



석사학위논문

고주파 초음파를 이용한 저서 와편모조류의

이동성 연구

제주대학교 대학원

해양시스템공학과

김 한 수

2015년 2월

고주파 초음파를 이용한 저서 와편모조류의 이동성 연구

지도교수 팽동국

김 한 수

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함

2015년 2월

김한수의 공학석사 학위논문을 인준함

심사위	원장	배	진	호	인
위	원	팽	동	국	인
위	원	٥]	준	백	인

제주대학교 대학원

2015년 2월

A Study of Mobility of Benthic Dinoflagellates Using High-frequency Ultrasound

Hansoo Kim

(Supervised by Professor Dong-Guk Paeng)

A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirement

for degree of Master of Engineering

Department of Ocean System Engineering

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

2015. 2

목 차

LIST OF FIGURES iii
LIST OF TABLEvi
요약문vii
ABSTRACTviii
제1장 서 론9
1.1 연구배경9
1.2 우리나라 유해적조12
1.3 기존연구 및 본 연구내용17
1.4 논문구성19
제 2 장 이론적 배경
제 2 장 이론적 배경
제 2 장 이론적 배경
제 2 장 이론적 배경 20 2.1 식물플랑크톤의 특성 20 2.2 음향측정 기법 24 제 3 장 분석 방법 28
제 2 장 이론적 배경 20 2.1 식물플랑크톤의 특성 20 2.2 음향측정 기법 24 제 3 장 분석 방법 28 3.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험 28
제 2 장 이론적 배경
제 2 장 이론적 배경 20 2.1 식물플랑크톤의 특성 20 2.2 음향측정 기법 24 제 3 장 분석 방법 28 3.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험 28 3.1.1 적조주의보, 적조경보에 따른 후방산란신호 측정 실험 28 3.1.2 다양한 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험 30
제 2 장 이론적 배경 20 2.1 식물플랑크톤의 특성 20 2.2 음향측정 기법 24 제 3 장 분석 방법 28 3.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험 28 3.1.1 적조주의보, 적조경보에 따른 후방산란신호 측정 실험 28 3.1.2 다양한 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험 30 3.2 낮과 밤에 따른 변화량 측정 실험 32

N 4 장 분석 결과
4.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 결과35
4.1.1 적조주의보, 적조경보에 따른 후방산란신호 측정 실험
4.1.2 다양한 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험
4.2 낮과 밤에 따른 변화량 측정 실험 결과40
4.3 빛에 따른 이동성 측정 결과 44
4.3.1 저서 와편모조류의 수평운동 분석 결과44
4.3.2 저서 와편모조류의 수직운동 분석 결과40
제 5 장 결론 및 향후 연구53
삼고문헌

LIST OF FIGURES

Figure 1.1. The damaged dead fish in the aquaculture sites (upper photos) and aerial
photography of the red-tide occurrence in the Ocean (bottom photos) in Korea[22]
Figure 1.2. The red-tide occurrence regions in the South Sea and the East Sea of Korea (1994
– 2005)[22]
Figure 2.1. Microscopic photos of <i>Cochlodinium polykrikoides</i> [34]22
Figure 2.2. Microscopic photos of the <i>Amphidinium carterae</i> Hulburt[35]22
Figure 2.3. Characteristic details of each part of the Amphidinium carterae Hulburt (left)
epicone(skin of the cell), multilobed(lobulation of the shape leaf),
chloroplast(part of the photosynthesis), pyrenoid(Bodies in chlorophyII),
nucleus(authority to control in the all activities of the cells)[36], microscopic
view of Amphidinium carterae Hulburt (right)23
Figure 2.4. Normalized backscattering cross section as a function of the normalized size, ka.
For the Amphidinium carterae Hulburt, 10 MHz : ka = 0.23, 35 MHz: ka = 0.8,
40 MHz: $ka = 0.9$ (for the Rayleigh scattering, $ka < 1.0$)
Figure 3.1. Schematic diagram of the experimental system to measure the backscattering
signal using a high-frequency ultrasound transducer from the Amphidinium
<i>carterae</i> Hulburt
Figure 3.2. The photos of Amphidinium carterae Hulburt, 50,000 cells/ml (left), 30,000
cells/ml(center), culture medium 0 cells/ml (right)
Figure 3.3. Integrated backscattering power measured in the 250 ml flask containing
Amphidinium carterae Hulburt depending on the parameters of the pulser-
reciever. 1-6 data numbers of the x-axis: Energy $32\mu J$, Gain 26 dB, 7-12 data
numbers of the x-axis: Energy 8µJ, Gain 54 dB in the water, Amphidinium

carterae Hulburt and under Amphidinium carterae Hulburt
Figure 3.4. Experiments of the vertical (left) and horizontal (right) movement of the
Amphidinium carterae Hulburt in response to the presence or absence of light 34
Figure 4.1. Difference of the integrated backscattering power from the 30,000 cells/ml and
50,000 cells/ml of Amphidinium carterae Hulburt using 10, 35, 40 MHz high
frequency ultrasound transducers
Figure 4.2. Integrated backscattering power measured as a function of concentrations of the
Amphidinium carterae Hulburt using a 40 MHz high-frequency ultrasound
transducer (ref. Vrms is fresh water)
Figure 4.3. Variation of the ultrasound integrated backscattering power as time according to
the day (white background) and the night (dark background) of the Amphidiniun
carterae Hulburt using a 40 MHz high-frequency ultrasound transducer (res
Vrms is fresh water)
Figure 4.4. The result of the calculation according to the day (white background) and the
night (dark background) of the volume of the Amphidinium carterae Hulburt in
the 2 flasks using a microscope4
Figure 4.5. The result of the backscattering signal according to the light position, and the day
(white background) and the night (dark background) in horizontal movement o
the Amphidinium carterae Hulburt (the yellow background representing the
opposite light position and the red line illustrating the curve fitting line)4
Figure 4.6. M-mode images of the backscattering signal of the Amphidinium cartera
Hulburt consisting of 100,000 cells/ml using a 40 MHz ultrasound transducer
Measurement time : 2 seconds in every 2 minutes. (x axis : measured time [s],
axis : measured depth [mm])4

Figure 4.7. (a) M-mode image of the backscattering signal (raw data) (b) The image of the

- Figure 4.8. The results of M-mode image applying the method described in Figure 4.6 to the data in Figure 4.5 (x axis : measured time [s], y axis : measured depth [mm])....50

LIST OF TABLE

Table 1. Standard of occurrence of the watch appearance, the red-tide advisory and the red-tide warning in the cells density according to species of the phytoplankton[22].16
Table 2. The value of gradient according to the day and the night in Figure 4.8 (mm/s)51
Table 3. The value of gradient according to the day and the night in Figure 4.9 (mm/s)52

요약문

지구 전체 광합성 양의 50% 이상을 기여하는 식물플랑크톤의 중요성은 오래 전부터 강조되어 왔으며 현재까지 많은 연구가 진행되어 오고 있다. 한편 해양 환경에서 식물플랑크톤의 이상 증식 현상을 일컫는 적조 현상은 전 세계적으로 피해를 입힌다고 알려져 있다. 우리나라 연안에서도 부유성 와편모조류인 Cochlodinium polykrikoides(C. polykrikoides)로 인한 유해 적조가 여름철에 빈번하게 발생하고 있다. 또한 지구온난화로 인하여 수온이 상승함에 따라 최근 제주도 해변에서 아열대성 미세조류인 유독성 저서 와편모조류 Amphidinium carterae Hulburt(A. carterae)가 출현한다고 밝혀졌다. 본 논문에서는 실험실 내에서 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 A. carterae 의 농도에 따른 후방산란신호를 측정하였고, 낮과 밤에 따른 와편모조류의 운동성을 측정하였다. 농도 별 후방산란강도 측정 결과 333,000 cells/ml 에서는 후방산란파워(Integrated Backscattering Power, IBP)가 약 16.5 dB, 44,000 cells/ml 에서는 약 8.5 dB 로 측정되어 개체 수가 약 85 % 줄었을 때 후방산란신호는 8 dB 감소하는 것을 확인하였다. 또한 빛의 유무에 따른 후방산란신호의 시간 변화량을 M-mode 영상으로 분석한 결과 A. carterae 가 빛이 있는 쪽으로 이동하는 것을 관측하였다. 빛에 반응하는 와편모조류의 운동성을 M-mode 영상에서 측정하여 이동속도를 계산한 결과 빛 환경에서 수직 운동은 약 0.4 mm/s, 암흑 환경에서 수직 운동은 0.1 mm/s 로 추정할 수 있었다. 본 논문에서는 40 MHz 초음파 후방산란파워를 측정하여 실험실 내에서 와편모조류 A. carterae 개체 수의 역 추정 가능성을 제시하였으며, 빛에 반응하여 이동하는 와편모조류의 운동성을 초음파 M-mode 영상과 후방산란신호를 이용하여 분석하였다. 이러한 결과들은 추후 초음파를 이용한 식물플랑크톤 연구를 위한 기초 자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

ABSTRACT

The importance of phytoplankton which has contributed more than 50 % of the global amount of photosynthesis is highlighted for a long time, leading to lots of researches. The red tide phenomenon referring to abnormal growth of phytoplankton in the marine environment is known to cause damages of the ecosystem and aquaculture around the world. In the coast of Korea, harmful red tide planktonic dinoflagellates Cochlodinium polykrikoides (C. polykrikoides) are frequently appeared in summer. In addition, subtropical toxic microalgae benthic dinoflagellates, Amphidinium carterae Hulburt (A. Carterae) has been recently observed around Jeju island as the temperature increases due to global warming. In this paper, the backscattering power from A. carterae was measured using a 40 MHz ultrasound transducer in the laboratory in order to investigate the effects of concentration and the mobility of the dinoflagellates responding to the light. The integrated backscattering power (IBP) from the concentration of 333,000 cells/ml was measured to about 16.5 dB, while the one from 44,000 cells/ml was about 8.5 dB. An 8 dB decrease of IBP was inferred from about 85% reduced concentration of A. Carterae. In addition, the analysis of M-mode images from A. Carterae in respond to light showed the motion of A. Carterae toward the light. The mobility of the dinoflagellates, A. carterae, in response to light from the M-mode images was estimated to about 0.4 mm/s for the vertical movement in a light environment, while it was to be about 0.1 mm/s in a dark environment. In this paper, we measured the 40 MHz ultrasound backscatter power from dinoflagellates, A. carterae, and showed the possibility of the estimation of their concentration by measurement of IBP in the laboratory. The mobility of the dinoflagellates in response to light was also estimated by M-mode ultrasound imaging. These results may be used as the basis of research on the phytoplankton by using the ultrasound.

제1장

서 론

1.1 연구배경

해양생물의 탐지를 위해 수중음향 기술이 처음으로 사용되기 시작한 것은 2 차 세계 대전 직후였다. 이 때는 주로 전쟁 및 군 측면에서 강조되었기 때문에 해양생물 분야에 대한 수중음향의 역할이 적었다. 그러나 1970 년대 이후로 능동 소나가 발달하기 시작하면서, 해양생물에 대한 음향학적 특성 및 음향을 통한 해양 생물 연구분야가 다양하게 발전하였다[1]. 특히 해양생물 분야에서 생물을 탐지하기 위한 최적의 주파수 대역은 생물의 크기와 관련이 있으며, 대형 포유류에서 미세조류까지 생물체 크기에 따라 1 kHz 의 저주파 영역에서부터 250 MHz 의 고주파 영역까지 다양한 분야에서 적용 되고 있다[2]. 저주파 영역은 해양 환경에서 운용하는데 시스템 크기에 따라 제한이 있기 때문에 주로 군사용으로 사용하지만, 고주파 영역에서는 주로 산업용 분야에서 활용되고 있다. 높은 주파수 음파를 해양에서 사용할 때에는 감쇠가 크고 전달거리가 짧기 때문에 해양 환경에서 고주파 대역의 활용도가 미흡하다[3-4].

현재까지 해양 내에 존재하는 매우 작은 생물체인 플랑크톤에 대한 음향 조사는 주로 동물플랑크톤 중심으로 100 ~ 1,000 kHz 주파수 대역으로 연구가 진행되어 왔다[5]. C.F. Greenlaw (1979)는 초음파를 이용하여 동물플랑크톤의 개체 수 등 밀도를 측정하는 방법을 제시하였다. 이는 체적 후방산란강도의 양적인 측정에 기초를 두고 있다[5]. 동물플랑크톤 연구에서는 해양 내에 존재하는 주요 종의 주파수에 따른 음향 산란 특성을 연구하여 실 해역에서 음파를 이용한 동물플랑크톤의 종 구분과 개체군 밀도 추정이 시도되고 있다. 반면에 상대적으로 크기가 작은 식물플랑크톤에 대한 음향학적 연구는 미흡한 실정이다[6-7]. 주로 식물플랑크톤에 대한 연구는 실험실 내에서 광합성 양과 세포분열 및 개체 수를 측정하고 있으며, 일반적인 측정 방법으로는 해수를 채취한 후에 고정시약을 사용하여 30 분 정도 암실에 두고 전과 후의 광합성 양을 측정하며 개체 수는 현미경으로 측정한다. 그러나 이런 측정 방법은 시간도 걸릴 뿐만 아니라 현장성과 정확성이 떨어지는 문제점이 있다. 반면에 실 해역에서 적조를 탐지하기 위해서는 주로 선박의 광량측정기를 이용한 광합성 양 측정 또는 해수를 채취하여 직접 개체 수를 측정하는 방법이 사용되고 있다[8]. 그러나 선박 운용에 따른 많은 비용 문제와 인력이 필요하기 때문에 현재로서는 어려움이 있으며, 플랑크톤의 빠른 증식 속도와 주로 해류를 타고 이동하기 때문에 실 해역 관측 만으로 적조를 탐지하는 것은 한계가 있다[9]. 최근에는 항공이나 인공위성을 통한 광역 범위의 탐지 방법이 사용되고 있는 추세이다. 그러나 광역 탐지 방법은 개체 수가 상대적으로 적은 적조주의보 수준에서는 눈으로 탐지하는 데에는 한계가 있다[10]. 특히 수산업 및 해양 산업에 대한 적조 피해를 고려한다면 적조 주의보 이전 단계에서 탐지가 가능한 방법이 요구된다[11].

그렇기 때문에 최근에는 초음파를 이용하여 식물플랑크톤의 생리적인 현상을 측정할 수 있는 방법이 제시되었다. Blanc et al. (1998)이 식물플랑크톤인 규조류 연구에서 처음으로 초음파를 이용하였다고 알려져 있다[12]. 그리고 Bok et al., (2010)는 식물플랑크톤에 대해 초음파 후방산란신호를 이용하여 적조의 관측 가능성을 확인하였으며 초음파를 통한 적조 탐지 및 연구가 가능함을 제시하였다[4]. 또한 Kim et al. (2010)은 남해안 적조발생 지역에서 후방산란신호를 측정하여 초음파를 이용한 적조 탐지의 가능성을 제시한 바 있다. 아직까지는 초음파를 이용하여 식물플랑크톤에 대한 후방산란신호를 측정하여 개체 수를 추정하는 기초 연구만 수행되었으나, 플랑크톤의 생리적 및 기능적 현상을 초음파로 측정하는 연구는 미미한 상황이다[3].

그리하여 본 연구에서는 대표적인 아열대성 저서 와편모조류의 한 종인 Amphidinium carterae Hulburt(A. carterae)를 이용하여 초음파로 후방산란 뿐만 아니라 운동성을 측정해 보고자 한다. A. carterae 는 최근 제주 해변에서 저서성 및 때때로 부유성으로도 출현한다고 보고되었으나, 아직까지 초음파를 이용하여

A. carterae 의 특성을 파악하는 연구가 진행된 바 없다. 따라서 본 논문에서는 주로 실험실 내에서 시간 및 인력의 손실을 줄이고 비교적 간단히 측정 및 분석할 수 있는 음향학적인 측정 기법을 제시하였다. 주로 A. carterae 를 이용하여 음향 후방산란신호를 측정하고 음파 반향 특성을 파악하는 방법을 제안하였고, 이동속도를 추정하는데 최종 목적을 두었다.

1.2 우리나라 유해적조

식물플랑크톤의 양은 지구 전체 광합성 생물양의 1% 이하이지만, 지구 전체 광합성 양에는 약 50% 이상을 기여한다고 알려진 바 있다[13]. 식물플랑크톤의 중요성은 오래 전부터 강조되었으며, 그들의 1 차 생산에 대하여 많은 연구가 진행되었다[14]. 특히 식물플랑크톤의 성장에 관한 연구는 크게 광합성 및 세포분열 등과 관련한 생리적, 기능적 변화의 기작 및 영향에 대한 연구와 이에 대한 측정 방법론적 연구로 나눌 수 있다[15].

그러나 식물플랑크톤이 해양 환경에 미치는 영향이 좋은 것 만은 아니다. 식물플랑크톤이 너무 많이 증식하면 생태계에 피해를 입힌다. 주로 해양 환경에서 이상 증식 현상을 일컫는 유해 적조 (Harmful Algae Blooms, HABs) 현상으로 인하여 전 세계적으로 많은 피해를 입고 있다[16]. 전 세계적으로 피해를 주는 식물플랑크톤 와편모조류 종은 *Cochlodinium polykrikoides(C. polykrikoides*)은 카리브 해 (Caribbean Sea)에 위치한 푸에르토리코 (Puerto Rico) 에서 처음으로 명명 되었다[17]. *C. polykrikoides* 에 의한 적조현상은 2005 년에는 일본 토로리현에서 이 종이 출현하여 대량의 어패류 폐사가 있었다. 일본 적조발생에 대하여 일부 연구자들은 한국 남해에서 발생한 적조 일부가 쿠로시오 해류를 타고 흘러 들어 왔다는 의견도 있다[18].

우리나라에서도 매년 여름철에 적조 현상이 발생하고 있다. (Figure 1.1) 적조(Red tide)는 최근에만 나타나는 현상은 아니고, 몇 백 년 전에도 발생했던 해양 현상으로 발생시기마다 그 변화가 모두 다르다[19]. 우리나라 남해안에서 주로 적조를 일으키는 종도 *C. polykrikoides* 로 1990 년 이후부터 최근까지 불규칙한 주기로 대량 발생하고 있다[20]. 우리나라에서는 1995 년에 남해 및 동해 연안에서 약 800 억원의 양식업 피해를 발생시킨 것으로 알려져 있다. (Figure 1.2) 특히 대량 적조 현상이 발생된 경우에는 수산업 피해 외에도 해양 생태계 파괴 및 관광업 등에 직접적인 피해를 발생시키고 있다[21].

일반적으로 우리나라에서는 *C. polykrikoides* 에 의한 적조 발생시 10 cells/ml 일 때는 출현주의보, 100 cells/ml 이면 적조주의보, 1,000 cells/ml 이상이면 적조경보로 구분하고 있다[22]. (Table 1) 최근까지 적조주의보 단계에서는 300

cells/ml 이상 이었으나 2014 년부터 100 cells/ml 이상으로 바뀌었다. 적조 현상으로 인하여 양식업 등 해양 생태환경이 매년 많은 피해를 입기 때문에 적조의 조기 탐지가 매우 중요해지면서 적조주의보 단계를 강화시켰다. 특히 *C. polykrikoides* 은 초기 발생시 개체 수 증식에는 큰 변화가 없지만, 적조주의보 단계의 100 cells/ml 에 이르면 급속한 증식을 통해서 2,200 cells/ml 까지 증식하는데 일주일도 채 안 걸린다고 알려져 있다[23].

반면에 아열대성 유독 적조 생물 중 하나인 Amphidinium carterae Hulburt(A. carterae)는 세계 각지의 연안해역에 분포하고 많은 피해를 입히는 것으로 알려져 있으나, 우리나라에서는 유독 적조 발생 기록은 아직까지 없다[24]. 그러나 최근에 지구 온난화 현상으로 인하여 제주도 연안 수온은 지난 86 년간 섭씨 1.94°C 가 상승 한 것으로 나타났다. 제주도 연안의 수온 상승은 전 세계 수온 평균 상승치인 섭씨 0.7°C 보다 높은 수치이다[22]. 위와 같은 결과로 열대 지역에 주로 출현하는 A. carterae 이 최근 제주도 해역에서 바닷물의 수온이 상승한다고 밝혀짐에 따라 추후에는 이 종으로 인해서 피해가 발생할 것으로 예상된다[25-27]. 국립수산과학원 (2014)의 우리나라의 적조예보 및 발령기준에 따르면 A. carterae 는 기타 편모조류에 포함될 수 있다. 그렇다면 10,000 cells/ml 이상일 때는 출현주의보, 30,000 cells/ml 이상이면 적조 주의보, 50,000 cells/ml 이상이면 적조 경보로 구분하고 있다[22]. (Table 1)

A. carterae 는 C. polykrikoides 보다 크기도 작고 적조 현상에 미치는 개체 수도 다르지만, 전 세계적으로 피해를 주는 유독 적조 중 하나이다. 또한 부유성인 C. polykrikoides 과는 달리 A. carterae 은 주로 바닥이나 돌에 부착하여 생활하는 특성으로 알려져 있다. 그러므로 우리나라에서도 대량 증식에 의한 확산을 방지하고 피해를 최소화하기 위해서 초음파를 이용한 탐지 방법을 제안하고 와편모조류를 측정하는 데에 본 연구의 의의가 있을 것으로 여겨진다.



Figure 1.1. The damaged dead fish in the aquaculture sites (upper photos) and aerial photography of the red-tide occurrence in the Ocean (bottom photos) in Korea[22]



Figure 1.2. The red-tide occurrence regions in the South Sea and the East Sea of Korea (1994 -2005)[22]

종류	규모	적조생물 밀도 (cell/ml)		
적조 생물 출현주의보	적조생물의 출현밀도가 증가하여 예상될 때	편모조류: Chattonella spp. Cochlodinium polykrikoides Gymnodium sp. Karenia mikimotoi 기타 편모조류 규조류	1,000 이상 10 이상 200 이상 500 이상 10,000 이상 20,000 이상	
적조 주의보	반경 2~5 km 이내의 수역에 걸쳐 발생하고 어업 피해가 우려될 때	편모조류: Chattonella spp. Cochlodinium polykrikoides Gymnodium sp. Karenia mikimotoi 기타 편모조류 규조류	2,500 이상 100 이상 500 이상 1,000 이상 30,000 이상 50,000 이상	
적조 경보	반경 5 km 이상 수역에 걸쳐 발생하여 상당한 어업피해가 예상될 때	편모조류: Chattonella spp. Cochlodinium polykrikoides Gymnodium sp. Karenia mikimotoi 기타 편모조류 규조류	5,000 이상 1,000 이상 2,000 이상 3,000 이상 50,000 이상 100,000 이상	

Table 1. Standard of occurrence of the watch appearance, the red-tide advisory and the red-tide warning in the cells density according to species of the phytoplankton[22]

1.3 기존연구 및 본 연구내용

식물플랑크톤 연구를 위한 새로운 방법 중 하나인 초음파를 이용한 연구는 복 (2005) 이 최근에 제안하였다[28]. 실험실에서의 실험과 해상 실험을 통하여 *C. polykrikoides* 의 초음파 후방산란신호를 통해 적조의 관측 가능성을 확인하기 위한 연구가 수행된 바 있다. 5, 10 MHz 초음파 트랜스듀서를 통한 초음파 후방산란파워(Integrated Backscattering Power, IBP)를 측정하였다. 주로 개체 수 증가에 따른 변화를 측정하였고, 실 해역 검증을 위해 적조 현상이 빈번하게 발생하는 남해에서 9 km 정선을 따라 후방산란신호를 측정하였다. 이 때 해수 샘플 채취를 통해 플랑크톤 개체 수 검증을 수행하여 초음파를 통한 적조 탐지 가능성을 보였다[4].

Kim et al. (2010)은 남해안 적조 발생 지역에서 5 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 *C. polykrikoides* 에서 후방산란신호를 측정한 후, 제시 된 산란 모델링 결과에 의한 예측 값의 상관성 연구를 통하여 초음파를 이용하여 적조 탐지의 가능성을 제시한 바 있다. 또한 남해안 금오도 부근 해역에서 발생한 실 해역에서의 적조현상에 대해 후방산란신호를 측정하고 직접 채수하여 샘플 분석을 통해 개체 수가 증가함에 따라 초음파에 의한 후방산란강도 세기의 증가를 확인하였다. 또한 체적산란강도를 역 계산하여 식물플랑크톤의 밀도가 200 cells/ml 이하의 지역에서는 규조류가 주종을 이루는 것을 확인하였고, 밀도가 200 cells/ml 이상의 지역에서는 와편모조류가 주종을 이루며 개체수의 증가에 따라서 후방산란신호가 급격히 증가함을 확인하였다[3]. 또한 강 등 (2013)이 수행한 연구에서는 기존 연구[3, 4]의 기초 자료를 응용하여 초음파를 이용한 실시간 적조탐지 시스템을 개발하는 연구를 진행한 바 있다[29].

또한 최근에 Bok et al. (2013)의 연구에서는 *C. polykrikoides* 를 이용하여 초음파 후방산란신호를 측정한 결과 낮과 밤의 환경에서 후방산란파워가 주기적으로 변화하는 것이 확인되었다. 빛이 있을 때 플랑크톤이 광합성을 하고, 그 광합성에 따른 체적 부피 변화가 발생하며, 초음파 후방산란신호의 일주기 변화는 플랑크톤의 개체 수 증가 및 단일 플랑크톤의 광합성에 의한 체적 및 밀도 변화로 추정되었다[30]. 이로서 광합성에 의한 식물플랑크톤의 생리적 혹은

기능적인 변화를 음향학적인 기법을 이용하여 측정할 수 있는 가능성을 제시하엿다.

그러나 와편모조류의 또 다른 종인 A. carterae 에 대해서는 아직까지 음향학적 특성이 연구된 바 없기 때문에 본 연구에서는 실험실 내에서 고주파 초음파 트랜스듀서를 이용하여 후방산란 특성을 파악하는 실험을 수행하였다. 기존 연구 방법을 이용하여 A. carterae 에서 후방산란신호를 측정하여 분석하였으며, 본 논문에서는 주로 세 가지 주제로 연구를 수행하였다.

먼저 10, 35, 40 MHz 고주파 대역의 초음파 트랜스듀서를 이용하여 A. carterae 의 30,000 cells/ml 및 50,000 cells/ml 에서의 후방산란신호를 측정하여 최적 주파수를 산정하여 기초 자료로 사용하고자 한다. 그리고 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 농도에 따른 후방산란신호를 측정하고, 획득한 자료를 바탕으로 후방산란강도에 따른 A. carterae 의 개체 수를 역 추정할 수 있는 가능성을 확인하고자 한다. 또한 C. polykrikoides 에서 광합성에 따른 체적 및 밀도변화로 추정된 낮과 밤에 따른 후방산란신호의 변화량을 A. carterae 에서도 확인하고자 한다. 마지막으로 주로 저서생활을 하는 A. carterae 특성을 고려하여 운동성 및 이동속도를 알아보고자 수평 움직임을 측정하여 빛에 따른 이동성을 확인하고, 일주 수직 운동성을 M-mode 영상을 이용하여 측정해보았다.

1.4 논문구성

논문 구성은 다음과 같이 수행하였다. 제 2 장에서는 와편모조류의 특성을 알아보고 및 후방산란강도의 이론적 개념 및 초음파를 이용한 후방산란신호의 측정 방법을 설명하고자 한다.

제 3 장은 2 장에서 제시한 음향 탐지 이론과 방법을 이용하여 실험실 내에서 A. carterae 의 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 에서의 초음파 후방산란신호를 10, 35, 40 MHz 에서 측정해보았고, 최적 주파수인 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 농도에 따른 후방산란신호를 획득하였다. 농도에 따른 후방산란신호의 상대적인 후방산란파워(IBP)를 측정하였으며 IBP 를 이용하여 개체 수를 역 추정할 수 있는 가능성을 살펴보았다. 또한 낮과 밤에 따른 변화량을 측정하였으며, 빛에 따른 A. carterae 의 수평 및 수직 운동을 측정하는 방법을 제시하였다.

제 4 장에서는 제 3 장에서 언급한 실험 결과를 보여준다. 식물플랑크톤의 개체 수, 즉 농도 별로 변화하는 초음파 후방산란신호를 측정하였으며, 낮과 밤에 따른 후방산란신호를 측정하고 분석하여 빛에 따른 A. carterae 의 수평, 수직 이동 속도를 추정하였다.

마지막으로 제 5 장에서는 결과에 대한 토의 및 향후 연구에 대해 기술하는 것으로 전체적인 논문을 구성하였다.

제 2 장

이론적 배경

2.1 식물플랑크톤의 특성

초음파를 이용하여 식물플랑크톤의 탐지를 위해서는 음향학적 이론을 통하여 후방산란강도를 예측하는 것이 필요하다. 우리나라 남해안 및 동해안에서 적조현상을 주로 발생시키는 대표적인 부유성 와편모조류 종인 *C. polykrikoides* 는 단독 세포의 크기가 평균 길이 35 μm, 폭 25 μm 로 주로 단독으로 행동하지만, 때로는 2 ~ 8 개체까지 군체를 이루어 존재하기도 한다[34]. (Figure 2.1) 반면에 전 세계적으로 유독 적조 생물로 출현하는 저서성 와편모조류 종인 *A. carterae* 는 군체를 이루지 않으며 오직 단독 세포 형태만을 지닌다. 세포의 크기는 평균 길이 15 μm, 폭 11 μm로 타원 또는 구의 형태를 가진다[35]. (Figure 2.2, Figure 2.3) 일반적으로 와편모조류는 크기가 작기 때문에 일정한 주파수 범위 내에서 레일레이 산란체(Rayleigh scattering)로 가정할 수 있다[31]. 즉 산란체의 평균 등가 구형 반경(a)를 고려할 때, ka < 1 (k는 파수)의 조건을 만족하는 주파수 대역에서 산란체의 크기가 음파의 파장에 비해 작게되고, 이 때는 산란 함수가 산란체 모양에 영향을 받지 않기 때문에 등가 구형으로 가정하여 체적 등 산란 계산을 비교적 쉽게 할 수 있다. *C. polykrikoides* 의 단독 개체에서 등가 구형 반경은 12.5 μm, *A. carterae* 의 등가 구형 반경은 5.5 μm 로 계산된다.

레일레이 산란 환경에서 체적 후방산란강도를 구하는 식을 사용하기 위해서는 각 종 마다 음속, 밀도 같은 물리적인 특성을 파악하는 것이 중요하다. 현재까지는 동물플랑크톤에서만 정확한 음속과 밀도가 측정 되었다고 알려졌으며, Medwin et al. (1998)에 의하면 동물플랑크톤에서 해수와의 밀도비를 1.01 ~ 1.08, 음속비를 0.99 ~ 1.09 범위로 보고하였다[31]. Blanc et al. (1998)은 Diatom 과 *Gymnodinium* 의 음향 체적 산란을 추정하기 위해서 밀도비를 2.54, 1.3, 음속비를 1.12,0.97 로 각각 가정하였으며[12], Kim et al., (2010)은 *C. polykrikoides* 의 밀도비 1.07 과 음속비 1.06 일 경우 2.2 장에서 언급하는 후방산란 단면적을 구하는 이론식으로 추정된 음향 체적 산란 강도와 측정된 값의 상관성이 높다고 보고하였다[3]. 아직까지는 *A. carterae* 의 밀도와 음속이 알려진 바 없기 때문에 Kamykowski et al. (1992)가 식물플랑크톤의 6 가지 종에 대한 밀도를 측정하여 유추한 평균 1.078 g/cm³으로 가정을 하고[32], 음속은 Blanc et al. (2000)이 *Skeletonema costatum* 에서 측정한 1530 m/s 으로 두었다[33].



Figure 2.1. Microscopic photos of *Cochlodinium polykrikoides*[34]



Figure 2.2. Microscopic photos of the Amphidinium carterae Hulburt[35]



Figure 2.3. Characteristic details of each part of the *Amphidinium carterae* Hulburt (left) epicone(skin of the cell), multilobed(lobulation of the shape leaf), chloroplast(part of the photosynthesis), pyrenoid(Bodies in chlorophyII), nucleus(authority to control in the all activities of the cells)[36], microscopic view of *Amphidinium carterae* Hulburt (right)

2.2 음향측정 기법

본 논문에서 음향 탐지 대상 와편모조류 종인 *A. carterae* 와 *C. polykrikoides* 는 해수와 비슷한 음속 및 밀도를 갖는 약 산란체(weak scatter)로 타원형에 가까운 형태이지만 크고 작은 세포들의 평균을 구하고 계산하기 쉬운 구형으로 간주할 수 있다. 각 산란체인 세포 크기를 알면 Figure 2.4 와 같이 등가 구형 반경을 고려한 ka < 1 의 조건을 만족하는 주파수 대역에서 레일레이 산란으로 가정할 수 있다. 레일레이 산란인 경우에는 산란 단면적의 크기가 파수의 4 제곱과 산란체 반경의 6 제곱에 비례하여 증가하지만 그 이후의 영역인 ka > 1 인 조건에서는 미 산란(Mie Scattering)으로 체적 후방산란 강도가 주파수에 비선형적으로 바뀐다[31]. 그렇기 때문에 각 산란체의 크기에 따라서 ka < 1 의 조건을 만족하는 주파수 대역의 선정이 우선 되어야 한다. 본 연구실에서 보유하고 있는 중심 주파수 10, 35, 40 MHz 대역의 초음파 트랜스듀서 모두 *A. carterae* 의 등가 구형 반경 5.5 μm 에 대해 ka 가 1.0 이하의 값인 각각 0.23, 0.8, 0.9 로 나타나 레일레이 산란 구간을 만족한다.

$$\xi = \frac{(ka)^4}{\pi} \left[\frac{gh^2 - 1}{3gh^2} - \frac{g - 1}{2g + 1} \cos \theta \right]^2$$
(2.1)

식 2.1 은 산란함수를 나타낸다. 이 식에서 k 는 파수, a 는 구형 반지름이고 g, h는 각각 배양액을 기준으로 하는 산란체의 밀도비와 음속비로 구성되어 있다. θ는 음파 산란 신호의 입사각이며, θ=180° 일 때 후방산란이다. 이 수식을 이용하여 후방산란 단면적의 계산이 가능하다[31].

$$\sigma_{bs} = \pi a^2 \int_{0}^{4\pi} \xi_{bs} d\Omega = 4\pi a^2 (ka)^4 \left[\frac{gh^2 - 1}{3gh^2} + \frac{g - 1}{2g + 1} \right]^2$$
(2.2)

식 2.2 에서 σ_{bs} 는 후방산란 단면적이고, 이것을 이용하여 다음과 같은 후방산란강도 S_b 를 구할 수 있다[37].

$$S_b = 10 \log_{10} \sigma_{bs} \tag{2.3}$$

식 2.3 의 후방산란강도에서 해수 내에서 적조생물이 랜덤하게 분포한다고 가정을 하면 체적 후방산란강도를 구할 수 있다. 후방산란 단면적과 산란체의 개체수(N)을 이용하여 식 2.4 와 같이 체적에 따른 후방산란강도를 계산할 수 있다[31].

$$S_{\nu} = 10 \log_{10}(\sigma_{\rm bs} N) \tag{2.4}$$

식물플랑크톤 산란체에 의한 체적 후방산란강도 식 2.4 는 밀도비, 음속비, 등가 구형 반경의 함수이다. 또한 주파수의 4 제곱, 등가 구형 반경의 6 제곱과 개체 수에 비례하는 신호의 크기로 수신이 되며, 센서를 통하여 측정된 산란신호의 강도 변화를 분석하여 개체 수에 따른 후방산란강도를 구할 수 있다. 그러나 식물플랑크톤의 밀도비, 음속비는 측정하기 어렵기 때문에 후방산란강도를 구하기 어렵다. 그래서 계산하기 쉬운 후방산란파워 (Integrated Backscatter Power, IBP)를 고려하여 상대적인 값을 계산할 수 있다[4].

$$/BP = 20 \log_{10} \left(\frac{V_{rms,bs}}{V_{rms,ref}} \right)$$
(2.5)

식 2.5 에서 V_{rms,ref}는 A. carterae 을 배양하기 위한 필터된 해수에서의 후방산란신호를 말하고, V_{rms,bs}는 A. carterae 용액에서의 후방산란신호를 말한다. 본 논문에서 사용한 후방산란파워는 필터된 해수에서의 후방산란신호의 평균 전압 값과 적조 생물이 존재할 때의 후방산란신호의 평균 전압 값의 비를 이용하여 파워를 계산하며, 그 결과를 간단하게 수치적으로 표시할 수 있다. 기존연구에서 측정한 *C. polykrikoides* 는 물에 떠 다니면서 생활을 하기 때문에 실험할 때는 가라앉는 플랑크톤의 영향이 적도록 교반기를 사용하였고 센서 면부터 바닥 면까지 전체 윈도우에서 후방산란파워를 계산하였다. 반면에 *A. carterae* 는 주로 돌에 부착하거나 바닥에 가라앉아 생활하기 때문에[38], 교반기를 통해 잘 섞은 후 초음파 트랜스듀서의 일정한 초점 거리를 맞춘 후 후방산란파워를 측정하였다.



Figure 2.4. Normalized backscattering cross section as a function of the normalized size, ka. For the *Amphidinium carterae* Hulburt, 10 MHz : ka = 0.23, 35 MHz: ka = 0.8, 40 MHz: ka = 0.9 (for the Rayleigh scattering, ka < 1.0)

제 3 장

분석 방법

3.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험

저서성 와편모조류 중 하나인 A. carterae 을 이용하여 2 장에서 언급한 이론적 방법에 기반한 후방산란신호를 측정하고자 한다.

3.1.1 적조주의보, 적조경보에 따른 후방산란신호 측정 실험.

먼저 농도에 따른 후방산란신호를 측정하기 앞서 기초 자료로 적조주의보와 적조경보에 따른 A. carterae 에서의 후방산란신호를 획득하고자 한다. 실험에 사용된 A. carterae 는 f/2 배지[36] 를 이용하여 제주대학교 지구해양과학과 플랑크톤연구실에서 배양된 와편모조류의 한 종이다. 배양조건은 온도 20°C, 염분 33 psu, 조도 4500 hux 에서 명암주기를 12 시간 빛, 12 시간 암흑 환경에서 배양된 A. carterae 을 이용하였다. 또한 실험하는 과정에서 부유물에 대한 후방산란신호의 영향을 배제하고자 직경 20 μm 필터를 사용하여 부유물을 제거하였다.

먼저 A. carterae 에서 Figure 3.2 와 같이 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 상태에서 후방산란신호의 차이를 알아보기 위해서 플라스크에 담아 균등하게 섞이게 교반기를 사용하고, 세 개의 초음파 트랜스듀서를 모두 이용하여 후방산란신호를 측정해보았다. 측정방법은 다음과 같다. 500 ml 씩 3 개의 플라스크에 필터된 해수, 약 30,000 cells/ml, 약 50,000 cells/ml 총 세 조건에서 후방산란신호를 측정하였다. 실험을 위해 사용한 장비는 Figure 3.1 와 같다. 10, 35, 40 MHz 주파수 각각의 초음파 트랜스듀서, 컴퓨터, 교반기, 오실로스코프(Lecroy, LT205), 펼서 리시버(Panametrics, 5900 PR)등을 이용하였고, 펄서 리시버의 송, 수신 세팅은 PRF 200 Hz, Damping 16 ohm, Gain 54 dB, Filter 10 ~ 100 MHz 로 두고 수행하였다. 한번 측정 시 초점 거리(Focal length)를 10 MHz 초음파 트랜스듀서는 5.5cm, 35 MHz 초음파 트랜스듀서는 1.2cm, 40 MHz 초음파 트랜스듀서는 0.9 cm 를 고려하였고, 측정한 20 개의 자료를 오실로스코프에서 컴퓨터를 통해 평균 한 후에, 초점 거리를 중심으로 관심영역(ROI)을 선택하여 밴드 패스 필터를 사용하였다. 사용한 밴드 패스 필터는 각 센서 별로 10 MHz (5 ~ 15 MHz), 35 MHz (30 ~ 40 MHz), 40 MHz (35 ~ 45 MHz) 대역을 사용하였고, 필터된 신호에서 실효 전압값(RMS)을 구하여 2.2 장에서 언급한 후방산란파워를 계산하였다.

3.1.2 다양한 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험.

A. carterae 에서 필터된 해수, 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 에서 측정한 후방산란신호를 기초 자료로 보고, 본 실험에서는 주로 농도에 따른 후방산란신호를 예측하고자 다양한 농도별로 측정을 해보았다.

먼저 2.2 장에서 언급한 수식을 참고하면 이론적으로 후방산란강도의 세기는 주파수(f)의 4 제곱에 비례한다고 알 수 있다. 그러나 A. carterae 이 너무 작은 입자이기 때문에 후방산란신호가 상대적으로 잡음 레벨과 비슷하다. 그리하여 높은 후방산란신호를 보기 위하여 본 연구실에서 보유하고 있는 센서 중 가장 고주파 대역인 40 MHz 초음파 트랜스듀서 만을 가지고 측정하고자 한다.

먼저 A. carterae 의 농도에 따른 후방산란강도의 차이를 보기 위해서 먼저 개체 수를 파악하여야 한다. 세포의 개수를 측정하기 위해 광학 현미경(Nikon, Eclipse E200)을 이용하였다. 약 30,000 cells/ml 로 구성되어 있는 플라스크 200 ml 를 원심분리기를 이용하여 50 ml 양을 확보했다. 확보한 용액에서 나머지 배양액을 제거한 후 다시 원심분리를 몇 차례 반복한 후 최종적으로 농축시킨 2.5 ml 용액을 얻을 수 있었다. 농축시킬 때 세포의 손상을 방지하기 위하여 원심분리기의 속도는 최소치인 500 RPM 으로 두고 수행하였다.

회석한 방법은 얻어낸 2.5 ml 용액에서 0.5 ml 를 추출 후 배양액으로 0.5 ml 를 섞는 방법을 이용하였다. 희석한 후 가라 앉는 A. carterae 을 방지하고자 잘 섞은 후 후방산란신호를 측정하는 방법을 이용하여 총 10 회 측정하였다.



Figure 3.1. Schematic diagram of the experimental system to measure the backscattering signal using a high-frequency ultrasound transducer from the *Amphidinium carterae* Hulburt



Figure 3.2. The photos of *Amphidinium carterae* Hulburt, 50,000 cells/ml (left), 30,000 cells/ml(center), culture medium 0 cells/ml (right)

3.2 낮과 밤에 따른 변화량 측정 실험

Bok et al. (2013) 연구에 의하면 *C. polykrikoides* 의 광합성 유무에 따라 즉, 낮과 밤에 따른 후방산란강도 변화량이 약 0.8 dB 차이가 난다고 알려져 있다[30]. 또한 체적은 광합성 유무에 따라서 11 % 가량 커지다가 밤이되면 다시 작아지는 것으로 추정되었다. 이번 장에서는 같은 와편모조류 종이지만 *C. polykrikoides* 과는 크기, 체적과 생태환경이 다른 *A. carterae* 에서 초음파 후방산란을 측정하고 분석을 해보고자 한다. 빛 유무에 따른 변화의 결과를 추측하기 전 와편모조류의 각 종마다 생태환경을 파악해야 된다. *A. carterae* 은 주로 저서 생활을 하기 때문에, 실험은 농도별 분석방법과 같은 환경과 교반기를 사용하여 수행하였다. 먼저 250 ml 플라스크에 배양된 *A. carterae* 을 넣은 후, 병 입구 쪽에 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 위치하였다. 센서의 초점 거리를 고려하여 오실로스코프에서 측정한 자료를 PC 를 통해 저장하였다. 관심영역을 선택하여 밴드 패스 필터(30~50 MHz)를 사용하고 후방산란파워를 계산하였다.

본 실험은 12 시간 주기로 빛, 암흑 환경에서 30 분에 1 번씩 측정을 하였으며, 빛 환경에서는 위쪽에 전구(Osram LED, 570hux)를 위치하여 측정하였으며, 암흑 상태일 때는 빛이 들어오지 않게 암실을 만들어 측정하였다.

3.3 빛에 따른 이동성 측정 실험

3.2 장에서는 낮과 밤에 따른 변화량을 측정하였고, 즉 빛의 유무에 따른 후방산란신호가 달라지는 것을 알아 보았다. 후방산란신호의 일변화가 기존연구에서 추정한 대로 광합성에 의해 체적이 커진 것인지 혹은 빛에 반응한 일주 수직 운동 때문인지 알아보기 위하여 다음과 같은 방법을 이용하여 *A. carterae* 의 운동성을 측정하였다.

먼저 수평운동을 측정하여 빛에 따른 반응을 보기 위하여 Figure 3.4 와 같이 사각 아크릴로 암실을 만든 후 A. carterae 을 넣었다. 그룹으로 움직인다고 가정을 하고 길이 15 cm, 폭 3 cm, 높이 3 cm 의 협소한 공간에 플랑크톤을 위치하고, 한쪽 면만 빛이 통하게 하고 다른 면은 빛이 들어가지 않게 암실을 만들었다. 또한 후방산란신호가 바닥 반사신호의 영향을 최소화 하기 위하여, 중간에 비닐 랩(PVC)을 위치한 후 오실로스코프의 윈도우에서 관심영역을 선택하여 빛에 따른 후방산란신호의 변화를 측정해 보고자 한다. 반면에 수직 운동은 윗 면을 제외한 모든 부분은 빛이 들어가지 않게 하였다. 그리고 위쪽에 빛을 통하게 하여 A. carterae 의 빛에 따른 운동성을 파악하고자 한다.

두 실험 모두 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 측정하였다. 기존 실험에서는 펄서 리시버의 세팅을 Gain 54 dB, Energy 8μJ 로 하였으나, 상대적인 후방산란신호 크기가 잡음 크기와 비슷하기 때문에 측정하기가 어려웠다. 그리하여 본 실험을 수행하기 전에 앞서 Figure 3.3 과 같이 펄서 리시버 세팅을 변경하면서 측정해보았다. 먼저 필터된 해수, 가라 앉은 플랑크톤, 잘 섞은 플랑크톤 총 세 경우에서 펄서 리시버의 세팅을 변경해가면서 측정 해보았다. 그리하여 본 실험에서는 상대적으로 후방산란신호만 크게 나타나고, 잡음 크기를 줄이는 펄서 리시버의 세팅을 Gain 26 dB, Energy 32 μJ 로 고정하여 측정하였다.



Figure 3.3. Integrated backscattering power measured in the 250 ml flask containing *Amphidinium carterae* Hulburt depending on the parameters of the pulser-reciever. 1-6 data numbers of the x-axis: Energy 32μJ, Gain 26 dB, 7-12 data numbers of the x-axis: Energy 8μJ, Gain 54 dB in the water, *Amphidinium carterae* Hulburt and under *Amphidinium carterae* Hulburt



Figure 3.4. Experiments of the vertical (left) and horizontal (right) movement of the *Amphidinium carterae* Hulburt in response to the presence or absence of light

제 4 장

분석 결과

제 4 장에서는 A. carterae 용액 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 에서 후방산란신호를 측정하였다. 또한 농도에 따른 후방산란신호의 변화를 확인하기 위한 실험을 수행하였다. 또한 낮과 밤에 따른 후방산란신호의 변화량을 측정하였으며, 빛에 따라 이동하는 운동성을 측정하였고, 초음파 M-mode 기법을 사용하여 이동 속도를 추정하였다.

4.1 농도에 따른 후방산란신호 측정 결과

4.1.1 적조주의보, 적조경보에 따른 후방산란신호 측정 실험.

A. carterae 를 이용하여 필터된 해수, 배양된 해수 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 에서 후방산란신호를 측정하였다. ka < 1 을 만족하는 레일레이 산란을 만족하는 10, 35, 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 사용하여 획득하였다. PC 를 통해 받은 후방산란신호는 1 번에 20 개의 자료를 평균을 하였으며, 오차를 줄이기 위해 3 회 측정하였다. 후방산란파워는 필터된 해수를 기준으로 계산하였다. 먼저 10 MHz 초음파 트랜스듀서의 측정 결과를 살펴보면 30,000 cells/ml 와 50,000 cells/ml 에서의 차이는 약 0.2 dB 이하로 나타나 상대적으로 dB 값에 의한 큰 차이를 볼 수 없었다. 반면에 35 MHz 초음파 트랜스듀서로 측정 결과 0.5 dB 로 나타남을 보였다. 또한 40 MHz 초음파 트랜스듀서로 측정한 결과 0.7 dB 로 나타남을 확인하였다. (Figure 4.1) 그러나 주파수 대역, 필터 대역 등 다른 환경에서 측정한 자료이기 때문에 세 트랜스듀서에서 후방산란신호를 비교를

하기엔 어려움이 있었으나, 2 장에서 언급한 주파수의 4 제곱, 반경의 6 제곱에 비례하는 후방산란 신호를 확인하고자 레일레이 산란을 만족하는 주파수 대역 이내의 초음파 트랜스듀서를 사용하여 후방산란신호를 확인하였고, 그 결과 A. carterae 에서 초음파를 이용한 후방산란 특성 자료로 이용할 수 있었다.



Figure 4.1. Difference of the integrated backscattering power from the 30,000 cells/ml and 50,000 cells/ml of *Amphidinium carterae* Hulburt using 10, 35, 40 MHz high-frequency ultrasound transducers

4.1.2 다양한 농도에 따른 후방산란신호 측정 실험.

기초 실험을 통해 최적 주파수를 선정한 후, 본 실험에서는 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 다양한 농도에 따른 후방산란신호를 측정한 결과를 나타내었다. 먼저 200 ml 플라스크에 약 30,000 cells/ml 로 분포된 *A. carterae* 을 원심분리기를 이용하여 약 10 배 이상의 농도로 농축시켰다. 최종적으로 2.5 ml 농축 시킨 용액에서 개체 수가 약 333,000 cells/ml 로 확인되었으며, 10 차례 희석하고 마지막으로 획득한 용액에서는 농도가 약 40,000 cells/ml 로 나타남을 확인하였다. 수치상으로 계산하였을 때, 농도가 약 44,000 cells/ml 로 나타나 개체 수를 측정하였을 때와 유사하게 나타났다.

본 실험에서 희석한 방법은 다음과 같다. 2.5 ml 농축시킨 용액을 잘 섞은 후에 0.5 ml 추출한 후 배양액을 0.5 ml 넣어 희석하는 방법을 사용하였다. 후방산란신호를 측정할 때는 희석하고 가라앉는 플랑크톤의 영향이 없도록 잘 섞은 후에 10 차례 측정하였다. 333,000 cells/ml 용액에서는 후방산란신호가 약 16.5 dB 로 측정되었고, 40,000 cells/ml 용액에서는 후방산란신호가 약 8.5 dB 로 측정되었다. 그 결과 *A. carterae* 의 개체 수가 85% 감소할 때 후방산란신호는 약 8 dB 감소함을 알 수 있었으며, (Figure 4.2) 개체 수에 따른 후방산란파워 값을 추정할 수 있는 가능성을 보였다.



Figure 4.2. Integrated backscattering power measured as a function of concentrations of the Amphidinium carterae Hulburt using a 40 MHz high-frequency ultrasound transducer (ref. V_{rms} is fresh water)

4.2 낮과 밤에 따른 변화량 측정 실험 결과

낮과 밤에 따른 후방산란신호의 변화량 분석 결과 실험실 내에서도 실제 해양 환경과 비슷한 조건을 적용시키기 위해 빛을 이용하였다. 조명이 위치한 윗부분을 제외하고 나머지 부분을 암실 상태로 만든 후 12 시간 주기로 빛 환경과 암흑 환경을 만들었다. 기존 Bok et al. (2013)이 연구한 결과에 따르면 부유성 와편모조류의 한 종인 *C. polykrikoides* 에서 5 MHz 초음파 트랜스듀서로 측정 결과 후방산란신호의 변화량이 주로 광합성에 의한 약 11%의 체적 변화로 추측 된다고 하였다. 따라서 저서성 와편모조류 종 중 하나인 *A. carterae* 에서 기존 연구와 같은 결과가 나타남을 확인하기 위해 12 시간 주기로 빛과 암흑 환경에서 후방산란신호를 측정하였다.

40 MHz 초음파 트랜스듀서로 측정 결과 빛 유무에 따른 후방산란신호가 변화하는 것을 알 수 있었다. (Figure 4.3) 암흑 환경에서는 3 dB 에서 2.4 dB 로 0.6 dB 감소를 보였으며, 빛 환경에서는 2.4 dB 에서 약 4 dB 로 1.6 dB 가 증가하는 것을 확인하였다. 또한 그 다음주기에서도 4 dB 에서 3.4 dB 로 약 0.6 dB 가 감소했고, 낮에는 3.4 dB 에서 5 dB 로 약 1.6 dB 가 증가함을 확인하였다. 또한 시간이 지날수록 개체 수 증가에 따른 후방산란신호가 약 2.0 dB 정도 상승함을 확인할 수 있었다.

또한 광합성 양에 따른 체적 변화를 검증하고자 Jun Sun et al. (2006)이 제안한 플랑크톤 체적 계산식을 이용하여 계산하였다[39]. 광학 현미경을 이용하여 2개의 플라스크에서 낮과 밤의 주기에 따른 A. carterae 의 체적을 계산한 결과를 Figure 4.4 에 나타내었다. 또한 계산한 자료의 정확성을 위하여 20 개의 자료에서 측정한 값을 평균했다. 빛에 노출한지 6 시간 후에는 A. carterae 의 체적이 약 800 µm³으로 나타났고, 빛이 없는 6 시간 후에는 약 700 µm³으로 나타나 약간의 낮과 밤에 따른 변화량을 볼 수 있었다. 그 다음 주기에서는 900 µm³으로 나타나 변화량을 볼 수 없었고, 그 다음 낮과 밤에서도 750 µm³으로 나타나 광합성에 따른 체적 변화량을 확인 할 수 없었다. 그 결과 A. carterae 의 후방산란신호의 변화량은 광합성에 따른 체적 변화로 추정하기는 무리가 있어 보인다. 트랜스듀서의 초점 거리를 고려한 위치에서만 후방산란신호를

측정하였기 때문에, 주로 빛의 유무에 따른 일주 수직 운동성으로 인하여 후방산란신호가 변동하였을 것으로 추정할 수 있다. 약 1 dB 이내의 주기적 변화는 이러한 일주 수직 운동에 의해 나타나고, 시일이 지날수록 개체 수가 늘어남에 따른 총 후방산란신호가 약 2 dB 이내의 증가로 측정되었다. 그 결과 낮과 밤에 따른 후방산란신호의 주기적인 변화량은 일주 수직 운동에 의한 것으로 나타났는지 광합성에 의한 체적 변화인지를 확증할 순 없었다.



Figure 4.3. Variation of the ultrasound integrated backscattering power as time according to the day (white background) and the night (dark background) of the *Amphidinium carterae* Hulburt using a 40 MHz high-frequency ultrasound transducer (ref. V_{rms} is fresh water)



Figure 4.4. The result of the calculation according to the day (white background) and the night (dark background) of the volume of the *Amphidinium carterae* Hulburt in the 2 flasks using a microscope

4.3 빛에 따른 이동성 측정 결과

4.2 장에서 낮과 밤에 따른 후방산란신호의 변화량을 확인하였다. 그러나 등가 구형 반경이 약 5.5 μm 인 A. carterae 의 빛에 따른 운동성을 검증하기 위하여 중력의 영향이 적은 저서 와편모조류의 특성을 반영한 수평 운동과 중력 영향이 많은 수직 운동 환경에서 후방산란신호를 측정해보고 이동속도를 추정하는 방법으로 M-mode 영상에서 기울기를 구하여 이동속도를 추정하고자 한다.

4.3.1 저서 와편모조류의 수평운동 분석 결과

저서성 와편모조류의 운동성은 대부분 해양 환경에서는 일주 수직 운동에 대한 수직 운동의 영향이 크지만, 바닥에 부착하는 A. carterae 의 특성을 고려하여 측정하였다. 또한 저서 와편모조류의 수평 운동은 수직 운동과는 다를 것으로 가정하고 후방산란신호를 측정해 보았다. 빛의 위치에 따른 A carterae 의 후방산란신호를 측정한 결과를 Figure 4.5 에 나타내었다. 측정을 시작하기 앞서 잘 분포되어 있는 산란체에서는 약 2.8 dB 로 나타났으나, 빛 환경에서 약 10 시간 후에는 후방산란신호가 3.15 dB 로 나타나 빛 쪽으로 모여드는 것을 확인하였다. 암흑 환경에서는 후방산란신호 값이 약 2.9 dB 로 감소함을 확인하였다. 여러 주기를 측정하여 검증하고자 다시 빛을 주었더니 후방산란신호가 약 0.3 dB 증가하여 3.1 dB 로 나타났고, 측정한지 26 시간 후에 빛을 반대쪽에 위치하였더니 후방산란신호가 점차적으로 감소하는 것을 확인하였다.



Figure 4.5. The result of the backscattering signal according to the light position, and the day (white background) and the night (dark background) in horizontal movement of the *Amphidinium carterae* Hulburt (the yellow background representing the opposite light position and the red line illustrating the curve fitting line)

4.3.2 저서 와편모조류의 수직운동 분석 결과

일주 수직 운동 변화를 알아보기 위해 약 100,000 cells/ml 로 구성되어 있는 A. carterae 를 협소한 공간인 2.5 ml 용기에 넣고 빛의 유무에 따른 수직 운동을 측정해 보고자 한다. 먼저 윗 부분을 제외한 나머지 부분을 암실상태로 만든 후 윗 부분에 초음파 트랜스듀서를 위치하고 스탠드를 놓아 두어 빛을 주었다. 그리고 나서 2 분에 1 번씩 2 초간 (400 개, PRF 200 Hz)의 자료를 측정하고 본 논문에서 제시하는 이동 속도를 계산하는 방법 중 하나인 M-mode 영상처리 기법을 적용하였다. (Figure 4.6) 암흑 환경에서는 중력에 의해 산란체가 가라앉는 반면 빛 환경에서는 빛이 있는 윗부분으로 A. carterae 가 떠오르는 것을 M-mode 영상에서 확인할 수 있었다. 또한 수직 움직임을 분석해서 플랑크톤의 수직 이동속도를 추정했다.

본 논문에서 M-mode 영상에서 수직 운동 즉, A. carterae 의 이동 속도를 추측한 방법은 다음과 같다. Figure 4.7 (a)의 PC 에서 오실로스코프를 통해 받은 신호의 역 Fourier Transform 을 취하여 AR spectrum 을 구하였고 (b)와 같이 영상으로 나타내었다. 그리고 (c)의 각 측정된 자료 별 최대 후방산란파워(Max Backscattering Power, MBP)를 추출하였다. 그 후 (d)의 중앙값 필터(Median filter)를 사용하여 문지방을 넘는 신호는 제거하였다. 그리고 나서 (e) 와 같이 최대 후방산란파워를 A-mode 로 나타내서 연속적인 선을 구할 수 있고 그 선을 플랑크톤의 움직임으로 가정을 하였다. 최종적으로 측정된 자료를 (f) 와 Figure 4.8 의 M-mode 영상으로 나타내어 기울기에 따른 속도를 추정할 수 있었다.

Table 2 에는 Figure 4.8 에서 얻은 영상을 이용하여 기울기에 따른 그룹 이동 속도를 구하였다. 암흑 환경에서는 약 -0.11 mm/s 로 추정되었고, 빛 환경에서는 약 0.48 mm/s 로 추정할 수 있었다. 그러나 한번 측정된 자료에서 한 개의 최대 후방산란파워 값 만을 찾아낼 수 있는 문제점이 있으며, AR Spectrum 변수와 중앙값 필터 윈도우 크기에 따라 측정된 이동속도가 달라질 수 있다. 그리하여 같은 실험 환경에서 농도가 약 80,000 cells/ml 인 *A. carterae* 에서 M-mode 방법을 사용하여 측정하였다. (Figure 4.9) 기울기 분석 결과 암흑 환경에서는 약 -0.13 mm/s, 빛 환경에서는 0.39 mm/s 로 추정되어 두 차례 모두 비슷한 결과가

나타났음을 확인하였다.



Figure 4.6. M-mode images of the backscattering signal of the *Amphidinium carterae* Hulburt consisting of 100,000 cells/ml using a 40 MHz ultrasound transducer. Measurement time : 2 seconds in every 2 minutes. (x axis : measured time [s], y axis : measured depth

[mm])



Figure 4.7. (a) M-mode image of the backscattering signal (raw data) (b) The image of the signal applied the AR spectrum (c) Maximum backscattering power(MBP) per each signal data (d) The image using a median filter (e) Movement of *Amphidinium carterae* Hulburt (f) Moving speed of the *Amphidinium carterae* Hulburt (x axis : measured time [s], y axis :

measured depth [mm])



Figure 4.8. The results of M-mode image applying the method described in Figure 4.6 to the data in Figure 4.5 (x axis : measured time [s], y axis : measured depth [mm])

	2 분후	4 분후	6분후	8분후	10 분후	평균
암흑 환경	-0.086	-0.121	-0.068	-0.105	-0.176	-0.111
빛 환경	0.067	0.849	0.364	0.613	0.520	0.483

Table 2. The value of gradient according to the day and the night in Figure 4.8 (mm/s) $\,$



Figure 4.9. The results of M-mode image applying the method described in Figure 4.6 to the backscattering signal of the *Amphidinium carterae* Hulburt consisting of 80,000 cells/ml under same measurement environments (x axis : measured time [s], y axis : measured depth [mm])

Table 3. The value of gradient according to the day and the night in Figure 4.9 (mm/s)

	2 분후	4 분후	6분후	평균
암흑 환경	-0.184	-0.123	-0.111	-0.139
빛 환경	0.247	0.397	0.549	0.398

제 5 장

결론 및 향후 연구

주로 해양 환경에서 이상 증식 현상을 일컫는 유해 적조 현상으로 인하여 전 세계적으로 많은 피해를 입고 있다. 적조 현상은 우리나라 남해안에서 주로 여름철에 발생하여 양식업에 많은 피해를 입혀 2014 년도에는 광역 해역에서 대규모로 발생하였으며, 75 일 이상 적조 현상이 유지되기도 하였다[22]. 우리나라에서 주로 적조를 일으키는 부유성 와편모조류(dinoflagellate)는 Cochlodinium polykrikoides(C. polykrikoides)으로 알려져 있다. 그러나 최근에는 지구온난화로 인하여 수온이 상승함에 따라 저서성 와편모조류 종 중 하나인 아열대성 유독 적조 생물 Amphidinium carterae Hulburt(A. carterae)가 제주도 해변에서 출현했다고 밝혀졌다. 현재까지는 주로 적조 현상을 관찰하기 위하여 선박의 광량측정기를 이용하거나 직접 해수를 채취하여 현미경으로 관찰하는 직접적인 방법 또는 항공 및 인공위성을 이용한 넓은 범위에서 관찰을 하였다. 그러나 이는 많은 비용과 인력의 문제점도 있으며 현장에서 직접 측정이 어려울 뿐만 아니라 정확성도 떨어지는 단점이 있다. 그렇기 때문에 우리나라에서도 대량 증식에 의한 확산을 예방하여 피해를 최소화하기 위해서 A. carterae 에서 음향학적인 기법을 이용한 후방산란 특성 파악을 제안하고, 후방산란파워를 측정하는 데에 초점을 맞췄다. 본 논문에서 분석한 방법은 Bok et al., (2010) 이 제안한 후방산란파워(Integrated Backscattering Power, IBP)를 A. carterae 용액에서 측정하였다. A. carterae 의 크기를 고려하여 레일레이 산란을 만족하는 10, 35, 40 MHz 초음파 트랜스듀서를 이용하여 후방산란신호의 특성을 살펴보았으며, 40 MHz 주파수 대역에서 개체 수에 따른 변화량 측정이 가장 잘 된 것을 확인할 수 있었다.

본 논문에서는 30,000 cells/ml, 50,000 cells/ml 의 A. carterae 용액에서 후방산란신호를 측정하여 음향 특성의 기초 자료를 획득하였다. 또한 농도에

따른 상대적인 후방산란신호를 구하고 개체 수에 따른 후방산란파워를 역 추정할 수 있는 기초 자료를 제공하였다. 마지막으로 낮과 밤에 따른 후방산란신호의 변화량을 측정하였고, 빛에 따른 후방산란신호의 변화량을 이용하여 *A. carterae* 의 이동성을 계산하였다. 그리고 M-mode 영상으로 나타내어 수직 운동을 구한 결과 빛이 있을 때는 약 0.4 mm/s 의 속도로 빛 쪽으로 떠오르는 이동성을 계산하였으며, 암흑 환경에서는 0.1 mm/s 속도로 땅으로 가라 앉는 이동성을 계산하였다.

본 연구는 실험실 내에서 초음파를 이용하여 저서성 와편모조류 종인 A. carterae 의 후방산란 특성을 파악하였으며, 초음파 M-mode 기법을 이용하여 A. carterae 의 이동 속도를 측정한 의의가 있다. 추후 연구에서는 본 연구를 토대로 여러 종에서의 후방산란 특성 분석을 하고자 한다. 또한 A. carterae 에서 다중 트랜스듀서를 사용하여 두 지점에서 이동 속도를 검증하고자 하며, M-mode 영상에서 수직 운동과 수평 운동의 기울기 분석을 통한 이동 속도를 비교 분석 하고자 한다.

참고문헌

- [1] 강돈혁, 황두진, 서호영, 윤양호, 서해립, 김용주, 신현출, Iida Kohji, "동중국해 음향 산란층 내의 Euphausiid (Euphausia pacifica) 밀도 추정," 한국수산학회지, 36 (6), 749-756, 2003
- [2] Kang D and Hwang D, "Ex situ target strength of rockfish (Sebastes schlegeli) and red seabream (Pagrus major) in the Northwest Pacific," ICES J. Mar. Sci., 60, 538-543, 2003
- [3] E. Kim, H. Lee, J. Na, J. Choi, and D. Kang, "5-MHz acoustic-backscatter measurements of Cochlodinium polykrikoides blooms in Korean coastal waters," ICES Journal of Marine Science, 67 (8), 1759-1765, 2010
- [4] T. Bok, D. Paeng, E. Kim, J. Na, D. Kang, "Ultrasound backscattered power from *cochlodinium polykrikoides* the main red tide species in the Southern Sea of Korea," J. Plankton Res. 32 (4), 503-514, 2010
- [5] C.F. Greenlaw, "Acoustical estimation of zooplankton populations," Limnol. Oceanog.,24 (2), 226-242, 1979
- [6] D. V. Holliday and R. E. Pieper, "Volume scattering strength and zooplankton distributions at acoustic frequencies between 0.5 and 3 MHz," J. Acoust. Soc. Am., 67 (1), 135-146, 1980

- [7] T. Stanton, D chu and P. H. Wiebe, "Acoustic scattering characteristics of several zooplankton groups," ICES J. Mar. Sci., 53, 289-295, 1996
- [8] 임월애, 이영식, 박종규, "2008 년 남해동부해역의 Cochlodinium polykrikoides
 적조 발생 특성," J. Korean Soc. Oceanography, 14 (3), 155-162, 2009
- [9] Ahn YH, Shanmugam P, Chang KI, Moon JH, Ryu JH, "Spatial and temporal aspects of phytoplankton blooms in complex ecosystems off the Korean Coast from satellite ocean color observations," Ocean Sci. J., 40, 67–78, 2005
- [10] Angeles S, Jordi A, Garces E, maso M, Basterretxea G, "High-resolution spatiotemporal distribution of a coastal phytoplankton bloom using laser in situ scattering and transmissometry (LISST)," Harmful Algae, 7 (6), 808-816, 2008
- [11] 임선호, "초음파를 이용한 유해적조 통합 음향탐지 시스템 개발에 관한
 연구," 박사학위논문, 한양대학교 대학원, 2013. 2
- [12] Blanc S, Mosto P, Benitez C, Juárez R, Milou M and Lascalea G, "Acoustical response of phytoplankton volume scatterers at ultrasonic frequencies as an indicator of pollution in sea waters," Transactions on Ecology and the Environment, 18, 231–240, 1998
- [13] Falkowski P, "Ocean Science: The power of plankton," Nature, 483, S17-S20, 2012
- [14] Falkowski P, Fenchel T and Delong EF, "The microbial engines that drive earth's biogeochemical cycles," Science, 320, 1034-1039, 2008

- [15] Falkowski P, "Tracing oxygen's imprint on earth's metabolic evolution," Science, **311**, 1724-1725, 2006
- [16] Kudela R.M and Gobler C.J, "Harmful dinoflagellate blooms caused by Cochlodinium sp. Global expansion and ecological strategies facilitating bloom formation.," Harmful algae, 14, 71–86, 2011
- [17] Margalef R. "Hidrografia y fitoplankton de un rea marina de la costa meridional de Puerto Rico," Invest. Pesq, 18, 33-96, 1961
- [18] Matsuoka K and Iwataki M, "Present status in study on a harmful unarmored dinoflagellate cochlodinium polykrikoides Margalef," Bull. Plankton. Soc. Jap., 51, 38-45 (in japanese)
- [19] 김학균, 정창수, 임월애, 이창규, 김숙양, 윤성화, 조용철, 이삼근, "한국연안의
 Cochlodinium polykrikoides 적조 발생과 변천," 한국수산학회지, 34 (6), 691 696, 2001
- [20] 정상옥, 안경호, "우리나라 연안의 코클로디니움 적조 발생 변동 연구", 한국환경생태학회 학술대회논문집, 21 (1), 57-58, 2011
- [21] 윤양호, "*바다의 반란 적조*," 집문당, 242, 2001
- [22] 국립수산과학원 "적조 예보 및 발령기준," http://portal.nfrdi.re.kr/redtide/ webpage/operation/operation_04.jsp, 2014

- [23] 서필수, 이상준, 김윤, 이정호, 김학균, 이제동, "적조 와편모조류, Cochlodinium polykrikoides 의 순수분리 및 성장," J. Korean Fish Soc., 31 (1), 71-76, 1998
- [24] Hyung-Seop Kim, Wonho Yih, Jong-Hyeok Kim, Geumog Myung and Hae-Jin Jeong,
 "Abundance of epiphytic dinoflagellates from coastal waters off Jeju Island, Korea During Autumn 2009," Ocean Science Journal, 46 (3), 205-209, 2011
- [25] Md. Mahfuzur Rahman Shah, So-Jeong An and Joon-Baek Lee, "Seasonal abundance of epiphytic dinoflagellates around coastal waters of Jeju island, Korea," J. Mar. Sci. Technol. 21 (10), 156-165, 2013
- [26] Md. Mahfuzur Rahman Shah, So-Jeong An and Joon-Baek Lee, "Presence of benthic dinoflagellates around coastal waters of Jeju Island including newly recorded species,"
 J. Ecol. Environ. 36 (4), 347-370, 2013
- [27] Md. Mahfuzur Rahman Shah, So-Jeong An and Joon-Baek Lee, "Occurrence of Sanddwelling and Epiphytic Dinoflagellates Including Potentially Toxic Species along the Coast of Jeju Island, Korea," Marine Biodiversity, 40, 237-247, 2014
- [28] 복태훈, "고주파를 이용한 적조 탐지," 석사학위논문, 한양대학교 대학원, 2006.2
- [29] 강돈혁, 임선호, 이형빈, 도재원, 이윤호, 최지웅, "초음파를 이용한 유해적조의 실시간 음향탐지 시스템 개발 및 평가," Ocean and Polar Research, 35 (1), 15-26, 2013

- [30] T. Bok, J. Na and D. Paeng, "Diel variation in high-frequency acoustic backscatter from Cochlodinium polykrikoides," J. Acoust. So. Am, 134 (2), 140-146, 2013
- [31] Medwin H and Clay C.S, "Fundamentals of Acoustical Oceanography," Academic Press, Boston, 1998
- [32] Kamykowski D, Reed RE and Kirkpatrick GJ, "Comparison of sinking velocity, swimming velocity, rotation and path characteristics among six marine dinoflagellate species," Marine Biology, 113, 319-328, 1992
- [33] Blanc S, Benitez C, Milou M, Mosto P, Lascalea G and Juárez, R, "Acoustical behaviour of phytoplanktonic algae," Acoustics Letters, 23 (9), 2000
- [34] Hansen G, "Cochlodinium polykrikoides, Protozoa(other), WoRMS Photogallery, http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=232650, 2011
- [35] Fukuyo Yasuwo, "Atlas of Dinoflagellates," http://dinos.anesc.u-tokyo.ac.jp, 2011
- [36] Murray, S, Joergensen, MF, Daugbjerg, N and L Rhodes. "Amphidinium revisited. II. Resolving species boundaries in the Amphidinium operculatum species complex (Dinophyceae), including the descriptions of Amphidinium trulla sp. Nov. and Amphidinium gibbosum comb. Nov," J. Phycol., 40, 366-382, 2004
- [37] Johnson RK, "Sound scattering from a fluid sphere revisited," J. Acoust. So. Am., 61(2), 375-377, 1977

- [38] Guillard RR and Ryther JH, "Studies of marine planktonic diatoms. *I. Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervaceae* (cleve). Gran," Can. J. Miucrobiol. 8, 229-239, 1962
- [39] Jun Sun and Dongyan Liu, "Geometric models for calculating cell bio volume and surface area for phytoplankton," Journal of plankton research, 25 (11) 1311-1346, 2003

감사의 글

대학원 입학한지 불과 몇 일전이라고 느껴졌으나, 벌써 석사과정을 마쳤다는 것이 꿈만 같습니다. 힘들어했을 때가 많았지만 지난 2 년을 돌아보면 얻은 것이 훨씬 많았다고 생각합니다. 앞으로 인생 살아가는데 있어 정말 중요한 순간 일 것이라는 생각이 듭니다.

대학원 과정 동안 실수도 많이 했으나 많은 신뢰와 용기를 북돋아 주셨던 팽동국 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 항상 저에게 열심히 하라고 용기를 북돋아 주셨고 많은 가르침을 해주신 배진호 교수님, 이종현 교수님께 감사 드립니다. 항상 관심과 격려를 주신 조일형 교수님, 배윤혁 교수님께도 감사 드립니다. 또한 연구를 위해 자료를 찾아 주시고 논문 심사를 맡아주신 이준백 교수님께도 감사 드립니다. 또한 충남대학교 유원선 교수님께도 감사 드립니다. 저에게 끊임 없는 관심과 큰 도움을 주신 남권호 박사님과 음향학 연구분야를 일깨워주시고 너무 많은 도움을 주신 태훈형께 감사의 말씀을 전합니다.

음향학 연구실에서 인생 선배이자 정신적 지주인 주호형에게 항상 감사한 마음을 가지고 있습니다. 화 한번 내지 않고 꼼꼼하게 모르는 부분을 하나하나 알려주고 여러 부분에서 도와주신 그 마음 평생 잊지 않겠습니다. 대학원 다니는 동안 많은 도움을 주신 혁준형, 재일형, 정록형, 의공학협동과정 관석형, 지구해양과학과 소정이에게 감사의 말씀을 전합니다. 또한 옆에서 늘 응원해주는 창수, 혜빈, 종우, 기철이와 앞으로 힘든 대학원 길을 걸을 수홍, 종화와 조교 은영누나에게도 고마운 마음을 전합니다. 학부 때부터 많은 도움을 주신 수화형, 승우형, 정희형, 정훈형, 영길형, 형동형, 명승형, 선우형, 성협형, 형민형, 윤정누나, 아라누나, 보람누나에게 감사합니다. 또한 대호형, 종헌형, 병진형, 대희형, 승철, 수경, 요한, 창현, 건민이에게 감사의 말을 전하고 해양시스템공학과 기배, 은선, 명지, 청아와 여러 선후배님 모두에게 감사드립니다. 그리고 열심히 살아가는 친구들 용랑, 정현, 탁환, 석, 인환, 철홍, 용익, 연태, 명진, 라함 등 여러 서곡팸 친구들에게도 고맙다는 말을 전합니다. 또한 늘 내게 힘이 되어주는 세진이에게 특별한 고마움을 전하고, 마지막으로 사랑하는 우리가족 아버지, 어머니, 태현이에게 감사하다는 마음을 전합니다.