

소나무 유묘를 이용한 짜리버섯의 외생균근 형성

가강현* · 정숙주 · 박현

국립산림과학원 화학미생물과

Ectomycorrhizal Formation of *Ramaria botrytis* Using *Pinus densiflora* Seedling

Kang-Hyeon Ka*, Sukju Jeong and Hyun Park

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

(Received April 17, 2009. Accepted June 8, 2009)

ABSTRACT: *Ramaria botrytis* is one of the commercially important ectomycorrhizal mushrooms in Korea and the mushroom is only picked in natural forest. This study was conducted to make ectomycorrhizal synthesis of the fungus using *Pinus densiflora* seedling. Ectomycorrhizal types of the fungus were simple and dichotomous. Diameter of ectomycorrhizal root was 325-380 μm and fungal mantle was subhyaline with 20-30 μm in diameter. On the other hand, optimum temperature for mycelial growth was 25°C and the fungus grew 5 cm on potato dextrose agar medium in two months.

KEYWORDS: Ectomycorrhizal formation, *Pinus densiflora*, *Ramaria botrytis*

짜리버섯 [*Ramaria botrytis* (Pers.) Richen]은 우리나라의 대표적인 식용 균근성 버섯 중 하나로 인공재배가 되지 않기 때문에 자연채취에 의존하고 있다. 우리나라에서 짜리버섯은 평균 63톤(2000-2004) 정도 생산되며(산림청, 2005), 가을철 시골 장터에서 흔히 볼 수 있는 버섯 중 하나이다.

짜리버섯은 우리나라의 활엽수림에서 발생하는 것으로 알려져 있고(김 등, 2004), 일본에서는 소나무림, 소나무 혼효림, 졸참나무림, 너도밤나무림에서 발생하는 것으로 보고되어 있다(池田, 2005).

산림에서 균근성 버섯의 숙주식물이 어떤 종류인지는 버섯이 발생하는 바로 밑 땅 속의 외생균근을 관찰해서 알 수 있고(Agerer, 1991), 또는 식물을 이용한 외생균근 형성을 통해서도 알 수 있다(가 등, 2008). 균근성 버섯 시장이 20억불에 이르기 때문에, 상업적으로 중요한 균근성 버섯들은 인공재배를 하고자 처음단계로 균근 형성 시도들이 많이 이루어지고 있다(Wang and Hall, 2004).

본 연구는 우리나라에서 상업적으로 중요한 균근성 버섯 중 하나인 짜리버섯을 소나무에 접종하여 외생균근의 형성을 시도한 것이다.

짜리버섯의 균주는 2007년 가을철에 강원도 홍천군 동면 노천리의 소나무와 참나무 혼효림에서 채취한 버섯에서 분리하였다(KFRI 1018). 분리된 균은 potato dextrose agar (PDA) 배지에 보존하면서 본 실험에 이용하였다. 짜리버섯 균주의 온도별 생장실험은 PDA 배지 15, 20, 25, 30°C 항온기에서 5만

복 60일 배양 후 조사하였다. 그리고 외생균근을 형성하기 위한 배지조건 및 배양법은 가 등(2008)이 보고한 방법에 따랐다. 이때 배지량은 PDMP 배지를 증류수로 4배 희석하여 배양병 당 100 ml씩 넣었다. 토양배지는 121°C에서 90분간 멸균하였고, 이때 토양수분은 14%에 해당하였다.

소나무 종자는 과산화수소수 원액에 20분간 처리 후 PDA 배지에서 무균적으로 발아된 씨앗을 토양배지에 병당 2개씩 이식하였다. 소나무 종자가 정상적으로 자란 배양병은 MMN 액체배지에서 자란 균사체를 4 ml 씩 접종하였고, 배양병은 23°C 항온기, 24시간 빛 조건에서 6개월과 14개월 배양하였다. 6개월간 배양한 것은 5반복 하였고, 14개월 배양한 것은 2반복 하였다. 각 시기별 균근형성 유무는 해부현미경(Leica S8APO)과 광학현미경(Leica DMRE)으로 관찰하였다. 외생균근의 해부학적 특징은 동결마이크톰(Leica CM1900)을 이용하여 12-20 μm 크기를 자른 후 프레파라트를 만들어 광학현미경 200배 및 400배에서 관찰하였다. 외생균근의 형성율은 소나무 유묘의 뿌리직경 1 mm 이하 것을 0.5 cm 길이로 잘라서 슬라이드글라스 위에 놓고 해부현미경 하에서 20배로 관찰하였다. 외생균근 형성율은 전체 뿌리 조각 당 외생균근이 만들어진 개수를 가지고 계산하였다.

짜리버섯의 균사는 25°C에서 가장 잘 자랐고, PDA 배지에서 60일간 5 cm 정도 성장하였다(Fig. 1). 짜리버섯 균사는 PDA 배지에서 매우 촘촘히 자라며, 시간이 경과할수록 매우 열은 황색이 감돌았다. 균사의 크기는 1-2 μm 로 반투명이며, 기준균사는 백색의 솜털모양이었다. 균사는 껍데연결체

*Corresponding author <E-mail : kasymbio@forest.go.kr>

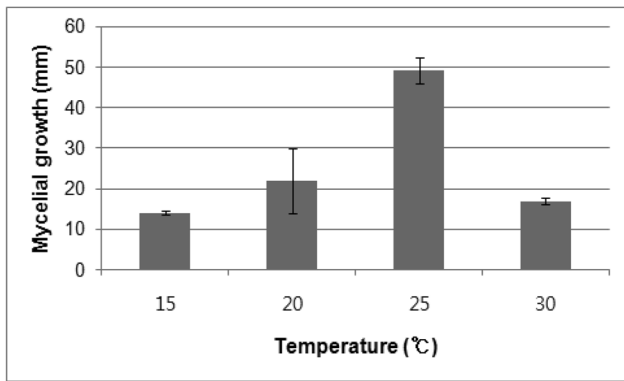


Fig. 1. Mycelial growth of *Ramaria botrytis* on PDA plate for two months.

(clamp connection)가 거의 없었고, 격막이 있는 부분 바로 아래에서 분지된 형태를 가졌다.

소나무 유묘에서 싸리버섯의 외생균근 형성율은 6개월 배양하였을 때 12%, 14개월 배양하였을 때 77% 이었다. 외생균근은 6개월째에 단순형으로 열은 갈색을 띠었다. 균사들이 뿌리를 감싸고 있어 토양입자들이 붙어있어 균근 형성된 곳과 형성되지 않은 곳이 확연히 구분되었다. 14개월째에

는 외생균근들이 단순형(simple = unramified)과 차상분지형(dichotomous)으로 발달하였다. Nouhra 등(2005)은 싸리버섯속의 몇 가지 종들에 대한 외생균근의 형태 기술에서 type irregular, monopodial pinnate 또는 monopodial pyramidal로 관찰하였으나, 싸리버섯의 외생균근은 단순형과 차상분지형으로 나타나서 종 별로 차이가 있음을 알 수 있다. 외생균근은 암갈색을 띠었고, 균사들은 느슨하게 부착되었다(Fig 2F). 외생균근은 직경이 325-380 μm 이었고, 균투층은 균사상조직(plectenchymatous)으로 20-30 μm 이었다(Fig 2G, I). 피층세포는 황갈색으로 변해있었고, 시간이 경과함에 따라 색이 더 짙어졌다(Fig 2I). 하티그망(Hartig-net)은 외생균근에서 잘 발달되었다. 하티그망은 뿌리 선단부분은 발달되지 않았고, 뿌리 끝의 성장과 더불어 바로 아래부분부터 발달되는 것으로 나타났다. 본 실험에서 싸리버섯은 소나무 뿌리에 전형적인 외생균근을 형성하였고, 잘 발달된 외생균근을 얻기 위해서는 6개월보다는 더 많은 시간이 필요한 것을 알 수 있었다.

적요

싸리버섯은 한국에서 상업적으로 중요한 외생균근성 버섯종 하나로 자연채취하고 있다. 본 연구는 소나무 유묘에 싸리버섯

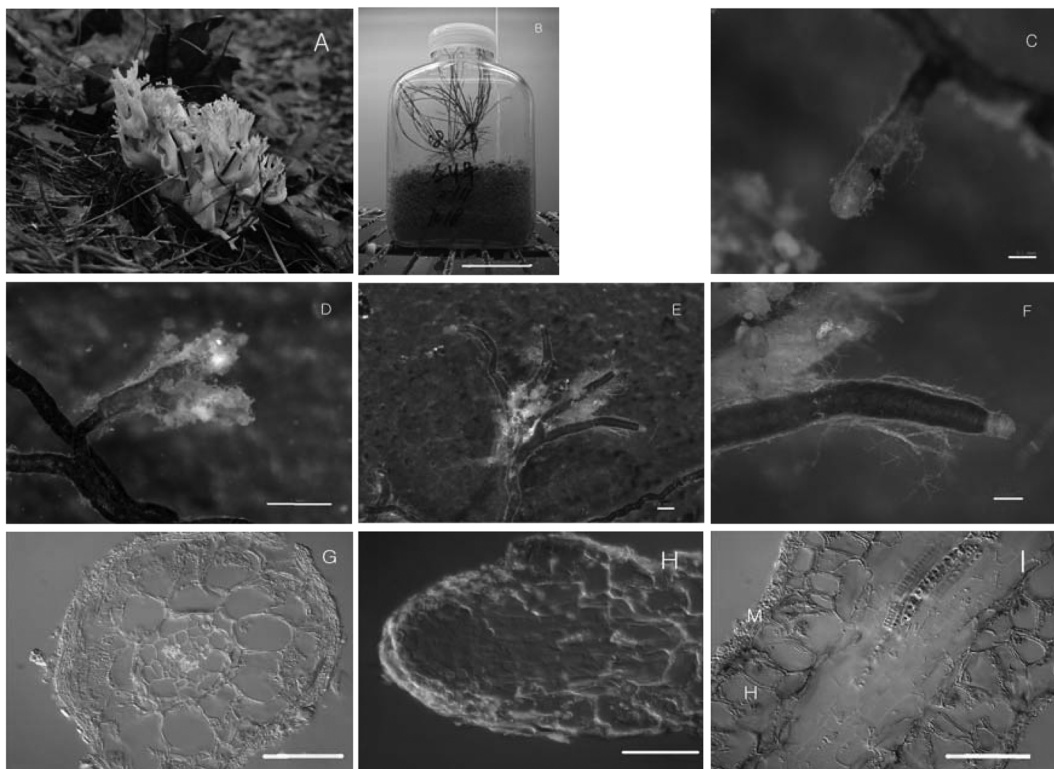


Fig. 2. Ectomycorrhizal formation from *Pinus densiflora* seedling inoculated by *Ramaria botrytis*. A: fruit body of *R. botrytis*, B: culture bottle in 14 months (bar = 5 cm), C: simple type ectomycorrhiza of *R. botrytis* in six months (bar = 0.2 mm), D: simple branched type ectomycorrhiza of *R. botrytis* in six months (bar = 1 mm), E: dichotomous type ectomycorrhiza of *R. botrytis* in 14 months (bar = 0.5 mm), F: magnification of E (bar = 100 μm), G: transection of F (bar = 100 μm), H: longitudinal section of F. G: root tip with non-infection (bar = 100 μm), I: longitudinal section of F. M is fungal mantle and H is Hartig-net (bar = 100 μm).

균을 접종하여 균근형성을 시도하였다. 소나무 유묘에 형성된 짜리버섯 균의 외생균근은 단순형과 차상분지형이었다. 외생균근의 직경은 325-380 μm 이었고, 균투층은 반투명색으로 20-30 μm 이었다. 한편, 짜리버섯 균의 균사생장 최적온도는 25°C 이었고, PDA 배지에서 2달간에 5 cm 정도 성장하였다.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원 일반연구과제 “송이 감염묘를 이용한 송이 인공생산기술 개발(FP0801-2007-01)”에 의해 수행된 결과입니다.

참고문헌

가강현, 박현, 허태철, 박원철. 2008. 소나무 유묘에서 송이 외생균근 형성 균주의 선발. 한국균학회지 36: 148-152.

- 김양섭, 석순자, 원항연, 이강효, 김완규, 박정식. 2004. 한국의 버섯. 동방미디어(주).
- 산림청. 2005. 임업통계연보.
- 池田良幸. 2005. 北陸のきのこ圖鑑. 株式會社 橋本確文堂.
- Agerer, R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. In: Techniques for the study of mycorrhiza. pp. 25-73. Eds. J. R. Norris, D. J. Read and A. K. Varma. Academic Press.
- Nouhra, E. R., Horton, T. R., Cazares, E. and Castellano, M. 2005. Morphological and molecular characterization of selected *Ramaria* mycorrhizae. *Mycorrhiza* 15: 55-59.
- Wang, Y. and Hall, I. R. 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.* 82: 1063-1073.