

활엽수 갈색부후재의 미시형태 및 화학적 특성*1

차 미 영*2 · 이 광 호*2 · 김 윤 수*2†

Micromorphological and Chemical Characteristics of Hardwoods Decayed by a Brown-rot Fungus*1

Mi Young Cha*2 · Kwang Ho Lee*2 · Yoon Soo Kim*2†

요 약

갈색부후균의 침해를 받은 생입목(生立木) 상태의 밤나무 및 사시나무속 갈색부후재의 미시형태 및 화학적 특성을 분석하였다. 활엽수 갈색부후재는 침엽수 갈색부후재에서 나타나는 전형적인 특징 즉 복굴절의 감소, 2차벽 중층(S₂)의 선택적 분해 및 세포벽의 갈라짐 현상을 보여주었다. 부분적으로 목섬유의 박벽화 현상도 관찰되었으나 주 분해형태는 아니었다. FT-IR 분석결과 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 나타내는 band가 현저히 감소한 반면 리그닌을 가리키는 band는 증가되어 나타났다. X선 회절분석 결과 공시된 활엽수재의 상대 결정화도는 건전재에 비해 감소되어 나타난 것으로 보아, 갈색부후가 상당히 진전되었음을 보여주었다.

ABSTRACT

Micromorphological and chemical characteristics of living *Castanea* spp. and *Tamarix* spp. attacked by a brown-rot fungus were examined. Micromorphological features of brown-rotted hardwood species were similar to those observed in softwoods such as losses in birefringence under polarized microscopy, preferential degradation of S₂ layer and cracks in the S₃ layer. Thinning of the secondary cell wall in fibers was also observed, although it did not seem to be the main symptom. FT-IR analysis showed that bands assigned to cellulose and hemicelluloses decreased or disappeared, whereas the bands assigned to lignin increased. X-ray diffraction analysis exhibited

* 1 접수 2007년 7월 26일, 채택 2007년 10월 2일

* 2 전남대학교 농업생명과학대학 임산공학과, Department of Forest Products and Technology, College of Agriculture, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

† 주저자(corresponding author) : 김윤수(e-mail: kimys@chonnam.ac.kr)

the decrease of relative crystallinity, indicating that degradation of hardwood by a brown-rot fungus was in the advanced stages.

Keywords: brown-rot, hardwoods, *Castanea* spp., *Tamarix* spp., micromorphology, chemical characteristics, FT-IR

1. 서론

갈색부후는 주로 침엽수재에서 관찰된다. 갈색부후균의 피해를 받은 침엽수재는 암갈색 또는 적갈색을 띄며 다당류의 선택적 분해에 따른 수축률 차이로 목리와 직각방향으로 할렬이 나타난다(김 등, 2004). 대부분의 갈색부후균은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 다당류만을 분해하는 관계로 2차벽 S₂층이 우선적으로 분해되며, S₃층과 리그닌 함량이 높은 중간층은 거의 분해되지 않는다(Liese, 1970; Eriksson 등, 1990; Highley 등, 1998). 갈색부후재는 셀룰로오스를 분해하는 관계로 편광현미경 아래에서는 2차벽의 복굴절이 소실되어 나타난다. 갈색부후재에 대한 연구는 현미경적 특성뿐만 아니라 FT-IR (Gibson 등, 1985; Kuo 등, 1988; Pandey와 Pitman, 2003), X선 회절(최 등, 1992), solid state NMR (Kim과 Newman, 1995)를 사용한 화학적 특성에 대한 연구가 계속되고 있다.

지금까지의 갈색부후에 대한 연구는 침엽수재를 대상으로 하여 이루어져 왔다(金, 2007). 반면 갈색부후균에 의한 활엽수재의 분해 특성에 대한 체계적인 연구는 많지 않다. 최근 Lee 등(2004)은 갈색부후균 *Coniophora puteana*는 활엽수재의 2차벽을 전반적으로 분해할 수 있으며 심지어 리그닌 함량이 높은 중간층도 분해할 수 있음을 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 갈색부후균의 피해를 받은 활엽수재의 특성을 파악하기 위한 일련의 연구로 생입목 상태에서 갈색부후균의 침해를 받은 부후재의 미시형태 및 화학적 특성을 파악하였다. 얻어진 결과는 기 밝혀진 침엽수 갈색부후재와의 비교를 통해 그 차이점과 유사점을 논의하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

본 연구에 사용된 재료는 생입목 상태에서 갈색부후균의 침해를 받은 충북 보은군 속리산 범주사 소재 밤나무속(*Castanea* spp.) 나무와 중국 신장성 위구르 자치구 Akesu의 天山神木園 소재 사시나무속(*Tamarix* spp.) 나무를 사용하였다. 갈색부후 피해 수목은 적갈색 및 암갈색을 띠고 있었으며, 길이방향으로 할렬이 현저히 관찰되었다.

2.2. 방법

2.2.1. 현미경적 관찰

채취한 시료는 2% paraformaldehyde + 2% glutaraldehyde (in 0.05 M cacodylate buffer, pH 7.2)로 4시간 고정 후 동일 buffer로 2회 세척하였다. 광학현미경 관찰용 시료는 alcohol 계열 탈수한 다음 Technovit 7100으로 포매한 후 rotary microtome (Leica, RM 2145)을 사용하여 10 μm 두께의 절편을 제작하였다. 편광현미경 관찰용 절편은 염색하지 않고 곧바로 관찰에 사용하였다. 부후 특성을 파악하기 위한 절편은 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경(Carl Zeiss Jena, DE/ Axiolab-pol)으로 관찰하였다.

투과형 전자현미경(transmission electron microscopy, TEM) 시료는 전술한 방법으로 고정한 후 acetone 계열 탈수 후 Spurr 수지에 포매하였다. Diamond knife가 장착된 ultramicrotome (Leica, DE/UCI)을 사용 80~100 nm 두께의 초박절편을 제작한 후 리그닌과 다당류의 탐색을 위해 KMnO₄

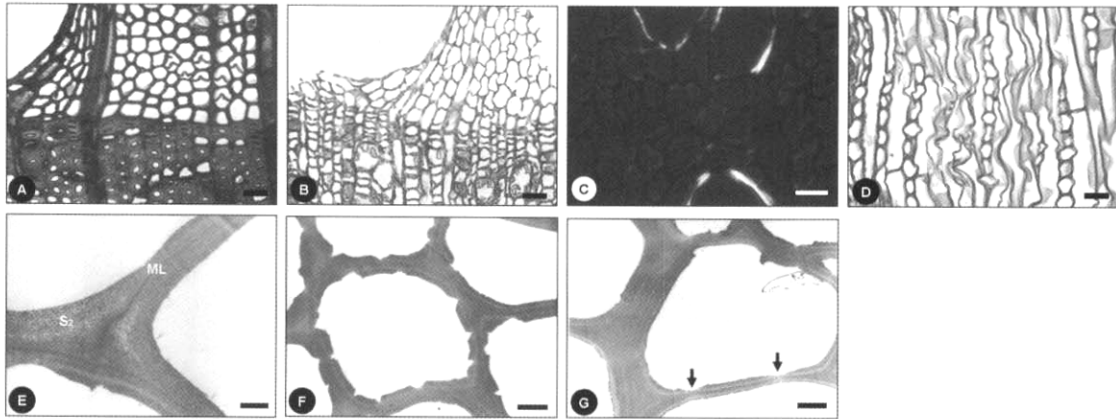


Fig. 1. Micromorphological characteristics in *Castanea* spp. decayed by a brown-rot fungus. A: General morphology of intact *Castanea* spp. LM. Toluidine blue staining, bar = 30 μ m, B: Transverse section of *Castanea* spp. decayed by a brown-rot fungus. LM. Toluidine blue staining, bar = 30 μ m. C: Disappearance of birefringence in fibers except in vessel wall. polarized microscopy, bar = 20 μ m. D: Wave shape of fibers. Longitudinal section. LM. Toluidine blue staining, bar = 30 μ m. E: Selective degradation of S₂ layer of fibers. TEM. KMnO₄ staining, bar = 500 nm. F: Cracks in secondary cell wall of fibers. TEM. PATAg staining, bar = 2 μ m. G: Thinning of fiber cell wall (arrows). TEM. KMnO₄ staining, bar = 2 μ m.

(potassium permanganate)와 PATAg (periodic acidthiosemicarbazide-silver proteinate)(Thiery, 1967)로 각각 염색한 후 TEM (Jeol 1010)으로 관찰하였다.

2.2.2. 화학분석

갈색부후 피해 활엽수재의 화학적 특성을 파악하기 위해 시료를 동결건조한 후 300 mesh 이하의 분말로 만들었다. FT-IR 분석은 KBr에 공시재료를 0.05% 비율로 혼합한 후 펠릿을 제작하여 FT-IR (Nicolet 520P)로 분석하였다. X선 회절 분석은 CuK α 선을 이용하여 40 KV, 20 mA의 조건에서 X선 회절장치(RIGAKU)를 사용하였으며, Segal법에 의해 상대결정화도를 산출하였다(이와 김, 1992).

$$\text{상대결정화도}(\%) = \left[\frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}} \right] \times 100$$

I_{200} : (200)의 회절강도
($2\theta = 22.8^\circ$)

I_{am} : 비결정부분의 회절강도
($2\theta = 18^\circ$)

3. 결과 및 고찰

3.1. 현미경적 특징

대부분의 시료에서 세균에 의한 세포벽의 분해가 부분적으로 관찰되었으나 이들은 갈색부후와는 연관이 있지 않은 관계로 본 연구에서는 제외하였다.

환공재인 밤나무속 갈색부후재는 Fig. 1B에서 나타난 바와 같이 부후는 조재 및 만재 부위 모두에서 현저하였다. 편광현미경 관찰 결과 도관에서는 복굴절이 관찰되었으나, 대부분의 목섬유 2차벽에서는 복굴절이 관찰되지 않았다(Fig. 1C). 복굴절 감소로부터 목섬유 세포벽의 셀룰로오스가 분해되었음을 확인할 수 있었다. 집선단면에서 목섬유는 과도상으로 심하게 굴절되어 나타났다(Fig. 1D). 이는 세포벽 구성 물질, 특히 강도를 담당하는 성분의 분해 때문인 것으로 해석된다. 갈색부후재는 세포벽의 강도와 관계되는 셀룰로오스를 분해하며(Highley와 Dashek, 1998), 이와 같은 다당류의 분해로 과도상의 세포벽

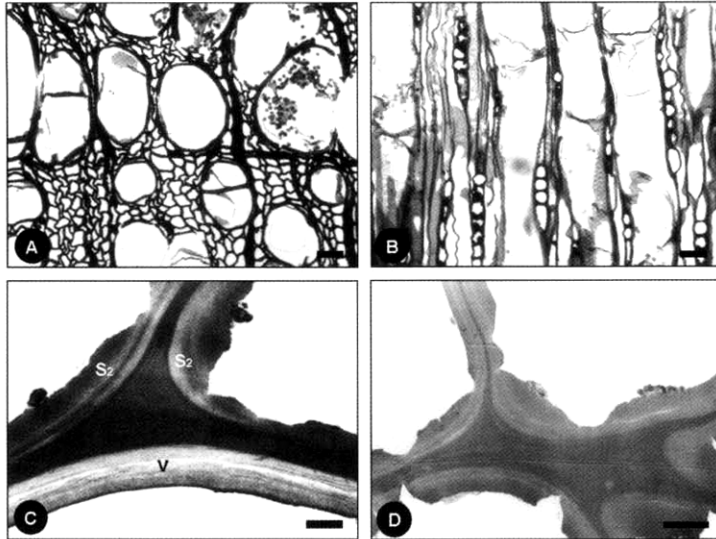


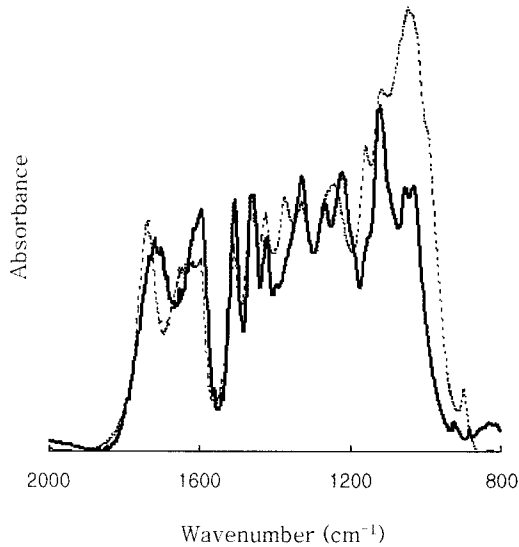
Fig. 2. Micromorphological characteristics in *Tamarix* spp. decayed by a brown-rot fungus. A: Transverse section of *Tamarix* spp. decayed by a brown-rot fungus. LM. Toluidine blue staining. bar = 50 μm . B: Wave shape of fibers. Longitudinal section. LM. Toluidine blue staining. bar = 50 μm . C: Selective degradation of S_2 layer in fibers (V: vessel). TEM. KMnO_4 staining. bar = 1 μm . D: Cracks in secondary cell wall of fibers. TEM. KMnO_4 staining. bar = 2 μm .

이 나타나는 것으로 사료된다.

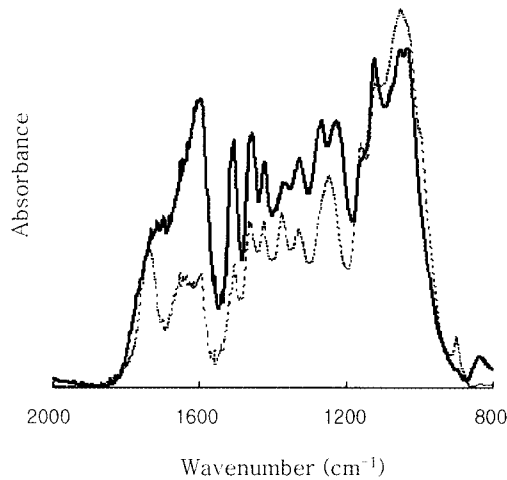
TEM 관찰결과 밤나무는 갈색부후재의 전형적인 특징인 S_2 층의 선택적 분해가 관찰되었다(Fig. 1E). S_2 층과는 달리 S_3 층은 잘 분해되지 않았으며 리그닌의 함량이 높은 중간층 역시 분해되지 않았다. 활엽수 갈색부후재의 세포벽은 세포내강에서 중간층 방향으로 갈라짐(crack) 현상도 관찰되었다(Fig. 1F). 이 같은 갈라짐 현상은 갈색부후균의 피해를 받은 침엽수재에서 이미 관찰된 바 있다(Liese, 1970; Irbe 등, 2006). 일부 목섬유의 경우 S_3 층부터 중간층으로 점진적인 박벽화 현상이 관찰되었다(Fig. 1G). Lee 등(2004)은 갈색부후균 *C. puteana*에 의한 상수리나무의 목섬유 박벽화 현상을 보고한 바 있다. 세포벽의 박벽화는 세포벽을 구성하는 모든 성분이 분해되었음을 보여주는 것으로써 본 연구에 공시된 갈색부후재의 경우 갈색부후균에 의해 리그닌 성분도 분해되었는지에 대해서는 또 다른 연구가 필요하다.

산공재인 사시나무속 갈색부후재의 경우 횡단면 상에서 목섬유가 원래의 형태를 잃고 찌그러져 나타났다(Fig. 2A). 사시나무 목섬유 역시 접선단면 상에서 밤나무에서와 같이 파도상으로 굴절되어 나타났다(Fig. 2B). 목섬유의 찌그러짐과 접선단면에서 파도상의 모습은 앞서 관찰된 밤나무속 갈색부후재와 동일한 모습이었다. 편광현미경 관찰결과 대부분의 도관은 복굴절을 보였으나 목섬유에서는 복굴절이 관찰되지 않았다(사진 생략). TEM 관찰결과 사시나무 목섬유 세포벽의 S_2 층이 선택적으로 분해되었으며 S_3 층은 분해되지 않고 잔존하였다. 일부 목섬유에서는 세포벽의 갈라짐(crack) 현상이 관찰되었으며 부분적으로 세포벽의 침식(erosion)과 박벽화 현상도 관찰되었다. 반면 리그닌의 함량이 높은 중간층은 분해되지 않았다(Figs. 2C, D).

밤나무 및 사시나무 갈색부후재의 도관은 목섬유와는 달리 복굴절이 관찰되었다. 도관의 세포벽은 목섬유와는 달리 주로 guaiacyl 타입의 리그닌으로



A.



B.

Fig. 3. FT-IR spectra of hardwoods decayed by a brown-rot fungus. A: *Castanea* spp., B: *Tamarix* spp. (solid line: decayed wood, dotted line: sound wood).

구성되어 있어서, 목재부후관련 미생물에 저항성을 보이는 것으로 보고되고 있다(Fujii 등, 1988; Eriksson 등, 1990).

현미경 관찰결과 활엽수 갈색부후재의 미시형태적 특징은 침엽수 갈색부후재에서 일반적으로 관찰되는 특징과 거의 유사하였다. 부분적으로 세포벽의

Table 1. Relative crystallinity of hardwoods decayed by a brown-rot fungus

| Species | Relative crystallinity (%) | |
|----------------------|----------------------------|------|
| <i>Castanea</i> spp. | Sound | 50.0 |
| | Decayed | 38.2 |
| <i>Tamarix</i> spp. | Sound | 53.3 |
| | Decayed | 41.1 |

박벽화 현상이 관찰되었으나 이는 주 분해형태는 아니었다.

3.2. FT-IR 분석 결과

활엽수 갈색부후재의 화학적 특성을 파악하기 위해 FT-IR를 사용한 기기분석 결과(Fig. 3) 셀룰로오스를 나타내는 895, 1050, 1160 cm^{-1} band는 밤나무와 사시나무 갈색부후재 모두에서 감소되거나 소멸되었다. 반면 리그닌을 나타내는 1505, 1600 cm^{-1} band는 증가되어 나타났다. FT-IR 분석 결과 공시된 갈색부후재는 다당류의 분해에 따른 리그닌의 상대적인 증가를 보여주었다(Gibson 등, 1985; Kuo 등, 1988; 김, 1988). 밤나무와 사시나무 갈색부후재는 특히 1730 cm^{-1} band가 소멸되었는데, 이는 갈색부후균은 부후초기 헤미셀룰로오스가 급격히 감소한다는 선행 연구결과와 일치하였다(최 등, 1922). 밤나무와 사시나무 갈색부후재의 건전재에서는 나타나지 않았던 1230과 1270 cm^{-1} band가 갈색부후재에서는 관찰되었다. 상기 band는 guaiacyl type의 리그닌을 나타내는 것으로(Pandey와 Pitman, 2003) 활엽수 갈색부후재의 경우 guaiacyl type의 리그닌이 syringyl type의 리그닌보다 상대적으로 분해되지 않음을 시사하였다.

3.3. X선 회절 분석 결과

활엽수 갈색부후재의 X선 회절분석 결과는 Fig. 4, 상대결정화도는 Table 1과 같다. 공시된 갈색부후재 모두 셀룰로오스의 결정성을 타나내는 I_{200} 에서의 회절 강도가 현저하게 감소되었으며 비결정형 셀

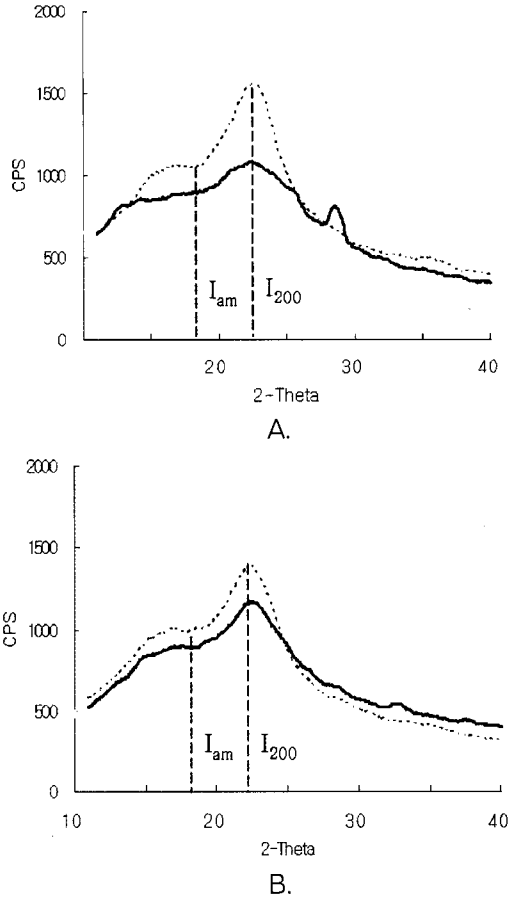


Fig. 4. X-ray diffraction profiles of hardwoods decayed by a brown-rot fungus. A: *Castanea* spp., B: *Tamarix* spp. (solid line: decayed wood, dotted line: sound wood).

룰로오스를 나타내는 I_{am} 의 강도 역시 감소되어 나타났다(Fig. 4). 밤나무 갈색부후재의 경우 28° 부근에서 관찰되는 peak는 공시재료 내의 광물질로 사료된다.

활엽수 갈색부후재의 상대결정화도가 건전재에 비해 12% 정도 감소하였다(Table 1). Howell 등(2007)은 갈색부후 초기 비결정영역의 셀룰로오스의 분해로 상대결정화도가 증가하고 부후가 진행됨에 따라 상대결정화도가 감소한다고 보고하였다. 이들의 연구결과에 비추어 볼 때 본 연구에 공시된 활

엽수 갈색부후재는 부후가 상당히 진행되었음을 보여 주었다.

4. 결 론

생입목 상태의 활엽수 갈색부후재의 미세형태 및 화학적 특징은 침엽수 갈색부후재에서 나타나는 전형적인 특징을 보여주었다. 즉 복굴절의 감소, 2차벽 중층(S_2)의 선택적 분해 및 세포벽의 갈라짐 현상이 그것이었다. FT-IR 분석결과 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 나타내는 band가 현저히 감소한 반면 리그닌을 나타내는 band는 증가되어 나타났다. X선 회절분석 결과 공시된 활엽수재의 상대 결정화도는 건전재에 비해 감소되어 나타난 것으로 보아, 갈색부후가 상당히 진전되었음을 보여주었다.

본 연구는 피해 수목의 표징(symptom)에 의해 갈색부후로 분류하여 그 특성을 알아보았다. 그러나 균에 따른 부후 특성이 차이를 보이므로 보다 자세한 연구를 위해서는 부후균의 식별이 추가적으로 요청된다.

사 사

본 연구는 Biohousing 연구사업의 지원으로 수행되었다. 또한 제 1 저자는 BK 21의 지원을 받았다.

참 고 문 헌

1. 김윤수. 1988. 적외선(IR) 분광법에 의한 고목재 성상의 탐지. 목재공학. 16(4): 3~9.
2. 김윤수, 김규혁, 김영수. 2004. 목재보존학. 전남대학교 출판부. pp. 39~59.
3. 이원용, 김남훈. 1992. X선 회절법에 의한 주요 침·활엽수재의 미세구조 해석. 목재공학. 20(1): 28~37.
4. 최지호, 한옥수, 김윤수. 1992. 갈색부후재의 X선 회절 및 IR 분석. 목재공학. 20(3): 55~60.
5. 金潤受. 2007. 褐色腐朽への再訪 -褐色腐朽の統一された概念はまば得られていない-. 木材保存. 33(2): 48~57.

6. Eriksson, K.-E. L., R. A. Balanchette, and P. Ander. 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer. Berlin. pp. 43~56.
7. Fujii, T., A. Tamai, and T. Hiroi. 1988. Cell wall structure of buried wood of tochinoki (*Aesculus turbinata* Bl.). Mokuzai Gakkaishi. 34(3): 261~265.
8. Gibson, D. G., R. L. Krahmer, and R. C. DeGroot. 1985. Early detection of brown rot decay in Douglas-fir and Southern yellow pine by infrared spectrophotometry. Wood and Fiber Sci. 17(4): 522~528.
9. Highley, T. L., L. Murmanis, and J. G. Palmer. 1985. Micromorphology of degradation in western hemlock and sweetgum by the brown rot fungus *Postia placenta*. Holzforschung. 39: 73~78.
10. Highley, T. L. and W. V. Dashek. 1998. Biotechnology in the study of brown- and white-rot decay. In: Forest Products Biotechnology. Eds. Bruce. A. and Palfreyman, J. W., Taylor & Francis Ltd. London. pp. 15~36.
11. Howell, C., A. C. S. Hastrup, and J. Jellison. 2007. The use of X-ray diffraction for analyzing biomodification of crystalline cellulose by wood decay fungi. Int. Research Group on wood Protection. IRG/WP/07-10622.
12. Irbe, I., B. Andersons, J. Chirkova, U. Kallavus, I. Andersone, and O. Faix. 2006. On the changes of a pinewood (*Pinus sylvestris* L.) chemical composition and ultrastructure during the attack by brown-rot fungi *Postia placenta* and *Coniophora puteana*. Int. Biodet. & Biodeg. 57: 99~106.
13. Kim, Y. S. and R. H. Newman. 1995. Solid state ¹³C NMR study of wood degraded by the brown rot fungus *Gloeophyllum trabeum*. Holzforschung. 49: 109~114.
14. Kuo, M. L., J. F. McClelland, S. Luo, P. L. Chilen, R. D. Walker, and C. Y. Hse. 1988. Applications of infrared photoacoustic spectroscopy for wood samples. Wood and Fiber Sci. 20(4): 132~145.
15. Lee K. H, S. G. Wi, A. P. Singh, and Y. S. Kim. 2004. Micromorphological characteristics of decayed wood and laccase produced by the brown-rot fungus *Coniophora puteana*. J. Wood Sci. 50: 281~284.
16. Liese, W. 1970. Ultrastructural aspects of woody tissue disintegration. Ann. Rev. Phytopathol. 8: 231~258.
17. Pandey, K. K. and A. J. Pitman. 2003. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decayed by brown-rot and white-rot fungi. Int. Biodet. & Biodeg. 52: 151~160.
18. Thiery, J. P. 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microsc. 6: 987~1017.