

Chlorella variegata 의 Glukose 培養에 있어서의 Chlorophyll 增減關係에 關한 研究

李 賢 順

(成均館大學校 生物學科)

Ueber die Chlorophyllbildung von *Chlorella variegata* bei Glukose-Anzucht

Hyon Soon Lee

(Biologie Department Sung Kyun Kwan Universität)

Abstrakt

Wir haben das Wachstum und Chlorophyllzunahme und -abnahme bei der Autotroph-, Mixotroph-, und Heterotrophanzucht analysiert, und ob Glukose-Chlorose von Stickstoffmangel verursacht wird, oder Glukose die Chlorophyllbildung unterdrückt, und wie Lipid und Stärke gebildet worden ist. Wir wollten bei Glukose-Chlorose Zucker, Stickstoff und Chlorophyll drei Verhältnisse untersuchen. *Chlorella variegata* fehlte Nitrat-Reduktase. Sie wächste nicht mit KNO_3 als stickstoffquelle und bildete kein chlorophyll bei Heterotroph und unterdrückte chlorophyllbildung bei Mixotroph. Akkumulation von Lipid und Stärke war nicht so viel wie bei Mineralsalz mangelchlorose. *Chlorella variegata* brauchte nicht CO_2 die Oxydationsphosphorylierung aber O_2 ist nötig. Durch DNP und Fluoracetat blockierte *Chlorella variegata* die oxydationsphosphorylierung. Zell-Vermehrung und Kohlenhydratbildung sind reduziert worden, aber chlorophyll bildete sich nicht normal.

緒 論

Mineralsalmangel-Chlorose 에 關한 Denffer(1948), Aach (1952), Fogg(1953), (1956), Pirson(1955), Pirson u. Badour(1959), Eyster et al (1958) 等の 報告와 強한 光線과 O_2 存在下에 있어서의 Photo-oxydation 에 對한 Egle (1956), Kandler(1958) 報告等이 高等植物에서나 藻類에 있어서 많은 報告가 있다. 이들 報告에 依하면 結局 이 Chlorose 는 N-Mangel 에 起因할것이라고 結論되고 있는데 筆者는 *Chlorella* 의 唯一한 種類로서 Glukose-Chlorose 를 이 르키는 *Chlorella variegata* Beijerinck(211, 10a)에 있어서도 果然 N-Mangel 이 어떤 關係를 가지고 있는 것인지 또는 Glukose 自體가 어떤作用으로 Chlorose 를 誘起하는 것인지를 알고져 하였다.

이와같은 問題에 對하여 Beijerinck(1904), Chodat (1913), H. Meyer (1933), 等은 *Chl. var.* 에 있어서 Agar-Glukose 培養으로 Glukose-Chlorose 를 調査

한바있고 Gaffron, H. (1939)은 Glukose 液體培養으로 報告한바 있다. 이 結果는 N-Mangel 에 對해서는 言及한바없으나 Zucker 自體가 어느程度 Chlorose 의 要因이 될 것이라고 報告한바 있다. 이에 筆者는 *Chl. var.* 에 있어서의 Chlorose 가 果然 N-Mangel 에 依한 것인가 또는 Zucker 에 起因하는 것인가를 究明코져 Autotroph, Mixotroph, Heterotroph 下에서 여러 種類의 Media 에 *Chl. var.* 를 培養하여 그 生長과 Chlorophyll 의 增減을 測定하고 Mineralsalz-Mangel-Chlorose 에서 처럼 Lipid, Stärke 가 많이 蓄積되어 Chlorose 가 일어나는가를 調査하고 Zucker, N, Chlorophyll 의 三者間의 相互關係를 究明한바 이에 그 成績을 報告코져 한다.

材料 및 方法

Chlorella variegata 의 培養: 材料는 Göttingen Pflanzenphysiologisches Institut 의 Algensammlung 에서 얻은 *Chlorella variegata* Beijerinck(211/10a)를

使用했다 Stammkultur 는 室溫(25°C)에서 Agar-배양 (Proteose-Agar)을 했고 이 Agar 배양으로 부터 分離하여 300ml의 Erlenmeyer-Kolben 에 約 100ml의 Normal-Nährlösung에 옮겨 배양하고 이 Vorkultur 를 約 2週日 室溫(25°C)에서 배양한 後 다시 Normal 液體培地에 옮겨 本實驗에 使用하였다. 이때의 Normal 배양은 Kuhl(1962)培地를 若干 변경하여 Phosphor 를 $1/50$ Mol 로 했고 0.1% Hefeextrakt (HE)를 加해주었고 언제나 1氣壓下의 Sterilisation 을 扨 後 使用했다. *Chlorella* 의 배양은 Lorenzen (1959) 方法에 依하였고 溫度는 25°C, 光線은 5,000 Lux 를 유지하였다. 모든 實驗은 우선 *Chlorella* Suspension 을 遠心分離로 Nährlösung 을 分離하고 2回 증류水로 洗고 증류水로서 原容積으로 채운다음 실험에 提供했다. *Chlorella* 細胞의 破壞는 Glasperlen (0.45~0.50mmφ)를 使用하여 2分間 粉碎하였다.

Trockengewicht(TG)측정: Aluminiumfolie 로 만든 Tiegel 로 7時間 동안 105°C에서 건조시켜 秤量 하였다.

Kohlenhydrat(KHO)측량: Roe, J.H(1955)法에 依했다.

Chlorophyll(Chl)측량: 96% Methanol 로 抽出해서 그 抽出液에서 Chlorophyll 은 650m μ 와 665m μ 에서 Carotinoid 는 主로 Xanthophyll 임으로 440m μ 로 Zeiss-spektrophotometer 로 測定했고 計算은 Mackinney(1941)에 依했는데 그 公式는 다음과 같다. Gesamt-chlorophyll = $0.4 \cdot 10^{-2} E_{665} + 2.55 \cdot 10^{-2} E_{650}$

總窒素定量(N): Kjeldahl 方法에 依하고 protein 양은 여기에 6.25 倍를 곱하여 算出하였다.

Lösliche Stickstoff(lös. N): 5%, Trichloressigsäure 를 써서 Pirie(1955) 方法에 依하여 다시 Kjeldahl 方法으로 定量했다.

Lipid 정량: Äther-Soxhlet 方法에 依했다.

Stärke 측량: Wolf(1965)氏方法에 依했다.

Strukturprotein: Böger(1963)氏方法에 依했다.

Nitratreduktase: Franz ch. Czygan(1963)氏方法에 依하였다.

Xanthophyll 분리: Hager A.U., Bertenrath T. (1962)의 Dünnschichte Chromatographie 에 依하여 分離하였다.

結果 및 考察

Autotroph-배양: *Chlorella variegata*(211/10a)를 液體培養에 있어서 KNO₃ 를 唯一한 N-源으로 배양

했을 때 자라지 않았고 KNO₃/P 관계를 1:3.3 代身 1:0.66 로 했을 때도 자라지 않았다. 이 Medium 에 0.1% Hefeextrakt 를 加하면 뚜렷이 成長 增殖이 일어났으나 곧 停止상태가 되었다(Abb.1 a)

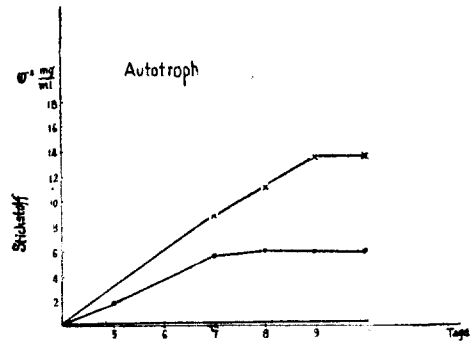


Abb. 1a. *Chlorella variegata* Beijerinck(2111.10a): Zunahme des Stickstoffs per ml Algensuspension bei Autotrophanzucht unter verschiedenen Bedingunge. Gesamtaminosäure(X), Nitrat mit 0,1% Hefeextrakt oder nur 0,1% Hefeextrakt (O), Nitrat und Vitamin B₁, B₁₂, Viotin(-).

Hefeextrakt 는 여러가지 Vitamin 특히 B₁ 과 B₁₂ Viotin 또는 Amino 酸이 들어있고 주어진濃度는 95 rN/ml 임으로 여기에 問題가 온것은 *Chlorella variegata* 가 Autotroph 에서 KNO₃ 로 자라지않은 것은 Vitamin 缺乏인가 또는 Nitratreduktion 能力이 없는가 또는 Hefeextrakt 의 Amino 酸에 依해서 자라는가를 알기 爲해서 KNO₃ Medium 에 Vitamin B₁ (0.1%), B₁₂(0.05%), 그리고 Viotin(0.1%)를 各 各 加하여 배양했는데 자라지 않았다(Abb.1). 비교 실험으로 KNO₃ 가 들어 있지 않은 Medium 에 0.1% Hefeextrakt 를 加해서 배양한 것은 뚜렷이 자랐다(Abb.1). 그러나 곧 停止상태에 들어갔다. 60 rN/ml 가 Hefeextrakt Medium 로부터 利用되어졌다. 또한 여러가지 Amino 산 混合物(그외의 N-또한 Vitamin 없이)을 加하니 자랐다(Abb.1) Hefeextrakt 로 자랐다는 것은 첫째로 有機窒素物이라는 것을 알게된 것이다. 그리고 이 細胞가 Nitrat 를 Reduktion 할수 없는지를 알기 위해서 Nitratreduktase 를 定量 했는데 같은 條件下에 *Chlorella luteoviridis*(211/2b) 는 平均 0.0025/Min. 에 對해서 Chl. var. 에서는 아무런 Enzymaktivität 를 증명할 수가 없었다.

그리고 다시 Chl. var. 가 Reduzierten N-有機窒素

가 아닌 無機窒素一밀어 자랄수 있는가를 보기로 했다. NH_4Cl (1.10^{-2} Mol)에 依해서는 자라고(PH 6.5~7). NH_4Cl 에 0.1%HE를 加하면 더욱 잘 자란다(Abb.1b) 여기에 $\text{B}_1, \text{B}_{12}$ 나 Viotin을 加했을 때는 더 잘 자라지 않았다. 이것은 Hefe의 Amino 산이 더 잘 자라게 하는 역할을 했다고 본다. Abb.2a가 보여주는 것처럼 NH_4Cl 배양의 TG나 全體 N의 成長(Abb.1b) 또는 Nitrat+0.1% HE 배양의 10日間의 成長을 보던 Nitrat+0.1% HE 배양의 即 不良好한 N-條件 밑에서는 Protein이나 Chlorophyll의 함량이 적었다. KHO는 反對로 높았다. NH_4Cl +0.1%HE에 있어서는 Chlorophyll含量이 0.1% HE 배양, NH_4Cl 뿐만의 배양에서 보다 5배가 더

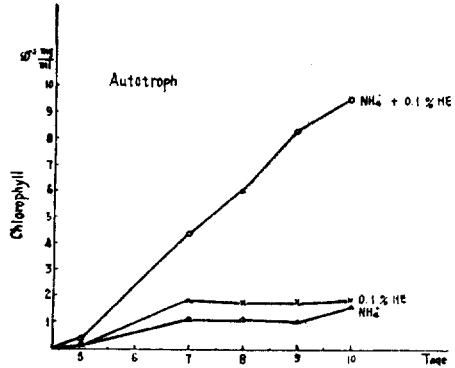


Abb. 2b. Zunahme des Chlorophylls unter verschiedenen Stickstoffbedingungen bei Autotrophanzucht.

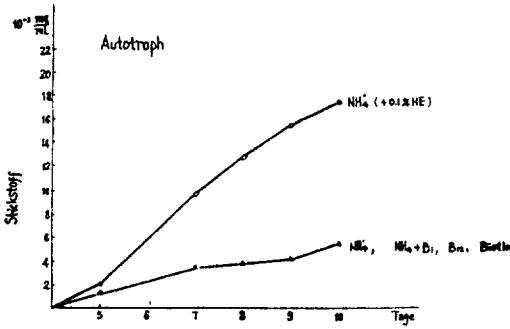


Abb. 1b. Zunahme des Stickstoffs bei Autotrophanzucht.

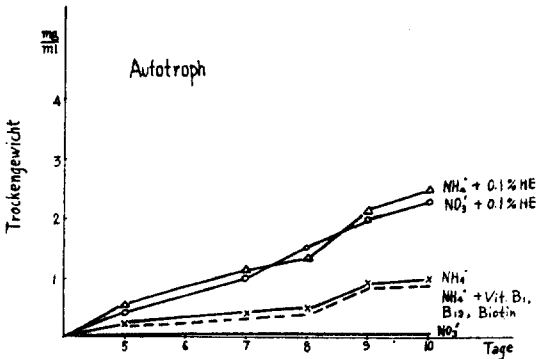


Abb.2a. Chlorella variegata(211.10a). Zunahme des Trockengewichts bei der Autotrophanzucht unter verschiedenen Bedingungen.

하였고 N合成은 약 3배이었다(Abb. 2b). 7日後에는 Chlorophyll의 증가가 더 없었다. 0.1%HE 배양에서나 NH_4Cl 배양에서는 Absolut-chlorophyll과 Chlorophyll/N量은 같았으나 Chlorophyll/TG는 0.1% HE 배양에서는 NH_4Cl 배양의 약 1/2이다.

Chl. var.를 또 다른 reduzierten-N, Urea ($1 \cdot 10^{-2}$ Mol)로 배양한 즉 자라지 않았다 아마도 이것은 Hattori A.(1960)의 Chl. ellipsoides에 대한 實驗처럼 Urease가 缺乏되어 尿素를 分解하여 reduzierten-N를 받아들일 能力이 없거나 또는 尿素自體를 받아들일 能力이 없는 것일 것이다. 비교배양으로서 尿素에 0.1%HE를 加한 것은 자라고 0.1% HE 배양의 경우와 같았다. 위와 같이 Chl. var.는 KNO_3 를 환원할 힘이 없었고(Nitratreduktase 결핍) NH_4Cl 에서는 자랄수 있었다 Autotroph 배양에서는 부가적인 Vitamin의 必要가 없고 Amino 산이 必要하다.

Heterotroph 배양 : Chl. var.의 Heterotroph條件下에서의 成長結果는 다음과 같다 이 Algen은 前番의 실험처럼 KNO_3 Medium에, 1% Glukose 添加될 때 Dunkel속에서는 자라지 않았다. 이 現象은 Meyer H.(1933)가 이미 報告한 것과 같고, Bergmann L.(1955)는 $\text{KNO}_3 + 1\% \text{ Glukose}$ 배양으로 Dunkel 또는 Light下에서 잘 자란다는 報告는 誤報일 것이다. 0.1%HE를 加하면 Autotroph 배양에 있어서처럼 成長증식을 하였다. NH_4Cl 배양에 있어서나 $\text{NH}_4\text{Cl} + 0.1\% \text{ HE}$ 배양에 있어서는 1% Glukose下에 잘 成長증식을 하였다. Abb. 3a는 各培養에 있어서의 Trockengewicht를 表示한 것이다.

Table 1. Heterotroph

Kultur Tage	KNO ₃ +0.1 %HE			NH ₄ ⁺			NH ₄ +0.1 %HE		
	KHO %	Prot %	Tot.	KHO %	Prot %	Tot.	KHO %	Prot %	Tot.
4	30	20	50	30	40	70	40	47	87
6	30	10	40	30	40	70	40	25	65
7	27	9	36	35	50	85	28	25	53
8	27	9	36	35	40	75	24	27	51
9	25	9	34	30	37	67	22	27	49
Mixotroph									
4	30	16	46	30	30	60	25	39	64
6	30	10	40	30	30	60	25	28	53
7	27	10	37	42	33	75	24	30	54
8	25	9	34	36	20	56	24	30	54
9	25	9	34	30	20	50	24	27	51
Autotroph									
4	7	25	32	10	35	45	6	30	36
6	26	32	58	20	48	68	10	56	63
7	27	25	52	20	45	65	12	56	68
8	27	19	46	14	32	46	12	46	58
9	28	17	45	15	34	49	12	46	58

各培養條件下에 各現狀을 더 明白히 하기 爲해서 Tabel 1e에 各各 KHO%/TG, Protein%/TG를 明示했다. 여기에서 볼수 있는 것은 가장 느리게 증식된 배양(全體物質增加로 決定)은 가장 好條件의 KHO/prot. 관계에서 볼수 있다. 9日間배양에 있어서 느리게 成長증식하는 NH₄Cl 배양의 細胞의 Protein 함량은 40%로 부터 37%로 줄고 KHO는 30~30%이다. 細胞全體成分은 KHO와 Protein을 合해서 70%이다.

NH₄Cl+0.1 HE 배양에 있어서 KHO/Prot. 관계는 KHO가 4배증가 된데 Prot./TG는 6일째에 처음 45%로 부터 25%로 줄었다. 이런 상태는 9日

까지 계속된다. KHO 함량은 기대한 것 처럼 증가하지 않고 40→22%로 줄었고, KHO와 Protein의全體細胞物質量은 줄어졌다(大略50%). N-缺乏에 있어서 多量의 Lipid를 含有하고 있다는 많은 報告가 있다 [Spoehr u. Milner(1949), Denffer(1948), Taylor(1950), Aach(1952), Fogg(1953)(1956)]. Lipid를 9日동안의 배양을 하여 定量을 했다. Lipid/TG 양은 10%부터 20%(NH₄Cl+0.1%HE 배양)이고, KNO₃+0.1HE 배양에서는 Protein이 20%부터 10%로 줄고, KHO는 30%부터 25%로 줄었는데 Lipid는 17%부터 30%로 증가했다. Aach(1952)의 N-缺乏에 있어서의 70% Lipid나 Spoehr u. Milner(1949)의 85.6%의 Lipid 증가는 比較가 안된다. 모든 3가지 條件下의 Glukose-Dunkel 배양에 있어서 Chlorophyll 合成이 이어나지 않는다. 우리가 한 Methanol Extrakt 方法으로서 Chlorophyll의 흔적을 모든 경우 Fluorescence-Mikroskop 下에서 빨간 Fluorescence 만을 쉽게 증명 할 수가 있었다. 그럼으로 모든 배양은 黃色이다. Carotinoid 含量에 있어서는 Xanthophyll이 가장 많았고 Tabelle 2에 表示하는 것 처럼 그량은 적었다.

Mixotroph 배양: 어둠속에서 Chlorophyll이 형성하지 않은 것은 光線의 役割인지 또는 다른것인지 또는 Glukose가 Chlorophyll 形成을 억제하는 것인지를 알기위해서 우선 光線의 役割을 보기로 했다. *Chl. var.*를 1% Glukose 存在下에 光線下에서 (5,000 Lux) 배양을 했다. TG 生成이 NH₄Cl 배양(+,-HE)에 있어서는 그것들의 Heterotroph 배양보다도 많았다. 0.1%HE 배양(+,-KNO₃)에 있어서는 같은 양의 TG 生成을 볼 수가 있었고 NH₄Cl 배양에 있어서는 뚜렷한 Chlorophyll의 生成이 있었다. 0.1%HE 배양에 있어서는 Heterotroph 배양 처럼 다만 흔적의 Chlorophyll 形成을 볼 수가 있었다. (Abb

Table 2. Xanthophyll bei Heterotroph

Kultur Tage	0.1% HE+KNO ₃		NH ₄ Cl		NH ₄ Cl+0.1%HE	
	Xanth. mg/ ml Kult Susp.	Xanth%/TG	Xanth. mg/ ml Kult Susp.	Xanth%/TG	Xanth. mg/ ml Kult Susp.	Xanth. %/TG
6	0.03·10 ⁻²	0.007	0.007·10 ⁻²	0.008	0.034·10 ⁻²	0.008
7	0.04·10 ⁻²	0.01	0.007·10 ⁻²	0.007	0.064·10 ⁻²	0.014
8	0.042·10 ⁻²	0.009	0.014·10 ⁻²	0.008	0.076·10 ⁻²	0.018
9	0.043·10 ⁻²	0.01	0.014·10 ⁻²	0.009	0.087·10 ⁻²	0.0185

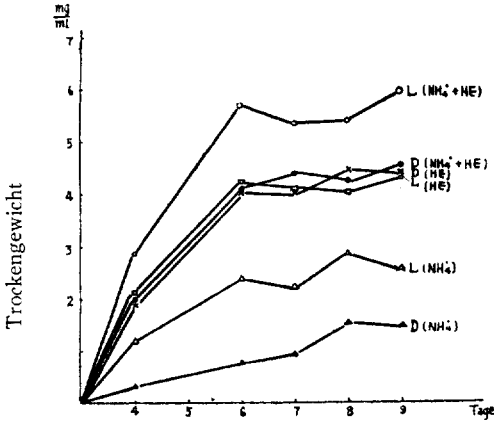


Abb. 3a. Zunahme des Trockengewichts unter verschiedenen Stickstoffbedingungen bei Mixotroph und Heterotrophanzucht.

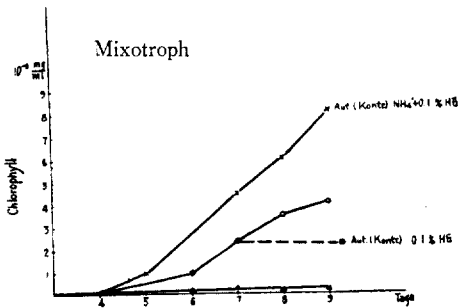


Abb. 3b. Zunahme des Chlorophylls unter Ammoniumsalmittel mit Hefeextrakt Ammoniumsalmittel ohne Hefeextrakt und Nitrat mit Hefeextrakt bei Mixotrophanzucht(△).

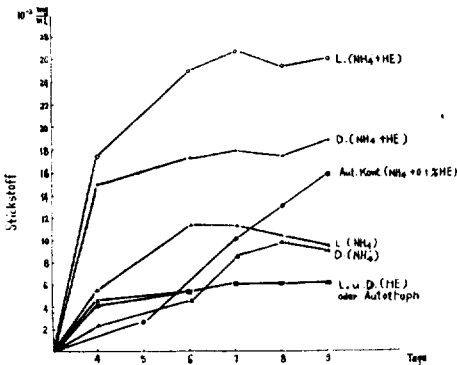


Abb. 3c. Zunahme des Stickstoffs bei verschiedenen Stickstoffbedingungen bei Mixotroph und Autotrophanzucht

3 b). 勿論 Chlorophyll 形成을 Autotroph 배양과 比較해 보면 NH₄Cl+0.1% HE 배양에 있어서는 1/2밖에 는 안되었다. Heterotroph 배양에 있어서 Chlorophyll 형성을 못한 것은 光線缺乏에 의한 것이므로 Mixotroph 배양下에서 더욱 Substanz 물 형성되는 것은 Oxydationsphosphorylierung 에 부가되어 Lichtphosphorylierung 에 依했다고 할 수 있다. 勿論 N-形成은 거의 Autotroph 배양의 倍로 NH₄Cl+0.1% HE 배양에서도 증가했으므로 (Abb.3C) Glukose 가 Chlorophyll 形成을 억제하는 것을 생각할 수가 있다. 또는 증가된 N-형성은 빨리 증식되는 細胞物質形成에만 사용되고 Chloroplast-N 에는 지연상태로 나타난 것으로 본다. 0.1% HE 배양에 있어서 N-形成이 Autotroph 나 Mixotroph 배양에 있어서 배양 7日까지는 같으나 Chlorophyll 은 Mixotroph 에서 형성하지 않았고 TG 는 Autotroph 배양보다 4 倍나 많았다. 여기서도 쏘 N-양은 細胞質에만 사용되고 Chloroplast 형성에는 종사하지 않았다고 볼 수 있

Tab. 3.

	bei 0.1% Hefeextrakt		bei NH ₄ Cl+0.1% Hefeextrakt	
	Mixotroph	Autotroph	Mixotroph	Autotroph
	4. Tage	9. Tage	4. Tage	9. Tage
Chl. mg/ml	—	1. 8·10 ⁻²	0. 5·10 ⁻²	9. 5·10 ⁻²
TG mg	2. 2·10 ⁻²	2. 2·10 ⁻²	2. 8·10 ⁻²	2. 4·10 ⁻²
KHO mg	0.63·10 ⁻²	0.63·10 ⁻²	0. 9·10 ⁻²	0. 3·10 ⁻²
N mg	5 · 10 ⁻²	6. ·10 ⁻²	17.7·10 ⁻²	17.6·10 ⁻²
Proteni TG	9%	10%	35%	46%

다. Glukose 가 Chlorophyll 生成에 아무 영향이 없다면 배양 4日째 Mixotroph 배양에 있어서는 Chlorophyll 을 더 형성해야 할 것이다. 例를 들면 4日째되는 Mixotroph 와 9日째되는 Autotroph 배양을 (NH₄Cl+0.1% HE) 비교해 보면 N-量과 TG 生成은 Tabelle 3 에 表示하는 성적 처럼 거의 같다 그러나 Chlorophyll 형성은 Mixotroph 배양에서 0.5%/1 ml 이고 Autotroph 에서는 9.5%/ml 이다. Ruppel (1962)이 報告한것 처럼 많이 形成된 KHO(Autotroph 보다 3倍)가 Chlorophyll 形成을 間接적으로 억제했다는 見解를 생각할 수가 있다. 배양 4日째에 있어서는 N-缺乏狀態는 오지 않았다. 더욱 배양이 계속됨에 따라 약간 줄어진 Protein% 38%

(6日째) → 27%(9日째)인데 Chlorophyll 形成은 0.16%/TG(6日째)부터 0.65%/TG(9日째)로上昇하였고 Chl/N는 0.026mg 부터 0.15mg 로上昇했다. N-缺乏에서 Chlorophyll 缺乏狀態가 온다는 Aach (1952)의 報告와는 다른 현상이다. 왜냐하면 9日째에 있어서는 이미 N-缺乏상태인데 Chlorophyll의上昇이 이러한 까닭이다. KHO의 양은 이 期間内に 24%내외이고 변하지 안하였다. 8日, 9日에 있어서는 細胞는 증식하지 안하였다. 6日까지 Glukose 로로 因해서 主로 Zell-Substanz 를 구성했고 後로 Glukose-Energie 가 점점 줄어들어 따라 Zell-N는 Chlorophyll 形成을 爲해 利用되었다고 본다. 배양이 길어짐에 따라 濃厚해진 Zell-Suspension 은 光線吸收가 고루지 않음으로 Chlorophyll 을 더 形成한다는 Böger(1963)의 報告와는 一致되지 않는다. 그 증거로서는 Autotroph 에서 Mixotroph 로 옮긴 배양, 卽 오래된 배양에 있어서는 Zell-Suspension 이 농후 해졌으나 Chlorophyll 生成은 더 이러나지 안하였다.

N-源이 나쁜 0.1%HE배양에 있어서는 4日째되는 Mixotroph 와 9日째되는 Autotroph 배양을 비교해 보면 Zell-Substanz 형성 卽 KHO, N-形成은 거의 같았다. Chl. var.는 4日째의 Mixotroph 배양에 있어서 Chlorophyll을 形成해야지 되었는데 形成하지 안했다. 4日째에 N-缺乏상태가 아니고 稀薄한 Zell_배양액 이므로 光線强度가 Chlorophyll의 形成을 妨害한 것이면 Autotroph 배양에 있어서도 역시 Chlorophyll의 形成을 못하여야 한다. 勿論 Zell-Suspension은 그렇게 稀薄하지 안했다 (Tabelle 3). 이런 條件下에서 Chl. var. 는 Chlorophyll을 形成하지 못한다. Mixotroph 에 있어서는 NH₄Cl+0.1%HE 배양이나 0.1%HE+KNO₃ 배양에서 Lipid 는 25~30%이고 KHO 와 Protein%는 50% 内外였었다.

Heterotroph 의 Kultur 를 Licht 로 옮겼을때 Ammoniumsalsz+0.1%HE배양에 있어서는 Chlorophyll 은 生成되고 0.1%HE 배양에서는 Chlorophyll 이 生成되지 안하였다.

N-量이 Chlorella 生育의 諸現象에 미치는 影響:
Chl. var.의 Glukose 배양에 있어서 Chlorophyll의 소멸은 事實上 N-缺乏에 依한지 더욱 分明히 하기 爲해 한편으로는 一定한 1% Glukose 存在下에서 여러가지 濃度の N-量으로 배양을하였고 또 다른편으로는 다만 Standardmedium 에 Glukose 농도만을

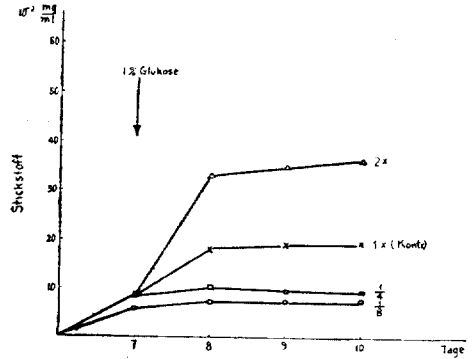


Abb. 4a. Zunahme des Stickstoffs bei verschiedener Konzentration von Ammoniumsalsz als N-Quelle, dabei ständig 0,1% Hefeextrakt. Bis 7. Tage lang autotroph angezogen. Ergebnis. 1% Glukose.

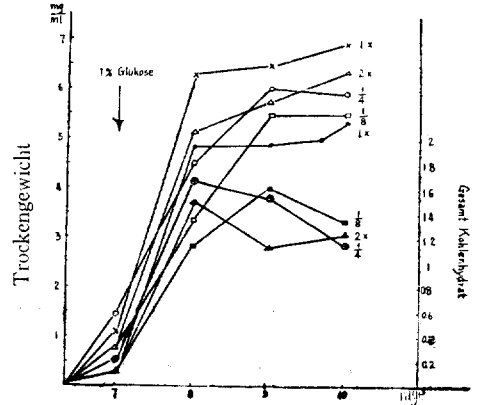


Abb. 4b. Zunahme des Trockengewichts (×, △, ○, □) und des Gesamtkohlenhydrats (●, ▲, ■, ⊗) unter verschiedener Konzentration von Ammoniumsalsz, dabei ständig 0,1% Hefeextrakt. Bis 7. Tage lang autotroph angezogen und ergab sich 1% Glukose.

변경했다.

1) 첫째의 경우의 培養으로서 a) 2倍의 N-量, 1/4, c, 1/8의 NH₄Cl로서 各各 0.1%HE를 加하여 배양을했다. 7日까지 Autotroph 로 자라게 하고 7日에 1% Glukose 를 加하여 배양했다. 7日배양에 있어서는 N-含量은 세가지의 경우 거의 비슷하였다 (Abb 4a). Glukose 부가後 10日째 到達된 TG 는 1/8 배양에 있어서는 1/4 배양 보다 적었고 이것은 1/1 과 2/1 의 배양 보다도 적다 (Abb. 4b). 놀라운 사실은 2倍의 N-量배양이 Normal 배양 보다 TG 가 적었다는 것이다. 好條件下의 N-배양에 있어서는 잘 발육되어 stabil한 Chloroplast가 形成되어

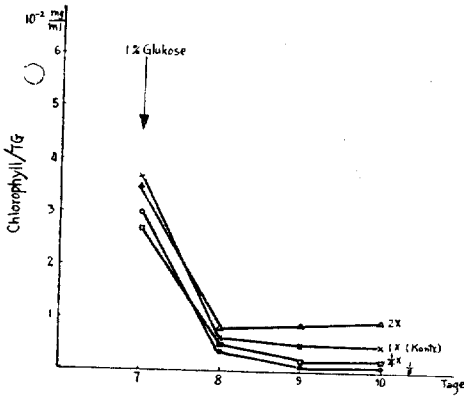


Abb. 4c. Chlorophyll/TG bei verschiedener Konzentration von Ammoniumsals, dabei ständig 0,1% Hefeextrakt. 7. Tage lang autotroph angezogen. Ergebnis 1% Glukose.

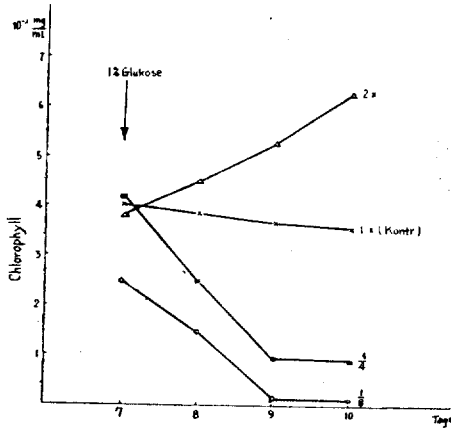


Abb. 4d. Chlorophyll-Gehalt bei verschiedener Konzentration von Ammoniumsals, dabei ständig 0,1% Hefeextrakt.

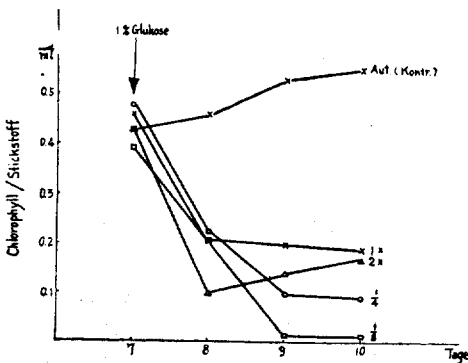


Abb. 4e. Chlorophyll/Trockengewicht

Glukose의 영향을 적게 받았다고 볼수 있다. Zell-N는 Chlorophyll 形成과 細胞物質形成의 兩쪽에 관계한다고 볼수 있다. 8日後 배양에 있어서는 比較的 느린 N-生成에도 불구하고 Chlorophyll 生成이 심히 감소되는 KHO와 細胞分裂의 停止狀態에 反對로 이어난다. 그러나 이것을 Autotroph 배양과 比較해본다면 Chlorophyll 生成이 아주억제 되었다고 할수 있다. 그리고 Chl./N 관계는 0.43 mg 부터 0.17mg로 강하했었다(Abb 4e). Chlorophyll 含量은 Autotroph 배양 끝 날에(7日) 2.5~4% 으로서 N-量에 따랐고(Abb 4d), Glukose 부가後 8日에 急히 감소 되었고 1/4, 1/8 배양에 있어서는 半으로 감소되었다. Normal(1/1)에 있어서는 Chlorophyll 含量이 거의 비슷하게 유지되었고 그 다음 날부터 더욱 감소하여 Medium의 N-量이 적어 질에 따라 Chlorophyll은 감소되었다. 이 事實은 역시 N-合成이 增殖되는 細胞質에만 종사했고 Chlorophyll 生成에는 종사하지 안하였고 오히려 Chloroplast N가 細胞質形成에 移動되었다고 볼수 있다. Abb. 4c에 表示된 것처럼 Chlorophyll/TG는 2배의 N 量 배양에서도 역시 8日째 급격히 떨어졌다. 이와 比較培養으로 이번에는 N-源으로서 0.1%, 또 0.3%의 Hefeextrakt로 배양하여 6日째 1% Glukose를 부가했다. N-生成은 다음 날 까지 거의 2배로 Glukose 부가後 增加했는데 Chlorophyll은 더 이상 生成하지는 안하였다. 急히 增加된 N-生成은 신속히 增殖하는 細胞質의 形成을 爲해서 쓰여진 것으로 본다. 이것이 N-缺乏에서 왔는가를 더욱 규명하기 爲해서 0.1% Hefeextrakt로 배양하여 Autotroph 배양에서 6日 째에 0.1% HE와 1% Glukose를 kultur에 부가했 을때 9日에 있어서 N-合成이나 KHO 合成이 같은 율로 머물러 있었고 Chlorophyll 形成은 뚜렷이 이려났으나 Autotroph 배양과 比較하면 1/2 밖에 안되었다.

一定量의 N下에서 Glukose 量이 Chlorella 生育의 諸現象에 미치는 影響: N-量을 一定하게 하고 Glukose 量을 다음 5가지의 농도로 첨가했다.

a), 1%, b, 3%, c, 5% 그리고 d, 0.2%, e, 0.5% Glukose(a,b,c는 NH₄Cl+0.1% HE 배양이고 d,e는 0.1% HE 배양이다).

Glukose 부가로 因하여 모든 경우 Substanz-Zunahme가 이려난다. Kandler(1954), Daniel(1956)의 Chlorella의 Glukose 배양에 있어서는 어느 限界內에서는 Glukose 量에 따라 作用하나 그 以上에서

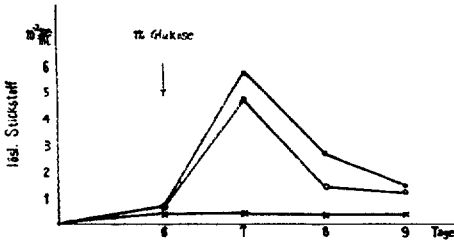


Abb. 6. Löslicher Stickstoff im Licht(●) und Dunkeln(O) bei Ammoniumsalz mit 0,1% Hefeextrakt und im Licht und Dunkel(X) bei 0,1% Hefeextrakt als Stickstoffquelle.

량이 없다.

b) O₂-영향 : Chl. var.의 Glukose 배양에 있어서의 Chlorophyll 감소에 대한 좋은 방편은 증거로 細胞의 Glukose-Aufnahme 를 究明하는 것이었다. 卽 Glukose 배양에 있어서 다만 Substrat-Phosphorylierung 을 일으키는지 또는 부수로 Light-Phosphorylierung 이 일어나는지 하는 것이다. 이것을 알기爲해서 7日間 N-源으로 0.1%HE에서 Aautotroph 로 배양하고 곧 이어 N₂ 에 通氣했고 (Wiessner W.1960 에 依하여) N₂-gas通氣 3時間後 Glukose 를 부가했는데 이것은 可能한 限 모든 O₂ 를 除去시킨後에 Glukose 의 作用을 볼야는 것이다. 勿論 Absolut-Anaerobiose 는 不可能하다. 왜냐하면 미량의 Photosynthesis로 生成된 O₂ 가 存在 하는가 답이다. 그러나 O₂ 없이는 조금도 Glukose 가 Aufnahme 되지는 않는다. 卽 TG, KHO, Protein 의 변화도 없고 Chlorophyll 의 소멸도없었다 따라서 成長 증식도 少하였다. Glukose-Aufnahme 에 대한 실험은 Folin Woo(1924), Kaneller(1954)에 依해서 실험했으나 조금도 Glukose 의 감소를 보지못하였다. 비교실험으로 O₂ 存在下에서 배양한 Kultur 는 Chlorophyll의 감소와 성장증식이 일어났다. Ulrich (1963)의 Euglena가 N₂ gas下에 (-O₂, -CO₂) Glukose 로서 자라지않는다는 것과 Meyers, J, Crahm(1956)또 Neish A.C(1957)의 Chl. vulgaris가 Anaerob 條件下 Dunkel 에서는 成長하지 않으나 Licht 下에서 成長한다는 것이나 Kandler(1954) 역시 같은 報告를 하였으나 Chl. var.는 Dunkel 에서나 Licht 下에서나 자라지 않았다. 따라서 Glukose-Aufnahme 에는 絶對적으로 O₂ 가 必要하고 Licht-Phosphorylierung 은 일어나지 않은 것이다.

Chlorophyll 減少와 Stärke 의 消長 : Chloroplast

內의 Stärke 축적으로 Chlorophyll 소멸이 일어나리라는 여러 意見이 있다. 여기에 立脚하여 일정한 실험條件下에 7日間 Autotroph 로 배양하여 1% Glukose 를 加한 것에 對한 全體의 KHO/Stärke 量을 定量했다. NH₄Cl+0.1HE 배양에 있어서는 7일에 11%부터 8일에 40%까지 올라갔다 다시 강하하여 10일에는 18%에 도달하였다 비교실 험으로 0.1%HE 배양에 있어서는 7일에 이미 29%이고 8, 9 일에는 38%까지 올라 갔다 다시 30%로 떨어진다(Abb. 7). Autotroph 배양 끝 날에 0.1% HE 배양에 있어서 全體 KHO 의 Stärke 量은 3배나 NH₄Cl+0.1%HE 배양보다 높았으나 Chlorophyll 은 감소되지 않았다.

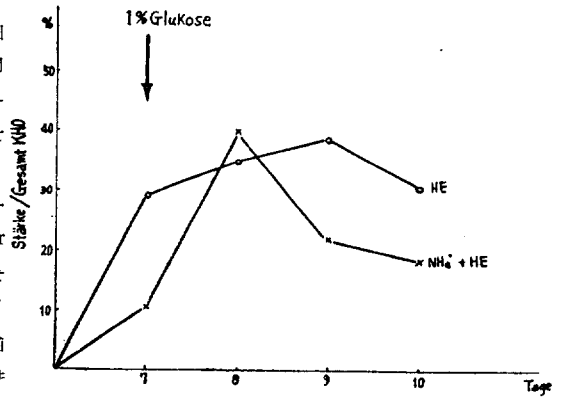


Abb. 7. Stärke in Prozent von Gesamtkohlenhydrat bei Ammoniumsalz mit 0,1% Hefeextrakt und 0,1% Hefeextrakt als N-Quelle. 7. Tage lang autotroph angezogen. Ergebnis 1% Glukose.

또 0.1%HE 배양에서는 35~40%의 Stärke 量으로 Chlorophyll 이 完全히 消滅했으나 NH₄Cl+0.1%HE 배양에 있어서는 그렇지 않은 것으로 보아 Stärke 量이 Chlorophyll 감소와 직접적인관계가 없는 것으로 본다.

Glukose 以外の 糖類가 미치는 영향 : Glukose 外에 Chlorella variegata 는 Fruktose, Galaktose 를 C-源으로서 받아들이고 Dunkel 에서도 자라고 모든 現象이 약간 低下되었으나 Glukose 의 경우와 거의 같다 Saccharose, Ribose 는 받아들이지 못하였다. 微生物界에 愛用되는 Acetat(0.5%)도 역시 받아들이고 Chl. var. 는 Dunkel 에서나 Licht 에서나 다 받아들이는 것이 Chlamydotryts (Pringsheim u. Wiessner 1960)의 Licht 下에서만 Acetat 를 받아들인다는 것이나 Losada, M.u. Trebst. A.V. et al(1960)의 Chromatium 의

Acetat 의 Dunkel 배양에서는 ATP 를 부가해 주어야 Acetat-Assimilation 이 일어난다고 한다. 이것과는 달리 *Chl. var.* 는 Dunkel 下에서도 Acetat 를 Assimilation 할수가 있다. Chlorophyll 감소는 역시 Glukose 의 경우와 같다.

Glukose-Kultur 를 洗滌하여 새로운 Nährlösungen 에 옮겼을 때의 Chlorophyll 형성 : Glukose 의 Chlorophyll 소멸의 直接인 영향을 더욱 구명하기 爲해서 다음과 같은 실험을 하였다. 7日間 Autotroph 로 배양하고 1% Glukose 를 加하여 2~3日 Mixotroph 로 배양한 실험체료를 Aqua-Dest. 로 洗

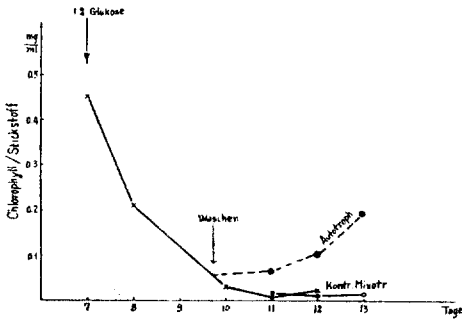


Abb. 8a. Chlorophyll/Stickstoff bei 0.1% Hefeextrakt. 7. Tage lang autotroph angezogen. [Ergebnis 1% Glukose. Nach dem Waschen dieser Kultur einerseits autotroph mit neuer Nährlösung und andererseits Anzucht von 1% Glukose mit neuer Nährlösung (○), und als Kontrolle ohne Waschen weiter wachsen lassen.

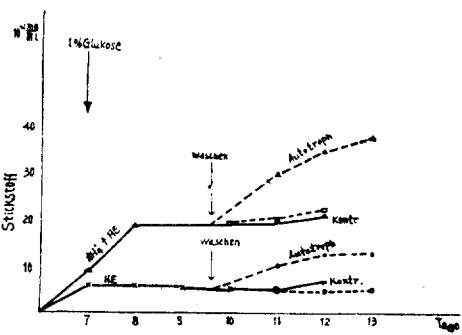


Abb. 8b. Stickstoffgehalt bei Ammoniumsalz mit 0.1% Hefeextrakt und 0.1% Hefeextrakt als N-Quelle. Nach dem Waschen Autotrophanzucht mit neuer Nährlösung (Δ) und mit 1% Glukose haltiger neuer Nährlösung (□) und Kontrolle ohne waschen. Ebenso bei 0.1% Hefeextrakt: nach dem Waschen autotroph mit neuer Nährlösung(●) und mit 1% Glukose haltiger neuer Nährlösung (○), und Kontrolle ohne Waschen.

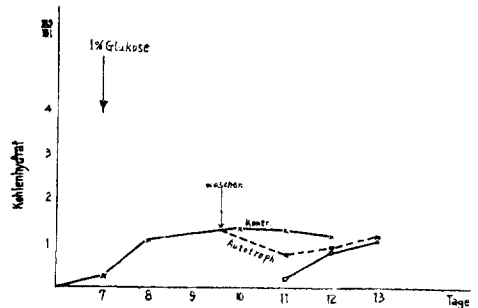


Abb 8c. Zunahme des Kohlenhydrats bei 0.1% Hefeextrakt. Nach dem Waschen Autotroph mit neuer Nährlösung und mit 1% Glukose haltiger neuer Nährlösung(○) und Kontrolle ohne Waschen.

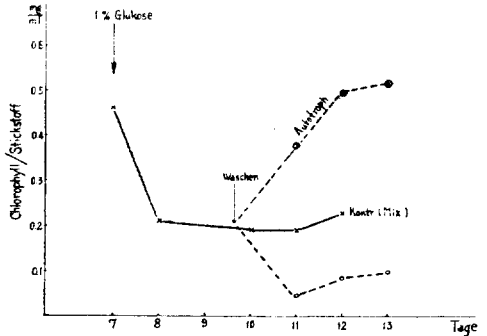


Abb 8d. Chlorophyll/Stickstoff bei Ammoniumsalz mit 0.1% Hefeextrakt 7. Tage lang autotroph angezogen. Ergebnis 1% Glukose. Nach 9 Tagen Kultur waschen und autotroph mit neuer Nährlösung und mit 1% Glukosehaltiger neuer Nährlösung und Kontrolle ohne waschen.

滌하여 썼다.

1. 새로운 Medium 으로서 Autotroph 로 배양을 했다.
2. 새로운 Medium 으로서 1% Glukose 存在下에 배양을 했다. (注入量은2ml, 洗滌했음)
3. 1% Glukose 를 加한 Kultur 를 새로운 Medium 에 옮기지 않고 그대로 배양했다. (남은 Kultur) 이 세가지의 條件下에서 $NH_4Cl + 0.1\% HE$ 배양과 $KNO_3 + 0.1\% HE$ 배양을 했다.

$KNO_3 + 0.1\% HE$ 배양의 세가지 條件下에서는 Chlorophyll 이 없어진 黄色으로 그대로 지속되었다. (2)의 경우에도 역시 새로운 Medium 에 Glukose 存在下에서는 黄色으로 된다. (1)의 경우에는 黄色으로된 *Chl. var.* 는 Chlorophyll 을 회복하여 綠色

으로 다시 성장한다. (Abb. 8a). Abb. 8 b 에 表示된것과 같이 洗滌後 Autotroph 로서 배양한것은 Stickstoffsynthese 가 活潑하게 나타난다.

NH₄Cl+0.1%HE 배양에 있어서는 (3)의 條件下 即 1% Glukose 부가 後 새로운 Medium 에 옮기지 않은 남은 Kultur 에 있어서는 Chlorophyll 은 더 生成되지 않고 그대로 유지상태이나 나중에 약간의 Chlorophyll 의 증가가있고 (1)의 條件에서는 Chlorophyll 증가가 活潑히 일어나지만 Substanz 의 증가는 적다 (2)의 條件下에서는 Chlorophyll 이 약간 生成되나 Autotroph 의 1/6 밖에는 안된다(Abb.8d). KHO 나 TG 가 같고 다 같이 새로운 Medium 에 배양되나 洗滌後 Glukose 없이 새로운 Medium 에 옮긴것은 N 가 0.1%HE 배양에서나 NH₄Cl+HE 배양에서나 배로 증가한다. 이때 Zell-Vermehrung 이나 KHO-Bildung 은 이러나지 않고 다만 Zell 內의 N Medium 부터의 N-合成은 다만 Chlorophyll-Synthese 에만 종사했다고 볼수있다. (Abb.8c). 洗滌後에 Glukose 存在下에서는 신속히 이러나는 細胞증식으로 Chloroplast 發育이 同件되지 못하여 Chloroplast Selbst-Reproduktion 이 同件되지 못하였다고 생각할 수가 있다.

TCA Cycle 의 inhibitor 가 Chlorophyll 生成에 미치는 영향: Malonat 가 Succinatoxidase 를 生化學的으로 억제한다는 것이 알려져있으므로 Malonat 를 여러가지 농도로(0.5×10⁻², 10⁻², 5×10⁻²Mol) Autotroph 배양과 Glukose 배양에 주어졌다. Succinatoxidase 를 blocking 함으로서 Zitronensäure Zyklus 가 blocking 되어 Succinat-CoA 와 Glycin 으로 Chlorophyll 合成을 이룰 수 있는가를 보려고 했다. 비교실험으로 Chl. luteoviridis 는 生物體에 아무런 役割도 없었다. Fluoroacetat(2×10⁻² Mol)로 Aconitase 를 억제하여 Zitronensäure-Zyklus 를 blocking 하여 Chlorophyll 形成을 圖謀 하려고 했다. 이것의 比較實驗으로 Chl. luteoviridis 를 역시 사용했다. 다른 배양 처럼 8일까지 Autotroph 로 배양하고 Fluoroacetat 를 加하고 또 다른 것에는 1% Glukose 와 Fluoroacetat 를 加했다. Autotroph+Fluoroacetat 배양에 있어서는 KHO 가 약간 生成되었고 N-生成은 Autotroph 와 같았으나 Chlorophyll 은 감소되었다. Glukose+Fluoroacetat 배양에 있어서는 KHO 는 Glukose 배양 보다 적게 生成되었고 그 다음날 벌써 Absterbene Phase 로 들어갔다(Abb.9a). 細胞의 증식이나 KHO 도 적게 이러나고 Chlorophyll 의

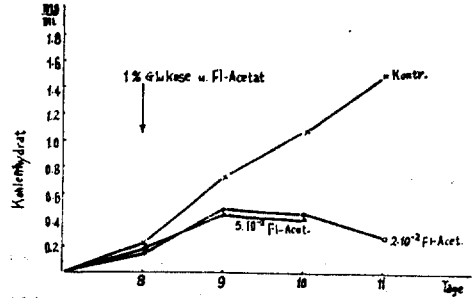


Abb. 9 a. Chlorella luteoviridis(211. 2b): Ammoniumsalz als N-Quelle. 8 Tage lang autotroph angezogen Ergebnis 1% Glukose und Fl-Acetat(5·10⁻² Mol, und 2·10⁻² Mol). Zunahme des Kohlenhydrats.

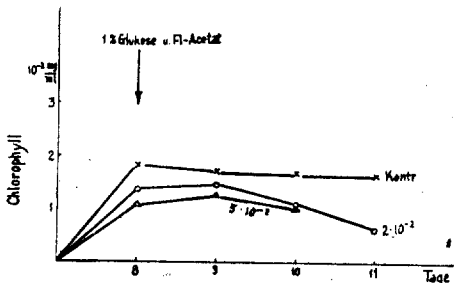
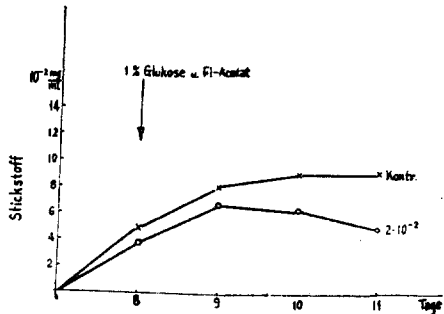


Abb. 9b. Stickstoff und Chlorophyll per ml Suspension. bei Chlorella luteoviridis

生成도 억제되었다(Abb 9b). 따라서 Fluoroacetat-Chlorose 가 이러한 것이다.

또 DNP 로서 Oxydationsphosphorylierung 을 억제하여 細胞증식과 KHO 生成을 억제함으로써 Chlorophyll 의 生成을 알아보기 위해서 DNP 을 (10⁻⁴, 5×10⁻⁴, 10⁻³ Mol)加해 줬다. 10⁻⁴ Mol 은 아무런 영향이 없고 10⁻³ Mol 은 生長정지되었고 5·10⁻⁴ Mol 은 다음과 같은 作用을 하였다. 이것도 역시 8日間 Autotroph 로 배양하여 DNP(5×10⁻⁴Mol)加하고 또 다른 것은 1% Glukose 와 DNP(5×10⁻⁴)

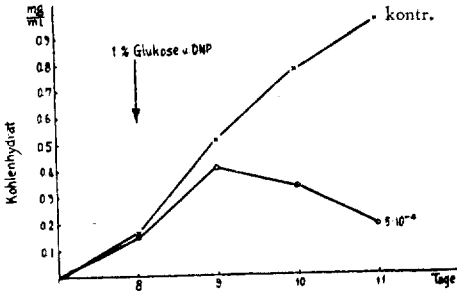


Abb. 10a. *Chlorella luteoviridis* (211, 2b). Bei Ammoniumsalz als N-Quelle. Ergebnis am 8. Tag von Autotrophkultur DNP ($5 \cdot 10^{-4}$ Mol) und 1% Glukose.

Zunahme des Kohlenhydrats, bei DNP Zugabe und als Kontrolle (Autotrophanzucht)

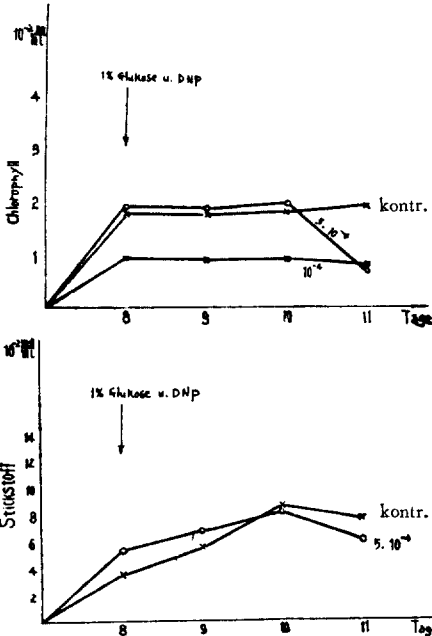


Abb. 10b. Stickstoff und Chlorophyll, bei *Chlorella luteoviridis*

Mol)를 加하였다. Autotroph + DNP 에 있어서는 KHO, TG 가 Autotroph 보다 적게 생성되었고 N-生成은 같으나 Chlorophyll 의 生成은 좀 약하여졌다. Glukose + DNP 에 있어서는 細胞증식과 KHO 의 生成이 아주 억제되었으나 Chlorophyll 은 生成하지 안하였다. (Abb. 10a, 10b)

Kaffein 이 Bacteria Hefe, 의 Atmung 을 조해한다고 알려져 있음으로 *Chl. lut.* 에 0.1% Kaffein 을 Glukose 와 함께 加한즉 Zell-Vermehrung 과 KHO-Bildung 은 억제되었으나 Chlorophyll 은 相反面 더 生成하지 않는다.

以上の 지금까지의 實驗을 종합해 보면 Tabelle 4 에서 보는 것과 같이 *Chl. var.* 는 Dunkelkultur 에 있어서 後期에 Spuren 의 Chlorophyll-Bildung 을 볼수 있었고 Dunkel 에서 Licht 로 Kultur 를 옮겼을 때 Chlorophyll-Bildung 은 $\text{NH}_4\text{Cl} + 0.1\%$ HE 배양에서 이 려났고 Zell-Vermehrung 은 이터나지 安하였다.

그러나 이 Chlorophyll-Bildung 은 Autotroph 배양의 $\frac{1}{2}$ 도 못되었다. *Chl. var.* 는 Chlorophyll-Bildung 에 Licht 가 必要하고 Mixotroph 에서는 Chlorophyll-Bildung 이 일어 났으나 N-合成이 거의 정지상태 인 7·8·9日에 Chlorophyll 은 反對로 증가하였고 실제의으로 이 期間에 細胞증식은 정지상태 이었다. 이것은 Glukose-Energie 에 依하여 6日배양까지는 細胞증식 이 활발히 일어 났고 N-Synthese 는 細胞증식에 主로 종사했고 Glukose-Energie 가 줄어들 때 따라 Zell-Protoplasm 의 N 는 Chloroplast-N 로 移動을하였다고 본다. Mixotroph Kultur 에서는 Heterotroph-또는 Autotroph-Kultur 보다 N-Synthese 나 Substanzzunahme 가 活潑히 일어나는 것은 Licht-Phosphorylierung 에 依한 附加의인 Energie 로 因한 것이고 (Vergl. Schlegel 1956) Licht 下에 Chlorophyll 가 Dunkel 下서 보다 많이 일어나는 것은 역시 Licht-Phosphorylierung 의 Energie 가 Chloroplast-Bi-

Tab. 4. Kultur von Ammoniumsalz mit 0.1% Hefeextrakt.

Tage	GN. mg/ml Kult.Susp.			Chlorophyll mg/1ml Kult. Susp.		
	Heterot.	Mixot.	Autot.	Heterot.	Mixot.	Autot.
4	15. $8 \cdot 10^{-2}$	17. $7 \cdot 10^{-2}$		—	$0.47 \cdot 10^{-2}$	
5			$2.5 \cdot 10^{-2}$			$0.29 \cdot 10^{-2}$
6	17. $5 \cdot 10^{-2}$	$25 \cdot 10^{-2}$		—	$0.936 \cdot 10^{-2}$	
7	$18 \cdot 10^{-2}$	$25.8 \cdot 10^{-2}$		—	$2.43 \cdot 10^{-2}$	$5.08 \cdot 10^{-2}$
8	17. $5 \cdot 10^{-2}$	$25 \cdot 10^{-2}$		—	$3.5 \cdot 10^{-2}$	
9	19. $1 \cdot 10^{-2}$	$26 \cdot 10^{-2}$	$18 \cdot 10^{-2}$	Spuren	$4 \cdot 10^{-2}$	$9.5 \cdot 10^{-2}$

ldung에 역할 했다고 볼수 있다. 또 Glukose 부가後 暗處에 옮긴 Kultur도 Chlorophyll의 감소가 Licht 下에서와 거의 비슷하다 많이 論議되고 있는 O₂ 存在下의 Photooxydation은 (Egle 1944, 1960, Kandler 1956, 1958, Davide 1952, Myers U. Burr 1941) 여기에는 관계가 없는것으로 본다. 또 CO₂ 存在여부 없이 모든 현상이 Mixotroph 나 Heterotroph Kultur에서 별차이 없이 이러나는 것은 CO₂가 Chl. var의 Oxidationsassimilation에 아무런 영향을 주지 않은것으로 본다.

Mineralsalz-Mangel-Chlorose에 있어서 論議되는 Lipid, Stärke의 Akkumulation은 Glukose-Chlorose에서는 볼수 없었다. 이것은 Taylor(1950)도 역시 Scenedesmus의 Glukose-배양에 있어서 많이 生成되지 않는다는 것과 一致 된다.

Glukose 배양에 있어서 Elektronmikroskop 관찰에 依한 Chloroplast-Destruktion에 대한 報告는 많다 (Epstein Z.B. u. Schiff 1961, Ihara, Shihira et al 1964). Chloroplast가 먼저 Destruktion됨으로서 Chlorophyll 生成이 억제되는지 또는 Chlorophyll 生成이 억제됨으로서 Chloroplast가 파괴 되는지는 아직도 의문점이다. 제빨리 이러나는 Zellvermehrung 때문에 Chloroplast-Entwicklung이나 Chloroplast-Selbst-Reproduktion이 同伴되지 않아 Chloroplast의 수가 줄고 크기가 줄어 Chlorophyll의 감소가 이러나지 않은것인가 하는 Granik(1961)의 見解와 또 KHO-Bildung으로 因하여 Chloroplast-N-Synthese가 방해되어 Chlorophyll의 生成이 억제된다는 Pirson, Ruppel의 見解에 따라 DNP로 Oxydations phosphorylierung을 억제함으로써 Zell-Vermehrung이나 KHO-Bildung을 억제하여서 Chlorophyll-Bildung을 기도하려고 했으나 DNP(5·10⁻⁴ Mol)로서는 Zell-Vermehrung과 KHO-Bildung을 1/2로 억제할 수 있으나 Chlorophyll의 生成은 보지 못하였다. 또 35°C 배양에서 KHO-Bildung과 Zell-Vermehrung은 25°C 배양의 半 밖에 안되는데 Chlorophyll의 生成이 억제되는 것을 보아 Pringsheim(1955), Pirson, Lorenzen u. Kopper(1959)의 報告처럼

이것은 KHO, Zellvermehrung에 관계 없이 Glukose에 依한 Chloroplast-N-Spezifische-Enzym의 조해로 볼수 있지 않은가 생각된다.

不良한 N-條件下의 0.1%HE 배양에 있어서는 Licht에 옮겨도 다만 Spuren의 Chlorophyll을 形成할 뿐 Glukose의 영향을 더 많이 받아 再生할 힘이 없었다. (Vgl. Brawerman 1960). Brawerman u. Chragraff(1959)는 Etiolated *Englena gracilis* 細胞에 있어서 Chloroplast Formation은 Zell-Multipulifikation 결핍 下에 Protein이나 RNS-Synthese 없이 Protein과 RNA이 turn over하는것을 論하였다. Mixotroph로 자란것을 洗滌後 Glukose의 새로운 Medium에 옮긴 것에서는 N-synthese가 활발히 이터났고 (36頁參) 同時에 Chlorophyll Synthese도 활발히 이터났다 Zell-Vermehrung은 이러나지 안하였으므로 Zell-N는 다만 Chloroplast-N-Formation에 turn-over되어졌다고 본다. 1% Glukose를 포함한 새로운 Medium에 옮긴것은 Chlorophyll의 形成이 아주 억제되었고(0.1%HE 배양), NH₄Cl+0.1%HE 배양에 있어서는 Chlorophyll이 Autotroph의 1/2밖에 안되었으니 Glukose 存在로 因하여 Chlorophyll-Bildung을 억제하였다 이것은 Chloroplast-N-Formation을 억제한 것으로 본다. 그리고 Glukose-Energie가 감소된 Mixotroph의 後期에 있어서 N-증가 없이 Chlorophyll가 형성하는 것은 역시 세포내의 N의 Regulation으로 볼수 있다.

Böger(1963)의 Chloroplasten Strukturprotein은 Chl. var.의 Glukose 배양에 있어서는 Unreinigung이 너무 심해서 Data를 낼수 없었다. Chloroplastentwicklung의 상태에 따라 Glukose의 영향을 받았고 Chlorose에 있어서 Chloroplast-Stickstoff-Spezifische Enzym의 조해에 관하여 앞으로 研究를 해야하고 또 Chloroplast-Stickstoff-Spezifische Enzym을 조성하는데 必要하는 Energie, Chloroplasten ATP 관계 등을 Chl. var.의 Glukose 배양에 있어서의 Chloroplast-rein-Isolierung을 함으로써 더욱 研究를 진행할 수 있으리라고 생각된다.

摘 要

1. Chl. var.는 KNO₃-Reduktase가 缺乏되어 있어 KNO₃로는 자라지 않는다.
2. Autotroph-Mixotroph-Heterotroph 배양에 있어서 Heterotroph에서는 Chlorophyll의 形成

- 이 없고 Mixotroph 에서는 Chlorophyll 의 形成이 억제 되었다.
3. Lipid, Stärke 는 Mineral-salz-mangel-Chlorose 에서 처럼 多量 축적은 없었다.
 4. Oxidationsphosphorylierung 에 O_2 가 必要하고 CO_2 는 관계가 없었다.
 5. DNP 나 Fluoracetat 로 Oxydations-Phosphorylierung 을 Blocking 함으로써 Zell-Vermehrung 과 KHO-Bildung 은 감소되었으나 Chlorophyll 의 生成은 보지 못하였다.
- (이實驗은 Göttingen Universität Pflanzenphysiologisches Institut 에서 이루어졌다)

Literatur

- Aach, H.G., 1952. Über Wachstum und Zusammensetzung von *Chlorella pyrenoidosa* bei unterschiedlichen Lichtstärken und Nitratmengen Arch. Mikrobiol. 17, 213-246.
- Ders., 1953. Über [Abbau und Regeneration der Chloroplastenfarbstoffe bei *Chlorella*. Arch. Mikrobiol. 19, 166-173.
- Ders., Über einige Ähnlichkeiten der Lichtwirkung auf grüne Pflanzen und auf das tierische Auge. 1954. Z. Naturf. 9b 481-485.
- Arnon, D.I., 1961. Cell-free photosynthesis and the energy conversion process. in: Light and life. S: 489.
- Badour, S.S.A., Kennzeichnung von Mineralsalz-mangelzuständen bei Grünalgen mit analytisch-chemischer Methodik II. Flora(Jena) 151, 99-119.
- Barker, S.A., and Bourne, E.T., 1955. Composition and synthesis of the starch of *Polytomella coeca*. In: Biochemistry and physiology of protozoa V/2, S. 45-56(S.H. Hutner and A. Lwoff).
- Beijerinck, M.W., 1904. *Chlorella variegata*, ein bunter Mikrobe. Rec. travaux botan. neerl. 1. 74-27.
- Belcher and Fogg. 1958. Studies on the growth of Xanthophyceae in pure culture *Tribonema aequale* Pascher. Arch. Mikrobiol. 30. 17-22.
- Ben-Shaul, H.T., Epstein, and Schiff, 1965. Studies of chloroplast development in *Euglena*, the return of the chloroplast to the proplastid conditions during dark adaptation. Can. J. of Botany 43. 129.
- Benson, A.A., 1964. Plant membrane Lipids. Ann. Rev. Plantphy. 15. 1-16.
- Ders., and Calvin, M., 1950. Carbon dioxide fixation by green plants. Ann. Rev. Plantphy. 1. 25.
- Bergmann, L., 1955. Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. II. Flora (Jena) 142, 493-539.
- Böger, P., 1964. Das Strukturprotein aus Chloroplasten einzelliger Grünalgen und seine Beziehung zum Chlorophyll. Flora(Jena) 154, 174-21.
- Bonner, J., 1950. Plant Biochemistry. 1, S. 537.
- Brawerman, G., and Chargaff, E., 1959. Changes in protein and ribonucleic acid during the formation of chloroplasts in *Euglena gracilis*. Bioch. Biophys. Acta 31, 164-171.
- Ders., 1960. A self-reproducing system concerned with the formation of chloroplasts in *Euglena gracilis*. Bioch. Biophys. Acta 37, 221-229.
- Burghardt, H., 1956. Beiträge zum Eisen-Mangan-Antagonismus der Pflanzen. Flora(Jena) 143, 1-30.
- Czygan, F. Ch., 1963. The reduction of nitrate by green alga *Ankistrodesmus braunii* in vivo and vitro planta 60(3), 225-242.
- Chodat, R., 1909. Etude critique et expérimentale sur le polymorphisme des algues. Genève.
- Clacs, H., 1954. Analyse der biochemischen Synthesekette für Carotinoide mit Hilfe von *Chlorella*-Mutanten. Z. Naturf. 9b, 461.
- Danforth, W.F., 1962. Substrate assimilation and heterotrophy in: Physiology and Biochemistry of algae von Lewin. S. 99-123.
- Daniel, A.L., 1956. Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen III. Flora (Jena) 143, 31-66.
- Davis, E.A., 1952. Photosynthetic *Chlorella* mutants. Amer. J. Bot. 39, 535-539.
- Davies, D.D., 1959. Organic acid metabolism in Plants. Biol. Revs. 34, 407-445.
- Denffer, D., 1947. Die planktische Massenkultur pennatea Grunddiatomen. Arch. Mikrobiol.

14, 159.

Ders., 1948. Über einen Wachstumshemmstoff in alternden Diatomeenkulturen. Biol. Tbl. 67, 7-13.

Dersch, G., 1960. Mineralsalz-mangel und Sekundärcarotinoide in Grünalgen. Flora (Jena) 149, 566-600.

Egle, K., 1960. Biologischer Chlorophyllabbau In: Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. V/1 354. Berlin-Göttingen-Heidelberg.

Ders. Menge und Verhältnis der Pigmente. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. V/1, S. 444-499. Berlin-Göttingen-Heidelberg.

Eisenstadt, J.M., and Brawerman, G., 1964. The protein synthesizing systems from the cytoplasm and the chloroplasts of *Euglena gracilis*. J. of Molecular Biology 10, 396.

Eyster, C., Brown, T.E., et al 1958b. Manganese requirement with respect to growth, Hillreaction and Photosynthesis. Plant Physiol. 33, 235-241.

Fogg, G.E., and Collyer, D.M., 1953. The accumulation of Lipides by algae in algae culture. No. 600. S. 177.

Fogg, G.E., 1956. Photosynthesis and Formation of Fats in a Diatom. Ann. Bot. 20, 265.

Ders., 1959. Nitrogen-nutrition and metabolic patterns in algae. Symoosia Soc. Exptl. Biol. No. 13, 106-125.

Folin u. Wu, 1920. J. Biol. Chem. 41, 367.

Gaffron, H., 1939. Über Anomalien des Atmungsquotienten von Algen aus zucker-kulturen. Biol. Zentr. 59, 288-302.

Gibor, A., and Granick, S., 1962. The plastid system of Normal and bleached *Euglena gracilis*. J. Protozool. 9, 327-334.

Granick, S., 1951. Biosynthesis of Chlorophyll and related pigments. Ann. Rev. Plant Phy. V, 2, 115-144.

Ders. 1961. The chloroplasts. In: The cell S. 489-602. (ed. by Brachet, J., and Mirsky, A.E.)

Hattori, A., 1960. Studies on the metabolism of Urea and other nitrogenous compounds in *Chl. ellipsoideum*. Plant and cell Physiology 1, 107-116.

Hill, R., and Bonner, 1961. The nature and possible function of chloroplast cytochromes, In: Symposium of Light and Life. ed. (by Elroy, W. D. and Glass, B.) S. 425-435.

Hillmann, W.S., 1956. Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles. Amer. J. Bot. 43, 89-96.

Ichihara, A., Tanioka, H., and Takeda, Y., 1965. Respiratory control of dispersed Rat-Liver cells. Bioch. Biophys. Acta 97, 1-8.

Jorgensen, E.G., 1964. Chlorophyll content and rate of photosynthesis in relation to cell size of the Diatom. Physiol. Plantarum 17, 407.

Kandler, o., 1954. Über die Beziehung zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. Z. Naturforsch. 9b, 625-644.

Ders., 1955. Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese III. Z. Naturforsch. 10b, 38.

Ders., und Schötz, 1956. Untersuchungen über die photooxydative Farbstoffzerstörung und Stoffwechselhemmung bei *Chlorella*-Mutanten und parasitierenden Oenotheren. Z. naturforsch. 11b, 708-718.

Ders., and Sironval, G., 1959. Photooxydation processes in normal green *Chlorella* cells. Bioch. Biophys. Acta 33, 207.

Kuhl, A., 1962. Zur Physiologie der Speicherung kondensierter anorganischer Phosphate in *Chlorella*. In: Beiträge zur Physiologie und Morphologie der algen, S. 157-165.

Lewin, J.U., 1953. Heterotrophy in Diatoms. J. Gen. Mikrobiol. 9, 305-313.

Ders., 1963. Temperatureinflüsse auf *Chlorella pyrenoidosa* unter besonderer Berücksichtigung der Zellentwicklung. Flora (Jena) 153, 555-591.

Ders. 1960. Über den Einfluß von Glukose auf Synchronkulturen von *Chlorella pyrenoidosa* Naturwissenschaften 47, 477-478.

Losada, M., Trebst, A.V., et al 1960. Equivalence of light and Adenosin Triphosphate in Bacterial photosynthesis. Nature 186, 753-760.

Mackinney, G., 1941. Absorption of light by *Chlorella* solutions. J. Biol. Chem. 140, 317-22.

- Menke, W., 1962. Structure and Chemistry of Plastids. *Ann. Rev. Plant Phy.* 13, 27-44.
- Ders., 1965. Feinbau und Entwicklung der Plastiden. *Bericht der Deutschen Botanischen Gesellsch.* Bd. IXXVII 340.
- Meyer, H., 1932. Das Chlorose- und Panaschürephanomen bei Chlorellen. *Beihefte zum Zenttalblatt* 49, 496-544.
- Ders. 1933. Das Chlorose und Panaschüreproblem bei Chlorella. *Beihefte zum Zenttalblatt* 51, 170.
- Miller, J.D.A., and Fogg, G.E., 1958. The mineral nutrition of *Monodus*. *Arch. Für Mikrobiol.* 28, 1-17.
- Murata, Takano and Akazawa, T., 1964. The role of Adenosine diphosphate Glucose in leaf starch formation. *Bioch. Biophys. research communications.* 16, 6-11.
- Myers, J., 1940. The study of the pigments produced in darkness by certain green algae. *Plant physiol.* 15, 575-588.
- Ders. 1946. Culture conditions and the development of the photosynthetic mechanism. II. *J. Gen. Physiol.* 29, 419.
- Ders. and Grah, J.R., 1956. The role of photosynthesis in the physiology of *Ochromonas*. *J. Cellular Comp. Physiology.* 47, 397-414.
- Ders. 1951. Physiology of the algae. *Ann. Rev. Mikrobiol.* 4, 157-180.
- Neish, A.C. 1951. Carbonhydrate nutrition of *Chlorella vulgaris* *Canad. J. Bot.* 29, 68-78.
- Noack, k., 1943. Über den biologischen Abbau des Chlorophylls. *Biochem. Z.* 316, 166-187.
- Paech, N., 1948. Stoffwechsel organischer Verbindungen *Fortsch. Bot.* 12-287.
- Pirie, N.W., 1955. Proteins. In: *Modernemethoden der Pflanzenanalyse.* Bd. 4, 21-68.
- Ders. 1956. Stoffwechsel organischer Verbindungen I. *Fortsch, Bot.* 19, 235.
- Ders., 1955. Stoffwechsel organischer Verbindungen *Fortsch. Bot.* 17, 523-577.
- Ders., Daniel, A.L., u. Becker, E.W., 1955. Zur Beziehung zwischen endogener Atmung und Glukoseatmung bei Chlorella. *Arch. Mikrob.* 22, 214-218.
- Ders., Lorenzen and Koepper, A., 1959. A sensitive stage in synchronized cultures of chlorella. *Plant Phy.* 34, 353-55.
- Ders., and Wilhelmi, 1950, Photosynthese-Gaswechsel und Mineralsalznahrung. *z. Naturf. Bd.* 5, 211.
- Pringsheim, E.G., and Pringsheim, O., 1958. Experimental elimination of chromatophores and eyespot in *Euglena gracilis*. *The Newphytologist* 51, 65-76.
- Pringsheim, E.G., u. Wiessner, W., 1960. Photoassimilation of Acetate by green organisms. *Nature* 188, 919-922.
- Provasoli, L., Hutner, S.H., etc. Streptomycin-induced chlorophyll-less races of *Euglena*. *Proc. Soc. Exptl. Bio. Med.* 89, 279-282.
- Ders., Hutner, S.H., and Pintner, I., 1951. Destruction of chloroplasts by streptomycin. *Coldspring Harbor Symp. Quant. Biol.* 16, 113-120.
- Richmond, H.H., and Maaløe, O., 1962. The rate of growth of *Salmonella* with individual carbon sources related to glucose metabolism or to the krebs' cycle. *J. Gen. Mikrob.* 27, 285-237.
- Roe, J.H., 1955. Determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *J. Bio. Chem.* 212, 335-343.
- Ruppel, H.G., 1962. Untersuchungen über die Zusammensetzung von Chlorella bei Synchronisation im Licht-Dunkel-Wechsel. *Flora (Jena)* 152, 131-138.
- Samejima, M., and Myers, J., 1958. On the heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *J. Gen. Microb.* 18, 107-117.
- Schlegel, H.G., 1956, Die Verwertung organischer Säuren durch Chlorella im Licht. *Planta* 47, 510-526.
- Ders., 1959. Die Verwertung von Essigsäure durch Chlorella im Licht. *Z. Naturforsch.* 14b, 2, 6-253.
- Schihira-Ishikawa and Hase, E., 1964. Nutritional control of cell pigmentation in *Chlorella protothecoides* with special reference to the degeneration of chloroplast induced by Glukose. *Plant and*

cellphy. 5, 227-23.

Sironval, C., Kandler, O., 1958. Photooxydation processes in normal green chlorella cells *Biochem. Biophys. Acta* 9, 359-368.

Smith, and French, 1963. Pigment in Photosynthesis. *Ann. Rev. Plantphy.* 14, 181-21.

Soroking, C., 1960. Injury and recovery of photosynthesis. *Plant. Physiol.* 13, 20-359.

Spuehr, H.A., and Milner, H.W., 1949. The chemical composition of chlorella. *Plant Physiol.* 24, 120-149.

Syrett, P.T., 1951. The effect of cyanid on the respiration and oxidative assimilation of Glucose by *Chlorella vulgaris*. *Ann. Bot.* 15, 473-492.

Ders., 1956. The assimilation of ammonia and nitrate by nitrogen-starved cells of *chlorella vulgaris* II. The assimilation of large quantities of nitrogen. *Physiol. Plantarum* 9, 19-27.

Tamiya, H., Morimura, Y., and Yokota, F., 1962. Effects of various antimetabolites upon the life cycle of chlorella. *Arch. Mikrob.* 42, 4-16.

Taylor, F.T., 1950. Oxidativeassimilation of glucose by *Scenedesmus*. *J. Exptl. Bot.* 1, 301-321.

Ders. 1960b. The absorption [of glucose] by *Scenedesmus* I. Some kinetic aspects *Proc. Roy. Soc.* 454, 460-418.

Tolbert, E., and Cailey, F.B., 1955. Carbon Dioxide fixation by etiolated plants after exposure

to white light. *Plant Phy.* 30, 491.

Thompson, W.W., Weier, T.E., and Drever, N., Electron-microscopic studies on chloroplasts from phosphorus-Deficient plant. *Ann. J. Botany* 51, 91 5.

Uemura, T., Suzuki, K. etc., 1963. Comparative studies on growth, respiration, photosynthesis and pigmentcontents in *Rhodospseudomonas palustris*. *Plant and cell physio.* 2, 451-61.

Ulrich, W., 1963. Vergleichende Untersuchungen an *Euglena* und *Chlorella* bei Autotropher, mixotropher und heterotropher Ernährung. *Diesertation Göttingen.*

Vernon, 1964. Bacterial Photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Phy.* 14, 73-93.

Whittingham, C.P., Bermingham, M., and Hiller, R., 1963. The photometabolism of glucose in *Chlorella*. *Z.f. Naturforsch.* 18b, 701-706.

Wiessner, W., 1960. Wachstum und Stoffwechsel von *Rhodospseudomonas spheroides* in Abhängigkeit von der Versorgung mit Mangan und Eisen. *Flora (Jena)* 14, 1-42.

Wolff, J.B., Price, R. L., 1960. The effect of sugars on chlorophyll biosynthesis on higher plants. *J. Biol. Chem.* 235, 1603-1638.

Wolff, 1965. *Disertation Göttingen*

Wolken, J.J., A.D., et al 1955. Environmental factors Growth and chlorophyll synthesis *J. Protozool.* 2, 89-96.