

구리와 Methylglyoxal에 의한 조류의 성장 및 인 흡수

이 기 태, 이 기 성

경희대학교 생물학과

The Algal Phosphorus Uptake and Growth by Copper and Methylglyoxal

Ki Tae Rhie and Kee Sung Lee

Dept. of Biology, Kyung Hee University

ABSTRACT

Effects of various concentrations of copper in solid fibrous form and methylglyoxal (MG) on phosphorus uptake and growth change of green algae *Scenedesmus obliquus* were studied.

There was significant differences among cultures treated with various concentrations of copper and MG in growth of algae with parameters of cell numbers, photosynthetic rate and cellular morphology, and phosphorus uptake by cell. When the copper in media is treated with 25 mg or 50 mg per 100 ml of Bristol solution, the mean cell number of algae was 15.642×10^6 cells · ml⁻¹ and 12.986×10^6 cells · ml⁻¹, respectively, while those of algae in culture without copper was 18.486×10^6 cells · ml⁻¹. The mean cell area of 2450 μm², 1894 μm² and 1697 μm² in basic media, basic media with 25 mg of copper and basic media with 50 mg of copper was showed the inhibitory effect of copper on algal growth. The algal growth was stimulated by MG when the culture was treated with 25 mg of copper or without copper, while it was inhibited when the culture was treated with 50 mg of copper. It was considered that there was significant interaction between copper and MG on algal growth.

The phosphorus concentration in algal medium treated with 25 mg or 50 mg of copper was 29.435 ppm and 26.224 ppm, respectively, while those of algae in culture without copper was 52.8 ppm, which shows that the application of copper in algal medium can prevent the availability of phosphorus to algal cell.

서 론

일반적으로 수계의 조류는 정화되지 않은 도시의 생활하수, 산업폐수, 농·축산 폐수 등에 의한 과도한 인과 질소의 유입으로 과다 증식한다. 또한 자연적인 물의 흐름을 차단하여 물이 순환되지 않는 경우 물의 특성변화 등이 부가되어 부영

양화를 유발한다. 현재 빈번히 발생하고 있는 조류의 과다 증식으로 인하여 특정 종이 분비하는 독성으로 어패류가 폐사하거나, 수생식물이 이용할 수 있는 빛의 질과 양을 감소시키고 있다.¹⁾ 현재 이러한 조류 과다 증식의 중요한 원인이 되는 부영양화를 억제하기 위해 수로 주변의 공업활동 억제, 오염물질의 투기 금지 등의 환경보호 정책을 만들고 있다. 또한 조류의 과다증식을 억제하기 위한 물리적인 방법으로 황토와 같은 점토에 의한 구제방법을 사용하기도 한다. 그리고 조류에 대한 또 다른 구제방법으로 황산동(CuSO₄)을 이

* 본 연구는 교육부 기초과학연구소 학술연구조성비(BSRI 98-4438) 지원에 의한 연구결과임.

용하기도 한다.

구리는 효소의 활성화에 중요한 물질이기도 하지만 소량으로 조류의 성장을 저해하는 물질 중에 하나로서 필요량 이상 투입될 경우 막의 활성을 저해하는 물질로 알려져 예로부터 세균을 포함한 미생물의 생육을 억제하는 물질로 알려져 왔다. 구리는 1ppb 이하의 농도로도 해양과 담수조류의 증식을 억제한다고 알려져 있으며,^{2,3)} 조류세포에 부착된 구리는 세포 내로 흡수되어 조류의 생리기작에 영향을 주고 성장에 중요한 효소의 SH group에 결합하여 활성을 저하시킨다.⁴⁾ 또한 구리의 독성은 색소와 지질의 생합성을 방해하고 결과적으로 엽록체가 음전하를 띠게 함으로써 광합성에 영향을 미치기도 한다.⁵⁾ 또한 카드뮴이나 아연 같은 물질이 구리와 함께 투여되는 경우 미생물 및 조류의 제거에 상승효과가 있는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 또한 구리는 alkaline phosphatase의 활성을 저해한다.⁷⁾ 이러한 구리의 저해효과는 중금속에 따라 큰 차이를 보이기도 하며,⁸⁾ humic acid에 의하여 독성이 완화되기도 한다.⁹⁾ 이와 같이 많은 연구에 의해 풀장, 수족관 등에 황산동용액을 처리하여 조류를 방제하는 등 일상생활에 적용되고 있다.

조류의 성장에 영향을 미치는 또 다른 요인에 관한 연구로서 threonine 또는 glycine의 분해경로 중 aminoacetone으로부터, 또는 탄수화물의 대사경로 중 dihydroxyacetone phosphate의 분해 과정 가운데 중간 대사 산물로 생성되는 물질인 methylglyoxal (MG)가 세포 분열에 대하여 억제 효과가 있다는 보고되고 있다.^{10),11),12),13)} 지금까지는 MG는 lactate로 변하거나 pyruvate 및 glucose로 전환된다고 알려지고 있다.¹⁴⁾ 일반적으로 MG의 생물학적 특성은 1~5mM 일 때 효소의 SH group에 작용하여 생리적 기능에 독성이 있는 것으로 알려져 있지만, 낮은 농도에서는 세포의 증식을 자극하는 효과를 보인다는 보고도 있다.¹⁵⁾

본 연구에서는 이차오염을 유발할 수 있는 황산동 상태의 구리 대신, 고품질의 구리염류가 조류 성장에 영향을 주는 농도 및 조류의 성장을 억제할 경우 조류의 과다증식요인에 관련한 영양염류인 인 (Phosphorus)과의 관련성을 이해하기 위하여 수행되었다. 한편 MG가 관여하여 조류의 성장에 관련된 구리의 영향과 연관하여 상호작용을

밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 조류 및 배양조건

녹조류인 *Scenedesmus obliquus* (UTEX 1440, USA)를 Bold에 의하여 조정된 Bristol 용액을 사용하여 배양하였다. 삼각 플라스크 (250 ml)에 배양액 100 ml를 채워 121°C, 1.1 kg · cm⁻² 조건에서 30분간 멸균시켰다. *S. obliquus*의 접종 농도는 1.0 × 10⁴ · ml⁻¹이었으며 25°C, 45 μM photon · m⁻² · sec⁻¹의 조도에서 80 rpm의 진탕의 조건으로 설정된 Growth Chamber (Vision Scientific Co., Korea)에서 배양하였다.

2. 실험조건

구리와 MG의 농도를 달리하여 준비된 각 배지는 3개씩의 반복구로 구성하였다. Bristol의 기본 배지에 구리염류를 각각 0 mg, 25 mg 및 50 mg를, 또한 구리가 첨가된 각각의 배지마다 methylglyoxal (MG)의 농도를 0, 0.5 및 1 mM로 조절하였다.

3. 생리적 변화 측정

각 실험 조건에 따른 세포의 생리적 변화를 분석하기 위하여 조류 접종 후 3일 간격으로 세포수와 광합성율, 인 흡수율 및 세포의 모양과 크기를 측정을 하였다. Haemocytometer를 이용하여 측정된 세포는 조류광합성측정장치 (YSI Oxygen Meter, Model 5300, USA., Chamber with water bath and HC-30 Handy Cooler, Jeio Tech.)를 이용하여 광합성율을 측정하였다. 인 흡수율을 측정하기 위해 대조군과 처리군의 배지에서 각각 10 ml씩을 4000 rpm에서 30분간 원심 분리시킨 후 상층액을 채취하여 10배 희석한 후 원소분석기 (Rapid Flow Analyzer: RFA-300, Alpkem, USA)를 이용하여 세포가 제거된 상태의 배지 내에 남아 있는 인의 양을 측정하였다. 원소분석기의 인측정을 위한 튜브, filter 등의 Setting과 발색시약은 EPA Methods에 준하였으며 Standard는 기본배지의 인 농도인 52.8 ppm으로부터 10.56 ppm을 사용하였다. 세포의 모양은 화상분석 시스템 (RDC-2, 성진미디어)을 이용하여 측정하였다. 각 자료는 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 α=0.05 수준에서 분

산분석 (ANOVA) 후 Duncan의 다중 범위 검정 방법 (Duncan's multiple range test)으로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 세포 분열

조류세포의 수는 전 생육기간에서 대조군과 처리군간에 유의한 차이를 보였다 (ANOVA, $p < 0.001$). 전반적으로 세포의 증식에 있어서 구리의 효과는 전 생육기간에서 확실한 차이를 보였으나, Methylglyoxal (MG)은 구리가 50 mg이 첨가된 배지에서, 또한 이 구리첨가 배지 중 MG의 농도가 1 mM일 경우 유의한 차이를 나타낸 것으로 나타났다 (Fig. 1).

생육초기인 접종 후 3일째의 세포수를 비교하

면 MG보다는 구리가 성장저해의 효과를 보인 것으로 나타났다. 배지 내 평균 세포 수의 비교에서 구리가 처리되지 않은 경우, $2.347 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$, 구리가 25 mg 일 때, $0.583 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$, 구리가 50 mg 일 때, $1.125 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 유의한 차이를 보였다 (Duncan's Multiple Range Test, $\alpha = 0.05$). 이 시기 세포의 증식에 대한 MG의 영향은 구리 25 mg이 첨가된 배지에서는 유의한 차이는 보이지 않았으나, 구리가 첨가되지 않은 배지와 구리가 50 mg 첨가된 경우에서는 MG가 1 mM 첨가된 경우 유의한 차이를 보였다. 따라서 조류의 성장 초기에는 구리가 세포의 증식을 억제하고, MG는 1 mM이 첨가될 경우에만 세포의 증식을 억제하는 것으로 나타났다.

접종 후 6일째에도 처리된 각 농도의 구리가 조류의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 구리가

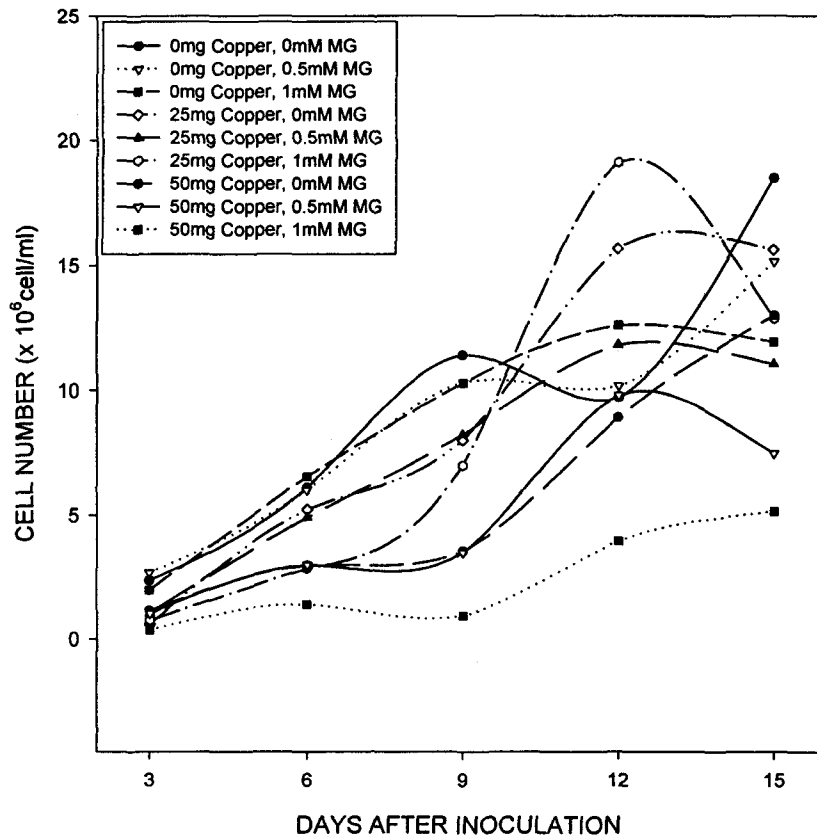


Fig. 1. Changes in cell number of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of copper and methylglyoxal (MG).

첨가되지 않은 배지에서의 평균 세포수는 $6.083 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 인데 비교하여 구리가 25 mg 첨가된 배지는 $5.222 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$, 구리가 50 mg 첨가된 배지는 $2.958 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 의 세포 수를 보였다. 이 시기 조류의 증식에 대한 MG의 효과는 구리와 상보적인 효과를 보였다. 구리가 첨가되지 않은 배지에서는 3일째와 같이 유의한 차이를 보이지 않았으나 구리가 25 mg 첨가된 배지에서는 MG의 조류 증식억제 효과가 나타났으며, 특히 높은 농도일 때 억제하는 것으로 확인되었다. 또한 구리가 50 mg 첨가된 배지에서는 25 mg 첨가되었을 때 보다 더 높은 조류의 증식 억제 현상을 보였다. 특히 1 mM의 MG 처리시에는 가장 낮은 세포수의 농도 ($1.375 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$)를 나타내어 MG의 농도가 높을수록 더 많은 억제 현상을 나타냈다. 즉 구리와 MG 모두에서 높은 농도일 때 많은 억제 현상을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 현상은 접종 후 9일째에도 유사하게 나타났다.

접종 후 12일째에 구리가 25 mg 첨가된 배지의 평균 세포 수는 $15.666 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 오히려 구리가 첨가되지 않은 배지의 세포수인 $9.708 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 보다 많았고, 구리가 50 mg 첨가된 배지 또한 $8.916 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 으로 대조군과 유의한 차이가 없었다(Duncan's Multiple Range Test, $\alpha=0.05$). 즉 대조군과 같이 쇠퇴기에 진입하지 않고 지속적인 성장을 보였다. 이는 실험에 사용된 구리염의 효과는 조류의 증식에 있어 매우 중요한 영양염류인 인의 농도를 저하시키는 것으로 결과로 비교하여 인의 농도가 매우 저하된 상황에서 조류는 세포의 성장보다는 세포분열을 통한 개체의 증식을 우선으로 하는 결과로 사료된다. 이러한 근거로 구리가 25 mg 첨가된 배지의 세포 수는 9일째에 $8.014 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 에서 12일째에는 $15.666 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 으로, 구리가 50 mg 첨가된 배지에서는 9일째 $3.541 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 에서 12일째에는 $8.916 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ 으로 대조군과는 달리 급격한 세포증식을 나타낸 것을 볼 수 있다.

접종 후 15일째에는 MG가 조류의 성장을 억제하는 경향을 나타내었다(ANOVA, $F=18.60$, $p<0.001$). 구리가 0, 25, 50 mg 첨가된 모든 배지에서 MG의 농도에 따라 세포수는 반비례 하는 경향을

나타내었다. 또한 구리에 대한 영향도 나타났으며, 또한 구리와 MG가 동시에 높은 농도로 처리될수록 조류의 세포증식은 억제되었다(ANOVA, $F=10.09$, $p<0.001$). 이 기간에 대조군의 배지에서 $18.486 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 가장 많은 세포 증식이 이루어졌으며, MG가 0.5 mM 첨가된 배지와 구리가 25 mg 첨가된 배지 모두 $15.000 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 정도, MG만 1 mM 첨가된 배지와 구리 25 mg, MG 0.5 mM 첨가된 배지, 그리고 구리만 50 mg 첨가된 배지가 $11.000 \sim 12.000 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 정도로 유사한 세포수를 보여, 구리와 MG가 중복으로 첨가되어있다면 억제효과도 늘어나는 경향을 보였다.

전체적으로 구리의 첨가는 전 생육기간동안 꾸준한 세포분열 억제 효과를 나타내었고, MG는 전 생육기간동안 구리가 첨가된 배지에서만 세포분열 억제 효과를 나타내었다. 그리고 접종 후 15일째에는 구리가 첨가되지 않은 배지에서도 MG의 억제효과가 나타났다. 따라서 구리와 MG가 조류의 세포분열을 억제한다는 결론이 나왔으며, 특히 구리와 MG가 동시에 처리되었을 때 그 억제효과는 커진다는 것을 알 수 있었다.

하지만 이러한 세포수 측정 결과만을 가지고 조류의 성장에 대한 결론을 낼 수는 없을 것 같다. 뒤에 언급할 것이지만 조류의 성장은 개체수만을 보고 판단할 수는 없었다. 각 처리군 별로 크기, 모양, 엽록소 함량, 인의 함량 등이 조금씩 틀리다는 것을 실험을 통해 알 수 있었고, 이러한 것이 세포수 측정에 있어 많은 변수로 작용한 것으로 판단되었다.

2. 광합성율

광합성율의 측정 또한 전 생육기간동안 유의한 차이를 보였다(ANOVA, $p<0.05$). 구리가 25 mg 첨가된 배지는 성장 초기에는 대조군과 많은 차이를 보이다 점점 회복되어 15일째에는 대조군과 거의 같은 수준의 광합성율을 나타냈다(Fig. 2). 성장후기에는 구리가 첨가되지 않은 대조군의 경우에는 거의 포화상태에 이르러 일정한 수준을 유지하지만 25 mg 첨가된 배지는 점점 회복되어 대조군과 거의 같은 수준을 유지하게 된 것으로 보인다. 구리가 첨가된 배지의 경우 구리의 농도가 높을수록 MG는 광합성 억제의 경향을 보였다. 특히 15일째에 구리가 50 mg 첨가되고 MG가 첨

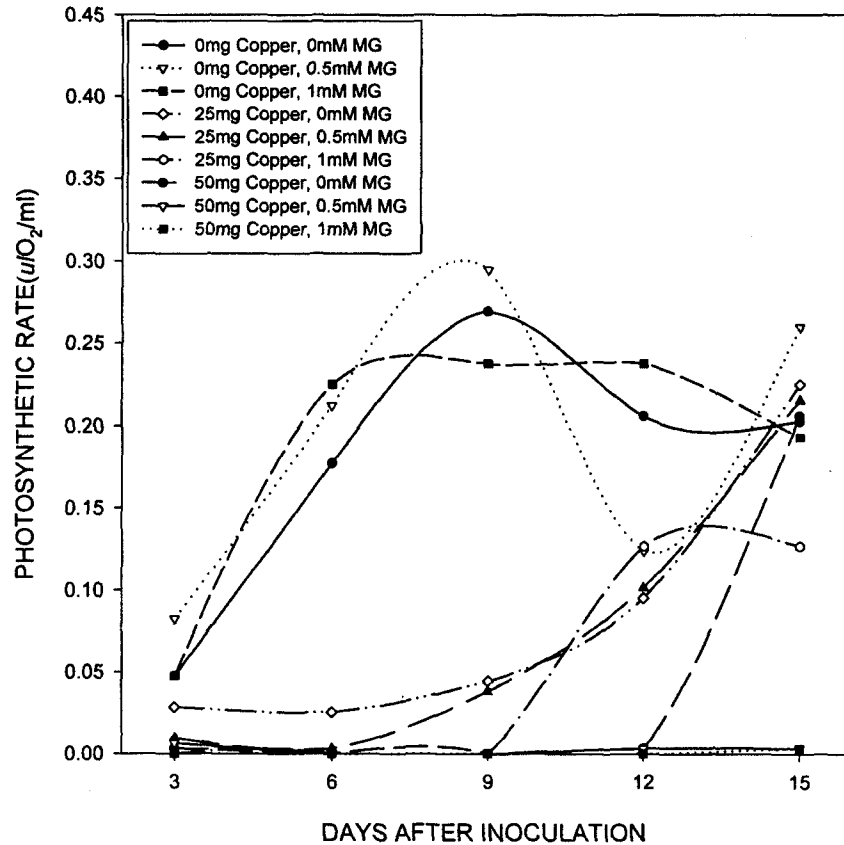


Fig. 2. Changes in photosynthetic rate of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of copper and methylglyoxal (MG).

가되지 않은 배지의 경우 광합성율은 평균 $0.206 \mu\text{l O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 12일째의 $0.003 \mu\text{l O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ 와 비교시 후반부에 빠른 회복을 나타내어 대조군과 또는 구리가 25 mg 이하로 첨가된 배지와 거의 비슷한 수준을 유지하였으나 MG가 처리된 배지는 모두 $0.003 \mu\text{l O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 나타나 광합성율을 회복하지 못한 것으로 나타났다. 이 또한 구리와 MG이 복합요인으로 작용한다는 것을 보여주는 결과로 이러한 복합요인의 효과는 특히 성장 후기인 12일째와 15일째에 두드러지게 나타나는 것으로 판단되었다 (ANOVA, $p < 0.001$). 광합성의 측정 결과로는 구리는 조류광합성능력을 억제하는 작용을 나타내고 MG는 구리에 의해 억제된 광합성능력의 회복을 둔화시키는 작용을 하는 것으로 사료된다.

3. 인의 흡수

인은 조류의 성장에 필수적인 무기염류 중의 하나이다. 따라서 각 구리와 MG에 따른 조류의 인 흡수능력을 알아보고 이에 따라 조류의 생리적 기능저하 또한 조사할 수 있다. 인 흡수율 역시 배지내 인 잔류량 측정과 조류세포의 인 흡수율 두 가지 모두에서 전 생육기간동안 대조군과 각 처리군 사이에 유의한 차이가 나타났다 (ANOVA, $p < 0.001$). 또한 전 생육기간을 통하여 구리가 첨가되었을 경우에 배지내 인의 양은 구리가 첨가되었을 경우에 비교하여 낮게 나타났다 (Fig. 3). 배지내에 인의 안정성을 분석하기 위하여 세포를 접종하지 않은 경우, 구리가 포함되지 않은 배지는 전 생육기간을 통하여 약 52.8 ppm을 그대로 유지했지만 구리가 25 mg과 50 mg이 첨가된 경우

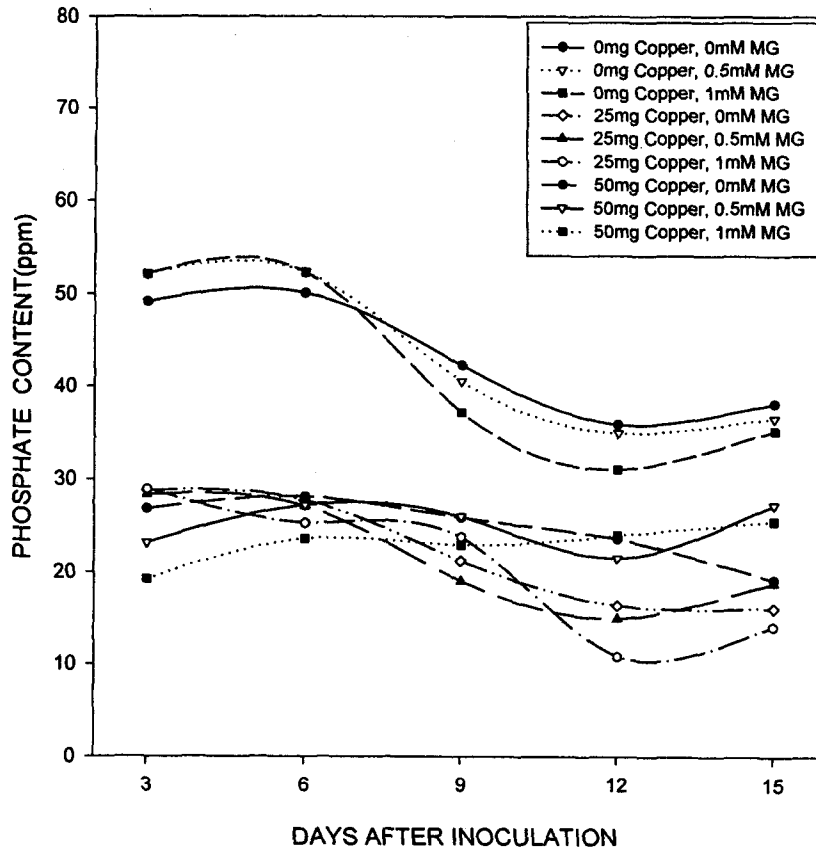


Fig. 3. Changes in phosphate content in media of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of copper and methylglyoxal (MG).

는 평균 인 농도가 각각 29.435 ppm과 26.224 ppm으로 인의 농도가 감소한 것을 볼 수 있어 구리 첨유는 배지내에 인의 안정성에 영향을 미치는 것으로 판단된다 (Fig. 4). 이러한 결과는 그 동안 연구되었던 CuSO_4 를 이용한 구리의 효과와는 달리, 고형구리의 적용은 조류의 PO_4^{3-} 형태의 인 흡수를 제한함으로써 증식 억제 효과를 나타낸다고 사료된다. 따라서 구리첨유에 의하여 조류는 부영양화를 유발하는 인을 제한하여 이용함으로써 조류의 증식을 막을 수 있고, 또한 물의 부영양화 속도를 완화시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한 세포수, 단백질 함량, 광합성, 엽록소 등이 구리의 처리에 상당한 억제현상 또한 조류 세포에 대한 구리의 간접적인 효과로 판단된다. 인 흡수율 역시 구리와 MG의 복합요인이 전 생육기간 동안 작용한 것으로 나타났다 (ANOVA, $p < 0.001$).

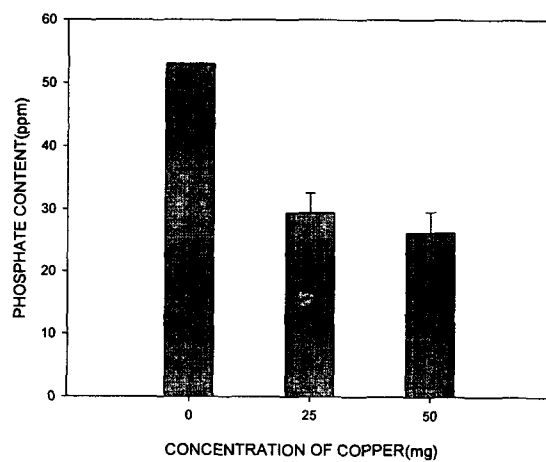


Fig. 4. Phosphate content in media treated with various concentrations of copper without algal cells (Bars indicate +one standard deviation).

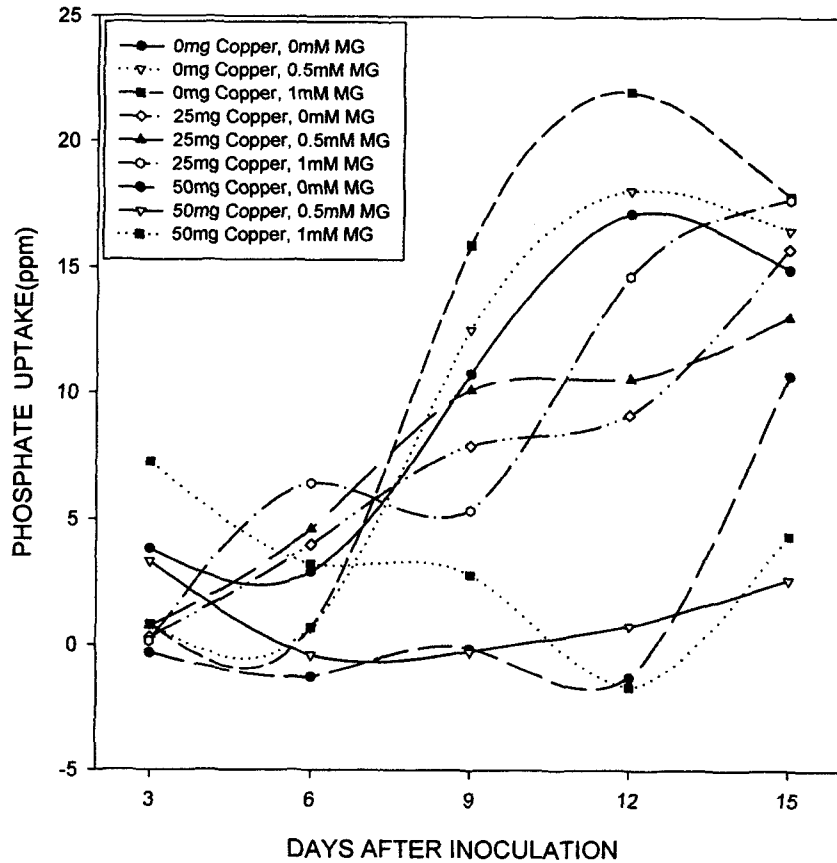


Fig. 5. Changes in phosphate uptake of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of copper and methylglyoxal (MG).

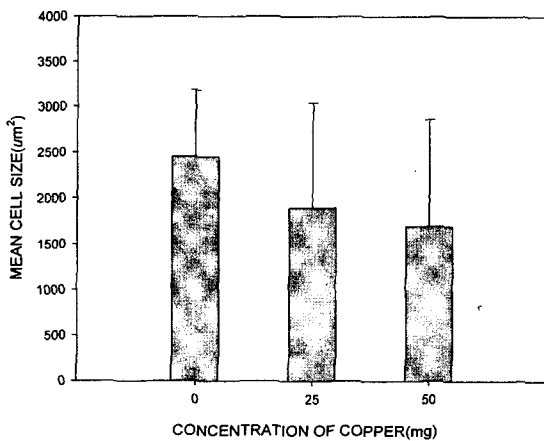


Fig. 6. The mean cell size of *Scenedesmus obliquus* in media treated with various concentrations of Copper. (Bars indicate +1 S.D.)

MG에 대한 영향의 경우, 인 흡수율은 구리가 첨가되지 않거나 25 mg 첨가된 경우에는 전반적으로 세포성장을 촉진하는 경향을 나타내어 (Fig. 5), 배지에 MG가 0.5 및 1 mM 첨가된 경우 접종 후 15일째 각각 16.488, 11.834 ppm으로 MG가 첨가되지 않은 배지의 인 흡수율보다 높았다. 구리가 고농도인 50 mg 첨가된 경우에는 MG는 세포성장을 억제하는 것으로 나타나, MG가 0.5 및 1 mM 첨가된 배지에서 각각 2.603 및 4.339 ppm의 인 흡수율을 보인 것에 반하여 MG가 첨가되지 않은 배지의 인 흡수율은 10.661 ppm이었다.

4. 세포의 모양

구리가 첨가된 배지의 세포는 평균 세포면적이 구리가 25mg 첨가된 배지의 경우 1894 µm², 50mg

첨가시 $1697 \mu\text{m}^2$ 으로 구리가 첨가되지 않은 배지의 세포면적인 $2450 \mu\text{m}^2$ 와 비교할 때 더 작았다 (Fig. 6). 이는 성장 중반기에 구리에 의해 인이 고갈됨으로써 배지 내 영양분부족이 일어나게 되고 따라서 각 세포는 스스로의 개체의 성장보다는 개체증식을 하게 된 것으로 해석된다.

결 론

부영양화와 관련한 조류 성장과 인 흡수의 관계를 섬유형태의 고체 구리와 Methylglyoxal (MG)의 농도를 달리하여, 또한 이들 두 요인에 의한 복합적인 영향을 분석하여 녹조류인 *Scenedesmus obliquus*의 생리적 변화를 연구하였다. 전반적으로 녹조류인 *Scenedesmus obliquus*의 성장은 구리 첨가의 첨가에 의해 상당히 억제 되는 것으로 나타났고 이는 조류가 인을 이용하는데 제한된 요소로 작용하는 것으로 판단된다. 또한 MG는 구리의 농도에 따라 다른 영향을 나타내었다. 즉 구리가 낮은 농도일 때는 MG가 조류의 성장을 촉진하고 높은 농도일 경우에는 오히려 억제하는 것으로 나타나 조류의 생리적 기능 약화, 세포농도의 감소 같은 구리의 영향이 일어났을 때에 MG가 더욱 억제하는 것으로 판단되었다.

구리가 25 mg, 50 mg로 첨가된 배지에서 성장후기의 평균 세포수는 각각 $15.624 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$, $12.986 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 구리가 첨가되지 않은 배지의 $18.486 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 보다 적은 수치를 보여, 조류세포의 증식을 억제하는 효과를 나타냈다.

구리가 첨가되지 않은 배지, 구리가 25 mg, 50 mg로 첨가된 배지 내의 평균 세포 면적은 각각 $2450 \mu\text{m}^2$, $1894 \mu\text{m}^2$, $1697 \mu\text{m}^2$ 로 나타나 구리가 조류 세포 각각의 기능과 구조에 억제적 요인으로 나타났다. MG는 구리가 처리되지 않거나 저농도로 처리된 경우에는 성장 촉진의 효과가, 구리가 고농도로 처리된 경우 억제의 효과가 나타나는 것으로 나타나 구리와의 복합요인이 있는 것으로 판단된다. 구리첨가와 인의 관계에서 구리첨가가 25 mg, 50 mg로 첨가된 배지에서 인 함유량의 평균치가 각각 29.435 ppm, 26.224 ppm으로 원 배지의 52.8 ppm보다 훨씬 적은 양이 측정되어, 조류의 성장에 부적합한 환경이 조성되어 조류의 증

식, 기능, 구조적인 측면을 억제하는 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Neundorfer J.V. and Kemp W.M. Nitrogen versus phosphorus enrichment of brackish water : responses of the submersed plant *Potamogeton perfoliatus* and its associated algal community. Mar. Ecol. Prog. Ser. 1993; 94 : 71-82.
2. Steeman-Nielsen E. and Winn-Anderson S. The influence of Cu on photosynthesis and growth of diatoms. Physiol. Plant 1971; 24 : 480-484.
3. Davey E.W., Morgan M.J. and Erickson S.J. A biological measurement of copper complexation capacity of seawater. Limnol. Oceanogr. 1973; 12 : 319-323.
4. O'Kelly J.C. Inorganic nutrients. In: Stewart WDP (ed) Algal Physiology and Biochemistry. Univ of Calif Press, Berkeley. 1974; 610-635.
5. Albareda G., Arellano J.B. and Goerge J.L. Copper and photosystem II: A controversial relationship. J. Phycologia Plantarum. 1995; 94(1) : 174-180.
6. Wang, Juying, Manping Zhang, Jigui Xu and Yi Wang 1995. Reciprocal effect of Cu, Cd, Zn on a kind of marine alga. J. Water Res. 29(1): 209-214.
7. Rueter J.G., O'Reilly K.T. and Petersen R.R. Indirect aluminum toxicity to the green alga *Scenedesmus* through increased cupric ion activity. J. Environ Sci Technol. 1987; 21(5) : 435-438.
8. Macfie S.M., Tarmohamed Y. and Welbourn P.M. Effects of cadmium, cobalt, and nickel on growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: The influences of the cell wall and pH. J. Arch Environ Contam Toxicol. 1994; 27(4) : 454-458.
9. Garvey J.E., Owen H.A. and Winner R.W. Toxicity of copper to the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae), as affected by humic substances of terrestrial and freshwater origin. J. Aquat Toxicol. 1991; 19(2) : 89-96.
10. Ray S. and Ray M. Formation of methylglyoxal from aminoacetone by amine oxidase from goat plasma. J. Biol. Chem. 1983; 258, 3461.
11. Cooper, Methylglyoxal formation during glucose catabolism by *Pseudomonas saccharophila* Eur. J. Biochem. 1974; 44 : 81-86.
12. Murata K., Saikusa T., Fukuda Y., Watanabe K., Inoue Y., Shimosaka M. and Kimura A. Metabolism of 2-oxaldehydes in yeasts: Possible role of glycolytic bypa-

- th as a detoxification system in L threonine catabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Biochem.* 1986; 157 : 297-301.
13. Ranganathan S. and Tew K.D. Analysis of glyoxalase-I from normal and tumor tissue from human colon. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1993; 1182 : 311-316.
 14. Saez G.T., Blay P.J. Vina R. and Vina J. Glucose formation from methylglyoxal in rat hepatocytes. *Biochem Soc. Trans.* 1985; 13 : 945-946.
 15. Mannervik B. In enzymatic basis of detoxification, *Academic Press*, New York, Vol. II (Jakoby W.B. ed.) 1980; pp 263-273.