

살조세균 KY1의 분리와 특성조사

박근영 · 김미령 · 김성구
부경대학교 생물공학과

Isolation and Characterization of Algicidal Bacteria KY1

Keun-Young PARK, Mi-Ryung KIM and Sung-Koo KIM

Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University, Pusan. 608-737, Korea

Algicidal bacteria were isolated from the mud of south coastal sea of Korean peninsula and screened to evaluate algicidal activity on *Cochlodinium polykrikoides*. The optimum condition for the development of highest algicidal activity was determined. The optimum sodium chloride concentration for algicidal activity of isolated algicidal bacteria was 3%. The optimum temperature, pH and culture time for the highest algicidal activity were 30°C, pH 7 and above 24 hr, respectively. The algicidal activity were significantly increased at the stationary phase of the cell growth and continuously increased up to maximum at the death phase, probably due to the release of algicidal substance by cell lysis. The effect of zinc ion addition on algicidal activity, was observed and indicated that the substance requires zinc for its activity. The candidate for the algicidal substance may be α -mannosidase.

Key words: algicidal bacteria KY1, *Cochlodinium polykrikoides*

서 론

여름철 우리 나라 남·서해 연안에서는 바닷물 색이 갑자기 변하는 적조 현상이 자주 관찰된다. 적조 현상은 질소원, 탄소원 등 유기물 증가와 생물 성장 조건이 유리하게 됨에 따라 플랑크톤이 일시에 대량 번식하거나 집적됨으로써 바다물색이 바뀌는 현상으로 고밀도의 적조 미생물이 수중의 용존산소를 소비하여 수중의 다른 생물의 생존을 저해하며, 유해물질 및 독소를 분비하여 어패류를 폐사시키는 결과를 초래한다. 최근에는 도시하수, 공장폐수, 농업배수 등이 대량 연안으로 유입되면서 적조 현상은 자주 발생하여 연안의 천해 양식 사업에 큰 피해를 입히고 있다. 또한 그 원인 생물이 규조류에서 유해성 편모조류로 달라지고 있으며, 계절에 관계없이 빈번하게 발생하고, 발생 해역도 남해안에서 전국 해역으로 확산되고 있다 (박, 1987; 박 등, 1988; Han, et al., 1993; Jeon, et al., 1987). 게다가 적조 생물 중에는 어패류를 독화시키는 종이 있으며, 이 독화된 패류를 사람이 섭취하면 마비성·설사성 증독을 일으켜서 사람의 건강까지도 위협을 주고 있어 사회·경제적으로도 문제가 되고 있다 (박 등 1967; 김, 1988; Kim et al., 1997; Lee et al., 1993).

이러한 적조 생물의 구제 및 제거 방법에는 적조 생물을 파괴·치사시키는 화학 약품 살포법, 가압 부상 분리장치 (여과 또는 원심분리)에 의한 적조 생물 회수법, 점토 (황토) 및 고분자 응집제 이용법 등이 보고되고 있다. 미생물에 의한 적조구제는 대상 적조 생물에 대한 특이성이 높아 다른 생물에 미치는 영향을 최소화할 수 있어 환경의 악화를 방지할 수 있다는 장점이 있다. 미생물을 적조류 소멸에 이용한 연구는 1990년부터 주로 일본에서 활발히 연구되어 왔다. Nagasaki et al. (1995)이 히로시마만에서 행한 연구에 의하면 *Heterosigma akashiwo*의 소멸 세균의 밀도가 동 적조말기에 10^2 cells/ml로 급격히 상승하면서 적조생물의 개체수가 감소하였다고 한다. 그러나 *Chattonella antique*에 대해서는 소멸 세균의 밀도 변화는 없는 것으로 보고하고 있다. 또한 1990년

타나베만에서 발생한 *Gymnodinium nagasakiense* 적조시에는 본 종의 소멸 세균인 E401종을 분리하였다고 보고하고 있어 미생물을 이용한 적조생물 구제의 가능성을 시사하였다. 이러한 관점에서 적조생물을 사멸시키거나 증식을 저해하는 다양한 살조 세균이 연안해역에 존재하고 있음이 여러 연구자들에 의해 밝혀지고 있다 (Ishio et al., 1986; Sakata et al., 1991; Fukami et al., 1992; Mitsutami et al., 1992; Imai et al., 1993, 1995; Yoshinaga et al., 1995; Park et al., 1998).

본 연구에서는 우리 나라 연안에서 발생하는 적조를 구제하는 방법으로 진해 연안의 빨로부터 살조 물질을 분비하는 살조 세균을 분리하여 성장과 살조능에 대한 최적 조건을 설정하고자 한다.

재료 및 방법

진해 해역의 빨로부터 살조 세균의 분리

적조 현상이 나타난 남해안 인근 연안으로부터 빨을 채취하여, 빨 1g을 인공 해수 10 ml에 희석시켜 사용하였다. 살조 세균을 분리하기 위하여 1% (v/w) 적조세균 *Cochlodinium polykrikoides* (*C. polykrikoides*)가 현탁된 인공 해수 100 ml에 희석된 빨 현탁액 0.1 ml을 첨가하여 20°C에서 이틀간 배양하였다. *C. polykrikoides*가 분해된 것으로 확인된 삼각 플라스크에서 0.1 ml을 취하여 0.1% yeast mannan (Sigma Chem. Co. USA)을 함유하는 marine agar plate에 도말하고, 20°C에서 이틀동안 배양시킨 후 생성된 colony에서 살조 세균을 분리하였다. 순수 분리된 살조 세균을 marine agar 배지에 연속적으로 계대 배양하고, 50% glycerol을 함유하는 marine broth와 섞어 -70°C 냉동고에 보관하였다.

분리된 살조 세균의 algicidal activity 측정

분리된 살조 세균을 marine broth에 배양한 후, 원심분리 (12,000 ×g, 10분)하여 상등액을 취하였다. 24 well plate에 *C. polykrikoides*

가 5,000 cell/ml이 되도록 준비하고, 배양 상등액 40 μl를 첨가한 다음, F2 배지로 total volume을 1 ml가 되도록 조절하였다. 준비된 plate는 광원 2,500 Lux, 20°C인 항온실에서 1시간 배양한 후, 현미경을 통하여 *C. polykrikoides*의 상태를 관찰하였다. Algicidal activity는 살아있는 적조 생물을 counting하는 bioassay법으로 측정하였고 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{Algicidal Activity (\%)} = \frac{x}{x_0} \times 100$$

x_0 : 초기의 *Cochlodinium polykrikoides* 수

x : 반응 후 살아있는 *Cochlodinium polykrikoides* 수

성장 조건에 따른 살조 세균의 algicidal activity

분리된 살조 세균의 성장과 algicidal activity의 최적 조건을 검토하기 위해 NaCl 농도, 배양 온도, 배양 시간, pH 등의 조건을 달리하여 각각의 성장도와 algicidal activity를 측정하였다. 균체 집중량은 marine broth에서 전 배양한 배양액을 본 배양 배지에 1%로 일정하게 집중하였다. 배양액의 성장도는 600 nm에서 흡광도로 측정하여 표시하였고, algicidal activity는 bioassay법으로 측정하였다.

기본 배지인 marine broth 배지에 NaCl의 농도를 1, 2, 3, 4, 5%로, 배양 온도는 20, 25, 30, 35, 40°C로 달리하여 살조 세균의 성장과 algicidal activity를 검토하였다. 아울러, 배양 시간에 따른 영향을 조사하기 위해 20, 25, 30, 35, 40°C에서 8 시간 간격으로 48 시간 동안 균의 성장 및 algicidal activity를 조사하였다. 또한 marine broth의 pH를 2.0에서 10.0까지 각 단계별로 조절하여, 살조 세균의 성장과 algicidal activity를 검토하였다.

살조 세균의 배양 상등액 첨가량이 algicidal activity에 미치는 영향

살조 세균의 배양 상등액을 10, 20, 30, 40 μl씩 첨가하여 배양 상등액 첨가량이 algicidal activity에 미치는 영향을 조사하였다.

ZnCl₂의 첨가에 의한 algicidal activity

살조 세균의 배양 상등액 20 μl를 첨가한 후, 20 mM ZnCl₂ 20 μl를 첨가하여 ZnCl₂의 첨가유무가 algicidal activity에 미치는 영향을 조사하였다.

결과 및 고찰

벨로부터 살조 세균 KY1의 분리

Marine agar plate로부터 213개의 colony를 얻었으며, 이들 colony들 중에서 algicidal activity가 가장 뛰어난 살조 세균 KY1을 분리하였다.

분리된 살조 세균 KY1을 TEM (Transmission Electron Microscope)으로 관찰한 결과, 크기 2 μm의 간균모양을 나타내었다 (Fig. 1). 또한 배양균액에서 얻은 상등액을 적조생물인 *C. polykrikoides*에 첨가하면, Fig. 2에서의 같은 과정의 살조능을 확인할 수 있었다. 먼저 활발히 활동하는 *C. polykrikoides*는 배양상등액 첨

가에 의해 운동성을 상실하며 (a), *C. polykrikoides*종 특유의 잘록한 모양 (a)이 점차 둥근 모양으로 변환되고 (b, c), 시간의 경과에 따라 세포용적이 팽창하게 된다 (d). 마지막으로 세포막이 완전히 파괴됨을 확인할 수 있었다 (e).

살조 세균 KY1은 marine agar plate에 도말하여 사용전까지 4°C 저온고에서 보관하였다.

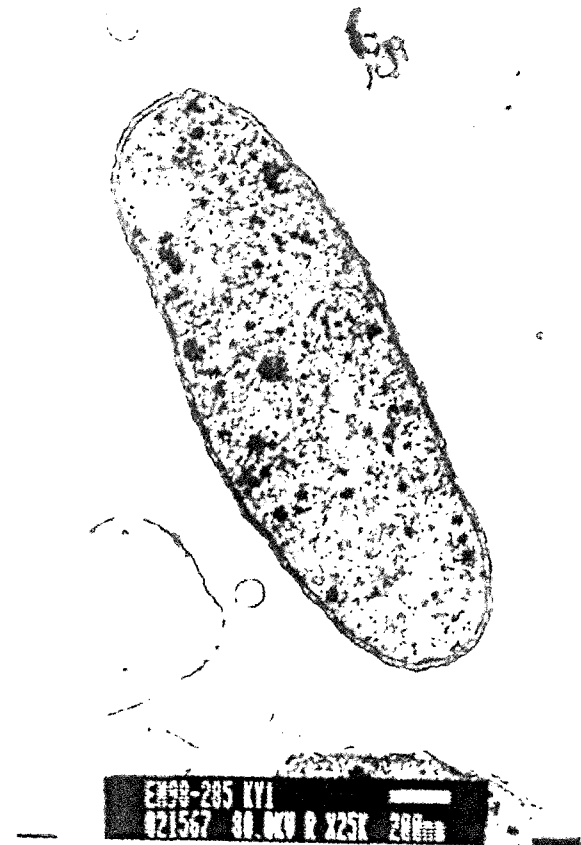


Fig. 1. Transmission electron microphotograph of strain algicidal bacteria KY1.

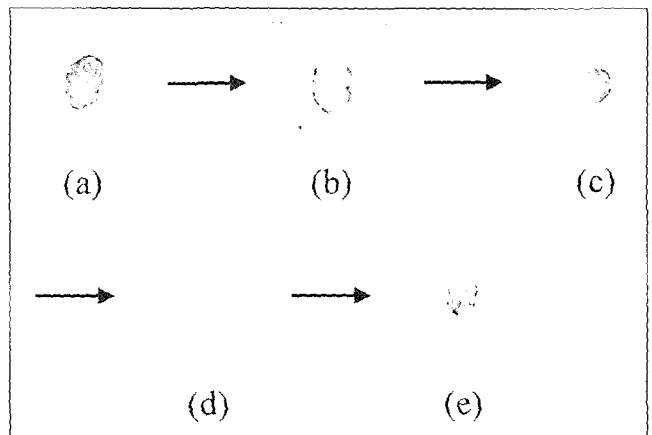


Fig. 2. Lysis of *Cochlodinium polykrikoides* by algicidal bacterium KY1. (a) fixed cell, (b), (c), (d) swelled cell (e) lysis cell

성장조건에 따른 살조 세균 KY1의 algicidal activity 검토

염농도가 살조 세균 KY1의 algicidal activity에 미치는 영향을 검토하기 위하여, 기본배지인 marine broth에 염농도를 1, 2, 3, 4, 5%를 첨가하여 살조세균의 성장 및 algicidal activity를 조사하였다. Fig. 3에서와 같이 배양온도가 30°C일 때, cell density는 8 시간이 경과할때 가장 높게 나타났으며, 염농도가 3% 일때, 살조 세균의 성장과 더불어 algicidal activity가 다른 염농도에 비하여 높게 나타났고, algicidal activity의 최대 효과가 100%에 달하는 결과를 얻을 수 있었다. 염농도가 4, 5%일때는 3%일 때보다 다소 낮지만, 높은 algicidal activity를 보였으며, 염농도 1%일때 가장 낮은 algicidal activity를 보였다. 이러한 특성으로 살조 세균 KY1이 해양세균임을 알 수 있었다.

NaCl농도가 3%일 때, 배양온도를 20, 25, 30, 35, 40°C로 변화시켜서 배양온도가 살조 세균의 성장 및 algicidal activity에 미치는 영향을 검토한 결과 (Fig. 4), 배양온도가 30°C이상일 때, algicidal activity가 100%에 달함을 볼 수 있었다. 또한, 배양온도가 20°C에서 40°C로 증가할수록 살조 세균의 성장도 증가함을 확인할 수 있었다. 배양온도가 낮은 경우, 20°C에서는 균체의 성장 저해와 더불어 algicidal activity의 효과가 적음을 관찰할 수 있었다.

기본배지인 3% NaCl이 함유된 marine broth의 초발 pH를 2~10까지 단계적으로 변화시켜 30°C에서 24시간 배양하여 살조세

균의 성장과 algicidal activity를 측정하였다. 산성인 pH 2~4영역에서는 살조 세균이 전혀 성장할 수 없었으며, 더불어 algicidal activity도 나타내지 않았다. pH 5~10에서는 대체적으로 높은 성장을 보였다. pH 7에서는 살조 세균의 성장이 가장 높았으며, algicidal activity도 100%를 나타내었다 (Fig. 5). 본 살조 세균은 pH 5~10 부근에서 성장도 좋고, algicidal activity도 높게 나타났다.

이상의 성장조건에 따른 살조 세균 KY1의 algicidal activity를 검토한 결과로 NaCl의 농도가 3%, 배양온도는 30°C이상, 초발 pH는 7로 배양하였을 때, 배양시간 24 시간 경과 후 algicidal activity가 최대 100%를 나타내는 최적조건을 구할 수 있었다.

최적조건에서 살조 세균의 성장과 algicidal activity

Fig. 6은 algicidal activity가 최대를 나타내는 조건인 염농도 3%, 배양온도 30°C, 초발 pH 7에서 48 시간 배양하여 살조 세균의 성장과 그에 따른 algicidal activity를 나타낸 것이다. 살조 세균은 배양 8시간에 최대의 성장을 보이고 있으며, 8 시간의 정지기 (stationary phase)를 거쳐 16 시간 이상부터는 살조 세균이 사멸기 (death phase)에 접어들어 확인되었다. 그러나, algicidal activity는 정지기에서 최대 증가폭을 보였으며, 사멸기에 접어들면서는 최대 100%의 효과를 나타내고, 사멸기 동안 높은 algicidal activity를 유지하였다.

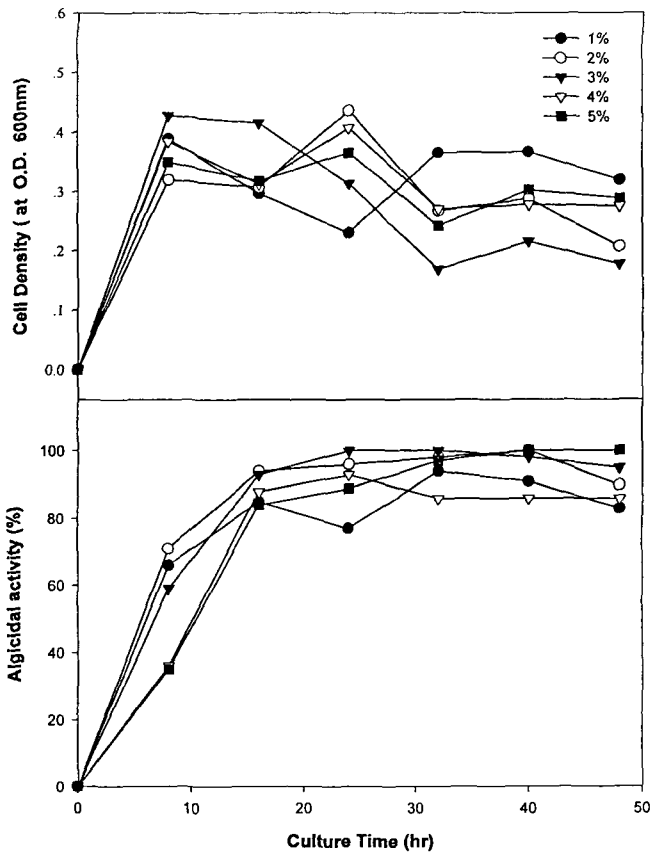


Fig. 3. Effect of NaCl concentration on cell growth and algicidal activity at 30°C.

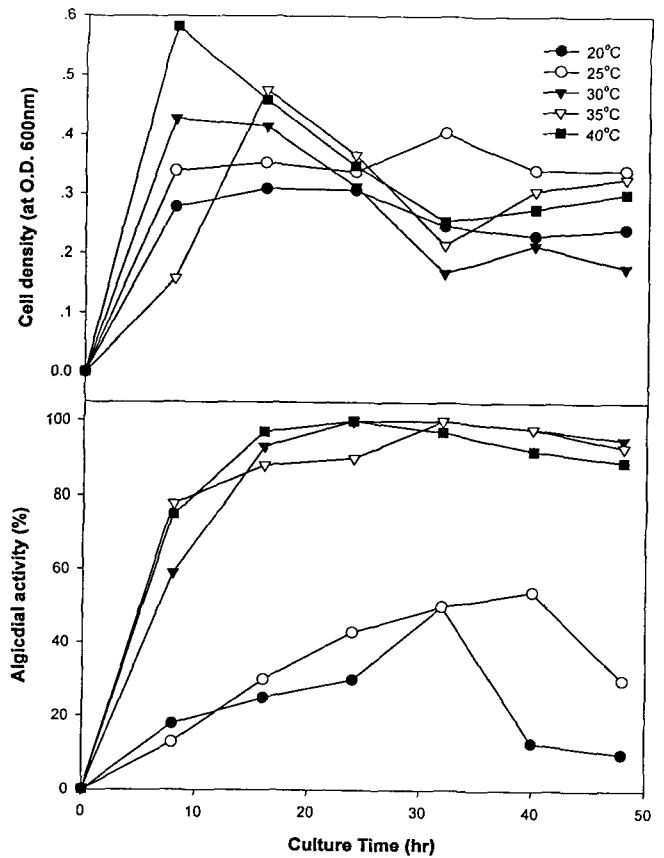


Fig. 4. Effect of temperature on cell growth and algicidal activity in marine medium containing 3% NaCl concentration.

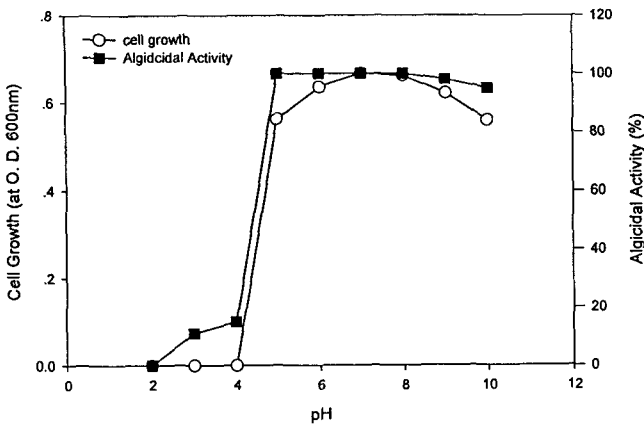


Fig. 5. Effect of pH on cell growth and algicidal activity. Algicidal bacteria KY1 was cultured at 30°C and in marine medium containing 3% NaCl during 24hr.

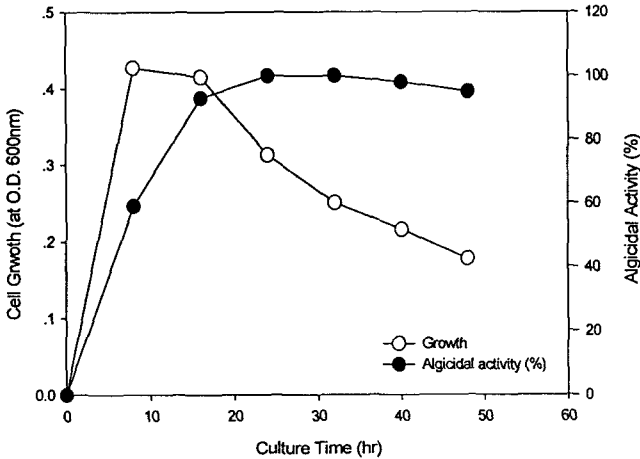


Fig. 6. Growth of the algicidal bacteria KY1 isolated in marine medium containing 3% NaCl at 30°C and pH 7. Algicidal activity was measured using *C. polykrikoides*.

일반적으로, 유도기 (lag phase)는 개개의 세포가 그 수를 증가시키기 위한 분열의 준비상태이며, 이 시기에 핵물질이 증가함과 동시에 일부는 분열을 시작하는 시기이다. 대수증식기 (log exponential phase)에서는, 세대기간에서 분열을 반복하며, 생균수는 대수적으로 증가한다. 또한 이 시기의 세포는 생리학적 및 생화학적 반응이 제일 활발하다. 정지기 (stationary phase)에 들어가면, 산소라든지 영양소의 결핍과 유해물질의 축적등이 원인이 되어서 분열의 속도가 감소함과 동시에 사멸하는 균이 나타난다. 전체로서 생균수는 일정하게 되며, 더욱 배양이 진행되면 분열하는 균은 없어지면서, 한편으로 사멸은 더욱 심해지고, 생균수는 감소하는 쪽으로 기울어지게 된다 (사멸기, death phase) (Roger et al., 1986).

또한, Fig. 6에서 볼 수 있는 것과 같이 대수증식기 (log exponential phase)는 배양 1시간째부터 시작되었으며, 배양 후 대부분의 NaCl농도에서 16~24 시간 사이에 사멸기 (death phase)에 접어들었다. 살조 세균의 algicidal activity는 정지기 (stationary

phase)에서 최대의 증가폭을 나타냈으며, 사멸기 (death phase)에서는 최대 100%의 algicidal activity를 얻을 수 있었다. 사멸기에서는 cell이 분해되면서 cell내에 존재하는 살조물질이 분비되어 algicidal activity의 효과를 높일 수 있었던 것으로 판단된다.

본 연구에서는 정지기와 사멸기에서 최대의 algicidal activity 효과가 나타났으며, 살조물질의 분비형태는 주로 cell 분해에 의해 분비됨을 알 수 있었다.

상등액 첨가량에 따른 algicidal activity

빨에서 분리한 살조 세균 KY1의 배양 상등액을 10, 20, 30, 40 μl씩 변화시켜 algicidal activity를 검토한 결과는 Fig. 7에 나타내었다. 상등액 첨가량이 증가할수록 algicidal activity의 효과는 크게 증가하였다. 상등액 20 μl/ml 첨가시부터는 algicidal activity가 급격히 증가하였으며, 2 시간 반응에 의해 90%의 algicidal activity를 보였다. 40 μl/ml의 농도에서는 1 시간 이내에 100%의

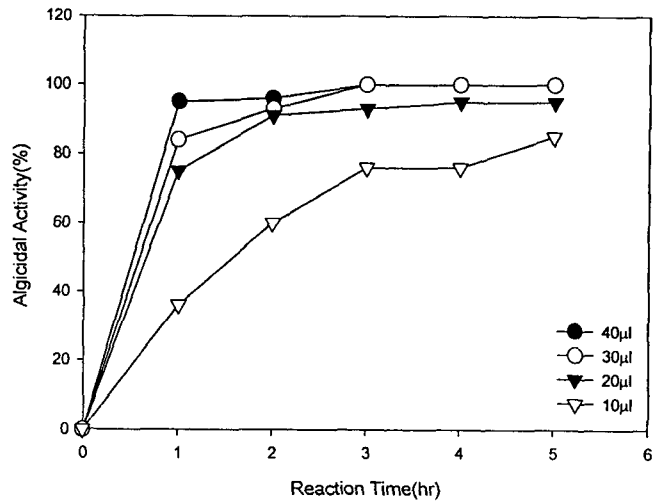


Fig. 7. Effect of culture fluid addition on algicidal activity.

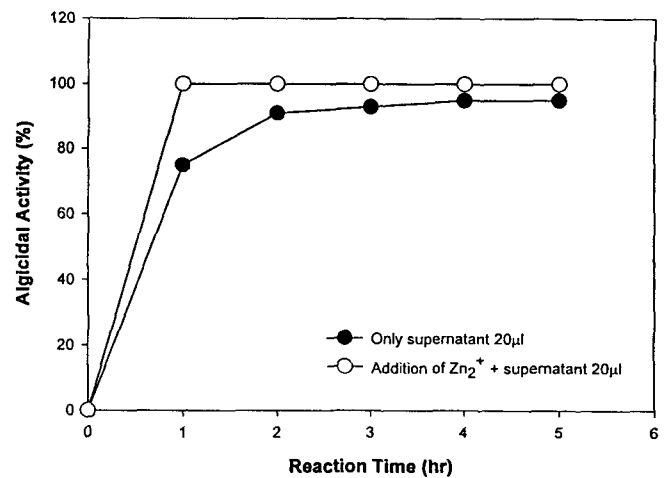


Fig. 8. Effect of ZnCl₂ added in culture fluid on algicidal activity.

algicidal activity 효과를 확인할 수 있었고, 1 시간 이후 5 시간까지도 100% 정도의 algicidal activity를 계속 유지함을 관찰할 수 있었다. 이는 배양 상등액 속에 살조물질이 존재하고 있으며, 농도 증가에 의해 algicidal activity가 빠른 시간에 나타남을 알 수 있다. 현재 살조물질을 규명하기 위해 살조물질의 분리·정제에 대한 실험이 진행 중이다.

ZnCl₂의 첨가에 따른 algicidal activity

적조생물 *C. polykrikoides*의 세포벽은 mannan, glucose, galactose, uronic acid으로 구성되어 있으며 (Hausi et al., 1995), Sneath et al. (1968)에 의하면, α -mannosidase가 Zn²⁺를 보조 인자로 하여 mannan을 분해한다고 한다. 이러한 보고에 의해 살조 세균 KY1이 분비하는 물질에서, *C. polykrikoides*의 세포벽 성분인 mannan을 분해하는 α -mannosidase의 activity를 확인하기 위하여 살조세균 KY1 배양 상등액 20 μ l에 20 mM ZnCl₂를 20 μ l 첨가하여 algicidal activity를 검토하였다. 이 결과, Zn²⁺를 첨가한 경우 1 시간 이내에 100%에 달하는 높은 algicidal activity의 효과를 관찰할 수 있었고, 배양 상등액만의 첨가에 비해 30% 정도의 높은 algicidal activity를 나타내었다. 따라서 Zn²⁺의 첨가로 인한 현저한 algicidal activity의 증가는 살조 세균 KY1이 분비하는 살조물질이 α -mannosidase일 가능성을 나타낸다고 할 수 있으며, 이에 대한 더욱 구체적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

적조 현상이 나타난 남해안 연안의 펠로부터 *Cochlodinium polykrikoides*에 대한 살조능을 가지는 살조 세균 KY1을 분리하였다. 분리된 살조 세균 KY1이 살조능을 나타내는 최적 조건은 30°C, 염농도 3%, pH 5 이상의 중성으로 확인되었으며, 약 8 시간의 배양에서 대수 증식의 최대 성장률을 보였으며, 이후 사멸기까지 배양 시간 24 시간 경과 후부터 높은 살조능을 나타내었다. 살조능은 대수증식기에서 정지기로 넘어갈 때, 큰 폭으로 증가하였다. 그리고, 사멸기에서는 최대 100%에 달하는 살조능을 나타내었다. 이는 살조 세균이 분해되면서 균체내에 존재하는 살조물질을 분비하는 것으로 간주된다. 또한 배양 상등액의 양을 증가시켰을 때, 1 시간 이내에 40 μ l/ml의 농도에서 100%의 살조능을 볼 수 있었다. Zn²⁺의 첨가로 살조능의 현저한 증가를 확인 할 수 있었으며, 이로부터 살조물질은 *C. polykrikoides*의 세포벽 성분인 mannan을 분해하는 α -mannosidase일 가능성을 보였다.

감사의 글

본 연구는 한국 과학기술부가 주관한 한·일 국제공동연구 「한국연안에서의 적조발생 예보 및 억제기작 확립에 관한 연구」와 한국과학재단 우수연구센터 박사후 과정 연구비 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Kim C.K. and P.Y. Lee. 1994. Water mass structure and dissolved oxygen distribution in Chinhae Bay. Bull. Korean Fish. Soc., 27 (5), 572~582 (in Korean).
- Fukami, K., A. Yuzawa, T. Nishijima and Y. Hata. 1992. Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58, 107~1077.
- Han, M.S., J.K. Jeon and Y.H. Yoon. 1993. Distribution and toxin profiles of *Alexandrium tarmarens* (Lebour) Balech (Diongelagellate) in the southeastern coastal waters, Korea. Korean J. phyc., 8 (1), 7~13 (in Korean).
- Hausi, M., Matsuda, M., Okutani, K. & Shigeta, S. 1995. In vitro antiviral activities of sulfated polysaccharides from a marine microalga (*Cochlodinium polykrikoides*) against human immunodeficiency virus and other enveloped viruses. Int. J. Biol. Macromol., 17, 293~297.
- Imai, I., Y. Ishida and Y. Hata. 1993. Killing of marine phytoplankton by aggliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. Mar. Biol., 116, 527~532.
- Imai, I., Y. Ishida, K. Sakaguchi and Y. Hata. 1995. Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay. Japan. Fish. Sci., 61, 624~632.
- Ishida, Y., M. Eguchi and H. Kadota. 1986. Existence of obligatorily oligotrophic bacteria population in the south China Sea and West Pacific Ocean. Mar. Ecol. Prog. Ser., 30, 197~203.
- Jeon, J.K., T. Noguchi, D.F. Hwang, O. Arakawa, Y. Nagaxhima, K. Hashimoto and H. T. Huh. 1987. Studies on the toxic substance of mussel *Mytilus* sp. J. Oceanog. Soc. Kor., 22, 271~279.
- Kim, H.G. et al. 1997. Resent red tides in Koran coastal waters. Nation. Fish. Res. Dev. Ins., 191~232 (in Korean).
- Kim, H.G. 1987. Management and mitigation technique to diminish damage by red tide. *Proceedings of symposium on red tide and conservation of the coastal environment*, 115~128 (in Korean).
- Kim, H.G. 1987. Management and mitigation technique to diminish damage by red tide. *Proceedings of symposium on red tide conservation of the coastal environment*, 115~128.
- Misutani, A., K. Takesue, M. Kirita and Y. Ishida. 1992. Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytopaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. Nippon Suisan Gakkaishi., 58, 2158~2167.
- Nagasaki, K., I. Imai, S. Itakura, M. Ando and Y. Ishida., 1995. Viral infection in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) : A possible termination mechanism of the noxious red-tide. 639~644. In : Harmful marine algal blooms. Pl. Iassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, C. Marcaillou (des.). Technique et Documentation-Lavoisier Intercept. Ltd. 878.
- Roger Y. Staniner, John L. Ingraham, Mark L. Wheelis and Page R. Painter, 1986. The Microbial World. Prentice-Hall, Englewood cliffs, New Jersey 07632, 184~186.
- Sakata, T., Y. Fujita and H. Yasumoto. 1991. Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. Nippon Suisan Gakkaishi., 56, 1147~1152.
- Lee S.G., J.S. Park and H.G. Kim. 1993. Taxonomy of marine toxic flagellates occurring in the southern coastal waters of Korea. Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency. 48. 1~23 (in Korean).

- Snaith, S.M., and G.A. Levvy. 1968. α -mannosidase as a zinc-dependent enzyme. *Nature*, 218, 91~92.
- Yoshinaga, I., M.C. Kim, N. Katanozaka, I. Imai, A. Uchida and Y. Ishisa. 1998. Population structure of algicidal marine bacteria targeting *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) through restriction fragment length polymorphis analysis of the bacterial 16S ribosomal RNA genes, during *H. akashiwo* red tide. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 170, 33~44.
- Park Y.T., J.B. Park, S.Y. Chung, B.C. Song, W.A. Lim, C.H. Kim and W.J. Lee. 1998. Isolation of marine bacteria killing red tide microalgae - I. Isolation and algidical properties of *Micrococcus* sp. Lg-1 possessing killing activity for harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Korean Fish. Soc.*, 31 (5), 767~773 (in Korean).
- 김성귀. 1988. 해양정책연구. 한국과학기술원, 해양연구소. 3 (3), 546~561.
- 박주석, 김종두. 1967. 진해만의 적조현상에 관한 연구. 국립수산진흥원 연구보고. 1, 66~79.
- 박주석. 1987. 적조발생상황의 변이와 대책. 적조현상과 어장보전, 국립수산진흥원. 1~17.
- 박주석, 김학균, 이상근. 1988. 진해만의 적조현상과 원인생물의 천이. 수진연구보고. 41, 1~26.

1999년 5월 3일 접수
1999년 7월 2일 수리