Article

Thiazolidinedione 유도체(TD49) 물질을 이용한 적조생물 *Akashiwo sanguinea*의 제어

백승호¹ · 신현호¹ · 장민철¹ · 김시욱² · 손문호¹ · 조훈³ · 김영옥^{1*}

¹한국해양과학기술원 남해연구소
(656-830) 경상남도 거제시 장목면 장목1길 41
²조선대학교 공과대학 응용화학소재공학과
³조선대학교 공과대학 환경공학과
(501-759) 광주광역시 동구 필문대로 309

Algicidal Effects of a Newly Developed Thiazolidinedione Derivative, TD49, on Dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*

Seung Ho Baek¹, Hyeon Ho Shin¹, Min-Chul Jang¹, Si Wouk Kim², Moonho Son¹,
Hoon Cho³, and Young Ok Kim^{1*}

¹South Sea Research Institute, KIOST
Geoje 656-830, Korea
²Department of Environmental Engineering, College of Engineering
³Department of Polymer Science & Engineering, College of Engineering
Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract : To evaluate the algicidal impact of a newly developed algicide thiazolidinedione derivative, TD49, on dinophyceae *Akashiwo sanguinea* in aquatic ecosystems, tentative culture experiments for the target species were conducted in small (SS), middle (MS), and large scale (LS) culture vessels. When TD49 was introduced at the final concentration of 2 μ M in SS and MS, as well as 1 μ M in LS, the abundance of *A. sanguinea* decreased significantly in all the treatments. On the other hand, total phytoplankton abundance, except *A. sanguinea* in the TD49 treatments, gradually increased with culture time, which implies that a cell destruction of *A. sanguinea* by TD49 is a major cause of the population growth by other phytoplankton species. Also, *A. sanguinea* was easily destroyed, which was likely to be a source of extracellular substances. In particular, a pH decrease was significant in the treatments than in the control, which indicates that the water in the treatments has been acidified, due to an increase in the heterotrophic metabolisms of bacteria and degradation of *A. sanguinea* cells. Our results indicate that the TD49 substance is the potential agents for the control of *A. sanguinea* in the enclosed and eutrophic water bodies.

Key words : *Akashiwo sanguinea*, algicidal effect, thiazolidinedione, ecosystem

*Corresponding author. E-mail : yokim@kordi.re.kr

1. 서 론

1970년대 한국연안에서의 적조발생은 일부 반폐쇄성 내만해역에서 간헐적으로 관찰되었으나, 1980년대 이후 적조발생 건수가 급격히 증가하기 시작하였다. 특히 1990년대 이후에는 적조발생 건수의 증가와 발생해역의 광역화는 물론 적조원인 생물종도 규조류에서 편모조류로 바뀌는 특징을 보였고, 수산업 피해액도 기하급수적으로 증가하고 있는 실정이다(김 등 1998; 김 2005). 이러한 유해성 적조생물을 제어하기 위해서 많은 연구가 진행되었고, 그 중에서도 황토나 점토, 살조세균등으로 제어하려는 시도가 많았다(박과 이 1998; 이와 박 1998; Imai et al. 1991, 2001). 그러나 이러한 방법은 특정 적조생물만을 제어대상으로 하는 것이 아니기 때문에 또 다른 2차적인 문제를 일으킬 가능성이 높다. 유해성 적조가 발생하였을 경우 적조생물을 효과적으로 제거하면서 해양생태계에 미치는 부정적인 영향을 최소화하고 2차 문제를 유발하지 않는 친환경적인 제어 방법을 개발하는 것이 무엇보다 중요하다(임 등 2010, 2011).

*Akashiwo sanguinea*에 의한 적조현상이 온난해역에서 전세계적으로 확산되고 있고, 동반하여 수산업 자원의 피해도 일으키고 있다(Kiefer and Lasker 1975; Lu and Hodgkiss 2004; 김 2005; Yamasaki et al. 2007). *Akashiwo sanguinea*는 이전에 *Gymnodinium sanguineum*, *Gymnodinium splendens*, *Gymnodinium nelsonii* 등의 다양한 종명으로 명명되어 왔으나, 최근에는 *A. sanguinea* (Hirasaka) G. Hansen et Moestrup로 사용하게 되었다(Daugbjerg et al. 2000). 본 종은 영양염이 풍부하고 유속이 비교적 느린 연안 내만역에서 빈번하게 적조를 일으키며, 추계에서 동계에 걸쳐 기하급수적으로 증식하는 것으로 알려져 있다(김 2005). 한국에서 *A. sanguinea* 적조는 수온이 10-20°C 범위의 9월에서 12월 사이로서 주로 반폐쇄성 내만해역인 진해만, 마산만, 장목만등에서 발생한다(김 2005; 백 미발표 자료).

백 등 (2011)은 실험실에서 배양 분리 주 침편모조류 *Heterosigma akashiwo*, *Chattonella marina*, *Chattonella* sp.에 대하여 살조물질 TD49의 살조능을 평가하였다. 하지만 TD49 물질로 현장에서 발생한 적조를 제어하려는 평가 실험은 전무한 상태이다. 2011년 10월 진해만내의 장목만에서 *A. sanguinea*(>99%)의 단일종에 의한 적조가 발생하였고, 본 연구에서는 새로 개발된 물질 TD49을 이용하여 *A. sanguinea* 적조를 실질적으로 제어할 수 있는지 평가하기 위해서 현장과 실험실에 설치한 다양한 규모의 실험군에서 제어특성을 파악하였다.

2. 재료 및 방법

살조물질준비

Thiazolidinedione 유도체 TD49의 구조는 Fig. 1에 나타내었으며, 조선대학교 응용화학소재실험실로부터 신규로 합성한 물질을 제공받았다. TD49(MW: 337.8)의 용해는 Kim et al. (2010)의 보고에 따라 TD49와 분산제 Solutol® RHS15(MW: 960)(BASF, Ludwigshafen, Germany)를 100% 에탄올에 완전히 용해시킨 후 용매를 상온에서 진공펌프를 이용하여 제거하였다. 얻어진 고체 분산제는 spatula를 이용해 끊어내고 12시간 동안 진공하에서 완전히 건조하였다. 이와 같이 얻어 건조물에 증류수를 넣고 초음파를 이용하여 재용해한 후 stock solution(296)으로 사용하였다. TD49 물질은 해수에 잘 녹지 않기 때문에 7% 메탄올에 녹여 TD49 stock solution을 만들어 살조능 실험에 사용하였다.

적조생물살조능 평가

장목만에서 10월 중순에서 12월 말까지 *A. sanguinea* 단일종에 의한 적조가 발생하였다. *A. sanguinea*의 적조가 언제까지 지속적으로 유지되는지를 파악하기 위해서 한국 해양연구원 남해분원 앞 연구어장 선창에서 2011년 11월 7일에서 12월 7일 사이 1개월 동안 표층수를 매일 저조시에 채수하였고, 12월 7일 이후에는 3-4일 간격으로 조사하였다. 해양시료를 0.1-1 ml을 Sedgwick-Rafter chamber에 분주한 후 Lugol 용액으로 최종농도가 1%로 되게 고정하여 광학현미경 하에서 곧 바로 *A. sanguinea*를 검정 및 계수하였다(Fig. 2). 아울러 *A. sanguinea*의 적조를 제어하기 위하여 현장과 실험실에서 다양한 규모(Small scale(SS): 50 ml, Middle scale(MS): 10 l, Large scale(LS): 40 l)의 실험을 수행하였다. SS 실험에서는 장목만에서 *A. sanguinea*가 포함된 자연상태의 해수를 1 l 채수병에 채수하여 뚜껑이 달린 70 ml 시험관(ø22 mm × 200 mm; PYREX®)에 50 ml씩 넣었다. 각 실험구(대조군, 용매 Methanol 처리군, TD49 처리군) 마다 적조생물(50-60 FSU)을 균일하게 접종한 후 20°C의 배양조건에서 배양하

Fig. 1. Chemical structure of TD49

Fig. 2. Sampling site (St.P) and location of large scale experiment in Jinhae Bay, Korea

였다. 여기서 TD49 처리군의 물질농도는 최종 $2 \mu\text{M}$ 로 조절하였고, Methanol 처리군은 TD49 물질의 제조과정에서 용매제로 이용한 Methanol의 농도가 $2 \mu\text{M}$ 에 준하는 값으로 평가하였다. 배양 조건은 광량 $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 광주기 12L: 12D로 조절하였고, 1일 간격으로 Turner Designs 10-AU Fluorometer로 형광값(*in vivo* fluorescence)을 측정하였다. *A. sanguinea*를 포함한 식물플랑크톤의 군집변화를 파악하기 위해 4일 간격으로 1 ml을 Sub-sample 하여 Sedgwick-Rafter chamber에 분주한 후 Lugol 용액으로 최종농도가 1%로 되게 고정하여 광학현미경 하에서 곧 바로 식물플랑크톤을 검경 및 계수하였다. 또한 본 실험에서는 살조물질에 대한 생물의 활성반응 정도를 파악하기 위해서 TD49 접종 후 Phyto PAM(phytoplankton analyzer; PHYTO-ED, S/N: EDEF0139, Germany) 장비로 적조생물 활성 엽록소(Active Chlorophyll)를 측정하였다 (Jakob et al. 2005). MS 실험은 장목만에서 *A. sanguinea*가 포함된 자연상태의 해수 80 l를 채수하여 실험실로 운반한 후 접종 전 잘 흔들어 12 l 플라스틱 용기에 10 l씩 넣고 평가하였다. 본 실험에서는 SS 실험에서 용매 Methanol에 대한 영향을 받지 않는 것으로 판단되어 Methanol 실험구를 두지 않았고, 대조군과 TD49 처리군으로 비교 및 평가하였다. 배양 조건은 수온 20°C , 광량 $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 광주기 12L: 12D로 조절하였고, 1일 간격으로 Turner Designs 10-AU Fluorometer로 형광값을 측정하였고, 식물플랑크톤의 군집변화는 2일 간격으로 조사하였다. LS 실험은 적조발생해역의 해수를 버킷으로 채수하여 60 l 규모 용기에 40 l를 넣고 평가하였다. 본 실험에서는 현장에서 보다 낮은 TD49 물질의 농도로 적조생물을 제어 할 수 있는지 평가하기 위해 최종농도 $1 \mu\text{M}$ 의 처리군과 대조군으로 나누어 자연환경조건(수

온: $12\text{--}16^\circ\text{C}$ 염분: 30-32 psu; 수온은 주·야간에 차이를 보였고, 염분은 배양시간의 경과와 더불어 증가했음)에서 배양하였다(Fig. 2; St.P). 본 실험은 자연상태로 배양한 만큼 대기중의 환경요인에 의한 영향을 크게 받을 것으로 예상되어 4일동안 평가하였다. 특히 MS와 LS 실험에서는 pH meter를 이용하여 시계열 pH 변화를 모니터링함과 더불어 Chl.a 농도를 측정하였다. Chl.a 농도는 각 실험구의 배양수 100 ml를 GF/F 여과지(25 mm Whatman glass fiber filters)로 여과한 후 15 튜브에 넣어 90% acetone (8 ml)으로 24시간 냉암소에서 엽록소를 추출한 후 형광 측정기(Turner Designs 10-AU Fluorometer)로 측정하였다. 또한 현미경하에서 *A. sanguinea*의 생사 여부와 배양 시간의 경과에 따른 군집 수준의 식물플랑크톤 종조성 변화를 조사하였다.

모든 실험구(SS, MS, LS)에서 TD49 처리군의 pH가 극격하게 감소하였으며, 그 원인을 파악하게 위해서 추가적인 실험을 수행하였다. 먼저, 생물을 접종하지 않은 여과해수(Sea water), 여과해수 + Methanol, 여과해수 + TD49의 실험구와 더불어, 장목만 자연상태의 식물플랑크톤 군집에 배양균주 *A. sanguinea*를 혼합하여 접종한 대조군과 처리군으로 평가하였다. 배양은 뚜껑이 달린 70 ml 시험관($\phi 22 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$; PYREX[®])에 50 ml의 배양수를 넣고, 수온 20°C , 광량 $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 광주기 12L: 12D에서, 1일 간격으로 Turner Designs 10-AU Fluorometer를 이용하여 형광값을 측정하는 것과 더불어 박테리아(Heterotrophic bacteria)의 개체수를 모니터링하였다. 대조군과 처리군의 박테리아 생물량은 2.5 ml 튜브에 2 ml의 처리수를 넣고 바로 글루타르 알데하이드(glutaraldehyde)로 고정(최종농도 2%)한 후, 고정된 시료를 잘 혼합 희석하여 일정량(1 ml)을 취해 블랙필터

(Millipore 0.2 μm membrane filter)를 이용하여 여과후 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)로 5분간 염색하여 형광현미경(Axioplane, Zeiss)으로 1000배 하에서 검경 및 계수하였다. 각 샘플은 임의의 field에서 총 세포수가 300개 이상 계수하여 그에 해당하는 field 수가 전체 field 수에 해당하는 부분을 환산하여 총 박테리아의 생물량을 산출하였다(Porter and Feig 1980; 백 등 2010).

3. 결과 및 토의

*A. sanguinea*는 전세계적으로 온난지역에 해당되는 연안해역에서 늦여름에서 겨울에 걸쳐 기하급수적으로 증식하여 때때로 대규모의 적조를 형성하는 것으로 알려져 있다(Bockstahler and Coats 1993; Horner et al. 1997; Domingos and Menezes 1998; Lu and Hodgkiss 2004; Yamasaki et al. 2007). 한국에서 *A. sanguinea*의 적조는 수온이 10-20°C 사이의 9월에서 12월 사이에 빈번하게 발생하고, 주로 반폐쇄성 내만해역인 진해만, 마산만, 장목만등에서 형성된다(김 2005; 이와 한 2007). 특히 2011년 11월에 장목만에서 *A. sanguinea*(>99%) 단일종에 의한 적조(>100 cells mL^{-1})가 대규모 발생하여 2개월간 지속되었다(Fig. 3). 이와 같이 현장에서 장기간 대규모로 발생한 *A. sanguinea* 적조를 제어하기 위해서 본 연구진은 신규로 합성한 살조물질 TD49을 이용하여 그들의 살조능을 평가하였다. SS 실험에서 *A. sanguinea*의 살조능에 관한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 살조물질 TD49는 해수에 녹지 않기 때문에 Methanol에 녹였고, Methanol 용매에 대한 대상생물의 살조효과 유무를 평가하기 위해서 먼저 실험 규모가 작은 SS 실험에서 수행하였다. 여기서 Methanol 용매 실험군에서는 대조군과 비슷한 성장 특성을 보여

Fig. 3. Changes in the abundance of *Akashiwo sanguinea* populations at low tide from 07 November to 30 December 2011 in a sampling site (St.P)

Methanol 용액에 의하여 *A. sanguinea*가 사멸하지 않는다는 것을 알 수 있었고, 결과적으로 MS와 LS 실험에서는 Methanol 실험군을 두지 않았다.

SS 실험에서는 실험시작 후 대조군과 Methanol 실험군의 형광값(FSU)이 계속적으로 평형을 이룬 반면, TD49 물질 처리군에서는 접종 후 기하급수적으로 감소해 3일부터 극히 낮은 값이 8일까지 유지되었다(Fig. 4). 현미경으로 검경한 *A. sanguinea* 개체수 밀도 또한 급격히 감소하여 실험 후 4일째에는 전혀 관찰되지 않았다. 결과적으로 *A. sanguinea*는 TD49 물질에 의하여 살조되었다는 것을 의미한다. 특히, 처리군에서는 대상생물 *A. sanguinea*는 사멸하였으나, 12일 후 다른 규조류 개체수가 급격하게 대발생하였다(Fig. 4g, h). 실험기간동안 대조군과 Methanol 실험군의 전체 식물플랑크톤 군집은 8일째까지 *A. sanguinea* 단일종이 99.9% 이상으로 극우점하였으나, 그 후 시간의 경과와 더불어 다른 생물군이 점차적으로 늘어나는 것을 알 수 있었다. 반면, TD49 처리군에서는 접종 당일에만 *A. sanguinea*가 관찰되었고, 그 4일 이후에는 전혀 관찰되지 않았다. 특히 4-8일 사이에는 식물플랑크톤 전체 개체수가 극히 낮게 나타났으나, 8일 이후 점차적으로 중심목 규조류(centic diatom; <10 μm)가 관찰되면서 *A. sanguinea*에서 규조류로 전환되는 양상을 보였다. Kang et al. (2008)과 Jung et al. (2010)에 의하면, 동계 담수에서 발생하는 유해적조생물(규조류: *Stephanodiscus hantzschii*, 와편모조류: *Peridinium bipes*)을 제어하기 위해서 살조박테리아(*Pseudomonas fluorescens*)를 분리하여 살조능 실험을 한 결과 본 연구 결과와 유사하게 대상생물은 제어하지만, 시간의 경과와 더불어 다른 생물이 증가하는 것을 보고하였다. 또한 그들은 대상생물이 분해되는 과정에서 재생산된 영양염 등이 다른 극미소생물의 증식을 유발하였다고 하였다. 결론적으로 TD49는 *A. sanguinea*를 선택적으로 살조할 수 있는 우수한 물질로 판단되었으며, 살조하는 과정에서 생긴 부산물은 다른 생물에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다는 것을 SS 실험을 통하여 확인할 수 있었다.

살조물질에 대한 적조대상생물의 생존여부는 독립영양 생물일 경우 광합성 과정에서 발생하는 형광을 통하여 고유 엽록소의 활성 정도를 평가함으로써 알 수 있다. 본 연구에서 TD49 물질을 접종 후 *A. sanguinea*의 활성엽록소(Active Chlorophyll-*a*)를 측정하였다(Fig. 5). 대조군과 Methanol 실험군에서는 활성엽록소가 시간의 경과와 더불어 점차적으로 감소하는 경향을 관찰하였으나, TD49 처리군에서는 접종 직후부터 4일 이내에 대상생물 대부분이 제어되어 활성엽록소가 거의 관찰되지 않았다. 하지만 TD49 처리군에서는 8일째부터 점차적으로 증가하기 시작하여 12일째 최고치(68 $\mu\text{g L}^{-1}$)를 기록하였으며, 이는 앞서

Fig. 4. Growth curve and abundances of *Akashiwo sanguinea* for experiments of control, methanol Exp. and TD49 treatment (a and b) in small scale experiments (SS). Controls were algal cultures without TD49. Experiments of methanol and TD49 were algal cultures after inoculation of each substance. Abundances and relative contribution (%) of *A. sanguinea* in experiments of control (c and d), methanol (e and f) and TD49 substance (g and h). Error bars represent the standard deviation of triplicate samples

Fig. 5. Changes in active Chl.a of *Akashiwo sanguinea* dominated experimental cultures in small scale experiments (SS). Error bars represent the standard deviation of triplicate samples

언급한 중심목 구조류의 대발생에 의하여 발생하였다. 또한 TD49 접종 1일 후 형광값(FSU)은 대조군과 유사한 경향을 보였으나, PhytoPAM에 의한 Active Chl.a는 극히 낮은 값이 관찰된 것은 세포의 분해기작과 연관성이 있다. 즉, 이것은 세포의 분해과정에서 살조물질이 세포벽을 파괴하여 잔여 엽록소를 배양용기 내에 분산하였기 때문에 형광값(FSU)은 지속적으로 일정한 값으로 유지시켰으나, 실제로 그들의 성장에 영향을 미치는 Active Chl.a는 세포분해로 인하여 거의 관찰되지 않았다고 판단된다. 이와 같은 경향은 본 연구진의 선행연구에서도 유사하게 나타났다(백 등 2012). 결과적으로 TD 49 물질 처리후 곧바로 살조물질의 영향을 받아 Active Chl.a이 급격히 감소한 것으로 보아 대상생물에 대한 살조능이 우수하다고 판단되었다.

MS 실험에서 *A. sanguinea*의 살조능에 관한 결과를 Fig. 6과 7에 나타내었다. 대조군과 비교하여 TD49 처리군에서는 접종 후 pH가 급격히 감소하였으나, 시간이 지나면서 점차적으로 증가하여 조사 종료시에는 대조군과 비슷한 값을 보였다. 일반적으로 해수내 pH는 8.2 전후의 값을 나타내며, 본 실험에서의 대조군에서도 이와 유사한 값을 보였지만, TD49 물질을 처리한 후 급격히 감소한 것은 대상생물이 사멸하면서 발생한 박테리아의 활성에 의하여 pH를 1-1.2 정도 감소시킨 것으로 생각된다(Fig. 8). 이와 같은 pH의 감소 원인을 규명하기 위해서 다양한 실험군을 두어 평가한 결과, 생물을 접종하지 않은 여과해수, 여과해수 + Methanol, 여과해수 + TD49의 실험군은 7일 동안 pH 변동이 없이 8.1 전후를 유지하였다. 반면 생물을 접종한 대조군에서는 일부 생물의 증식으로 pH가

Fig. 6. Changes in pH (a), *in vivo* fluorescence (b) and abundances (c) of *Akashiwo sanguinea* dominated experimental cultures in middle scale experiments (MS)

약간 중간하는 경향을 관찰하였으나, TD49 처리군에서는 시간의 경과와 더불어 pH가 계속적으로 감소하였다. 결과적으로 생물을 접종한 대조군에서는 생물의 일시적 증가로 인한 pH 증가를 보였고, TD49 처리군에서는 대상생물이 살조되면서 파괴되는 과정에서 생성된 탄소원으로 박테리아의 현저한 증가와 함께 pH의 감소를 유발하였다고 판단되었다. 이와 같이 TD49 처리군에서 *A. sanguinea*의 개체수가 급격히 감소한 후 pH 농도가 감소하는 경향을

Fig. 7. Changes in Chl.a of *Akashiwo sanguinea* for experiment of control (a) and TD49 treatment (d) in middle scale experiments (MS). Total abundances and relative contribution (%) of *Akashiwo sanguinea* for experiments of control (b-c) and TD49 (e-f). Controls were algal cultures without TD49. Experiment of methanol and TD49 were algal cultures after inoculated each substance. Error bars represent the standard deviation of triplicate samples

LS 실험에서도 유사하게 나타났다(Figs. 9 and 10). MS 실험의 대조군에서 *A. sanguinea*의 개체수 및 형광값(*in vivo* fluorescence)은 유사한 경향을 보였지만, Control-3에서는 실험시작후 7일까지는 *A. sanguinea*의 개체수 및 형광값(*in vivo* fluorescence)이 천천히 감소하였지만, 8일 후 *A. sanguinea*의 개체수는 관찰되지 않았음에도 불구하고 형광값이 점차적으로 증가한 것은 다른 생물(규조류)의 빠른 증식에 의해 나타난 현상이었다.

Fig. 11에는 대조군에서 이분법에 의한 *A. sanguinea*

세포분열과정(Fig. 11a-d)과 TD49 물질 처리군에서 대상 생물이 분해되는 과정을 Fig. 11e-f에 나타내었다. 조 등 (2008)에 의하면 우리나라에서 출현하는 *A. sanguinea*의 세포는 오각형 또는 계란형으로 등배가 편아되었고, 세포 길이는 35-85 μm 이며, 폭 20-65 μm 의 비교적 크기가 큰 대형와편모조류로 보고되었다. 본 생물의 상추는 반구형 또는 원뿔형이며, 하추는 종구가 등측까지 연결되어 두 개의 열편(lobe)으로 나누어져 있다. 세포 핵은 구형 또는 장방형으로 국내 배양주는 세포중앙에 존재하지만, 국외 배

Fig. 8. Changes in pH (a), *in vivo* fluorescence (b) and bacterial abundances (c) in various pH assessment experiments

양주에서는 세포 상층에 존재한다(조 등 2008). 본 연구에서 *A. sanguinea*의 세포분열은 핵이 없는 하주의 종구를 중심으로 두개의 열편이 벌어지기 시작하여 점차적으로 세포중앙으로 번져 세포핵이 분열하였으며, 그 후 딸세포가 형성되어 2개체가 되는 것으로 나타났다(Fig. 11c, d). 이와 같이 *A. sanguinea*의 세포분열과정은 대부분의 편모조류가 핵분열 후 세포분열하는 과정과는 약간의 차이를 보였고(Leadbeater and Dodge 1967; Weiler and Chisholm 1976; Kohata and Watanabe 1986; Baek et al. 2009), 이는 추후 보다 세심하게 검토가 요구된다. TD49 물질 처리군에서 *A. sanguinea*의 파멸과정은 세포 외벽을 중심으로 세포형태가 점차적으로 매끄럽게 응축된 후 세포벽이 파괴되어 점차적으로 분해되는 경향을 보였다. 여기서 살조된 생물의 세포벽이 파괴되었지만 지속적으로 Chl.a가 완전히 분해되지 않고 시간의 경과와 더불어 점차적으로 파손되는 것으로 나타났다. 이것은 MS와 LS 실험의 TD49 처리군에서 *A. sanguinea*의 개체수는 관찰되지 않았지만,

Fig. 9. Changes in pH (a), *in vivo* fluorescence (b) and abundances (c) of *Akashiwo sanguinea* in large scale experiments (LS)

in vivo 형광값이 일정한 값을 지속적으로 유지한 것과 관련이 있다고 판단된다.

현장에서 황토나 점토, 살조세균 등으로 적조생물을 제어하려고 시도되고 있고(이와 박 1998; Imai et al. 1991; 박 등 1998), 그 중 적조생물과 살조세균의 동태에 관한 연구는 Fukami et al. (1991)과 Yoshinaga et al. (1995, 1997) 등이 있다. 살조세균에 의한 제어는 살조세균이 생산한 대사산물로 살조시키는 기작(Fukami et al. 1992)과 살조세균이 대상생물의 세포벽에 직접 접촉하여 살조시키는 기작등이 있다(Sawayama et al. 1993). 박 등 (1998)은 살조세균 *Micrococcus* sp.을 분리배양하여 해양유해 유독

Fig. 10. Changes in Chl.a of *Akashiwo sanguinea* dominated experimental cultures for experiment of control (a) and TD49 treatment (b) in large scale experiments (LS). Total abundances and relative contribution (%) of *Akashiwo sanguinea* for experiments of control (b-c) and TD49 (e-f). Controls were algal cultures without TD49. Experiments of methanol and TD49 were algal cultures after inoculation of each substance. Error bars represent the standard deviation of triplicate samples

성 적조생물 *Alexandrium tamarense*, *Prorocentrum micans*, *Scrippsiella trochoidea*, *Akashiwo sanguinea*, *Cochlodinium polykrikoides*를 대상으로 검토한 결과 *C. polykrikoides*에서만 살조효과를 관찰하였다. 이와 같이 살조세균을 이용한 적조생물 구제 방식은 어떤 특정종에 한하여 살조특이성을 나타내는 경향이 강하지만, 본 연구팀이 개발한 TD49 물질은 연안에서 적조를 유발하는 유해생물군을 효과적으로 제어할 수 있으며(백 등 2012), 접종 후 다른 생물군이 재증식할 수 있는 친환경적인 방법으로서 해양생

태계에 미치는 부정적 영향이 적을 것으로 판단된다.

요약하면, 연안내만에서 빈번하게 발생하는 유해적조생물에 대해 선택적으로 살조능력을 향상시키기 위해 신규로 합성된 Thiazolidinedione 유도체 TD49 물질을 외편모조류 *A. sanguinea*에 대하여 검토한 결과 우수한 살조능을 보였다. 또한 살조하는 과정에서 박테리아의 개체수가 기하급수적으로 증가하였고, 그 결과 대상생물이 박테리아에 의해 분해되면서 pH가 일정하게 감소하는 현상을 모든 실험구에서 확인할 수 있었다.

Fig. 11. Light microscopic observation of *Akashiwo sanguinea* in control (a-d) and TD49 treatment bottles (e-f). Scale bars: 50 μ m

사 사

본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 미래 유망 융합기술 파이오니어 사업(과제번호 M1071118001=08M1118-00110)과 한국해양연구원 연구과제 남해특별관 리해역의 관리를 위한 해양 생태계 건강지수 개발 (PE98745)의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- 김학균 (2005) 해양적조. 다솜출판사, 서울, 467 p
- 김학균, 이삼근, 안경호 (1998) 한국연안의 적조 : 최근 적조의 발생 원인과 대책. 국립수산진흥원, 292 p
- 박영태, 박지빈, 정성윤, 송병철, 임월애, 김창훈, 이원재 (1998) 적조생물 살조세균 탐색. 1. 유해 적조생물 *Cochlodinium polykrikoides* 살조세균 *Micrococcus* sp. LG-1의 분리와 살조특성. 한국수산과학회지 31:767-773
- 박영태, 이원재 (1998) 황토첨가 해양퇴적물에서 적조생물 *Cochlodinium polykrikoides* 분해중 세균군집의 변동. 한국수산과학회지 31:920-926
- 백승호, 유카이, 박범수, 한명수 (2010) 시화호 주변 부영양화 기수구역의 미소생물 군집의 계절적 변화. Korean J Limnol 43:55-68
- 백승호, 장민철, 주혜미, 손문호, 조훈, 김영옥 (2012) 해양적조생물제어를 위한 살조물질 Thiazolidinedione 유도체 (TD49)평가. 한국해양학회지 「바다」 17:9-15
- 이원재, 박영태 (1998) 적조생물 살조세균 탐색. II. 적조생물 *Prorocentrum micans* 살조세균 *Pseudomonas* sp. LG-2의 분리와 살조특성. 한국수산과학회지 31:852-858
- 이주연, 한명수 (2007) 마산만 식물플랑크톤의 대발생 양상의 변화와 군집 동태. 한국해양학회지 「바다」 12:147-158
- 임은채, 신준재, 박인택, 한효경, 김시욱, 조훈, 김성준 (2010) 신규 살조물질인 Thiazolidinedione 유도체(TD49)의 해양 생태계에 대한 급성독성평가. 한국생명공학회지 25:527-532
- 임은채, 신준재, 박인택, 한효경, 김시욱, 조훈, 김성준 (2011) 신규 살조물질인 Thiazolidinedione 유도체(TD53)의 해양 생태계에 대한 급성독성평가. 한국생명공학회지 26:7-12
- 조수연, 기장서, 한명수 (2008) 한국 연안에 출현하는 무각와 편모조류 5종에 대한 형태 및 분자계통학적 특성. Algae 23:15-29
- Baek SH, Shimode S, Shin KS, Han MS, Kikuchi T (2009) Growth of dinoflagellate, *Ceratium furca* and *Ceratium fusus* in Sagami Bay, Japan: The role of vertical migration and cell division. Harmful Algae 8:843-856
- Bockstahler KR, Coats DW (1993) Grazing of the mixotrophic dinoflagellate *Gymnodinium sanguineum* on ciliate population of Chesapeake Bay. Mar Biol 116:477-487
- Daughjerg N, Hansen G, Larsen J, Moestrup Ø (2000)

- Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* **39**:302-317
- Domingos P, Menezes M (1998) Taxonomic remarks on planktonic phytoflagellates in a hypertrophic tropical lagoon (Brazil). *Hydrobiologia* **369/370**:297-313
- Fukami K, Nishijima T, Murata S, Doi S, Hata Y (1991) Distribution of bacteria influential on the development and the decay of *Gymnodinium nagasakinense* red tide and their effects on algal growth. *Nippon Suisan Gakk* **57**:2321-2326
- Horner RA, Garrison DL, Plumley FG (1997) Harmful algal blooms and red tide problems on the U.S. west coast. *Limnol Oceanogr* **42**:1076-1088
- Imai I, Sunahara T, Nishikawa T, Hori Y, Kondo R, Hiroishi S (2001) Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and the algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea, Japan. *Mar Biol* **138**:1043-1049
- Imai I, Ishida Y, Sawayama S, Hata Y (1991) Isolation of a marine gliding bacterium that kills *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae). *Nippon Suisan Gakk* **57**:1409
- Jakob T, Schreiber U, Kirchesch V, Langner U, Wilhelm C (2005) Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: Performance and methodological limits. *Photosynth Res* **83**:343-361
- Jung SW, Kang YH, Katano T, Kim BH, Cho SY, Lee JH, Kim YO, Han MS (2010) Test addition of *Pseudomonas fluorescens* HYK0210-SK09 to mitigate blooms of the diatom *Stephanodiscus hantzschii* in small-and large-scale mesocosms. *J Appl Phycol* **22**:409-419
- Kang YK, Cho SY, Kang YH, Katano T, Jin ES, Kong DS, Han MS (2008) Isolation, identification and characterization of algicidal bacteria against *Stephanodiscus hantzschii* and *Peridinium bipes* for the control of freshwater winter algal blooms. *J Appl Phycol* **20**:375-386
- Kiefer DA, Lasker R (1975) Two blooms of *Gymnodinium splendens*, an unarmored dinoflagellate. *Fish Bull US* **73**:675-678
- Kim YM, Wu Y, Duong TU, Ghodake GS, Kim SW, Jin ES, Cho H (2010) Thiazolidinediones as a novel class of algicides against red tide harmful algal species. *Appl Biochem Biotech* **162**:2273-2283
- Kohata K, Watanabe M (1986) Synchronous division and the pattern of diel vertical migration of *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada (Raphidophyceae) in a laboratory culture tank. *J Exp Mar Biol Ecol* **100**:209-224
- Leadbeater B, Dodge JD (1967) An electron microscope study of nuclear and cell division in a dinoflagellate. *Arch Mikrobiol* **57**:239-254
- Lu S, Hodgkiss IJ (2004) Harmful algal bloom causative collected from Hong Kong waters. *Hydrobiologia* **512**: 231-238
- Poter KG, Feig YS (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr* **25**:943-948
- Sawayama S, Sako Y, Ishida Y (1993) New inhibitor for mating reaction of *Alexandrium catenella* produced by marine *Alteromonas* sp. *Nippon Suisan Gakk* **59**:291-294
- Weiler CS, Chisholm M (1976) Phased cell division in natural populations of marine dinoflagellates from shipboard cultures. *J Exp Mar Biol Ecol* **25**:239-247
- Yamasaki Y, Nagasoe S, Matsubara T, Shikata T, Shimasaki Y, Oshima Y, Honjo T (2007) Growth inhibition and formation of morphologically abnormal cells of *Akashiwo sanguinea* (Hirasaka) G. Hansen et Moestrup by cell contact with *Cochlodinium polykrikoides* Margalef. *Mar Biol* **152**:157-163
- Yoshinaga I, Kawai T, Ishida Y (1997) Analysis of algicidal ranges of the bacteria killing the marine dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi* isolated from Tanabe Bay. *Fish Sci* **63**:94-98
- Yoshinaga I, Kawai T, Takeuchi T, Ishida Y (1995) Distribution and fluctuation of bacteria inhibiting the growth of a marine red tide phytoplankton *Gymnodinium mikimotoi* in Tanabe Bay. *Fish Sci* **61**:780-786

Received Jan. 5, 2012

Revised Mar. 28, 2012

Accepted May. 9, 2012