

## 마산만에서 분리한 *Alexandrium tamarense* 휴면시스트의 발아와 환경요인의 영향

박명환<sup>1</sup> · 김영옥<sup>2</sup> · 조수연<sup>2</sup> · 한명수<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>한양대학교 환경과학과, <sup>2</sup>한양대학교 생명과학과

### Effects of Environmental Conditions on Germination of *Alexandrium tamarense* Cysts from Masan Bay, Korea

Myung-Hwan Park<sup>1</sup>, Young-Ok Kim<sup>2</sup>, Soo-Yeon Cho<sup>2</sup> and Myung-Soo Han<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

<sup>2</sup>Department of Life Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

**Abstract** - The effects of environmental conditions on germination of *Alexandrium tamarense* cysts were examined. The cysts were isolated from the sediment samples collected from Masan Bay. Germination success was measured by the incubation of cysts under the laboratory conditions and compared in different water temperatures, salinities, and sediment depths. The highest germination rate was recorded at 15°C and relatively higher germination rate was observed at 10°C above, while little or no germination occurred at 20 to 25°C. Light and salinity affected little on the excystment. Germination rate according to the sediment depths was higher in the lower layer (5~10 cm) than in the upper (0~2 cm) of the sediments collected in March, while higher in the upper than the lower in November. Based on these results, water temperature seems a principal factor controlling germination of *A. tamarense* in Masan Bay.

**Key words** : *Alexandrium tamarense* cysts, environmental factors, germination, sediment depth

### 서론

와편모조류에는 환경조건이 악화되면 수중의 영양세포가 유성생식을 통해 휴면접합자(planozygote)를 만들고 편모가 소실되어 운동성을 상실하는 휴면시스트(resting cyst or hypnozygote)로 변하여 해저로 침강하는 종류가 많이 보고되어 있다(Fryxell 1983; Steidinger and Walker

1984). 휴면시스트는 일정한 휴면기간을 거치고 환경조건이 회복되면 발아하여 수중 영양세포 형성의 씨앗이 되므로 수중 영양세포의 동태를 이해하기 위해 휴면시스트에 관한 연구는 필수적으로 병행되어야 한다. 따라서, 마비성패독의 생산으로 수산물을 독화시켜 관심을 불러모으고 있는 *Alexandrium tamarense*에 관한 연구도 수중 영양세포의 동태뿐만 아니라 휴면시스트의 형성과 발아에 대한 연구가 각국에서 활발하게 수행되어 왔다.

*A. tamarense* 휴면시스트는 수중 영양세포 형성의 근간으로서 이들의 중요성이 강조되었으며, 적조의 발생과

\* Corresponding author: Myung-Soo Han, Tel. 02-2290-0956, Fax. 02-2296-1741, E-mail. hanms@hanyang.ac.kr

확산도 휴면시스트 분포와 밀접한 관계를 갖고 있다고 보고되어 있다(Anderson and Wall 1978; Anderson and Morel 1979; Anderson *et al.* 1983). 이들 휴면시스트는 지역적 수환경의 특성에 따라 일정한 휴면기간을 갖고 있으며 발아양상은 환경조건과 매우 밀접한 관계를 가진다는 다수의 연구결과도 발표되어 있다(Turpin *et al.* 1978; Anderson 1980; Anderson and Keafer 1987; Perez *et al.* 1998).

외편모조류의 휴면시스트 연구는 1980년 후반부터 국내에서도 시작되었으나(김과 嵒崎 1987; Lee and Yoo 1991; Lee and Matsuoka 1994; 김 1994), 휴면시스트의 현존량과 분포 그리고 제한적인 발아조사에 머물고 있었다. 1990년대 후반부터 국내의 연구도 진전을 보여 김과 신(1997)에 의해 진해만에서 분리된 *Alexandrium* spp. 휴면시스트의 계절적 발아율이 측정되었으며, 최근 마산만에서도 *A. tamarense* 휴면시스트가 분리되어 이들의 계절적 발아특성이 수중 영양세포의 형성에 미치는 영향이 면밀히 분석되었다(Kim *et al.* 2002). 또한, 영일만에서는 *Scrippsiella trochoidea* 휴면시스트가 분리되어 이들의 계절적 발아패턴이 수중영양세포의 대발생시기와 일치하지 않는 흥미로운 결과를 제시하고 있다(Kim and Han 2000). 이 같은 휴면시스트 발아능의 계절적인 변화를 이해하기 위해서는 발아에 영향을 크게 미치는 환경요인의 변화에 따른 발아율의 차이를 파악하여야 한다(한 등 2003). 휴면시스트의 발아율은 온도, 광도 및 염분과 같은 물리화학적 환경요인의 영향 뿐만 아니라, 종 혹은 배양주간의 유전적 및 생리적 차이 등에 따라 영향을 받는 것으로 밝혀진 바 있다(Han *et al.* 2002). 따라서 본 연구는 온도와 광조건 그리고 염분의 변화에 따른 *A. tamarense* 휴면시스트의 발아율 차이를 조사하였으며, 아울러 해저 퇴적물의 깊이에 따른 휴면시스트의 발아율도 측정하여 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. *Alexandrium tamarense* 휴면시스트의 채집 및 분리

해저니의 채집은 1996년 11월부터 1997년 12월까지 마산만 내의 한 정점 M(128° 36'E, 35° 09'N)에서 실시하였으며(Fig. 1), Hand Core 채니기(TFO식)를 사용하여 acryl tube(직경 1.1 cm, 길이 30 cm) 3개씩 채취한 시료를 냉암소에 보관하여 실험실로 운반하였다. Acryl tube에 담긴 상층부 2cm의 저니를, 저니층의 깊이에 따른 휴면시스트의 분리는 0~2, 2~5, 5~10 cm의 저니를 취하

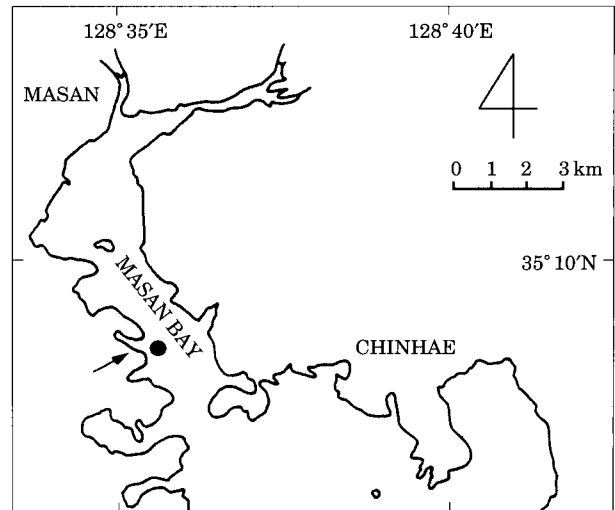


Fig. 1. Sampling site in Masan Bay, the southeastern coast of Korea.

여 플라스틱 용기속에 넣어 잘 섞고 1g(wet weight)을 취하여 냉장보관한 여과해수 속에서 현탁시킨 뒤, 30초간 초음파 처리하였다. 100  $\mu$ m와 20  $\mu$ m mesh로 현탁액을 여과시켜 20~100  $\mu$ m의 크기별 분리와 panning method(Matsuoka *et al.* 1989)에 의한 무게별로 분리에 의해 휴면시스트를 포함하고 있는 입자를 모은 후, 여과해수와 함께 10 ml의 부피로 농축하여 암갈색 병에 넣어 냉장보관하였다. 휴면시스트의 분리과정시 사용된 해수는 정점 M의 표층해수를 GF/F로 여과한 후 냉장보관하여 사용하였다.

### 2. 환경요인에 따른 휴면시스트의 발아율 측정

냉장보관한 시료 1 ml를 Sedgwick-Rafter 계수판 위에 놓고, micro-capillary를 사용하여 도립현미경(Zeiss Axiovert 100)하에서 휴면시스트를 한개체씩 분리하여 여과멸균해수로 2~3회 세척한 후, multi-well plates(Nunclon Microwell, No. 67008)에 채워진 여과멸균해수인 배지속에 1개체씩 휴면시스트를 접종하였다. Plates는 투명한 비닐 테이프로 밀봉한 후, 아래의 배양조건에 따라 배양하였다. 또한, 실험과정중의 온도변화에 의한 휴면시스트의 발아와 변성을 막기 위해 저온의 여과멸균해수를 사용하였고, well plates를 얼음주머니 위에 올려놓고 휴면시스트를 분리, 접종하였다.

환경조건에 따른 휴면시스트 발아율은 마산만의 수온과 염분의 범위를 고려하여 측정하였다. 온도별 발아율 측정을 위해 1997년 1월과 12월에 분리한 휴면시스트를 광도 20  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>과 광주기 12 hL:12 hD의 광조건하

에서 10, 15, 20, 25°C에서 각각 배양하였다. 명암조건에 따른 발아율은 1997년 2월과 11월에 분리한 휴면시스트를 15°C에서 광도 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 과 광주기 12 hL:12 hD의 명조조건과 알루미늄호일로 빛을 차단한 암조건에서 측정하였다. 염분별 발아율은 1997년 11월에 분리한 휴면시스트를 15°C, 광도 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 과 광주기 12 hL:12 hD에서 25, 28, 31, 34 psu의 염분에 따라 측정하였다. 저니층의 깊이에서 분리된 발아율은 1997년 3월과 11월에 층별 분리된 휴면시스트를 15°C, 광도 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 과 광주기 12 hL:12 hD에서 배양하여 측정하였다. 배양개시 후, 10일 동안 매일 발아여부를 관찰하였으며, 20일까지는 2~3일 간격, 그 후에는 3~5일 간격으로 발아여부를 관찰하였다. 각각의 환경조건에 따른 발아율(%)은 3회 실험에 의한 평균값으로 나타냈다.

결 과

온도별 발아율은 1997년 1월과 12월에 15°C에서 각각

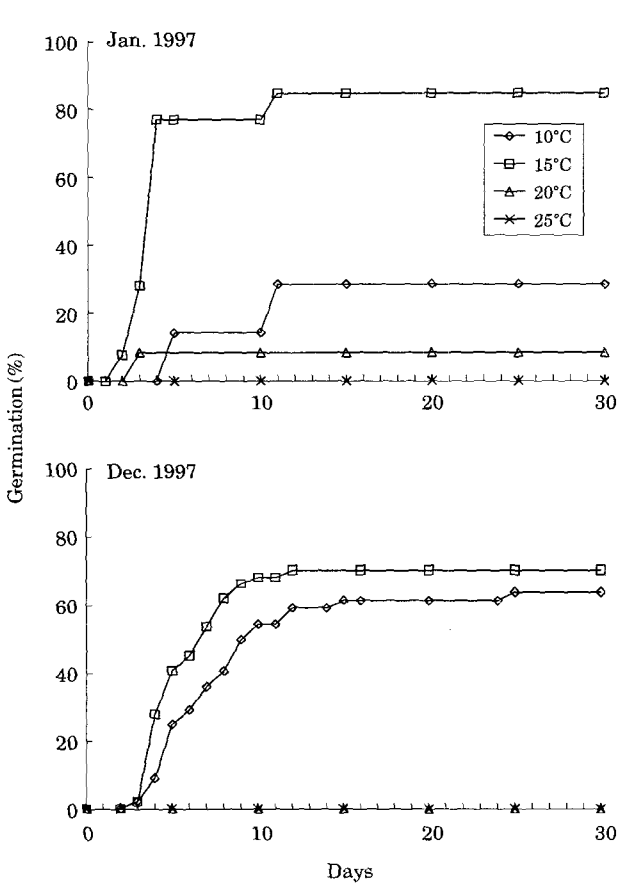


Fig. 2. Effects of temperatures on the germination of *Alexandrium tamarensis* cysts isolated in January and December, 1997.

약 85%와 71%로 가장 높게 측정되었으며, 10°C에서 각각 약 29%와 64%를 나타내어 다음으로 높은 발아율이 기록되었다. 20°C의 경우, 1월에는 약 8%의 매우 낮은 발아율을 보였고 12월에는 발아가 전혀 관찰되지 않았으며, 25°C에서는 1월과 12월 모두 휴면시스트의 발아는 전혀 관찰할 수 없었다(Fig. 2). 따라서, 15°C보다 낮은 발아율이었지만 10°C의 저수온에서도 *Alexandrium tamarensis* 휴면시스트의 충분한 발아 가능성이 반면에, 20°C 이상의 고수온에서는 거의 발아하지 않았다.

1997년 2월과 11월에 명암별 발아율의 측정 결과, 2월의 명조조건에서 77%와 암조건에서 83%가 각각 측정되어 빛이 차단된 경우도 휴면시스트의 발아는 충분히 가능한 것으로 나타났다. 11월의 실험결과도 유사하게 명조조건에서 88%와 암조건에서 83%가 측정되어 명암조건에 따른 발아율은 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 3).

염분별 발아율의 결과도 25, 28, 31, 34 psu에서 각각 약 57, 55, 49, 53%의 발아율이 각각 측정되어 마산만의 연중 염분 변화범위인 25~34 psu에서는 발아율이 큰 차

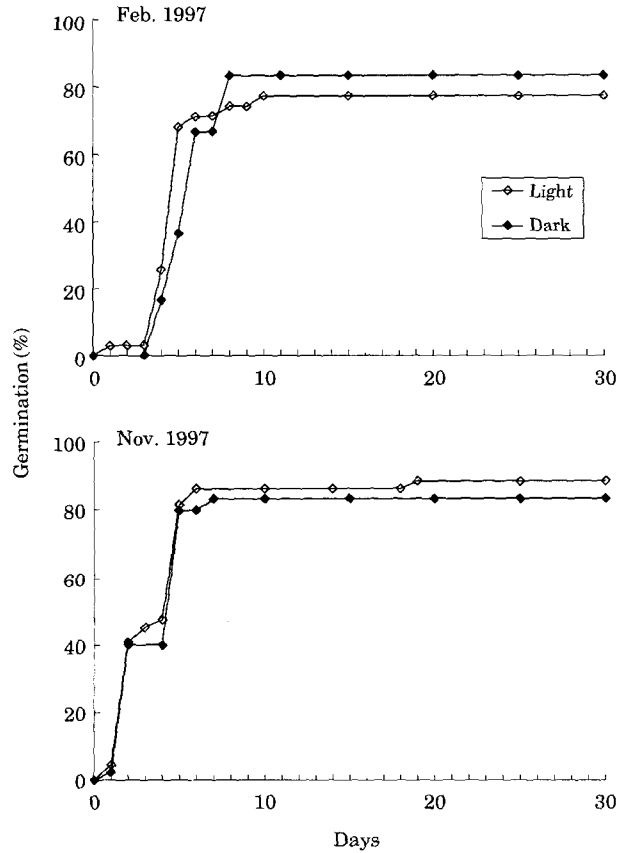


Fig. 3. Effects of light and dark condition on the germination of *Alexandrium tamarensis* cysts isolated in February and November, 1997 (Light condition means, 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 12 hL:12 hD).

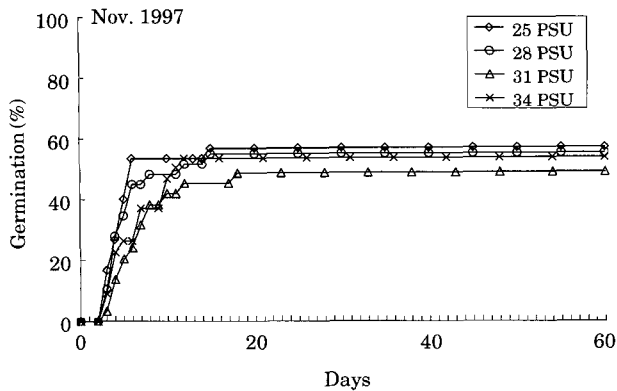


Fig. 4. Effects of salinities on the germination of *Alexandrium tamarens* cysts isolated in November, 1997.

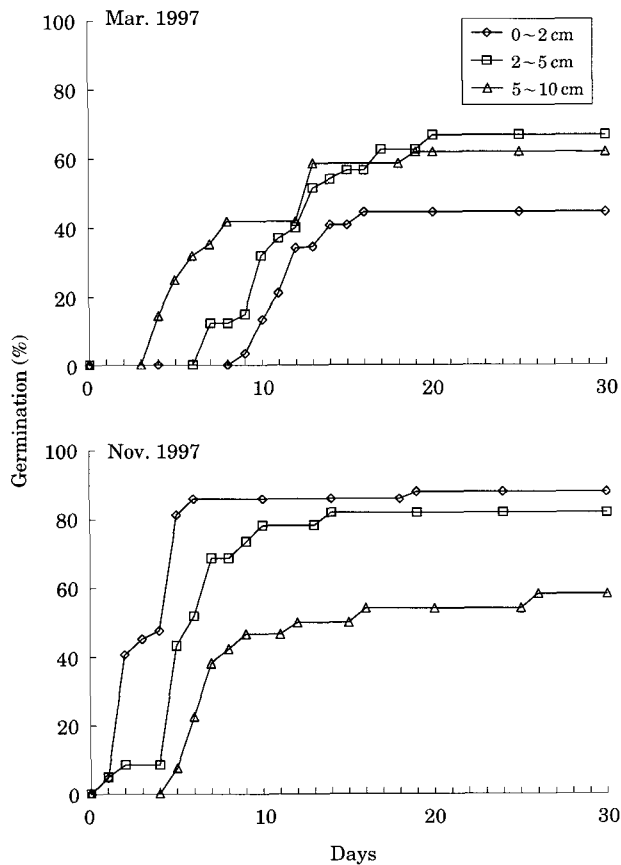


Fig. 5. Germination rate of *Alexandrium tamarens* cysts isolated from three different sediment depths (0~2 cm, 2~5 cm and 5~10 cm) in March and November, 1997.

이를 보이지 않았다(Fig. 4).

저니층별 발아율의 조사 결과, 3월에는 저층(5~10 cm), 중층(2~5 cm), 그리고 표층(0~2 cm)의 순서로, 저층에서 분리된 휴면시스트가 먼저 발아되는 결과를 보였

고, 발아율도 저층에서 약 67%, 중층에서 약 62%로 각각 기록되어 표층의 약 44%보다 높았다. 그러나, 11월의 경우는 0~2 cm, 2~5 cm, 그리고 5~10 cm의 순서로, 표층에서 분리된 휴면시스트의 발아가 우선되었으며, 발아율도 표층에서 약 88%, 중층은 약 82%를 기록해 저층에서 분리된 휴면시스트의 발아율인 약 58%보다 높게 측정되어 저니층별 발아율은 3월과 11월이 서로 다른 양상이 관찰되었다(Fig. 5).

## 고 찰

*Alexandrium tamarens* 휴면시스트의 발아는 환경요인 가운데 온도와 가장 밀접한 관계가 있다고 보고되어 있다(Anderson and Morel 1979; Anderson 1980; Binder and Anderson 1987). 본 연구의 결과도 *A. tamarens* 휴면시스트의 발아는 배양온도에 크게 영향을 받고 있음이 확인되었다. 가장 높은 발아율이 기록된 15°C는 마산만에 분포하는 *A. tamarens* 휴면시스트의 발아에 가장 적합한 온도로 간주되며, 10°C의 저수온에서 휴면시스트는 충분히 발아 가능성이 관찰된 반면, 25°C의 고수온에서 발아되지 않았다. 따라서, 마산만의 *A. tamarens* 휴면시스트 발아는 저온보다 고온에서 크게 억제됨을 알 수 있었다. 즉, 마산만의 저층 수온이 25°C 이상인 하계에는 저층으로부터 이들의 발아는 기대하기 어려울 것이며, 반면 추계에서 그 이듬해 춘계까지의 저수온기에는 활발한 발아가 일어나리라 판단된다. 김과 신(1997) 그리고 Kim *et al.* (2002)에 의한 *A. tamarens* 휴면시스트 발아율의 계절적인 변화는 수온이 낮은 동계에도 높은 발아율을 보고하고 있다. 이 같이 저수온기의 지속적인 발아는 춘계의 수중 영양세포 대발생의 근간을 형성하는데 크게 기여할 수 있다고 사료된다.

*A. tamarens*를 포함한 몇몇 외편모조류 휴면시스트의 발아는 빛의 세기에 영향을 받으며 광도에 비례하여 발아율이 증가한다고 보고되어 있다(Binder and Anderson 1986; Anderson *et al.* 1987). 그러나, 선행되어진 Anderson and Wall(1978)의 보고에 의하면 *A. tamarens* 휴면시스트의 발아에 빛은 큰 영향을 미치지 않는다고 하였고, 최근 Perez *et al.* (1998)도 현장에서 분리한 휴면시스트를 4가지의 배양조건(Light, 15°C; Dark, 15°C; Light, 4°C; Dark, 4°C)을 통해 발아율을 측정하였고 그 결과, 휴면시스트의 발아는 빛에 영향을 받지 않는다는 결론을 얻었다. 본 연구결과도 빛의 유무에 따라 발아율에 의미 있는 차이를 발견할 수 없었다. 따라서, 마산만에서 분리한 *A. tamarens* 휴면시스트의 발아에 광조건이 미치는

영향은 크지 않다고 판단된다.

염분과 *A. tamarense* 발아에 관한 선행된 연구가 확인되지 않아 직접적인 비교는 어려우나, 근연종인 *A. minutum*의 경우 담수의 유입에 의해 염분이 낮아질 때 발아율이 높아진다는 보고가 있다(Cannon 1993). 본 연구결과로 보면 *A. tamarense*는 *A. minutum*의 보고와 다르게 마산만의 염분 범위(25~34 psu) 내에서 휴면시스트의 발아율은 거의 일정하게 50% 내외를 유지하였다. 따라서, 마산만의 *A. tamarense* 휴면시스트 발아에 염분의 변화는 결정적인 요인으로 작용하지 않는다고 판단된다.

해저니의 깊이에 따른 휴면시스트 발아율의 차이를 비교해 보면 1997년 3월과 11월의 발아율이 서로 다른 양상을 나타냈다. 3월에 분리한 휴면시스트는 저층의 휴면시스트가 먼저 발아를 시작하였고 발아율도 저층이 표층보다 높게 나타났지만, 11월의 경우는 표층에서 분리된 휴면시스트의 발아가 우선되었으며 발아율도 저층에서 분리된 휴면시스트보다 높았다. 추계부터 동계에 걸친 저수온기에 발아가 가능한 휴면시스트의 대부분은 발아를 통해 표층으로부터 소실되어 3월의 해저니 표층에는 발아율이 떨어진 휴면시스트가 남아 있을 확률이 높기 때문에 3월에 표층에서 분리한 휴면시스트가 저층에서 분리한 것보다 발아율이 낮았다고 생각된다. 이와 반대로 11월의 경우에는 춘계 대발생 직후 형성된 휴면시스트가 고수온기인 하계의 충분한 휴면기간을 거친 후, 추계인 11월의 표층시료에는 발아가 가능한 휴면시스트가 상대적으로 많이 분포하고 있으므로 표층의 발아율이 저층보다 월등하게 높게 측정되었다고 해석된다. 본 연구결과, 저층(5~10 cm)에서 분리한 *A. tamarense* 휴면시스트가 약 67%와 58%의 비교적 높은 발아율을 나타낸 것은(Fig. 4), 해저니 속에 묻혀있는 휴면시스트들도 해저의 표층으로 운반되어지면 충분히 발아가 가능함을 시사하고 있다. 즉, 혐기적인 저층에 묻혀있는 휴면시스트도 표층으로 옮겨져 적절한 수온과 용존산소와 같은 환경조건이 부여되면 영양세포로 신속히 되돌아 올 수 있는 능력을 가지고 있다고 하겠다.

## 적 요

유독성 외편모조류 *Alexandrium tamarense* 휴면시스트의 발아율을 여러 환경조건하에서 측정하여 각각의 환경요인과 휴면시스트의 발아율과의 관계를 밝히고자 하였다. 마산만에서 채집한 해저니로부터 휴면시스트를 분리하여 실험실 배양을 통해 온도, 광조건의 유무, 염분 그리고 저니층의 깊이에 따른 발아율을 각각 조사하였다.

온도별 발아율은 15°C에서 가장 높았으며 10°C에서도 높은 발아율이 기록된 반면, 20°C와 25°C에서는 거의 발아되지 않았다. 광조건의 유무에 따른 발아율은 명조건과 암조건에서 두드러진 차이를 나타내지 않았다. 염분에 따른 발아율도 큰 차이를 보이지 않았다. 저니층별 발아율은 3월에 분리된 휴면시스트의 경우는 표층이 저층보다 낮은 발아율을 보였지만, 11월에는 표층이 저층보다 높은 발아율을 보여 시기별로 대조적인 결과를 얻었다. 따라서, 마산만에서 분리된 *A. tamarense* 휴면시스트의 발아는 수온의 변화에 가장 큰 영향을 받는다고 판단된다.

## 참 고 문 헌

- 김창훈. 1994. 유독 외편모조류 *Alexandrium*속의 출현에 미치는 휴면포자의 발아율. 한국양식학회지. 7:251-264.
- 김창훈, 신재범. 1997. 한국 연안의 유해 유독 적조조류의 발생과 독성생산. 한국조류학회지. 12:269-276.
- 김창훈, 岩崎英雄. 1987. 해산 외편모조류 *Scrippsiella trochoidea*의 cyst형성 및 발아에 대하여. 한국조류학회지. 2:211-221.
- 한명수, 김영옥, 박명환, 이옥세, 김영필, 조수연. 2003. 유해플랑크톤의 blooming과 cyst 발아. pp.139-156. In 한국의 생물해양학(최중기 편집). 동화기술. 서울.
- Anderson DM. 1980. Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypnozygotes. J. Phycol. 16:166-172.
- Anderson DM and BA Keafer. 1987. An endogenous annual clock in the toxic marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. Nature 325:616-617.
- Anderson DM, CD Taylor and EV Armbrust. 1987. The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. Limnol. Oceanogr. 32:340-351.
- Anderson DM and D Wall. 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. J. Phycol. 14: 224-234.
- Anderson DM and FMM Morel. 1979. The Seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* Hypnocysts. Estuarine Coastal Mar. Sci. 8:279-293.
- Anderson DM, SW Chisholm and CJ Watras. 1983. Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. Mar. Biol. 76:179-189.
- Binder BJ and DM Anderson. 1986. Green light-mediated photomorphogenesis in a dinoflagellate resting cyst. Nature 322:659-661.
- Binder BJ and DM Anderson. 1987. Physiological and environmental control of germination in *Scrippsiella tro-*

- choidea* (Dinophyceae) cysts. *J. Phycol.* 23:99-107.
- Cannon J. 1993. Germination of the toxic dinoflagellates, *Alexandrium minutum*, from sediments in the Port River, South Australia. pp.103-107. In: Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea, edited by Smayda T and Y Shimizu. Elsevier.
- Fryxell GA. 1983. Survival Strategies of the Algae. Cambridge University Press. 144pp.
- Han M-S, Y-P Kim and RA Cattolico. 2002. *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) resting cell formation in batch culture: strain identity versus physiological response. *J. Phycol.* 38:304-317.
- Kim Y-O, M-H Park and M-S Han. 2002. Role of cyst germination on the bloom initiation of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) in Masan Bay, Korea. *Aquat. Microb. Ecol.* 29:279-286.
- Kim Y-O and M-S Han. 2000. Seasonal relationships between cyst germination and vegetative population of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 204:111-118.
- Lee JB and K Matsuoka. 1994. Distribution of dinoflagellate cysts from surface sediments in southern Korean waters. pp.1-20. Proc. 2nd Int. Symp. on Mar. Sci. Exploitation of Marine Resources.
- Lee JB and KI Yoo. 1991. Distribution of dinoflagellate cysts in Masan Bay, Korea. *J. Oceanol. Soc. Korea.* 26: 304-312.
- Matsuoka K, Y Fukuyo and DM Anderson. 1989. Methods for modern dinoflagellate cyst studies. pp.461-479. In: Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology, edited by Okaichi T, DM Anderson and T Nemoto. Elsevier Science Publishing. New York.
- Perez CC, S Roy, M Levasseur and DM Anderson. 1998. Control of germination of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J. Phycol.* 34:242-249.
- Steidinger KA and LM Walker. 1984. Marine Plankton Life Cycle Strategies. CRC Press. 158pp.
- Turpin DH, PER Dobell and FJR Taylor. 1978. Sexuality and cyst formation in pacific strains of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax tamarens*. *J. Phycol.* 14:235-238.

Manuscript Received: December 23, 2003

Revision Accepted: January 27, 2004

Responsible Editorial Member: Wonchoel Lee  
(Hanyang Univ.)