

## 온도가 저서규조류 광합성 반응에 미치는 영향: 형광을 이용한 추정

윤미선<sup>1</sup> · 이춘환<sup>2</sup> · 정익교<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>부산대학교 지구환경시스템학부

<sup>2</sup>부산대학교 분자생물학과

### Influence of Temperature on the Photosynthetic Responses of Benthic Diatoms: Fluorescence Based Estimates

MI SUN YUN<sup>1</sup>, CHOON-HWAN LEE<sup>2</sup> AND IK KYO CHUNG<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Earth Environmental System, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>2</sup>Department of Molecular Biology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

저서규조류는 하구역 먹이망을 이해하는 데 중요한 생물로서 그들의 광생리 특성에 따라 일차생산력이 크게 변화한다. 본 연구에서는 단기간 온도 변화가 저서규조류 4종(*Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Cylindrotheca closterium*, *Pleurosigma elongatum*)의 광합성 반응에 미치는 영향을 Diving PAM을 이용한 엽록소 형광 분석법으로 측정하여 광생리 특성을 분석하였다. 6개의 온도 조건(10, 15, 20, 25, 30, 35 °C)에서 2시간 간격으로 24시간 동안 엽록소 형광을 측정하여 P-I 곡선을 도출하였다. 제2광계의 유효양자수율( $\Phi_{PSII}$ )은 대부분의 종에 있어서 온도가 증가함에 따라 감소하였으며, 상대 최대 전자전달율(rETRmax)은 최적 온도까지 증가한 후 급격하게 감소하였다. 최대 빛이용 효율( $\alpha$ )은 다른 광합성 매개변수에 비해 온도에 덜 민감하였으나, 높은 온도에서는 감소하였으며, 광포화 계수( $E_k$ )는 상대 최대 전자전달율의 반응과 매우 유사하였다. 종별 광생리 특성을 분석한 결과, *Navicula* sp.와 *Cylindrotheca closterium*가 광생리적 조절을 통하여 단시간의 온도 변화에 광순응하는 것을 확인할 수 있었다.

Benthic diatoms are very important primary producers in understanding estuary ecosystems and their productions are largely varied by their photo-physiological characteristics. The short-term effects of increased temperature on the photosynthetic and photo-physiological characteristics of cultured different species of benthic diatoms (*Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Cylindrotheca closterium*, and *Pleurosigma elongatum*) were investigated by measuring their PSII-fluorescence kinetics using a Diving-PAM. Photosynthesis versus irradiance curves were measured every two hours at six different temperatures (10, 15, 20, 25, 30, and 35°C) for twenty-four hour. The effective quantum yield of PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) for most of the species showed a decreasing trend with increased temperature. The relative maximum electron transport rate (rETRmax) was significantly increased up to the optimum temperature level and then sharply decreased. Relative to the values of other parameters, the maximum light use coefficient ( $\alpha$ ) was not substantially changed at lower temperature levels (<30 °C) but significantly decreased only at higher temperatures (30 and 35 °C). The light saturation coefficient ( $E_k$ ) mirrored the rETRmax temperature response. In regards to the temperature acclimation abilities of the four species with time, *Navicula* sp. and *C. closterium* acclimated to short-term changes in temperature through their photo-physiological adjustments.

**Keywords:** Benthic diatom, Temperature, Photosynthesis, Chlorophyll *a* fluorescence, PAM (Pulse Amplitude Modulated) fluorescence, Electron Transport Rate

### 서 론

저서미세조류(microphytobenthos: MPB)는 저서성 조류 뿐만 아니라 광합성 박테리아까지 다양한 분류군들을 포함하고 있으며, 그 중 저서규조류(benthic diatoms)는 생물량의 측면에서 가장 우점하고 있다(MacIntyre *et al.*, 1996). 이들은 전지구적으로 연간

$5 \times 10^8$  그램의 탄소를 고정하는 것으로 알려져 있으며(Cahoon, 1999), 하구역 일차생산력의 50%까지 기여하는 것으로 보고된 바 있다(Underwood and Kromkamp, 1999). 또한 대형, 중형 저서동물과 같은 퇴적물 식자의 먹이원이 될 뿐만 아니라(Montagna *et al.*, 1995; Buffan-Dubau and Carman, 2000), 조석에 의해 수층으로 부유하게 될 때 부유물 식자에게도 중요한 먹이가 된다(MacIntyre *et al.*, 1996; Underwood and Kromkamp, 1999). 따라서, MPB 군집의 변동과 일차 생산력에 대한 이해는 하구역의 먹이망 이해에

\*Corresponding author: ikchung@pusan.ac.kr

매우 중요하다(Middelburg *et al.* 2000). 그러나 MPB 연구의 대다수는 북미와 유럽에서만 수행되었고, 우리나라에서는 연구가 매우 드문 현실이다. 게다가 최근 들어 인간의 활동에 의한 CO<sub>2</sub> 증가 및 이로 인한 지구온난화에 대한 인식이 확산되면서, 대기 중 CO<sub>2</sub>의 생물학적 제거 과정인 해양의 탄소 고정 역할에 대한 관심이 높아지고 있다. 이러한 상황에서 하구역과 연안역의 주요 일차생산자인 저서 독립영양생물에 대한 연구는 그 중요성이 매우 강조되고 있다.

MPB는 퇴적물 표층 400 μm 이내의 얇은 유광층에 서식하고 있으며, 강한 빛과 온도 변화 그리고 조석의 영향과 같은 스트레스가 심한 환경에 노출되어 있다. 이들은 수직이동(vertical migration)을 통하여 과도한 광 조건에 적응하는 광생리 특성을 갖고 있는 것으로 알려져 있으며, 이러한 특성은 MPB의 분포와 생산성에도 크게 영향을 미치게 된다(Grant, 1986; Kromkamp *et al.*, 1998).

일반적으로 MPB의 광합성은 빛(Barranguet *et al.*, 1998; Perkins *et al.*, 2001)과 온도(Blanchard *et al.*, 1996; Guarini *et al.*, 1997), CO<sub>2</sub> 이용도에 의해 조절된다(Underwood and Kromkamp, 1999). 그 중에서도 온도는 MPB의 일차생산력과 계절적 군집 변화에 영향을 줄 뿐만 아니라(Cadee and Hegeman, 1974; Admiraal and Peletier, 1980), 단시간의 생산력과 군집 변화에도 중요한 영향을 끼친다고 보고된 바 있다(Colijn and Van Buurt, 1975; Admiraal, 1977). 최근 들어, 엽록소 형광(chlorophyll fluorescence) 특성을 이용한 비파괴적인 측정 기술로 MPB의 광합성 활성을 분석하는 연구가 보편화되고 있다(Barranguet and Kromkamp, 2000; Perkins *et al.*, 2001; Serôdio *et al.*, 2005). 기존에는 MPB의 광합성을 측정하는데 산소 미세전극법(oxygen microelectrode techniques)이나 방사성동위원소법(<sup>14</sup>C based technique)을 이용하여 왔으나, 산소 미세전극법의 경우 비교적 많은 시간이 소모되며, 방사성동위원소법은 까다롭고 민감한 실험조건을 필요로 하는 등 방법론적인 제약이 있다. 반면에 엽록소 형광 분석법은 현장에서 빠르고 비파괴적인 방법으로 광합성 전자 전달율(electron transport rate: ETR)과 생물량을 측정할 수 있다는 장점을 가지고 있다(Morris and Kromkamp, 2003). 그러므로 엽록소 형광 분석법을 이용하여 MPB 생물량을 정량화하거나(Serôdio *et al.*, 2001; Honeywill *et al.*, 2002), 수직 이동 리듬 측정(Serôdio *et al.*, 1997; Consalvey *et al.*, 2004)과 일차 생산력을 추정(Barranguet and Kromkamp, 2000; Serôdio, 2003)하는 연구가 많이 시도되고 있다.

본 연구에서는 저서규조류 4종(*Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Cylindrotheca closterium*, *Pleurosigma elongatum*)을 사용하여, 단기간 온도 변화가 이들의 광합성 반응에 미치는 영향을 엽록소 형광 분석법으로 측정하였고, 온도변화에 대한 광순응 특성을 분석하여 광생리 특성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 저서미세조류 배양

연구에 사용된 저서규조류 시료는 낙동강에서 분리된 *Navicula* sp. (B-159), *Nitzschia* sp. (B-131), *Cylindrotheca closterium* (B-62), *Pleurosigma elongatum* (EB-44)으로 한국해양미세조류은행(KMMCC)으로부터 분양 받아, f/2배지에서 회분 배양하였다(Guillard and

Ryther, 1962). 배양 온도는 15±1 °C, 광도는 100 μmol photons·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 12h:12h light: dark 조건으로 유지하였다. 각 종의 성장률은 광학 현미경(ZEISS AXIOSKOP)으로 관찰한 개체수 변동으로 측정하였으며, *Navicula* sp. 0.42 μ·d<sup>-1</sup>, *Nitzschia* sp. 0.57 μ·d<sup>-1</sup>, *Cylindrotheca closterium* 0.33 μ·d<sup>-1</sup>, *Pleurosigma elongatum* 0.13 μ·d<sup>-1</sup>이었다. 또한, 각 종의 형태적 특성을 살펴보기 위하여 세포 크기를 측정하여 SA/V를 추정하였다. 세포 크기를 측정하기 위하여 시료들은 세포 내 유기물을 제거한 뒤(Hasle and Fryxell 1970), aluminum stub에 고정하고 건조시켜 금막 코팅(Eiko, IB-3)한 후 주사 전자 현미경(Scanning Electron Microscope: SEM, TOPCON ABT-32)으로 관찰하였다. 측정된 세포 크기는 Hillebrand 등(1999)의 형태 및 관련 수식을 이용하여 SA/V를 도출하였다.

### 엽록소 형광 측정

지수성장기에 도달한 저서규조류 배양액에서 200 mL 부시료를 취하여 여과 한 후(Whatman GF/F 47 mm), 펀치로 뚫어 디스크(직경: 8 mm)형태의 시료로 준비하였다. 준비된 시료들을 환천배지로 채운 조직배양판 위에 놓고, 배양액을 스프레이 한 후, 6개 온도 조건(10, 15, 20, 25, 30, 35 °C)을 갖춘 온도구배판 위에 두었다. 이때 각 시료의 온도 조건이 동일하게 유지되도록 water bath를 사용하였다. 온도구배판의 광도는 시료의 배양 조건과 동일하게 유지하였으며, 각 온도별로 6개의 반복구를 측정하였다.

엽록소 형광 측정은 Diving-PAM(Walz, Effeltrich, Germany)을 이용하여 24시간 동안 2시간 간격으로 측정하였다. Fiber-optic probe를 고정하고 암적응을 위한 서터를 삽입하기 위하여 뚜껑을 제작하였으며, probe를 뚜껑에 삽입한 후, 5분간의 암적응 뒤 서터를 열고 probe를 시료 위 2 mm 상단에 위치시킨 후 형광을 측정하였다. 광합성 활성은 0에서 988 μmol photons·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>까지 8단계의 광도 변화에 따른 빛-반응 곡선(rapid light-response curves: RLCs)으로 평가하였고, 각 광도 구간에서 10초간 노출하여 측정하였다. 각 빛 조건에서 제2광계의 유효양자수율(effective quantum yield of the PS: Φ<sub>PSII</sub>)을 구하였다. Φ<sub>PSII</sub>은 제2광계와 관련되어 엽록소가 흡수한 빛 중에서 광화학과정에 사용된 비율을 측정하는 것으로, Genty 등(1989)에 의한 식 (1)으로 계산하였다. F<sub>t</sub>는 자연광 조건에서 평형 상태 형광 발생량이며, F<sub>m</sub>는 포화광 조사(0.8초)동안 측정된 최대 형광값이다.

$$\Phi_{PSII} = \frac{F'_m - F_t}{F'_m} \quad (1)$$

Φ<sub>PSII</sub>은 식 (2)에서 상대 전자 전달율(relative electron transport rate: rETR)추정에 사용하였다.

$$rETR = \Phi_{PSII} \cdot PAR \quad (2)$$

Diving-PAM을 이용하여 측정된 광도에 따른 상대 전자전달율(rETR)은 식 (3)의 Platt 등(1980)의 모델에 맞추어 α, β, P<sub>s</sub>를 구하였고, 식 (4)에서 상대 최대 전자전달율(rETR<sub>max</sub>)을 유도하였다. 이때 P는 대상 식물의 총 일차생산력이나 본 연구에서는 rETR 값이 적용되었으며, E<sub>d</sub>는 광합성에 이용되는 파장(wavelength 400-700 nm, PAR)의 광량, P<sub>s</sub>는 광저해가 없을 때, 최대 잠재 전자 전달율을 나타내는 매개변수이다. α는 light curve의 초기 기울기로

서 빛 이용 효율을 나타내며,  $\beta$ 는 광저해 단계의 light curve의 기울기이다.

$$P = Ps[1 - e^{(-\alpha E_d/Ps)}]e^{(-\beta E_d/Ps)} \quad (3)$$

$$rETR_{max} = Ps[\alpha/(\alpha + \beta)] [\beta/(\alpha + \beta)]^{\beta/\alpha} \quad (4)$$

광포화 계수(light-saturation coefficient)인  $E_k$ 는 식 (5)로 구하였고, 이를 광순응 지수(photoacclimation index)로 사용하였다 (Talling, 1957).

$$E_k = \frac{rETR_{max}}{\alpha} \quad (5)$$

**용존산소 측정**

용존산소 측정은 윈클러법(Carpenter, 1965)을 이용하였다. 지수 성장기에 도달한 저서규조류 배양액에서 900 mL의 부시료를 취하여 f/2배지 조성의 배양액에 4배로 희석시켜 100 mL 명-암병에 시료를 각각 채운 후, 온도 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C와 광도 100  $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 배양 조건에서 3시간 동안 배양한 후 측정하였다. 측정된 용존산소 농도에서 각 온도별 총 광합성률을 계산하였다.

**결 과**

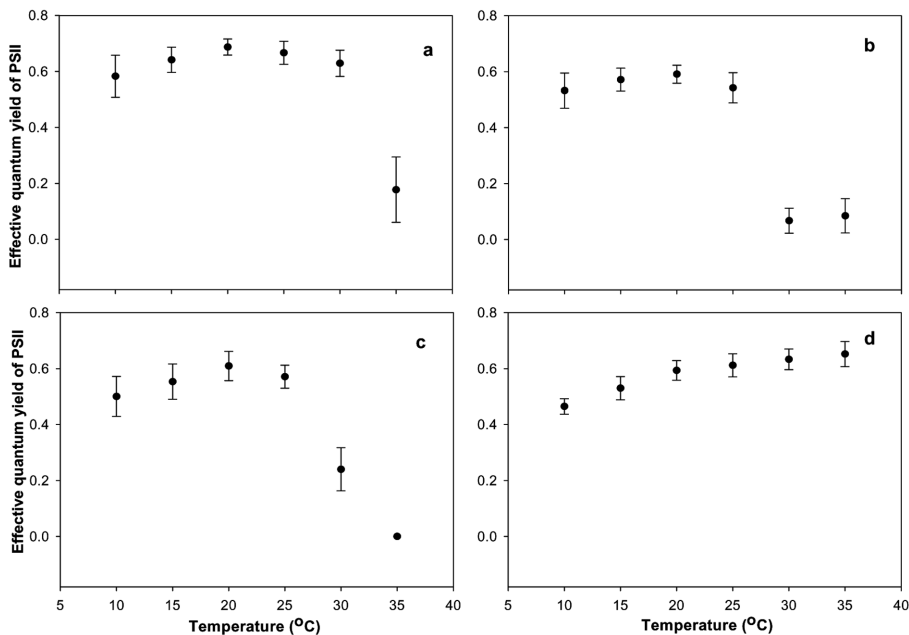
**광합성 반응에 미치는 온도의 영향**

**온도 변화에 따른 제2광계 유효양자수율의 변화:** 온도 변화에 따른  $\Phi_{PSII}$ 의 변화는 세 유형으로 구분할 수 있었다. 첫째, 온도가 오르면서 증가하다가 35 °C에서 급격히 감소하는 *Navicula* sp., 둘째, 30 °C에서 급격히 감소하는 *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*, 셋째, 온도 상승 단계에 따라 저온에서 20~25 °C까지 상승은 같은 경향이나, 30, 35 °C에서도 크게 감소하지 않는 *P. elongatum*로 구

분되었다(Fig. 1). *Navicula* sp.는 온도 상승과 함께 증가하여 20 °C에는 0.68까지 상승하였고, 25~30 °C 부근에서 0.66-0.63으로 다소 감소 한 뒤, 35 °C에서는 0.17로 급격히 감소하였다. *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*은 온도가 높아짐에 따라 증가하여 20 °C에는 각각 0.59, 0.61 이었으나, 25 °C에서 0.54, 0.57로 약간 감소하였고, 30 °C 이상에서는 현저히 낮은 값을 보여주었다(*Nitzschia* sp., 0.06-0.08; *C. closterium*, 0-0.24). 반면에, *P. elongatum*은 10 °C에서 0.46의 비교적 낮은 값을 보이다, 온도가 증가함에 따라 점차 증가하여 35 °C에서는 0.65로 실험 온도 범위에서 가장 높은 값을 보였다.

**온도 변화에 따른 광합성 매개변수의 변화:** 각 온도 조건의  $rETR_{max}$ 는 배양온도인 15 °C에서 측정한 엽록소 *a* 양으로 표준화( $rETR_{max}^B$ )하여 상대적인 값으로 표시하였다(Fig. 2a-d). 이는 시료가 일정량의 부피(200 mL)를 초과하여 얻어졌으므로, 각 종의 생물량의 차이를 보정하는 동시에, 15도에서 배양된 종이 단시간의 온도 변화에 노출되어 나타난 광합성 특성의 차이를 뚜렷하게 보기 위한 것이다. *Navicula* sp., *Nitzschia* sp.와 *C. closterium* 3종의  $rETR_{max}^B$ 는 온도 상승에 따라 1.6-2배 정도 증가하였다. *Navicula* sp.의  $rETR_{max}^B$ 는 온도 상승에 따라 함께 증가하여 25~30 °C에서 가장 높은 값을 보였으며, 35 °C에서는 급격히 감소하였다. *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*도 온도가 상승함에 따라  $rETR_{max}^B$ 가 서서히 증가하여 25 °C에서 최대값을 나타내고, 그 이후 감소하다 35 °C에서는 거의 나타나지 않았다. 반면에 *P. elongatum*은 다른 종과 달리 온도 상승에 따라  $rETR_{max}^B$ 가 지속적으로 증가하였고, 온도 상승에 따른  $rETR_{max}^B$ 의 상대적 반응은 다른 종에 비해 뚜렷하였다. 조사된 온도 범위(10~35 °C)에서 최적의 온도(optimal temperature)조건은 관찰되지 않았으나, 30~35 °C에서 가장 높게 나타났다.

최대 빛 이용 계수를 나타내는  $\alpha$ 에 대한 온도의 영향은 다른 광합성 매개변수 값들의 변화폭보다는 다소 작은 범위였다(Fig. 2 e-



**Fig. 1.** Effects of temperature on the effective quantum yield of PSII, expressed by means of replications with standard deviations (n=30). The data were measured during twenty-four hour. (a) *Navicula* sp., (b) *Nitzschia* sp., (c) *Cylinthotheca closterium*, and (d) *Pleurosigma elongatum*.

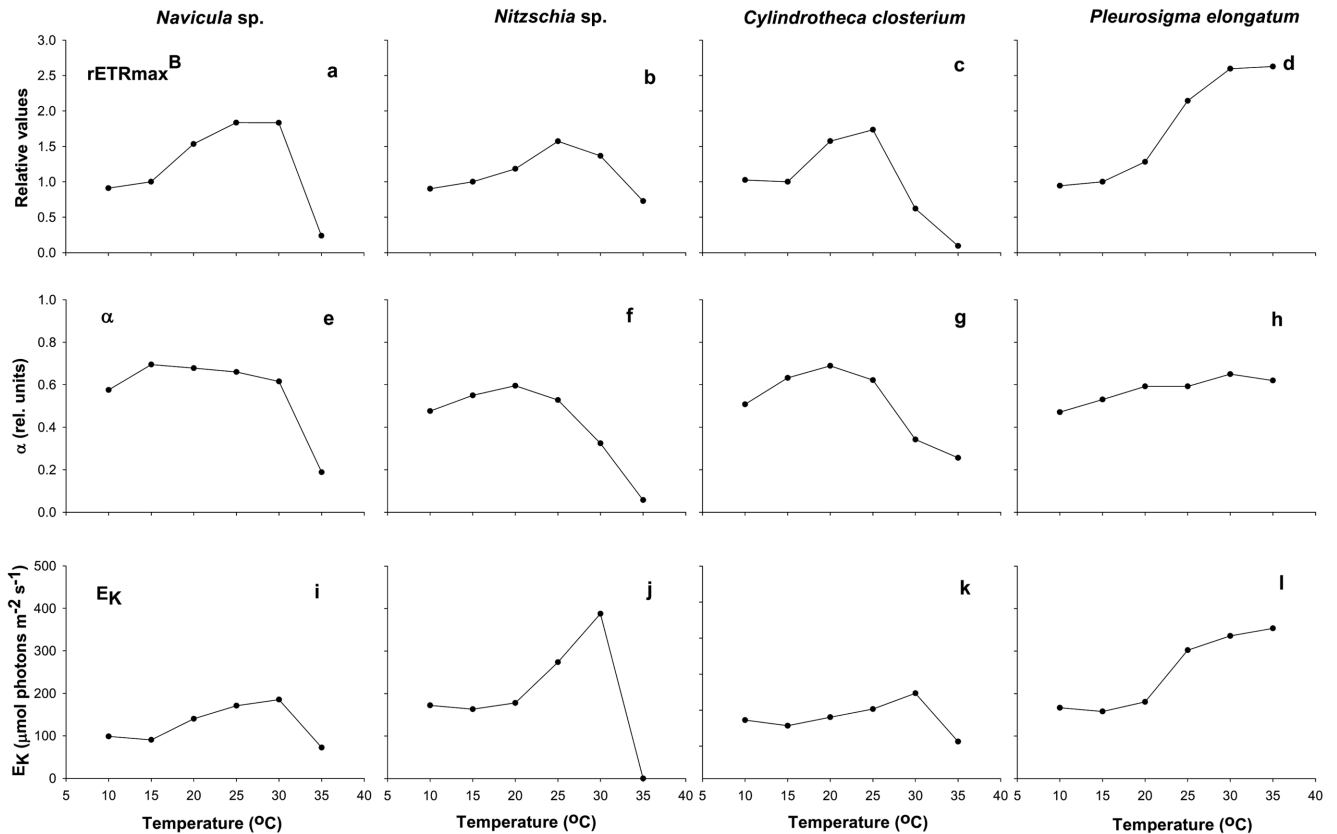


Fig. 2. Relative effects of temperature on the relative maximum electron transport rate ( $rETR_{max}^B$ , upper panels), the maximum light use coefficient ( $\alpha$ , middle panels), and the light saturation coefficient ( $E_K$ , lower panels) for *Navicula* sp. (left), *Nitzschia* sp. (left middle), *Cylindrotheca closterium* (right middle), and *Pleurosigma elongatum* (right). The  $rETR_{max}^B$  were normalized to the data at 15 °C, respectively.

h). 그러나, *Navicula* sp., *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*은 30 °C 이상의 높은 온도에서 다소 감소하는 경향을 나타내었다. *Navicula* sp.는 10~30 °C까지 약 0.64의 일정한 값을 유지하다 35 °C에서만 약 0.19로 감소하였다. *Nitzschia* sp.는 10~25 °C 온도 범위에서 평균 0.54의 값을 보였으나, 30 °C에서는 0.32, 35 °C에서는 0.06으로 감소하였다. *C. closterium*은 10~25 °C의 온도 범위에서 약 0.61이였으나, 30, 35 °C에서는 0.34, 0.26으로 감소하였다. 그러나, *P. elongatum*은 10~35 °C까지 온도 상승에도 좁은 범위 안에서 미약하게 증가하는 경향을 나타내었다.

광포화 계수  $E_K$ 는 온도 변화에 민감한 반응을 보였으며, 온도 변화에 따른  $E_K$ 의 변화는  $rETR_{max}^B$ 의 반응과 매우 유사하였다 (Fig. 2i-l).

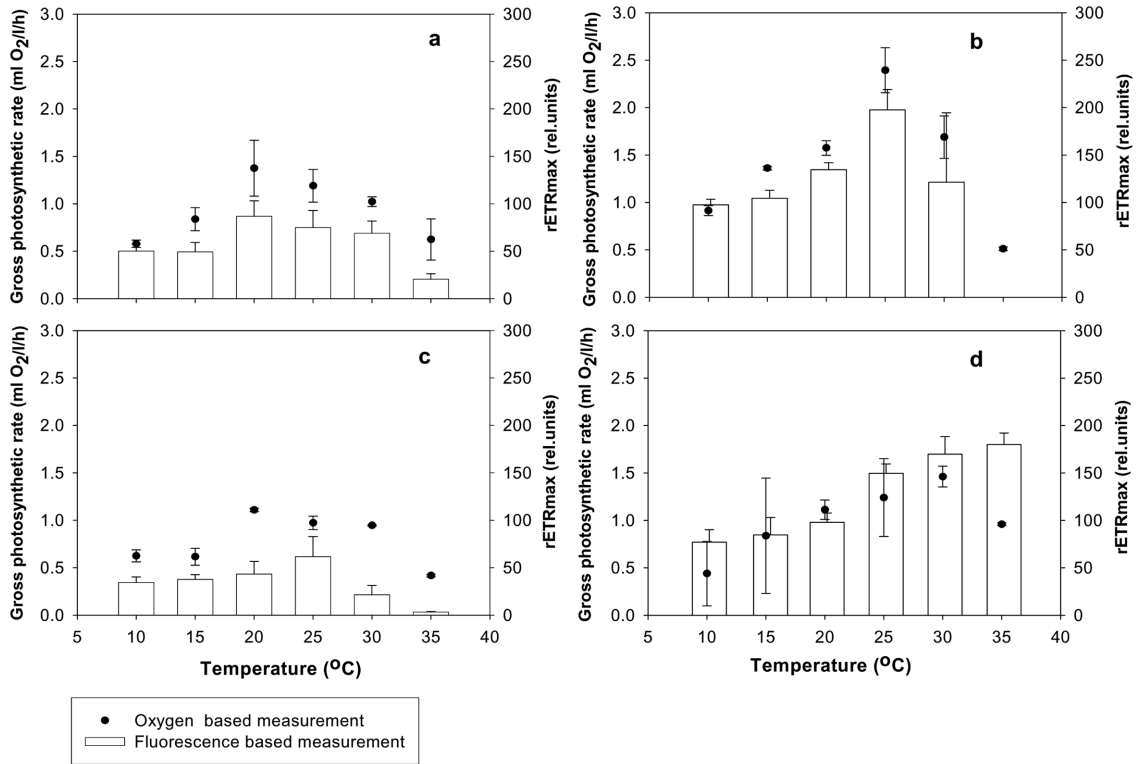
**형광과 산소 발생 비교:** 엽록소 형광 측정을 통하여 계산한  $rETR_{max}$ 와 용존산소량 변화로 측정된 총 광합성률을 비교한 결과, *Navicula* sp.는 20 °C에서 최대값을 보인 후, 온도가 상승하면서 감소하는 양상을 보여주었다(Fig. 3a). *Nitzschia* sp.는 온도 상승에 따라 서서히 증가하여 25 °C에서 최대값을 나타내었고, 그보다 높은 온도에서 급격히 감소하였다(Fig. 3b). *Cylindrotheca closterium*은  $rETR_{max}$ 가 25 °C에서 최대값을 보였으나, 총 광합성률은 20 °C에서 최대값을 보였다(Fig. 3c). *Pleurosigma elongatum*도  $rETR_{max}$ 는 온도 상승과 함께 계속 증가하였으나, 총 광합성률은

30 °C에서 최대값을 보인 후, 35 °C에서는 감소하였다(Fig. 3d). *Cylindrotheca closterium*과 *P. elongatum*은 형광을 이용하여 측정된  $rETR_{max}$ 가 용존산소량 변화로 측정된 총 광합성률보다 높은 온도에서 최대값을 보여주었다.

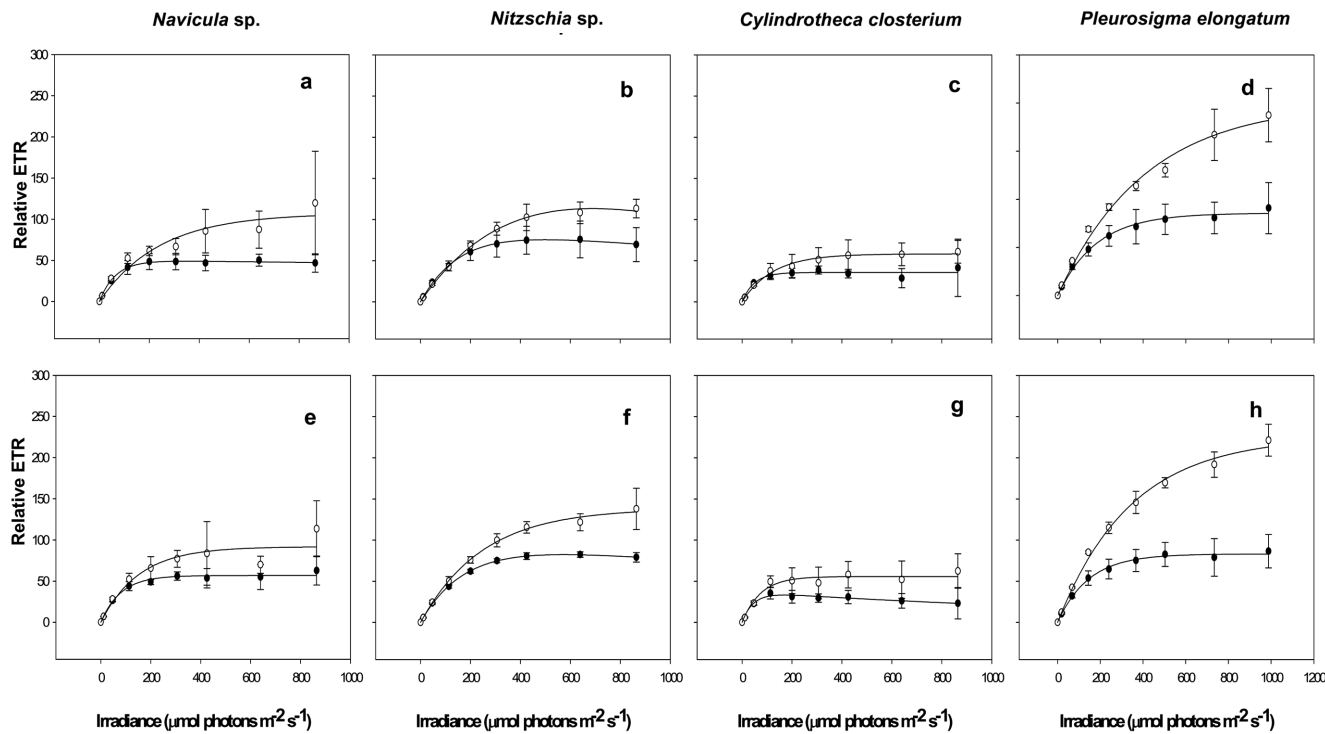
### 종별 형태적, 광생리적 특성

각 종의 형태적 특성을 알아보기 위하여 세포 표면적과 부피를 조사한 결과, *Nitzschia* sp.(39~41  $\mu m^2$ , 13~14  $\mu m^3$ )에서부터 *P. elongatum* (4317~4412  $\mu m^2$ , 9171~13757  $\mu m^3$ )까지 차이가 컸다(Table 1). 평균 SA/V는 *P. elongatum*가 0.32~0.47  $\mu m^{-1}$ 로 가장 작았으며, *Nitzschia* sp.가 2.89~2.90  $\mu m^{-1}$ 로 가장 큰 SA/V를 나타내었다. 조사된 종들 중 작고 가는 모습인 *Navicula* sp.와 *Nitzschia* sp.가 큰 SA/V를 가진 것을 알 수 있었으며, *C. closterium*은 길이가 매우 길고 가는 모습으로 표면적이 크고 부피가 작아 SA/V는 비교적 크게 나타났다.

종별 광생리적 특성은 각 종이 최대전자전달 능력을 나타낸 온도에서 시간의 경과에 따른 광합성 매개변수의 변이성을 통계분석하여 평가하였다(Table 2). *Navicula* sp.는 단시간의 온도 변화로  $rETR_{max}$ 와  $\alpha$ 에 모두 영향을 받은 것으로 나타났다. *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*의 광합성 반응에서는 단시간의 온도 변화에 대한  $rETR_{max}$ 의 변화는 나타나지 않았으나,  $\alpha$ 는 영향을 받은 것으로 나타났다. *P. elongatum*의 광합성 반응은 단시간의 온도 변화로



**Fig. 3.** Comparison of the gross photosynthetic rates (closed circles) from oxygen based measurements and rETRmax (vertical bars) from fluorescence measurements for (a) *Navicula* sp., (b) *Nitzschia* sp., (c) *Cylindrotheca closterium*, and (d) *Pleurosigma elongatum*. Oxygen data were collected for three hours of incubation and fluorescence data were collected after two hours of treatment.



**Fig. 4.** Comparisons of photosynthesis versus irradiance (P-I) curves for *Navicula* sp. (left), *Nitzschia* sp. (left middle), *Cylindrotheca closterium* (right middle), and *Pleurosigma elongatum* (right) at two different temperatures. The data in upper panels (a-d) were measured after two-hours and the data in lower panels (e-h) were measured after eight-hours. The closed circles represent relative ETR under the culture temperature (15 °C), whereas the open circles indicate relative ETR under each temperature with maximum photosynthetic capacity.

**Table 1.** Surface Area: Volume (SA:V) ratio and shape for *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Cylindrotheca closterium*, and *Pleurosigma elongatum*, respectively.

Species	Surface area ( $\mu\text{m}^2$ )	Cell volume ( $\mu\text{m}^3$ )	SA:V ( $\mu\text{m}^{-1}$ )	Shape
<i>Navicula</i> sp.	194~277	111~198	1.40~1.75	prism on elliptic base
<i>Nitzschia</i> sp.	39~41	13~14	2.89~2.90	prism on parallelogram-base
<i>Cylindrotheca closterium</i>	609~641	481~489	1.27~1.31	prolate spheroid +2 cylinder
<i>Pleurosigma elongatum</i>	4317~4412	9171~13757	0.32~0.47	prism on parallelogram-base

**Table 2.** P-values of statistical tested variance (ANOVA) for the significance of measurement time. The results were based on data measured under each temperature with maximum photosynthetic capacity during the eight hours experiment.

	<i>Navicula</i> sp.	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>Cylindrotheca closterium</i>	<i>Pleurosigma elongatum</i>
rETRmax	** ( $P<0.05$ )	NS ( $P=0.097$ )	NS ( $P=0.413$ )	** ( $P<0.05$ )
$\alpha$	** ( $P<0.05$ )	** ( $P<0.05$ )	** ( $P<0.05$ )	** ( $P<0.05$ )
$E_k$	*** ( $P<0.001$ )	NS ( $P=0.135$ )	** ( $P<0.05$ )	NS ( $P=0.227$ )

\*\*\*,\*\*A significant effect ( $P<0.001$ ) ( $P<0.05$ ).  
NS, no significant value ( $P>0.05$ ).

rETRmax와  $\alpha$ 의 변화를 보였으나,  $E_k$ 의 변화가 없었다( $P>0.05$ ). 각 종들의 rETR-E 곡선의 모양은 Fig. 4에 정리하였다. *Cylindrotheca closterium*은 가장 낮은 rETR 값을 나타내었으며, *P. elongatum*이 가장 높은 rETR값을 보였다.

## 토 의

### 저서규조류의 온도 변화에 따른 광합성 반응의 변화

Kromkamp 등(1998)은 형광 측정법을 이용하여 MPB의 광합성 효율을 빠르고 비파괴적으로 측정할 수 있음을 밝힌 바 있다. 형광으로 추정된 저서규조류의 온도 상승에 따른 광합성 반응은 종에 따라 차이가 나타났으며, 이는 제2광계의 유효양자수율( $\Phi_{PSII}$ )을 통해 평가 할 수 있었다.  $\Phi_{PSII}$ 은 제2광계에 존재하는 엽록소가 흡수한 빛 에너지 중에서 광화학 반응에 이용한 에너지를 나타내므로,  $\Phi_{PSII}$ 을 측정함으로써 전반적인 광합성 효율을 추정할 수 있기 때문이다(Genty et al., 1989). *Navicula* sp.는  $\Phi_{PSII}$ 이 현저히 감소한 35 °C가 이 종에 있어서 치사 온도에 준하는 온도로 생각되며, *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*는 30 °C가 이 종들에 있어서 치사 온도로 판단된다(Fig. 1). 이는 높은 온도에서 엽록소-단백질 복합체(chlorophyll-proteins complex)의 변성과 산소 발생 메커니즘의 불활성으로 인한 것으로 생각 할 수 있다(Briantais et al., 1996). 반면에 *P. elongatum*의 온도 증가에 따른  $\Phi_{PSII}$ 의 지속적인 증가는 *P. elongatum*가 실험 조건인 35 °C까지의 범위에서는 높은 온도에서 광합성 효율이 더 높게 나타나는 것을 의미한다.

전반적인 광합성 능력(photosynthetic capacity)을 나타내는 최대 전자전달율(rETRmax)은 성장 온도(15 °C)보다 높은 온도에서 최대값을 보였으며, rETRmax에 대한 온도의 영향은 최적의 온도에 도달할 때까지 온도가 상승함에 따라 점진적으로 증가하였고, 그 이후 빠르게 감소하였다(Fig. 2a-d). 이는 광포화 광합성(light-saturated photosynthesis)에서 Pmax와 온도 사이의 관계에서 보여지는 패턴이며, 대부분의 단세포 조류(unicellular algae)에서 전형적으로 나타난다(Davison, 1991). 전자전달율은 제2광

계에서 진행되는 산소 발생과도 관련되어 있기 때문에, 전자전달율(ETR)은 총 광합성률(gross photosynthetic rate)의 proxy로 사용할 수 있다(Kroon et al., 1993). 본 연구에서도 전자 전달율과 산소 측정에 의해 얻어진 총 광합성률을 비교해 본 결과, *Navicula* sp.와 *Nitzschia* sp.에서 온도 변화에 따른 광합성 반응의 경향이 유사하게 나타났다(Fig. 3a,b). 그러나, *C. closterium*과 *P. elongatum*은 최대 전자전달율과 총 광합성률이 다소 다르게 나타났다(Fig. 3c,d). 이러한 차이는 세포내 광호흡이나 미토콘드리아 활동, 세포외 박테리아의 대사작용과 같은 산소 소모 과정에 의하여 산소 소비가 증가한 것으로 총 산소 생산(gross O<sub>2</sub> production)이 과소 평가되어 나타나는 것으로 볼 수 있다(Weger et al., 1989). 그리고 이러한 과정들은 대부분 온도에 의해 영향을 받게 되므로, 온도가 증가함에 따라 산소 소비율의 불일치는 더욱 크게 나타날 수 있을 것으로 예상할 수 있다(Davison 1991, Morris and Kromkamp 2003). Berry와 Raison(1981)은 온도가 증가함에 따라 CO<sub>2</sub>에 대한 RUBISCO의 친화력이 O<sub>2</sub>에 대한 친화력보다 상대적으로 줄어들기 때문에 산소 소비는 더욱 활발히 일어나고, 그로 인하여 광호흡의 잠재성은 온도가 증가함에 따라 더욱 커질 수 있음을 밝힌 바 있다. 따라서 이러한 요인들에 의한 산소 소비 증가는 산소 발생과 전자전달율 사이의 관계가 *C. closterium*과 *P. elongatum*에서 일치하지 않는 결과를 나타내게 한 것으로 생각된다. Morris & Kromkamp(2003)의 연구에서도 *C. closterium*은 높은 온도에서 형광과 산소 발생의 불일치가 나타났으며, 형광 측정값이 산소 측정값보다 높은 온도에서 최대값을 보이는 현상이 보고된 바 있다. *Pleurosigma elongatum*는 아직까지 보고된 바가 없으나, 본 연구에서 형광과 산소 발생의 불일치가 상당히 크게 나타남을 알 수 있었다.

$\alpha$ 는 광합성-광도 곡선의 초기 기울기로 광제한 조건에서의 광합성 효율과 광흡수의 효율성을 정량적으로 보여준다(Behrenfeld et al., 2004; Ralph and Gademann, 2005).  $\alpha$ 에 대한 온도의 영향은 다른 광합성 파라미터에 비해 그 영향이 작게 나타났다(Fig. 2e-h). 이것은 광제한 조건에서의 광합성 효율은 빛 흡수율(photon absorption rate)에 의해 제한되고, 온도의 영향을 거의 받지 않기

때문이다(Wilhelm, 1990). 그러나 *Navicula* sp., *Nitzschia* sp.와 *C. closterium*의 경우 30 °C와 35 °C에서  $\alpha$ 가 다소 감소하였는데(Fig. 2e-g), 이는 높은 온도에서 열에 의한 엽록소의 감소 때문으로 생각된다. 왜냐하면  $\alpha$ 는 빛 흡수 능력을 나타내고, 빛 흡수는 엽록소 *a* 함량과 관련되어 있기 때문에 높은 온도에서 열에 의한 엽록소 *a*의 감소는  $\alpha$ 의 감소를 유도할 수 있기 때문이다. MacIntyre 등(2002)도 엽록소 *a* 대 탄소비(Chlorophyll *a* to C ratio)의 측정을 통해 엽록소 *a* 감소로 인해  $\alpha$ 가 높은 온도에서 감소할 수 있다고 밝힌 바 있다. 그러나 *P. elongatum*는 온도 변화에 따른  $\alpha$ 의 변화가 거의 없고, 오히려 높은 온도에서  $\alpha$ 가 높게 유지되는 특이성을 나타내었다(Fig. 2h).

$E_k$ 는 광포화의 시작점으로 온도 변화에 매우 민감한 반응을 보였으며,  $E_k$ 의 온도에 대한 반응은  $rETR_{max}$ 의 반응과 매우 닮았다(Fig. 2i-l). 이것은  $E_k$ 가  $rETR_{max}/\alpha$ 에 의해 계산되었으며,  $rETR_{max}$ 는 온도의 영향을 많이 받고,  $\alpha$ 는 비교적 온도의 영향을 덜 받았으므로,  $E_k$ 의 온도에 따른 변화는  $rETR_{max}$ 의 반응과 비슷하게 나타난 것으로 생각된다. 이러한 결과는 미세조류의 광합성 반응을 산소발생법, 형광측정법, 탄소측정법을 통하여 연구한 Hancke 등(2008)의 연구에서도 같은 경향성을 나타내었다.

### 단시간의 온도 변화에 따른 각 종의 순응 능력

종별 광생리적 특성은  $E_k$  변동성으로 해석하여, 단시간의 온도 변화에 따른 각 종의 순응(acclimation)정도를 평가하였다. Behrenfeld 등(2004)은 P-I 곡선의 변화를 “ $E_k$  종속적 변동성”(E<sub>k</sub>-dependent variability)과 “ $E_k$  독립적 변동성”(E<sub>k</sub>-independent variability)의 두 가지 범주로 구분하였다. “ $E_k$  종속적 변동성”은 대체로 빛의 변화에 반응하여 각 세포들이 광생리학적으로 조절하는 광순응의 결과로 나타나는 것이고, “ $E_k$  독립적 변동성”은  $\alpha$ 와  $P_{max}$ 의 동시적인 변화로 인하여,  $E_k$ 에 변화가 나타나지 않는 것이다(Behrenfeld et al., 2004).

*Navicula* sp.와 *C. closterium*은  $rETR_{max}$ 나  $\alpha$ 의 변화로 인하여  $E_k$ 의 변화가 나타났으며(Table 2), 이를 통하여 두 종 모두 단시간의 온도 변화에도 광순응이 일어난, “ $E_k$  종속적 변동성”을 보여 주었다. 반면에, *P. elongatum*은  $rETR_{max}$  뿐만 아니라  $\alpha$ 에 있어서도 변화가 나타났으나,  $E_k$ 의 변화가 없는 것으로 볼 때, 단시간의 온도 변화에는 광순응을 하지 않는 “ $E_k$  독립적 변동성”으로 생각할 수 있으며,  $\alpha$ 와  $rETR_{max}$ 의 동시적인 변화로 인하여,  $E_k$ 에 변화가 나타나지 않는 것으로 생각한다. Behrenfeld 등(2004)은 “ $E_k$  독립적 변동성”이 Jassby와 Platt(1976)에 의해 처음 제시된 이후, 현장 연구에서 간혹 나타나며, 일주기(diel cycle)의 실내 실험에서도 나타날 수 있음을 밝힌 바 있다. 본 연구 결과, 각 종들이 15도에서는 시간의 경과에 따른 광합성 매개변수의 변화가 없는 것과 달리, 최대전자전달 능력을 보인 온도에서 이처럼 종에 따른 순응을 보이는 것으로 판단해 볼 때, 단시간의 온도 변화가 각 종의 광합성에 최적의 온도에서는 광생리 특성에 변화를 끼친다는 것을 알 수 있었다.

## 결론

본 연구에서는 하구역의 주요 일차 생산자인 저서미세조류의 주

요 구성원인 저서규조류의 온도 변화에 따른 광합성 반응의 변화가 형광 측정법에 의해 조사되었고, 시간에 따른 광합성 매개변수 변화를 통하여 단시간의 온도 변화에 따른 각 종의 순응 정도를 평가하였다. 형광으로 추정된 저서규조류의 광합성 반응은 단시간의 온도 변화에도 광합성 능력의 변화가 나타났으며, 종에 따라 순응 정도의 차이가 뚜렷하였다. 특히 *P. elongatum*은 다른 종들과 달리 높은 온도에서 높은 광합성 능력을 보여 주었으며, 세포 형태 특성인 SA/V가 매우 작은 것을 알 수 있었다. 또한 *Navicula* sp.와 *C. closterium*이 단시간의 온도 변화에 순응하기 위하여 광생리적 조절을 통하여 광순응을 하는 반면에, *P. elongatum*은 단시간의 온도 변화가 광생리적 반응에 영향을 끼치지 않은 것으로 나타났다.

본 연구는 단시간 온도 상승의 영향만 고려하였지만, 온도 상승이 저서 규조류 광합성 반응에 미치는 영향은 매우 크게 나타났다. 실제로 저서규조류가 서식하는 퇴적물 표층의 온도는 간조 시기 동안 시간당 2~3 °C, 하루에도 20 °C, 계절적으로는 0~35 °C 까지 빠르게 변화하는 것으로 알려져 있다. 그렇다면 제2광계를 통한 전자의 흐름으로 전반적인 광합성률을 평가하는 형광 측정법은 온도와 같이 짧은 시간에 변화하는 환경요인에 대하여 광독립영양생물들의 생리적 반응을 해석하는 데 매우 유용한 도구가 될 수 있다. 현재 지구 온난화로 인한 수온 상승과 이로 인한 일차 생산자들의 생산성과 지리적 분포는 지속적으로 변화할 것으로 생각되며, 일반적으로 예측할 수 없는 결과로 진행될 수도 있다. 따라서 환경 요인 변화에 따른 연안역의 주요 일차 생산자들의 특성 및 생리적 적응에 대한 지속적인 연구를 바탕으로 기후 변화에 대한 연안역의 적응 방안을 마련하여야 할 것으로 생각한다.

## 감사의 글

본 연구는 국토해양부 ‘해조류를 이용한 온실가스 저감기술 개발’ 연구개발사업의 연구비지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고문헌

- Admiraal, W., 1977. Influence of light and temperature on the growth rate of estuarine benthic diatoms in culture. *Mar. Biol.* **39**: 1–9.
- Admiraal, W. and Peletier, H., 1980. Influence of seasonal variations of temperature and light on the growth rate of cultures and natural populations of intertidal diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **2**: 35–43.
- Barranguet, C. and Kromkamp, J.C., 2000. Estimating primary production rates from photosynthetic electron transport in estuarine microphytobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **204**: 39–52.
- Barranguet, C., Kromkamp, J. and Peene, J., 1998. Factors controlling primary production and photosynthetic characteristics of intertidal microphytobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **204**: 39–52.
- Behrenfeld, M.J., Parsil, O., Babin, M. and Bruyant, F., 2004. In search of a physiological basis for covariations in light-limited and light-saturated photosynthesis. *J. Phycol.* **40**: 4–25.
- Berry, J. and Raison, J., 1981. Response of macrophytes to temperature. In: *Physiological Plant Ecology*, edited by Lange, O., Noble, P., Osmond, C.B. and Ziegler, H., Springer-Verlag, Berlin, pp.

- 277–338.
- Blanchard, G.F., Guarini, J.M., Richard, P., Gros, P. and Mornet, F., 1996. Quantifying the short-term temperature effect on light-saturated photosynthesis of intertidal microphytobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **134**: 309–313.
- Briantais, J.M., Dacosta, J., Goulas, Y., Ducruet, J.M. and Moya, I., 1996. Heat stress induces in leaves an increase of the minimum level of chlorophyll fluorescence, Fo: A time-resolved analysis. *Photosyn. Res.* **48**: 189–196.
- Buffan-Dubau, E. and Carman, K.R., 2000. Diel feeding behavior of meiofauna and their relationships with microalgal resources. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 381–395.
- Cadee, G.C. and Hegeman, J., 1974. Primary production of the benthic microflora living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *J. Sea Res.* **8**: 260–291.
- Cahoon, L.B., 1999. The role of benthic microalgae in neritic ecosystem. *Oceanogr. Mar. Biol.* **37**: 47–86.
- Carpenter, J.H., 1965. The Chesapeake Bay Institute. Technique for the Winkler oxygen method. *Limnol. Oceanogr.* **10**: 141–143.
- Colijn, F. and Van Buurt, G., 1975. Influence of light and temperature on the photosynthetic rate of marine benthic diatoms. *Mar. Biol.* **31**: 209–214.
- Consalvey, M., Jesus, B., Perkins, R., Brotas, V. and Paterson, D., 2004. Monitoring migration and measuring biomass in benthic biofilms: the effects of dark/far red adaptation and vertical migration on fluorescence measurements. *Photosyn. Res.* **81**: 91–101.
- Davison, I.R., 1991. Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature. *J. Phycol.* **27**: 2–8.
- Genty, B., Briantais, J.M. and Baker, N.R., 1989. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* **990**: 87–92.
- Grant, J., 1986. Sensitivity of benthic community respiration and primary production to changes in temperature and light. *Mar. Biol.* **90**: 299–306.
- Guarini, J.M., Blanchard, G.F., Gros, P. and Harrison, S.J., 1997. Modelling the mud surface temperature on intertidal flats to investigate the spatio-temporal dynamics of the benthic microalgal photosynthetic capacity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **153**: 25–36.
- Guillard, R.R. and Ryther, J.H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms. *J. Microbiol.* **8**: 229–239.
- Hancke, K., Hancke, T.B., Olsen, L.M., Johnsen, G. and Glud, R.N., 2008. Temperature effects on microalgal photosynthesis-light responses measured by O<sub>2</sub> production, pulse-amplitude-modulated fluorescence, and <sup>14</sup>C assimilation. *J. Phycol.* **44**: 501–514.
- Hasle, G.R. and Fryxell, G.A., 1970. Diatoms: Cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Trans. Am. Microsc. Soc.* **89**: 469–474.
- Hillebrand, H., Durselen, C.-D., Kirschtel, D., Pollinger, U. and Zohary, T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* **35**: 403–424.
- Honeywill, C., Paterson, D.M. and Hagerthey, S.E., 2002. Determination of microphytobenthic biomass using pulse-amplitude modulated minimum fluorescence. *Eur. J. Phycol.* **37**: 485–492.
- Jassby, A. and Platt, T., 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **21**: 540–547.
- Kromkamp, J., Barranguet, C. and Peene, J., 1998. Determination of microphytobenthos PSII quantum efficiency and photosynthetic activity by means of variable chlorophyll fluorescence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **162**: 45–55.
- Kroon, B., Prezelin, B.B. and Schofield, O., 1993. Chromatic regulation of quantum yields for photosystem II charge separation, oxygen evolution, and carbon fixation in *Heterocapsa pygmaea* (Pyrrophyta). *J. Phycol.* **29**: 453–462.
- MacIntyre, H.L., Geider, R.J. and Miller, D.C., 1996. Microphytobenthos: The ecological role of the “secret garden” of unvegetated, shallow-water marine habitats. 1. Distribution, abundance and primary production. *Estuaries* **19**: 186–201.
- MacIntyre, H.L., Kana, T.M., Anning, T. and Geider, R.J., 2002. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *J. Phycol.* **38**: 17–38.
- Middelburg, J.J., Barranguet, C., Boscher, H.T.S., Herman, P.M.J., Moens, T. and Heip, C.H.R., 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ <sup>13</sup>C-labeling study. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1224–1234.
- Montagna, P.A., Blanchard, G.F. and Dinet, A., 1995. Effect of production and biomass of intertidal microphytobenthos on meiofaunal grazing rates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **185**: 149–165.
- Morris, E.P. and Kromkamp, J.C., 2003. Influence of temperature on the relationship between oxygen and fluorescence based estimates of photosynthetic parameters in a marine benthic diatom (*Cylindrotheca closterium*). *Eur. J. Phycol.* **38**: 133–142.
- Perkins, R.G., Underwood, G.J.C., Brotas, V., Snow, G.C., Jesus, B. and Ribeiro, L., 2001. Responses of microphytobenthos to light: primary production and carbohydrate allocation over an emersion period. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **223**: 101–112.
- Platt, T., Gallegos, C.L. and Harrison, W.G., 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* **38**: 687–701.
- Ralph, P.J. and Gademann, R., 2005. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquat. Bot.* **82**: 222–237.
- Serôdio, J., 2003. A chlorophyll fluorescence index to estimate short-term rates of photosynthesis by intertidal microphytobenthos. *J. Phycol.* **39**: 33–46.
- Serôdio, J., Da Silva, J.M. and Catarino, F., 1997. Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using in vivo chlorophyll a fluorescence. *J. Phycol.* **33**: 542–553.
- Serôdio, J., Da Silva, J.M. and Catarino, F., 2001. Use of in vivo chlorophyll a fluorescence to quantify short-term variations in the productive biomass of intertidal microphytobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **218**: 45–61.
- Serôdio, J., Vieira, S., Cruz, S. and Barroso, F., 2005. Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence. *Mar. Biol.* **146**: 903–914.
- Talling, J.F., 1957. The phytoplankton population as a compound photosynthetic system. *New Phytol.* **56**: 133–149.
- Underwood, G.J.C. and Kromkamp, J., 1999. Primary production by



- phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. In: *Advances in Ecological Research*, edited by Dave G.R., pp. 93–153.
- Weger, H.G., Herzig, R., Falkowski, P.G. and Turpin, D.H., 1989. Respiratory losses in the light in a diatom: measurements by short-term mass spectrometry. *Limnol. Oceanogr.* **34**: 1153–1161.
- Wilhelm, C., 1990. The biochemistry and physiology of light-harvesting processes in chlorophyll b-and c-containing algae. *Plant Physiol. Biochem.* **28**: 293–306.
- 
- 2009년 2월 25일 원고접수  
2009년 5월 21일 수정본 채택  
담당편집위원: 이준백