

장수버섯의 培養的 特性

張炫酉¹ · 車東烈 · 姜安錫 · 洪仁杓 · 金光布 · 石順子 · 柳榮鎮² · 成載模²

¹ 農業科學技術院 應用微生物科

² 江原大學校 農生物學科

Cultural Characteristics of *Fomitella fraxinea* (Fr.) Imaz.

Hyun-You Chang¹, Dong-Yeul Cha, An-Seok Kang, In-Pyo Hong, Kwang-Po Kim,
Soon-Ja Seok, Young-Jin Ryu² and Jae-Mo Sung⁵

¹Divi. of Microbiology, Agricultural Sciences and Technology Institute, RDA, Suwon Korea

²Dept. of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chun cheon, Korea

ABSTRACT: A good mycelial growth of *F. fraxinea* was observed on CDA medium. The optimum temperature and pH for the mycelial growth of *F. fraxinea* was at 30°C and pH 6.0, respectively. Glucose was found to be the best carbon source and arginine was favored as nitrogen source. When the basal medium was supplemented with organic acids, the best growth was shown in succinic acid and the poor growth was shown in oxalic acid. Thiamine.HCl showed the best results on the growth of this fungus on basal medium. Mycelial growth of *F. fraxinea* was quite good when oak tree sawdust was used to cultural substrates. The best mycelial growth was observed when 20% of rice bran was added as a supplement on sawdust substrates. Higher yield of *F. fraxinea* was observed on the medium with oak tree and acacia sawdust.

KEYWORDS: *F. fraxinea*, pH, temperature, carbon, nitrogen, organic acid, vitamin

*F. fraxinea*는 민주름살버섯목 구멍장이버섯과에 속하는 버섯으로 姜(1994)에 의하면 우리말 명칭은 흑버섯, 흑별집버섯, 흑잔나비버섯, 아카시아재목버섯, 아카시아영지, 거북껍질재목버섯, 장수버섯 등으로 불리워지고 있으며, 학명은 *Fomitella fraxinea* (Fr.) Imaz.(c.n.), *Polyporus fraxineus* Fr., *Perenniporia fraxinea*(Fr.) Ryv., *Fomitopsis cytisina*(Berk.) Bond. et Sing 등으로 불리워지고 있다고 하였다.

*F. fraxinea*는 成人病, 抗癌等に 效果가 있다고 水野 卓(1992) 등이 報告한 藥用버섯으로 알려져 있다. 또한 이 버섯은 白色木材腐朽菌으로 子實體는 自然條件에서 活葉樹의 썩은나무 그루터기 등에 群生하며, 특히 아카시나무에서 發生되고 있으므로 이 버섯을 利用하기 위하여 장수버섯의 培養的 特徵 및

人工栽培 可能性에 대하여 研究한 바 몇가지 結果를 얻었기에 이를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

供試菌株

農業科學技術院 應用微生物科에 保存中인 *Fomitella fraxinea* ASTI 17001를 供試菌株로 하였다.

優良培地의 選拔

장수버섯 菌絲生長에 가장 適合한 培地를 選拔하기 위하여 Table 1과 같은 組成으로 調製하여 高壓蒸氣 殺菌機로 121°C에서 20分間 殺菌하여 無菌床(Hitachi-cv111) 內에서 Petri-dish에 培地를 25 ml씩 分注하였다. 接種源은 直徑 8 mm인 Cork borer로 一定하게 切取하여 Petri-dish 中央에 接種한

*Corresponding author

Table 1. Compositions of the media used

(g/l)

	MPA	YM	CDA	MCM	PDA	Hamada	Czapek	LBA
Dried compost			40					
Potato					200			
Malt extract	20	3	7					
Dextrose		10	10	20	20	20	20	10
Peptone	5	5		2				
Yeast extract		3		2		2		
MgSO ₄ ·7H ₂ O				0.5			0.5	0.5
KH ₂ PO ₄				0.5				1
K ₂ HPO ₄							1	
Hyponex						2		
NaNO ₃							3	
Asparagine mono.								0.1
KCl							0.5	0.05
FeSO ₄ ·7H ₂ O							0.01	
Zn								0.1
Mn								0.05
Agar	20	20	20	20	20	20	20	20
D·W(%)	1	1	1	1	1	1	1	1

後 colony의 直徑과 密度를 調査하였다.

培養溫度와 pH

菌絲生長에 適合한 溫度와 水素이온 濃度(pH)를 調査하기 위하여 HCl과 NaOH를 相對的으로 少量씩 添加하여 水素이온 濃度測定器(Orion research 811)로 調節하여 pH別로 培養溫度가 15, 20, 25, 30, 35°C로 調節된 恒溫機에 넣어 20日間 培養하여 菌絲量을 測定하였다.

營養源 選拔

炭素源 利用性試驗은 Lilly 및 Barnett(1951)의 基本培地에 窒素源으로 asparagine 2 g/l를 共通적으로 添加하여 最小한의 窒素源이 되도록 하였고, 炭素源으로 glucose等 單糖類 8種, maltose等 2糖類 4種, starch等 多糖類 4種, sorbitol等 alcohol類 3種 總 19種의 炭素源을 使用하였다. 添加量은 glucose 10 g의 炭素量과 同一量이 되도록 添加하여 培地를 製造하였다.

窒素源 利用性試驗은 炭素源으로 glucose 10 g/l를 共通적으로 添加한 後 處理別로는 窒素源으로 urea等 有機態窒素源 2種, ammonium chloride等 無機態 窒素源 3種, arginine等 amino acid類 4種, 複合窒素源인 peptone 1種等 總 10種의 窒素源을 供試하였다. 窒素源 添加量은 有機態窒素源, 無機態 窒素源, amino acid類等은 asparagine 2 g의 窒素含量과 同一量이 되도록 培地를 製造하였으며 複合窒素源은 窒素含量이 2%가 되도록 培地에 添加하여 製造하였다.

炭素源과 窒素源의 試驗結果에 따라 炭素源으로 優秀한 glucose, 窒素源으로 優秀한 arginine을 選拔하여 炭素源인 glucose 含量을 0.5%, 1.5%, 3.0%, 4.0%로 調整하고, 窒素源인 arginine 含量을 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, 3%가 되도록 調整하여 炭素源과 窒素源 含量比에 따른 菌絲生長量을 調査하였다.

炭素源과 窒素源의 最適含量比를 選拔한 後 그 濃度を 固定的으로 添加한 後 maleic acid外 9種의 有機酸을 0.1%씩 添加하여 培地를 製造하였고, vita-

Table 2. Mycelial growth length and density of *F. fraxinea* on different media

Kinds of media	CDA	Hamada	Czapek	YM	MPA	MCM	PDA	LBA
Growth (mm/10 days)	78	76	75	72	70	68	69	77
Density*	+++	++	+	++	++	++	++	++

*+: poor, ++: good, +++: excellent

min은 thiamin外 4種을 供試하였으며, 添加含量은 thiamine HCl 0.1 mg/l, biotin 0.005 mg/l, rifovflavin 0.5 mg/l, pyridoxine HCl 0.5 mg/l, inositol 4.0 mg/l, nicotinamide 2.0 mg/l, Ca pantothenate 2.0 mg/l로 하였다. 培養方法은 各種 vitamin을 含量別로 殺菌水에 稀釋하여 whatman membrane filter(0.2 μ m)로 濾過하여 調製한 後 使用하였다.

菌絲生長量 測定은 液體培養된 菌絲體를 濾過紙(whatman No.2 直徑 9 cm)로 濾過시킨 後 이를 80 \pm 2 $^{\circ}$ C로 調節된 乾燥機에서 恒量이 될 때까지 乾燥시켰다. 乾燥重量은 Kanayama等(1984)의 方法에 準하여 重量을 表示하였다.

톱밥培地の 水分含量

참나무 톱밥과 米糠을 80:20 比率로 混合하여 bulk density가 0.25(g/cc)가 되도록 하여 水分含量을 40%에서 75%까지 調節하여 水分含量에 따른 菌絲生長과 密度를 調査하였다.

最適樹種 및 添加材 選拔

참나무外 活葉樹톱밥 6種, 낙엽송外 針葉樹톱밥 4種에 米糠, 밀기울, 麥酒粕을 각각 10, 20, 30%씩 混合하여 水分含量이 65%가 되도록 調節한 後 glass column(直徑 3 cm, 길이 20 cm) 70 ml volume에 톱밥을 50 g 넣어 bulk density 0.25(g/cc)가 되도록 均一하게 충전하였으며 殺菌 後 接種하여 colony 直徑과 密度를 調査하였다. 製造된 培地는 50 ml씩 250 ml 三角flask에 注入하여 121 $^{\circ}$ C에서 20分間 高壓殺菌한 다음 接種後 25 \pm 2 $^{\circ}$ C 恒溫機에서 20日間 定置培養한 다음 生長量을 測定하였다.

子實體 收量

참나무 톱밥外 5種의 톱밥에 米糠을 20%씩 混合, 水分을 65%로 調節後 1,800 cc 容積의 瓶에 톱밥을

Table 3. Mycelial growth of *F. fraxinea* at different temperatures and pH ranges (mg/20 days)

Temperature (°C)	pH				
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
15	28.3	44.2	74.1	60.1	70.0
20	110.2	135.4	143.2	146.7	130.4
25	143.6	160.8	199.1	147.2	150.3
30	149.2	168.5	199.2	197.9	197.6
35	108.4	133.1	147.5	141.4	128.5

*Medium: LB

충진하고 장수버섯균을 接種하여 25 \pm 2 $^{\circ}$ C 培養하여 培養完成日을 調査하였고 子實體 發生은 溫度 25 \pm 2 $^{\circ}$ C, 濕度 90% 條件에서 버섯을 發生시켜 發芽期間, 子實體 收量을 調査하였다.

結果 및 考察

優良培地の 選拔

菌絲生長은 CDA 培地에서 78 mm/10日로 가장 優秀하였고 다음은 LBA, Hamada, Czapek, YM 培地 順으로 良好하였으나, 菌絲密度는 7種의 培地 모두 比較的 良好하였다(Table 2).

培養溫度와 pH

Table 3에서와 같이 30 $^{\circ}$ C 範圍에서 199.2 mg/20日로 가장 良好하였으며 20 $^{\circ}$ C 以下 또는 35 $^{\circ}$ C 以上에서는 生長이 극히 低調하였다. 또한 培地の pH別 菌絲生長量은 pH 6.0에서 199.2 mg/20日로 가장 良好하였으며 溫度와 pH의 複合的인 菌絲生長을 보면 溫度別 菌絲生長 絕對量은 差異가 있으나 各 溫度 모두 pH 6.0에서 良好한 反面 pH 4.0에서 가장 低調하였다. 따라서 장수버섯의 菌絲生長 最適溫度는

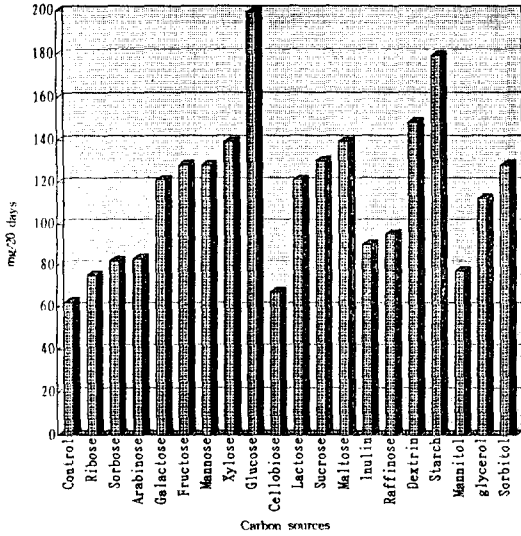


Fig. 1. The effect of carbon sources on mycelial growth of *F. fraxinea* in liquid culture.

25~30°C, pH는 6.0이었다.擔子菌類의 菌絲生長最適 pH範圍에 대하여 Wolpert(1924), 岩出等(1969)은 pH는 4.0~7.0이라고 報告한 바 있으나 이들이 報告한 範圍內에 包含되나 버섯종류별로는 最適 pH가 다름을 알 수 있었다.

菌絲生長의 營養源

炭素源 各種 炭素源이 菌絲生長에 미치는 影響은 單糖類에서는 glucose, 二糖類에서는 maltose, 多糖類에서는 soluble starch를 添加한 培地에서 良好하였고 이들 중 가장 良好한 것은 單糖類이면서 6炭糖인 glucose를 添加한 培地에서 菌絲生長量이 199 mg/20日로 가장 良好하였으며 환원당이면서 二糖類인 cellobiose를 添加한 培地에서 67 mg/20日로 가장 不振하였다(Fig. 1). 이러한 結果는 Kanayama (1984)等이 液體培地에서 30日間 교환하여 炭素源의 利用性을 調査한 結果에서 soluble starch, glucose 등을 가장 잘 利用한다는 報告와 一致하는 傾向이 었다.

窒素源 各種 窒素源이 장수버섯 菌絲生長에 미치는 影響을 調査한 結果 Fig. 2에서와 같이 amino acid類인 arginine을 添加한 培地에서 203 mg/20日로 菌絲生長이 가장 良好하였으며 無機態窒素源인 ammonium chloride를 添加한 培地에서 154 mg/20

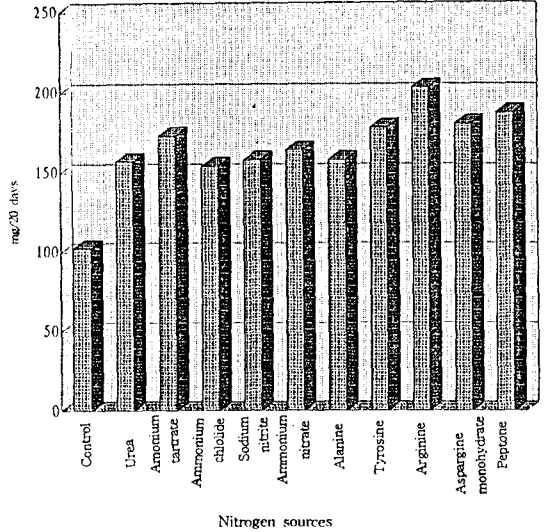


Fig. 2. The effect of nitrogen sources on mycelial growth of *F. fraxinea* in liquid culture.

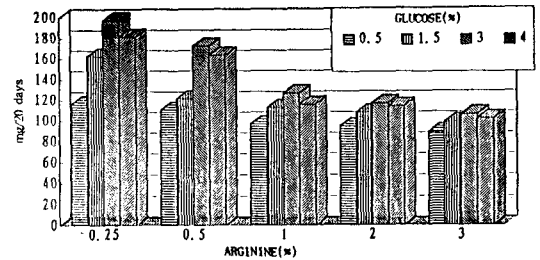


Fig. 3. The effect of glucose-arginine ratio on mycelial growth of *F. fraxinea* in liquid culture.

日로 가장 低調하였다. 有機態窒素源에서는 ammonium tartrate를 添加한 培地에서 173 mg/20日로 良好하였으며 urea를 添加한 培地에서 157 mg/20日로 低調하였다. 無機態窒素源과 有機態窒素源, amino acid類, 複合窒素源의 利用性을 比較하여 본 結果 이들간에는 큰 差異가 없었으나 對照區에 비하면 窒素源을 添加하였을 때 生長이 良好하였으며, 炭素源에서 더욱 顯著한 差異를 나타내었다.

C/N 含量比

장수버섯의 菌絲生長에 가장 適한 炭素源인 glucose와 窒素源인 arginine으로 含量을 달리하여 菌絲生長을 調査한 結果는 Fig. 3과 같다. Arginine 含量 0.25%와 glucose含量 3.0%에서 197 mg/20日로

가장 良好하였으며 이때 C/N 含量比가 12였고, 窒素源含量 3%와 炭素源含量 0.5%에서 88 mg/20日로 가장 低調한 바 C/N 含量比가 낮을수록 菌絲生長도 低調한 結果를 나타내었다(Fig. 3). 이것은 Kanayama(1983) 등이 擔子菌類에서 C/N比가 20이라고 報告하였으나 장수버섯은 이들이 報告한 内容보다 C/N比가 낮은 것으로 보아 窒素 要求量이 높은 것으로 判斷된다.

有機酸

基本培地에 炭素源으로 glucose 3%, 窒素源으로 arginine 0.25%를 添加하고 各種 有機酸을 0.1%씩 添加하여 菌絲生長量을 調査한 結果 Fig. 5와 같다. Acetic acid를 添加한 培地中 succinic acid를 添加하였을 때 197 mg/20日로 가장 良好하였으며 그 밖의 有機酸 添加區에서는 無處理와 差異가 없었다.

Vitamin

基本培地에 炭素源으로 glucose 3%, 窒素源으로 arginin 0.25%를 添加하고 各種 vitamin을 添加하여

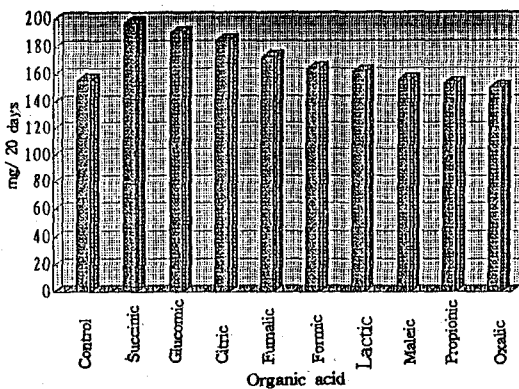


Fig. 4. Effect of organic acids on the mycelial growth of *F. fraxinea* in liquid culture.

菌絲生長量을 調査한 結果는 Fig. 5와 같다. Thiamine.HCl을 添加한 培地에서 菌絲生長은 278 mg/20日로 가장 良好하였으며 thiamine.HCl과 biotin을 添加한 培地외에는 無處理와 比較的 비슷한 傾向을 나타내었다.

톱밥培地의 水分含量

장수버섯 種菌製造時 톱밥培地의 水分含量을 달리하여 種菌을 製造한 結果 65%가 가장 適合하였으며 50% 以下와 70% 以上에서는 菌絲密度가 顯著히 낮았다(Table 4).

最適樹種 및 添加材 選拔

各種 樹木의 톱밥種類에 따른 장수버섯 菌絲生長의 影響을 究明하기 위하여 針葉樹 5種, 活葉樹 7種으로 톱밥을 製造한 後 水分含量이 65% 되도록 調節한 培地에서 菌絲生長과 密度를 調査한 結果 Table 5, 6과 같다.

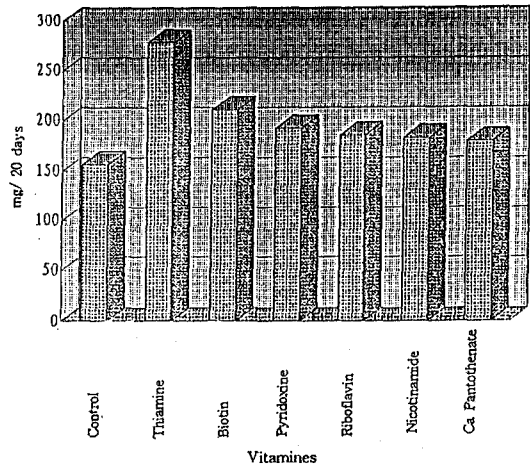


Fig. 5. Effect of vitamins on the mycelial growth of *F. fraxinea* in liquid culture.

Table 4. Effect of water contents on the mycelial growth and density of *F. fraxinea* in oak sawdust media

	Water content (%)								
	40	50	55	60	63	65	67	70	75
Growth (mm/10 days)	58	63	66	67	70	72	67	65	65
Density	+	+	++	++	+++	+++	+++	+	+

*Mycelial density; +: poor, ++: good, +++: excellent

活葉樹 톱밥培地에서의 菌絲生長과 密度는 添加材가 米糠일 경우 참나무 톱밥에서, 밀기울일 경우 오리나무와 사과나무 톱밥에서, 麥酒粕일 경우 아카시아나무 톱밥에서 菌絲生長과 密度가 가장 良好하였다.

針葉樹 톱밥培地에서의 菌絲生長은 添加材가 米糠일 경우는 미송과 전나무에서, 밀기울일 경우는 樹種에 따라 큰 差異가 없었으며, 麥酒粕일 경우 잣나무 톱밥이 良好하였다. 이 結果 톱밥種類에 따른 適正 添加材가 달랐다. 특히 擔子菌類는 아카시아나무

톱밥에서 菌絲生長이 不良하거나 不可能하나 이 菌은 아카시아나무 톱밥에 麥酒粕을 混合하였을 때 菌絲生長과 密度가 良好한 特徵을 가지고 있었다.

添加材의 最適量을 比較하여 보면 米糠 10% 添加에서 125 mm/10日로 菌絲生長이 가장 빨랐으나 添加量이 增加함에 따라 菌絲生長 速度는 느려지나 菌絲密度는 良好해졌다. 또한 各種 添加材 種類에 따라 最適 添加量이 달랐으며 菌絲生長 길이와 密度와도 一致하지 않았다. 따라서 菌絲生長 길이가 良好하면서 菌絲密度가 치밀한 特性이 있는 米糠

Table 5. Mycelial growth and density of *F. fraxinea* at different substrates of deciduous tree sawdust (mm/15 days)

Kinds of sawdust	Supplements	Supplements content (%)		
		10	20	30
Oak	Rice bran	125*(+**)	101(++)	104(+++)
	Wheat hull	111 (+)	96(+++)	96(+++)
	Beer waste	94 (++)	97(+++)	94(+++)
Alder	Rice bran	105 (+)	101(++)	95(++)
	Wheat hull	125 (+)	123(++)	108(++)
	Beer waste	125 (+)	125(++)	115(++)
Poplar	Rice bran	98 (++)	95(++)	89(++)
	Wheat hull	98 (++)	97(++)	95(+++)
	Beer waste	111 (++)	102(++)	102(+++)
Acacia	Rice bran	89 (+)	88(++)	72(++)
	Wheat hull	109 (++)	102(++)	96(++)
	Beer waste	122 (++)	112(++)	109(+++)
Apple	Rice bran	94 (+)	85(++)	73(++)
	Wheat hull	125 (+)	120(+)	120(++)
	Beer waste	124 (+)	121(++)	119(++)
Pear	Rice bran	110 (+)	103(++)	91(++)
	Wheat hull	98 (+)	96(++)	96(++)
	Beer waste	115 (+)	110(++)	110(+++)
Mulberry	Rice bran	97 (++)	97(++)	96(++)
	Wheat hull	97 (+)	96(++)	94(++)
	Beer waste	107 (+)	105(++)	104(+++)

*Mycelial growth

**Mycelial density; +: poor, ++: good, +++: excellent

Table 6. Mycelial growth and density of *F. fraxinea* at different substrates of coniferous tree sawdust (mm/15 days)

Kinds of sawdust	Supplements	Supplements content (%)		
		10	20	30
Douglas fir	Rice bran	123*(+**)	115(+)	109(++)
	Wheat hull	125 (+)	113(++)	105(++)
	Beer waste	120 (++)	117(++)	115(++)
Pinus (rigida)	Rice bran	109 (+)	97(++)	88(++)
	Wheat hull	118 (+)	105(+)	102(++)
	Beer waste	117 (+)	110(+)	103(++)
Abies	Rice bran	121 (+)	108(++)	105(++)
	Wheat hull	125 (+)	116(+)	102(++)
	Beer waste	125 (+)	117(+)	116(++)
Taxodium	Rice bran	108 (+)	106(++)	102(++)
	Wheat hull	115 (+)	115(++)	106(++)
	Beer waste	115 (+)	114(++)	114(++)
Cone pine	Rice bran	97 (+)	92(++)	86(++)
	Wheat hull	110 (+)	108(++)	91(++)
	Beer waste	115 (+)	111(++)	94(++)

*Mycelial growth

**Mycelial density; +: poor, ++: good, +++: excellent

Table 7. The fruiting body yields of *F. fraxinea* at different sawdust media

Kinds of sawdust	Days of full mycelial growth	Days of primordium formation	Days of cap formation	Yield (g/bottle)
Oak	36	2	22	132
Acacia	40	4	25	122
Apple	35	3	22	119
Pine	39	3	24	117
Mulberry	35	3	22	112
Alder	35	3	23	101

*Each sawdust 80%+rice bran 20% Yields; fresh weight per 1800 cc bottle

20%의 添加가 適合하다고 判斷되었다.

톱밥培地의 子實體 收量

장수버섯의 톱밥人工栽培를 하여 얻어진 收量은 Table 7과 같다. 培養完成期間은 오리나무, 사과나무, 뽕나무가 35日로 比較的 빨랐으며 다음은 참나무, 미송, 아카시나무 톱밥의 順이었다. 원기형성은 2~4日 所要되었으며 갓 형성 所要期間은 22~25日 程度이다. 子實體 收量은 참나무 톱밥에서 132 g/瓶으로 가장 많았으며 다음은 아카시나무, 사과나무, 미송, 뽕나무, 오리나무 톱밥 順으로 많았다. 一般的으로 擔子菌類는 아카시나무에서 菌絲生長과 버섯 發生이 不良하지만 장수버섯은 아카시톱밥에서 收量이 높은 것은 野生되는 寄主가 아카시나무인데

起因된다고 判斷된다.

摘 要

장수버섯의 培養의 特徵 및 人工栽培 可能性에 대하여 檢討한 結果 菌絲生長이 가장 優秀한 培地는 CDA培地였으며, 最適溫度는 30℃, pH는 6.0이었다. 炭素源은 單糖類인 glucose를 添加한 培地에서 가장 優秀하였고, cellobiose를 添加한 培地에서 가장 低調하였다. 窒素源은 arginine을 添加한 培地에서 가장 良好하였으며 C/N 添加比는 glucose 3%, arginine 0.25%인 C/N比 12에서 가장 適合했다. 有機酸은 succinic acid, vitamin은 thiamine을 添加한 培地에서 가장 良好하였다. 人工栽培를 위한 種菌 製造時 가장 適合한 것은 참나무 톱밥에 添加材로 米糠을 20% 添加한 培地이었으며, 톱밥栽培時 收量은 참나무, 아카시나무 順으로 높았다.

感謝의 말씀

本 研究는 科學技術處 先導技術開發事業費의 支援에 의하여 遂行된 結果의 一部로서 이를 遂行할 수 있도록 支援하여 주신 것에 感謝의 글월을 드립니다.

參考文獻

- Cappuccino, J.G. 1982. Microbiology, a laboratory manual. Addison-Wesley Publishing Co. California. 215-216.
- Kanayama, H., Adachi, No and Togami, Mo 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of poria cocos Wolf. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 1115-1118.
- Kang I.T. 1994. Name enumeration of Korea mushroom. p. 14.
- Lewis, R.W. 1952. The vitamin nutrition of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 42: 657-659.
- Lilly, V.G. and Barnett, H.L. 1951. Physiology of the fungi. McGraw-Hill. New York.
- Michael O. Garraway and Robert C. Evans. 1984. Fungal nutrition and physiology. A Wiley-Interscience Publication 78-80.
- 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.
- 金倬熙, 李敏雄, 李榮俊. 1968. 人蔘斑點病에 關한 營養生理的 研究. 東國大論文集 5: 613-625.
- 水野 卓, 川合正允. 1992. きのこの化學. 學會出版センター. 東京日本. 315-354.
- 岩出亥之助. 1969. きのこの培養法. 地球出版社. 日本. 343-350.