

달갈버섯의 형태 및 생리적 특성

서흥덕* · 허태철 · 주성현
경북대학교 농업생명과학대학 임학과

Morphological and Physiological Characteristics of *Amanita hemibapha* subsp. *hemibapha* (Berk. & Broome) Sacc.

Hong-Duck Sou*, Tae-Chul Hur and Sung-Hyun Joo

Department of Forestry, College of Agricultural Life Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea.

(Received February 9, 2009. Accepted April 22, 2009)

ABSTRACT: This study was conducted to investigate optimum cultural conditions for *Amanita hemibapha* isolated in Korea and its hyphae characteristics. Micrographs shows the presence of clamp connection. *A. hemibapha* grows as mycelial form(M-phase) 2-4 μ m and yeast-like form(Y-phase) 7-8 μ m. The fungal spores were broadly elliptical and papillate, 8-11 \times 6-9 μ m in size. The nucleotide sequence analysis of the ITS of nuclear ribosomal DNA from sporocarps and *in-vitro*-grown mycelium supported the fungal species is *Amanita hemibapha*. *A. hemibapha* showed sequence similarity in the ITS rDNA with *A. caesarea*(97.5%) and *A. jacksonii*(98.5%) which are morphologically similar species to *A. hemibapha*. The optimal pH and temperature for mycelial growth of *A. hemibapha* were pH 6.0 and 28°C, respectively. The fungal species showed best growth in SYP and GYS medium. *A. hemibapha* grew well with mannitol and glucose as carbon sources and peptone as a nitrogen source.

KEYWORDS: Ectomycorrhiza, Growth conditions, *In vitro* culture, Mycelia

달갈버섯(*Amanita hemibapha*)은 광대버섯과(Amanitaceae), 광대버섯속(*Amanita*)에 속하는 균근성 버섯으로 침엽수림이나 활엽수림 또는 혼효림에서 단생 또는 산생하며, 호열성 버섯으로 여름부터 가을까지 발생한다(한과 함, 1999).

달갈버섯은 유럽에서 맛이 좋고, '시저 버섯'으로 유명한 *Amanita caesarea*와 형태적·생태적으로 유사하다(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004). 시저 버섯(*A. caesarea*, Caesar's mushroom)은 검은덩이버섯(*Tuber melanosporum*, Prigord black truffle), 백색덩이버섯(*Tuber magnatum*, Italian white truffle), 송이(*Tricholoma matsutake*, Matsutake), 그물버섯(*Boletus edulis*, Porcini), 피꼬리버섯(*Cantharellus cibarius*, Chanterelle) 등과 함께 2,500여종의 식용 버섯 중 비싸고 인기 있는 버섯으로 알려져 있다(Yun & Hall, 2004). *A. hemibapha*와 *A. caesarea* 모두 광대버섯속에 속하고 외생균근성 버섯으로 기주식물과 같이 생활한다. *A. hemibapha*의 기주식물은 졸참나무(*Quercus serrata*), 서어나무(*Carpinus laxiflora*)로 알려져 있으며, *A. caesarea*의 기주식물에는 스트로브잣나무(*Pinus strobus*), 버지니아소나무(*Pinus virginiana*), 유럽밤나무(*Castanea sativa*), 유럽너도밤나무(*Fagus sylvatica*), 페트

리아참나무(*Quercus petraea*), 유럽참나무(*Quercus robur*), 코르크참나무(*Quercus suber*), *Castanopsis carlesii*, *Castanopsis hystrix*, *Quercus baronii*, *Quercus faginea*, *Quercus liaotungensis*, *Quercus lusitanica*, *Quercus pubescens*, *Quercus pyrenaica* 등이 있다(Gonzlez *et al.*, 2002; Meotto *et al.*, 1997; Trappe, 1962; Yang *et al.*, 1999). 스페인 남부지방에서는 *Q. suber*와 *C. sativa*가 *A. caesarea*의 가장 주요한 기주식물이라고 보고되어 있다(Daza *et al.*, 2006). 전 세계적으로 광대버섯속의 기주식물로는 침엽수가 많이 알려져 있는데, 달갈버섯은 동양에서는 침엽수림 뿐만 아니라 활엽수림 또는 혼효림에서도 발생한다고 알려져 있다(本 와 幼菌, 2001; 池田, 2005; 今 등, 1995; 清水 와 伊, 2000; 柴田, 2006).

*A. hemibapha*와 유사종인 *A. caesarea* 균사의 기내에서의 최적배지조건에 대한 연구(Daza *et al.*, 2006)와 *Castanea sativa*의 뿌리에 *A. caesarea* 균을 합성한 연구(Meotto *et al.*, 1999) 및 형태적 특성(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004)은 보고되었지만, *A. hemibapha*에 대한 연구는 국내·외적으로 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 장기적인 관점에서 달갈버섯의 인공재배와 기주식물과의 관계를 파악하기 위해 달갈버섯의 형태적 특성 관찰 및 동정, 기내에서 달갈버섯 균의 배양적 특성을 규명하고자 한다.

*Corresponding author <E-mail: hongducksou@hotmail.com>

재료 및 방법

달걀버섯 채집 및 균 분리

문헌조사 및 전문가의 의견을 수렴하여 광양(서울대학교 남부학술림 추산시험장 입구; KNUF0013), 청도(운문사 사리암; KNUF0012), 대구(동화사; KNUF0011) 3지역에서 2007년 7-8월, 2008년 7-9월에 걸쳐 채집을 하였다. 채집된 자실체에서 조직을 분리하여 PDA, PDMP(2.4% potato dextrose broth, 0.3% malt extract, 0.1% peptone, 1.5% agar), MMN배지(1% glucose, 0.3% malt extract, 0.025% (NH₄)₂HPO₄, 0.015% MgSO₄·7H₂O, 0.005% CaCl₂, 0.1% KH₂PO₄, 0.0001% FeCl₃, 0.0025% NaCl), 26°C에서 배양시켰다.

달걀버섯 동정

외형관찰: 채집한 버섯의 갓, 주름, 대, 대주머니 등의 외형적 특징을 육안으로 파악하였다.

균사관찰: 균을 분리하여 배양한 후 균사의 외형을 카메라, 해부현미경(S8AP0, Leica)으로 관찰하였다. 액체배지에서 배양된 균사는 광학현미경(DC300F, Leica)으로 관찰하였고, Tissue freezing medium과 cryomicrotome(CM1900, Leica DMRE)을 이용하여 microtome sectioning을 수행 후 균사 표본을 만들어 관찰하였다. 전자현미경 관찰을 위해서는 균사를 적당한 크기로 절취하여 5% paraformaldehyde, 5% glutaraldehyde와 0.2M phosphate buffer(pH 7.2)로 구성된 1차 고정액인 Karnovsky's fixative에서 1차 고정, 1% osmium tetroxide에서 2차 고정을 실시한 후 ethanol, Isoamylacetate, Critical Point Dryer(HCP-2, Hitachi)로 각각 건조를 시켰다. 이후, Ion Sputter Coater(E-1010, Hitachi)를 이용하여 금 코팅을 하였으며, 이 과정을 통해 주사전자현미경(S-3500N, Hitachi)으로 관찰하였다.

포자관찰: 채취한 버섯의 갓 부분에서 포자를 받아 광학현미경으로 관찰하였다.

DNA 추출, PCR 증폭 및 부분 염기서열 결정 을 이용한 동정 및 분류: 적당량의 균사 시료를 1.5 ml tube에 넣고 -70°C Deep Freezer에서 동결건조를 시킨 후 액체질소, 500 μl의 CTAB buffer를 넣고 pestle을 이용해 세포를 부수어 준 후 원심분리를 하여 상층액을 취하였다. 새로운 tube에 분리된 상층액을 옮기고 RNase 5 μl(10 mg/ml) 넣은 후 37°C에서 30분 처리하여 RNA를 제거하였다. Phenol : Cloroform : Isoamylalcohol (25 : 24 : 1) 500 μl 넣은 후 20°C에서 12,000 rpm의 속도로 15분간 원심분리를 한 후 다시 상층액 300-400 μl을 취하여 새로운 tube로 옮기고 2배의 되는 양의 100% ethanol을 넣고 섞었다. 이후 3 M Sodium acetate 1/10volume (pH 5.2)를 취하고 -20°C 냉동고에 10분정도 보관 후 12,000 rpm, 15분, 4°C에서 원심분리를 한 다음, Pellet을 취하여 70% ethanol 400 μl를 넣고 혼합하여 12,000 rpm, 15분, 4°C에서 원심분리 하고 Ethanol을 충분히 건조시킨 후 멸균수 50 μl를 넣고 DNA가 충분히 녹을 수 있게 55°C에서 10분간 배양시켜 Genomic DNA를 분리시켰다.

분리한 DNA로부터 rDNA의 ITS(Internal Transcribed Spacers) 부분을 증폭하기 위하여 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAA CCTGCGG-3') 과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primer를 사용하였다(White *et al.*, 1990). PCR 반응은 Bioneer 사의 Kit을 이용하였으며 조건은 94°C, 5분간 predenaturation을 시킨 후, 94°C에서 30초간 denaturation, 50°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extention의 3단계를 30cycle과정을 수행하고 72°C에서 5분간 post extension하였다. 증폭된 DNA는 1% agarose gel에서 전기영동 하여 DNA band를 확인 후, 바이오닉스 사의 유전자 분석팀에게 sequencing을 의뢰하였다. BLAST(Basic Local

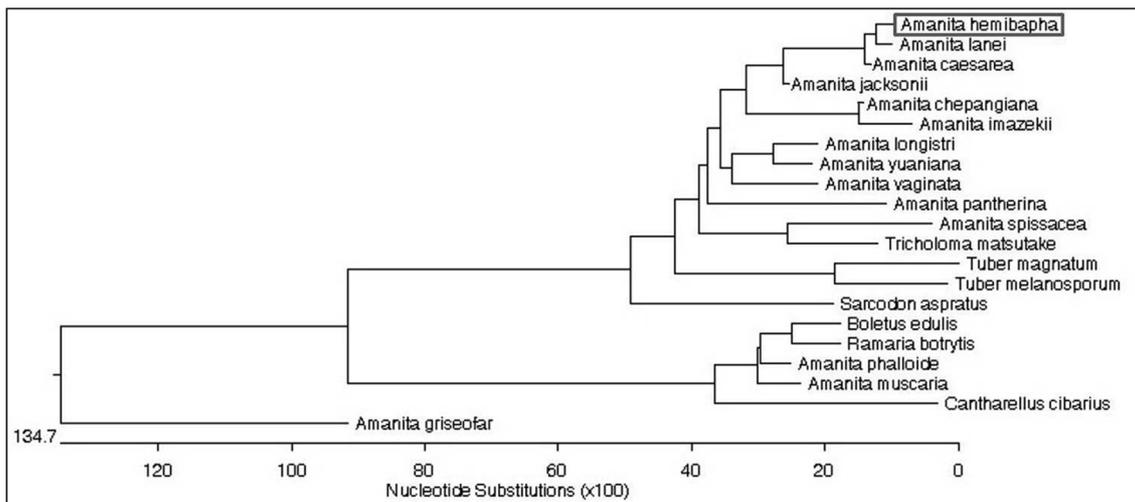


Fig. 1. Phylogenetic tree of ITS sequence from *A. hemibapha* and other reference sequences obtained from GenBank (by Laser gene 7.0). 14 species of *Amanita* and 7 species of famous ectomycorrhizal mushrooms are classified. *A. hemibapha* and *A. caesarea* represent 97.5% homology.

Alignment Search Tool) search를 통해 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에 등록되어 있는 균류들의 nucleotide 상동성을 비교하고 동정하였다.

달걀버섯균의 최적배지 조건

배지별 성장특성: 채집한 버섯을 PDA, PDMP배지 등에 조직분리를 하여 25°C incubator에서 암배양 하였다. 배양된 균을 다시 액체배지와 고체배지에 접종하여 각각의 배지 상에서의 특징을 관찰하였다.

균사체의 최적배지 조건 및 측정: 최적 균사생육 온도, pH, 배지 등을 알아보기 위하여, MMN 배지(Malt extract 3 g, Yeast extract 1 g, Glucose 20 g, (NH₄)₂HPO₄ 0.25 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.15 g, CaCl₂ 0.05 g, FeCl₃ 0.012 g, NaCl 0.025 g, Thiamine·HCl 0.003 g, distilled water 1l)를 이용하여 온도는 16-36°C범위로 4°C 간격으로 배양하였고, pH는 5, 6, 7, 7.5 범위에서 최적 조건을 결정하였다. 또한 배지의 변화에 따른 성장 차이를 알아보기 위해 PDA, PDMP, SYP, MMN, GYS(Table. 1) 등 5가지 액체배지를 pH 6의 조건에서 배양하여 성장을 측정하였다. 각 영양원 변화에 따른 균사 생육의 영향을 알아보기 위해 MMN 배지에 탄소원, 질소원의 종류를 변화시켜 사용하였다.

모든 배지는 121°C, 1.5기압에서 15분간 고압멸균 하였으며, 배양된 균사는 cork borer(diameter, 5 mm)를 이용하여 분주 후,

Table 1. The composition of GYS, MMN, PDA, PDB, PDMP, SYP medium

Component	Medium(g/l)					
	GYS	MMN	PDA	PDB	PDMP	SYP
Potato dextrose Agar			39			
Potato dextrose Broth				24	24	
Malt extract		3			3	
Peptone					1	1
Yeast extract	1.5	1				2
Glucose	20	20				
(NH ₄) ₂ HPO ₄		0.25				
KH ₂ PO ₄		1				1
MgSO ₄ ·7H ₂ O		0.15				0.5
CaCl ₂		0.05				
FeCl ₃		0.012				
NaCl		0.025				
Thiamine-HCl		0.003				
Bacto soytone	1.5					
Starch						15
pH			6			
distilled water			1l			

All of the medium autoclaved at 121°C, 15lb/in², 15min.

50일간 28°C에서 정치, 암배양하여 자라난 균체를 조식한 후 microbalance를 이용하여 mg단위로 건조중량을 측정하였다.

조사된 모든 자료는 ANOVA를 이용하여 조건에 따른 차이를 검정하여, 차이가 인정될 경우에는 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range test를 통하여 평균간의 차이를 확인, 차별화 하였다(SAS, 1985).

결과 및 고찰

형태적 분류에 의한 동정

달걀버섯은 광대버섯과에 속하는 버섯으로 흰색 유균 속에서 버섯 원기가 만들어 진다. 5-6 cm 정도의 유균

. 2A)에서 윗부분이 터지면서 갓이 접힌 채로 버섯이 나온다(Fig. 2B). 갓은 접혀 있다가 점점 둥글게 퍼진다. 갓은 약 7-10 cm이고 윗부분의 가장자리에는 주름이 있으며, 중앙부위가 볼록하게 튀어나와 있다(Fig. 2C). 갓 표면의 색은 적황색을 띠고, 아랫부분인 주름살 부분은 떨어진 주름살이며 다소 뻣뻣하다(Fig. 2D). 주름살 끝부분에는 내피막의 잔유물인 노란 분진물이 있다(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004). 대는 원통형으로 등황색-황색의 뱀껍질 모양을 이룬다. 위쪽이 가늘고, 등황색의 턱받이가 남아있다(Fig. 2E). 또한 기부에는 영구성인 백색의 대주머니가 있다(Fig 2F). 포자문은 백색이다. 광학현미경으로 포자를 관찰한 결과, 타원형-원형으로 8-11 × 6-9 μm의 크기를 나타냈다. 포자 한 쪽은 뾰족하게 튀어나온 것을 관찰 할 수 있다(Fig. 3). 이러한 표본의 관찰을 통해 기존 연구에서의 달걀버섯과 같은 종으로 생각된다.

달걀버섯의 균사는 크게 두 가지 형태로 나뉘었다. 길면서 매끈한 사상형(Fig. 4B)과 둥글고 비교적 크기가 큰 유구형(Fig. 4D)으로 구분되었다. 사상형 균사의 직경은 약 2-4 μm, 유구형 균사의 직경은 약 7-8 μm로 관찰되었다. 이러한 사상형 균사에서 세포벽과 Clamp connection이 형성되어 있음(Fig. 4A, 4B, 4C, 4E)을 확인 할 수 있었다. *A. caesarea*는 갓 표면의 주름이 짧고, 대는 짧고 뚱뚱하며 뱀껍질 모양의 무늬가 없고 포자가 광난형-광타원형이란점이 *A. hemibapha*와 형태적으로 다르다(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004).

부분 염기서열 분석에 의한 동정

rDNA부위에 대한 동정은 GenBank database (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 통한 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)로 행해졌다. 광양에서 채취한 균주 KNUF0013에 대하여 부분 염기서열 분석을 한 결과, identities가 580/583(99%), 556/559(99%)로 모두 *A. hemibapha*와 99%의 상동성을 확인 할 수 있었다. 또한 버섯으로부터 분리하여 배양한 균사를 부분 염기서열 분석을 한 결과 341/343(99%), 578/581(99%)로 *A. hemibapha*와 99%의 상동성을 나타내었다(Table. 2).

직접 채취한 *A. hemibapha*와 GenBank로부터 참조한

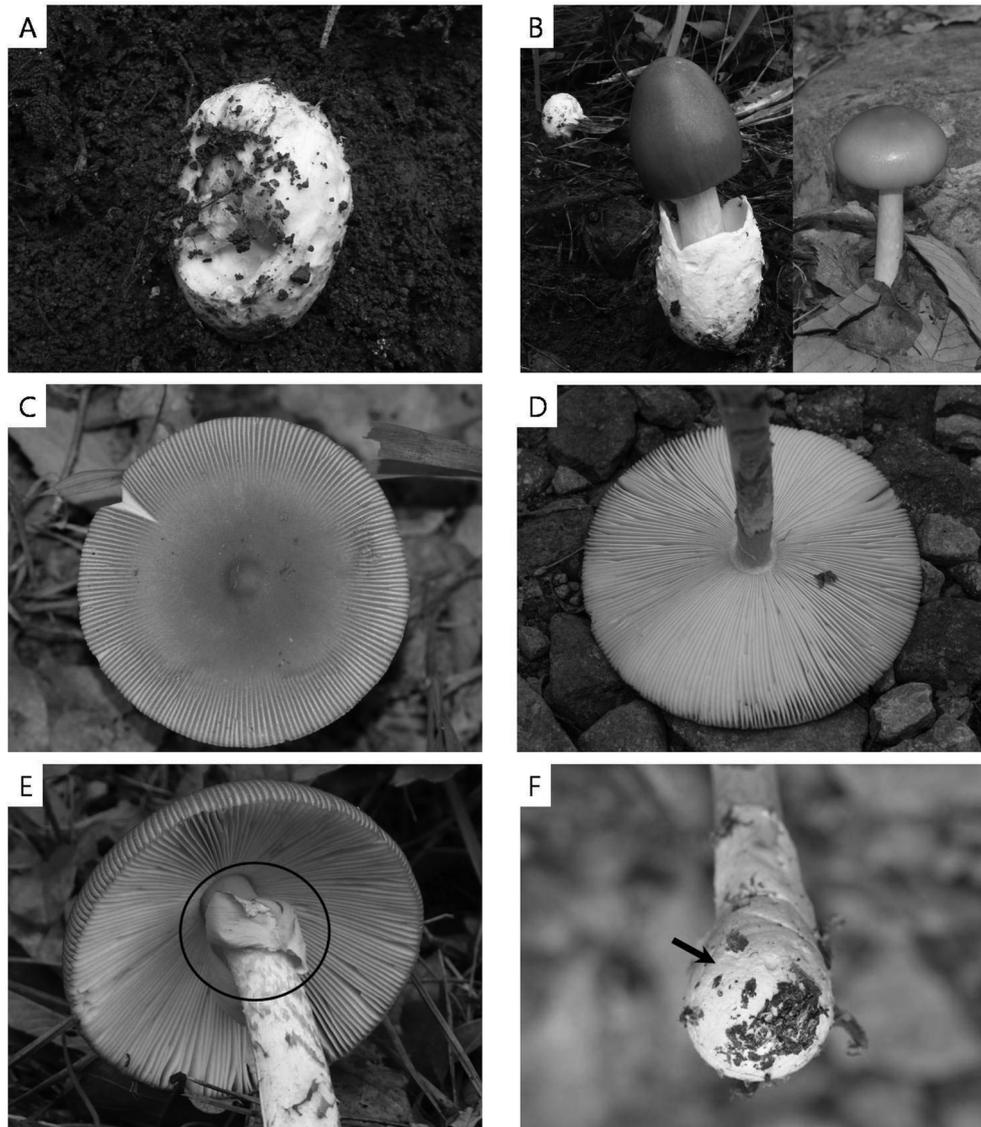


Fig. 2. The external form of *A. hemibapha*. A: 'Button' stage of *A. hemibapha*. It looks like white egg and connected with white hyphae. B: Reddish orange pileus bounce out from white volva. C: Pileus surface is reddish orange at the center to yellowish at the edge. Broadly plane and papillate in the center. Finely lined at the margin. D: Gills are free, crowded and pale yellow. Spore print is white. E: Stalk have annulus at the upper part. Yellowish orange pattern at pale yellow stalk. F: White volva covers at the base.

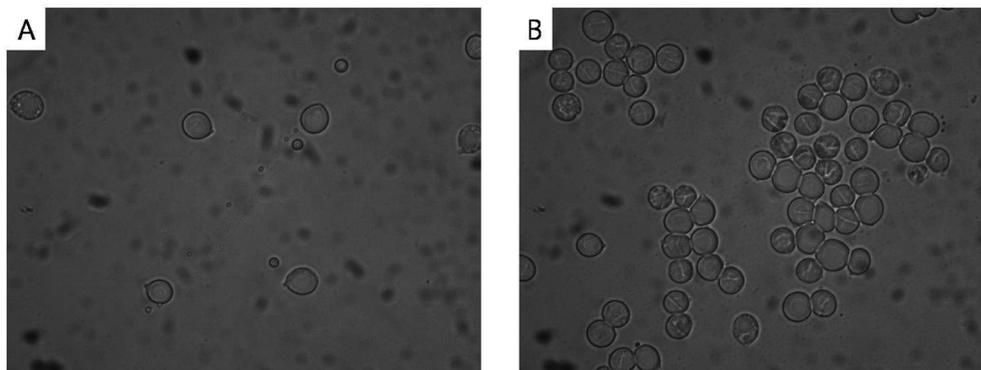


Fig. 3. Optical micrographs($\times 1000$) of Spore of *A. hemibapha*. Spores are broadly elliptical and papillate. The size of spores are $8-11 \times 6-9 \mu\text{m}$.

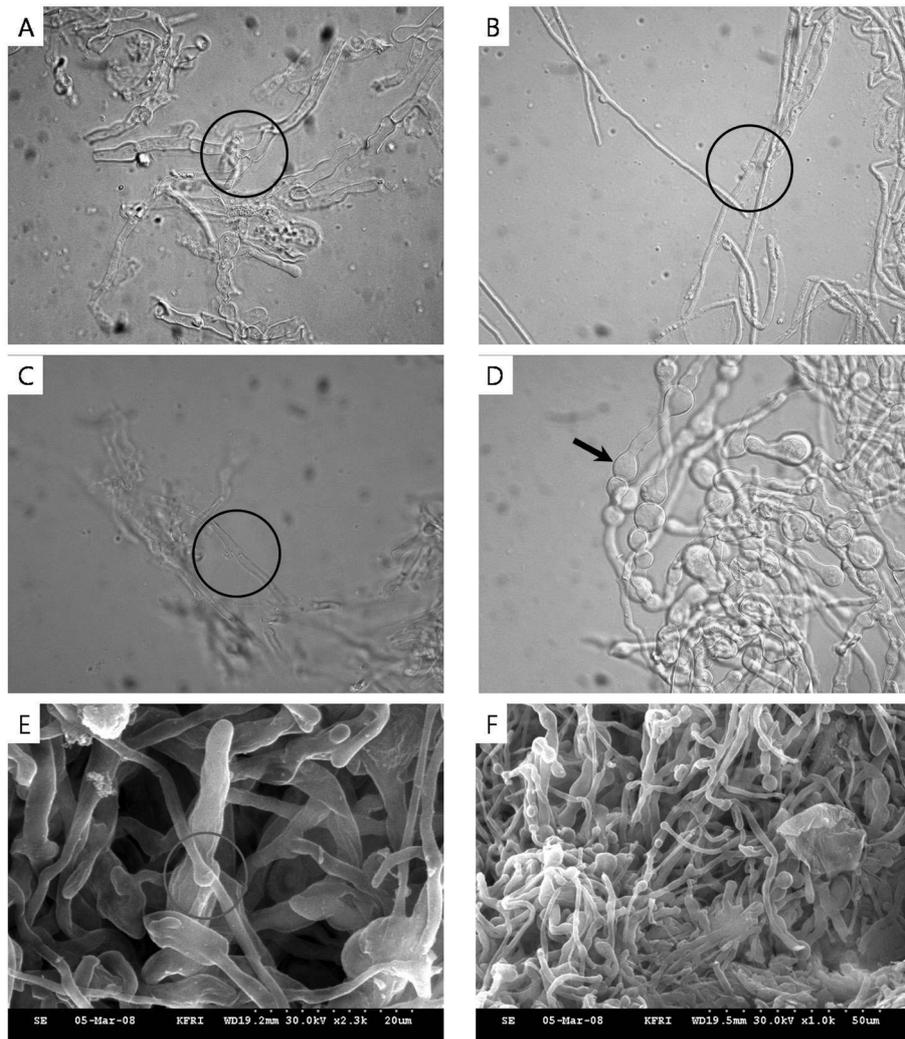


Fig. 4. Optical micrographs(A-D) and Scanning electron micrographs(E, F) of *A. hemibapha*. The circles in A, B, C, E shows the presence of clamp connection. *A. hemibapha* grow as mycelial form(M-phase) and yeast-like form(Y-phase). D represents Y-phase.

Table 2. Identities and gaps of sporocarps and in vitro-grown mycelium strain(KNUF0013) in ITS region

Strain	Identified name by BLAST	Identities	Gaps
Sporocarps 1	<i>Amanita hemibapha</i>	580/583(99%)*	2/583(0%)
Sporocarps 2	<i>Amanita hemibapha</i>	556/559(99%)*	2/559(0%)
<i>In vitro</i> -grown mycelium 3	<i>Amanita hemibapha</i>	341/343(99%)*	1/343(0%)
<i>In vitro</i> -grown mycelium 4	<i>Amanita hemibapha</i>	578/581(99%)*	2/581(0%)

*A probability of 96% of above will recognize it the same genus. All of the strains are identified as *A. hemibapha*.

A. caesarea, Amanita속 버섯, 그리고 많이 알려진 균근성 버섯 등 총 21종을 sequence를 분석하여 nucleotide 수준에서 비교를 하여 계통도를 작성하였다(Fig 5; Laser gene 7.0). *A. hemibapha*는 *A. caesarea*와 97.5%의 유사성을 나타내고 *A. jacksonii*과는 98.5%의 유사성을 나타내었다. 그러나 광대버섯속 중 독버섯으로 널리 알려진 *A. muscaria*와는 36%의 낮은 유사성을 나타내었다(Fig. 1).

달갈버섯의 중요성은 *A. caesarea*와의 유사성과 관련이

있다. 광대버섯속에 속하는 대부분의 버섯은 독버섯이지만 *A. caesarea*는 식용버섯으로 유럽에서 고가에 거래되고 있다 (Yun & Hall, 2004). 이와 유사한 종은 대표적으로 3가지를 볼 수 있는데, 이들은, Caesar's mushroom(*A. caesarea*), Slender Caesar's mushroom(*A. hemibapha*), American Caesar's mushroom(*A. jacksonii*)이다. *A. caesarea*은 유럽등지에서, *A. hemibapha*는 동아시아, *A. jacksonii*은 북미에서 발생한다(Hall et al., 2003). 이들은 외형적으로 매우 비슷하나,

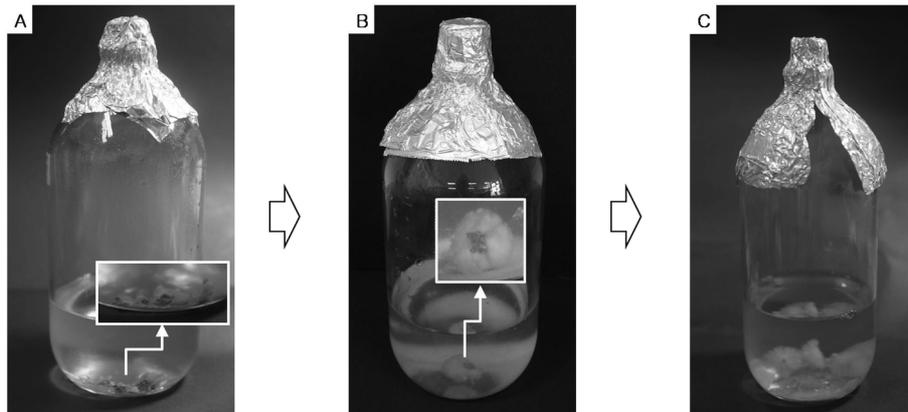


Fig. 5. Characteristics of *A. hemibapha*'s hyphae growth in liquid media(PDMP). A: After 2-3months of inoculation, surface gets whitish brown hyphae. Some spot-like hyphae drifted in the medium. B: After 5-6months of inoculation, hyphae grow up about 3-4 cm(diameter). It has woolly white and whitish brown hyphae. C: After 10-12months of inoculation, hyphae grow up about 4-5cm(diameter). Some spot-like hyphae drifted in the medium. Most of mycelia might be stopped the growth.

*A. hemibapha*의 대부분의 무늬가 *A. caesarea*에는 없고 대부분의 방사상의 흠도 약간 짧다(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004).

달갈버섯균의 배지별 성장 특징

액체배지상(PDMP배지)에서는 달갈버섯균의 생장은 매우 느린 편이다. 액체배지에 달갈버섯균을 접종한지 약 20일 전

후로 균사가 자라기 시작한다. 이 후 균사 성장 역시 느린 편이다. 이러한 균사는 점차 성장하면서 덩글게 뭉쳐서 자라기 시작한다. 5-6개월이 지나면 덩글게 성장한 균사를 볼 수 있게 되고 점차 성장 속도가 느려진다(Fig. 5). 고체배지상(PDMP배지, Agar첨가)에서는 특이한 외형을 나타낸다. 버섯으로부터 1차적으로 분리한 균사의 생장은 2가지의 경우를 나타냈다. 균사체의 외부모양은 주름진 형태를 띠며, 같은 흰

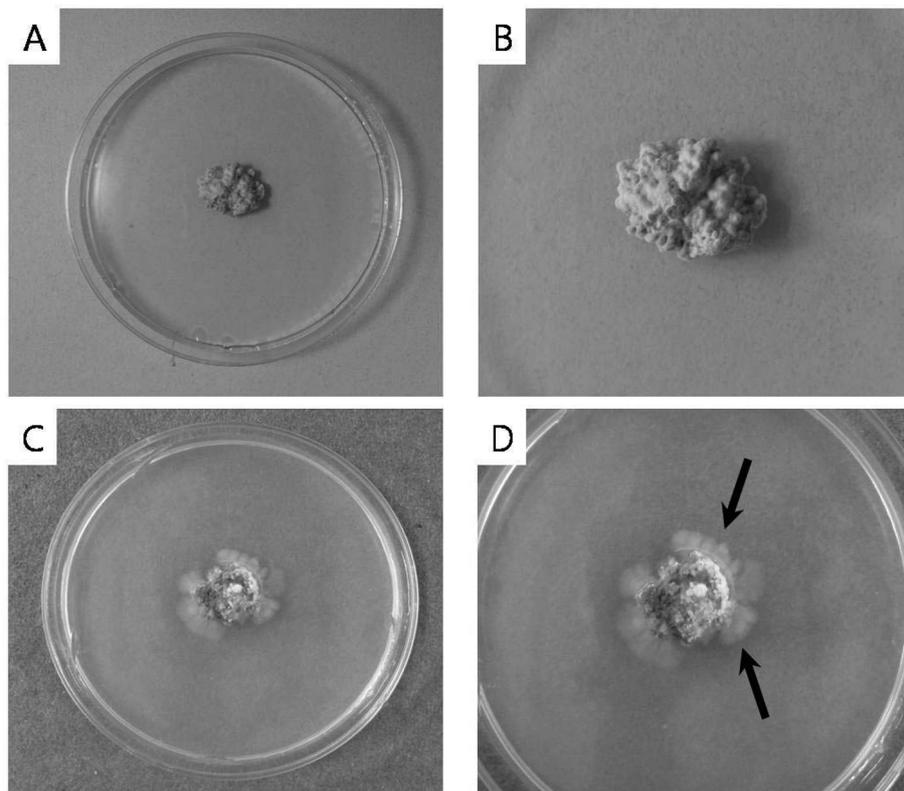


Fig. 6. Morphological characteristics of *A. hemibapha*'s mycelial colony on solid media(PDMP). A, B: Isolates were obtained from sporocarps of *A. hemibapha* directly, isolates are woolly(white hyphae), crease surface. C, D: Isolates were 3rd or 4th subcultured. The edge of mycelium has whitish brown hyphae.

균사가 덮여 있다(Fig. 6A, 6B). Petri-dish의 가장자리를 향해서 뻗어 나가는 일반적인 버섯균사(송이, 표고 등)의 성장형태와는 다르다. 2, 3차 계대배양을 통하여 1년여 정도가 지난 시점부터는 가장자리에 균사로 추정되는 것이 나타나 다른 성장형태를 나타낸다(Fig. 6C, 6D). 이러한 균주와 계대 배양을 실시한 균주의 활력검정과 균의 변이양상에 대한 연구 추가적으로 필요하다.

달걀버섯균의 최적배지 조건

최적배지 선택: GYS, MMN, PDB, PDMP, SYP 등 5가지의 배지를 통해 균사의 건중량을 측정하였다. GYS, SYP 배지를 사용하였을 경우 가장 우수한 균사생육을 나타내었다(Table. 3). PDMP배지를 사용하였을 경우 역시 양호한 균사생육을 나타내었지만 MMN, PDB배지에서의 균사생육은 저조하였다. SYP배지는 Peptone, Yeast extract, KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Starch로 구성되어 있고, GYS배지는 Yeast extract, Glucose, Bacto soytone으로 구성된 배지이다. Peptone이 첨가된 SYP배지를 사용했을 경우 균사생육이 우수한 것은 본 연구에서 질소원으로 peptone이 첨가되었을 때의 생육이 우수했던 결과와 일치한다. Peptone이 달걀버섯 균사생장에 끼치는 영향에 관한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

pH 및 온도의 영향: pH를 조절하여 균사의 건중량을 측정한 결과, pH 5.0에서 균사의 생육이 가장 저조하였고, pH 6.0에서 가장 우수하였다(Table. 4). *A. caesarea*(CT1, CT3, CT4, ZL1) 균사생육이 pH 6.0-7.0에서 가장 활발하다는 연구와는 비슷하나(Daza et al., 2006), *A. hemibapha*의 균사생장이 pH 5.0에서 가장 우수한 생육을 하였다는 연

구와는 차이가 났다(한 과 함, 1999). 온도를 16°C, 20°C, 24°C, 28°C, 32°C, 36°C으로 설정하여 배양 후 건중량을 측정하였다. 16°C에서 균사 생육이 가장 저조하게 나타났다. 24°C에서는 비교적 양호한 균사생육을 나타내었으며 28°C에서 가장 우수한 균사생육을 나타내었다(Table. 5). *A. caesare*균의 최적 배지 온도인 24-28°C와 유사하다(Daza et al., 2006). 이러한 *A. caesare*와 *A. hemibapha*는 모두 호열성 버섯으로, 습도가 높고 기온이 높은 여름과 초가을에 나타난다(농촌진흥청 농업과학기술원, 2004; 本 와 幼菌, 2001; 池田, 2005; 今 등, 1995; 清水 와 伊, 2000; 柴田, 2006). 세부적인 온도별 실험을 실시하여 달걀버섯균의 생장에 적합한 온도를 찾아야 할 것으로 판단된다.

질소원과 탄소원 첨가에 따른 균사 생육에 미치는 영향: 질소원의 영향을 알아보기 위해 0.25%의 질소원을 첨가하여 실험을 하였다. Control은 MMN배지에서 $(NH_4)_2HPO_4$ 를 제외한 배지이다. 모든 질소원의 조건에서 양호한 생육 상태를 나타냈지만, Peptone이 첨가되었을 때 가장 우수한 균사생육을 나타내었다(Table. 6). NH_4 의 건중량이 NO_3^- 보다 무겁게 나타났는데, 이 결과는 Sawyer 등(2003)이 연구한 호주의 몇몇 *Amanita*종에서 NO_3^- 와 bovine serum albumin보다 NH_4 에서 더 높은 biomass를 나타낸 결과와 동일하다. 이러한 질소원이 달걀버섯 균사의 성장뿐만 아니라 균근성 버섯의 한 종으로 기주식물과의 공생관계에 있어서 어떠한

Table 3. Growth effects of *A. hemibapha* strain on different media*

Strain	Mycelial growth(Dry weight, mg)					
	Medium					
	GYS	MMN	PDB	PDMP	SYP	F value
KNUF 0013	87.98 ^b	73.12 ^a	73.12 ^a	80.55 ^{ab}	88.41 ^b	3.55

Values are means of five replicates.
*Means followed by the same letters across rows are significantly different at P=0.05 by Duncan's multiple range test.
Strains were grown for 50 days at 28(± 1)°C, pH6.0.

Table 4. Growth effects of *A. hemibapha* strain at the different pHs*

Strain	Mycelial growth(Dry weight, mg)				
	pH				
	5.0	6.0	7.0	7.5	F value
KNUF 0013	85.12 ^a	90.69 ^a	89.58 ^a	86.68 ^a	0.08

Values are means of five replicates.
*Means followed by the same letters across rows are not significantly different at P=0.05 by Duncan's multiple range test.
Strains were grown on MMN for 50 days at 28(± 1)°C.

Table 5. Growth effects of *A. hemibapha* strain at the different temperatures*

Strain	Mycelial growth(Dry weight, mg)						
	Temperature						
	16°C	20°C	24°C	28°C	32°C	36°C	F value
KNUF 0013	71.16 ^a	82.81 ^a	94 ^a	99.29 ^a	81.94 ^a	81.86 ^a	1.35

Values are means of five replicates.
*Means followed by the same letters across rows are not significantly different at P=0.05 by Duncan's multiple range test.
Strains were grown on MMN(pH 6.0) for 50 days.

Table 6. Growth effects of *A. hemibapha* strain on the different nitrogen sources*

Strain	Mycelial growth(Dry weight, mg)				
	Nitrogen source				
	Control**	$(NH_4)_2HP O_4$	$Ca(NO_3)_2$	Peptone	F value
KNUF 0013	79.54 ^a	90.19 ^{ab}	87.12 ^{ab}	97.81 ^b	2.14

Values are means of five replicates.
*Means followed by the same letters across rows are not significantly different at P=0.05 by Duncan's multiple range test.
**MMN minus $(NH_4)_2HPO_4$.
Strains were grown on MMN(pH6.0) for 50 days at 28(± 1)°C.

Table 7. Growth effect of *A. hemibapha* strain on the different carbon sources*

Strain	Mycelial growth(Dry weight, mg)								
	Carbon source								
	Con1**	Con2***	Starch	Glucose	Fructose	Mannitol	Sucrose	Glycerol	F value
KNUF 0013	51.43 ^{a*}	56.53 ^a	75.03 ^{bc}	75.29 ^{bc}	66.79 ^b	81.97 ^c	66.03 ^b	66.77 ^b	11.63

Values are means of five replicates.

*Means followed by the same letters across rows are significantly different at P= 0.05 by Duncan's multiple range test.

**MMN without glucose and yeast extract.

***MMN without glucose.

Strains were grown on MMN(pH6.0) for 50 days at 28(± 1)°C.

역할을 하는지에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

달걀버섯 균사체의 균사 생육에 탄소원의 영향을 알아보기 위해 MMN 배지에 2%의 탄소원을 각각 첨가하여 실험하였다. Con1은 MMN 배지에 glucose와 yeast extract을 제외한 것이고, Con2는 MMN 배지에 glucose를 제외한 배지이다. Con1과 Con2에서 균사체 생육이 가장 저조하게 나타났다. Con1, Con2을 제외한 모든 탄소원에서 양호한 생육을 보였고, Starch, Glucose, Mannitol에서 우수한 균사생육을 나타내었다. 그 중, Mannitol을 첨가하였을 때 가장 무거운 건중량을 보였다(Table. 7). 이는 *A. caesarea* 균사체의 최적 탄소원이 Mannitol과 Glucose라는 보고와 일치하였다 (Daza *et al.*, 2006).

적요

달걀버섯 균사의 특징 및 동정과 균사 생육을 위한 최적 배지 조건을 조사하였다.

실체, 광학, 주사전자현미경을 통하여 달걀버섯의 균사를 관찰하였다. 그 결과, clamp connection을 볼 수 있었으며, 균사형(M형)직경이 2-4 μm, 효모형(Y형)균사 직경이 7-8 μm로 나타났다. 포자는 광타원형-원형으로 8-11 × 6-9 μm로 관찰되었다. 채집한 달걀버섯을 통해 분자학적으로 동정한 결과, *A. hemibapha*는 *A. caesarea*와 *A. jacksonii*와 각각 97.5, 98.5%의 높은 유사성을 나타내었다. 균사생육을 위한 최적 온도는 28°C이고, pH6.0에서 최적 균사생육을 나타내었다. 또한, SYP, GYS 배지를 사용하였을 때 가장 우수한 균사생육을 나타내었다. 탄소원으로는 Mannitol과 Glucose를 첨가하였을 때 균사 생육이 가장 활발히 나타났고, 질소원으로는 Peptone이 첨가 되었을 때 가장 좋은 생육이 이루어졌다.

참고문헌

농촌진흥청 농업과학기술원. 2004. 한국의 버섯-식용버섯과 독버섯. 동방미디어. 서울. pp. 467.
 한영환, 함정혜. 1999. 달걀버섯(*Amanita hemibapha* subsp. *hemibapha* DGUM 28001)의 균사체 생육을 위한 배양조건의 최적화. *Dongguk Journal : Natural Sciences* 38 : 273-286.

本次雄・幼菌の. 2001. カラー版きのこ鑑. 家の光協.
 池田良幸. 2005. 北陸のきのこ鑑. 橋本確文堂.
 今六也, 大谷吉雄, 本次雄. 1995. 山溪カラー一名鑑 日本のきのこ. と溪谷社.
 清水大典・伊正名. 2000. きのこ. 家の光協.
 柴田. 2006. 森のきのこたち : 種類と生態-. 八坂書房.
 Daza, A., Manjn, J. L., Camacho, M., Romero de la Osa. L., Aguilar, A. and Santamara, C. 2006. Effect of carbon and nitrogen sources, pH and temperature on in vitro culture of several isolates of *Amanita caesarea*(Scop.:Fr.) Pers.. *Mycorrhiza* 16 : 133-136.
 Gonzalez, V., Arenal, F., Platas, G., Esteve-Ravents, F. and Pelez, F. 2002. Molecular typing of Spanish species of *Amanita* by restriction analysis of the ITS region of the DNA. *Mycol Res* 106 : 903-910.
 Hall, I. R., Stephenson, S. L., Buchanan, P. K., Yun, W. and Cole, A. L. J. 2003. Edible And Poisonous Mushrooms Of The World. Timber Press.
 Meotto, F., Mello, A., Nosenzo, C. and Vezzola, V. 1997. Morphological and molecular characterization of *Amanita caesarea* ectomycorrhizas. *Allionia* 35 : 87-93.
 Meotto, F., Pellegrino, S. and Bounous, G. 1999. Evolution of *Amanita caesarea* (Scop.: Fr.) Pers. and *Boletus edulis* Bull.: Fr. Synthetic ectomycorrhizae on European chesnut (*Castanea sativa* Mill.) seedlings under field conditions. *ISHS Acta Horti* 494 : 201-204.
 SAS Institute Inc. 1985. SAS/STAT Guide for Personal Computers, Ver. 6 edit. Cary NC, USA. 378pp.
 Sawyer, N. A., Chambers, S. M. and Cairney, J. W. G. 2003. Utilisation of inorganic and organic nitrogen sources by *Amanita* species native to temperate eastern Australia. *Mycol Res* 107(4) : 413-420.
 Trappe, J. M. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot Rev* 28(4) : 538-606.
 White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for polygenetics. Pp 315-322 In: Innis, M. A., Gelgand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. Eds. PCR protocols: a guide to methods and applications, Academic Press, San Diego.
 Yang, Z. L., Weiβ, M., Kottke, I., Oberwinkler, F., Nehls, U., Guttenger, M. and Hampf, R. 1999. *Amanita*. In: Cairney JWG, Chambers SM (eds) Ectomycorrhizal fungi. Key genera in profile. Springer. : 200-230.
 Yun, W. and Hall, I. R. 2004. Edible ectomycorrhizal mushroom : challenges and achievements. *Can J Bot* 82(8) : 1063-1073