

발광다이오드(LED)를 이용한 저서미세조류의 성장촉진에 의한 오염해역 저질환경개선

1. 저서규조류 *Nitzschia* sp. 성장에 영향을 미치는 광량과 파장

오석진¹ · 박달수¹ · 양한섭¹ · 윤양호^{2,†} · 本城凡夫³

¹부경대학교 해양과학공동연구소

²전남대학교 해양기술학부

³日本九州大學 農學研究院

Bioremediation on the Benthic Layer in Polluted Inner Bay by Promotion of Microphytobenthos Growth Using Light Emitting Diode (LED)

1. Effects of irradiance and wavelength on the growth of benthic diatom, *Nitzschia* sp.

Seok Jin Oh¹, Dal-Soo Park¹, Han-Soeb Yang¹, Yang Ho Yoon^{2,†} and Tsuneo Honjo³

¹Korea Inter-University Institute of Ocean Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Faculty of Marine Technology, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

³Laboratory of Marine Environmental Science, Bioscience and Biotechnology, Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

요 약

오염된 연안 저서환경의 생물학적 정화를 목적으로 발광 다이오드(LED)를 이용하여 저서미세조류 *Nitzschia* sp.(일본 Hakozaki만에서 분리)의 성장에 미치는 광량과 파장의 영향을 조사하였다. *Nitzschia* sp.는 청색 LED(450 nm), 황색 LED(590 nm), 적색 LED(650 nm) 및 형광램프(복수파장)에서 배양하였다. 온도 25°C 그리고 염분 30 psu에서 배양한 *Nitzschia* sp.는 청색파장에서 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 그리고 형광램프는 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 최대 상대성장속도를 보였으나, 이보다 높은 광량에서는 광 저해현상이 나타났다. 하지만, 황색 파장과 적색 파장의 최대광량에서(350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 광 저해현상은 관찰되지 않았다. 광량-성장곡선에서 청색 LED는 $\mu = -0.46\exp(1-I/6.32) + 0.46 - 0.00043I$, ($r^2 = 0.98$), 황색 LED는 $\mu = 0.42(I + 7.87)/(I + 58.9)$, ($r^2 = 0.99$), 적색 LED는 $\mu = 0.39(I + 3.39)/(I + 21.6)$, ($r^2 = 0.94$) 그리고 형광램프는 $\mu = -0.38\exp(1-I/7.23) + 0.38 - 0.00016I$, ($r^2 = 0.96$)로 나타났다. 청색 LED, 황색 LED, 적색 LED와 형광램프의 최대성장률은 각각 0.44 day^{-1} , 0.42 day^{-1} , 0.39 day^{-1} 그리고 0.37 day^{-1} 이었다. *Nitzschia* sp.의 최대흡수계수는 472 nm(0.0224 $\text{m}^2 \text{mg chl. a}^{-1}$)와 663 nm(0.0179 $\text{m}^2 \text{mg chl. a}^{-1}$)에서 보였지만, 모든 파장에서(400 nm-700 nm) 거의 유사한 흡수계수를 보였다. 따라서 가을과 겨울동안에는 청색파장을 조사하여 미세조류 성장을 촉진시키고, 봄과 여름동안에는 황색파장을 조사하여 유해조류의 성장억제와 함께 저서미세조류의 성장시켜 오염된 연안 저서환경 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

Abstract – In order for bioremediate the benthic layer in polluted inner Bay, the effects of irradiance and wavelength irradiated from light emission diode (LED) on the growth of benthic diatom *Nitzschia* sp. (Hakozaki Bay strain of Japan) were investigated. The *Nitzschia* sp. was cultured under blue LED (450 nm), yellow LED (590 nm), red LED (650 nm) and fluorescent lamp (mixed wavelengths). At 25 °C and 30 psu, the growth of *Nitzschia* sp. showed its peak at 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (blue LED) and 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (fluorescent lamp), and was inhibited at the irradiance higher than that irradiance. *Nitzschia* sp. in yellow LED and red LED is fitted by a rectangular hyperbolic curve because no photoinhibition was observed under maximum irradiance used in this study. The irradiance-growth curves were described as $\mu = -0.46\exp(1-I/6.32) + 0.46 - 0.00043I$, ($r^2 = 0.98$) under blue LED,

[†]Corresponding author: yoonyh@chonnam.ac.kr

$\mu=0.42(I+7.87)/(I+58.9)$, ($r^2=0.99$) under yellow LED, $\mu=0.39(I+3.39)/(I+21.6)$, ($r^2=0.94$) under red LED, $\mu=-0.38\exp(1-I/7.23)+0.38-0.00016I$, ($r^2=0.96$) under fluorescent lamp. Maximum specific growth rate of blue LED, yellow LED, red LED and fluorescent lamp was 0.44 day^{-1} , 0.42 day^{-1} , 0.39 day^{-1} and 0.37 day^{-1} , respectively. The absorption coefficient (a_{ph}) of *Nitzschia* sp. was similar under all the wavelengths (400 nm-700 nm), although maximum a_{ph} was $0.0224 \text{ m}^2 \text{ mg chl. } a^{-1}$ in 472 nm and $0.0179 \text{ m}^2 \text{ mg chl. } a^{-1}$ in 663 nm. The results may indicate the possibility of environmental improvement around the benthic layer in polluted coastal area because microphytobenthos growth is stimulated by means of irradiated blue LED at the benthic boundary layer during both autumn and winter, and yellow LED, which might have been suppressed growth of harmful algae, at the layer during both spring and summer.

Keywords: bioremediation(생물학적 정화), *Nitzschia* sp., irradiance(광량), wavelength(파장), light emission diode(LED, 발광다이오드), microphytobenthos(미세저서조류)

1. 서 론

연안·내만해역은 항만 및 임해시설의 개발이용도가 높을 뿐만 아니라, 육상으로부터 유입되는 생활하수와 산업폐수 등 인간 활동의 영향으로 부영양화, 저층 빈산소 수괴 및 적조현상 등이 발생하여 환경이 악화되고 있다. 이러한 환경에서 퇴적층내의 물질의 이동과 교환은 간극수를 통하여 이루어지기에 수질에 비하여 극도로 제한되어, 저서생물의 서식을 어렵게 한다. 특히 표층퇴적층 가까이에 형성된 빈산소 수괴가 각종 양식이 이루어지는 상층으로 용승할 경우 직접적으로 생물폐사를 일으킬 수 있다. 이와 같은 빈산소층을 개선하기 위해 해양유입의 물질부하량을 조절하는 개선책을 제시하기도 하지만 한번 악화된 퇴적 환경 개선에는 막대한 시간과 예산을 필요로 한다. 지금까지 이러한 환경을 개선하기 위해 준설과 같은 토목적인 방법을 사용하였다. 그러나 토목방법은 일시적인 환경개선에 효과는 있을지 모르나, 지속적 효과는 기대하기 어렵고 공사로 인한 환경파괴로 연결될 수도 있다. 따라서 토목적인 방법이 아닌 자연 시스템이 가지는 자정능력을 최대한로 발굴하는 친환경적인 개선방법이 필요하다.

저서미세조류는 조간대와 연안해역의 중요한 일차생산자로 일 부해역에서는 총일차생산량의 50% 이상을 차지한다(Brotas and Catarino [1995], MacIntyre *et al.* [1996], Underwood and Kromkamp [1999]). 저서미세조류의 대부분인 부착조류는 extracellular polymeric substances(EPS)를 분비한다. 분비물은 퇴적물의 표면에 바이오필름을 형성하여 퇴적물의 산란을 막는 안정제로 작용(Paterson [1989], Smith and Underwood [1998])할뿐만 아니라, 상위영양단계의 저서동물에 중요한 탄소 공급원이 된다(Decho [1990]). 또한 저서미세조류는 태양에너지를 이용하는 광합성 과정에서 표층퇴적층의 영양염류 이용과 부산물로 산소를 방출한다. 따라서 저서미세조류의 번성은 부영양화로 인한 표층퇴적층의 환원 및 무생물환경을 호기 및 저서동물의 서식 가능한 환경으로 변화시켜 유기물 분해 및 소비를 촉진시킴과 동시에 생태계내의 정상적인 생물생산과정이 이루어질 수 있게 된다.

빛의 파장은 식물플랑크톤 광합성을 조절하는 중요한 요인으로

(Sánchez-Saavedra and Voltolina [1994]), 식물플랑크톤의 종천이 및 연직분포에 영향을 미친다. 일반적인 해양은 청색파장(약 480 nm)이 우점하여 식물플랑크톤은 청색에 노출되지만(Wallen and Geen [1971]), 부유물질이 많은 연안·내만해역은 부유입자에 청색 파장이 흡수되어 황·녹색파장이 우점한다(Faust *et al.* [1982]). 적색파장은 해수 물 분자 등에 의해 극표층에서 흡수된다. 따라서 청색 파장을 주로 흡수하는 종은 부유물질이 많은 연안·내만해역에서 성장을 유지하기 힘들며, 반대로 황·녹색파장을 주로 이용하는 종이 우점 되기 쉽다. 최근 이와 같은 종 고유의 광 특이성을 이용하여 양식장의 먹이생물을 공급하는 미세조류의 대량배양에 단일 파장의 광원으로 생산성을 높이려는 연구가 시도되고 있으나(Flaak and Epifanio [1978], Sánchez-Saavedra and Voltolina [1994, 1995, 1996]), 광 파장에 대한 미세조류의 생리적인 특성에 관한 내용은 매우 제한되어 많은 연구가 필요하다.

발광다이오드(light emitting diode; LED)는 인화갈륨(GaP) 또는 비소화갈륨(GaAs)등의 화합물에 전류를 보내 빛을 발산하는 반도체이다. LED는 다른 발광체보다 수명이 길고(10 hr day^{-1} 기준에 15년 사용), 낮은 소비전력(수 V) 및 빠른 반응시간(백열전구 대비 1×10^6 배)의 특성에 형광등과 같이 방전용 gas가 사용되지 않기에 친환경적이며, 열 발생이 없는 장점이 있다. 현재 LED는 가시광선대의 모든 파장을 구현할 수 있어, 정밀 반도체 장비검사 기구, 자동차 계기판 등의 전자 표시판, 산업기계 표시기, 각종 교통안전 신호등 등 광범위한 산업에 응용되고 있다.

LED는 최근 육상식물의 재배에도 이용되고 있다(Barta *et al.* [1992]). 육상식물에는 chlorophyll의 흡수 파장인 청색 또는 적색 광, 또는 두 파장의 빛을 동시에 주사하거나 점등간격의 펄스를 효율적으로 제어함으로 재배효율을 높이고 있어 가까운 시일 내에 모든 육상식물재배에 LED가 응용될 전망이다. 하지만, 해양에서는 아직 미세조류나 해조류 등 광합성 식물에 LED의 기술은 이용되고 있지 않으며, 연구개념조차 제시되지 않은 실정이다. 따라서 본 연구는 저서미세조류 성장에 영향을 미치는 조도와 파장의 영향을 실내배양실험에서 고찰하여, LED를 이용한 저서미세조류의 성장촉진에 의한 오염해역의 표층퇴적환경의 생물복원 가능성을 살펴보았다.

2. 재료 및 방법

2.1 저서규조류 *Nitzschia* sp.의 분리 및 배양

저서미세조류 중 연안해역에서 쉽게 관찰되는 저서규조류 *Nitzschia* sp.(Fig. 1)를 일본 Fukuoka현의 Hakozaki만 입구에서 채취한 저층퇴적물(수심 3 m)에서 pasteur pipette(ca. ϕ 50-100 μ m)를 이용하여 분리하였다(33°37'11"N 130°24'51"E). 분리된 종은 여과해수(0.22 μ m pore size, GSWP)에 4-5회 세척한 후 배양튜브(TB-2800, Tokyo Japan)에 이식하였다. 배지는 남해 육지도 부근 해수를 바탕으로 한 f2(Guillard and Ryther[1962])로 selenium (H_2SeO_3)을 최종농도가 0.001 μ M 되게 첨가하였다(Doblin *et al.* [1999]). 배양조건은 현장수온과 염분에 상응하는 조건(17°C, 30 psu)으로, 광량은 60 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (12L:12D; cool-white fluorescent lamp)로 실시하였다. *Nitzschia* sp.에 대한 무균화 처리는 하지 않았지만, 2차 생물학적 오염을 막기 위해 모든 실험기구는 autoclave(202 kpa, 20 min) 또는 건조멸균(185°C, 1 hr)하여 사용하였으며, 모든 실험은 clean bench에서 수행하였다.

2.2 파장에 따른 저서규조류 *Nitzschia* sp.의 성장속도 변화

수온 17°C, 염분 30 psu 그리고 광량 200 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (12L:12D; cool-white fluorescent lamp)의 조건에서 유지배양 한 *Nitzschia* sp.를 최적수온과 염분 조건(수온 25°C, 염분 30 psu; Yamamoto *et al.* [2004])에서 실험을 하기 위해서 하루에 1°C씩 상승시켜 8일 후 25에 도달하도록 한 다음, f2 배지에 접종하여 일괄배양을 실시하였다. 배양액 중 세포밀도를 약 3.0×10^3 cells mL^{-1} 까지 증식시킨 후, 60 mL 배양튜브(25 \times 150 mm)에 f2 배지 10 mL를 주입하여, 최종 세포밀도는 약 100 cell mL^{-1} 되도록 접종하였다.

가시광선파장에서 대표적인 4개 파장(청색, 황색, 적색, 복수파장)을 선택하여 *Nitzschia* sp.의 성장실험을 실시하였다. 청색은 450 nm, 황색은 590 nm, 적색은 650 nm 그리고 형광등은 복수파장에 해당한다. 이들 파장은 LED를 이용하였으며, 광량은 가시광선 차단필름을 이용하여 청색 LED는 10, 25, 50, 75, 100, 200,

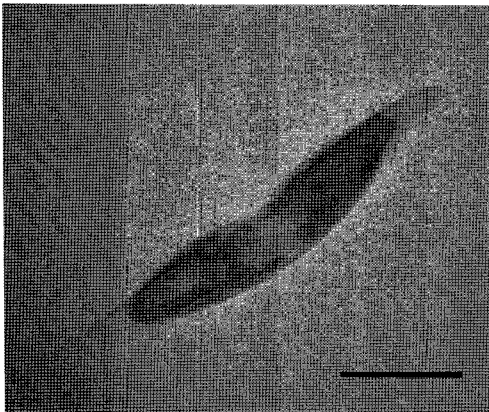


Fig. 1. Light microscopic photograph of benthic diatom, *Nitzschia* sp. isolated from Hakozaki Bay, Japan. Scale bar = 10 μ m.

350 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ (QSL-2100, Biospherical Instrument Inc., CA USA)로, 황색 LED는 10, 20, 60, 75, 100, 188, 350 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ 로, 적색 LED는 10, 16, 45, 75, 100, 190, 350 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ 로, 복수파장은 10, 25, 40, 70, 100, 160, 350 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$ 로 각각 7단계로 조절하였다. 매일 1회 오전 10시에 형광광도계(Model 10-AU, Turner Designs, CA USA)로 *in vivo* chlorophyll 형광을 측정하였다. 성장속도는 지수성장(exponential growth)을 보이는 기간 동안의 세포수를 이용하여 다음 식 (1)에 의해 계산하였다.

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

N_0, N_t : 대수성장기에서 초기와 t시간(day) 후의 *in vivo* chlorophyll 형광값

Δt : 대수성장기의 배양시간(day)

광조건 실험은 triplicate로 수행하였으며, 성장속도는 이들의 평균값으로 나타내었다(단, triplicate 중 명백히 오류로 판명된 값은 평균시 제외함). 성장속도와 광량의 관계는 광 저해 현상(photoinhibition)이 없을 경우는 Lederman and Tett [1981]의 모델을 개량한 다음 식 (2)을 이용하여 계산하였다.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{I - I_0}{(K_s + I_0) + (I - I_0)} \quad (2)$$

μ : 상대성장속도(specific growth rate; day^{-1})

μ_{\max} : 최대 상대성장속도(maximum specific growth rate; day^{-1})

I : 광량(irradiance; μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$)

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

K_s : 반포화광량(half-saturation light intensity; μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$)

하지만, 저서미세조류의 상대성장속도(day^{-1})는 최적광량에 도달할 때까지 광량에 의존하여 높아지나, 그 이상의 광량에서는 낮아지는 광 저해현상이 일어나는 경우가 있다. 이러한 광 저해현상이 있을 경우는 Steele [1962] 식이 사용되었다.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{I}{I_{opt}} \exp\left(1 - \frac{I}{I_{opt}}\right) \quad (3)$$

μ : 상대성장속도(specific growth rate; day^{-1})

μ_{\max} : 최대 상대성장속도(maximum specific growth rate; day^{-1})

I : 광량(irradiance); μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$)

I_{opt} : 최적 광량(optimum PFD; μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$)

하지만, 식 (3)은 광 저해현상이 최대 상대성장속도가 보인 점부터 지수 함수적으로 감소할 때 사용한다. 그러나 광 저해현상에 따라 상대성장속도가 선형감소를 보이는 경우는 식 (3)으로 계산하기 어렵다(Fig. 2). 따라서 지수함수와 일차함수를 합성한 새로운 식을 다음과 같이 만들 수 있다.

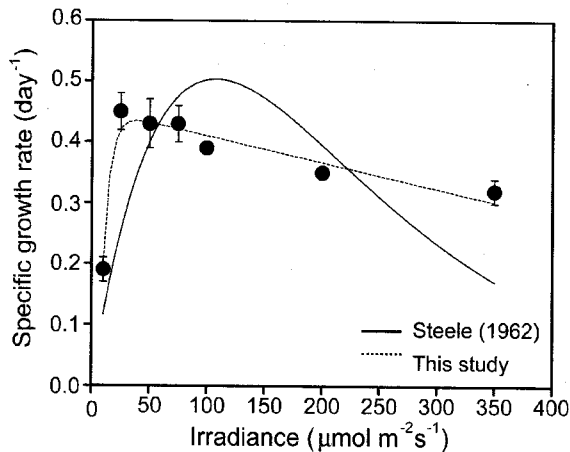


Fig. 2. Curvilinear fitting of Steele (1962) equation and devised new equation from this study in order to the photoinhibition of *Nitzschia* sp as a function of light intensities.

$$\mu = \alpha \times \exp\left(-\frac{I}{\beta}\right) + \gamma + \delta \times I \quad (4-1)$$

여기에서 α , β , γ 는 모두 정수이다 하지만, $I=0$ 일 때 $\mu > 0$ 이 되기 때문에 $I=0$ 일 때 $\mu=0$ 이 되도록 식 (4-1)을 개량하였다.

$$\mu = \alpha \times \exp\left(-\frac{I}{\beta}\right) - \alpha + \delta \times I \quad (4-2)$$

식 (4-2)에서 최적광도와 최대 상대성장속도는 다음 식으로 구하였다. 식 (4-2)을 I 에 관해 미분하면 μ 의 도함수 μ' 는

$$\mu' = \alpha \times \frac{1}{\beta} \times \exp\left(-\frac{I}{\beta}\right) + \delta$$

이 되고, $\mu' = 0$ 이면

$$-\alpha \times \frac{1}{\beta} \times \exp\left(-\frac{I}{\beta}\right) + \delta = 0$$

으로, $I = -\beta \times \ln\left(\frac{\beta\delta}{\alpha}\right)$ 일 때, 최대값은 $\beta\delta - \alpha - \delta\beta \times \ln\left(\frac{\beta\delta}{\alpha}\right)$ 가 얻어진다. 따라서 최적광도(I_{opt})와 최대상대성장속도(μ_{max})는 다음식이 된다.

$$I_{opt} = -\beta \times \ln\left(\frac{\beta\delta}{\alpha}\right) \quad (4-3)$$

$$\mu_{max} = \beta\delta - \alpha - \delta\beta \times \ln\left(\frac{\beta\delta}{\alpha}\right) \quad (4-4)$$

그래서 식 (2), (3), (4-2)의 각각의 변수는 비선형 최소자승법(nonlinear regression analysis)을 이용하여 매개변수를 구하였다.

2.3 저서규조류 *Nitzschia* sp.의 광흡수스펙트럼 측정

저서규조류 *Nitzschia* sp.의 광흡수계수는 QFT법(Quantitative

Filter Technique)을 이용하였다(Sosik [1999]). 대수증식 후기의 세포를 유리섬유여과지(ϕ 25, GF/F, Whatman)로 여과하여(세포손상을 막기 위해 100 mmHg 이하), 분광광도계(U-2001 Hitachi, Japan)를 이용하여 가시광선대인 400~750 nm까지 2 nm 간격으로 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 여과지에 포획된 현탁입자에 의한 후방산란(반사)의 영향을 보정하기 위해 750 nm의 흡광도를 공제한 값을 이용하였다. 또, 정확한 흡광도 측정을 위해 99.5% 에탄올(Harimoto *et al.* [1999])로, 식물플랑크톤 색소를 추출하여 상기 방법으로 세포 잔사의 흡광도를 측정하였다. 아세톤 추출에 의해 chlorophyll *a* 농도를 측정 한 후(UNESCO [1966]), 광흡수계수는 $m^2 \text{ mg chl.}a^{-1}$ 로 표기하였다.

3. 결 과

3.1 파장에 따른 저서규조류 *Nitzschia* sp.의 성장속도 변화

Nitzschia sp.는 청색파장에서 25 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 까지 광량이 증가함에 따라 성장속도가 증가하나, 더 높은 광 조건에서는 광량이 증가에 따라 성장속도는 감소하였다(Fig. 3). 25 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 청색파장에서 증식한 *Nitzschia* sp.는 다른 파장의 성장속도보다 높았다(0.45 day^{-1}). 적색 파장은 8~16 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 약한 광 조건에서는 성장하지 않았으나, 더 높은 광 조건에서는 광량이 증가에 따라 성장속도도 증가하였다(Fig. 3). 황색 파장은 10~20 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 약한 광 조건에서는 성장하지 않았으나, 더 높은 광 조건에서는 광량의 증가에 따라 성장속도도 증가하였다(Fig. 3). 그리고 복수파장에서는 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 까지 광량이 증가함에 따라 성장속도가 증가하였으나, 청색파장과 같이 그 이상의 광량에서는 광량의 증가에 따라 성장속도가 낮아졌다(Fig. 3).

광 조건에 의해 유도된 성장식은 청색파장에서는 $\mu = -0.46\exp(1-I/6.32) + 0.46 - 0.00043I$, ($r^2=0.98$), 황색파장에서는 $\mu = 0.42(1+7.87)/(1+58.9)$, ($r^2=0.99$), 적색 파장에서는 $\mu = 0.39(1+3.39)/(1+21.6)$, ($r^2=0.94$), 복수파장에서는 $\mu = -0.38\exp(1-I/7.23) + 0.38 - 0.00016I$, ($r^2=0.96$)로 나타났다(Fig. 4). 따라서 청색파장에서 최대 상대성장속도는 0.44 day^{-1} , 황색파장에서는 0.42 day^{-1} , 적색파장에서는 0.39 day^{-1} 그리고 복수파장에서는 0.37 day^{-1} 로 나타났다. 청색파장과 복수파장에서 최대 상대성장속도가 보인 광량은 각각 49.1 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 38.8 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이었다. 그리고 황색파장과 적색파장에서는 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서 최대 상대성장속도를 보였다(Fig. 4).

3.2 저서규조류 *Nitzschia* sp.의 광흡수스펙트럼 측정

QFT 방법을 이용해 *Nitzschia* sp.에 의한 광흡수계수를 측정할 결과, 최대 흡수계수는 chlorophyll의 흡수밴드가 있는 472 nm와 674 nm에서 0.0224 $m^2 \text{ mg chl.}a^{-1}$ 와 0.0179 $m^2 \text{ mg chl.}a^{-1}$ 로 높은 값을 나타내었다. 그러나 통상 부유미세조류에서 낮은 흡수계수를 보이는 황색파장대(500~600 nm)에서도 청색과 적색파장 보다는

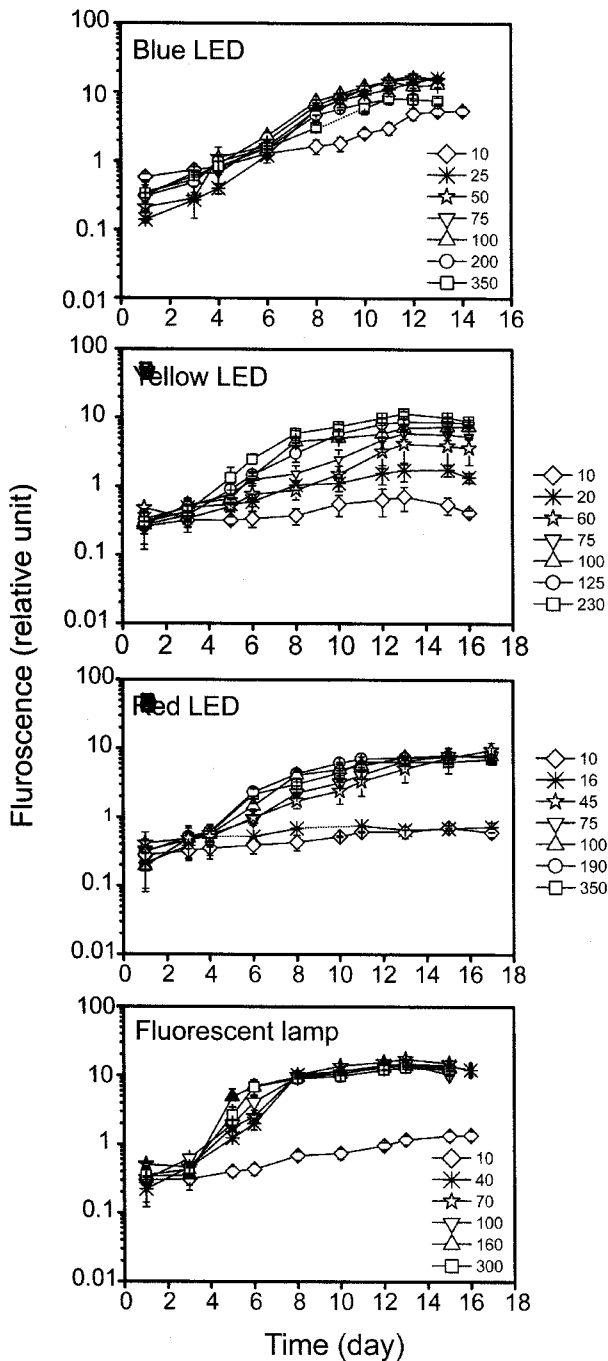


Fig. 3. Growth curves of *Nitzschia* sp. grown at various irradiance and wavelengths. Error bars indicate standard deviation (n=3). Temperature, 25°C; salinity, 30 psu; pH, 8.0.

약간 낮지만, 평균 $0.0116 \pm 0.0025 \text{ m}^2 \text{ mg chl. a}^{-1}$ 로 거의 유사하였다(Fig. 5).

4. 고찰

4.1 광저해 현상과 광량 및 파장

광 저해현상을 표현하는 대표적인 식인 Steele의 식을 이용하여

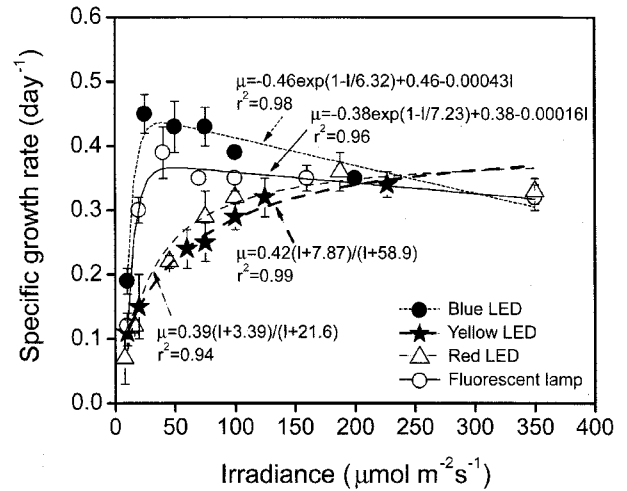


Fig. 4. Specific growth rate of *Nitzschia* sp. as a function of light intensity of blue LED (450 nm), yellow LED (590 nm), red LED (650 nm) and cool-white fluorescent lights (mixed wavelengths). Error bars indicate, standard deviation (n=3).

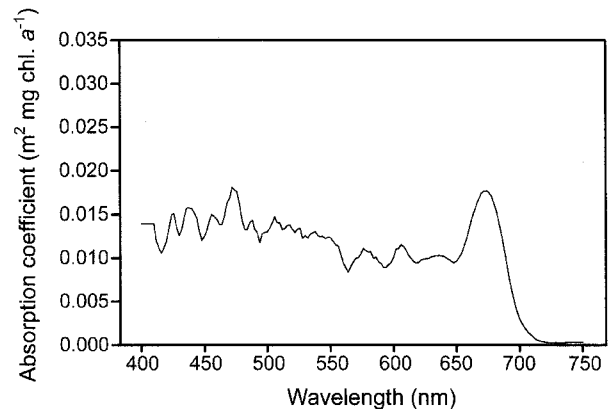


Fig. 5. Absorption coefficient spectrum of the benthic diatom, *Nitzschia* sp. obtained using the quantitative filter technique (QFT).

최소자승법에 따라 근사한 결과, 식은 $\mu = 0.50 \frac{I}{107} \exp(1 - \frac{I}{107})$ 로 최대성장속도가 보이는 광량은 $107 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 최대 상대성장속도는 $0.50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 나타났다. 하지만, Fig. 2와 같이 식 (3)은 최대 상대성장속도를 과대평가하였으며, 광 저해현상이 실제보다 강하게 근사되기 때문에 실험의 결과를 반영하지 못하였다. 그래서 식 (4-1)을 사용하나, y축에 절편을 가지기 때문에 식 (4-2)처럼 원점을 통과하도록 개량하여, Fig. 4와 같이 높은 상관관계를 갖는 추세선을 얻었다. 또한 실험값에 적합한 회귀곡선은 변수값을 증가시키기에 따라 얻을 수 있으나, 변수항이 증가하는 식을 해석하는데 어려움이 따른다. 식 (4-2)은 광 저해에 의해 성장속도가 선형감소를 보이는 미세조류의 광학특성을 수치화 하는데 유용할 것으로 판단된다.

Hiroshima만의 퇴적물(수심 약 10 m)에서 분리한 *Nitzschia* sp.는 복합광장에서, 최대성장속도가 보이는 광량은 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이었지만, $400 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이상에서는 성장하지 않

았다(Yamamoto *et al.* [2004]). 그러나 Hakata만 *Nitzschia sp.*는 동일 속이지만, 광 저해현상이 Hiroshima만 *Nitzschia sp.*보다 크지 않았다. 이와 같은 결과는 일부 미세조류에서도 보고된 것과 같이 분리된 해역에 따라 생리적인 특성이 차이를 보일 수 있기 때문이다(Gallagher [1982], Noh *et al.* [2006]). Hiroshima만의 *Nitzschia sp.*는 비교적 깊은 수심의 낮은 광원에서 성장하였지만, Hakozaki만 *Nitzschia sp.*는 수심 3 m로 비교적 높은 광원(여름 평균 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)에 노출되어 광 저해현상이 Hiroshima만의 *Nitzschia sp.*보다 낮았을 것으로 판단된다. 일반적으로 부유성 규조류의 보상광량은 $7 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 정도로, $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상에서 최대 상대성장속도를 보이며, $300 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이하에서는 광 저해현상이 나타나지 않은 것으로 보고되었다(Yamamoto [1998]). 예로서, *Coscinodiscus wailesii*와 *Eucampia zodiacus*는 $5 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 약한 광량에서는 성장이 안되나, $200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 최대상대성장속도를 보이며, $400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광량에서 광 저해현상은 없었다(Nishikawa [2001], Nishikawa *et al.* [2002]). 따라서 Hakata만 *Nitzschia sp.*는 부유성 규조류보다는 낮지만, Hiroshima만 *Nitzschia sp.*보다는 넓은 범위의 광량에 적응하는 것으로 판단된다.

미세조류의 광 저해현상에 대해서는 아직 많은 부분이 불명확하지만 발생기작은 고등식물과 비슷한 것으로 알려져 있다(Kirk [1994]). 고등식물의 광 저해현상은 광계 II의 반응을 방해하는 것으로 주로 광합성의 명반응에 영향을 준다. 고등식물과 같은 경우 250~260 nm(UV)에서 피크를 보이는 자외선에서 주로 작용하며, 가시광선 부근에서도 발생하나 이 파장대는 광량자의 포착효율이 낮아 자외선 보다는 크지 않다(Jones and Kok [1966]). 외양해역에서 광 저해현상의 50%가 390 nm~430 nm이하에서 발견되어, 광 저해현상을 일으키는 파장은 자외선과 가시광선이 각각 절반 정도 비율을 차지한다(Smith and Baker [1980]). 하지만, 연안해역과 같이 부유물질이 많은 경우, UV의 대부분이 부유물질에 흡수되기에 광 저해현상은 가시광선에서 주로 발생한다(Koblentz-Mishke [1979]). *Nitzschia sp.*의 광 저해현상은 청색파장에서 가장 크나, 황색과 적색파장은 실험에 사용한 최대 광량에서도 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 가시광선대에서 광 저해현상은 청색파장에 크게 영향을 받는 것으로 판단된다. 하지만, 황색 또는 적색파장에서도 실험에 이용한 광량보다 더 높은 광량을 사용하였을 때 광 저해현상이 발생할 수도 있기에 $350 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상의 높은 광량에 대한 검토도 요구된다.

4.2 파장에 따라 선택적으로 나타나는 미세조류의 성장

청색파장의 경우, 일부 미세조류의 염록소와 성장속도를 증가시키는 경향을 보이지만(Jeffrey and Vesk [1977]), 홍조류에서는 반대의 경향이 보여 진다(Mercado *et al.* [2002]). Figueroa *et al.* [1995]는 녹조강, Pheophyceae와 홍조식물강의 성장이 청색파장에서 증가하는 것을 보고하였고, 규조류 *Thalassiosira gravida*, *Chaetoceros sp.*, *Phaeodactylum tricoratum* 및 *Cyclotella caspia*

또한 청색파장에서 잘 성장하는 것이 알려져 있다(Jeffrey and Vesk [1977], Holdsworth [1985], Aidar *et al.* [1994], Sánchez-Saavedra and Voltolina [1994]). 그러나 일부 저서규조류(Correa-Reyes *et al.* [2001]), 외편모조류 *Heterocapsa pygmaea*(Nelson and Prézelin [1990]) 및 규조류 *Skeletonema costatum*(Tremblin *et al.* [2000], Oh *et al.* [submitted])은 청색파장에서 성장이 북수파장의 성장속도와 차이가 없었다. 황색파장에 따른 미세조류의 성장특성에 대한 연구는 chlorophyll의 흡수파장대가 아니기에 아직까지 많은 연구가 수행되지 않았다. 그러나 일부 연구에서 황색파장은 청색파장보다 성장에 미치는 영향은 낮지만, 일부 종에서는 주요 흡수광원으로 이용되는 것으로 알려져 있다. 부유성 규조류 *Haslea ostrearia*의 경우, $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 황색파장에서 다른 파장보다 다소 낮은 성장을 하였지만, $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서의 성장은 다른 파장과 큰 차이가 없었다(Mouget *et al.* [2004]). 더욱이 *S. costatum*의 경우 $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 *H. ostrearia*와 같이 청색파장보다는 성장속도가 낮지만, 0.96 day^{-1} 로 비교적 높은 성장속도를 나타내었다. 반면에 유해외편모조류 *Heterocapsa circularisquama*는 $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 까지는 성장이 억제 되는 반응을 보였으나(Oh *et al.* [submitted]), $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이상에서 성장하였다. *Cochlodinium polykrikoides* 또한 다른 파장에서(청색과 적색)는 성장을 하였으나, 황색파장에서는 성장하지 못했다(Oh *et al.* [2006]). 즉, 단일 파장에서도 종에 따라 성장특성을 달리하는 기질 특이성을 나타낸다고 할 수 있다. 본 연구의 대상종인 *Nitzschia sp.*의 광흡수스펙트럼에서도 부유성 미세조류와는 달리 거의 모든 가시광선대를 효율적으로 흡수할 수 있었으며, 성장속도에서도 청색파장은 성장을 촉진시켰고, 유해 외편모조류의 성장을 억제하는 황색파장에서 도 성장하였다.

4.3 오염해역 저질환경개선을 위한 미세조류 응용

표층퇴적층의 환경개선을 위해 준설 및 폭기 등은 일시적인 환경개선 효과를 볼 수는 있으나, 지속적인 효과는 어렵기에 토목적 방법이 아닌 자연환경시스템이 가지는 자정능력을 최대한 이용하는 친환경적 방법이 필요하다. 저서미세조류를 이용한 환경개선은 廣島縣環境保健協會[2002]가 저서미세조류를 이용한 표층퇴적층 환경개선 방안을 제시하였으며, 廣島縣環境保健協會 [2003]은 저서 규조류의 *Nitzschia sp.*의 영양염 동력학 실험을 통해서 부유성 미세조류보다 영양염 요구량이 크게 높은 것을 밝혀 저서규조류를 이용한 부영양화 해역의 정화에 이용 가능성을 제시하였다. 그러나 오염된 내만해역의 저층은 부유물질 농도가 높아 표층의 입사된 빛이 산란되어 거의 도달하지 못한다. 이러한 환경은 미세조류의 성장에 부적합한 환경으로, 대량으로 배양시킨 저서미세조류를 살포하여도 바로 폐사하여 제 2차 오염을 발생시킬 수도 있다. 그래서 Fukami *et al.* [2002]는 optical fiber를 이용하여 태양 에너지를 저층에 인위적으로 도달하게 하여 저서미세조류에 의한 빈산소 수괴 해결의 가능성을 제시하였다. Ruangdej and Fukami [2004]는 저층에 할로겐램프를 투입하여 20일간 조사한 결과, 기

초 생산력과 용존산소가 증가하는 것을 보고하였다. 그러나 이 연구는 단기간에(30일) 수행된 연구로 유해적조 생물의 휴면포자를 발아시킬 가능성이 있다. 내만해역의 대부분은 겨울을 제외하면 유해생물의 적조로 많은 수산피해를 입고 있다. 대부분 유해적조 생물은 성장에 부적합한 환경일 때 휴면포자를 형성하여 표층퇴적층에 있으며, 이들 휴면포자의 발아에 중요한 요소는 수온, 용존산소, 영양염과 광 조건으로 그 중 수온과 광 조건은 발아에 가장 중요한 영향을 미친다(Okaichi [2004]). 진해만에서 이매패류를 독화시키는 유해생물인 *Alexandrium tamarense*와 *Heterosigma akashiwo*의 경우 수온증가와 함께 발아되며, 광 조건 또한 암조건보다 명조건이 발아율이 높은 것으로 알려져 있다(Imai *et al.* [1996], Ichimi [2003]). 특히 침편모조류 *H. akashiwo*는 약 $1.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서도 발아할 수 있어 광 조건에 크게 영향을 받는다. 이와 같이 할로겐램프는 복수 파장을 주사하고, 할로겐램프의 특성상 열을 발산하기에 유용한 저서미세조류를 성장시킴과 동시에 유해적조종의 휴면포자를 발아, 성장시켜 또 다른 환경문제를 초래할 수도 있다.

본 연구에서 파장에 따른 적조원인종의 휴면포자 발아실험을 수행하지 않아 황색파장이 휴면포자 발아에 어떤 기여를 하는지는 알 수 없다. 하지만, 일부 적조원인종에 대해 성장 억제력을 가지고 있는 것으로 기대된다. 따라서 현장응용은 봄과 여름에 저서미세조류는 성장이 가능하지만, 유해 식물플랑크톤의 휴면포자 발아할 수 없는 황색 LED를 저층에 24시간 빛을 조사하며, 봄과 여름에는 청색파장을 조사하여 저서미세조류 성장을 촉진시킨다. 이렇게 성장된 저서미세조류는 광합성에 의해 산소가 방출되고, 영양염의 흡수에 따라 저층 빈산소와 부영양화 해소에 큰 기여를 할 것으로 기대된다. 그리고 LED의 전원공급은 주간에 태양에너지를 이용하고 야간에는 전력을 이용할 수 있을 것으로 판단된다. 앞으로 이러한 환경개선방법을 실용화하기 위해서는 파장별 적조원인종의 휴면포자 발아율, 저서미세조류의 파장별 영양염 흡수율 등 미세조류의 생리학적 지식이 필요할 것으로 보이며, 더욱이 LED 사용에 따른 여타 저서 생물/무생물 환경인자들의 영향과 같은 자료구축을 바탕으로 실용화 가능성을 심도 있게 검토해야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 교육인적자원부의 재원으로 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2006-353-C00060)로 지원기관에 감사를 표한다.

참고문헌

[1] Aidar, E., Ganesella-Galvão, S.M.F., Sigaud, T.C.S., Asano, C.S., Liang, T.H., Rezende, K.R.V., Oishi, M.K., Aranha, F.J., Milani, G.M. and Sandes, M.A.L., 1994, "Effects of light quality

on growth biochemical composition and photosynthetic production in *Cyclotella caspia* Grunov and *Tetraselmis gracilis* Kylin Butcher", *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol.180, 175-187.

[2] Barta, D.J., Tibbitts, T.W., Bula, R.J. and Morrow, R.C., 1992, "Evaluation of light emitting diode characteristics for a space-based plant irradiation source", *Adv. Space Res.*, Vol.12, 141-149.

[3] Brotas, V. and Catarino, F., 1995, "Microphytobenthos primary production of Tagues estuary intertidal flats (Portugal)", *Net. J. Aquat. Ecol.*, Vol.29, 333-339.

[4] Correa-Reyes, J.G., Sánchez-Saavedra, M.P., Siqueiros-Beltrones, D.A. and Flores-Acevedo, N., 2001, "Isolation and growth of eight strains of benthic diatoms, cultured under two light conditions", *J. Shellfish Res.*, Vol.20, 603-610.

[5] Decho, A.W., 1990, "Microbial exopolymer secretions in ocean environments. Their role(s) in foodwebs and marine processes", *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, Vol.28, 73-153.

[6] Doblin, M.A., Blackburn, S.I. and Hallegraff, G.M., 1999, "Growth and biomass stimulation of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Graham) by dissolved organic substances", *J. Exp. Biol. Ecol.*, Vol.236, 33-47.

[7] Flaak, A.R. and Epifanio, C.E., 1978, "Dietary levels and growth of the oyster *Crassostrea virginica*", *Mar. Biol.*, Vol.15, 157-163.

[8] Faust, M.A., Sager, J.C. and Meeson, B.W., 1982, "Response of *Prorocentrum mariae-lebouriae* (Dinophyceae) to light of different spectral qualities and irradiances: growth and pigmentation", *J. Phycol.*, Vol.18, 349-356.

[9] Figueroa, F.L., Aguilera, J. and Niell, F.X., 1995, "Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta)", *Eur. J. Phycol.*, Vol.30, 11-18.

[10] Fukami, K., Murata, N., Morio, Y. and Nishijima, T., 2002, "Improvement of eutrophic coastal bottom environments by using an optical fiber and effective psychrophilic bacteria", *Fish. Sci.*, Vol.68, 617-620.

[11] 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.

[12] Guillard, R.R.L. and Ryther, D., 1962, "Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran.", *Can. J. Microbiol.*, Vol.8, 229-239.

[13] Harimoto, T., Ishizaka, J. and Tsuda, R., 1999, "Latitude and vertical distributions of phytoplankton absorption spectra in the central North Pacific during spring 1994", *J. Oceanogr.*, Vol.55, 667-679.

[14] Holdsworth, E.S., 1985, "Effect of growth factor and light quality on the growth, pigmentation and photosynthesis of two diatoms, *Thalassiosira gravida* and *Phaeodactylum tricorutum*", *Mar. Biol.*, Vol.86, 253-262.

[15] Ichimi, K., Meksumpun, S. and Montani, S., 2003, "Effects of light intensity on the cyst germination of *Chattonella* spp.

- (Raphidophyceae)", *Plankton Biol. Ecol.*, Vol.50, 22-24.
- [16] Imai, I., Itakura, S., Yamagichi, M. and Honjo, T., 1996, "Selective germination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) cysts in bottom sediments under low light conditions: a possible mechanism of red tide initiation", In: Yasumoto, T., Oshima, Y. and Fukuyo, Y. (eds) Harmful and Toxic Algal Blooms. UNESCO, Paris, 197-200.
- [17] Jeffrey, S.W. and Vesik, M., 1977, "Effects of blue-green light on photosynthetic pigments and chloroplast structure in the marine diatom *Stephanopyxis turris*", *J. Phycol.*, Vol.13, 271-279.
- [18] Jones, L.W. and Kok, B., 1966, "Photoinhibition of chloroplast reactions", *Plant Physiol.*, Vol.41, 1037-1043.
- [19] Kirk, J.T.O., 1994, "Light & photosynthesis in aquatic ecosystems", Cambridge University Press, NY, 509pp.
- [20] Koblenz-Mishke, O.I., 1979, "Photosynthesis of marine phytoplankton as a function of underwater irradiance", *Soviet Plant Physiol.*, Vol.26, 737-746.
- [21] Lederman, T.C. and Tett, P., 1981, "Problems in modeling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton", *Bot. Mar.*, Vol.24, 125-134.
- [22] MacIntyre, H.L., Geider, R.J. and Miller, D.C., 1996, "Microphytobenthos: The ecological role of the "secret garden" of unvegetated, shallow-water marine habitats. I. Distribution, abundance and primary production", *Estuaries*, Vol.19, 186-201.
- [23] Mercado, J.M., Sánchez, P., Carmona, R. and Niell, F.X., 2002, "Limited acclimation of photosynthesis to blue light in the seaweed *Gracilaria tenuistipitata*", *Physiol. Plant.*, Vol.114, 491-498.
- [24] Mouget, J.-L., Rosa, P. and Tremblin, G., 2004, "Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities -confirmation of 'chromatic adaptation' in diatoms", *Photochem. Photobiol. B: Biol.*, Vol.75, 1-11.
- [25] Nelson, N.B. and Prézelin, B.B., 1990, "Chromatic light effects and physiological modeling of absorption properties of *Heterocapsa pygmaea* (= *Glenodinium* sp.)", *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol.63, 37-46.
- [26] Nishikawa, T., 2001, "Measuring the growth rate of the harmful diatom *Eucampia zodiacus* by in vivo chlorophyll fluorescence", *Bull. Hygo. Prefect. Fish. Exp. Stn.*, Vol.36, 21-23.
- [27] Nishikawa, T., Miyahara, K. and Nagai, S., 2002, "The growth response of *Coscinodiscus wailesii* Gran (Bacillariophyceae) as a function of irradiance isolated from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan", *Bull. Plankton Soc. Japan*, Vol.49, 1-8.
- [28] Noh, I.H., Yoon, Y.H., Kim, D.-I. and Oh, S.J., 2006, "Effects of water temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful algae *Chattonella marina* (Subrahmanyn) Hara et Chihara (Raphidophyceae) isolated from Gamak Bay, Korea", *J. Kor. Fish. Soc.*, Vol.39, 487-494.
- [29] Oh, S.J., Yoon, Y.H., Kim, D.-I., Shimasaki, Y., Oshima, Y. and Honjo, T., 2006, "Effects of light quantity and quality on the growth of the harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae)", *Algae*, Vol.21, 311-316.
- [30] Oh, S.J., Kim, D.-I., Sazima, T., Shimasaki, Y., Matsuyama, Y., Oshima, Y., Honjo, T. and Yang, H.-S., "Effects of irradiance of various wavelengths from light-emitting diodes on the growth of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* and diatom *Skeletonema costatum*", *Fish. Sci.* (Submitted).
- [31] Okaichi, T., 2004, Red tide. Springer, Tokyo, 432pp.
- [32] Paterson, D.M., 1989, "Short-term changes in the erodibility of intertidal cohesive sediments related to the migratory behaviour or epipelagic diatoms", *Limnol. Oceanogr.*, Vol.34, 223-234.
- [33] Ruangdej, U. and Fukami, K., 2004, "Stimulation of photosynthesis and consequent oxygen production in anoxic bottom water by supply of low-intensity light through an optical fiber", *Fish. Sci.*, Vol.70, 421-429.
- [34] Sánchez-saavedra, M.P. and Voltolina, D., 1994, "The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions", *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol.107B, 39-44.
- [35] Sánchez-saavedra, M.P. and Voltolina, D., 1995, "The effects of different light quality on the food value of the diatom *Chaetoceros* sp. for *Artemia franciscana* Kellogg. Riv", *Ital. Acquacolt.*, Vol.30, 135-148.
- [36] Sánchez-saavedra, M.P. and Voltolina, D., 1996, "Effects of blue-green light on growth rate and chemical composition of three diatoms", *J. Appl. Phycol.*, Vol.8, 131-137.
- [37] Smith, R.C. and Baker, K.S., 1980, "Biologically effective dose transmitted by culture bottles in ¹⁴C productivity measurements", *Limnol. Oceanogr.*, Vol.25, 364-366.
- [38] Smith, D.J. and Underwood, G.J.C., 1998, "Exopolymer production by intertidal epipelagic diatoms", *Limnol. Oceanogr.*, Vol.43, 1578-1591.
- [39] Sosik, H.M., 1999, "Storage of marine particulate samples for light-absorption measurements", *Limnol. Oceanogr.*, Vol.44, 1139-1141.
- [40] Steele, J.H., 1962, "Environmental control of photosynthesis in sea", *Limnol. Oceanogr.*, Vol.7, 137-150.
- [41] Tremblin, G., Cannuel, R., Mouget, J.-L., Rech, M. and Robert, J.-M., 2000, "Change in light quality due to a blue-green pigment, marennine, released in oyster-ponds: effect on growth and photosynthesis in two diatoms, *Haslea ostrearia* and *Skeletonema costatum*", *J. Appl. Phycol.*, Vol.12, 557-566.
- [42] Underwood, G.J.C. and Kromkamp, J., 1999, "Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries", *Adv. Ecol. Res.*, Vol.29, 93-153.
- [43] UNESCO, 1966, "Determination of photosynthetic pigments in seawater", *Monogr. Oceanogr. Methodol.*, Vol.1, 11-18.
- [44] Wallen, D.G. and Geen, G.H., 1971, "Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae", *Mar. Biol.*, Vol.10, 34-43.
- [45] Yamamoto, T., 1998, Growth and photosynthesis of phytoplankton. In: Hirano S. (ed) Marine Coastal Environment. Fujitec, Tokyo,

162-174.

[46] Yamamoto, T., Oh, S.J. and Goto, I., 2004, "Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of microphytobenthos *Nitzschia* sp.", *Jpn. J. Phycol.* (Sôrui), Vol.52, 5-11.

[47] 廣島縣環境保建協會, 2002, 微細藻を用いた海の生態的低質改善に関する研究報告書(その1).日本財団, 廣島27pp.

[48] 廣島縣環境保建協會, 2003, 微細藻を用いた海の生態的低質改善に関する研究報告書(その2).日本財団, 廣島22pp.

2007년 3월 30일 원고접수

2007년 5월 16일 수정본 채택