

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. phoenicis*.
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 一般民衆에서 大部分 自然醱酵에 依해서 釀造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. 此外에도 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 此外 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 玆만한 觀察이 이루어졌으나 玆 制限된 菌株만이 同定되어 있다.

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를 選拔하고 아울러 放射線을 利用하여 突然變異를 이 르켜서 高性能菌株를 開發하는데 目的을 두고 먼저 그 一環으로서 產業的 利用이 큰 *Aspergilli*를 메주 로부터 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 調查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 만 들었다, 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 50r/ml, Chloramphenicol 50r/ml 첨가)에다 0.1 ml 의 前記 菌懸濁液을 接種하여 30±1°C에서 10 日間 培養하면서 發育한 菌集落을 同定分離하였다. 여기서 分離된 菌株는 培菌後 稀釋法에 依해 單胞子分離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는 먼저 同一種整理를 爲해 다음과 같은 實驗을 하였다. 各 菌株를 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 子囊各의 형태를 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의 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을 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°C에서 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°C의 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°C의 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 이들은 同定하여 同一種을 정리한 結果 相異 하다고 生覺되는 菌株는 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 1의 AsN 1과 AsN 2를 보면 黑色의 菌集落을 形成하고 分生子頭는 黑色 또는 暗褐色을 띠며 分生子柄은 無色平滑하나 分生子頭에 가까운 部分은 黃褐色을 띠고 길이는 1000~4000 $\mu$ 으로 된 편이므로 Thom 과 Raper 에 의하면 *Asp. niger* group에 屬함이 分明했다. 其中 AsN1 은 3~4 $\mu$ 의 放射狀突起를 가진 暗褐色의 分生子胞子를 가지 고 二段의 梗子 中 一次梗子の 長이가 約 40 $\mu$ 이었 으므로 *Asp. phoenicus*라고 生覺되었으려 AsN 2는 粗面이나 突起가 없는 暗褐色의 分生子胞子(3~5 $\mu$ )를 가지고 一次梗子の 長이가 20~25 $\mu$  정도 였으므로 *Asp. niger*라고 生覺되었다. 다음 AsO 3는 黃色 또는 ochre 色의 菌集落을 形成하고 分生子頭의 形成이 遲延하며 pink 色 球型의 菌核을 形成했다. 따라서 이 菌株는 *Asp. ochraceus* group에 屬함이 分明 했고 分生子頭의 형성 이 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 1000 $\mu$  程度 였으므로 *Asp. sulphureus*라고 生覺한다.

다음 AsNd 4는 鈍저한 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 각을 갖는 點으로 보아 *Asp. nidulans* group에 屬함이 分明했고 그리고 子囊胞子에 2 equatorial ridges 를 가지며 그 間隔이 0.8~1 $\mu$  程度 였으므로 *Asp. nidulans*라고 生覺한다.

다음 AsC 5를 보면 Turgoise blue color의 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 texture color above reverse	rapidly spread roughly velvety black	rapidly spread roughly velvety black	slowly spread roughly yellow ochre	ordinarily rapid spread floccose green	ordinarily slow spread roughly velvety turgous blue creamy white	rapidly spread floccose grayish turgous blue creamy white
	conidial heads	colour shape size	black globose 500-600 $\mu$	black globose 250-300 $\mu$	cream globose 1500-500 $\mu$	green short column 70.50-60 $\mu$	blue elliptical 500.200 $\mu$	grayish baby blue column 250.50 $\mu$
	conidiophores	colour marking length width	colorless upper: brown smooth 2000-4000 $\mu$	colorless upper: brown smooth 1000-2000 $\mu$	yellow thin ochre rough 1000-1600 $\mu$	brownish smooth 100-200 $\mu$	colorless smooth 1000-1200 $\mu$	colorless smooth 200-300 $\mu$ 7-8 $\mu$
	vesicles	colour shape size origine	yellowish brown globose 45 $\mu$ substratum	yellowish brown globose 40 $\mu$ substratum	yellow ochre globose 45 $\mu$ substratum	brownish hemisphere 13.10 $\mu$ fertile upper the half	colorless clavate 250.150 $\mu$ substratum	colorless flask 15-10.15-18 $\mu$ fertile upper the half
sterigmata		two	two	two	one	one	one	
primary sterigmata	colour	malmaison	malmaison	thin yellow	brownish	thin yellow	colorless	
	length width	40 $\mu$ 7.5 $\mu$	20-25 $\mu$ 4.5 $\mu$	11 $\mu$ 45 $\mu$	6 $\mu$ 2.4 $\mu$	6-8 $\mu$ 2.5 $\mu$	6 $\mu$ 3 $\mu$	
secondary sterigmate	length	8 $\mu$	8 $\mu$	12 $\mu$				
	width	4 $\mu$	4 $\mu$	25 $\mu$				
conidia	colour	coffee	coffee	pale yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow	pale greenish yellow	
	form	globose	globose	globose	globose	elliptical	globose	
	size	3-4 $\mu$	3-5 $\mu$	3-4 $\mu$	3-4 $\mu$	3-5 $\mu$	3-4 $\mu$	
cleistothecia	colour				pale buff			
	shape size				globose 250-300 $\mu$			
ascospores	colour				purple			
	form size marking				disk shape 4-5 $\mu$ 2 ecutorial ridges			
sclerotia	colour			rose pink				
	shape size			globose 700-800, 800-1000 $\mu$				
Hülle Cells					thick walled globose 27-17 $\mu$			

<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 texture colour above reverse	ordinarily rapid spread floccose yellowish green khaki	ordinarily rapid spread very roughly velvety brownish olive yellow	ordinarily rapid spread very roughly velvety greenish olive naples yellow	rapid spread roughly velvety light leaf green seahell pink	rapid spread roughly vlvety leaf green thin yellow orange
conidial heads	colour	pale greenish	olive yellow	olive yellow	greenish yellow columnar	yellowish green hemispher columnar	yellowish green short column ar
	shape	columnar or hemisphere	hemisphere	globose			
	size	120·150—170 $\mu$	260·200 $\mu$	200·170 $\mu$	400—500·200—300 $\mu$	350·200 $\mu$	250—300·150—200 $\mu$
conidiophores	colour	colorless	colorless	colorless	pale greenish yellow rough	pale greenish yellow rough	pale greenish yellow rough
	marking	rough	rough	rough			
	length width	350—420 $\mu$ 11—12 $\mu$	1500—2000 $\mu$ 15—16 $\mu$	2000—2500 $\mu$ 11—12 $\mu$	800—1300 $\mu$ 7—9 $\mu$	500—1000 $\mu$ 11 $\mu$	700—1500 $\mu$ 11 $\mu$
vesicles	colour	pale greenish yellow	colorless or pale greenish yellow hemisphere	pale greenish yellow	pale greeish yellow	palegreennsh yellow	pale greenish yellow
	shape	dome		dome shape	globose	hemispherical globose	dome
	size	27·24 $\mu$	50·46 $\mu$	51·43 $\mu$	28—32·23—26 $\mu$	34—38·30 $\mu$	35—43·25—30 $\mu$
	origine	substratum	substratum	substratum	substratum	substratum	substratum
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 $\mu$	11—12 $\mu$	10—11 $\mu$	8—10 $\mu$	8—10 $\mu$	8—10 $\mu$
	width	4.5 $\mu$	5 $\mu$	5 $\mu$	5 $\mu$	5 $\mu$	5 $\mu$
secondary sterigmata	length				7—8 $\mu$	7—8 $\mu$	
	width				4 $\mu$	5 $\mu$	
conidia	colour	pale greeish	thin yellow	pale greenish yellow	greenish yellow pyriform or globose	greenish yellow globose	greenish yellow globose
	form	elliptical	elliptical	elliptical globose			
	size	6—7 $\mu$	5—7 $\mu$	6—7 $\mu$	4—6 $\mu$	3—4·56 $\mu$	4—6 $\mu$
cleistothecia	colour						
	shape						
	size						
ascospore	colour						
	form						
	size						
	marking						
sclerotia	color					black	
	shape					potatoshape	
	size					800—1800 $\mu$	
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 $\mu$  였으므로 *Asp. clavatus* 라고 生覺된다.

다음 AsF6는 菌集落이 floccose 하며 grayish turgouise blue color 를 띠고 200~300 $\mu$ 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 AsFO8을 보면 培養初期엔 黃綠色의 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 $\mu$  였으므로 *Asp. parasiticus* 라고 生覺된다.

다음 AsFO8과 AsFO9를 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 $\mu$  이므로 *Asp. oryfae* 에 속한다고 생각된다. 그중 AsFO 8은 培養初期에 黃色을 띠고 오래되면 orange-red에 가까워 지므로 坂口, 山田 等の 分類法을 참고하면 *Asp. oryzae* var. *fulvus* 라고 生覺된다. AsFO9은 그러한 色調變化를 볼 수 없고 또 分生子胞子の 크기가 6~7 $\mu$  인 것을 보면 *Asp. oryzae* 라고 生覺한다.

다음 AsFO10도 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 $\mu$  程度이므로 *Asp. flavus* 라고 生覺한다.

다음 AsFO11과 AsFO12도 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. phoenicis*, *Asp. nidulans*, *Asp. fumigatus*, *Asp. clavatus*, *Asp. oryzae* var. *fulvus* 및 *Asp. parasiticus* 種은 아직 本報에서 分離報告한 例는 없지만 本實驗을 통해 本報에도 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 不足하다고 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 달라짐은 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 AsFO11의 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 Czapecks' 培地가 가장 좋았고 形態學的 同定을 爲해선 Czapecks, 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 現저한 棍棒狀을 가졌 것이 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를 보면 *Asp. oryzae* 및 *Asp. oryzae* var. *fulvus* 만이 pH : 4.4~5.2~5.6 에서 發育이 좋았고 外의 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 麥주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) 麥주 及 麴子中の *Asp. oryzae* 에 對한 研究, 中央工業研究所報告, 7 : 51—55,