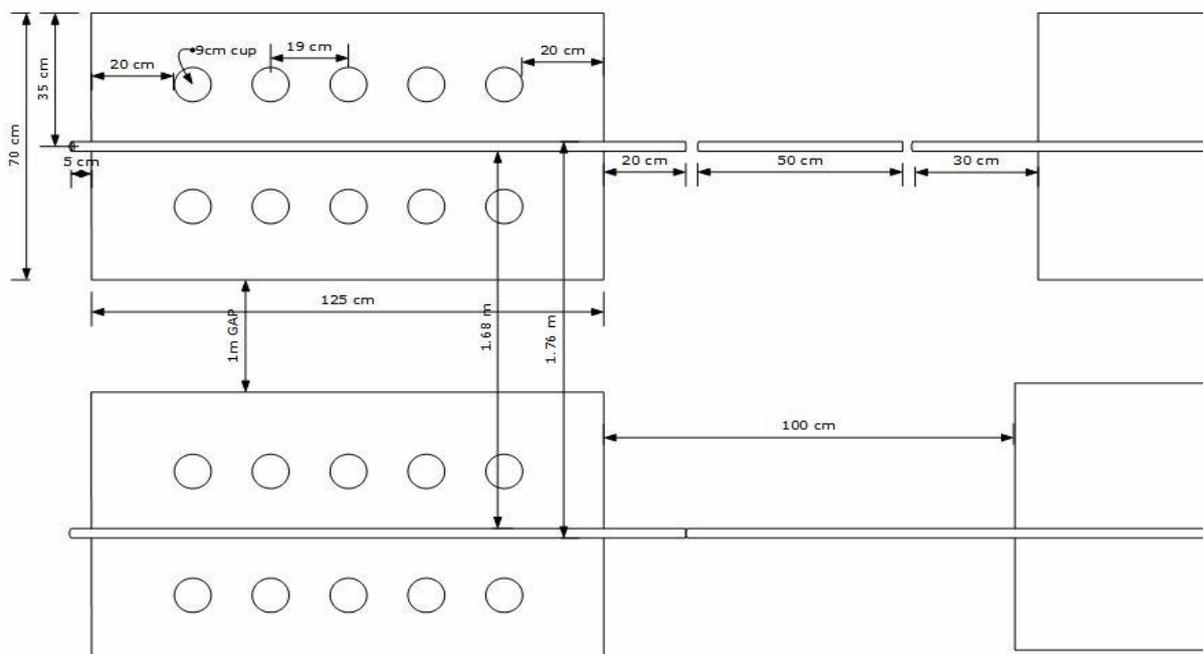


Figure 4. The detail design of greenhouse experiment.



Figure 5. Photo of greenhouse experiment

5. 엽록소 함량 분석

큰물개구리밥의 생육상태를 확인하기 위한 지표로 분광광도법(Spectrophotometric analysis)을 이용하여 추출된 엽록소 함량을 측정하였다. 엽록소 추출방법은 일부 변형하여 실시하였다 (Ni, et al. 2009). 엽록소를 추출하기 위해 3일간 40°C에서 건조시키고 잘게 자른 후 0.1 g을 1.5 ml microtube에 담아 95% EtOH을 1 ml 넣었다. 항온 수조(PURIBATH, CRYSTE NOVAPRO Co., ROK)에서 50°C, 2시간 동안 추출하였다. 추출 후 원심분리기(PURISPIN 17R, CRYSTE NOVAPRO Co., ROK)에 넣어 3000rpm, 4°C, 15분 동안 원심분리를 진행하였다. 이후 시료의 상등액을 250 µl 취하여 96well plate에 넣었다. 96well plate를 분광광도계(VersaMax™ absorbance microplate reader, Molecular Devices Corporation, USA)에 넣어 649 nm, 665 nm 파장의 흡광도를 측정하였다. 흡광도 값을 아래 식에 대입하여 엽록소 함량을 산출하였다 (Hiscox and Israelstam 1979; LICHTENTHALER and WELLBURN 1983; Zhang, et al. 2018).

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (ug/g)} = 13.95 * OD_{665 \text{ nm}} - 6.88 * OD_{649 \text{ nm}}$$

$$\text{Chlorophyll } b \text{ (ug/g)} = 24.96 * OD_{649 \text{ nm}} - 7.32 * OD_{665 \text{ nm}}$$

$$\text{Total Chlorophyll (ug/g)} = \text{Chlorophyll } a + \text{Chlorophyll } b$$

6. 원소 분석

6.1. 토양, 수질 분석

서식지에서 2020년 3, 6, 9월에 채취한 토양, 수질의 원소 분석을 실시하였다. 토양 분석을 위해 Mehlich 3 용액을 제조하여 전처리를 실시하였다. 3일간 40°C에 건조시킨 토양을 2g을 5 ml Conical tube에 넣고 20 ml Mehlich 3 추출용액을 넣었다. 진탕기(HB-203, hanbaak Co, KOR)에 하루 동안 120 rpm으로 진탕하였다. 진탕한 시료를 여과지(#2 Watman filter paper)로 거른 후 증류수로 50 ml까지 채웠다(Agroecologylab 2016). 전처리를 완료한 시료는 ICP-OES(Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometers 5800, Agilent Technologies, Inc., USA) 분석법을 통해 나트륨(Na), 마그네슘(Mg), 철(Fe), 총인(T-P), 칼륨(K) 함량을 분석하였다. 일부 건조한 토양은 1.5 ml micro tube에 담아 원소 분석법(Flash EA 1112, Thermo Electron Corp., USA)을 통해 탄소(C), 질소(N), 수소(H) 함량을 분석하였다. 수질 분석은 여과지를 이용하여 거른 후 50 ml Conical tube에 담아 동일한 분석을 실시하였다.

6.2. 식물체 분석

서식지에서 2020년 3, 6, 7월에 수확한 큰물개구리밥의 원소 분석을 실시하였다. 전처리를 하기 위해 건조기에서 3일간 40°C에 건조 후 잘게 잘라 0.1g을 45 ml 유리실험관에 넣고 질산 70% 4 ml를 추가로 넣어 24시간 상온에 반응시켰다. 이후 과염소산 60% 5ml를 넣고 유리실험관을 Heating block bath(LI-HB1111, LKLabKorea Inc., ROK)에서 170°C로 액체시료가 맑아질 때까지 끓였다. 액체시료를 상온에 식힌 후 증류수로 희석하여 여과지(#2 Watman filter paper)로 거른 후 50 ml Conical tube에 증류수를 추가하여 50ml을 채웠다. 전처리한 액체시료는 ICP-OES(Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometers 5800, Agilent Technologies, Inc., USA) 분석법을 통해 나트륨(Na), 철(Fe), 총인(T-P), 칼륨(K) 함량을 분석하였다 (Park and Song 2017).

7. 통계분석

실험 결과는 평균값 \pm 표준오차이며, 처리구 간의 유의한 차이를 보기 위해 통계 분석을 실시하였다. 통계 분석은 SAS 통계프로그램(SAS v9.3, SAS Instityte Inc., USA)을 이용하여 2개 집단은 t-검정(Student's t-test)을 수행하고 3개 이상 그룹은 일원분산분석(ANOVA)를 수행했으며 차이가 보일 경우 사후검정으로 Tukey's multiple range test를 수행하여 $p < 0.05$ 일 때 처리구 간의 유의한 차이를 판단하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 서식지 환경

1.1. 서식지 조사

현장 조사 결과에서 제주시에 위치한 윤남못을 제외하고 서귀포시 4곳에서 개체군 서식이 확인되었으나 2020년 윤남못에서는 개체군이 발견되지 않았으며 서귀포시 4곳 중 3곳은 미나리 밭이며 1곳은 미나리 밭의 관개수로이다 (Figure 1, Appendix 1). 윤남못은 해발 고도 41 m 총면적 약 477.6 m² 이다. 주변 식생으로 노란꽃창포(*Iris pseudacorus* L.), 연꽃(*Nelumbo nucifera* Gaertn.), 미나리(*Oenanthe javanica* DC.), 무(*Raphanus sativus* L.), 소리쟁이(*Rumex crispus* L.), 등갈퀴덩굴(*Vicia cracca* L.)이 확인되었다 (Figure 6). 100 m 이내에 왕복 4차선이 도로와 주택가가 인접하여 유동인구가 잦은 곳에 위치하여 있다. 미나리 밭과 달리 물의 공급이 일정하지 않고 공사로 인한 토사가 유입된 흔적이 있다. 이로 인해 물의 오염이 심하여 사라진 것으로 보인다 (Table 3). JJ1 사이트는 해발고도 100 m 총면적 897.3 m² 크기의 미나리 밭이다 (Figure 7). JJ2 사이트는 해발고도 93 m 총면적 약 4,343 m² 크기의 미나리 밭이다 (Figure 8). JJ1, JJ2 사이트 주변에 대규모 아파트단지, 많

은 단독주택들이 있으며 왕복 4차선 도로가 인접해 있어 인구 유동이 많다. KJ1 사이트는 해발고도 9 m이며 총면적 약 1,607.8 m²크기의 미나리 밭이다 (Figure 9). KJ2 사이트는 해발고도 13 m이며 대규모 미나리 밭에 물을 공급하는 약 60 m 길이의 수로이다 (Figure 10). KJ1, KJ2 사이트는 주변에 올레 7코스과 많은 숙박시설이 밀집되어 있다. 미나리 밭은 개인 사유지로 인간의 접근이 제한적이며 수로를 통한 일정한 관수와 비옥한 토양으로 인해 안정적인 환경이 제공된다. 그리고 지속적인 관리로 인해 같은 부유성 수생식물인 좁개구리밥(*Lemna perpusilla* Torr.), 발작물인 미나리(*O. javanica*)를 제외한 다른 식생을 찾아보기가 힘들다. 제주도 미나리 밭의 형태는 Figure 11, Appendix 2-4와 같이 점점 고도가 낮아지는 계단식으로 패치형태를 이루고 있으며 관개수로로부터 유입되는 물은 자연스럽게 관수가 이루어진다. 패치 사이의 수로를 개폐하여 필요한 물을 조절하여 미나리 재배가 이루어진다. 부유성 수생식물인 큰물개구리밥은 고도가 낮은 패치로 갈수록 높은 밀도로 자생한다. 같이 자생하고 있는 부유성 수생식물인 좁개구리밥(*L. perpusilla*)도 고도가 낮은 패치에 높은 밀도로 자생하는 것으로 보아 계단식 경작 형태를 이용한 관수방법에 의한 것으로 보인다.

Table 3. Water quality environment, distribution area, and coverage of Azolla habitat were conducted in March 2020.

Site	<i>A. japonica</i> distribution area (%)	<i>A. japonica</i> coverage (%)	pH	EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
JJ1	30	46.5 \pm 3.5	6.36 \pm 0.07	77.6 \pm 0.6	15.0 \pm 0.2
JJ2	40	80.5 \pm 3.1	6.44 \pm 0.07	56.9 \pm 4.3	14.0 \pm 0.2
KJ1	20	71.5 \pm 8.2	7.23 \pm 0.12	65.9 \pm 0.5	19.6 \pm 0.5
KJ2	35	69.5 \pm 5.3	7.90 \pm 0.01	65.6 \pm 0.2	18.3 \pm 0.2
YN	NF	NF	9.90 \pm 0.04	237.8 \pm 1.0	16.4 \pm 0.3

JJ1: Jijangsaem1 site. JJ2: Jijangsaem2 site. KJ1: Gangjeong-dong1 site. KJ2: Gangjeong-dong2 site. YN: Yunnam pond. The data is expressed as the mean (\pm SE).



Figure 6. Photo of Yunnam pond(YN) on Mar 17, 2020



Figure 7. Photo of Jijangsam1(JJ1) on Mar 15, 2020



Figure 8. Photo of Jijangsam2(JJ2) on May 2, 2020



Figure 9. Photo of Gangjeong-dong1(KJ1) on May 2, 2020



Figure 10. Photo of Gangjeong-dong2(KJ2) on Mar 3, 2020



Figure 11. Aerial photo of JJ2 site using a drone on Sep 9, 21 (take-off altitude 100m).

1.2. 서식지 모니터링

1.2.1 큰물개구리밥 개체군

큰물개구리밥은 무성생식과 유성생식이 가능한 수생 양치류이다. 국내에서 9~10월경에 포자가 성숙하며 옅은 서식환경이 악화되거나 가을, 겨울에 붉게 단풍이 든다. 제주도 내 조사된 서식지에서 큰물개구리밥의 일부 개체군들은 3월에도 붉게 단풍이 들어 있었다. 이는 겨울부터 지속된 낮은 온도와 높은 빛 조건으로 나타난 반응으로 보인다 (Janes 1998a). 지속적인 모니터링 한 결과 2020년 4월 중순부터 개체군의 분포면적과 피도가 감소하였다 (Figure 12, 13). 큰물개구리밥 성장 특성 연구에 따르면 15~30°C 사이에서 증식을 잘하며 서식지 내에서 개체군 규모의 감소가 크게 나타나지 않았다 (Park 2005). *A. filiculoids*의 계절변화에 따른 색소 조성에 관한 연구에 따르면 5월 평균 기온이 15°C를 넘으면서 *A. filiculoids*의 잎의 크기와 생물량이 증가하였지만 이후 개체군의 규모가 감소하는 경향은 보이지 않았다 (Kösesakal 2014). 제주도에서 발견된 5월 이후 개체군의 감소는 자연에서는 일반적인 현상이 아닌 것으로 보인다. 또한 개체군 감소와 함께 늦봄부터 이와 동시에 5월 2일에 KJ2 사이트를 시작으로 5월 16일부터 모든 사이트에서 포자과(Sporocarp)가 관찰되었다(Figure 14). 특히 KJ2 사이트는 다른 사이트보다 포자과가 일찍 발생했으며 붉은색을 띠며 성숙이 빨랐다 (QingYuan, et al. 1987). 일반적으로 보통 식

물은 기부에서 떨어층(abscission layer)에서 분리되어 영양번식을 한다. 하지만 수생 양치 식물인 큰물개구리밥은 흔히 일어나지 않지만 환경적 요인의 영향을 받아 포자체 기저부 부근 앞에서 대포자과(Megasporocarps)와 소포자과(Microsporocarps)가 형성된다 (Carrapiço 2010). 급격한 분포면적과 피도가 감소한 후 2020년 7~8월부터 KJ1, KJ2 사이트 내 큰물개구리밥의 관찰이 되지 않았다. KJ2 사이트에서는 2021년에 관찰이 되지 않았으며, KJ1 사이트에서는 2021년 1월부터 관찰되었으며 5월 이후 급격하게 감소하여 사라졌다. 반면에 JJ1, JJ2 사이트도 급격한 분포면적과 피도 감소를 하였지만 계속 개체군이 관찰되었다. 이후 2020년 9월부터 개체수가 늘었다. 2021년에는 개체수가 2020년보다 빠르게 감소하는 추세를 보이며 줄었다 (Appendix 5-30).

JJ2 사이트에서 미나리 밭의 여러 패치 중 밀도가 가장 높은 패치에서 미나리 수확은 2020년 4월, 2020년 11월, 2021년 6월에 이루어졌다. 7개월 단위로 수확이 이루어졌으며 각 패치마다 수확시기가 다르다. 4월~5월은 큰물개구리밥이 분포면적이 감소하는 시기이기 때문에 수거, 농약 등의 인위적인 제거가 되었는지 확인이 어렵지만 11월에 수확된 패치 내에 큰물개구리밥이 많이 서식하는 것으로 보아 미나리 수확과정에서 일부가 제거되었을 가능성이 있지만 인위적인 제거가 되었다고 보기 힘들며 밭 주변으로 제거된 흔적이 없었다.

근연종인 *A. filiculoids* 유성생식 조절에 관한 논문에서 매트를 이루는 *A. filiculoids*는

생식 단계의 구조로 전환되면서 원적외선(Far-red light)과 배지 내 질소 감소와 함께 포자형성을 유도하며 식물밀도에 따라 포자 생산량이 증가한다고 보고하였다(Dijkhuizen, et al. 2020). 큰물개구리밥의 유성 생식 전환과 포자 형성은 Flowering locus T(FT)라는 단백질이 관여하며 일반적으로 FT 단백질은 낮 길이, 온도, 영양상태, 나이 등에 의하여 조절되는 것으로 보고 있다 (Brouwer, et al. 2014). 개체군이 감소하는 시기인 5월~6월 이후는 기온의 상승과 광주기가 길어지고 높은 광도가 조사된다. 큰물개구리밥은 이 시기에 제한적인 수면 공간에서 높은 밀도로 매트가 형성이 되고 높은 광도가 유성생식을 유도된 것으로 사료된다.

Appendix 31-33는 J1 사이트에서 방형구(20 cm*20 cm)에 안에 있는 개체를 채집하여 소포자과의 개수를 계산하였다. 방형구 안에 총 개체수는 248개체가 확인되었다. 개체의 생물량이 증가함에 따라 소포자과 생산량을 같이 증가하였으며 0.30 g 미만 개체에서 생물량당 소포자과 형성이 크다. 248개체에서 총 소포자과는 2061개로 계산하였다. 소포자과는 8~130개 소포자낭(Microsporangia)을 포함하며 각 소포자낭은 32개 또는 64개의 미세포자(Microspore)가 3~10개로 응집된 Massulae를 발달시킨다. 반면에 대포자과(Megasporocarps)은 한 개의 대포자(Megaspore)만 포함한다. Massulae는 대포자에 고정되어 각각의 포자는 전엽체(Prothallus)로 발아하고 배우자체(gametophytes)로 성숙·수정하여 접합체(zygote)가 된다 (Carrapico, et al. 2002; Shi and Hall 1988). 물개구리밥속

*Azolla filiculoides*는 포자 형성의 조절에는 광도, 광주기, 온도, pH, 영양소 가용성 등의 다양한 요인의 상호작용으로 나타난다고 보고했으며 *A. filiculoides* 의 매트에서 대포자과, 소포자과는 1.0 : 4.5 비율로 포자 형성이 된다고 보고했다 (Hussner 2010). 따라서 이 비율이면 20cm 정사각형 방형구 안에서 소포자과 2061개, 대포자과는 약 460 여개가 생산될 가능성이 높다. 그리고 물개구리밥속 포자과는 외부환경에 의한 스트레스에 내성이 강하다 (Janes 1998b). 이는 토양 속에 있는 포자가 적절한 환경에서 발아하여 큰물개구리밥이 급격한 감소 혹은 사라지고 나서 다시 빠르게 증식이 가능한 것으로 사료된다.

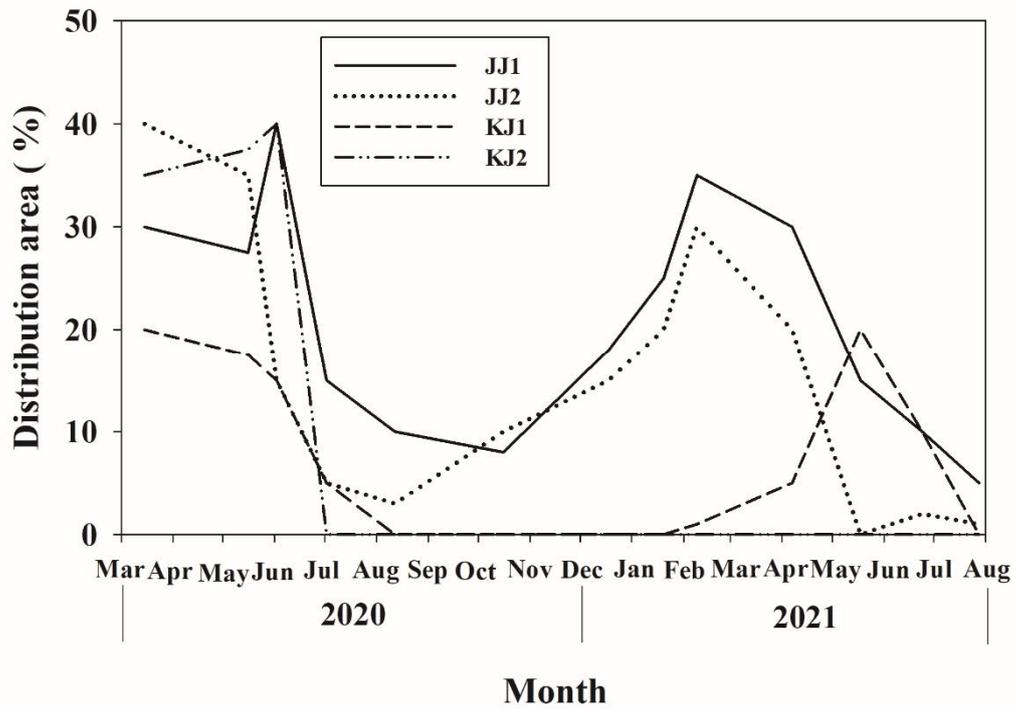


Figure 12. Changes in *A. japonica* distribution area at each habitat sites from March 2020 to August 2021.

JJ1: Jijangsaem1 site. JJ2: Jijangsaem2 site. KJ1: Gangjeong-dong1 site. KJ2: Gangjeong-dong2 site.

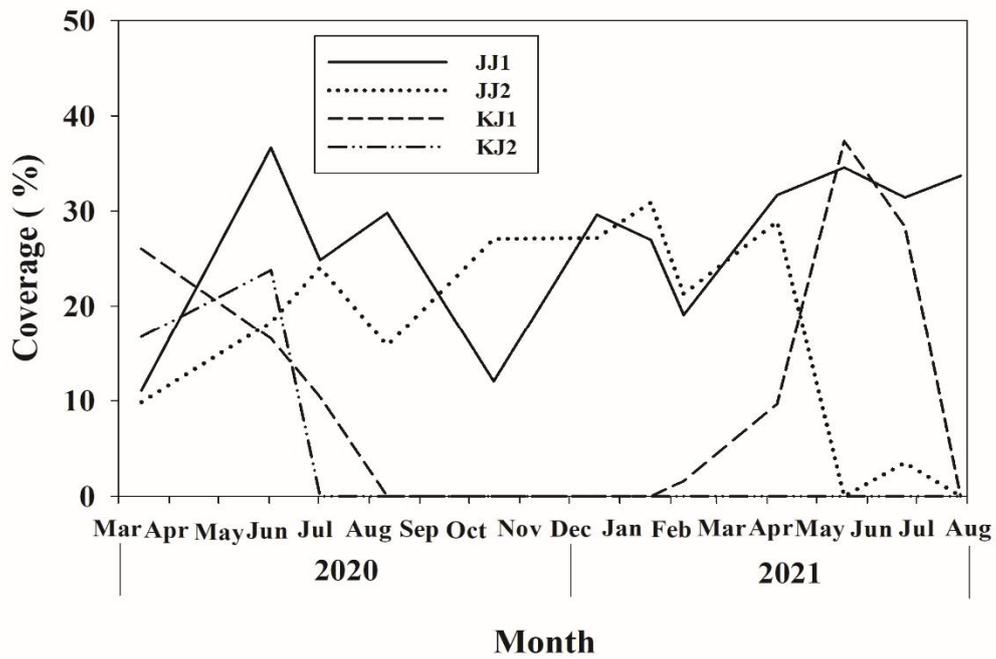


Figure 13. Changes in *A. japonica* coverage at each habitat sites from March 2020 to August 2021.



Figure 14. Photos of *A. japonica* sporophyte, sporulation observed on KJ1 site on May 18, 2020.

1.2.2 서식지 수온, 기온

식물의 광합성과 호흡은 온도의 영향이 크게 미친다. 사계가 뚜렷한 지역에서의 온도 변화에 대한 순응 능력이 높을수록 생산성이 향상된다(Pilon and Santamaría 2001). 또한 수온은 수생식물의 영양소 흡수에 영향을 미칠 수 있다. 너무 낮은 수온은 식물 내 용해성 질소와 전분의 축적을 증가시켜 광합성 활동을 제한한다(Shimono, et al. 2004).

Figure 15은 2020년 2월부터 2021년 2월까지의 서귀포 지역의 기온과 JJ2, KJ2 사이트의 수온을 모니터링한 결과이다. 서귀포 기온은 기상청 국가기후데이터센터에서 제공하는 기상 데이터이며(KMA 2021), 서식지 수온은 Data logger를 이용하여 측정한 결과이다. JJ2, KJ2 사이트에 유입되는 지하수의 평균 수온은 각각 14.8°C, 15.0°C 이며, 최저 수온은 10.3°C, 11.3°C, 최고 수온 21.1°C, 20.2°C로 1년 내내 수온의 변화가 $\pm 5^\circ\text{C}$ 로 매우 안정되고 일정하였다. KJ2 사이트의 서식지도 관개수로의 일부로 수로와 매우 유사한 변화를 보였다. 이와 달리 JJ2 서식지는 수온의 변화가 뚜렷하게 나타났다. 이는 경작 형태, 재배 방식과 관련이 있는 것으로 보인다. 높은 밀도의 서식지는 물의 유입이 가장 늦은 쪽에 위치한다. 고도가 높은 패치로 먼저 유입되는 물이 순차적으로 흘러 공급되는 구조를 가지고 있으며 각 패치마다 수확시기가 다르다. 미나리 수확을 위해 패치마다 연결되어 있는 수로를 폐쇄하여 일정량의 물을 빼내어 수확을 실시한다. 이러한 일련의 과정이 일년 내내 수확이 이루어지기 때문에 비교적 수온이 낮은 지하수의 유입이 제한된 패치 내 수

온은 기온에 의해 상승되는 것으로 보인다. 그러나 JJ2 서식지의 평균 수온 15.6°C, 최고 수온 24.0°C, 최저 수온 6.0°C이며 기온은 최고 기온 31.3°C, 최저 기온 -3.4°C에서 큰물개구리밥의 생존 가능한 온도이기 때문에 자생이 가능한 것으로 사료된다 (Park 2005). 반면에 Figure 16에서 수면의 온도 변화를 Data logger 값과 달리 좀 더 뚜렷한 변화가 나타난다. 이는 수심과 사이트 구조의 영향으로 보인다. 낮은 수심과 특이한 구조형태를 가진 KJ2 사이트를 제외한 미나리 발인 나머지 사이트에서는 수면의 온도가 25°C를 넘지 않았다. 그러나 KJ2 사이트는 온도 변화폭이 다른 사이트에 비해 크며 21년 여름의 수면의 온도가 20년도 온도보다 높았으며 30°C를 넘었다. 서늘한 지하수의 수온이 수로에서 증가했다는 것은 물의 공급이 적어지면서 물의 흐름이 줄어든 것으로 보인다. 높아진 여름철 수면 온도는 큰물개구리밥의 성장을 저해하는 요인이 된다.

서식지 수면 온도와 기온은 생존이 가능한 온도 범위에 있지만 다만 큰물개구리밥이 감소하는 시기에 빠르게 증가하며 수온과 기온의 변화가 크다. 빠른 기온 변화는 식물이 열스트레스에 대한 저항성 반응에 달려있다. 열스트레스는 식물에게 빠른 시간 안에 증상을 유발하며 대사 조절에 영향을 미친다 (Nievola, et al. 2017). 과거 북베트남 농림부에서 벼 생산량을 늘리기 위해 거름 작물로 물개구리밥속을 번식시켰다. 당시 모내기가 이루어졌던 1~2월에 물개구리밥의 번식이 잘 이루어졌고 당시 평균 기온이 16~17°C였다. 이후 3월 말 평균 기온이 22~24°C에서 많은 물개구리밥이 죽어 침전물을 형성하였다

(Moore 1969). Figure 15에서 평균 기온이 16~17°C인 구간은 3~4월이며 22~24°C인 구간은 5~6월에서 나타난다. 이는 과거 북베트남의 논에서 관찰되었던 물개구리밥의 개체군이 감소하는 평균 기온과 서식지의 평균 기온이 유사하다. Figure 12, 13에서 큰물개구리밥의 개체군의 규모는 3~6월사이에 높은 증가와 감소를 보였다. 이 시기의 일교차와 기온의 상승은 식물대사에 영향을 미치며 식물 구조의 합성을 증가시켜 빠른 성장과 증식을 유도했지만 (Bueno, et al. 2012) 시간이 흐름에 따라 빠른 기온 변화, 높은 기온은 큰물개구리밥의 성장에 불리한 환경을 조성하는 요인 중 하나로 사료된다.

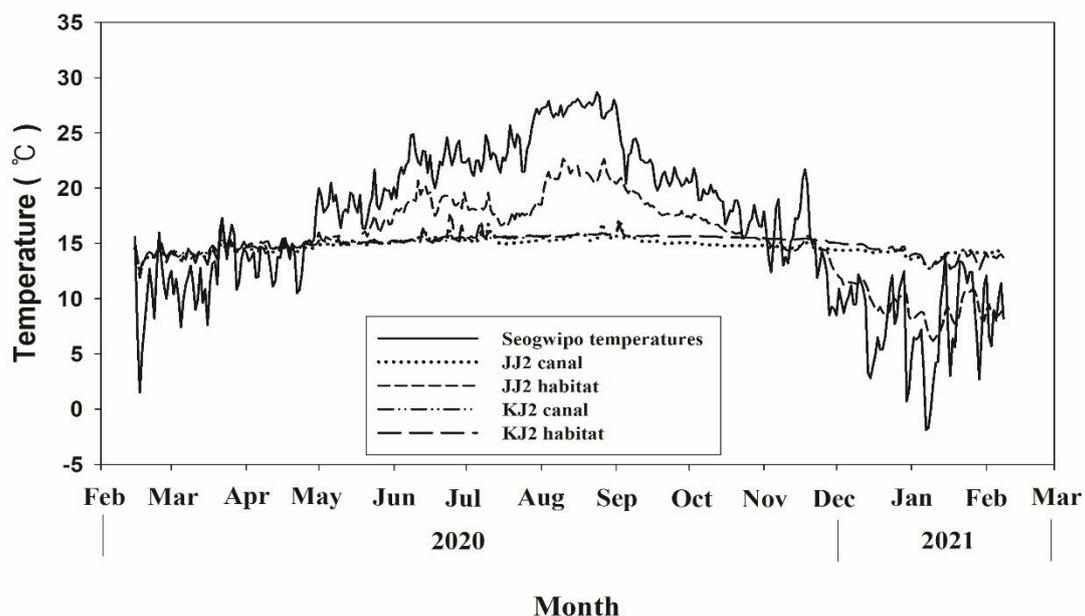


Figure 15. Monitoring habitat temperature and water temperature at JJ2 and KJ2 site.

Canal: the water temperature irrigated from the canal. **JJ2:** Jijangsaem2 site. **KJ2:** Gangjeongdong2 site. **habitat:** the water temperature where the density of Azolla is high.

The JJ2 habitat has no water temperature data prior to May 2020 due to loss of data loggers and the KJ2 canal has no water temperature data since September 2020.

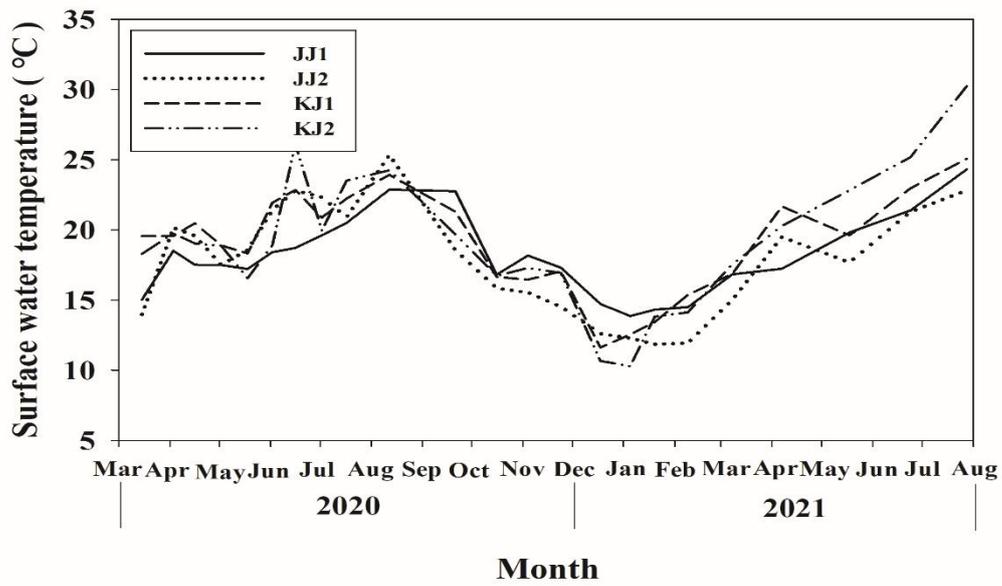


Figure 16. Changes in habitat surface water temperature measured during the day.

Measure a depth of 5 cm from the water surface using a portable measuring device. JJ1: Jijangsaem1 site. JJ2: Jijangsaem2 site. KJ1: Gangjeong-dong1 site. KJ2: Gangjeong-dong2 site.

1.2.3 광환경

주요 환경 요인의 변수들은 수생식물의 색소와 효소 농도를 조절함으로써 광합성 과정에 영향을 미친다 (Sand-Jensen 1989). 식물생장에 있어 빛은 중요한 요인이다. 빛의 가용성은 서식 환경에서 얼마나 생장이 가능한지 결정한다 (Kirk 1994). 광합성은 빛에너지를 이용하여 대기 중 이산화탄소를 고정하고 탄수화물을 합성함으로써 화학 에너지를 저장한다. 그러나 과도한 광환경은 식물에게 엽육 내 전분 축적을 증가시키며 광계II의 광화학 반응에 직접적으로 영향을 미치는 활성산소종의 생성으로 광저해를 일으킨다 (Murata, et al. 2007; Noguchi and Yoshida 2008).

Figure 17은 조사 기간 동안 표준광도와 미나리에 의해 생긴 그늘 내의 광도를 측정된 값이다. 표준광도는 평균 $2029.2 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 로 측정되었다. 그늘 내 광도는 평균 $221.6 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 으로 측정되었다. 미나리에 의한 평균 차광효과는 89.0%으로 나타났다. 물개구리밥속은 생장이 가능한 최적의 광도가 15Klux ~ 18Klux (Sadeghi, et al. 2013) 으로 이를 PPF로 자연광에 대한 보정값 0.0185로 계산할 경우 $277 \sim 333 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 이다 (Halleck 2018). 이는 미나리가 제공하는 광환경은 큰물개구리밥이 최적의 생장을 보이는 광도범위보다 적지만 충분한 생장을 보일 수 있을 것으로 사료된다. Figure 18은 2020년 4월 16일에 JJ2 사이트에서 관찰한 사진이다. 수확된 미나리가 있는 자리의 큰물개구리밥이 햇빛에 그대로 노출되면서 붉게 단풍이 들었지만 바로 위에

수확되지 않은 미나리가 있는 자리의 큰물개구리밥은 잎이 초록색을 띤다. Figure 19 은 햇빛의 노출 여부에 따른 엽록소 함량이다. 빛에 노출된 큰물개구리밥은 그렇지 않은 개체보다 총 엽록소(Total chlorophyll) 함량이 약 17.9% 감소하면서 유의한 차이를 보였다. 같은 자리에 광환경을 제외한 동일한 환경에서 잎의 색이 다르게 띠는 것을 광스트레스에 의한 것으로 사료된다.

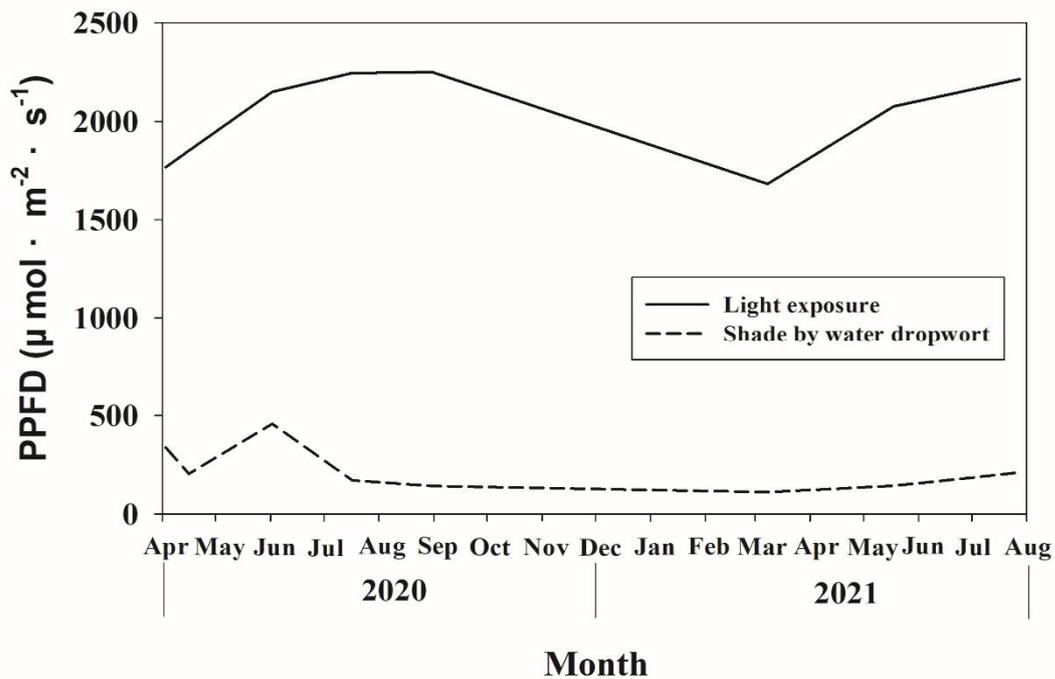


Figure 17. The internal and external light intensity of the shade by water dropwort.



Figure 18. The difference in *A. japonica* color for sun exposure.

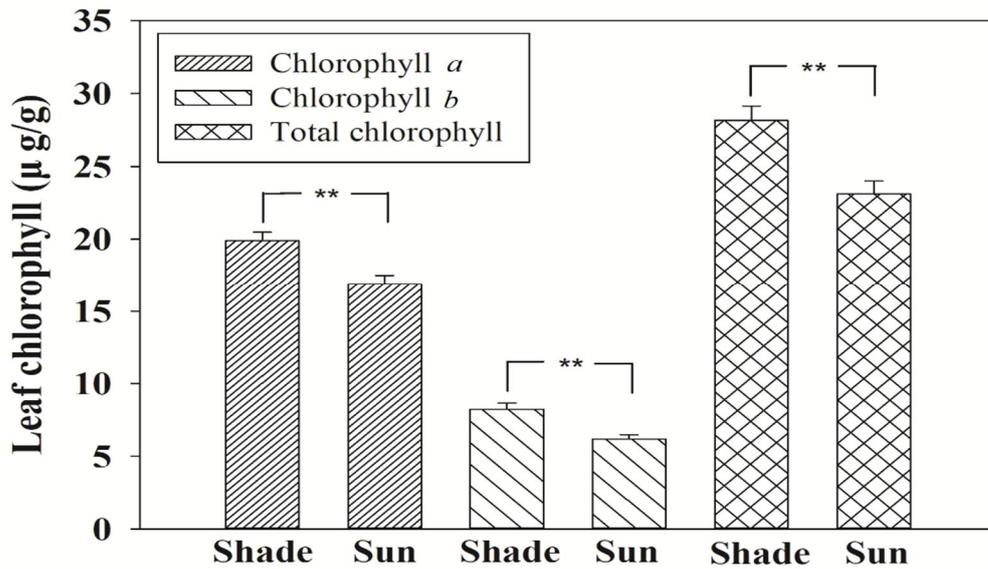


Figure 19. Chlorophyll content according to sunlight exposure.

Chl: Chlorophyll. Sun: exposed to sunlight. Shade: shade by water dropwort.

Bars and error bars represent means \pm SE. An asterisk indicates a significant difference between the two groups. The significant difference was compared with two-tailed t-test at $P < 0.05$. (** $P < 0.01$, $n = 5$)

1.2.4 수체 이화학적 특성

pH와 전기전도도(EC)는 외부 물질에 대해 민감하게 반응하여 수질에 대한 오염도를 평가하거나 모니터링하는데 사용되는 일반적인 지표이다 (Hossain and Patra 2020). 담수 생태계에서 총질소(TN), 총인(TP)의 높은 함량은 부영양화 같은 심각한 문제를 야기하며 pH를 증가시키고 높은 이온함량은 EC를 증가시켜 결과적으로 환경문제 뿐만 아니라 식물세포에 독성으로 작용하여 생육을 저해한다(Serrano and Rodriguez-Navarro 2001; Song, et al. 2012). Figure 20은 각 서식지 수질의 pH 변화를 나타낸다. 서식지의 pH범위는 6.5~8.0 사이로 수질의 오염가능성이 적다. pH구배 조건을 준 배양액에서 큰물개구리밥의 pH 5.5~8.5에서 생육에 큰 차이를 보이지 점에서 생장이 가능한 것으로 보인다(Liu, et al. 1998). Figure 21은 각 서식지 수질의 EC 변화를 보여준다. 2020년 4월에서 6월 사이에 EC의 변화는 비교적 크다. KJ2 사이트의 EC값이 2021년 3월부터 전년 대비 높은 수준으로 측정되었다. 높은 EC값은 Table 4-5에서 Na, K, Mg의 높은 함량이 기여한 것으로 보인다. KJ2 사이트에서 큰물개구리밥이 관찰이 되지 않은 이유가 높은 이온함량으로 인한 염스트레스에 의한 것으로 보인다(Carrapiço 2010).

Table 4-6 은 2020년 3, 6, 9월 서식지 수질 원소함량이다. 3월은 서식지 내에 원소함량의 유의한 차이를 보이지 않았다. 6월에는 3월보다 총인(T-P) 함량이 크게 증가하였다. 현지 농부의 말에 따르면 3월은 비료 사용이 많이 이루어지는 시기이다.

일반적으로 미나리는 평균 약 20°C에서 생장률이 높기 때문에 (Choi, et al. 2012) 이 시기에 비료를 사용하면서 총인(T-P)의 함량이 크게 증가한 것으로 보인다. 특히 KJ2 사이트에서는 총인(T-P) 함량이 약 17.4 배가 증가하였고 다른 사이트와 달리 칼륨(K) 함량이 약 5.2 배나 증가하였다. JJ2 사이트도 총인(T-P) 함량이 약 5.2 배 증가하였고 칼륨(K) 함량이 약 1.9 배 증가하였다. 다른 사이트들과 달리 KJ1 사이트는 모든 원소함량이 감소하였다.

철(Fe)은 큰물개구리밥 체내에 질소고정과 축적에 필요한 원소이다 (Park and Song 2017; Song, et al. 2012). 일부 질소고정 단백질은 Nitrogenase 의 활성은 철-황 클러스터를 통해 고정 속도가 조절된다 (de Vries and de Vries 2018). 철의 함량은 모든 시기, 사이트에서 검출이 되지 않거나 매우 낮았다. 증식시기에도 낮은 수준으로 보아 생장에 큰 영향을 미치는 것으로 보기 힘들나 생장속도를 저하시키는 일부요인으로 보인다. 나트륨(Na), 마그네슘(Mg), 칼륨(K)은 염(Salt)을 이루는 이온이다. 과도한 염은 물개구리밥속 생장과 남조류와의 공생관계를 저해하는 스트레스 요인 중 하나이다 (Carrapiço 2010). 염 농도의 증가는 질소고정, 광합성 등의 대사활동에 영향을 주며 생물량 생산, 포자 발아율, 중금속 흡수 감소시킨다 (Arora and Singh 2003; Fernández-Zamudio, et al. 2010; Yadav, et al. 2021). 결과적으로 철의 결핍과 염이온의 농도 증가는

질소고정, 생물량 생산능력 감소가 큰물개구리밥의 성장을 방해하며 포자 발아를 방해하여 개체군 감소가 될 것으로 사료된다.

인(P)은 물개구리밥속 식물들의 성장을 제한하는 주요 영양소 중 하나이다. 인의 적절한 함량은 생물량을 증가시키며 포자 생산량 조절에 영향을 준다 (Hamid, et al. 2007; Sadeghi, et al. 2013). 반면에 과도한 인의 농도 환경에서는 엽록소 함량이 감소한다 (Azab and Soror 2020). 큰물개구리밥 식물정화에 관한 연구에서는 20mg P/L 인 농도인 질소 구배 배지 중 낮은 질소 배지에서도 체내에 인을 축적하며 높은 함량을 보이며 성장을 하였다 (Park and Song 2017). 또한 0.069 mg P/L 낮은 인 농도 용액에서도 0.171 mg P/L 인 농도의 용액과 유사한 성장률을 보였다 (Song, et al. 2012). 물개구리밥속 식물인 *A. filiculods*의 인 구배에 따른 성장연구에서 따르면 15mg P/L 에서 높은 성장률을 보였으며 그 이상의 농도에서는 점차 성장률이 감소하였다. 0.6mg P/L, 0.15mg P/L 에서 상대적으로 성장률이 감소했으나 생장이 가능했다 (Temmink, et al. 2018). 2020년 3월~ 6월 사이에는 일부 사이트에서 높은 인 함량 증가를 보여 서식지에서 빠른 번식이 가능한 것으로 보이며 6월 ~ 9월 사이에 원소함량 급격한 감소는 영양소 가용성 측면에서 스트레스를 일으킬 오히려 성장에 제한이 될 가능성이 있다.

KJ2 사이트의 경우 일반적인 수로 형태인 일자(一) 구조 혹은 Y자 구조가 아닌 끝이 막혀 있고 중간 배수구를 통해 물이 빠져나간다. 다른 수로와 달리 물의 흐름이 잘

보이지 않고 외부에서 하수가 유입될 경우 폐쇄적인 구조로 인해 오염의 가능성이 매우 높다. 또한 수로는 콘크리트 구조물이기 때문에 물 빠짐이 좋지 않다. 따라서 높은 무기염의 증가는 수로 구조가 기인한 것으로 보인다. KJ2 사이트에 있는 미나리 밭은 다른 사이트와 달리 화학비료의 사용이 확인되었고 주변 상가들과 수로 주변의 경사가 높아 토사 등의 유입이 가능성이 높다.

물 속에 인은 화학 비료나 오수가 유입하여 농도가 높아지면 부영양화를 일으킨다. 부영양화는 조류를 과도하게 발생시키고 용존 산소가 감소하여 수질악화를 일으킨다. 많은 연구에서는 부영양화단계는 인 함량이 약 0.03 mg P/L 라고 제시하고 있다 (Kim, et al. 2007). 모든 사이트에서 부영양화단계 기준보다 높은 함량을 보이지만 다른 사이트에 비해 KJ2 사이트는 유속이 거의 없고 폐쇄적인 환경이다. 조류 발생이 하여도 물이 고이기 때문에 순환을 통한 물리적인 제거가 불가능하다.

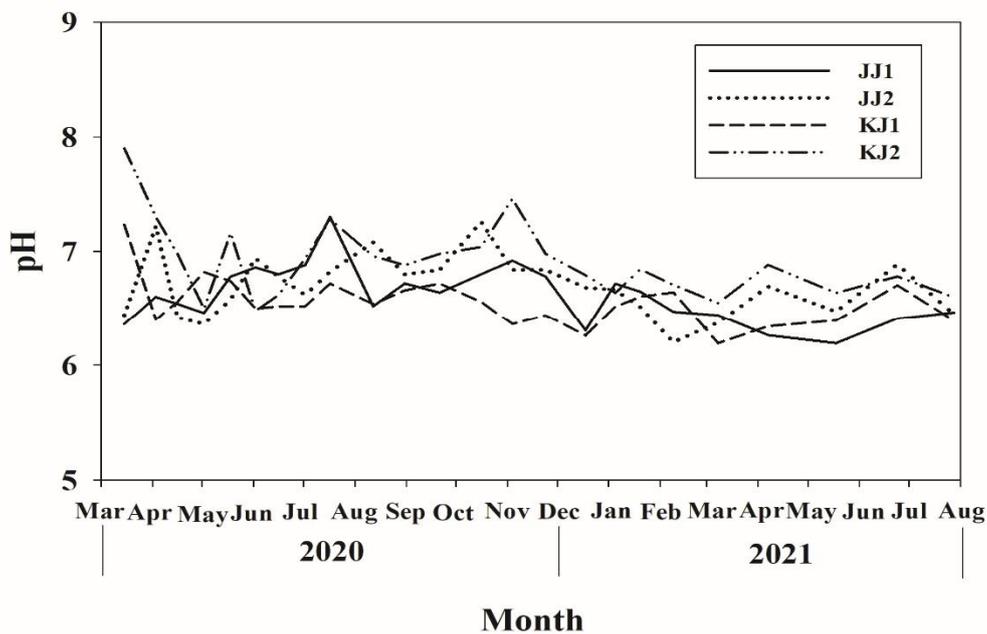


Figure 20. Changes in pH at each habitat sites from March 2020 to August 2021.

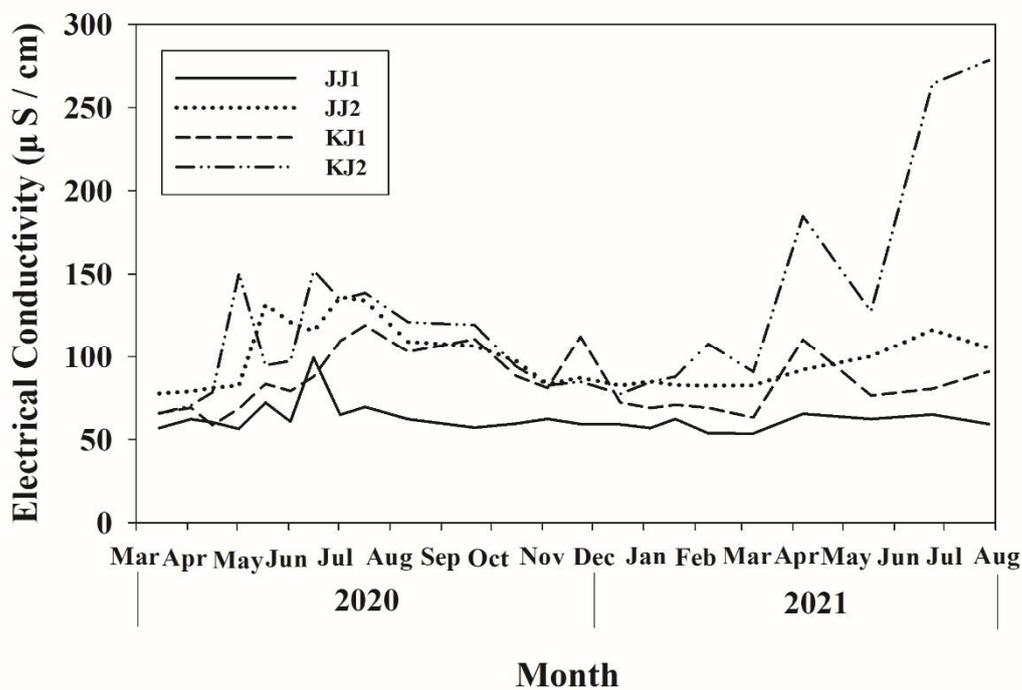


Figure 21. Changes in electrical conductivity (EC) at each habitat sites from March 2020 to August 2021.

Table 4. Elemental content of water in March 2020.

Site	T-P (mg/L)	Na (mg/L)	Mg (mg/L)	Fe (mg/L)	K (mg/L)
JJ1	0.628±0.426	5.791±0.377	2.078±0.129	0.006±0.000	3.762±2.306
JJ2	0.078±0.006	5.176±0.389	1.921±0.150	ND	1.902±0.110
KJ1	0.186±0.092	4.976±0.117	2.060±0.059	0.004±0.000	1.508±0.327
KJ2	0.051±0.003	5.022±0.047	2.296±0.030	ND	1.445±0.008

Values represent means ± SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. ND: not detected. (n=3)

Table 5. Elemental content of water in June 2020.

Site	T-P (mg/L)	Na (mg/L)	Mg (mg/L)	Fe (mg/L)	K (mg/L)
JJ1	0.172±0.035 ^{ab}	6.745±0.145 ^{ab}	3.280±0.028 ^a	0.002±0.000	2.488±0.176 ^{ab}
JJ2	0.537±0.242 ^{ab}	5.771±0.63 ^{ab}	2.006±0.112 ^b	0.009±0.002	3.558±1.162 ^{ab}
KJ1	0.042±0.002 ^b	4.018±0.651 ^b	1.801±0.382 ^b	ND	0.941±0.242 ^b
KJ2	0.886±0.271 ^a	7.603±1.024 ^a	3.416±0.207 ^a	0.026±0.012	7.442±1.947 ^a

Values represent means ± SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. ND: not detected. (n=3)

Table 6. Elemental content of water in September 2020.

Site	T-P (mg/L)	Na (mg/L)	Mg (mg/L)	Fe (mg/L)	K (mg/L)
JJ1	0.037±0.010	7.122±0.179 ^a	2.644±0.100 ^c	0.002±0.000	2.541±0.062 ^a
JJ2	0.041±0.005	5.458±0.147 ^b	1.520±0.058 ^d	ND	0.856±0.017 ^c
KJ1	0.061±0.01	7.262±0.135 ^a	3.192±0.062 ^b	ND	2.137±0.077 ^b
KJ2	0.019±0.004	7.624±0.087 ^a	3.867±0.033 ^a	ND	2.267±0.037 ^b

Values represent means ± SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. ND: not detected. (n=3)

1.2.5 토양, 큰물개구리밥 원소함량

Table 7 은 계절별 토양 내 원소 함량의 변화이다. 수체의 원소함량과 달리 토양의 원소함량은 변화가 크지 않다. 모든 사이트에서 총인(T-P)의 함량은 유지 혹은 점차 감소하였다. KJ2 사이트는 토양이 다른 사이트에 비해 인 함량이 낮았으며 관리가 이루어지는 밭이 아닌 수로이기 때문에 토양관리가 이루어지지 않을 것으로 보인다. 수체에서는 6 월에 총인의 함량이 크게 증가하는데 이는 토양으로부터 나온 것이 아니라 외부의 유입에 의한 것으로 사료된다.

Table 8은 유기화합물을 구성하는 원소함량을 나타낸다. 토양 내 유기원소는 세포골격을 형성하는 중요한 원소로 3 월에서 6 월은 유기원소들이 증가하였으나 9 월에 다시 감소하였다. KJ2 사이트에서 모든 원소함량에서 다른 사이트에 비해 상대적으로 낮은 수준으로 나타났다. 이는 토양 내 유기물함량이 적은 것으로 보이며 퇴비, 상토 사용 때문인 것으로 사료된다.

Table 9 은 큰물개구리밥 식물체의 원소 함량의 변화이다. 총인(T-P)는 J2 사이트를 제외한 감소 후 증가를 하였으며 나트륨(Na)은 지속적으로 감소하였고 철(Fe)는 감소 후 다시 증가하였다. 마그네슘(mg)은 변화가 있지만 평균적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 사라지는 시기인 6~7 월에 체내에 총인(T-P)를 축적하였다. 큰물개구리밥은 높은 인

농도에서 체내에 인을 더 축적을 한다 (Park and Song 2017). 밀도와 인 함량 증가는 더 많은 포자를 생산한다 (Janes 1998b). 이는 유성생식을 통해 포자 생산을 늘리기 위한 전략으로 보인다. 염이온은 물개구리밥속의 생장을 저해하는 주요 원인이 될 수 있다. 엽록소 함량을 감소시키고 광계의 활동을 저해하며 체내 염이온 비율의 변화로 대사활동을 저해한다. 체내 염이온의 함량변화는 물개구리밥의 염분스트레스에 대한 내성으로 삼투압 조절 및 적응으로 보인다 (Yadav, et al. 2021).

Table 7. Elemental content of soil by season in 2020.

Site	T-P (mg/kg)			Na (mg/kg)			Mg (mg/kg)			Fe (mg/kg)			K (mg/kg)		
	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep
JJ1	52.5	38.3	28.3	103.7	152.9	131.2	463.9	616.0	620.5	335.9	411.0	473.3	246.5	263.6	349.7
JJ2	12.2	13.2	11.1	96.0	113.5	94.8	331.2	382.1	262.8	420.8	481.1	487.6	194.9	212.4	206.7
KJ1	145.1	104.6	75.6	81.1	108.0	102.2	442.0	456.3	443.9	522.2	454.2	542.9	290.7	147.7	334.6
KJ2	7.2	4.3	1.9	106.5	96.4	105.0	557.4	592.2	481.2	487.1	500.5	631.6	365.3	325.1	342.1

Mar: March. Jun: June. Sep: September.

Table 8. Organic elemental content of soil by season in 2020.

Site	N (wt%)			C (wt%)			H (wt%)		
	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep	Mar	Jun	Sep
JJ1	0.99	1.49	1.05	10.40	15.68	11.74	1.22	2.69	2.40
JJ2	0.72	0.90	0.64	7.79	9.47	6.67	1.97	2.27	1.95
KJ1	0.89	1.20	0.86	8.84	12.72	8.24	1.78	2.31	1.61
KJ2	0.10	0.16	0.11	1.25	2.06	1.40	0.96	1.12	0.99

Mar: March. Jun: June. Sep: September.

Table 9. Elemental content of *A. japonica* in March, June, and July 2020.

Site	T-P (g/kg)			Na (g/kg)			Mg (g/kg)			Fe (g/kg)		
	Mar	Jun	Jul	Mar	Jun	Jul	Mar	Jun	Jul	Mar	Jun	Jul
JJ1	4.19	3.10	4.49	12.61	10.32	5.46	0.75	0.20	0.45	34.84	21.38	34.46
JJ2	5.33	4.95	4.87	11.06	9.59	6.31	0.57	2.39	0.89	20.70	18.85	26.25
KJ1	4.91	3.61	5.08	7.92	6.78	4.77	0.84	1.03	0.88	25.56	15.96	20.42
KJ2	4.57	N/A	N/A	9.42	N/A	N/A	0.79	N/A	N/A	26.82	N/A	N/A

Mar: March. Jun: June. Jul: July. N/A: Not applicable. The analysis was not carried out because there were few or no *A. japonica* populations in the KJ2 site.

1.2.6 생물적 요인

앞서 III.1.2.1에서 인간의 인위적인 행위에 의한 제거 가능성이 있을 수 있지만 현저히 적을 것으로 보였다. 농약의 경우 현지 농부의 말에 따르면 일부 사이트는 제초제는 사용하지 않으며 달팽이 제거가 필요한 경우 사용하지만 JJ2 사이트의 경우 사용하지 않는다고 주장하였다. 식물 제거 목적으로 살포하는 게 아니며 일부 사이트에서만 사용하기 때문에 큰물개구리밥 생존에 영향을 미쳤다고 보기 힘들 것으로 보인다.

KJ2 사이트를 제외한 나머지 사이트는 미나리를 재배하는 사이트이기 때문에 미나리는 큰물개구리밥의 쉼터(Shelter) 역할을 함으로써 최적의 생육환경을 제공하는 것으로 보인다. 물개구리밥속은 광도가 높지 않은 그늘진 환경을 선호하며 바람, 비 등의 날씨 요소에 매우 취약하다. 부유성 수생식물이기 때문에 바람에 의해 파도가 형성될 경우 사이트처럼 수심이 낮은 곳에서 수면 교반(Water agitation)에 의한 엽육 단편화와 같은 생장에 부정적인 영향을 미칠 수 있다 (Sadeghi, et al. 2013; Santamaría 2002). 미나리는 또한 수질정화 효과가 있어 화학적 산소요구량(COD), 인(P), 질소(N), 불용성 고형물(Suspended solid)를 감소시키는 데 효과적이다 (Lee and Kim 2005). 이러한 특징들은 큰물개구리밥이 성장 가능한 환경을 제공하는 것으로 사료된다.

Figure 22 는 서식지 모니터링을 진행하면서 서식이 확인된 종들이다. A 는 JJ1, JJ2 사이트에서 4 월에 북방산개구리(*Rana dybowskii* Günther.) 올챙이들의 서식이 확인되었다. 북방산개구리 올챙이들은 큰물개구리밥을 섭식하는 것이 관찰되어 먹이원 중 하나로 보인다. B 는 사이트 내에서 같이 자생하는 쯤개구리밥(*Lemna perpusilla* Torr.)이다. 쯤개구리밥은 물개구리밥속과 마찬가지로 빠른 번식력을 가지고 있다. 최적의 환경에서 생물량이 두 배로 증가하는데 2 일이 걸린다 (Chrimadha, et al. 2019). 쯤개구리밥속(*Lemna*)은 수체에서 높은 수온과 질소, 인 등의 영양염류가 높은 환경을 선호한다 (Choi, et al. 2018). 쯤개구리밥은 모든 사이트에서 관찰이 되었으며 큰물개구리밥과 쯤개구리밥 사이에서 제한적인 수면공간에서 경쟁하는 것으로 보인다. C, D 는 KJ2 사이트에서 관찰된 미국가막사리(*Bidens frondosa*), 갈대(*Phragmites communis* Trin.) 이다. 2 종 모두 습지에서 자라는 식물로 2020년에는 관찰이 되지 않았고 2021년에만 관찰되었다. KJ2 사이트는 2020년 6~7월부터 큰물개구리밥(이 관찰되지 않아 직접적인 영향을 미쳤다고 보기 어렵다. 하지만 큰물개구리의 수체 속 토양에 있는 포자가 발아하기 위해서는 적절한 광환경과 온도가 중요하다 (QingYuan, et al. 1987). 2 종의 높은 우점도는 결국 서식지 수면에 광도를 감소시킨다. 이는 큰물개구리밥의 포자가 발아하기 위한 적절한 환경을 제공하지 못할 것으로 사료된다.



Figure 22. Observed surrounding vegetation and amphibia.

A: *Rana dybowskii* Günther. B: *Lemna perpusilla* Torr. C: *Bidens frondosa* L. D: *Phragmites communis* Trin.

2. 실내 실험

2.1. 생장 실험

조사한 서식지 내 큰물개구리밥의 개체군은 늦봄부터 개체군이 감소하였다가 가을에 다시 증가하는 생활사 패턴을 보였다. 하지만 서식지 주변 환경으로부터 생존에 위협을 받고 있으며 개체군의 크기와 서식지가 점차 감소하고 있다. 또한 실내 생육과정에서 곰팡이 감염, 부영양화 등에 취약하다. 따라서 개체군을 보전하기 위해 적절한 생육환경에 대한 연구 뿐만 아니라 안정적이며 쉬운 실내생육 방법이 필요하다. 각 처리구에 처리하기 전에 초기 안정화 기간인 3 일 동안 생물량과 개체수가 증가하는 것으로 보아 생장에 적합한 환경임을 확인하고 진행했다.

Table 10 은 실내 생장 실험 후 각 처리구별 엽록소 함량이다. 엽록소는 외부 환경으로부터 큰 영향을 받으며 식물의 건강상태를 나타내는 지표이다 (Houborg, et al. 2015). 처리구 중 상업용 토양(Soil)을 처리했을 때 엽록소함량이 매우 높은 수준으로 나타났다. 대조군과 비교했을 때 Hoagland 용액과 Hyponex 액체 비료는 큰 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 UV 를 사용한 처리구에서는 오히려 엽록소 함량이 매우 낮아졌다. Figure 23 은 실내 생장 실험동안 개체수의 변화를 나타낸다. 모든 처리구는

10 일차에서는 비슷한 추세를 보였으나 실험 진행에 따라 토양 처리구(Soil)에서 매우 빠른 개체수의 증가를 보여주었다. 마지막 7 일 동안 개체수는 약 3 배가 증가하였으며 대조군 개체군 보다 12 배 이상 증가하였다. 이는 큰물개구리밥가 적절한 환경조건에서는 빠르게 번식이 가능함을 보여준다. 토양 처리구를 제외한 나머지 처리구는 유의한 차이를 보이지 않았다. Hoagland 용액과 Hyponex 용액 처리구에서도 농도와 관계없이 개체수의 증가는 보였지만 유의한 차이를 보이지 않았다. Figure 24 은 실험기간 동안 생물량의 변화를 나타낸다. 개체수 변화와 유사한 추세를 보였다. 토양 처리구군에서 대조군보다 18.8, 22.2 배 생물량이 증가하면서 유의한 차이를 보였다. 큰물개구리밥은 최적의 성장환경에서 생물량이 배로 증가하는데 2.5 일이 걸린다는 것을 감안했을 때(Shiomi and Kitoh 1987) 이는 일주일마다 2 배 이상으로 증가함으로써 빠른 성장환경을 제공하였다. 또한 Hoagland, Hyponex 처리군도 생물량이 증가하였으나 큰 변화가 없었다.

초기 안정화 기간인 3 일 동안 개체수와 생물량이 크게 증가했다는 점에서 온도, 광도, 실험용기 등의 처리방식이 생장에 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 3 일이 지나 처리 이후 각 처리구마다 뚜렷한 성장양상을 보였다. 엽록소 a 의 경우 광도, 온도, 영양소 등 강한 상관관계에 있지만 pH 및 용존산소(DO)와 음의 상관관계를 가진다. 특히 Hoagland 용액과 Hyponex 액체 비료는 높은 질소(N), 인(P), 따뜻한 온도에 의해 부영양화를

일으켜 녹조현상이 발생한 것으로 보인다. 조류 번성 및 pH 상승은 영양염류의 흡수에 관여하여 엽록소 함량을 포함한 생장에 영향을 미쳤을 것으로 보인다 (Wallace, et al. 2016). UV 처리구는 장시간의 자외선(UV) 노출을 세포 내 DNA 손상을 일으킨다. DNA 손상은 정상적인 물질대사가 불가능 해진다(Georgieva, et al. 2015). 또한 물개구리밥은 UV-C 에 대한 보호 기작으로 안토시아닌(Anthocyanin), 플라보노이드(flavonoid)와 같은 색소 합성을 증가시킨다. 반면에 짧은 기간에 총 엽록소함량을 크게 감소시킨다 (Jayakumar, et al. 1999). 앞서 과도한 광환경이 활성산소종을 생성시켜 광계에 큰 영향을 미치기 때문에 UV 흡수와 항산화를 위해 안토시아닌, 플라보노이드 합성을 촉진하고 총 엽록소함량이 크게 감소하면서 생장에 영향을 준 것으로 사료된다. 큰물개구리밥은 엽육 등면 내강에 질소 고정 남조류인 *Anbaena azollae* 와 공생하며 대기 중의 질소를 고정한다. 또한 높은 수준의 질소농도에서 생물량을 빠르게 증가시킬 수 있지만(Song, et al. 2012) 과도한 질소 농도는 생물량을 감소시킨다(Park and Song 2017). 상업용 토양은 낮은 산도와 NH_4^+ 형태의 질소가 포함되어 있고 Hoagland 요액에는 NO_3^- 형태의 질소가 포함되어 있다. 물개구리밥속은 NH_4^+ 형태의 질소배지에서 뿌리와 잎에 총 아미노산 및 암모니아 수준이 더 높다는 점에서(Kitoh, et al. 1992) 상업용 상토는 큰물개구리밥 생장에 유리한 환경을 제공했을 것으로 사료된다.

실내 생장 실험을 통해 일상에서 처리하기 힘든 Hoagland 용액과 상업용 토양 대비 값이 비싼 Hyponex 용액은 큰물개구리밥의 높은 생장률을 기대하기 어려우며 부영양화와 감염에 의한 부작용이 있다. 반면에 큰물개구리밥은 최적의 환경에서 생물량이 두 배가 되는 기간이 2.5 일인 점은 본 실험에서 시중에 쉽게 구할 수 있는 상업용 토양에서 기대하기 어렵지만 높은 생장률을 보이며 실내에서 쉽게 번식이 가능하며 수질 오염이 나타나지 않았다. 또한 높은 수준의 광도를 요구하지 않기 때문에 어디서든 누구나 쉽게 번식환경을 조성할 수 있다는 장점이 있다. 생장 실험에서 나타난 결과를 통해 쉽게 구할 수 있는 상업용 토양에 큰물개구리밥을 키우는 간단한 방법은 서식지가 점차 사라지고 있는 큰물개구리밥의 보전전략으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

Table 10. Chlorophyll content of *A. japonica* for each treatment after the indoor growth experiment

Treatment	Chlorophyll <i>a</i> (ug/g)	Chlorophyll <i>b</i> (ug/g)	Total chlorophyll (ug/g)
Control	6.1 ± 1.4 ^{de}	4.0 ± 0.4 ^b	10.1 ± 1.5 ^{cd}
Hoa L	8.9 ± 0.9 ^{abcd}	4.2 ± 0.3 ^b	13.2 ± 1.1 ^{bcd}
Hyp L	6.2 ± 0.4 ^{de}	3.8 ± 0.4 ^b	10.1 ± 0.8 ^{cd}
Soil	13.2 ± 0.7 ^a	6.3 ± 0.3 ^{ab}	19.6 ± 1.0 ^{ab}
Hoa H	11.5 ± 0.6 ^{abc}	5.1 ± 0.2 ^{ab}	16.6 ± 0.8 ^{abc}
Hyp H	7.6 ± 1.1 ^{bcd}	6.3 ± 1.4 ^{ab}	14.0 ± 1.5 ^{abcd}
ILI – Hoa L	7.0 ± 0.6 ^{cde}	6.0 ± 1.5 ^{ab}	13.1 ± 1.2 ^{bcd}
ILI - Hyp L	6.4 ± 0.6 ^{cde}	6.4 ± 1.7 ^{ab}	12.8 ± 1.9 ^{bcd}
ILI - Soil	12.2 ± 2.4 ^{ab}	9.8 ± 2.2 ^a	22.0 ± 4.4 ^a
UV Hoa L	2.2 ± 0.6 ^e	3.2 ± 0.9 ^b	5.5 ± 0.9 ^d

Control: Only DW treatment. Soil: Commercial soil bed and DW treatment. Hoa: Hoagland treatment. Hyp: Hyponex treatment. ILI: increased light intensity treatment. UV: Ultraviolet treatment. L: low concentration. H: concentration higher than L.

Values represent means ± SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. (n=5)

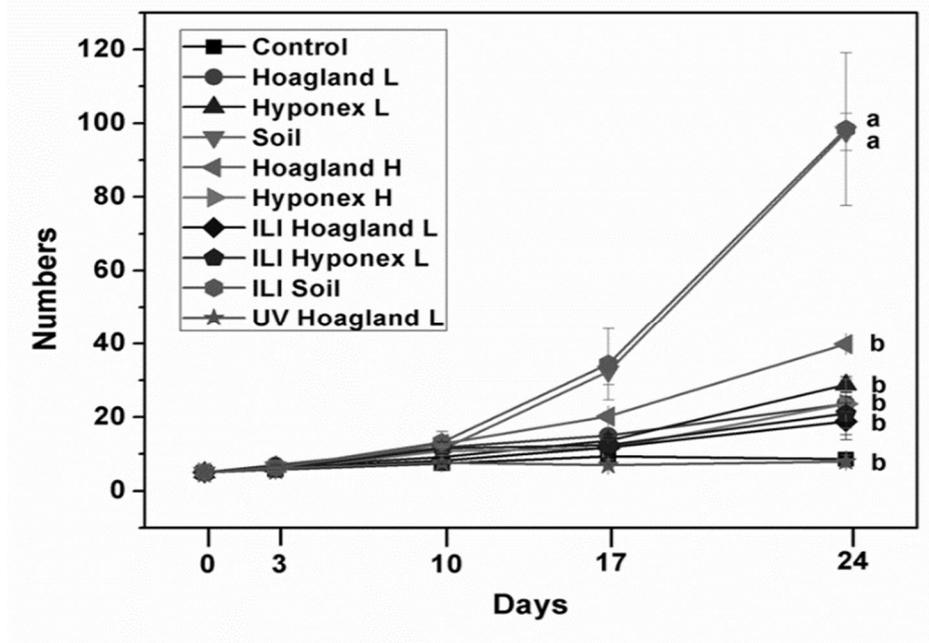


Figure 23. Population of *A. japonica* during growth experiment.

Control: Only DW treatment. Soil: Commercial soil bed and DW treatment. Hoa: Hoagland treatment. Hyp: Hyponex treatment. ILI: increased light intensity treatment. UV: Ultraviolet treatment. L: low concentration. H: concentration higher than L.

Symbols and error bars represent means \pm SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. (n=5)

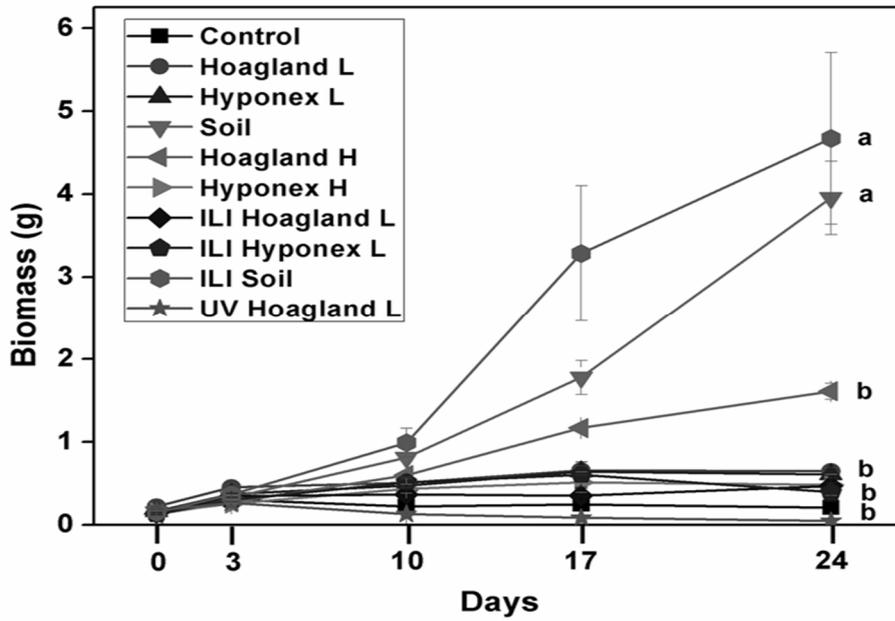


Figure 24. Biomass of *A. japonica* during growth experiment.

Control: Only DW treatment. Soil: Commercial soil bed and DW treatment. Hoa: Hoagland treatment. Hyp: Hyponex treatment. ILI: increased light intensity treatment. UV: Ultraviolet treatment. L: low concentration. H: concentration higher than L.

Symbols and error bars represent means \pm SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. (n=5)

2.2. 온도반응 실험

온도는 식물의 서식환경에서 매우 중요한 요소로 광합성, 호흡, 증산 등 생리적 현상에 영향을 미친다. 식물의 대부분 정상적인 생리학적 과정은 0°C~ 40°C 사이에서 이루어진다. 높은 온도 혹은 낮은 온도는 식물에 온도에 의한 생리장해가 발생한다 (Went 1953). 서식지 내에서 개체군의 크기가 감소하는 시기는 기온이 상승하는 시기와 같다. 따라서 고온의 열을 발생시키는 할로겐 전구를 활용하여 온도에 대한 엽온 변화와 큰물개구리밥의 엽록소 함량의 변화를 통해 생리적 반응을 확인해보았다.

할로겐 전구 처리구에서 큰물개구리밥은 빠르게 뿌리탈락을 하면서 줄기가 갈라지며 잎이 갈색을 띠고 있다 (Appendix 36-44). Figure 25 은 두 처리구의 30 분 동안 엽온과 수온의 변화를 나타냈다. 할로겐 전구 처리구의 엽온은 처음 5 분 동안 8.8°C가 오르면서 가파르게 상승하다가 약 34~35°C를 유지하면서 점차 상승 추세가 감소하였다. 반면에 열의 발생이 적은 LED 처리구의 엽온은 생장실 기온인 비슷하게 평균 22.5°C를 유지하였다. 할로겐 처리구의 수온은 처음 10 분 동안 가파르게 증가하고 이후 점차 상승 추세가 감소하였다. 15 분 이후 29.5~30.6°C 사이를 유지하였다. LED 처리구는 엽온과 마찬가지로 평균 22.8°C를 유지하였다. 엽온과 수온 사이의 차이는 처음 5 분에 6.8°C 차이가 났지만 이후 감소하면서 평균 4.7°C 차이를 유지하였다. 수온은 기온의 영향을 받기 때문에 온도에 반응하여 증가하지만 엽온에 비해 변화가 느려 처음에 큰 차이를

보인 것으로 보인다. Figure 26 은 온도반응 실험 이후 두 처리구의 엽록소 함량을 비교하였다. 총 엽록소 함량은 85.1% 감소하면서 유의한 차이를 보였다 Figure 27 는 실험 이후 두 처리구의 생물량을 비교한 그림이다. 할로겐 처리구에서는 처음과 비교했을 때 생물량이 72.1% 감소하였다. 반면에 LED 처리구에서 생물량은 83.1% 증가하였다. 이는 생육한계 이상의 온도가 생장에 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있다.

큰물개구리(*A. japonica*)의 최적 생육온도가 25°C인 점과 물개구리밥속의 많은 종들은 25~30°C 환경에서 질소고정과 산소발생이 높다(Cheng, et al. 2010). 식물은 고온 스트레스에 노출이 될 경우 잎의 광합성 속도와 기공전도도를 저하시킬 수 있다(Djanaguiraman, et al. 2011). 이를 보호하기 위해 식물의 잎은 증산작용을 통해 고온의 환경에 노출이 되어도 잎의 온도를 낮출 수 있다(Cook, et al. 1964). 하지만 엽온과 수온이 그림에서는 일정한 차이를 보이지만 엽온이 감소하는 구간이 없다. 미미하지만 점차 엽온의 상승이 보인다. 이는 고온 스트레스에 대한 여러 저항작용보다 잎 표면에서 열에너지가 크게 작용하는 것을 보인다. 이는 큰물개구리밥가 고온 스트레스에 대한 내성이 상대적으로 약한 것으로 보인다. 또한 고온 스트레스에 노출되면 나타나는 특징은 뿌리와 줄기의 급속 탈락(Rapid abscission)이다. 이탈을 유도하는 물질은 아지드화 나트륨(Sodium azide), 2,4-다이나트로페놀(2,4-Dinitrophenol), 카르보닐 시아니드 m-클로로페닐하이드라존(Carbonyl cyanide m-chlorophenyl

hydrazone)과 같은 호흡 억제제로 보고되고 있다. 또한 폴리아민(Polyamine)은 다양한 환경적 스트레스에 대한 생리적 반응물질로 뿌리 탈락을 유도하는 것으로 알려졌다. 이러한 급속 탈락을 통해 물개구리밥속은 고온의 환경으로부터 벗어나 생존가능성을 높여준다 (Gurung, et al. 2012; Uheda, et al. 1999).

이 실험에서 할로겐 전구가 조사되는 4 시간동안 광도가 증가한다. 식물은 광도의 따라 광합성량과 엽록소 함량이 차이를 보이지만 Figure 19 에서 햇빛에 의한 엽록소 함량 차이를 보았을 때 광도의 차이로 크게 감소한 것으로 보기 힘들 것으로 사료된다. 또한 할로겐 전구 처리구의 광도 서식지와 유사하여 생물량 변화나 급속 탈락과 같은 생리적 현상을 일으킨 것으로 보기 힘들다.

서식지에서 KJ2 사이트에서는 수면의 평균 수온이 25°C를 넘는 시기가 6 월에 나타나며 나머지는 7 월에 나타난다. 이 시기는 큰물개구리밥의 감소시기와 유사하다. 온도 반응 실험에서 엽온과 수온사이는 평균 5~7°C 사이를 유지하였다. 현지 수온이 25°C 이상 올라간다면 엽온은 30~32°C 이상 오른다. 큰물개구리밥의 생장이 가능한 적정 온도는 30°C 이하라는 점에서 높은 수온은 광합성, 질소고정 등의 대사활동 감소와 뿌리 탈락을 유도하여 생장이 억제된 것으로 보인다. Figure 12-13, Figure 15-16 에서 6~9 월 사이에 개체군이 증가하지 않는데 여름시기에 높은 기온의 영향으로 높은 수온이 형성되면서 큰물개구리밥의 생장을 억제하고 감소시킨 요인으로 사료된다.

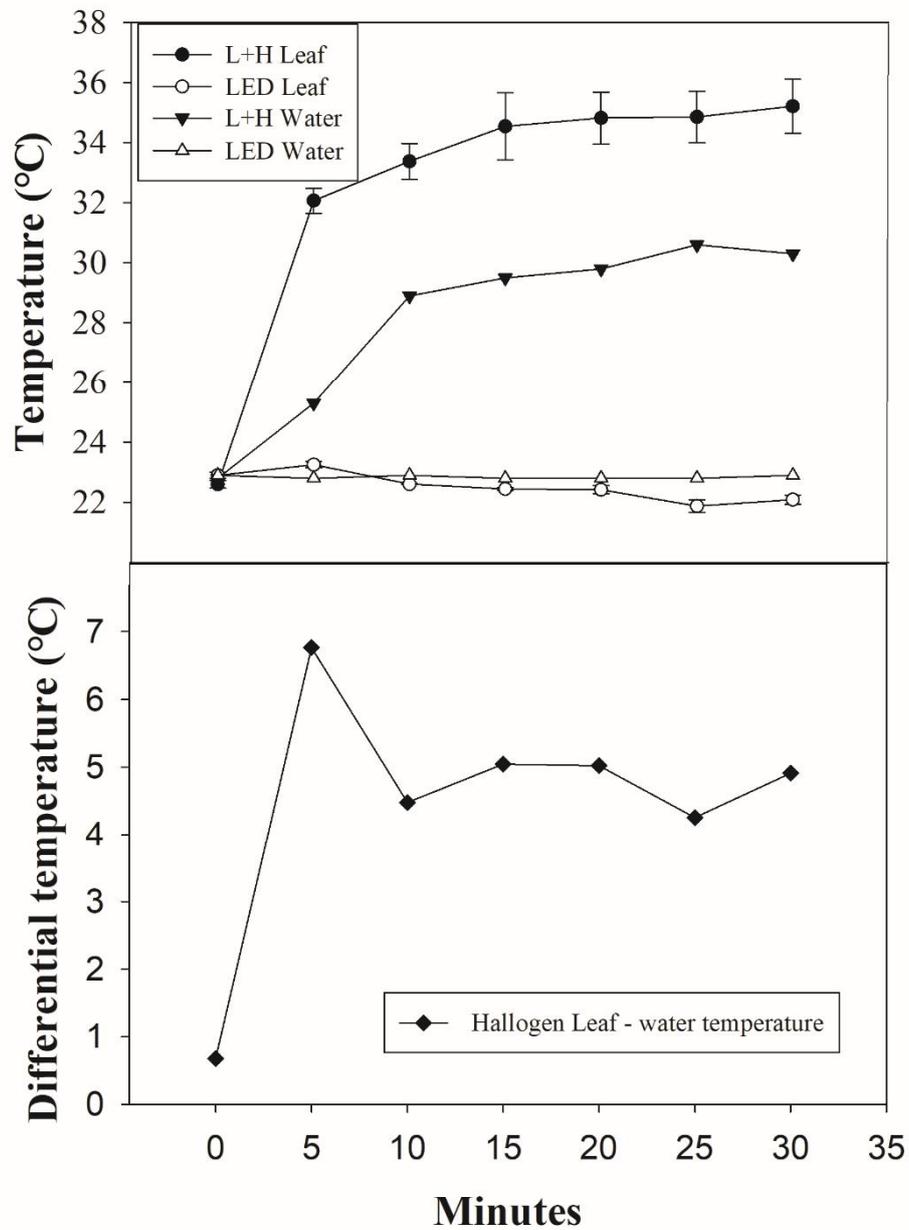


Figure 25. The leaf temperature and water temperature of *A. japonica* during irradiation 30 minutes using a halogen lamp (Above). Difference between Halogen + LED treated leaf temperature and water temperature (Bottom).

Symbols and error bars for leaf temperature represent means \pm SE. (n=3)

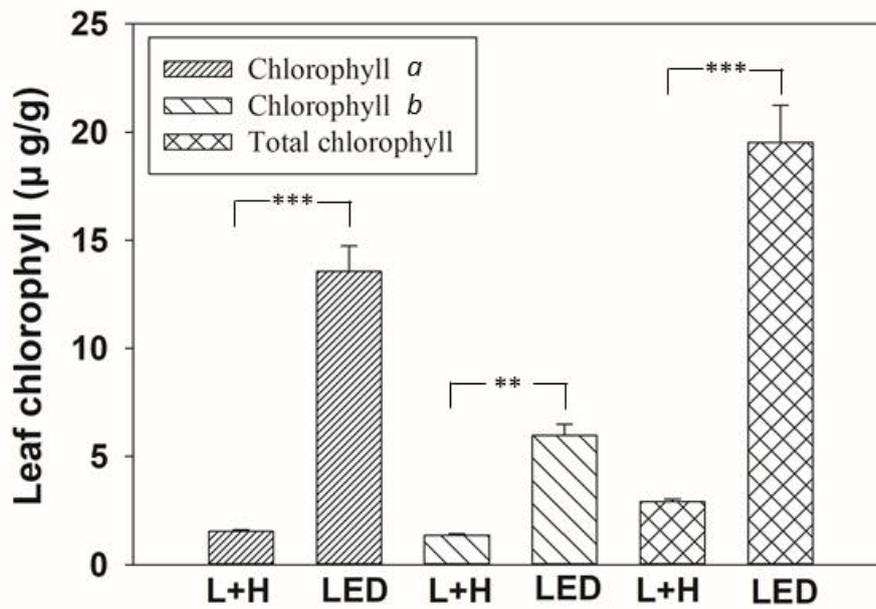


Figure 26. Chlorophyll content of *A. japonica* after temperature response experiment.

L+H: LED+Halogen treatment. Bars and error bars represent means \pm SE. An asterisk indicates a significant difference between the two groups. The significant difference was compared with two-tailed t-test at $P < 0.05$. (** $P < 0.01$, *** $p < 0.001$, $n = 3$)

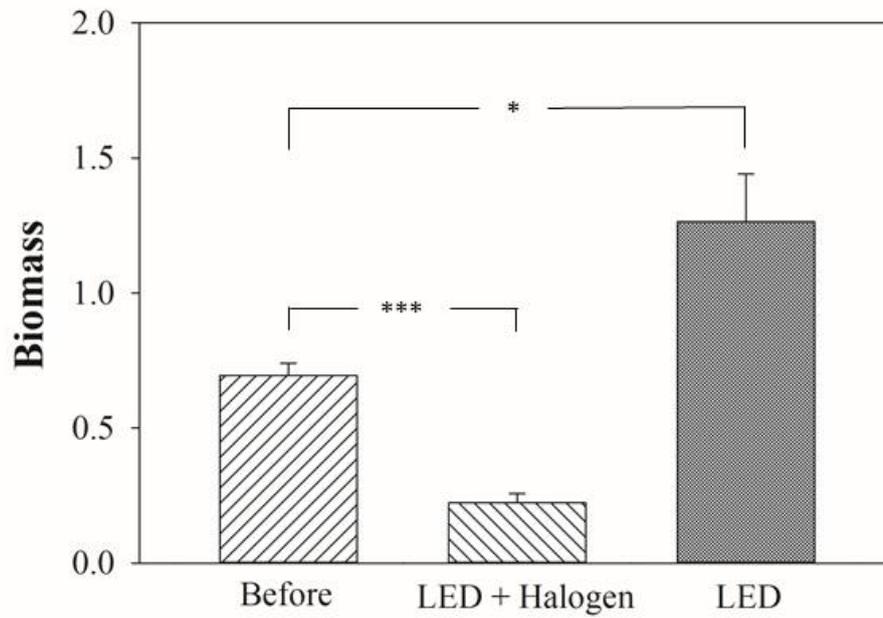


Figure 27. Biomass of *A. japonica* before and after the temperature reaction experiment.

Bars and error bars represent means ± SE. An asterisk indicates a significant difference between the two groups. The significant difference was compared with two-tailed t-test at $P < 0.05$. (* $P < 0.05$, * $p < 0.001$, $n = 3$)**

3. 온실 실험

물개구리밥속은 환경, 영양 스트레스에 의한 생화학적 반응으로 안토시아닌, 플라보노이드, 탄닌(tannin)의 합성을 증가시키며 잎의 붉은 색을 유발한다 (Tran, et al. 2020). 또한 환경스트레스로 인한 유성생식이 유도되면서 높은 밀도와 인의 공급이 포자 형성을 증가시킨다 (Janes 1998a). 현장 조사에서 큰물개구리밥는 높은 광도에 노출되었을 때 붉게 단풍이 드는 현상이 관찰되었다. 광도와 밀도 스트레스에 의한 생리적반응을 관찰하기 위해 온실실험을 실시하였다. 온실 실험은 5반복으로 실시하였으나 실험과정에서 탈락된 뿌리로 인해 출수구가 막혀 일부 처리구의 소실이 있어 3반복으로 통계를 실시하였다.

Appendix 45-76은 큰물개구리밥의 상태를 관찰하기 위해 일주일 간격으로 촬영한 사진이다. 70%, 30% 광도 처리구는 실험 진행됨에 따라 광스트레스로 인해 붉게 단풍이 들었다. 반면에 15% 광도 처리구는 온실실험 내내 초록색을 유지하며 신선한 상태를 유지하였다. 70%, 30%, 15% 광도 처리구와 달리 1% 광도 처리구는 실험 7일차부터 생물량 감소가 육안으로 관찰이 되었다. 또한 다른 처리구보다 빠르게 탈락된 뿌리의 양이 많았다. 실험 13~17일차에서 밀도와 관계없이 70%, 30%, 1% 처리구에서는 포자를 발견했으며 70%, 30% 처리구에서 상대적으로 높은 포자 비율이 나타났다. Table 11은 온실 실험동안 생물량 변화를 나타낸다. 전체적으로 광도 1% 처리구는 밀도와 관계없이 감소하였다. 나머지

처리구는 21일차까지 생물량이 크게 증가하였으나 42일차에서 비교적 생물량이 적게 증가하였다. 밀도 100%처리구에서 0일차에 피도 100%를 기준으로 처리하여 무게에서 유의한 차이가 보였다. 21일차에서 75/100 처리구는 생물량이 2.71배 증가하며 다른 처리구보다 크게 증가하였다. 반면에 1/100 처리구는 증가한 나머지 처리구와 달리 19.1% 감소하였다. 42일차에서 75/100 처리구는 감소하였으며 30/100 처리구는 증가하여 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 1/100 처리구는 21일차보다 56.0% 감소하였다. 밀도 50%처리구는 21일차에서 75/50 처리구가 크게 증가하여 유의한 차이를 보였다. 42일차에서도 1/50 처리구를 제외한 비슷한 증가량을 보이며 유의한 차이를 보였다. 1/50 처리구는 35.4% 감소하면서 100% 밀도처리구보다 적게 감소하였다.

Table 12 은 온실 실험동안 엽록소 함량의 변화이다. 21 일차에서는 1/100 처리구를 제외한 모든 처리구에서 엽록소함량이 감소하였다. 고광도 처리구인 75%, 30%에서 밀도 100% 처리구는 엽록소 함량이 50% 처리구보다 낮게 나왔지만 15%, 1% 저광도 처리구에서는 밀도 100% 처리구의 엽록소 함량이 더 높게 나왔다. 42 일차에서 1/50 처리구를 제외한 모든 처리구의 엽록소 함량은 21 일차보다 낮아졌다. 21 일차와 달리 밀도 100% 고광도 처리구에서 밀도 50% 처리구보다 엽록소 함량이 높아졌다. 저광도 처리구에서는 밀도와 관계없이 엽록소함량에 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 13 은 온실 실험 중 한 낮에 측정한 온도 측정값이다. 온실 내부와 각 처리구 내부에 Data logger 를 설치하여 측정을 실시하였다. 온실 내부는 측정 당시 37.4°C 였다. 나머지 처리구는 35~36°C도 온실 내부 기온보다 낮게 측정되었다. 높은 기온과 달리 물은 지속적으로 관수가 이루어지기 때문에 수온은 약 18°C 로 측정이 되었다. 엽온은 75% 처리구에서 기온보다 훨씬 낮은 평균 27.6°C로 유지되었다. 30%, 15%, 1% 처리구는 각각 22.9°C, 22.1°C, 20.8°C로 점차 더 낮아졌다.

생물량이 감소한 1% 광도 처리구를 제외한 75%, 30%, 15% 광도 처리구에서 15% 처리구가 생물량의 증가량이 가장 낮았으나 엽록소 함량이 높았다. 75% 처리구에서 낮은 밀도 처리구와 달리 생물량이 감소하였는데 이는 제한적인 공간 때문에 더 이상 증가하지 않을 것으로 보인다. 생물량이 높은 수준으로 35 일차부터 밀도 높은 매트를 형성하며 플라스틱 컵 안에 가득 차있었다. 밀도 50% 처리구와 비교하였을 때 공간적인 여유가 있다면 더 증가했을 것으로 보이지만 제한적인 공간은 개체군의 생물량 증가를 제한하였다. 15% 처리구($250 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)는 큰물개구리밥의 서식지에서 미나리 그늘 내의 광도와 가장 유사한 처리구이다. 또한 다른 연구에서도 조도 15~18 Klux($277 \sim 333 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$)에서 물개구리밥속이 성장하기 위한 적합한 광환경이라고 보고가 되고(Sadeghi, et al. 2013) 15Klux($277 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 이하의 광도는 바이오매스 생산이 크게 감소시키며, 질소 고정을 감소시킨다고 보고 된다 (Costa, et al. 2009; Liu, et al. 2008). 같은

물개구리밥속인 *Azolla caroliniana* 는 25°C, 광도 400~1000 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 에서 질소 고정율이 최대가 되며 이보다 낮은 수준에서는 감소한다고 보고 된다(Hechler and Dawson 1995). 따라서 15 Klux-54 Klux(277~1000 $\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) 내에서 성장가능성이 있다고 볼 수 있다. 그러나 생물량을 보았을 때 더 높은 광도 처리구에서 높은 성장률을 보였다. 이러한 결과는 수온의 영향으로 보인다. 기온의 변화와 관계없이 평균 16°C의 물을 지속적으로 관수함으로써 식물체 내 온도를 낮은 수준으로 유지한 것으로 보인다. Figure 25 에서 엽온과 수온 사이의 온도차이가 5~8°C까지 차이가 났었던 것과 유사하다. 물개구리밥속은 25~30°C 사이에서 질소 고정와 산소 발생이 높은 온도이다 (Sang, et al. 1987). 그리고 인, 질소의 함량과 온도에 따라 성장률이 다르게 반응한다(Cary and Weerts 1992). 하지만 동일한 종의 모든 처리구는 같은 물을 지속적으로 관수 했기 때문에 이러한 원소 함량이 성장에 영향을 미쳤다고 보기 힘들다. 따라서 광도 75% 처리구가 높은 양적 성장률을 보인 것은 기온보다 훨씬 낮은 온도의 물을 지속적으로 관수함으로써 식물체 내 온도를 낮게 유지하여 원활한 물질대사가 이루어진 것으로 사료된다.

엽록소 함량에서 고광도, 높은 밀도 처리구일수록 광스트레스에 적응하는 것으로 보인다. 유의한 차이를 보이며 0 일차에서 21 일차의 엽록소 변화는 75/100% 처리구와 75/50% 처리구가 각각 70%, 62% 감소하였지만 21 일차와 42 일차의 총 엽록소함량을

비교했을 때 감소율은 각각 3.2%, 44.7% 이다. 그리고 1% 저광도 처리구에서는 낮은 밀도 처리구에서 엽록소함량을 증가시켰다. 식물은 저광도 환경에서 고광도 환경에 노출된 식물보다 엽록소를 더 생성한다. 이는 더 많은 광을 필요로 한다는 것을 의미하는데 높은 밀도 처리구는 오히려 총 엽록소 함량이 42 일차에서 감소하였다. 따라서 큰물개구리밥의 높은 밀도 혹은 매트 형성은 장기간의 광도를 포함한 외부 스트레스로부터 생존가능성을 높이는 것으로 보인다.

온실 실험에서는 서늘한 물의 지속적인 관수가 고온, 고광도 환경에서 나타나는 스트레스가 감소하며 원활한 대사활동을 가능케 하는 것으로 보인다. 결과적으로 높은 생장률을 보이면서 생장과 증식을 했지만 제한적인 공간에 의해 전체 생물량의 증가하지 못했다. 현지에서 서늘한 지하수가 지속적으로 유입은 고온, 고광도 환경에 적응하며 생장과 증식을 지속적으로 하면서 높은 밀도의 개체군을 형성하였을 것으로 보이지만 수확을 위한 일부 패치를 폐쇄하거나 구조적인 형태 등에 의해 지하수의 공급이 원활하지 않다면 수면 온도의 급격한 상승과 함께 매트를 형성한 높은 밀도의 개체군은 제한된 서식공간 내에 영양소 가용성이 떨어지고 환경 스트레스로 인해 생장이 억제될 것으로 보인다. 온도반응 실험을 통해 고온환경에 노출된 큰물개구리밥은 뿌리 탈락, 엽록소 함량, 생물량이 빠르게 감소하며 생육상태가 나빠졌다. 결국 짧은 기간이라도

지하수 유입이 지속적으로 이루어지지 않을 경우 엽온과 수온은 크게 상승하고 스트레스 저감효과가 떨어져 원활한 대사활동을 방해하는 것으로 사료된다.

Table 11. Biomass of *A. japonica* in a greenhouse experiment conducted for 42days.

Treatment (Light intensity % / Density %)	0	21	42
75 / 100	6.44±0.26 ^a	17.48±0.92 ^a	16.98±0.30 ^a
30 / 100	5.27±0.14 ^b	12.74±0.95 ^b	14.81±0.74 ^a
15 / 100	5.82±0.10 ^{ab}	10.89±0.33 ^b	11.38±0.29 ^b
1 / 100	5.73±0.09 ^{ab}	4.64±0.55 ^c	2.01±0.48 ^c
75 / 50	2.88±0.19	8.49±0.14 ^a	10.74±0.37 ^a
30 / 50	2.74±0.24	6.36±0.31 ^b	7.51±0.44 ^b
15 / 50	3.24±0.09	6.25±0.26 ^b	7.77±0.60 ^b
1 / 50	3.19±0.25	2.26±0.26 ^c	1.46±0.19 ^c

A. japonica biomass for each treatment was measured on days 0, 21, and 42. Light intensity was calculated based on a natural light intensity of $2000 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$.

Values represent means \pm SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. (n=3)

Table 12. Chlorophyll content of *A. japonica* in a greenhouse experiment conducted for 42days.

Treatment	0			21			42		
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	T chl	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	T chl	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	T chl
75/100				5.9±0.4 ^f	3.1±0.1 ^e	9.1±0.5 ^e	5.5±0.4 ^{cde}	3.4±0.1 ^{bc}	8.8±0.5 ^{cd}
30/100				10.0±0.1 ^{de}	5.0±0.0 ^{cde}	15.0±0.1 ^{cde}	7.9±0.1 ^{bc}	4.4±0.0 ^{bc}	12.3±0.1 ^{bc}
15/100				14.0±0.3 ^{bc}	7.0±0.3 ^{bc}	21.0±0.6 ^{bc}	9.4±0.3 ^b	5.2±0.3 ^b	14.7±0.6 ^b
1/100				20.6±0.5 ^a	12.5±0.8 ^a	33.0±1.3 ^a	18.2±0.5 ^a	10.8±0.8 ^a	29.0±1.3 ^a
75/50	20.7±0.8	10.1±0.8	30.8±1.6	7.6±0.3 ^{ef}	3.8±0.1 ^{de}	11.4±0.4 ^{de}	3.8±0.3 ^e	2.4±0.1 ^c	6.3±0.4 ^d
30/50				11.1±1.0 ^{cde}	5.5±0.5 ^{cde}	16.6±1.4 ^{cd}	4.6±1.0 ^{de}	2.8±0.5 ^{bc}	7.4±1.4 ^{cd}
15/50				12.6±0.1 ^{cd}	6.2±0.0 ^{cd}	18.8±0.1 ^c	7.0±0.1 ^{bcd}	4.0±0.0 ^{bc}	11.0±0.1 ^{bcd}
1/50				16.8±1.8 ^{ab}	9.0±1.1 ^b	25.8±2.9 ^b	19.8±1.8 ^a	12.5±1.1 ^a	32.3±2.9 ^a

Unit: ug/g

Treatments refer to light intensity(%) / density(%). Chl: Chlorophyll. T chl: Total chlorophyll. Values represent means ± SE. Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 significance level. (n=3)

Table 13. Leaf temperature and other temperature measurement results.

Treatments (Light intensity %)	Greenhouse Temperature (°C)	Treatment Temperature (°C)	Water Temperature (°C)	Leaf Temperature (°C)
75%	37.4	40.1	18.7±0.1	27.6±0.2
30%		36.0	18.3±0.0	22.9±0.1
15%		35.6	18.1±0.1	21.9±0.8
1%		35.4	18.2±0.0	20.8±0.3

Temperature data measured during the day on June 21st. Values represent means ± SE.

4. 서식지 활용방안

본 연구에서 큰물개구리밥은 무분별한 개발과 다양한 요인의 변화로 인해 서식지 환경이 악화되면서 서식지와 개체군이 점차 감소하는 것을 하였다. 미나리 밭에서 서식하는 큰물개구리밥과 서식지를 보전하기 위해서는 현지 농부, 연구자, 지방정부 간의 협력이 필요하다. 현지 농부들에게 큰물개구리밥은 어린 작물의 생장을 방해하는 인식이 강하며 지방정부 하천정비사업 등의 개발행위로 서식지를 파괴하고 있다 (Appendix 77). 따라서 종의 가치를 알리며 지역 농산물과 연계한 브랜드를 창출하여 보전하는 방법이 필요하다. 한국의 강화도에서는 매화마름(*Ranunculus kazusensis* Makino.)은 멸종위기종 2급으로 군락지가 람사르 습지로 지정되어 있다. 이 습지는 논습지로 쌀 생산이 이루어지고 있다 (Lee, et al. 2020). 이러한 점을 활용하여 논에서 재배하는 쌀과 매화마름을 연계한 친환경 상품브랜드 '매화마름쌀'을 만들어 판매하고 있다. 친환경 브랜드는 상품의 가치를 올려 주며 종 보전에 기여하여 지역 이익을 창출할 수 있다.

큰물개구리밥의 보전을 위해서 질소고정능력은 농업적 가치가 있으며 친환경적인 농법을 도입하여 지속가능한 서식지를 제공할 수 있다. 이 친환경적인 이미지를 활용하여 '만강홍 미나리'라는 브랜드를 만들고 상품화하여 지역 발전을 이끌어 낼 수 있다. '만강홍 미나리'를 이용한 지역 발전 가이드라인과 마스코트를 제작하여 브랜딩 방안으로 제주농업

기술원 제주농촌지도과 관리자에게 제안을 하였다 (Appendix 78). 가이드라인에는 대중에게 인지도와 친숙함을 주면서 상징성을 제공할 수 있는 마스코트가 제작되어 있으며 '만강홍 미나리 생태마을' 조정에 대한 방안을 제시하였다. 생태마을은 자연생태계의 보전율을 높이며 종 보전과 친환경적인 이미지를 통해 자연에 대한 인식을 재고하며 경제적인 측면에서 부가적인 수익 창출을 할 수 있을 것으로 기대된다. 이는 지역주민, 연구자, 정부관계자 사이를 연결하는 지역적 환경거버넌스를 조성함으로써 의의가 있다. 큰물개구리밥의 생장에 관한 과학적 근거를 마련했으며 연구 결과를 바탕으로 한 정책 가이드라인을 제시와 발표를 통해 관심을 이끌어냈다. 이러한 행위는 희귀종 보호를 하기 위한 환경거버넌스 시스템 구축의 기본적인 단계를 제공한다.

IV. 요약

제주도에 서식하는 큰물개구리밥은 개발, 기후변화, 침입 외래종 등의 다양한 요인이 지속가능한 생존을 위협받고 있다. 현장조사에서 큰물개구리밥은 인위적으로 환경이 조성되는 밭에서 서식을 하고 있다. 서식지에서 독특한 생활사 패턴을 보이며 점점 개체군의 크기와 서식처가 감소하고 있다. 밭의 작물인 미나리는 큰물개구리밥의 쉼터역할을 하면서 외부 환경요인으로부터 적합한 미세환경을 조성한다. 높은 미나리 밀도가 캐노피를 형성하며 큰물개구리밥의 생장에 적합한 광환경을 만들어주고 높은 기온, 비와 바람으로부터 보호를 받는다. 그리고 일정한 수온으로 공급되는 물은 안정적인 환경을 조성해준다. 큰물개구리밥은 추운 겨울을 월동하고 나서 생물량과 영양번식을 통해 개체수를 늘려간다. 그러나 제주도 미나리 밭 서식지에서는 5~6 월까지 개체수가 증가하다가 이후 유성생식을 통한 포자 생산과 함께 급격한 개체수 감소를 보인다. 제주도 큰물개구리밥의 나타난 생육과정에서 생리적 반응을 확인하기 위해 실험을 진행했다. 상업용 토양만으로도 수경재배 용액보다 높은 성장량과 수질 안정성을 보였다. 그리고 고온의 환경에서 엽온은 수온에 따라 열스트레스에 대한 저감반응과 뿌리탈락, 엽록소 함량 감소, 생물량 감소 등 생리적 반응을 보였다. 온실 실험에서는 광도, 밀도 구배 환경에서 뿌리탈락, 엽록소 변화, 생물량 변화 등의 생리적 반응이

관찰되었다. 서식지와 다른 연구에서 알려진 적합한 광환경보다 고광도, 고온의 환경에서도 높은 생물량 증가를 보였다. 낮은 수온으로 인해 식물체 내 낮은 온도가 유지됨으로써 원활한 대사활동이 가능한 것으로 보인다. 또한 높은 밀도의 매트형태는 장기간 고광도, 고온의 환경 스트레스에서 엽록소 변화가 감소하면 안정적인 상태를 보였다. 다른 물개구리밥속 연구들은 생식과 관련된 연구를 많이 진행되면서 다양한 환경적 요인을 제시했지만 유성생식 전환, 포자 형성을 제어하는 환경적 요인과 분자적 메커니즘에 대한 연구가 부족하다. 본 연구에서는 제주도에 서식하는 큰물개구리밥의 독특한 생활사는 제한적인 공간에 높은 식물 밀도와 인 함량 변화, 높은 기온과 표면 수온의 변화, 광 주기 등의 다양한 환경적 요인이 복합적으로 작용한 것으로 보인다. 다양한 외부 요인으로부터 위협에 노출된 큰물개구리밥은 생물다양성 측면에서 종보전은 매우 중요하다. 국내에 서식지가 보고되지 않고 있는 희귀종이기 때문에 보전을 위한 방법으로 지역특산물을 활용하는 방안을 모색했다. 서식지가 농지이기 때문에 지역특산물과 큰물개구리밥을 연계한 브랜딩 방법을 통해 종 보전을 위한 가이드라인을 지방정부에 제시함으로써 지역적 환경거버넌스의 첫 단계를 제공하였다.

V. 참고문헌

Agroecologylab

2016 Plant Science and Landscape Architecture University of Maryland, Field and Lab method "Mehlich-3 extraction for labile soil phosphorus", <https://www.agroecologylab.com/methods>, Accessed 22 July 2021.

Arora, Anju, and PK Singh

2003 Comparison of biomass productivity and nitrogen fixing potential of *Azolla* spp. *Biomass and Bioenergy* 24(3):175-178.

Azab, Ehab, and Abdel-fatah Salah Soror

2020 Physiological Behavior of the Aquatic Plant *Azolla* sp. in Response to Organic and Inorganic Fertilizers. *Plants* 9(7):924.

Brouwer, Paul, et al.

2014 *Azolla* domestication towards a biobased economy? *New Phytologist* 202(3):1069-1082.

Bueno, Ana Carolina R, et al.

2012 Daily temperature amplitude affects the vegetative growth and carbon metabolism of orange trees in a rootstock-dependent manner. *Journal of Plant Growth Regulation* 31(3):309-319.

Butchart, Stuart HM, and Jeremy P Bird

2010 Data deficient birds on the IUCN Red List: what don't we know and why does it matter? *Biological Conservation* 143(1):239-247.

Butchart, Stuart HM, et al.

2007 Improvements to the red list index. *PloS one* 2(1):e140.

Carrapico, Francisco, Generosa Teixeira, and M Adélia Diniz

2002 21. *Azolla* as a Biofertilizer in Africa: A Challenge for the Future. *Biotechnology of Biofertilizers*:277.

Carrapiço, Francisco

2010 *Azolla* as a superorganism. Its implication in symbiotic studies. *In Symbioses and Stress*. Pp. 225-241: Springer.

Cary, Peter R, and Peter GJ Weerts

1992 Growth and nutrient composition of *Azolla pinnata* R. Brown and *Azolla filiculoides* Lamarck as affected by water temperature, nitrogen and phosphorus supply, light intensity and pH. *Aquatic Botany* 43(2):163-180.

Cheng, Weiguo, et al.

2010 Response of the floating aquatic fern *Azolla filiculoides* to elevated CO₂, temperature, and phosphorus levels. *Hydrobiologia* 656(1):5-14.

Choi, Jiyeon, et al.

2012 Seasonal biomass changes at a newly constructed wetland in agricultural area. *Desalination and Water Treatment* 38(1-3):337-343.

Choi, Jong-Yun, et al.

2018 Distribution characteristics and ecosystem risk assessment of Dotted Duckweed (*Landoltia punctata*) in Jeju island, Korea. *Korean Journal of Environment and Ecology* 32(4):425-439.

Chrismadha, T, et al.

2019 Phytoremediation of Maninjau Lake water using Minute Duckweed (*Lemna perpusilla* Torr.). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019. Vol. 308, pp. 012021. IOP Publishing.

Chung, Jae-min, et al.

2017 Diversity, Distribution and Ecological Characteristics of Invasive Alien Plants in the Korea Peninsula. *Korean Society of Environment & Ecology* 27(2):35.

Cook, GD, JR Dixon, and AC Leopold

1964 Transpiration: its effects on plant leaf temperature. *Science* 144(3618):546-547.

Costa, ML, et al.

2009 *Azolla*–*Anabaena*'s behaviour in urban wastewater and artificial media–Influence of combined nitrogen. *Water Research* 43(15):3743-3750.

de Vries, Sophie, and Jan de Vries

2018 *Azolla*: A model system for symbiotic nitrogen fixation and evolutionary developmental biology. *In Current Advances in Fern Research*. Pp. 21-46: Springer.

Dijkhuizen, Laura W, et al.

2020 Control of the *Azolla* symbiosis sexual reproduction: ferns to shed light on the origin of floral regulation? *bioRxiv*.

Djanaguiraman, M, et al.

- 2011 High-temperature stress and soybean leaves: Leaf anatomy and photosynthesis. *Crop Science* 51(5):2125-2131.
Dudgeon, David, et al.
- 2006 Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews* 81(2):163-182.
Fernández-Zamudio, Rocío, Pablo García-Murillo, and Santos Cirujano
- 2010 Germination characteristics and sporeling success of *Azolla filiculoides* Lamarck, an aquatic invasive fern, in a Mediterranean temporary wetland. *Aquatic Botany* 93(2):89-92.
Forni, C, et al.
- 2001 Evaluation of the fern *Azolla* for growth, nitrogen and phosphorus removal from wastewater. *Water research* 35(6):1592-1598.
Gál, Blanka, et al.
- 2019 The effect of urbanization on freshwater macroinvertebrates—knowledge gaps and future research directions. *Ecological indicators* 104:357-364.
Georgieva, Mariyana, et al.
- 2015 A comparative analysis of membrane intactness and genome integrity in pea, barley, and wheat in response to UVC irradiation. *Turkish Journal of Botany* 39(6):1008-1013.
Gurung, Sushma, et al.
- 2012 Polyamine-induced rapid root abscission in *Azolla pinnata*. *Journal of amino acids* 2012.
Halleck, Leslie F
- 2018 Gardening under lights: The complete guide for indoor growers: Timber Press.
Hamid, NAIMA, et al.
- 2007 Diagnosis of nutritional constraints of *Azolla* spp., to enhance their growth under flooded conditions of salt affected soils. *PAKISTAN JOURNAL OF BOTANY* 39(1):161.
Hechler, William D, and Jeffrey O Dawson
- 1995 Factors affecting nitrogen fixation in *Azolla caroliniana*. *Transactions of the Illinois State Academy of Science* 88(3):4.
Heino, Jani, Raimo Virkkala, and Heikki Toivonen
- 2009 Climate change and freshwater biodiversity: detected patterns, future trends and adaptations in northern regions. *Biological Reviews* 84(1):39-54.
Hiscox, JD, and GF Israelstam

- 1979 A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Canadian journal of botany 57(12):1332-1334.
Hong, Hyun-Jung, et al.
- 2021 Conservation, Restoration, and Sustainable Use of Biodiversity Based on Habitat Quality Monitoring: A Case Study on Jeju Island, South Korea (1989–2019). Land 10(8):774.
Hossain, Mobarok, and Pulak Kumar Patra
- 2020 Water pollution index–A new integrated approach to rank water quality. Ecological Indicators 117:106668.
Houborg, Rasmus, et al.
- 2015 Joint leaf chlorophyll content and leaf area index retrieval from Landsat data using a regularized model inversion system (REGFLEC). Remote Sensing of Environment 159:203-221.
Houghton, John
- 2005 Global warming. Reports on progress in physics 68(6):1343.
Hussner, A
- 2010 Nobanis–Invasive alien species fact sheet–Azolla filiculoides. From: online database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species–NOBANIS www.nobanis.org.
Janes, Rachel
- 1998a Growth and survival of Azolla filiculoides in Britain I. Vegetative production. The New Phytologist 138(2):367-375.
—
- 1998b Growth and survival of Azolla filiculoides in Britain. II. Sexual reproduction. The New Phytologist 138(2):377-384.
Jayakumar, M, et al.
- 1999 Changes in pigment composition and photosynthetic activity of aquatic fern (Azolla microphylla Kaulf.) exposed to low doses of UV-C (254 nm) radiation. Photosynthetica 37(1):33-38.
Kang, Dae-Hyun, Eun-Young Yim, and Myung-Ok Moon
- 2015 Flora of aquatic and wetland habitats on Jeju Island. Korean Journal of Plant Taxonomy 45(1):96-107.
Kim, Bomchul, et al.
- 2007 The limiting nutrient of eutrophication in reservoirs of Korea and the suggestion

- of a reinforced phosphorus standard for sewage treatment effluent. Journal of Korean Society on Water Environment 23(4):512-517.
- Kim, Seong-Su, et al.
- 2006 Climatological variability of temperature and precipitation in Jeju. Journal of the Korean earth science society 27(2):188-197.
- Kirk, John TO
- 1994 Light and photosynthesis in aquatic ecosystems: Cambridge university press.
- Kitoh, Shunji, Nobuyuki Shiomi, and Eiji Uheda
- 1992 Free amino acids and ammonia in the Azolla-Anabaena association grown with N₂, NH₄⁺, and NO₃⁻. Soil Science and Plant Nutrition 38(2):289-296.
- KMA
- 2021 Korea Meteorological Administration, Automatic Weather System(AWS) data, <https://data.kma.go.kr/data/grnd/selectAwsRltmList.do?pgmNo=56>, Accessed 15 July 2021.
- Koh, Eun-Hee, et al.
- 2017 Impacts of land use change and groundwater management on long-term nitrate-nitrogen and chloride trends in groundwater of Jeju Island, Korea. Environmental Earth Sciences 76(4):176.
- Kösesakal, Taylan
- 2014 Effects of seasonal changes on pigment composition of Azolla filiculoides Lam. American Fern Journal 104(2):58-66.
- Lee, Jong-Sung, and Ki-Nam Kim
- 2005 A study on the water quality purification effect of aquatic plants in field work. Journal of Environmental Science International 14(10):937-944.
- Lee, Jung-Han, et al.
- 2011 Rhizoctonia Blight of Azolla japonica Caused by Rhizoctonia solani. Research in Plant Disease 17(3):405-409.
- Lee, Soo-In, et al.
- 2020 Study on Ecological Restoration of Endangered Species in Abandoned Paddy of Korea and Management Plan for its Habitat. Journal of Wetlands Research 22(2):81-91.
- LICHTENTHALER, HARTMUT K., and ALAN R. WELLBURN
- 1983 Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11(5):591-592.
- Lim, Yongseok

- 2010 Distribution characteristics of hydrophytes in Korea, Doctor's thesis, Soonchunhyang University.
- Liu, X, et al.
- 1998 Cultivation condition and nutritive value of Azolla as a feed resource. Journal of Japanese Society of Grassland Science (Japan).
- Liu, Xiaofeng, et al.
- 2008 Research on some functions of Azolla in CELSS system. Acta Astronautica 63(7-10):1061-1066.
- Lumpkin, Thomas A, and Donald L Plucknett
- 1980 Azolla: botany, physiology, and use as a green manure. Economic Botany 34(2):111-153.
- Meyerson, Laura A, and Harold A Mooney
- 2007 Invasive alien species in an era of globalization: Wiley Online Library.
- Moore, AW
- 1969 Azolla: biology and agronomic significance. The Botanical Review 35(1):17-34.
- Murata, Norio, et al.
- 2007 Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics 1767(6):414-421.
- Ni, Zhongfu, Eun-Deok Kim, and Z Jeffrey Chen
- 2009 Chlorophyll and starch assays.
- NIBR
- 2012 National Institute of Biological Resources, Red List Species Status, https://species.nibr.go.kr/home/mainHome.do?cont_link=011&subMenu=011013&contCd=011013003003, Accessed 15 July 2021.
-
- 2021 National Institute of Biological Resources, Detailed inquiry of species, https://species.nibr.go.kr/home/mainHome.do?cont_link=009&subMenu=009002&contCd=009002&ktsn=12000071080, Accessed 18 Aug 2021.
- Nickus, Ulrike, et al.
- 2010 Direct impacts of climate change on freshwater ecosystems.
- Nievola, Catarina C, et al.
- 2017 Rapid responses of plants to temperature changes. Temperature 4(4):371-405.

Noguchi, Ko, and Keisuke Yoshida

2008 Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves. *Mitochondrion* 8(1):87-99.

Oh, SeokHyeon, et al.

2021 Spatial Distribution, Growth Conditions and Local Utilization for Conservation Strategy of an Endangered Species *Azolla japonica*. *Journal of Plant Biology*:1-9.

Park, H

2005 General Growth Characteristics and Water Treatment Capability of Waterfern *Azolla japonica* Franch. et. Savat., Master's thesis, Seoul National University.

Park, H, and EJ Lee

2005 General Growth Characteristics and Water Treatment Capability of Waterfern *Azolla japonica*. *INTEGRATIVE BIOSCIENCES* 9:B415.

Park, Hun, and Uhram Song

2017 Microcosm investigation of growth and phytoremediation potential of *Azolla japonica* along nitrogen gradients. *International journal of phytoremediation* 19(10):863-869.

Pilon, Jörn, and Luis Santamaría

2001 Seasonal acclimation in the photosynthetic and respiratory temperature responses of three submerged freshwater macrophyte species. *New phytologist* 151(3):659-670.

QingYuan, Xiao, et al.

1987 Germination of *Azolla filiculoides* Lam. sporocarps and factors affecting their growth. *Azolla Utilization*, International Rice Research Institute, Manila:33-8.

Sadeghi, R, et al.

2013 A review of some ecological factors affecting the growth of *Azolla* spp.

Sand-Jensen, KAJ

1989 Environmental variables and their effect on photosynthesis of aquatic plant communities. *Aquatic Botany* 34(1-3):5-25.

Sang, Harro W Wong Fong, et al.

1987 Use of *Azolla* as a test organism in a growth chamber of simple design. *Plant and Soil* 99(2):219-230.

Santamaría, Luis

2002 Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta oecologica* 23(3):137-154.

Serrano, Ramón, and Alonso Rodríguez-Navarro

2001 Ion homeostasis during salt stress in plants. *Current opinion in cell biology* 13(4):399-404.

Shi, Ding-Ji, and David O Hall

1988 The Azolla-Anabaena association: Historical perspective, symbiosis and energy metabolism. *The Botanical Review* 54(4):353-386.

Shimono, Hiroyuki, et al.

2004 Responses of leaf photosynthesis and plant water status in rice to low water temperature at different growth stages. *Field Crops Research* 89(1):71-83.

Shiomi, N, and S Kitoh

1987 Use of Azolla as a decontaminant in sewage treatment. *Azolla utilization*:169-176.

Song, Uhram, Hun Park, and Eun Ju Lee

2012 Ecological responses and remediation ability of water fern (*Azolla japonica*) to water pollution. *Journal of Plant Biology* 55(5):381-389.

Takano, Atsuko, and Yasuro Kadono

2005 Allozyme variations and classification of *Trapa* (Trapaceae) in Japan. *Aquatic Botany* 83(2):108-118.

Talley, Steven N, Barbara Jo Talley, and D William Rains

1977 Nitrogen fixation by Azolla in rice fields. *In Genetic engineering for nitrogen fixation*. Pp. 259-281: Springer.

Temmink, Ralph JM, et al.

2018 Azolla along a phosphorus gradient: biphasic growth response linked to diazotroph traits and phosphorus-induced iron chlorosis. *Scientific reports* 8(1):1-8.

Tran, Thi Linh Nham, et al.

2020 Differential production of phenolics, lipids, carbohydrates and proteins in stressed and unstressed aquatic plants, *azolla filiculoides* and *azolla pinnata*. *Biology* 9(10):342.

Uheda, Eiji, Shunji Kitoh, and Nobuyuki Shiomi

1999 Response of six Azolla species to transient high-temperature stress. *Aquatic Botany* 64(1):87-92.

Wallace, J, P Champagne, and G Hall

2016 Time series relationships between chlorophyll-a, dissolved oxygen, and pH in three facultative wastewater stabilization ponds. *Environmental Science: Water Research &*

Technology 2(6):1032-1040.

Watanabe, I

1982 Azolla—Anabaena symbiosis—its physiology and use in tropical agriculture. *In* Microbiology of tropical soils and plant productivity. Pp. 169-185: Springer.

Went, FW

1953 The effect of temperature on plant growth. *Annual Review of Plant Physiology* 4(1):347-362.

Yadav, Ravindra Kumar, et al.

2021 Salinity tolerance mechanism in the aquatic nitrogen fixing pteridophyte Azolla: a review. *Symbiosis* 83(2):129-142.

Yadav, RK, et al.

2014 Advancements in the utilization of Azolla-Anabaena system in relation to sustainable agricultural practices. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad*, 2014. Vol. 80, pp. 301-316.

Zhang, Lei, et al.

2018 Effect of carbon dioxide on biomass and lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* in a membrane bioreactor with gas-liquid separation. *Algal research* 31:70-76.

VI. 부록

Appendix 1. Coordinates of the site and habitat type.

Site (abbreviation)	Presence of <i>Azolla japonica</i>	Coordinates (habitat type*)
Gangjeong-dong2 (KJ2)	○	33°14'5.24"N, 126°29'47.88"E (Sp)
Jijangsaem1(JJ1)	○	33°16'05.36"N, 126°33'31.64"E (Sp)
Jijangsaem2(JJ2)	○	33°16'03.17"N, 126°33'40.75"E (Sp)
Yunnam Pond (YN)	○	33°28'6.89"N, 126°22'6.16"E (P)
Gangjeong-dong (KJ1)	○	33°13'59.15"N, 126°29'56.63"E (Sp)
Donghongcheon (DH)		33°15'57.18"N, 126°33'56.28"E (S)
Geori (GR)		33°26'10.49"N, 126°23'0.70"E (P)
Gueom-ri (UFO)		33°29'05.97"N, 126°22'56.95"E (S)
Gwangryeong (GYR)		33°28'16.07"N, 126°25'37.15"E (R)
Haga Pond (HG)		33°27'17.22"N, 126°20'50.47"E (P)
Napeup-ri (MT)		33°25'54.06"N, 126°20'58.75"E (P)
Sineom-ri (SS)		33°27'30.90"N, 126°21'59.77"E (P)
Susan Reservoir (SSR)		33°28'13.09"N, 126°23'17.71"E (R)
Topyeong-dong (TP)		33°14'40.96"N, 126°35'7.47"E (P)
Yerae (YR)		33°14'38.25"N, 126°23'29.27"E (S)

Sp: Spring, P: Pond, S: Stream, R: Reservoir



Appendix 2. Aerial photo of JJ1 site using a drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 50m).



Appendix 3. Aerial photo of KJ1 site using drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 100m).



Appendix 4. Aerial photo of KJ2 site using drone on Sep 9, 2021 (take-off altitude 50m).

***Appendix. 5-30, only included the period when the change of *A. japonica* appeared on each site.**



Appendix 5. Photo of the JJ1 site on Mar 15, 2020.



Appendix 6. Photo of the JJ1 site on Jun 02, 2020.



Appendix 7. Photo of the JJ1 site on Jul 02, 2020.



Appendix 8. Photo of the JJ1 site on Nov 04, 2020.



Appendix 9. Photo of the JJ1 site on Feb 09, 2021.



Appendix 10. Photo of the JJ1 site on May 18, 2021.



Appendix 11. Photo of the JJ2 site on Mar 3, 2020.



Appendix 12. Photo of the JJ1 site on Jun 02, 2020.



Appendix 13. Photo of the JJ2 site on Nov 04, 2020.



Appendix 14. Photo of the JJ2 site on Feb 09, 2021.



Appendix 15. Photo of the JJ2 site on Jun 24, 2021.



Appendix 16. Photo of the KJ1 site on Mar 15, 2020



Appendix 17. Photo of the KJ1 site on May 02, 2020.



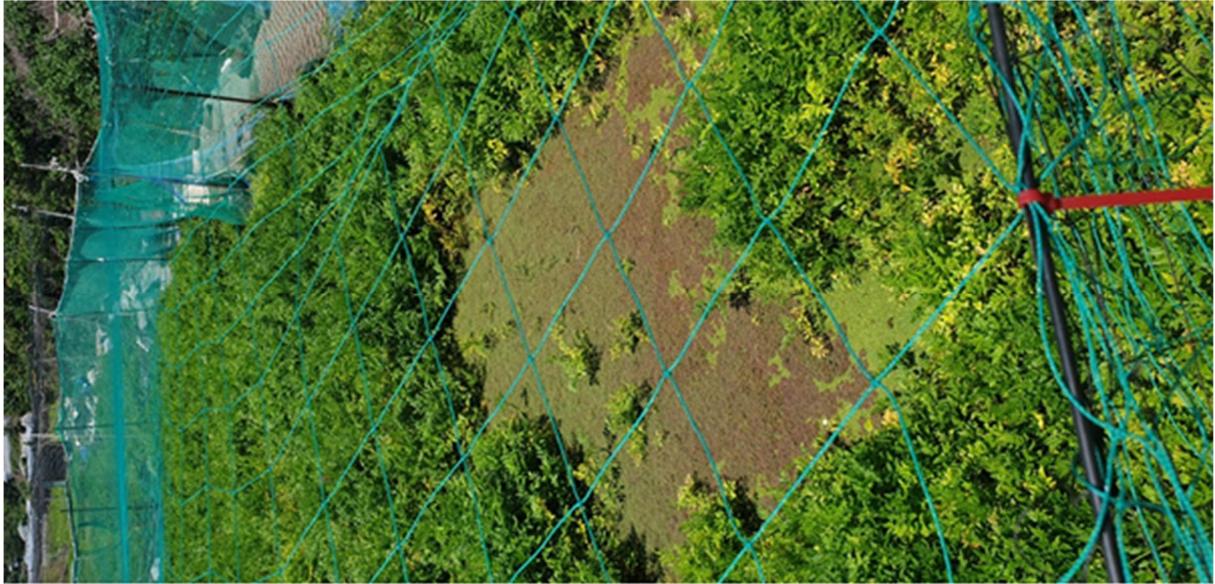
Appendix 18. Photo of the KJ1 site on Jun 02, 2020.



Appendix 19. Photo of the KJ1 site on Jul 02, 2020.



Appendix 20. Photo of the KJ1 site on Feb 09, 2021.



Appendix 21. Photo of the KJ1 site on May 18, 2021.



Appendix 22. Photo of the KJ1 site on Jun 24, 2021.



Appendix 23. Photo of the KJ1 site on Jul 28, 2021.



Appendix 24. Photo of the KJ2 site on Mar 3, 2020



Appendix 25. Photo of the KJ2 site on May 02, 2020.



Appendix 26. Photo of the KJ2 site on Jun 02, 2020.



Appendix 27. Photo of the KJ2 site on Jul 02, 2020.



Appendix 28. Photo of the KJ2 site on Nov 04, 2020.



Appendix 29. Photo of the KJ2 site on Feb 09, 2021.



Appendix 30. Photo of the KJ2 site on May 18, 2021.

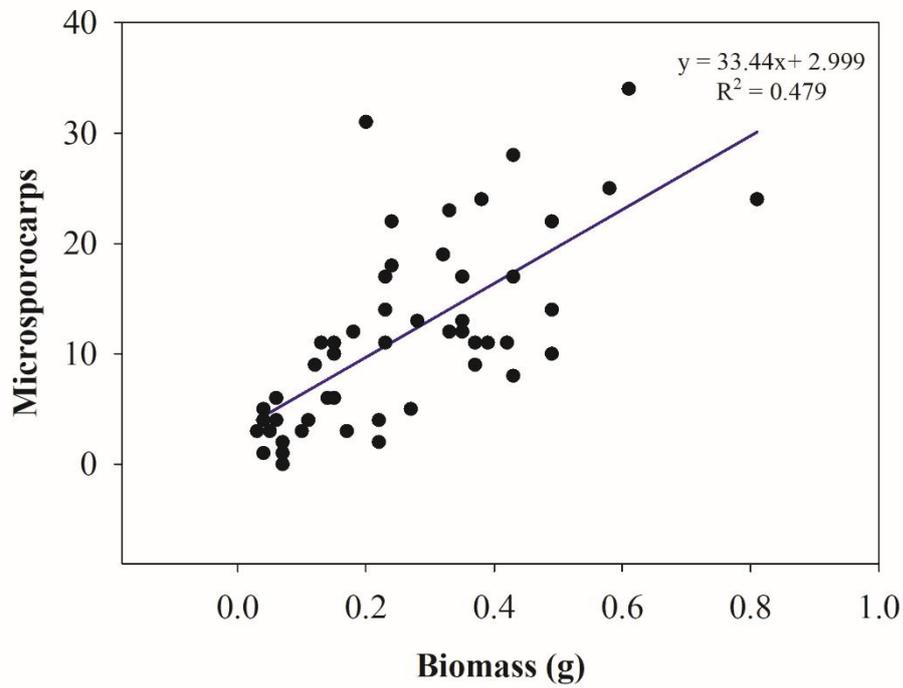


Appendix 31. *A. japonica* in a 20cm*20cm quadrat collected from the JJ1 site on May 21, 2021.

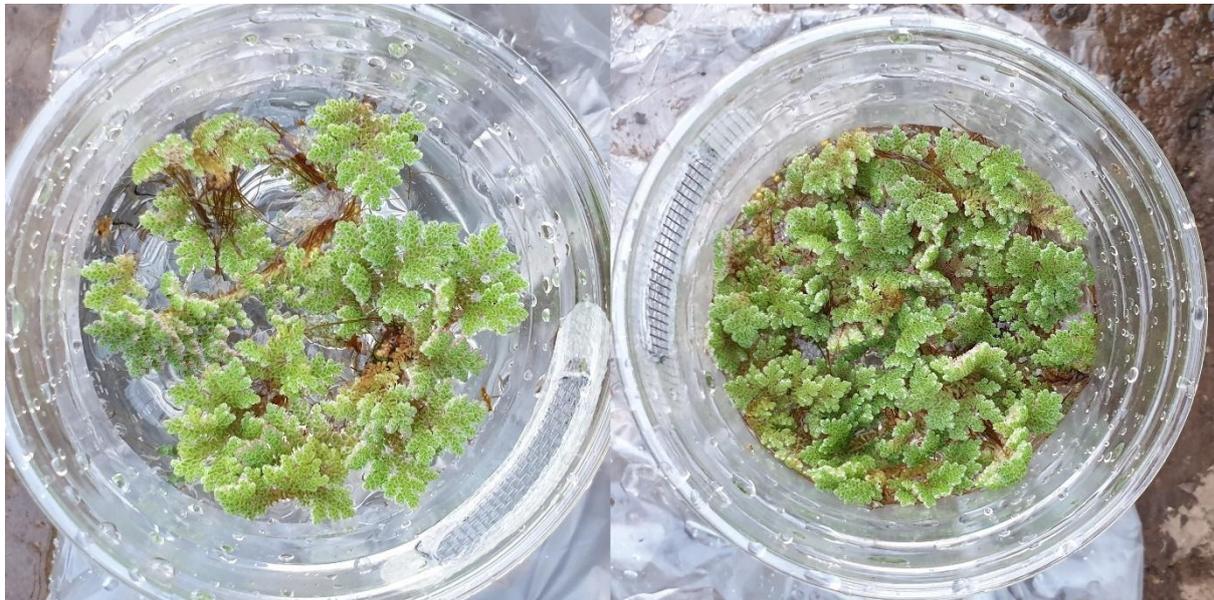
Appendix 32. A microsporocarps in a 20*20 cm quadrat

Biomass level (g)	Number of <i>A. japonica</i>	Average biomass (g)	Average microsporocarps	Microsporocarps by level	Total microsporocarps
0.01~0.09	103	0.05	2.9	298.7	
0.10~0.19	61	0.14	7.5	457.5	
0.20~0.29	37	0.24	13.7	506.9	2061.0
0.30~0.39	26	0.35	15.1	392.6	
0.40~	21	0.52	19.3	405.3	

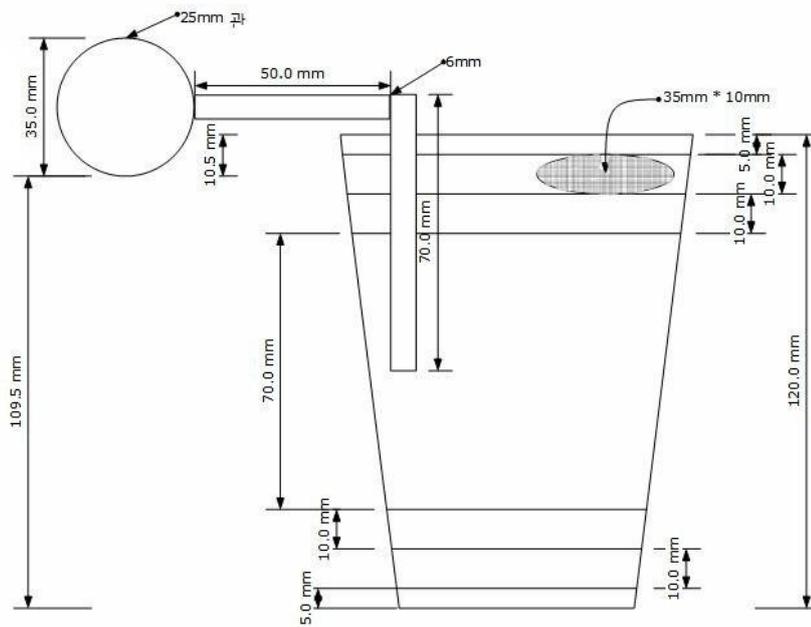
Average biomass and average microsporocarps are the mean of 10 *A. japonica*. Microsporocarps by level was calculated using average biomass and average microsporocarps. Total microsporocarps is the sum of all Microsporocarps by level.



Appendix 33. Relationship between biomass and microsporocarps. (n= 50, $p < 0.05$)



Appendix 34. Photos of density treatments. L: 50%, R: 100%

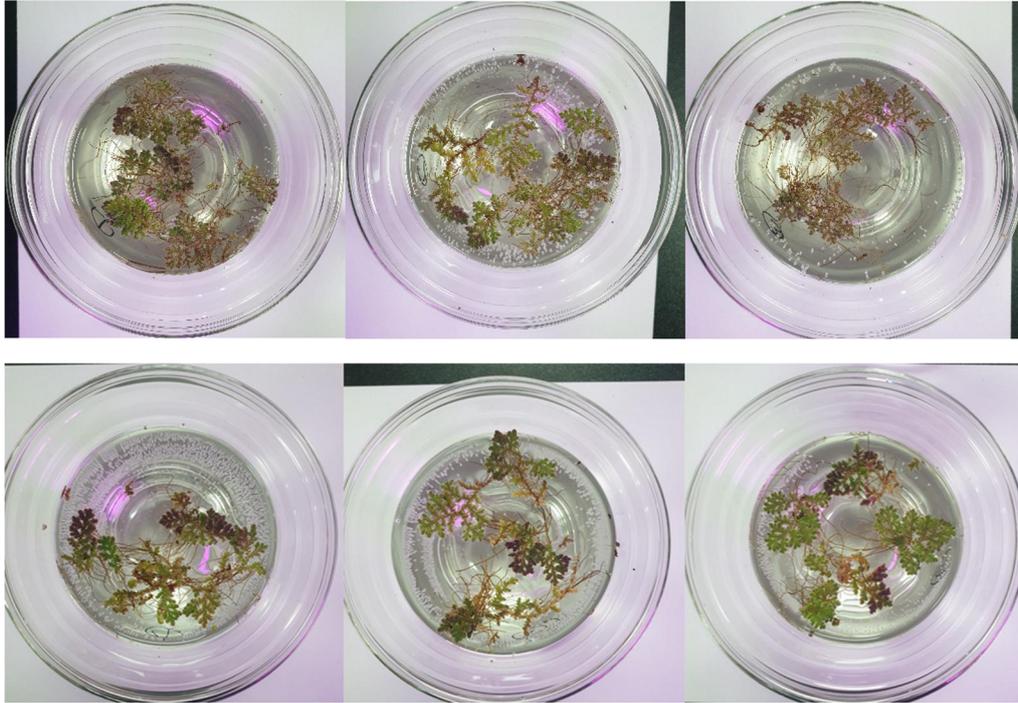


Appendix 35. Plastic cup design and irrigation method in greenhouse experimental treatments.

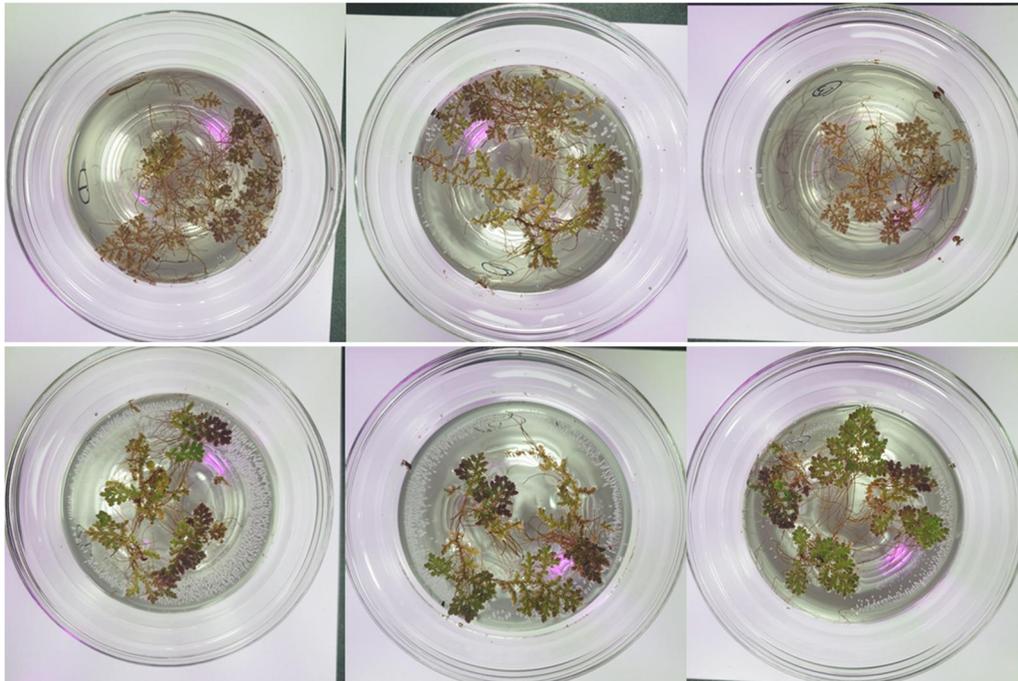


Appendix 36. *A. japonica* before temperature reaction experiment.

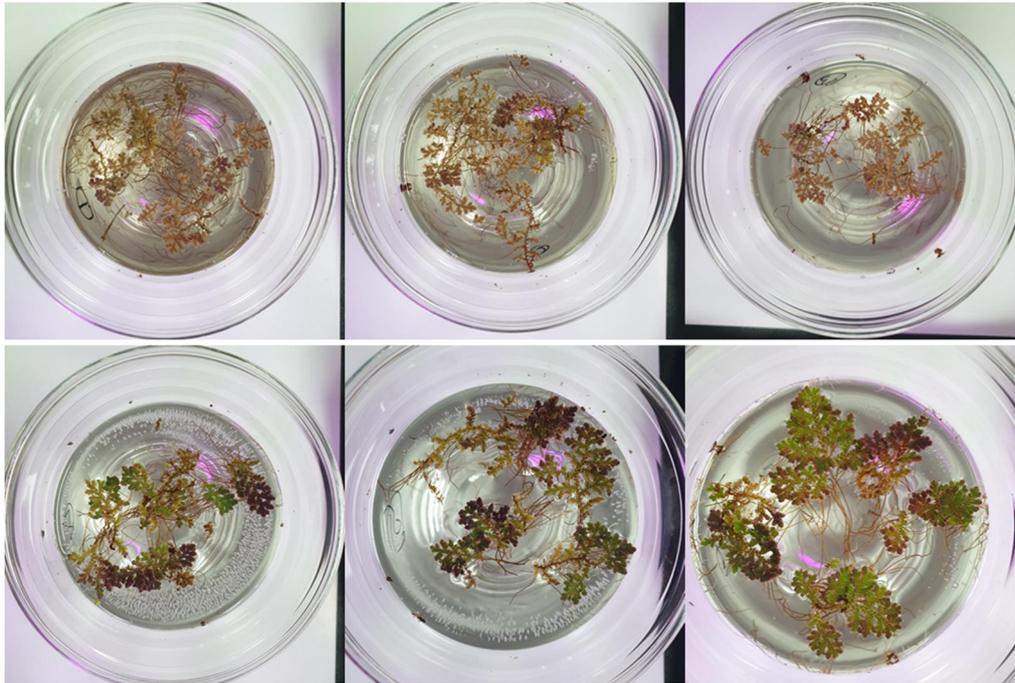
(L) Halogen treatment. (R) LED treatment.



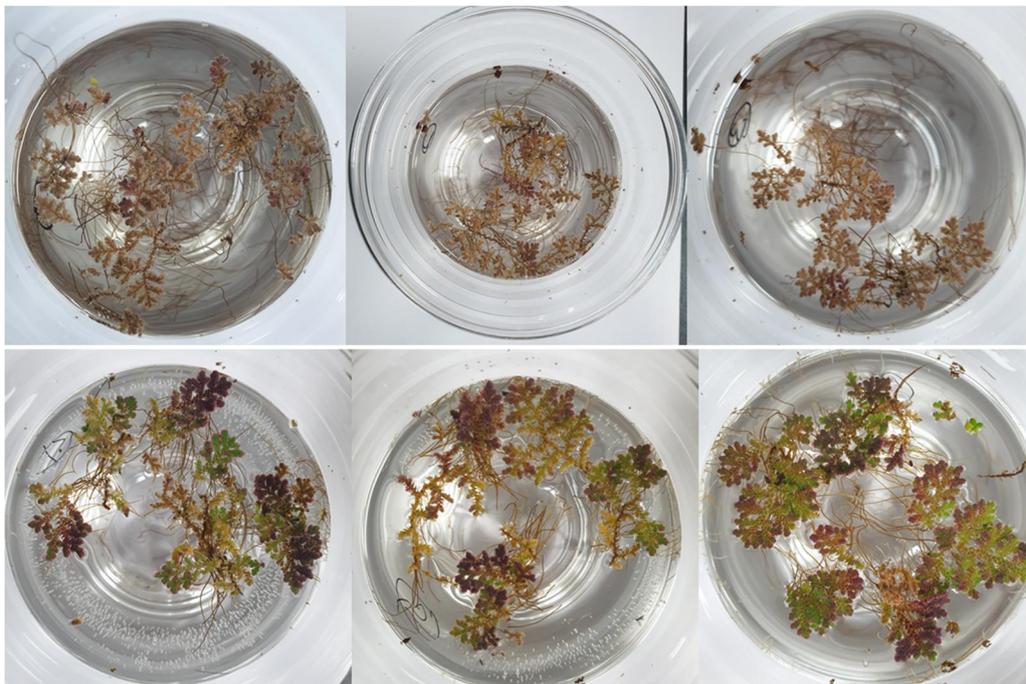
**Appendix 37. *A. japonica* on the 1st day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



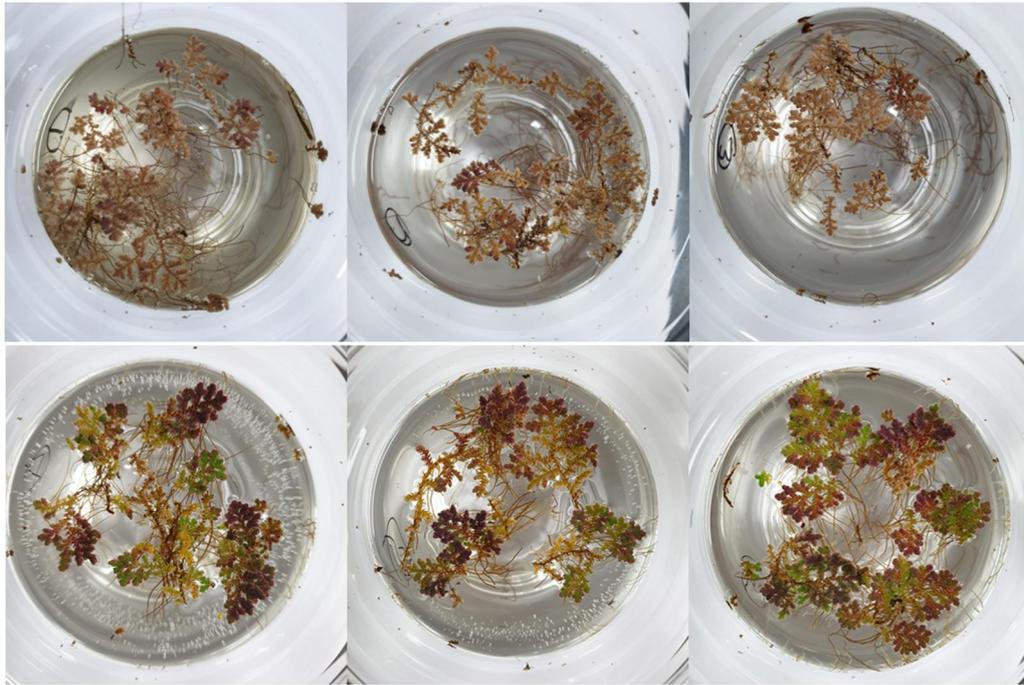
**Appendix 38. *A. japonica* on the 2nd day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



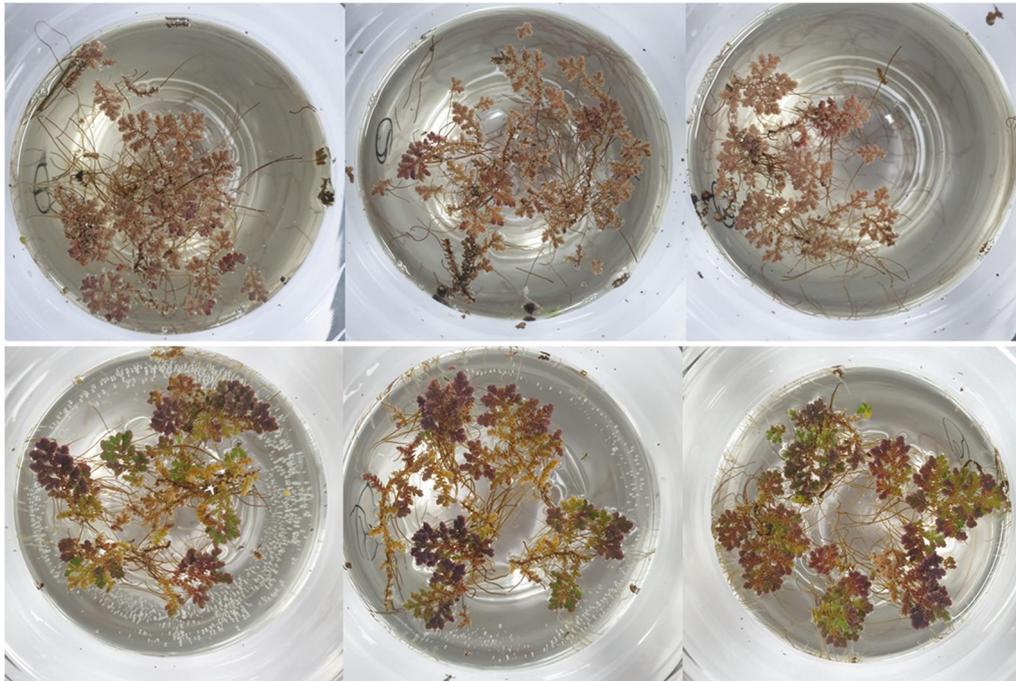
**Appendix 39. *A. japonica* on the 3rd day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



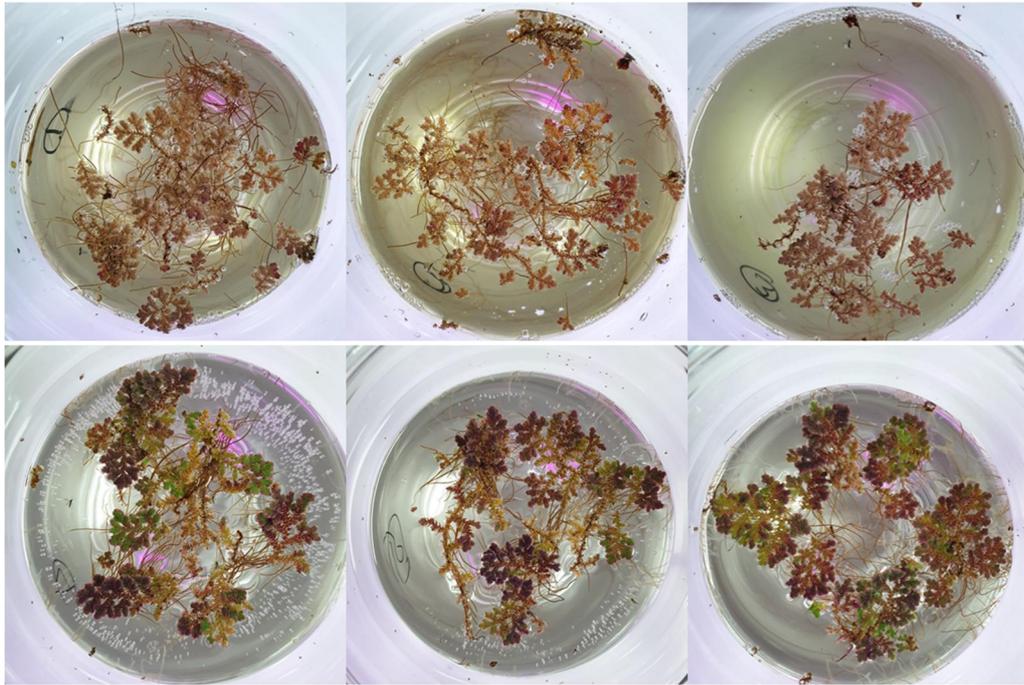
**Appendix 40. *A. japonica* on the 4th day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



**Appendix 41. *A. japonica* on the 5th day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



**Appendix 42. *A. japonica* on the 6th day of the temperature reaction experiment.
 (Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.**



Appendix 43. *A. japonica* on the 7th day of the temperature reaction experiment.

(Above) Halogen treatment. (Bottom) LED treatment.



Appendix 44. *A. japonica* on the 8th day of the temperature reaction experiment.

(L) Halogen treatment. (R) LED treatment.



Appendix 45. Photo of the 75/100 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 46. Photo of the 75/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 47. Photo of the 75/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 48. Photo of the 75/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 49. Photo of the 30/100 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 50. Photo of the 30/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 51. Photo of the 30/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 52. Photo of the 30/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 53. Photo of the 15/100 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 54. Photo of the 15/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 55. Photo of the 15/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



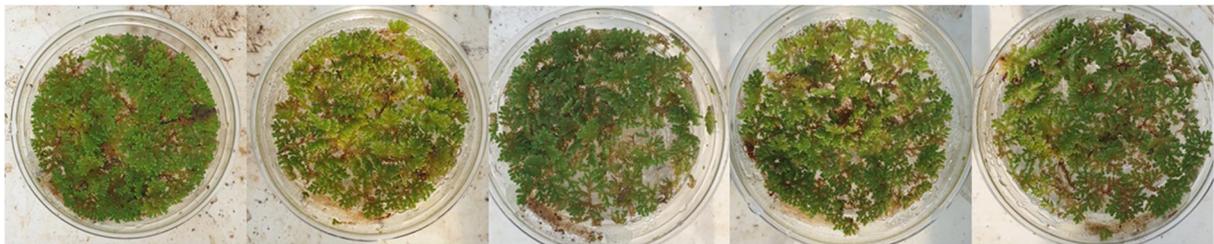
Appendix 56. Photo of the 15/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



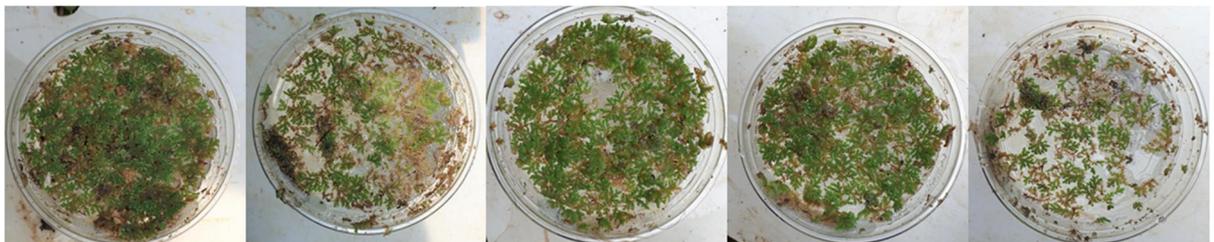
Appendix 57. Photo of the 1/100 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



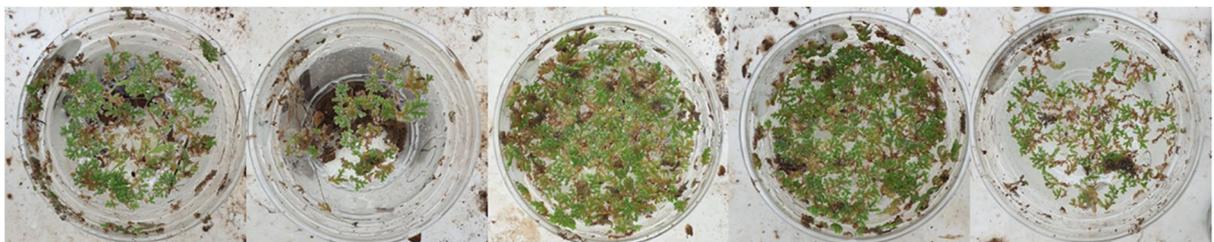
Appendix 58. Photo of the 1/100 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 59. Photo of the 1/100 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



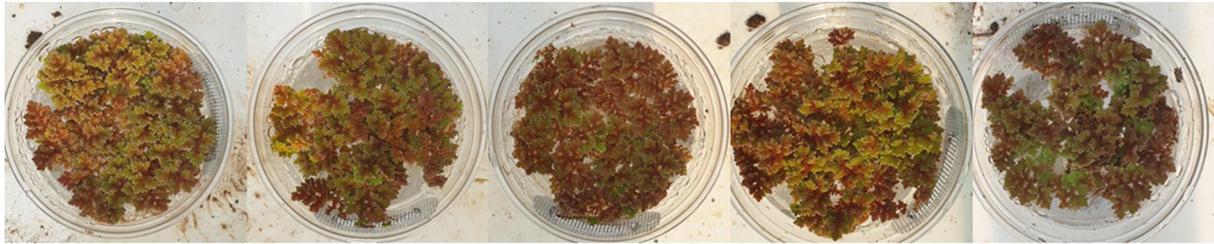
Appendix 60. Photo of the 1/100 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 61. Photo of the 75/50 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 62. Photo of the 75/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 63. Photo of the 75/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



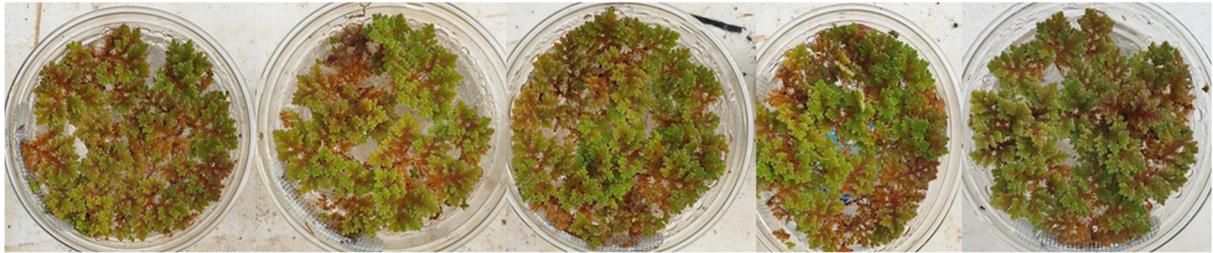
Appendix 64. Photo of the 75/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 65. Photo of the 30/50 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 66. Photo of the 30/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 67. Photo of the 30/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 68. Photo of the 30/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 69. Photo of the 15/50 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 70. Photo of the 15/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 71. Photo of the 15/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



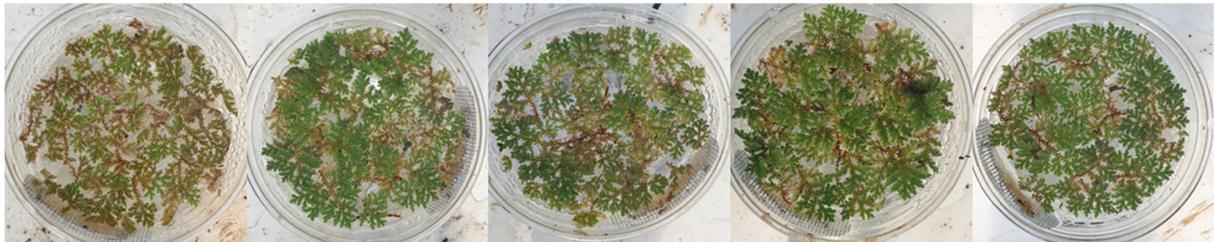
Appendix 72. Photo of the 15/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



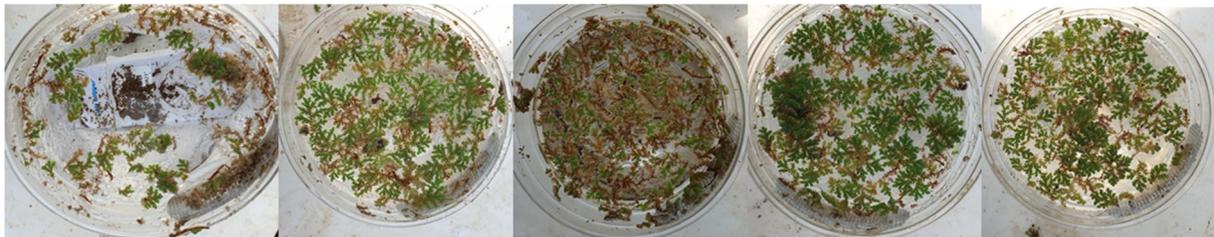
Appendix 73. Photo of the 1/50 treatment before the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 74. Photo of the 1/50 treatment on the 14th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 75. Photo of the 1/50 treatment on the 28th day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 76. Photo of the 1/50 treatment on the 42nd day of the greenhouse experiment.

Light intensity % / Density % treatment.



Appendix 77. Habitat destruction at the JJ1 site due to stream improvement works.

Guidelines for Regional Conservation and Development Using Water Dropwort (*Azolla* *japonica*)

(English Abridgement)

I. A Guideline for Regional Development Using 'Manganghong water dropwort'

In South Korea, The *Azolla* species have the nick name of 'Manganghong' because its leaf surface turns red after autumn. The term 'mangang' means 'fill a river with' and 'hong' means 'red'. The *Azolla* species were commonly observed in the southern regions of Korea before the 2000s but has disappeared recently as degradation of habitats due to various factors. However, *Azolla japonica* was

found in the water dropwort (*Oenanthe javanica* DC.) cultivation field located in the southern region of Jeju Island in South Korea. Water dropwort is cultivated throughout the country and is widely used as a food ingredient. It requires cool water supply during growing season and therefore usually underground water is pumped for cultivation. The water dropwort cultivation field in Jeju island uses spring water taking advantage of volcanic island structure.

In order to conserve endangered *Azolla japonica* species, we are proposing cultivation of the *Azolla japonica* and water dropwort at the same time. Also we are proposing a branding method of 'Manganghong Water Dropwort' using the clean and eco-friendly image of endangered aquatic plants.

II. Regional development method using 'Manganghong Water Dropwort'

A good example of branding a local agricultural product in connection with local endangered species in South Korea is "Maehwamareum Rice". Maehwamareum is a Korean name of endangered species water crowfoot (*Ranunculus katusensis*). *Ranunculus katusensis* habitat is located in Gilsang-myeon, Ganghwa island, South Korea. This habitat is designated as the Ramsar wetland despite of still rice is cultivated at the field. In order to conserve *Ranunculus katusensis*, environmentally friendly farming techniques were introduced and commercialized under the brand name 'Maehwamareum Rice'. This example suggests that species conservation can be connected with local specialites. *Azolla* species have the ability to fix nitrogen and can be used for eco-friendly fertilizing plant for agriculture. For centuries, it has used as a green manure for water crops in vietnam and South China. Also many studies showed the possibility of using it as manure. Therefore, the eco-friendly image of 'Manganghong Water Dropwort' would make the local water dropwort very popular and distinguishable to other common Water Dropwort of Korea. Also we can expect the increase of crop yield because of N fixation.

Another regional development method using *Azolla* species is to build an eco-village. As the quality of life improves economically, people take an interest in health. educational traveling became very popular under the theme of 'ECO' in South Korea. Also, Jeju Island, located in the south of korea, has been designated as a biosphere reserve and World Natural Heritage site by UNESCO, has a great potential for ECO tourist attraction. However, Jeju is suffering from ecosystems due to rapid development. Building eco-villages to conserve habitat from development has the advantage of very high natural ecosystem conservation rates. Besides, it can attract many tourists in the theme of 'ECO' using clean and coservative images of endangered species *Azolla japonica*. The water dropwort growing site has

many tourist attractions around. If Gangjeong-dong, one of the main production areas of Jeju's water dropwort, could be designated as 'The Manganghong Eco-Village'. Then it will be possible to build an eco-village by linking natural tourist attractions such as Eongto falls and Jeju Olle-gil 7 Course. Gangjeong-dong is also easily accessible due to its large accommodations and public transportation. These advantages will make it possible to conserve the environment as well as local development by attracting many tourist.

III. Manganghong Water Dropwort promotion

Since the brand 'Manganghong Water Dropwort' is unfamiliar, we devised a mascot character that could attract people's attention. Mascot characters have the effect of increasing brand awareness and friendliness to the public. It can also differentiate itself from other products and emphasize value of the product. In order to gather attentions and to emphasize environmental conservation, there are cases that utilized a character on environmental campaigns in international organizations. Many tourist attractions in South Korea sell a variety of products using local specialties. Also there are products of characters that companies want to promote. It is possible to make a great contribution to promoting local specialties and environmental conservation by producing products with eco-friendly images and words.