

팽나무버섯(*Flammulina velutipes*)균의 액체배양 성장조건 규명
(Growth condition of *Flammulina velutipes* in Liquid culture)

홍성준, 이원호, 박기범, 박기병, 성재모*

강원대학교 자원생물환경학부 균학실험실*

Tel:(033) 250-6435, 6439 Fax:(033) 241-6435

ABSTRACT : Selection of optimal nutrient sources and cultural methods for liquid spawn culture of *Flammulina velutipes* were carried out. The optimal temperature and pH for mycelial growth of *F. velutipes* were 20°C and 6.0 to 7.5, respectively. In the 250ml Δ -flask culture, the amount of inoculum and culture period for the optimal mycelial growth of *F. velutipes* were 3 mycelial disks(diameter 6mm) and 6 days, respectively. For the mass production of submerged culture, the optimal inoculum amount and aeration rate of *F. velutipes* were 5%(inoculum vol./medium vol.) and 1.0vvm(vol. of air/vol. of medium/min), respectively.

1. 서 론

팽나무버섯 [*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing] 은 저온성 담자균류로서 우리나라에서는 늦가을과 이른봄에 뽕나무, 아카시아, 감나무, 포플러 등 활엽수의 줄기나 뿌리를 분해하여 영양분을 획득하는 백색부후균(White rot fungi)의 일종으로 항암효과와 더불어 여러 가지 필수아미노산을 함유하고 있어 사람들에게 기호성이 우수한 버섯이다.^(3,5,7)

팽나무버섯은 1899년 감나무 원목을 이용하여 자연 조건하에서 인공재배를 시작한 이래 톱밥을 이용한 상자 재배 등을 거쳐 1960년 이후부터는 Polypropylene bottle에 담아 멸균, 배양, 발이 및 생육과정을 거쳐 재배하기 시작하였다.^(1,6) 톱밥병재배는 Morimoto와 Hasagawa(1928)에 의해 처음 시도되었으며⁽⁷⁾ 국내에서는 1980년대 후반부터 온도, 습도, 광 등의 환경 조건을 인위적으로 조절이 가능한 시설에서 기계화된 병재배시스템으로 재배해왔다.⁽³⁾ 자실체를 생산하는 고등균류의 균사체가 액체배지 내에서도 심부배양(submerged culture)에 의한 증식이 가능하다는 것이 Humfeld⁽²⁾에 의하여 보고되었다. 이것은 새로운 형태의 종균으로 균사체 현탁액인 액체종균(liquid spawn)을 버섯 재배시 종균으로 이용할 수 있음을 나타내었다.⁽⁴⁾ 현재 팽나무버섯의 재배에 있어 고체종균을 이용한 재배는 균사활력의 저하, 잡균의 오염 등으로 인하여 액체종균을 이용한 자동화시스템이 도입되어지고 있다. 하지만

팽나무버섯의 액체종균을 이용한 자동재배시스템의 활용이 용이하게 되기 위해서는 액체종균의 대량배양에 관한 배양특성과 배양환경조사가 먼저 선행되어야 할 것이며, 이에 액체종균의 배양특성에 관한 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

균주 및 기본생리실험 : 팽나무버섯균의 생리실험 및 액체종균 배양에는 팽이버섯 2호를 사용하였으며, PDA배지에 접종한 후 15일마다 계대배양하면서 접종원으로 이용하였다. 기본생리 실험은 기본배지의 선발, 최적온도조사, pH조사, 탄소원, 질소원 및 무기염류선발 실험을 실시하였다.

액체종균 배양실험 : 액체종균의 전 배양실험으로 삼각플라스크(250ml)에 100ml 씩 채우고 petridish에 배양된 균총의 선단을 내경 6mm의 cork borer로 취하여 삼각플라스크 배양의 접종원으로 사용하였다. 삼각플라스크에서의 배양은 21℃, 125rpm에서 실시하였다.

본 배양은 12L짜리 배양용기(121℃, 1.2kg/cm²의 고온·고압의 멸균조건에서 견딜 수 있는 내열성 재질로 기포탐 발효조의 발효형식에 알맞는 구조)를 사용하였으며 배양라인은 통기배양을 위한 통기관(air-in)과 배기관(air-out) 그리고 배양액의 접촉 및 배출라인으로 구성되었다. 또한 외부와의 공기접촉을 차단하기 위해 각 라인 끝에는 필터를 설치하였는데 통기시에는 공기필터(PVA filter, 0.2μm)를 사용하였으며, 배기시에는 섬유층진필터(deep filter-길이 120mm의 스테인레스관에 직경 28mm의 플라스틱 섬유구를 5~7개 충전)를 사용하였다. 거품제거를 위한 소포제로는 식물성기름을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

기본배지의 선발 : 팽나무 버섯(*Flammulina velutipes*)균의 생육환경 및 영양원 선발 시험의 기본배지를 선발하기 위하여 실험을 실시한 결과 BM(yellow sugar 3%, yeast extract 0.3% KH₂PO₄, MgSO₄ · 7H₂O 각 0.1%)배지를 기본배지로 선발하였다.

균사체의 배양환경 및 영양원 선발 : 팽나무버섯균의 균사배양 최적온도는 20℃로 조사되었으며 최적 pH는 6.0에서 7.5 사이로 조사되었다. 농업용으로 사용될 수 있는 최적 탄소원 선발실험을 위하여 BM배지를 기본배지로 하여 탄소원을 달리 했을 때의 균사생장을 조사한 결과 yellow sugar, potato starch에서 양호한 생장을 나타냈다. 탄소원 조사에서 선발된 yellow sugar와 potato starch를 가지고 질소원 실험을 실시하였다. 실험결과 soybean flour, Yeast extract에서 생장이 우수하게 나타났다(Fig 1). 무기염류의 첨가실험에서는 KH₂PO₄, MgSO₄ · 7H₂O를 0.05%(w/v)씩 첨가한 배지에서 우수한 생장을 나타냈다.

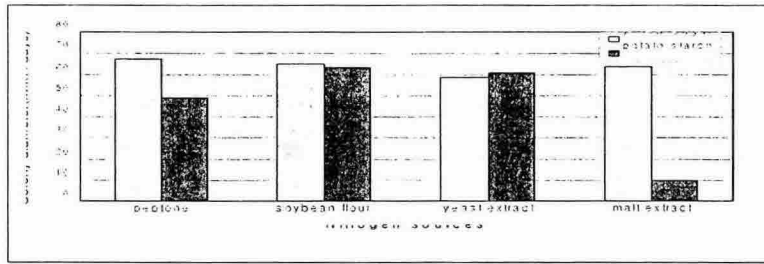


Figure 1. Effect of various nitrogen sources on the mycelial growth of *Flammulina velutipes*.

삼각플라스크에서의 배양환경 조사 : 삼각플라스크(shake flask)에서의 배양시 접종량이 증가할수록 초기 균사체 생장은 좋지만 건조균체량(Dry weight)의 큰 증가는 보이지 않았다. petridish에 배양된 균총의 선단을 내경 6mm의 cork borer로 취하여 3개 정도가 적당한 것으로 나타났으며, 배양기간에 따른 균사생장을 보면 접종 후 6일 이후에는 커다란 건조균체량의 증가가 보이지 않았다(Fig 2).

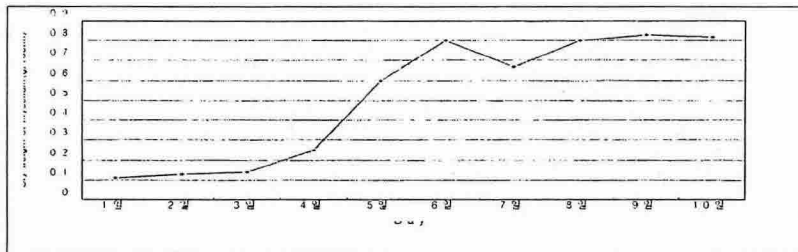


Figure 2. Time course of mycelial growth of *F. velutipes* at the erlenmeyer flask, incubated at 21°C, 125rpm

대량배양에서의 배양환경조사 : 대량배양의 배양환경을 알아보기 위하여 접종량, 통기량, 배양기간에 따른 차이를 조사하였다. 접종량은 5%, 통기량 1.0~1.5vvm으로 처리한 처리구에서 높은 균체량을 나타내었다. 배양기간은 접종량 5%, 통기량 1vvm으로 1일에서 8일까지 균사의 생장을 조사해 본 결과, 5일 이후 부터는 균체량의 증가가 크게 나타나지 않았다. 4일에서 5일간 배양하는 것이 가장 좋은 균체량을 나타내었다(Fig 3).

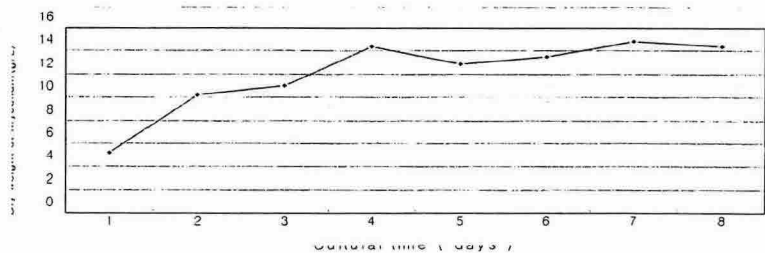


Figure 3. Time course of mycelial growth of *F. velutipes* at the mass culture, incubated at 21°C, inoculum rate 5%, 1.0vvm

Medium contents : Yellow sugar 3%, Yeast extract 0.3%, KH_2PO_4 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%

4. 요 약

팽나무버섯균의 배양환경조사에서 최적배양온도는 20℃, pH는 6.0 ~ 7.5, 탄소원은 yellow sugar, potato starch, 질소원은 soybean flour, Yeast extract, 무기염류는 KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 0.05%(w/v)에서 우수한 성장을 나타냈다. 액체종균 배양 실험에서는 전 배양시 erlenmeyer flask에서 6일간 21℃, 125rpm으로 배양 후 본 배양시 5% 접종량, 1.0vvm 통기로 4-5일 배양하였을 때 균체량이 높게 나타났다.

5. 감 사

본 연구는 2000~2001년 농림기술관리센터 현장애로기술지원으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

6. 참 고 문 헌

1. Choi, I. Y., Lee, W. H. and Choi, J. S., "Forest green mold disease caused by *Trichoderma pseudokoningii* in Winter mushroom, *Flammulina velutipes*"(1998), Kor. J. Mycol, 26(4), 531-537.
2. Humfeld, "The production of mushroom mycelium(*Agaricus campestris*) in submerged culture"(1948), science, 107, 373
3. Ryu, Y. H., Yoon, Y. S., Jo, W. S., Park, S. D., Choi, B. S. and Kim, J. K., "Effect of Liquid Spawn on *Flammulina velutipes* Cultivation"(1998), Kor. J. Mycol, 26(1), 20-24.
4. Sung, J. M., Moon, H. W. and Park, D. S., "Growth condition of Liquid Culture by *Pleurotus ostreatus*"(1999), Kor. J. Mycol, 27(1), 1-9.
5. U. Kiies and Y. Liu, "Fruiting body production in basidiomycetes"(2000), Appl Microbiol Biotechnol, 54, 141-152.
6. Yun, J. K., "The Cultural Characteristics of the Fruit Body Formation by Two selected strains of Winter mushroom(*Flammulina velutipes*) Collected from Korea"(1996), Jour. Korean For. Soc, 85(2), 225-237.
7. 김한경, "팽나무버섯(*Flammulina velutipes*)의 재배적 특성과 흰곰팡이병의 병원학 및 방제"(1998), 박사학위논문, 동아대학교 농생물학과.