

Neurospora 의 生育時期에 따른 呼吸能의 變化와 紫外線 感受性과의 相關關係

李 永 祿
(高麗大學校·生物學科)

(1963. 11. 25 受理)

ABSTRACT

LEE, Yung Nok (Dept. of Biology, Korea University) Changes in respiratory activity and the sensitivity to ultraviolet light of *Neurospora* cells at different growing stages. Kor. Jour. Bot. VI (4): 1-4, 1963.

Using conidia of *Neurospora*, changes in respiratory activities and the sensitivity to the ultraviolet light of the cells at different growing stages were measured by manometric methods, and the correlation between them was observed. Efficiency in the utilization of various carbon sources, such as, glucose, sucrose, maltose, starch and sodium acetate, in growth and exogenous respiration of *N. crassa* was also determined.

Growth rate of *N. crassa* was decreased considerably in the medium containing sodium acetate than in the glucose medium and was almost zero in the lactose medium, whereas the utilization of sucrose, maltose and starch was very high, as that of glucose. Respiratory activities of the cells varied considerably depending upon their different growing stages. Actively growing hyphae exhibited the greatest activity in exogenous glucose respiration, followed by germinating and activated conidia in decreasing order.

There was no proportional relationship between the dose of ultraviolet light irradiated and its effect on the respiratory activity of the cells, though the more the dose of ultraviolet light, the more the injury. The sensitivity of the cells to ultraviolet light varied with the different respiratory activities of the cells linked to the developmental stages. In general, the more actively growing cells having high respiratory activities exhibited the more serious injury.

緒 論

細胞의 生理的 諸活性이 發育時期에 따라 어떻게 變化하며, 同一한 外的要因에 대한 여러가지 細胞의 感受性의 差가 이러한 生理的 活性의 變化와 어떠한 關係를 가지고 있는가 하는것은 극히 흥미있는 일이다.

本研究는 *Neurospora* 의 conidia 를 發芽시켜 細胞의 發育時期에 따른 呼吸能의 變化를 測定하고 同一線量의 紫外線에 대한 그 反應差를 測定하여 이들의 關係性을 調査코져 한것이다. 또한 生長 및 呼吸에 미치는 glucose, sucrose, maltose, starch, lactose 그리고 Na-acetate 등 여러가지 炭素源의 効用性을 比較하고 그 結果를 아울러 報告한다.

材料 및 方法

Neurospora crassa 의 conidia 를 1 管 2.0 g NH_4NO_3 , 0.02 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.0 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g CaCl_2 및 0.1 g NaCl 를 含有하는 無機培地에 5.0 μg biotin 및 炭素源 20.0 g 를 加한 培養液으로 培養하였다. 生長實驗에 使用한 炭素源은 glucose(基本培地), starch, sucrose, maltose, lactose, Na-acetate 등이다.

發芽의 始初와 培養의 中間期에 一定量의 細胞를 遠心分離로 收穫하여 두번 씻은 후 각각 그 呼吸能을 測定토록 하였다. 呼吸能의 測定은 manometric method 에 依據하였는데 reaction chamber 의 組成은 main reaction chamber 에 phosphate butter (pH 7.0) 1.3 ml. 및 cell suspension 0.3 ml. 를 加하고 central wall 에 20% KOH 0.2 ml., side arm 에 0.15 M 의 substrate 0.4 ml. 를 加하여 最終濃度 0.03 M 가 되게 하였다. 反應은 30°C 에서, one vessel method 로 測定하였다.

紫外線の照射는 Matzuda's germicidal lamp (2537 Å)를 사용하여 前實驗⁽³⁾에서와 같은 방법으로 行하였으나 線源材料間の 距離는 30 cm 이였고 照射時의 細胞濃度는 0.25 ml/ml 이였다. 照射期間中 細胞는 暗處에 維持하여 可視光線에 依한 photoreactivation^{(1), (2)}을 最少限으로 抑制하였다.

結 果

Neurospora 의 生長에 미치는 여러가지 炭素源의 效果를 Fig. 1에 표시한다. Fig. 1에서 보는바와 같이 lactose, Na-acetate를 除外한 glucose, sucrose, maltose, starch 등은 모두 効果的인 炭素源으로 生長에 利用이 되었는데 glucose는 lag phase를 현저히 短縮시켰으며 starch는 一定한 lag phase가 경과한 후 急速한 生長率을 보였다.

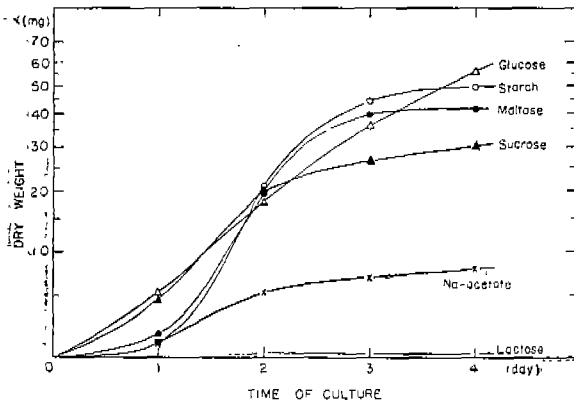


Fig 1. A comparison of utilization of several carbohydrates in the growth of *Neurospora crassa*.

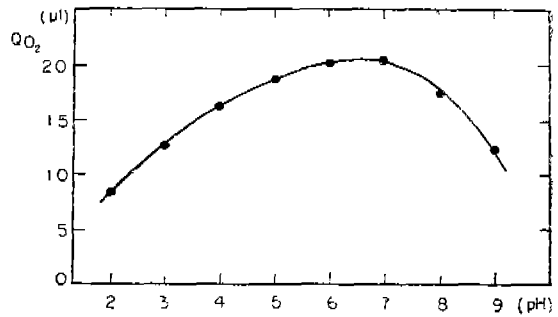


Fig 2. Influence of pH on the endogenous respiration of 20 hrs-old hyphae.

그러나 Na-acetate에서는 生長이 현저히 뒤떨어졌고 lactose media에서는 거의 生長하지 않았다.

conidia를 基本培地에 接種한 후 約 20時間이 경과한 hyphae의 endogenous respiration에 미치는 pH의 영향을 調査한 結果는 Fig 2와 같다. Fig 2에서 보는 바와같이 呼吸에 關與하는 酵素群의 總括的인 最適 pH는 約 7.0이다.

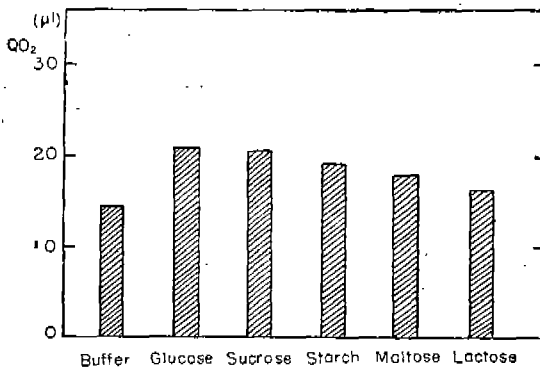


Fig 3. A comparison of effects of several sugars on the endogenous respiration of 20 hrs-old hyphae. (buffer indicates endogenous respiration).

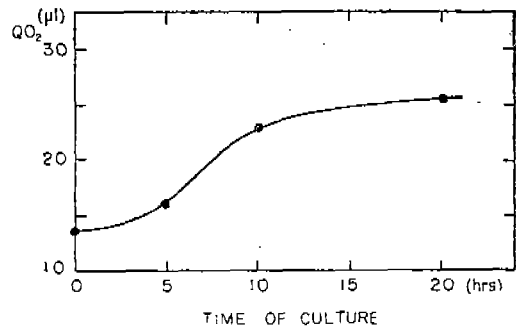


Fig 4. Exogenous glucose respiration of *Neurospora crassa* at different growing phase.

Fig 3.은 20 hrs-old hyphae의 endogenous respiration과 여러가지 다른 呼吸基質을 使用한 exogenous respiration을 比較한 것이다. lactose respiration은 endogenous respiration과 比較해서 別로 큰 差異가 없었

고 大體로 生長에 效果的으로 쓰인 物質은 좋은 呼吸基質이 되었다.

conidia 를 基本培地에 接種하여 發芽의 始初와 培養의 中間期에 一定量의 細胞를 收獲하여 그 glucose respiration 을 測定한 結果 Fig. 4에서 보는 것 처럼, exogenous respiration 은 細胞의 發育狀態에 따라 크게 달랐다. 即 呼吸能은 activated spore 에서 가장 낮고, 그 다음이 germinating spore(培養時間, 5 hrs.) 10 hrs-old hyphae, 20 hrs-old hyphae 의 順으로 점차로 높아 졌다.

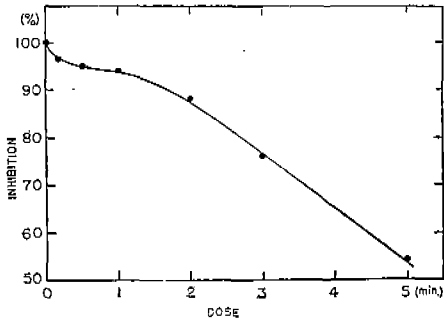


Fig 5. Effect of ultraviolet light on the glucose respiration of *Neurospora crassa*. (measured for 3 hrs.)

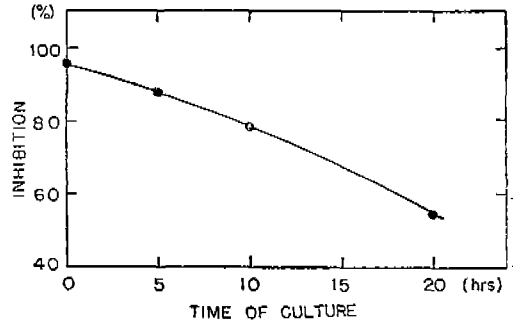


Fig 6. Difference in ultraviolet light sensibility of *Neurospora* cells at their different growing stages. Each cell were irradiated with same dose (5 min.) of ultraviolet light and respiratory activities were measured for 10 hours, respectively.

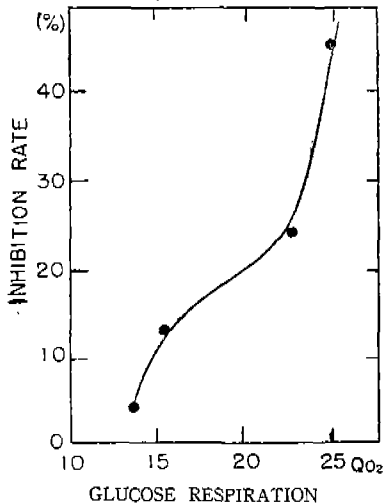


Fig 7. Correlation between respiratory activity of the cells and its inhibitory rate caused by equal dose of ultraviolet light irradiation.

基本培地에서 生育시킨 20 hrs-old hyphae 에 紫外線을 照射하여 呼吸能에 미친 線量, 效果關係를 Fig 5에 표시 하고, 同一 線量으로 照射된 細胞의 發育時期에 따른 感受差를 Fig. 6에 표시한다. Fig. 5에서 보는 것처럼 照射된 紫外線의 線量이 크면 클수록 呼吸의 抑制率도 大體로 커졌으나 γ -線의 效果⁽⁴⁾처럼 엄격히 正比例하지는 않았다. 또한 同一 線量에 대하여도 細胞의 生理的 狀態에 따라 그 感受差는 달랐는데 Fig 4와 Fig. 6에서 보는 것 처럼 紫外線에 對한 細胞의 感受性은 가장 旺盛한 呼吸率을 보인 hyphae에서 가장 銳敏하고 그 다음이 germinating conidia, dormant conidia 의 順이었다.

細胞의 呼吸能이 다른 각각 그 發育時期를 달리하는 細胞가 같은 線量의 紫外線에 照射되었을 때 나타내는 呼吸能(Q_{O_2})과 紫外線에 의한 그 抑制效果와의 相關關係를 Fig. 7에 표시한다. 一般으로 細胞의 呼吸能이 크면 클수록 紫外線에 의한 抑制率도 커서 보다 甚한 障害를 나타내었고 Q_{O_2} 가 어떤 限界值를 넘어서 더욱 增加할 때 그에따른 抑制率의 增加는 急激히 上昇하였다.

考 察

本 研究에서 *N. crassa* 는 lactose media 에서는 거이 生長하지 못하였고 endogenous respiration 과 exogenous lactose respiration 間에는 큰 差異가 없었다. 따라서 本 研究에서 使用한 *N. crassa* 의 菌株에는 lactose 의 加水分解酵素, lactase 가 없는 것으로 生覺되며 萬若에 存在한다 하더라도 그 activity 는 아주 적은 것으로 믿어진다. 그러나 starch, sucrose, maltose 등이 生長 및 exogenous respiration 에서 glucose 와 비슷한 効

果를 나타내었다는 것은 이러한 糖類의 加水分解酵素 即 amylase, sucrase, maltase 등이 試供한 苗株에 풍부히 存在한다는 것을 뜻한다.

B.T. Lingappa and A.S. Sussman⁽⁵⁾ 등은 *Neurospora tetrasperma*의 ascospore에서 alc. sol. carbohydrate의 量은 ascospore가 activate된 후 2~6時間동안에 急激히 減少된다고 하였는데 이것은 그후의 呼吸能의 減少를 뜻하는 것은 아닌 것 같다. 即 本實驗에서 測定한 細胞의 發育狀態에 따른 exogenous respiratory activity의 變化는 germinating spore에서 보다도 培養時間이 경과함에 따라 20 hrs-old hyphae에서 더 增大하였다. 이것은 conidia의 發育過程에서 dehydrogenase 및 aldolase activity가 계속적으로 增大한다⁽⁷⁾는 事實과 잘 부합된다.

放射線에 對한 細胞의 感受性은 細胞가 가장 活潑한 活動을 하고 있을때가 가장 銳敏한 것으로 一般적으로 믿어지고 있는데 紫外線에 대한 感受性은 germinating conidia에서 보다 growing hyphae에서 더욱 銳敏하였다. 따라서 呼吸能과 紫外線에 對한 그 感受差의 比較로 *N. crassa*는 germinating conidia보다도 growing hyphae에서 더욱 活潑한 生理的 活動을 하고 있는 것으로 生覺할 수 있고 一般적으로 細胞의 呼吸能이 旺盛할 때에 보다 甚한 紫外線 障害를 받는다는 것을 알 수 있다.

摘 要

1. *Neurospora*의 生長 및 呼吸에 미치는 glucose, sucrose, maltose, starch, lactose, Na-acetate 등 여러가지 炭素源의 効用性を 比較하고, conidia의 發育時期에 따른 細胞의 呼吸能의 變化와 紫外線에 對한 그 感受差를 測定하였다.

2. glucose, sucrose, maltose starch 등은 모두 効果的인 炭素源으로 *Neurospora*의 生長에 利用되었으나 Na-acetate에서는 生長이 遲鈍어졌고 lactose media에서는 거의 生長하지 않았다. glucose는 lag phase를 현저히 단축시켰으며 starch는 一定한 lag phase가 경과한 후 急速한 生長률을 나타내었다.

3. 呼吸能은 細胞의 發育時期에 따라 현저한 差를 나타내었는데 exogenous glucose respiration은 growing hyphae에서 가장 크고 그 다음이 germinating conidia, activated conidia의 順이 있다. lactose media에서는 거의 生長하지 않는다는 點과 exogenous lactose respiration은 endogenous respiration과 큰 差가 없었던 것으로 보아 試供한 *N. crassa*의 苗株에는 lactase가 缺如되었거나 存在하더라도 그 activity는 아주 적은 것으로 生覺되었다.

4. 呼吸에 미치는 紫外線의 線量效果關係는 線量이 增加함에 따라 呼吸能의 抑制率도 커졌으나 正比例하지는 않았고 同一한 線量에 대해서도 細胞의 生理的 狀態에 따라 그 程度가 달랐다. 大體로 呼吸能이 큰 細胞일 수록 더욱 甚한 障害를 받았다. 即 細胞의 感受性은 가장 旺盛한 呼吸을 하고있는 hyphae에서 가장 컸고 그 다음이 germinating conidia, dormant conidia의 順이었다.

文 獻

1. BENZER, L.L., 1954. On the mechanism of photoreactivation of ultraviolet light inactivated bacteriophage. *Biochem. et Biophys. Acta.*, 15 (4), 471-474.
2. GOUCHER, C.R., WALDMAN D.A. and W. KOCHOLATY, 1955. Photoinactivation and photoreactivation of constitutive and adaptive respiratory system of *Azotobacter*. *J. Bacteriol.*, 69 (6), 703-705.
3. _____, KAMEI I. and W. KOCHLATY, 1956. Ultraviolet inactivation and photoreactivation of *Azotobacter*. *ibid.*, 72 (2), 184-185.
4. LEE, M.J. and LEE, Y.N., 1960. Effects of ultraviolet light and nucleic acid derivatives on the reproductive rate of *Azotobacter*. *Kor. J. Bot.*, 3 (2), 1-5.
5. LEE, Y.N., Effects of Cobalt-60 gamma-ray irradiation on the physiological and biochemical activities in *Chlorella*. unpublished.
6. LINGAPPA, B.T. and A.S. SUSSMAN 1959. Endogenous substrates of dormant, activated and germinating ascospore of *Neurospora tetrasperma*. *Plant Physiol.*, 34 (4) 466-472.
7. SASA T. 1961. Effects of ultraviolet light upon various physiological activities of *Chlorella* cells at different stages in their life cycle. *Plant & Cell Physiol.*, 2, 253-270.
8. ZALOKA, M., 1959. Enzyme activity and cell differentiation in *Neurospora*. *Am. J. Bot.*, 46 (7), 555-559.