

Gibberellin 산류 생산균주의 분리와 생산성검토

임 신 욱 · 이 춘 영

(서울대학교 농과대학)
(1970. 12. 31, 수리)

Productivity test on some screened strains of *Gibberella fujikuroi*(Saw.).

S.U. Lim and C.Y. Lee

College of Agriculture, Seoul National University

(Received Dec. 31, 1970)

Summary

Gibberella fujikuroi(imperfect stage *Fusarium moniforme*) a soil fungi is well known as the producer of plant growth regulator Gibberellins.

The present work was planned for the isolation of the active strains of *Gibberella fujikuroi* from the native paddy soils.

Twenty two strains were isolated from the infected rice seedlings collected from four local areas. Pyongtaek, Yesan, Tangjin and Suncheon and screened through the activity test for the production of Gibberellins.

The strains P-105, Y-14 and T-58 yielded higher activity than the others isolated and the referred strain IAM-8048.

The strains Y-5, Y-7, T-54 and S-152, however, were less promotive or rather inhibitory in the growth of rice seedlings.

Six different kinds of culture media developed by Cross, Raulin-Thom, Borrow, West, Stodola and Kurosawa respectively were compared with each other for the production of Gibberellins and the best result was obtained with Raulin-Thom's media(glucose 16% and NH_4NO_3 0.24%).

머 리 말

Gibberellin 산류가 벼의 키다리 병원균 *Gibberella fujikuroi* (분생포자기 *Fusarium moniforme*) 의 대사산물로 알려진¹⁾ 이래 여러종류의 고등 식물에 대하여 절간신장, 발아, 개화, 과육생장 등을 촉진하며 식물체 안의 몇가지 효소 활성화에도 큰 영향을 끼치고 있는 생장 및 생리조절물질로서 식물의 생리 및 영양학의 연구와 작물의 특수재

배의 실제에 이용되고 있는 것이다.²⁾

Gibberellin 산류는 곰팡이인 *Gibberella fujikuroi* 이외에 Actinomycetes, *Torula*, *Azotobacter* 및 여러종류의 고등식물 각부위에서 생산되고 있는것이 알려져 있으나³⁾⁴⁾ 그의 많은 양을 유효하게 얻는 방법은 아직도 *Gibberella fujikuroi* 의 우수한 균주의 배양액에서 분리하는 것에 의존하고 있다.⁵⁾

본 시험에서는 Gibberellin 산류의 생산성이 우수한 균주를 우리나라의 여러 지역에서 수집 분리

하고저 하였으며 그 분리된 균주들의 Gibberellin 산류의 생산성을 비교 검토하고 또한 제안된 여러 가지 배지에서서의 생산성을 비교 검토하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

시험재료 및 방법

1. *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenweber 의 분리, 선발

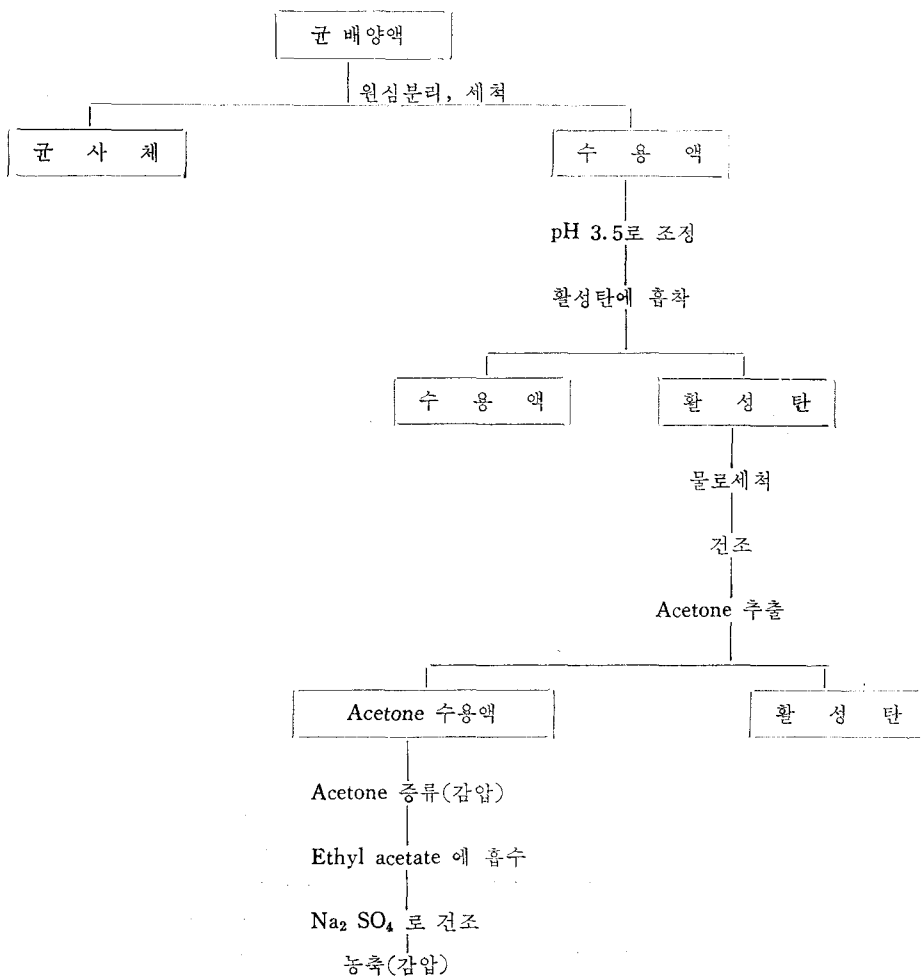
평택, 예산, 당진 및 순천지역에서 키다리병 (Bakanae disease)에 걸려 웃자란 벼모를 5월 하순에서 6월초 사이에 뿌리와 그부근 토양까지 수집하여 살균수로 현탁하고 그 현탁액을 희석하여 감자-포도당-한천 배양기에서 배양(26~28°C)한 것을 대조균주 IAM-8048, IFO-5268 또는 IFO-6349와 형태학적으로 비교 검토하며 검색 일람⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾에 따라 분리 선발하였다.

2. Gibberellin 산류의 생산성 검정

분리 선발된 균주들의 Gibberellin 산류 생산성을 검정하기 위하여 제안된 여러 방법 가운데 균 배양액에 대한 시험과 어린 벼모의 신장생장에 미치는 영향을 비교 시험하였다.

가. 균배양액중 Gibberellin 산류 생산력 검정시험

분리균주 및 대조균주를 Raulin-Thom 배지로 적당량 담은 시험관에서 1주일(26±1°C)동안 회전배양한 것을 homogen 화하여 건물중이 대략 일정한 균사 현탁액을 같은 조성의 Raulin-Thom 배양기가 담긴 500ml 3각 후라스크에 이식하여 진탕 배양 하였으며 이때 통기(通氣)는 따로 하지 않았다. 15일 후 균사를 원심분리하고 물로 한번 세척한것을 합하여 pH 3.5 로 조정하여 다음과 같은 순서로 처리하였다.



ethyl acetate를 감압농축하여 85% 황산용액으로 만들어⁹⁾ 254m μ 에서 흡광도를 측정하므로써 배양액중 Gibberellin 산류 조제품의 농도를 측정하고 그것으로 각 균주의 활성을 비교하였다.

나. 어린 벚모(水稻 幼苗)에 대한 시험

식염수(비중 1.05)로 선별한 벚종자(품종:진홍)을 2% 승홍—주정용액에 20분간 담겨 살균한 것을 멸균수로 몇차례 씻은 다음 여지를 깔은 schale에 살균, 수도수를 적당량 부어 25°~27°C에서 3일간 발아시킨것 가운데 생장이 고른것을 골라 길이 30cm, 길이 7cm의 유리원통에 기무라(木村) 수도배양액¹⁰⁾을 약 7cm 높이로 붓고 위는 솜으로 가볍게 막아 가압 살균한것에 Gibberellin 산류의 조제품 용액(0.5ml 알콜+14.5ml 물)을 부어 배양액으로 하고 받침을 갖고 구멍이 뚫린 plastic

제 원판에서 17일동안 길러 모의 길이를 재어 비교하였다. 벚모의 수는 한 용기에 여섯, 3반복으로 하였다.

3. 배양액의 비교

분리 선발 균주 가운데 우수한 것으로 보이는 P-105, Y-14와 대조균주 IAM-8048에 대하여 그 조성이 다르게 제안 발표되어 있는 여섯가지 배양액 Borrow¹¹⁾, Raulin-Thom(ROI)¹²⁾ Cross¹³⁾, West¹⁴⁾, Stodola¹⁵⁾ 및 Kurosawa¹⁾ 등에 의한 것을 비교하여 이 균주들에 의하여 Gibberellin 산류의 생산에 알맞는 배양기의 조성을 검토하였다. 생산성 검정은 배양액에 대한 농도 시험(2—가)와 같은 방법으로 실시 하였다.

각 배양액의 조성은 Table 1 과 같다.

Table 1. Composition of culture media for *Gibberella fujikuroi* Sawada(g/L)

	Cross	Raulin-Thom	Borrow	West	Stodola	Kurosawa
Glucose	100	160	40	80	20	
NH ₄ -tartarate			9.5			
KH ₂ PO ₄	5.0	5.0	2.0	1.0	3.0	1.0
K ₂ SO ₄			0.6			
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0	1.0	0.2	0.5	3.0	
NH ₄ NO ₃	4.8	2.4		1.0		
NH ₄ Cl					3.0	1.0
Glycerine						1.0ml
Trace elem.(ml)	2.0	2.0	1.0	2.5		
pH	4.5	4.5	4.5	4.5	not adj.	2.5—3.0

Trace element solution

	Cross	Raulin-Thom	Borrow	West
	mg/l	g/l	g/l	g/l
FeSO ₄ ·7H ₂ O	3.3	1.0	1.0	1.0
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.5	0.15	0.15	0.15
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3.3	1.0	1.0	1.6
MnSO ₄ ·7H ₂ O	0.33	0.1	0.1	0.1
KMnO ₄	—	0.1	0.1	—
(NH ₄) ₂ MoO ₄	—	—	—	0.1

결과 및 고찰

작물생장조절물질 Gibberellin 류를 그 대사산물로 생산하는 벚의 병원균 *Gibberella fujikuroi*를 평택, 예산, 당진 및 순천 지역에서 분리 선발하고 그 활성을 비교하기 위하여 배양액중 농도및

어린 벚모의 초장을 측정한 결과는 다음 Table 2와 같다.

이 결과를 검토 고찰하여 보면 분리 선발된 균주들 사이에는 Crude gibberellins 생산성에 있어 대조균주 IFO-5268, IFO-6349 및 IAM-8048과 비교하여 우열의 차이가 있었으며 우세하다고 생

Strains	location collected	O.D. (at 254m μ)	Length of rice Seedlings(cm)
Y-3	Yesan	0.44	14.1
Y-5	"	0.21	12.7
Y-7	"	0.12	12.2
Y-9	"	0.18	13.7
Y-12	"	0.46	14.4
Y-14	"	0.62	15.7
Y-16	"	0.25	13.9
T-52	Tangjin	0.48	14.4
T-54	"	0.15	12.6
T-56	"	0.27	13.6
T-58	"	0.63	15.3
T-62	"	0.51	14.6
T-64	"	0.34	13.3
P-103	Pyongtaek	0.36	13.1
P-105	"	0.66	12.9
P-107	"	0.47	14.4
P-109	"	0.22	13.7
S-152	Sunchon	0.14	12.8
S-154	"	0.55	15.2
S-156	"	0.36	13.9
S-158	"	0.12	11.6
S-162	"	0.47	14.7
IFO-5268	Japan	0.36	13.8
IFO-6349	"	0.43	14.2
IAM-8048	"	0.57	15.1
			12.5 (Control)

각되는 Y-14, P-105, T-58 과 비슷하거나 약간 열세인것 7균주 그리고 열세 내지 억제적인 12 균주로 나눌 수 있다.

배양액중 crude gibberellins 의 농도측정과 어린 벼모의 신장생장에 미치는 효과시험 결과는 거의 같은 경향으로 합치되었으며 흡광도가 큰 균주에 의하여 벼모의 생장이 더욱 촉진(최고 3.3cm)되었다. 외국(일본)에 있어서 벼에서 분리한 *Gibberella fujikuroi* 이라도 신장생장을 촉진하지 않고 Gibberellin 의 생산력도 매우 약한 균주가 있었다.¹⁰⁾ 분리된 균주 가운데 Y-7, T-54, S-158 등은 그러한 균주에 가까운 것으로 생각되며 그중 S-158 에 의하여는 대조구의 벼모 보다도 신장생장이 억제되어 있어 생육저해물질에 의한 것이 아닌가 생각된다. 어떤 균주의 *Gibberella fujikuroi* 에 의하여는 생육저해 물질 Fusarin 산이나 호박산등이 생산되는 것으로 알려져 있어¹⁰⁾ 균주 S-158 도 그러한 물질을 생산하기 때문이 아닌가 추측된다.

그밖에 비교적 벼모의 신장생장 촉진효과가 적은 균주 Y-5, Y-7, T-54 및 S-152 도 Gibberellin 의 생산이 약한 반면 Fusarin 산이나 호박산의 생산이 우세할 수도 있을 것이다.

분리 선발한 균주 P-105 와 Y-14, 대조균주 IAM-8048 을 조성분이 다른 여섯 종류의 배양기에서 배양 조건은 같이 하였을 때 Gibberellin 생산성을 비교한 결과는 다음표와 같다.

조성분과 그 함량이 다른 여섯가지 배양기에서 균주 P-105, Y-14 및 IAM-8048 에 의한 Gibberellin 산류의 생산성은 각각 달랐으며 P-105 가 Raulin-Thom 배양기에서 가장 우수하였고 다음은 같은 균주가 Cross 배양기에서 그리고 다른 두균주와 아울러 Raulin-Thom, Cross, Borrow, West, Stodola, Kurosawa 배양기의 순위로 약세 이었다.

배양기는 탄소와 질소의 급원형태 및 pH 그밖에 배양시간이 중요한 요인이 되고 있어 얻어진 시험의 결과도 이러한 요인의 변화에 따라 달

Concentrations(Absorbance at 254m μ) of crude gibberellins, produced in different media by strains P-105, Y-14 and IAM-8048.

Media	Strains		
	P-105	Y-14	IAM-8048
Cross	0.47	0.34	0.38
Raulin-Thom	0.53	0.36	0.44
Borrow	0.37	0.28	0.31
West	0.24	0.17	0.26
Stodola	0.21	0.17	0.23
Kurosawa	0.12	0.14	0.16

라질 수 있을 것이며 또한 배양규모를 대형화하고 공기를 불어넣어 주었을 경우에 얻어지는 결과도 크게 달라질수 있을 것이다.

그밖에 배양초기 및 배양기간 중의 pH와 그의 조절이 균의 생육 및 Gibberellin 산류의 생산에 미치는 영향에 대하여는 다른 요인과의 상관하에서 추구되어야 할것이다.

요 약

벼의 키다리병(Bakanae disease)병원균 *Gibberella fujikuroi* Sawada는 그의 대사 산물로 Gibberellin 산류를 생산하고 있어 작물생장 조절작용이 있는 이 물질을 얻기 위하여는 우수한 균주를 알맞은 조건에서 배양하는 것이다.

이 시험은 우리나라의 야생균 가운데 Gibberellin 산류의 생산성이 우수한 균주를 분리 선발하기 위하여 먼저 평택, 예산, 당진 및 순천지역에서 키다리병에 걸려있는 벼모 뿌리를 수집하여 평택지역 4, 예산지역 7, 당진지역 7, 순천지역 5 균주를 각각 분리하여 형태학적으로 검토하여 동정하였다.

분리 선발된 각 균주와 대조균주(IAM-8048)에 대하여 일정한 배양 조건에서 Gibberellin 산류의 생산성을 배양액중 농도 측정과 벼모에 대한 배양액 추출물의 생장촉진 효과시험을 통하여 우수한 활성 균주 셋을 선정 *Gibberella fujikuroi* P-105, Y-14 및 T-58이라 각각 기호를 부쳤으며 그 가운데 P-105가 가장 우수하였다.

균주 Y-5, Y-7, T-54 및 S-152 등은 배양액중 Gibberellin 산류의 농도와 벼모에 대한 생장 촉진 효과가 낮거나 약한 역제적이었다.

배양 조건을 추구하기 위하여 조성과 함량이 다른 여섯가지 배양기에 대하여 비교 시험한 결과 Raulin-Thom 배양기(glucose 16%, NH₄NO₃ 0.24%)에서 Gibberellin 산류의 생산이 가장 높았으며 그 밖에 다른것은 대략 Cross, Borrow, West, Stodola, Kurosawa 배양기의 순위로 생산성이 낮았다.

이 연구는 문교부 학술연구조성비(FY 70)의 지원에 의하여 이루어진 것이므로 당국에 대하여 감사의 뜻을 표 합니다.

참 고 문 헌

1. 黑澤英一: 臺灣博物學會報 16, 213-27(1926)
2. Stodola, F.H. Source book on Gibberellin P. 1828-1957
U.S. Dept. of Agr. Washington 1958
3. Katznelson, H. Nature 196, 1012(1962)
4. West, C.A. and B.O. Phinney: Plant physiol. 31, XX (1956)
5. Knapp, R.: Eigenschaften und Wirkungen der Gibberelline P. 5
Springer, Berlin-Gottingen-Heidelberg(1962)
6. Gilman, J.C.: A manual of soil fungi P. 360
Iowa State Univ. Press., Ames(1966)
7. Toussoun, T.A. and Nelson, P.H.: Fusarium P. 25
The Pennsylvania state univ. Press (1968)
8. 宮路憲二: 應用菌學(下) P. 366
岩坡書店. 東京(1961)
9. Kavanagh, F. and N.R. Kuzol: J. Agr. Food Chem. 6, 459(1958)
10. 木村. 千葉: 日本土肥誌 17, 479(1943)
11. Borrow, A. et al: J. Sci. Food Agr. 6, 340-348(1955)
12. ICI, British Patent 838,032(1957)
13. Cross, B.E.: J. Chem. Soc. 1954, 4670-76
14. Schechter, I. and C.A. West: J. Biol. Chem. 244, 3200 (1969)
15. Stodola, F.H. et al: Arch. Biochem. Biophysics 54, 240 (1955)
16. Gaumann, E., St. Naef-Roth and H. Kobel: Phytopathol. Z. 20, 1-38 (1952)