

## 느타리속(*Pleurotus* species) 균의 균사 배양을 위한 새로운 합성 배지

박원목 · 김규현 · 현재욱

고려대학교 자연자원대학 농생물학과

### New synthetic medium for growth of mycelium of *Pleurotus* species

Won Mok Park, Gyu Hyun Kim and Jae Wook Hyeon

Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources, Korea University, 136-701, Korea

**ABSTRACT:** The nutritional requirements of mycelial growth for *Pleurotus* spp. were studied. As the carbon sources, soluble starch and dextrin, nitrogen sources, arginine and ammonium tartrate, and calcium sources,  $\text{CaCO}_3$  enhanced mycelial growth. Optimum C/N ratio was 100 : 1. On the base of results from the experiment on nutritional requirements, the following recipe is suggested for growth of *Pleurotus* spp.; starch 15 g, arginine 3.484 g, ammonium tartrate 3.06 g,  $\text{CaCO}_3$  0.314 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8.138 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.584 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5 g for *P. sajor-caju* and 2.5 g for *P. ostreatus*.  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02 g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.03 g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02 g, optimum pH 6.0. This new synthetic medium is tentatively designated as Park's medium.

**KEYWORDS:** Mycelial growth, new synthetic medium, nutritional requirements, *Pleurotus* species

담자균강(Basidiomycetes), 송이과(Trichomataceae)에 속하는 느타리 버섯(*Pleurotus* spp.)은 세계 각국에 널리 분포되어 있고 맛과 풍미가 뛰어나서 오래 전부터 즐겨 식용으로 애용되어지고 있다(박, 1990; Smith, 1978; Yoshida *et al.*, 1965). Yusef 등(1967)은 dextrin과 L-arabinose는 *P. ostreatus*의 균사 생장에 적합하며  $\text{NaNO}_3$ 는 균사 생장에 적합하지 않다고 보고하였으며, Eger 등(1974)은 *Pleurotus* spp.의 균사 생장 및 primordia 형성에 적합한 질소원은 asparagin 이었으며, 특히 배지의 산도가 pH 6.5로 조정된 상태에서 균사 생장은 최적을 이룬다고 보고하였다. 또한 홍(1978)은 *P. ostreatus*의 균사 생장에 적합한 탄소원은 mannitol과 sucrose이고, 첨가시 균사 생장 및 자실체 형성에 최적이었으며, lactose 및 rhamnose는 균사 생장에 부적합하였고, acetic acid, formic acid, fumaric acid, n-butyl alcohol, n-propyl alcohol, isobutyl alcohol 등의 첨가시 균사 생장이 저지된다고 보

고하였다.

또한 질소원으로는 peptone이 가장 우수한 균사 생장 및 자실체 형성을 보였고, 초산태 질소 및 L-tryptophan, L-tyrosine 등은 균사 생장에 부적합하다고 보고하였으며, 특히 ammonium sulfate 및 ammonium tartrate 등의 무기태 질소 및 D,L-aspartic acid, L-leucine, L-arginine, L-glutamic acid 등의 아미노산을 peptone에 첨가하여 사용하면 자실체 형성이 증진되어 수확량 증가 효과를 얻을 수 있다고 보고하였다. Kostadinov 등(1972)은 *P. ostreatus* 균사체의 액체 배양을 위한 실험에서 탄소원으로 당밀과 질소원으로 ammonium nitrate, ammonium sulfate를 선발하였고 또한 potassium phosphate을 첨가 사용한 결과 균사체 생산이 우수하였다고 보고한 바 있다. 또한 고등(1984)은 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생육에 적합한 유기질소원은 asparagine이라 보고하였고, Macaya-Lizano 등(1994)은 serine이 가장 적합한 유기 질소원이라 보고한 바 있다. 이러한 느타리 버섯속(*Pleurotus* spp.) 생장에 관여하는 여러 영양적 요

\*Corresponding author

지역적 환경과 사용 균주의 유전적 배경이 다르므로 각 지역 및 품종에 따른 차이로 사료된다. 따라서 현재 국내 환경에 적합하도록 육종되어져 재배되어지고 있는 느타리 품종에 적용할 수 있는 새로운 배양기의 개선이 시급하다. 따라서 본 실험은 국내 재배 품종의 기초 영양 생리 실험을 수행하여 군사 생장 최적 합성 배지 개발을 목표로 수행되었으며, 또한 본 배양기로 느타리 축성 재배의 기초를 확립코져 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

저온성 겨울 느타리(*Pleurotus ostreatus*)와 고온성 여름 느타리(*Pleurotus sajor-caju*)를 농촌 진흥청 농업기술 연구소 균이과에서 분양받아 시험 균주로 사용하였다.

### 배지

보관용 배지로는 potato dextrose agar 배지를 사용하였고, 영양원 실험용 기본 배지로는 Macaya-Lizano(1974) agar 배지( $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5 g,  $\text{CaCl}_2$  0.33 g, glucose 10 g, DL-serine 2 g, thiamine HCl  $10^{-3}$  g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02 g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02g,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02 g, agar 15 g, water 1 liter)를 사용하였다. 군사 생장 비교 실험용 배지로는 potato dextrose agar 배지, Macaya-Lizano agar 배지, Czapeck agar 배지(sucrose 30 g, yeast extract 5 g,  $\text{NaNO}_3$  3 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 g, KCl 0.5 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g, agar 15 g, water 1 liter), yeast malt extract agar 배지 (glucose 10 g, peptone 5 g, yeast extract 3 g, malt extract 3 g, agar 15 g, water 1 liter) 및 yeast extract agar 배지(peptone 10 g, NaCl 5 g, yeast extract 3 g, agar 15 g, water 1 liter)와 malt extract agar 배지(malt extract 30 g, agar 15 g, water 1 liter)를 사용하였다. 각 배지의 산도는 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 pH 6으로 전고정하였다.

### 군사생장 측정

기본 배지에서 10일간 전배양시킨 느타리 균총(직경 4 mm)를 각 시험 배지 중앙에 접종하여 28°C

항온기에서 9일간 배양 후 군사 집락의 밀도를 관찰하고 직경을 측정하였다.

### 탄소원

기본 배지에 탄소원으로서 salicin, lactose, glycerol, ribose, mannose, arabinose, cellobiose, maltose, D-xylose, adonitol, fructose, galactose, glucose, mannitol, sucrose, sorbitol, dextrin, starch 등 18종의 탄소원을 각각 100 mM 첨가한 후 군사 생장 및 군사 밀도를 측정하였으며, 5반복 실시되었다.

### 유기질소원

기본 배지에 유기 질소원으로 phenylalanine, valine, glutamic acid, methionine, leucine, alanine, glycine, asparagine, aspartic acid, serine, arginine, glutamine 등 12종의 유기 질소원을 각각 20 mM 첨가한 후 군사 생장을 측정하였으며, 5반복 실시되었다.

### 무기질소원

기본 배지에 무기 질소원 중 암모니아태로서 ammonium acetate, ammonium oxalate, ammonium phosphate, ammonium molybdate, ammonium bicarbonate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, ammonium tartrate를 초산태로서 sodium nitrate, potassium nitrate 등 10종의 무기 질소원을 각각 20 mM 첨가한 후 군사 생장을 측정하였으며, 각각은 5반복 실시되었다.

### 칼슘원

기본 배지에 칼슘원으로  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4$ 를 기본 배지 칼슘원량( $\text{Ca}^{2+}$  0.132 g/liter)의 1/2, 1/1, 2/1를 각각 첨가하고, 5반복 실시하였다.

### 무기염류

$\text{MgSO}_4$ 는 무첨가에서 점차로 농도를 높혀 4.0 g/l의 농도까지 처리하였고,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$ 는 0.1 g/l까지의 농도로 조제한 후 기본 배지에 첨가하여 군사 생장을 비교하였다.

### C/N 율

기본 배지의 탄소원을 고정된 후 질소원으로서의

ammonium tartrate의 양을 변화시켜 C/N 을을 25, 50, 100, 300, 600 범위로 변화시킨 후 균사 생장을 비교하였다.

### 배지간 균사 생장 비교

상술한 실험으로 새로이 조제되어진 합성배지와 기존 배지간의 균사 생장 비교는 한천 배지상에서의 균사 길이 생장을 비교하였고, 액체 배양에서는 균체량 차이를 비교하였다. 액체 배양은 250 ml flask에 액체배양액 100 ml 넣은 후 전배양되어 보관중인 느타리 균사 절편(직경 : 4 mm)을 접종, 9일간 배양 후 여과지(Whatman No.2)로 걸러서 균체를 수집한 다음 80°C에서 24시간 건조 후 건물중을 측정하였다.

**Table 1.** Mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on Macaya-Lizano agar medium with different sources of carbon

| Carbohydrate (0.1M)  | Diameter of colony (mm)              | Compactness of mycelium |
|----------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| Control              | 11.5 ± 1.0 <sup>a</sup> <sup>b</sup> | +                       |
| Salicin              | 15.0 ± 0.7                           | +++                     |
| Lactose              | 21.4 ± 0.3                           | +                       |
| Glycerol             | 22.3 ± 0.4                           | +                       |
| Ribose               | 30.6 ± 0.9                           | +                       |
| Mannose              | 39.7 ± 1.2                           | +++                     |
| Arabinose            | 45.0 ± 0.4                           | ++                      |
| Cellobiose           | 45.6 ± 2.0                           | +++                     |
| Maltose              | 47.9 ± 0.6                           | +                       |
| D-xylose             | 52.3 ± 1.2                           | ++                      |
| Adonitol             | 54.4 ± 0.7                           | +                       |
| Fluctose             | 59.3 ± 1.7                           | +++                     |
| Galactose            | 63.2 ± 0.6                           | ++                      |
| Glucose              | 66.0 ± 0.7                           | +++                     |
| Mannitol             | 68.2 ± 1.2                           | +                       |
| Sucrose              | 69.5 ± 1.1                           | +++                     |
| Sorbitol             | 73.3 ± 2.5                           | +++                     |
| Dextrin <sup>c</sup> | 76.2 ± 1.9                           | +++                     |
| Starch <sup>c</sup>  | 83.0 ± 0.5                           | +++                     |

Compactness of mycelium: +: thin, ++: medium, +++: compact

<sup>a</sup> ± SD (5 replicates), <sup>b</sup> Dunkun grouping, <sup>c</sup> 15 g/liter Culture was carried out at 28°C for 9 days.

사용되어진 배지들은 동일 조건(28°C, pH 6.0)에서 배양하여 비교하였다.

### 조직배양

조직 배양시 배지간 균사 생장을 비교하기 위하여 느타리 버섯 자실체 대의 육질이 두꺼운 부분의 중심부를 5 mm<sup>3</sup> 정도로 절단한 후 멸균된 접종침으로 시험 배양기위에 놓은 후 균사 배양과 동일한 방법으로 배양하였다.

## 결 과

### 탄소원

*Pleurotus ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 미치는 탄소원의 영향을 검토하여 본 결과(Table 1), glucose, sucrose, sorbitol, dextrin, starch 첨가시 우수한 균사 생장 및 균사 밀도를 보여주었으며, 그중 starch가 가장 우수한 균사 생장 및 균사 밀도를 보여 주었고, 다음은 dextrin, sorbitol, sucrose

**Table 2.** Mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on Macaya-Lizano agar medium with different sources of organic nitrogen

| Amino acid (20 mM) | Diameter of colony (mm)              | Compactness of mycelium |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| Control            | 52.4 ± 1.2                           | ++                      |
| Phenylalanine      | 54.2 ± 1.2                           | +                       |
| Valine             | 57.6 ± 0.7 <sup>a</sup> <sup>b</sup> | +                       |
| Glutamic acid      | 59.7 ± 2.0                           | ++                      |
| Methionine         | 60.0 ± 1.4                           | ++                      |
| Leucine            | 61.2 ± 0.6                           | +                       |
| Alanine            | 62.7 ± 0.7                           | ++                      |
| Glycine            | 63.8 ± 0.4                           | ++                      |
| Aspartic acid      | 64.0 ± 0.7                           | ++                      |
| Serine             | 67.4 ± 0.5                           | +++                     |
| Asparagine         | 68.0 ± 0.7                           | +++                     |
| Glutamine          | 76.4 ± 0.5                           | +++                     |
| Arginine           | 82.0 ± 1.0                           | +++                     |

Compactness of mycelium: +: thin, ++: medium, +++: compact

<sup>a</sup> ± SD (5 replicates), <sup>b</sup> Dunkun grouping Culture was carried out at 28°C for 9 days.

**Table 3.** Mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on Macaya-Lizano agar medium with different sources of inorganic nitrogen.

| Inorganic nitrogens (20 mM) | Diameter of colony (mm) | Compactness of mycelium |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Control                     | 38.1 ± 1.1 <sup>a</sup> | ++                      |
| Ammonium acetate            | 22.5 ± 2.1              | ++                      |
| Ammonium oxalate            | 23.0 ± 1.9              | +                       |
| Ammonium phosphate          | 32.3 ± 3.2              | ++                      |
| Sodium nitrate              | 34.7 ± 1.7              | ++                      |
| Potassium nitrate           | 40.2 ± 2.3              | ++                      |
| Ammonium molybdate          | 42.6 ± 4.0              | +                       |
| Ammonium bicarbonate        | 51.5 ± 0.7              | ++                      |
| Ammonium nitrate            | 59.0 ± 1.7              | ++                      |
| Ammonium sulfate            | 68.0 ± 1.0              | ++                      |
| Ammonium tartrate           | 76.7 ± 0.6              | ++                      |

Compactness of mycelium: +: thin, ++: medium, +++: compact

<sup>a</sup> ± SD (5 replicates), <sup>b</sup> Dunkun grouping  
Culture was carried out at 28°C for 9 days.

순이었다.

**유기 질소원**

유기 질소원은 arginine, glutamine, asparagin 순으로 균사 생장 및 균사 밀도가 양호하였다(Table 2).

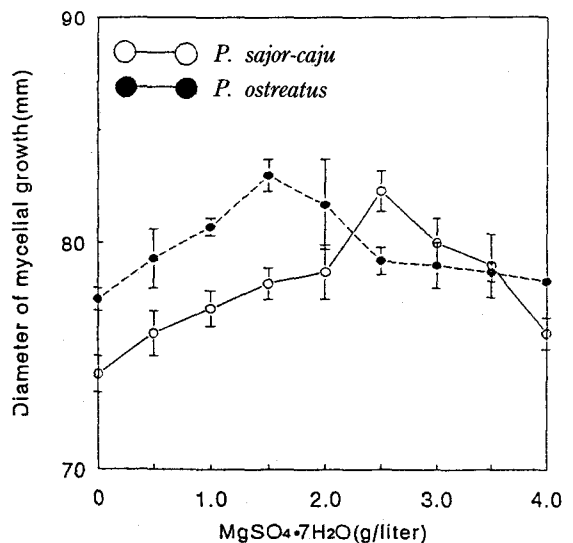
**무기 질소원**

무기 질소원은 ammonium tartrate, ammonium sulfate, ammonium nitrate에서 양호한 균사 생장을

**Table 4.** Mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* on Macaya-Lizano agar medium with different sources and concentrations of calcium.

| Source            | Growth                  |      |                 |      |
|-------------------|-------------------------|------|-----------------|------|
|                   | Diameter of colony (mm) |      |                 |      |
| Conc.             | 0                       | X1/2 | X1 <sup>a</sup> | X2   |
| Calcium carbonate | 67.3                    | 68.6 | 83.8            | 80.8 |
| Calcium chloride  | 67.3                    | 47.2 | 68.8            | 67.0 |
| Calcium sulfate   | 67.3                    | 68.3 | 75.2            | 74.4 |

<sup>a</sup>X1 = Ca<sup>2+</sup>; 0.132 g/liter  
Culture was carried out at 28°C for 9 days.



**Fig. 1.** Effect of magnesium sulphate concentration on the mycelial growth of *Pleurotus* spp. Culture was carried out at 28°C for 9 days. Bar indicates standard deviation.

보였으며, 특히 암모니아태 질소인 ammonium tartrate에서 가장 우수한 균사 생장을 보였다(Table 3).

**칼슘원**

칼슘원의 종류 별, 농도별 균사 생장에 미치는 영향을 검토하여 본 결과(Table 4), CaCO<sub>3</sub> 기준 농도에서 우수한 균사 생장을 보였다.

**무기염류**

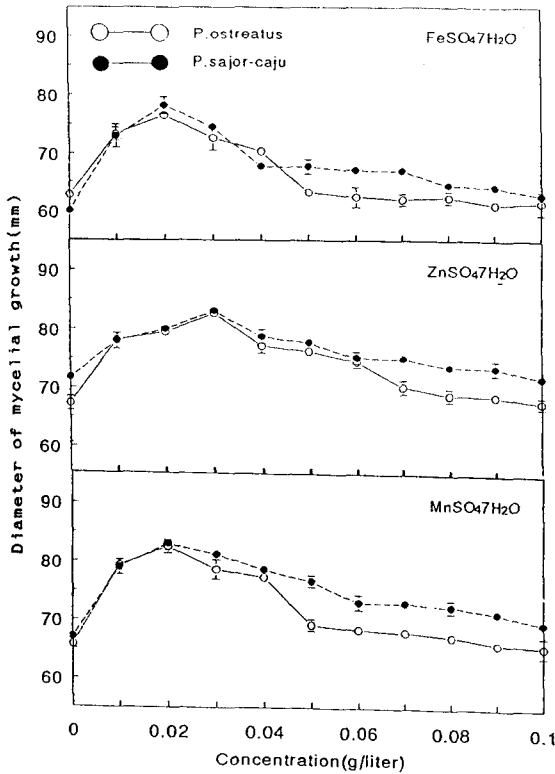


Fig. 2. Effect of metal ions on the mycelial growth of *Pleurotus* spp. Culture was carried out at 28°C for 9 days. Bar indicates standard deviation.

무기 염류의 영향을 검토한 결과(Fig. 1, 2), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O는 *P. ostreatus* 경우 1.5 g/l에서, *P. sajor-caju*의 경우는 2.5 g/l에서 균사 생장이 최대치를 나타내었다. ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O는 0.03 g/l에서, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O와 MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O은 각각 0.02 g/l에서 균사 생장이 최대치를 보였다.

**C/N 율**

균사 성장에 대한 C/N율의 영향을 검토한 결과 (Table 5), *P. ostreatus*는 C/N율 100에서 균사 생장의 최대치를 보였으며, *P. sajor-caju*의 경우는 C/N율 300에서 균사 생장의 최대치를 보였으나 C/N율 100과 유의차가 존재하지 않았다.

**새로운 합성 배지의 조성**

상술한 실험의 결과를 토대로 Table 6과 같은 새

Table 5. Effect of C/N ratio on mycelial growth of *Pleurotus* spp.

| C/N ratio | Diameter of colony (mm)    |                             |
|-----------|----------------------------|-----------------------------|
|           | <i>Pleurotus ostreatus</i> | <i>Pleurotus sajor-caju</i> |
| 25        | 74.7 ± 1.5 <sup>a,b</sup>  | 73.3 ± 3.1                  |
| 50        | 75.0 ± 1.0                 | 76.0 ± 0.0                  |
| 100       | 88.0 ± 2.8                 | 84.7 ± 1.2                  |
| 300       | 64.0 ± 0.0                 | 85.3 ± 1.5                  |
| 600       | 64.3 ± 2.5                 | 70.6 ± 1.2                  |

<sup>a</sup> ± SD (5 replicates), <sup>b</sup> Dunkun grouping. Culture was carried out at 28°C for 9 days.

Table 6. Suggested composition of new synthetic medium for supporting mycelial growth of *Pleurotus* spp.

| Chemicals                            | Amounts                                |
|--------------------------------------|--|
| Starch                               | 15 g                                   |
| CaCO <sub>3</sub>                    | 0.314 g                                |
| Arginine                             | 3.484 g                                |
| Ammonium tartrate                    | 3.06 g                                 |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | 8.138 g                                |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 1.584 g                                |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 1.5 g <sup>a</sup> /2.5 g <sup>b</sup> |
| FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0.02 g                                 |
| ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0.03 g                                 |
| MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0.02 g                                 |
| Water                                | 1 liter                                |

<sup>a</sup> Concentration for mycelial growth of *P. ostreatus*.  
<sup>b</sup> Concentration for mycelial growth of *P. sajor-caju*.

로운 합성 배지를 조제할 수 있었고, 이를 Park 배지라 명명하였다.

**배지간 균사 생육 비교**

*P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 새로운 합성배지와 기타 배지간의 한천 배지상 균사 생육 비교시(Table 7) 새로운 합성 배지 즉 Park 배지에서 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*는 각각 73.3 mm, 79.7 mm의 균사 생장을 보여 기타 배지보다 우수한 균사 생장을

**Table 7.** Comparison of mycelial growth of *Pleurotus* spp. on different media.

| Media   | Diameter of mycelial growth (mm)    |                      |
|---------|-------------------------------------|----------------------|
|         | <i>P. ostreatus</i>                 | <i>P. sajor-caju</i> |
| PARK    | 73.3± 3.5 <sup>a</sup> <sup>b</sup> | 79.7± 4.9            |
| MLM     | 35.0± 0.0                           | 38.0± 0.0            |
| Malt    | 43.3± 8.1                           | 49.3± 2.1            |
| YMA     | 43.7± 3.1                           | 42.3± 2.5            |
| Yeast   | 43.0± 1.0                           | 30.3± 7.6            |
| Czapeck | 51.0± 1.7                           | 49.0± 1.7            |
| PDA     | 34.7± 2.5                           | 31.7± 2.5            |

<sup>a</sup>± SD (5 replicates), <sup>b</sup>Dunkun grouping.

Media: PARK; PARK medium, MLM: Macaya-Lizano medium, MALT; Malt extract agar, YMA; Yeast malt extract agar, Yeast; Yeast extract agar, Czapeck; Czapeck agar, PDA; Potato dextrose agar.

Culture was carried out at 28°C for 9 days.

**Table 8.** Dry weight of mycelium on different media.

| Media   | Dry weight of mycelium (mg/ml)      |                      |
|---------|-------------------------------------|----------------------|
|         | <i>P. ostreatus</i>                 | <i>P. sajor-caju</i> |
| PARK    | 13.3± 2.4 <sup>a</sup> <sup>b</sup> | 17.3± 1.4            |
| MALT    | 7.7± 1.6                            | 9.7± 1.6             |
| Czapeck | 6.8± 1.6                            | 8.2± 1.3             |
| YMB     | 6.7± 1.4                            | 8.9± 1.1             |
| PDB     | 5.7± 1.4                            | 7.3± 1.2             |
| MLM     | 5.3± 1.7                            | 6.8± 2.7             |
| Yeast   | 3.9± 1.7                            | 4.2± 2.1             |

<sup>a</sup>± SD (3 replicates), <sup>b</sup>Dunkun grouping.

Media: PARK; PARK broth medium, MLM: Macaya-Lizano broth medium, MALT; Malt extract broth, YMB; Yeast malt extract broth, Yeast; Yeast extract broth, Czapeck; Czapeck broth, PDB; Potato dextrose broth.

Culture was carried out at 28°C for 9 days.

보였으며, 액체 배양시 배지간 균체량 비교 실험(Table 8) 또한 Park 배지에서 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균체량은 각각 13.3 mg/ml, 17.3 mg/ml로 기타 배지보다 우수한 균체량 증가를 보여 새로이 합성된 Park 배지가 느타리 속 균사 배양을 위해 기존의 기타 배지보다 우수한 배지임을 확인할 수

**Table 9.** Comparison of mycelial growth from tissue culture on different media.

| Media   | Diameter of mycelial growth         |                      |
|---------|-------------------------------------|----------------------|
|         | <i>P. ostreatus</i>                 | <i>P. sajor-caju</i> |
| PARK    | 73.8± 1.5 <sup>a</sup> <sup>b</sup> | 88.2± 1.6            |
| MALT    | 65.8± 1.8                           | 81.2± 5.8            |
| Czapeck | 65.0± 3.8                           | 78.6± 2.9            |
| MLM     | 58.0± 1.6                           | 69.2± 2.3            |
| PDA     | 56.8± 3.2                           | 61.2± 1.0            |
| YMA     | 50.0± 1.9                           | 59.0± 3.2            |
| Yeast   | 26.8± 0.8                           | 32.1± 3.3            |

<sup>a</sup>± SD (5 replicates), <sup>b</sup>Dunkun grouping.

Media: PARK; PARK medium, MLM: Macaya-Lizano medium, MALT; Malt extract agar, YMA; Yeast malt extract agar, Yeast; Yeast extract agar, Czapeck; Czapeck agar, PDA; Potato dextrose agar.

Culture was carried out at 28°C for 9 days.

있었다.

#### 조직배양

조직 배양시 배지간 균사 생육을 비교하여 본 결과(Table 9) *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장은 각각 73.8 mm, 88.2 mm로 기타 배지보다 우수한 균사 생장을 보여주어 Park 배지가 조직 배양을 통한 균사 획득에도 우수한 배지임을 확인할 수 있었다.

#### 고 찰

*P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 미치는 탄소원의 영향을 검토하여 본 결과 starch, dextrin, sorbitol, sucrose, glucose 첨가시 우수한 균사 생장 및 균사 밀도를 보여주었으며, 그중 starch가 가장 우수한 균사 생장 및 균사 밀도를 보여 주었다. 이는 *Pleurotus ostreatus*에서 mannitol이 가장 우수한 균사 생장을 보이는 최적 탄소원이라는 Hong(1978)의 보고와는 다른 점이었으나, starch에서는 일치되었고, dextrin이 최적 탄소원이라는 Yusef등(1967)의 보고와는 다소 차이가 있었다. 또한 *P. sajor-caju*는 starch, glucose, maltose, sucrose등이 균사 생장에 적합한 탄소원이라는 Jandaik등(1976)의 보고와 다소 차

이가 있었으나 starch에서 일치하였다. 또한 참고적으로 *Volvariella* spp.는 균사 생장 탄소원으로 soluble starch, glucose, mannose, cellulose등을 요구한다라는 Garcha등(1979)의 보고와 *Auricularia* spp.는 균사 생장 요구 탄소원으로 glucose, fructose, galactose등이 최적 탄소원이라는 Quimio(1982)의 보고가 있다. *Pleurotus* spp. 모두 extracellular enzyme으로 cellulase와 amylase를 분비하여 탄소원을 단당류로 분해하여 영양원으로 이용하는 것으로 생각되어진다. Wessels(1965)는 탄소원으로서의 glucose가 *Schizophyllum commune*의 primodia 형성을 개시하게 한다고 보고하였고, Garraway등(1984)은 균사 생장에 적합한 탄소원이 필수적으로 자실체 형성 및 포자 형성과 같은 reproductive growth에 적합한 탄소원은 아니라고 하였다.

예를 들어 Agnihotri(1969)는 *Aspergillus niger*에서 균사 생장에 적합한 탄소원으로 규명된 ribose, mannitol등이 sclerotia 형성에 부적합한 탄소원이라고 보고하였고, 또한 Yoshida등(1965)은 *Lentinus edode*의 실험에서 생육단계별로 탄소원의 생육 요구량에 변동이 있음을 보고하였는데, 균사 생장에는 3~5%의 탄소원량을 요구하고, 자실체 형성시에는 8% 이상의 탄소원량을 요구한다고 보고하였다. 따라서 균사 생장 적합 영양원 선발에 국한된 본실험에서 선발된 탄소원이 자실체 형성에도 필수적인 탄소원인지 여부와 생육 단계별 탄소원 요구량의 변동 여부에 대한 규명이 부수적으로 수행되어야 한다. 유기 질소원의 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 미치는 영향을 검토하여 본 결과 asparagine, serine, arginine, glutamine에서 균사 생장 및 균사 밀도가 양호하였으며, 그중 arginine에서 가장 우수한 균사 생장 및 균사 밀도를 나타내었다. 이는 asparagine이 균사 생육에 가장 적합하다는 Eger등(1974) 및 고등(1984) 보고와 serine이 가장 적합한 유기 질소원이라는 Macaya-Lizano등(1974)의 보고와 일치된다. Arginine은 basic form으로 기본 구조에 amino group이 덧붙혀진 형태로 Eger등(1974) 및 고등(1984)이 최적 유기 질소원이라한 asparagine과 유사하였으나 또한 이와 유사한 amino group과 basic form을 갖는 유기 질소원인 glutamine 또한 우수한 균사 생장을 보여 이러한 형태의 유기 질소원을 선호한다고 추정할 수 있었으나 한편으로 Eger등(1974)은

질소원으로서의 asparagine의 효과는 단순히 구조적인 형태로서는 설명할 수 없다고 하였다. 이외의 다른 유기 질소원은 균사 생육에 적합하지 않은 질소원으로 생각되어진다. 무기 질소원의 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 미치는 영향을 검토하여 본 결과 ammonium nitrate, ammonium sulfate, ammonium tartrate에서 양호한 균사 생장을 보였으며, 특히 암모니아태 질소인 ammonium tartrate에서 가장 우수한 균사 생장을 보였다.

따라서 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju* 모두에서 균사 생육에 적합한 무기 질소원으로 초산태 질소보다는 암모니아태 질소가 균사 생육에 적합하였으며, 이는 홍(1978) 및 고등(1984) 그리고 Pateman등(1976) 및 Garraway등(1984)의 견해와도 일치하였다. 이는 질소원 이화 대사 과정중의 nitrate가 amino acid를 deaminate 할 수 있고 sulfur metabolism을 interfere 할 가능성이 있고, 이는 nitrate가 sulphite ion과 유사하기 때문이다. 또한 Nicholas(1965)는 무기 질소원중 ammonium nitrate와 ammonium sulfate 및 ammonium chloride는 일반적으로 배지의 산도를 떨어뜨리고, 산성화시켜 균사 생장을 저해한다고 보고하였으나, 본 실험에서 ammonium nitrate와 ammonium sulfate 첨가시 우수한 균사 생장을 보여 다소 차이가 있었으나 이는 배지상에 존재하는 유기물 및 염들에 의하여 완충되어 상보적으로 얻어진 결과로 추정된다. 칼슘원의 종류별, 농도별 *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 미치는 영향을 검토하여 본 결과  $\text{CaCO}_3$  기준 농도에서 우수한 균사 생장을 보였다. 각종 조효소의 일부로서 작용하는 것으로 사료되는 칼슘원은 균사 생육에 있어서 지방 분해 효소인 lipase를 활성화 시키는 역할을 한다(Cameron and Lejohn, 1972; 홍, 1978; Wessel, 1965). Willis(1960)는  $\text{Ca}^{2+}$ 가 lipase structure를 안정화 시킨다고 보고하였으며, Bier등(1951)은  $\text{Ca}^{2+}$ 에 의해 trypsin이 활성화 되는 것과 같은 기작으로 활성화 된다고 보고하였다. *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 대한 무기 염류의 영향을 검토한 결과,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 는 *P. ostreatus* 경우 1.5 g/l에서, *P. sajor-caju*의 경우는 2.5 g/l에서 균사 생장이 최대치를 나타내었다가 감소하였고,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 는 0.06 g/l에서,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 는 모두 0.02 g/l에서 균사 생장이 최대치를 보였다.

이러한 무기 염류들은 균사 생육에 있어서 효소 대사 및 생체 대사의 cofactor 역할을 한다(Garraway and Evans, 1984; Grittin, 1981; Lilly, 1965). 상술하자면 마그네슘은 2가 이온의 형태로 세포내에 존재하며 핵산, ATP 등 생체 인산 에스테르 화합물에 결합하여 대사 조절에 관여한다. 또한 철은 또한 2가 이온의 형태로 산화, 환원 반응에 관여하는 조효 소의 일부로서 존재한다. 아연은  $Zn^{2+}$ 의 형태로 alcohol dehydrogenase, aldolase, alkaline phosphatase, RNA 및 DNA polymerase에 역할을 하고, 망간 또한  $Mn^{2+}$ 의 형태로 superoxide dismutase에 존재하므로 이들 미량 요소는 비록 요구량은 적지만 배지 구성에 필수적이라고 생각된다. 그러나 농도가 균사 생장에 미치므로 적당 농도의 첨가가 매우 중요하다. *P. ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 균사 생장에 대한 C/N율의 영향을 검토한 결과, *P. ostreatus*는 C/N율 100에서 균사 생장의 최대치를 보였으며, *P. sajor-caju*의 경우는 C/N율 300에서 균사 생장의 최대치를 보였으나 C/N율 100과 유의차가 존재하지 않았다. 이는 생육 최적 C/N율이 40이라는 고등(1984)의 견해와는 상이하였다. 그리고 Leathman(1985)는 vegetative growth와 reproductive growth 간에는 C/N ratio가 다르고, 사용된 탄소원 및 질소원에 따라서 C/N ratio가 달라질 수 있다고 하였다. 상술한 실험의 결과를 토대로 새로운 합성 배지를 조제할 수 있었고, 이를 Park 배지라 명명하였다. *Pleurotus ostreatus* 및 *P. sajor-caju*의 새로운 합성 배지와 기타 배지간의 균사 생육 비교시, 조직 배양간의 균사 생장 비교 실험 모두에서 새로운 합성 배지 즉 Park 배지가 우수한 균사 생장 및 균체량 증가를 보여 결론적으로 새로이 합성된 Park 배지가 현재 국내에서 재배되는 느타리 속 균사 배양에 적당하다고 사료된다.

### 參考文獻

- Agnihotri, V.P. 1969. Some nutritional and environmental factors affecting growth and production of *Sclerotia* by a strain of *Aspergillus niger*. *Can. J. Microbiol.* **15**: 835-840.
- Bier, M. and F.F. Nork. 1951. The effect of certain ions on the crystalline trypsin and reinvestigation of its isoelectric point, *Arch. Biochem. Biophys.* **33**: 320-332.
- Cameron, L.E. and LeJohn, H.B. 1972. On the involvement of calcium in amino acid transport and growth in *Achlya* sp. *J. Biol. Chem.* **247**: 4729-4739.
- Eger, G., Gottward, H.D. and Netzer, U. von. 1974. The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. *Mushr. Sci.* **IX**(Part 1): 575-583.
- 고승주, 유창환, 박용환. 1984. 여름느타리버섯과 느타리버섯의 균사 생장에 영향을 미치는 몇가지 요인에 관한 시험. *한국균학회지* **12**(1): 15-19.
- Garcha, H.S., K.L. Kalra, and G.M. Beg. 1979. Physiology of weed mushroom. *Mushroom Science* **10**(2): 349-355.
- Garraway, M.O. and Evans, R.C. 1984. Nutrition as a basis for the study of fungi. in "Fungal nutrition and physiology", John Wiley and Sons Inc. U.S.A., 1-21, 71-221.
- Griffin, D.H. 1981. Chapter 6. Chemical requirements for growth. in "Fungal physiology", John Wiley and Sons Inc. U.S.A., 131-167.
- 홍재식. 1978. 느타리 버섯의 생리화학적 성질 및 재배에 관한 연구. *한국농화학회지* **21**(3): 150-184.
- Jndaik, C.L. and J.N. Kapoor. 1976. Effect of carbon and nitrogen nutrition on growth of *Pleurotus sajor-caju*. *Indian Phytopathol.* **29**: 326-327.
- Kostadinov, I., Torev, A. and Rantcheva, Tz. 1972. Some aspects of the production of *Pleurotus ostreatus* FR. *Mushr. Sci.* **VIII**: 253-256.
- Leathman, G.F. 1985. Growth and development of *Leontinus edodes* on a chemical defined medium. in "Developmental biology of higher fungi" Eds. D. Moore, L.A. Casselton, D.A. Wood and J.C. Frankland. Cambridge University press. pp. 403-427.
- Lilly, V.G. 1965. Elemental constituents and their roles. In G.C. Ainsworth and A.S. Sussman (eds.): *The Fungi*. Vol. 1, pp. 163-177. Academic Press, New York.
- Macaya-Lizano, A.V. 1974. *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Quelet, former et especes affines comportement cultural et systematique. *Revue De Mycologie* **39**: 3-42.
- Nicholas, D.J.D. 1965. Utilization of inorganic nitrogen compound and acids by fungi. in "The fungi": An advanced treatise, Vol. 1. The fungal cell. Eds. G.C. Ainsworth and A.S. Sussman. Academic press. N.Y. and London. pp. 349-376.
- 박영재. 1990. 영지, 포고, 느타리. 내외 출판사, 152.
- Pateman, J.A. and J.R. Kinghorn. 1976. Chapter 7. Nitrogen metabolism in "The filamentous fungi" Eds.



- Smith, J.E. and D.R. Berry, John Wiley and Sons. N. Y., 1-21, 71-221.
- Quimio, T.H. 1982. Physiological consideration of *Auricularia* spp. in "Tropical mushrooms. Biological nature and cultivation method" Eds. S.T. Chang and T.H. Quimio. The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 397-408.
- Smith, A.H. 1978. Morphology and classification. in "The biology and cultivation of edible mushrooms" Eds. S.T. Chang and W.A. Hayes, Academic press. N.Y., 3-34.
- Wessel, J.H.G. 1965. Morphogenesis and biochemical process in *Schizophyllum commune* FR. *Wentia* XIII.
- Willis, E.D. 1960. The relation of metals and SH groups to the activity for pancreatic lipase. *Biochem. Biophys. Acta.* **40**: 481-490.
- Yoshida, T., H. Taguchi, and S. Teramoto. 1965. Studies on submerged culture of basidiomycetes. 1. Some factors affecting the growth of Shiitake (*Lentinus edodes*). *J. Ferment. Technol.* **43**: 325-334.
- Yusef, H.M. and Allam, M.E. 1967. Submerged culture of higher fungi mycelium on an industrial scale. *Can. J. Microbiol.* **13**: 1097-1106.