

간버섯과 주걱간버섯의 배양특성

가강현* · 이정희 · 허태철 · 윤갑희 · 박원철

임업연구원 화학미생물과

Cultural Characteristics of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus*

Kang-Hyeon Ka*, Jeong-Hee Lee, Tae-Chul Hur, Kab-Hee Yoon and Won-Chull Bak

Division of Wood Chemistry and Microbiology, Korea Forest Research Institute

(Received July 7, 2003)

ABSTRACT: Basic studies on the cultural characteristics of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* were performed. They exhibited 30–40°C optimal temperature ranges and optimal pH ranges of 5–6. Among 6 media, they were good at mycelial growths on PDA, LBA and YMA. *P. coccineus* grew more than *P. cinnabarinus* on the same medium. Among 10 sawdust media, they were good at mycelial growth on three oak trees and *Alnus hirsuta*. However, the sawdust of *Castanea crenata* was bad at mycelial growth. Among 3 coniferous trees, *Larix leptolepis* showed better growth than the other trees such as *Pinus densiflora* and *P. koraiensis*. The fruit body production *P. coccineus* was about twice better than *P. cinnabarinus* on *Quercus* spp. sawdust cultivation.

KEYWORDS: *Pycnoporus coccineus*, *P. cinnabarinus*, Sawdust cultivation

간버섯(*P. coccineus*)과 주걱간버섯(*P. cinnabarinus*)은 구멍장이버섯과에 속하고 적색의 자실체를 갖고 있다. 전자는 나무에 버섯의 대가 없이 붙어있고 후자는 버섯의 대를 갖고 붙어있는 차이가 있다(이, 1988; 박과 이, 1991). 어릴 때는 구분하기 어려우나 어느정도 성숙하면 구분이 된다. 버섯이 적색을 띠는 것은 cinnabarinic acid, cinnabarin, tramesanguin의 색소를 균사에 갖고 있기 때문으로 알려져 있다(Eggert *et al.*, 1995).

주걱간버섯은 생물체를 이용한 2차 대사산물의 생산에 대한 그 이용성이 보고되어 있고(Falconnier *et al.*, 1994; Lesage-Meessen *et al.*, 1997; Oddou *et al.*, 1999; Jonas *et al.*, 2000; Estrada Alvarado *et al.*, 2001), 리그린 분해에 관여하는 Laccase 연구에서도 자주 사용된 연구재료이다(Eggert *et al.*, 1995, 1996; Otterbein *et al.*, 2000). 우리나라에서는 이들 버섯에 대한 연구는 거의 되어 있지 않은 상태이며 항암작용에 대한 연구가 일부 이루어졌다(Hong *et al.*, 1982). 아울러 적색 색소는 천연염료로 섬유를 염색하는데에도 사용하고 있다(Bessette and Bessette, 2001).

본 연구는 적색을 띠어 아름다운 모습을 가진 간버섯과 주걱간버섯의 배양특성 및 자실체 발생에 대하여 연구한 것이다. 이들은 우리나라에 자생하는 버섯으로서 현재 이용되고 있지는 않지만 앞으로 버섯자원의 기능성 소재로

서 관상용 및 유용 물질생산 균주로 이용될 개발 가능성이 있는 것으로 보여진다.

재료 및 방법

사용균주

간버섯은 2001년 강원도 양양군 낙산사내 왕벚나무(*Prunus yedoensis*)에서, 주걱간버섯은 2001년 전남 백양사 입구의 벚나무(*P. serrulata* var. *spontanea*)에서 채취하였다. 채취된 버섯은 Potato dextrose agar(PDA) 배지상에서 균을 분리하였다. 분리된 균은 PDA 배지에서 계대 배양 하면서 본 실험에 사용하였다.

온도, pH, 배지

온도 실험은 pH 5.5 PDA 배지에서 1주일 성장한 간버섯과 주걱간버섯을 0.5 cm 크기 cork borer로 절단하여 PDA 배지에 옮겨 19, 23, 27, 31, 35, 39, 43, 47°C 온도 범위에서 각각 5반복으로 6일간 성장시켜 그 크기를 조사하였다. pH 실험도 온도 실험과 동일한 방법으로 PDA 배지를 pH 4, 5, 6, 7, 8로 조정하여 조사하였다. 배지별 성장조사도 위와 동일한 방법으로 Difco사의 Corn Meal Agar(CMA, 17 g/l), Lima Bean Agar(LBA, 23 g/l), Malt Extract Agar(MEA, 33.6 g/l), Mueller Hinton Medium(MHM, 38 g/l), Potato Dextrose Agar(PDA, 39 g/l), Yeast Malt Extract Agar(YMA, 10 g glucose, 5 g peptone,

*Corresponding author <E-mail: kalichen@yahoo.co.kr>

3 g yeast extract, 3 g malt extract, 15 g agar) 배지를 이용하여 25°C에서 6일간 배양시킨 후에 성장한 양을 측정하였다.

톱밥에서 균사생장

톱밥에서 균사생장 실험은 시험관(직경 2.2 cm, 길이 20 cm)에 밤나무, 상수리나무, 신갈나무, 굴참나무, 개벚나무, 자작나무, 물오리나무, 잣나무, 낙엽송, 소나무 등 10종류 톱밥을 넣고 수분을 65%로 맞추어 121°C에서 30분간 멸균하였다. 각 톱밥별 시험관은 5반복으로 PDA 배지에서 자란 간버섯과 주걱간버섯의 균을 접종하여 35°C에서 17일간 배양 후 균사생장 길이를 측정하였다.

균사 관찰

PDA 배지에서 15일 성장한 균사들은 광학현미경(Leica DMRE) 1,000배에서 관찰하였다.

자실체 발생

자실체 발생은 1.2l 종균병에 신갈나무와 굴참나무 톱밥 80%, 미강 20%, 탄산칼슘 0.6%, 질산칼륨 0.4%, 설탕 1.5% 넣고 배합하여 수분을 65%로 맞추어 650 g씩 채웠다. 배지는 121°C에서 1시간 멸균한 다음, 신갈나무 톱밥 배지에서 자란 균을 시약스푼으로 한 스푼씩 접종하여 25°C 배양실에서 34일간 배양하였다. 배양이 끝난 배양병은 뚜껑부위를 올려내고 25°C 상대습도 95~100%인 발생실에 옮겨 자실체 발생을 유도한 후 45일간 성장시켜 수확하였다.

결과 및 고찰

온도, pH, 배지

간버섯과 주걱간버섯은 최적온도범위는 30~40°C로 두 균종간에 비슷한 온도 성장 패턴을 가지고 있었다(Fig. 1). 다른 일반 식용버섯은 최적 온도가 20~30°C 사이 인

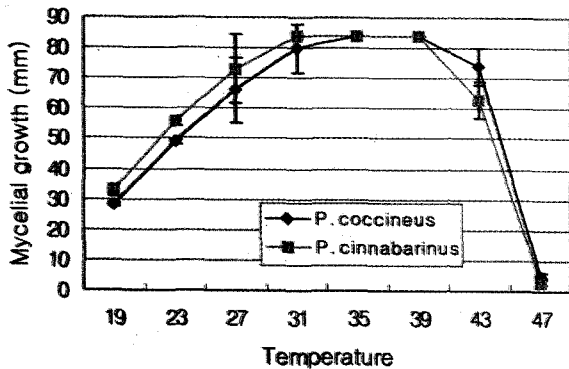
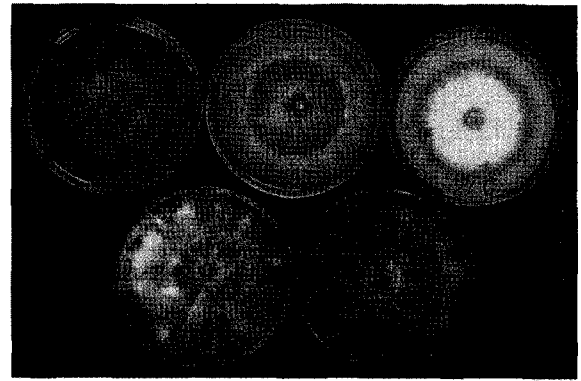
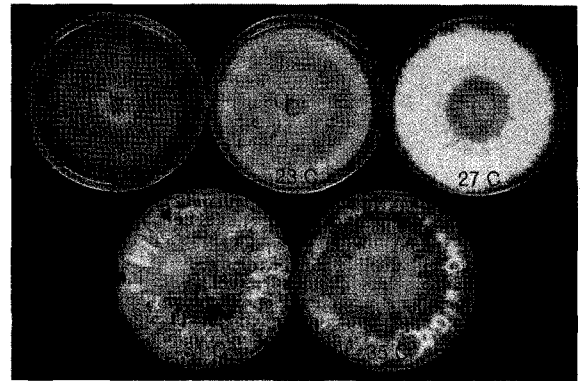


Fig. 1. Effects of temperature on the mycelial growth of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* at the PDA cultivation for 6 days.



Pycnoporus coccineus



Pycnoporus cinnabarinus

Fig. 2. Mycelial color variations by different temperatures of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* at the PDA cultivation for 6 days.

데(最新バイオテクノロジー-全書編集委員會, 1992), 간버섯과 주걱간버섯은 이들보다는 더 높은 온도에서 최적조건을 나타내었다.

간버섯과 주걱간버섯은 PDA 배지상에서 성장을 보면, 균사생장은 배지 표면을 따라 성장하였고 솜털모양의 기중균사는 만들지 않았다. 균총의 색깔은 배양온도에 따라 달랐다(Fig. 2). 19°C와 31°C에서 강하게 적색을 나타내었고, 27°C에서는 백색을 많이 띠었다. 35°C 이상에서는 적색을 띠지만 갈색화가 많이 일어났다. 주걱간버섯의 경우, 자실체에는 cinnabarin이 주요한 색소성분이나 액체배양에서는 cinnabarinic acid가 주요한 색소이고 cinnabarin은 10% 미만이다(Eggert et al., 1995). 버섯의 색소성분은 배양 조건에 따라 영향을 받는다는 것을 알 수 있고, 본 연구에서도 온도에 따라 색깔의 변화를 관찰할 수 있었다. 온도에 따른 색소의 함량 및 성분의 변화에 대한 보다 깊은 연구가 요구된다.

간버섯과 주걱간버섯은 pH 5-6 범위에서 생장이 가장 양호하였다(Fig. 3). 이러한 특성은 다른 일반 식용버섯의 최적 pH와 비슷하였다(最新バイオテクノロジー-全書編集委員會, 1992). 균총의 색깔은 pH 5~6에서 강한 적색을 띠었고 나머지 pH에서는 옅은 적색을 나타내었다.

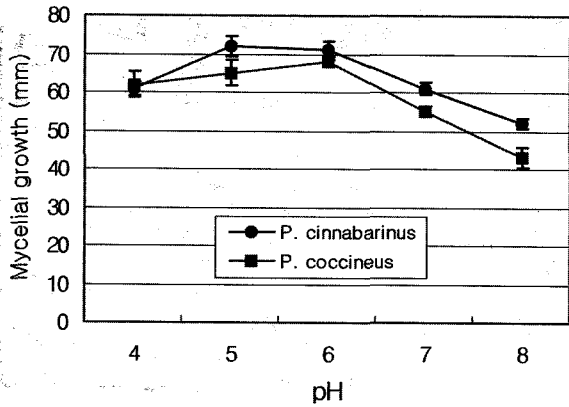


Fig. 3. Effects of pH on the mycelial growths of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* at the PDA cultivation for 6 days at 25°C.

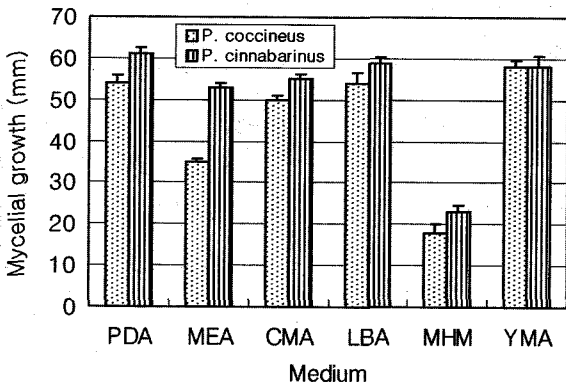


Fig. 4. Effects of media on the mycelial growths of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* for 6 days cultivation at 25°C.

6종의 배지를 가지고 실험한 결과, 간버섯과 주걱간버섯은 PDA, LBA, YMA 배지에서 생장이 양호하였고, 동일 배지상에서는 주걱간버섯이 간버섯보다 더 좋은 성장

을 보여주었다(Fig. 4). 결론적으로 균류 배양에 자주 사용되는 PDA 배지를 사용하여 간버섯과 주걱간버섯을 배양하면 무난할 것으로 판단되었다. 주걱간버섯은 parboiled rice 또는 malt agar(Eggert *et al.*, 1995, 1996), maltose가 탄소원으로 포함된 합성배지(Oddou *et al.*, 1999; Jonas *et al.*, 2000) 등을 사용하였는데, 이는 추구하는 연구 방향에 따라 다양한 배지들을 선택한 때문으로 판단된다.

툽밥배지

툽밥배지에서 균사생장은 툽밥 종류에 따라 간버섯과 주걱간버섯의 생장에 차이가 있었으나, 두 종 모두 동일 툽밥에서는 생장이 비슷하였다(Fig. 5). 가장 생장이 좋은 툽밥은 상수리나무, 굴참나무, 물오리나무 이었고, 밤나무 툽밥에서 생장은 가장 좋지 않았다. 간버섯은 침엽수인 잣나무, 낙엽송, 소나무 툽밥에서도 균사가 성장하였고, 실제 야외에서도 침엽수에 버섯이 발생하는 것을 관찰할 수 있었는데 특히 측백나무에서 발생하는 것이 관찰되었다. 침엽수에 주걱간버섯이 발생하는 것은 호주에서도 흔히 관찰되는 것으로 알려져 있고(Eggert *et al.*, 1996), 본 실험에서도 침엽수인 낙엽송에서 균사가 잘 성장하였던 것으로 미루어 보아 폭 넓은 야외 조사를 행하면 이의 발생을 관찰할 수 있을 것으로 판단된다.

균사의 현미경 관찰

간버섯과 주걱간버섯은 PDA 배지에서 성장하면서 표면이 적색으로 변화되어 갔다. 15일 성장한 균사들은 25% glycerol, cotton blue 염색약을 이용하여 관찰하였다. 간버섯과 주걱간버섯의 균사는 직경이 2~4 μm로 백색이었다. 간버섯의 균사는 표면의 색소가 넓게 퍼져있는 현상이나 주걱간버섯의 균사는 표면에 퍼져있을 뿐만 아니라 부분적으로 모여 과립상을 만들었다(Fig. 6). 그래서 간버섯은 적색의 균사들이 매끈한 느낌이 있고 중앙 부분

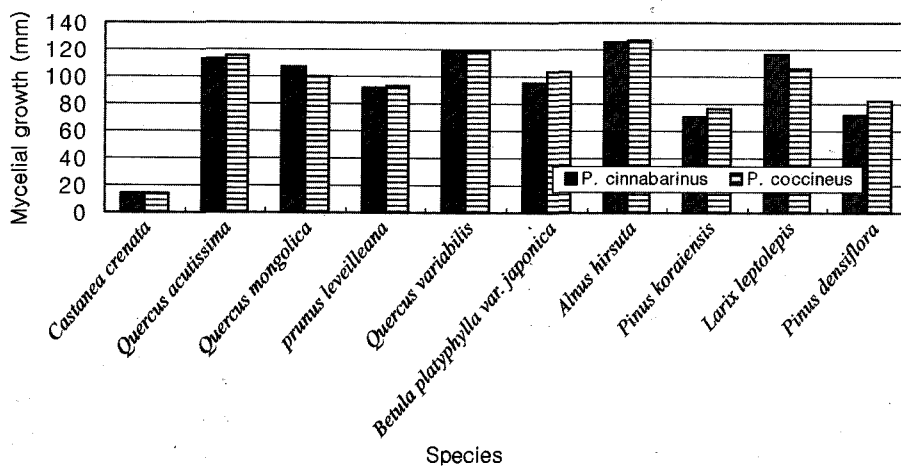
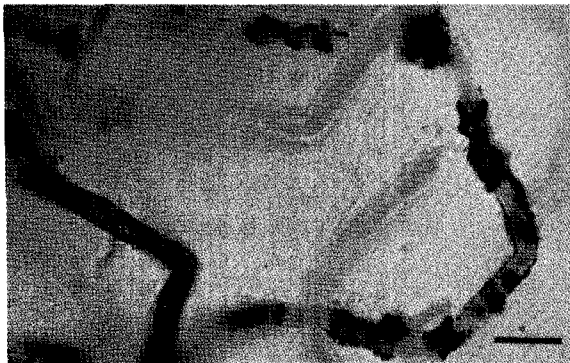


Fig. 5. Effects of 100% sawdusts of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* on the mycelial growth for 20 days cultivation at 35°C.



Pycnoporus coccineus



Pycnoporus cinnabarinus

Fig. 6. Mycelial morphology with red dyes under compound microscope (bar = 5 μ m). The samples were stained myceila by cotton blue.

부터 균사들이 뭉쳐서 약간 블록하게 성장한다. 그러나 주걱간버섯은 이와 달리 과립상의 적색색소들이 밀집 분포하여 약간 거친 감이 있으며 중앙부에 블록한 형태를 만들지 않는다.

버섯발생

신갈나무와 굴참나무에서 성장한 간버섯은 주걱간버섯 보다는 자실체 원기의 형성이 더 빨랐다. 톱밥배지에 균사들은 처음에 백색을 띠나 시간이 지나면서 적색의 균사들로 발달한다. 균사가 종균병 바닥까지 자라고 상부 표면에 뭉쳐서 뭉툭뭉툭한 조직으로 발달하여면서 자실체 원기가 형성되기 시작하였다. 이때에 자실체 발생 유도를 시작하였다. 이 자실체 원기는 발생처리 2일 이후부터 적색의 균사표면에 오렌지색의 원기가 형성되기 시작하여 5일 이후부터는 어린 자실체로 자라기 시작하였다. 초기에 버섯원기는 여러 개가 발생하기 시작하여 버섯이 커지면서 서로 붙어서 하나의 커다란 버섯 형태로 자랐다. 특히 인접 버섯들 간에 버섯이 성장하면서 맞닿으면 매우 잘 붙어 자랐다. 버섯의 모양은 간버섯과 주걱간버섯에서 매우 비슷하게 나타나 구분할 수 없었다(Fig. 8). 주걱간버섯의 짧은 버섯의 대도 발견하기 어려웠다. 버섯 생산량

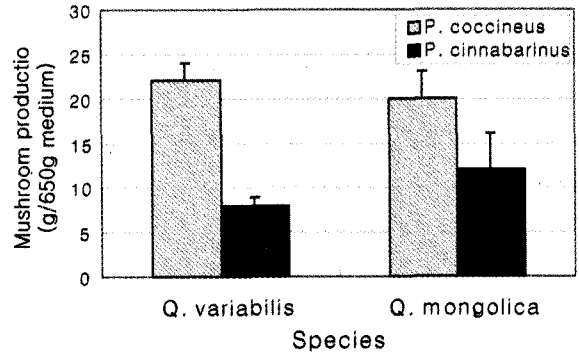


Fig. 7. The fruit body productions of *Pycnoporus coccineus* and *P. cinnabarinus* in *Quercus variabilis* and *Q. mongolica* sawdusts for 45 day-cultivation.



Fig. 8. The fruit bodies of *Pycnoporus coccineus* in *Quercus variabilis* and *Q. mongolica* sawdust for 45 day-cultivation.

은 간버섯이 굴참나무와 신갈나무에서 주걱간버섯보다 약 2배 많았다(Fig. 7).

적 요

간버섯과 주걱간버섯의 배양특성은 최적 온도범위 30-40°C, 최적 pH범위 pH 5~6이었다. 6종의 배지 중 간버섯과 주걱간버섯은 PDA, LBA, YMA 배지에서 생장이 양호하였고, 동일 배지상에서 간버섯보다는 주걱간버섯의 생장이 약간 양호하였다. 10종의 톱밥배지중, 간버섯과 주걱간버섯은 참나무류(상수리나무, 신갈나무, 굴참나무)와 물오리나무에서 생장이 양호하였지만, 밤나무에서는 생장이 불량하였다. 침엽수 3종 중에서, 낙엽송이 소나무와 잣나무보다 간버섯과 주걱간버섯의 생장이 양호하였다. 버섯발생양은 간버섯이 주걱간버섯보다 약 2배 많았다.

참고문헌

박완희, 이호득. 1991. 원색도감 한국의 버섯. 교학사.

- 이지열. 1988. 원색한국버섯도감. 아카데미서적.
- 最新バイオテクノロジー全書編集委員会. 1992.きのこの増殖と育種. 農業圖書株式會社.
- Bessette, A. R. and Bessette, A. E. 2001. The Rainbow Beneath My Feet : a mushroom dyer's field guide. Syracuse University Press.
- Eggert, C., Temp, U., Dean, J. F. D. and Eriksson, K. E. L. 1995. Laccase-mediated formation of the phenoxazinone derivative, cinnabarinic acid. *FEBS Letters* **376**: 202-206.
- _____, _____, _____ and _____. 1996. A fungal metabolite mediates degradation of non-phenolic lignin structures and synthetic lignin by laccase. *FEBS Letters* **391**: 144-148.
- Estrada Alvarado, I., Lomascolo, A., Navarro, D., Delattre, M., Asher, M. and Lesage-Meessen, L. 2001. Evidence of a new biotransformation pathway of p-coumaric acid into p-hydroxybenzaldehyde in *Pycnoporus cinnabarinus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **57**: 725-730.
- Falconnier, B., Lapierre, C., Lesage-Meessen, L., Yonnet, G., Brunerie, P., Colonna Ceccaldi, B., Corrieu, G. and Asther, M. 1994. Vanillin as a product of ferulic acid biotransformation by the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus* I-937: identification of metabolic pathway. *J. Biotechnol.* **37**: 123-132.
- Hong, W. B., Chung, K. S., Woo, M. S. and Kim, B. K. 1982. Studies on constituents of higher fungi of Korea (XXXIII). Antitumor components of *Trametes sanguinea*. *Kor. J. Mycol.* **10**(4): 147-154.
- Jonas, U., Hammer, E., Haupt, E. T. and Schauer, F. 2000. Characterisation of coupling products formed by biotransformation of biphenyl and diphenyl ether by the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*. *Arch. Microbiol.* **174**: 393-398.
- Lesage-Meessen, L., Haon, M., Delattre, M., Thibault, J. F., Colonna Ceccaldi, B. and Asther, M. 1997. An attempt to channel the transformation of vanillic acid into vanillin by controlling methoxyhydroquinone formation in *Pycnoporus cinnabarinus* with cellobiose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47**: 393-397.
- _____, _____, _____, _____, _____ and _____. 1997. An attempt to channel the transformation of vanillic acid into vanillin by controlling methoxyhydroquinone formation in *Pycnoporus cinnabarinus* with cellobiose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47**: 393-397.
- Oddou, J., Stentelaire, C., Lesage-Meessen, L., Asther, M. and Colonna Ceccaldi, B. 1999. Improvement of ferulic acid bio-conversion into vanillin by use of high-density culture of *Pycnoporus cinnabarinus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **53**: 1-6.
- Otterbein, L., Record, E., Chereau, D., Herpoel, I., Asther, M. and Moukha, S. M. 2000. Isolation of a new laccase isoform from the white-rot fungi *Pycnoporus cinnabarinus* strain ss3. *Can. J. Microbiol.* **46**: 759-763.