

Hohenbuehelia petaloides의 배양학적 특성에 관한 연구

유관희* · 김준호¹ · 석순자²

*상지대학교 이공과대학 생명과학과, ¹화학과
²농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과

Studies on the Cultural Characteristics of *Hohenbuehelia petaloides*

Kwan-Hee Yoo*, Jun-Ho Kim¹ and Soon-Ja Seok²

*Department of Biology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

¹Department of Chemistry, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

²Department of Applied Mycology, NIAST, Suwon, 441-707, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to obtain the basic data on artificial culture of *Hohenbuehelia petaloides*. The optimum medium are glucose peptone medium (GP), Hennerberg medium, *Phellinus igniarius* medium (PIM), *Lentinus edodes* medium (LEM), Czapek dox medium. The optimum condition for the mycelial growth was 30°C and pH 6.0. The carbon sources such as dextrin, fructose and lactose were favorable to mycelial growth. The optimal concentrations of carbon sources are 10% dextrin and fructose. As nitrogen sources, tryptone, casamino acid and histidine appeared to be favorable. The optimal concentrations of nitrogen sources are 1% soytone and 0.3% ammonium nitrate. The optimal concentration of yeast extract is 0.4%. The mineral nutrients of KH_2PO_4 , K_2HPO_4 and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ were effective and the optimal concentrations were 0.046, 0.1 and 0.05%, respectively.

KEYWORDS: Carbon, *Hohenbuehelia petaloides*, Mycelial growth, Nitrogen, Optimal concentration

*Hohenbuehelia petaloides*는 분류학적으로 주름버섯목 송이과(Tricolomataceae)에 속하는 담자균류로 목재나 썩은 목재가 묻혀있는 지표면에서 자실체를 형성하는 종으로, 식용으로 이용되며(Arora, 1986) 우리 나라에서도 자생하는 버섯이다. 이 버섯은 영양균사 형성 시 균사체에 저배율의 헤부현미경하에서 관찰할 수 있는 어둡게 빛나는 공모양의 끈끈이봉(adhesive knob)을 형성하여 선충(nematode)을 포획하는 것으로 알려져 있다(Barron, 1977).

선충을 죽이는 곰팡이(nematophagous fungi)는 크게 기생성곰팡이(endoparasitic fungi)와 포식성곰팡이(predacious fungi)로 나눌 수 있으며(Anderson *et al.*, 1995), 균사가 기주 선충의 내부에만 존재하고 토양 내에서는 포자 상태로 존재하는 것을 기생성곰팡이라 하고(Barron and Gerber, 1972), 균사가 기주 선충의 외부로 뻗어 나오고, 균사에 선충을 잡을 수 있는 포식기관을 형성하는 종류를 포식성곰팡이라고 한다.

포식성곰팡이로 기재된 최초의 곰팡이는 *Arthrobotrys oligospora*로(Fresenius, 1852), 이 곰팡이는 그물 모양의 포식기관을 형성하였으며(Woronin, 1870), 1888년에 최초로 선충이 그물에 포획된 것을 관찰하였다(Zopf, 1888). 한편 선충은 물리적으로 그물에 걸리는 것이 아니라 끈끈한 물질에 의해 포획됨이 밝혀졌으며(Drechsler, 1933, 1933a),

이 끈끈이 물질은 화학적으로 분석되었다(Tunlid *et al.*, 1992a, 1992b).

포식성곰팡이는 10속 150여 종이 알려져 있으며 대부분 불완전 균류에 포함되지만 완전세대가 알려진 느타리계통의 *Pleurotus ostreatus*는 끈끈이봉을(Saikawa and Wada, 1986), *Pleurotus tuberregium*은 독성물방울을 형성하여 선충을 죽이며(Hibbett and Thorn, 1994), *Hohenbuehelia petaloides*는 끈끈이봉을 형성하여 선충을 포획하는 것으로 알려져 있다(Barron, 1977).

균사 사이에 형성한 포식기관은 끈끈이균사, 끈끈이격자, 끈끈이그물, 끈끈이봉, 비수축성올가미, 수축성올가미 등의 다양한 형태가 있으며(Drechsler, 1934; Duddington, 1962; Tunlid *et al.*, 1992a), 포식성곰팡이는 선충이 없을 때는 포식기관을 만들지 않다가 선충을 접촉하면 포식기관을 형성한다고 보고된 바 있다(Couch, 1937). 포식기관을 형성시킬 수 있는 물질로는 선충배양 여과액, 사람의 혈청, 지렁이 추출물(Commandon and Fonbrune, 1939; Roubaud and Deschiens, 1939), yeast extract, ammonium carbonate, 1~2% ethylalcohol, 눈 녹은 물 등이 보고되었다(Soprnov, 1958).

오늘날 인구 증가에 따른 식량증산을 꾀하기 위하여 유기인산 ester계, carbamate계, pyrethroid계, 염소계 화합물 등 주로 유기합성 화합물의 사용으로 식량증산은 이루어졌으나 강력한 살충제의 사용으로 지구의 오염, 생태계 파

*Corresponding author <E-mail: khyoo@chiak.sangji.ac.kr>

과, 식물연쇄의 상위에 위치한 생물체내의 축적·농축되는 부작용, 잔류 독성으로 인한 환경오염, 지하수 및 식수오염 및 화학살충제에 저항성을 나타내는 해충의 출현 등 심각한 문제가 야기되고 있어(Hiroshi, 1995, 1996; Park, 1993), 농작물 및 농산물의 병충해 방제를 유기합성 화합물에 의존하지 않고 생물적 방제방법을 적극 도입해야 한다는 생각은 국내외적으로 보편화되어 가고 있는 추세이다.

생물적 방제법으로 활용할 수 있는 미생물 살충제로는 곤충 virus인 *Baculovirus*(이 등, 1980; Lee and Miller, 1978; Summers *et al.*, 1975)와, 세균의 독소단백질의 이용(De Barjac *et al.*, 1966), 진균류 등의 이용(민 등, 1996; 신, 1994; 유 등, 1981; Bell and Hamalle, 1980; Linford, 1937) 및 버섯을 이용한 생물적 방제에 관한 연구도 소폭적으로 이루어지고 있다(성 등, 1993; 青水大典, 1981; Breitenbach and Kranzlin, 1984; Kobayashi, 1941). 오늘날 포식성곰팡이 중 *Arthrobotrys robusta*를 이용한 버섯기생선충(*Ditylenchus myceliophagus*) 방제를 위한 Royal 300, *A. irregularis*를 이용한 뿌리혹선충 방제용 Royal 350 등

(Cayrol, 1983; Cayrol *et al.*, 1991)의 생물적 방제제가 개발되어 있으며, 최근의 선충 천적 연구동향은 선충의 유충을 공격하는 포식성곰팡이 대신에, 접종원이 되는 선충의 알이나 암컷을 직접 공격하는 기생성곰팡이들에 대한 연구가 주로 이루어지고 있으며(Kerry, 1980; Kim and Riggs, 1992; Sayre, 1986), 한편으로는 가축에 기생하는 동물 선충인 포식성곰팡이를 이용하여 이를 방제하려는 실험이 성공적으로 실시되었다(Larsen *et al.*, 1992; Nansen *et al.*, 1995).

생물농약의 사용은 점점 증가하고 있으나 우리나라에서는 전량 수입하여 사용하고 있어 외화 낭비가 되고 있으며, 또한 국내에서 세균과 바이러스 및 동충하초 등을 생물농약으로 이용하려는 연구는 미진하나마 진행되고 있지만, 식용버섯인 *Hohenbuehelia petaloides*에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구는 식용버섯이면서 생물농약으로 사용 가능한 *Hohenbuehelia petaloides*의 액체배양시 배양조건과 대량배양시 필요로 하는 최적배지를 알아보기 위하여 실

Table 1. Composition of various media (g/l)

| Ingredient | Media | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|------|----|-----|---------|------------|---------|-------|-----|-------|-------|-----|-------|------|-----|-----|-----------|
| | Cz's | Gp | YM | MY | Leoniam | Hennerberg | Hopkins | Lilly | ACM | CVM | HAM | LEM | MCM | MYG | PDM | PIM | Synthetic |
| Potato | | | | | | | | | | | | | | | | | 20 |
| Hyponex | | | | | | | | | | | 0.2 | | | | | | |
| Starch | | | | | | | | 2.0 | | | | 2.0 | | | | | |
| Bacto soytone | | | | | | | | 0.4 | | | | | | | | 0.3 | |
| Glucose | | 10 | | 10 | 25 | | 50 | 10 | | | | | | | | | 20 |
| Sucrose | | 30 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Maltose | | | | | | | | | 10 | | | | | | | | |
| Peptone | | 10 | 5 | | | | | | | | 0.4 | | | 0.2 | | | 5 |
| Yeast extract | | 10 | 3 | 5 | | | | | | 0.6 | 0.6 | 0.2 | 0.6 | 0.2 | 0.4 | | 0.2 |
| Malt extract | | 15 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | 1.0 | | 7.0 |
| DL-asparagine | | | | | | | 2 | | | 2 | | | | | | | |
| Dextrose | | | 10 | | | | | | | | | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | | 2.0 |
| NH ₄ NO ₃ | | | | | | | | | | | | | | | | 0.4 | |
| NaNO ₃ | | 3 | | | | | 2 | | | | | | | | | | |
| (NH ₄) ₂ HPO ₄ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | | 0.5 | | | 0.5 | | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.05 | 0.05 | | 0.05 | 0.05 | | | 0.5 |
| KCl | | 0.5 | | | | | | | | | | | | | | | 0.01 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | | 0.01 | | | 0.02 | | | | | | | | | | | | |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | | | | | | | 0.1 | | | | | | | | | | |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MnSO ₄ ·5H ₂ O | | | | | 0.01 | | | | | | | | | | | | 0.003 |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.03 |
| (NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.001 |
| K ₂ HPO ₄ | | 1 | | | | | | | | 0.1 | 0.1 | | 0.1 | | | | 0.003 |
| KH ₂ PO ₄ | | 1 | | | 1 | | 1 | 0.1 | 1 | 0.046 | 0.046 | | 0.046 | 0.05 | | | 1 |
| KNO ₃ | | | | | | | 2 | 2 | | | | | | | | | |
| Thiamine-HCl | | | | | | | | | | | | | | | | | 0.01 |
| pH | | 50 | 50 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |

Cz's : Czapek Dox, GP : Glucose Peptone, YM : Yeast Malt Peptone, MY : Malt Yeast Extract, ACM : *Agrocybe cylindracea* Medium, CVM : *Coriolus versicolor* Medium, HAM : Hamada Medium, LEM : *Lentinus edodes* Medium, MCM : Mushroom Complete Medium, MYG : Malt Yeast Glucose Medium, PDM : Potato Dextrose Medium, PIM : *Phellinus igniarius* Medium.

험을 하였던 바 소정의 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용 균주

실험에 사용한 공시균주는 농업과학기술원 응용미생물과에 보관중인 *Hohenbuehelia petaloides* KACC 500040 균주를 공시균주로 사용하였다.

사용한 배지

Hohenbuehelia petaloides 균주의 최적배지를 선별하기 위하여 Czapek dox medium을 포함한 17종류의 배지를 사용하였으며, 그 조성은 Table 1과 같다. 균사의 성장속도에 미치는 탄소원 및 질소원의 영향을 조사하기 위하여 사용한 기본배지의 조성은 NH_4NO_3 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KCl 0.01 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.003 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.03 g, $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$ 0.001 g, K_2HPO_4 1 g, KH_2PO_4 0.01 g, 증류수 1,000 ml로 한 후 pH를 6.0으로 조정하여 사용하였다. 균보존용 배지로는 PDA(potato dextrose agar) 배지를 사용하였으며, 실험에 사용한 모든 배지들은 121°C, 15 Lb에서 20분간 멸균하여 사용하였다.

최적배지 선별

*Hohenbuehelia petaloides*의 최적배지를 선별하기 위하여 PDA 배지에 *H. petaloides* 을 접종하여 30±1°C의 항온기에서 15일간 배양한 공시균주를 8 mm cork borer를 사용하여 균사체를 절단해서 Czapek dox 배지를 포함한 17종류의 액체배지에 접종한 후 여과지로(Watman No. 2) 배양한 균사체를 여과하여 80°C로 24시간 건조시킨 후 각 배지에서 성장한 건조균체량을 측정하여 최적배지를 선별하였다.

배양방법

250 ml 삼각플라스크에 17종의 배지를 100 ml씩 일정하게 조제한 후 121°C에서 15분간 고온 가압 살균한 다음 공시균을 접종하여 30±1°C의 항온기에서 20일간 배양하였다.

탄소원 선별 및 최적농도

균사의 성장속도에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 탄소원으로 glucose, fructose, xylose, mannose, galactose, dextrose, maltose, saccharose, lactose, raffinose, soluble starch, dextrin, adonitol, D-cellobiose 등 14종류의 탄소원을 각각 1%씩 첨가하고 pH는 6.0으로 조정한 다음 250 ml 삼각플라스크에 100 ml씩 배지를 일정하게 분주하여 121°C에서 20분간 살균 후 공시균주를 접종하고 균사생육을 조사하였다. 또한 선별된 탄소원은 탄소원 농도를 1.0~10%까지 농도를 달리하여 배지를 제조한 후 균을 배양하여 건조 균체량을 조사하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선별방법과 동일하게 시행하였다.

질소원 선별 및 최적농도

균사의 성장속도에 미치는 질소원의 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 무기질소원으로 ammonium chloride, ammonium oxalate, ammonium phosphate monobasic, dibasic, ammonium nitrate, sodium nitrate 6종류와 유기질소원으로 peptone, tryptone, soytone, yeast extract, malt extract, urea, casamino acid 7종류 및 L-asparagine, L-glutamic acid, argine, methionine, valine, histidine, proline, aspartic acid, cystein, leucine, glutamine, threonine 등 12종류의 아미노산을 포함한 총 25종류의 질소원을 각각 0.1% 되게 첨가하고 pH는 6.0으로 조정한 다음 탄소원 선별방법과 동일하게 시행하여 최적질소원을 선별하였다. 균사생육이 양호한 최적질소원은 질소원 농도를 0.1%에서 1.0%까지 각각 달리하여 배지를 제조한 후 균을 배양하고 건조균체량을 조사하여 최적농도를 조사하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선별 방법과 동일하게 시행하였다.

Yeast extract의 영향

성장속도가 가장 빠르고 균사 생산량이 양호한 탄소원 및 질소원을 적정 농도로 혼합하여 최적배지(10% dextrin + 1% soytone + 0.3% NH_4NO_3)를 만들었다. 여기에 비타민 및 기타 성장 요인으로서 yeast extract를 0%에서 1.0%로 각각 달리하여 pH를 6.0으로 조정한 다음 공시균주를 접종하여 yeast extract의 영향을 조사하여 최적 농도를 알아 보았다. 균의 접종과 배양 및 건조균체량 측정방법은 최적배지 선별방법과 동일하게 시행하였다.

무기염류의 영향

대부분의 버섯영양배지에 공통으로 첨가되는 무기염류인 KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지에서 균사의 성장속도를 조사하기 위하여 yeast extract의 영향을 조사하고자 하였던 최적배지에 상기 무기염류를 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지를 제조한 후 각각의 배지에 공시균주를 접종하여 배양한 후 건조균체량을 측정하여 무기염류의 영향을 조사하였다. 균의 접종방법과 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선별방법과 동일하게 시행하였다.

최적 배양온도

균사생장에 적합한 온도를 조사하기 위하여 기본배지에 10% dextrin, 1% soytone, 0.3% NH_4NO_3 를 첨가한 배지에 공시균주를 접종한 후 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50°C의 항온기에서 20일간 각각 배양한 다음 건조균체량을 측정하여 최적온도를 조사하였다. 균의 접종과 배양 및 건조균체량 측정은 이전의 방법과 동일하게 시행하였다.

최적 pH

배지 조성 실험에서 확인된 최적 액체배지의 pH를 0.1 N HCl과 NaOH로 pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9로 조절한 후 최적 배양온도에서 20일간 배양한 다음 건조균체량을 측정하여

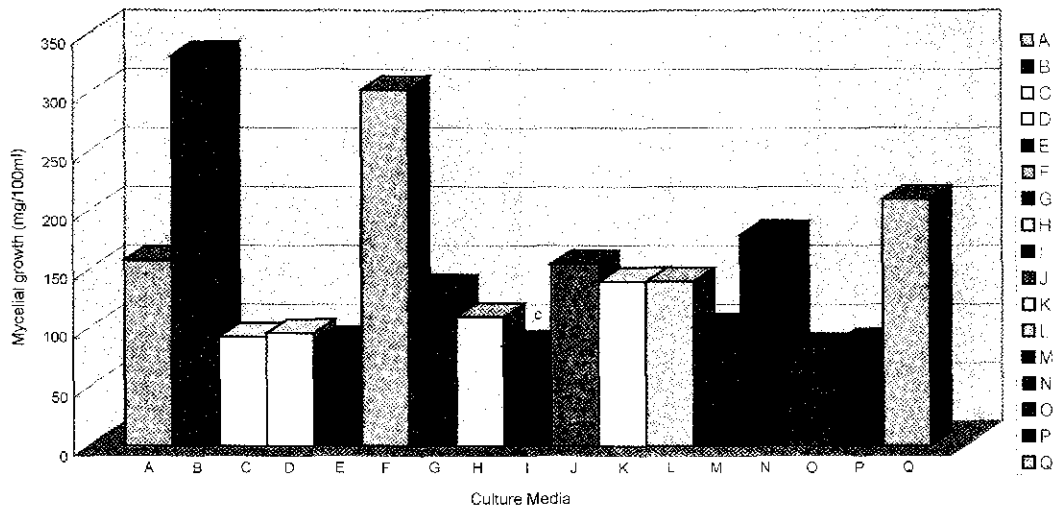


Fig. 1. Mycelial growth of *H. petaloides* in different culture media.

A : Czapek dox, B : Glucose Peptone, C : Yeast Malt Peptone, D : Melt Yeast Extract, E : Leonian, F : Hennerberg, G : Hopkins, H : Synthetic, I : Lilly, J : *Agrocybe cylindracea* Medium (ACM), K : *Coriolus versicolor* Medium (CVM), L : Hamada Medium (HAM), M : Potato Dextrose Medium (PDM), N : *Lentinus edodes* Medium (LEM), O : Mushroom Complete Medium (MCM), P : Malt Yeast Glucose Medium (MYG), Q : *Phellinus igniarius* Medium (PIM).

최적 pH를 조사하였다. 균의 접종과 배양 및 건조균체량 측정은 이전의 방법과 동일하게 시행하였다.

결과 및 고찰

최적배지 선발

*Hohenbuehelia petaloides*의 균사생육이 인공합성배지 중에서 가장 적합한 배지를 선발하고자 Czapek dox 배지를 포함한 17종류의 배지를 제조하여 균사생장을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 균사생장은 Glucose peptone(GP) 배지, Hennerberg 배지, *Phellinus igniarius* 배지(PIM), *Lentinus edodes* 배지(LEM), Czapek dox 배지, 합성배지에서 양호하였고, Hamada 배지, Mushroom complete배지(MCM), Lilly 배지, Malt yeast glucose 배지(MYG), Leonian 배지에서는 균사의 생장이 저조하여 공시균의 배양에는 부적합한 것으로 나타났다.

김 등(1988)이 보고한 버섯송이의 균사생장에 Glucose peptone 배지가 적합하다는 결과와 일치하는 면을 나타냈으나, 지 등(1996)은 *Phellinus linteus*의 최적배지는 YM 배지가 적합하다고 하였고, 차(1981)는 *Auricularia auricula-judae* 버섯은 modified Hamada 배지가 양호하다고 하였다. 이와 같은 실험결과로 버섯은 종류에 따라 최적배지가 다르다는 것을 알 수 있으며, 본 연구에서 사용한 *H. petaloides*의 균사생장은 복합질소원이 함유된 배지들에서 균사생장이 양호한 것으로 나타났다.

탄소원의 영향

탄소원은 균류에 있어서 탄수화물, 단백질, 지질, 핵산 등의 합성과 에너지 공급원으로서 균주의 생장에 필수적

인 영양원이다. 14종의 탄소원이 *H. petaloides*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같이 당류에 대하여 광범위한 적응성을 보이고 있으나 다당류인 dextrin이 가장 양호하였고, 단당류인 fructose와 이당류인 lactose에서도 균사의 생장은 양호하였으나 단당류인 glucose와 xylose, 삼당류인 raffinose와 다당류인 soluble starch에서는 균사생장이 저조하였다. 그리고 탄소원의 최적농도에서는 Table 3과 같이 10% dextrin과 fructose에서 균사생장이 양호하였다.

이러한 결과는 Ishikawa(1967)가 표고버섯을 액체배양했을 때 glucose가 가장 양호하였다는 결과와 Kanayama(1983) 등이 장수버섯의 배양적 특성에서 탄소원의 이용성

Table 2. Effect of Carbon sources for the mycelial growth of *H. petaloides* in the basal medium

| Carbon sources (1%) | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
|---------------------|---|----------|
| Glucose | 90 | 5.5 |
| Fructose | 155 | 4.3 |
| Xylose | 105 | 5.4 |
| Mannose | 119 | 5.3 |
| Galactose | 135 | 5.7 |
| Dextrose | 135 | 5.2 |
| Maltose | 140 | 5.9 |
| Saccharose | 133 | 5.1 |
| Lactose | 141 | 5.6 |
| Raffinose | 116 | 5.5 |
| Soluble starch | 101 | 6.0 |
| Dextrin | 195 | 5.9 |
| Adonitol | 118 | 5.8 |
| D-cellobiose | 144 | 5.7 |
| Control | 68 | 6.2 |

Table 3. Effect of different concentrations of dextrin and fructose on the mycelial growth of *H. petaloides*

| Concentrations of carbon source (%) | Dextrin | | Fructose | |
|-------------------------------------|---|----------|---|----------|
| | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
| 1 | 75 | 6.1 | 83 | 4.7 |
| 2 | 134 | 6.1 | 97 | 4.6 |
| 3 | 189 | 5.3 | 142 | 4.4 |
| 4 | 263 | 6.0 | 154 | 4.2 |
| 5 | 585 | 6.1 | 179 | 4.3 |
| 6 | 704 | 6.4 | 237 | 4.0 |
| 7 | 870 | 5.9 | 302 | 4.4 |
| 8 | 891 | 5.9 | 328 | 4.0 |
| 9 | 979 | 5.7 | 346 | 4.0 |
| 10 | 1290 | 5.8 | 387 | 4.0 |

을 조사한 결과 soluble starch와 glucose 등을 가장 잘 이용한다는 보고와 상반되는 경향을 나타냈으며, 김 등 (1997)이 큰 느타리버섯균의 인공재배에 관한 연구에서 dextrin이 균사생장에 양호하다는 결과와 지 등(1996)이 목질진흠버섯균의 균사체 생육에 미치는 주요 인자에 관한 연구에서 3당류인 raffinose와 다당류인 starch는 균사생장이 저조하였다는 결과와 일치하는 경향을 보였다.

버섯에 따라 적합한 탄소원도 다르게 보고되어, 홍 등 (1986)은 영지버섯 균사생장에 soluble starch와 cellobiose가 가장 양호하다고 하였고, 팽이버섯에서는 mannitol이 균사생장과 자실체 형성에 가장 효과가 있다고 보고하였다. 또한 표고버섯에서는 glucose(김 등, 1987), 버들송이는 starch, inulin, dextrin(김 등, 1988), 잣버섯은 galactose(김 등, 1994), 개암버섯은 sorbitol(강 등, 1994)이 균사생장에 양호한 탄소원으로 보고되었던 바 버섯 종류별로 적합한 탄소원이 다른 것으로 판단된다.

질소원의 영향

질소원은 세포질을 구성하고 있는 주요 성분의 합성에 필수적인 영양원으로 본 연구에서 25종의 질소원이 *H. petaloides*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 4와 같이 유기태질소원인 cassamino acid와 amino acid류인 histidine을 첨가한 배지에서 균사생장이 양호하였으며, 복합질소원인 tryptone을 첨가한 배지와 무기태질소원인 ammonium oxalate를 첨가 한 배지에서도 균사생장이 양호하였으나 sodium nitrate 첨가시에는 균사의 생장이 저조하였다. *H. petaloides*는 아미노산류에 대하여 광범위한 적응성을 나타냈으며, 모든 복합질소원에서도 양호한 생장을 나타냈다. 그리고 질소원의 최적농도에서는 Table 5와 Table 6에서와 같이 복합질소원은 1% soytone, 무기태질소원은 0.3% ammonium nitrate가 첨가된 배지에서 균사생장이 가장 양호하였다.

버섯 종류별 질소원에 대한 연구 결과로는 잣버섯이나 영지, 표고, 고온성 양송이, 느타리버섯은 복합질소원인 peptone이 균사생장에 양호하다고 하였고(김 등, 1994; 홍

Table 4. Effect of nitrogen sources for the mycelial growth of *H. petaloides* in the basal medium

| Nitrogen sources (0.1%) | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
|--|---|----------|
| Ammonium chloride | 89 | 4.3 |
| Ammonium oxalate | 157 | 5.8 |
| (NH ₄) ₂ HPO ₄ | 110 | 4.2 |
| NH ₄ H ₂ PO ₄ | 77 | 4.0 |
| Ammonium nitrate | 127 | 2.8 |
| Sodium nitrate | 64 | 5.2 |
| Peptone | 154 | 5.6 |
| Tryptone | 196 | 5.3 |
| Soytone | 191 | 5.4 |
| Yeast extract | 180 | 6.3 |
| Malt extract | 184 | 6.4 |
| Urea | 147 | 6.5 |
| Casamino acid | 174 | 6.0 |
| L-asparagin | 140 | 6.1 |
| L-glutamic acid | 159 | 6.3 |
| Arginine | 127 | 6.2 |
| Methionine | 141 | 6.0 |
| Valine | 170 | 6.3 |
| Histidine | 171 | 6.1 |
| Aspartic acid | 158 | 5.9 |
| Proline | 158 | 5.8 |
| Cysteine | 120 | 6.3 |
| Leucine | 135 | 6.2 |
| Glutamine | 136 | 5.9 |
| Threonine | 145 | 6.0 |
| Control | 62 | 5.7 |

등, 1981, 1983; 김 등, 1987), 김 등(1988)은 버들송이 균사생장시 아질산태인 NaNO₂는 질소원으로 전혀 이용하지 못한다는 보고와는 상이한 결과를 나타냈다. *H. petaloides*의 질소원은 복합질소원인 tryptone이나 soytone이 아미노산류보다 적합한 것으로 판단된다.

Yeast extract의 영향

*H. petaloides*에 대한 탄소원 및 질소원의 최적 조합배지에 yeast extract를 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1% 농도로 조절하여 균사생장에 미치는 yeast extract

Table 5. Effect of different concentrations of tryptone and soytone on the mycelial growth of *H. petaloides*

| Concentrations of organic nitrogen source (%) | Tryptone | | Soytone | |
|---|---|----------|---|----------|
| | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
| 0.1 | 69 | 5.2 | 69 | 5.0 |
| 0.2 | 68 | 5.1 | 70 | 5.3 |
| 0.3 | 77 | 5.1 | 71 | 5.6 |
| 0.4 | 78 | 4.9 | 74 | 5.1 |
| 0.5 | 82 | 5.6 | 77 | 5.7 |
| 0.6 | 90 | 5.4 | 80 | 5.3 |
| 0.7 | 91 | 5.5 | 83 | 6.0 |
| 0.8 | 94 | 5.4 | 91 | 5.0 |
| 0.9 | 95 | 5.4 | 94 | 5.1 |
| 1.0 | 97 | 5.2 | 103 | 5.5 |

Table 6. Effect of different concentrations of ammonium oxalate and ammonium nitrate on the mycelial growth of *H. petaloides*

| Concentrations of inorganic nitrogen source (%) | Ammonium oxalate | | Ammonium nitrate | |
|---|---|----------|---|----------|
| | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
| 0.1 | 75 | 5.3 | 133 | 4.0 |
| 0.2 | 81 | 5.4 | 137 | 3.2 |
| 0.3 | 83 | 6.3 | 162 | 2.7 |
| 0.4 | 84 | 5.6 | 158 | 2.5 |
| 0.5 | 91 | 5.7 | 94 | 2.8 |
| 0.6 | 128 | 6.9 | 84 | 2.6 |
| 0.7 | 101 | 6.1 | 73 | 2.6 |
| 0.8 | 88 | 5.3 | 71 | 2.6 |
| 0.9 | 86 | 5.4 | 70 | 2.5 |
| 1.0 | 81 | 5.3 | 63 | 2.5 |

Table 7. Effect of yeast extract concentrations on the mycelial growth of *H. petaloides* on the optimum carbon and nitrogen sources

| Yeast extract (%) | Mycelial dry weight (mg/100 ml/20 days) | Final pH |
|-------------------|---|----------|
| 0 | 156 | 4.8 |
| 0.1 | 249 | 5.7 |
| 0.2 | 348 | 5.4 |
| 0.3 | 722 | 5.6 |
| 0.4 | 873 | 5.6 |
| 0.5 | 803 | 5.8 |
| 0.6 | 765 | 5.4 |
| 0.7 | 750 | 4.8 |
| 0.8 | 722 | 5.1 |
| 0.9 | 622 | 4.9 |
| 1.0 | 459 | 4.9 |

의 효과를 조사한 결과 Table 7과 같이 *H. petaloides*의 경우는 탄소원으로 10% dextrin과 복합 질소원으로 1% soyton, 무기태 질소원으로는 0.3% ammonium nitrate를 조합한 배지에 yeast extract를 0.4% 첨가했을 때 균사생장이 가장 좋은 것으로 나타났다.

일반적으로 균사생장에 영향을 미치는 yeast extract의 최적농도는 0.2%~0.6%인데, 본 실험에서도 *H. petaloides*는 0.4%의 yeast extract를 요구하는 것으로 나타났다.

Table 8. Effect of mineral salts on the mycelial growth of *H. petaloides* on the optimum carbon and nitrogen sources

| Mycelial growth | Without mineral salts | With mineral salts |
|--|-----------------------|--------------------|
| Dry weight of mycelium (mg/100 ml/20 days) | 333 | 920 |
| Final pH | 4.2 | 5.4 |

정 등(1997)이 화학합성배지 및 곡물을 이용한 *Phellinus igniarius*의 균사체 배양조건에 관한 연구에서 yeast extract의 최적농도가 0.2%를 나타낸 결과와 유사한 결과를 나타냈다.

무기염류의 영향

버섯의 영양배지에 일반적으로 첨가되는 무기염류(KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%)를 질소원 및 yeast extract의 최적합 배지에 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지에서의 균사생장을 조사한 결과 Table 8과 같이 *H. petaloides*는 첨가했을 경우 첨가하지 않은 경우보다 3배의 균사생장이 좋은 것으로 나타났다. 정 등(1997)이 *Phellinus igniarius*의 균사체 배양 조건에 관한 연구에서 무기염류의 첨가 여부가 균사생장에 별 영향을 미치지 않았다는 연구 결과와는 상반된 경향을 나타냈다.

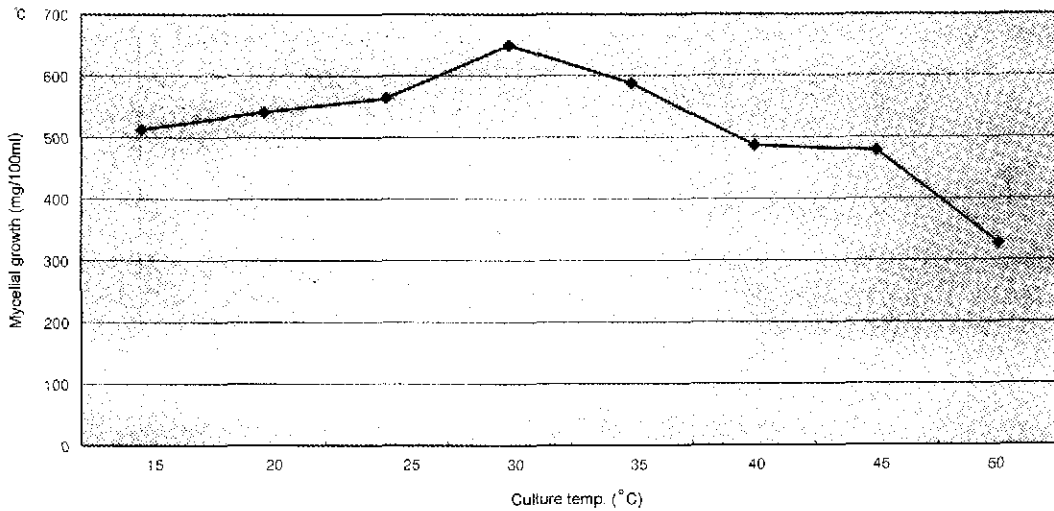


Fig. 2. Effect of temperature on the mycelial growth of *H. petaloides*.

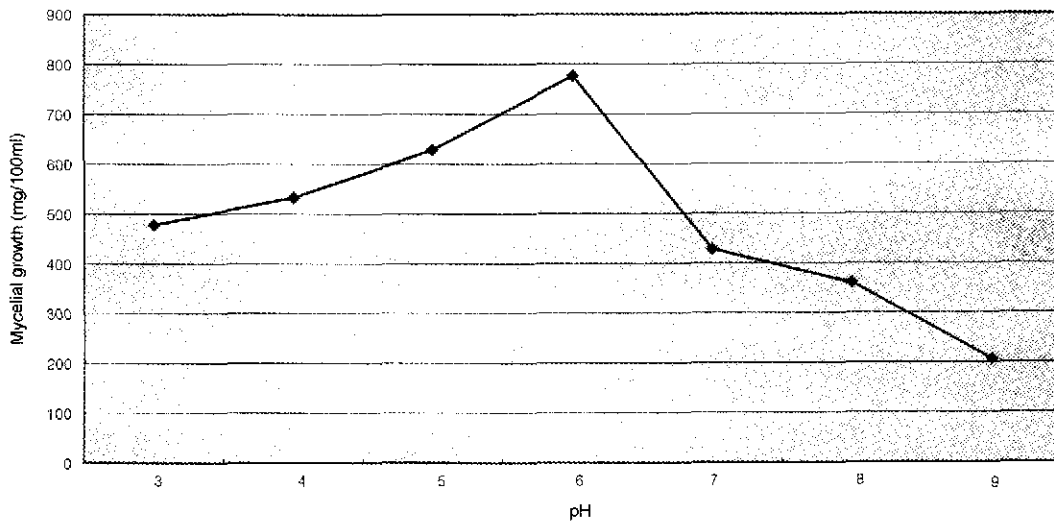


Fig. 3. Effect of pH on the mycelial growth of *H. petaloides*.

최적배양온도

*H. petaloides*의 균사생장 최적온도를 규명하기 위하여 15°C에서 5°C 간격으로 50°C까지 배양온도를 각각 달리하여 균사생장량을 조사한 결과 Fig. 2에서와 같이 30°C에서 650 mg으로 균사생장이 가장 양호한 것으로 나타났으며 40°C 이상에서는 균사생장율이 다소 낮아졌다.

버섯 종류별 최적온도에 관한 연구 결과로 *Phellinus igniarius*(정 등, 1997), 장수버섯(장 등, 1995), 영지버섯(홍 등, 1981, 1986)은 30°C가 최적배양온도 라는 결과와 일치하는 경향을 나타냈으며 잣버섯(김 등, 1994)과 개암버섯(강 등, 1994)은 25°C가 최적온도였다는 결과와 유사한 경향을 나타냈다.

최적 pH

균사생장에 적합한 최적 pH 범위를 규명하기 위하여 배지의 pH를 3.0에서 9.0까지 각각 달리하여 균사생장량을

측정한 결과 Fig. 3에서와 같이 pH 6.0에서 776 mg으로 균사생장이 가장 양호한 것으로 나타났으며 pH 7 이상에서는 균사생장이 극히 저조하였다.

pH 범위는 버섯에 따라서 느타리는 6.2~6.5(Hashimoto and Takahashi, 1974), 표고는 4.0~4.5(송 등, 1987), 영지 5.0(홍 등, 1986), 복령 4.0(홍 등, 1990) 목질진흙버섯(지 등, 1994)은 4.2, 개암버섯(강 등, 1994)은 5.0~6.0, 장수버섯(장 등, 1995)은 6.0, 큰느타리버섯(김 등, 1997)은 6.0으로 보고되었다. *H. petaloides*는 다른 종류의 버섯들과 유사한 최적 pH를 나타내는 경향을 보였다.

결 론

*Hohenbuehelia petaloides*는 주름버섯목 송이과에 속하는 담자균류로 식용으로도 이용되며, 영양균사 형성 시 균사체에 끈끈이분을 형성하여 토양선충을 방제할 수 있는 생

물농약으로도 개발 가능한 담자균류이다.

본 연구는 식용버섯 자원이며 생물농약 자원으로 활용할 수 있는 *H. petaloides*를 액체배양에 의한 균사체의 대량생산을 위한 배양조건 및 배지조성에 관하여 실험을 수행한 것으로 그 결과는 다음과 같다.

1. 균사체 배양의 최적온도는 30°C이었다.
2. 균사체 배양의 최적 pH는 6.0이었다.
3. 균사생장 증식에 적합한 배지는 Glucose peptone(GP) 배지 Hennerberg 배지, PIM, LEM, Cz's dox 배지이었다.
4. 균사생장에 양호한 탄소원으로는 다당류인 dextrin과 단당류인 fructose, 이당류인 lactose이었으며, 최적농도는 dextrin과 fructose 모두 10%이었다.
5. 균사생장에 양호한 질소원으로는, 복합질소원으로 tryptone, 무기태 질소원으로는 ammonium oxalate, 아미노산류로는 histidine이 양호하였다. 최적농도는 1% soytone과 0.3% ammonium nitrate가 첨가된 배지에서 가장 양호하였다.
6. Yeast extract의 영향은 0.4% 농도가 최적농도이었다.
7. 무기 염류에 대한 영향은 무기염류(0.046% KH_2PO_4 , 0.1% K_2HPO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)를 첨가했을 때가 첨가하지 않았을 때보다 균사생장율이 3배나 더 증가하였다.

참고문헌

- 강인석, 차동열, 홍인표, 장현유, 유승헌. 1994. 개암버섯의 균사생장에 영향을 미치는 배양조건에 관한 연구. *한국균학회지* **22**(2): 153-159.
- 김한경, 박용환, 차동열, 정학재. 1987. 표고버섯 톱밥 인공재배에 관한 연구. *한국균학회지* **15**(1): 42-47.
- 김한경, 박정식, 김양섭, 차동열, 박용환. 1988. 버들송이의 균사생장 조건에 관한 연구. *농시논문집* **30**(3): 141-150.
- 김한경, 박정식, 차동열, 김양섭, 문병주. 1994. 갯버섯 인공재배에 관한 연구(I)-균사체 배양조건에 관하여. *한국균학회지* **22**(2): 145-152.
- 김한경, 정종천, 장현유, 김광포, 차동열, 문병주. 1997. *Pleurotus eryngii*(큰느타리버섯)균의 인공재배(I). *한국균학회지* **25**: 305-310.
- 민태진, 김은미, 유선호. 1996. 한국산 버섯추출물의 항진균 및 항세균 활성 검색(II). *한국균학회지* **24**: 25-37.
- 성재모, 김천환, 양근주, 이현정, 김양섭. 1993. 동충하초속 균의 분포 및 *Cordyceps militaris*와 *C. nutans*의 이용에 관한 연구. *한국균학회지* **21**: 94-105.
- 신현동. 1994. 우리나라에서 흰가루병균을 침해하는 증복기생균의 분리 및 동정. *한국균학회지* **9**: 193-197.
- 유관희, 최영희, 이형환. 1981. Nematode에 기생하는 진균의 분리. *한국균학회지* **9**: 193-197.
- 이형환, 이경로, 민은숙, 정혜정, 염마옥. 1980. 미생물 살충제인 곤충바이러스의 분리와 전자현미경적 연구. *K. J. Virol.* **10**: 27-32.
- 장현유, 차동열, 강인석, 홍인표, 김광포, 석순자, 유영진, 성재모. 1995. 장수버섯의 배양적 특성. *한국균학회지* **23**: 238-245.
- 정인창, 김선희, 권용일, 김소연, 이종숙, 박 신, 박경숙, 이재생. 1997. 화학합성배지 및 곡물을 이용한 *Phellinus igniarius*의 균사체 배양조건. *한국균학회지* **25**: 133-142.
- 지정현, 하태문, 김영호, 노영덕. 1996. 목질진흙버섯균 *Phellinus linteus*의 균사체 생육에 미치는 주요인자에 관한연구. *한국균학회지* **24**: 214-222.
- 차동열. 1981. 야생 식용버섯의 인공재배 검토(II). *한국균학회지* **9**(3): 123-128.
- 홍인표, 이해웅. 1990. 복령의 배양학적 특성에 관한 연구. *한국균학회지* **18**(1): 42-49.
- 홍재식, 권용주, 정기태. 1983. 담자균류에 관한 연구(2). 느타리와 복이의 진탕배양에 의한 균사체 생산에 관하여. *한국균학회지* **11**(1): 1-7.
- 홍재식, 이종배, 고무석, 김정숙, 이극노, 김명곤, 정기태. 1986. 합성배지에서 불노초가 생산하는 섬유소 분해효소에 관한 연구. *한국균학회지* **14**(2): 121-130.
- 靑水大典, 1981. 冬蟲夏草. 東京.
- Anderson, M. G., Jarman, T. B. and Rickards, R. W. 1995. Structures and absolute configurations of antibiotics of the oligosporon group from the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *J. Antibiotics* **48**: 391-398.
- Arora, D. 1986. Mushrooms demystified. pp. 136-137. Ten Speed Press Berkeley, California.
- Balan, J. and Gerber, N. 1972. Attraction and killing of nematode panagrellus redivivus by the predacious fungus *Arthrobotrys dactyloides*. *Nematologica* **18**: 163-173.
- Barron, G. L. 1977. The nematode-trapping fungi. 140 p. in: Canadian Biological Publication, Guelph, Ontario, Canada.
- Bell, J. V. and Hamalle, R. J. 1980. *Heliothis zea* larval mortality time from topical and *pre os* dosages of *Nomuraea rileyi* conidia. *J. Invert. Path.* **35**: 182-185.
- Breitenbach, J. and Kranzlin, F. 1984. Fungi in Switzerland. Vol. i. Ascomycetes. 310.
- Cayrol, J. C. 1983. Biological control of meloidogyne by *Arthrobotrys irregularis*. *Rev. Nematol* **6**: 265-273.
- Cayrol, J. C., Frankowski, J. P., Lanza, R. and Tamonte, M. 1991. Nematodes in kiwifruit culture. Biological control trials with the nematophagous fungus T-350. *Rev. Horet.* **313**: 54-56.
- Commandon, J. and de Fonbrune, P. 1939. De la formation et du fonctionnement des pieges des champignons predateurs des nematodes. Recherches effectuees a l' aide de la micromanipulation et de la cinematographie. *C. R. Acad. Sci. Paris* **207**: 304-305 (in Barron, 1977).
- Couch, J. N. 1937. The formation and operation of the traps in the nematode-catching fungus, *Dactylella bembicodes* Drechsler. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* **53**: 301-309.
- De Barjac, H., Burgerjon, A. and Bonnefoi, A. 1966. The production of heat-stable toxin by nine serotype of *Bacillus thuringiensis*. *J. Invert. Path.* **8**: 536-538.
- Drechsler, C. 1933. Morphological diversity among fungi capturing and destroying nematodes. *J. Wash. Acad. Sci.* **23**: 138-141.
- Drechsler, C. 1933a. Morphological features of some more fungi that capture and kill nematodes. *J. Wash. Acad. Sci.* **23**: 267-270.

- Drechsler, C. 1934. Organs of capture in some fungi preying on nematodes. *Mycologia* **26**: 135-144.
- Duddington, C. L. 1962. Predacious fungi and the control of eelworms. In: Viewpoints in Biology. Vol. 1 (C. L. Duddington and J. D. Carthy, Eds.) Butterworths, London.
- Fresenius, G. 1852. Beitrage zur Mykologie. Heft 1-2. pp. 1-80 (in Barron, 1997).
- Hashimoto, K. and Takahashi, Z. 1974. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. *Mush. Sci.* **IX**: 585-593.
- Hibbett, D. S. and Thorn, R. G. 1994. Nematode-trapping in *Pleurotus tuberregium*. *Mycologia*. **86**: 696-699.
- Hiroshi, H. 1995. Trend of characteristics of recently developed insecticides and problems on their use. *Agri. Tech.* **50**(10): 433-450.
- Hiroshi, H. 1996. Characteristics of newly developed insecticides and problems on their use. *Plant Protection* **50**(11): 446-450.
- Hong, J. S., Lee, K. S. and Choi, D. S. 1981. Studies on Basidiomycetes (1) On the Mycelial growth of *Agaricus bitorguis* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **9**: 19-24.
- Ishikawa, H. 1967. Physiological and ecological studies on *Lentinus edodes* (Berk). *Sing. J. Agric. Lab.* **8**: 1-53.
- Kanayama, H., Adachi, N. and Togami, M. 1983. A new anti-tumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos*. *Wolf. Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1115-1118.
- Kerry, B. 1980. Biocontrol: Fungal parasites of female cyst nematodes. *J. Nematol.* **12**: 253-259.
- Kim, D. G. and Riggs, R. D. 1992. Biological control. pp. 133-142 in R. D. Riggs and J. A. Wrather, eds. Biology and management of the soybean cyst nematode. St. Paul, Minnesota: APS Press.
- Kobayashi, Y. 1941. The genus *Cordyceps* and its allies. *Sci. Rept. Tokyo. Bunr. Daig., Sect. B.* **5**: 260.
- Larsen M., Wolstrup, J., Henriksen, S. A., Gronvold, J. and Nansen, P. 1992. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. *J. Helmin.* **66**: 137-141.
- Lee, H. H. and Miller, L. K. 1978. Isolation of genotype variants of *Autographa californica* NPV. *J. Virol.* **27**: 754-767.
- Linford, M. B. 1937. Stimulated activity of natural enemies of nematodes. *Science* **85**: 123-124.
- Nansen, P., Larsen, M., Gronvold, J., Wolstrup, J., Zorn, A. and Enriksen, S. A. T. I. 1995. Prevention of clinical trichostrongylidosis in calves by strategic feeding with the predacious fungus *Duddingtonia flagrans*. *Parasitol. Res.* **81**: 371-374.
- Park, C. K. 1993. The biochemistry and uses so pesticides. 2nd. (ED.) Shinil Co. 697 p.
- Roubaud, M. E. and Deschiens, R. 1939. Sur les agents de formation des dispositifs de capture chez les Hyphomycetes predateurs de nematodes. *C. R. Seances Mem. Soc. Biol.* **209**: 77-79 (in Barron, 1977).
- Saikawa, M. and Wada, N. T. I. 1986. Adhesive knobs in *Pleurotus ostreatus* (the oyster mushroom), as trapping organs for nematodes. *Trans. Mycol. Soc. Japan.* **27**: 113-118.
- Sayre, R. M. 1986. Pathogens for biological control of nematodes. *Crop Protect.* **5**: 268-276.
- Soprunov, F. F. 1958. Predacious fungi Hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes. Academy of Sciences of the Turkmen SSR. 1958, Translated from Russian. 292 p.
- Summers, M., Engler R., Falcon, L. A. and Vail, P. 1975. Baculoviruses for insect pest control. safty consideration. Ed. by Asn.
- Tunlid, A., Jansson, H. B. and Nordbring-Hertz, B. 1992a. Fungal attachment to nematodes. *Mycol. Res.* **96**: 401-412.
- Tunlid, A., Rosen, S. and Nordbring-Hertz, B. 1992b. Molecular mechanisms of adhesion in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. *J. Mycol. Medic.* **2**: 36-42.
- Woronin, M. 1870. *Sphaeria lemneae*, *Sordaria coprophila*, *Arthrobotrys oligospora*. In Bettr. Morph. Physiol. Pilze. III. (A. de Bary and M. Woronin, Eds.) Abhandl. *Senckenbergische naturf. Ges.* **7**: 325-360 (in Barron, 1977).
- Zopf, W. 1888. Zur Kenntnis der Infektions-krankheiten neidered thiere und pflanzen. *Nova Acta Lep. Carol.* **52**: 314-376 (in Barron, 1977).