

사업구분 : 경상기본연구	Code 구분 : LS0212	버 셋(전반기)
연구과제명 및 세부과제명	연구기간	책임연구자
버섯균주 활력 검정방법 개발 연구	'03~'06	경기도원 버섯연구소 지정현
1) 버섯균주 활력 진단방법 개발	'03~'06	경기도원 버섯연구소 하태문
2) 버섯균주 활력 및 변이성 검정	'03~'06	"
3) 버섯균 오염 진단방법 개발	'04~'06	경기도원 버섯연구소 장명준
색인용어	지시약, 균주활력, 변이성, 오염진단	

1. 계속수행 필요성

- 계대배양하여 이용하고 있는 버섯원균의 활력에 대한 객관적인 검정 방법이 없어 농가에서 균주 교체시기를 알기 어려움
- 버섯균의 지속적인 계대배양과 저장 등에 의한 버섯균의 변이성 검정방법의 개발이 요구됨
- 버섯균의 오염여부를 간이진단 할 수 있는 방법 개발이 필요함

2. 전년도 연구추진 실적 요약

- 버섯균주 활력 진단방법 개발
 - 진단지시약에 액체, 고체배양 결과 느타리와 큰느타리는 BP와 BTB에서 뚜렷한 발색반응이 확인되었고 팽이버섯은 BTB와 PR에서 발색반응이 나타나 BP, BTB, PR이 선발되었음
 - 느타리, 큰느타리, 팽이균주 모두 35°C에서 보존기간이 0일부터 90일까지 늘어남에 따라 균사생장속도, 발색변화율이 감소하여 균활력 저하와 상관관계를 보였음
- 버섯균주 활력 및 변이성 검정
 - 4°C에서 큰느타리 원균의 저장기간이 0일에서 120일까지 늘어남에 따른 활력 검정 지시약의 발색반응, 균사생장속도, 자실체 생육특성 등에서 큰 차이를 나타내지 않았음
 - 4°C에서 120일까지 저장기간이 늘어남에 따른 원균의 변이성검정결과 처리간 Esterase 동위효소 밴드페턴의 뚜렷한 차이는 나타나지 않았음

○ 버섯균 오염 진단방법 개발

- *Pseudomonas tolaasii*, *P. agarici*의 병원세균 2종과 *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. virens*의 병원성곰팡이 4종은 모두 BTB(녹색→청색), PR(오렌지색→적색)에서 뚜렷한 발색반응을 보여 오염진단 지시약으로 선발하였음
- 선발된 지시약으로 종균의 오염진단 시험결과 오염균 접종 초기의 오염진단은 가능하였으나 종균배양이 진행됨에 따른 그 진단효과는 감소하였다.

3. 당해연도 연구목표

가. 버섯균주 활력 진단방법 개발

- 버섯균주 활력과 지시약의 발색반응, 효소활성과의 상관관계 구명

나. 버섯균주 활력 및 변이성 검정

- 큰느타리버섯 종균의 보존기간에 따른 균주활력과 변이유무 검정

다. 버섯균 오염진단방법 개발

- 느타리버섯 종균의 오염검정

4. 당해연도 세부연구내용

세 부 과 제 명	연 구 내 용
1) 버섯균주 활력 진단방법 개발(계속)	<p><시험1> 버섯균주 활력검정용 pH지시약 선발('03~'04완결)</p> <p><시험2> 버섯의 지시약 변색효소 선발</p> <p>가. 처리내용</p> <ul style="list-style-type: none">- 지시약 : Bromocresol purple(BP), Bromothymol Blue(BTB) 등 5종- 효소 : Esterase 등 효소 3종 <p>나. 주요조사항목 : 지시약의 발색반응 등</p> <p><시험3> 균주활력과 효소활성과의 관계 구명</p> <p>가. 시험버섯 : 큰느타리버섯</p> <p>나. 처리내용</p> <ul style="list-style-type: none">- 보존기간 : 배양완료 후 0, 30, 60, 90일※ 활력검정 지시약 : <시험2>결과에 준함※ 보존 온도 : 37°C※ 배양배지 : PDA <p>다. 주요조사항목 : 효소활성, 검정배지의 발색반응, 흡광도, 균사생장정도</p>

세부과제명	연구내용						
	<p><시험3> 균주활력과 효소활성과의 관계 구명</p> <p>가. 시험버섯 : 큰느타리버섯</p> <p>나. 처리내용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 보존기간 : 배양완료 후 0, 30, 60, 90일 ※ 활력검정 지시약 : Bromothymol Blue(BTB) ※ 보존 온도 : 37℃ ※ 배양배지 : PDA <p>다. 주요조사항목 : 효소활성, 검정배지의 발색반응, 흡광도, 균사생장정도</p>						
2) 버섯균주 활력 및 변이성 검정(계속)	<p>가. 시험버섯 : 큰느타리버섯</p> <p>나. 처리내용</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>종균보존기간</th> <th>활력검정 지시약</th> <th>변이성검정 효소</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>· 0, 30, 60, 90, 120일</td> <td>· Bromothymol Blue(BTB)</td> <td>· Esterase</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 보존온도 : 4℃</p> <p>※ 배양배지 : 종균용 톱밥배지</p> <p>다. 주요조사항목 : 검정배지의 발색반응, 흡광도, 배양 및 생육특성, 동위효소 밴드패턴 분석</p>	종균보존기간	활력검정 지시약	변이성검정 효소	· 0, 30, 60, 90, 120일	· Bromothymol Blue(BTB)	· Esterase
종균보존기간	활력검정 지시약	변이성검정 효소					
· 0, 30, 60, 90, 120일	· Bromothymol Blue(BTB)	· Esterase					
3) 버섯균 오염 진단방법 개발(계속)	<p><시험1> 원균 오염진단 방법 개발('04완료)</p> <p><시험2> 종균 오염진단</p> <p>가. 시험버섯 : 느타리버섯</p> <p>나. 처리내용</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>접종 미생물</th> <th>접종방법</th> <th>진단시약</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> · 느타리 버섯 · 곰팡이(푸른곰팡이 등 3종) · 세균(<i>Pseudomonas</i> sp 등 2종) </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> · 단용(버섯균) · 혼용(버섯균+병원균) </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> · RTB · PR </td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 배양배지 : 종균용 톱밥배지</p> <p>다. 주요조사항목 : 진단배지의 발색반응, 흡광도, 배양율 등</p>	접종 미생물	접종방법	진단시약	<ul style="list-style-type: none"> · 느타리 버섯 · 곰팡이(푸른곰팡이 등 3종) · 세균(<i>Pseudomonas</i> sp 등 2종) 	<ul style="list-style-type: none"> · 단용(버섯균) · 혼용(버섯균+병원균) 	<ul style="list-style-type: none"> · RTB · PR
접종 미생물	접종방법	진단시약					
<ul style="list-style-type: none"> · 느타리 버섯 · 곰팡이(푸른곰팡이 등 3종) · 세균(<i>Pseudomonas</i> sp 등 2종) 	<ul style="list-style-type: none"> · 단용(버섯균) · 혼용(버섯균+병원균) 	<ul style="list-style-type: none"> · RTB · PR 					

5. 당초 연구계획서의 내용과 변경된 주요사항

- 변경된 주요사항 없음.

6. 세부과제 변경 · 추가 등

- 변경 · 추가된 사항 없음.

7. 연도별 연구비 소요예산

(단위 : 백만원)

과제 및 세부과제명	2003년도	2004년도	2005년도	2006년도	계
o 벼섯 균주 활력 검정방법 개발 연구					
1) 벼섯균주 활력 진단방법 개발	8	8	8	9	33
2) 벼섯균주 활력 및 변이성 검정	8	8	8	9	33
3) 벼섯균 오염 진단방법 개발	-	8	8	9	25
총 계	16	24	24	27	91