

조류에 의한 유기인산염분해효소의 Kinetic Parameters에 관한 연구

최 광 순* · 김 범 철

(강원대학교 자연과학대학 환경학과)

A Study on the Kinetic Parameters of Alkaline Phosphatase by Algae. *Choi, Kwangsoon* and Bomchul Kim (Dept. of Environmental Science, Kangwon National University, Chunchon 192-1, Korea)*

Alkaline phosphatase (AP_{ase}) activity was studied for the pure cultures and natural communities of phytoplankton. The Michaelis-Menten constant (K_m) showed large variation with species. Some green algae showed large K_m (650 μM for *Selenastrum capricornutum*). *Chlorella* sp. and *Nitzschia palea* showed smaller K_m (respectively 1.7, 2.0 μM) than those of other species examined. The extracellular free enzyme in the filtrate of *Anabaena flos-aquae* showed smaller K_m (52 μM) than that of cell-bound form (276 μM). The K_m (12.0 μM) of summer phytoplankton in Lake Soyang, when *Anabaena* sp. was dominant species, was larger than that (1.5 μM) of spring phytoplankton when *Asterionella* sp. was the dominant. Although maximum activity (V_{max}) in Lake Soyang was affected by the concentration of DIP within the lake, but the V_{max} always varied not with the DIP concentration of the lake. Induction of AP_{ase} may be more affected by the phosphate content within the cell of phytoplankton than by the concentration of DIP within the lake. The extracellular free AP_{ase} activity accounted for 36~97% of total activity from fall to spring turnover in Lake Soyang. The K_m (1.1~3.5 μM) of extracellular free enzyme were similar to those (0.7~3.5 μM) of the total activity. This indicates that the extracellular free enzyme was derived from phytoplankton.

Key words : Alkaline phosphatase, Phytoplankton, Kinetics

서 론

호수생태계에서 인의 이용율은 식물플랑크톤의 생산력과 종 구성을 조절하는 중요한 요인이다(Cotner and Wetzel, 1992). 특히 식물플랑크톤의 성장을 직접적으로 제한하는 용존무기인(dissolved inorganic phosphorus; DIP)의 역할은 호수생태학자들에게 큰 관심사가 되어 왔다. 일반적으로 호수의 DIP 양은 총인의 5% 미만의 미량으로 존재하기 때문에 식물플랑크톤이 필요로 하는

양에 비해 매우 적다(Wetzel, 1983; Boavida and Heath, 1988).

한편 인이 결핍된 환경에서 식물플랑크톤은 효소를 만들어 부족한 인을 공급받는다라는 사실이 여러 학자에 의해 보고되었다(Berman, 1970; Reichardt, 1971; Heath and Cooke, 1975; Siuda *et al.*, 1982; Boavida and Heath, 1986; Pick, 1987; Matavulj *et al.*, 1989). 유기인산염분해효소(phosphatase)는 인이 결핍된 환경에서 유기인화합물, 즉 용존유기인(dissolved organic phosphorus; DOP) 또는 입자성유기인(particulate organic pho-

* Corresponding author: Tel: 033) 252-4443, Fax: 033) 251-3991, E-mail: soyang@cc.kangwon.ac.kr

sphorus; POP)을 가수분해하여 생물체가 이용할 수 있는 DIP로 변화, 용출시키는 유도효소(inducible enzyme)로 식물플랑크톤의 부가적인 무기인의 공급원으로서 중요한 역할을 한다. 호수에서 phosphatase는 식물플랑크톤의 인결핍 정도를 나타내는 지표로 사용되어 왔다(Pettersson and Jansson, 1978).

Phosphatase는 전형적으로 다른 pH에서 최적분해 능력을 가지는데 pH 7 이상에서 최적활성도를 가지는 alkaline phosphatase (AP_{ase})는 존재형태에 따라 세포벽에 결합되어 있는 cell-bound enzyme과 수체에 free로 존재하는 extracellular enzyme으로 구분된다(Kuenzler and Perras, 1965; Aronson and Patni, 1976; Cembella *et al.*, 1984; Wetzel, 1991). AP_{ase}의 활성도의 대부분은 cell-bound 형태에 의해 나타나지만(Wetzel, 1991), extracellular free enzyme도 상당한 기여를 하는 것으로 보고되었다(Rai and Jacobsen, 1993).

Michaelis-Menten식의 parameter인 최대활성도(V_{max})와 반포화상수(K_m)는 인이 결핍된 조건에서 인에 대한 요구와 식물플랑크톤의 상대적인 인섭취 능력의 지표로 사용되어 왔다(Cembella *et al.*, 1984). 특히 기질과 결합하고 가수분해하려는 AP_{ase}의 경향은 K_m 으로 나타낸다. K_m 은 기질의 구조에 따라 다르고, pH와 온도에도 많은 영향을 받는다(Jansson *et al.*, 1988). 기질에 대한 식물플랑크톤의 경쟁은 K_m 또는 K_m/V_{max} 비로 나타내며 K_m 이 작으면 기질에 대한 식물플랑크톤의 친화력은 크다(Healy, 1980; Smith and Kalff, 1982). 그러나 효소의 존재형태와 조류의 종별 AP_{ase}에 관한 연구는 아직까지 미진한 실정이다.

본 연구에서는 순수배양한 담수조류와 자연상태의 담수식물플랑크톤의 AP_{ase} 활성도를 측정하여 K_m 을 비교함으로써 조류종에 따른 기질에 대한 친화력정도를 비교하였다. AP_{ase} 활성도에 대한 free enzyme의 기여도 및 K_m 의 비교는 자연상태의 식물플랑크톤 군집을 대상으로 조사하였다. 또한 배양조류와 자연상태의 식물플랑크톤 군집을 대상으로 인이 제한됨에 따라 V_{max} 와 K_m 의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험조류

순수배양한 담수식물플랑크톤은 미국 UTEX (The Culture collection of Algae at the University of Texas at Austin)에서 순수분리한 종을 Bold 배지에 무균배양하

였다. Purified bovin AP_{ase}는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 조류의 AP_{ase} 활성도를 측정하기 위하여 조류가 최대 성장하였을 때 각 조류 30 ml을 20분 정도 원심분리한 후 상등액을 제거하고, 인이 첨가되지 않은 Bold 배지로 조류세포에 부착되어 있는 인을 씻어냈다. 이 과정을 3회 반복한 후 조류세포를 인이 첨가되지 않은 Bold 배지 200 ml에 넣어 배양하였다. 인이 첨가되지 않은 배지에서는 AP_{ase}의 유도가 빠르기 때문에 인이 첨가되지 않은 배지에서 배양한 후 4일 후에 측정을 하였다.

자연상태의 식물플랑크톤군집의 AP_{ase} 활성도는 소양호 댐앞지점의 표층시료를 대상으로 측정하였다. 채수는 93년 10월부터 94년 4월까지 남조류와 규조류가 우점하였던 시기에 실시하였다.

2. Extracellular enzyme and cell-bound enzyme 분리

Extracellular free enzyme과 cell-bound enzyme을 분리하기 위해서 90 ml 시료를 20분간 2회 원심분리하여 상등액을 0.22 μ m pore size Milipore filter로 여과하였다. 이 과정에서 여과액을 extracellular free enzyme로 간주하였다. 원심분리 후 가라앉은 세포는 cell-bound enzyme으로 하였다. 그러나 자연상태 식물플랑크톤의 경우는 cell-bound enzyme을 분리하지 않고 총 AP_{ase} 활성도(채수한 원수의 활성도)에서 free enzyme에 의한 활성도를 빼준 값으로 하여 cell-bound enzyme의 활성도를 구하였다(Rai and Jacobsen, 1993). 배양시간에 따른 효소의 유도 과정에서 V_{max} 와 K_m 변화를 알아본 실험은 자연수인 소양호댐앞 표층수와 순수배양한 *Anabaena flos-aquae*와 *Selenastrum capricornutum*에 대해 측정하였다. 자연상태 식물플랑크톤을 대상으로 한 실험에서는 측정기간 동안 동물플랑크톤의 섭식영향을 제거하기 위해 80 μ m pore size net로 거른 후 시료 15 L를 20 L 배양조에 넣어 magnetic stirrer로 시료를 혼합시킨 후 측정하였다.

3. Kinetics of alkaline phosphatase

AP_{ase} 활성도 측정은 methylumbelliferyl phosphate (MUF-PO₄) method (Pettersson and Jansson, 1978)를 이용하여 정량하였다. 기질로 사용된 MUF-PO₄는 비형광물질이나 phosphatase에 의하여 Methylumbelliferon (MUF)와 인산염기로 분해된다. 이때 분해 산물인 MUF가 형광을 띠게 되며, 형광분광광도계 (Ex.: 365 nm, Em.: 460 nm; Perkin Elmer LS3 model)로 활성도를 측정하였

다. MUF-PO₄ 용액은 pH 8.0인 tris buffer로 희석하여 여러 농도로 만들어 각각 0.2 ml씩 cuvette에 넣어 냉동보관 하였다. 이 기질을 측정 바로 전에 빛이 차단된 곳에서 완전히 녹여 sample 3.0 ml를 넣어 1시간 동안 20 분 또는 30분 간격으로 형광량을 측정하였다. 각각 다른 기질 농도에서 측정된 AP_{ase}의 활성도(V)는 Sigma Plot을 이용하여 Michaelis-Menten식에 nonlinear regression으로 적합시켜 K_m과 V_{max}를 계산하였다.

$$V = V_{max} \times S / (K_m + S)$$

여기에서 V는 활성도, V_{max}는 기질농도에서의 최대활성도, S는 기질의 농도 그리고 K_m은 V_{max}의 1/2 지점에서의 기질 농도이다.

4. 이화학분석

DIP 측정은 채수한 시료를 실험실로 운반하여 GF/C glass filter로 여과하여 Standard Method (APHA, 1992)의 ascorbic acid 법으로 분석하였다. Chlorophyll a는 채수한 시료를 GF/C glass filter로 여과한 후, 여과지를 냉동보관 하였다가 4주 이내에 측정하였다. 냉동보관 하였던 여과지를 tissue homogenizer에 넣어 90% acetone를 가하고 분쇄하여 상등액을 취해 Spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다. Chlorophyll a의 농도는 Lorenzen (1967)의 방법 또는 Moss (1967)의 방법을 사용하여 계산하였다. 식물플랑크톤 우점종 조사는 시료는 Lugol' 용액으로 고정한 후 현미경으로 관찰하여 판별하였다.

결 과

본 연구에서 측정된 식물플랑크톤의 K_m은 종마다 매우 상이하게 나타났다(Table 1). 순수배양한 녹조류의 K_m값은 *Selenastrum capricornutum*에서 650 M, *Scenedesmus brasiliensis*에서 13.4 M로서 *Chlorella* sp. (1.7 M)보다 큰 값을 나타냈다. 규조류인 *Nitzschia palea* (2.0 μM)는 다른 종에 비해 작은 K_m 보였다. 남조류인 *Microcystis aeruginosa*의 K_m은 6.4 μM로 규조류보다는 큰 값을 보였지만, *Chlorella* sp.를 제외한 녹조류보다는 작은 값을 보였다. 일반적으로 조류에서 보인 K_m은 bovine intestine에서 추출한 K_m (1.7 M)보다 큰 값을 나타냈다. 한편 소양호의 자연군집에서는 *Anabaena flos-aquae*가 우점한 여름의 K_m (12 μM)값이 *Asterionella* sp.가 우점했을 때인 봄 (1.5 M)보다 컸다(Table 1).

효소의 존재형태에 따른 K_m 값은 배양한 *A. flos-aquae*에서는 filtrate내의 extracellular free enzyme의

Table 1. Comparison of K_m, Michaelis-Menten constant, of alkaline phosphatase activity for the pure culture of algae and the natural phytoplankton.

Source of enzyme	K _m (μM)	
<i>Nitzschia palea</i>	2.0	
<i>Pediastrum</i> sp.	7.2	
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	1.7	
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.7	
<i>Scenedesmus</i> sp.	11.6	
<i>Scenedesmus brasiliensis</i>	13.4	
<i>Selenastrum capricornutum</i>	650	
<i>Microcystis aeruginosa</i>	6.4	
<i>Anabaena flos-aquae</i> cell-bound enzyme	276	
<i>Anabaena flos-aquae</i> extracellular enzyme	52.0	
Purified bovine AP _{ase}	1.7	
Lake Soyang	summertime (<i>Anabaena flos-aquae</i> dominant)	12.0
	springtime (<i>Asterionella</i> sp. dominant)	1.5
Lake Okutama	total enzyme	18.0
	<i>Asterionella</i> sp. cell-bound enzyme	4.0
	<i>Asterionella</i> sp. dominant) extracellular enzyme	1.1

K_m (52 μM)이 cell-bound enzyme의 K_m (276 μM)보다 작게 나타났다(Table 1). 이러한 결과는 일본 Lake Okutama에서 *Asterionella formosa*가 우점하였던 시기에 extracellular free enzyme의 K_m (1.1 μM)이 cell-bound enzyme의 K_m (4.0 μM)보다 작았다는 결과와 일치한다.

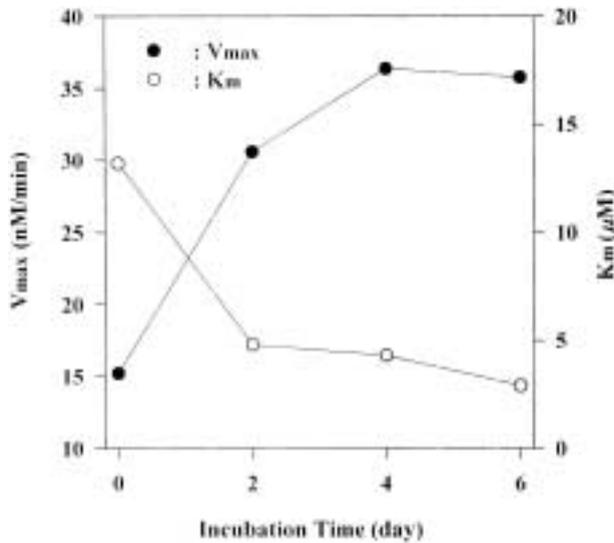
소양호에서 93년 가을부터 94년 봄까지 총 AP_{ase} 활성도의 V_{max}는 2.8~117.5 nM/min으로 가을에서 겨울로 가면서 감소하다가 봄에 다시 높아지는 계절변화를 보였다(Table 2). 반면 DIP 농도는 AP_{ase} 활성도와 역관계를 가지는 계절변화를 보였다. Extracellular enzyme의 V_{max}는 1.0~97.8 nM/min 범위로 총 AP_{ase} 활성도의 36~97% 정도 기여하는 것으로 나타났다.

조사기간동안 표층수의 총 AP_{ase} 활성도에 대한 K_m은 0.7~12.0 μM의 범위로 *Anabaena* sp.가 우점하였을 때인 가을보다 *Melosira* spp.가 우점하였을 때인 겨울에 낮은 값을 보였다(Table 2). 한편 extracellular free enzyme에 대한 K_m은 1.1~3.5 μM의 범위로 총 AP_{ase} 활성도의 K_m과 비슷한 값을 보였다(Table 2).

소양호의 식물플랑크톤을 대상으로 인이 결핍된 조건에서 시간에 따른 V_{max} 및 K_m의 변화에서는 DIP가 감소할수록 V_{max}는 4일째까지 증가하다가 그 이후 약간 감소하였고, K_m은 측정기간동안 계속해서 감소하는 경

Table 2. Seasonal variation of kinetic parameters, V_{max} and K_m , in Lake Soyang.

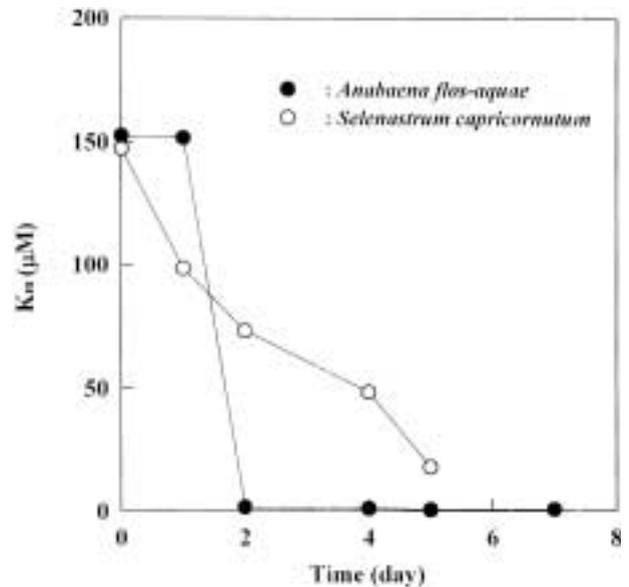
Date	Dominant species	Classification	K_m (μM)	V_{max} (nM/min)	Specific V_{max} (nM/min/Chl. <i>a</i>)	Chl. <i>a</i> (mg/l)	DIP ($\mu g/l$)
Oct. 1993	<i>Anabaena</i> sp.	Total Extracellular	12.0	63.0	8.8	7.2	2
Nov. 1993	<i>Asterionella gracillima</i>	Total	3.0	2.6	2.6	1.0	7
		Extracellular	2.6	1.3	1.3		
Jan. 1994	<i>Melosira</i> spp.	Total	3.5	2.8	2.5	1.1	11
		Extracellular	3.5	1.0	0.9		
Mar. 1994	<i>Melosira</i> spp.	Total	0.7	6.6	1.3	5.1	4
		Extracellular	1.1	6.4	1.2		
Apr. 1994	<i>Asterionella gracillima</i>	Total	1.5	117.5	24.5	4.8	2
		Extracellular	1.6	97.8	20.4		

**Fig. 1.** The variation of V_{max} and K_m in time course of AP_{ase} induction for natural plankton samples from Lake Soyang.

향을 보였다 (Fig. 1). 또한 순수배양한 *A. flos-aquae*와 *S. capricornutum*을 인이 없는 배지에서 배양한 결과 *A. flos-aquae*에서 2일째 K_m 이 급격히 감소하다가 그 이후에는 변화가 거의 없었던 반면, *S. capricornutum*은 지속적으로 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 2).

고 찰

소양호 표층수를 배양한 실험에서 배양액내의 인이 결핍될수록 AP_{ase} 활성도가 증가하고, 또한 자연상태에서는 수중의 인 농도가 낮은 초가을과 봄에 AP_{ase} 활성도가 높았던 반면, 인 농도가 높았던 겨울에 낮은 경향

**Fig. 2.** The variation of V_{max} and K_m in time course of AP_{ase} induction for cultured *Anabaena flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum*.

을 보였다. 이와 같은 결과로부터 AP_{ase} 활성도는 수중의 인 농도에 영향을 받는 것으로 나타났다. 안 등 (1989)의 보고에 의하면 소양호에서 여름에는 수온약층이 형성되면서 호수바닥으로부터 상부수층으로의 DIP 공급이 차단되는 반면, 수온상승으로 인해 식물플랑크톤은 성장에 많은 양의 DIP를 필요로 하게 되어 많은 양의 AP_{ase} 를 분비한다고 하였다. 그리고 수온약층이 하강하는 가을부터는 저층부로부터 DIP 및 DOP가 상부 수층으로 이동하기 시작하여 호수가 완전히 등온 (iso-thermal)한 상태가 되는 2월까지 계속되는데, 이때 상부 수층에는 AP_{ase} 의 기질이 되는 DOP 뿐만 아니라 AP_{ase} 의 분해산

물인 DIP도 같이 많아지기 때문에 AP_{ase} 활성도가 낮아진다고 보고하였다.

한편, 호수의 AP_{ase} 활성도는 식물플랑크톤의 현존량에 비례하여 커지기 때문에 (최 등, 1992), V_{max} 는 식물플랑크톤의 현존량으로 나는 specific 활성도 ($V_{max}/Chl. a$)를 사용하는 것이 바람직하다고 볼 수 있다.

DIP 농도와 specific 활성도와와의 관계에서 1994년 3월에 DIP 농도가 낮음에도 불구하고 다른 시기보다 활성도가 작았다. 이러한 결과는 수생태계에서 AP_{ase} 가 수중의 DIP 농도에 의해 직접적으로 유도되거나 촉진되는 것이 아니라는 것을 시사한다. 여러 연구보고에 의하면 AP_{ase} 의 유도와 생성은 수중의 인농도보다 조류의 세포내의 인 (polyphosphate pool; P_{surpl})에 의해 조절된다고 하였다 (Healey, 1973; Olsen *et al.*, 1983; Pettersson, 1980, 1985; Chrost and Overbeck, 1987). 물론 이러한 P_{surpl} 은 주변의 DIP 농도에 의존하기 때문에 수중의 DIP 농도도 결국 AP_{ase} 활성도에 간접적으로 영향을 준다. Chrost and Overbeck (1987)은 독일의 Plußsee 호수의 진광대 (euphotic zone)에서 조류의 AP_{ase} 의 유도와 촉진이 DIP가 결핍되기 시작한 여름기간에 즉각적으로 일어나지 않는 현상에 대하여, 이는 조류세포내에 저장된 P_{surpl} 때문이라고 하였다. 즉 수체내의 DIP 농도가 감소하면 조류는 세포내에 저장된 P_{surpl} 을 사용하게 되어 조류의 P_{surpl} 함량이 감소하게 된다. 즉 수체와 세포내의 인이 고갈되었을 때 조류는 DIP를 보충하기 위해 AP_{ase} 를 생성한다.

소양호에서 가을부터 봄까지 총 AP_{ase} 활성도에 대한 extracellular free enzyme의 기여도가 매우 큰 것으로 나타났다. 이는 인이 부족한 환경에서 DIP 공급원으로서 extracellular free enzyme의 역할이 중요하다는 것을 사료된다. Münster *et al.* (1992)의 보고에 의하면 부식물질이 많은 호수에서 extracellular free enzyme의 활성도가 총 AP_{ase} 활성도의 50~70%를 차지한다고 하였다. 또한 Rai and Jacobsen (1993)은 extracellular free enzyme의 활성도가 성층기간동안 총 AP_{ase} 활성도의 25~50%이었고, 가을 turnover 후부터 봄 turnover 전까지는 총 AP_{ase} 활성도의 대부분을 차지했다고 보고했다. 이렇게 여름보다 가을에서 겨울로 갈수록 총 AP_{ase} 활성도에 대한 extracellular free enzyme의 기여도가 커지는 이유는 식물플랑크톤의 현존량이 겨울로 갈수록 감소하여 cell-bound enzyme의 양이 상대적으로 줄어들었기 때문으로 보고했다.

K_m 은 인의 결핍정도를 나타내는 지표로서 K_m 이 작으면 기질과의 친화력이 크다. 그러므로 식물플랑크톤의

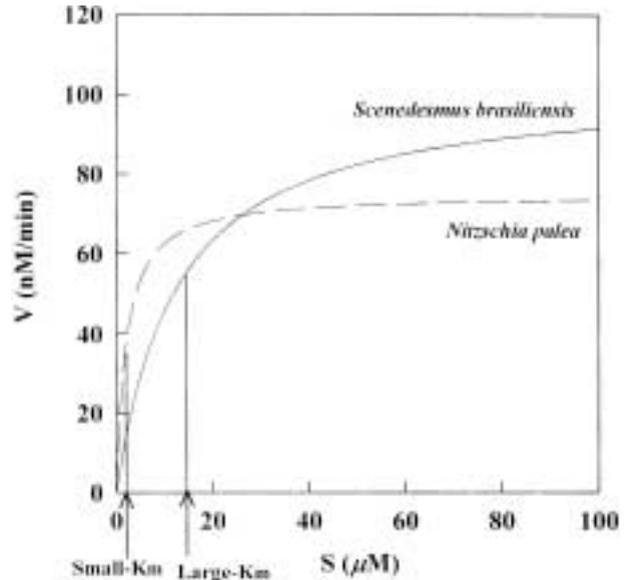


Fig. 3. Comparison of K_m for *Selenastrum capricornutum* and *Nitzschia palea*.

경우에 K_m 이 작은 종이 기질을 이용하는 경쟁에서 유리하게 된다. 본 연구에서는 조류별 K_m 이 다양한 것으로 보아 인이 제한된 환경에서 기질에 대한 친화력이 종마다 다르다고 사료된다. 순수 배양한 조류에서 규조류의 K_m 이 *Chlorella sp.*를 제외한 다른 녹조류와 남조류에서 보인 값보다 작았고, 소양호의 자연군집에서도 남조류가 우점한 시기보다 규조류가 우점한 시기에 K_m 이 작았다. 이는 규조류가 다른 종에 비해 기질에 대한 친화력이 크다는 것을 의미한다. 즉, 인이 결핍된 환경에서는 작은 K_m 을 가지는 종이 인에 대한 경쟁에서 유리하게 인을 이용할 수 있을 것이다. 예를들어 규조류인 *N. palea*와 녹조류인 *S. brasiliensis*와의 활성도를 비교해보면 기질농도 25 μM 이하에서는 *N. palea*은 *S. brasiliensis*보다 활성도가 크고, 반대로 기질농도 25 μM 이상에서는 *S. brasiliensis*의 활성도가 더 크다 (Fig. 3). 이는 인이 결핍된 환경에서는 *N. palea*가 인에 대한 경쟁에서 유리하고, 인 농도가 높은 수체에서는 *S. brasiliensis*가 경쟁에서 우위를 차지할 수 있음을 시사한다.

*A. flos-aquae*의 filtrate내의 extracellular enzyme이 cell-bound enzyme 보다 K_m 이 작은 것으로 보아 수중에 용존되어 있는 extracellular enzyme이 기질에 대한 친화력이 큰 것으로 사료된다. 이는 효소의 구조적 특성으로 인해 용존형태의 효소가 세포막에 결합되어 있는 효소보다 기질과의 접촉이 용이하기 때문인 것으로 사료된다.

소양호에서 extracellular free enzyme과 총 AP_{ase}의 K_m 값이 계절에 관계없이 비슷한 양상을 보였는데 이는 extracellular free enzyme이 조류로부터 기인되었을 가능성이 있음을 시사한다. Chrost & Overbeck (1987)은 Plu β see 호수에서 extracellular free enzyme의 K_m이 조류의 K_m과 유사하였다고 보고하였고, extracellular free enzyme의 활성도가 조류로부터 기인한 것으로 보였다. 그러나 조류의 종별 및 AP_{ase}의 형태별 kinetic parameter에 관한 연구가 아직 많이 이루어지지 않은 실정이므로 보다 정확한 해석을 위해서는 앞으로 지속적인 연구가 필요하다.

적 요

순수배양한 조류와 자연군집의 식물플랑크톤을 대상으로 유기인산염분해효소의 kinetic parameter를 비교하였고, 용존무기인의 농도와 각 parameter와의 관계를 알아보았다. 기질과의 친화력을 나타내는 AP_{ase}의 K_m은 조류의 종마다 매우 상이한 값을 보였다. *Chlorella* sp.를 제외한 녹조류가 다른 종에 비해 큰 K_m을 보였고, 규조류와 *Chlorella* sp.에서 작은 K_m을 보였다. 순수배양한 남조류 *Anabaena flos-aquae*에서 extracellular free enzyme의 K_m이 cell-bound enzyme의 K_m보다 작았다. 자연군집인 소양호에서는 남조류 *Anabaena* sp.가 우점하였던 여름의 식물플랑크톤의 K_m이 규조류가 우점하였던 봄의 군집보다 컸다. AP_{ase} 활성도의 V_{max}는 수중의 DIP 농도보다는 식물플랑크톤의 세포내 인의 함량에 직접적인 영향을 받는 것으로 나타났다. 소양호에서 가을부터 봄까지 extracellular free enzyme의 활성도가 총 AP_{ase} 활성도의 36~97%의 기여를 하였는데, 이는 이 시기에 extracellular free enzyme이 호수의 인순환에서 매우 중요한 요인으로 작용한다는 것을 시사한다. 그리고 extracellular free enzyme과 총 AP_{ase}의 K_m이 거의 비슷하였는데, 이는 extracellular free enzyme이 조류로부터 기인되었기 때문으로 사료된다.

인 용 문 헌

안태석, 김범철, 조규송. 1989. 소양호에서 Alkaline phosphatase 활성도의 kinetics. 한국육수학회지 **22**: 219-225.
 최승익, 안태석, 김범철. 1992. 소양호에서의 유기인산염 분해율. 미생물학회지 **30**: 113-118.
 APHA, AWWA, WPCF. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th edition. American Public Health Association. Washington D.C.

Aronson, S. and N.J. Patni. 1976. The role of surface and extracellular phosphatases in the phosphorus requirement of *Ochromonas*. *Limnol. Oceanogr.* **21**: 838-845.
 Berman, T. 1970. Alkaline phosphatase and phosphorus availability in Lake Kinneret. *Limnol. Oceanogr.* **15**: 663-674.
 Boavida, M.J. and R.T. Heath. 1986. Phosphatase activity on *Chlamydomonas acidophyla* Negoro (Volvocales, Chlorophyceae). *Phycologia* **25**: 400-404.
 Boavida, M.J. and R.T. Heath. 1988. Is alkaline phosphatase always important in phosphate regeneration? *Arch. Hydrobiol.* **111**(4): 507-518.
 Cembella, A.D., N.J. Antia and P.J. Harrison. 1984. The utilization of inorganic and organic phosphorus-compounds as nutrients by eukaryotic microalgae-A multidisciplinary perspective. *Part. CRC Crit. Rev. Microbiol.* **10**: 317-391.
 Chrost, R.J. and J. Overbeck. 1987. Kinetics of Alkaline Phosphatase Activity and Phosphorus Availability for Phytoplankton and Bacterioplankton in Lake Plu β see. *Microb. Ecol.* **13**: 229-248.
 Cotner, J.B. and R.G. Wetzel. 1992. Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.* **37**(2): 232-243.
 Healey, F.P. 1980. Slope of the Monod equation as an indicator of the advantage in nutrient competition. *Microb. Ecol.* **5**: 281-286.
 Healey, F.P. and L.L. Hendzel. 1980. Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton. *Can. J. Fish. aquatic. Sci.* **37**: 442-453.
 Heath, R.T. and G.D. Cooke. 1975. The significance of alkaline Phosphatase in a eutrophic lake. *Verh. Int. Ver. Limnol.* **19**: 959-965.
 Jansson, M., H. Olsson and K. Petterson. 1988. Phosphatase : origin, characteristic and function in lakes. *Hydrobiol.* **170**: 157-176.
 Kuenzler, E.J. and J.P. Perras. 1965. Phosphatase of marine algae. *Biol. Bull. Woods Hole* **128**: 271-284.
 Lorenzen, C. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equation. *Limnol. Oceanogr.* **12**: 343-346.
 Matavulj, M., S. Gajin, M. Ebeznik, M. Bokorov and O. Petrovic. 1989. Phosphatase activity of water as a parameter of the river tisa water monitoring. *Tiscia (Szeged)* **23**: 29-36.
 Moss, B. 1967. A spectrophotometric method for the estimation of percentage degradation of chlorophylls to phaeopigments in extracts of algae. *Limnol. Oceanogr.*

- 12: 335-340.
- Münster, U., J. Nurminen, P. Einio and J. Overbeck. 1992. Extracellular enzymes in a small polyhumic lake: origin, distribution and activities. *Hydrobiologia* **243/244**: 47-59.
- Olesn, Y., G. Knutsen and T. Lien. 1983. Characteristic of phosphorus limitation in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) and its palmelloids. *J. Phycol.* **19**: 313-319.
- Pettersson, K. and M. Jansson. 1978. Determination of phosphatase activity in lake water—a study of methods. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **20**: 1226-1230.
- Pettersson, K. 1980. Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus-deficiency indicators in Lake Erken. *Arch. Hydrobiol.* **89**: 54-87.
- Pick, F.R. 1987. Interpretations of alkaline phosphatase activity in Lake Ontario. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **44**: 2087-2094.
- Rai, H. and T.R. Jacobsen. 1993. Dissolved alkaline phosphatase activity (APA) and the contribution of APA by size fractionated plankton in Lake Schoensee. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **25**: 164-169.
- Reichardt, W. 1971. Catalytic mobilization of phosphate in lake water and by Cyanophyta. *Hydrobiologia* **38**: 377-394.
- Siuda, W., J. Chrost, R. Wcislo and M. Krupka. 1982. Factors affecting alkaline phosphatase activity in a lake (short-term experiments). *Acta Hydrobiol.* **24**: 3-20.
- Smith, R.E.H. and J. Kalfit. 1982. Size-dependent phosphorus uptake kinetics and cell quota in phytoplankton. *J. Phycol.* **18**: 275-284.
- Wetzel, R.G. 1983. *Limnology*. 2nd. ed. Saunders Coll. Publ. NY.
- Wetzel, R.G. 1991. Extracellular enzymatic interactions: Storage, redistribution, and interspecific communication, pp. 6-28. In: *Microbial Enzymes in Aquatic Environments* (Chrost, R.J. ed). Springer-Verlag.