

뿡나무버섯균의 생리적 특성 및 부후특성

채정기¹ · 김윤수² · 이광호² · 김현주¹ · 김현석¹ · 최영우¹ · 김종서¹

¹전남대학교 임학과, ²전남대학교 임산공학과

Physiological and degradational characteristics of *Armillaria mellea*

Jung-ki Chai¹, Yoon-Soo Kim², Kwang-Ho Lee², Hyun-ju Kim¹,
Hyun-suk Kim¹, Young-Woo Chai¹ and Jong-Soe Kim¹

¹Dept. of Forestry, ²Dept. of Forest, Products & Technology Chonnam National Univ., Gwangju, 500-757, Korea

ABSTRACT : To study the cultural characteristics and wood rotting ability of the secondary mycellia of *Armillaria mellea*, it was cultivated on the various media. The optimal mycelial growth condition was 20~27 and pH 5.0~6.5 on PDB. *A. mellea* grew well on MEA, PDA and GP. Lactose and mannitol as carbon sources and glutamic acid as nitrogen sources were found to be effective as additives. *A. mellea* employed in this study have the characteristics of white rot types. Pine and oak wood were selected as candidates for sawdust substrate.

KEYWORDS : *Armillaria mellea*, Physiological and degradational characteristics

한영실. 2005. 위대한 밥상. p.12-17. 현암사.

서 론

뿡나무버섯은 송이과 (*Tricholomataceae*), 뿡나무버섯속 (*Armillaria*)에 속하는 버섯으로서 (Singer, 1985), 사물 또는 반사물에 기생하는 목재부후균이며, 균사는 주로 백색을 띠고, 습할 때 황갈색을 띠며, 활엽수 고목에 발생하는 식용버섯이다. 세계적으로 널리 분포하고, 봄·가을에 각종 나무의 자른 그루터기, 고목, 생목의 뿌리부분의 그루터기 등에 다수, 군생 또는 속생하며 뿌리썩음병을 일으키는 세계적으로 유명한 수목부후균 (Shaw and Kile, 1991 ; Spaulding, 1961)으로 국내에서도 잣나무와 낙엽송 등의 조림목에 피해가 흔히 발견되고 있다 (Sung and Cha, 1988, 金과 金, 1988). 균사속 (rhizomorph)을 형성하는 병원균은 약용식물인 천마와 공생관계에 있어 국내에서는 천마재배용으로 일반에 활용되고 있고, 천마종균으로 더 알려져 있다. 최근들어 뿡나무버섯 자실체에서 항암효과가 밝혀지면서 (Kim, et. al., 1983) 혈전 용해 효소를 찾아내 새로운 의약품 개발의 가능성을 보여주고 있다 (Kim, et. al., 1998).

국내에서는 이러한 뿡나무버섯균의 인공재배를 위한 연구가 계속되고 있으나 자실체 생산을 위한 체계적인 연구는 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 이에 본 연구는 뿡나무버섯 자실체 생산을 위한 체계적인 연구의 일환으로 뿡나무버섯균의 생리적 특성 파악, 부후 특성 관찰, 균사배양

적정배지 선정을 위해 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공시균주

본 연구에 사용된 뿡나무버섯균 (*Armillaria mellea*)은 농진청 농업과학기술원 응용미생물과에서 분양 받아 전남대학교 삼림자원미생물학실험실에서 계대·증식배양하였다. 공시균의 증식용 배지는 Potato dextrose agar (PDA) 배지를 이용하였다.

2. 배지 종류와 조성

가. 합성배지

1) 고체배지

뿡나무버섯균의 최적배지를 선발하기 위해 Table 1.과 같이 조제하여 균사생장량을 조사하였다. 합성배지는 각각의 조성별로 조제하여 멸균(121℃, 20min) 후 1회용 살레(87×15mm)에 15ml 정도 분주하였다.

2) 액체배지

뿡나무버섯균의 최적액체배지를 선발하기 위해 Table 2.와 같이 조제하여 균체량을 조사하였다. 합성배지는 각각의 조성별로 조제한 후 삼각플라스크(100ml)에 50ml씩 분주하고 면전 한 후 멸균(121℃, 20min.) 하였다.

나. 톱밥배지

뿡나무버섯균의 톱밥재배시 배지 재료에 따른 배양적 특성을 조사하기 위하여 상수리나무(*Quercus acutissima*),

Table 1. Nutritional composition of various media for solid culture

Nutrition reagent	Medium and Composition(g/ ℓ)					
	MYP A	PDA	ME	YM	YMG	HA
Potato		200.0				
K ₂ HPO ₄						
K ₂ HPO ₄						
MgSO ₄ · 7H ₂ O						
Glucose				10.0	4.0	
Maltose						
Dextrose		20.0				20.0
Thiamine HCl						
DL-Asparagine						
Peptone	1.0		5.0	5.0		
Malt extract	30.0		20.0	3.0	10.0	
Yeast extract	2.0			3.0	4.0	2.0
Agar	20.0	20.0	20.0	20.0	15.0	20.0

Table 2. Nutritional composition of various media for liquid culture

Nutrition reagents	Medium and Composition(g/ ℓ)							
	Czapek Dox	Glucose pepton	Synthetic	Malt Yeast Extract	MCM	Hennerberg	Lilly	Glucose Tryptone
Sucrose	30.0							
KCl	0.5		0.01					
KNO ₃						2.0		
K ₂ HPO ₄	1.0		0.003					
K ₂ HPO ₄	1.0		1.0		0.05	1.0	1.0	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5		0.5		0.05	0.5	0.5	
MnSO ₄ · 5H ₂ O			0.03					
ZnSO ₄ · 7H ₂ O								
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01							
CuSO ₄ · 5H ₂ O			0.001					
(NH ₄) ₂ HPO ₄								
(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄			0.001					
CaCl · 2H ₂ O						0.1		
CaCl ₂								
NaNO ₃	3.0					2.0		
Glucose		10.0	20.0	10		50.0		5.0
Maltose							10.0	
Dextrose					2.0			
Thiamine HCl			0.01					
DL-Asparagine						2.0	2.0	
Peptone		10.0	5.0	5.0	0.2			
Malt extract		15.0						
Yeast extract		10.0		3.0	0.2			3.0
Tryptone								10.0

* MCM (Mushroom Complete Medium)

졸참나무(*Q. serrata*), 아카시나무(*Robinia pseudoacacia*), 소나무(*Pinus densiflora*), 삼나무(*Cryptomeria japonica*), 잣나무(*P. koraiensis*) 톱밥을 사용하였다. 톱밥과 미강(Rice-bran)을 10:2(w/w)로 혼합한 후 수분을 65%로 조절하여 시료를 조제하였다. 이렇게 조제된 시료를 시험관(D22mm×L200mm)에 31g씩 충전하여 일정하게(B.D., 0.23) 다진 후 면전을 하고 멸균(121°C, 30min.)하였다.

3. 생리적 특성

1) 최적 배양 온도

공시균의 최적 배양온도를 선정하기 위해 합성배지(PDA, PDB)에 한천배지(PDA)에 기배양된 공시균주의 균종을 cork borer를 이용하여 접종한 후 일정한 온도조건(15, 20, 25, 30, 35°C)에서 암배양하여 균사생장량을 조사하였다.

2) 최적 pH 선정

공시균의 균사배양용 배지의 최적 pH범위를 선정하기 위해 합성배지(PDA, PDB)에 1N HCl과 1N NaOH를 첨가하여 일정한 pH조건(pH 3.5~7.5)으로 배지를 조제하였다. 한천배지(PDA)에 기배양된 공시균주의 균종을 cork borer를 이용하여 접종한 후 항온기(25°C)에서 암배양하여 균사생장량을 조사하였다.

3) 탄소원 및 질소원

탄소원(glucose, galactose, lactose, sucrose, dextrin, inulin) 및 질소원(potassium nitrate, ammonium tartrate, urea, glutamine acid, aspartic acid, sodium nitrate)을 최적배지로 선발된 배지에 각각 0.1% 및 0.04% 첨가하여 공시균의 균사생장량을 조사하였다.

4. 균사생장량 측정

1) 균사생장도 측정

공시균을 합성배지(PDA)에 접종 후 30일 되는 날에 균사 생장을 조사하였다.

2) 균체량 측정

공시균을 합성배지(PDB)상에 접종 후 20일간 정치배양하여 여과(Whatman No. 2)하고 105°C로 24시간 건조하여 균사체의 무게를 구하였다.

5. 고체(톱밥)배지에서의 생장 및 부후특성

1) 톱밥배지에서의 균사생장 측정

공시균을 톱밥배지에 접종 5일 후부터 5일 간격으로 조사하였다.

2) 목재 부후 특성

공시균을 소나무, 삼나무, 상수리나무, 아카시나무의 변재부위에서 채취한 목편(5mm×5mm×20mm)이 포함된 각각

의 톱밥배지에 40일간 배양하였다. 배양된 목편의 부후 형태와 분해 정도를 관찰하기 위해 2% glutaraldehyde (GA) + 2% paraformaldehyde (PA) 혼합고정액 (in 0.05M cacodylate buffer, pH 7.2)에서 고정 처리한 후 동일 buffer로 세척한 다음 ethyl alcohol 계열로 탈수시켰다. 이후 Spurr 수지로 치환하여 경화시킨 후 rotary microtome으로 5-10 μ m 두께의 절편을 제작한 다음 safranin과 astra blue로 이중염색하여 광학현미경을 관찰하였다. 일부 시료는 탈수 후 ethyl alcohol과 polywax의 1:1 혼합액에 처리 후 polywax 원액으로 치환시킨 다음 블럭을 제작하여 rotary microtome을 사용하여 시편을 제작하였다. 이 절편을 xylene으로 왁스를 제거하고 동결 건조한 후 gold coating하여 주사형전자현미경(SEM; Hitach S-2400)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 최적 배양 온도

뽕나무버섯균은 고체합성배지(PDA)에서 20~27°C의 범위에서 균사생장이 빠르고 균사밀도가 높았으며, 15°C에서는 생장이 저조하였고 30°C이상에서는 거의 생장을 하지 않았다(Fig. 1). PDB 배지에서도 역시 뽕나무버섯균의 최적온도 범위는 20~27°C로 고체배지에서와 유사한 결과를 보였다(Fig. 2).

뽕나무버섯균의 균사생육 온도범위는 균주에 따라 약간의 차이가 있으나 일반적으로 25°C내외에서 생육이 양호한

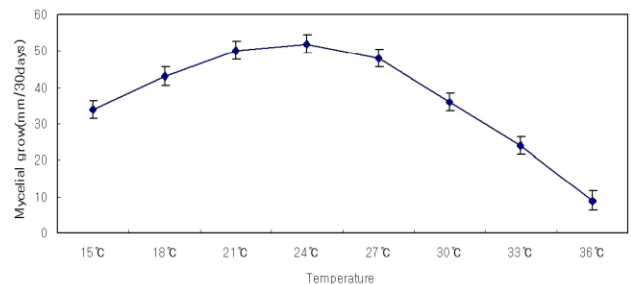


Fig. 1. Effect of temperature on the mycelial growth of *A. mellea* on PDA.

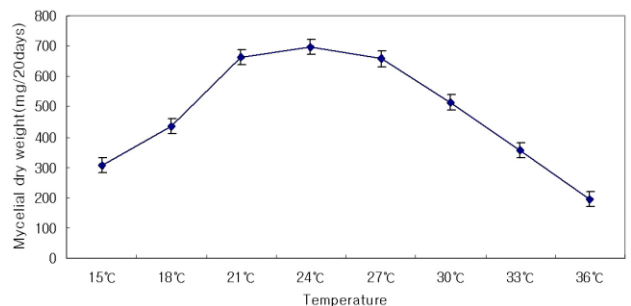


Fig. 2. Effect of temperature on the mycelial growth of *A. mellea* on PDB.

것으로 알려져 있다(차, 1981; 최와 차, 1983; 소, 1987). 본 연구의 결과는 이러한 결과와 유사한 경향을 보였다.

2. 배지의 pH 범위

뽕나무버섯균의 생육에 적합한 배지의 pH는 pH 5.0~6.5의 약산성에서 생육이 양호하였으며 pH 4.5 이하의 산성 및 pH 7.0 이상의 중성 및 약알칼리성에서는 균사생육이 저해되는 것을 알 수 있었다(Fig. 3, 4). 특히, 산성에 가까울수록 균사의 생장이 저해되는 것을 볼 수 있었다.(Fig. 4)

차(1981), 최와 차(1983) 등에 의하면 뽕나무버섯균의 균사생육에 적합한 배지의 pH 범위는 pH 6~7에서 양호한 것으로 알려져 있으며 소(1987)는 산성에서는 생육이 양호하고 중성으로 치우칠수록 균사생육이 현저하게 저해된다고 하였는데 본 연구의 결과는 전자와 일치하는 것으

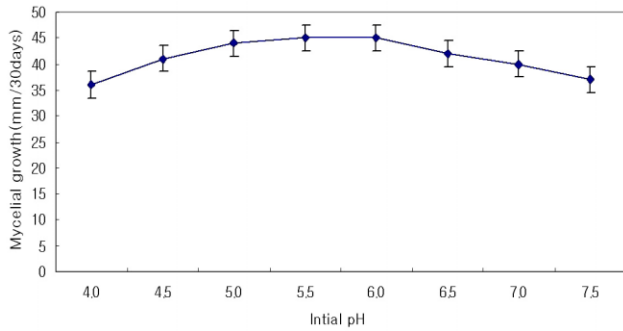


Fig. 3. Effect of pH on the mycelial growth of *A. mellea* on PDA.

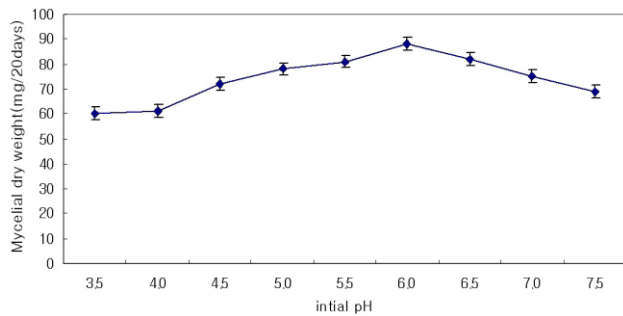


Fig. 4. Effect of pH on the mycelial growth of *A. mellea* on PDB.

로 나타났다.

3. 최적합성배지

공시균의 생육에 적합한 최적 고체합성배지는 ME 및 PDA였으며 YMG, MYPA 순으로 나타났다(Fig. 5). 최적 액체 배지로는 glucose peptone 배지였으며 Lily 및 Czapek 배지에서는 생육이 현저히 저조하였다 (Fig 6).

4. 탄소원 및 질소원

뽕나무버섯균의 균사생육을 위한 최적 탄소원, 질소원을

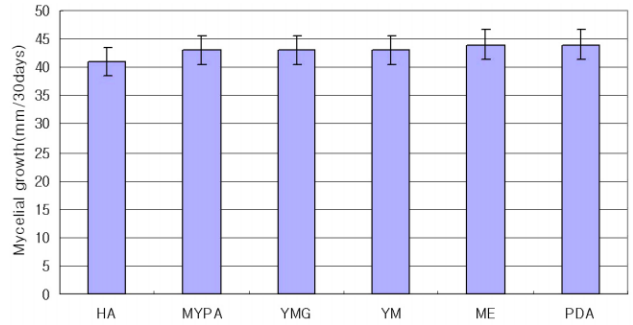


Fig. 5. Mycelial growth of *A. mellea* on different solid nutrient media.

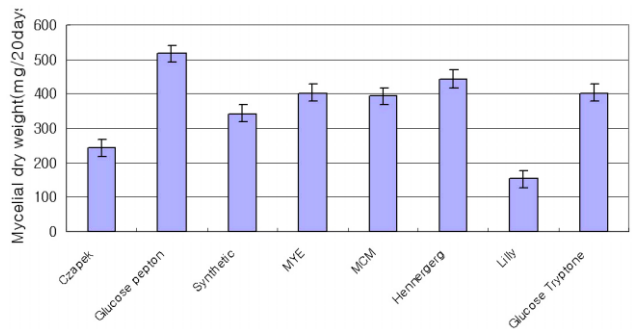


Fig. 6. Mycelial growth of *A. mellea* on different liquid media.

선발하기 위한 실험 결과는 모든 처리구에서 대조구에 비해 생육이 촉진된 것을 알 수 있으며 특히 탄소원의 경우 lactose와 mannitol, 질소원의 경우 glutamic acid를 첨가한 배지에서 가장 양호하였다 (Fig. 7, 8).

5. 고체(툽밥)배지에서의 균사생장 및 부후 특성

5.1 툽밥배지에서의 균사생장 특성

최적 툽밥수종을 선발하기 위하여 실시한 실험 결과는 Fig.9와 같다. 잣나무가 82±10mm/40days로 가장 좋은 생장을 보였으며 상수리나무, 졸참나무, 아카시나무, 소나무 순으로 생장이 양호하였으나 삼나무에서 생장이 가장

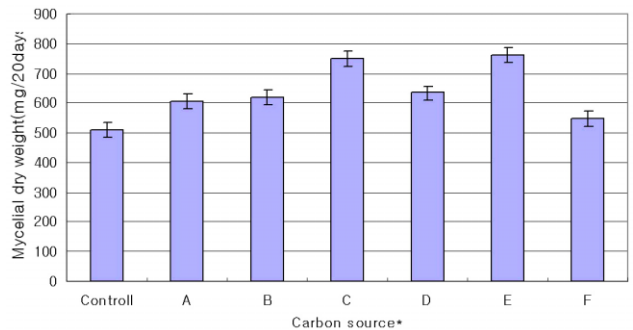


Fig. 7. Effect of various carbon sources on the mycelial growth of *A. mellea* on glucose peptone.

*Carbon source - A: Glucose, B: Galactose, C: Lactose, D: Sucrose, E: Mannitol, F: Inulin

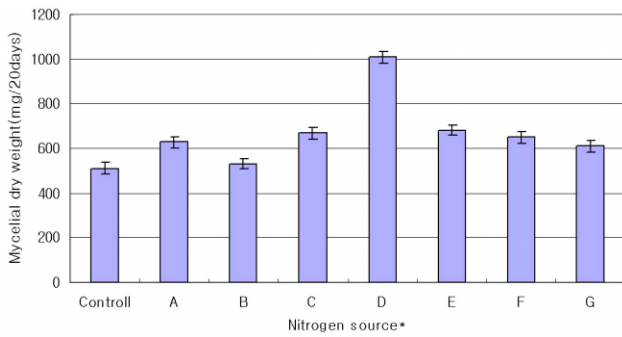


Fig. 8. Effect of various nitrogen sources on the mycelial growth of *A. mellea* on Glucose peptone.

*Nitrogen source - A: potassium nitrate, B: Ammonium tatrate, C: Urea, D: Glutamine aced, E: Asparatic acid, F: Sodium nitarte, G : Glutamine.

저조하였다.

일반적으로 뿔나무버섯균의 재배기질로 참나무류, 포플러류 톱밥이 효과적인 것으로 알려져 있는 있다(김, 1992; 소, 1987). 본 연구의 결과도 유사한 경향을 나타내고 있으나 잣나무 및 소나무의 톱밥에서 생육이 양호한 것으로 나타났다. 뿔나무버섯균이 잣나무와 낙엽송 등의 조림목

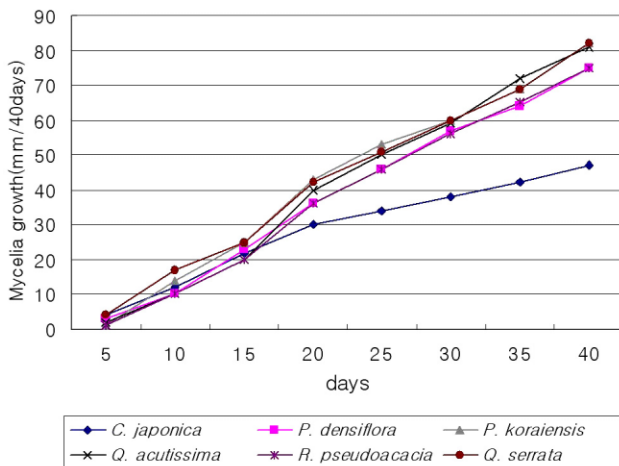


Fig. 9. Mycelial growth of *A. mellea* on different sawdust substrates.

에 흔히 발견되는 병원균(Sung and Cha, 1988 : 金과 金, 1988)이며 리기다소나무(*Pinus rigida*)에서 자실체 발생이 양호하다고 한다. 이러한 점과 본 연구의 결과를 감안한다면 소나무류(*Pinus* sp.)의 톱밥이 뿔나무 버섯균의 재배기질로 적합하며 일반적으로 흔히 구할 수 있는 저가의 제재부산물인 경송류의 톱밥을 재배기질로 활용한다면 자실체 생산에 있어 경제적인 것으로 사료된다.

5.2 뿔나무버섯균에 의한 세포벽의 부후 특성

대부분의 식용버섯 및 약용버섯균들은 백색부후에 속한다. 백색부후균은 세포벽 성분인 셀룰로스와 리그닌을 모두 분해한다 (Otjen and Blanchette 1986, Otjen 등 1987). 본 연구에서는 뿔나무버섯균(*Armillaria mellea*)에 의한 수종별 부후 형태가 일반적인 식용버섯의 백색부후 특성과 어떤 차이점이 있는지 현미경적으로 관찰하였다.

침엽수재인 소나무와 삼나무의 광학현미경 관찰 결과 거의 모든 가도관의 내강에 균사가 관찰되었다. 소나무와 삼나무의 부후재 관찰 결과 세포벽은 침식(erosion)과 함께 세포벽이 소실되는 곳도 관찰되어 전형적인 백색부후의 부후 형태를 나타내었다 (Fig. 10 A). 또한 편광현미경 관찰 결과 부분적으로 S3층의 복굴절성이 감소하여 세포벽의 셀룰로스가 분해되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 10 B). 주사형전자현미경 (SEM)의 관찰 결과 세포벽의 박벽화와 함께 중간층과 S2층 사이의 세포벽이 부분적으로 분해됨이 관찰되었다 (Fig. 10 C). 삼나무의 경우 소나무와 같은 침엽수재임에도 불구하고 부후 정도는 매우 미약하였으나 일반적인 백색부후의 특징들이 관찰되었다 (Fig. 11).

소나무(Fig. 10 A)와 삼나무(Fig. 11 A)의 가도관의 safranin의 염색 정도가 큰 차이를 보였다. Safranin은 일반적으로 목화된 세포에서는 선명한 붉은색을 나타낸다 (Krishnamurthy, 1999). 뿔나무버섯균에 의해 부후된 소나무의 경우 중간층에서 세포내강 쪽으로 갈수록 safranin의 염색정도가 약하게 나타났으며, 특히 2차벽의 염색이 미약하게 나타났다. 반면 삼나무는 세포내강과 접한 S3층에서만 부분적으로 사프란린의 염색 정도가 약하게 나타나 소나무에 비해 부후 정도가 미약함을 시사하였다.

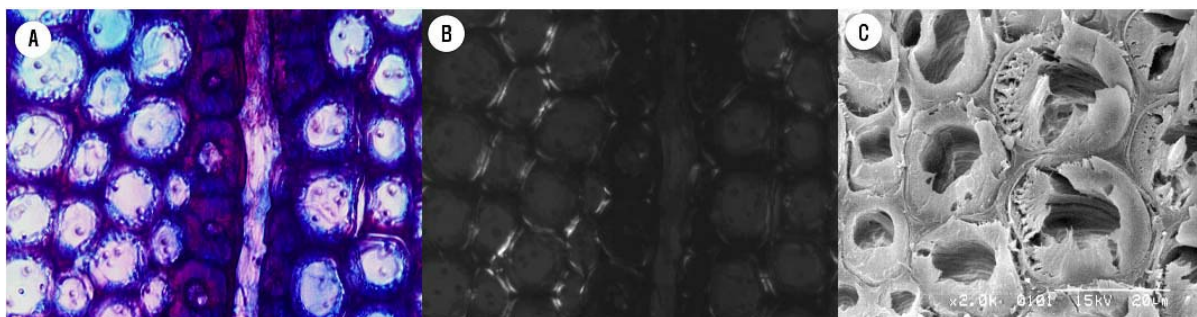


Fig. 10. Cell wall degradation of *P. densiflora* by *A. mellea*. Note the degradation of cell wall components resulted in the erosion of tracheids (A, C). Change in cell birefringence after degradation. Note the lack of birefringence (B).

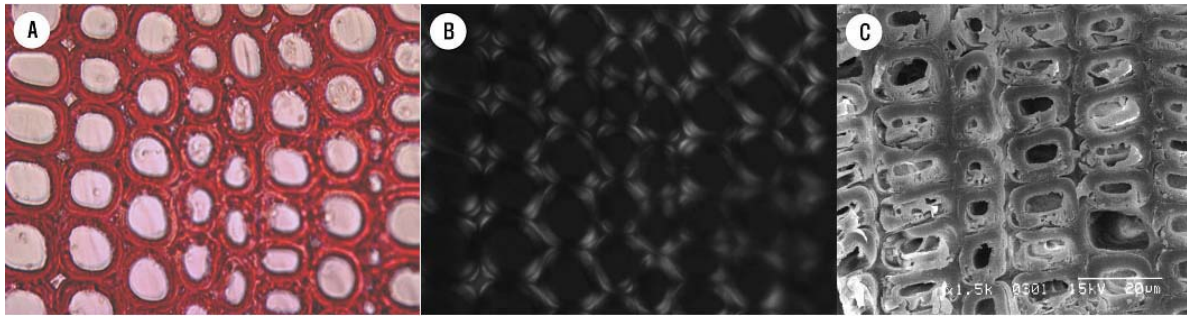


Fig. 11. Cell wall degradation of *C. japonica* by *A. mellea*. Note the weak erosion of tracheids in comparison with *P. densiflora* (Figs. 10) by *A. mellea*.

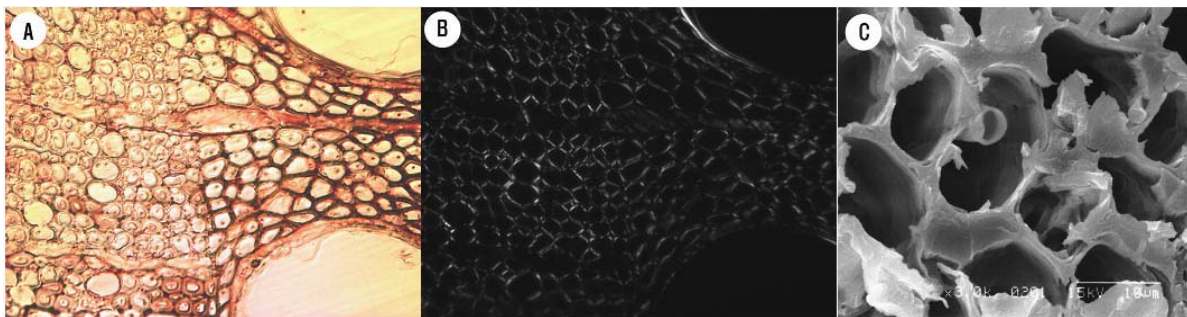


Fig. 12. Cell wall degradation of *Q. acutissima* by *A. mellea*. Note the degradation of cell wall components resulted in erosion of fibers and axial parenchyma cells (A, C) except vessels.

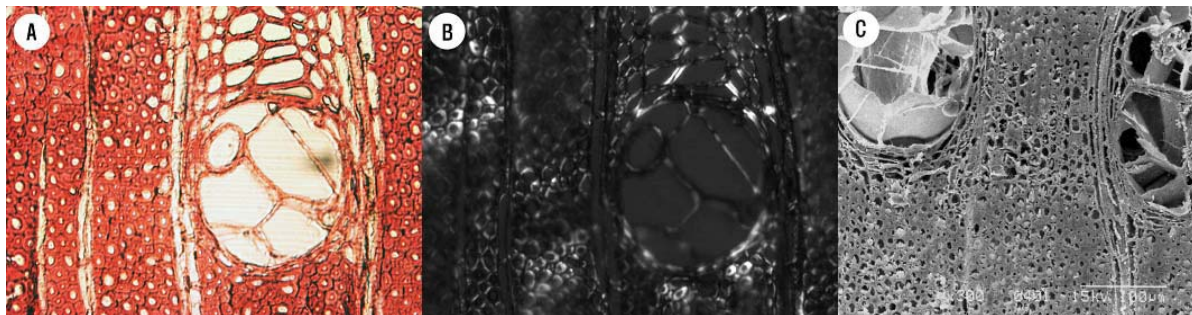


Fig. 13. Cell wall degradation of *R. pseudoacacia* by *A. mellea*. Note the weak erosion of fibers compared with axial parenchyma cells. Vessel walls remained intact.

활엽수재인 상수리나무와 아카시나무의 경우도 침엽수재와 동일한 백색부후의 형태를 나타내었다. 상수리나무의 경우 목섬유, 축방향유세포가 전반적으로 분해된 반면 (Figs. 12), 아카시나무의 경우 목섬유의 분해 정도가 미약하였다 (Figs. 13). 도관의 분해는 상수리나무와 아카시나무 모두 미약하게 관찰되었다.

기생균인 뽕나무버섯에 의해 부후된 침엽수재 소나무, 삼나무와 활엽수재 상수리나무, 아카시나무의 현미경 관찰 결과는 전형적인 백색부후균의 부후 형태를 나타내었다. 그러나 수종에 따라 부후 정도가 차이를 보였는바, 이는 수종 고유의 추출물 성분과 연관된 것으로

생각된다.

적 요

뽕나무버섯균의 배양적 특징 및 부후특성을 구명하고자 최적 (액체, 한천)배지 선발, 최적 온도 선정, 최적 pH 선정, 최적 톱밥배지를 선발하고, 세포벽 부후 특성을 관찰하였다. 그 결과 최적온도는 20~27℃, 최적 pH는 고체 배지에서는 pH 5.0~6.5의 약산성에서 균사생장이 양호하였다. 최적 고체배지로는 ME와 PDA로 선발되었고, 최적 액체배지로는 glucose peptone이 선발되었다. 첨가제로는 탄소원인 lactose, mannitol, 질소원인 glutamic acid가 효

과적인 것으로 나타났다.

뽕나무버섯균의 최적 톱밥배지 선발에 있어서 잣나무, 상수리나무, 졸참나무, 소나무에서 균사생육이 양호한 것으로 나타났으며, 삼나무에서 생장이 저조하였다.

뽕나무버섯균에 의해 부후된 침엽수재와 활엽수재 모두 전형적인 백색부후의 부후 형태를 나타내었다. 그러나 삼나무와 아카시나무의 부후는 상대적으로 미약하였다.

이상의 결과는 소나무류(*Pinus* sp.)의 톱밥이 뽕나무 버섯균의 재배기질로 적합함을 보여주며 일반적으로 흔히 구할 수 있는 저가의 제재부산물인 경송류의 톱밥을 재배 기질로의 활용가능성을 제시한다고 할 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2003년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Kim, B. K., Kim, J. S., Choi, E. C., Kim, H. R., Lee, K.L., Lee, C. O., Chung, K. S. and Shim, M. J. 1983. Studies on constituents of the higher fungi of Korea (X X XVII) *Korean Journal of Mycology* 11: 151-157.
- Kim, J. H., Lee, H. Y., Yoo, K. H., Kim, Y. S., Seok, S. J. and Kim, Y. S. 1998. The screening of fibrinolytic activities of extracts from mushroom in Mt. Chiak, Krishnamurthy, K.V. 1999. *Methods in cell wall cytochemistry*. CRC press, Boca Raton.
- Otjen, L. and Blanchette, R. A. 1986. A discussion of microstructural changes in wood during decomposition by white rot basidiomycetes. *Can. J. Bot.*, 64, 905-911.
- Otjen, L., Blanchette, R., Effland, M. and Leatham, G. 1987. Assessment of 30 white rot basidiomycetes for selective lignin degradation. *Holzforchung*, 41(6), 343-349.
- Shaw, C. G. and Kile, G. A. 1991. *Armillaria Root Disease*. USDA Forest Service, Agriculture Handbook No. 691, 233pp.
- Singer, R. 1986. *The Agaricales Modern Taxonomy*, Koeltz Scientific Books, Republic of Germany.
- Spaulding, P. 1961. Foreign diseases of forest trees of the world. *USDA Agriculture Handbook No. 197*, 361pp.
- Sung, J. M. and Cha, J. Y. 1988. Unreported foot and root rot of *Pinus koraienses* caused by *Armillaria mellea* in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 4: 246.
- 金鉉中, 高敏圭, 李昌根, 成載模. 1992. 뽕나무버섯의 人工菌床栽培. *한국균학회지* 20(3): 273-276
- 金鉉中, 金俊變. 1988. 針葉樹의 腐朽病害에 關한 研究. *林業研究院 試驗研究報告書*: 466-482
- 蘇奎鎬, 1987. *Armillaria mellea*의 菌絲培養 및 菌絲束 生産에 關한 研究, 석사논문 : p 1-28.
- 車東烈. 1981 ; 野生食用버섯의 人工栽培檢討, *한국균학회지* 제 9 권 제 3 호 123~128.
- 崔美子, 車東熱. 1983. 뽕나무 버섯 균사체의 생리·생태학적