

Agrocybe Cylindracea 의 영양배지 조성 및 배양조건의 최적화

이재성·박 신·박경숙
영남대학교 식품가공학과

Optimization of Media Composition and Cultivation for the Mycelial Growth of *Agrocybe Cylindracea*

Jae Sung Lee, Shin Park and Gyung Sook Park

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Taegu, Korea

Abstract

Studies were made to optimize the media composition and cultural conditions for the mycelial growth of *Agrocybe cylindracea*. Media composition for optimal growth was found to be starch 20.0 g/l, bacto-soytone 4.0 g/l. The media supplemented with KH_2PO_4 0.46 g/l, K_2HPO_4 1.0 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/l supported mycelial growth better than the media without mineral salts. Optimum temperature and pH for the growth was 28°C, and 6.0 respectively. Temperature range for the mycelial growth appeared to be 10-35°C and the mycelium evidently lost the vitality at 40°C.

Key words: *Agrocybe cylindracea*, media, cultural condition

서 론

현재 우리나라에서 재배되는 버섯은 표고(*Lentinus edodes*), 느타리(*Pleurotus ostreatus*), 양송이(*Agaricus bisporus*)가 주종을 이루며 이외에는 잎새버섯(*Grifola frondosa*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 및 팽이버섯(*Flamulina velutipes*)이 조금씩 보급되고 있다. 이들 버섯에 대하여는 균학적 의미에서의 기본적인 연구를 포함하여 재배상의 각종 특성에 관한 여러 발표가 있다⁽¹⁻⁴⁾.

*Agrocybe cylindracea*는 Agaricales 목에 속하는 단실담자균으로서 거의 세계도처에 자생하는 버섯의 일종이다. 자실체는 그 육질이 뛰어난 조직감을 갖고 있을 뿐 아니라 향미도 대단히 우수하여 식용버섯으로 재배될 경우 그 기호성이 높을 것으로 기대된다. 현재 일본의 균이산업체 및 연구소에서는 이 버섯의 인공재배에 관해 상당한 연구를 기울이고 있는 것으로 알려져 있다.

그러나 산업생산과 직결과는 연구이므로 학술적인 발표는 극히 제한되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 *A. cylindracea* 인공재배를 위한 기초연구로서 우수한 야

생균주를 분리확보하여 그 영양배지 조성 및 배양조건의 최적화를 확립하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 연구에 사용한 균주는 일본에서 야생하는 *A. cylindracea* 균주 중 우수한 균주를 분리 사용하였으며 균의 순수분리 및 보존용 배지로서 Malt extract, Yeast extract, Glucose(MYG)⁽⁵⁾ 배지를 사용하였는데, 그 조성은 malt extract 1.0%, yeast extract 0.4%, glucose 0.4%, agar 1.5%이다. *A. cylindracea*의 군사 성장속도를 비교하기 위해 사용한 Mushroom Complete Medium(MCM)의 조성은 glucose 2.0%, peptone 0.2%, yeast extract 0.2%, KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, agar 1.5%이며 *Ganoderma* Complete Medium(GCM)의 조성은 glucose 3.0%, sucrose 2.0%, peptone 0.4%, yeast extract 1.0%, casamino acid 0.5%, KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% agar 1.5%이다. 또한 본 연구를 통해 규명된 *Agrocybe* Complete Medium(ACM 1)의 조성은 starch 2.0%, bacto-soytone 0.4%, yeast extract 0.6%, KH_2PO_4 0.

Corresponding author: Jae Sung Lee, Department of Food Science and Technology, Yeungnam University Gyungsan, Gyungbuk. 713-800

046%, K_2HPO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, agar 1.5%이며 여기에 무기염류를 첨가한 배지를 ACM 2로 하였다.

배양방법

균 성장속도를 측정하기 위한 평판배양은 고체배지에 균주를 접종한 후 28°C 항온기에서 배양했다. 액체배양은 300 ml 삼각 플라스크에 ACM 액체배지 100 ml를 넣어 접종원 10 ml를 접종한 후 28°C 진탕배양기(80 strokes/min)에서 배양했다. 액체배양을 위한 접종원은 중형배양접시에서 완전히 생육한 균사체를 ACM 액체배지 20 ml와 함께 살균 처리된 균질기에 넣고 1분간 균질화하여 사용하였다.

평판배양의 균사 성장속도 측정

배지조성 또는 배양온도에 따른 균사 성장속도를 비교하기 위하여 실험 목적에 따라 조제된 평판배지에 균사를 접종, 28°C 항온기에서 일정기간 배양시킨 후 colony의 직경 및 colony 균사체의 밀도를 비교하였다. 균사의 접종은 미리 배양된 균사의 가장자리 일정한 부위를 5 mm cork borer로 절단하여 비교하고자 하는 평판배지의 중앙에 접종하였다.

액체배지 균사체의 건물량 측정

액체배양에서 균사체의 성장속도를 비교하기 위해 배양한 균사체를 60°C에서 미리 4-5시간 건조, 냉각시킨 여지에 여과한 후 다시 60°C에 24시간 건조시켜 건물량을 측정하였다.

최적 성장 pH 규명을 위한 원충용액

0.05 M citrate-phosphate buffer⁽⁶⁾를 pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5로 100 ml씩 만들어 300 ml 삼각 플라스크에 넣고 여기에 ACM 배지성분을 넣고 용해시킨다. 용해가 끝난 배지의 pH를 다시 측정, 최초 원충용액의 pH와 일치하게 0.1 N HCl 및 NaOH로 조정하였다.

결과 및 고찰

탄소원의 영향

A. cylindracea 균사 성장속도에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위해 Table 1에 나와 있는 바 6종류의 탄소원을 사용하였으며 농도를 1, 2, 3%로 하여 균

Table 1. Effect of carbon sources and concentration on the mycelial growth

Carbon source	Colony diameter (mm/10days) ^{a)}			Mycelial density
	Concentration(%)			
	1%	2%	3%	
Glucose	71	56	43	Thin
Fructose	58	48	39	Thin
Sucrose	83	85	86	Thin
Maltose	68	74	74	Thin
Sorbitol	77	82	80	Thin
Starch	81	84	84	Thin

a) Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

The cultivation was done in the solid medium containing each carbon source without nitrogen source.

사 성장속도를 측정하였다. Table 1은 탄소원별, 탄소원 농도별로 2원배치 실험을 4회 반복한 data의 평균이다.

탄소원에 따라 균사 성장속도는 glucose, fructose 등 단당류보다는 sucrose, maltose, sorbitol, starch 등 이당류 혹은 다당류가 좋았다. 특히 sucrose 첨가 배지에서는 10일간 배양한 결과 colony의 직경이 85 mm에 달하였고 starch 첨가 배지의 경우에는 84 mm가 되었다. 탄소원의 농도에 따른 균사 성장속도는 교호작용을 나타내었는데 glucose, fructose 등 단당류에서는 1% 첨가시 성장속도가 빨랐으며 sucrose, maltose, sorbitol, starch 등에서는 2% 첨가시 좋은 결과를 나타내었다.

질소원의 영향

질소원이 균사 성장속도에 미치는 영향을 조사하기 위해 7종류의 질소원을 사용하였으며 농도를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0%로 하였다. Table 2는 질소원별, 질소농도별로 2원배치 실험을 2회 반복한 data의 평균이다.

균사 성장속도 및 균사의 밀도로 보아 ammonium tartrate, ammonium sulfate, ammonium nitrate 등 무기질소원보다는 peptone, tryptone, bacto-soytone 등 유기질소원이 균사 생육에 양호했다.

Colony 팽창속도에 있어서는 potassium nitrate가 0.4% 첨가시 84 mm/10 days로 가장 양호하였으나 균사의 밀도가 떨어져 균사의 생육에 적합하지 못했다

Table 2. Effect of nitrogen sources and concentrations on the mycelial growth

Nitrogen source	Colony diameter (mm/10days) ^{a)}					Mycelial density
	Concentration (%)					
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	
Ammonium tartrate	46	30	26	22	19	Thin
Ammonium sulfate	32	25	24	16	15	Thin
Ammonium nitrate	45	24	22	16	17	Thin
Potassium nitrate	75	84	83	79	80	Thin
Peptone	74	75	75	76	73	Fairly compact
Tryptone	72	73	71	72	69	Fairly compact
Bacto-soytone	76	79	74	74	78	Fairly compact

a) Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

The cultivation was done in the solid medium containing each nitrogen source without carbon source.

며 peptone 과 bacto-soytone 이 *A. cylindracea* 의 질소원으로서 가장 양호하였다.

질소원의 농도에 있어서는 ammonium tartrate, ammonium sulfate, ammonium nitrate 의 경우 0.2% 첨가시 균사성장이 가장 좋았으나 potassium nitrate, peptone, tryptone, bacto-soytone 은 대체로 0.4% 첨가시 균사성장이 가장 양호하였다.

탄소원과 질소원의 교호작용 검증

탄소원과 질소원의 교호작용을 검증하기 위해 탄소원과 질소원을 각각 3개씩 골라 2원 배치법으로 4회 반복 실험하였다. 탄소원으로는 전술한 바 균사 성장속도가 빠른 sucrose 와 starch 그리고 단당류 중 glucose 를 선택하였으며 그 농도를 2%로 하였다. 질소원으로는 균사 성장속도가 빠른 potassium nitrate 와 peptone, bacto-soytone 을 사용하였고 그 농도는 0.4%로 하였다. Table 3은 4회 반복실험의 평균치를 나타낸 것인데 균사 성장속도만을 보면 sucrose 2%와 bactosoytone 0.4%의 결합이 가장 양호하였다. 그러나 균사는 성장속도와 더불어 실질적인 균사 생산량을 나타내는 밀도가 중요하므로 이 양측면을 모두 고려하

Table 3. Effect of nitrogen and carbon sources on the mycelial growth

	Carbon source	Colony diameter (mm/8days) ^{a)}		
		Glucose	sucrose	starch
		Potassium nitrate	55(+)	74(-)
Nitrogen Source	Peptone	58(+)	78(+)	72(+)
	Bacto-soytone	64(++)	83(+)	75(++)

() : mycelial density - : thin + : fairly compact ++ : compact

a) Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

Table 4. Effect of yeast extract concentration on the mycelial growth

Yeast extract (%)	Colony diameter (mm/8days) ^{a)}	
	Carbon and nitrogen source	
	Starch 2% and Bacto-soytone 0.4%	Sucrose 2% and Bacto-soytone 0.4%
0	54 (++)	78 (+)
0.2	59 (++)	79 (+)
0.4	62 (++)	75 (++)
0.6	81 (++)	81 (+)
1.0	77 (++)	72 (+)

() : mycelial density + : fairly compact ++ : compact

a) Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

였을 때 starch 2%와 bacto-soytone 0.4% 조합에서 균사생육이 가장 양호하였다.

Yeast extract 의 영향

탄소원 및 질소원으로 starch 2%와 bacto-soytone 0.4% 그리고 sucrose 2%와 bacto-soytone 0.4%를 사용하였으며 비타민 및 기타 성장요인으로써 yeast extract 의 농도를 0, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0%로 변화시켜 균사 성장속도를 측정하였다.

Table 4는 3회 반복실험의 평균치이다. Yeast extract 농도별 균사 생산실험을 한 결과 yeast extract 농도가 0.6%일 때 균사 성장속도가 가장 좋았으며 탄소원과 질소원으로는 starch 2%와 bacto-soytone 0.4%의 조합이 양호하였다.

무기염류의 영향

Table 5. Effect of mineral salts on the mycelial growth

pH	Colony diameter (mm/8days) ^{a)}
ACM(1) 4.83	75
ACM(2) 5.81	78

ACM(1): starch 2%, bacto-soytone 0.4%, yeast extract 0.6%, agar 1.5%

ACM(2): ACM(1) plus KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1% and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

a) Colony diameter was measured after 10 days of incubation at 28°C.

균사 성장속도에 미치는 무기염류의 영향을 조사하기 위해 대부분의 버섯 영양배지에 공통으로 들어가는 무기염류인 KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%를 첨가한 배지(ACM2)와 첨가하지 않은 배지(ACM1)에서 균사를 성장시켜 상호 비교하였다.

ACM(1) 배지와 ACM(2) 배지의 pH 및 균사 성장속도는 Table 5에 나와 있는 바 무기염류를 첨가한 ACM(2) 배지의 성장속도가 78 mm/8days로 ACM(1) 배지보다 양호하였다.

다른 배지와와의 성장속도 비교

ACM 배지에서 균사 성장속도를 버섯 영양배지인 MCM, MYG, GCM 과 상호비교한 결과는 Fig. 1과 같다.

5mm cork borer로 절단하여 배지 중앙에 접종한 균사의 8일 후 균사직경을 비교한 결과 ACM이 78.0 mm로 가장 좋았다.

온도의 영향

A. cylindracea 균사 성장속도에 미치는 온도의 영향을 조사하기 위해 ACM 배지에 5mm cork borer로 절단한 균사를 접종, 배양온도를 10, 15, 22, 25, 28, 31, 35, 40°C로 변화시켜 가면서 균사의 성장속도를 비교하였다.

균사의 성장은 Fig. 2에 보는 바와 같이 25-28°C에서 양호하였으며 특히 28°C에서 최적이었다. 균사성장 범위는 10-35°C였고, 40°C 이상에서는 균사가 사멸하였다.

Zadrazil⁽⁷⁾에 의하면 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)은 25-30°C, Ishikawa 등⁽⁸⁾에 의하면 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 25°C에서 균사 성장이 양호하다고 하였는데 *A. cylindracea*의 생장 최적온도도 느

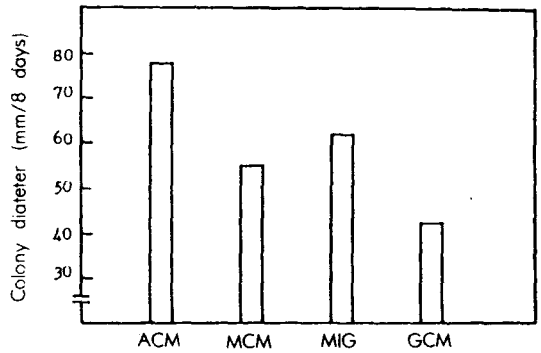


Fig. 1. Mycelial growth on the various medium. ACM: starch 27%, bacto-soytone 0.4%, yeast extract 0.6%, KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, agar 1.5%
MCM: glucose 2%, peptone 0.2%, yeast extract 0.2%, KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, agar 1.5%
MYG: malt extract 1%, yeast extract 0.4%, glucose 0.4%, agar 1.5%
GCM: glucose 3%, sucrose 2%, peptone 0.4%, yeast extract 1% casamino acid 0.5%, KH_2PO_4 0.046%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, agar 1.5%

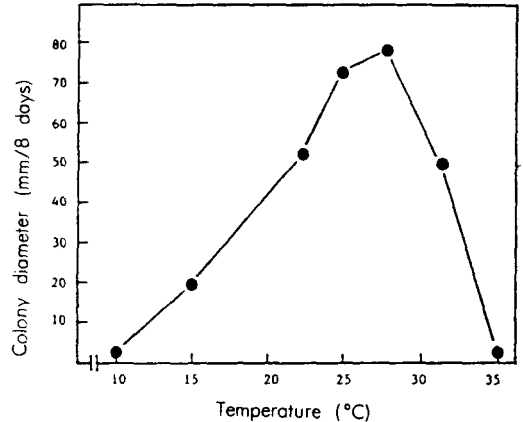


Fig. 2. Effect of temperature on the mycelial growth.

타리버섯과 비슷한 편이다.

pH의 영향

최적 pH 범위를 알기위해 초기 pH를 4.0-7.5로 조정 후 진탕배양기(80 strokes/min)로 28°C에서 배양, 건물량을 측정하였다.

실험결과는 Table 6에 나타나 있는 바 초기 pH가 건물량에 미치는 효과는 뚜렷이 나타나지 않았지만 pH 6.0-6.5 범위에서 4.0-5.0의 약산성에서보다 균사 성

Table 6. Effect of pH on the dry weight of mycelium

initial pH	final pH	dry weight of mycelium (g/100ml)
4.0	4.21	0.114
4.5	4.81	0.183
5.0	5.73	0.263
5.5	6.37	0.295
6.0	7.00	0.668
6.5	7.15	0.597
7.0	7.35	0.305

The mycelium is cultivated at 28°C for 9 days in the shaking incubator

장이 양호하였다. 이는 *P. ostreatus* 의 최적 생장 pH 6.0⁽⁷⁾과 *L. edodes* 의 pH 6.1⁽⁸⁾ 등과 비슷한 범위라고 볼 수 있다.

요 약

A. cylindracea 의 균사 성장을 위한 영양배지 조성 및 배양조건을 최적화하였다. 최적 영양배지 조성은 starch 20.0g/l, bacto-soytone 4.0g/l, 그리고 yeast extract 6.0g/l 였다. 무기염류 KH₂PO₄ 0.46 g/l, K₂HPO₄ 1.0g/l, MgSO₄·7H₂O 0.5g/l 을 첨가한 배지의 pH 는 5.8로 완충되었으며 무기염류를 첨가하지 않은 배지보다 균사성장이 양호하였다.

균사의 최적 배양온도는 28°C였으며 최적 생장 pH 는 6.0이었다. 균사 성장 온도범위는 10-35°C로서 40°C 이상에서는 균사가 사멸하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 1987년도 전반기 연구지원에 의하여 수행된 것이다. 연구비를 지원하여 준 한

국과학재단에 깊은 사의를 표하는 바이다.

문 헌

1. Smith, A.H.: Morphology and classification, In *Edible mushrooms*, Academic Press, Inc., p. 3 (1978)
2. Ando, M.: Fine structure of the hyphal of *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.*, **13**, 191 (1972)
3. Reper, J.R. and Raper, C.A.: Life cycle and prospects for interstrain breeding of *Agricus bisporus*. *Mushroom Sci.*, **8**, 1 (1972)
4. Adaskaveg, J.E. and Gilbertson, R.C.: Cultural studies and Genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsgea* in relation to the taxonomy of the *Ganoderma lucidum* complex. *Mycologia*, **78**(5), 694 (1986)
5. Yanagi, S.O. and Takebe, I.: An efficient method for the isolation of mycelial protoplasts from *Coprinus macrorrhizus* and other basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 58 (1984)
6. Hashimoto, K. and Takahashi, Z.: Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. *Mushrooms Sci.*, **9**, 585 (1974)
7. Zadrazil, F.: The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mushrooms Sci.*, **9**, 626 (1974)
8. Ishikawa, H.: Physiology and ecological studies on *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *J. Agric. Lab. (Jan)*, **8**, 1 (1967)

(1989년 2월 20일 접수)