편집순서 2 제출문

제 출 문

과학기술정보통신부 장관 귀하

이 보고서를 " BIET기반 유해 미세조류 발생/소멸기작 규명 및 생태공학적 제어기술 개발"과제(세부과제 "해양 유해 미세조류 대발생/소멸기작 규명 및 제어기술 개발")의 보고서로 제출합니다.

2017. 12. 20

주관연구기관명 : 한국해양과학기술원
주관연구책임자 : 백승호 (해양과)
연 구 원 : 김영옥 (해양과)
" : 심원준 (해양과)
" : 신희재 (해양과)
" : 이민지 (해양과)
" : 임영균 (해양과)
" : 황청희 (해양과)
" : 최정민 (해양과)
" : 한기명 (해양과)

협동연구기관명 :
협동연구책임자 :

편집순서 3

보고서 요약서

<table>
<tr><td>과제고유번호</td><td>2016M1A5A1027456</td><td>해 당 단 계
연 구 기 간</td><td>2016. 05. 01
- 2017. 12. 31</td><td>단 계 구 분</td><td>1/2</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 사 업 명</td><td>중 사 업 명</td><td colspan="4">해양극지기초원천기술개발사업</td></tr>
<tr><td>세부사업명</td><td colspan="4">해양극지기초원천기술개발사업</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 과 제 명</td><td>대 과 제 명</td><td colspan="4">BIET기반 유해 미세조류 발생/소멸기작 규명 및 생태공학적 제어기술 개발</td></tr>
<tr><td>세부과제명</td><td colspan="4">해양 유해 미세조류 대발생/소멸기작 규명 및 제어기술 개발</td></tr>
<tr><td rowspan="2">연 구 책 임 자</td><td rowspan="2">백승호</td><td>해당단계 참 여 연구원수</td><td>총 : 9명
내부 : 5명
외부 : 4명</td><td>해당단계 연 구 비</td><td>정부 : 600,000천원
기업 : 천원
계 : 600,000천원</td></tr>
<tr><td>총연구기간 참 여 연구원수</td><td>총 : 14명
내부 : 6명
외부 : 8명</td><td>총연구비</td><td>정부 : 1,530,000천원
기업 : 천원
계 : 1,530,000천원</td></tr>
<tr><td>연구기관명 및 소 속 부 서 명</td><td colspan="2">한국해양과학기술원
남해특성연구센터</td><td>참여기업명</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>국제공동연구</td><td colspan="2">상대국명 :</td><td colspan="3">상대국연구기관명 :</td></tr>
<tr><td>위 탁 연 구</td><td colspan="2">연구기관명 :</td><td colspan="3">연구책임자 :</td></tr>
<tr><td colspan="4">요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)</td><td>보고서면수</td><td>124</td></tr>
</table>

□ 본 연구는 국내외적으로 심각한 환경문제, 막대한 경제적 손실 및 국민의 건강과 삶의 질에 악영향을 초래하고 있는 유해조류(적조)의 발생기작 및 소멸에 관한 구체적이며 체계적인 연구를 수행하였음.

□ 2016년 8월 20일 고흥인근 *Cochlodinium polykrikoides* 적조가 관찰되었으나, 8월말 태풍의 영향으로 자연 소멸. 2016년 적조발생이 예년보다 늦은 이유는 남해안에서 7월 강우에 의한 담수 유입으로 규조류의 극우점하는 환경이 1개월 지속된 것과 함께, 8월초 양쯔강 저염분수에 의한 고수온 환경이 적조발생을 연장시키는 결정적 역할: 수온은 지난 20년(1996-2015)보다 유의하게 2-3도 높았고, 염분은 2-3 psu 낮게 관찰됨.

□ 2017년 7월 *C. polykrikoides* 초기 개체수가 여수 돌산도 인근해역에서 출현하였고, 8월초에는 고흥-나로도 인근해역에서 30 cells mL^{-1}로 상대적으로 높은 밀도의 개체수를 유지함. 2017년 해양환경 특성은 *C. polykrikoides* 성장에 영향을 미치지 않았을 것으로, *Alexandrium affine*의 개체수가 7월중순부터 중층에서 높은 밀도가 유지 되었고, 8월초 통영연안에 적조를 발생시킴. 2종간 경쟁에서 *C. polykrikoides* 성장에 부정적인 영향을 줌.

□ 남해동부해역에서 *A. tamarense* 시스트의 공간분포조사 결과, 거제동부해역에 시스트 밀집지를 발견하였고, 그 곳에서 1년 동안 주간 수환경요인 변화, 유영세포의 개체수, 휴면포자, 발아율 및 가입율을 정량화함.

□ *A. tamarense* 유영세포의 PSP독소 및 이매패류의 축적 PSP독소를 정량 분석한 결과, 유영세포의 독소 종류가 이매패류의 체내독소와 달랐고, 이는 이매패류의 농축과정에서 독소 생성기작이 다를 가능성 제시

□ 본 연구의 BT, IT와 ET를 융합한 기술을 접목한 적조발생 및 소멸 기작에 규명하여, 이와 같은 체계적인 과학적 근거를 바탕으로 해양환경 보존 및 오염방지, 어민 소득 증가, 국민 건강증대에 기여 할 수 있는 관리방안의 수립에 큰 역할을 한 것으로 판단됨.

색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	적조, 유해조류, 식물플랑크톤, 해양생태, 독성
	영 어	Red tide, HABs, Phytoplankton, Marine ecosystem, Toxic

편집순서 4

요 약 문

Ⅰ. 제 목

해양 유해 미세조류 대발생/소멸기작 규명 및 제어기술 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 해양 유해 미세조류 대발생(HABs)을 저감시키기 위해 첫째, 담수-기수-해수의 수권 통합적 환경요인이 HABs 발생기작에 미치는 영향을 파악하여 HABs 유도 핵심인자를 색출하고 효과적 제어방안을 도출한다. 둘째, 미세조류의 신규독소 검출 및 독소의 공간분포 특성을 파악하여 연안독화 확산정보를 제공하고, 셋째로 살조미생물을 활용한 HABs의 친환경적 제어기술 및 현장적용기술을 개발한다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

○ 물리, 화학, 생물학적 환경 노출이 유해 미세조류 성장과 사멸에 미치는 영향
-해수 수직구조 변화가 HABs 발달과 쇠퇴에 미치는 영향
-유해 미세조류 영양특성이 HABs 발달과 쇠퇴에 미치는 영향
-유해 미세조류 시스트 발아 및 생성이 HABs 발달과 쇠퇴에 미치는 영향
○ 연안 유해 미세조류 독성 검출 기술 증진
- HABs 유발 미세조류 분리 및 배양기술 향상
- 유해 미세조류 기인 생물독 및 신규독소 검출기술 향상
- 유해 미세조류 기인 생물독 시공간 분포지도 제작
○ 연안 해양유해 미세조류 제어 및 현장적용 기술 개발
-유해 미세조류 살조 미생물 분리 및 HABs 제어능 평가
-폐쇄효과 저감 모의생태계 설계 및 운용 개발
-자연생태계 모의 최적 인공생태계 위해성 평가기술 개발

Ⅳ. 연구개발결과

○ 2016년 과 2017년 한국 남해의 통영연안에서 *Cochlodinium polykrikoides*의 대량 증식 및 비생물학적 요인을 파악함.

○ 2016년 8월20일 *C. polykrikoides* 적조가 남해 고흥 나로도 인근해역에서 관찰됨. 2016년 예년보다 1개월 늦게 발생한 이유는 남해안에서 7월 강우에 의한 담수 유입으로 규조류의 극우점하는 환경이 1개월 지속된 것과 함께, 8월초 양쯔강 저염분수에 의한 고수온 환경이 적조 발생을 연장시키는 결정적 역할을 함: 수온은 지난 20년(1996-2015)보다 유의하게 2-3도 높았고, 염분은 2-3 psu 낮게 관찰됨.

○ 8월말 일본 큐슈남단으로 북상한 태풍 말라카스의 영향으로 *C. polykrikoides*의 개체수를 분산 및 소멸시켰으며, 초기 발생지역에서 자체 소멸되어 동쪽연안인 통영으로 확산되지 못함.

○ 이와 같은 환경요인의 복합적인 상호작용이 2016년 한국남해 연안수에서 *C. polykrikoides*의 적조가 발생하기 않게 하는 중요한 역할을 한 것으로 판단됨.
○ 2017년 7월 *Cochlodinium polykrikoides* 초기 개체수가 여수 돌산도 인근해역에서 출현하였고, 8월초에는 고흥-나로도 인근해역에서 30 cells mL^{-1}로 상대적으로 높은 밀도의 개체수를 유지하였지만, 적조형성은 관찰되지 않음.
○ 특이적으로, 2017년 7월 *Alexandrium affine*의 개체수가 높은 밀도로 출현한 것이 부정적인 영향을 미친 것으로 판단됨. *Alexandrium affine*개체수는 남해도- 여수- 고흥 인근해역에서 7월 중순부터 중층을 중심으로 고밀도로 관찰되었고, 8월 초 남해도 및 통영연안해역 전반에 걸쳐, 표층에서 적조를 형성함.
○ 2017년도에는 *Cochlodinium polykrikoides*개체수가 7월중순과 8월초 고흥 인근에서 일정하게 관찰되었음에도 불구하고, 같은 시기 *Alexandrium affine*의 대발생으로 종간 경쟁에서 밀려, 통영 및 남해안 전반에 걸쳐 확장할 수 없었든 가장 큰 이유로 판단됨. 2단계, 규조류, *Cochlodinium polykrikoides, Alexandrium affine*의 종간 경쟁관계에 관한 실험이 필요함.
○ 마비성패독(PSP)원인 종 *A. tamarense*을 대상으로 시스트 발아에서 수중 대발생을 거쳐 다시 시스트 형성으로 연계되는 일련의 전 과정을 추적하여 PSP 발생지 관리를 위한 과학적 정보를 제공함.
○ 해저에 분포하는 시스트는 6-10월까지 약 80 cysts g^{-1}의 개체수로 분포하였고 시스트의 발아는 수온이 15 ℃인 추계 11-12월에 80%의 높은 발아율을 보임. 추계 시스트 발아를 통해 방출되는 영양세포는 총 $9x10^7$ cells m^{-3} 규모로 계산됨. 이후 저수온기 동계에 낮은 밀도(ca. 10^4 cells m^{-3})의 영양세포가 수중에 분포함이 확인됨으로 시스트 발아에 의해 형성된 개체군은 0.01% 생존률을 보였음.
○ *A. tamarense* 개체군 성장률은 0.464 d^{-1}로 측정되었고, 생존 개체군에 성장률을 반영하여 계산하면 3 주후 4월 중순에 $8.5x10^6$ cells m^{-3}의 규모가 대발생 가능함. 그러나 현장 개체군은 예측보다 5배 높은 고밀도 $4.4x10^7$ cells m^{-3}의 춘계 대발생이 관찰되었고, 이는 거제 동부연안 *A. tamarense* 대발생은 개체군 자체 성장만으로 어려우며 타 요인 즉, 해류에 의한 물리적 집적이 중요하게 작용함.
○ *A. tamarense* 대발생 이후 쇠퇴기에 시스트 형성이 집중되었고 최대 약 $8x10^4$ cysts m^{-2} d^{-1} 형성량이 측정됨. 춘계 3-6월(85일)에 걸쳐 수중영양세포의 0.046 %가 시스트로 전환되었으며, 해저에 침적된 시스트는 약 6개월의 휴면기를 거쳐 다시 추계에 발아하는 계절적 생활사 전략을 보였음.
○ *A. tamarense* 유영세포의 PSP독소 및 이매패류의 축적 PSP독소를 정량 분석한 결과, 유영세포의 독소 종류가 이매패류의 체내독소와 달랐고, 이는 이매패류의 농축과정에서 독소 생성 기작이 다를 가능성 제시함, 2단계에서 이를 구체적으로 밝힐 필요성이 대두

Ⅴ. 연구개발결과의 활용계획
○ HABs 대발생기작 규명을 통하여 수산업 피해를 최소화 할 수 있는 관리방안제시
○ 육상 기원에 따른 환경 요인의 허용 가능한 배출기준에 기반한 HABs 완화를 위한 점오염원의 효과적인 관리방안 수립
○ 살조미생물을 이용한 연안 양식장의 HABs에 의한 피해완화 방안 수립
○ HABs 시스트 분리 및 생시료 보존 통한 미세조류 종자보존은행 시스템 지원 및 종자관리
○ 생태계 위해성 평가뿐만 아니라, 현장교육과 같은 실험 생태계의 다목적 기능으로의 적용

편집순서 5

S U M M A R Y

Ⅰ. Title

Study on the outbreak/ extinction mechanisms of marine harmful microalgal blooms and technology development for their control

Ⅱ. Purpose and necessity of R & D

For the purpose of mitigating marine harmful algal blooms(HABs), the effects of environmental factors integrated from freshwater and estuarine as well as marine habitats are investigated at first and then target factors are selected for establishing a best practice management of HABs mitigation. Second, HABs' biotoxins are monitored and then new ones are detected for providing geological information about coastal toxification. Third, HABs' control techniques are developed using algicidal microorganisms and then assessed for ensuring the safety of field application.

Ⅲ. Contents and scope of R & D

○ Effects of physical, chemical, and biological environments on harmful algal growth and decline

- Effect of vertical structure of sea water on HABs' development and decline
- Effect of nutritional characteristics on HABs' development and decline
- Effect of cyst flux on HABs' development and decline

○ Technical enhancement of HABs' biotoxin detection

- Up-grading harmful algal isolation and culture techniques
- Up-grading detection techniques of HABs' biotoxins and new toxins
- Geological mapping HABs' biotoxins

○ Technical development for HABs's best management and field application

- Isolating algicidal microorganism from HABs and assessing harmful algal killing effect
- Developing techniques of experimental ecosystem structure and operation
- Developing natural ecosystem closed and best managed mesocosms

Ⅳ. Result of R & D

○ Confirm the non-biological and biological factors concerned with *Cochlodinium polykrikoides* bloom in the Tongyoung coastal area of the South Sea in 2016 and 2017

○ In 2016, the occurrence of *Cochlodinium* blooms was delayed. First of the reason is that diatoms dominate due to inflow of fresh water from the southern coastal rainfall in July. The second of reason is high temperature environment due to the low salinity water of Yangtze River in early August. These two reason are crucial factor to explain the delayed blooms.

○ At the end of August, *C. polykrikoides* was dispersed and extinct due to the influence of Typhoon Malacus, which moved to the southern of Kyushu, Japan, and it disappeared in the early occurrence area and could not spread to Tongyeong coastal area.
○ The complex interaction of these environmental factors played an important role in preventing the red tide of *C. polykrikoides* from the coastal waters of the South Sea of Korea in 2016.
○ In July 2017, the early populations of *C. polykrikoides* appeared near Yeosu-Dolsando coastal area. High density populations of more than 30 cell ml^{-1} were found near Goheung-Narodo area at the beginning of August.

○ Specifically, the *Alexandrium affine* population was maintained at a high density in the middle layer from mid July, and red tide was occurred in the Tongyeong coastal area in early August. *A. affine* may have negatively affected the growth of *C. polykrikoides* in interspecific competition.
○ *Cochlodinium polykrikoides* was constantly low in the vicinity of Goheung in the middle of July and early August of 2017 and did not kept the red tide. *Cochlodinium polykrikoides* may have not extended due to dominance of *Alexandrium affine.* However, some experimental approach on interspecific competition of diatoms, *Cochlodinium polykrikoides* and *Alexandrium affine* are required in the next year.
○ Providing scientific information for PSP source management by tracing a whole series of processes of *A. tamarense* that is the causative species of PSP associated with cysts germination ability in the sediment and blooms of the vegetative cell abundance and encystment in the water column.
○ The temporal change of cyst abundance showed a clear seasonality. The higher abundance of ca. 80 cells L^{-1} was sustained from June to October. Active germination (ca. 80 %) of the cyst occurred in autumn (Nov. to Dec.). The possible mass of recruitment cells of $9x10^{7}$ cells m^{-3} by cyst germination was estimated. *In situ* winter population in lower density (10^{4} cells m^{-3}) was detected. The survival ratio of recruitment cells was 0.01%. The overwintered population triggered the spring bloom.
○ Considering the growth rate of 0.464 d^{-1} measured using the population, the potential mass of spring bloom in the mid April after three weeks is estimated to $8.5x10^{6}$ cells m^{-3}. However, the five time higher mass of $4.4x10^{7}$ cells m^{-3} was found in situ bloom in the mid April.
○ This result implies that it is difficult to generate the spring bloom in situ by growth itself. Physical aggregation by water current should be considered as a critical factor to understand the bloom mechanisms. Decline of the spring bloom was followed by the massive excystment and the increase of predator abundance and feeding activity. 0.046 % of vegetative cell abundances for 85 days in spring were transformed to the encysted cells. Newly encysted cells aestivated during warm summer for next resurrection.
○ Quantitative analysis of PSP toxin in *A. tamarense* cell showed that the cellular toxin of *A. tamarense* was different from toxin component of bivalves, implying that algal toxins do not directly affect the filter-feeders bivalves.

편집순서 6

Contents

Chapter 1. Introduction

1. The aim, necessity, and range of the research project

2. Important and concept of the research project

Chapter Ⅱ. The state-of-art of technical development

1. The-state-of-art of technical development in domestic and abroad region

a. domestic and abroad region of Research and Development

1) Studies on physiological and ecological characteristics of harmful microalgae

2) Control of harmful microalgae and application technology

b. Foreign Research Status of Research and Development

1) Studies on physiological and ecological characteristics of harmful microalgae

c. Contents and results of previous research

1) Effects of biological, physical, and chemical environments on the growth and extinction of harmful microalgae.

2) Development of microbial toxicity detection technology for marine harmful microalgae

3) Technical development for HABs's best management and field application

Chapter Ⅲ. Research and development contents and results.

1. Research and Development Promotion System

2. Field investigation information

a. Field survey period

b. Field survey area & date

1) Study on the mechanism of red tide outbreak and disappearance of *Cochlodinium*

2) Studies on organisms causing paralytic shellfish poison (PSP) and cysts

3) Detection of Toxin from paralytic shellfish poison (PSP)

3. Results of Research and Development

a. Study on the mechanism of red tide outbreak and disappearance of *Cochlodinium*

1) Introduction

2) Methods & materials

3) Result & discussion

4) Summary

b. Study on the bloom mechanism and life cycle of toxic microalgae *Alexandrium tamarense*

1) Introduction

2) Methods & materials

3) Result & discussion

4) Conclusion

c. Analysis of paralytic shellfish toxicity in both bivalves(mussel) and *Alexandrium*

1) Introduction

2) Methods & materials

3) Result & discussion

4) Conclusion

Chapter Ⅳ. Goal achievement and level of contribution to related disciplines

Chapter Ⅴ. Outcome and plan of utilization

1. Utilization of research and development results

2. Expected effect of research and development results

a. Technical aspects

b. Economic and industrial aspects

Chapter Ⅵ. International science/technology information concerning this research project

Chapter Ⅶ. Reference

편집순서 7

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요
1 절 연구개발의 개요
2 절 연구개발의 중요성

제 2 장 국내외 기술개발 현황
1 절 연구개발 대상의 국내·외 연구현황
1. 국내 연구현황
가. 유해 미세조류 생리생태특성연구현황
나. 유해 미세조류 제어 및 현장적용기술
2. 국외 연구 현황
가. 유해 미세조류 생리생태특성연구현황
3. 선행연구의 내용 및 결과
가. 생물, 물리, 화학적 환경이 유해 미세조류 성장과 소멸에 미치는 영향
나. 해양 유해 미세조류 독성 검출 기술개발
다. 해양 유해 미세조류 제어 및 현장 적용성 평가

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
1 절 연구개발 추진체계
2 절 1단계 조사정보
1. 조사기간
2. 조사해역 및 조사일
가. 코클로디늄의 적조생물 발생기작 및 소멸 연구
나. 마비성패독(PSP)의 독소생성원인생물 및 휴면포자 연구
다. 마비성패독(PSP)의 독소검출
3 절 연구개발수행 결과
1. 코클로디늄의 적조생물 발생기작 및 소멸 연구
가. 연구개요
나. 재료 및 방법
다. 연구결과 및 토의
라. 결과요약

2. 패독 원인 유해미세조류 *Alexandrium tamarense*의 시스트 기반 대발생 기작의 규명
가. 연구개요
나. 재료 및 방법
다. 연구결과 및 토의
라. 결론
3. 홍합 및 플랑크톤 시료의 마비성패독 독성세기와 독성분 분석
가. 연구개요
나. 재료 및 방법
다. 연구결과 및 토의

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획
1 절 연구개발 결과의 활용방안
2 절 연구개발 결과의 기대효과
1. 기술적 측면
2. 경제적 산업적 측면

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

제 1 장. 연구개발과제의 개요

1절. 연구개발의 개요

○ 본 연구 목표는 국내외적으로 심각한 환경문제로 대두되는 해양유해 미세조류의 피해를 최소화하기 위해 유해조류 대발생 및 소멸기작을 규명하여, 이들 기작에 근거한 새로운 BT, NT, ET 기술을 접목시켜 유해 미세조류를 제어하는 원천기술을 개발하고자 한다.

○ 구체적으로 해양에서 대발생하는 유해 미세조류의 환경인자를 추적하기 위하여, 본 연구에서는 **1) 담수-기수-해수의 통합적인 평가를 통한 미세조류 발생/소멸 기작 규명, 2) 유해 미세조류 대발생(HABs: Harmful Algal Blooms) 유도 핵심 환경압력인자를 색출하고 압력 저감을 위한 관리방안 제시, 3)독소생성 미세조류의 신규독소 검출 및 독소의 공간적 분포특성, 4). 미생물 및 미생물기인 합성물질 기반으로 유해 미세조류를 제어할 수 있는 평가 체계 구축 및 현장 적용성 평가**를 수행하여 최종적으로 친환경적 유해 미세조류 제어기술을 구축하고자 한다.

2절. 연구개발의 중요성

○ 우리나라에서는 유해 미세조류의 대발생(HABs)에 의하여 매년 큰 경제적 피해를 입고 있고, 해양에서 HABs은 하천과 육지에서 흘러나오는 과다한 오염물질, 즉 생물에 필요한 영양분이 연안 및 호소에 크게 늘어나면서 일어나는 것으로 알려져 왔다.

○ 우리나라에서도 이에 대응하기 위해서 HAB 예상 지역에서는 하수종말처리 기능을 강화하여 부영양화 현상을 줄이고, 어장환경을 개선하고, 어장의 과학적 이용관리를 지속적으로 추진하고 있는 실정이다.

○ 그럼에도 불구하고 HABs에 의한 수산피해가 매년 빈번하게 발생되고 있어, 이를 해결하기 위한 적절한 대책이 강구되어야 함. 따라서 해양에서 HABs 발생 기각과 소멸특성을 규명하고, 이에 기초한 예방법이나 해결책을 마련할 수 있는 새로운 접근의 연구가 필요하다.

○ 유해 미세조류 제어를 위해 지금까지 알려진 기술들로는 화학약품 살포법, 초음파 및 오존처리법, 해면회수 및 침강법, 황토살포법, 물리적 처리법 등이 있으나 경제성, 환경오염, 다른 생물에 대한 독성, 낮은 효율성 등의 문제로 인해 현장적용이 어려워, 환경에 무해하고 효율성이 높은 현장적용 가능한 기술개발이 필요하다.

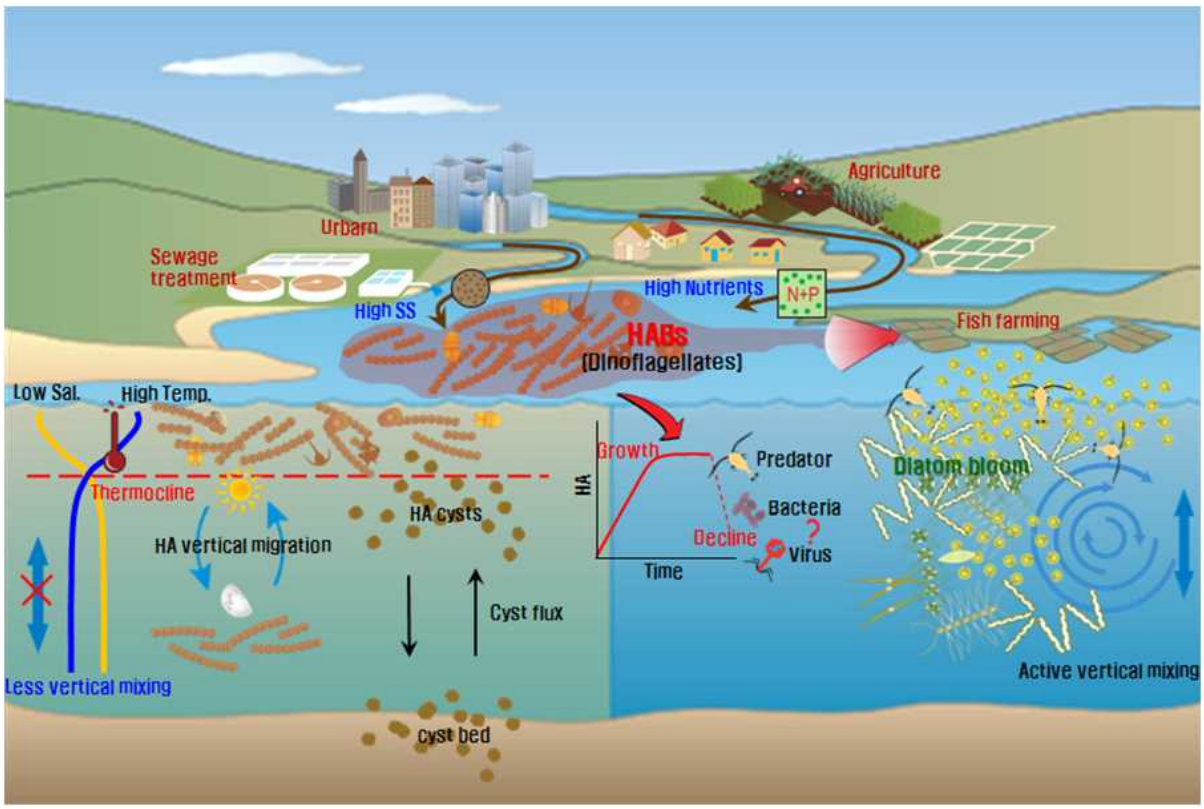


그림 1. 유해 미세조류 발생 개념도

○ 우리나라의 HABs (*Cochlodinium*) 발생양상은 크게 3가지로 구분할 수 있고, 첫 번째 해류에 의한 외부 유입과, 두 번째 시스트발아, 세 번째로 국부적인 시스트발아와 함께 외부에 유입되는 개체군이 합류하여 남해역에서 동해역으로 또는 전국으로 확산되는 가설이 있다 (그림 2).

a. 해류 유입설

*Cochlodinium polykrikoides*은 아열대 종으로 높은 수온에서 대증식을 하는 경향이 강함. 따라서 아열대 해역인 필리핀, 대만, 일본 오키나와 등에서 1차 증식 후 쿠로시우해류와 대만 난류를 통하여 우리나라 남해안 나로도 인근해역에 6-7월에 집적한다(Park 2013; Lee 2013)(그림 4).

b. 시스트(cyst) 발아설

○ 우리나라에서 적조를 유발하는 *Cochlodinium*은 그들의 생활사 중 시스트를 형성하는 보고가 있다(Li 2014).

○ 일반적으로 와편모조류는 동계 저수온의 극한 환경에서 수주내 유영세포로 존재할 수 없어 시스트를 형성한다. 이들 시스트는 저층으로 침강하고, 이듬해 봄, 또는 호조건의 환경하

에서 발아하여 수주내 유영세포로 가입된다.

○ 즉 시스트는 HABs생물의 초기 씨앗종(seed population)으로 중요한 역할을 하며, 시스트의 분포량에 따라서 매번 같은 해역에서 같은 시기에 대발생할 수 있는 잠재력을 지닌다. 따라서 이들 가설을 명확하게 하기 위해서 휴면포자에 의한 잠재적 가입을 알 수 있는 **"시스트의 분포특성 및 발아능"**을 명확하게 규명하는 연구가 중요하다

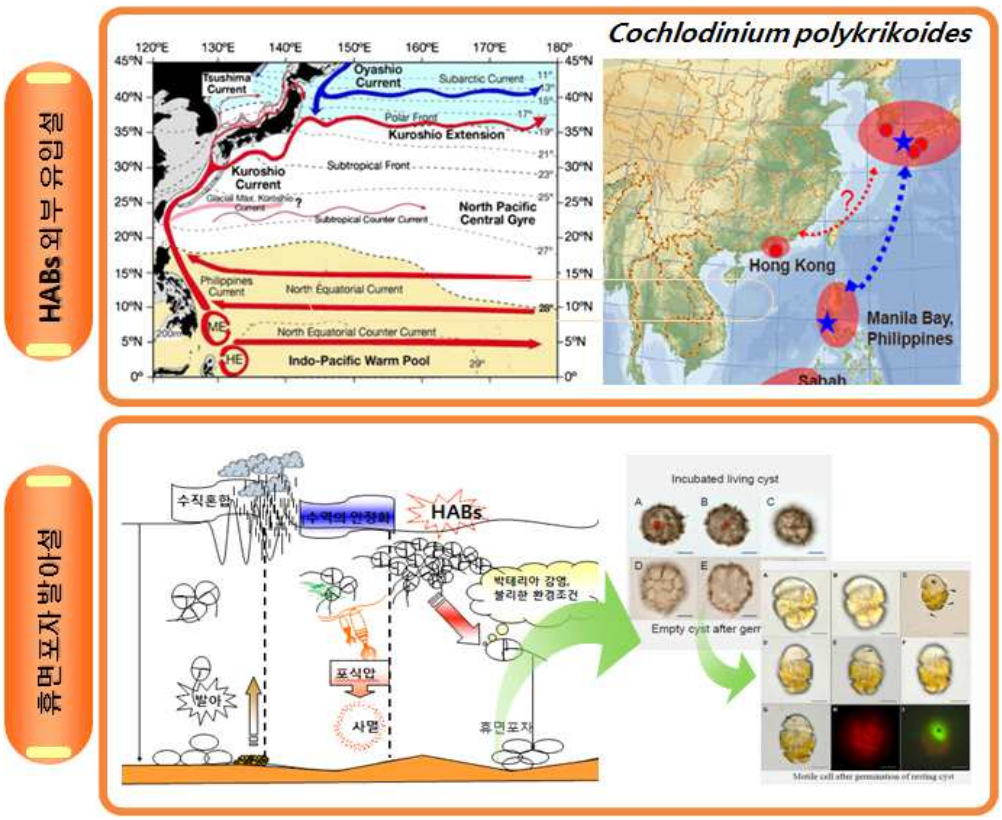


그림 2. 우리나라에서 HABs 생물 Cochlodinium 종의 초기 개체군 가입 개념도

○ 우리나라에서 *Cochlodinium* 발생은 전남 고흥 나로도에 집적된 후 해류를 따라 이동 및 번식하여, 경남 통영인근해역으로 확산되어 수산피해를 입히고 있다.

○ 특히, *Cochlodinium*의 확산과정에서 해류와 바람에 의한 Langmuir 순환으로 생물 집적과 분산을 반복하면서(Park 2005; Lee 2013), 남해안, 동해안으로 확장됨(Ahn 2006; Choi 2014; 그림 3). 따라서 이들 생물이 통영주변해역에 유입되고 난 후 폭발적으로 증식하는 발생 및 소멸기작을 명확하게 밝힐 수 있는 연구가 필요하다.

○ 미국 FDA는 수산물의 biotoxin을 분석하여 수산물 채취금지 등의 관리방안을 제시하고 있고, 특히 미국의 NOAA에서는 유독 미세조류의 biotoxin에 기반하여 다양한 연구를 수행해오고 있으며, 이를 통하여 안전한 수산물 관리뿐만 아니라 대형 해양포유류의 폐사와 연결시켜 연구를 진행하고 있다.

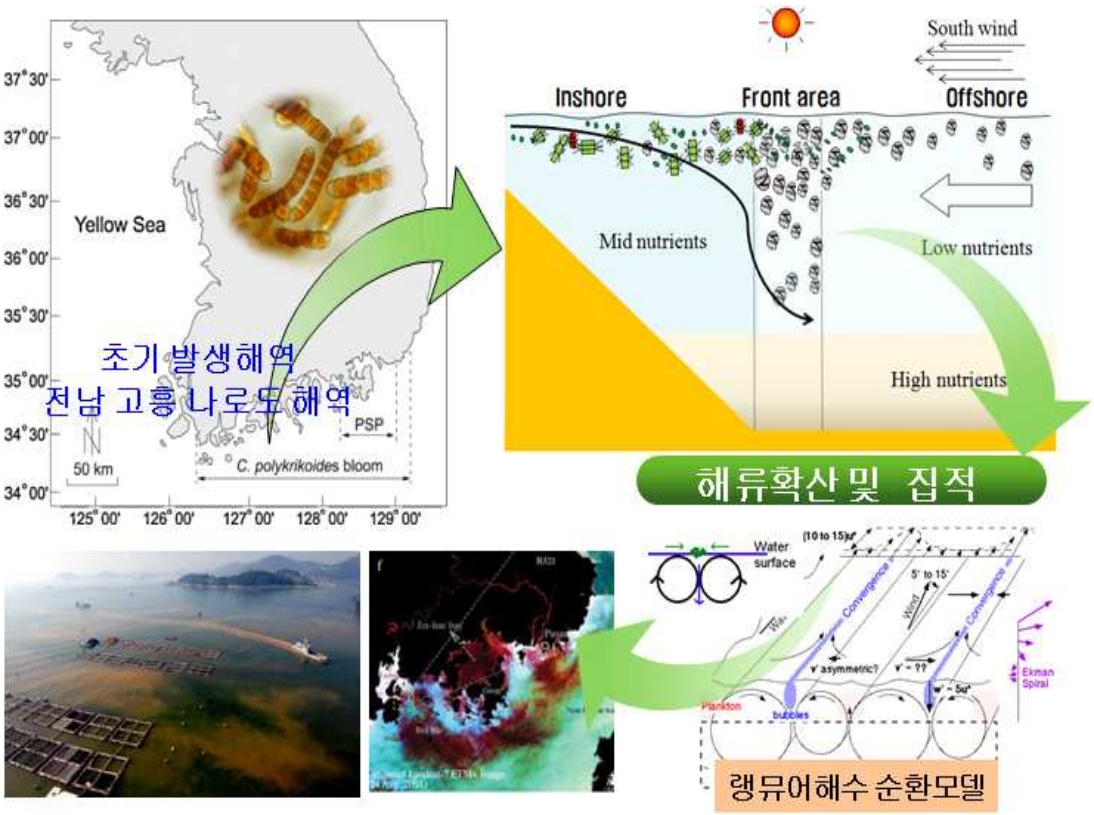


그림 3. *Cochlodinium* 초기 발생 해역 및 해류흐름에 따른 집적 및 확산 개념도

○ 국내에서 biotoxin오염에 따른 수산물의 위생관리와 채취 금지 관련 업무는 국립수산과학원에서 수행하고 있으나, 해양환경 및 해양생물의 생리와 관련된 biotoxin의 연구는 거의 수행되고 있지 않고 있다.

○ 우리나라도 매년 마비성패독(PSP toxin: Paralytic shellfish poisoning)에 의하여 진해만, 통영, 거제 등에서 3월에서 5월사이의 일정기간 패류의 채취가 금지되고 있으나, PSP기원의 독소 분석은 거의 수행되고 있지 않은 실정이다(Park 2013).

○ 따라서 3월-5월에 걸쳐 만성적으로 PSP독소를 생성하는 통역-거제-서부산해역에서 자연생물 독소를 분석하고, 원인 생물인 *Alexandrium tamarense*을 단일 분리배양하여 환경요인에 따른 독소 생성양상을 평가하는 연구가 필요하다.

○ 지금까지 수행한 연구를 바탕으로 유해 미세조류 대발생기작에 관한 여러 가지의 의문점을 가지고, 이들 의문점을 풀 수 있는 연구내용의 필요성을 요약 정리할 수 있다.

- 지금까지의 사업은 일정기간에 성과를 도출할 수 있도록 단기계획으로 특정 정점에서 모니터링하여 HABs 발생 경향을 추적한 경향이 큼. HABs 종이 특정유역에서 발생하기 위해서는 좋은 환경조건의 형성이 중요함으로 물리적 해수유동을 포함한 해양의 수평/수직적 구조와 같은 체계적인 기초 조사가 장기적으로 수행되어야 한다.

그림 4. *Alexandrium* 발생 해역 및 PSP패류독소 경계해역

- HABs 생물이 증식하기 좋은 환경조건이 조성되어도 HABs생물 개체수가 수주내(water column) 일정하게 가입(휴면포자발아설&외부유입설)되지 않으면, 대발생할 수 없음. 따라서 해역별휴면 포자의 분포양상과 어떤 조건에서 최적으로 발아하여 수주내 공급되는지? 아니면 외부에서 유입되는지? 구체적으로 밝혀야 한다.

- HABs의 초기 발생은 전남 고흥군 나로도 인근해역에서 집적되어 이동 및 확산되는 것으로 알려져 있으나(Lee , 2013; Park , 2013), 이러한 결과를 뒷받침할 수 있는 과학적 관측자료 및 분석이 명확하게 제시되지 않고 있다. 따라서 HABs생물이 초기 발생해역으로부터 타 해역으로 이동 및 확산되는지? 아니면 동시 다발적으로 휴면포자(시스트) 발아로 인하여 통영 주변의 특정해역에서 대발생하는지? 등을 구체적으로 파악하는 것이 필요하다.

- 우리나라에서 발생하는 *Cochlodinium* 종은 고온, 고염분, 저영양염 농도에서 성장하고 있고, 특히, 경쟁대상생물인 규조류가 수계내 존재하지 않을 때 빠르게 증식 및 확산하는 경향이 강함(Lim 2014). 왜 이렇게 낮은 영양염조건에서 발생할 수 있는지? 이를 풀기 위해서는 *Cochlodinium* 의 주야수직이동능(Diel vertical migration), 광합성과 먹이생물을 포식하는 혼합영양성, 수괴의 안정도와 생물 종간 경쟁관계, 영양염의 반포화계수(*Ks*), 등의 연구항목을 종합적으로 평가하여야 한다. 상기 언급한 내용에 관해서 많은 연구가 수행되어왔지만, 어떠한 발생기작으로 그렇게 짧은 기간에 폭발적인 개체수 증식이 일어나는지를 명확하게 규명한 사례는 없다. 즉, 급속한 증식 및 대발생을 일으키는 방아쇠(triggering)역할을

하는 환경 및 생물인자의 추적이 필요하다.

- HABs 생물 발생 후 소멸까지의 미생물(박테리아 포식, 바이러스 감염)의 생태학적 특성을 파악하는 것이 필요하다.

- 우리나라는 4대강 사업을 수행하여, 하천 및 하구의 체류시간이 길어져, 녹조류의 대발생이 빈번하게 관찰되고, 해양에서는 하천으로부터 담수의 공급이 줄어 유영능력이 있는 와편모조류의 대발생이 관찰된다. 이들 HABs 종은 해양에서 표층주변 빈영양화된 수환경 조건에서도 주야 수직으로 이동할 수 있는 능력이 있어, 효율적인 영양염 섭취가 가능하여 대증식하는 경향이 강하다. 반면, 자연하구에서는 조석간만의 차이에 의한 역동적으로 변화되는 염분구배로 인하여 특정 종이 대발생할 수 있는 기회가 줄어들고, 하구의 물리적 혼합에 의하여 표층주변의 생물집적이 어렵게 된다. 예시로, 광양만의 사례를 들 수 있다. 남해에 위치한 광양만은 자연하구형인 섬진강이 위치하고 있고, 본 해역에서는 조석간만의 차이로 수층의 혼합이 강하게 일어나 부유물질(SS)이 수주내 높게 존재할 뿐만 아니라 생물집적이 원활하지 않아 HABs가 일어나지 않는 대표적인 유역이다. 이와 같이 자연하구형과 같이 저층의 퇴적물이 재부유되어 유광층의 광투과율이 현저히 낮아 광합성을 하는 유해 미세조류의 폭발적인 성장을 할 수 없게 유도하는 것 또한 사전 예방법으로 중요할 수 있음. 이와 같은 맥락에서 만약 황토 살포시 황토의 분말을 아주 극미세하게 조성하여 입자의 부유 확률을 높이면, 해역의 광투과도를 현저하게 떨어뜨려 HABs의 발생을 줄일 수 있을 것이다. 하지만 이보다 황토에 포함된 미량금속이 *Cochlodinium*의 성장 촉진제 역할을 할 수 있기 때문에 황토살포를 줄이는 방법을 강구해야한다. 따라서 친환경적 물질 및 살조미생물의 개발로 HABs를 제어하고 생태계 위해성을 평가하는 작업이 중요하다.

○ 따라서 본 연구에서는 상기에서 언급한 의문을 풀 수 있는 연구 주제로 유해 미세조류의 대발생기작과 소멸에 미치는 특성을 규명할 것이다. 아울러 기존의 주요 제어기법에 대한 문제점을 개선하기 위해 유해 미세조류 대발생에 대한 이해를 바탕으로 다양한 학문분야의 융합연구를 통해 보다 선택적이고 효율적으로 목표 유해 미세조류를 제거할 수 있는 환경, 생태 친화적인 물질 및 기술을 개발하여 국가현안 문제로 부각되고 있는 HABs의 피해를 최소화하고자 한다.

제 2 장. 국내외 기술개발 현황

1절. 연구개발 대상의 국내·외 연구현황

1. 국내 연구현황

가. 유해 미세조류 생리생태특성연구현황

○ 국내학술지에 게재된 HABs논문을 주제별로 나누어보면, 발생기작(Mechanism)에 대한 논문이 가장 많은 30%를 점유하며, 적조제어(Management)와 생리적 특성연구(Physiology)가 각각 27%로 동일한 수준이었으며, 적조생물과 연관생물 간의 상호작용(interactions)연구는 12%로 비교적 낮은 비율로 나타난다(Page 7 그림참조).

○ 독성 (toxicity)에 대한 논문은 현저히 적은 4%로 나타났고, 특히 최근에는 독성에 관한 논문이 거의 출판되고 있지 않은 실정이다.

○ 국내 해양에서 HABs의 연구는 “서울대학교 미세조류 연구팀”에서 먹이생물의 섭식 특성 및 신규 유해 미세조류 분류등의 연구가 활발하게 진행되고 있다,

○ “한양대학교 물환경생태팀”에서 유해 미세조류의 생태학적 관점에서 연구를 진행하고 있음. 국립수산과학원에서는 HABs의 피해를 최소화하기 위해서 6월-9월 사이 남해안 연안 일대해역에서 매년 정밀 모니터링을 실시하고 있으며, 실시간 적조에 대한 정보를 어민, 정부관계자, 관련 연구자에게 웹 정보 서비스 형태 “ 홈페이지 및 스마톤폰 웹 정보”로 공유하고 있다.

○ 코클로디늄(*Cochlodinium*) 적조에 의한 수산피해를 최소화하고자하는 대응전략으로 국립수산과학원에서는 다음과 같이 단계적인 행동강령의 정보를 제공하고 있다.

적조관심: 해역에 10 cells mL^{-1}의 코클로디늄 발생할 경우; **적조주의보**(반경 2-5 km또는 12-79 km^2 수역에 걸쳐 발생하고 어업피해의 위협이 있을 때; 100 cells mL^{-1}), **적조경보** : 반경 5 km 또는79 km^2이상의 해역에 걸쳐 적조가 발생하여 상당한 어업피해가 발생했을 때 (1000 cells mL^{-1}), **적조속보**(어업피해방지에 관한 조치가 요구될 때), **적조해제** (적조가 소멸되어 어업피해 위험이 없고, 수질이 정상상태로 회복되었을 때) 등의 행동강령의 체계가 잘 정립되어 있으나, 예보 및 예측보다 적조의 확산속도가 더 빠르기 때문에 어민들이 대처할 수 있는 시간적 여유가 없어 수산피해를 매년 반복적으로 일어나고 있는 실정이다.

나. 유해 미세조류 제어 및 현장적용기술

○ 해양유해 미세조류의 구제방법으로는 다음과 같이 정리할 수 있다. **화학약품살포법**: 황산동 및 유기화합물을 이용한 적조생물 치사 및 파괴; **초음파처리법**: 초음파(160-4000KHz)를 이용한 생물파괴; **전기분해법**: 차아염소산나트륨물질 이용; **오존처리법**: 오존을 이용한 독성중화 작용에 의한 생물분쇄 및 멸균; **계면여과 침강법**: 계면활성제 및 응집제를 이용한 생물 여과 및 응집원리; **점토 및 황토 살포법**: 황토 및 활성점토를 이용한 생물흡착 및 치사; **생물학적 제어방법**(Biological control): 천적생물 및 살조세균을 이용한 제어 등 다양한 연구가 진행되어 왔다(표 1).

○ 상기와 같이 다양한 연구가 수행되어 왔으나, 대부분의 물질 및 장비가 현장적용에 적합하지 않고 경제성이 낮기 때문에 아직까지 황토만 사용하고 있다.

○ 또한 살조 물질 승인에 대한 해양수산부 고시(적조구제물질 및 장비 사용승인에 관한 고시)가 너무 방대하고 어려워 고시 시행 10여년이 경과되었지만, 고시 사용 승인물질은 1건도 없다. 또한 많은 HABs 제어에 관한 장비, 살조물질, 미생물 등 다양한 특허는 등록되어 있으나, 현장 살포할 수 있는 사용승인까지는 이루어지고 않고 있는 실정이다. 예외로 황토살포는 고시승인이 없이 지방자치단체에서 수산피해를 줄이기 위해 매년 수행하고 있다.

○ HABs 제어물질에 대한 생태계 위해성 평가 및 현장 적용성 평가에 관한 연구는 한국해양과학기술원 남해연구소에서 선도적으로 수행하고 있다.

표 1. 해양에서 유해 미세조류 방제 및 구제방법 및 문제점

기술	특징	문제점
화학약품 살포법	황산동 및 유기화합물을 이용한 적조생물 치사 및 파괴	지속성이 없고 비경제적
초음파처리법	초음파(160-4000KHz)를 이용한 생물파괴	국부적으로 사용함
전기분해법	차아염소산나트륨물질 이용	해양환경위해성이 큼
오존처리법	오존을 이용한 독성중화 작용에 의한 생물분쇄 및 멸균	해수의 산소량 과다 증가로 생태계 악영향
계면여과 침강법	계면활성제 및 응집제를 이용한 생물 여과 및 응집원리	국부적 활용가능
점토 및 황토 살포법	황토 및 활성점토를 이용한 생물흡착 및 치사	낮은 효율과 황토침전에 따른 악영향
생물학적 제어방법	천적생물 및 살조세균을 이용한 제어	기술적 한계의 극복이 관건

2. 국외 연구 현황

국외 기술 수준 및 시장 현황	
○ 기 술 현 황	• 해양에서 HABs를 제어하기 위한 국외사례는 실험실 규모에서 활발하게 진행되지만 현장적용은 미미한 수준임. • 중동에서 해수담수화사업에서 *Cochlodinium*의을 제거하기 위하여 황토살포를 검토하고 있는 상황임. • 현장에서 HABs 방제를 위한 물질 살포는 수행하지 않음, 단 일본에서는 어민주도하 황토를 어장주변에서 국부적으로 살포함.
○ 시 장 현 황	• 일본: 양식수산생물의 피해가 크므로 HABs 연구가 활발함 • 유럽국가: HABs생물의 생리연구 및 독소에 관한 연구가 많음. • 중동국가: *Cochlodinium* 대발생에 의한 해수 담수화장비의 필터 막힘현상의 패해가 많고 이에대한 제어방안을 모색함. • 미국: NOAA를 중심으로 HABs 생물의 PSP 및 ASP 독소 연구에 집중되어 있고, HABs생물의 생리생태적인 연구뿐만 아니라 종합적인 연구를 수행함.
○ 경 쟁 기 관 현 황	• 세토내해수산연구소, JMESTIC, NOAA, 스크립스, 스미소니안 연구소, 중국 해양 제1, 2연구소

가. 유해 미세조류 생리생태특성연구현황

○ 1986~2015년까지 최근 30년의 HABs에 관한 연구논문 동향을 살펴보면, 1997년부터 점차적으로 증가하고 있다(그림 5).

○ 1997년 이전에도 HABs의 연구가 활발히 진행되었으나, 대부분의 연구는 HABs의 키워드가 아닌 “적조:red tide”로 수행되었다. 특히, 1997년 ICHA의 국제 미팅 후, 독성을 생성하는 미세조류는 낮은 개체수 밀도에도 인간에게 치명적인 손상을 줄 수 있어, “적조“라는 용어가 아닌, “유해 미세조류 대발생 Harmful Algal Blooms”로 통합적으로 사용하고 있고, 국제적으로 HABs로 보편화되고 있는 실정이다.

○ ICHA에서는 2002년 “Harmful Algae“라는 Journal을 출판하게 되었고, 현재는 “Marine and Freshwater Biology“ 분야에서 102개의 저널 중 3위에 속하며, 상위 10%의 저널로 인정받을 만큼 HABs에 대한 인식이 제고되고 있다.

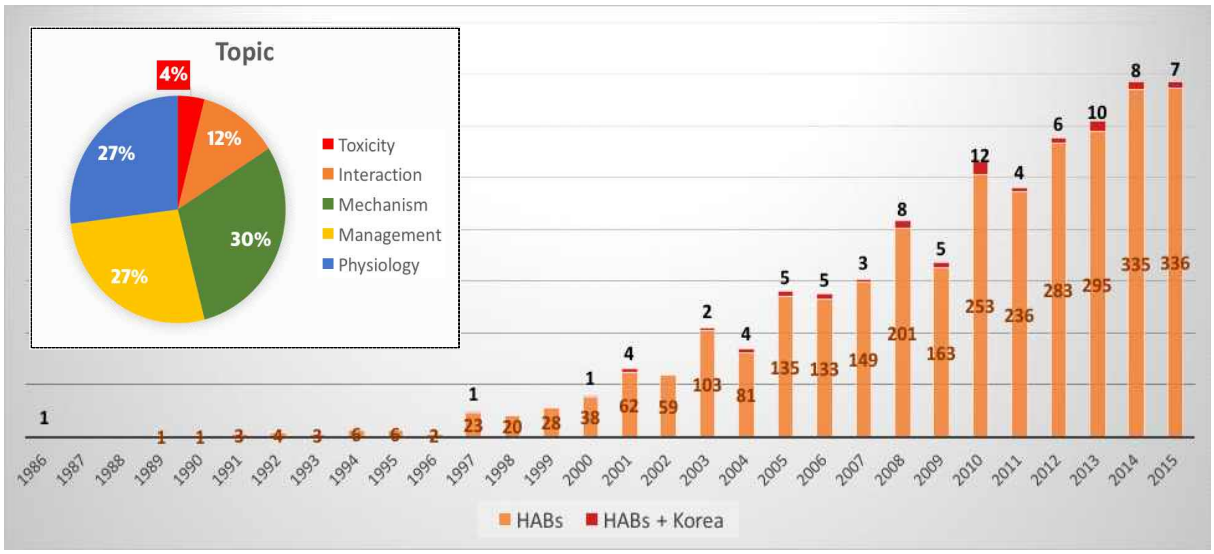


그림 5. 국내 HABs 주제별 연구동향; Scopus 검색에서 국제 및 국내 HABs 논문 편수

○ 우리나라에서 문제를 야기하는 유해 미세조류는 4종(와편모조류: *Cochlodinium polykrikoides, Alexandrium tamarense, Heterosigma akasiwo, Chattonella marina*)으로 압축할 수 있고, 그 중 심각한 국가현안문제로 고려되는 생물은 2종(어류대량폐사원인종; ***Cochlodinium polykrikoides***, 독소 생성종 ***Alexandrium tamarense***)으로 압축하여 국제동향을 파악하였다(그림 6).

○ SCOPUS 검색 엔진에서 "*Cochlodinium*" 과 "*Alexandrium*" 의 검색어를 넣고 과거 30년의 연구동향을 파악한 결과, 연도별 차이는 있으나, 독성을 가진 *Alexandrium*의 연구가 독을 생성하지 않는 *Cochlodinium* 연구보다 10배정도 많은 것을 알 수 있음. 이는 우리나라에서 만성적으로 문제시 되는 "*Cochlodinium*" 연구 보다는 독성을 가진 "*Alexandrium*" 의 연구가 세계적으로 이슈화되고 있다는 것을 의미한다.

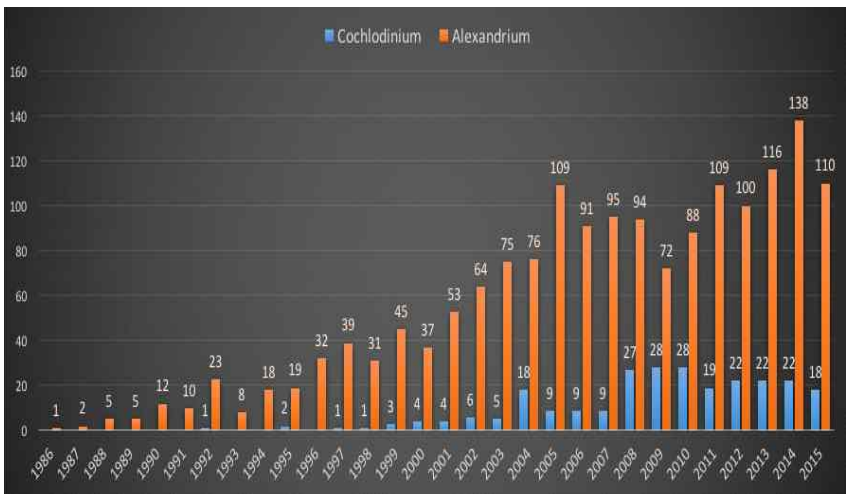
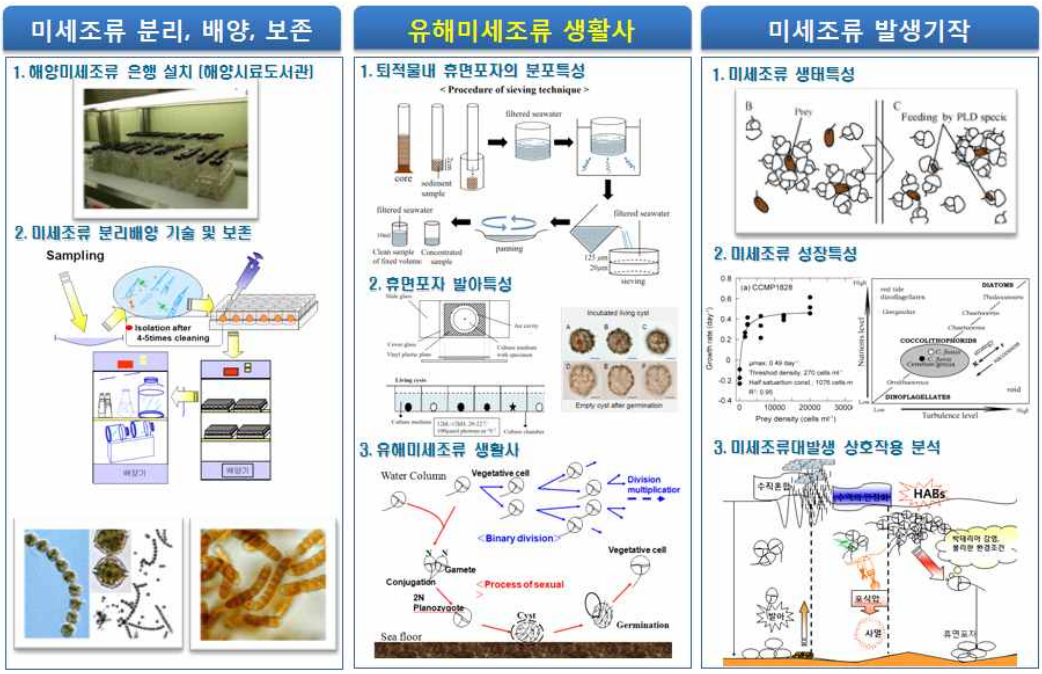


그림 6. Scopus 검색에서 연구대상 HABs 선정종 *Cochlodinium*과 *Alexandrium*의 연도별 논문출판 동향

3. 선행연구의 내용 및 결과

가. 생물, 물리, 화학적 환경이 유해 미세조류 성장과 소멸에 미치는 영향



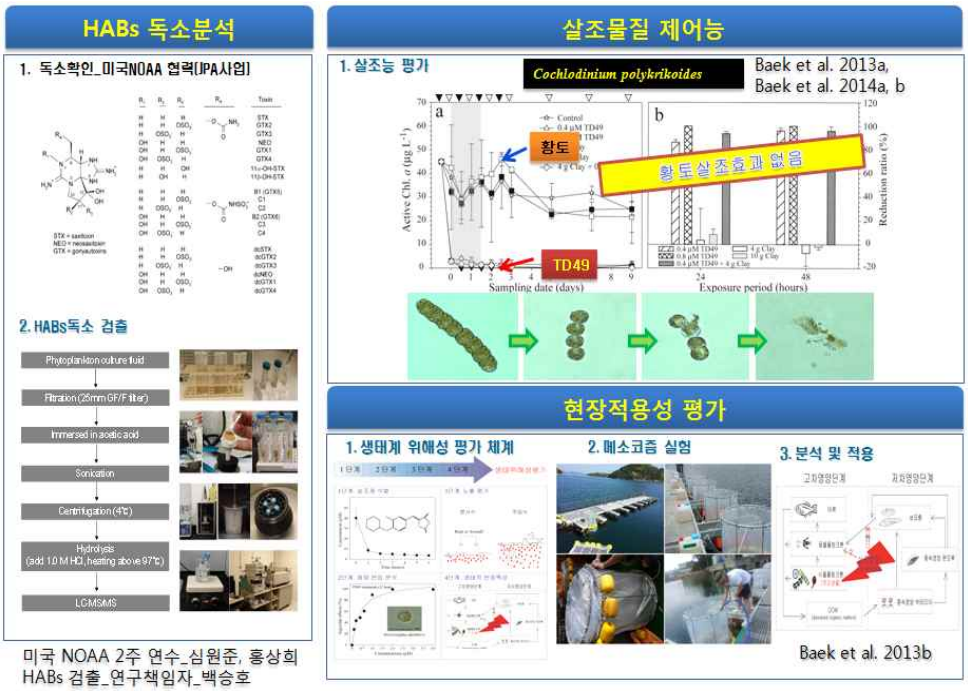
○ 해양 HABs중 배양이 극히 어려운 종 *Ceratium furca*와 *C. fusus*를 분리 배양하는데 성공하여, 다양생리생태학적 실험을 수행함. 배양실험과 현장조사를 통하여 대상생물의 대증식에 필요한 최적의 수온, 염분, 광량, 광주기, 영양염특성, 주야연직이동능, 광저해, 등의 연구를 통하여 연안에서 대발생 및 소멸에 기작을 규명한다(Baek 2008, Baek 2009).

○ 진해만에서 PSP 원인 생물인 *Alexandrium insuetum*을 시스트로부터 발아시켜 대상생물을 분리 배양한 후 생리생태학적인 관점에서 수온과 염분 광량에 따른 성장특성을 파악함. 아울러 시스트에서 분리한 한 후 형태학적 관찰과 분자생물학적 관점에서 종명을 동정한다(Shin 2014).

○ 가막만에서 *Scrippsiella trochoidea*의 시스트분포 특성과 시스트 발아능 실험을 수행하여, 돌기물의 가지는 시스트와 돌기물을 가지지 않는 시스트의 형태를 발견하고, 왜 돌기물을 가지는지 명확하게 규명함과 아울러 시스트의 발아능을 조사함. 시스트가 유영세포로 가입되는 잠재적 능력과 생활사에 대한 연구를 수행한다.

○ 종속영양성 HABs 종 Pfiesteria-like dinoflagellates의 먹이섭식 특성과 환경요인에 따른 성장특성을 규명하여, 연안해역에서 잠재적으로 성장할 수 있는 능력을 평가한다(Baek 2010).

나. 해양 유해 미세조류 독성 검출 기술개발



○ 본 연구진은 해수부-NOAA간 한미협력사업(JPA:NOAA-MOF Joint Project Agrement)사업의 일환으로 NOAA Hollings Marine Laboratory의 Center for Coastal Environmental Health and Biomolecular Research (CCEHBR)에서 유독 미세조류 독성의 분석 기술을 습득하였다.

○ LC/MS/MS를 이용한 해양유해 미세조류 biotoxin의 분석법 습득한다

○ 독성 분석전의 유독 미세조류의 전처리 과정 및 분석독소를 파악하고 있음. 유독 미세조류 독소는, 독성미세조류(*Alexandrium tamarense*)를 분리 한 후, 단일 대량배양 하여 독소를 분석하는 것과 자연 상태에서 대발생한 독성 미세조류 채집하여 분석할 수 있음. 그 후 생물을 GF/F 필터로 농축, 아세트산으로 독소 추출, 분쇄, 원심분리, 가열 후, LC-MS/MS로 장비최적화 후 분석을 수행한다.

다. 해양 유해 미세조류 제어 및 현장 적용성 평가

○ 한국해양과학기술원 및 본 연구진은 메소코즘(폐쇄생태계)실험을 통하여 특정 오염물질 및 위해물질이 해양 생태계에 미치는 영향에 대하여 선도적으로 연구하고 있다.

○ 유해 미세조류를 대상으로 살조능 시험을 수행하였다.

○ 폐쇄생태계에서 특정 오염물질이 해양생물에 미치는 영향을 평가하였다.

○ 국립수산과학원 발주 적조구제물질 사용승인을 위한 현장적용성 평가를 메소코즘에서 수행하였다.

○ 살조세균 및 살조물질의 현장 적용을 앞서 효율성과 안정성 확보차원에서 중형폐쇄생태계의 실험을 다수 수행한 바가 있다.

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
한국해양과학기술원	폐쇄생태계를 이용한 유기오염물질의 이동연구	자연생태계의 유기오염 불질거동의 이해에 관한 연구
한국해양과학기술원 및 포항공대	기후변화에 따른 해양생물 반응 연구	수온의 상승에 따른 생체 지방산 변화 규명
한국해양과학기술원	나노 캡시드 생태계 위해성 평가 <1기 파이오니어 사업>	살조물질의 현장 살포 전단계의 생태계 반응 및 종특이적 살조효율 판단
한국해양과학기술원	해양 오염물질 유출사고 대응 지원기술 향상을 위한 깨끗한 바다 만들기	유류오염 및 유처리제 사용에 따른 부유생물 및 저서부착생물의 반응 평가
한국해양과학기술원	적조구제물질 사용승인을 위한 현장적용성 평가	해양수산부 고시에 기반하여 황토, 살충제, 살조제등의 제품의 사용승인 여부를 평가하기 위한 연구

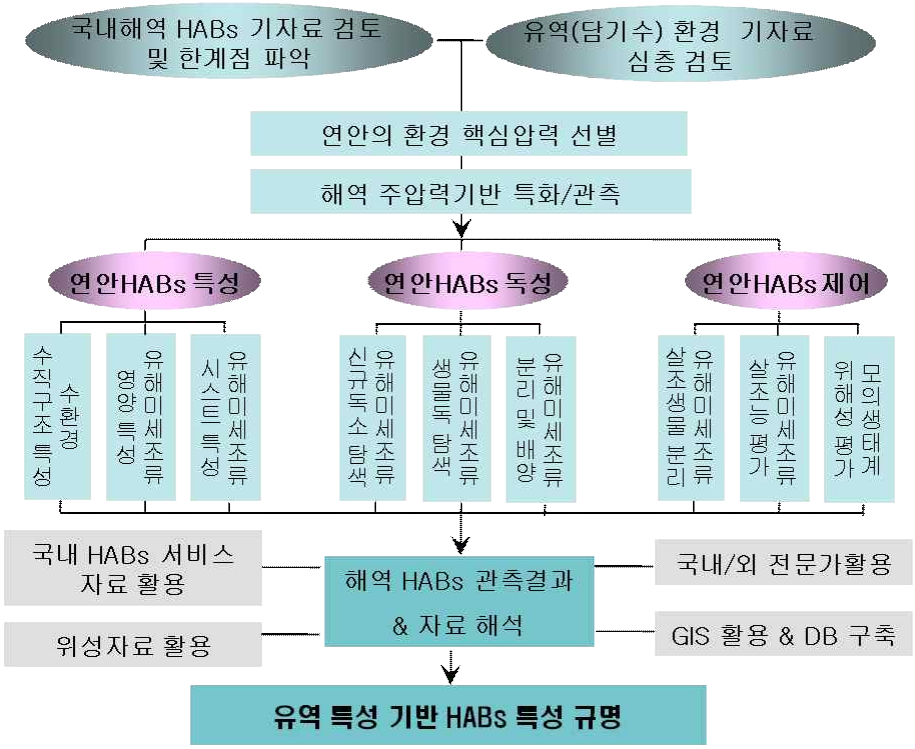
- 인공생태계는 규모에 따라 소형 (<1 m^3), 중형 (1-1000 m^3), 대형(>1000 m^3)으로 구분하며, 중형폐쇄생태계(Mesocosm)는 소형보다 커서 자연현상에 가까운 simulation이 가능하고 대형보다 작아 경제적으로 활용이 가능하여 해양에서는 중형생태계를 가장 많이 사용한다.

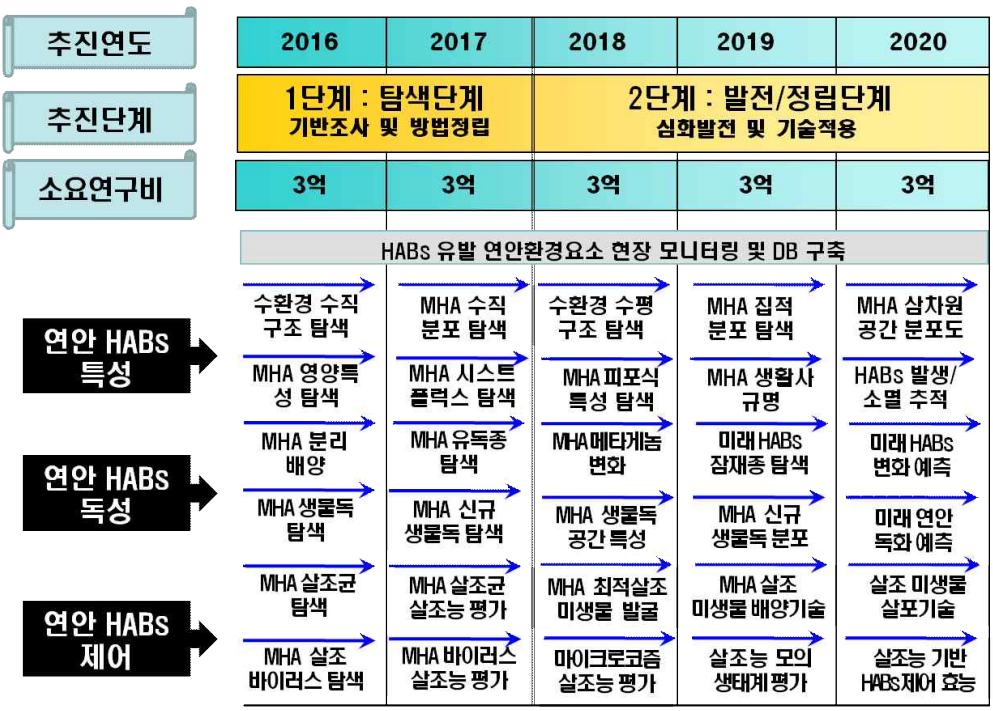
- 인공생태계(메소코즘)은 해양 생태계의 서식지 특성과 분포하는 생물 특성을 고려하여 다양한 크기와 모양으로 설계되어야 하며, 본 연구진은 이에 따른 기술적 노하우가 축적되어 있음. 현재 국내 보유 기술은 한국형으로 국내 해양생태계 위해성 평가는 물론 해양환경변화에 따른 생물 반응연구에 다각적으로 활용될 수 있는 잠재성을 지녔다.

- 폐쇄생태계는 중간생태계로서 실험실과 현장 생태계를 재현하는 가교역할을 함으로 어떤 해양생태계의 문제점을 평가할 때 중요함 척도로 활용 가능하다.

제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과

1절. 연구개발 추진체계





MHA: 해양유해미세조류
HABs: 해양유해미세조류 대발생

2절. 1단계 현장조사정보

1. 현장조사기간

가. 1단계 1차년도 사업: 2016년 6월부터 개정이 오픈됨에 따라 2016년 6월부터 12월까지 조사를 수행하였다.

나. 1단계 2차년도 사업: 2017년 2월부터 10월까지 현장조사를 수행하였다

2. 조사해역 및 조사일

가. 코클로디늄의 적조생물 발생기작 및 소멸 연구

(1) 낙동강-거제도-통영의 내측 및 외측조사

- 통영 연안주변정점을 중심으로; 2016년과 2017년 통영해역의 정점22-정점41에서 6월에서 9월까지 2주 간격으로 및 9월 이후부터 월1회 조사를 수행함. 조사일 (2016년: 6/8, 6/24, 7/7, 7/26, 8/10, 8/22, 9/6, 9/22, 10/19, 12/12 **총 10회**; 2017년:2/7, 3/28, 4/25, 5/25, 6/20, 7/3, 7/17, 8/1, 8/14, 9/13, 10/31, **총11회)**.

- 담수-기수-해수 (낙동강-거제도,통영남단,통영북단)을 중심으로: 낙동강에서 통영으로 이어지는 V라인 조사 (정점5-31)를 월별 수행함. 조사일 (2016년: 6/8, 7/7, 8/10, 9/22, 10/19, 12/13, **총 6회**; 2017년:2/7, 3/28, 4/25, 5/25, 6/19, 7/14, 8/14, 9/13, 10/31 **총9회**)

(2) 육상조사를 통한 거제도-통영-고성-사천-남해도로 이어지는 주요 항구 및 내만에서 코클로디늄의 초기 유입 개체수 파악. 조사일 (2016년 7/7, 7/20, 8/4, 8/24 총 4회) (그림 9)

(3) 적조발생 직후 통영-남해도-여수- 고흥으로 이어지는 조사 (정점K1-K22)를 통한 해역의 환경특성 및 개체군 동태파악. 현장조사일 (2016년 9/5, 총 1회)

(4) 2017년 통영-남해도-여수-고흥 이어지는 조사 정점(K1-K24)에서 해역의 환경특성 및 코클로디늄과 알렉산드륨의 수평적 및 수직적 개체군 동태파악. 현장조사일 (2017년 6/23-913일 총 6회)(그림 10.)

나. 마비성패독(PSP)의 독소생성원인생물의 생활사 연구

광역조사 결과를 기반으로 거제동부 관포해역에서 2016년 6월부터 2017년 11월까지 매주 현장탐사를 통한 아래와 같은 생활사 단계 간의 매스 전환 과정을 고려하여 종합적 모니터링을 수행하였다

- M1 단계 : 퇴적물 시스트 개체수의 시기적 변동과 발아율 변동 탐색
- M2 단계 : 수중 초기개체군 형성 규모 및 성장률 탐색
- M3 단계 : 수중 개체군 춘계대발생 규모 및 공간분포 탐색
- M4 단계: 수중 시스트 형성량 및 개체군 소멸과정 탐색

다. 마비성패독(PSP)생물의 독소검출

시료채집 : 홍합의 채집은 3월20일부터 5월29일까지 매주 10개체씩 3반복으로 채집하였고, 4월24일에는 해수 4L를 GF/F필터로 플랑크톤만을 여과하여 시료로 하였으며, 또한 홍합에게 플랑크톤을 급이한 다음 체내에 축적한 독의 독성과 독조성을 조사하였다.

전처리 : 상기 채집한 시료는 모두 동결건조하였으며, 이것에다 0.1N HCl를 첨가한 후 끓는 물속에서 5분간 가열추출하고, 일반필터나 C18카트리지 필터를 사용하여 여과한 다음에 HPLC-FLD(HPLC형광법)로 분석하였다.

분석조건 : PST의 분석은 Rey 등(2016)의 방법을 따랐다. 즉, 칼럼은 Hypercarb(4.6mm x 100mm, 5㎛)(Thermo Scientific Co., U.S.A.)를 사용하였고, 25℃의 칼럼항온오븐에서 반응시켰다. 이동상에는 두 완충용액을 사용하였으며, A완충용액은 0.075% 삼불소초산(trifluoroacetic acid, TFA)을, 그리고 B완충용액은 0.025% TFA와 50% 아세트니트릴의 혼합용액이다. 반응액에는 50nm 오르토과요오드산(orthoperiodic acid), 1M의 개미산암모늄에 녹인 0.2M 수산화칼륨용액, 그리고 50%포름아미드혼합액을 사용하였다. 이들의 반응온도는 65℃로 하였다. 형광분석기의 융기파장은 336nm, 형광파장은 392nm에서 분석하였다. 한편, 이동상은 구배를 주었으며, 30분까지는 A용액을 94%에서 75%로 하면서 B용액을 4%에서 25%로 하였고, 이후에는 A용액 96%-B용액 4%에서 분당 1ml의 속도로 주입하였다.

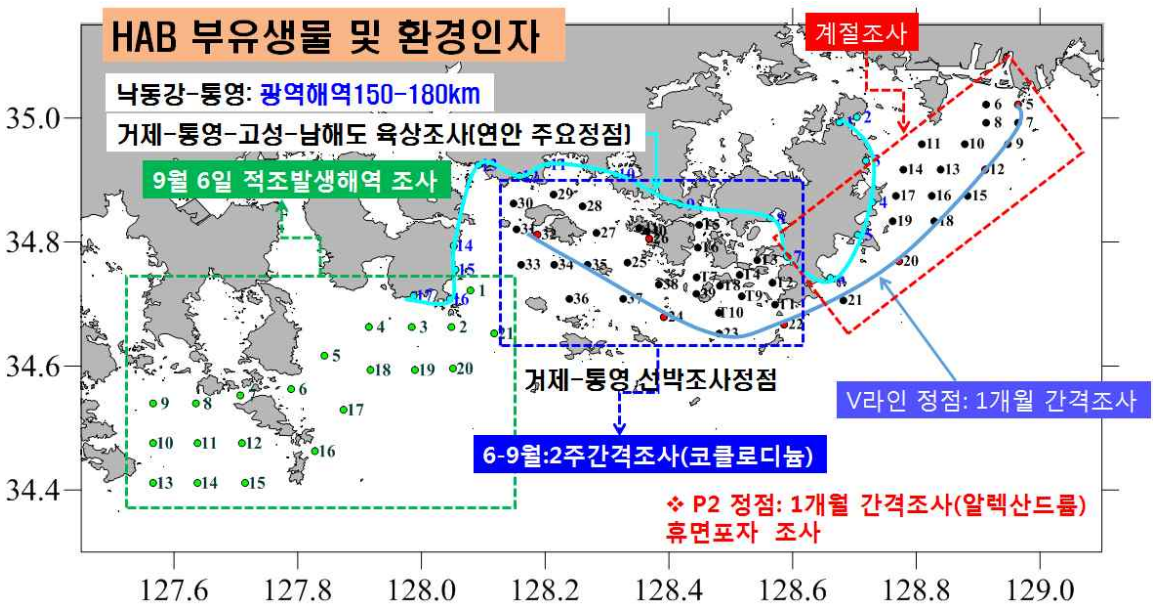


그림 9 낙동강하구-통영-고흥주변해역의 조사정점도_2016년

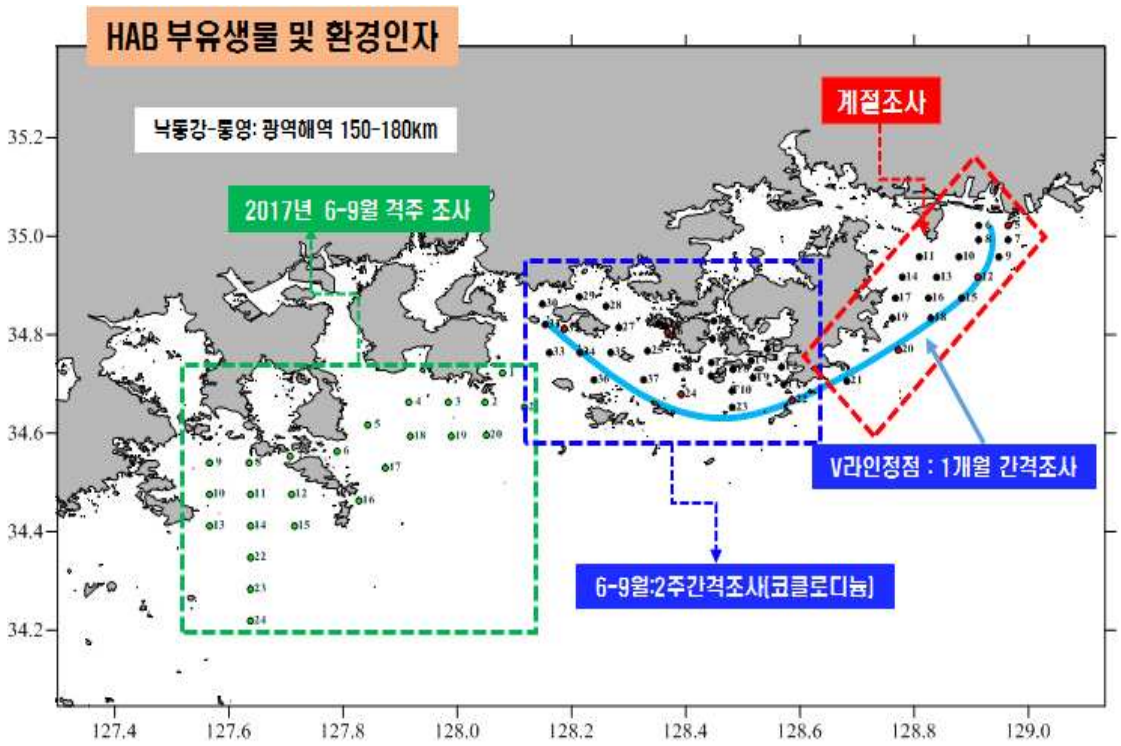


그림 10 낙동강하구-통영-고흥주변해역의 조사정점도_2017년

3절. 연구개발수행 결과

1. 코클로디늄의 적조생물 발생기작 및 소멸 연구 결과

가. 연구개요

해양 유해 조류 번식 (HAB)은 전 세계적으로 증가하는 환경 문제이며 공중 보건, 수생 생물 및 양식 산업에 부정적인 영향을 미친다(Hallegraeff, 1992; Anderson, 1997; Smayda, 1997). 그 중 무각의 어류독소종인 *Cochlodinium polykrikoides*는 가장 일반적으로 발생하는 HAB 중 하나이며 연안 해역의 대규모 어류 폐사에 심각한 영향을 미친다(Lee et al., 2013; Park et al., 2013). *C. polykrikoides* 의 개체수가 1,000 cell ml-1이 넘으면 양식어류의 아가미를 막아 2시간 이내에 폐사를 일으킬 수 있다 (Tang and Gobler, 2009; Lim et al., 2014). Margalef (1961)의 Caribbean 해 Puerto Rico에서의 첫 발견 이후로 *C. polykrikoides*의 대발생은 1995년까지 일부 연안정점에서 낮은 빈도로 발생했다. 하지만 지난 20년동안 *C. polykrikoides*의 지리적 분포는 열대, 아열대, 온대해역을 거쳐 전 세계로 확장되었다(Margalef, 1961; Gobler et al., 2008; Matsuoka et al., 2008; Mulhollannd et al., 2009). 또한 최근 몇 년동안 *C. polykrikoides* 의 대발생이 와편모조류의 대발생이 보고된 적이 없는 해역인 걸프만 아라비아해와 오만에서 발생하였다. 따라서 걸프만의 아라비아해에 위치한 국가들은 *C. polykrikoides*의 대발생이 담수의 공급원인 담수화 플랜트의 운영을 방해하고 중단시킬 수 있어 심각한 사회적 문제로 부각되고 있다(Richlen et al., 2010).

*C. polykrikoides*의 대발생은 양식업이 고도로 발달한 한국 연안수에 매우 큰 피해를 준다(Lee et al., 2013; Park et al., 2013b). 때문에 이들 와편모조류의 대발생으로 인한 경제적 손실은 1993년 USD 7백만달러, 1995년 7천만달러, 2000년에서 2003년과 2007년에는 평균 4-18.6백만달러로 추정되었다. 이러한 이유로 한국 정부와 양식조합에서는 *C. polykrikoides* 대발생을 예측하고 제어하기 위해 연간 1천만 달러(100억) 이상의 비용을 쓰고 있으며, 그 노력들은 대부분 황토를 수괴에 살포하여 *C. polykrikoides* 세포들을 제거하는 직접적 제어방법의 형태로 적용되고 있다(Park et al., 2013).

지금까지 *C. polykrikoides* 대발생에 관한 메커니즘을 알아내기 위한 광범위한 연구에도 불구하고(Park et al., 2001; Lee and Kim, 2008; Park et al., 2005; Lee et al., 2013; Park et al., 2013; Park et al., 2014; Lee et al., 2016), 정확한 발생 메커니즘은 아직 정확하게는 알려져 있지 않다. 예를 들어, *C. polykrikoides*의 번화는 1995 년부터 2007 년까지 매년 발생했지만 2008 년부터 알 수 없는 이유로 급격하게 감소했다. 또한 2009-2012 년에 일부 지역에서 소규모의

적조가 발견되었지만, 거대한 *C. polykrikoides*의 대발생은 관찰되지 않았다. 하지만 흥미롭게도 2013년 고밀도의 *C. polykrikoides*가 남해안과 동해안의 넓은 지역에 거쳐 대규모로 재발생하였다. 그 이후에도 와편모조류 *C. polykrikoides*의 대발생은 2014년과 2015년 계속되었지만, 2016년엔 다시 발생하지 않았다. *C. polykrikoides* 대발생의 발생주기를 추적하는 것은 한국연안수의 환경 요인과 *C. polykrikoides* 대발생 다이나믹과의 관계를 결정하는 데 중요하며 이는 장기적인 노력이 필요하다. 이러한 연간 조사는 한국에서 지난 30년간 *C. polykrikoides*의 발생과 발생하지 않는 이유에 대한 중요한 단서를 제공할 수 있다. 결론적으로 본 연구에서는 한국에서 매년 *C. polykrikoides*가 번식하는 통영연안의 해양 환경과 *C. polykrikoides* 역학 관계를 밝히고 자 하였다. 또한, 영양염 공급 및 수괴혼합에 대한 실질적인 *C. polykrikoides* 대발생에 대한 더 깊은 이해를 위해, 태풍발생 이후 *C. polykrikoides* 대발생이 발생한 고흥과 나로도 연안을 따라 현장조사를 실시하였다. 마지막으로 2016년 통영연안에서 *C. polykrikoides*의 대발생을 저해한 요인에 대해 토의하는 것 뿐 만 아니라 강수량이 많았던 7월의 영양염 부하에 따른 규조류의 발달과 중국 장강의 희석수 확장에 의한 비정상적인 고수온 및 저염분 현상과 관련하여 연구하였다. 2017년에는 통영-남해도-여수-고흥 해역을 격주간 수문학적 환경요인과 생물요인을 분석하여 적조발생 및 소멸기작에 관하여 검토하였다.

나. 재료 및 방법

현장조사는 조사선에서 실시간 측정할 수 있는 CTD(Ocean Seven 319; Idronaut Co., Brugherio, Italy)를 활용하여 표층에서 저층까지 전 수층의 수온, 염분, 형광값(식물플랑크톤의 현존량)을 측정하였다. 아울러, 각 수층의 용존산소, pH값은 YSI(6500)를 사용하여 측정하였다.. 조사해역에서 표층수는 버켓으로 채수하였고, 저층수는 5L PVC Niskin sampler(General Oceanics, Miami, FL, USA)을 이용하여 채수하였다. 표층수를 이용하여, Chlorophyll-*a*, 영양염, 식물플랑크톤 종조성을 파악하였고, 저층수는 저층퇴적물에서 용출되는 무기영양염류의 계절적 변화특성과 함께 월별 유광층에서 생성된 식물플랑크톤 현존량이 침강하여 저층에 기여할 것으로 판단되어, 수직적 분포특성의 형광값과 연계하여 파악하기 위해 Chlorophyll-*a* 농도를 정량화하였다.

표층수과 저층수 500 mL 를 선상에서 Whatman GF/F glass fiber filters (47mm diameter; pore size 0.45 μm)을 통해 여과하였다. 여과한 해수는 영양염류를 측정하기 위해50 mL conical tube(SPL LIFE SCIENCES)에 넣고 $HgCl_2$를 50 μL첨가하여 -20 ° C 에서 냉동 보관하였다(Kattner, 1999). 여과한 각 여과지는 Chlorophyll-*a* 농도 측정을 위해 분석 전 까지 -20 ° C 에서 냉동/암 보관하였다.

또한 식물플랑크톤 종조성과 현존량 분석을 위하여 현장 선상에서500 mL의 표층수를 Lugol’s

solution (Sournia, 1978) 을 이용하여 최종농도 3 %로 고정하였고, 실험실에서 500 mL 시료를 50 mL로 농축시켰다.

실험실에서 냉동 보관한 여과지를 90% 아세톤에 넣고 냉암소에서 24시간 동안 색소를 추출한 후 형광측정기(Turner BioSystems, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 Chlorophyll-a 농도를 분석하였다(Parsons et al. 1984). 또한, 실험실에서 각 시기별 냉동보관된 시료를 암조건에서 해동하여 영양염 분석을 수행하였다. 아질산과 질산성 질소(NO_2+NO_3-N),인산염(PO_4-P),규산염(SiO_2), 암모니아성 질소(NH_4-N)를 Parsons et al. (1984)의 분석법에 따라서 영영염 자동분석기 (Autoanalyzer QuikChem 8000; Lachat Instruments, Loveland, CO, USA)를 이용하여 분석하였고, 각각의 영양염 농도는 표준해수 (RMNS, KANSO Technos Co., Ltd., Japanhemical Industries, Osaka, Japan)을 이용하여 보정하였다.

식물플랑크톤의 현존량 및 종조성은 농축된 시료를 Sedgewick-Rafter counting chamber에 100-300 μL분주하여 광학현미경하(100- 400배 배율)에서 분석하였다. 특히 광학현미경에서 동정이 극히 어려운 종은 속 수준에서 동정하였으며, 10 μm이하의 매우 작은 와편모조류는 하나의 미동정 와편모그룹으로 묶었고, 은편모조류 (Crytophyceae) 또한 하나의 은편모그룹으로 묶어 동정 및 계수하였다.

다. 연구결과 및 토의

(1) 담수-해수-기수역 중심으로

(가) 2016년 통영주변해역에서 수온 및 염분의 수평적 변화특성

- 2016년 6월8일 정점22주변해역의 표층에서 수온은 17℃로 관찰되었고, 점차적으로 수온이 상승하여 8월10 최고치 30℃를 기록하였다. 이후 수온이 점차적으로 감소하여 10월에는 대부분의 해역에서 20℃ 전후를 기록하였다.표층과 저층의 수온차이는 7월과 8월에 크게 나타났고, 이는 6월 이후 성층이 강하게 형성된 주된 원인으로 파악되었다. 특히, 6/24일과 7/7일의 정점22 주변해역에서는 표층과 저층의 수온차이가 크지 않았고, 이는 용승현상에 의한 저층수가 표층으로 유입된 결과로 판단되었다. 공간분포에서는 6월과 7월 사이에는 정점 22 주변의 깊은 수심에서 상대적으로 수온이 낮게 유지된 반면, 정점40 주변의 사량도 동부해역과 오비도 주변의 수심이 얇은 해역에서 수온이 높게 나타나는 특징을 파악하였다. 즉 6월부터 빠르게 수온이 상승하면서 성층이 형성되었고, 저층 또한 8월에는 25-28℃ 전후로 높게 나타났다. 8월의 특이한 현상은 표층 수온이 공간적 차이를 보이지 않고, 30℃로 극히 높게 나타났고, 이는 약 2주일간

지속되었다 (그림 11).

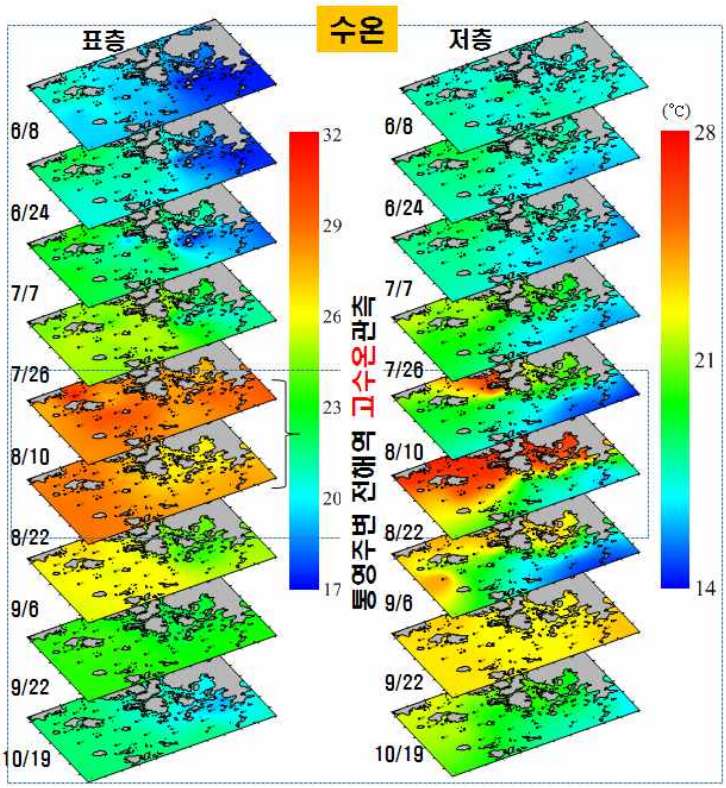


그림 11 2016년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 수온 변동

(나) 2017년 통영주변해역에서 수온 및 염분의 수평적 변화특성

- 2017년 6월19일 정점22주변해역의 표층에서 수온은 17℃로 관찰되었고, 점차적으로 수온이 상승하여 8월14일 최고치 27.8℃를 기록함. 이후 수온이 점차적으로 감소하여 10월에는 대부분의 해역에서 20℃ 전후를 기록하였다. 표층과 저층의 수온차이는 표층수온이 높아지는 7월과 8월에 크게 나타났고, 이는 7월 이후 강한 성층의 형성이 주된 원인으로 파악되었다. 2016년과 2017년의 수온을 비교하면, 6월 조사의 표층 수온은 17℃ 전후로 유사하게 나타났으며, 이후 수온이 점차 증가하는 양상을 보였다. 하지만, 2016년 7월26일 조사에서는 18℃로 2017년 7월17일의 20℃보다 약간 낮게 관찰되었다. 이후 8월 조사에서는 2017년(27-28℃)과 비교하여 2016년(30℃)의 표층수온이 약 2-3℃ 높게 나타난 경향을 보였다. 아울러, 저층 수온 역시 2016년에 더 높게 나타난 것을 확인할 수 있었다(그림 12). 이는 7월 양쯔강 담수의 유입으로 1개월 time lag을 두고 8월 남해안 전반에 걸쳐 저염분화현상이 관찰 되었고, 이와 같은 저염분화 현상은 해수온 상승에 중요한 역할을 한 것으로 판단된다.

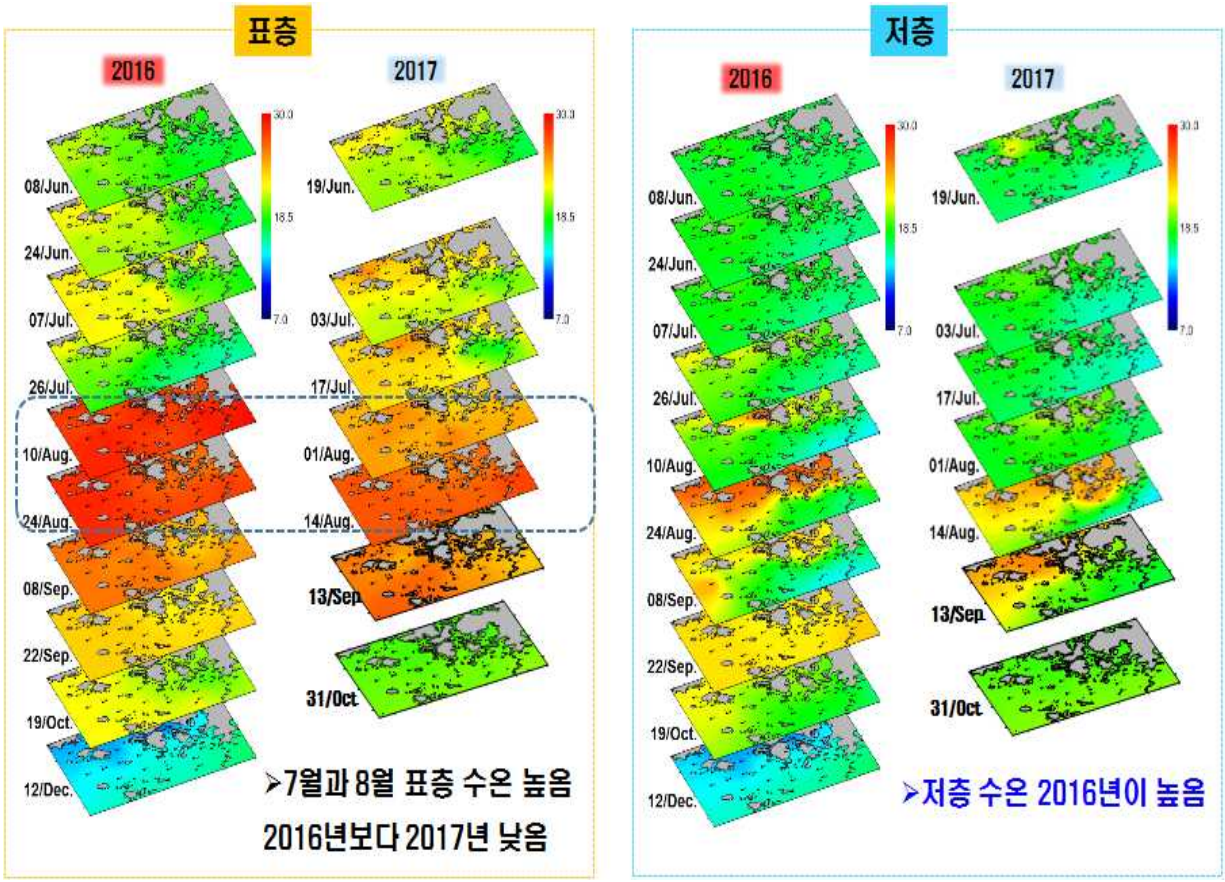


그림 12 2016년과 2017년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 수온 변동

- 2016년 염분은 6월8일 33-34 psu 전후로 높게 관측되었고, 이는 7월26일까지 지속되었다. 6월과 7월 염분의 공간분포는 정점 22 주변의 외양에서 약간 높게, 사량도 인근해역의 정점 32 주변의 내만에서 낮게 나타나는 특색을 보였다(그림 13). 최고 수온이 관찰된 8월 10일과 8월 22일에는 내만에서는 32 psu 전후로 염분이 약간 낮게 관찰하였으나, 외양 정점에서는 오히려 더 낮은 29-30 psu로 저염분수괴가 관측되는 특이한 현상을 보였다. 이는 앞서 언급한 중국의 양쯔강(장강)의 삼협댐 방류로 저염수의 영향으로 남해안 전 해역에서 나타났을 뿐만 아니라, 통영주변의 외측해역에서 유래 없는 고수온, 저염분 현상을 초래한 것으로 판단된다(그림 14). 2016년 9월22일 조사 3-4일 전 강풍 및 강우를 동반한 태풍이 일본큐슈지역으로 북상함에 따라 통영 조사지 주변해역에서도 수층혼합이 활발하게 이루어져 염분 또한 표층과 저층에서 큰 차이를 보이지 않았다. 9월 22일 이후 표층과 저층에서 염분이 점차적으로 회복되어 32-33 psu 전후를 유지하는 특성을 보였다.

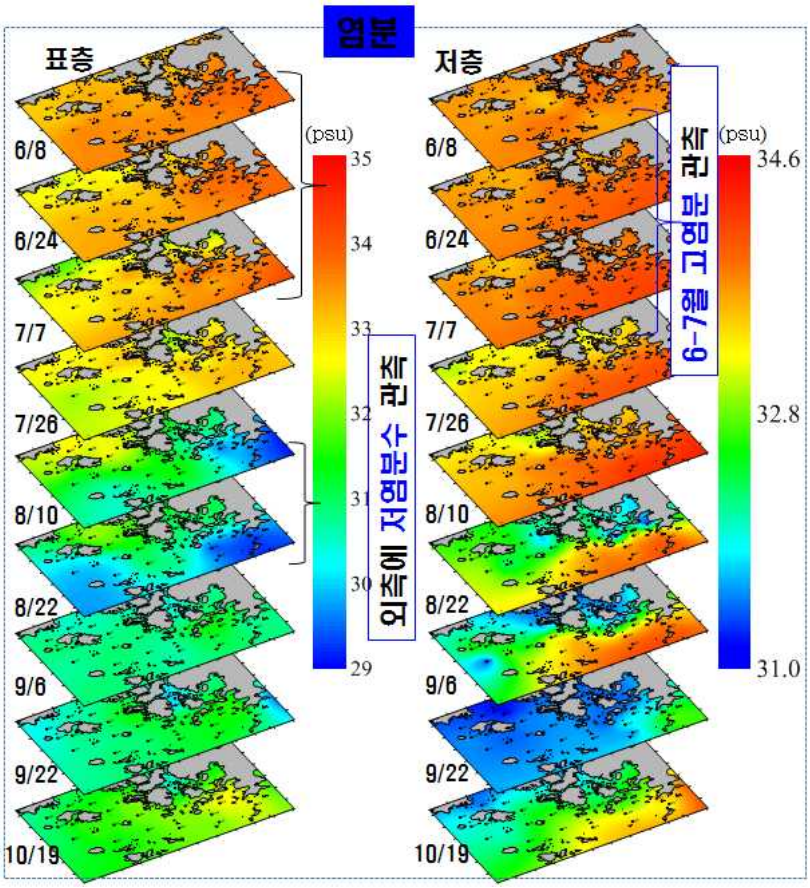


그림 13 2016년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 염분 변동

- 2017년 염분은 6월19일 33-34 psu 전후로 높게 관측되었고, 7월 3일 조사에서는 최소 31 psu로 낮게 관찰되었다. 6월 염분의 공간분포는 전체적으로 큰 변동이 없었으나, 7월 염분의 공간분포는 정점 22 주변의 외양에서 약간 높게 나타나는 특성을 확인하였다. 특히, 사량도 인근해역의 정점 32 주변의 내만에서 특이적으로 낮게 나타났다(그림 14). 2017년 수온이 높았던 8월 14일과 9월 13일의 내만정점에서 31-30 psu 전후로 일정하게 낮은 염분이 관찰되었고, 이는 여름철 강우에 의한 담수가 유입되어 내만 전체에 저염분환경을 유도한 것으로 판단된다. 또한 표층 염분이 낮았던 8월14일과 9월13일에 표층과 저층의 염분의 차이는 내만에 비해 외양쪽에서 크게 나타나는 것을 확인할 수 있었는데, 이는 수심이 얇은 내만이 수층혼합이 활발하게 되어 저층의 저염분화 현상이 관찰된 반면, 상대적으로 수심이 깊은 외양은 수층혼합이 용이하지 않아, 저층의 염분이 높게 나타난 것으로 파악되었다. 2017년 10월 31일에는 담수유입의 감소와 더불어 성층붕괴로 저층의 높은 염분이 표층으로 혼합되어 33-34 psu로 일정하게 높은 값을 기록하였다. 2016년과 2017년의 염분의 비교해 보면, 2016년 8월이 2017년 8월 보다 낮게 관찰되었고, 특이적으로 2017년에는 내만을 중심으로 일정하게 낮은 염분이 관찰되었다.

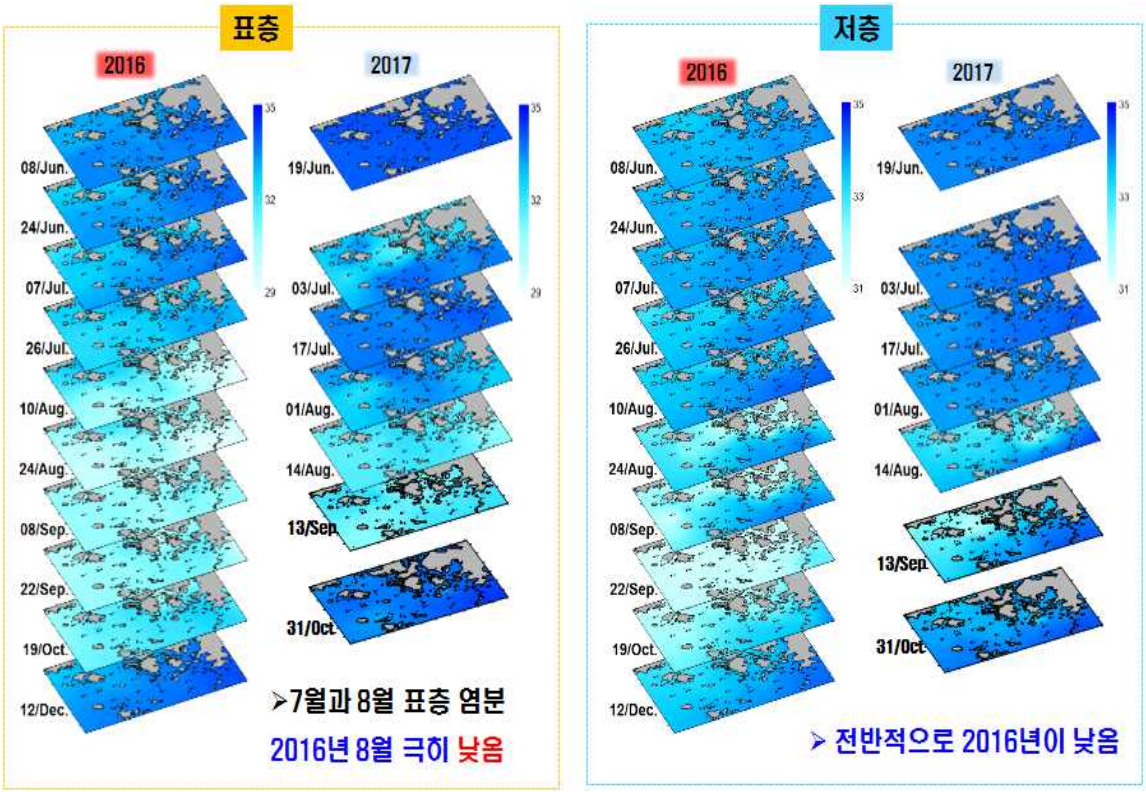


그림 14 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 염분 변동

- 2016년 7월과 8월의 중국 양쯔강 다통유역에서 강수량을 지난 20년간의 평가하였다. 중국의 양쯔강의 영향은 쿠로시오의 지류인 대마난류와 양쯔강 희석수의 확장 정도에 따라서 우리나라 남해안 및 동해안에 미치는 특성은 다르다. 결과적으로 1996년, 2003년, 2004년, 2010년, 2016년에 제주도의 저염분 피해가 관찰된 것으로 보아, 이들 년도에는 우리나라 남해안에 일정하게 양쯔강 희석수의 영향이 크게 나타난 것으로 판단된다(그림15).

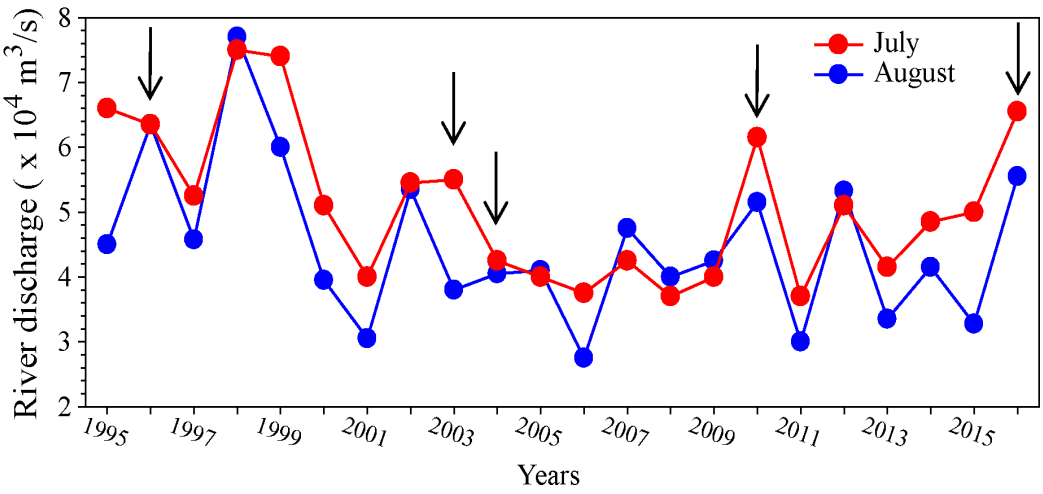


그림 15 중국 양쯔강 다통지점의 담수 유출량. 화살표: 제주지역 저염분피해

(다) 2016년 통영주변해역에서 pH 및 용존산소의 변화특성

- 2016년 6월 8일 pH는 표층에서 8.1-8.2로 일반적인 해양환경특성을 보였고, 표층과 저층 차이는 크지 않았다. 7월 7일 외측의 조사 정점에서 8.3-8.4로 높게 관찰되었고, 8월 10일 고수온 저염분수괴가 관찰된 시기에 외측 (정점22)을 중심으로 pH가 8.4-8.5로 높게 관찰되었다. 이는 8월 22일까지 높게 지속되었고(그림 16), 9월 6일 이후부터 대부분의 정점에서 8.1-8.2로 일반화된 특성을 보였다. pH는 전반적으로 외양에서 높게, 내만에서 상대적으로 낮은 공간적 분포 특성을 보였다. 2017년 저층 pH는 8월 10일 외측 정점으로 중심으로 7.9 전후로 낮게 관찰되었고, 표층보다 0.4-0.5 정도 낮은 특성을 관찰하였다. 아울러 9월 6일에도 유사하게 저층의 pH는 낮게 관찰되었고, 특히 표층과 반대로 내만에서 높게, 외측에서 낮은 특성으로 보였다.

- 2017년 pH는 6/19일 표층에서 8.1-8.3로 관찰되어, 일반적인 해양환경특성을 보였고, 내만에 비해 외측에서 상대적으로 높은 pH 값을 보였다. 2017년 7/3일과 7/17, 8/1일의 pH 값은 7.9-8.1로 6월 조사에 비해 상대적으로 낮은 값을 보였으며, 25번 주변정점에서 유사하게 낮은 경향을 보였고, 내측에 비해 외측에서 높은 값을 보였다. 7/3이후 7/17, 8/1일에는 저층의 pH 값이 점차 낮아지는 경향을 보였다. 이후 8/14일 pH는 6/19일 조사와 유사한 경향을 보였으며, 9/13일에는 통영내만 정점에서 상대적으로 낮은 pH를 보였다. 2017년 10/31의 pH는 8.6 전후의 상대적으로 높은 값을 보였으며, 저층은 8.1-9.1로 큰 폭의 변화를 보였다(그림 17).

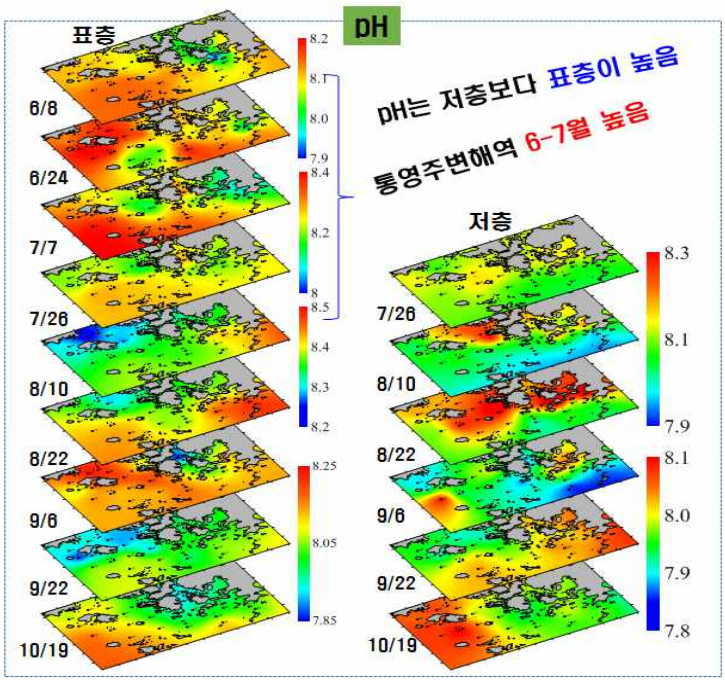


그림 16 2016년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 pH 변동

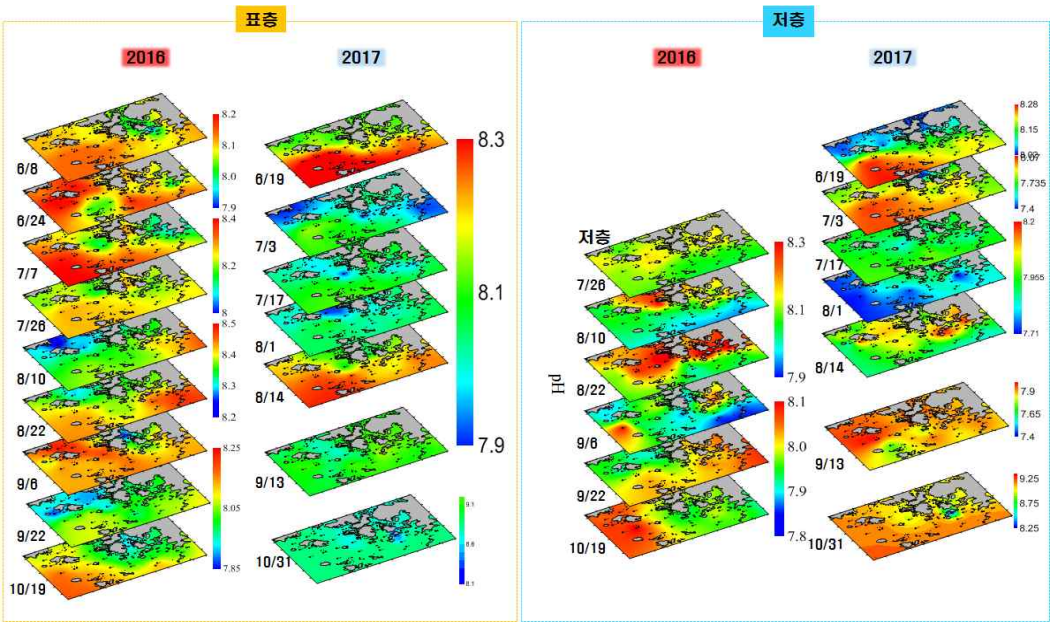


그림 17 2016년과 2017년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 pH 변동

통영주변해역에서 2016년과 2017년의 pH 차이는 크지 않았고, 내만에서 특이적인 낮게 관찰되었고, 외양에서는 조사시기별 큰 변화폭을 보였다.

- 2016년 표층 용존산소는 전반적으로 표층 pH 변화양상과 유사한 특성을 보였다. 내만에서 용존산소가 상대적으로 낮았고, 외양으로 갈수록 점차적으로 증가하는 특성을 보였다. 특이적으로 하계에도 불구하고, 표층의 용존산소는 6.5 mg L^{-1}이상으로 빈산소수괴의 형성은 관찰되지 않았다(그림 18).

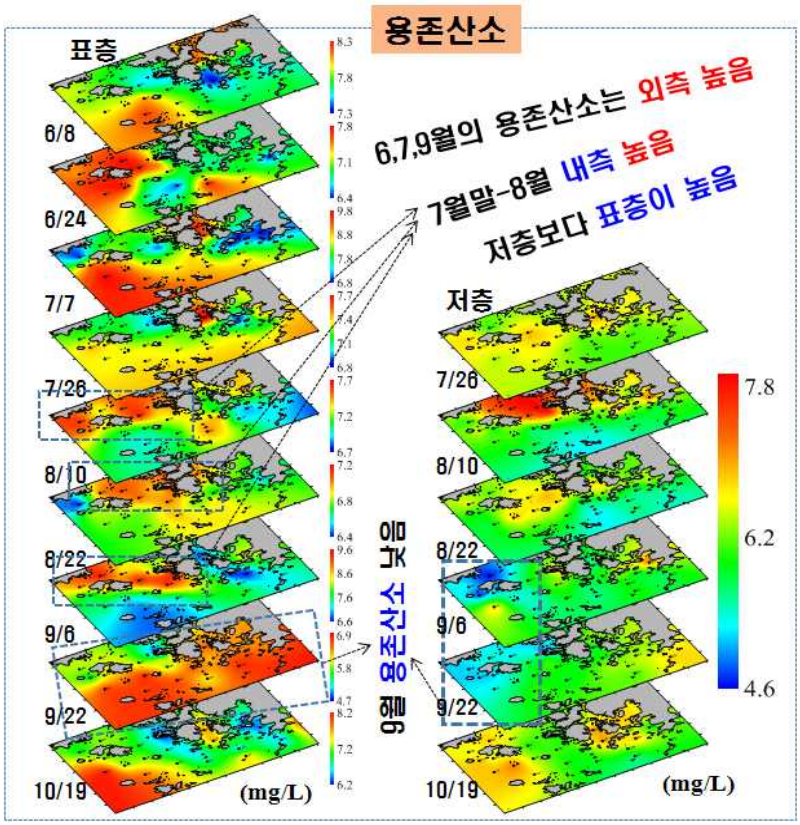


그림 18 2016년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 용존산소 변동

- 2016년 7월7일 사량도 인근해역 정점32-35사이에서 극히 높은 9.8 mg L^{-1}로 관찰되었고, 9월 6일에도 사량도 동부수역인 정점 26-32로 이어지는 정점에서 9.5 mg L^{-1} 로 높게 관찰되었다. 저층의 용존산소는 표층보다 전반적으로 낮았고, 공간적으로 차이를 보였다. 8월10일과 8월22일에는 외측정점에서 5.5 mg L^{-1} 전후로 낮게 관찰되었고, 이는 중국 양쯔강의 영향으로 저층의 용존산소가 낮게 나타난 현상에 지대한 영향을 미친 것으로 파악되었다. 일반적으로 저층의 용존산소는 내만에서 낮고, 외양에서 높게 나타나는 경향이 강하지만, 8월은 양쯔강의 영향으로 정반대의 결과를 보였다. 9월 6일과 9월 22일 저층의 용존산소는 사량도 주변의 내만해역에서 4.5-5.0 mg L^{-1} 낮게 나타났고, 외양에서는 상대적으로 조금 높은 6.0-7.0 mg L^{-1}으로 관찰되었다. 10월 19일부터 저층의 용존산소가 점차적으로 회복되어 모든 해역에서 6.0 mg L^{-1}으로 관찰되었다. 결과적으로 통영 주변해역에서 저층의 용존산소는 생물에게 위협을 주는 빈산소수괴는 관찰되지 않았다.

- 2017년 표층의 용존산소는 pH의 변화양상과 유사한 특성을 보였다. 특히내만에서 용존산소가 상대적으로 낮았고, 외양으로 갈수록 점차적으로 증가하는 특성을 보였다. 2017년에도 2016년과 유사하게 표층의 용존산소는 6.15 mg L^{-1}이상으로 빈산소수괴는 형성되지 않았다. 8/1일 사량도 남동부수역인 정점 26-32로 이어지는 정점에서 8.1 mg L^{-1} 로 높게 관찰되었으며, 8/14

일 또한 사량도-통영 정점에서 7.15 mg L^{-1} 로 같은 조사시기 정점 중 가장 높은 값을 나타내었다. 이들 해역에서는 2016년에도 상대적으로 높게 나타난 것으로 보아, 수괴의 혼합이 활발하게 일어나, 표층 용존산소가 상대적으로 높게 나타나는 특성을 보인 것으로 판단된다(그림 19).

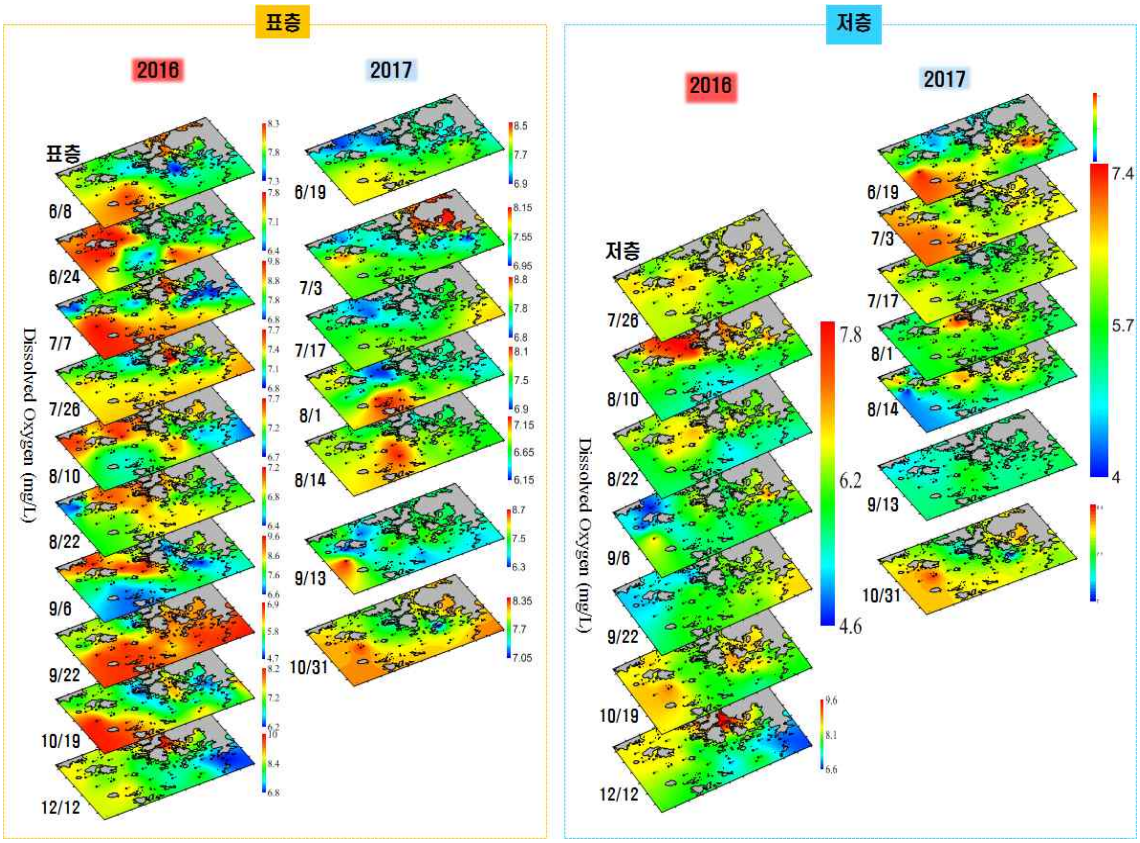


그림 19 2017년과 2016년 통영주변해역에서 격주조사에 의한 표층과 저층의 용존산소 변동

(라) 통영주변해역에서 영양염류의 변화특성

- 2016년 조사에서 낙동강-거제도-통영해역에서 영양염류는 낙동강하구역에서 상대적으로 높게 나타났다. 특히 6/8일과, 6/24에는 통영 남단 정점22 주변해역에서 전반적으로 높은 영양염류가 관찰되었고, **이는 앞서 언급 것과 같이 표층과 저층의 수온차이가 크지 않은 것으로 미루어 보아, 용승효과에 의한 것으로 판단됨**. 7/7일에는 낙동강하구의 정점5 주변에서 높은 영양염류 관찰되었고, 6월과7월에는규산염기원의 영양염류가 통영북단의 사량도 인근에서 높게 관찰되는 특성을 확인하였다(그림 20).

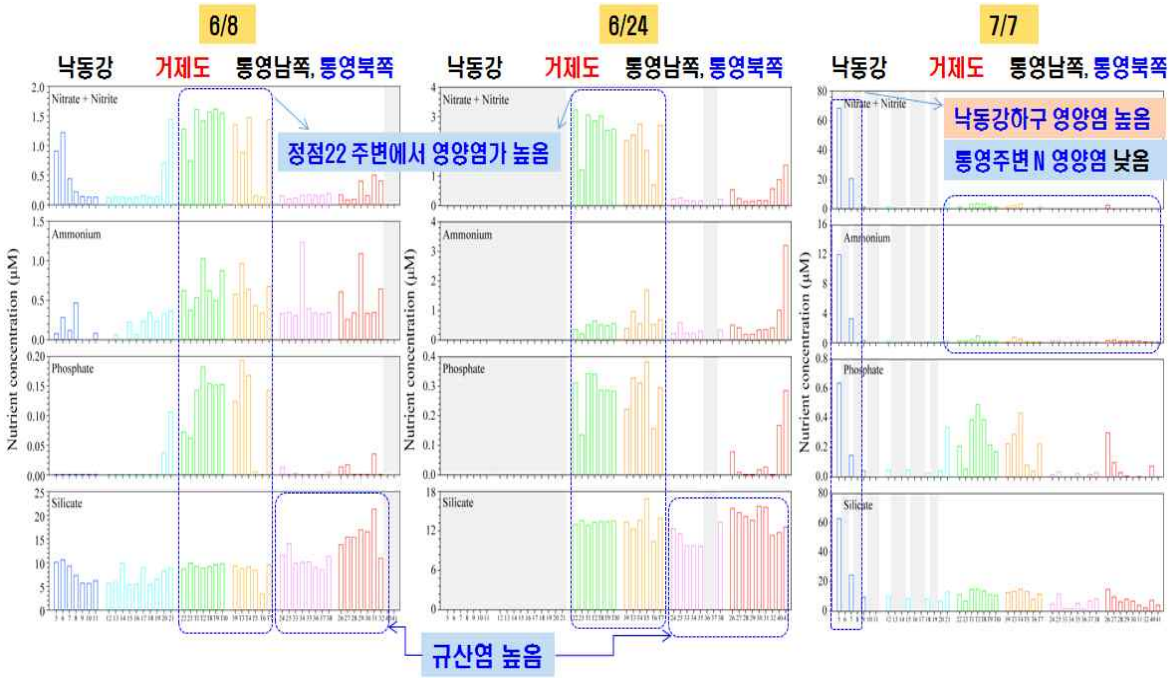


그림 20 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 6/8, 6/24, 7/7일 영양염류의 변동

- 2016년 낙동강-거제도-통영해역에서 영양염류는 표층에서 낮고, 저층에서 3-4배 정도 높게 나타나는 특색을 보였다. 즉, **표층주변에서는 7/26일과 8/10일에 질산염+아질산염이 식물플랑크톤 성장에 제한될 수 있는 극히 낮은 농도를 보였다**(그림 21, 22). 이와 같은 이유로 엽록소의 농도가 같은 시기 표층에서 극히 낮게 관찰된반면, 저층에서는 영양염류가 풍부하게 존재하였고, 엽록소 또한 2-3 ug L^{-1}의 일정의 높은 값을 유지하였다.

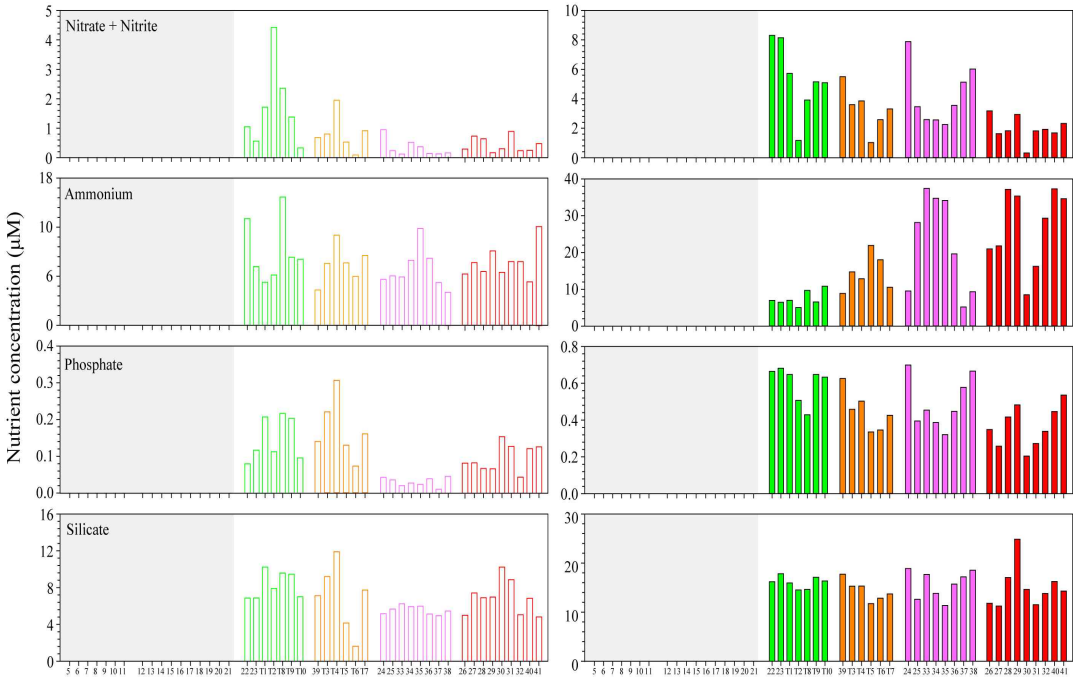


그림 21 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 7/26일 표층과 저층 영양염류의 변동

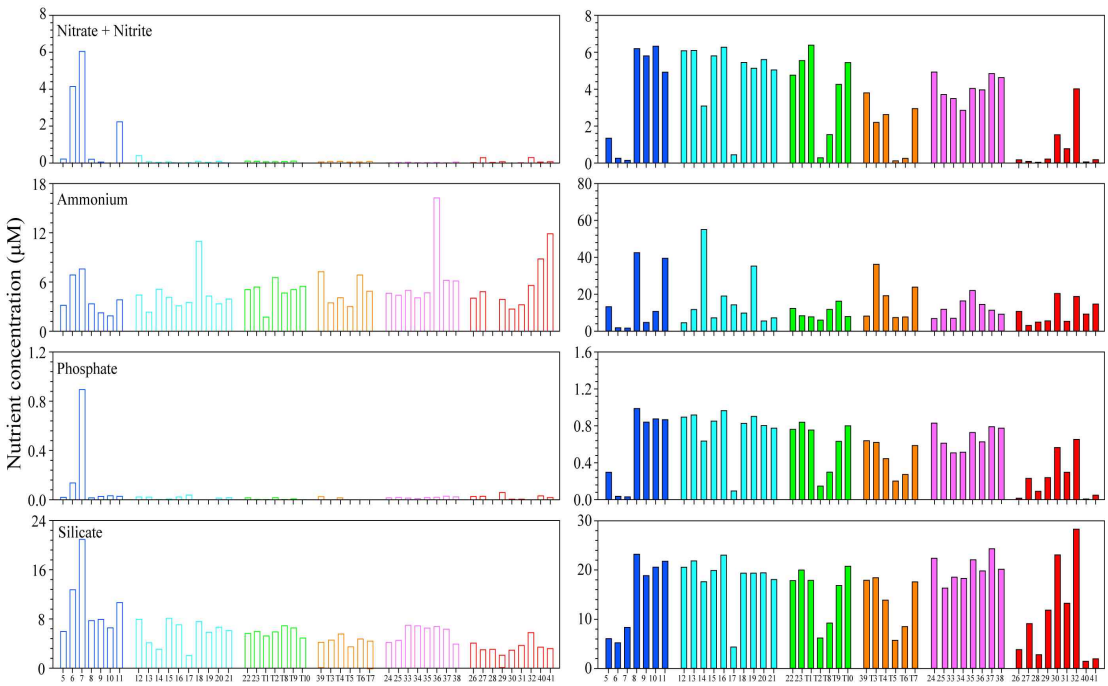


그림 22 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 8/10일 표층과 저층 영양염류의 변동

-2016년 통영 **표층주변해역에서 8/22일과 9/5일 질산염+아질산염의 농도는 일부 정점의 제외하면, 식물플랑크톤 성장에 제한될 수 있는 낮은 농도를 보였다**(그림 23, 24). 특히 8/22일 통영북

단 정점의 저층에서는 **질산염+아질산염의 농도가 고갈되는 양상을 확인하였다**(그림 23).

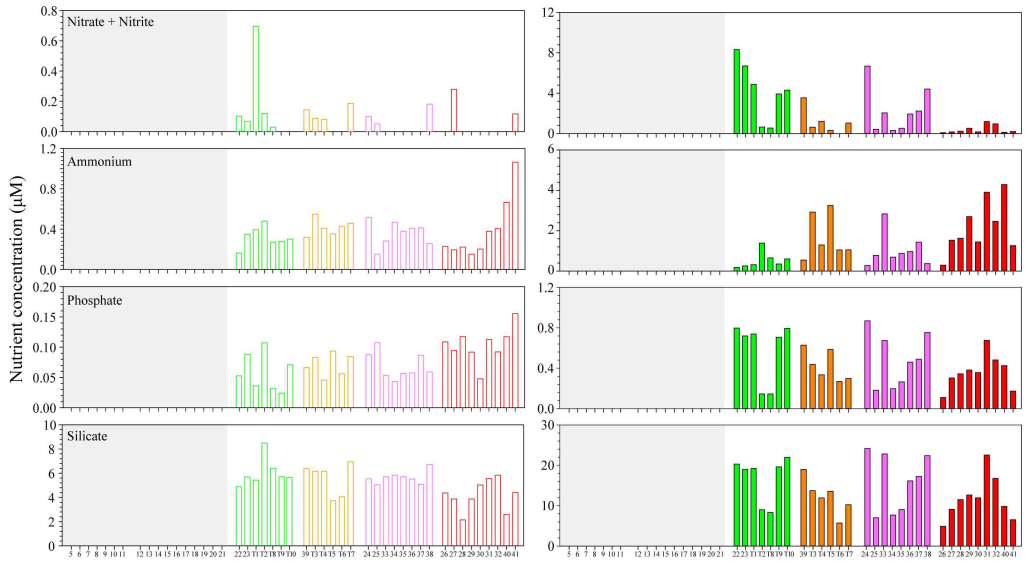


그림 23 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 8/22일 표층과 저층 영양염류의 변동

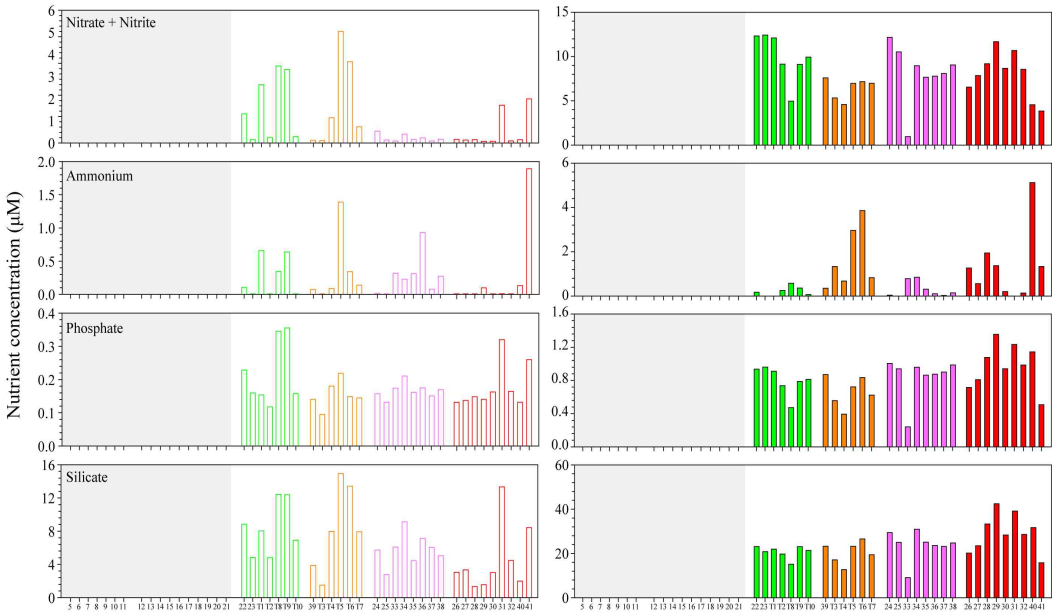


그림 24 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 9/5일 표층과 저층 영양염류의 변동

- 2016년 통영주변해역의 7월말부터 9월초까지 표층주변에서 고갈되었든 질산염+아질산염의 농도는 9/22일 조사에서는 일정량 높게 관찰되었다(그림 25). **이는 일본 큐슈남단으로 통과한 태풍 (말라카스)의 영향으로 우리나라 남해안 연안해역이 많은 강우를 동반하여 육상기원의 질**

산염+아질산염, 인산염, 규산염이 해양으로 대량 유입된 것으로 생각된다.

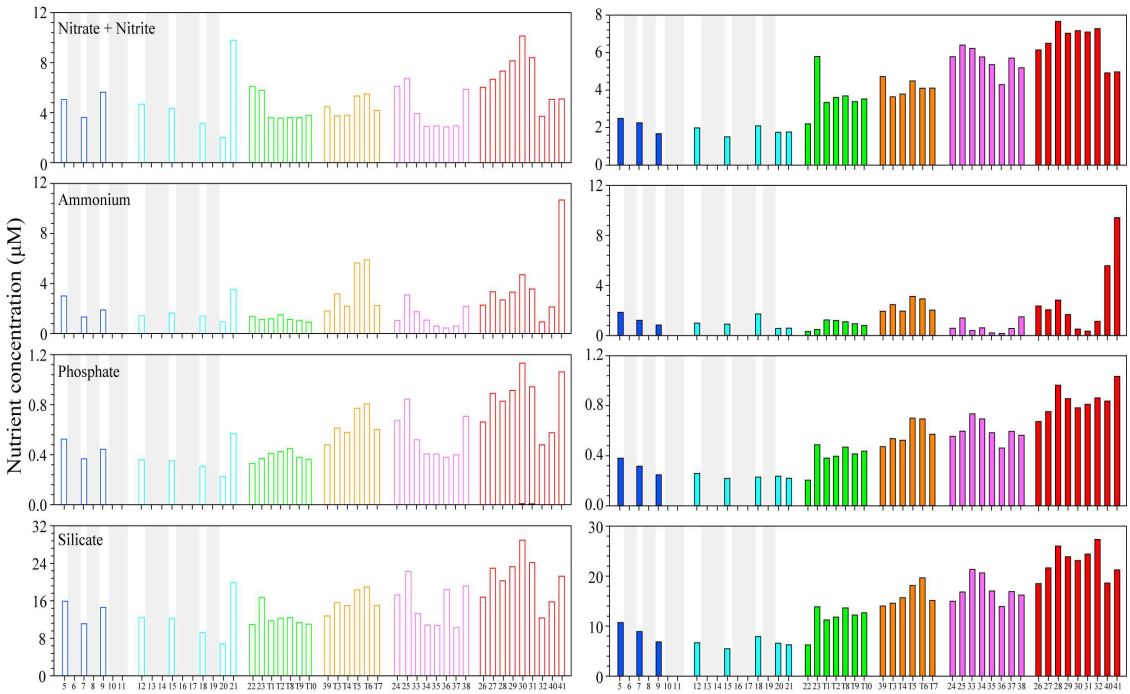


그림 25 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 9/22일 표층과 저층 영양염류의 변동

- 2017년 6월 23일 통영 표층주변해역에서 질산염의 농도는 대체로 2 μM 이하의 낮은 값을 보였다(그림 26). 또한 6/23일 저층 질산염의 농도는 표층에 비해 높은 값을 보였으며, 거제도-통영남쪽-북쪽으로 갈수록 낮아지는 경향을 보였다. 저층 암모늄의 농도는 질산염과는 반대로 거제도-통영남쪽-북쪽으로 갈수록 높아지는 경향을 확인하였다(그림 26). 2017년 통영 **표층 주변해역에서 6/23 이후 7/3일과 7/17일, 8/1, 8/14, 9/13일 질산염+아질산염의 농도는 일부 정점의 제외하면, 식물플랑크톤 성장에 제한되는 특성을 보였다**(그림 27, 28, 29, 30, 31). 특히 7/3일 통영북단 정점의 저층에서는 **질산염+아질산염의 농도가 매우 낮았으며**, 8/14 조사에서는 통영남쪽, 북쪽을 거쳐 전반적인 저층의 **질산염+아질산염의 농도가 낮게 관찰되었다.**

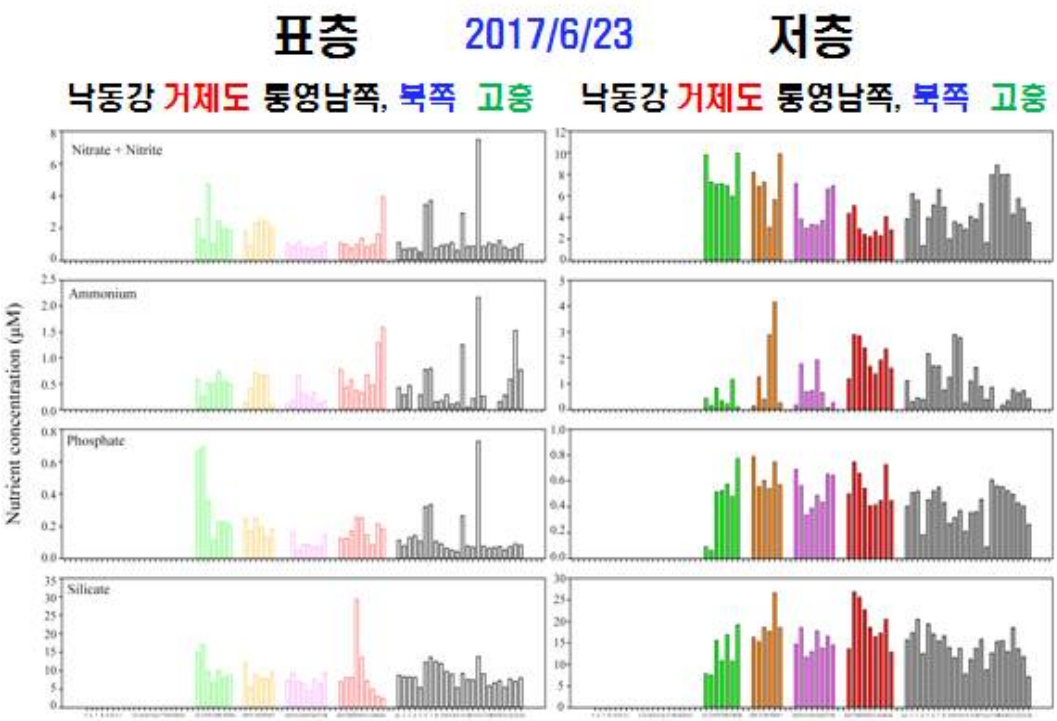


그림 26 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 6/23일 표층과 저층 영양염류의 변동

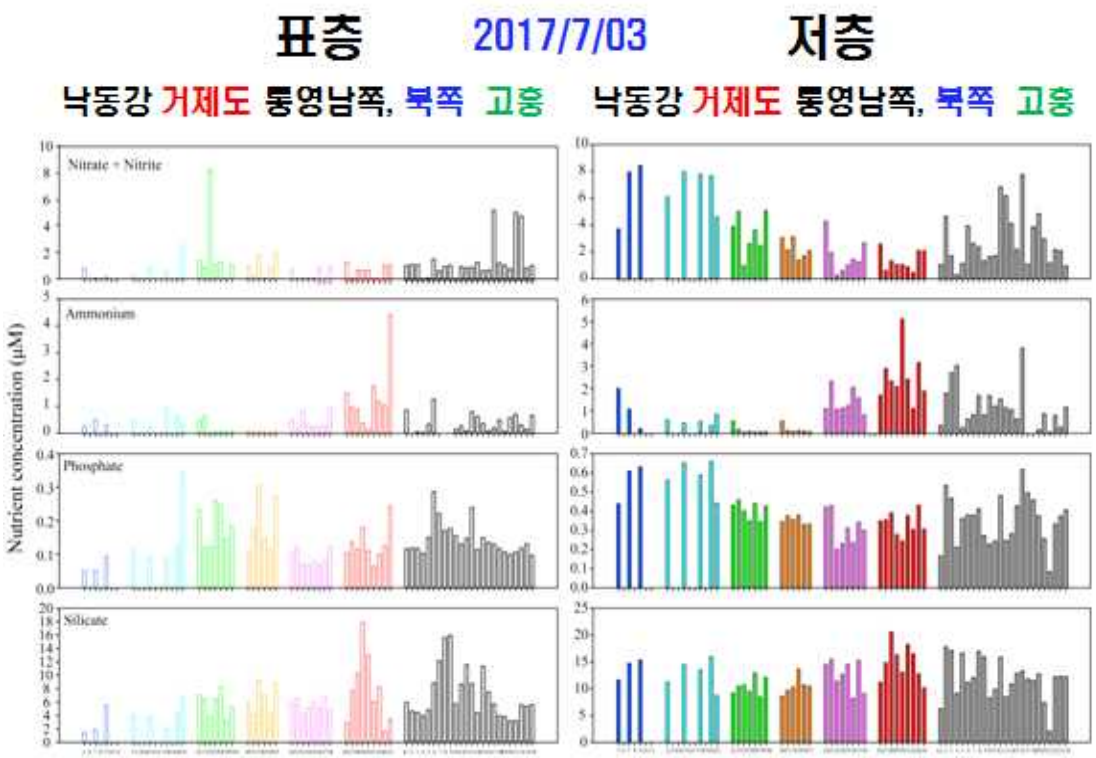


그림 27 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 7/03일 표층과 저층 영양염류의 변동

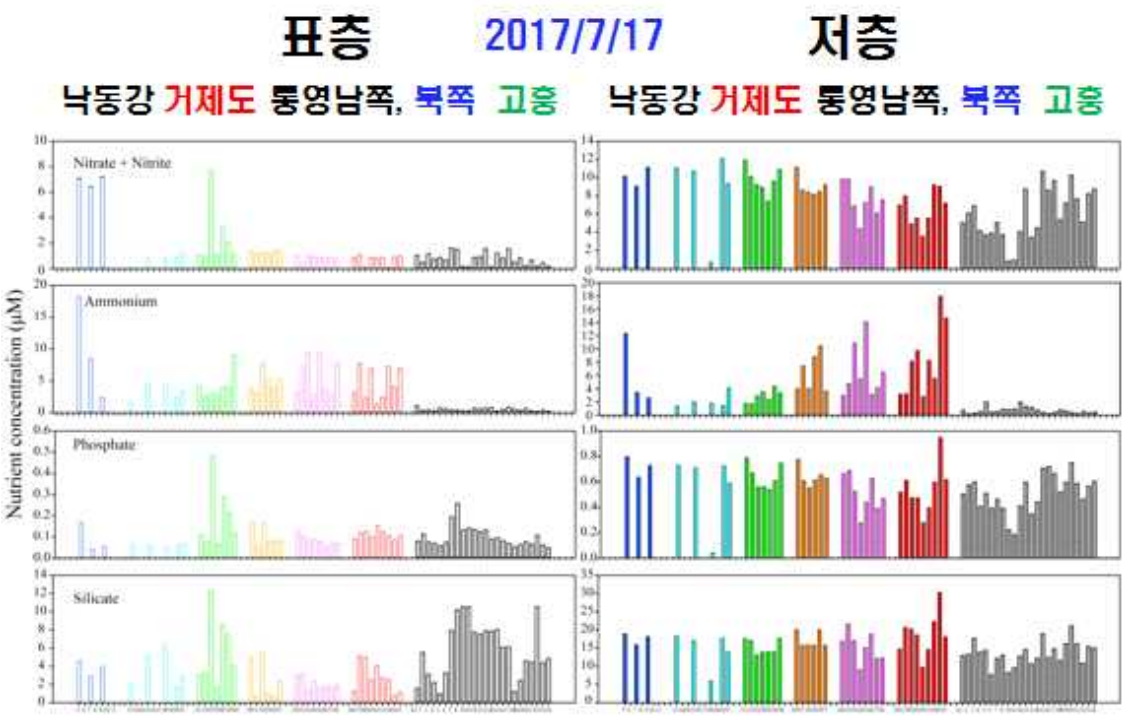


그림 28 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 7/17일 표층과 저층 영양염류의 변동

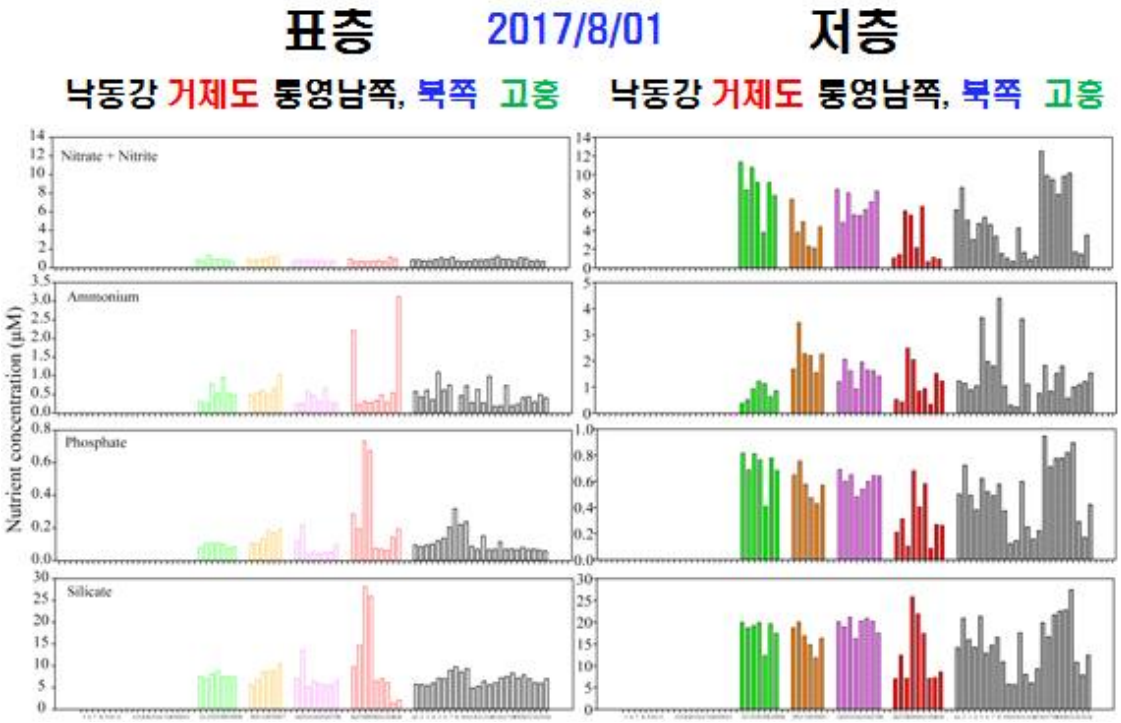


그림 29 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 8/01일 표층과 저층 영양염류의 변동

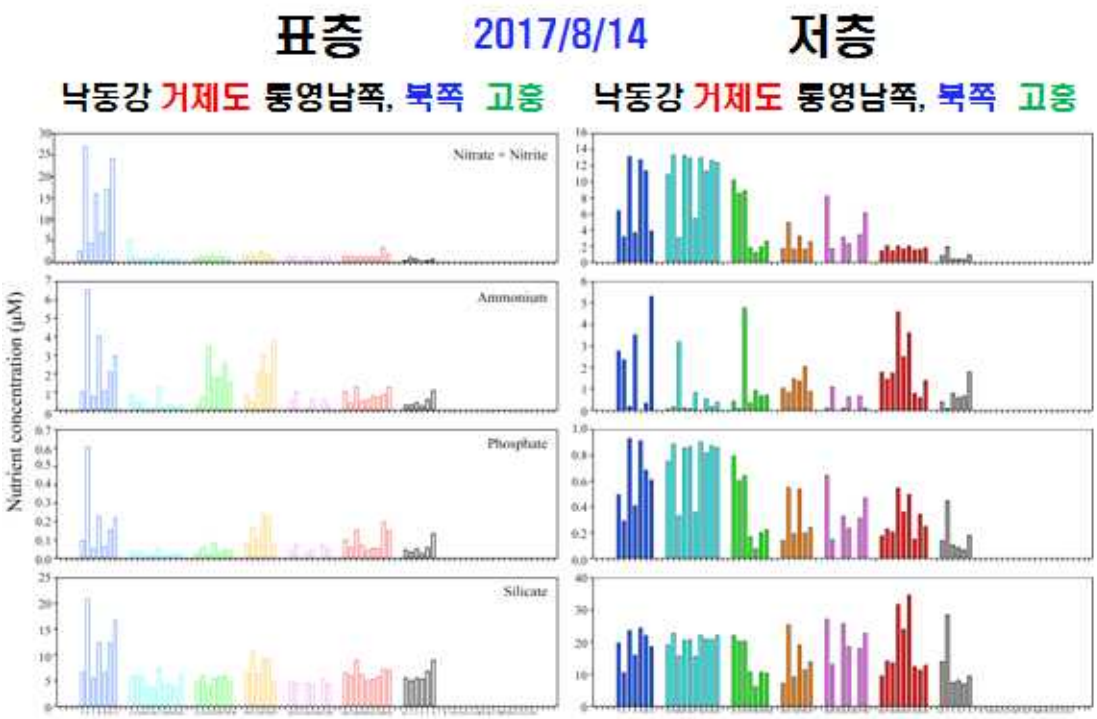


그림 30 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 8/14일 표층과 저층 영양염류의 변동

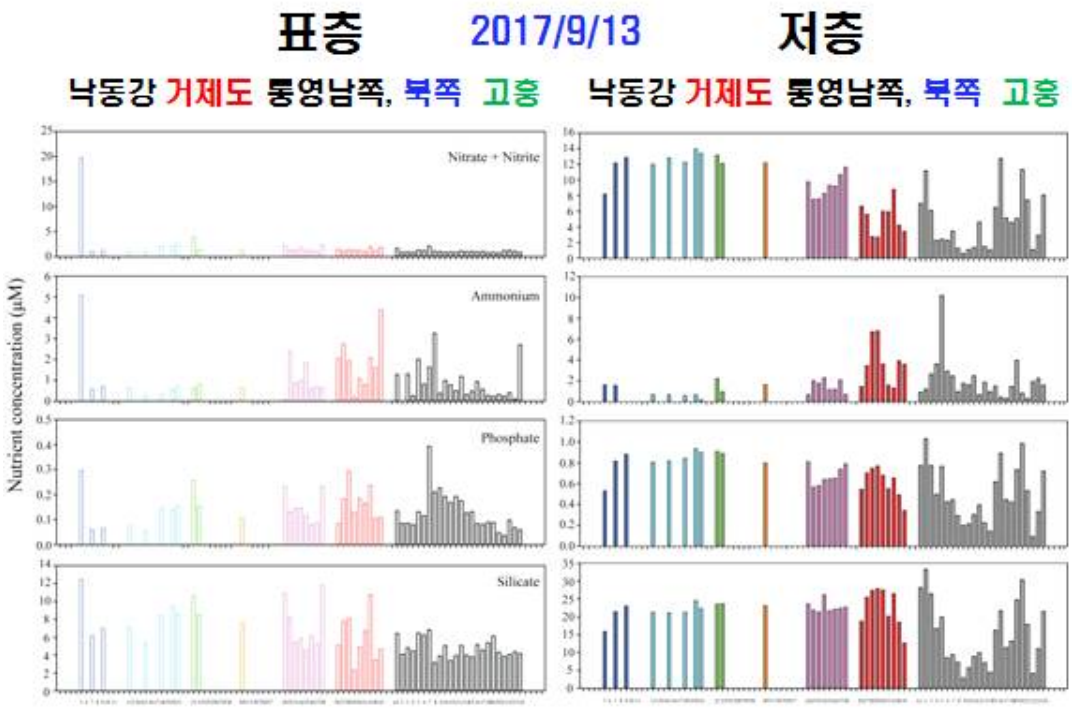


그림 31 2017년 낙동강-거제도-통영-남해도-고흥 주변해역에서 9/13일 표층과 저층 영양염류의 변동

(마) 통영주변해역에서 엽록소-*a*의 변화특성

- 2016년 통영주변해역에서 격주 조사에 의한 표층과 저층 엽록소-*a*의 변동은 시기별, 공간별 큰 차이를 보였다(그림 32). 특히 6/8일, 6/24일, 7/7일, 7/26일 표층의 엽록소-*a*는 일부 내만 정점에서 높은 값을 보였고, 외측정점에서는 2 μg L^{-1}이하로 낮게 관찰되었다. 8/10일, 8/22일에는 표층의 영양염류가 고갈되어, 식물플랑크톤 규조류의 성장이 이루러지지 않아, 엽록소-*a* 값이 극히 낮게 관찰된 반면, 저층에서는 일부 내만 정점에서 높은 엽록소-*a* 값을 기록하였다. 하지만, 9/10일 통영북단 정점 25-32에서 표층의 엽록소-*a* 값이 상대적이 높게 관찰되었으나, 저층의 엽록소는 크게 증가하지 않는 특성을 보였다. 이때 정점 40-41가 위치한 오비도 주변해역은 예외적으로 수심이 낮은 반 폐쇄적인 내만이라 저층에서 높게 엽록소-*a* 값을 보였다. 9/22일과, 10/19일은 상대적으로 표층 엽록소-*a*가 낮게 관찰되었고, 외측에서 약간 높은 공간분포 패턴을 보였다.

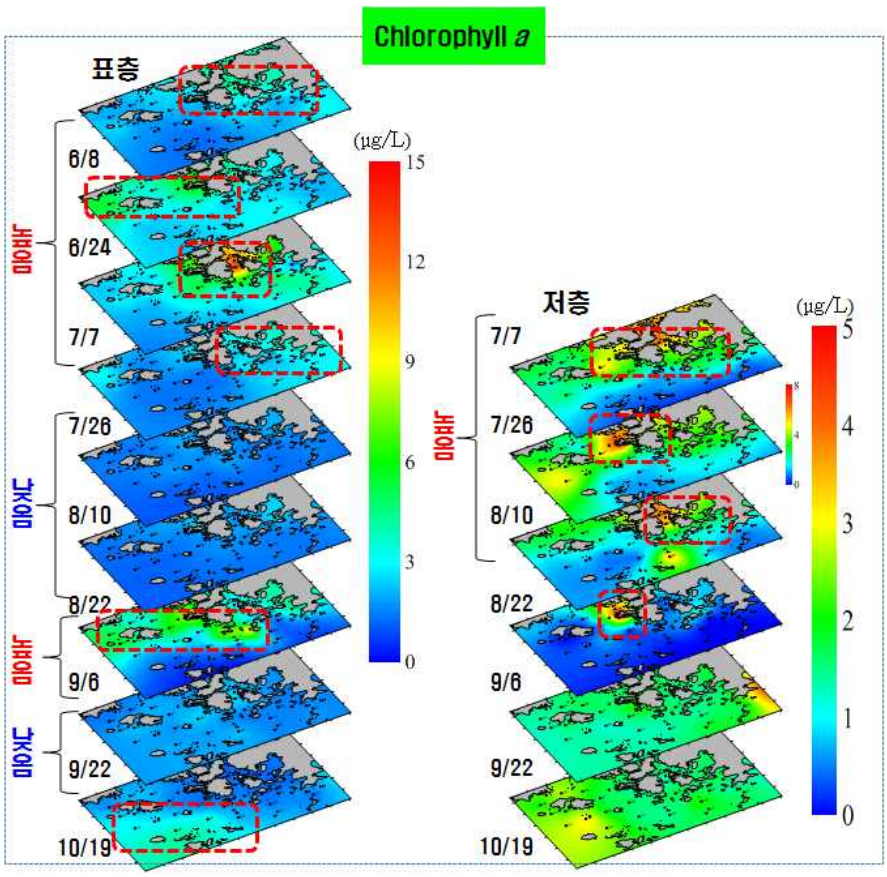


그림 32 2016년 통영주변해역에서 격주 조사에 의한 표층과 저층 엽록소-a의 변동

- 2017년에도 2016년과 유사하게 통영주변해역에서 격주 조사에 의한 표층과 저층 엽록소-*a*의

변동은 시공간적으로 큰 차이를 보였다(그림 33). 2017년 6/23일, 7/3일, 7/17일 표층의 엽록소-*a*는 일부 내만 정점에서 높은 값을 보였고, 외측정점에서는 3 μg L^{-1}이하로 관찰되었다. 7/17일 표층의 엽록소-*a*는 22번 정점 주변에서 6 μg L^{-1}로 높게 나타났으며, 저층의 염록소 농도는 높지 않았고, 특히 외측에서는 극히 낮게 관찰되었다. 이후 8/14일에 4 μg L^{-1}이상의 엽록소-*a* 값을 보였고, 이후 9/13일의 표층 엽록소-*a*는 통영북측과 내만쪽 정점에서 6 μg L^{-1}이상의 높은 엽록소-*a*값을 보였다. 2016년과 2017년의 엽록소-*a*값을 비교해보면, 2016년 7/7 표층에서 15 μg L^{-1}로 2017년 통영 주변해역에서의 8μg L^{-1}에 비해 매우 높은 값을 보였으며, 저층 또한 상대적으로 2016년의 엽록소-*a*값이 높게 나타난 것으로 파악되었다(그림 34).

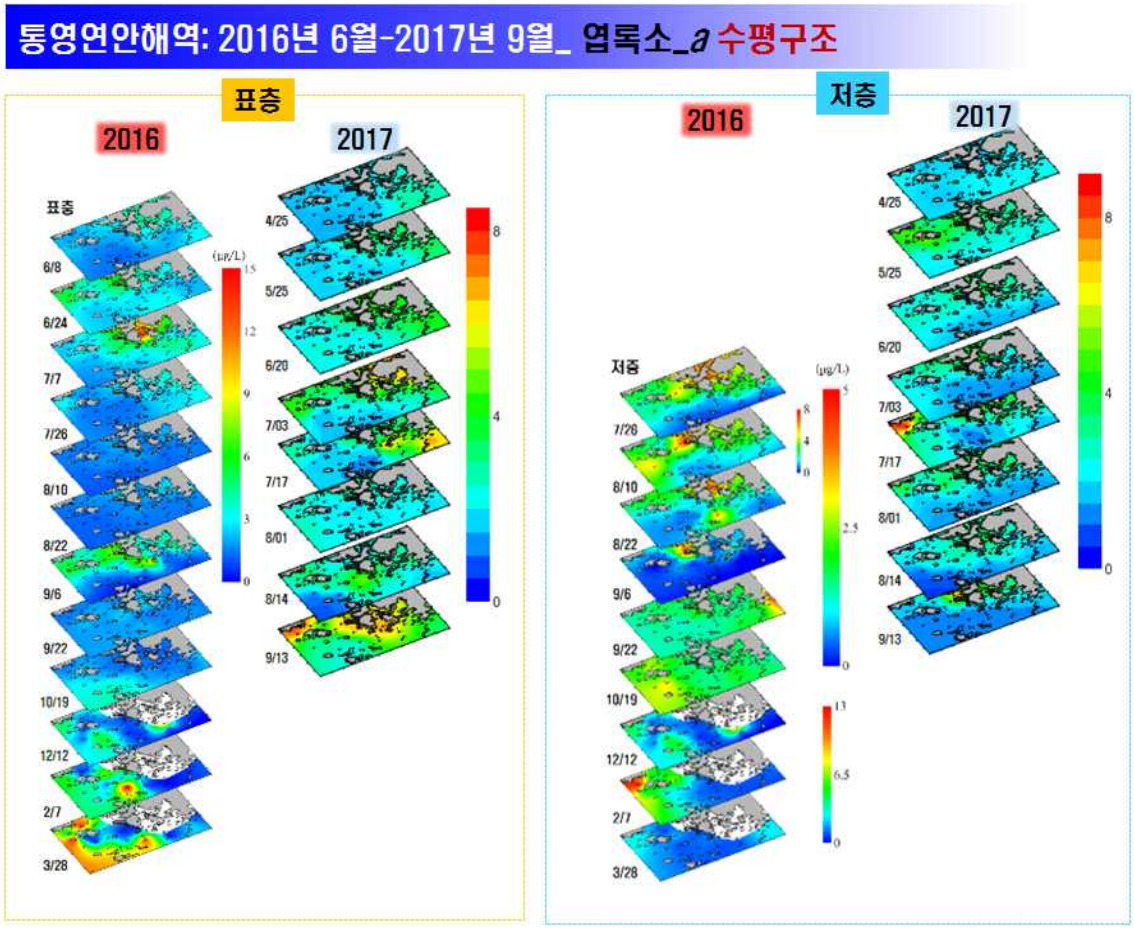


그림 33 2016년과 2017년 통영주변해역에서 격주 조사에 의한 표층과 저층 엽록소-*a*의 변동

남해안 적조가 발생하는 시간동안 환경요인과 생물정보를 외측과 내측을 정리하여 평가해 보았다(그림 34와 35). 수온은 표층에서 높았고, 저층에서 낮았다. 외측과 내측의 큰 차이는 보이자 않았지만, 8월 수온은 외측이 높게 관찰되었다.

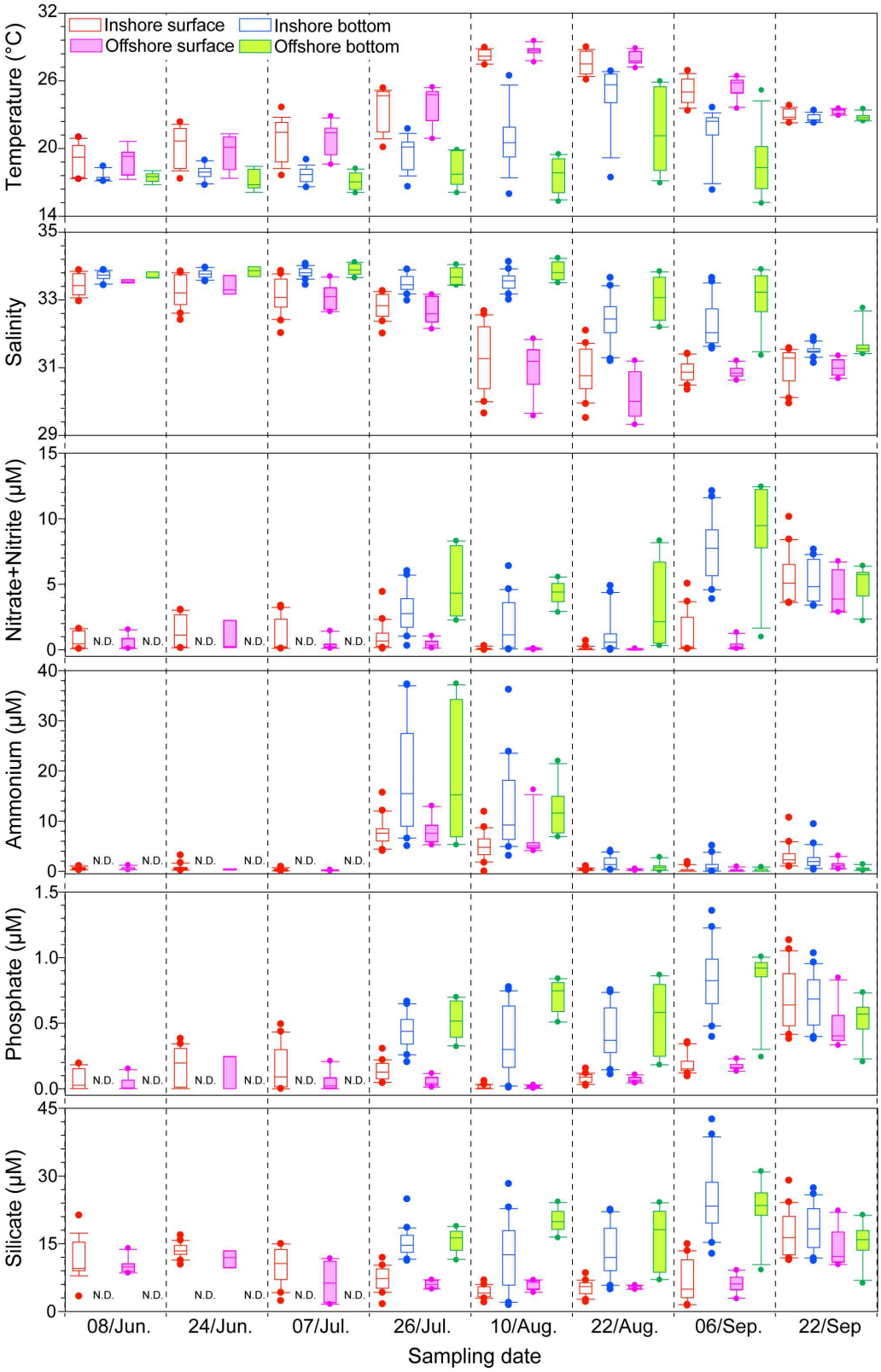


그림 34 2016년 통영주변해역의 외양과 내만의 환경인자의 분포특성

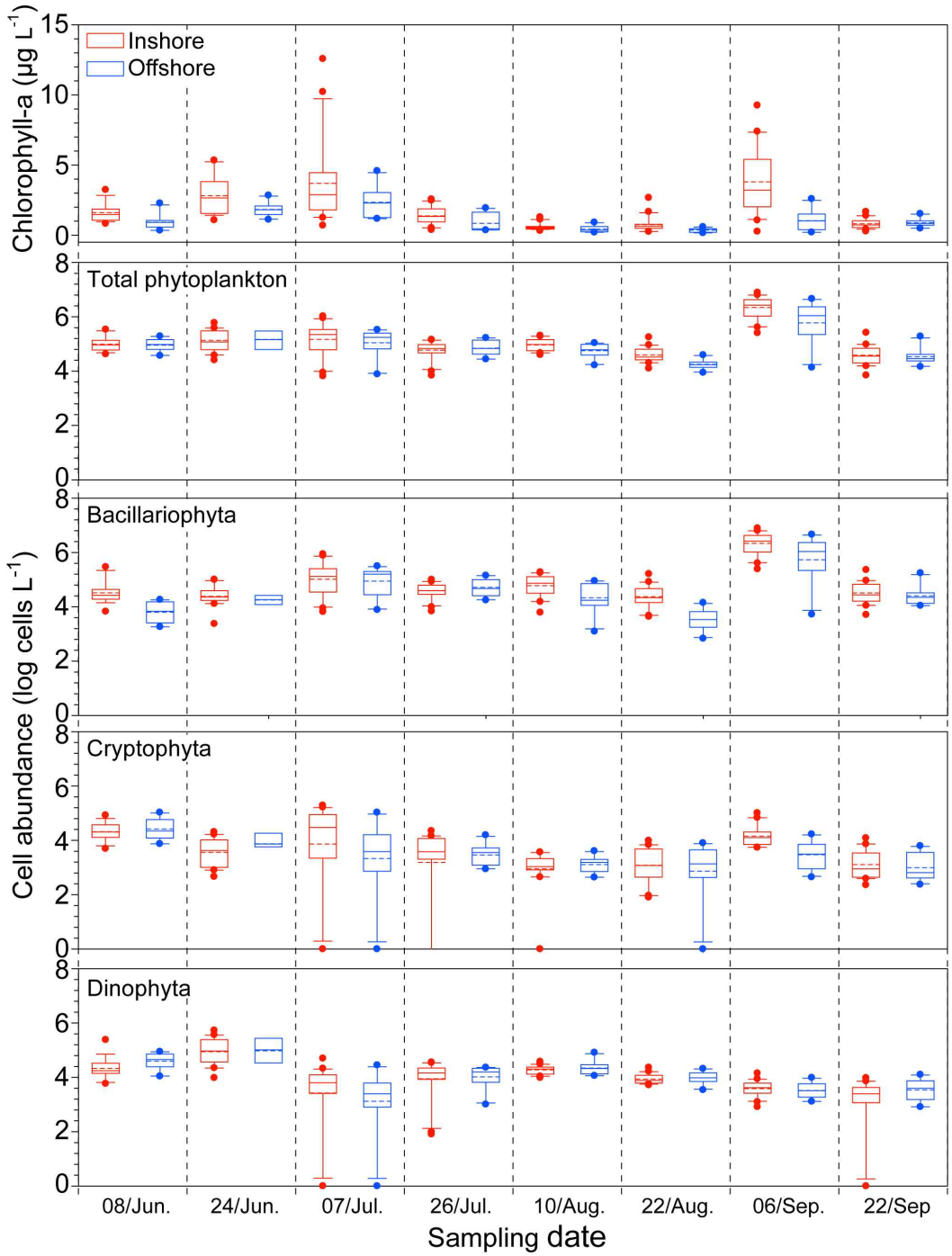


그림 35 2016년 통영주변해역의 외양과 내만의 식물플랑크톤의 분포특성

(바) 낙동강하구-거제도-통영해역 (기수-해수)에서 식물플랑크톤의 변화특성

- 2016년 6월 8일조사: 낙동강 하구역의 정점 5-20까지 와편모조류가 우점하는 양상을 보였고, 정점 22의 통영 남단과 북단에서는 와편모조류의 밀도가 상대적으로 감소하였다. 반면, 통영주변해역에서 규조류와 은편모조류의 비중이 20-30%를 차지하였다. 낙동강 하구역에서 우점한 와편모조류는 *Prorocentrum* 속 (*P.triestinum*)과 *Ceratium* 속으로 나타났다(그림 36).

- **2016년 6월 24일조사**: 통영주변에서도 와편모조류가 점차적으로 높게 나타나는 경향을 관찰하였다. 이는 통영주변해역의 표층에서 질산염+아질산염이 고갈되어 규조류 성장의 제한요인으로 작용하여 상대적으로 영양염 요구량이 적으면서, 주야연직이동능이 있는 와편모조류의 점유율이 높게 나타난 것으로 파악되었다.

- **2016년 7월 7일조사**: 낙동강하구 뿐만 아니라, 통영연안 해역에서 규조류가 60-80%로 높은 점유율을 보였고, 그 중 *Chaetoceros* spp.와 *Skeletonema* spp.가 높게 차지하였다. 반면, 와편모조류와 은편모조류의 점유율은 10% 내외로 극히 낮게 유지되었다. 이는 7월에 집중한 강우 100 mm 이상의 영향으로 연안내만에 영양염류가 공급되고, 이는 규조류를 중심으로 한 식물플랑크톤의 대발생을 유도하여 상대적으로 와편모조류의 출현이 관찰되지 않은 것으로 판단된다. 이와 함께, 적조생물 코클로디늄도 규조류와의 경쟁에서 밀려, 성장이 둔화된 것으로 판단된다.

- **2016년 7월 26일조사**: 7/7일과 유사하게 규조류가 우점하였으나, 총 개체수 밀도는 1/2~1/4 수준에 미쳤다. 그 중 *Chaetoceros* spp.가 극우점하였고,와편모조류의 비중은 20%전후로 7/7일보다는 조금 높은 점유를 보였다. 이는 상대적으로 영양염류가 점차적으로 고갈되어 식물플랑크톤의 종천이가 조금씩 진행되고 있다는 것을 의미한다.

- **2016년 8월 10일조사**: 표층의 영양염류가 고갈되어 낙동강 주변해역에서는 무각 와편모조류(*Gymnodinium* spp.)가 60-70%의 높은 점유를 보인 반면, 통영연안해역에서는 규조류가 60-70%을 차지하였다. 규조류 중 *Chaetoceros* spp.와 *Rhizosolenia* spp.가 높게 나타나는 특색을 보였다. 통영연안해역에서는 영양염류가 고갈되었음에도 불구하고, 7월에 우점한 종이 일정량 유지되고 있었고, 이와 함께, *hizosolenia* spp.가 일정하게 높은 밀도로 출현하였다.

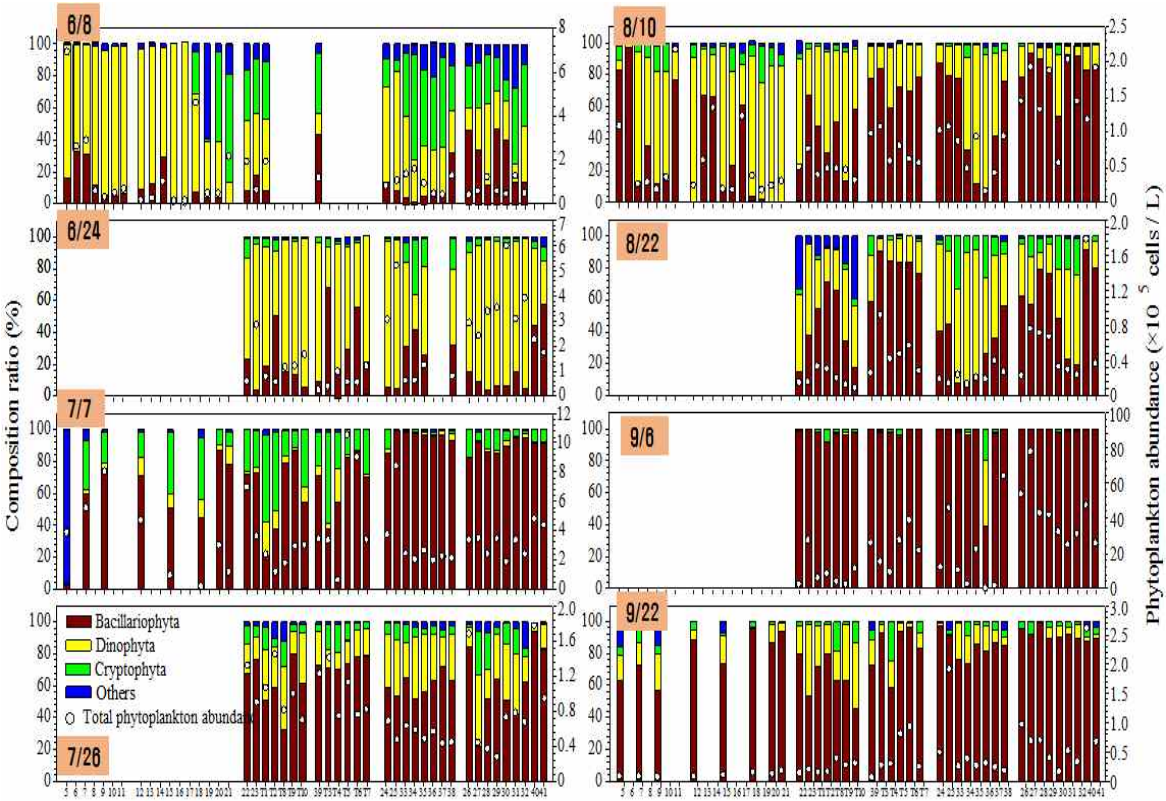


그림 36 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 식물플랑크톤 군집조성

- **2016년 8월 22일조사**: 7월말부터 8월말까지 총 식물플랑크톤 개체수 밀도가 상대적으로 낮게 나타났다. 특히 정점에 따른 공간적인 차이를 있었으나, 통영남단 정점 22부근과 한산도 주변(T2-T9)에서는 규조류가 높은 비중을 차지하였다. 반면, 외측정점 24 25부근에서는 와편모조류의 비중이 높게 나타났다.

- **2016년 9월 6일조사**: 모든 정점에서 규조류가 높은 밀도로 출현하였고, 우점종으로는 *Chaetoceros* spp. 와 *Pseudo-nitzschia* spp.로 나타났다.

- **2016년 9월 22일조사**: 대부분의 정점에서 규조류가 우점하였고, 와편모조류는 10-20%를 보였다. 규조류 *Pseudo-nitzschia* spp.가 상대적으로 높은 비중을 차지하였다.

종합적으로 담수-기수-해수에서 6/8일과 8/10의 광역조사 결과를 살펴보면, 낙동강 주변해역에서는 담수유입량이 상대적으로 적은 6월에 와편모조류가 우점을 하였고, 담수 유입이 많은 8월에는 규조류가 우점하는 양상을 명확하게 구분할 수 있었다. 특히, 8월에는 낙동강의 담수의 영향을 적게 받는 외측정점에서는 낮은 영양염류가 관찰되었고, 이들 해역에서는 와편모조류가 높은 점유를 보이는 특성을 확인하였다(그림 37).

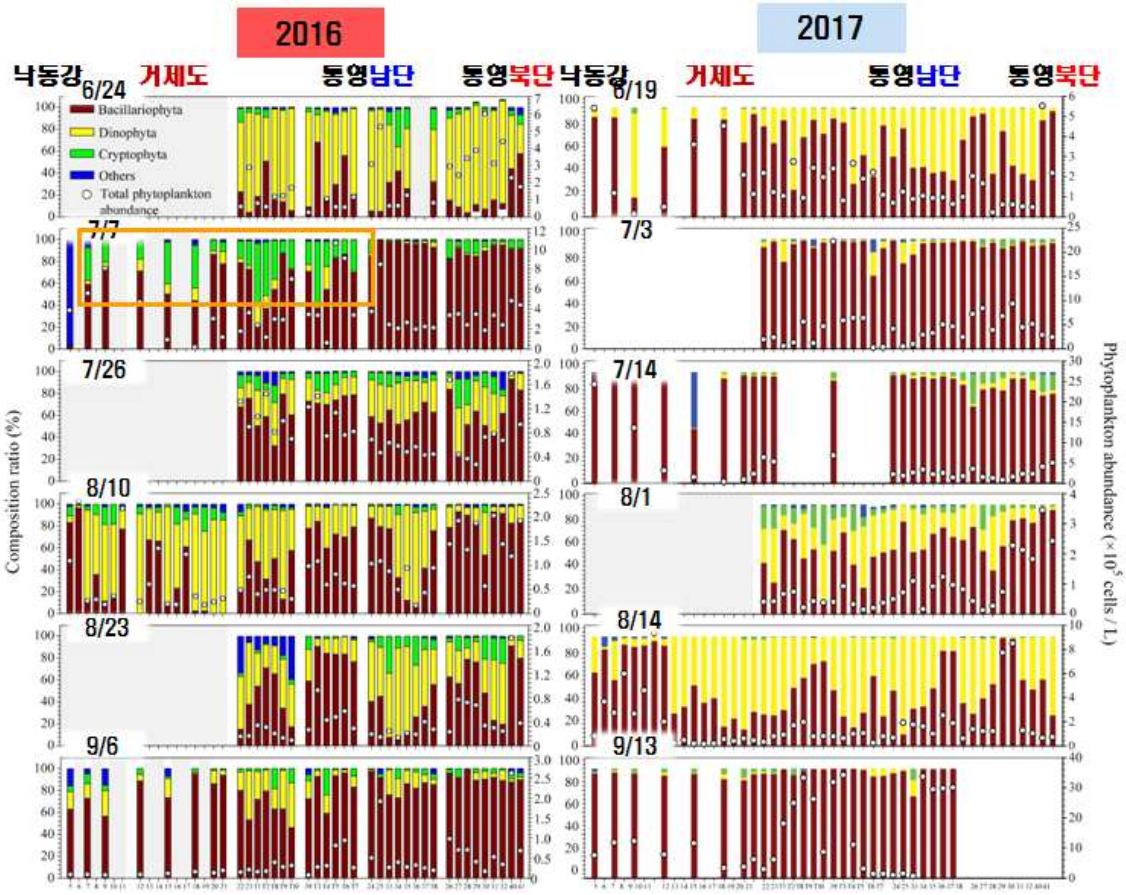


그림 37 2016년과 2017년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 식물플랑크톤 군집조성

- 2016년과 2017년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 식물플랑크톤 군집조성을 비교해보면, 2016년 6월24일 조사에서 와편모조류가 낙동강 하구, 거제도, 통영남단, 북단에 걸쳐 전반적으로 높게 나타난 반면, 2017년 6월 19일에는 규조류가 전반적으로 50% 전후로 우점하였다. 2016년 7월 7일 조사에서 낙동강에서 거제도를 거쳐 통영남단까지 은편모조류가 10%에서 최대 50%까지 나타남을 확인할 수 있었지만, 2017년에는 7월 3일조사에서는 규조류가 80-90%로 극우점하였고, 은편모조류와 와편조조류는 극히 낮게 관찰되었다.

- 2016년과 2017년 8월의 식물플랑크톤 군집조성은 공통적으로 낙동강인근의 정점5 주변을 제외하면, 와편모조류의 구성비가 크게 증가함을 확인할 수 있었다. 이후 9월 조사시기에는 2016년과 2017년 모두 규조류의 구성비가 증가하는 양상을 보였다(그림 37). 2016년 전체 식물플랑크톤의 개체수는 담수-기수-해수유역에서 6/8일과 8/10일에 낙동강 하구역 주변에서 가장 높게 나타났으며, 8/10에 통영북단에서 일정량 높은 개체수를 보였다. 2016년 6/8일의 식물플랑크톤 분포의 구성비는 와편모조류가 90% 이상으로 매우 높게 나타났으며, 8/10일에는 내만측에서는 규조류가, 외양측에서는 와편모조류가 우점하는 양상을 확인하였다(그림 38).

- 담수-기수-해수유역에서 유해미세조류 *Alexandrium* spp.와 *Cochlodinium* spp.는 일부 정점에서 낮은 개체수가 관찰되었고, 특히, 8/10 낙동강 하구 정점12 부근에서는 일정의 높은 개체수

가 관찰되었다.

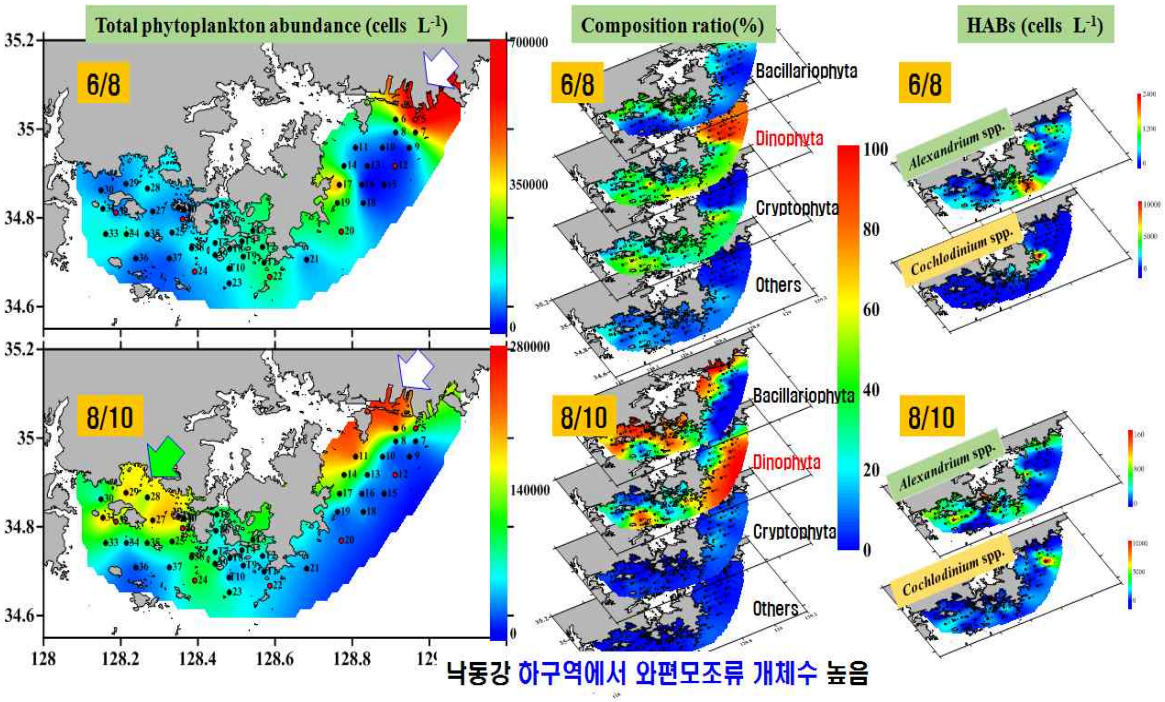


그림 38 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 식물플랑크톤의 수평적 분포 및 조성 통영주변해역에서 유해미세조류 (HABs)의 수평적 분포

- 2017년 담수-기수-해수유역에서 동계 2/8일조사에서 통영 북단 및 사량도 인근해역에서 식물플랑크톤의 현존량이 높게 관찰되었고, 춘계 5/24일에는 낙동강 하구역 주변정점에서 극히 높게 관찰되었다. 아울러, 하계 8/14일 조사에서도 낙동강 하구 주변정점에서 높은 개체수를 보여 2016년과 비슷한 양상을 보였다.
- 각 조사시기별 식물플랑크톤의 구성성분비를 살펴보면, 2017년 2월 8일, 5월24일 규조류가 매우 우점하는 경향을 보였으며, 2017년 8/14일의 구성비는 2016년과 유사하게 내만측에는 규조류가 우점하였고, 외양측 정점에서는 와편모조류가 우점하는 양상을 보였다(그림 39).

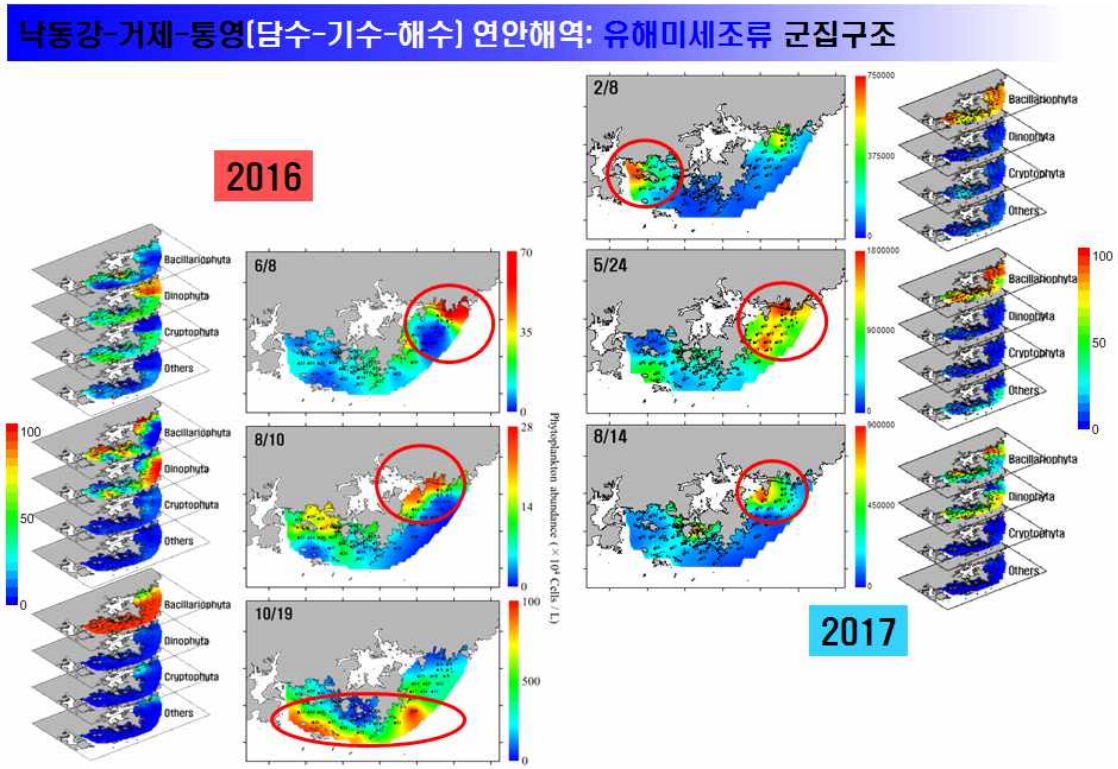


그림 39 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 식물플랑크톤의 수평적 분포 및 조성 통영주변해역에서 유해미세조류 (HABs)의 수평적 분포

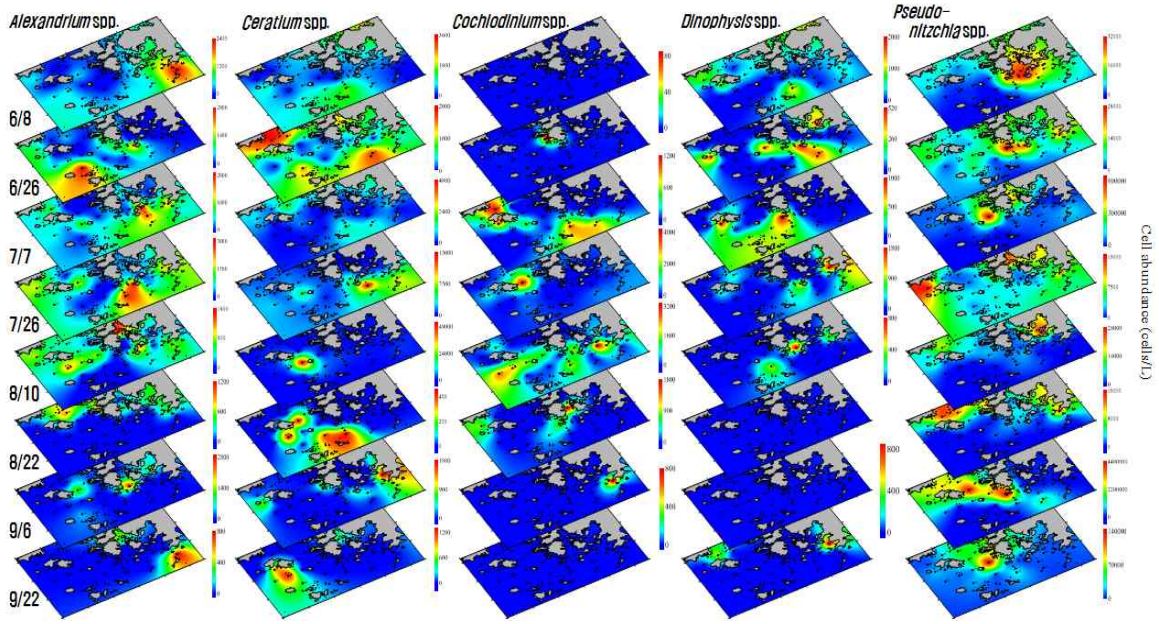


그림 40 2016년 통영주변해역에서 유해미세조류 (HABs)의 수평적 분포

- 격주간격으로 통영주변해역에서 핵심 유해미세조류 *Alexandrium* spp., *Ceratium* spp., *Cochlodinium* spp., *Dinophysis* spp., *Pseudo-nitzschia* spp.의 시,공간적 분포 양상을 제시하였다(그림 40).

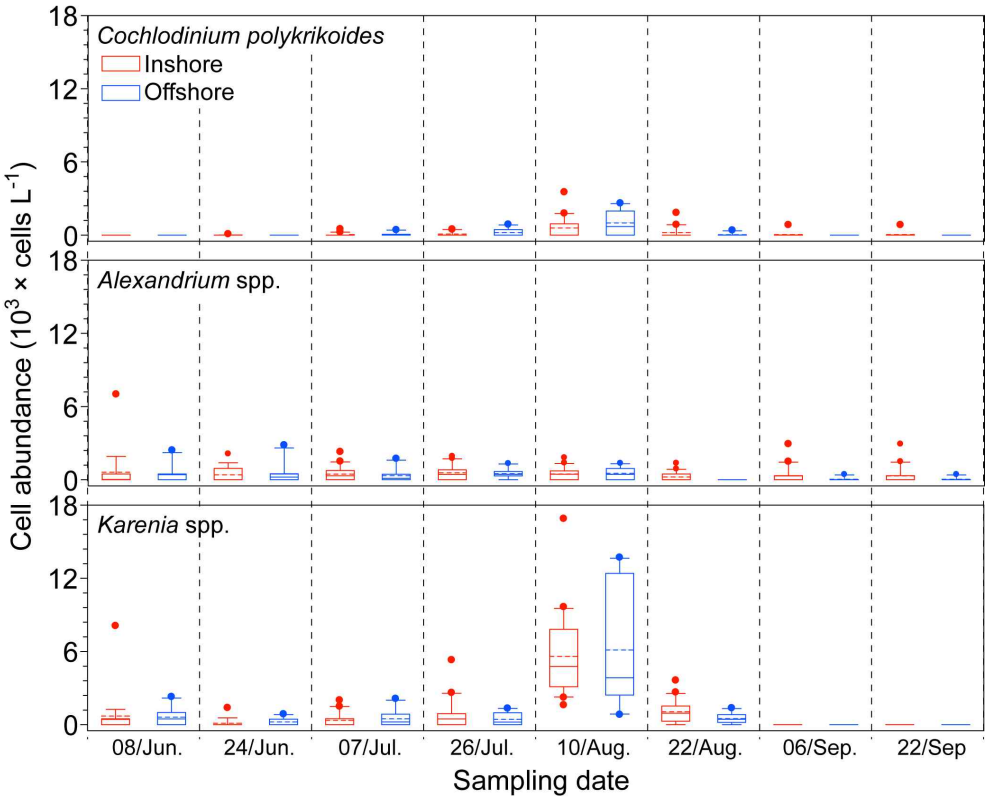


그림 41 2016년 통영주변해역에서 외양과 내만에서 주요 유해미세조류 (HABs)의 분포 특성

- 통영 주변해역에서 유해미세조류 *Cochlodinium* spp., *Alexandrium* spp., *Karenia* spp., 에 관해서 외측과 내측의 정보를 평가한 결과 외측에서 개체수밀도가 전반적으로 높게 나타나는 특색을 보였다(그림 41).

- 2017년 통영-남해도-여수-고흥해역의 격주조사에서 유해미세조류 *Cochlodinium polykrikoides* 의 표층과 중층의 공간분포는 6/19일 여수-남해도 주변 K6번 정점 표층에서 일정 개체수가 나타난 이후 8/1일 조사에서 표층과 중층 모두 여수-고흥 사이의 K11번 정점 주변에서 일정량의 높은 개체수를 보였다(그림 42).

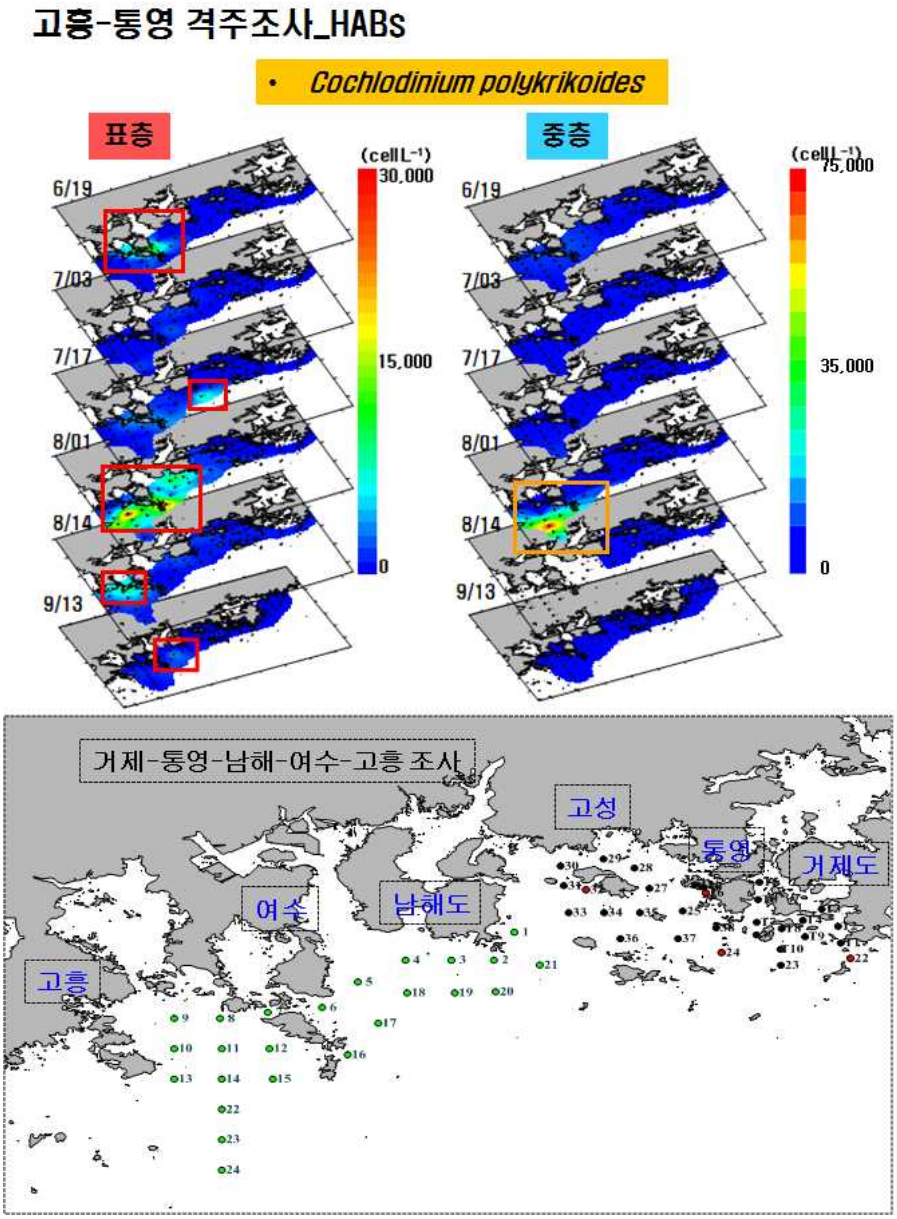


그림 42 2017년 통영-남해도-여수-고흥해역에서 유해미세조류 *Cochlodinium polykrikoides* 의 수평적 분포

- 2017년 *Cochlodinium polykrikoides* 의 출현양상은 여수 돌산도 인근해역에서 출현하여, 시간의 경과와 더불어 여수 남단의 외양에서 일시적으로 나타났다. 8월초에는 고흥-나로도 인근해역에서 30 cells mL^{-1}로 상대적으로 높은 밀도의 개체수가 관찰되었고, 그 이후 점차적으로 수멸하는 양상을 확인하였다. 2017년에는 특이적으로 *Alexandrium affine*의 적조가 8월 초에 남해도-통영인근해역에서 빈번하게 관찰되었다. *Alexandrium affine*의 특이적인 증식으로 인하여, *Cochlodinium polykrikoides* 증식이 일시적으로 둔화되어, 2017년의 *Cochlodinium polykrikoides* 의 적조가 관찰되지 않은 것으로 판단된다. 특이적으로 *Cochlodinium polykrikoides*은

*Alexandrium affine*의 경쟁에서 밀려 적조가 발생되지 않았을 가능성을 시사한다.

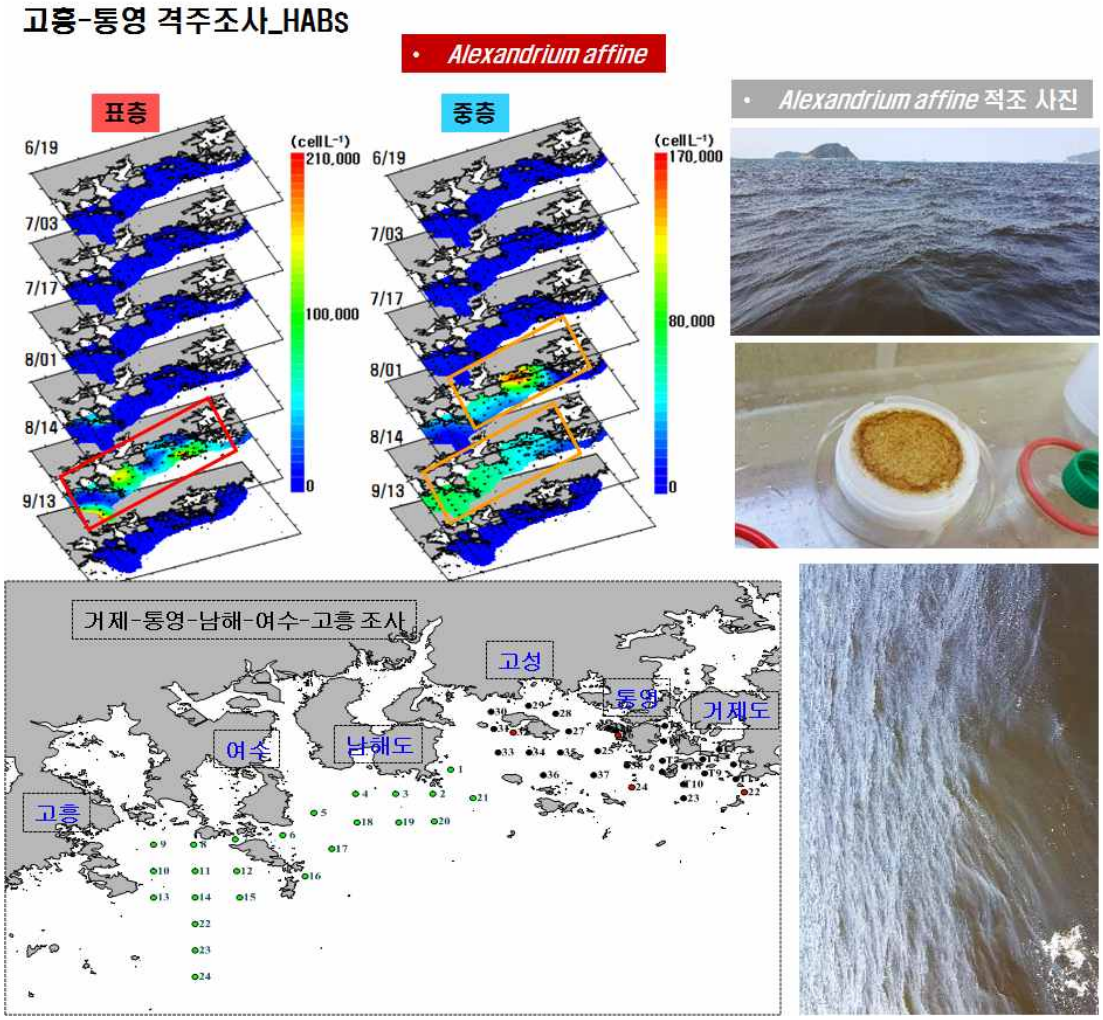


그림 43 2017년 통영주변해역에서 유해미세조류 *Alexandrium affine*의 수평적 분포

2017년 고흥-통영 격주조사에서도 8월초에 *Alexandrium affine*의 개체수가 중층에서 일정하게 높은 밀도로 출현하였다. 특히, 8/1일 남해도 앞바다의 중층에서 극히 높은 개체수가 발견되었으며, 이후 8/14일 고흥-여수-고성에 걸치는 넓은 영역에서 표층과 중층에 걸쳐 모두 매우 높은 개체수를 보였다. 아울러, 통영인근해역에서 일시적으로 8월 14일 전후로 적조가 관찰되었다(그림 43).

(사) 낙동강-거제도-통영에서 수온, 염분, 형광값(식물플랑크톤)의 수직적 분포 특성

- **수온**: 2016년 담수-기수-해수유역에서 월별 수온의 수직 구조를 살펴보면, 6월부터 낙동강 일부정점과 통영인근의 수심이 낮은 해역에서 표층 수온의 상승으로 인하여 약한 성층이 형성되었다. 7월에는 성층의 수심이 조금씩 깊어졌고, **8월에는 10 m 층까지 강한 성층이 형성되었다**. 그 후 9월에는 태풍의 영향으로 수층 혼합으로 성층이 붕괴되어 전 수층에서 일정 수온(23℃)을 유지하였고, 10월은 저층에서부터 차가운 물이 공급되면서 표층과 저층의 수온차이

로 크게 관찰되었다(그림 44).

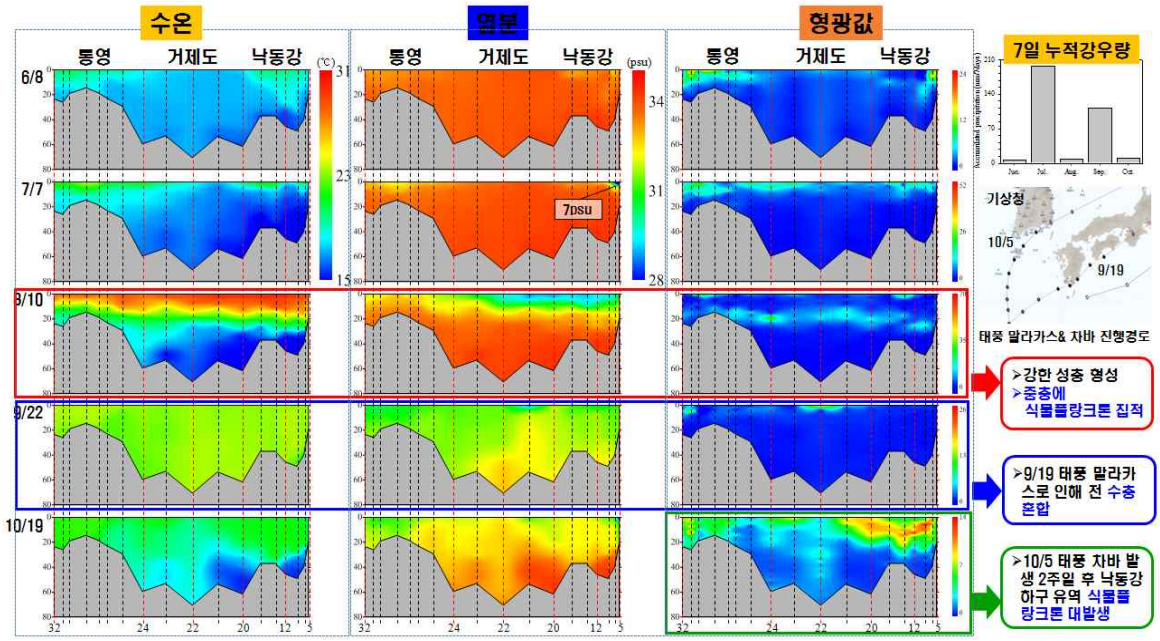


그림 44 2016년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 수온, 염분, 형광값의 수직적 분포

- 2017년 낙동강-거제도-통영에서 수온의 수직 구조를 살펴보면, 2016년과 비교하여 6월부터 낙동강 일부정점과 통영인근의 수심이 낮은 해역에서 표층 수온이 조금씩 상승하였다. 특히, 2017년 7월의 표층수온이 2016년보다 조금 일찍 상승하는 것을 확인할 수 있었다. 특이적으로 2016년 8월의 최대수온은 30℃로 극히 높았지만, 2017년 8월에는 성층심도가 2016년보다 깊어지는 특성을 확인하였다(그림 45). 이는 2016년 저염분현상으로 20-25 m 전후로 강한 염분약층이 형성되어, 온도에 의한 성층 심도가 깊어질 수 없었든 것을 시사할 수 있고, 2017년에는 일반적인 하계의 특성으로 표층수온의 증가로, 중층까지 비열이 전달되어 성층의 심도(30-40m)가 깊어진 것으로 판단된다.

- 2016년 9월은 8월의 고수온현상이 지속되어 24℃ 전후로 수온이 높았지만, 태풍으로 인해 수층혼합이 일어나, 수온의 수직구조가 전수층에서 일정하게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 반면, 2017년 9월은 22℃ 전후로 여전히 상층부에서는 일정하게 높은 수온이 형성되었고, 저층에서는 20℃ 이하(12-20℃)로 나타났다. 10월부터 전 수층에서 수층혼합이 일어나, 일정하게 균등한 수온의 수직적 분포양상을 확인하였다(그림 45).

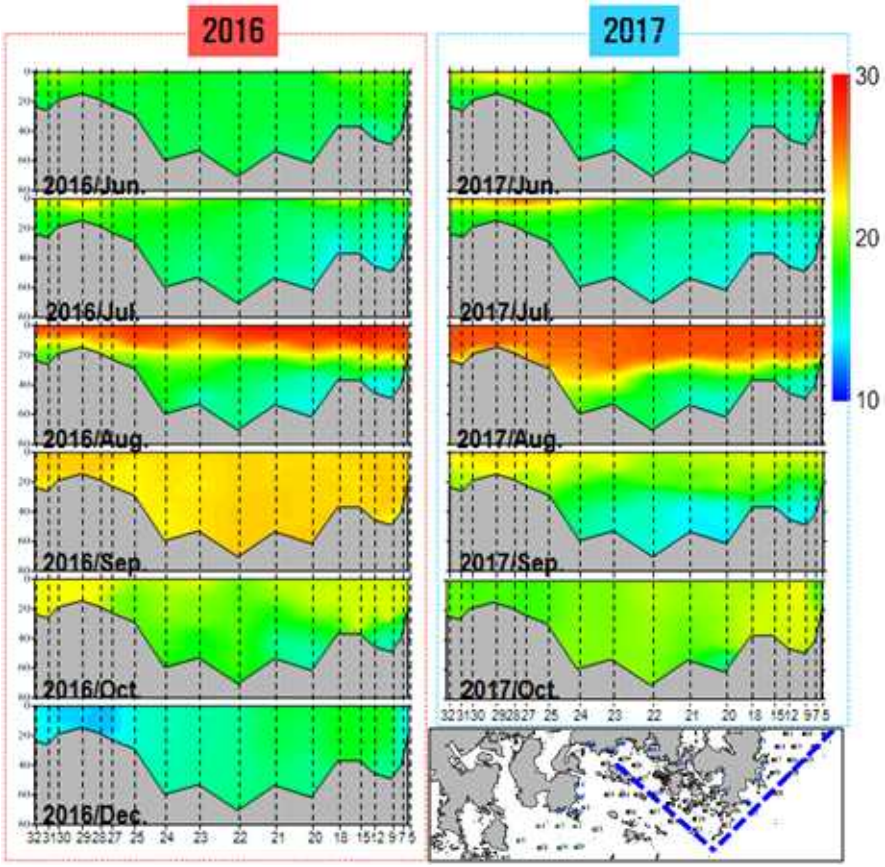


그림 45 2016년과 2017년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 수온의 수직적 분포

- 2017년 통영-남해도-여수-고흥에 걸쳐 수온의 수직 구조를 살펴보면, 6/19과 7/3 표층수온은 연안주변정점과 외양쪽 정점의 큰 차이가 나타나지 않았으며, 수심이 깊은 외양 정점의 저층에서 15℃ 전후로 낮은 수온이 관찰되었다.

- 수온이 점차적으로 증가하는 7/17과 8/1조사에서는 표층은 외양정점에서 높게 나타나는 특성을 확인하였다. 7/17일 수온에 의한 성층심도는 20 m 전후로 관찰되었고, 8/1일에는 성층의 심도가 점차적으로 깊어졌다. 연안정점과 비교하여 외양에서 상대적으로 높은 수온이 관찰된 것은 쿠로시오 난류의 영향인 것으로 판단되었다. 이후 9/13일에는 25℃ 전후로 높은 수온이 관찰되었고, 성층의 심도 또한 20 m보다 얕은 수심에서 24℃ 전후의 높은 수온을 보였다(그림 46).

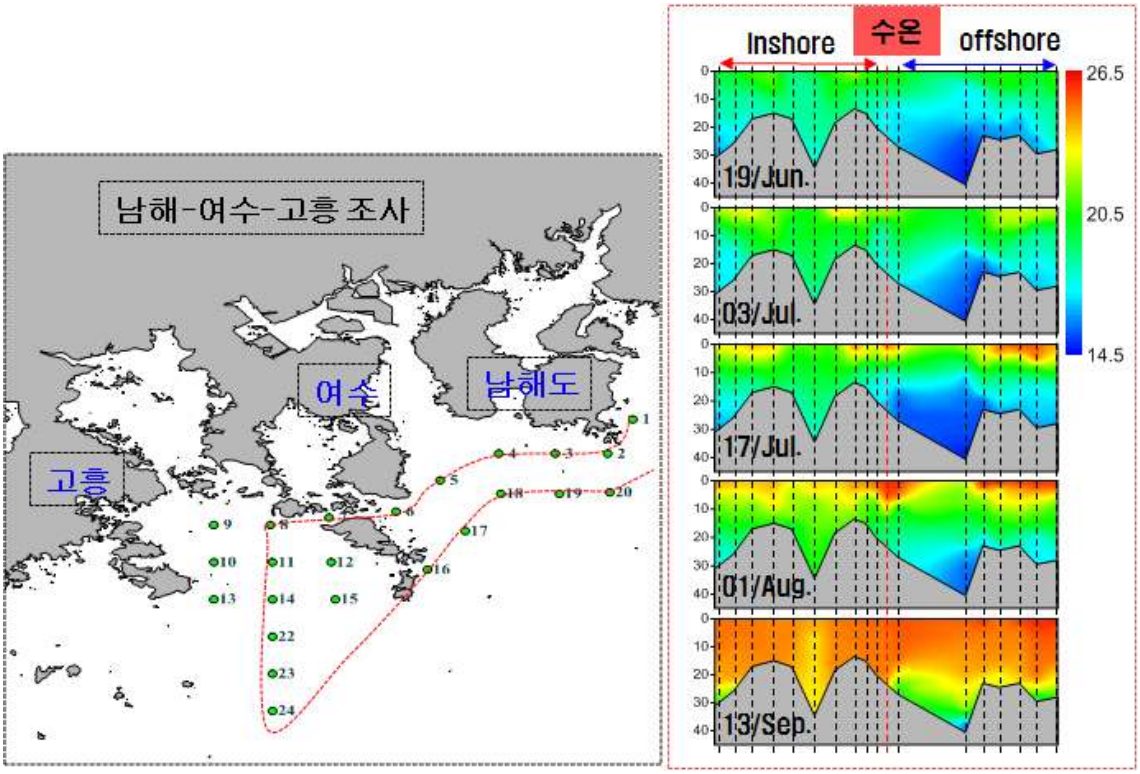


그림 46 2017년 남해도-여수-고흥주변해역에서 수온의 수직적 분포

- **염분:** 2016년 염분은 6월-7월은 34 psu 이상의 고염분이 전 수층에서 관찰되었고, 8월 낙동강 인근의 정점12에서부터 통영 남단 정점22까지 저염분수괴가 형성되는 것이 관찰되었다. 특히, 낙동강 하구역 정점 5 주변에서는 31 psu로 다른 정점보다 약간 높게 나타났다. **8월 조사 7일전의 누적강우량의 살펴보면, 낙동강 기원의 담수공급이 극히 낮았다는 것을 고려할 때 낙동강의 담수 공급에 따른 저염수수괴가 형성된 것이 아닐 가능성이 높고, 이는 중국 양쯔강 삼협댐의 방류로 중국기원의 담수 유입에 의하여 제주도를 거쳐 남해안뿐만 아니라, 동해 독도유역 (32 psu 해양과학기술원 김윤배박사팀 자료)까지 영향을 미친 것으로 파악되었다.** 결과적으로 거제도 남단유역에서 저염분수괴 (c.a. 30 psu)는 7월에 방류한 삼협댐의 영향인 것으로 파악된다. 9월에는 태풍에 의한 수층혼합으로 전 수층에서 31 psu 전후의 값을 보였고, 10월부터 저층에서 고염분수괴 (32-34 psu)가 확장되는 것을 관찰되었다.

- 2017년 6월과 7월의 염분은 2016년과 유사하게 34 psu 이상의 고염분이 전 수층에서 관찰되었다. 특이적으로 2017년 7월의 낙동강하구 정점 주변에서 극히 낮은 염분이 형성되었다. 8월 조사에서는 낙동강하구 정점5에서부터 거제도 및 통영 남단 정점22까지 저염분수괴가 형성되는 것을 관찰하였다. 이는 낙동강하구의 영향으로 일정하게 해역의 저염분화 현상이 관찰되었다. 8월 조사에서 2016년과 비교하여 2017년의 수직 염분구조는 중층까지 일정하게 영향을 미친 것으로 파악되었다. 9월에도 낙동강 하구역을 중심으로 일정하게 낮은 염분이 형성되었으

나, 8월보다는 두드려지지 않았다. 10월에는 전 수층에서 고염분이 관찰되었다(그림 37).

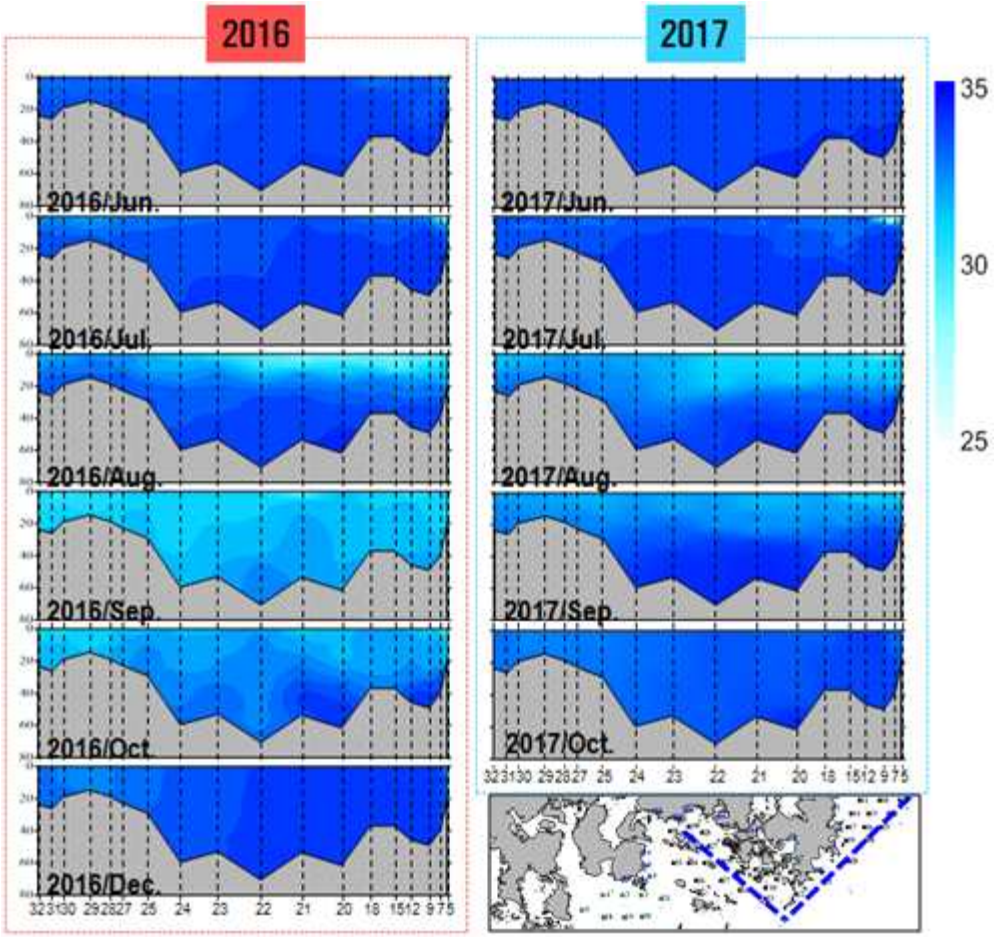


그림 47 2016년과 2017년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 염분의 수직적 분포

- 2017년 통영-남해도-여수-고흥에 걸쳐 염분의 수직적 분포를 살펴보면, 연안역과 외양역의 염분차이가 표층에서 크게 나타나지 않았다. 2017년 7월과 8월에 표층염분의 감소가 나타났으며, 9월 조사에서는 표층뿐만 아니라 전 수층에서 30 psu 전후의 낮은 염분 분포를 확인하였다. 이는 외양에서 유입되는 하계 양쯔강기원의 담수의 유입에 의한 양쯔강 희석수가 9월에 일정량 기여한 것으로 판단된다. 즉 2016년에는 7월의 양쯔강의 영향으로 8월에 저염분화현상이 남해안 전반에 걸쳐 나타났고, 2017년에는 8월의 양쯔강 방류가 9월에 남해안 중앙부에 일정하게 영향을 미친 것으로 사료된다(그림 48).

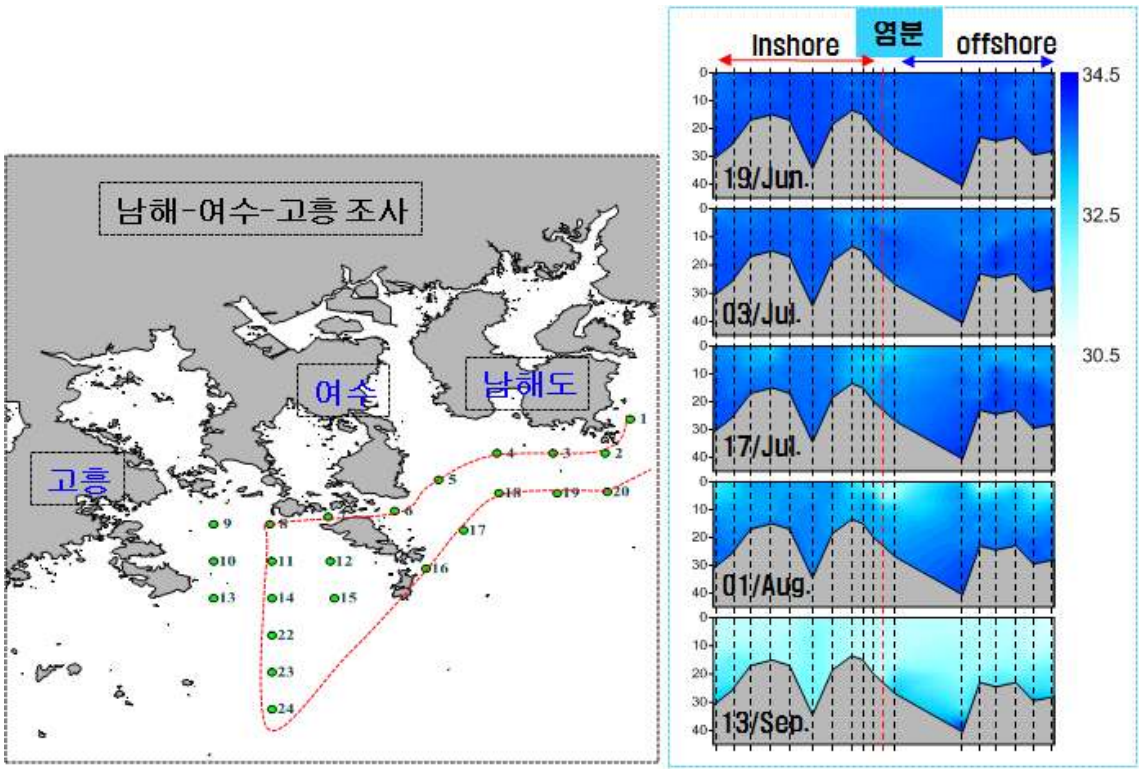


그림 48 2017년 남해도-여수-고흥주변해역에서 염분의 수직적 분포

- **형광값**: 수층 내 형광값은 식물플랑크톤의 수직적 분포특색을 파악하는 측도로 활용할 수 있다. 따라서, 각 수층별 형광값의 증감은 광합성 식물플랑크톤 현존량의 수직적 분포패턴을 유추하기에 적절한 도구로 활용가능하다. 2016년 6월과 7월에는 표층주변에서 일정의 값이 관찰되었고, 8월에는 성층이 강하게 형성되는 수온 및 염분 약층의 하부 경계층에서 형광값이 높게 나타나는 특색을 파악하였다. 9월에는 수층혼합으로 식물플랑크톤의 성장이 거의 일어나지 않았고, 10월에는 조사 14일전에 통과한 태풍의 영향으로 저층 퇴적물과 담수기원의 영양염류가 유광층 상부수심에 대량 유입되었을 가능성이 높고, 이는 time lag으로 조사기간에도 낙동강 하구역에서 거제도 남단정점까지 높은 형광값이 관찰되는 양상을 확인할 수 있었다. 특히 수심이 상대적으로 얕은 통영북단에서도 형광값이 높았고, 형광값의 증가와 반대로 해역의 영양염류는 유광층 상부층에서 전반적으로 고갈되어 낮게 관찰되는 특색을 보였다 (아래 영양염류 수직분포 그림 참조).

- 2017년 6월 표층부와 중층의 형광값은 낙동강하구역 정점 주변과 함께 통영북단의 내만해역에서 높게 관찰되었다. 7월 조사에서는 10 m 부근에서 극히 높은 형광값이 관찰되었고, 특히 낙동강 하구역에서-통영으로 이어지는 V라인에서 뚜렷하게 관찰되었다. 8월에는 중층에서 통영 남단의 일부정점에서 일정하게 높게 나타났으나, 다른 정점에서 극히 낮게 유지되었다. 이는2016년의 형광값의 분포 양상과 전혀 다른 특색을 보였다(그림49). 9월 형광값의 수직 분

포는 표층을 중심으로 높게 나타났다. 특히, 낙동강하구역 주변과 함께 통영북단 주변에서 높은 형광값을 기록하였다. 10월 형광값은 낙동강하구 인근해역의 표층주변에서 일정하게 높게 나타났고, 다른 해역에서는 극히 낮게 관찰되었다.

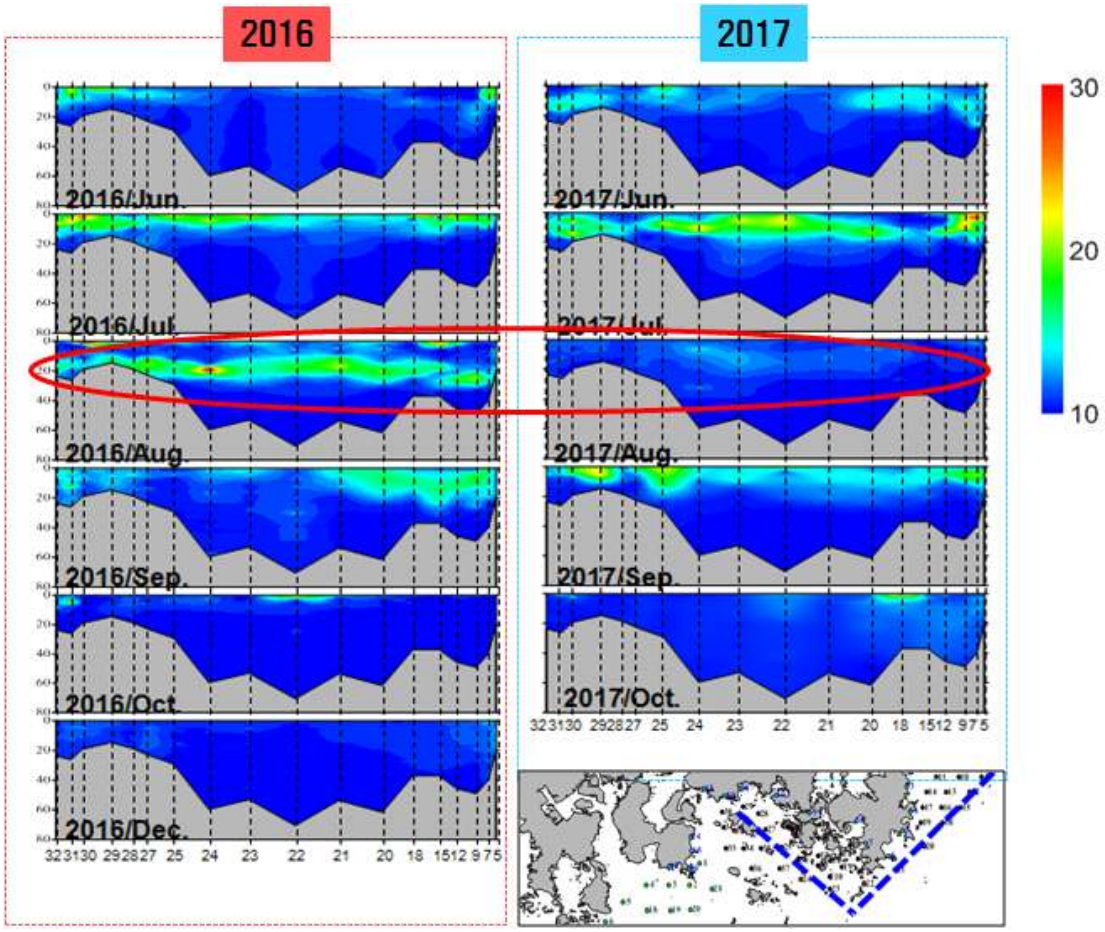


그림 49 2016년과 2017년 낙동강-거제도-통영주변해역에서 형광값의 수직적 분포

- 2017년 통영-남해도-여수-고흥에 걸쳐 형광값의 수직적 분포를 살펴보면, 6/19일의 형광값은 연안해역보다는 외양역의 중층에서 일정량 높게 관찰되었다. 7/3일의 조사에서는 고흥인근의 정점에서 표층과 중층에서 높은 식물플랑크톤이 출현하는 것을 유추할 수 있고, 여수-남해도로 이어기는 외양에서도 일정하게 높은 형광값이 관찰되었다. **7/17일 조사에서는 고흥-여수-남해도 전 정점의 표층과 중층수역에 높은 형광값이 관찰되었다. 이는 *Alexandrium affine* 적조가 형성되기 이전, 이미 중층에서 높게 우점하고 있다는 것을 시사할 수 있다. 즉 앞서 언급한 것과 같이 8월초 표층주변에서 높은 밀도의 *Alexandrium affine* 적조는 7월중순부터 중층에서 높은 밀도를 유지하고 있었다는 것을 반증할 수 있는 자료로 생각된다**(그림 50). **이후 8월 초에도 남해도 외양에서 일정하게 *Alexandrium affine*의 개체수가 출현한 것이 형광값의 증가에 기여하였을 것으로 사료된다.**

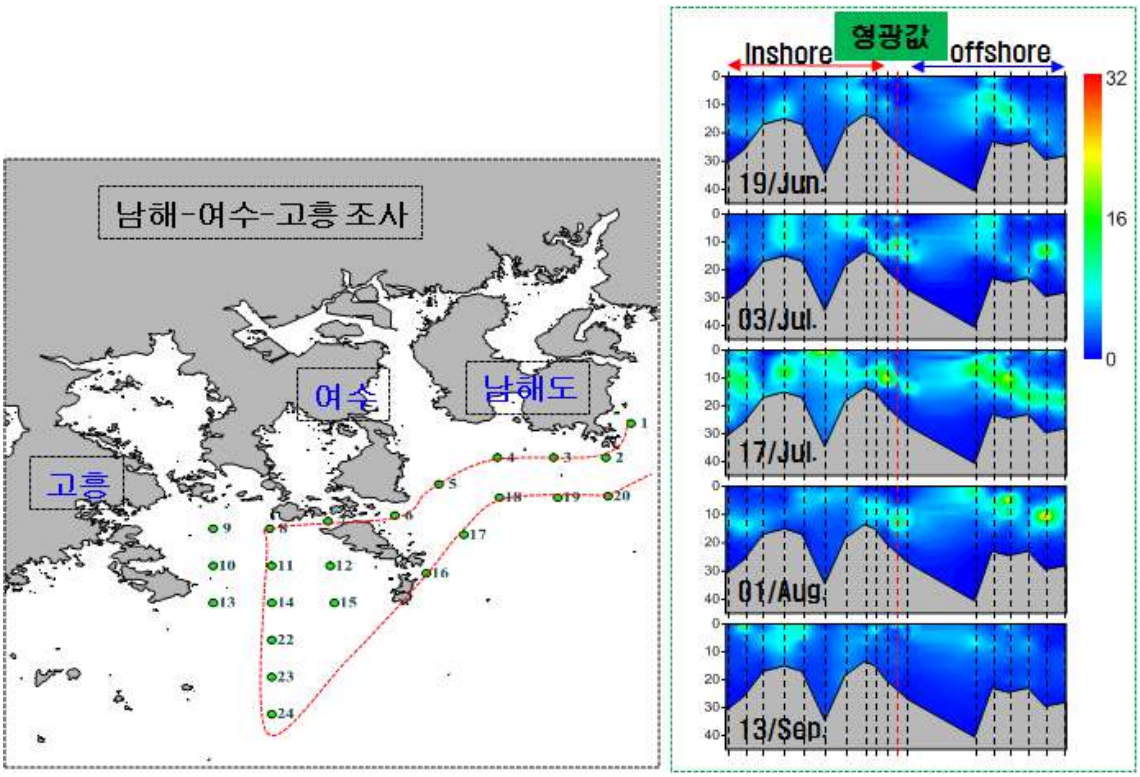


그림 50 2017년 남해도-여수-고흥주변해역에서 형광값의 수직적 분포

(아) 낙동강-거제도-통영에서 pH와 용존산소의 수직적 분포특성

- pH: pH의 수직적 구조를 살펴보면, 앞서 언급한 8월에 성층이 강하게 형성된 상부층에서 8.3-8.4로 높게 나타났고, 하부층에서는 8.0으로 나타났다. 9월에는 수층혼합으로 낙동강-거제도, 통영남단까지 8.1로 나타났고, 통영북단에는 8.0으로 상대적으로 조금 낮게 관찰되었다. 10월에는 유광층 상부역에서 8.1 전후의 값을 기록하였고, 40 m 보다 수심이 깊은 해역에서는 7.8-8.0로 나타났다(그림 51).

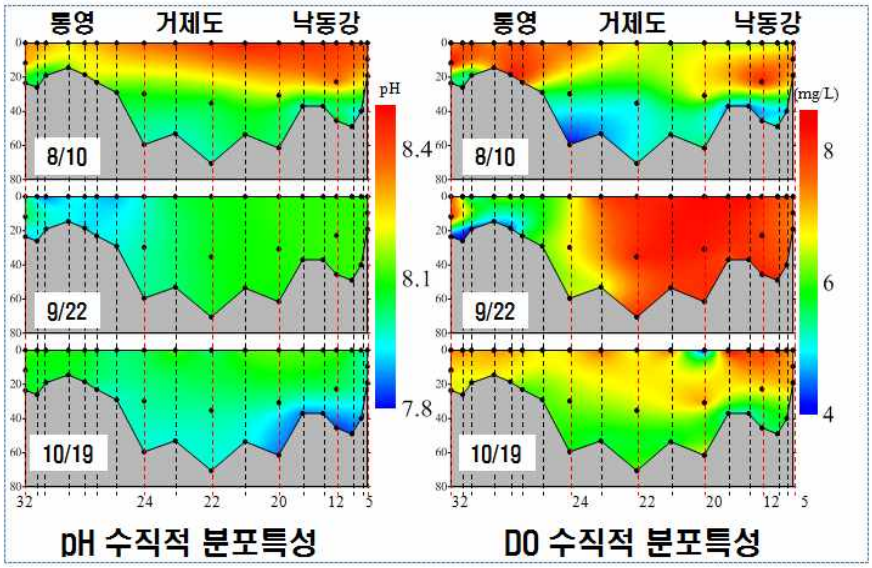


그림 51 낙동강-거제도-통영주변해역에서 수온, 염분, 형광값의 수직적 분포

- **용존산소:** 용존산소의 수직구조는 pH의 증감과 유사한 경향을 관찰하였다. 즉 pH가 증가한 표층주변에서 용존산소가 8 mg L^{-1}로 높게 관찰되었다. 저층의 용존산소는 8월에 4 mg L^{-1}로 낮게 관찰되었고, 9월과 10월에는 통영북단의 수심이 낮은 정점을 제외하면 전 수층에서 6 mg L^{-1}이상을 보였다.

(자) 낙동강-거제도-통영에서 영양염류의 수직적 분포특성

- **질산염+아질산염:** 질산염+아질산염의 수직구조를 살펴보면, 6월에서 8월까지 표층주변에서 극히 낮은 값을 보였다. 단 7월의 낙동강하구 정점5에서만 10 μM로 높게 나타났다. 9월에는 태풍에 의한 수층혼합으로 수심이 얕은 통영북단 정점에서 일정의 높은 값이 관찰되었고, 10월에는 표층주변에서 고갈되는 양상을 확인하였다 (그림 52).

-**암모늄염:** 질산염+아질산염과 유사하게 7월의 낙동강 하구 정점5를 제외하면, 6월과 7월 표층주변에서 극히 낮은 값을 보였다. 8월에는 낙동강 하구역 주변에서 높게 나타났고, 특히 수심이 깊은 유광층 하부역에서 높게 관찰되는 특성을 확인하였다. 9월에는 낙동강 하구 정점5 부근, 거제도 남단 정점21 부근, 통영북단의 정점에서 높은 값을 보였다. 10월에는 낙동강-거제도 유역에서는 전 수층에서 극히 낮게 관찰되었으나, 통영북단에서만 일정하게 나타났다.

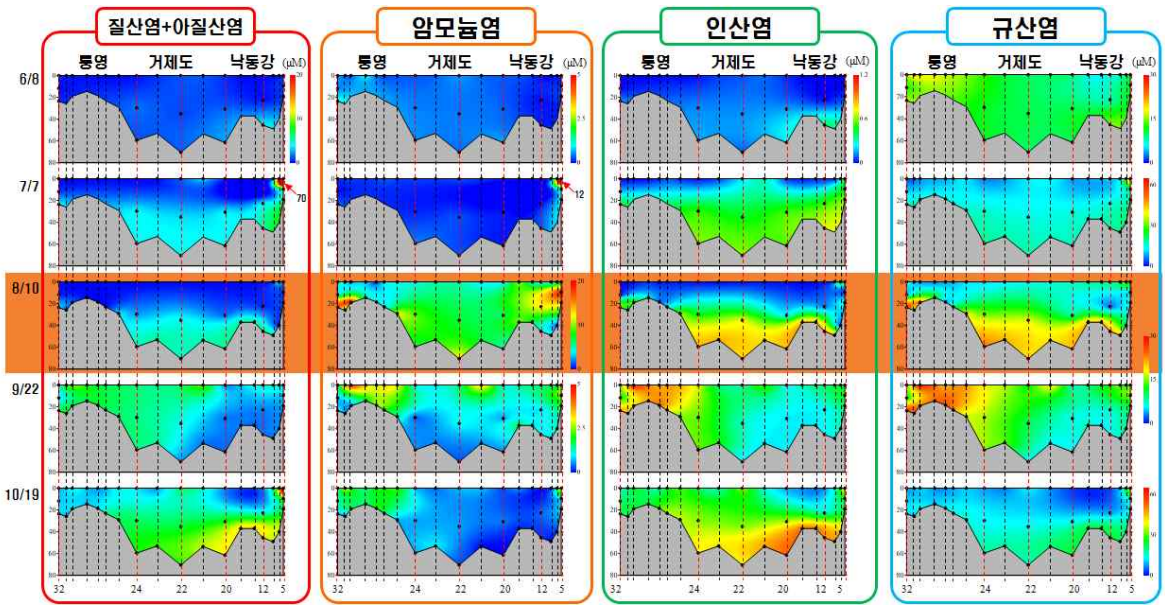


그림 52 낙동강-거제도-통영주변해역에서 영양염류의 수직적 변동

-**인산염**: 인산염의 수직적 분포특색은 질산염+아질산염의 수직 분포패턴과 유사하였다. 즉 인산염은 6월에서 8월까지 표층주변에서 고갈되었고, 9월에는 수층혼합으로 전 수층에서 높은 농도를 보였다. 특히, 수심이 얕은 통영북단에서 높은 농도가 관찰되었고, 10월에는 거제도 남단의 수심이 깊은 정점에서 높은 농도를 관찰하였다.

-**규산염**: 규산염은 6월에는 전반적으로 일정의 농도를 유지하였고, 7월과 8월에 표층주변에서 점차적으로 낮게 유지되었고, 이는 규산염을 이용하는 규조류의 성장에 저해요인으로 작용되었을 가능성을 시사하였다. 9월에는 태풍에 의한 수층혼합으로 전 수층에서 높게 나타났고, 특히 통영북단의 수심이 얕은 해역에서 규산염의 농도가 높았다. 10월에는 규조류의 현저한 증식으로 유광층 상부수역에서 규산염의 농도가 극히 낮게 관찰되는 특성을 보였다.

(2) 거제-통영-고성-남해도 최내측 정점을 중심으로: 4회 조사수행

본 조사는 항만 및 연안 최내측에서 유해미세조류의 개체수가 존재할 수 있는 환경특성 및 개체수 동태를 파악하고자 수행하였음. 아울러, *Cochlodinium*의 초기 개체수 유입이 어디에서 발생하는지 추적하고자 하였다.

(가) 내측 항만해역에서 수온 및 염분분포

- **수온**: 수온은 7/7일 정점 P1에서 P6으로 향할수록 현저하게 감소하는 특색을 보였고, 통영-

고성해역에서는 점차적으로 증가하였다. 즉 연안 최내측의 정점에서는 7월과 8월동안 25-30℃로 극히 높게 유지되었음. 반면, 외측의 영향을 강하게 받는 거제도동부수역과 남해도유역의 정점에서는 다른 최내측 정점보다 수온이 상대적으로 낮은 22-28℃ 관찰되었다 (그림 53).

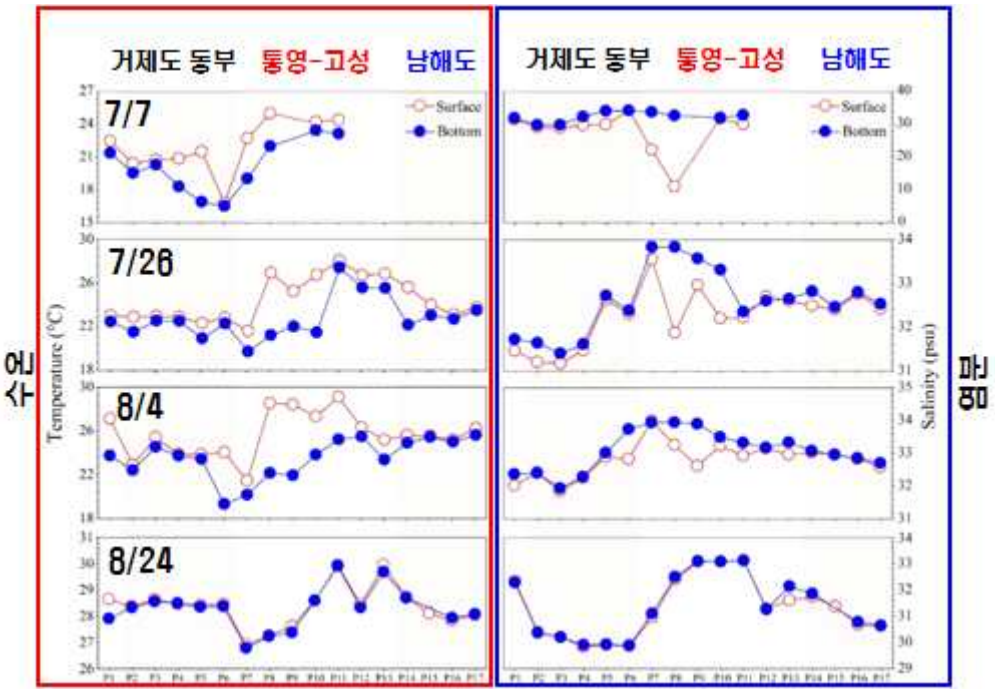


그림 53 거제도, 통영, 고성, 남해도의 주요항만 및 내만의 수온과 염분 변동

- **염분**: 염분은 7/7일 정점 P7-P8 표층에서 극히 낮게 관찰되었고, 다른 정점에서는 표층과 저층의 큰 차이 없어 31-32 psu전후의 값을 보였다. 7/26일 P2-P4의 표층에서는 상대적으로 낮은 염분이 관찰되었고, 통영-고성주변 (P9-12)에서 높게 나타났다. 8/4일은 정점간의 큰 차이 없이 32-33 psu를 보였고, 8/24일에는 거제도 동부해역만 저염분수괴 (29-30 psu)가 관찰되었다. 즉 염분은 최내측 정점에서도 유해미세조류가 증식할 수 있는 범위로 나타났다.

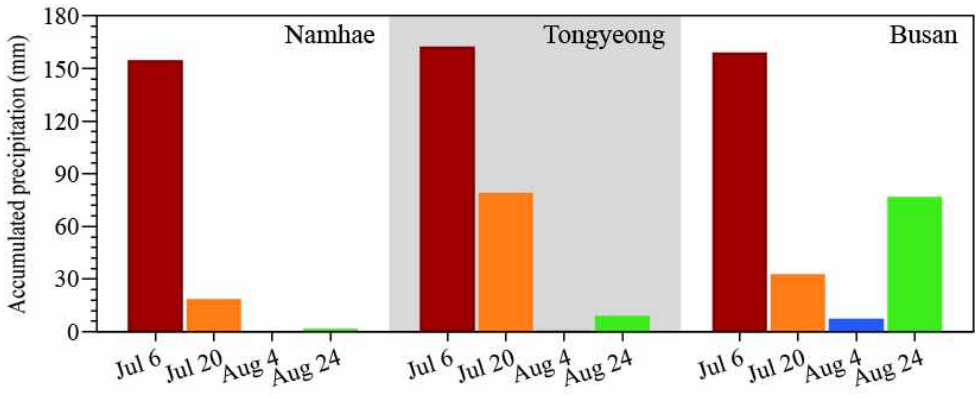


그림 54 2017년 7월과 8월 조사 전 10일 누적 강수량

- **강우**: 기상청 강수량 자료에 따르면 7/7일 조사 전 10일간의 누적 강우량이 남해 기준 154 mm, 통영 기준 162 mm으로 7/7일 조사의 염분의 강우의 영향을 많이 받아 상대적으로 낮게 나타났다(그림 51). 2차와 3조사에서의 표층염분은 평균 32.3 (± 0.65), 32.8 (± 0.51)이었고, 8/24일 조사에서는 평균 31.3 (± 1.16)으로 상대적으로 8/24일 조사에서 낮은 염분을 보였고, 이 때 남해와 통영은 조사 전 10일 간의 강우가 없었지만 부산지역은 76.0 mm의 강우가 있었던 것으로 보아 이는 거제도 동쪽 연안 정점 (정점 2~6)이 낙동강 유출수의 영향을 크게 받았기 때문으로 사료된다(그림 54). 수온과 마찬가지로 외양수의 영향이 적은 정점 8~13에서 상대적으로 일정하게 높은 염분을 유지하는 것을 확인하였다.

(나) 내측 항만해역에서 pH 및 용존산소분포

- pH와 용존산소는 통영 고성해역의 최내측 정점에서 상대적으로 낮게 나타났고, 특히, 일부 내만 정점에서는 빈산소수괴가 형성되는 것을 파악할 수 있었다(그림 55).

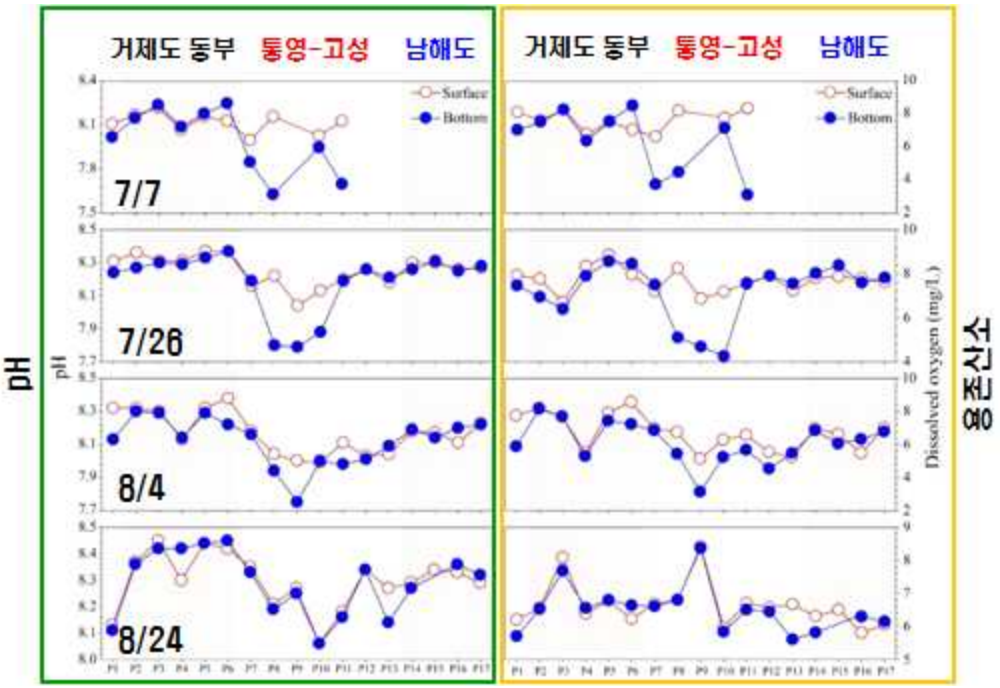


그림 55 거제도, 통영, 고성, 남해도의 주요항만 및 내만의 pH와 용존산소 변동

(다) 내측 항만해역에서 영양염류분포

7/7일 조사 시 Nitrate + Nitrite의 평균 농도는 16.1 μM (± 16.5 μM), 7/26 조사 시 평균 0.76 μM (±0.93 μM), 8/4일 조사 시 평균 1.33 μM (± 1.68 μM), 8/24일 조사 시 평균 1.06 μM (±

1.13 μM)으로 나타났다. 다른 조사 시기에 비하여 7/7일 조사에서 평균 15배 이상 유독 높은 Nitrate + Nitrite 농도를 보였으며, 수평적 분포를 보면 내만 항구에 위치한 정점 9에서 전반적으로 높은 농도를 보였다. 이 시기 강우의 영향으로 염분도 함께 하락하였으며, 조사 지역이 모두 연안인 만큼 강우로 인한 담수의 유입으로 인해 Nitrate + Nitrite의 농도가 크게 증가했다. 이와 같은 육상으로부터의 질산염 공급은 이미 많은 연구로부터 보고되고 있다(kwon et al. 2001; Jang el at. 2005). 표층 Ammonium 농도는 7/7일 조사 시 평균 3.49 μM (± 4.02 μM), 7/26일 조사 시 평균 1.67 μM (± 1.12 μM)로 나타났으며, 8/4일 조사 시 평균 4.34 μM (± 5.69 μM), 8/24일 조사 시 3.14 μM (± 2.63 μM)으로 나타났다. 7/26일 조사 시 Ammonium 농도가 상대적으로 낮았으나, 조사 시기에 따른 차이는 그다지 크지 않았다. 특이적으로 인위적인 영향을 강하게 받는 장승포항 정점 4 (7/26일 조사 제외)와 통영항 정점 9에서 지속적으로 높은 Ammonium 농도를 보였고, 이는 암모니아와 같은 영양염류는 도시 오폐수와 인간 활동의 영향에 의한 것으로 사료된다. 표층 Phosphate의 평균 농도는 7/7일 조사에서 0.34 μM (± 0.24 μM), 7/26일 조사 시 평균 0.16 μM (±0.11 μM), 8/4일 조사 시 평균 0.49 μM (± 0.36 μM), 8/24일 조사 시 평균 0.30 μM (± 0.21 μM)으로 전 조사에서 낮은 Phosphate 농도를 보였다. 정점 간의 경향은 Ammonium의 경향과 동일하게 정점 4와 9에서 전반적으로 높았으며, 특이적으로 7/26일 조사에서 정점 4의 Ammonium와 Phosphate의 농도가 낮은 값을 보였다. 이는 식물플랑크톤의 성장과 관련이 있는 것으로 사료되며, 아래의 식물플랑크톤 군집조성의 토의에서 구체적으로 언급한다. Silicate농도는 7/7일 조사에서 평균 44.7 μM (± 32.1 μM)의 농도를 보였으며, 7/26일 조사에서는 평균 9.55 μM (± 7.18 μM), 8/4일 조사에서는 평균 11.3 μM (± 5.04 μM), 8/24일 조사에서는 평균 6.68 μM (± 2.63 μM)로 강우의 영향을 받은 1차를 제외하고 낮은 Silicate농도를 보였다. 이러한 결과는 2006년 비슷한 지역에서 수행되었던 Lim et al. (2006)의 결과와 유사하였다. 연안 지역임에도 불구하고 장마시기인 7월 중순 평균 21 μM의 농도를 보인 것을 제외하고, 7월 초와 8월 말 매우 낮은 규산염 농도를 보였다. 이는 본 해역에서 주로 우점하는 식물플랑크톤인 규조류의 성장의 영향을 받은 것으로 사료된다. 요약하면, 최내측 정점의 영양염류는 일부 정점을 제외하면 식물플랑크톤의 성장의 제한 요인이 되지 않는 것으로 파악되었다. 대부분의 정점에서 월별조사에서 관찰된 외측 정점보다 2-5배 높게 관찰되었다. 특히, 규산염 농도가 현저하게 높았고, 이는 식물플랑크톤의 제한 요인이 되지 않을 것으로 판단되었다(그림 56).

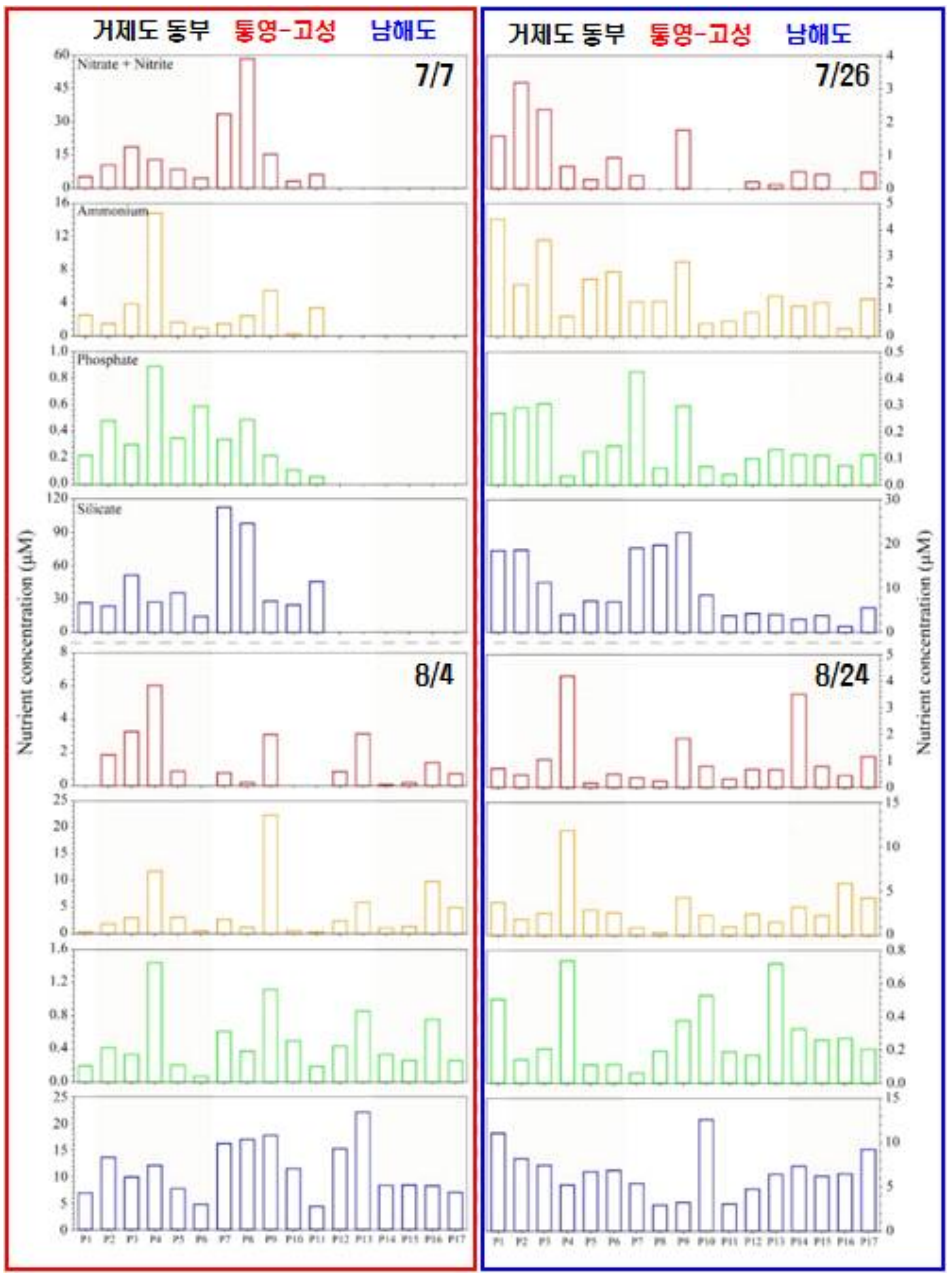


그림 56 거제도, 통영, 고성, 남해도의 주요항만 및 내만의 영양염류 변동

(라) 내측 항만해역에서 엽록소-*a* 및 식물플랑크톤 분포특성

총 Chl. *a*의 량은 7/7일 조사에서 평균 5.71 μg L^{-1} (± 3.76 μg L^{-1})로 조사 중 가장 높았다(그림 54). 우리나라는 주로 몬순의 영향을 받아 7월 장마기간 동안 강우에 의한 다량의 육상기원의 영양염이 연안으로 유입되어 식물플랑크톤이 대량으로 성장하게 된다(Lee et al., 1994; Kang et al., 1999). 본 연구에서도 7/7일 조사에서 약 160 mm (10일 누적)에 달하는 강우가 관찰되어 영양염이 높게 공급되었고, 이로 인해 식물플랑크톤이 비교적 대량으로 증식한 것으로 확인되었다. 7/26일 조사에서는 평균 2.74 μg L^{-1} (± 2.06 μg L^{-1}), 3차와 8/24일 조사에서는 각각 평균 2.00 μg L^{-1} (±

1.19 μg L^{-1}), 평균 1.57 μg L^{-1} (± 1.35 μg L^{-1})의 농도를 보여 7/7일 조사에 비해 낮은 농도를 보였으며, 그 농도 역시 점차적으로 감소하는 경향을 보였다. 정점 간의 엽록소 농도를 비교해보면 정점 4에서 꾸준히 높은 엽록소 농도를 보였고, 앞서 언급한 정점 8~13에서 비교적 일정하게 높은 값을 유지하였다. 7/7일 조사사시기의 식물플랑크톤 개체수는 평균 1.87 X 10^3 cell L^{-1}이었으며, 은편모 그룹이 평균 58.3 %로 가장 높은 비율을 차지하였고, 우점종은 *Crpytomonas* spp.로 그 중에서 특히 정점 9에서 2.94 X 10^3 cell L^{-1}로 극 우점하였다. 다음으로 규조류가 33.8 %비율을 차지하였으며, 특이적으로 정점 5에서 와편모조류가 32.2 %로 극히 높은 비율을 차지했다. 이 때 우점종은 *Prorocentrum* spp. (0.55 X 10^3 cell L^{-1})로 나타났다. 7/26일 조사에서는 특이적으로 정점 4에서 7.44 X 10^3 cell L^{-1}로 극히 높았지만 다른 정점에서 비교적 낮은 개체수를 보여 평균 개체수는 0.90 X 10^3 cell L^{-1}로 낮은 값을 보였다. 규조류 점유율이 평균 61.0 %로 가장 높았으며, 그중 *Chaetoceros* spp. 가 가장 높은 개체수를 보였다. 다음으로 은편모조류가 31.6 %로 점유하였다. 8/4일 조사에서는 평균 0.54 X 10^3 cell L^{-1}, 8/24일 조사에서는 평균 0.53 X 10^3 cell L^{-1}로 유사하게 매우 낮은 개체수를 보였다. 3차와 8/24일 조사에서는 규조류가 각각 78.0 %, 73.3 %로 가장 높은 점유율을 보였고, 은편조모류가 각각 13.4 %, 12.5 %의 점유율을 보였다. 규조류 중에서도 8/4일 조사에서는 전반적으로 *Chaetoceros* spp.가 우점종이었으며, 8/24일 조사에서는 *Pseudo-nitzschia* spp.가 정점4와 정점 13에서 각각 1.45 X 110^3 cell L^{-1}, 1.80 X 10^3 cell L^{-1}로 높은 개체수를 보였다. 아울러, 정점9와 정점 11에서는 *Rhizosolenia* spp.가 각각 0.55 X 10^3 cell L^{-1}, 0.68 X 10^3 cell L^{-1}로 부분적으로 높은 개체수를 보였다(그림 57).

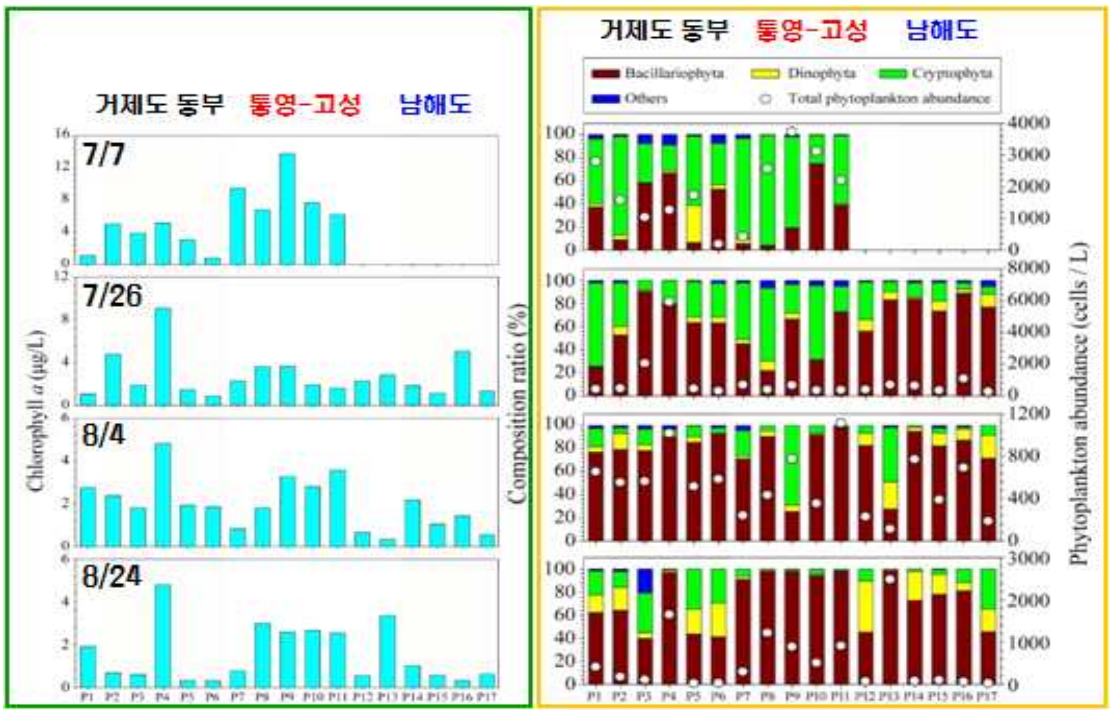


그림 57 2016년 거제도, 통영, 고성, 남해도의 주요항만 및 내만의 엽록소-a와 식물플랑크톤 그룹별 종조성

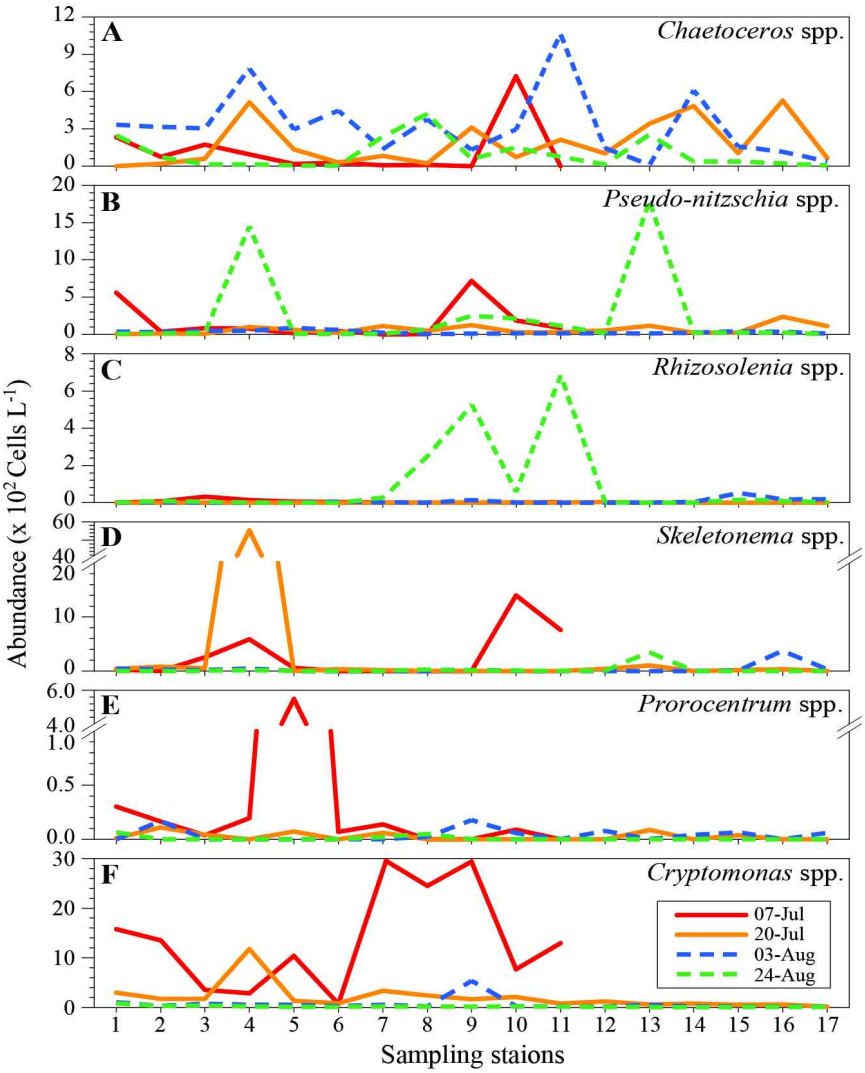


그림 58 2016년 내만 정점에서 우점 식물플랑크톤 6속의 수평 분포

(마) 우점 식물플랑크톤 분포특성

조사기간 중 정점별 출현한 식물플랑크톤 중 우점해서 나타난 종을 중심으로 6종을 선정 후 그림 55에 나타내었다. 전 조사에서 *Chaetoceros* spp. (*Chaetoceros pseudocurvisetus, Chaetoceros lorenzianus, Chaetoceros didymus, Chaetoceros danicus, Chaetoceros debilis*) 는 전반적으로 높게 우점 하였고, 이는 우리나라 여름철 남해 외해역(Park and Lee, 1990)과 하계 남해 동부 연안(Lim et al. 2007)에서 우점종이 Chaetoceros속으로 나타난 결과와 일치하였다. 즉 하계 고수온기에 영양염류가 일정하게 높은 내만에서는 Chaetoceros속의 우점할 확률이 높다는 것을 시사할 수 있다. *Pseudo-nitzschia* spp.와 *Rhizosolenia* spp.는 8/24일 조사에서 부분적으로 우점하였다. *Skeletonema* spp.는 7/26일 조사에 두드러졌으며, 특히 4번 정점에서 극히 높은 개체수를 보였다. Skeletonema 종은 우리나라 연안에서 흔히 나타는 종이며, 낙동강하구(Moon and Choi, 1991), 광양만(Cho et al.,

2007)이나 가막만(Park et al., 2009) 등의 저염분수괴에서 우점하는 종으로 알려져 있다. 본 연구에서도 거제 동부 정점들 중에 유일하게 정점 4에서, 낙동강의 영향을 받아 집중강우 후 대발생을 일으켰다. 이는 특히 거제도 연안 해역은 매우 복잡한 해안선을 가지며, 강우시 육지에서 유입되는 비점오염의 영양염류와 함께 낙동강에 의한 영양염류 공급에 의한 이들 종 특이적인 성장으로 기하급수적으로 대발생한 후 생물집적이 중요하게 작용한 것으로 판단된다.

Prorocentrum spp. 와 *Cryptomonas* spp.는 7/7일 조사를 중심으로 우점하였다. 이와 같은 극우점종은 Cluster분석의 그룹화과정에도 큰 영향을 미쳤다(그림 58). 조사 시기 간의 식물플랑크톤의 군집구조의 차이는 명확하지 않았지만, 7/7일 조사에서는 식물플랑크톤 개체수가 매우 낮았던 거제도 남부에 위치한 정점 6이 별도의 그룹으로 분류되었으며, 거제 남서쪽과 통영의 정점 7, 8, 9가 하나의 그룹으로 묶였다. 이들 정점에서는 *Cryptomonas* spp.의 개체수가 평균 3.03 X 10^3 cell L^{-1}로 극히 높게 나타난 지역으로, 별도의 그룹화에 중요한 영향을 미친 것으로 확인되었다. 7/26일 조사에서는 장승포 부근에 위치한 정점 4가 별도의 그룹으로 분류되었으며, 해당 지역에서 *Skeletonema* spp.가 5.51 X 10^3 cell L^{-1}로 국지적으로 대발생한 것에 의한 것으로 판단된다. 7/7일 조사에서도 마찬가지로 *Skeletonema* spp.가 정점4에서 상대적으로 높은 개체수를 보였다. 정점4를 제외한 거제도 동부 연안 정점 (정점 1, 2, 3, 5, 6) 이 하나의 그룹으로 분류되었고, 그 외의 정점이 또 다른 그룹으로 구분되었다. 8/4일 조사에서는 개체수가 극히 낮았던 정점13에서 단독 그룹으로 구분되었으며, 남해도 남부 정점 (정점 15, 16, 17)과 통영 내측 정점 (정점9)에서 그룹화 되었고, 그 외 거제 동부를 포함한 모든 정점이 유사한 그룹으로 분류되었다. 8/24일 조사에서는 비교적 많은 그룹으로 분류되었는데 우선 특이적으로 *Pseudo-nitzschia* spp.가 각각 1.45 X 10^3 cell L^{-1}과 1.80 X 10^3 cell L^{-1}로 높은 개체수를 보인 정점 4와 13이 한 그룹으로 구분되어졌으며, 내측 정점인 정점 8~11까지는 상대적으로 높은 *Rhizosolenia* spp.의 영향으로 그룹화 되었다. 그 외에 전반적으로 개체수가 낮았지만 군집조성 특성에 따라 정점 1과7의 그룹, 정점 2와 3의 그룹, 상대적으로 외양의 영향을 강하게 받는 정점 5, 6, 17의 그룹, 마지막으로 남해도 동부의 정점 12, 14, 15, 16이 하나의 그룹으로 구분되었다(그림 59).

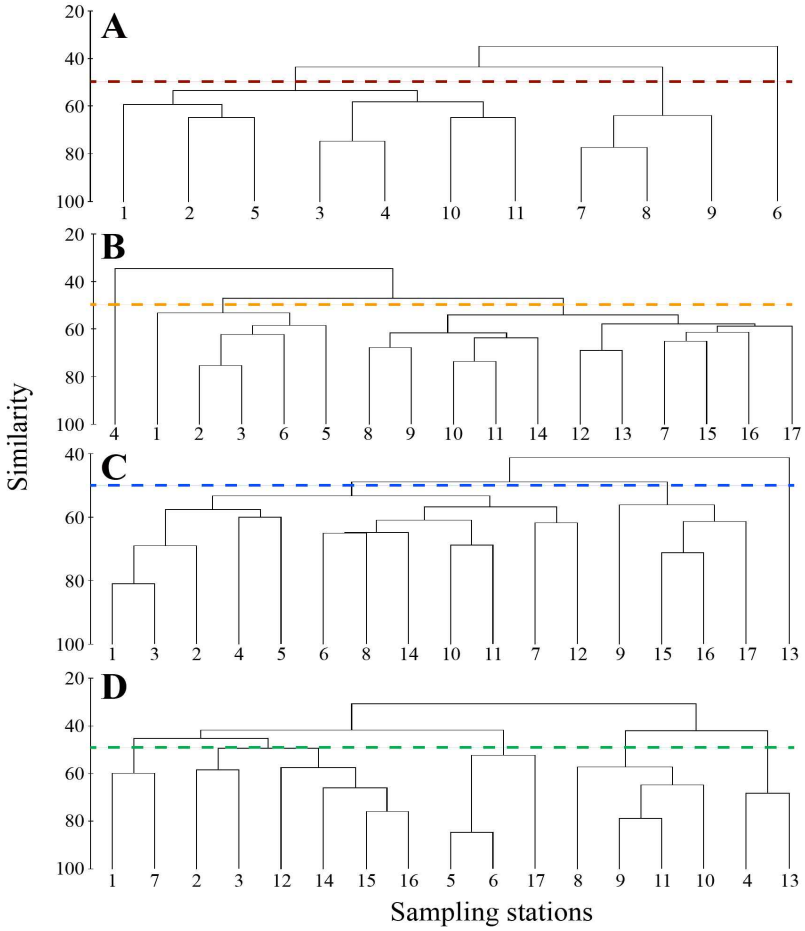


그림 59 2016년 내만 정점에서 각 조사별 식물플랑크톤에 대한 군집분석 (A: 7/7; B: 7/26; C: 8/4; D: 8/24)

요약하면, 이와 같은 최내측 정점의 규조류의 대발생은 연안내만뿐만 아니라 외측으로 확산 및 희석될 가능성이 높음. **즉 연안 최내측에서 증식한 식물플랑크톤은 조석에 따라서 대조기에 외측으로 희석 및 확산되고, 소조기에는 조석의 차이가 없는 안정된 수괴에서 빠른 증식을 할 것으로 파악된다**. 다시언급하면, 월별로 관찰된 통영 외측의 식물플랑크톤의 종구성과 연안 최내측 정점에서 대발생한 종구성이 유사한 것으로 보아, 소조기 최내측 연안에서 빠르게 증식한 식물플랑크톤은 대조기동안 일정하게 확산되어 외측 및 내만 식물플랑크톤 현존량에 일정하게 기여할 것으로 판단되었다.

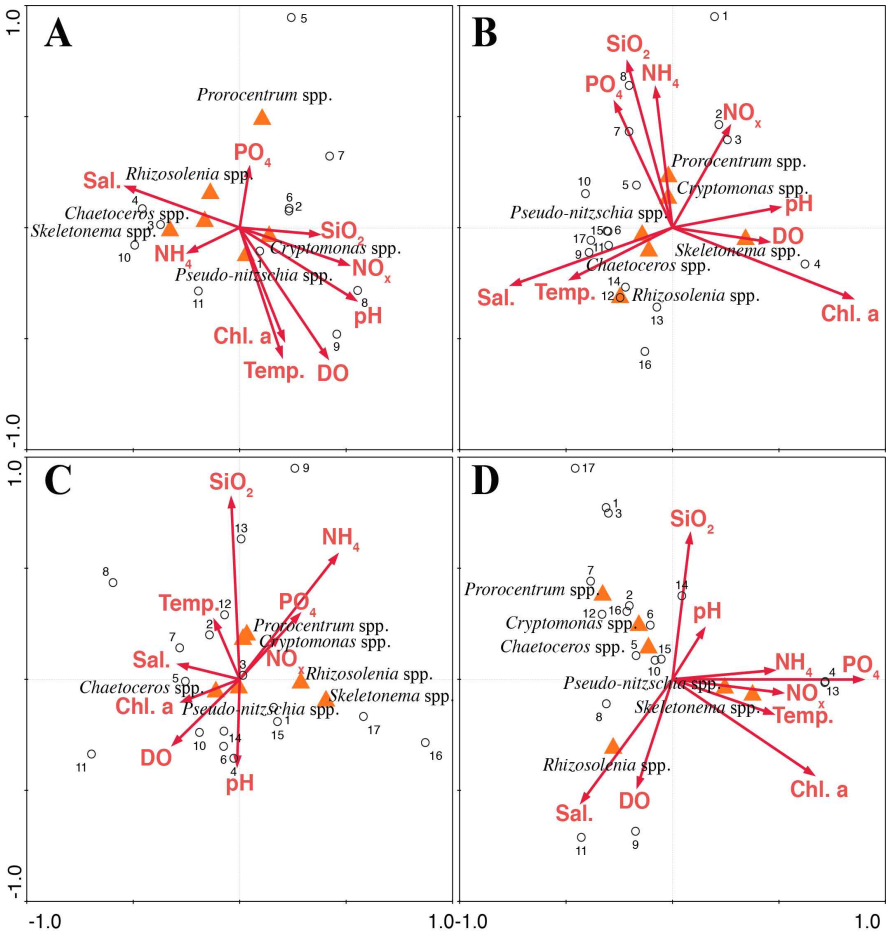


그림 60 2016년 내만 연안 정점에서 CCA(Canonical Correspondence Analysis) 분석 결과 (A: 7/7; B: 7/26; C: 8/4; D: 8/24)

(바) Canonical correspondence analysis

Canonical correspondence analysis (CCA)는 상관 분석 (Correspondence analysis)의 한 종류로 생물군집 구성의 주요 변수와 환경 변수와 관계를 평가하는 분석이다. CCA 분석에서 환경요인과 하계에 우점 출현한 대표종과의 관계를 파악하였다 (그림 60). 7/7일 조사에서 pH, 규산염과 아질산염이 같은 방향으로 향하여 양(+)의 상관성을 확인하였고, 이와 더불어 수온, DO, Chl. *a*도 일정의 양의 상관성을 보였다. 이와 같은 상관성이 높은 곳에서 은편모그룹이 상대적으로 높게 구성되었다. 반면, 염분은 *Skeletonema* spp.와 *Chaetoceros* spp.와 일정하게 영향을 미치는 것으로 파악되었다. 7/26일 조사에서는 정점4에서 Chl. *a*농도가 높게 나타났고, 이는 *Skeletonema* spp.의 대발생이 Chl. *a*농도에 기여하여 양의 상관성이 확인되었다. 아울러, 염분과 수온이 일정의 양의 상관관계가 성립되었고, 이곳에 *Chaetoceros* spp.와 *Rhizosolenia* spp.가 높게 출현한 정점과 일치하였다. 특히, 영양염류 규산염, 암모니아, 인산염이 같은 방향으로 향하고 있어, 정점 6과 7에서 영양염 공급원이 유사하다는 것을 시사할 수 있다. 8/4일 조사에서는 환경인자간의 뚜렷한 차이를 구분할 수 없었고, Chl. *a*와 *Chaetoceros* spp.는 일정의 연관성이 있는 것으로 파악되었다.

8/24일 조사에서는 *Pseudo-nitzschia* spp.가 Chl. *a*와 일정의 관계가 있는 것으로 파악되었고, 이는 수온, 질산염, 암모니아와 일정의 양의 상관성을 확인할 수 있었다. 본 연구조사 정점의 내만 및 항구에서는 적조생물 *C. polykrikoides*의 출현은 관찰되지 않았고, 이는 수심이 낮은 내만과 항만에서 *C. polykrikoides*의 휴면포자가 발아하여 유영세포로 기여할 수 있는 확률이 극히 낮을 것으로 생각된다. 추후 남해 및 남동해역의 내만 모니터링뿐만 아니라, 퇴적물 내 휴면포자의 분포 양상도 정밀하게 조사할 필요성이 대두되었다.

(3) 남해도-고흥의 적조발생해역을 중심으로:

2016년 8월 20-22일 고흥 나로도 인근해역에서 적조가 형성되었다. 2016년 7월말 적조생물 코클로디늄의 개체수는 1-3 cells mL^{-1} 로 낮게 관찰되었으나, 1개월 후인 8월 22일에 3000-5000 cells mL^{-1} 개체수로 적조를 형성하였다. 본 적조의 확산 및 이동을 고려하여 9월6일 통영-남해도-광양만외측, 고흥-나로도 인근해역으로 조사를 수행한 결과를 아래에 언급한다(그림 61).

- 적조관찰 후 해상날씨는 8월말과 9월초 남서쪽 방향으로 2-5 m의 높은 파도를 보였고, 이와 함께 8월 25일 태풍이 일본의 규슈남단으로 진행하여 8월 28일 일본 열도를 통과함으로 남해안 일대에도 영향을 미치게 되었다. 결과적으로, 태풍의 영향으로 남해안 전 해역에서 수층혼합이 활발하게 이루어졌으며, 코클로디늄의 적조를 유지할 수 있는 여건이 형성되지 않아 적조가 자연적으로 소멸된 것으로 파악되었다.

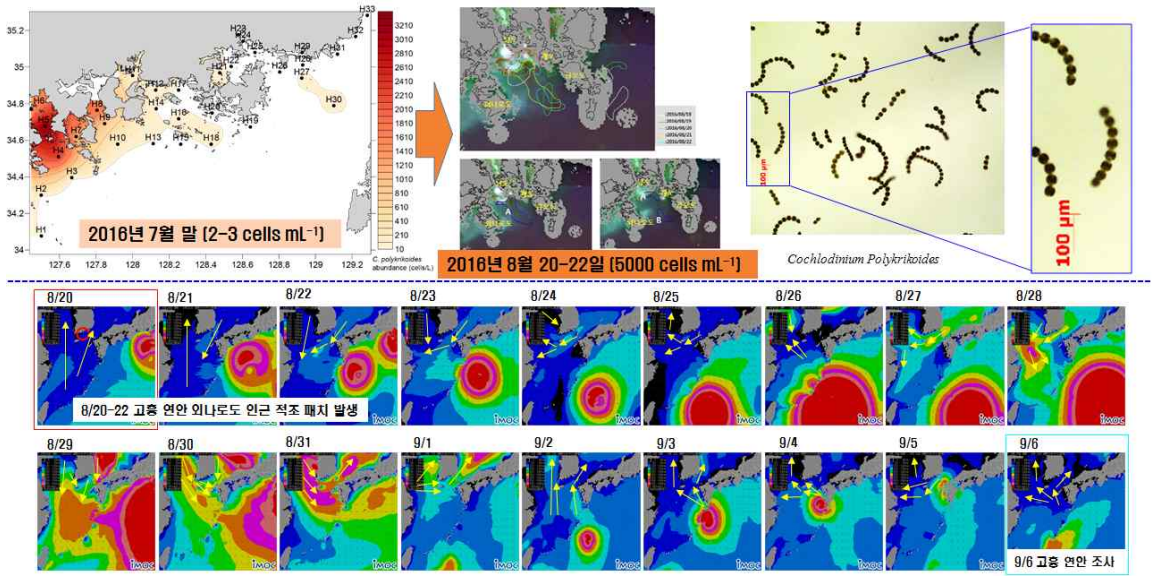


그림 61 고흥 외나르도 인근해역에서 적조 관찰 및 해상 파고

- 적조관측 후 8/27일부터 9/2일까지 해상 파고가 4-5 m로 극히 높았고, 이와 같은 기상조건의 영향으로 본 연구팀이 해양조사를 수행할 수 없었다. 그 후 해상날씨가 호전되는 9/6일에 남해도- 광양만 외측- 고흥- 나로도 해역으로 이어지는 K1-K21 정점의 표층과 저층에서 수온, 염분, 엽록소, pH, 용존산소 및 식물플랑크톤의 동태를 파악할 수 있었다.

(가) 2016년 9월 6일 적조발생해역에서 수온, 염분, 엽록소 분포

- **수온**: 남해도-고흥의 표층 수온은 24-26℃범위를 보였고, 공간적으로는 남해도와 광양만 외측 (K1-4)과 함께 고흥 외나로 (K9)도 부근에서 수온이 높게 나타났다. 저층수온은 광양만에서 나로도로 이어지는 K5-K10 정점에서 25℃ 전후를 보였고, 특히 K16에서 14.5℃로 극히 낮게 유지되었다.

- **염분**: 남해도-고흥으로 이어지는 대부분의 표층 염분이 30 psu전후를 관찰하였고, 해역별 공간적이 차이는 크지 않았다. 반면, 저층염분은 K16-K22로 이어지는 광양만 최외측 정점에서 34 psu 전후로 높게 관찰되었다.

- **엽록소-*a***: 표층의 엽록소값은 K5, K9, K10, K13정점에서 높게 나타났고, 나머지 대부분의 표층 엽록소는 낮게 관찰되었다. 아울러 저층 엽록소 또한 외나로도 K9, K10, K13 정점에서 높게 관찰되었다(**그림 62**).

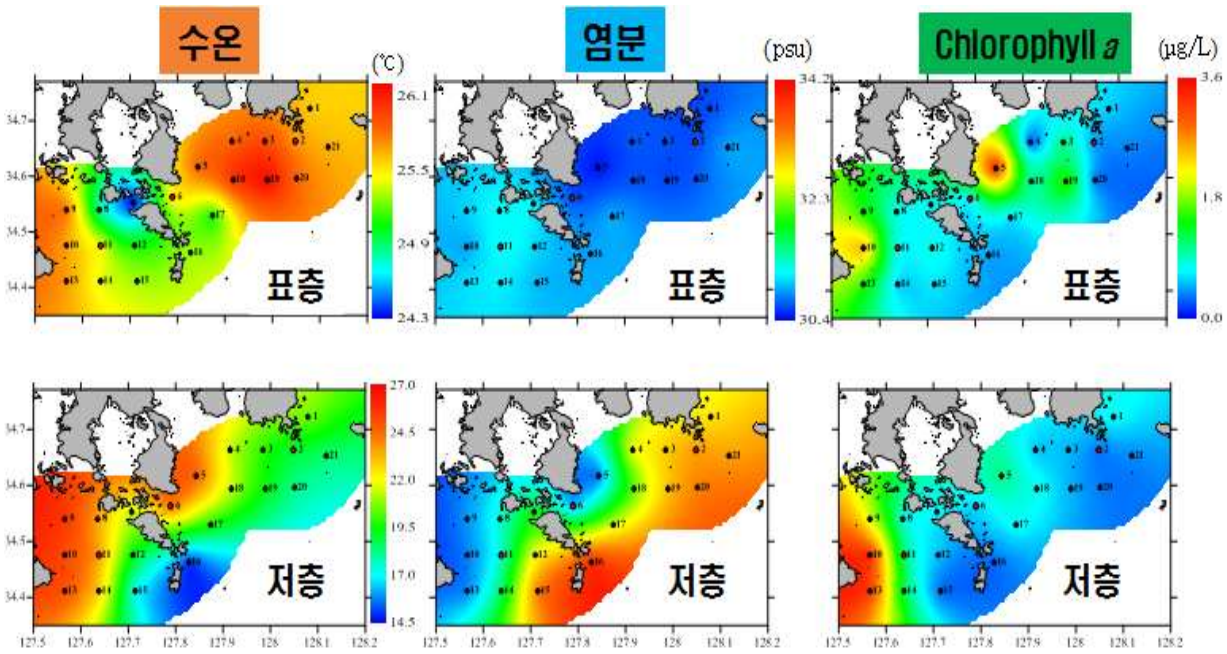


그림 62 남해도-광양만-고흥해역에서 수온, 염분, 엽록소-a의 수평적 분포

(나) 2016년 9월 6일 적조발생해역에서 pH 및 용존산소분포

- pH: 남해도-고흥의 표층 pH는 8.2 전후의 값을 보였고, 저층은 K1정점과 K22의 남해도 근처에서 7.8로 낮게 나타났고, 나머지 대부분의 해역에서는 8.0-8.1로 관찰되었다(그림 63).
- 용존산소: 남해도-고흥의 표층 용존산소는 > 6.5 mg L^{-1}으로 높게 나타났으나, 저층에서는 남해도 인근의 K1, K2, K22정점에서 4.0 mg L^{-1}낮았다.

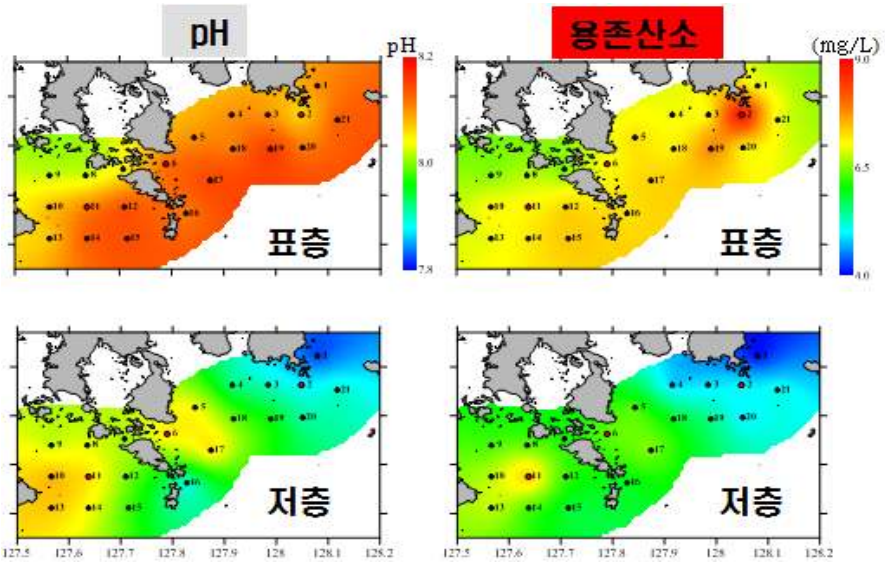


그림 63 남해도-광양만-고흥해역에서 pH, 용존산소의 수평적 분포

(다) 2016년 9월 6일 적조발생해역에서 영양염류의 분포

- 질산염+아질산염: 남해도-고흥의 표층 질산염은 극히 낮게 관찰되었고, 저층은 남해도와

광양만 최외측 정점 K1, K2, K3, K16, K21, K22에서 10 μM 전후로 높게 관찰되었다 (그림 64).

- **암모늄염:** 표층의 암모늄은 고흥의 정점 K8-K9를 제외하면, 극히 낮은 값을 보였음. 아울러, 저층의 암모늄 또한 표층과 유사한 정점에서 높게 나타나는 특색을 보였다.
- **인산염:** 표층의 인산염은 남해도 광양 외측 정점에서 극히 낮게 관찰되었고, 외나로도 인근 해역에서 0.5 μM 전후로 관찰됨. 저층의 인산염은 표층에서 극히 낮게 관찰된 남해도 인근 K1,K2, K3, K21, K22에서 1.0 μM로 높게 관찰되었다.
- **규산염:** 규산염은 수평적 분포는 인산염과 유사한 경향을 관찰하였다. 즉 표층에서는 극히 낮게 관찰되었고, 저층에서는 남해도 인근해역에서 높게 관찰되었다.

(라) 2016년 9월 6일 적조발생해역에서 식물플랑크톤 분포특성

- 식물플랑크톤의 분포는 K5과 K19에서 엽록소 농도가 높게 나타난 정점에서 규조류가 극히 높게 나타났음. 아울러, 남해도-광양만- 고흥으로 이어지는 정점에서는 규조류의 비율 (>70%)이 높게 나타난 반면, K11-K17로 이어지는 최외측 정점에서 와편모조류의 비율 (30-60%)이 높게 관찰됨. 특히 이들 정점에서는 사이즈가 작은 와편모조류 *Gymnodinium* spp.가 상대적으로 높게 나타났다 (그림 65).

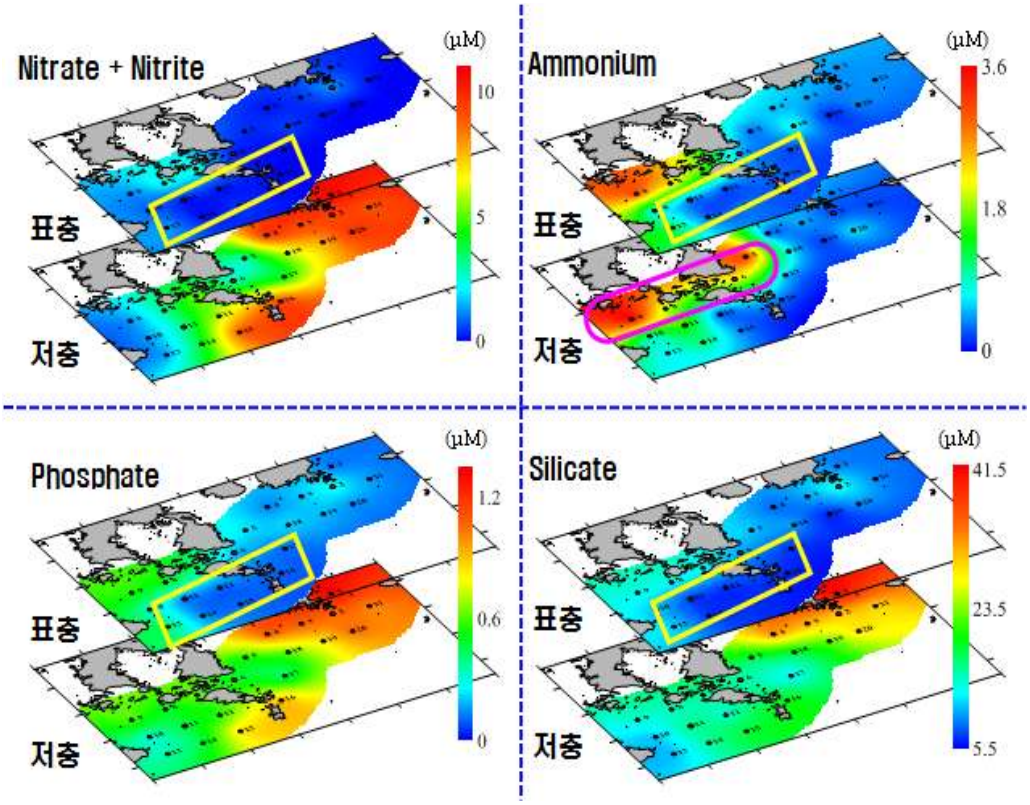


그림 64 남해도-광양만-고흥해역에서 영양염류의 수평적 분포

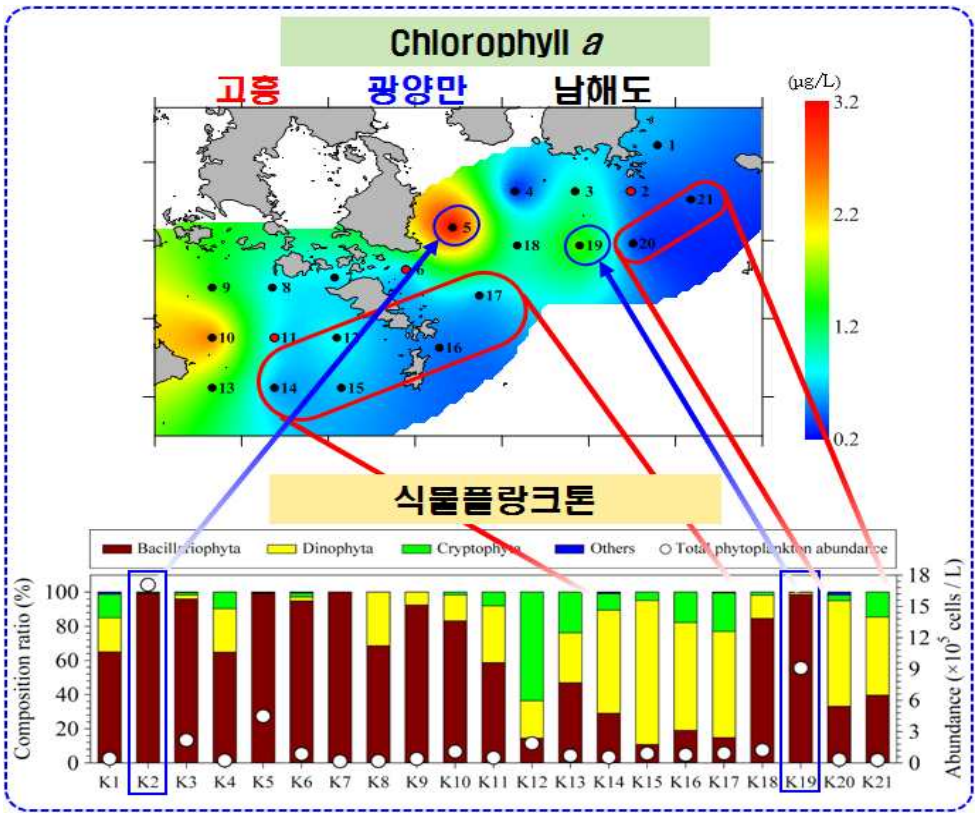


그림 65 남해도-광양만-고흥해역에서 식물플랑크톤의 수평적 분포

- 1996년부터 2015년까지 우리나라 주변해역의 10 m 층의 염분의 분포 양상은 양쯔강의 방류수와 양쯔강 희석수과 쿠로시오지류인 대마난류와의 혼합정도에 따른 영향을 지대하게 미칠 수 있고, 이와 함께 *Cochlodinium polykrikoides*의 적조의 발생 특성에도 일정하게 영향을 미칠 것으로 생각된다. 특히 양쯔강의 방류에 의하여 저염분수괴의 형성은 당 해역의 수온상승을 촉진시키고, 그 결과 동중국해 및 해당해역에 존재하는 *Cochlodinium polykrikoides*의 개체수에 일정하게 영향을 미치는 것이다. 즉 양쯔강 방류에 의한 양쯔강 희석수에 의한 저염분수괴의 형성이 제주도 남단 및 중국 인근해역에 존재할 경우 남해안 및 동중국해역에 분포하는 *Cochlodinium polykrikoides*의 개체수 증식에 그다지 영향을 미치지 않을 것이다. 반대로, 양쯔강 희석수에 의한 저염분수괴가 남해안해역까지 영향을 미친 년도에는 상대적으로 *Cochlodinium polykrikoides*의 개체수 유입에 지대한 영향을 미쳐, 우리나라 남해안 연안해역에서 *Cochlodinium polykrikoides*대발생이 관찰되지 않는 특성을 파악할 수 있었다(그림 66).

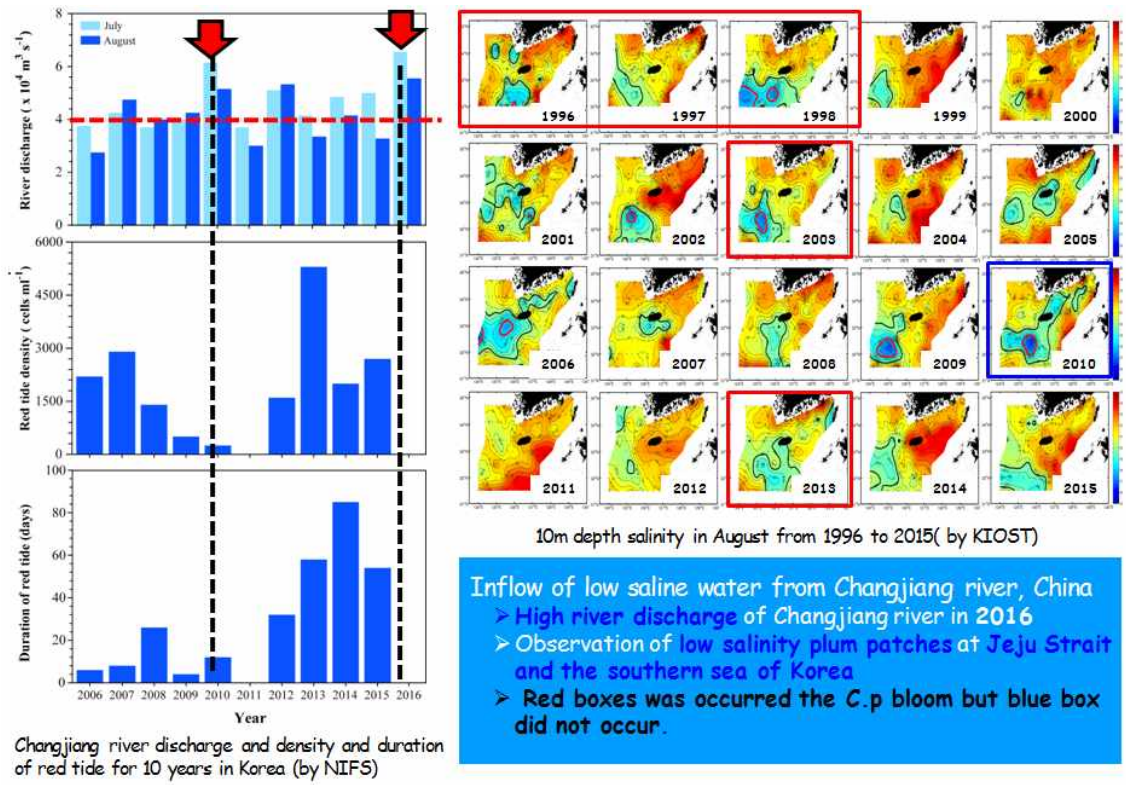


그림 66 해역의 염분과 양쯔강의 방류량과의 관계 및 *Cochlodinium polykrikoides*의 개체수밀도와 적조발생기간의 관계

구체적으로 살펴보면, 1996년, 1997년, 1998년, 2003년, 2013년에는 우리나라 남해안해역에서 *Cochlodinium polykrikoides*의 적조가 발생하여 큰 피해를 입힌 년도이고, 상대적으로 남해안의 저염분 수괴가 광역으로 형성된 2006년, 2010년과 2016년에는 적조가 일부 해역에서 발생하고, 소멸하는 특성을 파악할 수 있었다. 결과적으로 양쯔강의 저염분수괴가 대마난류와 해류의 흐름방향과 혼합정도에 따라서 남해안 연안해역에 지대한 영향을 미칠 수 있고, 이는 남해안에 만성적으로 발생하는*Cochlodinium polykrikoides*의 적조 대발생에 지대한 영향을 미칠 수 있다는 것을 시사할 수 있다(그림 67).

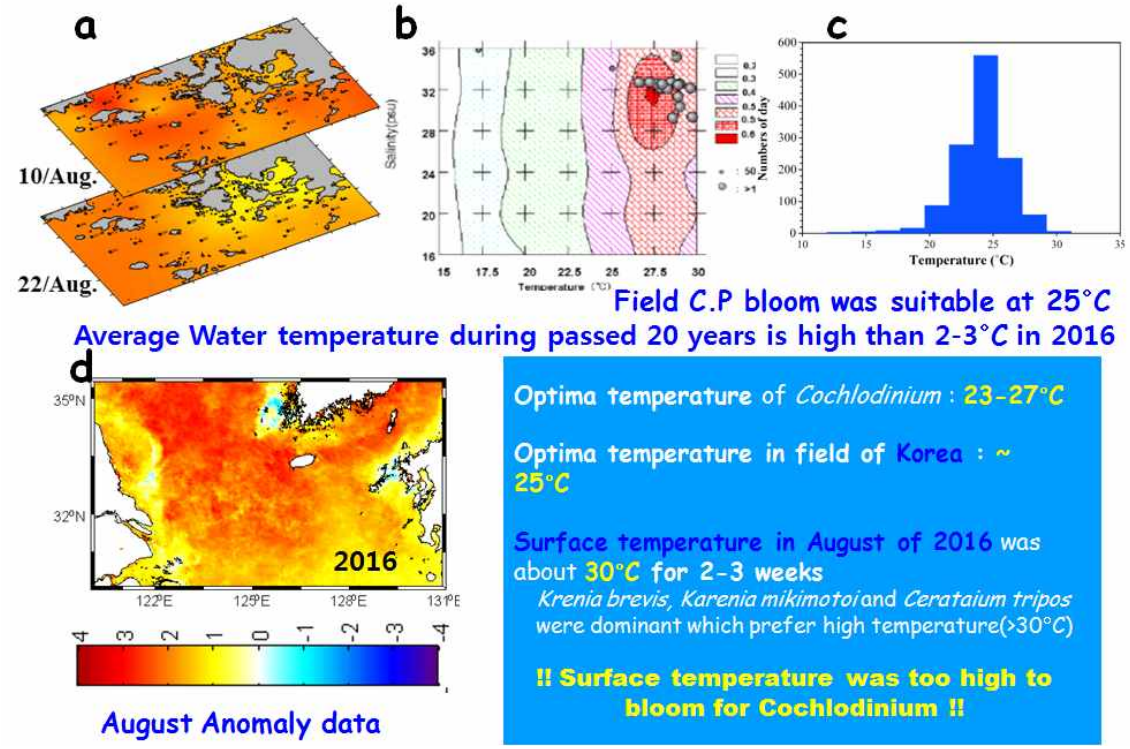


그림 67 2016년 적조발생 고수온분포와 적조의 발생 온도와의 관계

- 2016년 고수온현상은 1996년에서부터 2016년까지 최근 20년의 평균 수온보다 2-3도 정도 높은 것은 확인하였다(그림 67). 아울러, 현장에서 적조 발생일수와 수온과의 관계를 파악한 결과, 25℃ 전후에서 가장 높은 적조발생빈도를 확인할 수 있었다. 결과적으로 *Cochlodinium polykrikoides*는 28-30℃ 전후의 높은 수온에서는 적합하지 않은 수온범위라는 것을 간접적으로 시사 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 **남해안에서 적조발생시 막대한 피해를 주는 종인 *Cochlodinium polykrikoides*을 대상으로 양쯔강 저염분수와 고수온의 영향을 입증하기 위한 성장실험을 디자인하였다.** 실험은 현장에서 *Cochlodinium polykrikoides* 생물이 주야 연직이동(Diel-vertical migration)을 하면서 경험하게 될 저층수의 저수온을 고려하여, 현장에서 bath culture를 아래의 그림과 같이 디자인하였다. 특히 주야의 현장온도(22-28℃)의 변화폭에 따라서 *Cochlodinium polykrikoides* 성장에 미치는 영향을 파악하고자 하였다(그림 68왼쪽). 염분구배는 실험실과 동일한 구배(34, 32, 30, 28, 26, 24, 20)를 두어 평가하였다. 아울러, 실험실에서는 온도와 염분에 따른 *C. polykrikoides*의 성장률을 파악하기 위해 6개의 온도구배(30, 27.5, 25, 22.5, 20, 15 ℃)와 7개 염분구배(34, 32, 30, 28, 26, 24, 20)의 조합으로 평가하였다. 실험실의 광량은 배양기의 최대 80 μmol m^{-2} s^{-1}로 수행하였고, 현장은 자연광조건하에서 수행하였다(그림 68-오른쪽).

그림 68 온도 및 염분 구배에 따른 *Cochlodinium polykrikoides*의 성장 실험디자인

- 주야 온도변화의 영향을 받는 현장 실험군에서도 *Cochlodinium polykrikoides*의 성장이 일정하게 관찰되었다. 특히, 염분구배가 24-32 psu 에서는 0.2 day^{-1} 전후의 성장률이 관찰되었으나, 34 psu와 20 psu에서는 0.1 day^{-1}이하로 낮은 성장률을 기록하였다. 최적의 성장률은 25℃로 나타났고, 30℃에서는 실험 2일 후 *Cochlodinium polykrikoides*의 개체수가 사멸하였다. 즉 30℃의 수온에서는 *Cochlodinium polykrikoides*이 성장할 수 없다는 것을 의미한다. 아울러, 15℃에서는 최적 염분(26-32psu)에서만 미미한 성장을 보였고, 24 psu와 20psu에서는 모두 사멸하였다. 수온에 따른 *Cochlodinium polykrikoides*의 성장률은 25℃> 22.5℃> 27.5℃ > 20℃> 15℃순으로 관찰되었고, 염분은 30 psu와 32psu에서 최적의 염분조건으로 판단되며, 26 psu이상에서는 일정하게 *Cochlodinium polykrikoides*의 성장이 가능한 것으로 판단된다. 특이적으로 25℃이상의 고수온조건에서는 저염분 20 psu에서는 성장이 이루어 지지 않았다. 결과적으로 현장에서도 고수온 조건하에서 염분이 극히 낮은 양쯔강 하구 및 동중국해역에서는 *Cochlodinium polykrikoides*의 치명적인 영향을 받을 것으로 판단된다(그림 69).

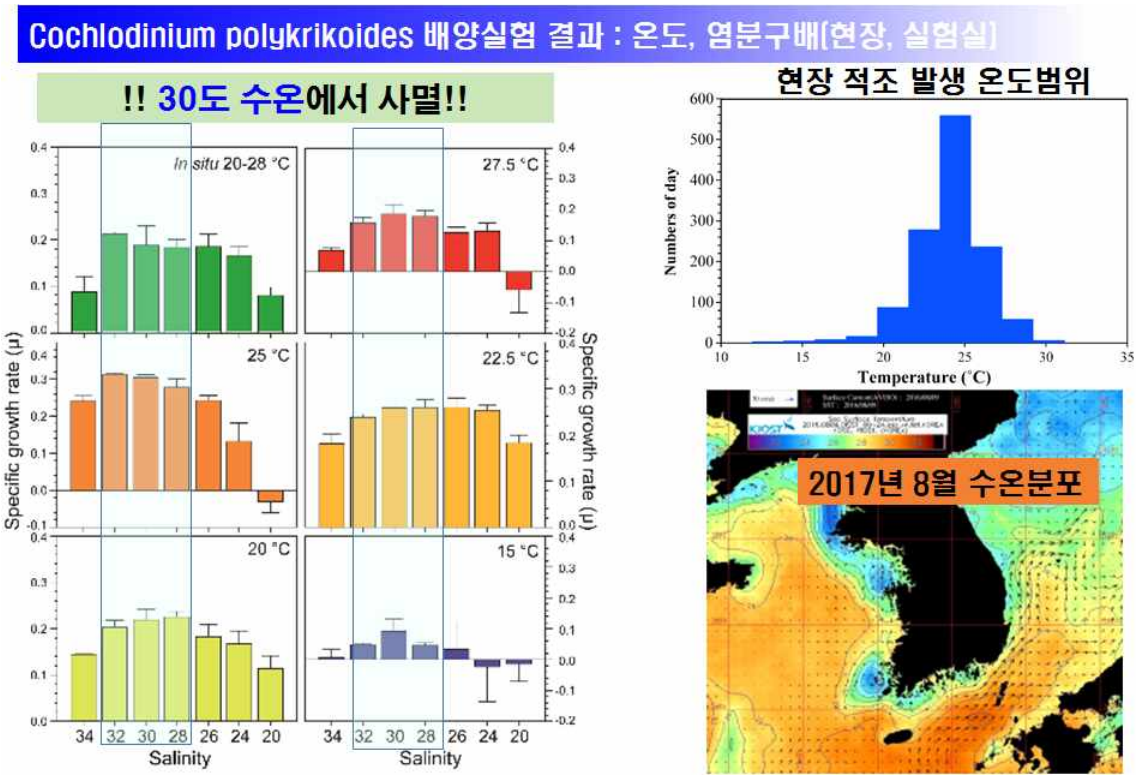


그림 69 온도 및 염분 구배에 따른 *Cochlodinium polykrikoides*의 성장특성

라. 결과요약

결과적으로 본 연구 조사를 통해 2016년 과 2017년 한국 남해의 통영연안에서 *Cochlodinium polykrikoides*의 대량 증식 및 적조 발생을 저해하는 요인에 대하여 가능성이 높은 생물 및 비생물학적 특성을 파악하였다.

먼저 2016년 결과를 요약하면,

첫 번째, 2016년 7월 양쯔강의 강수량이 평균보다 극히 높았고, 양쯔강의 담수 유입 1개월 경과 후 양쯔강 희석수가 남해안 연안해역 뿐만 아니라 통영연안주변해역에 영향을 미쳤고, 그 결과 8월 통영 연안해역에 비정상적인 저염수와 고온수를 형성되었다. 이는 동중국해역에서 유입되는 *C. polykrikoides*의 집적효과 및 성장에 부정적인 영향을 미쳤을 가능성이 높다.

두 번째, 고흥 주변에서 적조 발생 후(8/20일 이후) 동동풍의 영향으로 표층해류가 동쪽에서 서쪽으로 이동되어, 통영연안인 동쪽으로 확장할 수 없었다.

세 번째, 2016년 8월말 강한 바람과 폭우를 동반하는 태풍으로 인하여 *C. polykrikoides*의 대발생을 억제하는 효과가 있었다.

네 번째, 2016년 *C. polykrikoides*의 경쟁되는 규조류가 7월에 높은 밀도를 유지하여, *C. polykrikoides*의 성장에 저해하는 요인으로 작용하였을 가능성이 높았다. 결과적으로 평년보다 1개월 늦게 고흥 인근해역에서 적조가 발생하였으나, 태풍에 의한 수층 혼합과 강한 바람으로 *C. polykrikoides*의 성장에 부정적인 영향을 주었을 가능성이 높다.

2017년 결과를 요약하면, 7월 *Cochlodinium polykrikoides* 초기 개체수가 여수 돌산도 인근해역에서 출현하였고, 8월초에는 고흥-나로도 인근해역에서 30 cells mL^{-1}로 상대적으로 높은 밀도의 개체수를 유지하였다. 2016년과 비교하여, 해양환경 특성은 상대적으로 *Cochlodinium polykrikoides* 성장에 유리하게 작용되었을 것으로 사료되었으나, *Alexandrium affine*의 개체수가 높은 밀도로 출현한 것이 부정적인 영향을 미친 것으로 판단된다. 즉 *Alexandrium affine*개체수는 남해도- 여수- 고흥 인근해역에서 7월 중순부터 중층을 중심으로 고밀도로 관찰되었다. 동시기 8월 초 일본 남단으로 북상한 태풍의 간접적으로 너울성파도가 남해안 전반에 걸쳐 발생하였고, 그 결과 남해안 중층에 고밀도로 관찰된 *Alexandrium affine* 통영 인근해역의 표층으로 유입되어 연안 내만에서 *Alexandrium affine* 적조가 8월 10일 전후로 산발적으로 관찰되었다(국립수산과학원 미공개 자료). 이와 같이 *Alexandrium affine*의 개체수가 남해안 전반에 걸쳐 7월중순부터 관찰된 것이 *Cochlodinium polykrikoides* 성장에 부정적인 영향을 미친 것으로 판단된다. 결과적으로 2017년도 *Cochlodinium polykrikoides*개체수가 7월중순과 8월초 고흥 인근에서 일정하게 관찰되었음에도 불구하고, 같은 시기 *Alexandrium affine*의 대발생으로 종간 경쟁에서 밀려, 통영 및 남해안 전반에 걸쳐 확장할 수 없었든 가장 큰 이유로 판단된다. 추후, *Cochlodinium polykrikoides* 과 *Alexandrium affine*의 종간 경쟁관계를 2단계에서 구체적으로 파악할 예정이다.

2. 패독 원인 유해미세조류 *Alexandrium tamarense*의 시스트 기반 대발생 기작의 규명

가. 연구개요

일반적으로 와편모조류의 경우 해저 퇴적물에 분포하는 시스트가 발아하여 수중의 초기 개체군을 형성하며 호조건의 수환경을 맞이하면 급속히 증식하여 수중 대발생을 형성한다고 알려져 있다. 대발생 개체군은 다시 수환경이 열악해지면 수중의 유영세포가 시스트로 변하여 해저 층에 침강하며 일정기간 휴면기를 지난 후, 다시 호조건의 수환경시 해저에서 발아하여 수중으로 되돌아 오는 생활사를 지니고 있다 (Walker, 1984). 국내에 마비성패독 (PSP) 원인종으로 문제가 되어 온 와편모조류 *Alexandrium tamarense*도 이와 같은 생활사가 널리 알려져 있다 (그림 70). 따라서 시스트 분포의 지리적 특성과 시스트 발아의 시기적 특성과 같은 시스트의 생태학적 동태를 파악하여야 수중의 이들 생물의 대발생을 정확하게 이해 할 수 있다. 이전에 수행된 대부분 연구는 수중의 개체군을 중심으로 부분적 단계만 주로 단편적으로 다루었다. 본 연구는 *Alexandrium tamarense*도 시스트 발아에서 수중 개체군을 지나 다시 시스트를 형성하는 일련의 순환 과정을 연결하여 탐색하였으며 각 과정 간에 전달되는 생물량의 변화를 추적하였다 (그림 71).

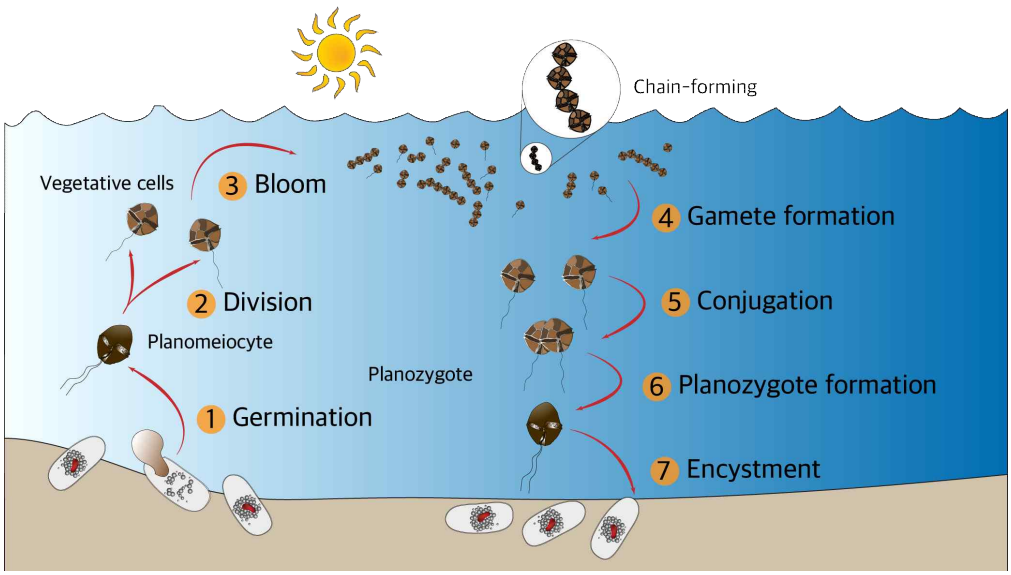


그림 70 *Alexandrium tamarense* 시스트 발아에서 형성까지 생활사의 순환 모식도

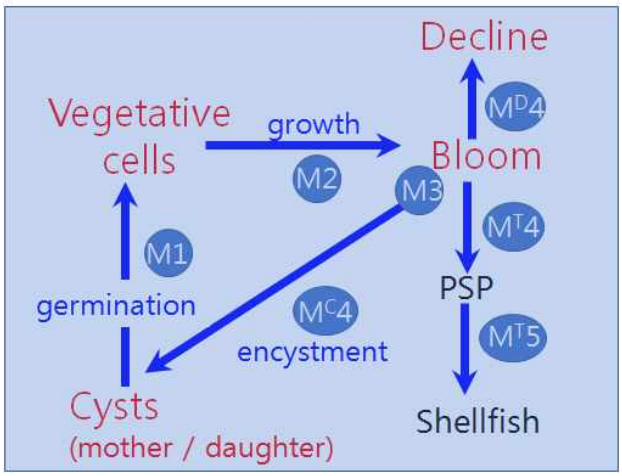


그림 71 *Alexandrium tamarense* 생활사내 단계별 연계과정

나. 재료 및 방법

(1) *Alexandrium tamarense*의 현장 모니터링

(가) 남해동부해역 광역 모니터링

국내에서 마비성패독의 원인종 *Alexandrium tamarense*의 출현은 춘계 3-5월경에 주로 수중에서 번성한다 (Han et al., 1992). 시스트는 일반적으로 수중 번성기 이후에 형성됨으로 시스트의 공간분포 탐색을 위한 최적 조사시기를 고려하여 2016년 6월에 시스트 현장 탐색을 수행하였다. 조사정점은 총 42개로 낙동강 하구역에서 거제동부 연안을 거쳐 통영과 고성내만의 남해동부 연안해역까지, 과거의 주요 적조발생지를 고려하여 정점을 선정하였다 (그림 72A).

남해동부 연안해역의 퇴적물 분석결과 *Alexandrium tamarense* 시스트는 거제동부 내만에 밀집분포지를 발견하였다 (그림 72B). 특히 진해만 수괴와 외측해역의 연결통로인 중앙수로 인근해역에서 높은 개체수 (90 cysts g^{-1})를 보였다. 따라서 예비조사로 탐색된 집약지(정점 35: 거제 동부연안 관포해역)에서 종합적 모니터링을 실시하여 생활사 전 과정을 연속으로 추적하였다 (그림 73).

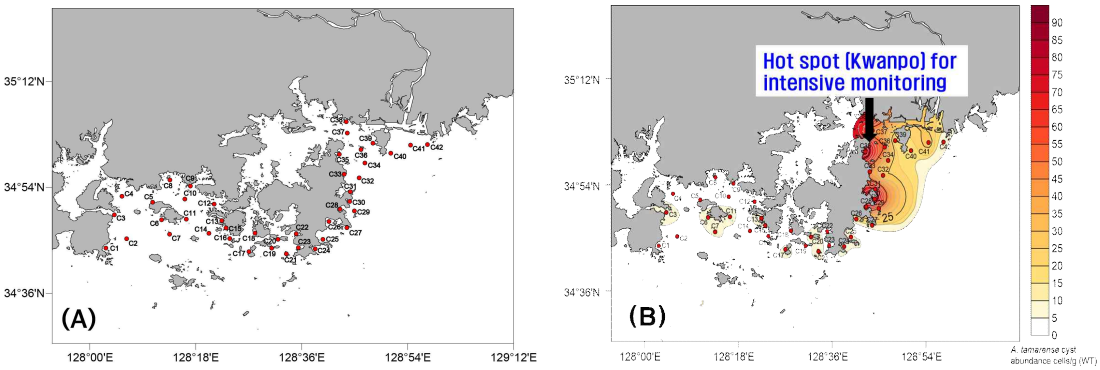


그림 72 *Alexandrium tamarense* 시스트 광역 조사정점(A) 및 밀집분포지 탐색(B)

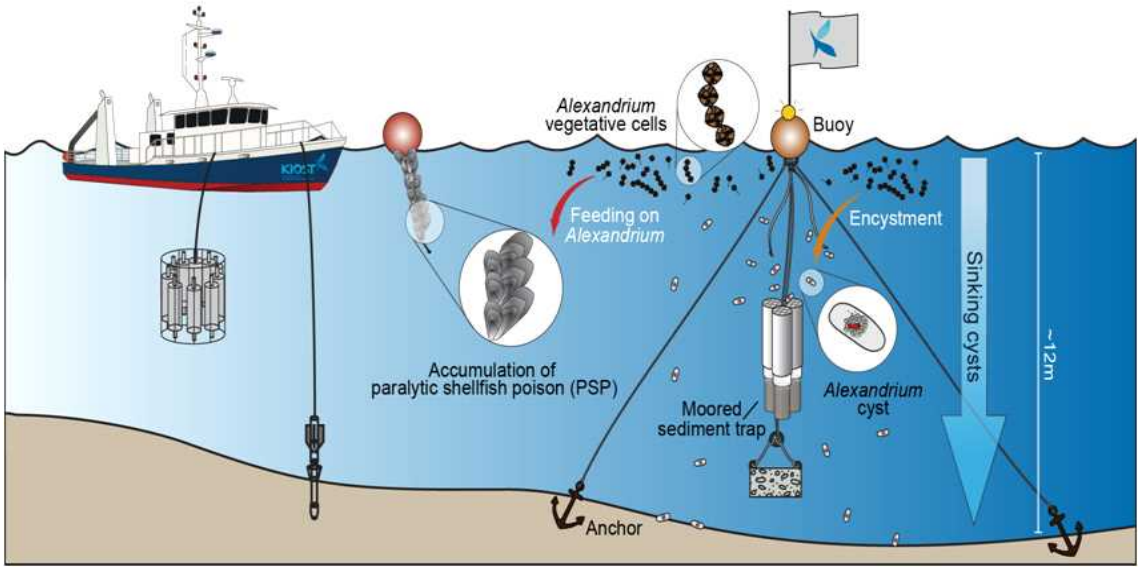


그림 73 *Alexandrium tamarense* 종합 모니터링 모식도

(나) 거제동부연안 집중 모니터링

광역조사 결과를 기반으로 거제동부 관포해역에서 2016년 6월부터 2017년 11월까지 매주 현장탐사를 통한 아래와 같은 생활사 단계 간의 매스 전환 과정을 고려하여 종합적 모니터링을 수행하였다 (그림 71).

- M1 단계 : 퇴적물 시스트 개체수의 시기적 변동과 발아율 변동 탐색
- M2 단계 : 수중 초기개체군 형성 규모 및 성장률 탐색
- M3 단계 : 수중 개체군 춘계대발생 규모 및 공간분포 탐색
- M4 단계: 수중 시스트 형성량 및 개체군 소멸과정 탐색

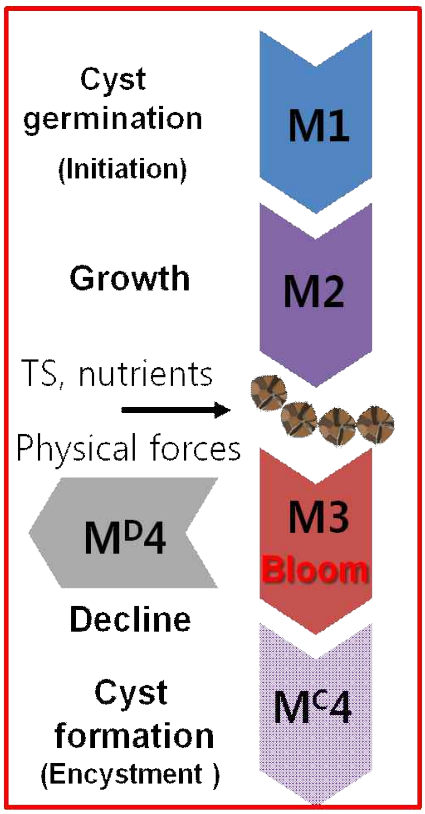


그림 74 *Alexandrium tamarense* 시스트발아에서 시스트형성까지 단계별 매스 전환 과정

① 시스트 개체수와 발아율의 시기적 변동 탐색

㉮ 시스트 개체수 측정

각 조사정점에서 Hand Core 채니기를 사용하여 해저 퇴적물을 채취하였으며 각 정점에서 이크릴 튜브 (내경 18 mm, 길이 30 cm)로 채취된 3개 시료를 표층에서 1 cm의 부분만 취하여 플라스틱 용기에 담아 냉암소에 보관, 운반하여 실험실에서 시스트의 분리를 위해 다음과 같이 처리하였다. 플라스틱 용기 속의 퇴적물을 잘 섞은 후, 1g(습중량)을 취하여 냉장 보관된 GF/F 여과해수를 넣어 혼탁시킨 후, 초음파 세척기(Branson 1510E-DTH, 42kHz)로 10초 간 혼탁물을 분쇄시켰다. 이어 120 ㎛m와 20 ㎛m mesh의 순서로 각각 여과 시켜 20-120 ㎛m 크기의 입자를 분리시켰다. 분리된 입자를 다시 무게로 분리하기 위해 테플론 시계접시 위에서 여과해수로 각반시켜 해수와 함께 상층에 모이는 시스트를 포함한 가벼운 입자와 바닥에 가라앉은 무거운 모래입자를 panning method에 의해 분리시켰다 (Matsuoka et al., 1989). 가벼운 입자의 혼탁물을 다시 20 ㎛m의 mesh로 여과하여 10 ml의 부피로 농축시켜 정량분석용 시료를 확보하였다 (그림 75). Sedgwick Rafter 계수판 위에서 3번 시료를 계수한 후 평균치를 구하여 시스트의

개체수 (cells/g)으로 환산하였다. 저층의 수온과 염분도 CTD (IDRONAUT Ocean Seven 316 Plus)와 YSI (6600 V2 multiparameter water quality sonde)를 사용하여 현장에서 직접 측정하였다.

㉯ 시스트 발아율 측정

*Alexandrium tamarense*의 시스트 분포 집약지인 한 정점 (C35)에서 매월 동일한 방법으로 시스트를 채집하였고 시스트 발아실험을 퇴적물 채집 후 3일 이내에 다음과 같이 시행하였다. Panning method에 의해 분리된 해저니 혼탁물 시료를 1 ml을 취하여 Sedgwick Rafter 계수판 위에서 microcapillary로 현미경하에서 시스트를 골라내었다. 골라낸 시스트는 다시 2-3번 정도 여과(0.2 ㎛) 멸균해수로 씻은 후, 여과멸균해수가 들어있는 tissue culture plates 속에 1개의 well내에 시스트를 1개씩 넣은 후, 20 wells에 20 개체의 시스트를 접종한 발아 실험을 3번 실시하였다 (그림 75). 접종된 시스트는 현장의 저층수온에 맞추어 8 - 25 ℃, 100 μmol/m^2s의 광도로 12hL-12hD 주기의 광조건하에서 배양되었다. 배양 시작후 1주간은 1-2일 간격으로 발아여부를 관찰 기록하였으며, 3-4주 후에는 3-5일 간격으로 발아여부를 기록하였다.

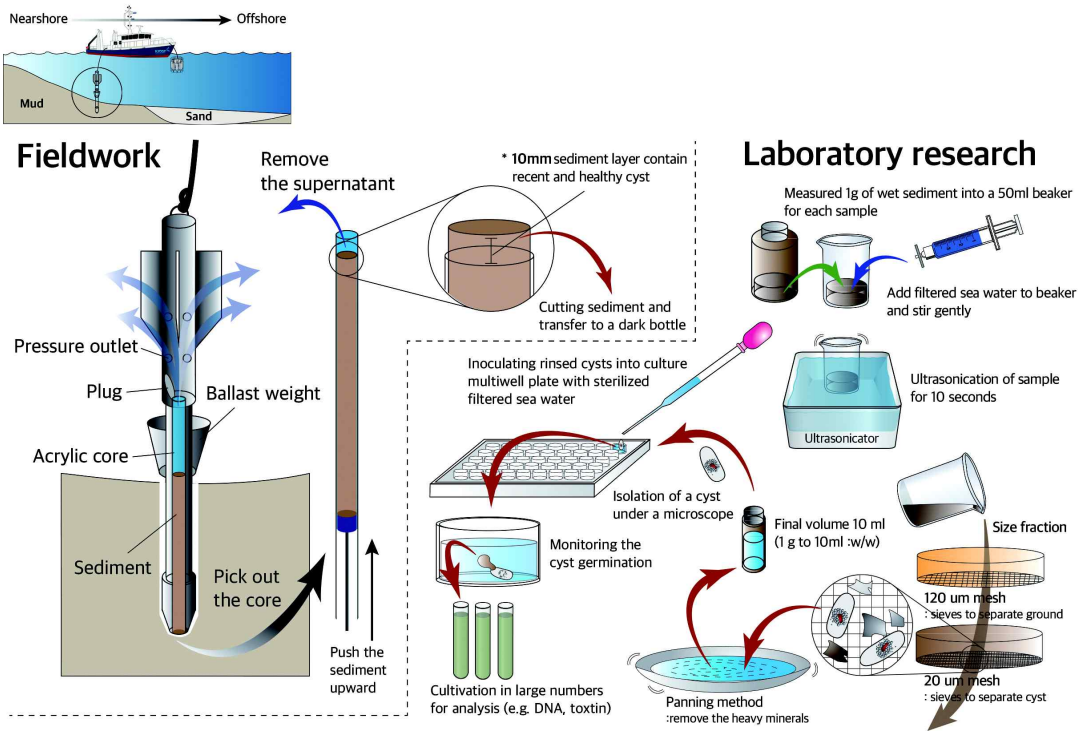


그림 75 해저 퇴적물 채취 및 *Alexandrium* 시스트 분리, 발아, 배양의 연계 프로세스

② *Alexandrium tamarense* 수중 개체군 시공분포 및 수환경 변동 탐색

㉮ 수중 개체수 변동 분석

해저 시스트의 최대 발아능이 관측된 추계(2016년 11월) 이후 발아된 영양세포가 수중에 존재

하는 양의 변화를 추적하기 위해 동일한 거제동부 집중조사 수역에서 2016년 12월부터 2017년 11월까지 매주 표층 해수를 2L 채집한 후 망목크기 20 μm로 영양세포를 여과하였다. 여과한 해수는 중성 Lugol 용액 (최종 2%)으로 고정하였다. 특히 춘계 대발생 시기인 3월부터 6월까지는 영양세포의 수직분포 파악을 위해 표층, 중층(수심 5m), 저층(수심 10m)의 해수를 채집하여 동일하게 고정하였다. 아울러 수중 개체군의 공간분포 특성을 파악하기 위해 광역조사를 실시하여 낙동강 하구역에서 거제동부 연안을 거쳐 통영과 고성내만과 남해동부 수역까지, 총 34개의 정점에서 해수를 채집하여 동일하게 고정하였다. 영양세포 개체수 밀도가 낮은 동계에 채집한 시료의 경우 24시간 침전 시킨 후 5 ml로 농축하여 현미경 검경하였다. 광학현미경 하에서 *Alexandrium tamarense* 유사 형태의 세포를 선별 분리하고, 고배율 하 (400-1,000 배)에서 정밀 형태분석을 거쳐 개체수를 측정하였으며, 동시에 정확한 종동정을 위해 전자현미경을 사용하여 세포의 형태 정보를 검경하였다. 전자현미경에 사용된 시료는 세포의 주요 형질이 잘 보존되어 있는 현장 Lugol 고정시료를 이용하였으며 멤브레인 필터로 여과 후 3차 증류수로 2회 세정하였다. 이후 에탄올 10% - 30% - 50% - 70% - 90% - 95% - 100% (2회) 단계로 탈수 및 치환하였다. 이후 시료는 임계점 건조 (critical point drying; SPI-DRY REGULAR CPD, USA)를 하고 백금으로 코팅처리 후 전자현미경 (JEOL JSM 7600F) 촬영을 하였다.

㉯ 수환경 변동 분석

Alexandrium tamarense 개체수 변동과 수환경간의 상관관계를 이해하기 위하여 CTD (IDRONAUT Ocean Seven 316 Plus)와 휴대용 YSI (Professional Plus Multiparameter Instrument)를 사용하여 수온과 염분을 측정하고 영양염류 분석을 위해 현장해수 500ml를 채집하였다. 영양염류의 농도를 측정하기 위해서 GF/F 필터(지름 47 mm; Whatman glass fiber filters)로 여과하였다. 여과수 50ml에 $HgCl_2$ 50 μl를 첨가 후 HDPE병에 넣어 냉동 보관하였다(Kattner 1999). 냉동보관 시료는 암조건 실험실내에서 해동 후 영양염류를 분석하였다. 아질산과 질산성 질소(NO_2+ NO_3-N), 인산염(PO_4-P), 규산염(SiO_2), 암모니아성 질소(NH_4-N)를 Parsons et al. (1984)의 분석법을 따른 자동분석기 (Autoanalyzer QuikChem 8000; Lachat Instrum ents, Loveland, CO, USA)를 사용하였고, 각각의 영양염 농도는 표준해수(RMNS, KANSO Technos Co., Ltd., Japan chemical Industries, Osaka, Japan)로 보정하였다.

③ Alexandrium tamarense 성장률 측정

2016년 11월에 시스트에서 발아한 영양세포를 분리하여 실험실에서 배양주를 20° C에서 유지하였다. 이 배양주의 수온과 염분의 변동에 따른 성장속도의 변화를 온도는 12, 15, 18, 21° C의 4단계, 염분은 15, 20, 25, 30, 의 5단계를 조합한 총 20 단계의 배양 조건에서 조사하였다. 염분 조절은 남해외해역의 33.8 psu 해수에 초순수이온수를 희석하여 조절하였으며, 영양염 조건은 모든 실험구

f/2로 통일하였다. 각 조건의 배지를 50 mL씩 시험관 (Φ22 mm x 200 mm, PYREX)에 균일하게 분주한 후 실험 종의 초기 농도를 100 cells mL-1이 되도록 접종하였다. 배양조건은 광량 60 μmol m-2s-1,광주기 12D:12L로 설정하였고, 생물량의 변동은 1-2일 간격으로 *in vivo* 상태의 형광값을 형광광도계(Turner design 10-AU, USA)로 20일 동안 측정하였다. 형광값과 실험 종 개체수의 상관식을 구하여 개체수로 환산하였으며, (k)는 아래의 식을 이용하여 산출하였다.

$k = (\log_2 Nt - \log_2 No)/t$ (k : Doublings per day, t : 배양기간 (days), No :초기 개체수, Nt : 최대성장시(t)의 개체수)

④ *Alexandrium tamarense* 시스트 형성시기 및 형성량 분석

Alexandrium tamarense 수중 개체군의 시스트 형성을 추적하기 위해 2017년 3월부터 6월까지 총 85일간 연속적으로 sediment trap을 수중 8m에 설치하였다 (그림 73, 76).

매주 트랩을 회수하였고 확보된 트랩 시료는 초음파(42kHz)로 10초 간 처리하여 점액질이 많아 엉겨 붙은 시스트를 분리시켰다. 이어 시료는 냉장 보관된 GF/F 여과해수로 20 μm mesh 여과 세정시킨 후 현미경 검경시료로 사용하였다. Sedgwick Rafter 계수판 위에서 시료 속의 시스를 3번 계수한 후 평균치를 구하여 시스트의 형성량 (cells/m^2/day)을 측정하였다.

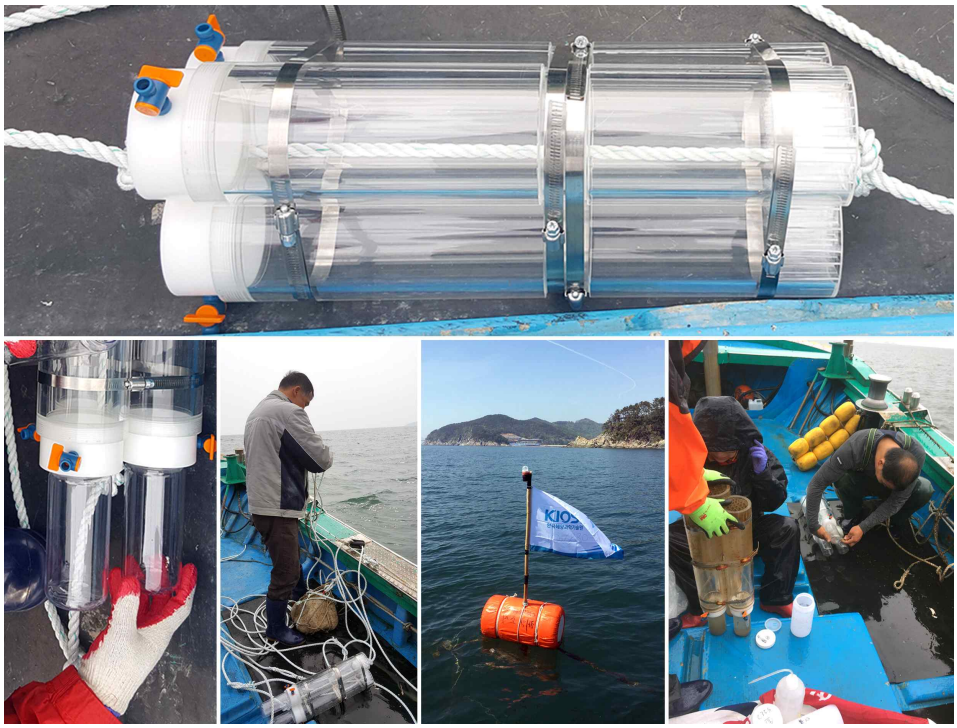


그림 76 시스트 형성을 추적하기 위해 설치한 Sediment trap

⑤ *Alexandrium* 시스트 및 수중 영양세포의 형태 및 유전자 분석

발아한 *Alexandrium*의 정확한 종동정을 위해 형태학적 관찰과 분자학적 분석방법을 병행하였다.

발아한 세포는 우선적으로 도립현미경(ZEISS Axiovert 10)상에서 발아 후 분열까지를 관찰 후 실험에 사용할 개체를 제외한 나머지 세포들은 F/2 배지에 옮겨 단일배양을 시도 하였다. 고해상력으로 형태를 관찰하기 위해 광학현미경(ZEISS Axio imagerA2)상에서 세포의 외부형태를 관찰하고 형광으로 내부 클로로플라스트 패턴을 확인하여 디지털 카메라 (ZEISS AxioCam ICc5)로 사진을 남겼다. 분자학적 분석은 하나의 개체만 분리시켜 Single cell PCR을 수행하였다. RED Extract-N-AmpTM Tissue PCR Kit (Sigma-Aldrich)를 사용하여 세포로부터 genomic DNA를 추출하였고 BIO-RAD C1000TM Thermal cycler로 PCR (표 1) 후 ABI 3700 sequencer로 염기서열을 결정하였다 (Jung et al., 2016). 염기서열 분석은 발아한 세포와 수중 세포로부터 얻어진 약 3000정도의 염기 길이 중 18S ribosomal RNA (SSU) - ITS1 (internal transcribed spacer) - 5.8S - ITS2 - 28S rRNA (LSU)를 NCBI GenBank에서 획득한 68개의 염기서열과 정렬하여 분석하였다. 변이성 분석은 MEGA 7 (Kumar et al., 2016)의 *p*-distance 값을 사용하였다. 분자계통수는 치환 모델 GTR+I+G로 Bayesian Inference(BI)를 추론하였으며, 프로그램은 MrBayes v3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck 2003)을 사용하였다.

표 1. *Alexandrium* 유전자 분석에 사용한 프라이머와 PCR 온도조건

PCR primers			
Forward primer	EukA (5′ - CTG GTT GAT YCT GCC AGT-3′)		
Reverse primer	LSU rev4 (5′ - GTT AGA CTY CTT GGT CCG TG-3′)		
Internal sequencing primers			
Forward primer	Dino18SF780 (5′-ACT TTG AGR AAA WBR GAG TG-3′)		
Forward primer	Dino18SF1470 (5′-CAG GTC TGT GAT GCC CTT MG-3′)		
Reverse primer	Dino18SR380 (5′-CTT CCT TAG ATG TGG TAG CC-3′)		
PCR conditons			
Step	Temp. (°C)	Time (sec)	Cycle
Predenaturation	94	90	
Denaturation	98	10	40
Annealing	58	30	
Extension	72	180	
Final extension	72	420	

다. 연구결과 및 토의

(1) *Alexandrium tamarense* 개체군 변환 과정 추적

(가) *Alexandrium tamarense* 시스트의 밀집 분포지 및 저층 환경

남해동부 연안해역의 저층 퇴적물 분석결과 *Alexandrium tamarense* 시스트는 거제 동부 내만에 밀집분포를 보이고 있었다 (그림 77A). 특히 진해만 수괴와 외측해역의 연결통로인 중앙수로 인근 해역에서 높은 개체수 (90 cysts g^{-1})를 보였다. 이 같은 결과로 보아 진해만 내측의 고밀도 영양세포가 외측으로 확산되어 인근의 거제도 동부해역까지 수중 영양세포 대발생을 일으켰을 가능성이 높다. 대발생 이후 시스트를 형성하여 해저에 침적되어 시스트 분포가 집약되어 있었다고 판단된다. 이 수역은 춘계에는 동풍이 우세하여 해류에 의해 거제 동부 내만으로 시스트 침적이 더 용이하게 작용하였으리라 판단된다. 따라서 거제동부연안의 집약지에서 춘계 정밀조사를 통해 영양세포 대발생과 시스트 형성량의 조사를 수행하여 이 같은 가설을 증명하고자 하였다. *A. tamarense* 시스트의 밀집수역의 경우 인근 타 해역에 비해 수온이 높고 염분은 낮은 지리적 분포를 보였다 (그림 77B-D). 이 같은 상대적 고온 저염의 저층 수괴 특성과 본 종의 시스트 동태와의 관계는 수중 개체군의 소멸과 함께 논의하고자 한다.

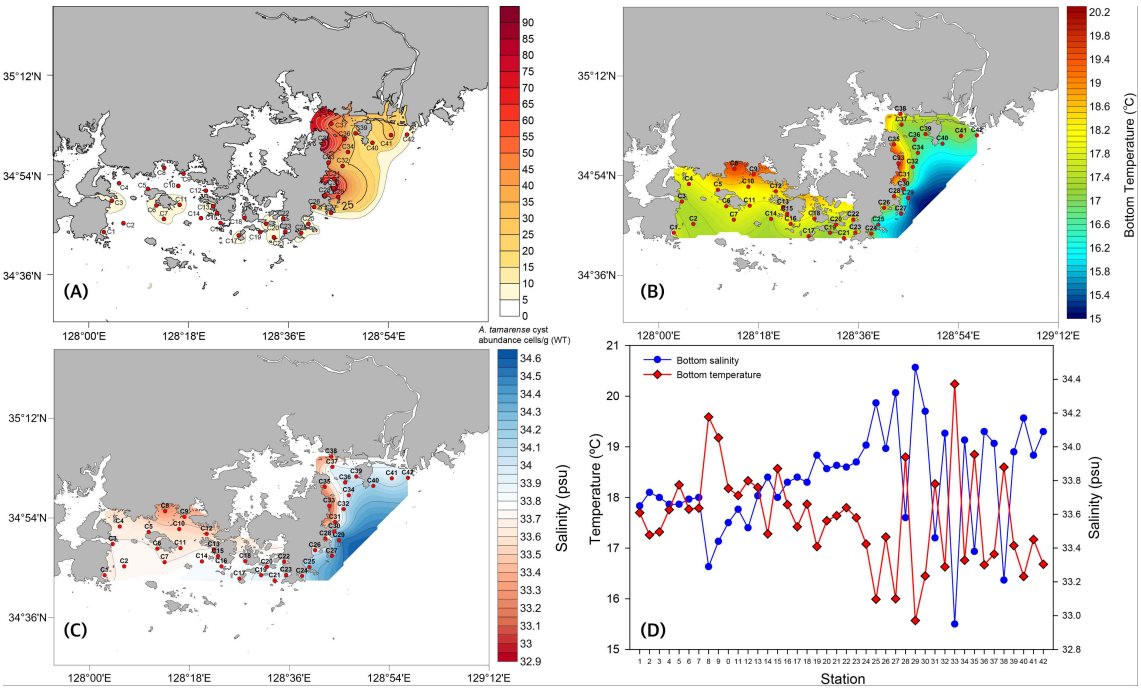


그림 77 *Alexandrium tamarense* 시스트의 지리적 분포 및 저층 수환경 특성, (A) *A. tamarense* 시스트의 개체수 분포, (B & C) 해저층 수온 및 염분 분포, (D) 수온과 염분의 정점별 분포 비교

(나) *Alexandrium tamarense* 시스트 개체수의 시기적 변동과 발아율 변동 탐색 (M1 단계)

① 시스트 개체수 월별 변화

Alexandrium tamarense 시스트의 최고 밀집지로 거제 북동부 내만의 관포 인근수역 였으며 (그림 77A), 이 정점에서 2016년 6월에서 2017년 6월까지 매월 시스트를 채집하여 개체수 변화를 추적한 결과, 6월에서 10월까지 큰 변화 없이 약 80 cells g^{-1} 유지하였으나 11월과 12월 추계에 급격한 감소를 보였다. 이후 1-3월 동계에는 최저치 (10 cells g^{-1} 이하)를 보였다. 이후 2017년 4월에서 5월 사이 급격한 증가를 보여 6월부터 다시 2016년 동시기 수준의 80 cells g^{-1}로 회복되었다. 따라서 *A. tamarense* 시스트의 개체수의 시기별 변화는 뚜렷한 계절성을 보였으며 추계의 급감소는 시스트발아의 영향이며 춘계의 급증은 시스트형성에 의한 영향으로 예측된다. 또한 이 같은 시스트 개체수 변동의 결과로 보아 시스트는 5월부터 10월까지 약 6개월간 휴면기를 보낸다고 판단된다 (그림 78).

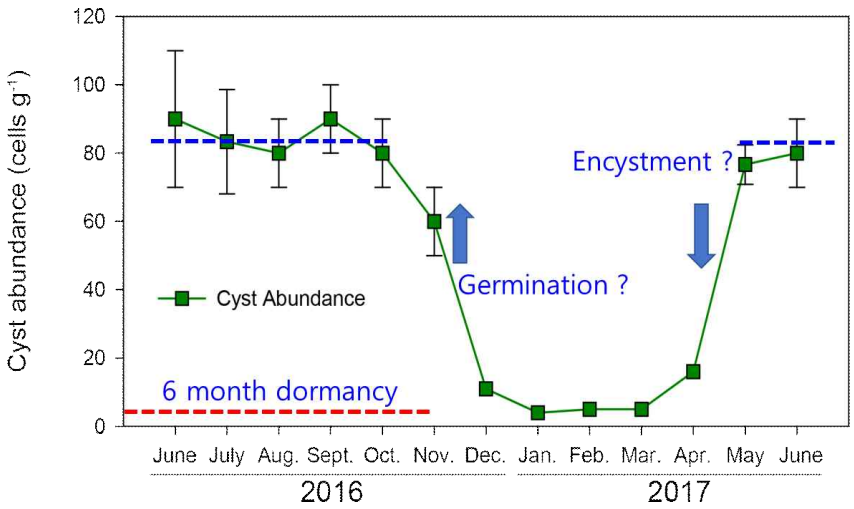


그림 78 *Alexandrium tamarense* 시스트의 개체수 월별 변화

② 시스트 발아율 월별 변화

시스트 계수와 동시에 시스트를 분리하여 현장 저층수온 (8-25℃)을 반영하여 시스트를 배양하여 월별 발아율을 측정하였다. 2016년 6월부터 11월까지 시스트 발아율은 5% 이하로 매우 낮았으나 11-12월에 발아율이 급증하여 약 70-80 % 시스트가 발아하였다. 이 시기의 해저층의 수온이 15℃가 되어 *A. tamarense*의 수중 개체군 번성의 적정 온도 조건과 일치 하였다 (그림 79). 김 등이 마산만에서 분리한 시스트의 월별 발아율의 결과를 보면 해저층의 수온이 15℃가 되는 12월에 발아율이 돌발적으로 급격히 증가함이 보고된바 있어 본 연구결과와 잘 일치하고

있었다 (Kim et al., 2002). 특히 2016년 8월에는 25℃ 최고치가 측정되었고 과거 기록된 수온에 비해 월등히 높은 수온이 기록됨으로 시스트 생존 및 발아능에 미치는 고온 영향을 추후에 추가 연구가 필요하다.

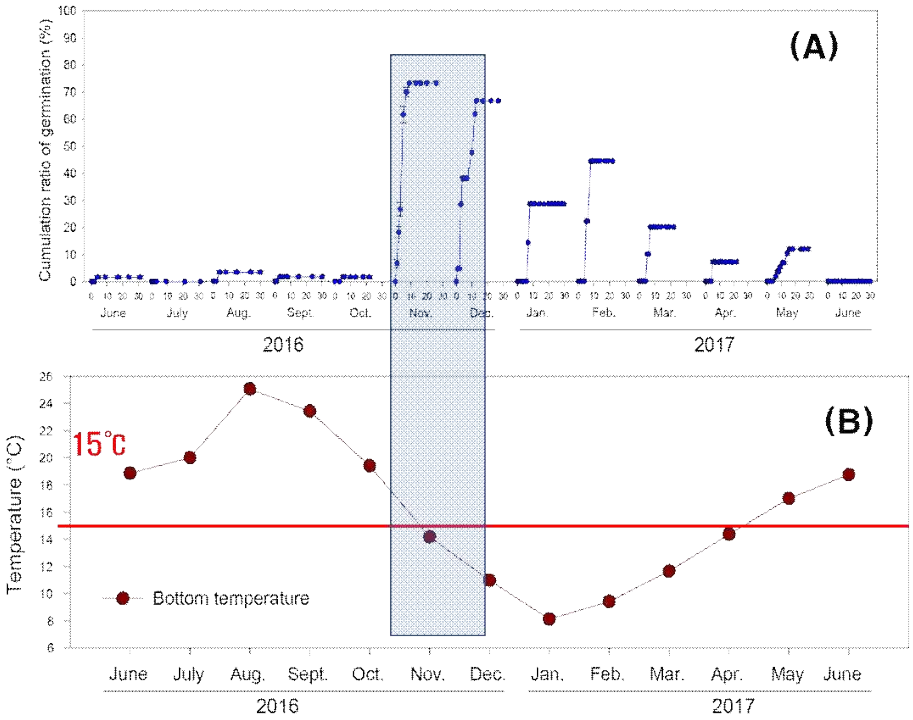


그림 79 *Alexandrium tamarense* 시스트의 발아율(A)과 저층수온(B)의 월별 변화

③ 시스트 발아에 의한 수중 개체군 형성 규모

해저에 분포하는 시스트의 최대량을 6-10월의 평균치로 하면 80 cells g^{-1} 이며, 이 값을 퇴적물의 부피단위로 환산하면 113,234,000 cells m^{-3} 의 시스트량이 해저에 분포한다. 여기에 최대 발아율 80%를 곱하면 90,586,402 cells m^{-3} 의 개체수가 발아에 의해 수중으로 회복된다 (그림 80). 즉, 추계의 시스트 집중 발아를 통해 수중으로 방출되어 영양세포의 동계 개체군을 형성하는 근간이 된다고 할 수 있다.

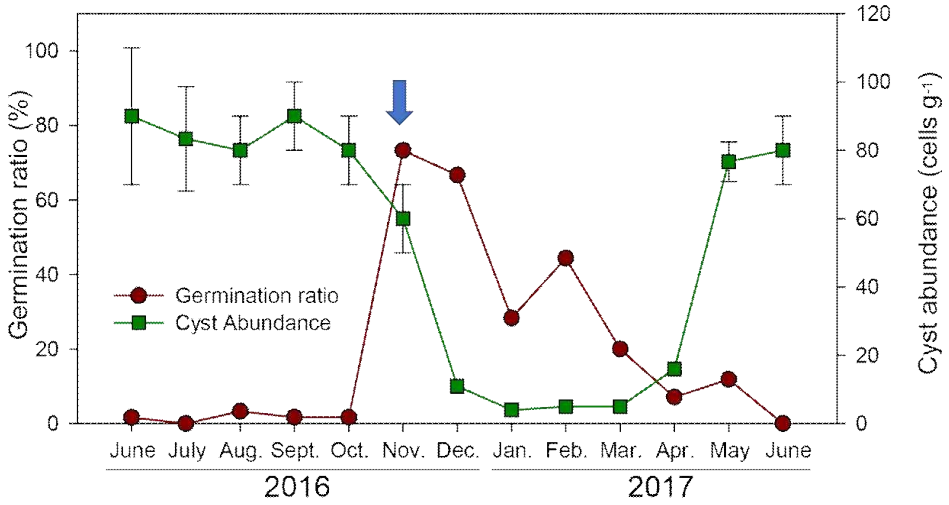


그림 80 2016년 11월 시스트 개체수 감소와 시스트 발아율 급증의 일치

(다) *Alexandrium tamarense* 초기 개체군 규모 및 성장률 탐색 (M2 단계)

① 동계 개체군 분포

2016년 12월부터 2017년 3월까지 동계에 매주 표층해수에서 관측한 수중 영양세포의 개체수는 10,000 cells m^{-3} 으로 큰 변화 없이 저밀도로 유지되었다 (그림 81). 앞선 시기 추계의 시스트 발아로부터 수중으로 방출 가능한 개체수는 약 $9x10^7$ cells m^{-3} 로 계산되었으나 실제 현장의 해수에는 매우 낮은 개체수가 분포하고 있었다. 즉, 발아에 의해 수중으로 방출된 개체의 0.01%만 생존한다는 결과를 얻었다. 이 같은 낮은 생존률은 동계의 저수온기에 낮은 자체생장률과 포식자에 의한 사멸 및 해류에 의한 물리적 확산과 같은 그 원인에 있다고 해석된다.

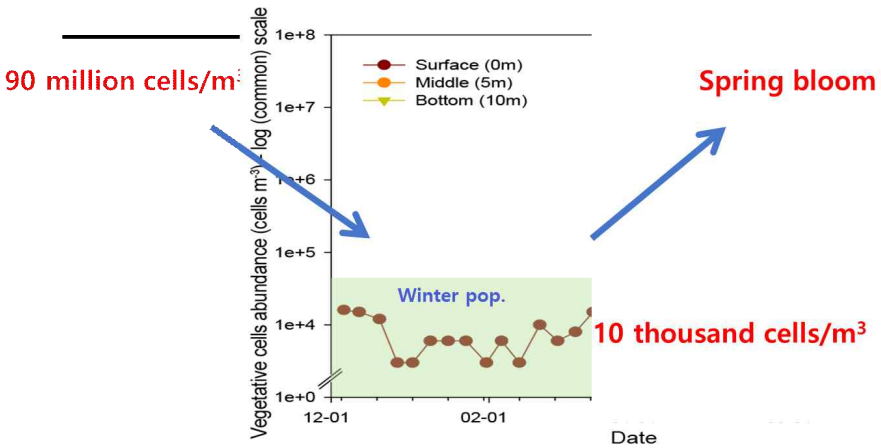


그림 81 *Alexandrium tamarense* 동계 자연개체군 개체수

② 개체군 성장률

현장에서 해수에 분포하는 *Alexandrium tamarense* 세포를 시용하여 실내에서 성장률을 측정하였다. 수온과 염분의 조건은 현장 분포 범위를 고려하여 설정하여 각 조건에 측정한 결과, *A. tamarense*의 주 성장 시기인 춘계의 조건을 고려하면 수온 15 ℃에서 염분은 30-33 psu 의 범위에서 측정된 성장률은 클로로필 측정치로 0.35 d^{-1} 였으며 이 값을 세포수로 환산하면 0.464 d^{-1} 의 성장률이 계산되었다 (그림 82). 이 같은 수준의 성장률은 기존의 타 연구자에 의해 측정된 값과 유사하였다 (Parkhill and Cembella 1999; Fauchot et al. 2005; Kwon et al. 2013).

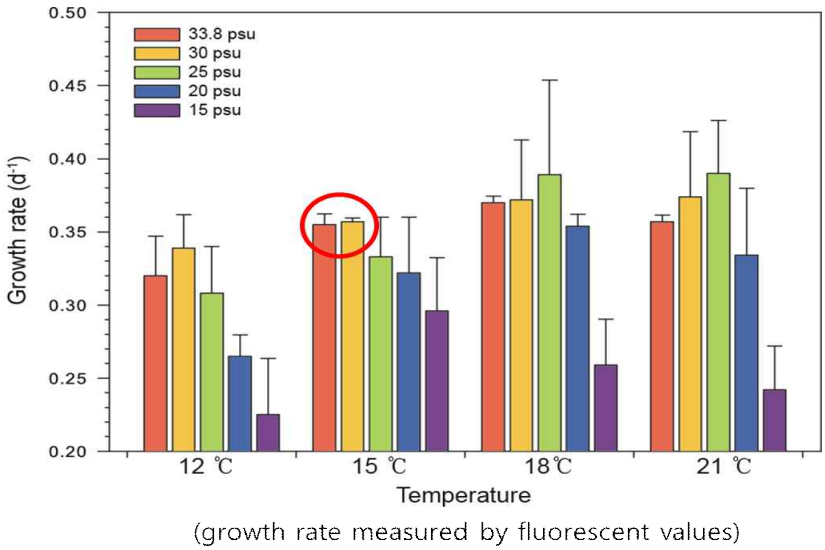


그림 82 수온과 염분 조건에 따른 *Alexandrium tamarense* 성장률

(라) *Alexandrium tamarense* 개체군 대발생 탐색 (M3 단계)

① 대발생 개체군 크기

동계 이후 3월 말부터 *Alexandrium tamarense* 의 수중 개체수는 급속히 증가하여 4월 17일 최고치 44,000,000 cells m^{-3} 의 개체수로 대발생을 일으켰다(그림 83). 3월 말까지 약 10,000 cells m^{-3} 의 개체수로 분포하였음으로 이 정도 규모의 개체수가 측정한 성장률 0.464 d^{-1} 로 3주간 증식한다고 가정하면 $8.5x10^6$ cells m^{-3}의 개체수로 증가가 가능하다. 즉 자체 성장으로는 19%의 개체수 증가가 춘계 개체군을 형성에 반영될 수 있다. 그러나 실제 현장에 분포하는 개체수는 계산치 보다 5배 많은 $4.4x10^7$ cells m^{-3}의 고밀도가 관찰되었다. 따라서 *A. tamarense* 의 춘계 대발생의 고밀도는 자체 성장으로는 설명이 어렵다. 즉, 물리적 집적과 같은 요인이 더해져야 실제 연안에 형성되는 대발생의 세포 밀도가 만들어 질 수 있다고 판단된다. 따라서 향후 조사해역의 바람과 해류의 특성을 파악하고 이를 대발생의 발생 기작과 연계하는 해석이 필

수적으로 수반되어야 한다.

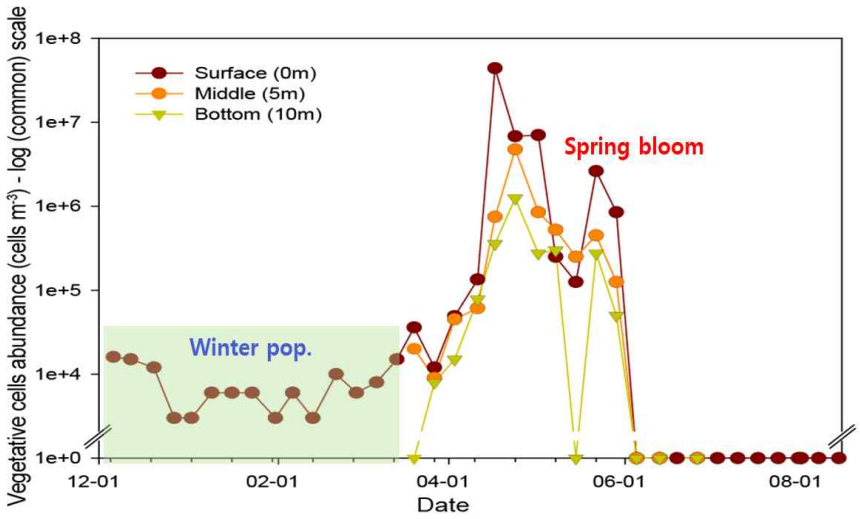


그림 83 *Alexandrium tamarense* 춘계 개체수 급증 및 대발생 형성

② 대발생 개체군 공간분포

2017년 4월 25일 *Alexandrium tamarense*의 개체군 공간분포 탐색결과, 거제동부해역에 밀집분포가 관측되었다 (그림 84). 이 같은 결과는 해저 시스트의 공간분포 결과와 유사한 공간분포 특성을 나타냈다. 춘계에 바람이 동풍이 우세함으로 인근의 수중에 분포하는 영양세포가 해류에 의해 거제동부해역으로 밀려와 집적된 것으로 판단된다. 다시 말해 거제동부의 *A. tamarense* 대발생 기작은 물리적 요인이 크게 작용하고 있다고 판단되며 향후 해류의 자료를 더하여 면밀한 분석이 요구된다.

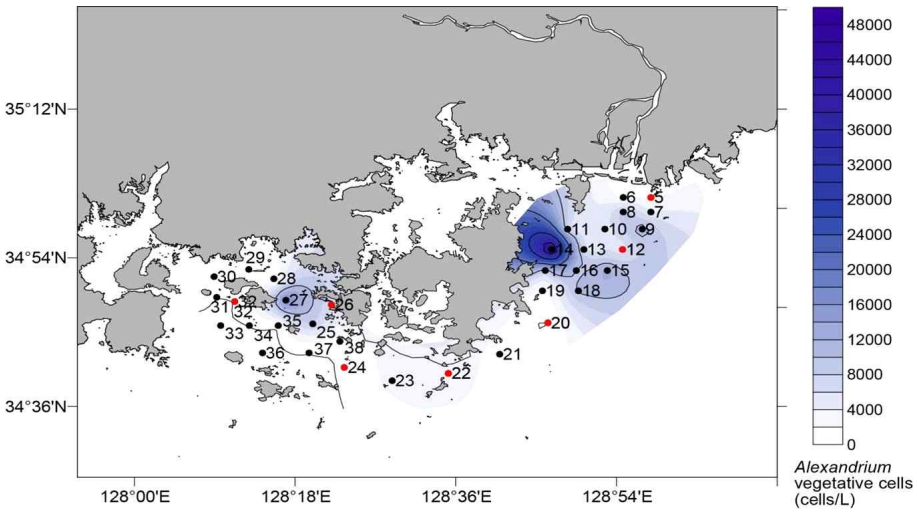


그림 84 2017년 *Alexandrium tamarense* 춘계 대발생 개체군의 공간분포

(마) *Alexandrium tamarense* 시스트 형성량 및 개체군 소멸 탐색 (M4 단계)

① 시스트 형성 시기 및 규모

2017년 3월부터 6월까지 총 85일간 연속으로 sediment trap을 설치하여 수확한 침적물을 분석한 결과, 신생 시스트가 발견되었다. 신생 시스트는 점액질이 두껍게 쌓여있고 시스트 세포 속에 red body와 함께 소과립이 조밀하게 채워있다. 수중 대발생의 급쇠락 시기인 4월 17일에서 24일까지 7일간 대량의 시스트 (513,938 cells m^{-2})가 채집되었다. 동시기 7일간 영양세포는 $5.5x10^{8}$ cells m^{-2}가 수중에 존재함으로 이 중 0.093%가 시스트로 전환되었다 (그림 85). 총 85일간 형성된 시스트의 총개체수는 626,025 cells m^{-2}로 계산되었고, 동 기간 수중에 존재하는 영양세포의 총개체수는 약 $1.4x10^{9}$ cells m^{-2}로, 영양세포가 시스트로 전환되는 비율은 0.046%로 계산되었다. 이렇게 형성된 시스트의 개체수 626,025 cells m^{-2}이 침강하는 해저표층에 분포할 것으로 추정되나, 실제 현장 퇴적물에 분포하는 시스트 개체수는 113,234 cells m^{-2}로 관측되어 실제 자연계의 개체수가 6배 적게 나타났다. 이는 형성된 시스트가 해저에 침강하여 휴면기를 보내는 동안 포식자에 의한 사멸과 물리적 확산에 의해 시스트가 소실되었다고 판단된다. 이에 관한 입증 자료 확보를 위해 저서생물의 시스트 포식 효과에 관한 조사가 추후 요구된다.

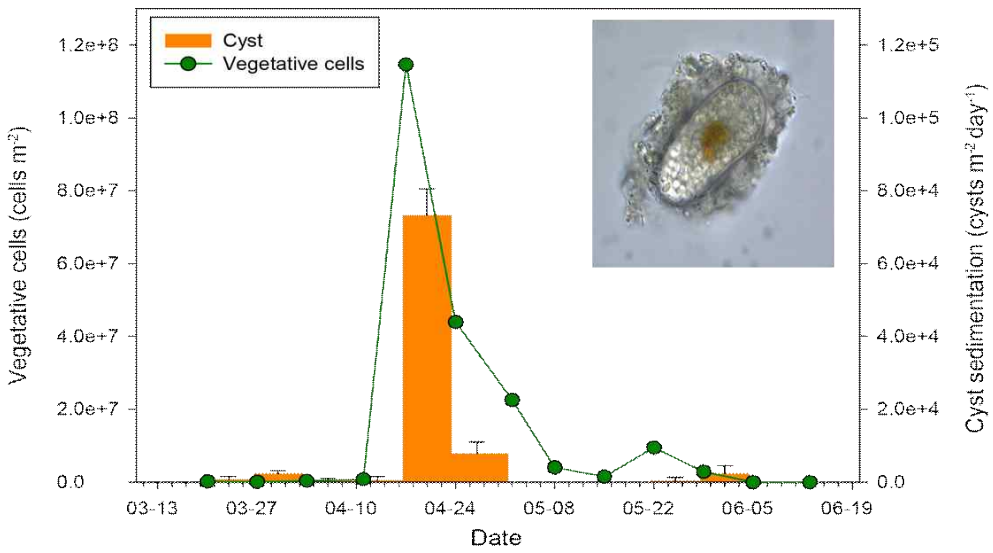


그림 85 *Alexandrium tamarense* 시스트 형성율과 수중 영양세포 개체수 변동 (사진: 신생 시스트 형태)

② 대발생 소멸 원인

*Alexandrium tamarense*의 개체군 대발생 전후의 수환경변화를 추적한 결과 대발생 직전 4월 3일부터 4월 11일 사이에 염분의 감소가 나타났다(그림 83A). 이 같은 염분감소 현상은 남동부해역 공간부터에서도 뚜렷하게 관찰되었다. 거제동부해역의 경우 해안선에 인접하여 저염분 분포가 확인된다 (그림 83B). 아울러 염분의 감소와 동시에 영양염의 급증이 발생하였다 (그림 83C). 이 시기 DIN의 농도가 4 μM에서 8 μM로 두배 증가하였다. 이는 거제동부해역 인근의 낙동강으로부터 담수유입에 의한 결과라 판단된다. DIN의 증가에 뒤 이어 4월 10일에서 17일 사이에 *A. tamarense* 개체군은 급속한 증식으로 대발생을 일으켰다(그림 83D). 이 급증식 시기에 DIN은 반대로 급감소 하는 결과를 보여 이는 *A. tamarense*의 증식에 위한 DIN 소모의 결과로 판단된다. 이후 4월 17일부터 24일 까지 대발생은 급격히 소멸되며 동시기에 동물플랑크토 개체수 증가가 급증하는 결과가 관찰되었다 (그림 86D). 대발생 전후의 연쇄 반응을 정리하면 낙동강 유역으로부터 담수공급으로 염분의 하강과 영양염(DIN)의 증가는 *A. tamarense*의 개체군 증식을 유도하여 4월 중순 대발생을 일으키며, 이후 영양염의 고갈과 동물플랑크톤의 포식효과로 *A. tamarense*의 대발생이 소멸되었다고 해석된다. 이 시기 동물플랑크톤의 우점종은 야광충으로 추후 야광충의 포식압에 관한 조사가 추가하여 어느 정도 규모가 포식자에 의해 소진되는지 가늠하고자 한다.

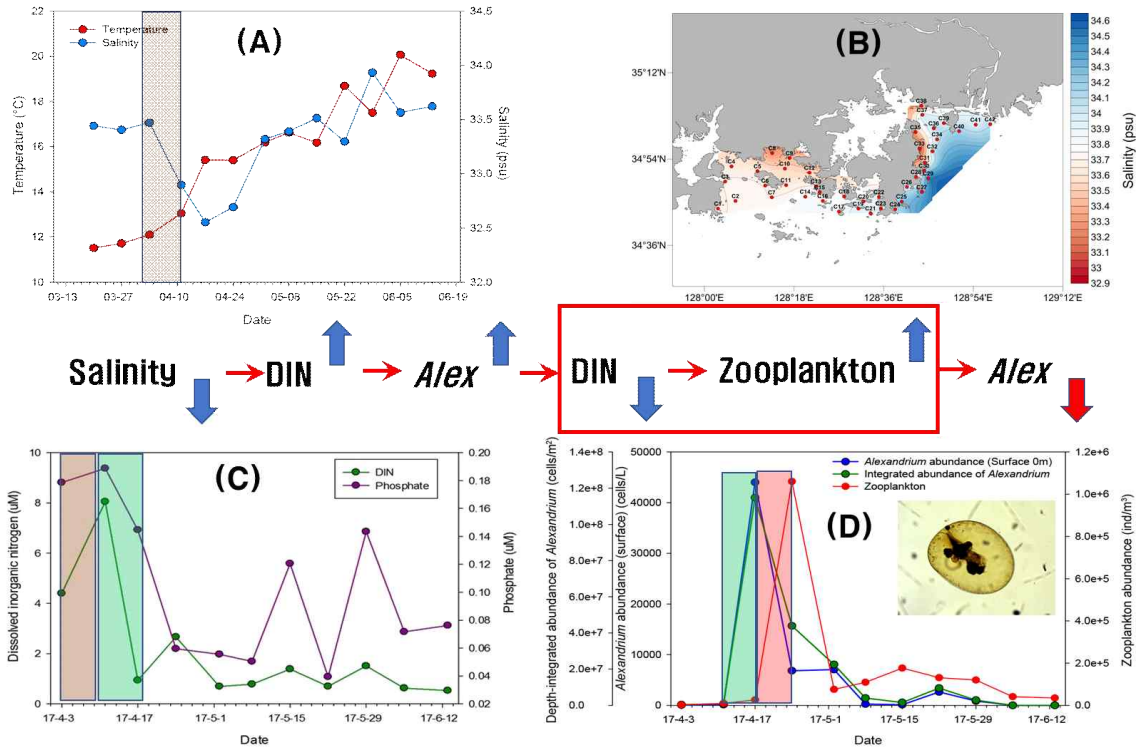


그림 86 *Alexandrium tamarense* 개체군 대발생 전후 수환경 (A: 염분과 수온, B: 염분 공간 분포, C: 영양염) 및 동물플랑크톤(D) 개체수 시기별 변동

(2) *Alexandrium tamarense* 시스트 및 발아세포의 형태특성 및 분자생물학적 종동정

(가) *Alexandrium tamarense* 시스트 및 영양세포 형태 분석

개체수가 가장 많은 *Alexandrium* 시스트의 형태는 투명한 타원형이며 세포 크기는 길이는 40-50 μm, 폭이 20-30 μm이며 세포내에는 무색의 입자들과 밝은 갈색의 원형체 및 붉은 소체 (red spots)가 관찰되었고 세포 외측에는 투명한 교질층이 둘러쌓여 있고 이 부위에 작은 이물질이 부착되어 있다 (그림 87). 이 같은 형태는 전형적인 *Alexandrium tamarense/catenella*의 형태로 광학현미경 관찰로는 두 종을 구별할 수 없다.

그림 87 *Alexandrium tamarense/ catenella* 시스트 형태 (scale bar: 50 μm)

*Alexandrium tamarense*의 대발생 시기에 현장에서 채집한 시료를 전자현미경으로 수중영양세포의 형태를 분석한 결과, 정공판의 타원형의 전부접속공(apical pore)이 열려 있었으며 후종구판에 후부접속공(posterior pore)도 관찰되었다 (그림 88). 가장 중요한 특징으로 정판의 1‘의 우측상부 가장자리에 복공(ventral pore)이 확인되어 거제동부연안에 대발생을 일으킨 본 연구의 대상종이 *Alexandrium*종은 기존의 형태적으로 기재한 *Alexandrium tamarense*의 형태와 일치하였다 (Chihara & Murano, 1997).

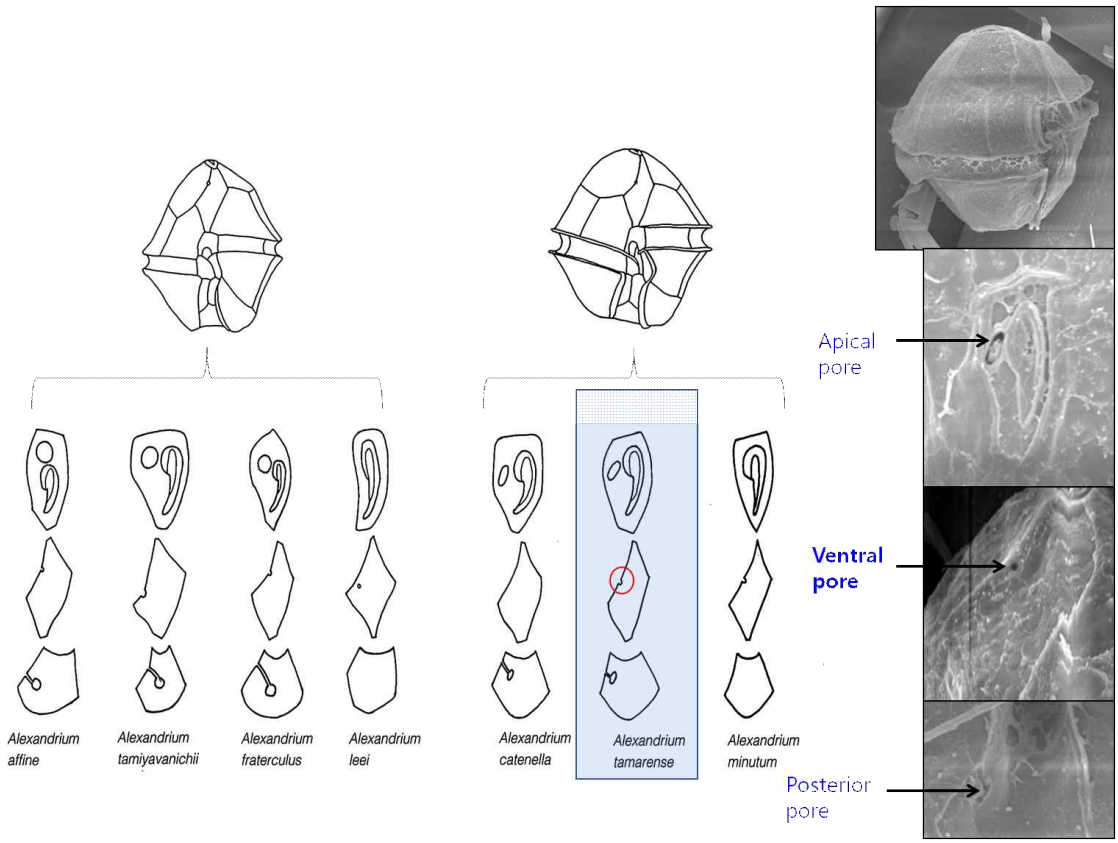


그림 88 *Alexandrium tamarense* 영양세포의 형태특징과 전자현미경 관찰 결과

*Alexandrium catenella, A. tamarense, A. fundyense*는 "*Alexandrium tamarense* species complex" 라고도 불린다. 이들을 구분하는 형질은 매우 제한적이며 변이가 심하기 때문에 (예: 복공의 유무) 오랜 시간동안 형태기반 분류와 분자계통분류간의 불일치하는 문제가 제기되어 왔다. 최근 Lilly et al. (2007)에서 D1-D2 LSU rDNA 분자계통수에서 *A. tamarense* complex는 5개의 그룹으로 나뉘는 것이 확인되었고, 이후 John et al. (2014)에서 형태분류와 분자계통분석을 병행하여 5개의 그룹을 명명 및 재정립 하였다. 현재는 분류뿐만 아니라 생태학, 독성학등 여러 연구결과를 제시할 때 *A. tamarense* complex Group I-V가 사용되고 있다. 하지만 Group I (*A. fundyense*)의 경우 명명에 관하여 여전히 혼란의 여지가 있다. 따라서, 본 연구에서는 *A. fundyense* 종명을 사용하지 않고 *A. tamarense* complex Group I 으로 정의한다. 집중조사 수역 (C35 정점)에서 채집된 *A. tamarense* 시스트 발아실험 결과 2종이(Group I 과 IV) 확인되었다 (그림 86). 2016년 9-10월은 낮은 발아율 (3.3%)을 보였으며, 발아한 2개의 세포 중 하나를 DNA 분석한 결과 *A. tamarense* Group IV (G4; *A. pacificum*)로 확인 되었다. 2016년 11월-2017년 3월까지 발아한 세포는 높은 빈도로 *A. tamarense* Group I (G1) 임이 확인되었으며, 2017년 5월 이후 *A. tamarense* G1 (85%), G4 (15%)로 혼재되어 발아하였다 (그림 90). 이러한 발아패턴은 *A. tamarense* (G1)는 저수온종, *A. tamarense* (G4)는 고수온종임을 암시한다. 2016년 11월에 발

아한 *A. tamarense* (G1)과 2017년 4월에 대 발생한 *A. tamarense* (G1)은 18S-ITS1-5.8S-ITS2-LSU(D1-D2) 염기서열이 100.0% 일치함을 확인하였다 (그림 91).

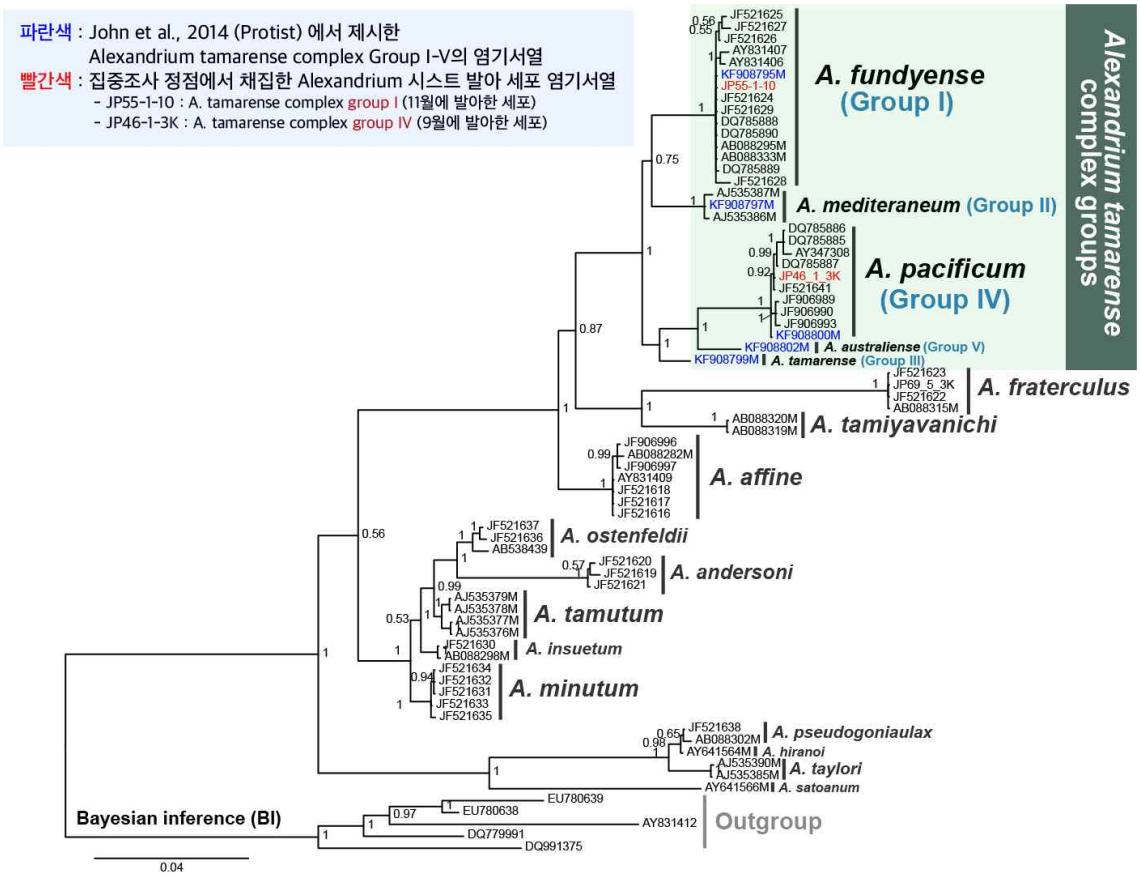
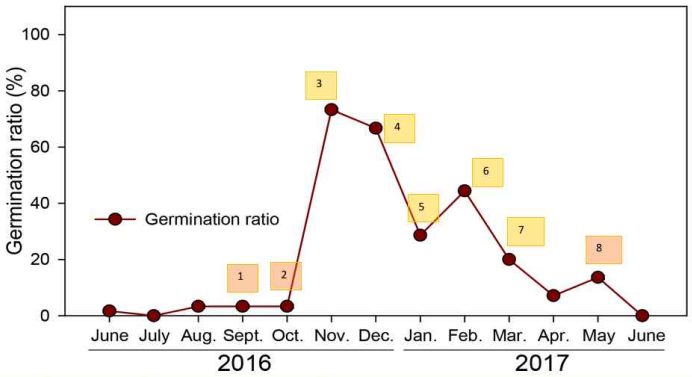


그림 89 시스트 발아 세포 유전자를 포함한 18S - ITS1 - 5.8S - ITS2 - 28S rRNA를 유합한 염기서열 (2217 bp) 71개를 Bayesian Inference(BI) 방법으로 유연관계를 추론한 분자계통수



순서	시료 날짜	발아율 (발아세포수/총세포수)	DNA 분석 확인율 (분석세포수/발아세포수)	분석결과
1	2016.09	3.3% (2/60)	50% (1/2)	*A. pacificum* (G4)
2	2016.10	3.3% (2/60)	50% (1/2)	*A. pacificum* (G4)
3	2016.11	73.3% (44/60)	29.5% (13/44)	100% *A. tamarense* (G1)
4	2016.12	66.7% (14/21)	57.1% (8/14)	100% *A. tamarense* (G1)
5	2017.01	28.6% (2/7)	28.6% (2/7)	100% *A. tamarense* (G1)
6	2017.02	44.4% (4/9)	33.3% (3/9)	100% *A. tamarense* (G1)
7	2017.03	20.0% (2/10)	100.0% (2/2)	100% *A. tamarense* (G1)
8	2017.05	13.6% (8/59)	87.5% (7/8)	85% *A. tamarense* (G1) 15% A. pacificum (G4)

그림 90 월별 채집한 시스트의 발아율과 DNA 분석 확인결과

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1 AB088295M																															
2 AB088333M	100																														
3 AJ535386M	96.73	96.73																													
4 AJ535387M	96.64	96.64	99.68																												
5 AY347308	94.92	94.92	94.88	94.83																											
6 AY831406	99.82	99.82	96.55	96.46	94.74																										
7 AY831407	99.73	99.73	96.46	96.37	94.65	99.73																									
8 DQ785885	95.01	95.01	94.97	94.92	99.82	94.83	94.74																								
9 DQ785886	95.01	95.01	94.97	94.92	99.82	94.83	94.74	100																							
10 DQ785887	95.15	95.15	95.1	95.06	99.68	94.97	94.88	99.86	99.86																						
11 DQ785888	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15																					
12 DQ785889	99.96	99.96	96.69	96.6	94.88	99.77	99.68	94.97	94.97	95.1	99.96																				
13 DQ785890	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15	100	99.96																			
14 JF521624	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15	100	99.96	100																		
15 JF521625	99.82	99.82	96.55	96.46	94.74	99.64	99.55	94.83	94.83	94.97	99.82	99.77	99.82	99.82																	
16 JF521626	99.96	99.96	96.69	96.6	94.88	99.77	99.68	94.97	94.97	95.1	99.96	99.91	99.96	99.96	99.86																
17 JF521627	99.73	99.73	96.46	96.37	94.65	99.55	99.46	94.74	94.74	94.88	99.73	99.68	99.73	99.73	99.73	99.77															
18 JF521628	99.64	99.64	96.37	96.28	94.61	99.46	99.36	94.7	94.7	94.83	99.64	99.59	99.64	99.64	99.64	99.59	99.55														
19 JF521629	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15	100	99.96	100	100	99.82	99.96	99.73	99.64													
20 JF521641	95.2	95.2	95.15	95.1	99.64	95.01	94.92	99.82	99.82	99.96	95.2	95.15	95.2	95.2	95.01	95.15	94.92	94.88	95.2												
21 JF906989	95.06	95.06	95.01	94.97	99.41	94.88	94.79	99.59	99.59	99.73	95.06	95.01	95.06	95.06	94.88	95.01	94.79	94.74	95.06	99.77											
22 JF906990	95.1	95.1	95.06	95.01	99.46	94.92	94.83	99.64	99.64	99.77	95.1	95.06	95.1	95.1	94.92	95.06	94.83	94.79	95.1	99.82	99.86										
23 JF906993	95.15	95.15	95.01	94.97	99.5	94.97	94.88	99.68	99.68	99.82	95.15	95.1	95.15	95.15	94.97	95.1	94.88	94.83	95.15	99.77	99.82	99.86									
24 1609 Alex (G4)	95.2	95.2	95.15	95.1	99.64	95.01	94.92	99.82	99.82	99.96	95.2	95.15	95.2	95.2	95.01	95.15	94.92	94.88	95.2	100	99.77	99.82	99.77								
25 1611 Alex (G1)	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15	100	99.96	100	100	99.82	99.96	99.73	99.64	100	95.2	95.06	95.1	95.15	95.2							
26 1704 Alex (G1)	100	100	96.73	96.64	94.92	99.82	99.73	95.01	95.01	95.15	100	99.96	100	100	99.82	99.96	99.73	99.64	100	95.2	95.06	95.1	95.15	95.2	100						
27 KF908795M	99.96	99.96	96.73	96.64	94.92	99.77	99.68	95.01	95.01	95.15	99.96	99.91	99.96	99.96	99.77	99.91	99.68	99.59	99.96	95.2	95.06	95.1	95.15	95.2	99.96	99.96					
28 KF908797M	96.82	96.82	99.82	99.77	94.97	96.64	96.55	95.06	95.06	95.2	96.82	96.78	96.82	96.82	96.64	96.78	96.55	96.46	96.82	95.24	95.11	95.15	95.11	95.24	96.82	96.82	96.82				
29 KF908799M	96.96	96.96	97.14	97.01	96.01	96.78	96.69	96.1	96.1	96.24	96.96	96.92	96.96	96.96	96.78	96.92	96.69	96.6	96.96	96.28	96.15	96.19	96.15	96.28	96.96	96.96	96.96	97.23			
30 KF908800M	95.24	95.24	95.15	95.11	99.55	95.06	94.97	99.73	99.73	99.86	95.24	95.2	95.24	95.24	95.06	95.2	94.97	94.92	95.24	99.91	99.77	99.82	99.77	99.91	95.24	95.24	95.24	95.33	96.37		
31 KF908802M	96.19	96.19	96.01	95.96	96.6	96.01	95.92	96.69	96.69	96.83	96.19	96.15	96.19	96.19	96.01	96.15	95.92	95.83	96.19	96.87	96.74	96.78	96.74	96.87	96.19	96.19	96.19	96.19	97.23	96.96	

그림 91 *Alexandrium tamarense* complex group I-V간의 유사도 비교

라. 결론

Alexandrium tamarense 시스트 기반 개체군 변환 과정을 종합하면 다음과 같다. 해저에 분포하는 *Alexandrium tamarense* 시스트는 추계에 개체수의 80%가 발아하여 수중으로 방출되며, 수중으로 돌아온 영양세포는 동계의 저수온기에 낮은 생존률, (0.01%)로 분포한다. 이어 동계의 낮은 밀도의 개체군은 춘계의 호조건의 수환경하에서 성장하여 대발생 밀도의 약 20% 정도 충족시킨다. 이 같은 자체성장과 함께 물리적 집적을 총해 수중에 고밀도 개체군 분포를 형성하여 춘계 대발생을 일으킨다. 대발생후 대부분의 수중 개체군은 영양염의 결핍과 동물플랑크톤 포식으로 인해 수중에서 소멸하며 일부 수중 개체군 (0.046%)이 시스트를 형성하여 해저로 침적되며, 신생 시스트는 해저에서 6개월간 휴면기를 보내며 이 시기에 18%의 개체수가 포감소하여 다시 다음해의 발아를 맞이하는 순환과정을 보이고 있다 (그림 92).

마비성 패독 원인 생물 *Alexandrium tamarense*의 해저 시스트 발아에서 수중 세포 성장과 대발생, 이어 개체군 사멸과 시스트 형성까지 일련의 모든 과정을 단계를 연속적으로 추적하여 단계별 생물량의 전환 규모를 밝힌 본 연구는 세계 최초의 시도라 할 수 있다. 차후 진입 단계를 통해 패독 분석과 물리적 요인 분석 자료를 확보하고 단계별 매스 전환과정을 완성하고자 하며, 아울러 진해만 내부의 만성 패독 발생지의 탐색을 통해 지리적 비교를 기반으로 국내 남동부해역의 *A. tamarense*대발생에 의한 PSP 독화 기작 모델의 개발로 발전시키고자 한다.

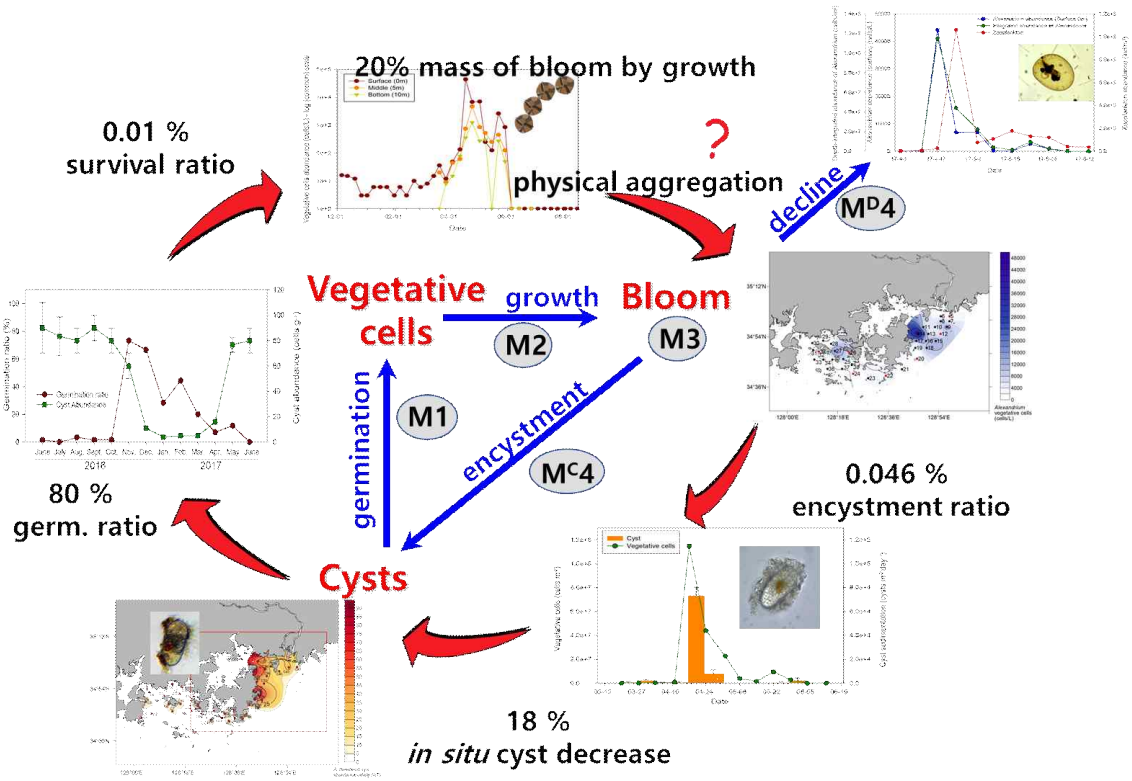


그림 92 거제동부 *Alexandrium tamarense* 개체군 mass transformation 모식도

3. 홍합 및 플랑크톤 시료의 마비성패독 독성세기와 독성분 분석

가. 연구개요

홍합은 전 세계의 해양에 널리 분포하고 있으며, 환경변화에 따른 생명력과 번식력이 강하여 전 세계적(global) 규모로 환경오염 정도를 파악하거나, 국지적 규모의 환경오염과 내성을 파악하려고 할 적에 좋은 실험대상생물종으로 활용된다.

홍합은 플랑크톤을 섭이하는 식성을 가지고 있어, 유독플랑크톤의 대량발생 즉 적조 등에 의해서 독화되어 맹독성 성분을 체내에 농축함으로써 이를 섭식한 사람에게는 가볍게는 소화기계 장해를 일으키지만, 중증으로는 사지마비와 호흡곤란 등을 일으켜서 사망에 이르게 한다. 외국에서는 이미 1960년부터 활발하게 연구가 진행되었으며, 국내에서도 1986년 부산 감천만에서 폐선박에 붙어있는 홍합을 먹은 인부 등 수 명이 사망하는 사고가 처음으로 발생한 이후, 한국수산과학원에서는 매년 유독플랑크톤의 발생으로 인해 패류가 독화된 여러 해역을 대상으로 독성을 조사하여 예보를 하고 있다 (그림 93). 국내의 경우 마비성 패독연구가 1980년 후반부터 수행되기 시작하여 국내 독화상황을 확인하였고 PSP 모니터링 시스템 개발을 위한 자료를 확보하고자 지속적인 노력을 기울여 왔다 (Jeon et al. 1987, 1988; Han et al., 1992, 2016).

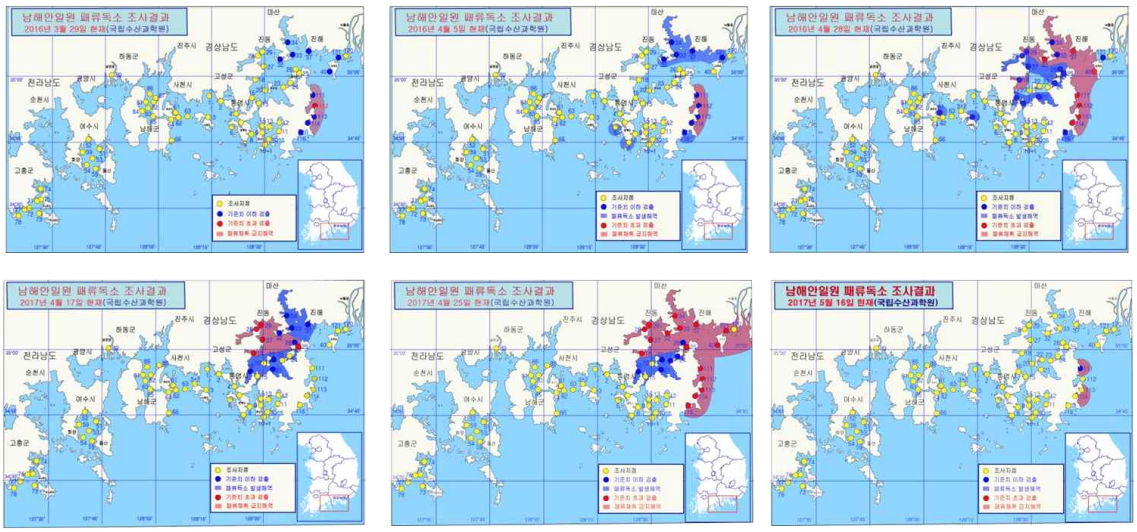


그림 93. 2016, 2017년 춘계 국내 남동부해역 패독발생 정보 (NFRDI)

본 연구에서는 2017년 3월~5월에 걸쳐 경남 거제동부해역을 중심으로 하여 홍합과 플랑크톤 중의 마비성패독(paralytic shellfish toxins; PST)의 존재 유무와 나아가서는 독의 조성을 조사하였다.

나. 재료 및 방법

- 염산을 이용한 추출법

균질화된 시료에 5 mL 0.1N HCl용액을 넣고, pH 2.0 ~ 4.0 사이로 맞춘 뒤, vortex로 혼탁시켰다. 혼탁액을 5분간 중탕 가열한 뒤, 상온에 식힌 뒤, 다시 pH 2.0 ~ 4.0 사이로 맞추었다. 이를 다시 vortex로 혼탁 시킨 뒤, 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하여, 상등액을 취하였다. 상등액 500 µL에 30% Trichloroacetic acid(w/v)용액 25 µL를 첨가한 뒤, 다시 8,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 0.2 µm cellulose acetate syringe filter하여 MS 분석을 위한 시료로 사용하였다.

- 아세트산을 이용한 추출법

균질화된 시료에 5 mL 1% acetic acid 용액을 넣고, vortex로 균일하게 섞어준 뒤, 5분간 중탕으로 가열하였다. 상온에서 충분히 식힌 뒤, 다시 vortex로 섞어 4,000 rpm에서 20분 원심분리하였다. 상등액 1 mL에 5 µL NaOH를 넣고 sepak-C_{18} 카트리지와 Supelco ENVI-carb 카트리지를 이용하여 전처리하였다. 준비된 카트리지를 3 mL ACN/H_2O/acetic acid (20:80:1), 200 µL air, 다시 3 mL H_2O/NH_4OH (1,000:1), 200 µL air를 주입하여 활성화 시켰다. 추출물 400 µL를 주입한 뒤, 200 µL air, 700 µL H_2O, 400 µL air를 주입하여 나오는 용액은 버린 뒤, 2 mL ACN/H_2O/acetic acid (20:80:1), 400 µL air를 넣어 용리액을 바이알에 담아 LC-MS 분석에 사용하였다.

- 포름산을 이용한 추출법

준비된 시료 5 g에 0.1% formic acid가 첨가된 ACN/H_2O (80:20, v/v) 15 mL를 넣은 뒤, vortex로 섞어 4,000 rpm, 20분간 원심분리하여 상등액을 sepak-C_{18} 카트리지를 사용하여 전처리하였다. 3 mL ACN/0.1% formic acid water (10:90)와 3 mL ACN/H_2O (90:10)를 차례로 주입하여 카트리지를 활성화 시킨 뒤, 추출물 1 mL을 주입하였다. 그 다음, 1 mL ACN/0.1% formic acid water (80:20), 0.4 mL ACN/1% formic acid water (10:90), 2 mL 0.1% formic acid water를 주입한 용리액을 바이알에 취하였다. 용리액은 0.2 µm PTFE syringe filter를 사용하여 여과한 뒤, LC-MS 분석에 사용하였다.

- LC-MS 분석조건

Thermo surveyor MSQ mass spectrometer (Dionex Co., Sunnyvale, CA, USA)를 분석에 사용하였다. 이동상용매 A(H_2O)와 B(95% ACN in H_2O)는 ammonium formate와 formic acid의 농도가 각각 2.0 mM과 3.6 mM이 되도록 조제하여 A와 B의 비율이 75:25로 조정한 이동상을 유속 0.2 mL/min으로 흘렸다. ESI(Electrospray ionization) positive 모드로 측정하였으며, spray voltage는 5.0 kv, capillaray temperature 350℃, collision energy는 15, 20, 25 eV로 측정하였다. 시료채집 : 홍합의 채집은 3월20일부터 5월29일까지 매주 10개체씩 3반복으로 채집하였고, 4월24일에는 해수 4L를 GF/F필터로 플랑크톤만을 여과하여 시료로 하였으며, 또한 홍합에게 플랑크톤을 급이한 다음 체내에 축적한 독의 독성과 독조성을 조사하였다.

전처리 : 상기 채집한 시료는 모두 동결건조하였으며, 이것에다 0.1N HCl를 첨가한 후 끓는 물속에서 5분간 가열추출하고, 일반필터나 C18카트리지 필터를 사용하여 여과한 다음에 HPLC-FLD(HPLC형광법)로 분석하였다.

분석조건 : PST의 분석은 Rey 등(2016)의 방법을 따랐다. 즉, 칼럼은 Hypercarb(4.6mm x 100mm, 5㎛)(Thermo Scientific Co., U.S.A.)를 사용하였고, 25℃의 칼럼항온오븐에서 반응시켰다. 이동상에는 두 완충용액을 사용하였으며, A완충용액은 0.075% 삼불소초산(trifluoroacetic acid, TFA)을, 그리고 B완충용액은 0.025% TFA와 50% 아세트니트릴의 혼합용액이다. 반응액에는 50nm 오르토과요오드산(orthoperiodic acid), 1M의 개미산암모늄에 녹인 0.2M 수산화칼륨용액, 그리고 50%포름아미드혼합액을 사용하였다. 이들의 반응온도는 65℃로 하였다. 형광분석기의 융기파장은 336nm, 형광파장은 392nm에서 분석하였다. 한편, 이동상은 구배를 주었으며, 30분까지는 A용액을 94%에서 75%로 하면서 B용액을 4%에서 25%로 하였고, 이후에는 A용액 96%-B용액 4%에서 분당 1ml의 속도로 주입하였다.

다. 연구결과 및 토의

각 표준품의 용출곡선은 그림 1과 같으며, 시기별 홍합의 독량은 표 2에, 홍합에 플랑크톤을 급이한 후 체내에 축적된 홍합의 독량은 표 2에, 그리고 4월24일에 해수 4L를 채집하여 GF/F필터로 여과한 플랑크톤의 독량은 표 3에 각각 나타내었다.

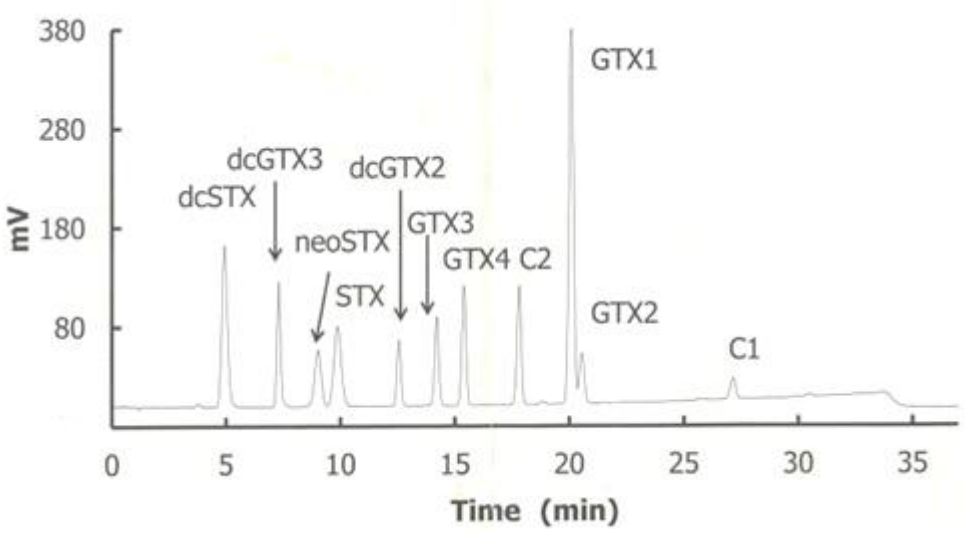


그림 94 PST 표준품의 용출곡선

표 2. 채집일시별 홍합의 독량

채집일시	시료 독량 (nmole/g, wet basis)			평균 독량 (nmole/g, wet basis)
3.20	3.32	1.46	4.42	3.08
3.27	5.09	4.31	7.52	5.64
4. 3	7.87	6.76	7.94	7.52
4.11	18.90	7.93	10.78	12.54
4.17	15.31	19.18	29.83	21.44
4.24	41.79	30.83	49.43	40.68
5. 2	48.97	8.86	28.90	28.91
5. 8	45.36	10.76	36.31	30.84
5.15	58.20	10.23	34.12	34.28
5.22	49.84	11.12	39.74	33.57
5.29	6.51	9.27	10.64	8.81

표 3. 채집일시별 홍합의 독성(MU/g)

채집일시	시료 독성			평균 독성
3.20	6.35	2.69	8.56	5.87
3.27	8.72	8.30	9.59	8.87
4. 3	15.53	12.25	14.03	13.94
4.11	38.88	13.30	13.16	21.78
4.17	25.80	31.99	25.79	27.86
4.24	49.01	48.37	47.74	48.40
5. 2	15.46	18.04	20.39	17.96
5. 8	22.91	20.96	18.86	20.91
5.15	19.68	20.82	24.06	21.52
5.22	25.14	21.63	20.65	22.48
5.29	12.67	18.85	11.43	14.32

표 4 플랑크톤을 급이한 홍합의 독량 (nmole/g, dry basis)

시료 독량 (MU/g)					평균 독량
100.80 (7.70)	254.21 (12.13)	65.41 (9.83)	80.42 (11.93)	64.97	113.02 10.48 (10.4)(wet basis)

표 5 플랑크톤을 급이한 홍합의 독량 (nmole/g)

시료 독량 (MU/g)
0.59 (0.18)

우선, 독화 해역에서 일시별로 채집한 홍합의 독량을 살펴보면, 3월20일에는 적은 양의 독이 존재하였으며 이후 4월 중순 이후부터 조금씩 높아지다가 5월15일경에 최고수준(34.18nmole/g)을 보였고, 이후에 신속하게 독량이 줄어들어 4월 초순의 수준으로 낮아졌다 (그림 95).

그러나 독성분별 비독성을 고려하여 마우스단위(mouse unit; MU)로 환산한 결과를 보면(표 3), 3월 중에 이미 안전기준치인 4MU/g의 수준을 넘었으며, 4월에 접어들면서는 독성이 두 자릿수로 증가하기 시작하였고, 4월24일에는 48.4 MU/g의 최고수준에 도달하였으며, 이후에는 줄었으나 5월말에도 여전히 두 자릿수의 독성을 유지하였다 (그림 95).

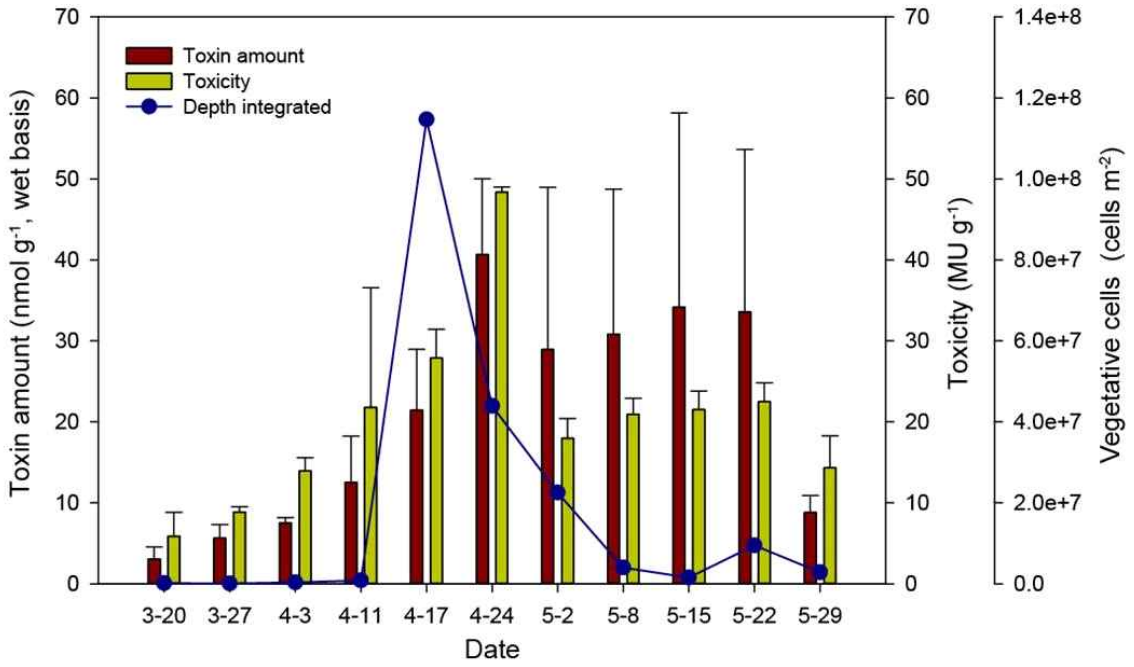


그림 95. 춘계 거제 동부해역 홍합의 독량과 독성 및 Alexandrium tamarense 개체수 변동

한편, 독의 조성을 살펴보면, 독화가 확인된 초기의 시료에서는 neoSTX계통의 carmabate유도체인 GTX4와 GTX1가 주성분이었고 *N*-sulfocarbamoyl유도체인 C1(*epi*-GTX8)과 C2가 미량으로 존재하였으며, 이런 패턴은 4월 초순까지의 시료에서 공통적으로 나타난다. 이후 4월17일의 시료에서는 앞서의 독성분 외에 STX계통의 carmabate유도체인 GTX2와 GTX3도 나타났으며, 일부 시료에서 C1이 주성분으로 확인되기도 하였다. 특이한 점은 4월24일 시료에서 STX와 neoSTX가 확인되었는데, 이들 고독성의 두 성분이 함유되었기 때문에 이때의 홍합 독량은 물론이고 독성도 높은 것이라 여겨진다. 그리고 이후에는 GTX1, GTX4, C1이 주성분인 종전의 독조성 패턴으로 회복되는 양상을 보였다.

한편, 독화해역의 해수(4L)에 분포하는 플랑크톤을 GF/F필터로 여과하여 얻은 플랑크톤 혼합물

의 독량은 0.59nmole/g이었고(표 4), 독조성 중에서는 C1의 독량이 가장 많았으며(0.46nmol), 그 외에 GTX1~2(0.04~0.08nmol), C2(0.01nmol)가 확인되었다. 이들 중 비독성이 큰 GTX1(2,468 MU/umol)을 제외한 나머지 독성분은 비교적 저~약독성의 것들이라서 계산된 독성은 0.18MU/nmol로 높지 않았다. 그리고 이들 플랑크톤을 먹인 홍합의 독량(표 4)에서는 64.97~254.21nmol/g으로 약 4배 가량의 차이를 보였으나, 독성은 큰 차이가 없이 7.70~12.13MU/g(평균 10.4MU/g) 의 수준이었다.

홍합의 독성(MU/g)과 독량(nmole/g)의 관계를 살펴보면, 독량과 독성 간에는 유의적인 상관관계가 있음을 나타내고 있으나, 독성에 따른 독량의 기울기는 크지 않았다 (그림 96). 즉, 독량이 20~30nmol/g의 수준일 적의 독성은 약 13~35MU/g이었는데, 독량에 큰 차이가 없어도 독성은 2배 이상의 차이를 보였다. 아울러 조사 시기 후반으로 갈수록 독성이 높았다. 이것을 PST의 원인생물인 플랑크톤에는 저독성의 PST성분이 분포한 것과 더불어 생각하면, 홍합의 체내에서 플랑크톤이 소화되는 동안 전반적인 독량은 늘어나지 않았음에도 고독성의 PST성분으로 대사되어 홍합의 독성이 높아졌다는 것을 강하게 시사한다.

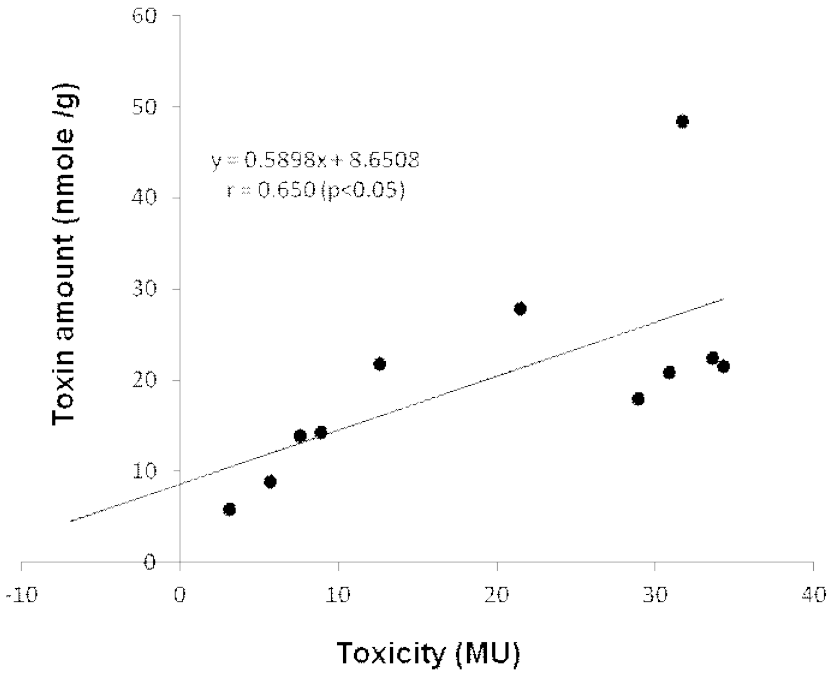


그림 96 홍합의 독성과 독량의 관계

염산, 아세트산, 포름산 등을 이용하여 추출하고 전처리한 시료들을 ESI-MS로 분석하였다. 기존에 보고된(송 등, 2013, 표 1.) ESI-MS에서 검출되는 PSP 성분들에 대한 parent ion 값을 바탕으로 측정한 결과(표 2, 그림 1~10), 세 추출법을 비교하였을 때 1% 아세트산 추출법이 가장 많은 종류의 PSP 성분들이 검출 되었고, sepak C_{18} 보다 ENVI™-Carb SPE 카트리지를 사용하였을 때, 그리고 Collision Energy가 15 eV일 때 가장 다양한 PSP 성분들을 확인하였다. 정확한 PSP의 분석은 추가적인 LC-MS/MS 기법을 활용한 정량분석이 필요할 것으로 사

료된다.

표 1. Mass spectrometry (MS) parameters

Toxins	Parent ion (*m/z*)	Ionization Mode	Collision Energy
STX	300	ESI, positive	20 eV
NEO	316	ESI, positive	20 eV
GTX1 & GTX4	412	ESI, positive	20 eV
GTX2 & GTX3	396	ESI, positive	20 eV
GTX5	380	ESI, positive	20 eV
dcSTX	257	ESI, positive	20 eV
dcGTX2 & dcGTX3	353	ESI, positive	20 eV
C1 & C2	396	ESI, positive	20 eV

STX, saxitoxin; NEO, neosaxitoxin; GTX, gonyautoxin; C, protogonyautoxin.

표 2. Detection of PSPs by extraction method

Extraction solvent	Cartridge	Syringe filter	Detected parameters (ESI, positive)		
			Collision Energy		
			15 eV	20 eV	25 eV
0.1N HCl	-	0.2 ㎛ cellulose acetate	-	353	257, 316, 353
1% acetic acid	Sepak C_{18}	-	-	257, 300, 316	257, 300
	ENVI™ Carb SPE	-	257, 300, 316, 353, 412	257, 300	353
80% ACN in 0.1% formic acid water	Sepak C_{18}	0.2 ㎛ PTFE	257, 300	257, 300	300, 353

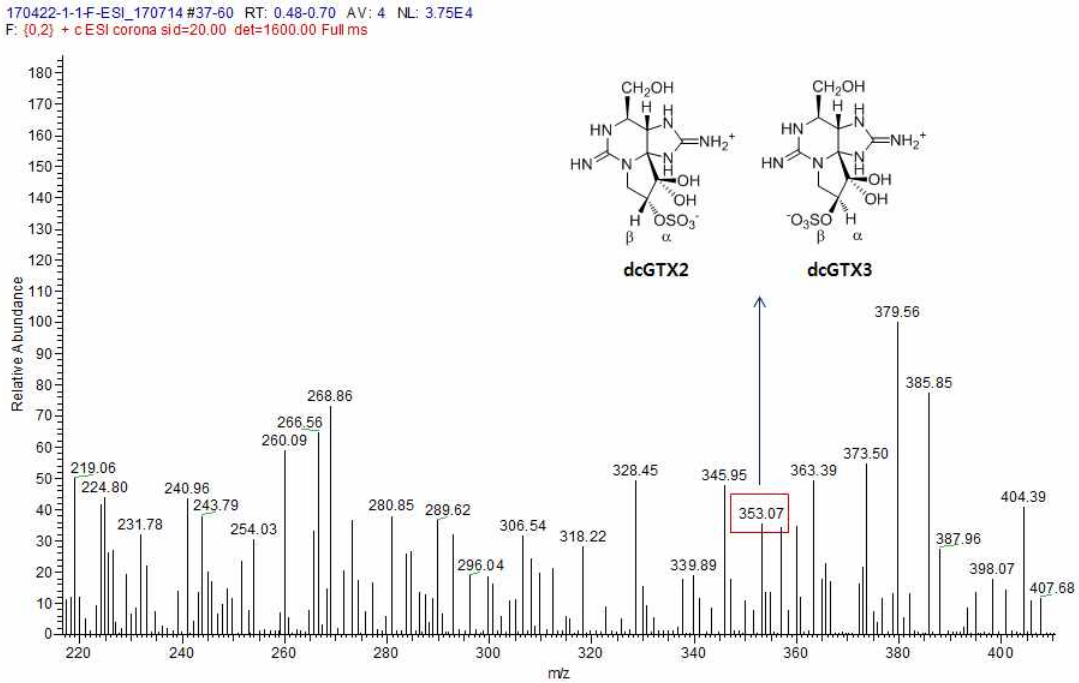


그림 97. Mass spectrum of HCl extract (ESI, 20 eV).

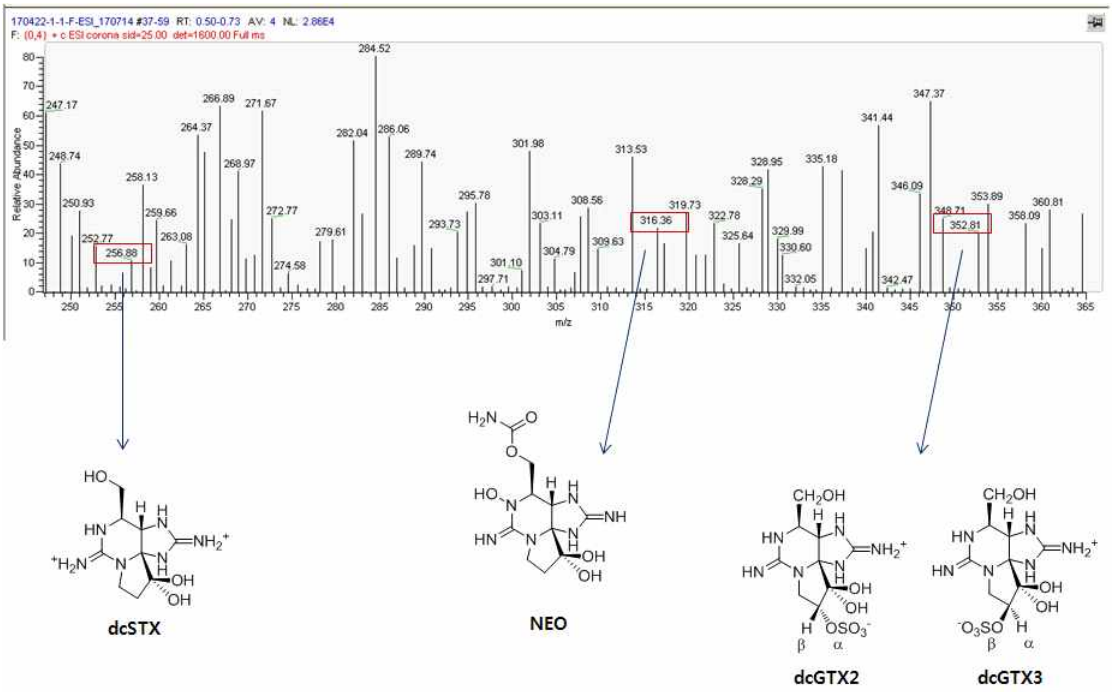


그림 98. Mass spectrum of HCl extract (ESI, 25 eV).

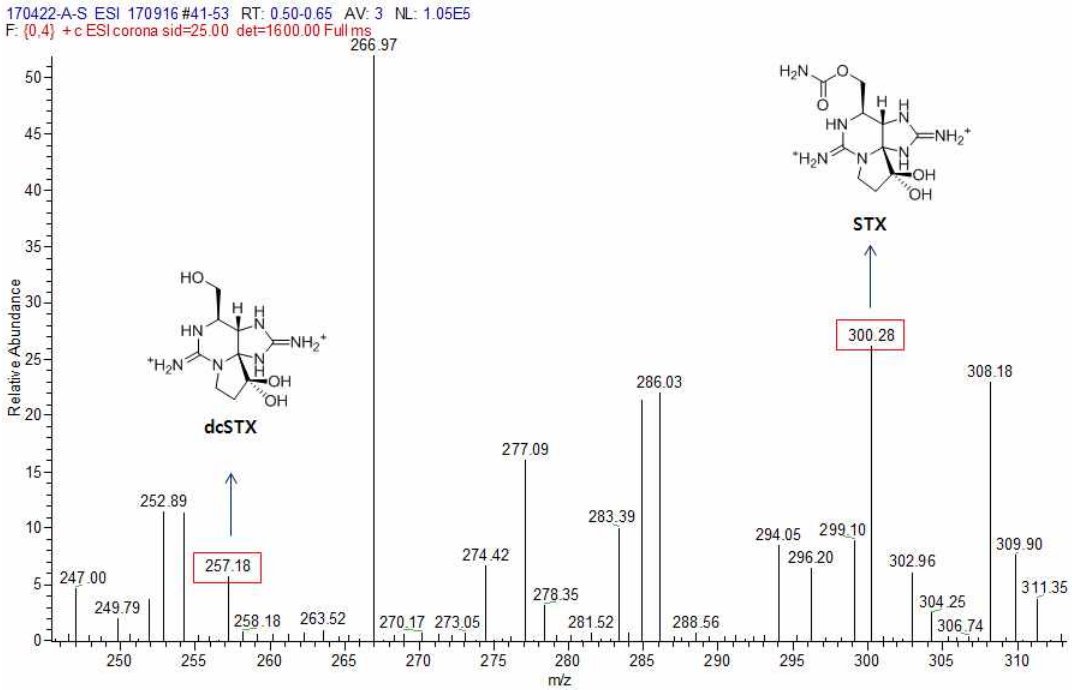


그림 99. Mass spectrum of 1% acetic acid extract (sepak C_{18}, ESI, 20 eV).

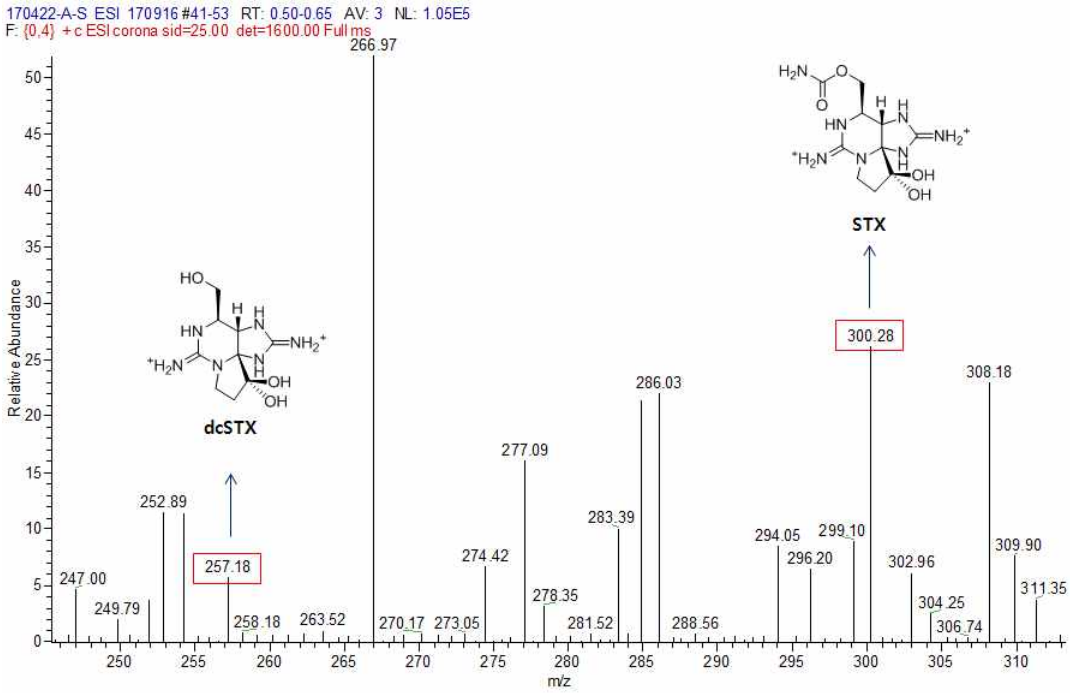


그림 100. Mass spectrum of 1% acetic acid extract (sepak C_{18}, ESI, 25 eV).

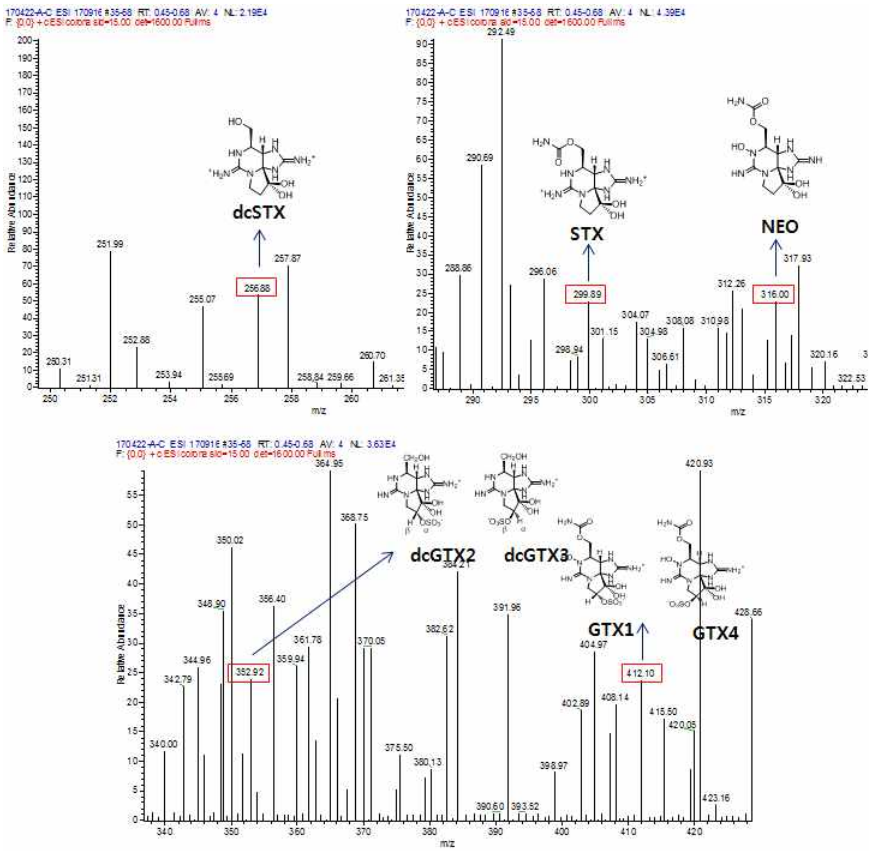


그림 101. Mass spectrum of 1% acetic acid extract (ENVI™ Carb SPE, ESI, 15 eV).

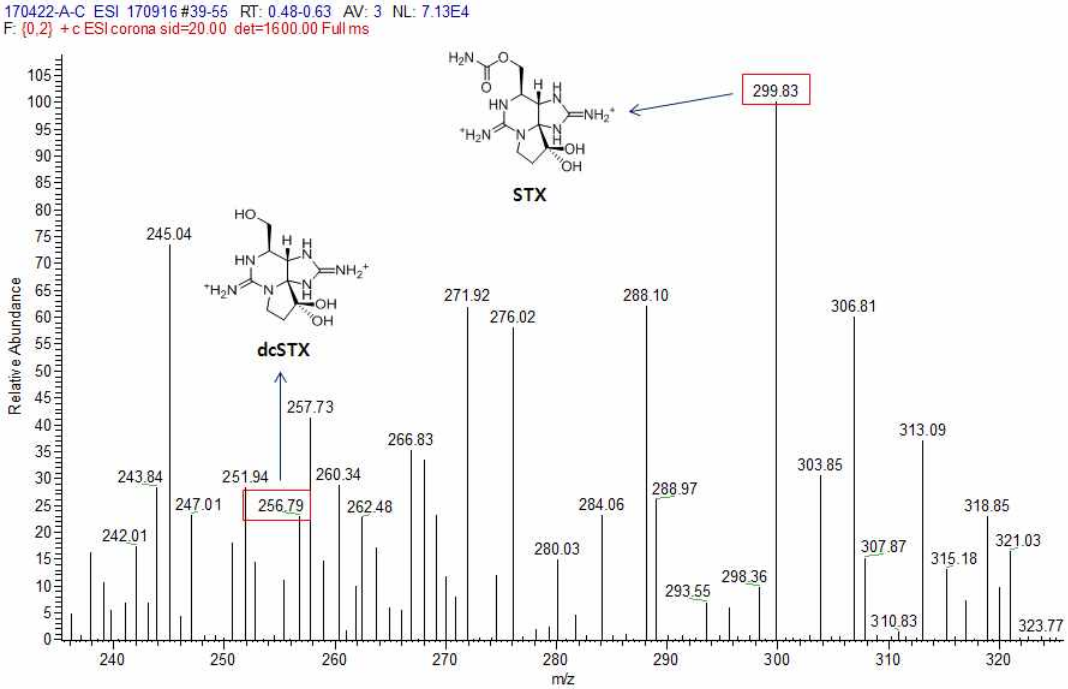


그림 102. Mass spectrum of 1% acetic acid extract (ENVI™ Carb SPE, ESI, 20 eV).

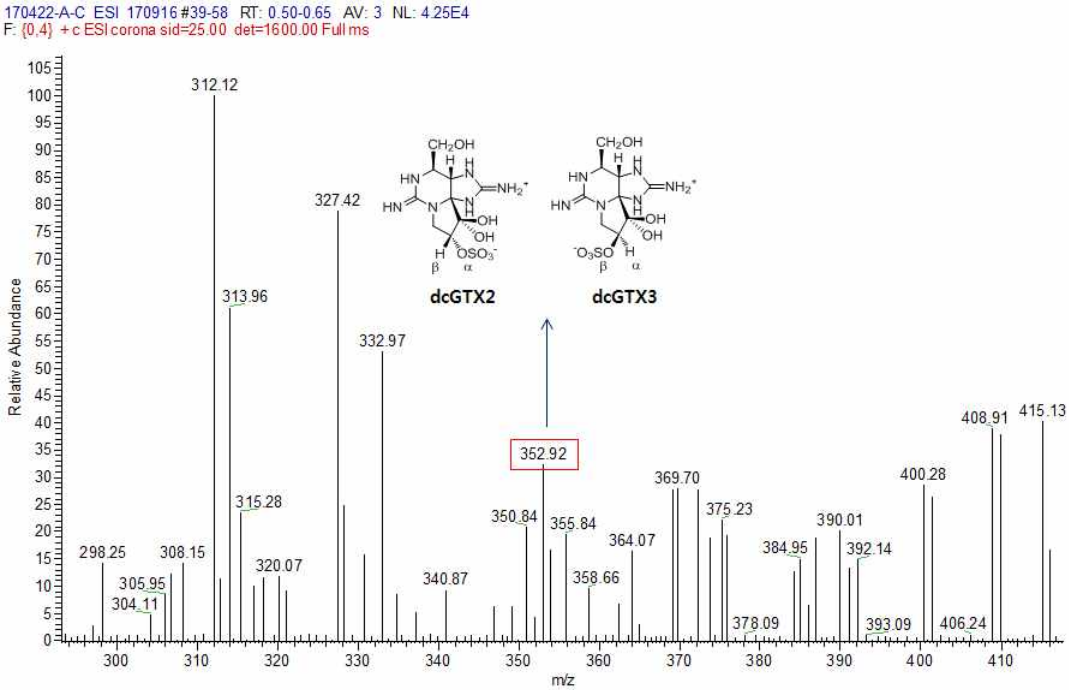


그림 103. Mass spectrum of 1% acetic acid extract (ENVI™ Carb SPE, ESI, 25 eV).

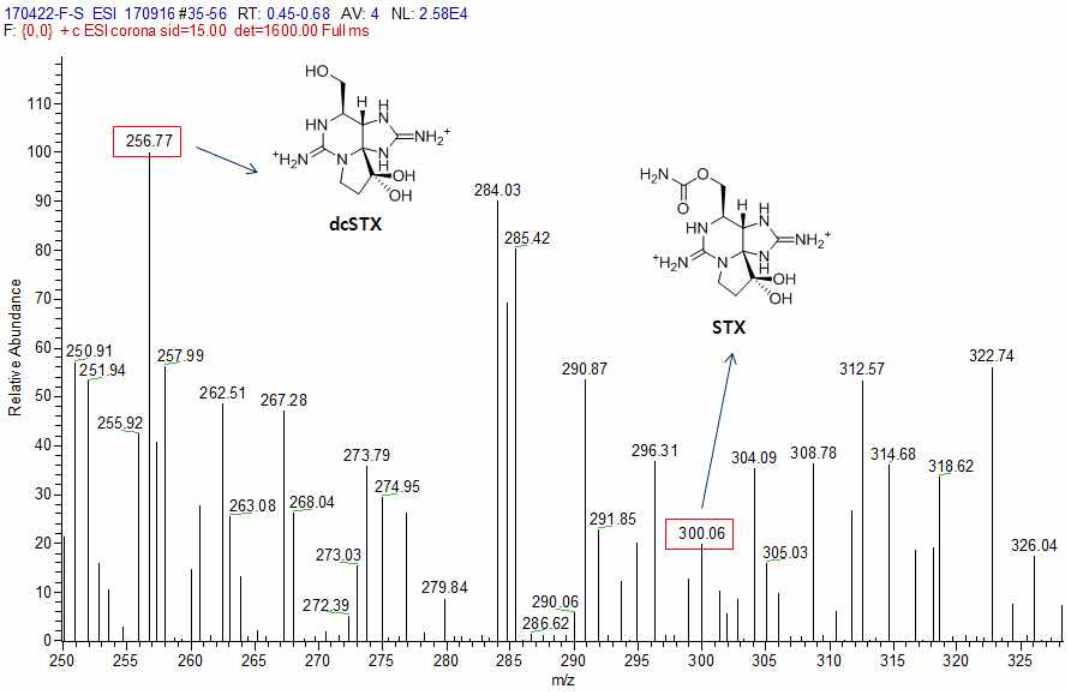


그림 104. Mass spectrum of 80% ACN in 0.1% formic acid water extract (sepak C_{18}, ESI, 15 eV).

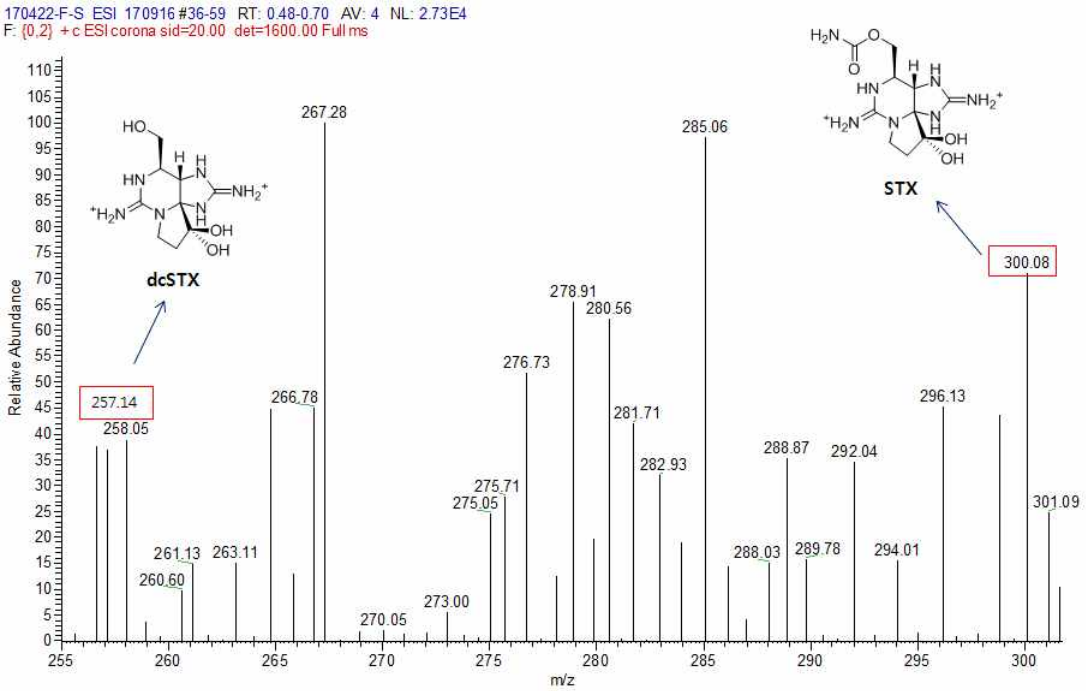


그림 105. Mass spectrum of 80% ACN in 0.1% formic acid water extract (sepak C_{18}, ESI, 20 eV).

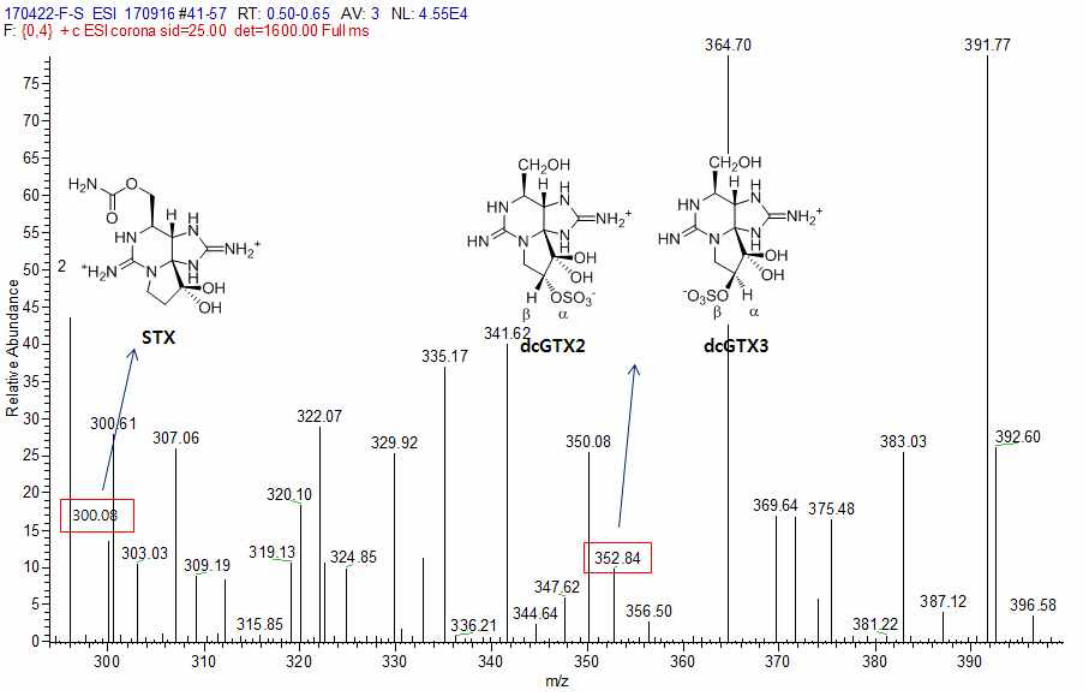


그림 106. Mass spectrum of 80% ACN in 0.1% formic acid water extract (sepak C_{18}, ESI, 25 eV).

4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 연구개발 목표 및 달성도

목 표	내 용	달성도 (%)
○ 해양 유해 미세조류 (*Cochlodinium*) 발생 및 소멸기작	- HABs *Cochlodinium* 대발생시 해양 수환경 수직/수평구조 탐색 -HABs *Cochlodinium* 발생 및 소멸의 해양 영양특성 -HABs *Cochlodinium* 분리 및 배양에 따른 성장특성 규명	100
○ 해양 유해 미세조류 (*Alexandrium*) 휴면포자 거동 및 생활사	- 남해 낙동강-거제도-통영 해역별 HABs *Alexandrium* 휴면포자 정량분석 -핵심우심지역에서 HABs *Alexandrium* 휴면포자 생성율 및 수중 가입율 산출 -HABs *Alexandrium* 분리 및 배양에 따른 성장특성 규명	100
○ 해양HABs독성	- HABs 세포내 PSP기인 독소 검출 및 상위포식자 이매패류의 독소분석 - 남해 낙동강-거제도 해역별 PSP독소 공간 평가	100
○ 해양HABs제어	- 최적살조미생물/합성물질 발굴	100

2. 기여도

- 본 연구에서 2016년과 2017년도의 *Cochlodinium* 적조발생기작에 관한 연구를 수행하였고, 이는 기존에 생각하는 방식의 틀에서 벗어나, 중국의 동중국해역과 남해외양해역에서 환경인자에 좌우되어 HABs의 확산 및 소멸 가능성을 시사하였다. 이는 우리나라 적조의 발생기작에 근거하여 제어할 수 있는 거시적인 방법 및 관리방안을 수립하는데 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

- *Cochlodinium* 대발생시 해양 수환경 및 영양물질의 수직/수평구조를 명확하게 제시하였고, 우리나라 남해안에서 하계 7월의 강우는 규조류의 대발생을 초래할 수 있는 중요한 인자이며, 이들 규조류의 우점화 현상이 장기화되면, *Cochlodinium* 의 초기 개체군이 정착 및 번성하는데 부정적인 영향을 줄 수 있으며, 이는 *Cochlodinium* 의 적조 최초발생일을 늦출 수 있는 중요한 역할을 할 것이라는 것을 규명할 수 있었다.

- 우리나라 하계의 남해안의 수환경은 중국 양쯔강의 담수의 영향을 강하게 받을 수 있고, 담수의 유입량과 쿠로시오해류의 흐름에 따라서, 제주도 북부 및 거문도백도 주변까지의 양쯔강 희석수의 영향이 강하게 일어날 때에는 *Cochlodinium* 대발생에 직간접적으로 영향을 주어, 큰 규모의 적조발생이 일어나지 않을 가능성을 제시 할 수 있었다. 아울러, 중국 양쯔강 하류 다퉁지역의 담수유입량과 쿠로시우 해류의 정보를 사전에 입수하면, 1개월전에 해당 년도 대규모

적조발생을 예측할 수 있을 것으로 기대된다.

- 우리나라 하계에 접근하는 태풍의 강도와, 일본 큐슈 상륙 및 큐슈남단으로 통과하는 태풍의 접근 정도(바람의 세기 및 풍속이 다름)에 따라서, *Cochlodinium*적조의 소멸에 중요한 역할을 하는 것으로 파악되었다. 이는 태풍의 경로에 따라서 *Cochlodinium*적조에 의한 피해를 사전에 예측할 수 있는 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

- 마비성 패류독소의 원인 생물 *Alexandrium* 의 전반적인 생활 및 독성발생에 기여하는 단계별 연구를 체계적으로 구성할 수 있었다. 즉 M1 단계 : 퇴적물 시스트 개체수의 시기적 변동과 발아율 변동 탐색; M2 단계 : 수중 초기개체군 형성 규모 및 성장률 탐색; M3 단계 : 수중 개체군 춘계대발생 규모 및 공간분포 탐색; M4 단계: 수중 시스트 형성량 및 개체군 소멸과정 탐색 등을 통하여 전 생활사를 규명하는 데 기여하였다. 아울러 낙동강-거제의 우심해역에서 *Alexandrium* 발생 및 독소 생성을 계절적 경향을 명확하게 제시 할 수 있었다. 이는 패류독소 주의보 및 국민 보건 건강의 지킬 수 있는 중요한 과학적 근거를 제시하는데 본 연구의 역할이 컸다.

- 마비성 패류독소의 원인 생물 *Alexandrium* 의 독소 생성과 여과식자인 이매패류 홍합의 생성 독소의 종류가 현저하게 차이를 보이는 것을 규명하였고, 이는 *Alexandrium* 의 개체수를 홍합이 여과하여 포식하고 난 후 독소 합성 기작이 다를 가능성을 제시 할 수 있었다. 이와 같은 독성 생성 경로를 구체적으로 파악하기 위해서는 우리나라에서도 국가적으로 지원해 장비와 인력의 풀을 구성해서 체계적인 연구를 수행하여야 한다는 것을 제시할 수 있었다.

사 업명	해양극지기초원천기술개발사업	연구책임자	백승호	주관기관	한국해양과학기술원
과제번호	2016M1A5A1027456	과제명	해양 유해 미세조류 대발생/소멸기작 규명 및 제어기술 개발		

※산학강좌,기술이전 및 기술평가는 현재 입력 받지 않는 항목입니다.

과학기술/학술적 연구성과(단위 : 건)

전문학술지 논문게재				초청 강연 실적	학술대회 논문발표		지식재산권				수상 실적	출판실적	
국내논문		국외논문			국내	국제	출원		등록			저역서	보고서
SCI	비SCI	SCI	비SCI				국내	국외	국내	국외			
0	6	4	0	0	17	4	0	0	0	0	0	0	0

인력양성 및 연구시설(단위 : 명,건)

학위배출		국내외 연수지원				산학강좌	연구기자재
박사	석사	장기		단기			
		국내	국외	국내	국외		
0	0	0	0	0	0	0	0

국제협력(단위 :명,건)

과학자교류		국제협력기반			학술회의개최
국내과학자 해외파견	외국과학자 국내유치	MOU체결	국제공동연구	국제사업참여	학술회의개최(국내,국제 통합)
0	0	0	0	0	0

산업지원 및 연구성과 활용(단위 : 건)

기술확산				연구성과활용(사업화 및 후속연구과제 등)				
기술실시계약	기술이전	기술지도	기술평가	후속연구추진	사업화추진중	사업화완료	기타목적활용	기술마케팅
0	0	0	0	0	0	0	0	0

기타 성과(단위 : 건)

언론보도 성과	생명자원/신품종/화합물	원자력연구개발사업실적(원자력연구개발사업에한함)			
		기술보고서	설계문서	장비구축 및 개발	분석방법개발
0	0	0	0	0	0

전문학술지 논문게재 성과정보											
과제번호	게재연월	논문제목	총저자명	출처	학술지명	권(호)	학술지구분	sci여부	impact Factor	국제공동 연구논문	기여도
2016M1A5A1027456	201702	Response of Chattonella marina (Raphidophyceae) and marine plankton to yellow clay and thiazolidinedione derivative TD49 in a mesocosm enclosure	Baek, Seung Ho; Son, Moonho; Kim, Young Ok; Cho, Hoon; Lee, Minji; Na, Dong Hee; Kim, Si Wouk;	SCI	JOURNAL OF APPLIED PHYCOLOGY	29(1)	국외	SCI등재	2.372	아니오	60
2016M1A5A1027456	201712	Novel Rhodanine Derivatives are Selective Algicides against Microcystis aeruginosa	Du Ri Jo; Young-Ok Kim; Kim Ran; DuBok Choi; and Hoon Cho	SCI	BIOTECHNOLOGY AND BIOPROCESS ENGINEERING	22(6)	국외	SCI등재	1.16	아니오	50
2016M1A5A1027456	201712	Spring phytoplankton community response to an episodic windstorm eventin oligotrophic waters offshore from the Ulleungdo and Dokdo islands Korea	Seung Ho Baek;Minji Lee;Yun-Bae Kim	SCI	JOURNAL OF SEA RESEARCH	132(1)	국외	SCI등재	1.888	아니오	50
2016M1A5A1027456	201712	Genus-specific PCR primers targeting intracellular parasite Euduboscquella (Dinoflagellata: Syndinea)	Jae ho Jung; Jung min Cho; Young ok Kim	SCI	Ocean Science Journal	53(1)	국외	SCI등재	0.611	아니오	50
2016M1A5A1027456	201611	동해 울릉도-독도해역에서 질소, 인, 철 첨가실험에 따른 식물플랑크톤의 성장 및 군집반응	백승호; 이민지; 김윤배	직접입력	한국산학기술학회논문지	17(11)	국내	SCI미등재		아니오	50

전문학술지 논문게재 성과정보											
과제번호	게재연월	논문제목	총저자명	출처	학술지명	권(호)	학술지구분	sci여부	impact Factor	국제공동 연구논문	기여도
2016M1A5A1027456	201704	동해 울산만에서 계절적 강우변화와 담수기원 오염원이 염분구배 및 유역별 대장균 분포에 미치는 영향	이민지; 백승호	직접입력	Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society	18(4)	국내	SCI미등재		아니오	50
2016M1A5A1027456	201708	남해동부연안항만에서 하계 단주기 조사에 따른 해양환경 및 식물플랑크톤 군집조성의 변화	이민지; 백승호	직접입력	Journal of the Korean Society of Marine Environment and Safety	23(6)	국내	SCI미등재		아니오	50
2016M1A5A1027456	201708	섬진강 하구역에서 염분구배에 따른 식물플랑크톤 활성도 평가	임영균; 백승호	직접입력	Journal of the Korean Society of Marine Environment and Safety	23(5)	국내	SCI미등재		아니오	50
2016M1A5A1027456	201710	통영 오비도 어류양식장 주변에서 하계 수계 내 단주기 환경요인의 변화에 따른 미세조류 반응	이민지; 백승호	직접입력	한국해양생명과학회지	2(2)	국내	SCI미등재		아니오	50
2016M1A5A1027456	201712	통영-사량도 굴양식장 주변해역에서 일차 생산자 식물플랑크톤 군집의 계절적 변화	임영균; 백승호	직접입력	한국환경생물학회지	35(4)	국내	SCI미등재		아니오	50

학술대회 논문발표 성과정보						
과제번호	발표년월	학술대회명	저자	논문제목	학술대회구분	개최국
2016M1A5A1027456	201610	한국해양학회	손문호	Assessment of potential interactions between nutrients and microalgal community structure following algicide addition in manipulated mesocosms	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201610	한국해양학회	백승호	Response of Chattonella marina (Raphidophyceae) and marine plankton to yellow clay and thiazolidinedion derivative TD49 in a mesocosm enclosure	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201702	한국생태환경과학협의회	이민지, 백승호	Phytoplankton and bacterial communities dynamics along the salinity gradients in the Seomjin river estuary	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201702	한국환경생물학회	백승호, 김윤지	2013년 부산 연안 해역에서 계절별 영양염 첨가에 따른 식물플랑크톤 반응	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201702	한국환경생물학회	김윤지, 백승호	부산 연안 해역 및 낙동강 하구에서 해역별 환경특성에 따른 식물플랑크톤 분포	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201704	한국해양과학기술협의회	백승호, 이민지, 김윤지	Study on the outbreak/ extinction mechanisms of marine harmful microalga Cochlodinium polykrikoides in Korean coastal waters	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201704	한국해양과학기술협의회	이민지, 백승호	The Responses of phytoplankton and bacterial communities along the salinity gradients in the Seomjin River estuary	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201706	한국미생물생명공학회	백승호	Study on the outbreak mechanisms of marine harmful microaglal blooms and technology development for their control	국내학술대회	대한민국

학술대회 논문발표 성과정보						
과제번호	발표년월	학술대회명	저자	논문제목	학술대회구분	개최국
2016M1A5A1027456	201709	한국해양생명과학회	임영균, 이민지, 백승호	Assessment of phytoplankton viability along the salinity gradient in Seomjin River Estuary, Korea	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201709	한국해양생명과학회	이민지, 백승호	Dramatic changes of biotic and abiotic factors by tidal influences in Seomjin River estuary and Gwangyang Bay, Korea	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201709	한국해양생명과학회	이민지, 백승호	Changes in marine environmental factors and phytoplankton community composition by short-term investigation in the harbor of the eastern part of the South Sea, Korea	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201710	한국환경생물학회	임영균, 이민지, 백승호	통영-사량도 굴양식장 주변 해역에서 일차생산자 식물플랑크톤 군집의 계절적 변화	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201710	한국환경생물학회	이민지, 백승호, 강정훈	2016년 여름철 집중강우에 따른 낙동강 하구 식물플랑크톤 종조성의 변화 양상 및 집괴분석	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201710	한국환경생물학회	백승호, 이민지, 강정훈	2017년 수문개방에 따른 낙동강 하구 식물플랑크톤 종조성의 변화 양상 및 집괴분석	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201710	한국환경생물학회	백승호, 이민지, 임영균	중국 양쯔강 희석수기인 고수온 저염수에 의한 남해안 적조생물 성장의 일시적 제어효과	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201711	2017년 추계 한국해양학회	김영옥, 이민지, 최정민, 백승호	Analysis of the spring bloom of Alexandrium in the eastern coast of Geoje Island.	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201711	The 3rd International Seminar of HABs	김영옥, 최정민, 백승호, 이민지	From mother to daughter generation of Alexandrium tamarense cysts at a hot spot in the eastern coast of Geoje Island, South Korea.	국내학술대회	대한민국
2016M1A5A1027456	201709	PICES-2017 Annual Meeting	이민지, 백승호	The Responses of phytoplankton and bacterial communities along the salinity gradients in the Seomjin River estuary	국제학술대회	러시아

학술대회 논문발표 성과정보						
과제번호	발표년월	학술대회명	저자	논문제목	학술대회구분	개최국
2016M1A5A1027456	201709	PICES-2017 Annual Meeting	백승호, 이민지	Study on the outbreak and extinction mechanisms of marine harmful microalga Cochlodinium polykrikoides in Southern Sea of Korea in 2016	국제학술대회	러시아
2016M1A5A1027456	201712	East HAB	김영옥	Tracking a full course from Alexandrium tamarense cysts to mussel toxicity from the eastern coast of Geoje Island, South Korea.	국제학술대회	일본
2016M1A5A1027456	201712	East_HAB	백승호	Inhibition of massive blooms of fish-killing harmful dinoflagellate Cochlodinium polykrikoides related with abnormal high temperature by large amount of Changjiang River discharge along the Tongyeong	국제학술대회	일본

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1 절 연구개발 결과의 활용방안

○ HABs 대발생기작 규명을 통하여 수산업 피해를 최소화 할 수 있는 관리방안제시

○ 육상 기원에 따른 환경 요인의 허용 가능한 배출기준에 기반한 HABs 완화를 위한 점오염원의 효과적인 관리방안 수립

○ 살조미생물을 이용한 연안 양식장의 HABs에 의한 피해완화 방안 수립

○ HABs 시스트 분리 및 생시료 보존을 통한 미세조류 종자보존은행 시스템 지원 및 종자관리

○ 생태계 위해성 평가뿐만 아니라, 현장교육과 같은 실험 생태계의 다목적 기능으로써의 적용

2 절 연구개발 결과의 기대효과

1. 기술적 측면

○ 자연계로부터 분리된 살조미생물 활용을 통해 적조제어를 위한 기존 황토살포의 한계성 극복함

○ HABs의 종 특이 기작에 따른 육상배출 영양염 농도의 과학적 근거를 제공함으로 오폐수처리장 영양염 제거의 탄력적 운용

○ 미세조류의 종주 보존을 위한 기존 계대배양법의 단점 (종주의 질적 약화)을 보완한 시스트의 보존을 통한 건강한 종주의 유지 관리

○ 자연생태계 모의 인공생태계 설계 및 운용 기술 확보로 수족관과 육상양식장 시설 개선에 기여

2. 경제적 산업적 측면

○ 유해조류 대발생 기인 양식생물의 사망에 따른 경제적 손실 예방.

○ 효율적인 육상오폐수처리장 윤용을 통한 환경부담비용을 절감.

○ 생물독의 항암제, 항생제 등으로 응용산물 생산으로 경제적 수익창출.

○ 미세조류 건강한 종자를 이용한 이료생물 개발로 양식장 생산성 증대

○ 인공생태계를 학생교육장 및 일반 관람장으로 교육과 관광 인프라로 활 용함으로 부가가치 창출

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 외국의 HABs 연구는 1990년대 초부터 본격적으로 진행 되어져 왔으며 유독성 HABs인 Alexandrium종을 위주로 많은 연구가 활발히 진행되어 왔다. 주로 적조발생기작 및 적조발생과 환경요인과의 관계, 그리고 적조생물의 생리에 대한 연구들이 대부분이다. 근래에 들어 점차적으로 적조생물의 생리 및 독성 제어, 살조세균에 대한 연구들이 이루어지고 있지만, 저비용으로 효율적이면서도 환경친화적인 살조물질의 생산이나 살조바이러스를 이용한 적조의 제어에 대한 연구는 아주 미미한 실정이다.

- 유해조류에 감염하는 바이러스들에 대한 연구는 적조 방지책의 대안으로 최근 전 세계적으로 활발히 진행 중이다. 21세기 전까지는 해양조류에는 큰 크기의 dsDNA 바이러스만이 감염 하는 것으로 생각 되었으나, 현재는 ssRNA, ss+ds DNA 바이러스등의 다양한 바이러스들이 해양조류에 감염하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 최소한 50종이 넘는 해양조류 감염 바이러스들이 단일세포 조류, 다세포 조류로부터 분리되었다.

- 아직까지 자세한 바이러스에 의한 유해조류의 제어기작은 알려져 있지 않다. 하지만, 유해조류 *Emiliania huxleyi*에 감염하는 dsDNA 바이러스의 경우, envelope에 생성되는 glycosphingolipid가 신호전달 기작 (signal transduction pathway)을 일으켜 그 결과 그 유해조류가 제어 된다는 것이 최근 밝혀졌다.

- 적조제어의 다양한 방법
  1. 적조종을 제어하기위한 시도된 다양한 방법으로 현재까지 가장효과적인 방법은 황토 사용이라는 것이 많이 보고 되고 있다. 이러한 방법은 단기적 효과를 내는것 이외에 비적조종을 타겟으로 생태계의 교란을 유도 할 수있는 심각한 부작용을 초래한다.
  2. 보리짚과같은 천연물질에서 유래된 살조제및 생물학적제어 등에 대한 연구가 산발적으로 이루어졌으나 효과가 미미하고 산업적 활용수준과는 관계가 먼 단순한 연구결과에만 그치는 상황이었다. 아울러 HAB제어를 위해 테스트 한 결과 몇가지 화합물을 제외하고는 살조효능이 뚜렷하게 부각되지 않았다.

- Mesocosm 적용 평가의 체계화

  미국 EPA의 OPP에서 권장하는 mesocosm을 이용한 위해성 평가방법은 아래 그림6-2과 같이 체계적인 순서를 밟고 있다. OPP의 전문가들이 mesocosm 실험방법을 검토한 후, mesocosm 연구를 유도하고, mesocosm 연구의 최종 검토를 다시 거친다. 이때 실험에 사용되는 메소코즘의 적절성, 살충제의 적용법, 잔류성, 생물영향, 데이터의 정확성, 테이터의 정리, 통계분석의 항목들을 검토한 후, 최종적으로 실험의 결과에 대한 결론을 내리고 있다 (그림 107).

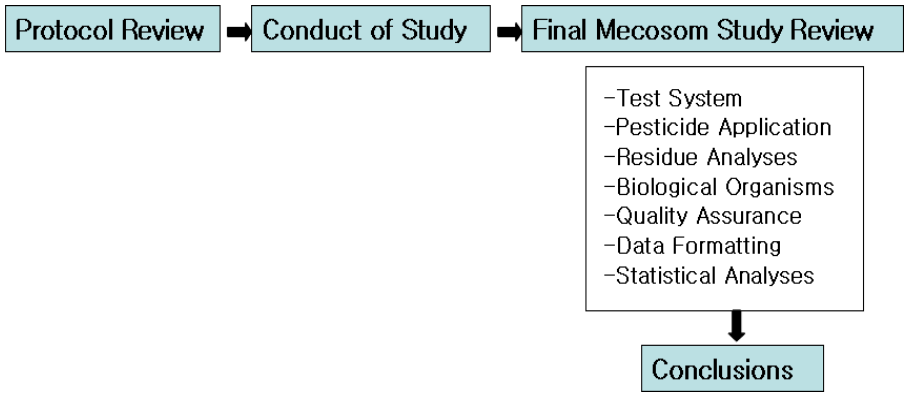


그림 107 미국 EPA의 메소코즘을 적용한 생태계 위해성 평가를 위한 과정

- 메소코즘 적용 생태계 위해성 평가의 탄력성

메소코즘은 평가대상 생물과 평가목적에 따라 맞춤형으로 모양과 크기가 제작되며 각 모양과 크기에 따른 효율성과 신뢰성을 확보하고자 기계적, 기술적 방안을 다각적으로 고안하고 있다.

- 자연생태계를 대신하는 인공생태계의 대형화

미국, 호주, 캐나다는 메소코즘의 크기를 대형화하여 Marine Biosphere로의 활용 방안을 제시하고 있으며 연구, 교육, 관람을 동시에 하는 다목적형으로 발전시키고 있다(그림 108).

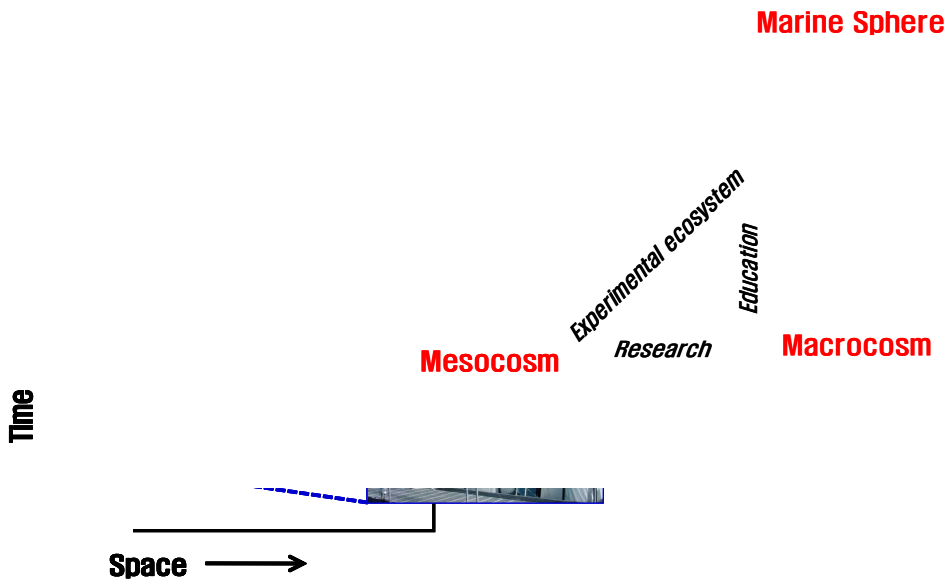


그림 108 메소코즘의 대형화를 통한 연구, 교육, 관람의 발전 모식도

제 7 장 참고문헌

Anderson, D.M., 1997. Turning back the harmful red tide. Nature 388, 513-514.

Ahn, Y. H., Shanmugam, P., Ryu, J. H., Jeong, J. C., 2006. Satellite detection of harmful algal bloom occurrences in Korean waters. Harmful Algae 5(2), 213-231.

Baek, S. H., Shimode, S., Han, M. S., Kikuchi, T., 2008. Growth of dinoflagellates, *Ceratium furca* and *Ceratium fusus* in Sagami Bay, Japan: the role of nutrients. Harmful Algae 7(6), 729-739.

Baek, S. H., You, K., Katano, T., Shin, K., 2010. Effects of temperature, salinity, and prey organisms on the growth of three *Pfiesteria*-like heterotrophic dinoflagellates. Plankton Benthos Res. 5(1), 31-38.

Chihara, M. and Murano, M. 1997. An illustrated guide to marine plankton in Japan. Tokai University Press, p. 104.

Cho, E. S., Lee, S. Y., Kim, S. S. and Choi, Y. S., 2007, Marine environments and ecological characteristics of phytoplankton in Southern coastal waters during June to October in 2004-2006, Journal of the Environmental Sciences, Vol. 16(8), 941-957.

Choi, J. K., Min, J. E., Noh, J. H., Han, T. H., Yoon, S., Park, Y. J., Park, J. H., 2014. Harmful algal bloom (HAB) in the East Sea identified by the Geostationary Ocean Color Imager (GOCI). Harmful Algae 39, 295-302.

Fauchot J., Levasseur, M., Roy, S., Gagnon, A., and Weise, AM., 2005. Environmental factors controlling *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) growth rate during a red tide event in the Lawrence estuary (Canada). J. Phycol. 41, 263–272.

Guindon, S. and Gascuel, O., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. Systematic Biology, 59, 307-321.

Gobler, C.J., Berry, D.L., Anderson, O.R., Burson, A., Koch, F., Rodger, B.S., Moore, L.K., Goleski, J.A., Allam, B., Bowser, P., Tang, Y., Nuzzi, R., 2008. Characterization, dynamics, and ecological impacts of harmful *Cochlodinium polykrikoides* blooms on eastern Long Island, NY, USA. Harmful Algae 7, 293-307.

Hallegraeff, G.M., 1992. Harmful algal blooms in the Australian region. Mar. Pollut. Bull. 25, 185-190.

Han, M.S., Jeon, J.K., Kim, Y.O., 1992. Occurrence of dinoflagellate *Alexandrium tamarense*, a causative organism of paralytic shellfish poisoning in Chinhae Bay, Korea. Journal of Plankton Research 14, 1581-1592.

Han, M.S., Lee, H., Anderson, D.M., and Kim, B., 2016. Paralytic shellfish toxin production by the dinoflagellate *Alexandrium pacificum* (Chinhae Bay, Korea) in axenic, nutrient-limited chemostat cultures and nutrient-enriched batch cultures. Marine Pollution Bulletin, 104, 34-43.

Jang, P., Lee, W. J., Jang, M., Lee, J. D., Lee, W. J., Chang, M., Hwang, K. and K. Shin(2005), Spatial and temporal distribution of inorganic nutrients and factors controlling their distributions in Gwangyang Bay, Ocean and polar research, Vol. 27(4), 359-379.

Jeon, J.K., Noguchi, T., Hwang, D.F., Arakawa, O., Nagashima, Y., Hashimoto, K., and Huh, H.T., 1987. Studies on the toxic substance of mussel *Mytilus* sp. J. Oceanol. Soc. Korea, 22, 271-278.

Jeon, J.K., Yi, S.K., and Huh, H.T., 1988. Paralytic shellfish poisoning of bivalves in the Korean waters. J. Oceanol. Soc. Korea, 23, 123-129.

John, U., Litaker, R.W., Montresor, M., Murray, S., Brosnahan, ML., Anderson, D.M., 2014. Formal Revision of the *Alexandrium tamarense* Species Complex (Dinophyceae) Taxonomy: The Introduction of Five Species with Emphasis on Molecular-based (rDNA) Classification. Protist, 165, 779-804.

Jung, J.H., Choi, J.M., Coats, D.W., Kim, Y.O. 2016. *Eudubosquella costata* n. sp. (Dinoflagellata, Syndinea), an Intracellular Parasite of the Ciliate *Schmidingerella arcuata*: Morphology, Molecular Phylogeny, Life Cycle, Prevalence, and Infection Intensity. Journal of Eukaryotic Microbiology, 63, 3-15.

Kang, C. K., Kim, P. J., Lee, W. C. and Lee, P. Y., 1999, Nutrients and phytoplankton blooms in the southern coastal waters of Korea: I. The elemental composition of C, N and P in particulate matter in the coastal bay system, Journal of the oceanological Society of Korea, Vol. 34, 86－94.

Kim, Y.O., Park, M.H., Han, M.S., 2002. Role of cyst germination in the bloom initiation of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Masan Bay, Korea. Aquatic Microbial Ecology, 29, 279-286.

Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Molecular Biology and Evolution, 33, 1870-1874.

Kwon, H.K., Park, JA., Yang, H.S., and Oh SJ. 2013. Effects of Irradiance on the Growth of the Toxic Dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella.* Journal of Environmental Science International. 22, 1571~1577

Kwon, K. Y., Moon, C. H. and H. S. Yang(2001), Behavior of nutrients along the salinity gradients in the Seomjin River estuary. Journal of the Korean Society of Fisheries Technology, Vol. 34, 199-206.

Lee, M.O., Kim, J.K., Kim, B.K. 2016. Factors controlling the origin of *Cochlodinium polykrikoides* blooms along the Goheung coast, South Korea. Mar. Pollution Bull. 113, 165-175.

Lee, M.O., Kim, J.K. 2008. Characteristics of algal blooms in the southern coastal waters of Korea. Mar. Environ. Res. 65, 128-147.

Lee, C.K., Park, T.G., Park Y.T., Lim W.A. 2013. Monitoring and trends in harmful algal blooms and red tides in Korean coastal waters, with emphasis on *Cochlodinium polykrikoides*. Harmful Algae 30S, S3-S14.

Lee, D., 2008. *Cochlodinium polykrikoides* blooms and eco-physical conditions in the South Sea of Korea. Harmful Algae 7, 315-323.

Li, Z., Han, M. S., Matsuoka, K., Kim, S. Y., Shin, H. H., 2015. Identification of the resting cyst of *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae, Gymnodiniales) in Korean coastal sediments. J. Phycol. 51(1), 204-210.

Lim, A.S., Jeong, H.J., Jang, T.Y., Jang S.H., Franks, P.J.S., 2014. Inhibition of growth rate and swimming speed of the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* by diatom: Implications for red tide formation. Harmful Algae 37, 53-61.

Matsuoka, K., Fukuyo, Y., Anderson, D.M., 1989. Methods for modern dinoflagellate cyst studies. In: Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (eds). Red tides: biology, environmental, science, and toxicology. Elsevior, New York, 461-479

Matsuoka, K., Iwataki, M., Kawami, H. 2008. Morphology and taxonomy of chain-forming species of the genus *Cochlodinium* (Dinophyceae). Harmful Algae 7, 261-270.

Margalef, R., 1961. Hidrografiay fitoplancton de un area marina de la costa meridional de Puerto Rico. Invest. Pesq. 18, 76-78.

Moon, C. H., and Choi, H., 1991, Studied on the environmental characteristics and phytoplankton community in the Nakdong River estuary, Journal of the oceanlogical Society of Korea, Vol. 24(2), 144-154.

Mulholland, M., Morse, R.E., Boneillo, G.E., Bernhardt, P.W., Filippino, K.C., Procise, L.A., Blanco-Garcia, J.L., Marshall, H.G., Egerton, T.A., Hunley, W.S., Moore, K.A., Berry, D.L., Gobler, C.J., 2009. Understanding causes and impacts of the dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides*, blooms in the Chesapeake Bay. Estuar. Coasts 32, 734-747.

Orr, RJS., Stüken, A., Rundberget, T., Eikrem, W., Jakobsen, K.S., 2011. Improved phylogenetic resolution of toxic and non-toxic *Alexandrium* strains using a concatenated rDNA approach. Harmful Algae, 10, 676-688.

Park, B.S., Wang, P.B., Kim, J.H., Kim, J.H., Gobler, C.J., Han, M.S., 2014. Resolving the intra-specific succession within *Cochlodinium polykrikoides* populations in southern Korean coastal waters via use of quantitative PCR assays. Harmful Algae 37, 133-141.

Parkhill, JP. and Cembella, AD., 1999. Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from northeastern Canada. Journal of Plankron Research 21, 939-955.

Park, J. S., Yoon,Y. H. and Oh, S. J., 2009, Variation characteristics of phytoplankton community in the mouth parts of Gamak Bay, Southern Korea, Korean Journal of Environmental Biology, Vol. 27(2), 205-215.

Park, J. S., and Lee, S. G., 1990, Distribution and Species Composition of Phytoplankton in the Southern Waters of Korea and their Relation to the Character of Water Masses, The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science, Vol. 23(3), 208-214.

Park, J.Y., Jeong, H.J., Yoo, Y.D., Yoon, E.Y., 2013. Mixotrophic dinoflagellate red tides in Korean waters: Distribution and ecophysiology. Harmful Algae 30S, S28-S40.

Park, T.G., Lim, W.A., Park, Y.T., Lee, C.K., Jeong, H.J., 2013. Economic impact, management and mitigation of red tides in Korea. Harmful Algae 30S, S131-S143.

Park, G.H., Lee, K., Koo, C.M., Lee, H.W., Lee, C.K., Koo, J.S., Lee, T., Ahn, S.H., Kim, H.G, Park, B.K., 2005. A sulfur hexafluoride-based Lagrangian study on initiation and accumulation of the red tide *Cochlodinium polykrikoides* in southern coastal waters of Korea. Limnol. Oceanogr. 50, 578-586.

Park, J.G., Jeong, M.K., Lee, J.A., Cho, K.J., Kwon, O.S., 2001. Diurnal vertical migration of a harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) during a red tide in coastal waters of Namhae Island, Korea. Phycologia 40, 292-297.

Poyer, S., Loutelier-Bourhis, C., Coadou, G., Mondeguer, F., Enche, J., Bossée, A., Hess, P., Afonso, C., (2015). Identification and separation of saxitoxins using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to traveling wave ion mobility-mass spectrometry. J. Mass. Spectrom. 50(1), 175-181.

Rey, V., Botana, AM., Alvarez, M., Antelo, A., and Botana, LM., 2016. Liquid chromatography with a fluorimetric detection method for anlysis of paralytic shellfish toxins and tetrodotoxin based on a porous graphitic carbon column. Toxins, 8(196), 2-16.

Richlen, M.L., Morton, S.L., Jamali, E.A., Rajan, A., Anderson, D.M., 2010. The catastrophic 2008–2009 red tide in the Arabian Gulf region, with observations on the identification and phylogeny of the fish-killing dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. Harmful Algae 9, 163-172.

Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, DL., Darling, A., Hohna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, MA., Huelsenbeck, JP., 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. Systematic Biology, 61, 539-542.

Smayda, T.J., 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. Limnol. Oceanogr. 42, 1137-1153.

Sournia, A., 1978. Phytoplankton Manual. UNESCO, Paris, p. 337.

Tang, Y., Gobler, C.J., 2009. Characterization of the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides* isolates from Northeast US estuaries to finfish and shellfish. Harmful Algae 8, 454-462.

Walker, LM., 1984. Life histories, dispersal, and survival in marine, planktonic dinoflagellates. In: Marine plankton life cycle strategies, (ed KA Steidinger), CRC press, 19-34.