

리기다소나무材 抽出物과 菌과의 關係(Ⅱ)¹

—1次 侵入菌의 健全 辺材 侵入經路—

沈奎燮² · 安元榮³

Relationship Between Extracts of Pitch Pine (*Pinus rigida* Miller) and Fungi(Ⅱ)¹

—Pathway of First Invading Fungus to Sound Sapwood of the Pine—

Gyu Seop Shim² and Won-Yung Ahn³

要 約

리기다소나무재의 변색 부위로부터 분리한 변색균을 다시 건전 목재에 접종하여 이 균의 목재 침입 경로를 구명한 바, 처음 균사가 목재내 방사유세포에 침입하여 방사유세포 안에서 수평 방향의 이동을 계속하다가, 시간이 경과하면 가도관내로 이동하여 이 가도관을 통로로 하여 수직 방향으로 확산을 계속하였다. 침입 90일이 지나면 목재내 각 조직으로의 침입이 완료되어 균사가 세포내강에 만연한 것을 알 수 있었다. 또한 메탄올 추출물은 변색균의 목재 침입 경로에 영향을 미치지 않는 것으로 분석되었다.

ABSTRACTS

The cultured stain fungus isolated firstly from discolored wood of *Pinus rigida* was inoculated on wood blocks to investigate the invading pathway of the fungus. The inoculated fungus rapidly colonized in the ray parenchyma and moved radially along them. In process of time the fungus penetrated tracheids where it started to move into vertical direction. After 90 days the fungus colonized all over the wood tissue, therefore some cell lumens were filled with full of hyphae. In addition methanol extracts did not affect the invading pathway of the stain fungus.

Key words: Blue stain fungus, *Pinus rigida*, invading pathway, methanol extracts, sapwood, ray parenchyma, tracheids.

緒 論

균이 목재에 어떠한 경로를 거쳐서 침입하며 목재 내에서 어떠한 방식으로 자라는지에 대한 연구가 활발히 진행된 바 이들 중 변색균과 관련하여 Fritz(1952)는 red pine의 갈변 현상을 일으

키는 균을 관찰하여 균이 방사유세포에서 발생(develop)하며 가도관에서 증식하고, 세포벽의 통과를 벽공으로 이루어진다고 하였으며, Wilson(1961)은 *Quercus marilandica*에 *Ceratocystis fagacearum*을 접종하여 생장을 관찰한 결과 도관과 가도관에 드문드문 균의 생장이 발견되었으나 때때로 분生子(conidia)와 균사로 가득찬 도관

¹ 接受 1996年 1月 24日 Received on January 24, 1996.

² Institute of Biotechnology and Plant Science, Hansol Institute of Science and Technology, Sudong, Namyangjoo, Kyung-gi, Korea 472-850.

³ College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea 441-744.

과 가도관이 발견되기도 하였으며, 분생자 자루 (conidiophores)는 유세포와 도관 사이의 반유연 벽공에서 발견되었다고 하였다. 또 균 생장의 대부분은 射出髓(medullary rays)와 單列放射組織(uniseriate rays)의 유세포와 목부 유세포에 국한된다고 하였으며, 유세포와 도관에서 발견되는 균사의 크기(40μ)가 중간층(middle lamella)에서 발견되는 균사의 크기(0.5μ)보다 크다고 하였다. 도관, 가도관, 섬유 및 유세포로의 침입은 일반적으로 벽공을 통하여 발생하였으며, 세포벽을 통한 직접적인 침입도 발견되었다고 하였다. 또한 단정할 수는 없으나 유세포와 중간층의 침입에 의해 수분 이동이 방해받으며 이것이 시들음(wilt) 발생의 한 요인이 될 수 있다고 하였다. Wong과 Berryman(1977)은 grand fir(*Abies grandis*)에 구멍을 만들어서 여기에 *Trichosporium symbioticum*을 접종시켜서 균의 경로를 조사하여 가도관이 균 이동의 주요한 경로가 됨을 알 수 있었고, 이 사실이 균의 수평적 감염보다는 수직적 감염이 빨리 일어나게 하는 주요인이라고 하였다. 또한 수평적 이동은 방사세포벽의 유연벽공을 통하여 일어나며 이러한 방사방향의 이동은 벽공과 조직의 찌그러짐, 그리고 수지(resin)에 의한 벽공의 막힘으로 인해 제한된다고 하였다. 또 반응 지역(reaction zone)에서 수지성 물질과 페놀성 물질이 빠르게 증가하나 이것은 균의 생존력이나 병해력에 크게 영향하지 않고, 오히려 반응 지역 내에서 대사 산물의 분해에 의하여 균 생장에 이용되는 영양소의 고갈, 그리고 병해 지역에서 산소와 수분의 이용을 방해하는 2차적 수지의 유출이 균 성장 억제에 주요한 요인이라고 보고하였고, Ballard 등(1982)은 lodgepole pine에 있어서 mountain pine beetles에 의해 침입된 청변균의 침입을 광학현미경적으로 관찰한 결과 균들은 목부 방사유세포를 통하여 방사방향으로 퍼지며 목부 방사조직에 자리한 균들은 중방향 수분통도조직인 가도관내로 이동하여 유연벽공 폐쇄를 일으키며 때때로 균사가 세포내강까지 침입하게 되고, 또한 균사들이 수지구 유세포(resin-duct epithelial cell)를 공격·파괴하며 그 결과 주변 조직으로 수지가 방출된다고 하였다. 이러한 일련의 결과로 수분통도조직과 저장조직의 파괴가 발생하여 다음 해의 새잎 생장이 치명적인 해를 입게 된다고 하였다. 또 Ballard

등(1984)은 나무 줄이 침입한 후 8-10주 사이의 lodgepole pine 변재내 청변균의 생장을 현미경적으로 조사하여 청변균은 제일 먼저 변재의 방사조직에 자리 잡은 후 방사유세포의 1차 세포벽을 통과하여 그 안에서 증식하거나 중간층에서 자유롭게 자라며, 균은 유연벽공을 통하여 가도관 안으로 침입하게 되고 이 안에서 균은 종단방향으로 생장을 계속한다고 보고하였다. 또 균사가 유연벽공을 통하여 가도관과 가도관 사이를 이동하게 되어 수분의 이동 통로를 막아 나무가 죽게 된다고 하였다.

본 연구에서는 리기다소나무재의 변색 부위로부터 변색을 유발하는 균을 분리(심규섭과 안원영, 1993)하여 이들을 인위적으로 목편에 접종한 후 배양을 실시하면서 기간별로 관찰하여 리기다소나무에 침입하는 변색균의 침입경로를 조사하고, 또한 리기다소나무의 메탄올 추출물이 변색균의 침입경로에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

材料 및 方法

1. 공시 목편의 준비

배양병(800mL)에 석영사 300g과 배양액(Table 1) 82mL를 넣은 후 고정하여 배양기로 사용하였다. 리기다소나무재 변색 부위에서 분리하여 배양한 변색균(심규섭 등, 1993)으로부터 얻은 feeder strip을安置시킨 다음 균이 배양기의 전면에서 피복하면 공시목의 변재로부터 제조한 목편(2cm×2cm×2cm)을 메탄올 추출을 행한 것과 행하지 않은 것으로 구분하여 ethylene oxide gas로 살균한 후 목편의 횡단면이 균사에 접하도록安置하여 $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 90일간 배양하였다.

2. 공시 목편의 검경

배양 기간 15, 30, 60 및 90일에 배양기에서

Table 1. Formula of culture media

Constituent	Amount
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2g
KH ₂ PO ₄	0.3g
D-Glucose	25.0g
Malt extract	10.0g
Pepton	5.0g
Distilled water	1000.0ml

목편을 꺼내어 포르말린 5mL, 초산 5mL 및 에탄올(60%) 90mL를 혼합하여 만든 용액에 18시간 동안 침지·고정하였고, 고정된 목편을 끓는 물 속에서 약 2시간 처리하여 연화시킨 후 글리세린과 에탄올(70%)의 혼합액(1:1, v/v)에 넣어 2-3일간 방치하였다. 처리된 목편의 중심 부위에서 1cm×1cm×1cm의 목편을 만든 다음 microtome을 이용하여 횡단면, 방사단면 및 접선단면의 절편을 만들어 safranin에서 10분간 염색한 후 알코올 농도를 50, 70 및 90%로 각각 1회씩 순차적으로, 그리고 100%의 알코올로 3회 치환한 다음 광학현미경용 영구 프레파라트를 만들어 검경하였다.

結果 및 考察

1. 침입 경로

리기다소나무 목편에 변색균을 접종한 후 그들의 침입을 가장 쉽게 관찰할 수 있었던 것은 방사단면이었다. Fig. 1은 변색균을 접종 후 각각 15일(A), 30일(B), 60일(C), 90일(D)후의 방사단면을 관찰한 것이다. 15일이 지나면서 균사가 방사유세포를 통로로 방사방향으로 침입을 하고 있음을 알 수 있으며, 약간의 수직적 침입도 관찰할 수 있었다. 변색균의 침입이 방사유세포로부터 발생하는 것은 방사유세포가 양분의 저장 장소로서 균들의 생장에 유익한 성분들이 많이 존재하기 때문(Zabel과 Morrell, 1992)이다. 30일 후에는 균사가 방사유세포 뿐만 아니라 가도관에도 침입하여 가도관내에서 길이 방향으로 이동하고 있음을 알 수 있었다. 이러한 방사유세포를 통한 방사방향의 침입과 뒤이은 가도관을 통한 길이 방향의 침입은 Ballard 등(1982, 1984)이 보고한 변색균의 침입 경로와 일치하고 있다. 수평적, 수직적 침입은 60일 후에는 더욱 완성하게 발생하고 있으며, 90일이 지난 후에는 더 이상의 큰 변화를 보이지 않음을 관찰할 수 있었다.

30일이 지나면서 방사유세포가 균사로 가득차 있는 것(Fig. 2의 A)을 관찰할 수 있는데 일반적으로 변색은 변색균의 균사에 의해 발생되므로 이 시기가 본격적인 변색이 발생하는 시기로 생각되며, 90일 후(Fig. 2의 B)에는 이러한 균사가 방사유세포를 통한 수평방향의 이동뿐만 아니라 가도관을 통한 길이 방향으로 이동이 완료되

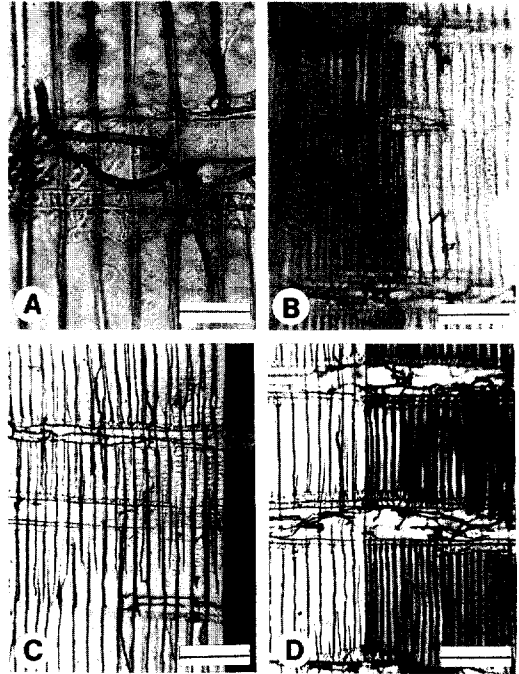


Fig. 1. Light microphotographs of radial section of pitch pine wood block after inoculation with stain fungus.
Cult. time: A=15 days, B=30 days, C=60 days, D=90 days, and
Scale bar: A=50 μ m, B, C & D=200 μ m

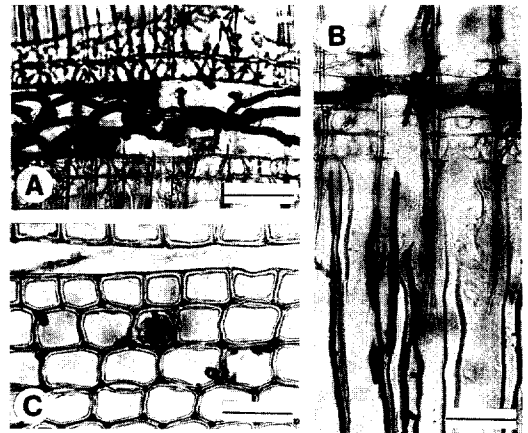


Fig. 2. Light microphotographs of pitch pine wood block after inoculation with stain fungus.
Cultivating time: A=30 days, B & C=90 days,
Section: A & B=radial, and C=cross, and
Scale bar: A, B & C=50 μ m

어 변색은 목재의 전부위로 확대되어 있는 시기로 판단되었다. 90일 후에 횡단면(Fig. 2의 C)에서 일부 세포의 내강이 균사로 가득차 있는 것을 볼 수 있었는데 이는 균이 목재 전체에 침입하여 있음을 보여주는 것으로 Ballard 등(1982)도 이런 현상을 관찰하여 보고한 바 있다.

2. 메탄올 추출물이 침입에 미치는 영향

메탄올 추출을 행하지 않은 목편(Fig. 3의 A)에 비해 다소 적은 빈도이기는 하나 메탄올 추출을 행한 목편(Fig. 3의 B)에서도 균사를 쉽게 찾을 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 변색균은 목재의 메탄올 추출물에 의해 영향을 받지 않고 생장이 가능하다고 할 수 있다. 그러나 일반적으로 변색균은 목재의 탄수화물만을 분해하여 먹이로 이용한다는 사실로 미루어 볼 때 메탄올 추출에 의해 다량의 탄수화물이 빠져나갔음에도 불구하고 생장을 한다는 것은 변색균인 변색균이 아주 적은 양의 탄수화물의 존재 하에서도 생장이 가능하거나 아니면 목재의 다른 성분을 에너지원으로 이용할 능력이 있다고 볼 수 있다.

結 論

1. 변색균은 방사유세포를 통하여 리기다소나무재로 침입하여, 그 안에서 증식하면서 방사유세포를 통로로 하여 방사방향으로 번식을 계속하였다.

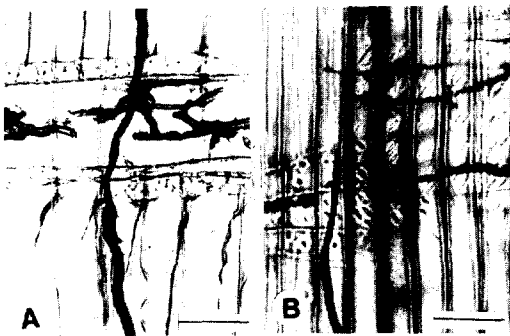


Fig. 3. Light microphotographs of radial section of pitch pine wood block on 90 days after inoculation with stain fungus.

Treatment: A=methanol extracted wood block,

B=methanol unextracted wood block, and

Scale bar: A & B=50 μ m

2. 방사유세포에서 증식된 변색균은 침입 후 30일 뒤에 가도관으로 침입하여 이 가도관을 통로로 하여 수직적 이동·번식을 진행하였다.
3. 변색균은 침입 90일 후 목재의 거의 모든 조직에 침입하였으며, 이 때 세포내강은 균사로 가득찬 것을 관찰할 수 있었다.
4. 메탄올 추출물 유무에 따른 변색균의 목재 침입 차이는 발견할 수 없었다.

引用 文 獻

1. Ballard, R.G., M.A. Walsh and W.E. Cole. 1984. The penetration and growth of blue-stain fungi in the sapwood of lodgepole pine attacked by mountain pine beetle. Can. J. Bot. 62:1724-1729.
2. Ballard, R.G., M.A. Walsh and W.E. Cole. 1982. Blue-stain fungi in xylem of lodgepole pine: A light-microscope study on extent of hyphal distribution. Can. J. Bot. 60: 2334-2341.
3. Fritz, C.W. 1952. Brown stain in pine sapwood caused by *Cytospora* sp. Can. J. Bot. 30: 349-359.
4. Shim, G.S. and W.Y. Ahn. 1993. Relationship Between Extracts of Pitch Pine(*Pinus rigida* Miller) and Fungi(I) -Identification and Characteristics of Fungi Isolated from Stained Wood of the Pitch Pine- J. Kor. For. En. 13(2): 85-94.(in Korean with English abstract)
5. Wilson, C.L. 1961. Study of the growth of *Ceratocystis fagacearum* in oak wood with the use of autoradiograms. Phytopathol. 51: 210-215.
6. Wong, B.L. and A.A. Berryman. 1977. Host resistance to the fir engraver beetle. 3. Lesion development and containment of infection by resistant *Abies grandis* inoculated with *Trichosporium symbioticum*. Can. J. Bot. 55: 2358-2365.
7. Zabel, R.A. and J.J. Morrell. 1992. Wood Microbiology- Decay and its Prevention-. Academic press, San Diego. p.333.