

## 느타리버섯 자실체의 생육 및 미세구조에 미치는 온도의 영향

윤선미 · 주영철\* · 서건식<sup>1</sup> · 지정현

경기도농업기술원 버섯연구소, <sup>1</sup>한국농업전문학교

Received December 22, 2005 / Accepted February 13, 2006

**Effect of Temperature on the Growth and Microstructure of Fruit Body in the Basidiomycetes, *Pleurotus ostreatus*.** Seon-Mee Yoon, Young-Cheoul Ju\*, Gun-Sik Seo<sup>1</sup> and Jeong-Hyun Chi. *Mushroom Research Institute, Gyeonggido Agricultural Research and Extension Services, Gyonggi 430-8, Korea, <sup>1</sup>Korea National Agricultural College, Bongdam, Hwasung, Gyonggi 445-893, Korea* – To elucidate the effect of temperature on the fruit body growth and structure of *pleurotus ostreatus* cultivar Chunchu No. 2, microstructures were observed with scanning- and transmission electron microscope. Pileocystidia were well developed on the surface of pileus in the fruit body cultivated at 7°C. As the increasing temperature for fruit body development, thickness of pileus, thickness of stipes and length of stipes shown thin, thick and long, respectively. Color of pileus was also changes to whitish grown under high temperature. Physical structure shown as hardness and gumminess of stipes grown at high temperature, fruit body were soften than that of low temperature. Microstructures of fruit body grown at high temperature shown fast-discharge of basidiospore and sytoms aging, vacuolation in the cell observed at mycelium grown under high temperature. Optimum temperature for vegetative growth of fruit bodies were 15°C, and shown regular arrangement of mycelium on the surface of stipes.

**Key words** – Oyster mushroom, pileocystidia, scanning electron microscope, transmission electron microscope, vacuolation

### 서 론

버섯류는 실모양의 균사체로 영양생장을 하고 있으며 적당한 환경조건에 놓이게 되면 담자포자를 생산하기 위한 유성생식기관인 자실체를 형성하게 된다. 이 자실체는 육안적으로는 대형의 조직체이지만, 그 형상과 조직화 정도는 균의 종류에 따라서 달라진다. 버섯류의 자실체는, 영양균사로부터 자실체원기의 형성과 원기의 조직분화과정을 거치게 되고, 그 일련의 과정에서 균사와 조직구조상의 현저한 형태적 변화를 일으키게 된다[1,14].

버섯의 발생은 영양생장하는 균사체가 자극을 인지하는 상황에서 생식생장으로 전환, 유도된다. 즉, 영양생장에서 생식생장으로 전환되는 주요인으로는 영양결핍, 급격한 환경변화, 기계적인 상처, 화학적 처리 등을 들 수 있으며 이후 분화의 안정적인 유도는 지속적인 산소 및 수분의 공급 및 조절이 필요하다. 실제로 버섯재배에서 버섯발이 유도는 하온, 균류기, 수분공급, 환기 및 광처리 등으로 유도하여 유도된 자실체원기를 환경요인의 조절을 통하여 안정적인 자실체로의 분화 유도를 하고 있다. 그 환경요인으로는 온도, 광, 공중습도, 배지 수분, CO<sub>2</sub> 농도, 다른 미생물의 작용, 및 영양조건의 변화가 관여하는 것으로 알려져 있으며 재배방식과 종류에 따라 환경요인의 영향이 다르게 나타하며, 관리 방법도 다르다[8].

우리나라 버섯 생산량의 51%를 차지하고 있는 느타리버섯은 활엽수 고사목에 기생하는 목재부후균의 일종으로 맛과 향기가 좋아 예로부터 식용으로 이용되어 왔을 뿐 아니라 단백질, 회분, 비타민 등이 풍부하여[4,10,11] 고급식품으로 이용할 수 있고, 최근에 항암 및 항균력의 큰 다당류를 다량 함유하고 있는 것으로 알려져[9,18] 그 이용가치가 높아지고 생산량도 꾸준히 증가하고 있다. 그러나 이러한 증가추세에도 불구하고 재배농가에서 버섯 발생과 생육에 대한 이해 부족으로 버섯재배시 병발생을 초래하여 많은 어려움을 겪고 있는 실정이다.

지금까지의 느타리버섯에 관한 연구는 주로 재배법 확립과 다수확을 위한 배지개발 및 첨가제개발이 주를 이루었고 [1,6,17,19] 생육환경에 따른 품질이나 자실체조직에 미치는 영향에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 버섯의 조직구조는 품질 및 저장성과 밀접한 관계가 있는 것으로 판단되나 현재 시중에 유통되고 있는 버섯의 품질은 경매자의 경험적, 육안적인 평가에 의해 결정되고 있다. 최근 소비자의 기호도는 색과 형태, 저장성 등 고품질의 버섯을 선호하고 있어 이에 맞춰 고품질의 버섯 생산과 함께 품질에 관한 정확한 지표와 객관적인 평가 기준이 마련되어야 할 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 느타리버섯의 생육환경요인 즉, 버섯의 발이 및 생장에 가장 큰 영향을 미치는 온도가 느타리버섯의 생육에 미치는 영향을 검토하고, 버섯품질 판단기준의 기초자료를 제공하고자 주사전자현미경 및 투과전자현미경으로 각 온도조건에서 생육시킨 자실체의 조직 형태학적 구조를 분석하였다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-31-764-0264, Fax : +82-31-229-6108

E-mail : jycheoul@hanmail.net

## 재료 및 방법

### 시험균주 및 종균제조

본 시험에 사용된 균주는 경기도농업기술원 버섯연구소에서 보유하고 있는 춘추느타리2호를 PDA 평판배지에 7일간 배양하여 톱밥과 미강이 80:20 (w/w) 비율로 혼합된 배지가 담긴 삼각플라스크에 접종하여 15일간 배양시켜 접종원을 제조하였다. 버섯 재배를 위한 종균은 접종원 제조용 배지와 동일한 배지를 850 ml 병에 입병하여 살균 후 원균을 접종하여 30일간 배양하여 종균으로 사용하였다.

### 종균접종 및 균배양

시험에 사용된 버섯 재배용 배지는 미송톱밥: 비트펄프: 면실박을 50:30:20 (w/w)의 비율로 혼합하여 수분함량을 65% 내외로 조절하고 850 ml 병당 550 g~600 g을 입병한 후 121°C에서 90분간 고압살균 후 냉각하여 미리 준비해둔 춘추느타리2호 종균을 병당 10 g내외로 접종하였다. 버섯재배를 위하여 종균 접종 후 온도 20°C, 습도 65%로 조절된 배양실에서 30일간 배양시킨 후 균균기 작업을 실시하였다.

### 버섯발생유도 및 생육

버섯발생유도를 위한 온도는 16±1°C, 실내습도는 초기 95% 이상, 후기 85±5% 수준으로 유지하였으며 환기량은 CO<sub>2</sub> 농도기준 1,000 ppm 내외로 유지하였고 자실체 발생 이후에는 실내습도를 80±5% 수준으로 관리하였고, 생육온도를 7°C, 15°C, 23°C로 달리하여 자실체의 생육특성을 비교하였다.

### 생육특성 조사

자실체의 생육특성은 초발이 소요일수, 갓 크기, 대 굵기, 대 길이 등의 자실체 특성과 수량을 조사하였다. 초발이 소요일수는 균 균기 작업 이후 원기형성이 될 때까지 기간을 일수로 나타내었고, 생육일수는 원기형성 이후부터 수확 시까지의 기간을 일수로 나타내었다.

### 물리적 특성 및 색도 조사

생육이 끝난 자실체의 대로부터 길이 20 mm, 두께 10 mm의 절편을 제작하고, 물성측정기 (SUN RHEO meter, Compac-100D, Japan)를 이용하여 경도(Hardness), 응집성(Cohesiveness), 검성(Gumminess) 등을 측정하였다.

온도에 따른 갓색의 변화를 검토하기 위해 색도계 (Minolta CR 200, Japan)를 사용하여 L값으로 나타내었다.

## 전자현미경 관찰

### 주사전자현미경용 시험편제작

자실체 수확 직후 갓의 표면, 주름, 대 부위에서 5×5×3

mm의 절편을 만들어 주사전자현미경 시료로 사용하였다. 각각의 절편을 Karnovsky's 고정액에 2시간 전고정한 뒤 0.05 M cacodylate buffer로 10분씩 3회 세척한 다음 1% osmic acid에 1시간 동안 후고정 시켰다. 후고정이 끝난 시험편에 대해 0.05 M cacodylate buffer로 10분씩 3회 수세한 뒤, 50% 알코올용액에서부터 100%용액까지 1시간씩 에탄올 시리즈로 탈수하고 초산 이소아밀용액으로 치환하여 임계점 건조(HCP-2, Hitachi, Japan)를 실시하였다. 건조가 끝난 시험편을 시료대에 장착한 다음, ion sputter( E-1010, Hitachi, Japan)를 이용해 120초간 금증착을 하고, 주사전자현미경 (S-3000N, Hitachi, Japan)으로 가속전압 15 kV, WD 10 mm에서 관찰하였다.

### 투과전자현미경용 시험편 제작

갓의 표면, 주름, 대의 부위에서 1×1×3 mm의 절편을 만들고, 주사전자현미경 시험편 제작에 있어서 탈수 시리즈까지 동일하게 처리하였다. 탈수가 끝난 시험편에 대하여 propylene oxide 용액에 30분씩 2회 치환한 다음, EPON 812 포매용매로 서서히 농도를 높이면서 치환시켰다. 100% EPON 용액에 DMP-30 경화제를 1.5%가 되도록 혼합한 뒤 포매판에 시료를 넣어 40°C에서 24시간, 60°C에서 48 시간 동안 경화시켜 블록을 제작하였다. 만들어진 블록을 실체현미경으로 관찰하면서 삭정한 다음 Ultramicrotome(Lieca Ultracut UCT, Austria)으로 300nm의 절편을 제작하였다. 만들어진 절편을 Toluidine blue로 염색하여 광학현미경상에서 관찰하였다. 투과전자현미경으로 관찰하고자 하는 부위를 재조정하여 잘라낸 다음 Ultramicrotome으로 80nm의 연속된 절편을 제작하였다. Cu-grid (VECO Cu 200, Kkenshoji Co., Japan)에 연속된 절편을 얹어 실온에서 건조시킨 다음, 염색 키트(Synaptek grid-stick kit, EMS, USA)에 담아 2% Uranyl acetate-lead citrate 용액으로 이중염색하고, 실온에서 건조하여 투과전자현미경 (H7500, Hitachi, Japan)으로 80kV, High resolution mode에서 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 생육온도별 자실체의 생육특성

Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이, 생육일수는 생육온도가 높아짐에 따라 빨라지는 경향을 보였으며, 대와 갓의 크기는 적은생육에 비해 크게 나타났다. 그러나 수량은 적은인 15°C에서 생육한 자실체에 비해 현저히 떨어지는 것을 경향을 나타내었다. 온도 7°C에서 생육한 자실체는 대의 굵기가 현저히 가늘었음에도 불구하고(Fig. 1A, Table 1) 15°C의 수량과 큰 차이를 보이지 않는데 이것은 상대적으로 갓의 두께가 두꺼웠기 때문으로 판단된다. 먹물버섯의 경우 균사생장 적은 보다 과도하게 낮은 온도에서 배양하면 배양일수도

Table 1. Effect of temperature on the fruit body development and yields of *P. ostreatus* cultivar chunchu No. 2

Temperatures (°C)	Required periods for		Characteristics of fruit body			Yield (g/850 ml bottle)
	Primordium induction (days)	Matured fruit body (days)	Size of pileus (mm)	Diameter of stipes (mm)	Length of stipes (mm)	
7	10	15	27.4	7.8	50.3	129.5
15	4	5	28.9	8.8	53.8	131.2
23	3	3	31.7	11.2	63.1	117.3

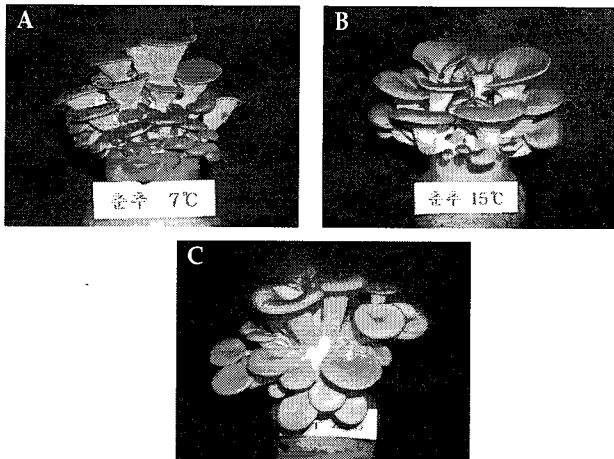


Fig. 1. Morphological characteristics of *P. ostreatus* cultivar chunchu No. 2 cultivated at different temperatures. Fruit bodies of A, B and C grown at 7, 15, 23°C, respectively.

오래 걸리고 경우에 따라서는 균사 배양이 덜 된 상태에서 버섯이 발생하여 기형버섯과 수확량 감소의 원인이 되기도 하며, 자실체 발생기간 중 최적 온도보다 과도하게 낮은 온도에서 재배하면 대가 굵어지고 갓이 작아지며 색택이 청색 빛을 띄는 등의 기형버섯이 발생한다는 보고[15]와 상이한 결과를 보여 버섯의 종류에 따라 생육시 온도의 영향이 다르게 작용하는 것으로 생각된다.

**생육온도에 따른 느타리자실체 대(stipe)의 물리적 특성 및 갓(pileus)의 색택**

각 온도에서 재배한 느타리버섯의 대의 물리적 특성을 Table 2에 나타내었다. 저온에서 생육한 버섯일수록 경도는 단단해 지는 경향을 보이며, 질긴 정도를 나타내는 검성의 경우도 높은 수치를 보이고 있다. 23°C 생육한 느타리자실체의 경도 및 검성이 낮게 나타난 이유는 전자현미경관찰 결과 세포의 노화로 인한 액포화 현상으로 세포의 내부가 공동화 되어 쉽게 부서지는[3,12,14] 결과를 가져왔기 때문으로 생각된다. 색도에 있어서는 생육온도가 높아질수록 밝기의 정도를 나타내는 L값이 높아져 갓의 색택이 밝아지는 경향을 나타내어 온도가 갓의 색깔을 결정짓는 중요한 요인으로 생각된다.

Table 2. Effect of cultivation temperatures on the physical characteristics of fruit bodies of *P. ostreatus* cultivar chunchu No. 2

Temperatures (°C)	Hardness (g/cm <sup>3</sup> )	Cohesiveness (%)	Gumminess (g)	Lightness of pileus (L)
7	2015.2	73.3	818.8	36.6
15	1978.6	68.9	567.5	48.5
23	1561.8	69.0	346.7	72.5

쌀의 경우, 관능평가 및 식미테스트를 통해 품질을 평가하는 기준이 마련되어 있으나, 버섯의 경우는 대부분 육안적 평가에 그치고 있는 실정이다. 일반적으로 버섯 신선도에 대한 소비자들의 판단기준으로 사용되는 것은 색택, 갓의 상태 그리고 버섯의 노화상태 등이다[15]. 그러나 이러한 특징들은 육안적인 평가에 그쳐 객관적이고 과학적인 지표가 되지 못한다. 품질평가에 있어서 보다 과학적이고, 객관적인 데이터를 제시할 필요가 있다고 생각되며, 품질평가 시 물성평가 및 조직평가가 동시에 이루어져야 할 것으로 생각된다.

**생육온도에 따른 춘추느타리 자실체의 미세구조**

적온보다 현저히 낮은 온도에서 생육한 자실체에 있어서 육안적인 특징으로 작은 스포털이 빛에 반사된듯한 형태를 하고 있는데 이 부위를 주사전자현미경으로 관찰한 결과 Fig. 2A와 같이 굵기가 가는 균사들의 배열이 두드러졌으며, 갓낭상체(pileocystidia, Fig. 2D의 화살표)가 많이 관찰되었다. 낭상체(cystidia)는 포자를 형성하지 않는 자실체의 말단세포로서 수분 및 휘발성물질의 증발을 돕고, 주름부분을 지지하는 역할과 공기의 통풍구로서의 역할을 담당하는 세포로 알려져 있다[2]. 따라서 낮은 온도로 인한 부족한 수분과 호흡량을 원활히 조절하기 위해 갓낭상체가 주로 발달한 것으로 생각된다. 23°C에서 생육한 자실체의 갓표면의 경우 고온으로 인한 과도한 호흡으로 세포의 노화가 촉진된 것으로 보인다(Fig. 2F). Fig. 3에서 볼 수 있듯이 생육온도가 높아질수록 주름부위의 가장자리인 갓의 능(margin)이 얇아지는 것을 알 수 있는데, 이는 쉽게 부서지는 단점이 있기 때문에 수확 후 문제가 될 수 있으며, 균사가 쉽게 노화되고 사멸이 쉬워지게 된다. 또한 주름(gill) 부위에 발달한 담자포자의 경우

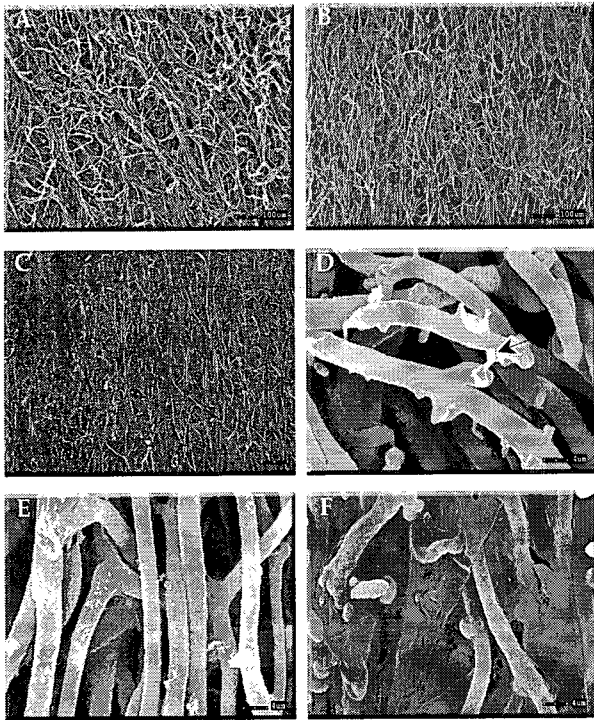


Fig. 2. Scanning electron micrographs of pileus surface of fruit body grown at different temperature. Micrograph A, D; B, E and C, F shown mycelial structures grown at 7°C, 15°C and 23°C, respectively. The arrow of D indicates Pileocystidia.

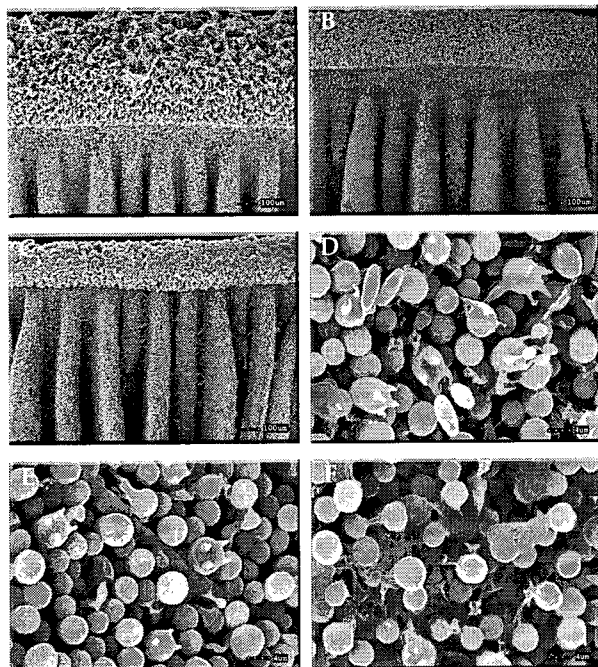


Fig. 3. Scanning electron micrograph of margin of pileus and gill of fruit body grown at different temperature. Micrograph A, D; B, E and C, F shown mycelial structures grown at 7°C, 15°C and 23°C, respectively.

생육온도가 높아질수록 이미 담자기로부터 담자포자가 비산되어 담자병이 소실되어 가는 것을 확인할 수 있는데, 고온에서 생육할 경우, 적온에서 생육한 자실체에 비해 균사의 성장 및 자실체의 생장은 빠르나 담자포자의 빠른 비산으로 인해 수확작업 시 알레르기 및 호흡기 질환을 일으킬 우려가 있다[5,7,13]. Fig. 4에서 보는 바와 같이 생육온도가 낮을수록 대의 발달 보다는 갓의 발달이 두드러져 대부분까지 주름의 형태가 그대로 이어지는 형태를 볼 수 있으며, 선충포착기관(Fig. 4D)의 발달이 현저하였다. 적온에서 생육한 자실체에 있어서는 균사의 다발과 균사들이 그물구조를 이루며 견고한 짜임새를 이루고 있는 것을 알 수 있다.

**생육온도에 따른 춘추느타리버섯 자실체의 세포학적 특성**

Fig. 5는 생육온도가 자실체 조직에 미치는 영향을 구명하기 위하여 느타리자실체의 대(stipe)조직을 구성하는 균사의 밀도 및 세포의 형태를 관찰한 결과이다. 그림에서 볼 수 있듯이 7°C의 낮은 온도에서 생육한 자실체의 균사의 밀도가 상당히 낮은 것을 볼 수 있으며, 세포내 저장물질의 축적이 많아 이중 염색시 짙게 나타난 세포들이 많은 것을 알 수 있다. 또한 15°C에서 생육한 자실체의 세포들의 경우 생식균사들의 왕성한 세포분열을 관찰할 수 있었다. 세포는 노화가 진행될수록 핵포화하는 경향이 있는데[14], 생육온도가 높았던 자실체에서 세포의 공동화 현상으로 인한 핵포화된 세포들이 다량 확인되었다(Fig. 5C, 5F). 따라서 23°C에서 생육한

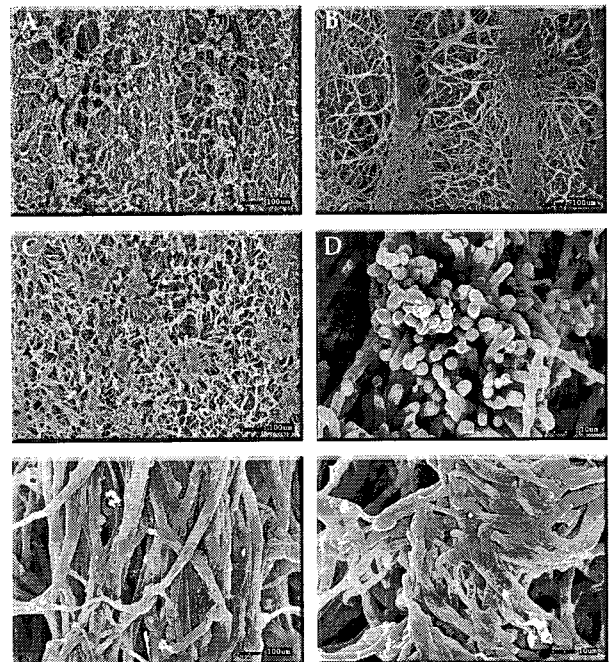


Fig. 4. Scanning electron micrograph of stipe surface of fruit body grown at different temperature. Micrograph A, D; B, E and C, F shown mycelial structures grown at 7°C, 15°C and 23°C, respectively.

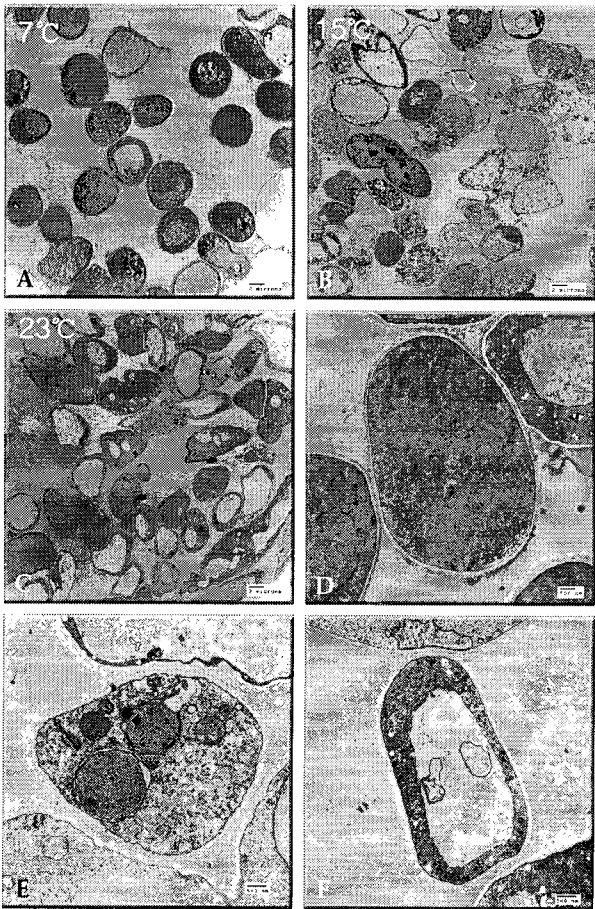


Fig. 5. Transmission electron micrographs of stipes grown at different temperature. Micrograph A, D; B, E and C, F shown mycelial structures grown at 7°C, 15°C and 23°C, respectively.

자실체는 생육일수는 상당히 빠르지만 쉽게 노화하는 특징을 보이고 있어 수확 및 포장 그리고 저장시 여러 가지 문제를 일으킬 수 있으므로 각 품종에 맞는 적합한 온도를 유지시켜주는 것은 그만큼 중요하다고 할 수 있다. 육안으로는 적온에서 재배된 것과 큰 차이를 보이지 않지만, 미세구조를 살펴보면 상당한 차이가 있는 것으로 미루어보아, 품질의 평가시에 자실체의 육안적 특성뿐만 아니라 물리적인 특성 및 조직·형태학적인 특성을 고려하여 평가되어야 할 것으로 생각된다.

### 요 약

생육온도가 느타리버섯 자실체의 생육 및 조직에 미치는 영향을 검토하기 위하여 온도를 7°C, 15°C, 23°C로 달리하여 생육시키고, 자실체의 특성 및 조직의 미세구조 변화를 관찰한 결과, 생육온도가 높을수록 갓의 두께는 얇아지고, 대의 두께 및 대의 길이는 길어졌으며, 버섯의 갓 색깔이 백색에 가깝게 변화하였다.

생육온도에 따른 자실체의 미세구조변화는 생육온도가 높아질수록 주름에 있어서 담자포자의 비산이 빠르고, 노화현상이 두드러졌다. 생육온도별로 느타리버섯 대부분의 물리적 특성을 조사한 결과 생육온도가 높을수록 경도는 낮아졌는데 이는 세포의 노화 및 균사의 밀도가 낮았기 때문으로 생각된다. 또한 대의 세포학적인 특징으로 액포화가 두드러져 생육온도가 높을수록 생육일수는 빨라지나 그만큼 노화가 쉽게 일어남을 확인하였다.

### 참 고 문 헌

1. Chang, S. T. and P. G. Miles. 1989. *Mushroom Science : Edible mushrooms and their cultivation*, CRC Press, Inc., 3-25.
2. David L. Largent. 1986. How to identify mushrooms to genus I: macroscopic features, Mad River Press, Inc., 71-72.
3. Evered, C. E. and K. S. Burton. 1995. Science and cultivation of edible fungi, Elliott(ed) : Cryo SEM study of changes in tissue anatomy of harvested sporophores of *Agaricus Bisporus*, Balkema, Rotterdam, 717-721.
4. Gyeonggido Mushroom Research Institute. 2003. The mushroom, 19-20 (in Korean).
5. Hausen. B. M., K. H. Schulz and U. Noster. 1974. Allergic disease caused by the spores of an edible fungus : *Pleurotus florida*. *Mushroom Sci.* 9, 219-225.
6. Hong, B. S., S. J. Kim, C. H. Song, S. Y. Hwang, H. C. Yang. 1992. Development of substrate and cultural method for the cultivation of *Pleurotus sajor-caju*, *Korean Mycol.* 20(4), 354-359 (in Korean).
7. Horner, W. E., M. D. Ibanez, W. Liengswangwong, J. E. Salvaggio and S. B. Lehrer. 1988. Characterization of allergens from spores of the Oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 82, 978-986.
8. Hurokawa, H. 1992. *Mushroom Science*, Kyouritzu press. 103-106 (in Japanese).
9. Jandaik, C. L. and J. N. Kapoor. 1976. Amino acid composition of mushroom *Pleurotus sajor-caju*(Fr.) Singer. *Mushroom J.* 41, 154-156.
10. Jonninson, M. W. 1959. Chemical and vitamin composition of the mycelium of wood rotting Basidiomycetes. *Mushroom Sci.* 4, 183-185.
11. Kalberer, R. and U. Kunsch. 1974. Amino acid composition of the oyster mushroom(*Pleurotus ostreatus*). *Lebensn U. Technol.* 7, 242-244.
12. McGarry, A. and K. S. Burton. 1994. Mechanical properties of the mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.* 98, 241-245.
13. Olsen, J. A. 1987. *Pleurotus* spores as allergens. *Mushroom J.* 172: 115-117.
14. Rokuo U. 1979. Fermentation and technology. 137(6), 534-548 (in Japanese).
15. Rural Development Administration. 2004. The oyster mushroom. 248-249.

16. Seo, G. S. 2004. Effect of environment on the mycelial growth and fruit body development of basidiomycetes. *Mushroom J.* **9**, 84-86 (in Korean).
17. Shin, G. C., S. M. Cho, N. B. Jeon, J. H. Ku. 1994. Effect of Sodium Hypochlorite (NaOCl) Treatment on bacterial yellow blotch in oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Korean Mycol.* **22(2)**, 190-195 (in Korean).
18. Yoshioka, Y., R. Tabeta, H. Saito, N. Uehara and F. Fukuoka. 1985. Antitumor polysaccharides from *P. ostreatus* (Fr.) Quel.: Isolation and structure of a  $\beta$ -glucan. *Carbohydrate Res.* **140**, 93-100.
19. Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus* : The biology and cultivation of edible mushrooms, Eds. S. T. Chang and W. A. Hayes, Academic Press. N.Y., 521-554.