

韓國產 *Aspergilli* 에 대한 分類學的 研究

李 培 成 · 金 尙 材 · 李 浩 源

(建國大學校 理工大 生物學科)

The taxonomical studies of Korean *Aspergilli*

Lee, Bae Ham. Kim, Sang Jae and Lee, Ho Won.

(Dept. of Biology, Kon Kuk University)

Abstract

Through the present experiment the various *Aspergilli* have been isolated from 53 Meju specimens (fermented soy bean cake) which were collected from 43 local areas in Korea and those of them are arranged as 6 different groups: *Asp. flavus-oryzae* group (38 strains), *Asp. niger* group (11 strains), *Asp. nidulans* group (5 strains), *Asp. clavatus* group (4 strains), *Asp. fumigatus* group (3 strains), and *Asp. ochraceus* group (2 strains), as the result of identification of them by the group key of Thom and Raper.

Further identifications of them according to the species keys of Thom and Raper, Yamata and Sakakuchi have been also conducted and the results obtained are following as:

1. Group members (38) of *Asp. flavus-oryzae* group are identified as *Asp. oryzae*, *Asp. oryzae* var. *fulvus*, *Asp. flavus*, and *Asp. parasiticus*, not identified two different strains belong to this group.
2. Group members (11) of *Asp. niger* group are identified as *Asp. niger* and *Asp. phoenicus*.
3. Group members (5) of *Asp. nidulans* groups are identified as the same species, *Asp. nidulans*.
4. Group members (4) of *Asp. clavatus* group are identified as the same species, *Asp. clavatus*.
5. Group members (3) of *Asp. fumigatus* group are identified as the same species, *Asp. fumigatus*.
6. Group members (2) of *Asp. ochraceus* group are identified as the same species, *Asp. sulphereus*.

緒 論

우리나라 特有食品의 하나인 메주는 現在 一般民家에서 大部分 自然醱酵에 依해서 製造되고 있으므로 이에 腐生하는 菌類는 各種 일 것으로 思料된다.

메주에서 分離된 菌類에 關한 研究를 살펴보면 韓 · 朴 1957 等이 메주 및 麴子를 材料로하여 *Aspergillus oryzae* 를 分離同定함과 同時에 數種의 酵素活性에 關해 觀察했고 李 · 張 1964 等은 메주 및 土壤에서 *Aspergillus flavus-oryzae* 群에 屬하는 菌 3 株를 分離하여 形態學的 同定 및 培養條件에 關해 觀察하고 있으며, 絲狀菌은 아니더라도 메주

에 腐生하는 細菌(*Bacillus* spp.)을 分離하여 그들의 糖化酵素活性에 關한 研究가 李 1964 等에 依해서 이루어졌다. 그외에도 많은 菌類들이 腐生할 것으로 思料되나 메주에서 分離된 菌類를 同定觀察한 報告는 위와 같고 그외 金 · 張 · 崔 1965 等이 皮革에서 *Asp. oryzae*, *Asp. niger*, 및 *Asp. glaucus* 等을 分離하여 形態學的 特性을 調査하고 그 分類學的 位置에 關해 論說한 바 있다.

以上の 報告를 보면 目的에 따라서 選된 觀察이 이루어졌으나 極 制限된 菌株만이 同定되어 왔다.

筆者 等은 메주에 腐生하는 菌類를 分離하여 同

定分類함과 同時에 產業的 利用價値가 있는 菌株을 選拔하고 아울러 放射線을 利用하여 突然變異를 이 르켜서 高性能菌株을 開發하는데 目的을 두고 먼저 그 一環으로서 產業的 利用이 큰 *Aspergilli*를 메주로부터 分離하여 그들의 形態學的特性을 同定한 후 그 分類學的 位置에 關해 調査한바를 報告하는 바 이다.

實驗材料 및 方法

材 料;

全國 43 個 地域에서 蒐集된 메주標本 53 點으로 供試하였다. 但 蒐集된 메주는 一般民家에서 自然 狀態로 醱酵시킨 것이다.

使用培養基;

1. 麥芽抽出物 寒天培養基.
2. Czapeck's solution agar
3. 麥芽抽出物 添加 Czapeck's solution agar 市販麥芽 100gr 을 蒸溜水 1l 에 넣고 60°C 恒溫水槽에서 2 時間 糖化시켜 濾過한 抽出液을 使用하여 만들었다, 其他 培養基는 常法에 따랐다.

菌分離;

메주塊를 適當量의 滅菌水(約 5:1)가 든 試驗管에 넣고 振盪하여 懸濁시킨 後 이 懸濁液 0.2 ml 를 100 倍 희석하여 接種用으로 使用하였다.

다음 Czapeck's 및 麥芽抽出物 添加 Czapeck's 平板培養基(Penicillin 507/ml, Chloramphenicol 507/ml 첨가)에 다 0.1 ml 의 前記 菌懸濁液을 接種하여 30±1°C 에서 10 日間 培養하면서 發育한 菌集落을 同定分離하였다. 여기서 分離된 菌株은 增菌後 稀釋法에 依해 單孢子分離를 하였다.

分離된 菌株의 菌學的 觀察;

分離된 菌株中 *Aspergilli* 로 同定된 菌株은 먼저 同一種整理를 爲해 다음과 같은 實驗을 하였다. 各 菌株을 Czapeck's 平板培地에 培養함과 同時에 slide culture 를 行하여 菌集落의 形態를 비롯해서 分生子頭, 分生子柄, 分生子, 菌核 및 子囊자의 形態를 觀察하여 同一種을 發見 整理한 結果 相異菌株가 13 株 였으며 이들은 다시 Thom and Raper 및 山田, 坂口の 分類法에 따라 形態 및 培養上의 特性을 比較 觀察하였다. 培養條件에 關한 實驗으로는 培養基選擇, 最適溫度, 最適水素이온濃度 등을 調査하였다.

培地選擇은 Czapeck's 培地, Potato dextrose agar, Raulin's 培地, 麥芽抽出物培地, 麥芽抽出物添加 Czapeck's 培地 등을 使用하여 pH: 5.0으로 하고

30°C±1°C 에서 72 時間 培養한후 發育速度 菌集落의 形態를 比較觀察하여 결정했다.

最適溫度는 20°C, 26°C, 32°C 및 38°C 의 부랑기에서 麥芽抽出物添加培地(pH: 5.0)에 培養한 結果를 比較했다.

最適水素이온濃度는 麥芽抽出物添加培地를 pH: 4.0, 4.4, 4.8, 5.2, 5.6, 6.0, 6.4 등으로 調節하여 30±1°C 의 條件하에서 培養한 結果를 比較했다.

實驗結果 및 考察

메주標本 53 點으로 부터 分離된 菌株中 *Aspergilli* 는 63 株 였고 이들을 同定하여 同一種을 정리한 결과 相異 하다고 生覺되는 菌株은 12 株 였고 다음과 같이 同定 하였다.

Czapeck's 平板培地上的 培養物과 slide culture 를 통해 12 株의 *Aspergilli* 를 Thom and Raper 의 分類法에 따라 同定한 結果를 보면 表 1, 2 와 같다.

먼저 Table 1 의 AsN 1 과 AsN 2 를 보면 黑色의 菌集落을 形成하고 分生子頭는 黑色 또는 暗褐色을 띄며 分生子柄은 無色平滑하나 分生子頭에 가까운 部分은 黃褐色을 띄고 길이는 1000~4000μ 으로 띄긴 편이므로 Thom 과 Raper 에 의하면 *Asp. niger* group 에 屬함이 分明했다. 그중 AsN1 은 3~4μ 의 放射狀突起를 가진 暗褐色의 分生子胞子를 가지고 二段의 梗子 中 一次梗子の 길이가 約 40μ 이었으므로 *Asp. phoenicis* 라고 生覺되었으며 AsN 2 는 粗面이나 突起가 없는 暗褐色의 分生子胞子(3~5μ)를 가지고 一次梗子の 길이가 20~25μ 정도 였으므로 *Asp. niger* 라고 生覺되었다. 다음 AsO 3 는 黃色 또는 ochre 色의 菌集落을 形成하고 分生子頭의 形成이 빈약하며 pink 色 球型의 菌核을 形成했다. 따라서 이 菌株은 *Asp. ochraceus* group 에 屬함이 分明했고 分生子頭의 형성이 培地上에서 極 制限된 部位에서 일어나고 特히 培地가 乾燥한 部位에서 잘 形成되고 分生子柄이 1000μ 程度 였으므로 *Asp. sulphureus* 라고 生覺한다.

다음 AsNd 4 는 鮮명한 綠色의 分生子頭와 褐色의 分生子柄을 가지며 一段의 梗子和 赤紫色의 子囊자를 갖는 點으로 보아 *Asp. nidulans* group 에 屬함이 分明했고 그리고 子囊胞子에 2 equatorial ridges 를 가지며 그 間隔이 0.8~1μ 程度 였으므로 *Asp. nidulans* 라고 生覺한다.

다음 AsC 5 를 보면 Turgouise blue color 의 菌集

〈Table 1〉 Descriptive sheet of *Aspergilli* isolated from the fermented soy-bean mash.

Strains No.		AsN 1	AsN 2	AsO 3	AsNd 4	AsC 5	AsF 6
Morphological characters	colony characters	rate of growth	rapidly spread	rapidly spread	slowly spread	ordinarily rapid spread	ordinarily slow spread
		texture	roughly velvety	roughly velvety	roughly	roughly	roughly
		color above	black	black	yellow ochre	green	turgous blue
		reverse	white	white, yellow	purplish pink	deep purple	creamy white
conidial heads	colour	black	black	cream	green	blue	grayish
	shape	globose	globose	globose	short column	ellipieal	babyblue column
	size	500—600 μ	250—300 μ	1500—500 μ	70•50—60 μ	500•200 μ	250•50 μ
conidiophores	colour	colorless	colorless	yellow thin	brownish	colorless	colorless
	marking	upper: brown	upper: brown	ochre	smooth	smooth	smooth
	length	2000—4000 μ	1000—2000 μ	rough	100—200 μ	1000—1200 μ	200—300 μ
	width	10—15 μ	10—15 μ	15—20 μ	5—6 μ	25—30 μ	7—8 μ
vesicles	colour	yellowish	yellowish	yellow ochre	brownish	colorless	colorless
	shape	brown	brown	globose	hemisphere	clavate	flask
	size	45 μ	40 μ	45 μ	13•10 μ	250•150 μ	15•10•15•18 μ
	origine	substratum	substratum	substratum	fertile upper the half	substratum	fertile upper the half
sterigmata		two	two	two	one	one	one
primary sterigmata	colour	malmaison	malmaison	thin yellow	brownish	thin yellow	colorless
	length	40 μ	20—25 μ	11 μ	6 μ	6—8 μ	6 μ
	width	7.5 μ	4.5 μ	45 μ	2•4 μ	2.5 μ	3 μ
secondary sterigmate	length	8 μ	8 μ	12 μ			
	width	4 μ	4 μ	25 μ			
conidia	colour	coffee	coffee	pale yellow	pale greenish	pale greenish	pale greenish
	form	globose	globose	globose	yellow	yellow	yellow
	size	3—4 μ	3—5 μ	3—4 μ	globose	elliptical	globose
cleisto-thecia	colour				pale buff		
	shape				globose		
	size				250—300 μ		
ascospores	colour				purple		
	form				disk shape		
	size				4—5 μ		
	marking				2 ecutorial ridges		
sclerotia	colour			rose pink			
	shape			globose			
	size			700—800, 800—1000 μ			
Hülle Cells					thick walled		
					globose		
					27—17 μ		

〈Table 11〉 Descriptive sheet of *Aspergilli* isolated from the fermented soy-bean mash.

Strains No.		AsF07	AsF08	AsF09	AsFO10	AsFO 11	AsFO 12
Morphological characters							
colony characters	rate of growth	ordinarily rapid spread	ordinarily rapid spread	ordinarily rapid spread	rapid spread	rapid spread	rapid spread
	texture	floccose	very roughly velvety	very roughly velvety	roughly velvety	roughly velvety	roughly velvety
	colour above	yellowish green	brownish olive	greenish olive	light leaf green	leaf green	leaf green
	reverse	khaki	yellow	naples yellow	seahell pink	thin yellow orange	yellow ochre
conidial heads	colour	pale greenish	olive yellow	olive yellow	greenish yellow	yellowish green	yellowish green
	shape	columnar or hemisphere	hemisphere	globose	columnar	hemispherical	short columnar
	size	120•150—170 μ	260•200 μ	200•170 μ	400—500•200—300 μ	350•200 μ	250—300•150—200 μ
conidiophores	colour	colorless	colorless	colorless	pale greenish yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow
	marking	rough	rough	rough	rough	rough	rough
	length	350—420 μ	1500—2000 μ	2000—2500 μ	800—1300 μ	500—1000 μ	700—1500 μ
vesicles	width	11—12 μ	15—16 μ	11—12 μ	7—9 μ	11 μ	11 μ
	colour	pale greenish yellow	colorless or pale greenish yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow
	shape	dome	hemisphere	dome shape	globose	hemispherical	dome
	size	27•24 μ	50•46 μ	51•43 μ	28—32•23—26 μ	34—38•30 μ	35—43•25—30 μ
sterigmata		mostly one	mostly one	mostly one	mostly two	mostly two	mostly one
primary sterigmata	colour	thin yellow	thin yellow	thin yellow	thin yellow	thin yellow	thin yellow
	length	8—10 μ	11—12 μ	10—11 μ	8—10 μ	8—10 μ	8—10 μ
	width	4.5 μ	5 μ	5 μ	5 μ	5 μ	5 μ
secondary sterigmata	length				7—8 μ	7—8 μ	
	width				4 μ	5 μ	
conidia	colour	pale greenish	thin yellow	pale greenish yellow	greenish yellow	greenish yellow	greenish yellow
	form	elliptical	elliptical	elliptical	pyriform or globose	globose	globose
	size	6—7 μ	5—7 μ	6—7 μ	4—6 μ	3—4•56 μ	4—6 μ
cleistothecia	colour						
	shape						
	size						
ascospores	colour						
	form						
	size						
	marking						
sclerotia	color					black	
	shape					potatoshape	
	size					800—1800 μ	
Hülle Cells							

落을 形成하고 分生子頭가 현저히 clavate 였으므로 *Asp. clavatus* group 에 屬함이 分明했고 그리고 分生子柄의 길이가 1000~1200 μ 였으므로 *Asp. clavatus* 라고 生覺된다.

다음 AsF6 는 菌集落이 floccose 하며 grayish turquoise blue color 를 띠고 200~300 μ 의 無色平滑한 分生子柄과 一段의 梗子를 가진 flask 모양의 頂囊을 가졌으므로 *Asp. fumigatus* group 에 屬함이 分明했고, 그리고 子囊자이나 子囊胞子の 形成이 없었으므로 *Asp. fumigatus* 라고 生覺된다.

다음 Table 2의 AsFO8 을 보면 培養初期엔 黃綠色的 菌集落을 形하라고 分生子柄의 表面은 粗面이 였으므로 *Asp. flavus-oryzae* group 에 屬함이 分明했고 그리고 大部分梗子が 一段이고 分生子柄의 길이가 350~420 μ 였으므로 *Asp. parasiticus* 라고 生覺된다.

다음 AsFO8 과 AsFO9 를 보면 역시 培養初期에 黃綠色을 띠고 分生子柄의 表面이 粗面이므로 *Asp. flavus oryzae* 群에 屬함이 分明했다. 그리고 두 菌株 共히 梗子が 一段이고 分生子柄이 1500~2500 μ 이므로 *Asp. oryzae* 에 속한다고 생각된다. 그中 AsFO8 은 培養初期에 黃色을 띠고 오래되면 orange-red 에 가까워 지므로 坂口, 山田 等の 分類法을 참고하면 *Asp. oryzae* var. *fulvus* 라고 生覺된다. AsFO9 은 그러한 色調變化를 볼 수없고 또 分生子胞子の 크기가 6~7 μ 인 것을 보면 *Asp. oryzae* 라고 生覺한다.

다음 AsFO10 도 菌集落 및 分生子柄의 特性으로 보아 *Asp. flavus oryzae* 에 屬함이 分明하고 그리고 梗子が 大部分 二段이면서 分生子柄의 길이가 500~1000 μ 程度이므로 *Asp. flavus* 라고 生覺한다.

다음 AsFO11 과 AsFO12 도 역시 菌集落과 分生子柄의 特性을 보아 *Asp. flavusoryzae* 群에 屬함이 分明하나 本實驗의 同定結果로선 種分類는 不可能했다.

以上の 同定에서 筆者들이 分離한 菌株中 *Asp. phoenicus*, *Asp. nidulans*, *Asp. fumigatus*, *Asp. clavatus*, *Asp. oryzae* var. *fulvus* 및 *Asp. parasiticus* 種은 아직 媒주에서 分離報告한 例는 없지만 本實驗을 통해 媒주에도 이러한 菌株들이 棲息하고 있다는 事實을 알 수 있었다. 그리고 國內 既報中 *Asp. flavus oryzae* 群에 屬하는 菌株는 그 同定分類에 있어 再考되어야 할 點이 있다고 生覺한다. 例를 들

면 韓·朴 1957 等이 分離報告한 *Asp. oryzae* 는 同定項目이 不充分할뿐 아니라 菌集落의 特性을 觀察치 않아 種名을 確定하기엔 어렵다고 생각되었다. 金·張·崔 1965 等이 分離報告한 菌株中 *Asp. oryzae* 와 *Asp. niger* 의 同定도 種名을 確定하기엔 너무나 同定項目이 빈약하다고 生覺된다. 本實驗을 통해 *Aspergilli* 의 同定에 있어 몇가지 問題되었던 點을 들어보면 먼저 標準菌株와의 比較同定이 不充分했다는 點이다. 實驗條件에 따라 形態學的 特性의 變異가 많기 때문에 다만 分類法에 따라서만 同定하기 어려운 경우가 많다는 것이다. 다음은 培養中菌株의 變異가 문제된다는 點이다. 培地 및 培養條件에 따라 形態的 生理的 特性이 달라진 것은 물론 同一한 培養條件이라도 오래동안 계대배양하게 되면 역시 그와같은 性狀의 變異가 일어나는 것을 볼 수 있다. 예를들면 *Asp. flavus oryzae* 群에 屬하는 菌株는 培地 및 培養條件에 따라 菌集落의 色과 其他 形態學的 特性의 變化가 일어나는 것을 觀察할 수 있었고 AsFO11 의 경우엔 分離培養後 數代 계대 培養하면 菌核形成이 없어지는 것을 또한 觀察할 수 있었다.

培地選擇에 關한 實驗結果를 보면 發育速度로 봐선 麥芽抽出物培地와 麥芽抽出物含有 Czapeck's 培地가 가장 좋았고 形態學的 同定을 爲해선 Czapeck's, 培養基와 Raulin's 培養基가 좋았다. 그러나 菌集落의 形態學的 特性을 觀察하는데는 麥芽抽出物培地가 좋았다 特異한 것은 *Asp. clavatus* 를 보면 麥芽抽出物培地上에서 發育은 좋으나 分生子頭의 形態가 거의 球型에 가까운 것만 나왔다. 그러나 Czapeck's 培地上에선 현저한 棍棒狀을 가진것이 관찰 되었다.

따라서 *Aspergilli* 同定엔 麥芽抽出物培地와 Czapeck's 培地를 使用하는 것이 좋다고 생각된다.

最適溫度를 보면 *Asp. flavusoryzae* 群, *Asp. niger* 群, *Asp. clavatus*, *Asp. fumigatus* 및 *Asp. nidulans* 等은 26~32°C 사이에서 發育이 가장 좋았고 *Asp. sulphureus* 는 23°C 에서 發育이 좋았다.

至適水素이온濃度を 보면 *Asp. oryzae* 및 *Asp. oryzae* var. *fulvus* 만이 pH : 4.4~5.2—5.6 에서 發育이 좋았고 其他的 菌株는 pH : 6.2—5.6 사이에서 發育이 좋았다.

摘 要

全國 43 個 地域에서 蒐集된 메주標本 53 點으로 供試한 結果 *Aspergillus* 屬에 屬하는 菌株 63 株를 分離하였다.

Thom and Raper 等の 分類法과 坂口・山田 等の 分類法에 따라 同定한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. *Asp. flavus-oryzae* 群에 屬하는 菌株는 모두 38 株였고 種分類를 實施한 結果 *Asp. flavus*, *Asp. oryzae* *Asp. oryzae* var. *fulvus* 및 *Asp. parasiticus* 等과 未分類菌 2 株로 同定 되었다.

2. *Asp. niger* 群에 屬하는 菌株는 모두 11 株였고 種分類를 實施한 結果 *Asp. niger* 와 *Asp. phoenicis* 로 同定 되었다.

3. *Asp. nidulans* 群에 屬하는 菌株는 5 株였고 種分類 結果 모두 *Asp. nidulans* 였다.

4. *Asp. clavatus* 群에 屬하는 菌株는 4 株였고 種分類 結果 모두 *Asp. clavatus* 였다.

5. *Asp. fumigatus* 群에 屬하는 菌株는 3 株였고 種分類 結果 *Asp. fumigatus* 였다.

6. *Asp. ochraceus* 群에 屬하는 菌株는 2 株였고 種分類 結果 *Asp. sulphureus* 였다.

Reference

1. Alexopoulos. C.T.,; 1961. Introductory mycology, Jhon Wiley and Sons. Inc., p 223—229,
2. Thom, C., and K.B. Raper,; 1945. A manual of the *Aspergilli*, Baltimore, The williams and Wilkins Co.,
3. 微生物學 Hand Book(日本), 1960, 技報堂, p. 670—672.
4. 金鍾協, 張建型, 崔春彥; 1965. 韓國에서의 皮革防黴에 關한 研究.(第一報) 皮革菌 *Asp. oryzae*, *Asp. niger* 및 *Asp. glaucus* 의 分離 및 同定, 韓國微生物學會誌 3 : 15—17,
5. 李啓瑚, 張建型; 1964. 醬類用 菌強力麴菌에 關한 研究.(第二報) *Aspergillus* spp.의 同定과 發育條件에 關하여, 韓國微生物學會誌 2 : 17—18
6. 李啓瑚, 張建型; 1965. 醬類用 強力麴菌에 關한 研究.(第三報) *Asp. oryzae* 紫外線變異株의 酵素 vitamin 生成能에 關하여, 韓國微生物學會誌, 3 : 9—14,
7. 李錫健・李漢昌; 1964. Amylase 生成細菌에 關한 研究(第二報) Amylase 生成細菌의 分離와 培養條件에 關하여 韓國微生物學會誌, 2 : 19—24,
8. 韓容錫・朴秉得; 1957. 肝醬製造에 關한 研究(第一報) 메주 及 麴子中の *Asp. oryzae* 에 對한 研究, 中央工業研究所報告, 7 : 51—55,