

개암버섯 균주의 유전적 특성과 최적 배지조건에 관한 시험

강안석* · 공원식¹ · 석순자¹ · 홍인표¹ · 차동열¹ · 김광포¹ · 김동현² · 유승현³

강원도농촌진흥원, ¹농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과
²고려대학교 자연자원대학원, ³충남대학교 농생물학과

The Genetic Characteristics of Strains and the Optimal Condition for Mycelial Growth of *Naematoloma sublateritium* on Sawdust Media

An-Seok Kang*, Won-Sik Kong¹, Soon-Ja Seok¹, In-Pyo Hong¹, Dong-Yeol Cha¹,
Kwang-Po Kim¹, Dong-Hyun Kim² and Seung-Hun Yu³

Kangwon provincial R.D.A., ¹Nat'l Insti. of Agri. Sci. & Tech., R.D.A, Suwon 441-707

²Korea Univ., Seoul 136-701 and ³Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea

개암버섯 균주의 유전적 특성과 최적 배지조건에 관한 시험

강안석* · 공원식¹ · 석순자¹ · 홍인표¹ · 차동열¹ · 김광포¹ · 김동현² · 유승현³

강원도농촌진흥원, ¹농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과
²고려대학교 자연자원대학원, ³충남대학교 농생물학과

The Genetic Characteristics of Strains and the Optimal Condition for Mycelial Growth of *Naematoloma sublateritium* on Sawdust Media

An-Seok Kang*, Won-Sik Kong¹, Soon-Ja Seok¹, In-Pyo Hong¹, Dong-Yeol Cha¹,
Kwang-Po Kim¹, Dong-Hyun Kim² and Seung-Hun Yu³

Kangwon provincial R.D.A., ¹Nat'l Insti. of Agri. Sci. & Tech., R.D.A, Suwon 441-707
²Korea Univ., Seoul 136-701 and ³Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT: In order to compare collected strains of *Naematoloma sublateritium*, electrophoretic isozyme and RAPD band patterns of DNA from mycelia were studied. The two characteristics of the strain, ASI 11010 were much different from those of ASI 11005 and 11006. These patterns may be used as valuable criteria for identifying strains of *N. sublateritium*. Optimal conditions on the vegetative growth of *N. sublateritium* using sawdust media were favourable on alder sawdust media added with 30% beer waste. Optimal water content was 70%.

KEYWORDS: Isozyme, *Naematoloma sublateritium*, RAPD

개암버섯(*Naematoloma sublateritium*)은 독청버섯과(*Strophariaceae*)에 속하며 가을철에 참나무 오리나무 등의 활엽수 고목에서 균생으로 사물기생하는 목재의 부후균으로서 일본에서는 버섯모양이 밤과 유사하다고 하여 밤버섯(クリタケ)이라고도 한다.

버섯은 갓과 줄기의 구분이 뚜렷하며 외부 형태 및 크기가 알맞고 맛과 향기가 좋아서 식품으로서의 가치가 높은 것으로 본다. 그러나 버섯의 균사생장 속도가 늦고 자실체의 발생에 소요되는 기간이 길어서 실용적인 인공재배가 어렵다고 한다(大貫, 1985). 이와 같은 난점을 해결하기 위하여 인공재배 가능성이 높은 몇개의 균주를 수집하여 균주간의 특성을 조사하였다.

버섯 균주에 대한 전통적인 형태적 분류는 발생지의 환경에 의하여 형태적인 특성이 다르게 나타날 수 있으므로 정확한 분류를 실시하는데는 많은

논란이 있게 된다. 이와 같은 문제점을 보완하기 위하여 Chang 등(1962)은 Neurospore 속의 효소 패턴이 이종간 또는 동종간에도 차이가 있다고 한 이래로 이를 분류의 기준으로 이용되어 왔다.

본 시험에서는 수집균주간의 미세구조와 더불어 유전학적 특성을 보기위하여 동위효소 밴드형태는 물론 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 밴드 특성을 조사하였고 인공 증식을 위한 기초 자료를 얻기 위하여 우량배지 제조 조건으로서 배지재료, 최적 가비중 및 수분 함량 등에 관하여 시험하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 배양

농업과학기술원 응용미생물과에 보존중인 균주로 일본에서 도입된 ASI 11005, 11006과 미국에서 도입된 11010을 각각 PDA배지에 접종하여 25±1°C인 항온기(Forma scientific Mod. 3956,

*Corresponding author

USA)에 약 2주간 배양시킨 후 접종원으로 사용하였다.

1. 개암버섯의 미세구조

미세구조 관찰을 위한 시료의 조제는 먼저 버섯 조직을 70% 알콜과 증류수에 3분 간격으로 두세 번 담갔다. tangential section을 실시한 후에 1% congo red와 2% phloxine으로 염색한 후 3% KOH로 세척을 하였다. 이상과 같이 조제된 시료는 Ernst Leitz Wetzler GBM II 현미경을 사용하여 관찰하였다.

2. 전기영동 등위호소 밴드 패턴 비교

가. 시료조제

수집된 개암버섯 균사체는 PD(Potato Dextrose)배지에 30일간 액체배양하여 균사체만 여과 시켜서 증류수로 세척하였다. 시료는 0.1M Tris-HCl Buffer를 첨가하여 액체질소를 이용 유발에서 급게 마쇄한 후 고속 원심분리기(12,000 g)로 4°C 하에서 30분간 원심분리후 상등액만을 취하여 시료로 사용하였다.

나. 전기영동

(1) Gel 조제

전기영동은 수직형 전기영동(한국맨허턴) 장치를 이용하여 acrylamide vertical slab gel로 Hoefler 방법에 따라 수행하였다. Seperating gel은 237 mM tris-HCl buffer(pH 8.48)에 acrylamide 농도 10%와 bisacrylamide 농도 5%로 첨가하고 ammonium persulfate, TEMED를 첨가하였다. Stacking gel은 39.5M tris-phosphate buffer (pH 6.9)에 bisacrylamide 20% 농도로 acrylamide gel을 제조하고 riboflavin, TEMED를 넣어 광을 조사하여 gel을 굳혔다.

Buffer는 discontinuous 시스템으로 하부탱크는 63 mM tris-HCl buffer(pH 7.47), 상부탱크는 37.6 mM tris-glycine buffer(pH 8.89)를 사용하였으며, 추출시료 50 μ l를 20 μ l sucrose dye 용액 (0.1%, bromophenol, 5% sucrose)과 혼합하여 전기영동 하였다.

전기영동은 5°C에서 실시하였으며 tracking dye가 stacking gel을 통과 할 때까지 80V(20 mA/13 cm gel)로 조절하고 seperating gel에서는 120V(50 mA/13 cm gel)로 조절하였다.

(2) 염색법

Gel 염색에 사용된 시약은 대부분 Sigma 제품을 사용하였으며 발색후에는 5% acetic acid에 보관하여 고정시켰다.

① General protein: 발색액은 메틸알콜 50 ml에 coosamic Brilliant Blue 0.05 gr, acid 10 cc에 물을 가하여 100 ml로 조절하여 조제하였다. 이에 전기영동 gel을 침지하여 암상태에서 50 rpm으로 흔들어 밴드가 나타날때까지 발색시켰다.

② Esterase: 전기영동후 gel을 0.2M phosphate buffer(pH 6.5)에 3회 교환하여 gel의 산도를 고정하였다. 35°C의 발색액(a-naphthyl acetate 20 mg, ethylene glycol monomethyl ether 2 ml, fast blue RR salt 20 mg, 0.2M phosphate buffer(pH 6.5) 120 ml)에 침지하여 암상태에서 50 rpm으로 흔들어 밴드가 선명할 때까지 약 30분간 발색시켰다(Kabler, 1970; Kitamoto 등, 1986).

③ Superoxide Dismutase: Tanksley 방법(1983)을 변형하여 사용하였다. gel은 A용액(0.05M tris HCl buffer(pH 7.5) 100 ml, 0.1M KCN 0.4 ml, MTT 10 mg, PMS 10 mg)에 넣어 37°C에서 암상태로 30분간 처리한후 A용액을 버리고 B용액(0.05M tris HCl pH 7.5 100 ml, riboflavin 1 mg, TEMED 0.4 ml)을 가하여 30분간 광을 조사하여 밴드가 나타나도록 하였다.

다. 수집균주간 유사도 분석

Gel 상에서 나타난 밴드는 binary system으로 점수화하였는데 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 하였으며 상대적인 밴드 농도는 고려하지 않았다. 균주간 상대적 관계는 동일 밴드간 비율에 의해 SIMQUAL(similarity for qualitative data)의 UN1(Unnamed coefficient No. 1:2 m/n+m)의 similarity matrix(Sneath and Sokal, 1973)로 계산하였다.

3. RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)에 의한 수집균주간 비교

(1) Genomic DNA 분리

버섯균사체의 DNA분리는 Zolan 등(1986)의 방법을 다소 변형하여 실시하였고 배양된 균사는 cheese cloth로 거른 후 냉동건조하여 사용하였다.

Table 1. List of primer used for RAPD

Code	5' to 3'	M.W	pmoles	µg/tube
OPAX-01	GTGTGCCGTT	3041	5783	17.5
OPAX-02	GGGAGGCAAA	3117	4385	13.5
OPAX-03	CCAAGAGGCT	3028	4988	15.0
OPAX-04	TCCCCAGGAG	3004	5377	16.0
OPAX-05	AGTGCACACC	2988	5192	15.5
OPAX-06	AGGCATCGTG	3059	5088	15.5
OPAX-07	ACGCGACAGA	3037	4710	14.5
OPAX-08	AGTATGGCGG	3099	4892	15.0
OPAX-09	GGAAGTCCTG	3059	5088	15.5
OPAX-10	CCAGGCTGAC	3004	5377	16.0
OPAX-11	TGATTGCGGG	3090	5192	16.0
OPAX-12	GGTCGGGTCA	3075	5265	16.0
OPAX-13	GAGCACTGCT	3019	5300	16.0
OPAX-14	CACGGGCTTG	3035	5493	16.5
OPAX-15	CAGCAATCCC	2948	5413	16.0
OPAX-16	GTCTGTGCGG	3066	5615	17.0
OPAX-17	TGGGCTCTGG	3066	5615	17.0
OPAX-18	GTGTGCAGTG	3090	5192	16.0
OPAX-19	CCCTGTCGCA	2955	6014	18.0
OPAX-20	ACACTCGGCA	2988	5192	15.5

이를 유발에 곁게 마쇄하여 균사 40 mg에 600 µl의 buffer용액(1% CTAB, 0.7M NaCl, 50 mM tris-HCl pH 8.0, 10 mM EDTA, 1% 2-mercaptoethanol)을 넣어 60°C에서 30분간 반응시켰다. 동량의 클로로포름 이소아밀알콜(24:1)로 침전시킨 후 상등액을 옮겨 동량의 isopropanol을 가하였다. 침전된 핵산을 원심분리하여 수거후 300 µl TE buffer(10 mM tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA)에 녹였다. 여기에 RNase 100 µg/ml을 가하여 37°C에서 30분간 처리하여 동량의 클로로포름 이소아밀알콜을 가하여 원심분리를 하였다. 상등액을 분리하여 50 µl의 7.5M 암모늄아세테이트를 가하고 2배량의 알콜로 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA에 0.2M 암모늄아세테이트 300 µl를 가해 녹인 후 다시 2배량의 ethanol에 침전시킨 후 건조시켜 50 µl TE buffer에 녹였다.

(2) PCR(Polymerase Chain Reaction)조건

반응액 총량은 20 µl를 기준으로 하여 template DNA 100 ng, MgCl₂ 2.5 mM, Taq polymerase (Perkin Elmer) 1 unit, dNTP 1.5 mM로 조정후 나머지 살균한 증류수를 첨가하였다. 여기서 사용된 primer는 Operon사의 kit AX 01-20을 사

용하였다(Table 1). PCR program은 Perkin Elmer Gene Amp PCR 시스템 9600 기종으로 94°C에서 5분간 denature 시킨 후 94°C 1분, 35°C 1분, 72°C 2분으로 40 cycle을 돌린 후 4°C에서 holding 하였다.

PCR산물은 1.2% agarose gel에서 100V로 loading한 후 EtBr에 15분 염색하여 UV 램프하에서 밴드를 관찰하였다. 균주간 유사도는 동위효소에서 같은 방법으로 조사하였다.

4. 톱밥 배지 조건 구명:

(1) 종균제조용 톱밥배지 수종 선발

개암버섯의 종균제조에 알맞는 수종을 선발하고자 오리나무 등 5종의 톱밥을 사용하여 순수한 톱밥만으로 수분함량을 65±1%로 조절한 뒤 Petridish에 넣고 121°C(1.2기압)에서 40분간 고압살균한 뒤 한천배지에 증식된 ASI 11010의 균사 절편을 접종하고 25±2°C로 조절된 배양기내에서 12일간 배양하면서 균사생장형태, 균사밀도 등을 조사하였다.

(2) 첨가재료 최적함량 효과

개암버섯의 균사생장에 알맞는 톱밥배지용 첨가 재료를 선발하고자 영양원으로 미강, 밀기울, 맥주

박을 0, 10, 20, 30%(v/v)의 비율로 배합하여 수분 함량을 $65 \pm 1\%$ 되게 조절하였다. 이를 시험관 ($\Phi 3.0 \times 20.0$ cm)에 가비중 0.21이 되게 넣은 후 121°C (1.2기압)에서 40분간 멸균후 톱밥접종원을 3~5 gr씩 시험관 상층부에 접종하였다. 이를 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 상태에서 배양하면서 균사의 생육상태, 균사밀도 등을 조사하였다.

(3) 적정 가비중

균사생육에 알맞는 톱밥배지의 가비중을 조사하기 위하여 수중선발 및 첨가재료 시험에서 얻어진 결과인 오리나무 톱밥과 맥주박을 7:3(v/v)로 균일하게 혼합한 뒤 수분함량을 $65 \pm 1\%$ 로 하고 가비중을 0.19, 0.21, 0.23, 0.25, 0.27로 각각 조절하면서 시험관($\Phi 3.0 \times 20.0$ cm)에 충전한 뒤 고압살균하여 톱밥접종원 3~5 gr을 접종하였고, 균사배양 및 조사방법은 첨가재료 및 함량선발과 동일하다.

(4) 적정 수분함량

균사생육에 알맞는 톱밥배지의 수분함량을 조사하기 위하여 적정가비중 시험과 동일하게 혼합하여 수분함량을 wet base로 60, 65, 70, 75, 80%로 하고 가비중은 시험관($\Phi 3.0 \times 20.0$ cm)에 0.21로 조절한 뒤 고압살균한 후 톱밥중균 3~5 gr을 접종하였다. 균사배양 상태 및 조사방법은 상기의 시험과 동일하게 실시하였다.

결과 및 고찰

개암버섯의 형태적 특성



Fig. 1. Photograph of *N. sublateritium* in natural status.

개암버섯의 형태적 특징(Fig. 1)으로서 갓은 반구형이며 크기는 3~10 cm로 황토색 바탕에 중심부는 적갈색이고, 주변부는 백색의 섬유상 인편이 있으며 조직은 황백색을 띠었다. 주름살은 뾰족하게 완전 붙은 형태이고, 황갈색 또는 자갈색을 띠었다. 대는 성숙하면 속이 비고, 담황색, 황적갈색을 띠며, 섬유상 인편이 밀포되어 있었다. 한편 포자문은 암자갈색으로 선명하게 나타났다.

현미경으로 미세구조를 관찰해 보면(Fig. 2) 포자는 $5.5 \sim 8 \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ 크기로 타원형이며 발아공이 돌출해 있다. 담자의 크기는 $23.4 \sim 28.4 \mu\text{m}$ 로 머리부분에 전형적인 4개의 담자뿔을 볼 수 있었다. 시스티디아는 $31.2 \sim 35.5 \mu\text{m}$ 크기의 곤봉형태에 끝에 뿔이 한 개 있는 pleurocystidia와 $21.3 \sim 37.6 \mu\text{m}$ 크기의 긴 막대 모양의 cheilocystidia가 있었다. 한편 갓 표피 상층조직의 균사는 clamp를 가진 영양균사가 층을 이루고 있었고, 대 표피 상층조직의 균사는 clamp가 없었고 분지가 많았다.

전기영동에 의한 동위효소 밴드 패턴 비교

가. 동위효소별 밴드 패턴

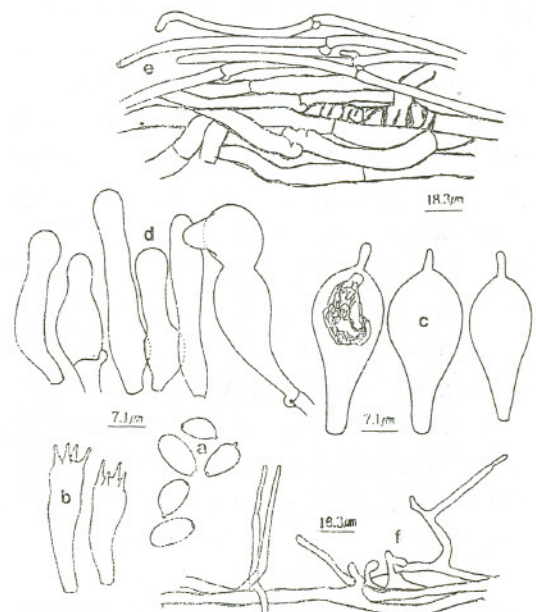


Fig. 2. Microscopic structures of each organell in *N. sublateritium*.

a. Spores, b. Basidia, c. Pleurocystidia, d. Cheilocystidia, e. Pileipellis, f. Stipitipellis

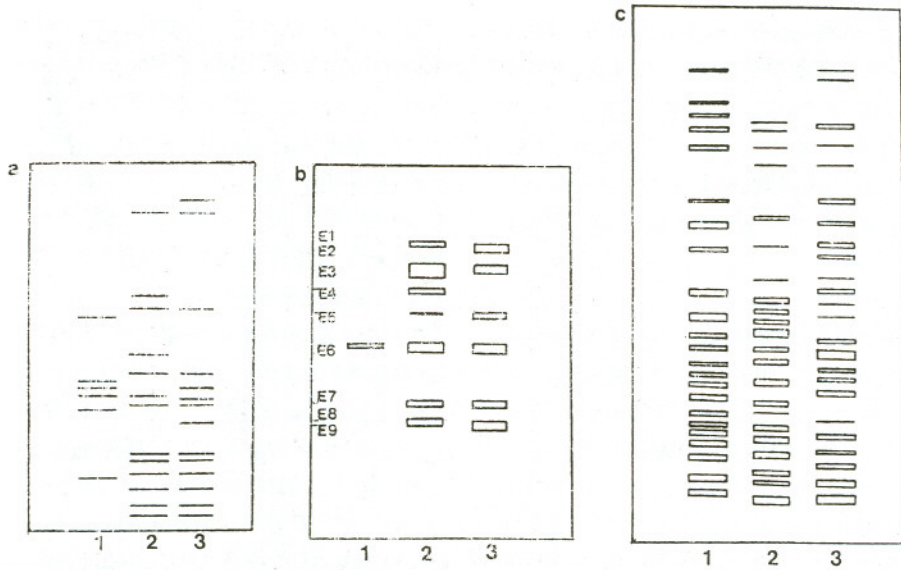


Fig. 3. Isozyme patterns from mycelium of *N. sublateritium*.
 a) General protein, b) Esterase, c) Superoxide dismutase
 Lane 1: ASI 11010, Lane 2: ASI 11005, Lane 3: ASI 11006

(1) General protein

수집된 균주의 general protein(Fig. 3a)은 밴드가 총 21개로 나타났으며, ASI 11005와 11006은 밴드형태가 유사하였으며 특히 하위 6개의 밴드는 동일하게 나타났다. 11010은 다른 균주에 비해 단순한 밴드 양상을 보여 모두 6개의 밴드만 나타났으며 그 위치도 다르게 나타나 유연관계가 먼 것으로 생각되었다.

(2) Esterase

수집된 균주의 esterase 동위효소(Fig. 3b)는 band가 9개로 나타났다. 박 등(1988)에 의하면 느타리버섯 경우에 esterase 동위효소는 총 14개의 밴드가 나타났다고 하였는데 개암버섯은 이에 비하면 작은 경향이었다. ASI 11005와 11006은 밴드 양상이 비슷하였으나, 11010은 다른 균주와는 달리한 개의 밴드가 형성되는 것이 특징적이었다. 또한 E6밴드는 3균주 모두에서 공통으로 나타나서 이 밴드를 개암버섯의 특이 밴드로 볼 수 있었다.

(3) Superoxide dismutase

Superoxide dismutase(Fig. 3c)는 negative staining으로 SOD activity가 있는 부분을 제외하고 gel이 푸르게 변했다. 수집된 균주의 SOD의 동위효소 밴드의 총수는 51개로 나타났으며, 균주들

Table 2. Similarity matrix based on isozyme bands from collected strains of *N. sublateritium*

	ASI 11010	ASI 11005	ASI 11006
ASI 11010	1.000		
ASI 11005	0.469	1.000	
ASI 11006	0.529	0.611	1.000

간에도 서로 그 형태가 달라서 비교하기 어려웠다. 박(1988) 등이 보고한 느타리버섯의 경우 SOD밴드가 3개만 나타났다고 하였는데 개암버섯에서 이와 같이 많은 밴드가 나타나는 것은 SOD 활성이 느타리버섯보다 큰 것으로 생각되었다.

나. 유사도 지수에 의한 유연관계

수집균주의 동위효소 밴드 다형성을 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 점수를 주어 data에 대한 유사도를 조사하여 여기에서 얻은 similarity matrix를 NT-SYS program으로 유사도를 계산한 결과(Table 2) 평균 49.9%의 유사도가 얻어졌으며, ASI 11005와 ASI 11006은 61.1%의 유사도를 나타내었다. 따라서 동위효소로 본 유연관계에서 ASI 11010은 다른 두 균주에 비해 먼 것으로 나타났다.

박 등(1988)과 공(1995)에 의하면 동위효소 밴드

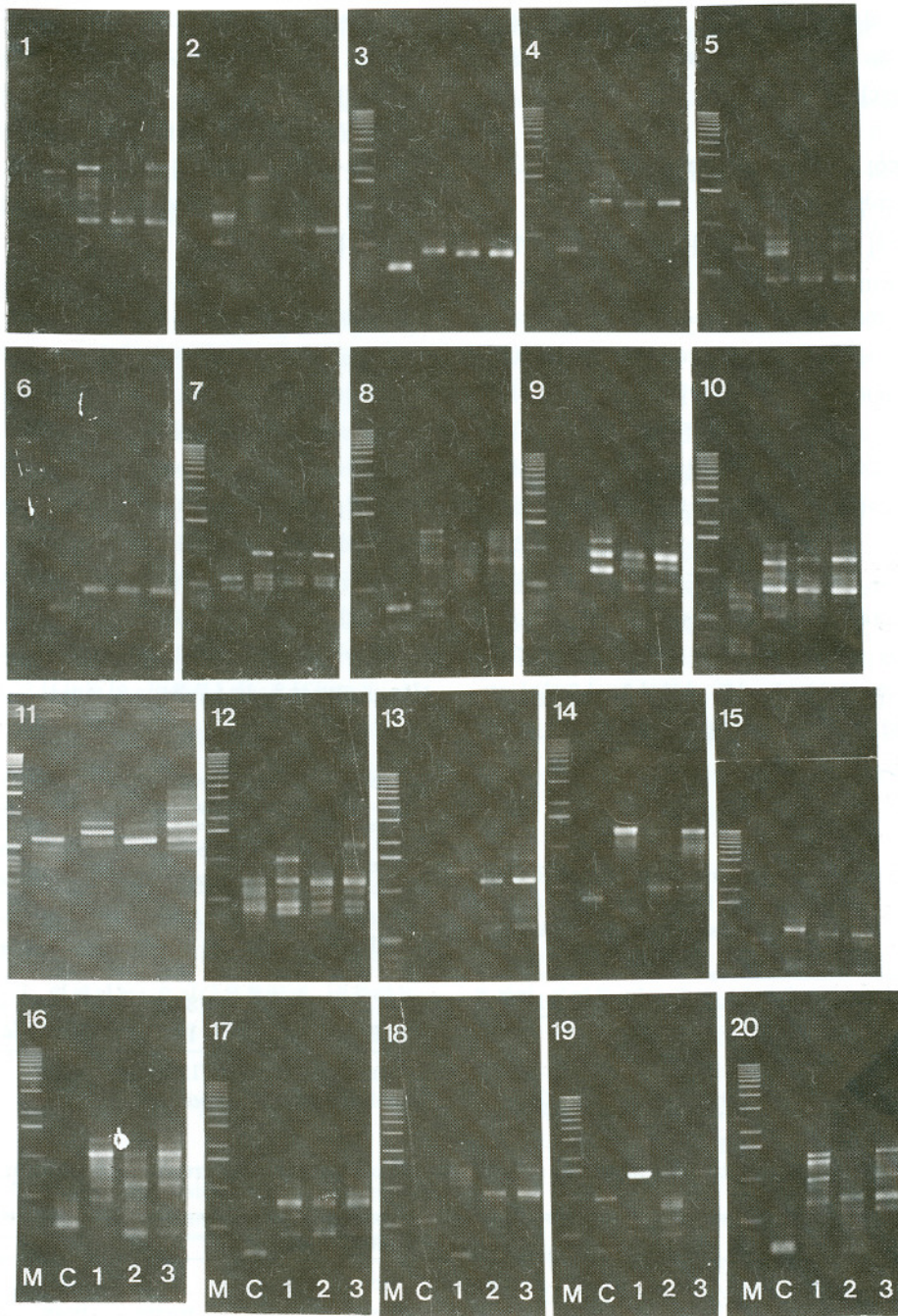


Fig. 4. RAPD patterns obtained from *N. sublateritium* genomic DNA
 1~20: primer OPAX 1~20
 M: 1 kb ladder marker, C: Control
 1: ASI 11010, 2: ASI 11005, 3: ASI 11006

에 의한 균주간 차이는 환경변이와 유전변이의 총체적 결과로 나타나는 것으로 동위효소 밴드에 의

하여 균주간 유연관계를 추정할 수 있으며, 균주에 특이한 밴드를 유전적 표지인자로 이용할 수 있다

고 하였다. 따라서 개암버섯의 동위효소 밴드 차이를 균주 분류 및 유전 연구에 이용할 수 있을 것으로 생각되었다.

수집균주의 RAPD에 의한 유형분석

가. 수집균주의 유연관계

수집균주의 유연관계를 알아보기 위하여 20개의 random primer를 사용하여 RAPD를 수행한 결과(Fig. 4) 200~1600 bp 사이에서 1~7개의 밴드가 형성되었다. 균주별로 보면 일본에서 도입된 ASI 11005, 11006은 동일한 밴드가 많았던 반면, 미국에서 도입된 ASI 11010은 다른 밴드 형태를 나타내었다. 따라서 RAPD 분석 결과는 균주 수집지의 지리적 특징에 따라서 차이가 많이 나타나는 것으로 보아서 그 기원을 확실하게 나타내 주는 것으로 볼 수 있었다. 한편 일본에서 도입된 균주들 간에도 OPAX-11, 14, 16, 20 primer에서는 서로 밴드 형태가 다르게 나타나 이들이 완전히 동일한 균주가 아님을 알 수 있었으며, 이들 다형성을 이용하여 그 균주 특유의 표지 밴드를 개발할 수 있을 것으로 생각되었다.

Table 3. Similarity matrix based on RAPD bands obtained from *N. sublateritium* genomic DNA using primers OPAX 1~20

	ASI 11010	ASI 11005	ASI 11006
ASI 11010	1.0000000		
ASI 11005	0.7543860	1.0000000	
ASI 11006	0.7232143	0.9358289	1.0000000

나. 유사도 분석

유사도 분석에 의한 유연관계를 조사해 보면 (Table 3) 평균 72.3%의 유사도를 나타내었고, 일본 도입균주간에는 약 93.6%의 유사도를 보여 미국 도입균주인 ASI 11010이 유사도가 먼 것을 볼 수 있었는데 이는 동위효소에서와 같은 결과라고 할 수 있었다.

톱밥 배지 조건 구명

가. 종균 제조용 톱밥 수종 선발

개암버섯의 종균제조에 알맞는 수종 선발시험 결과(Table 4) 오리나무톱밥에서 12일에 42.5 mm로 균사생장이 가장 빨랐으며 참나무 톱밥에서 가장 늦었으며, 자작나무와 소나무 톱밥에서는 균사생장은 양호하였으나 균사밀도가 낮았다. 따라서 개암버섯의 종균을 제조하기 위해서는 오리나무 톱밥이 가장 적합할 것으로 생각되었다.

각종 버섯의 균사생장에 적합한 톱밥의 수종으로서는 표고버섯은 참나무톱밥, 잎새버섯은 참나무톱

Table 4. Mycelial growth of *N. sublateritium* on different sawdust media

Sawdust	colony diameter ^a	Mycelial density ^b
Alder	42.5	++
Birch	36.0	+
Oak	15.8	++
Pine	37.8	+
Poplar	19.5	++

^aColony diameter (mm/12 days)

^bMycelial density: +; poor, ++; good

Table 5. Effect of different supplements to sawdust media on the mycelial growth in tube culture of *N. sublateritium*

Supplement ratio (%)	Oak			Polar			Alder			
	beer waste	rice bran	wheat hull	beer waste	rice bran	wheat hull	beer waste	rice bran	wheat hull	
0		53±3.2 ^a			50±2.1			52±1.1		
10	34	23	19	39	23	19	46	23	39	
20	44	27	27	42	26	27	47	15	30	
30	42	20	26	49	22	18	61	14	25	

^aMycelial growth was measured in length 35 days after inoculation in the test tubes (200×30 mm) and standard deviation expressed as average of the three replications for each treatment.

밥75+포플라톱밥25(정과 주, 1989), 뽕나무버섯은 포플라, 참나무 톱밥 등이며(홍 등, 1992), 복령은 소나무, 리기다소나무 톱밥(홍, 1993)이 적합하다고 하였다. 한편 강 등(1994)은 잣빛만가다버섯의 균사생장에 오리나무톱밥이 적합하다고 하여 본 시험의 개암버섯과 균사생장이 적합한 수종이 동일하였다.

나. 첨가재료의 최적함량 효과

개암버섯은 톱밥 단독으로는 균사생장이 극히 저조하므로 각종 영양원이 첨가되어야 한다. 여기서는 오리나무 톱밥과 함께 균사생장은 늦으나 균사밀도가 높았던 참나무와 포플라나무 톱밥에 농산부산물인 맥주박, 미강, 밀기울의 첨가량을 달리하여 35일간 배양한 후에 균사생장 길이를 측정하여 결과(Table 5), 모든 수종에서 영양원이 첨가되지 않았을 때 균사생장은 빨랐으나 균사의 밀도가 낮았으며 영양원을 첨가했을 때 비록 균사생장은 늦었으나 균사밀도가 높아 전체 균체량이 많았다. 오리나무 톱밥에서 첨가재료로 맥주박을 넣은 경우 30%로 증가할수록 균사생장이 많았다 그러나 이보다 첨가재 비율이 높아지면 오염율이 급격히 증가하였다. 한편 미강이나 밀기울을 첨가하면 10% 이상에서는 균사생장이 저조하였다. 다른 수종에서도 이와 같은 경향은 일치하여 맥주박에서는 첨가 비율이 증가할수록 균사생장이 빠른 반면 미강과 밀기울은 10~20%가 적당하였다. 따라서 개암버섯의 균체를 제조하기 위해서는 오리나무톱밥에 맥주박을 30% 혼합하여 사용하는 것이 가장 좋을 것으로 사료되었다.

다. 적정 가비중, 수분함량 결정

Table 6. Effect of bulk density on mycelial growth of *N. sublateralitium* on sawdust media

Bulk density ^a (g/cc)	mycelial growth (mm/20 days)
0.19	14.0
0.21	11.3
0.23	11.3
0.25	11.0
0.27	10.5

^awater content: 70%, substrate; Alder sawdust 70+ beer waste 30

Table 7. Effect of water content for the mycelial growth of *N. sublateralitium* on sawdust media

water content (%) ^a	Mycelial growth (mm/20 days)
60	23.5
65	24.0
70	26.8
75	26.5
80	26.3

^aBulk density: 0.19 substrate; Alder sawdust 70+ beer waste 30

톱밥배지의 적정 가비중은(Table 6) 0.19 정도이며 이보다 높을수록 균사생장이 늦었다. 이와 같은 결과는 배지내의 산소가 부족하기 때문인 것으로 생각되며, 기존의 보고(차, 1981; 정 등, 1989; 강 등, 1989; 강 등, 1994)와도 일치하는 결과였다.

한편 톱밥배지의 수분함량을 달리하여 시험한 결과(Table 7) 수분함량이 60%에서 70%까지는 수분함량에 따라서 균사생장도 증가하였다. 그러나 그 이상에서는 생장이 둔화되었는데 이는 다른 버섯의 경우와 같은 경향이었다(박 등, 1978; 강 등, 1994).

적 요

개암버섯 수집균주의 생화학적 특성을 조사하여 유전적 차이를 비교하고, 인공재배를 위한 기초 시험으로 균사생장에 적합한 톱밥배지 조건을 구명하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

전기영동 동위효소 밴드는 효소에 따라 다양한 밴드 양상을 보였으며, 특히 esterase의 6번 밴드가 모든 균주에 동일하게 형성되었다. 동위효소 밴드에 의한 유사도를 비교한 결과 ASI 11005, ASI 11006의 유사도가 ASI 11010에 비하여 높게 나타났다. RAPD에 의한 수집균주의 유형분석을 실시한 결과 일본에서 도입된 ASI 11005, 11006은 93.6%의 유사도를 보였으나 미국에서 도입된 ASI 11010과는 유연관계가 먼 것을 알 수 있었다. 개암버섯의 균사생장에 적합한 톱밥배지의 수종은 오리나무였다. 첨가재료는 오리나무를 이용할 때 맥주박을 30% 혼합한 경우가 균사생장이 양호하였다. 톱

밥배지의 가비중은 높을수록 균사생장이 늦었으며, 수분함량은 70%가 적합하였다.

참고문헌

- 강안석, 차동열, 김한경. 1989. 구름버섯의 인공재배에 관한 연구. 농시논문집 **31**(2): 57-61.
- 강안석, 차동열, 장현유, 홍인표, 유승현. 1994. 잣빛만가닥버섯의 인공재배법 개발. 농업과학논문집 **36**(1): 696-700.
- 강안석, 차동열, 홍인표, 장현유, 유승현. 1994. 개암버섯의 균사생장에 영향을 미치는 배양조건에 관한 연구. 한국균학회지 **22**(2): 153-159.
- 공원식. 1995. 잔나비 걸상버섯(*Elfvigia aplanata*) 균주의 RAPD에 의한 유형분석. 건국대 대학원 학술논문집 **42**: 352-361.
- 박용환, 변명옥, Fuji, H. 1988. 느타리버섯의 전기영동 isozyme band pattern 비교. 한국균학회지 **16**(2): 87-94.
- 정환채, 주현규. 1989. 잎새버섯의 우량계통 육성과 인공재배법 개발. 농시논문집 **31**(2): 43-56.
- 차동열. 1981. 야생식용버섯의 인공재배법 검토. 한국균학회지 **9**(3): 123-128.
- 홍인표, 이민웅. 1990. 복령(*Poria cocos*)의 배양학적 특성에 관한 연구. 한국균학회지 **18**(1): 42-49.
- 홍인표. 1992. 복령균의 생리적 특성 및 인공재배에 관한 연구. 동국대 박사학위논문 pp14-26.
- 홍재식, 김명근, 이재홍, 김형무. 1990. *Armillariella mellea*의 균사배양 및 균사속 생산에 관한 연구. 한국균학회지 **18**(3): 149-157.
- Yoshida, H., Fujimoto, S. and Hayashi, J. 1990. Effects of carbon and nitrogen sources on the vegetative growth of Kuritake Mushroom (*N. sublateritium*). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**(9): 695-701.
- Kabler, A.I. and Allard, R.W. 1970. Genetics of isozyme variant in barley. I esterase. *Crop. Sci.* **10**: 444-448.
- Tanksley, D.S. and Orton, T.J. 1983. Isozymes in plant genetics and breeding part A. p 493.
- Yutaka Kitamoto, Takahiro Tateishi, Ikuko Kagawa and Yoshio Ichikawa. 1986. Analysis of some isozymes for identification and discrimination of Basidiomycetes belonging to *Coprinaceae*. *Bull. Fac. Agric., Tottori Univ.* **39**: 24-30.