

Quantitative real-time PCR (qPCR)을 이용하여 2019년 남해도 해역에서 발생한 *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) 적조의 조기검출

박태규*† · 김진주** · 송선영**

* 국립수산물과학원 남동해수산연구소 연구사, ** 국립수산물과학원 남동해수산연구소 연구원

Early Detection of *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) Blooms in Namhaedo in 2019 Using Quantitative Real-Time PCR (qPCR)

Tae Gyu Park*† · Jin Joo Kim** · Seon Young Song**

*, ** Researcher, Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science (NIFS), Tongyeong 53085, Korea

요 약 : 적조가 처음 시작되는 해역을 조기에 파악하기 위하여 Quantitative real-time PCR (qPCR)을 경남해역 적조현장에 활용하였다. 2019년 경남해역을 대상으로 *Cochlodinium polykrikoides*를 qPCR로 정량분석한 결과, 6월 초에 저밀도로(0.0015~0.0058 cells mL⁻¹) 검출되기 시작하여 8월 중순에는 최대 0.163 cells mL⁻¹ 밀도로 증가하였고, 주로 남해도 주변에서 높게 검출되었다. 8월 말에는 현미경 검경으로 남해도 주변에서 높게 출현함이 확인되었고(최대 24 cells mL⁻¹), 9월 2일에는 남해도에서 적조주의보가 발령되었고(최대 200 cells mL⁻¹), 9월 11일에는 최대 12,000 cells mL⁻¹까지 남해도 해역에서 발생하였다. 위 결과는 극미량의 *C. polykrikoides*이 적조발생 전에 남해도에서 검출되었고 이후 같은 해역에서 적조가 발생되었음을 보여준다. 이는 qPCR이 극미량의 *C. polykrikoides*을 조기검출하는데 유용한 방법임을 보여준다.

핵심용어 : *C. polykrikoides*, 유해조류, 적조, Real-time PCR, 와편모조류

Abstract : Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) was applied for the early detection of red tides in the coastal areas of South Gyeongsang in 2019. *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) was detected at very low cell densities (0.0015~0.0058 cells mL⁻¹) in early June, but its cell density increased by up to 0.163 cells mL⁻¹ in mid-August. Higher cell densities were detected mainly in Namhaedo using both qPCR and microscopy (maximum 24 cells mL⁻¹) in late-August. Accordingly, a red tide alert was issued on September 2 (maximum 200 cells mL⁻¹) on this island. *C. polykrikoides* cell density in Namhaedo peaked on September 11 (12,000 cells mL⁻¹). Our results indicate that *C. polykrikoides* was detected at very low cell density in Namhaedo prior to bloom, which occurred in the same area. Therefore, qPCR is a useful tool to detect even at very low cell densities of *C. polykrikoides* for early warning of blooms.

Key Words : *C. polykrikoides*, Harmful algae, Red tide, Real-time PCR, Dinoflagellate

1. 서 론

유해 와편모조류인 *Cochlodinium polykrikoides*는 1995년 이후 거의 매년 남해안에서 적조를 일으켜 양식생물에 피해를 주고 있다. 통영을 중심으로 한 경남해역은 어류 및 패류 양식장들이 밀집해 있어서 적조발생시 대규모 피해가 발생하고 있다(Park et al., 2013). 지난 8년간 경남해역에서 발생한

적조피해규모를 전국과 비교해보면 다음과 같다. 경남/전국 적조피해액 규모 : 12년 10억/40억, 13년 217억/247억, 14년 63억/74억, 15년 22억/56억, 16, 17년 미발생, 18년 2.4억/2.4억, 19년 36.3억/41억원(자료 : 해양수산부). 전남해역에서도 대규모 적조가 빈번히 발생하지만 경남의 경우 양식장 밀집지역에 적조가 유입될 경우 대규모 양식생물 피해로 이어진다. 양식생물 피해 최소화를 위해서 적조를 조기에 예보하는 기술개발은 매우 중요하다. 현재 적조생물을 현장에서 모니터링하는 방법으로 가장 널리 사용되는 방법은 현미경 검경법

† Corresponding Author : taegyupark@korea.kr, 055-640-4752

Quantitative real-time PCR (qPCR)을 이용하여 2019년 남해도 해역에서 발생한 *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) 적조의 조기검출

이다. 현미경 검정법은 현장에서 신속하게 종 확인이 가능하고 일부 적조생물의 경우 단기간의 훈련으로 누구나 쉽게 사용이 가능하기 때문에 적조 현장에서 유용하게 활용되고 있다. 하지만 적조발생 전 단계에서는 적조생물 밀도가 매우 낮기 때문에 현미경으로는 확인이 어려운 경우가 많다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 다양한 분자검출기법이 최근에 활용되고 있다. 그중 와편모조류를 정량검출하는데 많이 활용되고 있는 방법이 qPCR 기법으로 *Alexandrium* 종, *Karlodinium veneficum*, *Gymnodinium catenatum* 등 다양한 종의 생태 및 분포연구에 활용되고 있다(e.g. Engesmo et al., 2018; Hatfield et al., 2019).

본 연구에서는 2019년 남해동부해역에서 발생한 *C. polykrikoides* 적조를 조기에 검출하기 위해서 qPCR을 적조 현장에 활용하였고, qPCR로 적조생물(*C. polykrikoides*)이 조기 검출된 해역과 적조 최초 발생해역을 비교하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 현장시료 채집

현장해수시료는 국립수산과학원의 적조예찰 시스템 중 하나인 적조광역조사를 통해 채집되었다. 2019년 6월부터 9월까지 2주 간격으로(총 9회) 남해도~통영해역의 12개 정점(Fig. 1)을 대상으로 표층해수를 채집하였다(Table 1). 현미경으로 정량분석이 어려운 *C. polykrikoides* 저밀도 출현시기에는(6~8월 중순) qPCR로 분석하였고, 1 cells mL⁻¹ 이상으로 세포밀도가 증가하는 시기에는(8월 말~9월) 현미경으로 정량분석 하였다. qPCR 분석을 위해서는 표층해수 10 L를 선박에서 식물플랑크톤 넷(망목 10 µm)으로 50 mL로 농축한 후

25 mm GF/C 필터지(Poresize 1.2 µm, Whatman, England)를 이용하여 여과하였다. 현미경 검정을 위해서는 표층해수 1 L를 채집한 후 5 mL로 농축하여 관찰하거나, 생물량이 많을 경우 농축없이 생시료를 관찰하였다. 정점별 수온과 염분은 다항목수질측정기(YSI)를 이용하여 측정하였다. 2019년 남해안 적조발생정보는 국립수산과학원 적조속보 자료를 참고하였다(http://www.nifs.go.kr/redtideInfo).

2.2 qPCR 분석

GF/C 필터지로부터 DNA 추출은 DNeasy Tissue Kit (Qiagen, USA)을 사용하였다. qPCR 정량분석을 위해 *C. polykrikoides* 배양주를 사용하여 141,000 세포를 수확한 후 DNA를 추출하고, 10배수로(10¹~10⁷) 희석한 후 상관계수(R²) 값이 0.99인 검량선을 정량분석에 사용하였다. 배양주의 경우 각기 다른 성장단계에 있는 세포를 3회 따로 수확한 후 하나로 섞어서 검량선에 사용하였다. qPCR 분석시약은 qPCR premix Ex Taq (TaKaRa, Japan)을 사용하였고 분석 조건은 50°C 2분, 95°C 2분 후 40 반복으로 95°C 10초 그리고 60°C 45초 반응시켰다. *C. polykrikoides* 특이적 프라이머 정보는 Table 2와 같으며, 최종농도는 primers 0.3 µM, probe 0.15 µM를 사용하였으며(Park et al., 2016), Rotor-Gene RG-6000 (Qiagen)을 사용하여 정량분석 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 2019년 적조발생 현황

2019년 8월 20일에 여수해역에서 적조예비주의보가 첫 발령되었고, 8월 23일에는 적조주의보가 발령되었다. 9월 2일

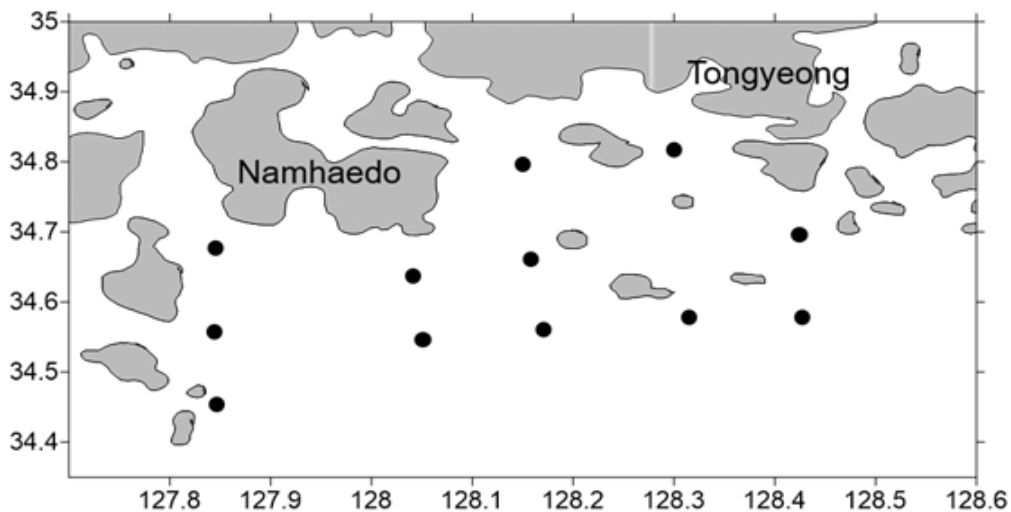


Fig. 1. Sampling stations for *C. polykrikoides* monitoring in South Gyeongsang in August and September 2019.

Table 1. Field sampling information for *C. polykrikoides* monitoring in South Gyeongsang in 2019

Date	Sampling stations	Amounts of water samples	Filtering of water samples	Cell counting methods
03 Jun.	12	10L	GF/C filter	qPCR
20 Jun.	12	10L	GF/C filter	qPCR
03 Jul.	12	10L	GF/C filter	qPCR
17 Jul.	12	10L	GF/C filter	qPCR
30 Jul.	12	10L	GF/C filter	qPCR
13 Aug.	12	10L	GF/C filter	qPCR
29 Aug.	12	1L	Sieve of 10µm mesh size	Microscopy
11 Sep.	12	1L	Sieve of 10µm mesh size	Microscopy
25 Sep.	12	1L	Sieve of 10µm mesh size	Microscopy

Table 2. Primers and a probe for *C. polykrikoides* specific qPCR (Park et al., 2016)

Forward/Reverse/Probe	Code	Sequence (5'→3')
Forward	CPLSUF	GCCGAGGATACCTGCAAAG
Reverse	CPLSUR	TGTCAGGACCCACGATCA
Probe	CPLSUP	FAM- CTCACATGATCAGCGCCGAGTACTAA-BHQ1

Table 3. Early detection of *C. polykrikoides* using qPCR in South Gyeongsang in 2019

South Gyeongsang Province				
Date	Area of higher cell density	<i>C. polykrikoides</i> by qPCR (cells mL ⁻¹)	Numbers of qPCR positive detection among 12 sampling stations	Dominant species
03 Jun.	Tongyeong-Namhaedo	0.0015-0.0058	4	<i>Chaetoceros</i> spp.
20 Jun.	Namhaedo	0.03-0.08	2	<i>Chaetoceros</i> spp.
03 Jul.	Namhaedo	0.001	1	<i>Chaetoceros</i> spp.
17 Jul.	Namhaedo	0.010-0.291	4	<i>Chaetoceros</i> spp.
30 Jul.	Tongyeong-Namhaedo	0.001-0.043	7	<i>Chaetoceros</i> spp.
13 Aug.	Namhaedo	0.0004-0.163	5	<i>Chaetoceros</i> spp.

Table 4. Information of *C. polykrikoides* blooms and red tide levels in South Gyeongsang in 2019 (<http://www.nifs.go.kr/redtideInfo>)

South Gyeongsang Province				
Date	Bloom area	Cell density (cells mL ⁻¹)	Temperature (°C)/Salinity	Red tide level
02 Sep.	Namhaedo	50-200	23.0/32.4	Watch
03 Sep.	Namhaedo-Geojedo	50-800	21.5-23.2/31.3-32.4	Watch
08 Sep.	Namhaedo-Geojedo	5-1400	22.5-24.2/30.1-33.1	Warning
11 Sep.	Namhaedo-Geojedo	10-12,000	23.5-25.4/30.5-33.5	Warning
27 Sep.	-	0	22.0-23.1/28.2-32.2	Cancelation

에는 경남 남해도에도 적조주의보가 확대 발령되었고, 9월 8~9일에는 여수~거제 해역에 적조경보가 발령되었으며, 9월 27일에 남해안 전 해역이 해제되었다(Table 3, 4). 19년도 남해안 해양환경 특징은 긴 장마와 태풍(‘다니스’ 7월 20일, ‘프란시스코’ 8월 6일)으로 인한 강우로 8월 중순까지 규조류가 우점출현 하였다. 또한 제 13호 태풍 ‘링링’(9월 7일)의 영향으로 외해의 적조가 연안으로 이동 확산하면서 연안에 적조생물이 집적되었고, 9월 22일 제 17호 태풍 ‘타파’ 이후

적조가 소멸하였다. 19년도 *C. polykrikoides* 적조는 남해안 전 해역(전남 완도~부산)에서 발생하였으며, 최대밀도는 12,000 cells mL⁻¹(9월 11일, 남해도)로 중규모 적조가 발생하였다(적조속보 <http://www.nifs.go.kr/redtideInfo>). 지난 몇 년과 비교해보면 최고 밀도는 12년(23,000 cells mL⁻¹), 13년(34,800 cells mL⁻¹), 14년(20,000 cells mL⁻¹), 15년(32,000 cells mL⁻¹)으로 발생하였다(적조속보 참고).

3.2 qPCR 검출 결과

남해동부해역을 대상으로 저밀도 *C. polykrikoides*를 qPCR로 정량분석한 결과 6월 초에 저밀도로(0.0015~0.0058 cells mL⁻¹) 검출되기 시작하여 8월 중순에는 0.0004~0.163 cells mL⁻¹ 밀도로 증가하였다(Table 3, Fig. 2). 세포 밀도뿐만 아니라 *C. polykrikoides*이 qPCR에 검출되는 정점수도 증가하여, 출현해역이 점차 넓어지는 경향을 보였다(Table 3). 8월 중순 이후 세포 밀도가 >1 cells mL⁻¹로 증가한 시기에는 현미경으로 검경하였고, 세포 밀도는 9월 중순까지 증가하다 9월 말 소멸하였다(Fig. 2, 3). 6월에서 8월 13일까지 qPCR로 분석한 정량값을 보면, 전반적으로 세포밀도는 증가하지만 변동폭은 크다는 것을 알 수 있고, 반면 9월 2~11일 사이 현미경 검경값은 변동폭은 작으면서 급격히 밀도가 증가하였다(Fig. 2). qPCR로 정량한 값이 변동폭이 큰 이유로 몇가지를 추정해 볼 수 있다. 본 연구에서는 0.2 cells mL⁻¹ 이하의 세포밀도를 qPCR로 검출하였는데, 이러한 낮은 밀도는 현장에서 해수를 채수하는 과정, 시료 운반과정에서 오차가 클 것으로 추정되며, DNA 추출 및 qPCR 분석과정에서의 오차는 상대적으로 적을 것으로 추정된다. 와편모조류의 세포당 rDNA copy 수는 다른 영역에 비해 높은 것으로 알려져 있다. 예를 들면, *Prorocentrum minimum*는 600 copies cell⁻¹, *Alexandrium minutum*은 1000 copies cell⁻¹, *Akashiwo sanguinea*는 12,000 copies cell⁻¹로 보고되었다(Galluzzi et al., 2004; Zhu et al., 2005). qPCR 프라이머를 개발할 때 세포당 DNA copy 수가 높은 영역에 개발하는 것이 중요한데, copy 수가 높을 경우 매우 낮은 세포수를 정량할 때 오차범위가 줄어들어 qPCR 검출감도가 높아 질 수 있다. *C. polykrikoides*의 경우 아직 세포당 rDNA copy가 정확히 알려져 있지 않지만 1 cell⁻¹ 이하의 밀도에서도 높은 qPCR 검출감도(검량선 R²=0.99)를 보여 다른 와편모조류처럼 높은 세포당 DNA copy 수를 가지고 있을 것으로 추정된

다. 하지만 와편모조류의 rDNA copy 수는 배양환경 혹은 세포상태에 따라 크게 영향을 받을 수 있다. *Alexandrium* 종의 경우 세포 성장단계/성장환경 및 단일배양주/개체군에 따라 세포당 DNA copy 수가 많게는 10배까지 차이가 날 수 있다(Galluzzi et al., 2010). 이러한 문제점 때문에 검량선 제작시 몇가지 고려해야 되는 사항이 있다. 현재 알려져 있는 검량선 제작방법은 두가지 인데, 첫째 plasmid DNA를 이용한 제작, 둘째 세포수를 이용한 제작이 있다. Plasmid DNA를 이용한 검량선 제작방법은 세포당 DNA copy 수를 조사한 후 DNA copy 수를 세포수로 환산하는 정량방법으로 정확한 DNA copy 수를 측정할 수 있지만 세포당 DNA copy 수의 변이가 클 경우 오차범위가 커지는 단점이 있다(Galluzzi et al., 2010; Dittami and Edvardsen, 2013). 반면 세포수를 이용하여 검량선을 제작할 경우 DNA copy 수는 알 수 없지만 세포당 DNA copy 수 변이에 의한 오차를 줄일 수 있다(Engesmo et al., 2018). 본 연구에서는 검량선 제작시 배양주를 각기 다른 성장단계에서 3회 수확한 후 세포수를 이용하여 검량선을 제작함으로써 검량선 오차를 줄였다. 하지만 세포수를 이용한 검량선의 경우 양성 대조구의 DNA가 plasmid DNA만큼은 안정적이지 않아서 검량선을 자주 새로 제작해야하는 번거로움이 있다.

본 연구에서는 같은 시료를 가지고 qPCR과 현미경으로 결과 값을 비교하지는 않았다. 이유는 본 연구의 목적이 극미량의 적조생물을 조기에 검출하는데 있기 때문에 세포밀도 0.2 cells mL⁻¹ 이하에서만 qPCR을 분석하였다. 이러한 극미량 단계는 현미경으로 검경할 수 있는 한계를 벗어나기 때문에 현미경 검경으로는 거의 확인이 되지 않는다. 또한 *C. polykrikoides*이 저밀도로 출현하는 단계에서는 막 발아한 발아체이거나 형태적으로 변형된 경우가 많고, 형태적으로 유사한 와편모조류가 혼합 출현하는 경우도 있기 때문에 현

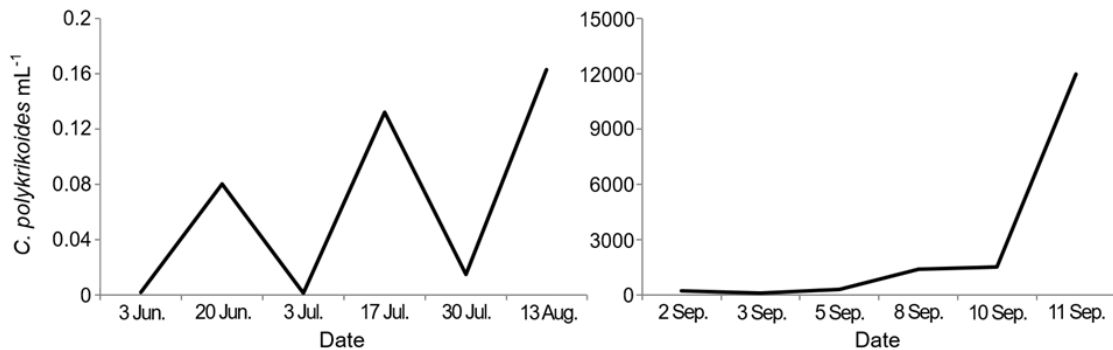


Fig. 2. Temporal changes of *C. polykrikoides* cell numbers in Namhaedo in June to September 2019 estimated by qPCR (left) and light microscopy (right). Maximum cell density was shown in each date. Red tide information of NIFS (<http://www.nifs.go.kr/redtideInfo>) was used for the data of light microscopy.

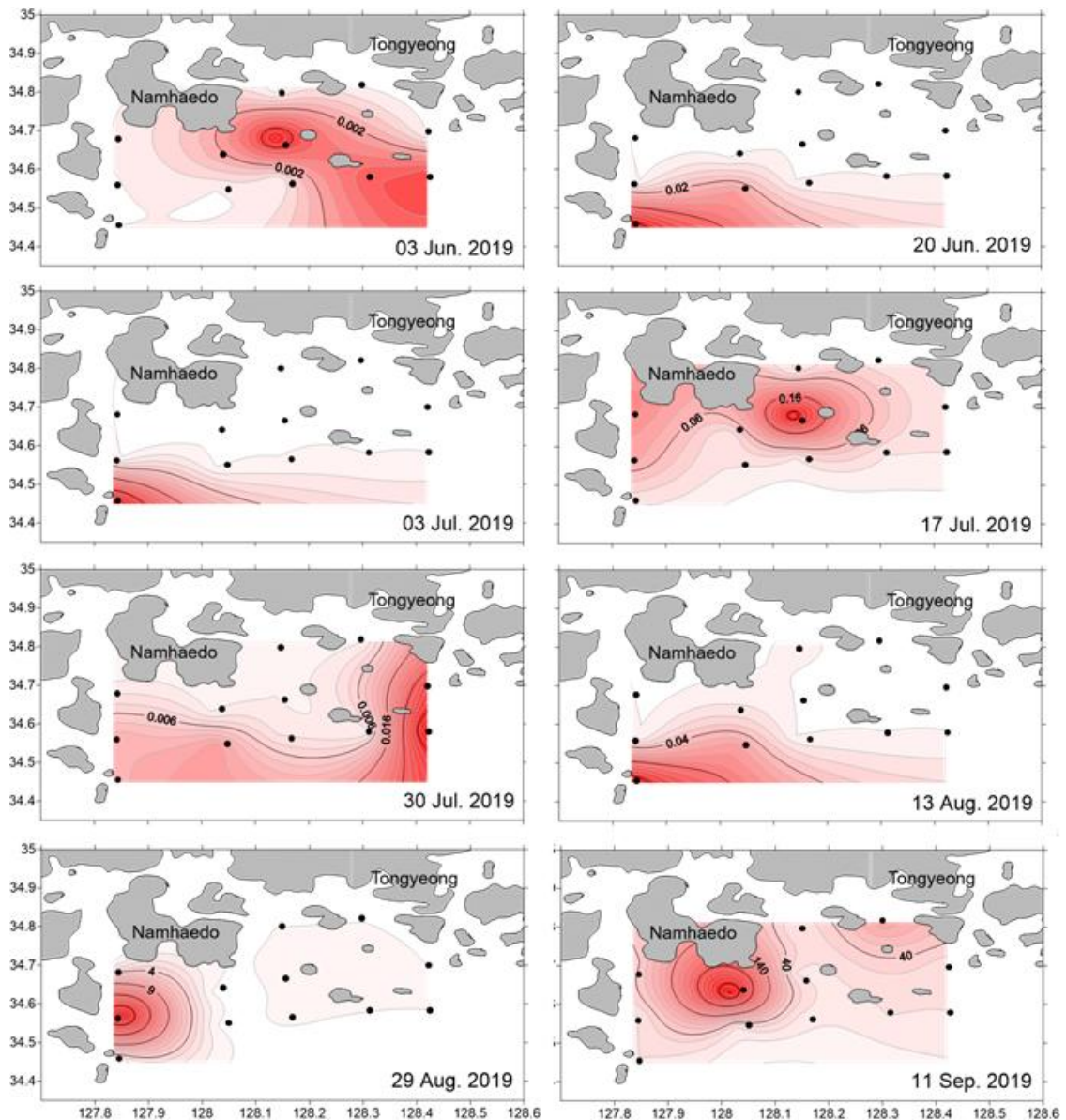


Fig. 3. Spatial and temporal distributions of *C. polykrikoides* in South Gyeongsang in June to September 2019. Cell numbers were estimated by qPCR (03 June to 13 August) and microscopy (29 August and 11 September).

미경으로 정확한 검정이 어려운 경우가 많다. qPCR 검출법과 현미경 검정법의 검출 정확도를 비교한 이전의 연구를 보면, *C. polykrikoides* 밀도가 높은 경우 비슷한 정확도를 보였다($R^2 = 0.75$, Park et al., 2016). 또한 qPCR 검출법이 저밀도와 편모조류를 정량검출하는데 여러 연구에서 유용하게 활용되고 있다(e.g. Bower et al., 2000; Handy et al., 2008; Park et al., 2009). 예를 들면, 퇴적물내와 편모조류 포자 분포조사를 위해 qPCR이 활용되고 있으며(Park and Park, 2010; Park et al., 2016), 형태적으로 유사한 종들과 식별, 유독/무독종을 식별, 또는 개체군 식별을 위한 목적으로도 활용되고 있다(Murray

et al., 2011; Park et al., 2014, 2018). 따라서 현미경으로 확인이 어려운 극미량의 *C. polykrikoides* 출현단계에서 qPCR이 정량검출을 위해 유용하게 활용될 수 있다.

8월 13일까지는 qPCR로 분석하였고, 세포수가 증가하는(1 cell⁻¹ 이상) 8월 20일 이후에는 현미경으로 분석한 결과를 비교해 보면(Fig. 3) qPCR로 검출된 시기에는 주로 남해도 해역에서 상대적으로 높게 검출되었고, 이후 현미경 검정에서도(Fig. 3의 8월 29, 9월 11일 그림) 남해도 해역에서 높게 출현하는 것을 알 수 있다. 또한 9월 2일 적조주의보가 최초발생한 해역도 남해도인 것을 알 수 있다(Table 4). 위 결과는

Quantitative real-time PCR (qPCR)을 이용하여 2019년 남해도 해역에서 발생한 *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) 적조의 조기검출

qPCR 검출법을 이용하면 적조가 처음 시작되는 해역을 조기에 파악할 수 있을 가능성을 보여준다. 하지만 본 연구의 결과는 조사횟수가 한정적이고, 2019년 한해만 비교하였기 때문에 최초 발생해역의 조기에보기술개발을 위해서는 장기 모니터링 결과 및 관련된 환경요인 연구가 향후 지속적으로 필요하다고 생각된다.

4. 결론

본 연구에서는 qPCR 검출법을 이용하면 적조가 처음 발생하는 해역을 조기에 파악할 가능성을 보여주고 있다. 하지만 qPCR 조기검출만으로 적조발생 여부 혹은 시기를 예측할 수 있는 것은 아니기 때문에 분자검출기법을 이용하여 저밀도 *C. polykrikoides* 출현시기에 대한 생태연구도 향후 필요하다고 사료된다.

사 사

이 논문은 2020년도 국립수산과학원 수산과학연구사업 (R2020028)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- [1] Bower, H. A., T. Tengs, H. B. Glasgow, J. M. Burkholder, P. A. Rublee, and D. W. Oldach(2000), Development of real-time PCR assays for rapid detection of *Pfiesteria piscicida* and related dinoflagellates. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 66, pp. 4641-4648.
- [2] Dittami, S. M. and B. Edcardsen(2013), Culture conditions influence cellular RNA content in ichthyotoxic flagellates of the genus *Pseudochattonella* (Dictyochophyceae). J. Phycol. Vol. 48, pp. 1050-1055.
- [3] Engesmo, A., D. Strand, S. Gran-Stadniczeňko, B. Edvardsen, L. K. Medlin, and W. Eikrem(2018), Development of a qPCR assay to detect and quantify ichthyotoxic flagellates along the Norwegian coast, and the first Norwegian record of *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae). Harmful Algae, Vol. 75, pp. 105-117.
- [4] Galluzzi, L., A. Penna, E. Bertozzini, M. Vila, E. Garcés, and M. Magnani(2004), Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Alexandrium minutum* (a dinoflagellate). Appl. Environ. Microbiol., Vol. 70, pp. 1199-1206.
- [5] Galluzzi, L., E. Bertozzini, A. Penna, F. Perini, E. Garcés, and M. Magnani(2010), Analysis of rRNA gene content in the Mediterranean dinoflagellate *Alexandrium catenella* and *Alexandrium taylori*; implications for the quantitative real-time PCR based monitoring methods. J. Appl. Phycol., Vol. 22, pp. 1-9.
- [6] Handy, S. M., E. Demir, D. A. Hutchins, K. J. Portune, E. B. Whereat, C. Hare, J. Rose, M. Warner, M. Farestad, and S. C. Cary(2008), Using quantitative real-time PCR to study competition and community dynamics among Delaware Inland Bays harmful algae in field and laboratory studies. Harmful Algae, Vol. 7, pp. 599-613.
- [7] Hatfield, R. G., T. Bean, A. D. Turner, D. N. Lees, J. Lowther, A. Lewis, and C. Baker-Austin(2019), Development of a TaqMan qPCR assay for detection of *Alexandrium* spp. and application to harmful algal bloom monitoring. Toxicon: X, 100011.
- [8] Murray, S. A., M. Wiese, B. Stüken, R. Kellmann, G. Hallegraeff, and B. A. Neilan(2011), *sxtA*-based quantitative molecular assay to identify saxitoxin-producing harmful algal blooms in marine waters. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 77, pp. 7050-7057.
- [9] Park, B. S., J. H. Kim, J. H. Kim, S. H. Baek, and M. S. Han(2018), Intraspecific bloom succession in the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) extended the blooming period in Korean coastal waters in 2009. Harmful Algae, Vol. 60, pp. 36-44.
- [10] Park, B. S., P. Wang, J. H. Kim, J. H. Kim, C. J. Gobler, and M. S. Han(2014), Resolving the intra-specific succession within *Cochlodinium polykrikoides* populations in southern Korean coastal waters via use of quantitative PCR assays. Harmful Algae, Vol. 37, pp. 133-141.
- [11] Park, T. G., G. H. Park, Y. T. Park, Y. S. Kang, H. M. Bae, C. H. Kim, H. J. Jeong, and Y. Lee(2009), Identification of the dinoflagellate community during *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) blooms using amplified rDNA melting curve analysis and real-time PCR probes. Harmful Algae, Vol. 8, pp. 430-440.
- [12] Park, T. G., J. J. Kim, W. J. Kim, and K. M. Won(2016), Development of real-time RT-PCR for detecting viable *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) cysts in sediment. Harmful Algae, Vol. 60, pp. 36-44.

- [13] Park, T. G. and Y. T. Park(2010), Detection of *Cochlodinium polykrikoides* and *Gymnodinium impudicum* (Dinophyceae) in sediment samples from Korea using real-time PCR. Harmful Algae, Vol. 9, pp. 59-65.
- [14] Park, T. G., W. A. Lim, Y. T. Park, C. K. Lee, and H. J. Jeong(2013), Economic impact, management and mitigation of red tides in Korea. Harmful Algae, Vol. 30S, pp. 131-143.

Received : 2020. 08. 13.

Revised : 2020. 09. 21.

Accepted : 2020. 10. 28.