

목재 부후균의 리그닌 분해효소 활성과 염료 화합물의 탈색

장태원 · 전상철 · 안태석¹ · 김규중*

강릉대학교 생물학과, ¹강원대학교 환경학과

목재부후균은 리그닌 분해효소로 lignin peroxidase (LIP), Mn-peroxidase (MNP) 및 laccase를 생성하는데 균류에 따라 위의 효소 중 하나 혹은 둘 이상의 효소를 분비하거나 전혀 생성하지 않는 군도 있다. 본 실험은 이러한 목재 부후균의 효소생성 양상과 몇 종의 염료화합물 탈색과의 상관관계를 조사하고자 하였다. 조사한 23종 36균주 중 MNP 생성균은 30균주였으며 LIP 혹은 laccase 생성균은 각각 11균주와 12균주였다. 또한 같은 종에서도 효소활성은 다양한 양상을 보여 주었다. 리그닌 분해효소 활성과 비교하여 염료 탈색 정도는 세 효소가 모두 분비되는 백색 부후균의 경우 염료 탈색율이 상대적으로 우수하였고 균주에 따라 차이가 있으나 MNP 활성만을 갖는 균주의 경우, poly R-478 polymeric dye 및 anthron-type dye 인 remazol brilliant blue R 염료는 효소 활성도와 다소 유연관계를 보였으며 methylene blue, bromophenol blue 및 congo red 염료는 위의 효소들과는 직접적인 관련이 없는 것으로 판단되었으며, 오히려 균사의 생장과 비례하여 탈색율을 나타냈다. LIP, MNP 및 laccase 효소활성이 거의 검출되지 않은 갈색 부후균에서는 bromophenol blue를 제외하고는 염료의 탈색이 10%미만 혹은 전혀 탈색이 되지 않았다.

Key words □ decolorization, dye compound, laccase, peroxidase, wood-rot fungi

목재 부후균은 소위 백색부후균, 갈색부후균 및 연부후균으로 대별되며 이들은 부후된 목재의 특징적인 외부 형태에 의해 일컬어 용어로 대차적으로는 각 부후균들이 목재를 이용하는 방식이 다른 것을 의미한다. 이것은 또한 효소학적으로 다른 효소체계를 가지고 있음을 뜻하는 것이기도 하다. 본 논문에서는 리그닌 분해와 관련된 효소들의 체계가 부후균의 종류에 따라 어떻게 다른가를 살펴보고자 한다.

일반적으로 리그닌 분해대사에 관여하는 효소에는 과산화효소계(lignin peroxidase, Mn-peroxidase), 과산화수소 생성 산화효소계(glucose oxidase, glyoxal oxidase, aryl alcohol oxidase 등) 및 laccase로 대별할 수 있다. 목재 부후균류가 이들 효소들을 모두 가지고 있는지 아니면 그 중 일부만 가지고 있는지 또한 보유 효소의 활성도에는 어떤 차이가 있는지 파악하는 것은 수많은 목재 부후균들의 목재 부후양상을 이해하는데 중요한 자료가 될 수 있다. 이에 관한 연구논문은 총설형태로 발표된 것이 있으나 (8) 우리 자연에서 새로이 분리된 각종 부후균들을 재료로 관련 효소활성을 파악하고 이들을 근간으로 연구를 수행하는 것은 우리의 유용한 미생물 자원을 발굴한다는 데 의미가 크다고 판단되어 본 연구를 착수하게 되었다.

또한 리그닌이 방향족 화합물이라는 관점에서 리그닌 분해효소들은 농약과 같은 난분해성 방향족 화합물이나 인공섬유, 종이류, 가죽제품 등의 염색제로 사용되는 각종 염색체들로 인한 오염원들을 제거해 보자는 차원에서 많은 관심과 연구가 이루어지

고 있다(2, 3, 4, 6, 17, 18, 20). 따라서 본 연구의 목적은 목재 부후균이 갖는 다양한 목재 부후양상과 이들의 특징적인 리그닌 분해효소 체계와 난분해성 오염물질로 알려져 있는 각종 염료 화합물의 탈색정도를 분리된 부후균을 대상으로 조사하고자 함에 있다.

재료 및 방법

균주선발 및 배양조건

부후된 목재 조각으로부터 무균적으로 균사체를 1차 분리한 후 Malt 배지(1리터 수용액에 포도당 20 g, 맥아추출물 20 g, 펩톤 1 g, 한천 20 g)를 이용하여 25°C에서 15일간 배양하여 오염되지 않고 균사배양이 이루어진 것들을 분리하였으며 자실체 형태, 포자 등의 특징에 의해 동정하였다. 성공적으로 분리된 균주는 효소분석을 위해서 Kirk 액체배지(12) 10 ml 당 균사조각 7개 비율로 접종하였으며 25°C에서 14일 또는 16일 배양하였다. 염료탈색 분석을 위해서는 0.2%의 염료를 첨가한 고체배지에서 배양하였다. 배양을 위한 배지성분은 Difco사 제품을 사용하였다.

효소활성 측정 및 단백질 정량

LIP (lignin peroxidase)은 Kirk (19)의 방법을 사용하였으며 반응 혼합물 1.0 ml의 조성은 125 mM tartaric acid buffer (pH4.5) 450 µl, 기질로 40 mM veratryl alcohol 50 µl, 효소용액 450 µl를 첨가한 후 8 mM 과산화수소 50 µl를 혼합시켜 310nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성단위는 veratryl alcohol로부터 분(min)당 생성되는 veratryl aldehyde의 양(µmole)을 1 unit로 정

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 033-640-2314, Fax: 033-642-6124
E-mail: kyujkim@kangnung.ac.kr

의하였다.

MNP (Mn-dependent peroxidase)는 Gold (7)의 방법을 사용하였으며 반응 혼합물 1.0 ml의 조성은 0.5 M sodium tartrate buffer (pH5.0) 200 μ l, H₂O 677.5 μ l, 10 mM MnSO₄ 10 μ l, 효소용액 100 μ l로 하였으며 8 mM 과산화수소 12.5 μ l를 혼합시켜 238nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성단위는 분 (min)당 1 μ mole의 Mn(II)를 산화시키는 정도를 1 unit로 정의하였다.

Laccase는 Harkin (9)의 방법을 변형하여 syringaldazine을 기질로 사용하였고 반응 혼합물은 0.04 M MES-NaOH buffer (pH 5.5) 2.5 ml에 0.5 mM 기질 0.3 ml, 효소용액 0.2 ml를 첨가하여 30°C에서 40 분간 반응 후 530 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

단백질 정량은 Lowry방법(13)과 Bradford 방법(1)을 병행하여 측정하였으며 표준 단백질로 bovine serum albumin (Sigma Chemical Co)을 사용하였다. 그리고 이상의 모든 흡광도 측정은 UVIKON UV/VIS Spectrophotometer (모델 922, Kontron사, UK)를 사용하여 측정하였다. 효소측정을 위한 시약은 시그마 재품을 사용하였으며 기질로 사용된 veratryl alcohol과 syringaldazine은 Aldrich사 제품을 사용하였다.

염료탈색 분석

염료탈색 정도는 효소활성 측정을 위한 액체배지에 0.2% 염료 (poly-R, remazol brilliant blue, methylene blue, bromophenol blue, 및 congo red)가 각각 함유된 고체배지를 사용하였다. 균사체가 성장하면서 나타나는 염료탈색 영역을 측정하였으며 탈색율은 페트리 접시의 직경을 기준으로 측정하였다.

균사생장 측정

고체 배지에서는 성장한 균사체의 직경을 측정하였으며 생장 백분율은 페트리 접시의 직경을 기준으로 계산하였다. 액체 배지에서는 균사체의 건조중량으로 생장 정도를 측정하였다. 균사체는 배양배지를 여과하여 100°C에서 90분간 건조하여 중량을 측정하였다.

결과 및 고찰

분리 균주의 효소활성도

본 실험에 사용한 균주는 자연계에서 가장 많이 분포하는 구름버섯균 9균주를 포함하여 36균주이었다. Table 1에 의하면 구름버섯균은 같은 부후균 내에서도 효소활성 양상이 세 종류로 즉, MNP+LIP+Lac+형, MNP+LIP-Lac+형, 그리고 MNP+LIP+Lac-형의 세 형태가 관찰되었다. 또한 치마버섯균 및 기계충 버섯균도 같은 종내에서 MNP+LIP-Lac-형과 MNP-LIP-Lac-형이 동시에 관찰되었다. 또한 전체적으로 MNP 효소활성만을 갖는 것이 다수 관찰되었다. Laccase의 활성을 갖는 균은 많지 않았으며 효소활성을 갖는 균이라도 그 활성도가 극히 미약하였다. Hatakka (8)에 의하면 백색 부후균에서 관찰되는 효소 활성형에

는 크게 세 개의 카테고리로 나누었는데 첫째는 LIP-MNP그룹, 다음은 MNP-Lac그룹, 세 번째가 LIP-Lac그룹으로 이 그룹들의 리그닌 분해력도 이상의 순으로 관찰된다고 하였다.

분리 균주의 염료 탈색양상

Fig. 1에서 Fig. 5는 대표적인 염료인 poly-R, RBBR (remazol brilliant blue), MB (methylene blue), BB (bromophenol blue) 및 CR (congo red)에 대해서 분리균주 36균주가 보여준 염료 탈색 양상과 균사의 생장율을 백분율로 나타낸 것이다. Fig. 1은 poly-R 에 대한 결과로 다른 염료에 비해 탈색율이 10-20% 정

Table 1. Enzymatic activity of 36 species of wood-rot fungi

No.	Species	MNP (U/L)	LIP (U/L)	Laccase (U/L)
1	<i>Coriolus versicolor</i> KR-11W	156.1	22.2	0
2	<i>Coriolus versicolor</i> KR-65W	175.2	25.0	0.28
3	<i>Coriolus versicolor</i> KR-22W	263.4	35.8	0.65
4	<i>Coriolus versicolor</i> KR-323W	16.0	0	0.06
5	<i>Coriolus versicolor</i> KR-310W	193.0	0	0.04
6	<i>Coriolus versicolor</i> KR-317W	269.0	34.7	0
7	<i>Coriolus versicolor</i> KR-312W	129.6	3.6	0.34
8	<i>Coriolus versicolor</i> KR-42W	449.8	3.3	1.60
9	<i>Coriolus versicolor</i> KR-61W	112.0	5.6	3.13
10	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-412W	133.9	0	0
11	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-21W	71.2	0	0
12	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-1W	39.9	0	0
13	<i>Hymenochaete intricata</i> KR-2W	359.4	0	0
14	<i>Hymenochaete intricata</i> KR-45W	295.4	0	0
15	<i>Schizophyllum commune</i> KR-36W	15.2	0	0
16	<i>Schizophyllum commune</i> KR-39W	0	0	0
17	<i>Irpex lacteus</i> KR-321W	0	0	0
18	<i>Irpex lacteus</i> KR-35W	573.7	0	0
19	<i>Pycnoporus coccineus</i> KR-41W	19.9	4.7	0.11
20	<i>Trichaptum abietinum</i> KR-46W	9.6	0	1.06
21	<i>Trametes suaveolens</i> KR-47W	48.2	0	0.92
22	<i>Tyromyces lacteus</i> KR-48B	0	0	0
23	<i>Schizopora paradoxa</i> KR-49W	86.1	0	0
24	<i>Lentinus edodes</i> KR-411W	13.0	0	0
25	<i>Perenniporia medulla</i> KR-51W	7.9	0	0
26	<i>Fomitopsis rosea</i> KR-62W	214.9	25.1	0
27	<i>Inonotus mikadoi</i> KR-314W	245.5	0	0
28	<i>Cerrena unicolor</i> KR-23W	0	0	0
29	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> 446	76.7	10.0	0
30	Unidentified Brown-rot KR-53B	0	0	0
31	Unidentified Brown-rot KR-63B	48.1	0	0
32	Unidentified White-rot KR-JB-01	0	0	0
33	Unidentified White-rot KR-JW-01	24.4	0	0
34	Unidentified White-rot KR-JW-02	24.4	0	0.36
35	Unidentified White-rot KR-DW-01	258.8	31.9	0.08
36	Unidentified White-rot KR-DW-02	9.8	0	0

Total amounts of activity from the 8th day, 12th day, 16th day and 20th day of culture in the presence of 12 mg/L Mn(II). LIP, lignin peroxidase; MNP, Mn-peroxidase.

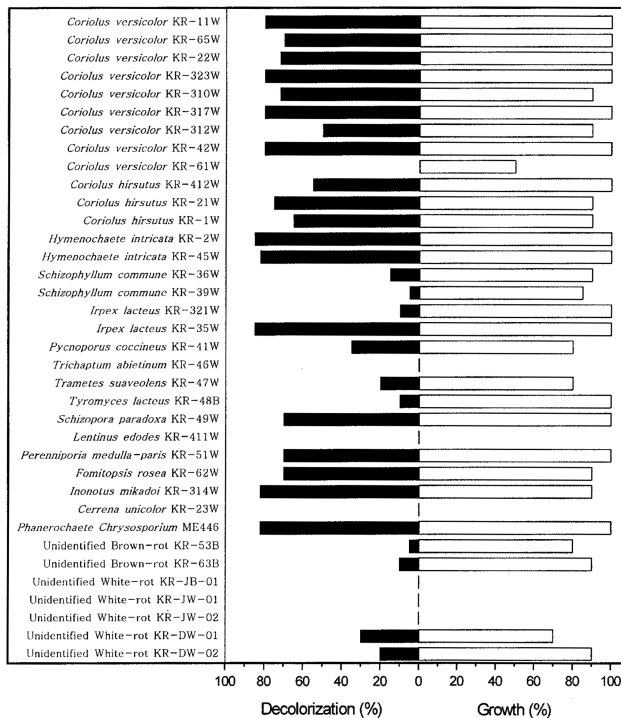


Fig. 1 Comparison of decolorization of poly-R by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

도 낮았다. 구름버섯균은 대체로 poly-R 배지에서 생장과 탈색율이 높았다. 치마버섯균(KR-36W, KR-39W)과 기계충버섯균(KR-321W, KR-35W)은 MNP 활성과 비례하여 탈색율이 좌우되었다. 갈색 부후균(KR-48B, KR-53B, 및 KR-63B)은 성장율에 비해 탈색이 10% 미만이거나 전혀 일어나지 않았다. 생장과 탈색이 일어나지 않은 균들(KR-46W, KR-411W, KR-23W, JB-01, JW-01, 및 JW-02)과 생장은 양호하나 탈색이 전혀 일어나지 않거나 미약한 균들(KR-61W, KR-36W, KR-39W, KR-321W, KR-47W, KR-48B, KR-53B, KR-63B, DW-01, 및 DW-02)이 예상외로 많았다. Fig. 2는 RBBR 염료에 대한 분해양상으로 구름버섯균의 RBBR 염료에 대한 탈색율이 여전히 높았다. MNP활성이 높은 균들이 전반적으로 탈색율이 높았으나 구름버섯균(KR-323W, KR-310W), 및 치마버섯균(KR-36W, KR-39W)은 측정된 효소활성도와 관계없이 양호한 탈색율을 보임으로서 다른 효소균의 존재 가능성을 시사하고 있다. 갈색부후균은 poly-R 염료와 마찬가지로 생장율은 양호하였으나 탈색율은 10% 미만이었다. 생장과 탈색이 일어나지 않은 균주들(KR-46W, KR-411W, KR-23W, JB-01, JW-01 및 JW-02)과 생장은 양호하나 탈색이 일어나지 않은 균주들(KR-321W, KR-48B, KR-53B, 및 KR-63B)이 다소 있었다. Fig. 3은 염료 MB에 대한 결과로 BB 및 CR과 함께 생장과 비례하여 전반적으로 탈색율이 높았다. 생장과 탈색이 일어나지 않은 균으로는 KR-412W, KR-321W, KR-46W, KR-47W, KR-411W, KR-23W, JW-01, JW-02 및 DW-02였으며 생장이 양호하

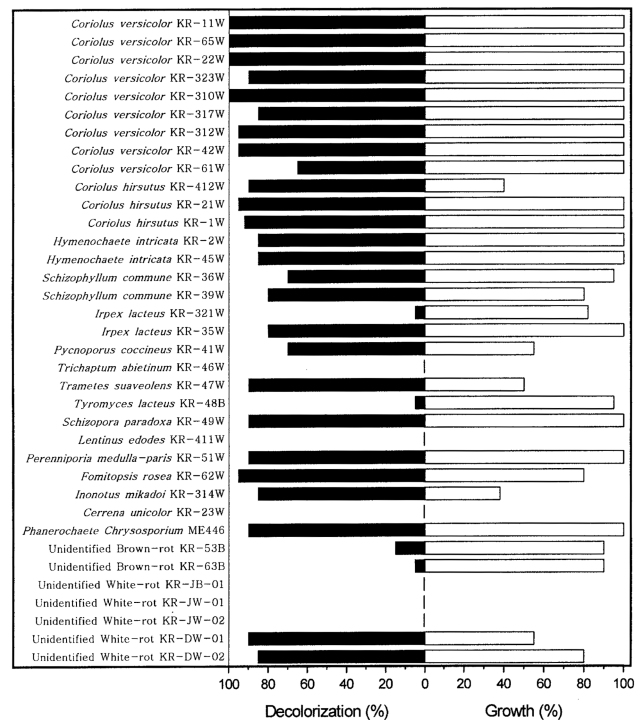


Fig. 2 Comparison of decolorization of remazol brilliant blue R by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

나 탈색이 일어나지 않는 균들로는 갈색 부후균(KR-48B, KR-53B 및 KR-63B)과 KR-JB-01이었다. Fig. 4는 염료 BB에 대한 결과로 전반적으로 조사한 전체 균들에 대한 탈색율이 양호하였다. 생장과 탈색이 일어나지 않은 균으로는 KR-412W, KR-321W, KR-46W, KR-47W, KR-411W, KR-23W, KR-JB-01, KR-JW-01, KR-JW-02, 및 KR-DW-02 등이다. 생장은 양호하나 탈색이 되지 않은 균류에는 KR-36W, KR-39W였으며 갈색 부후균의 경우, KR-63B는 생장에 비해 탈색율이 10% 정도였으나 KR-48B 및 KR-53B는 생장과 탈색율이 양호하였으며 이는 다른 염료와는 달리 갈색 부후균의 BB염료 탈색에 다른 효소계의 존재를 암시하는 것으로 생각된다. Fig. 5는 CR에 대한 것으로 전 균주에 대해 대체로 생장과 비례하여 염료 탈색율이 높았다. 갈색 부후균의 경우는 생장은 양호하였으나 탈색은 일어나지 않았다. 생장과 탈색이 전부 일어나지 않은 균들로는 KR-412W, KR-45W, KR-46W, KR-47W, KR-411W, KR-23W, JB-01, JW-01, JW-02, 및 DW-02였다.

Table 1과 Fig. 1에서 Fig. 5까지의 실험 결과를 근거로 3 종류의 리그닌 분해효소 활성도의 유형에 따라 36균주를 구분하여 염료탈색 및 생장율을 비교하여 분석한 결과(Table 2), MNP+LIP+Lac+형 구름버섯균 혹은 MNP+LIP+Lac-형인 부후균에서 대체로 실험한 염료에 대하여 탈색율이 높았다. 그러나 MNP+LIP-Lac-형이더라도 MNP활성이 높은 균주는 특히 poly-R과

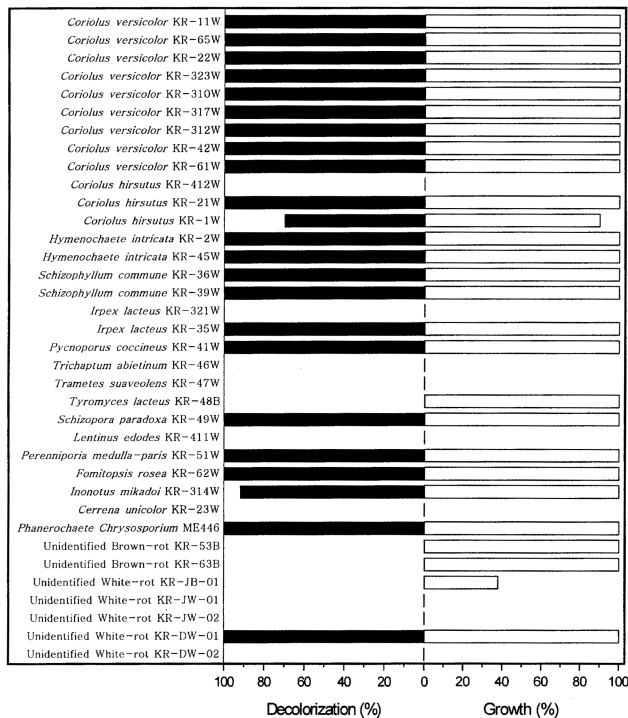


Fig. 3 Comparison of decolorization of methylene blue by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

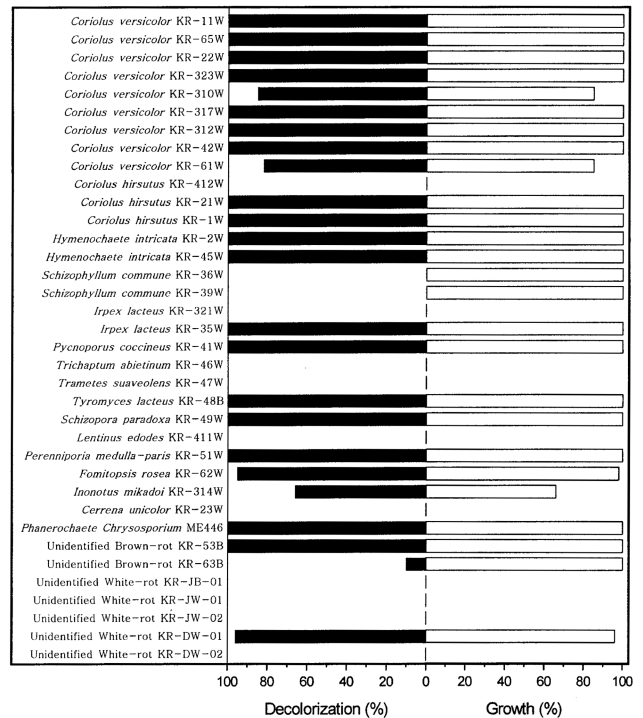


Fig. 4 Comparison of decolorization of bromophenol blue by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

RBBR염료에 대해 높은 탈색율을 나타냈다. MB, BB 및 CR염료는 갈색부후균을 제외하고 다른 균주들은 생장율과 비례하여

염료 탈색율이 양호하였다. 또한 MNP-LIP-Lac-형인 균주에서도 균주마다 일정하지는 않지만 미약하나마 탈색이 된 것을 보면

Table 2. Comparison of decolorization of poly-R, remazol brilliant blue R, methylene blue, bromophenol blue and congo red by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

[illegible]

Table 2. Continued

Category	Strain	Poly-R		RBBR		MB		BB		CR	
		D	G	D	G	D	G	D	G	D	G
MP+LP-LC-	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-412W	55	100	90	45	0	0	0	0	0	0
	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-21W	75	90	95	100	100	100	100	100	100	100
	<i>Coriolus hirsutus</i> KR-1W	65	90	93	100	70	90	100	100	98	98
	<i>Hymenochaete intricata</i> KR-2W	85	100	85	100	100	100	100	100	100	100
	<i>Hymenochaete intricata</i> KR-45W	80	100	85	100	100	100	100	100	0	0
	<i>Schizophyllum commune</i> KR-36W	15	90	70	95	100	100	0	100	98	95
	<i>Irpex lacteus</i> KR-35W	85	100	80	100	100	100	100	100	100	100
	<i>Schizopora paradoxa</i> KR-49W	70	100	90	100	100	100	100	100	100	100
	<i>Lentinus edodes</i> KR-411W	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Perenniporia medulla-paris</i> KR-51W	70	100	90	100	100	100	100	100	100	100
	<i>Inonotus mikadoi</i> KR-314W	80	90	85	40	90	100	65	65	55	55
	Unidentified Brown-rot KR-63B	10	90	5	90	0	100	10	100	0	100
	Unidentified White-rot KR-JW-01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Unidentified White-rot KR-DW-02	20	90	85	80	0	0	0	0	0	0
MP-LP-LC-	<i>Schizophyllum commune</i> KR-39W	5	85	80	80	100	100	0	100	90	90
	<i>Irpex lacteus</i> KR-321W	10	100	5	85	0	0	0	0	80	80
	<i>Tyromyces lacteus</i> KR-48B	10	100	5	95	0	100	100	100	0	100
	<i>Cerrena unicolor</i> KR-23W	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Unidentified Brown-rot KR-53B	5	80	15	90	0	100	100	100	0	100
	Unidentified White-rot KR-JB-01	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0

RBBR: remazol brilliant blue R, MB: methylene blue, BB: bromophenol blue, CR: congo red, D: percentage of decolorization, G: percentage of growth

MP: Mn-peroxidase, LP: lignin peroxidase, LC: laccase

+: positive, -: negative

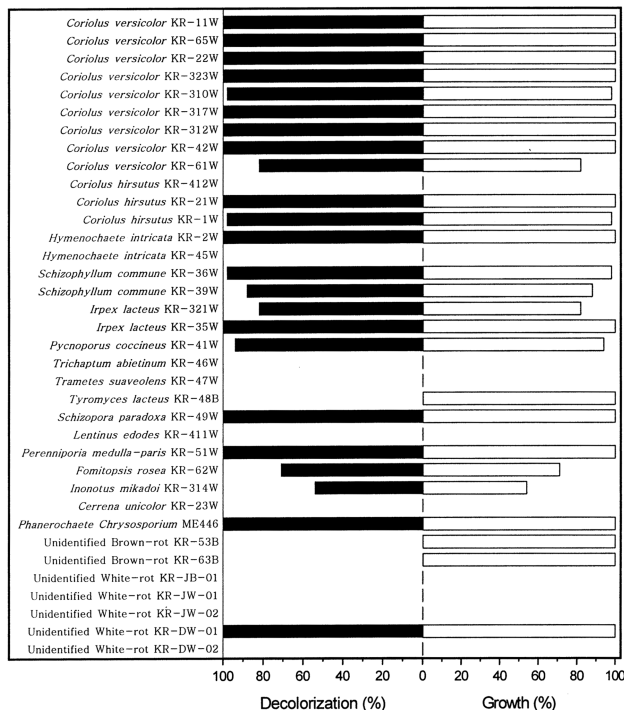


Fig. 5. Comparison of decolorization of congo red by 36 strains of wood-rot fungi in the presence of 12 mg/L Mn(II). Decolorization zone of radial growth was measured from the reverse side of plates referring to the growth of mycelium on agar media without dye compound.

대표적인 3 종류의 리그닌 분해효소 외에 염료분해효소의 존재 가능성을 보여준다. 근래에 발표된 연구결과는 이러한 사실을 뒷받침해준다(10, 11, 15, 16). 목재 부후균을 사용하여 염료 화합물의 분해를 연구한 문헌들은 균류 자체의 배양에 의해 염료의 탈색을 연구한 경우(2, 3, 4, 5, 6, 20)와 분리된 리그닌 분해효소 각각에 대해 염료 탈색에 관하여 연구한 경우(10, 11, 14, 15, 16, 17, 18)로 대별할 수 있는데, 다양한 유형의 효소를 생성하는 균류들을 대상으로 수행한 본 실험에 의하면 염료탈색에는 효소적으로 MNP 혹은 LIP효소가 중요한 역할을 하는 것으로 생각되었다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단의 연구비(중점대학 부설연구소지원) 지원의 일부로 수행되었으며 이에 감사합니다.

참고문헌

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-250.
- Bumpus, J.A., M. Tien, D. Wright, and S.D. Aust. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white-rot fungus. *Science*, 228, 1434-1436.
- Bumpus, J.A. and S.D. Aust. 1987. Biodegradation of DDT(1,1,1-

- tetrachloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2001-2008.
4. Bumpus, J.A. and B.J. Brock. 1988. Biodegradation of crystal violet by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1143-1150.
 5. Cripps, C. and J.A. Bumpus. 1990. Biodegradation of azo and hetero cyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(4), 1114-1118.
 6. Eichlerova, I., L. Homolka, L. Lisa and F. Nerud. 2005. Orange G and remazol brilliant blue R decolorization by white rot fungi *Dichomitus squalens*, *Ischnoderma resinosa* and *Pleurotus calyptratus*. *Chemosphere*, 60, 398-404.
 7. Gold, M.H. and J.K. Glenn. 1988. Manganese peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymol.* 161, 258-270.
 8. Hatakka, A. 1994. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiol. Rev.* 13, 125-135.
 9. Harkin, J.M. and J.R. Obst. 1973. Syringaldazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. *Experientia*. 29, 381-387.
 10. Heinfling, A., M.J. Martinez, A.T. Martinez, M. Bergbauer, and U. Szwedzyk. 1998. Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(8), 2788-2793.
 11. Kim, S.J. and M. Shoda. 1999. Purification and characterization of a novel peroxidase from *Geotrichum candidum* Dec 1 involved in decolorization of dyes. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(3), 1029-1035.
 12. Kirk, T.K. and W.J. Connors. 1987. Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Microbiol.* 117(3), 277-285.
 13. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.L. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. chem.* 193, 265-275.
 14. Molitoris, H.P. and B.R.M. Vyas. 1995. Involvement of an extracellular H₂O₂-dependent ligninolytic activity of the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* in the decolorization of Remazol Brilliant Blue R. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(11), 3919-3927.
 15. Ollikka, P., K. Alhonenmaki, and T. Glumoff. 1993. Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(12), 4010-4016.
 16. Shin, K.S. and C.J. Kim. 1997. Production and purification of remazol Brilliant Blue R decolorizing peroxidase from the culture filtrate of *Pleurotus ostreatus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(5), 1744-1748.
 17. Shrivastava, R., V. Christian and B.R.M. Vyas. 2005. Enzymatic decolorization of sulfonphthalein dyes. *Enzyme Microb. Technol.* 36, 333-337.
 18. Tauber, M.M., G.M. Guebitz and A. Rehorek. 2005. Degradation of azo dyes by laccase and ultrasound treatment. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(5), 2600-2607.
 19. Tien, M. and T.K. Kirk. 1988. Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymol.* 161, 238-249.
 20. Yang, Q., A. Yediler, M. Yang and A. Kettrup. 2005. Decolorization of an azo dye, reactive black 5 and MnP production by Yeast isolate: *Debaryomyces polymorphus*. *Biochem. Eng. J.* 24, 249-253.

(Received March 8, 2006/Accepted March 14, 2006)

ABSTRACT : Production of Lignin Degrading Enzymes and Decolorization of Various Dye Compounds by Wood-Rot Fungi

Tae-Won Jang, Sang-Cheol Jun, Tae-Seok Ahn¹ and Kyu-Joong Kim* (Dept of Biology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea, ¹Dept of Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)

Wood-rot fungi produce extracellular lignin-degrading enzymes, the best known of which are lignin peroxidase, Mn-peroxidase and laccase. In this experiment, some of them produced all of three enzymes. Many other wood-rot fungi produced one or two of those enzymes with various combinations. In this experiment, we tried to clarify the relationship between the pattern of enzyme production and degradative activity of several dye compounds. From the 36 strains of 23 species of wood-rot fungi, Mn-peroxidase activity was found in 30 strains of the fungi tested, whereas the activity of lignin peroxidase and laccase was detected in 11 strains and 12 strains of species, respectively, in Kirks low nitrogen media. In relation to the activity of lignin degrading enzymes and degradation of dye compounds, the white-rot fungi with three kinds of enzymes tested showed the best dye decolorizers. The fungi with Mn-peroxidase activity only decolorized poly R-478 and remazol brilliant blue R dye in proportion to the enzyme activity, while methylene blue, bromophenol blue and congo red dye were degraded in regardless of enzyme activity. Those dyes were degraded in relation to the growth rate of mycelium. Brown-rot fungi did not degrade all the dye compounds except bromophenol blue, in spite of moderate growth rate.