

목질진흙버섯(*Phellinus linteus*) 액체배양에 의한 현미와 원목에서 자실체 형성

이원호¹⁾ · 박영진¹⁾ · 김수영¹⁾ · 김호경²⁾ · 성재모^{1)*}

¹⁾강원대학교 농업생명과학대학 응용생물학과, ²⁾(주)머쉬텍

Fruit body formation on rice brown and timber log using liquid spawn of *Phellinus linteus*

Won-Ho Lee¹⁾, Young-Jin Park¹⁾, Su-Young Kim¹⁾, Ho-Gyung Kim²⁾ and Jae-Mo Sung^{1)*}

Department of Applied Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea and Mushtech Co. Ltd¹ -

ABSTRACT : The main objectives of this study were to fruit body of *Phellinus linteus* using liquid spawn. Highest mycelial growth and *in vitro* fruiting was observed when 180ml of water was added to 200g of brown rice in 1000ml PP bottle. Optimum inoculum amount was 100ml per bottle. Better mycelial growth and fruiting were observed when the amount of brown rice was lowered. For timber log culture of *P. linteus*, low contamination was observed when logs were sterilized for as low as 60 mins. But, best mycelial growth was observed when the logs were sterilized for 120mins. Among different log types, highest mycelial growth and fruiting were observed in oak and mulberry. Only few fruiting could be observed in birch, chestnut, alder, while no fruiting was produced in Aspen. Best fruiting was produced from isolate PH-211, although other isolates also produced few fruiting.

KEYWORDS : brown rice, fruit body, liquid spawn, mycelial growth, *Phellinus linteus*

Phellinus linteus (목질진흙버섯)가 속해 있는 *Phellinus* 속은 참나무, 상수리나무, 밤나무, 자작나무와 같은 여러 종류의 활엽수와 소나무, 가문비나무와 같은 여러 종류의 침엽수를 기주로 한다(Larsen and Cobb-Poule, 1990). *P. linteus*는 민주름버섯목(Aphyllporales), 소나무비늘버섯과(Hymenochaetaceae), 진흙버섯속(*Phellinus*)에 속하는 균으로 전 세계적으로 280여종이 보고되고 있으나(Larsen and Cobb-Poule, 1990), 정확한 수는 알려져 있지 않은 실정이다. 본 균은 살아있는 나무나 생육이 약해진 나무의 줄기나 뿌리, 죽은 나무의 기부, 또는 고목의 그루터기에 발생하여 수재부후와 심재부후를 일으키며 목재의 주성분인 섬유소와 리그닌을 분해하여 영양을 얻는 전형적인 백색부후균류로 2년 이상의 다년생이다(김, 2000). 현재 목질진흙버섯은 일반인들에게 상황버섯으로 더 잘 알려져 있으며 항암 효과가 높은 진흙버섯을 모두 상황버섯이란 이름으로 상품화 되어 판매되고 있다.

진흙버섯 종류 중에서 특히 *P. linteus* (목질진흙버섯)의 자실체 열수추출물은 소화기계통의 압 저지 효과(Ikekawa *et al.*, 1968.)가 있는 것으로 나타나 많은 연구가 진행되어 왔으며 균사체 열수추출물부터 면역활성(Lee *et al.*, 1996.) 및 항암활성(정 등, 1994.)도 입증되었다. *Phellinus*속에 대한 인공재배는 Song *et al.*(1997)에

의해서 수행된 바 있으며 지 등(1996)과 정 등(1997)에 의해서 진흙버섯균의 균사배양 조건과 곡물배지 등을 이용한 균사체 배양에 대해서도 연구가 수행되었다.

*Phellinus*속은 다른 버섯들과 같이 자연계에서 발생수가 적어 자연산 자실체를 구하기가 어렵다고 알려져 있고 현미균사체 및 원목으로 자실체 생산에 관한 배양방법의 관한 연구는 잘 진행되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 실험은 액체배양으로 목질진흙버섯을 배지를 달리하여 자실체를 안정적으로 재배하기 위한 기초자료를 제공하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시균주

본 실험에 사용한 균주는 강원대학교 동충하초은행에서 specific primer에 의한 실험으로(Kim *et al.*, 1999) *P. linteus*로 동정된 PH-1, PH-5, PH-195, PH-198, PH-211을 분양 받아 공시균주로 사용하였다. 분양받은 공시균주는 Malt배지에 접종하여 15일 마다 계대 배양하면서 접종원으로 사용하였다.

접종원

15ml의 MYA 배지를 petri-dish (직경 8.5cm)에 무균 상태에서 분주한 평판배지에 공시균주를 접종하여 10일간

*Corresponding author: <E-mail: cordyceps@nate.com>

배양한 후 액체배지의 접종원으로 사용하였으며, 액체배지는 300ml 삼각플라스크에 100ml 배양액을 분주하여 균을 접종한 후 15일간 shaking incubator에서 배양하여 액체종균의 접종원으로 사용하였다. 배양된 삼각플라스크 접종원은 균질기를 이용 마쇄한 후 2 l 액체배지에 접종하여 3일간 배양하였다. 배양된 2 l 액체종균을 접종원으로 18 l 액체배지에 접종하여 배양 후 자실체 형성에 필요한 액체종균으로 이용하였다.

현미배지를 이용한 균사체 배양

자실체 배양에 적정 접종량을 조사하기 위하여 1000ml pp(polypropylene) 병에 현미200g와 수분을 140ml, 160ml, 180ml, 200ml, 220ml을 넣은 후 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 60분간 가압 살균하여 액체종균을 접종 후 현미 균사체를 배양하여 비교하였다. 현미배지에 균사체 배양에 필요한 적정 접종량을 조사하기 위하여 1000ml pp(polypropylene) 병에 현미200g를 넣은 후 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 60분간 가압 살균하여 액체종균 접종량을 40ml, 60ml, 80ml, 100ml 달리하여 접종 후 균사체를 배양하여 비교하였다. 현미배지에 균사체 배양에 필요한 배지량을 조사하기 위하여 1000ml pp(polypropylene) 병에 현미를 50~300g 까지 50g 간격으로 넣고 수분은 현미와 1:1 비율로 첨가하여 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 60분간 가압 살균하여 종균을 접종 후 균사체를 배양하여 비교하였다.

원목배지에서의 자실체 형성

원목배지의 살균시간에 따른 오염 및 균사생장을 조사하기 위하여 원목배지를 만든 후 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 60분, 90분, 120분, 180분으로 살균시간을 달리하여 살균 후 액체종균을 접종하였다. 접종 90일 후에 오염 및 균사생장을 조사하였다. 원목의 종류에 따른 균사생장 및 자실체 형성을 조사하기 위하여 참나무, 팽나무, 오리나무, 밤나무, 자작나무, 은사시나무 원목을 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 120분 살균 후 액체종균을 접종하였다. 접종 90일 후 하우스로 옮겨 자실체 발생을 유도하였다. 공시균주의 종류에 따른 균사생장 및 자실체 형성을 조사하기 위하여 원목배지를 만든 후 121°C, 15psi(1.2kg/cm²)에서 120분 살균 후 각각의 공시균주를 접종하였다. 접종 90일 후 하우스로 옮겨 온도 25°C, 습도 85%에서 기간 6개월에 걸쳐 자실체 발생을 유도하였다. 자실체의 수확량은 Biological efficiency(B. E.)로 나타내었으며 산출방식은 다음과 같다.

$$B. E. = (\text{Fresh weight of fruit body} / \text{Dry weight of substrate}) \times 100$$

결 과

현미배지를 이용한 균사체 배양

현미배지의 수분함량 조사에서는 현미 200g에 수분함량

을 180ml로 하였을 때 균사생장 길이가 101.3~108.3mm로 가장 높게 나타났다(Table 1, Fig. 1). 현미배지에 수분함량이 많으면 균의 침투력이 떨어져 배지 밑 부분에 오염의 원인이 되었으며, 배양기간도 오래 걸리는 것을 확인했다. 또한 수분이 적을 경우 현미배지가 살균이 잘 이루어지지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 현미를 이용하여 균사체 배양을 할 때는 접종량은 100ml를 하였을 때 균사생장 길이가 95.3~107.8mm로 가장 높았다(Table 2, Fig. 2). 종균 접종량에 있어서 접종량이 적을 경우 배양기간이 길었으며, 액체 종균의 특성상 접종량이 많을 경우 수분함량의 증가로 오염의 원인이 되었다. 또한 배지량을 적게 하였을 때 균사생장이 빨리 이루어졌으며, 균사의 밀도가 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 1000ml pp병에 현미 함량이 200g보다 적으면, *P. linteus*의 균사가 배지에 활착되기 전에 배지가 건조되기 때문에 균사의 생장이 불량하였다.

Table 1. Effect of amount of water on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

Isolate	Amount of water (ml)				
	140	160	180	200	220
PH-1	84.6 ¹⁾ ++ ²⁾	91.1 +++	101.3 +++	98.5 +++	97.3 +
PH-5	91.4 ++	92.5 ++	103.7 +++	101.1 ++	93.3 +
PH-195	88.6 ++	93.3 +++	102.5 +++	98.7 ++	97.6 ++
PH-198	90.3 ++	93.8 +++	101.9 +++	96.5 +++	95.1 +
PH-211	93.5 ++	96.3 +++	108.3 +++	101.1 ++	97.2 ++

¹⁾ Mycelial growth(mm/60days).

²⁾ Density: +, thin; ++, moderate; +++, compact.

Table 2. Effect of amount of inoculum on the mycelial growth of *Phellinus linteus*

Isolate	Amount of inoculum (ml)			
	40	60	80	100
PH-1	79.8 ¹⁾ ++ ²⁾	84.5 ++	93.8 ++	103.6 +++
PH-5	76.5 +++	83.8 +++	94.3 +++	102.9 +++
PH-195	82.5 ++	85.6 +++	88.3 +++	98.7 +++
PH-198	86.5 ++	90.3 ++	89.5 +++	95.3 +++
PH-211	93.5 ++	95.3 ++	103.5 +++	107.8 +++

¹⁾ Mycelial growth(mm/60days).

²⁾ Density: ++, moderate; +++, compact.

Table 3. Effect of amount of brown rice on mycelial growth of *Phellinus linteus* in 1000ml pp bottle

Isolate	Amount of brown rice				
	50	100	150	200	300
PH-1	31.3 ¹⁾	40.5	59.3	91.3	103.5
	+++ ²⁾	+++	+++	+++	++
PH-5	28.5	37.3	45.6	88.7	104.3
	+++	+++	++	++	++
PH-195	35.3	43.6	57.6	89.5	105.5
	+++	+++	+++	+++	++
PH-198	33.6	45.3	60.5	93.3	109.3
	+++	+++	+++	+++	++
PH-211	40.3	51.3	68.5	99.3	111.4
	+++	+++	+++	+++	++

¹⁾ Mycelial growth(mm/60days).

²⁾ Density: ++, moderate; +++, compact.



Fig. 1. Effect of amount of water on mycelial growth of *Phellinus linteus* PH-5.



Fig. 2. Effect of amount of inoculum on mycelial growth of *Phellinus linteus* PH-1.

원목배지에서의 자실체 형성

살균시간을 120분으로 하였을 때 오염율이 1%로 낮게 나타났다(Table 4, Fig. 3). 원목배지에 살균시간을 달리 했을 때 균사생장의 속도와 밀도에서는 큰 차이를 보이지는 않았지만 살균시간을 짧게 하였을 때 오염율이 높게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 하지만 120분을 살균하였을 때 오염율이 낮게 나타날 뿐만 아니라 균사생장도 잘 이루어졌다. 6종의 수종을 이용한 자실체 형성 결과 참나무와 뽕나무에서 자실체 형성이 가장 좋게 조사되었으며, 참나무에서 Biological efficiency가 12.56%로 가장 높게 나

타났다. 은사시나무에서는 자실체 형성이 이루어지지 않았다(Table 5, Fig. 4). 공시균주별 자실체 형성에서는 PH-211에서 가장 많은 자실체가 형성되었다(Table 6, Fig. 5). 원목에서의 자실체 형성을 위해서는 참나무와 뽕나무를 이용하여 살균시간을 120분으로 할 때 균사생장 및 자실체 형성에 좋은 결과를 보여 줄 것으로 사료된다.

Table 4. Effect of sterilization period on contamination rate of timber log culture of *Phellinus linteus*

Sterilization period(min)	60	90	120	180
Contamination(%)	12	7	1	5
Tree covered with mycelia	++	++	+++	+++

++, moderate; +++, compact



Fig. 3. Effect of sterilization period on contamination rate of timber log culture of *Phellinus linteus* a, 60min. b, 90min. c, 120min. d, 180min.

Table 5. Effect of timber log type on yields and biological efficiency of *Phellinus linteus*

Substrate	Wt. of fruit body(g)	Biological Efficiency(%)
Oak	106.39 ¹⁾	12.56 ²⁾
Birch	43.45	8.57
Chestnut	39.59	6.38
Mulberry	78.64	11.59
Alder	29.35	8.77
Aspen	0	0

¹⁾ Fresh fruit body(g/6 months).

²⁾ (fresh weight of fruit body/dry weight of substrate)x100.



Fig. 4. Effect of different timber log type on fruit body formation of *Phellinus linteus* a, Oak. b, Birch. c, Chestnut. d, Mulberry. e, Alder.

Table 6. Yields and biological efficiency of different *Phellinus linteus* isolates on mulberry timber log

Isolate	Wt. of fruit body(g)	Biological Efficiency(%)
PH-1	78.54 ¹⁾	10.84 ²⁾
PH-5	87.69	11.36
PH-195	12.84	4.56
PH-198	18.47	3.87
PH-211	106.39	12.56

¹⁾ Fresh fruit body(g/6 months).

²⁾ (fresh weight of fruit body/dry weight of substrate)x100.

**Fig. 5.** Fruit body formation of different *Phellinus linteus* isolates on mulberry timber log

고 찰

상황버섯으로 알려진 목질진흠버섯은 항암효과가 인정되면서 많은 사람으로부터 관심을 가지게 되었다. 이에 현재 많은 농가에서 재배되고 있으며, 많은 사람들이 이용하고 있다. 그러나 목질버섯류인 *Phellinus*속은 280여종으로 알려져 있고(Larsen and Cobb-Poule, 1990), 또한 형태적으로 비슷하여 그것을 동정하는데 많은 문제점을 가지고 있다. 그래서 본 논문에서는 강원대학교 동충하초은행에서 보관하고 있는 specific primer를 이용하여 동정된 *Phellinus linteus*를 분양을 받아 현미와 여러 가지 나무를 이용하여 자실체 발생을 유도하였다.

목질진흠버섯을 현미에서 균사체 배양시키려면 1000ml pp(polypropylene) 병에 현미 200g와 수분을 180ml을 넣은 후 121℃, 15psi(1.2kg/cm²)에서 60분간 가압 살균한 배지에 액체종균을 100ml를 접종하였을 때 균사 생장이 가장 좋게 나타났다. 현미를 1000ml pp병에 200g보다 많이 넣으면 병에 거의 다 현미로 채워지므로 산소가 부족하여 목질진흠버섯 균사체가 잘 자라지 못할 뿐만 아니라 자실체도 잘 형성되지 않고 수분이 발생하여 바로 부패하였다. 또한 200g보다 적으면 목질진흠버섯의 균사체 배양하는데 있어 배지의 건조로 인해 수분이 부족하게 되어 균사 생장이 불량하였다. 현미배지 제조 시 수분함량이 180ml보다 많으면 배지가 진밥이 되어 균사 생장이 양호하지 못하였으며, 수분 함량이 180ml 보다 적으면 현미 배지가 살

균이 되지 않아 다른 균에 의한 오염이 발생하여 물의 양도 대단히 중요하였다.

원목에서의 자실체 형성은 살균시간을 60분으로 적게 해도 오염율은 높게 나타나지 않았으나 살균시간을 120분으로 하였을 때 균사생장이 가장 양호하였다. 기존에 보고된 상압 스팀멸균기에서 105℃에서 15시간 동안 살균하는 방법은 시간 뿐 아니라 연료비가 많이 들어가는 단점을 가지고 있으나, 고압살균기를 이용하여 121℃, 1.2기압에서 60분간만 살균하여도 목질진흠버섯 자실체를 형성시킬 수 있었다. 이것은 시간과 경제적인 절약 측면에서 상압 살균보다 고압 살균이 더욱 이점이 되는 것을 알 수 있다. 원목으로는 참나무, 뽕나무, 오리나무, 밤나무, 자작나무, 은사시나무로 원목배지를 만든 후 121℃, 15psi(1.2kg/cm²)에서 120분 살균하였을 때 오리나무와 참나무에서 균사생장은 좋았으나 자실체 형성은 참나무와 뽕나무에서 가장 좋게 나타났다. 이에 목질진흠버섯의 인공자실체 형성은 참나무를 이용하는 것이 가장 좋다. 이러한 결과는 이미 Song et al(1997)의 연구 결과에서 *P. linteus*의 자실체 형성은 참나무 종류인 상수리나무에서 좋은 결과가 나타나 것과 일치한다.

현재까지는 상황버섯을 재배하는데 고체종균을 많이 이용하고 있으나 액체종균을 현미와 원목에 접종하여 상황버섯의 자실체를 형성할 수 있으며, 고체종균보다 액체종균을 이용하는 것이 배양기간도 상당히 단축시킬 수 있다. 또한 균사 생장 및 자실체 수량에 더 높은 영향을 주는 것을 확인할 수 있었으며, 앞으로 액체종균이 더욱더 보급되리라 본다. 특히 지금 문제가 되고 있는 목질진흠버섯을 원목에서 재배하여야 한다는 주장도 있으나 현미로 재배하여도 자실체가 발생하면 원목에서 재배하는 것과 별 차이가 없으며 우수한 균주를 선택하는 것이 배지를 선택하는 것보다는 중요하다고 생각한다. 이 논문이 목질진흠버섯의 현미와 원목을 이용하여 균사체 배양과 인공자실체를 형성하는데 기초자료로 이용되었으면 한다.

적 요

현미배지의 수분함량에 따른 균사체 배양을 조사한 결과 수분함량을 180ml로 하였을 때 균사생장 길이가 101.3~108.3mm로 가장 높았다. 적정 종균 접종량을 조사한 결과 액체종균 접종량을 100ml로 하였을 때 균사생장 길이가 95.3~107.8mm로 가장 높았다. 또한 배지량을 적게 하였을 때 균사생장이 빨리 이루어졌고 균사의 밀도도 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

원목배지의 살균시간에 따른 오염율을 조사한 결과 살균시간 60분에서 오염율 12%로 조사되었으며, 살균시간 120분에서 오염율 1%로 가장 낮게 조사되었다. 원목배지의 종류에 따른 균사 생장 및 자실체 형성에 관한 실험에서는 참나무와 뽕나무에서 각 Biological efficiency가

12.56%와 11.59%로 높게 조사되었다. 공시균주의 종류에 따른 자실체 형성에서는 PH-211 균주의 원목재배에서 Biological efficiency가 12.56%로 가장 높게 조사되었으며, 다음으로 PH-5 균주가 11.36%로 높게 조사되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 국책연구개발사업인 유전자원지 원활용사업단의 연구비(no. BDM0100211)와 농림기술 관리센터 벤처형 중소기업기술개발사업의 의해 수행되었습니다. 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- 김수호. 2000. 형태적·배양적 특성과 ITS region을 근거로 한 목질진흙버섯균 (*Phellinus linteus*)의 탐색. 강원대학교 석사학위논문 49pp
- 지정현, 하태문, 노영덕, 김영호. 1996. 목질진흙버섯균 *Phellinus linteus*의 균사생육에 미치는 주요 인자에 관한 연구. 한국균학회지. 24: 214-222.
- 지정현, 하태문, 김영호. 1998. 수종톱밥에서 목질진흙버섯균의 균사생장. 한국균학회지. 26: 55-59.
- 정경수, 김신숙, 김희수, 한만우, 김병각. 1994. *Phellinus linteus*의 균사 배양물로부터 분리한 단백당체 Kp의 항암 활성. 약학회지. 38: 158-165.
- 정인창, 김선희, 권용일, 김소연, 이종숙, 박신, 박경숙, 이재성. 1997. 화학합성배지 및 곡물을 이용한 *Phellinus Igniarius*의 균사체 배양조건. 한국균학회지. 25: 133-142.
- Ikekawa, J. Nakamishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. 1968. Antitumor action of some Basidiomycetes especially *Phellinus linteus*. Gann. 59: 155-157.
- Kim, S. H., Kim S. H., Sung, J. M. and Harrington, T. 1999. Identification of *Phellinus linteus* by morphological characteristics and molecular analysis. Korean Journal of Mycology 27: 337-340.
- Larsen, M. J. and Cobb-poule. 1990. *Phellinus* (Hymenochaetaceae) A. Survey of the World Taxa. Synopsis Fungorum 3. Fungifora-Oslo-Norway 206pp.
- Lee, J. H., Cho S. M., Song, K. S., Han, S. B., Kim, H. M., Hong, N. D. and Yoo, I. D. 1996. Immunostimulating activity and characterization of polysaccharide from mycelium of *Phellinus linteus*. J. Microbiol. Biotechnol. 6: 213-218.
- Song, C. H., Moon, H. Y. and Ryu, C. H. 1997. Artificial cultivation of *Phellinus linteus*. Kor. J. Mycol. 25: 130-132.
- 버섯의 생산과 소비량은 최근 수년간 급속히 성장해 왔으