Article

실내 자외선 노출 실험을 통한 극지 식물플랑크톤(*Phaeocystis pouchetii*,
Porosira glacialis)의 자외선 흡수물질 생성 연구

하선용¹ · 강성원² · 박미옥² · 김영남³ · 강성호³ · 신경훈^{1*}

¹한양대학교 과학기술대학 해양환경과학과
(425-791) 경기도 안산시 사3동

²부경대학교 환경·해양대학 해양학과
(608-737) 부산광역시 남구 대연3동

³한국해양연구원 부설 극지연구소
(406-840) 인천광역시 연수구 갯벌로 12

Photoinduction of UV-absorbing Compounds and Photo-protective Pigment
in *Phaeocystis pouchetii* and *Porosira glacialis* by UV Exposure

Sun-Yong Ha¹, Sung-Won Kang², Mi-Ok Park², Young-Nam Kim³,
Sung-Ho Kang³, and Kyung-Hoon Shin^{1*}

¹Marine Environmental Science Department, College of Science and Technology
Hanyang University, Ansan 425-791, Korea

²Department of Oceanography, Environmental and Marine Sciences and Technology
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

³Korea Polar Research Institute, KORDI
Incheon 406-840, Korea

Abstract : Herein, we compared the production rate of UV-absorbing compounds (mycosporine-like amino acids) and carotenoids in two phytoplankton species--*Phaeocystis pouchetii* and *Porosira glacialis*--which are the dominant species in Polar Regions under artificial UV radiation conditions. *P. pouchetii* exposed to UVR and PAR evidenced reductions in the carbon fixation rate, and was not significantly influenced by differing light conditions. However, the concentrations of UV-absorbing compounds and photo-protective pigments of *P. pouchetii* were increased with increasing exposure time, but *P. glacialis* maintained constant levels during the UVR exposure experiment. The production rates of MAAs showed a reverse phase between the two phytoplankton species. The carbon fixation rate of *P. pouchetii* cells was inhibited by exposure to UV radiation, but the production rates of MAAs in *P. pouchetii* were increased under UV radiation exposure. The carbon fixation rate and production rate of MAAs in *P. glacialis* were simultaneously inhibited under UV radiation exposure conditions. These results provide us with new information regarding the processes involved in the production of UV-absorbing compounds and photo-protective pigments in two phytoplankton species.

Key words : mycosporine-like amino acids, photo-protective pigment, UV radiation, *Phaeocystis*, carbon stable isotope

*Corresponding author. E-mail : shinkh@hanyang.ac.kr

1. 서 론

오존층 파괴가 심한 남극에서 자외선은 수심 10~15 m 까지 투과함으로 수중 생태계 내 생물들에게 영향을 미칠 수 있다(Lorenzen 1979; Smith et al. 1992). 자외선은 광합성 및 일차생산력을 억제시키며(Helbling et al. 1992; Häder et al. 2007), 세포 내 단백질 합성 뿐만 아니라 DNA에도 악영향을 주고(Karentz et al. 1991; Boelen et al. 2000), 영양염 흡수에도 악영향을 미치고 있다(Behrenfeld et al. 1995). 또한 자외선은 여러 종류의 cellular enzymes의 생화학적 과정에 악영향을 미치기도 한다(Dohler et al. 1991; Shinha and Häder 2002). 그러나 세포의 신진대사나 생존에 영향을 미치는 자외선의 효과는 식물플랑크톤의 종마다 크게 다르며(Vernet and Whitehead 1996), 이러한 차이는 식물플랑크톤이 자외선에 광적응하거나 손상된 DNA를 회복(repair)하는 기작을 통하여 자외선의 악영향을 최소화하거나(Karentz et al. 1991), 유해한 자외선을 차단하는 세포 내 자외선 흡수 물질이나 광보호 색소 등을 분비하여 보호한다(Sinha and Häder 2008).

생물체는 여러 가지 광보호 물질을 발현 함으로서 강한 빛이나 자외선 등에 스스로 반응하고 조절함으로 극한 환경 내에서 생존해 왔다(Moeller et al. 2005). 크산토틸(Xanthophyll) cycle로 생성되는 카로틴(carotenoids) 색소는 식물플랑크톤이 과다한 빛에 노출시 세포내에서 광저해(photoinhibition)되는 현상을 방어하기 위해 과다한 빛 에너지를 분산시키는 항산화제(antioxidant)의 역할을 하고 있으며(Roy 2000; Laurion et al. 2002), 특별히 자외선에 반응하여 이러한 카로틴(carotenoids)이 생체 내 농축되는 현상은 남세균류 나 녹조류 등에서 발견되고 있다(Bidigare et al. 1993; Goes et al. 1994).

자외선 흡수 물질로 잘 알려진 mycosporine-like amino acids(MAAs)은 유해한 자외선부터 세포 내 기관들을 보호 하는 기능을 가지고 있으며, 전반적으로 해양 일차생산자(Karentz 2001; Shick et al. 1992), 담수 일차생산자(Sommaruga and Garcia-Pichel 1999; Laurion et al. 2002; Xiong et al. 1999; Tartarotti and Sommaruga 2002), 그리고 남세균류(Shinha et al. 2007) 등 여러 수중생물에 폭넓게 분포하고 있다. MAAs는 분자량이 400 Da 이하의 작은 수용성 물질이며 질소나 아미노 알코올 치환기를 가진 aminocyclohexenon이나 aminocycloheximine ring으로 구성된 물질이다(Karentz 2001). 또한 MAAs는 최대흡광도 310~360 nm 사이에서 측정되며, 중파자외선(UV-B)으로부터 보호하는 역할을 하고 있다(Karentz 2001; Whitehead et al. 2001; Volkmann and Gorbushina 2006). MAAs는 식물플랑크톤 뿐만 아니라 수중 생물이 유해한 자연광에

노출되었을 때 중요한 광보호(photoprotection) 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다(Häder et al. 1998). 특히 예를 들어, MAAs의 광보호 역할이 산호초의 경우 잘 알려져 있을 뿐만 아니라(Dunlap and Yamamoto 1995), 자외선에 노출된 성게 알 중 MAAs 농도가 높은 경우 부화율이 증가하는 것을 볼 수 있다(Adams and Shick 1996). 남극해의 식물플랑크톤들은 오존층이 파괴되기 시작하는 10월부터 12월 사이에 강한 자외선에 노출됨으로서, 자외선 흡수 물질(MAAs)을 높은 농도로 포함하며(Marchant et al. 1991; Vernet and Whitehead 1996; Helbling et al. 1996), 극한의 환경에서 생존을 위한 전략으로 사용되고 있다. 그러나 식물플랑크톤 종간 MAAs의 농도 차이를 보이는 이유는 다양한 크기의 세포 사이에서 일어나는 광학적 과정의 차이 때문이다(Garcia-Pichel 1994).

이 연구에서는 전 세계적으로 분포하고 특히 남북극 극지방에 우점하고 있는 prymnesiophyte 분류군 중 북극종인 *Phaeocystis pouchetii*(Hariot in Pouchet) Lagerheim 그리고 양극해양 서식 규조류인 *Porosira glacialis*(Grunow) Jørgensen을 단종 배양하여, 인공자외선에 노출시킨 후 자외선 흡수물질(MAAs) 및 카로틴의 생성 및 일차 생산력을 비교함으로서 극한의 환경에 적응하는 각 식물플랑크톤의 적응력 및 생존 능력을 파악하고자 한다. 또한 이 연구에서는 ^{13}C 추적자를 이용하여 측정된 광합성능과 자외선 흡수 물질(MAAs)의 생산성을 비교함으로써 광에너지가 세포 내에서 전달 분배되는 과정을 이해하고, 각 빛 조건에 따라 반응하는 정도를 파악하였다.

2. 재료 및 방법

대상 생물

총 2종(*Phaeocystis pouchetii*, *Porosira glacialis*)의 극해역 우점 식물플랑크톤이 연구에 활용되었다. 식물플랑크톤은 한국해양연구원 부설 극지연구소 극지생물재현연구실(KOPRI Culture Collections for Polar Microorganisms; KCCPM)에서 제공받았으며, 2010년 4월에 실시한 실내 자외선 노출 실험에서는 2009년 북극 현장조사에서 분리 동정된 prymnesiophyte 분류군 중 *Phaeocystis pouchetii* (KCCPM 일련번호 ArM0055)과 남극에 서식하는 대표적인 식물플랑크톤인 규조류 중 *Porosira glacialis* (KCCPM 일련번호 AnM0008)를 사용하였으며, 각 식물플랑크톤의 생체 내 자외선 흡수물질(MAAs)의 농도를 분석함과 동시에 각 MAAs의 생산력을 측정하였다. 또한 각 식물플랑크톤의 광보호 색소 카로틴을 분석함으로서 자외선 흡수물질과 광보호 색소간 상호작용에 대한 고찰을 실시하였다. 극지 식물플랑크톤을 배양한 배지는 규조류에 일반적으로 사용되는 f/2 배지를 사용하여 *Porosira glacialis*를 배양

하였으며, f/2 배지와 같은 성분에 미량금속만 추가된 L1 배지는 *Phaeocystis pouchetii*를 배양하는데 사용하였다 (Guillard and Ryther 1962).

빛조건

실내 배양에 사용된 광조건은 총 2종류의 UV cutoff 필터를 사용하였다. 중파자외선과 장파자외선 그리고 광합성 유효광(UVB+UVA+PAR)이 투과되는 295 nm cutoff filter(Ultraphan, UV Opak, Digefra, Muncich, Germany)와 광합성 유효광(PAR)만 투과하는 395 nm cutoff filter(Ultraphan, UV Opak, Digefra, Muncich, Germany)를 사용했다(Fig. 1). 인공 자외선은 상업적으로 판매되는 UV lamp를 사용했으며, 중파 자외선(UV-B) lamp(Actionic BL 15W, PHILIPS, Holland), 장파 자외선(UV-A) lamp(TL-D 15W, PHILIP, Holland), 그리고 일반 visible lamp를 사용하였다. 자외선 광량은 UVX[®] radiometer(Model UVX-25 and UVX-31)를 통하여 250 nm(UV-B)에서 5.2 $\mu\text{W}/\text{m}^2$, 320 nm(UV-A)에서 12.3 $\mu\text{W}/\text{m}^2$, 그리고 395 nm(PAR)에서 1.8 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ 세기로 조사하였다. 또한 배양하는 동안 총광량은 LI-COR 광량계(Spherical Quantum Sensor, U.S.A)를 사용하여 14.04 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 가 측정되었다. 배양온도 4°C를 유지하면서, 총 5일까지 자외선 노출 실험을 실시하였다. 두 종의 중주 보관은 배양실 광량 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 하에서 배양온도 4°C를 유지하였다. 염분 농도는 32~34 psu를 유지하였다. 두 종의 식물 플랑크톤은 계대 배양시 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광량으로 배양실 빛 조건을 맞추었으며, 노출 실험 전 마지막 계대 배양은 실험 전 일주일간 15~20 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 조건으로 순응시켰다. 그 후 자외선 노출 배양기로 이동 후 약 24시간 암조건 상태를 유지, 순응시킨 후 인공자외선에 노출실험을 실시하였다.

Fig. 1. Transmission of UV radiation by UV cutoff filters

탄소고정속도

광합성에 의한 탄소고정속도 측정을 위한 배양실험은 배양 해수에 $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (98%)를 첨가하여 일정 시간 동안 실시하였다. 배양이 끝난 후 ^{13}C 표시된 시료를 미리 태운 (450°C, 4시간) GF/F 25 mm 필터에 10 ml를 여과 후 -80°C 냉장고에 분석 전까지 보관한다. 여과된 샘플은 동결건조기를 통하여 완전 건조 후 1 N HCl fume로 overnight 해줌으로서 무기탄소를 제거하였다. 무기탄소 제거 후 NaOH fume으로 중화를 시켜 준 후 EA-irMS로 ^{13}C 값을 측정하였다.

안정동위원소비는 EA-irMS(EuroEA-Isoprime IRMS, GV instruments, UK)를 이용하여 측정하였으며, 측정된 안정동위원소비를 이용하여, 아래의 Hama et al. (1983) 식을 이용하여 일차생산력을 계산하였다.

$$\text{Production rate}(\rho\text{C}(t)) = \frac{\Delta POC(t)}{t} = \frac{a_{is} - a_{ns}}{a_{ic} - a_{ns}} \times \frac{POC(t)}{t}$$

a_{is} : 배양이 끝난 후 유기물의 ^{13}C 원자 백분율

a_{ns} : 자연상태의 ^{13}C 원자 백분율

a_{ic} : 배양 용기 내 용존무기탄소의 ^{13}C 원자 백분율

t : 배양시간

$POC(t)$: 배양이 끝난 후 입자성 유기탄소의 농도

탄소순환속도(turnover rate)은 각 측정된 탄소고정속도에 배양된 유기물의 총 탄소량을 나누어 줌으로서 배양 동안의 고정된 ^{13}C 탄소의 순환 속도를 계산하였다 (Hama et al. 1983).

광합성 효율(F_v/F_M)은 Fluorescence Induction and Relaxation(FIRE) fluorometer(Satlantic Inc., Halifax, Canada)를 이용하여 측정하였으며, 배양된 시간에 따라 시료 10 ml를 채취 후 바로 암냉보관 후 30분 이내에 측정하였다. FIRE fluorometer는 광합성하는 생물체나 광합성 기작을 설명, 측정하는 가장 최신의 bio-optical 기술로서, 식물 플랑크톤의 환경 모니터링, 수중 생태계 내 일차생산력 측정, 그리고 환경 스트레스에 대한 평가를 하는 등 여러 분야에 활용 되고 있다. 이는 빛 에너지를 화학적 잠재력(광합성)으로 바꾸는 효율을 측정하는 특성을 나타내며 광합성 효율(F_v/F_M)로서 표시할 수 있다. 엽록소의 보조색소들의 총 형광량의 최대값을 F_M 이라고 하고, 일반적으로 형광을 발하는 값을 F_0 값이라고 할 때, 이 값을 이용하여 광합성 효율(Fluorescence Yield)을 측정하게 된다.

$$\text{광합성 효율}(F_v/F_M) = (F_M - F_0)/F_M$$

$$F_v = F_M - F_0$$

자외선 흡수 물질(Mycosporine-like amino acids) 추출 및 분석

입자성 유기물 내 MAAs 분석을 위해 실내 배양된 식

물플랑크톤을 미리 태운 GF/F filter 25 mm 여과지에 50~75 ml를 여과한 후 분석 전까지 -80°C 에 보관한다. 여과된 시료는 100% MeOH 3 ml를 넣어준 후 4°C 냉장고에서 overnight 추출한다. 추출 후 $0.2\ \mu\text{m}$ 주사기 필터(PTFE $0.20\ \mu\text{m}$ Hydrophobic)를 이용하여 2 ml micro tube에 옮긴 후 원심분리기를 이용하여 완전 건조한다. 완전 건조된 시료를 500 μl 의 증류수로 다시 녹인 후 chloroform 100 μl 를 넣은 후 원심분리기 10,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 상층액 400 μl 를 분리한다. 분리한 상층액을 High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)에 주입하여 MAAs 정량 분석을 실시하였다.

MAAs 분석은 HPLC system(Agilent technologies 1200 series)을 사용했으며, 컬럼은 Waters 120DS-AP($5\ \mu\text{m}$) $150\ \text{mm} \times 4.6\ \text{mm}$ 를 사용했다. 검출기는 Agilent DAD(G1315D) 313 nm(250~750 nm scan)로 검출하였으며, 각 MAAs 화합물은(M-335, shinroine, 그리고 porphyrin-334) fraction collector(Agilent analyte(G1364C) FC)를 이용하여 분취하였다. 이동성 용매는 100% DIW(with 0.1% acetic acid)를 사용하여 0.8 ml/min로 일정하게 흘려주었다. MAAs 분석에 쓰인 표준물질은 독일 Freiderich Alexander 대학 Hader 교수님으로부터 shinorine과 porphyrin-334를 받아 사용했다. 각 MAAs의 생산력은 MAAs compounds를 시간에 따라 tin cap(미리 태운 filter paper 조각 포함)에 분취 후 solvent를 완전 제거 후 EA-irMS를 이용하여 각 compounds 내 ^{13}C 값을 측정하였다. 이후 Hama et al. (1983)의 식을 이용하여 각 compound의 생산 속도를 구하였다.

보조 색소 추출 및 분석

식물플랑크톤의 색소조성 규명을 위한 시료는 10 ml를 채수하여 450°C 에서 4시간 태운 25 mm GF/F 여과지로 여과한 후 여과지는 광분해를 막기 위하여 알루미늄 호일로 싸 후 분석 전까지 Deep freezer(-80°C)에 보관하였으며 입자성 유기물 시료 내 색소 추출은 여과지를 테프론 병에 넣고 100% 아세톤 3 ml 첨가하여 Ultrasonic sonicator (30 sec, 50 W)에서 추출 후 냉암소에서 24시간 추출한다. 분쇄 시 손실을 보정하기 위하여 apo-8-carotennoate(Internal Standard)를 50 μl 를 첨가하였다. 추출된 색소는 주사기 필터(PTFE $0.20\ \mu\text{m}$ Hydrophobic)를 이용하여 여과 후 1 ml를 취하여 Water packing(300 μl 3차 증류수 혼합)하여 High-Performance Liquid Chromatography(HPLC)로 정량 분석을 실시하였다.

색소 분석은 Zapata et al. (2000)의 방법을 이용하였으며, 컬럼(Waters symmetry C8 column($150 \times 4.6\ \text{mm}$, $3.5\ \mu\text{m}$))을 이용하고, 이동성 용매 A(Methanol: 50%, Acetonitrile: 25%, Aqueous pyridine solution: 25%)와 이

동성 용매 B (Methanol: 20%, Acetonitrile: 60%, Acetone: 20%)를 이용하여 분석하였으며, chromatogram의 봉우리(peak)에 대한 동정은 표준색소(DHI water & Environment, Hørsholm, Denmark)의 머무름 시간(retention time)과 비교 결정하였다. 표준색소의 농도는 Jeffrey의 알려진 흡광계수(Jeffrey et al. 1997)를 이용하여 아래의 식(Park and Park 1997)에 의해 계산하였다.

$$C(\mu\text{g l}^{-1}) = \frac{\text{absorbance}}{(E: \text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}) \times (\text{cm})} \times \frac{10^6 \mu\text{g}}{\text{g}}$$

C: concentration of pigment

E: extinction coefficient

표준 색소의 농도를 구한 후, 현장시료의 색소 정량식은 다음과 같다.

$$C = \text{Area} \times R_f \times (V_e/V_s)$$

C : concentration(ng l^{-1})

Area: area of the peak (area)

R_f : response factor($\text{ng l}^{-1} \text{area}^{-1}$)

V_e : $(\text{AIS} \times \text{Volume of IS added to sample(L)}) / (\text{Peak area IS added to sample})$

AIS : peak area of the IS(Internal Standard) when 1 ml IS is mixed 300 μl of H_2O

V_s : water sample filtering volume (L)

Standard response factor(R_f) 값은 표준물질의 peak 면적을 계산하고, 이 면적으로 표준물질의 농도를 나누어 계산하였다.

3. 결 과

광합성에 의한 탄소고정속도

*Phaeocystis pouchetii*를 인공자외선 및 광합성 유효광에 노출시킨 실험 결과 탄소고정속도는 배양 시간이 지남 따라 감소하는 경향을 보이고 있다(Fig. 2a). 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 탄소고정속도는 초기 24시간 배양시 $10.03\ \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 의 값을 보였으나, 72시간 배양시 가장 낮은 탄소고정속도($3.23\ \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$)를 보인 다 시 약간 증가된 $5.37\ \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ (120시간 배양) 값을 보이고 있다. 그러나 인공자외선에 노출된 식물플랑크톤은 초기 $8.91\ \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ (24시간 배양시) 값을 보인 후 시간에 따라 계속 감소하여 $3.25\ \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ (120시간 배양시) 값을 보였다. 이러한 세포의 생리 상태는 광합성 유효광과 인공자외선 모두에서 활성도가 떨어지는 것을 볼 수 있으며, 광합성 효율을 나타내는 F_v/F_m 의 값에서 비슷한 경향을 보이고 있다(Fig. 3a). *P. pouchetii*의 광합성 효율

Fig. 2. Carbon fixation rates of two phytoplankton species, (a) *Phaeocystis pouchetii* and (b) *Porosira glacialis*, during culture incubation under ultraviolet radiation (UVR: closed circle) and photosynthetically active radiation exposure conditions (PAR: open circle) in the laboratory

(F_V/F_M)은 인공자외선에 노출된 후 시간에 따라 감소하는 경향이 두드러지게 나타나고 있으며(0.35~0.11), 광합성 유효광에서도 감소하는 경향을 보이고 있다(0.35~0.12). *P. pouchetii*의 탄소순환속도(Total carbon turnover rate)는 광 조건에 상관없이 상당히 낮은 0.011~0.066/day의 값을 보이고 있다(Table 1). 각 엽록소 당 탄소고정속도(Chl.a specific productivity)는 배양초기(24시간)에는 높은 값을 보인 후 배양시간이 지남에 따라 감소하는 경향을 보이고 있다(Table 1). 이러한 경향은 총 탄소고정속도와 유사한 경향을 보이고 있다. 탄소순환속도는 광합성 유효광과 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii* 모두 72시간까지 비슷한 값을 보이고 있으나, 광합성 유효광에 노출된 세포는 72시간 이후 다시 증가하고, 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*는 96시간에 가장 낮은 값(0.011/day)를 보인 후 증가하고 있다. 그러나 엽록소의 농도는 배양시간 동안 거의 비슷한 값을 보이고 있으며, 인공자외선에 노출된 *P.*

Fig. 3. Maximum quantum efficiency of photochemistry (F_V/F_M) of two phytoplankton species. (a) *Phaeocystis pouchetii* (b) *Porosira glacialis*. (closed circle: initial, open circle: Dark incubation, reversed closed triangle: exposed PAR, open triangle: exposed UVR)

Table 1. Turnover rate (/day) of total carbon and mycosporine-like amino acids (M-335) and Chl.a specific carbon fixation rate ($\mu\text{gC}/\mu\text{gChl.a/d}$) of *P. pouchetii*

	Total carbon (turnover rate (/day))		Chl.a specific productivity ($\mu\text{gC}/\mu\text{gChl.a/d}$)		MAAs (turnover rate (/day))	
	PAR	UVR	PAR	UVR	PAR	UVR
24h	0.030	0.029	1.806	1.902	0.00004	0.00013
48h	0.027	0.034	0.801	1.153	0.00028	0.00045
72h	0.032	0.032	0.596	0.753	0.00049	0.00051
96h	0.047	0.011	0.585	0.489	0.00071	0.00086
120h	0.066	0.056	1.043	0.688	0.00090	0.0013

*pouchetii*는 평균 $4.52 \mu\text{g l}^{-1}$ 의 값을 보이고 광합성 유효광에 노출된 cell의 엽록소의 평균 $5.55 \mu\text{g l}^{-1}$ 의 값을 보이고 있다(Fig. 4a). 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*의 엽록소 농도는 광합성 유효광에 노출된 cell의 농도 보다 낮은 값을 보이고 있다.

Fig. 4. Chlorophyll concentrations in (a) *Phaeocystis pouchetii* and (b) *Porosira glacialis*. (black bar: initial, gray bar: dark incubation, dark gray bar: exposed PAR, light gray bar: exposed UVR)

규조류인 *P. glacialis*의 실험 결과, 탄소고정속도는 *P. pouchetii*와 비슷한 경향으로 시간에 따라 감소하는 것을 볼 수 있다(Fig. 2b). 초기 24시간 배양된 *P. glacialis*은 인공자외선에 노출시 광합성 유효광보다 낮은 $27 \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 값을 보이고 광합성 유효광에 노출시 인공자외선에 노출된 세포 보다 높은 $33.39 \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 의 값을 보이고 있다. 배양이 끝난 120시간 이후 인공자외선에 노출된 *P.*

*glacialis*은 $6.5 \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 값을 보였으며, 광합성 유효광에 노출된 세포는 $14.08 \mu\text{gC l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 의 탄소고정속도를 보이고 있다. 또한 광합성 효율(F_v/F_m) 값 또한 시간에 따라 감소하는 경향이 보이고, 특히 48시간 이후 급격하게 떨어지는 것을 볼 수 있으며 이러한 경향은 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*에서 더 낮은 값을 보이고 있다(Fig. 3b). *P. glacialis*의 탄소순환속도는 *P. pouchetii* 보다는 약간 높은 값($0.04 \sim 0.1/\text{day}$)을 보이고 있으며, 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*은 거의 비슷한 탄소순환속도를 보이는 반면 광합성 유효광에 노출된 cell은 72시간까지 증가한 후 다시 감소하는 높은 변동성을 보이고 있다(Table 2). 또한 *P. glacialis*의 각 엽록소 당 탄소고정속도 역시 총 탄소고정속도와 비슷한 경향을 보이고 있다. 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*의 엽록소 농도는 배양하는 동안 변화가 심하지만($15.8 \sim 24.2 \mu\text{g l}^{-1}$), 광합성 유효광에 노출된 cell은 96시간까지 증가 후 120시간 이후에는 약간 감소하는 것을 보이고 있다(Fig. 4b).

식물플랑크톤(*Phaeocystis pouchetii*, *Porosira glacialis*)의 MAAs 농도 및 생산속도 변화

실내 배양된 극지 식물플랑크톤 2종(*Phaeocystis pouchetii*, *Porosira glacialis*)은 유해한 환경으로부터 생존하기 위해 자외선 흡수 물질을 생체 내 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며, 극지 지역에 우점하고 있는 것으로 알려진 종이다(Riegger and Robinson 1997). 본 실험 결과 prymnesiophyte 분류군 중 *P. pouchetii* 종은 최대 흡광도 335 nm를 보이고 있는 M-335 한 종류만을 가지고 있는 것으로 확인된 반면, *P. glacialis*은 shinorine과 porphyra-334 두 종류의 자외선 흡수물질을 가지고 있는 것으로 확인되었다. *P. pouchetii*의 MAA 농도는 초기(0 h) $1.15 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 값을 가진 이후 시간이 지남에 따라 농도가 증가하는 경향을 보이고 있다(Fig. 5). 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*의 MAA 농도는 120시간 이후에는 $13.7 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 값을 보이고 있으며, 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 MAA 농도는 $8.7 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 값을 보이고

Table 2. Turnover rate (/day) of total carbon and mycosporine-like amino acids (shinorine and porphyra-334) and Chl.a specific carbon fixation rate ($\mu\text{gC}/\mu\text{gChl.a/d}$) of *P. glacialis*

	Total carbon (turnover rate (/day))		Chl.a specific productivity ($\mu\text{gC}/\mu\text{gChl.a/d}$)		Shinorine (turnover rate (/day))		Porphyra-334 (turnover rate (/day))	
	PAR	UVR	PAR	UVR	PAR	UVR	PAR	UVR
24h	0.040	0.043	1.880068	1.133851	0.0030	0.0032	0.0006	0.0006
48h	0.059	0.056	0.874571	0.89573	0.0070	0.0053	0.0012	0.0009
72h	0.102	0.036	0.789539	0.457792	0.0083	0.0063	0.0011	0.0009
96h	0.046	0.049	0.214531	0.335488	0.0060	0.0055	0.0010	0.0008
120h	0.085	0.049	0.629695	0.429734	0.0071	0.0066	0.0015	0.0010

Fig. 5. Concentration of Mycosporine-like amino acids. (a) M-335 in *Phaeocystis pouchetii* (b) shinorine in *Porosira glacialis* (c) porphyra-334 in *Porosira glacialis*. (black bar: initial, gray bar: dark incubation, dark gray bar: exposed PAR, light gray bar: exposed UVR)

있다. 광합성 유효광과 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*의 MAA 농도는 시간에 따라 증가 양상을 모두 보이고 있으나 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii* 보다 인공자외선에 노출시 2배 정도 더 빠르게 증가하는 것을 볼 수

Fig. 6. MAA production rates of two phytoplankton species, (a) *Phaeocystis pouchetii* and (b) *Porosira glacialis*

있다. 또한 MAA 생산속도에서도 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*의 새로운 MAA의 생산속도가 광합성 유효광에 노출된 cell보다 높은 경향을 보이고 있다(Fig. 6). 각 인공자외선과 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 MAA 생산속도는 인공자외선에 120시간 노출 후 $6.95 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 의 값을 보이는 반면 광합성 유효광에 120시간 노출 후 $3.53 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 값으로 보다 낮은 생산성을 보이고 있다. *P. pouchetii*(M-335)의 탄소순환속도에서도 인공자외선(최대 $0.00136/\text{day}$)에 노출된 경우 광합성 유효광(최대 $0.0009/\text{day}$)보다 빠른 것을 볼 수 있다(Table 2).

그러나 구조류인 *P. glacialis*의 MAAs는 shinorine (λ_{max} : 334 nm)와 porphyra-334(λ_{max} : 334 nm) 두 종류의 MAAs를 가지고 있는 것을 확인하였으며, shinorine과 porphyra-334의 농도는 광조건과 시간에 관계없이 거의 비슷한 값을 유지하고 있는 것을 보이고 있다(Fig. 5). 광합성 유효광과 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*의 MAAs 생산성은 또한 광조건에 관계없이 비슷한 경향을 보이고 있다(Fig. 6). 광합성 유효광에 노출된 세포의 MAAs 생산성이 인공자외선에 노출된 세포보다 많은 것을 볼 수 있으며, 광 조

건에 상관없이 *P. glacialis*의 MAAs 중 shinorine 보다 porphyra-334가 높게 나타내고 있다. Shinorine의 농도는 광합성 유효광과 인공자외선에서 평균 $0.638 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 와 $0.64 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 값을 보이고 있는 반면 porphyra-334의 농도는 광합성 유효광에서 평균 $5.8 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 과 인공자외선에서 평균 $5.83 \mu\text{g}/\mu\text{g Chl.a}$ 값을 보이고 있다. 또한 각 MAAs의 생산성은 120시간 배양 후 광합성 유효광에 노출된 *P. glacialis*의 shinorine은 $12.04 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, porphyra-334는 $23.46 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 의 값을 보이며, 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*의 shinorine은 $9.89 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$, porphyra-334는 $15.4 \text{ pgC l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ 의 값을 보였다. 또한 각 MAAs의 탄소순환속도에서는 오히려 shinorine(광합성유효광은 평균 $0.0063/\text{day}$, 인공자외선은 평균 $0.0054/\text{day}$)이 porphyra-334(광합성유효광은 평균 $0.0009/\text{day}$, 인공자외선은 평균 $0.0009/\text{day}$)보다 빠른 순환속도를 보이고 있으며, 인공자외선에 노출된 경우보다 광합성 유효광에 노출된 세포가 약간 더 빠른 것을 볼 수 있다(Table 2).

배양 실험 기간 중 Photo-protective pigment 농도

식물플랑크톤 내 카로틴 색소 중 β -carotene과 diadino-

xanthin은 대표적인 광 보호 색소로서 알려져 있다(Laurion et al. 2002). 이 연구에서는 HPLC를 이용하여 *P. pouchetii*와 *P. glacialis*의 β -carotene과 diadinoxanthin을 시간에 따라 분석하였다. *P. pouchetii*의 β -carotene과 diadinoxanthin의 초기 농도는 $0.76 \mu\text{g l}^{-1}$ 과 $0.24 \mu\text{g l}^{-1}$ 로 나타났다(Fig. 7). *P. pouchetii*의 β -carotene의 경우 암배양과 광합성 유효광하에 배양된 변화 양상은 비슷한 경향을 보이고 있지만 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*는 48시간 노출 후 가장 높은 값($0.43 \mu\text{g l}^{-1}$)을 나타내고 있다. 이와 비슷한 경향으로 암배양과 광합성유효광하에 노출된 *P. pouchetii*의 diadinoxanthin의 변화양상은 비슷하게 나타났으나, 인공자외선에 노출된 cell의 diadinoxanthin 농도의 변화는 β -carotene 보다는 좀더 늦게 반응하며 노출된 후 96시간에 가장 최대값인 $1.59 \mu\text{g l}^{-1}$ 를 나타내고 있다.

*P. glacialis*의 β -carotene과 diadinoxanthin의 초기 농도는 각각 $2.75 \mu\text{g l}^{-1}$ 와 $1.45 \mu\text{g l}^{-1}$ 로 *P. pouchetii*보다 상당히 높은 농도를 함유하고 있다(Fig. 7). β -carotene은 노출 시간에 따라 모두 감소하고 있지만, 광합성 유효광하에 노출된 *P. glacialis*의 β -carotene은 48시간($2.11 \mu\text{g l}^{-1}$)까지 약간 증가하다가 이후 $1.42 \mu\text{g l}^{-1}$ (120시간 노출 후)로

Fig. 7. Concentration of carotenoids of two phytoplankton species: (a) β -carotene of *P. pouchetii*; (b) diadinoxanthin of *P. pouchetii*; (c) β -carotene of *P. glacialis*; (d) diadinoxanthin of *P. glacialis* (closed circle: initial, open circle: Dark incubation, reversed closed triangle: exposed PAR, open triangle: exposed UVR)

감소하는 특징을 볼 수 있다. 반면, 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*는 24시간($1.99 \mu\text{g l}^{-1}$) 이후 120시간($0.86 \mu\text{g l}^{-1}$)까지 연속적으로 감소하고 있다. 그러나 광보호 색소인 diadinoxanthin은 노출시간에 따라 증가하는 것을 볼 수 있다. 광합성 유효광에 노출된 경우, 120시간 배양까지 최대 $4.89 \mu\text{g l}^{-1}$ 값을 보이고 있으며, 인공자외선에 노출된 *P. glacialis*는 96시간($4.16 \mu\text{g l}^{-1}$)까지 증가하다가 이후 120시간에는 $2.64 \mu\text{g l}^{-1}$ 로 감소한 것을 볼 수 있다.

4. 고찰

실내 인공자외선 노출실험에 사용된 극지 식물플랑크톤 2종(*Phaeocystis pouchetii*, *Porosira glacialis*)은 초기 엽록소의 농도 $5.32 \mu\text{g l}^{-1}$ (*P. pouchetii*)와 $18.85 \mu\text{g l}^{-1}$ (*P. glacialis*)에서 노출실험을 실시하였으며, 엽록소 농도의 경우 빛 조건에 따라 큰 차이를 보이지 않고 있다(Fig. 4). 그러나 ^{13}C 추적자를 이용하여 계산된 탄소고정속도 및 탄소순환속도는 각 식물플랑크톤의 노출 실험 초기 상태에 이미 최대 성장에 도달한 상태에서 실험이 실시된 것으로 사료되며, 이후 빛에 대한 각 식물플랑크톤의 반응은 엽록소의 농도 보다 ^{13}C 추적자를 이용한 실험 결과에서 더 민감한 반응을 나타내고 있다(Table 1, 2, Fig. 2). 그러므로, 이 연구 결과는 광합성을 하는 식물플랑크톤이 빛에 에너지를 이용하여 유기물 합성을 하고 생체 내 에너지 전달 과정을 이해하는데 도움을 줄 것으로 사료되며, 현장 식물플랑크톤의 대발생 이후 자외선 노출에 따른 각 식물플랑크톤 군집 내 자외선 흡수 물질 및 광보호 색소의 변화를 이해할 수 있는 자료를 제공할 수 있다.

북극 해양에 널리 분포하고 있는 *Phaeocystis pouchetii*는 다양한 생활사를 가지고 있다(Kang and Kang 1998). 하계 동안 해수 중에 편모형성 단세포 상태로 존재하다가 겨울이 되면서 결빙된 해빙 속에서 편모가 상실된 단세포로서 휴면상태로 존재한다. 봄이 되어 해빙이 융빙되면서 해빙 주변 해역에서 휴면상태의 단세포가 성장을 시작하면서 점액물질을 분비하는 군체를 형성하는 생활사로 전환되면서 대발생을 이루는 북극해 탄소순환에 중요한 역할을 하는 식물플랑크톤이다(Garrison et al. 1987; Fryxell and Kendrick 1988; Marchant et al. 1991; Kang and Kang 1998). 군체 형성 *Phaeocystis pouchetii* 세포들은 250에서 370 nm 사이에 강한 흡광도를 보이나, 편모형성 단세포의 생활사에서는 자외선 흡수 물질이 결여되었다고 보고하고 있다(Marchant et al. 1991). 그러나 남극해 우점하는 *Phaeocystis antarctica*의 단세포 생활사의 경우 305 nm에서 340 nm 사이에 최대 흡광도를 보이는 알려지지 않는 물질이 존재하고 있다고 보고하고 있으며(Riegger and Robinson 1997) 이 연구 결과에서도 단일 세포를 배양한

후 인공자외선에 노출시킨 결과, *P. pouchetii*는 335 nm에서 최대 흡광도를 보이고 있다. 그러나 단일 배양된 *P. pouchetii*의 MAA 농도는 상당히 낮은 것을 볼 수 있으며, *P. pouchetii*의 경우 이러한 자외선 흡수 물질은 군체를 형성 후 대부분 자외선 흡수물질을 생성하며 250~370 nm에서 강한 흡광도를 보이고, 최대흡광도 271~323 nm를 갖고 있다고 보고하고 있다(Marchant et al. 1991). 인공자외선과 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*은 암배양된 세포에 비해 MAAs의 농도가 증가하고 있으나 탄소고정속도는 배양시간에 따라 상당히 감소하고 있는 것을 볼 수 있다. 자외선 흡수물질의 생산성 역시 증가하고 있는 것을 볼 수 있는 반면 광합성 효율 및 생체량은 감소하고 있다. 연구 결과에서 자외선 흡수 물질의 농도가 증가되는 결과와 탄소고정속도가 줄어드는 결과가 상충하고 있다. 이는 자외선에 노출 시 세포 내 자외선 흡수 물질의 농도가 증가되고 있으나 1차 생산속도가 줄어드는 것은 식물플랑크톤 생리 활성도에 자외선이 영향을 주고 있다는 증거가 될 수 있으며, 세포 내 자외선 흡수 물질의 농도가 증가하나 불충분하기 때문이다. 또한 자외선은 식물플랑크톤의 성장에는 영향을 주지 않고, 자외선 흡수물질(MAAs)을 생성하면서 각각의 세포 크기만 증가시킨다는 보고가 있으며(Wängber et al. 1997; Hannach and Sigleo 1998), 강한 자외선에 노출된 식물플랑크톤의 생존 능력은 세포 보호나 회복, 회피 반응 등과 같은 세포 신진대사의 여러 가지 작용이 복합되어야 생존을 유지할 수 있기 때문에 두 결과가 상반되는 것으로 보인다(Riegger and Robinson 1997).

광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 경우 역시 MAA 생산성 증가 경향이 인공자외선에 노출된 *P. pouchetii*의 MAA 생산성 보다는 낮지만 증가하고 있다(Fig. 6). 기존 연구 결과와 비교했을 때, 와편모조류인 *Gyrodinium dorsum*의 경우 MAAs의 생체 내 축적은 광합성 유효광 또는 중파자외선의 자극에 의해 강하게 유도되고(Klisch and Häder 2004; Singh et al. 2008), *Phaeocystis Antarctica*의 경우 MAAs 유도는 광합성 유도광 또는 중파 자외선에 의해 합성되며, 광합성 유효광의 세기에 따라 MAAs 농도가 다르게 나타날 수 있다(Moisan and Mitchell 2001). MAAs의 세포 내 조성은 광도에 따라 다양하게 반응, 합성되고 있으며 게다가 각각의 MAAs 화합물들은 광합성 유효광 및 자외선 파장에 따라 영향을 받고 있는데, 이러한 MAAs 생성기작에 대한 광 반응은 식물플랑크톤 종에 따라 다르게 나타난다(Karentz 2001). 한편, 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 탄소고정속도는 96시간까지 광저해를 받아 낮아진 후 점차 증가하여 식물플랑크톤의 생리 상태가 회복하고 있는 것을 볼 수 있다.

규조류의 경우, 자외선에 노출되면 자외선의 위험으로

부터 세포를 보호하기 위해 기본적으로 세포 밖의 규각이 30% 이상 자외선을 차단하는 것으로 알려져 있다 (Davidson et al. 1994; Karentz 2001). 또한 자외선과 세포 내 기관 사이에 해면조직(sponge), 상피 조직(cuticles), 갑각 조직(carapaces), 껍질(shells), 비늘(scales), 깃털(feathers), 모피(fur) 등은 자외선을 효과적으로 차단하고 있으며, 이러한 외부 표면은 세포 내 기관을 보호하기 위해 자외선의 95% 이상을 흡수하는 것으로 알려져 있다 (Karentz 1994; Rawlings 1996). 위와 같은 연구보고를 통하여, 규조류 *P. glacialis*의 두 종류의 자외선 흡수 물질(shinorine과 porphyra-334)은 모두 노출시간에 따라 일정한 농도를 유지하고 있으며, *P. pouchetii*보다 10배 이상 높은 값을 나타내고 있다. 그러나 *P. glacialis* 내 두 자외선 흡수 물질의 생산속도는 일정 시간 뒤 감소하는 경향을 보이고 있다. 따라서 외부 표면의 자외선 흡수 능력이 뛰어난 *P. glacialis*은 *P. pouchetii*와는 상반된 경향을 보이는 것으로 생각된다.

Phaeocysits sp. 같은 경우 남극 규조류 종보다 자외선 노출에 더 민감하게 반응한다는 보고(Marchant et al. 1991; Davidson et al. 1994; Riegger and Robinson 1997)와 함께 *Phaeocysits* sp.은 규조류 *Chaetoceros socialis*보다 자외선에 의한 성장률이 더 크게 저해를 받는다는 보고가 있다(Smith et al. 1992). 이 연구 결과에서도 자외선에 의한 탄소고정속도 저해를 *P. glacialis*보다 *P. pouchetii*가 더 크게 받고 있는 것으로 보인다. 인공자외선과 광합성 유효광에 노출된 *P. pouchetii*의 탄소고정속도

는 저해되지만 자외선 흡수 물질의 탄소고정속도는 오히려 증가하는 결과를 볼 수 있다. 이와 반대로 인공자외선에 노출된 규조류인 *P. glacialis*는 탄소고정속도가 억제되는 동시에 자외선 흡수 물질의 생산성 역시 감소하는 것을 볼 수 있다(Fig. 8). 비록 인공자외선에 의해 탄소고정속도 및 생체량이 저해되지만 *P. glacialis* 세포 내에서는 선택적으로 자외선에 의한 산화 스트레스를 해소하기 위해 생성하는 에너지 중 일부를 자외선 흡수 물질 생성에 사용하는 것으로 사료된다. 따라서 *P. pouchetii* 경우 자외선에 노출시 생존 효율을 높이기 위해 자외선 흡수 물질의 생성속도를 높이는 결과를 가져오고 (Marchant et al. 1991), 자외선의 노출이 심한 극지방 수계 내에서는 자외선 흡수 물질을 가지고 있지 않거나 적게 가지고 있는 규조류나 편모조류(phytoflagellates)와 공존시 자외선 보호 기작이 우월한 군체형성 *Phaeocystis* sp.가 우점할 가능성이 제기되었다(Yentsch and Yentsch 1982; Marchant et al. 1991). 따라서 *Phaeocystis* sp.가 우점하기 위해서는 MAAs포함된 점액물질 속에 세포가 존재하는 군체를 형성하여 보다 많은 자외선 흡수 물질을 분비하거나 군집을 통한 자체 차단을 해야 할 것으로 사료된다.

카로틴은 오렌지 색 계열의 색소로서 많은 생물체에서 강한 빛에 반응하여 광보호하는 역할을 하고 있다 (Goodwin 1986; Moeller et al. 2005). *P. pouchetii*의 광보호 색소인 카로틴의 농도 변화는 자외선에 노출시 β -carotene이 빠르게 반응하는 것을 볼 수 있으며, diadinoxanthine은 β -carotene보다 자외선에 늦게 반응하는 것을 볼 수 있다. 자외선에 노출시 카로틴 색소가 빠르게 증가하는 것은 카로틴이 자연상태에 광보호 색소 역할을 하는 그룹으로 알려져 있기 때문이며 자외선에 대해 빠르게 광적응 반응을 할 가능성이 있고, 강한 빛에 의해 세포 내 엽록체가 빠르게 분해되면서 그 산물로서 증가할 수도 있다(Falkowski and Owens 1980). 또한 자외선 노출 배양 시 초기 엽록소 증가로 인하여 카로틴의 빠른 생합성이 이루어질 수도 있기 때문이다(Goes et al. 1994). 자외선에 노출된 환경에서는 광보호 역할을 하기 위해서 카로틴 색소들이 농축되고, 이러한 경향은 표층에 서식하는 식물플랑크톤 군집에서 전형적으로 나타내는 현상이다 (Pearl et al. 1983; Ben-Amotz et al. 1989; Vernet et al. 1989; Laurion et al. 2002). 또한 이러한 색소들은 항산화제로서의 기능을 함으로서 자외선에 노출시 증가하는 경향을 보이고 있다(Dunlap and Yamamoto 1995). *P. pouchetii* 내 자외선 흡수물질인 MAAs의 증가와 함께 광보호 색소의 증가가 뚜렷이 있으며(Fig. 5와 7), 시간에 따른 반응의 차이와 전략적 선택을 볼 수 있다.

이상 본 연구로부터 *P. pouchetii*는 자외선에 노출시 광보호 물질의 생성이 활발한 것을 볼 수 있는 반면, *P.*

Fig. 8. Comparison between carbon fixation rates and MAA production rates. (a) *Phaeocystis pouchetii* and (b) *Porosira glacialis*.

*glacialis*는 자외선 흡수 물질 및 광보호 색소를 일정한 농도로 유지하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 극지 자외선에 노출되고 있는 식물플랑크톤 2종(*Phaeocystis pouchetii*, *Porosira glacialis*)에 대해 자외선 흡수 물질의 생산속도를 결정함으로써 자외선 노출 시간에 따른 극지 식물플랑크톤 세포내 생성되는 광보호 물질의 순차적 반응 차이 및 농도 변화를 규명할 수 있었다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 핵심연구사업(R01-2008-000-20244-0)의 지원으로 수행된 과제입니다. Shinorine과 porphyrin-334 표준물질을 제공해 주신 독일 Freiderich Alexander 대학 Häder 교수님께 감사드립니다.

참고문헌

- Adams NL, Shick JM (1996) Mycosporine-like Amino Acids Provide Protection Against Ultraviolet Radiation in Eggs of the Green Sea Urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Photochem Photobiol* **64**(1):149-158
- Behrenfeld MJ, Lean DRS, Lee HII (1995) Ultraviolet-B radiation effects on inorganic nitrogen uptake by natural assemblages of oceanic plankton. *J Phycol* **31**(1):25-36
- Ben-Amotz A, Shaish A, Avron M (1989) Mode of Action of the Massively Accumulated β -Carotene of *Dunaliella bardawil* in Protecting the Alga against Damage by Excess Irradiation. *Plant Physiol* **91**(3):1040-1043
- Bidigare RR, Ondrusek ME, Kennicutt II MC, Harvey HR, Hoham RW, Macko SA (1995) Evidence for a photo-protective function for secondary carotenoids of snow algae. *J Phycol* **29**(4):427-434
- Boelen P, De Boer MK, Kraay GW, Veldhuis MJW, Buma AGJ (2000) UVBR-induced DNA damage in natural marine picoplankton assemblages in the tropical Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* **193**:1-9
- Davidson AT, Bramich D, Marchant HJ, McMinn A (1994) Effects of UV-B irradiation on growth and survival of Antarctic marine diatoms. *Mar Biol* **119**(4):507-515
- Dohler G, Hagmeier E, Grigoleit E, Krause KD (1991) Impact of solar UV radiation on uptake of ^{15}N -ammonia and ^{15}N -nitrate by marine diatoms and natural phytoplankton. *Biochem Physiol Pflanz* **187**:293-303
- Dunlap WC, Yamamoto Y (1995) Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. *Comp Biochem Physiol* **112**:105-114
- Falkowski PG, Owens TG (1980) Light-Shadow Adaptation: Two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol* **66**(4):592-595
- Fryxell GA, Kendrick GA (1988) Austral spring microalgae across the Weddell Sea ice edge: spatial relationships found along a northward transect during AMERIEZ 83. *Deep-Sea Res Part A* **35**(1):1-20
- Garcia-Pichel F (1994) A model for internal self-shading in phylaktonic organisms and its implications for the usefulness of ultraviolet sunscreens. *Limnol Oceanogr* **39**(7):1704-1717
- Garrison DL, Buck KR, Fryxell GA (1987) Algal assemblages in antarctic pack ice and in ice-edge plankton. *J Phycol* **23**:564-572
- Goes JJ, Handa N, Taguchi S, Hama T (1994) Effect of UV-B radiation on the fatty acid composition of the marine phytoplankton *Tetraselmis* sp.: relationship to cellular pigments. *Mar Ecol Prog Ser* **114**:259-274
- Goodwin TW (1986) Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. *Annu Rev Nutr* **6**:273-297
- Guillard RRL, Ryther JH (1962) Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Can J Microbiol* **8**:229-239
- Häder DP, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (2007) Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochem Photobiol Sci* **6**(3):267-285
- Häder DP, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (1998) Effects on aquatic ecosystems. *J Photochem Photobiol B: Biol* **46**(1-3):53-68
- Hama T, Miyazaki T, Ogawa Y, Iwakuma T, Takahashi M, Otsuki A, Ichimura S (1983) Measurement of photosynthetic production of a marine phytoplankton population using a stable isotope. *Mar Biol* **73**:31-36
- Hannach G, Sigleo AC (1998) Photoinduction of UV-absorbing compounds in six species of marine phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* **174**:207-222
- Helbling EW, Chalker BE, Dunlap WC, Holm-Hansen O, Villafane VE (1996) Photoacclimation of antarctic marine diatoms to solar ultraviolet radiation. *J Exp Mar Biol Ecol* **204**(1-2):85-101
- Helbling EW, Villafane V, Ferrario M, Holm-Hansen O (1992) Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Mar Ecol Prog Ser* **80**:89-100
- Jeffrey SW, Wright SW (1997) Qualitative and quantitative HPLC analysis of SCOR reference algal cultures. In: Jeffrey SW, Mantoura RFC, Wright SW (eds), *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*, vol 10. UNESCO Monographs on Oceanographic Methodology, Paris, pp 343-360

- Kang SH, Kang JS (1998) *Phaeocystis antarctica* Karsten as an indicator of environmental changes in the Antarctic. *Kor J Polar Res* **9**(1):17-35
- Karentz D (1994) Prevention of ultraviolet radiation damage in Antarctic marine invertebrates. In: Biggs RH, Joyner M. Stratospheric ozone depletion/UVB radiation in the biosphere: Proceedings of NATO advanced research workshop. Springer-Verlag, Berlin, 175 p
- Karentz D (2001) Chemical defenses of marine organisms against solar radiation exposure: UV-absorbing mycosporine-like amino acids and scytonemin. In: McClintock JB, Baker BJ (eds) Marine chemical ecology. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp 481-520
- Karentz D, Cleaver JE, Mitchell DL (1991) Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *J Phycol* **27**(3):326-341
- Klisch M, Häder DP (2002) Wavelength dependence of mycosporine-like amino acids synthesis in *Gyrodinium dorsum*. *J Photochem Photobiol B: Biol* **66**:60-66
- Laurion I, Lami A, Sommaruga R (2002) Distribution of mycosporine-like amino acids and photoprotective carotenoids among freshwater phytoplankton assemblages. *Aquat Microb Ecol* **26**:283-294
- Lorenzen CJ (1979) Ultraviolet radiation and phytoplankton photosynthesis. *Limnol Oceanogr* **24**(6):1117-1120
- Marchant HJ, Davidson AT, Kelly GJ (1991) UV-B protecting compounds in the marine alga *Phaeocystis pouchetii* from Antarctica. *Mar Biol* **109**(3):391-395
- Moeller RE, Gilroy S, Williamson CE, Grad G, Sommaruga R (2005) Dietary acquisition of photoprotective compounds (mycosporine-like amino acids, carotenoids) and acclimation to ultraviolet radiation in a freshwater copepod. *Limnol Oceanogr* **50**(2):427-439
- Moisan TA, Mitchell BG (2001) UV absorption by mycosporine-like amino acids in *Phaeocystis Antarctica* Karsten induced by photosynthetically available radiation. *Mar Biol* **138**:217-227
- Park MO, Park JS (1997) HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *J Oceanol Soc Korea* **32**:46-55
- Pearl HW, Tucker J, Bland PT (1983) Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnol Oceanogr* **28**:847-857
- Rawlings TA (1996) Shields against ultraviolet radiation: an additional protective role for the egg capsules of benthic marine gastropods. *Mar Ecol Prog Ser* **136**:81-95
- Riegger L, Robinson D (1997) Photoinduction of UV-absorbing compounds in Antarctic diatoms and *Phaeocystis antarctica*. *Mar Ecol Prog Ser* **160**:13-25
- Roy S (2000) Strategies for the minimization of UV-induced damage. In: de Mora S, Demers S, Vernet M (eds) The effects of UV radiation in the marine environment. Cambridge University Press, Cambridge, pp 177-205
- Shick JM, Dunlap WC, Chalker BE, Banaszak AT, Rosenzweig TK (1992) Survey of ultraviolet radiation absorbing mycosporine-like amino acids in organs of coral reef holothuroids. *Mar Ecol Prog Ser* **90**:139-148
- Singh SP, Kumari S, Rastogi RP, Singh KL, Sinha RP (2008) Mycosporine-like amino acids (MAAs): Chemical structure, biosynthesis and significance as UV-absorbing/screening compounds. *Ind J Exp Biol* **46**:7-17
- Sinha RP, Häder DP (2002) Life under solar UV radiation in aquatic organisms. *Adv Space Res* **30**(6):1547-1556
- Sinha RP, Häder D-P (2008) UV-protectants in cyanobacteria. *Plant Sci* **174**(3):278-289
- Sinha RP, Singh SP, Häder DP (2007) Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals. *J Photochem Photobiol B: Biol* **89**(1):29-35
- Smith RC, Prezelin B, Baker KS, Bidigare RR, Boucher NP, Coley T, Karentz D, Macintyre S., Matlick HA, Menzies D, Ondrusek M, Wan Z, Waters KJ (1992) Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters. *Science* **255**:952-959
- Sommaruga R, Garcia-Pichel F (1999) UV-absorbing compounds in planktonic and benthic organisms from a high-mountain lake. *Arch Hydrobiol* **144**:225-269
- Tartarotti B, Sommaruga R (2002) The effect of different methanol concentrations and temperatures on the extraction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in algae and zooplankton. *Arch Hydrobiol* **154**(4):691-703
- Vernet M, Neori A, Haxo FT (1989) Spectral properties and photosynthetic action in red-tide populations of *Prorocentrum micans* and *Gonyaulax polyedra*. *Mar Biol* **103**(3):365-371
- Vernet M, Whitehead K (1996) Release of ultraviolet-absorbing compounds by the red-tide dinoflagellate *Lingulodinium polyedra*. *Mar Biol* **127**(1):35-44
- Volkman M, Gorbushina AA (2006) A broadly applicable method for extraction and characterization of mycosporines and mycosporine-like amino acids of terrestrial, marine and freshwater origin. *FEMS* **255**(2):286-295
- Whitehead K, Karentz D, Hedges JI (2001) Mycosporine-like amino acids (MAAs) in phytoplankton, a herbivorous pteropod (*Limacina helicina*), and its pteropod predator (*Clione antarctica*) in McMurdo Bay, Antarctica. *Mar*

- Biol **139**(5):1013-1019
- Wägberg Sk, Persson A, Karlson B (1997) Effects of UV-B radiation on synthesis of mycosporine-like amino acid and growth in *Heterocapsa triquetra* (Dinophyceae). J Photochem Photobiol B: Biol **37**(1-2):141-146
- Xiong F, Kopecky J, Nedbal L (1999) The occurrence of UV-B absorbing mycosporine-like amino acids in freshwater and terrestrial microalgae (Chlorophyta). Aqua Bot **6**(1): 37-49
- Yentsch CS, Yentsch CM (1982) The attenuation of light by marine phytoplankton with special reference to the absorption of near-UV radiation. In: Calkins J (ed) The role of solar ultraviolet radiation in marine ecosystems. Plenum, New York, pp 691-706
- Zapata M, Rodriguez F, Garrido JL (2000) Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C-8 column and pyridine-containing mobile phases. Mar Ecol Prog Ser **195**:29-45
-

Received Aug. 8, 2010

Revised Oct. 4, 2010

Accepted Nov. 14, 2010