

반응표면방법에 의한 *Phellinus* sp. 고체배양의 최적화

강태수* · 강안석 · 손형락 · 강미선 · 임양이¹ · 이신영² · 정성모

강원도 농촌진흥원

¹성신여자대학교 식품영양학과

²강원대학교 환경·생물공학부

³연세대학교 생물산업소재 연구센터

Optimization for Solid Culture of *Phellinus* sp. by Response Surface Methodology

Tae-Su Kang*, An-Seok Kang, Hyung-Rac Sohn, Mi-Sun Kang,
Yaung-Iee Lim¹, Shin-Young Lee² and Sung-Mo Jung

Kangwon Provincial Rural Development Administration, Chunchon 200-150,

¹Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 136-742,

²Division of Environmental and Biological Engineering, Kangwon National University,
Chunchon 200-701,

³Bioproduct Research Center of Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to obtain the basic data for an artificial cultivation of *Phellinus* sp.. The optimum conditions for the mycelial growth on the different sawdusts (*Quercus aliena*, *Morus alba* and *Alnus japonica*) substrate of an isolated *Phellinus* sp. were optimized by response surface methodology. The ratio of rice bran addition to sawdust and the suitable moisture content for the mycelial growth in the all sawdust media were about 30% (w/w) and 65~70% (w/v), respectively. The initial pHs for the mycelial growth of *Quercus aliena* and *Morus alba* were in the range of pH 5~6, whereas *Alnus japonica* was obtained at pH 6. The optimum temperature for the mycelial growth was about 25~30°C, depending on the different kinds of wood substrates. From the response surface analysis, the values of independent variables of *Quercus aliena* at stationary points were determined to be 31.01% (w/w) of rice bran, pH of 5.31 and 69.03% (w/v) of moisture content, and the expected value of mycelial growth was about 8.32 cm. Both the ratio of rice bran addition to sawdust (X_1) and moisture content (X_2) were effective to the mycelial growth. In the case of *Morus alba*, the ratio of rice bran addition to sawdust, initial pH and moisture content at the stationary points were 28.77% (w/w), 5.28 and 69.8 (w/v), respectively, and the expected mycelial growth of 7.60 cm was obtained. Stationary points for the mycelial growth in the sawdust media of *Alnus japonica* were 28.74% (w/w) of rice bran, pH of 6.04 and 66.96% (w/v) of moisture content, and the expected values of mycelial growth was about 5.38 cm. Based on the above results, there was correlations between the mycelial growth and independent variables, and the effect of rice bran (X_1) and initial pH (X_2) for the mycelial growth were higher than the moisture content (X_3). The optimum species of sawdust media for the mycelial growth of *Phellinus* sp. was in the order of *Quercus aliena* > *Morus alba* > *Alnus japonica*.

KEYWORDS: *Phellinus* sp., Mycelial growth, Sawdust media, Response surface methodology

진흙버섯속(*Phellinus* sp.)의 버섯류들은 뽕나무와 같은 활엽수의 고사목에서 자생하는 다년생(perennial)버섯으로, 자실체가 대가 형성되지 않는,

백색부후균(white rotting fungi)에 속한다. 전 세계적으로 변종을 포함하여 154종 이상이 서식하고 있으며(Larsen and Cobb-Pouille, 1990), 상황(桑黃)버섯이라는 명칭으로 더 잘 알려져 있다.

이들중 말뚝진흙버섯(*Phellinus igniarius*)은 항

*Corresponding author

암, 대하증 및 이질 등에 효과가 있으며(Shibata 등, 1968; 중국본초도감, 1994), 목질진흠버섯인 *Phellinus linteus*의 자실체 열수추출물은 소화기 계통의 암에 매우 강력한 저지율을 나타냄(Ikekawa 등, 1968년)이 알려져 있다. 그 밖에도 진흠버섯류들은 혈액 순환, 위기능 강화 및 소화촉진, 빈혈방지 및 해열 등 많은 생리효과를 가지고 있으며(Jianzhe 등, 1987), 장기간 복용하여도 부작용이 거의 없으므로(Jong 등, 1991) 근래에는 건강식품이나 의약품소재로서 크게 주목받고 있다(Chihara 등, 1970; Hirase 등, 1976; Komatsu 등, 1963).

그러나 국내의 경우, 진흠버섯은 다른 버섯들과는 달리 자연계 분포율이 낮으며, 개체수도 적어서 천연의 자실체를 구하기는 매우 어려운 실정이다. 따라서 이 진흠버섯의 인공재배에 대한 많은 연구가 진행되고는 있으나 성공한 사례가 거의 없으며, 일부의 인공재배에 성공한 결과에 대해서도 자실체의 진위여부에 대한 논란이 많은 상태이다.

일반적으로 버섯의 생활사는 영양생장단계(vegetative stage)와 생식생장단계(reproductive stage)로 구분할 수 있다(Chang and Miles, 1989). 버섯의 단포자가 발아하여 1차 균사(primary mycelium)로 되고, 이 1차균사가 화합성인 다른 균사를 만나 융합(hyphal fusion)되어 2차균사(secondary mycelium)가 된다. 2차균사는 2핵상태를 유지하며 핵분열이 일어나 clamp connection을 형성하여 성장하는데 이러한 균사의 생육시기를 영양생장 단계라 한다. 반면, 생식생장 단계는 2핵 균사로부터 어린버섯(young body, pinhead)이 기주에 발생하여 성숙한 버섯(fruitbody)으로 성장하는 단계이다. 이 두 단계의 전환점은 균사 성장에서 어린버섯이 발생하는 발이(fructification)단계로서, 발이의 조건은 우선적으로 균사체가 충분히 축적되어야 하며, 빛, 통기, 온도 및 습도 등의 외부 환경을 적당히 자극하여 줄때, 비로소 어린버섯은 형성된다(Chang and Miles, 1989). 따라서 버섯을 발생시키기 위해서는 영양생장단계에서 고농도의 균사체를 배양, 축적시키는 것이 가장 중요하다.

그러므로 본 연구에서는 진흠버섯 자실체의 인공재배를 위한 기초 연구로서 전보(강 등, 1997)에서 분리한 진흠버섯속의 균을 이용하여 참나무

(*Quercus aliena*), 뽕나무(*Morus alba*) 및 오리나무(*Alnus japonica*) 톱밥배지에서의 최적 균사생육조건을 반응표면분석(RSM; response surface analysis)으로 조사하였으며, 이 결과를 진흠버섯의 자실체 생산을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

균 주

본 실험에서 사용한 균주는 전보(강 등, 1997)에서 보고한 진흠버섯 자실체로부터 조직분리한 *Phellinus sp.*의 한종으로, PDA(potato dextrose agar) 사면배지(potato 200 g/L, glucose 20 g/L, agar 15 g/L)에서 계대배양하여, 4°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

종균 배양

종균배양용 배지는 전보(강 등, 1997)의 결과로부터 얻은 *Phellinus sp.* 균사체의 액체배양용 최적배지(glucose 12.12 g/L, sucrose 12.12 g/L, yeast extract 11.15 g/L, malt extract 11.15 g/L, KH_2PO_4 0.855 g/L, CaCl_2 0.855 g/L, pH 6)를 사용하였다. PDA plate에서 생육한 *Phellinus sp.* 균사체를 cork borer (ϕ 5 mm)로 절취한 다음, 이 균사체 4~5개를 종균배양용배지 50 mL가 함유된 250 mL의 삼각플라스크에 접종하고, 배양온도 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 150 rpm의 교반속도로 10일간 회전 진탕배양하였다. 배양이 완료된 배양액은 균질기(동양(주), model 0820)에서 5,000 rpm으로 1~2분간 무균적으로 균질화한 다음, 종균액으로 사용하였다.

톱밥배지의 조제 및 배양

*Phellinus sp.*의 톱밥배지조제를 위한 톱밥수종은 참나무(*Quercus aliena*), 뽕나무(*Morus alba*) 및 오리나무(*Alnus japonica*)의 활엽수톱밥 3종으로, 톱밥은 3~5 mm의 sieve를 통과시킨 후 사용하였다. 또 쌀겨(미강)의 경우는 신선한 것을 사용하였으며, 직경 1 mm의 sieve를 통과시킨 다음 사용하였다.

여러가지 조성으로 조제된 톱밥배지는 대형시험

관(ϕ 30×21 mm)에 가비중이 0.22 g/mL가 되도록 90 mL 용량의 일정 높이(14 cm)까지 균일하게 충진하였다. 조제된 톱밥배지는 121°C에서 30분간 멸균한 후, 방치하여 실온으로 냉각되었을 때 균질화된 종균배양액 5%(v/v)를 광구형의 피펫으로 시험관의 상부에 고르게 접종하였다. 온도 30±0.5°C의 incubator에서 44일간 배양하면서 2일간격으로 균사의 생육정도, 형태 및 균사밀도 등을 관찰하였다.

쌀겨첨가량 및 수분함량의 영향

쌀겨첨가량에 따른 균사생육의 영향은 쌀겨를 톱밥중량에 대해 각각 0, 10, 20 및 30%(w/w, wet basis)되게 첨가하여 조제한 다음, 121°C에서 30분간 멸균하였다. 실온으로 냉각한 후, 종균배양액 5%(v/v)를 접종하여 30±0.5°C의 incubator에서 배양하면서 균사생육 및 균사밀도 등을 관찰하였다. 수분함량의 영향은 톱밥배지에 30%(w/w)의 쌀겨를 첨가하고, 수분함량을 60~80%(w/v)로 조제한 참나무, 뽕나무 및 오리나무 톱밥배지에 5%(v/v)의 종균을 접종한 다음, 상기와 동일한 조건으로 배양하면서 조사하였다.

배지의 초기 pH 및 온도의 영향

초기 pH의 영향은 톱밥배지에 쌀겨 첨가량 30%(w/w), 수분함량을 65%(w/v)로 조절하여 조사하였다. 이때 첨가한 물은 0.1 N NaOH와 0.1 N HCl 용액으로 pH 4~8로 조절한 증류수를 사용하였다. 조제된 배지는 121°C에서 30분간 멸균하고, 실온으로 냉각하여 5%(v/v)의 종균배양액을 접종하였고, 30±0.5°C의 incubator에서 배양하면서 균사생육 및 균사밀도 등을 관찰하였다.

온도의 영향은 톱밥배지에 쌀겨첨가량 30%(w/w), 수분함량 65%(w/v) 및 배지의 초기 pH를 참나무와 뽕나무는 5.0, 오리나무는 6.0으로 각각 조제하고, 멸균하여 냉각한 다음, 5%(v/v)의 종균을 접종한 후, 온도범위 20~40°C의 incubator에서 44일간 배양하면서 균사생육 및 균사밀도 등을 관찰하였다.

실험설계 및 반응표면분석

실험설계는 Table 1에서 보는 바와 같이, 분리된

Phellinus sp.의 균사생육의 중요인자인 쌀겨첨가량, 배지의 초기 pH 및 수분함량을 각각 독립변수 X_1 , X_2 및 X_3 로 하고, 이때 각 독립변수의 수준은 X_1 code=(X_1-30)/10, X_2 code=(X_2-6)/1 및 X_3 code=(X_3-70)/5식을 이용하여 -2~2범위에서 선형화하였다.

한편, 균사의 생육정도를 종속변수(Y)로 하여 Table 2와 같이 18개의 처리조합으로 이루어진 중심합성 실험계획(central composite experimental design)에 따라 실험하였으며, 이때, 균사의 생육 길이의 측정시간은 균사의 생육곡선에서 대수기

Table 1. Variables and their levels for central composite design

Variables	Coded variable				
	-2	-1	0	1	2
Rice bran(% w/w)	(X_1) 10	20	30	40	50
Initial pH	(X_2) 4	5	6	7	8
Moisture content(% w/v) (X_3)	60	65	70	75	80

^a Coded variable levels are given by the following equations; X_1 code=(X_1-30)/10, X_2 code=(X_2-6)/1 and X_3 code=(X_3-70)/5.

Table 2. Arrangement of central composite design and responses

Number	Variable levels ^a			Responses(cm) ^b		
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1	-1	-1	7.0	6.2	3.7
2	1	-1	-1	6.0	5.6	3.5
3	-1	1	-1	5.2	4.6	3.7
4	-1	-1	1	5.0	6.0	3.0
5	1	1	-1	3.5	3.8	3.2
6	1	-1	1	7.0	5.0	2.2
7	-1	1	1	2.2	2.5	3.7
8	1	1	1	2.0	1.4	2.5
9	2	0	0	0.9	1.0	1.0
10	-2	0	0	2.0	1.2	1.1
11	0	2	0	1.2	1.5	1.2
12	0	-2	0	3.2	4.7	1.4
13	0	0	2	4.2	6.2	4.2
14	0	0	-2	6.2	6.1	4.9
15	0	0	0	7.5	6.8	5.1
16	0	0	0	7.7	7.0	5.2

^a Independent variables (X_1 =rice bran, X_2 =initial pH and X_3 =moisture content)

^b Mycelial growth for 12 days of *Phellinus* sp. on various sawdust media (Y_1 =*Quercus aliena*, Y_2 =*Morus alba* and Y_3 =*Alnus japonica*).

(exponential phase) 구간인 배양기간 12일째로 하였다.

18가지의 실험항목에 따라 얻은 실험결과는 박(박, 1986)의 반응표면분석 프로그램을 응용하여 컴퓨터로 분석하였다. 이때 반응표면모형은 식 (1)의 2차 다항회귀모형을 사용하였으며, 이 식에서 k 는 독립변수의 수, X 는 독립변수, $Y(I)$ 는 종속변수이다. β_0 , β_i 및 β_{ij} 는 각각 중심점에서의 회귀, 선형 및 interaction 계수이다.

$$Y(I) = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i \chi_i + \sum_{i \leq j}^k \beta_{ij} \chi_i \chi_j \quad (1)$$

정상점(stationary point)은 2차 회귀에 의해 산출한 상수값(β)을 대입하여 구한 반응식을 미분하여 얻었으며, 독립변수와 종속변수의 유의성은 분산분석(ANOVA; analysis of variance)으로 검정하였다.

결과 및 고찰

쌀겨 첨가량 및 수분함량의 영향

쌀겨첨가량이 균사의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 참나무를 포함한 3종의 톱밥배지에 쌀겨첨가량을 0~30%(w/w)로 조제하여, 균사생육을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다.

참나무(*Quercus aliena*), 뽕나무(*Morus alba*) 및 오리나무(*Alnus japonica*) 톱밥배지 모두에서 쌀겨첨가량 30%(w/w)까지는 쌀겨첨가량의 증가에 따라 균사의 생육속도도 증가하는 경향이였다. 그러나 그림으로 나타내지는 않았으나 40%(w/w) 이상의 쌀겨를 첨가했을 경우에는 모든 톱밥배지에서 균사생육이 감소하였다. 특히 뽕나무와 참나무 톱밥배지의 경우에는 쌀겨첨가량이 20%일 경우에 배양 30일만에 column내 톱밥배지의 전체길이인 14 cm까지 모두 자랐으며, 30%의 쌀겨 첨가시에는 배양 24일만에 14 cm까지 생육하여 가장 빠른 균사생육을 나타내었다. 톱밥배지의 수종별 균사생육속도는 쌀겨첨가량에 따라 차이가 있었으나 참나무(*Quercus aliena*)와 뽕나무(*Morus alba*)가 오리나무(*Alnus japonica*)에 비하여 빨랐다.

지(1996)는 *Phellinus linteus*의 첨가제에 따른

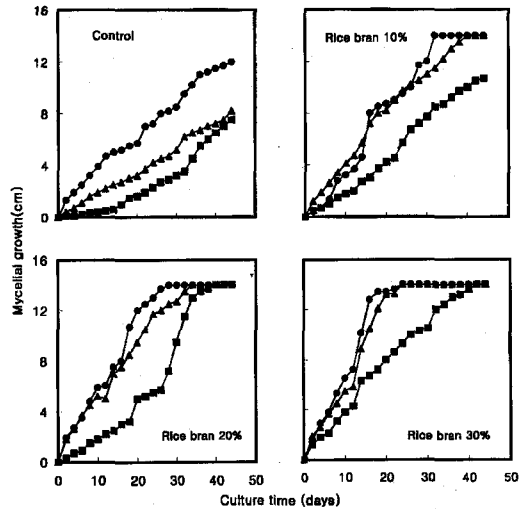


Fig. 1. Time course for the mycelial growth of *phellinus* sp. on different sawdust substrates. -●-; *Quercus sliena*, -■-; *Alnus japonica*, -▲-; *Morus alba*

톱밥수종별 균사생육속도의 영향을 조사한 결과, 참나무, 뽕나무 및 복숭아 톱밥에서 균사생육과 균사 밀도가 양호하였다고 보고한 바 있으며, 첨가제로는 밀기울, 쌀겨 및 옥수수피를 20~30%의 수준으로 첨가하였을 경우 균사생장이 가장 양호하였다고 보고하였다.

일반적으로 버섯재배에 이용되는 톱밥수종과 첨가되는 쌀겨의 양은 버섯의 종류나 톱밥의 수종에 따라 다소 차이가 있으며, 대개 톱밥의 부피에 10~30%(v/v)를 첨가하는 것이 보통인데, 느타리버섯은 약 20%, 팽이버섯은 20~25% 정도이고, 잎새, 목이버섯은 10~20% 정도를 첨가하는 것이 좋다고 보고되고 있다(차 등, 1989). 또 쌀겨첨가량이 증가하면 자실체 발생이 양호하고 수량도 증가하나, 잡균발생율이 높고 배지자체의 공극율이 적어져 물리성이 불량하게 되므로서 균사생장기간은 오히려 길어진다고 한다.

한편, *Phellinus* sp.의 균사생육에 미치는 수분함량의 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

배양 12일째에는 톱밥수종에 관계없이 모든 실험구에서 수분함량 65%(w/v)일때 균사생육이 가장 좋았다. 그러나 시간이 경과하면서 최대 균사생육에 요하는 수분함량범위는 커져서 참나무와 뽕나

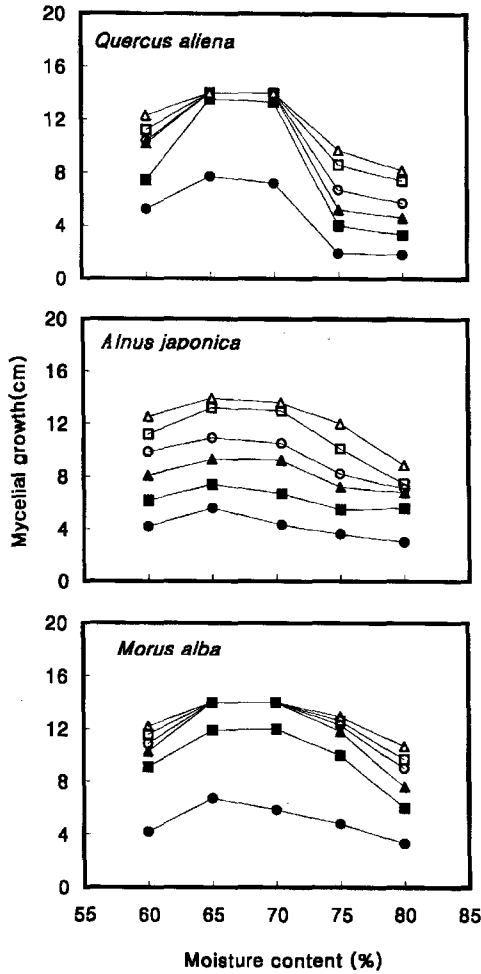


Fig. 2. Effect of moisture content on the mycelial growth of *Phellinus* sp. -●-; 12 days, -■-; 18 days, -▲-; 24 days, -○-; 30 days, -□-; 36 days, -△-; 42 days

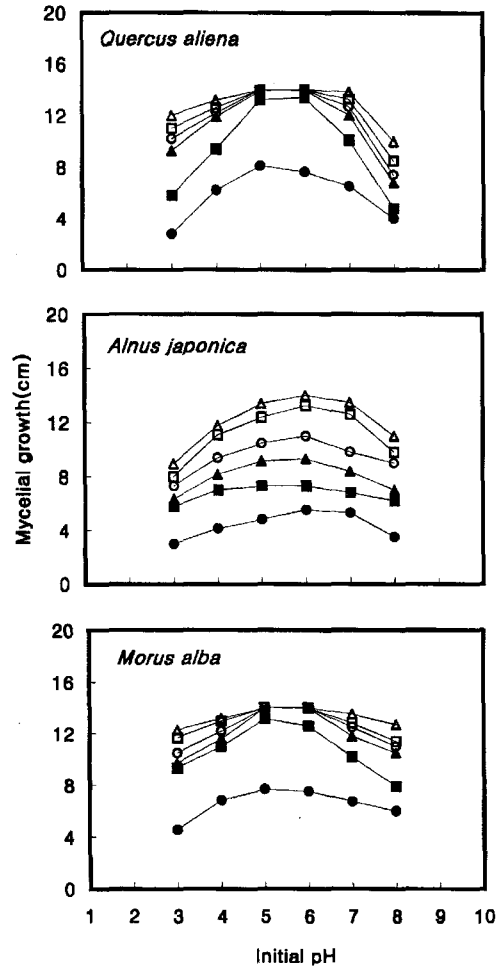


Fig. 3. Effect of initial pH on the mycelial growth of *Phellinus* sp. -●-; 12 days, -■-; 18 days, -▲-; 24 days, -○-; 30 days, -□-; 36 days, -△-; 42 days

무는 65~70%(w/v), 오리나무는 60~75%(w/v)의 수분함량범위에서 균사생육의 차이를 보이지 않았다.

지(1996)는 목질진흙버섯의 균사생장에 적합한 톱밥배지의 수분함량이 65~70%이고, 65% 이하와 70% 이상에서 균사생장이 부진하였음을 보고한 바 있다. 보통, 병재배용 톱밥배지의 조제시 수분함량은 버섯의 종류에 따라 다르나 62~67%를 권장하고 있으며, 수분함량이 너무 적거나 많으면 균사생장이 늦어지고, 균사밀도가 약해지며, 자실체가 발생되어도 정상적으로 생육하지 못하는 것으로 알려져 있

다(차 등, 1989).

배지의 초기 pH 및 온도의 영향

초기 톱밥 배지의 pH가 균사생육에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다.

참나무 톱밥배지의 경우는 배양일 18일까지 pH 5에서 균사생육속도가 가장 빨랐으며, 배양일이 경과함에 따라 pH 5~6에서도 균사의 생육상태가 양호하였다. 오리나무 톱밥배지의 경우는 배양초기 pH 5~7에서 좋았으며, 시간이 경과함에 따라 pH 6에서 가장 양호하였으며, 뽕나무 톱밥배지에서는

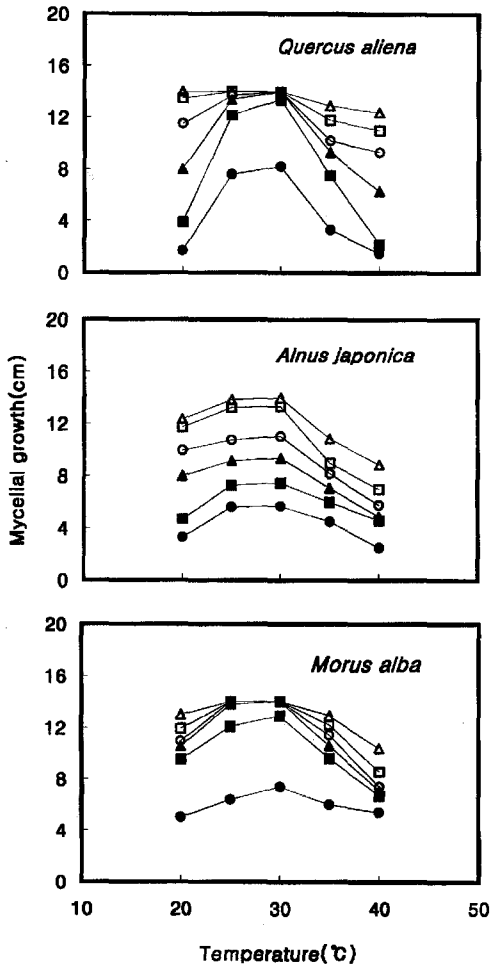


Fig. 4. Effect of temperature on the mycelial growth of *Phellinus* sp. -●-; 12 days, -■-; 18 days, -▲-; 24 days, -○-; 30 days, -□-; 36 days, -△-; 42 days

pH 5~6의 범위에서 균사의 생육속도가 가장 좋았으나, pH 7이상에서 감소하였다. 지(1996)는 목질 진흙버섯 균사의 생육최적 pH는 6~7이라고 하였

으며, 정 등(1997)은 *Phellinus igniarius*의 균사체의 액체배양에서 최적 pH는 7이고, pH 5~8범위에서 균사생장은 거의 비슷하였다고 보고하였다.

대개 배지의 산도는 버섯의 종류에 따라 다르며, 약산성의 pH에서 균사생육이 좋은것으로 알려져 있는데(Ainsworth and Sussman, 1973), 목이버섯은 pH 6~7, 잎새버섯은 pH 4, 표고 및 느타리는 pH 5~6, 영지버섯은 pH 4.2~5.3에서 균사생장이 가장 좋은 것으로 알려져 있다(차 등, 1989).

Fig. 4는 균사생육에 미치는 온도의 영향을 경시별로 조사한 결과이다.

참나무 톱밥배지에서는 25~30°C의 온도범위에서 균사생육이 좋았으며, 배양 18~24일만에 거의 100%의 생육을 나타내었다. 오리나무 톱밥배지의 경우에서도 25~30°C의 온도범위에서 균사생육이 좋았으며, 30°C 이상에서는 감소하였다. 한편, 뽕나무 톱밥배지의 경우는 배양 18일까지 30°C의 배양 온도에서 가장 생육이 좋았고, 시간이 경과함에 따라 25°C에서도 생육이 좋아, 배양 약 24일만에 100%의 균사생육을 보여 톱밥수종에 따라 균사생육의 최적 온도에는 차이가 있음을 알 수 있었다. 정 등(1997)은 *Phellinus igniarius*의 액체배양에서 균사체의 최적온도는 25~28°C로, 35°C 이상에서 극히 저조하였음을 보고한 바 있으며, 지 등(1996)은 YM배지에서 *Phellinus linteus*의 균사생육 최적온도는 25~30°C라고 보고하여 본 실험의 결과와 잘 일치하였다.

일반적으로 버섯균사의 성장 적온과 버섯자실체의 성장 적온은 차이가 있는데, 균사의 성장적온 범위는 22~28°C로 팽이 22~25°C, 만가다 23~27°C, 목이 27~30°C, 애느타리 28~30°C, 표고 24~27°C, 영지 28~30°C 및 노루궁뎅이 20~25°C로 알려져 있다(차 등, 1989).

Table 3. Values of stationary points and mycelial growth on various sawdust media

Substrates	Stationary points			Mycelial growth (cm) ^a
	rice bran (% w/w)	initial pH	moisture content (% w/w)	
<i>Quercus aliena</i>	31.01	5.31	69.03	8.32
<i>Morus alba</i>	28.77	5.28	69.18	7.60
<i>Alnus japonica</i>	28.74	6.04	66.96	5.38

^a Expected values of mycelial growth was measured after 12 days of incubation.

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) tables on various sawdust media

Substrate	Factor	Square sum	Degree of freedom	Square mean	F ₀	R ^a	RR ^b
<i>Quercus aliena</i>	regression	80.25	9	8.916	31.42**	0.9876	0.9792
	error	1.70	6	0.284			
	total	81.95	15				
<i>Morus alba</i>	regression	67.32	9	7.480	20.40**	0.9841	0.9684
	error	2.20	6	0.367			
	total	69.52	15				
<i>Alnus japonica</i>	regression	30.01	9	3.334	105.55**	0.9969	0.9937
	error	0.19	6	0.032			
	total	30.20	15				

^a Coefficient of correlation, ^b Coefficient of determination.

반응표면분석에 의한 최적 쌀겨첨가량, 배지 pH 및 수분함량의 결정

참나무(*Quercus aliena*), 뽕나무(*Morus alba*) 및 오리나무(*Alnus japonica*) 톱밥배지에 쌀겨 첨가량(X₁), 배지의 초기 pH(X₂) 및 수분함량(X₃)을 독립변수로 하고, 균사의 생육길이(cm)를 종속변수로 하여 실험결과를 반응표면분석한 결과는 Table 3, 4 및 Fig. 5~7과 같다.

참나무 톱밥배지의 경우, Table 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 쌀겨첨가량, 배지의 pH 및 수분함량의 정상점은 각각 31.01%(w/w), 5.31 및 69.03%(w/v)에서 얻어졌으며, 이때 기대되는 균사의 생육 길이는 8.32 cm이었다. 또 쌀겨첨가량(X₁)과 수분함량(X₃) 사이의 회귀계수는 0.242로 균사생육에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다.

뽕나무 및 오리나무 톱밥배지의 경우, 정상점은 쌀겨첨가량, 배지의 pH 및 수분함량이 각각 28.77%(w/w), 5.28, 69.8%(w/v) 및 28.74%(w/w), 6.04, 66.96%(w/v)이었다. 또 정상점에서 예측되는 균사의 생육길이는 각각 7.60 cm 및 5.38 cm로, 참나무 및 뽕나무 톱밥이 오리나무 톱밥에 비하여 균사의 생육속도가 빨랐으며, 오리나무 톱밥에서 X₂와 X₃의 회귀계수는 각각 0.119와 0.100으로 다른 변수들에 비하여 낮았으므로, 이 변수들이 균사생육에 큰 영향을 미침을 알 수 있었다.

한편, ANOVA table(Table 4)로 유의성을 검정한 결과, 모든 톱밥수종에서 Fo값은 유의수준(level of significance) p<0.01로 매우 유의하였다. 또 참나무 톱밥배지에서는 상관계수(coefficient of correlation) R=0.9876 및 결정계수(coefficient of determination) RR=0.9792로 매우 높은 정의 상관관계를 보여, 쌀겨첨가량을 포함한 독립변수들

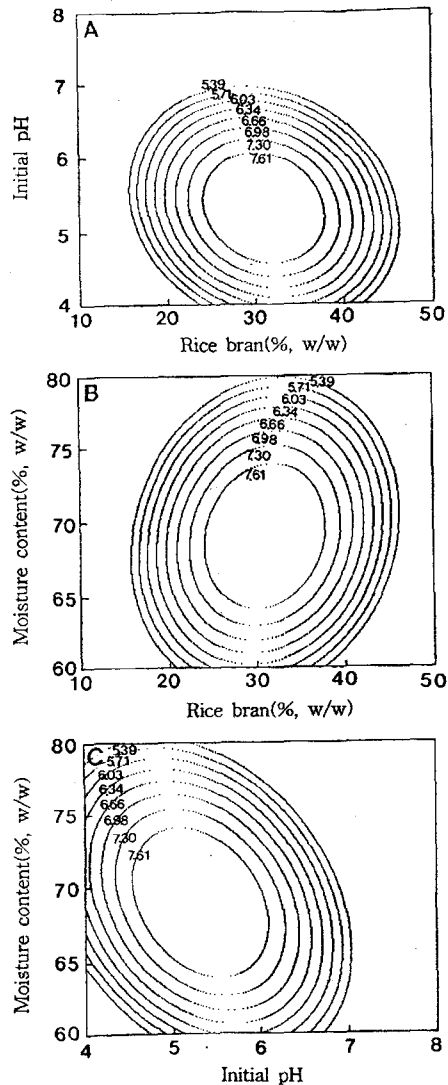


Fig. 5. Response surface contour maps for mycelial growth in *Quercus aliena* sawdust media of *Phellinus* sp. A; rice bran versus initial pH, B; rice bran versus moisture content, C; initial pH versus moisture content

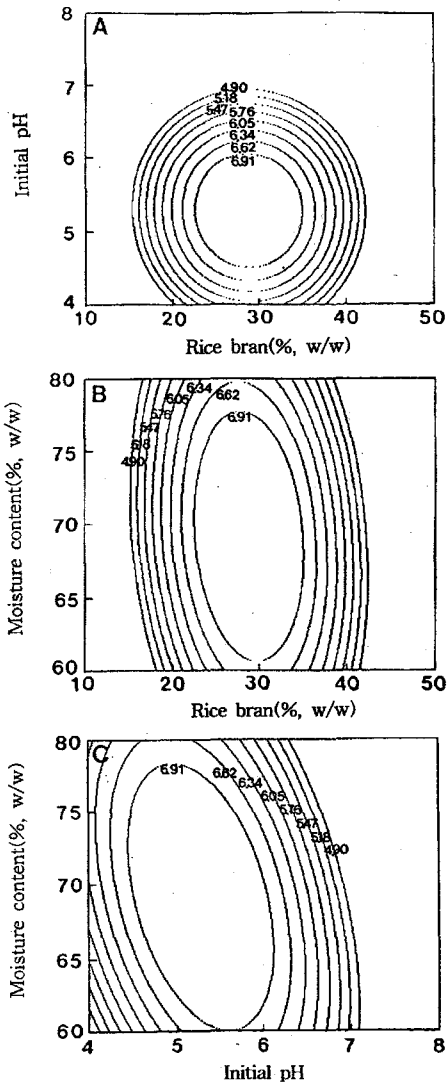


Fig. 6. Response surface contour maps for mycelial growth in *Morus alba* sawdust media of *Phellinus* sp. A; rice bran versus initial pH, B; rice bran versus moisture content, C; initial pH versus moisture content

이 종속변수에 미치는 영향이 큼을 알 수 있었다. 뽕나무 및 오리나무 톱밥의 경우에서도 상관계수 R과 결정계수 RR은 각각 0.9841, 0.9969 및 0.9684, 0.9937로 매우 양호한 정의 상관관계를 나타내었다.

한편, 균사생육에 영향을 미치는 독립변수들 사이의 상호작용을 알아보기 위하여 contour map을 도

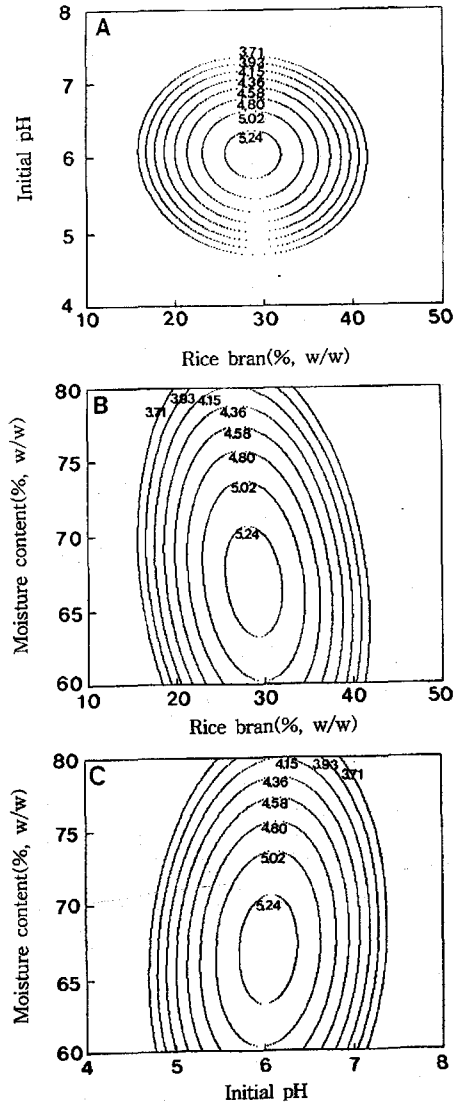


Fig. 7. Response surface contour maps for mycelial growth in *Alnus japonica* sawdust media of *Phellinus* sp. A; rice bran versus initial pH, B; rice bran versus moisture content, C; initial pH versus moisture content

시한 결과, 참나무 톱밥(Fig. 5)에서는 등고선의 형태로 보아 쌀겨첨가량(X_1)과 배지의 초기 pH(X_2)가 수분함량(X_3)보다 균사생육에 민감하게 작용함을 알 수 있었다.

뽕나무 톱밥의 경우에 있어서도 Fig. 6에서 보는 바와 같이, 쌀겨첨가량(X_1)과 배지의 초기 pH(X_2)

가 수분함량(X_3)보다 균사의 생육에 민감하게 작용하였다.

오리나무 톱밥배지에서 독립변수들이 균사생육에 미치는 영향을 등고선 그림으로 나타낸 결과는 Fig. 7에서와 같이 쌀겨첨가량(X_1)과 배지의 초기 pH(X_2)간에는 두 변수 모두 균사생육에 거의 비슷한 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또 쌀겨첨가량(X_1)과 수분함량(X_3) 사이의 경우(Fig. 7, B)는 쌀겨첨가량이, 배지의 초기 pH(X_2)와 수분함량(X_3) 사이의 경우(Fig. 7, C)에서는 배지의 초기 pH가 더 민감한 영향을 줄 수 있었다.

이상의 반응표면분석 결과, 목질진흙버섯의 균사생육과 독립변수(쌀겨첨가량, 배지의 초기 pH 및 수분함량)들 사이에는 정의 상관관계가 있었으며, 특히 쌀겨첨가량과 배지의 초기 pH는 균사생육에 민감한 영향을 끼쳤다. 또 수분함량의 경우는 다른 독립변수에 비하여 균사생육에 대한 정상점이 비교적 넓게 분포되어 있었으며, 목질진흙버섯 균사생육의 최적 톱밥수종은 참나무(*Quercus aliena*) > 뽕나무(*Morus alba*) > 오리나무(*Alnus japonica*)의 순이었다. 이는 지(1996)가 *Phellinus linteus*의 균사생육을 위한 최적의 톱밥수종은 참나무, 뽕나무 및 복숭아나무라고 보고한 사실과, 송 등(1997)이 *Phellinus linteus*의 인공재배시 자실체 수확량이 참나무 > 뽕나무 > 오리나무 > 밤나무의 순이라고 보고한 결과와도 잘 일치하였다.

적 요

목질진흙버섯(*Phellinus* sp.) 자실체의 인공재배를 위한 기초자료마련의 일환으로 자실체로부터 순수분리한 상황속의 한 균주를 이용하여 참나무(*Quercus aliena*), 뽕나무(*Morus alba*) 및 오리나무(*Alnus japonica*)의 3종 톱밥기질에 따른 균사생육의 최적조건을 반응표면분석방법으로 조사하였다.

균사생육에 영향을 미치는 3종의 독립변수(쌀겨첨가량, 배지의 초기 pH 및 수분함량)와 그 최적값을 검토한 결과, 쌀겨첨가량은 3종의 톱밥배지 모두에서 약 30%(w/w) 첨가시에 가장 좋았으며, 수분함량은 65~70%(w/v)범위에서 좋았다. 배지의 초기

pH는 참나무와 뽕나무에서는 pH 5~6, 오리나무 톱밥배지의 경우는 pH 6에서 가장 좋았다. 균사의 생육온도는 모든 톱밥배지에서 25~30°C의 온도범위에서 좋았으나, 톱밥수종에 따른 차이를 보였다. 균사생육에 영향을 미치는 쌀겨첨가량(X_1), 배지의 초기 pH(X_2) 및 수분함량(X_3)을 각각 종속변수로 하고, 균사의 생육길이를 독립변수(Y)로 하여 반응표면분석한 결과, 참나무 톱밥의 경우, 쌀겨첨가량 31.01%(w/w), 배지의 pH 5.31, 그리고 수분함량 69.03%(w/v)에서 일어졌으며, 이때 기대되는 균사의 생육길이는 8.32 cm이었다. 특히, 쌀겨 첨가량(X_1)과 수분함량(X_3)의 회귀계수가 높아, 이 변수들이 균사생육에 큰 영향을 미침을 알 수 있었다. 뽕나무 톱밥배지의 경우, 쌀겨첨가량, 배지의 초기 pH 및 수분함량의 정상점은 각각 28.77%(w/w), 5.28 및 69.8%(w/v)로, 예측되는 균사의 생육길이는 7.60 cm이었다. 오리나무 톱밥 배지의 정상점은 쌀겨첨가량 28.74%(w/w), 배지의 pH 6.04 및 수분함량 66.96%(w/v)으로, 이때, 예상되는 균사의 생육길이는 5.38 cm이었다. 이상의 결과로부터 목질진흙버섯의 균사 생육과 독립변수들 사이에는 상관관계가 높았고, 쌀겨첨가량과 배지의 초기 pH가 수분함량보다 균사생육에 더 큰 영향을 미쳤으며, 목질진흙버섯의 균사생육을 위한 최적의 톱밥 수종은 참나무(*Quercus aliena*) > 뽕나무(*Morus alba*) > 오리나무(*Alnus japonica*)의 순이었다.

참고문헌

- 강태수, 이동기, 이신영. 1997. *Phellinus* sp.의 분리 및 균사체의 액체배양. 한국균학회지. 25: 257-267.
- 박성현. 1986. 현대실험계획법. 대성사. 428-439.
- 송치현. 1997. *Phellinus linteus*의 인공재배. 한국균학회지. 25: 130-132.
- 중국본초도감. 1994. 제 1권. 騷江出版社. 274.
- 지정현. 1996. 목질진흙버섯균 *Phellinus linteus* (Berk. et Curt.) Teng의 배양조건에 관한 연구. 경희대학교 석사학위논문. 33-39.
- 차동렬, 유창현, 김광포. 1989a. 최신펀버섯재배기술. 상록사. 62-348.
- Ainsworth, G. C. and Sussman, A. S. 1973. The fungi, Vol. IVB. pp 417. Academic Press. Inc. New York.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mush-

- room and their cultivation. pp 54-57. CRC Press. Florida.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y. Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing (an edible mushroom). *Cancer Res.* **30**: 2776-2781.
- Hirase, S., Nakai, S. and Akatsu, T. 1976. Structure studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes) I. Fractionation with barium hydroxide. *Yakugaku Zasshi.* **96**: 413-418.
- Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. 1968. Antitumor action of some basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann.* **59**: 155-157.
- Jong, S. C., Birmingham, J. M. and Pai, S. H. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin. *J. Immunol. Immunopharmacol.* **11**: 115-122.
- Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K., Saito, G. and Sasaki, S. 1963. Host-mediated antitumor action of *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-138.
- Larsen, M. J. and Cobb-Pouille. 1988. *Phellinus* (Hymenochaetaceae). Pp 1-6. One Gifford Pinchot Drive Madison. WI.
- Shibata, S., Nishikawa, Y., Mei, C. F., Fukuoka, F. and Nakanishim, M. 1968. Antitumor studies on some extracts of basidiomycetes. *Gann.* **59**: 159-161.
- Ying, J., Mao, X., Ma, Q., Zong, Y. and Wen, H. 1987. Icons of medical fungi from china. Pp 173-187. Science press. Beijing.