

산불 관련 해양환경오염원들에 대한 해조류의 활력 측정

강세은 · Long-Guo Jin · 최재석 · 조지영 · 신현웅¹ · 홍용기*

부경대학교 생물공학과, ¹순천향대학교 해양생명공학과

Viability Assay of Seaweeds Responding to Mountain Fire-Related Pollutants

Se-Eun KANG, Long-Guo JIN, Jae-Suk CHOI, Ji-Young CHO, Hyun-Woung SHIN¹ and Yong-Ki HONG*

Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-900, Korea

Plant ash and soil drainage, derived by frequent mountain fires during winter, might cause biological contamination to seaweeds at seashore and river mouse area. To thalli of *Ulva pertusa*, maximum non-lethal concentration (MNLC), lethal concentration 50 (LC₅₀) and minimum lethal concentration (MLC) of pine needle ash were shown as 60, 350 and 550 mg/mL, respectively. The yellow loess and granite sand did not damage at concentrations of 20 and 200 mg/mL, respectively. To thalli of *Porphyra yezoensis*, the MNLC, LC₅₀, MLC of pine needle ash were shown as 0.08, 0.4 and 1.0 mg/mL, respectively. Effects of yellow loess and granite sand were approximately 1/2 and 1/10 of the ash. To thalli of *Undaria pinnatifida*, the pine needle ash, yellow loess and granite sand did not damage at the concentration range of 20 to 40 mg/mL. Change of pigments (chlorophyll *a*, lutein, β -carotene, phycoerthrin) was also determined at the MNLC, LC₅₀ and MLC of pine needle ash. Among three seaweeds tested, *P. yezoensis* produced the most 2.7-fold of lutein and 2.3-fold of β -carotene at LC₅₀ of the ash. Thus the *P. yezoensis*, appeared as a sensitive indicator, could be used as one of test organisms for determination of the biological effect of pollutants contaminated in marine environment.

Key words: Pigment, Pine needle ash, *Porphyra yezoensis*, Tetrazolium, *Ulva pertusa*, *Undaria pinnatifida*, Viability

서 론

산업발달과 자연재해로 인한 해양환경 오염이 점차 증가하고 있으므로 인해 해양오염에 대한 관심도 증가하고 있다. 최근 빈번하게 발생하고 있는 동해 산불로 인하여 또 하나의 해양오염이 우려되고 있다 (NFRDI, 2000; www.foa.go.kr). 산불의 발생은 산림 내에서 낙엽 초류 임목들의 연소로서 산불재, 불완전 연소물질, 질소 인 칼륨 등의 식물 영양염류, 토사 등이 빗물로 인해 산지에서 이탈되어 하천으로 쉽게 유입될 수 있으며, 산지와 해양이 인접한 지형에서는 하천에서의 자정작용 없이 곧바로 해양으로 유출되어 해양생물의 생태계에 직접 영향을 미칠 수도 있다. 오염원이 해양생물에게 미치는 영향을 고려할 때 중요한 것은, 한 종 또는 몇 가지 종의 사멸에만 멈추지 않고 많은 종의 분포에 변화를 주어 그 해역의 생태계를 바꾼다는 것이다. 과도한 인 질소 성분이 해수를 부영양화 시킴으로써 플랑크톤을 이상 번식시켜 다른 종류의 생물이 직 간접적으로 피해를 입는 가능성도 있다 (Steidinger, 1983).

본 연구에서는 우선 산불로 인하여 야기될 수 있는 유해요소 즉 잿물 (솔잎잿물, KOH), 토사 (황토, 화강암 마사토)를 비롯하여 비교구로서 중금속 (CdCl₂, CuSO₄) 등을 재

료로 하여 하구에 인접한 해안에 널리 분포하거나 양식종인 해조류 중 녹조류, 홍조류, 갈조류로서 구멍갈파래 (*Ulva pertusa*), 방사무늬김 (*Porphyra yezoensis*), 미역 (*Undaria pinnatifida*)을 대상으로 이들 오염원들에 대한 초기 영향을 조사하기 위하여 활력 측정을 행하였다.

해조류의 활력측정 방법으로는 엽체의 면적 측정, 길이 측정 등과 같은 엽체 성장률을 측정하는 방법과 포자 부착 발아 등과 같은 포자 발아율을 측정하는 방법도 있으며 색소의 소실 측정, Evan's blue 염색법과 같은 방법들도 알려져 있다 (Fletcher, 1991). 최근에 해조류의 활력 즉 건강도를 세포수준에서 생 세포 미토콘드리아 내에 존재하는 환원효소에 의하여 무색의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC)가 붉은색의 triphenylformazan (TPF)으로 변하는 정도를 정량하는 TTC 방법을 개발한 바 있다 (Nam et al., 1998). 이 방법은 측정시간도 짧으며 세포수준에서의 초기영향을 간단하게 측정할 수 있는 장점을 갖고 있다.

본 연구에서는 TTC 방법을 이용하여 환경오염원들에 대한 구멍갈파래, 방사무늬김, 미역의 활력 영향을 측정하였다. 특히 환경오염원들 중에서 가장 대표적인 솔잎재 (pine needle ash)에 대해서는 chlorophyll *a*, carotenoid (lutein, β -carotene), phycoerythrin과 같은 색소들의 소실정도도 동시에 측정하여 TTC분석 결과와 비교해 보았다.

*Corresponding author: ykhong@pknu.ac.kr

재료 및 방법

해조시료

실험에 사용한 녹조류로서는 우리나라 연안에 가장 널리 분포하는 종 중의 하나인 구멍갈파래 (*Ulva pertusa* Kjellman)를 부산시 백운포에서 채집하였다. 홍조류로는 강 하구 해역에서 주로 양식하는 방사무늬김 (*Porphyra yezoensis* Ueda)을 경남 김해시 삼흥물산(주)에서 냉동김발 상태로 구입하여 사용하였다. 갈조류로서의 미역 (*Undaria pinnatifida* Suringar)은 부산시 기장 대변리에서 양식중인 것을 구입하였다. 이들 해조류는 28 kHz에서 1분씩 2회 초음파처리 및 1% Betadine에서 1분간 침지처리 등으로 간이 무균처리를 한 다음 실험에 사용하였다 (Jin et al., 1997; Park et al., 1998).

환경오염원

실험에 사용된 해양환경오염원은 깻물로서 솔잎깻물 및 KOH, 토사로서 황토 및 화강암 마사토, 중금속으로서 CdCl₂ 및 CuSO₄를 사용하였다. 솔잎재는 우리나라에서 가장 분포가 많은 적송 (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.) 잎을 채집하여 1주일간 음건한 뒤, 200°C의 oven에서 1시간 동안 태워서 검은 재만을 사용하였다. 황토 (yellow loess)는 부산 인근 야산에서 채취하여 건조시킨 뒤 100 µm mesh를 통과시켜 사용하였고, 마사토 (granite sand)는 강원도 고성 야산에서 채취하여 건조시킨 뒤, 250 µm mesh를 통과시켜 사용하였다.

TTC 방법에 의한 활력측정

구멍갈파래, 방사무늬김, 미역 엽체 0.1 g씩을 환경오염원의 농도별로 첨가된 PES배지 (구멍갈파래, 방사무늬김) 및 PESI배지 (미역) 100 mL에 각각 넣어 18°C, 50 µmol m⁻²s⁻¹로 1일 동안 배양하였다 (Provasoli, 1966). 처리된 엽체는 TTC 방법으로 그 활력을 측정하였다 (Nam et al., 1998). 활력은 대조구의 건강한 엽체의 흡광도 값에 대한 상대적 비율로서 정량화하여 dose response curve로 나타내었다 (Gonzales and Widholm, 1985). 이 curve로부터 maximum non-lethal concentration (MNLC), lethal concentration 50 (LC₅₀), minimum lethal concentration (MLC)을 결정하였다.

Chlorophyll a 색소측정

색소 소실 측정을 위하여 각 해조류 0.1 g을 솔잎재 농도별로 첨가된 PES배지 (구멍갈파래, 방사무늬김) 및 PESI배지 (미역) 100 mL에 넣어 18°C, 50 µmol m⁻²s⁻¹로 1일 배양하였다. 엽체를 적당하게 잘라 유리 cap tube에 넣어 -70°C에서 하루동안 놓아두었다. 90% acetone 2 mL을 넣고 10분간 초음파처리를 한 후 4°C에서 하루동안 두었다. 2,000 rpm에서 20분 동안 원심분리한 다음 상층액을 회수하여 664 nm와 647 nm에서 흡광도를 측정한 후, 11.93A₆₆₄-1.93A₆₄₇로 계산하여 chlorophyll a 함량 (µg/mL)을 측정하였다 (Lobban et al., 1988; Naldi and Wheeler, 1999).

Carotenoid 색소측정

Carotenoid 색소 소실 측정은 상기의 chlorophyll a 색소 측정 방법과 같은 조건으로 배양된 엽체를 -70°C에서 하루동안 놓아둔 다음, 90% methanol을 2 mL 넣고 10분간 초음파 처리를 한 후 4°C에서 하루동안 두었다. 60% KOH를 methanol 추출액의 1/10 넣고 -5°C 암실에서 10시간 동안 놓아둔다. Ethyl ether를 전체 양의 1/2만큼 넣어준 후, 3차 증류수를 층이 생길 때까지 첨가한다. 새로운 ethyl ether를 첨가하면서 상층의 ethyl ether 추출액을 다른 유리 cap tube에 모은다. 이를 3회 반복한 후 모은 ethyl ether 추출액을 진공상태에서 ethyl ether를 날려 제거하고 lutein은 ethanol, β-carotene은 petroleum ether에 다시 녹여 480 nm 및 650 nm에서 흡광도를 측정한 후, 10(A₄₈₀-3×A₆₅₀)로 계산하여 lutein함량 (µg/mL)과 β-carotene 함량 (µg/mL)을 측정하였다 (Lobban et al., 1988; Naldi and Wheeler, 1999).

Phycoerythrin 색소측정

Phycoerythrin 색소 소실 측정은 상기의 chlorophyll a 색소 측정 방법과 같은 조건으로 배양된 엽체를 -70°C에서 하루 동안 놓아둔 다음, 0.1 M 인산완충용액 2 mL을 넣고 10분간 초음파처리를 한 후 4°C에서 하루 동안 두었다. 2,000 rpm에서 20분 동안 원심분리한 다음 상층액을 회수하여 565 nm, 620 nm, 650 nm에서 흡광도를 측정한 후, 0.088A₅₆₅-0.045A₆₂₀+0.0034A₆₅₀로 계산하여 phycoerythrin 함량 (µg/mL)을 측정하였다 (Lobban et al., 1988; Naldi and Wheeler, 1999).

결 과

솔잎재의 물추출물 농도

건조된 적송잎을 200°C에서 1시간 동안 oven에서 태운 후의 검은 재 상태 때의 무게는 1g의 건조 솔잎에서 약 0.5g의 비율로 솔잎재가 얻어졌다. 이를 실온에서 1일 동안 증류수로 추출하면 약 25 mg의 물추출물을 얻을 수 있었다. 이 물추출물 25 mg/mL를 230 nm에서 흡광도를 측정한 결과 6.1이었다.

해조류의 활력 변화

녹조류중의 구멍갈파래를 대상으로 하여 솔잎재, KOH, 황토, 마사토, CdCl₂, CuSO₄ 등 여러 환경오염원을 다양한 농도로 나누어 TTC 방법으로 활력 변화를 측정하였다. 활력은 대조구의 건강한 엽체에 대한 흡광도의 상대적 비율로서 정량화하여 dose response curve로 나타낸 후 이 curve로부터 MNLC, LC₅₀, MLC 값을 결정하였다. 그 결과 Table 1에서 나타난 것과 같이 CdCl₂는 LC₅₀ 값이 3 µg/mL 정도로서 µg/mL 농도 단위에서 활력감소 영향을 크게 받았으며 KOH의 LC₅₀ 값은 3 mg/mL로서 mg/mL 농도 단위에서 활력감소 영향을 받았다. 솔잎재의 경우 60 mg/mL 농도까지는 활력에 영향이 없었지만 50% 및 100% 활력감소에는 KOH의 117배 및 30배량으로서, 즉 솔잎재의 영향력은 순수 KOH 화합물과 상대적으로 비교하였을 때 1/117 및 1/30 정도의 독성을

Table 1. Determination of MNLC, LC₅₀ and MLC of the green alga, *Ulva pertusa*, by mountain fire-related pollutants. Thalli were cultured for 1 day in PES medium. The viability was measured by the TTC method and expressed as relative percentages for dose-response curve

Pollutants	Unit	Concentrations		
		MNLC	LC ₅₀	MLC
Pine needle ash	mg/mL	60	350	550
KOH	mg/mL	0.4	3	18
Yellow loess	mg/mL	>20	-	-
Granite sand	mg/mL	>200	-	-
CdCl ₂	μg/mL	0.1	3	30
CuSO ₄	μg/mL	>400	-	-

-, not detected.

Table 2. Determination of MNLC, LC₅₀ and MLC of the red alga, *Porphyra yezoensis*, by mountain fire-related pollutants. Thalli were cultured for 1 day in PES medium. The viability was measured by the TTC method and expressed as relative percentages for dose-response curve

Pollutants	Unit	Concentrations		
		MNLC	LC ₅₀	MLC
Pine needle ash	mg/mL	0.08	0.4	1.0
KOH	mg/mL	0.03	0.2	0.6
Yellow loess	mg/mL	0.15	0.9	1.6
Granite sand	mg/mL	0.4	4.0	10
CdCl ₂	μg/mL	2.0	11	25
CuSO ₄	μg/mL	1.5	5	12

Table 3. Determination of MNLC, LC₅₀ and MLC of the brown alga, *Undaria pinnatifida*, by mountain fire-related pollutants. Thalli were cultured for 1 day in PESI medium. The viability was measured by the TTC method and expressed as relative percentages for dose-response curve

Pollutants	Unit	Concentrations		
		MNLC	LC ₅₀	MLC
Pine needle ash	mg/mL	>30	-	-
KOH	mg/mL	2	7	20
Yellow loess	mg/mL	>20	-	-
Granite sand	mg/mL	40	>200	-
CdCl ₂	μg/mL	10	45	350
CuSO ₄	μg/mL	>400	-	-

-, not detected.

가진다고 볼 수 있다. 황토와 마사토는 구멍갈파래 활력에 비교적 영향을 주지 않았다. 홍조류인 방사무늬김의 경우는 Table 2에서 나타난 것과 같이 모든 오염원들에 아주 민감하게 반응하는 것으로 나타났으며, 그중 CuSO₄ 및 CdCl₂는 LC₅₀ 값이 5 μg/mL 및 11 μg/mL 정도로서 특히 CuSO₄에 아주 민감한 것으로 보인다. KOH의 LC₅₀ 및 MLC 값은 0.2 mg/mL 및 0.6 mg/mL 농도에서 활력감소 영향을 받았다. 특히 솔잎재의 경우 50% 및 100% 활력감소에는 모두 KOH의 2배량으로서, 즉 솔잎재의 영향력은 순수 KOH 화합물과 상

대적으로 비교하였을 때 1/2 정도의 강한 독성을 가진다고 볼 수 있다. 황토의 경우는 순수 KOH 화합물과 상대적으로 비교하였을 때 약 1/4 정도의 독성을 가지며, 마사토의 경우는 순수 KOH 화합물과 상대적으로 비교하였을 때 약 1/20 정도의 독성을 가진다고 볼 수 있다. 갈조류인 미역의 경우는 Table 3에서 나타난 것과 같이 CdCl₂의 LC₅₀ 값이 45 μg/mL 정도로서 활력에 민감한 것으로 보인다. KOH의 LC₅₀ 값은 7 mg/mL 농도에서 활력감소 영향을 받았다. 반면에 솔잎재의 영향력은 순수 KOH 화합물과 상대적으로 비교하였을 때 최소 1/15 보다 훨씬 약한 정도의 독성 즉 미역에 미치는 영향은 적다고 볼 수 있다. 황토와 마사토 경우도 상대적으로 미역의 활력에 크게 영향을 주지 않았다.

해조류의 색소함량 변화

산불로 인한 여러 환경오염원들 중 솔잎재에 대한 해조류의 색소함량 변화정도를 측정하였다. 우선 구멍갈파래에 대하여 Table 1에서 결정된 솔잎재의 MNLC, LC₅₀, MLC 농도별로 구멍갈파래를 하루 배양한 후 chlorophyll a, carotenoid계인 lutein과 β-carotene 및 phycoerythrin을 측정하였다. 그 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 모든 해조류에 가장 널리 존재하는 chlorophyll a는 솔잎재없이 배양된 대조구보다 약 1.7-1.8배 증가하였다. 그리고 β-carotene도 약 1.7배 정도 증가하였다. 그러나 같은 carotenoid계인 lutein은 거의 변화가 없었다. 주로 홍조류에 존재하는 phycoerythrin은 대조구를 포함한 모두에서 측정되지 않았다. 방사무늬김의 경우는 Table 2에서 결정된 솔잎재의 MNLC, LC₅₀, MLC 농도별로 하루 배양한 후 각 색소함량 변화를 측정한 결과 Fig. 2에서 보는바와 같이 chlorophyll a과 phycoerythrin은 대조구와 거의 비슷하였다. Lutein은 대조구와 비교하여보면 MNLC에서 약 1.5배, LC₅₀에서 2.7배, MLC에서 1.9배로서 높은 lutein 량

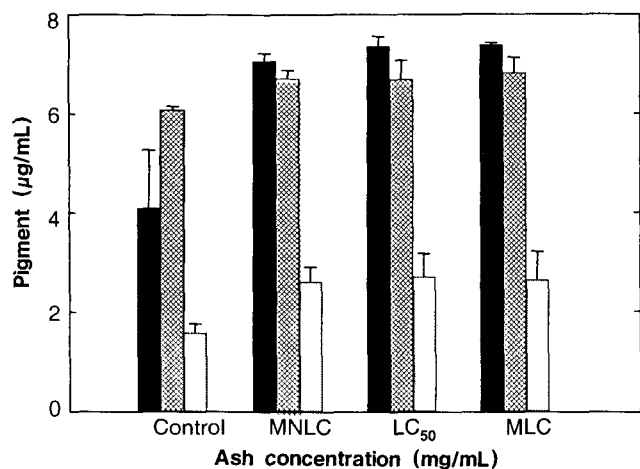


Fig. 1. Amount of pigments from the green alga, *Ulva pertusa*, cultured in PES medium containing pine needle ash. Pigments of chlorophyll a (■), lutein (⊗), β-carotene (▨), phycoerythrin (□) were determined at the MNLC, LC₅₀ and MLC. Data are given as mean values ± SD.

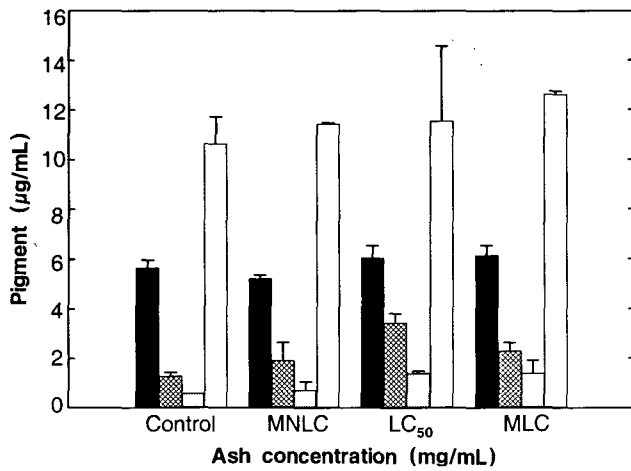


Fig. 2. Amount of pigments from the red alga, *Porphyra yezoensis*, cultured in PES medium containing pine needle ash. Pigments of chlorophyll a (■), lutein (▨), β-carotene (▩), phycoerythrin (□) were determined at the MNLC, LC₅₀ and MLC. Data are given as mean values ± SD.

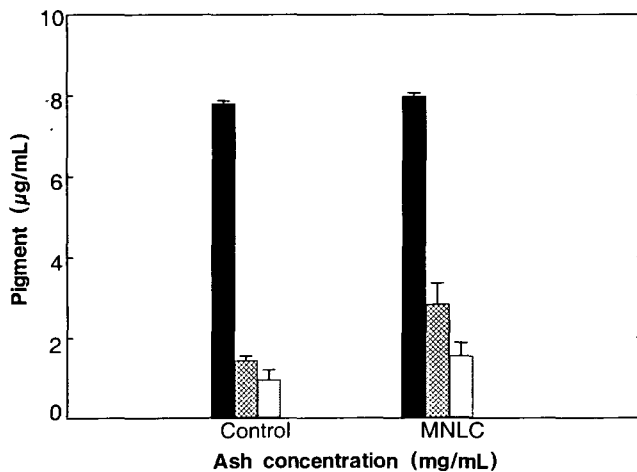


Fig. 3. Amount of pigments from the brown, *Undaria pinnatifida*, cultured in PESI medium containing pine needle ash. Pigments of chlorophyll a (■), lutein (▨), β-carotene (▩), phycoerythrin (□) were determined at the MNLC, LC₅₀ and MLC. Data are given as mean values ± SD.

의 증가를 나타내었다. Lutein과 같은 carotenoid계인 β-carotene에서도 MNLC, LC₅₀, MLC에서 1.2배, 2.3배, 2.4배로 증가하였다. 미역의 경우는 Fig. 4에서 보듯이 chlorophyll a는 대조구와 비슷한 양을 나타냈으며, lutein과 β-carotene은 대조구와 비교해서 2.0배와 1.6배 정도 그 양이 증가하였다. Phycoerythrin은 미역에서 측정되지 않았다.

고 찰

산불의 정의는 산림내에서 낙엽, 낙지, 초류, 임목 등이 연소되는 화재로서 사람에 의한 실화, 방화, 낙뢰 등으로 인하

여 발생된 불씨가 산림내의 가연물질을 연소시키는 것을 말한다. 2000년도의 우리나라 산불 발생건수는 654건, 발생면적은 25526 ha로 기록되어 있다 (www.foa.go.kr). 일반적인 식물의 연소로서 생성되는 재는 소량의 인산, 칼슘, 탄산칼륨 (K₂CO₃)을 주성분으로 하며 이 탄산칼륨은 이 연구에서 사용된 비교 화학물 중의 하나인 KOH처럼 염기성을 나타낸다. 우리나라에서 가장 분포가 많은 적송 솔잎재를 방사무늬김의 LC₅₀ 농도 (0.4 mg/mL)로 PES배지에 넣었을 때 그 pH값은 8.10에서 8.17로 큰 변화가 없는 것으로 보아 솔잎재의 영향은 최소한 그 pH값 변화에 의한 것으로는 보이지 않는다. 솔잎재 0.5 g에서의 추출액이 230 nm에서 6.1의 높은 흡광도 값을 보이는 것으로 보아서 불완전 연소로 인한 상대적으로 많은 양의 phenol관련 성분들을 함유하고 있는 것으로 사료된다 (Su and Gibor, 1988). 이들 산불은 주로 건조한 겨울철에 많이 발생하므로 겨울철에 번무하는 해조류들이 이들의 해양생물에 대한 영향평가에 지표로서 사용되는 것이 합당할 것으로 여겨진다. 해조류의 활력측정은 세포의 호흡에 중요한 역할을 하는 미토콘드리아 내의 환원효소에 의해서 무색의 TTC로부터 적색의 TPF로의 전환정도를 측정하는 TTC방법을 사용하였다 (Nam et al., 1998). 지금까지 해조류를 대상으로 하여 사멸 및 성장억제 등의 연구는 주로 중금속들의 생리적인 영향과 그들의 조직내 축적 등이 많이 연구되어져 오고 있다 (Hardisson et al., 1998). 특히 카드뮴과 같은 중금속은 원형질막의 투과에 영향을 끼쳐서 세포내에서 칼륨 이온을 상실하게 하는 결과를 가져오며 세포 크기가 줄고 성장률을 감소시키며 과도한 농도에서는 chlorophyll a과 같은 광합성 색소를 감소 혹은 파괴하는 작용까지 한다 (Leborans and Novillo, 1996; Kim and Han, 2000). 산불재와 같은 오염원에 의한 방사무늬김의 초기영향으로서는 스트레스반응 관련인 glutaredoxin 유전자의 발현이 억제되며 phosphoenolpyruvate phosphotransferase 유전자 발현은 유도되어 나타나는 것으로도 알려졌다 (Jin et al., 2002). 본 연구에서의 환경오염원에 대한 해조류간의 비교를 통하여 최소한 해조류의 활력 면에서는 오염원의 종류에 따라 어느 정도의 차이는 있지만 전반적으로 방사무늬김이 가장 민감하게 활력감소 경향을 보였으며 구멍갈과래, 미역의 순으로 나타났다. 카드뮴의 경우는 예외적으로 구멍갈과래가 방사무늬김보다 LC₅₀에서 3.7배, 미역보다 15배 더 민감하게 감소하였다. 다음 색소함량 변화측정 실험에서는 산불로 인한 여러 환경오염원들 중 적송 솔잎재에 대해서 해조류의 색소함량을 측정된 결과 전반적으로 carotenoid 색소의 증가를 볼 수 있었다. 세포 기능의 손상 정도에 따른 즉각적인 활력정도를 볼 수 있는 TTC 방법과는 별도로 색소함량 측정은 이미 생성된 색소와 감소된 활력에 의하여 만들어지는 색소 혹은 죽은 세포에 의한 색소분해 등 세포내부의 영향도 고려된 결과로서, 이같은 증가는 적송재에 노출된 것에 의해서 유도된 항상성 유지 기작 (homeostatic mechanism)으로부터 나온 결과라고 추측된다 (Rioboo et al.,

2002). 특히 방사무늬김의 β -carotene 경우에는 MNL, LC₅₀, MLC에서 대조구에 비하여 각각 1.2배, 2.3배, 2.4배의 증가를 보이므로, 솔잎재에 의한 활력억제에 반하여 β -carotene의 생성이 오히려 유도되며 계속 세포내에 존재하는 것으로 여겨진다. 방사무늬김의 lutein 경우에서도 대조구에 비하여 각각 1.5배, 2.7배, 1.9배의 증가를 보이므로 솔잎재에 의한 활력억제에 반하여 lutein의 생성이 유도되나 세포의 활력감소에 따라 같이 소실되는 것으로 여겨진다. 이상의 결과들로 미루어 보아 해조류의 환경오염원에 대한 영향은 방사무늬김이 가장 민감하게 반응하는 indicator 종으로서의 사용이 가능하며 TTC 방법에 의한 활력측정과 목적에 따라서는 β -carotene 혹은 lutein 색소의 함량변화를 측정함으로써 그 영향평가가 가능할 것으로 여겨진다.

사 사

본 논문은 2001-2002년 과학기술부 중점국가개발사업 2차년도 사업 (과제번호: 0004000200100900)의 일환으로 수행된 연구결과의 일부입니다. 최, 조, 홍 등은 2003년도 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었음.

참 고 문 헌

- Fletcher, R.L. 1991. Marine macroalgae as bioassay test organisms. In: Ectotoxicology and the Marine Environment. Abel P.D. and V. Axiak eds., Ellis Horwood Ltd., New York, pp. 111-131.
- Gonzales, R.A. and J.M. Widholm. 1985. Selection of plant cells for desirable characteristics: Inhibitor resistance. In: Plant Cell Culture: A Practical Approach. Dixon, R.A. ed., IRL Press, Washington D.C., pp. 67-78.
- Hardisson, A., I. Frias and A. de Bonis. 1998. Mercury in algae of the Canary Islands littoral. Environ. International, 24, 945-950.
- Jin, H.J., G.M. Seo, Y.C. Cho, E.K. Hwang, C.H. Sohn and Y.K. Hong. 1997. Gelling agents for tissue culture of the seaweed *Hizikia fusiformis*. J. Appl. Phycol., 9, 489-493.
- Jin, L.G., J.S. Choi, H.J. Jin, H.W. Shin and Y.K. Hong. 2002. Isolation of pollutant (pine needle ash)-responding genes from the seaweed *Porphyra yezoensis* tissue. Fish. Sci., 68, S1044-S1047.
- Kim, J.K. and T.J. Han. 2000. Effects of inorganic nutrients and heavy metals on reproduction of the green algae *Ulva pertusa* Kjellman. Algae, 15, 81-88.
- Leborans, G.F. and A. Novillo. 1996. Toxicity and bioaccumulation of cadmium in *Olisthodiscus luteus*. Water Res., 30, 56-62.
- Lobban, C.S., D.J. Chapman and B.P. Kremer. 1988. Experimental Phycology: A Laboratory Manual. Cambridge University Press, New York, 295pp.
- Naldi, M. and P.A. Wheeler. 1999. Changes in nitrogen pools in *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment. J. Phycol., 35, 70-77.
- Nam, B.H., H.J. Jin, S.K. Kim and Y.K. Hong. 1998. Quantitative viability of seaweed tissues assessed with 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride. J. Appl. Phycol., 10, 31-36.
- Park, J.W., Y.C. Cho, B.H. Nam, H.J. Jin, C.H. Sohn and Y.K. Hong. 1998. RAPD identification of genetic variation in the seaweed *Hizikia fusiformis* (Fucales, Phaeophyta). J. Mar. Biotechnol., 6, 62-64.
- Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Cultures and Collections of Algae. Watanabe A. and A. Hattori eds., Jap. Soc. Plant Physiol., Tokyo, pp. 63-75.
- Rioboo, C., O. Gonzalez, C. Herrero and A. Cid. 2002. Physiological response of freshwater microalga (*Chlorella vulgaris*) to triazine and phenylurea herbicides. Aquatic Toxicol., 59, 225-235.
- Steidinger, K.A. 1983. A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology. Prog. Phycol. Res., 2, 147-188.
- Su, X and A. Gibor. 1988. A method for RNA isolation from marine macro-algae. Anal. Biochem., 174, 650-657.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). 2000. A report on the effect of mountain fire occurred in the East coast on the coastal fishing grounds, East Sea Fisherich Institute, Kwibin Publishing Co., Gangneung, Korea, 101 pp.

2002년 11월 15일 접수

2003년 5월 31일 수리