

1주기 수확을 끝낸 팽이버섯(*Flammulina velutipes*) 재배용 톱밥배지 분해의 현미경적 특징

이광호, 김윤수, 이성진¹⁾, 채정기¹⁾
전남대학교 임산공학과, ¹⁾임학과

Microscopical Characteristics of Softwood Sawdusts Cultivated with Enokitake (*Flammulina velutipes*)

Kwang Ho Lee, Yoon Soo Kim, Sung Jin Lee¹⁾ and Jung Ki Chai¹⁾

Dept. of Forest Products & Technology

¹⁾Dept. of Forestry, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to explore for the possibility of recycling the pine wood sawdusts for the substrate for enokitake (*Flammulina velutipes*) cultivation. The wood species of sawdusts cultivated for enokitake mushroom were identified mostly as hard pine (*Pinus spp.*). Distribution of enokitake hyphae was restricted to ray parenchymas and tracheids exposed to fungi. Nevertheless, degree of cell wall degradation by enokitake was slight. Light microscopic observation showed the thinning of secondary cell wall in some tracheids. Under polarized microscopy the loss of birefringence was observed only in a few latewood tracheids. All the middle lamella remained intact. The present work showed clearly that pine sawdusts used as substrate for enokitake cultivation held enough cell wall materials for mushroom cultivation. The relative resistance of softwood cell walls against enokitake fungus was also discussed.

key words: *Flammulina velutipes*, sawdust substrate, hard pine, micromorphology, degradation

서언

팽이버섯 (*Flammulina velutipes*)은 담자균류의 주름버섯목 (Agaricales) 송이과 (Tricholomataceae)에 속하는 균으로 야생에서 팽나무, 뽕나무, 사시나무,

버드나무 등의 활엽수의 줄기나 뿌리를 분해하는 백색부후균의 하나이다 (Eriksson 등, 1990).

팽이버섯은 오래전부터 인공재배에 의해 재배되어 왔는바 이미 A.D. 800년경부터 인공재배가 실시된 것으로 알려지고 있다 (Chang, 1993). 톱밥배지를 사용한 인공 재배는 1928년에 Morimoto (森本)에 의

Corresponding author: 이 광 호, 우:500-757, 광주광역시 북구 용봉동 300 전남대학교 농과대학 임산공학과
E-mail: wood1@hanamil.net

해 시도되었으며 (Tonomura, 1978) 톱밥배지는 활엽 수재의 톱밥에 미강을 혼합한 배지에 종균을 접종하여 재배하는 병 재배법이 주류를 이루었다 (Shiio 등, 1974). 우리나라의 경우 1992년 농업기술연구소에서 팽이버섯 자동화 병재배 시설을 보급하면서 팽이버섯의 재배가 급격히 증가하고 있다 (이 등, 1998).

그러나 국내산 유용 활엽수 자원의 고갈에 따라 톱밥 배지용으로 사용 되어왔던 활엽수재의 톱밥 역시 공급에 한계를 나타내어 활엽수재를 대신한 침엽 수재의 톱밥이 버섯재배용 배지로 사용되고 있다 (Ohga 등, 1993; 이 등, 1998). 문제는 침엽수재 톱밥을 기질로 할 경우 버섯의 종류에 따라 침엽수재의 폐놀성 화합물과 수지에 의해 버섯의 생장이 억제된다는 점이다. Nakajima 등 (1980)과 Kawachi 등 (1991)은 액체배지에 삼나무 추출물인 폐놀성 화합물 (ferruginol, thymol, o-isopropylphenol 등)을 첨가한 후 균을 배양한 결과 팽이버섯과 느타리버섯의 균사 생장에 크게 영향을 미치지 않으나 표고버섯의 균사 생장이 억제됨을 보고하였다. 이 같은 문제점을 해결하고자 Ohga 등 (1993)은 침엽수재인 삼나무 톱밥을 야외에서 발효 처리한 다음 옥수수 속대 가루을 첨가해 배지내 통기성을 증대시켜 표고버섯 재배의 배지로 재활용 할 수 있음을 발표하였다. 채 등 (1999)과 이 (2000)는 침엽수재 톱밥을 사용한 팽이버섯 폐배지를 버섯재배용으로 재활용한 결과 표고재배용 배지로 사용 할 수 있음을 보고하였으나, 이 침엽수재 톱밥이 어떠한 수종인지에 대해서는 밝히지 않았다.

따라서 본 연구는 팽이버섯 1주기를 수확한 폐배지 톱밥을 버섯재배용으로 재활용 할 수 있는지를 알아 보고자 팽이버섯을 재배한 침엽수재의 톱밥을 현미경적 관찰을 통해 그 분해 정도와 분해양태를 파악하고자 실시하였다. 톱밥이 버섯의 배지로 이용 되었는지의 여부를 판단하기 위한 방법 중의 하나로 화학분석을 통해 톱밥의 분해율을 파악하는 방법이 있으나, 톱밥과 미강의 분리 추출이 거의 불가능 하다는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 팽이버섯 1주기를 수확한 폐배지 톱밥의 미시형태적 분

해 특성을 파악하여 침엽수재 톱밥의 분해정도를 이해하고자 하였다. 또한 침엽수재의 경우 수종에 따라 추출물의 종류와 양이 다름에도 불구하고 통상 "미송톱밥"으로 불리워지고 있으나, 90년대 후반부터는 일반적으로 "미송"이라 불리우는 더글라스 것나무 (Douglas-fir)는 거의 수입되고 있지 않고 있다는 점이다 (산림청 통계연보, 1999). 따라서 본 연구에서는 농가의 버섯재배용으로 사용되고 있는 소위 "미송톱밥"의 수종 분석을 통해 어떤 종류의 침엽수재가 버섯재배에 사용되고 있는지도 아울러 파악하였다.

재료 및 방법

1. 재료

팽이버섯 폐배지의 현미경 관찰을 위해 호남팽이공장 (전남 나주 소재)에서 팽이버섯을 1주기 수확 후 탈병한 배지 [배지구성: 톱밥:미강= 10:2(w/w)]를 사용하였다.

2. 방법

1) 팽이버섯 재배용으로 사용된 톱밥의 수종식별
팽이버섯 재배에 사용된 톱밥의 수종 식별을 위해 비교적 크기가 큰 블럭을 채취하여 물과 Glycerin의 1:1 혼합액에 105°C에서 20분간 연화 처리한 다음 Slide microtome으로 10~20 μm 의 절편을 제작하였다. 얇어진 절편은 1% safranine으로 염색한 후 ethyl alcohol 계열로 탈수하고 xylene으로 透化 과정을 거쳐 Canada balsam으로 봉입하여 프레파라트를 제작한 후 광학현미경 (Zeiss, Axliolab)으로 관찰하였다.

2) 톱밥의 부후 형태 관찰

(1) 광학현미경 관찰

팽이버섯 1주기 수확을 끝낸 톱밥의 부후 형태와 분해 정도를 관찰하기 위해 시료를 2% glutaraldehyde (GA) + 2% paraformaldehyde (PA) 혼합고정액 (in 0.05M cacodylate buffer, pH 7.2)으로 처리한 후 동일 buffer로 세척한 다음 ethyl alcohol 계열로 탈수시켰다. 이어 ethyl alcohol과 xylene의 1:1 혼합액과

100% xylene으로 각각 처리하고 xylene과 paraffin의 1:1 혼합액에 처리 후 paraffin 원액으로 치환 시킨 다음 paraffin 블록을 만들어 microtome을 사용하여 15-20 μm 두께의 절편을 제작하였다. 절편은 1% safranine과 2% astra blue로 이중염색한 다음 광학현미경 관찰을 실시하였다. 염색하지 않은 절편은 편광현미경 관찰에 사용하였다.

(2) 주사형 전자현미경(SEM) 관찰

2% GA + 2% PA 고정시킨 톱밥시료를 ethyl

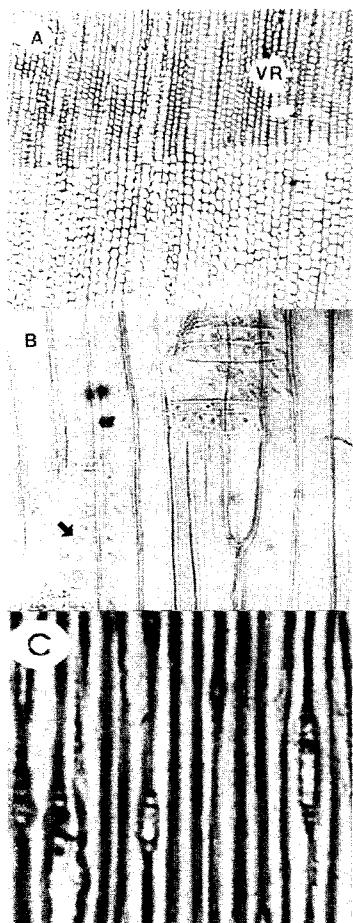


Fig. 1. Anatomical characteristics of sawdusts identified as in *Pinus* spp.

A: Abrupt transition from earlywood to latewood and vertical resin canal (VR) (transverse section); B: Dentate ray tracheids and window-like pit pairs in cross field type (radial section); C: Fusiform ray with longitudinal resin canal (tangential section). Fig. 1. Anatomical characteristics of sawdusts identified as in *Pinus* spp.

alcohol 계열 탈수를 실시한 다음 -20°C에서 1시간 냉동시킨 후 100% t-butyl alcohol로 치환한 다음 동결건조 시켰다. 이 시편을 ion sputter를 사용하여 gold coating하여 주사형 전자현미경 (Hitachi S-4000 SEM)을 사용하여 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 수종식별

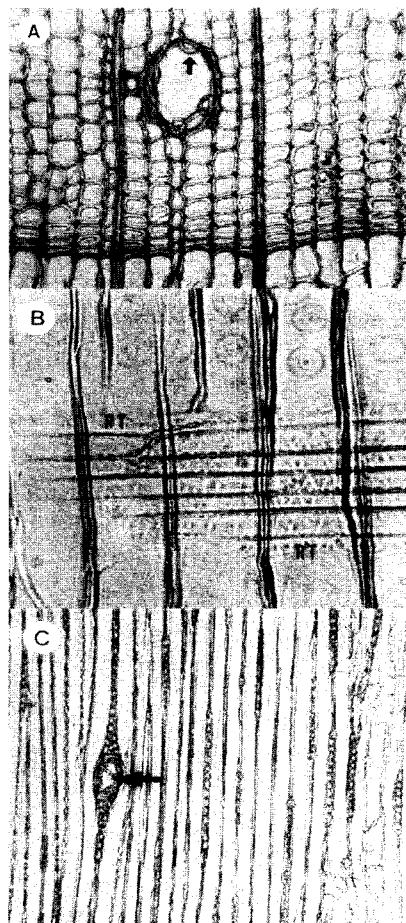


Fig. 2. Anatomical characteristics of sawdust identified as Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*).

A: Abrupt transition from earlywood to latewood and thick-walled epithelial cells (arrow) in vertical resin canal (transverse section); B: Nondentate ray tracheids (RT) and piceoid type pit pairs in cross field (radial section); C: Vertical resin canal (arrow). Note the helical thickenings in earlywood tracheids and tylosoid (tangential section).

팽이버섯 재배용으로 사용되는 톱밥의 광학현미경 관찰 결과는 Fig. 1 및 2에 나타났다. Fig. 1에 나타난 톱밥 시료는 연륜경계가 분명하고, 조재에서 만재로의 이행이 급하며, 수직 수지구가 단독으로 분포하였다 (Fig. 1-A). 시료의 방사단면 (Fig. 1-B)에서는 방사가도관이 존재하였고 방사가도관의 수평벽에는 거치상 비후가 나타났으며, 분야 벽공은 창상형이었다. 접선단면 관찰 결과 수평수지구를 포함하는 방추형 방사조직이 나타났다 (Fig. 1-C). 이상의 해부학적 특징은 전형적인 소나무속 경송류 (hard pine)에 해당하는 것으로, 분석 대상의 시료 90% 이상이 이러한 해부학적 특징을 나타내었다 (박상진 등, 1990)

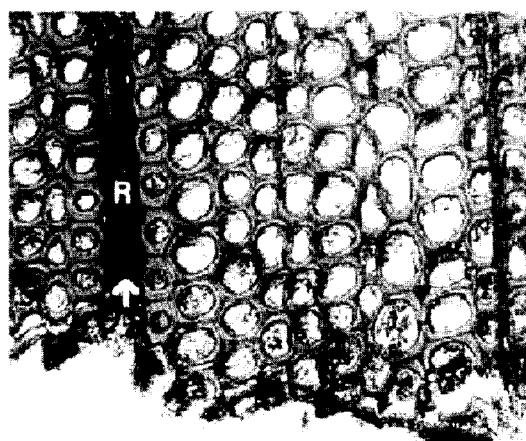


Fig. 3. Distribution of mycelia in hard pine. Distribution of fungal hyphae was restricted to ray parenchyma (R: arrow) and the tracheids exposed to hyphac.

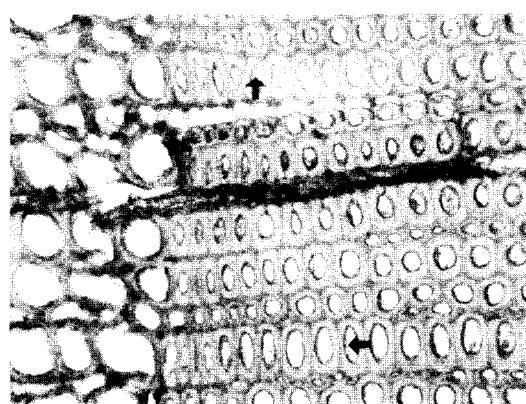


Fig. 4. Thinning of cell walls (arrow) of pine tracheids by enokitake fungi in latewood tracheids.

등, 1990)

시료 중 극히 일부는 Fig. 2에 나타난 바와 같은 해부학적 특징을 나타내었다. 즉, 횡단면 (Fig. 2-A)에서의 연륜경계가 분명하고 연륜폭이 좁고 조재에서 만재로의 이행이 급격하였으며, 만재의 폭이 좁고 수직수지구가 분포하였다. 수직수지구를 이루는 에피델리얼세포 (epithelial cell)는 厚壁이었다. 방사조직은 방사가도관과 방사유세포로 구성되어 있음이 관찰되었다. 방사가도관은 평활하였으며, 염주상 말단벽이 존재하여 분야벽공은 가문비나무형이었다. 가도관의 유연벽공은 1열 또는 2열로 배열되었고 인덴쳐도 관찰되었다 (Fig. 2-B). 접선단면은 단열의 방사조직과 수평수지구를 포함하는 방추형 방사조직이 관찰되고, 부분적으로 타일로소이드도 관찰되었다. 시편의 조재 가도관에는 나선비후가 현저하게 존재하였다 (Fig. 2-C). 이 같은 해부학적 특징은 전형적인 미송 (*Pseudotsuga menziesii*; Douglas-fir)에 속하는 것들이다 (Core 등, 1979).

우리나라의 목재시장에 유통되고 있는 침엽수재의 60%는 뉴질랜드에서 수입되고 있는 라디아타 소나무인 반면 소위 '미송'으로 불리우고 있는 *Pseudotsuga*는 수입량이 2%에 불과하다 (산림청, 1999). 이와 같은 우리나라의 목재시장의 수급상황에 비쳐 볼 때 버섯 재배에 사용되는 '미송'은 *Pseudotsuga*가 아니라 '라디아타 소나무'인 것으로 추정된다.

2. 톱밥의 부후 형태

팽이버섯을 수확한 톱밥의 분해형태는 Fig. 3~6에 나타난 바와 같다. 팽이버섯의 균사는 균사에 노출된 부분에 주로 분포하였으며, 특히 방사조직에 집중적으로 분포하였다. 그러나 균사에 노출된 부분에서 멀어질수록 소나무 세포 내강에서의 균사의 분포는 줄어들었다. 소나무 톱밥에서의 팽이버섯균의 분포는 방사조직에서 높게 나타났는바, 이는 방사조직이 원형질이나 전분립을 포함하고 있어서 (Core 등, 1979) 팽이버섯 균사가 이것들을 이용하고 있기 때문인 것으로 생각된다.

세포 내강에서 균사가 분포함에도 불구하고 목재

세포벽의 분해는 크지 않았다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 일부 세포에서만 세포벽이 점차 얇어지는 박벽화 (thinning) 현상이 관찰되었으나 중간층은 전혀 분해되지 않았다. 전자현미경 관찰결과 균사와 접하고 있는 세포벽에는 많은 균사초 (fungal slime)와 함께 부분적으로 침식구 (erosion troughs)가 관찰되었다 (Fig. 5). 세포 내강에서 균사가 관찰 되었음에도 불구하고 편광현미경 관찰결과 조재 (Fig. 6A)와 만재 (Fig. 6B)의 복굴절성이 일부 세포를 제외하고는 대부분 유지되고 있었다.

식용버섯이 속하고 있는 담자균은 목재성분의 분해 양태에 따라 갈색부후균과 백색부후균으로 분류 한다. 갈색부후균은 목재 세포벽의 구성 요소 중 셀룰로스와 헤미셀룰로스만을 분해하며, 백색부후균은 상기 성분 이외에 리그닌을 분해하는 특징을 지니고 있다. 우리나라에서 재배되고 있는 대부분의 식용버섯 및 약용버섯 균들은 백색부후균에 속하는 것들이다. 대부분의 백색부후균들은 침엽수재보다는 활엽수재를 선호하는바 그 이유는 1) 활엽수재는 침엽수재에 비해 헤미셀룰로스의 양이 많고, 2) 침엽수재에 비해 리그닌양이 적을 뿐 아니라 리그닌의 구성 성분 자체도 침엽수재의 guaiacyl 타입의 리그닌보다 분해하기 쉬운 syringyl 타입으로 구성되어 있기 때문인 것으로 생각되고 있다 (Eriksson 등, 1990; Highley, 1982).

백색부후균은 셀룰로스, 헤미셀룰로스 및 리그닌

을 모두 분해하기 때문에 이들 균에 의한 목재 세포벽의 분해 양식은 세포벽이 얇어지는 소위 박벽화 현상이 일어난다. 특수한 경우 리그닌만으로 구성되어 있는 중간층만을 우선적으로 공격하는 백색부후균도 있으나, 이 같은 경우는 극히 한정되어 있다 (Blanchette, 1984; Eriksson 등, 1990).

본 연구에 사용된 팽이버섯균의 경우 현미경 관찰 결과 일부 세포벽의 박벽화 현상이 관찰되었지만, 이 같은 현상이 광범위하게 관찰되지 않았다는 점에서 팽이버섯균에 의한 소나무 톱밥의 분해는 매우 미미한 것으로 사료된다. 팽이버섯균이 1차 수확을 끝낸 소나무 톱밥을 크게 분해시키지 못한 이유는 앞에 설명한 바와 같이 침엽수재가 갖고 있는 화학적 성질의 특징, 리그닌의 특성 때문인 것으로 사료된다. 편광현미경 관찰 결과 가도관에서 부분적으로 복굴절성이 감소하는 것으로 나타나 팽이버섯균에 의해 부분적으로 가도관의 셀룰로스가 분해되고 있음이 관찰되었다. 그럼에도 불구하고 이 같은 복굴절성이 소멸되는 가도관은 많지 않았다. 편광현미경 관찰 결과 팽이버섯균에 의한 셀룰로스의 분해 역시 크지 않았음을 보여주고 있다.

이상의 관찰 결과 팽이버섯을 재배한 소나무 톱밥의 분해는 현저하지 않음을 분명히 보여주었다. 따라서 소나무 톱밥은 팽이버섯 재배용으로 재활용하기에 충분한 목질세포 물질을 보유하고 있는 것으로 판명되었다. 이 같은 소나무 톱밥의 미진한 분해



Fig. 5. Fungal slime (dotted line) and erosion trough (arrow) by enokitake hyphae. bar=2 μ m

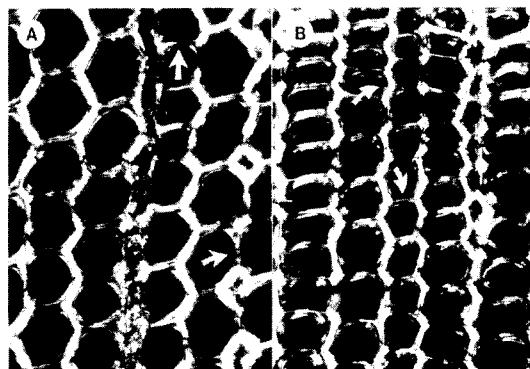


Fig. 6. Loss of birefringence (arrow) in some tracheids under polarized light microscopical observation: Earlywood (A) and latewood (B).

에도 불구하고 팽이버섯을 수확할 수 있었던 것은 소나무 톱밥배지에 첨가된 다른 물질 (예: 미강)을 팽이버섯이 주 영양원으로 이용한 때문인 것으로 추측된다. 따라서 미강 등의 첨가물질이 팽이버섯의 생장과 자실체의 형성에 미치는 영향은 추후 연구되어야 할 과제로 생각된다.

적 요

팽이버섯 1주기를 수확한 폐배지 톱밥을 버섯재배용으로 재활용 할 수 있는지를 알아보고자 팽이버섯을 재배한 침엽수재의 톱밥을 현미경적 관찰을 통해 그 분해정도와 분해양태를 파악하였다. 아울러 팽이버섯 재배에 사용된 톱밥의 수종 식별도 실시하였다. 팽이버섯 재배용으로 사용된 톱밥의 수종은 대부분 소나무속 경송류로 식별되었고 극히 일부만 미송 (Douglas-fir) 톱밥이 존재하였다. 팽이버섯 1주기를 수확한 폐배지 소나무 톱밥에는 균사에 노출된 부분과 방사조직에서 균사의 밀도가 높게 나타났다. 팽이버섯균의 공격을 받은 세포벽은 박벽화현상과 침식현상을 보였으나, 이 같은 부후양태를 보인 세포벽은 극히 일부에 지나지 않았다. 이상의 현미경 관찰결과 팽이버섯을 1주기 수확한 소나무 톱밥은 버섯재배용으로 재활용하기에 충분한 세포벽 물질을 보유하고 있는 것으로 나타났다.

사 사

본 논문은 1998년도 농림부에서 시행한 농림기술개발사업에 의해 연구된 결과의 일부입니다.

참고문헌

- Blanchette, R.A. 1984, Screening wood decayed by white-rot fungi for preferential lignin degradation. *Appl. Environ. Microbiology*, 48, 647-653.
- Chang, S.T. 1993, *Mushroom biology: The impact on mushroom production and mushroom products.* *Mushroom biology and mushroom products.* The Chinese University Press, Hong Kong, 3-20.
- Core, H.A, Cote, W.A and Day, A.C. 1979, *WOOD:*

- Structure and identification, second edition. Syracuse University Press, Syracuse, 90-128.
- Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R.A. and Ander, P. 1990, *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components.* Springer-Verlag, Berlin, 20-31.
- Highley, T.L. 1982, Influence of type and amount of lignin on decay by *Coriolus versicolor*. *Can J. For. Res.*, 12, 435-438.
- Kawachi, S., Meguro, S. and Inada, S. 1991, Cultivation of shiitake (*Lentinus edodes*) on wood-meal medium of *Cryptomeria japonica*. Inhibitory effect of ferruginol on mycelial growth. *Mokuzai Gakkaishi*, 37(10), 971-975.
- Nakajima, K., Yoshimoto, T. and Fukuzumi, T. 1980, Substances inhibiting growth of shiitake mycelium in sugi wood (*Cryptomeria japonica* D. Don). *Mokuzai Gakkaishi*, 26(10), 698-702.
- Ohga, S., Yano, S., and Kira, K. 1993, Availability of enokitake mushroom, *Flammulina velutipes* cultural waste for use as a substrate in the sawdust-based cultivation of shiitake, *Lentinus edodes*. *Mokuzai Gakkaishi* 23(9), 1443-1448.
- Shiio, T., Okunishi, M. and Okumura, S. 1974, Fundamental studies on the large scale cultivation of edible fungi. *Mushroom Sci.*, 9, 799-808.
- Tonomura, H. 1978, *Flammulina velutipes* 19. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, London, 409-421.
- 산림청. 1999, 임업통계연보, 서울, 264-280.
- 이덕희, 김용균, 김홍규, 한규홍, 문창식, 허일범. 1998, 농산 부산물을 이용한 애느타리 및 버들송 이의 배지재료 활용효과. *한국균학회지*, 26(1), 47-50.
- 이성진. 2000, 배양기 대체기법 및 팽이버섯 폐배지를 이용한 표고버섯 톱밥재배. 전남대학교 임학과 석사학위논문, 1-31.
- 박상진, 이원용, 이화형. 1990, 木材組織과 識別. 鄉文社, 서울, 358-361.
- 채정기, 김유이, 장성희 1999, 폐배지를 이용한 팽이버섯 2주기 생산. *한국자원식물학회지*, 12(2), 185-187.

(접수일 2000.11.6)
(수리일 2001.5.29)