

Rhizopus屬의 染色體에 關한 研究(第二報)

II. Rhizopus屬 17種에 對하여

閔 丙 禮

(祥明女子大學校 生物學科)

Chromosomal studies on the genus of Rhizopus

— II. Chromosomal studies on 17 species of the genus Rhizopus—

Min, Byung-Re

(Dept. of Biology, Sangmyung Womens Univ.)

ABSTRACT

After the previous paper, this chromosomal studies on the fungi were dealt with 17species in genus of *Rhizopus*.

The results are summarized as the followings;

The haploid chromosome number of 17 species were confirmed as of 6(*Rh. oligosporus*), 8(*Rh. homothallicus*, *Rh. liquefaciens*, *Rh. shanghaiensis*, *Rh. chlamydosporus*, and *Rh. arrhizus*), 10(*Rh. boreas*, *Rh. javanicus var. kawasakiensis*, *Rh. niveous*, and *Rh. acetorinus*), 12(*Rh. microsporus*, *Rh. pseudochinensis*, *Rh. rhizopodiformis*, *Rh. thermosus*, and *Rh. kazanensis*), 14(*Rh. stolonifer*), and 16(*Rh. suinus*), respectively. Referring to the above fact and the previous paper, it is strongly presumed that the basic chromosome number of *Rhizopus* are 4.

緒 論

곰팡이의 핵은 細胞分裂동안의 構造와 行動이 高等한 植物과 다른바 없으며 減數分裂의 과정도 高等한 生物에서 일어나는 과정과 同一하다는 사실은(Olive, 1953) 이미 알려져 왔다.

그러나 染色體의 크기가 매우 작고(Haskins 1979, Heath, 1978) 염색이 잘 안되며(Heath, 1978) 細胞分裂이 매우 짧은 時間內에 끝나는 점(McGinnis, 1953) 등으로 곰팡이의 염색체 관찰은 매우 어려운 것으로 알려져 왔다.

특히 *Rhizopus*屬에 對한 細胞分裂 과정 및 染色體數에 關한 보고는 극히 미진하여 Flanagan (1969)이 *Rh. nigricans*에서 半數體의 染色體數가 16個임을 확인하여 발표하면서 *Rhizopus*도 뚜렷한 핵分裂을 함을 보고하였을 뿐이다. 그외의

*Rhizopus*種에 對한 研究보고는 없었으며, 本人等이 우리나라 중부이남과 제주 일원에서 수집하여 分類한 7種의 *Rhizopus*(Lee and Yoon, 1973)에 대한 生活史 및 染色體數를 보고한바 있다(Min 등, 1982).

本研究는 앞서의 7種外에 17種의 *Rhizopus*屬의 生活史와 染色體數를 조사하여 그 結果를 정리하였다.

材料 및 方法

實驗材料로는 ATCC를 비롯한 각처로부터 구입하였으며 *Rh. microsporus*, *Rh. pseudochinensis*, *Rh. boreas*, *Rh. rhizopodiformis*, *Rh. thermosus*, *Rh. suinus*, *Rh. stolonifer*, *Rh. javanicus var. kawasakiensis*, *Rh. homothallicus*, *Rh. niveous*, *Rh. kazanensis*, *Rh. liquefaciens*, *Rh. acetorinus*,

본 연구는 1983~1985년도 과학재단의 연구보조에 의하여 수행되었음.

Rh. shanghaiensis, *Rh. chlamydochorus*, *Rh. arrhizus*, *Rh. oligosporus* 등의 17種이다.

實驗方法是 앞서 발표한 (Min 등, 1982) 방법을 그대로 사용하였다.

1) 培養

培養은 PDYA (Rogers 1965a) 배지를 利用하여 26~28°C를 유지하면서 계속 胞子를 취할수 있도록 하였다. 生活史를 알아보기 위하여는 thin-layer slide-culture 방법을 利用하였고, slide-glass上的 培地에 胞子를 接種한후 petri-dish안에 넣어 항온기에 넣고 3時間이후부터 25時間까지 매 2時間 간격으로 染色 固定한 후 光學현미경 하에서 觀察하였다.

2) 試料의 固定

試料의 固定은 Farmer's 용액 또는 Carnoy's 용액에 약 1~24時間까지 固定處理하였다.

Thin-layer slide culture가 아닌 경우는 固定, 加水分解하는 과정중에서 試料가 떨어져 나가는 것을 막기 위하여 slide glass상에 미리 egg-albumin을 도말하고 공기中에서 건조시킨후에 試料를 취하여 그위에 놓고 固定하였다.

3) 細胞貯藏物質의 除去

세포저장물질의 除去方法是 slide glass위에 固定시킨 試料들을 加水分解 處理한후 멸균증류수 (약 60~80°C)로 수회 세척하여 Storey方法 (Storey & Mann, 1967)을 변형하여 利用하였다.

4) 染色體의 染色處理 및 觀察

Rogers의 方法에 따라 slide glass上에 소량의 材料를 놓고 phosphate buffer (pH 7.2)를 한방울 떨어뜨린후 Giemsa staining solution (Merck)으로 3~4分間 染色하고 1~2회 증류수로 세척하였다. 이어서 3% KOH를 적하한 후 (Rogers, 1965) coverglass를 덮고 여분의 염색액은 여과지로 제거한후 squash하여 검경하였다. 현미경 검경은 매회 oil immersion을 利用하여 1,500배의 배율로 관찰, 사진을 촬영하였다.

結果 및 考察

1) *Rhizopus*屬의 生活史

조사한 *Rhizopus*屬의 生活史는 매우 유사하였다. 앞서 발표한 바와 같이 (Min 등, 1982) 胞子 接種후 3時間부터 胞子가 팽대해지기 始作하여

*Rhizopus*속의 한 世代는 一般的으로 20~25時間에 걸쳐 진행됨을 알수 있었다.

2) *Rhizopus*屬의 染色體

앞의 논문에서 지적한 바와 같이 *Rhizopus*속에서 염색체를 관찰하기에 가장 적합한 시기는 포자낭병 (sporangiophore) 形成時期임을 확인 할 수가 있었다 (Min 등, 1982).

관찰한 *Rhizopus*속의 염색체는 大部分이 dot (點)의 形態를 가지고 있었으며 (Min 등, 1982) 染色體의 數는 種에 따라 조금씩 다르게 나타났으며 조사한 *Rhizopus* 17種의 染色體數는 Table 1과 같다.

Table 1. The chromosome number of *Rhizopus* species based on the modal count above frequency 80%

chromosome number	species
6	<i>Rh. oligosporus</i>
8	<i>Rh. homothallicus</i> , <i>Rh. liquefaciens</i> , <i>Rh. shanghaiensis</i> , <i>Rh. chlamydochorus</i> , <i>Rh. arrhizus</i>
10	<i>Rh. boreas</i> , <i>Rh. javanicus var. kawasakiensis</i> , <i>Rh. niveous</i> , <i>Rh. acetorinus</i>
12	<i>Rh. microsporus</i> , <i>Rh. pseudochinesis</i> , <i>Rh. rhizopodiformis</i> , <i>Rh. thermosus</i> , <i>Rh. kazanensis</i>
14	<i>Rh. stolonifer</i>
16	<i>Rh. suinus</i>

앞서 발표한 7種의 *Rhizopus*와 본실험에서 실험한 結果를 結合하여 染色體數에 따른 種의 數를 비교하여 보면 Table 2와 같다.

Table 2. The chromosome number and the number of species

chromosome number (n)	numbers of species
6	1
8	9
9	1
10	4
12	6
14	1
16	2

Table 2에서 볼수있는 바와 같이 24種의 *Rhizopus*중에서 가장 많은수인 9種의 *Rhizopus*가 $n=8$ 개의 염색체를 가지고 있음을 알수있다. 다음이 $n=12$ 개로서 6種의 *Rhizopus*가 이에 해당하였다. 가장 적은수의 染色體는 $n=6$ 개로서 *Rh. oligosporus* 1種이 있으며 가장 많은수의 염색체는 $n=16$ 개로서 *Rh. nigricans*와 *Rh. suinus*의 2種이 있다. 그밖에 $n=10$ 인 種이 4種이고 $n=6$, $n=9$, $n=14$ 인 種에 해당하는 *Rhizopus*는 각각 1種이었다.

곰팡이의 경우에는 이미 많은 異數體와 培數體가 存在함이 보크되어 있다(Pittenger, 1953; Boone and Keitt, 1956; Pantecorub and Kafer, 1958; Knox-Davies 등, 1960; Rogers, 1968d). Knox-Davies 등(1960) 등에 依하면 곰팡이에서의 異數體核은 核分裂의 末期(anaphase)에서 染色體의 不分離(non-disjunction)의 結果로서 ascus 등에서 생기거나, 혹은 영양균사의 核들에서 同時에 일어나는 核分裂동안에 방추사용함으로 인해 異數體나 培數體가 됨을 報告하고 있다.

또한 다른 高等한 生物의 體細胞組織을 실험실에서 培養하는 동안에 異數體나 培數體가 생기는 것이 一般的인 現象이며 곰팡이 영양균사에서의 異數性은 실험실에서 生長하는 곰팡이에서는 흔히 있는 일로 說明하고 있다. Royan (1952) 등은 top-yeast에서 染色體의 倍加現象은 高等한 植物과 마찬가지로 一般的인 現象으로 報告한바 있다.

Emerson과 Wilson(1954)의 *Allomyces*種에 對한 細胞學的 研究에서 培數體가 分類學的 分化過程으로 볼수있다고 하였으며 McGinnis(1956)의 報文에서는 한 genes에서 染色體의 數가 種

의 進化와 밀접한 關係가 있음을 명확하게 보고한바 있다. 또한 Lu(1964)는 担子균류인 *Cyathus sterccrus*의 研究에서 培數性이 重要的 進化의 機作이 되고 있음을 論義한바 있다. Singh (1972) 역시 担子균류인 *Ravenelia*屬에 속하는 4種의 染色體數를 세어서, 染色體數가 적은것이 좀더 原始的인 形態를 갖고 있음을 보았으며 染色體의 數가 基本 半數體의 染色體數보다 많거나 또는 二倍體인 個體를 좀더 進化된 種으로 定義한바 있다.

以上과 같은 많은 학자들의 報文을 考察하여 볼때 *Rhizopus*屬의 기본염색체수 $n=4$ 로 思料된다. 앞서 발표한 第一報文에서는 $n=8$ 로 추정하였으나 많은 數의 種을 조사하고 비교할때 $n=4$ 로 기본염색체수를 추정하는 것이 좀더 타당할 것으로 생각되며 精確한 것은 좀더 많은 수의 種을 수집, 연구하여야 할 것이다.

*Rhizopus*속의 基本染色體數를 $n=4$ 로 볼때 $n=8$, 12, 16을 各各 기본염색체수의 二倍體, 三倍體, 四倍體로 볼수 있으며 실제로 이들의 수가 많았다. 異倍體로서 $n=6$ 인것과 $n=10$, $n=14$ 인 種이 각각 1種씩으로 각각 $n+2$, $2n+2$, $3n+2$ 를 보여주고 있으며 異數性의 代表性的 예로는 *Rh. tritici*로 $n=9$ 이다. 24種中에서 $n=7$, 11, 13의 수는 빠져있다.

조사한 *Rhizopus*屬들의 染色體數를 가지고 *Rhizopus*속의 계통분류를 보면 기본염색체수 4를 基本으로 차츰 進化하여 왔을것으로 생각되고, $n=16$ 인 *Rh. nigricans*과 *Rh. suinus*와 같은 種이 가장 進化된 種으로 사료되지만 좀더 많은 種을 研究하면 좀더 精確한 계통분류가 될것으로 생각된다.

摘 要

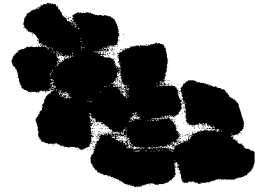
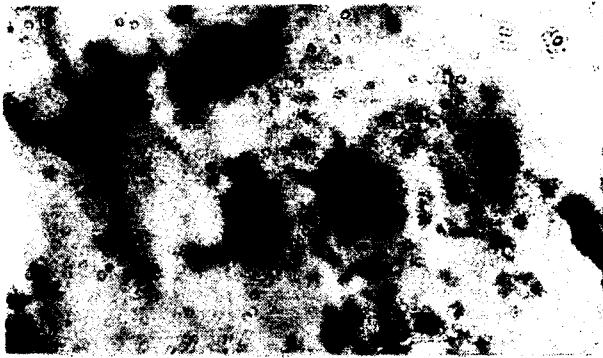
第一報에 이어 本 第二報에서는 17種의 *Rhizopus*의 生活史와 染色體數를 觀察하였다. *Rhizopus*의 各種은 生活史가 유사하였으며, 染色體를 관찰하기 위하여는 sporangiophore의 形成時期가 가장 適期임을 다시 확인하였다.

*Rhizopus*屬의 染色體數는 *Rh. homothallicus*, *Rh. liquefaciens*, *Rh. shanghaiensis*, *Rh. chlamydochorus*, *Rh. arrhizus* 등의 5種이 $n=8$ 이고, *Rh. boreas*, *Rh. javanicus* var. *kawasakiensis*, *Rh. niveous*, *Rh. acetorinus*의 4種은 $n=10$, *Rh. microsporus*, *Rh. pseudochinensis*, *Rh. rhizopodiiformis*, *Rh. thermosus*, *Rh. kazaniensis*의 5種은 $n=12$ 이며 *Rh. oligosporus*는 $n=6$, *Rh. stolonifer*는 $n=14$, *Rh. suinus*는 $n=16$ 이었다.

第一報와 本 第二報를 綜合하여 볼때 *Rhizopus*속의 기본염색체수는 $n=4$ 로 추정된다.

引用文獻

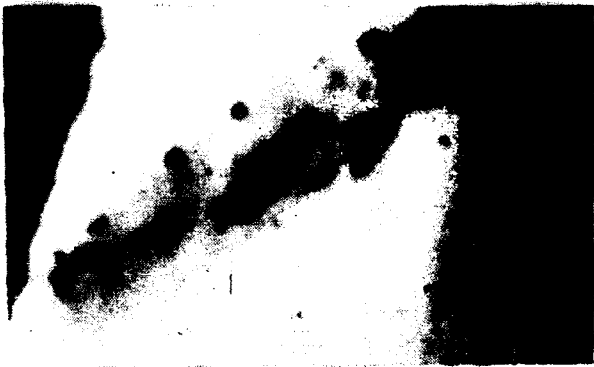
- Alexopoulos C.J. and C.W. Mims, 1979. Introductory *Mycology*. John Wiley and Sons.
- Cutter, V. M., 1942. Nuclear behavior in the Mucorales II. The *Rhizopus*, phycomyces and sporodinia patterns. *Bull. Torrey. Bot. Club.* 69(8): 592-616.
- Day, P.R., D.M. Boone and G.W. Keitt, 1956. *Venturia inaquilias* (cke) Wint. XI. The chromosome number. *Am. J. Bot.* 43: 835-838.
- Flanagan, D.W., 1969b. Nuclear division in the vegetative hyphae of *Rhizopus nigricans* and *Phycomyces blakesleenus*. *Can. J. Bot.* 47: 2055-2059.
- Haskins, E.F., 1976. High voltage electron microscopical analysis of chromosomal number in the slime mold *Echinostelium minutum* de Bary. *Chromosoma* (Berl.) 56: 95-100.
- Harris, S.E., J.P. Braselton and C.E. Miller, 1980. Chromosomal number of *Sorosphaera veronicae* (*Plasmodiophoromycetes*) based on ultrastructural analysis of syneptonemal complexes. *Mycol.* 72: 916-925.
- Heath, I.B., 1978. Mitosis in the fungi in "Nuclear division in the fungi" Academic Press. New York.
- Knox-Davies, P.S. and J.G. Dickson, 1960. Cytology of *Helminthosporium turcicum* and its ascigerous stage, *Trichometaspheria turcica*. *Am. J. Bot.* 47: 329-339.
- Lee, Y.N. and K.H. Yoon, 1973. Studies on the amylase of *Rhizopus* (I). *Kor. Jour. Microbiol.* 11: 31-50.
- Lu, B.C., 1964. Polyploidy in the basidiomycete, *Cyathus stercoreus*. *Am. J. Bot.* 51: 343-347.
- McGinnis, R.C., 1953. Cytological studies of chromosomes of rust fungi. I. The mitotic chromosomes of *Puccinia graminis*. *Can. J. Bot.* 31: 522-526.
- McGinnis, R.C., 1956. Cytological studies of chromosomes of rust fungi III. The relationships of chromosome number to sexuality in *Puccinia*. *J. Heredity.* 47: 255-259.
- Min, B.R. & Y.K. Choi, 1981. The chromosome number of fungi (I). *Kor. Jour. Microbiol.* 19: 78-101.
- Min, B.R. & Y.K. Choi, 1981. (unpublished) Thin layer-slide culture of fungi.
- Min, B.R., T.J. Lee and Y.K. Choi, 1982. Chromosomal studies on the genus of *Rhizopus*.—I. Chromosomal studies on 7 species of the genus *Rhizopus*. *Kor. J. Microbiol.* 20: 134-146.
- Olive, L.S., 1953. The structure and behavior of fungus nuclei. *The Botan. Rev.* 439-578.
- Olive, L.S., 1965. Nuclear behavior during mitosis. In "The Fungi I." Academic Press 143-161.
- Pantocorub and Kafer, 1958.
- Pittenger, 1953.
- Roger, J.D., 1964. *Hypoxyton prunatum*: The chromosome number. *Mycol.* 56: 369-373.
- Roger, J.D., 5a. 196 The conidial stage of *Conichaeta ligniaria*: Morphology and Cytology. *Mycol.* 57: 368-378.
- Roger, J.D., 1968d. *Xylaria curta*: cytology of the ascus. *Can. J. Bot.* 46:1337-1340.
- Singh, U.P., 1972. Morphology of chromosome in *Ravenellia* sp. *Mycol.* 64:205-207.
- Storey, F.H., and J.D. Mann, 1967. Chromosome contraction by O-isopropyl-N-phenylcarbamate (IPC). *Stain. Tech.* 42:15.



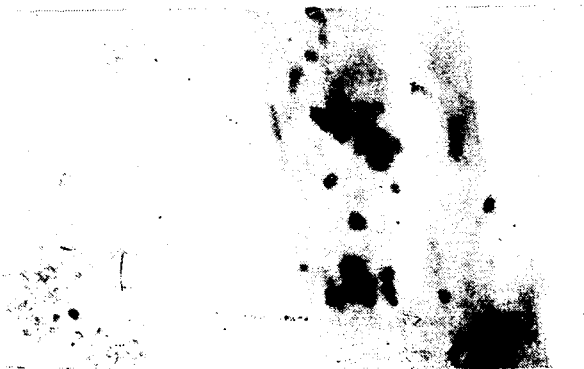
Rh. rhizopodiformis



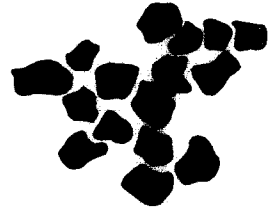
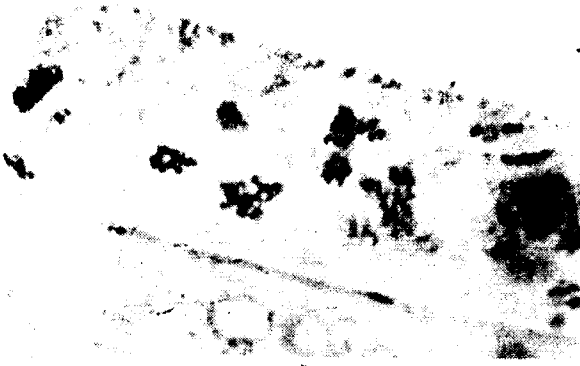
Rh. thermosus



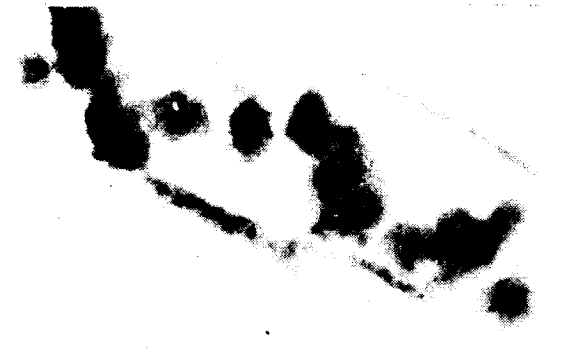
Rh. microsporus



Rh. stolonifer



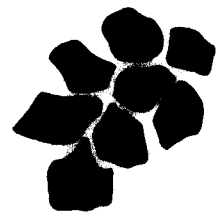
Rh. solani



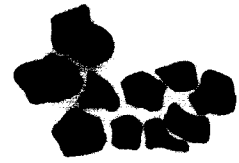
Rh. homothallicus



Rh. arrhizus



Rh. chlamydoportus



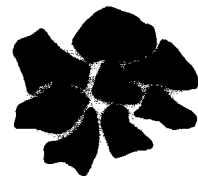
Rh. acetorinus



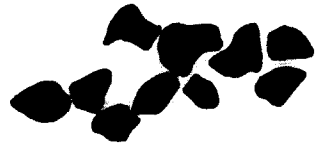
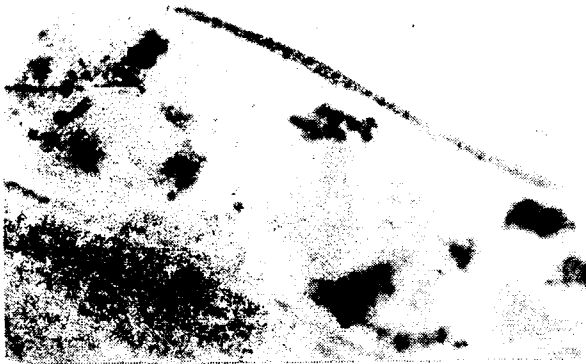
Rh. oligosporus



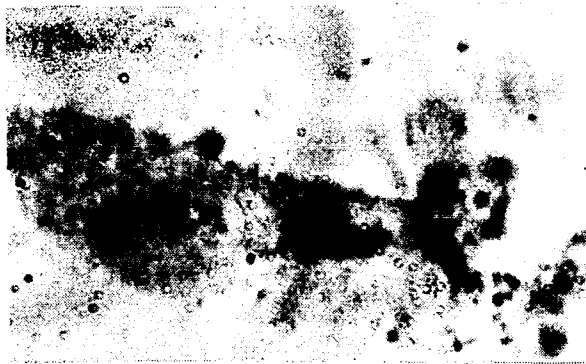
Rh. shanghaiensis



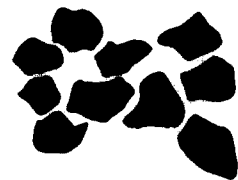
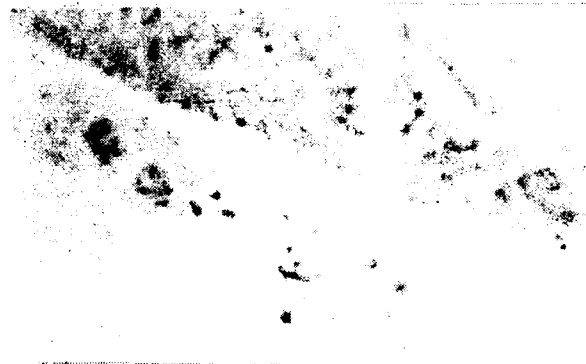
Rh. liquefaciens



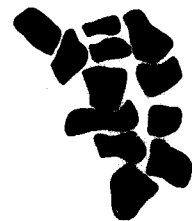
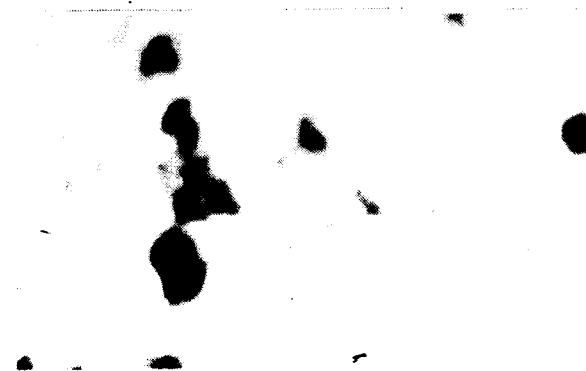
Rh. niveous



Rh. boreas



Rh. javanicus var.
kawasakiensis



Rh. pseudochinensis

*Rh. kazanensis***Explanation of plates**

1. The chromosome of *Rh. rhizopodiformis* (n=12)
2. The chromosome of *Rh. thermosus* (n=12)
3. The chromosome of *Rh. microsporus* (n=12)
4. The chromosome of *Rh. stolonifer* (n=14)
5. The chromosome of *Rh. suinus* (n=16)
6. The chromosome of *Rh. homothallicus* (n=8)
7. The chromosome of *Rh. arrahizus* (n=8)
8. The chromosome of *Rh. chlamydoporus* (n=8)
9. The chromosome of *Rh. acetorinus* (n=10)
10. The chromosome of *Rh. niveous* (n=10)
11. The chromosome of *Rh. boreas* (n=10)
12. The chromosome of *Rh. javanicus var. kawasakiensis* (n=10)
13. The chromosome *Rh. pseudochinensis* (n=12)
14. The chromosome *Rh. kazanensis* (n=12)
15. The chromosome *Rh. oligosporus* (n=6)
16. The chromosome of *Rh. shanghaiensis* (n=8)
17. The chromosome of *Rh. liquefaciens* (n=8)