

Article

https://doi.org/10.7850/jkso.2019.24.1.001
pISSN : 1226-2978

HPLC를 이용한 근소만 조간대 퇴적물내의 저서미세조류 현존량, 군집 및 광생리의 월 변화 분석

김은영¹ · 안성민² · 최동한^{1,2} · 이호원² · 노재훈^{1,2*}

¹한국해양대학교 해양과학기술전문대학원 해양과학기술융합학과, ²한국해양과학기술원 해양생태연구센터

Monthly HPLC Measurements of Pigments from an Intertidal Sediment of Geunso Bay Highlighting Variations of Biomass, Community Composition and Photo-physiology of Microphytobenthos

EUN YOUNG KIM¹, SUNG MIN AN², DONG HAN CHOI^{1,2}, HOWON LEE² AND JAE HOON NOH^{1,2*}

¹Department of Convergence Studies on Ocean Science and Technology, School of Ocean Science and Technology, Korea Maritime and Ocean University, Busan 49112, Korea

²Marine Ecosystem and Biological Research Center, KIOST, Busan 49111, Korea

*Corresponding author: jhnoh@kiost.ac.kr

Editor Eun-jin Yang

Received 5 November 2018; Revised 6 December 2018; Accepted 6 December 2018

ABSTRACT

본 연구에서는 태안반도 근소만 갯벌에서 저서미세조류(MPB)의 현존량, 군집구성 및 광생리의 월변화에 대해 알아보기 위하여 2016년 10월부터 2017년 10월까지 월 1~2회씩 총 16회에 걸쳐 갯벌 표층에 분포하는 저서미세조류 색소를 HPLC (High performance liquid chromatography)를 이용 분석하였다. 갯벌 표층 1 cm 깊이에 분포하는 저서미세조류의 광합성 색소 중 현존량의 지표로 사용되는 총 chlorophyll *a* (TChl *a*) 농도는 연중 40.4~218.9 mg m⁻²의 범위를 보였다. 2월 24일에 최대값이 나타났고 3월에도 높은 값을 보인 뒤 이후 감소하였다. 저서미세조류의 현존량은 동계에 높고 하계에 낮은 값을 나타냈다. Phaeophorbide *a* 농도의 월별 변동을 통해 동계에 상위 포식자의 낮은 포식압이 저서미세조류 동계번성에 일부 기여한 것으로 사료된다. 또한 주요지시색소를 이용한 저서미세조류 군집조성의 분석결과 저서규조류의 지시색소인 fucoxanthin의 농도가 연중 가장 높게 나타났다. Chlorophyll *b*(녹조류), peridinin(와편모조류)을 제외한 대부분의 지시색소의 농도는 동계에 증가하였으나, fucoxanthin의 농도 증가율이 가장 높아 fucoxanthin을 제외한 TChl *a*에 대한 주요지시색소의 상대비는 동계에 감소하는 경향이 있었다. 형광광도계와 산소미세전극을 이용하여 측정된 퇴적물 내 Chl *a*와 산소 농도의 연직분포 특성은 퇴적층 표면에서 깊이가 깊어질수록 Chl *a* 값과 산소 농도가 함께 감소하는 경향을 보였고, 동계로 갈수록 이런 경향이 더욱 뚜렷하게 나타났다. 하지만 5~7월의 Chl *a* 농도는 다른 기간에 비해 12 mm까지 연직으로 유사하게 나타났으나, 5월의 산소 농도 분포는 1 mm 이하에서 급격하게 감소하였다. 같은 시기에 phaeophorbide *a* 농도가 증가하는 것으로 보아 저서동물의 포식활동에 의한 산소 소비량이 증가하였을 가능성이 있으며, 저서동물의 생물교란에 의해 저서미세조류의 세포가 아래로 옮겨진 것으로 추측된다. 한편, 저서미세조류의 광적응의 지표로 사용되는 diadinoxanthin (DD)과 diatoxanthin (DT)로 얻은 상대적인 비(DT/(DD+DT))는 10월에서 3월로 갈수록 감소하며, 5월에는 증가하는 것으로 볼 때, 월별로 Xanthophyll cycle의 활성 정도에 차이가 있었음을 알 수 있었다.

In this study, the surveys were carried out from October (2016) to October (2017) along the tidal flat of Geunso Bay, Taean Peninsula of the western edge of Korea. The sampling trips were carried out for a total of 16 times, once or twice a month. In order to investigate the monthly variation of the microphytobenthos (MPB) biomass, community composition and photo-physiology were analyzed by HPLC (High performance liquid chromatography). The total chlorophyll *a* (TChl *a*) concentrations used as an indicator of biomass of MPB in the upper 1 cm sediment layer ranged from 40.4 to 218.9 mg m⁻² throughout the sampling period. TChl *a* concentrations showed the maximum level on 24th of February and remained high throughout March after which it started to decline. The biomass of MPB showed high values in winter and low values in summer. The monthly variations of Phaeophorbide *a* concentrations suggested that the low grazing intensity of the predator in the winter may have partly attributed to the MPB winter blooming. As a result of monthly variations of the MPB community composition using the major marker pigments, the concentrations of fucoxanthin, the

marker pigment of benthic diatoms, were the highest throughout the year. The concentrations of most of the marker pigments except for chlorophyll *b* (chlorophytes) and peridinin (dinoflagellates) increased in winter. However, the concentrations of fucoxanthin increased the highest, and the relative ratios of the major marker pigments to TChl *a* except fucoxanthin decreased during the same period. The vertical distribution of Chl *a* and oxygen concentrations in the sediments using a fluorometer and an oxygen micro-optode Chl *a* concentrations decreased with oxygen concentrations with increasing depth of the sediment layers. Moreover, this tendency became more apparent in winter. The Chl *a* was uniformly vertical down to 12 mm from May to July, but the oxygen concentration distribution in May decreased sharply below 1 mm. The increase in phaeophorbide *a* concentration observed at this time is likely to be caused by increased oxygen consumption of zoobenthic grazing activities. This could be presumed that MPB cells are transported downward by bioturbation of zoobenthos. The relative ratios (DT/(DD+DT)) obtained with diadinoxanthin (DD) and diatoxanthin (DT), which are often used as indicators of photo-adaptation of MPB, decreased from October to March and increased in May. This indicated that there were monthly differences in activity of Xanthophyll cycle as well.

Keywords: Microphytobenthos, Photosynthetic pigments, Tidal flat, Vertical distribution, Diadinoxanthin, Diatoxanthin

1. 서론

퇴적물 상부층에 서식하는 저서미세조류(Microphytobenthos, MPB)는 하구역 일차생산력의 50%까지 기여하는 중요한 일차생산자이다(Underwood and Kromkamp, 1999). 저서미세조류는 저서성 규조류, 남조류, 녹조류, 유글레나, 광합성 박테리아 등으로 구성되고, 퇴적물 식자의 먹이원인 동시에, 수층으로 재부유 시 부유물 식자의 중요한 먹이원이다(MacIntyre *et al.*, 1996; Sullivan and Moncreiff, 1990; Heip *et al.*, 1995). 국내에서는 1980년부터 갯벌에 서식하는 저서미세조류의 현존량과 군집구조에 관한 연구가 진행되어 왔다. 현미경을 이용한 저서규조류 군집 연구에는 인천연안 갯벌(Shim and Joe, 1984), 금강하구 조간대(Kim and Cho, 1985), 만경 동진 갯벌(Oh, 1990) 등에서 수행되었다. 하지만 현미경을 이용한 분석 방법은 실험자의 전문성과 많은 시간이 요구되므로 최근에는 HPLC (High performance liquid chromatography)를 이용한 저서미세조류 군집 연구가 활발히 진행되고 있다. HPLC는 시료 내 각 지시색소의 정량적 분석을 가능케 하였으며, 따라서 주요색소(chlorophyll *a*)를 통해 현존량을 추정하거나, 지시색소(marker pigments)를 이용하여 강(class) 수준의 군집조성을 파악할 수 있다(Lee *et al.*, 2009). 뿐만 아니라 chlorophyll 분해산물을 통해 저서미세조류 군집의 생리적 상태와 상위포식자에 의한 섭식강도(grazing intensity) 파악에도 응용할 수 있어 활용 가치가 높다(Bidigare *et al.*, 1986; Burkill *et al.*, 1987). 국내에서는 곰소만 갯벌(Lee, 2001), 강화도 갯벌(Yoo and Choi, 2005), 새만금 갯벌(Oh *et al.*, 2004) 광양만 갯벌(Lee *et al.*, 2009) 등에서 이를 활용한 연구가 수행된 바 있다.

한편, 갯벌은 조석주기에 따라서 하루에 2번 정도 대기 중에 노출된다. 이러한 환경에 서식하는 저서미세조류는 퇴적물 표면에서의 일사량, 온도 변화와 건조 등에 의해 극심한 환경 변화를 겪는다. 따라서 저서미세조류는 이러한 스트레스를 줄이기 위해 다양한 행동적, 광생리적 전략을 가지고 있다. 전자는 연직 이동(vertical migration)을 통하여 더 많은 빛을 받기 위해 표면으로 올라오거나 광저해를 피하기 위해 더 깊은 곳으로 이동하는 것이다. 저서미세조류의 연직 이동은 8~15분 이내에도 관찰될 정도로 활발히 이뤄진다(Perkins *et al.*, 2002). 몇몇 선행연구에서는 시간별 산소 농도 분포를 측정하여 이를 통해 저서미세조류의 연직 이동을 관측한 바 있다(Bebout and Garcia-Pichel, 1995; Elisabeth and Bernhard, 1995; Denis *et al.*, 2012). 후자는 형광의 형태로 과도한 빛 에너지를 소멸시키거나 색소의 분포 혹은 조성을 바꾸고, 광합성 단위의 밀도나 크기를 조절하는 것이다(Halldal, 1970; Chan, 1978; Prézélin and Sweeney, 1978; Riper *et al.*, 1979; Falkowski and Owens, 1980; Perry *et al.*, 1981; Sukenik *et al.*, 1987). 예를 들어 엽록소로 들어온 과도한 양의 빛 에너지가 소멸되지 않고 쌓이게 되면, 산소분자와 반응하여 활성산소를 형성하게 되고, 이 때문에 세포가 손상을 입게 된다(Brown *et al.*, 2000; Frank and Cogdell, 1996). 따라서 이러한 광산화 현상을 막기 위해 미세조류는 carotenoid 계열의 광보호 색소를 이용한다. 대표적으로

diadinoxanthin (DD)과 diatoxanthin (DT), zeaxanthin, violaxanthin 그리고 antheraxanthin이 있다(Young and Frank, 1996). 규조강(Bacillariophyceae)과 와편모조강(dinophyceae), 착편모조강(prymnesiophyceae), 유글레나(Euglenophyta), 그리고 일부 황색편모조강(chrysophyceae)은 DD와 DT를 이용한 xanthophyll cycle 이라는 과정을 통해 광적응(photoacclimation)과 광보호(photoprotection)를 한다(Olaizola and Yamamoto, 1994; Lee *et al.*, 2004). 강한 빛에 의해 엽록체 내 수소 이온(H⁺)이 증가하면, pH가 낮아지고 xanthophyll cycle이 활성화된다. 빛이 증가함에 따라 디에폭시화 단계(de-epoxidation step)에 의해 DD는 DT로 전환된다. DT는 빛 에너지를 광합성 중심 반응체(Photosynthetic reaction center)로 전달하는 효율이 낮고, de-epoxidation 반응을 통해 엽록체 내 활성산소를 제거한다. 광도가 감소하면 다시 DT에서 DD로 전환되어 광량을 효율적으로 이용한다. 이러한 DD와 DT 간의 색소 전환은 수 초에서 한 시간 내로 이뤄진다. 단순히 DT의 양이 일시적으로 증가하는 것인데, 그보다 더 긴 시간 동안 엽록체에 강한 빛이 주어지면, 수 시간에서 수 일 내에 DT 뿐만 아니라 DD의 전체적인 색소량이 늘어나게 된다. 이를 Xanthophyll acclimation이라 한다(Meyer *et al.*, 2000). 따라서 DD+DT에 대한 DT의 상대비(DT/(DD+DT)) 값의 변화를 살펴보면, 미세조류의 광적응 정도를 알 수 있다(Demers *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 2009). 각각의 분류군 별로 환경변화에 따른 적응 기작이 서로 다르므로, 저서미세조류의 군집조성과 광생리적 상태는 그 지역에서 서식하는 저서미세조류의 광합성 활성과 더 나아가 생산성에 영향을 미치게 된다(Kromkamp *et al.*, 1998). 하지만 아직 국내에서는 이에 대한 연구가 활발하게 진행되지 않았다.

본 연구의 목적은 근소만에 서식하는 저서미세조류의 월별 현존량과 강 수준의 군집조성의 변동에 대해 조사하고, 저서미세조류의 월별 연직분포 양상과 광보호 색소를 이용한 광적응의 월별 특성에 대해 알아보는 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1 연구 지역과 조사 시기

본 연구는 충남 태안반도에 위치한 근소만(126.1799°E, 36.7367°N)에서 간조 시에 2016년 10월부터 2017년 10월까지 총 16회에 걸쳐 실시하였다(Fig. 1). 근소만은 조석의 영향을 받는 반폐쇄성 만으로 태안군의 근흥면과 소원면 사이에 위치한다. 전체 면적은 약 87 km² 이며, 평균 조차는 6 m, 평균 해면 높이는 3.55 m 이다. 만은 남서-북동 방향으로 형성되어 있으며, 전체 길이는 10 km, 폭은 2.5~6 km이다. 간조 시 갯벌 면적의 70~90%는 대기 중에 노출되며, 만조 시에는 2~4 m의 수심

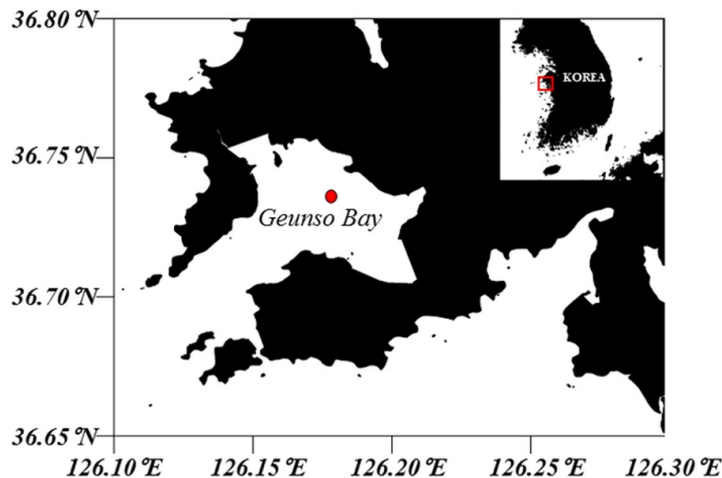


Fig. 1. Location of tidal flat at the Geunso Bay and sampling site (red point).

을 유지한다. 만 내 퇴적물의 퇴적상은 대부분 사질 실트(sandy silt)로 구성되어있다. 육상으로부터 근소만으로 직접 유입되는 하천이 없기 때문에 외해와 약 2 km 폭의 만 입구를 통해서 제한적인 해수 순환이 이루어진다(Kim and Kim, 2008; KIOST, 2010; Choi *et al.*, 2016). 연구 정점은 중부조간대에 속하며, 관측타워가 설치되어 있어 만조 시에도 환경 측정이 가능하다.

2.2 시료채취 및 광합성 색소 분석

간조 시에 연구 정점에서 직경 21 mm, 길이 15.4 cm의 아크릴 코어를 사용하여, 총 3개의 퇴적물 시료를 채집하였다. 시료의 균질화를 위해 각 코어는 상부 1 cm를 잘라 하나의 conical tube에 모은 후, 혼합하여 시료의 용도에 따라 sub-sampling하였다. Sub-sample들은 모두 HPLC 분석 전까지 초저온 냉동고(-80°C)에 보관하였다. 광합성 색소의 정량분석을 위해 시료 모두 -45°C 에서 8~10시간 동안 FDU-1200 동결 건조기(EYELA, Japan)를 이용하여 동결 건조하였다. 퇴적물 시료는 동결 건조 과정을 거치면 추출 효율이 극대화된다(Buffan-Dubau and Carman, 2000). 식물플랑크톤 광합성 색소의 추출을 위한 용매로는 95% 아세톤(Junsei, Japan)을 이용하였으며, cell의 파쇄를 위하여 5분간 초음파 분쇄(sonication)를 실시한 후, 24 시간 동안 냉암소(-2°C)에 보관하였다. 추출된 시료는 syringe filter (PTFE, 0.2 μ m, Hydrophobic)를 이용하여 여과 후, HPLC 측정에 사용되었다. 광합성 색소 분석에는 Shimadzu LC-20A HPLC system (Shimadzu, Japan)이 이용되었으며, 전체적인 운용 조건들은 Zapata *et al.*(2000)에 제시된 방법에 따랐다(Table 1). HPLC 분석 시에는 추출된 시료 1 mL에 water packing을 위해 HPLC 등급 water (J.T.Baker, USA) 400 μ L를 혼합하였으며, 분석 결과의 검증을 위해 internal standard (canthaxanthin) 50 μ L을 투입하였다. Injection volume은 200 μ L으로 설정하였다. detector는 photodiode array detector (PAD)를 사용하여 정성 및 정량 분석하였다. Chromatogram의 peak에 대한 동정은 22개 표준색소(chlorophyll *a* (Chl *a*), chlorophyll *b* (Chl *b*), chlorophyll *c*₂ (Chl *c*₂), chlorophyll *c*₃ (Chl *c*₃), divinyl chlorophyll *a* (DV Chl *a*), chlorophyllide *a* (Childe *a*), phaeophytin *a* (Phytin *a*), phaeophorbide *a* (Phide *a*), α -carotene (α -Car), β -carotene (β -Car), 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco), 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco), fucoxanthin (Fuco), diatoxanthin (Diat), diadinoxanthin (Diadino), peridinin (Perid), neoxanthin (Neo), prasinoxanthin (Pras), violaxanthin (Viola), alloxanthin (Allo), zeaxanthin (Zea), lutein (Lut); (DHI co., Denmark))와 retention time을 비교하여 결정하였다. 다음의 색소정량식은 Woods Hole(1997)에 따라 계산하였으며 이 중에서 Response Factor (RF)값은 DHI사에서 표기된 표준색소 농도를 참고하여 구하였다(식 (1)).

$$RF = \frac{(Cs)(IV)}{A} \quad (1)$$

RF = standard response factor (ng unit area⁻¹)

Cs = pigment standard concentration (ng μ L⁻¹)

IV = injection volume (μ L)

A = integrated peak area

Table 1. HPLC column and solvent system (Zapata *et al.*, 2000)

Column	Waters Symmetry C ₈ column (150×4.6 mm, 3.5 μ m particle size)
Solvent A	Methanol:Acetonitrile:Aqueous pyridine (50:25:25 v:v:v)
Solvent B	Methanol:Acetonitrile:Acetone (20:60:20 v:v:v)

각각의 색소 농도는 다음과 같은 식을 통해 정량하였다(식 (2)와 식 (3)).

$$C_i = A (RF) \left(\frac{1}{IV}\right) (EV) \left(\frac{1}{SV}\right) (D) \tag{2}$$

C_i = individual pigment concentration (ng L⁻¹)

A = integrated peak area

RF = standard response factor (ng unit area⁻¹)

IV = injection volume (mL)

EV = extraction volume (mL)

SV = sample filtration volume (L)

D = dilution factor

$$D = \frac{\frac{IV}{V_o}}{\frac{IV}{V_s}} \tag{3}$$

IV = injection volume of standard or sample

V_o = Total standard solution volume (μL)

V_s = Total sample solution volume (μL)

본 연구에서 총 Chl *a* (TChl *a*)는 HPLC 분석을 통해 Chl *a* 계열 색소를 합친 것을 의미하며 Chl *a*는 Chl *a*만의 농도를 의미한다. 따라서 총 Chl *a*는 다음의 식으로 구하였다(NASA, 2012; 식 (4)).

$$TChl a = Childe a + Chl a \text{ allomer} + DV Chl a + MV Chl a + Chl a \text{ epimer} \tag{4}$$

2.3 퇴적층 내 Chl *a* 연직분포 측정

퇴적층 내 Chl *a* 연직분포를 측정하기 위해 조사위치에서 채취해 온 1개의 코어를 퇴적물 표면부터 2 mm 단위로 총 14 mm까지 잘랐다. 2017년 2월 1일과 7월 26일 자료는 시료채집을 하지 않아 1년 간 총 14회 조사했다. Chl *a* 퇴적물 시료는 -45°C 에서 8~10시간 동안 동결 건조한 뒤 Turner 10-AU fluorometer (Turner Designs, USA)로 Chl *a*을 측정했다. Chl *a* 측정 시 산을 첨가한 산화형광법을 사용했다(EPA, 1997). 10% HCL 65 μl 첨가 전, 후의 형광값을 이용하여 Chl *a* 농도값을 산출하며, 그 식은 아래와 같다(식 (5)).

$$Chl a = K (F_m / F_m - 1) \times (F_b - F_a) \times (v / V) \tag{5}$$

K= sensitivity coefficient, equal to 1 on 10-AU

F_m = max acid ratio F_b/F_a of pure chlorophyll a standard

F_b = fluorescence before acidification

F_a = fluorescence after acidification

v = extract volume (L)

V = volume filtered (L)

2.4 퇴적물 내 산소 농도의 연직분포 측정

산소미세전극(oxygen microoptodes)은 미세조류의 생식 환경을 변형시키지 않고 산소 농도를 측정하므로 1990년대 이후 광범위하게 이용되고 있다(KIOST, 2010). 본 연구에서는 Oxygen Microoptode (Opto-MR, Unisense, Denmark)을 이용해 퇴적층 내 산소 농도도 함께 측정하였다. Oxygen Microoptode는 field Motor (Unisense, Denmark)에 연결된 In Situ Stand (IS19, Unisense, Denmark)를 이용해 햇빛을 바라보도록 설치하여 그림자에 의한 값의 변동이 없도록 하였고, 센서는 퇴적물 표면에서 수직이 되게 고정하였다. 자료는 50~100 μm 간격으로 3 mm 깊이 이상, 산소 농도 변화가 크게 없을 때까지, 1시간 간격으로 측정되었다. 데이터는 Field Microsensor Multimeter (Unisense, Denmark)에 저장되었다. PAR (photosynthetic active radiation)는 LI-190R quantameter와 LI-1400 data logger (LI-COR, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 저서미세조류 현존량의 월별 변동과 Chl *a* 분해산물로 추정된 포식압의 특성

근소만 연구정점에서 2016년 10월부터 2017년 10월까지 퇴적물 표면부터 1 cm까지의 TChl *a* 농도는 40.4~218.9 mg m^{-2} 의 범위를 보였고 평균 농도는 $98.2 \pm 48.6 \text{ mg m}^{-2}$ 였다(Fig. 2). 관측기간 동안 근소만의 TChl *a* 농도의 범위는 타 지역 결과에

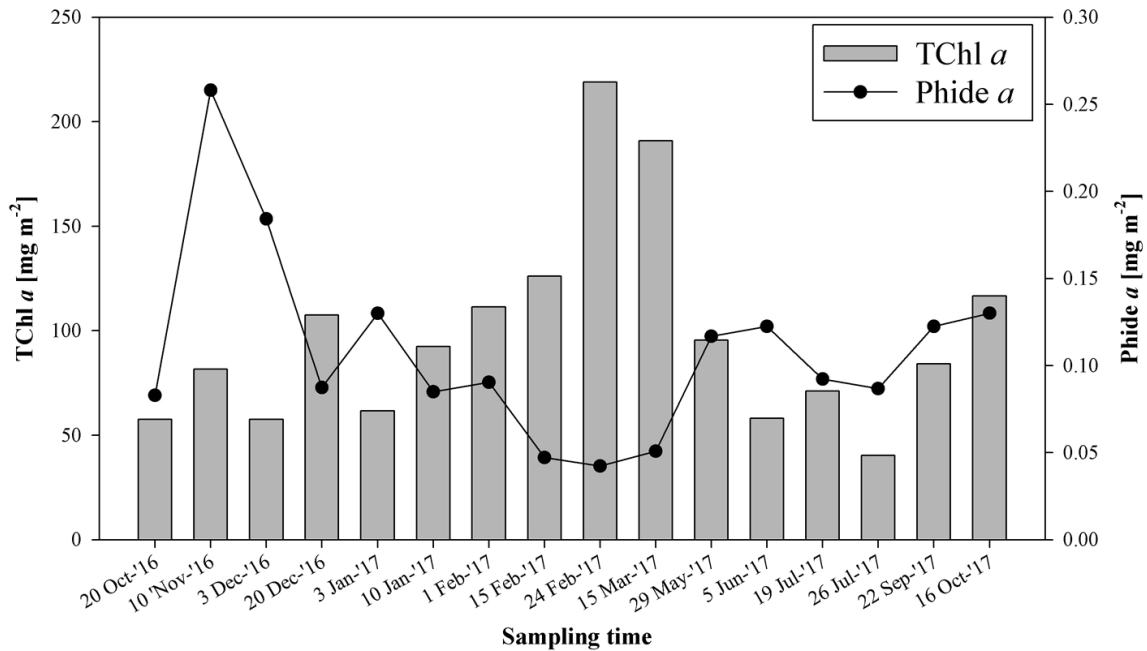


Fig. 2. Monthly variation of the total chlorophyll a and phaeophorbide a concentrations from Oct. 2016 to Oct. 2017 in Geunso Bay tidal flat.

Table 2. List of sediment chlorophyll contents (modified from MacIntyre *et al.*(1996)). The number displayed in the duration column indicates the number of months measured, and the survey was conducted once a month. The contents in brackets in the chlorophyll *a* content column mean the average value of chlorophyll *a* content

Location	Latitude	Duration (months)	Thickness (mm)	Chlorophyll <i>a</i> content (mg m ⁻²)	Source
Dutch Wadden Sea, Netherlands	53°05'N	57	10	30-420 (102) ^a	Cadée and Hegeman (1974)
Netarts Bay, US	45°25'N	12	10	10-315 (138) ^a	Davis and McIntire (1983)
Golfe de Fos, France	43°23'N	28	10	<1-75 (53) ^a	Plante-Cuny and Bodoy (1987)
Ria de Arosa, Spain	42°24'N	14	10	30-103 (14) ^a	Varela and Penas (1985)
Boston Harbor, US	42°19'N	14	10	50-330 (26) ^a	Gould and Gallagher (1990)
Potter Pond Lagoon, US	41°23'N	12	10	10-460 (30)	Nowicki and Nixon (1985)
Long Island Sound, US	41°00'N	13	10	2-225 (30) ^a	Sun <i>et al.</i> (1994)
Delaware Estuary, US	38°45'N	12	10	79-166 (36)	Sullivan and Daiber (1975)
Isshiki tidal flat, Japan,	34°46'N	12	10	83-149 (112.4)	Goto <i>et al.</i> (2000)
Peel-Harvey Estuary, Western Australia	32°21'N	16	10	30-560 (115) ^a	Lukatelich and McComb (1986)
Ganghwa Island, Korea	37°60'N	8	10	1.18-34.25 (7.60)	Yoo and Choi (2005)
Geunso bay, Korea	36°44'N	16	10	40.4-218.9 (98.2)	This study
Mangyung tidal flat, Korea	35°55'N	4	5	0.69-32.11 (8.27)	Oh <i>et al.</i> (2004)
Hampyeong Bay, Korea	35°05'N	24	1	27-65 (32.2)	Lee (2013)
Gwangyang Bay, Korea	34°55'N	10	5	3.44-169 (37.5)	Lee <i>et al.</i> (2009)

^a Estimated from a figure

비해서는 유사하거나 다소 높은 양상을 보였는데(Table 2), 이는 저서미세조류의 현존량에 영향을 미치는 요인이 다양하기 때문이다. 환경적 요인에는 조석주기에 따른 퇴적물의 대기노출시간, 퇴적물의 입도, 광량, 온도, 영양염류, 포식압 등 여러 가지가 있으며(Lee *et al.*, 2009), 이 외에도 색소의 추출방법과 색소농도의 계산방법에 따라서도 값의 차이가 날 수 있다. 본 연구에서는 추출 효율을 높이고, 공극수의 영향을 최소화하기 위해 색소 추출 전, 동결건조를 실시하였다. 또한 정확한 저서미세조류 현존량을 대변하기 위해 Childe *a*의 농도 값도 포함된 총 Chl *a*를 구하였기 때문에 타 지역의 결과와 차이가 있을 수 있다.

계절별 변화를 살펴보면, 근소만에서 TChl *a*농도는 동계에 최대치를 보였고, 춘계부터 감소하다가 추계에 서서히 증가하였다. 일반적으로 북반구 온대지역의 경우, 수층에 존재하는 식물플랑크톤의 현존량은 동계에 주로 낮은 농도를 보이지만, 퇴적층에 사는 저서미세조류는 보통 동계에 높은 현존량을 보인다(Colijn and de Jonge, 1984; de Jonge and Colijn, 1994). 하지만 모든 해역에서 적용되는 것은 아니다. 광양만 갯벌에선 반대로 동계에는 현존량이 낮고 하계에 높게 나타났으며, 이러한 결과는 하계의 높아진 광량과 온도 때문으로 보았다(Lee *et al.*, 2009). 반면 강화도 갯벌에서는 동계에 저서미세조류의 대증식 현상이 나타나고 춘계부터 최저 현존량이 관측되어 본 연구결과와 유사하였다(Yoo and Choi, 2005). Oh *et al.* (2004)에 따르면, 새만금 지역에서도 이곳과 마찬가지로 동계에 저서미세조류의 bloom이 발생하며, 11월인 추계에 다소 작은 규모의 bloom이 나타났다고 보고했다.

Chl *a*는 상위소비자의 위(gut) 속에서 산환경에 의해 분해되면, 엽록소 중심의 마그네슘이 빠져나가 Phytin *a*가 되고 여기에 Phytol까지 떨어져 나가면 Phide *a*가 된다(Bidigare *et al.*, 1986). 따라서 Phide *a* 농도는 상위포식자에 의한 포식압 (grazing intensity) 정도를 추정할 수 있는 지표로 사용될 수 있다(Bidigare *et al.*, 1986; Burkill *et al.*, 1987). 월별로 Phide *a*

농도를 TChl *a*와 함께 나타내었는데, Phide *a* 농도가 2월 15일부터 3월 15일까지 낮은 값이 나타났다(Fig. 2). 일반적으로 서해안 갯벌에서 저서미세조류를 먹이로 삼는 저서동물의 서식 밀도는 하계에 높고, 동계에는 기온 저하와 같은 계절적인 변화에 의해 낮아지는 것으로 알려져 있고(Kim *et al.*, 2005; Min *et al.*, 2006), 본 연구 지역에서 수행된 선행연구에서도 중형저서동물의 계절별 서식 밀도는 동계에 가장 낮았다고 보고되어있다(Shin *et al.*, 2016). 따라서 저서미세조류의 동계번성(winter bloom) 현상에 상위포식자의 낮은 포식압이 어느 정도 기여하는 것으로 판단된다.

3.2 지시색소를 통해 본 근소만의 저서미세조류 군집구성

2016년 10월부터 2017년 10월까지 근소만에서 각 보조색소(accessory pigment)별 연 평균 농도를 구했다(Table 3). HPLC로 분석한 색소는 총 22개이다. Chl *c*₃와 DV Chl *a*는 검출되지 않았다. TChl *a*에 대한 보조색소들의 상대비를 살펴보면, Fuco가 보조색소 중에서 가장 큰 비율인 0.30으로 나타났고, 그다음으로 상위포식자에 의한 포식압의 지표색소로 사용되는 Phide *a*와 광보호색소인 Diadino 순으로 검출되었다.

총 20개 보조색소 중에서 주요지시색소를 9개를 골라 월별 농도를 Fig. 3에 나타냈다. 연중 Fuco의 농도가 가장 높았다. Fuco, Zea, Allo의 연중 농도 변화는 TChl *a*의 연중 농도 변화 양상과 비슷하였다. But-fuco와 Hex-fuco의 농도는 모두 2월 24일에 최대로 나타났다. Chl *b*는 10, 11월에 높은 농도로 유지되는 경향이 있었으며, 2017년 10월에 3.305 mg m⁻²로 최대

Table 3. The Average concentration of photosynthetic pigments analyzed by HPLC and The ratio of accessory pigments to total chlorophyll *a* in Geunso Bay tidal flat

Pigments	Average (±S.D) [mg m ⁻²]	Relative ratio to TChl <i>a</i>
Total chlorophyll <i>a</i> (TChl <i>a</i>)	98.22 (± 48.55)	1.0000
Fucoxanthin (Fuco)	29.99 (±18.43)	0.2993
Phaeophorbide <i>a</i> (Phide <i>a</i>)	7.944 (±4.729)	0.0793
Diadinoxanthin (Diadino)	7.553(±6.949)	0.0754
β -Carotene (β -Car)	6.319 (±1.870)	0.0631
Diatoxanthin (Diat)	4.141(±2.240)	0.0413
Zeaxanthin (Zea)	3.907 (±2.107)	0.0390
Chlorophyllide <i>a</i> (Chlide <i>a</i>)	3.383 (±1.530)	0.0338
19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco)	3.241 (±1.570)	0.0324
Phaeophytin <i>a</i> (Phytin <i>a</i>)	2.976 (±0.848)	0.0297
Alloxanthin (Allo)	2.812 (±1.529)	0.0281
Chlorophyll <i>b</i> (Chl <i>b</i>)	2.120 (±0.877)	0.0212
19'-hexanoyloxyfucoxanthin (Hex-fuco)	1.061 (±0.348)	0.0106
Chlorophyll <i>c</i> ₂ (Chl <i>c</i> ₂)	0.969 (±0.375)	0.0097
Prasinolanthin (Pras)	0.750 (±0.513)	0.0075
Lutein (Lut)	0.705 (±0.212)	0.0070
Peridinin (Perid)	0.577 (±0.319)	0.0058
Violaxanthin (Viola)	0.517 (±0.331)	0.0052
Neoxanthin (Neo)	0.354 (±0.109)	0.0035
α -Carotene (α -Car)	0.319 (±0.105)	0.0032

농도가 나타났다. Lut은 2월 17일에 1.446 mg m⁻²로 최대값이 나타났던 것을 제외하면 연중 농도의 큰 변화가 없었다. Perid는 1.434 mg m⁻²로 5월에 최대농도가 나타났다. Viola는 11월과 1,2,3월에 높은 값이 나타났고 3월에 1.155 mg m⁻²로 최대값을 보였다.

Fig. 4에는 TChl a에 대한 지시색소별 기여도의 월별 변동을 나타내었다. 규조류(Bacillariophytes)의 주요색소인 Fuco의 TChl a에 대한 상대비는 연중 가장 높은 값으로 나타났다. 한편, Fuco를 제외한 나머지 보조색소들의 TChl a에 대한 상대비는 모두 0.10 미만의 낮은 값을 보였다. 펠라고조류(pelagophytes)의 보조색소인 But-fuco의 TChl a에 대한 상대비는 11월, 1월과 5월에 증가하는 추세를 보였다. 또한 각각 남세균(cyanobacteria)와 와편모조류(dinoflagellates)의 주요색소인 Zea/TChl a와 Perid/TChl a의 비율은 5월과 6월에 최대값이 나타났다. 녹조류(chlorophytes)와 유글레나류(euglenophytes)가 주요색소로 가지고 있는 Chl b/TChl a와 Lut/TChl a의 비율은 2016년 10월에 최대, 2월 15일에 최소, 하계 증가로 유사한 변동양상을 보였다. Viola/TChl a의 비는 적지만 연중 검출되는 것으로 보아 Fuco와 Viola를 주요색소로 가지는 황색편모조류(chrysophytes)가 출현하고 있는 것으로 생각된다. Hex-fuco와 Allo는 각각 착편모조류(prymnesiophytes)와 은편모조류(cryptophytes)의 지시색소로 근소만에서 연중 낮은 비율로 출현함을 확인할 수 있었다.

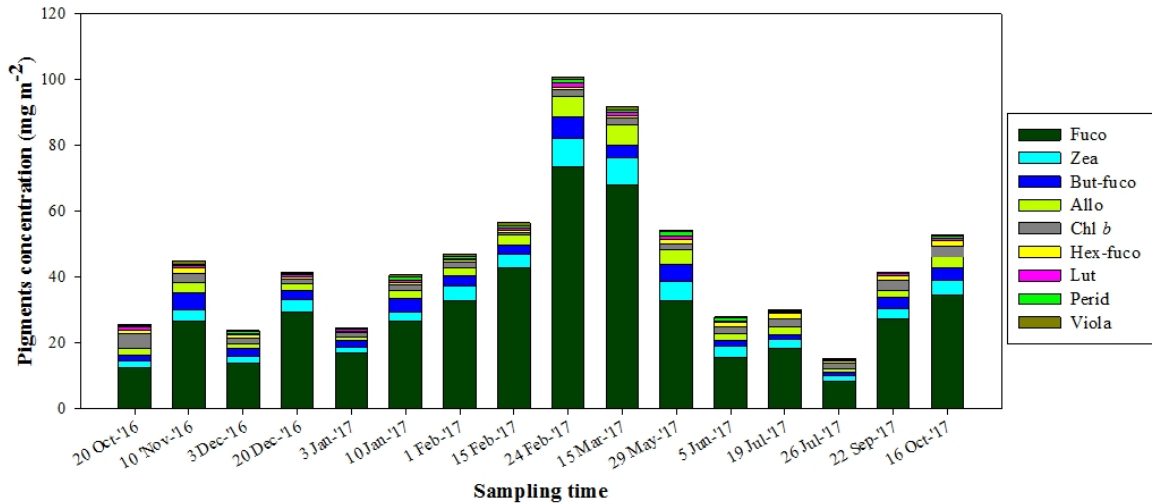


Fig. 3. Monthly variation of marker pigments concentrations from Oct. 2016 to Oct. 2017 in Geunso Bay tidal flat.

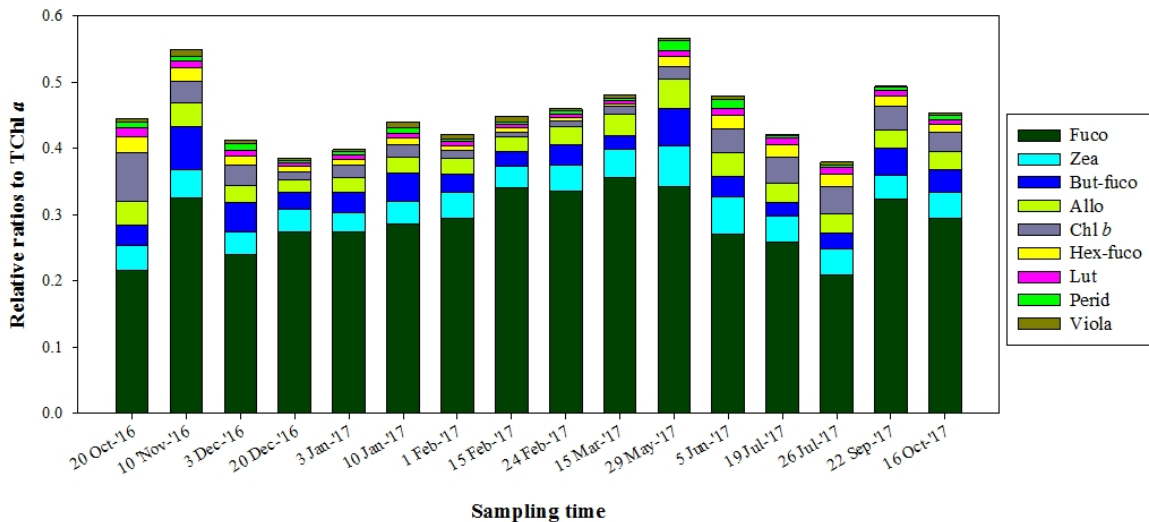


Fig. 4. Monthly variation of ratios of marker pigments to total chlorophyll a from Oct. 2016 to Oct. 2017 in Geunso Bay tidal flat.

연구정점에서의 저서미세조류 군집은 규조류, 펠라고조류, 남세균, 외편모조류, 녹조류, 유글레나류, 황색편모조류, 착편모조류, 그리고 은편모조류로 구성되어 있었다. Chl *b*, Perid을 제외한 대부분의 지시색소들의 농도는 동계에 증가하는 경향이 있었으나, Chl *b* 농도는 동계에 가장 낮았다가 추계에 가장 높았고, Perid는 5월인 춘계에 가장 높았다. Fuco를 제외한 모든 색소들의 TChl *a*에 대한 상대비는 동계에 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 녹조류와 외편모조류를 제외한 분류군의 현존량은 동계에 다소 증가하지만, 그 중에서도 저서규조류의 현존량 증가가 동계번성에 가장 큰 영향을 주었을 것으로 예상된다. 본 연구 결과에 나타난 것과 같이 대부분의 선행연구에서도 갯벌 퇴적층에서 저서규조류의 지시색소인 Fuco가 연중 가장 높은 농도로 나타났다. 또한 Perid가 온도가 높아지면서 TChl *a*에 대한 상대기여도가 다소 증가하는 점은 타 지역의 결과와 유사한 경향을 보였다(Barranguet *et al.*, 1997; Lee, 2001; Oh *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2009; Lee, 2013).

저서규조류의 지시색소인 Fuco의 농도가 다른 지시색소에 비해 동계에 더 많이 증가하는 이유는 저서규조류가 낮은 온도에 잘 적응하여 심지어 극지방에서도 흔하게 출현하기 때문인 것으로 생각된다. Hejduková(2016)는 -4°C 에서도 규조류가 모두 살아남았으며, -20°C 에서도 대부분 살아있었다고 보고했다. 또한 Larras *et al.*(2014)에서는 동계의 저서미세조류 군집은 높은 현존량을 보였을 뿐만 아니라 저서규조류의 종풍부도(species richness)와 다양성(diversity), 균등도(evenness)도 또한 하계에 비해 더 높게 나타났다고 보고하였다. 이처럼 낮은 온도에서 잘 견디기 위해서 저서규조류는 동계에 체외고분자물질(Extracellular polymeric substances, EPS)를 더 많이 생산하는 것으로 알려져 있다. EPS는 다당류와 아미노산, 단백질 물질로 구성되어있어 저서규조류의 세포를 보호해주는 역할을 한다(Welsh, 2000, Krembs *et al.*, 2011, Hejduková, 2016).

3.3 저서미세조류 연직분포의 월별 변동 특성

저서미세조류의 연직분포의 월별 변화를 파악하기 위해 Chl *a* 측정된 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 퇴적층 깊이 0~10 mm에서 HPLC로부터 얻은 TChl *a* 농도와 형광광도계로부터 측정된 Chl *a* 농도의 월별 변동은 유사하게 나타났다($R^2=0.81$). 월별 Chl *a* 연직분포를 살펴보면, 일반적으로 퇴적층 표면에서 깊이가 깊어질수록 Chl *a* 값도 함께 감소하는 경향을 보였으나 조사 시기에 따라 Chl *a* 농도가 최대값을 보이는 깊이는 변하였다. 2016년 10월 20일과 2017년 1월 3일에는 2~4 mm에서, 2017년 5월 29일에는 10~12 mm에서 Chl *a* 농도가 최대를 보였다. 나머지 기간에는 0~2 mm에서 Chl *a* 값이 최대로 나타났다. 특히 TChl *a* 농도가 높았던 2월 24일에는 전체 Chl *a* 농도 중 49%가 0~2 mm에서 나타나 가장 퇴적층 최상부에 밀집된 분포를 보였다. TChl *a* 값이 감소했던 5월 29일은 0~10 mm까지 균일하게 분포하였다. 이러한 이유로 6~10 mm 구간에서는 5월에 가장 높은 TChl *a* 값을 보이는 것을 확인할 수 있었다.

근소만 퇴적물 내 산소 농도 분포는 퇴적물 표면으로부터 0~1 mm 구간에서 전체 산소 농도 중 $71.5\pm 12.6\%$ 로 집중적으로 나타났다(Fig. 6). 이는 최대 산소 농도가 표층 0.1~0.5 mm 깊이에서 대부분 관찰된 선행 연구들과 유사하였다(Nielsen *et al.*, 1990; Kühl *et al.*, 1996; Hwang and Cho, 2005). 산소 농도 분포 깊이는 동계인 1월과 2월에 약 4.5 mm로 최대값을, 5월에 약 1.5 mm로 최소값을 보여 시간적인 변동이 있음을 확인했다. 장화리와 동막리 갯벌, 인천 북항 갯벌의 경우에도 산소 농도 분포 깊이가 이른 하계에 낮아지는 경향이 있었고, 그 원인을 하계 기간 저서 미생물의 활발한 활동으로 보았다(Hwang and Cho, 2005). 시간별 산소 농도 변화를 살펴보면, 보통 오전에서 오후로 갈수록 퇴적물 상층부에 산소 농도가 증가함에 따라 저서미세조류 광합성률의 증가가 있었던 것으로 추정되며, 저서미세조류가 상층으로 연직 이동을 했을 가능성이 있다. Denis *et al.*(2012)에서도 이와 비슷한 산소 농도 분포의 변동이 나타났고, 순광합성률 또한 낮 동안 간조 시에 퇴적물 상층부의 산소 농도가 시간이 갈수록 증가하고, 만조가 되기 전 급격히 감소하는 경향을 보여, 산소미세전극을 이용한 저서미세조류의 연직 이동을 관측한 바 있다. 그러나 퇴적물 내 산소 농도에 영향을 주는 요인에는 퇴적물 입도와 퇴적물 유광층, 및 저서

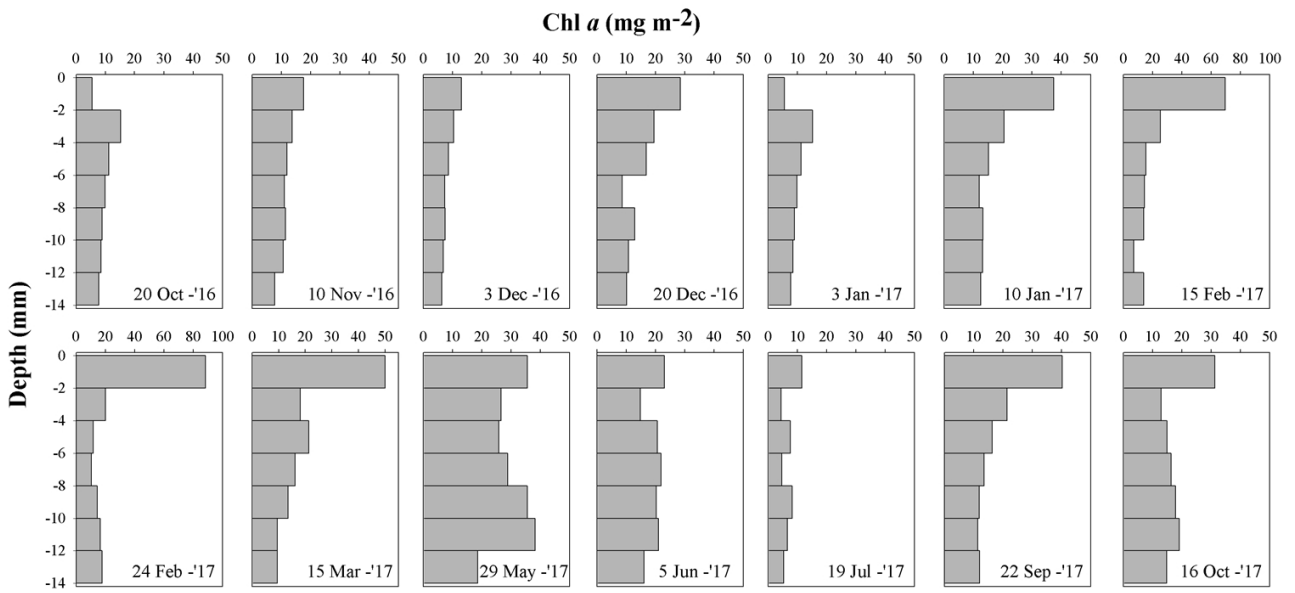


Fig. 5. Monthly variation of vertical chlorophyll *a* contents profile from Oct. 2016 to Oct. 2017 in Geunso Bay tidal flat.

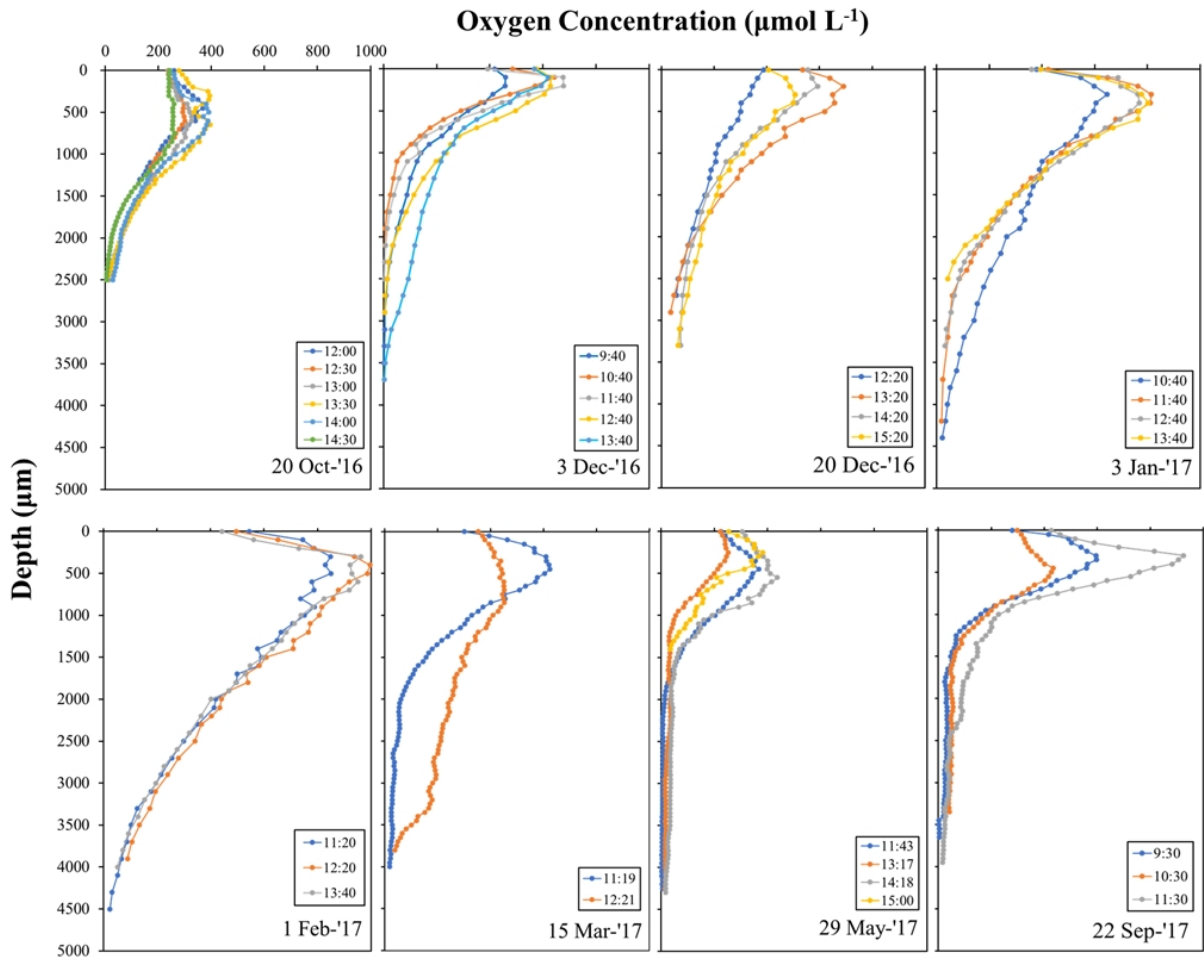


Fig. 6. Oxygen profiles obtained from Geunso Bay tidal flat.

미세조류의 광합성 저서미세생물의 산소 호흡 등 여러 가지 요인들이 복합적으로 영향을 미친다(Hwang and Cho, 2005). 따라서 저서미세조류의 연직 이동에 의한 산소증감을 확인하기 위해서는 후속연구에서 Low temperature scanning electronmicroscopy (LTSEM)을 이용한 시간별 퇴적물 표층 내의 저서미세조류의 관측(Jesus *et al.*, 2005)과 여러 이화학적 요인들을 함께 측정해야 할 필요가 있는 것으로 사료된다.

저서미세조류가 출현되는 퇴적물의 깊이를 변화시키는 요인에는 여러 가지가 있다. 주요인은 퇴적물의 특성에 따른 광 투과 깊이의 차이이며 이 외에 하루 중에도 10°C 이상 변화하는 온도나 퇴적물 속 무산소층의 깊이, 조석 주기, 저서미세조류의 내생이동리듬(endogenous migratory rhythms), 저서규조류의 성장형(growth form) 혹은 분류군에 따른 연직 이동 능력의 차이에 의해서도 변화된다(Seródio *et al.*, 1997; Underwood and Kromkamp, 1999; Perkins *et al.*, 2002; Yun *et al.*, 2009; Du *et al.*, 2010). 현재까지 연직 이동의 패턴을 보여준 분류군에는 저서규조류, 와편모조류, 유글레나류, 남세균, 황갈조류가 있다(Admiraal, 1984; Raven *et al.*, 1992; Hay *et al.*, 1993; Jönsson *et al.*, 1994; Consalvey *et al.*, 2004). 유글레나류 중 이동능력이 높은 종의 경우에는 한 조석주기 동안 30 cm 깊이까지 하강 이동이 가능하다는 보고도 있다(Kingston and Gough, 2009). 또한 퇴적층 속에서 남세균 군체는 저서규조류보다 아래에 출현함으로써 저서미세조류의 군집이 두 개의 층으로 분리되어 나타나기도 한다(Wiltshire *et al.*, 2000).

하지만 보통 저서규조류가 저서미세조류 중 최우점하여 현존량의 대부분을 차지하기 때문에 퇴적층 깊이에 따른 저서미세조류의 군집조성의 변동성은 크지 않다(Barranguet *et al.*, 1997). 또한 2월 24일 자 퇴적물 코어 시료는 형광광도계와 함께 HPLC 분석을 함께 수행하였는데, TChl *a*와 Fuco의 연직 농도 분포가 매우 높은 상관관계($R^2=0.99$)를 보였고, 관측 깊이의 모든 층에서 보조색소 중 Fuco 농도가 가장 높게 관측되었다(Data not shown). 기존 문헌에 따르면, 퇴적물 최상부에서 발견되는 저서규조류의 반 이상이 진흙착생생물(motile epipelton)이며, 2~10 mm 깊이에 있는 저서규조류의 90~97%가 사생생물(episammon)이라고 한다(Kingston, 1999, 2002; Du *et al.*, 2010). 이처럼 퇴적물 속에 묻힌 저서규조류는 낮은 대사작용으로 오랫동안 생존이 가능하며 퇴적물이 세립한 지역에선 퇴적물 깊이 최대 4.2 cm까지, 퇴적물이 조립한 지역에선 퇴적물 깊이 8~10 cm에서도 저서미세조류의 생물활동이 관찰된다고 보고되었다.

본 조사에서는 춘·하계에 속하는 2017년 5~7월이 다른 기간에 비해 Chl *a*가 더 깊은 수심까지 분포하였고(Fig 5), 특히 5월은 12 mm 깊이까지 연직으로 균일하게 Chl *a* 농도가 높았으나, 5월의 산소 농도 분포는 1 mm 이하에서 급격하게 감소하였다. 따라서 5월에 저서미세조류는 높아진 광량에 따라 광저해를 피해 퇴적물 아래로 하강이동을 했을 가능성도 있지만, 그보다 상위포식자에 의한 생물교란에 의해 퇴적물 아래로 저서미세조류 세포가 이동되었을 가능성이 더 높다. 같은 시기에 Phide *a* 농도도 비교적 높게 나타나 저서동물의 생물활동이 높았을 것이라 추정되며 이 때문에 산소소비가 증가하였을 것이다(Fig. 2). 낙동강 하구역에서 실시된 조사에서도 퇴적층 내 Chl *a* 값이 표층으로부터 1 cm 깊이까지 높은 농도를 보이며, 값의 계절적인 변동은 2 cm 깊이까지 나타났다. 하계와 추계에 일부 정점에서는 Chl *a*보다 Phide *a*의 농도가 더 높게 나타나 상위포식자에 의한 포식활동이 활발했던 것으로 추측했고, 간조 시 낮 동안 시료채취를 했음에도 불구하고 2007년 4월에는 5~6 mm 깊이에서 Chl *a*가 측정되었다고 보고했다(Du *et al.*, 2010). 이를 통해 춘·하계에 저서미세조류가 퇴적물 유평층 이하의 깊이에서 발견되는 것은 저서미세조류의 연직 이동에 의한 결과가 아닐 가능성이 있는 것으로 보인다.

3.4 광보호색소 상대비를 통해 알 수 있는 저서미세조류의 광적응의 월별 특성

근소만에서 측정된 DD+DT에 대한 DT의 상대비(DT/(DD+DT))의 범위는 0.21~0.66, 평균은 0.41±0.13로 나타났다. (DT/(DD+DT))는 10월에서 3월로 갈수록 감소하며, 2월에 가장 낮고, 5월부터 증가하여 7월까지 높은 값을 유지했다(Fig. 7).

Tagus 하구역에서도 월별로 관측한 저서미세조류의 DT/(DD+DT) 상대비 범위는 본 연구결과와 유사하였고, 2월에 가장 낮고, 5월에 증가하는 변동양상도 일치하였다(van Leeuwe *et al.*, 2008). 동계번성기에 현존량이 높은 경우에는 두껍고 밀집된 biofilm을 주로 형성하는데 biofilm의 최상부에는 상대적으로 이동 능력이 적고 노쇠한 저서미세조류가 남고, 그 아랫부분에는 이동 능력이 활발한 저서미세조류들이 위치하게 된다. 상부의 다른 저서미세조류 세포들에 의해 하부에 위치한 저서미세조류가 받는 광량은 줄어들고, 따라서 xanthophyll cycle에 의한 색소 전환도 활발하지 않았을 것으로 추정된다(Kromkamp *et al.*, 1998; Perkins *et al.*, 2002; Forster and Kromkamp, 2004). Demers *et al.*(1991)에 따르면, 저서규조류는 와편모조류에 비해 광조건에 대해 민감도가 낮기 때문에 상대적으로 xanthophyll cycle의 활성화 정도가 낮게 나타난다고 보고된다. 특히 3월은 Fuco 농도가 67.95 mg m^{-2} 으로 다른 달에 비해 2~8배 높게 나타났으므로 낮은 xanthophyll cycle의 활성을 보이는 것으로 추정된다. 또한 이 시기에는 이동을 비교적 자유롭게 할 수 있는 *Navicula*와 *Nitzschia*와 같은 진흙착생생물(motile epipelton)이 우점하는데(Pesce *et al.*, 2009; An *et al.*, 2017; 2018), 이들은 광적응 기작으로써 연직 이동을 선호하는 특성이 있다(Du *et al.*, 2010). 2017년 5월 이후로는 다시 저서미세조류의 현존량의 감소로 인해 밀집된 biofilm의 형성이 어렵고, 저서규조류의 지시색소 농도가 2배 이상 감소한 것으로 보아, 저서규조류의 현존량이 감소하였으며, 이로 인해 xanthophyll cycle의 활성이 다소 증가함을 알 수 있다. 근소만에서 2016년 10월에 (DT/(DD+DT)) 상대비가 가장 높게 나타났던 것은 흐린 날씨 탓에 오후 약 1~2시경 PAR값이 $213\sim 216 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 으로 낮은 값을 보이다가 3시경에 다시 $714 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 짧은 시간 PAR값이 높아진 탓에 DT의 양이 일시적으로 증가한 결과로 추정된다. 이러한 가능성은 추후에 근소만에서 시간별 광량에 따른 DT와 DD의 상대비 변화에 대한 추가적인 조사를 통해 확인할 필요가 있다.

사 사

본 연구는 김은영(2018)의 한국해양대학교 해양과학기술전문대학원 해양과학기술융합학과 해양생태학 석사학위 논문의 일부를 발췌하였습니다. 더불어 한국해양과학기술원의 연구비 지원(PE99611, PE99512)에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

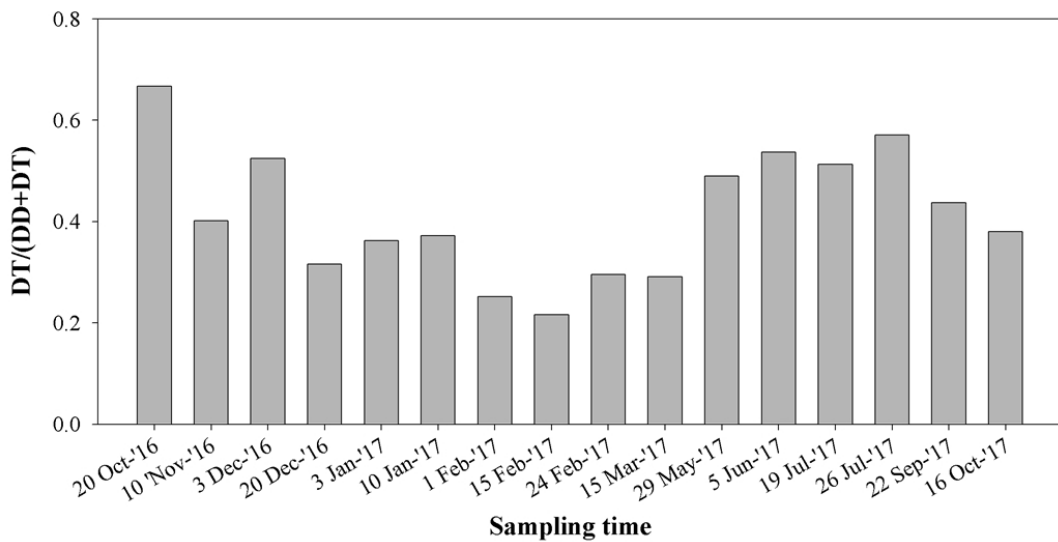


Fig. 7. Monthly variation of DT/(DD+DT) relative ratios from Oct. 2016 to Oct. 2017 in Geunso Bay tidal flat. Abbreviations: DD=diadinoxanthin; DT=diatoxanthin.

참고문헌(References)

- An, S.M., D.H. Choi, H. Lee and J.H. Noh, 2017. Identification of benthic diatoms isolated from the eastern tidal flats of the Yellow Sea: Comparison between morphological and molecular approaches. *Plos one*, **12**(6): e0179422.
- An, S.M., D.H. Choi, H. Lee, J.H. Lee and J.H. Noh, 2018. Next-generation sequencing reveals the diversity of benthic diatoms in tidal flats. *Algae*, **33**(2): 167-180.
- Admiraal, W., 1984. The ecology of estuarine sediment inhabiting diatoms. *Prog. phycol. Res.*, **3**: 269-322.
- Barranguet, C., P.M.J. Herman and J.J. Sinke, 1997. Microphytobenthos biomass and community composition studied by pigment biomarkers: importance and fate in the carbon cycle of a tidal flat. *J. Sea. Res.*, **38**: 59-70.
- Bebout, B.M. and F. Garcia-Pichel, 1995. UV B-induced Vertical Migrations of Cyanobacteria in a Microbial Mat. *Environ. Microbiol.*, **61**: 4215-4222.
- Bidigare, R.P., T.J. Frank, C. Zastrow and J.M. Brooks, 1986. The distribution of algal chlorophylls and their degradation products in the Southern Ocean. *Deep-Sea Res.*, **33**: 923-937.
- Brown, B.E., R.P. Dunne, M.E. Warner, I. Ambarsari, W.K. Fitt, W. Gibb and D.G. Cummings, 2000. Damage and recovery of Photosystem II during a manipulative field experiment on solar bleaching in the coral *Goniastrea aspera*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**: 117-124.
- Buffan-Dubau, E. and K.R. Carman, 2000. Extraction of benthic microalgal pigments for HPLC analyses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **204**: 293-297.
- Burkill, P.H., R.F.C. Mantoura, C.A. Llewellyn and N.J.P. Owens, 1987. Microzooplankton grazing and selectivity of phytoplankton in coastal waters. *Mar. Biol.*, **93**: 581-590.
- Cadée, G.C. and J. Hegeman, 1974. Primary production of the benthic microflora living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Neth. J. Sea Res.*, **8**: 260-291.
- Chan, A.T., 1978. Comparative physiological study of marine diatoms and dinoflagellates in relation to irradiance and cell size. I. Growth under continuous light. *J. Phycol.*, **14**: 396-402.
- Choi, Y.H., Y.S. Choi, Y.S. Cho, Y.T. Kim and S.R. Jeon, 2016. A study on the habitat suitability considering survival, Growth, Environment for *Ruditapes philippinarum* in Geunso Bay (Pado and Beopsan). *J. Korean. Soc. Mar. Environ. Saf.*, **22**: 723-730.
- Colijn, F. and V.N. de Jonge, 1984. Primary production of microphytobenthos in the Ems-Dollard Estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **14**: 185-196.
- Consalvey, M, D.M. Paterson and G.J.C Underwood, 2004. The ups and downs of life in a benthic biofilm: Migration of benthic diatoms. *Diatom Res.*, **19**: 181-202.
- de Jonge, V.N. and F. Colijn, 1994. Dynamics of microphytobenthos biomass in the Ems estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **104**: 185-196.
- Davis, M.W. and C.D. McIntire, 1983. Effects of physical gradients on the production dynamics of sediment-associated algae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **13**: 103-114.
- Demers, S., S. Roy, R. Gagnon and C. Vignault, 1991. Rapid light-induced changes in cell fluorescence and in xanthophyll-cycle pigments of *Alexandrium excavatum* (Dinophyceae) and *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): a photo-protection mechanism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **76**: 185-193.
- Denis, L., F. Gevaert and N. Spilmont, 2012. Microphytobenthic production estimated by in situ oxygen microprofiling: short-term dynamics and carbon budget implications. *J. Soils sediments*, **12**: 1517-1529.
- Du, G.Y., M. Son, S. An and I.K. Chung, 2010. Temporal variation in the vertical distribution of microphytobenthos in intertidal flats of the Nakdong River estuary, Korea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **86**: 62-70.
- Elisabeth, A. and J.M. Bernhard, 1995. Vertical migratory response of benthic foraminifera to controlled oxygen

- concentrations in an experimental mesocosm. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **116**: 137-151.
- EPA, 1997. Method 445.0. In vitro determination of chlorophyll a and pheophytin a in marine and freshwater algae by fluorescence. 8-9 pp.
- Falkowski, P.G. and T.G. Owens, 1980. Light-shade adaptation: 2 strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.*, **66**: 592-595.
- Forster, R.M. and J.C. Kromkamp, 2004. Modelling the effects of chlorophyll fluorescence from subsurface layers on photosynthetic efficiency measurements in microphytobenthic algae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **264**: 9-22.
- Frank, H.A. and R.J. Cogdell, 1996. Carotenoids in photosynthesis. *Photochem. Photobiol.*, **63**: 257-364.
- Gould, D.M. and E.D. Gallagher, 1990. Field measurements of specific growth rate, biomass, and primary production of benthic diatoms of Savin Hill Cove, Boston. *Limnol. Oceanogr.*, **35**: 1757-1770.
- Goto, N., O. Mitamura and H. Terai, 2000. Seasonal variation in primary production of microphytobenthos at the Isshiki intertidal flat in Mikawa Bay. *Limnol. (Japanese)*, **1**: 133-138.
- Halldal, P., 1970. The photosynthetic apparatus of microalgae and its adaptation to environmental factors. In: *Photobiology of microorganisms*, edited by Halldal, P., Wiley, New York, 17-56 pp.
- Hay, S.I., T.C. Maitland and D.M. Paterson, 1993. The speed of diatom migration through natural and artificial substrata. *Diatom Res.*, **8**: 371-384.
- Heip, C.H.R., N.K. Goosen, P.M.J. Herman, J. Kromkamp, J.J. Middelburg and K. Soetaert, 1995. Production and consumption of biological particles in temperate tidal estuaries. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **33**: 1-149.
- Hejduková, E., 2016. Tolerance of pennate diatoms (Bacillariophyceae) to experimental freezing: comparison of polar and temperate strains. Ph.D. Thesis, Charles University, Czech, 13-14, 43-44 pp.
- Hwang, C.Y. and B.C. Cho, 2005. Measurement of net photosynthetic Rates in intertidal flats of Ganghwa-gun and Incheon north harbor using oxygen microsensors. *J. Korean Soc. Ocean.*, **10**: 31-37.
- Jesus, B., V. Brotas, M. Marani and D.M. Paterson, 2005. Spatial dynamics of microphytobenthos determined by PAM fluorescence. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **68**: 547-556.
- Jönsson, B., K. Sundback and C. Milsson, 1994. An upright life-form of an epipellic motile diatom: on the behavior of *Gyrosigma balticum*. *Eur. J. Phycol.*, **29**: 11-15.
- Kim, D.S. and K.H. Kim, 2008. Tidal and seasonal variations of nutrients in Keunso bay, the yellow sea. *Ocean Polar Res.*, **30**(1): 1-10.
- Kim, J.H. and K.J. Cho, 1985. The Physico-chemical properties of sediment, the species composition and biomass of benthic diatoms in the intertidal zone of Kum river estuary. *J. Ecol. Environ.*, **8**: 21-29.
- Kim, J.N., Y.J. Choi, K.H. Im, K.H. Choi and C.W. Ma, 2005. Species composition and seasonal variation of decapod crustacean assemblage in Hampyeong Bay. Korea. *J. Kor. Fish Soc.*, **38**(1): 20-28.
- Kingston, M.B. and J.S. Gough, 2009. Vertical migration of a mixed-species *Euglena* (Euglenophyta) assemblage inhabiting the high-intertidal sands of Nye beach, Oregon. *J. Phycol.*, **45**: 1021-1029.
- KIOST, 2010. Studies on sediments waters and biota to understand major environmental factors in rehabilitation of degraded tidal flats. Korean Institute of Ocean Science and Technology. BSPE98462-2253-5. 436 p.
- Krembs, C., H. Eicken and J.W. Deming, 2011. Exopolymer alteration of physical properties of sea ice and implications for ice habitability and biogeochemistry in a warmer Arctic. *PNAS*, **108**: 3653-3658.
- Kromkamp, J.C., C. Barranguet and J. Peene, 1998. Determination of microphytobenthos PS II quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **162**: 45-55.
- Kühl, M., R.N. Glud, H. Ploug, N.B. Ramsing, 1996. Microenvironmental control of photosynthesis and photosynthesis-coupled respiration in an epilithic cyanobacterial biofilm. *J. Phycol.*, **32**: 799-812.
- Larras, F., B. Montuelle, F. Rimet, N. Chèvre, and A. Bouchez, 2014. Seasonal shift in the sensitivity of a natural benthic

- microalgal community to a herbicide mixture: impact on the protective level of thresholds derived from species sensitivity distributions. *Ecotoxicology*, **23**(6): 1109-1123.
- Lee, H.Y., 2013. Diversity and biomass of benthic diatoms in Hampyeong bay tidal flats. *Korean J. Environ. Biol.*, **31**(4): 295-301.
- Lee, I.G., S.M. Boo and S.H. Lee, 2004. Diversity and system of Microalgae. Life Science Publishing Co., Lehi, 66 pp.
- Lee, Y.W., 2001. Studies on pigment analysis of microphytobenthos by HPLC in sediment of Gomso Bay, Korea. M.S. Thesis, Pukyong National University, Busan, 56-69 pp.
- Lee, Y.W., E.J. Choi, Y.S. Kim and C.K. Kang, 2009. Seasonal variations of microphytobenthos in sediments of the estuarine muddy sandflat of Gwangyang Bay: HPLC Pigment Analysis. *J. Korean Soc. Oceanogr.*, **14**: 48-55.
- Lukatelich, R.J. and A.J. McComb, 1986. Distribution and abundance of benthic microalgae in a shallow southwestern Australian estuarine system. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **27**: 287-297.
- MacIntyre, H.L., R.J. Geider and D.C. Miller, 1996. Microphytobenthos: The ecological role of the “secret garden” of unvegetated, shallow-water marine habitats. 1. Distribution, abundance and primary production. *Estuar. Coast.*, **19**: 186-201.
- Meyer, A.A., M. Tackx and N. Daro, 2000. Xanthophyll cycling in *Phaeocystis globosa* and *Thalassiosira* sp.: a possible mechanism for species succession. *J. Sea Res.*, **43**: 273-384.
- Min, W.G., D.S. Kim and J.H. Le, 2006. Community structure and spatial variation of meiobenthos associated with and artificial structure. *J. Kor. Fish Soc.*, **39**: 223-230.
- NASA, 2012. The Fifth SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-5). NASA ocean color paper NASA/TM-2012-217503, 12 p.
- Nielsen, L.P., P.B. Christensen and N.P. Revsbech, 1990. Denitrification and photosynthesis in stream sediment studied with microsensors and whole-core techniques. *Limnol. Oceanogr.*, **35**: 1135-1144.
- Nowicki, B.I. and S.W. Nixon, 1985. Benthic community metabolism in a coastal lagoon ecosystem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **22**: 21-30.
- Oh, S.H., 1990. Environmental characteristics and diatom communities on the Mangyung-Dongjin Tidal flat, West coast of Korea. M.D. Thesis, Seoul National University, Seoul, 99 p.
- Oh, S.J., C.H. Moon and M.O. Park, 2004. HPLC analysis of biomass and community composition of microphytobenthos in the Saemankeum tidal flat, west coast of Korea. *J. Kor. Fish Soc.*, **37**: 215-225.
- Olaizola, M. and H.Y. Yamamoto, 1994. Short-term response of the diadinoxanthin cycle and fluorescence yield to high irradiance in *Chaetoceros-muelleri* (Bacillariophyceae). *J. phycol.*, **20**: 606-612.
- Perkins, R.G., K. Oxborough, A.R.M. Hanlon, G.J.C. Underwood and N.R. Baker, 2002. Can chlorophyll fluorescence be used to estimate the rate of photosynthetic electron transport within microphytobenthic biofilm? *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **228**: 47-56.
- Perry, M.J., M.C. Talbot and S.A. Alberts, 1981. Photoadaptation in marine phytoplankton: response of the photosynthetic unit. *Mar Biol.*, **62**: 91-101.
- Plante-Cuny, M.R. and A. Bodoy, 1987. Biomasse et production primaire du phytoplancton et du microphytobenthos de deux biotopes sableux (Golfe de Fos, France). *Oceanology Acta* ., **10**: 223-237.
- Prézelin, B.B. and B.M. Sweeney, 1978. Photoadaptation of photosynthesis in *Gonyaulax polyedra*. *Mar. Biol.*, **48**: 17-35.
- Pesce, S., I. Batisson, C. Bardot, C. Fajon, C. Portelli, B. Montuelle and J. Bohatier, 2009. Response of spring and summer riverine microbial communities following glyphosate exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **72**(7): 1905-1912.
- Raven, P.H., P.F. Evert and S.E. Eichorn, 1992. *Biology of Plants*. Worth Publishers, New York, 791 pp.
- Riper, D.M., T.G. Owens and P.G. Falkowski, 1979. Chlorophyll turnover in *Skeletonema costatum*, a marine plankton diatom. *Plant Physiol.*, **64**: 49-54.

- Roy, S., C. Llewelly, E.S. Egeland and G. Johnsen, 2011. *Phytoplankton pigments (Characterization, chemotaxonomy and Applications of Oceanography)*. Cambridge University Press, Cambridge, 37, 46-54 pp.
- Serôdio, J., J.M. da Silca, F. Catarino, 1997. Non-destructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using in vivo chl-a fluorescence. *J. phycol.*, **33**: 545-553.
- Shim, J.H. and B.C. Joe, 1984. Community composition of microphytobenthos living in intertidal zone near Incheon, Symposium of College of Natural science, Seoul National University, **9**: 135-150.
- Shin, A.Y., D.S. Kim, T.W. Kang, J.H. Oh, J.M. Lee and J.S. Hong, 2016. Seasonal fluctuation of meiobenthic fauna community at Keunso tidal flat in Taean, Korea. *J. Korean soc. Ocean.*, **21**(4): 144-157.
- Sukenik, A., K.D. Wyman, J. Bennet and P.G. Falkowski, 1987. A novel mechanism for regulating the excitation of photosystem II in a green alga. *Nature Lond.*, **327**: 704-707.
- Sullivan, M.J. and F.C. Daiber, 1975. Light, nitrogen, and phosphorous limitation of edaphic algae in a Delaware salt marsh. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **18**: 79-88.
- Sullivan, M.J. and C. Moncreiff, 1990. Edaphic algae are an important component of salt marsh food-webs: evidence from multiple stable isotope analysis, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **32**: 149-159.
- Sun, M.Y., R.C. Aller and C. Lee, 1994. Spatial and temporal distributions of sedimentary chloropigments as indicators of benthic processes in Long Island Sound. *J. Mar. Res.*, **52**: 149-176.
- Underwood, G.J.C. and J. Kromkamp, 1999. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Adv. Ecol. Res.*, **29**: 93-153.
- van Leeuwe, M.A., V. Brotas, M. Consalvey, R.M. Forster, D. Gillespie, B. Jesus, J. Roggeveld and W.W.C. Gieskes, 2008. Photoacclimation in microphytobenthos and the role of xanthophyll pigments. *Eur. J. Phycol.*, **43**(2): 123-132.
- Varela, M. and E. Penas, 1985. Primary production of benthic microalgae in an intertidal sand flat of the Ria de Arosa, NM Spain. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **25**: 111-119.
- Welsh, D.T., 2000. Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate. *FEMS Microbiology Reviews*, **24**: 263-290.
- Woods Hole, 1997. U.S. Joint Global Ocean Flux Study, Bermuda Atlantic Time-series Study. Data Report for BATS 61-BATS 72.
- Yallop, M.L., B. Winder, D.M. Paterson and L.J. Stal, 1994. Comparative structure, Primary production and biogenic stabilization of cohesive and non-cohesive marine sediments inhabited by microphytobenthos. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **39**: 565-582.
- Yoo, M.H. and J.K. Choi, 2005. Seasonal distribution and primary production of microphytobenthos on an intertidal mud flat of the Janghwa in Ganghwa Island, Korea. *J. Korean Soc. Ocean.*, **10**: 8-18.
- Young, A.J. and H.A. Frank, 1996. Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **36**: 3-15.
- Yun, M.S., C.H. Lee and I.K. Chung, 2009. Influence of Temperature on the Photosynthetic Responses of Benthic Diatoms: Fluorescence Based Estimates. *J. Korean Soc. Ocean.*, **14**(2): 118-126.
- Zapata, M., F. Rodriguez and L. Garrido, 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**: 29-45.