

기주식물에 따른 꽃송이버섯의 Methyl orsellinate와 Sparassol의 함량

김민수 · 이경태 · 전성민 · 가강현*

국립산림과학원 화학미생물과

The Quantities of Methyl Orsellinate and Sparassol of *Sparassis latifolia* by Host Plants

Min-Soo Kim, Kyoung-Tae Lee, Sung-Min Jeon and Kang-Hyeon Ka*

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

ABSTRACT : It is known not only that antifungal compounds such as sparassol, methyl orsellinate (Sci) and methyl-dihydroxy-methoxy-methylbenzoate (ScII) were produced during submerged culture from *Sparassis crispa*, but also that Sci and ScII were appeared higher antifungal activity than sparassol. The aim of this study, antifungal compounds of *Sparassis latifolia* were purified from mycelial culture media and identified by using NMR and ESI-MS. Based on HPLC analysis, methyl orsellinate and sparassol were detected at 15 min and 31 min of retention time, respectively. The compounds derived from *S. latifolia* were classified into four production patterns according to their strains. The strains originated from host plant *Larix kaempferi* and *Pinus koraiensis* showed different patterns of compound production, whereas the strains originated from host plant *P. densiflora* and *Abies holophylla* showed almost same patterns. There was no correlation between mycelial biomass and compound production. KFRI 645 strain from *L. kaempferi* exhibited higher methyl orsellinate production (0.170 mg/ml). Sparassol was produced by KFRI 747 from *P. densiflora* (0.004 mg/ml). Thus, our result revealed the new fact that methyl orsellinate and sparassol have different patterns according to the strains originated from different host plants.

KEYWORDS : HPLC, Methyl orsellinate, NMR, Sparassol, *Sparassis latifolia*

서 론

꽃송이버섯속(*Sparassis*) 버섯은 전세계에 널리 분포하는 것으로 알려져 있으며(Light and Woehrel, 2009), 이 중 꽃송이버섯(*Sparassis latifolia*)은 한국, 일본, 중국, 러시아 등

극동아시아 지역에 한정되어 분포하는 것으로 최근에 밝혀졌다(Dai *et al.*, 2006; Ryoo *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2013). Ryoo 등(2013)이 우리나라의 꽃송이버섯을 분석한 결과, *S. crispa*가 아닌 Dai 등(2006)이 보고한 *S. latifolia*와 모두 일치하는 것으로 조사되었다. 일반적으로, 버섯의 베타글루칸(β -glucan) 성분은 여러 가지 면역, 항암, 당뇨, 염증치료 등 다양한 기능을 나타내는 것으로 알려져 있는데(Chan *et al.*, 2009; Rop *et al.*, 2009; Kwon *et al.*, 2009), 이 중 꽃송이버섯은 항암작용을 하는 β -1,3-glucan과 β -1,6-glucan이 가장 많이 함유되어 있는 버섯으로 밝혀지면서 주목을 받게 되었다(Ohno *et al.*, 2000; Politi *et al.*, 2007; Rop *et al.*, 2009).

또한, 꽃송이버섯은 배양 과정에서 결정물질(길이 1 cm, 직경 0.1~0.18 mm)을 만들어 내는 것으로 알려져 있는데(Ka *et al.*, 2007), 이 물질은 Wedekind와 Fleischer(1924)에 의해 methyl-2-hydroxy-4-methoxy-6-methyl-benzoate (sparassol), 또 Woodward 등(1993)에 의해 methyl-2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate(methyl orsellinate)와 methyl-

Kor. J. Mycol. 2013 December, 41(4): 236-242
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.4.236>
 pISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

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

Received September 8, 2013
 Revised September 23, 2013
 Accepted November 17, 2013

©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.

dihydroxy-methoxy-methylbenzoate임이 밝혀졌으며, *S. ramosa*로부터 분리한 sparassol의 경우에는 orsellinic acid monomethyl ether로 표기하기도 한다(Hawksworth *et al.*, 1995).

꽃송이버섯의 결정물질은 항진균 효과를 나타내며, methyl orsellinate가 sparassol보다 더 높은 항진균 활성이 있는 것으로 보고되었다(Woodward *et al.*, 1993). 뿐만 아니라, 이 결정물질은 꽃송이버섯이 침엽수의 심재를 부후시킬 때 생성되는 물질로, 균의 감염여부를 판별할 수 있는 지표로서의 활용 가능성을 제시하였다(Woodward *et al.*, 1993). 지금까지 국내에서는 꽃송이버섯이 생성하는 결정성 물질의 화학적 조사나 배양조건에 따른 물질 함량의 차이에 대해 연구된 바가 없으며, 꽃송이버섯의 발생 기주식물이 서로 다른 균주들을 대상으로 결정물질의 화학적 특성이나 생산 양상을 비교한 바도 없다.

따라서, 본 연구에서는 꽃송이버섯을 대상으로 액체배양 과정에서 생성되는 결정 및 비결정물질인 sparassol과 methyl orsellinate을 균주별로 분리, 동정하여 화학적 구조를 구명하고, 배양액에 포함된 결정물질의 함량을 HPLC를 통하여 비교분석하여 균주별 생산 양상을 조사하였으며, 이들 물질의 생산력과 꽃송이버섯 발생 기주식물과의 상관관계를 살펴보았다.

재료 및 방법

사용 균주 및 균 배양

본 실험에 사용한 28개의 꽃송이버섯 균주는 2003년부터 2012년까지 우리나라 산림에서 수집, 분리하여(Table 1), 국립산림과학원 균주보존실에 PDA (Potato Dextrose Agar) 사면배지 형태로 냉장 보존되어 있는 것으로, 이들은 모두

Table 1. List of *Sparassis latifolia* strains used in this study

Strain	Collecting area	Host plant	Year
KFRI 748	Pyeongchang, Gangwon-do	<i>Abies holophylla</i>	2006
KFRI 645	Gurye, Jeonnam-do	<i>Larix kaempferi</i>	2003
KFRI 700	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2005
KFRI 720	Muju, Jeollabuk-do	<i>L. kaempferi</i>	2006
KFRI 724	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2006
KFRI 746	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2006
KFRI 749	Gurye, Jeonnam-do	<i>L. kaempferi</i>	2006
KFRI 921	Gurye, Jeonnam-do	<i>L. kaempferi</i>	2007
KFRI 922	Gurye, Jeonnam-do	<i>L. kaempferi</i>	2007
KFRI 923	Gurye, Jeonnam-do	<i>L. kaempferi</i>	2007
KFRI 1074	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1075	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1077	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1079	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1080	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1081	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1082	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1084	PyeongChang, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1121	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>L. kaempferi</i>	2008
KFRI 1516	Hongcheon, Gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2011
KFRI 1787	Pyeongchang, gangwon-do	<i>L. kaempferi</i>	2012
KFRI 722	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>Pinus densiflora</i>	2006
KFRI 1788	Pyeongchang, gangwon-do	<i>P. densiflora</i>	2012
KFRI 723	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>P. koraiensis</i>	2006
KFRI 747	Hongcheon, Gangwon-do	<i>P. koraiensis</i>	2006
KFRI 1076	Chuncheon, Gangwon-do	<i>P. koraiensis</i>	2008
KFRI 1083	Gwangneung, GyeongGi-do	<i>P. koraiensis</i>	2008
KFRI 1122	Hongneung, Seoul city	<i>P. koraiensis</i>	2008

*S. latifolia*로 동정된 것(Ryoo *et al.*, 2013)이다.

접종원은 PDA 배지를 사용하여 23°C에서 30일간 배양하였으며, 균사체 배양은 500 ml 삼각플라스크에 PDB (potato dextrose broth) 배지 200 ml (pH 4.0)를 분주하여 121°C에서 20분간 멸균 후, 균주 디스크(직경 7 mm)를 병당 2개씩 접종하고 23°C에서 60일간 배양한 후 균사체와 배양액을 실험에 사용하였다. 균사체는 70°C에서 2일간 건조한 후 무게를 측정하였다.

화합물 분리 및 구조 동정

60일간 배양한 꽃송이버섯 배양액을 여과지(Watman, C5)로 여과한 후, 분획여두를 이용하여 여과액을 에칠아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)로 용매 분획하였으며 EtOAc 층을 감압농축기(evaporator)를 이용하여 농축하여 조추출물(*Sparassol latifolia* ethyl acetate, SLE) 3 g을 얻었다.

SLE를 50% 메탄올(methyl alcohol, MeOH)에 용해시킨 후, 속성 컬럼크로마토그래피(flash column chromatography)를 실시하였다. Chromatography는 ODS-A (40×200 mm, YMC-GEL, S-75 μm, Japan) column을 사용하였으며, EYEKA ceramic pump (VSP-3050)와 UV monitor (UV-D2)를 이용하여 분리한 후, autochrome data module (영린과학)을 이용하여 데이터를 autochrom-2000으로 분석하였다. 분리 용매는 50% MeOH에서 80% MeOH로 기울기 용리(gradient elution)하여 총 6개의 분획(SLE 1~SLE 6)을 얻었으며, 이 중 SCE 2분획을 MeOH로 재결정하여 methyl orsellinate (32 mg)를 단리하였고, SCE 4분획을 MeOH로 재결정하여 sparassol (18 mg)을 단리하였다(Fig. 2). 단리 화합물은 박층크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC), 핵자기공명(nuclear magnetic resonance, NMR), 전자분무 이온화-질량분석기(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)를 이용하여 분석하였다.

Compound 1 (methyl orsellinate)

White powder; C₉H₁₀O₅; ESI-MS *m/z*: 181 [M-H]⁻; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 2.4 (3H, s, H-7), 3.9 (3H, s, -OMe), 6.1 (1H, d, *J*=2.46 Hz, H-3), 6.2 (1H, d, *J*=2.22 Hz,

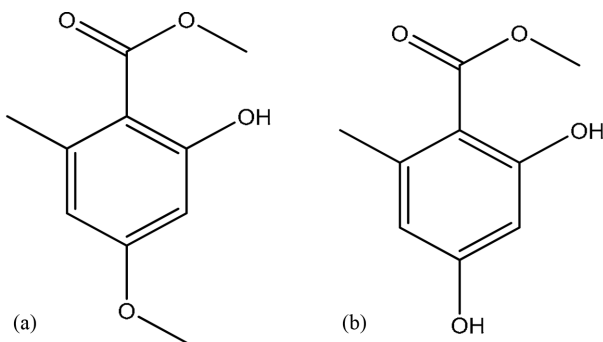


Fig. 1. Chemical structures of sparassol (a) and methyl orsellinate (b).

H-5). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): δ 24.4 (C-7), 52.2 (-OMe), 101.8 (C-3), 105.9 (C-1), 112.6 (C-5), 144.6 (C-6), 163.9 (C-4), 166.3 (C-2), 173.6 (C=O).

Compound 2 (sparassol)

Crystal; C₁₀H₁₂O₄; ESI-MS *m/z* 195 [M-H]⁻; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ 6.3 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-5), 6.2 (1H, m, H-3), 3.9 (3H, s, -OMe), 3.7 (3H, s, -OMe), 2.5 (3H, s, H-7). ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ 24.4 (C-7), 55.2 (-OMe×2), 98.7 (C-3), 105.3 (C-1), 111.1 (C-5), 143.1 (C-6), 163.8 (C-4), 165.6 (C-2), 171.7 (C=O).

용매 및 기기

분리용 유기용매는 일급시약(extra pure, 99.9%)을 사용하였으며, 분석 용매로는 acetonitrile(HPLC grade)을 사용하였다. 물은 Millipore Milli-Q UV plus와 Ultra-Pure Water System (Tokyo, Japan)을 이용하여 얻은 3차 증류수를 사용하였다.

단리화합물의 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR 분광 분석을 위해 서울대학교 NICEM의 Bruker AVANCE 600 spectrometer (Bruker, Germany)를 사용하였다. ESI-MS는 AB SCIEX사의 API-2000을, TLC는 Kieselgel 60 F₂₅₄ (0.25 mm, Merck)를 각각 사용하였다.

시료 제조 및 HPLC 분석

50 ml 규격의 시험관에 *S. latifolia* 배양액을 40 ml씩 분주하고 여기에 EtOAc를 10 ml를 첨가하여 용매분획하였다. EtOAc 가용부를 농축하여 1 ml의 MeOH에 용해한 후, 이를 다시 MeOH로 10배 희석한 용액을 HPLC 시료로 사용하였다. 이 때 시료의 sparassol과 methyl orsellinate 함량은 미리 작성한 표준물질의 검정곡선식(0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001 mg/ml)에 대입하여 산출하였다.

HPLC는 600 pump와 controller, 996 PDA (Photodiode array detector)와 717 autosampler로 구성된 Waters사의 제품을 이용하였다. HPLC 분석용 컬럼은 ACE 5 C18-HL (4.6×250 mm, ACE사 제품)을 사용하였다. 검출 파장은

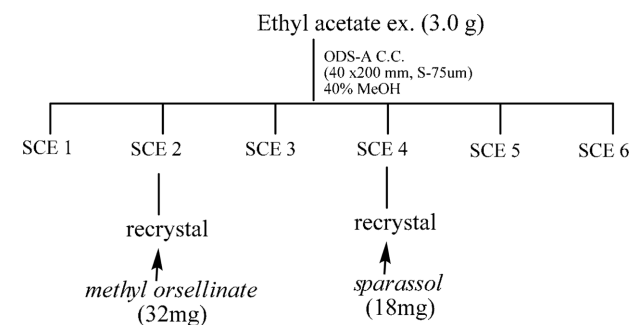


Fig. 2. Scheme for isolation of methyl orsellinate and sparassol from the mycelial culture media of *S. latifolia* strains.

266 nm, 유속은 1 ml/min, 시료 주입량은 10 μ l로 하였으며, 용매는 1% 초산을 포함한 물과 MeOH을 이용하여 50% MeOH에서 100% MeOH로 60분간 기울기 용리하여 분석하였다.

결과 및 고찰

단리화합물의 구조동정

속성컬럼크로마토그래피를 이용하여 물질을 분리하였으며, 재결정 과정을 통해 2종류의 단리화합물(compound 1과 compound 2)을 얻었다. Fig. 3은 compound 1의 NMR과 HMBC 스펙트럼을 나타낸 것으로, 1 H-NMR 스펙트럼에

서는 6.1 ppm과 6.2 ppm에서 benzene 핵에서 기인하는 2개의 proton을 확인할 수 있었으며, 1개의 메톡실기(-OMe)와 메틸기(-CH₃)도 확인할 수 있다(Fig. 3A). 13 C-NMR 스펙트럼에서는 101.8~166.3 ppm에서 벤젠핵에 기인하는 6개의 carbon을 확인할 수 있었으며, 173.6 ppm에서 케톤기(C=O), 24.4 ppm에서 메틸기(-CH₃), 그리고 52.2 ppm에서 메톡실기(-OMe)에 기인하는 carbon을 각각 확인할 수 있었다(Fig. 3B). Heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) 스펙트럼에서는 메톡실기와 케톤기가 결합함을 알 수 있었고, 메틸기는 C-6에 결합한 형태임을 알 수 있었다(Fig. 3C). 따라서 compound 1은 methyl-2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate (methyl orsellinate)로 동정하였다(Fig.

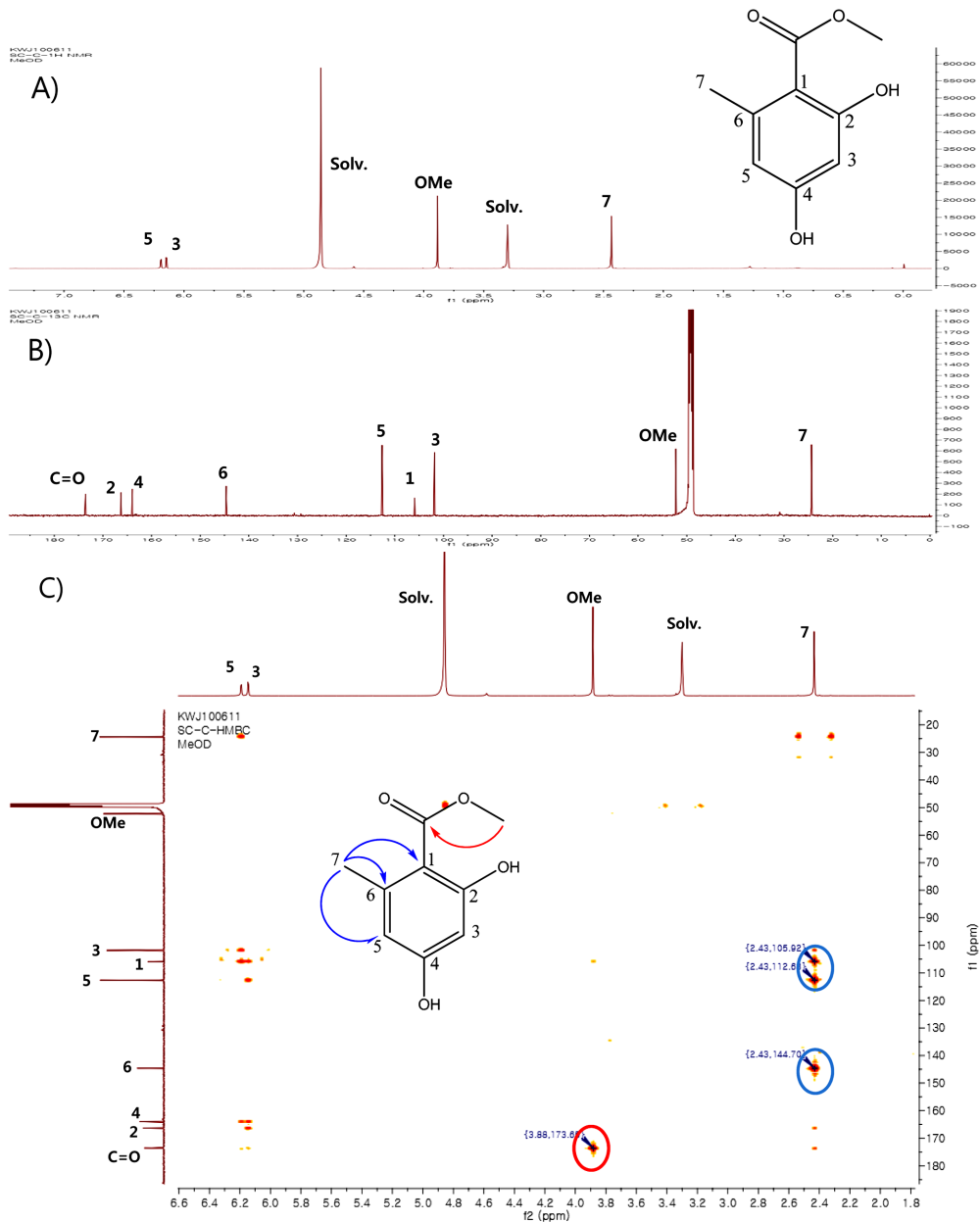


Fig. 3. The 1 H-NMR (A), 13 C-NMR (B) and HMBC (C) spectra of methyl orsellinate. HMBC, heteronuclear multiple bond correlation.

1b). 또 다른 단리화합물 compound 2는 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR 결과를 통해 앞선 compound 1과 유사한 구조인 benzoate 화합물임을 확인하였으며, HMBC 스펙트럼을 통해 메톡실기(-OMe) 한 개가 4번 위치에 결합되어 있음을 확인하였다. 따라서 compound 2는 methyl-2-hydroxy-4-methoxy-6-methylbenzoate (sparassol)로 동정하였다(Fig. 1a).

꽃송이버섯 균주별 결정물질의 생산 패턴 분석

꽃송이버섯 균주별로 결정물질 생산 패턴을 분석하기 위해 MeOH 추출물을 대상으로 1% 초산과 메탄올 용매를 이용하여 HPLC를 실시하였다. Fig. 4는 266 nm에서 조사한 HPLC 크로마토그램으로, retention time 15분에 methyl

orsellinate (A)가 검출되었고, 31분경에 sparassol (B)이 검출되었다. 균주별로 분석한 결과, 다음과 같이 크게 4종류의 결정물질 생산 패턴을 나타내는 것을 볼 수 있었다; A와 B 두 가지 물질을 모두 생산(pattern 1), A와 B 그리고 미지의 물질을 생산(pattern 2), B와 미지의 물질 그리고 미량의 A를 생산(pattern 3), A와 미지의 물질을 생산(pattern 4).

균주별 methyl orsellinate 및 sparassol과의 함량분석

균주에 따른 물질의 함량 조사 결과, methyl orsellinate는 sparassol과는 다르게 거의 모든 균주들이 생성하였으며, 가장 높은 함량을 나타낸 균주는 KFRI 645였으며(0.170 mg/ml), KFRI 1077도 0.078 mg/ml의 비교적 높은 함량을 나타냈다. 0.05 mg/ml 이상을 생산한 균주는 KFRI 720,

Table 2. The yield of methyl orsellinate and sparassol form the mycelial culture media of *S. latifolia* strains after 60 days of incubation

Strain	Dry weight of mycelium (A)†	Methyl orsellinate (B)‡	Sparassol (C)‡	B/A (mg/g)	C/A (mg/g)
KFRI 748	0.520±0.064	<0.001±0.001	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 645	0.394±0.069	0.170±0.025	<0.001±0.001	0.430	0.001
KFRI 700	0.597±0.070	0.018±0.020	<0.001±0.001	0.030	<0.001
KFRI 720	0.429±0.023	0.060±0.012	<0.001±0.000	0.139	<0.001
KFRI 724	0.500±0.013	0.001±0.004	<0.001±0.000	0.003	<0.001
KFRI 746	0.433±0.020	<0.001±0.001	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 749	0.472±0.040	0.050±0.024	<0.001±0.000	0.106	<0.001
KFRI 921	0.404±0.031	0.011±0.007	<0.001±0.000	0.027	<0.001
KFRI 922	0.444±0.024	<0.001±0.000	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 923	0.485±0.049	<0.001±0.000	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1074	0.403±0.028	0.000±0.002	<0.001±0.000	0.001	<0.001
KFRI 1075	0.386±0.039	0.018±0.007	<0.001±0.000	0.045	<0.001
KFRI 1077	0.399±0.028	0.078±0.016	<0.001±0.000	0.196	<0.001
KFRI 1079	0.534±0.036	0.056±0.014	0.001±0.002	0.105	0.003
KFRI 1080	0.430±0.045	0.074±0.017	0.002±0.001	0.172	0.004
KFRI 1081	0.452±0.046	<0.001±0.001	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1082	0.460±0.034	<0.001±0.004	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1084	0.452±0.029	<0.001±0.004	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1121	0.456±0.055	0.004±0.010	<0.001±0.000	0.009	<0.001
KFRI 1516	0.538±0.091	<0.001±0.000	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1787	0.412±0.042	<0.001±0.000	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 722	0.397±0.030	<0.001±0.002	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1788	0.454±0.045	0.028±0.006	0.003±0.004	0.061	0.007
KFRI 723	0.515±0.032	0.007±0.003	<0.001±0.000	0.013	<0.001
KFRI 747	0.499±0.075	<0.001±0.001	0.004±0.003	<0.001	0.008
KFRI 1076	0.458±0.014	0.021±0.014	<0.001±0.000	0.046	<0.001
KFRI 1083	0.470±0.030	<0.001±0.000	<0.001±0.000	<0.001	<0.001
KFRI 1122	0.436±0.090	0.002±0.006	<0.001±0.000	0.005	<0.001

†unit : g (n=3), ‡unit : mg/ml (n=3)

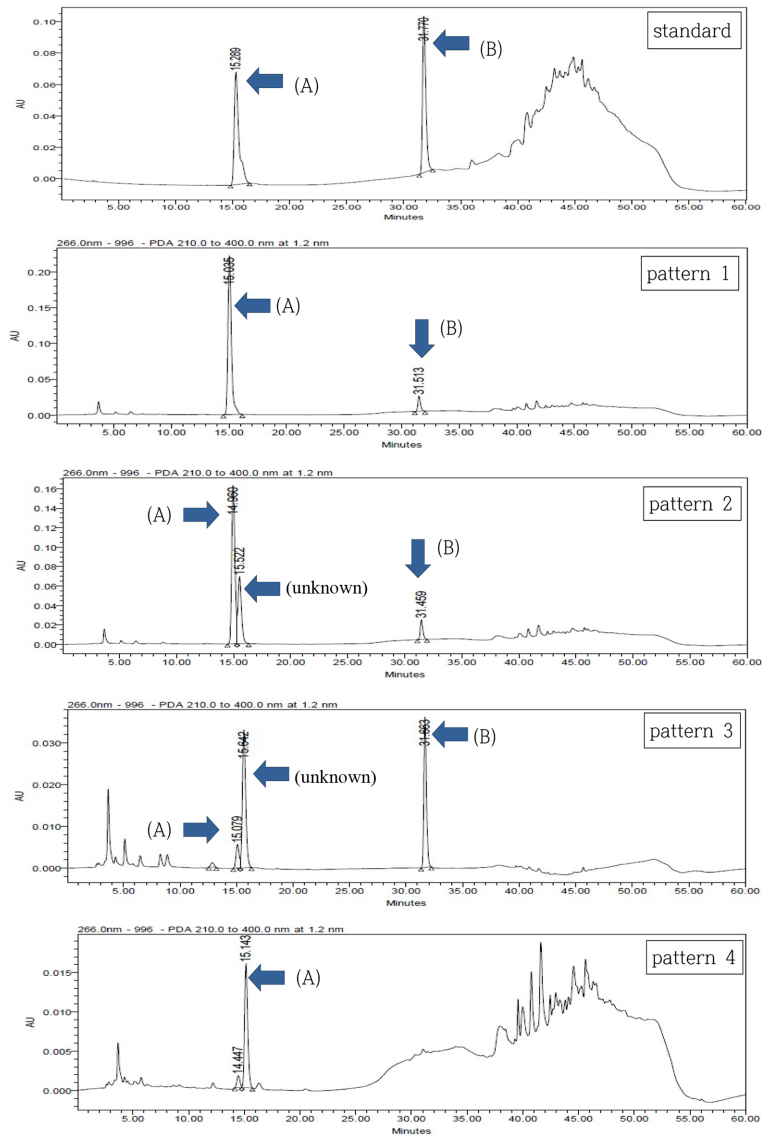


Fig. 4. HPLC chromatogram patterns (266 nm) for *S. latifolia* strains. (A) methyl orsellinate, (B) sparassol.

749, 1079, 1080이었으며, KFRI 700, 921, 1075, 1076, 1788 균주는 0.01 mg/ml 이상, KFRI 723 균주는 0.005 mg/ml 이상, 그 외 나머지 균주들은 0.001 mg/ml 이하 미량의 methyl orsellinate를 생산하였다(Table 2).

Sparassol의 함량은 KFRI 747 균주에서 0.004 mg/ml로 가장 높았고, KFRI 1788은 0.003 mg/ml, KFRI 1079와 KFRI 1080은 0.001 mg/ml 이상, 나머지 균주들은 0.001 mg/ml 이하로 sparassol을 생산하였다(Table 2). 이는 Woodward 등(1993)의 보고에서 액체배양 시에는 sparassol보다 methyl orsellinate의 생산량이 더 많다는 연구결과와 일치한다.

균체량과 methyl orsellinate 및 sparassol과의 관계

액체배양을 통한 균사체 건조량은 KFRI 700 균주가 0.597 g으로 가장 높았으나, 균체량 대비 methyl orsellinate

함량(B/A)은 KFRI 645가 0.430 mg/g으로 가장 높게 나타났다(Table 2). 또한, KFRI 720, 749, 1077, 1079, 1080은 0.1 mg/g 이상의 methyl orsellinate 함량을 나타냈다.

균체량 대비 sparassol 함량(C/A)은 KFRI 747 균주가 0.008 mg/g으로 가장 높았고, KFRI 645, 1079, 1080, 1788 균주도 0.001 mg/g 이상의 sparassol을 생산하였다. 이러한 결과를 통해 각 화합물의 생산량과 균체량과의 상관관계 ($R^2=-0.26$, $R^2=0.09$)는 없음을 알 수 있었다.

기주식물에 따른 methyl orsellinate와 sparassol의 관계

꽃송이버섯의 기주식물에 따른 물질 생산 특성을 비교한 결과, 일본잎갈나무(*L. kaempferi*)를 기주식물로 한 균주는 Fig. 4의 pattern 1을 나타냈으며, 소나무(*P. densiflora*)는 pattern 2와 같이 methyl orsellinate 뒤에 미지의 물질이 나타났다. 잣나무(*P. koraiensis*)는 pattern 3과 같이 spara-

ssol의 피크가 높게 나오거나 pattern 4에서와 같이 sparassol이 검출되지 않았다. 전나무(*A. holophylla*)는 pattern 2와 같이 methyl orsellinate 뒤에 미지의 물질이 탐지되었으며, sparassol도 미량 검출되었다.

기주식물별로 methyl orsellinate의 함량을 비교한 결과, 일본잎갈나무가 평균 0.025 mg/ml를 생산하였고, 소나무가 0.013 mg/ml, 잣나무가 0.022 mg/ml, 전나무가 0.001 mg/ml 이하인 것으로 조사되었다. Sparassol의 함량을 기주별로 비교한 결과, 소나무는 평균 0.001 mg/ml, 잣나무는 0.001 mg/ml, 일본잎갈나무는 0.001 mg/ml 이하, 전나무는 0.001 mg/ml 이하로 거의 생성하지 못하였다. 기주식물에 따른 결정물질의 생산력을 비교한 결과, 일본잎갈나무가 기주인 꽃송이버섯 균주는 methyl orsellinate의 생산 능력이 높고, 소나무나 잣나무가 기주인 *S. latifolia* 균주는 일본잎갈나무나 전나무보다 sparassol 생산 능력이 높은 것으로 조사되었다.

동종의 꽃송이버섯이라도 기주식물이 다른 균주의 경우에는 화합물을 생산하는 양상이 서로 다르다는 것이 이번 연구를 통해 밝혀졌다. 이와 같은 연구 결과는 버섯균과 식물 간의 상호작용에 따른 유전적인 변화에 기인한 것으로 생각된다. 한편, Woodward 등(1993)이 제시한 바와 같이 꽃송이버섯의 이와 같은 물질 생산 특성은 목재의 균 감염 진단에 활용할 수 있을 뿐만 아니라 본 연구에서와 같이 결정물질 생산 양상을 분석함으로써 꽃송이버섯의 기주식물을 유추하는 데에도 활용이 가능할 것으로 사료된다.

적 요

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 배양과정에서 항균물질인 sparassol, methyl orsellinate (ScI)와 methyl-dihydroxy-methoxy-methylbenzoate (ScII) 등의 화합물을 생산하는 것으로 알려져 있으며, 이 중 ScI와 ScII는 sparassol보다 높은 항균활성을 나타내는 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 꽃송이버섯의 액체배양 시 균사체가 생산하는 항균 물질인 methyl orsellinate와 sparassol을 분리하여 NMR과 ESI-MS 분석을 통해 그 구조를 동정하였으며, HPLC 분석을 통해 methyl orsellinate와 sparassol의 retention time은 각각 15분과 31분임을 확인하였다. *S. latifolia*의 화합물 생산 양상은 크게 4가지로 대별되며, 균주에 따라 다르게 나타났다. 기주식물과의 상관관계를 분석한 결과, 일본잎갈나무와 잣나무에서 분리된 균주는 서로 다른 생산 양상을 보인 반면, 소나무와 전나무에서 분리된 균주는 동일한 생산 양상을 나타냈다. 균체량과 화합물 생산량과의 상관관계는 나타나지 않았다. Methyl orsellinate 생산량은 낙엽송에서 분리된 KFRI 645 균주가 0.170 mg/ml로 가장 높았으며, sparassol 생산량은 소나무에서 분리된 KFRI 747 균주가

0.004 mg/ml로 가장 높았다. 이러한 결과를 통해 꽃송이버섯 균주들의 methyl orsellinate와 sparassol의 생산 양상은 기주식물의 종류에 따라 다르다는 사실을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원 일반과제(FP 0801-2009) 연구 수행 중 얻어진 결과로, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Chan, G. C. F., Chan, W. K. and Sze, D. M. Y. 2009. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *Journal of Hematology & Oncology* 2:1-11.
- Dai, Y. C., Wang, Z., Binder, M. and Hibbett, D. S. 2006. Phylogeny and a new species of *Sparassis* (Polyporales, Basidiomycota): evidence from mitochondrial atp6, nuclear rDNA and rpb2 genes. *Mycologia* 98(4):584-592.
- Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. and Pegler, D. N. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Eighth edition. CAB International.
- Ka, K. H., Bak, W. C., Yoon, K. H., Oh, D. S., Cheon, W. J. and Park, J. M. 2007. *Sparassis crispa*. Korea Forest Research Institute. Research Material No. 295.
- Kwon, A. H., Zeyu Qiu, M. D., Hashimoto, M. and Yamamoto, K. 2009. Effects of medicinal mushroom (*Sparassis crispa*) on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *The American Journal of Surgery* 197:503-509.
- Light, W. and Woehrel, M. 2009. Clarification of the nomenclatural confusion of the genus *Sparassis* (Polyporales: Sparassidaceae) in North America. *Fungi* 2:10-15.
- Ohno, N., Miura, N., Nakajima, M. and Yadomae, T. 2000. Antitumor 1,3- β -glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 23(7):866-872.
- Politi, M., Silipo, A., Siciliano, T., Tebano, M., Flamini, G., Braca, A. and Jimenez-Barbero, J. 2007. Current analytical methods to study plant water extracts: the example of two mushrooms species, *Inonotus hispidus* and *Sparassis crispa*. *Phytochemical Analysis* 18:33-41.
- Rop, O., Mlcek, J. and Jurikova, T. 2009. Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews* 67(11):624-631.
- Ryoo, R., Sou, H. D., Ka, K. H. and Park, H. 2013. Phylogenetic relationships of Korean *Sparassis latifolia* based on morphological and ITS rDNA characteristics. *J. Microbiol.* 51:43-48.
- Wedekind, E. and Fleischer, K. 1924. Zur Kenntnis des Sparassols. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 57:1121-1123.
- Woodward, S., Sultan, H. Y., Barrett, D. K. and Pearce, R. B. 1993. Two new antifungal metabolites produced by *Sparassis crispa* in culture and in decayed trees. *Journal of General Microbiology* 139:153-159.
- Zhao, Q., Feng, B., Yang, Z.L., Dai, Y.-C., Wang, Z. and Tolgor, B. 2013. New species and distinctive geographical divergences of the genus *Sparassis* (Basidiomycota): evidence from morphological and molecular data. *Mycological Progress* 12:445-454.