

[報 文]

조류의 Methylglyoxal과 인 Stress 연구

이 기 태

경희대학교 생물학과

Study of Methylglyoxal and Phosphorus Stress on Algae

Ki Tae Rhie

Dept. of Biology, Kyung Hee University

ABSTRACT

Effects of phosphorous (P) and methylglyoxal (MG) on the cell number, dry weight, chlorophyll content, photosynthetic and respiratory rate, phosphate uptake and protein content of green algae (*Scenedesmus obliquus*) were studied.

The algal cell number from the medium treated with 0.5~1.0 mM of MG at 1/2 P or 1/4 P concentration was significantly lower than those of algae treated with full strength of phosphorous in medium. The inhibitory effect of MG on algal cell division was enhanced at low concentration of phosphorous in medium. At the beginning of logarithmic phase of algal growth, the mean dry weight of algae from the medium without MG-treatment in 1/2 P media was significantly higher than that of algae treated with MG. After logarithmic phase of growth cycle, the mean dry weight of algae from the medium with 1.0 mM of MG-treatment in 1/4 P media was significantly lower than that of algae treated with or without MG. At logarithmic phase of algal growth, there were significant differences in the chlorophyll content among all groups of tested algae with various concentrations of P and MG. At 15 days after inoculation, the mean chlorophyll content per algal cell from the media without MG-treatment in 1/2P was significantly higher than that of other cells from MG-treated media.

The adverse effect of MG at concentration of 0.5~1.0mM in 1/2 and 1/4 P media on photosynthetic rate was observed. The mean photosynthetic rate of algal cell without P and MG treatment at 15 days after inoculation was significantly higher than that of MG-treated algae. After logarithmic phase, the algal cell treated with 0.5mM of MG with full strength of phosphorous showed significantly high respiratory rate than that of other cell groups. There were significant differences in mean phosphate uptake rate among all groups of

Scenedesmus obliquus at logarithmic phase. At 12 days after inoculation, phosphate uptake rate per each algal cell from the basic media without MG and P treatment was rapidly reduced which shows early introduction to stationary phase.

1) 본 연구는 한국과학기술재단의 지원으로 이루어진 것임

Anionic protein content in algae from basic media with 0.5mM of MG treatment was significantly increased at the end of logarithmic phase. The highest anionic protein content was observed in cell at full strength P with 0.5mM of MG treatment. Anionic protein content in algae from basic media without MG treatment was significantly lower than that of other groups of algae through all stages of life cycle. During logarithmic phase of algal growth, cationic protein content in cell from 1/2P media treated with 0.5 mM of MG was significantly higher than that of other groups of algal cell.

서 론

과도한 개발정책 및 산업화로 인해 발생하는 산업 폐수 및 생활 폐수, 농업 폐수, 축산 폐수 등으로 오염된 하천이 호수로, 바다로 대량 유입됨으로써 수질 오염의 원인이 되고 있다. 한 예로 호소의 부영양화(Eutrophication)를 들 수 있다. 호소의 부영양화에 직접적인 영향을 미치는 요인으로서, 과도한 영양염류의 유입, 특히 인의 유입이 문제시 되고 있다. 인 또는 질소의 농도가 조류의 과도한 성장에 영향을 주는 주요인이며, 해양에서는 질소가 담수 호에서는 인이 각각 더 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다.¹⁾ OECD에서는 통계적인 방법(호소의 클로로필 a 농도와 호소내 인 및 질소 농도와의 관계)에 의해, 질소와 비교하여 인이 보다 중요하다는 결론을 내린 바 있다. 조류의 대량 증식에 관련된 또 다른 요인으로는 질소와 인의 비율, 광도, 수온 변화 및 무기염류 등을 들 수 있다.²⁾ 영양 염류를 포함한 여러 가지 요인들의 과부족은 종간의 생태적인 수직, 지위적 평형 관계를 파괴시킬 뿐만 아니라 개개의 생체 구성 물질 변화 및 이에 따른 생리적 변화를 유발한다.³⁾ 조류의 각 개체 내에서 관찰되는 인에 대한 질소의 비율(N:P)은 거의 일정하다. 영양분의 부족이나 과다는 세포 분열과 같은 생리적 과정에 영향을 끼치고 광합성과정 중에 feed-back 효과로 작용하여 성장률을 변화시킨다.⁴⁾ 인의 증가에 따른 광합성 반응기작에 대한 영향 중 널리 받아들여지고 있는 것은 전구체 생성 반응⁵⁾으로 이에 따르면 nucleotide, ATP, ADP, AMP, inorganic polyphosphate 등의 인을 포함하는 물질은 인의 농도가 높아질수록 생성 속도가 커지며 특히 엽록체 내의 ATP농도가 증가될 경우 산소의 생성능이 증가한다.⁶⁾ 따라서 현재로는 담수에서 인이 가장 조

류증식의 제한물질로 되기 쉬운 것으로 여겨진다.⁷⁾

세포 분열에 관련된 물질로서 생체 뿐만이 아니라 환경에 존재할 수 있는 methylglyoxal (MG)이 세포 분열을 억제 하는데 일정농도에서는 enzyme system에 의하여 세포의 증식을 자극한다.^{8,9,10)} MG를 분해하는 효소로 Glyoxylase I과 II,^{11,12,13)} -ketoaldehyde-dehydrogenase,¹⁴⁾ 또는 methylglyoxal reductase^{15,16)}와 lactate dehydrogenase¹⁷⁾ 등이 보고되고 있다. 이는 MG에 관련된 생리적 대사에 수반되는 물질, 또는 관련된 생리기작이 세포의 분열조절에 직접 관여되는지 또는 간접으로 환산될 수 있는 지수적 요인에 관여되는지를 이해하기 위하여 세포의 성장 변화에 관한 연구에 필요한 것으로 사료된다.

본 연구는 세포의 증식조절기작에 관련되어 억제 또는 촉진의 역할이 의심되는 MG의 기능과, 현재 수질오염 물질 중 부영양화와 같은 조류의 과다증식을 유도하는 인과의 연계를 밝힘으로서 생물의 비정상적 증식에 대한 요인을 규명하고자 한다. 또한 환경스트레스로서 작용되는 인이 조류의 MG 변화를 유발하는 요인을 조류세포의 성장변화 요인으로 해석하여 수질오염의 주 요인이라 할 수 있는 조류의 과다증식의 조절에도 기초자료로서 활용하게 하고자 한다.

재료 및 방법

1. 조류 및 배양조건

녹조류인 *Scenedesmus obliquus* (UTEX 1440, USA)는 Bold에 의하여 조정된 Bristol용액을 사용하여 배양하였다.¹⁸⁾ 삼각 플라스크(250 ml)에 배양액 50 ml를 채워 멸균기를 이용하여 121°C, 1.1 kg·cm⁻² 조건에서 30분간 멸균시켰다. *S. obliquus*의 초기 접종일 세포 수가 5×10⁴·ml⁻¹가 되도록

무균대에서 접종하였다. 배양조건은 온도 25°C, 광도 45 $\mu\text{M photon} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 로 유지시키며 80 rpm의 진탕기에서 배양하였다.

2. 성장 조건

기본배지는 Bristol 용액의 인 농도인 52.8 ppm (질소의 농도는 41.2 ppm), 인 농도가 기본 배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지는 각각 26.4 ppm, 13.2 ppm으로 조절하였다. 이때 기본배지와 인 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지의 N:P 비율은 0.78, 1.68 및 3.12로 달리하였다. 기본배지와 인 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지마다 methylglyoxal (MG)의 농도를 각각 0, 0.5 및 1 mM로 조절하였다.

3. 성장 변화의 측정

조류 접종 후 3일 간격으로 각 실험군의 조류 세포 수는 Haemocytometer를 이용하여 측정, 계산하였다. 조류의 진중량은 여과지 (Borosilicate Microfiber Filters, 0.45 μm)를 이용하여 수확한 후 Drying Oven에서 3일간 건조시킨 후 전자 저울을 이용하여 측정하였다. 엽록소 함량은 각 실험군에서 각각 10 ml씩을 취하여 원심 분리한 세포를 90% acetone에 첨가하여 Spectrophotometer (DU 650, Beckman, USA)를 이용해 647 nm 및 664 nm에서 흡광도를 측정한 후 계산하였다.¹⁹⁾ 광합성율과 호흡률은 Oxygen Meter (YSI, Model 5300, USA)를 이용하여 처리구별로 측정하였다. 각 실험구에서 3 ml씩 채취 water bath를 이용하여 25°C의 온도를 유지시켰으며, 조도는 45 $\mu\text{M photon} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ 를 유지하며 20분 동안 산소의 방출량을 측정하는 방법으로 광합성율을 측정한 후, 암조건에서 산소의 소비량을 측정하는 방법으로 20분 동안 호흡률을 측정하였다. 인 흡수율은 실험구 마다 각각 10 ml씩을 취하여 상층액을 원심 분리하여 분석기 (Rapid Flow Analyzer : RFA-300, Alpkem, USA) 잔류 인의 양을 측정한 후 계산하였다. 단백질의 양은 Bradford방법에 의거 Cell homogenizer (Braun, Germany)로 분쇄하여 분광광도계로 측정하였다. 각 자료는 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 분산분석 후 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 조류의 성장

1) 세포수

인의 농도가 52.8 ppm (N:P=0.78)인 기본배지와 인 농도가 26.4 ppm (N:P=1.68), 13.2 ppm (N:P=3.12)로 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지의 1ml당 조류 평균 세포수는 전 생육기간을 통해서 유의한 차이가 나타났다 (접종후 12일째 : ANOVA, $F=239.58$, $P<0.0001$, 15일째 : ANOVA, $F=138.78$, $P<0.0001$) (Fig. 1). 접종후 15일의 1 ml당 평균 세포수 ($\times 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$)와 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 21.897 ± 0.613 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 22.690 ± 0.142 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 23.000 ± 0.141 , 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 35.790 ± 3.188 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 34.675 ± 1.007 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 28.900 ± 0.697 , 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 19.565 ± 0.286 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 22.267 ± 0.124 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 15.597 ± 0.294 로 측정되었다. 이러한 성장의 변화는 질소에 대한 인의 비가 낮을수록 조류의 성장이 일정 범위 내에서 직선적으로 증가한다는 보고와 유사한 결과로 여겨진다.⁴⁾ 또한 기본배지와 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지내에서 MG의 농도가 각각 0, 0.5 및 1.0 mM로 처리한 배지내의 차이를 살펴보면 15일째 기본배지에서는 유의한 차이가 없었으며, 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서는 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 MG를 처리하지 않은 배지와 MG를 0.5 mM로 처리한 배지에 비해 유의하게 감소되었고, 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서는 MG를 0.5 mM 처리한 배지가 MG를 처리하지 않은 배지와 MG를 1.0 mM 처리한 배지에 비해 유의하게 증가되어 있다. 이것은 MG가 조류의 성장을 저해하는 것으로 알려져 있으나 저해의 효과는 인의 농도가 낮을 때 일어나지만 인의 농도가 조류의 성장에 대한 제한 농도 이상의 경우에는 0.5~1.0 mM에서는 조류의 성장을 촉진하는 것으로 나타났다.

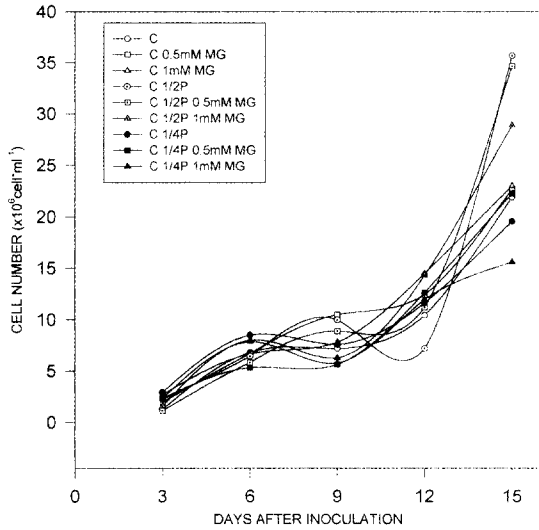


Fig. 1. Changes in cell number of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

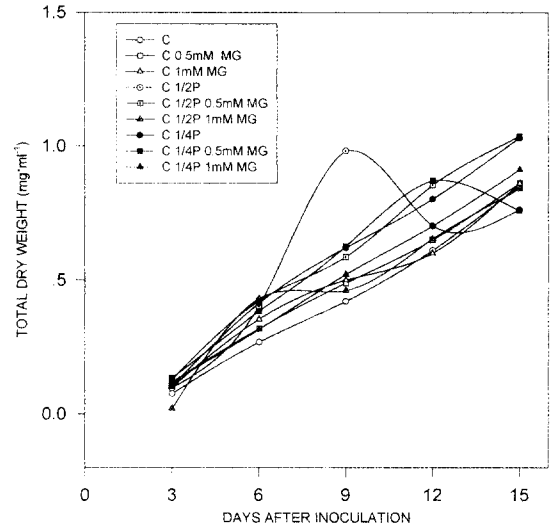


Fig. 2. Changes in total dry weight of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

2) 건중량

각 배지 ml당 조류의 건중량 또한 전 생육기간을 통하여 유의한 차이를 나타내었다. 9일째 되는 날 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지는 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다. 접종후 15일째의 1ml당 평균 건중량 (mg · ml⁻¹)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.421±0.001, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.489±0.010, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.500±0.007, 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.981±0.010, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.586±0.124, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.4610±0.025, 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.621±0.006, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.626±0.026 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.521±0.011로 측정되었다 (Fig. 2). 접종 후 9일째 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지의 건중량이 큰 것은 일정 농도하에서 질소에 대한 인의 비율이 감소하면 성장이 증가한다는 이론에 부합되며 15일째 가장 높은 성장을 보인 인의 농도가 기본배지의 1/2

로 저하된 배지에서의 MG를 0.5 mM로 처리한 배지의 결과도 세포수 측정과 일치한다고 볼수 있다. 세포당 건중량은 전 생육기간동안 각 배지내에서 유의한 차이를 보였다 (Table 1). 접종후 15일째 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지의 평균 세포의 건중량은 기본배지와 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지보다 유의하게 증가하였다. 기본 배지에서 MG를 처리한 배지간에는 유의한 차이가 없었고, 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 처리한 배지보다 유의하게 증가하였고, 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서의 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 가장 큰 성장을 보였고 MG를 처리하지 않은 배지가 MG를 0.5 mM 처리한 배지보다 유의하게 증가하였다. 이 두 가지 결과를 놓고 볼 때 초기에는 질소에 대한 인의 비율에 따라 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지가 잘 자랐지만 인이 고갈돼 감에 따라 점차적으로 건중량의 감소를 나타낸 것으로 사료된다. 이것은 질소가 제한되는 경우 세포내 단백질의 양은 감소하나 탄수화물의 함유량이 증가하여 액포에 축적이 되고 이로써 부피가 증가하며 세포당 건중량 또한 증가하고, 반면 인이 제한되는 경우에는 여분의 질소 대부분이 단백질 부위에

Table 1. Changes in the mean dry weight per cell of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG)

P ¹⁾	MG(mM)	Dry Weight per Cell ($\times 10^{-5} \mu\text{g} \cdot \text{cell}^{-1}$)				
		DAI ²⁾ 3	DAI 6	DAI 9	DAI 12	DAI 15
1	0	5.920 \pm 0.618 ^{3)ab1)}	3.934 \pm 0.231 ^c	5.866 \pm 0.016 ^c	5.871 \pm 0.161 ^d	3.883 \pm 0.029 ^{cd}
	0.5	6.056 \pm 0.478 ^b	4.746 \pm 0.110 ^d	4.660 \pm 0.096 ^f	5.240 \pm 0.040 ^e	3.794 \pm 0.024 ^d
	1	3.734 \pm 0.174 ^d	5.313 \pm 0.158 ^c	6.415 \pm 0.090 ^e	4.140 \pm 0.023 ^e	3.739 \pm 0.023 ^d
1/2	0	4.310 \pm 0.752 ^{cd}	6.237 \pm 0.072 ^b	9.839 \pm 0.102 ^b	9.906 \pm 0.459 ^a	3.999 \pm 0.357 ^c
	0.5	11.443 \pm 2.105 ^a	7.288 \pm 0.189 ^a	6.586 \pm 1.391 ^c	7.625 \pm 0.222 ^b	3.030 \pm 0.088 ^f
	1	1.244 \pm 0.303 ^e	5.402 \pm 0.256 ^c	7.357 \pm 0.401 ^d	4.573 \pm 0.045 ^f	2.907 \pm 0.070 ^f
1/4	0	3.543 \pm 0.158 ^d	4.881 \pm 0.091 ^d	8.200 \pm 0.076 ^c	6.912 \pm 0.030 ^e	5.256 \pm 0.077 ^b
	0.5	5.683 \pm 0.366 ^b	7.242 \pm 0.142 ^a	11.072 \pm 0.304 ^a	6.906 \pm 0.180 ^c	3.408 \pm 0.019 ^e
	1	5.081 \pm 0.421 ^{cb}	4.022 \pm 0.094 ^e	9.131 \pm 0.196 ^b	5.899 \pm 0.256 ^d	5.836 \pm 0.110 ^a

- 1) 1=Full Strength of Basic Media, 1/2=Half Strength of Basic Media in phosphorous, 1/4=Quarter Strength of Basic Media in phosphorous
- 2) DAI=Days after Inoculation
- 3) Mean \pm SD
- 4) Means with same letter in column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$).

축적되므로써 단백질량이 증가하며 free amino acid 역시 증가하는 것으로 여겨진다. 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지와 1/4로 저하된 배지에서 조류는 세포수의 경우와는 달리 MG에 의한 유의한 효과를 나타내지 않아 농도 0.5~1.0 mM에서의 MG는 건중량에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 즉 배지의 인의 농도가 기본배지의 1/2 및 1/4 정도로 저하된 경우 MG는 적정한 농도에서 세포의 개체당 건중량 보다는 조숙한 세포의 분열에 영향을 미치는 것으로 나타나 인의 영향이 감소한 것으로 여겨진다. 세포당 평균 건중량의 경우와 같이 인의 농도와 관계없이 성장 초기에는 0.5 mM의 MG에서 성장촉진의 효과를 보였으나 곧 성장 후기로 진입하면서 다른 배지와 유의한 차이를 보이지 않았다.

3) 엽록소 함량

인과 MG의 농도 변화에 따른 조류의 전체 엽록소의 함량은 전 생육기간 동안 기본배지와 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지간과, MG를 처리하지 않은 배지와 처리한 배지간에 유의한 차이가 있었다. 접종후 15일째의 1 ml당 평균 엽록소량($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 13.446 \pm 0.430, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 9.371 \pm 0.059, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 10.721 \pm 0.066, 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리

하지 않은 배지가 23.192 \pm 2.072, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 8.649 \pm 0.251, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 12.3120 \pm 0.297, 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 6.207 \pm 0.091, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 8.393 \pm 0.047 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 10.424 \pm 0.197로 측정되었다 (Fig. 3). 또한 세포 당 엽록소 함량도 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지에서 15일째에도 가장 높은 수치를 나타냈으며 이는 세포수의 측정에서 나타난 결과와 일치한다. 또한 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지와 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 1.0 mM 처리한 배지에서도 높은 수치를 나타내었다 (Table 2). 기본배지와 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 MG를 처리한 배지보다 높은 것으로 나타나 인의 농도가 낮을 경우 MG는 0.5~1.0 mM의 농도에서 엽록소의 생성을 저해하는 것으로 여겨진다.

4) 광합성율과 호흡률

광합성율은 전 생육기간 동안 배지간에 유의한 차이를 나타내었다. 접종후 15일에 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지는 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다 (Fig. 4). 접종후 15일의 1ml당 평균 광합성율($\mu\text{lO}_2 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 2.280 \pm

0.326, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.926 ± 0.203, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.814 ± 0.166, 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 1.122 ± 0.424, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.536 ± 0.240, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.562 ± 0.555, 인의 농

도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.713 ± 0.000, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.855 ± 0.174 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.642 ± 0.101로 측정되었다. 이는 배지내 인의 농도가 충분치 않았을 경우 MG는 세포의 광합성율을 저하시켜 세포수, 세포중량 등의

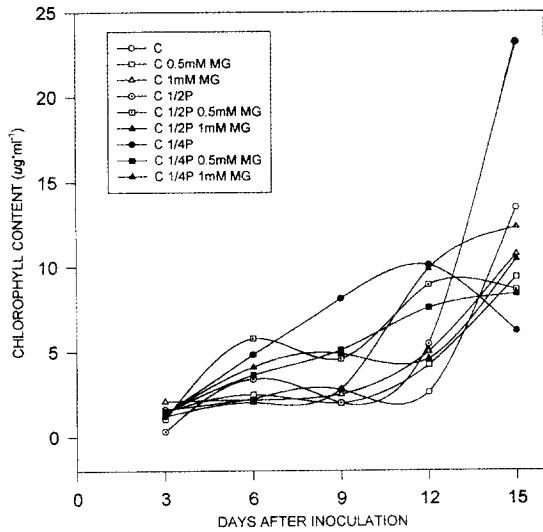


Fig. 3. Changes in chlorophyll content of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

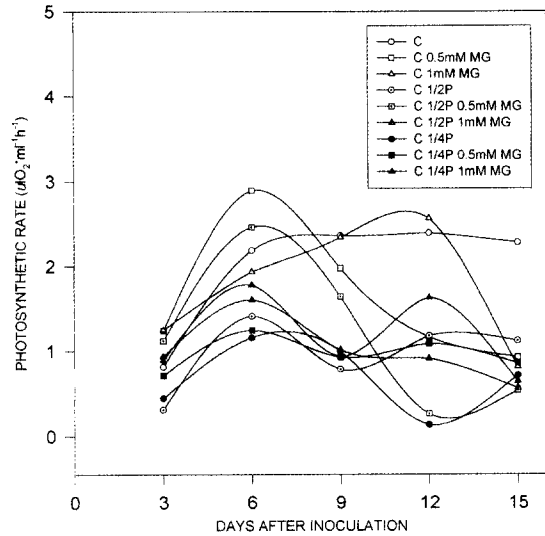


Fig. 4. Changes in photosynthetic rate of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

Table 2. Changes in the mean chlorophyll content per cell of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

P ¹⁾ MG(mM)	Chlorophyll Content per Cell (×10 ⁷ g·cell ⁻¹)					
	DAI ²⁾ 3	DAI 6	DAI 9	DAI 12	DAI 15	
1	0	12,336 ± 1,288 ^{3)a4)}	3,256 ± 0,191 ^f	3,818 ± 0,011 ^c	2,496 ± 0,069 ^b	6,304 ± 0,047 ^b
	0.5	7,521 ± 0,594 ^c	3,674 ± 0,085 ^e	1,868 ± 0,039 ^e	3,395 ± 0,026 ^e	4,128 ± 0,026 ^d
	1	7,699 ± 0,359 ^c	3,219 ± 0,096 ^f	3,176 ± 0,045 ^f	3,444 ± 0,020 ^e	4,655 ± 0,037 ^c
1/2	0	1,394 ± 0,243 ^e	5,221 ± 0,060 ^d	1,971 ± 0,020 ^e	7,589 ± 0,352 ^c	10,084 ± 0,901 ^a
	0.5	9,364 ± 1,723 ^b	9,960 ± 0,258 ^a	5,131 ± 1,084 ^c	7,965 ± 0,232 ^b	2,529 ± 0,074 ^e
	1	7,471 ± 1,812 ^c	2,529 ± 0,119 ^e	4,441 ± 0,242 ^d	6,898 ± 0,068 ^d	4,260 ± 0,103 ^{cd}
1/4	0	4,671 ± 0,208 ^d	5,700 ± 0,106 ^c	10,729 ± 0,099 ^a	8,712 ± 0,038 ^a	3,167 ± 0,046 ^f
	0.5	6,141 ± 0,396 ^{cd}	6,827 ± 0,134 ^b	9,060 ± 0,249 ^b	6,011 ± 0,157 ^c	3,764 ± 0,021 ^c
	1	5,794 ± 0,480 ^d	5,202 ± 0,122 ^d	8,555 ± 0,184 ^b	3,835 ± 0,166 ^f	6,682 ± 0,126 ^b

1) 1=Full Strength of Basic Media, 1/2=Half Strength of Basic Media in phosphorous, 1/4=Quarter Strength of Basic Media in phosphorous
 2) DAI=Days after Inoculation
 3) Mean ± SD
 4) Means with same letter in column are not significantly different (Duncan's multiple range test, α=0.05).

결과와 유사하게 나타났다.

호흡률에 있어서는 15일째를 제외하고 전 생육기간 동안 유의한 차이를 나타내었다. 접종후 6, 15일에 기본배지에서 MG를 0.5 mM 처리한 배지는 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다(Fig. 5). 접종후 15일의 1 ml당 평균 호흡률($\mu\text{O}_2 \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.977 ± 0.163 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 1.649 ± 0.965 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 1.119 ± 0.204 , 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.879 ± 0.159 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 1.524 ± 0.907 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 1.057 ± 0.297 , 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.784 ± 0.000 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 0.891 ± 0.145 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.873 ± 0.178 로 측정되어 전반적인 유의성은 없어 호흡률에 대한 인과 MG의 효과는 없는 것으로 나타났다.

광합성율과 호흡률 두 가지 요인을 대사적 측면에서의 동화와 이화로서 짝지워진 물질순환관계에서 살펴보면 모두 인이 충분히 공급된 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지와 MG를 처리한 배지에서 높게 나타난 것을 알 수 있다. 또한 기본배지에

서 MG를 처리하지 않은 배지에서는 광합성율이 높고 호흡률이 낮는데 반해 인이 충분히 공급됐지만 MG를 0.5 mM과 1.0 mM 처리된 배지는 MG를 처리하지 않은 배지에 비해 호흡률이 월등히 높은 것을 알 수 있다. 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서의 경우를 보면 초기에는 광합성율이 높고 호흡율이 낮으나 후기에 감으로써 상황이 역전되는 모습을 보여주고 있다. 이는 영양 상태가 풍부한 조건에서 보다 효율적으로 광합성을 할 수 있다는 증거로 사료된다.

5) 인 흡수율

인 흡수율은 전 생육기간을 통해서 기본배지와 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지간에 유의한 차이가 나타났다(Fig. 6). 접종후 6일째의 평균 인 흡수율(ppm)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 0.630 ± 1.541 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 1.058 ± 0.998 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 0.384 ± 0.234 , 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 9.942 ± 0.139 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 16.838 ± 4.922 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 16.690 ± 0.207 , 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은

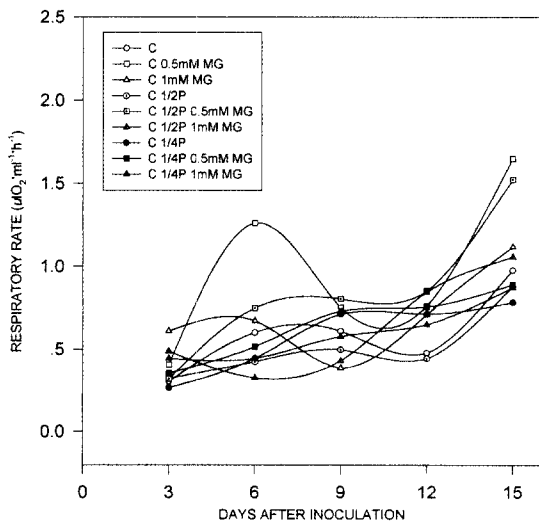


Fig. 5. Changes in respiratory rate of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate(P) and methylglyoxal(MG).

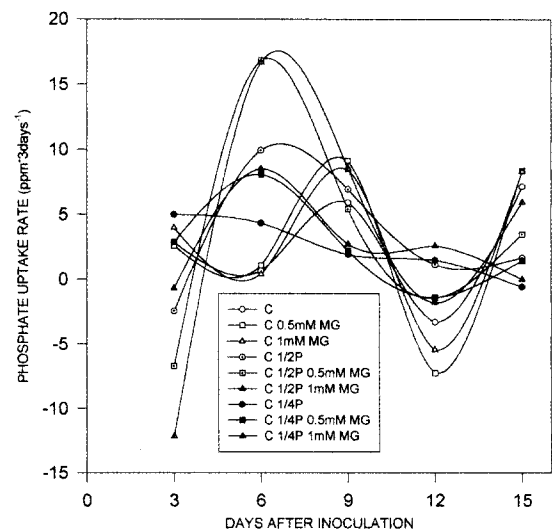


Fig. 6. Changes in phosphate uptake rate of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

배지가 4.323 ± 0.484 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 8.061 ± 0.387 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 8.536 ± 0.272 로 측정되었다. 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지와 MG를 처리한 배지간에는 유의한 차이가 없었으며, 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지에서는 MG를 처리한 배지가 MG를 처리하지 않은 배지보다 유의한 증가를 보였다. 6일째는 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지가 중간 정도의 흡수율을 보이나 15일째에는 인이 고갈됨으로써 제일 낮은 흡수율을 보인다. 인의 농도가 기본배지의 1/2, 1/4로 저하된 배지에서는 대체적으로 일정한 세포당 평균 인 흡수율을 나타냈지만 기본배지의 경우에 MG를 처리하지 않은 배지는 12일째 급격히 감소하고 MG를 0.5 mM 처리한 배지는 일정, 그리고 MG를 1.0 mM 처리한 배지는 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 인의 농도가 낮은 경우 0.5-1.0 mM 농도에서 MG의 세포분열 촉진 효과는 성장 후기에 들어 인 성분의 고갈로 인하여 오히려 조로하는 현상으로 사료된다.

6) 단백질량

음이온성 단백질은 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서는 3, 6 및 9일째까지는 증가하다가 그후 감소하는 추세를 보였고, 기본배지에서는 서서히 증가했으며 인의 농도가 기본배지의 1/2

로 저하된 배지에서는 12일째 부터 급격히 증가했다. 특히 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 0.5 mM 처리한 배지에서 12일째에 가장 높게 측정되었다 (Table 3). 접종후 15일째의 평균 음이온성 단백질량 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 4.535 ± 0.034 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 6.110 ± 0.038 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 6.186 ± 0.038 , 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 6.868 ± 0.613 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 8.788 ± 0.255 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 9.412 ± 0.227 , 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 6.010 ± 0.088 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 6.476 ± 0.036 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 7.640 ± 0.144 로 측정되었다. 또한 양이온성 단백질의 경우에도 12일째에 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다 (Table 4). 접종후 15일째의 평균 양이온성 단백질량 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)과 표준편차는 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 3.640 ± 0.027 , MG를 0.5 mM 처리한 배지가 3.016 ± 0.019 , MG를 1.0 mM 처리한 배지가 2.723 ± 0.017 , 인의 농도가 기본배지의 1/2로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 2.603 ± 0.232 , MG를 0.5 mM

Table 3. Changes in the mean anionic protein content of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG)

		Anionic Protein content ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)				
P ¹⁾	MG (mM)	DAI ²⁾ 3	DAI 6	DAI 9	DAI 12	DAI 15
1	0	$0.997 \pm 0.104^{3a4)}$	1.086 ± 0.064^4	3.572 ± 0.010^f	3.685 ± 0.101^e	4.535 ± 0.034^e
	0.5	1.039 ± 0.082^a	1.574 ± 0.036^c	4.443 ± 0.091^c	6.639 ± 0.050^c	6.110 ± 0.038^{cf}
	1	1.003 ± 0.047^a	2.199 ± 0.065^d	4.317 ± 0.061^c	5.480 ± 0.031^f	6.186 ± 0.038^{cf}
1/2	0	0.860 ± 0.150^a	1.080 ± 0.013^c	2.985 ± 0.031^e	7.436 ± 0.345^{cd}	6.868 ± 0.613^d
	0.5	1.045 ± 0.192^a	1.578 ± 0.041^c	4.409 ± 0.931^c	14.034 ± 0.409^b	8.788 ± 0.255^b
	1	0.917 ± 0.223^a	2.208 ± 0.105^d	5.056 ± 0.276^d	8.646 ± 0.086^b	9.412 ± 0.227^a
1/4	0	0.999 ± 0.045^a	5.310 ± 0.099^a	6.901 ± 0.063^c	6.700 ± 0.029^c	6.010 ± 0.088^f
	0.5	1.055 ± 0.068^a	3.518 ± 0.069^c	7.428 ± 0.204^b	7.573 ± 0.198^c	6.476 ± 0.036^c
	1	1.005 ± 0.083^a	3.876 ± 0.091^b	8.527 ± 0.183^a	7.140 ± 0.310^d	7.640 ± 0.144^c

1) 1=Full Strength of Basic Media, 1/2=Half Strength of Basic Media in phosphorous, 1/4=Quarter Strength of Basic Media in phosphorous

2) DAI=Days after Inoculation

3) Mean \pm SD

4) Means with same letter in column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $\alpha = 0.05$).

Table 4. Changes in the mean cationic protein content of *Scenedesmus obliquus* treated with various concentrations of phosphate (P) and methylglyoxal (MG).

P ¹⁾	MG (mM)	Cationic Protein content ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)				
		DAI ²⁾ 3	DAI 6	DAI 9	DAI 12	DAI 15
1	0	0.952 \pm 0.099 ^{3)a4)}	4.354 \pm 0.256 ^c	0.971 \pm 0.003 ^d	0.993 \pm 0.027 ^e	3.640 \pm 0.027 ^d
	0.5	0.936 \pm 0.074 ^a	3.324 \pm 0.077 ^c	0.982 \pm 0.020 ^d	3.814 \pm 0.029 ^d	3.016 \pm 0.019 ^c
	1	0.939 \pm 0.044 ^a	3.698 \pm 0.110 ^d	0.992 \pm 0.014 ^d	2.408 \pm 0.014 ^f	2.723 \pm 0.017 ^f
1/2	0	0.970 \pm 0.169 ^a	6.753 \pm 0.078 ^a	0.467 \pm 0.005 ^e	2.967 \pm 0.138 ^e	2.603 \pm 0.232 ^f
	0.5	0.299 \pm 0.055 ^b	2.674 \pm 0.069 ^f	0.956 \pm 0.202 ^d	14.929 \pm 0.435 ^a	3.891 \pm 0.113 ^c
	1	0.941 \pm 0.229 ^a	4.764 \pm 0.226 ^b	1.028 \pm 0.056 ^d	7.225 \pm 0.071 ^b	6.868 \pm 0.166 ^a
1/4	0	0.900 \pm 0.040 ^a	4.770 \pm 0.089 ^b	1.804 \pm 0.017 ^b	4.100 \pm 0.018 ^c	2.314 \pm 0.034 ^e
	0.5	0.898 \pm 0.058 ^a	4.416 \pm 0.087 ^c	1.210 \pm 0.033 ^c	3.803 \pm 0.099 ^d	2.723 \pm 0.015 ^f
	1	0.908 \pm 0.075 ^a	1.348 \pm 0.032 ^e	4.516 \pm 0.097 ^a	3.641 \pm 0.158 ^d	6.014 \pm 0.114 ^b

1) 1=Full Strength of Basic Media, 1/2=Half Strength of Basic Media in phosphorous, 1/4=Quarter Strength of Basic Media in phosphorous

2) DAI=Days after Inoculation

3) Mean \pm SD

4) Means with same letter in column are not significantly different (Duncan's multiple range test, $\alpha=0.05$).

처리한 배지가 3.891 \pm 0.113, MG를 1.0 mM 처리한 배지가 6.868 \pm 0.166, 인의 농도가 기본배지의 1/4로 저하된 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 2.314 \pm 0.034, MG를 0.5 mM 처리한 배지가 2.723 \pm 0.015 및 MG를 1.0 mM 처리한 배지가 6.014 \pm 0.114로 측정되었다. 이러한 결과는 질소가 제한된 경우 부피와 건중량이 증가하고 인이 제한되면 질소 대부분이 단백질 부위에 축적되어 단백질량이 증가하며 free amino acid의 양도 증가하기 때문인 것으로 사료된다.

결 론

인(phosphorous, P)과 methylglyoxal (MG)이 녹조류의 일종인 *Scenedesmus obliquus* 세포의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다양한 농도로 이를 처리하여 생육시킨 후 세포수, 건중량, 엽록소 함량, 광합성율, 호흡률, 인 흡수율, 단백질량의 변화를 분석한 결과는 다음과 같다.

접종후 15일째의 호흡율을 제외하고, 전 생육기간을 통해서 인과 MG의 농도를 달리한 각 배지에서 성장한 조류의 세포수, 건중량, 엽록소 함량, 광합성율, 호흡률, 인 흡수율, 단백질량에서 유의한 차이가 나타났다.

1. 세포수는 15일째 1/2P 배지에서는 MG를 0 mM, 0.5 mM로 처리한 배지가 MG를 1.0 mM로

처리한 배지보다 유의하게 증가하였으며, 1/4P 배지에서는 MG를 0.5 mM로 처리한 배지가 MG를 0 mM, 1.0 mM로 처리한 배지보다 유의하게 증가하였다.

2. 1ml당 조류의 건중량은 9일째 1/2P 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다. 세포당 건중량은 15일째 1/2P 배지에서는 MG를 0 mM로 처리한 배지가 MG를 1.0 mM, 0.5 mM로 처리한 배지보다 유의하게 증가하였고, 1/4P 배지에서는 MG를 0 mM, 0.5 mM로 처리한 배지가 MG를 1.0 mM로 처리한 배지보다 유의하게 증가하였다.

3. 15일째의 엽록소 함량과 세포 당 엽록소 함량은 1/2P 배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다.

4. 광합성율은 15일째 기본배지에서 MG를 처리하지 않은 배지가 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였으며, 호흡률은 15일째 배지간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

5. 음이온성 단백질은 기본배지에서는 서서히 증가하였고, 1/2P 배지에서는 3, 6 및 9일째 서서히 증가한 후 급격히 증가하였고, 1/4P 배지에서는 3, 6 및 9일째 까지 증가한 후 감소하였다. 양이온성 단백질은 12일째에 1/2P 배지에서 MG를 0.5 mM 처리한 배지가 다른 모든 배지보다 유의하게 증가하였다.

참 고 문 헌

1. Davey, M.C., Carbon and nitrogen dynamics in a small pond in the maritime Antarctic. *Hydrobiologia*, **257**, 165-175(1993)
2. Wilson, W.H., Carr, N.G. and Mann, N.H., The effect of phosphate status on the kinetics of cyanophage infection in oceanic cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH7803. *J. of Phycology*, **32**(4), 506-516(1996)
3. Spijkerman, E. and Coesel, P.F.M., Competition for phosphorus among planktonic desmid species in continuous-flow culture. *J. of Phycology*, **32**(6), 939-948(1996)
4. Neundorfer, J.V. and Kemp, W.M., Nitrogen versus phosphorus enrichment of brackish water : responses of the submersed plant *Potamogeton perfoliatus* and its associated algal community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **94**, 71-82 (1993)
5. Thompson, P.A., Oh, H.M. and Rhee, G.Y., Storage of phosphorus in nitrogen-fixing *Anabaena flos-aquae* (cyanophyceae). *J. Phycol.*, **30**, 267-273(1994)
6. Senft, W.H., Dependence of light-saturated rates of algal photosynthesis on intracellular concentrations of phosphorus. *Limnol. Oceanogr.*, **23**(4), 709-718(1978).
7. Graziano, L.M., La Roche, J. and Geider, R.J., Physiological responses to phosphorus limitation in batch and steady-state cultures of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta): a unique stress protein as an indicator of phosphate deficiency. *J. of Phycology*, **32**(4), 825-838 (1996)
8. Carrington, S.J. and Douglas, K.T., The glyoxalase enigma: The biological consequences of a ubiquitous enzyme. *IRCS Medical Science* **14**, 763-768(1986)
9. Alekseev, V.S., Methylglyoxal: metabolism and biochemical activity. *Ukraina Biochemical Journal* **59**, 88-94(1987)
10. Mannervik, B., In enzymatic basis of detoxification, *Academic Press*, New York, Vol. II, (Jakoby, W.B., ed.), pp.263-273(1980)
11. Hooper, N.I., Tisdale, M.J. and Thornalley, P.J., Glyoxalase activity during differentiation of human leukaemia cells in vitro. *Leukaemia Res.*, **11**, 1141-1149(1987)
12. Thornalley, P.J. and P. Bellavite. 1987. Modification of the glyoxalase system during the functional activation of human neutrophils. *Biochimica et Biophysica Acta.* **931**, 120-129 (1987)
13. Ranganathan, S. and Tew, K.D., Analysis of glyoxalase-I from normal and tumor tissue from human colon. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1182**, 311-316(1993)
14. Murata, K., Saikusa, T., Fukuda, Y., Watanabe, K., Inoue, Y., Shimosaka, M. and Kimura, A., Metabolism of 2 oxaldehydes in yeasts: Possible role of glycolytic bypath as a detoxification system in L threonine catabolism in *Saccharomyces cerwisiae*. *Eur. J. Biochem.* **157**, 297-301(1986)
15. Inoue, Y., Rhee, H., Watanabe, K., Murata, K. and Kimura, A., Metabolism of 2 oxaldehydes in mold : Purification and characterization of two methylglyoxal reductase from *Aspergillus niger*. *Eur. J. Biochem.* **171**, 213-218(1988)
16. Saikusa, T., Rhee, H., Watanabe, K., Murata, K. and Kimura, A., Metabolism of 2 Oxaldehydes in Bacteria : Purification and Characterization of Methylglyoxal Reductase from *Escherichia coli*. *Agric. Biol. Chem.* **51**, 1893-1899(1987)
17. Saez, G.T., Blay, P., Vina, J.R. and Vina, J., Glucose formation from methylglyoxal in rat hepatocytes. *Biochem. Soc. Trans.* **13**, 945-946(1985)
18. Starr, R.C., The culture collection of algae at the University of Texas at Austin. *J. Phycol.* **14**, 47-100(1978)
19. Rees, A.P., Owens, N.J.P., Heath, M.R., Plummer, D.H. and Bellerby, R.S., Seasonal nitrogen assimilation and carbon fixation in a fjordic sea loch. *J. Plankton Research.*, **17**(6), 1307-1324(1995)