

海藻의 育種을 위한 基礎的 研究

3. 김 葉體에 미치는 植物호르몬의 生長效果

金 重 來 · 趙 永 元 · 韓 昶 烈 · 李 萬 相
 群山水産專門大學 忠南大學校農科大學 圓光大學校農科大學

Fundamental Studies for the Breeding of Marine Algae

3. Effects of Plant Hormones on the Growth of *Porphyra*-fronds

Joong-Rae KIM and Young-Won JO
 Gunsan Fisheries Junior College, Gunsan City, 511 Korea

Chang-Yeal HAN
 College of Agriculture, Chungnam National University, Daejeon City, 300 Korea

Man-Sang LEE
 College of Agriculture, Wonkwang University, Sinyongdong, Iry City, 510 Korea

As one of the fundamental studies for the breeding of marine algae, the effects of several plant hormones (IAA, Gibberellin, 2.4-D, NAA, Kinetin) on the growth of *Porphyra*-fronds, *P. tenera* Kjell. form *tamatsuensis* Miura, were investigated from January 21 to February 21 1981.

The fronds used for the experiment were dissected out at 25mm² size, and cultured in modified Provasoli's ESP medium supplemented with various concentrations of each plant growth regulators.

The culture was kept under constant water temperature of 5°C in 14 hrs. photoperiod and illuminated with 2,400 lux by fluorescent light.

Based on the results of first experiment, the culture of fronds for the secondary experiment was carried out at 5°C and 10°C in medium containing various levels of Kinetin from April 6 to 24, and compared the growth of two groups at each concentrations with each other.

The results obtained are summarized as follows:

(1) The best growth efficiencies were observed at 5.0mg/l of each plant hormones except Gibberellin. Among them, the highest growth-rate was 312.5% (345.3% in frond size) in contrast with control at 5.0mg/l of Kinetin, and was followed by 287.5% (236.1%) in 2.4-D, 166.7%(147.6%) in IAA and 141.7% (167.7%) in NAA, but that in Gibberellin was 247.9% (241.9%) at 10.0mg/l.

(2) Especially, the fronds cultured at 5.0mg/l of Kinetin were deep black-brown in colour, and had vivid, healthy chloroplasts in their all cells. On the contrary, the fronds cultured in other media were discoloured to light black-brown or green-brown, and almost all cells were vacuolated or shrunk gradually into death.

(3) There was an obvious difference between the best growth-rates of the fronds cultured at 5.0mg/l of Kinetin at 5°C and those at 10°C. The former was 366.7%, the latter 318.8%, but the difference was little at lower concentrations.

(4) Many abnormal cells grown up to 25.0-27.5 μ in diameter were found among the marginal cells of fronds which showed the best growth in Kinetin, and the fronds were 41.0-42.0 μ in thickness which was thicker by 10.0 μ or so than the others.

(5) In two fronds at 1.0mg/l of Kinetin cell-divisions were observed, which might developed into antheridium, but it was doubtful whether due to the efficiency of Kinetin.

緒 論

海藻에 있어서의 生長調節物質의 活性에 대하여는 일찍이 Williams (1949)가 *Laminaria agardhii*의 浸出液에서 Auxin의 活性를 報告한 바 있거니와, 그 후 *Gymnodinium*의 生物學的 定量에서 Kinetin이 있음을 確認하였고 (Bentley, Mowat, Reid, 1968), *Laminaria digitata*의 줄기와 부착기에서의 cytokinin 樣物質의 發見이 報告된 바 있다(Hassain, Boney, 1969). 김葉體의 生長效果에 대한 報文은 Gibberellin, Amino acid, Purine 類를 使用하여 좋은 成績을 거둔 바 있으며(寺本, 木下, 1958, 1960) 김의 無基質系狀體의 生長에 대한 植物호르몬의 影響에 대하여는 岩崎(1965), 金(1980) 등이 報告한 바 있고 미역의 配偶體에 관하여도 有意할만한 結果가 알려져 있다(金等 1980). 김은 그 需要가 急増함에 따라서 人工採苗와 養殖技術이 劃期的으로 發達하여 完全栽培에 成功하였고 새로운 品種開發을 통한 生産増大와 品質改良이 꾸준히 試圖되고 있으며 近來 選拔育種에 의한 큰참김 (*P. tenera* Kjell. form *tamatsuensis* Miura)과 큰방사무늬김 (*P. yezoensis* Ueda, form *narawaensis* Miura)의 開發은 刮目할만한 成果이다. 本研究은 海藻의 育種을 위한 基礎的인 것으로 各種 植物호르몬의 生長效果를 調査하던중 김 葉體의 生長에 미친 效果가 有意할만 하기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料: 1981年 1月 忠南 舒川郡 西面 都屯里 沿

岸의 김養殖場에서 採取한 큰참김 (*P. tenera* Kjell. form *tamatsuensis* Miura)의 健康한 葉體를 消淨한 濾過滅菌海水에서 붓으로 세척한 다음 岩崎의 寒天洗滌法(但 寒天은 0.2%)으로 注意깊게 2回 洗滌하고 다시 滅菌海水에서 세척과 헹굼을 數回 거듭하여 附着珪藻類를 비롯한 雜物을 깨끗이 除去하였다. 葉片은 25 mm² 크기의 正方形으로 切斷하였으며 表面은 勿論 斷面을 精密하게 檢鏡하여 生殖細胞形成의 徵候가 전혀 없음을 確認하였고 회복을 위하여 ESP 培養液에서 48時間 正常培養을 한 후 試料로 使用하였다.

2. 實驗方法: 基本培地는 Provasoli et al (1957) 培養液을 改良한 ESP 培地¹⁾에다 珪藻類의 發生을 抑制하기 위해서 GeO₂ 3ppm을 添加하였고 또 雜菌과 藍藻의 制禦를 目的으로 Streptomycin (300ppm)과 Penicillin (50,000unit/100ml)을 混入하였다. 培養容器는 petry-dish(φ 9.0cm)를 利用하였으며 50cc의 培養液을 채워 每週 1回 換水하였다. 實驗에 쓰인 植物호르몬은 Indole-3-acetic acid (IAA), Gibberellin, Kinetin, Naphthaleneacetic acid (NAA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)의 5種이고 培養期間中 水溫은 5°C±1°C, 照度 2400 lux, 明暗 14:10 時間을 유지하였다. 그러나 Kinetin 效果의 再確認을 위한 2次實驗에서는 溫度의 效能에 미치는 影響을 살피기 위해서 生長好適範圍의 上下位溫度를 5°C와 10°C로 택하고 따로 培養하였다.

結果 및 考察

(1) 植物호르몬別 生長效果: 5種의 植物호르몬을

1) ESP medium is compounded as follows: 2 ml of ESP enrichment (NaNO₃ 350mg; Na₂ glycerophosphate, 50mg; Fe as EDTA 2.5mg; P II metals 25ml; vitamine B₁₂ 10μg; biotin 5μg; thiamine HCl 0.5mg; Tris buffer 500mg in 100ml of distilled water and adjusted to pH 8.0) is added to 98ml of filtered sea water.

0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0mg/l의 濃度 別로 培養한 結果 가장 크고 뚜렷한 호르몬別 生長 效果는 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

Table 1. The most effective growth of blades in each plant hormones

| Plant hormone (mg/l) | Cont. | NAA (5.0) | IAA (5.0) | Gibb (10.0) | 2.4-D (5.0) | Kinetin (5.0) |
|------------------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------|-------------------|---------------|
| Dry weight (mg) | 4.8 | 6.8 | 8.0 | 11.9 | 13.8 | 15.0 |
| Growth ratio(%) | 100.0 | 141.7 | 166.7 | 247.9 | 287.5 | 312.5 |
| Fronnd(mm ²)size | 65.6 | 110.0 | 96.8 | 158.7 | 154.9 | 226.5 |
| " " (%) | 100.0 | 166.7 | 147.6 | 241.9 | 236.1 | 345.3 |
| Color | green brown | light black brown | green brown | green brown | light black brown | black brown |

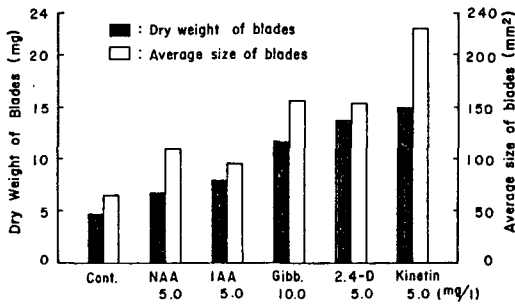


Fig. 1. Showing the most effective growth of blades cultured for 30 days in media added with different concentrations of each plant hormones.

圖表에서 보는 바와 같이 Gibberellin을 제외한 餘 他的 植物호르몬은 5.0mg/l 濃度에서 最高生長值를 보여주고 있으며 그 生長率은 Kinetin (312.5%), 2.4-D (287.5%), IAA (166.7%), NAA (141.7%)의 順이었고 Gibberellin에서만은 10.0mg/l의 高濃度에서 247.9%의 最上值를 나타내고 또 葉面積으로 본 效能도 비슷한 값이었다. 그러나 Kinetin 外의 다른 供試葉片은 淡褐色 또는 黃綠褐色으로 變色하고 대부분의 細胞는 큰 液胞가 생기거나 原形質이 萎縮 되었으며 培養時日이 經過함에 따라서 死細胞가 많이 생겼다(Plate 1). Kinetin 5.0mg/l 濃度培地에서 培養된 葉片은 生長호르몬을 전혀 첨가하지 않은 對照區에 比해서 乾重量으로는 312.5%, 葉面積으로도 345.3%의 最高生長率을 表示하였을 뿐만 아니라 供試葉片이 하나같이 健全하고 큰참김 特有的 色彩인 진한 黑褐色을 띄었으며 크고 生氣있는 鮮明

한 色素體를 갖고 있었다(Plate 2). 이런 現象은 後 述하는 2次 實驗에서도 똑같이 나타났으며 10℃의 高溫에서조차도 葉片의 健全性은 如一하였다(Plate 3). 이와같은 金成葉體에 對한 Kinetin의 生長 效率은 同一種의 無基質系狀體에 對한 實驗結果와는 大差가 있는 것으로, 岩崎(1965)는 0.2mg/l 濃度에서 160%(135日間培養), 金(1980)은 2.4-D 0.1 mg/l 添加培地에서 20日間 培養하여 168.0%의 效果를 거두었다고 報告하고 있다. 또 岩崎(1965)는 IAA 50μg/l의 低濃度에서 約 3.0倍의 收量을 올렸다고 하였는데 이런 엄청난 隔差는 同一種인 植物일 지라도 生活史上 確然하게 다른 異世代의 異型植物 體라는 點을 고려할 때, 植物호르몬의 效能이 各各 根本的으로 相異한데서 結果한 것이라고 생각되며, 特히 生長을 위한 生態的條件이 서로 달라, 培養液 水溫의 큰 差異(20℃와 5℃)가 Hormone 活性에 크게 영향할 可能性이 있다고 생각된다. Gibberellin의 生長效果에 있어서는 10.0mg/l의 高濃度에서 248%(乾重量)와 242%(葉面積)를 記錄하고 있는 反面, 寺本 等(1958)은 같은 參김의 葉片을 0.001mg/l의 極히 낮은 濃度에서 10日間 培養하였더니 28%(葉面積)가 過剩生長되었고 1.0mg/l의 濃度에서는 生長阻害現象이 나타났다고 報告하고 있다. 本實驗 結果와 比較할 때 最高效率濃度인 10.0mg/l는 그의 10,000배이며 生長阻害濃度の 10배에 해당한다. 이 事實은 供試葉片의 狀態와 培地組成의 差異에도 輕微한 영향은 있겠지만, 15℃라는 培養海水의 높은 水溫과 4000lux의 밝은 培養條件에서 그 根因을 發見할 수 있을 것 같다. 岩崎(1965)는 海水溫度와 김의 光合成活力과의 關係에서 呼吸量을 勘案한 好適 水溫을 14~16℃라고 밝히고 海水溫과 呼吸量과의 관계는 對數曲線的으로 변화한다고 하였다. 한편 富士川(1932, 1933)는 最高光合成值가 26℃에서 나타났고 실제 養殖場에서의 金幼葉體의 生長適水溫은 11~13℃, 成葉體는 5~8℃의 範圍라고 報告하고 있다. 김은 自然狀態에서는, 幼葉體는 10℃ 以下에서 本格的으로 자라기 始作하여 한겨울에 잘 成長하고 봄 13~14℃가 되면 거의 다 流失되며 室內培養에서는 4℃ 以下 0℃에서도 微微하게나마 生長을 持續하는 徹底한 低溫植物이다. 더욱이 干出과 波浪에 의한 鍛鍊이 거둬지는 가운데 健實하게 生長하는 點을 고려해서 本實驗에서는 長期間의 靜置培養에 對備하여 好適水溫 범위의 下位水溫을 擇한 것이다. 이런 實質面을 參考하여 考察할 때, 高水溫은 金葉體를

生理적으로 弱화시킬 것이며 限定된 培養條件下에서는 光合成値와 呼吸量이 높아짐에 따라 各種要因과 함께 生長促進物質의 活性도 더욱 높아지고 銳敏하게 反應할 것이므로, 高濃度の 生長호르몬은 金生理에 過剩作用하여 細胞를 극도로 弱화시키거나 枯死케 하는 藥害現象이 나타날 것으로 생각된다. 金(1980)은 11℃의 培地에서 2.4-D 1.0mg/l 濃도가 金葉體生長에 有害의 影響을 報告한 바 있으나 培地溫度 5℃안팎의 本實驗에서는 비록 色彩는 不健全하고 死細胞가 많았지만 5.0mg/l의 高濃度에서 最上値를 얻었다. 또 細胞의 分裂能에 따라 生長호르몬의 效能도 다른 듯하며 金等(1981)은 米의 암수配偶體의 生長에 미치는 影響에서, 雄性配偶體는 같은 Kinetin의 경우 0.1mg/l 濃度에서 最上値를 보여준 데 반해서 雌性配偶體에서는 5.0mg/l 濃도가 가장 좋았다고 밝히고 있다.

IAA의 生長效率은 166.7%에 그치고 있으나 葉體가 極히 不充實하였으며 10.0mg/l 濃度에서는 심한 生長阻害와 藥害現象이 나타났다. 그러나 Jacobs(1951)는 綠藻인 깃털말(*Bryopsis*)을 100mg/l의 高濃度培地에서 培養하였더니 假根이 많이 分化生成되었다고 報告하고 있어 種類에 따라 大差가 있음을 알려주고 있고 NAA 또한 그 效率이 아주 輕微하였다.

(2) Kinetin의 濃度別 溫度別效率: 1次的 植物호르몬種別 濃度別 實驗에서 Kinetin의 最高生長效果가 他에 비해 越等하게 좋았고 또 意外의 高濃度에서 出現하였으므로 實驗結果의 再確認을 目的으로 2次 實驗을 시행하였으며, 培養海水溫의 影響이 큰 것으로 判斷되어 10℃에서도 똑같이 培養하였다. 實驗結果는 Table 2 및 Fig.2와 같다.

Table 2. Efficiencies on the growth of blades in various concentrations of Kinetin

| | Temp. (°C) | Concentrations (mg/l) | | | | | |
|-----------------|------------|-----------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | Cont. | 0.01 | 0.1 | 1.0 | 5.0 | 10.0 |
| Dry weight(mg) | 5 | 1.8 | 1.7 | 2.3 | 2.0 | 6.6 | 2.3 |
| | 10 | 1.6 | 1.5 | 2.2 | 1.9 | 5.1 | 1.9 |
| Growth ratio(%) | 5 | 100.0 | 94.4 | 127.8 | 111.1 | 366.7 | 127.8 |
| | 10 | 100.0 | 93.8 | 137.5 | 118.8 | 318.8 | 118.8 |

圖表에서 보는 바와 같이 金成葉體의 生長至適水溫範圍의 上下限水溫인 5℃와 10℃에서 다함께 된저한 最高生長效率은 5.0mg/l 濃度에서 나타나고 있고 細胞의 健全한 狀態나 色彩도 1次 實驗結果와 마찬가지로

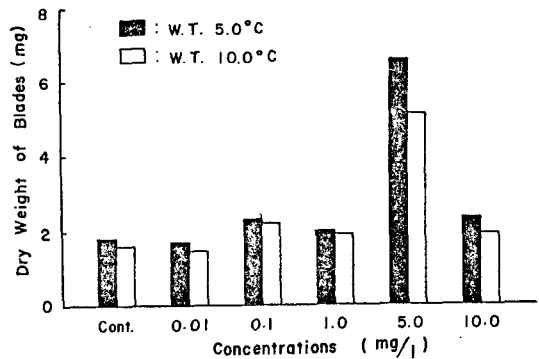


Fig.2. Showing the growth effect of blade cultured for 18 days in media added with different concentrations of Kinetin.

지로 뛰어나게 훌륭하였다. 1.0mg/l 以下の 低濃度에서 效率이 극히 低調한 것도 1次 때와 같으며 濃度의 高低를 莫論하고 低溫區의 生長値가 좋은 것은 金成葉體의 生長에 미치는 水溫의 影響이라고 생각된다. 低溫의 最高生長效率(366.7%)이 高溫것(318.8%)에 비해서 뚜렷하게 큰 것은 亦是 生長至適水溫에 따른 호르몬活性의 發顯인 것 같다. 結果를 概觀해 볼 때, 生長效率이 最高效率濃度를 頂點으로 하여, 低濃度에서 漸次 段階的인 上向性向을 보이지 않고, 똑같이 低調한 상태에 머물러 있는 것은 대단히 理解하기 어려우나, 葉體의 生長은 그에 干與하는 모든 要因의 複雜한 相關關係의 外形의 發現일 것이므로, 生長호르몬의 葉體生長에 미치는 效果는 種의 細胞生理學의 特性과 生育環境要因에 附合되는 至適濃度에서만 그 活性이 뚜렷하게 나타나고 餘他的 低濃度와 過剩濃度에서는 別無效果이거나 阻害의 結果를 招來하는 것이라고 믿어진다.

Kinetin 5.0mg/l의 濃度에서 培養된 葉片의 緣邊에서 分裂新生되고 있는 多數의 細胞中에는 지름 25~27.5μ 内外의 大形細胞가 많이 發見되었고 그 中には 葉綠體가 數個로 보이는 異常細胞가 있었다 (Plate 4). 이런 現象은 細胞分裂에 미친 Kinetin의 影響이라고 생각되며 特히 한 細胞內에 數個의 色素體가 出現한 것은 Kinetin이 細胞質分裂을 促進시킨데 대해서 細胞膜形成이 따르지 못한데에 起因한다고 생각되나, 보다 깊은 研究와 精密한 觀察이 必要할 것 같다. 木下(1958) 등도 Giberellin 0.001mg/l 濃度에서 培養한 金葉片의 細胞의 크기가 12% 정도 크다고 報告하였고 金(1980)도 0.1mg/l 濃度の 2.4-D培地에서 金의 無基質糸狀體가 크게 膨大하여

지고 있음을 밝힌 바 있다. 葉體의 두께 또한 41.0~42.0 μ 으로서 비교적 두꺼웠으며 이는 다른 것보다 10.0 μ 정도 큰 數字이다(Plate 5).

Kinetin 1.0 mg/l 培地의 葉片 두個에서 造精器가 形成되고 있는 것을 發見하였으나 그것이 Kinetin의 作用에 의한 것인지는 不分明하다(Plate 6).

要 約

김葉體의 生長에 미치는 植物호르몬의 影響을 調査하기 위해서 Gibberellin, IAA, Kinetin, NAA 및 2.4-D 등을 濃度別로 試한 培地에서 김葉片을 32日間 培養하고 또 2次的으로 Kinetin의 濃度別培地에서 水溫을 5℃와 10℃로 區分하여 18日間 培養하였다. 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

(1) Gibberellin은 10.0 mg/l濃度에서, 其他는 모두 5.0 mg/l 濃度의 培地에서 各各 最高生長效果가 나타났다. 乾重量으로 본 效率値는 Kinetin이 312.5% (葉面積: 345.3%)로 으뜸이며 2.4-D는 287.5% (236.1%), Gibberellin 247.9(241.9)%, IAA, 166.7(147.6)%, NAA 141.7(167.7)%의 順이었다.

(2) 특히 Kinetin 5.0 mg/l 濃度에서 培養된 葉片은 그 色彩가 진한 黑褐色으로 가장 좋았으며 細胞마다 생기있는 큰 色素體가 뚜렷하고 健全하여 뛰어난 效果가 나타났으나 餘他는 색채가 淡褐色 또는 黃綠褐色으로 변하고 死細胞가 많이 發見되었으며 生細胞도 原形質이 萎縮되었거나 큰 液泡가 생겨 매우 不健全하였다.

(3) 低溫(5℃)과 高溫(10℃)에서의 Kinetin의 生長效率는 低濃度에서는 大差가 없었으나, 5.0 mg/l의 高濃度에서는 低溫이 366.7%, 高溫이 318.8%로서 48%의 效率差가 생겼으며 細胞의 健全性은 1次 實驗때와 마찬가지로 모두 좋았다.

(4) 最高生長效果가 나타난 Kinetin 5.0 mg/l 濃度에서는 葉片의 緣邊에 지름 25.0~27.5 μ 정도의 異常大型細胞가 많이 發見되었으며 그 중에는 한 細胞內에 數個의 色素體가 있는 것이 觀察되었다. 두께도 41.0~42.0 μ 으로 比較的 두꺼웠다.

(5) Kinetin 1.0 mg/l 濃度의 培地에서 培養된 葉片中에는 造精器를 形成하고 있는 세포群이 觀察되었다.

Bentley-Mowat, J. A. and S. M. Reid (1938). Investigations of the radish leaf bioassay for Kinetins, and demonstration of Kinetinlike substances in algae. Ann. Bot. 32, 23-32.

富士川澀. (1932). 朝鮮ノリの生理に關する研究. 朝鮮水試報告. 7, 1-135.

_____. (1933). 朝鮮ノリの生理に關する研究. 朝鮮水試報告. 8, 1-131.

Hussain, A. and A. D. Boney (1969). Isolation of Kinetin-like substances from *Laminaria digitata*. Nature, Lond. 223, 504-5.

Iwasaki, H. (1965). Studies on the physiology and ecology of *Porphyra tenera*. J. Faculty fish. Animal Husbandry. Hiroshima Univ. 6(1), 171-193.

Jacobs, W. P. (1951). Studies in cell-differentiation-the role of auxin in algae, with particular reference to rhizoid formation in *Briopsis*. Biol. Bull. 101, 300-306.

Kim, J. R. (1980). Studies on the tissue culture of marine algae. —Effects of 2.4-D on the cell-division of *Porphyra*-frond. Bull. Gunsan fish. J. Coll. 14(1), 1-4.

_____. and Y. W. Jo, (1980). Observation on the effects of 2.4-D upon the development of carpospore of *Porphyra seriata*. Bull. Gunsan Fish. J. Coll. 14(3), 45-53.

_____, Han, C. Y. and M. S. Lee, (1981). Fundamental studies for the breeding of marine algae(2)—Effects of plant hormones on the growth of gametophyte of *Underia pinnatifida*. Bull. Korean Fish. Soc. 14(1), 24-28.

Kinoshita, S., and K. Teramoto, (1958). On the efficiency of gibberellin on the growth of *Porphyra*-frond. Phycologia 6(3), 85-88.

_____. and _____. (1961). On the efficiency of amino acid and purines on the growth of *Porphyra*-frond. Phycologia 8(3), 90-95.

Provasoli, L., J. J. A. McLaughlin and M. R. Droop. (1957). The development of artifi-

cial media for marine algae. Arch. F.
Microbiol. 25, 392—428.

tances in *Laminaria agardhii*. Science, N.
Y. 110, 169—170.

Williams, L. G. (1949). Growth regulating subs-

EXPLANATION OF PLATE

1. Surface-view of dead-cells found in fronds at 5.0mg/l of 2,4-D. x 150.
- 2, 3. Surface-view of vigorous cells in fronds at 5.0mg/l of Kinetin kept in 5°C (2) and 10°C (3). x 600.
4. Abnormally large cells found at margin of fronds at 5.0mg/l of Kinetin. Some of them had a few animated chloroplasts in each cell (↓). x 600.
5. Cross-section of a frond at 5.0mg/l of Kinetin, whose thickness was 41.0~42.0 μ and thicker in comparison with others. x 600.
6. Cell-divisions observed in 2 fronds at 1.0 mg/l of Kinetin, which might develop into antheridium.

PLATE

