

Cellulase 에 關한 研究

第 2 報 Cellulase 生成菌 Ku-3371, Ku-4383 菌株의 菌學的 性質

鄭 東 孝

建國大學校 食品加工科

(1969 年 1 月 30 日 受理)

Studies on Cellulase

Part. 2. The Physiological and Morphological Properties of the Cellulase producing Strains Ku-3371 and Ku-4383.

Dong Hyo Chung

Dept. of. Food Technology, Kon-Kuk University

(Seoul, Korea)

(Jan. 30, 1969)

Summary

In the previous paper, two strains of cellulase producing microorganism were isolated from night soil samples using shaking culture.

This report deals with the physiological and morphological tests carried out according to the methods of Toyama and Chung.

1. Two strains, Ku-3371 and Ku-4383 which should the best growth in Czapek's liquid medium, were identified as *Trichoderma viride*.

2. These strains grew the best at about 30°C and the optimum pH values of growth in Czapek's liquid medium was 4.0.

3. These mould strains utilized monosaccharide as its carbon source and can utilized sodium glutamate, peptone and nitrate form nitrogen but other inorganic nitrogen compound are unable to use as its nitrogen source.

緒 論

著者는 前報에서 Cellulase 生成菌을 분리한 결과 그 중 두 균주가 振盪培養으로도 Cellulase 생성이 강하였다.⁽¹⁾

本報에서는 本菌의 생리적 및 형태학적인 여러 성질을 실험한 결과 그 일부를 보고한다.

實驗 方法

1. 사용균주

저자가 분리한 菌株 즉 Ku-3371, Ku-4383 를 Czapek 寒天斜面 배양한 것을 실험에 사용하였다.

2. 생리적 검사

Czapek 寒天斜面培地에서 30°C, 10 일간 배양한 포자에 대하여 다음의 여러 성질을 관찰하였다.

2-1, 사멸온도 孢子懸濁液을 소정의 온도에서 30 분간 가열 처리 한 후 급냉하여 이것을 Czapek 寒天平面배지에 추가하여 30°C에서 5 일간 배양하고 그 번식의 우무를 관찰하였다.

2-2 생육 최적 pH; Czapek 액을 염산으로 pH 를 2.0 에서 7.0 로 조절하고 이것을 100 ml 드리 각 3 각후라스크에 300 ml 씩 添加하여 살균하였다. 여기에 3 白金耳의 포자를 접종하여 30°C에서 5 일간 靜置배양 후 그 발육菌蓋의 乾物量을 측정하였다.

2-3. 생육 최적온도; Czapek 액을 염산으로 pH 4.0 로 조절하고 이것을 위와 같이 접종하여 20°C에서 60°C 까지 5 일간 靜置배양 후 그 발육菌蓋의 乾物量을 측정하였다.

2-4. 탄수화물의 이용성; Czapek 배지의 설탕 대신에 여러 탄수화물을 같은 양 가하여 寒天斜面 배지(pH 4.0)를 만들고 여기에 포자를 접종하여 30°C에서 6 일간 배양하여 그 생육의 상태를 관찰

하였다.

2-5. 질소화합물의 同化性; Czapek 배지의 Na NO₃ 대신에 여러 질소화합물을 총질소로서 0.05% 되게 가하여 寒天斜面배지(pH 4.0)를 만들고 여기에 포자를 접종하여 30°C에서 6일간 배양하여 그 생육의 상태를 관찰하였다.

3. 형태학적 검사

常法에 따라서 검경하고, 각 기관의 형태와 크기를 측정하였다.

結果 및 考察

생리적 성질

表 I. 배지의 pH와 菌蓋發育量

배지의 pH	菌 株	포자의 着生	포자의 색	菌蓋重量(mg)
2.0	Ku-3371	-		20
	Ku-4383	-		30
3.0	Ku-3371	+	암녹색	150
	Ku-4383	+	"	170
4.0	Ku-3371	+	"	220
	Ku-4383	+	"	266
5.0	Ku-3371	+	"	160
	Ku-4383	+	"	185
6.0	Ku-3371	+	"	60
	Ku-4383	+	"	78
7.0	Ku-3371	+	"	12
	Ku-4383	+	"	16

1-3. 생육 최적온도; pH를 4.0로 조절한 Czapek 배지에 배양한 결과는 다음의 表 II와 같다.

表 II 생육온도와 菌蓋發育量

배양의 온도(°C)	菌 株	포자의 着生	菌蓋의 重量(mg)
20	Ku-3371	+	100
	Ku-4383	+	130
30	Ku-3371	+	220
	Ku-4383	+	266
40	Ku-3371	±	80
	Ku-4383	±	110
50	Ku-3371	-	5
	Ku-4383	-	5
60	Ku-3371	-	
	Ku-4383	-	

表 II와 같이 30°C에서는 포자를 완전히 着生하며 그 색은 녹색이었다. 그러나 30°C보다 저온의 경우도 포자를 着生하고 이 보다 고온의 경우는 포자를 착생하지 않았다.

1-1. 사멸온도; Ku-3371 균주의 포자는 65°C까지의 처리로는 번식이 가능하며 Ku-4383의 포자는 70°C의 처리로도 사멸되지 않고 번식된다. 이것으로 봐서 Ku-4383의 포자가 Ku-3371의 포자보다 내열성인 것을 알수 있다.

1-2. 생육 최적 pH; pH를 2.0에서 7.0까지 조절한 Czapek 배지에 배양한 결과는 다음의 表 I과 같다. 즉 表 I에서와 같이 菌蓋의 발육은 pH 4.0에서 최고이며 pH 2.0이하에서와 pH 6.0이상에서는 그 발육이 현저히 억제됨을 알수 있다.

따라서 이상의 결과로서 이하의 실험은 pH 4.0와 온도 30°C에서 행하였다.

1-4. 탄수화물의 이용성; Czapek 배지의 설탕 대신에 여러 탄수화물을 가하여 菌蓋發育도와 포자의 색을 관찰한 결과는 다음 表 III와 같다.

表 III 탄수화물의 이용성

탄수화물의 종류	菌 株	菌 蓋 發 育 度		胞子の 색
		3日後	6日後	
Czapek배지 (比較)	Ku-3371	+	++	암녹색
	Ku-4383	+	++	"
포 도 당	Ku-3371	++	+++	"
	Ku-4383	++	+++	"
과 당	Ku-3371	++	+++	"
	Ku-4383	++	+++	"
유 당	Ku-3371	++	+++	녹 색
	Ku-4383	++	+++	녹 색
맥 아 당	Ku-3371	+	++	암녹색
	Ku-4383	+	++	"

녹말	Ku-3371	+	++	암녹색
	Ku-4383	+	++	//
Rhamnose	Ku-3371	-	+	녹색
	Ku-4383	-	+	//

表Ⅲ와 같이 탄수화물의 종류에 따라서 菌蓋의 발육도와 포자의 색은 약간의 차이가 있다. 대개 2일째는 배지 전면에 균사가 번식되었고 3일째에 포자를 착생하기 시작하였다. 포자의 색은 배양 일수가 경과함에 따라서 암녹색으로 변하였다. 그리고 일반적으로 單糖類는 二糖類 및 多糖類에 비하여 균체의 발육이 좋았고 菌蓋의 발육도도 좋았다.

1-5 질소화합물의 同化性; Czapek 배지의 NaNO₃ 대신에 여러 질소화합물을 가하여 菌蓋의 發育도와 포자의 색을 관찰한 결과는 다음의表Ⅳ와 같다.

表Ⅳ 질소화합물의 同化性

질소화합물의 종류	菌株	菌蓋發育度		포자의 색
		3日後	6日後	
Czapek배지 (比較)	Ku-3371	+	++	암녹색
	Ku-4383	+	++	//
硝安	Ku-3371	+	++	//
	Ku-4383	+	++	//
硫安	Ku-3371	+	+	황녹색
	Ku-4383	+	+	//
亞硝酸소다	Ku-3371	-	-	
	Ku-4383	-	-	
尿素	Ku-3371	-	+	황녹색
	Ku-4383	-	+	//
구루타민酸소다	Ku-3371	++	+++	암녹색
	Ku-4383	++	+++	//
Peptone	Ku-3371	+	++	//
	Ku-4383	+	++	//

表Ⅴ *Trichoderma* 屬의 各器管 比較

菌株	孢子塊	胞子	厚膜胞子	柄子	分岐數	分生子柄	菌系
Ku-3371	5-9 μ	2.7~4.0 μ	7 μ	3 \times 9 μ	2-3本	3.0 μ	3.0~3.5 μ
Ku-4383	6~9 μ	3.0~4.0 μ	8 μ	3 \times 9 μ	2-3本	3.5 μ	3.0 μ
<i>T. viride</i>	7 μ	3.0~3.5 μ	8 μ	2-3.5 \times 10.5 μ	2-3本	3.5 μ	3~3.5 μ
<i>T. koningi</i>	4.3~11.4 μ	2.8~4.3 μ				3.0 μ	3 μ

이상의 결과로서 Ku-3371과 Ku-4383의 두균주는 다 같이 *Trichoderma* 屬이며 菌叢의 관찰 및 검경의 결과로부터 *T. viride*에 아주 일치되어 이 屬인 것으로 생각된다.^{4,5)}

한편 *Trichoderma* 屬으로는 *T. lignorum*(Tode) Harz, *T. koningi* Quedmans 및 *T. viride* Persoon

表Ⅲ와 같이 질소화합물의 종류에 따라서 菌蓋의 발육도와 포자의 색은 약간의 차이가 있다. 질소화합물을 동화하는 경우는 대개 2일째 배지 전면에 균사가 번식되었고 3일째는 포자를 着生하기 시작하였다.

일반적으로 硝酸態 질소는 잘 同化되었고 특히 구루타민酸소다의 유기태질소의 경우는 그 번식이 좋았다. 그리고 암모니아태 질소도 잘 同化되었으나 亞硝酸態 질소는 전연 동화하지 않았다.

이상의 여러 가지 실험으로 Ku-3371이 Ku-4383 균주보다 그 발육이 좋았고 또 육안적인 관찰로서는 거의 같은 屬임을 알수 있었다.

2. 형태적 성질

2-1 菌叢의 관찰; Ku-3371과 Ku-4383 균주의 포자를 Czapek 寒天平面培地에 접종하여 30°C에서 배양하면 2일만에 균사가 발육되었고 3일째는 황녹색의 포자가 그리고 4일째에는 전면에서 착색되었다. 그러나 Ku-4383이 그 발육이 조금 양호하였다. 포자의 색은 처음에는 황녹색이고 배양 기간이 길어짐에 따라서 점차 암녹색을 띠게 되었다. 한편 麴汁寒天平面배지의 경우는 Czapek 배지보다 번식이 양호하며 이때의 포자형은 원형이었고 전자의 경우는 원형내지 타원형이었다.

2-2 분류학상의 위치; Ku-3371 및 Ku-4383 菌株는 형태적 특징으로 봐서 그 분생포자는 *Cephalosporium* 속과 같이 粘質 덩어리로 되었지만 分生胞子柄은 불규칙하게 分岐되었고 그 先端은 眞正의 梗子를 형성하여 分生포자를 계속적으로 着生시킨다. 이들의 현미경적인 관찰한 결과를 外山의 *Trichoderma koningi*와 張氏의 *Trichoderma viride*의 研究한 것과 비교한 것은 表Ⅴ와 같다.^{2,3)}

등이 알려져 있으나 주로 Colony의 색이나 포자의 크기에 따라서 구별된다. 그러나 1939년 Bisby는 여러 菌株를 관찰한 결과 이들 사이에는 명확한 구별이 없었으므로 單一名으로 *T. viride* pers., ex. Fries 라고 제안하였다.

要 約

1. 前報에서 분리한 두 균주(Ku-3371, Ku-4383)는 다 같이 형태학적으로 *Trichoderma viride*에 일치한다.
2. 이들 菌株들의 생육 최적 pH는 4.0이고 생육 최적온도는 30°C이다.
3. 그리고 이들 菌株들의 탄소원은 單糖類가 좋았고 질소원은 硝酸態 질소가 좋았으며 특히 구루타민酸소다는 더욱 좋은 질소원이다.

參 考 文 獻

- 1) 鄭東孝; 農化誌, 11, 109 (1969)
- 2) 石丸 義夫, 外山 信男; 日酸工, 30, 409(1952)
- 3) 張文雄, 字佐美 昭次, 武富 昇; 日酸協誌 24, 421 (1966)
- 4) Smith G. and Raistrick H.; An Introduction to Industrial Mycology, Edward Arnold Co. Ltd., London(1937), 43.
- 5) Clement F.E. and Shear C. L.; The Genera of Fungi, The H.W. Wilson Comp. New York, (1931), 203, 389.