

Gibberellic Acid에 의한 *Chlorella*의 生長과 呼吸 및 透過性과의 關係

蔡麟基

(梨花女大 生物學科)

Relationship between Growth, Respiration and Permeability of *Chlorella* cell treated with Gibberellic acid

CHAI, In Ki

(Dept. of Biology, Ewha Womens Univ.)

ABSTRACT

Effect of gibberellic acid (GA) on the growth rate, respiratory activity and solute uptake of *Chlorella* cells were measured and their correlation were discussed.

Growth rate and respiratory activity of the algal cells are enhanced considerably by very small amount (50 ppm) of GA treatment although they are suppressed by relatively higher concentration more than 100 ppm. Phosphate uptake of the algal cells, however, decreased even though lower concentration of GA is applied.

Therefore, it is inferred that the growth enhancement of the algae by GA is not due to the increase of the permeability of the algal cells but expansion growth owing to the increase of osmotic pressure caused by the increase of hydrolase activity of the algae.

緒論

o] 미 Kinoshita & Teramoto(1958), Griffin(1958) 및 Conrat 등(1959)은 數種藻類의 生長이 Gibberellic acid(GA)에 의하여 促進된다고 하였고, 蔡등(1969)도 *Chlorella*에서 같은 결과를 報告한 바 있다. 한편 Bradshaw & Edelman(1968)과 Pinfield(1968)는 그와 같은 生長促進効果가 GA에 의한 炭水化物

加水分解酵素의 活性增大에 따른 細胞內 渗透壓增加에 起因된다고 推定하였고 Kuriishi & Muir(1965)는 GA가 Auxin含量을 높히는데 있다고 하였다. 蔡등(1969)은 GA에 의한 *Chlorella*의 生長촉진이 그 物質組成의 分析結果로 보아 細胞內 渗透壓增加에 따른 cell expansion으로 因한 透過性增大에 緣由하는 것 같다고 추정한 바 있다.
本研究에서는 GA에 의한 *Chlorella* cell의

透過性増大의 與否와 이에 따른 呼吸의 變動 및 生長과의 關係등을 조사하여 그 결과를 보고한다.

材料 및 方法

Chlorella ellipsoidea 를 通常培地에 接種하여 20~25°C 10K lux 下에서 CO₂ enriched air로 bubbling 하면서 배양하되 GA 농도는 150, 100, 50, 0 (control) ppm이 되게 하였다.

Chlorella 의 生長은 6日間의 배양중 一定時間마다 採取하여 그 packed cell volume 을 测定하였고, 호흡은 GA-Free 培地에서 배양된 *Chlorella* 의 一定量을 取하여 各濃度가 되게 GA 를 加한 후 常法대로 그 QO₂ 를 計

Table 1. The growth (packed cell volume) of *chlorella* cultured with various concentrations of GA(ml/L. medium)

Conc. of GA (ppm)	Duration of culture(days)				Packed cell volume as % of control (after 6 days)
	0	2	4	6	
0	0.03	0.72	2.53	5.52	100
10	0.03	0.76	2.64	6.19	112
50	0.03	0.63	2.82	6.69	126
100	0.03	0.41	1.73	4.13	75
150	0.03	0.15	1.00	3.68	66

進과 抑制의 限界가 GA 40 ppm 과 70 ppm 사이에 있었기에 今般에는 50 ppm 区를 두었고 最高濃度는 200 ppm 에서 150 ppm 으로 낮추었다. 여기에서도 그때와 마찬가지로 GA低濃度에서는 *chlorella* 的 生長이 促進되었고 高濃度에서는 抑制되었다. GA 50 ppm 에서도 40 ppm 못지 않은 生長促進이 있어 control 에 비하여 約 26%의 生長增加를 보였다. (Table 1.) 그러나 GA에 의한 培養初期의 生長抑制傾向은 既報(1969)에서와 다를바 없으며 이것은 GA에 의한 chlorophyll의 生成抑制에 起因될 것이라고 하는 것은 이미 指摘한 바 있다.

2) *Chlorella* cell의 透過性에 미치는 GA의 영향

GA에 의한 細胞透過性의 變動은 *chlorella*

算하였다. GA에 따른 *chlorella* 細胞의 透過性의 變動은 GA-Free 培地에서 배양된 *chlorella* 細胞의 一定量을 取하여 M/500 K₂SO₄ 용액으로 遠心分離에 의하여 2回 셋은 후 tris-buffer(pH 7.4) 1l 당 100mM potassium phosphate 와 0.33 mCi ³²P-phosphate 및 GA 각 농도가 함유되게끔 reaction medium에 懸濁시켜, 여기에서 一定時間마다 *chlorella* cell을 收獲하여 그 放射能을 測定하였다.

結果 및 考察

1) *Chlorella* 的 生長에 미치는 GA의 영향
著者등의 既報(1969)에서와는 若干 다른 GA濃度구를 設定하였다. 即 그때의 生長促

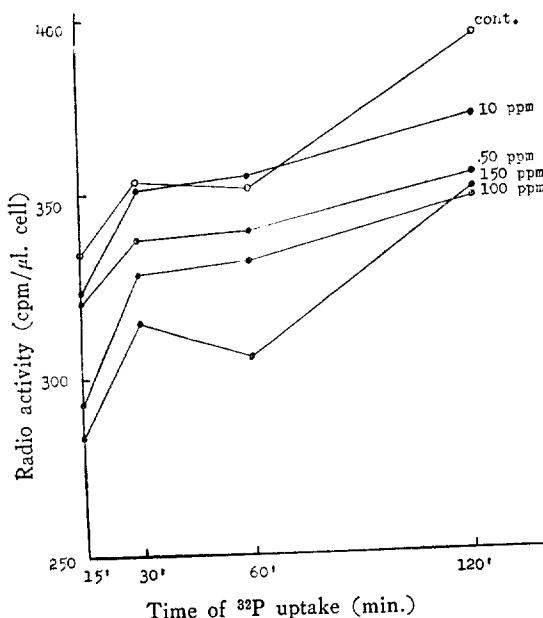
cell이 一定時間內에 摄取한 ³²P-phosphate의 放射能值로 가름하여 보았는데 그 結果는 Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 即 ³²P-phosphate의 *chlorella* cell에의 透過가 GA의 어느濃度에서나 抑制되었으며 GA濃度가 높아짐에 따라 透過抑制가 높아졌음을 볼 수 있었다. 이것은 GA에 의한 細胞內滲透壓增加에 따른 cell expansion이 細胞의 透過性마저 높여서 鹽類吸收가 增大되는데 *chlorella* 生長의 促進이 있을 것이라고 하는 從來의 推定과는若干 어긋나는 結果로서 cell expansion이 반드시 細胞의 透過性마저 增大시킬 것이라고 速斷하기는 어려울 것 같다.

사실 Varner & Chandra(1964)는 ¹⁴C-phenylalanine이, 그리고 Varner 등 (1965)은 ¹⁴C-leucine이 GA(10^{-6} M)에 의하여 barley

Table 2. Changes in Radio-activities of ^{32}P -phosphate of *chlorella* cells cultured with various concentrations of GA (cpm/ μl . cell)

Conc. of GA (ppm)	Time of P uptake(min.)	15'		30'		60'		120'		Average of %
		Sampling No.	Average	Sampling No.	Average	Sampling No.	Average	Sampling No.	Average	
Cont.	1	286		329		361		355		
	2	306	334	369	354	332	354	421	397	
	3	314	*(100)	366	*(100)	368	(100)	416	(100)	(100)
10	1	306		363		401		368		
	2	316	321	317	352	326	356	420	374	
	3	341	(96)	380	(99)	351	(100)	334	(94)	(97)
50	1	276		317		291		282		
	2	334	320	374	337	350	341	370	358	
	3	350	(96)	320	(95)	383	(96)	423	(90)	(94)
100	1	280		318		303		292		
	2	290	291	374	327	322	332	380	351	
	3	301	(87)	291	(92)	370	(94)	391	(88)	(90)
150	1	262		299		260		314		
	2	311	282	306	315	311	307	392	353	
	3	273	(84)	340	(89)	350	(87)	380	(89)	(87)

* () : Radio-activity as % of control.

**Fig. 1.** Comparison in Radio activities of ^{32}P -phosphate of *chlorella* cell cultured with various concentrations of GA.

endosperm에 의한 透過가減少되었다고 하였으며 이것은 GA가 protease activity를 높혀蛋白을 아미노산으로 분해하여 그一部가細胞外로流出되며 때문인 것 같다고 하였다.

著者等(1969)은 *chlorella*가 GA에 의하여生長促進이 있었을 때의 *chlorella*細胞의體物質分析에서體物質全量으로서는 이¹般增減을 찾아보기 어려웠으나, 多糖類의減少와 soluble carbohydrate의增加, 그리고P-化合物의 약 13%의減少를指摘한 바 있었는데 이와같은 GA에 의한 P-化合物의減少와 이實驗에서 ^{32}P 透過의抑制는符合되는面이 있는것 같다.

3) *Chlorella*의呼吸에 미치는 GA의 영향
呼吸에 대한 GA의 영향은 Table 3과 Fig. 2에 提示된 바대로 *Chlorella*의 生長促進濃度(10, 50 ppm)에서는 촉진되고 生長抑制濃度(100, 150 ppm)에서는抑制되었다. 그리하여濃度에 따른呼吸에 대한促進과抑制의様

Table 3. Effect of GA on the Respiratory activity of chlorella cells.

Conc. of GA (ppm)	Endogenous respiration		Glucose respiratory	
	QO ₂	QO ₂ as % of control	QO ₂	QO ₂ as % of control
0	5.45	100	12.80	100
10	5.72	105	13.77	107
50	5.88	108	14.29	111
100	5.16	94	11.80	92
150	4.97	90	8.94	70

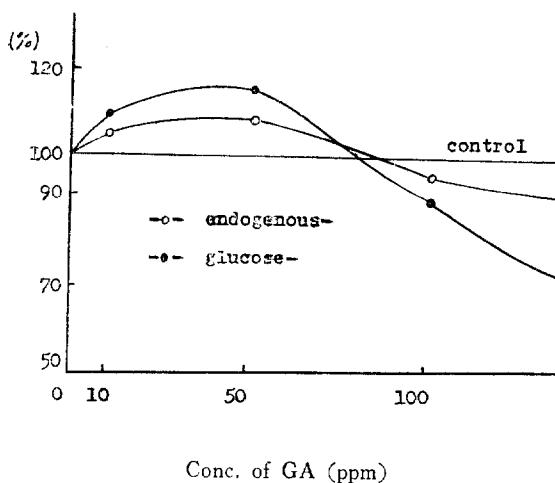


Fig. 2. Effects of GA on the Respiratory activity of chlorella cells. (QO₂ as % of control)

相이 生長의 그것과 잘 符合되고 있음을 알 수 있다.

GA에 의하여 呼吸이 促進된다는 報告는 Paleg(1960)의 Baku endosperm에서의 것을 위시하여 許多한데 이들 경우에 있어서도 生長이나 hydrolase activity를 촉진하는 GA 농도범위에서만 呼吸도 촉진되고 있으며, Briggs(1963)에 의하면 GA에 의한 呼吸促進이 주로 hydrolase의 생성에 수반되는 것이라고 하였다. 이리하여 GA는 加水分解酵素과 같은 一部酵素蛋白의 合成을 촉진하지만 이를 酵素에 의하여 構造蛋白이나 高分子炭水化物의 分解를 促進하는 方向으로 作用하고 있다.

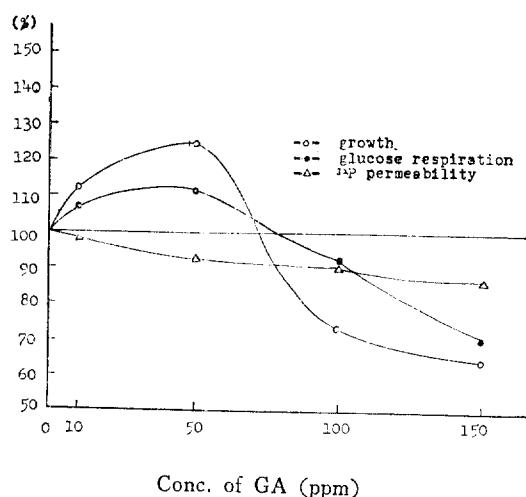


Fig. 3. Relationship between the Growth, Respiration and ³²P-permeability of chlorella cells treated with various concentrations of GA.

이상의 結果와 考察을 綜合하여 보건데 Fig. 3.에서 보는 바와 같이 GA에 의한 chlorella의 生長促進은 呼吸과는 密接하게 關聯되어 있으나 ³²P-phosphate의 透過性과는 無關한 것 같다.

Yomo & Iinuma(1964)와 Jacobsen & Varner(1967)등은 GA에 의하여 α -amylase와 protease의 성성이 촉진된다고 하였고 Nanda & Dhindsa(1968)는 GA에 의한 生長촉진과 carbohydrate 함량과의 관계를 검討함에 있어서 soluble carbohydrate의 增加가 세포의 渗透壓을 높혀 吸水로 因한 expansion growth가 초래된다고 하였다. Briggs(1963)와 Varner(1964)등은 soluble carbohydrate의 增加는 GA에 의한 carbohydrate hydrolase의 생성촉진에 起因된다고 하였다. 따라서 GA에 의한 chlorella의 生長促進은 鹽類吸收(透過性)의 增大나 體物質增加에 따르는 것이라고 보기보다는 GA에 의한 hydrolase 생성의 昂進에 따른 可溶性成分의 增加와 이로 因한 細胞內 渗透壓의 增大에서 초래된 吸水生長이 主因인 것 같다.

摘 要

GA에 의한 *chlorella*의 생장촉진의 원인을 규명코자 GA처리에 따른 *chlorella*의 생장, 호흡 및 투과성 등을 알아 보았다.

GA 50 ppm에서最大生長促進效果가 있었고 그 이상의 농도에서는 오히려 *chlorella*의 생장이 억제되었다.

呼吸은 *chlorella*의 생장촉진농도(10, 50 ppm)의 GA에서는 촉진되고 生長억제농도(100, 150 ppm)에서는 억제되었다.

^{32}P -phosphate의 *chlorella* cell에의 透過性은 GA의 어느 濃度에서나 低下되었으며, 高濃度일수록 그 低下度가 커졌다.

따라서 GA에 의한 *chlorella*의 생장촉진은 GA에 의한 hydrolase activity의 增大에 따른 細胞內可溶性成分의 增加가 渗透壓을 높혀 expansion growth를 초래한 결과라고 생각된다.

引 用 文 献

1. Bradshaw, M.J. and J. Edelman, 1968. Enzyme formation in higher plant tissue; The production of a gibberellin proceeding invertase synthesis in aged tissue. *J. Exp. Bot.*, 39, 87-93.
2. Briggs, D.E., 1963. Biochemistry of Barley germination; Action of gibberellic acid on Barley endosperm. *J. Inst. Brewing*, 69, 13-19.
3. Conrad, H., P. Saltman and R. Eppley, 1959. Effects of auxin and gibberellic acid on growth of *Ulothrix*. *Nature*, 184, 556-557.
4. Griffin, D.N., 1958. The effect of gibberellic acid upon *Euglena*. *Proc. Oklahoma Acad. Sci.*, 38, 14-15.
5. Kinoshita, S. and K. Teramoto, 1958. On the efficiency of gibberellin on the growth of phorphyra. *Frond. Bull. Japan Soc. Phycol.*, 6, 85-88.
6. Kuraishi, S. and R.M. Muir, 1965. The relationship of gibberellic acid and auxin in plant growth. *Plant & Cell Physiol.*, 15, 61-69.
7. Jacobsen, J.V. and J.E. Varner, 1967. Gibberellic acid-induced synthesis of protease by isolated aleurone layers of Barley. *Plant Physiol.*, 42, 1596-1600.
8. Nanda, K.K. and R.S. Dhindsa, 1968. Effect of gibberellic acid on starch content of soybean and its correlation with extension growth. *Plant & Cell Physiol.*, 9, 423-432.
9. Paleg, L.G., 1960. Physiological effects of gibberellic acid. *Plant Physiol.*, 35, 293.
10. Pinfield, N.J., 1968. The effects of gibberellin on the metabolism of ethanol-soluble constituents in the cotyledons of Hazel seeds. *J. Exp. Bot.*, 452-459.
11. Varner, J.E., 1964. Gibberellic acid controlled synthesis of α -amylase in Barley endosperm. *Plant physiol.*, 39, 413-415.

12. Varner, J.E. and G.R. Chandra, 1964. Hormonal control of enzyme synthesis in Barley endosperm. *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 52, 100.
13. Varner, J.E., G.R. Chandra and M.J. Chrispeels, 1965. Gibberellic acid-controlled synthesis of α -amylase in Barley endosperm. *J. Cell Comp. Physiol.*, 66, Suppl., 1.
14. Yomo, H. and H. Iinuma, 1964. The enzymes of the aleurone layer of Barley endosperm. *Proc. Amer. Soc. Brew. Chem.*, 97-102.
15. 蔡麟基, 裴齊美, 李永祿, 1969. *Chlorella*의 생장에 미치는 gibberellic acid의 촉진 및 억제효과. *韓國微生物學會誌* 7, 143-522.