

아세트산염 배지에서의 검정곰팡이(*Aspergillus niger*)의 포자형성에 관한 연구

李好猷·金鍾協*

梨花女子대학교 大学院 藥学科 *同德女子大學

Studies on the Spore Formation of *Aspergillus niger* in Potassium Acetate Medium

Hoyoung Lee and Jong-Hyup Kim*

Department of Pharmacy, Graduate School, Ehwa Women's University, Seoul 120
and Dong-Duck Women's University* Seoul 136, Korea

ABSTRACT: This study was undertaken to investigate the differentiation, from spore germination to hyphae growth and phialide formation, of *Aspergillus niger* through the method of synchronous and submerged culture. Through continuous experiments by shake culture with potassium acetate medium, we observed the formation of spores at appropriate concentration and pH. Potassium acetate medium was set pH 5.5, 6.0, 6.5 and 7.0 on each scale, and control, 20 mM, and 40 mM, 80 mM and 160 mM concentrations on the other scale. *Aspergillus niger* was cultured in the defined media at 28°C, and mycelial dry weight, changes of pH and the onset of sporulation were checked. The mycelial dry weight, increased in potassium acetate medium, and pH increased during mycelial growth and gradually decreased after the spore formation. When pH increased excessively in Potassium acetate medium with pH 7.0, the mycelia could not adapt and mycelial dry weight decreased gradually. At pH 5.5, the onset of sporulation was done within one day at 20 mM it took, at 80 mM three days and at 160 mM concentration. in two days, at 40 mM one to four days were taken, 80 mM concentration respectively. At pH 6.5, the onset of sporulation was done in three days and four days at 80 mM concentrations respectively. Spore formation was not shown at pH 7.0. In controlled medium with all levels of pH, spore formation was not shown.

KEYWORDS: *Aspergillus niger*, Sporulation, Acetate.

Brock 및 Smith(1979)는 미생물은 유기산을 탄소원이나 전자공여체로 이용한다고 하였다.

Lehninger(1982)는 TCA 회로는 미생물에 공통적으로 존재하며 탄소수 4, 5 및 6개인 유기산을 TCA 회로의 효소를 이용하여 탄소원이나 전자공여체로 이용한다고 하였다. 그러나 탄소수가 2개나 3개인 유기산은 TCA 회로 단독으로는 이용하기가 불가능하며 아세트산염을 탄소원으로 이용할 때는 글리옥실산염 회로와 당 신생작용을 이용하여 글루코오스를 합성하여 이를 탄소원으로 이용한다고 하였다.

Elisabeth, Martha 및 Ernst(1982)는 미생물은 성장에 있어서 glucose나 fructose 같은 해당작용에

이용되는 탄소원이나 아세트산염, ethanol 및 pyruvate 같은 당 신생작용에 이용되는 탄소원을 사용한다고 하였다. 또 Haarasilta, Oura(1975), Maxon, Johnson(1953), Polakis 및 Bartly(1965)는 *Saccharomyces cerevisiae*는 acetate, ethanol 및 glucose를 단일 탄소원으로 이용하여 성장할 수 있다고 하였다. Martha, Andreas, Elisabeth 및 Ernst(1980)는 glucose를 탄소원으로 하여 지수적 성장을 하던 *Saccharomyces cerevisiae*를 아세트산염 배지에 옮기면 일정시간이 지난 후 성장을 재개한다고 하였으며 이 적응기간 동안 glucose의 당 신생작용 효소들에 대한 catabolite repression이 해제되면

서 당 신생작용 효소들이 합성되어 아세트산염을 탄소원으로 이용할 수 있게 된다고 하였다. 또 glucose나 fructose 존재하에 질소나 인을 제한 할 때 포자를 형성하지 않으며 이는 glucose의 포자형성 억제작용과 mitochondria나 당 신생작용 효소같은 세포구성물에 대한 catabolite repression에 기인한 것이라고 하였다.

Elisabeth 및 Martha (1982)는 미생물의 포자형성이 a/m 세포에서 일어나며 내부의 탄소원만으로는 포자형성이 일어나기 힘들고 대사산물의 생성, ATP의 재생산을 위해서는 외부의 탄소원을 필요로 하게 된다고 하였다. 이 때 탄소원은 ATP를 유지하고 감수분열과 포자형성에 필요한 거대분자를 합성하는 데 이용된다고 하였다.

아세트산염은 포자형성 배지로 다른 탄소원보다 선택적으로 사용되는데 이는 다른 탄소원보다 아세트산염이 특정 역할을 나타내기 때문은 아니며 세포내로 들어가서 대사되는 비율이 포자형성에 적당하기 때문이라고 하였다. 그리고 이 때 아세트산염은 당 신생작용을 통해 탄소원으로 이용된다고 하였다.

대부분의 영양분은 미생물의 세포내로 활발히 수송되기 때문에 세포외의 영양분은 미생물이 성장함에 따라 점차 감소하여 성장은 중지하게 되고 또 포자형성도 일어날 수 없게 되므로 세포가 느린 성장만을 할 수 있도록 세포 내외의 농도가 낮을 때 포자형성이 잘 일어난다고 보았다. Mills (1972)는 acetate는 pH가 6.0 이상으로 될 때 세포내로 수송되는 분자수가 감소하게 되고 pH가 6.0 이하로 될 때 세포내로 수송되는 분자수가 증가하게 되어 단백질합성과 rRNA의 processing이 증가하게 되어서 포자형성에 적합하게 된다고 하였다. 또 Wejknora, Haber 및 Fowell (1976, 1967)은 *Saccharomyces cerevisiae*는 pH 7.0 이하에서는 포자형성을 하지 않는다고 하였으나 근래의 실험을 살펴보면 pH 5.5~7.0 사이의 아세트산염 배지에서 포자형성이 잘 일어남을 알 수 있다.

아세트산염 배지에서 곰팡이를 배양해 보면 배지의 pH가 점차 증가하는 것을 볼 수 있는데 McCusker 및 Haber (1977)는 pH가 증가하는 이유를 세포의 호흡과 질소 고갈로 인한 것이라고 간주하였다. 아세트산염 배지에서의 pH증가는 포자형성에 특이적인 과정은 아니나 포자형성이 일어나는 데 필요하다고 하였다.

Mills (1972)는 아세트산염 배지의 pH가 6.0 이하

로 될 때 세포내로의 분자수송이 활발하게 되어 포자형성이 활발해진다고 하였다.

Hopper, Magee, Welch, Friedman 및 Hall (1974)은 아세트산염 배지에서 포자를 형성하는 동안 새로운 단백질이 합성된다고 하였다. 또 질소나 인을 포함하는 화합물도 포자형성시에 이용된다고 하였으며 이는 아미노산이나 allantoin같은 단순전구체로 부터 합성하거나 polyphosphate, RNA, protein같은 거대분자를 전환시키거나 하여 합성한다고 하였다.

材料 및 方法

실험재료

Aspergillus niger van Tieghem (IMI 41873) 균주를 실험에 사용하였다.

배 지

1) 감자 글루코오스 사면배지 (Potato glucose slant agar)

감자 60g을 쥌 후 껍질을 벗기고 마쇄한 후 물 200 ml를 가하였다. 여액에 포도당 4g, 한천 3g을 넣고 끓인 후 고압멸균 하였다. 이것을 20 ml의 건열멸균한 시험관에 5 ml씩 나누어 담고 솜마개를 하여 균한 후 4°C에 보관하였다.

2) 진탕배양 배지 (Shake culture medium)

A배지로는 기초 무기염류 용액 (Basal minerals) 2 ml, 황산암모늄염 792 mg, 글루코오스 4g을 증류수에 녹여 전체량을 200 ml가 되도록 한 후에 1N 염산을 사용하여 pH 2.3으로 정확히 조정하였다. 이와 같이 제조한 배지를 250 ml 삼각플라스크에 50 ml씩 넣고 솜마개를 한 다음 고압멸균을 하였다. 기초 무기염류 용액의 조성은 표 1과 같으며 A배지의 조성

Table I. Components of basal minerals for the liquid media.

Components	Contents
KH_2PO_4	100(g)
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25
$\text{CuSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	0.0234
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.632
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.11
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.35
CaCl_2	4.67
Distilled Water	1(l)

Table II. Components of liquid medium for shake culture.

Components	
Basal Mineral	2 ml
(NH ₄) ₂ SO ₄	792 mg
Glucose	4000 mg
Distilled water	198 ml
pH	2.3

Table III. Components of two liquid media for submerged culture.

Components	B medium	C medium
Basal Minerals	10 ml	10 ml
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.66 g	1.98 g
Glucose	10.0 g	
Citric acid		12.6 g
Polypropylene glycol (p-200)	1.0 ml	1.0 ml
Distilled water	900 ml	900 ml
pH	4.6	4.6

은 표 2와 같다.

3) 액침배양 배지(Liquid medium for Submerged culture): 액침배양 배지는 동조배양을 위하여 2종류의 배지를 조제하였다(Anderson 및 Smith 1971) 조제된 것은 고압멸균 하였으며 그 배지의 조성은 표 3과 같다.

B배지는 저질소 배지(Low nitrogen medium)로 기초 무기염류 용액의 10배 농축액을 100 ml 넣고 황산암모늄염 0.66g(5 mM), 글루코오스 10g을 가한 다음 증류수로써 1000 ml가 되게 하고 pH 4.6으로 조절하였다.

C배지는 시트르산과 황산암모늄염이 들어간 배지(Citrate-ammonium)이며 10배 농축된 기초 무기염류 용액 100 ml를 넣고 황산암모늄염 1.98g(15 mM), 시트르산 12.6g(60 mM)을 넣은 다음 증류수로 1000 ml가 되게 하고 5 N 수산화나트륨을 사용하여 pH 4.6으로 조절하였다. 이들 B 및 C배지를 배양용기[Jar fermenter (용량 1l)]에 넣은 다음 고압멸균하였다. 소포제인 P-200은 따로 멸균하여 배양 전에 무균적으로 균체와 같이 넣어주었다.

4) 아세트산염을 이용한 배지 및 그 기초배지 pH 5.5, 6.0, 6.5 및 7.0이 되도록 만든 Tris(hydroxymethyl) aminomethane-maleate Buffer 1l에 Yeast Nitrogen Base without amino acids(Difco Co.)를 각각 13.4g을 가하여 기초배지(이하 MN이라 칭함)를 만들며 Yeast Nitrogen Base without Amino Acids의 조성은 표 4과 같다. 각 pH의 MN 25 ml를 넣은 250 ml 삼각플라스크에 증류수에 녹인 아세트산염을 동량 가하여 농도가 20 mM, 40 mM, 80 mM 및 160 mM이 되도록 한다. 그 조성은 표 5와 같다.

시 약

실험에 사용한 모든 시약은 GR급을 사용하였으며

Table IV. Yeast nitrogen base without amino acids.

Ingredients per Liter	Weight
Nitrogen Sources	
Ammonium Sulfate	5g
Vitamins	
Biotin	2 mcg
Calcium Pantothenate	400 mcg
Folic acid	2 mcg
Inositol	2000 mcg
Niacin	400 mcg
p-Aminobenzoic acid, Difco	200 mcg
Pyridoxine Hydrochloride	400 mcg
Riboflavine	200 mcg
Thiamine Hydrochloride	400 mcg
Compounds supplying trace elements	
Boric acid	500 mcg
Copper Sulfate	40 mcg
Potassium Iodide	100 mcg
Ferric Chloride	200 mcg
Manganese Sulfate	400 mcg
Sodium Molybdate	200 mcg
Zinc Sulfate	400 mcg
	1 g
Salts	
Potassium Phosphate Monobasic	1 g
Manganese Sulfate	0.5 g
Sodium Chloride	0.1 g
Calcium Chloride	0.1 g
Amounts of final medium from 100 g dehydrated medium	14.9l

Table V. The composition of various potassium acetate media.

Components	Conc. of Potassium acetate				
	control	20 mM	40 mM	80 mM	160 mM
Yeast Nitrogen Base without Amino Acids	6.7 g	6.7 g	6.7 g	6.7 g	6.7 g
Potassium acetate	None	1.963 g	3.926 g	7.852 g	15.704 g
Buffer	1000 ml	1000 ml	1000 ml	1000 ml	1000 ml

기초 배지에 가한 Yeast Nitrogen Base without amino acids는 Difco Co. 제품을 사용하였다.

실험방법

1) 곰팡이의 배양

검정곰팡이의 분화단계를 관찰하기 위하여 Anderson과 Smith(1971)의 방법에 따라 다음과 같이 3단계로 동조배양하였다.

① 사면배양

계대배양된 검정곰팡이를 무균상태로 감자-글루코오스 사면배지에 접종하여 28°C에서 7일동안 항온배양하여 포자를 얻었다.

② 진탕배양

멸균증류수 5 ml를 무균상태에서 사면배양된 검정곰팡이에 붓고 백금으로 여러번 긁어서 포자와 균사의 현탁액을 얻고 이것을 미세공 유리거르개(Sintered glass filter)로서 가압하에 거르고 여액 1 ml를 A배지에 접종시켜 진탕배양하였다. 접종 후 30°C의 진탕배양기내(120 strokes/min)에서 48시간 동안 배양하여 포자를 받아서키고 균등한 연령의 균사를 얻었다.

③ 액침배양

진탕배양 결과 얻어진 균사들을 취하여 미리 멸균된 나이론제 치즈 크로스(cheese cloth)로써 걸러내었다. 거르는 동안 멸균증류수로 2회 세척하고 멸균된 스파틀라로 떠서 750 ml의 배지가 들어있는 B배지에 접종하였다. 접종된 균사의 무게는 압착상태로서 2.0g이었다. 소포제 P-200을 첨가하고 배양용기(Jar fermenter)를 고정시킨 후 640 rpm의 교반속도가 되도록 타코미터(Tachometer)를 사용하여 회전속도를 조절하였다. 온도는 물중탕 속에 배양조가 1/3 정도 잠기게 조정하여 30°C에서 배양하였다. 항온기 내에서는 별도로 교반기를 설치하였다. 배양용기내에 있는 통기관의 노즐(Air sparger)을 통하여 공기를 공급하였으며 통기는 기포발생기(Diaphragm)

을 사용하였으며 통기량은 유량조절계(Air flow meter 3 l/min 용량)를 사용하여 조절하였다. 접종 후 14시간까지는 25 ml/min로 하고 그 이후 17시간 동안은 380 ml/min가 되도록 공기를 주입하였다. 총 36시간이 경과한 후에 성숙된 균사를 현미경으로 관찰한 후 거른 다음 멸균증류수로 2회 세척하여 위에서와 같이 압착 균체량 2.0g을 C배지 750 ml에 접종하였다.

여기에 소포제 P-200을 1 ml 첨가하고 배지량의 1/2에 해당하는 공기(380 ml/min)를 공급하면서 30°C에서 24시간 동안 배양하였다.

1) 아세트산염 배지에서의 곰팡이의 포자형성 실험

1-c의 액침배양 결과 얻어진 균사들을 취하여 여과하고 멸균증류수로 2회 세척한 다음 멸균한 스파틀라로 떠서 미리 제조하여 고압멸균해 놓은 아세트산염 배지에서 접종하였다. 이 때 배지는 250 ml 삼각플라스크에 50 ml를 넣었다.

접종 후 플라스크를 진탕배양기에 고정시킨 후 30°C에서 1분 동안 왕복 120회 속도로 4일 동안 배양하면서 매 24시간마다 균체량, pH 및 포자형성개시유무를 현미경으로 측정하였다.

2) 아세트산염에서의 곰팡이의 균체량의 측정 및 pH측정 실험

미리 무게를 칭량해 둔 나이론제 치즈크로스로서 배양물을 여과하여 균체를 얻고 증류수로 2회 세척하여 항온건조기 내에서 85±1°C로 8시간 동안 건조시켰다. 건조기에서 한 시간 동안 보관 후 건조량을 화학천칭으로 0.1mg 단위까지 정확히 칭량하였다. 또 대조구, 20 mM, 40 mM, 80 mM 및 160 mM의 농도가 되게 한 아세트산염 배지를 pH 5.5, 6.0, 6.5 및 7.0인 경우에 대하여 각각 24시간마다 배지의 pH 변화상태를 측정하고 현미경으로 포자형성개시유무를 관찰하여 그 시간을 측정하였다.

結果 및 考察

곰팡이의 성장

배지조성을 A, B 및 C의 3단계로 나누어 주면서 일정한 조건에서 배양하였을 때 생활사의 형태를 균일하게 나타내었다.

사면배지에서 배양된 포자를 취하여 A배지에서 48시간 동안 진탕배양하였을 때 배양 초기에 포자의 팽창이 일어났으며, 중기에는 발아가 일정하게 일어났다. 또한 후기에는 발아된 균사가 균일하게 성장하기 시작하였다.

A배지에서 배양한 균체를 B배지에 옮겨 36시간 동안 배양하였을 때 균사의 성장이 왕성하였으며 영양균사 외에 격벽이 없는 생식균사인 포자병(Conidiophore)이 출현하다.

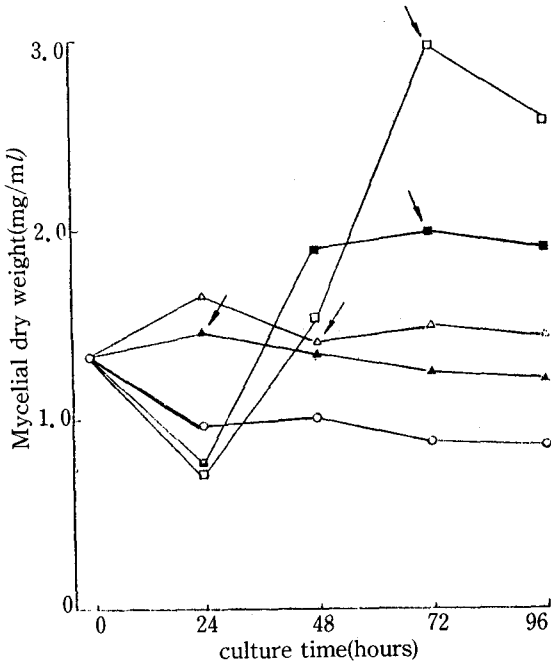


Fig.1. Changes of Mycelial dry weight in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 5.5).

- : Mycelial dry weight in controlled medium
- ▲-▲: Mycelial dry weight in 20 mM Potassium acetate medium
- △-△: Mycelial dry weight in 40 mM Potassium acetate medium
- : Mycelial dry weight in 80 mM Potassium acetate medium
- : Mycelial dry weight in 160 mM Potassium acetate medium
- ←: Onset of Sporulation

B배지에서 배양시킨 균체를 C배지에 옮겨 24시간 동안 배양하였을 포자병으로 부터 정낭(Vesicle)과 제 1경자 및 제 2경자(Phialide)가 형성되었다.

C배지에서 배양시킨 균체를 농도와 pH가 적당한 아세트산염 배지에 옮겨 일정시간 동안 배양하였을 때 포자가 형성되었다.

아세트산염 배지에서의 균체량 및 포자형성 상태

아세트산염 배지내의 탄소원이 곰팡이의 포자형성에 미치는 영향을 알기 위해 표 5의 배지를 사용하여 검정곰팡이를 28°C에서 4일 동안 진탕배양하면서 24시간마다 현미경을 사용하여 포자를 형성하는지를 관찰하였다. 이 때 pH를 변화시킨 배지가 곰팡이의 포자형성에 어떤 영향을 미치는지를 알고 또 배지내의 pH변동이 포자형성과 어떤 관계가 있는지 알기 위해 각 pH의 배지에서 곰팡이의 포자형성 유무와 그 개시 시간, pH 변동상황 및 균체량을 측정하였다.

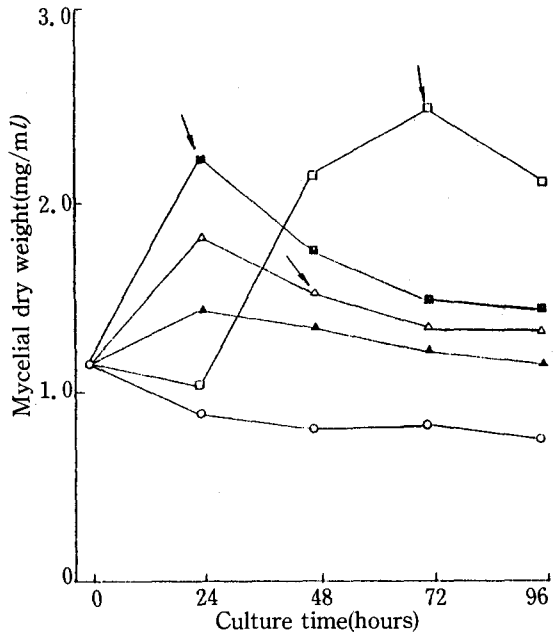


Fig.2. Changes of Mycelial dry weight in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 6.0).

- : Mycelial dry weight in controlled medium
- ▲-▲: Mycelial dry weight in 20 mM Potassium acetate medium
- △-△: Mycelial dry weight in 40 mM Potassium acetate medium
- : Mycelial dry weight in 80 mM Potassium acetate medium
- : Mycelial dry weight in 160 mM Potassium acetate medium
- ←: Onset of Sporulation

pH 5.5, 6.0, 6.5 및 7.0으로 맞춘 대조구, 농도 20 mM, 40 mM, 80 mM 및 160 mM의 아세트산염 배지에서 96시간 동안 배양하였을 때 pH 5.5의 아세트산염 배지에서는 농도가 20 mM일 때 1일만에, 40 mM일 때는 2일만에, 그리고 80 mM일 때 3일만에, 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었다(Fig. 1 참조).

또 pH 6.0일 때는 40 mM일 때 2일만에, 80 mM일 때 1일만에, 160 mM일 때 3일만에 포자가 형성되었다(Fig. 2 참조).

pH 6.5일 때는 80 mM일 때 3일만에, 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었다(Fig. 3 참조).

pH 7.0일 때는 모든 농도의 아세트산염 배지에서 포자가 형성되지않고 시간이 지날수록 균체량은 점차 감소했다(Fig. 4 참조).

포자를 형성한 이후의 균체량은 감소했으며 또 아세트산염 배지에 적응하기 전에 전일 때의 균체량도 감소했다. 또 각 아세트산염 배지에서 곰팡이를 배양할 때 pH는 점차 증가했으며 포자가 생성되고 나면 배지의 pH는 점차 감소하였다(Fig. 5, 6, 7, 8 참조).

검정곰팡이(*Aspergillus niger*)를 실험균주로 하여 A, B, C 및 아세트산염 배지로 구별되는 배지를 사용하여 탄소원과 질소원, 그 밖의 구성성분, 농도, 이들 각 배지의 pH, 배양시간, 진탕속도 및 산소공급량 등 여러가지 환경조건을 변화시키면서 그 분화과정을 인위적으로 조절하면서 포자형성까지의 생활사를 고찰하였다. A배지에서는 발아가 일어났으며 저질소 배지인 B배지에서는 포자형성이 그리고 시트르산과 황산암모늄염이 들어있는 C배지에서는 정낭과자의 형성이 동조적으로 일어났다. 또한 pH 5.5로

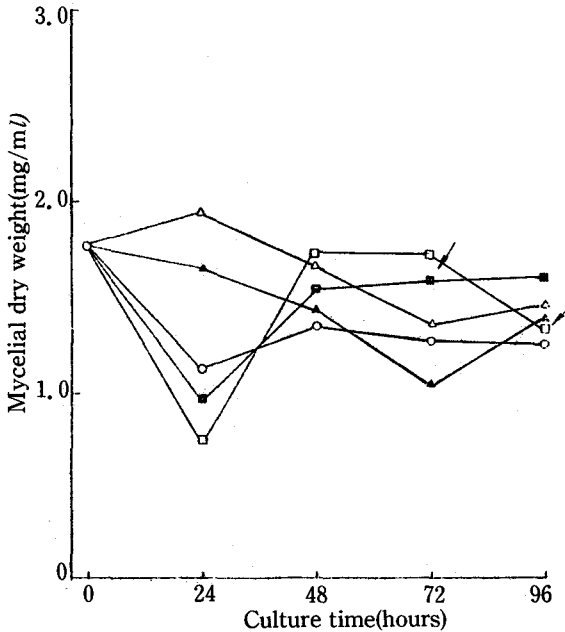


Fig.3. Changes of Mycelial dry weight in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 6.5).

○-○: Mycelial dry weight in controlled medium
 ▲-▲: Mycelial dry weight in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△: Mycelial dry weight in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■: Mycelial dry weight in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□: Mycelial dry weight in 160 mM Potassium acetate medium
 ←: Onset of Sporulation

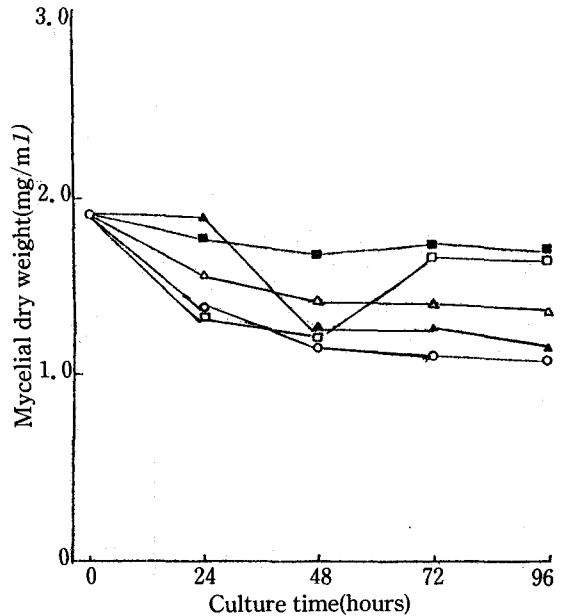


Fig.4. Changes of Mycelial dry weight in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 7.0)

○-○: Mycelial dry weight in controlled medium
 ▲-▲: Mycelial dry weight in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△: Mycelial dry weight in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■: Mycelial dry weight in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□: Mycelial dry weight in 160 mM Potassium acetate medium
 ←: Onset of Sporulation

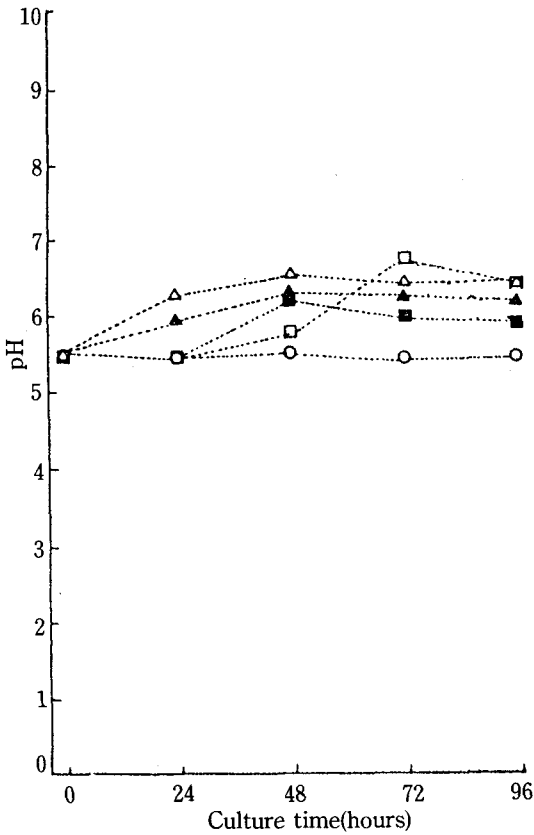


Fig.5. Changes of pH in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 5.5).

○-○ : change of pH in controlled medium
 ▲-▲ : change of pH in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△ : change of pH in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■ : change of pH in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□ : change of pH in 160 mM Potassium acetate medium

조절한 아세트산염 배지에서 그 농도가 20 mM일 때 1일, 40 mM일 때 2일, 80 mM일 때 3일, 160 mM 일 때 4일 이후 포자형성이 되었다. pH 6.0인 때는 그 농도가 40 mM일 때 2일만에, 80 mM일 때 1일 만에 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었고 pH 6.5일 때는 80 mM의 농도일 때 3일만에 그리고 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었다. pH 7.0의 배지에서는 각 농도의 배지에서 포자가 형성되지 않았으며 시간이 지날수록 균체량은 감소하였다.

Rosen 및 Kashket(1978)는 Acetat의 pK값은 4.76으로 pH 7.0에서 보다 pH 5.5에서 비극성분자가

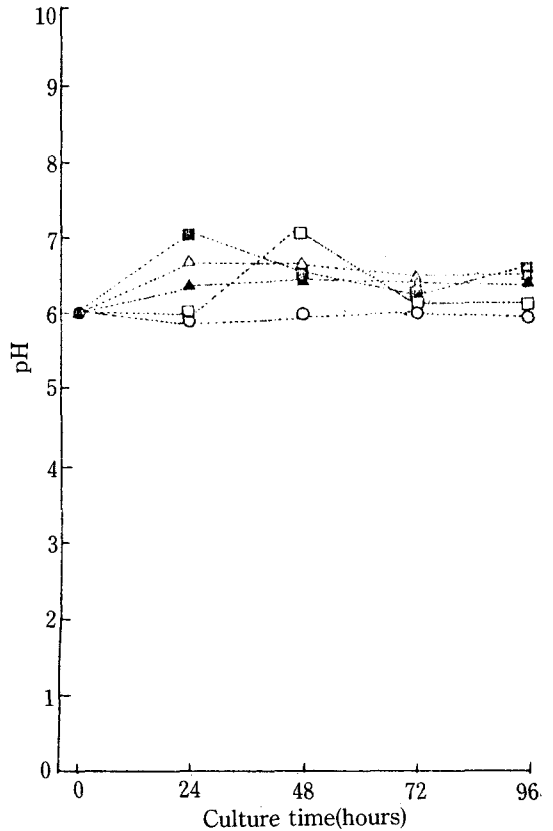


Fig.6. Changes of pH in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 6.0).

○-○ : change of pH in controlled medium
 ▲-▲ : change of pH in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△ : change of pH in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■ : change of pH in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□ : change of pH in 160 mM Potassium acetate medium

20배 이상 증가하는데 세포막은 중성분자가(-)로 하전된 분자보다 더 잘 통과하므로 pH가 증가할수록 세포내로 들어가는 Acetate 분자수는 감소하게 된다고 하였다. 아세트산염 배지의 pH가 6.0 이하로 되면 Acetate의 세포내 통과농도가 높아지므로 낮은 농도의 아세트산염 배지에서 포자형성을 잘하게 되며 pH 6.5 이상으로 하면 포자형성이 점점 안되게 되어 pH 7.0 이상으로 할 때 포자는 형성되지 않는다고 하였다. 이는 포자형성 배지의 pH증가가 포자형성에 필요하지 않다는 Mills(1972)의 보고와 일치하는 것이다. Martha, Andreas, Elisabeth 및

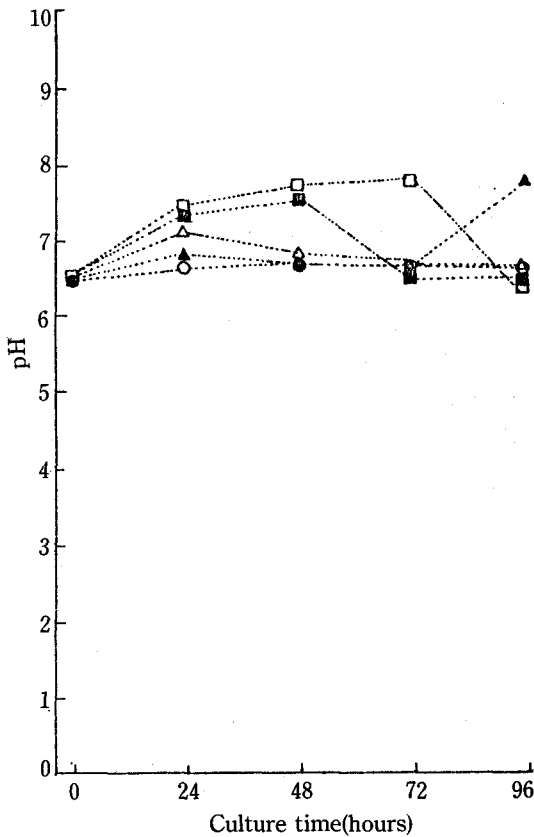


Fig.7. Changes of pH in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 6.5).

○-○: change of pH in controlled medium
 ▲-▲: change of pH in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△: change of pH in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■: change of pH in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□: change of pH in 160 mM Potassium acetate medium

Ermst(1980)는 Glucose에서 지수적 성장을 하던 *Saccharomyces cerevisiae*를 아세트산염 배지로 옮길 때 수일 동안 성장을 할 수 없으며 산소 소비와 ATP 농도는 급격히 감소하다가 일정시간이 지나야 ATP 농도와 산소 소비가 회복되어 성장을 재개할 수 있다고 하였다. 이 일정시간의 적응기간 동안 Glucose의 당 신생작용 효소들에 대한 Catabolite repression이 해제되면서 당 신생작용 효소들이 합성되어 Acetate를 탄소원으로 이용할 수 있게 된다고 하였다. 또 고농도의 Acetate는 ATP를 파괴하는

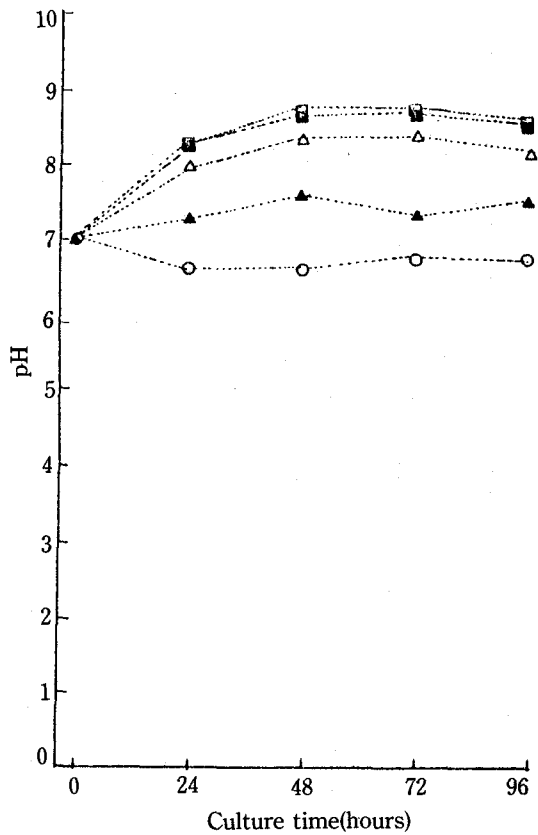


Fig.8. Changes of pH in culture of *A. niger* with various concentration of Potassium acetate medium(pH 7.0).

○-○: change of pH in controlled medium
 ▲-▲: change of pH in 20 mM Potassium acetate medium
 △-△: change of pH in 40 mM Potassium acetate medium
 ■-■: change of pH in 80 mM Potassium acetate medium
 □-□: change of pH in 160 mM Potassium acetate medium

작용이 있으므로 저농도의 아세트산염 배지에서 ATP가 오래 유지되어 세포가 적응하기 쉬워져서 빨리 성장을 재개하게 된다고 하였다.

摘 要

1. 검정곰팡이(*Aspergillus niger*)를 실험균주로 하여 동조적으로 액침배양한 결과 포자의 발아로부터 균사의 성장, 생식기관의 성숙 및 경자까지의 분화를 재현시킬 수 있었으며 그 다음의 아세트산염

배지에서 농도와 pH가 적절할 때 포자의 형성을 볼 수 있었다.

2. pH 5.5, 6.0, 6.5 및 7.0로 조절하고 각각 농도를 대조구, 20 mM, 40 mM, 80 mM 및 160 mM로 조절한 아세트산염 배지에서 검정곰팡이를 28°C의 온도로 4일간 진탕배양하면서 균체량과 pH변화, 포자개시 시간을 측정하였다. 아세트산염 배지에서 적응이 되면 균체량은 증가하였으며 성장이 진행되면서 pH가 증가하다가 포자가 형성되면 pH는 감소하였다. pH 7.0의 아세트산염 배지에서는 균이 적응할 수 없고 pH 증가가 너무 지나치게 되어 균체량은 점차 감소하였다.

또 포자형성개시 시간은 pH 5.5의 아세트산염 배지에서는 그 농도가 20 mM일 때 1일, 40 mM일 때 2일, 80 mM일 때 3일, 160 mM일 때 4일이 소요되었으며 pH 6.0의 아세트산염 배지에서는 그 농도가 40 mM일 때 2일만에, 80 mM일 때 1일만에, 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었다. 또 pH 6.5의 아세트산염 배지에서는 80 mM의 농도일 때 3일만에, 160 mM일 때 4일만에 포자가 형성되었고 pH 7.0의 아세트산염 배지에서는 포자가 형성되지 않았다.

모든 pH의 아세트산염 배지에서 대조구에서는 포자가 형성되지 않았다.

參考文獻

- Anderson, J.G. and Smith, J.E.(1971): Synchronous initiation and maturation of *Aspergillus niger* conidiophore in culture. *Trans. British Mycol. Soc.* **56**,(1): 9-29.
- Brock, T.D., Smith, D.W. and Madigan, M.T.(1979): *Biology of Microorganisms*. New Jersey: Prentice-Hall.
- Elisabeth, B.F., Martha, I.C. and Ernst, F.(1982): Initiation of Yeast sporulation of Partial Carbon, Nitrogen or Phosphate Deprivation. *J. of Bacteriology* **149**: 840-842.
- Fowell, R.R.(1967): Sporulation and hybridization of yeast, *The Yeast*, Vol.I, eds. A.H. Rose and J. S. Harrison, New York: *Academic Press Inc.*:303-383.
- Harasilta, S. and Oura, E.(1975): on the activity and regulation of anaplerotic and gluconeogenic enzymes during the growth process of Baker's yeast. *The Biphastic growth European J. of Biochemistry*: **52**: 1-7.
- Hopper, A.K., Magee, P.T., Welch, S.K., Friedman, M. and Hall, B.D.(1974): Macromolecule synthesis and breakdown in relation to sporulation and meiosis in yeast. *J. Bacteriol.* **119**: 619-628.
- Lehninger, A.L.(1982): *Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publisher.
- Maxon, W.D. and Johnson, M.J.(1953): Aeration studies on Propagation of Baker's yeast. *Industrial and Engineering Chemistry* **45**: 2554-2560.
- Martha, I.C., Andreas, H., Elisabeth, B.F. and Ernst, F.(1980): Adaptation of *Gluco-green Saccharomyces cerevisiae* to Gluconeogenic Growth and Sporulation. *J. of General Microbiology* **125**: 421-430.
- McCusker, J.H. and Haber, J.E.(1977): Efficient sporulation of yeast in media buffered near pH 6. *J. Bacteriol.* **132**: 180-185.
- Mills, D.(1972): Effects of pH on adenine and amino acid uptake during sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol* **112**: 519-526.
- Polakis, E.S. and Bartly, W.(1965): Changes in the enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae* during growth on different carbon sources. *Biochemical J.*:**97**:284-297.
- Rosen, B.P. and Kashket, E.R.(1978) : Energetics of active transport. *Bacterial transport* **4**:559-620.
- Wejknora, P. and Haber, J.E.(1976): Influence of pH on the rate of ribosomal irbonucleic acid synthesis during sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol* **127**: 128-134.

Accepted for Publication 2 November