Journal of Mushroom Science and Production
Vol. 2, No 1, p15-20 March 2004
Printed in S. KOREA
Copyright ⓒ 2004 by The Korean Society of Mushroom Science

느타리의 기내 자실체 형성 및 그 유도조건에 관한 연구

조중호[1)] · 추교선[1)] · 김범기[2)] · 공원식[3)] · 유영복[3)] · 이승재[1)] · 조봉금[1)] · 이창수[1)*]

[1)]건국대학교 자연과학대학 생명과학부, [2)]농업생명공학원 분자유전과, [3)]농업과학기술원 응용미생물과

Laboratory-scale fruiting body formation of *Pleurotus ostreatus* using the petri dish culture

Joong-Ho Joh[1)], Kyo-Sun Chu[1)], Beom-Gi Kim[2)], Won-Sik Kong[3)], Young-Bok Yoo[3)], Seung-Jae Lee[1], and Bong-Gum Cho[1] and Chang-Soo Lee[1]*

[1)]*Department of Applied Biochemistry, Konkuk University, ChungJu, Korea*
[2)]*Molecular Physiology Division, National Institute of Agricultural Biotechnology*
[3)]*Applied Microbiology Division, Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea*

ABSTRACT : *Pleurotus ostreatus*, the oyster mushroom, is one of the most widely cultivated and important edible mushrooms in the world. In order to study the developmental process of *P. ostreatus* and its regulatory mechanism, a new culturing method needs to be established for inducing the fruiting body and sporulation in the laboratory. In this study, we have examined whether the fruiting body of *P. ostreatus* can be formed on the plastic petri dish which are commonly used for cell culture in the laboratory. The strain was cultured on 60×15 mm plastic petri dish with potato dextrose agar media at 28℃ for mycelial growth and then at 18℃ for the formation of primordia and fruiting bodies within plant growth chamber. The development of primordia into fruiting bodies was achieved on cultured dishes under air ventilation. At the primordia stage, the normal formation of fruiting body was blocked by sealing the plastic dish with parafilm. The periods requiring for the formation of primordia and fruiting bodies were examined on the dish culture. About 96% and 76% of cultured samples formed primordia and fruiting bodies under the optimal conditions during ten weeks of culture, respectively. These culturing periods, however, were changed by the mechanical injury treatment to mycelia. As other factors affecting the fruiting body formation, the effects of light and cold shock have been tested. No fruiting formation was observed on the cultured dishes under the dark. The cold shock treatment by storing cultured dishes for one day at 4℃ did not have any significant effects in the fruiting body formation. Spores of fruiting bodies acquired from the petri dishes could be germinated on culture media at 28℃. These results suggest that the fruiting bodies of *P. ostreatus* can be formed on the experimental petri dish and this dish-culturing method is useful for understanding of the developmental process of *P. ostreatus* in the laboratory. Furthermore, the dish-culturing method is able to shorten the life cycle of *P. ostreatus* without requiring large area and expensive device.

KEYWORDS : *Pleurotus ostreatus*, fruiting body, petri dish, culture.

느타리는 전 세계의 버섯 시장에서 산업적으로 중요하며, 특히 한국과 일본을 포함하는 동아시아에서 식용버섯으로 크게 주목을 받고 있다. 주로 식용으로 이용이 되는 느타리는 예로부터 약용으로 혈액순환을 촉진하며, 요통과 관절염의 치료, 수족마비, 혈관의 불안정성 치료, 항암작용이 있다고 알려져 있다(Ahn, 1992). 현재, 버섯 추출물질의 면역력 증강, 체내 콜레스테롤 감소 및 항종양 활성에 대한 연구가 활발히 수행되고 있으며(Wang 등, 2000), 또한 버섯이 난분해성 물질의 분해제로서 최근 bisphenol A와 같은 독성물질의 분해작용에 대해서 보고되었다(Hirano 등, 2000).

느타리는 자웅이주성의 담자균류로서 단핵 균사와 이핵균사로 된 2단계의 독립적인 균사상태의 단계를 가진다. 이핵 균사는 화합성 균사간의 교배에 의해서 형성되어, 핵융합과 감수분열 그리고 포자형성이 수행되고 자실체를 생산하는 임성을 가진다(Raper, 1966). 그러나 아직 이런 발생단계의 분자기작에 대해서는 구체적으로 밝혀져 있지 않으며, 현재 이러한 발생단계에 대한 분자 수준의 연구로서 EST(expressed sequence tags) 분석 등이 수행되고 있다(Lee 등, 2002). 이러한 EST 분석 결과들은 느타리 버섯에서의 효율적인 형질전환 방법(Joh 등, 2003) 및 돌연변이의 제작과 분석(Joh 등, 미발표 자료) 등에 활용되어 느타리버섯의 발생단계를 분자수준에서 이해하기 위한 노력들이 진행되고 있다.

먹물버섯(*Coprinus cinereus*)과 치마버섯(*Schizophyllum commune*)은 담자균류의 발생 과정에 대한 연구에 대해서 가장 일반적인 모델로서 널리 사용되고 있다. 이 버섯들은 실험실 내에서 2주 내에 완전히 성장이 끝나는 짧은 생

*Corresponding author : <E-mail: cslee@kku.edu>

존주기를 가진다는 것이, 버섯 발생의 연구대상으로 이 균주들을 이용하는 주된 원인이다(Kues, 2000). 버섯의 발생과정과 이의 조절인자에 대한 연구에 있어서 실험실 내에서 자실체 및 포자의 형성이 신속하고 빠르게 이루어 질 수 있다면 매우 효율적인 연구 수행이 가능할 수 있다. 버섯 발생의 여러 요인들 중에서 균사의 상처 처리가 자실체 형성에 영향을 미친다는 연구가 보고되었다. *Pyronema confluens*과 치마버섯에서 균사를 수술용 칼로 절단해 주는 물리적인 상처 처리가 각각 자낭반의 형성과 임성 단핵 균주의 유도를 자극하며 (Robinson, 1926; Leonard, 1972), *Collybia velutipes*의 sporocarp를 멸균배지에서 배양되었을 때 절단된 표면을 따라 원기가 발생되었다.(Benvan, 1958). 또한 빛이나 환기상태가 자실체 발생과정에 미치는 영향에 대해서도 많은 연구가 수행되었다(Danai, 1998; Zadrazil, 1978). 위와 같은 요인들은 실험실내의 샤레용기에서 버섯을 유도하는 방법을 확립하는데 있어서도 당연히 검토되어야 할 사항들이다.

느타리의 발생 및 유전 특성분석을 돌연변이체와 형질전환체 제작 등을 통하여 연구하고자 할 때는 재배를 위해서 고가의 시설을 갖춘 큰 규모의 시설과 인력 그리고 많은 배지를 필요로 한다. 또한 이러한 연구를 시험하기 위해서는 2개월 이상의 재배시간이 소요될 뿐 아니라, 큰 규모의 시설은 정확한 제어를 통한 정밀한 실험을 수행하기에도 많은 제약이 수반된다. 본 연구는 느타리버섯의 전 발생과정을 실험실 수준에서 간편하게 배양할 수 있는 샤레재배 방법을 검토하였다. 실험실 내에서 버섯의 샤레재배법을 확립하기위하여 기존 병재배 및 상자재배 시에 보고된 환경적인 요인들과 그 밖의 버섯 발생을 촉진하는 여러 방법들이 시험되어졌다.

재료 및 방법

균주 및 배지

농촌진흥청 농업과학기술원에 보관중인 느타리 *Pleurotus ostreatus* ASI 2029와 ASI 2018 (품종 농기 201호) 을 버섯발생 시험에 사용하였다. 균주 ASI 2029는 한국에서 수집된 야생형 버섯 균주이며, 농기 201호는 한국에서 재배되는 품종 중의 하나로서, 실험실내에서 시험관으로 보관 할 경우 자실체가 자주 형성되는 특징을 가진 균주이다. 버섯 균사의 배양 및 자실체 발생은 감자배지 (Potato dextrose agar, Difco) 39g과 agar 5g을 증류수 1 ℓ 에 첨가 후 멸균하여 준비하였고, 60×15 mm 규격의 플라스틱 샤레 (SPL사)를 사용하여 배지를 분주하였다. 사용된 플라스틱 샤레는 덮개를 덮었을 때 덮개와 샤레의 사이가 커서 환기가 가능한 제품이다.

균사체 배양 및 자실체 유도

버섯 균사의 배양은 준비된 감자배지에 각 균주를 접종하여 28℃에서 빛이 없는 상태에서 7일간 수행하였다. 접종원은 이미 배양된 균사로부터 10×10 mm 크기의 정사각형 모양으로 절단하여 배지의 중앙에 접종하였고, 밀봉 필름을 이용해 완전하게 공기를 차단하였다. 배양 후 자실체를 발생시킬 균주는 균사의 상태와 균일성, 오염여부를 보고 각 실험항목마다 5개씩이 선발되어, 5회 또는 7회 이상의 반복실험이 시간차를 두고 진행되었다. 균사의 물리적인 상처 처리는 배양된 균사에 멸균된 수술용 칼을 이용하여 샤레 중심으로 균사를 긁어 모아주는 것으로 수행되었다. 또한 자실체 발생에 대한 빛의 역할을 확인하기 위하여 빛이 없는 상태에서 발생시킬 시료에 대해서는 샤레를 알미늄호일로 완전히 감싸 빛을 차단하였다. 저온 충격으로 처리될 시료는 1일 동안 4℃ 저온고에 배양하여 수행되었으며, 원기의 발생 일수는 저온 충격을 수행한 1일간을 제외하고 산정하였다. 이렇게 준비 된 균사는 항온항습기(Vision사)를 이용하여 조도 5의 빛을 노출시키고, 18℃의 생육조건을 유지하여 자실체를 발생시켰다. 항온항습기 내에서의 샤레배지의 위치는 반복 시험된 균주에 대하여 임의적으로 위치를 정하였다. 자실체 발생은 최대 90일간 수행되었으며, 35일간은 매일 2회에 걸쳐 일정시간에 원기의 형성 및 자실체 발달을 관찰하였고, 그 이후에는 하루에 한번씩 균주의 상태를 확인하였다. 자실체의 정상적인 발생을 위해서는, 원기가 관찰된 균주에 대해서는 환기처리를 수행하였는데, 이는 샤레내의 원기가 발생된 반대위치의 밀봉필름을 칼로 30 mm 크기로 구멍을 뚫어 줌으로써 실시되었다. 이러한 환기처리 조건하에서 자실체를 재배하였다.

담자포자의 채취 및 발아

자실체는 갓 아래 주름이 발견될 때까지 발생시켰으며, 포자의 수집은 자실체의 갓 부위를 잘라 샤레 덮개에 살짝 부착하여 아래쪽 샤레로 담자포자가 비산되도록 하여 실시되었다. 수집된 포자는 1㎖의 증류수로 현탁하여 재수집하였고, 담자포자를 희석하여 그 발아를 관찰하였다.

결과 및 고찰

샤레내 균사체 배양

느타리버섯 중에서 야생균주인 ASI 2029와 품종 농기 201호 균주는 국내는 물론 일본에서도 느타리버섯 육종 및 유전연구의 대상으로 주로 사용되어온 균주이며, 본 연구에서도 위의 균주를 이용하여 실험실내에서 버섯을 재배할 수 있는 간편한 샤레상에서 자실체 형성 방법의 확립을 검토하였다.

균사 배양은 플라스틱 샤레에서 공기가 차단된 채 실시되었으며, 배양 7일 후에는 균총의 직경이 약 55 mm 정도로 균사가 성장하였다. 이 중에서 상태가 균일하고 양호한 균주만을 다시 선발하여 자실체 발생 시험에 이용되었다. 이

러한 실험은 각 조사 항목별로 5회 또는 7회 이상 반복실험을 통해 분석되어졌다.

자실체 형성을 위한 샤레상 배양체의 환기 효과

느타리버섯 균주의 샤레상에서 자실체 유도는 균사배양 후 항온항습기 내에서 18℃의 온도와 조도 5에서 수행되었다. 발이유도를 시작한 후 최소 3주부터 최대 10주까지 원기가 생성되는 것을 관찰할 수 있었으며 (Fig. 1), 10주 이상의 생육 기간에서는 전혀 원기 생성이 관찰되지 않았다. 이렇게 발생된 원기에서 정상적인 자실체로의 성장과 발달은 샤레배양체의 환기에 의해 영향을 받았다. 이것은 O_2와 CO_2의 농도(Zadrazil. 1978), 그리고 singlet oxygen(Danai, 1998)의 농도가 자실체 발달에 영향을 준다는 사실에 기초한다. 그러나 샤레배양 시 항온항습기에서 어느 정도의 환기가 적절한가에 대해서는 여러 조건의 검토가 필요하였다. 샤레 뚜껑을 감싸고 있는 실험실용 밀봉필름에 대한 절단 길이를 조사하였다. 정상적인 자실체의 발생은 원기 발생 후에 공기를 차단하고 있는 샤레의 밀봉필름을 30 mm 길이로 칼로 잘라 열어줌으로써 환기를 수행하는 것이 가장 적당하였다. 이러한 처리로 환기가 이루지지 않은 균주는 자실체는 형성되었으나 갓 부위가 발달하지 않는 기형 자실체의 형태로 성장하였으며, 포자도 형성되지 않았다. 그러나 환기 처리가 이루어진 균주는 자실체와 갓 부위가 정상적으로 형성되었다(Fig. 2). 샤레배양의 시료에 따라서는 자실체의 성장기간이 길어지는 경우도 관찰되었으며, 이것은 본 실험조건하에서 제어하기 힘든 다른 요인들에 의해 영향을 받았을 것이라 예상된다.

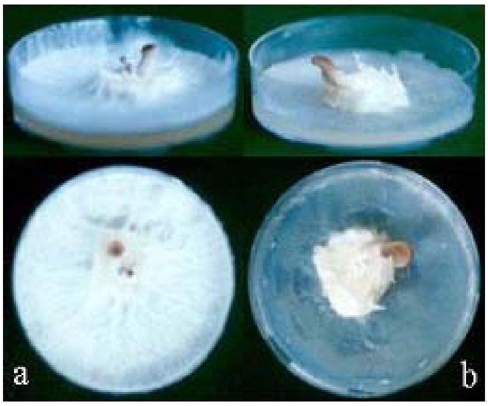
Fig. 1. The primordia formation of ASI 2029 strain culturing on petri dishes. The strain was cultured on 60×15 mm plastic dishes with PDA media, and the mechanical injury was treated by central gathering mycelia with a sterile scalpel. The primordia formation was observed after 18 days of culture in uninjured strain(a) and after 27 days of culture in injured strain(b).

자실체 형성을 위한 샤레상에서의 배양체 발생단계별 소요기간

느타리버섯 균주의 발생 효율은 원기 생성의 여부로 확인되었으며, 그 발생 속도는 샤레배지에 균사를 접종한 후 원기, 자실체 및 포자의 형성에 소요되는 기간을 측정하여 비교 분석되었다. 또한, 샤레내에서 균사의 상처 처리가 버섯의 발생단계에 어떤 영향을 미치는지 비교 분석되었다 (Table 1).

버섯의 발생단계를 원기형성, 자실체 성장, 그리고 담자포자 형성기로 나누어 샤레상에서 최대 10주 동안에 걸쳐 각각의 형성시기를 조사한 결과, 각 발생단계별 특정시기에 발생되기 보다는 그 형성시기가 3주에서 길게는 10주에 걸쳐서 매우 폭 넓게 분포되었다.

(A)



(B)

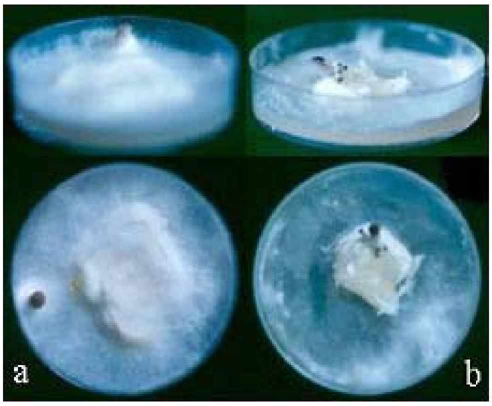


Fig. 2. The fruiting bodies of ASI 2029(A) and Nonggi 201(B) strains culturing on petri dishes. The strains were cultured on 60×15 mm plastic dishes with PDA media at 28℃ for primordia and at 18℃ for fruiting bodies after the primordia formation. The mechanical injury was treated by central gathering mycelia with a sterile scalpel. The fruiting bodies were observed after 3 days of culture for ASI 2029 strain and after 15 days of culture for Nonggi 201 in the uninjured strains(a) and in the injured strains(b), respectively.

Table 1. The frequency of the formation of primordium, fruiting body and basidospore in ASI 2029 and Nonggi 201 by mechanical injury

Strains	Fruiting types	Fruiting frequency (%)								Fruiting rates(%)
		3 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks	7 weeks	8 weeks	9 weeks	10 weeks	
ASI 2029	Primordium	2(8)	1(5)	7(28)	6(24)	4(16)	2(8)	0(0)	2(8)	24/25 (96)
	Fruiting body	1(5)	1(5)	6(32)	4(16)	6(24)	1(4)	0(0)	0(0)	19/25 (76)
	Basidiospore	0(0)	1(5)	1(4)	6(24)	1(4)	1(4)	1(4)	0(0)	11/25 (44)
Injured ASI 2029	Primordium	0(0)	2(5)	6(16)	3(8)	11(29)	6(16)	5(13)	1(3)	34/38 (89.5)
	Fruiting body	0(0)	1(3)	5(13)	3(8)	5(13)	3(8)	3(8)	0(0)	20/38 (52.6)
	Basidiospore	0(0)	0(0)	3(8)	3(8)	1(3)	6(16)	0(0)	0(0)	13/38 (34.2)
Nonggi 201	Primordium	6(25)	2(8)	6(25)	3(12)	3(12)	0(0)	0(0)	0(0)	20/24 (83.3)
	Fruiting body	0(0)	0(0)	7(29)	6(25)	2(8)	2(8)	0(0)	0(0)	17/24 (70.8)
	Basidiospore	0(0)	0(0)	2(8)	4(17)	4(17)	1(4)	2(8)	0(0)	13/24 (54.2)
Injured Nonggi 201	Primordium	1(3)	3(8)	12(31)	8(20)	11(28)	2(5)	1(3)	0(0)	38/39 (97.4)
	Fruiting body	1(3)	2(5)	8(20)	10(26)	10(26)	3(8)	4(10)	0(0)	38/39 (97.4)
	Basidiospore	1(3)	0(2)	2(5)	6(15)	9(23)	6(15)	2(5)	0(0)	26/39 (66.7)

P. ostreatus strains, ASI 2029 and Nonggi 201, were cultured on 60×15 mm plastic dishes with potato dextrose agar(PDA) media at 28℃ Some cultured mycelia were mechanically injured by central gathering with a sterile scalpel. All cultured dishes were exposed to common light and incubated at 18℃ during the remaining periods. The development of the primordium into fruiting body was achieved under air ventilation on cultured dish.

샤레상의 자실체 유도를 통한 원기의 발생 비율은 균주배양 후 ASI 2029는 10주 동안에 96%에 이르며, 상처 처리로 그 비율이 같은 배양기간 내에 89.5%로 떨어졌다. 반면에 농기 201호 균주는 배양 후 10주 동안에 원기발생 비율이 83.3%에 달하였으며, 상처 처리로 그 비율이 97.4%로 증가하였다. 자실체 및 포자의 형성 비율은 ASI 2029 균주에서 10주 동안에 각각 76%와 44%이었으며, 상처 처리로 그 비율은 각각 52.5%와 34.2%으로 감소하였다. 반면에 품종 농기 201호 균주는 10주 동안에 자실체와 포자의 형성 비율이 각각 70.8%와 54.2%이였으나, 상처 처리로 그 비율이 각각 97.4%와 64.1%로 증가하였다. 전체적인 경향으로서 균사의 상처 처리로 균주 ASI 2029는 자실체와 담자포자 형성 비율이 감소하였으나, 농기 201호 균주는 그 발생 빈도가 증가함을 확인할 수 있었다.

버섯의 발생단계별 가장 빨리 발생된 균주를 대상으로 배양 소요기간을 살펴보면 다음과 같다. 균주 ASI 2029의 원기, 자실체 그리고 담자포자의 형성은 균사접종 후 각각 배양 18일, 21일, 28일째에 관찰되었고, 농기 201호는 각각 배양 15일, 47일, 50일째에 관찰되었다. 위의 결과는 농기 201호 균주는 ASI 2029 보다 원기는 다소 빨리 생성되나, 자실체의 성장은 매우 늦는 특성을 가지고 있음을 나타내고 있다. 이와 같은 경향은 전체적인 버섯 발생비율에 대한 분석에서도 관찰되었다. 한편 위 두 균주를 균사배양시 상처 처리를 하였을 경우에는 ASI 2029의 원기, 자실체 그리고 담자포자의 형성은 균사접종 후 각각 배양 27일, 30일, 33일째에 관찰되었고, 농기 201호는 각각 배양 15일, 18일, 21일째에 관찰되었다. 이들 소요기간을 무처리 균주와 비교해 보면 균주 ASI 2029는 상처 처리로 모든 발생단계가 늦어짐을 알 수 있다. 반면에 농기 201호는 상처 처리로 원기형성에는 큰 영향을 미치지 않았으나, 자실체 및 담자포자 형성에 소요되는 기간이 상당히 단축되었다. 이러한 경향의 결과는 버섯의 전체적인 발생비율에 대한 분석에서도 유사하게 관찰된다.

위 결과들을 종합해 볼 때에 샤레재배에서 균주 ASI 2029는 균사에 상처 처리를 하지 않는 것이 버섯 발생시기를 단축하는데 더 효과적이었으며, 상처 처리가 오히려 버섯의 발생시기를 늦추고 그 발생비율도 떨어지게 하였다. 반면에 농기 201호 균주는 ASI 2029와는 달리 상처 처리로 자실체의 형성시기를 빠르게 하였으며, 그 발생비율도 높이는 효과를 보였다. 이상과 같이 샤레재배에 있어서 균주의 종류에 따라서 버섯 발생에 소요되는 기간 및 발생효율도 상당히 차이가 있음을 알 수 있으며, 균사의 상처 처리에 대한 반응도 균주에 따라서 혹은 같은 균주 내에서도 발생단계별로 상당히 다르게 나타나고 있음을 확인 할 수 있었다.

자실체 형성을 위한 배양체의 빛 및 저온충격의 효과

빛이 느타리버섯의 발생에 주는 영향을 확인하기 위해서 호일로 빛을 차단하고 생육 분석을 실시하였다. 그 결과 빛이 없는 상태에서는 상처 처리에 관계없이 두 종류의 모든 균주에서 원기를 형성하지 못하였다 (Fig. 3). 이것은 버섯의 샤레배양에도 원기 및 자실체 형성 과정에 빛이 필수적

으로 요구되며, 빛은 자실체 구조 형성을 개시하는데 요구된다는 기존의 보고(Danai, 1998)를 확인할 수 있는 결과였다. 또한 저온 충격이 버섯 균주의 발생에 미치는 영향을 시험한 결과, 자실체 형성은 저온충격 처리에 관계없이 발생되었다(미발표 자료). 저온충격 처리는 병 또는 상자 재배와 같이 용량이 크고 발생이 상대적으로 늦는 경우에는 자실체 발생을 촉진할 가능성이 있을 수가 있으나, 샤레배양의 자실체 발생에 있어서는 별다른 영향을 주지 못하였다.

Fig. 3. The effect of light in the induction of fruiting body formation on culture dish. The strain was cultured on 60×15 mm plastic dishes with PDA media at 28℃ for primordia and at 18℃ for fruiting bodies after the primordia formation. The mechanical injury was treated by central gathering mycelia with a sterile scalpel. Culture dishes of the uninjured (a and c) or injured (b and d) strains were incubated with light (a and b) or without (c and d) light.

샤레내 자실체로부터 채취한 담자포자의 발아율

버섯의 유전 연구에서는 후대분석이 필수적이다. 따라서 샤레내에서의 원기 및 자실체의 형성뿐만 아니라 자실체의 포자 생산 및 포자의 발아능력도 분석되었다. 발생된 자실체는 갓 아래 부위에 주름이 생길 때까지 성숙시켰고, 담자포자는 샤레내 자실체에서 수집하여, hemacytometer를 이용하여 포자의 비산량을 측정하였다. 또한 MCM (mushroon complete media) 배지에 도말하여 28℃에서 담자포자를 발아시켜, 포자의 발아능력을 확인하였다(Fig. 4). 이 결과 정상적으로 발생된 많은 자실체(70.2%)로부터 담자포자를 채취할 수 있었으며, 발생된 자실체 중에서 담자포자 발아의 비율은 약 70%에 달하였다.

이상과 같이 실험실내 샤레상에서 자실체 형성이 가능하였으며, 그 생육주기도 단축될 수 있었고, 큰 규모의 장소와 많은 비용 없이도 실험을 실시할 수 있었다. 샤레배양에서 빠르면 균주 접종 후 3주 이내에 느타리버섯의 자실체와 포자를 얻을 수도 있었다. 원기 형성은 접종 후 10주 동안에 96% 이상이 생성될 뿐만 아니라, 자실체 형성은 최적 배양조건에서 균주에 따라 76%내지 97.4%의 높은 빈도로 유도될 수가 있었다. 지금까지 느타리를 대상으로 연구하는데 있어서 시료 준비에 많은 시간이 소요될 뿐 아니라 재배환경 조건이 정확하게 조절되지 않는다는 점 등에 많은 제약이 따랐으나, 샤레상의 자실체 형성으로 실험실내에서 적은 공간 내에서 다양한 생육조건하에서 발생단계별 버섯 시료를 손쉽게 얻을 수가 있다. 이 느타리의 완전한 자실체 성숙은 많은 균주의 일차적인 특성 분석과 발생단계별 유전연구 분석에 간편한 방법으로 충분히 활용될 수 있을 것이다.

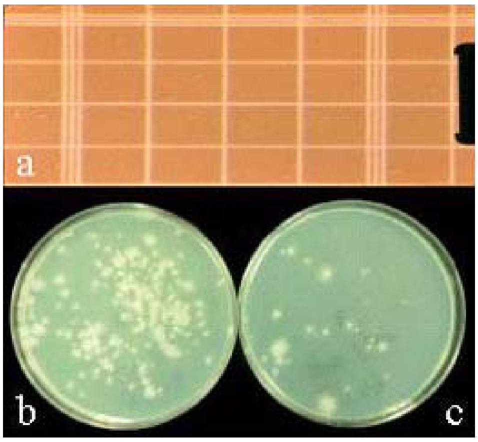


Fig. 4. The germination of basidiospores from fruiting body. Basidiospores from the fruiting body on culture dishes were collected, and their numbers were counted by hemacytometer (a), and the germination of spores was examined with different numbers of spores (b and c) on mushroom complete media at 28℃.

요 약

국내에서 많이 재배되는 버섯 중의 하나인 느타리 *P. ostreatus*는 먹물버섯이나 치마버섯과는 달리 실험실 수준에서의 자실체 발생이 힘든 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 실험실에서 느타리버섯을 샤레를 이용하여 전 발생과정을 유도하기 위한 방법을 검토하였다. 샤레상의 배양조건은 프라스틱 샤레 (60×15 mm)의 감자배지에서 균사를 접종한 후 빛이 없는 상태에서 배양한 뒤에, 균사의 환기상태, 균사표면의 상처, 빛 그리고 저온충격 등의 여러 환경요인들이 원기 및 자실체 형성에 미치는 영향을 검토하였다. 느타리의 최초 자실체 형성은 접종 이후 3주 내에 얻을 수도 있었으며, 균사접종 이후 10주 동안에 자실체의 형성은 균주에 따라서 76%에서 97%의 높은 빈도로 유도

될 수 있었다. 위와 같이 샤레상에서 자실체를 형성할 수 있었으며, 정상적인 자실체의 성장을 위해서 빛은 필수적이며, 환기도 필요하였다. 또한 균사의 상처 처리가 원기, 자실체 및 포자의 형성에 미치는 영향이 균주에 따라서 크게 차이가 났으며, 같은 균주라 하더라도 발생단계별 그 반응의 차이도 크다는 사실을 확인하였다. 이들 자실체에서 수집된 담자포자는 발아가 가능하였다. 샤레상의 완전한 자실체 형성 방법은 느타리버섯의 생육주기를 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라, 다양한 재배조건의 시료 획득과 한 개의 배양 용기 내에서 버섯 발생의 전 단계를 관찰하고 분석하는데 유용할 수 있다.

사 사

본 연구논문은 2003학년도 과학기술부 지정 지역협력연구센터사업(건국대학교 바이오 식 · 의약 연구센터, R12-2003-003-00012-0)의 지원에 의해 얻은 결과임.

참고문헌

Ahn, D.K. 1992. Medicinal fungi in Korea. *Korean J. Mycol.* 20(2): 154-166.

Benvan, E.A. and Kemp R.F.O. 1958. Stipe regeneration and fruit-body production in *Collybia velutipes* (Curt.) Fr. *Nature* 181: 1145.

Danai, O., Olenik, I., Hadar, Y., Chet, I. and Levanon, D. 1998. The role of light in the morphogenesis of *Pleurotus ostreatus*. *Int. J. Mushroom Sci.* 2(2): 33-39.

Hirano, T., Y. Honda, T. Watanabe and M. Kuwahara. 2000. Degradation of bisphenol A by the lignin-degrading enzyme, manganese peroxidase, produced by the white-rot basidomycete, *Pleurotus ostreatus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 60: 472-475.

Joh, J.H., Kim, B.G., Chu, K.S., Kong, W.S., Yoo, Y.B. and Lee, C.S. 2003. The efficient transformation of Pleurotus ostreatus using REMI method. *Mycobiology* 31(1): 32-35.

Joh, J.H., Kim, B.G., Kong, W.S., Yoo, Y.B., Chu, K.S., Kim, N.K., Park, H.R., Cho, B.G. and Lee, C.S. 2003. Isolation and characterization of dikaryotic mutants from *Pleurotus ostreatus* by U.V. irradiation. In preparation.

Kues, U. and Liu, Y. 2000. Fruiting body production in Basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54(2): 141-152.

Lee, S.H., Kim, B.G., Kim, K.J., Lee, J.S., Yun, D.W., Hahn, J.H., Kim, K.H., Lee, K.H., Suh, D.S., Kwon, S.T., Lee, C.S. and Yoo, Y.B. 2002. Comparative analysis of sequences expressed during the liquid-cultured mycelia and fruit body stages of *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Genet. Biol.* 35: 115-134.

Leonard, T.J. 1973. Induction of haploid fruiting by mechanical injury in *Schizophyllum commune*. *Mycologia* 65: 809-822.

Raper, J.R. 1966. Genetic of sexuality in higher fungi. Ronald Press Co., New York. 283 p.

Robinson, W. 1926. The conditions of growth and development of *Pyronema confiuens Tul.* *Ann. Bot.* (London) 40: 245-272.

Wang, H., J. Gao and T.B. Ng. 2000. A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275: 810-816.

Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus*. Chapter 25. pp. 521-557 In: “The biology and cultivation of edible mushrooms” ed S.T. Chang and W.A. Hayes. Academic Press, New York.