

## 고체 매질을 이용한 松栉(*Tricholoma matsutake*)균 배양

李胃愼<sup>1\*</sup> · 安珍權<sup>1</sup> · 賈康鉉<sup>2</sup> · 朴 賢<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원 생물공학과, <sup>2</sup>국립산림과학원 화학미생물과

## Culture of *Tricholoma matsutake* Mycelium using Solid Matrix

Wi Young Lee<sup>1\*</sup>, Jin Kwon Ahn<sup>1</sup>, Kang Hyeon Ka<sup>2</sup> and Hyun Park<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div. of Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

<sup>2</sup>Div. of Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

**요 약:** 송이균의 환경조건에 따른 성장특성을 구명하고자 송이균을 고체매질을 이용하여 배양하였다. 고체매질에서의 송이균의 성장량은 에르고스테롤 함량을 분석하여 비교하였다. 송이균의 배양에 적합한 고체매질은 펄라이트와 마사토로 나타났으며 곡물 영양분으로는 보리가 우수하였다. 적정화된 고체배지에서 송이균의 생장은 송이균의 접종 후 2주부터 급격히 성장하였으며 8주 경에 최고의 성장량을 나타냈다. 송이균 배양에 적합한 수분함량은 30~70%였으며 부엽토 첨가(10%)가 생장에 더욱 양호하였다. 이러한 결과는 송이산지에서 토양유기물이 적절히 있고 토양수분이 높을 때에 송이균의 생장이 왕성할 것으로 추정할 수 있다. 고체배지에서 송이균사체를 접종 후 2주부터 급격히 성장하였으며 8주 경에 최고의 성장량을 나타냈다. 이러한 고체매질은 앞으로 송이 균사체의 생리연구에 이용될 수 있을 것이다.

**Abstract:** This study was conducted to develop optimal solid culture medium for *Tricholoma matsutake*. As the solid matrix, granitic soil, perlite, vermiculate, pine sawdust and peat moss were compared regarding their effected on mycelial growth. Ergosterol content which is a fungal wall component was used as the growth index of the mycelia. Among the various solid matrixes, the granitic soil, perlite and mixture of the two supported the growth most. Barely flour appeared to be very effective on the stimulating of the mycelial growth when added to the solid matrix. An mixture of the matrix contained an even (1:1:1:1, v/v/v/v) mixture of granitic soil, perlite, vermiculate and pine sawdust. *T. matsutake* started growth 2 weeks after inoculation and reached stationary growth phase after 8th weeks in the solid matrix mixture. The mycelial density in the solid matrix was 7 times higher than that in fairy-ring soil. In addition, 30~70% water content and 10% humus soil in the solid matrix also supported good growth suggesting that *T. matsutake* needs humus soil for a nutrient sources. The solid matrix developed in the present study could be used to study physiological characteristics of *T. matsutake* as well.

**Key words :** *Tricholoma matsutake*, *solid media*, *ergosterol*, *mycelial culture*, *humus soil*

### 서 론

송이는 최근 소나무림의 노령화, 소나무 재선충, 산불 등으로 소나무 숲의 감소와 내음성이 강한 참나무류의 침입, 소나무 임지의 비옥화 등의 원인으로 우리나라와 일본에서 그 생산량이 감소하고 있다(Koo and Bilek, 1998;

Wang *et al.*, 1997). 이처럼 감소하는 송이의 생산량을 증가시키기 위한 일환으로 송이 발생지의 환경에 대한 연구(강안석 등, 1989; 조덕현과 이경준, 1995; 박현 등, 1995), 송이균환 형성에 대한 연구(Ogawa, 1975; 伊藤 勝와 小川, 1979) 및 송이 균환 확장을 위한 인위적인 균근 형성(이태수 등, 1984; Alexis *et al.*, 2000) 등의 연구가 진행되었으나 아직 뚜렷한 생산 증진효과는 명확하게 검증되지 못한 상태이다. 한편 Yamada 등(1999)은 소나무 유묘를 이용한 인위적 균근 형성에 성공하였음을 보고하면서 송이 재배의 가능성을 시사하기도 하였지만, 송이 생산과 관련되는 연구는 주로 현장에서 산림환경을 대상으로 하여 매우 더

\*Corresponding author  
E-mail: lwy20@foa.go.kr

이 논문은 2000~2006년도 농림부 농림기술개발사업의 “송이 생산성 향상을 위한 재배기술 개발” 과제(2000-300009-6)에 의해 수행되었음.

디게 진행되어 왔다.

실험실로 옮겨서 송이 연구가 진행되면서, 송이균사의 인공배양을 위해 액체배양을 통한 다양한 배양방법 연구가 진행되었다. Hamada (1950)가 송이균 배양을 위한 배지를 소개한 이후, Ohta(1990)가 균근성 균사를 배양하기 위한 액체배지의 물리, 화학적인 특성을 구명하였고, Lee 등(1997)은 송이균사의 액체배양을 위한 적절한 배지조성을 구명하였으며, 현재는 액체배양조건에서 대량배양을 위한 생물반응기내에서의 균사 성장특성 및 배지의 조성 변화 등과 관련한 연구(Kawagoe *et al.*, 1999; 이위영 등, 2002; 2003)가 진행되어 기내에서 송이 균사의 대량배양이 가능한 상태이다.

하지만 송이 재배를 위해서는, 이러한 송이균사의 액체배양 조건과 더불어 고체매질 내에서 신속히 대량으로 배양할 수 있는 방법이 확립되어야 한다. 토양과 같은 고체매질에서의 배양환경 영향, 균근 형성 등과 관련한 기내 연구가 진행되어야 송이를 재배하는 단계에 이를 수 있겠지만, 기내에서 고체매질을 이용한 송이균사의 인공 배양 연구 보고는 찾기 어렵다.

본 연구는 송이균을 인공적으로 고체매질 내에서 배양하기 위한 고체매질의 종류별 송이균 성장량을 비교하였고, 매질내의 수분함량, 부엽토 첨가 효과를 비교하여 고체매질 내에서의 송이균 배양조건을 구명하여 송이균의 배양환경조건에 따른 성장특성을 구명하고자하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 접종용 송이균 배양

송이 균주는 국립산림과학원에서 보관중인 KFRI 437과 KFRI 439를 사용하였다. KFRI 437은 1996년 7월 경북 영덕에서 KFRI 439는 1996년 9월 충북 영동에서 발생한 송이 자실체로부터 분리된 것으로 PDA 배지에서 계대배양하여 온 것이다. 이들 송이 균사는 500 ml 삼각플라스크에 150 ml SYP 배지(starch 15 g/l, glucose 5 g/l, yeast extract 2 g/l, peptone 1 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g/l,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g/l, pH 5.4)에 1개월간 24°C에서 110 rpm으로 액체배양 하였다. 균사 접종량은 5% (v/v)로 하여 20~28일간 배양하며 호모지나이저로 균질화하여 액체배지로 계대배양하며 고체배지 시험처리의 접종용 균사로 사용하였다.

### 2. 에르고스테롤 분석에 의한 송이 균체량 측정

송이균사의 성장량 및 송이균환 토양내 송이균 함량은 모두 에르고스테롤(ergosterol) 분석을 통해 비교하였다. 각 처리별 분석시료는 잘게 부쇄 일정하게 혼합한 다음에 에르고스테롤 함량을 분석하였고, 일부 시료는 건중량을 측정하였다. 건중량은 105°C 항온기에서 24시간 건조하여

측정하였다(한기학 등, 1998).

에르고스테롤 분석은 Mottonen 등(1998)의 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 즉 균환 토양이나 마쇄된 고체매질의 균사체 혼합물 3 g(생중량 기준)은 MeOH 100 ml에 넣어 3분간 초음파(Branson, 8210) 처리하고 6,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상등액 60 ml와 EtOH 20 ml와 KOH 10 g 혼합액은 80°C 환류냉각장치에서 1시간동안 사포닌화 하였다. 여과한 일정 여액은 Hexane으로 3회 분획, 건조 후 메탄올에 녹여 에르고스테롤 함량 측정용 시료로 사용하였다.

에르고스테롤 함량은 LiChrospher 100RP-18S(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 × 250 mm) 칼럼을 장착한 HPLC(TSP operating system)에서 분석하였다. 이때 칼럼내 이동상으로 MeOH : H<sub>2</sub>O = 98 : 2의 혼합용액을, 유속은 2 ml/min로 하여, UV검출기(TSP, 3000HR) 282 nm에서 측정하였다(이위영 등, 2003).

### 3. 고체매질에서 송이균 배양방법

고체매질 재료는 마사토, 펄라이트(Pamix, Korea), 피트모스(Acadian, Canada), 질석(Silver green, Korea) 그리고 소나무 톱밥이었다. 마사토는 화강암이 모재로서 2 mm 체로 통과한 것을 사용하였다.

고체매질 조제는 60 cm<sup>3</sup> 고체매질과 보릿가루 1.8 g을 혼합하여 함수율(습량 기준)을 40~50%로 조절 후 경질 시험관(Ø 3.5 × 15 cm)에 넣고, membrane 필터(Gelman, Ø 3 cm, pore size 0.2  $\mu\text{m}$ )가 장착된 실리콘 마개로 막은 후 121°C에서 30분간 고압 멸균하였다. 송이균사 접종은 액체 배양된 송이균사체를 0.12 g dw/60 cm<sup>3</sup>의 비율로 하였으며, 접종 균사체와 고체매질을 무균적으로 혼합하였다.

고체매질의 영양원은 보릿가루를 사용하였고, 보릿가루 첨가량 10, 30, 50, 70 g/400 cm<sup>3</sup>로 처리하였으며 처리당 3반복으로 실험하였다. 고체매질은 마사토 : 질석 : 펄라이트 : 소나무 톱밥(1 : 1 : 1 : 1, v/v/v/v)을 부피비율로 혼합한 것을 사용하였다. 6번 항목을 제외한 모든 송이균 성장량은 24°C에서 60일간 배양한 후에 에르고스테롤 함량으로 조사하였다.

### 4. 송이균 배양용 고체매질 조성

송이 균사체 배양에 적합한 매질의 종류를 알아보기 위해 매질종류는 마사토, 펄라이트, 질석, 피트모스 및 소나무 톱밥을 대상으로 실험하였다. 단 백마사는 4 mm 체를 통과한 것을 사용하였다. 각각의 배지는 3번 항목과 같이 만들어서 송이균을 접종하고 에르고스테롤 정량법으로 송이균의 성장량을 조사하였다.

### 5. 고체매질에서 송이균 접종량 조사

고체매질 조성은 마사토 : 펄라이트 : 질석 : 소나무 톱

밥(1 : 1 : 1 : 1, v/v/v/v)을 혼합한 것이다. 여기에 첨가된 배지 및 실험방법은 3번 항목과 같았다. 각 시험관에 송이균의 접종량은 고체매질의 부피 100 cm<sup>3</sup>당 송이균사체가 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 g(건중량)이 함유되도록 처리하였으며 처리당 3반복으로 하였다.

**6. 고체매질에서 배양 기간별 송이균 생장량 조사**

고체매질과 송이균 접종은 3번 항목과 동일한 방법으로 하였다. 이때 고체매질에 보릿가루는 3.6 g/60 cm<sup>3</sup>을 첨가하였다. 배양기간은 1주부터 13주까지로 설정하였고, 각 배양기간별 3반복 실험을 하였으며, 송이균의 생장량은 에르고스테롤 함량으로 조사하였다.

송이균의 생장정도를 비교하기 위해, 송이균환 토양은 강원도 홍천군 동면에 소재한 국립산림과학원의 송이시험림에서 2000년 10월 초에 송이균환 선단부분의 4개 지점에서 토양을 채취하였다. 채취된 송이균환 토양은 아이스박스에 넣어 실험실로 이송하여 곧바로 -70°C 초저온 냉동고에 넣어 보관하며 에르고스테롤 함량 분석용 시료로 사용하였다.

**7. 고체매질에서 송이균 성장을 위한 수분조건 조사**

고체매질은 마사토 : 펄라이트 : 소나무 톱밥(2 : 1 : 1, v/v/v) 혼합한 것을 사용하였고, 보릿가루를 1.8 g/60 cm<sup>3</sup> 첨가하였다. 고압 멸균 후 냉각하여 일부 고체매질을 105°C에서 24시간 건조하여 건조 전, 후의 무게 차이로 수분 함량을 측정하였고(한기학 등, 1998), 이를 기준으로 증류수를 첨가하여 수분함량(습량 기준)을 10, 30, 50, 70, 90%로 조절하였다. 각 수분 함량별로 3반복 실험을 하였다.

**8. 부엽토가 송이균 생장에 미치는 영향 조사**

고체매질은 마사토 : 펄라이트(1 : 1, v/v) 혼합한 것을 사용하였다. 부엽토는 2002년에 6번항목과 같은 국립산림과학원 송이시험지 내의 활엽수 혼효림에서 암갈색의 낙엽 부엽토를 채취하여 기건 후 2 mm체를 통과한 부엽토를 사용하였다. 부엽토 함량비율은 마사토와 펄라이트를 1 : 1로 혼합한 인공토양과의 비율로 처리하였다. 부엽토량은 10, 30, 50, 70, 100%로 처리를 하였다. 각 처리별로 3반복으로 실험을 하였다. 배지조제 방법은 3번 항목과 동일한 방법으로 하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 고체매질에서 보릿가루 첨가량에 따른 송이균 생장 조사**

고체매질에서의 균사체 생장량은 ergosterol 함량을 분석하여 비교 추정하였다. 에르고스테롤은 고등균류나 자

낭균류에 주로 존재하는 것으로서 세포막의 주요한 성분을 이루고 있으며 살아있는 세포에 존재하여(Ekblad et al, 1998; Weete and Gandi, 1996) 일반적으로 에르고스테롤 함량으로 균체량을 추정하는데 이용되고 있다(구 등, 2000; Imberger and Chiu, 2001; Pasanen et al, 1999).

고체매질에서 송이균의 배양에 적합한 복합 영양원으로서 곡물류를 대상으로 예비실험을 한 결과 본 논문에서 성적을 제시하지 않았지만 보릿가루에서 생장이 가장 좋았고, 이어서 황옥수수 가루가 양호하였으나, 현미와 밀가루 등에서는 생장이 저조하였다. 생장이 우수하였던 보릿가루는 본 연구에서 송이균 배양의 영양분으로 사용하였다. 보릿가루의 첨가량은 증가시킬수록 송이균의 생장도 증가하는 경향을 나타냈다(Figure 1). 보릿가루 70 g 넣은 것에서 송이균의 에르고스테롤 함량이 체적당(cm<sup>3</sup>) 170 µg 까지 도달하였다. 한편, 이하의 실험에서는 고체매질의 부피 60 cm<sup>3</sup>당 보릿가루 1.8 g을 첨가, 혼합하여 송이균을 배양실험을 하였다.

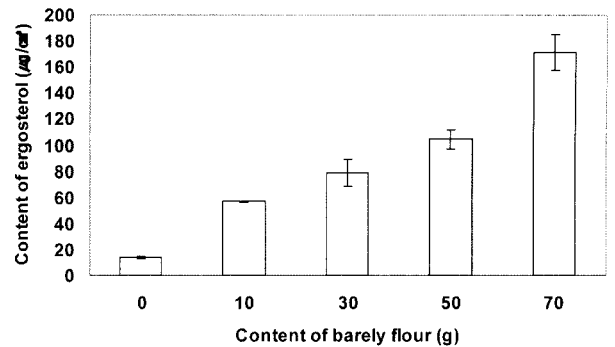


Figure 1. Effect of concentrations of barely flour on the mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated in 400 cm<sup>3</sup> solid matrix at 24°C for 60 days. The matrix consists of granitic soil, perlite, vermiculite and pine sawdust (1:1:1:1, v/v/v/v). Error bar is standard deviation for three replicates.

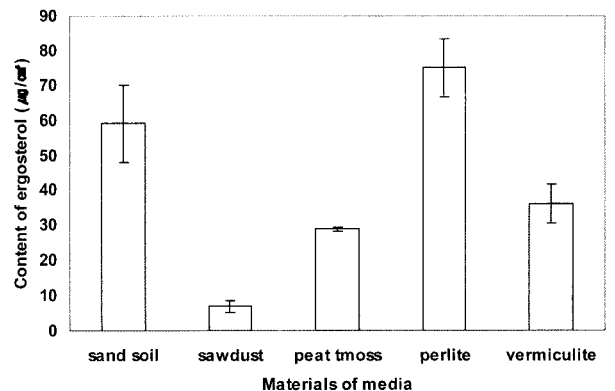


Figure 2. Effect of solid materials on the mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated at 24°C for 60 days. Barely flour (1.8 g/60 cm<sup>3</sup>) was used as a nutrient source for the mycelia. Error bar is standard deviation for three replicates.

2. 고체매질에 따른 송이균 성장

단일 재료를 고체매질로 사용하였을 경우, 송이균의 생장은 펄라이트, 마사토, 질석 순으로 나타났다(Figure 2). 이것은 다른 재료에 비해 이들이 갖는 공극특성 때문에 송이균 생장이 차이가 나타난 것으로 보였다. 소나무 톱밥과 피트모스는 펄라이트와 마사토에 비해 송이균 생장이 낮았다. 이들 재료들이 송이균 성장에서 물리적, 화학적인 억제 작용이 있을 것으로 예상되나, 명확한 해답을 얻기에는 더 많은 연구가 필요한 상태이다.

본 실험에서 마사토는 4 mm 체를 통과한 것을 사용하였으나, 본 논문의 자료에는 제시되지 않았지만 2 mm 체를 통과한 마사토에서는 송이균 성장량이 다소 저조하였다. 그러나 4 mm 체를 통과한 마사토를 송이균 배양 실험용 고체 매질로 사용하였을 경우 에르고스테롤 함량을 측정하기 위한 균일한 시료 채취에 어려움이 있어 2 mm 체를 통과한 백마사를 펄라이트 등과 혼합하여 고체매질 실험용 재료로 사용하였다. 한편, 본 실험에서는 고체매질의 부피 60 cm<sup>3</sup>당 보릿가루 1.8 g을 첨가, 혼합하여 송이균을 배양하였다.

3. 고체매질에서 송이균 접종량 조사

고체매질에 적정한 송이 균사체 접종량을 구명하기 위해 송이 균사체 접종량별 성장량을 조사 한 결과는 Figure 3과 같다. 접종량 0.12 g(건중량)부터 송이균 KFRI 437 및 KFRI 439 모두가 유사한 성장 형태로 완만한 성장 증가를 나타내어 고체매질의 부피 100 cm<sup>3</sup>당 송이 균사체 0.2 g dw의 접종이 적합함을 알 수 있었다. 이위영 등(2002)이 송이균의 액체배양에서 초기 균사 접종량이 1 l당 0.14 g(건중량) 이상이 적합하다는 결과와 유사한 수치이다. 따라서 송이균의 배양이 고체이든 액체이든 비슷한 접종량을 가지고 있음을 알 수 있다.

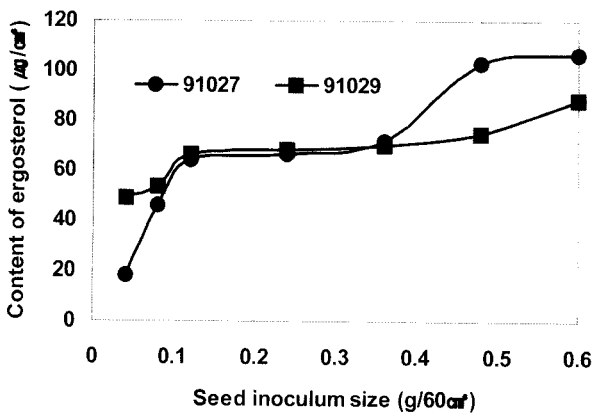


Figure 3. Effect of seed inoculum sizes on mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated in 60 cm<sup>3</sup> solid matrix containing 1.8 g barely flour at 24°C for 60 days. The matrix consists of granitic soil, perlite, vermiculite and pine sawdust (1:1:1:1, v/v/v/v).

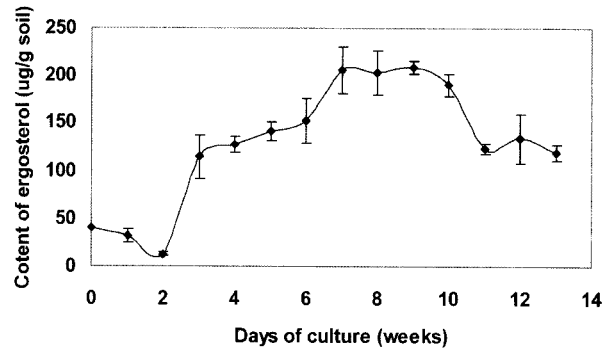


Figure 4. Time profile of mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated in 60 cm<sup>3</sup> of solid matrix containing 3.6 g barely flour at 24°C. The matrix consists of granitic soil, perlite, vermiculite and pine sawdust (1:1:1:1, v/v/v/v). Error bar is standard deviation for three replicates.

4. 고체매질에서 배양 기간별 송이균 성장

마사토 : 펄라이트 : 질석 : 톱밥 = 1 : 1 : 1 : 1(v/v/v/v)로 조성된 고체매질에 영양분으로 보릿가루를 첨가하여 배양일자별로 송이균을 배양하여 성장유형을 조사하였다(Figure 4). 송이균사 접종 후 2주간은 오히려 생장이 감소하였으나, 2주 이후부터 급격히 생장이 진행되어 배양 7~8주경에 생육 정체기에 이르고 배양 10주 이후부터 생육 감퇴기에 이르는 것으로 나타났다. 접종 후 2주 사이에 에르고스테롤 함량이 감소하였는데 이는 액체배지의 송이균이 고체 배지로 옮겨와 적응하는 시기로 송이균사의 활력이 저하되었기 때문인 것으로 추정되었다. 이상의 성장 유형 분석으로 송이균은 보릿가루를 영양분으로 한 고체매질에서 대개 8주 배양하면 생육 정체기에 이르는 것을 알 수 있었다.

한편, 송이균환 토양의 송이 균체량은 에르고스테롤 함량으로 나타내서 15.5 µg/g dw이었으나, 고체매질에서 성장한 송이 균체량은 206 µg/g dw으로 송이균환 토양보다 높게 나타났다(Table 1). 구창덕 등(2003)은 송이균환 선

Table 1. Ergosterol contents of *Tricholoma matsutake* by fairy ring, solid medium and liquid medium.

	Fairy ring <sup>a</sup>	Solid matrix culture <sup>b</sup>	Liquid culture <sup>c</sup>
Ergosterol (µg/g d.w)	15.5 ± 5.1 <sup>d</sup>	206 ± 21	8517 ± 1084

<sup>a</sup>The soil was collected from the margin of fairy ring for *Tricholoma matsutake* at the Hongcheon experimental site of Kangwon province in October, 2002.

<sup>b</sup>Solid matrix culture of *Tricholoma matsutake* carried out in granitic soil, perlite, vermiculite and pine sawdust (1:1:1:1, v/v/v/v) contained 3.6 g barely flour as a nutrient source at 24°C for 8 weeks.

<sup>c</sup>Liquid culture of *Tricholoma matsutake* performed in SYP medium at 24°C for 4 weeks.

<sup>d</sup>Mean ± SD(Three replicates).

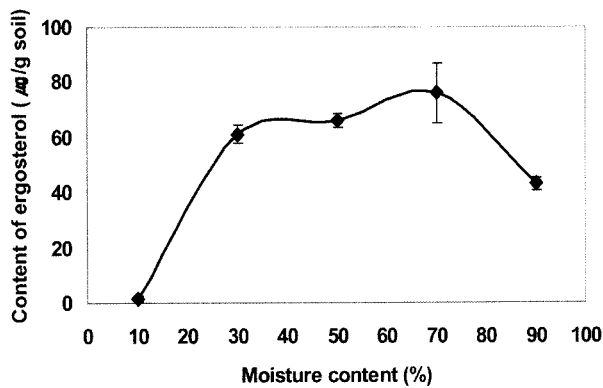


Figure 5. Effect of moisture contents on mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated in 60 cm<sup>3</sup> complex solid medium containing 1.8 g barely flour at 24°C for 60 days. The matrix consists of granitic soil, perlite and pine sawdust (2:1:1, v/v/v). Error bar is standard deviation for three replicates.

단 토양에서 에르고스테롤 함량이 4.9 µg/g(토양 생중량)으로 가장 높았다고 하였다. 한편, 사용한 고체매질의 가비중은 0.53이므로 균환 토양의 가비중은 다른 연구에서 보고한 1.0 내외(류천인 등, 1980; 허태철 등, 2004)보다 낮았으나, 단위 용적(1 cm<sup>3</sup>)으로 환산하였을 경우 송이 균체량은 산지의 송이균환 토양보다 고체매질에서 7배가량 높은 것으로 나타났다.

Suzuki(2005)는 일본에서의 송이균환의 에르고스테롤 함량은 토양 1 cm<sup>3</sup> 당 64.4 µg이며, 小川(1991)이 한개 송이 자실체 발생에 필요한 송이균환이 1,500~2,000 cm<sup>3</sup>로 추정된 바가 있다. 본 실험에서는 고체매질 1 cm<sup>3</sup> 당 에르고스테롤 함량이 108 µg이었기 때문에 송이 자실체 한개 생산에 필요한 고체매질 양은 894~1,193 cm<sup>3</sup>로 추정할 수 있다. 그러나 Figure 2에서와 같이 매질내의 영양원 농도를 높이면 균사체량을 더욱 증가시킬 수 있다. 따라서 실내에서 이와 같은 고체매질을 활용하여 송이 자실체 발생 실험도 가능할 것으로 사료된다.

##### 5. 고체매질에서 송이균 성장을 위한 수분함량

고체매질을 이용하여 송이균 성장에 필요한 수분함량을 조사하였다. 수분함량을 10%로 조절된 고체매질에서 송이균은 거의 성장하지 않았다. 30% 및 50%의 수분함량 처리에서는 왕성한 유사한 성장량을 보였으며 70%에서 최대의 성장량을 나타냈고 70%보다 높은 상태에서는 감소하였다(Figure 5). 이러한 결과로 왕성한 송이균 성장을 위해서는 고체매질내에 수분함량이 30% 이상이 되어야 한다는 것을 의미한다.

본 실험에서는 접종초기의 수분함량 조건에서 더 이상 수분을 공급하지 않는 상태로 2개월간 배양하여 고체 매질조건과 실지 송이 산지의 토양수분 조건을 직접적으로 비교하기에는 무리가 있다. 그러나 고체매질내의 수분이

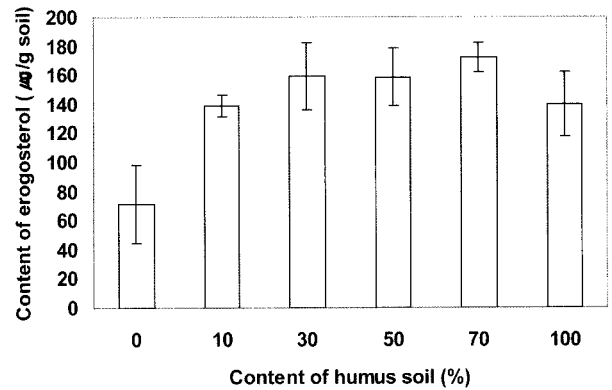


Figure 6. Effect of humus soil contents on mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. The mycelia were cultivated in 60 cm<sup>3</sup> solid matrix containing 1.8 g barely flour at 24°C for 60 days. The matrix consists of granitic soil and perlite (1:1, v/v). Error bar is standard deviation for three replicates.

30% 전후에서 균사체 생장이 좋았고, 10% 이하에서는 균사가 성장하지 않는 것으로 나타나 구창덕 등(2003)이 보고한 산지에서 토양 수분량이 15% 이상 유지되어야 송이가 발생한다는 조건과 유사하였다. 한편 본 실험에서 송이균의 성장에 필요한 수분량을 고려한다면, 송이산에서 송이발생량을 높이기 위해서는 토양수분을 30% 정도로 유지할 수 있도록 관수처리 하는 것이 좋을 것으로 추정되었다.

##### 6. 부엽토에서 송이균 성장

송이균이 토양내의 유기물을 성장에 이용하고 있는지를 알기 위해 송이균 배양용 고체매질 내에 부엽토를 함량별로 처리하여 송이균 성장량을 조사하였다(Figure 6). 부엽토 함량이 30%까지는 증가 할수록 송이균의 성장량이 증가하는 경향 이었고, 30%에서 70% 처리까지는 유사하게 성장하였으나 70% 이상부터는 다소 감소하는 경향이 있었다. 송이균은 부엽토 처리가 무처리 보다 전반적으로 생장이 높았기 때문에 부엽토는 송이균 성장에 도움을 주고 있음을 알 수 있다. Vaario 등(2002)은 소나무 수피에서 송이균의 생장이 촉진되어, 실제 송이균환의 양분이 기주 식물 뿐만 아니라 토양 유기물에서도 유래하는 것으로 보고하고 있다. 본 실험에서는 송이균의 부후적 특성을 밝히지는 못했지만, 송이산에서 송이균이 부식층 내의 양분을 이용할 수 있다는 것을 암시하는 것이다. 그리고 토양 유기물이 송이균 성장에 미치는 효과를 명확히 알아보기 위해서는 더 많은 연구가 필요한 상태이다.

송이산은 다양한 미생물이 서식하고 있는 것으로 알려져 있다(Park et al., 1988; Song and Min, 1991). 또한 송이 생산성을 높이기 위해서는 송이산의 지표의 식생이나 유기물 층을 줄이는 방식을 택하고 있다(류천인 등, 1980; Koo와 Bilek, 1998). 본 실험에서 사용한 조부식 상

태이상의 부엽토인 토양 유기물이 송이균 생장에 도움을 주는 것으로 조사되었으나, 송이산 환경개선 지침과는 다른 결과이다. 송이산에서 부식층내의 다른 미생물이 송이균 생장에 어떠한 영향을 주는 지는 앞으로 송이산에서 낙엽부식층을 얼마나 남겨두어야 할 것인가의 기준을 정립하는데 중요할 것으로 생각된다.

## 결 론

고체매질을 이용한 송이균의 성장조건은 송이산에서 송이균이 자라는 조건을 모델 실험할 수 있는 좋은 방법이라고 생각되었다. 고체매질에서 송이균은 영양원으로 보릿가루가 좋았으며, 보릿가루의 농도가 증가할수록 균사체 생산량도 증가하였다. 고체매질은 마사토나 펄라이트가 우수한 것으로 나타났고, 소나무 톱밥이나 피트모스에서는 생장이 가장 저조한 것으로 나타났다. 고체매질에서 송이균은 접종 7~8주면 생육정체기에 이르는 비교적 빠른 균사생장을 보였다. 이와 같이 보릿가루를 영양원으로 하고 백마사나 펄라이트를 고체매질로 이용한 송이균 배양방법은 접종원 연구나 송이 배양환경 등에 대한 영향을 평가하는 재료로도 응용될 수 있었다. 고체매질에서 송이균의 생장을 위한 적합한 수분함량은 30~70%로 나타났으며, 또한 고체매질에 부엽토를 첨가(10% 이상)해 주는 것이 송이균 생장에 도움을 주는 것으로 나타났다.

## 인용문헌

- 강안석, 차동열, 김양섭, 박용환, 유창현. 1989. 송이생산과 관련되는 기후특성분석. 한국균학회지 17(2): 51-56.
- 구창덕, 김재수, 이상희, 박재인, 안광태. 2003. 송이 균환내 토양수분의 시공간적 변화. 한국임학회지 92(6): 632-641.
- 구창덕, 조남석, 김재수, 박재인, 최태호, 민두식. 2000. 표고 균사 배양체내 에르고스테롤 함량의 변이. 목재공학 28(1): 65-70.
- 류천인, 남성우, 이지열, 이송규. 1980. 송이 증산에 관한 연구. 한국균학회지 8(1): 7-12.
- 박 현, 김교수, 구창덕. 1995. 한국에서 9월의 기상인자가 송이 발생에 미치는 영향과 그 극복방안. 한국임학회지 84(4): 479-488.
- 이위영, 안진권, 가강현, 권영진. 2003. 공기부양식 생물반응기의 형태별 송이균사의 성장특성 비교. 한국균학회지 31(2): 89-95.
- 이위영, 안진권, 권오웅, 가강현, 권영진. 2002. 풍선형 공기부양식 생물반응기를 이용한 송이 균사의 부유배양. 한국임학회지 91(3): 260-267.
- 이태수, 김교수, 심우섭, 김세현, 주영환, 오세원, 조재명, 이지열. 1984. 송이인공 증식에 관한연구(I). -송이 감염묘의 육성방법 개선-. 임시연보. 31: 109-123.
- 조덕현, 이경준. 1995. 29개 지역의 10년간 송이발생량의 기후인자와 송이 발생량과의 상관관계. 한국균학회지. 84(3): 277-285.
- 한기학, 박준규, 정이근, 이춘수, 윤정희, 김원출, 이상규. 1988. 토양화학 분석법, 농업기술연구소 450pp
- 허태칠, 박현, 가강현, 주성현. 2004. 송이 균환부에서 토양 이화학적 특성의 동태. 한국임학회지 93(1): 26-34.
- 小川 眞. 1991. マツタケの生物學. 補訂版. 東京. 築地書館. 333pp.
- 伊藤 武, 小川 眞. 1979. マツタケ菌の増殖法(II). 林内植生の手入れとマツタケ菌の増殖. 日林誌 61(5): 163-173.
- Alexis, G.L., Vaario, L.M., 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.
- Ekblad A., Wallande, H. and Nasholm, T. 1998. Chitin and ergosterol combined to measure total and living fungal biomass in ectomycorrhizas. New Phytologist 138: 143-149.
- Hamada, M. 1950. Physiology and ecology of *Armillaria matsutake*. Botany Magazine. 63: 40-41.
- Imberger K.T. and Chiu, C.Y. 2001. Spatial changes of soil fungal and bacterial biomass from a sub-alpine coniferous forest to grassland in a humid, sub-tropical region. Biology & Fertility of Soils 33: 105-110.
- Kawagoe, M, Kawakami, K., Nakamura, Y., Naoe, K., Miki, K. and Noda, H. 1999. Submerged culture of *Tricholoma matsutake* mycelium in bubble column fermentors. Journal of Bioscience and Bioengineering 87(1): 116-118.
- Koo, C.D. and Bilek, E.M. 1998. Financial analysis of vegetation control for sustainable production of Songyi (*Tricholoma matsutake*) in Korea. Journal of Korea Forest Society. 87: 519-527.
- Lee, C.Y., Hong, O.P., Jung, M.J. and Han, Y.H. 1997. Effect of carbon sources and vitamins on mycelial growth of *Tricholoma matsutake* DGUM 26001. The Korean Journal of Mycology. 25(3): 226-232.
- Mottonen, M., Jarvinen, E., Hokkanen, T.J., Kuuluvainen, T. and Ohtonen, R. 1998. Spatial distribution of soil ergosterol in organic layer of a mature Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) forest. Soil Biology and Biochemistry 31: 503-516.
- Ogawa, M. 1975. Microbial ecology of mycorrhizal fungus-*Tricholoma matsutake* (Ito et imai) Sing. in pine forest II. Mycorrhiza formed by *Tricholoma matsutake*. Bulletin of the Government Forest Experiment Station Japan. 278: 21-49.
- Ohta, A. 1990. A new medium for mycelial growth of mycorrhizal fungi. Transactions of the Mycology Society of Japan 31: 323-334.
- Park, H., Ka, K.H., Ryoo, C.I. and Kim, H.J. 1998. Ectomycorrhizal mushroom occurrence around the fairy ring

- of *Tricholoma matsutake* at a pine-mushroom forest. The Korean Journal of Mycology. 26(3): 306-313.
25. Pasanen A.L., Yli-pietila, K., Pasanen, P., Kalliokoski, P. and Tarhanen. J. 1999. Ergosterol content in various fungal species and biocontaminated building materials. Applied and environmental microbiology 65(1): 138-142.
26. Song, H.S. and Min. K.H. 1991. Microfungal flora of *Tricholoma matsutake* producing and nonproducing sites in the forest of *Pinus densiflora*. The Korean Journal of Mycology 19: 109-119.
27. Suzuki, K. 2005. Ectomycorrhizal ecophysiology and the puzzle of *Tricholoma matsutake*. Journal of Japan Forest Society. 87: 90-102.
28. Vaario, L.-M., Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Suzuki, K. and Lapeyrie, F. 2002. Saprobic potential of *Tricholoma matsutake*: growth over pine bark treated with surfactants. Mycorrhiza 12: 1-5.
29. Wang, Y., Hall, I.R. and Evans, L.A. 1997. Ectomycorrhizal fungi with edible fruiting bodies, 1. *Tricholoma matsutake* and related. Economic Botany 51(3): 311-327.
30. Weete, J.D. and Gandi, S.R. 1996. Biochemistry and molecular biology of fungal sterol. pp. 421-438. In: Esser, K. and Lemke, P. A. Eds. The Mycota. Springer, Berlin.
31. Yamada, A., Kanekawa, S. and Ohmasa, M. 1999. Ectomycorrhiza formation of *Tricholoma matsutake* on *Pinus densiflora*. Mycoscience 40: 193-198.

---

(2006년 3월 23일 접수; 2006년 4월 12일 채택)