Journal of Mushroom Science and Production
Vol. 7, No 1 , p9-21 March 2009
Printed in S. KOREA
Copyright © 2009 by The Korean Society of Mushroom Science

자낭균 곰보(*Morchella esculenta*)버섯의 인공재배에 관한 연구

김한경[1], 이강효[2], 정종천[2], 전창성[2], 석순자[3], 장갑열[2*]

용인버섯연구소, 농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

Studies on the Artificial Cultivation of *Morchella esculenta* in Ascomycetes

Han-Kyoung Kim, Kang-Hyo Lee, Jong-Chun Cheong, Chang-Sung Jhune, Sun-Ja Seok, Kab-Yeul Jang

[1]*Yongin mushroom research centre, Yeongmun-ri, Pogok-eup, Cheoin-gu, Yongin City, Gyeonggi-Do, Korea*
[2]*Mushroom Research Division, National Inst. of Horticultural & Herbal Science, RDA, Suwon 441-707, Korea*
[3]*Microbial Resources Team, National Agrobiodiversity Center, RDA, Suwon 441-707, Korea*

ABSTRACT : This study was executed in an attempt to investigate a artificial requisites of fruitbody occurrence. Environmental requirements on habitat for fruitbody occurrence of collected cultures resulted in leading to 13-16℃ and 75% relative humidity, and requiring silt loam of soil texture which had more nutritional substances than a dry field. Optimal temperature was 25℃, medium PDB, and pH 5.0 in cultural conditions. Mannose required of 5% in ASI 59002, 59003, 59004, but 3% in ASI 59001 was selected as optimum carbon source. The substrates stimulating sclerotium formation were cotton waste, or cotton waste + oak sawdust (mixture ratio of 8:2), which had 20% additive of wheat barn respectively. Sclerotium was formed well in the substrate adjusted chemical properties by applying 2% of calcium sulfate. Sclerotium formation was the most effective in the treatment of peat moss + oak sawdust (mixture ratio of 5:5) + 30% of wheat barn.

KEYWORDS : Morel, Environmental condition, Mycelial growth, Sclerotium formation

서 언

곰보버섯(*Morchella* sp.)은 분류학적으로 진균문, 자낭균아강(Ascomycotina), 곰보버섯(Morchellaceae)과, 곰보버섯(*Morchella*)속에 속하는 식용버섯이며, 한국, 일본, 중국, 유럽, 북미, 호주 등 전 세계에 분포하는 버섯으로(Ramsbottom 1953, Brock 1951, Singer 1961), 현재 약 8종이 보고 되었다.

그리고 곰보버섯은 명백하게 상업적인 응용과 일반적인 흥미에 관심이 많이 있음에도 불구하고 비교적 관심이 적었던 것은 담자균류와는 달리 곰보버섯은 자낭균류에 속하는 균이고 또 자실체를 발생시키는 모든 조건이 담자균류에 비하여 매우 까다로운 점 때문이라고 생각된다.

국내 곰보버섯의 자실체 발생시기는 이른 봄인 4월 초~5월사이, 토양이나 밭이랑 또는 이듬해 산불이 난 지역에서 많이 발생하지만 발생기간이 짧고, 군생한다(McCubbin 1913, Moser 1949, Baker & Matkin 1959).

하지만 이 버섯을 식용으로 이용한 최초의 자료는 1644년 Evelyn이지만 그 이전부터 이미 곰보버섯은 많은 나라에서 양송이버섯 보다 영양가의 평판이 높고 풍부한 맛으로 인하여 미식가들의 사랑을 받아왔을 뿐만 아니라 식용으로 이용된 버섯이라고 보고하고 있다(Rolfe & Rolfe 1925).

곰보버섯은 자낭과를 형성하는 자실체의 표피에 자낭과 8개의 자낭포자가 형성되며, 자실체의 모양은 원추형, 유구형 또는 원추상난형이며, 표면은 호두껍질모양의 불규칙한 홈이 있으며, 홈은 깊고 현저하게 각형, 유구형, 타원상각형이다. 대는 원통형이고 기부쪽이 굵으며, 표면은 다소 불분명한 주름이 있으며, 백색을 띠고, 평활하거나 작은 비듬상돌기-거친 분질물이 있으나 쉽게 탈락한다. 속은 비어 있고, 학명은 *Morchella esculenta*, 일반명은 Morel로 불리어지고 있다(Ramsbottom, 1953, Brock, 1951, Singer, 1961).

그러나 아직 국내에서는 이 버섯에 대한 인공재배 방법이 밝혀지지 않았으며, 현재 인공재배가 되고 있는 버섯류는 총 16속 74종이 보고되고 있지만 1990년 이후 경제성장이 가속화되고 버섯이 농가소득품목으로 자리 매김 하면서 IMF이후 귀 농자들에 의해 버섯재배 면적이 확산되고 또한 재배품종이 느타리, 양송이, 팽이, 표고, 새송이 버섯으로 제한된 상태에서 부분적으로 과잉 생산되어 가격 또한 급격이 하락하는 추세에 있다.

이러한 문제점을 해결하기 위하여 아직 개발되지 않은 자

* Corresponding author <gabriel@rda.go.kr>

낭균류인 곰보버섯의 배양적 특성과 자실체 발생 가능성을 구명하여 농가소득증대에 기여코자 본 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

가. 공시균주

본 시험은 국립원예특작과학원 버섯과에서 분양받아 시험을 수행하였다. 분양 균주는 4℃ 냉장고에 보관하여 사용하였고 시험에 사용된 균주는 ATCC균(ASI 59004), 중국 도입균(ASI 59001), 국내 수집균(ASI 59002, 59003)2개 등 총 4균주로, PDA배지에 접종하고 25℃ 항온기에 7일간 배양하여 사용하였다.

나. 발생지 환경조건 및 배양적 특성구명

1. 발생지 환경조건 및 토성

야생곰보버섯 발생지 환경조건 및 토성을 조사하기 위하여 곰보버섯이 발생된 지역의 발생전후 25일간 온도, 습도 및 조도를 발생지표와 대기 중의 환경조건을 비교 조사하였다. 근권 미생물상은 발생지 주변의 토양과 미발생지의 토양에 서식하는 균류의 수를 분리하였으며, 토양분석은 농업기술연구소 토양화학 분석법(1988)에 준하여 pH는 1:5의 비율로, 유기물함량은 Tyurin법, 유효인산은 Lancaster법으로 조사하였다. 자실체 형태는 현미경관찰에 의한 자실체 표피의 조직에 나타나는 자낭과 자낭포자의 크기 및 갓 직경, 줄기길이를 형태적인 분류 key에 따라 그 특성을 조사하였다.

2. 배지선발

공시 균주의 배양적 특성을 조사하기 위하여 PDA(potato 200g, dextrose 20g, Agar 20g/ℓ), 등 5종의 배지를 사용하여 최적배지를 선발하기위해 사용하였다. YSA(yeast extract 4g, soluble starch 15g, $MgSO_4.7H_2O$ 1.5g, KH_2PO_4 1.0g, Agar 20g/ℓ), MGA(malt extract 10g, glucose 20g, $MgSO_4.7H_2O$ 1.5g, KH_2PO_4 1.0g, Agar 20g/ℓ), GPA(glucose 20g, peptone 2g, $MgSO_4.7H_2O$ 1.0g, KH_2PO_4 1.0g, Agar 20g/ℓ), BGA(beef extract 10g, glucose 10g, $MgSO_4.7H_2O$ 1.5g, KH_2PO_4 1.0g, Agar 20g/ℓ), Czapek (sucrose 30g, $NaNO_3$ 2g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g, KCI 0.5g, K_2HPO_4 1g, $FeSO_4.7H_2O$ 10.0mg, Agar 20g/ℓ) 5 종류의 배지를 사용하여 최적배지 선발에 사용하였다.

3. 배양온도 및 pH

공시 균주의 최적배양온도 및 pH를 조사하기 위하여 선발된 최적배지를 직경9cm 샤레에 15ml씩 분주하고 5℃~30℃ 온도범위에서 6개를 처리하여 공시균주를 접종한 후 10일간 배양한 후 균사생육을 조사하였으며, pH는 4.0~8.0의 범위로 5개 처리구에 균을 접종하여 배양온도와 같은 조건으로 균사생육을 조사하였다.

4. 영양원 선발

공시 균주의 최적 탄소원 및 질소원을 선발하기 위하여 탄소원은 glucose 등 16종을 처리하여 최적 탄소원을 선발하고 선발된 탄소원은 각 농도별로 250ml 삼각프라스크에 배양액을 50ml씩 분주하고 10일간 배양한 후 균사를 여과하여 건중량(어떤방법으로 건조했는지를 기술)을 측정하여 최적 탄소원을 선발하였다. 질소원은 Ammonium tartrate 등 17종을 처리하여 탄소원과 같은 방법으로 조사하였다. 기본배지인 Czapek 배지에 함유된 Potassium phosphate, Sodium nitrete, Potassium chloride의 무기태 질소는 각 농도별로 처리하여 최적 농도를 선발하였다.

다. 균핵형성 및 자실체 발생유도

1. 균핵 형성

공시균주의 균핵 형성 촉진조건을 구명하기 위한 톱밥재료는 단용으로 미송톱밥, 포플라톱밥, 참나무톱밥, 폐면 및 볏짚에 수분을 65%로 조절한 재료를 직경 3×20㎝ 칼럼시험관에 50g씩 충진하고 121℃에서 60분간 살균한 후 하루동안 냉각시킨 다음 접종하여 25℃ 항온기에 배양, 균사생육 및 균핵 형성 유무를 조사하였다. 또한 배지혼합 비율별 균핵형성을 조사하기 위하여 참나무와 폐면을 단용 및 2:8. 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8;2로 처리하였다. 선발된 배지재료에 영양원의 혼합비율을 구명하기위해 밀기울을 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30%로 처리하고, 황산칼슘을 0, 2, 4, 6, 8, 10%로 각각 처리하여 최적조건을 구하였다.

2. 자실체 발생조건 구명

곰보버섯 자실체 발생조건을 구명하기 위하여 피터모스, 식양토, 사양토 및 토탄을 단용구 별로 처리하고 균핵 형성이 양호한 처리구는 토탄의 혼합비율을 0, 20, 40, 60, 80%로 처리하여 균핵 형성을 조사하였다. 피트모스는 피터모스 100%, 피터모스70+밀기울30%, 피터모스+참나무(8:2)+밀기울30%, 피터모스+참나무(6:4)+밀기울30%, 피터모스+참나무(5:5)+ 밀기울30%, 피터모스+참나무(4:6)+밀기울30%, 피터모스+참나무(2:8)+밀기울30%로 각각 재료를 혼합 처리하여 균핵 형성 및 자실체 발생 가능성 여부를 조사하였다. 복토 종류별로는 피트모스, 사양토, 식양토 단용 처리 및 식양토+사양토를 혼합하여 복토 처리하였으며, 복토높이는 50, 100, 150mm로 처리하였다. 곰보버섯 균사배양 후 온도처리는 4±1, 10±1, 15±1, 25±1℃에서 20일간 처리하여 자실체 발생을 유도하였다.

결과 및 고찰

가. 곰보버섯 자실체의 형태적 특징 및 발생지 환경조건

곰보버섯은 분류학적으로 진균문, 자낭균아강(Ascomycotina), 곰보버섯(Morchellaceae)과, 곰보버섯

(*Morchella*)속에 속하는 야생식용버섯으로 형태적 특징은 Fig 1.에서와 같이 자질체 갓 색택은 갈색 또는 회갈색을 띄며, 갓 표면의 형태는 원뿔모양이다. 자실체의 모양은 밭이랑과 웅덩이 형태 또는 갈색의 테두리가 있는 벌집, 화산분화구, 곰보모양 등 형태가 다양하다. 자실체 전체의 크기는 5−15cm정도이며, 갓의 크기는 2−6cm, 대 길이는 2−8cm, 대 직경은 1.5−2.5cm였다. 대의 색은 흰 크림색 또는 흰색을 띄며, 자실체를 반으로 잘라보면 갓과 줄기 부분의 속은 비어있다. 갓의 표피를 잘라 현미경으로 관찰하면 자낭과 자낭포자를 관찰할 수가 있다. 국내에서는 야생 또는 비닐하우스 내에서 수집이 가능한 버섯으로 주로 온대성 기후에 분포하는 버섯이다(Ower, 1982).

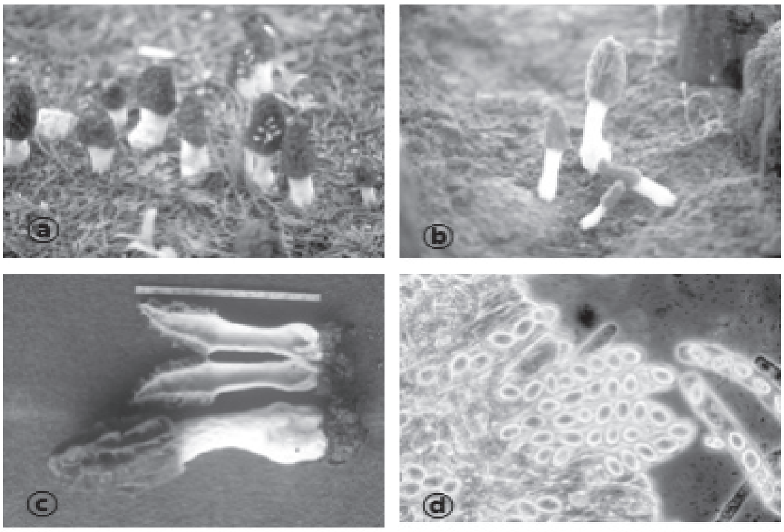

Fig.1. Microscopic observation and occurrence of *Morchella* esculenta
a. Occurrence of nature **b.** Occurrence form soil in framed greenhouse
c. Fruitbody cutted lengthways **d.** Ascus and Ascospores(×400)

곰보버섯의 자실체를 현미경으로 관찰한 결과 Table 2에서와 같이 자낭포자의 크기는 17.6−20.9×9.4−10.7㎛로 타원형이며 표면은 평활하고 색소가 없으며 , 자낭의 크기는 113.5−114.2×9.3−10.3㎛원통형으로 길고, 자낭안에 8-자낭포자를 내포하고있고 있다. 측사는 40.0−45.2×5.8−6.4㎛로 자낭의 길이보다 길거나 짧으며 격막이 있다, 대 내부세포 크기는 7.5×15.1㎛이며 균사와 균사사이는 짧고 격막이 있으며 격막이 있는 부위에서 새로운 균사가 형성된다.

Table1. Microscopic observation of ascocarps of M. esculenta

Characteristics	*M. esculenta* (ASI 59003)
Cup color	brown or grayish brown
Stem color	whitish or cream
Ascospore size(㎛)×100	17.6~20.9×9.4~10.7
Ascus size(㎛)×40	113.5~114.2×9.3~10.3
Paraphyces(㎛)×40	40.0~45.2×5.8~6.4
inner cell of stipe(㎛)×25	7.5~15.1

Fig.2는 곰보버섯의 자실체 발생장소에서 4월1일부터 4월 25일까지 최저, 최고, 평균 일교차를 조사 분석한 결과 곰보버섯의 자실체 발생 전 온도환경 조건은 최저 평균기온이 5−10℃, 최고평균기온은 14−25℃로 곰보버섯의 자실체가 발생 가능한 적정온도는 평균적으로 13−16℃ 라고 사료된다. 이러한 결과는 Kaul et al(1981)등이 보고한 곰보버섯의 자실체 발생온도가 8.5−20℃라고 한 것과는 다소 차이가 있었다.

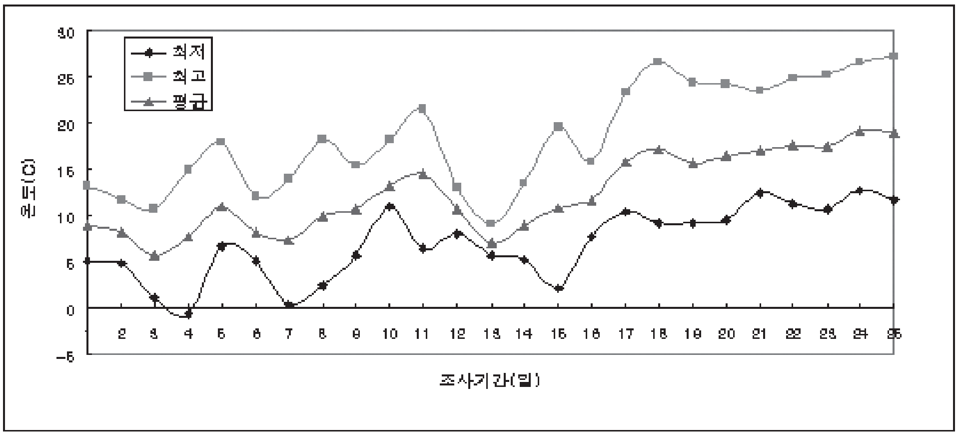

Fig. 2. Temperature changes surround habitat
* Occurrence of ascocarps : Apr. 21day

하우스 내에서 자연 발생하는 곰보버섯의 자실체 발생환경을 하우스 내와 하우스외의 조건을 조사한 결과 Table 2와 같이 하우스내의 온도는 13.5℃, 습도는 76%, 광 조건은 538 룩스이나 하우스외부의 환경조건은 모든 조건이 이 보다는 조금 높은 상태였다. 그리고 토양조건은 하우스내부가 sand 72.7%, silt 21.0%, clay 6.3%로 silty loam 였으나 하우스외부 토양은 sand의 비율이 76.3%로 하우스내부보다 높고, silt와 clay는 18.2%, 5.5%로 낮아 sandy loam이었다. 그리고 Table 3.에서와 같이 곰보버섯 자연발생지 토양과 미발생지 토양 그리고 대조구로 밭 토양을 공시하여 분석한 결과 pH는 대조구 밭 토양에 비하여 높으나 미발생지 토양보다는 낮았으며, 유기물함량 및 미량원소는 밭 토양이나 미발생지 토양보다 발생지 토양에서 높았다. 이러한 결과는 Schmidt(1983)이 보고한 내용과 일치하는 경향이었다.

Table 2. Soil textures and Environmental conditions on habitat

Locations	Environment conditions			Particle distribution(%)			
	Tem.(℃)	Hum.(%)	Lig.(Lux)	Sand	Silt	Clay	Tex.
Inside of greenhouse	13.5	75.8	538	72.7	21.0	6.3	silty loam
Outside of greenhouse	14.8	68.7	846	76.3	18.2	5.5	sandy loam

Table 3. Analysis on chemical properties of M. esculenta. habitat soil

Soils	pH (5:1)	EC (ds/m)	OM (%)	$P^{2}O^{5}$ (mg/kg)	Ext. cations(cmol+/kg)		
					Ca	K	Mg
Producible soil	7.0	0.35	10.0	160	13.2	2.3	5.4
Unproducible soil	7.7	0.47	8.0	290	11.7	2.9	3.0
Average value of Korea soil	6.0−6.5	<2.0	2−3	300−500	5.0−6.0	0.5−0.8	1.5−2.0

나. 균주별 배양적 특성

곰보버섯 균부별 최적배지를 선발하기 위하여 Table 4에서와 같이 Czapek 외 5종을 처리하여 균사생장을 조사한 결과 PDB 배지에서 ASI 59001는 187mg/10days, ASI 59002는 347mg/10days, ASI 59003는 340mg/10days로 공시된 다른 배지보다도 균체량이 많았다. 그리고 final pH는 Czapek와 PDB 배지에서는 다소 증가되나 그 외 배지에서는 pH가 모두 낮아지는 경향이었다. 균주별 균사배양 최적온도는 공

시 균주 모두 25℃가 가장 좋았고 균주별로는 ASI 59002는 439mg/10days, ASI 59004는 415mg/10days, ASI 59003는 390mg/10days, ASI 59001는 259mg/10days 순이었다. 그리고 곰보버섯의 균사생육 적정온도범위는 5-35℃까지 폭이 넓으나 5℃와 35℃에서는 균사생장이 극히 저조하였다(Table 5).

Table 4. Effect of artificial media on mycelial growth and three isolates of *M. esculenta*

(㎎/10days)

media	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003	
	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH
YSB(5.4)*	52	5.6	231	5.7	127	5.8
MGB(4.2)	9	4.3	25	4.5	35	4.5
GPB(5.1)	8	5.0	19	4.4	13	4.8
BGB(6.1)	27	6.0	70	4.8	43	5.9
PDB(4.9)	187	6.2	347	6.9	340	6.7
Czapek(4.5)	168	7.9	191	7.8	150	7.5

* ( ) : initial pH

Table 5. Effect of temperature on mycelial growth for four isolates of *M. esculenta* respectively

(㎎/50㎖/10days, Czapek media*)

Temp. (℃)	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003		ASI 59004	
	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH
5	14	5.4	11	5.2	19	5.3	22	5.2
10	22	5.3	31	5.2	38	5.2	42	5.2
15	167	5.9	132	6.6	140	6.8	138	6.4
20	187	6.7	258	6.9	221	7.2	246	7.0
25	259	6.8	439	7.4	390	7.3	415	7.2
30	62	5.2	137	5.8	187	6.0	178	6.0
35	5	5.3	19	5.3	27	5.3	29	5.4

* Czapek media : Mannose 10g, Potassium phosphate dibasic 1g, Potassium chloride 0.5g, Sodium nitrate 2g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g, $FeSO_4$ 0.0 g/1,000㎖

합성배지인 Czapek 배지에 조성된 무기태 질소성분인 Potassium phosphate, Patassium chloride 및 Sodium nitrate 성분을 각 농도별로 처리하여 균사생육 최적조건을 조사한 결과 Fig. 3에서와 같이 Potassium phosphate는 공시 균주 모두 1% 수준에서 균사생장이 가장 좋았으나 그 이상이 되면 극히 감소하는 추세를 보였다.

Fig. 4에서는 Sodium nitrate가 공시 균주 모두 2% 수준에서 균사생장이 가장 좋았으며 첨가제 량이 증가할수록 균체량은 다소 감소하는 경향이었다. 그리고 Potassium chloride는 Fig. 5에서와 같이 공시 균주 모두 첨가제를 첨가하지 않은 대조구에서 균사생장이 가장 좋았으며 첨가량이 증가할수록 균사생육은 다소 불규칙적인 상태를 보여 첨가제로 사용하지 않는 것이 좋다고 사료된다. 또한 곰보버섯 균주별 기본배지의 pH 농도에 따라 균사생육을 조사한 결과 Fig. 6에서와 같이 pH 5.0에서 균사생육이 가장 좋았다.

이러한 결과로 보아 곰보버섯 균주별 무기태 질소의 농도에 따라 균사생육은 조금씩 차이가 있지만 많은 량을 질소원은 이용하지 않는다고 생각되며, 특히 pH의 농도에 따라 균

사체의 배양조건에 다소 차이를 보이는 것으로 사료된다.

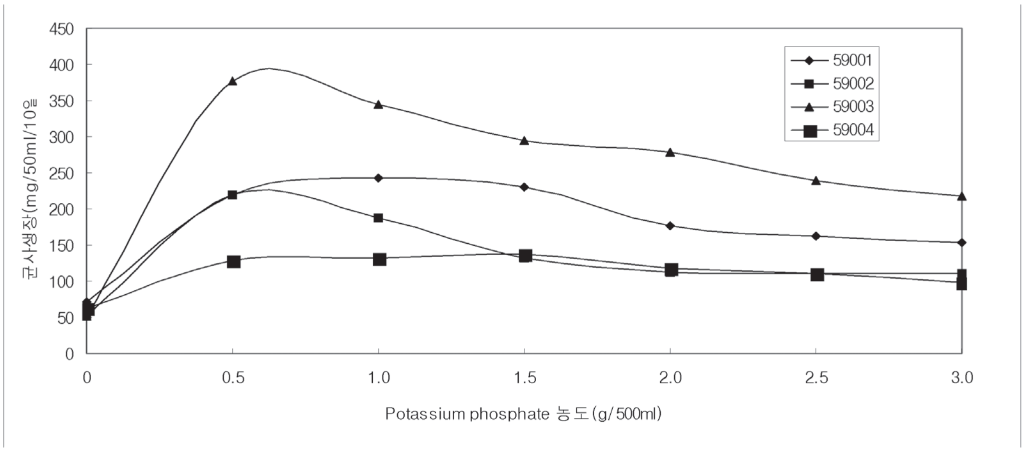

Fig 3. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on potassium phosphate dilutions

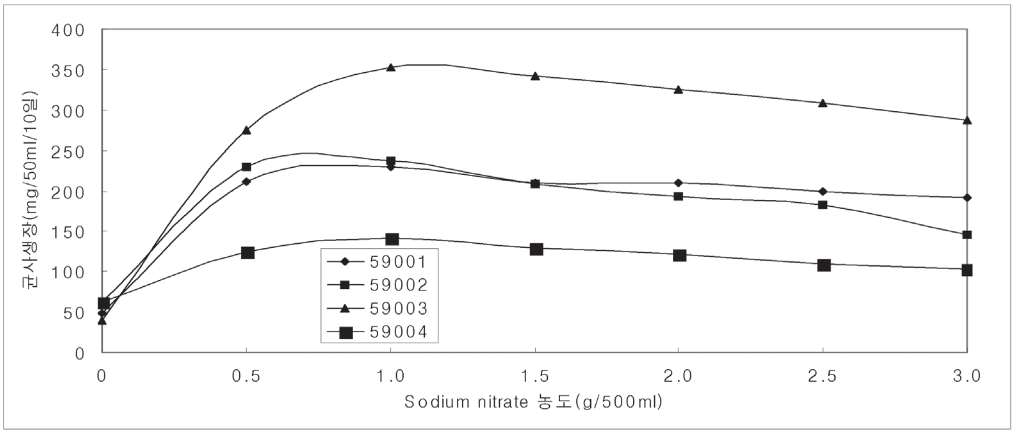

Fig 4. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on sodium nitrate dilutions

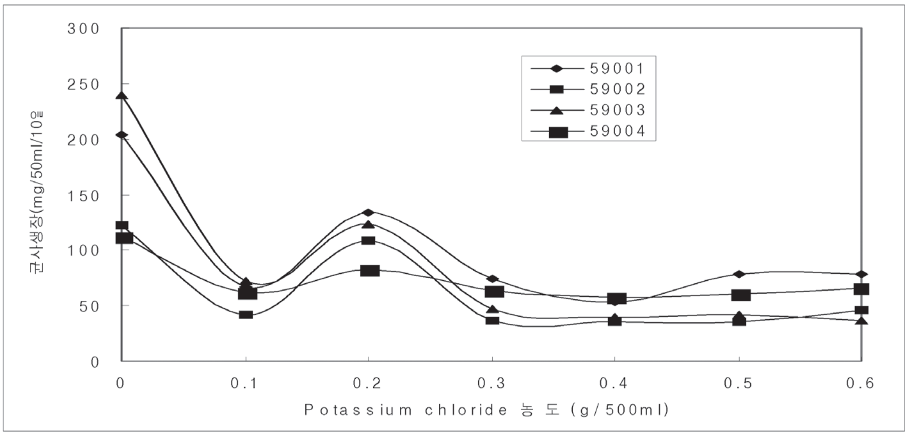

Fig 5. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on potassium chloride dilutions

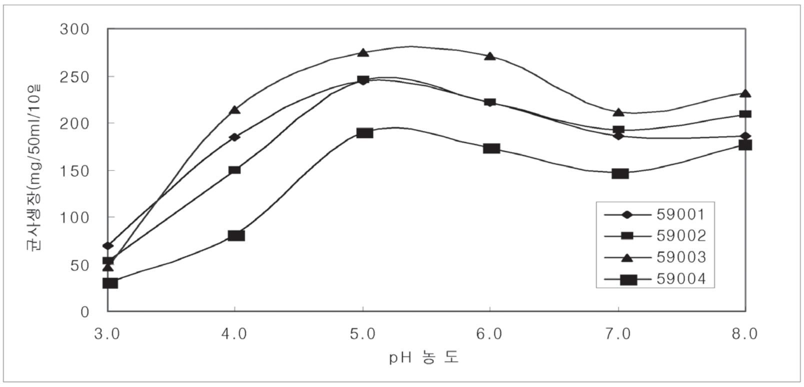

Fig 6. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on pH
* Millipore filter unit : 0.22㎛

곰보버섯 균주별 최적 탄소원을 선발하기 위하여 Table 6 에서와 같이 Glucose 외 15종을 처리하여 균체량을 조사한 결과 단당류인 Mannose에서 균사생육이 가장 좋았고 그 다음이 삼당류인 dextrin 이었다. 최종 pH변화는 Mannose나 dextrin 에서는 초기 pH 6.0보다 7.0 이상으로 증가하였다.

그 외 탄소원에서는 대부분의 탄소원 이용이 극히 저조한 상태이었으며, 특히 다당류인 Arabinose와 Ribose는 탄소원으로 전혀 이용하지 못하였다. 그리고 균사생육이 가장 좋았든 Mannose를 Fig 8. 에서와 같이 각 농도별로 처리하여 최적농도를 조사한 결과 ASI 59002, 59003, 59004 균주는 5% 수준에서 가장 좋았고 ASI 59001 균주는 3% 수준에서 균사생장이 가장 좋았다. 질소원 종류별 균사생육 최적조건은 Table 7에서와 같이 대조구에 비하여 전체 질소원 처리구의 균사생육이 극히 저조한 결과로 보아 곰보버섯은 질소원을 그다지 이용하지 않는 균주라고 사료된다.

그러나 질소원 중에서도 유기태 복합 질소원에서는 대조구와 균사생육이 비슷한 상태이지만 균주 간에 이용하는 질소원의 종류는 다소 차이가 있는 것으로 생각된다. 이러한 결과로 보아 곰보버섯은 탄소원을 많이 이용하며, 질소원은 그다지 이용하지 않았다. Brock(1951)의 보고는 탄소원으로 strech와 maltose, 질소원으로 L-cysteine이 좋다고 한 보고와는 차이가 있으며, Kaul(1978)은 starch와 glucose가 좋다고 하여 본 시험의 결과와는 다소차이가 있었다. 이러한 이유는 균주에 대한 지리적인 차이라고 사료된다.

Table 6. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on various carbohydrates

(㎎/50㎖/10days)

Carbon sources	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003		ASI 59004	
	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH
Glucose	42	6.6	50	7.0	35	6.3	80	7.4
Fructose	20	4.5	29	5.8	44	5.9	26	6.5
Mannose	168	7.9	191	7.8	150	7.5	121	7.6
Galactose	37	6.8	42	6.7	74	7.0	27	6.4
Xylose	44	7.2	38	6.9	50	6.8	52	6.8
Arabinose	8	5.1	10	5.1	15	5.1	1	5.3
Ribose	9	5.9	13	5.7	12	5.8	7	5.9
Maltose	34	6.8	26	6.6	26	6.5	35	6.7
Sucrose	56	7.4	31	6.6	55	7.2	48	7.1
Lactose	17	6.5	29	6.5	14	6.3	17	6.3
Cellobiose	45	6.8	45	6.8	27	6.6	38	6.7
Inulin	29	7.2	28	7.0	21	7.1	78	7.7
Dextrin	118	7.2	95	7.0	52	6.6	71	7.1
Raffinose	56	6.9	68	7.2	44	7.1	77	7.3
Mannitol	33	7.0	31	6.6	66	7.3	41	6.7
Control	10	6.1	8	6.3	12	6.2	13	6.1

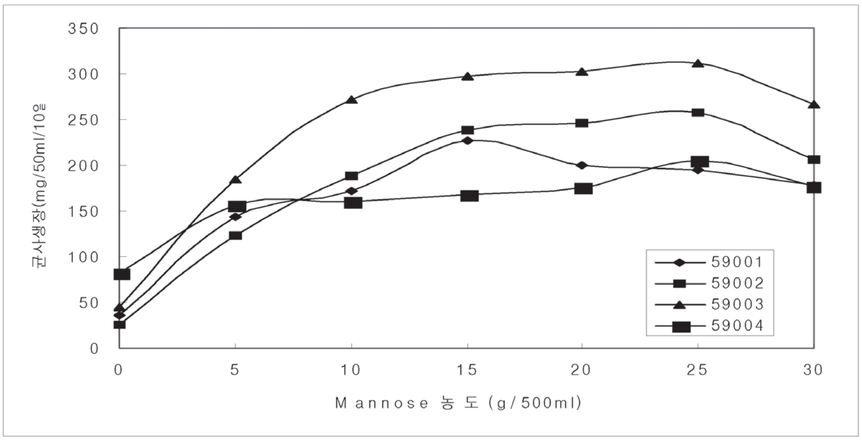

Fig 8. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on mannose dilutions

Table 7. Effect of mycelial growth of *M. esculenta* on various nitrogen sources

(㎎/50㎖/10days)

Nitrogen sources	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003		ASI 59004	
	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH	Mycelial growth	Final pH
NH_4Cl	4	4.3	21	4.2	2	4.2	4	4.0
$(NH_4)_2SO_4$	2	3.7	13	3.9	3	4.3	7	3.5
$(NH_4)HPO_4$	9	3.2	14	5.2	5	5.4	9	3.8
$(NH_4)H_2PO_4$	3	5.1	16	5.4	3	5.3	5	5.3
$(NH_4)_2C_2O_4 \cdot 4H_2O$	3	6.9	18	6.8	6	7.0	6	6.8
$(NH_4)_2C_4H_4O_6$	2	5.1	20	5.1	3	5.0	10	5.1
NH_4NO_3	3	4.0	14	4.3	3	3.7	7	3.6
KNO_3	11	6.1	16	6.1	4	6.1	14	6.3
$NaNO_3$	4	5.5	17	6.4	5	5.9	9	5.3
$NaNO_2$	1	6.2	14	6.6	2	6.3	11	6.9
$Ca(NO_2)_2 \cdot 4H_2O$	9	6.3	17	6.3	4	6.6	16	6.7
Urea	4	7.0	12	7.3	2	7.1	13	7.5
Casamino Acid	16	4.8	16	4.6	10	4.5	20	4.3
Alanine	9	5.3	16	5.0	3	5.1	10	5.5
Asparagine	17	5.6	61	6.3	6	4.6	16	4.7
Glutamine	14	6.0	18	5.7	11	5.9	16	5.9
Serine	9	4.6	22	4.9	11	5.4	16	4.3
Control	15	4.9	25	5.1	8	5.3	21	5.3

다. 균핵형성 및 자실체 발생 유도

Table 8은 농산 부산물인 폐면 외 4종의 배지를 처리하여 균사생장 및 균핵형성을 조사한 결과 폐면 처리구에서 공시 균주 모두 균사생육이 가장 좋았고, 균핵형성은 ASI 59001, 59002, 59004 균주가 균핵이 형성되었으며, ASI 59003 균주는 균핵이 형성되지 않았다. 그 다음이 볏짚, 참나무톱밥, 포플라톱밥 순으로 미송톱밥에서 균사생육이 가장 저조하였으며 균핵도 형성되지 않았다. 그 이유는 배지재료에 따라 균사생육의 차이는 있지만 전반적으로 폐면이나 볏짚에서 균사생육이 빠른 것은 톱밥배지 처리구보다 배지내 공극이 많았기 때문이라고 사료된다.

Table 8. Selection of substrate stimulating sclerotium formation on *M. esculenta*

Strains	Cotton waste		Rice straw		Poplar sawdust		Pine sawdust		Oak sawdust	
	Mycelial growth	scleroium form.	Mycelial growth	scleroium form.	Mycelial growth	scleroium form.	Mycelial growth	scleroium form.	Mycelial growth	scleroium form
59001	130	+	100	−	83	−	65	−	75	−
59002	128	+	100	−	82	−	53	−	82	−
59003	129	−	110	−	86	−	61	−	103	−
59004	130	+	117	−	83	−	63	−	112	−

* Mycelial growth : 3×20cm tube(mm/19days)

배지의 공극을 조절하기 위해 공극이 많은 폐면과 공극이 적고 균사생육이 빠른 참나무 톱밥을 혼합비율별로 처리한 결과 Table 9에서와 같이 폐면 단용구와 폐면에 참나무톱밥이 적게 혼합된 2:8, 3:7 처리구에서 균사생육과 균핵형성이 양호하였다.

Table 9. Effects of mycelial growth and sclerotium formation of *M. esculenta* depending on substrates and mixing ratio between oak and cotton

(㎜/16days)

Mix. ratio (%)	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003		ASI 59004	
	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.
Oak	51	−	49	−	44	−	55	−
Cotton	80	−	75	+++	75	+	87	++++
2:8	74	+++	70	+++	74	++	85	+++
3:7	75	++	69	++	69	++	84	++++
4:6	65	−	62	−	62	−	74	+++
5:5	68	−	63	−	66	−	74	+
6:4	65	−	55	−	53	−	68	+
7:3	67	−	59	−	56	−	68	++
8:2	56	−	56	−	48	−	71	+

또한, 참나무톱밥에 폐면을 적게 혼합될수록 균사생육은 감소되는 경향이었으며 ASI 59004 균주는 참나무 단용처리구외 전 처리구에서 균핵이 형성되었지만 역시 폐면이 적게 혼합될수록 균핵형성도 저조하였다.

Table 10은 앞에서 균핵형성이 좋은 ASI 59002, 59004 균주를 선발하고, 배지로 선발된 참나무톱밥에 폐면을 2:8로 혼합한 배지를 사용하여 첨가제인 밀기울의 혼합비율별로 균사생육 및 균핵형성을 조사한 결과 밀기울의 혼합비율이 증가할수록 균사생육은 감소되는 경향이었으나 균사밀도와 균핵형성은 좋았다. 그리고 균사생육이 전반적으로 감소하고 균사밀도와 균핵형성이 증가하는 것은 밀기울내 함유된 전분질 및 질소성분 때문이라고 판단되며 첨가제의 혼합비율이 가장 적절한 수준은 15−20% 라고 사료된다. 그리고 Table 11은 선발된 배지의 물리성을 조절하기 위하여 황산칼슘을 0, 2, 4, 6, 8, 10%로 처리한 결과 황산칼슘의 농도가 증가할수록 균사생육과 균사밀도는 감소하는 경향이었고 균핵형성은 2%에서 가장 좋았으며 4%를 넘어서면 균핵형성은 되지 않았다.라. 자실체 발생조건 구명

Table 10. Effect of mycelial growth and sclerotium formation of *M. esculenta* on mixing ratio of wheat barn

(㎜/16days)

Mixting ratio(%)	ASI 59002			ASI 59004		
	Mycelial growth	Mycelial density	Sclerotium form.	Mycelial growth	Mycelial density	Sclerotium form.
0	90	+	+	119	+	++
5	75	++	+	87	++	++++
10	69	++	++	81	+++	++++
15	60	+++	+++	79	+++	++++
20	55	++++	++++	74	+++	++++
25	52	++++	+++	73	++++	+++
30	45	++++	+++	72	++++	+++

* Mycelial density : + : thin, ++ : thick, +++ : compact, ++++ : quite compact

** Sclerotium formation : - : no, + : poor, ++ : good, +++ : compact

Table 11. Effect of mycelial growth and sclerotium formation of *M. esculenta* depending on mixing ratio of calcium sulfate

(㎜/15days)

Calcium sulfate(%)	ASI 59002			ASI 59004		
	Mycelial growth	Mycelial density	Sclerotium form.	Mycelial growth	Mycelial density	Sclerotium form.
0	104	+	+	113	+	+
2	89	++++	+++	98	++++	+++
4	72	+++	+	87	++	+
6	40	++	−	55	++	−
8	33	++	−	34	++	−
10	15	++	−	22	++	−

* Mycelial density : + : thin, ++ : thick, +++ : compact, ++++ : quite compact

** Sclerotium formation : - : no, + : poor, ++ : good, +++ : compact

Table 12는 앞에서 선발된 배지에 식양토, 사양토, 토탄(국내), 피트모스(수입)를 토양종류별로 20%씩 첨가하여 균사생육 및 균핵형성을 조사한 결과 토탄이나 피트모스가 혼합된 처리구에서 식양토나 사양토보다 균사생육이 빠르고 균핵형성도 좋았다. 그러나 공시 균주간에 균사생육은 큰 차이가 없으나 균핵형성에서는 다소 차이가 있었다. 그리고 Table 13은 피트모스 혼합비율별 곰보버섯 균의 균사생장 및 균핵형성을 조사한 결과 대조구에 비하여 피트모스의 혼합비율이 증가할수록 균사생장도 빠르고 균핵형성도 좋았지만 균핵형성의 적정수준은 피트모스를 60-80%를 혼합할 때 가장 좋다고 사료된다.

라. 자실체 발생조건 구명

곰보버섯 균주별 자실체 발생 조건을 구명하기 위하여 Table 14.와 같이 피트모스에 참나무톱밥을 0, 20, 40, 60, 80%로 혼합하고 첨가제로 밀기울을 균일하게 30%씩 첨가하여 균사생육 및 균핵 형성을 조사한 결과 피트모스의 혼합비율이 감소할수록 균사생육은 증가되는 경향이었으나 균핵 형성은 균주 간에 많은 차이가 있었다. ASI 59002 균주는 Fig 9에서와 같이 피트모스와 참나무톱밥의 혼합비율이 6:4 또는 5:5로 처리한 구에서 균사생장 및 균핵 형성이 가장 좋았으며, ASI 59004 균주는 피트모스와 참나무톱밥을 5:5로 혼합 처리한 구에서 좋았다. 그러나 ASI 59001 균주와 59003 균주에서는 피트모스에 참나무톱밥이 많이 들어간 2:8 처리구에서 극미량의 균핵 형성을 보였지만 그 외 다른 처리 구에서는 균핵이 전혀 형성되지 않았다. 이러한 이유는 참나무톱밥보다 피트모스에 함유된 유기물에 의한 것이라고 사료되나 금후 좀 더 연구 수행되어야 할 것으로 사료된다.

Table 12. Effect of mycelial growth and sclerotium formation of *M. esculenta* on soil textures

(㎜/12days)

Strains	Clay loam		Sandy loam		Peat		Peat moss	
	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.	Mycelial growth	Sclerotium form.
59001	55	−	69	−	72	++	75	+
59002	65	+	78	+	83	+++	86	+++
59003	70	+	79	++	79	+++	74	+++
59004	82	+	86	+	90	++	82	++

* mixting ratios of soil : 20%(v/v)

** Sclerotium formation : - : no, + : poor, ++ : good, +++ : compact

Table 13. Effect of mycelial growth and sclerotium formation of *M. esculenta* on mixing ratio of peat moss

(㎜/12days)

Strains	Mixting ratio(%)									
	Cont.		20		40		60		80	
	Mycelial growth	SF*	Mycelial growth	SF	Mycelial growth	SF	Mycelial growth	SF	Mycelial growth	SF
ASI59001	70	++	56	++	64	++	78	+++	80	+++
ASI59002	75	++	64	++	72	++	82	+++	90	+++
ASI59003	76	++	60	++	70	++	75	+++	83	+++
ASI59004	87	+	75	+	75	+	88	+	96	+

* SF(Sclerotium formation) - ; no, + ; poor, ++ ; good, +++ ; compact

Table 14. Effect of sclerotium formation of *M. esculenta* on mixing ratio between oak and peat moss

(㎜/12days)

Treatment*	ASI 59001		ASI 59002		ASI 59003		ASI 59004	
	Mycelial growth	SF**	Mycelial growth	SF	Mycelial growth	SF	Mycelial growth	SF
1	0	−	0	−	0	−	0	−
2	47	−	60	+	66	−	66	−
3	51	−	59	++	65	−	56	−
4	59	−	66	+++	62	−	65	+
5	64	−	72	++++	67	−	78	+++
6	62	−	69	+++	73	−	54	++
7	45	+	56	++	74	+	52	++

* 1; Peat moss 100%, 2; Peat moss+wheat bran 30%, 3; Peat moss+Oak sawdust(8:2)+wheat bran30%, 4; Peat moss+Oak sawdust(6:4)+wheat bran30%, 5; Peat moss+Oak sawdust(5:5)+wheat bran30%, 6; Peat moss+Oak sawdust (4:6)+wheat bran30%, 7; Peat moss+Oak sawdust(2:8)+wheat bran30%

** SF(Sclerotium formation) - ; no, + ; poor, ++ ; good, +++ ; compact

Fig 9. Effect of sclerotium formation of *M. esculenta*(ASI 59002) on mixing ratio of peat moss

Table 16은 앞에서 선발된 ASI 59002균주와 ASI 59004 균주를 사용하여 복토종류에 따른 곰보버섯 균사생육기간 및 발이 형성유무를 조사한 결과 복토의 종류에 따라서 균주별 균사생육기간은 큰 차이가 없었고, 초발이 형성유무는 60일이 지난 후에도 확인되지 않았다. 그리고 복토층에 따라서도 Table 16과 같이 복토층 높이에 따라서 균사생육기간 및 발이 형성유무를 조사한 결과 균사생육일수는 복토층 높이가 높을수록 균사생육일수는 길어지는 경향이었으나 발이는 형성되지 않았다. Table 17은 곰보버섯 균사배양 35일후 각 온도별로 20일간 저온 처리하고 광 조건을 100-200Lux로 처리한 구와 자실체 발생온도 12-15℃로 조절된 재배사 하우스 내에 배지를 매몰하여 자실체를 발생시켜 본 결과 자실체가 전혀 발생되지 않았다. 따라서 곰보버섯 자실체의 발생조건에 관해서는 금후 여러 가지 조건을 처리하여 좀 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

Table 15. Effect of primodia formation of *M. esculenta* on different kinds of casing soils

casing soil	ASI 59002		ASI 59004	
	spawn run periods (days)	primodia formation (60days)	spawn run periods (days)	primodia formation (60days)
Peat moss	4	-	4	-
Clay loam	4	-	4	-
Sandy loam	5	-	5	-
Clay+Sandy	4	-	4	-

Table 16. Effect of fruitbody formation of *M. esculenta* on different kinds of casing soil

Hight of casing (㎜)	ASI 59002		ASI 59004	
	spawn run periods (days)	primodia formation (60days)	spawn run periods (days)	primodia formation (60days)
50	5	-	4	-
100	7	-	7	-
150	8	-	9	-

Table 17. Occurrence of fruitbody depending on temperature after completion of mycelial growth

Temperature (℃)	ASI 59002		ASI 59004	
	Light (100–200Lux)	Temp. (12–15℃)	Light (100–200Lux)	Temp. (12–15℃)
4±1	–	–	–	–
10±1	–	–	–	–
15±1	–	–	–	–
25±1	–	–	–	–

* incubation temperature : 25℃/35days, 20days after of treatment on low temperature

적 요

곰보버섯의 자실체 색은 갈색 또는 회갈색이고 갓의 형태는 원뿔모양이며, 대의 색은 흰 크림색 또는 흰색이다. 자실체를 반으로 잘라보면 갓과 대는 속은 비어있다. 자실체의 현미경 관찰에서 자낭의 크기는 113.5~114.2×9.3~10.3㎛, 자낭포자의 크기는 17.6~20.9×9.4~10.7㎛, 측사는 40.0~45.2×5.8~6.4㎛, 대의 안쪽세포는 7.5~15.1㎛이었다. 곰보버섯 자실체 발생지 환경조건은 온도 13.8℃, 습도 75.8%, 광 538룩스이며, 토성은 sand 72.7%, silt 21.0%, clay 6.3%로 silt loamy 이며, 유기물 함량은 10.0%로 밭 토양보다 많고 인산함량은 낮았다. 균주별 균사배양 최적배지는 PDB 배지이며, 배양최적 온도는 25℃, pH는 5.0이었으며, 합성배지인 Czapek에 배지에 조정된 무기태 성분의 최적농도는 potassium phosphate 1%, sodium nitrate 2%, potassium chloride은 대조구에서 좋았다. 영양원 선발에서 최적 탄소원은 mannose이었으며, 최적농도는 5%이었다. 질소원은 대조구에 비하여 균사생육이 극히 저조하였다. 곰보버섯 균핵 형성 촉진배지 선발시험에서 균사생장과 균핵 형성이 좋은 배지는 폐면 이었으며, 톱밥에서는 참나무톱밥에서 균사생장이 빨랐다. 폐면과 참나무톱밥의 혼합비율은 참나무톱밥 20%+폐면 80% 혼합수준에서 균핵 형성이 좋았고 첨가제인 밀기울의 혼합비율은 15–20%, 황산칼슘은 2% 수준에서 균핵 형성이 좋았다. 토양종류별 균핵 형성은 피트모스 처리구에서 균사생장 및 균핵 형성이 가장 좋았으며, 피트모스의 혼합비율은 60–80%이나, 참나무를 혼합하면 50:50으로 혼합 처리한 구에 밀기울을 30% 첨가하면 균핵 형성이 가장 좋았다.

인용문헌

Brock, T. D. 1951. Studies on the nutrition of Morchella esculenta fries. Mycology. 43. 402–422

Baker, K. F. and Matkin, O. A. 1959. An unusual occurrence of morel in cultivated beds of Cymbidims. Plant Dis. Reptr. 43. 1032

Kaul T. N. 1978. Physiological studies on Morchella species 1. Carbon utilization. Bull. Botan. Soc. Bengal. 31. 35–42

Kaul, T. N., Khuran, M. L., Kachroo, J. L., Krishna, A. and Atal, C. K. 1981. Myco–ecological studies on more.

McCubbin, W. A. 1913. The morel. Ontario Nat. Sci. Bull. 8 . 37–40

Moser, M. 1949a. Uber des uber das Massenauftreten von Formen der Gattung Morchella auf Wanbranflachen. Sydowia 3. 174–195

Ower, R. 1982. Notes on the development of the morel Ascocarp : Morchella esculenta. Mycology. 74(1). 142–168

Ramsbottom, J .1953. Mushrooms and toadstools. A study of the activities of fungi. Collins, London. 306

Schmidt, E. L. 1983. Spore germination of and carbohydrate colonization by Morchella esculenta at different soil temperatures. Mycology. 75(5). 870–875

Singer, R. 1961. Mushrooms and truffles. Botany, cultivation and utilization. Leonard Hill, Ltd., London. 272