

순수배양 시 외생균근균의 질소원 요구성과 선호도

전성민 · 가강현*

국립산림과학원 화학미생물과

Nitrogen Source-requirement and Preference of Ectomycorrhizal Fungi in Pure Culture

Sung-Min Jeon and Kang-Hyeon Ka*

Division of Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

ABSTRACT : The nitrogen source-requirement and preference of ectomycorrhizal fungi (42 strains belong to 13 genera) collected from Korean forests were investigated by incubating mycelial cells in four nitrogen source test media for 56 days. The nitrogen requirement was relatively high in five strains (*Heimioporus japonicas* (KFRI 1224), *Suillus luteus* (KFRI 1232), *Tylopilus castaneiceps* (KFRI 1383), *Suillus granulatus* (KFRI 1997), *Rhizopogon* sp. (KFRI 1434)) in comparison with other strains. Forty-five percent of ectomycorrhizal strains including *Boletus griseus* (KFRI 1362) preferred the ammonium-form of inorganic nitrogen source for mycelial growth, whereas thirty-six percent of tested strains including *Suillus grevillei* (KFRI 1125) preferred the nitrate-form as an inorganic nitrogen source.

KEYWORDS : Ectomycorrhizal fungi, Mycelial growth, Nitrogen sources

서 론

질소는 미생물 생장에 있어 탄소원 다음으로 중요하게 여겨지는 영양인자로, 각종 아미노산이나 효소 등을 합성하는 데에 필수적인 성분이 된다. 특히 균근을 형성하는 균류들(mycorrhizal fungi)은 토양으로부터 식물의 생장에 필요한 질소원을 공급해 주기 때문에 생태계 질소원 순환에 중요한 역할을 담당하고 있으며, 간단한 무기암모늄염에서부터 유기질소화합물에 이르기까지 다양한 종류의 질소원을 이용할 수 있는 능력을 가지고 있다. 토양 속에는 무기질소원과 유기질소원이 존재하며, 식물이나 버섯이 특

히 유기질소원을 이용하기 위해서는 이를 분해하여 사용해 야만 한다. 외생균근을 형성하는 버섯류가 유기질소원 분해 능력이 있다는 것은 실험실 내 배양 결과를 통해서도 알 수 있다. 한 예로, 달걀버섯(*Amanita hemibapha* subsp. *hemibapha*), 송이(*Tricholoma matsutake*), 바보송이(*Tricholoma bakamatsutake*) 등은 그들의 배양 배지에 효모 추출물이나 펩톤과 같은 유기 질소원을 첨가했을 때에 균사 생장이 우수하게 나타나 (Kim *et al.*, 2005; Sou *et al.*, 2009; Terashima, 1999) 유기질소원을 분해하여 이용할 수 있는 능력이 있음을 알 수 있다. 이와 같은 균근균의 특성 때문에 이들 균류 집단을 다시 구별하여 단백질 고분자를 분해할 수 있는 균류와 그렇지 못한 균류로 세분화하기도 한다 (Abuzinadah and Read, 1986).

산림에는 무기 형태의 질소원이 풍부하고, 많은 균근균들은 암모늄이나 질산염 형태의 무기질소원을 이용할 수 있는 능력이 있으며, 대부분의 균근형성 버섯류들은 질산염보다는 암모늄 형태의 무기질소원을 더 선호하여 이용하는 경향이 있는 것으로 조사되었다(Read *et al.*, 1989). 암모늄 형태의 질소원은 외생균근균이 항상 이용할 수 있는 주요 이온성 화합물류가 되기 때문이다. 일부 연구 결과에 의하면, 순수 배양 시에도 암모늄 형태의 질소원은 많은 외생균근균들의 생장에 우세하게 작용하는 것으로 나타났다 (France and Reid, 1984). 암모늄 형태의 질소원 중에서도

Kor. J. Mycol. 2013 September, 41(3): 149-159
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.3.149
pISSN 0253-651X
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: kasybio@forest.go.kr

Received September 9, 2013

Revised September 17, 2013

Accepted September 18, 2013

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

인산수소암모늄((NH₄)₂HPO₄) 염화암모늄(NH₄Cl), 또는 ammonium tartrate((NH₄)₂C₄H₄O₆) 등이 함유된 배지에서는 외생균근성 균류들의 생장이 우세한 것으로 나타났다. 한 예로, 염화암모늄(NH₄Cl)은 찔꼬리버섯 (*Cantharellus cibarius*)의 최적 질소원으로 (Rangel-Castro, 2001), 젓비단 그물버섯(*Suillus granulatus*), 사마귀버섯(*Thelephora terrestris*), 모래발버섯(*Pisolithus tinctorius*)의 균 성장에도 적합한 질소원 중의 하나인 것으로 보고되었다(France and Reid, 1984). 또한, 외생균근균의 균주마다 무기질소원의 이용률이 다르긴 하지만, 대부분은 질산염 형태의 무기 질소원보다는 암모늄 형태의 무기질소원을 먼저 이용하는 것으로 알려져 있다(Read et al., 1989). 민달걀버섯(*Amanita caesarea*)의 몇몇 균주들은 calcium nitrate tetrahydrate (Ca(NO₃)₂)보다 인산수소암모늄((NH₄)₂HPO₄)이 포함된 배지에서 배양 시 균체량이 증가하였으며, 바보송이(*Tricholoma bakamatsutake*)의 경우에도 KNO₃나 NaNO₃ 보다는 NH₄Cl이나 ammonium tartrate ((NH₄)₂C₄H₄O₆)와 같은 암모늄 형태의 질소원을 공급해 주었을 때 균체량이 더 높은 것으로 보고되었다(Terashima, 1999).

이와 같이 균근을 형성하는 버섯류들은 그들의 균사 성장을 위해 질산염보다는 암모늄 형태의 무기질소원을 더 선호하는 것으로 이미 알려져 있긴 하지만, 기존 문헌에 알려진 실험 결과나 배양 특성이 국내 산림에 분포하고 있는 외생균근성 버섯류에도 적용되는지에 관한 의문이 있어 수집한 균주의 질소원 요구도와 질소원 선호도를 조사하였다. 암모늄 형태의 대표적인 무기질소원인 NH₄Cl과 질산염 형태의 대표적인 무기질소원인 KNO₃ 중 어떤 종류의 질소원을 외생균근균이 선호하는지 그리고 같은 종이라도 균주에 따라 무기질소원 선호도가 다르게 나타날 수 있는지 등을 본 연구에서 조사하였다.

재료 및 방법

외생균근균의 수집과 접종원 준비

2007~2012년까지 국내 7개 지역(강원, 경기, 경남, 경북, 서울, 전남, 제주)의 산림에서 수집한 외생균근 형성 버섯 균 중 순수분리를 통해 국립산림과학원(Korea Forest Research Institute, KFRI)에 보존 중인 13속 42개 균주를 대상으로 이들의 질소원 요구도와 선호도를 조사하였다(Table 1). 영양세포의 대사가 활발한 접종원을 얻기 위해 사면배지에 냉장보존(4°C) 중이던 균주들은 감자포도당 한천배지(potato dextrose agar, PDA) 또는 MMNA 배지(Modified Melin-Norkran's agar; Marx, 1969)에 접종하여 25°C에서 1~2개월간 암배양 하였다.

질소원 시험배지의 제조

설탕 대신 10 g/L의 포도당이 함유된 Modified Melin-Norkran's medium (MMN)을 기본으로 다음과 같이 질소

Table 1. Ectomycorrhizal fungal strains used in this study

Scientific name	Korean name	KFRI strain No. ¹⁾	Origin of strains		Year isolated
			Forest vegetation	Location	
<i>Amanita hemibapha</i> (Berk. & Broome) Sacc.	달걀버섯	1674	<i>Quercus</i> sp.	Cheongdo, Gyeongbuk, Korea	2008
<i>Amanita javanica</i> (Corner & Bas) T. Oda, C. Tanaka & Tsuda	노란달걀버섯	1267	<i>Quercus mongolica</i>	Goseong, Gangwon, Korea	2009
<i>Amanita melleiceps</i> Hongo	파리버섯	1180	<i>Pinus densiflora</i>	Hongneung, Seoul, Korea	2009
<i>Amanita pantherina</i> (DC.) Krombh. (Dc.: Fr.) Krombh.	마귀광대버섯	1170	<i>Pinus thunbergii</i>	Segipo city, Jeju, Korea	2009
<i>Boletus griseus</i> var. <i>fuscus</i> Hongo	검은머리그물버섯	1362	<i>Pinus densiflora</i>	Pyeongchang, Gangwon, Korea	2010
<i>Boletus violaceofuscus</i> Chiu	흑자색그물버섯	1162	<i>Quercus glauca</i>	Segipo city, Jeju, Korea	2009
<i>Boletus violaceofuscus</i> Chiu	흑자색그물버섯	1163	<i>Quercus glauca</i>	Segipo city, Jeju, Korea	2009
<i>Entoloma cyanonigrum</i> (Hongo) Hongo	가자외대버섯	1343	<i>Pinus & Quercus</i> sp.	Pyeongchang, Gangwon, Korea	2010
<i>Entoloma cyanonigrum</i> (Hongo) Hongo	가자외대버섯	1407	<i>Pinus & Quercus</i> sp.	Pocheon, Gyeonggi, Korea	2010
<i>Heimioporus japonicus</i> (Hongo) E. Horak	일본연지그물버섯	1224	<i>Quercus</i> sp.	Goseong, Gangwon, Korea	2009
<i>Hygrophorus russula</i> (Schaeff.) Kauffman	다색뿔꽃버섯	1488	<i>Quercus mongolica</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Lactarius chrysorrheus</i> Fr.	노란젓버섯	936	<i>Pinus densiflora</i>	Gurye, Jeonnam, Korea	2007

Table 1. Continued

Scientific name	Korean name	KFRI strain No. ¹⁾	Origin of strains		
			Forest vegetation	Location	Year isolated
<i>Lactarius hatsudake</i> Nobuj. Tanaka	젓버섯아재비	1164	<i>Pinus thunbergii</i>	Segipo city, Jeju, Korea	2009
<i>Pisolithus arhizus</i> (Scop.) Rauschert	모래밭버섯	1198	<i>Pinus densiflora</i>	Goseong, Gangwon, Korea	2009
<i>Pisolithus arhizus</i> (Scop.) Rauschert	모래밭버섯	1960	<i>Quercus acutissima</i>	Suwon, Gyeonggi, Korea	2012
<i>Rhizopogon</i> sp.	알버섯류	1425	<i>Pinus densiflora</i>	Hongneung, Seoul, Korea	2010
<i>Rhizopogon</i> sp.	알버섯류	1434	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Rhizopogon</i> sp.	알버섯류	1440	<i>Pinus thunbergii</i>	Yangyang, Gangwon, Korea	2010
<i>Rhizopogon</i> sp.	알버섯류	1579	<i>Pinus densiflora</i>	Sokcho, Gangwon, Korea	2011
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Roussel (Pers.) Roussel	황소비단그물버섯	1231	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2009
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Roussel (Pers.) Roussel	황소비단그물버섯	1295	<i>Pinus densiflora</i>	Yangpyeong, Gyeonggi, Korea	2010
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Roussel (Pers.) Roussel	황소비단그물버섯	1435	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Roussel (Pers.) Roussel	황소비단그물버섯	1657	<i>Pinus densiflora</i>	Goseong, Gangwon, Korea	2011
<i>Suillus bovinus</i> (Pers.) Roussel (Pers.) Roussel	황소비단그물버섯	1968	<i>Pinus densiflora</i>	Goseong, Gangwon, Korea	2012
<i>Suillus granulatus</i> (L.) Roussel	젓비단그물버섯	1997	<i>Pinus densiflora</i>	Hongneung, Seoul, Korea	2012
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch) Singer	큰비단그물버섯	1123	<i>Larix kaemferi</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2009
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch) Singer	큰비단그물버섯	1125	<i>Larix kaemferi</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2008
<i>Suillus luteus</i> (L.) Roussel	비단그물버섯	1232	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2009
<i>Suillus luteus</i> (L.) Roussel	비단그물버섯	1244	<i>Pinus rigida</i>	Sancheong, Gyeongnam, Korea	2009
<i>Suillus luteus</i> (L.) Roussel	비단그물버섯	1246	<i>Larix kaemferi</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2009
<i>Tricholoma matsutake</i> (S. Ito & S. Imai) Singer	송이	1013	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2007
<i>Tricholoma matsutake</i> (S. Ito & S. Imai) Singer	송이	1015	<i>Pinus densiflora</i>	Mungyeong, Gyeongbuk, Korea	2007
<i>Tricholoma matsutake</i> (S. Ito & S. Imai) Singer	송이	1265	<i>Pinus densiflora</i>	Sancheong, Gyeongnam, Korea	2009
<i>Tricholoma matsutake</i> (S. Ito & S. Imai) Singer	송이	1681	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Tylopilus castaneiceps</i> Hongo	끈적쓴맛그물버섯	1383	<i>Quercus</i> sp.	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Tylopilus chromapes</i> (Frost) A.H. Sm. & Thiers	노란대쓴맛그물버섯	1373	<i>Conifer stand</i>	Jeongseon, Gangwon, Korea	2010
<i>Tylopilus chromapes</i> (Frost) A.H. Sm. & Thiers	노란대쓴맛그물버섯	1484	<i>Larix kaemferi</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Tylopilus neofelleus</i> Hongo	제주쓴맛그물버섯	1401	<i>Pinus densiflora</i>	Pocheon, Gyeonggi, Korea	2010
<i>Tylopilus neofelleus</i> Hongo	제주쓴맛그물버섯	1480	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Tylopilus neofelleus</i> Hongo	제주쓴맛그물버섯	1481	<i>Pinus densiflora</i>	Hongcheon, Gangwon, Korea	2010
<i>Xanthoconium affine</i> (Peck) Singer	진갈색먹그물버섯	1421	<i>Larix kaemferi</i>	Pocheon, Gyeonggi, Korea	2010
<i>Xerocomellus rubellus</i> (Krombh.) Šutara	붉은그물버섯	1828	<i>Quercus mongolica</i>	Pyeongchang, Gangwon, Korea	2012

¹⁾ KFRI: Korea Forest Research Institute, Korea.

원이 서로 다른 4종류의 액체배지를 제조하였다(Table 2). 유기질소원(malt extract)과 무기질소원($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, thiamin-HCl)이 모두 함유되어 있는 MMN 배지(M), MMN 배지에서 유기 및 무기 질소원을 모두 제외시킨 배지(M0), MMN 배지에서 유기질소원을 제외시키고 무기질소원인 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 $(\text{NH}_4)\text{Cl}$ 로 대체한 배지(M1), 그리고 MMN 배지에서 유기질소원을 제외시키고 무기질소원인 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 대신 KNO_3 로 대체한 배지(M2)를 제조하였다. 무기질소원인 Ammonium phosphate ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), ammonium chloride ($(\text{NH}_4)\text{Cl}$), potassium nitrate (KNO_3)는 배지에 각각 0.25 g/L씩 동일하게 첨가하였다. 각 배지에 1 M HCl 또는 1 M NaOH를 가하여 pH 5.5가 되도록 조정한 후, 유리 삼각플라스크에 20 ml씩 분주하여 고압증기멸균(121°C, 20분)하였다.

질소원 시험배지에서 외생균근균의 배양과 회수

고체배지에서 배양한 각 균주의 균총 선단부를 cork borer를 이용하여 취한 후, 각각의 질소원 시험배지 당 접종원(직경 6 mm)을 1개씩 접종하였다. 모든 시험균은 정치 상태로 $25\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 56일간 암배양한 후, 배양체의 형태학적 특성을 육안으로 관찰하고 사진으로 기록하였다. 균체량 측정을 위해 각 시험배지에서 생장한 외생균근균의 영양세포 배양체는 다음과 같이 여과를 통해 회수하였다. 70°C 건조기에서 2일간 미리 건조시킨 정성 원형 여과지(직경 110 mm, Advantec No.5A, Japan)에 각 균주의 56일 배양체를 부어 여과하였다. 배양체가 함유된 여과지는 70°C 건조기에서 넣어 2일간 건조시킨 후, 질소원 시험배지별로 건중량(mg/flask)을 측정하여 비교하였다. 또한 배양 후 시험배지의 final pH를 측정하여 질소원의 종류에 따른 외생균근균의 물질대사 변화 양상과 군사 생장과의 상관성을

조사하였다.

결과 및 고찰

외생균근균의 식생

시험에 사용한 외생균근균의 74%는 소나무(*Pinus densiflora*), 리기다소나무(*Pinus rigida*), 곰솔(*Pinus thunbergii*), 일본이깔나무(*Larix kaemferi*)와 같은 침엽수림에서 발생한 것이며, 시험 균주의 21%는 상수리나무(*Quercus acutissima*), 신갈나무(*Quercus mongolica*), 종가시나무(*Quercus glauca*)와 같은 활엽수림에서, 나머지 5%는 침엽수와 활엽수가 혼재하는 산림에서 발생한 것으로 조사되었다. 총 시험 균주의 50%는 소나무림에서 발생한 것으로 주로 송이, 황소비단그물버섯, 제주쓴맛그물버섯, 알버섯류 등이 이에 해당된다. 일본이깔나무림에서는 주로 비단그물버섯류(큰비단그물버섯, 비단그물버섯)가 분포하였으며, 참나무림에서는 달걀버섯, 다색벚꽃버섯, 일본연지그물버섯, 흑자색그물버섯 등이 분포하는 것으로 조사되었다. 시험균주들이 발생한 곳의 식생과 순수배양 시 질소원 시험배지에서의 군사 생장 결과를 토대로 외생균근균의 식생과 무기질소원 선호도와 상관을 관계를 조사하였다. 침엽수림에서 발생한 균주는 총 31균주로, 이 중 15균주는 $(\text{NH}_4)\text{Cl}$ 이 함유된 배지(M1)에서 군사 생장이 우세하였고, 11균주는 KNO_3 가 함유된 배지(M2)에서 군사 생장이 우세하였으며, 5균주는 M1과 M2 배지 간 군사 생장량에 유의한 차이가 없었다. 활엽수림에서 발생한 균주는 총 9균주로, M1과 M2배지에서 각각 3개의 균주들이 우세한 군사 생장을 나타냈으며, 나머지 3균주는 M1과 M2 배지 간 군사 생장량에 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$). 침엽수와 활엽수가 공존하는 혼효림에서는 총 2균주가 발생하였는데, M1과 M2배지에서

Table 2. Composition of culture media used in this study

	Culture media (g/L)			
	MMN* (M)	Nitrogen source-free (M0)	Ammonium nitrogen (M1)	Nitrate nitrogen (M2)
Glucose	10	10	10	10
KH_2PO_4	0.5	0.5	0.5	0.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.15	0.15	0.15	0.15
FeCl_3 (1% sol.)	1.2 ml	1.2 ml	1.2 ml	1.2 ml
CaCl_2	0.05	0.05	0.05	0.05
NaCl	0.025	0.025	0.025	0.025
Malt extract	3			
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.25			
$(\text{NH}_4)\text{Cl}$			0.25	
KNO_3				0.25
Thiamin pHCl	100 mg			

*MMN (M) is a modified Melin-Norkrans medium (Marx, 1969) containing 10 g/l of glucose instead of sucrose as a carbon source. The other three media (M0, M1, and M2) is a liquid media containing or not containing different nitrogen sources.

각각 1개의 균주들이 우세한 균사 생장을 나타냈다. 수종별 분석 결과, 소나무림에서 발생한 총 21균주 중 11균주는 M2배지에서 보다 M1배지에서 균사 생장이 우세하였으며, 7균주는 M2배지에서 균사 생장이 우세하였고, 3균주는 M1과 M2 배지 간 균사 생장량에 유의한 차이가 없었다. 본 연구에서는 수종별로 동일한 수의 시험균을 임의로 선택한 것이 아니기 때문에 외생균근균이 발생한 곳의 식생과 외생균근균의 질소원 선호도와와의 상관관계를 규명하기는 어렵다. 그러나 이러한 상관관계를 밝히는 것은 외생균근균과 기주식물이 공존할 수 있는 근권 환경을 간접적으로 알 수 있고, 순수배양 시 균의 영양 요구성을 조사하는 데에도 중요한 접근 방법이 될 것이다. 이는 기주식물과 외생균근균이 함께 살아가고 있는 근권 내 환경이 크게 다르지 않기 때문이다.

외생균근균의 질소원 요구성

외생균근균을 순수배양할 경우, 질소원 공급 여부가 균사 생장에 미치는 영향을 조사하기 위해 유기 및 무기질소원이 모두 함유되어 있지 않은 M0 배지를 제조하여 시험균을 배양하였다. 그 결과, 무기 및 유기질소원인 모두 함유되어 있는 M배지에 비해 M0배지에서의 균사 생장량은 최소 1.2~최대 5배까지 감소되었고, 이러한 양상은 모든 시험균에서 나타났다(Table 3). 흑자색그물버섯(KFRI 1162)의 경우, 배양 56일 후 M0배지와 M배지에서 회수한 균체량은 각각 40.1 mg과 48.9 mg으로 질소원 결여 시 균체량이 1.2배 감소하였다. 또한 M0와 M1배지에서 동일 균주의 생장량을 비교하기 위해 각 배지에서 산출된 균체량의 평균값의 비를 %로 환산하여 상대생장률(relative growth rate) M0/M를 구하였다. M0/M 생장률은 82%로 배지 내 질소원이 존재할 때보다 결여 시 균의 생장률이 낮아짐을 알 수 있었다. 흑자색그물버섯(KFRI 1162) 이외에도 4균주가 60% 이상의 M0/M 생장률을 보였는데, 제주쓴맛그물버섯(KFRI 1480)은 71%, 마귀광대버섯(KFRI 1170)은 67%, 송이(KFRI 1013)와 황소비단그물버섯(KFRI 1435)은 각각 63%와 60%의 M0/M 생장률을 나타냈다. M0/M 생장률이 30% 이하로 나타나 질소원의 부재가 균사 생장에 크게 영향을 미치는 균주들도 관찰되었다. 일본연지그물버섯(KFRI 1224)의 경우, M0 배지에서의 균체량은 M배지보다 5배 낮았으며, M0/M 생장률이 20%로 나타나 총시험 균주 중 질소원 요구성이 가장 높은 것으로 조사되었다. 그 다음으로는 비단그물버섯(KFRI 1232)의 M0/M 생장률이 23%로 나타나 균사 생장에 질소원이 끼치는 영향력이 높음을 알 수 있었다. 끈적쓴맛그물버섯(KFRI 1383), 젖비단그물버섯(KFRI 1997), 알버섯류(KFRI 1434) 또한 25, 28, 20%의 M0/M 생장률을 나타내어 타 시험균주들보다 질소원 요구성이 높은 균주로 조사되었다.

외생균근균이 균주별로 질소원 요구성이 서로 다른지를 알아보기 위해 동일종에 속하는 균주들을 모아 M0와 M배

지에서 회수한 균체량을 비교한 결과, 균주별로 질소원 요구성이 다르게 나타났다. 송이(*Tricholoma matsutake*)에 속하는 4균주의 M0/M 생장률은 48~63%, 황소비단그물버섯(*Suillus bovinus*)에 속하는 5균주의 M0/M 생장률은 35~60%, 그리고 비단그물버섯(*Suillus luteus*)에 속하는 3균주와 제주쓴맛그물버섯(*Tylopilus neofelleus*)에 속하는 3균주의 M0/M 생장률 범위 또한 각각 23~52%와 37~71%로 나타나 외생균근균의 생장에 있어 질소원 요구성은 균주마다 서로 다를 수 있었다.

모든 시험균주들은 4종류의 질소원 시험배지 중 M배지에서 최대 균체량을 나타냈는데, 이는 유기질소원인 malt extract가 배지 내에 풍부하게 존재하기 때문에 이를 균이 분해하여 그들의 생장에 이용한 데에 기인한 것이라 생각된다. 달걀버섯(KFRI 1674)과 송이(KFRI 1013)의 배양 결과를 보더라도 M배지에서의 균체량이 타 배지보다 높아 비록 배지에 첨가된 유기질소원의 종류는 서론에서 언급한 것과 다르지만 달걀버섯이나 송이가 유기물을 분해하는 능력을 갖고 있고, 이러한 특성을 통해 균사 생장률이 향상된다는 사실은 기존 문헌의 내용과 일치하였다.

외생균근균의 질소원 선호도

외생균근균이 선호하는 무기질소원을 찾기 위해 유기질소원이 없는 상태에서 암모늄 형태의 대표적인 무기 질소원인 NH_4Cl 과 질산염 형태의 무기질소원인 KNO_3 로 각각 대체된 2종류의 MMN 변형 배지(M1과 M2배지)를 제조하고, 56일간 배양 후 이들 배지에서의 균사 생장량을 비교하였다. 총 시험균주의 45%는 M2보다 M1배지에서 균체량이 최소 1.1~최대 2.5배까지 높게 나타나 질산염보다 암모늄 형태의 무기질소원을 더 선호함을 알 수 있었다. 특히 검은머리그물버섯(KFRI 1362)은 M2보다 M1배지에서의 균체량이 2.5배 더 높게 나타나 질산염보다는 암모늄 형태의 질소원 이용률이 더 컸다. 황소비단그물버섯(KFRI 1968), 제주쓴맛그물버섯(KFRI 1401), 흑자색그물버섯(KFRI 1163) 역시 M2보다 M1배지에서의 균체량이 각각 1.9, 1.8, 1.6배 더 높아 암모늄 형태의 무기질소원을 선호하는 것으로 조사되었다.

이와 달리 총 시험균주의 36%는 M1보다 M2배지에서의 균체량이 최소 1.1~최대 1.4배 더 높게 나타났으며, 암모늄보다 질산염 형태의 무기질소원을 더 선호하였다. 특히 큰비단그물버섯(KFRI 1125), 비단그물버섯(KFRI 1232), 모래발버섯(KFRI 1198), 노란젖버섯(KFRI 936), 마귀광대버섯(KFRI 1170), 알버섯류(KFRI 1434) 등은 M1보다 M2배지에서의 균체량이 각각 1.3~1.4배 더 높아 그들의 균사 생장을 촉진하기 위해서는 암모늄보다는 질산염 형태의 무기질소원을 공급하는 것이 더 유리함을 알 수 있었다. 젖버섯아재비(KFRI 1164), 황소비단그물버섯(KFRI 1295), 흑자색그물버섯(KFRI 1162)등을 포함한 총 시험균주의 19%는 M1과 M2배간 균체량에 유의한 차이가 없어 그들이 선호

Table 3. Mycelial growth, preference for nitrogen source, and relative growth rate (%) of ectomycorrhizal fungi (42 strains) grown in liquid media containing different nitrogen sources

Scientific name (KFRI strain No.)	Mycelial growth (Dry weight of mycelium, mg/flask)				Preference for nitrogen source		Relative growth rate (%)				
	M ¹⁾	M0	M1	M2	M1	M2	M1/M0	M2/M0	M1/M	M2/M	M0/M
<i>A. hemibapha</i> (1674)	56.3 ± 9.5	25.6 ± 0.2	40.5 ± 1.6	34.9 ± 1.7	● ²⁾		158 ³⁾	136	72	62	45
<i>A. javanica</i> (1267)	71.8 ± 9.3	35.7 ± 2.3	49.1 ± 4.9	38.9 ± 2.6	●		138	109	68	54	50
<i>A. melleiceps</i> (1180)	35.3 ± 1.3	14.0 ± 2.1	23.1 ± 0.3	24.0 ± 0.4		●	165	171	65	68	40
<i>A. pantherina</i> (1170)	57.0 ± 0.3	38.3 ± 0.5	41.0 ± 0.4	54.2 ± 0.6		●	107	142	72	95	67
<i>B. griseus</i> (1362)	62.0 ± 2.3	20.7 ± 0.3	54.1 ± 2.6	21.7 ± 0.6	●		261	105	87	35	33
<i>B. violaceofuscus</i> (1162)	48.9 ± 2.0	40.1 ± 0.4	42.4 ± 3.0	42.4 ± 2.0	●	●	106	106	87	87	82
<i>B. violaceofuscus</i> (1163)	39.1 ± 1.1	21.2 ± 0.5	41.4 ± 2.1	25.6 ± 0.5	●		195	121	106	65	54
<i>E. cyanonigrum</i> (1343)	48.8 ± 1.5	25.6 ± 0.2	27.6 ± 0.5	32.4 ± 1.5		●	108	127	57	66	52
<i>E. cyanonigrum</i> (1407)	26.5 ± 2.2	10.0 ± 1.4	27.9 ± 0.7	23.2 ± 0.5	●		279	232	105	88	38
<i>H. japonicus</i> (1224)	52.4 ± 2.2	10.5 ± 0.5	21.2 ± 2.6	19.6 ± 0.2	●	●	202	187	40	37	20
<i>H. russula</i> (1488)	27.3 ± 1.4	14.6 ± 2.8	18.1 ± 1.4	20.2 ± 0.4	●	●	124	138	66	74	53
<i>L. chrysorrhoeus</i> (936)	73.4 ± 1.6	34.8 ± 1.2	54.9 ± 3.1	74.0 ± 4.1		●	158	213	75	101	47
<i>L. hatsudake</i> (1164)	29.1 ± 0.5	13.1 ± 0.5	21.4 ± 0.8	21.4 ± 0.2	●	●	163	163	74	74	45
<i>P. arhizus</i> (1198)	50.4 ± 0.2	22.6 ± 0.9	38.1 ± 0.2	52.0 ± 3.1		●	169	230	76	103	45
<i>P. arhizus</i> (1960)	60.6 ± 7.8	22.8 ± 0.8	45.5 ± 1.1	53.9 ± 1.3		●	200	236	75	89	38
<i>Rhizopogon</i> sp. (1425)	91.7 ± 4.3	36.5 ± 0.5	54.5 ± 3.1	54.5 ± 2.3	●	●	149	149	59	59	40
<i>Rhizopogon</i> sp. (1434)	62.3 ± 0.9	17.8 ± 1.3	19.8 ± 0.8	27.2 ± 2.3		●	111	153	32	44	29
<i>Rhizopogon</i> sp. (1440)	57.4 ± 2.0	27.1 ± 1.3	39.4 ± 0.8	37.7 ± 2.0	●	●	145	139	69	66	47
<i>Rhizopogon</i> sp. (1579)	66.0 ± 1.3	28.5 ± 0.8	33.0 ± 0.6	40.4 ± 1.6		●	116	142	50	61	43
<i>S. bovinus</i> (1231)	65.7 ± 0.6	22.8 ± 0.7	53.1 ± 2.8	37.8 ± 2.4	●		233	166	81	58	35
<i>S. bovinus</i> (1295)	77.9 ± 2.8	37.0 ± 1.0	52.9 ± 3.0	52.8 ± 0.7	●	●	143	143	68	68	47
<i>S. bovinus</i> (1435)	70.6 ± 6.1	42.5 ± 1.2	55.8 ± 2.2	60.7 ± 3.1	●	●	131	143	79	86	60
<i>S. bovinus</i> (1657)	63.4 ± 5.5	28.3 ± 0.6	28.8 ± 2.2	36.1 ± 2.5		●	102	128	45	57	45
<i>S. bovinus</i> (1968)	66.2 ± 0.2	23.3 ± 0.3	45.3 ± 0.6	24.1 ± 0.7	●		194	103	68	36	35
<i>S. granulatus</i> (1997)	55.9 ± 2.9	15.4 ± 0.8	17.5 ± 0.5	15.6 ± 0.8	●		114	101	31	28	28
<i>S. grevillei</i> (1123)	43.0 ± 3.5	14.1 ± 0.9	43.8 ± 1.7	48.3 ± 2.0		●	311	343	102	112	33
<i>S. grevillei</i> (1125)	70.4 ± 6.5	22.6 ± 0.9	37.0 ± 2.6	51.2 ± 2.5		●	164	227	53	73	32
<i>S. luteus</i> (1232)	45.4 ± 3.7	10.4 ± 0.8	44.1 ± 0.6	60.7 ± 3.2		●	424	584	97	134	23
<i>S. luteus</i> (1244)	34.2 ± 0.2	11.8 ± 1.2	31.6 ± 1.9	25.9 ± 2.2	●		268	219	92	76	35
<i>S. luteus</i> (1246)	64.8 ± 0.4	33.6 ± 0.4	48.9 ± 2.5	38.5 ± 0.2	●		146	115	75	59	52
<i>T. matsutake</i> (1013)	50.7 ± 0.3	32.0 ± 0.9	44.0 ± 0.6	37.1 ± 0.7	●		138	116	87	73	63
<i>T. matsutake</i> (1015)	51.2 ± 2.5	28.9 ± 1.4	35.8 ± 0.7	29.9 ± 1.1	●		124	103	70	58	56
<i>T. matsutake</i> (1265)	76.3 ± 0.8	36.6 ± 1.2	54.8 ± 1.0	40.9 ± 1.8	●		150	112	72	54	48
<i>T. matsutake</i> (1681)	64.5 ± 0.3	37.4 ± 1.0	53.4 ± 0.6	37.4 ± 2.0	●		143	100	83	58	58
<i>T. castaneiceps</i> (1383)	42.7 ± 4.5	10.6 ± 1.2	15.2 ± 1.3	18.2 ± 0.4		●	143	172	36	43	25
<i>T. chromapes</i> (1373)	57.6 ± 1.3	30.8 ± 0.5	40.6 ± 1.1	35.4 ± 0.9	●		132	115	70	61	53
<i>T. chromapes</i> (1484)	51.4 ± 2.3	23.7 ± 0.9	29.8 ± 1.9	23.9 ± 1.6	●		126	101	58	46	46
<i>T. neofelleus</i> (1401)	52.7 ± 1.2	19.7 ± 0.2	44.1 ± 2.1	24.2 ± 0.8	●		224	123	84	46	37
<i>T. neofelleus</i> (1480)	57.0 ± 1.0	40.7 ± 0.5	49.0 ± 1.1	41.7 ± 2.9	●		120	102	86	73	71
<i>T. neofelleus</i> (1481)	55.5 ± 1.3	29.6 ± 1.0	40.8 ± 0.6	31.8 ± 1.0	●		138	107	74	57	53

Table 3. Continued

Scientific name (KFRI strain No.)	Mycelial growth (Dry weight of mycelium, mg/flask)				Preference for nitrogen source		Relative growth rate (%)				
	M ¹⁾	M0	M1	M2	M1	M2	M1/M0	M2/M0	M1/M	M2/M	M0/M
<i>X. affine</i> (1421)	69.9 ± 1.9	21.6 ± 1.2	28.9 ± 2.3	34.3 ± 1.3		● ²⁾	134 ³⁾	159	41	49	31
<i>X. rubellus</i> (1828)	40.9 ± 0.8	20.6 ± 0.6	22.1 ± 1.0	26.8 ± 1.2		●	107	130	54	66	50

¹⁾Refer to Materials and Methods for the abbreviations of the media.

²⁾Black points (●) indicate the preferred nitrogen sources (ammonium or nitrate form) on the mycelial growth of ectomycorrhizal fungi.

³⁾Relative growth rate (%) was calculated from the ratio of average mycelial biomass of ectomycorrhizal fungi grown in two different media.

하는 무기질소원의 형태를 알 수 없었다. 그러나 무기질소원이 결여된 M0배지보다 M1이나 M2배지에서의 균체량이 큰 것으로 보아 그들의 균사 생장에 어떤 형태로든 무기질소원이 이용되고 있음을 알 수 있었다.

동일 균종 내 균주들의 무기질소원 선호도를 조사한 결과, 황소비단그물버섯을 비롯한 대부분의 시험균들은 균주별로 선호하는 질소원이 서로 다르게 나타났다. 그러나 일부 외생균근균 중에는 동일종에 속하는 시험균주들이 동일한 무기질소원을 선호하는 양상을 띠는 것으로 조사되었다. 그 대표적인 예는 송이류로, 시험균주로 사용한 4균주(KFRI 1013, 1015, 1265, 1681) 모두 M1배지에서의 균체량이 M2배지에서보다 커 암모늄 형태의 질소원을 일관되게 선호함을 알 수 있었다. 제주쓴맛그물버섯에 속하는 3균주(KFRI 1401, 1480, 1481)와 노란대쓴맛그물버섯에 속하는 2균주(KFRI 1373, 1484) 또한 암모늄 형태의 질소원 이용률이 더 큰 것으로 나타났다. 반면, 모래발버섯에 속하는 2균주(KFRI 1198)이나 큰비단그물버섯에 속하는 2균주(KFRI 1123, 1125)는 질산염 형태의 질소원이 함유된 M2배지에서 균체량이 더 높게 나타났다. 이와 같은 결과를 통해 균종별로 선호하는 무기질소원을 제시할 수는 없으나, 차후 분석할 균주의 수가 충분히 확보된 상태에서 무기질소원 선호도를 조사한다면 특정균이 이용 가능한 무기질소원도 찾아낼 수 있을 것이다.

서론에서 전술한 바와 같이 민달걀버섯, 젓비단그물버섯, 바보송이, 모래발버섯 등은 암모늄 형태의 질소원을 선호하는 것으로 알려져 있다. 전술한 균들과 동일한 균종 또는 균주는 아니지만, 젓비단그물버섯(KFRI 1997), 달걀버섯(KFRI 1674), 송이류 4균주는 기존의 보고된 바와 일치하여 그들의 균 성장을 위해 암모늄 형태의 무기질소원을 더 선호하는 것으로 나타났다. 그러나 모래발버섯의 경우에는 2균주(KFRI 1198, 1960)가 기존의 보고와는 달리 질산염 형태의 무기질소원을 더 선호하는 것으로 나타나 동일종이라도 국내 균주와 국외 균주의 질소원 선호도가 서로 다를 수 있을 것이다.

암모늄염이나 질산염 형태의 무기질소원이 균사 생장에 어떠한 변화를 일으키는 지를 알기 위해 질소원이 전혀 첨가되어 있지 않은 M0배지에서의 균체량과 M1(또는 M2)

배지에서의 균체량을 측정하여 상대성장률(relative growth rate) M1/M0과 M2/M0을 구하였다. M1/M0 (또는 M2/M0) 성장률이 높다는 것은 M1(또는 M2)배지에서의 균사 생장력이 M0배지에서의 균사 생장력 이상으로 높다는 것을 의미하며, 이러한 양상은 모든 시험균주에서 나타나(Table 3) 배지 내 무기질소원의 존재 유무가 균 생장에 영향을 끼칠 수 있었다. M1/M0 성장률의 범위는 최소 102~최대 424%였으며, 이 중 200% 이상으로 나타난 균주는 총 9균주였다. 특히 비단그물버섯(KFRI 1232)와 큰비단그물버섯(KFRI 1123)의 M1/M0 성장률은 각각 424와 311%로 산출되어 M0에서보다 M1배지에서 균 성장률이 3~4배 더 증가하였다. 한편, M2/M0 성장률의 범위는 최소 101~최대 584%였으며, 이 중 8균주가 200% 이상의 M2/M0 성장률을 나타냈다. 비단그물버섯(KFRI 1232)과 큰비단그물버섯(KFRI 1123)의 M1/M0 성장률은 각각 584와 343%로 산출되어 M0에서보다 M2배지에서 균 성장률이 3~5배 더 증가함을 알 수 있었다. 또한 두 균주 모두 M1/M0과 M2/M0 성장률이 타 균주에 비해 상대적으로 높아 그들의 균사 생장에 질소원의 존재 유무가 큰 영향을 끼친 것으로 해석된다.

일부 균주들은 유기질소원이 결여된 배지에서도 무기 및 유기질소원이 모두 함유되어 있는 M배지와 동일하거나 약간 높은 균체량을 나타냈다. 상대성장률 M1/M 또는 M2/M을 구한 결과, 그 범위가 각각 31~106%, 28~134%로 산출되어 유기질소원의 존재 유무나 무기질소원의 종류에 따라 균 성장률이 변하는 것으로 조사되었다.

상대성장률 M1/M을 분석한 결과, 흑자색그물버섯(KFRI 1163)과 가지외대버섯(KFRI 1407) 그리고 큰비단그물버섯(KFRI 1123)은 각각 100% 이상의 성장률을 보여 유기질소원이 결여된 상태라 하더라도 암모늄 형태의 무기질소원이 배지 내에 존재하게 되면 M배지와 유사한 균 성장률을 얻을 수 있음을 알 수 있었다. 그러나 젓비단그물버섯(KFRI 1997)을 포함한 7균주는 M1/M 성장률이 50% 이하로 나타나 무기질소원의 공급만으로는 M배지에 상응하는 균체량을 확보할 수 없다는 것도 알 수 있었다. 상대성장률 M2/M을 분석한 결과, 비단그물버섯(KFRI 1232)가 134%의 수치를 나타내어 질산염 형태의 무기질소원이 첨가된 M2배지에서의 균 성장률이 M배지보다 높았으며, 이 외에

큰비단그물버섯(KFRI 1123)이나 모래발버섯(KFRI 1198), 노란젓버섯(KFRI 936) 등도 100% 이상의 M2/M 생장률을 보여 유기질소원이 결여된 상태라 하더라도 이와 같은 균주들이 배지 내 존재하고 있는 질산염 형태의 무기질소원을 이용하여 M배지에 상응하는 균체량을 생산할 수 있음을 알 수 있었다. 이와 달리, 젓비단그물버섯(KFRI 1997)을 포함한 9균주는 M2/M 생장률이 50% 이하로 나타나 무기질소원의 공급만으로는 M배지에 상응하는 균체량을 확보할 수 없는 것으로 조사되었다. 그 외 29균주들의 M2/M 생장률은 51% 이상~100% 미만으로 이들 대부분이 유기질소원이 결여된 배지보다는 무기 및 유기 질소원이 모두 갖춰진 배지에서 더 잘 성장하는 경향이 있음을 알 수 있었다.

외생균근균 배양 후 질소원 시험배지의 pH 변화

순수배양 시 액체배지 내 수소이온 농도의 변화는 배양 시간이 경과함에 따라 외생균근균 생장에 많은 영향을 끼칠 것으로 생각되어 균 생장률과 배지의 final pH 변화가

상관관계가 있는지를 조사하기 위해 56일 배양 후 질소원 시험배지 4종의 final pH를 측정하였다. 각 시험배지의 initial pH는 5.5로 조정하였으나, 배양 후 회수한 배지의 final pH값은 initial pH와 다르게 나타났으며, 몇몇 처리구를 제외하고 전반적으로 final pH값이 감소하는 경향을 나타냈다(Table 4). 4종류의 질소원 시험배지의 final pH값을 비교한 결과, 무기 및 유기질소원이 모두 함유된 M배지에서는 final pH값이 2.4~3.7이었으며, M배지에서와 같은 양상으로 암모늄 형태의 무기질소원이 함유된 M1배지에서도 알버섯류(KFRI 1425)를 배양했던 처리구를 제외하고는 final pH값이 2.4~3.7로 측정되었다. 무기 및 유기질소원이 결여된 M0배지의 final pH값은 3.5~5.9 범위로, 총 6균주가 접종된 처리구에서 initial pH값과 동일하거나 약간 높은 pH값이 측정되었으며, 이 중 노란젓버섯(KFRI 936)을 배양한 M0배지에서 pH 5.9의 가장 높은 값이 측정되었다. 질산염 형태의 무기질소원이 함유된 M2배지의 경우, final pH값은 2.8~6.9로 나타나 pH 변동 범위가 4종류의 배지 중 가장 컸으며, 총 11균주가 접종된 처리구에서 initial pH

Table 4. The final pH of liquid media containing different nitrogen sources after 56 days of culture

Scientific name (KFRI strain No.)	Final pH of liquid culture media after 56 days			
	M ¹⁾	M0	M1	M2
<i>A. hemibapha</i> (1674)	3.1 ± 0.0 ²⁾	4.9 ± 0.0	3.2 ± 0.1	5.1 ± 0.0
<i>A. javanica</i> (1267)	2.8 ± 0.0	4.4 ± 0.2	3.6 ± 0.1	4.4 ± 0.1
<i>A. melleiceps</i> (1180)	2.8 ± 0.0	5.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	4.7 ± 0.1
<i>A. pantherina</i> (1170)	3.3 ± 0.1	5.6 ± 0.1	2.9 ± 0.1	5.5 ± 0.0
<i>B. griseus</i> (1362)	2.7 ± 0.0	4.4 ± 0.2	2.5 ± 0.0	4.5 ± 0.1
<i>B. violaceofuscus</i> (1162)	2.8 ± 0.1	5.6 ± 0.0	3.0 ± 0.2	6.3 ± 0.1
<i>B. violaceofuscus</i> (1163)	2.8 ± 0.0	5.3 ± 0.0	2.5 ± 0.0	6.0 ± 0.0
<i>E. cyanonigrum</i> (1343)	3.1 ± 0.1	5.5 ± 0.0	3.1 ± 0.1	6.4 ± 0.1
<i>E. cyanonigrum</i> (1407)	2.9 ± 0.0	5.4 ± 0.0	2.9 ± 0.2	5.7 ± 0.1
<i>H. japonicus</i> (1224)	2.9 ± 0.1	5.0 ± 0.1	3.4 ± 0.2	5.2 ± 0.2
<i>H. russula</i> (1488)	3.3 ± 0.3	4.7 ± 0.1	3.2 ± 0.1	4.8 ± 0.2
<i>L. chrysorrhoeus</i> (936)	3.4 ± 0.1	5.9 ± 0.3	3.4 ± 0.0	6.9 ± 0.4
<i>L. hatsudake</i> (1164)	3.7 ± 0.1	5.7 ± 0.0	4.6 ± 0.1	5.5 ± 0.1
<i>P. arhizus</i> (1198)	2.9 ± 0.0	5.2 ± 0.1	2.9 ± 0.0	4.4 ± 0.0
<i>P. arhizus</i> (1960)	2.7 ± 0.0	4.6 ± 0.1	2.5 ± 0.0	4.1 ± 0.1
<i>Rhizopogon</i> sp. (1425)	3.0 ± 0.0	4.9 ± 0.1	5.9 ± 0.4	3.0 ± 0.0
<i>Rhizopogon</i> sp. (1434)	2.9 ± 0.0	4.8 ± 0.0	2.7 ± 0.0	2.8 ± 0.2
<i>Rhizopogon</i> sp. (1440)	2.9 ± 0.1	4.5 ± 0.3	2.9 ± 0.0	4.5 ± 0.2
<i>Rhizopogon</i> sp. (1579)	3.3 ± 0.0	5.5 ± 0.1	3.7 ± 0.0	5.0 ± 0.4
<i>S. bovinus</i> (1231)	2.4 ± 0.0	3.5 ± 0.0	2.4 ± 0.1	3.5 ± 0.1
<i>S. bovinus</i> (1295)	3.3 ± 0.0	4.5 ± 0.1	3.2 ± 0.0	4.8 ± 0.2
<i>S. bovinus</i> (1435)	2.9 ± 0.1	4.4 ± 0.6	3.0 ± 0.0	4.8 ± 0.7
<i>S. bovinus</i> (1657)	3.2 ± 0.0	4.5 ± 0.2	3.6 ± 0.3	5.0 ± 0.1
<i>S. bovinus</i> (1968)	2.6 ± 0.1	4.1 ± 0.1	2.5 ± 0.0	4.0 ± 0.1

Table 4. Continued

Scientific name (KFRI strain No.)	Final pH of liquid culture media after 56 days			
	M ¹⁾	M0	M1	M2
<i>S. granulatus</i> (1997)	2.5 ± 0.3 ²⁾	3.9 ± 0.0	3.3 ± 0.1	3.9 ± 0.0
<i>S. grevillei</i> (1123)	3.0 ± 0.0	4.5 ± 0.2	2.8 ± 0.0	4.5 ± 0.2
<i>S. grevillei</i> (1125)	2.9 ± 0.1	4.7 ± 0.2	2.8 ± 0.1	4.6 ± 0.2
<i>S. luteus</i> (1232)	3.0 ± 0.1	4.6 ± 0.2	2.7 ± 0.1	5.4 ± 0.2
<i>S. luteus</i> (1244)	3.0 ± 0.1	4.6 ± 0.2	2.8 ± 0.1	4.7 ± 0.0
<i>S. luteus</i> (1246)	2.9 ± 0.1	3.7 ± 0.0	2.6 ± 0.0	3.7 ± 0.0
<i>T. matsutake</i> (1013)	3.1 ± 0.0	5.4 ± 0.1	3.3 ± 0.0	5.3 ± 0.1
<i>T. matsutake</i> (1015)	3.1 ± 0.1	4.9 ± 0.3	3.3 ± 0.1	4.8 ± 0.3
<i>T. matsutake</i> (1265)	3.1 ± 0.2	5.3 ± 0.0	3.2 ± 0.1	5.4 ± 0.1
<i>T. matsutake</i> (1681)	3.2 ± 0.2	5.1 ± 0.1	3.2 ± 0.1	5.4 ± 0.2
<i>T. castaneiceps</i> (1383)	2.8 ± 0.0	4.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1	5.1 ± 0.1
<i>T. chromapes</i> (1373)	3.4 ± 0.1	5.5 ± 0.1	3.8 ± 0.2	5.5 ± 0.0
<i>T. chromapes</i> (1484)	3.0 ± 0.1	4.8 ± 0.6	3.3 ± 0.1	4.4 ± 0.6
<i>T. neofelleus</i> (1401)	3.0 ± 0.1	5.2 ± 0.7	2.9 ± 0.0	5.8 ± 0.1
<i>T. neofelleus</i> (1480)	3.5 ± 0.1	5.5 ± 0.1	3.6 ± 0.2	5.4 ± 0.2
<i>T. neofelleus</i> (1481)	3.3 ± 0.2	5.8 ± 0.0	3.1 ± 0.1	6.7 ± 0.2
<i>X. affine</i> (1421)	3.0 ± 0.1	5.6 ± 0.0	3.4 ± 0.2	6.7 ± 0.1
<i>X. rubellus</i> (1828)	2.7 ± 0.0	4.5 ± 0.1	3.0 ± 0.1	4.2 ± 0.3

¹⁾The four liquid media before inoculation of test strains were adjusted to pH 5.5.

²⁾Values are mean±SD of three replicates.

값과 동일하거나 그보다 높은 pH값이 측정되었다. 이 중 노란젓버섯(KFRI 936), 제주쓴맛그물버섯(KFRI 1481), 진갈색먹그물버섯(KFRI 1421)등을 접종한 처리구에서는 6.7 이상의 final pH값이 측정되었다.

본 실험에서와 같이 회분식 배양(batch culture)을 하는 경우에는 배양기간 동안 균이 배지 내로 분비하는 대사산물에 의해 배지의 pH가 변할 수 있으며(Madigan *et al.*, 2000), 균이 유기산을 생산하거나 이온을 선택적으로 흡수함으로써 initial pH와 final pH의 차이가 생길 수 있고, 균 사 생장이 활발할수록 배지 내로 많은 양의 유기산이 방출되어 배지의 final pH값이 감소되는 것으로 알려져 있다(Sánchez *et al.*, 2001). 따라서 56일 배양 후 질소원 시험배지의 final pH값이 initial pH값과 차이가 있고, 대부분의 처리구에서 final pH값이 산성화된 이유는 시험균이 배지 내로 분비하는 유기산 때문인 것으로 해석된다. 그러나 질소원 배지 내 final pH값이 initial pH 5.5보다 높게 나타난 처리구에 있어서는 유기산 이외의 인자가 배지의 pH 변화에 영향을 준 것이라 생각되며, 이를 규명하기 위해서는 시험균이 배지 내로 분비하는 특정 대사산물이 있는지 그리고 그 대사산물에 의해 배지 내 pH가 증가 또는 감소하는지에 대한 세부 조사가 추가적으로 수반되어야 할 것으로 본다.

Sánchez 등(2001)의 보고에서와 같이 본 실험에서도 질소원 시험배지의 final pH값이 감소된 처리구일수록 균체

량이 많을 것으로 예상했는데, 실제 질소원 시험배지의 final pH값과 균체량 간의 상관관계를 조사한 결과, 약 60%의 균주에서 균체량이 높을수록 배지 내 final pH값이 상대적으로 감소하는 특성이 있음을 알 수 있었다. 또한 전반적으로 M과 M1배지의 균체량은 M0나 M2배지보다 높게 나타났으며, 이 때 배지 내 final pH값은 M이나 M1배지가 M0나 M2배지보다 낮아 균체량과는 반비례적인 관계를 나타내는 것으로 조사되었다.

외생균근균 배양체의 형태학적 특성

균사체의 형태는 사용하는 배지의 종류에 따라 다양하게 나타날 수 있다. 4종류의 질소원 시험배지에서 56일간 배양한 균사체의 형태학적 특성을 살펴본 결과, 액체배지 내에서 외생균근균들의 영양세포들은 Fig. 1과 같이 다양한 형태의 균사 성장 특성을 나타냈다. 끈적쓴맛그물버섯(KFRI 1383)이나 알버섯류(KFRI 1440)와 같이 특정 배지에서 접종을 중심으로 균총을 형성하면서 방사상으로 지속 성장하는 경우가 있으며, 검은머리그물버섯(KFRI 1362), 모래발버섯(KFRI 1198), 송이(KFRI 1013), 큰비단그물버섯(KFRI 1123), 황소비단그물버섯(KFRI 1968)과 같이 다수의 작은 균총을 형성하면서 분할 성장하는 특성을 나타내는 경우도 관찰되었다. 또한 모래발버섯(KFRI 1198)은 배양 과정 중 그들의 대사산물이 배지를 갈색으로 착색시키

는 특성을 나타냈다. 검은머리그물버섯(KFRI 1362), 송이(KFRI 1013), 황소비단그물버섯(KFRI 1968)은 M2보다 M1배지에서 균체량이 높은 것으로 조사되어 암모늄염 형태의 무기질소원을 선호하는 것으로 나타났으며, M1배지에서의 분할 생장이 M2배지에서보다 활발한 것을 관찰할 수 있었다. M1배지에서의 이러한 균사체 형태는 M배지에서도 볼

수 있으며, M2배지에서의 저조한 균사생장 모습 또한 M0배지와 크게 다르지 않았다. 본 실험에 사용한 외생균근균의 대부분은 M과 M1배지에서의 균사체 성상이 매우 비슷하였고, M0와 M2배지에서의 균사체 성상 또한 비슷하여 동일 균주를 질소원이 서로 다른 배지에 각각 배양하더라도 균사체의 형태가 유사하게 나타나는 특성이 나타날 수

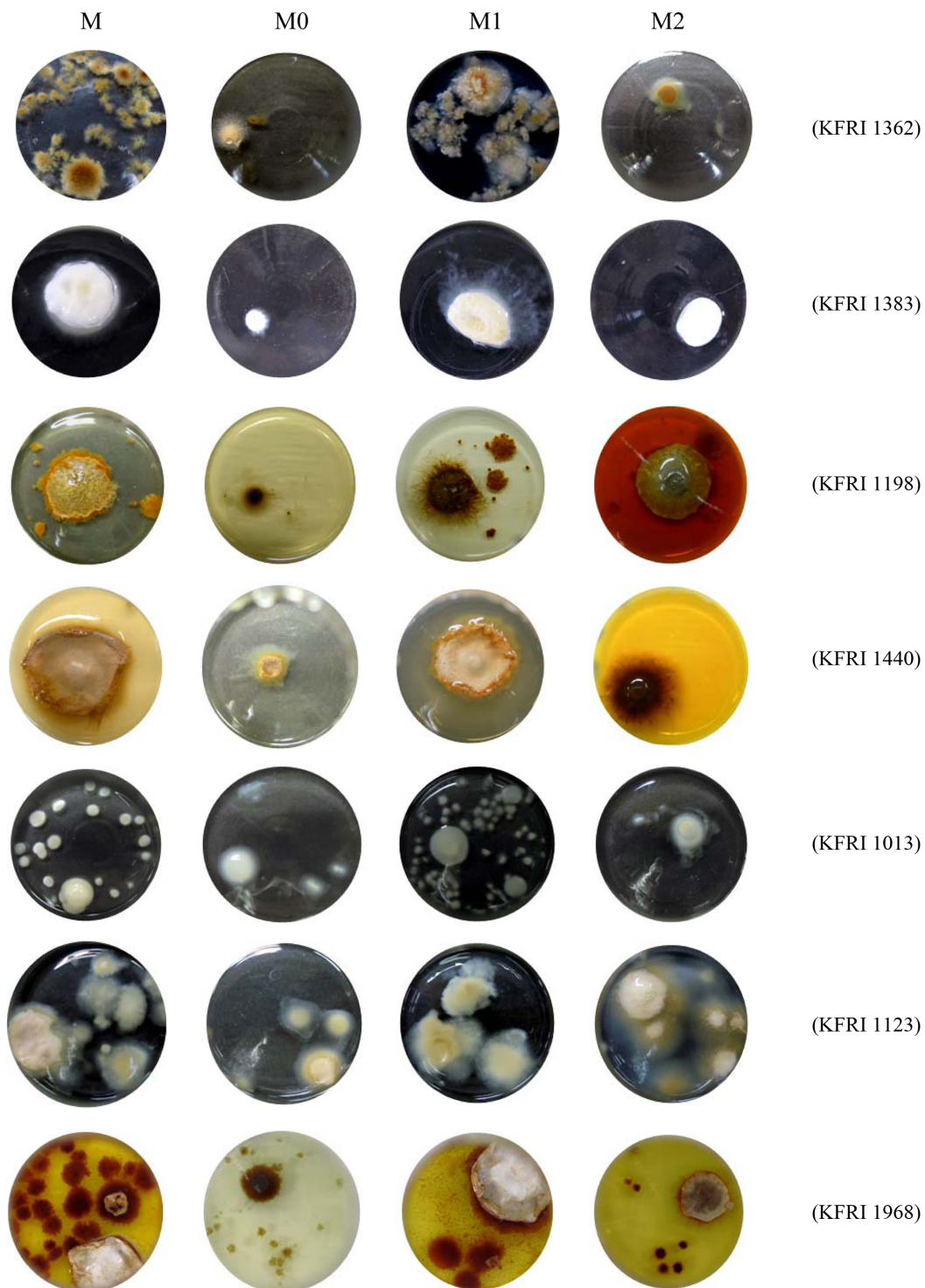


Fig. 1. Morphological characteristics of mycelial cultures in some strains of ectomycorrhizal fungi grown in liquid media containing different nitrogen sources (M, M0, M1 and M2) at 25°C for 56 days.

있음을 알 수 있었다.

적 요

국내 산림에서 수집한 외생균근균(13속 42균주)을 질소원이 서로 다른 4종류의 시험배지에 접종하고 56일간 순수 배양하여 질소원 요구성과 선호도를 조사하였다. 그 결과, 일본연지그물버섯(KFRI 1224), 비단그물버섯(KFRI 1232), 끈적쓴맛그물버섯(KFRI 1383), 젓비단그물버섯(KFRI 1997), 알버섯류(KFRI 1434) 등이 질소원 요구성이 높은 것으로 조사되었다. 검은머리그물버섯(KFRI 1362)을 비롯하여 총 시험균주의 45%는 질산염보다 암모늄 형태의 무기질소원을 더 선호하였다. 반면 큰비단그물버섯(KFRI 1125)을 비롯한 총 시험균주의 36%는 질산염 형태의 무기질소원을 더 선호하였다.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원 ‘산림미생물 유전자원의 수집 및 증식 보존 기술 연구(FP 0801-2010-01)’의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고문헌

Abuzinadah, R. A. and Read, D. J. 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 103:481-493.

- France, R. C. and Reid, C. P. P. 1984. Pure culture growth of ectomycorrhizal fungi on inorganic nitrogen sources. *Microb Ecol*. 10:187-195.
- Kim, I. Y., Jung, G. R., Han, S. K., Cha, J. Y. and Sung, J. M. 2005. Favorable condition for mycelial growth of *Tricholoma matsutake*. *Kor. J. Mycol*. 33:22-29. (in Korean).
- Madigan, M. T., Martinko J. M. and Parker, J. 2000. Brock Biology of Microorganisms. 9th edition, p 155. Pearson/Benjamin Cummings.
- Marx, D. H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59:153-163.
- Rangel-Castro, J. I., Danell, E. and Taylor, A. F. S. 2001. Use of different nitrogen sources by the edible ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Eco-Physiology of the ectomycorrhizal mushroom Cantharellus cibarius*. pp.1-9. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Read, D. J., Leake, J. R., Langdale, A. R. 1989. The nitrogen nutrition of mycorrhizal fungi and their host plants. pp. 181-204. In: Nitrogen, phosphorus and sulphur utilization by fungi. Cambridge University Press, UK.
- Sánchez, F., Mario Honrubia, M. and Torres, P. 2001. Effects of pH, water stress and temperature on *in vitro* cultures of ectomycorrhizal fungi from Mediterranean forests. *Cryptogamie Mycol*. 22:243-258.
- Sou, H. D., Hur, T. C. and Joo, S. H. 2009. Morphological and physiological characteristics of *Amanita hemibapha* subsp. *hemibapha* (Berk. & Broome) Sacc. *Kor. J. Mycol*. 37:41-48. (in Korean).
- Terashima Y. 1999. Carbon and nitrogen utilization and acid production by media of the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma bakamatsutake* *in vitro*. *Mycoscience* 40:51-56.