

# [Article]

한반도 주변 해역별 적조 데이터셋

**신지선<sup>1, 2</sup>, 김의현<sup>1, 2</sup>, 김근용<sup>1</sup>, 유주형<sup>1</sup>** 한국해양과학기술원 해양위성센터<sup>1</sup> KIOST-KMOU 해양과학기술전문대학원<sup>2</sup>

# Red tide dataset in the waters around the Korean Peninsula

Jisun Shin<sup>1, 2</sup>, Euihyun Kim<sup>1, 2</sup>, Keunyong Kim<sup>1</sup>, Joo-Hyung Ryu<sup>1</sup> Korea Ocean Satellite Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology<sup>1</sup> Ocean Science and Technology School, KIOST-KMOU<sup>2</sup> (*Received: 10 December 2019, revised: 18 December 2019, accepted: 26 December 2019)* \*Corresponding author: jhryu@kiost.ac.kr

**요약문:** 적조 현상은 전 세계적으로 증가하고 있으며, 한반도 주변 해역은 1995년 이후로 *Margalefidium polykrikoides* 적조가 빈번하게 발생하고 있다. 이러한 적조는 일반적으로 여름철 남해안에서 최초 출현하며, 대규모로 발생할 경우 동해안과 서해안까지 확대되어 수산 및 해양 생태계에 큰 피해를 준다. 무해성 적조 또한 고밀도로 발생 시 해수의 산소 고갈을 유발하여 해수환경에 악영향을 끼칠 수 있다. 현재 국립수산과학원에서는 유해성 적조인 *M. polykrikoides* 적조 종을 기준으로 적조속보가 제공되고 있다. 적조속보에는 적조 종, 위치, 셀 농도 정보가 포함되지만, 정확한 위치에 기반한 셀 농도 자료로 활용하기에는 제한적이다. 또한, 한반도 주변 해역은 각기 다른 특성을 갖고 있어 해역별로 광학적 특성이나 해수 환경이 다르다. 2013년 8월 동해, 2016년 8월 서해, 2018년 8월과 2019년 8월, 9월에 남해를 대상으로 적조 발생 기간 동안에 정점별 적조 셀 농도, 해수 스펙트럼, 클로로필 농도, 부유물질 농도의 dataset이 획득되었다. 2016년 8월에 수행된 현장조사에서는 *Noctiluca scintillans* 적조 종이 관측되었으며, 다른 현장조사에서는 *M. polykrikoides*가 주로 발견되었다. 적조 발생 시 획득된 위치기반의 적조 셀 농도 자료와 해수 환경의 정보는 적조로 인한 피해 저감을 위한 적조 경보 시스템 구축을 위한 유용한 자료가 될 것이다.

주요어: Margalefidium polykrikoides, Noctiluca scintillans, 적조 현상, 적조 경보

**Abstract:** Red tide blooms are increasing worldwide. Since 1995, *Margalefidium polykrikoides* blooms have occurred frequently in the waters around the Korean Peninsula. These blooms generally appear first on the South Sea of Korea in summer. When they occur on a large scale, they extend to the East Sea of Korea and the West Sea of Korea, causing great damage to fisheries and marine ecosystems. Harmless red tide can also adversely affect the environment of the waters by causing oxygen depletion in waters when occurring at high density. Currently, the National Institute of Fisheries Science (NIFS) is providing the daily red tide report based on *M. polykrikoides* red tide species. This report contains red tide species, location, and cell abundance information, but is limited to use as cell abundance data based on exact location. In addition, the waters around the Korean peninsula have different



characteristics, so that the optical characteristics and seawater environment are different for each water. In the East Sea in Aug. 2013, the West Sea in Aug. 2016, the South Sea in Aug. 2018, and the South Sea in Aug. and Sep. 2019, during red tide season, dataset were obtained for red tide cell abundance, spectrum, chlorophyll concentration, and suspended particulate matter concentration. *Noctiluca scintillans* species were observed in the field survey conducted in 2016, and *M. polykrikoides* was mainly found in the other field surveys. Location-based red tide cell abundance data and seawater environment information obtained during red tide occurrence will be useful data for the construction of red tide warning system to reduce damage due to red tide blooms.

Keywords: Margalefidium polykrikoides, Noctiluca scintillans, Red tide blooms, Red tide warning system

#### 1. 서론

플랑크톤 대발생(bloom)에 의해 수색 변화를 일으키는 적조 현상은 전세계적으로 증가하고 있으며, 특히 한반도 주변 해역은 1995년 이후 유해성 적조가 점차 대규모화, 광역화, 만성화되는 추세를 보이고 있다 (Lee et al., 2013). 유해성 와편모조류인 Margalefidium polykrikoides (= Cochlodinium polykrikoides)는 우리나라뿐만 아니라 북미 대서양 연안, 일본, 캐나다, 멕시코, 태평양연안 등에서 전 세계적으로 적조를 일으키는 종으로 막대한 수산피해를 일으킨다 (Gárate-Lizárraga et al., 2000; Park et al., 2013). *M. polykrikoides* 적조는 한반도 주변 해역에서는 1982년 진해만에서 처음 발생한 이후 매년 여름철마다 발생하고 있으며, 주로 남해안 여수나 통영 부근에서 시작되어 전 해역으로 확대되는 경향을 보이고 있다. 특히, 남해안의 경우 외해역에서 발생한 M. polykrikoides 적조는 연안으로 이동하면서 축적되어 보다 큰 피해가 발생한다. M. polykrikoides 적조 종의 셀 농도가 하루에 1,000 cell ml<sup>-1</sup> 일 경우 어류의 아가미가 폐색 (gill-clogging)되어 호흡장애가 발생하여 질식사한다고 알려져 있다 (Whyte et al., 2001; Park et al., 2013). 또한, 남해안에서 발생한 적조는 서해안이나 동해안까지 확대되기도 한다 (Lee et al., 2013). 2012년에는 서해안 태안만 근처에서 M. polykrikoides 적조가 크게 발생하여 첫 적조주의보가 발령된 바 있다. 동해안의 경우 2013년 남해안에서 발생한 M. polykrikoides 적조가 울릉도, 독도까지 확대되기도 했다. 국내 주변해역에서는 M. polykrikoides 종에 의한 유해성 적조 이외에도 규조류 (diatom), Noctiluca scintillans, Heterosigma akashiwo 등에 의한 무해성 적조 또한 빈번하게 관측되고 있다. 이 중 와편모류 N. scintillans는 중위도나 열대 연안에서 주로 발견되는 광온성 (10-25 °C) 적조 종으로 전세계 해역에서 빈번히 발견되고 있으며, 국내에서는 4월에서 7월, 10월에서 11월 사이에 내만이나 연안 주변에 발생하고 있다 (Harrison et al., 2011). Noctiluca 적조는 직접적으로 수산피해를 일으키지 않지만, 고밀도로 발생할 경우 해수 중 산소 고갈을 유발하여 주변 해수 환경에 악영향을 줄 수 있다.

현재 국립수산과학원에서는 3단계의 적조 경보 시스템을 갖추어 적조 발생 시 선박을 이용한 정점 조사를 기반으로 적조 발생 지역, 적조 원인종, 셀 농도 등의 자료를 제공하고 있다 (www.nifs.go.kr/redtideInfo). *M. polykrikoides* 적조 종을 기준으로 적조예비주의보는 10 cell ml<sup>-1</sup>, 적조주의보는 100 cell ml<sup>-1</sup>, 적조경보는 1,000 cell ml<sup>-1</sup> 이상일 경우 발령되고 있다. 이러한 기준은 적조 발생 규모와 적조 원인 생물에 따른 밀도에 의해 결정된다 (Table 1). 적조 생물이 수색을 변화시킬 수 있는 밀도, 즉 적조 현상의 인식 한계는 세포의 크기가 작은 종이 크기가 큰 종보다 높은 밀도가 필요하다. 예를 들어 *Noctiluca scintillans* 종은 세포의 크기가 1 nm 정도로 100 이상의 밀도에도 수색을 변화시키지만, *Prorocentrum* 종은 세포의 크기가 20 µg로 작기 때문에 1,000 cell ml<sup>-1</sup> 이상의 밀도가 되어야 가능하다. 우리나라에서는 적조를 빈번히 일으키는 *M. polykrikoides*의 세포 길이가 30 µg 이상인 점을 고려하여 셀 농도 1,000 cell ml<sup>-1</sup>를 적조 인식 한계로 보고 적조주의보 발령 기준이 정해졌다



#### Data of Geology, Ecology, Oceanography, Space Science, Polar Science [Oceanography]

(NIFS, 2015). 현재 다른 적조 종들도 경보 발령의 기준이 정해져 있지만, 주로 유해성 적조인 *M. polykrikoides*을 중심으로 적조경보가 발령되고 있다. 따라서, 다른 적조 종들의 공간적 범위나 셀 농도 정보는 제한적으로 제공되고 있어서 이러한 적조 종들의 피해에 대비하기가 어려운 실정이다. 또한, *M. polykrikoides* 적조 종의 경우에도 적조가 빈번히 발생하는 해역의 대략적인 범위와 셀 농도 정보로 제공되기 때문에 적조가 발생한 정확한 지점에서의 셀 농도의 자료를 획득할 수 없어 실제 현장에서 이를 활용하기에는 제한이 있다. 적조 경보 시스템의 정확한 예보와 피해 저감 대책 구축을 위해서는 위치 기반의 적조 셀 농도, 해수 환경 자료의 구축이 필수적일 것이다.

해수의 광학적 특성이나 클로로필 농도 (chlorophyll concentration), 부유물질 (suspended particulate matter) 농도와 같은 해수 환경은 적조가 발생한 해역의 특성에 따라 달라진다. Shin et al. (2017)의 연구에서는 한반도 주변해역의 적조 탐지 및 감시를 위하여 해역별, 적조 종별 새로운 적조 감시 체계를 제시하였다. 현장자료와 위성영상을 활용하여 적조 발생 해역의 해수 스펙트럼을 분석하였고, 그 결과 해역의 탁도와 적조 종마다의 내부 클로로필 함량에 따라 스펙트럼 형태가 다르게 나타남을 확인하였다. 또한, Choi et al. (2014)는 동해에서 발생한 적조 현장조사 자료 중 클로로필 농도는 적조 셀 농도와 높은 상관관계를 보인다고 하였다. 하지만, 맑은 해역과 탁한 해역의 특징을 동시에 갖고 있는 남해의 경우에는 클로로필 농도가 적조 셀 농도와 낮은 상관관계를 보인다는 연구 결과도 있었다 (Shin et al., 2019). 이러한 결과들을 통해 해역별로 특징적인 스펙트럼과 해수 환경 자료가 획득됨을 알 수 있었으며, 자료의 활용 시 이러한 점을 고려해야 할 필요성이 있다. 한반도 주변 해역을 대상으로 2013년 동해, 2016년 서해, 2018년과 2019년은 남해에 적조 발생 기간동안

현장조사를 수행하였다. 각 현장조사에서의 해수 샘플링을 통해 적조 종별 셀 농도와 현장 클로로필 농도, 부유물질 농도 자료가 획득되었다. 또한, 적조 발생 기간동안 해수의 광학적 특성 파악을 위해서 적조 발생 해역의 스펙트럼 측정이 이루어졌다.

#### 2. 자료 획득

#### (1) 연구지역

한반도 주변 해역은 맑은 해역인 Case-1과 탁한 해역인 Case-2까지 매우 폭 넓은 해수 환경의 특징을 갖는다 (Fig. 1). 동해는 한반도 해역 중에 작은 대양이라 불리며 식물성 플랑크톤 (phytoplankton)이 우세한 맑은 해역의 특성을 보인다. 하지만 서해는 많은 강이 모이는 해역이며, 넓은 조간대와 대륙붕 지형으로 인해 폭넓은 시공간적 부유물질의 변화를 보인다 (Oh, 1995; Choi and Park, 1998). 남해의 경우에는 외해역과 연안이 서로 다른 특성을 갖는다. 쿠로시오 해류의 영향으로 인해 남해의 외해역은 맑은 해수 특성을 보이며, 연안으로 갈수록 용존유기물 (dissolved organic matter, DOM)과 부유물질의 구성이 높아지는 복잡한 해역 특성을 나타낸다 (Son et al., 2012). Min et al. (2015)의 연구에서는 대표적인 해수 구성 성분인 식물성 플랑크톤, 부유물질, 용존 유기물의 흡광 특성 자료를 바탕으로 각 해역의 해수 환경 차이를 분석하여 총 7가지의 유형으로 해수를 분류하였다. 동해, 남해, 동중국해, 서해 외해역은 용존유기물과 식물성 플랑크톤의 기여도가 높았으며, 반면 목포 및 경기만 연안 해역에서는 부유물질과 용존유기물의 기여도가 높은 분포 패턴을 보였다. 이러한 각기 다른 해역의 특징은 적조가 발생했을 경우 해수 스펙트럼, 클로로필 농도와 같은 해수 환경에 영향을 미치게 된다. 따라서, 적조 발생 시 이러한 점을 고려해야 정확한 적조의 분석이 가능할 것이다.



Warning class	Scale	Cell density			
Red tide emergence attention	When the density of appearance of red tide creatures increases and red tide occurrence is expected	<ul> <li>Dinoflagellates: depends on cell size and toxicity</li> <li><i>Chattonella</i> spp.: over 1,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Magalefidium polykrikoides</i>: over 10 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Gyrodinium</i> sp.: over 200 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Karenia mikimotoi</i>: over 500 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Others: over 10,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Diatoms: over 20,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Mixed blooms: over 20,000 cell ml<sup>-1</sup> (over 50%) of dinoflagellates</li> </ul>			
Red tide attention	Red tide blooms over radius 2–5 km (12–79 km <sup>2</sup> ) and potential fishery damages	<ul> <li>Dinoflagellates</li> <li>Chattonella spp.: over 2,500 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Magalefidium polykrikoides</i>: over 300 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Gyrodinium</i> sp.: over 500 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Karenia mikimotoi</i>: over 1,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Others: over 30,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Diatoms: over 50,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Mixed blooms: over 40,000 cell ml<sup>-1</sup> (over 50%) of dinoflagellates</li> </ul>			
Red tide alert	Red tide blooms and over radius 5 km (79 km <sup>2</sup> ) and fishery damages	<ul> <li>Dinoflagellates</li> <li><i>Chattonella</i> spp.: over 5,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Magalefidium polykrikoides</i>: over 1,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Gyrodinium</i> sp.: over 2,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li><i>Karenia mikimotoi</i>: over 3,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Others: over 50,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Diatoms: over 100,000 cell ml<sup>-1</sup></li> <li>Mixed blooms: over 80,000 cell ml<sup>-1</sup> (over 50%) of dinoflagellates</li> </ul>			
Warning lift	red tide are extinct, no risk of fisheries damages				

#### Table 1. Red tide warning standard in National Institute of Fisheries Science (NIFS).

### (2) 현장조사 자료 획득

현장자료가 획득된 정점들은 한반도 해역인 서해안 새만금 연안 주변, 남해안 여수와 남해 해역 주변, 동해안에 위치하고 있다 (Fig. 1). 현장조사 정점에서는 클로로필 농도, 적조 셀 농도 추정을 위한 해수 샘플링과 해수 스펙트럼 측정이 수행되었다. 서해안에서의 현장조사는 *Noctiluca* 적조 발생 시 현장조사가 수행되었으며, 2016년 8월 10일과 11일에 총 10개의 정점에서 수행되었다. 남해에서는 *M. polykrikoides* 적조 발생 기간 동안 2018년 8월 7-8일, 2019년 8월 30-31일, 2019년 9월 25-26일에 총 3번에 걸쳐 현장조사가 수행되었다. 2018년과 2019년 8월에는 *M. polykrikoides* 적조가 발생하던 시기였고, 2019년 9월은 적조가 소멸하는 시기였다. 주로 여수와 남해 해역에서 적조가 발생하였으며, 특히 여수 돌산 해역에서 고밀도의 *M. polykrikoides* 적조 패치가 발견되기도 했다 (Fig. 2). 동해에서는 *M. polykrikoides* 적조가 남해에서 확대되어 발생했을 시기인 2013년 8월 12-13일에 적조 자료가 획득되었다.





Fig. 1. The study area used for red tide detection (Top). (a) the Saemangeum coast in the West Sea, (b) the Yeosu and Namhae coast in the South Sea, and (c) the East Sea of Korea. Dots indicate in-situ sampling locations where chlorophyll concentration, suspended particle matter (SPM) concentration, the spectrum of surface waters, and cell abundance were measured. Bottom image enlarged to top image. Red box is sampling locations near Bangjukpo Beach in Yeosu.



Fig. 2. The enlarge image represents sampling locations near Bangjukpo Beach in Yeosu. Red dots, green dots, and blud dots indecates sampling locations on 7-8 Aug. 2018, 30-31 Aug. 2019, and 25-26 Sep. 2019, respectively.



Table 2는 한반도 주변 해역에서 수행된 현장조사 목록과 획득된 자료의 수를 나타내고 있다. 현장조사 총 정점 수는 72개이며, 해수 스펙트럼 자료는 89개, 클로로필 농도 자료는 62개, 부유물질 농도 자료는 47개, 셀 농도 자료는 52개가 획득되었다. 2018년 8월에 가장 많은 정점에서 현장조사가 수행되었고, 2019년 8월에는 *M. polykrikoides* 적조가 고밀도로 발생하여 다수의 적조 스펙트럼을 획득하였다. 남해안에서 획득된 *M. polykrikoides* 셀 농도 범위는 0.08 cell ml<sup>-1</sup>에서 4,647 cell ml<sup>-1</sup>였고, 동해안의 셀 농도는 최소 0 cell ml<sup>-1</sup>에서 6,015개체/mL까지 값을 가졌다.

Occurrence	Date	No.	No. Spectral	No. Chl.	No. SPM	No. Cells
waters		Station	data	data	data	abundance
East Sea of	2013.8.12-13	14	1	14	14	14
Korea						
South Sea of	2018.8.7-8	19	23	14	-	11
Korea	2019.8.30-31	17	37	14	14	14
	2019.9.25-26	12	18	10	10	10
West Sea of Korea	2016.8-10-11	10	10	10	9	3
Total		72	89	62	47	52

Table 2. The list of In situ measurements around the Korean coastal waters.

#### (3) 현장스펙트럼 측정

각 정점에서의 해수 스펙트럼은 349 nm에서 808 nm 사이의 파장대역의 분광범위를 갖는 hyperspectral freefalling optical profiler인 Profiler II (Satlantic Inc.; Canada)과 350 nm에서 1025 nm (Serial number 16395)나 2500 nm (Serial number 16031, 18701) 범위의 파장정보 획득이 가능한 스펙트로미터인 FieldSpec3 (Analytical Spectral Devices Inc.; USA)을 사용하여 획득되었다. Profiler II는 해수 column의 Up-welling radiance, up-welling, downwelling irradiance를 각 3번씩 측정하며, 각 정점에서 수심 1 m 간격마다 자료가 획득된다. 3번씩 측정한 자료는 평균한 값을 사용하였고, 표층 1 m에서 측정한 자료를 사용하였다. 자료의 변환을 위해서 ProSoft Software (Satlantic Inc.; Canada)를 활용하였고, 최종적으로 원격반사도 (Remote-sensing reflectance, R<sub>rs</sub>) 값이 산출되었다. Spectroradiometer인 ASD를 활용하여 각 정점에서의 total water-leaving radiance, sky radiance, down-welling irradiance가 측정되었다. 모든 측정항목에 대하여 3번 반복수로 측정되고, 이를 평균한 값을 이용한다. 대기와 해양 사이의 상호작용에 의해 발생하는 sky radiance에 0.025를 곱한 값과 total water-leaving radiance의 차를 통해 water-leaving radiance가 산출된다. 최종적으로 원격반사도는 water-leaving radiance과 down-welling irradiance의 비로 계산된다.

#### (4) 클로로필 및 부유물질 농도 추정

현장 클로로필 농도 자료 획득을 위하여 각 정점에서 해수 샘플링 후 지름이 47 mm인 유리 섬유 필터 (glass fiber filter, GF/F, Whatman Inc.)를 사용하여 여과를 수행하였다. 각 정점에서 1~2 L 해수를 여과하였고, 여과된 필터는 액체질소에 보관하여 이동 후 실험실에서 분석이 이루어졌다. 엽록소는 90% 아세톤을 이용하여 추출하였고, 분광광도계 (Lambda 19 UV/VIS/NIR dual-beam spectrophotometer, Perkin Elmer)를 이용하여 파장대에 따른 흡광도를 측정하였다. 클로로필 농도는 특정 파장대에서 측정된 흡광도를 사용하여 계산되며



(Jeffrey and Humphyrey, 1975), 750 nm 파장대의 값을 이용하여 보정된다 (Ritchie, 2006).

Chlorophyll concentration = 
$$\frac{(11.86 \times (a_{664} - a_{750}) - 1.54 \times (a_{647} - a_{750}) - 0.08 \times (a_{630} - a_{750})) \times V_e}{L_c \times V_f}$$

여기서  $a_{\lambda}$ 는 각 파장대에서의 흡광도를 나타내며,  $V_e$ 는 90% 아세톤의 사용량 (mL)으로 실험에서는 10 mL가 사용되었다.  $L_c$ 는 해수의 여과량 (L)이며,  $V_f$ 는 석영 셀의 길이로 1 cm이다.

부유물질 농도 측정을 위하여 실험실에서 미리 준비한 필터를 사용하였다. 60℃에서 4시간 동안 건조하여 준비한 0.4 µm 구경의 핵기공 여과지 (Nuclepore membrane filter, Hyundai micro)를 해수 샘플링으로 획득된 해수를 각 정점 별 500 mL 내외로 여과하였다. 여과된 필터는 냉동 보관한 후에 실험실에서 동일한 조건으로 건조한 다음 무게를 측정한다. 해수 여과 전과 여과 후에 측정된 필터의 무게의 차는 해수의 양으로 나누면 부유물질 농도 값을 계산할 수 있다.

#### (5) 적조 셀 농도 추정

2013년 8월 서해와 2016년 8월 동해에서 관측된 적조의 셀 농도를 추정하기 위하여 현장 해수 시료를 Lugol's solution으로 고정한 후 암조건 환경에서 실험실로 운반하였다. 적조 원인 종 동정을 위하여 PCR (Polymerase chain reaction) 기기를 이용하였고, 현미경과 FlowCAM을 이용한 계수 (counting)을 통해 셀 농도와 군집 구성을 분석하였다. 종 동정을 위해 사용한 PCR 기기는 프라이머를 이용하여 특정 염기서열만을 증폭하는 기기로, 본 연구에서는 PCR product를 cloning-sequencing하여 종 동정을 수행하였다. PCR 과정에서 사용된 종 특이 프라이머(species-specific primer)는 DNA 염기서열 중 종간 변이가 큰 ITS(Internal transcribed spacer) 부분만을 타겟으로 디자인되었다. 이는 *Cochlodinium fulvescens, Margalefidium polykrikoides, Gymnodinium*에 반응하며 Forward 방향은 '50-taagccatgcatgtctcag-30' (TPL1F), Reverse 방향은 '50-rgamcactcaatcggtagg-30' (mTPL1R)로 디자인되었다 (Anton et al., 2008).

2018년 8월, 2019년 8월, 9월에 샘플링된 해수는 3세대 PCR인 ddPCR (droplet digital PCR)을 이용하여 분자생물학적 종 동정 및 정량적인 셀 농도를 분석하였다. Fig. 3은 ddPCR을 이용한 종 정량 분석 과정에 대해 모식화 하여 나타내었다(Lee at al., 2017). ddPCR은 PCR product를 20,000개의 미세방울 (droplet)로 만들어 각각의 미세방울을 감지하는 방법으로, 포아송 분포를 통해 셀 농도에 따른 copy number를 측정한다. 해양환경 시료의 경우 시료에 포함된 염분이나 부유입자 등이 PCR 과정의 저해제로서 결과에 영향을 미칠 수 있지만, ddPCR을 이용한 종 정량 프로토콜은 이러한 저해제의 영향과 상관없이 절대적인 정량화가 가능하고 빠른 분석시간과 재현성을 보장할 수 있다는 장점이 있다 (Lee et al., 2017). 분석 과정에 사용된 프라이머는 *M. polykrikoides*에만 특이적으로 반응하는 종 특이 프라이머를 이용하였으며, Forward 방향은 5'-GACGCAGCGAAGTGTGATAA-3' (*M. poly* ITS-F), Reverse 방향은 5'-CAACGCCTTGACAAACAAGA-3' (*M. Poly* ITS-R)로 디자인하였다. 디자인된 종 특이 프라이머는 NCBI Primer-BLAST tool 및 전기영동 결과를 통해 *M. polykrikoides* 적조 종에만 특이적으로 반응하는 것을 검증하였다. 현장에서 채수한 해수는 cellulose acetate (Advantech Inc.; Japan) 필터로 여과하였으며, 필터한 CA 여과지로부터 alkaline lysis, neutralization, homogenizing 등의 처리 과정을 통해 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 ddPCR 분석을 통해 copy number로 결과가 도출되었고, 사전 연구에서 수립된 *M. polykrikoides* 셀 농도와 copy number간의 상관식을 통해 셀 농도를 환산하였다.





Fig. 3. Schematic diagrams of genomic DNA (gDNA) preparation and droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) analysis for estimating the abundance of target species (Lee et al., 2017).

# 3. 결과

한반도 서해 새만금 부근 해역에서 2016년 8월 10일에 수행된 현장조사에서는 *N. scintillans* 적조 종으로 인해 발생한 적조 띠를 발견하였다. Fig. 4a는 2016년 8월 10일 정점 A01에서의 현장 사진으로 선명한 주황색 적조 띠를 관측할 수 있었고, 현장에서 채수하여 획득한 적조 종을 FlowCAM을 통해 확인할 수 있었다 (Fig. 4b). 2018년 8월 30일 남해안 여수 돌산 해역 부근에서 획득된 UAV 영상에서는 검붉은색의 *M. polykrikoides* 패치가 관측되었다. 또한, 동해에서 *M. polykrikoides* 적조가 대발생했던 시기인 2013년 8월 12일과 13일에 수행된 현장조사를 통해 획득된 *M. polykrikoides* 적조 종을 FlowCAM으로 확인할 수 있었다 (Fig. 4d). GEO DATA



Fig. 4. (a) Red tide waters dominated by red *Noctiluca scintillans* species in the Saemangeum coastal areas on 10 August, 2016 (b) Images of red *N. scintillans* captured by FlowCAM (c) *M. polykrikoides* patch on UAV image acquired near Yeosu coast in 30 August, 2018 (d) Images of red *M. polykrikoides* captured by FlowCAM (Choi et al., 2014).

Fig. 5는 남해와 동해에서 획득된 *M. polykrikoides* 적조 (St. R12, C10)와 *N. scintillans* 적조 (St. A01)의 현장 스펙트럼 측정 결과이다. 두 적조 종은 스펙트럼 특성이 각기 달랐으며, 적조 해역별과 적조 종간의 광학적 특성 차이를 확인할 수 있었다. 남해 (12.7 mg m<sup>-3</sup> chlorophyll, 2,152 cells ml<sup>-1</sup>)와 동해 (434.3 mg m<sup>-3</sup> chlorophyll, 6,015 cells ml<sup>-1</sup>)에서 발생한 *M. polykrikoides* 적조의 경우에는 570 nm와 710 nm 부근에서 최대값을 보여 식물성 플랑크톤의 형광 특성 (fluorescence peak)이 나타났다. 하지만, 맑은 해역의 특징을 갖는 동해에서 획득된 적조 스펙트럼이 남해에서 발생한 적조에 비해 낮은 원격반사도의 값을 가졌다. 또한, 710 nm 파장 부근에서의 동해의 적조 스펙트럼이 남해의 적조 스펙트럼보다 상대적으로 더 뚜렷한 최대값을 나타냈다. 이러한 스펙트럼 형태는 적조 셀 농도 차이와 해역별 해수 특성에 의해 영향을 받는다. *N. scintillans* 적조 종은 주변 해수 (grey dash line)에 비해 녹색 파장대역에서 낮은 반사도, 적색 파장대역에서는 높은 반사도를 보였으며 2,344 cells ml<sup>-1</sup> 정도의 높은 셀 농도에도 불구하고 클로로필 농도는 4.8 mg m<sup>-3</sup>으로 비교적 낮은 농도를 나타냈다.



Fig. 5. *In situ* R<sub>rs</sub> *M. polykrikoides* spectra at the South Sea of Korea (12.7 mg m<sup>-3</sup> chlorophyll, 2,152 cells ml<sup>-1</sup>) and the East Sea of Korea (434.3 mg m<sup>-3</sup> chlorophyll, 6,015 cells ml<sup>-1</sup>) (Left) *N. scintillans* spectra at the West Sea of Korea (4.8 mg/m<sup>3</sup> chlorophyll, 2,344 cells/mL) (Right)



#### 4. 결론 및 토의

한반도 해역 별로 적조 발생 시기에 수행된 현장조사를 통해 적조 셀 농도, 클로로필 농도, 부유물질 농도, 해수 스펙트럼 자료가 획득되었다. 이러한 자료들은 해역별, 적조 종별 스펙트럼 정보, 정확한 위치 기반의 적조 셀 농도와 해수 환경 정보를 제공하는 것이 목적이다. 획득된 자료들은 모두 사용자의 검증을 거쳤고, 동일 항목을 여러 장비로 측정하였거나 서로 다른 분석 방법을 적용한 경우에도 자료의 유사도 검증을 수행하였다. 현장조사에서 획득된 해수 스펙트럼은 3대의 ASD fieldspec (Serial number 16031, 16395, 18701)과 Profiler II에 의해 측정되었다. 스펙트럼 측정 시 장비 간의 차이나 측정 시 발생할 수 있는 오차들은 획득된 해수 스펙트럼 간의 차이를 유발하게 된다. 이에 대한 영향을 알아보기 위하여 2018년 8월 7일에 수행된 현장조사의 정점 RO2 (34° 34.973'N, 127° 40.873'E)에서 세 개의 측정 장비를 사용하여 해수 스펙트럼 자료를 획득한 후 비교하였다. 획득된 스펙트럼 자료는 모두 최종적으로 원격 반사도로 변환되었다. Fig. 6은 ASD fieldspec 16031과 16395, Profiler II에서 획득된 해수 스펙트럼을 보여주고 있다. 동일한 fieldspec에서 획득된 스펙트럼은 유사한 형태로 나타났으며, 두 스펙트럼은 높은 상관관계를 가졌다 (R<sup>2</sup>=0.996). Profiler II에서 측정된 스펙트럼은 fieldspec에서 획득된 스펙트럼과 유사한 패턴을 보였다. 하지만, 600 nm 이하에서는 상대적으로 높은 값을 보였고, 600 nm 이상에서는 전체적으로 낮은 값을 보였다. 이러한 스펙트럼의 차이는 장비마다 측정 방식의 다름으로 인해 발생할 수 있다. Fieldspec은 선박에서 해수 표면을 측정하는 반면 profiler II는 표층 1 m에서 측정된다. 따라서, 획득된 해수 스펙트럼들을 활용할 경우에는 이러한 차이를 고려할 필요가 있다.



Fig. 6. Comparison of remote-sensing reflectance obtained from ASD fieldspec (16031, 16395) and Profiler II.

적조 원인 종의 셀 농도를 계수하기 위해 2013년과 2016년 시료는 현미경과 FlowCAM을 이용하였고, 2018년과 2019년 시료는 ddPCR을 이용하였다. 현미경과 FlowCAM을 이용한 계수 방법은 고정 시약으로 고정된 해수 샘플을 직접 계수하는 방법으로, 형태적인 특성을 근거로 분석을 한다. 하지만 이는 분석 과정에서 시간 소요가 크며, 고정 시약에 의한 형태 변형이 발생할 수 있어 동일한 종만을 계수하기가 쉽지 않다. 또한 *M. polykrikoides*은 서식에 불리한 환경이 될 경우 휴면포자(cyst) 상태가 되어 형태적인 변화가 생기기에 계수하기에 어려움이 있다 (Kim et al., 2007). ddPCR을 이용한 방법은 분석을 통해 도출된 카피수를 환산하여 적조 원인 종을 정량하는 방법으로, 특정 종의 DNA 염기서열을 타겟으로 하는 종 특이 프라이머를 이용한다. Lee et al. (2017)의 연구에서는 ddPCR을 이용하여 *M. polykrikoides* 절대적인 정량 가능성을 연구를 하였으며, 카피수를 고려하여 정량 가능한 유의수준을 구하였다. 그 결과 ddPCR 분석을 통해 환산된 셀 수는 현미경으로 직접 계수한 셀 수와



큰 차이가 없었음을 확인하였다. 또한 해역별 특성에 따라 분석 결과에 차이가 있는지를 확인하였고, 통계적으로 차이가 없어 적용이 가능함을 확인하였다. 다만 특정 종의 DNA 염기서열 검출을 통해 분석하기에 살아있는 셀 뿐만 아니라 죽은 셀에서 유래한 DNA도 검출될 수 있어 이러한 점을 고려해야 할 것으로 보인다.

#### 5. 사사

이 논문은 해양수산부 연구개발사업인 "국가해양영토 광역 감시망 구축 기반연구" 사업의 지원을 받아 수행되었습니다. 현장자료 분석에 도움을 주신 한국해양과학기술원 생태기반연구센터와 전남대학교 해양학과 김광용 교수님께 감사드립니다.

#### 6. 참고문헌

- Anton A, Teoh PL, Mohd-Shaleh SR, Mohammad-Noor N (2008) First occurrence of *Cochlodinium* blooms in Sabah, Malaysia. Harmful algae 7(3):331-336
- Choi JY, Park YA (1998) Southward Transport of Suspended Sediments during Summer Season in the Coastal Zone off Tae-An Peninsula, West Coast of Korea. J. Korean Soc. Oceanogr. 3(1): 45-52
- Choi JK, Min JE, Noh JH, Han TH, Yoon S, Park YJ, Moon JE, Ahn JH, Ahn, SM, Park JH (2014) Harmful algal bloom (HAB) in the East Sea identified by the Geostationary Ocean Color Imager (GOCI). Harmful Algae 39:295-302 Forecast-Breaking News of the National Institute of Fisheries Science (NIFS) www.nifs.go.kr/redtideInfo.
- Gárate-Lizárraga I (2000) First outbreak of *Cochlodinium polykrikoides* in the Gulf of California. Harmful Algae News 21:7
- Harrison PJ, Furuya K, Glibert PM, Xu J, Liu HB, Yin K, Lee JHW, Anderson DM, Gowen R, Al-azri AR, Ho AYT (2011) Geographical distribution of red and green *Noctiluca scintillans*. Chinese J. Oceanol. Limnol. 29(4):807-831
- Jeffrey SW, Humphrey GF (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1, c2 in higher plants, algae, and natural phytoplankton. Biochem. Physiolo. Pflanz. 167:191-194
- Kim CJ, Kim HG, Kim CH, Oh HM (2007) Life cycle of the ichthyotoxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal waters. Harmful algae 6(1):104-111
- Lee CK, Park TG, Park YT, Lim WA (2013) Monitoring and trends in harmful algal blooms and red tides in Korean coastal waters, with emphasis on *Cochlodinium polykrikoides*. Harmful Algae 30:S3-S14
- Lee HG, Kim HM, Min J, Kim K, Park MG, Jeong HJ, Kim KY (2017) An advanced tool, droplet digital PCR (ddPCR), for absolute quantification of the red-tide dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). Algae 32(3):189-197
- Min JE, Ryu JH, Park YJ (2015) An Analysis of the Relationship between Inherent Optical Properties and Ocean colour Algorithms Around the Korean Waters. Korean J. Remote Sens. 31(5):473-490
- National Institute of Fisheries Science (NIFS). (2015) Harmful Algal Blooms in Korean Coastal Waters, National Institute of Fisheries Science, Busan, Republic of Korea, 2015.
- Oh JK (1995) Sedimentation processes of the suspended sediments in Yumha channel of the Han River estuary, Korea J. Korean Earth Sci. Soc. 16(1):20-29
- Park TG, Lim WA, Park YT, Lee CK, Jeong HJ (2013) Economic impact, management and mitigation of red tides in



Korea. Harmful Algae 30(Suppl. 1):S131-S143

- Ritchie RJ (2006) Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. Photosyn. Res. 89(1):27-41
- Son YB, Kang YH, Ryu JH, Jeong JC (2012) Satellite detection of harmful algal bloom occurrences in Korean waters. Korean J. Remote Sens., 28(5):531-548
- Shin J, Min JE, Ryu JH (2017). A study on red tide surveillance system around the Korean coastal waters using GOCI. Korean J. Remote Sens. 33(2):213-230
- Shin J, Kim K, Son Y, Ryu JH (2019) Synergistic effect of multi-sensor Data on the detection of *Margalefidinium polykrikoides* in the South Sea of Korea. Remote Sens. 11(1):36
- Whyte JNC, Haigh N, Ginther NG, Keddy LJ (2001) First record of blooms of *Cochlodinium* sp.(Gymnodiniales, Dinophyceae) causing mortality to aquacultured salmon on the west coast of Canada. Phycol. 40(3):298-304

구분	필드명	하위카테고리#1	하위카테고리#2	설명	비고
필수	Title	적조현장자료		적조발생 기간 동안 획득된 적조 데이터셋	
	*DOI name				
	*Category	적조 셀 농도 클로로필 농도 부유물질 농도 해수 스펙트럼		적조 셀 농도 (cells ml <sup>-1</sup> ) 클로로필 농도 (mg m <sup>-3</sup> ) 부유물질 농도 (g m <sup>-3</sup> ) 해수 스펙트럼 (sr <sup>-1</sup> )	
	Abstract			요약 설명	
	*Temporal Coverage	2013년 8월 12-13일 2016년 8월 10-11일 2018년 8월 7-8일 2019년 8월 30-31일 2019년 9월 25-26일		현장조사 수행 기간	
	*Spatial Coverage	한반도 주변 해역 (위도 34 °N ~ 37 °N, 경도 125 °E~131 °E 영역)	Point 자료	위도, 경도 (WGS84)	
	*Personnel	신지선/KIOST	이름	신지선	
			소속	KIOST	
			이메일	sjs1008@kiost.ac.kr	
	*License	라이선스			

# 7. 메타데이터

-데이터셋 안에는 Category, temporal coverage, spatial coverage, Personnel의 meta 정보가 포함되어 있다. 클로로필 농도, 부유물질 농도, 해수 스펙트럼 자료, 적조 셀 농도 자료의 단위는 Category 설명에 명시하였다. 현장조사로 획득된 모든 자료들은 검증 과정을 거쳤으며, 각 현장조사마다 기록된 야장을 바탕으로 google map과 위치 확인을 수행하였다. 또한, 획득된 자료가 일반적인 패턴이나 값이 아닌 경우에는 최종 데이터셋에서 제외하였다.