구멍갈파래 (*Ulva pertusa* Kjellman)와 감태 (*Ecklonia cava* Kjellman)의 질산환원효소 활성에 미치는 질소원 형태와 빛의 효과

황재란·강윤희[1]·옥정현[1]·이상래[1]·정익교[2]*
국립수산과학원 어장환경과, [1]부산대학교 해양연구소,
[2]부산대학교 지구환경시스템학부

Effects of Nrogen Form and Light Conditions on the Nitrate Reductase Activity of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and *Ecklonia cava* (Phaeophyta)

Jae Ran Hwang, Yun Hee Kang[1], Jung Hyun Oak[1],
Sang-Rae Lee[1] and Ik Kyo Chung[2]*
Marine Environmental Research Division, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-705, Korea
[1]Marine Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea
[2]Division of Earth Environmental System, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Nitrate reductase (NR) is activated by nitrogen sources (NO_3^- and NH_4^+) and irradiance. This study investigated the effects of these factors on the NR activity of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and *Ecklonia cava* (Phaeophyta). In addition, the ammonium (NH_4^+) and nitrate (NO_3^-) uptake rates of the two species were examined. *U. pertusa* took up most of the NO_3^- and NH_4^+ in the medium during a 3hour incubation, while *E. cava* had a relatively high uptake rate after 3 hours. The NR activities of the two species were affected by the nitrogen source and irradiance and were highest when they were exposed to NO_3^--rich medium and high irradiance. However, the patterns of NR activity differed between the two species. In NO_3^--rich medium and high irradiance, *U. pertusa* achieved the highest NR activity (2.01 ± 0.07 μmol NO_2^- g^{-1} DW h^{-1}) within the first 3 hours and then this activity decreased drastically. By contrast, the NR activity of *E. cava* (0.36 ± 0.04 μmol NO_2^- g^{-1} DW h^{-1}) was constant for 12 hours. When exposed to darkness, the NR activity of *U. pertusa* decreased dramatically, while that of *E. cava* increased gradually for 12 hours. Therefore, *E. cava* is able to maintain NR activity during the dark because of its adequate carbohydrate reserves and substrate.

Key words: NR activity, Nitrogen forms, Light conditions, *Ecklonia cava*, *Ulva pertusa*

서 론

질소 (nitrogen)는 해양 환경에서 해조류의 성장에 직접적인 영향을 미치며, 단백질, 엽록소 및 핵산 등을 형성하는 중요한 구성요소이다 (Hanisak, 1983; Lobban and Harrison, 1994). 해조류가 해수 내에서 주로 이용하는 질소의 형태는 nitrate (NO_3^-), ammonium (NH_4^+)과 urea이며 (Phillips and Hurd, 2004), 이 중 NO_3^-와 NH_4^+은 연안이나 기수 해역에 풍부하게 존재하여, 해조류가 가장 많이 이용하는 것으로 알려져 있다 (Hanisak, 1983). 이러한 해조류의 질소원 이용은 서식하는 환경의 질소원 농도, 질소원 형태 (NO_3^-와 NH_4^+), 빛, 수온 그리고 물의 흐름과 같은 환경적 요인들에 의해서 영향을 받는다 (Ahn et al., 1998; Harrison and Hurd, 2001). 또한 해조류 엽체의 형태적 차이와 연령 및 질소원 선호도에 의해서 영향을 받는 것으로 알려져 있다 (Harrison and Hurd, 2001).

*Corresponding author: ikchung@pusan.ac.kr

해조류는 해양에 풍부한 NO_3^-와 NH_4^+을 모두 이용하지만, NO_3^-보다 NH_4^+을 먼저 이용한다 (Fujita et al., 1988; Jun et al., 1996). 해조가 NH_4^+을 선호하는 이유는 NH_4^+이 NO_3^-보다 쉽게 동화되기 때문이며, 이것은 질소원 대사경로의 차이를 통해서 알 수 있다 (Hanisak, 1983). NO_3^-은 해조가 흡수하여, 원형질막을 거쳐 이동한 후 세포질에서 질산환원효소 (Nitrate Reductase, NR)의 촉매작용으로 nitrite (NO_2^-)로 환원된다. 환원된 NO_2^-은 엽록소 내부로 이동하여 아질산환원효소 (Nitrite Reductase, NiR)에 의해 NH_4^+로 환원되고, 글루타민합성효소 (Glutamine Synthase, GS)와 글루탐산생성효소 (Glutamine-Oxoglutarate Amino Transferase, GOGAT)에 의해 아미노산으로 전환된다 (Chow and Oliveira, 2008). 이에 반해, NH_4^+은 해조가 흡수한 후, 저장하거나 원형질막을 통해 막 내로 이동하여 고분자의 합성단계를 거쳐 바로 이용할 수 있는 형태로 전환된다 (Hanisak, 1983; Lobban and Harrison, 1994). 따라서

해조의 NH_4^+대사과정은 NO_3^-대사과정과 달리 환원 과정을 필요로 하지 않기 때문에 해조류는 우선적으로 NH_4^+을 이용한다 (Pedersen and Borum, 1996; Naldi and Wheeler, 2002; Runcie et al., 2003). 그러나 모든 해조류가 NH_4^+만 선호하여 먼저 이용하는 것은 아니며 (Hanisak, 1983), NO_3^-와 NH_4^+가 모두 충분한 지역에 서식하는 해조류의 경우, 빛 조건에 의해 NH_4^+보다 오히려 NO_3^-을 더 많이 흡수하기도 한다 (Teichberg et al., 2007; Young et al., 2007).

해조류가 NO_3^-을 이용하기 위해서는 질산염환원 과정을 필요로 하는데, 이 과정에서 첫 번째 환원을 촉진하는 질산환원효소 (Nitrate Reductase, NR)는 질소대사과정에서 중요한 역할을 담당한다 (Ullrich, 1983; Huovinen et al., 2007). NO_3^-과 NH_4^+의 흡수에 따른 해조류의 질산환원효소 활성 (NR activity) 변화에 대한 여러 연구가 진행되었으며, 질소원 형태는 NR activity에 중요한 역할을 하는 것으로 보인다 (Thomas and Harrison, 1985; Young et al., 2005, 2007). 그러나 NH_4^+에 대한 NR activity에 대한 영향이 명확하게 밝혀진 것은 아니며, 최근에는 NO_3^-가 세포질로 이동하는 것을 차단하거나 혹은 직접적으로 효소를 분해하는 등의 방법을 이용해서 연구가 진행되고 있다 (Chow and Oliveria, 2008).

NR activity는 NO_3^-흡수뿐만 아니라 빛에 의해서 영향을 받는다고 알려져 있다 (Huber et al., 1992; Chow et al., 2004). NR activity는 광조건에서 높아지고, 암조건에서 낮아지는 경향을 나타낸다 (Chow et al., 2004; Chow and Oliveria, 2008). 이러한 결과는 NO_3^-환원과정과 빛을 필요로 하는 식물의 광합성 대사과정이 서로 밀접한 관계에 있기 때문이다 (Gao et al., 1992). 식물은 광합성을 통해서 NR를 활성화하기 위한 에너지원을 생성하는데 이는 NO_3^-동화과정에서 NO_3^-이 환원되어, NH_4^+로 전환되고, 다시 아미노산으로 합성하는데 중요한 역할을 담당하게 된다 (Gao et al., 1992; Chow et al., 2004). 따라서 NO_3^-동화과정에서 필요로 하는 에너지원은 탄소고정을 통해서 공급받게 되며, 이를 통해 NR activity에 대한 빛의 영향은 식물의 여러 대사 작용을 함께 고려하여 설명 할 수 있다 (Huber et al., 1992; Gao et al., 1992; Chow et al., 2004).

해조류의 질소원 흡수는 해조류 종의 생리 생태학적 특징에 따라서 차이가 나타난다. 녹조류 갈파래목 (Ulvales)은 비교적 영양염이 풍부한 지역에서 대발생하며, 짧은 생활주기 및 사상체나 얇은 엽상체의 형태로 구성되어 있고, 높은 V_{max}/K_s의 특성을 나타내는 기회주의 종이다 (Wallentinus, 1984). 일반적으로 갈파래목은 질소원 흡수율이 높은데, 특히 NH_4^+흡수율이 다른 해조류에 비해 비교적 높은 것으로 잘 알려져 있다 (Naldi and Wheeler, 2002; Runcie et al., 2003; Teichberg et al., 2007). 이에 반면, 체형이 매우 크고 두꺼운 엽상체 구조를 가지는 갈조류 다시마목 (Laminariales)은 다년생으로 낮은 V_{max}/K_s의 특성을 나타낸다 (Wallentinus, 1984; Harrison et al., 1986). 대부분의 종들은 부착기 (holdfast), 줄기부 (stipe), 엽신 (blade)으로 구성되며, 해조류 중 가장 복잡한 구조를 가지는 것으로 알려져 있다 (Lobban and Harrison, 1994). 일반적으로 다시마목의 질소원 흡수 양상은 NH_4^+과 NO_3^-을 비슷하게 흡수하지만, 상대적으로 NO_3^-를 더 많이 흡수하기도 한다 (Probyn and McQuaid, 1985; Ahn et al., 1998).

본 연구의 목적은 서로 다른 형태적 및 생리생태학적 특성을 지닌 구멍갈파래 (*Ulva pertusa* Kjellman)와 감태 (*Ecklonia cava* Kjellman)에서 질소원 형태와 빛의 유무가 질소원 흡수 패턴에 미치는 영향을 파악하는 것이며, 이를 통해 NO_3^-이 NH_4^+보다 풍부한 지역에서 해조류의 반응을 예측하는 것이다. 이를 위해 빛의 유무에 따른 두 종의 NO_3^-과 NH_4^+의 흡수율을 측정하고, 그에 따른 질산환원효소의 활성 (NR activity)의 변화를 비교하였다.

재료 및 방법

해조류 채집 및 배양조건

실험에 사용된 구멍갈파래 (*Ulva pertusa* Kjellman)와 감태 (*Ecklonia cava* Kjellman)는 2009년 1~3월에 부산광역시 기장군 일광면 연안과 해운대 연안에서 건강한 엽체를 채집하였다. 갈조류의 경우 주로 1~2년생의 건강한 엽체를 채집하였다.채집된 해조류는 아이스박스를 이용해 실험실로 이동한 후, 해조류의 표면에 부착한 미세한 부착생물과 불순물을 해수와 부드러운 끌을 이용해 제거하였다. 실험을 시작하기 전 3일 동안 GF/C filter로 여과한 해수 (NO_3^-, NH_4^+<1 μM)와 15℃, 60-80 μmol photons $m^{-2}s^{-1}$, 12:12 h (L:D)의 광주기하에서 순응시켰다.

해조류의 NH_4^+와 NO_3^-흡수 실험

두 종의 질소원 흡수 실험은 광조건과 암조건하에서 NH_4^+과 NO_3^-에서 각각 진행되었다. 질소원 흡수 실험은 구멍갈파래와 감태에서 각각 6 g을 채취하여 70 μM의 NH_4^+와 NO_3^-배양액에 각각 넣고, 120~150 μmol photons $m^{-2}s^{-1}$, 15℃ 조건에서 6시간 동안 수행하였다. 대조구는 NO_3^-와 NH_4^+의 농도가 1 μM이하인 0.2 μM membrane filter로 여과한 해수를 사용하여 대조구 (광조건과 암조건)를 설치하였다. 각 해조류의 질소원 흡수율은 3시간마다 해수를 채취하여 해수 내 NO_3^-와 NH_4^+ 농도를 측정하여 계산하였으며, 모든 실험은 세 번 반복하였다. 질소원 흡수율 (Uptake rate, V)계산식은 다음과 같다 (Pedersen, 1994).

$$\text{Uptake rate } (V) = [(S_0 \times vol_0) - (S_t \times vol_t)] / (t \times B)$$

S_0는 해수 내 초기 NO_3^-와 NH_4^+의 농도이며, vol_0은 초기 배양액 부피, S_t는 t 시간 후 NO_3^-와 NH_4^+의 농도, vol_t는 t 시간에 대한 배양액의 부피, t는 시간, B는 생물량을 의미하며, 단위는 μmol N $g^{-1}DWh^{-1}$로 나타내었다.

질산환원효소 활성 (Nitrate reductase activity, NR activity) 측정

구멍갈파래와 감태의 NR activity는 NH_4^+과 NO_3^-흡수 실험과 동일하게 설치하였으며, 6시간 간격으로 새로운 배양액으로 교체하였다. 두 종의 NR activity는 각 플라스크에서 3시간 간격으로 각각의 시료 0.5 g을 채취하여, *in vivo*방법으로 분석

하였다 (Thompson and Valiela, 1999; Teichberg et al., 2007). 이 방법은 해조류를 질산환원효소 추출 배양액에서 배양한 후 추출된 nitrite (NO_2^-)를 분석하여, NR activity를 추정하는 방법으로 (Corzo and Niell, 1991), 각 시료는 실온에서 배양액에 1시간 동안 암 상태로 배양하여 측정한다. 배양액은 멸균 증류수에 potassium nitrate (KNO_3) 60 mM과 potassium phosphate (KH_2PO_4) 0.1 M, 1-propanol (0.5%)를 넣어 제조하였다 (Thompson and Valiela, 1999). 배양액에서 채취한 해조류 시료와 1 mL의 배양액을 채수한 후, 삼각플라스크에 질소가스를 주입하여 삼각플라스크 안의 공기를 제거하고, 한 시간 후에 배양액 1 mL을 채수하여 nitrite (NO_2^-)의 농도를 측정하였다. NR activity는 배양 전후의 NO_2^-농도의 차이를 통해 추정하였다 (Thompson and Valiela, 1999; Huovinen et al., 2007; Teichberg et al., 2007).

배양액 내 NH_4^+, NO_3^-와 NO_2^-분석

각 배양액의 NH_4^+, NO_3^-와 NO_2^-농도는 standard colorimetric techniques에 의해 분석하였다 (Parsons et al., 1984). NO_3^-농도는 구리로 코팅된 카드뮴 환원관을 이용해 NO_3^-를 NO_2^-로 환원시킨 후 측정하였다.

통계 분석

통계 분석 전 모든 자료는 정규성 (normality)과 등분산성 (homogenety of variacne)을 검정하였으며, 위반시 log transformation을 실행하였다. 두 종의 NR activity의 시기 및 조건별 유의한 차이는 two-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. 분석 값이 유의할 경우, Turkey HSD 검정법을 이용하여 각 자료의 유의성을 검정하였다. 모든 분석은 SPSS (version 15.0) 통계프로그램을 이용하였다.

결과 및 고찰

NO_3^-와 NH_4^+흡수는 해조 종에 따라서 다른 양상을 보였으며, 빛은 질소원 흡수에 거의 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다 (Fig. 1). 구멍갈파래는 초기 3시간 이내에 빛에 관계없이 거의 모든 NO_3^-와 NH_4^+를 흡수하였으며, 6시간 이후, 배양액 내 NH_4^+농도는 3.5 μM 이내였다. 또한 광조건과 암조건 상태에서 NO_3^-의 배양액 농도도 각각 0.22 μM 과 0.31 μM 로 매우 낮았다. 감태는 초기 3시간 동안 50% 이상의 NO_3^-와 NH_4^+를 흡수하였으며, 6시간 후, 감태는 90%의 NH_4^+를 흡수하였으나, NO_3^-는 빛에 관계없이 60%정도만 흡수되었다. 이러한 결과는 두 종 모두 NO_3^-와 NH_4^+를 매우 잘 흡수하는 것을 의미한다 (Fujita et al., 1988).

두 종의 영양염 흡수율은 영양염 흡수 양상과 거의 일치하였다. 초기 3시간 동안, 구멍갈파래의 NO_3^-와 NH_4^+의 흡수율은 각각 약 25 μmol g^{-1}DW h^{-1}과 28 μmol g^{-1}DW h^{-1}이였다 (Fig. 2). 두 영양염의 흡수율의 차이는 초기 3시간 이내에 거의 모든 배양액 내에 질소원을 흡수하였기 때문에 의미가 없는 것으로 판단된다. 3시간 이후, 두 영양염의 흡수율은 배양액 내에 질소의 고갈로 1 μmol g^{-1}DW h^{-1}이내의 매우 낮은 수치를 보였다. 그러나 감태의 영양염 흡수율은 구멍갈

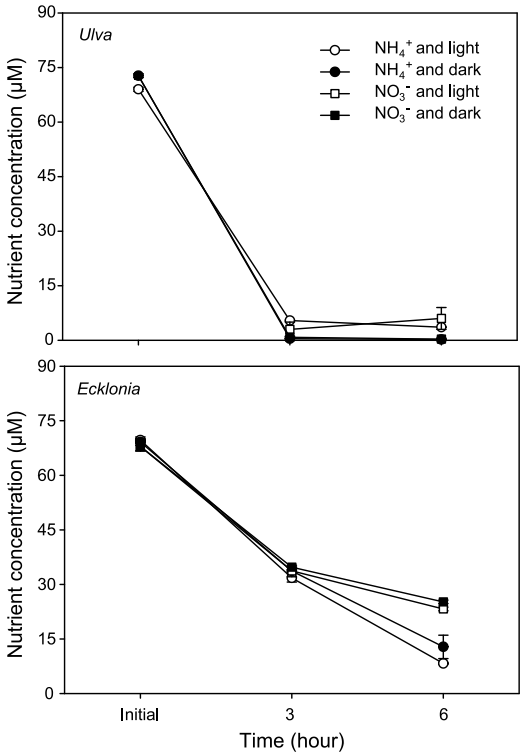

Fig. 1. The changes of nitrogen concentrations of *Ulva pertusa* and *Ecklonia cava* under light and dark conditions for 6 hours. Data are expressed as mean ± SE (*n*=3).

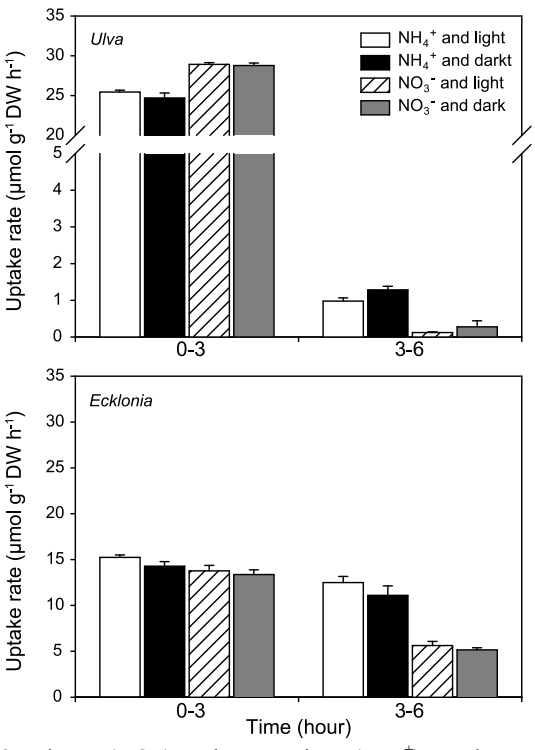

Fig. 2. Nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) uptake rates of *Ulva pertusa* and *Ecklonia cava* under light and dark conditions for 6 hours. Data are expressed as mean ± SE (*n*=3).

파래와 다른 양상을 보였다 (Fig. 2). 감태의 경우, 영양염 흡수율은 3시간 이후에도 비교적 높은 수치를 보였다. 감태의 평균 NO_3^-와 NH_4^+의 흡수율은 각각 13.5 μmol g^{-1}DW h^{-1}, 14.5 μmol g^{-1}DW h^{-1}이였다. 감태와 같은 다시마 목에 속하는 *Laminaria saccharina*와 *Nereocystis luetkeana*에서 연구된 결과에 의하면, 두 해조류는 해수내에서 NO_3^-와 NH_4^+을 동시에 잘 흡수한다고 하였으나, NO_3^-와 NH_4^+가 풍부한 지역에서는 NH_4^+보다 오히려 NO_3^-흡수율이 더 높다고 하였다 (Hanisak, 1983; Harrison et al., 1986; Lobban and Harrison, 1994; Ahn et al., 1998). 이번 연구에서, 구멍갈파래의 질소원 흡수율이 감태의 질소원 흡수율보다 약간 높게 나타났는데, 이는 갈파래목에 속하는 구멍갈파래는 영양염 흡수에 적합한 형태적 특징 (high surface area/volume ratio)을 지니고 있어, 고농도에서 높은 성장률과 빠른 영양염 흡수율을 나타내기 때문이다 (Duke et al., 1987; Arévalo et al., 2007).

광조건 상태에서 진행된 두 종의 NR activity에 대한 실험결과, NR activity는 NH_4^+보다 NO_3^-에 배양되었을 때 더 높았다 (Fig. 3, Table 1). 그러나 두 종의 NR activity는 매우 다른 양상을 보였다. 구멍갈파래의 경우, 70 μM NO_3^-의 배양액에 노출되었을 때, NR activity는 매우 급격하게 증가하였으며, 그 값은 2.01 ± 0.07 μmol $NO_2^-g^{-1}$DW h^{-1}에 이르렀다. 이러한 결과는 *Ulva rigida*의 NR activity는 고농도의 NO_3^-를 포함한 배양액에 노출되었을 때, 초기 3시간 이내에 가장 높은 활성도

Table 1. Results of two-way ANOVA for the effects of treatments and time on NR activity of *Ulva pertusa* and *Ecklonia cava*

Variables	Source	df	MS	F-ratio	P-value
Ulva pertusa					
Light conditon	Time (H)	3	2.620	212.699	<0.001
	Treatment (T)	3	4.353	353.351	<0.001
	H × T	9	0.908	73.685	<0.001
	Error	79	0.120		
Nitrogen form	Time (H)	3	1.089	60.743	<0.001
	Treatment (T)	2	5.682	316.906	<0.001
	H × T	6	1.146	63.921	<0.001
	Error	60	0.180		
Ecklonia cava					
Light conditon	Time (H)	3	0.032	14.296	<0.001
	Treatment (T)	3	0.215	96.554	<0.001
	H × T	9	0.024	10.614	<0.001
	Error	79	0.002		
Nitrogen form	Time (H)	3	0.006	2.433	<0.001
	Treatment (T)	2	0.288	115.250	<0.001
	H × T	6	0.013	5.224	<0.001
	Error	60	0.002		

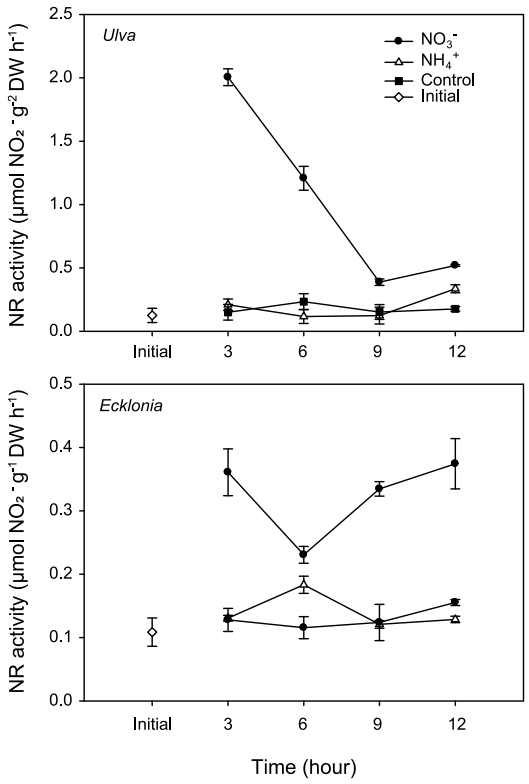

Fig. 3. The change of nitrate reductase activities (NR activity) of *Ulva pertusa* and *Ecklonia cava* at 70 μM NO_3^- and 70 μM NH_4^+ concentrations under light condition for 12 hours. Data are expressed as mean ± SE (n=6).

를 보인 연구 결과와 유사한 것이다 (Gordillo et al., 2001). 6시간 이후, 새로운 배양액에 노출시켰지만, 초기와 같은 급격한 증가는 보이지 않았다. NO_3^-가 매우 낮은 농도로 포함된 대조구와 70 μM NH_4^+조건에서는 NR activity의 증가 양상이 관찰되지 않았다. 이에 반해, 감태의 NR activity는 매우 흥미로운 양상을 보였다 (Fig. 3). NO_3^-에 노출 후, 초기 3시간 이내에 NR activity의 급격한 증가는 구멍갈파래와 유사하였으나, 이러한 증가는 12시간동안 지속되었다. 광조건의 고농도 NO_3^-에 배양액에서 배양된 감태의 NR activity는 0.36 ± 0.04 μmol NO_2^- g^{-1}DW h^{-1}이었다.

이번 연구 결과는 기존의 연구 결과와 같이 NH_4^+에서 배양되었을 때보다 NO_3^-에서 배양되었을 때, NR activity가 높아지는 경향을 나타냈다 (Thomas and Harrison, 1985; Young et al., 2007; Chow and Oliveira, 2008). 이전의 연구 결과에 의하면, NO_3^-은 식물에서 NR activity를 조절하는 중요한 조절인자이며, 농도에 따라서 양의 상관관계를 보인다 (Gao et al., 1992; Chow and Oliveira, 2008). NH_4^+에 대한 NR activity의 영향은 현재까지 뚜렷하게 밝혀지진 않았지만, NH_4^+에 장시간 노출된 해조류는 NR activity가 감소한다고 보고되었다 (Chow and Oliveira, 2008). 이번 연구에서 구멍갈파래와 감태가 고농도의 NH_4^+에서 노출되었을 때 NR activity의 변화는 그리 크지 않았다 (Fig. 3). NO_3^-배양액에서 배양된 두 종의 NR activity의

비교에서 구멍갈파래의 NR activity는 감태의 NR activity보다 높게 관찰되었는데, 이는 두 종의 NO_3^-흡수율에 기인한다 (Pedersen and Borum, 1996). 구멍갈파래는 초기 3시간 이내 거의 대부분의 NO_3^-를 흡수한데 반해, 감태는 지속적으로 NO_3^-를 흡수하였기 때문이다. 또한, 이러한 결과는 두 종의 NR activity 양상과도 연관이 있는 것으로 추정되는데, 높은 영양염 흡수율을 보인 구멍갈파래는 초기 3시간 후 이내 모든 NR activity가 일어난 것으로 보이며, 지속적으로 영양염을 흡수한 감태는 12시간 동안 지속되는 것을 볼 수 있었다.

NR acitivity는 광조건 상태에서 활성화 되며, 암조건 상태에서 낮은 활성도를 보인다 (Huber et al., 1992; Chow and Oliveira, 2008). 이러한 결과는 질산염 동화과정에서 에너지를 필요로 하는데, 이 에너지의 원천이 빛을 이용한 식물의 광합성을 통해서 얻어지기 때문이다 (Gao et al., 1992; Chow et al., 2004). *Gracilaria chilensis*의 NR activity는 빛에 노출되었을 때보다 노출되지 않았을 때에 보다 더 낮은 것으로 나타났다 (Chow and Oliveira, 2008). 이번 연구에서도 두 종의 NR activity는 위의 연구 결과와 유사하였는데, 고농도의 NO_3^-에 노출되었을 때, 두 종의 NR activity는 암조건보다 광조건에서 통계적으로 유의하게 높게 관찰되었다 (Fig. 4, Table 1).

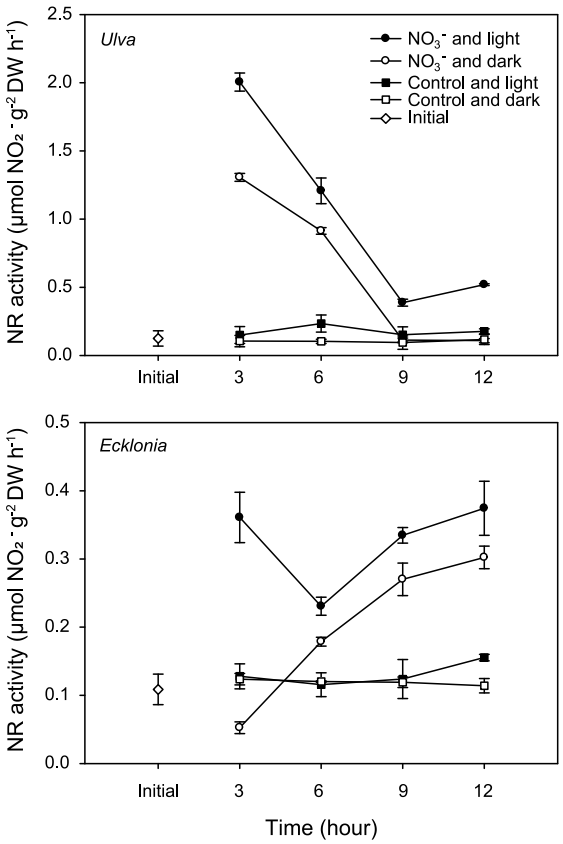

Fig. 4. The change of nitrate reductase activities (NR activity) of *Ulva pertusa* and *Ecklonia cava* at 70 μM NO_3^- and 70 μM NH_4^+ concentrations under light and dark conditions for 12 hours. Data are expressed as mean ± SE (n=6).

그러나 저농도의 NO_3^-가 포함된 대조구에서 NR activity는 빛에 영향을 거의 받지 않았다 (Fig. 4). 또한, 두 종의 NR activity는 암조건 상태에서 시간에 따라 매우 다른 양상을 보였다. 암조건 상태에서 구멍갈파래의 NR activity는 급격히 감소하여, 대조구와 차이가 없었으나, 감태는 암조건 상태에서도 비교적 높은 수준의 NR activity를 보였다 (Fig. 4). 이러한 연구 결과는 암조건 상태에서 NR activity가 감소한다는 기존의 결과와 상반되는 것이다 (Davison and Stewart, 1984; Young et al., 2007).

빛이 NR의 활성화에 매우 중요한 영향을 미치는 것은 사실이나, 모든 식물이 빛이 없는 환경에서 질산환원효소의 활성이 낮아지는 것은 아니다. 해수에 적응된 현화식물인 거머리말 (*Zostera marina*)은 암조건 상태에서 고농도의 NO_3^-에 노출되었을 때, 광조건 상태에서와 같이 높은 NR activity를 보인다고 했다 (Touchette and Burkholder, 2000). 이는 식물이 광조건에서 광합성을 통해 충분하게 carbohydrates를 축적하면, 빛이 없는 동안에도 이를 이용하여 질소동화에 필요한 에너지를 공급 받을 수 있기 때문이다. 본 연구결과에서도 암조건 상태에서 두 종 모두 초기에 높은 NR을 보였는데, 이는 체내에 축적된 에너지원을 이용해서 NR을 활성화 시킨 것으로 사료된다. 시간이 지남에 따라, 저장 능력이 낮은 구멍갈파래의 NR activity는 급격히 감소하였으며, 매우 낮은 NR activity를 보였다. 이에 반해, 상대적으로 저장능력이 뛰어난 감태는 체내에 충분한 에너지를 이용하여 지속적으로 NR를 활성화 시킨 것으로 보인다. 12시간 후, 광조건과 암조건 상태에서 감태의 NR activity는 각각 0.37 ± 0.04와 0.30 ± 0.02 μmol $NO_2^-g^{-1}DW\ h^{-1}$로 거의 유사하였다.

두 종의 영양염 흡수율은 빛 조건과 관계없이 매우 높았으나, 서로 다른 양상을 보였는데, 이는 영양염 흡수 능력과 관련이 있는 것으로 보여진다. NR activity는 종에 따라 매우 다른 양상을 띠었는데, 이는 엽체 내 영양분을 축적시키는 능력 및 축적된 에너지 양과 연관이 있는 것으로 추정된다. 감태는 암조건 상태에서도 일정기간동안 초기와 같은 수준의 NR activity를 보였는데, 이는 감태가 상당기간 동안 기존의 저장기관에서 에너지를 공급받을 수 있기 때문일 것으로 사료된다.

최근 연안 지역에 고농도의 NO_3^-의 배출은 부영영화 현상이 심화시켰으며, 이는 해조류 군집 구조에 중요한 영향을 미친다. 따라서 부영양화 현상을 초기에 예측하는 것은 그 지역을 보전하는데 필수적이다. 그러나 다양한 저서생물들이 질소를 이용하기 때문에, 해수 내 질소의 농도를 측정하는 것은 쉽지 않으며, 이러한 문제점을 보완하기 위해서 다양한 지표들의 개발되고 있다 (Lee et al., 2004; Cohen and Fong, 2006). Burkholder 등 (1992)는 잘피가 고농도의 NO_3^-와 암조건에서 엽체 내 축적된 에너지를 사용하여 NO_3^-를 흡수하며, 상당기간동안 암조건이 유지될 때, 엽체 내에 축적된 에너지의 고갈로 인해 사망한다고 하였다. 이러한 결과는 해수 내 NO_3^-농도에 의해 반응하는 NR activity가 좋은 지표가 될 수 있음을 시사하며, 그것을 통해서 해조류 군집 구조의 변화를 예측가

능하리라 사료된다. 따라서 본 연구 결과는 부영양화 지역에 서식하는 해조류의 생리적 및 군집 구조의 변화에 대해서 가치 있는 정보를 제공하리라 기대되며 추가적으로 엽체 내 탄수화물 농도 분석이 절실히 요구된다.

사 사

본 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비 (2년)에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

Ahn O, Petrel RJ and Harrsion PJ. 1998. Ammonium and nitrate uptake by *Laminaria saccharina* and *Nerocystis luetkeana* originating from a salmon sea cage farm. J Appl Phycol 10, 333-340.

Arévalo R, Pinedo S and Balleseros E. 2007. Changes in the composition and structure of Mediterranean rocky-shore communities following a gradient of nutrient enrichment: Descriptive study and test of proposed methods to assess water quality regarding macroalgae. Mar Poll Bull 55, 104-113.

Cohen RA and Fong P. 2006. Using opportunistic green macroalgae as indicators of nitrogen supply and sources to estuaries. Ecol Appl 16, 1405-1420.

Chow F, Oliveira MC and Pedersen M. 2004. In vitro assay and light regulation of nitrate reductase in red alga *Gracilaria chilensis*. J Plant Physiol 161, 769-776.

Chow F and Oliveira MC. 2008. Rapid and slow modulation of nitrate reductase activity in the red macroalga *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta): influence of different nitrogen sources. J Appl Phycol 20, 775-782.

Corzo A and Niell FX. 1991. Determination of nitrate reductase activity in *Ulva rigida* C. Agardh by the in situ method. J Exp Mar Biol Ecol 146, 181-191.

Davison IR and Stewart WDP. 1984. Studies on nitrate reductase activity in *Laminaria digitata* (Huds.) Lamour. II. The Role of nitrate availability in the regulation of enzyme activity. J Exp Mar Biol Ecol 79, 65-78.

Duke CS, Litaker RW and Ramus J. 1987. Seasonl variation in RuBPCase activity and N allocation on the chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* (Kutz.) De Toni and *Codium decorticatum* (Woodw.) Howe. J Exp Mar Biol Ecol 112, 145-64.

Fujita RM, Wheeler PA and Edwards RL. 1988. Metabolic regulation of ammonium uptake by *Ulva rigida* (Chlorophyta): A compartmental analysis of the rate-limiting step for uptake. J Phycol 24, 560-566.

Gao Y, Smith GJ and Alberte RS. 1992. Light regulation of nitrate reductase in *Ulva fenestrata* (Chlorophyceae). Mar Biol 112, 691-696.

Gordillo FJL, Niell FX and Figueroa L. 2001. Non-photosynthetic enhancement of growth by high CO_2 level in the nitrophilic seaweed *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyta). Planta 213, 64-70.

Hanisak MD. 1983. The nitrogen relationships of marine macroalgae. In: Nitrogen in the marine environment. Carpenter EJ and Capone DG, eds. Academic Press, New York, U.S.A., 699-730.

Harrison PJ, Druehl LD, Lloyd KE and Thompson PA. 1986. Nitrogen uptake kinetics in three year-classes of *Laminaria groenlandica* (Laminariales: Phaeophyta). Mar Biol 93, 29-35.

Harrison PJ and Hurd CL. 2001. Nutrient physiology of seaweeds: Application of concept to aquaculture. Cah Biol Mar 42, 71-82.

Huber SC, Huber JL, Campbell WH and Redinbaugh MG. 1992. Apparent dependence of the light activation of nitrate reductase and sucrose-phosphate synthase activities in Spinach leaves on protein synthesis. Plant Cell Physiol 33, 639-646.

Huovinen P, Gomez I and Orostegui M. 2007. Patterns and UV sensitivity of carbon anhydrase and nitrate reductase activities in south Pacific macroalgae. Mar Biol 151, 1813-1821.

Jun BO, Lee SU and Kwon YM. 1996. On ammonium uptake in *Ulva pertusa* Kjellman. Algae 11, 317-323.

Lee K-S, Short FT and Burdick DM. 2004. Development of a nutrient pollution indicator using the seagrass, *Zostera marina*, along nutrient gradients in theree New England estuaries. Aquat Bot 78, 197-216.

Lobban CS and Harrison PJ. 1994. Nutrients. In: Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge, U.S.A., 163-208.

Naldi M, and Wheeler PA. 2002. ^{15}N measurements of ammonium and nitrate uptake by *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* Rhodophyta): comparison of net nutrient disappearance, release of ammonium and nitrate, and ^{15}N accumulation in algal tissue. J Phycol 38, 135–144.

Parsons TR, Maita Y and Lalli CM. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergammon Press, New York, U.S.A., 173.

Pedersen MF. 1994. Transient ammonium uptake in the macroalga *Ulva lactuca* (Chlorophyta): nature, regulation, and the consequences for choice of

measuring technique. J Phycol 30, 980-986.
Pedersen MF and Borum J. 1996. Nutrient control of algal growth in estuarine waters: nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. Mar Ecol Prog Ser 142, 261–272.
Phillips JC and Hurd CL. 2004. Kinetics of nitrate, ammonium, and urea uptake by four intertidal seaweeds from New Zealand. J Phycol 40, 534-545.
Probyn TA and McQuaid CD. 1985. *In-situ* measurements of nitrogenous nutrient uptake by kelp (*Ecklonia maxima*) and phytoplankton in a nitrate-rich upwelling environment. Mar Biol 88, 149-154.
Runcie JW, Ritchie RJ and Larkum AW. 2003. Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca*. Aquat Bot 76, 155–174.
Teichberg M, Heffner LR, Fox S and ValielaI. 2007. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity, internal N pools, and growth of *Ulva lactuca*: Responses to long and short-term N supply. Mar Biol 151, 1249-1259.
Thomas TE and Harrison PJ. 1985. Effect of nitrogen supply on nitrogen uptake, accumulation and assimilation in *Porphyra perforata* (Rhodophyta). Mar Biol 85, 269-278.
Thompson SM and Valiela I. 1999. Effect of nitrogen loading on enzyme activity of macroalgae in estraries inWaquoit Bay. Bot Mar 42, 519-529.
Touchette BW and Burkholder JM. 2000. Review of nitrogen and phosphorus metabolism in seagrasses. J Exp Mar Biol Ecol 250, 133-167.
Ullrich WR. 1983. Uptake and reduction of nitrate: algae and fungi. In: Encyclopedia of Plant Physiology new series Vol. 15A. Inorganic Plant Nutrition. Lauchli A and Bieleski RL, eds. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 376-397.
Wallentinus I. 1984. Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies. Mar Biol 80, 215-225.
Young EB, Lavery PS, Elven B, Dring MJ and Berges JA. 2005. Nitrate reductase activity in macroalgae and its vertical distribution in macroalgal epiphytes of seagrasses. Mar Ecol Prog Ser 288, 103-114.
Young EB, Dring MJ and Berges JA. 2007. Distinct patterns of nitrate reductase activity in brown algae light and ammonium sensitivity in *Laminaria digitata* is absent in *Fucus* species. J Phycol 43, 1200-1208.

2010년 10월 26일 접수
2010년 11월 14일 수정
2011년 2월 10일 수리