

Pleurotus eryngii(큰느타리버섯) 균의 인공재배(I) - 균사배양 조건에 관하여 -

김한경* · 정종천 · 장현유 · 김광포 · 차동열 · 문병주¹

*농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과

¹부산동아대학교 생명자원과학대학 농생물학과

The Artificial Cultivation of *Pleurotus eryngii* (I) - Investigation of Mycelial Growth Conditions -

Han-Kyoung Kim*, Jong-Chun Cheong, Hyun-You Chang,
Gwang-Po Kim, Dong-Yeul Cha and Byung-Ju Moon**

*Division of Applied Microbiology, National Institute of Agricultural Science
and Technology, R.D.A., Suweon 441-707

¹Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources and
Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

ABSTRACT: A study was conducted to obtain optimal mycelial growth conditions of *Pleurotus eryngii*. Mycelial growth was best on medium Lilly, temperature 25~30°C, and pH 6.0. Optimal carbon sources were 3~4% glucose and 5% dextrin. Casamino acid 0.12% in medium was good for mycelial growth as a nitrogen source.

KEYWORDS: *Pleurotus eryngii*, Carbon sources, Mycelial growth, Nitrogen sources, pH, Temperature

큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*(DC. ex Fr.) Quel.)은 분류학적으로 느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 버섯으로서 주로 아열대지방의 대초원에서 발생하며 분포 지역은 유럽남부, 중앙아시아, 아프리카북부(Rajarathnam 등, 1987), 러시아남부(Stamets, 1993) 등지에서 자생하는 버섯이다. 특히 유럽에서는 대중적인 식용버섯으로서 "Boletus of the steppes" 또는 "king oyster mushroom" (Vasilkov, 1955)이라고 불리워 지기도 한다. 또한 이 균은 *Eryngium campestre*(산형과 식물), *Laserpitium latifolium*(분과 식물), *Ammiaceae*(부처꽃과 식물) 종과 같은 초본과 식물 뿌리에 질병을 일으키는 균이라고(Kreisel, 1955) 보고되고 있다.

그러나 이 버섯에 대한 영양학적 가치와(Crisan

등, 1978) 산업부산물을 이용한 균사체 단백질 생산(Falanghe, 1962), Polysaccharide에 의한 항암(Ikekawa 등, 1975) 및 약리적인 효과(Liu 등, 1979), 담자균류를 이용한 리그닌 분해(Szklarz 등, 1989) 및 섬유소 분해(최, 1986) 등의 연구로 관심도가 높아지고 있다. 또한 버섯 균체내 필수아미노산과 비타민 등이 많이 함유되어 있어 건강식품으로도 이용이 가능하다고 하였다(Block 등, 1953).

식용버섯의 균사체 배양은 Lambert(1938)에 의해서 처음 시도되었고 그후 Humfeld and Sugihara(1940, 1952)는 양송이 액체배양에 있어서 영양요구조건과 배양방법 및 균사체의 영양성분에 관해서, Jennison(1955) 등은 백색부후균의 액체배양시 비타민, 탄소원, 질소원 이용과 균사생육에 관하여 보고하였다. Sakamoto(1978) 등은 표고와 느타리균의 액체배양에 관한 연구를 수행하였고,

*Corresponding author

Torev(1969)는 균사체의 대량생산 방법, Chahal(1991) 등은 농산부산물인 벗장을 활용한 느타리버섯의 균사체 생산에 관한 연구 결과를 보고하였다. 국내에서도 고온성 양송이와 느타리버섯의 균사생육(홍 등, 1981, 1983), 뽕나무버섯의 균사체 생리, 생태학적 연구(최 등, 1983), 여름느타리버섯과 느타리버섯의 균사생장에 미치는 몇 가지 요인(고 등, 1984), 버들송이의 균사생장 조건에 관한 연구(김 등, 1988) 등 다수의 담자균에 의한 균사체 배양조건에 관한 연구들이 보고된 바 있다. 그러나 아직까지 국내에서 *P. eryngii* 균의 균사체 배양에 관한 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구는 *P. eryngii* 균의 인공재배에 관한 연구를 수행하던 중 균사배양 조건에 관한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주

본 시험에 사용된 공시균주는 농업과학기술원 응용미생물과에 보존 중인 ASI 2302 균주를 사용하였다.

시험방법

최적배지 선발

공시균주의 최적배지를 선발하기 위하여 PDA 배지에 *P. eryngii* 균을 이식하여 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 항온기 (Forma Scientific Model 3956, reachin incubator)에 13일간 배양한 후 접종원으로 사용하였다. 배지조성은 Czapek 배지와 4종인 Hoppkins, Lilly, Tochinol, Beadle 배지를 250 ml 삼각프拉斯크에 50 ml 씩 일정하게 분주한 다음 121°C 고압 살균기에 15분간 살균하여 실온으로 냉각시킨 후 공시균을 접종, 28일간 배양후 whatman No.2 여지로 여과시킨 후 균체량을 전조평량(Sartorius Electronic Balances 1712 MP8)하여 최적배지를 선발하였다.

균사배양 최적온도

균사배양에 적합한 최적온도를 구명하기 위하여

직경 9 cm인 pertri dish에 PDA배지를 15 ml 씩 분주한 후 직경 0.5 cm cork borer를 사용하여 공시균을 절편, 접종한 후 배양온도를 10, 15, 20, 25, 30, 35°C로 각각 달리한 항온기에 16일간 배양하여 균총 직경을 측정하고 균사밀도를 육안으로 조사하였다.

배지의 최적 pH

공시균주의 균사배양 최적 pH를 선발하기 위하여 Lilly 기본배지(glucose 10g, asparagine 2g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, KH₂PO₄ 1.0g, FeSO₄·7H₂O 0.2 mg, MnSO₄ 0.1 mg, ZnCl₂ 0.2 mg)에 1 N-HCl과 NaOH를 사용하여 배지의 pH 범위를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0으로 각각 달리 조절하여 살균후 공시균을 접종하고 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 항온기에 16일간 배양하여 균체량을 조사하였다.

탄소원 선발 및 최적농도

기본배지에 탄소원으로서 glucose 외 13종의 당류를 각각 1%씩 첨가하고 배지의 pH는 6.0으로 조절한 다음 250 ml 삼각프拉斯크에 50 ml 씩 배지를 일정하게 분주 121°C에서 20분간 살균후 공시균을 접종하고 균사생육을 조사하였다. 또한 선발된 탄소원은 탄소원 농도를 0.5~5.0%까지 농도를 각각 달리하여 균체량을 조사하였다.

질소원 선발 및 최적농도

기본배지에 질소원으로서 Asparagine 대신에 16종의 각종 질소원을 총질소 함량이 0.04% 되게 조성하여 최적 질소원을 선발한 다음 균사생육이 양호한 최적 질소원은 질소원 농도를 0.02~0.2%까지 각각 달리하여 균체량을 조사하였다.

결과 및 고찰

최적배지 선발

공시균주의 균사생육 최적배지를 선발하기 위하여 Table 1에서와 같이 각종배지를 조성하여 균사생육을 조사한 결과 Lilly배지에서 78 mg/28일로 균사생육이 가장 양호하였고, Hoppkins 배지가 가장 저조하였다(Table 2). 이는 Table 1에서 보는 바

Table 1. Composition of various synthetic media

Nutrition reagents	Medium and Composition (g/l)				
	Czapek	Hopkins	Lilly	Tochinol	Beadle
Glucose		10	10	30	20
Sucrose	30				
Asparagine			2		
KH ₂ PO ₄		0.1	1	0.5	1
K ₂ HPO ₄	1			0.5	
KNO ₃		2		2	
KCl	0.5				
NH ₄ NO ₃					1
(NH ₄) ₂ C ₄ H ₄ O ₆					5
NaNO ₃	2				
CaCl ₂ ·2H ₂ O				0.1	0.1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	0.5	0.5		0.5
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01		0.0002		0.0002
ZnCl ₂			0.0002		0.002
MnSO ₄			0.0001		0.0002
CuSO ₄ ·5H ₂ O					0.0001
Mo					0.00002
Boric acid					0.00001

와 같이 배지의 조성이 Lilly 배지에서는 미량원소 및 아미노산인 Asparagine 성분이 함유되어 있는 반면에 Hopkins 배지에서는 이러한 성분이 함유되어 있지 않은데 기인된다고 생각된다. 본 시험의 결과 배지의 조성에 따라 균사생육 정도의 차이가 크다고 생각되며 이는 박(1978) 등이 보고한 바와 같이 팽이버섯의 균사배양시 배지조성에 따라 균사생육의 차이가 있다고 한 보고와 일치하는 경향이다.

최적배양온도

*P. eryngii*의 균사배양 최적온도를 조사하기 위

Table 2. Effects of various synthetic media on mycelial growth of *P. eryngii*

Medium	Mycelial dry weight (mg/28 days)	Final pH
Czapek	30	5.8
Hopkins	20	5.9
Lilly	76	5.8
Tochinol	42	5.3
Beadle	66	4.8

*incubation temperature (°C): 25, pH: 6.0

하여 배양온도를 달리하여 균사생육을 조사한 결과 25~30°C에서 균사생육이 빠르고 균사밀도가 가장 높았으며, 35°C나 20°C 이하에서는 균사생육이 느리고 균사밀도도 매우 낮았다(Table 3).

Rajarathnam(1987)은 *Pleurotus*속의 버섯류 중 대다수의 균이 균사생육 온도범위가 15~31°C라고 한 보고와 Kichiro(1996) 등은 *P. eryngii* 균이 균사배양 온도가 30°C라고 하였으며, Zadrazil(1974) 등은 *P. eryngii* 균의 균사생육 최적온도가

Table 3. Effects of cultural temperature on the mycelial growth of *P. eryngii* on PDA

Incubation temperature (°C)	Diameter of colony (mm/16 days)	Mycelial density*
10	28	+
15	37	++
20	73	+++
25	85	++++
30	85	++++
35	16	++

*mycelial density: +: thin, ++: thick, +++: compact, ++++: quite compact.

Table 4. Effects of initial pH on the mycelial growth of *P. eryngii*

Initial pH	Mycelial dry weight (mg/16 days)	Final pH
4.0	45	3.5
5.0	57	4.3
6.0	94	5.4
7.0	82	6.4
8.0	54	6.8

25°C라고 보고하였는데 이는 본 시험의 결과 거의 같은 온도 범주내인 것으로 나타났다.

pH의 영향

균사생육에 적합한 최적 pH 범위를 구명하기 위하여 pH를 각각 달리하여 균사생육을 조사한 결과 pH 6.0에서 균체량이 94 mg/16일로 가장 많았으며 pH 6.0 이상 약알카리쪽이나 그 이하 약산성쪽에서는 균사생육이 다소 억제되는 경향이었다(Table 4). 이는 Kichiro(1996) 등이 보고한 *P. eryngii* 균의 최적 pH가 5.0~6.0이라고 한 것은 본 시험의 결과와 일치하나, Zadrazil(1974)이 보고한 최적 pH 5.0과는 다소 차이가 있었다. 그리고 균사배양전 pH 보다 균사배양 후 pH가 전체적으로 떨어지는 경향이었다. 이와 같은 변화는 균체내 분비되는 효소의 기작으로 사료되나 이에 대해서는 금후 보다 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다.

탄소원의 영향

각종 당류가 *P. eryngii* 균의 균사생장에 미치는 영양을 조사한 결과 *P. eryngii* 균은 당류에 대하여

Table 5. Effects of various carbohydrates on the mycelial growth of *P. eryngii*

Carbon sources*	Mycelial dry weight (mg/21 days)	Final pH
Glucose	48	5.5
Fructose	28	4.7
Mannose	24	5.3
Galactose	26	5.9
Xylose	21	5.4
Arabinose	23	5.6
Ribose	19	5.7
Maltose	31	5.9
Sucrose	28	5.7
Lactose	19	6.0
Inulin	19	6.3
Dextrin	49	4.9
Raffinose	20	6.1
Mannitol	18	6.0
Control	8	6.2

*Carbon source: Each Carbon source was supplemented to 1% in basal medium.

광범위한 적응성을 보이고 있으나 당류 중에서도 단당류인 glucose와 다당류인 dextrin에서 균사생육이 가장 양호하였다(Table 5). 그리고 탄소원에 대한 최적 농도에서는 glucose가 3~4%, dextrin은 5%에서 균사생장이 양호하였다(Table 6). 또한 같은 다당류 계통인 inulin에서는 균사생육이 억제되는 것으로 보아 당류에 대해서 선택성이 것으로 판단된다. 박 등(1995)은 느타리(*P. ostreatus*) 균의 균사배양을 위한 새로운 함성배지 시험에서 다당류인 starch와 dextrin에서 균사생육이 좋다고

Table 6. Effects of different concentrations of glucose and dextrin on the mycelial growth of *P. eryngii*

Concentration of carbon source (%)	Glucose		Dextrin	
	Mycelial dry weight (mg/26 days)	Final pH	Mycelial dry weight (mg/26 days)	Final pH
0.5	53	4.4	70	5.5
1.0	59	4.3	74	5.9
2.0	74	4.3	77	5.7
3.0	83	4.2	90	6.2
4.0	84	4.1	113	6.2
5.0	79	4.3	126	6.0

Table 7. Effect of various nitrogen sources on the mycelial growth of *P. eryngii*

Nitrogen sources*	Mycelial dry weight (mg/25 days)	Final pH
NH ₄ Cl	57	3.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	52	3.3
(NH ₄) ₂ HPO ₄	57	3.9
(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ ·H ₂ O	45	6.0
(NH ₄) ₂ C ₄ H ₄ O ₆	59	4.8
NH ₄ H ₂ PO ₄	54	4.0
NH ₄ NO ₃	50	3.3
KNO ₃	31	5.8
NaNO ₃	27	5.7
NaNO ₂	0	6.0
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	37	5.0
Urea	61	6.8
Casamino acid	78	6.0
D-Alanine	61	5.7
L-Asparagine	63	6.1
L-Glutamic acid	70	6.3
DL-Serine	71	5.8
Control	36	5.7

*Nitrogen source: Nitrogen sources are supplemented to 0.04% in basal medium.

**0: no growth.

한 것은 본 시험과 일치하는 경향이었으나, Hashimoto 등(1974)은 느타리균이 단당류인 mannose에서 균사생육이 좋다고 한 보고와는 다소 차이가 있으나 이는 기본배지의 선택과 균주간의 차이라고 사료된다.

질소원의 영향

각종 질소원이 *P. eryngii* 균의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 *P. eryngii* 균은 무기태 질소보다 유기태 질소에서 이용도가 높았으며 최적 질소원은 casamino acid에서 78 mg/25일로 가장 좋았고(Table 7), 최적 농도는 0.12%였다(Table 8). 반면에 아질산태 질소인 sodium nitrite (NaNO₂)에서는 질소원으로서 전혀 이용하지 못하였다. Chang 등(1989)은 곰팡이의 생물학적 개요에서 질산을 NH⁺ 형태로 전환시키는 nitrogen reductase 효소가 없기 때문이라고 하였고, Hashimoto 등(1974)은 느타리균에 관한 연구에서 질소

Table 8. Effect of different casamino acid concentration on the mycelial growth of *P. eryngii*

Concentration of casamino acid (%)	Mycelial dry weight (mg/25 days)	Final pH
0.02	46	5.5
0.04	74	5.5
0.08	79	5.6
0.12	83	5.9
0.16	77	6.0
0.20	77	6.0
Control	23	6.4

*Carbon source: glucose 30 g/l

원으로서 유기태 질소가 좋다고 하였다. 또 홍 등(1983)은 합성배지를 이용한 고온성 느타리버섯의 자실체 형성에 관한 연구에서 *P. florida* 균이 질소 원으로서 유기태 질소인 peptone에서 균사생육이 좋다고 한 보고와는 같은 유기태 급원으로서는 일치하는 경향이었으나 이용면에서 약간의 차이가 있다고 사료된다.

적 요

P. eryngii 균의 텁밥 인공재배에 관한 연구를 수행한 결과 균사배양 조건에 관해서 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

P. eryngii 균의 균사배양 최적배지는 Lilly 배지에서 균사생장량이 가장 많았고, 균사배양 최적온도는 25~30°C, 최적 pH는 6.0 이었다. 최적 탄소원은 단당류인 경우 glucose, 다당류에서는 dextrin 이었으며, 최적 농도는 glucose 3~4%, dextrin은 5% 수준에서 균체량이 가장 많았다. 또 최적 질소원은 유기태 질소인 casamino acid에서 균체량이 가장 많았으며 최적농도는 0.12%였다.

참고문헌

- 최윤희. 1986. 합성배지에서 *Ganoderma lucidium* 이 생산하는 섭유소 분해효소에 관한 연구. 전북대학교 대학원 석사학위 논문: 1-30.
 Block, S. S., Stearns, T. W. Stephens, R. I. and

- McCandless, R. F. J. 1953. Mushroom mycelium experiments with submerged culture. *J. Agr. Food. Chem.* **1**: 809-893.
- Chahal, D. S. and Khan, S. M. 1991. Production of mycelial biomass of oyster mushrooms on rice straw. *Science and Cultivation of Edible Fungi* : 709-716.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. *Edible mushroom and their Cultivation*. CRC Press. Chapter 3: P 65.
- Choi, M. J. and Lee, J. Y. 1983. Physiological and Ecological Studies on Mycelia of *Armillariella mellea*. *Kor. J. Mycol.* **11**(2): 79-84.
- Crisan, E. V. and Sands, A. 1978. Nutritional value. In S. T. Chang and W.A.Hayes(eds.), *The Biology and Cultivation of Edible Fungi*. Academic Press, New York: 137-168.
- Falanghe, H. 1962. Production of mushroom mycelium as a Protein and Fat Source in Submerged Culture in Medium of Vinasse. *Appli. microbial.* **10**: 572-576.
- Go, S. J., You, C. H. and Park, Y. H. 1984. Effect of Temperature, pH, Carbon and Nitrogen Nutritions on Mycelial Growth of *Pleurotus sajor-caju*(Fr.)Sing. and *Pleurotus ostreatus*(Fr.)Quel. *Kor. J. Mycol.* **12**(1): 15-19.
- Hashimoto, K. and Takahashi, Z. (1974). Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. *Mush. Sci.* **9**(1): 585.
- Hong, J. S., Lee, K. S. and Choi, D. S. 1981. Studies on Basidiomycetes(1). On the Mycelial growth of *Agaricus bitorquis* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **9**(1): 19-24.
- Hong, J. S. and Kang, K. H. 1983. Fruit-body Formation of *Pleurotus florida* on the Synthetic Medium. *Kor. J. Mycol.* **11**(3): 121-128.
- Humfeld, H. and Sugihara, T. F. 1940. Mushroom mycelium production by submerged propagation. *Food. Tech.* **3**: 355.
- Humfeld, H. and Sugihara, T. F. 1952. The nutrients requirements of *Agaricus compestris* growth in submerged culture. *Mycologia*. **44**: 605-620.
- Ikekawa, T., Sano, M. Okabe, M. and Fukuoka, F. 1975. Relationship between antitumor effect of polysaccharides and biogenic amines in tumor tisses. *Chem. Pharm. Bull.* **23**: 2148-2150.
- Jennison, M. W., Newcomb, M. D. and Henderson, R. 1955. Physiology of the wood-rotting basidiomycetes. 1. Growth and nutrition in submerged cultule in synthetic media. *Mycologia* **47**(3): 275-304.
- Kichiro, K. and Shinnosuke, M. 1996. Mycelial growth of *Pleurotus eryngii*. Asian Internation Mycological Congress 96(AIMC 96) Proceedings: 83.
- Kreisel, H. 1955. *Die Phytopathogenen Grosspilze Deutschlands* (Jena).
- Kim, H. K., Park, J. S. Kim, Y. S. Cha, D. Y. and Park, Y. H. 1988. Studies on the Mycelial Growth Conditions of *Agrocybe aegerita*. *Res. Rept. RDA* **30**(3): 141-150.
- Liu, G. Bao, T. Niu, S. and Sung, Z. 1979. Some pharmacological actions of the spores of *Ganoderma lucidum* and the mycelium of *Ganoderma capense*(Lloyd) Teng cultivated by submerged fermentation. *Chin. Med. J.* **92**: 496-500.
- Park, W. M., Kim, G. H. and Hyewon, J. W. 1995. New synthetic medium for growth of mycelium of *Pleurotus* species. *Kor. J. Mycol.* **23**(3): 275-283.
- Rajarathnam, S. and Bano, Z. 1987. *Pleurotus* mushrooms. Part 1 A. Morphology, Life cycle, Taxonomy, Breeding and Cultivation. *CRC critical in Food science and Nutrition*. **26**(2): 157-222.
- Sakamoto, R., Nimi, T. and Takahash, S. 1978. Effect of carbon and nitrogen sources on submerged culture of edible Fungi. *Agri. Chem. Sci. Japan.* **52**: 75.
- Stamets, P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press. Hong Kong: 304-308.
- Szklarz, G. D., Antibus, R. K., Sinsabaugh, R. L. and Linkins, A. E. 1989. Production of Phenol oxidases and Peroxidases by wood-rotting Fungi. *Mycologia*. **81**(2): 234-240.
- Torev, A. 1969. Submerged culture of higher fungi mycelium on an industrial scale. *Mush. Sci. VII*: 585-589.
- Vasilkov, G. and Vilay, B. 1955 . Abriss der geographischen Verbreitung der Hutpilze in der Sowjetunion (Moskau-Leningrad).
- Zadrazil, F. 1974. The Ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mush. Sci.* **IX**(Part 1): 621-652.