

## *Cochlodinium polykrikoides*(Dinophyceae)에서 분비되는 유기물질의 특성

강양순<sup>1\*</sup> · 권정노<sup>2</sup> · 안경호<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>국립수산과학원 유해생물팀, <sup>2</sup>연구기획팀)

## Characteristics of Organic Substances Produced from *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae)

Yang Soon Kang<sup>1\*</sup>, Jung No Kwon<sup>2</sup> and Kyoung Ho An<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marine Harmful Organism Research Team, National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-902, Korea

<sup>2</sup>Research Planning Team, National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-902, Korea

Organic substances are released from phytoplankton cells during all phases of growth. The type and amounts of organic substance excreted and the effects of nutrient limitation are often highly species-specific. Dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* grown in batch culture produced an exopolysaccharide. Exopolysaccharide and intracellular polysaccharide concentrations increased as *C. polykrikoides* cultures progressed from exponential phase, through stationary phase, to declining phase. In the exponential phase, the concentration of exopolysaccharide was relatively low, but in the stationary phase, it showed a rapid increase which seemed to coincide with the depletion of nitrate from the medium. Of the 20 amino acids analyzed, proline dominated in the organic matter of all cultures ranging from 48.2 to 79.9 nmol L<sup>-1</sup>, and constituting the 20-90% of total amino acids, and followed by histamine varying from 0.7 to 47.5 nmol L<sup>-1</sup>. Leucine and cysteine were also abundant in the stationary phase. The release rates of exopolysaccharide and intracellular polysaccharide were higher the end of stationary phase than in the exponential phase. Exopolysaccharide concentration per cell was more than two times higher during the end of stationary phase than that in exponential phase. *C. polykrikoides* produced extracellular polysaccharide at a rate of 47.04 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>.

**Key Words:** amino acids, *Cochlodinium polykrikoides*, exopolysaccharide

### 서 론

식물플랑크톤은 적조가 발생했을 때 종에 따라 다량의 점질성 유기물질을 분비하여 해수의 점성을 증가시킨다 (Jenkinson 1989). 이 분비된 유기물질은 환경변화로부터 세포를 보호하는 역할을 하며 (Liu and Buskey 2000), 또한 해양에서 박테리아, meiofauna, macrofauna 등의 탄소원으로 이용되어 (Decho 1990; Smith and Underwood 1998; Underwood and Smith 1998) 생태계의 탄소흐름에도 매우 중요한 역할을 하는데 (Hoagland *et al.* 1993) 수계 전체 일차 생산의 30-50%는 bacterioplankton에 의한 것이라는 연구결

과도 있다 (Azam *et al.* 1983). 또한 어류폐사의 원인이 되기도 하고, 그 분해된 물질의 특이한 화학성분과 조직구조 때문에 분해과정에서 무산소, 저서생물의 대량폐사 등의 해양생태계에 변화를 야기하기도 한다 (Stachowitsch *et al.* 1990; Degobbis *et al.* 1995; Liu and Buskey 2000).

분비된 점질물질의 주성분은 polysaccharide이며 (Lancelot 1984), 그 외 단백질 (protein), 핵산 (nucleic acid), 지방 (lipid) 등이 분비되는데 (Fogg 1983), 식물플랑크톤이 분비하는 물질의 종류와 양은 종에 따라 다르므로 종구성은 과학적인 관점에서 매우 중요하다 (Leppard 1995). 예를 들어 *Chaetoceros affinis* (Chaetocerae)는 조건에 따라 전체 분비물질의 80%에 달하는 extracellular polysaccharide와 약 1.5%의 단백질을 생산한다 (Myklestad *et al.* 1989). 그리고 *Phaeocystis pouchettii* (Prymnesiophyte)는 분비물질의 약 77%가 polysaccharide로

\*Corresponding author (kangys@nfrdi.re.kr)

구성된 macromolecule을 생산하고 (Lancelote 1984), *Skeletonema costatum* (Melosiraceae)은 다량의 polysaccharide 외에 7% 아미노산을 생산하는 것으로 연구되었다 (Mague *et al.* 1980). 이런 polysaccharide와 단백질의 비율은 식물플랑크톤의 기능적 특성에 영향을 미치는 중요한 요소이며 (Tago and Aida 1977), 또한 서로 상호작용을 하여 점질 matrix 형성과 그 물질의 기능적인 측면에서 중요한 역할을 한다. 식물플랑크톤에서 polysaccharide는 생물학적 생존을 위한 에너지 저장기능, 세포벽 구성, 운동성 등에 관여하는 아주 중요한 기본적인 부분이다 (Leppard 1995). 따라서 분비된 유기물질을 구성하는 polysaccharide와 아미노산에 대한 정성적, 정량적 연구는 매우 중요하다고 생각된다.

한국에서는 해마다 외편모조류인 *Cochlodinium polykrikoides* 적조가 발생하고 있으며 이 때 다량의 점액물질을 분비한다. 특히 이 적조가 수산양식장이 밀집된 해역에서 광범위하고 고밀도로 발생할 경우 어류폐사 등 막대한 수산피해를 발생시킨다. 그리고 앞에서 언급한 것과 같이 *C. polykrikoides*는 적조발생시 한꺼번에 다량의 점액물질을 분비하여 우리나라 주변의 해양생태계에 많은 영향을 미칠 수 있으므로 *C. polykrikoides*이 분비하는 유기물질의 특성을 연구하는 것이 매우 중요하다 (Lee 1996; Kim *et al.* 2000).

따라서 본 연구에서는 *C. polykrikoides* 적조발생시 어류피해를 최소화하고 분비된 물질을 활용하기 위한 기초자료로서 *C. polykrikoides*에서 분비되는 유기물질의 기본적 특성에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### *Cochlodinium polykrikoides* 배양

2000년 10월 통영연안에서 *C. polykrikoides* 적조가 발생되었을 당시 해수를 채취하였다. 이 시료를 입체현미경하에서 capillary pipette으로 4개 세포군체를 분리하여 24 multi-cell well에 옮긴 후 f/2 배지 (Stein 1973)에서 계대 배양하였다. 배양조건은 온도 22°C, 광량 100  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 광주기 14L:10D로 실험하였다.

*C. polykrikoides*의 증식율을 관찰하기 위하여 시료 0.1 mL를 취하여 Sedgewick Rafter counting chamber를 이용하여 광학현미경 (Olympus, BH-2)하에서 계수하였다.

배양시간에 따른 물질생산을 조사하기 위하여 대수증식기 (exponential phase)에 있는 *C. polykrikoides* 시료 100 mL를 2 L의 f/2배지에 접종하여 3일간 증식시킨 후 250 mL 용량의 삼각플라스크에 시료 200 mL를 넣어 배양하였다.

## 분석

**Polysaccharide의 추출 및 정량:** Exopolysaccharide (EPS)

를 분리하기 위하여 세포배양액을 4,000 rpm, 10°C에서 15분간 원심분리하였고, pellet에 증류수를 첨가하여 다시 추출하여 4,000 rpm, 10°C에서 15분간 다시 원심분리하였다 (Staats *et al.* 1999). 상등액을 80% (v/v) cold acetone (-20°C)으로 침전시켜 EPS를 분리하였고, 이를 증류수:acetone (1:1) 용액에서 2번 세척하였다. 침전된 EPS는 원심분리한 후 dialysis하여 동결 건조하였다. 전체 EPS양은 배지와 물속으로 추출된 양의 합으로 취하였다.

EPS의 양은 시료를 원심분리하여 상등액을 hexose와 pentose를 포함하는 phenol/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법으로 분석하였으며 (Dubois *et al.* 1956), 표준물질로 glucose를 사용하였다. Intracellular polysaccharide (ICPS)는 원심분리 후 pellet에 4 mL 0.05M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 넣어 2시간 방치 후 계속 30분마다 흔들어 다시 2시간 후 12,000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상등액을 phenol/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법으로 분석하였다 (Smith and Underwood 2000).

**단백질과 아미노산의 정량:** Extracellular protein은 시료를 원심분리한 후 상등액을 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 Bradford법으로 분석하였다 (Herbert *et al.* 1971). 유리아미노산은 시료를 PICO-tag 방법으로 이용하였으며 hydrolysis 및 PITC labelling하여 기초과학지원연구소의 HPLC (Waters 510)를 이용하여 분석하였다. Column과 detector는 각각 Waters Pico-tag column (3.9 × 300 mm, 4  $\mu\text{m}$ )과 Waters 996 photodiode array detectors (PDA), 254 nm를 사용하였고, 분석용매는 140 mM sodium acetate와 60% acetonitril을 flow rate 1.0 mL min<sup>-1</sup>로 사용하였다.

**세포내 탄소와 질소의 정량:** 시료를 취하여 450°C에서 2시간 동안 강열하여 냉각한 GF/F filter ( $\Phi$  25 mm, 공경 0.7  $\mu\text{m}$ )에서 50 mL을 여과하여 입자물질 중의 무기탄소를 제거하기 위해 진한 염산으로 약 30초 동안 훈증 (acid fuming)하고, 50°C에서 24시간 건조시킨 후 CHN analyzer (Perkin Elmer, 2400)로 분석하였다 (Sharp 1974; Telek and Marshall 1974).

**용존 유기탄소 (Dissolved organic carbon, DOC)의 정량:** 위에서 GF/F filter로 여과한 여과액을 분석 시까지 냉동보관한 후 DOC analyzer (Dormann DC-180)로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### Polysaccharide와 단백질의 변화

*C. polykrikoides*를 f/2 배지에서 배양하여 세포수가 증가함에 따라 분비되는 polysaccharide와 단백질의 분비양상을 알기 위해 일차별로 조사한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

세포수는 초기에 190 cells mL<sup>-1</sup>로 배양을 시작하여 대수증식기 (exponential phase)를 거쳐 배양 후 12일에 3,300 cells

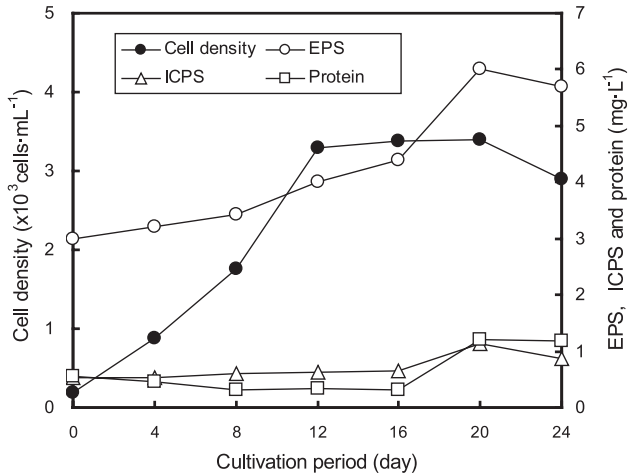


Fig. 1. Exopolysaccharide (EPS), intracellular polysaccharide (ICPS), and protein concentration, cell density during cultivation of *C. polykrikoides*.

$\text{mL}^{-1}$ 가 되었으며, 20일까지  $3,400 \text{ cells mL}^{-1}$ 로 정지기 (stationary phase)를 보이다가 이후 소멸기 (declining phase)로 진행되면서 24일에  $2,890 \text{ cells mL}^{-1}$ 로 세포수가 감소되었고, 일간성장율은  $0.208 \text{ day}^{-1}$ 였다.

분비된 exopolysaccharide(EPS)와 단백질의 농도는 Kang et al.(2002)의 연구결과에서 나타난 것처럼 초기 각각  $3.03 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0.31 \text{ mg L}^{-1}$ 였다가 정지기에 분비되는 양이 점차 증가되어 정지기 말기에 EPS는 최대값인  $6.02 \text{ mg L}^{-1}$ 를 보였다가 이후 양이 감소되었으나, 단백질은 20일 이후  $1.19\text{-}1.20 \text{ mg L}^{-1}$ 로 증가되었다. Intracellular polysaccharide (ICPS)양은 초기에  $0.52 \text{ mg L}^{-1}$ 였으나 정지기인 16일까지  $0.65 \text{ mg L}^{-1}$ 로 농도의 증가가 거의 없다가 정지기 말기에 증가되어  $1.13 \text{ mg L}^{-1}$ 로 최대값을 보였고, 소멸기에 들어  $0.88 \text{ mg L}^{-1}$ 로 감소하였다. 이를 통해 *C. polykrikoides* 배양 시 ICPS의 농도는 EPS에서처럼 증가되다가 정지기 말기에 최대값을 보임을 알 수 있었다. 이것은 규조류인 *Cylindrotheca closterium*, *Chaetoceros affinis* 등 대부분의 식물플랑크톤에서 나타나는 현상과도 동일한 결과이다(Myklestad 1995; Staats et al. 2000).

*C. polykrikoides* 세포 당 분비된 EPS와 단백질의 농도는 정지기에 생산이 증가되면서 소멸기에 최대값을 보였다(Fig. 2). 그러나 ICPS는 정지기 초기에  $0.19 \text{ pg cell}^{-1}$ 이었다가 정지기 말기와 소멸기에 각각  $0.33$ ,  $0.30 \text{ pg cell}^{-1}$ 이었다. 이는 배양초기에 생산된 탄수화물과 단백질은 internal pool 증가에 사용되었고, 세포성장이 멈춤에 따라 세포로부터 점차 EPS와 단백질이 해리됨에 따른 것으로 생각된다(Liu and Buskey 2000; Kang et al. 2002).

아미노산의 변화

배양단계별로 분비된 아미노산의 농도변화를 알기 위해

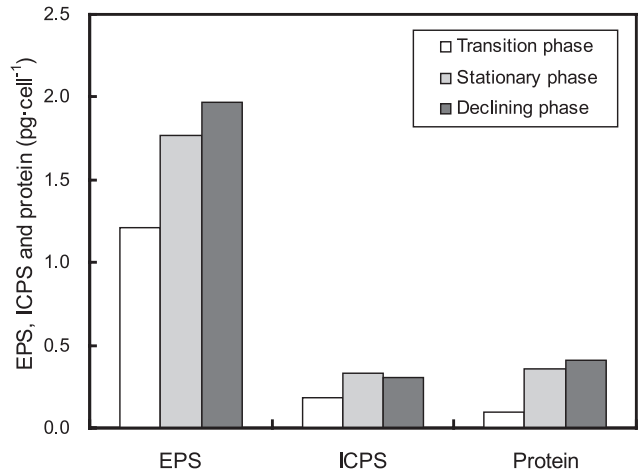


Fig. 2. Production of exopolysaccharide (EPS), intracellular polysaccharide (ICPS) and protein of the cell in *C. polykrikoides* culture.

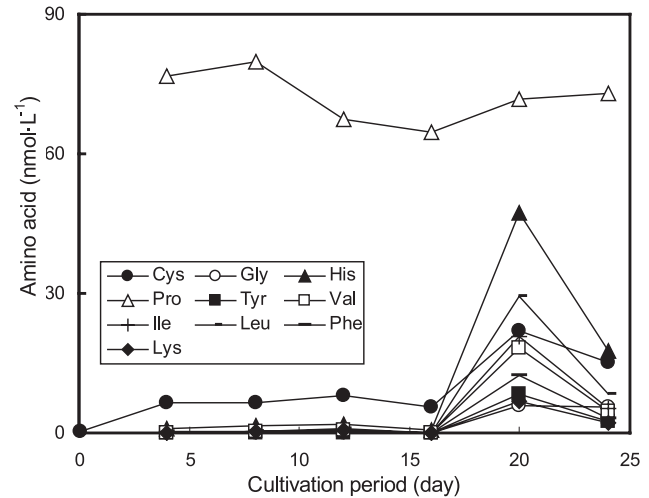


Fig. 3. Extracellular amino acids concentration during cultivation of *C. polykrikoides*.

아미노산 20종을 분석하였으나 이중 양적 변화가 현저한 10종을 Fig.3에 나타내었다. Proline을 제외한 대부분 아미노산의 농도는 배양에 따라 거의 변화가 없다가 정지기 말기인 20일에 농도가 현저히 증가되었다. 특히 아미노산의 농도는 배양 초기에 비하여 종류별로 정지기 말기에 4.1-228.2배까지 증가되었는데 cysteine, glycine, histamine, tyrosine, valine, lysine은 4.1-86.2배, leucine, phenylalanine, isoleucine은 178.6-228.2배까지 증가되었다. Proline은 전 배양기간을 통해 가장 많이 분비되었고, 또한 배양시기에 따라 다른 아미노산과는 다른 농도분포를 보였다. Proline은 전체 아미노산 중 초기에는 84.2-90.3%를 점하였으나 정지기에는 20.4%, 소멸기에는 53.1%를 차지하였다. 그 외 cysteine, histamine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine은 정지

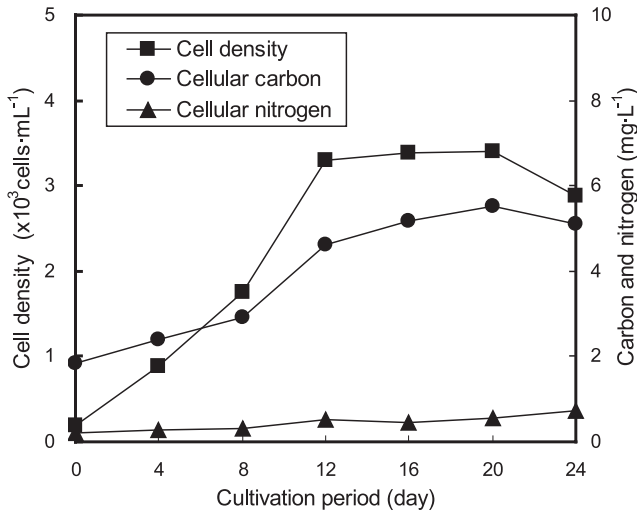


Fig. 4. Cell density, cellular carbon and nitrogen concentration during cultivation of *C. polykrikoides*.

기에 전체 mole의 59.6%를 점하였다. 그러나 그 외 아미노산들은 분비되는 양의 증가가 무시할 정도로 작았는데 이는 세포내에서 작은 turnover time을 가져서 분해된 후 성장하는 세포와 거의 같은 속도로 재합성되지 않았기 때문에 생각된다(Myklestad *et al.* 1989).

*C. polykrikoides* 배양 시 분비된 아미노산의 종류는 다른 식물플랑크톤에서 연구된 것과는 많이 달랐다. 규조류, 와편모조류, 남조류들의 extracellular product에서 아미노산을 확인하였는데 규조류인 *Chaetoceros affinis*, *Ch. debile*은 glutamine, glycine, glutamic acid 등, 그리고 *Phaeodactylum tricorutum*, *Coscinodiscus granii*, *Skeletonema costatum* 등은 glutamine의 농도가 매우 높았다(Poulet and Martin-Jezequel 1983; Lu and Stephens 1984; Admiraal *et al.* 1986). 또한 Lee and Cronin (1984)와 Wakeham *et al.*(1984)은 해역에서 식물플랑크톤의 종류에 상관없이 aspartic acid, glycine, serine, alanine을 포함한 15종의 아미노산을 분리하였으며, Eberlein *et al.*(1985)은 *Phaeocystis bloom* 동안에 유리아미노산을 정량화하였다. 또 많은 과학자들이 남조류에서 분리한 아미노산에 대해 연구하였다(Ahlgren *et al.* 1992). 식물플랑크톤에서 분리된 아미노산의 종류는 종에 따라 다르며, 이는 관련된 연구에서 종을 확인하는데 중요한 자료가 된다(Metaxatos *et al.* 2003). 또한 monosaccharide와 아미노산의 상대적 비로 세포의 생리학적 상태를 결정한다는 결과를 통해 아미노산 성분의 식물플랑크톤의 생리학적 상태를 결정하는 중요한 변수라는 결과가 있다(Metaxatos *et al.* 2003).

#### 세포내 성분의 변화

세포성장에 따른 세포내 탄소와 질소의 변화를 조사하여 Fig. 4에 나타내었다. 세포내 탄소의 양은 초기 1.85 mg L<sup>-1</sup>

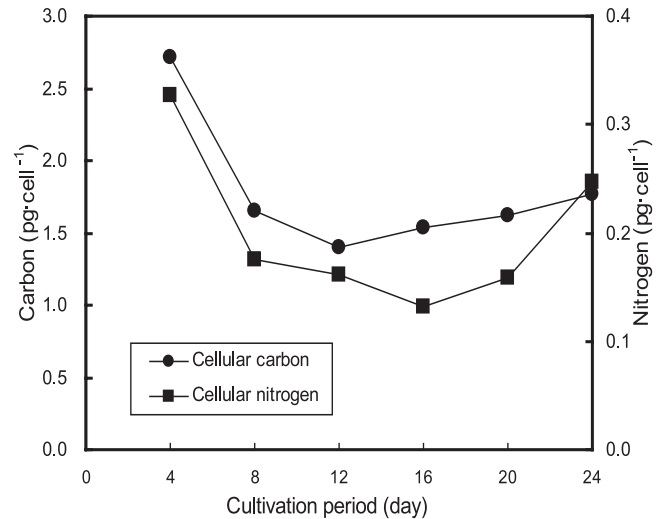


Fig. 5. Cellular carbon and nitrate concentration of the cell during cultivation of *C. polykrikoides*.

였다가 세포수가 증가함에 따라 점차 농도가 증가되어 정지기 말기에 5.52 mg L<sup>-1</sup>로 가장 높았고 이후 세포수가 감소됨에 따라 5.12 mg L<sup>-1</sup>로 감소되었다. 그러나 질소의 양은 대수증식기에 0.53 mg L<sup>-1</sup>의 값을 보였고, 소멸기에는 0.71 mg L<sup>-1</sup>의 최대값을 보였다.

세포당 탄소의 농도는 배양 초기에 2.72 pg cell<sup>-1</sup>로 가장 높았다가 12일에 1.40 pg cell<sup>-1</sup>, 24일에 1.77 pg cell<sup>-1</sup>의 값을 보였다. 세포당 질소의 농도도 동일한 경향으로 배양초기에 0.33 pg cell<sup>-1</sup>로 가장 높았다가 배양이 진행되면서 감소되었다가 정지기 이후 계속 증가되어 소멸기에 0.25 pg cell<sup>-1</sup>의 값을 보였다(Fig. 5). 이는 세포가 기하급수적으로 분열함에 따라 세포당 탄소, 질소의 양이 감소한 것으로 생각되며 여러 논문에서도 같은 연구 결과가 나왔다(Myklestad *et al.* 1989).

배양단계에 따른 분비된 물질간과 분비 시기의 관련성을 알기 위해 세포내 탄소, 질소, 그리고 세포밀도, EPS, ICPS, 단백질, 아미노산의 농도와의 상관관계를 살펴보았으며 유의수준 0.05에서 유의성을 검정하였다(Table 1). 세포밀도는 세포내 탄소, 질소와 유의적 상관관계를 가졌고, EPS는 세포밀도를 제외한 전 항목과, 그리고 EPS, 아미노산과 유의수준 0.001에서 유의적 상관을 가졌다. 이는 세포밀도와는 별도로 성장단계에 따라 EPS가 분비되고, 또한 이와 거의 비슷한 시기에 단백질, 아미노산이 분비되어 위와 같은 결과가 나온 것으로 생각된다(Hellebust 1974; Fogg 1983).

식물플랑크톤이 분비하는 유기물질은 생리적 상태와 밀접한 관련이 있고 또한 종에 따라 bloom이 거의 끝나가고 세포가 사멸할 때 많이 분비되거나(Fryxell *et al.* 1984; Billen and Fontigny 1987), bloom이 일어날 때 많이 분비된다고 한다(Degobbis *et al.* 1995).

**Table 1.** Correlation matrix of variables in *C. polykrikoides* cultures

Constituents	Cell density	EPS	ICPS	Protein	Cellular carbon	Cellular nitrogen
Exopolysaccharide	0.731	-	-	-	-	-
Intracellular polysaccharide	0.636	0.952**	-	-	-	-
Protein	0.280	0.851*	0.861*	-	-	-
Cellular carbon	0.817*	0.853*	0.704	0.627	-	-
Cellular nitrogen	0.818*	0.851*	0.705	0.626	1.000	-
Amino acid	0.494	0.837*	0.960**	0.823*	0.543	0.546

\*\* Correlation is significant at 0.001 level

\* Correlation is significant at 0.05 level

**Table 2.** Carbon production in *C. polykrikoides* culture for cellular and extracellular fraction

No.	Time (day)	Cell density (cells mL <sup>-1</sup> )	Cellular ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Amino acid ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		DOC ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Total ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Per cell (pg cell <sup>-1</sup> )	
			C	N	C	N		C	C	N	
1	0	190	1854	204	3	1	-	-	-	-	-
2	4	880	2390	288	5	1	8150	10540	2.72	0.33	
3	8	1760	2916	308	5	1	5320	8236	1.66	0.18	
4	12	3300	4605	531	5	1	7770	12375	1.40	0.16	
5	16	3380	5180	444	4	1	6200	11380	1.53	0.13	
6	20	3340	5520	541	15	5	6360	11880	1.62	0.16	
7	24	2890	5121	714	8	2	9920	15041	1.77	0.25	

C: carbon, N: nitrogen

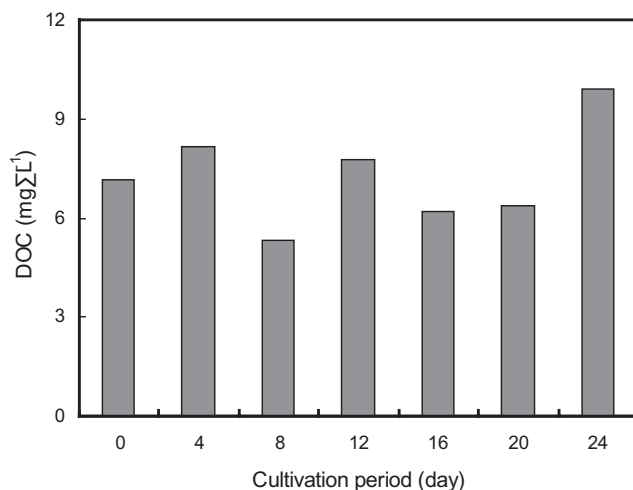
### 용존 유기탄소(Dissolved organic carbon, DOC)의 변화

배양액으로 분비된 용존 유기탄소(dissolved organic carbon, DOC)의 양을 살펴보면 초기에 비해 대수증식기인 8일에 5,323  $\mu\text{g L}^{-1}$ 로 가장 낮은 값을 보이다가 소멸기에 9,920  $\mu\text{g L}^{-1}$ 로 가장 높은 값을 보였다(Fig. 6). 배양 중 생산된 EPS, 단백질 등은 대부분 DOC를 이루는 것이다. 또한 다른 산물들도 DOC를 구성하기도 하는데 식물플랑크톤의 종에 따라서 total carbohydrate의 70-80%, 많게는 80% 이상이 polysaccharide일 경우가 있다고 한다(Lancelot 1984; Myklestad et al. 1989).

배양액 내에서 전체 탄소의 양은 세포내 탄소와 DOC로 나타낼 수 있다(Table 2). 분비되는 탄소의 양은 전체 탄소의 양 중에 53.54-65.95%였으며, 이중 아미노산으로 분비되는 탄소의 양은 0.06-0.24%였다.

### 물질 분비의 속도

유기물질의 외부 분비는 식물플랑크톤의 자연적 생리현상으로 모든 성장단계를 통해 일어난다. EPS는 대수증식기에 34.24 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>의 속도로 생산되었고, 정지기에 가장 높은 47.04 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>의 속도로 생산되었다(Table 3). ICPS도 빠르게 증식하고 있는 대수증식기에서는 6.05 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>였지만 정지기에서는 9.47 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, 소멸기에는

**Fig. 6.** Dissolved organic carbon(DOC) concentration during cultivation of *C. polykrikoides*.

5.49 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>의 속도로 생산되었다. 단백질 및 아미노산은 정지기에 각각 10.13 pg cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, 39.17 pmol cell<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>의 속도로 생산되었다. 세포밀도에서 차이가 있는 것을 고려하면 polysaccharide와 아미노산의 분비속도는 biomass에 비례하여 증가하였는데 이것은 세포막을 통해 diffusion의 중요성을 나타낸다(Hellebust 1974; Fogg 1983).

식물플랑크톤이 물질을 분비하는 메커니즘에 대한 연구는 저분자물질(sugar, amino acid, organic acid)이 세포막을 통

**Table 3.** Production rate of exopolysaccharide, intracellular polysaccharide, protein and amino acid per cell during cultivation of *C. polykrikoides* for different growth phase

	Rate of production			
	Exopolysaccharide (pg cell <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	Intracellular polysaccharide (pg cell <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	Protein (pg cell <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	Amino acid (pmol cell <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )
Exponential phase	34.24	6.05	-18.31	12.36
Stationary phase	47.04	9.47	10.13	39.17
Declining phase	41.51	5.49	9.88	29.85

해 단순 확산되는 것을 제외하고는 거의 알려진 것이 없다. 이때 해리속도는 물질에 대한 막의 침투성(permeability coefficient)에 의해 좌우되고(Allan *et al.* 1972), 세포막을 통한 대부분의 유기물질의 분비는 300-600 dalton 또는 그 이상이기 때문에 중간체를 경유해(mediated transport) 일어난다. 단백질과 polysaccharide와 같은 고분자 물질은 좀더 복잡한 메커니즘을 통해 분비된다. Carbohydrate는 광합성과정에서 정지기에 단백질의 합성을 중단시켜 과도한 광합성탄소를 성장기 또는 재생산동안 대사되지 않고 탄소의 방출 메커니즘으로 분비되는 것으로 알려져 있다(Mykkestad *et al.* 1989).

또한 내부대사물질과 EPS의 성분이 다르다는 것으로 단순한 세포용해(cell lysis)로 세포외(extracellular) 물질의 증가가 이루어지지 않는다는 연구결과가 있으며, 조류에서는 골지체가 polysaccharide를 가지고 소포체를 채운 후 그런 다음 세포막으로 이동한다. 소포체는 세포막과 융합하고 그 내용물은 외포작용(exocytosis)에 의해 세포 밖으로 배출되며(Hoagland *et al.* 1993), EPS의 성분은 대부분 intracellular reserve와는 다르고, diatom을 둘러싼 점질성 막과 더 비슷하다는 연구보고가 있다(Allan *et al.* 1972; Mykkestad 1974).

식물플랑크톤이 분비하는 유기물질들은 수계에서 microbial food web에 매우 중요한 역할을 하는데, 해양의 전체 1차 생산 중 30-50% 정도가 bacterioplankton에 의한 것이라고 보고되고 있다(Azam and Cho 1987). 식물 플랑크톤에 의한 유기탄소의 분비속도는 군집에 따라 달라진다(Hellebust 1965; Mykkestad 1974). 분비된 유기물질은 유기물을 이용하는 bacteria에 의해 효과적으로 인과 질소를 재무기화(remineralization)되어 자가영양세포(autotrophic cell)에 의해 동화될 수 있게 되어 결국 수계에서 중요한 역할을 하는 것이다(Azam and Cho 1987).

본 논문에서는 *C. polykrikoides*에서 분비되는 polysaccharide, 단백질, 아미노산의 농도와 시기 등에 대해 알아보았고, 세포외로 분비되는 탄소의 양은 전체의 54-66%임을 알 수 있었다. 앞으로 본 연구와 더불어 *C. polykrikoides*에서 물질분비의 조건과 분비경로에 대한 연구를 통해 적조발생시 피해를 최소화하는 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- Admiraal W., Peletier H., and Laane R.W.P.M. 1986. Nitrogen metabolism of marine planktonic diatoms; excretion, assimilation and cellular pools of free amino acids in seven species with different cell size. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **98**: 241-263.
- Ahlgren G., Gustafsson I.B., and Boberg M. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *J. Phycol.* **28**: 37-50.
- Allan G.G., Lewin J., and Johnson P.G. 1972. Marine polymers: IV. Diatom polysaccharides. *Bot. Mar.* **15**: 102-108.
- Azam F., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L.A. and Thingstad F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **10**: 257-263.
- Azam F. and Cho B.C. 1987. Bacterial utilization of organic matter in the sea. In Fletcher, M., Gray, T.R.G., and Jones, T.G.(eds), *Ecology of microbial communities*. Cambridge Univ. Press Cambridge, SGM **41**: 261-281.
- Billen G. and Fontigny A. 1987. Dynamics of a *Phaeocystis*-dominated spring bloom in Belgian coastal waters: II. Bacterioplankton dynamics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **37**: 249-257.
- Decho A.W. 1990. Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s), in food web and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* **28**: 73-153.
- Degobbi D., Fonda-Umani S., Franco P., Malej A., Precali R., and Smolaka N. 1995. Changes in the northern Adriatic ecosystem and the hypertrophic appearance of gelatinous aggregates. *Sci. Total Environ.* **165**: 43-58(Sp. issue).
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., and Smith F. 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-356.
- Eberlein K., Leal M.T., Hammer K.D., and Nickel W. 1985. Dissolved organic substances during a *Phaeocystis pouchetii* bloom in the German Bight, (North Sea). *Mar. Biol.* **89**: 311-316.
- Fogg G.E. 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Bot. Marina*, **26**: 3-14.
- Fryxell G.A., Glould Jr. R.W., and Watkins T.P. 1984. Gelatinous colonies of the diatom *Thalassiosira* in the Gulf Stream warm core rings, including *T. fragilia* sp. nov. *Br. Phycol. J.* **19**: 141-156.
- Hellebust J.A. 1965. Excretion of some organic compounds by

- marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* **10**: 192-206.
- Hellebust J.A. 1974. Extracellular products. In: N.D. Steward (ed.), *Algal Physiology and Biochemistry*. Univ. of California Press, Berkeley. pp. 838-863.
- Herbert D., Phipps P.J., and Strange R.E. 1971. Chemical analysis of microbial cells. In: Norris, J. R. D. W. Ribbons (eds.), *Methods in Microbiology*, Vol. 5B Academic Press, London. pp. 209-344.
- Hoagland K.D., Rosowski J.R., Roemer M.R., and Gretz S.C. 1993. Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry, and physiology. *J. Phycol.* **29**: 537-566.
- Jenkinson I. R. 1989. Increases in viscosity may kill fish in some blooms. In: Okaichi, T., Anderson, D. M., Nemoto, T. (Eds.), *Red tides: biology, environmental science, and toxicology*. Elsevier, New York, 435-438
- Kang Y. S., Kwon J.N. Shon J.K., Eom K.H., Hong S.J. and Kong J.Y. 2002. *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae)가 생산하는 exopolysaccharide: 질산염과 인산염의 농도에 따른 효과. *Bull. Nat'l Fish. Res. Dev. Inst. Korea* **61**: 97-103.
- Kim C.S., Bae H.M., Yun S.J., Cho Y.C., and Kim H.G. 2000. Ichthyotoxicity of a harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*: aspects of hematological responses of fish exposed to algal blooms. *Kor. J. Fish. Sci. Tech.* **3**: 111-117.
- Lancelote C. 1984. Extracellular release of small and large molecules by phytoplankton in the Southern bright of the North sea. *Estuar. Coastal Shelf Sci.* **18**: 65-77.
- Lee J.S. 1996. Bioactive components from red tide plankton, *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Kor. Fish. Soc.* **29**: 165-173 (in Korean)
- Lee C. and Cronin C. 1984. Particulate amino acids in the sea: effects of primary productivity and biological decomposition. *J. Mar. Res.* **42**: 1075-1097.
- Leppard G.G. 1995. The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems. *Sci. Total Environ.* **165**: 103-131 (Sp. Issue).
- Liu H. and Buskey E.J. 2000. The exopolymer secretions (EPS) layer surrounding *Aureoumbra lagunensis* cells affects growth, grazing and behavior of protozoa. *Limnol. Oceanogr.* **45**: 1187-1191.
- Lu M. and Stephens G.C. 1984. Demonstration of net influx of free amino acids in *Phaeodactylum tricornerutum* using high performance liquid chromatography. *J. Phycol.* **20**: 584-589.
- Mague T.H., Friberg E., Hughes D.J. and Morris I. 1980. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton: a physiological approach. *Limnol. Oceanogr.* **25**: 262-279.
- Metaxatos A., Panagiotopoulos C., and Ignatiades L. 2003. Monosaccharide and amino acid composition of mucilage material produced from a mixture of four phytoplanktonic taxa, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **294**: 203-217.
- Myklestad S.L. 1974. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **29**: 161-179.
- Myklestad S.L. 1995. Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *The Science of the Environment* **165**: 155-164.
- Myklestad S.L., Holm-Hansen O., Varum K.L., and Volcani B.E. 1989. Rate of release of extracellular amino acids and carbohydrates from the marine diatom *Chaetoceros affinis*. *J. plankton research* **11**: 763-773.
- Poulet S.A., and Martin-Jezequel V. 1983, Relationship between dissolved free amino acids chemical composition and growth of the marine diatom *Chaetoceros debile*. *Mar. Biol.* **17**: 93-100.
- Sharp J.H. 1974. Improved analysis for particulate organic carbon and nitrogen from sea water. *Limnol. Oceanogr.* **19**: 984-979.
- Smith D.J. and Underwood G.J.C. 1998. Exopolymer production by intertidal epipellic diatoms. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1578-1591.
- Smith D.J. and Underwood G.J.C. 2000. The production of extracellular carbohydrates by estuarine benthic diatoms: The effects of growth phase and light and dark treatment. *J. Phycol.* **30**: 321-333.
- Staats N., Winde B.D., Stal L.J. and Mur L.R. 1999. Isolation and characterization of extracellular polysaccharides from epipellic diatoms *Cylindrotheca clostrium* and *Navicular salinarum*. *Eur. J. Phycol.* **34**: 161-169.
- Staats N., Stal L.J., and Mur L.R. 2000. Exopolysaccharide production by the epipellic diatom *Cylindrotheca clostrium*: effects of nutrient conditions. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **249**: 13-27.
- Stachowitsch M., Fanuko N., and Richter N. 1990. Mucous aggregates in the Adriatic Sea: an overview of stages and occurrence. *P.S.Z.N. Mar. Ecol.* **11**: 327-350.
- Stein J.J. 1973. Handbook of phycological methods: Culture methods and growth measurements, Cambridge Univ. press 27-51.
- Tago Y. and Aida K. 1977. Extracellular mucopolysaccharide closely related to bacterial floc formation. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**: 308-314.
- Telek G. and Marshall N. 1974. Using a CHN analyzer to reduce carbonate interference in particulate organic carbon analysis. *Mar. Biol.* **24**: 219-221.
- Underwood G.J.C. and Smith D. J. 1998. Predicting epipellic diatom exopolymer concentrations in intertidal sediments from sediment chlorophyll *a*. *Microb. Ecol.* **35**: 116-125.
- Wakeham S., Lee C., Farrington J., and Gagosian R. 1984. Biogeochemistry of particulate organic matter in the oceans. *Deep-Sea Res.* **31**: 509-528.

---

Received 27 March 2006

Accepted 15 May 2006

