

고체배지 상에서 목재부후성 버섯 균주들의 균사생장 특성과 세포외효소 활성

전성민 · 가강현*

국립산림과학원 화학미생물과

Mycelial Growth and Extracellular Enzyme Activities of Wood-decaying Mushroom Strains on Solid Media

Sung-Min Jeon and Kang-Hyeon Ka*

Division of Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

ABSTRACT : The mycelial growths of wood-decaying mushroom strains collected from Korean forests were investigated on solid media under different culture media and temperatures. Most of strains showed the higher mycelial growth on potato dextrose agar (PDA) than malt extract agar (MEA) or sabouraud dextrose agar (SDA) plates. Except for a few strains, they grew well on PDA at 25°C and showed a poor growth at low temperature (10°C) than high temperature (30°C). All strains showed the carboxymethylcellulase (CM-cellulase) and laccase activities on solid media containing the specific substrates for two different enzymes.

KEYWORDS : Cellulase, Laccase, Mycelial growth, Wood-decaying mushroom

서론

균류는 육상 생태계에서 다양한 생물들이 이용할 수 있도록 영양물질을 순환시키는 역할을 담당하고 있는 중요한 생물군이다. 이 중 버섯류는 지구 상에 14,000 여종, 우리나라에는 1,600 여종 이상이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다[1]. 특히 식물과 동물을 먹이로 하는 버섯류를 ‘부후성 버섯’이라 하는데, 동물보다는 식물체를 영양원으로 이용하며 살아가는 종류가 지배적이다. 주로 목재에 침입하여 이를 영양원으로 취하면서 목재를 썩게 하는 목재부후균은

식물체의 골격을 구성하는 성분(cellulose, hemicellulose, lignin)의 이용 능력에 따라 다시 갈색부후균, 백색부후균, 연부후균으로 세분된다[1,2]. 이 중 갈색부후균은 주로 침엽수를, 백색부후균은 활엽수를 주로 부후시키는 것으로 알려져 있다. 백색부후균에는 담자균류와 일부 자낭균류가 포함되며, cellulose, hemicelluloses, lignin을 분해하는 능력이 있고, 이러한 분해력은 균주 또는 목재의 종류에 따라 다르다[1].

Cellulase나 lignin 분해효소(예: laccase, lignin peroxidase, Mn-peroxidase)의 활성은 목재부후균의 생존이나 균사 생장에 있어 매우 중요한 영향을 끼칠 것으로 생각된다. 또한 이러한 효소들의 산업적 이용 범위가 확대됨에 따라 이를 생산하는 새로운 산림버섯 균주들을 발굴하는 일은 비목재임산물(non-timber forest products, NTFP)의 활용 가치를 높이고, 그 활용 범위를 넓힐 수 있는 계기가 될 것으로 기대한다.

이에 본 연구에서는 우리나라 산림에 분포하고 있는 담자균류 중 목재를 분해하여 이를 영양원으로 취하는 목재부후성 야생 버섯 균주들의 균사생장 특성과 세포외효소(cellulase, laccase) 활성을 고체평판배지 상에서 조사함으로써 차후 연구 또는 상업적 목적으로 이용 가능한 비목재임산물로서의 버섯 균주를 선발하는 데에 기초자료로 활용

Kor. J. Mycol. 2014 March, 42(1): 40-49
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.1.40>
 pISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: kasybio@forest.go.kr

Received March 9, 2014
 Revised March 17, 2014
 Accepted March 19, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하고자 한다.

재료 및 방법

목재부후성 버섯 균주의 수집 및 순수배양

2007~2012년까지 우리나라 4개도(강원도, 경기도, 경상북도, 제주도)의 산림에서 수집하여 국립산림과학원(Korea Forest Research Institute, KFRI)에 보존 중이던 목재부후성 담자균류(10과 15종 30균주)를 대상으로 하였다(Table 1). 이들은 야생 버섯의 자실체 내부 조직 또는 포자로부터 순수분리한 것으로, 4°C 냉장 보관된 순수 배양체를 감자한천배지(potato dextrose agar, PDA)에 계대배양하여 대사가 활발한 상태의 균사체를 접종원으로 선택하여 본 실험에 사용하였다.

고체평판배지에서의 균사생장 특성 조사

배지의 종류와 배양 온도를 달리하여 목재부후성 버섯 균주의 균사생장 특성을 조사하였다. 배지의 종류에 따른 균사생장 특성을 알아보기 위해 potato dextrose agar (PDA; Difco), malt extract agar (MEA; Difco, USA), sabouraud dextrose agar (SDA, Difco) 등 3종류의 상용배지를 선택하였다. 시험군마다 동일한 조건을 부여하기 위해 고압증기멸균(121°C, 20 min)한 각각의 배지를 petri dish (bottom 85 × height 15 mm) 1개당 25 ml씩 분주하여 고형화하였으며, 접종원 또한 cork borer를 이용하여 직경 6 mm의 동일한 규격으로 준비하였다. 각 배지의 중앙에 접종원을 1개씩 접종하고, 25°C 항온 배양기에서 21일간 암배양하였다. 디지털 버어니어캘리퍼스를 이용하여 균총의 크기(접종원의 직경 제외)를 측정된 후, 배지의 종류에 따른 균총의 형태적 특징과 균사 성장력을 비교하였다.

고체평판배지 상에서 각 균주가 성장할 수 있는 온도 범위를 조사하기 위해 PDA 배지(pH 6.0)의 중앙에 접종원(직경 6 mm)을 1개씩 접종하고, 5종류(10, 15, 20, 25, 30°C)의 온도로 설정된 각각의 항온 배양기 내에서 21일간 암배양하였다. 균총의 크기(접종원의 직경 제외)를 측정된 후, 각 시험 균주의 기본 성장온도(최저 성장온도, 최적 성장온도, 최고 성장온도)를 설정하였다.

목재부후성 버섯 균주의 세포외효소 활성 조사

목재부후성 버섯 균주가 균체 외로 방출하는 세포외효소들 중 cellulase와 laccase의 활성을 균주별로 검색하기 위해 각 효소와 특이적으로 반응할 기질 성분이 포함된 고체평판배지를 각각 제조하였다.

섬유소 분해효소(cellulase)의 활성을 조사하기 위해 carboxymethylcellulose(CMC)를 기질로 선택하였다. Kasana 등[3]이 제시한 효소 검색용 배지의 구성에 따라 증류수 1 L에 NaNO₃ 2 g, K₂HPO₄ 1 g, MgSO₄ 0.5 g, KCl 0.5 g, carboxymethylcellulose sodium salt 2 g, peptone 0.2 g, agar

15 g을 혼합하였다. 본 연구에서는 멸균된 배지를 소형 petri dish (55×15 mm)에 10 ml씩 분주하여 CMC agar plate (pH 6.0)를 제조하였다. 각 균주의 접종원(직경 6 mm)을 CMC agar plate의 중앙에 1개씩 접종한 후, 25°C에서 8일간 암배양하였다. 배지의 중앙에 염색시약인 Gram's iodine solution (KI 2 g, I₂ 1g, 증류수 300 ml)을 1~2 ml씩 떨어뜨린 후, 알루미늄 호일로 차광한 상태에서 약 2시간 동안 상온(25±2°C)에 방치하였다. 배지 내 cellulase 비활성 영역(암적색으로 염색)과 cellulase 활성 영역(투명대) 중 투명대의 직경(접종원의 직경 제외)을 mm 단위로 측정하여 기록하였다.

리그닌 분해효소(laccase)의 활성을 조사하기 위해 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))를 선택하였다. ABTS는 laccase에 대한 특이성이 높고[4,5], 다른 폐놀계 기질과는 달리 인체에 암을 유발하지 않는 비발암성 산화환원 지시제로 알려져 있으며[6], laccase와 반응 시 청록색으로 발색되어 효소 활성을 쉽고 빠르게 육안으로 확인할 수 있는 장점이 있다[4,6]. 본 연구에서는 Crowe와 Olsson[4]이 식물병원성 토양 진균의 laccase 활성을 검색하기 위해 사용했던 방법을 일부 변형하여 다음과 같이 laccase 활성 검색 배지를 제조하여 목재부후성 버섯 균주의 활성을 조사하였다. 증류수가 담긴 유리 비이커에 무기물 혼합 농축액(K₂HPO₄ 2 g, KCl 2 g, MgSO₄·7H₂O 2 g, D.W. 1 L, pH 5.0) 50 ml와 ABTS 0.5487 g을 첨가하여 잘 혼합한 후, 나머지 소량의 증류수를 가해 혼합액의 최종 부피가 1 L가 되도록 하였다. 여기에 Bacto™ agar 15 g을 첨가하여 고압증기멸균하고, 이를 멸균 petri dish (85×15 mm)에 20 ml씩 분주하여 ABTS agar plate를 제조하였다. 각 균주의 접종원(직경 6 mm)을 ABTS agar plate의 중앙에 1개씩 접종한 후, 25°C에서 5일간 암배양하였다. 접종원을 중심으로 청록색의 원형 발색대가 형성된 경우 laccase 활성이 있는 것으로 판정하여 발색대의 크기를 mm 단위로 측정하여 기록하였다. 또한 발색 강도를 3군으로 나누어 weak(1+), moderate(2+), 또는 strong(3+)으로 판정하여 표기하였다.

결과 및 고찰

목재부후성 버섯 균주들의 기원

2007년부터 5년간 우리나라 산림에서 수집한 부후성 버섯류(10과 15종 30균주)에 대한 분리 기원을 조사하였다. Table 1에서와 같이 수집 지역은 주로 강원(평창, 홍천, 인제, 고성)이었으며, 경기(광주, 포천), 경북, 제주 지역에서도 일부 야생 균주를 수집하였다. 버섯이 발생한 주변의 식생을 조사한 결과, 신갈나무, 굴참나무, 졸참나무, 밤나무, 서어나무 등 주로 활엽수 수목이 분포하는 곳에 발생하는 경우가 많았다. 이와 달리 참부채버섯이나 독청버섯아재비의 일부 균주들은 참나무림이 아닌 피나무나 일본이갈

Table 1. List of wood-decaying mushroom strains used in this study

| Scientific name | Korean name | KFRI strain No. ^a | Origin of strains | | | | Year isolated |
|--------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------------|------|---------------|
| | | | Origin of pure cultures | Forest vegetation | Location | | |
| <i>Arctomyces pyxidatus</i> | Jomnamu-ssari-beoseot | 1826 | Fruit body inner tissue | Broadleaf tree | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Arctomyces pyxidatus</i> | Jomnamu-ssari-beoseot | 1827 | Fruit body inner tissue | Broadleaf tree | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Arctomyces pyxidatus</i> | Jomnamu-ssari-beoseot | 1942 | Fruit body inner tissue | Broadleaf tree | Segipo-si, Jeju-do | 2012 | |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> | Jungguk-neureupnamu-beoseot | 1948 | Fruit body inner tissue | <i>Ulmus</i> sp. | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> | Jungguk-neureupnamu-beoseot | 1949 | Basidiospores | | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Grifola frondosa</i> | Ipsae-beoseot | 1099 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Inje-gun, Gangwon-do | 2008 | |
| <i>Grifola frondosa</i> | Ipsae-beoseot | 1102 | Fruit body inner tissue | <i>Castanea crenata</i> | Gwangju-si, Gyeonggi-do | 2008 | |
| <i>Gymnopilus junonius</i> | Galwangsaeak-michigwangi-beoseot | 1114 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus serrata</i> | Pocheon-gun, Gyeonggi-do | 2008 | |
| <i>Gymnopilus junonius</i> | Galwangsaeak-michigwangi-beoseot | 1444 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Pocheon-gun, Gyeonggi-do | 2010 | |
| <i>Hericeum erinacius</i> | Noru-gungdengi-beoseot | 1622 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Inje-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Hericeum erinacius</i> | Noru-gungdengi-beoseot | 1950 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Heritium coralloides</i> | Susil-noru-gungdengi-beoseot | 1096 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Sokcho-si, Gangwon-do | 2008 | |
| <i>Heritium coralloides</i> | Susil-noru-gungdengi-beoseot | 1448 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus variabilis</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2010 | |
| <i>Hypoholoma lateritium</i> | Gaeam-beoseot | 1613 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Inje-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Hypoholoma lateritium</i> | Gaeam-beoseot | 1614 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Inje-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Lyophyllum fumosum</i> | Yeongsaeak-mangadak-beoseot | 1120 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus variabilis</i> | Cheongdo-gun, Gyeongsangbuk-do | 2008 | |
| <i>Lyophyllum fumosum</i> | Yeongsaeak-mangadak-beoseot | 1446 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2010 | |
| <i>Macrolepiota procera</i> | Keungat-beoseot | 1868 | Fruit body inner tissue | <i>Pinus densiflora</i> | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Macrolepiota procera</i> | Keungat-beoseot | 1971 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus mongolica</i> | Goseong-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Mucidula brunneomarginata</i> | Galsaeak-nalgippuri-beoseot | 1563 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Mucidula brunneomarginata</i> | Galsaeak-nalgippuri-beoseot | 1600 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Inje-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Omphalotus japonicus</i> | Whagyong-beoseot | 979 | Fruit body inner tissue | <i>Carpinus laxiflora</i> | Pocheon-gun, Gyeonggi-do | 2007 | |
| <i>Omphalotus japonicus</i> | Whagyong-beoseot | 1441 | Basidiospores | | Pocheon-gun, Gyeonggi-do | 2010 | |
| <i>Oudemansiella mucida</i> | Kkeunjeok-ginppuri-beoseot | 1442 | Fruit body inner tissue | Broadleaf tree | Pocheon-gun, Gyeonggi-do | 2010 | |
| <i>Oudemansiella venosolamellata</i> | Kkeunjeok-ginppuri-beoseot-ajaebi | 1562 | Fruit body inner tissue | <i>Ulmus</i> sp. | Pyeongchang-gun, Gangwon-do | 2011 | |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> | Chambuchae-beoseot | 1466 | Fruit body inner tissue | <i>Tilia amurensis</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2010 | |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> | Chambuchae-beoseot | 1963 | Fruit body inner tissue | <i>Tilia amurensis</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> | Chambuchae-beoseot | 2004 | Fruit body inner tissue | <i>Tilia amurensis</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2012 | |
| <i>Stropharia rugosoannulata</i> | Dokcheong-beoseot-ajaebi | 1296 | Fruit body inner tissue | <i>Quercus</i> sp. | Yangpyeong-gun, Gyeonggi-do | 2010 | |
| <i>Stropharia rugosoannulata</i> | Dokcheong-beoseot-ajaebi | 1958 | Fruit body inner tissue | <i>Larix kaempferi</i> | Hongcheon-gun, Gangwon-do | 2012 | |

^aKFRI: Korea Forest Research Institute, Korea.

나무림에서 수집한 것으로 조사되었다. 수집 균주들의 순수 배양체의 분리 기원을 살펴본 결과, 대부분의 균주들은 성숙한 자실체의 내부 조직을 고체배지에 배양하여 분리하였으며, 중국느릅나무버섯과 화경버섯의 일부 균주들은 담자포자의 발아 과정을 통해 순수배양체를 확보한 것으로 조사되었다.

목재부후성 버섯 균주들의 배지별 균사생장 특성

목재부후성 야생 균주들을 3종류의 고체평판배지(PDA, MEA, SDA)에 배양한 후 이들의 균사 성장력을 조사한 결과, PDA, SDA, MEA 순으로 균 생장이 우수하게 나타났다 (Table 2). 배양 21일 후, 중국느릅나무버섯(KFRI 1948)을 비롯한 9개 균주들은 PDA 전면에 균사체들이 만연될 정도로 성장하였다. 이 중 6균주(979, 1448, 1971, 1441, 1442, 1562)는 SDA 배지에서도 균사체가 만연되었다. PDA나 SDA와는 달리 MEA 배지에서는 배지 전면에 균사체가 만연된 경우가 없었으며, 수실노루궁뎅이버섯(KFRI 1096)은 이에 이 배지에서 성장하지 못하였다. 한편, 갈황색미치광이버섯(KFRI 1114)과 화경버섯(KFRI 979)은 3종류의 배지 모두에서 약 70 mm 이상의 강한 균 성장력을 보여주었다.

동일한 배지에서 배양한 경우에도 몇몇 균주들은 균사 성장력에 큰 차이를 나타냈다. 쯤나무싸리버섯 3균주를 PDA 배지 상에서 배양한 결과, KFRI 1942의 생장이 KFRI 1826이나 1827보다 저조하였다. 또한 독청버섯아재비의 두 균주(KFRI 1296과 1958)는 PDA 상에서 균사 성장력이 2.7배 이상 차이가 났다. MEA에서 쯤나무싸리버섯 3균주 간 균 성장력을 비교한 결과, KFRI 1827이 다른 2균주보다 4배 더 강한 균 성장력을 보여주었다. SDA에서 배양 시 수실노루궁뎅이버섯과 참부채버섯은 3배, 갈색날긴뿌리버섯은 6배 정도 균주 간 성장력이 다르게 나타났다. 이와 같은 결과를 통해 목재부후성 버섯 균주의 균 성장력은 고체평판배지의 종류와 균주에 따라 차이를 알 수 있었다. 또한 Jeon과 Ka[7]가 발표한 외생균근균의 결과와 비교 시, 본 실험에서 사용한 목재부후성 균주들은 외생균근균에 비해 균 성장 속도가 더 빠르며, 대부분의 외생균근균이 MEA에서 생장이 저조한 것과 같이 목재부후성 균주에서도 다른 2종류의 배지에 비해 MEA에서의 균 성장력이 낮은 특성을 나타냈다. 이와 같이 대부분의 부후성 균주들이 MEA에서 잘 성장하지 못하는 이유를 정확히 규명하기는 어려우나, 이 배지의 주성분이 maltose인 것을 감안해 볼 때에 이러한 종류의 이당류에 대한 균의 이용 효율이 낮기 때문인 것으로 사료된다. 또한 PDA의 주성분이 glucose임을 고려해 볼 때에, 이러한 단당류는 일반적인 균류에서의 선호도와 같이 본 시험의 균주들도 그들의 균사 생장에 이용하기 쉬운 탄소원으로 작용한 것으로 보인다.

고체평판배지에서 몇몇 목재부후성 버섯 균주가 형성한 균총의 형태적 특성을 조사하였다. 평판배지 정면에서 바라본 균총의 형태, 색, 균총 가장자리의 형태, 균총 측면에

Table 2. Mycelial growth of wood-decaying mushroom strains on three different solid media

| Fungi (KFRI strain No.) | Mycelial growth (mm / 21 days) | | |
|---|--------------------------------|----------|----------|
| | PDA | MEA | SDA |
| <i>Artomyces pyxidatus</i> (1826) | 56.5±1.1 | 5.1±0.4 | 37.3±1.8 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1827) | 60.7±0.3 | 22.1±0.8 | 46.4±0.7 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1942) | 34.9±4.1 | 3.2±0.2 | 28.4±0.8 |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> (1948) | 79.0±0.0 | 34.8±2.0 | 37.1±2.1 |
| <i>G. incarnatum</i> (1949) | 72.3±0.8 | 41.8±2.1 | 27.9±1.9 |
| <i>Grifola frondosa</i> (1099) | 43.2±0.8 | 18.7±0.2 | 39.0±0.7 |
| <i>G. frondosa</i> (1102) | 66.7±1.9 | 9.1±0.4 | 67.8±4.7 |
| <i>Gymnopilus junonius</i> (1114) | 79.0±0.0 | 70.9±0.5 | 72.4±0.3 |
| <i>G. junonius</i> (1444) | 72.5±0.6 | 71.3±2.0 | 58.6±0.6 |
| <i>Hericeum erinacius</i> (1622) | 68.3±2.2 | 1.4±0.7 | 73.7±1.2 |
| <i>H. erinacius</i> (1950) | 53.0±2.2 | 2.7±0.2 | 76.0±1.2 |
| <i>H. coralloides</i> (1096) | 40.9±0.7 | 0.0±0.0 | 27.4±0.8 |
| <i>H. coralloides</i> (1448) | 79.0±0.0 | 39.2±3.1 | 79.0±0.0 |
| <i>Hypholoma lateritium</i> (1613) | 46.9±0.4 | 7.1±1.4 | 16.8±1.2 |
| <i>H. lateritium</i> (1614) | 41.6±2.0 | 5.8±0.2 | 13.8±0.3 |
| <i>Lyophyllum. fumosum</i> (1120) | 60.1±0.6 | 5.9±2.1 | 44.2±1.4 |
| <i>L. fumosum</i> (1446) | 47.4±3.1 | 6.6±0.5 | 44.2±1.5 |
| <i>Macrolepiota procera</i> (1868) | 79.0±0.0 | 55.2±0.2 | 74.7±0.6 |
| <i>M. procera</i> (1971) | 79.0±0.0 | 49.7±2.9 | 79.0±0.0 |
| <i>Mucidula brunneomarginata</i> (1563) | 79.0±0.0 | 6.9±0.7 | 5.4±0.5 |
| <i>M. brunneomarginata</i> (1600) | 47.3±1.3 | 5.5±0.1 | 34.0±0.5 |
| <i>Omphalotus japonicus</i> (979) | 79.0±0.0 | 69.9±2.5 | 79.0±0.0 |
| <i>O. japonicus</i> (1441) | 79.0±0.0 | 46.4±1.5 | 79.0±0.0 |
| <i>Oudemansiella mucida</i> (1442) | 79.0±0.0 | 25.5±0.7 | 79.0±0.0 |
| <i>O. venosolamellata</i> (1562) | 79.0±0.0 | 60.4±4.6 | 79.0±0.0 |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> (1466) | 31.4±1.5 | 6.5±0.5 | 15.3±1.6 |
| <i>S. serotina</i> (1963) | 70.8±1.0 | 5.3±0.5 | 56.0±0.2 |
| <i>S. serotina</i> (2004) | 33.5±0.5 | 5.1±0.5 | 18.3±0.2 |
| <i>Stropharia rugosoannulata</i> (1296) | 72.4±1.3 | 44.8±1.7 | 74.2±0.4 |
| <i>S. rugosoannulata</i> (1958) | 26.9±2.0 | 50.3±0.9 | 66.9±0.8 |

¹⁾Strains were incubated on potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA), and sabouraud dextrose agar (SDA) plates at 25°C for 21 days.

²⁾Values (except for the size of inoculants, 6 mm in diameter) are mean±SD of three replicates. The size of solid plate bottom is 85 mm in diameter.

서 바라본 형태와 볼록한 정도, 균총 표면의 질감, 세포외 분비물 방출 여부 등은 배지의 종류나 균주별로 다르게 나타나 부후성 버섯 균류 균총의 형태적 다양성을 관찰할 수 있었다. 한 예로, PDA에서 개암버섯(KFRI 1613)은 상아색의 원형 집락을 형성하였으며, 균총의 가장자리는 둥근형,

측면에서 바라 본 집락의 형태는 편평형이며, 표면 질감은 솜털과 유사한 특징을 나타냈다. MEA에서 배양 시 균총의 색은 황색으로, SDA에서는 옅은 황색으로 변화되었다. 노루궁뎅이버섯(KFRI 1622)의 균사체는 PDA에서 불규칙한 형태로 성장하였으며, 균총의 가장자리는 섬유상이고, 상아색의 분비물을 방출하면서 성장하였다. 연기색만가닥버섯(KFRI 1120)은 PDA와 SDA 모두에서 균총 표면에 주름이 형성된 것을 관찰할 수 있었는데, PDA보다 SDA에서의 주름 간격이 더 큰 형태적 특징을 나타냈다. 화경버섯 2균주는 PDA배지 상에서 모두 굴곡이 심하고 거친 질감의 균총

을 형성하였으며, 갈색의 분비물을 균체 외로 방출하였다. 자실체의 조직으로 분리한 화경버섯(KFRI 979)과 담자포자 발아를 통해 분리한 화경버섯(KFRI 1441)은 흥미롭게도 PDA나 MEA에서 배양 시 균총의 색상이 확연히 다르게 나타났다. KFRI 979는 PDA나 MEA에서 황색이나 주황색 계통의 균총을 형성한 반면, KFRI 1441은 PDA나 MEA에서 흑자색이나 회색 계통의 균총을 형성하였다. 또한 SDA에 배양 시 KFRI 979는 황색 계통이 아닌 균총을 형성하였으며, 배지 상에 분비물을 방출하는 특성을 나타냈다. 이와 같이 평판배지의 성분에 따라 균총의 형태, 색상, 질

Table 3. Mycelial growth of wood-decaying mushroom strains at five different temperatures

| Fungi (KFRI strain No.) | Mycelial growth (mm / 21 days) | | | | | Cardinal temperature (°C) | | |
|---|--------------------------------|------------|------------|------------|------------|---------------------------|---------|---------|
| | 10°C | 15°C | 20°C | 25°C | 30°C | Minimum | Optimum | Maximum |
| <i>Artomyces pyxidatus</i> (1826) | 1.2 ± 0.4 | 16.2 ± 1.0 | 38.4 ± 0.4 | 59.8 ± 1.7 | 22.2 ± 0.9 | 10 | 25 | 30 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1827) | 4.9 ± 0.0 | 31.1 ± 0.7 | 53.4 ± 0.5 | 65.5 ± 1.0 | 31.2 ± 1.9 | 10 | 25 | 30 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1942) | 1.0 ± 0.3 | 5.2 ± 0.9 | 22.6 ± 0.4 | 40.2 ± 3.8 | 13.4 ± 0.4 | 10 | 25 | 30 |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> (1948) | 13.8 ± 0.6 | 30.7 ± 0.5 | 66.9 ± 1.8 | 79.0 ± 0.0 | 51.2 ± 2.3 | 10 | 25 | 30 |
| <i>G. incarnatum</i> (1949) | 12.5 ± 0.1 | 29.6 ± 1.4 | 58.7 ± 2.8 | 73.6 ± 0.5 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 30 | 30 |
| <i>Grifola frondosa</i> (1099) | 5.3 ± 0.2 | 27.4 ± 1.0 | 26.9 ± 1.2 | 47.4 ± 0.9 | 37.7 ± 3.7 | 10 | 25 | 30 |
| <i>G. frondosa</i> (1102) | 4.2 ± 0.2 | 38.2 ± 3.6 | 46.6 ± 0.8 | 62.6 ± 2.2 | 42.8 ± 8.6 | 10 | 25 | 30 |
| <i>Gymnopilus junonius</i> (1114) | 9.6 ± 0.3 | 48.6 ± 1.1 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 40.0 ± 0.9 | 10 | 20-25 | 30 |
| <i>G. junonius</i> (1444) | 10.3 ± 0.6 | 31.1 ± 0.6 | 70.6 ± 0.7 | 77.6 ± 0.3 | 53.9 ± 1.2 | 10 | 25 | 30 |
| <i>Hericium erinacius</i> (1622) | 15.8 ± 2.3 | 58.5 ± 1.7 | 75.0 ± 7.0 | 67.3 ± 1.2 | 55.4 ± 1.0 | 10 | 20 | 30 |
| <i>H. erinacius</i> (1950) | 16.5 ± 0.7 | 24.9 ± 1.1 | 79.0 ± 0.0 | 54.8 ± 3.4 | 61.5 ± 2.1 | 10 | 20 | 30 |
| <i>H. coralloides</i> (1096) | 2.1 ± 0.4 | 26.3 ± 2.3 | 44.6 ± 1.4 | 42.9 ± 1.2 | 0.0 ± 0.0 | 10 | 20-25 | 25 |
| <i>H. coralloides</i> (1448) | 14.3 ± 1.2 | 37.7 ± 1.6 | 70.7 ± 4.3 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 25-30 | 30 |
| <i>Hypholoma lateritium</i> (1613) | 15.7 ± 0.3 | 31.6 ± 1.0 | 48.6 ± 0.8 | 47.0 ± 0.4 | 0.0 ± 0.0 | 10 | 20-25 | 25 |
| <i>H. lateritium</i> (1614) | 16.2 ± 0.5 | 30.7 ± 0.8 | 47.9 ± 1.0 | 42.7 ± 0.4 | 5.0 ± 0.3 | 10 | 20 | 30 |
| <i>Lyophyllum fumosum</i> (1120) | 2.9 ± 0.1 | 13.0 ± 0.7 | 43.4 ± 1.3 | 59.0 ± 2.1 | 6.1 ± 0.4 | 10 | 25 | 30 |
| <i>L. fumosum</i> (1446) | 0.0 ± 0.0 | 6.7 ± 0.7 | 27.7 ± 0.6 | 45.5 ± 0.2 | 26.9 ± 1.2 | 15 | 25 | 30 |
| <i>Macrolepiota procera</i> (1868) | 6.0 ± 0.2 | 39.0 ± 0.5 | 70.0 ± 0.5 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 25-30 | 30 |
| <i>M. procera</i> (1971) | 7.4 ± 0.3 | 51.6 ± 0.5 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 20-30 | 30 |
| <i>Mucidula brunneomarginata</i> (1563) | 13.8 ± 1.5 | 27.5 ± 0.8 | 67.2 ± 2.6 | 79.0 ± 0.0 | 26.0 ± 1.6 | 10 | 25 | 30 |
| <i>M. brunneomarginata</i> (1600) | 11.2 ± 0.7 | 44.4 ± 1.5 | 75.9 ± 0.3 | 44.9 ± 2.3 | 51.2 ± 1.8 | 10 | 20 | 30 |
| <i>Omphalotus japonicus</i> (979) | 22.9 ± 1.1 | 63.5 ± 3.3 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 20-30 | 30 |
| <i>O. japonicus</i> (1441) | 17.3 ± 1.4 | 64.2 ± 1.7 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 20-30 | 30 |
| <i>Oudemansiella mucida</i> (1442) | 33.1 ± 0.5 | 73.0 ± 0.6 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 20-30 | 30 |
| <i>O. venosolamellata</i> (1562) | 50.0 ± 1.4 | 75.1 ± 0.3 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 79.0 ± 0.0 | 10 | 20-30 | 30 |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> (1466) | 3.3 ± 0.3 | 37.4 ± 2.3 | 32.5 ± 0.6 | 33.4 ± 1.3 | 10.7 ± 1.7 | 10 | 15 | 30 |
| <i>S. serotina</i> (1963) | 26.6 ± 1.4 | 69.9 ± 0.7 | 79.0 ± 0.0 | 71.2 ± 0.4 | 22.8 ± 1.4 | 10 | 20 | 30 |
| <i>S. serotina</i> (2004) | 6.0 ± 1.3 | 29.9 ± 2.0 | 46.8 ± 2.2 | 40.7 ± 1.1 | 23.9 ± 0.6 | 10 | 20 | 30 |
| <i>Stropharia rugosoannulata</i> (1296) | 20.9 ± 0.8 | 36.3 ± 0.4 | 69.8 ± 0.6 | 68.8 ± 0.7 | 50.6 ± 2.4 | 10 | 20-25 | 30 |
| <i>S. rugosoannulata</i> (1958) | 6.4 ± 0.4 | 16.0 ± 0.7 | 29.7 ± 0.2 | 27.6 ± 2.3 | 18.6 ± 0.9 | 10 | 20-25 | 30 |

¹⁾All strains were incubated on PDA plates (pH 6.0, 85 mm in diameter) at different temperatures for 21 days.

²⁾Values (except for the size of inoculants, 6 mm in diameter) are mean±SD of three replicates.

감 등이 다양하게 변화하는 현상은 각각의 목재부후성 버섯 균주들만의 고유한 성장 특성이 될 수 있으므로 유전적 동정 과정에 앞서 이러한 특성 조사를 하면 균종 수준이 아닌 세부적인 균주 동정도 일차적으로 가능할 것으로 생각한다. 또한 이와 같이 서로 다른 종류의 배지에서 균을 배양하는 일은 각 균주의 균사 생장에 가장 적합한 배지를 선발하는 것뿐만 아니라 차후 평판배지나 사면배지에서의 지속적인 계대배양을 통한 균주 보존 시에도 균주 고유의

특성이 유지되고 있는지를 형태적으로 확인할 수 있는 중요한 방법이 될 수 있을 것이다.

목재부후성 버섯 균주의 온도별 균사생장 특성

PDA 고체평판배지 상에서 배양 온도(10, 15, 20, 25, 30°C) 변화에 따른 목재부후성 버섯 균주들의 균사 성장력을 측정하고, 그들이 성장할 수 있는 최저, 최적, 최고 온도인 기본 성장온도를 조사하였다.

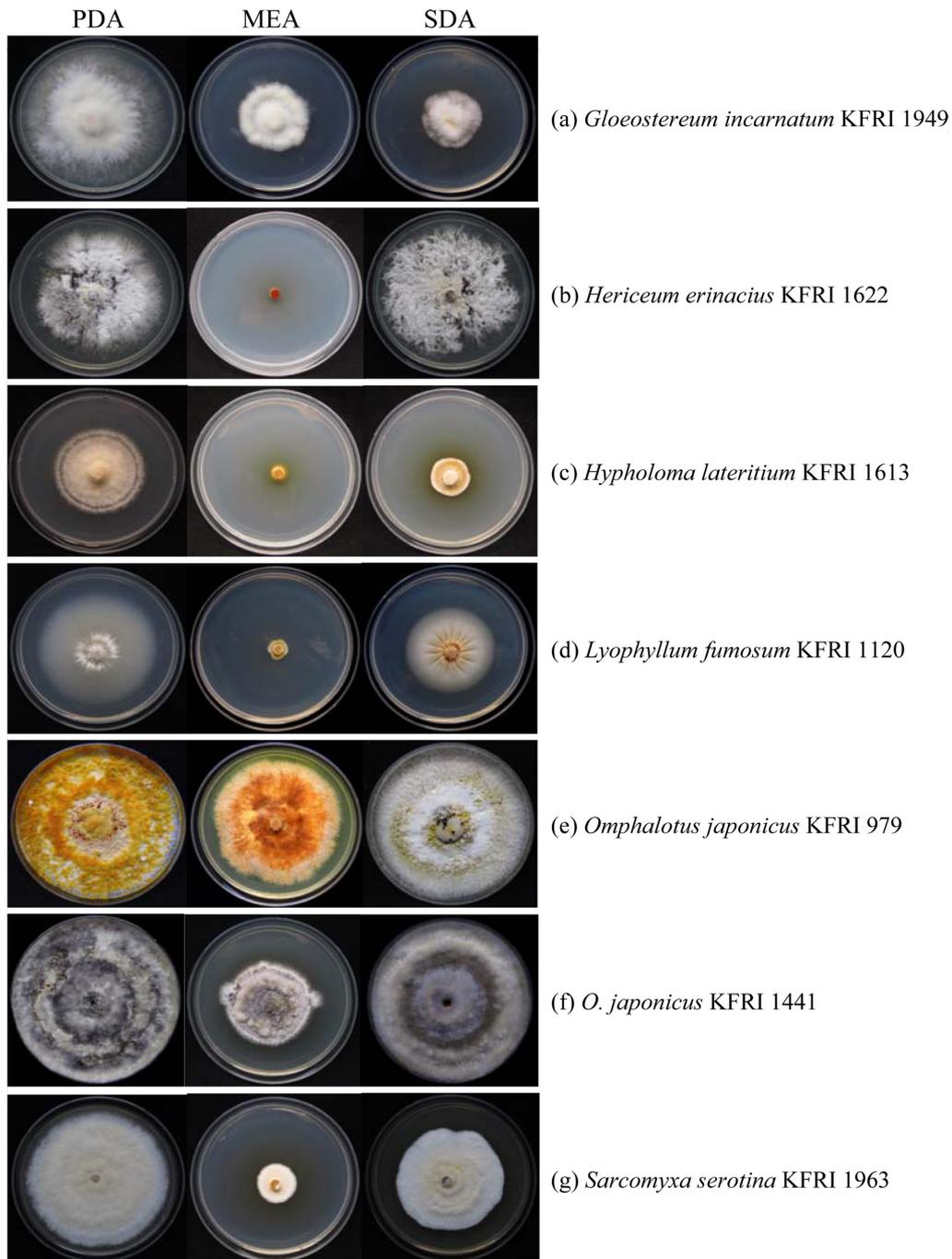


Fig. 1. Morphological characteristics of mycelial colonies in wood-decaying mushroom strains grown on different solid media (bottom size: 85 mm in diameter).

참부채버섯을 비롯한 대부분의 시험 균주들은 20~25°C에서 균종의 크기가 가장 크게 나타나 균이 성장하기에 최적 온도를 알 수 있었다(Table 3). 큰갓버섯(KFRI 1971), 화경버섯(KFRI 979, 1441), 끈적끈뿌리버섯(KFRI 1441), 끈적끈뿌리버섯아재비(KFRI 1442) 등은 최적 온도 범위가 20~30°C로 가장 넓게 나타났다. 중국느릅나무버섯의 두 균주는 최적 온도가 서로 다르게 나타났는데, 조직으로부터 분리한 균주(KFRI 1948)는 25°C, 포자로부터 분리한 균주(KFRI 1949)는 30°C에서 균사 생장력이 높았다. 이는 동일 균종이라도 순수배양체의 분리 기원이 자실체 조직 또는 포자와 같이 서로 다를 경우에는 고체평판배지에서의 균사체 성장을 위한 최적 온도도 서로 다를 가능성이 있음을 말해준다. 그러나 화경버섯의 두 균주 또한 순수배양체의 분리 기원이 서로 다르기는 하지만, 두 균주의 최적 온도 범위가 20~30°C로 동일하기 때문에 목재부후성 버섯 균류의 균사생장을 위한 최적온도는 순수배양체의 분리 기원에 의해 전적으로 좌우되기보다는 균주 특이적으로 최적 생장온도가 서로 다를 것으로 생각된다. 시험 균주 중 유일하게 참부채버섯(KFRI 1466)은 균사생장을 위한 최적 온도가 15°C로 가장 낮았으며, 다른 2균주들(KFRI 1963, 2004) 또한 최적온도가 20°C로 비교적 낮게 나타났다. 이 버섯은 늦가을에 발생하는 버섯으로 생태적인 영향을 반영한 결과로 생각된다.

균 성장을 위한 최저 온도는 연기색만가닥버섯(KFRI 1446)을 제외한 대부분의 균주에서 10°C로 나타났다. 균이 성장할 수 있는 최고 온도는 대부분의 균주들에 있어 30°C

였으나, 수실노루곰팡이버섯(KFRI 1096)과 개암버섯(KFRI 1613)의 경우에는 30°C에서 전혀 균이 성장하지 않아 25°C가 균 성장을 위한 최고 온도를 알 수 있었다. 수실노루곰팡이버섯과 개암버섯은 늦가을에 버섯을 발생하며 생태적인 영향을 반영한 결과로 판단된다. 10°C와 30°C에서 균 총 크기를 비교했을 때, 총시험 균주의 87%는 10°C보다 30°C에서 균 생장력이 더 높게 나타나 목재부후성 버섯균주들은 저온보다 고온 환경에 대한 적응력이 좀 더 큼을 알 수 있었다. 또한 동일한 균종이라도 동일한 배양 온도에서 배양 시에는 균주별로 균 생장력이 서로 다르게 나타났다.

우리나라 산림에서 분리한 대부분의 야생버섯 균주들의 온도별 균사생장 특성을 비교해 보면, 외생균근균의 경우 대부분 최적 생장온도가 20~25°C이고 10°C나 30°C에서는 균사 생장력이 감소되는 특징을 나타내는데, 본 실험의 목재부후균 또한 이와 동일한 양상을 나타냈다. 그러나 본 연구와 Jeon과 Ka[7]등이 발표한 내용을 통해 목재부후균과 외생균근균은 극한 온도 변화에 대한 적응력이 서로 다르다는 사실을 발견하였다. 외생균근균과 목재부후균 모두 우리나라 산림에서 분리한 야생 균주임에도 불구하고, 외생균근균은 10°C 저온보다는 30°C 고온에 더 취약하여 균사 생장력이 낮은 반면, 목재부후균은 30°C 고온보다는 10°C 저온에서 균사 생장력이 더 낮은 것으로 조사되었다.

목재부후성 버섯 균주의 cellulase 활성

목재부후성 버섯 균류의 섬유소(cellulose) 분해력을 조사하기 위해 cellulase에 대한 기질로 carboxymethyl cellulose

Table 4. Cellulase activity of wood-decaying mushroom strains on carboxymethylcellulose (CMC) agar plate

| Fungi (KFRI strain No.) | CM-cellulase activity (mm) ^a | Fungi (KFRI strain No.) | CM-cellulase activity (mm) ^a |
|---------------------------------------|---|---|---|
| <i>Artomyces pyxidatus</i> (1826) | 32.3 ± 0.4 | <i>Lyophyllum fumosum</i> (1120) | 25.7 ± 0.5 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1827) | 33.1 ± 0.9 | <i>L. fumosum</i> (1446) | 26.6 ± 0.7 |
| <i>A. pyxidatus</i> (1942) | 28.9 ± 0.5 | <i>Macrolepiota procera</i> (1868) | 35.6 ± 0.4 |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> (1948) | 30.9 ± 0.5 | <i>M. procera</i> (1971) | 33.4 ± 0.9 |
| <i>G. incarnatum</i> (1949) | 33.0 ± 2.3 | <i>Mucidula brunneomarginata</i> (1563) | 33.4 ± 0.4 |
| <i>Grifola frondosa</i> (1099) | 24.4 ± 0.3 | <i>M. brunneomarginata</i> (1600) | 35.8 ± 1.8 |
| <i>G. frondosa</i> (1102) | 29.5 ± 1.0 | <i>Omphalotus japonicus</i> (979) | 37.6 ± 0.2 |
| <i>Gymnopilus junonius</i> (1114) | 29.4 ± 0.5 | <i>O. japonicus</i> (1441) | 35.6 ± 0.5 |
| <i>G. junonius</i> (1444) | 30.8 ± 0.9 | <i>Oudemansiella mucida</i> (1442) | 36.7 ± 0.6 |
| <i>Hericium erinacius</i> (1950) | 17.4 ± 1.9 | <i>O. venosolamellata</i> (1562) | 33.5 ± 0.6 |
| <i>H. erinacius</i> (1622) | 14.2 ± 2.3 | <i>Sarcomyxa serotina</i> (1466) | 32.0 ± 0.4 |
| <i>H. coralloides</i> (1096) | 11.5 ± 0.3 | <i>S. serotina</i> (1963) | 34.7 ± 0.9 |
| <i>H. coralloides</i> (1448) | 22.2 ± 0.3 | <i>S. serotina</i> (2004) | 32.7 ± 0.5 |
| <i>Hypholoma lateritium</i> (1613) | 41.8 ± 0.3 | <i>Stropharia rugosoannulata</i> (1296) | 41.7 ± 1.2 |
| <i>H. lateritium</i> (1614) | 42.1 ± 0.4 | <i>S. rugosoannulata</i> (1958) | 41.2 ± 0.8 |

¹⁾Strains were incubated on solid agar media containing 0.2% (w/v) CMC with pH 6.0 at 25°C for 8 days.

^aThe CM-cellulase activity was determined by the size (mm in diameter) of cellulolytic zone only. Values are mean±SD of three replicates. The bottom size of CMC agar plate is 55 mm in diameter.

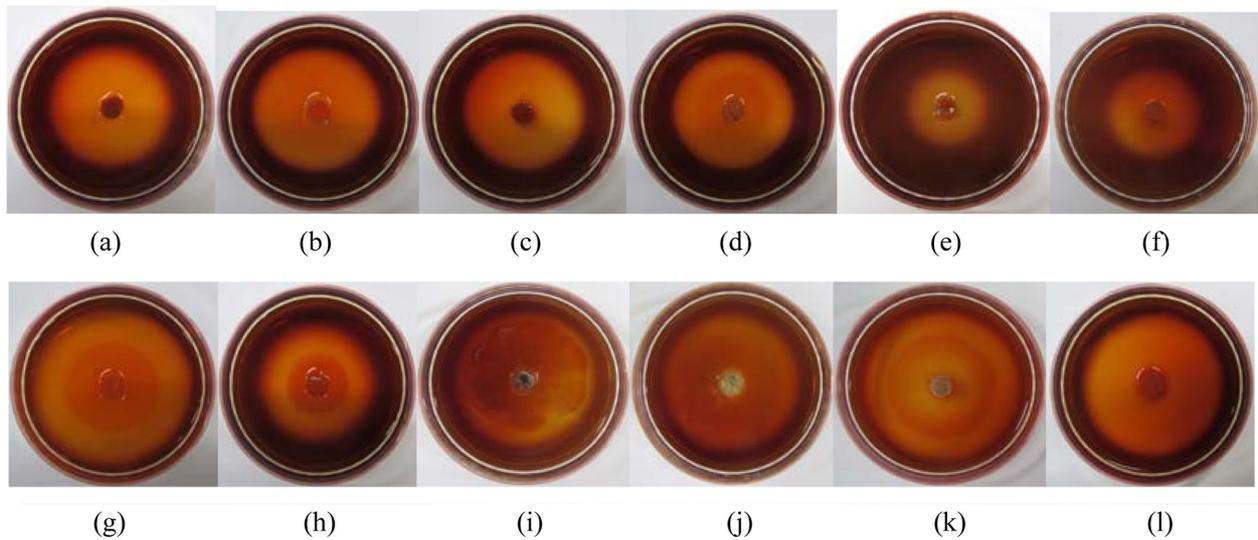


Fig. 2. Wood-decaying mushroom strains showing CM-cellulase activity on CMC agar plates. (a) *Artomyces pyxidatus* KFRI 1942, (b) *Gloeostereum incarnatum* KFRI 1949, (c) *Grifola frondosa* KFRI 1102, (d) *Gymnopilus junonius* KFRI 1444, (e) *Hericium erinacius* KFRI 1622, (f) *Hericium coralloides* KFRI 1448, (g) *Hypholoma lateritium* KFRI 1614, (h) *Lyophyllum fumosum* KFRI 1446, (i) *Macrolepiota procera* KFRI 1971, (j) *Mucidula brunneomarginata* KFRI 1563, (k) *Omphalotus japonicus* KFRI 979, and (l) *Sarcomyxa serotina* KFRI 1963.

를 선택하였다. Carboxymethylcellulose (CMC)는 수용성 cellulose 유도체의 일종으로 [8], cellulase에 의해 가수분해될 수 있는 β -1,4-glucosidic bond가 존재하는 기질이기도 하다 [9]. 또한 이러한 CMC는 미생물에 의해 빨리 분해되기 때문에 cellulase 생산 균주를 검색하는 데에 유용한 기질이 된다 [8].

이와 같은 CMC를 기질로 한 고체평판배지(CMC agar plate)에 균을 접종하고 25°C에서 8일간 배양한 결과, 독청버섯과(Strophariaceae)에 속하는 3균종 중 개암버섯(KFRI 1613, 1614)과 독청버섯이재비(KFRI 1296, 1958)의 CM-cellulase 활성이 타 균주들에 비해 높게 나타났다(접종원을 제외한 투명대의 크기; 40 mm 이상). 반면, 노루궁뎅이과(Hericiaceae)에 속하는 노루궁뎅이버섯(KFRI 1950, 1622)과 수실노루궁뎅이버섯(KFRI 1096, 1448)은 투명대의 크기가 25 mm 이하로 비교적 낮은 효소 활성을 나타냈다(Table 4). 특히 수실노루궁뎅이버섯은 두 균주 간 CM-cellulase 활성이 약 2배 정도 차이가 있는 것으로 조사되었다(KFRI 1096; 11.5 mm, KFRI 1448; 22.2 mm). 이 외에는 CM-cellulase 활성이 2배 이상으로 균주 간에 차이를 나타낸 균종은 관찰되지 않았다. 중국느릅나무버섯과 화경버섯 순수배양체의 기원에 따른 CM-cellulase의 활성을 비교한 결과, 자실체 조직이나 포자로부터 분리한 순수배양체의 효소 활성에는 큰 차이가 없었다. Fig. 2는 몇몇 부후성 버섯 균주들의 CM-cellulase 활성을 보여주는 것으로, 연기색 만가닥버섯(KFRI 1446)이나 화경버섯(KFRI 979)을 비롯한 일부 균주들은 CMC agar plate 상에서 원형의 정형화된

균총을 형성하며 성장하였다. 또한 큰갓버섯(KFRI 1971)의 경우에는 균총의 가장자리가 불규칙한 형태를 이루며 균사가 성장하는 특성이 관찰되었다. 이와 같은 현상들은 균이 CM-cellulase를 세포 밖으로 방출하여 CMC를 분해함으로써 고체평판배지 내 가용 탄소원의 비율을 증가시키고, 결국에는 균사가 지속적으로 성장하는 데에 영향을 끼친 것으로 추정된다. 그러나 참부채버섯(KFRI 1963)의 경우에는 큰갓버섯(KFRI 1971)과 동일한 종류의 배지에서 동일한 기간 동안 배양하였음에도 불구하고, cellulase 활성은 큰갓버섯(KFRI 1971)과 유사하였지만, 큰갓버섯(KFRI 1971)의 균총 크기와는 달리 참부채버섯(KFRI 1963)의 균사체는 육안으로 관찰될 만큼 성장하지 않았다. 이는 CMC agar plate 상에서 cellulase 활성이 높다고 해서 모든 균들이 그들의 균사 생장에 그 효소를 즉시 이용하는 것은 아니며, cellulase 활성과 균사 성장력이 비례적인 관계에 있지 않을 수도 있다는 것을 제시한다. 또한 여기에서 사용한 cellulase 활성 검색법은 액체배양체를 이용하여 효소의 활성을 정량적으로 제시해줄 수 있는 방법은 아니지만, 균주 간 cellulase 활성을 반정량적으로 비교할 수 있고, 무엇보다 여러 종류의 버섯균주를 대상으로 cellulase 생산 유무를 판별해야 하는 경우에는 간편하고 유용한 방법이 될 수 있다.

목재부후성 버섯 균주의 laccase 활성

Laccase(benzenediol: oxygenoxidoreductase, EC 1.10.3.2)는 대부분의 균류가 생산하고 있는 세포외효소로 [10], 세포 밖 환경에서도 안정성이 높은 것으로 알려져 있다 [11]. 이

Table 5. Laccase activity of wood-decaying mushroom strains screened on 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) agar plate

| Fungi (KFRI strain No.) | Laccase activity (mm) ^a | Chromogenic intensity ^b |
|---|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Artomyces pyxidatus</i> (1826) | 62.8 ± 0.5 | 3+ |
| <i>A. pyxidatus</i> (1827) | 60.6 ± 1.6 | 3+ |
| <i>A. pyxidatus</i> (1942) | 58.2 ± 1.3 | 3+ |
| <i>Gloeostereum incarnatum</i> (1948) | 19.6 ± 0.3 | 1+ |
| <i>G. incarnatum</i> (1949) | 23.6 ± 0.7 | 1+ |
| <i>Grifola frondosa</i> (1099) | 48.6 ± 2.3 | 3+ |
| <i>G. frondosa</i> (1102) | 32.0 ± 2.9 | 2+ |
| <i>Gymnopilus junonius</i> (1114) | 39.5 ± 0.9 | 2+ |
| <i>G. junonius</i> (1444) | 40.5 ± 2.5 | 3+ |
| <i>Hericeum erinacius</i> (1950) | 48.4 ± 0.2 | 3+ |
| <i>H. erinacius</i> (1622) | 60.8 ± 0.6 | 3+ |
| <i>H. coralloides</i> (1096) | 58.0 ± 1.0 | 3+ |
| <i>H. coralloides</i> (1448) | 51.0 ± 0.7 | 3+ |
| <i>Hypholoma lateritium</i> (1613) | 57.0 ± 1.8 | 3+ |
| <i>H. lateritium</i> (1614) | 55.7 ± 0.6 | 3+ |
| <i>Lyophyllum fumosum</i> (1120) | 63.6 ± 0.4 | 3+ |
| <i>L. fumosum</i> (1446) | 64.3 ± 1.2 | 3+ |
| <i>Macrolepiota procera</i> (1868) | 45.7 ± 0.6 | 3+ |
| <i>M. procera</i> (1971) | 42.2 ± 0.9 | 3+ |
| <i>Mucidula brunneomarginata</i> (1563) | 64.8 ± 3.5 | 3+ |
| <i>M. brunneomarginata</i> (1600) | 62.5 ± 1.8 | 3+ |
| <i>Omphalotus japonicus</i> (979) | 45.0 ± 1.9 | 3+ |
| <i>O. japonicus</i> (1441) | 50.6 ± 3.0 | 2+ |
| <i>Oudemansiella mucida</i> (1442) | 63.4 ± 1.7 | 3+ |
| <i>O. venosolamellata</i> (1562) | 60.3 ± 0.9 | 3+ |
| <i>Sarcomyxa serotina</i> (1466) | 28.6 ± 3.7 | 2+ |
| <i>S. serotina</i> (1963) | 42.3 ± 0.3 | 3+ |
| <i>S. serotina</i> (2004) | 48.0 ± 3.6 | 3+ |
| <i>Stropharia rugosoannulata</i> (1296) | 50.4 ± 2.2 | 3+ |
| <i>S. rugosoannulata</i> (1958) | 52.6 ± 1.3 | 3+ |

¹⁾Strains were incubated on agar medium containing ABTS ((2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) at 25°C for 5 days.

^aLaccase activity was determined by the size of chromogenic (blue-green) zone including the diameter (6 mm) of inoculant. Values are mean±SD of three replicates. The bottom size of ABTS agar plate is 85 mm in diameter.

^bThe chromogenic intensity was graded as weak (1+), moderate (2+), and strong (3+).

러한 이유로 laccase는 산림에 서식하고 있는 다양한 균류들의 생활사에 관여하고 있다. 즉 균류의 형태나 자실체 형

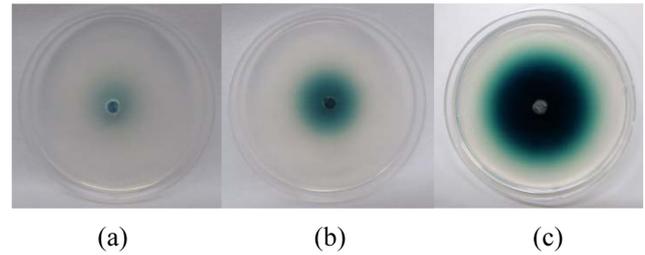


Fig. 3. Examples of showing the three grades of chromogenic intensity that expressed by wood-decaying mushroom strains on ABTS agar plates. *Gloeostereum incarnatum* KFRI 1949 (weak chromogenic intensity, 1+), (b) *Grifola frondosa* KFRI 1102 (moderate chromogenic intensity, 2+), and (c) *Mucidula brunneomarginata* KFRI 1563 (strong chromogenic intensity, 3+).

성, 균 포자 색소 형성, 리그닌 분해, 성 분화, 식물병원균이나 기타 스트레스에 대한 방어 등과 같은 중요한 기능을 담당하고 있는 것으로 보고되었다[11,12].

목재부후성 버섯 균주의 리그닌 분해력을 조사하기 위해 ABTS agar plate를 제조하고, 여기에 균을 접종하여 25°C에서 8일간 배양하였다. Laccase 활성은 각 균주가 고체평판 배지에 형성한 청록색 발색대의 크기로 측정하였으며, cellulase 활성과는 달리 발색 강도에 차이를 보여 Fig. 3에서와 같이 이를 다시 3종류의 발색 강도로 나누어 추가로 기록하였다. 연기색만가닥버섯(KFRI 1120, 1446), 갈색날긴뿌리버섯(KFRI 1563, 1600), 끈적끈뿌리버섯(KFRI 1442), 끈적끈뿌리버섯아재비(KFRI 1562), 좀나무싸리버섯(KFRI 1826, 1827), 노루궁뎅이버섯(KFRI 1622)등은 발색대의 크기가 60 mm 이상, 발색 강도가 strong(3+)으로 타 균주들에 비해 laccase 활성이 높은 것으로 조사되었다. 이와 달리, 중국느릅나무버섯(KFRI 1948, 1949)은 발색대의 크기가 25 mm 이하, 발색 강도가 weak(1+)로 나타나 시험균주들 중 가장 낮은 laccase 활성을 보였다. 동일종 내 균주 간 laccase 활성을 비교한 결과, 대부분의 균주들에서는 효소 활성이 유사하게 나타났다. 그러나 잎새버섯, 노루궁뎅이버섯, 참부채버섯의 경우에는 2 또는 3균주 간 효소 활성이 1.3~1.7배 정도로 차이가 나는 것으로 조사되었다. Cellulase 활성 검색에서와 같이 ABTS agar plate를 이용한 이 방법 또한 생산 균주 간 laccase 활성을 반정량적으로 비교할 수 있는 방법으로 laccase 생산 유무를 균주별로 파악하기에 편리한 검색법이다. Laccase 활성과 균사 생장량의 관계 역시 일부 목재부후균들에 있어서는 비례적인 관계가 있음을 알 수 있었다. 이러한 현상은 외생균근균의 일부 균주들에서도 볼 수 있었는데, ABTS agar plate 상에 laccase 활성이 크게 나타났다고 하여 반드시 균사체도 크게 생장한 것은 아니기 때문이다. 그러나 cellulase나 laccase는 목재부후성 버섯균이 산림에서 살아가는 데에 매우 중요한 효소로 취급되므로 차후 이들의 균사 생장률에 따른 효소

활성의 변화 또는 효소 활성과 균체량과의 상관관계를 균주별로 구명하는 연구가 필요할 것으로 본다.

적 요

우리나라 산림에서 수집한 목재부후성 버섯 균주들에 대한 배지 및 온도별 균사생장 특성을 고체평판배지 상에서 조사하였다. 대부분의 균주들은 malt extract agar (MEA) 나 sabouraud dextrose agar (SDA)보다는 PDA (potato dextrose agar) 배지에서 균사 생장력이 더 높았다. 몇몇 균주들을 제외하고, 균주들의 대부분은 PDA 배지 상에서 배양 시 25°C에서 가장 잘 성장하였으며, 고온(30°C)보다는 저온(10°C)에서 균사 생장이 저조하였다. 2종류의 서로 다른 세포외효소 활성에 각각 특이적으로 반응할 수 있는 기질이 함유된 고체평판배지 상에서 모든 시험균은 carboxymethyl cellulase 활성과 laccase 활성을 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원 ‘산림미생물 유전자원의 수집 및 증식 보존 기술 연구(FP 0801-2010-01)’의 지원을 받아 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Ka KH, Jeon SM, Ryoo R, Ryu SH, Kim MG, Bak WC, Park JW, Koo CD, Eom AH. Management of genetic resources of forest microorganisms. Research report: Korea Forest Research Institute; 2011.
2. Jang TW, Jun SC, Ahn TS, Kim KJ. Production of lignin degrading enzymes and decolorization of various dye compounds by wood-rot fungi. *Kor J Mycol* 2006;42:34-39.
3. Kasana RC, Salwan R, Dhar H, Dutt S, Gulati A. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using gram's iodine. *Curr Microbiol* 2008;57:503-507.
4. Crowe JD, Olsson S. Induction of laccase activity in *Rhizoctonia solani* by antagonistic *Pseudomonas fluorescens* strains and a range of chemical treatments. *Appl Environ Microbiol* 2001;7:2088-2094.
5. Kalmis E, Yasa I, Kalyoncu F, Pazarba B, Kocyigit A. Ligninolytic enzyme activities in mycelium of some wild and commercial mushrooms. *Afr J Biotechnol* 2008;7:4314-4320.
6. Niku-Paavola ML, Raaska L, Itävaara M. Detection of white rot fungi by a non-toxic stain. *Mycol Res* 1990;94:27-31.
7. Jeon SM, Kim MS, Ka KH. Effects of medium, temperature and mycelia growth and cellulase activity of ectomycorrhizal fungi from Korean forests. *Kor J Mycol* 2012;40:191-203.
8. Hankin L, Anagnostakis SL. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect Cx cellulase activity of microorganisms. *J Gen Microbiol* 1977;98:109-115.
9. Zhang YHP, Himmel ME, Mielenz JR. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection. *Biotechnol Adv* 2006; 24:452-481.
10. Giardina P, Faraco V, Pezzella C, Piscitelli A, Vanhulle S, Sannia G. Laccases: a never-ending story. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67:369-385.
11. Baldrian P. Fungal laccases-occurrence and properties. *FEMS Microbiol Rev* 2006;30:215-242.
12. Das N, Sengupta S, Mukherjee M. Importance of Laccase in vegetative growth of *Pleurotus florida*. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:4120-4122.