

Chlorella Variegata Beijerinck 의 Glucose 培養에 있어서의
Chlorophyll 增減關係에 關한研究 (第二報)
溫度. pH 의 영향에 對한考察

李 賢 順

(成均館大學校 理工大學生物學科)

For the chlorophyll decrease and formation of
Chlorolla variegata by Glucose-Culture (II)
Influence of temperature and pH

Lee, Hyon Soon

(Department of Biology, Sung Kyun Kwan University)

Abstract.

I studied about temperature and pH concentration having influence upon chlorophyll decrease on the Glucose culture of *Chlorella variegata Beijerinck*(211/10a).

I cultured under 25°C(standard), 15°C and 35°C and compared with each other.

The culture of 15°C didn't have any large difference with the standard culture(25°C) but the culture of 35°C had a large amount of chlorophyll decrease without carbohydrate accumulation, stimulation of cell division and nitrogen-deficiency.

Chlorella variegata had optimum pH 6.5—7 and was a little weak in all phenomenon under pH 8 rather than under pH 6.5—7.

Under pH 5 they had deep chlorophyll decrease without pheophytin.

緒論

Hillmann(1956), Pirson u. Lorenzen(1959)

Wolken T.T. et al(1955)는 chlorella 細胞가 高溫에 依해서 chlorophyll 減少를 일으킨다고 明示했고 또한 Cramer and Meyer(1952), Pringsheim(1963) Taylor(1950)은 pH 농도가 chlorella 成長에 영향을 끼칠뿐 아니라 chlorophyll 形成에 영향을 준다고 報告하였다.

Chlorella variegata Beijerinck(211/10a)의 glucose 培養에 있어서 chlorophyll 增減關係와 溫度 또는 pH 영향이 어떠한지 보기 爲해서 實驗을 한바 다음과같이 報告 하는 바이다.

材料 및 方法

Chlorella variegata Beijerinck(211/10a)를 材料로 하여 培養은 Kuhl(1962)에 依해 培養했다. 方法은 Lee(1965)에 記載된 것에 準했다.

實驗結果

溫度의 영향

Chlorella variegata Beijerinck(211/10a)를 窒素源으로서 NHCl+0.1% yeast extract로 25°C 下에 9日間 Autotroph로 배양한다음 1% glucose를 加한直後 15°C 와 35°C로 옮기고 標準培養과 比較했다. 15°C 배양에 있어서는 dry weight 나 carbohydrate-protein synthesis 가 25°C 標準培養과 별차이 없고 chlorophyll 減少도 별차이 없다(Fig 1).

35°C에 있어서는 dry weight 나 carbohydrate protein synthesis 가 25°C 標準培養보다 현저히 적게 일어났는데 chlorophyll 減少는 더빨리 일어난다. (Fig 1).

比較培養으로서 이번에는 窒素源으로서 0.1% yeast extract로 8日間 25°C로 Autotroph로 배양한것에 1% glucose를 加한다음 15°C 와 35°C에 옮겨 배양했다.

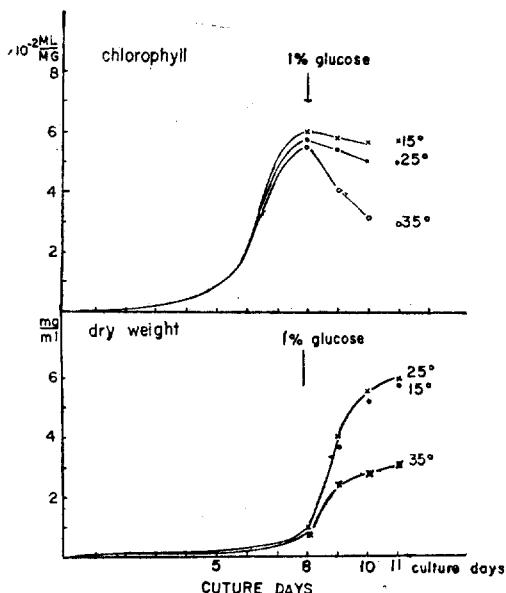


Fig. 1 Chlorophyll and dry weight at the differential temperature of NH_4Cl with 0.1% yeast extract culture. On the 8 th day glucose was added.

25°C (標準培養), 15°C , 35°C 세種類의培養을比較해 보건대 nitrogen-synthesis는 세가지의 경우 다 비슷하고 dry weight나 carbohydrate는 35°C 에서 가장적고 25°C 에서 가장 높다(Fig 2).

15°C 下에培養한것은成長도增殖도느리고 또한 chlorophyll減少도 25°C 의것 보다느린다. 그런데 35°C 下의培養은成長增殖이 25°C 의것보다나쁜데도 chlorophyll減少는 적게일어나지않는다(Fig 2).

pH 영향

*Chlorella variegata*의 Glucose培養에 있어서 pH 농도가 chlorophyll形成減少에 어떤 영향을끼치는지 보기위해서標準培養인 pH 6.5~7과 pH 5와 pH 8로 처음부터 7일간 Autotroph로 배양했고 (25°C) 7일째에 각각 1% glucose를加했다.

窒素源으로서 $\text{NH}_4\text{Cl}+0.1\%$ yeast extract 배양에 있어서 pH 8로 배양한것을보면 dry weight나 carbohydrate形成, chlorophyll減少가 pH 7의標準培養보다 약간 적으나 큰 차이는 없다(Fig 3).

pH 5의培養은 dry weight나 carbohydrate-synthesis가 pH 7의標準培養보다 현저히 적게形成되고 nitrogen-synthesis(Fig 3)는 비슷하다. Chlorophyll减少는 심하게 일어났다(Fig 4). 이때

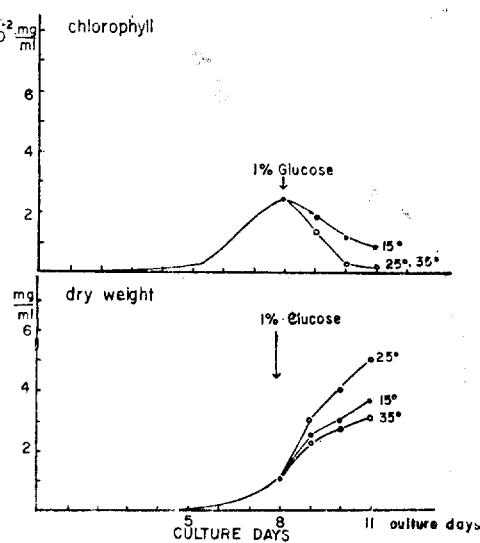


Fig. 2 Chlorophyll and dry weight at the differential temperature of 0.1% yeast extract culture. On the 8 th day glucose was added.

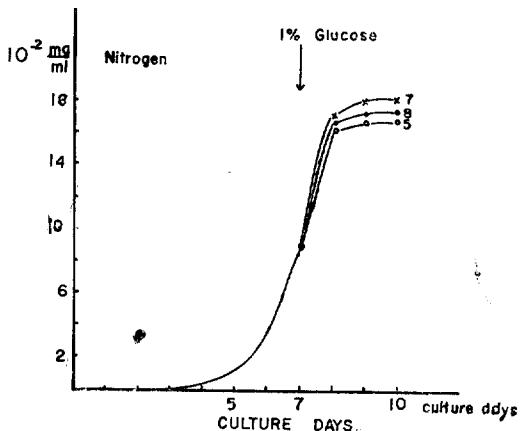


Fig. 3 Nitrogen amount under the culture of differential pH(5, 7, 8) by NH_4Cl with 0.1% yeast extract culture.

强한 Phosphate-buffer를 使用했음에도 不拘하고 pH가降低함으로 NaOH 로 연계나 pH 5를 유지시켰다. 여기서 Chlorophyll이 酸性下에서 파괴되어 생기는 Pheophytin은 Fig 5에서 보여주는 것처럼 나타나지 않았다. 窒素源으로서 0.1% yeast extract로 배양한것에 있어서는 pH 5의培養에 있어서 dry weight나 carbohydrate-synthesis가標準培養

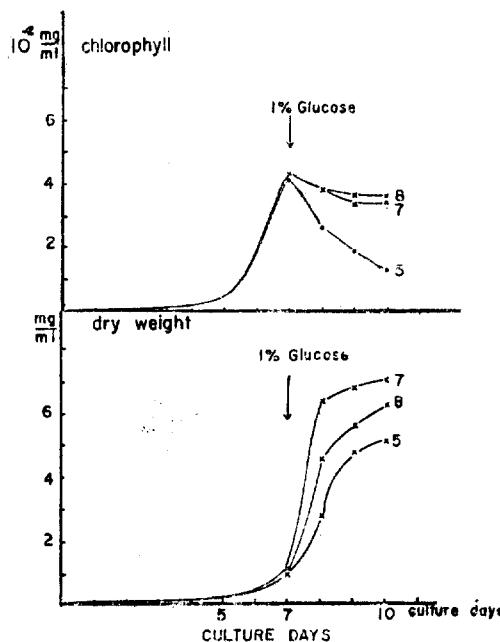


Fig. 4 Chlorophyll and dry weight under the culture of differential pH(5, 7, 8) by NH_4Cl with 0.1% yeast extract. On the 7thday glucose was added.

(pH 7)보다 적게 형성되고 nitrogen-synthesis 도 적게 형성됐지만 chlorophyll 減少가 빨리 일어난다. pH 8의 培養에 있어서는 pH 7의 培養과 별차이가 없다.

考 察

35°C 培養에 있어서 dry weight 나 carbohydrate synthesis, nitrogen-synthesis 가 25°C , 15°C 培養보다 적게 일어났으나 chlorophyll 減少가 더 심하게 일어난 것은 Medium의 窒素缺乏에 의한 것이 아니고 (Aach 1952, Pirson Badow 1959, Eyster et al 1958)

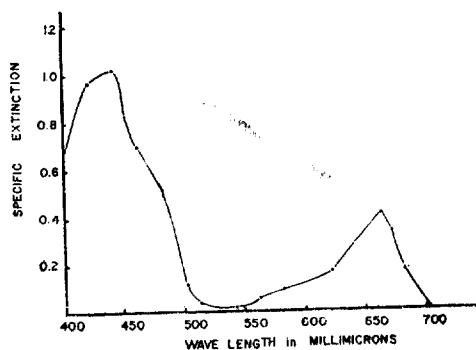


Fig. 5 Specific extinction of chlorophyll and carotinoid by methanol extract on culture of pH 5. It indicated no pheophytin.

高温에 依하여 enzyme의 activity가 減少되어진 것으로 볼 수 있고 細胞增殖이나 carbohydrate 形成이 적게 일어 났음에도 不拘하고 chlorophyll 減少가 더 심하게 일어난 것으로 보아 carbohydrate 蓄積이 chlorophyll 감소를 일으킨다는 Pirson(1955), Ruppel(1962)의 見解와는 달리 高温에 依해서 chlorophyll 減少가 촉진된 것으로 본다. pH 농도에 있어서도 *Chlorella variegata* 는 alkali 性 (pH 8)에 있어서는 成長增殖 chlorophyll 減少도 pH 7의 培養보다 약간 적으나 큰 차이는 없다. pH 5의 酸性下에 있어서의 배양은 dry weight, carbohydrate, nitrogen synthesis 가 약간 적게 일어났으나 chlorophyll 減少는 심하게 일어나 青白色을 나타낸다 ($\text{NH}_4\text{Cl} + 0.1\%$ yeast extract). 褐色의 Pheophytin은 조금도 나타나지 않았다. 이렇게 *Chlorella variegeta* 는 optimum의 pH는 $6.5 \sim 7$ 이고 pH 8에서 Chrophyll 감소가 심한 것은 medium의 nitrogen 缺乏에 基因하는 것이 아니고 environmental factor의 重要한 하나인 pH 농도에 依한 chlorose로 본다.

摘

Chlorella variegata Beijerinck(211/10a)의 glucose 培養에 있어서 温度, pH 가 chlorophyll 減少에 어떤 영향을 미치는가를 調査했다.

① 標準培養과 (25°C)과 15°C , 35°C 下의 培養을 比較해보면 15°C 는 25°C 의 것과 별차이 없고 35°C 下에서는 carbohydrate 축적 細胞增殖의 촉진, nitrogen 缺乏없이 chlorophyll 減少가 심하게 일어난다.

② *Chlorella variegata Beijerinck*(211/10a)의 Optimum pH는 $6.5 \sim 7$ 이고 pH 8下에서는 모든 現象이 pH 7보다 약간 強하고 pH 5의 酸性下에서는 pheophitin은 나타나지 않고 Chlorophyll 減少가 심하게 일어난다.

References

- Aach, H.G. 1953. über Abbau und Regener-

ation der Chloroplastenfarbstoffe bei chlorella.
Arch. Microbiol. 19, 166—173.

2. Badour, S,S,A 1959. Kennzeichnung von Mineralsalz mangelzuständen bei Grünalgen mit analytisch-chemischer Methodik II. Flora (Jena), 99—119.
3. Cramer M. and Meyers J. 1952. Growth and photosynthetic characteristics of Euglena gracilis. Arch. Microb. 17, 384—402.
4. Eyster, C., Brown, T.E., et al 1958b. Manganese requirement with respect to growth, Hillreaction and Photosynthesis. Plant Physiol. 33, 235—241.
5. Hillmann, W.S. 1956, Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles. Amer J. Bot. 4389—96.
6. Kuhl, A., 1962. Zur Physiologie der Speicherung kondensierter anorganischer phosphate in Chlorella In: Beiträge zur physiologie und Morphologie der Algen, S, 157—165.
7. Lee, H.S. 1965. Ueber die Chlorophyllbildung von chlorella variegata bei Glukose-Anzucht. Kor. J. Microb. 3.
8. Mackinney, G., 1941. Absorption of light by chlorella solution. J. Biol. Chem. 140, 317—322.
9. Pirson A., Lorenzen and Koepper, A., 1959. A sensitive stage in synchronized cultures of chlorella, Plant Physiol. 34, 353—55.
10. Pringsheim, E.G. and Pringsheim, O. 1952. Experimental elimination of chromatophores and eye-spot in Euglena gracilis: The new-phytologist 51, 65—76.
11. Roe, J.H., 1955. Determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent J.Bio. Chem. 212, 335—343.
12. Ruppel, H.G., 1962, Untersuchungen über die Zusammensetzung von Chlorella by Synchronisation im Licht-Dunkel-wechsel. Flora (Jena) 152, 131—138.
13. Taylor, F.T., 1950, Oxidativeassimilation of glucose by Scenedesmus. J. Exptl. Bot. I. 301 —321.
14. Wolken, T.T., et al 1955. Environmental factors growth and chlorophyll synthesis J. Protozool, 2, 89—96.