

목련 (*Magnolia kobus* DC.)에서 分離한 흰비단病菌 (*Sclerotium rolfsii* Sacc.)에 關한 研究

全南大學校 農科大學
金 基 清

Studies on *Sclerotium rolfsii* Sacc. isolated from

Magnolia kobus DC. in Korea

Kichung Kim

目 次

I. 緒 言	biotin, 및 inositol.
II. 研究 史	5. 各種 vitamin 의 混合添加가 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響
III. 材料 및 方法	§4. <i>Penicillium</i> sp. 培養濾液이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響
1. 供試菌株	1. 培養濾液의 生育促進效果
2. 供試基礎培地	2. 生育促進效果를 가진 分割
3. 接種源	3. 生育促進分割中の 아미노酸의 種類와 各種 아미노酸의 生育效果
4. 培養方法	§5. 菌核의 抵抗力
5. 乾物重의 測定	1. 濕 熱
IV. 實驗結果	2. 乾 燥
§1. 分離菌株間의 差異	3. 低 溫
1. 培地上의 性質	4. 藥 劑
2. 分離菌株間의 嫌觸現象	§6. 新殺菌劑 Benlate 및 Tachigaren 이 菌生 育에 미치는 影響
3. 病原性	1. 菌糸生長 및 菌核形成
§2. 窒素源과 炭素源이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響	2. 病原菌의 glucose 및 窒素利用
1. 窒素源	3. 藥劑土壤處理
2. 炭素源	4. 菌核의 發芽抑制
3. C/N 率	V. 考 察
§3. Vitamin 類	VI. 摘 要
1. 菌糸生長과 thiamine 濃度와의 關係	VII. 引用文獻
2. 菌糸生長 및 菌核形成과 窒素源別 thiamine 과의 關係	VIII. Summary
3. 菌糸生長 및 菌核形成과 nicotinic acid 濃度	
4. 菌糸生長 및 菌核形成과 pyridoxine,	

I. 緒 言

흰비단病을 이르는 病原菌의 學名은 *Hypochnus centrifugus*(Léveillé) Tulasne 이었으나 나중에 *Corticium* 屬으로 옮겨져 *Corticium centrifugus*(Léveillé) Bresadora 로 되었다가 現在는 *Corticium rolfsii*(Saccardo) Curuzi 로 通用되고 있으며 그 不完全世代는 *Sclerotium rolfsii* Sacc. 이다. 이 病은 土壤病으로서 熱帶地方과 溫帶地方의 溫暖部에 걸쳐 發病하고 있다. 美洲地方에서는 *Sclerotium rolfsii* 에 依해서 일어나는 病을 普通 Southern blight 라 부르고 있는데 南部 全耕作地帶에서 많이 發見되는 것으로 比較의 高溫性病에 屬한다. 一般적으로 이 病原菌은 比較의 有機物이 많거나 植物殘骸가 섞인 輕砂質土壤에 棲息하여 被害를 주고 있음은 그의 腐生性에 起因한 것이라 생각된다.

이 病은 世界各國에 널리 分布하고 있기 때문에 이에 關한 研究도 오래 前부터 實施되어 왔고 그 調査報告도 大端히 많다. 그러나 韓國에서는 이에 對한 研究가 거의 없다.

이 病原菌은 完全世代인 擔孢子가 잘 形成되지 않는 것으로 알려져 있다. 不完全世代인 *Sclerotium rolfsii* 는 오직 菌核만을 形成하여 이것에 依해서 越冬 傳播되고 있다. 勿論 植物 生長期中에는 菌糸에 依해서 接觸傳染되기도 하나 菌糸의 活性은 短時日內에 消失되므로³⁾ 傳播에 큰 役割을 할 可能性은 적은 것이다.

近來 施設園藝의 急速한 發達로 各地에 高等園藝園地가 造成되고 그 規模도 大型化 되어가고 있을 뿐 아니라, 面積도 每年 增加 一路에 있다. 施設園藝는 半永久的 固定施設이기 때문에 經濟的인 收益을 높이기 위해서 施設의 高度利用을 指向하므로 園地는 年中 無休가 된다. 따라서 이런 地域에서는 各種病 特히 土壤病이 慢性化되고 土着化될 것임은 明白한 일이다. 先進農業國에서는 이미 이에 腐心하고 있거나와^{36) 6)} 우리나라 施設園藝園地에서도 이러한 現象이 나타나고 있다. 흰비단病도 그 被害가 每年 增加하고 있는 實情이다. 그러므로 이의 防除對策의 確立은 時急을 要하고 있다.

흰비단病菌에는 地域에 따라 病原性이나 生理的性質이 다른 여러가지 分離系統이 報告되어 있다^{14) 34) 43) 44)} 그런데 本 研究에 供試된 4種의 分離菌은 人工接種에 依하면 오이나 콩에도 強한 病原性을 가지고 있다. 따라서 이 系統의 菌이 農作物에 큰 被害를 줄 可能性이 큰 것이다. 이 病은 主로 菌核에 依해서 傳播되기 때문에 이의 防除策은 菌核을 中心으로 講究되어야 할 것이다. 著者는 이 菌의 菌核形成 抑制라는 觀點에서 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 營養生理學的인 面, 腐生菌인 *Pen-*

icillium sp.에 依한 *S. rolfsii* 의 生育促進效果 및 새로히 開發된 殺菌劑의 菌糸生長 및 菌核形成 抑制效果를 檢討하였다.

II. 研究史

이 病原菌은 1893年 Rolfs 에 依해서 처음으로 報告된 菌으로서 世界各國에 널리 分布하고 있을 뿐 아니라 典型的인 多犯性菌이다. Paintin⁴⁷⁾의 報告에 依하면 顯花植物의 140餘種에 寄生하며 또 Bateman 등¹⁾은 1931年 까지 189種의 寄主를 報告하였다. 日本에서 現在까지 報告된 寄主는 食用作物 12種, 特用作物 17種, 茶蔬 17種, 觀賞植物 23種, 果樹 3種, 林木 4種, 牧草 8種 計 84種에 이르고 있다.⁵⁰⁾ 그러나 韓國⁵⁾에 있어서 記錄된 것은 오직 11種 뿐이다.⁶³⁾

S. rolfsii 의 營養生理에 關한 研究報告는 많다. Higgins¹⁹⁾는 本菌의 培地로서 Czapek 液이나 Richard 液 또는 이들의 變形과 같은 合成培地에서는 菌糸生長이나 菌核形成이 좋지 않고 pepton이나 egg albumin 이 糖類代身에 添加되면 菌糸生長이나 菌核形成이 좋았음을 밝혔고, 콩 煎汁과 같은 茶蔬煎汁이나 beef-extract-pepton-broth 에서 急速히 그리고 旺盛하게 자란다는 것을 報告하였다. 그러나 蒸溜水에 pepton 이나 egg albumin 만을 添加한 것은 이들 보다 生育이 不良하다는 點에서 *S. rolfsii* 培養에 鑛物質이 必要함을 밝혔다. 따라서 本菌의 培地로는 pepton 이나 egg albumin 을 添加한 天然培地 내지는 半合成培地가 要求된 것이다. 그後 Lyle³⁴⁾은 vitamin 을 添加하므로써 完全培地에서의 培養에 成功하였다. 그는 單孢子分離에 依해서 分離한 51 菌株의 大部分이 菌糸生長 및 菌核形成에 thiamine 을 要求하였음을 明白히 하였다. 特히 감자寒天培地(Potato dextrose agar)나 이에 類似한 培地에서 菌核을 形成하지 않았던 9 菌株中 1 菌株는 thiamine 을 投與하므로써 많은 菌核을 形成하였다.

病原菌의 窒素源과 炭素源에 關한 Higgins¹⁹⁾의 研究는 이 菌이 炭酸鹽이나 ammonium 鹽을 容易하게 利用하지 못하고 炭素源으로서는 蔗糖, dextrose, 澱粉, 乳糖, glyceline 中 乳糖과 glyceline 은 菌의 生育에 가장 不適한 것임을 밝혔다. 그리고 枸橼酸은 病原菌의 生育에 大端히 좋은 炭素源이라 하였다. 그는 또 이 菌의 培養液은 一般的으로 最初보다 pH가 떨어지는데 關해서 pepton 에서 암모니아와 尿酸이 生成되고 蔗糖에서 尿酸이 生成되기 때문으로, 炭水化合物을 同化하면 培地의 酸度를 低下시킨다고 하였다.

病原菌의 菌核形成에 關與하는 要因에 關해서도 많은 報告가 있는데 前述한 Lyle³⁴⁾은 thiamine 을, Henis 등

¹⁶⁾은 榮養的 및 機械的因子를 들고 있다. 即 菌糸의 切斷이나 裂開가 菌核形成을 促進시키는 것은 榮養菌糸體의 生長에 있어서 部分的인 阻止를 일으키기 때문이라 하였다. 그리고 菌核의 最高生産은 菌糸最適 生産條件보다 나쁜 條件下에서 일어나고 菌糸生長 最適條件下에서는 菌核形成이 比較的 低下되었음을 밝혔다. 한편 鄭⁷⁾은 光線도 菌核形成의 促進效果를 가지고 있음을 報告하였다.

菌核의 發達過程은 Henis 등¹⁷⁾에 依해서 밝혀졌는데 그들은 이 過程을 3期로 區分하여 初期(Phase I)를 菌核始原이 形成되는 時期, 發達期(phase II)를 菌核이 그의 最終크기에 達하여 淡黃色이 되는 時期, 成熟期(phase III)를 melanin 色素가 菌核外殼에서 合成되는 時期로 區分하였다.

菌核은 一種의 耐久體로서 環境에 抵抗性을 나타내는데 Togashi¹⁸⁾의 manual에 依하면 white clover strain이 乾熱 65~66°C에서 4時間, 90~91°C에서 40分에, 濕熱 60~61°C에서 20分에 死滅하였다. Zinnia strain은 乾熱 55°C, 1時間에, 水稻系統 No.2의 菌核은 40°C에서 7日, 50°C에서 1時間, 60°C에서 10分에 死滅하였다고 收錄하고 있다. 한편 菌核의 生存力은 室內에서 10年間, 野外에서는 5~6年間 生存한 다는 記述도 있다.⁶⁰⁾ ⁶²⁾ 培養 18日後의 菌糸는 がい 病原力이 없었다.³¹⁾ 耐低溫性에 關해서 菌糸는 凍結하면 死滅하나 菌核은 -10°C 48時間에도 잘 견디었다는 報告도 있다.¹⁶⁾

發病生理에 關해서는 Bateman 등¹⁹⁾의 研究로 그 一部가 밝혀졌다. 그들은 病原菌에 依해서 生産된 polygalacturonase는 calcium pectate를 加水分解할 수는 없지만 oxalate ion의 存在下에서는 加水分解가 일어나는 것으로 *S. rolfssii*에 依한 oxalic acid 生産은 細胞壁의 calcium pectate에서 calcium을 結合시키고 同時에 polygalacturonase 活性에 適合한 酸性條件을 提供하여 寄主體內에서 pectin 物質을 急激히 分解하도록 한다. polygalacturonase와 oxalic acid와의 協力作用은 *S. rolfssii*에 依한 植物組織의 急速한 破壞를 일으키는 主要한 要因을 밝혔다. 한편 梶等²⁰⁾도 *Corticium rolfssii*의 培養液中에 低 pH 活性인 endo-polygalacturonase를 生産한다는 것을 確認하였다.

最近 土壤中の 植物殘骸와 *S. rolfssii*間的 生育促進, 혹은 生育抑制에 關한 研究가 많다. Boyd 등²¹⁾은 콩과 땅콩의 殘骸가 含有되어 있는 土壤抽出液은 *S. rolfssii*의 菌糸生長을 有意의으로 抑制함을 確認하였고 權藤 등²²⁾은 水稻(農林 18號)의 發芽後 1週 및 2週 經過한 根 搾汁液은 이 菌의 生育을 抑制하나 發芽後 3週 後에서

는 抑制作用이 認定되지 않았고 오이등의 根搾汁液은 生育을 多少 促進한다는 것을 밝혔으며 Mixon 등⁴⁰⁾은 滅菌土壤에서 클로버, 땅콩, 벳치, 옥수수, 혹은 귀리 등의 殘骸物質은 *S. rolfssii*나 *Trichoderma* 菌의 生育을 抑制시켰으나 菌核形成과 孢子形成이 크게 增加되었고 自然土壤에서는 귀리殘骸의 添加로 甚한 菌糸破壞를 이르기며 菌核發芽를 抑制시켰다. 또 알팔카乾草에 含有된 揮發性物質은 低濃度에서는 促進的으로 作用하나 高濃度에서는 抑制的으로 作用한다는 報告도 있다.³³⁾

近來 除草劑나 殺虫劑의 使用이 增加됨에 따라 이들과 土壤病原菌과의 關係에 對한 研究報告가 많다. 그中 *S. rolfssii*에 對한 影響을 取扱한 藥劑는 atrazine, fluometuron, trifluralin 및 thiram³⁾ dipyridyl 및 toluidine¹⁰⁾, atrazine⁹⁾¹¹⁾, dimethyl sulfoxide³⁹⁾ paraquat⁴⁸⁾ trifluralin⁵⁰⁾ 등 인데 大部分 高濃度에서의 *S. rolfssii*의 菌糸生長이나 菌核形成을 抑制하였고 또 이들은 土壤病原菌의 拮抗菌에 對해서도 影響됨이 함께 調査되었는데 *S. rolfssii*의 物質吸收에도 影響을 주고 있다.

III. 材料 및 方法

1. 供試菌株: 全南農大 林業苗圃의 목련(*Magnolia kobus* DC.) 實生苗에서 1958年과 1969年에 分離한 *Sclerotium rolfssii* Sacc.을 供試하였는바 分離菌株間的 差異, 菌核의 抵抗性에 關한 實驗에서는 前者를, 其他 實驗에서는 後者를 供試하였다.

2. 供試基礎培地: 窒素源과 炭素源이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響, 生長要素로서의 vitamin 및 *Penicillium* sp. 培養濾液이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響에 關한 實驗에서는 glucose-asparagine 培養液⁵⁶⁾을 基礎로 하여 實驗目的에 따라 이의 炭素源과 窒素源을 當量만큼 다른 炭素源이나 窒素源으로 代替시켜 使用하였는데 炭素源이나 窒素源은 實驗項目마다 明記하였다. 固體培地는 精製純化⁵⁸⁾ 시킨 寒天을 1.5%添加하여 調査하였다. 培地의 滅菌은 15 Lb.에서 15分間 高壓滅菌하였고 pH는 모두 滅菌前 值로 表示하였다.

3. 接種源: 감자寒天培地(Potato dextrose agar; PDA) 上에 形成된 未熟菌核(白色)이나 혹은 菌糸切片을 使用하였는데, 未熟菌核은 徑 1mm 程度인 것을 골라 滅菌水로 3回 洗滌하여 滅菌濾紙上에서 表面의 過剩水를 吸取한 다음 供試하였다. 菌糸切片은 底面이 水平한 徑 9cm petri dish에 PDA를 約 0.5mm 두께로 부어치고 中央에 菌을 移植하여 27°C에서 培養시킨 다음 dish 周壁에 到達하기 前, 菌叢의 緣邊部에서 5mm 平方으로 PDA와 함께 切取한 菌糸片을 供試하였다. 大部分의 實驗에 있어서 菌糸切片을 使用한 理由는 未熟菌核을

使用할 境遇 이의 同質性을 認定하기 어려웠고 一定 短期間의 生長量에 甚한 差異를 가져왔을 뿐 아니라 時間的 損失이 많았기 때문이었다.

4. 培養方法: 供試菌은 모두 28°C의 定溫器內에서 培養하였으며 實驗目的에 따라 培養期間을 適宜 調節하였는바 實驗項目마다 明記하였다. 菌系生長量은 平板培養으로 各各 調査하였다. 即 液體培養은 100ml Erlenmeyer flask에 試液驗을 50ml씩 分注하여 培養하였고 平板培養은 50ml의 試液驗에 寒天을 溶解하여 3個의 Petri dish에 나누어 固化시켜서 培養하였다.

5. 乾物重의 測定: 菌系의 生長量이나 菌核의 形成量은 모두 그들의 乾物重을 測定하여 表示하였다. 菌系의 乾物重은 sieve crusible로 濾別하여 蒸溜水로 3回 培養液을 洗去시킨 다음 秤量瓶에 담아 80~90°C에서 48~72時間 乾燥시켰다가 다음에 desiccator에 옮겨 24時間 平衡화시켜 秤量하였다. 菌核은 培地上에 形成된 것을 핀셋으로 주어 모아 秤量瓶에 담고 菌系와 똑 같은 方法으로 測定하였다.

各區마다 3反覆으로 하였고 2回 實驗值를 平均하여 表示하였다.

IV. 實驗結果

1. 分離菌株間의 差異²⁶⁾

1. 培地上的 性質

同一 圃場內에서 採集한 菌核으로 부터 純粹分離한 5個의 分離株의 培地上的 菌系發育狀態로 보아 二性質을 달리 하는 2個의 型을 認定할 수 있었는데 2個의 型의 相異點을 綜合해 보면 다음과 같다. PDA나 Czapek's agar에 있어서 第1型은 氣中菌系의 發達이 不良한데 反하여 第2型은 良好하였다. 大體的으로 第1型과 第2型은 發育初期에는 何等의 差異가 없어 區別하기 어려웠으나 菌叢이 擴大되어 petri dish의 周壁에 達했을 때 부터 差異가 認定되었다. 即 第1型은 氣中菌系의 發達이 微弱하고 遠心的인 生長이 強하였으며 第2型은 第1型에 比하여 氣中菌系의 發達이 良好하였고 그 生長이 求心的이었다. 그리고 第1型의 菌系는 老齡하면 약간 淡黃色을 띠었다.

2. 分離菌株間의 嫌觸現象

糸狀菌에 있어서 嫌觸現象을 種間 혹은 系統間의 異同을 究明하는 一方法으로 많이 利用하고 있다. Epps 등¹⁴⁾과 中田^{43) 44)}는 *S. rolfsii* Sacc.의 生態種을 類別하는데, 伊藤 등²¹⁾은 *Pellicularia filamentosa*와 紋枯病菌의 異同을 追求하는데 이方法을 使用하였다. 목련에서 分離한 菌株 M-1, M-2, M-3, M-4와 유카(*Yucca recurvifolia*)에서 分離한 菌株 Y를 PDA 平板에 十字

形으로 相互 對峙培養시켜 嫌觸現象을 調査해 본 結果는 Table 1과 같다. 本 實驗에 있어서 M-1, M-4와 M-2, M-3, Y間에는 菌系의 接觸面에 있어서 相互進展치 못하는 帶狀의 生長阻止帶가 생기었고 M-1, M-4側은 上向하는 淡褐色의 菌系가 생기었으나 M-2, M-3, Y側은 大形의 菌核이 境界線에 多數 形成되었다. 이 結果에 依하면 여기에 使用된 5個의 分離菌株를 2群으로 나눌수 있었는데 第1群은 M-1, M-4이고 第2群은 M-2, M-3, Y로서 前記 培地上的 菌系發育狀態로 본 第1型和 第2型의 區分과 一致하였다.

Table 1. Aversion phenomenon between the isolates of *Sclerotium rolfsii* Sacc. isolated from *Magnolia kobus* and *Yucca recurvifolia*.

Isolates	M-1	M-4	M-2	M-3	Y
M-1	—	—	+	+	+
M-4	—	—	+	+	+
M-2	+	+	—	—	—
M-3	+	+	—	—	—
Y	+	+	—	—	—

* + aversion

-- no aversion

3. 病原性

健全한 1年生인 木련實生苗(苗長 25-35cm)와 아카시實生苗(苗長 30-40cm)를 選定하여 木蓮은 6本씩 아카시아는 3本씩 徑 21cm인 포트에 移植하여 活着한 다음 供試하였고 콩(콩나물콩)과 오이(日支青長)는 포트에 播種하여 콩은 本葉이 5枚 展開한 健全한 것을 포트當 8本, 오이는 本葉이 4葉 展開한 것을 포트當 6本씩 供試하였다. 供試菌은 PDA에 3日間 培養시킨 菌叢片을 1포트에 徑 9cm인 petri dish 1/2量씩 寒天과 함께 切斷하여 苗의 줄기 밑둥 附近에 묻고 充分히 灌水한 다음 室內에 2日間 放置했다가 日射良好한 室外에 두고 그 經過를 調査하였다. 목련은 1週後, 아카시아는 1週와 2週後, 콩과 오이는 1週後에 各各 結果를 調査하였다. 供試植物에는 地面이 濕한 程度로 每日 1回 灌水했으며 對照區는 菌系片 代身에 PDA片을 묻어 둔 것 外에는 다른 區와 同一한 處理를 했다. 試驗期間中의 平均氣溫은 목련과 아카시아에 있어서는 約 28°C이었고 콩과 오이에 있어서는 約 20°C이었다. 播種한 24時間後 菌片을 묻어둔 個所마다 白色菌系가 약간 地表面에 나타나기 始作하였고 白色의 菌核始原體도 形成되었으며 2日째에는 綿毛狀 菌系가 發達하여 植物의 줄기 밑둥에 接着되었다. 목련에 있어서는 3日

Table 2. Comparison of the pathogenicity of two types of *Sclerotium rolfsii* isolated from *Magnolia kobus*.

Host plants	No. of plants tested	type-1			type-2		
		No. of plants infected	No. of plants killed	% killed	No. of plants infected	No. of plants killed	% killed
<i>Magnolia kobus</i>	12	12	12	100.0	12	12	100.0
<i>Robinia pseudoacasia</i>	8	8	7	88.8	8	8	100.0
<i>Glycine max</i>	16	16	4	25.0	16	10	62.5
<i>Cucumis sativus</i>	16	4	3	25.0	12	11	91.5

째부터 新梢部가 萎凋하기 始作하였으나 아카시아에 있어서는 反應이 늦고 罹病枯死하기 까지는 더 많은 時日을 要하였다. 이처럼 枯死速度가 느린것은 아마도 莖의 木質化로 말미암아 病勢의 進展이 緩慢하기 때문이 아닌가 생각된다. 콩은 接種後 1~2日은 25°C 前後의 氣溫이었으나 그後로 氣溫이 降下하여 接種菌의 生育이 不充分한 탓이었는지 全般的으로 枯死率이 낮았다.

Table 2에서 보는 바와 같이 病原菌 第1型和 第2型은 木質에 100%의 枯死率을 가져 왔으나 아카시아는 第1型 89%, 第2型 100%로서 兩者間에 差異가 認定되었으며 콩도 第1型 25%, 第2型 62.5%, 오이는 第1型 25%, 第2型 91.6%로서 뚜렷한 差異가 認定되었다.

2. 窒素源과 炭素源이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響²⁸⁾

微生物의 生育에 窒素源과 炭素源의 種類가 크게 影響한다는 것은 널리 알려진 事實이다. 그러나 이것들이 *S. rolfsii*의 生長에 미치는 影響에 관한 報告는 稀少하다. 그러므로 供試菌의 絶對的인 生長素인 thiamine²⁹⁾을 添加했을 境遇 그 菌糸生長 및 菌核形成에 對한 窒素源과 炭素源의 影響을 in vitro에서 檢討하였다.

窒素源: NO₃-N으로서 KNO₃, NaNO₃, Ca(NO₃)₂, NH₄-N으로서 NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄, 有機窒素로서 尿素, acetamide, glycine, ammonium acetate, ammonium tartrate, asparagine, NO₂-N으로서 KNO₂, NaNO₂, NH₄-N과 NO₃-N을 共有하는 NH₄NO₃ 등 15種을 供試하였다.

炭素源: 單糖類로서 glucose, xylose, 複糖類로서 麥芽糖, 乳糖, 蔗糖, 多糖類로서 可溶性澱粉, 精알코올로서 글리세린 등 7種을 供試하였다.

基礎培地の 炭素源이나 窒素源을 그 當量만큼 上記窒素化合物이나 炭素化合物로서 各各 代置시켜 實驗하였는데 培地の pH는 모두 6.4로 補正하였고 接種源은 菌叢切片을 使用하였다.

1. 窒素源

窒素源으로서 14種의 窒素化合物이 菌糸生長에 미치는 影響을 調査한 結果는 Table 3과 같다. Table 3에서 보는 바와같이 供試窒素化合物은 窒素의 形態에 關係없이 全般的으로 그 利用率이 아주 낮았다. 다만 acetamide와 NaNO₃가 各各 28mg, NH₄NO₃가 24mg로 多少 利用될 뿐 그 以外の 것은 거의 利用되지 않았고 NO₂-N인 KNO₂는 전혀 利用되지 못하였다. 그러나 여기에 thiamine 10 γ /l가 添加되던 그 結果는 크게 달라졌다. (Table 4) 卽 thiamine이 添加되지 않았을 때에는 거의 利用되지 못했던 窒素化合物들이 잘 利用되었다. 그러나 glycine, KNO₃, NaNO₃는 thiamine을 添加해도 利用率이 낮았고 尿素는 中間程度이었으며

Table 3. Effects of various nitrogen sources on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* for 5 days, and on the change of pH of cultural solution.

Nitrogen sources	Mycelial dry weight (mg)	pH of cultural filtrate *
acetamide	37	3.1
glycine	18	3.8
ammonium tartrate	8	4.7
asparagine	6	5.1
ammonium acetate	3	5.8
urea	2	7.2
NaNO ₃	28	3.7
Ca(NO ₃) ₂	11	3.3
KNO ₃	11	5.5
NH ₄ Cl	18	3.2
(NH ₄) ₂ SO ₄	9	3.6
(NH ₄) ₂ HPO ₄	5	5.5
NH ₄ NO ₃	13	3.7
KNO ₂	0	6.5

*Original pH of cultural solution was 6.4.

Table 4. Effects of nitrogen sources on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* for 5 days, and on the change of pH of cultural solutions, when thiamine hydrochloride 10r/l was added in the basal medium.

Nitrogen sources	Mycelial dry weight(mg)	pH of cultural filtrate*
glycine	26	3.6
urea	74	3.83
asparagine	114	3.12
KNO ₃	43	2.81
NaNO ₃	40	2.8
(NH ₄) ₂ SO ₄	134	2.45
(NH ₄) ₂ HPO ₄	114	2.72
NH ₄ NO ₃	143	2.5
NH ₄ Cl	138	2.5
KNO ₂	0	6.32

*Original pH of cultural solution was 6.4.

KNO₂는 전혀 이용되지 못하였다. 한편 培養液의 pH는 最初 6.4로 補正될 때 까지 菌糸生長에 따라 낮아졌

는데 thiamine 無添加時에는 그의 變化幅이 뚜렷하지 않았다. 그러나 양쪽 모두 2.45以下로는 더 이상 내려가지 않았다. 따라서 菌糸가 成長하기 始作한 初期에 pH가 3.0-2.5까지는 急降下하지만 그後 부터는 變化가 菌糸生長에 比하여 微細하다는 것을 暗示하고 있다.

한편 菌核形成에 있어서는 thiamine이 添加되지 않는 限 全區에서 菌核이 全히 形成되지 않았으나 thiamine 20r/l를 添加하면 Fig.1에서 보는 바와 같이 NaNO₃, KNO₃를 除外한 全區에서 形成되었는데 KNO₃를 비롯한 NO₃-N區가 좋았고 다음 有機態窒素이며 NH₄-N에 있어서는 약간 떨어졌다. 그러나 有機態窒素인 ammonium acetate에 있어서는 菌核形成이 가장 낮았다.

2. 炭素源

基礎培地の glucose를 다른 炭素化合物로 그 當量만큼 代置시켰고 여기에 thiamine 10r/l를 添加시켜 pH 6.4로 補正使用하였다. 各區의 對照로 thiamine 無添加區를 設置하여 比較하였다.

結果(Table 5)는 thiamine을 添加하지 않을 境遇 glucose, 麥芽糖, 蔗糖 및 澱粉에서 약간의 菌糸生長이 있었으나 其他 xylose, 乳糖, 그리세린에 있어서는 全

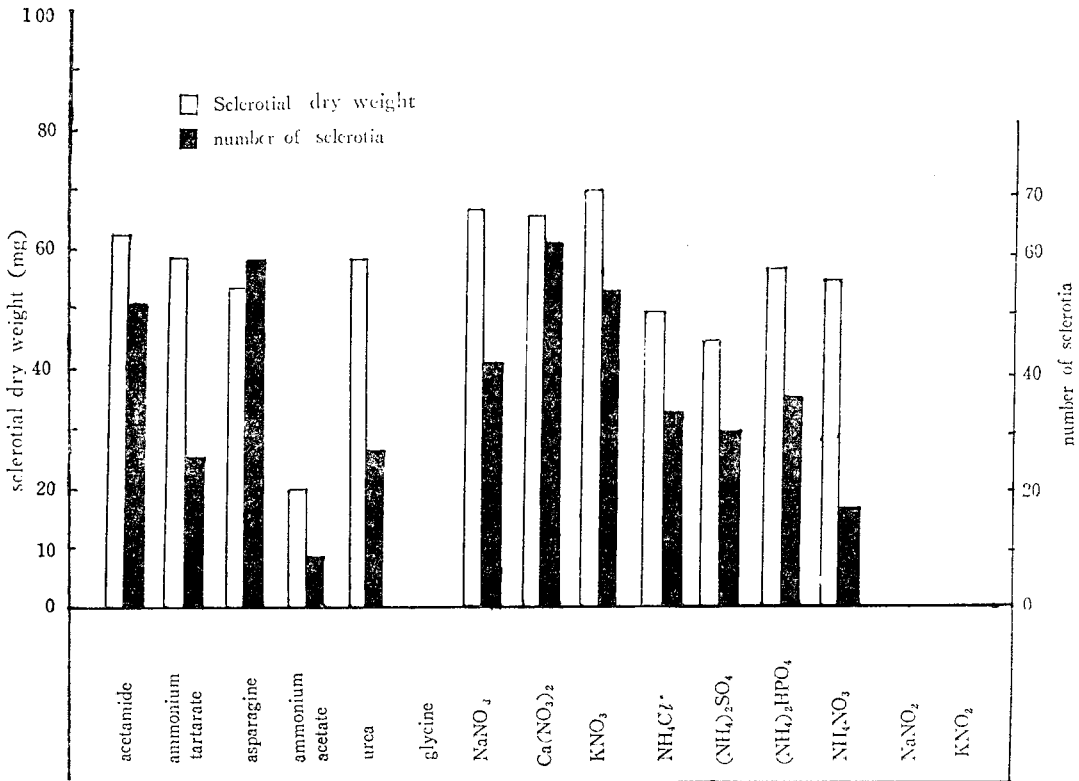


Fig. 1 Effects of the nitrogen sources on the sclerotial production of *Sclerotium rolfsii* for 15 days, when thiamine hydrochloride 20r/l was added in the medium.

Table 5. The effects of carbon sources upon the mycelial growth and sclerotial production of *Sclerotium rolfsii*, and upon the change of pH of cultural solution, when the fungus was grown with or without thiamine 10 γ /l.

Carbon sources	dry Wt.(g) of mycelia		dry Wt.(g) of sclerotia		pH of cultural filtrate	
	with thiamine	without thiamine	with thiamine	without thiamine	with thiamine	without thiamine
glucose	163	24	49	0	2.7	3.1
xylose	3	1	12	0	4.4	4.7
maltose	64	14	51	0	3.2	3.4
lactose	0	0	0	0	6.3	6.3
saccharose	151	21	53	0	2.7	3.4
starch	67	13	53	0	2.9	8.4
glyceline	0	0	1	0	6.3	6.3

혀 없었다. 그러나 thiamine 10 γ /l 가 添加되었을 境遇 glucose 와 蔗糖에서는 뚜렷한 菌糸生長을 나타내어 各 各 163mg 와 151mg 로 效果가 좋았다. 麥芽糖과 澱粉 區에서는 60-70mg 程度로서 크게 菌糸生長이 增加하지 않았다. 그러나 xylose, 乳糖, 그리세린區에서는 thiamine 의 添加에도 불구하고 전혀 生長하지 않았다.

한편 菌核形成에 있어서는 菌糸生長과는 달리 乳糖을 除外하고는 全區에서 菌核形成을 보였는데 glucose, 麥芽糖, 蔗糖, 澱粉에서 60mg 内外의 서로 거의 비슷한 乾物重을 보였고 xylose 와 그리세린에 있어서는 적었다.

*S. rolfsii*의 菌糸生長에 미치는 炭素源의 影響은 窒

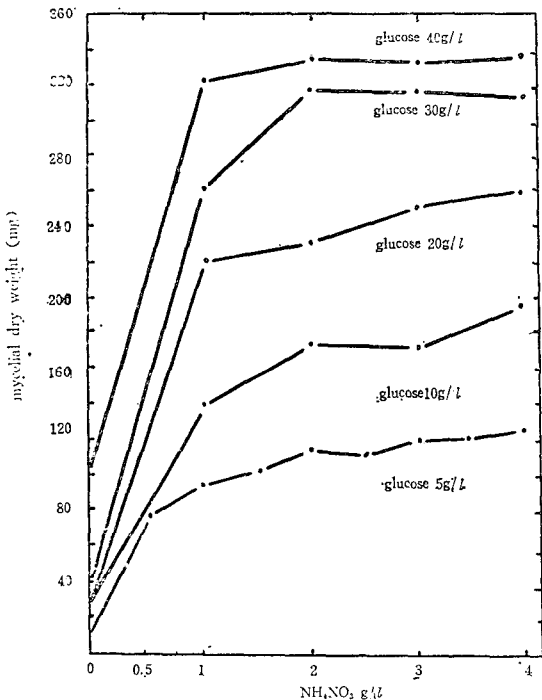


Fig. 2. The effect of C/N ratio on the mycelial growth of *S. rolfsii* for 7 days, when thiamine hydrochloride 20 γ /l was added in the basal medium.

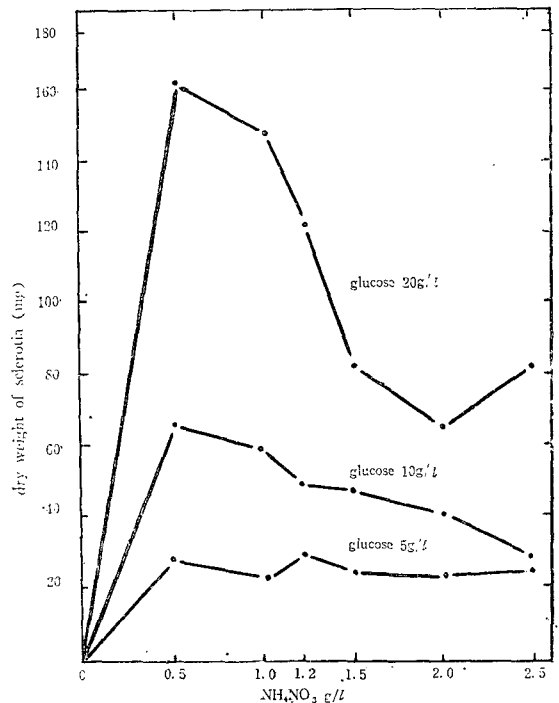


Fig. 3. The effect of C/N ratio on the sclerotial production of *S. rolfsii* for 15 days, when thiamine hydrochloride 20 γ /l was added in the basal medium.

素源과 같이 thiamine이 添加되지 않으면 거의 利用되지 못하나 thiamine이 添加될 境遇에는 glucose와 蔗糖이 가장 잘 利用되었으며 다음은 麥芽糖과 澱粉의 順이었다. xylose, 乳糖, 그리세린은 thiamine이 存在한다 하더라도 거의 혹은 전혀 利用되지 못한다는 것이 明白히 되었다.

3. C/N 率

基礎培地에 thiamine 20 γ /l를 添加하고 이의 炭素源과 窒素源을 各各 Fig. 2와 같이 하여 試驗한 結果 NH₄NO₃ 量이 一定하면 glucose 量이 增加함에 따라 菌體重量도 增加하였다. 또한 菌核形成(Fig. 3)에 있어서는 glucose가 增加하면 오히려 菌核形成量이 顯著하게 減少하는 結果를 가져왔다. 即 glucose 量이 5g/l, 10g/l, 20g/l인 境遇 모두 NH₄NO₃ 0.5g/l에서 最高菌核形成量을 보여 주었으나 그以上에서는 菌叢生長만 極히 良好할 뿐 菌核形成이 적었고 菌糸體의 白色結節 即 未熟菌核이 形成될 뿐이었다.

§3. vitamin 類²⁹⁾

thiamine이 菌類의 生育에 必要하다는 것이 Schopfer (1934)에 依해서 最初로 明白히 된 以來 菌類의 生長素로서의 vitamin에 關한 研究가 많이 報告되어 왔다. 그러나 *S. rolf sii*와 vitamin과의 關係에 對한 研究報告는 別로 없다.

供試菌 : *Sclerotium rolf sii* Sacc. 第 1 型菌.

供試 vitamin : thiamine hydrochloride, biotin, inositol, pyridoxine hydrochloride, nicotinic acid 5種인데 thiamine hydrochloride는 20% 알코올溶液, 其他는 各各 水溶液으로 하였다.

1. thiamine의 生育促進效果

Fig. 4에서 보는 바와 같이 thiamine 無添加區(對照區)

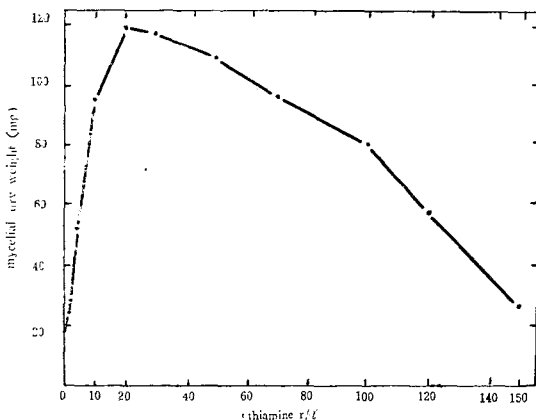


Fig. 4. Effect of thiamine concentrations on the mycelial growth of *S. rolf sii* for 5 days at 28°C.

는 菌糸乾物重 19mg로서 거의 生長이 없었으나 thiamine 20 γ /l까지는 거의 直線의으로 急激한 生長을 보여 thiamine 20 γ /l에서 120mg로 最高菌糸生長量을 나타내었다. 그러나 그 以上の 濃度에서는 오히려 菌糸生長量이 漸次 減少하여 150 γ /l에서는 27mg로서 거의 無添加區와 비슷한 程度로 떨어졌다.

2. 生育에 미치는 窒素源別 thiamine의 效果

*S. rolf sii*가 thiamine에 依해서 菌糸生長이 促進된다는 事實이 앞에서 明白히 되었으므로 여기에서는 基礎培地의 窒素源에 따라 thiamine의 影響이 어떻게 나타나는가를 調査하였다.

Fig. 5에서와 같이 NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, asparagine 및 KNO₃는 모두 thiamine의 濃度가 增加함에 따라 菌糸生長量도 增加하였다. 그러나 各種窒素源別로는 顯著的 差異가 있는 것으로 NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, asparagine에서는 生長이 좋았으나 KNO₃에서는 좋지 않았다. NH₄NO₃나 (NH₄)₂SO₄는 thiamine 20 γ /l에서 菌體重量이 各各 149mg, 144mg로 아직도 菌糸生長量이 增加하였으나 asparagine은 thiamine 16 γ /l에서 122mg, KNO₃는 thiamine 10-12 γ /l에서 57mg로서 最高生長量을 表示하였다.

한편 培養液의 pH를 보면 基礎培地를 pH 6.4로 補

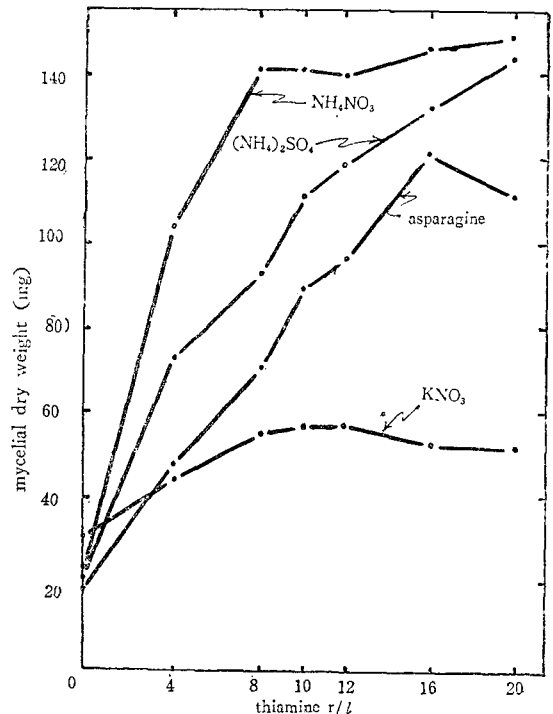


Fig. 5. Effect of nitrogen sources and thiamine concentrations on the mycelial growth of *S. rolf sii* for 5 days at 28°C.

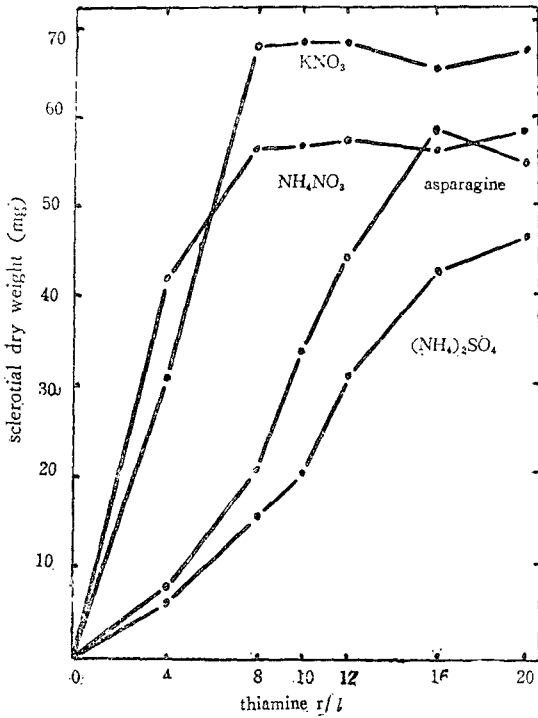


Fig. 6. Effect of nitrogen sources and thiamine concentrations on the sclerotial production of *S. rolfsii* for 15 days at 28°C

正했던 것이 全般的으로 菌糸生長이 增加함에 따라 pH는 떨어졌다. 即 菌糸生長이 始되자마자 pH는 4.0 이하로 急激히 떨어졌지만 그 이하에서는 菌糸生長에 따른 變化幅이 좁았다. 平面培養 15日後의 菌核形成量 (Fig.6)을 보면 菌糸生長량이 가장 不良했던 KNO₃ 區의 thiamine 8~12r/l에서 最高菌核形成量(68~68.5 mg)을 보였는데 反하여 比較的 菌糸生長량이 良好했던 (NH₄)₂SO₄에 있어서 菌核形成이 가장 낮았다. (NH₄)₂SO₄와 asparagine 區의 thiamine 低濃度에서는 未熟菌核이 많았다.

3. Nicotinic acid의 影響

基礎培地の asparagine을 (NH₄)₂SO₄로 代替시키고 thiamine 10r/l와 所定濃度の nicotinic acid를 添加한 液體培地에 未熟菌核을 接種하여 實驗하였다. Nicotinic acid 單獨만으로는 菌糸生長 및 菌核形成에 거의 아무런 效果가 없었으나 thiamine과 nicotinic acid와 混合添加할 境遇 Fig.7과 같이 thiamine 10r/l 單獨添加區가 菌體重 208mg인데 nicotinic acid 7mg/l 混合添加區에서 多少 增加하여 242mg의 乾物重을 나타내었으며 그 이상의 濃度에서는 別로 效果가 없었고 오히려 菌體重이 떨어지는 傾向을 보여 주었다. 한편 菌核形成량을 보면

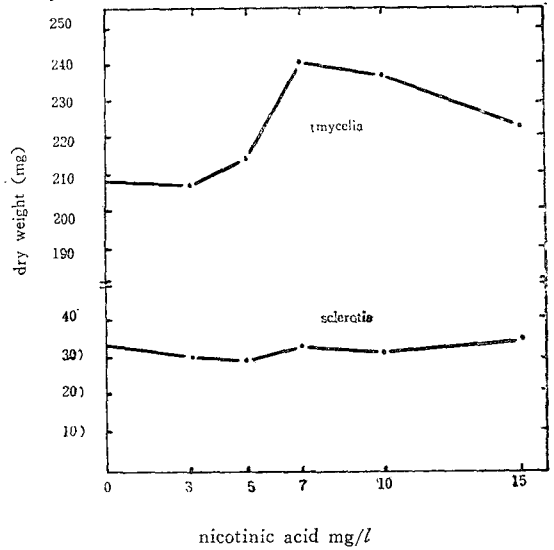


Fig. 7. Effect of nicotinic acid concentrations and thiamine 10r/l on the mycelial growth and sclerotial production of *S. rolfsii* for 7 days and 15 days, respectively.

nicotinic acid 單獨添加區에서는 全히 菌核이 形成되지 않았을 뿐만 아니라 菌糸生長도 아주 微弱하여 氣中菌糸가 全히 生成되지 않았고 오직 鬚根狀으로 培地表面을 伸長해 갈 뿐이었다. 그런데 thiamine 10r/l와 混合添加區에서는 菌核이 形成되기는 하나 nicotinic acid의 添加 및 濃도에 關係없이 nicotinic acid의 效果나 兩者의 交互效果를 認定할 수 없었다.

4. Pyridoxine, biotin 및 inositol의 影響

基礎培地로서 glucose-asparagine 培地와 이의 窒素源을 (NH₄)₂SO₄로 代替한 培地 2種을 利用하여 調査한 結果는 모두 菌糸의 生長이나(5日間) 菌核의 形成(15日間)에 아무런 效果도 나타내지 않았다. 菌糸生長은 平面培地上에서 全히 氣中菌糸가 發達하지 않았고 마치 鬚根狀으로 微弱하게 培地表面을 따라 伸長할 뿐이었다

5. 各種 vitamin의 混合添加가 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響

基礎培地에 菌糸片을 接種源으로 使用했다. 供試 vitamin은 thiamine hydrochloride 12r/l, biotin 5r/l, pyridoxine hydrochloride 10r/l, inositol 5mg/l를 組合하여 添加하였다. Table.6에 表示한 結果는 供試된 4種의 vitamin中 單獨으로는 thiamine이 菌糸生長(125.7mg) 및 菌核形成(43.3mg)에 가장 促進的인 效果를 表示하고 biotin, pyridoxine, inositol은 뚜렷한 效果가 없었다. thiamine+biotin, thiamine+pyridoxine, thiamine+inositol, thiamine+biotin+pyridoxine, thia-

Table 6. Effect of vitamins on the mycelial growth and the sclerotial production of *S. rolfsii* for 5 and 15 days, respectively.

Vitamins*	dry weight**(mg)		pH of cultural filtrate
	mycelia	sclerotia	
vitamin-free	1.0	1.0	5.5
thiamine(thia.)	125.7	43.3	2.7
biotin(bio.)	3.0	0	4.7
pyridoxine(pyri.)	2.3	0	4.3
inositol(ino.)	2.7	0	4.6
thia.+bio.	88.3	52.3	2.6
thia.+pyri.	126.0	60.8	2.7
thia.+ino.	120.7	58.6	3.1
bio.+ino.	1.3	0	5.6
bio.+pyri.	2.7	0	4.6
pyri.+ino.	1.3	0	4.3
thia.+bio.+pyri.	124.0	60.5	2.5
thia.+bio.+ino.	103.7	59.0	2.6
bio.+pyri.+ino.	4.0	0	4.0
thia.+bio.+pyri.+ino.	130.0	48.5	2.5

*Amounts of vitamins added in basal solution per l are; thiamine hydrochloride 12γ biotin 5γ pyridoxine hydrochloride 10γ and inositol 5mg

**Average of 9 flasks for mycelia and 9 petri plates for sclerotia.

mine+biotin+inositol 및 thiamine+biotin+pyridoxine 區의 菌糸生長量은 thiamine+biotin 區와 thiamine+biotin+inositol 區를 除外하고는 各區 모두 thiamine 單用區와 비슷하였으나 菌核形成量은 thiamine 單用區보다 오히려 높았다.

§4. *Penicillium* sp. 培養濾液이 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響³⁰⁾

Vitamin의 實驗에서 *Sclerotium rolfsii* Sacc.의 菌糸生長과 菌核形成에 絶對的으로 thiamine이 必要하다는 것을 明白히 하였으나 이 實驗過程에서 thiamine hydrochloride를 添加하지 않은 合成培地上에 汚染菌으로 侵入한 *Penicillium* 菌이 生育하고 있는 部位에서는 흰비단病菌의 生長과 菌核形成이 旺盛한 뿐 아니라 이 菌의 菌叢이 *Penicillium* 菌의 菌叢을 over-crossing 하여 *Penicillium* 菌을 殺滅시키고 그 死體上에서 더욱 生長이 旺盛해지는 現象에 注目하게 되었다. 이것은 *Penicillium* sp.가 *S. rolfsii*의 菌糸生長내지는 菌核形成에 有效한 因子를 內包하고 있음을 示唆한 것이며 이 因子가 *Penicillium* sp.의 代謝過程에서 由來한 것만은 틀림없는 것이다. 그러나 *S. rolfsii*와 *Penicillium* 菌과의 關係를 取扱한 報告는 찾아 볼 수 없다. 本實驗은 *Penicillium* 培養濾液의 生育促進因子가 vitamin 實驗에서 밝힌 thiamine인지 아니면 그 以外の 다른 어떤 因子인지를 밝히기 위하여 試圖한 것이다.

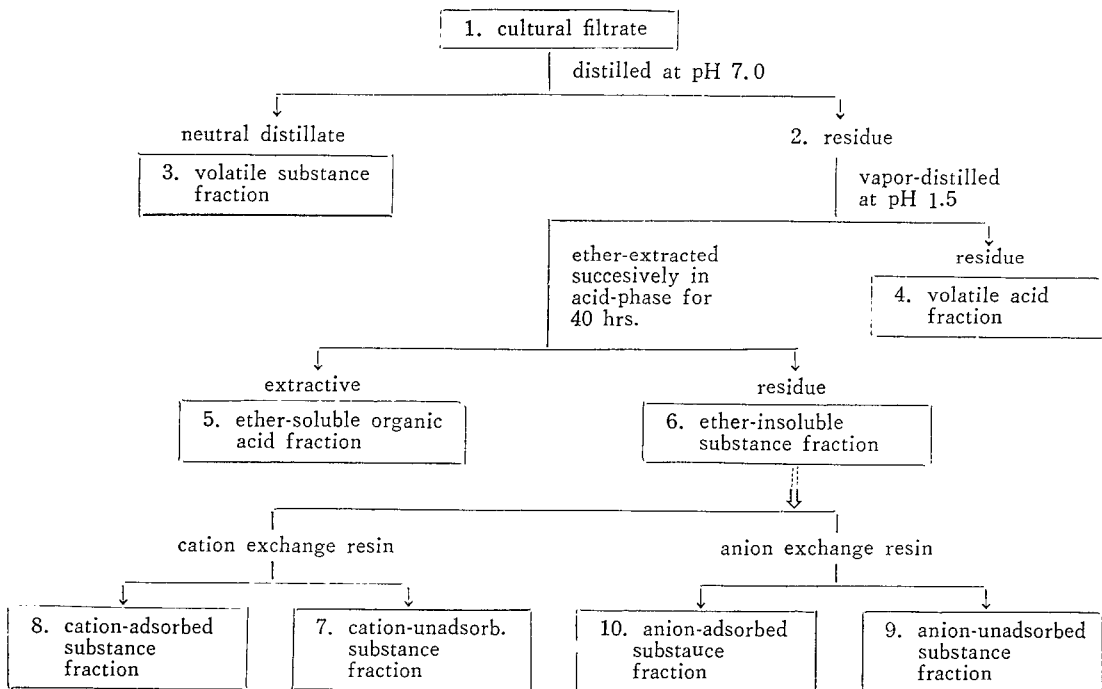


Fig. 8 Fractionation of cultural filtrate produced by *Penicillium* sp. No.2 from basal medium.

基礎培地⁵⁸⁾의 asparagine을 NH_4NO_3 로 그窒素量的 當量만큼 代替한 培地를 使用하였고 高壓滅菌前에 pH 5.4로 補正하였으며 供試菌은 *Sclerotium rolfsii* 第1型菌, 接種源은 菌叢切片을 使用하였다. *Penicillium* sp. No.2는 實驗室 汚染菌으로서 1973年 3월에 分離하여 PDA에 培養保存한 것이다.

Penicillium 培養濾液의 調製: 基礎培地 1l를 200ml씩 500ml容 Erlenmyer flask 5個에 分注하여 121°C 15分間 高壓滅菌한 다음 PDA 斜面에서 27°C에서 3日間 培養시킨 *Penicillium* sp. No.2의 胞子를 接種하여 27°C에 7日間 靜置培養시켰다. 이때 菌叢은 培養液表面을 거의 덮어 胞子が 多量 形成되었다. 이것을 濾紙로 濾別하여 菌叢은 버리고 濾液을 原來의 量 1l가 되도록 蒸溜水를 加하여 培養濾液으로 하였다.

Penicillium 培養濾液의 分割: 培養濾液을 Fig.8과 같은 過程⁵⁹⁾으로 處理하여 10個의 分割을 만들어 供試하였다. 이때 原處理液이 800ml이었으므로 各 分割의 成分量을 原處理液과 同一한 水準이 되도록 配慮하였다.

이온交換樹脂處理는 cation 交換樹脂로서 Ambelite IR-120 H⁺型과 Dowex 50W-X8 H⁺型 2가지型을, anion 交換樹脂로서 Ambelite IRA-400과 Dowex 1-X4 2두지를 使用하였다.

Cation 交換樹脂의 活性化는 4N HCl 10倍量으로 3回 洗滌하여 H⁺型으로 만든 다음 充分히 2次蒸溜水로 水洗하여 內徑 1.5cm 길이 40cm의 Column에 30cm 充填시키고 2次蒸溜水를 漏液에서 Cl⁻이 檢出되지 않을 때까지 通過시킨 다음 處理液을 通過시켰다. 通過量은 1ml/min으로 調節하였다. 通過가 끝나면 2次蒸溜水를 다시 通過시켜 殘留液을 洗滌해 내어 陽이온交換樹脂非吸着分割으로 하고 다시 column을 1N ammonia water 200ml로 elution시켜 cation 吸着分割으로 하였다.

thiamine의 檢出: thiamine과 paraaminoacetophenon의 diazo 反應 即 Prebluda Mc Collum 反應⁵⁾을 利用하여 定性的으로 檢定하였다.

아미노酸의 分析⁴⁶⁾: cation 交換樹脂吸着分割을 45°C에서 約 10ml 되게 減壓濃縮하여 이것 3ml에 同容의 pH 9.2 NaHNO₃-NaCO₃ 緩衝液을 加한 다음 다시 약간 過剩量의 2,4-dinitrofluorobenzene (FDNB)을 加한 다음 40°C 恒溫水槽에서 80分間 攪拌 反應시켰다. 冷却後 過剩의 FDNB를 ether로 抽出 除去하고 HCl을 加하여 溶液을 酸性으로 한 다음 5ml의 ether로 5回 抽出하여 DNP-amino acid를 얻었다. ether層 및 水層을 各各 濃縮하여 適當量을 Watman No.1 paper에서 2次元法으로 展開하였다. 展開劑는 一次展開에 n-butanol

-0.9% NH₃液(butanol과 同容의 0.1%(wt) ammonia 水를 振盪靜置한 上層液)을, 2次展開에 1.5M Phosphate buffer를 使用하였다. 아미노酸의 確認은 DND-아미노酸標準品을 展開시켜 行하였다.

아미노酸 添加培養: NH_4NO_3 1.212g을 添加한 基礎培地에 아미노酸을 1g/l 添加하여 pH 5.4로 補正한 다음 常法으로 培養하였다. 아미노酸의 單用區나 混用區나 모두 總아미노酸量은 1g/l로 하였다.

Penicillium 培養濾液 分割에 對한 實驗에 있어서는 10個分割 各各의 成分量을 處理前의 成分量과 同一하게 되도록 配慮하였는데 濃度實驗에 있어서 濾液 20ml 添加區에서 菌系生長이 가장 좋았기 때문에 個個의 成分量이 이 濃度를 維持하도록 基礎培地 50ml 中에 含有시켰고 따라서 基礎培地의 要求量은 어느區에서나 一定하고 添加한 分割量만이 다른 것이다. 그外는 濃度實驗과 同一하게 하였다.

1. 培養濾液의 生育促進效果

fig. 9에서 보는 바와같이 培養濾液을 添加하지 않은 基礎培地에서는 菌系乾物重이 10mg 前後로서 거의 菌系生長이 없었으나 培養濾液의 濃度가 增加함에 따라 菌系生長量도 增加하여 6~15ml/50ml 濃度에서는 約 100mg로서 10倍의 增加量을 보였으며 거의 最高值에 達하였다.

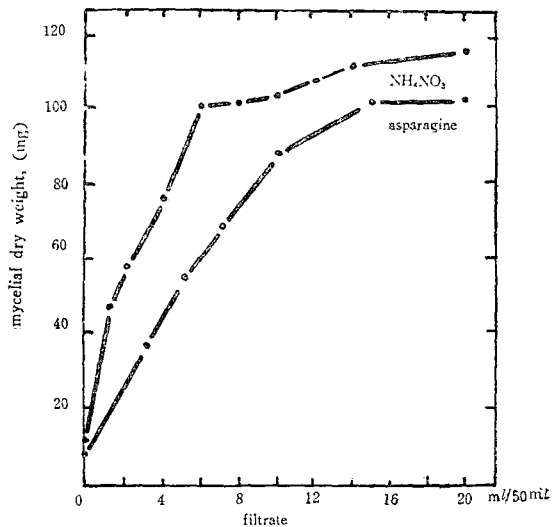


Fig. 9. Effect of the cultural filtrate of *Penicillium* sp. No.2 on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* incubated for 5 days at 27°C, in basal solution amended with NH_4NO_3 or asparagine as nitrogen sources.

한편 培養濾液과 窒素源과의 關係에 있어서는 asparagine 區에서 보다는 NH_4NO_3 區에서 菌糸生長量이 높았다. NH_4NO_3 區에서는 6ml/50ml 濃度까지 急進的으로 增加하였으나 그 以上에서는 緩慢하였고 asparagine 區에서는 15ml/50ml 까지 比較的 急增하였으나 그 以外에서는 鈍化되었다. 이와는 달리 菌核形成에 있어서는 白色菌糸塊만 多數 形成될 뿐 成熟한 菌核은 少許 形成되지 않았다.

2. 促進效果를 가진 分劃

前實驗에서 *Penicillium* sp. 培養濾液中에 *S. rolfsii*의 菌糸生長에 有効한 物質이 存在한다는 事實이 밝혀졌으므로 本實驗에서는 이 物質을 探索하기 爲하여 fig.8과 같이 處理한 各 分劃에 對하여 *S. rolfsii*의 菌糸生長 및 菌核形成을 檢討하였다. 이 結果 fig.10 및 Table 7에서 보는바와 같이 處理前의 培養濾液(1)(菌

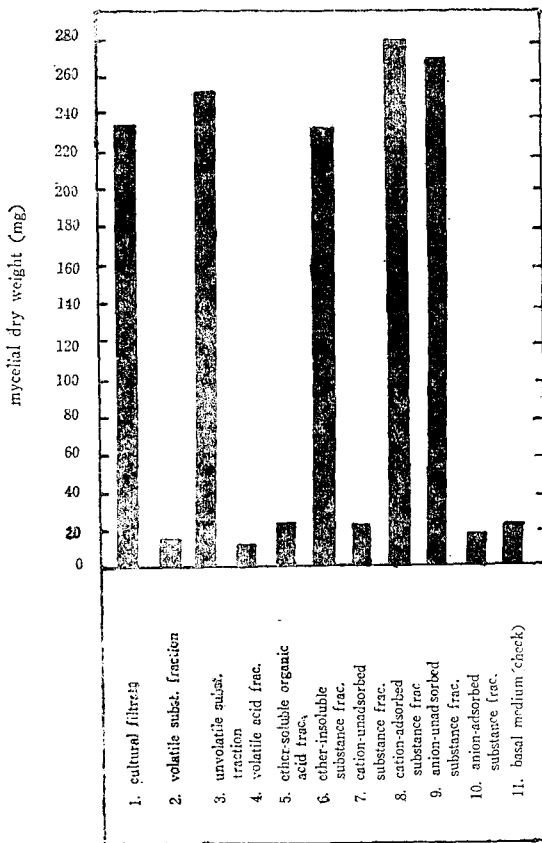


Fig. 10. Effect of stimulating fractions from cultural filtrate of *Penicillium* sp. No. 2 on the mycelial growth of *S. rolfsii* for 8 days.

Table 7. Sclerotial production of *Sclerotium rolfsii* on agar plate of the basal medium plus various fractions of *Penicillium* sp. cultural filtrate.

fractions	dry weight of sclerotia(mg)*
1. cultural filtrate	0.5
2. volatile substance	—
3. residue removed the above	0.5
4. volatile acids	—
5. ether soluble organic acids	0.5
6. ether insoluble organic acids	—
7. cation-unadsorbed substance	1.0
8. cation-adsorbed substance	49.0
9. anion-unadsorbed substance	1.5
10. anion-adsorbed substance	—
11. basal medium (check)	—

*total of 3 dishes.

糸乾物重 238mg)과 이것을 中性에서 蒸溜하여 揮發性 物質을 除去시킨 殘液(2)(252mg) 및 ether 不溶物質 分劃(6)(232mg)에서만 *S. rolfsii*의 菌糸生長이 旺盛하였고 其他 分劃에서는 거의 生長하지 않았다. 그런데 ether 不溶物質 分劃을 Ambelite IR 120이나 Dowex 50 w-x8과 같은 cation 交換樹脂에 通過시켰을 때 이에 吸着된 分劃(8)(278mg)과 Ambelite IRA-400이나 Dowex 1-x4와 같은 anion 交換樹脂에 吸着되지 않은 分劃(9)(268mg)에서는 菌糸生長이 좋았으나 cation 非吸着 分劃(7)(22mg)이나 anion 吸着 分劃(10)(18mg)에서는 거의 菌糸生長이 없었다.

한편 菌核形成(Table 7)을 보면 cation 吸着 分劃에서만 旺盛하였고 其他의 分劃에서는 거의 볼 수 없었다. 다시말하면 吸着 分劃에서는 9cm petri dish 3個에서 乾物重으로 49mg의 菌核을 生産하였고 또한 大形이었다 菌糸生長이 微弱한 分劃의 菌糸伸長狀은 寒天 表面에 密着하여 根狀으로 뻗어가며 空中菌糸가 少許 發達치 않았다. 菌糸生長이 旺盛한(1)(3)(6) 및 (9) 分劃에서는 正常的인 菌糸生長을 볼 수 있었으나 完全한 菌核은 形成되지 않았고 다만 白色菌糸塊만 多數 形成될 뿐이었다. cation 吸着 分劃, anion 非吸着 分劃, 이들의 等量 混合液 및 cation 吸着 分劃과 cation 非吸着 分劃의 等量 混合液에 있어서는 菌糸生長 反應을 比較해 본 結果 fig. 11에서 보는 바와같이 大體로 비슷한 傾向을 나타내고 있으나 培養濾液보다는 多少 菌糸生長이 떨어졌으며 5~10ml/50ml 以上の 濃度에서 生長量의 增加가 거의

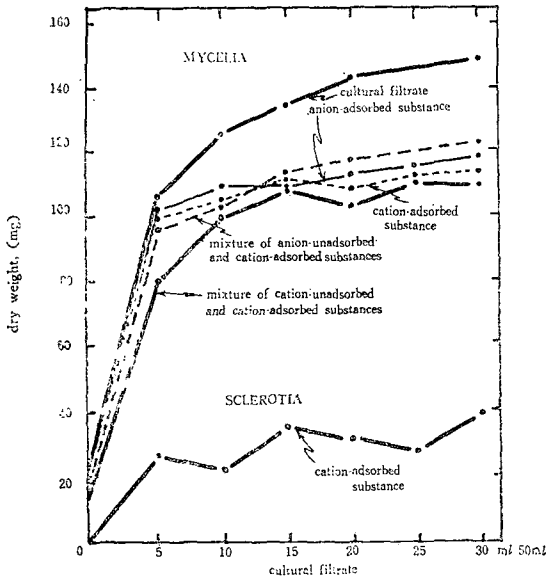


Fig. 11. Effect of cultural filtrate of *Penicillium* sp. No. 2 and its ion-exchange solution on the mycelial growth and sclerotial production of *Sclerotia rolfsii* incubated for 5 days at 27°C.

없었다. 그러나培養濾液에서는 5ml/50ml 以上에서도 相當한 增加를 보였다. 菌核은 cation 吸着分割에서만 形成되었을 뿐 其他區에서는 白色菌糸塊만 약간 形成되었다. 濃度에 對한 反應도 顯著치 않았다.

3. 促進效果分割中の 아미노酸 種類와 各種 아미노酸의 生育效果

2項에서 ether 不溶物質分割에서는 菌糸生長만이 좋았으나 cation 吸着分割에서는 菌糸生長 및 菌核形成이 모두 좋았으므로 이들에 關與하고 있는 物質이 cation 交換樹脂에 吸着된 것이라 믿어져 이 分割中の 아미노酸을 分析한 結果 fig. 12 에 表示한 바와같이 aspartic acid, cystine, glycine, histidine, lysine, tyrosine 및 dinitroaniline 의 7種이 檢出되었다. 이의 定量은 實施하지 못했으나 spot 의 크기로 보아 histidine 이 가장 많고 aspartic acid, tyrosine, dinitroaniline, lysine 의 順으로 적었고 glycine 과 cystine 은 極少量이었다.

各種 아미노酸이 菌生育에 미치는 影響은 fig. 13 과 같이 一般的으로 菌糸生長 및 菌核形成이 不振하였다. 菌糸生長에 있어서 tyrosine, glycine+histidine+tyrosine 및 aspartic acid+histidine+tyrosine 區에서 만 對照區보다 약간 增加했을 뿐 其他區는 對照區와 같거나 이보다 낮았다. 菌核은 1~3個 形成되는 區도 있으나

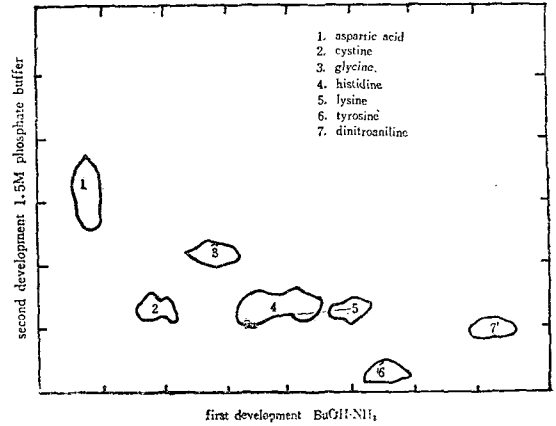


Fig. 12. Paper chromatogram of amino acids analysed from cation-adsorbed substance fraction from cultural filtrate of *Penicillium* sp. No. 2 by dinitrophenyl amino acids method.

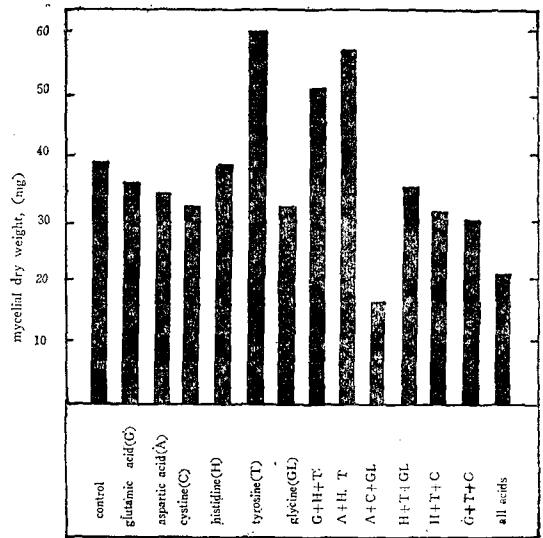


Fig. 13. Effect of various amino acids on the mycelial growth of *S. rolfsii* in liquid culture for 8 days.

微小하였다.

§5. 菌核의 抵抗性²⁷⁾

흰비단病은 主로 菌核에 依하여 土壤傳染을 하므로 本病의 防除은 菌核의 抵抗性과 密接한 關係가 있다. 따라서 第一次 傳染源인 菌核의 抵抗性을 究明함으로서 이의 防除對策을 講究하지 않으면 안된다.

1. 濕熱

第1型, 第2型菌의 菌核을 供試하였다. 菌核의 熱度

를 均一하게 하기 爲하여 新鮮菌核은 培養 3 週 經過한 PDA 平板에서 크기가 비슷한 菌核을 골라 表面의 水分이 없어지도록 잠간동안 陰乾한 後 供試하였다. 乾燥菌核은 PDA 上에 形成된 것을 26°C 定溫器에 155 日間 그대로 放置한 것에서 크기가 비슷한 것을 供試하였다.

얇은 가아제에 菌核을 쌓아 所定溫度로 調節된 恒溫槽에서 所定時間 處理한 다음 꺼내어 冷水로 直時 冷却시켜 常法(80% alcohol→0.1% HgCl₂→滅菌水)에 依해서 表面殺菌하여 2 枚의 PDA 平板에 10 個씩 移植한 다음 3 日間 26°C 에서 培養하여 그 生死를 判定하였다. 對照區는 26°C 滅菌水에 所定時間 浸漬하였다.

菌核의 濕熱에 對한 抵抗力은 52°C 에서 3 分間 處理한 新鮮菌核 20 個中 2 個 外지 5 個가 發芽하였을 뿐 그 以上 處理區에 있어서는 全部 發芽치 않았다.

發芽치 않은 菌核의 生死를 確認하기 爲하여 그 切片을 再培養해 보았으나 모두 자라지 않았다. 對照區에 있어서는 處理區보다 發芽가 빠르며 發芽勢도 均一하였으나 處理溫度가 上昇함에 따라 發芽도 不均一하였다. 乾燥菌核에 있어서는 47°C, 10 分에서 부터 不發芽菌核이 나타나 52°C 15 分, 57°C 10 分에 모두 死滅하였다. 對照區는 新鮮菌核의 경우보다 發芽가 늦고 均一하지 않았다.

2. 乾燥

供試한 培養菌核은 PDA 上에 形成된 것을 petri dish 의 뚜껑을 除去하고 26°C 的 恒溫器에 放置시켰던 것이고, 天然菌核은 木莖의 被害部에서 採取하여 水道水로 土粒을 洗去한 다음 1 時間동안 日乾하여 비-카에 담아 無蓋狀態로 氣乾狀態下에서 283 日 혹은 443 日 保存한 것을 供試하였다. 常法에 依한 表面殺菌을 하여 PDA 에서 3 日間 菌糸 및 菌核의 發芽有無를 調査하여 抵抗力을 判定하였다.

Table 8 에 表示한 바와 같이 氣乾狀態下에 132 日間 放置한 것은 全部 發芽하였고 283 日區에서도 94% 라는 높은 生存率을 나타냈다. 그러나 443 日間 保存區는 18.5% 的 生存率을 나타냈다.

TABLE 8. Longevity of natural sclerotia of *Sclerotium rolfsii* which were stored under room condition.

Period treated (days)	number treated	No. of sclerotia germinated after			germination %
		2 days	3 days	4 days	
132	100	80.0	19	1	98.0
283	200	17.7	12	—	94.5
443	130	18.0	5	1	18.5

3. 低溫

菌核이 多數形成된 Petri dish 그대로 冷凍機에 넣어 所定期間 低溫處理한 後 菌核과 菌糸의 生死를 調査했는데 菌糸에 있어서는 綿毛狀의 疎한 菌糸와, 相互密着하여 菌糸繩을 이루고 있는 것 2 가지를 供試하였다. 菌核은 各 區마다 10 個, 菌糸는 10 個所 移植하여 實驗한 結果 菌糸는 -7~-8°C 1 週 以上에서는 死滅하였으나 菌糸繩은 -17~-20°C 3 週에서도 아직 死滅치 않았고 1 個所에서 完全히 生長하였다. 菌核에 있어서는 -17°C~-20°C 3 週에서도 大部分 生活力을 維持하고 있었다.

4. 藥劑

3 週間 培養하여 얻은 第 1 型과 第 2 型菌의 菌核을 昇汞(化學實驗用) 亞酸銅(化學分析用), Mercron(市販品), Ceresan 石灰(市販品), Uspulun(市販品)에 處理하였다. 그리고 成熟한 培養菌核을 採取하여 Gauze 에 쌓아 所定濃度의 藥液(液溫 17~19°C)에 所定時間 浸漬한 다음 꺼내어 滅菌水로 菌核表面의 藥液을 洗去한 다음 各 區마다 15 個씩 PDA 平板 2 枚에 接種하여 生死를 檢定하였다.

昇汞溶液은 殺菌力이 弱하여 240 分 浸漬에도 아무런 影響이 없었고 또 Mercron 이나 세레산 石灰의 180 分에서도 역시 影響이 없었다. 오직 Uspulun 0.2% 90 分 處理에서 모든 菌核이 死滅하였다.

§6. 新殺菌劑 Benlate 및 Tachigaren 이 菌生育에 미치는 影響

最近 開發된 Benlate(methyl-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole carbamate)나 Tachigaren(3-hydroxyl-5-methylisoxazole)은 土壤殺菌劑로서 널리 쓰이고 있다.

松田³⁷⁾에 依하던 Benlate 는 *Fusarium oxysporium* 的 分生孢子의 發芽보다도 菌糸生長의 阻止力이 強하고 그 作用은 靜菌의이며, 土壤中의 分生孢子 發芽와 厚膜化의 阻止作用이 있는데 添加 直後보다도 7 日以上 經過하므로써 強하게 나타났다고 한다. chien⁶⁾은 못자리期의 稻熱病과 紋枯病의 防除에 1/500(乾土 5000 g 當 Benlate 1 g) 處理로써 效果를 얻었고 Edney¹²⁾는 *Gloeosporium perennans* 에 依한 貯藏사과의 腐敗病 防除를 爲해 300 ppm 에 浸漬함으로써 防除效果를 거두었으며 Hardenburg 등¹³⁾은 사과의 파광 곰팡이와 회색곰팡이에 對해서 效果를 거두었다. 또 中西⁴¹⁾과 高日⁵⁴⁾은 Tachigaren 的 紋枯病 防除效果의 發現機構에 關해서 報告하였다. 이러한 殺菌效果 以外에도 이들은 植物의 生長促進效果가 있다는 報告도 있다.^{53), 20)} 그러나 흰비단病의 防除效果에 關해서는 거의 報告된 바가 없다.

Vitamin 實驗 및 *Penicillium* sp. 培養濾液에 關한 實驗에서 thiamine 이나 *Penicillium* sp. 培養濾液이 S.

*rolfsii*의 생육에 중요한 요소임을 밝힌 바 있는데 이들 물질과殺菌劑와 어떤關係가 있는가를考慮하면서 Benlate와 Tachigaren이本菌의生육에어떻게影響하는가를調査하였다. 이에 앞서 前逃한 菌核의 抵抗性에 있어서 몇 가지 殺菌劑에 對한 結果는 本菌의 生육抑制에 뚜렷한 效果를 나타내지 못하였다.

第1型菌을 Benlate W.P. (有効成分 methyl-(buthyl carbamoyl)-2-benzimidazole carbamate 50% : 美國 Dupont社製造. 日本 三共株式會社 小分包裝)와 Tachigaren 液劑(有効成分 3-hydroxyl-5-methylisoxazole 30% : 日本 三共株式會社 製造)의 所定濃度에 處理하였다.

(NH₄)₂SO₄를 窒素源으로 하고 thiamine hydrochloride 를 20 7/l 添加한 것을 基礎培地로 하였다. 여기에 所定濃度가 되도록 殺菌劑를 添加하여 菌糸의 生長量은 液體培地에서, 菌核形成은 寒天平板에서 調査하였다. 모든 培地는 滅菌前 pH 5.4 로 補正하였고 接種源은 菌糸切片을 使用하였다.

培養濾液의 分析 : Glucose 는 schaffer-somogii 法⁴⁹⁾으로 定量하였고 NH₄ 는 semi-microkjeldahl 法⁵⁰⁾으로 蒸溜 澆定하여 定量하였다.

土壤培養 : 3回 水洗한 後 oven에서 乾燥시킨 直徑 1~2 mm의 모래 100 g을 250 ml 三角 후라스크에 넣고 培養液(glucose 44.5 g, NaNO₃ 0.47g, KH₂PO₄ 10.45 g, thiamine 20 7, 물 1 l, pH 5.4) 5 ml를 添加하여 흔들어서 均一하게 濕潤케 한 다음 中央에 小瓶을 設置하고 고무마개로 密閉하여 高壓滅菌하였다(121°C 20分)

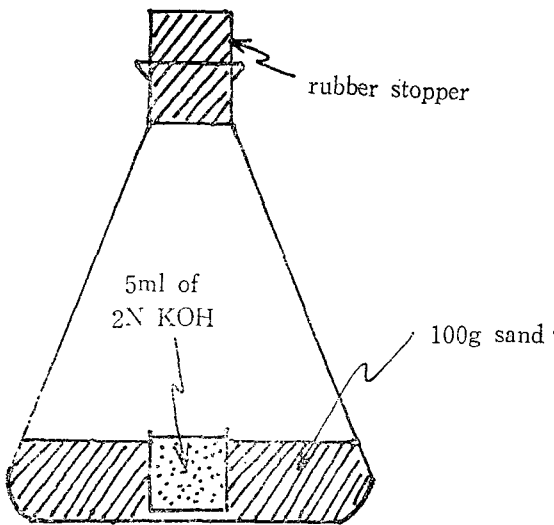


Fig 14. Method of soil culture for measuring CO₂ released by test fungus growing in soil.

(fig 14 參照) 接種源은 基礎培養液에 5日間 培養시킨 菌濃을 濾別하여 滅菌水로 培養液을 洗去시킨 다음 homogenizer로 切斷하였다. 이것 1 ml씩을 均一하게 土壤表面에 接種하여 27°C에 24時間 保存한 다음 上記培養液에 殺菌劑를 添加하여 5 ml씩 均一하게 土壤表面에 處理하였다. 이때 殺菌劑의 濃度는 土壤 1g當 0.001, 0.1, 1.0, 10.0 mg가 되도록 하였다. 中央小瓶에는 2N KOH 5 ml를 無菌的으로 넣고 고무마개로 密閉시켜 培養하였다.

CO₂ 排出量의 測定 : 土壤中の 菌量을 菌의 呼吸時 排出되는 CO₂의 量으로 測定하였다. 上記와 같이 處理한 各 土壤培養에서 一定時期마다 KOH에 吸收된 CO₂를 測定하였다.¹⁰⁾¹¹⁾⁵⁾⁵⁰⁾ 即 KOH 容器를 핀셋으로 꺼내어 미리 2N BaCl₂ 2 ml를 넣은 50 ml volumetric flask에 다 小瓶의 KOH 溶液을 蒸溜水로 씻으면서 부어 넣고 50 ml로 定容하였다. 이것에서 10 ml를 取하여 phenolphthalein을 指示劑으로 하여 0.2N HCl로 澆定한 다음 次에 依해서 CO₂ 排出量을 算出하였다. CO₂ 排出量 = $4.4 \times t \times \frac{1}{D} \times \frac{50}{10}$ (mg/day) 단 t=Blank 值-處理區值, D=處理日數 이때 使用한 蒸溜水는 모두 加熱 發泡시켜 CO₂를 追放시킨 後 冷却시켜 使用하였다. CO₂를 測定 完了한 土壤培養은 徐徐히 倒置시켜 瓶內에 滯留된 CO₂를 除去시킨 다음 滅菌小瓶을 다시 原位置에 넣고 2N KOH 5 ml를 注入한 다음 고무마개로 密閉하여 다음 測定時까지 前과 同一하게 培養을 繼續시켰다. 이때의 操作은 無菌的으로 實施하였다.

1. 菌糸生長 및 菌核形成

fig.15에서 보는 바와 같이 Benlate, Tachigaren은 2.0

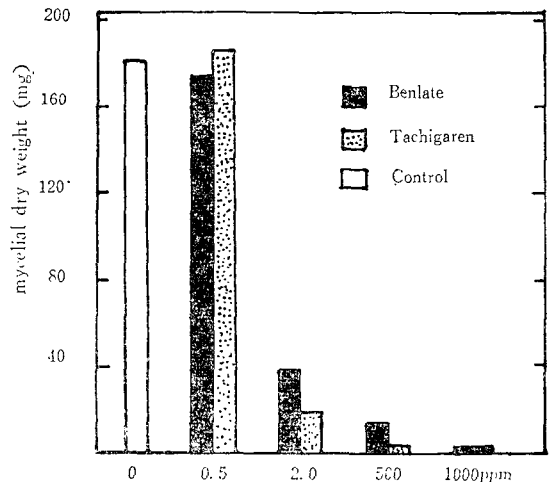


Fig. 15. Inhibitory effect of Benlate and Tachigaren on the mycelial growth of *S. rolfsii* in liquid culture 6 days after treatment.

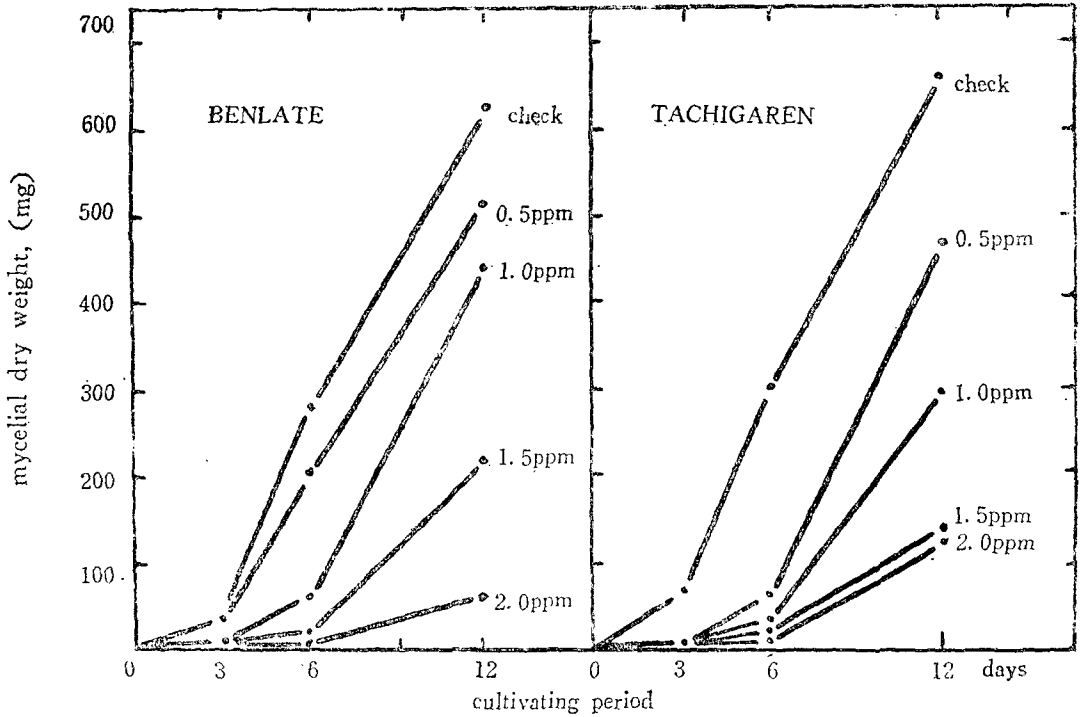


Fig. 16. Inhibitory effect of Benlate and Tachigaren on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* in liquid culture.

ppm 부터 菌系生長을 抑制하기 始作하여 500 ppm 에서는 더욱 顯著하였다. Tachigaren 500 ppm 과 Benlate 1000 ppm 에서는 菌核形成도 完全히 抑制되었다. 보다 綿密한 結果를 얻고져 藥劑濃度幅을 좁혀 實驗한 結果는 fig. 16 에서와 같이 處理 6 日째에는 Benlate 1.0 ppm 以上, Tachigaren 0.5 ppm 以上의 濃度에서 約 80% 程度의 菌系生長 阻止效果를 보였다가 時日이 經過함에 따라 차츰 그 影響이 回復되는 傾向을 보여 12 日째에는 Benlate 에 있어서 對照區(625 mg)에 對하여 0.5 ppm 區(510 mg) 및 1.0 ppm 區(435 mg)와, Tachigaren 에 있어서 對照區(660 mg)에 對해서 0.5 ppm 區(470 mg)는 거의 正常에 가까워 졌다. 그러나 이 以上의 濃度區에 있어서 50% 以上의 抑制效果를 나타냈다. 한 更 菌核形成 阻止效果는 Benlate 1000 ppm 과 Tachigaren 500 ppm 및 1000 ppm 에서만 100% 나타났다.

2. 病原菌의 glucose 및 窒素利用

前述한 바와 같이 Benlate 나 Tachigaren 의 處理濃度가 增加함에 따라 *S. rolfsii* 의 菌系生長量이 減少하였는데 이들 藥劑와 供試菌의 glucose 및 NH_4-N 의 吸收와 어떤 關係가 있는 가를 알고져 供試菌 培養液中の glucose 및 NH_4 의 殘量을 定量하여 檢討하였다. 이 結果 fig. 17 및 fig. 18 에 依하면 藥劑의 濃度가 增加함에

따라 glucose 나 NH_4 의 消費量이 大體로 많아지는 傾向을 보였다. 한가지 注目할 것은 Benlate 의 低濃度에서는 對照區보다 오히려 glucose 및 NH_4-N 消費量이 促進되었다.

上記의 結果로부터 glucose 1 mg 을 消費하므로써 生産된 菌系量 即 glucose 利用의 經濟의 效果를 算出해 보면 fig. 19 에 表示한 바와 같이 藥劑間의 濃度가 增加함에 따라 glucose 利用의 經濟의 效果는 反對로 떨어졌고, 時日이 經過함에 따라 增加하였다. 그러나 無處理區인 check 에 있어서는 6 日째에 피이크를 이루고 그 後 차츰 그 效果가 떨어졌다.

Benlate 와 Tachigaren 處理區에 있어서 glucose 利用의 經濟의 效果가 가장 甚한 差異를 나타낸 것은 3 日째부터 6 日째까지이고 12 日째에 있어서는 그 差異幅이 많이 좁혀졌다. 藥劑間의 差異는 Tachigaren 側이 약간 높았다.

한편 NH_4-N 1 mg 이 消費되어 生産된 菌系量 即 窒素利用의 經濟의 效果는 fig. 20 에서 보는 바와 같이 對照區에 比해서 藥劑處理區가 떨어졌고 또 藥劑濃度가 增加함에 따라 떨어졌다. 그러나 어느 濃度에 있어서나 時日이 經過함에 따라 經濟의 利用效果는 增加하였다.

3. 藥劑의 土壤處理

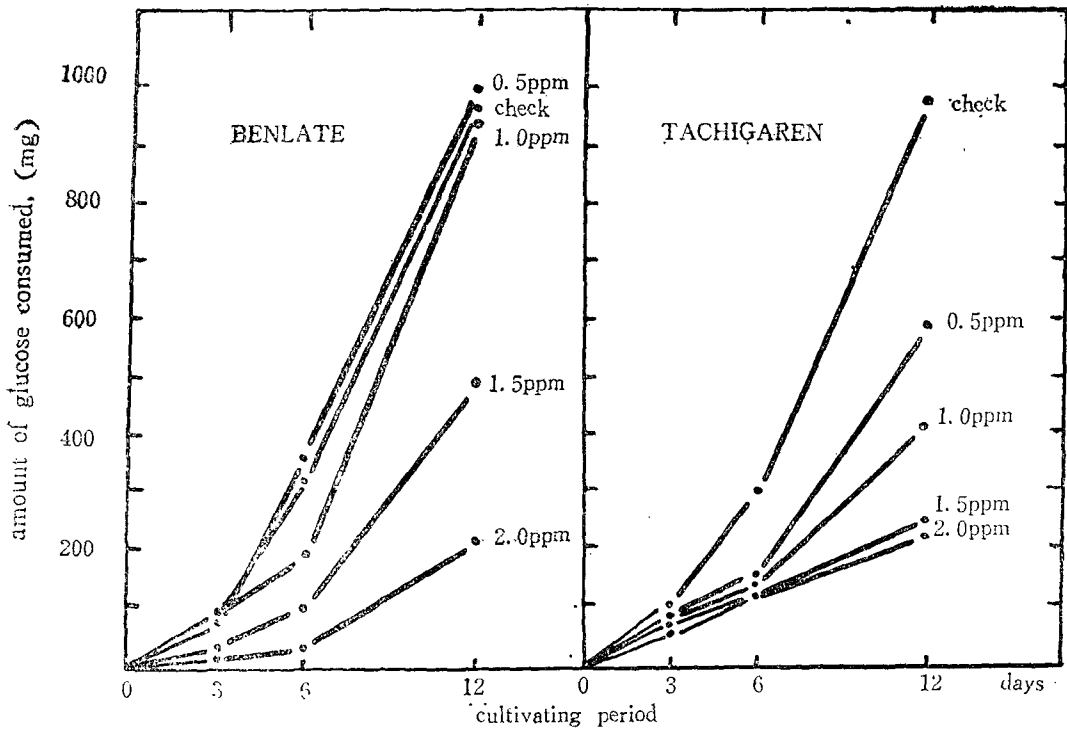


Fig. 17. Effect of Benlate and Tachigaren on the glucose consumption for mycelial growth of *S. rolfsii* in liquid culture.

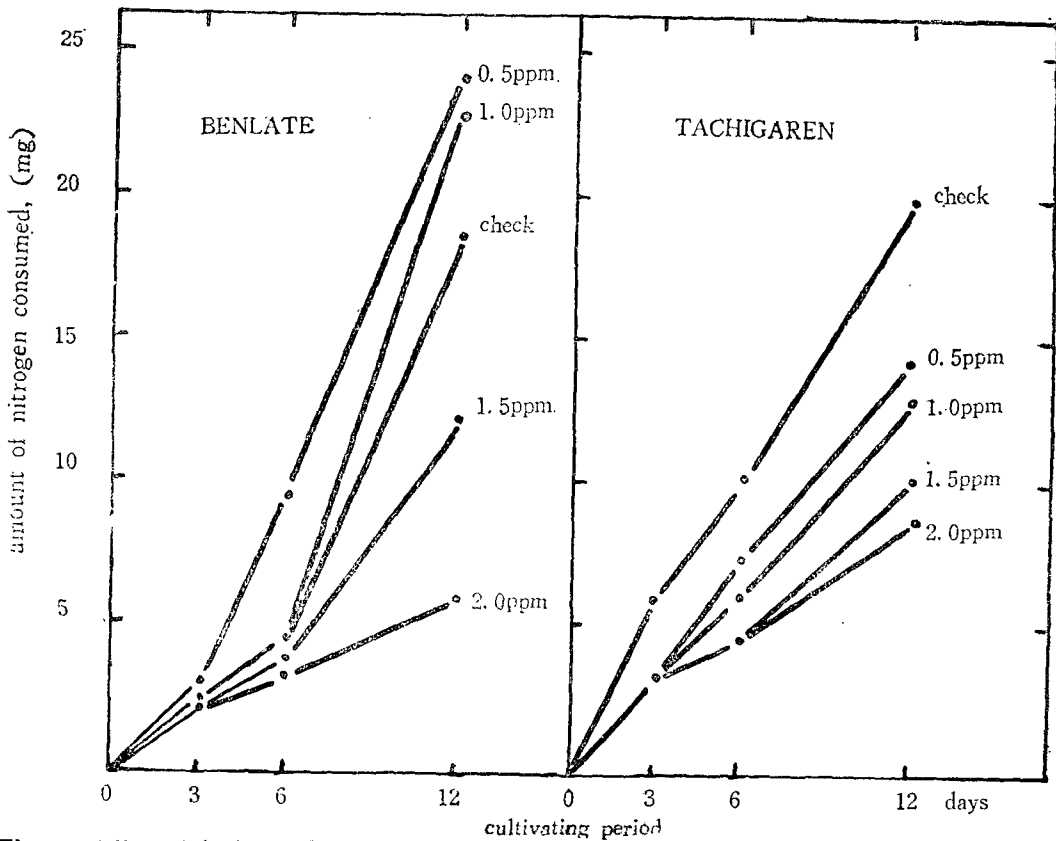


Fig. 18. Effect of Benlate and Tachigaren on the nitrogen consumption for mycelial growth of *Sclerotium rolfsii* in liquid culture.

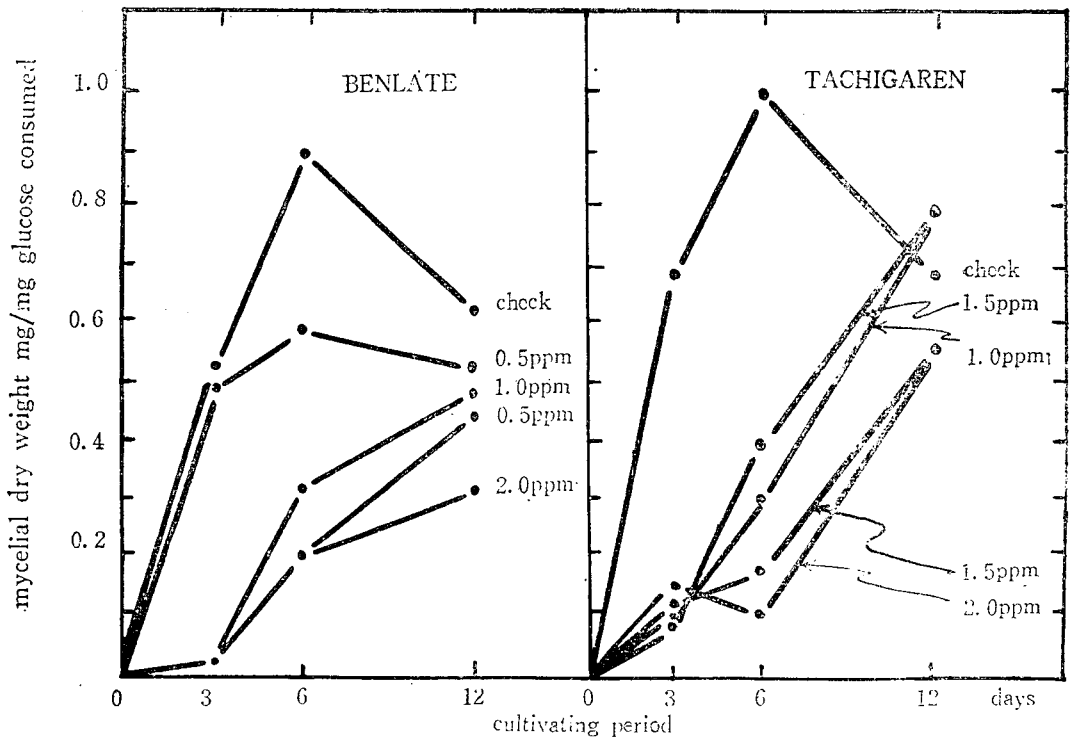


Fig. 19. Economic efficiency of glucose consumed to yield mycelial mat of *S. rolfsii* in liquid basal medium added with Benlate or Tachigaren, respectively.

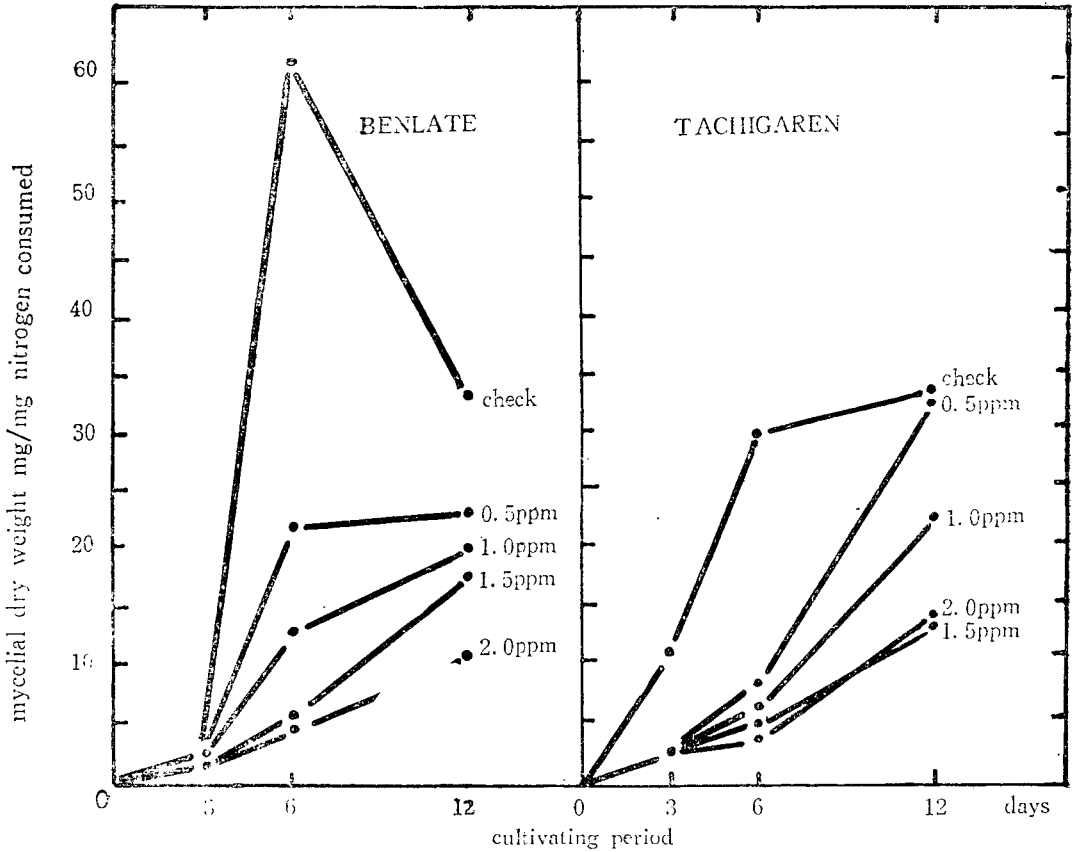


Fig. 20. Economic efficiency of nitrogen consumed to mycelial mat of *S. rolfsii* in liquid basal medium added with Benlate or Tachigaren, respectively.

前項에서 Benlate 나 Tachigaren 의 1.5 및 2.0 ppm 에서 菌糸生長이 크게 抑制되었으므로 土壤中에서의 影響을 調査하였다.

土壤中에서의 菌糸生長量은 菌의 呼吸에 依해서 排出되는 CO₂의 量에 依해서 間接적으로 推定하였다.

두 藥劑에서 Tachigaren 10.0 mg/100 mg sand區를 除外하고는 菌糸生長에 있어서 無處理와 뚜렷한 差가 없었다.

한편 菌核形成(Table 9)을 보면 Benlate 및 Tachigaren 10 mg/100 g 모래處理區에서는 菌核이 全혀 形成되지 않았으나 其他 處理에서는 많은 菌核이 形成되었고 Tachigaren 0.1 mg/100 g 모래에서는 오히려 無處理보다 많은 菌核이 形成되었다. 菌核이 全혀 形成되지 않았던 10.0 mg/100 g 모래區에서는 白色菌糸塊만 多數形成되었을 不完全한 菌核으로 發達하지 않았다.

4. 菌核의 發芽抑制

供試藥劑의 0, 0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 및 1000 ppm의 여러가지 濃도에 10分, 20分 浸漬한 菌核을 各區마다 10個씩 PDA 平板上에서 發芽시킨 結果 3日만에 全部 發芽하였으나 大體로 高濃度 20分處理에서는 10分處理에 比해 약간 發芽가 늦은 便이었다.

Table 9. Effect of Benlate and Tachigaren on the production of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil culture.

Fungicides and concentrations (mg/1 gr.soil)	No. of sclerotia with dia.			dry weight of sclerotia (mg)
	1 mm >	1-2 mm	2 mm <	
Benlate				
0	8	4	10	50.5
0.01	4	18	20	66.0
0.1	2	3	5	43.5
1.0	1	4	5	28.5
10.0	0	0	0	0
Tachigaren				
0	1	9	10	60.0
0.01	3	1	6	46.0
0.1	3	3	5	56.5
1.0	3	1	1	29.0
10.0	0	0	0	0

* Maen of 3 dishes

V. 考 察

목련흰비단病菌을 *Sclerotium rolfsii* Sacc. 로 同定하였는데²⁶⁾이 菌에는 生理的性質이나 病原性 등에 差異를 나타내는 相異한 系統이 存在하는 것으로 생각된다.

S. rolfsii 菌의 生態的分화에 關해서는 이미 中田⁴³⁾⁴⁴⁾

의 많은 研究報告가 있다. 그는 多犯性인 本 菌을 寄主別 分化에 重點을 두고 追究하여 많은 生態種을 類別하였는데 本 實驗에서는 同一園場內의 木根에서 分離한 菌株間에도 相異한 系統이 存在한다는 것을 確認하였는바 中田⁴³⁾⁴⁴⁾의 生態種과 比較同定은 하지 못하였으나 相異한 系統을 確認할 수 있었다. 即 培地上에 있어서의 菌叢의 性質, 嫌觸現象 및 病原性を 서로 달리 하는 2系統이 認定되었다.

*S. rolfsii*의 菌糸生長에 對한 窒素源을 窒素形態別로 보면 NO₃-N 보다는 NH₄-N의 利用率이 顯著히 좋았으며 有機態窒素은 化合物의 種類에 따라 利用率이 다른 듯 하였다. 即 asparagine을 添加하였을 때 菌糸乾物重(114 mg)은 thiamine 과의 共存으로 거의 NH₄-N水準의 利用率을 보였지만 glycine(26 mg)은 거의 利用되지 못하였으며 尿素은 74 mg로 相當히 利用되는 便이었다. NH₄NO₃의 利用率이 좋았던 것은 NO₃-N 보다는 NH₄-N의 効果에 支配되었을 것으로 생각된다. 그러나 NO₂-N은 thiamine의 添加에도 不拘하고 何等의 變化 없이 전혀 利用되지 못하였는데 그 理由의 하나는 NO₂ ion의 毒性으로 말미암아 pyruvic acid가 蓄積되기 때문이라는 것⁴⁵⁾을 考慮할 수 있다. 要컨대 NO₃-N 보다는 NH₄-N이 菌糸發育에 보다 잘 利用되고 有機態窒素으로는 asparagine이 잘 利用된다는 것이 明白히 되었다. 이러한 結果는 川淵²⁴⁾이 *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *pythium ashanidermatum*의 土壤生育深度를 比較하는 實驗에서 *S.rolfsii*는 NO₃, NO₂ 어느 것에서나 生育이 不良했다는 結果와도 類似한 것이다.

한편 菌核形成(fig.1)은 菌糸生長이 不良했던 窒素化合物에서 오히려 좋았던 것은 生活環境이 나쁠 때에 菌核이 形成되기 때문이며 菌核最高生産은 菌糸生長의 最適條件보다 더 나쁜 條件에서 나타났다는 Henis 등¹⁶⁾의 報告와도 一致한 것이다.

本 研究에서 乳糖은 *Sclerotium rolfsii*의 炭素源으로서 全혀 利用되지 않았다. 이와 비슷한 研究는 Margolin³⁵⁾이 7種類의 炭素源에 對하여 21 菌種을 供試한 結果大體의으로 乳糖에서 生長이 不良했고 田杉²⁹⁾도 大豆黑痘病菌이 乳糖을 거의 利用하지 못했음을 指摘한 바 있으며 Cochrane⁸⁾도 *Sclerotium delphinii*가 lactose를 全혀 利用치 못했다고 한다. 이러한 事實로 보아 乳糖은 많은 菌種의 炭素源으로서 不適當한 듯 하다.

麥芽糖이나 澱粉이 菌糸生長에는 좋은 炭素源이 아니었지만 菌核形成에 있어서는 glucose나 蔗糖과 비슷하거나 오히려 더 좋았다. 그러나 xylose나 글리세린이 菌核形成에도 좋지 못했던 것은 菌核의 母體인 菌糸生長이 아주 不良했기 때문으로 解析된다.

Cochrane의 記述⁸⁾에 依하면 窒素量의 增加에 따라 生育量이 거의 平行하게 增加하였는데 炭素源이 적으면 生育量이 限界가 있었다고 하였다. 그러나 本 實驗에 있어서는 添加된 窒素量이 增加함에 따라 glucose의 低濃度(5, 10, 20 g/l)에서는 漸次로 菌體重도 增加했지만 高濃度(30 g/l 및 40 g/l)에서는 오히려 限界點에 達하였다. 全般的으로 C/N比가 커짐에 따라 菌體重도 增加하지만 窒素源의 增加에 따른 菌體重의 增加率보다 떨어지는 것으로 窒素源보다는 炭素源의 增加가 菌系生長에 더 큰 效果를 보여주고 있다. 獅山⁵²⁾은 糸狀菌의 生育에 適當하다고 생각되는 窒素源의 量은 뚜렷한 것은 아니지만 培地中의 炭素源의 量에 依하여 影響을 받는 수가 많다고 하였다. 이러한 結果를 보면 菌系生長을 위한 培地로서 glucose 10g/l, NH_4NO_3 1.212g/l를 使用해 왔지만 이보다 훨씬 高濃度를 使用하는 것이 多量培養에 付合될 것으로 생각된다.

Glucose 濃度가 높을 때에는 窒素源을 少許 添加하지 않아도 菌系生長이 相當히 좋았는데 glucose 40g/l에서 菌體重 100mg/50ml 程度는 glucose 10g/l, NH_4NO_3 1.212g/l인 境況의 140mg/50ml에 比할 單한 數值인 것으로 興味있는 現象이라 하겠다.

한편 菌核形成(fig.3)은 菌系生長과는 달리 glucose가 低濃度(5g/l)일 때에 窒素量의 增加에 關係없이 比較的 一定하나 高濃度(10g/l, 20g/l)에서는 오히려 窒素量의 增加에 따라 減少된다고 할 수 있다. 이와 같은 現象은 glucose의 量 10g/l에서 보다 20g/l에서 더욱 甚하게 나타났다. 그러나 炭素源이 增加하면 菌核形成量도 增加하였다. 卽, NH_4NO_3 量이 一定할때 glucose 量이 增加함에 따라 菌核形成量도 增加하였는데 그 程度는 NH_4NO_3 0.5g/l에서 가장 甚하게 나타났다. 이와 같은 事實로 보아 *Sclerotium rolfii*의 菌核形成用 培地는 NH_4NO_3 , 0.5g/l, glucose 20g/l가 좋은 것으로 생각된다. 이 菌은 天然培地인 PDA에서는 菌系生長이나 菌核形成이 좋았으나 vitamin-free 合成培地에서는 一般的으로 生長이 좋지 않거나 거의 生長하지 않았다는 權藤⁵³⁾의 報告에 一致한다.

Lyle³⁴⁾에 依하면 *Sclerotium rolfii* 51個 分離菌株中 大部分이 菌系生長이나 菌核形成에 thiamine을 要求하였다고 한다. 그러나 그는 thiamine, biotin, nicotinic acid의 要求度는 分離系統에 따라 多様하다는 것을 指摘하였다. 本 供試菌 *S. rolfii*는 thiamine의 添加로 말미암아 菌系生長이 直線的으로 增加하였으며 特히 thiamine 20γ/l에서 最高生長量에 達하였다. 이는 Lyle의 結果와 약간의 差異가 있으나 아마도 供試菌의 分離系統이 다르기 때문이라 생각된다.

그러나 thiamine이 菌系生長이나 菌核形成에 크게 關與하고 있다는 것만은 確實한 것이다. 그런데 thiamine 20γ/l의 濃度以上에서는 thiamine의 增加에 따라 오히려 菌系生長量이 減少하였는데 이러한 例는 *Fusarium solani*에서도 高濃度의 thiamine으로 生長이 阻害되었다고 한다. 이러한 原因을 獅山⁵²⁾은 過剩의 thiamine은 ammonia나 혹은 ethanol의 蓄積으로 因한 阻害作用으로 推定하고 있으나 그 原因은 確實치 않다. 한편 Cochrane⁸⁾에 依하면 *Sclerotium sp.*는 thiamine 代身에 그의 構成部分인 pyrimidine 環만을 주어도 나머지 部分은 自己 스스로 合成할 수 있다고 하였는데 供試菌에 對한 이러한 問題도 次後 檢討해야 할 것으로 생각된다.

本 研究에서 *S. rolfii*의 菌系生長이나 菌核形成에 窒素源으로서 NH_4NO_3 가 가장 잘 利用된다는 것은 아마도 $\text{NH}_4\text{-N}$ 이 菌系生長에 잘 利用되는 反面 $\text{NH}_3\text{-N}$ 이 菌核形成에 有效하기 때문이 아닌가 생각된다. 그러나 Lilly 등³³⁾은 $\text{NO}_3\text{-N}$ 을 잘 利用하는 菌으로서 *S. bataticola*를 收錄하고 있으나 同屬인 供試菌이 이와 反對인 것은 種間分化에서 오는 것으로 생각된다.

窒素源과 thiamine 濃度와의 關係에서 KNO_3 , NH_4NO_3 區가 thiamine 8γ/l에서 菌核의 大部分이 形成되었으나 asparagine 區는 이보다 훨씬 높은 濃度인 16γ/l에서 最高에 達하였으며 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 區는 20γ/l까지 增加를 繼續하고 있었다. 이것은 菌核의 生長과도 關係가 있는 것으로 大體로 菌核의 最高生長濃度와 菌核最高形成濃度가 거의 비슷한 樣相을 보여 주고 있다. 이러한 事實로 보아 어떤 範圍內에서는 窒素源은 菌系生長에 不適當한 것일수록 菌核形成量을 增加시키고 窒素源에 對한 菌系最高生長을 나타내는 thiamine의 濃度 附近에서 最高菌核形成量을 나타내지 않는가 생각된다.

培養濾液의 pH(Table 5)는 菌接種前 6.4에서 菌核의 生長量이 增加함에 따라 2.2까지 내려가 供試菌은 大端한 耐酸性을 表示하고있다. Higgins¹⁹⁾ 屍²²⁾는 이들 菌이 培養液中에서 oxalic acid를 生産하기 때문이라는 事實을 確認하였으며 屍²²⁾는 이 외에도 低pH(1.5~3.0) 活性인 endopolygalacturonase를 生産함을 確認하였다. Bateman 등¹⁾, Maxwell 등³³⁾도 *S. rolfii*의 液體培地와 罹病공의 子葉에서 oxalic acid와 polygalacturonase를 生産한다는 것을 報告하였는데 6日間 生長한 培養濾液 300ml當 800mg의 oxalic acid가 含有되고 있음을 밝혔다. 이러한 結果를 綜合해 보면 本菌 培養濾液의 pH가 떨어지는 것은 oxalic acid에 起因한 것으로 생각된다. 內藤等⁴²⁾도 *Sclerotinia sclerotiorum*의 培養中 培地의 pH가 顯著하게 低下하는 것은 oxalic acid나 phenol 性物質이 生成되기 때문이라 하였다.

Lyle³⁴⁾은 *S. rolsii* 分離菌株中 菌糸生長 및 菌核形成에 nicotinic acid를 要하는 것이 各各 33株, 11株였다고 하는데 供試菌의 菌糸生長이나 菌核形成에 對해서는 아무런 效果가 없었고 thiamine과 混合添加할 境遇 菌糸生長에는 多少 效果가 있었으나 菌核形成에는 뚜렷한 效果가 없었다. 그러나 菌糸生長에 있어서도 7~10mg/l의 濃度を 超過하면 오히려 阻害作用이 나타나는 것은 興味있는 일이다. Biotin에 對해서도 Lyle³⁴⁾의 報告와는 달리 菌糸生長이나 菌核形成에 뚜렷한 效果가 없었다. biotin이 asparagine의 合成에 關與하고 aspartic acid가 biotin에 代身하여 作用한다⁵²⁾는 것을 감안할때 glucose-asparagine 培地에서도 菌糸生長이 微弱하다는 事實과 一脈 相通하는 點이 있는 것이다 宇井⁵⁹⁾의 實驗에서도 *Pellicularia filamentosa*의 57 菌株에 對한 biotin의 影響은 無添加區와 明白한 差異가 認定되지 않았다고 한다. 菌糸生長 및 菌核形成에 對한 各種 vitamin의 相互效果(Table 6)는 thiamine, pyridoxine, inositol과 이들의 組合에 依한 添加에서도 thiamine의 效果가 絕對적이었는데 다른 vitamin이 아무리 많이 있다 하더라도 thiamine이 存在하지 않는 限 거의 效果가 없음이 밝혀졌다. thiamine+biotin 區에 있어서 菌體重이 thiamine 單獨添加區에 比하여 顯著히 떨어져서 biotin이 thiamine의 作用을 阻害하는 結果를 나타내었으나 좀더 綿密한 檢討가 必要하리라 생각된다. 한편 thiamine+biotin+pyridoxine 區나 thiamine+biotin+pyridoxine+inositol 區에 있어서는 biotin이 添加되었어도 菌體重이 thiamine 單獨區와 同等하거나 그 以上을 나타내었던 것은 pyridoxine에 依해서 biotin의 作用이 mask 되는 듯하다. shirakawa의 報告를 引用한 彌山⁵²⁾에 依하면 inositol이 biotin의 過剩에 依한 阻害作用을 緩和하는 作用이 있다고 하는데 이러한 解釋으로 Table 6의 thiamine+biotin+inositol 區의 菌體重을 說明할 수 있을 것 같다. 또 thiamine은 pyridoxine이 細胞內에서 破壞되는 것을 防止한다고도 말하고 있다⁵²⁾ 菌核形成은 全般的으로 thiamine의 添加에 依해서만 크게 增加하는데 thiamine 單用區보다는 2~3가지 vitamin을 混用함으로써 增加하였다. 따라서 thiamine이 存在하는 限 各種 vitamin의 效果도 약간은 있는 듯 하다.

흰비단病菌의 生育에 thiamine이 必須要素임을 前述하였는데 *Penicillium* sp. No.2의 培養濾液中에도 本菌의 菌糸生長 및 菌核形成을 促進시키는 因子가 있다는 것이 明白히 되었다.

Penicillium sp. No.2 菌은 植物의 環境周邊에서 흔히 볼 수 있는 腐生菌이므로 흰비단病菌의 生態와 어떤 關係가 있을 可能性이 크다 이 點 生態學的으로 檢討되

어야 할 餘地가 많다고 생각한다.

Penicillium sp. 培養濾液中에 있는 *S. rolsii*의 生育 促進物質이 어떤 物質인지는 지금 알 수 없으나 *Penicillium* 菌의 代謝產物로서 培養液中에 排泄 혹은 析出된 것으로 생각된다. 그런데 培養濾液을 添加하면 菌糸生長은 促進되나 菌核이 形成되지 않은 것으로 보아 菌糸生長이 良好하다고 해서 반드시 菌核形成도 良好한 것은 아닌 듯 하다. 다시 말하면 菌糸生長이나 菌核形成이 同一物質에 依해서 이루어지지 않고 各已 別個의 物質에 依해서 이루어지는 것으로 생각된다. 이와같은 事實은 *Penicillium* 培養濾液의 各分割에 對한 實驗에서 더욱 뚜렷해진다. 即 cation 吸着分割에 있어서는 *S. rolsii*의 菌糸가 잘 자랐을 뿐 아니라 菌核도 잘 形成되었다는 事實을 處理前 培養濾液의 結果와 아울러 考察하면 菌糸生長促進物質과 菌核形成誘起物質이 培養濾液中에 共存하고 있었음을 推測케 한다. 이들 2物質은 揮發性物質도 아니고 酸性相에서 水蒸氣蒸溜도 되지 않으며 ether 可溶性物質도 아닌 것이다. 그러나 cation 交換樹脂에 吸着되는 物質인 듯 하다. 그런데 이와는 달리 Elnaghy 등¹³⁾의 報告에 依하면 *S. cepivorum*의 菌核發芽促進物質이 onion 粗抽出液의 ether 不溶分割의 sugar fraction (cation 非吸着分割)에 있었다고 한다. 그러면 *Penicillium* 培養濾液에서는 菌核이 形成되지 않으나 cation 吸着分割에서는 菌核이 形成되는 事實은 어떻게 說明할 것인가? 여기에는 하나의 假定이 必要하다. 即 培養濾液中에는 菌糸生長 促進物質 및 菌核形成 誘起物質 外에 菌核形成 誘起物質에 拮抗하는 어떤 物質이 共存한다고 假定한다면 쉽게 說明될 수 있다. Elnaghy 등¹³⁾에 依하면 *S. cepivorum*의 菌核發芽가 onion crude extract보다도 ether 不溶分割에 依해서 더 좋았던 것은 拮抗物質이 ether 抽出에 依해서 extract로 부터 除去되고 이에 반하여 促進物質은 ether 不溶分割에 殘存하고 있었기 때문이라 하였다. 이러한 事實로 보아 上記 培養濾液이나 ether 不溶物質分割에서 菌核이 形成되지 않는 것은 菌核形成誘起物質을 拮抗하는 物質이 共存하기 때문이며 이 物質은 cation 交換樹脂에 吸着되지 않으나 菌核形成誘起物質은 이에 吸着되기 때문에 cation 吸着分割에서만 菌核이 形成된 것으로 생각된다. 또 anion 非吸着分割에서 菌糸가 生長되고 菌核이 形成되지 않는 것은 이 拮抗物質이 anion 交換樹脂에도 吸着되지 않고 非吸着分割으로 移動되었기 때문이며 cation 吸着分割의 等量混合液이나 cation 吸着分割과 anion 非吸着分割의 等量混合液의 結果(fig.11)로도 뒷받침된다.

Cation 吸着分割은 主로 아미노酸 일 것으로 推測되는

데 合成培地에 pepton 이나 egg albumin 이 sugar 代身에 加해지면 菌系生長 및 菌核形成이 좋았다는 Higgins¹⁹⁾의 結果와도 相通한 點이 있는 것이다.

한便 菌核形成誘起物質이 前述한 vitamin 實驗에서 밝힌 thiamine 이 아닌가 생각되어 cation 吸着分劃의 濃縮液이 對하여 thiamine 檢出을 實施한 結果 thiamine 이 檢出되지 않았다. 따라서 *Penicillium* 培養濾液中の 菌核形成誘起物質은 thiamine 과는 다른 物質도 생각되며 또 한가지는 thiamine 은 菌系生長이나 菌核形成에 다같이 有效하였다는 點에서 다른 것이다.

Cation 吸着分劃中에서 7種의 아미노酸이 檢出되었는데 이들 아미노酸은 菌系生長 및 菌核形成에 크게 關與하고 있지 않는 듯 하다(fig.13) 그러나 tyrosine 은 菌系生長을 어느 程度 促進시키는 傾向을 가지고 있고 cystine 은 tyrosine 의 促進作用을 拮抗하지 않는가 생각된다.

Henis 등¹⁷⁾은 菌核의 發達過程을 初期 發達期 成熟期로 區分하였는데 培地에 phenylthiourea 를 添加하면 初期를 誘導하나 發達期과 成熟期를 阻止시키고 disodium ethylenediamine tetraacetic acid(Na₂ EDTA)를 添加하면 3期 全部를 增進시켰음을 밝혔다. 한便 chet 등⁴⁾은 硫黃을 含有한 아미노酸은 3期 全部를 抑制시켰음을 報告하였는데 이들 研究의 結果 細胞內의 -SH 濃度가 菌核形成의 臨界濃度일 수 있는 것으로 이의 濃度 低下가 菌核形成을 促進시키지 않는가라고 생각하였다. 이에 對하여 Melhuish 등³⁹⁾은 dimethyl sulfoxide (DMSO)의 濃度가 增加함에 따라 菌核形成이 抑制되는데 iodoacetic acid 나 Na₂ EDTA 가 DMSO 의 抑制作用을 反轉시키지 못하였음을 報告하였다.

培養菌核의 濕熱에 對한 抵抗性은 第1型菌이나 第2型菌 모두 52°C 의 5分에서 부터 死滅하였다. Tokashi⁵⁷⁾의 manual 에 依하던 Sakurai 는 *S.rolfsii* 의 水稻系統 No.2 의 菌核은 40°C 에서 7日, 50°C 에서 1時間, 61°C 에서 10分에 死滅했고 Endo 는 white clover strain 의 菌核은 乾熱에 있어서 65~96°C 4時間, 90~91°C 에서 40分, 濕熱 60~61°C 에서 20分에 死滅했다고 하는데 筆者가 實驗한 Magnolia 第1型菌, 第2型菌은 이들 strain 보다 훨씬 低溫, 短時間에 死滅했다. 또 Ramakrishnan 은 Zinnia strain 의 菌核에 對해서 調査한 바 乾熱 55°C 에서 1時間에 死滅했으나 Fajardo 등은 同一菌의 菌核에 對해서 實驗하였는데도 乾熱 60~62°C 1分에 死滅하여 同一菌이라 할지라도 分布地域에 따라 그 性質이 다를을 暗示하는 것이며 著者の Magnolia strain 도 Fajardo 등의 結果에 大體로 類似하였다. 佐藤等⁵¹⁾은 *Sclerotinia kitajimana* 의 菌核은 濕熱 55°C

에서 10分에 死滅하였고 *Botrytis cinerea* 의 菌核은 50°C 에서 10分에 死滅하였다고 하는데 이 菌核은 *Sclerotium rolfsii* 의 Magnolia strain 과 極히 類似한 結果를 나타냈다. 그런데 26°C 에 155日間 靜置하여 乾燥시킨 菌核은 52°C 에 있어서는 第1型菌은 15分, 第2型菌은 10分, 57°C 에 있어서는 第1.2型菌 모두 3分에 死滅하였다. 따라서 菌核의 熱에 對한 抵抗性은 菌核의 水分含有量에도 多少 影響이 있으며 乾燥된 것이 보다 더 強하다는 結果를 보여준다.

菌核을 26°C 의 定溫器에 132日間 保存乾燥시킨 것은 第1型菌, 第2型菌 모두 96~99% 生存하였으나 菌糸는 全部死滅했으며 (Table 8) 天然菌核은 283日間 室內의 氣乾狀態에 保存한 것은 모두 93~96% 生存하였고 443日間 保存한 것도 아직 第1型菌 20%, 第2型菌 16.9% 의 生存率을 保持하고 있었다. (Table 8)

低溫에 對해서는 菌核은 -17~-20°C 3週에서도 大部分이 生存하였으며 綿毛狀의 菌糸는 -7~-8°C 에서 1週日만에 全部 死滅하였으나 相互 緻密하게 엮여 있는 菌糸塊는 -17~-20°C 에서 3週後에도 죽지 않는 것이 있는 것으로 菌糸보다는 菌糸塊가 低溫에 對해서 더 強한 것을 알 수 있다.

Higgins¹⁹⁾ 도 菌糸는 凍結하면 死滅하였으나 菌核은 -10°C 에서 48時間에도 잘 견디었다고 한다. 따라서 *S.rolfsii* 의 菌核은 다른 因子가 作用하지 않는 限 自然에서 容易하게 越冬할 수 있는 듯 하며 경우에 따라서는 菌糸塊狀態로도 越冬할 수 있는 可能性도 있다고 생각된다.

渡邊⁶⁰⁾ 는 *Corticium* 은 1,000 倍의 昇水水에 있어서 菌核은 20分, 菌糸는 5,000 倍 10分에 死滅한다고 하였는데 著者가 實驗한 Magnolia 系統은 第1,2型菌 모두 20分間에는 死滅하지 않았으며 第1型菌은 30分에도 아직 死滅하지 않고 살아있는 것이 있었다.

Benlate 나 Tachigaren 의 使用濃度가 1,000 倍 稀釋液으로 되어 있는데 本液體培養實驗의 結果에 依하던 500 ppm~1,000ppm 에서 完全히 菌系生長이 抑制되었으므로 綿密한 抑制效果를 檢討하기 爲하여 各各 2.0ppm 을 最高濃度로 하여 菌系生長과 菌核形成의 阻止效果를 檢討하였다. Benlate 의 경우 1ppm, Tachigaren 의 境遇 0.5ppm 以上の 濃度에서는 6日째까지는 菌系生長이 크게 抑制되어 無處理의 約 1/5~1/6 밖에 되지 않았으나 12日째에는 그 效果가 크게 떨어졌다. 다만 Benlate 2ppm 以上, Tachigaren 1.5ppm 以上만이 아직도 그 效果가 維持될 뿐이었다. 다시 말하면 Benlate 나 Tachigaren 은 時日이 經過함에 따라 많이 分解되어 그 效果가 크게 低下된 듯 하다. 다만 그 分解가 病原菌에 依해서

分解되는 지는 불명한 것으로 이 점 더 검토를 요하는 것이다. 菌核形成 阻止効果는 본 供試濃度에서는 認定할 수 없는 것으로 이 보다 훨씬 高濃度의 處理가 要望된다. Bozarth et al³⁾ Melhuish et al³⁹⁾에 依하면 除草劑나 殺菌劑를 添加하면 거기에 形成된 菌核의 크기와 乾物重이 增加하였다고 하나 본 供試藥劑 및 供試濃度에 있어서는 對照區와 比較하여 數에 있어서나 크기에 있어서 뚜렷한 差가 있는 것 같지 않았다. 要컨데 *S. rolfssii*의 防除를 爲해서는 菌糸에 對해서는 1,000ppm 程度로 可하나 菌核에 對해서는 이 濃度로서는 不充分한 것으로 생각된다.

Benlate 나 Tachigaren의 處理量이 많아짐에 따라 病原菌의 菌糸生長이 抑制되고 있다는 것은 glucose 나 NH_4 의 吸收가 抑制되고 있다는 事實로도 뒷받침 되는 것으로 Tachigaren의 低濃度에서 紋枯病菌의 glucose 吸收가 阻害되었다는 中西等⁴¹⁾ 및 上村等²³⁾의 報告와도 一致한다. glucose 吸收抑制機構에 關해서는 言及할 수 있는 實驗의 뒷받침이 없으나 glucose 利用의 經濟的 效果 即 glucose 1mg을 消費 하므로서 生産되는 菌糸量은 Benlate 나 Tachigaren 處理인 경우 處理初期에는 glucose의 消費가 甚하여 經濟的인 效果가 甚히 低下되었으나 時日이 經過됨에 따라 차츰 增加되었다. 이와 같은 事實은 *S. rolfssii*와 各種 除草劑와의 사이에서도 볼 수 있는 것으로 Curl et al⁹⁾은 atrazine에 對한 研究에서, Rodriguez-Kabana et al은 paraquat⁴⁹⁾, Trifluralin⁵⁰⁾에 對한 研究에서 이들 高濃度에서는 glucose, 有機磷酸 및 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 經濟的 效果가 對照區의 그것보다 有意의으로 減少되었다는 結果와도 一致하는 것이다. 그러나 低 atrazine 濃度에서는 오히려 약간 높았다고 한다^{9), 10)}.

Benlate 나 Tachigaren의 處理에 依해서 glucose의 浪費現象이 일어나는 原因에 對해서는 不明한 點이 많으나 供試藥劑에 依해서 病原菌의 代謝過程이 非正常的으로 되기 때문에 正常的일때 보다는 더 많은 energy가 所要될 것이라는 것과 들쭉는 供試藥劑의 OH基와 glucose와 사이에 aglicon을 形成하여 glucoside가 되기 때문이 아닐가도 생각된다. 이와 같은 경우 aglicon 形成이 培養液中の glucose와도 이루어 지겠지만 菌體內的 glucose와도 이루어 질 것이다. 따라서 體內에서의 形成은 供試藥劑의 殺菌機構의 一部分이 될 수 있을 것이다. 以上 2가지 理由中 첫번째의 理由로 energy 要求量이 많아진다고 하더라도 對照區에 비해 너무 差異가 크고 時間이 經過함에 따라 浪費가 적어 진다는 點으로 미루어 보아 妥當성이 稀薄한 것으로 생각되며 2번째의 理由가 크게 作用하고 있지 않나가 推測된다.

이에 關한 明白한 解答은 앞으로 더 많은 實驗的 뒷

받침이 要求 되는 것이다.

高日等⁵⁴⁾은 Tachigaren의 紋枯病菌에 對한 作用特性은 侵入防止效果보다도 進展阻止效果가 뛰어난 뿐 아니라 菌核形成能力을 喪失케 하고 菌糸의 病原力을 低下시킨다고 한다. 또 防除效果發現機構에 對해서 中西等⁴¹⁾은 Tachigaren에 依해서 紋枯病菌의 細胞膜이 障害를 받아 細胞內容物의 漏出 및 物質吸收能이 低下되어 生育의 抑制, 病原力의 低下가 喚起되지 않나가 생각하고 있다.

供試藥劑의 土壤處理는 Tachigaren 10mg/g sand 以上에서 菌糸生長을 甚히 抑制할 뿐 그 外的 供試濃度에서는 效果가 없는 것으로 생각된다. 그러나 Benlate Tachigaren 10mg/g sand 以上の 處理로서 相當量의 菌核形成 抑制效果를 거둘 수 있다고 볼 수 있다. Benlate의 흰비단病 防除效果를 論하기에는 供試濃度가 너무 낮은 것으로 생각된다.

結論的으로 供試菌, *S. rolfssii*는 菌糸生長 및 菌核形成에 있어서 各各 窒素源과 炭素源의 種類 및 그 量을 달리 하였으며 生育에는 thiamine이 必須的인 要素라는 것이 實證되었다.

그리고 *S. rolfssii*의 生育에는 thiamine 외에도 *Penicillium* sp. 培養液中에 있는 物質이 菌糸生長 뿐만 아니라 菌核形成에도 關與하고 있음을 밝혔다. 自然界에 널리 分布된 腐生菌인 *Penicillium* sp.와 *S. rolfssii*의 榮養 및 生殖에 密接한 關連이 있다는 事實은 흰비단病의 防除가 複雜하다는 一面을 立證하는 것이다.

흰비단病의 防除는 病菌의 榮養, 生殖生理를 基礎로 하여 生態的 및 其他 要因을 網羅한 綜合的인 對策으로 追究해야 할 것이다.

摘要

本 研究는 木蓮에서 分離한 흰비단病菌 *Sclerotium rolfssii* Sacc.의 分化型을 밝히고 菌糸生長 및 菌核形成에 對한 榮養生理를 究明코저 vitamin, 窒素源, 炭素源의 效果를 檢討했으며 또 本 菌과 *Penicillium* sp.와 의 生態的 關係를 解明하기 爲한 基礎的인 研究로서 本 菌의 菌糸生長 및 菌核形成에 對한 *Penicillium* 培養液의 促進效果와 그 要因을 밝히려고 試圖하였다.

本 研究結果를 綜合해서 摘要하면 다음과 같다.

1. 木蓮에서 分離한 흰비단病菌 第1型, 第2型은 培地上的 性狀이나 生理的 性質 및 病原性이 相異하였다. 特히 木蓮 아카시아에 對한 病原性은 兩者 同一하나 콩이나 오이에 對해서는 第2型菌이 第1型菌보다 더 強하였다.
2. 供試된 14種의 窒素源中 KNO_3 와 glycine을 除外

하고는 모두 thiamine hydrochloride 10 γ /l가添加되었을때 비르소 供試菌의 菌糸生長 및 菌核形成에 利用되었다. 窒素의 形態別로 보면 菌糸生長에 있어서는 NO₃-N 보다는 NH₄-N이 훨씬 더 効果的이며 organic N은 化合物에 따라 相異하였다 그러나 菌核形成에 있어서는 이와 反對로 NO₃-N이 効果的이었다 NO₂-N은 菌糸生長이나, 菌核形成에 全혀 效果가 없었다.

3. 供試 炭素源 7種도 大體의으로 thiamine이 存在하지 않는 限 菌糸生長이나 菌核形成에 아무런 效果가 없었다. thiamine이 添加될 경우 菌糸生長에 있어서 glucose와 saccharose가 가장 效果的이고 maltose와 soluble starch는 效果가 적었으며 xylose, lactose, glyceline은 全혀 效果가 없었다. 菌核形成에 있어서는 loctose를 除外하고는 全區에서 菌核形成을 보였으며 모두 비슷한 效果를 나타냈다.

4. 培地中の 窒素源이 同一水準이면 炭素源이 增加함에 따라 菌糸生長량이 增加하였다. 그러나 窒素源의 量에는 限度가 있는 것으로 窒素 0.5g/l 以上에서는 오히려 菌糸生長이 抑制되었다. 그러나 菌核形成에 있어서는 炭素源의 增加에 따라 菌核形成량이 低下하였다.

5. 供試菌은 thiamine 缺乏菌으로서 菌糸生長 最適 thiamine 濃度は 20 γ /l 이고 이 濃度を 超過하면 오히려 菌糸生長이 抑制되는데 150 γ /l에서는 無添加區와 거의 같은 程度로 抑制되었다.

6. 供試菌의 生長에 있어서 thiamine의 添加에 따른 窒素源利用도는 NH₄NO₃>(NH₄)₂SO₄>asparagine>KNO₃의 順位이며 窒素源別 thiamine 最適要求量은 KNO₃인 境遇 12 γ /l, asparagine인 境遇 16 γ /l 程度였다. 菌核形成量에 있어서는 KNO₃>NH₄NO₃>asparagine>(NH₄)₂SO₄의 順位로서 thiamine 最適量은 KNO₃, NH₄NO₃인 境遇 8 γ /l에서 全菌核生産量의 大部分이 形成되나 asparagine인 境遇에는 16 γ /l 程度였다.

7. 培養液의 pH는 供試菌이 生長을 開始하자마자 3.5 程度로 急激히 떨어지나 그 以後부터는 生長량이 增加함에 따라 緩慢하게 떨어졌다. 그러나 pH2.2 以下로는 더 내려가지 않았다.

8. 供試菌의 菌糸生長에 對한 各種 vitamin의 相互 效果는 thiamine, biotin, pyridoxine, inositol의 4가지 組合에 있어서도 thiamine이 添加되지 않는 곳에서는 거의 效果가 나타나지 않았다. 그러나 thiamine+pyridoxine, thiamine+inosital, thiamine+biotin+pyridoxine, thiamine+pyridoxine+inositol 區에 있어서는 thiamine 單獨 添加區와 同等 혹은 그 以上の 效果를 나타내지만 thiamine+biotin과 thiamine+biotin+inosital 區는 오히려 떨어졌다. 菌核形成에 있어서는 thiamine

單獨區에 比하여 各區 모두 약간씩 增加하였다.

9. *Penicillium* 培養濾液中에는 供試菌의 菌糸生長을 促進하는 物質이 存在하며 培養濾液 6~15ml/50ml^l 培養液의 濃度에서 거의 最高菌糸生長量에 達하였다.

10. 窒素源으로서 添加한 NH₄NO₃ 혹은 asparagine은 菌糸生長에 있어서 培養濾液濃度 如何에 關係없이 NH₄NO₃가 더 有效하였다.

11. 培養濾液에 對한 一聯의 處理에 있어서 揮發性物質分劃, 非揮發性物質分劃, 揮發酸分劃, ether可溶性有機酸分劃, ether不溶性物質分劃, cation 吸着物質分劃, cation 非吸着物質分劃, anion 吸着物質分劃 및 非吸着物質分劃의 9分劃中 非揮發性物質分劃, ether不溶性物質分劃, cation 吸着物質分劃 및 anion 非吸着物質分劃에서만 菌糸가 잘 자랐다. 그러나 菌核은 오직 cation 吸着物質分劃에서만 形成되었다.

12. 이 結果는 培養濾液中에 菌糸生長物質, 菌核形成物質 및 菌核形成抑制物質이 存在하며 이들 物質은 各各 別個의 物質로서 前2者는 非揮發性이고 ether不溶性이며 cation 交換樹脂에는 吸着되지 않는 物質이며 後者는 非揮發性이고 ether不溶性이며 cation 및 anion 交換樹脂에 吸着되지 않는 物質임을 暗示한다.

13. DNP-amino acids paper chromatography에 依하여 cation 交換樹脂吸着分劃中에서 aspartic acid, cystine, glycine, histidine, lycine, tyrosine 및 dinitroaniline 7種의 아미노酸이 檢出되었다.

14. *S. rolfsii*의 菌糸生長 및 菌核形成은 glutamic acid, aspartic acid, cystine, histidine 및 glycine의 單獨添加나 混合添加에 依해서 促進되지 않았고 다만 tyrosine에 依해서 약간 促進되었다.

15. 菌核의 濕熱에 對한 抵抗性은 菌核의 水分含有量에 따라 다르며 水分含有량이 적은 것이 보다 더 強하였다.

培地에서 採取한 菌核은 第1,2型菌 모두 52°C에서 5분에 死滅하나 155日間 26°C에서 乾燥시킨 것은 52°C에 있어서 第1型菌은 15分, 第2型菌은 10分, 57°C에 있어서는 第1型菌은 5分, 第2型菌은 10分處理에 死滅하였다.

16. 培養菌核을 132日間 26°C에서 乾燥시킨것은 第1,2型菌 모두 全部 發芽하였고 氣乾狀態에서 283日間 放置한 天然菌核도 第1,2型菌 모두 發芽하였으며 443日間處理한 것도 아직 第1型菌 20%, 第2型菌 16.9%의 發芽率을 保持하고 있었다.

17. 低溫에 對한 抵抗性은 菌糸, 菌糸塊, 菌核의 順으로 強하였는데 菌糸는 -7~-8°C 1週間 處理에서 完全 死滅하였으나 菌糸塊는 -17~-20°C 3週에서도

아직 死滅치 않은 것이 있었으며 菌核은 $-17\sim-20^{\circ}\text{C}$ 3 週에서 大部分 生存하였다.

18. 藥劑抵抗力은 昇汞水 0.05%에 있어서 第1型菌은 180分, 第2型菌은 240分, 0.1%에 있어서는 第1型菌 60分, 第2型菌 30分에 各各 死滅하였고 Uspulun 800 倍에 있어서는 第1型菌은 120分에 死滅하나 第2型菌은 180分에도 死滅치 않으며 500 倍에 있어서는 第1.2型菌 모두 90分에 비로소 死滅하였다. 그러나 硫酸銅 5% 240分, Ceresan 石灰, Mercuron 各 500 倍 80分處理에도 아무런 影響이 없었다.

19. Benlate 와 Tachigaren 의 濃度가 增加함에 따라 菌糸生長 抑制效果도 增加하였다. 處理 6 째에는 Benlate 0.5ppm 을 除外하고는 全濃度에서 뚜렷한 抑制效果를 나타내었으나 12 日째에는 濃度에 따라 顯著한 差異를 나타냈다. Benlate 0.5ppm 處理는 對照區에 比하여 66%, 2.0ppm 은 92%의 抑制效果를, Tachigaren 은 1ppm 54%, 1.5ppm 과 2.0ppm 은 77%의 抑制效果를 나타냈다. 兩者 모두 500ppm 에서는 거의 完全히 菌糸生長을 抑制시켰다. 菌核形成은 Benlate 500ppm 과 Tachigaren 500ppm 및 1000ppm 에서 100% 抑制되었다.

20. 一般的으로 菌糸生長量이 增加함에 따라 培地中の glucose 나 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 消費量도 增加하였으나 Benlate 나 Tachigaren 을 處理할 境遇 그 濃度의 增加에 따라 이들의 消費量이 抑制되었다. 그러나 Benlate 低濃度 (0.5 ppm 및 1ppm)에 있어서는 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 消費가 無處理區보다 많았다.

21. glucose 와 $\text{NH}_4\text{-N}$ 의 吸收利用效果 即 glucose 나 $\text{NH}_4\text{-N}$ 1mg 을 消費하여 生産된 菌糸量은 Benlate 나 Tachigaren 의 處理로 말미암아 크게 低下되었다. 그 程度는 濃度에 關係없이 處理 3 日째에 가장 甚했었고 以後 時日이 經過함에 따라 높아졌다. Benlate 處理의 glucose 를 除外하고는 大體로 濃度가 增加함에 따라 吸收利用效果가 低下되었다.

22. 土壤培養에 있어서 CO_2 排出量으로 測定한 菌糸生長은 어느 濃度에서나 阻止되지 않았고 다만 Tachigaren 100mg/g 土壤에서만 顯著하게 抑制되었다. 菌核形成은 Benlate 나 Tachigaren 10mg/g 土壤에서 完全히 억제되었다.

23. Benlate 와 Tachigaren 0.1, 1.0, 10, 100, 1000ppm 에 10分 및 20分間 浸漬處理한 結果 菌核의 發芽抑制效果를 認定할 수 없었다.

引用文獻

1. Bateman, D.F. and S.V. Beer(1965), Simultaneous production and synergistic action of oxalic acid

and polygalacturonase during pathogenesis by *Sclerotium rolfsii*, Phytopathology 55 : 204-221.

2. Boyd, H.W. and D.V. Phillips(1973), Toxicity of crop residue to peanut seed and *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 63 : 70-71.
3. Bozarth, G.A. and B.G. Tweedy(1971), Effects of pesticides on growth and sclerotial production of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology. 61 : 1140-1142.
4. Chet, I., Y. Henis, and R. Mitchell(1966). The morphogenetic effect of sulfur containing amino acids, glutathione and iodacetic acid on *Sclerotium rolfsii* Sacc. Jour. Gen. Microbiol. 45 : 541-546.
5. 千葉五雄(1961). 一般有機成分分析法, 奥田 東等編 植物營養學實驗 p.95~160. 朝倉書店, 東京.
6. Chien, C.C. and C.L. Chu(1973), Studies on the control of rice blast and sheath blight of rice with Benlate. Jour. Taiwan Agr. Research 22(1) : 41-46.
7. 鄭厚燮, 金喜圭(1971), 흰비단病菌의 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.
8. Cochrane, V.W.(1958). Physiology of fungi P. 72, P.132-144, P.241-242 and P.330-331, John Wiley & Sons, London.
9. Curl, E. A. and H. H. Funderburk, Jr. (1966). Effect of atrazine on *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma viride*. Jour. Ala. Sci. 37 : 124-125.
10. Curl, E.A., R. Rodriguez-Kabana, and H. H. Funderburk, Jr. (1967). Effect of dipyriddy and toluidine herbicides on growth response of *Sclerotium rolfsii* in soil (Abstr.) Phytopathology 57 : 7.
11. Curl, E.A., R. Rodriguez-Kabana, & H.H Funderburk, Jr. (1968). Influence of Atrazine and varied carbon and nitrogen amendments on growth of *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma viride* in soil. Phytopathology 58 : 323-328.
12. Edney, K.L.(1970). Some experiments with thiazobenzazole and Benomyl as postharvest treatments for the control of storage rots of apples. Plant Pathology 19(4) : 189-193.
13. Elnaghy, M.A., A.H. Moubasher, and S.E. Megala (1971). Stimulation of sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum* by Host-plant extract,

- Plant and Soil 34 : 109-119.
14. Epps, W.M., J.C. Patlerson, & I.E. Freaman (1951), Physiology and parasitism of *Sclerotium rolfii*, Phytopathology 41 : 245-260.
 15. Hardenburg, R.E. and D.H. Spolding (1972). Post-harvest Benomyl and Thiabendazole treatments, Alone and with scald inhibitors, to control bule and gray mold in wounded apples, Jour. Amer. Soci. Hort. Sci. 97(2) : 154-158.
 16. Henis, Y., I. Chet, and Xehara Avizohar-Hershenzon (1965). Nutritional and mechanical factors involved in mycelial growth and production of sclerotia by *Sclerotium rolfii* in artificil medium and amended soil. Phytopathology 55 : 87-91.
 17. Henis, Y. and I. Chet (1968). Developmental biology of sclerotia of *Sclerotium rolfii*. Can. Jour. Bot. 46 : 947-949.
 18. Higgins, B.B. (1927). Physiology and parasitism of *Sclerotium rolfii* Sacc. (abstr). Phytopathology 17 : 53.
 19. Higgins, B.B. (1927). Physiology and parasitism of *Sclerotium rolfii* Sacc. Phytopathology 17 : 417-448.
 20. Ishitsuka, R. (1974). Tachigaren, a soil fungicide and plant-growth promoter. Japan Pesticide Information 18 : 27-30.
 21. Ito, K. and Shuji Kotonni (1952). The causal fungus of web-blight of Leguminous woody plants. Bul. Gov. For. Exp. Sta. Japan. 40 : 54.
 22. 堯明, 大崎武久(1971). *Corticium rolfii* の endopolygalacturonase, 酵素の耐酸性および低 pH 活性, 農藝化學會誌 45(11) : 520~528.
 23. 上村昭二, 西川實, 富田和男(1971). タチガレン(3-hydroxy-5-isoxazole)の植物による吸収移行と代謝について, 日植病報 37 : 192.
 24. 川瀬保夫, 高橋 實(1964). 土壤病菌の生育深度に及ぼす窒素形態の影響(要旨). 日植病報 29(5) : 266.
 25. 權藤道夫, 有村光生(1964) 白絹病菌生育に對する植物搾汁液の影響(要旨). 日植病報 29 : 275.
 26. 金基清(1961) *Magnolia Kobus* P.A. Decand 白絹病菌을 일으키는 2系統의 *Sclerotium rolfii* Sacc. 에 관한 研究. 韓國農學會誌 7 : 20~28.
 27. 金基清(1961). 개 목련 白絹病菌 菌核의 抵抗性에 관한 研究. 全南大論文集 6 : 193~201.
 28. 金基清(1973). 窒素源, 炭素源 및 基質 pH 가 *Sclerotium rolfii* 의 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響. 全南大農漁村開發研究 7 : 201~211.
 29. 金基清(1973). Vitamin 과 核酸에 *Sclerotium rolfii* 의 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響. 韓國植物保護學會誌 12(2) : 71~78.
 30. 金基清, 朴沅龍(1974). *Penicillium* sp. 培養濾液이 白絹病菌의 菌糸生長 및 菌核形成에 미치는 影響, 全南大學校農漁村開發研究 8 : 17~28.
 31. 木谷清美, 夏日孝男, 國安克人(1965). ラジノクロバー 白絹病の發病生態一とくに菌の病原力について(要旨). 日植病報 30 : 77.
 32. Lilly, V.G. and H.L. Barnett(1951). Physiology of the fungi. P.100. Mc GRAW-Hill, New York.
 33. Linderman, P.G. Gillbert(1969). Stimulation of *Sclerotium rolfii* in soil by volatile components of Alfalfa hay. Phytopathology 59 : 1366-1372.
 34. Lyle, J.A. (1953). A comparative study of *Sclerotium rolfii* Sacc. and *Sclerotium delphinii* Welch. Ph. D. Thesis, Univ. of Minnesota, Minneapolis.
 35. Margolin, A.S. (1942). The effect of various carbohydrates upon the growth of some fungi. Thesis West Virginia Univ.
 36. 丸山恵三(1971). 園藝主産地形成の進めかた. 農藥 18(4) : 1-8.
 37. 松田 明, 下長根 鴻, 尾崎克巳(1972). ベンレート水和劑の *Fusarium oxysporium* による導管病の除除効果(要旨). 日植病報 38(3) : 208.
 38. Maxwell, D.P. and D.F. Bateman(1967). Influence of carbon source and pH on the accumulation of oxalic acid in culture filtrates of *Sclerotium rolfii* (abstr). Phytopathology 57 : 821.
 39. Melhuish, J.H., Jr. and G.A. Bean(1971) Effect of dimethyl sulfoxide on the *Sclerotium rolfii*. Can. Jour. Microbiol. 17 : 429-431.
 40. Mixon, A.C. and E.A. Curl(1967) Influence of Plant residue on *Sclerotium rolfii* and inhibitory soil microorganisms, Crop Science 7 : 641-644.
 41. 中西逸朗, 高日幸義, 奥田道久, 富田和男(1972). 3-hydroxy-5-methylisoxazole(タチガレン)に關する研究, イネ紋枯病防除効果の發現機構について(要旨), 日植病報 38(3) : 204.
 42. 内藤中人, 谷 利一(1958). クラブヨモギ菌核病菌のフェノール性代謝産物について日植病報 23(1) : 15-16.

43. Nakada, K.(1925). Studies on *Sclerotium rolfsii* Sacc., I. The phenomenon of aversion and its relation to the biologic forms of the fungus. Bull. Sci. Fak. Ter. Kyusu Imp. Univ. 1 : 177-190.
44. Nakada, K.(1927). Studies on *Sclerotium rolfsii* Sacc., V. Physiological character in relation to the strain of the fungus. Bul. Sci. Fak. Ter. Kyusu. Imp. Univ. II : 237-252.
45. Nord, F.F. and Mull, R.P.(1945). Adv. in Enzymol., 5 : 165-205.
46. 大野, 關(1956). 蛋白質化學 4 : 210. 共立出版, 東京.
47. Paintin, R.D. (1928). Notes on the parasitology of *Sclerotium rolfsii*, Mycologia 20 : 22-26.
48. Rodriguez-Kabana, R., E.A. Curl and H.H. Funderburk, Jr.(1951). Effect of Four Herbicides on growth of *Rhizoctonia Solani*. Phytopathology 56 : 1332-1333.
49. Rodriguez-Kabana, R., E.A. Curl and H.H. Funderburk, Jr.(1967). Effect of paraquat on growth of *Sclerotium rolfsii* in liquid culture and soil. Phytopathology 57 : 911-915.
50. Rodriguez-Kabana, R., E.A. Curl and H.H. Funderburk, Jr. (1969). Effect of Trifluralin on growth of *Sclerotium rolfsii* in liquid culture and soil. Phytopathology 59 : 228-232.
51. 佐藤邦彦, 厩司次男, 太田 昇(1959). 針葉樹苗の雪腐病に関する研究 I. 灰色かび病および菌核病, 日林試研報. 110 : 1-153.
52. 菊山慈孝(1966). 病原糸状菌の生化学, 平井篤造 等編. 植物病理の生化学(前編) P.165-166. & P.190-205, 農業技術協會, 東京.
53. Skene, K.G.M.(1972). Cytokinin-like properties of the systemic fungicide, Benomyl, The Journal of Horticultural Science 47 : 179-182.
54. Steinberg, R.A. and Bowling, J.D.(1939). Jour. Agri. Research 58 : 717-732.
54. 高日幸義, 中神和人, 奥田道久, 中西逸朗(1972). 3-hydroxy-5-methylisoxazole(タチガレン)に関する研究, 本圃におけるイネ紋枯病防除効果と 2,3の作用特性(要旨) 日植病報 38(3) : 204.
55. 瀧元清透(1968). 白絹病, 農薬研究 15 : 1.
56. 田杉平司, 茂木静夫(1958). 大豆黒痘病菌に就いて, 第3報 病原菌の 栄養生理(要旨). 日植病報 23(1) : 14.
57. Togashi, Kogo (1959). Biological characters of plant pathogens temperature relations. P.156-159, Meibundo, Tokyo.
58. 富山宏平, 酒井隆太郎, 高桑 亮(1952). 病原菌の生理, 明日山秀夫等編 植物病理実験法, P.349, P.376, 日本植物防疫協會, 東京.
59. 宇井格生, 三中康(1960). *Pellicularia filameniosa* 菌糸の伸長と thiamine 及び biotin(要旨). 日植病報 25(1) : 63.
60. 渡邊龍雄(1950), 煙草白絹病, 蒟蒻白絹病, 工藝作物病害篇. P.65-66., P.164-165, 養賢堂, 東京.
61. 山本 逸(1972)施設園藝をさい主産地形成と防除の對應, 農薬 18(4) : 9-12.
62. 吉井, 鋤方. 岡本, 瀧元, 日高(1960), 作物病害圖編, P.251, P.550, 養賢堂, 東京.
63. 韓國植物保護學會(1972). 韓國病害虫雜草名鑑 P.1-97.

SUMMARY

The present study is an attempt to solve the basic problems involved in the control of the *Sclerotium* disease. The biologic strains of *Sclerotium rolfsii* Sacc., pathogen of *Sclerotium* disease of *Magnolia kobus*, were differentiated, and the effects of vitamins, various nitrogen and carbon sources on its mycelial growth and sclerotial production have been investigated. In addition the relationship between the cultural filtrate of *Penicillium* sp. and the growth of *Sclerotium rolfsii*, the tolerance of its mycelia or sclerotia to moist heat or drought and to Benlate(methyl-(butylcarbomyl)-2-benzimidazole carbamate), Tachigaren(3-hydroxy-5-methylisoxazole) and other chemicals were also clarified.

The results are summarized as follows:

1. There were two biologic strains, Type-1 and Type-2 among isolates. They differed from each other in

the mode of growth and colonial appearance on the media, aversion phenomenon and in their pathogenicity. These two types had similar pathogenicity to the *Magnolia kobus* and *Robinia pseudoacacia*, but behaved somewhat differently to the soybean and cucumber, the Type-1 being more virulent.

2. Except potassium nitrite, sodium nitrite and glycine, all of the 12 nitrogen sources tested were utilized for the mycelial growth and sclerotial production of this fungus when 10 γ /l of thiamine hydrochloride was added in the culture solution. Considering the forms of nitrogen, ammonium nitrogen was more available than nitrate nitrogen for the growth of mycelia, but nitrate nitrogen was better for sclerotia formation. Organic nitrogen showed different availabilities according to compounds used. While nitrite nitrogen was unavailable for both mycelial growth and sclerotial formation whether thiamine hydrochloride was added or not.

3. Seven kinds of carbon sources examined were not effective in general, as long as thiamine hydrochloride was not added. When thiamine hydrochloride was added, glucose and saccharose exhibited mycelial growth, while maltose and soluble starch gave lesser, and xylose, lactose, and glycine showed no effect at all. In the sclerotial production, all the tested carbon sources, except lactose, were effective, and glucose, maltose, saccharose, and soluble starch gave better results.

4. At the same level of nitrogen, the amount of mycelial growth increased as more carbon sources were applied but decreased with the increase of nitrogen above 0.5g/l. The amount of sclerotial production decreased with the increase of carbon sources.

5. *Sclerotium rolfii* was thiamine-deficient and required thiamine 20 γ /l for maximum growth of mycelia. At a higher concentration of more than 20 γ /l, however, mycelial growth decreased as the concentration increased, and was inhibited at 150 γ /l to such a degree of thiamine-free.

6. The effect of the nitrogen sources on the mycelial growth under the presence of thiamine were recognized in the decreasing order of NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, asparagine, KNO_3 , and their effects on the sclerotial production in the order of KNO_3 , NH_4NO_3 , asparagine, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. The optimum concentration of thiamine was about 12 γ /l in KNO_3 and about 16 γ /l in asparagine for the growth of mycelia; about 8 γ /l in KNO_3 and NH_4NO_3 , and 16 γ /l in asparagine for the production of sclerotia.

7. After the fungus started to grow, the pH value of cultural filtrate rapidly dropped to about 3.5. Hereafter, its rate slowed down as the growth amount increased and did not depreciate below pH 2.2.

8. The role of thiamine in the growth of the organism was vital. If thiamine was not added, the combination of biotin, pyridoxine, and inositol did not show any effects on the growth of the organism at all. Equivalent or better mycelial growth was recognized in the combination of thiamine+pyridoxine, thiamine+inositol, thiamine+biotin+pyridoxine, and thiamine+biotin+pyridoxine+inositol, as compared with thiamine alone. In the combinations of thiamine+biotin and thiamine+biotin+inositol, mycelial growth was inhibited.

Sclerotial production in dry weight increased more in these combinations than in the medium of thiamine alone.

9. The stimulating effects of the *Penicillium* cultural filtrate on the mycelial growth was noticed. It increased linearly with the increase of filtrate concentration up to 6-15 ml/50ml basal medium solution.

10. NH_4NO_3 , as a nitrogen source for mycelial growth was more effective than asparagine regardless of the concentration of cultural filtrate.

11. In the series of fractionations of the cultural filtrate, mycelial growth occurred in unvolatile, ether insoluble, cation-adsorbed or anion-unadsorbed substance fractions among the fractions of volatile, unvolatile acids, ether soluble organic acids, ether insoluble, cation-adsorbed, cation-unadsorbed, anion-adsorbed and anion-unadsorbed and anion-unadsorbed substance tested. Sclerotia were produced only in cation-adsorbed fraction.

12. According to the above results, it was assumed that substances for the mycelial growth and sclerotial formation and inhibitor of sclerotial formation were included in cultural filtrate and they were quite different from each other. It was further assumed that the former two substances are unvolatile, ether insoluble, and adsorbed to cation-exchange resin, but not adsorbed to anion, whereas the latter is unvolatile, ether insoluble,

and not adsorbed to cation or anion-exchange resin.

13. Seven amino acids—*aspartic acid, cystine, glycine, histidine, lycine, tyrosine and dinitroaniline*—were detected in the fractions adsorbed to cation-exchange resin by applying the paper chromatography improved with DNP-amino acids.

14. Mycelial growth or sclerotial production was not stimulated significantly by separate or combined application of *glutamic acid, aspartic acid, cystine, histidine, and glycine*. Tyrosine gave the stimulating effect when applied alone and when combined with other amino acids in some cases.

15. The tolerance of sclerotia to moist heat varied according to their water content, that was, the dried sclerotia are more tolerant than wet ones. The sclerotia harvested directly from the media, both Type-1 and Type-2, lost viability within 5 minutes at 52°C. Sclerotia dried for 155 days at 26°C had more tolerance: sclerotia of Type-1 were killed in 15 mins. at 52°C and in 5 mins. at 57°C, and sclerotia of Type-2 were killed in 10 mins. both at 52°C or 57°C.

16. Cultural sclerotia of both strains maintained good germinability for 132 days at 26°C. Natural sclerotia of them stored for 283 days under air dry condition still had good germinability, even for 443 days: type-1 and type-2 maintained 20% and 16.9% germinability, respectively.

17. The tolerance to low temperature increased in the order of mycelia, felts and sclerotia. Mycelia completely lost the ability to grow within 1 week at 7-8°C below zero, while mycelial felts still maintained the viability after 3 weeks at 7-20°C below zero, and sclerotia were even more tolerant.

18. Sclerotia of type-1 and type-2 were killed when dipped into the 0.05% solution of mercury chloride for 180 mins. and 240 mins. respectively: and in the 0.1% solution, Type-1 for 60 mins. and Type-2 for 30 mins. In the 0.125% *uspulun* solution, Type-1 sclerotia were killed in 180 mins., and those of Type-2 were killed for 90 mins. in the 0.125% solution. Dipping into the 5% copper sulphate solution or 0.2% solution of *Ceresan lime* or *Mercron* for 240 mins. failed to kill sclerotia of either Type-1 or Type-2.

19. Inhibitory effect on mycelial growth of *Benlate* or *Tachigaren* in the liquid culture increased as the concentration increased. 6 days after application, obvious inhibitory effects were found in all treatments except *Benlate* 0.5ppm; but after 12 days, distinguished differences were shown among the different concentrations. As compared with the control, mycelial growth was inhibited by 66% at 0.5ppm and by 92% at 2.0ppm of *Benlate*, and by 54% at 1ppm and about 77% at 1.5ppm or 2.0ppm of *Tachigaren*. The mycelial growth was inhibited completely at 500ppm of both fungicides, and the formation of sclerotia was checked at 1,000ppm of *Benlate* and at 500ppm or 1,000ppm of *Tachigaren*.

20. Consumptions of glucose or ammonium nitrogen in the culture solution usually increased with the increment of mycelial growth, but when *Benlate* or *Tachigaren* were applied, consumptions of glucose or ammonium nitrogen were inhibited with the increment of concentration of the fungicides. At the low concentrations of *Benlate* (0.5ppm or 1ppm), however, ammonium nitrogen consumption was higher than that of the control.

21. The amount of mycelia produced by consuming 1mg of glucose or ammonium nitrogen in the culture solution was lowered markedly by *Benlate* or *Tachigaren*. Such effects were the severest on the third day after their treatment in all concentrations, and then gradually recovered with the progress of time.

22. In the sand culture, mycelial growth was not inhibited. It was indirectly estimated by the amount of CO₂ evolved at any concentrations, except in the *Tachigaren* 100mg/g sand in which mycelial growth was inhibited significantly. Sclerotial production was completely depressed in the 10mg/g sand of *Benlate* or *Tachigaren*.

23. There was no visible inhibitory effect on the germination of sclerotia when the sclerotia were dipped in the solution 0.1, 1.0, 100, 1,000ppm of *Benlate* or *Tachigaren* for 10 minutes or even 20 minutes.