

송이 外生菌根의 形態的 特徵

具昌德*

忠北大學校 農業生命環境大學 山林科學部

Morphological Characteristics of *Tricholoma matsutake* Ectomycorrhiza

Chang-Duck Koo*

Department of Forest Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, South Korea

요약: 송이균근은 형태적으로 매우 특이한 외생균근이다. 즉 송이균근은 Y자형이 아닌 빗자루형이며, 균사는 매우 밝은 흰색을 띠고, 메마른 경우 물에 쉽게 젖지 않는다. 송이균근이 왜 이런 특징을 갖는가를 이해하기 위하여 주사전자현미경을 이용하여 형태를 관찰하였다. 송이균근의 정단부에는 균사층이 발달하지 않았고 균근 부위 중에서 균사층이 잘 발달된 부위에서는 Hartig 망이 1-2층 발달하였으나, 세포내부로 침입하여 들어간 균사는 없었다. 그러나 뿌리 외부의 균사층이 덜 발달한 부분에서는 표피세포나 피층세포층에서 Hartig 망이 형성되지 않았다. 이들 세포의 내부에서는 약 2µm 크기의 반원형 알갱이 형태인 전분체가 세포벽을 전체적으로 덮고 있었다. 송이균사표면은 모양이 일정하지 않은 작은 알갱이로 덮혀있기 때문에 매우 밝은 흰색을 띠며 물의 표면장력으로 인하여 잘 젖지 않는 현상을 부분적으로 설명하는 것으로 생각한다. 송이균사의 세포벽은 매우 얇은 단순한 막질이고, 연결격쇄(clamp connection)는 없었다. 송이균근의 정단부에 균사층이 없기 때문에 Y자형으로 갈라지지 않는 것으로 생각된다. 그러나 균근이 가지를 많이치는 것은 송이균이 소나무뿌리로부터 탄수화물을 받는 표면적을 넓히는 것이라고 생각된다. 송이균사의 세포벽이 매우 얇은 것은 세포벽의 신축성이 커서 주기적인 토양건조에 따라 수분포텐셜을 잘 조절하여 원형질분리가 일어나지 않게 하는 생존전략과 관련된다고 생각한다. 그리고 거친 균사 표면은 균사가 물에 느리게 젖게 함으로써 삼투포텐셜이 매우 낮았던 균사가 수분을 갑자기 많이 흡수하는 것을 막는다고 생각한다. 결론적으로 송이균근은 정단부에서 균사층이 발달하지 않으므로 Y자형으로 갈라지지 않으며, 균사표면의 거친 입자는 흰색을 더욱 밝게하면서 잘 젖지 않도록 한다고 생각한다.

Abstract: *Tricholoma matsutake* ectomycorrhizas are unique in their morphology: not bifurcated broom shaped roots with not easily wettable brilliant and profuse white hyphae. To understand these characteristics the ectomycorrhizas were investigated with electron microscopy. *T. matsutake* ectomycorrhiza have thin mantle and typical Hartig net development in the epidermis and cortex, but no fungal mantle on the root apex. There were no penetrating hyphae inside of the cells of either epidermis, cortex or stele. Inside of the walls of epidermis and cortex cells are lined with ca. 2 µm hemispherical amyloplasts. The brilliant hyphal surface was covered with various fine amorphous granules. The hyphal cell wall was thin membrane less than 0.3 µm thick. There is no clamp connection on the hyphae. This thin membranous cell wall with high elasticity can be related to survival strategy of the species without plasmolysis under frequent soil water stress environment. And the coarse hyphal surface with some water repellency can control sudden inrush of water of the hyphae with an extremely low osmotic potential. It is concluded that no mantle on the tip can induce mycorrhizas not bifurcated and that finely coarse surface of *T. matsutake* hyphae can make the hyphae brilliantly white but less wetted.

Key words : *Tricholoma matsutake*, *Pinus densiflora*, ectomycorrhiza, Plectenchymatous, Fungal mantle

서론

송이균근은 1999년 이후에야 전형적인 외생균근임이 확실하여졌다. 1999년 이전에는 송이균근에 대한 관찰은 기생적인 의미가 강하였다. 즉 小川(1991)과 Wang *et al.*(1997)의 관찰로는 송이균이 소나무 뿌리의 표피와 피층세포내에 침투하

여 세포를 괴사시키는 것으로 기술하였다. 하지만 Yamada *et al.*(1999a)은 자연상태의 송이균근에서 외생균근의 특징인 Hartig 망을 확인하였다. Yamada *et al.*(1999b)과 Gill *et al.*(2000), Vaario *et al.*(2000), Guerin-Laguette *et al.*(2000)은 배양된 송이균사를 시험관내 무균상태의 소나무묘목에 접종하여 형성된 송이균근에서도 송이균사가 Hartig 망을 형성하고, 내피세포층 이상의 안쪽으로는 들어가지 않음을 관찰하여서, 송이균근이 전형적인 외생균근임을 증명하였다.

한편 송이균근은 여전히 일반적인 외생균근과는 형태적으

*Corresponding author
E-mail: koocdm@chungbuk.ac.kr

로 매우 다른 면이 있다. 즉 일반적인 외생균근에서 많이 볼 수 있는 Y자형이나 산호모양은 전혀 이루지 않고, 전체적으로는 빗자루 또는 우묵가사리형(小川, 1991)이고, 각 개 뿌리는 길게 자란다. 그리고 균사는 매우 밝은 흰색이며 연결격쇄(clamp connection)는 없으며, 수분에 금방 젖지 않는다. 그러나 이러한 특징은 현미경적으로 송이균근임을 확신시키는 것은 아니므로 송이균근의 확인을 위해서는 추가적인 형태적 특징분석과 DNA 분석이 필요하다.

송이균환에서는 소나무뿌리 피사현상(Yamada *et al.*, 1999a; 구창덕 등, 2000; Gill *et al.*, 2000)과 수분에 금방 적셔지지 않는 현상(허태철 등, 1994)이 알려져 있다. 위 두 현상 때문에 송이균은 기생이라는 설(小川, 1991)과, 송이균사는 소수성(허태철 등, 2004)이라는 설이 있다. 그러나 송이균근의 끝부분은 살아있으며(구창덕 등, 2000), 송이균환의 수분함량은 강우나 인위적인 관수에 의하여 13.5-23.0% 범위로 변하므로 소수성이라는 것은 일시적인 현상이라고 생각되었다(구창덕 등, 2003). 하지만 이런 현상의 원인에 대한 연구는 부족하다.

그러므로 이 연구에서는 일반 균근과는 달리 송이균근은 왜 Y자나 산호모양을 형성하지 않고 계속 자라며, 송이균사가 왜 매우 밝은 흰색을 띠면서 물에 잘 젖지 않는지를 알고자 하였다. 이런 현상은 송이균근과 균사의 구조적 특징 때문일 것이라는 가설을 가지고 소나무뿌리내 땅속 송이균환에서 채집한 송이균근과 송이균사의 특징을 주사전자현미경을 이용하여 조사하였다.

재료 및 방법

1999년부터 송이발생지점이 표시된 속리산 국립공원내 쌍곡계곡(충북 괴산군 청천면 쌍곡리) 송이산지에서 송이균환 선단부의 송이균근을 채집하였다. 이 균근시료를 2시간내에 수돗물로 세척 후 곧 2.5% glutaraldehyde 용액에 고정하였고, 서울대 농업생명과학대 부설 NICEM에서 탈수 및 OsO₄ 고정 과정을 거친 후 금도금하여 균근과 균사의 표면형태를 주사전자현미경으로 관찰하였다. 또한 송이균환 선단부에서 채집한 균사를 물이나 70% 에탄올에 적신 후 1000배 광학현미경으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 송이균근의 외부형태적 특징: 정단부에 균사층이 없음

송이 균환내 균근(Figure 1-a)은 밝은 흰색의 균사로 밀하게 둘러싸여 있으나, 수돗물을 세차게 뿌리면 많은 균사가 물에 젖지 않고 뜨면서 송이균근으로부터 분리되었다. 하지만 균근 표면에 밀착한 얇은 균사층은 망상형으로 각개 균사가 구분되어 보이며 뿌리털은 발달하지 않았다. 이런 균사층의 형태는 Agerer(1991)의 구분에 따르면 plectenchymatous형이다.

균근에 부착된 균사층은 하단부에서는 매우 밀하지만 정단부로 갈수록 얇아졌으며, 정단부를 둘러싸는 균사층은 없었다(Figure 1-b, -c). 그리고 정단부에 뿌리골부로 보이는 구조는 없었다. 일반적으로 송이균근은 정단부를 제외하고는 여러 층의 균사층으로 둘러싸여 있었다(Figure 1-d, -f). 이렇게 송이균근 정단부에서 균사층이 없는 현상에 대하여 小川(1992)과 박용환(1997)은 송이와 같이 기생성이 강한 균의 균사가 퍼지면 뿌리는 탄닌을 분비하여 표피세포를 변형시키고, 이에 따

라 균사층이 잘 발달하지 않고 불완전하며 Hartig 망 형성이 불완전하게 되고, 뿌리는 도장하여 심하게 분지하고 병에 걸린 것 같이 보이나, 성장점에는 균사가 침투하지 않아 고사하지는 않는다고 하였다.

송이균근은 정단부에 균사층이 없기 때문에 계속 자랄 수 있어서 빗자루나 우묵가사리 형태로 되고, Y자형이나 산호 또는 깃털모양으로는 되지 않는다고 생각한다. 일반적으로 정단부에 단단한 균사층이 발달하면 뿌리는 길이 생장을 못하여 옆으로 가지를 쳐서 Y자형이 되고, 이런 현상이 심한 경우는 산호모양이 된다. 그러나 송이균근은 정단부생장을 억제하지 않는 반면에 측근의 발달을 촉진시켜서 빗자루모양으로 뿌리의 밀도를 증가시키는 것으로 생각한다(구창덕 등, 2000). 이렇게 뿌리를 계속 가지치게 하는 것은 결국 표피세포와 피층세포를 증가시키는 것으로, 결국 송이는 소나무로부터 탄수화물을 받을 수 있는 세포의 양과 면적을 증가시키는 것이다.

송이균근은 다른 균근과 달리 표피세포와 피층세포가 검게 사멸하면서도 정단부는 계속 성장한다(Yamada *et al.*, 1999a, 1999b; Gill *et al.*, 2000). 이런 현상을 시간적 공간적으로 종합적으로 관찰할 경우 송이는 역동적인 뿌리 공생균임을 확인하게 된다(구창덕 등, 2000).

2. 송이균사의 특징

1) 송이균사 표면

송이균사 표면은 빛나는 흰색으로 표면은 불규칙한 크기의 분말로 덮혀서 거칠게 보였다(Figure 1-a, -d, e, f, g). 대부분 0.5 μm 이하 크기의 매우 잔잔한 돌기들이 불규칙하게 덮혀져 있었다. 이 돌기 때문에 송이균사가 매우 밝은 흰색을 띠게 되며, 수분에 잘 적셔지지 않았던 것으로 생각된다. 그러나 송이균사 표면에 에틸알콜 용액을 떨어뜨리면 순식간에 균사표면 전체가 폭 젖으면서 밝은 흰색은 없어졌다.

일반적으로 메마른 송이균사나 균환에는 수분이 잘 스며들지 않으므로 이들이 소수성이라고 알려져 있다. 그러나 8월~10월 중에 송이균환내 수분함량은 13.5~23.0%의 변화가 있으므로 이들이 수분을 흡수하는 것으로 생각된다(구창덕, 2003). 한편, Wessels(1994)는 균사생장에 대한 분자생물적 연구에서 치마버섯 균사(*Schizophyllum commune*)를 액체 속에서 배양할 경우, 소수성 단백질(hydrophobins)을 균사정단부에서 액체배지로 분비하여 균사벽에 집적시킨 결과, 균사가 액체 밖으로 돌출된다고 하였다. 그러나 치마버섯은 건조하면 수축하지만 물에 담그면 원형으로 돌아가는 수분을 매우 잘 흡수하는 버섯이다(今關 등, 1988).

송이 균사의 세포벽에서 이런 소수성 물질에 대한 보고는 없지만, 메마른 송이균환이 물에 잘 젖지 않는 것은 두 가지 면에서 설명될 수 있다고 생각한다. 즉 균사표면의 소수성물질과 물의 표면장력이다. 송이균사 표면에는 알려지지 않은 소수성의 미세한 표면 입자로 인하여 표면장력이 큰 물방울이 잘 접촉하지 못하기 때문으로 생각된다. 그러나 균사는 동시에 수분을 흡수해야 하므로 송이 균사 세포벽은 친수와 소수의 이종 성격을 지닌 것으로 생각된다. 그러므로 이러한 송이균사의 방수현상은 일시적인 것으로, 삼투포텐셜이 매우 낮은 건조한 균사가 갑자기 수분을 많이 흡수하는 것을 막는 생태학적인 생존전략이라고 생각된다.

그러나 이 돌기들이 송이 균사의 세포벽에서 유래한 것인지 아니면 외부 토양으로부터 유래한 것인지, 그리고 이 돌기들이 소수성에 관련이 있는지는 밝히지 못하였다. 하지만 이

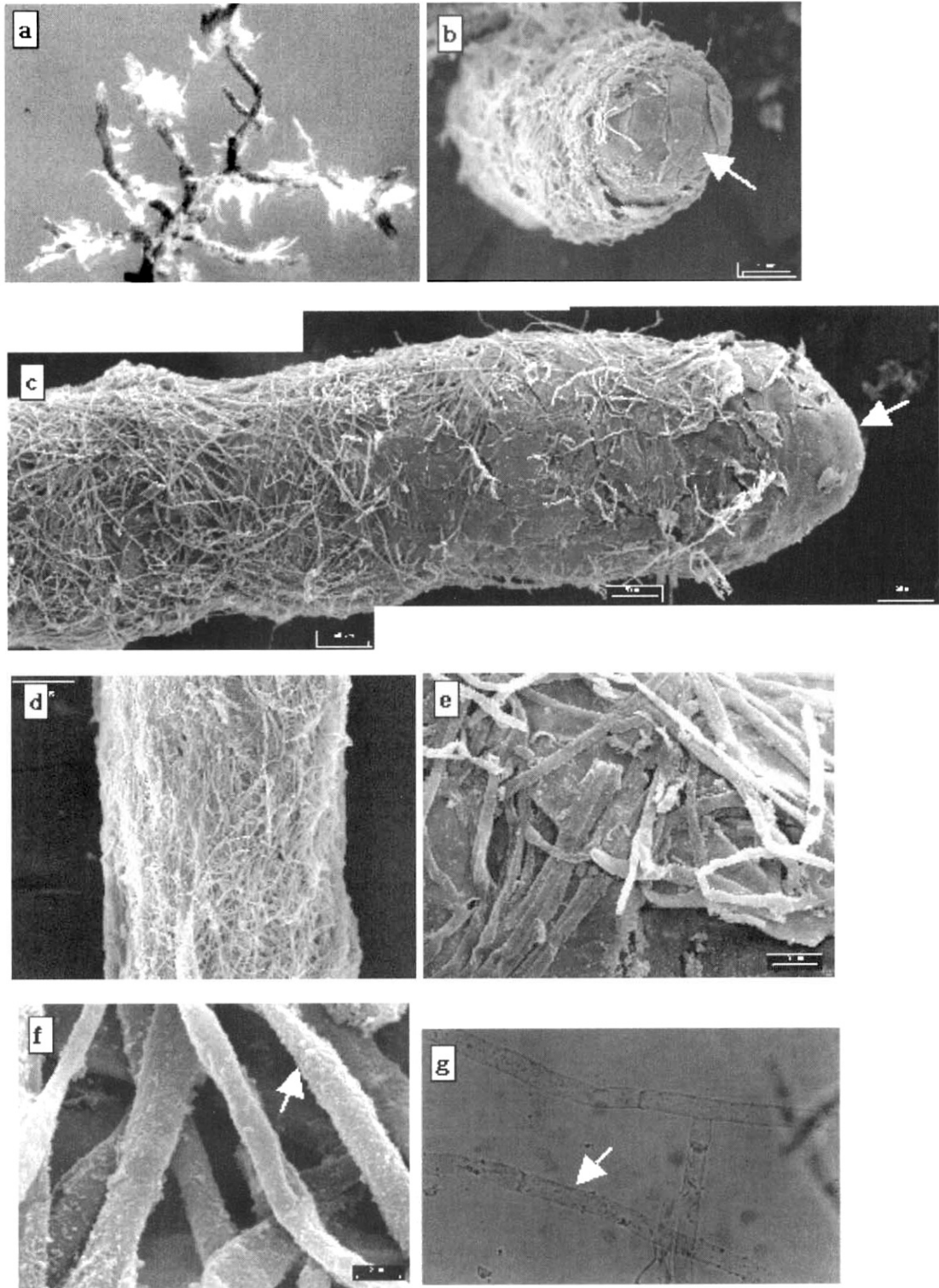


Figure 1. Surface Characteristics of *Tricholoma matsutake* + *Pinus densiflora* ectomycorrhizas. (a) ectomycorrhizas collected from natural soil matsutake colonies. The bar is 1 mm. (b) root apex (arrow) without fungal mantle. (c) Overview of mycorrhiza with noncolonized apex (arrow). (d) proximal part of the root with dense fungal mantle. (e) Plectenchymatous hyphal arrangement on the mycorrhizal surface. (f) coarse hyphal surface with amorphous fine granules (arrow). (g) hyphae with very thin membranous cell wall and finely dotted surface (arrow). The bar is 5 μ m.

돌기의 불규칙한 모양과, 크기, 분포 등으로 판단하여 볼 때, 이것은 균사의 분비물과 토양에서 유래한 물질과의 혼합체라고 생각한다. 균근균의 균사가 분비물을 내는 종류의 예가 있

는데, 토양내 자실체를 형성하는 *Hysterangium* 속 균근균의 균사는 옥살산을 분비하여 토양광물의 풍화를 촉진하고 토양 양분의 용해도를 증가시키기도 한다(Cromack *et al.*, 1979). 송

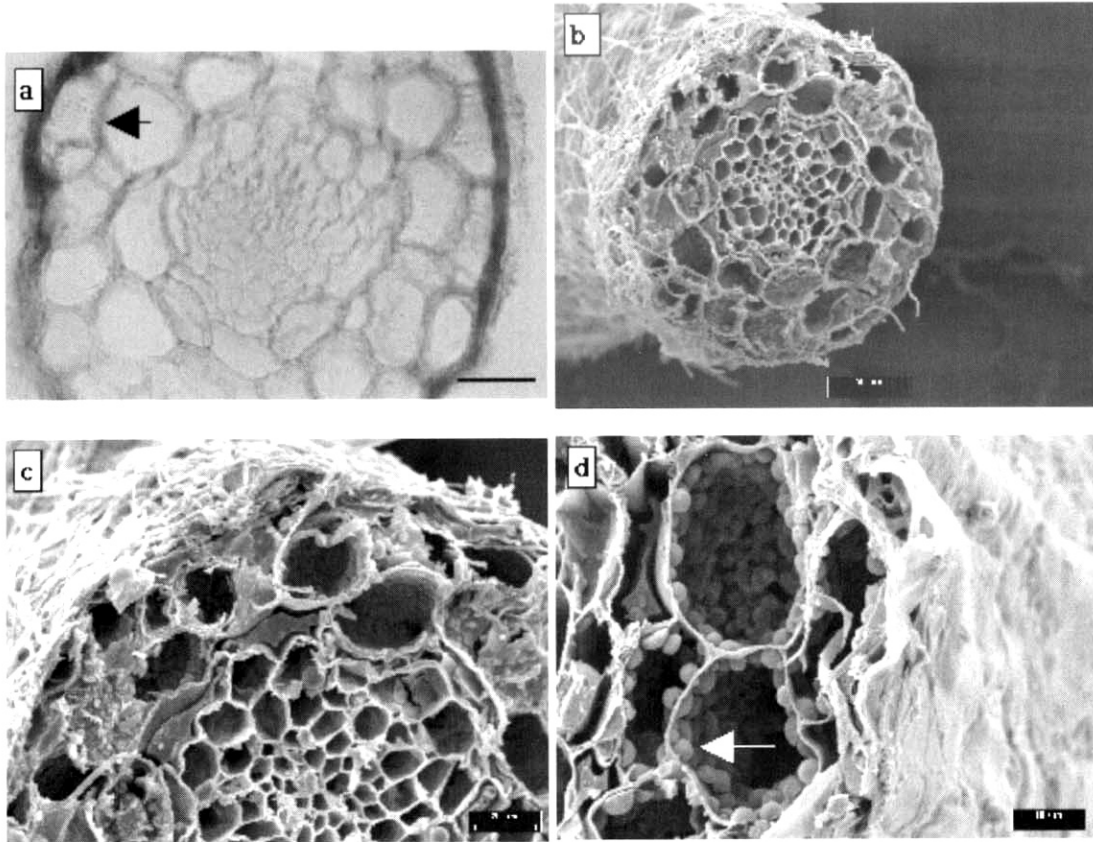


Figure 2. Characteristics of *Tricholoma matsutake* + *Pinus densiflora* ectomycorrhiza. (a) hand cross-section of mycorrhiza with Hartig net (arrow) and fungal mantle, the bar is 20 μ m. (b) Scanning electron microscope picture of cross section of mycorrhiza with thin fungal mantle but without Hartig net development. (c) Enlarged view of the section. (d) hemispherical amyloplast granules (arrow) lined in epidermal and cortical cell walls of mycorrhiza with very thin mantle.

이균화도 칼륨같은 무기양분을 집적시키는 것으로 알려져 있다(허태철 등, 2004). 하지만 송이 균사벽의 소수성에 대하여는 물리, 화학적인 원인 구명이 되지 않았다.

2) 송이균사의 세포벽

송이균사의 세포벽은 0.3 μ m 이하의 매우 얇은 막(membrane)이었으며(Figure 1-g), 주사전자현미경 시료를 만들기 위한 탈수과정에서 형태변형과 수축이 심하여 송이균근표면에 리본모양으로 매우 납작하게 밀착하였다(Figure 1-f, Figure 2-d). 송이균사 세포벽이 매우 얇은 것은 건조하기 쉬운 산 능선부와 급경사지에 분포하여 생존하는데 유리한 것으로 생각된다. 우선 세포벽의 신축성이 커서 쉽게 수축할 수 있으므로, 건조시에 수분을 잃을 경우에도 원형질막이 세포벽과 분리되는 현상을 피할 수 있다. 그리고 수분을 잃음에 따라 원형질막내부의 농도가 높아지므로 삼투압을 낮추어서 주위의 수분 스트레스에 강하게 견딜 수 있다. 또한 강우나 이슬 등으로 토양에 수분이 공급되면 낮은 삼투압을 이용하여 신속히 수분을 흡수하고, 높은 신축성으로 수분을 최대로 흡수할 수 있다고 생각한다. 이에 비하여 균사의 세포벽이 1.0 μ m에 달하는 능이 버섯의 균사는 대체로 토양수분 공급이 풍부한 경사면 하부나 산록, 북향경사면에 분포한다(김홍은 등 2000). 그러므로 이렇게 수분환경에 신축적인 얇은 세포벽은 수분 스트레스가 수시로 닦치는 환경에 생태적으로 적응한 기능적인 구조라고 생각한다.

2. 송이균근의 내부 형태적 특징

1) 표피 및 피층세포

균근 중에서 균사층이 잘 발달된 부위에서는 Hartig 망이 1-2층 발달하였으나, 세포내부로 들어간 균사는 없었다(Figure 2-a). 한편 뿌리 외부의 균사층이 덜 발달한 부분에서는 표피세포나 피층세포층에서 Hartig 망이 형성되지 않았으며, 이들 세포의 내부에서 약 2 μ m 크기의 반원형 알갱이가 세포벽을 전체적으로 덮고 있었다. 이 알갱이는 Moore *et al.*(1995)에 의하면 식물뿌리의 피층세포내에 존재하는 전분체(amyloplasts)로 생각된다. 이 전분체 알갱이는 균근부위 중에서도 균사층이 좀 더 발달한 곳에서는 크기가 작고 그 수가 적었다. Gill *et al.*(2000)도 송이균근의 피층세포내에 이런 알갱이의 존재를 언급하였으나, 이것의 정체를 서술하지는 않았다.

2) 통도조직

송이균근의 횡단면에서 내피 세포 안쪽에는 있는 체부와 사부 그리고 형성층으로 구성된 통도조직 세포에 균사가 침입한 것은 없었다(Figure 2-a, -b, -c). 이것은 송이균이 뿌리를 사멸시키는 기생균은 아님을 보여주는 것이라고 생각한다.

결론

송이균근은 일반적인 외생균근과는 형태적으로 매우 다른 면이 있다. 송이균사표면은 작은 알갱이로 덮혀 있어서 매우

밝은 흰색을 띠며, 세포벽은 매우 얇은 단순한 막질이고, 연결격쇄(clamp connection)는 없었다. 각 개 송이 균근은 정단부에 균사층이 없이 길게 자라면서 가지를 많이 치므로 보통 외생균근에서 많이 볼 수 있는 Y자형이나 산호모양이 아니고, 전체적으로는 빗자루 또는 우묵가사리형이다. 균근 부위 중에서 균사층이 잘 발달된 부위에서는 Hartig 망이 1-2층 발달하였으나, 세포내부로 침입하여 들어간 균사는 없었다. 한편 뿌리 외부의 균사층이 덜 발달한 부분에서는 표피세포나 피층세포층에서 Hartig 망이 형성되지 않았으며, 이들 세포의 내부에서 전분체가 약 2 μm 는 크기의 반원형 알갱이 형태로 세포벽을 전체적으로 덮고 있었다.

이 연구만으로 송이균사가 소수성을 띠는 원인을 알 수는 없었다. 그러나 송이균사의 세포벽이 매우 얇으면서 작은 알갱이로 덮혀 있고 수분에 잘 젖지 않는 소수성을 띠는 것은, 주기적인 토양건조에 신축성이 커서 원형질분리가 잘 일어나지 않고, 낮아진 세포질내 수분포텐셜에서도 서서히 수분을 흡수하기 위한 기능이라고 생각한다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의한 것입니다.

인용문헌

1. 구창덕, 김재수, 박재인, 가강현. 2000. 송이와 소나무간의 공생 관계에서 외생균근의 시-공간적 구조변화. 한국임학회지 89 : 389-396.
2. 구창덕, 김재수, 이상희, 박재인, 안광태. 2003. 송이 균환내 토양수분의 시공간적 변화. 한국임학회지 92 : 632-641.
3. 今關六也, 大谷吉雄, 本郷次雄. 1998. 日本のきのこ °山と溪谷社. 동경. pp. 624.
4. 김홍은, 구창덕, 김재수, 박재인, 신원섭, 신창섭. 2002. 참나무 입분 토양내 능이 외생균근 집단의 생태적 특징. 한국임학회지 91 : 457-464.

5. 박용환. 1997. 최신 버섯학. 한국버섯원균영농조합. pp. 502.
6. 小川眞. 1991. マツタケの生物學. 築地書館. 東京. pp. 333.
7. 小川眞. 1992. 生態. 古川久彦 編集, きのこ學. pp 116-140. 共立出版株式會社. 東京.
8. 허태철, 박현, 가강현, 주성현. 2004. 송이균환부에서 토양이화학적 특성의 동태. 한국임학회지 93: 26-34.
9. Agerer, R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. In Methods in Microbiology, vol 23, edited by J.R. Norris, J.J Read and A.K. Varma. Academic Press. London. pp. 25-73.
10. Cromack, K., Sollins, P., Graustein, W.C. Speidel, K., Todd, A.W., Spycher, G., Li, C.Y. and Todd, R.L. 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus, *Hysterangium crassum*. Soil Biol. Biochem. 11 : 463-468.
11. Gill, W.M., Guerin-Laguette, A., Lapeyrie, F. and Suzuki, K. 2000. Matsutake-morphological evidence of ectomycorrhiza formation between *Tricholoma matsutake* and host roots in a pure *Pinus densiflora* forest stand. New Phytol. 147 : 381-388.
12. Guerin-Laguette, A., Vaario, Lu-Min, Gill, W.M., Lapeyrie, F., Matsushita, N. and Suzuki, K. 2000. Rapid in vitro ectomycorrhizal infection on *Pinus densiflora* roots by *Tricholoma matsutake*. Mycoscience 41 : 389-393.
13. Moore, R., Clark, W.D. and Stern, K.R. 1995. Botany. Wm. C. Brown Publishers. London. pp. 336-342.
14. Vaario, L.-M., Guerin-Laguette, A., Gill, W.M., Lapeyrie, F., and Suzuki, K. 2000. Only two weeks are required for *Tricholoma matsutake* to differentiate ectomycorrhizal Hartig net structures in roots of *Pinus densiflora* seedlings cultivated on artificial substrate. J. For. Res. 5 : 293-297.
15. Wang, Y., Hall, I. R. and Evans, L.A. 1997. Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies. 1. *Tricholoma matsutake* and related fungi. Economic Botany 51 : 311-327.
16. Wessels, J.G.H. 1994. Development of fruit bodies in homobasidiomycetes. In The Mycota I. Growth, Differentiation and Sexuality, edited by J.G.H Wessels and F. Meinhardt. pp. 351-366.
17. Yamada, A., Kanekawa, S. and Ohmasa, M. 1999a. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. Mycoscience 40 : 193-198.
18. Yamada, A., Maeda, K. and Ohmasa, M. 1999b. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* isolates on seedlings of *Pinus densiflora* in vitro. Mycoscience 40 : 455-463.

(2004년 11월 3일 접수; 2005년 1월 5일 채택)