

맛버섯 균사체의 배양 특성에 관한 연구

차월석* · 이동병 · 감시형 · 오동규

조선대학교 화학공학과

A Study on the Cultural Characteristics of *Pholiota nameko* Mycelium

Wol-Suk Cha*, Dong-Byung Lee, Si-Hyung Kang and Dong-Gyu Oh

Department of Chemical Engineering, Chosun University, 501-759, Korea

Abstract

This Study was carried out to investigate the optimal mycelial growth of *Pholiota nameko*. The optimal medium for the mycelial growth was ME medium. The optimal temperature and pH were 25°C ± 1 and 5.5, respectively. The modified optimal medium compositions were glucose 3% (w/v), malt extract 0.25% (w/v), yeast extract 0.25% (w/v), KH₂PO₄ 0.046% (w/v), K₂HPO₄ 0.1% (w/v), MgSO₄ · 7H₂O 0.05% (w/v). From the result of experiments on the optimal temperature, pH and nutritional requirements, the mycelial growth of modified optimal medium was higher than that of ME medium.

Key words – *Pholiota nameko*, mycelial growth, carbon, nitrogen, mineral

서 론

버섯은 분류학상으로 균류계중에서 진균류에 위치하며 대부분 담자균류에 속하나 일부는 자낭균류 그리고 드물게는 접균류 중에서도 보여진다. 이러한 버섯은 미세하고 실같은 균사로 되어 있으며, 수많은 균사의 집합체를 균사체라 하고, 이들이 모여서 자실체를 형성한다. 이들 버섯류들은 향미성분과 약리효과 때문에 식용 및 약용으로 이용되며 최근 들어 항암효과가 알려진 이래 많은 연구가 이루어지고 있다. 이 중 *Lentinus edodes* [3,10], *Coriolus versicolor* [13], *Lepiota procera* [9], *Grifola frondosa* [12], *Lyophyllum ulmarium* [8], *Ganoderma applanatum* [14]등으로부터 얻은

단백다당체가 항암효과가 있다고 보고되고 있으며, *Coriolus versicolor*의 단백질은 면역증강제(상품명: Krestin)로, *Lentinus edodes*의 단백질은 위암치료제(상품명: Lentinan)로 각각 판매되고 있을 정도로 버섯의 자실체 및 균사체에 대한 연구가 급속도로 이루어지고 있다.

본 연구에서 연구하고자 한 맛버섯(*Pholiota nameko*)은 일명 나도팽나무버섯으로도 알려져 있는데 원래 너도밤나무, 오리나무, 버드나무, 벗나무 등 죽은 고목에서 봄, 가을에 총생으로 발생하며 분류학적으로 주름버섯목(Agaricales), 독청버섯과(Strophariaceae), 버들버섯속(*Pholiota*)의 일종으로 갓표면에는 인피와 점성이 있어 “나메꼬”라는 명칭이 유래되었으며 갓의 지름이 2-5cm, 대는 지름 1-1.6cm, 길이 4cm이며 식용 및 약용으로 쓰이는 버섯이다[11].

맛버섯에 관한 연구는 주로 일본에서 이루어졌는데 국내에서는 Chang [2]등에 의해 톱밥을 이용한 상자재배방

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 062-230-7218, Fax : 062-230-7226
E-mail : wscha@mail.chosun.ac.kr

법이 연구된 바 있으나 아직 미흡한 실정이다. 우리나라에서 인공 재배 되고 있는 버섯은 양송이, 느타리, 표고, 영지, 팽이 등 몇 종에 한정되고 있는 상황이며 품종의 다변화가 매우 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 맛버섯의 인공재배법 개발의 기초자료를 얻어 일환으로 균사의 영양생장에 필요한 적합한 조건을 연구하고자 균사생육을 위한 최적 배양 조건 및 영양원을 조사하고자 한다.

재료 및 방법

균주 및 접종원

본 연구에 사용한 균주는 *Pholiota nameko* KACC 50453 으로서 농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과에서 분양 받아 사용하였으며, potato dextrose agar (PDA) 배지에서 25℃로 8일간의 배양 후, 4℃에서 보존하였고 1개월마다 계대배양 하였다. 접종원의 준비는 고체배양의 경우, 냉장보관하던 균주를 PDA평판배지의 중앙부에 5mm cork borer로 절취한 mycelium disk를 접종하여 25±1℃의 항온기에서 배양한 후 실험에서 사용하였으며, 액체배양의 경우는 300mL 삼각플라스크에 100mL의 potato dextrose broth (PDB)를 121℃, 15분간 고압멸균한 후 5mm cork broer로 mycelium disk 4-5개를 절취하여 접종한 후 8일간 배양한 다음, 배양액을 균질기로 무균적으로 30초 동안 균질화 하여 접종원으로 사용하였다.

기본배지 선발

맛버섯의 균사생육에 가장 좋은 기본배지를 선발하기 위하여 Table 1에 공시된 5종의 공시배지에 PDA배지에서 생육된 균사체를 5mm cork borer로 절취하여 중앙부에 접종하였다. 접종한 각 배지는 25℃±1의 항온기에서 10일간 배양하면서 균사의 생육정도를 측정하여 균사생육이 가장 우수한 공시배지를 기본배지로 선발하였다.

온도의 영향

균사생육을 위한 최적 배양 온도를 조사하기 위하여 기본배지로 선발된 ME배지를 조제하여 121℃에서 15분간 고압멸균하고 20mL씩 petri dish에 분주하여 균한 다음, 접종하여 15, 20, 25, 30 그리고 35℃의 온도 범위로 조절된

Table 1. The composition of various media used in this study

Ingredients	Concentration (g/L)				
	MYPA	PDA	ME	YM	YMG
Potato		200.0			
Glucose		20.0		10.0	4.0
Peptone	1.0		5.0	5.0	
Malt extract	30.0		20.0	3.0	10.0
Yeast extract	2.0			3.0	4.0
Agar	20.0	20.0	20.0	20.0	15.0

항온기에서 10일간 배양하면서 균사생육을 조사하였다.

초기 pH의 영향

균사생육을 위한 최적 초기 pH를 조사하기 위하여 기본배지로 선발된 ME 배지를 조제하여 1N HCl과 NaOH로 초기 pH를 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 및 8.0으로 조절하여 121℃, 15분간 고압멸균하고 20mL씩 petri dish에 각각 분주하여 균한 다음, 접종하여 25℃±1의 항온기에서 10일간 배양하여 균사생육을 조사하였다.

탄소원 선발 및 최적 농도

균사생육을 위한 최적 탄소원 및 농도를 조사하기 위하여 기본배지(ME)에 glucose의 12종의 탄소원을 각각 1% (w/v) 농도로 첨가하여 배지를 조제하고 pH 5.5로 조절한 다음 121℃에서 15분간 고압멸균한 후 균한 다음 접종하여 25℃±1의 항온기에서 10일간 배양하였다. 또 선발된 탄소원의 최적 농도를 조사하기 위하여 0~10%(w/v)의 농도순으로 첨가한 후 pH 5.5로 조절하여 상기와 동일한 방법으로 배양하여 균사생육을 조사하였다.

질소원 선발 및 최적 농도

균사생육을 위한 최적 질소원 및 농도를 조사하기 위하여 기본배지(ME)에 최적 탄소원인 glucose를 3%(w/v)농도로 첨가한 후, malt extract 외 5종의 질소원을 단독 혹은 혼합하여 최종 질소원의 농도가 2.5%(w/v)가 되도록 조제하고 pH를 5.5로 조절한 다음 고압멸균한 후 균한 다음 접종하여 25℃±1의 항온기에서 10일간 배양하였다. 또한 선발된 최적 질소원인 malt extract와 yeast extract를 이용하

여 먼저 malt extract를 glucose가 3%(w/v)농도로 첨가된 기본배지(ME)에 malt extract를 0~2.5%(w/v)농도로 조제한 후 pH를 5.5로 조절하여 고압멸균한 후 균한 다음 접종하여 25°C±1의 항온기에서 10일간 배양하였다. glucose 3.0%(w/v), malt extract 0.25%(w/v) 첨가된 기본배지(ME)에 yeast extract의 농도를 0~2.5%(w/v)로 조제한 후 pH를 5.5로 조절하여 상기와 동일한 방법으로 배양하여 군사생육을 조사하였다.

무기염류의 영향

대부분의 버섯 영양배지에 공통으로 첨가되는 무기염류인 KH₂PO₄, K₂HPO₄, MgSO₄·7H₂O를 첨가한 배지와 첨가하지 않은 배지에서 군사생육 정도를 조사하기 위하여 glucose 3%, malt extract 0.25%, yeast extract 0.25%인 최적배지에 상기 무기염류를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 배지를 조제한 후 pH 5.5로 조절한 다음 121°C, 15분간 고압멸균한 후 균한 다음 접종하여 25°C±1의 항온기에서 10일간 배양하여 군사생육을 조사하였다.

최적 및 기본배지에서의 군사생육 비교

최적 배양 조건 및 영양원 선발 시험 결과로부터 얻은 최적 배지와 기본배지(ME)를 300 mL 삼각플라스크에 각각 100 mL씩 넣고 pH를 5.5로 조절한 다음, 121°C, 15분간 고압멸균한 후 식힌 다음 미리 8일간 액체배양한 접종원을 균질기로 무균적으로 균질화하여 5%(v/v)접종하고, 25°C±1로 조절된 shaking incubator에서 110rpm으로 14일간 배양하여 군사생장을 조사하였다.

분석방법

접종된 군사절편의 중심을 직교하는 수직선과 수평선을 평판배지인 petri dish 밑면에 유성펜으로 그렸으며, 하루 간격으로 배양이 완료될 때까지 종축과 횡축의 직경을 측정 한 후 두 값을 평균하여 고체배지에서의 군사의 생장직경을 측정하였다[4]. 액체배양에서 건조균체량은 배양액을 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 침전된 군사체를 2~3회에 걸쳐 수세한 다음, 60°C에서 24시간 건조하고, desiccator에서 항량이 될 때까지 방치하여 건조중량을 측정하였다.

결과 및 고찰

기본배지 선발

맛버섯의 군사생육에 가장 좋은 기본배지를 선발하기 위하여 Table 1의 5종의 공시배지를 이용하여 군사생육을 조사한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 ME배지에서 61.7 mm/10days로 군사생육이 가장 양호하였고, YM, MYPA 순으로 우수하였다.

최적배양온도

군사생육에 적합한 최적 배양 온도를 검토한 결과는 Fig. 1과 같이 20°C이하와 30°C이상에서는 맛버섯 군사체 생육이 급속히 저하되는 것을 알 수 있으며, 25°C에서 군사체 생육이 가장 양호하여 맛버섯 군사체 최적 배양 온도는 25°C임을 알 수 있다. 이러한 결과는 *Pleurotus eryngii*는 25°C, *Pleurotus ostreatus* 와 *Pleurotus florida*는 30°C인 보고 [17]와 *Fomitella fraxinea*(Fr.)는 25~30°C라는 보고[1]와 거의 유사한 결과임을 알 수 있다.

Table 2. Mycelial growth and density of *Pholiota nameko* on various media

	MYPA	PDA	ME	YM	YMG
Mycelial growth (mm/10days)	52	45	61.7	53	35
Density	+++	++	+++	++	+++

*+: thin, ++: moderate, +++: compact

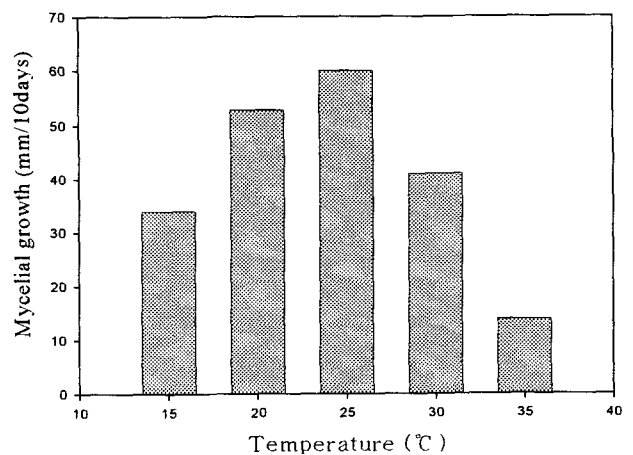


Fig. 1. Effect of cultural temperature on the mycelial growth of *Pholiota nameko* on the ME medium.

최적 초기 pH

균사생육에 가장 적합한 최적 초기 pH를 검토한 결과는 Fig. 2와 같이 pH 4.0~6.5 범위에서 균사생육이 비교적 양호하였는데 최적 초기 pH는 5.5였다. 담자균류의 균사생장 최적 pH 범위에 대하여 Wolport [15]가 pH 4.0~7.0이라고 보고한 결과와 거의 일치함을 알 수 있었다.

탄소원 선별 및 최적 농도

균사생육이 가장 양호한 ME배지에 각종 탄소원을 1% (w/v)로 첨가하여 배양한 결과 Table 3에서와 같이 단당류

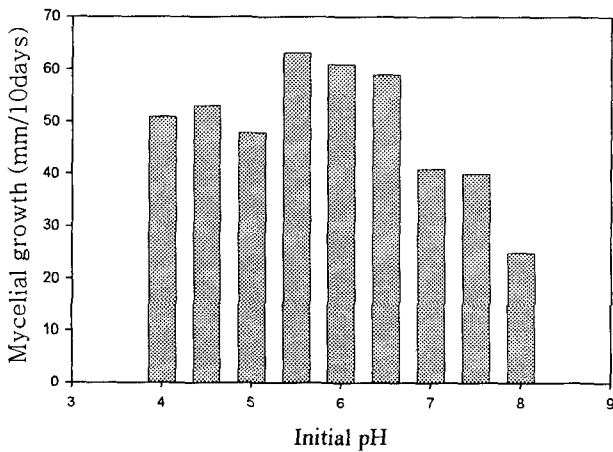


Fig. 2. Effect of initial pH on the mycelial growth of *Pholiota nameko* on the ME medium.

Table 3. Effect of various carbon sources on the mycelial growth of *Pholiota nameko*

Carbon sources	Mycelial growth (mm/10days)
Control (ME)	57.2
Glucose	61.8
Arabinose	52
Sucrose	46.5
Fructose	52.7
Mannose	61.2
Xylose	53.2
Raffinose	48.2
Galactose	50.3
Mannitol	47.3
Dextrin	51.3
Starch	52.3
Lactose	51.5
Maltose	59

인 glucose와 mannose에서 균사생육이 가장 양호하였고 이당류인 sucrose에서 균사생육이 가장 저조하였다. 최적 탄소원으로 선별된 glucose 농도를 3%(w/v)첨가시 균사생육이 가장 양호하였으며, 5% 이상의 농도에서는 균사생육이 급속히 저하됨을 알 수 있었다(Fig. 3). 탄소원의 영향에 관한 보고에서 Hashimoto와 Takahasi [5]는 느타리에서 mannose와 starch에서 균사생육이 양호하다고 하였고, Kawai [7]등이 soluble starch, glucose등을 잘 이용한다고 하였고, Chang [1]등은 glucose를 첨가한 배지에서 균사생장이 가장 양호하였다고 보고한 결과들과 거의 유사한 결과임을 알 수 있다.

질소원 선별 및 최적 농도

질소원이 균사생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 최적 탄소원인 glucose 3%(w/v)농도가 첨가된 ME배지에 유기태 질소원 및 무기태 질소원을 단독 혹은 혼합하여 실험하였다. 그 결과는 Table 4에서와 같이 malt extract, yeast extract 및 peptone을 단독 혹은 혼합하여 첨가한 경우 균사생육이 양호하였고 무기태 질소원은 별다른 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다. 최적 질소원으로 조사된 3종 질소원 중 malt extract와 yeast extract의 농도에 따른 균사생장을 검토한 결과 Fig. 4에서와 같이 malt extract 농도 0.25%(w/v)이상에서는 큰 차이 없이 균사생장이 양호하였고 경제성을 고려할 때 최적 malt extract 농도는 0.25% (w/v)이었고, Fig. 5에서 보는 바와 같이 yeast extract의 농

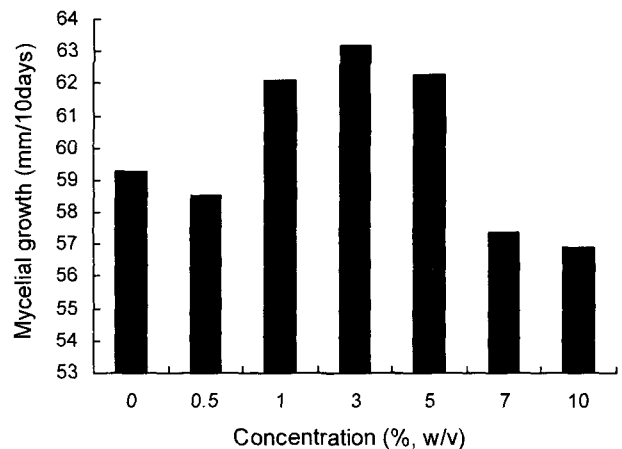


Fig. 3. Effect of glucose concentration w/v on the mycelial growth of *Pholiota nameko*.

Table 4. Effect of various nitrogen sources on the mycelial growth of *Pholiota nameko*

Nitrogen sources	Mycelial growth (mm/10days)
Malt extract	60.3
Yeast extract	59.4
Peptone	57.3
Malt extract + Yeast extract	64.3
Malt extract + Peptone	62.3
Yeast extract + Peptone	63.2
Malt extract + NH ₄ Cl	43.3
Malt extract + NaNO ₃	52.7
Malt extract + KNO ₃	38.2
Yeast extract + NH ₄ Cl	41.4
Yeast extract + NaNO ₃	43.2
Yeast extract + KNO ₃	52.3
Peptone + NH ₄ Cl	43.3
Peptone + NaNO ₃	41.8
Peptone + KNO ₃	39.5
None	10.3

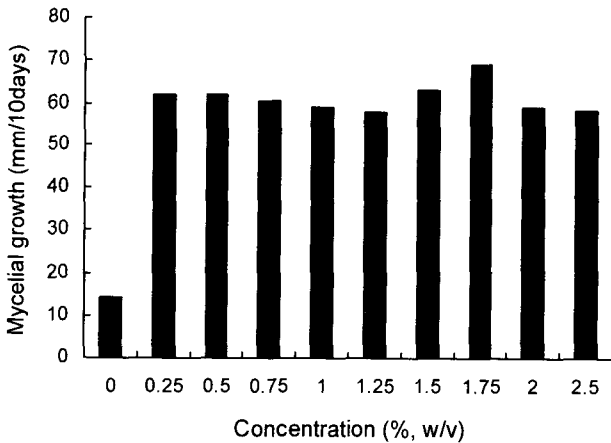


Fig. 4. Effect of malt extract concentration on the mycelial growth of *Pholiota nameko*.

도도 2%(w/v) 첨가시 균사생육이 가장 양호하였지만 경제성을 고려할 때 최적농도는 0.25%(w/v)이었다.

무기염류의 영향

버섯의 영양배지에 일반적으로 첨가되는 무기염류(KH₂PO₄ 0.046%, K₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.05%)[16]를 첨가한 경우와 무첨가한 경우를 비교한 결과는 Table 5에서와 같

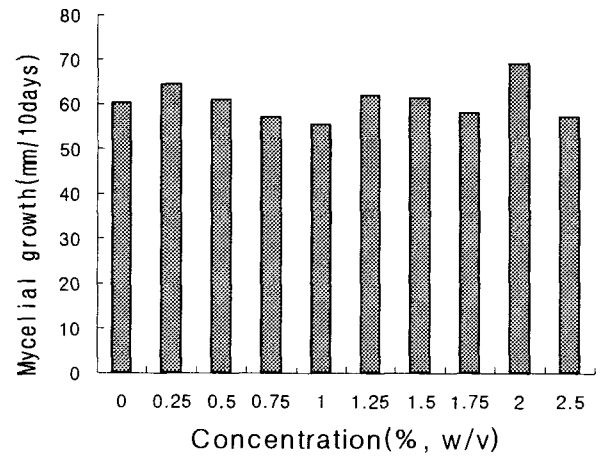


Fig. 5. Effect of yeast extract concentration on the mycelial growth of *Pholiota nameko*.

Table 5. Effect of mineral sources on the mycelial growth of *Pholiota nameko* on the optimal carbon and nitrogen sources

	without mineral sources	with mineral sources
Mycelial growth (mm/10days)	61.3	65.2

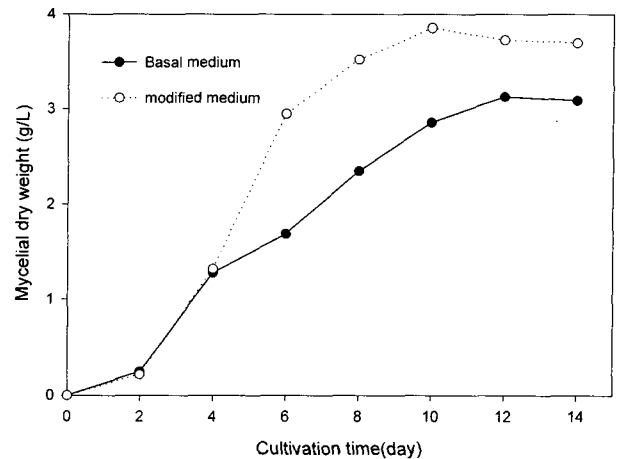


Fig. 6. Comparisons of the modified and basal media for the mycelial growth of *Pholiota nameko*.

이 무기염류를 첨가하였을 경우에 무첨가한 경우보다 균사생육이 양호하였다. Jung [6]등은 *Phellinus igniarius*의 균사체 배양 조건에 관한 연구에서 무기염류의 첨가여부가 균사생장에 별 영향을 미치지 않는다는 연구결과와는 상

반된 경향을 나타냈다.

최적 및 기본배지에서의 균사생장 비교

최적배지와 기본배지가 맛버섯 균사체의 생육에 미치는 영향을 비교한 결과는 Fig. 6에서와 같이 배양 4일까지는 기본배지 및 최적배지의 균사생육은 비슷하게 증가하는 경향을 나타냈지만 최적배지는 배양 6일째부터 급격히 증가하여 배양 10일째 최대 건조 균체량 3.85 g/L을 얻었으며 기본배지는 배양 6일째부터 완만히 증가하다가 배양 12일째 최대 건조 균체량 3.13 g/L을 얻었다. 최적 배지는 기본배지보다 약 19%정도 높은 균사체 생산수율을 보였다.

요 약

맛버섯(*Pholiota nameko* KACC 50453)의 균사체 배양 특성에 관한 연구 결과 맛버섯 균사체의 배양에 적합한 기본배지는 ME였으며, 최적 배양 온도는 25°C, 최적 초기 pH는 5.5이었다. 맛버섯 균사체 생장을 위한 최적 배지 조성은 glucose 3%(w/v), malt extract 0.25%(w/v), yeast extract 0.25%(w/v), KH₂PO₄ 0.046%(w/v), K₂HPO₄ 0.1%(w/v), MgSO₄ · 7H₂O 0.05%(w/v)로 나타났다. 기본배지(ME)와 최적배지로 액체 배양한 결과 최적 배지에서 균사생장이 양호하였다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 조선대학교 학술연구비의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Chang, H. Y., D. Y. Cha, A. S. Kang, I. P. Hong, K. P. Kim, S. J. Seok, Y. J. Ryu and J. M. Sung. 1995. Cultural characteristics of *Fomitella fraxinea* (Fr.) Imaz. *Kor. J. Mycol.* **23**, 238-245.
- Chang, S. T. and W. A. Hayes. 1978. *The biology and cultivation of edible mushrooms*. pp. 461-473, Academic Press.
- Fuji, T., H. Maeda and N. Ishida. 1978. Isolation and characterization of a new antitumor polysaccharide, KS-2, extracted from culture mycelia of *Lentinus edodes*. *J. Antibiot.* **31**, 1079-1090.
- Go, S. J., C. H. You and D. Y. Cha. 1981. Studies on the artificial substrate with rice straw and the spawning for the *Pleurotus florida* in Korea. *Kor. J. Mycol.* **9**, 67-72.
- Hashimoto, K. and Z. Takahasi. 1974. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. *Mushroom Science* **9**, 585-593.
- Jung, I. C., S. H. Kim, Y. I. Kwon, S. Y. Kim, J. S. Lee, S. Park, K. S. Park and J. S. Lee. 1997. Cultural condition for the mycelial growth of *Phelinus igniarius* on chemically defined medium and grains. *Kor. J. Mycol.* **25**, 133-142.
- Kawai, M. and S. Abe. 1976. Studies on the artificial reproduction of *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. I. Effect of carbon and nitrogen sources in media on the vegetative growth of *Tricholoma matsutake*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **17**, 159.
- Kazun, C., M. Nishijima, H. Miura and I. Kamoi. 1990. Structural examination of water-soluble glycans from fruit body of *Lyophyllum ulmarium*. *Nippon Snokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**, 765-772.
- Kim, B. K., M. J. Shin, O. N. Kim, H. W. Kim and E. C. Choi. 1989. Antitumor components of the cultural of *Lepiota procera*. *Kor. J. Food Hygiene.* **4**, 109-118.
- Lee, J. W., C. H. Chung, H. J. Jeong and K. H. Lee. 1990. Anticomplementary and antitumor activities of the IKI, extract form the mycelia of *Lentinus edodes* IY-105. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **18**, 571-577.
- Lee, J. Y. 1982. *Mycology and cultivation of mushrooms*. pp. 339-341, 3th eds., Daekwang Munhwasa, Seoul, Korea.
- Mizuno, T., K. Oshawa, N. Hagiware and R. Kuboyama. 1986. Fractionation and characterization of antitumor polysaccharides from Maitake, *Grifola frondosa*. *Agric. Biol. Chem.* **50**, 1679-1688.
- Park, Y. D., Y. K. Hong, W. K. whang, J. D. Huh and S. Park. 1989. Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelia culture broth and fruit body of *Coriolus versicolor*. *Kor. J. Appl. Mycol.* **17**, 223-228.
- Usui, I., Y. Iwasaki and T. Mizuno. 1983. Isolation and characterization of antitumor β -D-glucans the fruit body of *Ganoderma applanatum*. *Carbohydr. Res.* **115**, 273-280.
- Wolport, F. S. 1924. Studies on the physiology of

- fungi. XVII. The growth of certain wood-destroying fungi in relation to the H-ion concentration of the media. *Ann. Missouri Bot. Garden*, 11-97.
16. Yoo, K. H., J. H. Kim and S. J. Seok. 2001. Studies on the cultural characteristics of *Hohenbuehelia petaloides*. *Kor. J. Mycol.* **29**, 52-60.
17. Zadrazil, F. 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. *Mushroom Science* **9**, 621-655.

(Received May 6, 2003; Accepted August 6, 2003)