

Vitamin과 핵산이 *Sclerotium rolfsii*의 菌絲生長 및 菌核形成에 미치는 影響

金 基 清

전남대학교 농과대학

Effects of Vitamins and Nucleic acids on the mycelial growth
and the sclerotial production of *Sclerotium rolfsii*

KI CHUNG KIM

College of Agri., Chonnam Nat. Univ.

(接受日字 1973, 2. 19)

Abstract

The study was performed to clear the effects of thiamine, biotin, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, deoxyribonucleic acid (DNA) and ribonucleic acid (RNA) on the mycelial growth and the sclerotial production of *Sclerotium rolfsii* Sacc. isolated from *Magnolia kobus*. The results are abstracted as follows:

1. Tested fungus was thiamine-deficient and required thiamine 20 γ /l for maximum growth of mycelia. At higher concentrations than thiamine 20 γ /l, however, mycelial growth was decreased with increasing the concentrations and was inhibited little less than that of thiamine-free control at 150 γ /l.

2. The effectivenesses of the nitrogen sources on the mycelial growth under the thiamine presence were recognized in order of $\text{NH}_4\text{NO}_3 > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{asparagine} > \text{KNO}_3$, and on the sclerotial production were $\text{KNO}_3 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{asparagine} > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. The optimum concentrations of thiamine were about 12 γ /l in KNO_3 , about 16 γ /l in asparagine on the growth of mycelia, and were about 8 γ /l in KNO_3 and NH_4NO_3 , 16 γ /l in asparagine on the production of sclerotia.

3. After the organism began to grow, the pH value of cultral filtrate was rapidly dropped down to about 3.5. Hereafter it was slowly fallen down as the growth amount was increased, but was not depreciated below pH 2.2.

4. Nicotinic acid was not effective individually on the mycelial growth and the sclerotial formation of tested fungus without thiamine, but slight effect of it was recognized with thiamine 10 γ /l, even though maximum growth was shown at 7-10mg/l. Beyond that concentration, however, mycelial growth was rather depressed.

5. When ammonium sulphate or asparagine as the nitrogen sources was used, pyridoxine, biotin and inositol had not any effectivenesses on the mycelial growth and the sclerotial production of examined fungus.

6. In the concentrations of thiamine, biotin, pyridoxine and inositol, as long as thiamine was not added in those, their correlating effects on the growth of the organism were not observed at all. Equivalent or more effects on the mycelial growth were recognized in combinations of thiamin + pyridoxine, thiamine + inositol, thiamine + biotin + pyridoxine, and thiamine + biotin + pyridoxine +

inositol compared with thiamine alone, and in combinations of thiamine+biotin and thiamine+biotin +inositol, mycelial growth was inhibited rather than that of thiamine alone. Sclerotial production of those combinations was increased more than that of thiamine alone in dry weight.

7. The little effects of DNA and RNA on the mycelial growth of the organism were recognized compared with the control(DNA-and RNA-free), and RNA was more effective than DNA. Maximum growth of mycelia was observed at RNA 2-6mg/l and DNA 6mg/l. No effectiveness on the sclerotial production were recognized in the RNA and DNA.

8. Mycelial growth of the organism was increased with increasing the concentrations of the RNA and the thiamine, that is, the effectiveness of RNA was revealed apparently under presence of thiamine, but was not shown in the sclerotial formation.

서 론

Thiamine이 균류의 생육에 필요하다는 것은 Schopfer (1934)⁹⁾에 의해서 최초로 명백히 된 이래 균류의 성장 소로서의 Vitamin에 관한 연구가 많이 보고되어 왔다. 그러나 *Sclerotium rolfsii*균과 Vitamin과의 관계에 대한 연구보고는 별로 많지 않는 듯하다. Lyle¹⁰⁾에 의하면 *S. rolfsii* 51분리균주중 생장에 thiamine을 요구하는 것이 49주, biotin을 요구하는 것이 35주, nicotinic acid를 요구하는 것이 33주이었고 균핵형성에 thiamine을 요구하는 것이 43주, biotin을 요구하는 것이 17주, nicotinic acid를 요구하는 것이 11주이었음을 보고한 바 있으며 또한 potato-dextrose agar나 기타 유사한 배지상에서 균핵을 형성하지 않았던 9분리균주 중 1주는 thiamine이 첨가되면 많은 균핵을 형성하나 biotin이나 nicotinic acid가 첨가되면 균핵을 형성하지 않았음을 밝혔다. 이 연구에 의하여 *S. rolfsii* 51분리주의 균사생장과 균핵형성에 있어서 vitamin의 요구도가 다양하다는 것을 알 수 있다. 또한 鄭³⁾은 인삼, 사탕무우, 러시아인 컴푸리에서 분리한 *S. rolfsii*가 vitamin이 없는 합성배지에서는 전혀 자라지 않았다고 한다. *S. rolfsii*와 근연인 *Sclerotium oryzae*는 thiamine 40 γ /l에서 균핵형성이 촉진되었으며⁶⁾ 또 Cochrane⁴⁾은 *Sclerotium spp*가 thiamine의 일부분인 pyrimidine환을 요구한다고 기술하고 있다 한편 三澤¹¹⁾등은 비小球菌核病菌의 균핵형성에 RNA가 관계하고 있음을 명백히 한바있다.

이상을 종합해 보면 Lyle¹⁰⁾이 지적한 바와 같이 *S. rolfsii*는 분리균주나 계통에 따라 vitamin의 종류와 요구도가 다양하며 균핵형성에 vitamin 이외의 물질이 요구될 가능성도 없지 않으므로 저자의 실험실에 보존하고 있는 균주에 대하여 vitamin, RNA 및 DNA의 영향을 여러가지 각도에서 검토하였다 이하 그결과를 간단히 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시균 : 1969년 전남농대 묘포의 목련에서 분리한 *Sclerotium rolfsii* Sacc. R-1⁸⁾ 균이다.

공시 vitamin: thiamine hydrochloride, Biotin, Inositol, Pyridoxine hydrochloride, nicotinic acid 5종인데 thiamine hydrochloride는 20% alcohol 용액, 기타는 각각 수용액으로 하였다.

공시핵산 : Ribonucleic acid (RNA) (日本石津製藥), Deoxyribonucleic acid (DNA) (from sperm)(日本石津製藥)

실험방법 : 기초배지는 실험항목에 따라 다르나 glucose-asparagine 배양액¹²⁾과 이것의 질소원인 asparagine을 그의 질소량과 당량의 다른 질소화합물로 대체시킨 것을 사용하였다. 기초배지의 질소원에 대해서는 실험항목마다 명기하였다.

먼저 기초배양액을 조제하여 pH6.4로 보선하고 여기에 소정농도가 되도록 Vitamin이나 핵산을 첨가한 다음 균사생장량 조사에 사용할 것은 100ml 삼각후라스크에 50ml씩 분주 2기압 10분간 고압멸균하여 사용하였고 균핵형성량 조사에 사용할 것은 한천을 넣어 직경 9cm petri dish에 평판을 만들어 사용하였다.

검종원은 PDA 배양에서 절취한 균사편이나 또는 아직 백색인 미숙균핵 2가지를 사용하였다. 균사편은 petri-dish에 약 1mm 두께의 PDA 평면배지에 배양시킨 균총의 연변부에서 5mm 평방으로 한천과 함께 균사를 절취한 것이다. 균의 배양온도는 28°C이다.

균사의 성장량은 대부분 검종 5일후의 균총을 여과 90~95°C에서 36~48시간 건조시켜 건물중으로 비교하였고 균핵형성량은 10~15일간 배양하여 형성된 균핵의 건물중을 비교하였다. 모든 실험은 3반복으로 2~3회 실험하였고 결과는 이들의 평균치를 비교하였다.

실험결과

1. 균사생장과 thiamine 농도와의 관계

기초배양액은 glucose-asparagine 배지의 asparagine을 NH_4NO_3 로 대체시켰고 접종원은 백색균사의 주 미숙균액을 사용한 바 그결과는 fig.1과 같다.

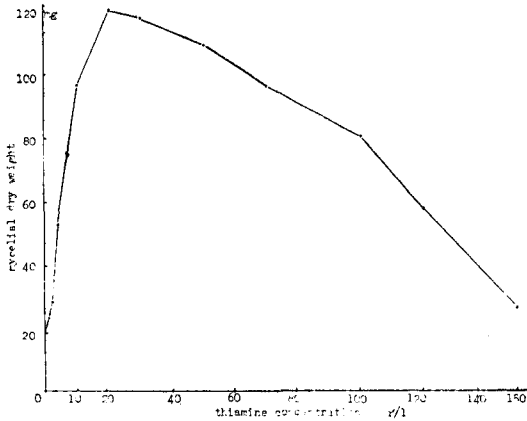


Fig. 1. Effect of thiamine concentrations on the mycelial growth of *S. rolfsii* for 5 days at 28°C.

Thiamine 무첨가구(대조구)는 균사건물중 19mg로서 거의 생장이 없으나 thiamine 20 μ g/l까지는 거의 직선적으로 급격한 성장을 보여 thiamine 20 μ g/l에서 120mg로 최고성장량을 나타내었다. 그러나 그 이상의 농도에서는 오히려 균사성장량이 점차 감소하여 150 μ g/l에서는 27mg로서 거의 무첨가구와 비슷할 정도로 떨어졌다.

2. 균사생장 및 균핵형성과 질소원별 thiamine 과의 관계

*S. rolfsii*가 thiamine에 의해서 균사생장이 촉진된다는 사실이 전실험에서 명백히 되었는데 본실험에서는 기초배지의 질소원에 따라 thiamine의 영향이 어떻게 나타나는가를 실험한 것이다.

Fig. 2에서와 같이 NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, asparagine 및 KNO_3 는 모두 thiamine의 농도가 증가함에 따라 균사성장량도 증가하였다. 그러나 각 질소원별로는 상당한 차이가 있는 것으로 NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, asparagine에서는 생장이 좋은 편이나 KNO_3 에서는 아주 좋지 않았다. NH_4NO_3 나 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 는 thiamine 20 μ g/l에서 균체중이 각각 149mg, 144mg로 아직 균사성장량이 증가하였으나 asparagine은 thiamine 16 μ g/l에서 122mg, KNO_3

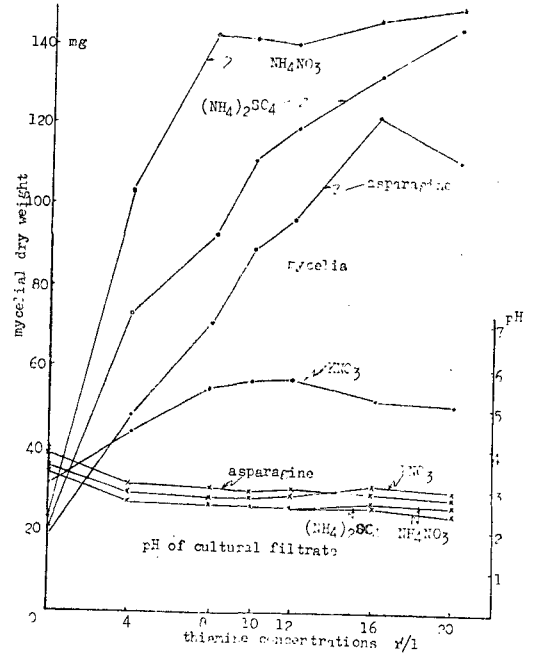


Fig. 2. Effect of nitrogen sources and thiamine concentrations on the mycelial growth of *S. rolfsii* for 5 days at 28°C.

는 thiamine 10~12 μ g/l에서 57mg로 최고생장을 표시하였다.

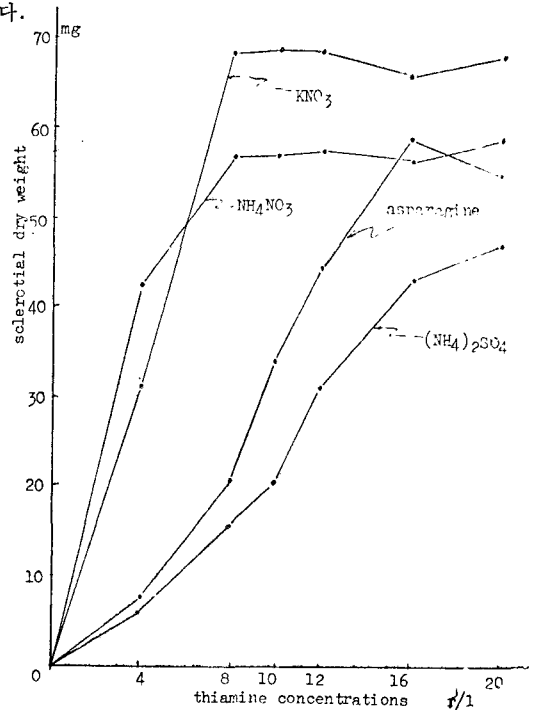


Fig. 3. Effect of nitrogen sources and thiamine concentrations on the sclerotial production of *S. rolfsii* for 15 days at 28°C.

한편 배양액의 pH를 보면 기초배지를 pH 6.4로 보정했던 것이 전반적으로 균사생장이 증가함에 따라 pH는 떨어졌다. 균사생장이 시작되자마자 pH는 4.0이하로 급격히 떨어지지만 그이하에서는 균사생장에 따른 변화폭이 좁아 pH 2.3이하로 내려가는 일 없었다.

평면배양 10일 후의 균핵형성량(fig.3)을 보면 균사생장량이 아주 불량했던 KNO₃ 구의 thiamine 8~12 γ /l에 서 최고균핵형성량(68~68.5mg)을 보였는데 반하여 비교적 균사생장이 양호했던 (NH₄)₂SO₄에 있어서는 균핵형성이 가장 낮았다. (NH₄)₂SO₄와 asparagine 구의 thiamine 저농도에서는 미숙균핵이 많았다.

3. 균사생장 및 균핵형성과 nicotinic acid농도

기초배지의 asparagine 을 (NH₄)₂SO₄로 대체시키고 thiamine 10 γ /l와 소정농도의 nicotinic acid를 첨가한 액체배지에 미숙균핵을 접종하여 실험하였다.

Nicotinic acid 단독만으로는 균사생장 및 균핵형성에 거의 아무런 효과가 없었으나 thiamine과 nicotinic acid와 혼합첨가할 경우 fig. 4와 같이 thiamine 10 γ /l 단독 첨가구가 균체중 208mg인데 nicotinic acid 7mg/l 혼합첨가구에서는 증가하여 242mg의 건물중을 나타내었으며 그 이상의 농도에서는 별로 효과가 없고 오히려 균체중이 약간 떨어지는 경향을 보여주었다. 한편 균핵

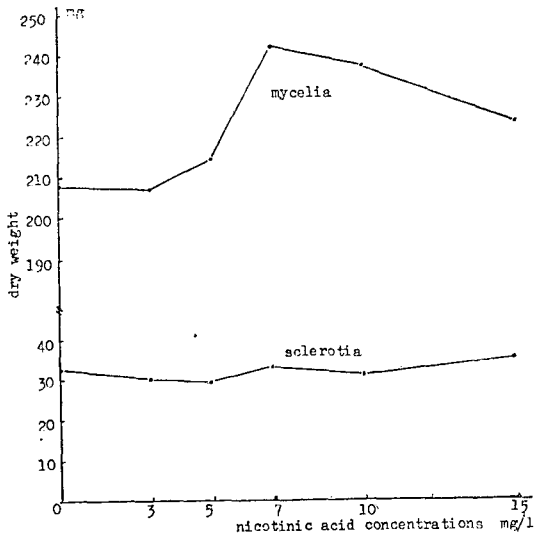


Fig.4. Effect of nicotinic acid concentrations and thiamine on the mycelial growth and sclerotial production of *S. rolfsii* for 7 days and 15 days, respectively.

형성량을 보면 nicotinic acid 단독첨가구에서는 전혀 균핵이 형성되지 않았을 뿐만 아니라 균사생장도 아주 미

약하며 기중균사가 전혀 생성되지 않고 오직 鬚根狀으로 배지표면을 신장해 갈 뿐이었다. 그러나 thiamine 10 γ /l와의 혼합첨가구에서는 균핵이 형성되기는 하나 nicotinic acid의 첨가 및 농도에 관계없이 nicotinic acid의 효과나 양자의 교호효과를 인정할 수 없었다.

4. 균사생장 및 균핵형성과 Pyridoxine, Biotin 및 Inositol

기초배지로서 glucose-asparagine 배지와 이의 질소원을 (NH₄)₂SO₄로 대체한 배지 2종을 이용하여 조사한 결과는 모두 균사의 생장이나(5일간) 균핵의 형성에(15일간) 아무런 효과도 나타내지 않았다. 균사생장은 평면배지 상에서 전혀 기중균사가 발달하지 않고 마치 鬚根狀으로 미약하게 배지표면을 따라 신장할 뿐이었다.

5. 각종 Vitamin 의 혼합첨가가 균사생장 및 균핵형성에 미치는 영향

기초배지에 균사편을 접종원으로 사용했다. 공시 vitamin은 thiamine hydrochloride 12 γ /l, biotin 5 γ /l, pyridoxine hydrochloride 10 γ /l, inositol 5mg/l를 조합하여 첨가하였다.

Table 1. Effect of vitamins on the mycelial growth and the sclerotial production of *S. rolfsii* for 5 days and 15 days, respectively.

vitamins	dry weight mg*		pH of cultural filtrate
	mycelia	sclerotia	
vitamin-free	1.0	1.0	5.48
thiamine(thia.)	125.7	43.3	2.70
biotin(bio.)	3.0	0	4.65
pyridoxine(pyri.)	2.3	0	4.33
inositol(ino.)	2.7	0	4.55
thia. + bio.	88.3	52.3	2.57
thia. + pyri.	126.0	60.8	2.70
thia. + ino.	120.7	58.6	3.10
bio. + pyri.	2.7	0	4.55
bio. + ino.	1.3	0	5.57
pyri. + ino.	1.3	0	4.33
thia. + bio. + pyri.	124.0	60.5	2.53
thia. + bio. + ino.	103.7	59.0	2.60
bio. + pyri. + ino.	4.0	0	4.00
thia. + bio. + pyri. + ino.	130.0	48.5	2.50

* Average of 3 flasks and 3 dishes, 3 times.

Table 1에 표시한 결과는 공시된 4종의 vitamin중 단 목적으로는 thiamine이 균사생장(125.7mg) 및 균핵형성(43.3mg)에 가장 촉진적 효과를 표시하고 Biotin, Pyridoxine, inositol은 뚜렷한 효과가 없었다. thiamine + biotin, thiamine + pyridoxine, thiamine + inositol, thiamine + biotin + pyridoxine, thiamine + biotin + inositol 및 thiamine + biotin + pyridoxine + inositol구의 균사생장량은 thiamine + biotin구와 thiamine + biotin + inositol구를 제외하고는 각구 모두 thiamine 단용구와 비슷하나 균핵형성량은 모두 thiamine 단용구보다 오히려 높았다

6. RNA 및 DNA가 균사생장 및 균핵형성에 미치는 영향

기초배지에 소정농도의 RNA 및 DNA를 첨가한 후 균사편을 집중하였다. 실험결과는 fig. 5에 표시하였는

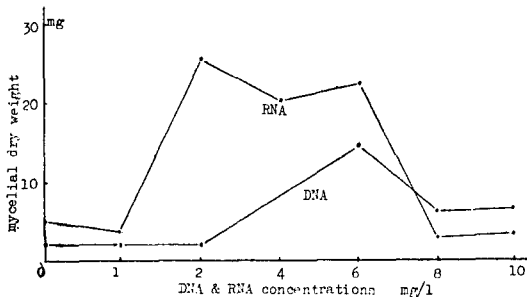


Fig. 5. Effect of RNA and DNA on the mycelial growth of *S. rolfssii* for 5 days at 28°C.

대전반적으로 보아 RNA나 DNA는 균사생장에 커다란 효과를 나타내지는 못하나 무첨가에 비하여서는 다소 효과가 있는 것으로 RNA는 DNA보다 균사생장이 좋았다. 그런데 RNA는 2~6mg/l에서, DNA는 6mg/l에서 다소의 균사생장을 보였으나 그 이상의 농도에서는 오히려 저해되었다. 한편 15일간 평면배양에서의 균핵형성은 RNA나 DNA첨가 전구에서 거의 볼 수 없었다.

7. 균사생장 및 균핵형성에 미치는 thiamine과 RNA와의 영향

기초배지의 asparagine을 $(NH_4)_2SO_4$ 로 대체시킨 배지를 사용하고 집중원은 균사편을 사용하였다.

Fig. 6에서와 같이 RNA 무첨가구와 2mg/l 구는 thiamine 4r/l까지는 급격한 성장효과를 보이고 thiamine 8r/l 이상에서는 대체로 완만한 생육을 나타내었다. RNA의 농도별로 보면 농도가 증가함에 따라 균사생장도 다소 증가하고 있는데 RNA 무첨가구는 thiamine 8r/l에서 거의 최고생장량(160mg)에 달하였고 RNA 2mg/l

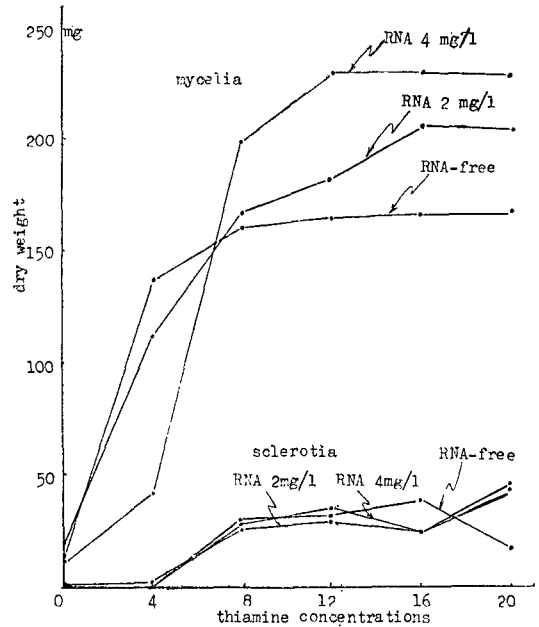


Fig. 6. Effect of DNA and thiamine on the mycelial growth and sclerotial production of *S. rolfssii* for 5 days and 15days at 28°C, respectively.

구는 이보다 높은 thiamine 16r/l에서 최고생장량(205 mg)을 보였으며 RNA 4mg/l구는 thiamine 12r/l에서 최고점(230mg)에 달하였다. 균핵형성량은 RNA 무첨가구나 첨가구나 현저한 차이는 없고 대체로 thiamine의 농도가 증가함에 따라 약간씩 증가하는 경향이 있었다.

II. 찰

목련흰비단병균의 균사생장과 균핵형성에 관여하고 있는 물질을 찾아내어 이에 따른 물질대사를 구명하고 이것을 기초로 균핵형성을 지지시킬 수 있는 방법을 모색코지 시도한 바 그 기초작업으로서 본균의 균사생장 및 균핵형성에 영향을 주리라고 생각되는 몇가지 물질에 대하여 검토해 보았다.

이 균은 천연배지인 PDA에서는 균사생장이나 균핵형성이 좋으나 합성배지(vitamin-free)에서는 일반적으로 생장이 좋지 않거나 거의 생장을 하지 않는다.⁸⁾ 따라서 이균의 생육에는 일반물질이 아닌 다른 어떤 물질에 크게 지배되고 있음을 곧 짐작할 수 있으나 그것이 무엇인가는 속단하기 어렵다. Lyle¹⁰⁾에 의하면 *Sclerotium rolfssii*의 51분리균주중 생장에 thiamine을 요구하는 것이 49주이고 균핵형성에 thiamine을 요구하는 것이 43주로서 대부분의 계통이 thiamine을 요구한다는 것을 밝혔을 뿐 아니라 thiamine이외에도 biotin이나 nicotinic acid를 요구하는 것이 상당수가 있다고 한다 더우기 9개의 균핵불형성균주중 1주는 thiamine을 급여하므로써

균핵을 형성하게 되었다는 사실은 균핵형성과 thiamine 간에 깊은 관계가 있음을 시사하는 것이라 생각된다. 그러나 그는 thiamine, biotin, nicotinic acid의 요구도는 분비계통에 따라 다양하다는 것을 지적하고 있으므로 목련에서 분리한 *Sclerotium rolfsii* R-1 균에 대해서도 검토해 볼 필요가 있는 것이다.

공시균 *S. rolfsii*의 균사생장량이 thiamine의 첨가로 말미아마 거의 직선적으로 증가하여 thiamine 20 γ /l에서 최고생장량에 달하고 있음은 Lyle¹⁰⁾의 결과와 약간의 차이가 있는 것으로 이것은 공시균의 분비계통이 다르기 때문이라 생각된다. 그러나 thiamine이 균사생장이나 균핵형성에 크게 관여하고 있다는 것만은 확실한 것이다. 그런데 thiamine 20 γ /l의 농도이상에서는 thiamine의 증가에 따라 오히려 균사생장량이 감소하는데 이러한 예는 *Fusarium solani*에서도 볼 수 있는 것으로⁶⁾ thiamine 50 γ /l에서 생장이 저해된다고 한다 이러한 원인을 平井등⁸⁾은 파인의 thiamine은 ammonia나 혹은 ethanol의 축적을 일으켜 그때문에 저해작용이 나타난 것이 아닌가 생각하고 있으나 그 확실한 원인은 차후의 연구과제로 미룬다. 한편 Cochrane⁴⁾에 의하면 *Sclerotium* spp.는 thiamine 대신에 그의 구성부분인 Pyrimidine 환탄을 주어도 나머지 부분을 자기 스스로 합성할 수 있는 균으로 기술하고 있는데 공시균에 대한 이러한 문제도 차후 검토해야 할 것으로 생각된다.

Fig. 2의 결과로 보아 공시균은 thiamine 존재하에서 NH₄-N은 잘 이용하나 NO₃-N은 이용율이 낮으며 NH₄-N이나 NO₃-N 양자를 공유하는 NH₄NO₃를 가장 잘 이용한다고 할 수 있다. 또 질소원별 thiamine 최적요구량에도 차이가 있는 것으로 KNO₃인 경우 12 γ /l, asparagine인 경우는 16 γ /l정도이다. 한편 균핵형성량(fig.3)을 보면 여기에서도 질소원간에 차이가 인정되는데 N H₄NO₃를 제외하고는 균사생장의 경우와 반대현상을 보이는 것으로 균핵형성이 생활조건의 불화에서 온다면 대체로 납득할 수 있는 일이다. Henis등⁵⁾이 밀기울을 첨가한 살균토양 혹은 환천배지상에서 *S. rolfsii* 균의 균사생장 및 균핵형성에 관한 정량적인 연구에서 균핵의 최고생산은 균사생장의 최적조건 이하에서 나타났고 풍부한 균사생장은 균핵생산에 비교적 불리하다고 지적한 바와 일치한다. 다만 NH₄NO₃가 균사생장이나 균핵형성에서 다 잘 이용된다는 것은 아마도 NH₄-N이 균사생장에 잘 이용되는 반면 NO₃-N이 균핵형성에 유효하기 때문이 아닌가 생각된다. 그러나 Lilly 등⁹⁾은 NO₃-N을 잘 이용하는 균으로서 *S. bataticola*를 수록하고 있으나 동속 근연인 공시균이 이와 반대인 것은 중간분화에서 오는 것으로 생각된다.

질소원과 thiamine 농도와의 관계에서 KNO₃, NH₄NO₃ 구가 8 γ /l에서 균핵의 대부분이 형성되나 asparagine 구는 이보다 훨씬 높은 농도인 16 γ /l에서 최고에 달하며 (NH₄)₂SO₄ 구는 20 γ /l까지 증가를 계속하고 있다. 이것은 균사의 생장과도 관계가 있는 것으로 대체로 균사의 최고생장농도와 균핵최고형성농도가 거의 비슷한 현상을 보여 주고있다. 이러한 사실로 보아 어떤 범위내에서는 질소원은 균사생장에 부족한 것일수록 균핵형성량을 증가시키고 질소원에 대한 균사최고생장을 나타내는 thiamine의 농도 부근에서 최고균핵형성량을 나타내지 않는가 생각된다.

배양액의 pH (fig. 2)는 균접종전 6.4에서 균사의 생장량이 증가함에 따라 pH 2.2 까지 내려가 공시균은 대단한 내산성을 표시하고 있다. 梶等⁷⁾도 *Corticium rolfsii*의 8 strain에서 이러한 사실을 확인하고 이들 균이 배양액중에 低 pH(1.5~3.0)활성인 endo-polygalacturonase를 생산한다는 것을 확인하고 있으며 Beteman등²⁾도 *S. rolfsii*의 액체배지와 이병콩 자엽에서 oxalic acid와 Polygalacturonase를 생산한다는 것을 보고하였으며 균 6일간 생장한 배양액 30ml 당 80mg의 oxalic acid가 함유되고 있음을 밝혔다. 이런 결과를 종합해 보면 공시균의 배양액의 pH가 떨어지는 것은 oxalic acid 등에 기인한 것으로 생각된다. 丙藤등¹²⁾도 *Sclerotinia sclerotiorum*의 배양중 배지의 pH가 현저하게 저하하는 것은 oxalic acid나 phenol성물질이 생성되기 때문이라 말하고 있다.

Lyle¹⁰⁾은 *S. rolfsii* 분리균주중 균사생장 및 균핵형성에 nicotinic acid를 요하는 것이 각각 33주, 11주였다고 하는데 공시균은 균사생장이나 균핵형성에 아무런 효과가 없고 thiamine과 혼합첨가할 경우 균사생장에는 다소 효과가 있으나 균핵형성에는 뚜렷한 효과가 없는 것으로 생각된다. 그러나 균사생장에 있어서도 7-10 mg/l의 농도를 초과하면 오히려 저해작용이 나타난 것은 흥미있는 일이다.

Biotin에 대해서도 Lyle¹⁰⁾의 보고와는 달리 균사생장이나 균핵형성에 뚜렷한 효과를 주지않는 것은 biotin이 asparagine의 생합성에 관여하고 aspartic acid가 biotin에 대신하여 작용한다⁶⁾는 것을 감안할때 glucose-asparagine 배지에서도 균사생장이 미약하다는 사실과 일맥 상통하는 점이 있다. 宇井등¹³⁾의 실험에서도 *Pellicularia filamentosa*의 57균주에 대한 biotin의 영향은 무첨가구와 명백한 차이가 인정되지 않았다고 한다.

균사생장 및 균핵형성에 대한 각종 vitamin의 상호효과(Table 1)는 thiamine, pyridoxine, inositol과 이들의

combination에 의한 첨가에서도 thiamine의 효과가 절대적인 것으로 thiamine이 첨되지 않는한 다른 Vitamin들이 아무리 많이 있다 하더라도 거의 효과가 없음이 밝혀졌다. thiamine+biotin 구에 있어서 균체중이 thiamine 단독첨가구에 비하여 상당히 떨어져 biotin이 thiamine의 작용을 저해하는 결과를 나타내나 좀더 변밀한 검토가 필요하리라 생각된다. 한편 thiamine+biotin+pyridoxine구나 thiamine+biotin+pyridoxine+inositol 구에 있어서는 biotin이 첨가되었어도 균체중이 thiamine 단독구와 동등하거나 그 이상을 나타내는 것은 pyridoxine에 의해서 biotin의 mask되는 듯하다. Shirakawa⁶⁾에 의하면 inositol이 biotin의 과잉에 의한 저해작용을 완화하는 경향이 있다고 하는데 이러한 해석으로 Table 1의 thiamine+biotin+inositol 구의 균체중을 설명할 수 있을 것 같다. 또 thiamine은 pyridoxine이 세포내에서 파괴되는 것을 방지한다고도 말하고 있다.⁶⁾ 균핵형성은 전반적으로 thiamine의 첨가에 의해서만 크게 증가하는데 thiamine 단독구 보다는 2~3가지 Vitamin을 혼용하므로서 증가하였다. 따라서 thiamine이 존재하는 한 각종 vitamin의 효과도 약간은 있는 듯하다.

三澤¹¹⁾은 비小球菌核病菌의 균핵형성에 관여하는 물질로서 RNA를 확인하고 RNA 7mg/l가 가장 강력하게 영향을 줄뿐만 아니라 균사의 단백질 대사에도 영향을 주고 있음을 명백히 하였으나 공시균 *S. rolfsii*는 fig. 5와 같이 뚜렷한 효과는 없으나 DNA 보다는 RNA가 더 효과적일 듯 하다. 이것은 RNA가 주로 대사에 관여하고 있는 관계이기 때문이라고 생각된다. RNA와 thiamine을 혼합첨가할 경우 thiamine의 농도가 증가함에 따라 균체중도 증가할 뿐 아니라 RNA 농도가 증가함에 따라서는 RNA의 농도가 낮을수록 thiamine 저농도(4γ/l)에서의 생육량이 증가하는 경향을 보여주고 thiamine 4~8 γ/l에서 이와 반대의 현상을 나타내기 시작하여 thiamine 최고생상농도에 접근함에 따라 뚜렷한 차이를 보여주는 것이라 생각된다. 다시 말하면 thiamine의 존재하에서 RNA효과가 명백히 나타나는 것으로 보여진다.

적 요

목련흰비단병균 *Sclerotium rolfsii*의 균사생상 및 균핵형성에 대한 thiamine, biotin, nicotinic acid, Pyridoxine, inositol과 DNA 및 RNA의 영향을 조사한 바 그 결과론 요약하면 다음과 같다.

1. 공시균은 thiamine 결핍균으로서 균사생상 최적

thiamine 농도는 20γ/l이고 이농도를 초과하면 오히려 균사생상이 억제되어 150γ/l에서는 무첨가구와 거의 비슷한 균사생상을 하였다.

2. 공시균의 생장에 있어서 thiamine의 첨가에 따른 질소원 이용도는 $\text{NH}_4\text{NO}_3 > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{asparagine} > \text{KNO}_3$ 의 순위이며 질소원별 thiamine 최적요구량은 KNO_3 인 경우 12γ/l, asparagine인 경우는 16γ/l정도였다. 균핵형성량에 있어서는 $\text{KNO}_3 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{asparagine} > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 순위로서 질소원별 thiamine 최적량은 $\text{KNO}_3, \text{NNO}_3, \text{NH}_4\text{NO}_3$ 가 8γ/l에서 균핵의 대부분이 형성되나 asparagine은 16γ/l정도였다.

3. 배양액의 pH는 공시균이 생장을 개시하자마자 3.5 정도로 급격히 떨어지나 그 이후로는 생장량이 증가함에 따라 완만하게 떨어졌다. 그러나 pH 2.2 이하로는 내려가지 않았다.

4. Nicotinic acid는 공시균의 생장 및 균핵형성에 아무런 효과가 없었다. 그러나 thiamine 10γ/l와의 공존하에서는 다소의 효과가 있는 것으로 nicotinic acid 7~10mg/l에서 가장 생장이 좋았고 그 이상에서는 생육이 억제되었다.

5. Pyridoxine, biotin 및 inositol은 배지의 질소원이 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 나 asparagine인 경우 모두 공시균의 균사생장 및 균핵형성에 아무런 효과가 없었다.

6. 공시균의 균사생장에 대한 각종 vitamin의 상호효과에 의해서도 thiamine이 첨가되지 않으면 거의 효과가 나타나지 않았다. 그러나 thiamine+pyridoxine, thiamine+inositol, thiamine+biotin+pyridoxine, thiamine+biotin+pyridoxine+inositol 구에 있어서는 thiamine 단독첨가구와 동등 혹은 그 이상이지만 thiamine+biotin과 thiamine+biotin+inositol 구는 오히려 떨어졌다. 균핵형성에 있어서는 thiamine 단독구에 비하여 각구 모두 약간씩 증가 하였다.

7. 공시균의 균사생장에 대한 DNA와 RNA의 효과는 무첨가구에 비하여 다소 인정되는데 DNA 보다는 RNA가 좀더 효과적 이었다. RNA는 2~6mg/l에서 DNA는 6mg/l에서 가장 좋았다. 균핵형성에 있어서는 효과가 없었다.

8. RNA의 농도가 증가함에 따라 또 thiamine의 농도가 증가함에 따라 균사생장량이 증가하는 것으로 thiamine의 존재하에 RNA의 효과가 뚜렷하게 나타났다. 그러나 균핵형성에는 효과가 없었다.

인 용 문 헌

1. 明日山秀文, 向秀夫, 鈴木直治. 1962. 植物病理實驗法 p. 349. 日本植物防疫協會.
2. Beteman, D.F. & S.V. Beer. 1965. Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 55 : 204—221.
3. 鄭厚燮, 金喜圭. 1971. 흰비단병균의 菌核形成에 미치는 光線의 影響. 韓國微生物學會 1971年度發表要旨.
4. Cochrane, V.W. 1958. *Physiology of fungi*, p. 330—331. Wiley.
5. Henis, Y., I. Chet and Zehara Arizohar-Hershenzon. 1965. Nutritional and mechanical factors involved in mycelial growth and production of sclerotia by *Sclerotium rolfsii* in artificial medium and amended soil; *Phytopath.* 55 : 87-91.
6. 平井篤造, 鈴木直治. 1966. 植物病理の生化學. 前編, p. 190—205. 農業技術協會
7. 梶 明, 大崎武久. 1971. *Corticium rolfsii*의 endopolygalacturonase, 酵素의 耐久性および低pH活性. 日本農藝化學會誌 45 : 520—528.
8. 金基淸. 1961. *Magnolia kobus*에 白絹病을 일으키는 2系統의 *Sclerotium rolfsii* Sacc.에 關한 研究 : 韓國農學會誌 7 : 20-28.
9. Lilly, V.G. & H.L. Barnett. 1951. *Physiology of the fungi*, p.100. McGRAW-HILL.
10. Lyle, J.A. 1953. A comparative study of *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Sclerotium delphinii* Welch., Ph. D. Thesis. Univ. of Minnesota
11. 三澤正生, 加藤盛. 1960. イネ小球菌核病菌の菌核形成に關與する物質. 日植病報 25 : 75—79.
12. 内藤中人, 答 利一, 1958. クラブヨモギ菌核病菌のフュノル性代謝産物について. 日植病報 23 : 15—16
13. 宇井格生, 三井康. 1960. *Pellicularia filamentosa* 菌絲の伸長と thiamine 及び biotin. 日植病報 25 : 63.