

화경버섯의 배양조건에 따른 균사생장 및 섬유질분해효소 활성에 관한 연구

유 관 희*

상지대학교 이공과대학 생명과학과

Studies on the Mycelial Growth and Cellulolytic Enzyme Production of *Lampteromyces japonicus* at Various Cultral Conditions

Kwan Hee Yoo*

Department of Life Science, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

(Received March 17, 2003)

ABSTRACT: This study was carried out to obtain the basic data on artificial culture of *Lampteromyces japonicus*. Favorable media for mycelial growth were glucose peptone medium, Hennerberg medium, malt yeast extract, yeast malt peptone, potato dextrose medium. The optimum conditions for the mycelial growth were 30°C and pH 6.0. Dextrose as a carbon source was favorable to mycelial growth. The optimal dextrose concentration was 1.2%. As nitrogen sources, yeast extract, (NH₄)₂HPO₄ and leucine appeared to be favorable. The optimal concentrations of nitrogen sources were 1.7% for yeast extract, 0.2% for (NH₄)₂HPO₄ and 0.2% for glutamine. The mineral salts of Al₂(SO₄)₃·14H₂O were effective and the optimal concentration was 0.1 M.

KEYWORDS: Carbon, Mineral salts, Mycelial growth, Nitrogen, Optimal concentration

섬유소분해효소는 식물체 건조중량의 40% 이상을 차지하는 주된 구조 다당류인 섬유소의 β-1,4-glycosidic 결합을 가수분해시키는 효소로 endoglucanase(CMCCase, EC 3.2.1.4) 및 exoglucanase(avicelase, EC 3.2.1.91) 그리고 cellobiase(β-1, 4-glycosidic, EC 3.2.1.2.)로 구분되어진다 (Reese *et al.*, 1950; Nishizawa *et al.*, 1972; Okada *et al.*, 1966; Shibata *et al.*, 1969; Wood *et al.*, 1972).

지난 10년간 효소학의 급속한 발전으로 amylolytic, cellulolytic, proteolytic, lignolytic enzyme이 산업, 의학, 약학, 농업 등의 분야에 이용되고 있으며, 또한 최근에는 endocellulase gene을 pBR 322에 삽입하여 pBSI 이라는 재조합 DNA를 만들어 *E. coli*에서 유전자 발현시켜 유전자 공여균보다 40배나 높은 활성을 높인 유전공학적인 방법 (Park *et al.*, 1986)이 이용되기도 한다.

또한, 고등균류인 버섯으로부터 생산되는 섬유소분해효소를 산업적으로 이용하려는 연구가 급속도로 이루어지고 있다. 즉, 섬유산업, 제지산업, 세제산업, 사료산업 등에 많이 이용되고 있으며, 이외에도 저칼로리식품의 제조, 음식물 쓰레기의 발효, 산업폐기물 제거 등의 다양한 용도로 이용되고 있다. 한편 버섯류는 맹독성을 나타내는 것도 있지만 식용 또는 약용으로 많이 이용되고 있으며, 오늘날에는 균류의 부생성(saprophytic)을 이용한 폐기물 처리

및 폐자원 재활용 등에 많은 연구가 이루어지고 있다 (Gilbert and Hazleweed, 1993).

본 실험에 사용한 화경버섯(*Lampteromyces japonicus*)은 주름버섯목 송이과에 속하는 버섯으로 야간에는 청백색의 인광을 발생하며 소화기 질환을 야기하는 독균이다. 본 연구에서는 자연계에 널리 존재하며, 섬유소분해능력이 우수한 *L. japonicus*의 액체배양시 배양조건과 대량배양시 필요로 하는 최적배지를 알아보기 위하여 실험한 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

사용한 배지

L. japonicus 균주의 최적배지를 선별하기 위하여 Czapek dox medium을 포함한 16종류의 배지를 사용하였으며, 그 조성은 Table 1과 같다. 균사의 성장량에 미치는 탄소원 및 질소원의 영향을 조사하기 위하여 사용한 기본배지의 조성은 NaNO₃ 3 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g, K₂HPO₄ 1 g, 증류수 1,000 ml로 한 후 pH를 6.0으로 조정하여 사용하였으며, 모든 배지들은 121°C, 15 psi에서 20분간 멸균하여 사용하였다.

효소활성의 측정

CMCase 활성은 Somogy(1962) 법에 의하여 실시하였

*Corresponding author <E-mail: khyoo@mail.sangji.ac.kr>

Table 1. Compositions of various media

Ingredient	Medium (g/l) ^a															
	CD	GP	YMP	MY	Leoniam	Hennerberg	Hoppkins	Lilly	AC	CV	HA	LE	MC	MYG	PD	PI
Potato															20	
Hyponex											0.2					
Starch								2.0				2.0				
Bacto soytone								0.4								0.3
Glucose		10		10	25	50	10									
Sucrose	30															
Maltose							10									
Peptone		10	5							0.4			0.2			
Yeast extract		10	3	5				0.6	0.6	0.2	0.6	0.2	0.4			0.2
Malt extract		15	3	3										1.0		7.0
DL-Asparagine						2		2								
Dextrose			10							2.0	2.0	2.0	2.0		2.0	
NH ₄ NO ₃														0.4		
NaNO ₃	3					2										
(NH ₄) ₂ HPO ₄																
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5				0.5	0.5	0.5	0.5	0.05	0.05		0.05	0.05			
KCl	0.5															
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01				0.02											
CaCl ₂ ·2H ₂ O						0.1										
ZnSO ₄ ·7H ₂ O																
MnSO ₄ ·5H ₂ O					0.01											
CuSO ₄ ·5H ₂ O																
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄																
K ₂ HPO ₄	1							0.1	0.1		0.1					
KH ₂ PO ₄	1				1	1	0.1	1	0.046	0.046		0.046	0.05			
KNO ₃						2	2									
pH	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

^aCD: Czapek dox medium, GP: Glucose peptone medium, YMP: Yeast malt peptone medium, MY: Malt yeast extract medium, AC: *Agrocybe cylindracea* medium, CV: *Coriolus versicolor* medium, HA: Hamada medium, LE: *Lentinus edodes* medium, MC: Mushroom complete medium, MYG: Malt yeast glucose medium, PD: Potato dextrose medium, PI: *Phellinus igniarius* medium.

으며 520 nm에서 비색 적량한 후 상대활성 값으로 나타났다.

최적배지 선발

*L. japonicus*의 최적배지를 선발하기 위하여 PDA 배지에 *L. japonicus*를 접종하여 30±1°C의 항온기에서 15일간 배양한 공시균주를 5 mm cork borer를 사용해서 균사체를 절단한 절편을 Czapek dox 배지를 포함한 15종류의 액체배지에 접종한 후 배양한 균사체를 여과지로(Watman No. 2) 여과하여 80°C로 24시간 건조시킨 다음 각 균주들의 건조균체량을 측정하여 최적배지를 선발하였다.

배양방법

250 ml 삼각플라스크에 16종의 배지를 50 ml씩 일정하게 조제한 후 121°C에서 15 psi로 20분간 고온가압살균한 다음 공시균주를 접종하여 30±1°C의 배양기에서 15일간 배양하였다.

탄소원의 영향 및 최적농도

균사의 성장속도에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기

위하여 기본배지에 탄소원으로 fructose, xylose, mannose, galactose, dextrose, maltose, saccharose, lactose, raffinose, soluble starch, dextrin, cellobiose, inositol, Na-CMC, ethanol, glycerol 등 16종류의 탄소원을 각각 1%씩 첨가하고 pH는 6.0으로 조절한 다음 250 ml 삼각플라스크에 50 ml씩 배지를 일정하게 분주하여 121°C에서 15 psi로 20분간 살균 후 공시균주를 접종하고 균사생육을 조사하였다. 또한 선발된 탄소원은 탄소원 농도를 0.1%~2.0%까지 농도를 달리하여 배지를 제조한 후 균을 접종하고 배양한 후 건조균체량을 측정하여 최적농도를 조사하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

유기질소원 선발 및 최적농도

균사의 성장량에 미치는 유기질소원의 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 유기질소원으로 peptone, tryptone, soytone, yeast extract, malt extract, urea, casamino acid 등 7종류의 유기질소원을 각각 0.1% 되게 첨가하고 pH는 6.0으로 조절한 다음 탄소원의 영향을 조사하는 방법과 동일하게 시행하여 최적 유기질소원을 선발하였으며, 선

발된 유기질소원은 질소원 농도를 0.1%~2.0%까지 달리 하여 배지를 제조한 후 균을 배양하고 건조균체량을 조사하여 최적농도를 조사하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

무기질소원 선발 및 최적농도

균사의 성장량에 미치는 무기질소원의 영향을 알아보기 위하여 기본배지에 무기질소원으로 NH₄Cl, (COONH₄)₂, (NH₄)₂HPO₄, NH₄H₂PO₄, NH₄NO₃, NaNO₃, (NH₄)₂SO₄ 등 7종류의 무기질소원을 각각 0.1% 되게 첨가하고 pH는 6.0으로 조정된 다음 탄소원의 영향을 조사하는 방법과 동일하게 시행하여 최적 무기질소원을 선발하였으며, 무기질소 최적농도 조사는 유기질소 최적농도를 조사하는 방법과 동일하게 시행하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

아미노산 선발 및 최적농도

균사의 성장량에 미치는 아미노산의 영향을 알아보기 위하여 L-asparagine, L-glutamic acid, arginine, methionine, valine, histidine, proline, aspartic acid, cysteine, leucine, glutamine, threonine 등 12종류의 아미노산을 각각 0.1% 되게 첨가하고 pH는 6.0으로 조정된 다음 탄소원의 영향을 조사하는 방법과 동일하게 시행하여 최적 아미노산을 선발하였으며, 아미노산 최적농도 조사는 유기질소 최적농도를 조사하는 방법과 동일하게 시행하였다. 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

무기염류 선발 및 최적농도

균사의 성장량에 미치는 무기염류의 영향을 조사하기 위하여 기본배지에 KCl, BaCl₂, CaCl₂ · 2H₂O, CoCl₂ · 6H₂O, CuSO₄ · 5H₂O, Li₂SO₄, MnSO₄ · 4H₂O, ZnSO₄ · 7H₂O, MgSO₄ · 7H₂O, FeSO₄ · 7H₂O, AgNO₃, Al₂(SO₄)₃ · 14H₂O, Na₂MoO₄ · 2H₂O 등 13종류의 무기염류를 각각 1 mM이 되게 첨가하고 pH는 6.0으로 조정된 다음 탄소원의 영향을 조사하는 방법과 동일하게 시행하여 최적 무기염류를 선발하였으며, 무기염류 최적농도 조사는 0.1~1.5 M로 농도를 달리하여 배지를 제조한 후 균을 배양하고 건조균체량을 조사하여 최적농도를 조사하였다. 배양 및 건조균체량의 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

최적 배양온도

균사생장에 적합한 온도를 조사하기 위하여 기본배지에 1.2% dextrose, 0.2% (NH₄)₂HPO₄, 1.7% yeast extract, 0.2% glutamine, 0.1% Al₂(SO₄)₃ · 14H₂O를 첨가한 배지에 공시균주를 접종한 후 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C의 항온기에서 15일간 각각 배양한 다음 건조

균체량을 측정하여 최적온도를 조사하였다. 균의 접종과 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

최적 pH

배지 조성 실험에서 확인된 최적 액체배지의 pH를 0.1 N HCl과 NaOH로 pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10으로 조절한 후 최적 배양온도에서 15일간 배양한 다음 건조균체량을 각각 측정하여 최적 pH를 조사하였다. 균의 접종과 배양 및 건조균체량 측정은 최적배지 선발방법과 동일하게 시행하였다.

실험결과 및 고찰

최적배지 선발

*L. japonicus*의 균사생육이 가장 잘 되는 인공배지를 선발하고자 Czapek dox 배지를 포함한 16종류의 배지를 제조하여 균사생장을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 균사생장은 glucose peptone(GP) 배지에서 가장 양호하였으며, malt yeast extract(MY) 배지, yeast malt peptone(YMP) 배지, potato dextrose(PD) 배지, Hennerberg 배지에서도 비교적 잘 성장하였으며, *Agrocybe cylindracea*(AC) 배지, malt yeast glucose(MYG) 배지, mushroom complete (MC) 배지, *Lentinus edodes*(LE) 배지, Hoppkins 및 Lilly 배지에서는 균사의 생장이 극히 저조하여 공시균의 배양에는 부적합한 것으로 나타났다.

김 등(1988)이 보고한 버들송이의 균사생장에 glucose peptone 배지가 적합하다는 결과와 일치하는 면을 나타냈으나, 지 등(1996)은 *Phellinus linteus*의 최적배지는 YMP 배지가 적합하다고 하였고, 차(1981)는 *Auricularia auricula-*

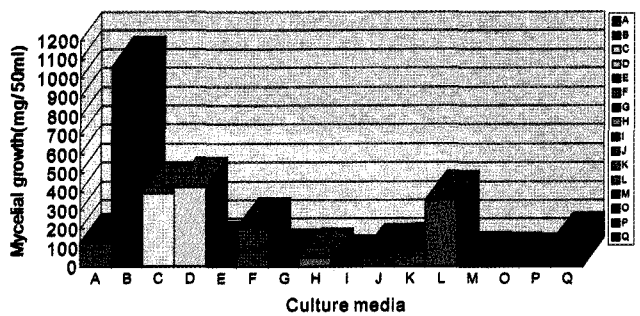


Fig 1. Mycelial growth of *L. japonicus* in different culture media. A: Czapek dox medium, B: Glucose peptone medium, C: Yeast malt peptone medium, D: malt yeast extract medium, E: Leonian medium, F: Hennerberg medium, G: Hoppkins medium, H: Lilly medium, I: *Agrocybe cylindracea* medium, J: *Coriolus versicolor* medium, K: Hamada medium, L: Potato dextrose medium, M: *Lentinus edodes* medium, O: Mushroom complete medium, P: Malt yeast glucose medium, Q: *Phellinus igniarius* medium.

judae 버섯은 modified Hamada 배지가 양호하다고 하였다. 이와 같은 실험결과로 버섯들은 종류에 따라 최적배지가 다르다는 것을 알 수 있으며, 본 연구에서 사용한 *L. japonicus*의 균사생장은 복합질소원이 함유된 배지들에서 균사생장이 양호한 것으로 나타났다.

탄소원의 영향 및 최적농도

탄소원은 균류에 있어서 탄수화물, 단백질, 지질, 핵산 등의 합성과 에너지 공급원으로서 균주의 생장에 필수적인 영양원이다. 16종의 탄소원이 *L. japonicus*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 2와 같이 당류에 대하여 광범위한 적응성을 보이고 있으나 단당류인 dextrose와 당 alcohol류인 inositol이 가장 양호하였으며, 단당류인 galactose, 이당류인 saccharose, 삼당류인 raffinose, 다당류인 soluble starch에서도 균사의 생장은 양호하였으나 Na-CMC와 ethanol에서는 균사생장이 극히 저조하였다. 그리고 탄소원의 최적농도는 Table 2에서와 같이 1.2% dextrose에서 균사 생장이 가장 좋았다. 이러한 결과는 Ishikawa(1967)가 표고버섯을 액체배양했을 때 glucose가 가장 양호하였다는 결과와 Kanayama(1983) 등이 장수버섯의 배양적 특성에서 탄소원의 이용성을 조사한 결과 glucose 등을 가장 잘 이용한다는 보고와 유사한 경향을 나타냈으며, 김 등(1997)이 큰느타리버섯균의 인공배지에 관한 연구에서 glucose와 dextrin 첨가시 균사생장에 양호하다는 결과와 지 등(1996)이 목질진흙버섯균의 균사체 생육에 미치는 주요 인자에 관한 연구에서 삼당류인 raffinose와 다당류인 starch 첨가시 균사생장이 저조하다는 결과와는 상이한 결과를 나타냈다. 또한 섬유소분해효소(CMCase)의 활성은 Fig. 2에서와 같이 dextrose 첨가 배지에서 가

Table 2. Effect of different concentrations of dextrose on the mycelial growth of *Lampteromyces japonicus*

Concentrations of carbon source (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	146	5.2
0.2	158	5.2
0.3	166	5.2
0.4	179	5.1
0.5	197	5.1
0.6	222	5.0
0.7	228	5.1
0.8	234	5.0
0.9	256	5.1
1.0	272	5.0
1.1	299	5.0
1.2	319	5.1
1.3	298	5.0
1.4	291	5.1
1.5	284	5.2
1.6	278	5.2
1.7	277	5.3
1.8	254	5.3
1.9	205	5.2
2.0	196	5.1

장 좋았으며, fructose와 cellobiose 첨가시 양호하였으나, inositol, ethanol, saccharose, raffinose, glycerol, mannose, soluble starch 첨가시에는 저조하였다.

유기질소원에 대한 영향 및 최적농도

질소원은 세포질을 구성하고 있는 주요 성분의 합성에 필수적인 영양원이다. 7종의 유기질소원이 *L. japonicus*의

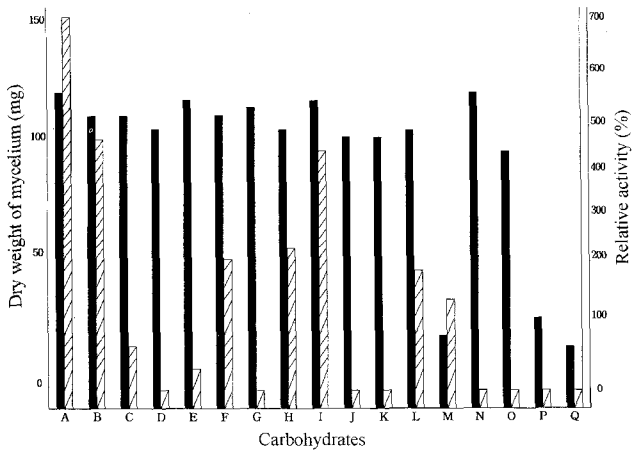


Fig. 2. Effect of carbone sources on the CMCase activity and mycelial growth by *Lampteromyces japonicus* in basal medium. A: Dextrose, B: Fructose, C: Xylose, D: Mannose, E: galactose, F: Maltose, G: Saccharose, H: Lactose, I: Cellobiose, J: Raffinose, K: Soublle starch, L: Dextrin, M: Na-CMC, N: Inositol, O: Glycerol, P: Ethanol, Q: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

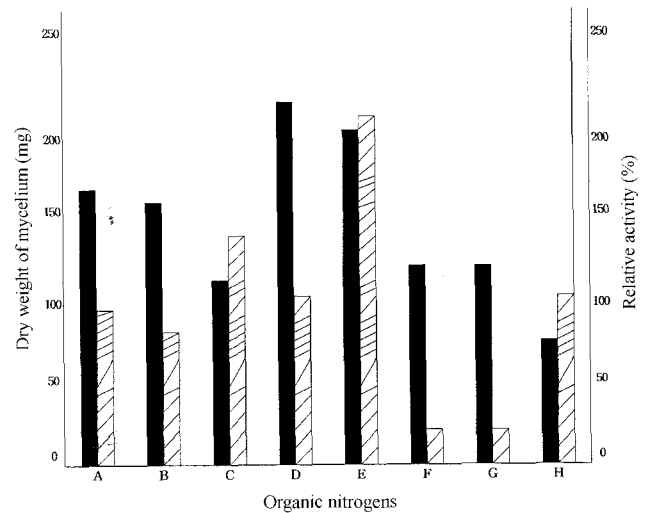


Fig. 3. Effect of organic nitrogen soures on the CMCase activity and mycelial growth by *Lampteromyces japonicus* in basal medium. A: Peptone, B: Tryptone, C: Soytone, D: Yeast extract, E: Malt extract, F: Urea, G: Casamino acid, H: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 3. Effect of different concentrations of yeast extract on the mycelial growth of *Lampteromyces japonicus*

Concentrations of yeast extract (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	79	5.7
0.2	84	5.7
0.3	93	5.5
0.4	122	5.4
0.5	139	5.2
0.6	152	4.7
0.7	194	5.4
0.8	221	4.8
0.9	250	5.3
1.0	268	5.1
1.1	285	4.6
1.2	295	5.2
1.3	301	5.1
1.4	329	4.8
1.5	331	5.1
1.6	349	4.9
1.7	368	4.7
1.8	264	5.3
1.9	251	5.2
2.0	248	5.3

균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같이 yeast extract 첨가시 균사생장이 가장 양호하였으며 다른 6종류의 유기질소원의 첨가시에도 균사생장은 양호한 것으로 나타났다. 그리고 유기질소원의 최적농도는 Table 3과 같이 1.7% yeast extract에서 균사생장이 가장 좋았다. 섬유소분해효소의 활성은 Fig. 3과 같이 malt extract 첨가시 가장 양호하였으며 urea, casamino acid 첨가시에는 저조하였다. 민 등(1998)이 송이버섯의 균사생육에 yeast extract가 가장 양호하였다는 결과와 일치하였으나, 잣버섯, 영지, 표고, 고온성 양송이, 느타리버섯은 복합질소원인 peptone(김 등, 1994; 홍 등, 1981, 1983; 김 등, 1987)이, 큰느타리버섯(김 등, 1997)은 casamino acid가 균사배양에 좋은 것으로 나타나 균주간의 차이가 있는 것으로 판단된다.

무기질소원에 대한 영향 및 최적농도

7종류의 무기질소원이 *L. japonicus*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 4와 같이 $(NH_4)_2HPO_4$ 첨가시 균사생장이 가장 양호하였으며 다른 6종류의 무기질소원의 첨가시에도 균사생장은 대체로 양호한 것으로 나타났다. 그리고 무기질소원의 최적농도는 Table 4와 같이 0.2% $(NH_4)_2HPO_4$ 에서 균사생장이 가장 좋은 것으로 나타났다. 섬유소분해효소의 활성은 Fig. 4와 같이 NH_4Cl 첨가시 가장 양호하였으며, $(COONH_4)_2$, $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$ 에서는 저조하였다. 꽃송이버섯(Shim et al., 1998)과 저령(Shim 등, 1997)은 균사배양시 ammonium phosphate가 가장 좋았다는 결과와 일치하였으나, 개암버섯(강 등,

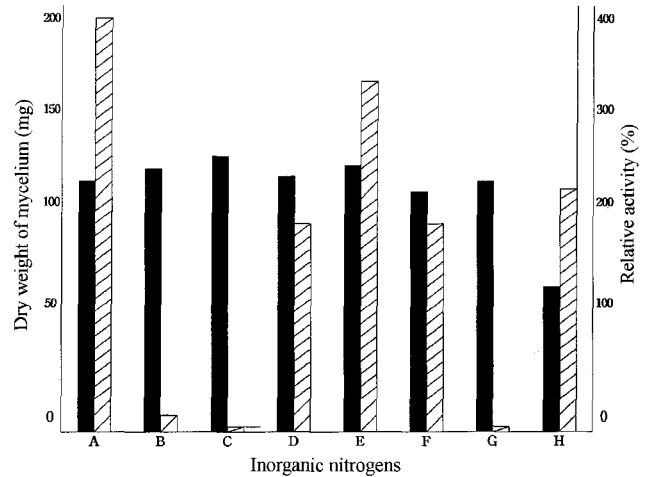


Fig. 4. Effect of inorganic nitrogen sources on the CMCase activity and mycelial growth by *Lampteromyces japonicus* in basal medium. A: NH_4Cl , B: $(COONH_4)_2$, C: $(NH_4)_2HPO_4$, D: $NH_4H_2PO_4$, E: NH_4NO_3 , F: $NaNO_3$, G: $(NH_4)_2SO_4$, H: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 4. Effect of different concentrations of $(NH_4)_2HPO_4$ on the mycelial growth of *Lampteromyces japonicus*

Concentrations of $(NH_4)_2HPO_4$ (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	298	6.4
0.2	385	5.1
0.3	368	5.7
0.4	353	5.4
0.5	215	6.0
0.6	114	6.6
0.7	111	6.7
0.8	98	6.8
0.9	95	6.8
1.0	91	5.8
1.1	89	6.9
1.2	88	6.8
1.3	81	6.9
1.4	75	6.8
1.5	74	6.8

1994)은 KNO_3 , 잣버섯(김 등, 1994)은 $NaNO_2$, *Hohenbuehelia petaloides*(유 등, 2001)은 NH_4NO_3 가 균사생장에 좋았다는 결과와는 상이한 결과를 나타냈다.

아미노산에 대한 영향 및 최적농도

12종류의 아미노산이 *L. japonicus*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 5에서와 같이 glutamine 첨가시 균사생장이 가장 양호하였으며, 다른 10종류의 아미노산도 균사생장에 대체로 양호한 것으로 나타났다. 그리고 아미노산의 최적농도는 Table 5와 같이 0.2% glutamine에서 균사생장이 가장 좋은 것으로 나타났다. 섬유소분해

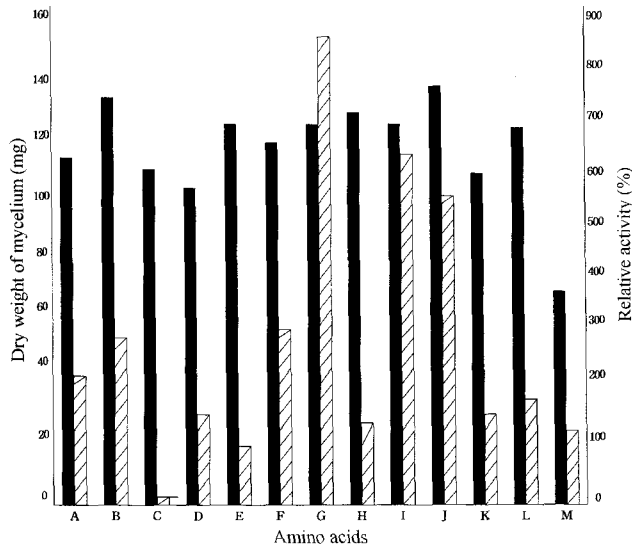


Fig. 5. Effect of amino acids on the production of CMCase activity and mycelial growth by *Lampteromyces japonicus* in basal medium. A: L-asparagine, B: L-glutamic, C: Arginine, D: methionine, E: Valine, F: Histidine, G: Aspartic acid, H: Proline, I: Cysteine, J: Leucine, K: Glutamic acid, L: Threonine, M: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 5. Effect of different concentrations of glutamine on the mycelial growth of *Lampteromyces japonicus*

Concentration of glutamine (%)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	453	5.9
0.2	465	6.5
0.3	428	6.5
0.4	410	7.0
0.5	403	7.1
0.6	394	7.5
0.7	393	7.2
0.8	391	7.5
0.9	391	7.2
1.0	391	7.4
1.1	390	7.1
1.2	390	7.1
1.3	389	7.1
1.4	388	7.4
1.5	387	7.3

효소의 활성은 Fig. 5에서와 같이 aspartic acid 첨가시 가장 양호하였으며, cysteine 첨가시 비교적 양호하였으나, arginine, methionine, valine, threonine에서는 저조하였다. 꽃송이버섯(Shim *et al.*, 1998)은 glycine, 목질진흙버섯(지 등, 1996)은 L-alanine, 큰느타리버섯(김 등, 1997), 개암버섯(강 등, 1994)은 phenylalanine 첨가시 균사생장이 좋았다는 결과와 상이하게 나타났다. 이 점은 버섯들의 균사생장시 요구하는 아미노산은 균주간 차이가 있는 것으로 판단된다.

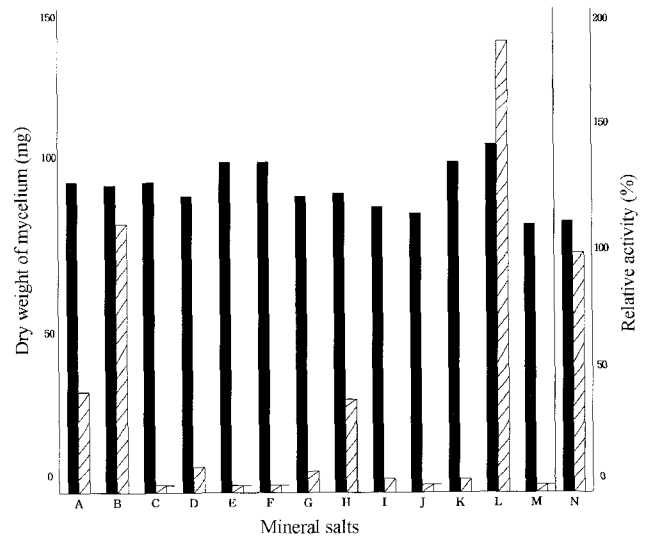


Fig. 6. Effect of mineral salts on the CMCase activity and mycelial growth by *Lampteromyces japonicus* in basal medium. A: KCl, B: BaCl₂, C: CaCl₂, D: CoCl₂, E: CuSO₄, F: LiSO₄, G: MnSO₄, H: ZnSO₄, I: FeSO₄, J: MgSO₄, K: AgNO₃, L: Al₂(SO₄)₃·14H₂O, M: Na₂MoO₄·2H₂O, N: None. ■: Mycelium, ▨: Relative activity of CMCase.

Table 6. Effect of different concentrations of Al₂(SO₄)₃·14H₂O on the mycelial growth of *Lampteromyces japonicus*

Concentrations of Al ₂ (SO ₄) ₃ ·14H ₂ O (M)	Mycelial dry weight (mg/50 ml/15 days)	Final pH
0.1	234	3.3
0.2	206	3.2
0.3	198	3.2
0.4	188	3.2
0.5	175	3.2
0.6	151	3.2
0.7	143	3.2
0.8	136	3.2
0.9	117	3.1
1.0	102	3.1
1.1	96	3.0
1.2	91	3.0
1.3	88	2.9
1.4	88	3.0
1.5	87	3.0

무기염류의 영향 및 최적농도

13종류의 무기염류가 *L. japonicus*의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 6과 같이 Al₂(SO₄)₃·14H₂O를 첨가시 균사생장이 가장 양호하였으며, 다른 12종류의 무기염류 첨가시에도 대체로 균사 생장은 양호한 것으로 나타났다. 그리고 무기염류의 최적농도는 Table 6에서와 같이 0.1 M Al₂(SO₄)₃·14H₂O에서 균사생장이 가장 좋은 것을 나타냈으며, 섬유소분해효소의 활성은 Fig. 6과 같이 Al₂(SO₄)₃·14H₂O 첨가시 가장 양호하였으며, CaCl₂, CuSO₄, LiSO₄, MnSO₄ 첨가시에는 저조하였다. 저령(Shim 등,

1997)은 $FeSO_4$, *Phellinus* sp.(강 등, 1997)은 KH_2PO_4 , 큰느타리버섯(강 등, 2000)은 $CaCl_2$ 첨가시 균사체 배양이 양호했다는 결과와는 상이한 경향을 나타냈다. 이 점은 버섯들이 균사생장시 다양한 무기염류를 요구하는 것으로 판단된다.

배양 온도

*L. japonicus*의 균사배양에 대한 최적온도를 규명하기 위하여 10°C에서 70°C까지 배양온도를 각각 달리하여 균사생장량을 조사한 결과 Fig. 7에서와 같이 30°C에서 233 mg으로 균사생장이 가장 양호한 것으로 나타나 중온성균으로 생각되며, 40°C 이상에서는 균사생장이 급격히 저하되는 것으로 나타났다. 이는 느타리버섯(성 등, 1999)과 *Dictyophora* spp.(Cheong et al., 2000)의 균사배양 최적온도가 30°C이었다는 결과와 일치하였으며, 번데기동충하초(성 등, 2002), 노루궁뎅이버섯(장과 노, 1999), 큰느타리버섯(강 등, 2000)은 균사체의 최적배양온도가 25°C이었다는 결과와는 유사한 경향을 나타냈다.

최적 pH

*L. japonicus*의 균사배양에 적합한 최적 pH 범위를 규명하기 위하여 배지의 pH를 3.0에서 10.0까지 각각 달리

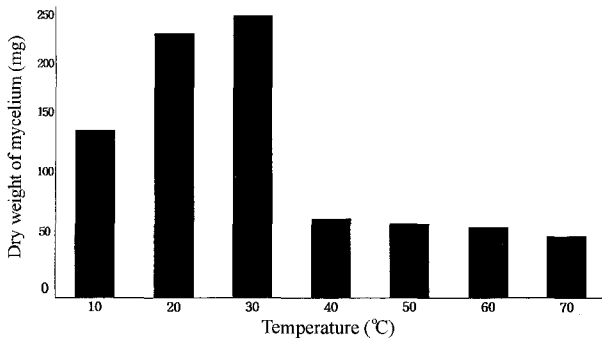


Fig. 7. Effect of temperature on the mycelial growth of *L. japonicus*.

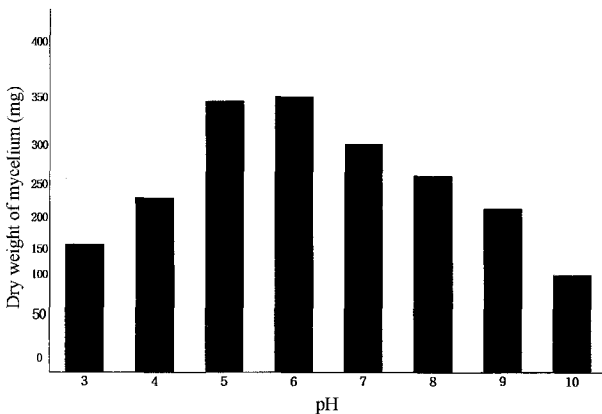


Fig. 8. Effect of pH on the mycelial growth of *L. japonicus*.

하여 균사생장량을 조사한 결과 Fig. 8에서와 같이 pH 6.0에서 338 mg으로 균사생장이 가장 양호한 것으로 나타났으며, pH 3에서는 균사생장이 다소 저조한 것으로 나타났다. *Hohenbuehelia petaloide*(유 등, 2001)의 최적 pH가 6.0이었다는 결과와는 일치하였으나, *Dictyophora* spp.(Cheong et al., 2000)와 노루궁뎅이버섯(장과 노, 1999)은 최적 pH가 5.0, *Phellinus pini*(류 등, 2000)는 pH 5.5이었다는 결과와는 상이한 경향을 나타냈다.

적 요

본 연구는 섬유소분해능이 우수한 *L. japonicus*의 균사생육에 미치는 중요 인자에 대한 배양학적 특성을 규명하여 인공재배 및 균사체 배양을 이용한 섬유소분해효소의 생산을 높일 수 있는 기초자료를 얻고자 실험을 수행하였다. 그 결과, 균사체 배양의 최적온도는 30°C이었으며, 최적 pH는 6.0이었다. 균사생장에 적합한 배지는 glucose peptone 배지, malt yeast extract 배지, yeast malt peptone 배지, potato dextrose 배지, Hennerberg 배지 등으로 조사되었다. 균사생장에 가장 양호한 탄소원은 dextrose였으며, 최적농도는 1.2%이었다. 또한 질소원으로서 균사생장에 가장 양호한 유기, 무기질소원, 아미노산의 종류 및 최적농도는 각각 yeast extract(1.7%), $(NH_4)_2HPO_4$ (0.2%), glutamine(0.2%)이었다. 균사생장에 양호한 무기염류는 $Al_2(SO_4)_3 \cdot 14H_2O$ 인 것으로 조사되었으며 최적농도는 0.1 M이었다.

감사의 글

본 연구는 2001학년도 상지대학교 교내연구비의 지원으로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

강미선, 강태수, 강안석, 손형락, 성재모. 2000. 큰느타리버섯 (*Pleurotus eryngii*)의 균사배양 및 인공재배에 관한 연구. 한국균학회지 28(2): 73-80.
 강안석, 차동렬, 홍인표, 장현유, 유승현. 1994. 개암버섯의 균사생장에 영향을 미치는 배양조건에 관한 연구. 한국균학회지 22(2): 153-159.
 강태수, 이동기, 이신영. 1997. *Phellinus* sp.의 분리 및 균사체의 액체배양. 한국균학회지 25(4): 257-267.
 김명숙, 홍재식, 김명근, 윤숙, 최윤희. 1997. *Trametes trogii*에 의한 섬유소분해효소의 생산에 있어서 탄소원과 질소원의 영향. Kor. J. Mycology 25: 68-76.
 김한경, 박용환, 차동렬, 정환재. 1987. 표고버섯 톱밥 인공재배에 관한 연구. 한국균학회지 15(1): 42-47.
 —, 박정식, 김양섭, 차동렬, 박용환. 1988. 버들송이의 균사생장 조건에 관한 연구. 농시논문집 30(3): 141-150.
 —, —, 차동렬, 김양섭, 문병주. 1994. 잣버섯 인공재배에 관한 연구(I) -균사체 배양조건에 관하여- 한국균학회지 22(2): 145-152.

- 정종천, 장현유, 김광포, 차동열, 문병주. 1997. *Pleurotus eryngii*(큰느타리버섯) 균의 인공재배 I, 한국균학회지 **25**(4): 305-310.
- 류영현, 조우식, 정기채, 윤재학, 최부술. 2000. *Phellinus pini*의 배양적 특성과 자실체 형성. 한국균학회지 **28**(1): 11-15.
- 민응기, 정광교, 한영환. 1998. 송이(*Tricholoma matsutake* DGUM 26001) 균사의 생육에 미치는 복합 질소원의 영향. 한국균학회지 **26**(3): 361-364.
- 성재모, 문희우, 박동수. 1999. 액체배양에서 느타리버섯균의 적합한 성장조건 구명. 한국균학회지 **27**(1): 1-9.
- _____, 최영상, 부산 쓰레스타, 박영준. 2002. 번데기동충하초 (*Cordyceps militaris*)의 균사생장. 한국균학회지 **30**(1): 1-5.
- 유관희, 장형수. 1999. 합성배지에서 *Stropharia rugosoannulata*가 생산하는 섬유소분해효소에 관한 연구. 한국균학회지 **27**: 94-99.
- 장현유, 노문기. 1999. 노루궁뎅이버섯의 종균배양학적 특성. 한국균학회지 **27**(4): 252-255.
- 지정현, 하태문, 김영호, 노영덕. 1996. 목질진흙버섯균 *Phellinus linteus*의 균사체 생육에 미치는 주요인자에 관한 연구. 한국균학회지 **24**: 214-222.
- 차동열. 1981. 야생 식용버섯의 인공재배 검토(II). 한국균학회지 **9**(3): 123-128.
- 홍재식, 강귀환. 1983. 합성배지를 이용한 고온성 느타리버섯의 자실체 형성에 관한 연구. 한국균학회지 **11**(3): 121-128.
- Cheong, J. C., Kim, G. P., Kim, H. K., Park, J. S. and Chung, B. K. 2000. Cultural characteristics of veiled lady mushroom, *Dictyophora* spp. *Kor. J. Mycology* **28**(4): 165-170.
- Gilvert, H. J. and Hazlewood, G. P. 1993. Bacterial cellulases and xylanases. *J. Gen. Microbiol.* **139**: 187-194.
- Hong, J. S., Lee, K. S. and Choi, D. S. 1981. Studies on Basidiomycetes(1) on the mycelial growth of *Agaricus bitorquus* and *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* **9**: 19-24.
- Ishikawa, H. 1967. Physiological and ecological studies on *Lentinus edodes*(Berk). *Sing. J. Agric. Lab.* **8**: 1-53.
- Kanayama, H., Adachi, N. and Togami, M. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos*. *Wolf. Chem. Pharm., Bull.* **31**: 1115-1118.
- Nisizawa, K., Tomita, Y., Kanda, T., Suzuki, H. and Wakabayashi, K. 1972. Substrate specificity of C₁ and C_x-cellulase component from *Trichoderma viridae* and some of its properties. *J. Ferment. Technol.* **44**: 682-690.
- Okada, G. T., Niwa, H., Suzuki and Nisizawa, K. 1966. Purification of a cellulase component from *Trichoderma viride* and some of its properties. *J. Ferment. Technol.* **44**(9): 682-690.
- Park, S. H., Yang, Y. K., Hwang, J. W., Lee, C. S. and Pyun, R. 1997. Microbial cellulose fermentation by *Acetobacter xylinum* BRC 5. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 598-605.
- Reese, E. T., Sin, G. H. and Levinson, H. S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives. *J. Bacteriol.* **59**: 485.
- Shibata, Y. and Nisizawa, K. 1969. Cellulases of *Pseudomonas fluorescens* var. *cellulosa*. *J. Ferment. Technol.* **47**(9): 573-586.
- Shim, J. O., Son, S. G., Kim, Y. H., Lee, Y. S., Lee, J. Y., Lee, T. S., Lee, S. S. and Lee, M. W. 1997. The cultural conditions affecting the mycelial growth of *Griofola umbellata*. *Kor. J. Mycol.* **25**(3): 209-218.
- _____, _____, Yoon, S. O., Lee, Y. S., Lee, T. S., Lee, S. S., Lee, K. D. and Lee, M. W. 1998. The optimal factors for the mycelial growth of *Sparasis crispa*. *Kor. J. Mycol.* **26**(1): 39-46.
- Somogy, M. 1962. Notes on sugar determination. *J. Biochem.* **195**: 19-23.
- Wood, T. M. and McCrae, S. I. 1972. The purification and properties of the C₁ component of *Trichoderma koningii* cellulase. *J. Biochem.* **128**: 1183-1192.