



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

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

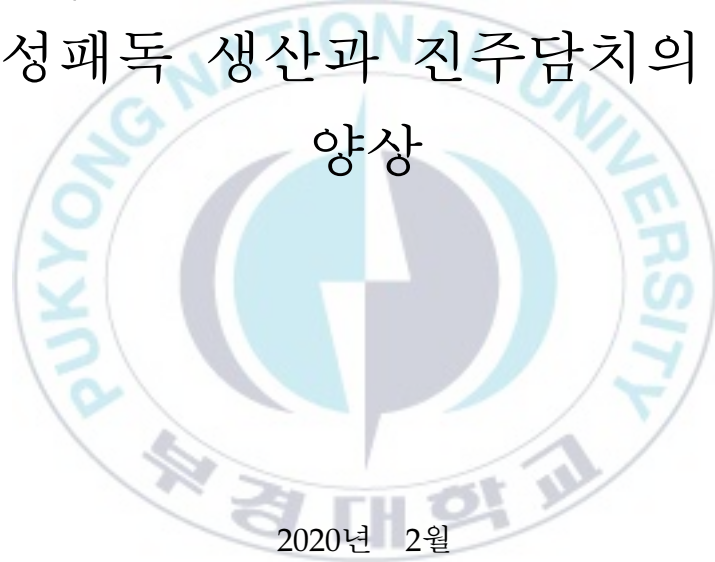
저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

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

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

한국 남해 연안에서 분리한
*Alexandrium catenella*와 *A.*
*pacificum*의 환경변화에 따른
마비성패독 생산과 진주담치의 독화
양상



2020년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 학 과

남 기 택

이 학 석 사 학 위 논 문

한국 남해 연안에서 분리한
*Alexandrium catenella*와 *A.*
*pacificum*의 환경변화에 따른
마비성패독 생산과 진주담치의 독화
양상

지도교수 오 석 진

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2020년 02월

부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 학 과

남 기 택

남기택의 이학석사 학위논문을 인준함.

2020년 2월 21일



주 심 이 학 박 사 김 태 진 (인)

위 원 이 학 박 사 김 선 주 (인)

위 원 이 학 박 사 오 석 진 (인)

목 차

List of Tables	iv
List of Figures	V
Abstract	ix
I . 서론	1
II . 재료 및 방법	8
2-1 <i>Alexandrium</i> 속의 세포배양 및 성장속도	8
2-1-1 <i>Alexandrium</i> 속의 배양 및 무균화 작업	8
2-2 실내 배양실험	10
2-2-1 수온 및 염분 변화에 따른 <i>Alexandrium</i> 속의 성장 및 독성에 미치는 영향	10
2-2-2 조도 및 과장 변화에 따른 <i>Alexandrium</i> 속의 성장 및 독성에 미치는 영향	12
2-2-3 과장변화에 따른 <i>Alexandrium catenella</i> 의 단백질 변화	14
2-2-4 각 과장별 암모니아 농도에 따른 <i>Alexandrium</i> <i>catenella</i> 의 성장 및 독성변화	16
2-3 <i>Alexandrium</i> 속의 독함량 및 독성 측정	17
2-3-1 <i>Alexandrium</i> 속의 마비성패독 분석	17
2-3-2 <i>Alexandrium catenella</i> 의 성장단계에 따른 독성변화	23

2-4 거제도 해역의 담치류의 마비성패류 독화 발생 조사	24
2-4-1 진주담치(<i>Mytilus edulis</i>)와 식물플랑크톤 채집 및 동정	24
2-4-2 시간경과에 따른 진주담치의 독성 변화	26
2-4-3 2018, 2019년 춘계 수온, 염분, 영양염 분석	28
2-4-4 전처리 및 HPLC분석	30
Ⅲ. 결과 및 고찰	32
3-1 <i>Alexandrium</i> 속의 독조성	32
3-2 환경변화에 따른 <i>Alexandrium</i> 속의 성장 및 독성변화	35
3-2-1 수온 및 염분변화에 따른 <i>A. catenella</i> 와 <i>A. pacificum</i> 의 성장속도 및 독성변화	35
3-2-2 조도 및 과장변화에 따른 <i>A. catenella</i> 와 <i>A. pacificum</i> 의 성장속도 및 독성변화	51
3-2-3 과장변화에 따른 <i>A. catenella</i> 의 단백질변화 및 각 과장별 암모니아 농도에 따른 독성변화	64
3-3 거제도 연안에서 채취한 진주담치의 시간경과에 따른 독성변화 실험	69
3-4 거제도 연안에서 채취한 진주담치의 마비성패독 독화 양상	72
Ⅳ. 결론	82
Ⅴ. 참고문헌	85

VI. 감사의 글 100



List of Tables

Table. 1. Operating conditions for HPLC analysis of PSP toxins.	19
Table. 2. Toxicity Equivalent Factors (TEFs) used to convert toxin contents in to toxicity.	22
Table. 3. Shell length, width and height of <i>Mytilus edulis</i>	27
Table. 4. Toxin contents and composition of various <i>Alexandrium</i> genus.	34
Table. 5. Comparison of Growth rate of <i>A. catenella</i> and <i>A. pacificum</i> at various irradiance under different wavelengths. (irradiance unit: μmol $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	59

List of Figures

Fig. 1. Effect on Paralytic Shellfish Poisoning(PSP) production from Environmental Changes.	7
Fig. 2. The Red, Blue and Green LED used in experiment.	15
Fig. 3. Pre-treatment of <i>Alexandrium catenella</i> and <i>A. pacificum</i> cells for PSP toxin analysis.	18
Fig. 4. High performance liquid chromatography using post-column oxidation method(AOAC, 2011) for paralytic shellfish poisoning(PSP) analysis.	20
Fig. 5. HPLC Chromatogram for <i>A. catenella</i> KNU-YS-01. Standard means standard toxin and Control, Blue, Green and Red mean toxin contents of <i>A. catenella</i> grown at respective wavelengths.	21
Fig. 6. Sampling stations of mussels in gwanpo-port in Geoje, Korea ...	25
Fig. 7. Pre-treatment of mussels for PSP toxin analysis	31
Fig. 8. Growth curves of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various water temperature.	40
Fig. 9. Growth rate of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various water temperature.	41
Fig. 10. Toxin contents of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various water temperature.	42
Fig. 11. Toxicity of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various water temperature.	43

Fig. 12. Toxic profile of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various water temperature.	44
Fig. 13. Growth curves of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various salinity.	45
Fig. 14. Growth rate of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various salinity.	46
Fig. 15. Toxin contents of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various salinity.	47
Fig. 16. Toxicity of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various salinity.	48
Fig. 17. Toxic profile of <i>A. catenella</i> (a) and <i>A. pacificum</i> (b) at various salinity.	49
Fig. 18. Toxin contents variation of <i>A. catenella</i> by salinity shock	50
Fig. 19. Growth curves of <i>Alexandrium catenella</i> at various irradiance under different wavelengths.	57
Fig. 20. Growth curves of <i>Alexandrium pacificum</i> at various irradiance under different wavelengths.	58
Fig. 21. Relationship between irradiance and growth rate of <i>A. catenella</i> under different wavelengths. μ_{max} : maximum growth rate K_s : Half-saturated light.	60
Fig. 22. Relationship between irradiance and growth rate of <i>A. pacificum</i> under different wavelengths. μ_{max} : maximum growth rate K_s : Half-saturated light.	61
Fig. 23. Changes in toxin contents and toxicity of <i>A. catenella</i> by irradiance with different wavelengths.	62

Fig. 24. Changes in toxin contents and toxicity of <i>A. pacificum</i> by irradiance with different wavelengths.	63
Fig. 25. The pathways of paralytic shellfish toxin (PST) formation.	66
Fig. 26. Protein contents of <i>A. catenella</i> under different wavelengths.	67
Fig. 27. Toxin contents and toxicity of <i>A. catenella</i> by ammonium concentration (1, 10 μ M) with different wavelengths.	68
Fig. 28. Changes in the PSP toxin content of <i>Mytilus</i> (rectangular bar) and the cell density of <i>A. catenella</i> (line with square) as a function of culture age.	71
Fig. 29. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 0 m area from march to June in 2018.	75
Fig. 30. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 5 m area from march to June in 2018.	76
Fig. 31. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of B-1 m area from march to June in 2018.	77
Fig. 32. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 0 m area from march to June in 2019.	78
Fig. 33. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 5 m area from march to June in 2019.	79
Fig. 34. Temperature, salinity, DIN, IP, DIN:DIP and cell density changes	

in Geo-je of B-1 m area from march to June in 2019.
..... 80

Fig. 35. Toxicity changes in Geo-je area from march to June in 2018(a),
2019(b) 81



**Effects of environmental factors on PSP production of the dinoflagellates
Alexandrium catenella and *A. pacificum* and intoxication of wild mussels
(*Mytilus edulis*) in the South Sea of Korea**

Ki Taek Nam

Department of Oceanography, The Graduate School,
Pukyong National University

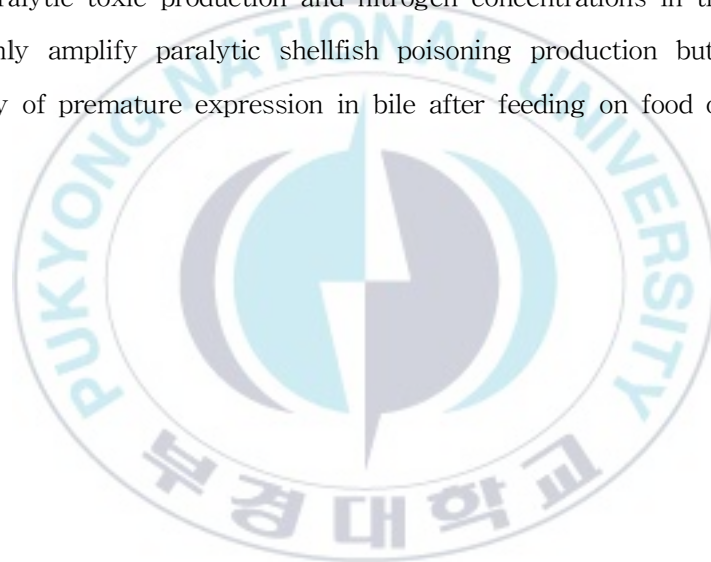
Abstract

Experiments on the growth and toxicity of *A. catenella* and *A. pacificum* a representative causative species of paralytic shellfish poisoning in Korea, were conducted. Toxicity changes due to physical factors such as water temperature, salinity, light intensity and quality were carried out in the laboratory. Growth rate and toxicity change were examined under the following combination of temperature: 5, 10, 15, 20, 25 and 30°C, and salinity: 15, 20, 25, 30 and 35 psu. No growth was observed with a temperature of 10°C at *A. catenella* and 5°C and 3 0°C at *A. pacificum*. The optimal growth range of *A. catenella* and *A. pacificum* were 20-25°C in temperature. There was correlation with water temperature change except that *A. catenella* showed high toxicity at low water temperature (10-15°C) and *A. pacificum* showed high toxicity at 25°C. *A. catenella* and *A. pacificum* grow well in all salinity range and are euryhaline organism. There was no significant difference in the toxicity change according to the salinity change. In light intensity experiment, *A. catenella* decreased the toxicity as the light intensity increased and *A. pacificum* increased the toxin content as the light intensity increased. Light quality experiment was performed under fluorescent lamps, blue, green and red LEDs, Both *A. catenella* and *A. pacificum* showed the highest toxicity and toxicity in red wavelengths. Arginine, a precursor of paralytic toxic

poison, is an amino acid constituting protein, and indirectly inferred the concentration of arginine, a precursor of PSP, by measuring protein. As a result of the protein analysis according to the light quality change, the highest protein content was found in the red wavelength. Therefore, it can be inferred that the high arginine concentration in the red wavelength contributed to the production of paralytic shellfish toxins. In addition, these proteins are converted to the final product ammonium when the primary producer absorbs DIN (nitrate; $\text{NO}_3\text{-N}$, nitrite; $\text{NO}_2\text{-N}$, ammonium; $\text{NH}_4\text{-N}$) in the seawater, and is used for protein synthesis. Therefore, if the nitrogen content is high, there is a possibility of promoting paralytic shellfish poisoning production. In this study, the toxicity changes as ammonia concentrations at different wavelengths showed high toxicity at high nitrogen concentrations. Therefore, it is suggested that if artificial nitrogen is introduced into the sea area where paralytic shellfish poisoning occurs, such as dredging business or nitrogen fertilizer, it will promote PSP. Overall, *A. catenella* is considered to be a species that contributes to PSP generation because it is most toxic in the surface water temperature range in March when paralytic shellfish poisoning occurs in spring. In salinity, both species are euryhaline, and there is no significant difference in the toxicity change due to salinity change. Therefore, the effect of salinity change on the toxicity in the general Korean marine environment is considered to be insignificant. In addition, if the light intensity decreases over a long period of time, such as on a cloudy day, it may suggest the possibility of promoting paralytic shellfish poisoning. Although the light quality showed the highest toxicity in the red wavelength, in the general marine environment, red wavelengths are the most absorbing wavelengths in the ocean. Vertically shifted dinoflagellate may have minimal effect on the production of paralytic shellfish poisoning.

Experiments on the change of toxicity of mussels grown in near Gwanpo Port in Geoje Island began to feed as soon as the feed organisms were

administered. Toxicity began to increase after 3 days and peaked after 7 days. In addition, there is a positive correlation between the presence of *A. catenella* and the toxicity of mussels and the highest toxicity was found depending on the surrounding nitrogen concentration. In addition, with the increase in the amount of *A. catenella*, the toxicity of mussels increased immediately in 2018, but increased after a week in 2019. In conclusion, *A. catenella*, which is highly toxic at low water temperature, reached its highest level in March and May, but from May, the water temperature rose to 15°C or higher, indicating that its low toxin content did not affect paralytic toxic production and nitrogen concentrations in the surrounding ocean not only amplify paralytic shellfish poisoning production but also suggest the possibility of premature expression in bile after feeding on food organisms.



I. 서론

이때패류는 해수 중에서 부유하는 플랑크톤을 먹이로 하며, 다양한 플랑크톤 중에는 사람에게 피해를 주는 독생성 종이 있다. 만약 이때패류가 먹이형태로 섭식한 플랑크톤 중 유독플랑크톤이 있을 경우 체내에 독을 축적시키며 독화된다. 이러한 독화되어진 이때패류를 사람이 먹게 된다면, 패류중독 현상을 일으키며, 심하면 사망에 이르기도 한다. 이 중 마비성패독(Paralytic shellfish poisoning; PSP)은 연안환경에서 오래 동안 알려져 왔으며, 최초의 구조가 밝혀진 독성분은 saxitoxin이다. 화학적 구조는 1975년 x선 결정해석법으로 판별되었으며, 그 후 다수의 이성질체가 발견되어, 현재 30종 이상의 이성질체가 있는 것으로 알려져 있다. 통상 가열조리로 완전히 분해가 되지 않으며, 생체막의 전위의존성나트륨채널에 작용하여 나트륨이온의 유입을 단절시켜 독성을 유발시킨다. 증상발현은 원인패류를 섭취 후 대개 30분 이내에 시작되며, 입술, 잇몸, 혀, 얼굴 등의 저림 또는 화끈거림으로부터 목과 사지말단부의 감각 및 지각이상 등으로 진행되어 심한 경우는 보행장애, 언어장애 그리고 호흡마비를 일으켜 사망에 이르는 비교적 치명적인 독 중에 하나이다.

우리나라에서는 최근까지 PSP발생이 보고되고 있으며, 부산, 마산, 진해만을 중심으로 남해안 해역에 점차 확대되고 있는 실정이며, 이때패류의 독화에 의한 채취금지 및 출하정지가 매년 계속되어 독화의 강도가 점차 심해지고 있다. 우리나라에서 PSP에 의한 중독 사고는 1986년 부산 감천항에서 폐선 바닥에 붙어 있는 홍합을 먹고 11명의 PSP중독 환자가 발생하여 그 중 2명이 사망한 사고가 공식적으로는 보고되었다. 그 후 1996

년 경남 거제에서는 낚시꾼들이 방파제에 부착된 홍합을 조리하여 먹고 2명이 사망하고, 1명이 의식 불명이 된 사건이 발생하였다. 2019년에는 2월 25일에 창원시 인근해역의 담치류에서 43-54 µg/100g (PSP 허용기준치: 80 µg/100g)로 검출되었으며, 3월4일에 부산 가덕도 천성에서 PSP가 기준치 이하이지만, 검출되었다. 한편 PSP를 주로 유발시키는 원인종인 *Alexandrium* spp.는 1970년대에 주로 미국, 유럽, 일본 및 호주 등 대부분 북반구의 온대지역으로 한 출현보고가 우세하였으나(Dale and Yent, 1990; acobbe et al., 1996), 최근에는 태국, 베트남, 중국, 아프리카, 남미 등 전 세계에 출현하고 있다(Wang et al., 2005; Nguyen-Ngo, 2004; Anderson, 2009; Anderson et al., 2012). 국내 연안에서 *Alexandrium* 속의 최초 출현 보고는 1978년인 것으로 알려져 있으며(Cho, 1978), 약 20여종의 *Alexandrium* 속 중에서 우리나라에서는 *A. catenella*, *A. affine*, *A. insuetum*, *A. tamarense*, *A. minutum*, *A. fraterculus* 등 약 6여 종이 출현하는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1998; Shin et al., 2014). 2000년도 이후 *Alexandrium* spp.에 의한 대발생이 점차 증가하고 있는 추세이며, 특히 유독 와편모조류에 의한 마비성 패류 독화(Paralytic Shellfish Poisoning, PSP)는 전 세계적으로 인류 보건과 수산 조개류 양식업에 심각한 문제를 일으키고 있다. 우리나라에서는 대표적인 PSP 원인종은 *Alexandrium tamarense* (Lebor) Balech, *A. catenella* (Whedon et Kofoid) Balech 그리고 *Gymnodinium catenatum* (Graham) 이지만, *G. catenatum*에 의한 마비성패류독소 독화는 현재까지 보고가 된 적이 없으며, 대부분이 *A. tamarense*와 *A. catenella*가 원인종으로 보고되고 있다. 하지만, 최근 분자계통학적 데이터를 사용하여 확인된 한국의 *A. tamarense* 와 *A. catenella* 는 *A. catenella* 와 *A. pacificum* 으로 재지정되었다(Shin et al., 2017). 국내에서 1986년과 1996년에 각각 PSP 중독 사

고로 인한 인명피해가 공식적으로 보고되었으며(Chang *et al.* 1987; Lee *et al.* 1997), 진해만 일대와 부산 일원의 가덕도, 다대포 등 마비성 패류 독화에 대한 모니터링이 국립수산물과학원에 의하여 지속적으로 이루어지고 있다. 특히, 우리나라 서해와 남해에 광범위하게 분포 하고 있는 것으로 확인되었으며(Kim *et al.*,2002; Kim and Kim., 2004), 이들 종은 적조에 준하는 밀도로 성장하는 현상은 드물지만 낮은 개체군 밀도만으로도 이때패류를 독화시킬 수 있어 세심한 주의가 필요하다(Saka *et al.*, 1995).

한편, *Alexandrium* 속은 다른 식물플랑크톤처럼 조도(light intensity), 염분(salinity), 온도(temperature), 영양염(nutrient) 등 물리화학적 환경요소 변화에 의해 성장률 및 생산성이 결정되며, 이와 같은 요소들이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 알려져 있다(Cembella *et al.*, 1988; La barbera-Schantz *et al.*, 1993). 일부 환경요소는 독합량 혹은 독생산에 직접적인 영향을 주지만, 다른 요인들은 성장률에 영향을 주는 간접적인 효과를 준다(Fig. 1). 수온은 성장에 있어 효소활성에 관여하여 일반적으로 수온이 상승하면 세포활성도 증가에 따라 성장률이 증가한다고 알려져 있다(Epply, 1972; Goldman and Carpenter, 1974). 또한 수온이 낮을 때, 세포분열 속도가 낮아서 세포 당 독소농도의 증가에 기여한다고 알려져 있으며(Navarro *et al.*, 2006), 낮은 수온에서는 단백질 합성의 저하로 인하여 마비성패독의 선구물질인 아르기닌(Arginine)의 과잉(surplus)의 생산으로 인한 독소합성 증가로 이어진다고 한다(Anderson, 1990). 염분은 식물플랑크톤의 종마다 내성이 다르게 나타나며 내성 범위에 따라 넓은 범위의 염분변화를 견딜 수 있는 광염성과 염분 내성 범위가 매우 좁은 협염성으로 분류된다. 하지만 염분이 직접적으로 독성변화에 영향을 주지 않고 염분변화에 따른 성장률의 변화가 독성에 영향을 미친다고 알려져 있으며, 대체로 광염성 종인 *Alexandrium* 속은 염분변화에 따른 독성변화에 영향

은 적을 것으로 여겨진다. 또한 광은 광합성을 하는 식물플랑크톤의 성장에 있어 필수적인 요소이며, 광합성의 단계 중 명반응에서 ATP(adenosine triphosphate)와 NADH(nicotinamide adenine dinucleotide)를 합성하는데 물과 함께 필수적인 요인으로 작용한다. 해양에서 빛은 광합성 과정에서 독소 생합성 및 여러 생리학적 변화에 영향을 미칠 수 있기 때문에 중요한 요인으로 작용한다(Cembella, 1998). 플랑크톤, 부유물질, 수심 등에 따라 그 강도가 다양하게 나타나며 연안해역의 경우 부유물질의 농도 증가로 인해 빛의 공급을 제한시켜 식물플랑크톤의 현존량 및 성장속도에 영향을 미치기도 한다(Cloern, 1987). 또한, Ogata *et al.* 성장기동안 빛에 의한 스트레스는 성장과 독소생산을 방해한다고 하였다. 그리고 조도의 상승은 독소량을 증가시킨다는 보고도 있다(Mohamed Laabir *et al.*, 2013; Stacey M. Etheridge *et al.*, 2005). 따라서, 마비성 패독이 발생하는 해역에서 부유물질 또는 기상조건에 따라 패류독소에 변화에 기여할 가능성이 크다. 빛의 과장은 일차생산자의 생리적인 여건을 변화시킬 수 있기 때문에, 광합성 및 성장속도에 영향을 주어 궁극적으로 종천이 및 우점화에도 영향을 주고 있다. 식물플랑크톤은 해수에서 빛을 선택적으로 흡수하는데, 청색광(450-495 nm)은 물 분자에 의해 흡수되지 못하고 깊이 투과하며, 적색광(620-750 nm)은 표층으로부터 4 m 깊이에서 99%가 흡수되어 진다. 따라서, 식물플랑크톤은 수직이동(vertical migration)을 통하여 빛의 세기뿐만 아니라 빛의 파장 변화에 노출될 수 있다(Ronaldo leal carneiro *et al.*, 2009). 또한, 질소(N)와 인(P)도 *Alexandrium* 종의 독성에 영향을 미친다고 알려져 있으며, 질소가 부족하면 독소함량을 감소시키며, 인이 제한되면 세포당 독소함량을 증가시킨다(Boyer *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 1990a; Marsot, 1997; Matsuda *et al.*, 1996; Béchemin *et al.*, 1999; John and Flynn, 2000; Maestrini *et al.*, 2000; Etheridge and Roesler, 2005; Wang

and Hsieh, 2005). 따라서, 패독발생의 방지 및 예찰을 위해서라도 우리나라 해역에서 분리한 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 여러 가지 환경변수에 대한 생리적인 특성을 파악하는 것은 매우 중요하다.

부유물을 여과 섭취하는 조개류는 해양 미세조류로부터 유래된 여러 종류의 식물성 독소를 축적하여 상위 포식자로 전달하는 생물이며(Bricelj and Shumway 1998), 그들은 PSP 축적에 있어서도 동일한 종내(intraspecific) 또는 다른 종간(interspecific)에도 차이를 나타낸다(Cembella et al. 1993; Bricelj and Shumway 1998). 또한 조개류의 조직 내에는 그들이 섭취한 원인 생물에 비해 다른 독 조성을 나타내는 것으로 알려져 있으며(Oshima et al. 1976, 1990; Bricelj et al. 1990, 1991, 1996), 독소 및 독 생산 미세조류에 대한 노출이력은 조개류의 독소 축적에 영향을 줄 수 있는 것으로 보고된 바 있다(Twarog 1974; Shumway and Gucci 1987; Chebib et al. 1993). 따라서 선택된 조개 종에 대한 PSP 축적 정보를 얻는 것은 매우 중요하며, 얻어진 정보는 효율적인 PSP 모니터링 프로그램 수립과 양식 종 및 양식 적지의 선택에 있어 기초적인 자료로 이용될 수 있을 것이다. 조개류의 독성은 원인생물의 밀도, 세포의 독 생산능 및 조개류의 섭취율 등 다양한 환경 요인들에 따라 달라질 것으로 예상되며, 현장 조건에서 이런 다양한 영향을 평가하는 것은 매우 어려운 일이다. 일부 연구들은 조절된 조건에서 조개류 조직 내의 PSP 거동에 관하여 조사했으며(Sullivan 1982; Lassus et al. 1992), 조개류의 독성은 수중에 존재하는 와편모조류 세포수와 직접 연관된다고 보고하였다(Chebib et al. 1993; Bricelj and Shumway 1998). 그러나 와편모조류 세포가 가진 저독성의 성분들은 세균, 효소, 산 가수분해 및 자연적인 환원 작용 등에 의해 고독성의 성분으로 전환되기 때문에(Sullivan et al. 1983; Cembella et al. 1987; Lee et al. 1992; Bricelj and Shumway 1998), 조개류 조직 내에서 독소 전

환을 이해하는 것은 매우 중요하다. 본 연구에서 이용된 진주담치의 서식지인 거제도주변해역은 마비성패독이 자주 발생하는 곳이며, 굴, 어류, 우렁챙이 등의 다양한 수산생물이 양식되고 있다. 이 지역은 유해조류에 의한 대발생이 빈번하게 일어나 수산피해가 자주 발생하고 있으며, 따라서 거제도 해역의 해양환경 변화와 마비성패독간의 상관관계를 조사할 필요성이 있으며 향후 생태계 모델에 응용될 수 있는 기초자료가 될 수 있도록 하였다.

이에 본 연구에서는 다양한 환경조건에서 그 첫 번째 단계로 수온과 염분 그리고 조도 및 파장변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*에서의 성장의 변화 및 독성변화를 살펴보았으며 마비성패독 발생의 메커니즘을 이해하기 위하여 다음과 같은 연구 접근 방법에 따라 진행하였다.

첫째, 수온, 염분, 조도 및 파장의 물리적인 요인에 대한 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장 및 독성 특성을 파악하기 위하여 각각 실내 배양 실험을 진행하였다.

둘째, 각 파장변화에 따른 단백질 변화 및 암모니아 농도에 따른 *A. catenella*의 성장 및 독성 특성을 파악하였다.

셋째, 2018, 2019년 춘계 마비성패독이 발생한 거제도주변 해양환경과 마비성패독과의 상관관계를 조사하고 토의하였다.

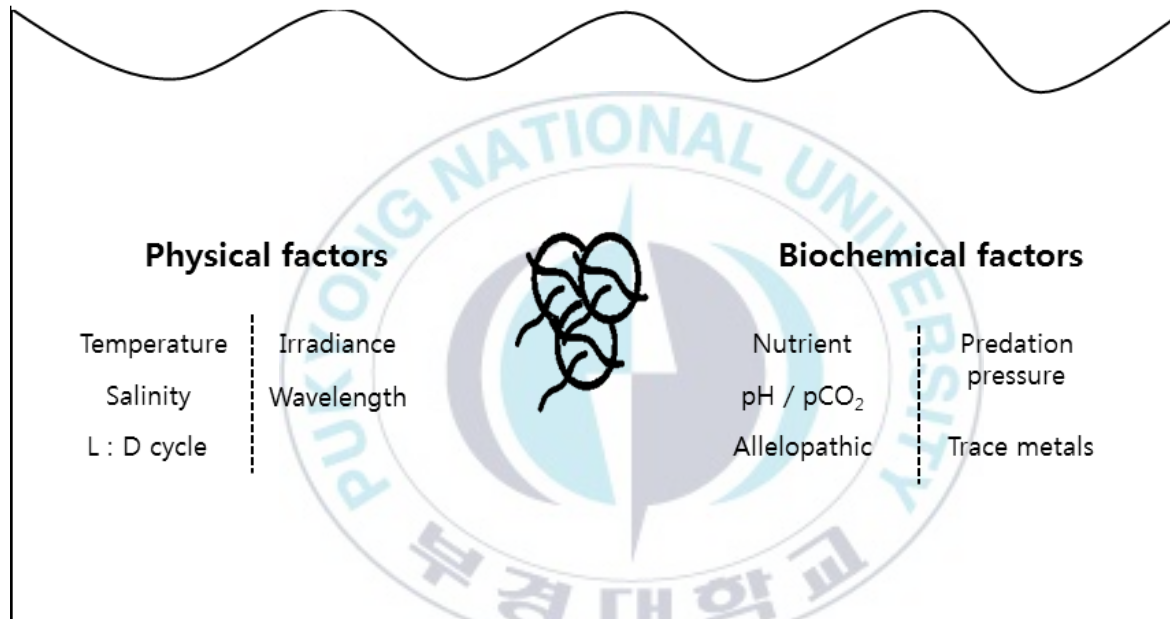


Fig. 1. Effect on Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) Production from environmental changes.

II. 재료 및 방법

2-1 *Alexandrium* 속의 세포배양 및 성장속도

2-1-1 *Alexandrium* 속의 배양 및 무균화 작업

실험에 사용된 *Alexandrium catenella* (KNU-YS-01), *Alexandrium pacificum* (LIMS-PS-2729)는 각각 부산 국립수산과학원 및 한국해양과학기술원 해양시료도서관에서 분양받아 실험에 이용하였다. 배양에 사용된 배지는 남해 외양수를 바탕으로 한 f/2(without silicate, Guillard and Ryther, 1962) 배지이며, selenium(H_2SeO_3) 최종농도를 $0.001 \mu\text{M}$ 이 되도록 첨가하여 사용하였다. 배양 시 수온과 염분은 20°C , 30 psu였으며, 광량은 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (L:D = 12L : 12D ; Cool-white fluorescent lamp)으로 조절하였다. 실험에 사용된 기구는 2차적인 생물학적 오염을 차단하기 위해 고온·고압·멸균(120°C , 202 kpa, 30 min)후 사용하였으며, 모든 실험은 clean bench에서 수행되었다.

실험에 이용된 *A. catenella*와 *A. pacificum*은 AM9법(Provasoli et al., 1959)으로 무균화 처리 하였다. AM9 혼합액은 dkhydrostreptomyci sulfate(5 mg mL^{-1}), potassium penicillin G(3.5 mg mL^{-1}), polymyxin B sulfate(0.194 mg mL^{-1}), tetracycline(0.5 mg mL^{-1}), chloramphenicol(0.05 mg mL^{-1}), neomycin sulfate(0.25 mg mL^{-1})의 6가지 항생물질을 혼합하여 조제하였다. 24 well plate에 조제한 AM9 혼합액과 배양중의 세포액을 각각 0.05:0.95, 0.1:0.9, 0.2:0.8, 0.3:0.7, 0.4:0.6, 0.5:0.5의 비율로 첨가 후 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 현미경 하에서 접종 세포의 생존 여부를 확인하고 *A. catenella*는 0.2:0.8의 비율, *A. pacificum*은 0.05:0.95의 비율로

항생 처리한 세포액을 f/2(without silicate) 배지에 접종하였다. 또한 2차적인 오염을 막기 위해 모든 실험은 clean bench에서 수행하였으며, 실험기구는 고온·고압·멸균(120℃, 202 kpa, 30 min)하여 사용하였다.



2-2 실내 배양실험

2-2-1 수온 및 염분 변화에 따른 *Alexandrium* 속의 성장 및 독성에 미치는 영향

수온과 염분에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장 및 독성변화 특성을 파악하기 위해서 대수 성장기 후기 세포를 배양 플라스크에 접종하여 염분 30 psu 조건 하에서 배양 온도 5, 10, 15, 20, 25, 30°C의 6단계, 배양 온도 20°C 조건 하에서 염분 15, 20, 25, 30, 35 psu 5단계에서 성장속도를 관찰하였다. 염분 조절은 배지 조제에 사용된 남해 외양수가 약 34 psu이기 때문에 15~30 psu는 이온교환수를 사용하여 조절하였으며, 35 psu는 자연 증발시켜 사용하였다. 염분 변화에 따른 영향을 최대한 배제하기 위해 수온 20°C, 염분 30 psu 그리고 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에 사전배양(pre-culture)을 한 후 대수성장기(exponential growth phase)의 세포를 염분 25, 35 psu의 배지에 이식하여 배양하였다. 그리고 25 psu 배지의 세포가 대수성장기에 있을 때 다시 20 psu로 이식하였으며, 20 psu 배지의 대수성장기 후기의 세포를 다시 15 psu로 이식하여 염분변화에 따른 영향을 최대한 줄였다. 수온은 20°C의 배양된 세포를 하루에 1°C씩 온도를 증감하여 각각의 온도단계에 도달시켰다. 각각의 수온과 염분 단계에 적응이 된 세포를 300 ml 배양플라스크에 f/2 배지를 150 ml를 주입한 후 최종 세포 밀도가 약 $3 \times 10^2 \text{ cell ml}^{-1}$ 이 되도록 접종하였다. 그 후, 이틀간격으로 9 ml 배양튜브(DH. TT10100, DAIHAN, Won-ju)에 5 ml씩 플라스크로부터 주입한 후 오전 10시에 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였다. 세포의 성장속도(growth rate; μ)는 대수생장을 보이는 기간 동안의 형광 값을 이용하여 다음 식 (1)에 의해 계산하였다.

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

N_0 : 대수성장기에서 초기의 세포수(cells mL⁻¹)

N_t : 대수성장기에서 t시간 후의 세포수(cells mL⁻¹)

Δt : 대수성장기의 기간(day)



2-2-2 조도 및 파장 변화에 따른 *Alexandrium* 속의 성장 및 독성에 미치는 영향

광량에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장특성을 파악하기 위해 수온 20°C, 염분 30 psu 그리고 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 광량에 사전배양을 한 후 대수성장기(exponential growth phase) 중기의 세포를 광 조건 10, 30, 50, 75, 100, 150, 200 그리고 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 총 8단계로 배양 튜브(DH. TT10100, DAIHAN, Won-ju)에 세포수가 약 100 cells mL⁻¹이 되도록 첨가하였다. 세포 밀도의 측정은 이틀 간격으로 매일 같은 시간에 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였다. 세포의 성장속도(growth rate; μ)는 대수성장(exponential growth)을 보이는 기간 동안의 형광값을 이용하여 수온과 염분에 따른 성장 실험과 같은 방법으로 식(1)을 이용하여 계산하였다. 광 조건 실험은 triplicate로 수행하였으며, 성장속도는 이들의 평균값으로 나타났다. 단, 오류로 판명된 값은 제외하여 계산하였다. 성장속도와 광량의 관계는 Lederman and Tett(1981)의 모델을 개량한 다음 식(2)을 이용하여 계산하였다.

$$\mu = \mu_m \frac{I - I_0}{(K_I - I_0) + (I - I_0)} \quad (2)$$

μ : 상대성장속도(specific growth rate; day⁻¹)

μ_m : 최대성장속도(maximum specific growth rate; day⁻¹)

I : 광량(irradiance; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

I_0 : 보상광량(compensation photon flux density(PFD); $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

K_I : 반포화광량(half-saturation light intensity; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

과장에 따른 *A. catenella*, *A. pacificum*의 성장특성을 파악하기 위해서 각각의 미세조류를 수온 20°C 염분 30 psu, 광량 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12L: 12D; cool-white fluorescent lamp)에서 대수성장 중기까지 성장시킨 후 배양 튜브(DH. TT10100, DAIHAN, Won-ju)에 5 mL 주입한 후 세포수가 약 100 cells mL^{-1} 이 되도록 첨가하였다. 과장의 광원은 복수과장으로 형광램프(fluorescent lamp)를 이용하였으며, 단일과장은 청색 LED(450 nm), 녹색 LED(525 nm) 그리고 적색 LED(650 nm)를 이용하였다. 수온 20°C, 염분 30 psu, 광량 10, 30, 50, 75, 100, 150, 200, 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 수행되었으며 접종 직후를 포함하여 이틀 간격으로 동일한 시간에 *in vivo* chlorophyll 형광값을 측정하였고, 성장속도는 광량에 따른 성장 실험과 같은 방법에 의해 계산하였다. 과장 실험은 triplicate로 수행하였으며, 성장속도는 이들의 평균값으로 나타냈다. 단, 오류로 판명된 값은 제외하여 계산하였다.

과장에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 독성분석을 파악하기 위해서 미세조류를 수온 20°C 염분 30 psu, 광량 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12L: 12D; cool-white fluorescent lamp)에서 대수성장 중기까지 성장시킨 후 200 mL 배양플라스크에 부산 청사포에서 채수한 해수를 바탕으로 한 f/2 배지를 100 mL를 주입한 후 최종 세포밀도가 약 2.0×10^2 cells mL^{-1} 이 되도록 첨가하였다. 과장의 광원은 복수과장으로 형광램프(fluorescent lamp)를 이용하였으며, 단일과장은 청색 LED(450 nm), 녹색 LED(525 nm) 그리고 적색 LED(650 nm)를 이용하였다. 수온 20°C, 염분 30 psu, 광량 50, 100, 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 수행되었으며 대수성장기 후기의 세포를 수확하여 분석하였다.

2-2-3 파장변화에 따른 *Alexandrium catenella*의 단백질 변화

파장변화에 따른 *Alexandrium catenella*에서의 단백질 함량변화를 알아보기 위하여 파장의 광원은 복수파장으로 형광램프(fluorescent lamp)를 이용하였으며, 단일파장은 청색 LED(450 nm), 녹색 LED(525 nm) 그리고 적색 LED(650 nm)를 이용하였다(Fig. 2). 사용된 배지는 남해에서 채수한 외양수를 바탕으로 한 개량형 f/2(without silicate)배지로, 배양플라스크 500 ml에 350 ml를 주입한 후, 최종 세포밀도가 약 3×10^2 cells mL⁻¹이 되도록 접종하였다. *A. catenella*를 전술한 파장에서 수온 20°C, 염분 30 psu 그리고 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광조건에서 전 배양(preculture)을 거친 후, 세포내 함유하고 있는 단백질을 분석하였다. 단백질은 Lowry et al., (1951)의 방법으로 분석하였으며, Protein standard solution을 이용하여 표준용액을 조제하고, 혼합시약인 alkaline copper solution 5 ml를 첨가하여 균질하게 혼합하였다. 10분방치 후 단백질을 추출한 뒤, folin ciocalteu로 1시간 30분간 방치하고 균질 혼합하였다. 3000 rpm에서 10분간 원심 분리시킨 후, UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 농도를 구하였다.

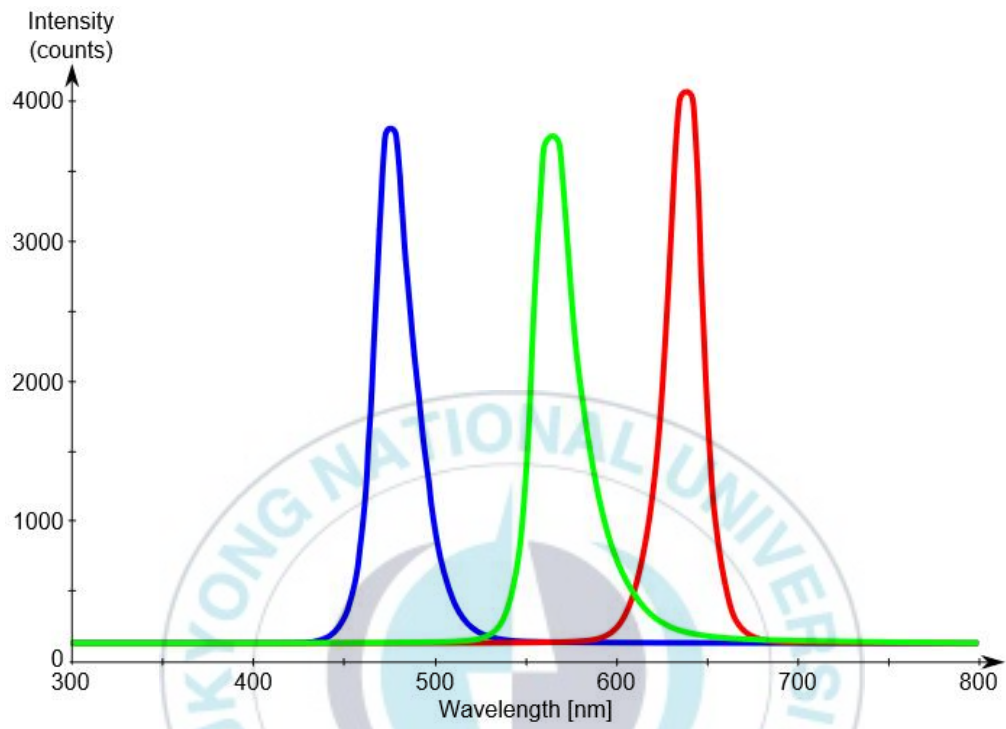


Fig. 2. The Red, Blue and Green LED used in experiment.

2-2-4 각 과장별 암모니아 농도에 따른 *Alexandrium catenella*의 성장 및 독성변화

각 과장별 암모니아 농도에 따른 *A. catenella*에서의 성장 및 독성변화를 알아보기 위하여 정지 배양(batch culture)상태에서 실험을 실시하였다. 배양에 사용된 배지는 AK 인공해수를 바탕으로 한 L1 배지를 사용하였으며, 질소원을 각 과장별로 1, 10 μM 의 2단계 농도로 조제하였다. 배양은 수온 20°C, 염분 30 psu 그리고 광량은 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12L : 12D cycle) 하에서 실시하였다. 이후 300 ml 배양플라스크에 암모니아 화합물이 첨가된 배지 150 mL에 세포를 약 $2.0 \times 10^2 \text{ cells mL}^{-1}$ 가 되도록 접종하였다. 측정 방법은 이전에 수행한 성장속도 실험과 동일한 방법으로 진행하였다. 모든 실험은 duplicate로 수행하였으며, 성장 속도는 평균값으로 나타내었으며, 명백히 오류로 판단된 값은 평균시 제외하였다.

2-3 *Alexandrium* 속의 독함량 및 독성 측정

2-3-1. *Alexandrium* 속의 마비성패독 분석

마비성패독(PSP)을 분석하기 위한 시료의 전처리는 대수생장기 후기의 *A. catenella* 와 *A. pacificum*를 반복 계수한 후, 배지 성분 제거를 위하여 원심 분리(3,000×g, 10 min)하여 상등액을 제거하고 증류수로 세척한 뒤 재차 원심분리(3,000×g, 10 min)하였다. 이 과정을 2회 반복 하여 모은 세포 pellet에 0.5 N Acetic acid를 첨가하고, -20℃에 24시간 냉동보관 후 초음파 파쇄기(POWERSONIC420, Korea)를 이용하여 약 15초 간격으로 3회에 걸쳐 파쇄한 후, 원심분리(10,000×g, 10 min)하여 상등액을 분취하였다. 분취한 상등액을 한외여과기(Ultrafree-MC; M. W., 10,000, Millipore, Massachusetts)에 넣어 원심분리(8,000×g, 10 min) 후, 얻어진 여과 시료를 마비성 패독 분석 전까지 -20℃에 보관하였다(Fig. 3).

마비성 패독 분석을 위한 기기의 조건은 Table 1에 나타내었다. PSP의 분석은 Oshima (1995)의 방법에 따라 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)를 사용하여 분석하였으며(Fig. 4), 역상계 컬럼(Hypersil GOLD C8 column; 250 mm×4.6 mm; Thermo Scientific, Massachusetts)으로 각 성분을 분리한 후, periodic acid로 산화시켜 형광 유도체를 만든 다음 형광검출기로 분석하는 post-column 법을 이용하였다. 분석에 사용된 표준독소는 National Research Council Institute for Marine Biosciences (Halifax, NS, Canada)로 분석된 시료의 독함량(Toxin contents)은 표준독소와의 상대 면적비로부터 계산하였으며(Fig. 5), 독성(Toxicity)은 Oshima (1995)의 독성등가치수(Toxicity Equivalency Factors)를 이용하여 각 이성질체들의 고유한 값과 독함량의 곱으로부터 도출되었다(Table. 2).

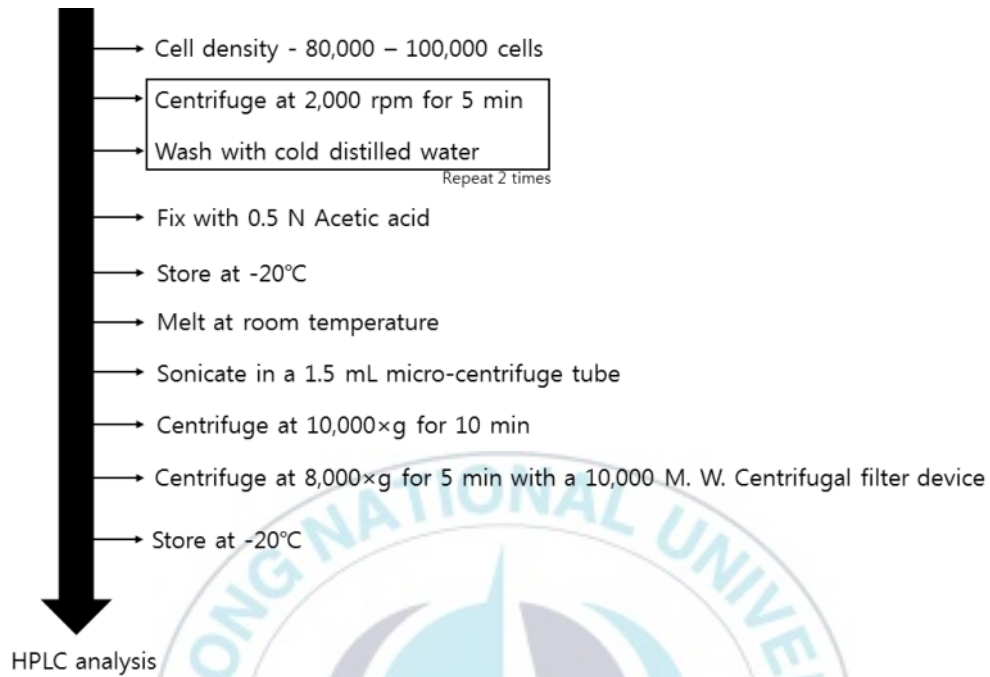


Fig. 3. pre-treatment of *Alexandrium catenella* and *A. pacificum* cells for PSP toxin analysis.

Table 1. Operating conditions for HPLC analysis of PSP toxins.

Column	Hypersil GOLD C8 column; 250 mm×4.6 mm; Thermo Scientific, Massachusetts
Mobile phases	Flow rate at 0.8 mL · min ⁻¹
(a) C1-C4	1 mM Tetrabutyl ammonium phosphate, pH 5.8 by acetic acid
(b) STX	2 mM sodium 1-heptanesulfonate in 30 mM ammonium phosphate, pH 7.1 : acetonitrile = 100 : 6
(c) GTXs	2 mM Sodium 1-heptanesulfonate in 10 mM ammonium phosphate, pH 7.1
Post column	Flow rate 0.4 mL · min ⁻¹
Reaction reagent	
Oxidizing reagent	7 mM Periodic acid in 50 mM potassium phosphate buffer, pH 9.0
Acidifying reagent	0.5M Acetic acid
Reaction	10 m Teflon tubing (0.5 mm id) at 80°C in air
Detection	Excitation : Emission wavelength = 330 : 390 nm

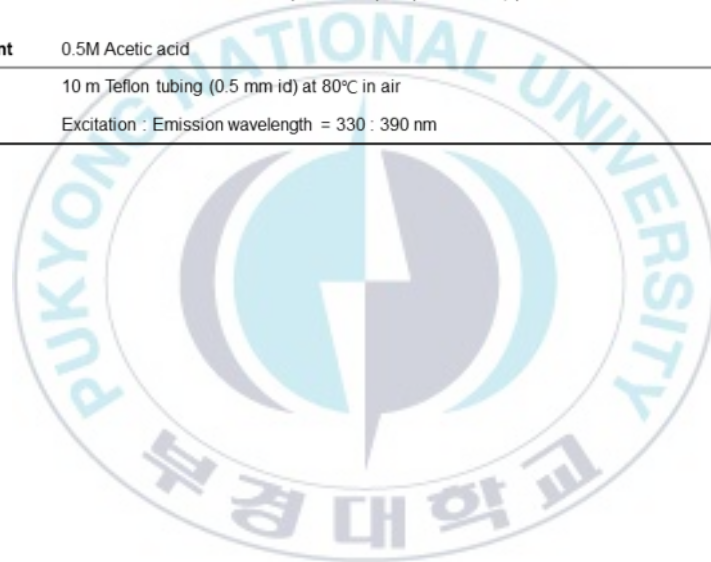
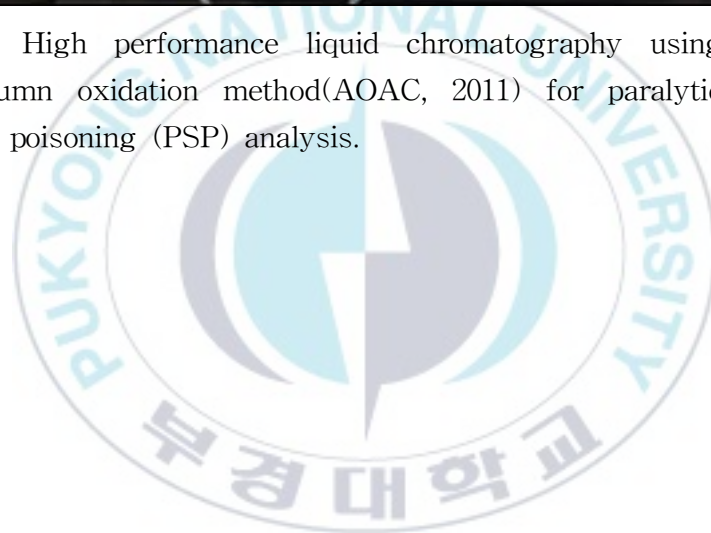




Fig. 4. High performance liquid chromatography using post-column oxidation method(AOAC, 2011) for paralytic shellfish poisoning (PSP) analysis.



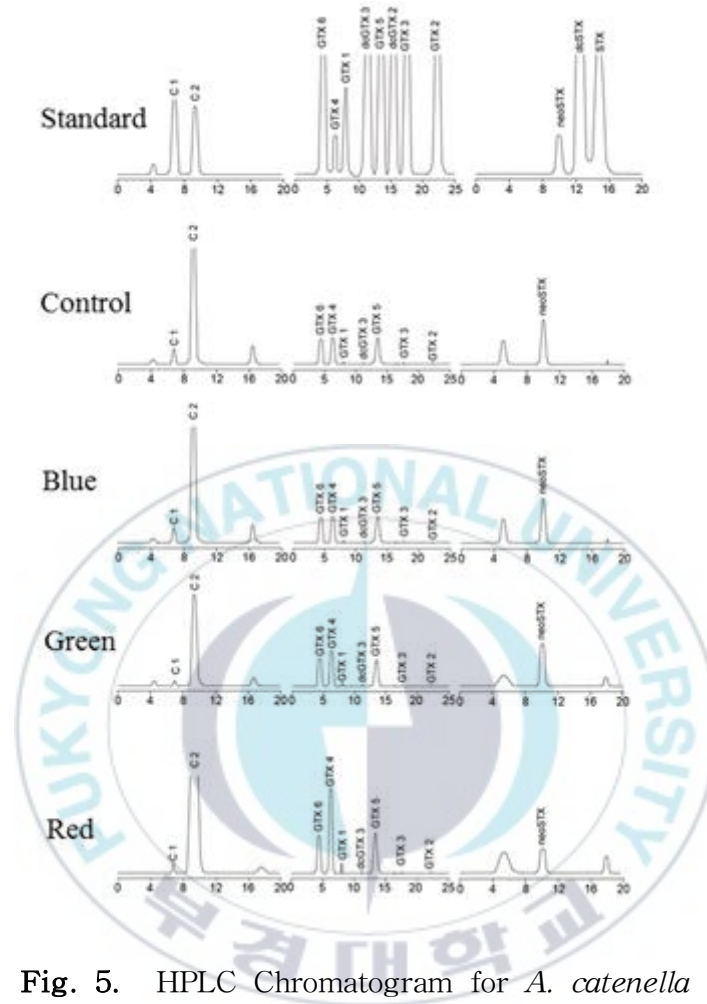


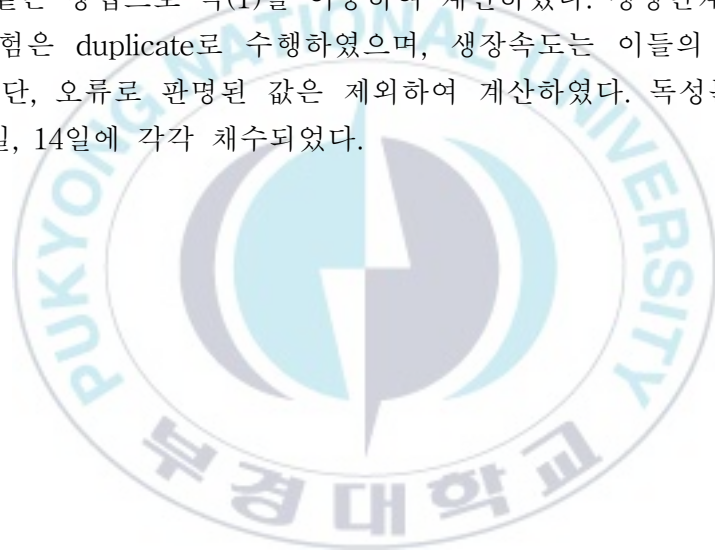
Fig. 5. HPLC Chromatogram for *A. catenella* KNU-YS-01. Standard means standard toxin and Control, Blue, Green and Red mean toxin contents of *A. catenella* grown at respective wavelengths.

Table 2. Toxicity Equivalent Factors (TEFs) used to convert toxin contents in to toxicity.

Toxin	Toxicity equivalent factors (TEFs)
C1	0.01
C2	0.1
C3	0.02
C4	0.1
dcGTX2	0.2
dcGTX3	0.4
dcGTX1	0.5
dcGTX4	0.5
GTX2	0.4
GTX3	0.6
GTX1	1
GTX4	0.7
GTX5	0.1
GTX6	0.1
dcNEO	0.4
STX	1
Neo-STX	1

2-3-2 *Alexandrium catenella*의 성장단계에 따른 독성변화

*Alexandrium catenella*의 성장단계에 따른 독성변화를 알아보기 위하여 광원은 복수과장으로 형광램프(fluorescent lamp)를 이용하였으며, 각각의 세포를 최적수온과 염분에 상응하는 조건(20°C, 30 psu)으로 광량은 $200\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 조건에서 수행하였다. 사용된 배지는 남해에서 채수한 외양수를 바탕으로 한 개량형 f/2(without silicate)배지로, 2L 배양플라스크에 1L의 배지를 주입한 후, 최종 세포밀도가 약 $5.0 \times 10^2 \text{ cells mL}^{-1}$ 가 되도록 접종하였다. 세포 밀도의 측정은 이틀 간격으로 매일 같은 시간에 *in vivo* chlorophyll 형광 값을 측정하였으며, 성장속도는 수온과 염분에 따른 성장실험과 같은 방법으로 식(1)을 이용하여 계산하였다. 성장단계에 따른 독성변화 실험은 duplicate로 수행하였으며, 성장속도는 이들의 평균값으로 나타냈다. 단, 오류로 판명된 값은 제외하여 계산하였다. 독성분석을 위하여 2일, 8일, 14일에 각각 채수되었다.



2-4 거제도 해역의 담치류의 마비성 패류 독화 발생 조사

2-4-1 진주담치(*Mytilus edulis*)와 식물플랑크톤 채집 및 동정

본 실험은 경상남도 거제시 관포항 인근해역에서 자란 자연산 진주담치를 시험생물로 사용하였다(Fig. 6). 실험 전 진주담치의 크기 및 습중량 측정을 통해 일정한 크기의 개체를 확보하였다. 진주담치시료는 2018년과 2019년도 3월부터 6월까지 채집 하였고, 3월에는 약 주 2회, 4월과 5월에는 주 1회, 6월에는 주 1회 채집하였다. 담치류는 저온(10℃)을 유지한 채 실험실로 운반하였다.

식물플랑크 채집은 진주담치시료와 동일한 날짜에 채집하였으며, 난센채수기로 표층과 중층 저층의 해수를 각각 1 L씩 정량채수 후 망목 125 µm와 20 µm의 채로 여과 농축하여 폴리에틸렌 용기 (50 mL)에 넣고 루골 용액으로 최종 농도를 2-3%가 되도록 고정한 다음 아이스박스에 담아 실험실로 운반하였다. 운반된 시료를 1 mL를 Sedgwick-Rafter chamber에 취하여 Fukuyo et al. (1990)과 Shim (1994)의 방법에 따라 광학현미경하에서 *Alexandrium catenella* 세포를 고배율로 동정 및 계수하였다.

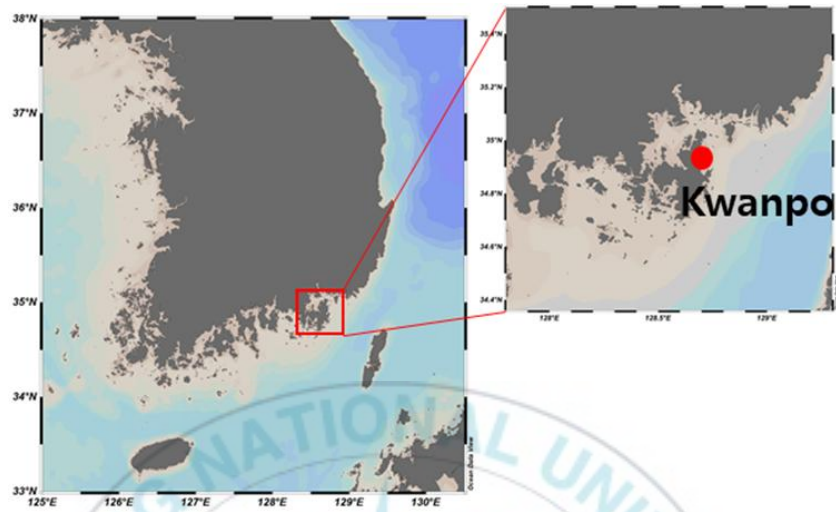


Fig. 6. Sampling stations of mussels in gwanpo-port in Geoje, Korea.



2-4-2 시간경과에 따른 진주담치의 독성 변화

Table 3과 같이 선별된 진주담치를 여과 해수에 수용하고 aeration을 유지한 채로 3일 동안 23°C, 30 psu, 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (12L : 12D cycle) 실험 조건에 순치시켰다. 산소공급은 수조용 기포발생기(DK-8000m DAE-KWANG Electronics. Inc., Seoul, Korea)를 사용하였다. 순치 기간 동안 절식으로 인한 진주담치의 폐사 방지를 위해 무독성 착면모조류 *Isochrysis galbana* (약 30,000 cells mL^{-1})를 공급하였다. 이 후 진주담치들을 약 25 L의 수조에 약 18 L의 *A. catenella*가 4,000 cell mL^{-1} 가 되도록 공급하였다. 진주담치의 섭취율 측정을 위해서 채취와 함께 일정량 해수를 Sedgwick-Rafter chamber에 취해 광학현미경 하에서 계수하였다. 독성분석에는 3개체의 진주담치를 임의로 채취하여 연체부 전량을 이용하였으며, 0, 12, 48, 72, 96, 120, 144, 168시간 간격으로 채취하였다.

Table. 3. Shell length, width and height of *Mytilus edulis*.

Hour	(mean±SD mm)			Total Weight(without shell)
	Shell length	Shell width	Shell height	
0	72.7±1.9	37.6±2.2	26.1±0.8	21.01
12	78.3±5.1	37.5±1.3	26.9±0.8	21.43
24	76.7±5.5	37.6±1.8	27.6±3.6	18.69
48	80.5±4.3	39.7±2.7	29.4±1.8	21.99
72	77.3±4.1	37.3±2.6	30.1±3.0	21.15
96	73.0±2.2	38.4±1.7	26.7±1.0	18.66
120	75.6±2.6	38.9±5.1	27.8±4.7	2.08
144	79.4±3.9	39.5±1.4	29.6±1.8	18.25
168	78.0±7.7	37.0±1.0	27.7±1.0	20.44

2-4-3 2018년, 2019년 춘계 수온, 염분, 영양염 분석

2018년, 2019년 현장실험은 경상남도 거제시 관포항 인근해역(Fig. 6)에서 실시되었으며, 정점의 수심은 약 11-12 m이다. 수온 및 염분 그리고 영양염은 0 m, 5 m, B-1 m의 해수를 각각 측정 및 분석하였다. 수온과 염분은 T-S meter(YSI 30, YSI, USA)를 이용하여 측정하였으며, 영양염 측정은 해양환경공정시험기준(국토해양부, 2014)에 의거하여 실험하였고, 분석 항목은 아래의 내용과 같다.

우선, 암모니아 질소는 혐기성 차아염소산용액과 산화반응하여 모노크롤라민을 생성한다. 모노크롤라민은 페놀과 촉매인 니트로프러시트 그리고 차아염소산에 의해 푸른색의 인도페놀을 생성하게 된다. 항온조 35℃하에서 1시간의 반응시간을 거친 후, UV/Vis Spectrophotometer로 최대 흡수파장인 640 nm에서 발색된 인도페놀의 흡광도를 측정하였다. 암모니아의 농도는 검량선식을 이용하여 계산하였다.

아질산성 질소는 일차적으로 방향족 질소화합물인 술퍼닐아미드와 산성조건하에서 반응하여 디아조늄 이온(디아조화합물)을 형성한 후 이차적으로 다른 방향족 질소화합물인 나프틸에틸렌디아미드와 반응하여 분홍색의 용액(아조화합물)을 생성하게 된다. 이때 UV/Vis Spectrophotometer로 최대 흡수파장인 543 nm에서 발색된 용액을 측정하였다. 아질산염의 농도는 검량선식을 이용하여 계산하였다.

질산성 질소는 해수 중의 질소계 화합물 중 열역학적으로 비교적 안정하기 때문에 일반화학적 발색반응 방법은 적용하기가 어렵거나 또는 방법상의 간섭효과가 심하여 정확도와 정밀도가 매우 열악하다. 따라서 해수시료 중의 질산성 질소는 구리 촉매로 처리된 카드뮴 환원관을 이용하여 측정되며, 질산에서 아질산으로의 환원을 한다. 그 후 측정방식은 아질산성

질소와 동일하다.

인산 인은 molybden 청법이 가장 많이 이용이 되며, 산성조건에서 인-molybden산 암모늄과 주석산안티모닐칼륨과 반응하여 인-molybden산 착제를 형성한다. 이 착화합물은 ascorbic산에 의해 환원되어 푸른색 용액을 생성하게 된다. 이 푸른색의 강도는 인산 인의 농도와 비례하기 때문에 이 용액을 UV/Vis Spectrophotometer(X-ma, 3000PC)로 최대 흡수파장인 885 nm에서 흡광도를 측정하였다. 인산 인의 농도는 검량선식을 이용하여 계산하였다.



2-4-4 전처리 및 HPLC분석

담치류의 가식부 전량을 절취하여 50 mL 원심분리 튜브에 담고 동량의 0.1N HCl을 첨가한 다음 균질기(Glas-Col, USA)를 이용하여 약 3분간 조직을 파쇄하였다. 그 후, 동량의 0.1N HCl을 첨가한 다음 100°C에서 5분간 중탕한 후 pH 3-4로 조절하여 원심분리(3,000×g, 10 min)하여 상등액을 분취하였다. 상등액은 메탄올과 증류수로 세척된 Sep-pak C₁₈ cartridge에 통과 시킨 후, 최초 1.5 mL는 버리고 뒤이어 나오는 1.5 mL를 한외여과기(Ultrafree-MC; M. W., 10,000, Millipore, Massachusetts)에 넣어 원심분리(8,000×g, 10 min)후 얻어진 여과 시료를 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다(Fig. 7).

HPLC를 이용한 조개류의 독성 분석은 2-3-1장에서 사용한 방법과 동일하게 실시하였다.

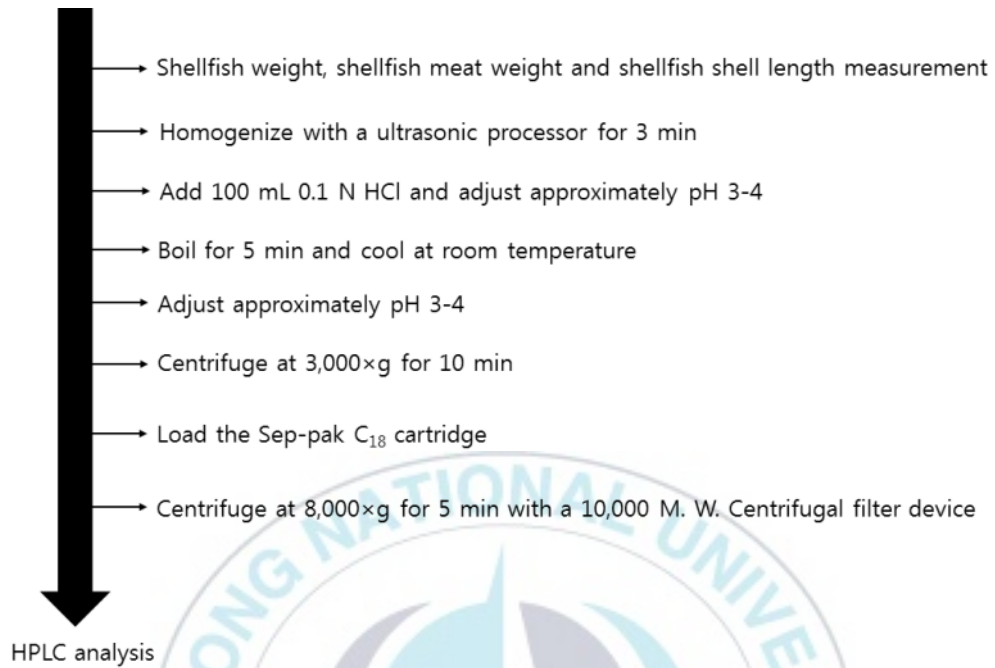


Fig. 7. Pre-treatment of mussels for PSP toxin analysis.

Ⅲ. 결과 및 고찰

3-1. *Alexandrium* 속의 독조성

A. catenella, *A. pacificum* 그리고 *A. tamarense*의 독조성을 보면, 공통적으로 주요성분은 N-sulfocarbamoyl 독성으로 C1+2가 대부분을 차지한다(Table 4). Carbamoyl 독성 중 STX는 미량 혹은 검출되지 않았으며, neoSTX는 strain별로 차이가 크게 나타났다. GTX계열은 대부분 GTX1+4는 주요성분로 나타났으며, GTX2+3은 strain별로 차이가 나타났지만 대부분 미량성분으로 검출되었다.

Alexandrium 속의 분류는 세포갑판(the cal plate)의 세부적인 관찰에 따르지만(Fukuyo, 1985), *A. tamarense*와 *A. catenella*는 형태학적으로 *Alexandrium* 속의 다른 종보다 유사하여 분류하기 매우 어렵다(Taylor et al., 1995; Kim et al., 2002). 하지만, *A. tamarense*는 PSP 독성균 중 GTX5+6의 부재로 *A. catenella*와 독 조성에 차이가 있으며, 이로인하여 두 종을 구분지을 수 있는 biomarker로 이용되어 왔다(Taylor et al. 1995). 하지만, 본 실험에서는 strain에 따라 *A. catenella*라고 하여도 GTX5+6를 전부 가지고 있는 것은 아니었다(Table 4).

본 실험중인, *A. catenella*의 경우, 주요성분은 N-sulfocarbamoyl 독성으로 C1+2, GTX5 그리고 carbamoyl 독성으로 GTX1+4와 neoSTX이며, 미량성분은 carbamoyl 독성인 GTX2+3이었다. 함량으로 보면 C1+2가 60% 이상을 차지하였으며, 비교적 강독으로 보이는 neoSTX도 약 10%정도를 나타내었다. *A. pacificum*의 경우, 주요성분은 N-sulfocarbamoyl 독성으로 C1+2, GTX 5+6 그리고 carbamoyl 독성으로 GTX1+4이며, 미량성분은 *A. catenella*와 같이 carbamoyl 독성인 GTX2+3이었다. *A. catenella*와 같이

두 strain 모두 C1+2가 60%이상의 함량을 보였지만, 강독으로 고려되는 neoSTX은 낮은 함량을 나타내었다.



Table 4. Toxin contents and composition of various *Alexandrium* genus.

species	C1	C2	STX	neoSTX	GTX1	GTX4	dcGTX3	GTX3	GTX2	GTX5	GTX6	Total	References
<i>A. catenella</i>	2.75	29.09		3.87	0.85	1.89		0.05	0.03	6.70	-	45	This study
<i>A. catenella</i>	2.21	22.96	0.02	0.21	0.81	4.24		0.12	0.02	3.65	-	34	Oh <i>et al.</i> (2009)
<i>A. catenella</i>	36.54	243.52	-	14.72	2.49	32.89	0.06	11.81	0.16	-	-	342	This study
<i>A. catenella</i>	140.93	1672.99	-	134.31	70.28	259.42		83.89	7.19	-	-	2369	This study
<i>A. pacificum</i>	8.89	153.73	-	2.34	-	-	-	0.09	-	24.65		190	This study
<i>A. pacificum</i>	8.94	179.92	-		24.18	39.53	0.15	0.36	-	12.16	70.46	336	This study
<i>A. tamarense</i>	1.37	80.22	0.02	6.72	10.35	44.11	-	4.80	0.66	-	-	148	Oh <i>et al.</i> (2009)
<i>A. tamarense</i>	5.66	11.08	-	0.83	0.87	4.82	-	tr	-	-	-	23	Kim <i>et al.</i> (2005)

3-2. 환경변화에 따른 *Alexandrium* 속의 성장 및 독성변화

3-2-1. 수온 및 염분변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장속도 및 독성변화

수온과 염분은 식물플랑크톤의 생존 및 우점에 매우 중요한 요인이며, 마비성패독생산에 영향을 미치는 중요한 환경인자이다. 따라서 본 절에서는 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 최적 환경 조건 및 독생산 조건을 파악하기 위하여 각각 수온(10, 15, 20, 25, 30°C) 5단계와 수온(5, 10, 15, 20, 25, 30°C) 6단계 그리고 염분(15, 20, 25, 30, 35 psu) 5단계에 대하여 성장 및 독성실험을 실시하였다.

다양한 수온 조건에서 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장 변화를 Fig. 8에 나타냈다. 실험 결과, *A. catenella*은 10°C에서 생장이 미미하였으며 나머지 수온구간에서는 성장을 보였다. *A. pacificum*은 5°C와 30°C를 제외한 모든 수온구간에서 성장을 보였다(Fig. 8). *A. catenella*의 수온변화에 따른 성장속도의 범위는 0.01-0.23 day⁻¹이며, 낮은 성장속도(0.01-0.09 day⁻¹)를 보였던 수온 10-15°C를 제외한 20-30°C는 0.19-0.23 day⁻¹로 유사한 성장속도를 보였다(Fig. 9a). *A. pacificum*은 5°C와 30°C에서는 성장을 하지 않았으며 가장 낮은 성장속도를 보인 10°C (0.09 day⁻¹)를 제외한 15-25°C의 성장속도는 0.21-0.31 day⁻¹의 범위를 가진다(Fig. 9b).

*A. catenella*와 *A. pacificum*은 수온이 높을수록 성장속도가 증가하여, 수온 20-25°C에서 최대 성장속도가 나타났으며(Fig. 9), 점차 감소하였다. *A. catenella*와 *A. pacificum*의 수온에 대한 최적 성장조건을 알아보면, *A. catenella*은 10-20°C, *A. pacificum*은 20-30°C이다(Oh et al., 2012). 또한, *A. catenella*은 우리나라 남해안 분리주의 경우 16-22°C (이 등., 2005) 그리고 진해만 분리주는 15°C (Lee et al.[2006])를 보이며 본 실험종의 결과보다 낮게 나타나지만, 홍콩에서 분리한 *A. catenella* strain은 본 실험의

*A. catenella*와 유사한 수온범위에서 성장하여(He et al., 2010; Wang and Hsieh., 2005), 본 연구의 결과와 유사하였다. 따라서, 동일종이라도 분리해역에 따라 생리적인 특징이 차이가 있다는 것을 의미한다(Gallagher.,1982).

*A. pacificum*의 경우, *A. catenella*에 비하여 연구사례가 적다. 홍콩 Tai Tam 만 분리주의 최적성장 수온은 20-25℃로 본 실험종과 유사하게 나타났다(Gavin et al., 1997). 또한, 홍콩의 분리주는 20-23℃ (Siu et al. 1997), 일본 Tokuyama만 분리주는 20-25℃로 *A. catenella*보다 기존에 보고는 대체로 상대적으로 높은 수온에서 최적성장수온을 가졌으며, 본 실험종과 유사한 특성을 가진다.

Fig. 10는 수온변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 독함량(toxin contents)을 나타냈다. *A. catenella*은 상대적으로 성장속도가 낮은 10-15℃ 구간에서 가장 높은 독함량(413.15-415.79 fmole cell⁻¹)을 가졌으며, 성장속도가 높은 20-30℃ 구간에서 가장 낮은 독함량(147.49-159.95 fmole cell⁻¹)을 가졌다(Fig. 10a). 하지만, *A. pacificum*은 수온이 증가할수록 대체적으로 높은 독함량을 가졌으며, 25℃에서 가장 높은 독함량(1206.7 fmole cell⁻¹)을 나타냈다(Fig. 10b). 독성(toxicity)결과를 보면, *A. catenella*은 10-15℃에서 독성이 높은 neoSTX의 함량이 높기 때문에 독함량과 비교하여 약 5배정도 20-30℃구간보다 독성이 높게 나타났다(Fig.11a, Fig 12a). 하지만, *A. pacificum*은 독성이 낮은 C1+2와 GTX5+6를 제외한 강독성인 neoSTX, GTX1+4, GTX2+3의 변화는 나타나지 않았으며(Fig 12b), 따라서, 독성은 독함량과 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 11b).

낮은 수온에서는 단백질 합성의 저하로 인한 성장속도에 영향을 주며, 세포의 낮은 단백질 수준은 세포내의 아르기닌(arginine)의 증가를 가져오며, 독소 합성(toxin synthesis)에 사용될 수 있다고 알려져 있다(Anderson et al., 1990). 또한, 낮은 수온에서 낮은 분열속도(division rate)

뿐만 아니라 세포조성의 전환율(turnover rate)로 인하여 독함량이 높게 나타난다는 연구결과도 있다(Gedaria et al., 2007). 따라서, 낮은 수온에서 생장속도가 낮은 *A. catenella*은 단백질 합성의 저하로 인한 마비성패독의 선구물질인 아르기닌의 증가로 높은 독함량을 나타낸다는 기존의 연구결과를 잘 반영하는 것으로 나타난다. 하지만, 수온이 낮으면 일시적 휴면포자(temporary cysts)를 생성함으로써, 독소합성과 생산에 부정적으로 영향을 주며(Laabir., 2011), 수온변화에 따른 독성과의 어떠한 상관관계도 없다는 연구결과도 있다(Christine et al., 2014). 따라서, *A. pacificum*이 낮은 수온구간에서 낮은 독함량을 나타낸 것에 기인한 것으로 생각된다. 특히, *A. pacificum*은 25°C에서 가장 높은 독함량(1206.1 mole cell⁻¹) 및 독성(142 STXeq)을 나타냈으며 이는 다른 수온구간(10-20°C)보다 약 2-3배 높은 C1+2 독소를 가진 것을 반영해준다(Fig. 12b). Sako et al.,(2001)에 의하면 25°C에서 강독성인 STX와 GTX2+3을 약독성인 GTX5와 GTX1+2로 전환시켜주는 sulfotransferase (N-ST)의 효소가 최대활성을 보인다고 하였으며, 본 실험종인 *A. pacificum*의 GTX5+6는 다른 수온구간(10-20°C)과 유사하였지만, C1+2의 상당한 증가가 뚜렷하게 관찰되었기 때문에 sulfotransferase (N-ST)의 효소활성이 작용한 것으로 판단된다. 따라서, 춘계에 우리나라 남해연안에서 마비성패독 발생시 표층수온범위는 10-15°C이며, 수온이 낮은 구간에서 독함량 및 독성이 높게 나타난 *A. catenella*가 독성발현에 많은 기여를 할 것으로 여겨진다. 결론적으로, 남해안의 표층수온 상승으로 인하여 *A. catenella*의 출현이 빨리질 것이며, 이로인하여 저수온에서 독성이 높은 *A. catenella*에 의한 마비성패독 발생이 조기화 될 것으로 여겨진다. 또한, 고수온에서 독성이 높은 *A. pacificum*은 마비성패독 발생이 오랫동안 지속된다면 많은 기여를 할 것으로 여겨진다.

염분변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장변화를 보면, *A.*

*catenella*와 *A. pacificum*은 15-30 psu 구간에서 세포밀도가 증가하였다 (Fig. 13). *A. catenella*는 15-30 psu에서 0.16-0.22 day⁻¹의 성장속도 범위를 가지며(Fig. 14a), *A. pacificum*은 15-30 psu에서 0.16-0.29 day⁻¹의 성장속도 범위를 가진다(Fig. 14b). 따라서, *A. catenella*와 *A. pacificum*은 광염성 종으로 판단되었다. 한편, 본 연구에서 도출된 결과를 우리나라와 가까운 일본해역의 분리주와 비교하면, 일본 Mikawa 만에서 분리한 *A. catenella* 배양주는 32 psu에서 최대성장속도를 보였으며(Yamamoto *et al.*, 1995), 말레이시아 *A. catenella* 분리주는 10-30 psu의 범위를 가졌다(Lim and Ogata, 2005). 또한, 홍콩의 *A. pacificum* 분리주는 30-35 psu에서 최대성장속도를 보였다(Siu *et al.*, 1997). 본 실험에서 *A. catenella*는 광염성 종으로 15-35 psu에서 최대성장속도를 보였으며, *A. pacificum*은 20-35 psu에서 최대성장속도를 보였다. 따라서, 우리나라 남해안 분리주인 두 종은 염분변화에 따른 성장속도의 변화에 큰 차이점이 나타나지 않았다.

Fig. 15은 염분변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 독함량(toxin content)변화를 나타냈다. *A. catenella*의 독함량은 실험 염분범위(15-35 psu)에서 각각 146.9-210.7 fmole cell⁻¹를 가지며 유의한 차이가 나타나지 않았다(t-test, p<0.05). 독성은 20 psu에서 약독성인 C1+2의 높은 함량과 35 psu에서 강독성인 neoSTX의 높은 함량으로 인하여 20 psu에서는 독성이 줄었으며, 35 psu에서는 독성이 증가하였다(Fig. 16a; Fig. 17a). *A. pacificum*은 염분이 증가할수록 독함량이 증가하였으며, 35 psu에서 가장 높은 독함량(647.5 fmole cell⁻¹)을 나타냈다(Fig. 17). 하지만, 염분이 증가할수록 독함량이 증가하는 경향은 독성이 낮은 C1+2 독소의 함량의 증가로 기인한 것이며(Fig. 17a), 이를 독성으로 전환시키면 염분변화에 따른 독성에 유의한 차이점이 나타나지 않았다(t-test, p<0.05). 염분변화에 의한 독성변화에 대한 연구는 많이 알려져 있지만, 서로 모순된 결과들을 가

진다. Parkhill *et al.*,(1999)에 의하면 염하구(estuary)내에서 증식을 하는 *A. tamarense*는 광염성(euryhaline)종으로 염분이 직접적으로 독성에 영향을 미치지 않으며 염분변화에 따른 성장속도가 독성에 영향을 주며, 염분 수준은 성장속도와 독성 사이에 양의 상관관계를 보인다고 하였다. 또한, 염분이 증가할수록 독성이 증가한다는 결과도 있으며(Laabir., 2013), 반대로 염분이 증가할수록 독성이 감소한다는 결과도 있다(Hamasaki., 2001). 이러한 결과는 *Alexandrium* 종에 대한 염분의 영향은 지역 의존적(species-dependent)일 것이라고 한다(Laabir., 2013). 하지만, 이상의 결과들을 종합하여 볼 때, 우리나라 남해안에 출현하는 *A. catenella*와 *A. pacificum*은 광염성종으로 염분변화에 따른 성장속도의 변화는 미미하며, 이로인하여 독성에 영향을 주지 않았다. 하지만, 위 염분변화에 따른 마비성패독 변동은 충분히 각 염분에 적응할 시간을 주었지만, 갑작스러운 염분 변동은 마비성패독을 증가시키는 결과를 초래하였다(Fig. 18). 따라서, 댐의 개방에 따른 담수의 유입 등과 같은 갑작스러운 염분변화는 마비성패독 발생을 증가시킬 수 있지만, 우리나라 남해안에 일반적인 염분변화에서 마비성패독을 생산하는 *A. catenella*와 *A. pacificum*은 독성에 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.

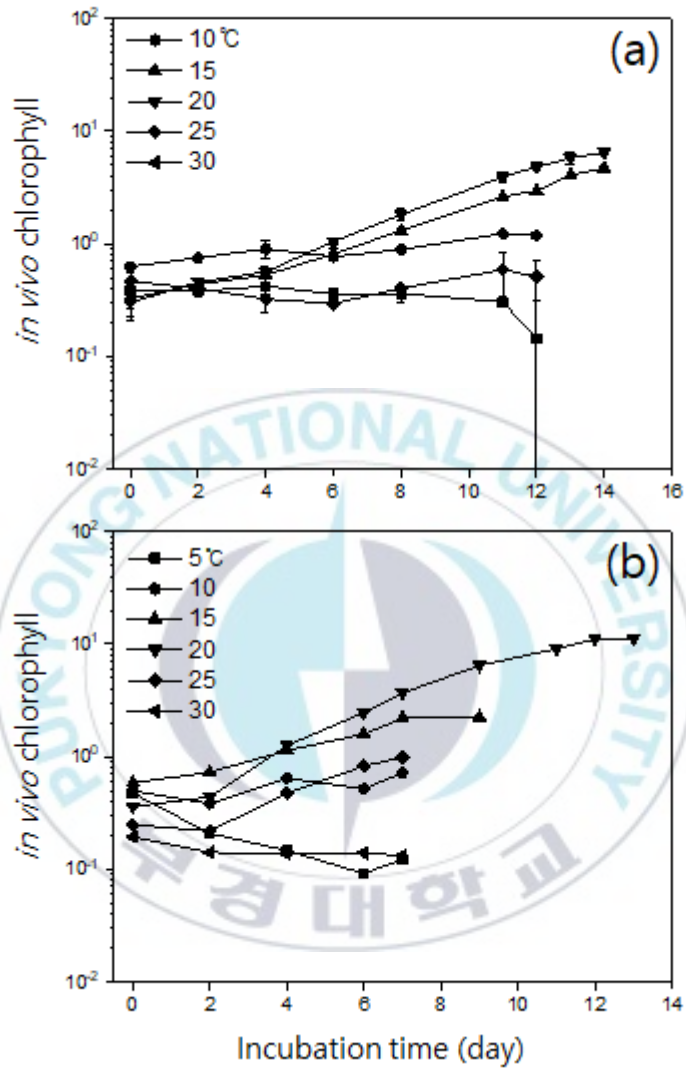


Fig. 8. Growth curves of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various wawter temperature.

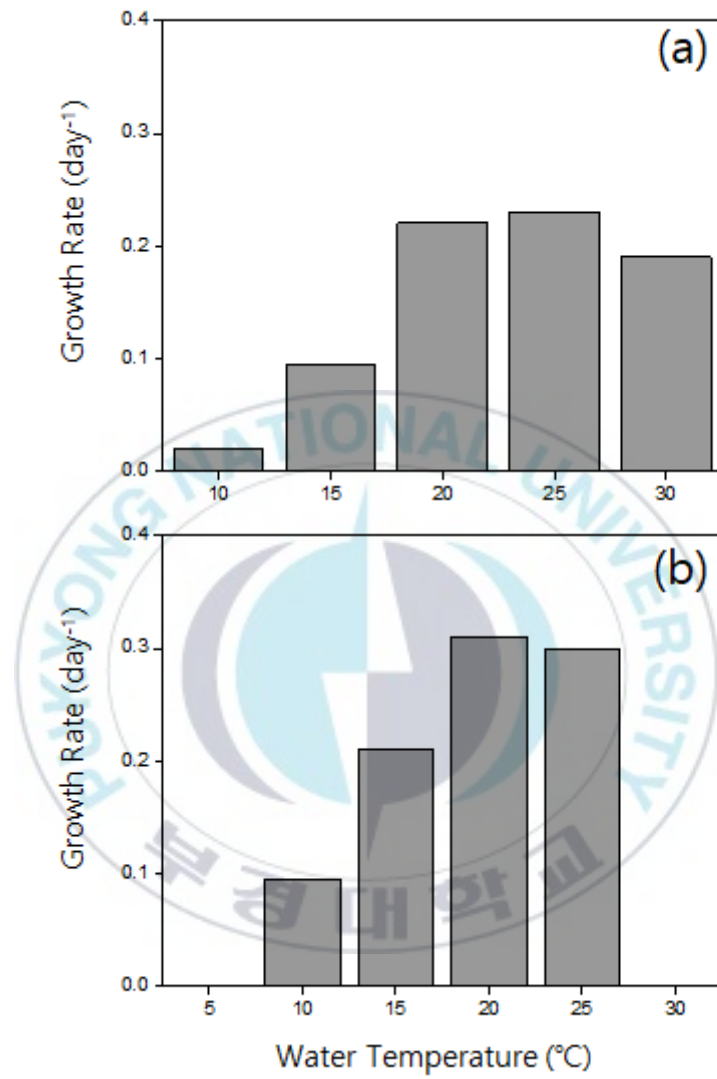


Fig. 9. Growth rate of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various water temperature.

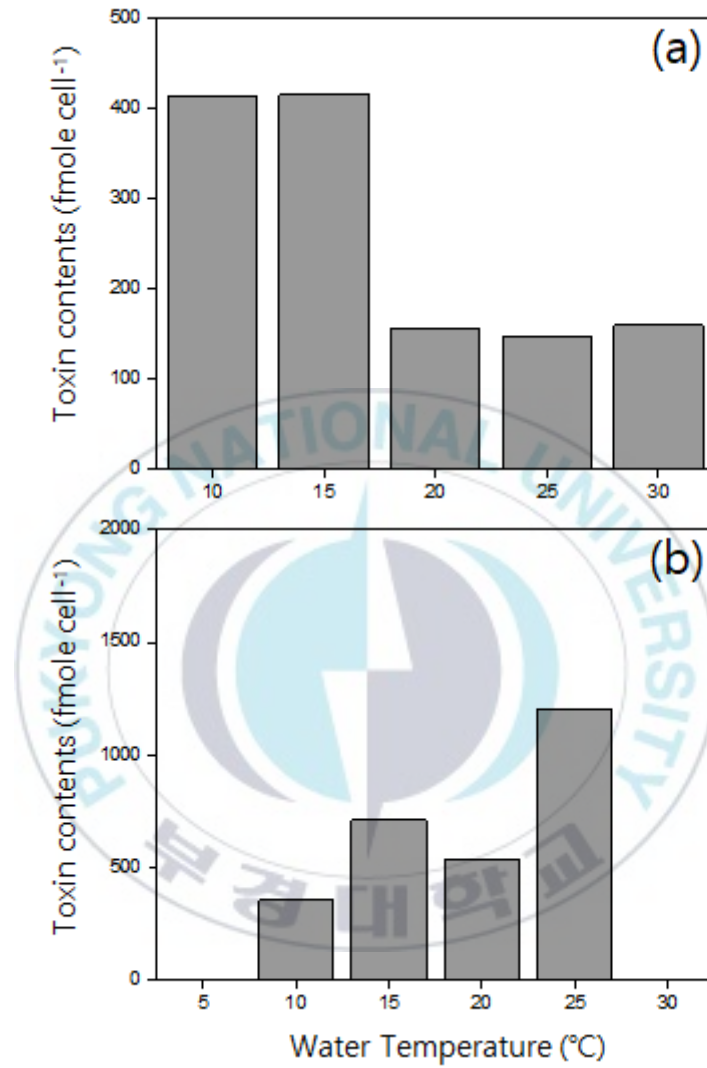


Fig. 10. Toxin contents of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various water temperature.

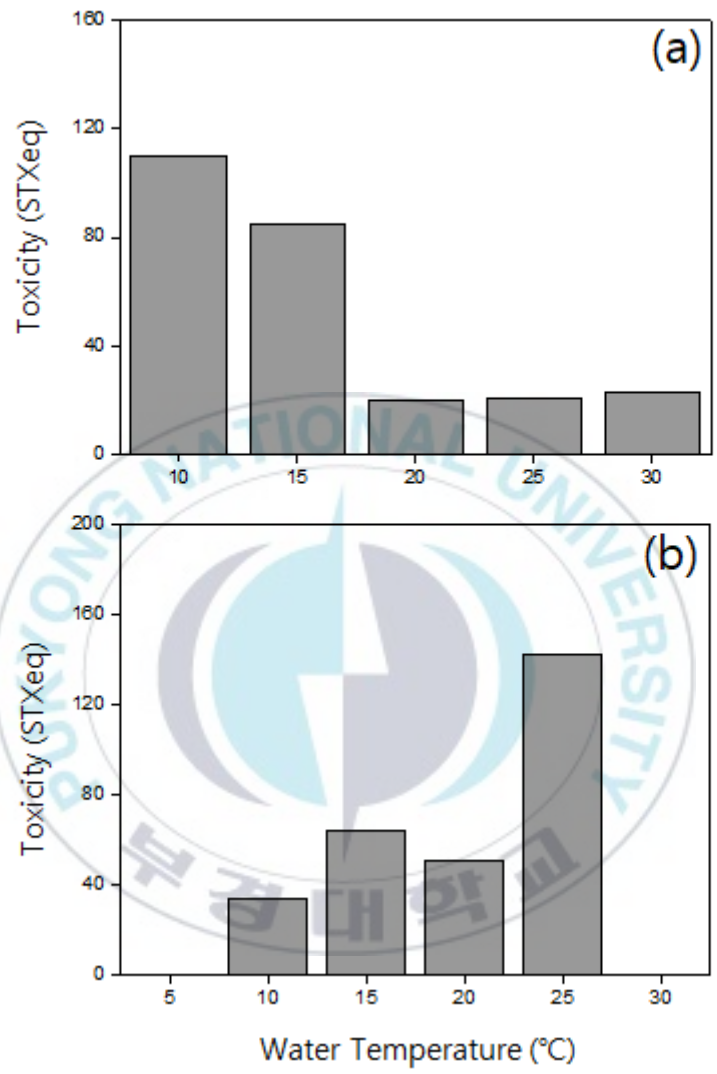


Fig. 11. Toxicity of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various water temperature.

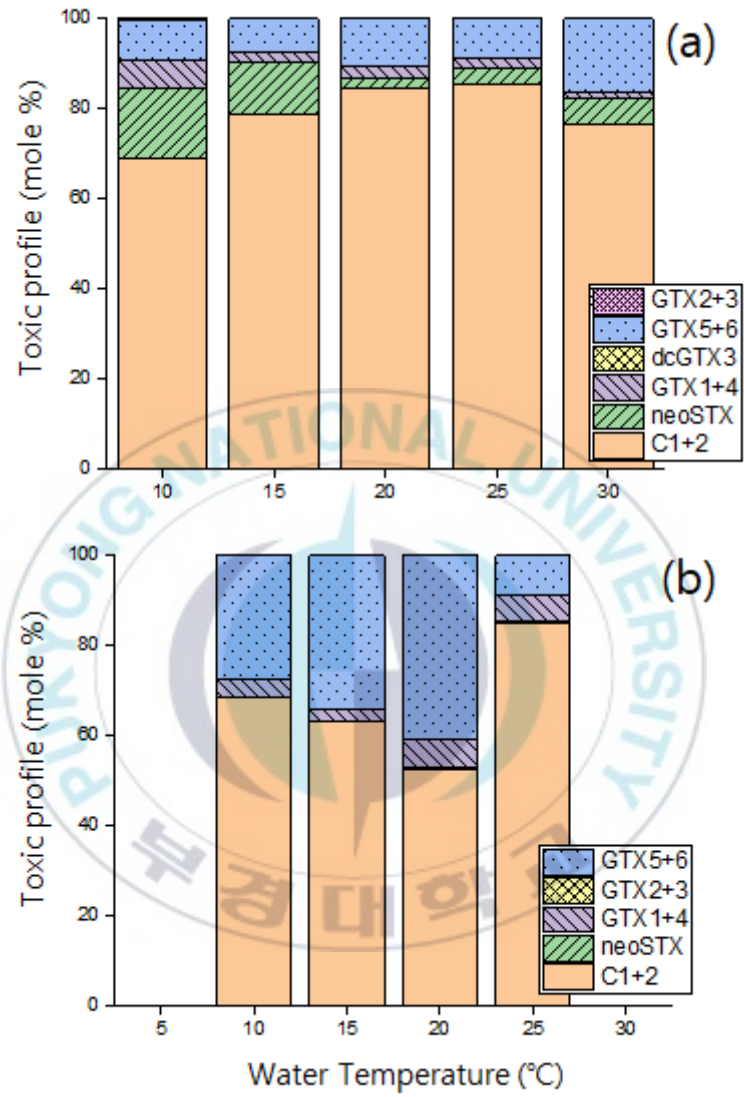


Fig. 12. Toxic profile of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various water temperature.

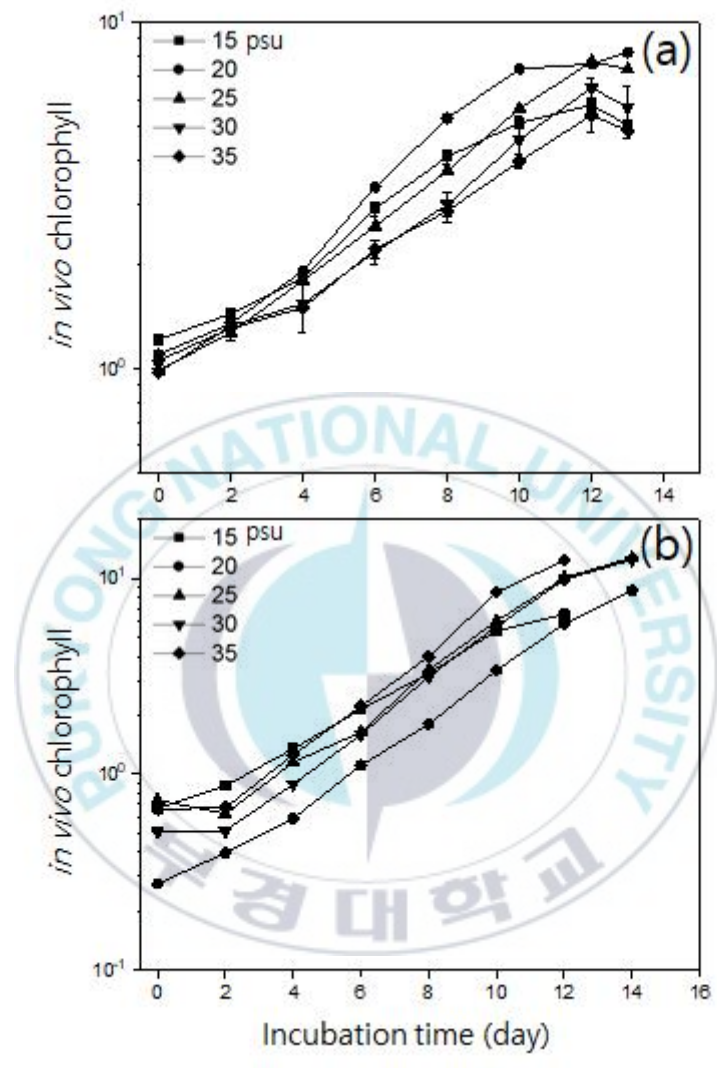


Fig. 13. Growth curves of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various salinity.

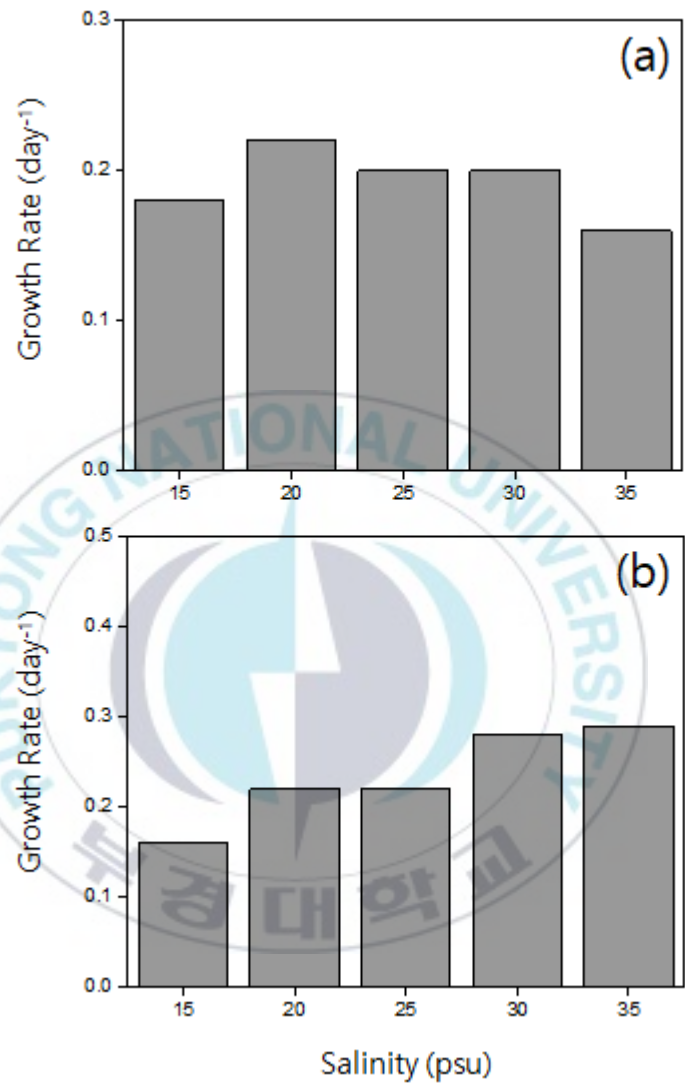


Fig. 14. Growth rate of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various salinity.

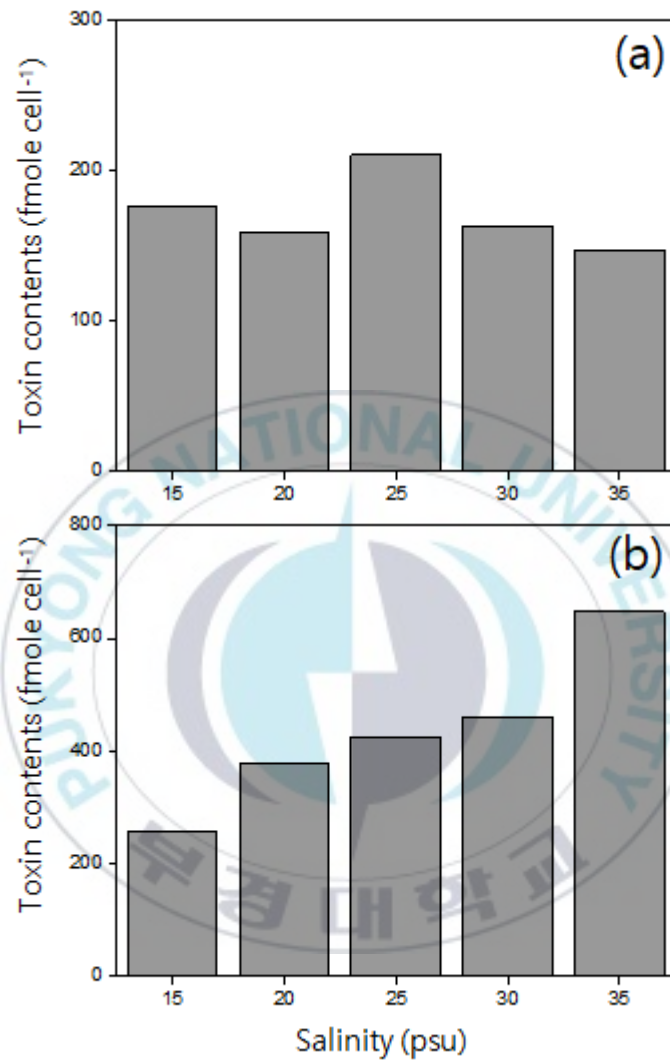


Fig. 15. Toxin contents of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various salinity.

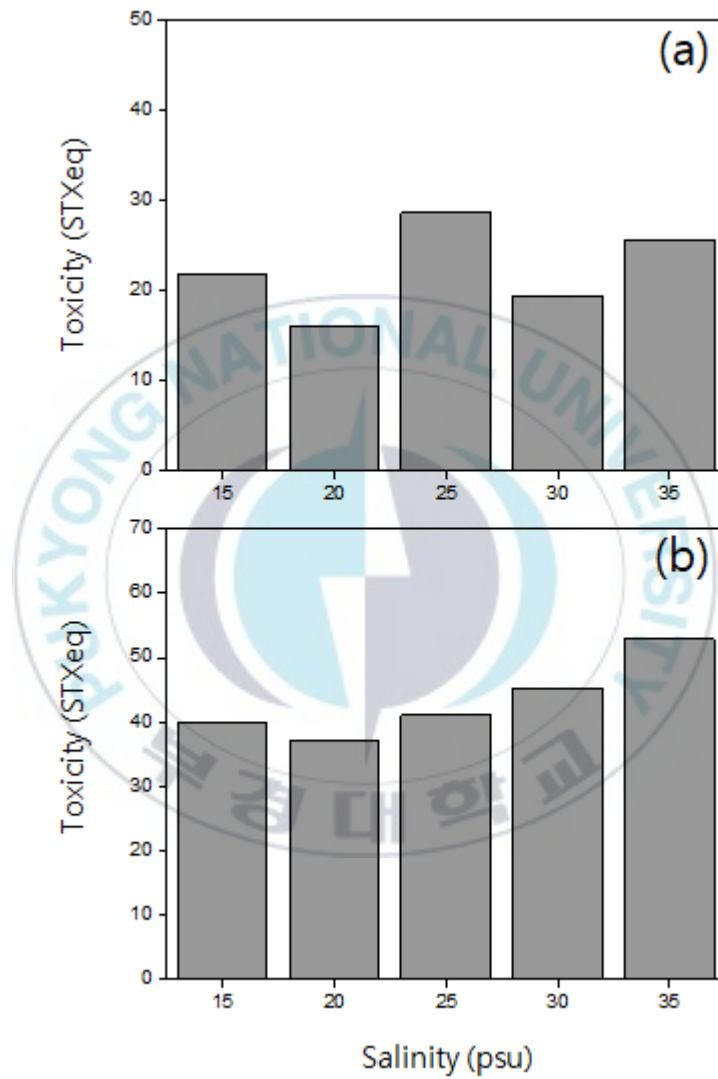


Fig. 16. Toxicity of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various salinity.

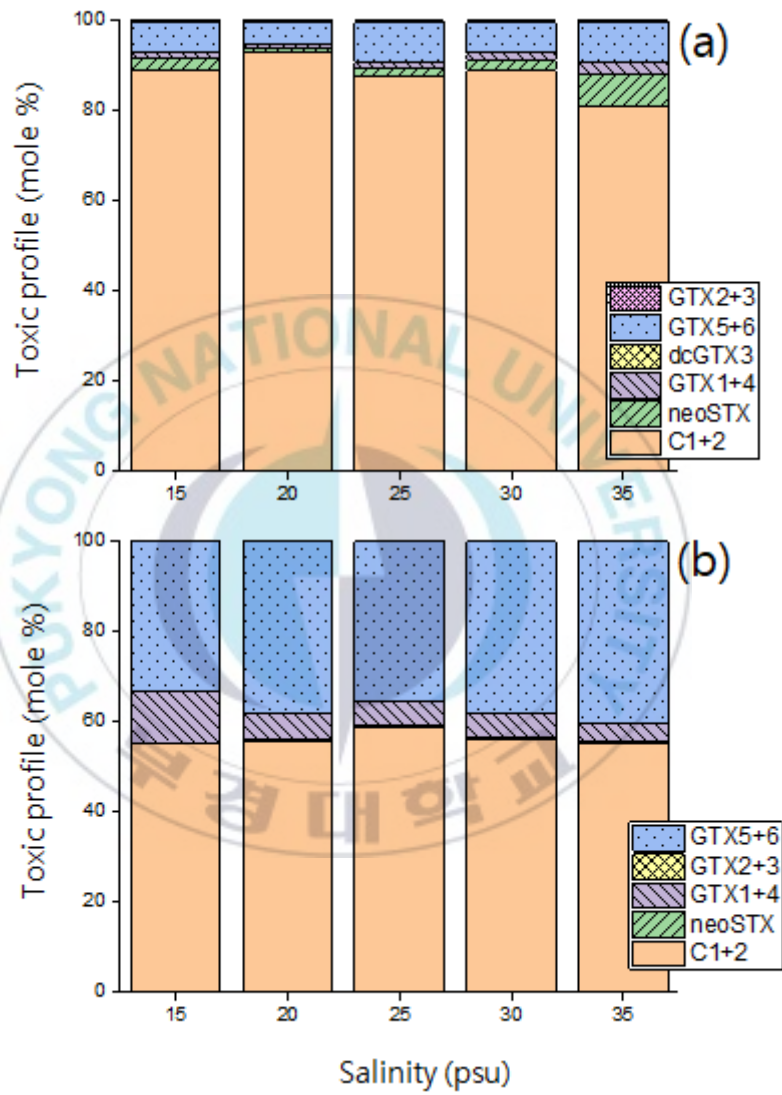


Fig. 17. Toxic profile of *A. catenella* (a) and *A. pacificum* (b) at various salinity.

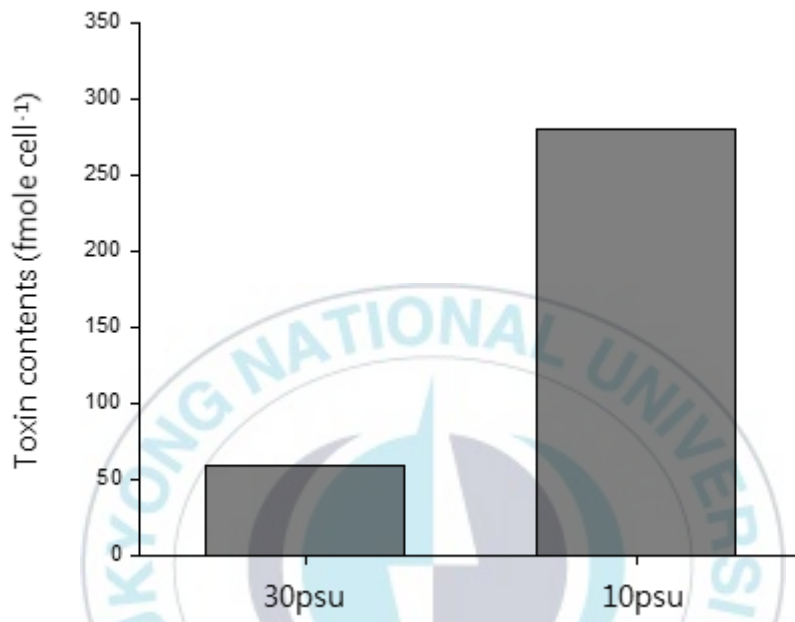


Fig. 18. Toxin contents variation of *A. catenella* by salinity shock

3-2-2 조도 및 파장변화에 따른 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 생장속도 및 독성변화

미세조류는 주로 주색소인 chlorophyll *a*를 통해 광합성을 하는 생물이다. 또한, 미세조류가 가지고 있는 광합성 색소의 구성에 따라 흡수 스펙트럼의 흡수율에 차이가 생기고 광 파장에 따라 미세조류의 성장 촉진 유무가 달라진다. 광합성 색소의 농도는 광량 및 파장에 따라 변하기 때문에 성장속도에 직접적인 영향을 준다는 여러 연구 결과도 있다(Rocha et al., 2003; Mouget et al., 2004). 이에 따라 LED광원을 이용하여 광량 및 단일 파장 또는 혼합파장을 조절하여 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 성장속도 및 독성변화를 파악하였다.

Fig. 19은 *A. catenella*의 파장별 광량에 따른 성장곡선이다. 각 파장 조건에서 광량이 증가할수록 최대세포밀도 역시 증가 하였으며, 일정광량 이상의 조건에서는 세포밀도가 일정하였다. 복수파장에서는 10~30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 청색파장에서는 10 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 녹색파장에서는 10~50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 그리고 적색파장에서는 10~50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서의 세포밀도는 변화가 크지 않았다. 하지만, 각 파장별로 그 상위 조도에서는 시간에 따라 점차 증가하는 양상을 나타내었으며, 높은 조도일수록 대수성장기 후기 및 퇴조기에서 세포밀도는 가장 높았다. 각 파장별 성장곡선을 바탕으로 성장속도를 구하여 본 결과(Table. 4), 복수파장에서의 성장속도는 10 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 가장 낮은 성장속도를 보였고, 광량이 증가할수록 성장속도가 증가하였으며, 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 과 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 0.30과 0.36 day^{-1} 로 나타났다. 청색파장에서도 10 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 가장 낮은 성장속도를 보였고(0.01 day^{-1}), 조도상승과 함께 증가를 하였다. 150 μmol

$\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 가장 높은 성장속도를 보였으며, 이 조도구간에서 성장속도 변화는 크지 않았다($0.25\text{--}0.27 \text{ day}^{-1}$). 녹색파장과 적색파장도 유사한 경향을 보였다. 녹색파장은 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 $0.28\text{--}0.30 \text{ day}^{-1}$, 적색파장에서는 $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 0.30 day^{-1} 로 높은 성장속도를 보였다. 다만 적색파장의 경우는 다른 파장에 비하여 본 실험에서 설정한 최대 조도인 $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서도 더 높은 성장속도를 보일 가능성이 있을 것으로 보이기 때문에 향후 검토가 필요할 것으로 보였다. *A. pacifium*도 *A. catenella*와 같이 파장별 광량이 증가함에 따라 세포밀도가 증가하였으며, 일정광량 이상의 조건에서는 세포밀도가 일정하였다(Fig. 20). 복수파장과 청색에서는 $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 녹색과 적색파장에서는 $10\text{--}30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 세포밀도의 변화가 크지 않았다. 하지만, 각 파장별로 그 상위 조도에서는 시간에 따라 점차 증가하는 양상을 나타내었으며, 높은 조도일수록 대수성장기 후기 및 퇴조기에서 세포밀도는 가장 높았다. 각 파장별 성장곡선을 바탕으로 성장속도를 구하여 본 결과(Table. 4), 복수파장에서의 성장속도는 $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 가장 낮은 성장속도를 보였고, 광량이 증가할수록 성장속도가 증가하였으며, $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 과 $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서는 0.21 day^{-1} 과 0.23 day^{-1} 로 나타났다. 청색파장에서도 $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 가장 낮은 성장속도를 보였고, 조도상승과 함께 증가를 하였다. $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 가장 높은 성장속도를 보였으며, 이 조도구간에서 성장속도 변화는 크지 않았다($0.32\text{--}0.35 \text{ day}^{-1}$). 녹색파장과 적색파장도 유사한 경향을 보였다. 녹색파장은 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 0.33 day^{-1} , 적색파장에서는 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 $0.27\text{--}0.29 \text{ day}^{-1}$ 로 높은 성장속도를 보였다. Lederman and Tett (1981)의 모델을 개량한 식을 통해 파장별 광량과 성장속도의 관계를 보면, *A. catenella*는 청색파장을 제외하고는 μ_{max} 에서 형광램프, 적색파장과 녹색파장에서 모두

통계적으로 유사하게 나타났다(t-test, $p < 0.05$). 하지만 Ks는 적색파장에서 가장 높게 나타났고, 청색파장에서 가장 낮았다(Fig. 21). *A. pacificum*은 청색파장을 제외하고는 μ_{max} 에서 형광램프와 녹색파장에서 모두 통계적으로 높게 나타났다. 하지만 Ks는 형광등과 녹색파장에서 높게 나타났으며, 청색파장에서 가장 낮게 나타났다(Fig. 22). 대부분 규조류 및 와편모조류에서 식물플랑크톤의 광 친화도(affinity)를 나타내는 Ks가 청색파장이 다른 파장보다 낮게 나타났다(Oh et al., 2007; 2010; 2015; Shikata et al., 2009). 본 연구의 결과도, 두 종 모두 청색파장에서 가장 높은 친화성을 보였다. 광합성 색소 중 주색소인 chlorophyll *a*는 주로 보라-청색 파장대와 적색파장대의 빛을 흡수하며, 이 중 청색파장대는 미세조류의 생장이나 광합성에 효과적으로 이용되어, 미세조류의 유전자 발현 및 물질의 신진대사에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(Kianianmomeni and Hallmann, 2014). 적색파장대는 청색파장과 같이 주색소인 Chlorophyll *a*가 흡수하는 파장영역이지만, 본 연구에서 적색파장대에서 친화도는 청색파장대보다 낮게 나타났으며, 광이용성이 낮을 것으로 생각되는 녹색파장과 유사하였다. 최근 연구에서 고밀도의 세포축적을 위해 청색파장에서 초기 배양을, 이후 정지기에 도달하면 생장에 스트레스를 주는 환경조건으로 생화학적 축적을 유도하는 단계적 배양을 통해 대량배양의 효율성을 높여주는 방법으로 알려져 있다. 만약 두 종의 마비성패독이 적색파장대에서 많이 유도가 된다면, 초기에 청색파장으로 세포수를 확보하고, 후기에 적색파장을 주사하면, 같은 에너지를 사용하더라도 마비성패독을 보다 증대시킬 가능성이 있다.

LED 파장에 따른 조도별 *A. catenella*의 독농도(toxin content)의 경우(Fig. 23), 형광램프, 청색파장 그리고 녹색파장에서 낮은 조도($50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서 높은 농도를 보였으며, $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서는 농도가 낮아지는 경향을 나타내었다. 적색파장에서는 다른 파장과 다르게 $50 \mu\text{mol}$

$m^{-2}s^{-1}$ 보다는 $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 높게 나타났으며($360 fmol cell^{-1}$), $150 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 다소 감소하였다. 같은 조도에서 적색파장이 다른 파장보다 독농도는 높게 나타났으며, $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 그 차이가 뚜렷하였고, 크기는 8배(형광램프 $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$) 높은 농도를 보였다. Saxitoxin으로 환산한 독성(toxicity) 평가에서도 형광램프, 청색파장 그리고 녹색파장의 경우, 독 농도와 그 분포경향이 크게 다르지 않았으며, 같은 파장역의 경우 낮은 광량에서 독성이 높았으며, 조도가 높아질수록 독성은 낮아지는 경향을 보였다. 적색파장에서는 독농도와 같이 $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 다른 조도보다 가장 높은 독성을 보였다. 파장별 비교에서도 적색파장이 다른 파장대보다 같은 조도일 때 대체적으로 높은 독성을 나타내었다($100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 48 STX eq). *A. pacificum*의 독 함량의 경우(Fig. 24), *A. catenella*와 다르게 형광램프, 청색파장 그리고 녹색파장의 낮은 조도($50 \mu mol m^{-2}s^{-1}$)에서 낮은 함량을 보였으며, $150 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 다른 조도보다 높았다($50 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 와 $50 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 차이는 크지 않았음). 적색파장도 $50 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 보다 100 과 $150 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 높게 나타났다. 같은 조도에서는 녹색파장과 적색파장이 다른 파장보다 독농도는 높게 나타났으며, $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서는 약 3.4배 적색파장에서 높게 나타났다. Saxitoxin으로 환산한 독성(toxicity) 평가에서도 형광램프, 청색파장, 녹색파장 그리고 적색파장의 경우, 독 농도와 그 분포경향이 크게 다르지 않았으며, 같은 파장역의 경우 낮은 광량에서 독성이 낮았으며, 조도가 높아질수록 독성은 높아지는 경향을 보였다. 적색파장에서는 독농도와 같이 $100 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 와 $150 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ 에서 다른 파장의 동 조도보다 높은 독성(약 140 STXeq)을 보였다.

독농도 및 독성의 증감은 여러 가지 물리·화학적인 환경요인에 따라 달라진다. 현재까지 빛에 관련하여 독농도 및 조성의 변화는 Hamasaki et

al. (2001)의 보고와 같이 조도의 증가와 반하여 독농도가 감소하는 경향을 보고 한 결과가 있다. 하지만, Etheridge et al. (2005)와 Laabir et al. (2013)와 같이 조도의 증가와 함께 독농도가 증가된다는 보고도 있어, 같은 유독 와편모조류 일지라도 서로 상이한 결과가 보고되고 있다. 본 연구에서 진행된 *A. catenella*의 경우 전자의 보고와 일치하였지만, *A. pacificum*의 경우 후자의 보고와 일치하여, 같은 파장 및 조도 환경조건일지라도 종에 따라 독 생성이 달라지는 것을 알 수 있었다. 이것은 마비성 패독에 대한 종 특이성으로 고려될 수도 있지만, 최근에 독농도는 세포분열의 횟수 즉, 세포성장속도와 관련이 없으며, 세포내에 축적하는 질소의 농도(cellular nitrogen content)에 의존하여 독 농도가 지배된다는 보고가 있다. 따라서 빛을 이용한 마비성 패독을 조절하기 위해서는 빛의 양(조도)의 아닌 질(파장)을 이용하여 마비성 패독의 증감을 조절할 필요성이 있을 것으로 생각된다. 한편 조도에 대한 친화성을 나타내는 K_s 와 독농도와 밀접한 관련이 있는 것으로 보였다. *A. catenella*와 *A. pacificum* 모두 높은 K_s 를 보였던 파장대(녹색과 적색파장)에서 높은 독농도 및 독성을 보였으며, 낮은 K_s 를 보였던 청색파장에서는 낮은 독농도 및 독성을 나타내었다. 따라서 세포당 독농도를 증가시키기 위해서는 초기에 세포수량의 확보 및 빠른 성장속도를 유도하기 위해서 청색파장을 주사한 후, 대수생장기 후기에 적색파장을 주사하여, 세포내 독함유량을 증가시킬 수 있는 다단배양방법을 제시할 수 있을 것으로 생각된다. Ra et al.(2016)도 세포내 오일함량을 증가시키기 위해, 청색파장에서 초기 배양을, 이후 정지기에는 오일함량을 증진시키기 위해 생장이 억제된 광원인 적색파장 또는 녹색파장에서 후기 배양을 해야 한다고 보고하였다. 이러한 다단계 배양기법은 배양 초기에 성장최적의 환경조건으로, 이후 정지기에 도달하면 생장에 스트레스를 주는 환경조건으로 생화학적 축적을 유도하는 단계적 배양을 통

해 대량배양의 효율성을 높여주는 방법으로 알려져 있다. 따라서 *Alexandrium*의 독농도 추출을 위한 광배양기(photo-bioreactor)의 경우, 성장단계별로 광 환경을 달라하는 다단계 배양의 검토가 필요할 것으로 보인다. 따라서, 일반적인 우리나라 연안환경에서 흐린날 입사하는 조도가 장기간 낮아지게 되면 춘계에 증식하는 *A. catenella*에 의한 마비성패독을 촉진시킬 가능성이 있으며, 파장은 해양환경에서 흡수되는 깊이가 각각 다르며, 특히 독농도가 가장 높게나온 적색파장은 투과깊이가 가장 얇은 파장대로 1 m 수심에서 71%가 흡수되고, 4 m수심에서는 99%가 흡수되기 때문에 수직이동(Vertical migration)을 하는 와편모조류는 파장변화에 따른 독성변화는 미미할것으로 여겨진다.



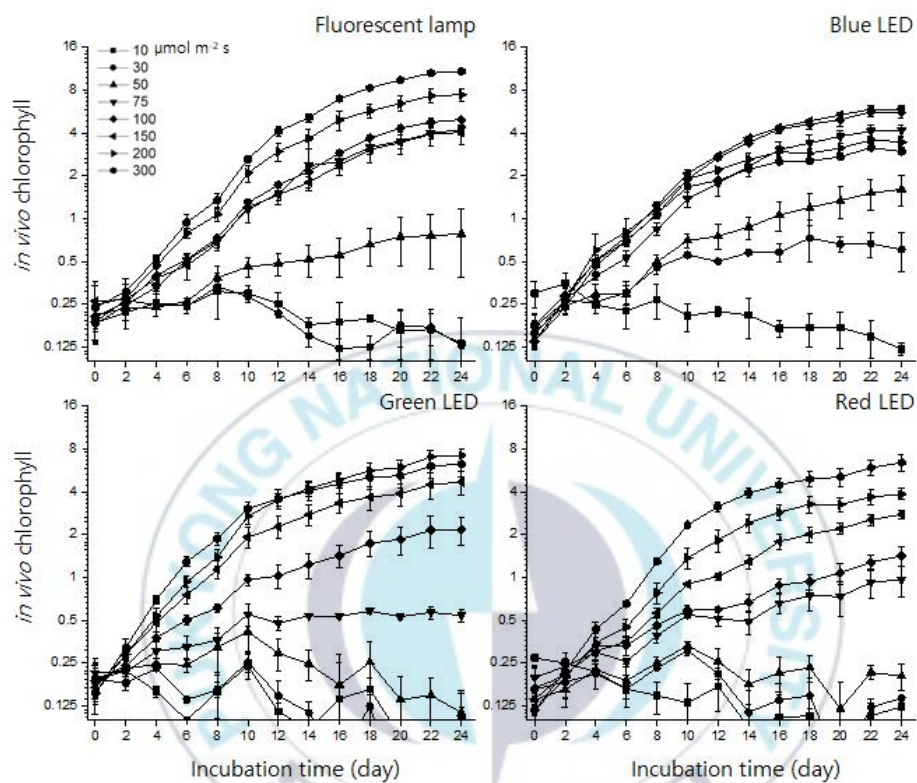


Fig. 19. Growth curves of *Alexandrium catenella* at various irradiances under different wavelengths.

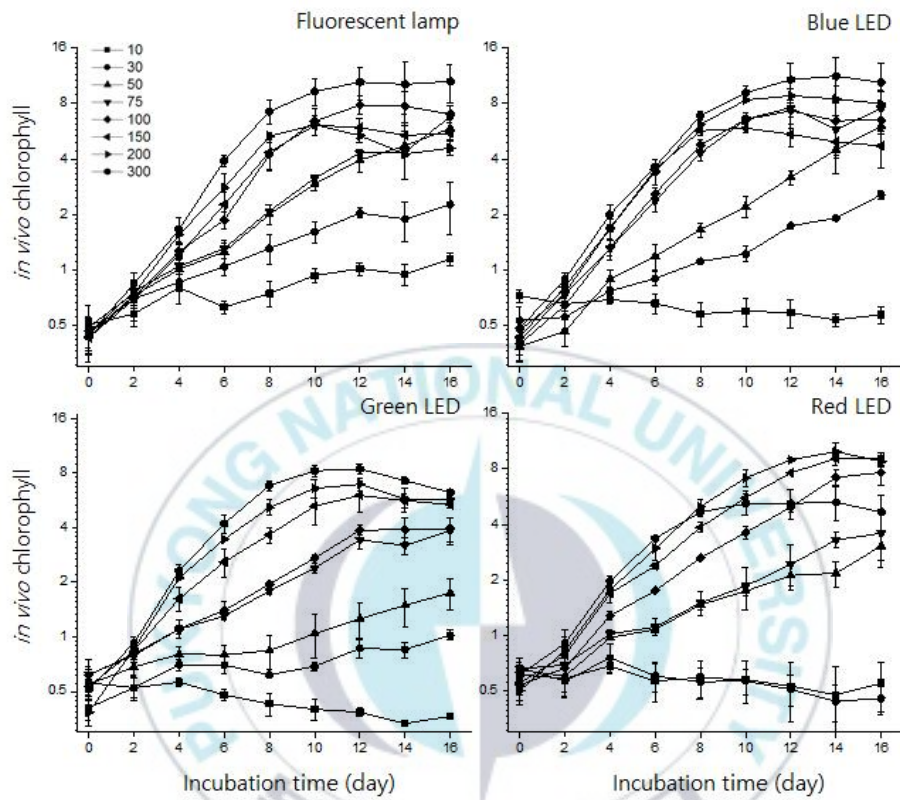
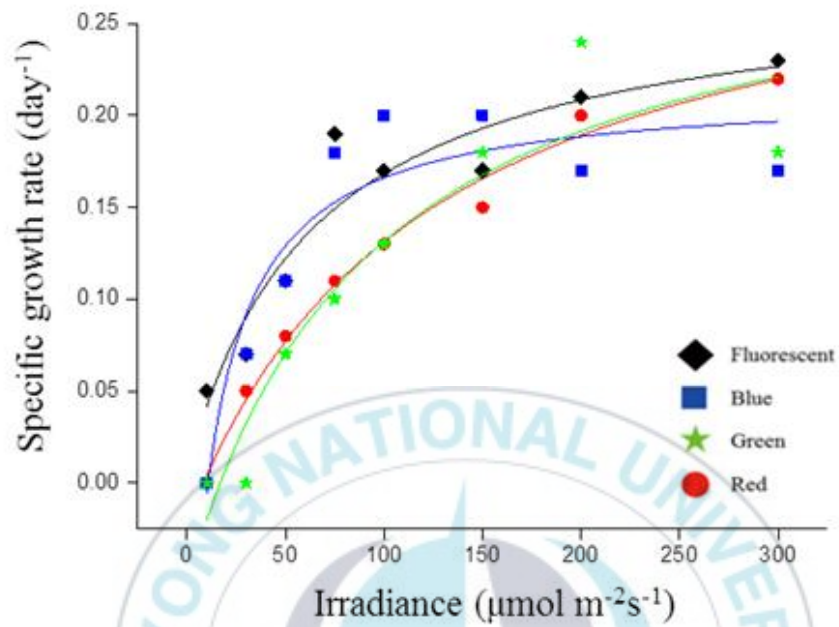


Fig. 20. Growth curves of *Alexandrium pacificum* at various irradiances under different wavelengths.

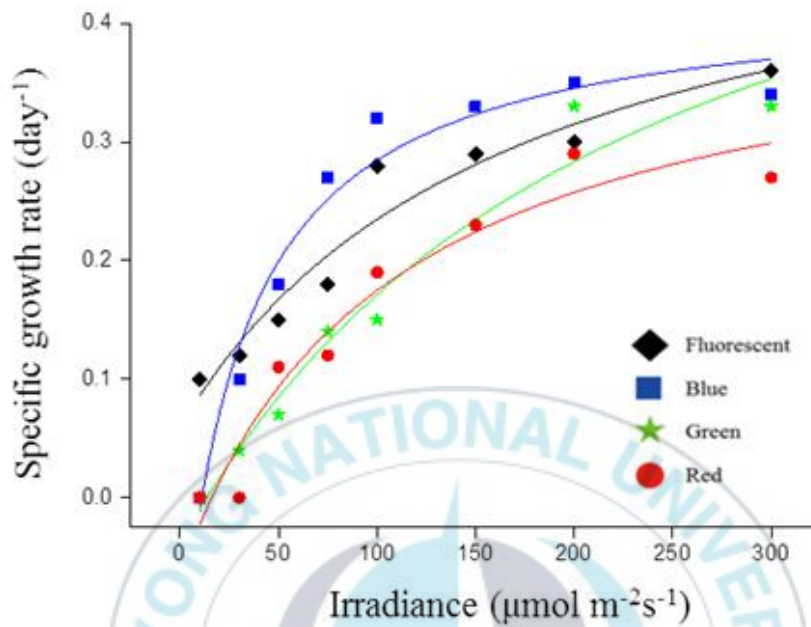
Table 5. Comparison of Growth rate of *A. catenella* and *A. pacificum* at various irradiance under different wavelengths. (irradiance unit: $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

파장 조도	<i>Alexandrium catenella</i>				<i>Alexandrium pacificum</i>			
	Fluores-cent	Blue	Green	Red	Fluores-cent	Blue	Green	Red
	(day ⁻¹)							
10	0.01	0.03	0.03	0.06	0.09	0.01	0.01	0.01
30	0.03	0.14	0.06	0.15	0.12	0.10	0.06	0.01
50	0.12	0.22	0.07	0.14	0.15	0.17	0.08	0.13
75	0.18	0.21	0.10	0.18	0.20	0.26	0.13	0.13
100	0.17	0.23	0.13	0.12	0.33	0.30	0.18	0.19
150	0.16	0.27	0.24	0.18	0.29	0.35	0.24	0.26
200	0.21	0.26	0.28	0.24	0.31	0.35	0.32	0.32
300	0.23	0.24	0.30	0.30	0.38	0.36	0.33	0.37



Wavelength	Hyperbolic equation	μ_{max}	K_s
Fluorescent lamp	$\mu=0.28(I-1.45)/(I+65.8)$	0.28	68.7
Blue LED	$\mu=0.21(I-10.7)/(I+15.2)$	0.21	36.6
Green LED	$\mu=0.30(I-16.9)/(I+95.0)$	0.30	128.8
Red LED	$\mu=0.31(I-8.36)/(I+121)$	0.31	137.7

Fig. 21. Relationship between irradiance and growth rate of *A. catenella* under different wavelengths. μ_{max} : maximum growth rate K_s : Half-saturated light.



Wavelength	Hyperbolic equation	μ_{max}	K_s
Fluorescent lamp	$\mu=0.53(I-19.05)/(I+169.45)$	0.53	207.6
Blue LED	$\mu=0.43(I-11.14)/(I+33.21)$	0.43	55.5
Green LED	$\mu=0.65(I-13.63)/(I+230.52)$	0.65	257.8
Red LED	$\mu=0.43(I-16.09)/(I+104.77)$	0.43	137

Fig. 22. Relationship between irradiance and growth rate of *A. pacificum* under different wavelengths. μ_{max} : maximum growth rate K_s : Half-saturated light.

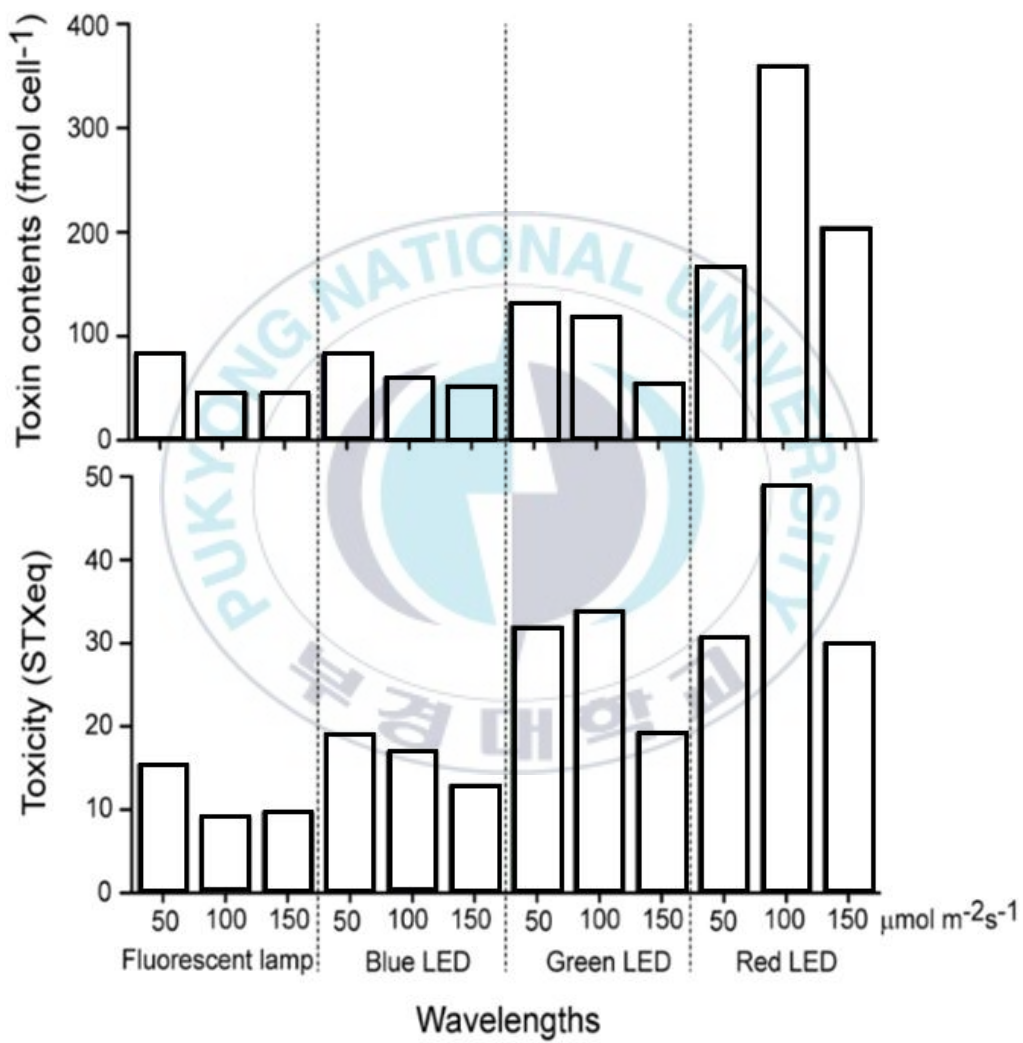


Fig. 23. Changes in toxin contents and toxicity of *A. catenella* by irradiance with different wavelengths.

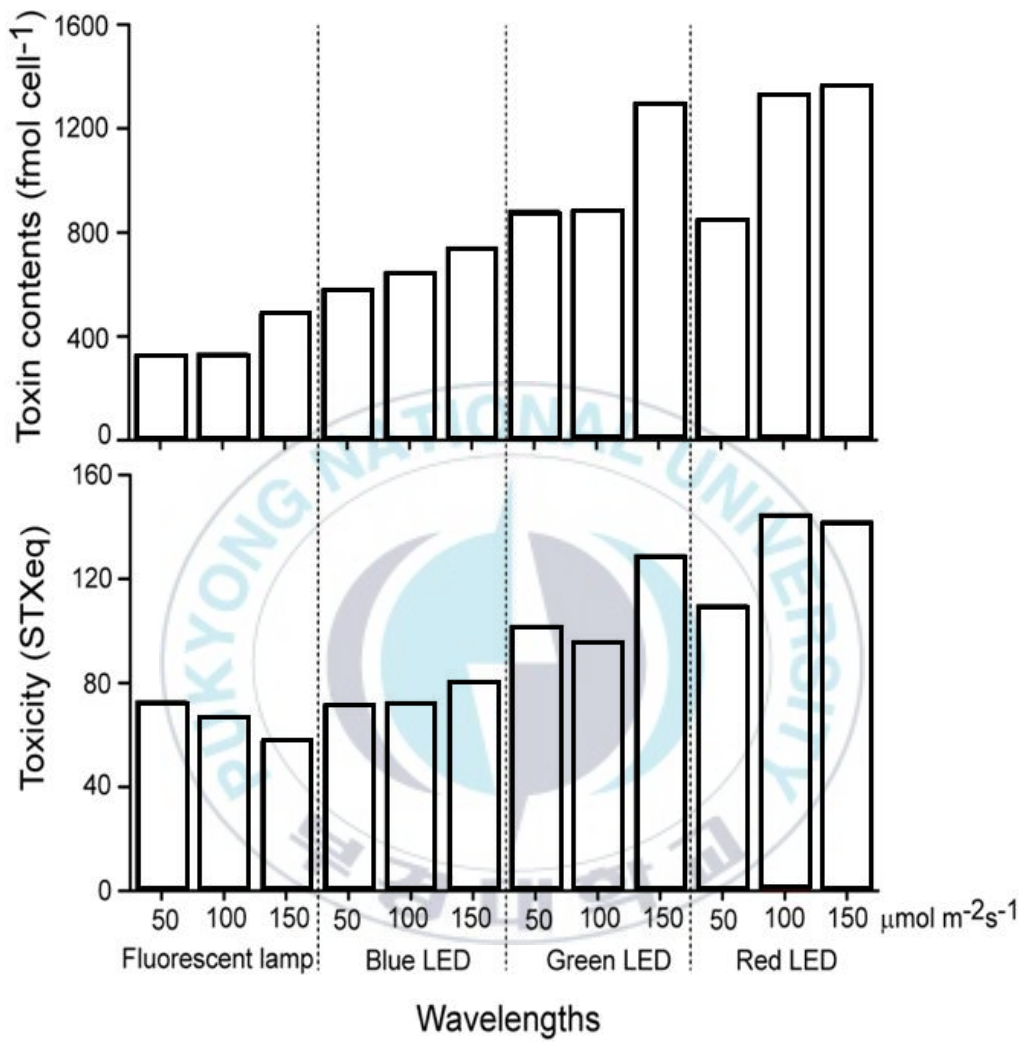
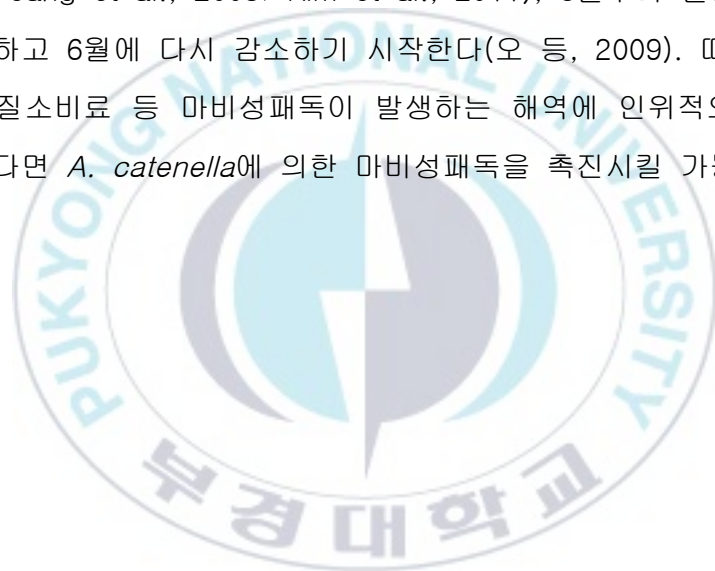


Fig. 24. Changes in toxin contents and toxicity of *A. pacificum* by irradiance with different wavelengths.

3-2-3 파장변화에 따른 *A. catenella*의 단백질변화 및 각 파장별 암모니아 농도에 따른 독성변화

PSP의 전구물질로 알려진 arginine는 단백질 구성하는 아미노산의 일종이다(Fig. 25). 이 물질을 측정하기 위해서는 아미노산 분석기를 이용하여 하지만, 여기에서는 단백질을 측정함으로써 간접적으로 PSP의 전구물질인 arginine의 농도를 추론하였다. 미세조류는 일반적으로 세포 내에 단백질 함량이 가장 높은 비율로 포함되어 있고, 단백질의 대부분 아미노산 형태로 존재한다. 따라서 파장별로 단백질을 분석하여 간접적으로 파장에 따라 가장 많이 마비성패독이 합성이 될 수 있는 영역을 살펴보았다. 그 결과 *A. catenella*는 적색 파장에서 가장 높은 농도를 보였고($1,108 \text{ pg cell}^{-1}$), 형광램프과 청색파장이 733 pg cell^{-1} 로 유사하였으며, 녹색파장에서 538 pg cell^{-1} 로 가장 낮게 나타났다(Fig. 26). 이를 통해 Ks가 대체적으로 높았던 적색파장에서 가장 높은 단백질 함량을 보이는 것을 확인하였다. 또한 Ks가 낮아 성장에 친화성이 우수할 것으로 생각되는 청색파장과 기존에 미세조류를 배양에서 사용되는 형광램프보다 약 1.5배 높은 단백질 함량을 보였다. 따라서, 적색파장에서 높은 arginine 농도가 마비성패독 생산에 기여를 하여 적색파장에서 가장 높은 마비성패독을 가졌음을 추론할 수 있다. 이러한 단백질은 해수중의 DIN(nitrate; $\text{NO}_3\text{-N}$, nitrite; $\text{NO}_2\text{-N}$, ammonium; $\text{NH}_4\text{-N}$)을 일차생산자가 체내에 흡수하게 되면 최종산물인 암모니아염으로 전환이 되며, 단백질 합성에 이용이된다. 따라서, 질소원 중 암모니아염을 이용하여 농도변화에 따른 독함량 변화를 조사하였다(Fig. 27). *A. catenella*은 복수파장에서 암모니아 농도가 증가할수록 약 2.5배 독함량 및 독성이 증가하였으며, 청색파장에서는 3배 가까이 높은 암모니아 농도에서 독성이 증가하였다. 질소는 고갈이 되면 독소함량이 감소하지만 인은 제한이 되었을 때 독함량이 증가한다고 알려져있다(Boyer et al.,

1987; Anderson et al., 1990a; Marsot, 1997; Matsuda et al., 1996; Béchemin et al., 1999; John and Flynn, 2000; Maestrini et al., 2000; Etheridge and Roesler, 2005; Wang and Hsieh, 2005). 또한, Han et al.,(2016)은 질소제한 배지에 질소를 강화시켜주었을 때 독함량이 증가한다고 하였다. 마찬가지로 본 연구에서 또한 상대적으로 질소함량이 높은 배지에서 독함량이 높게 나타났다. 하지만 진해만뿐만 아니라 가막만과 광양만 등의 남해안의 주요만에서는 질소제한이 보고되고 있으며(Cho et al., 2004; Jang et al., 2005; Kim et al., 2011), 3월부터 질산염이 증가하기 시작하고 6월에 다시 감소하기 시작한다(오 등, 2009). 따라서, 준설 사업이나 질소비료 등 마비성패독이 발생하는 해역에 인위적으로 질소가 유입이 된다면 *A. catenella*에 의한 마비성패독을 촉진시킬 가능성을 제시한다.



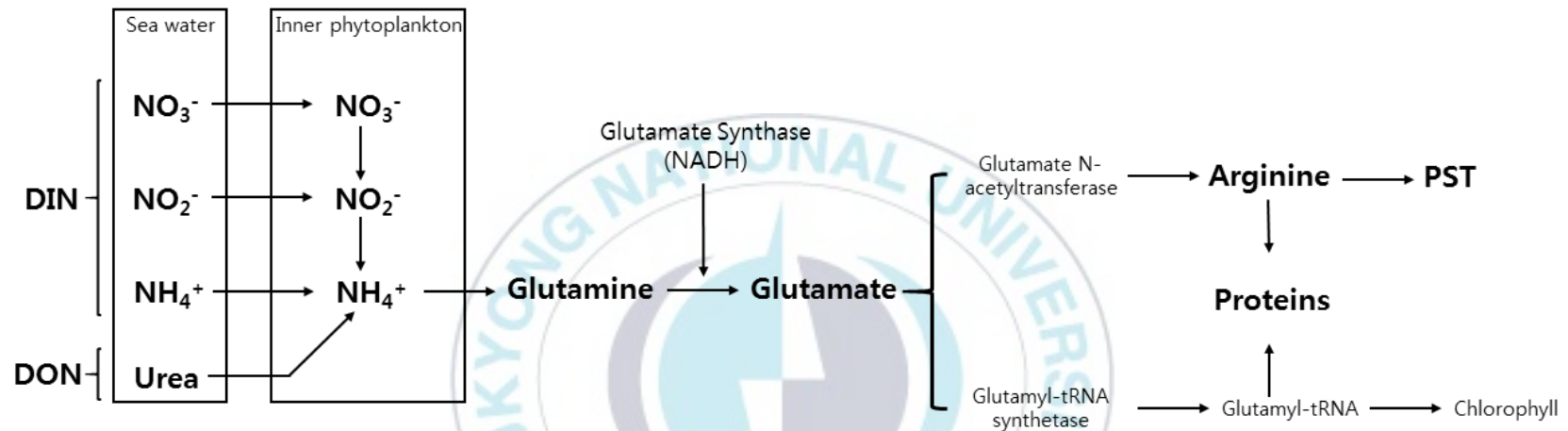


Fig. 25. The pathways of paralytic shellfish toxin (PST) formation.

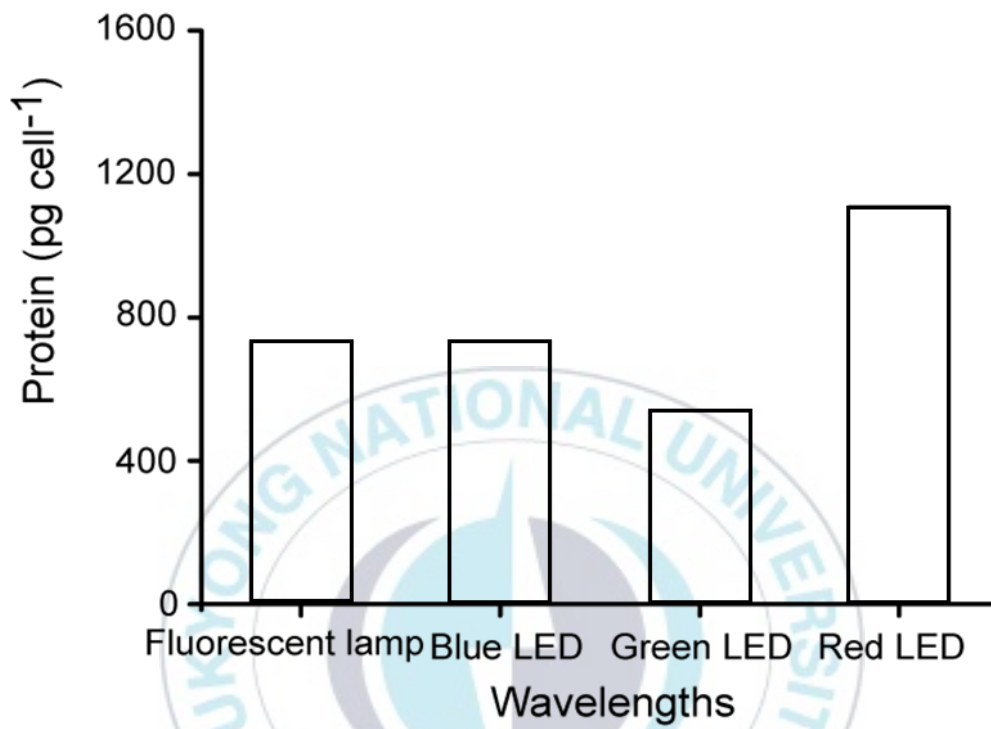


Fig. 26. Protein contents of *A. catenella* under different wavelengths.

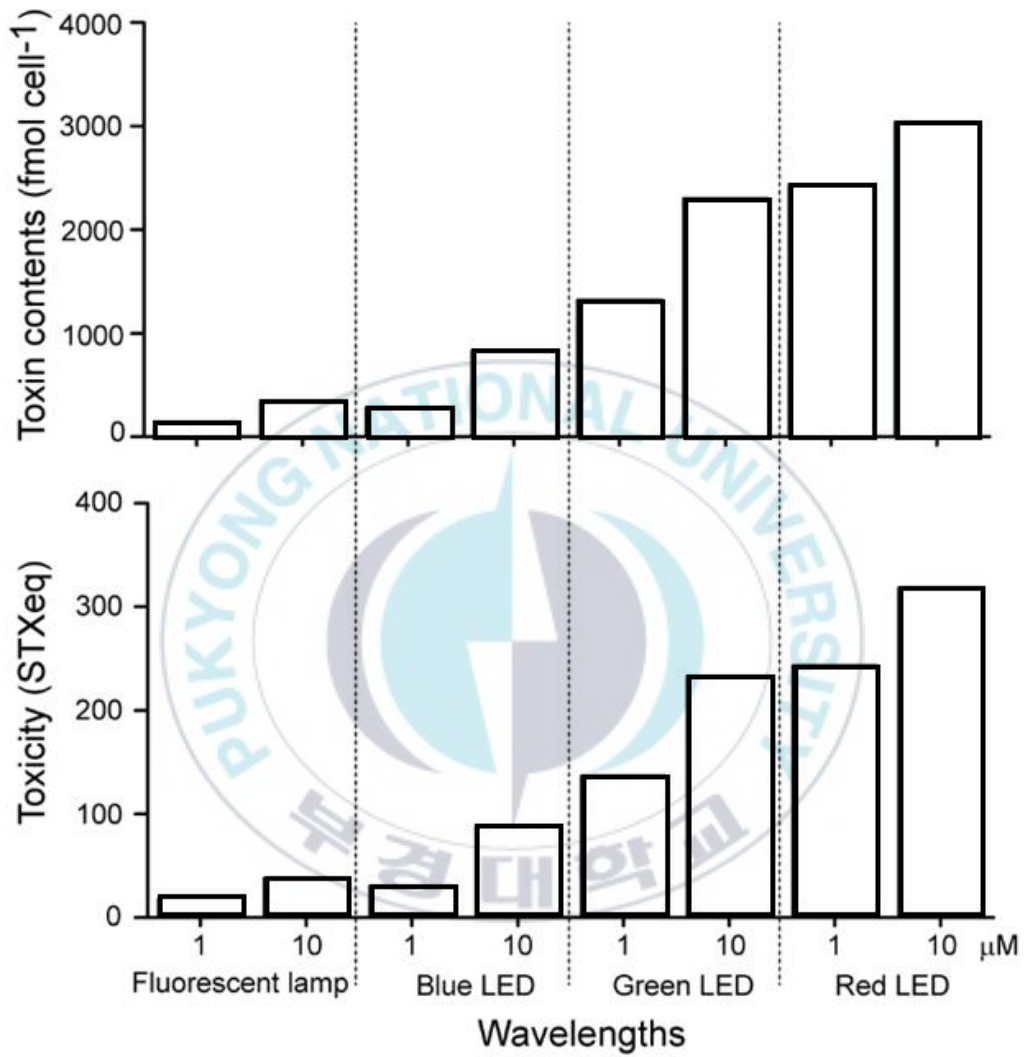


Fig. 27. Toxin contents and toxicity of *A. catenella* by ammonium concentration (1, 10 μM) with different wavelengths.

3-3. 거제도 연안에서 채취한 진주담치의 시간경과에 따른 독성 변화 실험

진주담치는 일반적으로 우럭보다 2-4배 더 높게 독화되는 것으로 알려져있다.(Hurst and Gilfillan, 1977; White, 1982, Larocque and Cembella, 1991). 유독 적조생물의 여과 섭이에 따른 담치류의 빠른 독화는 PSP 독소에 대한 조직내의 비선택적 보유와 조직 내 독소에 대한 민감도와 상관관계가 있다(Bricelj and Shumway, 1998). 일반적으로 PSP 독소에 무감각한 신경을 가진 조개류(담치류)는 독성 세포를 쉽게 섭이하고(Bricelj et al., 1998), 이것으로 인해 높은 독소를 축적한다. 반면, 상대적으로 낮은 독성에 이르는 종(굴류)은 PSP 독소에 매우 민감하며 독성 세포를 피하거나 노출을 감소하기 위한 생리적-행동습관적 반응을 일으킨다. 가리비는 이러한 인식작용의 한 가지로 패각을 닫고 패각 밸브를 완벽하게 차단하기까지 한다(Gainey and Shumway, 1988). 이와 같이 담치류는 유독 적조생물 발생 시 여과 섭이와 동시에 빠르게 독화되는 종으로서 PSP 발생의 초기 정보를 제공하는 지표생물로 매우 적합하다. Fig. 28은 시간경과에 따른 독소함량과 섭이량 변화를 나타냈다. 진주담치들은 먹이 섭취와 동시에 독을 축적하였다. 144시간이 지나서 먹이가 고갈되었으며, 최고 독성을 나타냈다 (176.5 MU/g). 독성은 먹이가 고갈된 이후 감소하기 시작했다. 먹이는 48시간이 경과 후 약 90%가 섭이되었으며, 독성은 하루가 지난 72시간 이후에 증가하기 시작하였다. 이는 유독종인 *Alexandrium* 속이 출현 후 3일-6일 경과후 독성이 축적될 수 있음을 암시할 수 있다. 하지만, Gavin et al. (1997)은 해수 중 *A. catenella* 세포수가 많았으나 조개류에서는 어떠한 독 축적도 관측되지 않은 경우와 이와는 반대로, 해수 중 출현한 와편모조류들이 대부분 무독종임에도 불구하고 조개류의 독함량은 여전히 감소하지 않는 경우(Hong Kong Government Protection Department Annual

Reports, 1988~1994)를 보고하였다. 또한, 와편모조류에 의해 생산된 β -이성질체(C2, GTX3, GTX4) 성분들은 조개류의 조직내에서 이성질화 과정을 거쳐 α -이성질체 성분들(C1, GTX1, GTX2)로 전환된다(Bricelj et al. 1990; Oshima et al. 1990). 특히 α -이성질체와(C1, GTX1, GTX2)와 β -이성질체(C2, GTX3, GTX4) 성분은 독화 초기에서 독 배출의 후기에 이르기 까지 1:3에서 3:1의 평형을 유지하는 성분으로 보고된 바 있다(Cembella et al. 1997). 하지만, 본 연구에서 C1, C2 성분은 기존에 알려진 사실을 잘 반영해주었지만 GTX 성분들은 위 법칙을 따르지 않았다. 이는 PSP 분석에 일반적으로 사용되어지고 있는 AOAC법(AOAC, 2000)에 따라 조개류의 전처리 과정에서 염산을 이용한 독소 추출은 독 조성을 변화시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Cembella et al. 1993). 또한, 다양한 환경조건을 조절하여 실험의 반복성을 재검토할 필요가 있다. 결론적으로, 해수중에 유독플랑크톤을 섭취후에 상기와 같은 과정으로 인하여 시간이 소요된다. 하지만 단순히 해수 중 유독 와편모조류 세포수를 측정하는 것만으로는 수산식품의 안정성을 보장할 수 없지만 폐쇄적인 지역에서 큰 환경 변화가 없다면, 동일한 유독 지역개체군에 의해서 다음과 같은 시간경과에 의해서 독화가 발생할 것으로 기대되며, 이는 독성 예측 모델에 적용 가능할 것으로 여겨지며, 앞으로의 마비성패독의 독 추적과 제독에 대한 향상된 예측과, 모니터링 프로그램을 발전시키는 데 기여하게 될 것이다.

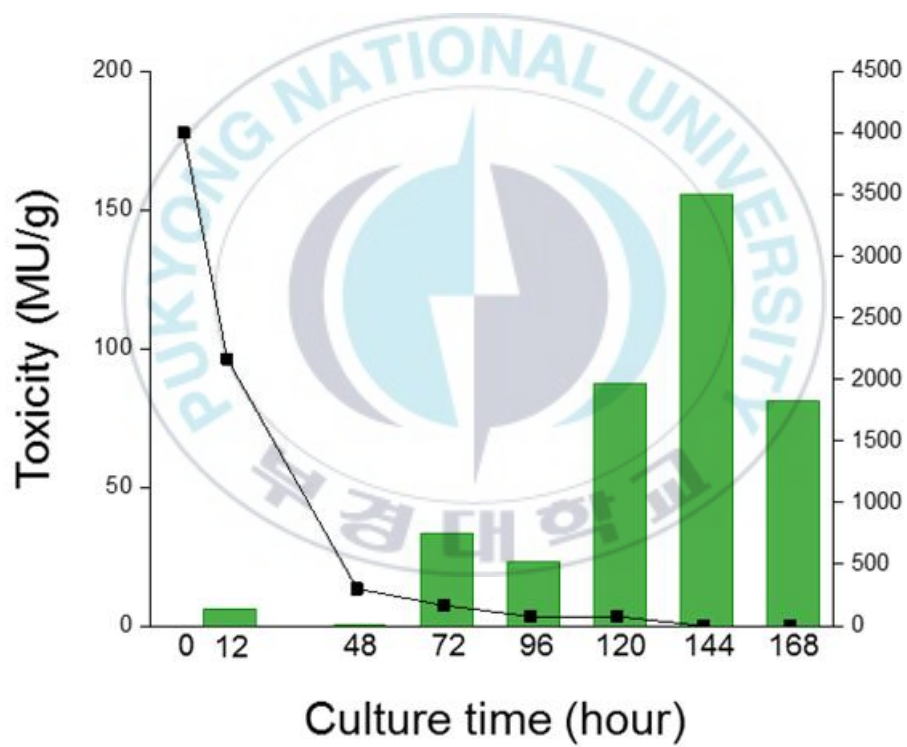


Fig. 28. Changes in the PSP toxin content of *Mytilus* (rectangular bar) and the cell density of *A. catenella* (line with square) as a function of culture age.

3-4. 거제도 연안에서 채취한 진주담치의 마비성패독 독화 양상

2018년도 0 m, 5 m, B-1 m 수심변화에 따른 수온, 염분, DIN, DIP, DIN:DIP 그리고 세포밀도변화를 Fig. 29, Fig. 30, Fig. 31에 제시하였다. 수온은 0 m, 5 m, B-1 m 모두 약 11°C-22°C의 범위를 가지며, 염분은 대체적으로 일정하였다. 영양염은 DIN과 DIP 모두 전 수심에서 3월에는 DIN이 12 µM이상, DIP가 0.4 µM로 가장 높았으며, 4월부터 감소하기 시작하여 6월부터는 5 m와 B-1m에서 상승하기 시작한다. DIN:DIP비는 0 m에서는 5월15일 최고점을 나타냈으며, 5 m와 B-1 m는 5월 10일에 최고점을 나타냈다. *A. catenella*의 현존량은 0 m에서 4월 2일 620 cells / L로 가장 높았으며, 이후 감소하다가 4월 16일 이후 증가하기 시작하여 6월 중순부터는 출현하지 않았다. 5 m와 B-1 m에서 4월 2일 가장 높은 *A. catenella* 현존량이 출현하였으며, 이 후 경향은 0 m보다 상대적으로 낮게 출현하였다. 또한, 2018년 진주담치의 독성변화를 Fig. 35(a)에 제시하였다. 진주담치의 독성은 3월까지 다소 낮게 나타났으며(8.40-9.36 MU/g), 4월 2일 151 MU/g로 가장 높았으며, 이후 급속히 감소하기 시작하여 4월 23일 이후 독성이 나타나지 않았다.

2019년도 0 m, 5 m, B-1 m 수심변화에 따른 수온, 염분, DIN, DIP, DIN:DIP 그리고 세포밀도변화를 Fig. 32, Fig. 33, Fig. 34에 제시하였다. 수온은 0 m, 5 m, B-1 m 모두 약 11°C-22°C의 범위를 가지며, 2018년도와 유사하였다. 염분은 대체적으로 일정하였다. 영양염은 2018년도와 비교하였을 때, DIN과 DIP는 모든 수심에서 3월에서 가장 높게 나타났던 2018년과는 달리 2019년도는 대체적으로 약 3-4배정도 낮았으며, 4월과 5월 그리고 6월은 산발적인 형태로 나타났다. *A. catenella*의 현존량은 2018년도와 유사한 경향을 나타냈으며, 0 m와 5 m에서는 3월19일과 5월8일에 최고점을 나타냈으며, B-1 m에서는 3월19일과 5월13일 최고점을 나타냈다. 한편, 진주담치의 독성은 3월에 전체적으로 높게 나타났으며(19.5-30.7 MU/g), 3월 26일 최고독성을 나타낸 후, 4월부터 급격히 감소하기 시작하여 독성변화에 큰 변동은 나타나지 않았다(Fig. 35b). 본 연구에서 진주담치에서 검출된 마비성패독 성분은 C1, C2, GTX1, GTX2, GTX3 및 GTX4로 매우 다양하였다. 인근해역인 진해만 일대에서 지난 20년간 생리·화학적 환경 요소가 크게 변하지 않아, *A. tamarense*의 독 조성이 일정하게

유지되고 있다고 하였다. 본 연구에서 검출된 진주담치의 독 조성은 진해만 해역에 분포하는 *A. tamarense*의 독 조성과는 다르게 나타났으며, 이는 진주담치에 의해 생체전환이 이루어졌기 때문으로 사료된다. 유독 와편모조류를 섭취한 패류는 낮은 pH에서 가수분해로 인한 이성질체화와 효소에 의한 생체전환과 같은 기작으로 인하여 영양세포와 유사하나 더 다양한 독 조성을 가지게 되며(Oshima, 1995), 이러한 독소성분들의 변화는 유독 와편모조류의 마비성패독 성분 중 불안정한 N-sulfocarbamoyl 독소성분(C1, C2, C3, C4, GTX5, GTX6)이 많을 때 패류 조직 내에서 생체전환이 일어나 맹독성의 carbamoyl계 독 성분으로 전환되는 것으로 알려져 있다(Beitler and Liston, 1990; Bricelj et al., 1991; Asakawa et al., 1995). 따라서, 유독와편모조류가 N-sulfocarbomoly 독소 성분이 많아 독 강도가 낮더라도, 이를 섭취한 패류에 의해 독 강도가 높은 성분으로 전환되어 패류의 독성이 높아질 수 있을 것을 판단된다. 한편, 본 연구에서 *A. catenella*의 현존량이 증가하거나 감소할 때 진주담치의 독성도 증가하거나 감소하는 양의 상관성을 보였고, 수온이 15°C 이상으로 상승하는 5월부터는 *A. catenella*의 현존량과 진주담치의 독성 사이에 상관성이 나타나지 않았다. 이는 본 연구에서 수행한 *A. catenella*는 낮은 수온(10-15°C)에서 독성이 높았으며 N-sulfocarbamoyl 독소성분인 C1, C2, GTX5 성분이 20-30°C보다 약 2-3배 높게 나타난 결과이다. 이로인하여, 현존량과 독성이 높은 *A. catenella* 세포를 여과섭식한 결과로 나타나진다. 하지만 *A. catenella*은 15°C 이상에서는 독성이 급격하게 감소하였으며, 5월에 나타난 *A. catenella*의 높은 현존량은 진주담치내의 독성증가를 반영해주지 못하였다. 또한 4-1-1에서 *A. catenella*를 먹이원으로 진주담치에 투여하고 3일 후에 독량이 증가하기 시작하여, 7일정도에 최고독성을 나타냈다. 다른 실내실험 결과, 먹이 투여 후, 이틀 만에 먹이생물이 고갈되고 나서 독성이 급격히 증가하였다. 2019년 *A. catenella*의 현존량은 3월19일 최고치를 나타냈으며, 일주일 후인 3월26일에 독성이 가장 높게 나타났다. 따라서 먹이섭식 후 즉각적인 독성으로의 전환이 아닌 3-7일 정도의 시간경과 후에 담치에서의 독성으로 전환되어진다는 본 연구결과와 일치하였지만, 2018년 자료는 *A. catenella*의 현존량이 최대치를 나타내는 4월2일에 담치류의 독성도 가장 높게 나타났다. 이는 *Alexandrium*의 세포뿐만 아니라 영양염에 의한 영향

으로 여겨진다. 2018년도는 2019년도와 달리 3월부터 4월초까지 DIN 및 DIP의 농도는 전체적으로 높게 나타났으며, 이로인하여 3-2-3에서 서술한 바와같이 세포내 독소함량이 높아졌으며, 높은 독소함량 세포를 섭취한 담치류에게 반영된 결과로 나타난다. 하지만, 식물플랑크톤은 주로 DIN, DIP와 같은 용존무기영양염을 이용하기도 하며, 해수 중에서 용존무기영양염이 부족한경우에 다양한 형태의 용존유기영양염을 가수분해를 통해 무기태로 성장에 이용하기도 한다(Baden and Mende, 1979; Fisher and Cowdell, 1982; John and Flynn, 1999; Leong and Taguchi, 2004). 따라서, Alexandrium 속이 출현하는 시기에 DIN 및 DIP가 제한영양염으로 작용하면 다양한 용존무기영양염을 성장을 유지하는데 이용하게 된다. 따라서, 단순히 용존무기영양염으로 인한 마비성패독 발생 및 독의 세기를 예측하기에는 어려움이 있으며, Alexandrium 속의 출현에 따른 피해를 보다 더 정확하게 예:측하기 위해서는 DON 및 DOP의 가수분해 효소의 활성능력을 비롯하여 용존유기영양염에 대한 흡수 동력학 실험 등의 생리적인 데이터의 축적이 필요할 것으로 보이며, 이렇게 축적된 자료는 Alexandrium 속에 의한 마비성패독 발생기작을 설명하는데 유용하게 이용될 것으로 생각된다. 결론적으로, 우리나라에서 마비성패독을 발생시키는 대표적인 원인종인 *A. catenella*와 *A. pacificum* 중 저수온(10-15°C)에서 독성이 높게 나타난 *A. catenella*가 춘계 마비성패독이 발생시 많은 기여를 할 것으로 여겨진다. 또한, 현존량이 높을수록 독화가 촉진되어지며, 무기질소농도가 높으면 *Alexandrium* 세포뿐만아니라 담치류의 독성을 증가시킬 수 있으며, 세포섭이 후 빠른시간내에 체내에 독성을 축적할 가능성이 높다.

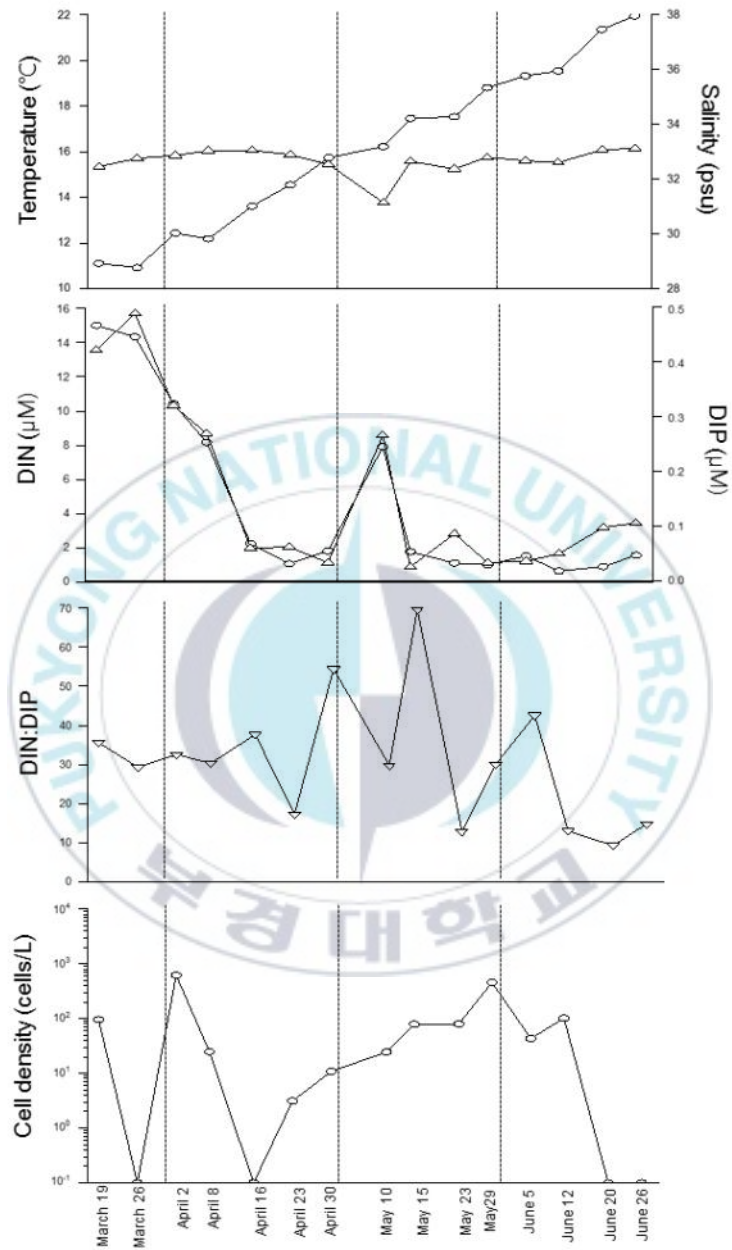


Fig. 29. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 0 m area from march to June in 2018.

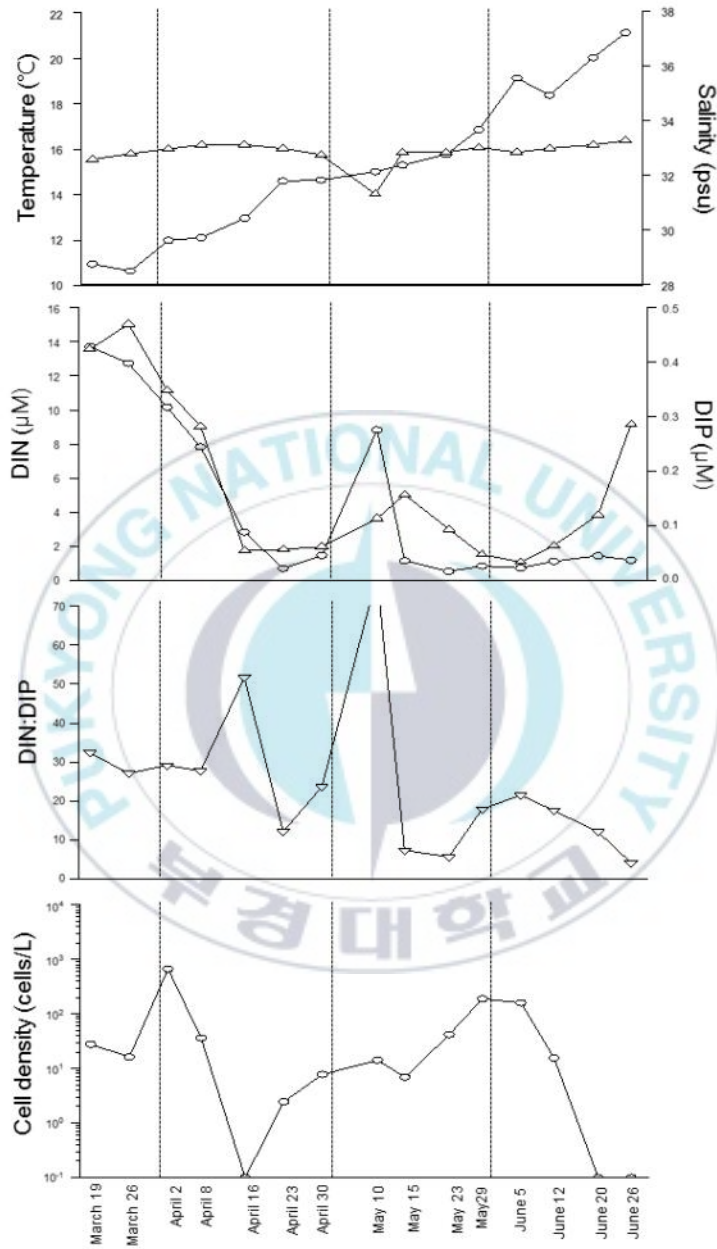


Fig. 30. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 5 m area from march to June in 2018.

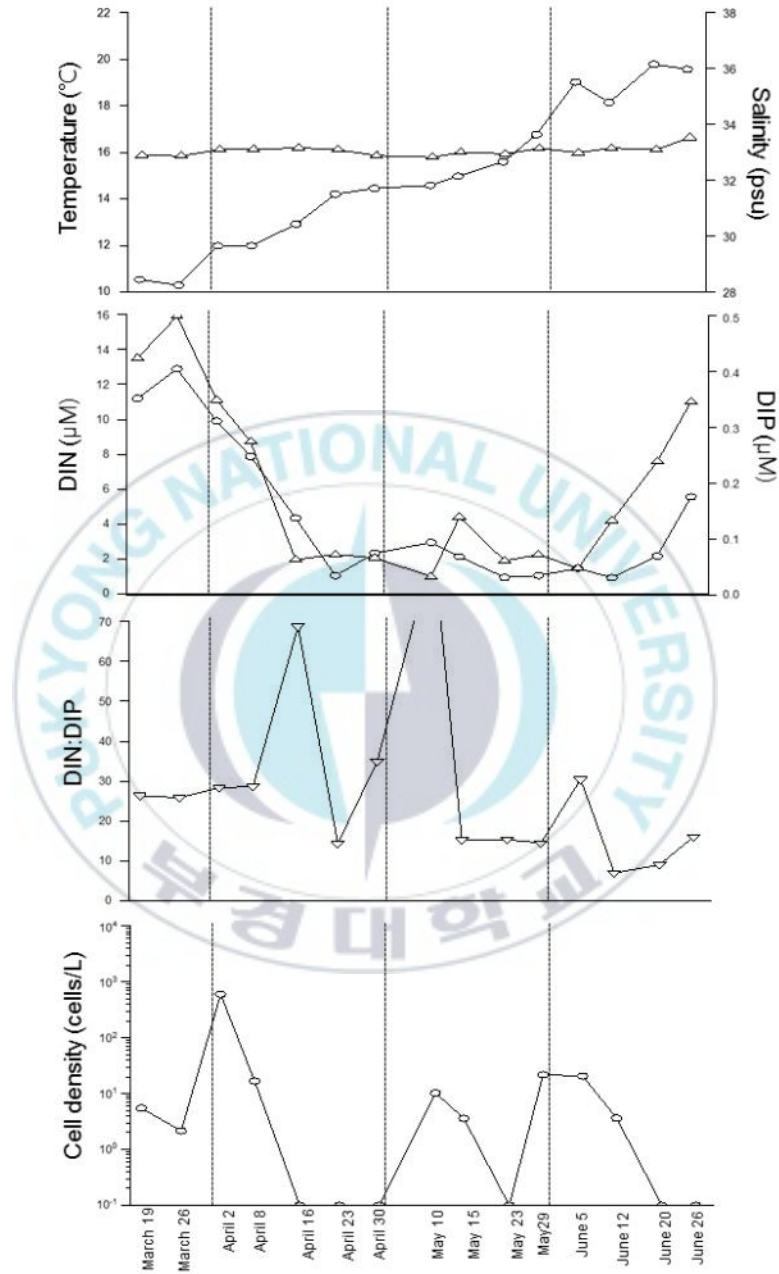


Fig. 31. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of B-1 m area from march to June in 2018.

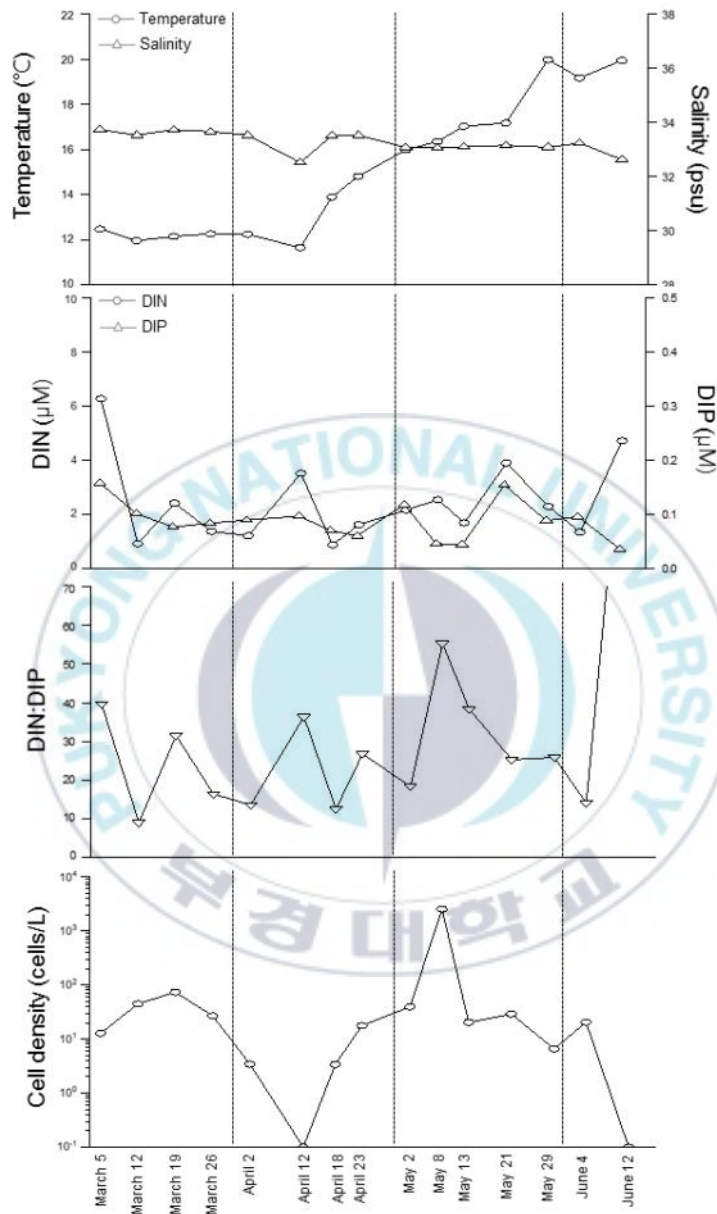


Fig. 32. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 0 m area from march to June in 2019.

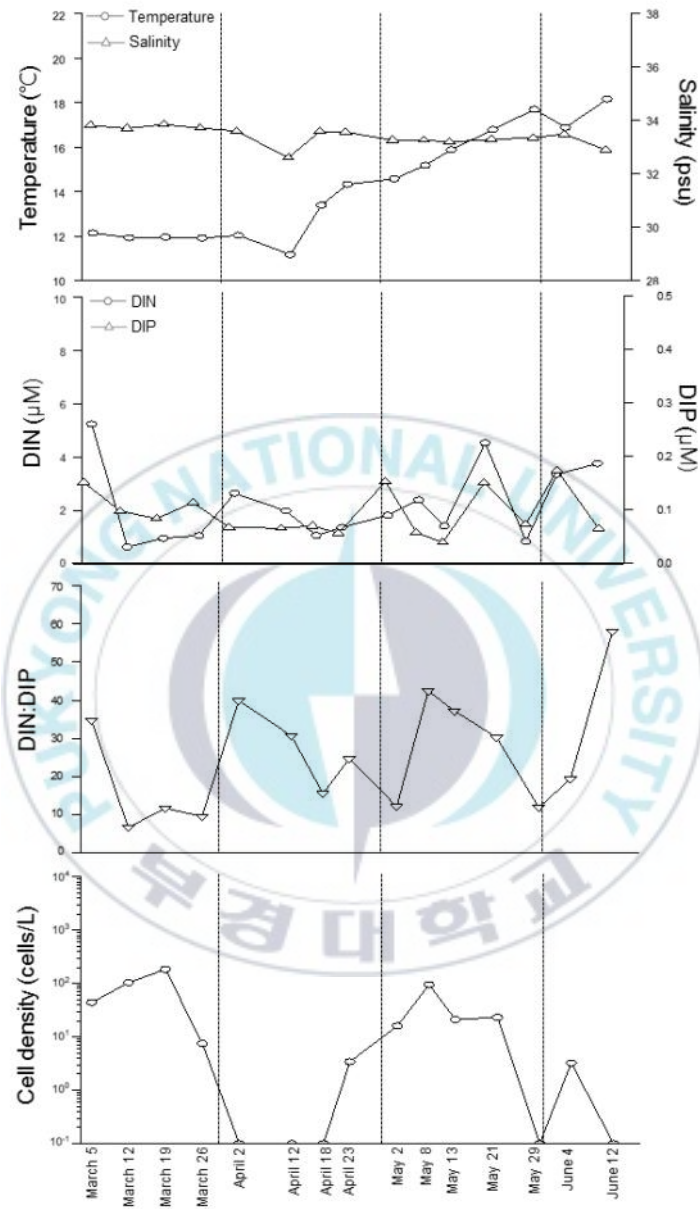


Fig. 33. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of 5 m area from march to June in 2019.

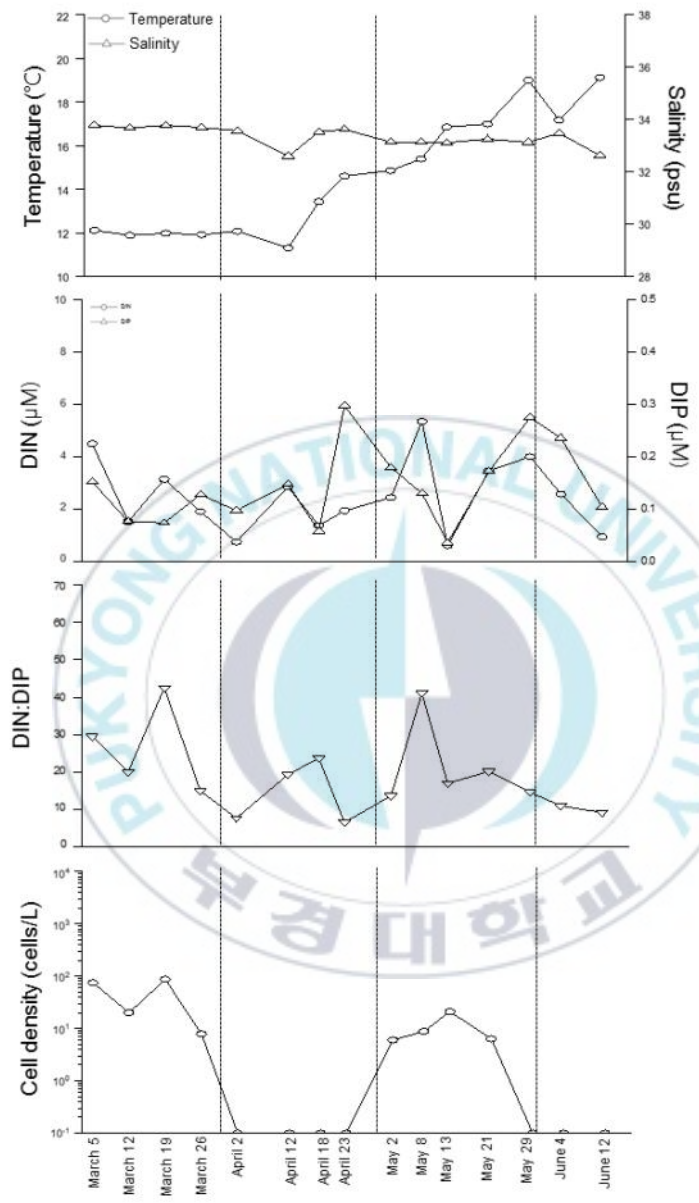


Fig. 34. Temperature, salinity, DIN, DIP, DIN:DIP and cell density changes in Geo-je of B-1 m area from march to June in 2019.

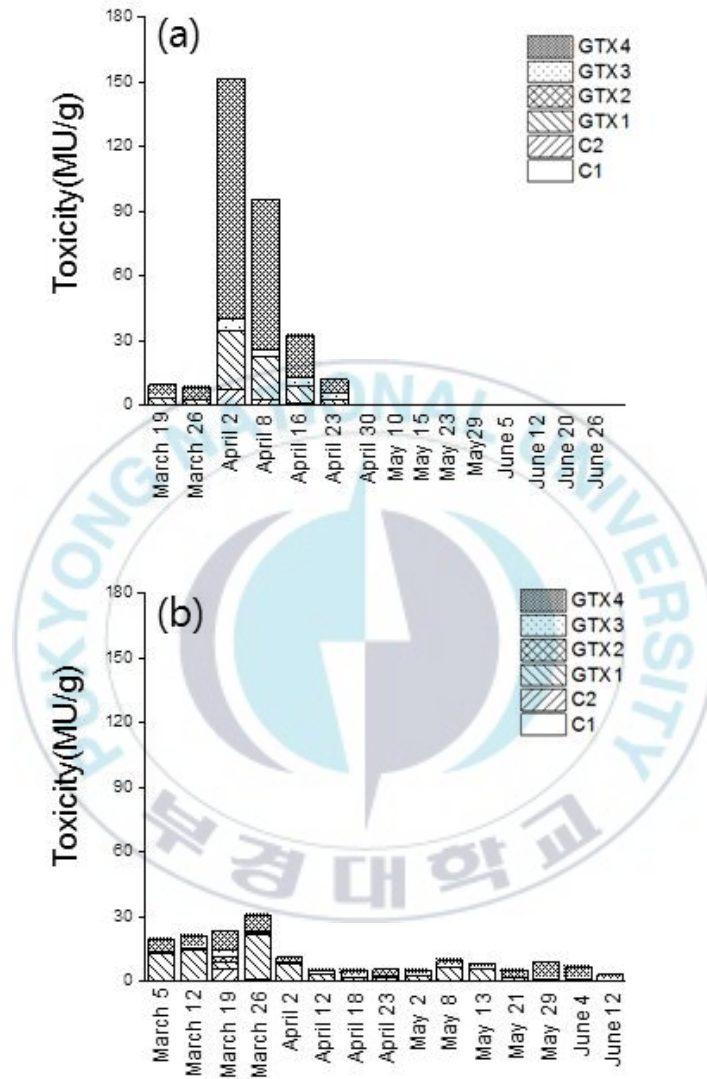


Fig. 35. Toxicity changes in Geo-je area from march to June in 2018(a), 2019(b).

IV. 결론

우리나라 연안에서 대표적으로 마비성패독을 일으키는 원인종은 *A. tamarense*와 *A. catenella*이다. 하지만, 최근 분자계통학적 데이터를 사용하여 확인된 한국의 *A. tamarense*와 *A. catenella*은 *A. catenella*와 *A. pacificum*으로 재지정되었다. 이들 종은 우리나라 서해와 남해에 광범위하게 분포 하고 있는 것으로 확인되었으며, 낮은 개체군 밀도만으로도 이때 패류를 독화시킬 수 있어 주의가 요구되는 종이다. 따라서 이 연구에서는 유독 와편모조류 *A. catenella*와 *A. pacificum*의 환경변화에 따른 독성변화를 실내 배양실험을 통해 파악하였고, 실제 마비성패독이 발생하는 해역에서 채취한 담치류의 독성분석을 통해서 주변 해양환경 및 *Alexandrium catenella*의 현존량과의 상관관계를 알아보았다.

실내 배양 실험 결과 첫 번째, *A. catenella*와 *A. pacificum*의 최적 성장 범위는 수온 20-25°C, 염분 20-35 psu이며 광염성종이고 *A. catenella*은 상대적으로 낮은 수온(10-15°C)에서 독함량이 높게 나타났으며, *A. pacificum*은 수온이 가장 높은 25°C를 제외하고 수온변화에 따른 독성과의 상관성은 나타나지 않았다. 따라서, *A. catenella*은 춘계에 마비성패독이 발생하는 시기의 표층수온(10-15°C)범위에서 독성이 가장 높게 나타났기 때문에 마비성패독발현에 많은 기여를 하는 종으로 여겨지며, *A. pacificum*은 수온이 25°C일 때, 가장 높은 독성수치가 나타났기 때문에 마비성패독이 장기간 지속된다면 *A. pacificum*에 의한 마비성패독 발현을 의심해볼 수 있다. *A. catenella*와 *A. pacificum*은 광염성종으로 염분변화에 따른 성장률의 차이가 미미하였으며, 독성에도 유의한 차이가 나타나지 않았다. 따라서 일반적인 우리나라 해양환경에서의 염분범위에서는 염분이 마비성패독에

미치는 영향은 미미할 것으로 여겨진다. 두 번째, 광에 대한 영향은, *A. catenella*와 *A. pacificum*에서 광량이 증가할수록 독성이 감소하였다. 따라서, 흐린날이 지속되는 등 입사하는 조도가 장기간 낮아지게 되면 마비성 패독을 촉진시킬 가능성을 제시할 수 있다. 파장은 적색파장에서 가장 높은 독성을 나타냈으며, 마비성패독의 전구물질로 알려진 arginine는 단백질을 구성하는 아미노산의 일종으로, 단백질을 측정함으로써 간접적으로 PSP의 전구물질인 arginine을 추론하였다. 그 결과, 적색파장에서 단백질 함량이 가장 높게 나타났으며, 적색파장에서 높은 arginine 농도가 마비성 패독 생산에 기여를 하여 적색파장에서 가장 높은 마비성패독을 가졌음을 추론할 수 있다. 또한, 단백질은 해수중의 DIN(nitrate; $\text{NO}_3\text{-N}$, nitrite; $\text{NO}_2\text{-N}$, ammonium; $\text{NH}_4\text{-N}$)을 일차생산자가 체내에 흡수하게 되면 최종 산물인 암모니아염으로 전환이 되어, 단백질로 합성이 되는데, 이를 통해 질소원 중 암모니아염을 이용하여 농도변화에 따른 독함량 변화를 조사한 결과, 암모니아 농도가 높을수록 독성이 증가하였다. 따라서, 준설이나 질소비료 등 마비성패독이 발생하는 해역에 인위적으로 질소가 유입이 된다면 마비성패독을 촉진시킬 가능성이 있다. 하지만 적색파장은 해양환경에서 투과깊이가 가장 얇은 파장대로 수직이동(Vertical migration)을 하는 와편모조류 특성상 적색파장에 의한 마비성패독에 미치는 영향을 미미할 것으로 여겨진다.

또한, 진주담치는 먹이생물을 투여하자마자 섭식하기 시작하여 독성은 3일이 경과한 후 증가하기 시작하였으며, 7일이 지났을 때 최고함량을 나타냈다. 또한, 현장실험 결과 *A. catenella* 현존량과 진주담치의 독성과 양의 상관관계를 가졌으며, 주변 질소농도에 따라 최고독성함량의 차이가 나타났다. 2018년도에는 *A. catenella*의 현존량의 증가에 따라 진주담치의 독성은 즉각적으로 상승하였지만 2019년도에는 일주일 이 지나고 최고치를

가졌다. 결론적으로, 낮은 수온에서 독성이 높은 *A. catenella*은 3월과 5월에 최고치를 나타냈지만, 5월부터는 수온이 15°C 이상으로 상승하기 때문에 독함량이 낮아 마비성패독생산에 영향을 주지 못했으며, 주변 해양의 질소 농도는 마비성패독생산을 증가시키고 먹이생물을 섭식 후 담치류의 체내에 독소합성을 촉진시켜 발현을 조기화시킬 가능성이 있다.



V. 참고문헌

- 오석진, 박지아, 권형규, 양한섭, 임월애, 2012. 남해연안해역에서 분리한 유독와편모조류 *Alexandrium tamarense*와 *Alexandrium catenella*의 개체군 변화에 관한 생리·생태학적 연구 I. 수온과 염분의 변화에 따른 성장 특성. 한국해양환경공학회지, 15(2): 133-141.
- 오석진, 박종식, 윤양호, 양한섭, 2009. 북부 가막만의 식물플랑크톤 군집 변동 해석. 해양환경안전학회지, 15(4): 329-338.
- 이진환, 1999. 한국연안에 있어서 적조발생과 식물플랑크톤 독성에 관한 개관. Korean J. Environ. Biol., 17(3):217-232.
- 이창규, 이옥희, 이삼근, 2005, “한국연안에서 분리한 적조형성 미세조류 10종의 성장에 미치는 온도, 염분, 광도의 영향”, 바다, Vol.10, 79-91.
- 임월애, 이영식, 강영실, 김성수, 김성연, 최혜승, 허영백, 이태식, 이재영, 2010. 통영 양식장 해역의 식물플랑크톤 군집의 연간변동. The Journal of Korean Society of Oceanography, 15(4): 158-165.
- Anderson, D. M., T. J. Alpermann, A. D. Cembella, Y. Collos, E. Masseret, M. Montresor, 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. Harmful Algae, 14: 10-35.
- Anderson, D. M., D.M. Kullis, J.J. Sullivan, S. Hall, and C. Lee. 1990. Dynamics and physiology of saxitoxin production by the

dinoflagellate *Alexandrium* spp. Mar. Biol., 104: 511-524.

A. I. Gedaria, Bernd Luckas, Katrin Reinhardt, Rhodora V. Azanza, 2007. Growth response and toxin concentration of cultured *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* to varying salinity and temperature conditions. *Toxicon*, Vol. 50, 518-529.

Asakawa, M., K. Miyazawa, H. Takayama and T. Noguchi. 1995. Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* as the source of paralytic shellfish poison (PSP) contained in bivalves from Hiroshima Bay, Hiroshima prefecture, Japan. *Toxicon*, 33, 691-697.

Baden, D.G., and Mende, T.J., 1979, "Amino acid utilization by *Gymnodinium breve*", *Phytochemistry*, Vol.18, 247-251.

Bricelj, V.M., J.H. Lee and A.D. Cembgella. 1991. Influence of dinoflagellate cell toxicity on uptake and loss of paralytic shellfish toxins in the northern quahog, *Mercenaria mercenaria*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 74, 33-46.

Bricelj, V.M., J.H. Lee, A.D. Cembella, and D.M. Anderson. 1990. Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 63:177-188.

Bricelj, V. M., and S. E. Shumway. 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve mollusks: Occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. *Rev. Fish. Sci.*, 6: 315-383.

- Beitler, M. K. and J. Liston. 1990. Uptake and tissue distribution of PSP toxins in butter clams. In: Toxic Marine Phytoplankton. Graneli, E., B. Sundstrom, L. Elder, and D. M. Anderson, eds, Elsevier Science Publishers, New York, U.S.A., 257-262.
- Béchinin C, Grzebyk D, Hachame F, Hummert C, Maestrini SY, 1999. Effect of different nitrogen/phosphorus nutrient ratios on the toxin content in *Alexandrium minutum*. *Aquat. Microb. Ecol* 20, 157-165.
- Bricelj, V. M., J. H. Lee and A. D. Cembella. 1990. Uptake of *Alexandrium fundyense* by *Mytilus edulis* and *Mercenaria mercenaria* under controlled conditions. In: Harmful Marine Algal Blooms. Lassus, P., G. Arzul, E. Erard, P. Gentien and C. Marcaillou, eds. Paris, Lavoisier, pp. 269-274.
- Bricelj, V.M., A.D. Cembella, D. Lady, S.E. Shumway, and T.L. Cucci. 1996. Comparative physiological and behavioral response to PSP toxins in two bivalves mollusks, the softshell clam, *Mya arenaria*, and surfclam, *Spisula solidissima*. In: Harmful and Toxic Algal Blooms, pp. 405-408.
- Boyer G.L, Sullivan JJ, Anderson RJ, Harrison PJ, Taylor FJR, 1987. Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol* 96, 123-128.
- Chang, D.S., I.S. Shin, J.H. Pyeon, and Y.H. Park. 1987. A study of

paralytic shellfish poison of sea mussel, *Mytilus edulis*: Food poisoning accident in Gamchun Bay, Busan, Korea, J. Kor. Fish. Soc., 20: 293-300.

Christine J. Band-Schmidt, Jose J. Bustillos-Guzman, Francisco E. Hernandez-Sandoval, Erick J. Núñez-Vazquez, David J. Lopez-Cortes, 2014, Effect of temperature on growth and paralytic toxin profiles in isolates of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from the Pacific coast of Mexico, Toxicon, Vol. 90, 199-212.

Cho C. H. 1978. On the *Gonyaulax* red tide in Jinhae Bay. Bull. Korean Fish. Soc. 11:111-1114.

Chebib, H.A., A.D. Cembella, and P. Anderson. 1993. Differential paralytic shellfish toxin accumulation and detoxification kinetics in transplanted populations of *Mytilus edulis* exposed to natural blooms of *Alexandrium excavatum*. In: Toxic phytoplankton Blooms in the Sea., pp. 383-388.

Cembella, A.D., S.E. Shumway, and N.I. Lewis. 1993. Anatomical distribution and spatio-temporal variation in paralytic shellfish toxin composition in two bivalve species from the Gulf of Maine. J. Shellfish Res., 12: 389-403.

Cembella, A.D., J.C. Therriault, and P. Beland. 1988. Toxicity of cultured isolates and natural populations of *Protogonyaulax tamarensis* from the St. Lawrence Estuary. J. Shellfish Res., 7: 611-621.

- Cembella, A.D., 1998, Ecophysiology and metabolism of paralytic shellfish toxins in marine microalgae. *Harmful Algal Blooms*, 41: 381-404.
- Cloern J.E.,1987. Turbidity as a control on phytoplankton biomass and productivity in estuaries. *Continental Shelf Research* 7:1367-1381.
- Etheridge, S. M. and C. S. Roesler, 2005. Effects of temperature, irradiance and salinity on photosynthesis, growth rates, total toxicity and toxin composition for *Alexandrium fundyense* isolates from the Gulf of Maine and Bay of Fundy. *Deep Sea Research Part II*, 52: 2491-2500.
- Eppley, R. W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fish. Bull.* 70: 1063-1085.
- Fisher, N.S. and Cowdell, R.A., 1982, "Growth of marine planktonic diatoms on inorganic and organic nitrogen", *Mar. Biol.*, Vol.72, 147-155.
- Fukuyo, Y., H. Takano, M. Chikara and K. Matsuoka. 1990. Red tide organisms in Japan - An illustrated taxonomic guide. Uchida Rokakuho, Tokyo, Japan, 1-430.
- Fukuyo, Y., 1985, "Morphology of *Protogonyaulax tamarensis* (Lebour) Taylor and *Protogonyaulax catenella* (Whedon and Kofoid) Taylor from Japanese Coastal Waters", *Bull. Mar. Sci.*, Vol.37, 529-537.

- Gainey, L. F. Jr. and S. E. shumway. 1988. A compendium of the responses of bivalve molluscs to toxic dinoflagellates. *J. Shellfish Res.*, 7(4), 623-628.
- Gavin, K. Y. S, L. C. Y. Maria, and D. K. O. Chan. 1997. Environmental and nutritional factors which regulate population dynamics and toxin production in the dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Hydrobiologia*, 352: 117-140.
- Gallagher, J.C., 1982, "Physiological variation and electrophoretic banding patterns of genetically different seasonal populations of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae)", *J. Phycol.*, Vol.18, 148-162.
- Gavin, K.Y.S., Maria, L.C.Y. and Chan, D.K.O., 1997, "Environmental and nutritional factors which regulate population dynamics and toxin production in the dinoflagellate *Alexandrium catenella*" *Hydrobiologi*, Vol.352, 117-140.
- Goldman, J. C., W. J. Oswald, and D. Jenkins, 1974. The kinetics of inorganic carbon-limited algal growth. *J. Water Pollut. Control Fed.* 46: 554-574.
- Hallegraeff, G. M., 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32: 79-99.
- Hamasaki, K.; Horie, M.; Tokimitsu, A.; Toda, A.; Taguchi, S. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*

isolated from Hiroshima Bay, Western Japan, as a reflection of changing environmental conditions. J. Plankton Res. 2001, 23, 271-278.

He, H.; Chen, F.; Li, H.; Xiang, W.; Li, Y.; Jiang, Y. Effect of iron on growth, biochemical composition and paralytic shellfish poisoning toxins production of *Alexandrium tamarense*. Harmful algae 2010, 9, 98-104.

Hurst, J. W. and E. S. Gilfillan. 1977. Paralytic shellfish poisoning in Maine. In: Tenth Natl. Shellfish Sanitation Workshop (U. S. Dept. Health, Education and Welfare). Food and Drug Administration, Washington, pp. 152-161.

Jean-Paul Parkhill and Allan D.Cembella, 1999, Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from northeastern Canada, Journal of Plankton Research.. Vol. 21, 939-955.

John, E.H. and Flynn, K.J., 1999, "Amino acid uptake by the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense*", Mar. Biol. Vol.133, 11-19.

John EH, Flynn KJ, 2000. Growth dynamics and toxicity of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae): the effect of changing N:P supply ratios on internal toxin and nutrient levels. Eur. J. Phycol 35, 11-23.

- Kianianmomeni, A. and A. Hallmann, 2014. Algal photoreceptors: in vivo functions and potential applications. *Planta*, 239: 1-46.
- Kim, Y. O., Park, M.H. and Han, M.S.,2002, "Role of cyst germination in the bloom initiation of *Alexandrium tamareense* (Dinophyceae) in Masan Bay, Korea", *Aquat. Microb. Ecol.*, Vol.29, 279-286.
- Kim, K.-Y., M. Yoshida, and C.H. Kim. 2002. Morphological observation of *Alexandrium tamareense* (Lebour) Balech, *A. catenella* (Whedon et kofoid) Balech and one related morphotype (Dinophyceae) in Korea. *Algae*, 17, 11-19.
- Lassus, P., M. Bardouil, M. Ledoux, I. Murail, M. Bohec, P. Truquet, J.M. Fremy, and V. Rohmer. 1992. Paralytic phycotoxin uptake by scallop (*Pecten maximus*). *Aquat. Living Resour.*, 5: 319:324.
- La Barbera-Sanchez, A., S. Hall, and E. Ferraz-Reyes. 1993. *Alexandrium* sp., *Gymnodinium catenatum* and PSP in Venezuela. In: *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. pp. 281-285. (Smada, T. J., and Y. Shimizu, Eds.). Elsevier, Amsterdam.
- Lee, C.K. and Lim, W.A., 2006, "Variation of Harmful Algal Blooms in Masan-Chinhae Bay", *ScienceAsia*, Vol.32, 51-56.
- Lee, J.-S., J.K. Jeon, M.S. Han, Y. Oshima, and T. Yasumoto. 1992. Paralytic shellfish toxins in the *Mytilus edulis* and toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamareense* from Jinhae Bay, Korea. *J. Kor. Fish. Soc.*, 25: 144-150.

- Lee, J.-S., I.S. Shin, Y.M. Kim, and D.S. Chang. 1997. Paralytic shellfish toxins in the mussel, *Mytilus edulis*, caused the shellfish poisoning accident at Geoje, Korea, in 1996. J. Kor. Fish. Soc., 30: 158-160.
- Leong, S.C.Y. and Taguchi, S., 2004, "Response of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* to a range of nitrogen sources and concentrations: growth rate, chemical carbon and nitrogen, and pigments", Hydrobiologia, Vol.515, 215-224.
- Laabir, M.; Jauzein, C.; Genovesi, B.; Masseret, E.; Grzebyk, D.; Cecchi, P.; Vaquer, A.; Perrin, Y.; Colos, Y. Influence of temperature, salinity and irradiance on the growth and cell yield of the harmful red tide dinoflagellate *Alexandrium catenella* colonizing Mediterranean waters. J. Plankton Res. 2011, 33, 1550- 1563.
- Larocque, R. and A. D. Cembella. 1991. Reseltats du premier programme de suivi des populations de phytoplancton toxique dans l'estuaire et le Golfe du Saint-Laurent (Redion du Quebec). Rapp. Tech. Can. Sci. Hal. Aquat, 1796, 42.
- Nguyen-Ngoc L. 2004. An autecological study of the potentially toxic dinoflagellate *Alexandrium affine* isolated from Vietnamese waters. Harmful Algae, 3(2): 117-129.
- Maestrini SY, Bechemin C, Grzebyk D, Hummert C, 2000. Phosphorus limitation might promote more toxin content in the marine invader

dinoflagellate *Alexandrrium minutum*. Plankton Biol. Ecol 47, 7–11.

Marsot P, 1997. Variation in volume and nutrient (N and P) content of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in N-limited continuous culture. Oceanologica Acta 20, 639–643.

Matsuda A, Nishijima T, Fukami K, 1996. Effects of nitrogen deficiency on the PSP production by *Alexandrium catenella* under axenic cultures in: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (Eds.), Harmful and Toxic Algal Blooms, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, pp. 305–308.

Mouget, J. L., Rosa, P., Tremblin, G., 2004. Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities - confirmation of chromatic adaptation in diatoms. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 75(1): 1–11.

Mohamed Laabir, Yves Collos, Estelle Masseret, Daniel Grzebyk, Eric Abadie, Veronique Savart, Manoella Sibat and Zouher Amzil, 2013, Influence of Environmental Factors on the Paralytic Shellfish Toxin Content and Profile of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) Isolated from the Mediterranean Sea, Marine Drugs, Vol. 11, 1583–1601.

Ogata T., T. Ishimaru, M. Kodama., 1987. Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarensis*. Marine Biology, 95(2):217–220.

- Oh, S. J., D. S. Park, H. S. Yang, Y. H. Yoon, H. Tsuneo, 2007. Bio-remediation on the Benthic Layer in Polluted Inner Bay by Promotion of Microphytobenthos Growth Using Light Emitting Diode (LED) - 1. Effects of irradiance and wave-length on the growth of benthic diatom, *Nitzschia* sp. J. Korean Soc. Mar. Environ. Energy, 10: 93-101.
- Oh, S. J., C. H. Kim, H. K. Kwon, H. S. Yang, 2010, Effects of water temperature, salinity and irradiance on the growth of harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margelef isolated from South Sea of Korea in 2008, Kor. J. Fish Aquat. Sci., 43, 715-722.
- Oh, S. J., H. K. Kwon, J. Y. Jeon, H. S. Yang, 2015. Effect of Monochromatic Light Emitting Diode on the Growth of Four Microalgae Species (*Chlorella vulgaris*, *Nitzschia* sp., *Phaeodactylum tricornerutum*, *Skeletonema* sp.). Korean Soc. Mar. Environ. Saf., 21: 1-8.
- Oshima, Y. 1995. Chemical and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins in marine organisms. In: Harmful Marine Algal Blooms. Lassua, P., G. Arzul, E. Erard, P. Gentien and C. Marcaillou, eds., Lavoisier, Paris, France, 475-480.
- Ohima, Y., K. Sugino, H. Itakura, M. Hirota, and T. Yasumoto. 1990. Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellate and bivalves. In: Toxic Marine Phytoplankton. pp. 391-396. (Graneli, E., B. Sundstorm, L. Edler, and D.M. Anderson, Eds.). Academic Press, New York.

- Oshima, Y., W.E. Fallon, Y. Shimizu, T. Noguchi, and Y. Hashimoto. 1976. Toxins of the *Gonyaulax* sp. and infested bivalves in Owase Bay. Bull. jpn. Soc. Sci. Fish., 42: 851-856.
- Ra, C. H., C. H. Kang, J. H. Jung, G. T. Jeong, S. K. Kim, 2016. Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae. Bioresour. technol., 212: 254-261.
- Rocha, J. M., Garcia, J.E., Henriques, M. H., 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. Biomol. Eng., 20: 237-42.
- Ronaldo L. C., M. E. V. Santos, A. B. F. Pacheco, S. M. F. Oliveira e Azevedo, 2009, Effects of light intensity and light quality on growth and circadian rhythm of saxitoxins production in *cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria). Journal of Plankton Research, Volume 31(5):481-488.
- Saka. Go. O, 1995. "A decade of Waste Management in Lagos State: An Appraisal" A paper presented as the General Manager of LAWMA at Lagos State University's Conference on Environmental Sanitation in Nigeria to mark world Environment Day : May, 31.
- Shim J. H. 1994. Marine phytoplankton. In: Illustrated encyclopedia of fauna & flora of Korea. Ministry of Education, Chungnam, Korea,

34, 1-487.

- Shikata, T., A. Nukata, S. Yoshikawa, T. Matsubara, Y. Yamasaki, Y. Shimasaki, Y. Oshima and T. Honjo, 2009. Effects of light quality on initiation and development of mezoplanktonic diatom blooms in a eutrophic shallow sea. *Mar. Biol.*, 156: 875-889.
- Sullivan, J.J. 1982. Paralytic shellfish poisoning: Analytical and biochemical investigations. ph.D. Dissertation, University of Washington, Seattle.
- Sullivan, J.J., W.T. Iwaoka, and J. Liston. 1983. Enzymatic transformation of PSP toxins in the littleneck clam (*Protochaca staminea*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 114: 465-472.
- Shin, H. H., S. H. Baek, L. Zhun , M. S. Han, S. J. Oh, S. H. Youn, Y. S. Kim, D. K. Kim, W. A. Lim, 2014. Resting cysts, and effects of temperature and salinity on the growth of vegetative cells of the potentially harmful species *Alexandrium insuetum* Balech (*Dinophyceae*), 39: 175-184.
- Shin, H. H., L. Zhun, E. S. Kim, J. W. Park, W. A. Lim, 2017. Which species, *Alexandrium catenella* (Group I) or *A. pacificum* (Group IV), is really responsible for past paralytic shellfish poisoning outbreaks in Jinhae-Masan Bay, Korea?, *Harmful algae*, 68: 31-39.
- Shumway, S. E., and T.L. Cucci. 1987. The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on the feeding and

behavior of bivalve molluscs. *Aquat. Toxicol.*, 10: 9-27.

Stacey M. E., C. S. Roesler, 2005, Effects of temperature, irradiance, and salinity on photosynthesis, growth rates, total toxicity, and toxin composition for *Alexandrium fundyense* isolates from the Gulf of Maine and Bay of Fundy. *Deep Sea Research Part II*, 52:2491-2500.

Taylor, F. J. R., Fukuyo, Y. and Larsen, J., 1995, "Taxonomy of harmful dinoflagellates", In: Hallegraeff, G.M., Anderson, A.D. and Cembella, A.D. (eds.), *Manual on harmful marine microalgae*, UNESCO, Paris, 283-317.

Twarog, B. M. 1974. "Immunity" to paralytic shellfish toxin in bivalve molluscs. In: *Proc. Second Int. Coral Reef Symp.* pp. 505-512. 1. Great Barrier Reef Committee.

White, A. W. 1982. Intensification of *Gonyaulax* blooms and shellfish toxicity in the Bay of Fundy. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1064, 1-12.

Wang, D.Z.; Hsieh, D.P.H, 2005. Dynamics of C2 toxin and chlorophyll a formation in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* during large scale cultivation. *Toxicon*. 39, 1533-1536.

Yamamoto, T., Yoshizu, Y. and Tarutani. K., 1995, "Effect of Temperature, Salinity and Irradiance on the Growth of Toxic Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* isolated from Mikawa Bay,

Japan”, Jpn. J. Phycol., Vol.43, 91-98.



VI. 감사의 글

학부 4학년에 실험실에 들어와 3년이란 기간 동안 즐거운 일, 괴로운 일, 그 밖에 많은 일들이 있었습니다. 지금 돌이켜 생각해보면 조금 더 잘 했더라면 현재보다 더 나아지지 않았을까 후회와 아쉬움이 남습니다. 논문이 완성되기까지 많은 것을 일깨워 주시고 가르쳐 주셨던 분들에게 감사의 마음을 전하고자 합니다. 우선 학부 때부터 많은 가르침과 기회를 제공해주셨으며, 부족하고 철없는 제자 끝까지 포기하지 않고 지켜봐주신 오석진 교수님께 죄송한 마음과 깊은 감사의 마음을 전합니다. 그리고 바쁘신 와중에도 귀중한 시간을 내주시어 심사위원장을 맡아주신 김태진 교수님과 아낌없는 조언과 관심을 주신 김선주 교수님께 깊은 감사의 마음을 전합니다. 학부과정부터 석사과정까지 해양학에 대한 견문을 넓게 해주신 허성회 교수님, 박미옥 교수님, 이재철 교수님, 문창호 교수님, 양한섭 교수님께 깊은 감사의 마음을 전하며, 힘들 때 마다 따뜻한 말을 해주시고 학문에 대한 많은 조언을 해주신 김석운 교수님께 깊은 감사의 마음을 전합니다. 그리고 실험종을 제공해주신 신현호 박사님, 임월에 박사님, 데이터를 주시고 많은 조언을 해주신 김영옥 박사님께 감사의 마음을 전합니다. 끝으로 아버지와 같은 따뜻함으로 변함없이 뒤에서 항상 응원해주신 이필용 교수님께 깊은 감사의 마음을 전합니다.

처음 연안환경생태학 연구실에 들어와 잘 적응할 수 있도록 도와준 동훈, 민규, 경하 그리고 교수님이 계시지 않을 때 많은 시간을 함께한 지혜누나에게 진심으로 고맙다는 말을 전하고 싶습니다. 항상 밝은 모습을 보여주며 격려를 해주었던 병준이와 준수형에게도 고맙단 말을 전하고 싶

습니다. 가장 버팀목이 되어준 내 친구 재익이, 윤서, 수현이, 섭이, 형민이, 윤한이, 성우에게도 고마움을 전하고 싶습니다.

무엇보다도 제가 하고자 하는 일에 항상 응원해주시고 밀어주셨지만 마지막까지 지켜봐주지 못하시고 하늘에 계신 우리 어머니, 아버지께 감사하고 사랑한다고 전하고 싶습니다. 끝으로 어머니처럼 잘 챙겨주는 누나들에게 이 논문의 영광을 돌리고자 합니다.

