

민자주방망이버섯 (*Lepista nuda*)의 톱밥배양

이상선 · 최경진 · 오창호
한국교원대학교, 대학원 생물교육학과

Sawdust cultures of *Lepista nuda*

Lee Sang-Sun, Choi Kyoung-Jin and Oh Chang-Ho

Professor and Graduate students, Department of Biological Science and Education
at the Graduate School, Korean National University of Education, Chung Won
Kun, Chung Puk, 363-791, and Professor, Department of Chemistry,
Campus of Kyoungju, Dongguk University, Republic of Korea.

ABSTRACT: An isolate of *Lepista nuda* was cultivated on the solid media consisted of various cereal grains or those of the acacia sawdust mixed with other cereal grains. The mycelia grew well on the solid cultures made from millet cereals, but did not on those from sorghum or corn cereals. Thus, the millet and the acacia sawdust, as the solid media, were employed for the next experiments related to mycelial growths. For growth of this isolate, it was shown that the nitrogen source is needed for those of millet. Also, the rice bran or minerals were considered to be needed for the acacia sawdust. As minerals, however, the rice bran is shown as the best additive in the solid cultures of the acacia sawdust. The mycelia of *L. nuda* were cultivated directly through the solid cultures. Their growths were measured by the production of carbon dioxide with gas chromatography.

KEYWORDS: Additives, *Lepista nuda*, Minerals, Millet, Physiology, sawdust

최근, 우리나라의 버섯 생산은 중국에서 수입되는 값싼 버섯 때문에 큰 혼란을 겪고 있다. 버섯의 재배는 톱밥이나 농산 부산물을 이용하여 산업화되고 있으며, 우리나라에서는 표고와 느타리가 주로 이러한 방법으로 생산되고 있다. 표고는 과거의 참나무 원목재배에서 톱밥재배로 전환되고 있는데, 이는 원료 나무의 수급과 함께 버섯 생산성에 대한 문제에 의한 것으로 생각된다. 느타리버섯의 재배는 벚짚을 이용한 버섯생산에서 폐면 및 기타 다양한 농산 부산물을 이용하여 생산하고 있다. 특히, 느타리버섯의 새로운 재배법 개발에 대한 연구로는 배지량 및 종균 재식량이 자실체 수량에 미치는 영향(Park *et al.*, 1978)과 벚짚과 톱밥 배지에서 배양조건(Hong, 1978) 등이 있다. 그 외의 연구로 벚짚을 이

용한 사철 느타리버섯의 배지 제조 및 종균재식에 관한 연구(Go *et al.*, 1981)와 재배에 관한 연구(Hong *et al.*, 1984)에서 균사 생육과 자실체 형성에 미치는 배양조건을 밝히고 있다. 이러한 모든 사항들은 버섯생산과 관련된 원활한 원료물질의 공급이 중요하다는 것을 의미하고 있다.

*Lepista nuda*는 송이과의 버섯으로 맛과 향에서 뛰어나며, 특히 특징적인 연보라색으로 많은 사람들의 관심을 모으고 있다. 또한, 새로운 버섯으로 외국에서는 많은 연구가 진행되었으나, 아직 실용화에 대한 것은 극히 미약하다고 하겠다. *L. nuda*의 영양조건과 자실체 형성(Wright & Heyes, 1978) 및 분리균 사이의 교배에 의해 생장(Fritsche & Loon, 1989)에 대한 연구가 있으나, 다른 버섯재배에 비해 알려진 것이 적다. 위의 연구에서는 *L. nuda*는 여러 가지 생리적 조건에서 양송이와 비슷

*Corresponding author

하고, 비교적 낮은 온도를 요구하고 균사의 성장속도가 느린 편으로 알려졌다. 우리 나라에서는 현재 *L. nuda*에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 버섯이 새로운 기호 식품으로 각광을 받고 있는 지금 새로운 식용버섯의 인공재배 가능성 검토라는 측면에서 *L. nuda*의 균사생장 최적조건, 영양 요구주를 밝히는 것은 중요한 일이라 하겠다. 이에 본 연구에서는 이를 재배하기 위한 방안으로 아직까지 사용되지 않은 입산 부산물인 아까시나무 톱밥을 이용하였으며, 이에 따른 버섯재배에 대한 기초 생리조사를 하였다. 이 결과로 여러 가지 곡물과 톱밥을 이용한 고형 배양하였으며, 이들의 결과를 탄산가스 발생량을 측정함으로써 생장조건을 파악하였다.

재료 및 방법

균 주

민자주방망이버섯 (*L. nuda*)은 충북 청원군 교원대 주변의 아까시나무 림 혹은 아까시나무-상수리나무 혼류림에서 흔히 발견되는 버섯이다(Lee et al., 1995). 본 실험을 위하여서는 농업기술연구소의 응용미생물과로부터 분양 받은 *L. nuda* ASI 27004를 사용하였다.

생장곡선

조(*Setaria italica*), 수수(*Sorghum bicolor*) 및 옥수수(*Zea mays*)는 1993년도 경북 점촌시에서 구입하였으며, 각각의 곡물들(whole grain)은 다른 처리 없이, 아래의 첨가물을 이용하여 수분함량을 맞춘 후에 실험하였다. 아까시나무(*Robinia pseudo-acacia*) 톱밥은 충북 청원군 교원대 주변으로부터 채집 후, 직접 톱밥(C/N = 165; AOAC 방법과 semi-micro Kjeldal methods로 분석함)으로 만들어 사용하였다. 위에서 언급된 곡물과 아까시나무 톱밥은 수분함량을 약 70%가 되게 한 후, 각각 30g 씩 250 ml 삼각플라스크에 넣고, 121°C, 1.5 기압에서, 곡류는 15분간 혹은 톱밥류는 60분간 고온 고압 멸균하였다. 민자주방망이버섯(*L. nuda*) 균사를 Malt extract agar (MEA: 2% Malt extract) 배지에서 7~14일간 배양시킨 후 위에서 언급된 고형물을 넣은 삼각플라스크에 접종시켜 20°C에서

배양하면서, 시간에 따른 균생장량을 250 ml 플라스크 당 혹은 30 gm의 고형배지 당으로 CO₂ 생성량을 Gas Chromatography로 측정하여 균 생장 곡선을 그렸다(Lee, 1991).

첨가물

고형배지에서 균사의 배양에 사용된 아까시나무 톱밥과 조는 생리실험을 위하여, 무기물 영양원을 첨가하여 실험하였다. 첨가물로 사용된 무기물 영양원은 2.0 gm MgSO₄·7H₂O, 4.0 gm K₂HPO₄, 0.6 gm KH₂PO₄, 4.0 gm CaCO₃·2H₂O, 4.0 gm (NH₄)₂SO₄ 및 0.04 mg Thiamine HCl을 혼합하여 1 L 용액을 만들었다. 이렇게 만들어진 용액(Mineral)를 30 g 고체배지에 48 ml 씩 혼합하여, 버섯 재배에서 만들어지는 중균용 톱밥배지형으로 만들어 버섯균을 배양시켰다. 질소원으로 Ammonium sulfate 대신에 Difco peptone 와 Difco yeast extract 를 각각 1 gm/flask 씩 사용하였으며, 위에서 언급된 Mineral 용액과 함께 첨가하였다. 또한, 버섯 배지에서 전통적으로 사용하는 미강(Rice bran)을 질소원과 같은 비율로 첨가하였다. 각각 첨가된 고형배지에 균사의 성장은 탄산가스 발생을 측정하여 균사의 성장으로 간주하였다(Lee et al., 1991; 1995).

결 과

균생장

고형배지에서 배양기간에 따른 균사 생장량의 변

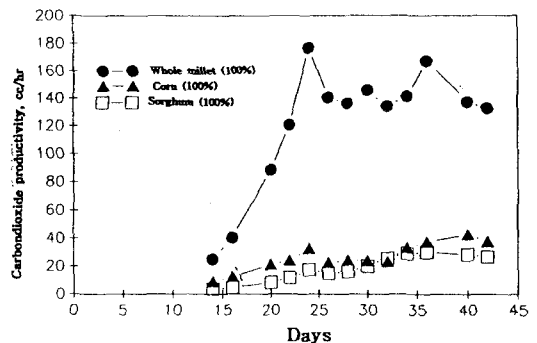


Fig. 1. Productions of carbon dioxide by *Lepista nuda* on the various solid cultures of cerealgrains.

화를 탄산가스 방출로 조사하였다(Figs. 1 & 2). 멸균된 옥수수, 조 및 수수의 고품배지에 시간별 균사의 성장을 관찰한 것으로, 탄산가스 발생률을 시간 단위로 측정하였다. 고품배지에서 민자주방망이버섯(*L. nuda*)의 균사 생은 조에서 잘 일어났으나, 옥수수나 수수에는 낮게 일어났다(Fig. 1). 고품배지에서 균사의 생장이 15일 이후로 탄산가스 생성은 서서히 증가하였다. 특히, 조에서 그 생장이 급격하게 일어났으나, 24일 이후는 완만한 곡선을 이루었다(Fig. 1). 여기서 균사가 잘 자라는 곡물인 조를 선택하여 아카시나무와 혼합하여(조, 조와 아카시나무 톱밥혼합(1:1 w/w), 및 톱밥), 균사의 성장을 관찰하였다(Fig. 2). 각각의 아카시나무 톱밥 혼합물에 따른 균사의 성장으로 시간별 균사의 탄산가스

생성을 관찰하였다. 곡류인 조에서는 10일까지 균사가 완만히 성장하다가, 15일 이후에는 급격하게 생장이 일어났으나, 28일 이후는 균사의 생장은 서서히 내려가고 있다. 그러나, 아카시나무 톱밥과 곡류인 조 혼합물에서는 40일까지 균사의 생장이 서서히 일어났다. 여기서, 나타난 세 가지의 고품배지의 결과를 본다면, 곡물인 조를 첨가하였을 때가 높은 탄산가스를 방출하고, 또 빠른 시간에 균의 생장이 나타났다. 이러한 실험 결과 균사의 성장에는 곡물인 조가 첨가됨에 균사의 탄산가스 방출량이 증가하는 것을 관찰하였으며, 균사의 성장에는 곡물인 조가 아카시나무 톱밥보다 더 효율적으로 탄산가스를 방출하는 것이 관찰되었다.

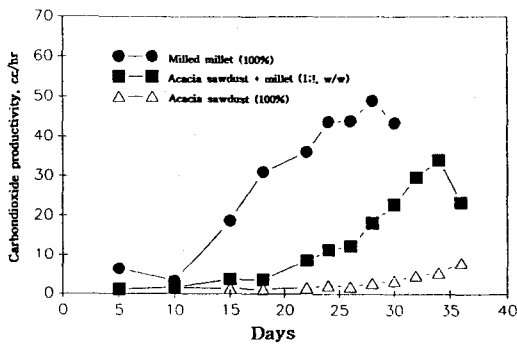


Fig. 2. Productions of carbon dioxide by *Lepista nuda* on the various solid cultures of the acacia sawdusts with some additives.

은 도

아카시나무 톱밥 배지 위에서의 균사생장에 대한

Table 1. Carbon dioxide productions of *Lepista nuda* on the different temperature in solid cultures of sawdust(*Robinia pseudoacacia*) for 24 days.

Temperature (°C)	CO ₂ productivity, cc/hr
15	3.5±0.4 ^a
20	9.1±1.8
25	9.8±0.9
30	1.4±0.2

^aaverage value and its standard deviation from triple replicates

Table 2. Carbon dioxide productions of *Lepista nuda* on the different additives in solid cultures of Millets for 24 days at 25°C.

Additives ^a	CO ₂ productivity, cc/hr
Millet	16.7±1.5 ^b
Millet + Ammonium sulfate	20.8±0.3
Millet + Ammonium sulfate + Glucose	29.9±3.0
Millet + Ammonium sulfate + Mineral	14.4±0.2
Millet + Rice bran	24.6±2.0
Millet + Rice bran + Mineral	24.8±2.2
Millet + Yeast extract	22.2±2.8
Millet + Yeast extract + Glucose	18.3±1.5
Millet + Yeast extract + Mineral	13.8±1.2
Millet + Peptone	21.7±2.1
Millet + Peptone + Glucose	31.9±4.4

^aThe recipes of the components employed were represented in Materials and Methods.

^baverage value and its standard deviation from triple replicates.

온도의 영향을 조사하였다(Table-1). 이때의 균사의 성장은(Fig. 1)에 나타난 것과 같이 24 일째의 탄산가스 발생량(cc/hr)으로 측정하였다. 톱밥배지 상에서 균사생장에 25°C 에서 탄산가스 생산량이 최대로 나타났으며, 높은 온도인 30°C 에서는 거의 성장하지 않았다. 이러한 실험 결과 균사의 최적 배양온도로 25°C로 고정하여 다음 곡물인 조와 아까시나무 톱밥 배지에 필요한 무기 영양원을 측정하였다.

첨가물

고체배지 위에서의 질소원, 탄소원, 무기염류의 첨가가 균사생장에 미치는 영향을 알아보기 위해, 곡물인 조(Table 2)와 아까시나무 톱밥(Table 3)에 각각의 무기염류 혹은 유기물 영양원을 첨가하였다. 질소원으로 Ammonium sulfate, Peptone, Yeast extract 및 미강(Rice bran)과 탄소원으로 포도당을 첨가하여 실험을 하였다. 균사에 의한 탄산가스 발생률은 24일간 배양한 것을 측정하였다(Tables 2 & 3). 곡물인 조는 원래 곡물로서 균사의 성장은 톱밥에 비하여 높게 나타났다. 같은 아까시나무 톱밥에서 균사에 의한 탄산가스 발생량은 실험 할 때마다 야간의 차이가 있는 것이 관찰되었다(Fig. 2 & Tables 1, 3).

곡물인 조에서는 질소원만을 첨가했을 때는 성장이 높아졌으나, 질소원인 Ammonium sulfate 와 Yeast extract에 무기염류를 같이 첨가했을 때는 오히려 낮게 나타났다(Table 3). 곡물인 조에서는

질소원으로 Peptone의 첨가가 다른 것보다 탄산가스 생산이 높았으며, 그 다음으로는 미강과 Yeast extract 의 순으로 나타났다. 여기서 곡물인 조에 질소원으로 무기질소와 비교했을 때, 미강 Yeast extract 및 Peptone의 단백질에서 균사의 성장은 차이가 없었다. 특이한 것은 무기금속 영양원으로 무기염류의 첨가는 오히려 감소하였다. 이는 아까시나무 톱밥에 균사 성장과는 상반되는 내용이다.

아까시나무 톱밥배지 위에서 질소원으로서의 Ammonium sulfate 를 첨가했을 때, CO₂ 생성량은 3.1 cc/hr로 Ammonium sulfate를 첨가하지 않았을 때 보다 균사생장을 저해하는 결과를 보였다. 그러나, 무기염류를 첨가했을 때는 균사의 생장이 높게 나타났다. 반면, Yeast extract와 Peptone은 CO₂ 생성량이 각각 9.6 cc/hr, 8.6 cc/hr로 균사생장을 미약하나마 증가시켰고, 미강의 첨가는 27.8 cc/hr로 균사생장을 크게 증가시키는 것으로 나타났다(Table 3). 톱밥배지에서 포도당의 첨가가 균사생장에 미치는 영향을 알아본 결과는 다음과 같다. Ammonium sulfate를 질소원으로 하는 배지에서의 포도당 첨가는 CO₂ 생성량이 2.2 cc/hr로 포도당을 첨가하지 않았을 때 보다 균사생장이 저하되었다(Table 3). 또한, Yeast extract와 Peptone을 질소원으로 하는 배지에서도 이산화탄소의 생성량은 각각 3.6 cc/hr, 2.0 cc/hr로 오히려 균사생장을 저해하는 것으로 나타났다. 아까시나무 톱밥배

Table 3. Carbon dioxide productions of *Lepista nuda* on the different additives in solid cultures of sawdust (*Robinia pseudoacacia*) for 24 days at 25°C.

Additives ^a	CO ₂ productivity, cc/hr
Sawdust	5.4±.8 ^b
Sawdust + Ammonium sulfate	3.1±.0
Sawdust + Ammonium sulfate + Glucose	2.2±1.0
Sawdust + Ammonium sulfate + Mineral	13.6±6.0
Sawdust + Rice bran	27.8±2.3
Sawdust + Rice bran + Glucose	21.5±3.0
Sawdust + Rice bran + Mineral	9.6±.7
Sawdust + Yeast extract	3.6±.4
Sawdust + Yeast extract + Mineral	10.4±1.8
Sawdust + Peptone	8.6±1.3
Sawdust + Peptone + Glucose	2.0±1.2

^aThe recipes of the components employed were represented in Materials and Methods.

^bAverage value and its standard deviation from triple replicates.

지에서 무기염류의 첨가가 균사생장에 미치는 영향은 *Ammonium sulfate*를 질소원으로 하는 배지에서의 CO_2 생성량은 13.6 cc/hr로 균사생장을 증가시키는 것으로 나타났다(Table 3). 아까시나무 톱밥에서는 이균 균사의 성장에 필요한 금속이온들이 부족한 것으로, 그러나 곡물인 조에는 많아서 저해 작용을 하는 것으로 나타났다. 아까시나무 톱밥에서 유기물 첨가에서는 미강이 가장 균사 생장에 좋은 것으로 나타났다.

고 찰

현재, 균의 성장으로 탄산가스 생산으로 대별하였다; 이는 톱밥고형배지에서 균사체를 분리하여 건중 혹은 생체무게를 구하기가 어려운 상태에서 탄산가스 생산은 균의 생장의 지표로 생각하여 사용하였다(Lee, 1991; Lee & Choi, 1995). 톱밥배지 상에서 균사생장에 적합한 온도는 25°C 였다. 균사최적 온도는 25°C 였으며 20°C 에서도 좋은 균사생장을 보이는 것으로 나타났다(Table 1). 톱밥배지에서의 표고버섯(*L. edodes*)의 균사생장 온도에 관한 실험에서 가장 적합한 온도는 20~25°C라는 보고와 일치하는 결과를 보이고 있다(Kim *et al.*, 1987). 버섯의 톱밥재배에서 미강의 효과는 이미 여러 실험들에서 밝혀졌으며, 미강은 톱밥배지에서 종균배양에 가장 많이 사용되는데 역할은 전분, 질소, 유기영양분, 및 금속 영양분으로 사용되고 있는 것이 알려졌다(Hong *et al.*, 1990, 1981, 1984). 또한 다른 실험에서는 다른 미생물들의 침입을 막아주는 역할을 함으로 균사 생장을 돕는다고 보고되었다(Lee, 1991). 아까시아 톱밥을 사용하였을 때는 탄소원으로서의 포도당의 첨가는 오히려 균사생장에 저해효과를 주거나, 균의 성장속도를 늦추는 것으로 나타났다(Tables 2 & 3). 이런 결과는 Lee(1991)가 톱밥배지에서 포도당 첨가가 표고버섯의 균사생장에 미치는 영향을 검토한 실험결과 오히려 균사생장을 저해하는 요인으로 작용하였다고 보고한 것과 일치하였다.

여기서, 무기금속 영양원로서 사용된 무기염류는 일반적인 균의 액체배양에 주성분으로 사용된 것으로 농도를 4배 가량하여 직접 고형 배양에 사용하

결과이다. 무기금속의 첨가는 균사생장을 촉진시키고 있으나 미강만을 첨가한 것보다는 뚜렷한 효과는 없었다. 무기염류의 효과가 *Ammonium sulfate*를 질소원으로 포함한 배지에서는 균생장에 크게 영향을 주었지만 미강과 *Yeast extract*를 질소원으로 혼합된 배지에서는 영향을 거의 미치지 못하거나 오히려 저해하는 결과를 낳았다(Tables 2, 3). 이러한 결과는 이미 미강과 *Yeast extract*에 균생장에 충분한 무기염류가 포함되어있기 때문인 것으로 생각된다(Lee, 1991). 그러므로, 고형 배양에서 무기염류의 첨가는 오히려 균생장을 저해하는 결과를 가져온 것으로 생각되어진다. 이러한 것은 다른 곡물 류에 대한 것으로 무기 금속 영양원에 대한 것으로 미강을 혼합할 때는 생각하여야 할 문제이고, 톱밥배지만 사용 할 때는 반드시 첨가되어야 하는 것으로 생각된다.

현재, 우리나라에서는 버섯 종균제조, 혹은 버섯 병체배에는 톱밥과 미강을 사용하고 이에 따른 균사의 성장을 유도하는 실험으로 많이 진행되어, 버섯 제배에서 미강은 필요성은 다른 톱밥의 중요성보다 경제적 혹은 제배적인 면에 중요한 구실을 하고 있다. 그러나, 톱밥 배지에서 미강의 사용은 일시적인 편리에 의해 사용되는 경우가 더욱 많으나, 많은 문제점을 포함하고 있는 것으로 생각된다; 우선 미강은 톱밥에 비해 상당히 비싸고, 많은 다른 균에 대한 오염 문제를 야기시키는 것으로 생각된다. 또한, 버섯 균의 성장에 대한 기초 생리에 대한 것을 파악할 수가 없다. 현재, 버섯 재배에서 톱밥에 의하여 버섯이 생산되는 것인 아니면 미강에 의하여 버섯이 생산되는 것인지 아직도 파악되지 않는 상태이다. 여기에서 실험에서는, 가능하면, 값비싼 미강을 제거한 상태에서 버섯 재배에 대한 것을 연구하는 기초적인 실험이다.

적 요

민자주방망이버섯(*Lepista nuda*)의 분리균을 여러가지 곡물에서 키운 결과, 조에서는 잘 자랐으나, 수수에서는 잘 자라지 않았다. 이들중에서 조를 선택하여, 여러가지 유기물 혹은 금속 첨가물을 첨가한 실험 결과 조배지에서는 질소 성분이 필요하

는 것이 밝혀졌다. 이와 반면에 우리 주변에 흔히 있는 아카시나무 톱밥을 이용한 배지에서는 질소성분과 무기염류의 효과가 여러 가지로 나타났다. 그러나 유기물로서는 흔히 사용되는 미강이 가장 좋은 첨가물로 밝혀졌다. 여기서의 연구는 고형배양을 통하여 직접 균사를 배양하였기 때문에 그 의의가 크다고 하겠다.

참고문헌

- Go, S.J., Park, Y.H. and Cha, D.Y. 1981. Studies on the artificial substrates with rice straw and the spawning for *Pleurotus florida* in Korea. *Kor. J. Mycol.* 9: 67-72.
- Hong, J.S. 1978. Studies on the physio-chemical properties and the cultivation of oyster mushroom(*Pleurotus ostreatus*) *J. Kor. Agri. Chem. Soc.* 21: 150-184.
- Hong, J.S., Lee, K.S. and Choi, D.S. 1981. Studies on Basidiomycetes(I) On the growth of *Agaricus bitorquis* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* 9: 19-24.
- Hong, J.S., Park, Y.H., Jung, G.T. and Kim, M.K. 1984. Studies on cultivation of *Pleurotus sajor-caju*. *Kor. J. Mycol.* 12: 93-98.
- Hong, J.S., Kim, M.K., So, G.H. and Kim, Y. H. 1990. Studies on the mycelial cultivation and the rhizomorph production of *Armillaria mellea*. *Kor. J. Mycol.* 18: 149-157.
- Kim, H.K., Park, Y.H., Cha, D.Y. and Chung, H.C. 1987. Studies on the artificial cultivation of *Lentinus edodes* on sawdust media. *Kor. J. Mycol.* 15: 42-47.
- Lee, S.S. 1991. The role of the rice bran employed in the traditional spawn sawdust medium. *Kor. J. Mycol.* 19: 47-53.
- Lee, S.S., and Choi, K.J. 1995. Solid-culture of *Lepista nuda*. *Kor. J. Mycol.* 23: 105-113.
- Park, Y.H., Kim, Y.S. and Cha, D.Y. 1978. Investigation on artificial culture for new edible wild mushrooms. *Kor. J. Mycol.* 6: 25-28.
- Wright, S.H. and Hayes, W.A. 1978. Nutrition and fruitbody formation of *Lepista nuda*(Bull. Ex. Fr.) Cook. *Mushroom Science* X 873-884.