

표고 버섯(*Lentinus edodes*)의 영양생리 및 기질개발

박원목 · 송치현* · 현재욱

고려대학교 농생물학과, *대구대학교 생물공학과

Nutritional Physiology and improvement of substrate of *Lentinus edodes*

Won-Mok Park, *Chi-Hyeun Song and Jae-Wook Hyun

Department of Agricultural Biology, Korea University, Seoul 136-701

*Department of Biotechnology, Taegu University, Kyungsan 713-830, Republic of Korea

ABSTRACT: Researches were carried out to find the optimal conditions of carbon sources, nitrogen sources and pH for the maximum production of sporophore of *Lentinus edodes*. Dextrin, aspartic acid and pH 4.0 were the best conditions for yield of sporophore by using replacement culture technique. The production of sporophore was stimulated by addition of 0.8% triacylglycerol in NS medium. Coffee waste was chosen for the best substrate among the poplar, oak, white aspen saw dust and coffee waste. Increased growth of mycelium and yield of sporophore was observed by adding tannin up to 0.1% as substrate.

KEYWORDS: *Lentinus edodes*, sporophore growth, medium development, coffee waste, nutritional physiology.

표고버섯(*Lentinus edodes*)은 한국, 일본, 중국 등 동남 아시아 지방에서 주로 재배되고 있으며, 특유의 향과 맛(Chang and Miles, 1989) 그리고 고영양가(Crison and Sands, 1978)를 지니고 있을 뿐만 아니라 항암(Chihara 등, 1970) 및 항바이러스(Yamamura and Cochrane, 1976) 효과 그리고 혈중 콜레스테롤 함량저하(Suzuki and Oshima, 1976) 등의 의학적인 효과도 입증되어 그 소비와 생산이 전세계적으로 증가추세에 있다(Miles and Chang, 1985).

우리나라에서 표고의 재배는 1935년 일본으로부터 순수 배양된 종균을 도입하여 처음으로 재배되어 왔으며, 현재까지 대부분의 표고재배는 재래방식인 참나무류의 통나무에 종균을 접종하여 재배하는 원목재배법에 의존하고 있다(Chang and Hayes, 1978). 근래에 와서 참나무의 공급이 용이하지 않고 더우기 침수, 골목새우기 등 노동력이 많이 요구되는 재래방식으로는 생산비의 증가로 말미암아 표고 재배의 전망이 어두운 실정이다. 이를 극복하기 위하여 참나무 원목을 대체할 수 있는 기질의 개발과 노동력을

절감할 수 있는 재배방식의 현대화가 절실히 요구된다.

새로운 기질의 개발을 위하여는 표고 버섯의 영양생리를 밝히고 이에 상응하는 환경조건을 충족시켜야 하는데 Bechman 등(1953)은 탄소 및 질소원이 참나무 위조병균(*Endoconidiophora fagacearum*)의 생육에 매우 중요한 요인이 된다고 보고하였고, Fraser와 Fujikawa(1958)는 아미노산 종류가 버섯생장에 촉진 효과가 있다고 발표하였다. Hammond(1986)는 탄수화물의 종류와 첨가량이 버섯발생에 지대한 영향을 준다고 하였으며, Song 등(1989)은 특히 배지에 첨가되는 지질의 종류와 양이 버섯수량에 매우 중요함을 발견하였다. 또한 환경요건으로는 적절한 통기, 온도, 습도, 산도(pH) 등이 자실체형성에 필수조건이라고 보고되었다(Manachere, 1977).

본 연구에서는 탄소원, 질소원, 지질, 아미노산, Tannic acid 및 산도 등이 표고 버섯의 자실체 생장에 미치는 영향에 대해 연구하였으며 참나무원목을 대체할 수 있는 재료의 개발을 위하여 포플라 톱밥 등

몇 종류의 톱밥과 커피박의 사용여부를 시험하였다.

材料 및 方法

균주 및 배지: *Lentinus edodes* TMI 830(Song 등, 1987)는 The Chinese University of Hong Kong의 Dr. S. T. Chang 교수로부터 분양 받았으며 보존배지 및 기본배지로는 NS medium(Song 등, 1987) 을 사용하였다. 배지조성은 KH_2PO_4 2g, CaCl_2 0.2g, NH_4Cl 0.5g, L-aspartic acid 1.2g, glucose 20.0 g, thiamine HCl 100g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02g, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.02g, distilled water 1l이다.

종균 제조: 참나무 톱밥에 미강을 10% 첨가한 후 수분함량을 70%로 조절하고 고압살균기로 121°C에서 2시간 살균후 서서히 실온에서 식힌 다음 균사를 접종하여 25°C에서 20일간 배양하여 균사가 양호하게 성장된것을 종균으로 사용하였다.

자실체형성: 배양기 대체기법(Tokimoto and Kawai, 1975)을 사용하였다. 균사체를 100 ml의 배지가 들어있는 500 ml의 플라스크에 넣고 25°C에서 액체 정지배양한 후 균사체는 그대로 두고 배양액을 무균적으로 제거하고 다시 멸균된 새로운 배지 100 ml를 첨가한후 온도를 15°C로 강하하여 자실체 형성을 유도하였다.

탄소원 및 Triacylglycerol이 자실체 형성에 미치는 효과: 기본배지로 25°C에서 35일간 균사체 배양을 한 다음, 기본배지에서 상기 균주가 이용하기 쉬운 탄소원(Song 등, 1987) 즉 collobiose, dextrin, fructose, glucose와 trehalose를 각각 첨가하였다. 또한 triacylglycerol를 0.2%에서 1.0%로 단계적으로 농도를 높혀 첨가후 자실체 형성을 유도하였다.

아미노산이 자실체 형성에 미치는 효과: 상기와 같은 방법으로 균사체를 배양한 후 기본배지에서 aspartic acid를 glycine, histidine, alanine 및 proline으로 대체한 후 자실체 형성을 유도하였다.

배양액의 산도가 자실체 수량에 미치는 영향: 기본 배양액의 산도를 0.1N HCl과 0.1N NaOH로 산도를 pH 3.0 에서 pH 7.0으로 조절후 자실체 형성을 유도하였다.

Tannic acid의 효과: Malt extract agar에 tannic acid를 0.001, 0.01, 0.1, 1.0% 로 첨가한 후 1N의

NaOH로 pH 4.5로 조절한 다음 균사 절편을 cork borer(직경 4 mm)로 취하여 petri dish 중앙에 접종한후 25°C에서 12일간 배양한 균총의 직경을 측정하였다.

기질의 개발: 참나무 톱밥, 포플라 톱밥, 백양나무 톱밥 및 커피박에 미강 10%를 첨가한 기질에 균사를 접종하여 자실체 발생량을 조사하였다. 각각의 톱밥 750g에 75g의 미강과 커피박 1000g에 100g의 미강을 첨가한 기질에 물을 첨가하여 수분을 70%로 조절하였다. 이들을 멸균 가능한 polypropylene bag에 air filter 를 부착한 용기를 사용하여 가로 20 cm, 세로 13 cm, 높이 12 cm의 block 을 만든 다음 121°C에서 2시간 살균하였다. 여기에 균사를 접종하여 20°C에서 1개월간 균사체를 배양한후, 온도충격 효과로 5°C의 물속에 24시간 침적한 다음 15°C에서 발이를 유도하였다. 이때 가슴기를 작동하여 상대습도를 100%로 유지시켰으며 갓이 퍼지기 직전에 수확하여 생산량을 조사하였다.

기질에 tannic acid 첨가 효과: 포플라 톱밥 750 g에 10%의 미강과 70%의 수분을 혼합한 배지에 tannic acid 0.01, 0.1, 1, 10% 를 각각 첨가하고, 탄산칼슘으로 pH 4.5 로 조절하였다. 이를 상기와 같은 방법으로 멸균하여 균사를 접종하고 배양한 후 자실체를 수확하였다.

結 果

탄소원이 자실체 형성에 미치는 영향: Dextrin 처리구에서 수량이 가장 높았다. 즉 건물중이 720 mg이었고, 다음이 glucose 처리구로써 건물중이 610 mg이었다. 초발이 소요일수는 dextrin이 62일로

Table 1. Effect of carbon sources on the yield of sporocarps and period to the formation of the first sporocarps of *L. edodes*

Carbone sources	Dry weight of sporophore (mg/100 ml)	Period to the formation of sporophore(days)
cellobiose	320	71
Trehalose	460	68
Fructose	500	66
Glucose	610	66
Dextrin	720	62

Table 2. Effect of amino acids on the yield of sporocarps and period to the formation of the first sporocarps of *L. edodes*

Amino acid	Dry weight of sporophore (mg/100 ml)	Period to the formation of sporophore(days)
Histidine	420	75
Glycine	430	75
Proline	530	72
Alanine	570	69
Aspartic acid	600	70

Table 3. Effect of pH on the yield of sporocarps and period to the formation of the first sporocarps of *L. edodes*

pH of medium	Dry weight of sporocarps (mg/100 ml)	Period to the formation of sporocarps(days)
3.0	0	0
3.5	240	72
4.0	590	61
4.5	560	66
5.0	470	67
5.5	320	79
6.0	250	84
6.5	0	0
7.0	0	0

가장 짧았으며 다음으로는 fructose와 glucose, trehalose, cellobiose순이었다(Table 1).

Triacylglycerol의 효과: Triacylglycerol의 농도를 높임에 따라 건물중이 증가하여 0.8% 첨가구에서 가장 수량이 높아 건물중이 2690 mg이었으나 1.0% 첨가지는 이보다 낮은 2630 mg이었다. 초발이 소요 일도 농도가 증가함에 따라 단축되어서 0.8% 첨가구는 51 일로 가장 짧았지만 1.0% 첨가구에서는 53 일이 소요되었다(Fig. 1).

아미노산의 효과: 질소원으로 glycine 등 5 종의 아미노산을 처리한 결과, Aspartic acid 처리구에서 건물중이 600 mg으로 가장 높았다. 그 다음으로는 alanine, proline, glycine과 histidine 순이었다. 초발이 소요일수는 alanine 처리구에서 가장 짧았으며, 다음으로는 aspartic acid, proline, glycine 과 histi-

Table 4. Effect of tannic acid on growth of mycelium of *L. edodes*

Concentration of tannic acid (%)	Mycelial growth (mm)
Controll	74.3
0.001	75.8
0.01	77.0
0.1	81.3
1.0	54.6

dine 순이었다(Table 2).

산도의 영향: 자실체 형성의 최적산도는 pH 4.0 으로서 건물중도 590 mg으로 가장 높았고, 또한 초발이 소요일수도 61일로 가장 짧았다. 이보다 산도가 높거나 낮으면 수량이 떨어지는 경향이였다. pH 3.0 이하에서와 pH 6.5 이상에서는 자실체가 형성되지 않았다(Table 3).

균사생장에 대한 tannic acid의 효과: Tannic acid 를 첨가하지 않은 무처리구에서는 균사생장이 74.3 mm 이었으나, tannic acid 농도가 증가 할수록 균 사생장이 촉진되어 0.1% 처리구에서 81.3 mm로 최대치를 나타내었다. 이보다 고농도인 1% 처리구에서는 54.6 mm로 급속히 생장이 저하되었다(Table 4).

기질의 종류에 따른 자실체의 수량: 가장 수량이 높은 것은 커피박으로 수량이 생체중으로 401.2 g 이었고 다음이 포플라 톱밥으로 236.5g이었다. 백양 나무 톱밥과 참나무 톱밥은 196.9g 과 111.7g으로 낮았다. 이를 Biological efficiency(B.E., fresh weight of mushroom/dry weight of medium×100)로 환산하면 커피박은 40%, 포플라 톱밥은 32%, 백양 나무 톱밥은 26% 그리고 참나무 톱밥은 15% 이었다. 자실체 발생 숫자는 커피박이 13 개로 가장 많았고 다음이 포플라 톱밥으로 11 개 그리고 참나무와 백양나무 톱밥에서는 각각 4 개와 3 개가 발생하였다 (Table 5).

Tannic acid 첨가가 자실체 수량에 미치는 영향: 포플라 톱밥에 tannic acid의 첨가량이 0.1% 까지 증가 할수록 수량이 높아지는 경향을 보였다. 즉 tannic acid 무처리구에서는 자실체 생체중이 236.5g (B.E. 32%) 이었으나, tannic acid 0.1% 첨가구에서는 360.5g(B.E. 48%)을 수확하였고 개체중도 51.5g

Table 5. Effect of various solid media on the production of the first sporocarps of *L. edodes*

Medium	Fresh weight of sporocarps (g)	Number of mushroom	B.E. (%) ^a
Coffee waste	401.2	13	40
Poplar	236.5	11	32
Birch	196.9	3	26
Oak	111.7	4	15

^aBiological efficiency=fresh weight of mushroom/dry weight of medium×100.

Table 6. Effect of tannic acid on the yield of sporocarps of *L. edodes* on poplar sawdust

Concentration of tannic acid(%)	Fresh weight of sporophore(g)	Number of mushroom	B.E. (%) ^a
Control	236.5	10	32
0.01	278.0	11	37
0.1	360.5	7	48
1.0	0	0	0

^aBiological efficiency=fresh weight of mushroom/dry weight of medium×100.

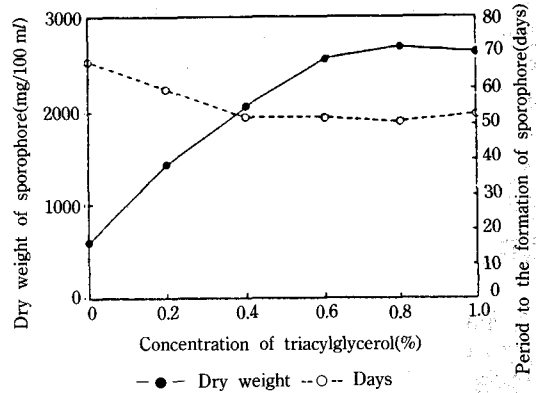
이었으며 품질도 가장 우수하였다. 그러나 이보다 높은 1% 이상 첨가구에서는 수량이 없었다 (Table 6).

考 察

자연에서 표고버섯(*Lentinus edodes*)은 고사목과 같은 탄소함량이 매우 높은 기질에서 생육하기 때문에 탄소원에 대한 선택성과 요구량이 매우 높다. 본 실험에서는 배양기내의 탄소원이 자실체 발생에 미치는 영향과 수량이 가장 높은 탄소원을 규명하기 위하여 균사체 생장에 효과가(Song등, 1987) 가장 큰 cellobiose 외 4종의 당을 첨가 하였던바 dextrin에서 가장 수량이 높았고 cellobiose에서 가장 낮았다(Table 1).

이는 Hammond등(1986)의 결과와 유사하였으며, 자실체 수량을 위한 배지 합성시 dextrin이 가장 적합한 탄소원이라 사료된다. 그러나 균사체 생장에서의 최적 탄소원으로는 glucose가 보고된 바 있다(Song등, 1987).

초발이 소요일수도 이와 동일한 결과를 나타내는

**Fig. 1.** Effect of concentration of triacylglycerol on the yield of sporocarps and period to the formation of the first sporocarps of *L. edodes*.

데 즉 dextrin 처리구에서는 평균 접종후 62일이 소요되었으나 cellobiose 첨가구는 71일 만에 초발이를 하여 자실체 형성에도 dextrin이 촉진효과가 있다고 사료된다. 표고버섯의 자실체 형성에 지질의 첨가효과에 대하여 Song등(1990)이 보고한바 있는데 triacylglycerol을 농도별로 처리하여 본 결과 농도가 높을 수록 수량이 증가하여 0.8%에서 가장 높은 수량을 나타내었지만 그보다 높은 1.0%에서는 0.8%에서보다 낮은 수량을 나타내고 있다. 따라서 triacylglycerol의 첨가농도는 0.8%가 최적농도로 사료된다(Fig. 1). 초발이 소요일수 또한 무처리구에서는 68일이었지만 0.8% 처리구에서 51일로 가장 짧았다. 이는 첨가된 triacylglycerol이 lipase에 의하여 가수분해 되어 Fatty acid 형태의 탄소원으로 이용될 뿐 아니라 (Schisler and Volkoff, 1977), membrane fluidity 및 permeability를 증가시켜(Cronan and Germann, 1975) 결과적으로 nutritional transport(Song등, 1991)를 증가시킴으로 자실체 수량뿐 아니라 초발이 소요일수도 단축시키는 것으로 사료된다.

배지에 첨가되는 아미노산의 종류가 양송이 버섯(*Agaricus bisporus*)의 수량에 영향을 미친다는 연구가 보고되어져 왔는데 표고버섯에서도 그와 같은 현상의 가능성을 검토한 결과 aspartic acid 처리구에서 수량이 가장 높았으며 다음으로 alanine, proline, glycine 과 histidine 순으로 증가하였다(Table 2). 이는 Fraster 와 Fujikawa(1958)의 결과와 유사

하였으며 aspartic acid가 균사체 생장에 최적 아미노산이라는 보고와도 일치하였다(Song등, 1987). 자실체 발생의 최적산도는 pH 4의 산성으로 나타났는데 이는 균사체 생장에서의 최적 산도인 pH 4.5 보다 약간 낮은 것으로 대사산물중 유기산등이 자실체 형성에 어떤 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그러나 최적 pH가 7.0 인 양송이 버섯과는 많은 차이가 남으로 버섯의 종류에 따라 자실체 형성의 최적 산도가 다름을 보여준다(Table 3).

표고는 다른 수종에 비해 다량의 tannin을 함유하는 것으로 알려진 참나무류의 통나무에서 발생하는 특성을 가지고 있어서 tannin 요구량이 많은 것으로 여겨져 왔다. 따라서 균사생장에 미치는 tannin의 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 tannin을 첨가한 결과 tannin의 첨가량이 증가하면 이에 비례하여 생장이 증가하였지만 1.0% 정도의 고농도에서는 감소하는 경향이 있었다. 따라서 tannin의 첨가량은 1.0% 보다 높아서 생리적인 유독작용의 피해를 볼 가능성이 있는 것으로 여겨진다.

참나무를 대치할 수 있는 재료의 개발을 위하여 여러가지의 톱밥과 커피박을 사용하여 표고재배를 시도한 결과 커피박이 가장 수량이 높았고(401.2g), 다음이 포플라 톱밥이었다(236.5g). 그와 반면에 참나무 톱밥은 비교적 수량이 낮았다(111.7g). 따라서 커피박이 표고재배에 매우 적합한 기질로 사료된다. 또한 여러 버섯의 기질로 많이 사용되며 일반적으로 다른 수종에 비해 tannin을 적게 함유하는 것으로 알려진 포플라 톱밥에 tannic acid를 첨가한 결과 0.1% 첨가구에서 수량이 증가됨을 관찰할 수 있었다. 따라서 표고재배에 있어서 참나무 원목을 대치하기 위하여는 기질로써 instant coffee 공업에서 부산물로 나오는 커피박을 사용하거나 포플라 톱밥에 tannic acid를 0.1% 첨가하면 생산량의 증가 뿐아니라 생산비도 절감할 수 있을 것으로 사료된다.

摘 要

자실체 생장을 위한 액체 정지 배양에서 탄소원, 질소원, pH의 효과를 검출한 결과 dextrin, aspartic acid, pH 4.0에서 각각 가장높은 건물중을 보였으며, 0.8% triacylglycerol 첨가시 자실체 생장이 촉진되었다.

고체배지 사용시 포플라, 백양나무, 참나무 톱밥 그리고 coffee waste 중 coffee waste에서 가장높은 자실체 건물중을 얻었으며 0.1% tannic acid의 첨가시 자실체 및 균사체 생장에 좋은 결과를 얻었다.

謝 辭

본 연구는 1990년 한국학술진흥재단 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

參考文獻

Bechman, C. H., Kunts, J. E., and Ricker, A. J. 1953. The growth of the oak wilt fungus with various vitamins, carbon and nitrogen sources. *Phytopath.* **43**: 441-447.

Chang, S. T. and Hayes, W. A. 1978. *The biology and cultivation of edible mushrooms.* Academic press. pp. 461-473.

Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. *Edible Mushrooms and Their Cultivation.* CRC press. pp. 27-40.

Chihara, G., Hamura, H., Maeda, 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.

Crisan, ELI V. and Sands, A. 1978. Nutritional value. in *The biology and cultivation of edible mushrooms* Eds. S.T. Chang and W.A. Hayes. Academic press. pp. 137-168.

Cronan, J. E. Jr. and Gelmann, E. P. 1975. Physical properties of membrane lipids. *Bacteriological Reviews.* **39**: 232-256.

Fraser, I. M. and Fujikawa, B. S. 1958. The growth promoting effect of several amino acids on the common cultivated mushroom, *A. bisporus.* *Mycologia.* **50**: 538-549.

Hammond, J. B. W. 1986. Carbohydrates and mushroom growth. *The mushroom Journal.* **165**: 316-321.

Manachere, G. 1977. Formation of Basidiocarps. in *Biotechnology and fungal differentiation* FEMS symposium No. 4. Eds. J. Meyrath and Bu'Lock. Academic press. pp. 43-45.

Miles, P. G. and Chang, S. T. 1985. *Lentinus* and the future. *Mushroom News Letter for the Tropics.* **6(2)**: 2-3.

- Schisler, L. C. and Volkoff, O. 1977. The effect of safflower oil on mycelial growth of Boletaceae in submerged liquid cultures. *Mycologia*. **69**: 118-125.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. 1987. A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*. **79**: 866-876.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. and Vine, J. 1989. Growth stimulation and lipid synthesis in *Lentinus edodes*. *Mycologia*. **81**: 514-522.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. 1990. Effect of triacylglycerols on growth, lipid profile and lipase activity of *Lentinus edodes*. *Mush. J. Tropics*. **10**: 9-19.
- Song, C. H., Cho, K. Y. and Nair, N. G. 1991. Effect of low temperature shock treatment on sporophore initiation, lipid profile and nutrient transport in *Lentinula edodes*. *Mycologia*. **83**: 24-29.
- Suzuki, S. and Oshima, S. 1976. Influence of Shiitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. *Mushroom Science* **9**: 463-467.
- Tokimoto, K. and Kawai, A. 1975. Nutritional aspects on fruit-body development in replacement culture of *Lentinus edodes* (Berk.) sing. Rept. Tottori Mycol. Inst. (Japan) **12**: 25-30.
- Yamamura, Y. and Cochrane, K. W. 1976. A selective inhibitor of myxoviruses from Shiitake (*Lentinus edodes*). *Mushroom Science*. **9**: 495-507.
- Accepted for Publication on February 27, 1992**