

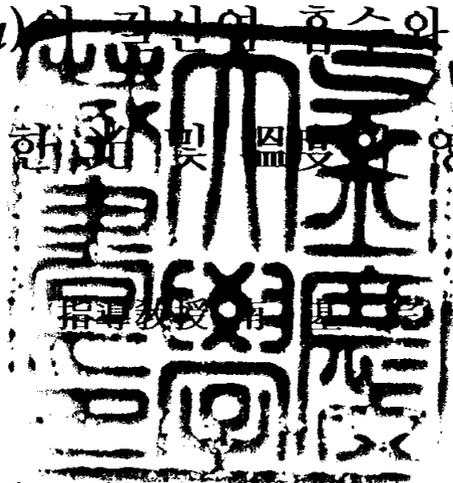
T11
K 11
A2
= 2

理學碩士 學位論文

韓國產 綠藻 남작파래 (*Enteromorpha*

compressa)의 광합성 흡수와 배아생장에

대한 빛 및 온도 영향



이 論文을 理學碩士 學位論文으로 提出함.

2003年 2月

釜慶大學校 大學院

海洋生物學科

이 동 훈

이동훈의 理學碩士 學位論文을 認准함.

2002年 12月 26日

主 審 이 학 박사 김영식



委 員 이 학 박사 최한길



委 員 수산학 박사 남기완



목 차

Abstract	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	
1. 질산염 흡수	5
2. 실내배양	9
3. 지방산분석	10
4. 자료분석	13
III. 결과 및 고찰	
1. 질산염 흡수에 대한 질산염 농도, 광 및 온도의 영향	14
2. 배아의 생장에 대한 질산염 농도, 광, 및 온도의 영향	21
3. 지방산 조성에 대한 질산염 농도, 광 및 온도의 영향	

.....	31
IV. 종합고찰	37
V. 요약	44
VI. 감사의 글	46
VII. 참고문헌	47
VIII. 부 록	54

Effects of light and temperature on the nitrate uptake and germling growth of *Enteromorpha compressa* (Chlorophyta) in Korea

Dong Hoon Lee

Department of Marine Biology, Graduate School,

Pukyong National University

Abstract

Effects of light and temperature on the nitrate uptake and germling growth of *Enteromorpha compressa* (L.) Greville (Chlorophyta) were studied based on samples collected from Cheongsapo near Busan, Korea. Their effects on fatty acids composition in thallus were also examined.

Nitrate uptake showed saturation kinetics. V_{max} (maximal uptake rate) and its K_s (half-saturation constant) at 20°C, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, white light were 1.571 $\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and 3.56 μM , respectively. In nitrate uptake with irradiance, wavelength and temperature, its rate represented respectively the highest value as 1.405 ± 0.020 , 0.623 ± 0.040 , 1.422 ± 0.022 $\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ at 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, red light, 20°C and exhibited significant difference among the examined conditions ($p < 0.001$).

Germling growth of *E. compressa* also showed saturation kinetics, and V_{max} (maximal uptake rate) and its K_s value at 20°C, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12:12h were 56.18 $\times\text{day}^{-1}$ and 0.33 μM , respectively. Specific growth rate recorded maximal value as 49.33~54.80, 39.07~50.72, 47.20~54.53 $\times\text{day}^{-1}$ at 120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, blue light and 18°C, and showed significant difference among the examined conditions ($p < 0.001$). Red light made the effective nitrate uptake, but germling growth was largely limited by the light.

In fatty acids analysis, PUFAs (Polyunsaturated fatty acids) was highly observed at blue light, 18°C, 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. However, irradiance did not affect to the production of PUFAs.

In conclusion, nitrate uptake and germling growth of *E. compressa* showed saturation kinetics to external nitrate concentration, and were importantly affected by irradiance, wavelength and temperature. Fatty acid composition was also influenced by the limiting factors except for irradiance. Their maximal values, together with the highest production of PUFAs, were found at blue light band, 20°C, $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and $100 \mu\text{M NO}_3^-$ among the examined conditions.

I. 서 론

해양에서의 저서 부착조류는 부유성 미세조류와 함께 일차 생산자로서 해양생태계에서 중요한 역할을 담당하고 있으며 (Björnsäter and Wheeler, 1990), 특히 근래에는 해양 무척추동물 및 어류양식에 있어서도 먹이 공급원으로서의 그 잠재적 유용성이 부각되고 있다 (Davies *et al.* 1997). 그러나 한국연안의 많은 곳에서는 공유수면 매립과 같은 해조류의 서식처의 파괴 및 갯녹음 현상, 그리고 다양한 해양오염에 의하여 이들의 생체량은 현저하게 감소되고 있다. 해조류의 생장은 다양한 외부환경 조건인 온도, 염분, 광 (Lobban and Harrison, 1994)과 영양염 농도 (Floreto *et al.*, 1993)등에 의해 영향을 받는데, 해중의 많은 영양염 중 특히 질소 (N)는 온대 해역에서 해조류의 생장을 제한하는 가장 중요한 영양염 중의 하나로 인식되고 있다 (Ryther and Dunstan, 1971). 질소는 해중에서 여러 형태 (Amino acids, L - leucin, nitrite, nitrate, ammonium)로 해조류에 이용되는데, 이중에서도 질산염은 연안에 비교적 우세하게 존재하며 (Wheeler and North, 1980), 해조류 조직내 전체 질소중 7-15% 정도를 차지하고 있다 (McGlathery *et al.*, 1996). 암모늄 역시 중요한 질소원이지만 50 μ M 이상의 높은 농도에서는 종종 해조류에 독성을 미치거나 생장을 저해하기도 한다 (Fujita *et al.*, 1989). 또한 암모늄은 해조류가 질소 결핍 상태일 때를 제외하곤 보통 동화에 필요한 양만을 흡수하는 반면, 질산염은 이와 관계 없이 체내에 저장되기 때문에 영양염 기근시에 생장에 필요한 중요한 질소 공급원으로 이용된다 (McGlathery *et al.*, 1996).

이러한 이유로 해조류의 질산염 흡수와 체내 대사과정에 따른 생장률의 변화에 대하여 많은 연구들이 수행되어져왔다 (Chapman *et al.*, 1978;

Morgan and Simpson, 1981; Lobban *et al.*, 1985). 특히, 부영양화 지역에 번무하며, 기회성 (opportunistic) 해조류로 알려진 녹조류의 갈파래류 (*Ulva*) 및 파래류 (*Enteromorpha*)는 이들 연구의 주요 대상이 되어왔다 (Lapointe and Tenore, 1981).

이러한 연구와 관련하여 갈파래류 (*Ulva*)는 오염 수역에서 효율적인 생물여과자 (biofilter)로써 질소성분의 무기 복합물을 제거시키는데 탁월한 능력이 있다고 알려져 있다 (Jiménez del Río *et al.*, 1996). 또한 흡수, 동화된 질소원은 해조류의 지방산 조성에도 변화를 가져오는데, 특히 PUFAs (Polyunsaturated fatty acid): total FAs (Fatty acids)의 비는 해조류의 생리적 상태에 대한 중요한 지표 (indicator)로써 (Floreto *et al.*, 1993), 생장률이 높고 조체내 탄소원 (C):질소원 (N)의 비가 낮을 때 PUFAs 값은 높게 나타난다 (Ahlgren *et al.*, 1992). 따라서 해조류의 지방산 조성에 대한 연구 역시 활발히 수행되고 있다 (Tenore, 1976; Gómez-Pinchetti *et al.*, 1998).

그러나, 한국에서는 이와 관련된 연구로 파래류에 대한 몇 가지 제한 요인 (광, 온도, 염분)에 대한 배아의 발아 및 생장, 그리고 야외관찰 연구가 있을 뿐 (Kim *et al.*, 1991; Kim and Lee, 1993), 영양염 흡수 및 생장, 그리고 이와 관련된 지방산 조성에 대한 연구는 수행된 바 없다.

따라서, 본 연구에서는 갈파래 (*Ulva*)와 더불어 주로 부영양화된 지역에서 우점하는 한국산 납작파래 (*Enteromorpha compressa*)에 있어서 빛과 온도 등과 같은 외부 환경 조건에 따른 질산염 흡수와 생장 반응을 살펴 오염 수역에서 생물여과자로서의 잠재적 이용가능성을 파악함과 동시에 생리적 지표로서의 납작파래의 지방산 조성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 질산염 흡수

질산염 흡수실험에 사용된 납작파래는 2001년 3월, 부산 청사포에서 채집되었다 (Fig. 1). 실험실로 운반된 엽체는 멸균해수에서 유희용 붓을 이용하여 부착 생물 및 모래와 같은 이물질들을 제거한 다음, 20℃의 $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12:12 L:D (Light:Dark)하에서 3일간 순응시켰다.

질산염 흡수실험은 multiple flask method에 의해 수행되었다 (De Boer, 1981; Harlin and Wheeler, 1985). 멸균된 해수 250 ml가 든 비이커에 질산염을 첨가하여 특정 농도 (1, 2, 5, 10, 20, 40 μM)에 도달하도록 한 뒤, 납작파래의 엽체 0.5 g (습중량)을 각각 넣었다. 이 때 온도와 조도는 20℃와 $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 일정하게 유지하였으며, 각기 다른 질산염 농도를 가진 실험구들에서 실험개시부터 30분 간격으로 25 ml씩을 채수하여 5회 (0, 30, 60, 90, 120 분) 측정하여 시간의 경과에 따른 농도변화를 5회의 평균으로 구하였다.

질산염 흡수율 측정은 Standard Methods (APHA AWWA WPCF, 1985) 의 Cu-Cd 환원법으로 수행하였다. 유리솥 뭉치를 환원 유리관 아래 채운 다음, 카드뮴 입자 (ϕ , 0.5-2 mm)를 18.5 cm정도의 높이가 되도록 채운 뒤 200 ml 정도의 $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$ 용액으로 환원 유리관을 통과시켜 씻어주었다. 그런 다음 카드뮴 입자의 활성을 위해 60 μM 의 질산염 용액 25 ml와 $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$ 용액 75 ml를 혼합후 환원 유리관을 통과시킨 다음, 200 ml 정도의 $\text{NH}_4\text{Cl-EDTA}$ 용액으로 다시 3회 씻어 주었다. 이 후, 각 농도의 시수

(25 ml)와 NH₄Cl-EDTA (75 ml)의 혼합용액 100 ml를 25-35 ml/min 유속으로 환원용 유리관을 통과시켰다. 이 용액 중 처음 25 ml는 버리고 나머지 용액 중 50 ml를 취수하여 3분 이내에 1ml Sulfanilamide 용액을 넣고, 혼합 후 1-2분 이내에 1 ml NED · 2HCl 용액을 넣어 30분에서 24시간 이내에 540nm에서 흡광도를 측정 한 후, 미리 작성한 표준곡선 (standard curve)에서 질산염의 농도를 구하였고 (Fig. 2). 아래의 식에 의해 일정 시간 경과 후 질산염의 순 흡수율을 구하였다.

$$\text{흡수율}(\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{[\mu\text{mol nitrate}]_{\text{initial}} - [\mu\text{mol nitrate}]_{\text{final}}}{\text{length of incubation (h)} \cdot \text{g fr wt}^{-1}}$$

질산염 흡수에 대한 온도의 영향은 조도 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 nitrate 농도 30 μM 의 조건에서 다양한 온도 (5, 10, 15, 20, 25 $^{\circ}\text{C}$)구간을 설정하여 조사되었으며, 실험 개시 2시간 후 각 온도별 시수 (25 ml)와 NH₄Cl-EDTA (75 ml)의 혼합용액 100 ml를 사용하여 순 흡수율을 구하였다.

조도와 광질에 따른 질산염 흡수 반응은 20 $^{\circ}\text{C}$ 와 30 μM 의 질산염 농도에서, 조도 (0, 20, 60, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)와 광질 (white, yellow, green, blue, red light)을 달리하여 수행하였으며, 온도실험과 동일한 방법으로 순 흡수율을 구하였다.

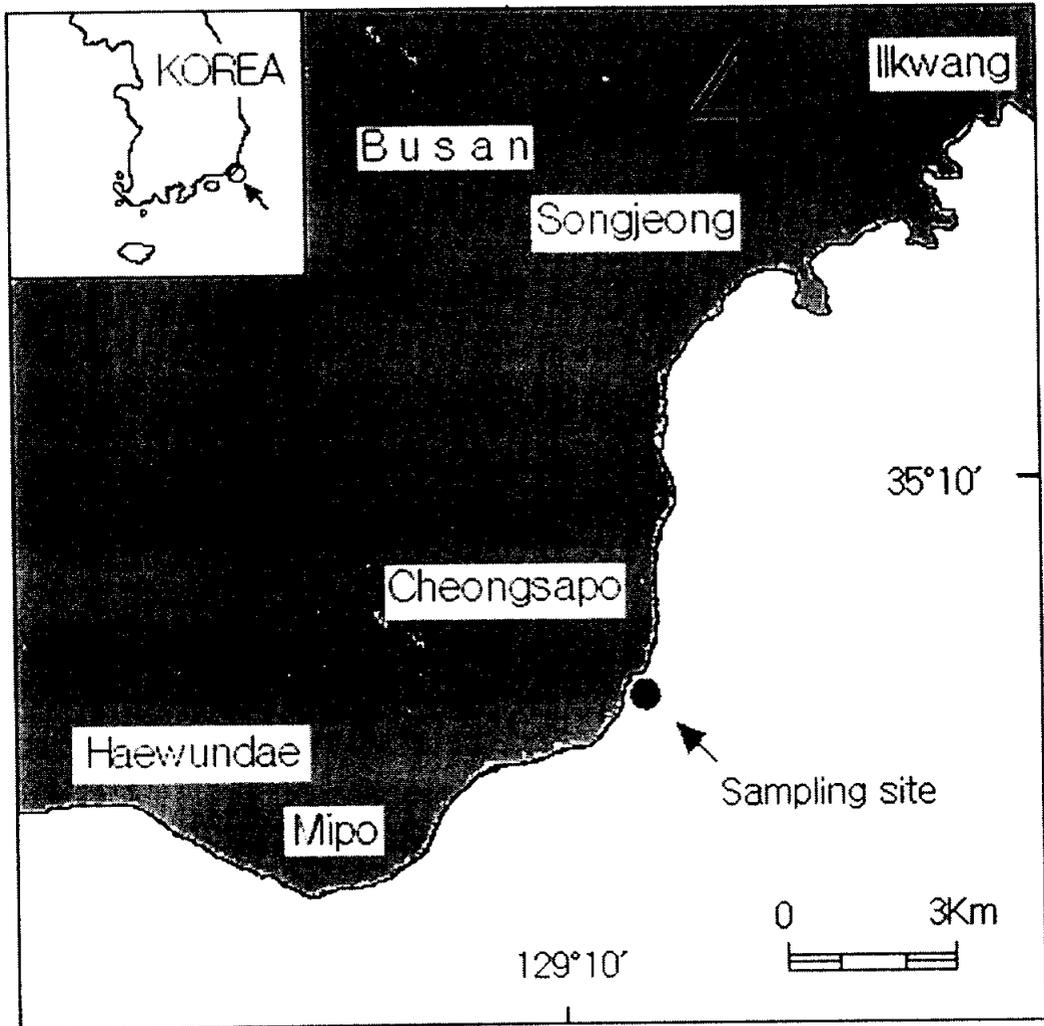


Fig. 1. Map showing the sampling site (Cheongsapo near Busan, Korea) for this study.

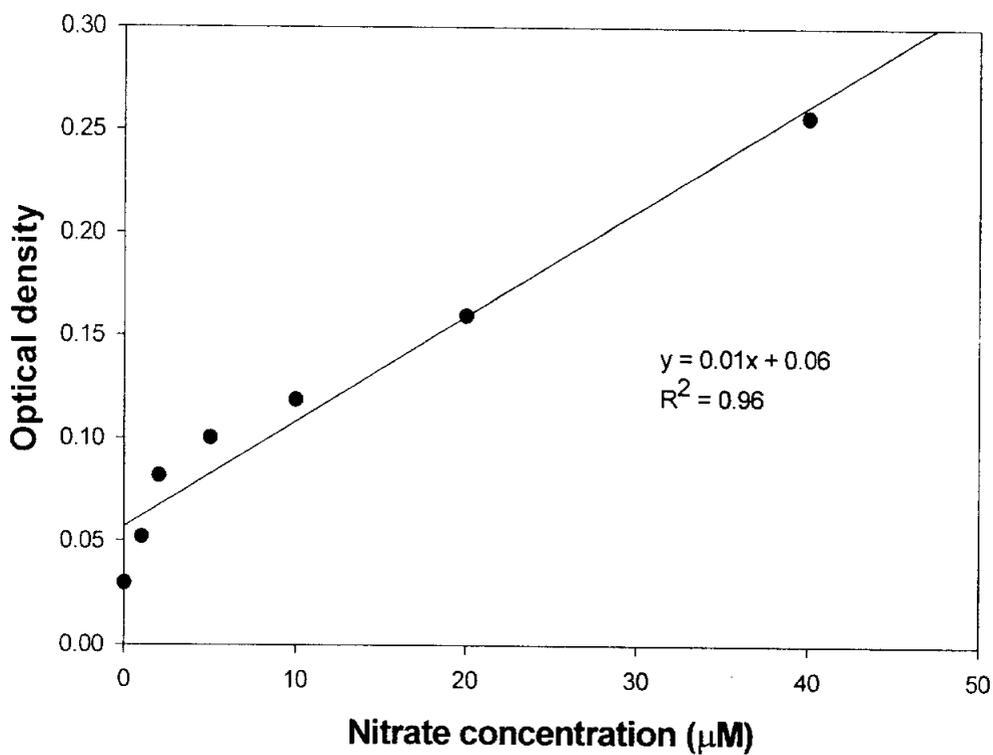


Fig. 2. Relationship between optical density and nitrate concentration.

2. 실내 배양

배양실험에 사용된 남작파래의 성숙개체는 2001년 4월에 부산 청사포에서 채집하여, 아이스박스에 넣어 실험실로 운반하였다.

채집된 조체의 부착생물 및 기타 이물질은 멸균해수에서 유허용 붓으로 제거하였다. 같은 방법으로 수 회 세척한 후, 업체들은 200 ml 멸균해수가 들어있는 비이커에 옮겨 넣고, 유주자 방출을 유도하기 위해 20°C, $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 연속조도 하에서 48 시간 동안 방치하였다 (Altamirano *et al.*, 2000).

유주자의 방출은 광학 현미경 (Olympus BX 50) 하에서 확인한 후, 유주자 현탁액의 5 ml를 멸균해수와 슬라이드 글라스 조각들 (2.5×2.5 cm)이 담긴 페트리디쉬 (\varnothing , 9 cm)에 접종하였다. 약 2시간 후, 유주자의 편모흡수를 관찰하여 부착 상태를 확인하고 (Callow, 1997), 2 개의 슬라이드 글라스와 질산염이 제거된 200 ml의 수정된 PES (Provasoli, 1968) 배지가 들어있는 비이커에 옮겼다. 외부의 질산염 공급은 KNO_3 로 공급하였고, 각각의 비이커에 1, 2, 5, 10, 20, 40 μM 질산염 농도를 첨가하였다. 농도에 따른 성장반응을 알아보기 위해 20°C, $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12:12h 하에서 12 h 마다 배지교환을 하였고, 성장 측정은 이틀에 한번 광학 현미경을 이용하여 길이를 측정하였다. 규조류 및 박테리아의 오염을 줄이기 위해 산화게르마늄 (GeO_2)과 페니실린 각각 5mg l^{-1} 씩을 배양액에 첨가하였다.

배아 (germling)의 성장에 미치는 온도의 영향을 살펴보기 위한 실험은 조도 $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 질산염 농도 30 μM , 12:12h L:D의 조건에서 5, 11, 14, 18, 23°C의 온도구간을 설정하여 수행하였으며, 생장은 이틀에 한번 광학 현미경을 이용하여 길이를 측정하였다. 조도와 광질에 따른 성장반응은 온

도 20℃, 질산염 농도 30 μM , 12:12h L:D하에서 조도조건 (20, 40, 80, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)과 광질조건 (white, yellow, green, blue, red light)을 두어 온도실험과 동일한 방법으로 측정하였다. 8일간의 배양기간 동안 배지는 48 시간 마다 교환하였으며, 성장률은 아래의 Specific Growth Rate (SGR) 방정식으로 나타내었다 (DeBoer *et al.*, 1978).

$$\text{SGR} = 100 \cdot [\text{Ln} (L_2/L_1)] \cdot T^{-1}$$

(L_1 : 부착 후의 길이, L_2 : 배양기간 동안의 길이, T : 배양기간)

3. 지방산 분석

지방산 분석에 사용된 납작파래는 2002년 3월에 부산 청사포에서 채집하였다. 실험실로 운반된 엽체로부터 부착된 생물 및 모래와 같은 이물질들을 멸균해수에서 유탕용 붓으로 제거한 다음, 멸균해수에 담아 20℃의 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 12:12h L:D하에서 4일간 순응시켰다.

질산염농도에 따른 지방산의 구성을 알아보기 위해 멸균된 해수 250 ml가 든 비이커에 질산염을 첨가하여 특정 농도 (1, 100 μM)에 도달하도록 한 뒤, 납작파래의 엽체 1g (습중량)을 각각 넣었고, 온도와 조도는 20℃의 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 일정하게 유지하였다. 온도, 조도 및 파장에 따른 지방산 구성의 실험은 온도의 경우, 조도 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 질산염 농도 30 μM 하의 조건에서 특정 온도조건 (10, 20℃)을 설정하여 실시되었으며, 조도의 경우는 20℃, 30 μM 하의 조건에서 특정 조도조건 (20, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)을 두

어 실험하였고, 광질의 효과에 대한 실험은 20℃, 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 와 질산염 농도 30 μM 하의 조건에서 적색광, 청색광하에서 실시하였다. 모든 실험조건 의 광주기는 12:12h L:D하에 두었으며, 배지는 48 시간마다 교환하였으며, 조 체의 지방산은 배양 6일 후에 분석하였다.

지방산 분석은 먼저 진공 건조한 샘플을 막자사발에서 분말상태로 만 든 후, Bligh and Dyer (1959)의 방법에 준하여 이루어졌다. chloroform-methanol (1:2)용액 30 ml에서 3번 농축한 다음, boron trifluoride methanol (BF_3 -methanol)로 methyl ester화 한 후에 capillary column (HP 5MS, 30 m \times 0.25 mm)이 장착된 GC-MS (Shimadzu QP-5050A)를 이 용하여 분석하였다. 분석조건은 injector 및 detector 온도를 각각 230℃로 하 였고, 칼럼 온도는 180℃에서 10분간 유지시킨 다음 2.5℃/분로 215℃까지 승 온시킨 후, 표준곡선과 대비하여 (Fig. 3) 지방산 함량을 분석하였다.

***CLASS: 5050 *** Report No. 1 Data: FA0316100 02/03/16 10:33:54
 Sample: 17-A std
 ID:
 Sample Amount: 1
 Dilution Factor: 1
 Type: Standard
 Operator: jst
 Analyte Name: ACID.MET
 Unit No.: 6
 Method:

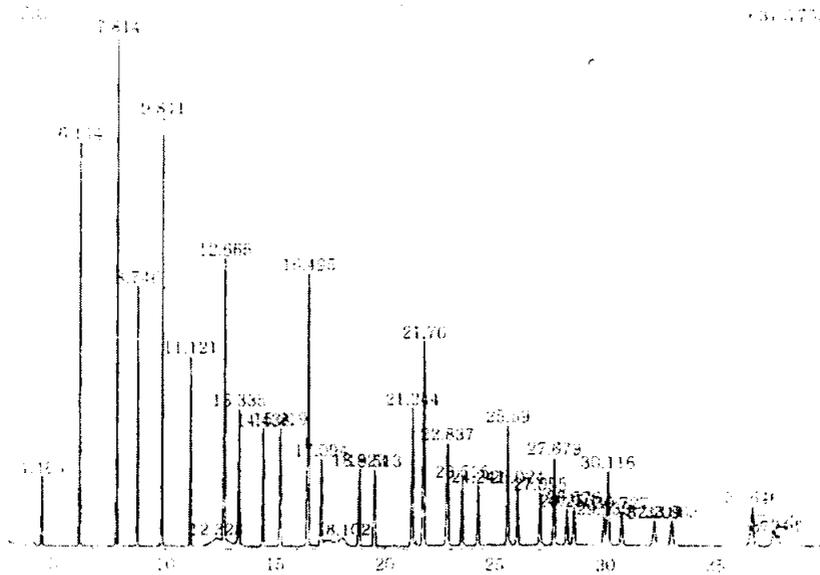


Fig. 3. Standard curve of fatty acid.

4. 자료분석

질산염 흡수율 및 배아의 생장률에 대한 각 환경요인 (조도, 파장, 온도)의 영향은 일원분산분석 (one-way ANOVA, SPSS Version 8.0)을 이용하여 분석하였다. 분석에 앞서 모든 자료의 Homogeneity of variance는 Cochran's test를 이용하여 확인하였다. 모든 실험조건에 따른 배아들의 생장에 대한 유의차가 발견되었을 시, 사후검정은 Tukey HSD (Honest Significant Difference) 분석을 이용하였다 (Sokal and Rohlf, 1994; Zar, 1999).

III. 결과 및 고찰

1. 질산염흡수에 대한 질산염 농도, 광 및 온도의 영향

납작파래의 엽체가 최고 질산염 흡수율을 보인 질산염 농도는 $40 \mu\text{M}$ 이었고, 이때의 흡수율은 $1.439 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 였다 (Fig. 4). 외부의 질산염 농도가 낮을 때는 흡수율 또한 낮아졌으며, 각각의 농도 1, 2, 5, 10, $20 \mu\text{M}$ 의 경우 $0.330, 0.570, 0.859, 0.985, 1.435 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 나타났다.

영양염 흡수 kinetics의 경우 외부 농도와 흡수율 사이의 관계는 통상적으로 포물선 (rectangular hyperbola)을 나타낸다 (DeBoer 1981). 본 실험에서 얻은 결과도 saturation kinetics를 나타냈었고, 이러한 결과는 Michaelis-Menten 방정식에 적용할 수 있으므로 질산염 흡수의 kinetic parameter (K_s, V_{\max})를 구하기 위해 Lineweaver-Burk (Lobban *et al.*, 1985) plot로 변형시켰다 (Fig. 4). 이로부터 구한 20°C , $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 백색광 하에서의 납작파래의 질산염 흡수의 K_s 값은 $3.56 \mu\text{M}$ 이고, V_{\max} 값은 $1.517 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 였다.

온도 변화에 따른 질산염 흡수율을 보면 5, 10, 15, 20, 25°C 에서 각각 $0.337 \pm 0.007, 0.477 \pm 0.057, 1.167 \pm 0.098, 1.422 \pm 0.022, 0.503 \pm 0.023 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 관찰되어서 흡수율을 보였다 (Fig. 4), 최적 온도에 도달할 때까지는 증가하다가 이후 저하되는 것으로 나타났다, 이와 같이 온도간의 흡수율은 유의한 차이를 나타냈으나 (Table 1), 10°C 와 25°C 에서는 유의한 차이가 인정되지 않았다

(Tukey HSD tests, $p > 0.05$).

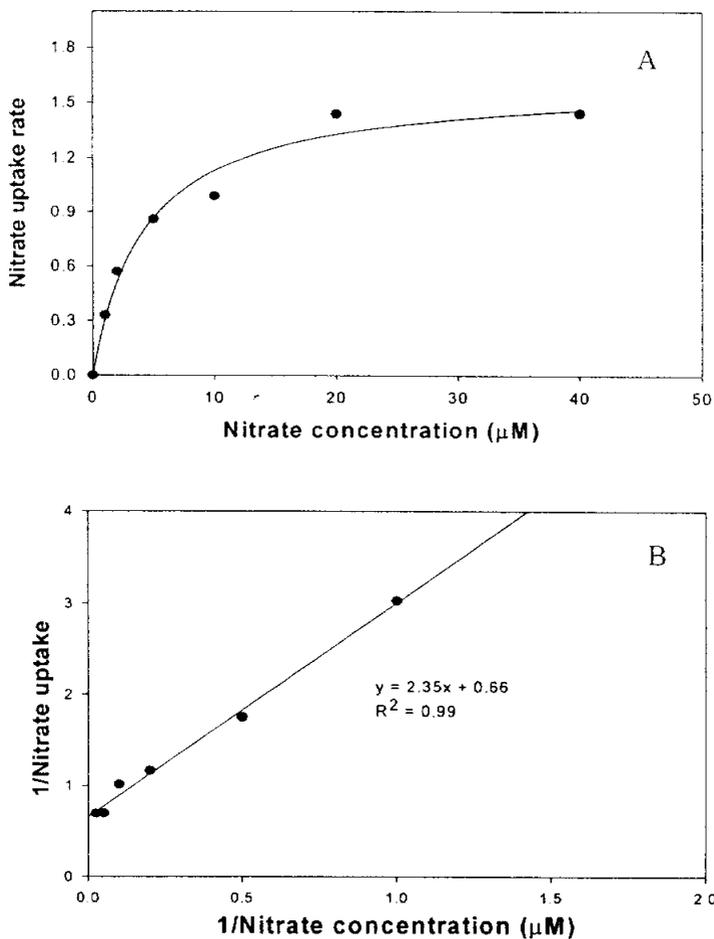


Fig. 4. Saturation kinetics of nitrate uptake ($\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) of *Enteromorpha compressa* at 20°C , $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. The relationship between uptake rate of nitrate and its external concentration is similar to the Michaelis-Menten equation (A) and the Michaelis-Menten equation is rearranged to yield a straight line from which K_s and V_{max} can be calculated more accurately by linear regression (B).

Table 1. Analysis of variance (one-way ANOVA) for the effects of temperature on nitrate uptake rate in *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Temperature	4	3.71	0.927	302.58	< 0.001
Residuals	15	0.05	0.003		
Total	19	3.76			

조도에 따른 질산염 흡수율은 암조건에서 $0.327 \pm 0.029 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 이었고, 20, 60, 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 각각 0.827 ± 0.038 , 1.288 ± 0.059 , $1.405 \pm 0.020 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 이었고, 광에 따른 흡수율은 대조구인 백색 ($1.378 \pm 0.038 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)에 비해 청색에서는 $0.541 \pm 0.048 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 39 %의 흡수율을 보이며, 황색, 녹색, 적색 광은 각각 0.429 ± 0.030 , 0.449 ± 0.033 , $0.623 \pm 0.043 \mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 로 31%, 32%, 45%에 달한다 (Fig. 5). 광조건의 조도와 파장 모두 흡수율의 차이는 유의한 차이를 보였고 (Tables 2, 3), 조도의 경우 모든 구간별 유의한 차이를 보였다 (Tukey HSD tests, $p < 0.001$). 광의 경우 황색광과 녹색광은 서로간의 유의한 차이가 나타나지 않았으며 (Tukey HSD tests, $p > 0.05$), 청색광과 적색광은 모든 구간에서 유의한 차이를 보였다 (Tukey HSD tests, $p < 0.05$).

Table 2. Analysis of variance (one-way ANOVA) for the effects of irradiance on nitrate uptake rate in *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Irradiance	3	2.90	0.965	603.91	< 0.001
Residuals	12	0.02	0.002		
Total	15	2.92			

Table 3. Analysis of variance (one-way ANOVA) for the effects of wavelength on nitrate uptake rate in *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Wavelength	4	2.51	0.626	449.153	< 0.001
Residuals	15	0.02	0.001		
Total	19	2.53			

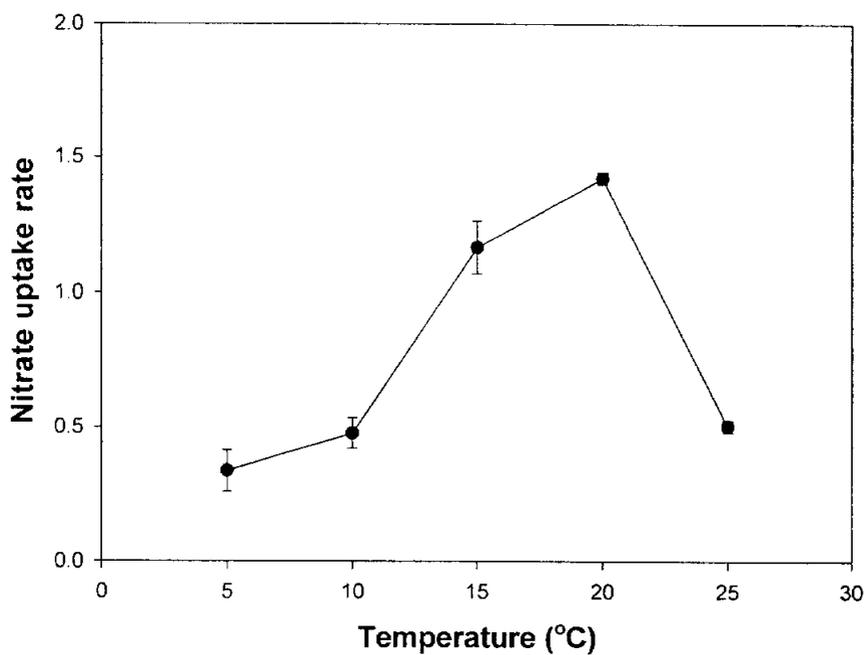


Fig. 5. The effect of temperature on the nitrate uptake rates ($\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) of *Enteromorpha compressa* at $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and $30 \mu\text{M}$. Bars represent standard deviation (n=20).

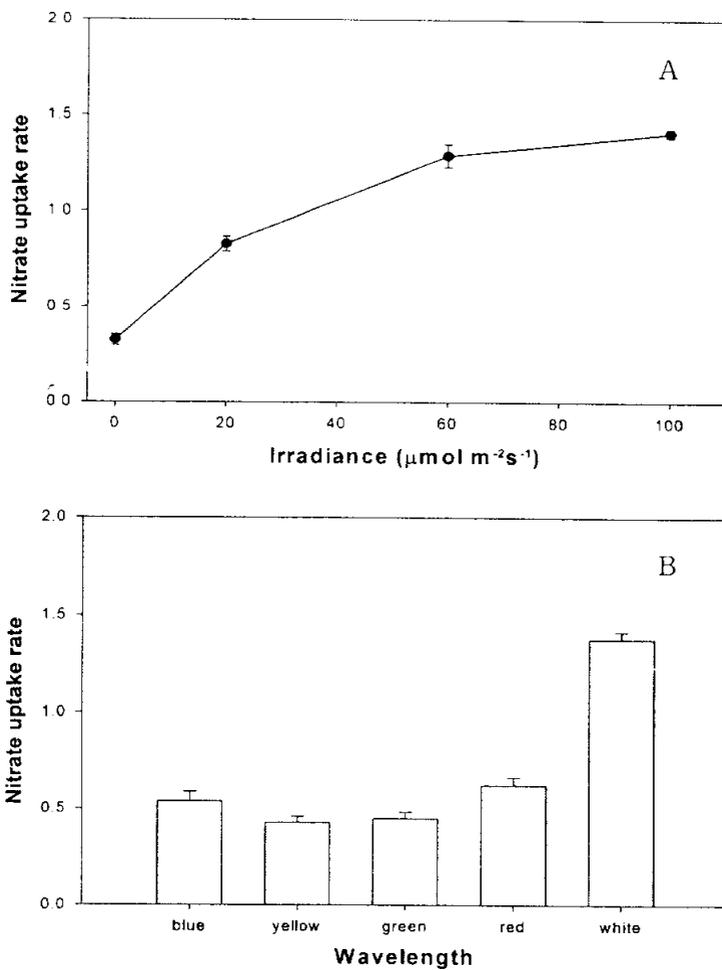


Fig. 6. The effect of irradiance (A) and wavelength (B) on the nitrate uptake rates ($\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) of *Enteromorpha compressa* at 20°C and 30 μM . Bars represent standard deviation (n=16, A; n=20, B).

2. 배아의 성장에 대한 질산염 농도, 광 및 온도의 영향

해조류에 있어 성장률과 외부의 영양염 농도사이의 관계는 Monod 방정식에 의해 설명되어지고있다 (Lobban *et al.*, 1985). 이것은 단일의 외부 영양염에 의해 제한되는 성장률은, 특히 질소원의 경우 외부의 단일 질소원의 흡수는 새로운 생체량의 증가와 관계가 있다는 가정에서 시작된 것으로 외부의 기질 농도와 성장률은 직접적인 관계가 있음을 의미한다. 흡수율과 외부농도와의 관계가 통상적으로 포물선을 나타내듯이 성장률과 외부농도와 관계도 포물선을 나타낸다 (Rhee 1974). 본 실험에서도 단일의 질소원으로 공급된 질산염과 성장률의 관계는 saturation kinetics를 나타냈었고, 이러한 결과는 Michaelis-Menten 방정식에 적용할 수 있으므로 질산염 흡수의 kinetic parameter (K_s , V_{max})를 구하기 위해 Lineweaver-Burk (Lobban *et al.*, 1985) plot로 변형시켰다 (Fig. 6). 이로부터 구한 20°C , $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 백색광하의 납작파래 배아의 성장률의 K_s 값은 $0.33 \mu\text{M}$ 이고, V_{max} 값은 56.18 \%day^{-1} 였다.

각각의 농도에 따른 8일 동안의 납작파래 배아의 8 일 동안의 평균 최고 성장률은 $40 \mu\text{M}$ 에서 $53.65 \pm 7.28 \text{ \%day}^{-1}$ 이었고, 1, 2, 5, 10, $20 \mu\text{M}$ 에서 41.64 ± 7.43 , 50.29 ± 8.14 , 52.74 ± 8.06 , 53.12 ± 7.17 , $53.03 \pm 7.73 \text{ \%day}^{-1}$ 로 (Table 4) 질산염 농도에 따른 성장률의 차이는 시간이 경과함에 따라 줄어들었으며, K_s 값의 변화도 2 일째에는 $11.70 \mu\text{M}$ 에서 8 일째에 $0.12 \mu\text{M}$ 로 낮아졌다 (Fig. 7).

Table 4. SGR (% day⁻¹) of gemlings (n=40) grown at various nitrate concentrations for 8 days in *Enteromorpha compressa*

Nitrate concentration	Day				Mean
	2	4	6	8	
1 μ M	24.09(±6.56)	41.71(±6.86)	48.69(±7.85)	52.07(±8.44)	41.64±(7.43)
2 μ M	43.35(±8.24)	49.70(±8.70)	55.03(±7.43)	53.09(±8.21)	50.29±(8.14)
5 μ M	47.74(±8.13)	54.61(±7.36)	54.19(±8.80)	54.40(±7.94)	52.74±(8.06)
10 μ M	48.46(±4.82)	54.84(±6.57)	54.98(±9.24)	54.20(±8.06)	53.12±(7.17)
20 μ M	48.33(±6.87)	54.76(±7.00)	54.88(±9.22)	54.13(±7.85)	53.03±(7.73)
40 μ M	50.69(±6.51)	55.25(±5.87)	54.24(±8.99)	54.39(±7.74)	53.65±(7.28)

온도변화에 따른 생장률은 8 일동안 18℃에서 가장 높은 값 49.33~54.80 %day⁻¹을 보였으며, 14℃의 경우는 36.49~54.44 %day⁻¹을 보였다. 11℃와 23℃의 경우는 25.10~49.06, 27.03~48.91 %day⁻¹이었고, 8℃의 경우 13.04~37.01 %day⁻¹의 생장률을 보였다. 그러나 5℃에서는 극히 미비한 생장률을 보였다 (Fig. 8). 온도간의 생장률의 차이는 one way-ANOVA (Table 5)에서 유의한 차이를 보였다. 그러나 실험 8일 후의 생장률에서 14, 18℃구간의 유의한 차이는 나타나지 않았으며 (Tukey HSD tests, $p > 0.05$), 11, 23℃의 구간에서도 유의한 차이가 보이지 않았으나 (Tukey HSD tests, $p > 0.05$), 그 외 모든 구간별로는 유의한 차이를 나타내었다 (Tukey tests, $p < 0.05$).

Table 5. Analysis of variance (one-way ANOVA) for the effects of temperature on growth in the germlings of *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Temperature	5	901	180	58.70	< 0.001
Residuals	1194	3666	3		
Total	1199	4567			

광 조건에서 조도에 따른 성장률은 $120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 가장 좋았으며 $48.37 \sim 55.30 \text{ \%day}^{-1}$, 조도가 증가할수록 성장률이 증가하는 경향을 나타내어 $20, 40, 100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 이들의 값은 $24.61 \sim 39.91, 40.73 \sim 46.88, 47.20 \sim 54.53 (\text{ \%day}^{-1})$ 을 보였고 (Fig. 9), 조도에 따른 성장률의 차이는 one way-ANOVA (Table 6)에서 유의한 차이를 보였다. 그러나 $100, 120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 구간의 조도에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Tukey HSD tests, $p > 0.05$).

Table 6. Analysis of variance (one-wayANOVA) for the effects of irradiance on the growth of germlings of *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Irradiance	3	256	85	28.64	< 0.001
Residuals	796	2376	2		
Total	799	2632			

광에 의한 성장률의 값은 백색, 황색, 청색, 녹색, 적색광의 순으로 48.37~55.05, 38.70~51.41, 39.07~50.72, 32.67~48.42, 0.05~0.08 %day⁻¹ 성장률을 보였다 (Fig. 10). 광에 따른 성장률의 차이는 one way-ANOVA (Table 7)에서 유의한 차이를 보였으나, 청색과 황색광의 구간에서는 유의한 차이를 나타내지 않았고 (Tukey HSD tests, $p > 0.05$), 그 외 모든 구간에서는 유의한 차이를 보였다 (Tukey HSD tests, $p < 0.05$).

Table 7. Analysis of variance (one-way ANOVA) for the effects of wavelength on the growth of germlings of *Enteromorpha compressa*

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F-ratio	P
Wavelength	4	869	132	35.66	< 0.001
Residuals	995	2985	2		
Total	999	3854			

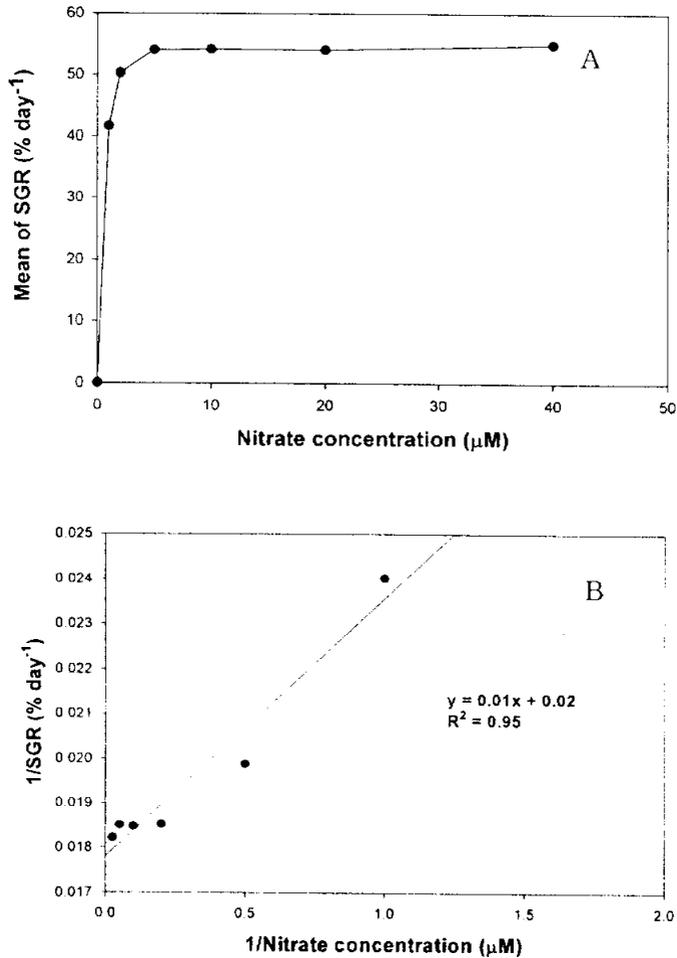


Fig. 7. Growth kinetics of *Enteromorpha compressa* at 20°C, 80 μmol m⁻² s⁻¹. The relationship between SGR of nitrate and its external concentration is similar to the Michaelis-Menten equation (A) and the Michaelis-Menten equation is rearranged to yield a straight line from which K_s and V_{max} can be calculated more accurately by linear regression (B).

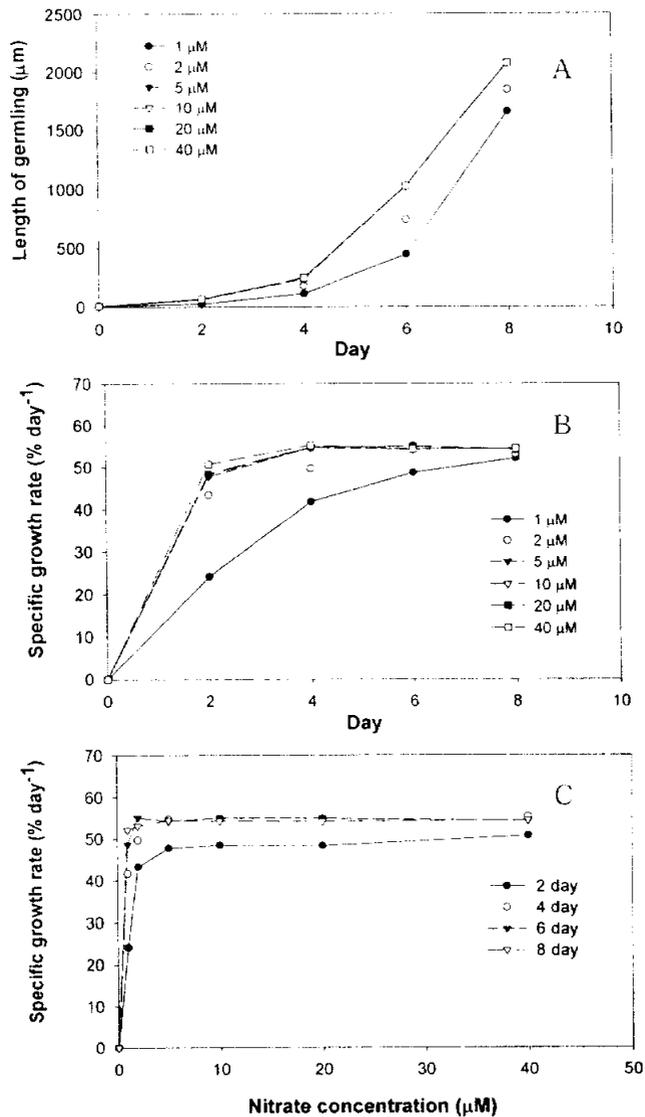


Fig. 8. Relationship between growth and external nitrogen concentration of *Enteromorpha compressa* germlings. A, length of the germlings as a function of culture days for nitrate concentration; B, growth rate of the germlings as a function of culture day for nitrate concentration; C, growth rate of the germlings as a function of nitrate concentration for culture day.

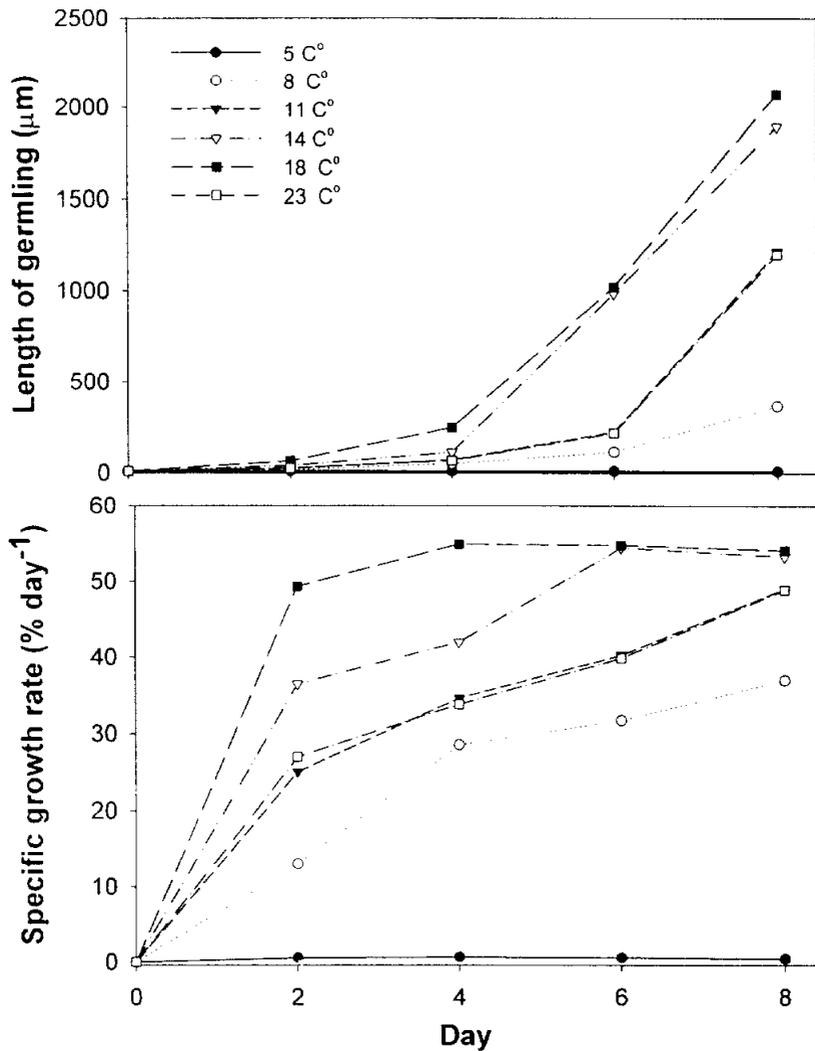


Fig. 9. The effect of temperature on the SGR (% day⁻¹) of *Enteromorpha compressa* at 100 μmol m⁻²s⁻¹ and 30 μM. Symbols represent mean values (n=40).

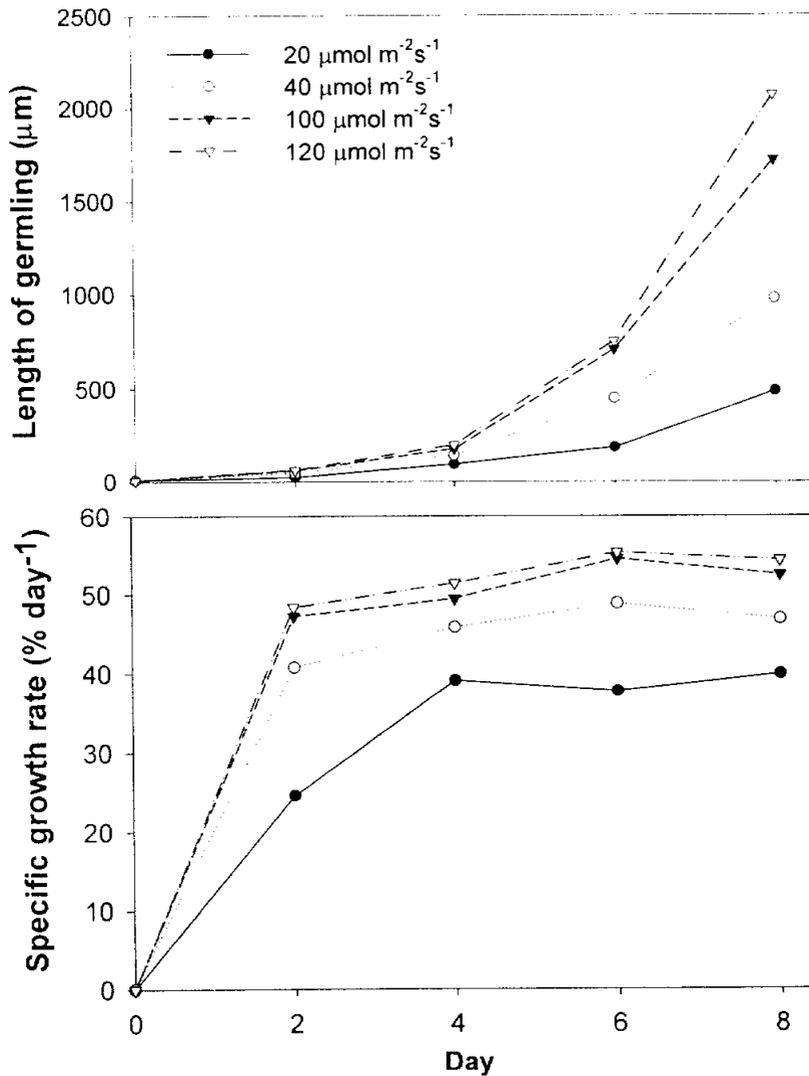


Fig. 10. The effect of irradiance on the SGR (% day⁻¹) of *Enteromorpha compressa* at 18°C and 30 μM. Symbols represent mean values (n=40).

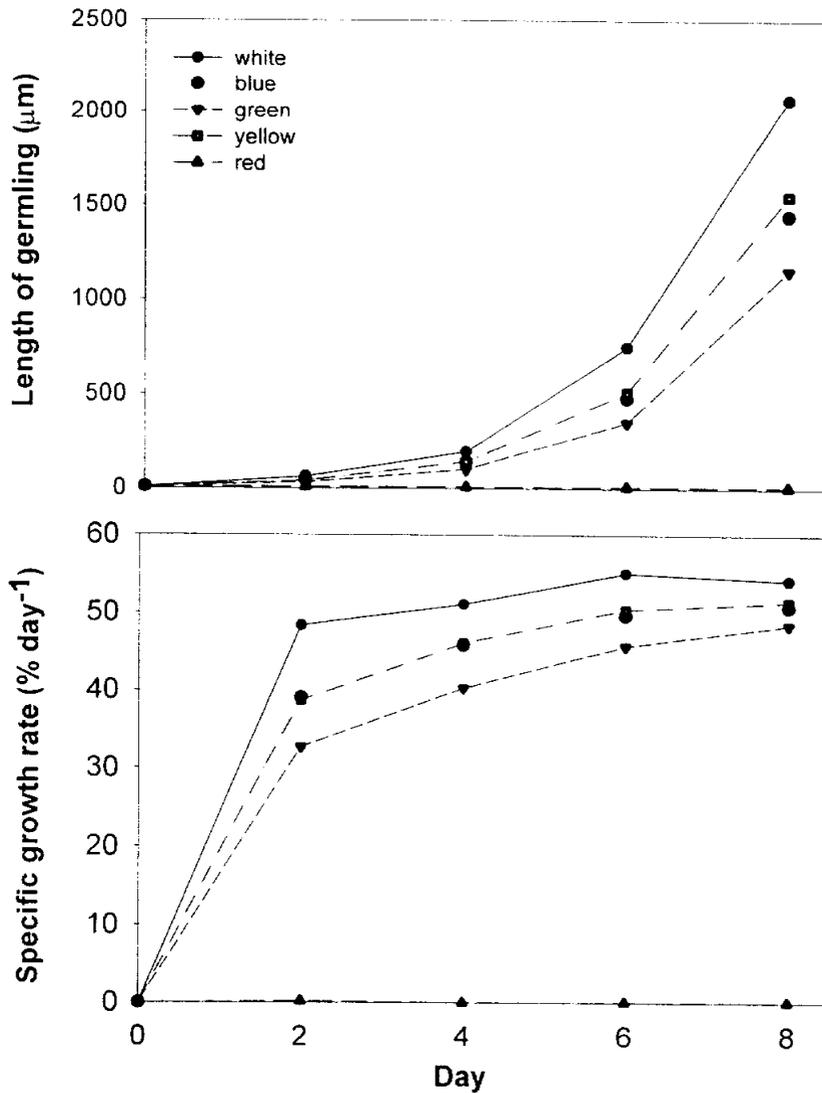


Fig. 11. The effect of wavelengths on the SGR (% day⁻¹) of *Enteromorpha compressa* at 18°C and 30 µM. Symbols represent mean values (n=40).

3. 지방산 조성에 대한 질산염 농도, 광 및 온도의 영향

모든 실험 조건에서 주된 지방산은 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6, 20:2n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, 20:5n-3, 22:5n-3의 7 종류였으며, 이들의 변화량에 따라 Total S & M (Saturated fatty acid and Mono-unsaturated fatty acid)과 Total PUFA의 양도 달라짐을 볼 수 있다 (Table 8, 9, 10, 11). 이러한 지방산 중 가장 높은 비율을 차지하는 것은 palmitic acid (16:0)로 33.8~57.1 %의 값을 나타내었다. PUFAs의 증가 조건은 질산염 농도 100 μM , 청색광과 20°C에서 높은 값을 보였고, 조도조건 (20, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서는 비슷한 PUFAs의 값을 나타내었다 (Fig. 12). 주된 PUFAs는 limolenic acid (18:3n-3)와 parinaric acid (18:4n-3)였다. 그리고, penta-unsaturated acids(20:5n-3, 22:5n-3)는 일정한 값 (3.1~4.2 %)으로 모든 실험조건에서 나타났으나, 22:5n-3은 적색광에서 낮은 값 (0.7 %)을 보였다. 그 외 지방산 중 22:1n-9, 24:1n-9, 22:6n-3의 수준은 극히 낮은 값 (0.1 %)을 보이거나 나타나지 않았고, 그들의 구성은 전체 지방산 구성에 큰 영향을 미치지 못했다.

Table 8. Effect of nitrate concentrations on the fatty acid composition (% total fatty acids) of *Enteromorpha compressa* at 20°C, 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ after 6 days in culture.

Fatty acids	Wild	1 μM	100 μM
Saturated			
C14:0	2.5	1.9	2.0
C16:0	46.9	55.2	33.8
C18:0	1.5	0.8	0.5
C20:0	0.3	0.2	-
Mono-unsaturated			
C16:1	0.7	2.4	1.7
C18:1n-9	6.7	8.8	6.4
C20:1	0.1	0.1	0.2
C22:1n-9	-	-	0.1
C24:1n-9	-	-	-
Di-unsaturated			
C18:2n-6	4.0	3.6	5.9
C20:2n-6	3.6	3.4	3.6
Tri-unsaturated			
C18:3n-6	0.4	-	2.0
C18:3n-3	9.7	6.8	16.1
C20:3n-6	0.1	-	0.9
C20:3n-3	0.6	-	0.5
Tetra-unsaturated			
C18:4n-3	16.4	11.8	19.4
C20:4n-6	0.4	-	0.5
Penta-unsaturated			
C20:5n-3	3.7	3.1	3.9
C22:5n-3	2.2	1.9	2.4
Hexa-unsaturated			
C22:6n-3	0.2	-	0.1
Total S&M	58.7	69.4	44.7
Total PUFA	41.3	30.6	55.3

Wild: fatty acids composition obtained from *E. compressa* of wild collection

Table 9. Effect of irradiance on the fatty acid composition (% total fatty acids) of *Enteromorpha compressa* at 20 °C, 30 μ M after 6 days in culture.

Fatty acids	Wild	20 μ mol m ⁻² s ⁻¹	100 μ mol m ⁻² s ⁻¹
Saturated			
C14:0	2.5	2.1	2.3
C16:0	46.9	38.7	35.4
C18:0	1.5	0.6	0.5
C20:0	0.3	-	-
Mono-unsaturated			
C16:1	0.7	1.8	1.5
C18:1n-9	6.7	6.0	6.3
C20:1	0.1	0.1	0.1
C22:1n-9	-	-	0.1
C24:1n-9	-	-	-
Di-unsaturated			
C18:2n-6	4.0	5.4	5.7
C20:2n-6	3.6	3.8	3.7
Tri-unsaturated			
C18:3n-6	0.4	1.4	1.8
C18:3n-3	9.7	16.7	15.7
C20:3n-6	0.1	0.6	0.7
C20:3n-3	0.6	0.5	0.4
Tetra-unsaturated			
C18:4n-3	16.4	15.8	18.7
C20:4n-6	0.4	0.4	0.5
Penta-unsaturated			
C20:5n-3	3.7	3.8	4.0
C22:5n-3	2.2	2.2	2.4
Hexa-unsaturated			
C22:6n-3	0.2	0.1	0.1
Total S&M	58.7	49.3	46.2
Total PUFA	41.3	50.7	53.8

Wild: fatty acids composition obtained from *E. compressa* of wild collection

Table 10. Effect of wavelengths on the fatty acid composition (% total fatty acids) of *Enteromorpha compressa* at 20°C, 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 30 μM after 6 days in culture.

Fatty acids	Wild	Red	Blue
Saturated			
C14:0	2.5	1.8	2.1
C16:0	46.9	57.1	51.2
C18:0	1.5	0.6	0.8
C20:0	0.3	0.4	0.4
Mono-unsaturated			
C16:1	0.7	2.6	1.5
C18:1n-9	6.7	9.3	7.6
C20:1	0.1	0.1	0.1
C22:1n-9	-	0.1	0.1
C24:1n-9	-	0.1	-
Di-unsaturated			
C18:2n-6	4.0	3.1	3.6
C20:2n-6	3.6	3.2	3.4
Tri-unsaturated			
C18:3n-6	0.4	0.1	0.2
C18:3n-3	9.7	7.2	8.8
C20:3n-6	0.1	-	0.1
C20:3n-3	0.6	-	0.3
Tetra-unsaturated			
C18:4n-3	16.4	9.2	13.4
C20:4n-6	0.4	0.3	0.3
Penta-unsaturated			
C20:5n-3	3.7	4.1	3.9
C22:5n-3	2.2	0.7	2.1
Hexa-unsaturated			
C22:6n-3	0.2	0.1	0.1
Total S&M	58.7	72.1	63.8
Total PUFA	41.3	28.0	36.2

Wild: fatty acids composition obtained from *E. compressa* of wild collection

Table 11. Effect of temperature on the fatty acid composition (% total fatty acids) of *Enteromorpha compressa* at 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 30 μM after 6 days in culture.

Fatty acids	Wild	10 °C	20 °C
Saturated			
C14:0	2.5	2.4	2.2
C16:0	46.9	47.5	36.4
C18:0	1.5	1.3	0.6
C20:0	0.3	0.2	-
Mono-unsaturated			
C16:1	0.7	0.9	1.6
C18:1n-9	6.7	7.8	6.1
C20:1	0.1	0.1	0.1
C22:1n-9	-	-	0.1
C24:1n-9	-	-	-
Di-unsaturated			
C18:2n-6	4.0	4.8	6.1
C20:2n-6	3.6	2.9	3.4
Tri-unsaturated			
C18:3n-6	0.4	0.5	1.6
C18:3n-3	9.7	9.4	15.2
C20:3n-6	0.1	0.2	0.6
C20:3n-3	0.6	0.6	0.4
Tetra-unsaturated			
C18:4n-3	16.4	14.6	18.5
C20:4n-6	0.4	0.3	0.6
Penta-unsaturated			
C20:5n-3	3.7	3.9	4.2
C22:5n-3	2.2	2.4	2.3
Hexa-unsaturated			
C22:6n-3	0.2	0.1	0.1
Total S&M	58.7	60.2	47.1
Total PUFA	41.3	39.7	53.0

Wild: fatty acids composition obtained from *E. compressa* of wild collection

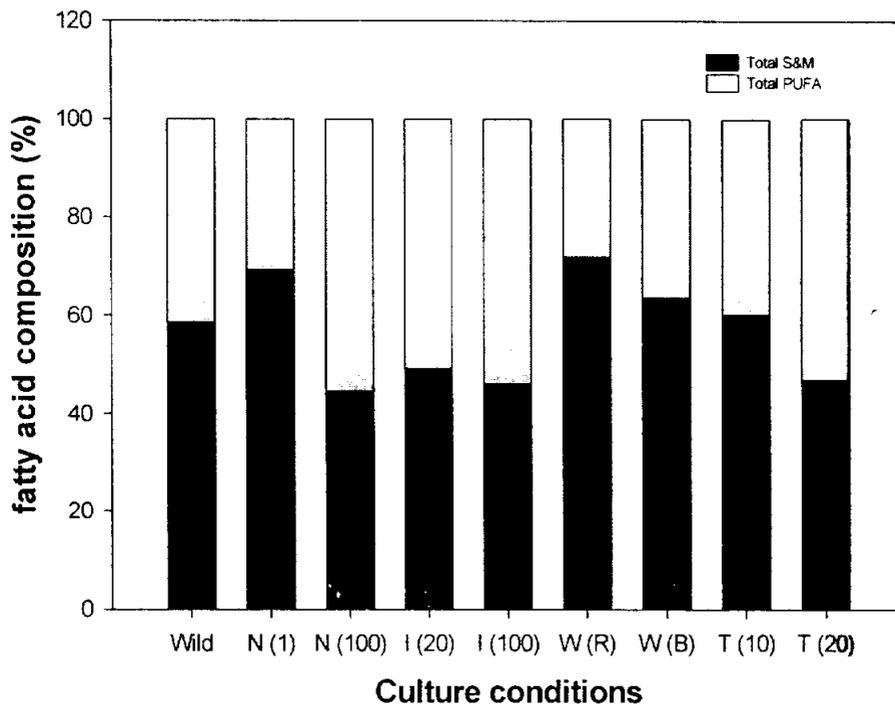


Fig. 12. The effect of various culture conditions on the fatty acid compositions (%) of *Enteromorpha compressa*. N, nitrate concentration; I, irradiance; W, wavelength; T, temperature.

IV. 종합고찰

해조류는 해양생태계에 있어 주요한 일차 생산자로 이들의 생장은 광, 수온, 영양염 등 여러 환경요인에 영향을 받는다 (Round, 1981; Lobban *et al.*, 1985). 이런 요인들에 대한 해조류의 생리적 적응 능력은 개체의 성장, 나아가서는 개체군 유지 및 서식범위 결정과 밀접하게 관련되어 있다 (Lobban and Harrison, 1994).

해양에서 영양염은 계절 및 일일에 따라서도 큰 변동을 보이는데, 특히 질산염은 해수 중의 중요한 제한 영양염의 하나로 해조류의 종류에 따라서 흡수 능력은 차이가 나고 (Thomas and Harrison, 1987), 이것은 해조류의 성장 즉 생체량 증대와 밀접하게 관련되어 있다 (Lobban *et al.*, 1985). 질산염이 감소 할 때, 흡수율과 성장률의 반포화상수 K_s 값이 낮은 종들은 질산염 흡수에 상대적으로 유리하다 (Chapman *et al.*, 1978).

본 실험에서 조사된 납작과래의 흡수율의 K_s 값은 $3.56 \mu\text{M}$ 로 이는 대형 갈조인 *Fucus spiralis*의 $6.6 \mu\text{M}$, *Laminaria longicruris*의 $4.1 \mu\text{M}$, *Macrocystis pyrifera*의 $13.1 \mu\text{M}$ 과 홍조류 중 *Hypnea musciformis*의 $4.9 \mu\text{M}$ 보다는 낮은 값을 보였지만, *Gracilaria foliifera*의 $2.5 \mu\text{M}$ 보다는 높은 값을 나타내었고 (DeBoer, 1981), 한국산 녹조류인 *Ulva pertusa*의 $2.28 \mu\text{M}$ 보다 높은 값을 보였다 (Choi *et al.*, 1994).

또한, 납작과래 배아 (germlings)의 성장률의 K_s 값은 $0.33 \mu\text{M}$ 로, 홍조류인 *Aagrdhiella subulata*와 *Gracilaria foliifera*에 있어서 외부질소 농도와 성장률과의 관계에서 나타난 $0.2\sim 0.4 \mu\text{M}$ 의 범위와 유사한 값을 보였고 (DeBoer *et al.*, 1978), 일년생 갈조류인 *Chordaria flagelliformis*의 $0.2\sim 0.5 \mu$

M의 K_s 값과도 비슷했으나 (Probyn and Chapman, 1982), 다년생 갈조류인 *Laminaria saccharina*에 있어서 $1.47 \mu\text{M}$ 의 K_s 값보다는 낮았다 (Chapman *et al.*, 1978).

일반적으로 K_s (흡수율 및 성장률에 대한 반포화상수)값은 해조류의 영양염 이용에 대한 주요한 지표 (indicator)로써 (Lobban *et al.*, 1985), 특정 종의 K_s 값이 낮다는 것은 빈영양 하에서도 K_s 값이 큰 종에 비해 그들의 생장은 큰 영향을 받지 않는다는 것을 의미한다 (Chapman *et al.*, 1978). 그러므로, 섬심대 및 조간대 중·하부에 서식하는 종들, 특히 대형 갈조류나 홍조류는 노출 시간이 짧으므로, 조간대 상부에 서식하는 종보다 해수에 녹아있는 영양염을 이용할 수 있는 시간이 긴 반면, 본 실험종인 납작파래나 지금까지 연구된 구멍갈파래와 같이 조간대 상부에 서식하는 종류는 비교적 대기에 오랜시간 노출됨으로 물에 침수되는 짧은 기간동안 많은 영양염을 흡수해야하므로 K_s 값을 낮추는 방향으로 진화적응된 것으로 추측이 가능하다. 또한 기회성 조류로 알려진 파래류의 커다란 단위 체적당 표면적의 비도 제한 요소인 질산염의 빠른 흡수에 유리하여 (Hein *et al.*, 1995), Dayton (1971)도 언급한 바와 같이 빠른 영양염 흡수가 직접적으로 빠른 성장률과 연계되는 것 같이 보인다.

Lobban *et al.* (1985)는 질산염의 흡수과정에 있어서 확산은 저농도에 서는 중요한 영향을 나타내지 않으나 고농도에서는 큰 영향을 보인다고 하였다. 본 실험에서 납작파래 배아의 성장률은 실험개시 8일 동안에 $1, 2 \mu\text{M}$ 의 농도를 제외한 $5 \mu\text{M}$ 이상에서 비슷한 성장률 값을 나타내어 초기 배아생장은 외부 질산염 농도에 크게 좌우되는 것으로 나타났다 (Table 4). 또한 납작파래 흡수율의 K_s 값이 $3.56 \mu\text{M}$ 로 나타나서, 본 자료에 기초한다면 이 종의 초기 최적 성장을 위해 요구되는 최소한의 농도는 $5 \mu\text{M}$ 정도라고 볼 수 있다.

조도에 의해 질산염 흡수가 촉진된다는 사실은 많은 해양조류에서 밝혀져 있다 (Syrett, 1981; Wheeler, 1982). 질산염 흡수에 대한 조도의 효과는 광합성을 통해 간접적으로 나타나는데, 우선 세포막에 내재된 운반 단백질은 광합성 과정에서 생성된 에너지 (ATP)에 의해 능동 수송을 일으킨다. 두 번째 단계로 체내에 흡수된 질산염은 아미노산, 단백질, 엽록소와 같은 큰 분자로의 합성을 위해 필요한 탄소골격 (carbon skeletons)을 제공받으며, 세 번째는 생장에 따른 흡수율의 증가가 다시 일어난다 (Lobban *et al.*, 1985). 조류의 질산염을 이용한 성장시에 질산염을 환원시킬 수 있는 NR (nitrate reductase)과 같은 효소의 작용이 관여하는데, 조도에 따라 효소의 수준이 직접적으로 조절된다 (Syrett, 1981). 질산염 환원효소 (NR)는 생장과도 정의 상관성을 나타내어 (Gao *et al.*, 2000), 결국 조도는 흡수와 성장 모두에 관여한다. 암조건에서도 흡수는 일어나지만, Dorthc and Maske (1982)에 의하면 질산염의 흡수율은 대체로 명조건에서 높고 암조건은 명조건의 70% 정도를 보인다. 본 실험에서 납작파래의 질산염 흡수는 실험구간내에서 조도가 증가할수록 흡수가 증가하였고 (최대: $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 암조건에서는 명조건의 25%의 수준을 나타내어 납작파래의 질산염 흡수반응은 고조도에 잘 적응되었음을 알 수 있었다.

조도의 증가에 따른 흡수율의 증가는 성장률의 증가와 밀접한 관련이 있는데, Kim and Lee (1993)에 의하면 납작파래 배아의 최대 성장률은 $125 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 나타난다. 본 실험에서도 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 *Dilsea carnosa*의 배아는 $54 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최대 성장을 보였고 (Jones and Dent, 1970), *Scytosiphon lomentaria*는 $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 조도에서 최대 성장을 나타내었다 (Ohno, 1969). 일반적으로 조간대 종들의 배아는 40~60

$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 최적의 생장이 이루어진다고 알려져 있다 (Kim and Lee, 1993). 그러나 납작파래의 경우 이보다 고조도 (혼수조건: $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 생장조건: $100\text{-}120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서의 최대 질산염 흡수와 이에 따른 최적 생장반응을 나타냈다. 이것은 이 종의 질산염 환원효소(NR) 활성이 비교적 고조도에서 잘 이루어지는 것을 시사하는 것으로, 비교적 고조도에 노출된 조건대 상부 입사광의 투사각이 큰 암반에 납작파래 군집의 우점적 출현을 가능케 하는 것으로 생각된다.

광에 따른 질산염의 흡수율과 질소대사과정의 자극 효과는 연속된 적색광보다 청색광하에서 효과가 있고 (Azulara and Aparicio, 1983), 질산염 환원 효소의 활성은 많은 생물에 있어 청색광 수용기에 의해 조절된다 (López-Figueroa and Rüdiger, 1991). 그러나 Sasakawa and Yamamoto (1979)는 단시간의 청색광 자극은 적색광에 비하여 질산염 흡수에 비효율적임을 보고하였다. 본 실험의 납작파래는 모든 파장에서 질산염 흡수가 일어났고, 황색광 (582nm)과 녹색광 (530nm)이 청색광 (445nm)과 적색광 (660nm)에 비해 비효율적이었다. 이는 파장 역시 질산염 흡수에 영향을 미치고 있음을 시사한다. 그러므로 *Ulva rigida*에서 적색광 수용기로서 피토크롬 (Phytochrome)의 중요성에 대해 논의된 것처럼 (López-Figueroa and Rüdiger, 1991) 납작파래의 경우에도 2 시간의 광 조사는 Sasakawa and Yamamoto (1979)의 실험을 고려할 때 피토크롬과 같은 적색광 수용기에 의해 흡수가 이루어짐을 시사한다고 볼 수 있다.

일반적으로 적색광은 생장을 억제한다고 알려져 있다 (Dring, 1986). 본 실험의 납작파래의 배아에서도 적색광 억제 효과는 확인되었다. 한편, 청색광 (445 nm)은 식물플랑크톤과 일부 다른 해조류의 생장에 있어서 유효한 파

상으로 Protein, RNA 및 DNA의 합성을 촉진하며, 담수조류의 경우 효소활성과 관련이 있는 것으로 밝혀져 있다 (Raven, 1974). 그러나 Senger (1980)는 적색광은 탄수화물의 합성만을 촉진시킴을 보고하였다. 본 실험에서 적색광에 대한 납작파래 배아의 생장억제는 단일 질소원인 질산염을 이용한 비교적 장시간 (8 day)의 실험에 따른 질산염 환원효소의 억제에 의한 단백질 합성회로의 영향에 기인하는 것으로 생각된다.

일반적으로 생체반응은 온도 의존성을 나타낸다 (Lobban and Harrison, 1994). 온도는 대부분의 세포 대사과정과 능동수송에 영향을 미치는데 대략적으로 온도가 10℃ 상승할 때 대사과정과 능동수송은 2배의 효율을 보이며 ($Q_{10}=2$), 단순 확산일 경우 $Q_{10}=1.0$ 에서 $Q_{10}=1.2$ 의 값을 나타낸다 (Lobban *et al.*, 1985). 또한 이온 흡수에 미치는 온도의 영향은 이온의 종류와 조류의 종과도 연관이 있다 (Lobban *et al.*, 1985). Harlin and Craigie (1978)는 *Laminaria longicruris*로 행한 실험에서 질산염 흡수율이 15℃로 기준했을 때 0℃에서는 30%의 흡수율이 나타나 온도에 의한 흡수율의 영향을 보고하였다. 그러나 종에 따라서는 흡수율의 감소가 일어나지 않는 경우도 보고된 바 있다 (Topinka, 1978). 온도 구간에 따른 납작파래의 질산염 흡수율은 20℃를 기준으로 10℃에서는 40%이하의 흡수율을 나타내어 단순확산에 의한 질산염 흡수뿐만 아니라, 능동수송에 의한 질산염 흡수가 일어나고 있음을 알 수 있었다.

Kim and Lee (1993)는 납작파래 배아의 최대 생장은 15℃에서 일어남을 보고하였다. 본 실험에서도 14, 18℃에서 관찰되어 Kim and Lee (1993)의 보고와 유사한 성장반응을 나타냈다. 그러나 5℃에서는 생장 저해현상이 나타나 그들이 보고한 5℃에서의 성장과는 다른 양상을 보였다. 이는 시료 채취

지역인 부산 연안의 수온 (1~2월의 겨울철에도 10℃이하로 내려가지 않음)을 고려할 때 지역에 따른 서로 다른 온도 적응성을 나타내는 것으로 생각되며, 이러한 온도적응성은 늦은 봄 (4~5월 상순)의 번무 현상에서도 관찰이 된다 (Appendix I).

Gao *et al.* (2000)에 의하면 온도 변화에 따른 질산염 환원효소와 생장률과는 정의 상관성을 나타낸다. 본 실험의 납작과래의 질산염 흡수의 최적 수온은 15~20℃였고, 생장의 최적수온은 14~18℃로 흡수와 생장의 온도구간이 유사하였다. 이는 납작과래의 질산염 환원효소 활성의 최적 수온이 14~20℃의 범위에 존재할 가능성을 시사한다고 볼 수 있다.

이상과 같이 광, 온도, 질산염 농도와 같은 외부의 환경 조건에 따라 납작과래의 생장·생리적 반응은 달리 나타나는데, 이것은 조체내 지방산 조성에도 변화를 유발시킨다 (Tenore, 1976). Gómez-Pinchetti *et al.* (1998)은 *Ulva rigida*의 경우 내부의 C:N의 비율이 낮아짐에 따라 PUFA (polyunsaturated fatty acid)는 증가하는 경향을 보여 조체내의 질소량에 의해 PUFA의 양이 조절되고 있음을 간접적으로 밝혔으며, Floreto *et al.*, (1993)는 *Ulva*가 전형적으로 높은 수준의 C16, C18의 PUFA를 가진다고 보고하였다.

본 연구의 납작과래의 경우 질산염 흡수율의 최적구간과 생장률의 최적구간은 일치하는 경향을 보였다. 대체로 조도는 고조도 (100-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)에서, 광질은 청색광 구간에서, 온도는 18℃-20℃에서 최대질산염의 흡수 및 배아의 생장이 관찰되었고, 외부의 질산염 농도에 대해서는 흡수율 및 생장률 모두 전형적인 saturation kinetics를 나타냈었다. 지방산 분석의 결과에서도 상기한 조건, 즉 100 μM , 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 청색광, 20℃에서 PUFAs의 구성비는 높게 나타났다. 그러나, 조도의 경우 20 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 과

100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 PUFAs의 구성은 미비한 차이를 보여, 조도는 PUFAs의 정성적 측면에서는 큰 영향을 미치지 못함을 나타내고 있으며, 앞으로 PUFAs에 대한 정량적 접근을 필요로 한다.

적색광에서의 남작파래 배아의 성장저해 현상은 지방산 분석결과 [적색광 하에서의 SFAs의 증가 및 PUFAs의 감소경향, 이는 내부의 C:N의 비율의 증가에 대한 간접적인 증거 (Fernández-reiriz *et al.*, 1989)로, 내부의 질소원의 감소가 일어났음을 시사함]를 고려할 때 적색광이 질소화합물의 합성 경로에 영향을 끼쳐 남작파래 배아의 성장을 저해한 것으로 생각된다. 그리고, *Ulva rigida* (Gómez-Pinchetti *et al.*, 1998)에서 나타난 n-3 PUFA의 C16, C18중 C16 계열은 나타나지 않아 종간의 차이를 보였으나, 전체 비율은 큰 차이를 나타내지 않았다.

결론적으로 남작파래의 질산염 흡수와 배아생장은 외부의 질산염의 농도에 대하여 saturation kinetics를 나타냈고, 광과 온도에 의해서 중요하게 영향을 받았으며, 18-20°C, 100-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 청색광의 조건에서 최대 흡수율 및 최대 배아생장이 각각 관찰되었다. 조체내 지방산 조성 역시 상기 제한 요인에 영향을 받았는데, 질산염의 흡수가 좋고, 배아의 성장률이 높은 조건에서는 조체내 PUFAs도 증가하는 경향을 보여, 질소대사와 탄소대사 사이의 밀접한 관련성이 관찰되었다.

V. 요약

부산 연안지역 청사포에서 채집된 녹조류인 납작파래 (*Enteromorpha compressa* (L.) Greville)의 질산염 흡수 및 배아 성장, 그리고 조체내 지방산 조성에 대한 광 및 온도의 영향이 조사되었다.

질산염 흡수율은 외부의 질산염 농도에 대하여 saturation kinetics를 나타냈었고, 20°C, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 백색광 하에서의 반포화 상수 K_s 값 및 최대 흡수율 V_{max} 값은 각각 3.56 μM , 1.517 $\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 이었다. 조도, 파장 및 온도에 따른 질산염 흡수율은 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 적색광, 20°C의 실험구에서 각각 1.405 ± 0.020 , 0.623 ± 0.040 , 1.422 ± 0.022 $\mu\text{mol} \cdot \text{g fr wt}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 의 최고 값을 나타내었고, 실험 된 조건들 사이에서 유의한 차이가 관찰되었다 ($p < 0.001$). 배아의 성장과 외부의 질산염 농도와의 관계 역시 saturation kinetics를 나타내었고, 20°C, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 백색광 하에서의 성장률의 반포화 상수 K_s 값과 최대성장률 V_{max} 값은 각각 0.33 μM 와 56.18 %day⁻¹이었다. 조도, 파장, 온도에 따른 성장률은 120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 청색광, 18°C의 조건에서 각각 49.33~54.80, 39.07~50.72, 47.20~54.53 %day⁻¹의 최적의 성장률을 나타내었고, 실험 된 조건들 사이에서 유의한 차이가 확인되었다 ($p < 0.001$). 적색광은 납작파래의 질산염 흡수에는 유효한 영향을 나타낸 반면 성장에는 억제 효과를 나타냈다. 지방산 분석에서 PUFAs (Polyunsaturated fatty acids)는 청색광, 20°C, 100 $\mu\text{M NO}_3$ 에서 높은 값을 보였으나, 조도는 PUFAs의 조성에 큰 영향을 미치지 못했다.

결론적으로, 납작파래의 질산염 흡수와 배아생장은 외부의 질산염 농도에 대하여 saturation kinetics를 나타냈고, 조도, 파장 및 온도에 의해 중요

하게 영향을 받았다. 조체내 지방산 조성 역시 조도를 제외한 다른 요인들에 의해 영향을 받았고, PUFAs의 가장 높은 생산과 함께 질산염 흡수 및 배아 생장의 최대값은 조사된 여러 실험구 중 청색광, 20°C, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 100 $\mu\text{M NO}_3$ 에서 관찰되었다.

VI. 감사의 글

부족한 제자에게 아낌없는 격려와 지도를 해주시고, 이 논문이 완성되기까지 애써주신 남기완 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 바쁘신 가운데서도 저의 논문을 다듬어 주신 김영식, 최한길 교수님께도 진심으로 감사 드립니다. 많은 충고와 조언을 해주신 진 평, 강용주, 유명숙, 김수암, 백혜자 교수님께도 다시 한번 감사를 드립니다. 그리고, 부족한 후배를 위해 항상 걱정해 주신 이순정 선배님과 조류학 실험실원에게도 깊은 감사를 드립니다.

아울러, 졸업논문을 끝마칠 수 있도록 힘써 주신 홍석우 장장님 이하, 모든 경기도 내수면 개발 시험장 직원에게 감사 드립니다.

오늘이 있기까지 항상 믿음으로 지켜봐 주시고, 사랑과 인내로써 저를 보살펴 주신 부모님 그리고, 자형과 누님에게도 감사의 마음을 드리며, 끝으로 모든 것을 이해해 주고 옆에서 항상 지켜준 김정진에게 사랑의 마음을 전합니다.

VII. 참고 문헌

- Ahlgren, G., I.B. Gustafsson and M. Boberg. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *J. Phycol.*, 28: 37-50.
- Altamirano, M., C. Francisco and F.L. Figueroa. 2000. Growth seasonality, photosynthetic pigments, and carbon and nitrogen content in relation to environmental factors: a field study of *Ulva olivascens* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycologia*. 39: 50-58.
- APHA AWWA WPCF. 1985. Standard methods for examination of water and wastewater. 394-396 pp.
- Azuara, M.P. and P.J. Aparicio. 1983. *In vivo* blue-light activation of *Chlamydomonas reinhardtii* nitrate reductase. *Plant Physiol.* 71: 286-290.
- Bird, K.T. and P.J. Benson. 1987. *Seaweed Cultivation for Renewable Resources*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 16: 381.
- Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Björnsäter, B.R. and P.A. Wheeler. 1990. Effect of nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales, Chlorophyta). *J. Phycol.* 26: 603-611.

- Callow, J.A and M.E. Callow. 1997. Primary adhesion of *Enteromorpha* (Chlorophyta, Ulvales) propagules: quantitative settlement studies and video microscopy. *J. Phycol.* 33: 938-947.
- Chapman, A.R.O., J.W. Markham and K. Lüning. 1978. Effects of nitrate concentration on the growth and physiology of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) in culture. *J. Phycol.* 14: 195-198.
- Choi, C.G., H.G. Kim and B.O. Jun. 1994. On the nitrate uptake in *Ulva pertusa* Kjellman. *Kor. J. Phycol.* 9: 247-253.
- Davies, S.J., M.T. Brown and M. Camilleri. 1997. Preliminary assessment of the seaweed *Porphyra purpurea* in artificial diets for thick-lipped grey mullet (*Chelon labrous*). *Aquaculture* 152: 249-258.
- Dayton, P.K. 1971. Competition, disturbance and community organization: the provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecol. Monogr.* 41: 351-389.
- De Boer, J.A., H.J. Guigli and C.F. D'Elia 1978. Nutritional studies of thwo algae. I. Growth rate as a fuction of nitrogen source and concentration. *J. Phycol.* 14: 261-266.
- De Boer, J.A. 1981. Nutrients. In: Lobban C.S. and Wynne M.J. (eds), *The Biology of Seaweeds*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 356-391 pp.
- Dortch, Q. and H. Maske. 1982. Dark uptake of nitrate and nitrate reductase activity of a red-tide population off Peru. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 9: 299-303.

- Dring, M.J. 1986. Pigment composition and photosynthetic action spectra of sporophytes of *Laminaria* (Phaeophyta) growth in different light quality and irradiances. *Br. Phycol. J.* 21: 199-207.
- Fernández-reiriz, M.J., A. Perez-camacho., M.J. Ferreiro., J. Blanco., M. Planas., M.J. Campos and U. Labarta. 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (Total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture* 83: 17-37.
- Floreto, E.A.T., H. Hirata., S. Ando and S. Yamasaki. 1993. Effects of temperature, light intensity, salinity and source of nitrogen on the growth, total lipid and fatty acid composition of *Ulva pertusa* Kjellman (Chlorophyta). *Bot. Mar.* 36: 149-158.
- Fujita, R.M., P.A. Wheeler and R.L. Edwards. 1989. Assessment of macroalgal nitrogen limitation in a seasonal upwelling region. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 53: 293-303.
- Gao, Y., Smith G.J. and R.S. Alberte. 2000. Temperature dependence of nitrate reductase activity in marine phytoplankton: biochemical analysis and ecological implications. *J. Phycol.* 36: 304-313.
- Gómez-Pinchetti, J.L., E.C. Fernández., P.M. Díez and G.G. Reina. 1998. Nitrogen availability influences the biochemical composition and photosynthesis of tank-cultivated *Ulva rigida* (Chlorophyta). *J. Appl. Phycol.* 10: 383-389.
- Harlin, M.M. and J.S. Craigie. 1978. Nitrate uptake by *Laminaria longicuris*

- (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 14: 464-467.
- Harlin, M.M. and P.A. Wheeler. 1985. Nitrate uptake. In: Littler M.M. and Lettler D.S. (eds), *Handbook of Phycological Methods. Ecological Field Methods: Macroalgae*. Cambridge University Press, Cambridge. 493-508 pp.
- Hein, M., M.F. Pedersen and K. Sand-Jensen. 1995. Size-dependent nitrogen uptake in micro- and macroalgae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 118: 247-253.
- Jiménez del Rio, M. Z. Ramazanov and G. G. Reina. 1996. *Ulva rigida* (Ulvales: Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. *Hydrobiologia* 326: 61-66.
- Jones, W.E. and E.S. Dent. 1970. The effect of light on the growth of algal spores. *Helgoländer wiss. Meeresunters* 20: 70-78.
- Kim, K.Y., Y.S. Ahn and I.K. Lee. 1991. Growth and morphology of *Enteromorpha linza* (L.) J. Ag. and *E. prolifera* (Müller) J. Ag. (Ulvales, Chlorophyceae). *Kor. J. Phycol.* 6: 31-35.
- Kim, K.Y. and I.K. Lee. 1993. Combined effects of irradiance-salinity and temperature-salinity on the growth of *Enteromorpha compressa* (Chlorophyta) in laboratory culture. *Kor. J. Bot.* 36: 219-224.
- Laponite, B.E. and K.R. Tenore. 1981. Experimental outdoor studies with *Ulva fasciata* Delile. I. Interactions of light and nitrogen on nutrient uptake, growth and biochemical composition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 53: 135-152.

- Lobban, C.S., P.J. Harrison and M.J. Duncan. 1985. *The Physiological Ecology of Seaweeds*. Cambridge University Press, Cambridge. 31 242 pp.
- Lobban, C.S. and P.J. Harrison. 1994. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, New York. 336 pp.
- López-Figueroa, F. and W. Rüdiger. 1991. Stimulation of nitrate net uptake and reduction by red and blue light and reversion by far-red light in the green alga *Ulva rigida*. *J. Phycol.* 27: 389-394.
- McGlathery, K.J., M.F. Pedersen and J. Borum. 1996. Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 32: 393-401.
- Morgan, K.C. and F.J. Simpon. 1981. Cultivation of *Palmaria palmata* (Rhodymeniales): effect of high concentrations of nitrate and ammonium on growth and nitrogen uptake. *Aquat. Bot.* 11: 167-171.
- O'Kelley, J.C. 1974. Inorganic nutrients. In: Stewart W.D.P. (eds), *Algal Physiology and Biochemistry*, 610-635 pp.
- Ohno, M. 1969. A physiological ecology of the early stage of some marine algae. Rep. USA Mar. Biol. Stn. 16: 1-46.
- Probyn, T.A and A.R.O. Chapman. 1982. Nitrogen uptake characteristics of *Chordaria flagelliformis* (Phaeophyta) in batch mode and continuous mode experiments. *Mar. Biol.* 71: 129-133.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe A. and Hattori A. (eds), *Culture and Collections of*

- Algae*, Jap. Soc. Plant Physiol. 63-75 pp.
- Raven, J.A. 1974. Carbon dioxide fixation. In: Stewart W.D.P. (eds), *Algal Physiology and Biochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford. 434-455 pp.
- Rhee, G.Y. 1974. Phosphate uptake under nitrate limitation by *Scenedesmus* sp. and its ecological implications. *J. Phycol.* 10: 470-475.
- Round, F.E. 1981. *The Ecology of Algae*. Cambridge University Press, Cambridge. 653 pp.
- Ryther, J.H. and W.M. Dunstan. 1971. Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment. *Science* 171: 1008-1013.
- Sasakawa, H. and Y. Yamamoto. 1979. Effects of red, far-red and blue light on enhancement of nitrate reductase activity and on uptake in etiolated rice seedlings. *Plant Physiol.* 63: 1098-1101.
- Senger, H. 1980. *The Blue Light Syndrome*. Springer-Verlag, New York. 665 pp.
- Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1994. Nested analysis of variance. In: Freeman W.H. (3rd ed), *Biometry*, New York. 272-342 pp.
- Syrett, P.J. 1981. Nitrogen metabolism of microalgae. In: Platt T. (eds), *Physiological Base of Phytoplankton Ecology*. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210. 182-210 pp.
- Tenore, K.R. 1976. Food chain dynamics of abalone polyculture system. *Aquaculture* 8: 23-27.

- Thomas, T.E and P.J. Harrison. 1987. Raped ammonium uptake and nitrogen interactions in five intertidal seaweeds grown under field conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 107: 1-8.
- Topinka, J.A. 1978. Nitrogen uptake by *Fucus spiralis* (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 14: 241-247.
- Wallentinus, I. 1981. Chemical constituents of some baltic macroalgae in relation to environmental conditions. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 10: 363-370.
- Wheeler P.A. and W.J. North 1980. Effect of nitrogen supply on nitrogen content and growth rate of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) sporophytes. *J. Phycol.* 16: 577-582.
- Wheeler, W.N. 1982. Nitrogen nutrition of *Macrocystis*. In: Srivastava L.M. (ed), *Synthetic and Degradative Processes in Marine Macrophytes*, Walter De Gruyter, Berlin. 317 pp.
- Zar, J.H. 1999. Multiway factorial analysis of variance. In: Hall P. (4th eds), *Biostatistical Analysis*. London. 282-302 pp.

Appendix I

Weekly mean seawater temperature near Busan, Korea (2000-2001)

Month	Week				
	1	2	3	4	5
Dec.	14.8°C	13.4°C	12.8°C	12°C	
Jan.	11.5°C	11.9°C	11.2°C	10.9°C	11.1°C
Feb.	10.7°C	10.9°C	10.4°C	10.8°C	
Mar.	12.9°C	11.4°C	11.2°C	12.0°C	
Apr.	14.6°C	14.3°C	12.7°C	13.7°C	
May	17.1°C	16.5°C	15.9°C	15.1°C	14.6°C
Jun.	19.7°C	19.9°C	18.6°C	17.6°C	
Jul.	21.7°C	21°C	20.3°C	19.5°C	
Aug.	26.3°C	24°C	22.6°C	23.6°C	24.1°C
Sep.	24.4°C	24.8°C	24.5°C	25.7°C	26.1°C

Data source: 한국해양자료센터 (KOREA OCEANOGRAPHIC DATA CENTER)