

거제도 장목항에서 적조원인생물 *Akashiwo sanguinea* (Dinophyceae): 형태, 분자계통학적 특성 및 온도와 염분에 따른 성장 특성

한경하¹, Li Zhun², 윤주연¹, 강병준^{1,3}, 김현정¹, 서민호⁴, 서호영², 신현호^{1,*}

¹한국해양과학기술원 해양시료도서관, ²전남대학교 ICT기반수산자원관리연구센터, ³부경대학교 해양학과, ⁴바다생태연구소

Bloom-forming dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* (Dinophyceae) in Jangmok Harbour of Geoje Island, Korea: Morphology, phylogeny and effects of temperature and salinity on growth

Kyong Ha Han¹, Zhun Li², Joo YeonYoun¹, Byeong Jun Kang^{1,3}, Hyun Jung Kim¹, Min Ho Seo⁴, Ho Young Soh² and Hyeon Ho Shin^{1,*}

¹Library of Marine Samples, Korea Institute of Ocean Science and Technology, Geoje 53201, Republic of Korea

²Research Center for Fishery Resource Management Based on the ICT, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea

³Department of Oceanography, Pukyong University, Busan 48513, Republic of Korea

⁴Marine Ecology Research Center, Yeosu 59697, Republic of Korea

*Corresponding author

Hyeon Ho Shin
Tel. 055-639-8440
E-mail. shh961121@kiost.ac.kr

Received: 11 March 2019

Revised: 17 April 2019

Revision accepted: 24 April 2019

Abstract: The morphological characteristics of the bloom-forming dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* isolated from Jangmok Harbour, Geoje in Korea was examined using light and scanning electron microscope (SEM), and its large subunit (LSU) rDNA was sequenced. Additionally, investigation was done on the effects of temperature and salinity on the growth of *A. sanguinea*. The cells were dorso-ventrally compressed up to 54.7–70.3 μm long and 31.5–48.5 μm wide. The epicone was conical while the hypocone was separated into two lobes. The nucleus was positioned at the center of the cell. The yellow-brown chloroplasts radiated close to the cell center. SEM observation indicated that *A. sanguinea* has an e-shaped apical groove. Molecular phylogeny based on LSU rDNA gene sequences revealed that the *A. sanguinea* strains isolated from Jangmok Harbor were classified in the clade of ribotype A. The maximum growth rate (0.50 day^{-1}) was observed at 20°C and 20 psu, while the maximum cell density ($1,372 \text{ cells mL}^{-1}$) was observed at 25°C and 30 psu. This indicates that the blooms of *A. sanguinea* ribotype A in Korean coastal area are affected by water temperature, rather than the salinity.

Keywords: apical groove, cell density, growth rate, LSU rDNA, ribotype, SEM

서론

1990년대 이후, 한국 연안에서 적조는 주로 와편모조류(dinoflagellate)에 의해 발생해 왔다. 와편모조류는 갑판(the calycul plate)을 가지는 유각와편모조류(armoured dinoflagellate)와 갑판을 가지지 않는 무각와편모조류(unarmoured dinoflagellate)로 구분이 되는데, 최근에는 무각와편모조류에 의한 적조가 빈번하게 발생하고 있다.

무각와편모조류인 *Akashiwo sanguinea*는 1922년 일본의 Kozusa-ura Gokasho 만에서 채집된 시료를 통해 형태적 특징이 처음으로 기록되었으며(Hirasaka 1922), 이 종을 원인으로 하는 적조는 한국을 포함하여 멕시코, 남아메리카, 중국 등 여러 나라 연안에서 발생하고 있다(Wu *et al.* 2001; Yu and Hao 2009; Hao *et al.* 2011). *A. sanguinea*는 무독 종이지만 고밀도로 증식하게 될 경우, 비누화 작용(saponification)에 의해 해조류 사멸과 수산 생물을 폐사 시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Botes *et al.* 2003; Jessup *et al.* 2009). 그 예로, 일본의 경우 Ariake해에서 김의 황백화 현상을 야기시키는 원인 종으로 추정되고 있다(Matsubara *et al.* 2007). 하지만, 한국 연안에서 *A. sanguinea* 적조 발생을 원인으로 한 피해사례가 아직까지는 보고된 적이 없으나 *A. sanguinea* 적조는 남해안 전역에서 광범위하게 발생하고 있기 때문에 잠재적 유해종이라고 할 수 있다(Lee *et al.* 2005).

적조 생물의 대발생(HABs; Harmful Algal Blooms)은 수온, 염분, 영양염, 종간 경쟁 등의 다양한 이화학적, 생물학적 요인 등에 의해 영향을 받는다(Doucette and Harrison

1990; Steidinger *et al.* 1998; Wong *et al.* 1998). 특히, 연안에서는 수온과 염분 조건이 적조 발생과 소멸에 있어서 매우 중요한 역할을 하기 때문에, 연안에서의 수온 및 염분 변화에 대한 적조 원인 종의 상관성 연구는 반드시 필요하다(Juhl *et al.* 2000).

우리나라에서 *A. sanguinea*에 관한 연구는 종의 생태학적 특성 규명 연구가 대부분이고, 종의 구체적인 형태 분석 및 분자계통학적 분류를 바탕으로 한 생리적 특성 규명 연구는 미비하다. 특히, 국내에서 기록된 *A. sanguinea*의 형태적 특징은 광학현미경을 통해 관찰된 기록이 전부이고, 무각와편모조류의 분류를 위한 상추구(apical groove)의 형태는 보고된 적이 없다. 또한, 최근에 발표된 Luo *et al.* (2017)의 연구결과에 따르면, *A. sanguinea*는 채집 해역의 기원을 바탕으로 4개의 ribotype으로 구분되기 때문에, 다양한 해역에서 채집된 시료를 통한 분류학적 연구가 수행될 필요가 있다.

따라서, 본 연구는 거제도 장목항에서 *A. sanguinea* 적조 발생 당시 확보된 배양주(strain)를 이용하여, 이 종의 형태적 특징 및 분자계통학적 분석을 수행하고, 성장에 영향을 미치는 온도와 염분 조건을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. *Akashiwo sanguinea* 분리 및 배양주 확보

*A. sanguinea*의 배양주 확보를 위해, 2016년 11월 7일에 거제 장목항(34°59'39.1"N, 128°40'28.8"E)에서 이 종의 적

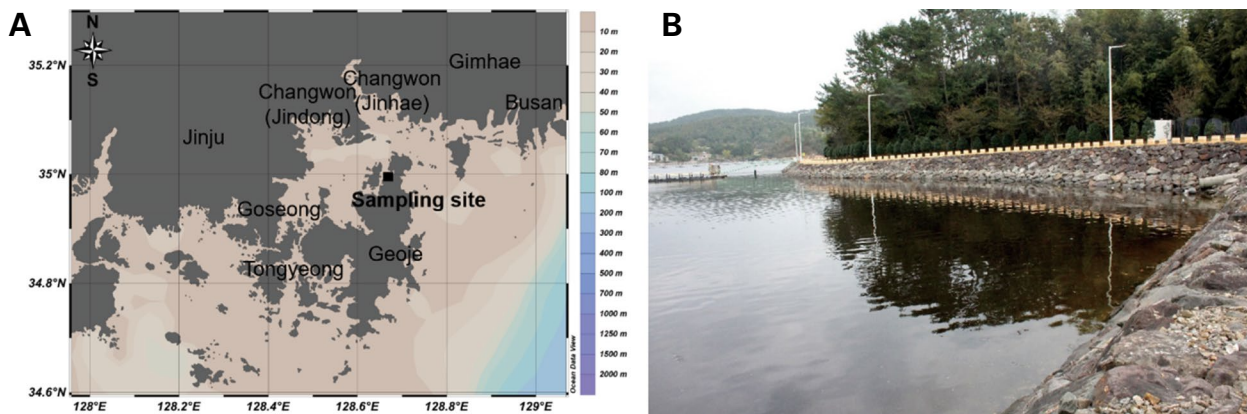


Fig. 1. Location of sampling site (A) and water discoloration caused by *Akashiwo sanguinea* (B) in the Jangmok Harbour of Geoje Island, Korea.

조 발생 당시의 해수를 채집하였다(Fig. 1). 채집한 시료는 광학현미경 하에서 Pasteur pipette을 이용하여 세포를 분리하였고, 96-well plate (Eppendorf, Hamburg, Germany)에 f/2-si 배지를 첨가하여 접종한 후, 온도 20°C에서 배양하였다.

확보된 세포는 광학현미경을 통해 세포 상태를 확인하고, 6-well plate (Eppendorf, Hamburg, Germany)에 접종하여 온도 20°C, 염분 30 psu 및 광량 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 유지 배양을 하였고, 한국해양과학기술원 해양시료도서관에 위치한 해양식물플랑크톤 기탁등록보존기관에 LIMS-PS-2587, 2588, 2589, 2590, 2591로 등록하였다.

2. *Akashiwo sanguinea*의 형태적 관찰

*A. sanguinea*의 형태적 특징은 광학현미경 (Primo Vert; Zeiss, Germany)과 주사전자현미경 (JOEL Ltd, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다. 주사전자현미경을 통한 세포 관찰은 건강한 상태의 배양주를 최종농도 2%인 사산화 오스뮴 (osmium tetroxide; OsO_4)과 혼합하여 1시간 동안 고정하고, 에탄올 시리즈 (10, 30, 50, 70, 90, 99, 99%)로 15분씩 탈수하여 임계점건조법 (critical point drying method)을 통해 건조 시켰다. 건조된 시료는 aluminum stub에 고정하고 백금코팅 (platinum) 하여 관찰 및 촬영을 하였다.

3. Genomic DNA 추출, PCR 증폭 및 DNA 염기서열 분석

*A. sanguinea*의 유전학적 특성 파악을 위해 Large subunit ribosomal DNA (LSU rDNA) 구간 분석을 수행하였다. 분석을 위해 대수성장단계의 배양주 1 mL을 1.5 mL tube에 분주하였다. 이후 원심분리기로 농축 및 상등액 제거를 하여 -20°C의 냉동실에 보관하였다. Genomic DNA 추출을 위해 DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, USA)를 이용하였고, LSU rDNA 증폭은 forward primer: 25F1 (5'-CCGCTGAATTTAAGCATAT-3'), reverse primer: 25R1 (5'-CTTGGTCCGTGTTTCAAGAC-3')를 사용하였다 (Kogame *et al.* 1999; Yamaguchi and Horiguchi 2005). PCR 반응액의 경우, 5 μL 10X Ex Taq Buffer (Mg^{2+} plus), 1.25 U Ex Taq polymerase (Takara, Japan), 1 μM primer 및 1 μL DNA를 주입하여 최종 50 μL 가 되도록 하였고, PCR 수행은 Eppendorf Mastercycler ep gradient (Eppendorf)

으로 pre-denature는 95°C에서 2분, denature는 95°C에서 20초, annealing은 55°C에서 1분, elongation은 72°C에서 1분, post-elongation은 72°C에서 5분간 실시하였다. 증폭 반응의 경우 30회 반복 시행한 후, PCR 산물을 1% agarose gel에 전개하고 Midori Green Advance (NIPPON Genetics, Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 염색하여 UV하에서 DNA 밴드를 확인하였다. 정제된 PCR product clone들의 DNA sequencing은 QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 ABI PRISM® 3700 DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)으로 수행하였다.

4. 분자계통학적 분석

확보된 *A. sanguinea*의 염기서열을 이용하여 종의 계통학적 위치를 파악하였다. 염기서열 비교를 위해 계통수에 사용된 염기서열 정보는 NCBI (National Center for Biotechnology Information; www.ncbi.nlm.nih.gov)를 통해 수집하였고, 총 35개의 염기서열이 Mega v. 7.0.26 프로그램 (Kumar *et al.* 2016)으로 정렬 및 편집되었다. 확보된 배양주의 LSU rDNA 분석을 통해 얻은 염기서열은 Genbank에 Accession No. MK571205~9로 등록하였다. 그 결과, 총 길이 626 kb의 정렬된 염기서열 자료 (dataset)를 얻을 수 있었고 *Prorocentrum micans* (KT860563)과 *P. rathymum* (HF565181)을 out group으로 하여 jModelTest version 2.1.4 프로그램으로 분석하였다 (Darriba *et al.* 2012). 계통학적 분석은 TrN + G모델 (A:C:G:T=0.2491: 0.2052: 0.3020: 0.2408; p-inv=0; gamma shape=0.8720)을 사용하였다. 그리고 계통학적 유연관계 분석에서 베이즈 추론 (BI; Bayesian Inference)은 MrBayes 3.1.2를 사용하였고, 최대우사분석 (ML; Maximun-likelihood analysis)은 RAxML을 이용하였다 (Ronquist and Huelsenbeck 2003; Stamatakis 2014). 최대우사분석에서 계통수의 각 branch의 신뢰도는 1,000회의 bootstrap을 이용하였다. 분석이 완료된 이후에는 분석결과를 바탕으로 하여 각 종 간의 계통유연관계를 밝히는 분자계통도를 작성하였고, 분자계통도의 확인은 Tree-View 4.5 프로그램으로 수행하였다.

5. 온도 및 염분 조건에 따른 성장 변화

*A. sanguinea*의 성장 변화를 파악하기 위해 온도 조건은 5, 10, 15, 20, 25, 30°C의 6단계, 염분 조건은 15, 20, 25, 30,

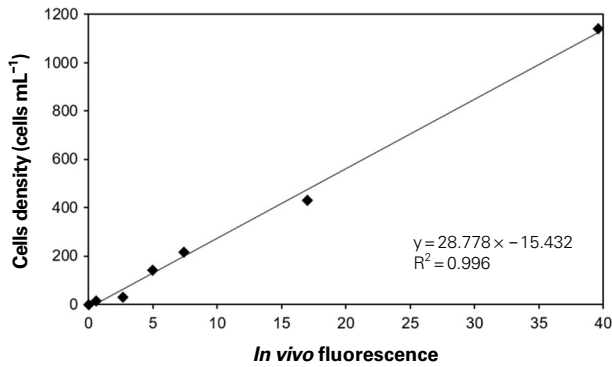


Fig. 2. Relationship between cell density and *in vivo* chlorophyll fluorescence of *Akashiwo sanguinea*.

35 psu의 5단계를 조합한 30단계의 조건, 그리고 광량은 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 으로 하여 실험을 하였다.

대수성장기의 *A. sanguinea*를 f/2-si 배지 30 mL와 함께 배양튜브에 최종세포밀도가 약 $1.0 \times 10^2 \text{ cells mL}^{-1}$ 이 되도록 접종하였다. 이후 세포밀도 변화를 관찰하기 위해 이를 간격으로 동일 시간에 형광광도계(10-AU-Fluorometer, Turner Designs, USA)를 이용하여 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였다. 세포밀도는 현미경을 통한 직접검정이 아닌 형광값과의 상관관계를 통해 구하였다(Fig. 2). 성장속도(growth rate)는 대수성장을 보이는 기간 동안의 세포밀도를 이용하여 아래의 식에 대입하여 계산하였다(Guillard 1973).

$$\mu = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{N_t}{N_0}$$

μ : 성장속도(specific growth rate; day^{-1})

N_0, N_t : 대수성장기에서 초기와 t시간(day) 후의 세포밀도

Δt : 대수성장기의 기간(day)

결과 및 고찰

1. *Akashiwo sanguinea*의 형태적 특징

*A. sanguinea*의 세포는 단독으로 존재하며, 오각형이었다(Fig. 3A, B). 세포의 길이는 $54.7 \sim 86.5 \mu\text{m}$, 폭은 $31.5 \sim 62.2 \mu\text{m}$ 로 나타났고(평균 길이: $70.3 \mu\text{m}$, 평균 폭: $48.5 \mu\text{m}$, $n = 50$), 세포의 길이와 폭의 비는 1.39였다(average: $n = 50$). 세포의 핵은 세포의 중심에 위치하거나 약간 상추(epicone)에

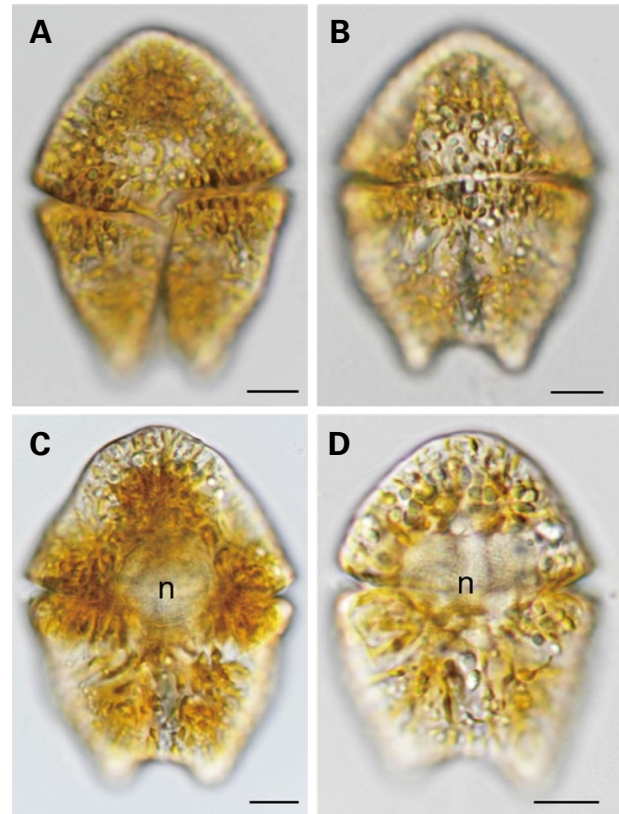


Fig. 3. Light micrographs of *Akashiwo sanguinea*. A. Ventral view. B. Dorsal view. C. Ventral view median focus showing the position of the nucleus (n). D. Dorsal view median focus showing the position of the nucleus (n). Scale bars: A-D = $10 \mu\text{m}$.

치우쳐 위치하였다(Fig. 3C, D). 엽록체는 황갈색으로 세포 전체에 퍼져있었다(Fig. 3A~D). 상추는 반구형이거나 원뿔형이었으며, 상추구(apical groove)는 광학현미경 상에서 보이지 않았다. 하추(hypocone)는 종구가 등측까지 연결되어 있었고, 2개의 열편(lobe)으로 나뉘었다. 전자현미경으로 관찰한 *A. sanguinea*의 세포는 sulcus의 경우 상추에 손가락처럼 생긴 부분 때문에 intercingulum region이 좁았다(Fig. 4A). 상추와 하추의 길이는 유사하였다(Fig. 4B). 상추구는 알파벳 e 모양으로 관찰되었다(Fig. 4C, D).

*A. sanguinea*의 형태는 ribotype에 따라 크기 차이는 있을 수 있지만, 형태적 특성으로 구분되지 않는다(Luo et al. 2017). 장목만에서 확보한 배양주는 Hirasaka (1922)에 의해 서술된 국외배양주의 형태 특성과 Cho et al. (2008)에 의해 서술된 국내 배양주의 형태적 특성과 유사하였고, 크기는 기존에 서술된 배양주들과 차이를 보이기도 했다. 따라서, *A. sanguinea*는 배양주에 따라 세포의 길이에는 약간

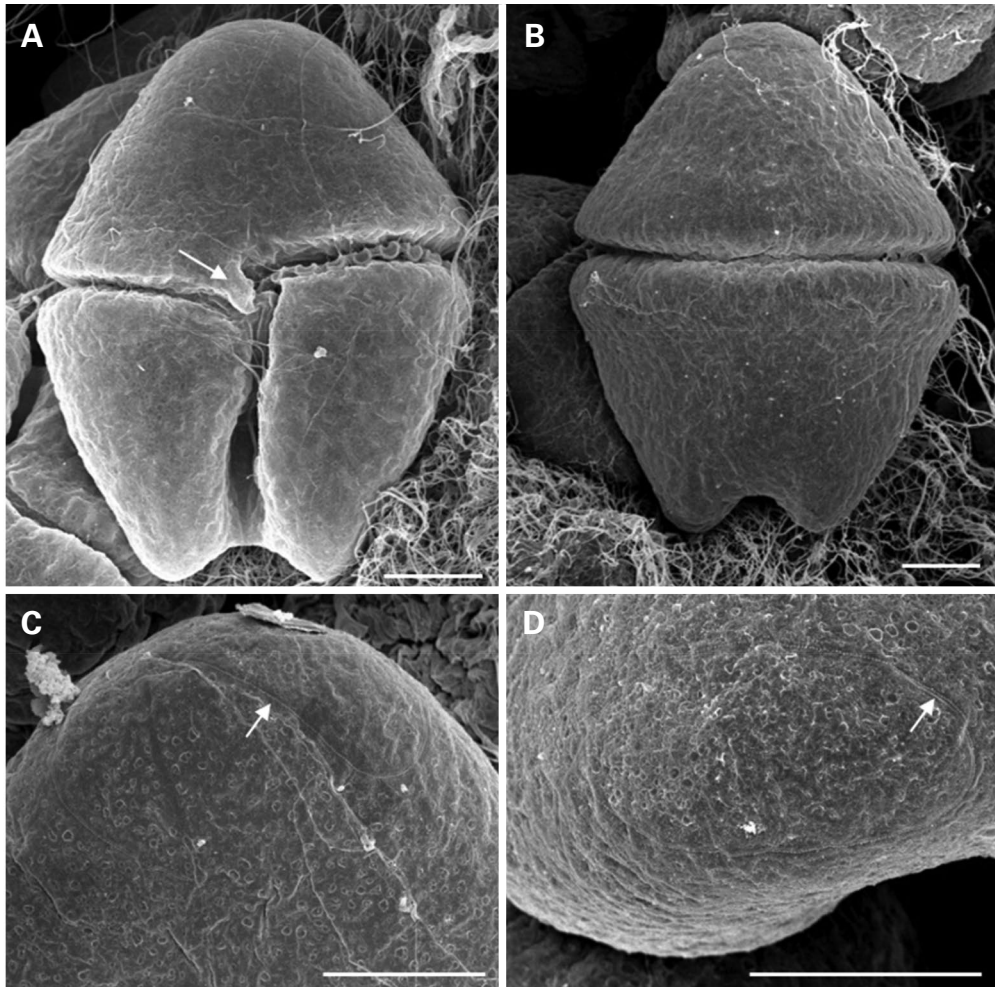


Fig. 4. Scanning electron micrographs of *Akashiwo sanguinea*. A. Ventral view showing the finger-like projection of the epicone (arrow). B. Dorsal view. C, D. Detail of apical groove showing e-shaped feature (arrows). Scale bars: A, B = 10 μ m, C, D = 1 μ m.

의 변이가 관찰될 수 있지만, 형태적으로 큰 변이는 일으키지 않는 것으로 판단된다.

2. *Akashiwo sanguinea*의 계통 분류학적 특성

확보된 배양주 염기서열의 진화적 유연관계는 4개의 ribotype으로 구분되었다(Fig. 5). 4개의 ribotype에서 본 배양주는 일본, 서아프리카, 중국, 뉴질랜드에서 기록된 분리주(isolate)들과 함께 ribotype A에 속하였다. 그리고 ribotype B에는 싱가포르, 한국(고성), 멕시코 등으로부터 기록된 분리주가 포함되어 있었으며, ribotype C에는 미국 해역의 분리주, ribotype D에는 지중해에서 기록된 분리주만이 포함되어 있었다.

Luo *et al.* (2017)의 결과에 의하면, *A. sanguinea* 내에서

ribotype A는 전 세계적으로 분포하고 있고 분자계통 발생의 기반이 되기 때문에, 다른 ribotype들은 ribotype A에서 파생되었을 수 있다. 국내에 보고된 *A. sanguinea* 배양주 중에서 장목항에서 분리한 배양주는 모두 ribotype A에 속하였고, 경남 고성의 해역에서 분리한 배양주는 ribotype B에 속하였다. 이 결과는 국내 연안에서 다양한 ribotype에 속하는 *A. sanguinea*가 출현하고 있고, 해역에 따른 환경적 특성이 ribotype을 결정할 가능성이 있다는 것을 나타낸다.

3. 온도와 염분 변화에 따른 *Akashiwo sanguinea*의 성장 특성

온도와 염분의 변화에 따른 *A. sanguinea*의 세포밀도 변화는 Fig. 6에 나타내었다. *A. sanguinea*는 5°C를 제외한 모

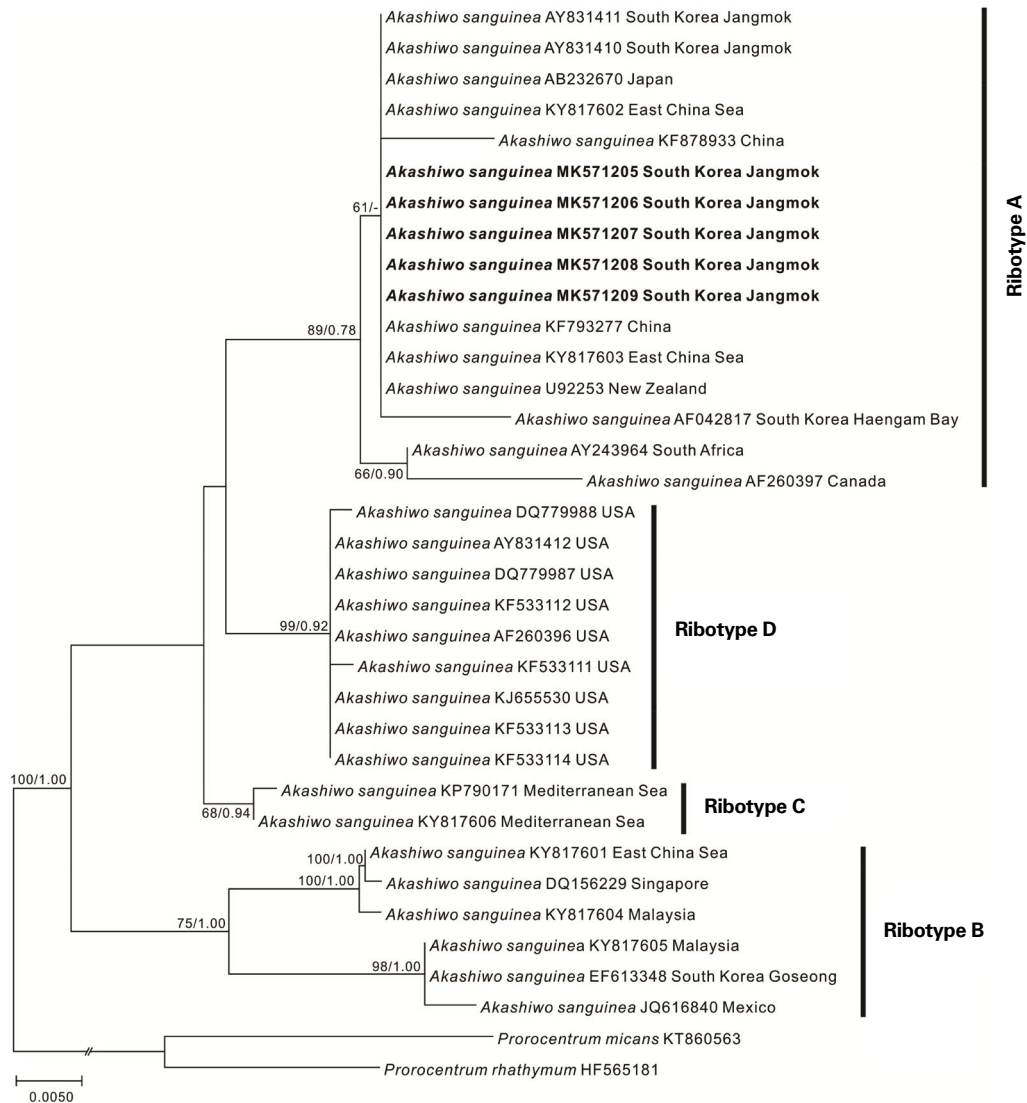


Fig. 5. Maximum likelihood (ML) tree showing *Akashiwo sanguinea* phylogenetic position based on partial nuclear-encoded LSU rDNA sequences. The newly acquired sequences in this study are indicated in bold. *Procentrum micans* (KT860563) and *P. rathymum* (HF565181) was selected as the outgroup. Ribotypes were labeled according to designations by Luo *et al.* (2017). The numbers on each node are the bootstrap values (%) and the Bayesian Posterior Probability (PP). Only bootstrap values above 50 and PP values above 0.7 are shown. Scale bar = number of nucleotide substitutions per site.

든 온도 범위에서 성장을 보였고, 염분은 30°C에서 성장에 제한이 있었지만, 10~25°C의 온도 범위에서는 모든 염분 범위에서 성장을 보였다. 최대세포밀도 (maximum cell density)는 온도 25°C, 염분 30 psu에서 1,372 cells mL⁻¹로 나타났다.

*A. sanguinea*의 성장에 영향을 주는 온도 및 염분 인자를 통해 구한 성장속도에 대한 contour plotting을 Fig. 7에 나타내었다. 그 결과 최대성장속도 (maximum growth rate)

는 온도 20°C, 염분 20 psu 조건에서 0.50 day⁻¹로 나타났고, 최적성장조건 (optimum growth condition, 최대성장속도의 80% 이내 구간)은 온도 15~20°C, 염분 17~23 psu 범위였다.

*A. sanguinea*의 최대성장속도와 조건에 대한 본 연구결과와 이전 연구결과의 비교 내용을 Table 1에 나타내었다. 거제도 장목항에서 확보한 배양주는 국내 다른 해역에서 분리된 배양주들과 최적온도 조건에서 차이를 보였는데,

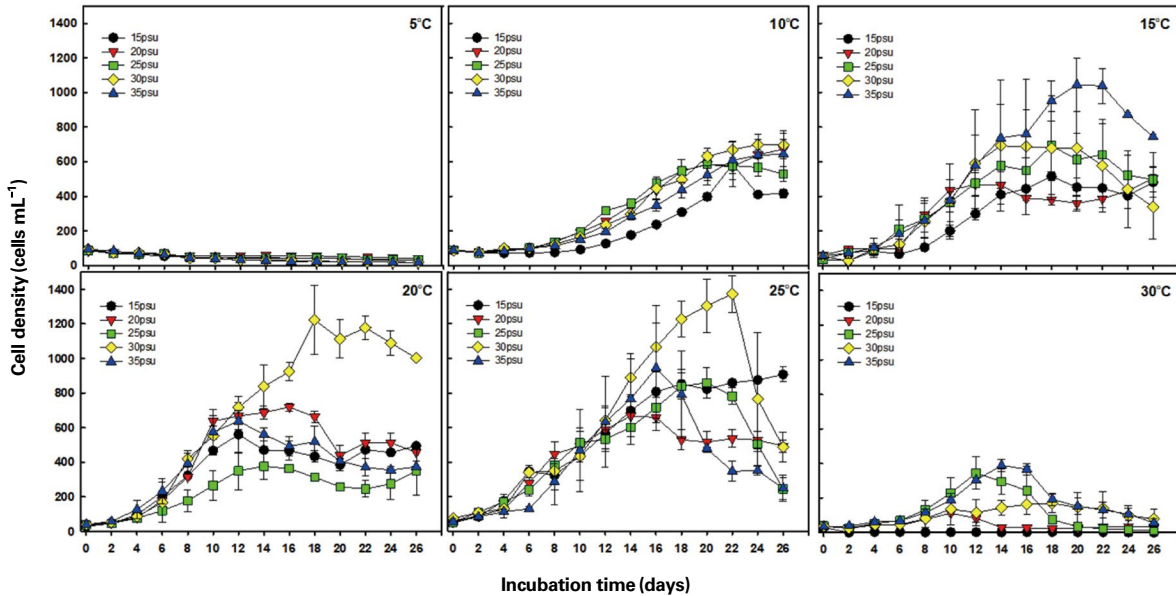


Fig. 6. Growth curves of *Akashiwo sanguinea* under different combinations of temperature and salinity. The different curves in each temperature panel represent experimental salinity.

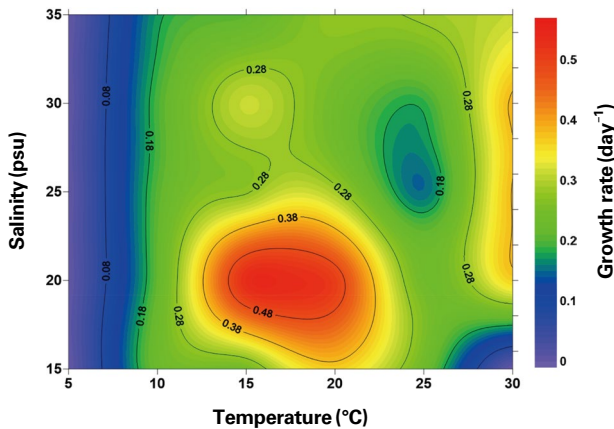


Fig. 7. Contour plot of *Akashiwo sanguinea* growth rate (day^{-1}) under different combinations of salinity and temperature.

자란만에서 분리한 배양주 (최대성장온도: 25°C)보다는 저온에서, 통영에서 분리한 배양주 (최대성장온도: 16°C) 보다는 고온에서 최대성장조건을 보였다 (Lee *et al.* 2005; Kwon and Oh 2014). 하지만, Baek and Joo (2012)가 장목항에서 분리한 배양주가 나타내는 최대성장온도는 본 실험결과와 일치하는 온도 20°C에서 최대성장속도를 보였다. 최대성장속도는 국내배양주 중에서 장목항 배양주가 0.5~0.54 day^{-1} 로 가장 높은 성장속도를 보였다. 국외배양

주와 비교하면, 일본의 Hakata 만에서 확보된 배양주는 본 배양주보다 고온의 환경에서 비교적 빠른 1.13 day^{-1} 의 최대성장속도를 보였고 (Matsubara *et al.* 2007), 중국 Sishili 만의 배양주는 본 배양주보다 고온의 환경에서 비교적 느린 0.41 day^{-1} 의 최대성장속도를 보였다 (Chen *et al.* 2015).

*A. sanguinea*는 ribotype 차이에 따라 최적성장조건이 다를 수 있다 (Luo *et al.* 2017). Luo *et al.* (2017)은 동중국해에 분리한 ribotype A와 B의 배양주로 온도구배에 따른 실험을 하였다. 그 결과 ribotype B는 A에 비해 고온의 환경에서 높은 성장을 보였고, 15°C 이하의 저온에서는 성장제한을 보였다. 따라서 장목항 배양주와 다른 해역에서 분리한 배양주들 간의 성장조건에 차이를 보이는 것은 ribotype이 다르거나, 해역에 따라 나타나는 온도에 대한 적응이 다르기 때문으로 판단된다. 이를 확인하기 위해서는 여러 배양주를 통해 *A. sanguinea*의 성장조건 차이가 유전적 차이로부터 오는 것인지, 해역에 따른 차이로 오는 것인지에 대한 추가적 연구가 필요하다. 본 연구의 결과들을 종합하면, 전 세계적으로 분포하는 *A. sanguinea*는 형태적으로 유사하지만, 해역에 따라 유전학적으로 여러 계통으로 나뉘었고, 이에 따라 성장조건 또한 다르게 나타나는 것으로 판단된다.

최근 5년 동안 *A. sanguinea*의 적조는 우리나라 연안에

Table 1. Comparisons of growth rates and conditions of *Akashiwo sanguinea* recorded from previous studies

Ribotype	Source	Growth rate (day ⁻¹)	Growth condition (temperature, salinity)	Reference
Ribotype A	Jangmok Harbour, Korea	0.50	20°C, 20 psu	This study
-	Jaran Bay, Korea	0.28	25°C, 30 psu	Kwon and Oh (2014)
-	Tongyoung, Korea	0.26	16°C, 30 psu	Lee <i>et al.</i> (2005)
-	Jangmok Harbour, Korea	0.54	20°C	Baek and Joo (2012)
-	Hakata Bay, Japan	1.13	25°C, 20 psu	Matsubara <i>et al.</i> (2007)
Ribotype A	Sishili Bay, China	0.41	25°C, 20 psu	Chen <i>et al.</i> (2015)
Ribotype A	Xiamen Harbour, East China Sea	0.44	12–30°C	Luo <i>et al.</i> (2017)
Ribotype B	Xiamen Harbour, East China Sea	0.52	18–33°C	Luo <i>et al.</i> (2017)

Table 2. *Akashiwo sanguinea* blooms recorded in Korean coastal water from 2014–2018 (<https://www.nifs.go.kr/redtidelinfo>)

Date	Area	Cell density (cells mL ⁻¹)	Temperature (°C)	Salinity (psu)
2018.12.04	Tongyeong	800–1000	15.5	32.8
2018.06.04	Busan	1500–	21.7	27.3
	Busan	2500	20.9	30.4
2018.05.30	Busan	14	17.9	31.4
	Busan	2600	17.9	31.4
	Busan	1800	21.4	27.3
2018.05.29	Busan	2000–3000	18.8	30.6
	Busan	6000–7000	17.1	32.0
	Busan	8000–9000	17.9	30.4
	Busan	8000	17.7	31.6
2018.05.10	Masan	50	16.9	-
	Busan	45	15.9–16.3	-
2016.12.22	Tongyeong	300–1500	13.8–14.1	-
2016.11.23	Masan	20–100	15.4–16.5	-
2016.11.16	Tongyeong Geoje, Jinhae Bay	100–200	15.0–17.3	-
2015.05.18	Jinhae Bay	300–1200	17.2	-
	Masan Bay	800–2500	17.3	-
2015.05.13	Jinhae Bay	110–340	15.0	-
	Busan	130–7500	17.0–18.7	-
2015.05.08	Busan	1–325	12.9–17.2	-
2015.04.30	Changwon, Geoje, Jinhae Bay	5500–6000	14.4–15.4	-
2015.04.09	Tongyeong	400–500	12.8	-
2014.08.07	Goseong	600–2100	27.2–28.0	-
2014.06.16	Ulsan	10000–15000	19.0	-
2014.05.08	Jinhae Bay	1000–2000	15.8–16.5	-

서 봄과 가을철에 발생하며, 주로 남해안 연안지역에서 고밀도로 발생하였다(Table 2). 적조 발생시 수온은 대체적으로 15~20°C 내외로 나타나(Table 2), 본 실험의 최적 성장온도조건과 일치하는 결과였다. 하지만, 염분의 경우 27.3~32.8 psu 범위 내에서 적조 발생이 보고되었기 때문에, 본 실험의 최적염분 조건인 15~20 psu와 차이를 보였다. 이는 우리나라 연안에서 *A. sanguinea*의 적조 발생은 염분보다는 성장에 적합한 수온 아래 다양한 환경요인이 영향을 미칠 수 있음을 나타낸다

한편, *A. sanguinea*의 성장은 규조류(diatom)의 성장과도 연관이 되어 있기 때문에(Matsubara *et al.* 2008), *A. sanguinea*

적조 원인을 규명하기 위해서는 규조류와 *A. sanguinea* 간의 경쟁과 상호작용에 대한 연구도 수행되어야 한다. 하지만, 본 연구는 온도와 염분에 따른 성장조건만 고려했기 때문에, 정확한 *A. sanguinea*의 적조발생기작 파악을 위해서는 추가적인 연구가 필요하다.

적 요

거제도 장목항에서 분리한 *Akashiwo sanguinea*의 형태와 계통학적 특성을 명확히 하고, 여러 온도와 염분구배

에 따른 성장조건을 파악하고자 하였다. *A. sanguinea*의 세포는 오각형이었고, 세포의 길이는 54.7~70.3 μm , 폭은 31.5~48.5 μm 로 나타났다. 핵은 세포의 중심에 위치하였고, 엽록체는 황갈색으로 세포 전체에 퍼져있었다. 상추구는 알파벳 e 모양이었다. 계통분석 결과 장목항에서 분리한 본 배양주는 ribotype A에 포함되었다. 온도 및 염분구배에 따른 성장 실험은 5°C 이하의 온도를 제외한 모든 온도구배에서 성장이 나타났다. 그리고, 최대성장속도는 온도 20°C, 염분 20 psu에서 0.50 day^{-1} 로 나타났고, 최대세포 밀도는 온도 25°C, 염분 30 psu에서 1,372 cells mL^{-1} 였다. 이 결과는 *A. sanguinea*가 가을철에 한국 연안에서 최대 증식을 보일 수 있다는 것을 나타낸다.

사 사

이 논문은 2019년도 정부(해양수산부)의 재원으로 해양수산과학기술진흥원 해양수산생명공학기술개발사업(No. 20170431), ICT기반 수산자원관리 연구 사업(No. 20180384), 한국해양과학기술 연구사업(PE99721)의 지원을 받아 수행되었음.

REFERENCES

- Baek SH and HM Joo. 2012. Relationships between cell bio-volume and growth rate of dominant red tide organisms in the coastal water. *Korean J. Environ. Biol.* 30:1-8.
- Botes L, AJ Smit and PA Cook. 2003. The potential threat of algal blooms to the abalone (*Haliotis midae*) mariculture industry situated around the South African coast. *Harmful Algae* 2:247-259.
- Chen T, Y Liu, S Song, C Li, YZ Tang and Z Yu. 2015. The effects of major environmental factors and nutrient limitation on growth and encystment of planktonic dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *Harmful Algae* 46:62-70.
- Cho SY, JS Ki and MS Han. 2008. Morphological characteristics and molecular phylogeny of five unarmored dinoflagellates in Korean Coastal Waters. *Algae* 23:15-29.
- Darriba D, GL Taboada, R Doallo and D Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9:772.
- Doucette GJ and PJ Harrison. 1990. Some effects of iron and nitrogen stress on the red tide dinoflagellate *Gymnodinium sanguineum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 62:293-306.
- Guillard RRL. 1973. Division rates. p. 472. In *Handbook of Physiological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*, Stein JR (ed.). Cambridge University Press. Cambridge.
- Hao YJ, DL Tang, L Yu and QG Xing. 2011. Nutrient and chlorophyll-A anomaly in red-tide periods of 2003-2008 in Sishili Bay, China. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 29:664-673.
- Hirasaka K. 1922. On a case of discoloured sea water. *Annot. Zool. Japan* 10:161-164.
- Jessup DA, MA Miller, JP Ryan, HM Nevins, HA Kerkering, A Mekebri, DB Cran, TA Johnson and RM Kudela. 2009. Mass stranding of marine birds caused by a surfactant-producing red tide. *PLoS One* 4:e5540.
- Juhl AR, V Velazquez and MI Latz. 2000. Effect of growth conditions on flow-induced inhibition of population growth of a red-tide dinoflagellate. *Limnol. Oceanogr.* 45:905-915.
- Kogame K, T Horiguchi and M Masuda. 1999. Phylogeny of the order Scytosiphonales (Phaeophyceae) based on DNA sequences of *rbcl*, partial *rbcS*, and partial *LSU rDNA*. *Phycologia* 38:496-502.
- Kumar S, G Stecher and K Tamura. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33:1870-1874.
- Kwon HK and SJ Oh. 2014. Growth response of the Dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* in relation to temperature, salinity and irradiance, and its advantage in species succession. *Korean Soc. Mar. Environ. Saf.* 20:1-10.
- Lee CK, OH Lee and SG Lee. 2005. Impacts of temperature, salinity and irradiance on the growth of ten harmful algal bloom-forming microalgae isolated in Korean Coastal waters. *The Sea* 10:79-91.
- Luo Z, W Yang, CP Leav, V Pospelova, G Bilien, GR Liow, PT Lim and H Gu. 2017. Cryptic diversity within the harmful dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* in coastal Chinese waters is related to differentiated ecological niches. *Harmful Algae* 66:88-96.
- Matsubara T, S Nagasoe, Y Yamasaki, T Shikata, Y Shimasaki, Y Oshima and T Honjo. 2007. Effects of temperature, salinity, and irradiance on the growth of the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 342:226-230.
- Matsubara T, S Nagasoe, Y Yamasaki, T Shikata, Y Shimasaki, Y Oshima and T Honjo. 2008. Inhibitory effects of centric diatoms on the growth of the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 74:598-606.
- Ronquist F and JP Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic

- analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313.
- Steidinger KA. 1998. Bloom dynamics and physiology of *Gymnodinium breve* with emphasis on the Gulf of Mexico. pp. 135–153. In *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer, New York.
- Wong GTF, GC Gong, KK Liu and SC Pai. 1998. 'Excess nitrate' in the East China Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 46:411–418.
- Wu YL, CX Zhou, YS Zhang, XM Pu and WH Li. 2001. Evolution and causes of formation of *Gymnodinium sanguinea* bloom in Yantai Sishili Bay. *Oceanol. Limnol. Sin.* 32:159–167 (in Chinese, with English abstract).
- Yamaguchi A and T Horiguchi. 2005. Molecular phylogenetic study of the heterotrophic dinoflagellate genus *Protoperidinium* (Dinophyceae) inferred from small subunit rRNA gene sequences. *Phycol. Res.* 53:30–42.
- Yu L and YJ Hao. 2009. Process analysis for harmful bloom of *Akashiwo sanguinea* in Sishili Bay of Yantai. *Adv. Mar. Sci.* 27:516–522 (in Chinese, with English abstract).