

*Chlorella*의 多量元素 缺乏에 따른 生長 및 光合成能의 變化

*張來成·李永祿

(*延世大學校 教育大學院·高麗大學校 理工大學)

Effect of Macronutritional-element Deficiencies on the Growth and Photosynthetic activity of *Chlorella* cells

*Rae Sung, CHANG and Yung Nok, LEE

(*The Graduate School of Education, Yonsei University,
College of Sciences and Engineering, Korea University)

ABSTRACT

Chlorella ellipsoidea cells were cultured in a phosphate, magnesium, sulfur or potassium-free medium. Some portions of cells were taken out at intervals during the culture, and physiological activities such as growth rate, reproduction, photosynthetic activity, and biosynthesis of chlorophyll of macro-element deficient cells were measured.

1) Generally, growth rate, reproduction, photosynthetic activities, and biosynthesis of chlorophyll of the macro-element deficient cells decreased more or less, compared with those of the normal cells.

2) The growth and reproduction of the algal cells in a sulfur, or magnesium-free medium were retarded severely with the chlorosis; the photosynthetic activity and the content of chlorophyll showed the same tendency.

3) It is considered that the decrease in growth rate of macro-element deficient *Chlorella* cells is due to the decrease in photosynthetic activity owing to the decrease in chlorophyll content of the cells.

緒 論

藻類의 無機營養에 관한 研究는 오래전부터 많은 學者들의 연구대상이 되어 왔고 無機營養의 缺乏이 대개 生長障害를 수반하며 (Emerson and Lewis, 1939), 필수원소의 缺乏이 세포내 物質代謝의 결함을 초래하고 (Hewitt, 1963), 重金屬元素나 모리브덴 및 붕소가 綠藻類의 生長에 불가결하다 (Wiesnes, 1962; Hutnes and Provasoli, 1964; Epstein, 1965)는 보고도 있으나 近年에 와서 특히 多量元素가 綠藻類의 生長에 미치

는 영향에 대한 研究는 별로 많지 않을 뿐 아니라 배지 내의 無機營養의 動態나 元素개개의 특이한 作用에 대해 확인 해명해야 할 여지를 많이 남기고 있다.

本 實驗에서는 *Chlorella*의 生長에 미치는 無機鹽類의 影響을 규명코저 P, Mg, S, K 등 多量元素 缺乏 배지에서 細胞를 培養하고 培養의 中間期에 一定量의 細胞를 수확하여 그들의 生長差를 測定比較하고 生長에 미치는 이들 無機元素의 作用을 해석코저 葉綠素 含量 및 光合成能을 測定 比較하였다.

材料 및 方法

*Chlorella ellipsoidea*를 M4N 培地(Tamimya *et al.*, 1953)에서 正常培養한 후 P, Mg, S, K 등의 多量元素가 하나씩 缺乏된 4 개의 培地和 正常培地に 各各 세포를 接種하여 5日間 培養하였다.

培地는 正常培地에서 해당 缺乏元素를 포함하는 化合物을 빼고 다른 化合物로 同量씩 代置하여 만들었다.

P 缺乏培地는 KH_2PO_4 대신에 K_2SO_4 로 代置하고 Mg 缺乏培地는 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 대신 K_2SO_4 로 代置하고

S 缺乏培地는 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 대신 $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 로 代置하였으며 Arnon A 중 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 ZnNO_3 로, $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 CuNO_3 로 代置하였다.

K 缺乏培地는 KNO_3 대신 NaNO_3 를, $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 대신 NaH_2PO_4 로 代置하여 만들었다.

培養瓶의 容積은 500ml인 것을 使用하였다.

培養期間은 5일로 하였으며 배양기간중엔 一定한 光線下에서 溫度 25°C 를 유지하면서 約 3%의 CO_2 를 含有하는 空氣의 氣胞를 계속적으로 공급하면서 CO_2 의 充分한 공급과 細胞의 침전을 防止하였다.

培養期間 中엔 接種時에서 부터 24時間 간격으로 一定量씩 細胞를 收穫하여 細胞數, packed cell volume, optical density, 光合成등을 測定하였다.

細胞의 生長量은 細胞의 容積과 세포수를

세어 추정하였다.

光合成能은 manometric method로 測定하였는데 細胞를 포화光선으로 계속 照射하고 reaction chamber에는 bicarbonate-carbonate mixture(pH range 6.3~7.3 at 25°C)에 細胞를 懸濁하여 25°C 에서 30分間 계속 測定한 다음 暗處에서 呼吸으로 소비한 산소의 量을 測定하여 이들로 부터 放出된 酸素量을 卞하여 QO_2 로 算出하였다.

結 果

1. 細胞의 生長에 미치는 多量元素의 缺乏效果
多量元素 缺乏培地에서 培養한 細胞의 接種後 5日間의 生長率 및 増殖率을 Fig. 1과 Fig. 2에 表圖하였으며 培養 5日 後의 生長率과 増殖率을 다시 Table 1과 Table 2에서 比較하였다.

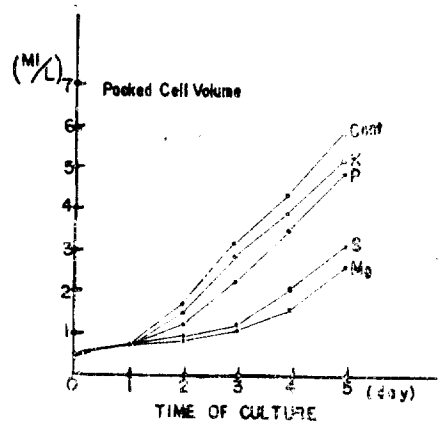


Fig. 1. Effect of macro-element deficiency on the growth rate of *Chlorella* cells. The cells were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days.

Table 1. Comparison of the growth rate of *Chlorella* cells which were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days

Division	Packed cell volume		Growth rate (times)	Comparison with control (%)
	inoculum after 5 days (ml/l)	(ml/l)		
Mg-deficient	0.5	2.8	5.6	45.1
S-deficient	0.5	3.3	6.6	53.2
P-deficient	0.5	5.3	10.6	85.5
K-deficient	0.5	5.5	11.0	88.8
Control	0.5	6.2	12.4	100.0

Table 2. Comparison of the reproductive rate of *Chlorella* cells which were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days.

Division	Cell number		Reproductive rate (times)	Comparison with control (%)
	inoculum after 5 days ($\times 10^3$ /ml)	($\times 10^3$ /ml)		
Mg-deficient	2.2	11	5	37.3
S-deficient	2.2	17	7.7	57.6
P-deficient	2.2	25	11.4	84.7
K-deficient	2.2	27	12.3	91.5
Control	2.2	29.5	13.4	100

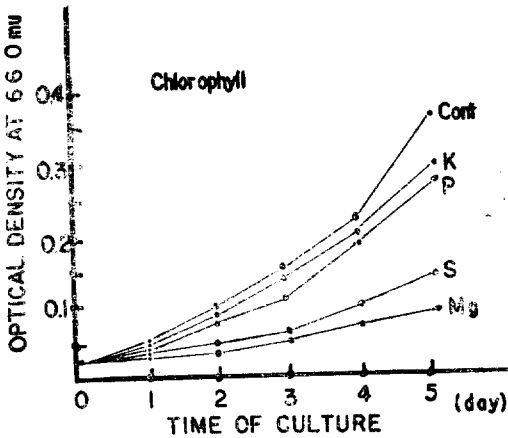


Fig.2. Effect of macro-element deficiency on the reproductive rate of *Chlorella* cells. The cells were cultured in each macro element deficient medium for 5 days.

1) 生長率 : Fig.1에서 보는 바와 같이 對照區에 比하여 缺乏區에서의 生長이 전반적으로 減少하였다. P缺乏區나 K缺乏區는 對照區와 大差가 없는 반면 S缺乏區와 Mg缺乏區에서는 심하게 生長이 低下되었음을 나타내고 있다.

Table 1에서 5日後의 正常培地에서의 生長率을 보면 接種時의 12.4배에 달했고 P缺乏區에서는 約 10.6倍, K缺乏區에서 約 11倍의 生長을 한데 比하여, S缺乏區에서는 6.6倍, Mg缺乏區에서 5.6倍로 對照區에 比하여 50% 内外의 生長을 나타내고있다. 또한 S缺乏區와 Mg缺乏區에선 심한 生長 障害와 함께 黃白化 現象도 초래되었다.

黃白化 現象은 特히 Mg缺乏區에서 가장 심했고 S缺乏區에서도 심한 편이었으며 P缺乏區, K缺乏區의 順으로 輕減되었다.

2) 增殖率 : Fig.2와 Table 2에서 보는 바와 같이 細胞의 增殖率도 生長과 거의 같은 傾向을 나타내고 있으며 K-, P-, S-, Mg-의 順으로 增殖率도 심한 障害를 입었다.

2. 光合成能에 미친 多量元素의 缺乏效果

多量元素 缺乏으로 인한 *Chlorella* 세포의 顯격한 生長障害의 原因을 分析하기 위하여 多量元素 缺乏 細胞의 光合成能을 測定하여 Fig.3에 表圖하였으며 培養 5日後의 光合成能을 Table.3에서 比較하였다.

光合成能도 K-, P-, S-, Mg- 缺乏區의 順으로 低下되었는데 Table 3에서와 같이 Mg 결핍 培地에서 자란 細胞의 光合成能은 正常培地에서 자란 세포의 光合成能의 27.5%에 不過하였으며, 정도의 差는 있으나 K缺乏 세포는 87.5%, P缺乏 세포는 75%, S缺乏 細胞는 62.5%로 低下되었다. 이같은

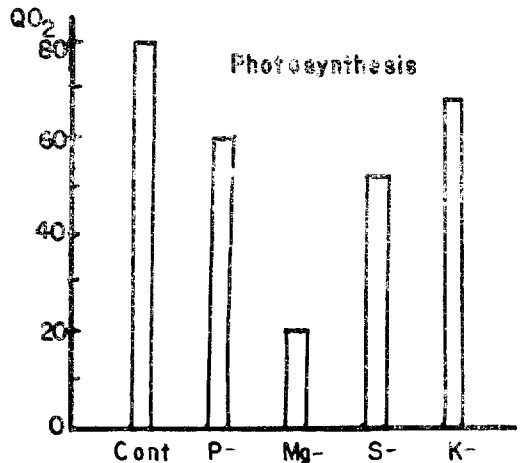


Fig.3. Comparison of photosynthetic activities of the macro-element deficient *Chlorella* cells which were grown in the macroelement deficient medium for 5 days.

Table 3. Comparison of the photosynthetic activity of *Chlorella* cells which were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days.

Division	Photosynthetic activity (QO ₂)	Comparison with control (%)
Mg-deficient	21.8	27.5
S-deficient	55.2	62.5
P-deficient	60.2	75.0
K-deficient	71.4	87.5
Control	80.0	100

結果는 生長에 미친 多量元素의 缺乏 効果 와 비슷한 傾向을 나타내는 것이다.

3. Chlorophyll 形成에 미친 多量元素의 缺乏 效果

多量元素 缺乏으로 인한 *Chlorella* cells 의 光合成能의 低下가 chlorophyll 含量의 低下에 起因하는지의 여부를 分析하기 위해 多量元素 缺乏 細胞의 chlorophyll 含量을 測定하니 그 結果를 Fig. 4에 表圖하였고 5日 後의 chlorophyll 含量을 Table 4에서 比較 하였다.

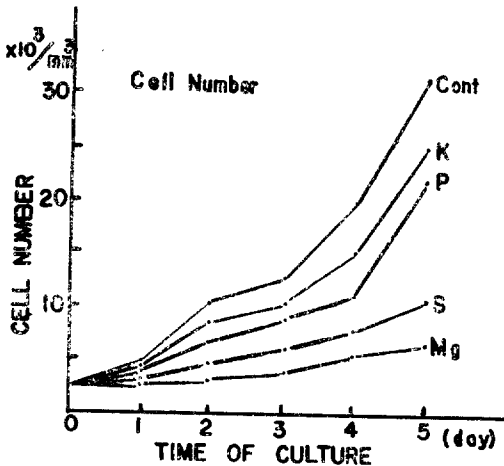


Fig. 4. Effect of macro-element deficiency on the biosynthetic activity of chlorophyll in *Chlorella* cell. The cells were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days.

Table 4. Comparison of chlorophyll content of *Chlorella* cells which were cultured in each macro-element deficient medium for 5 days.

Division	Chlorophyll content (OD660)	Comparison with control (%)
Mg-deficient	0.10	28.6
S-deficient	0.15	42.8
P-deficient	0.29	82.8
K-deficient	0.31	88.6
Control	0.35	100

Fig. 4에서 보는 바와 같이 chlorophyll 含量도 生長에서 나타낸 바와 같이 K-, P-, S-, Mg-의 順으로 OD가 低下되었는데, Table 4에서 보는 바와 같이 S와 Mg 缺乏 培地에서 栽培 細胞의 chlorophyll 含量은 對照區에 比하여 各各 42.8%, 28.6%로 K-, P- 缺乏區에 比하여 顯著的한 低下를 나타내고 있어 光合成能의 低下와 chlorophyll 含量의 低下 사이에 좋은 相關關係를 보여주고 있다.

이상에서의와 같이 多量元素 缺乏培地에서의 細胞의 生長率, 增殖率, 光合成能, chlorophyll 含量등이 다 같이 K-, P-, S-, Mg- 缺乏區의 順으로 低下된 비슷한 傾向을 나타내었다. 따라서 缺乏區에서의 光合成能의 低下를 초래한 主要한 原因의 하나가 chlorophyll 含量의 減少이고 光合成能의 障害 또한 生長 障害의 主要한 原因임을 알 수 있다.

考 察

P-, Mg-, S-, K-등의 多量元素 缺乏 時에 나타난 生長, 增殖, 葉綠素 含量, 光合成能에 있어서의 障害現象으로 보아 *Chlorella* 細胞의 正常的 生育을 爲해 이들 多量元素가 必須 不可缺하다.

P는 核酸, 蛋白質 및 磷脂質의 構成 成分이고 核이나 原形質膜 그리고 細胞器管의 形成에 參與한다. 이들 物質의 合成을 爲해서는 medium 으로부터의 inorganic phosphate가 供給되어야 한다.

Miyachis와 Tamya(1961)는 이미 RNA나 polyphosphate의 합성에 사용되는 P가 surrounding medium의 inorganic phosphate로부터 直接 供給됨을 밝힌 바 있고 李 등(1966)은 phosphate의 P가 DNA나 protein 합성에 참여하게 됨을 밝힌 바 있는데, P의 缺乏時 細胞의 構成 物質 合成의 阻害 및 磷酸化 反應의 阻害로 生長 障害를 일으킨 것으로 생각된다.

Mg는 chlorophyll의 構成 成分으로 光合成에 關係하며 炭水化物 代謝에 關與하는 많은 酵素의 活性濟의 役割을 하는 등 많은 生理的 意義를 가지고 있다. Gallig(1963)은 *Chlorella pyrenoidosa*를 Mg 缺乏 培地에 同調培養하여 細胞의 DNA 및 protein 合成이 阻害됨을 觀察하였는데 Mg는 有機物과 結合한 狀態로 存在하여 ribosome의 構成 成分도 되며(Bonner, 1965), 또한 polyphosphate에서 DNA, protein 및 RNA-polyphosphate複合體로서의 磷의 轉換에도 Mg가 役割을 하므로(李 등, 1968) Mg 缺乏 區에 있어서의 生長 障害는 지극히 當然한 것으로 생각된다. 培養過程에서 심한 黃白化現象이 나타나고 있음은 Budine과 Howard(1959), Yamaguchi와 Lorenz(1960) 등이 報告한 바와 같이 Mg 缺乏으로 인한 chlorophyll 合成이 阻害되었기 때문이며 다른 多量元素 缺乏 時에 比하여 심한 生長 障害를 나타낸 것도 DNA, RNA, protein 合成등에 關여하는 生理的 活性과 더불어 獨立營養 藻類로서 chlorophyll 合成의 阻害가 主要한 原因으로 생각된다.

S는 시스테인, 메티오닌 등의 amino acid의 構成 成分이 되며 植物 hormone인 티아민, 비오틴 등의 構成 要素이기도 하다. 이같이 S化合物 特히 -SH化合物은 여러가지 酵素나 體構成 蛋白質의 成分이 되므로 S缺乏 細胞에서는 여러가지 非正常的 物質代謝의 結果로 生長 障害를 수반하는 것으로 생각된다.

한편 Mg 缺乏區에 比하여는 덜하나 현저한 黃白化現象을 나타내고있어 葉綠素 形成에도 關與하는 것 같다.

K는 Latzko와 Mechsner(1958)가 K缺乏 *Chlorella vulgaris* 細胞의 光合成的 磷酸化 反應의 阻害를 報告한 바 있으며, 化學的으로 유사한 다른 無機 이온과 代置될 수 없는 生理的 活性을 가지고 특히 物質代謝가 왕성한 組織에 많이 存在하고 있다. 또한 植物體 內에서 特別한 體構成 物質로 되지 않고 여러 酵素의 活性濟 役割을 하며 amino acid로부터의 protein 合成에도 關與하는 것으로 알려지고 있다. K의 缺乏 時 나타나는 生長 障害나 光合成能의 低下는 細胞 內에서의 物質代謝의 樣式을 破壞하는 結果(Hewitt, 1963)로 생각된다.

이같은 多量元素의 細胞 內에서의 生理的 意義로 보아 多量元素 缺乏 細胞의 生理的 活性은 크게 阻害받을 수 있다.

한편 *Chlorella* 細胞의 生長에 미친 K, P, S, Mg 등 多量元素 個個의 缺乏 效果의 大小에 關한 보다 具體的 比較와 論議는 이들 多量元素에 對한 多角的이고 長期的인 缺乏 培地에서의 培養과 細胞 內에서의 役割에 對한 生化學的 考察이 必要하겠다.

摘 要

*Chlorella ellipsoidea*를 正常培地 및 P, Mg, S, K 등의 無機元素 各各 하나씩의 缺乏된 培地에서 培養하고 培養의 中間期에 一定量의 細胞를 수확하여 生長率, 增殖率, 葉綠素 含量, 光合成能등을 測定比較하였다.

1) 生長率, 增殖率은 K-, P-, S-, Mg- 缺乏區의 順으로 障害가 심해졌으며 특히 Mg-와 S-缺乏區에 生 黃白化 現象과 함께 生長 障害가 극심했으며, 葉綠素 含量, 光合成能도 K-, P-, S-, Mg-缺乏區의 順으로 生長率과 비슷한 傾向을 나타내었다.

2) *Chlorella* 細胞의 光合成能의 低下를 초래한 主要한 原因의 하나가 chlorophyll 含量의 減少에 있

고 光合成能의 沮害가 生長障害의 主要한 原因으로 생각된다.

引 用 文 獻

1. Bonner, J., 1965. Ribosomes in "Plant Biochemistry" (J. Bonner and Varner J.E. eds)
2. Burdine, H., and Howard, W., 1959. A study of Mg-deficient chlorosis in certain varieties of green celery. *Press. Amer. Soc. Hort. Sci.* 74, 514-525
3. Emerson, R. and C.M. Lewis, 1939. Factors influencing the efficiency of photosynthesis. *Amer. Jour. Bot.* 26, 802-822
4. Epstein, E., 1965. "Plant Biochemistry" 438. (J. Bonner and J.E. Varner eds.)
5. Galling, G., 1963. Analysis of Mg-deficiency in synchronized *Chlorella*. *Arch. Microbiol.* 46, 150-184
6. Hewitt, E.J., 1963. "Plant Physiology" (F. C. Steward ed.) Academic Press III, 137-360
7. Latzko, E., and Mechsner, 1958. *Naturwissenschaften* 45, 247
8. 李永祿, 李鍾三, 1968. *Chlorella*細胞의 核酸, 磷蛋白質 및 磷脂質의 合成에 미치는 Mg의 缺乏 効果. *Kor. J. Bot.* 11. No.1
9. 李永祿, 沈雄雙., 1966. 磷酸缺乏培地에 있어서의 *Chlorella*細胞의 磷酸化化合物의 轉換. *Kor. J. Bot.* 9, No.1-2
10. Miyachi, S., and H. Tamiya, 1961. Distribution and turn-over of phosphate compounds in growing *Chlorella* cell. *Plant and Cell Physiology* 2, 405-414
11. Tamiya, H., K., Shibata, T., Sasa, T., Iwamura, and Y., Morimura, 1953. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* 600, 76 : 田宮博, 渡邊篤 編集, 74(1965)
12. Wiessner, W., 1962. Inorganic Micronutrients in "Physiology and Biochemistry of Algae" (Lewin, R. A.ed). 267-286.
13. Yamaguchi, M., F.H., Tokator, and O.A. Lorenz, 1960. Mg-deficiency of celery, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 75. 456-462.