

소나무잔나비버섯(*Fomitopsis pinicola*) 균사체 배양에 따른 함량 및 세포의 형태학적 변화

정유경 · 신경옥 · 박홍덕¹ · 김순동[†]
대구가톨릭대학교 식품외식산업학부 식품공학전공
¹대구가톨릭대학교 의생명과학과

Changes in Polysaccharides Content and Cell Morphology of *Fomitopsis pinicola* Mycelium during Submerged Culture

Yoo-Kyung Jung, Kyung-Ok Shin, Hong-Duok Park¹ and Soon-Dong Kim[†]

Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industrial Technology,
Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

¹Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

Abstract

This experiment was conducted to examine the changes in polysaccharide concentration and morphological variation of *Fomitopsis pinicola* mycelium during submerged-culture in the citrus peel medium (CP). On the 12 days culture, the yields of mycelium and alcohol insoluble substance were 40.21%(w/v) and 6.94%(w/w), respectively, which were much higher than 11.29%(w/v, wet basis) and 3.17%(w/w, wet basis) obtained from YM medium. A large amount of acid soluble polysaccharides was derived from YM medium while a larger amount of alkali soluble polysaccharide was produced from CP medium. Yields of the mycelium were higher when cultured in CP medium. However, there was no significant difference in formation of membranous vesicle between mycelia cultured in CP medium and YM medium. It was also observed that the formation of vacuole was closely related to the activation of the multivesicular body known as cytolysome. As a result, activation of mycelium and cell wall biosynthesis were more accelerated in CP medium.

Key words : *Fomitopsis pinicola*, polysaccharide, morphological changes

서 론

소나무잔나비버섯(*Fomitopsis pinicola*)은 자루가 없고 갓은 반원형을 이루며, 지름은 30 cm, 두께는 15 cm로 적갈색 띠가 둘러져 있고 밑면은 황백색으로 미세한 관공이 밀포된 목질로 구성된 딱딱한 버섯으로 생체로는 식용이 어려우나 독성이 없으며, 예로부터 다양한 생활습관 병의 예방과 치유에 사용되어 왔으나(1), 실험적인 자료는 부족하다. 그러나 최근 이 버섯에 대한 연구가 단편적으로 이루어지고 있는데 Lee 등(2)은 이 버섯의 자실체와 균사체로부터 분리한 알칼리 가용성 물질이 streptozotocin으로 유발한

당뇨 쥐의 혈당을 유의적으로 감소시켰다고 하였으며, Lee 등(3)은 버섯 자실체의 물 추출물의 첨가량에 따른 반죽의 발효와 빵의 품질특성 변화를 연구하였다. 또 이 버섯은 독성이 있는 금속이 함유된 배지에서 oxalate를 축적하는 특성을 지니며(4), 휘발성 물질로 aliphatic alcohols, aldehydes, ketone 및 방향족 화합물을 함유하고(5), pinicolic acid(6) 및 lanostanoid와 같은 항균성 steroids를 함유하는 것으로 알려져 있다(7).

일반적으로 버섯류에는 항암(8), 면역증강(9), 콜레스테롤 및 혈당저하(10), 뇌졸중 및 심장병 예방과 치유(11, 12), 감염 방어효과(13) 등을 나타내는 다당체가 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 대표적인 다당체로는 *Lentinus edodes*로부터 추출된 β -1,3-glucan(14), *Coriolus versicolor*

[†]Corresponding author. E-mail : kimsd@cu.ac.kr,
Phone : 82-53-850-3216, Phone : 82-53-850-3216

의 배양 균사체로부터 추출된 PS-K(15) 등이 있으며, 소나무 잔나비버섯에 함유된 주요 다당체는 heterogalactane인 것으로 알려져 있다(16).

버섯의 배양은 톱밥, 원목 등을 이용하는 고체배양법과 영양소를 녹인 용액에서 공기를 공급하면서 배양하는 액침 배양법이 이용되고 있으나 전자는 노동력과 소요비용이 높아 효율성이 낮은 반면 후자는 효율성은 높으나 기반기술이 요구되는 문제점이 지적되고 있다(17). Lee 등(18)은 액침배양에 의한 표고버섯 균사체 배양의 최적조건으로 온도 25°C, pH 4.0 교반속도 300 rpm, 접종량 10%, 산소통기량 1.0 v/v/m을 제시하였으며, Fraser(19)은 양송이 균사체를 배양 할 때 yeast extract와 casein은 균사체 증식에 매우 효과적인 영양원으로 보고하였다. 균사체의 생육은 탄소원이나 질소원이외에도 비타민류, 금속이온 등 환경조건이 생육에 많은 영향을 미치며(20), 균사체의 수율증대를 위하여 인삼박 추출물(21) 등 천연소재를 이용한 연구도 있다.

본 연구자들은 소나무잔나비버섯 추출물이 항당뇨 효과가 있음을 보고하였으며(22), 이어 이 버섯의 균사체가 일반 yeast extract medium(YM) 배지에서보다 굴겉질배지에서 성장률과 다당체의 함량이 높음을 관찰한 바 있다(23). 본 연구에서는 소나무버섯의 균사체가 YM 배지에서보다 CP 배지에서 생육도가 빠른 현상을 구체적으로 알아보기 위하여 이들 배지에서의 배양기간에 따른 성장과 다당류 함량 및 형태학적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

재 료

실험용 굴겉질은 대구약령시에서 구입한 진피를 80~100 mesh입도로 분쇄하여 사용하였다.

종 배양

소나무 잔나비버섯균사체는 경북 포항시 소재 재생농산에서 분양받아 sucrose 1% 및 peptone 0.6%를 함유하는 2% potato agar 평판배지에 이식하여 30°C에서 10일간 배양, 생성된 균사체를 평균적으로 사용하였다.

YM 및 CP 배지에서의 배양

YM 배지(yeast extract 0.5%, peptone 0.5%, malt extract 0.5%, glucose 1%, pH 6.5)(24)에서의 배양은 상기의 종균을 동일배지를 사용하여 30°C에서 10일간 배양한 배양액을 5%되게 집중하여 공기여과장치(DY-60, Dong Yang Co., Korea)를 부착한 20 L 들이 plastic 용기를 사용하여 30°C에서 16일간 배양하였다. CP (citrus peel)배지에서의 배양은 glucose 5%, yeast extract 및 peptone 0.5%, malt extract 0.3%를 함유하는 2%의 굴겉질 물추출물(pH 5.0)을 배지로 하여

YM 배지의 경우와 동일하게 배양하였다. 굴겉질추출물은 굴겉질분말 100 g에 증류수 2.5 L을 가하여 냉각관을 부착하여 2시간동안 끓인 후 Miracloth(Biochem. Co., USA)로 여과한 여액을 원액으로 하여 사용할 때 마다 희석하여 사용하였다.

균사체 수율 및 다당류 함량

균사체의 수율은 배양액을 Miracloth로 여과하여 얻은 생 균사체의 중량을 측정하였다. 알코올불용성물질(AIS)의 함량은 배양액에 10배량의 에탄올을 가하여 침전된 물질을 10,000 x g에서 10분간 원심분리하여 얻은 후 60°C에서 충분히 건조하여 중량을 측정하였다(25). 산 가용성 다당류(AcSP) 함량은 AIS 1 g에 0.05N H₂SO₄를 100 mL 가하여 100°C에서 5시간 끓인 후 10,000 x g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻었으며 여기에 10배량의 알코올을 가하여 얻은 AIS를 dialysis cellulose tube(MW cut off 12000)에 넣어 증류수에서 72시간 투석한 후 동결건조하여 무게를 측정하였다.

알칼리 가용성 다당류(AISP)의 함량은 산가용성 다당류를 제거시킨 잔사에 100 mL의 2N KOH를 가하여 1시간동안 추출한 후 상기와 동일한 조건으로 원심분리하고 2N HCl로 중화시킨 다음 상기와 동일하게 투석, 동결건조하여 무게를 측정하였다(22).

전자현미경 관찰

균사체 소편(1 mm³)을 paraformaldehyde-glutaraldehyde 용액에서 shaking하면서 2시간 전 고정된 후 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)로 3-4회 수세하였다. 시료의 막성구조를 상세히 관찰하기 위하여 0.8% potassium hexacyanoferrate가 함유된 1% OsO₄ 용액에 1시간 후고정(26) 한 후 위와 동일한 완충용액으로 15분씩 3-4회 수세하였다. 수세한 후 시료는 저농도인 30% 알코올에서 서서히 농도를 높여 무수 알코올까지 각각 15분 간격으로 탈수과정을 거친다. 그 후 무수알코올 : LR white를 3:1, 1:1, 1:3으로 각각 45분씩, LR white I, II에서 각각 16, 4시간 shaking한 후 LR white(high)에서 60°C로 24시간 polymerization한 후 포매하였다. 포매된 시료는 ultramicrotome에 의해 1~2 μm 두께로 절편을 만든 후 toluidin blue로 염색하여 관찰 대상부위를 확인하였다. 그 후 동일한 부위에서 초 미세박편하여 uranyl acetate-lead citrate로 이중 염색한 후 투과전자현미경(Hitachi-7000, 100 kv)을 사용하여 2,500~9,000배율로 관찰하였다.

통계처리

분석은 3회 반복 측정된 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 SPSS (statistical package social science, version 11.5)를 이용하여 Duncan's multiple range test 및

t-test를 행하였다.

결과 및 고찰

배지에 따른 균사체의 성장도 비교

YM 및 CP 배지에서의 소나무잔나비버섯 균사체의 성장도를 알아보기 위하여 생균사체 량의 변화를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 생균사체의 양이 최대가 되는 배양일수는 12일째로 YM 배지에서는 11.29 g/100 mL, CP배지에서는 40.21 g/100 mL이었다. 12일째 이후는 12일째의 수준을 유지하거나 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 버섯균사체의 수율은 버섯의 종류에 따라 상당한 차이를 나타내는데 Choi와 Lee(27)는 뽕나무버섯균사체를 맥아즙배지와 감자배지에서 배양한 결과 균사체 생성최대량은 건조균사체 양으로 0.28% 및 0.16%라 하였으며, Chung 등(28)은 영지버섯 균사체를 유청배지에서 배양한 결과, 건조균사체 1.02%를 얻을 수 있다고 하였다. 이러한 결과는 균사체의 생육에 필요한 영양소의 구성과 함량에 기인한 결과라 사료된다.

Table 1. Changes in mycelium weight of *Fomitopsis pinicola* during submerged culture in the different medium
(g/100 mL, wet basis)

Medium ¹⁾	Cultivation periods (days)			
	4	8	12	16
YM	3.76±0.25 ^{bb,2)}	10.95±1.28 ^{ab}	11.29±1.35 ^{ab}	10.76±0.75 ^{cb}
CP	8.87±0.87 ^{ca}	32.47±2.34 ^{ba}	40.21±2.50 ^{aa}	38.75±1.93 ^c

¹⁾YM; YM medium, CP; citrus peel water extract medium.
²⁾Values are mean±SD of triplicate determinations. Mean with different superscript within a row(a-b) and a column(A-B) indicate significant differences at p<0.05.

AIS, 산가용성 및 알칼리 가용성 다당류의 함량변화

YM 및 CP 배지에서의 배양기간에 따른 균사체의 산가용성 및 알칼리 가용성 다당류의 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 배양기간에 따른 AIS 함량은 YM 배지의 경우는 3.17~3.22%로 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 CP 배지에서는 배양 8일째 8.32%로 다소 높았다가 12~16일째에는 6.94~6.96%(w/w) 범위로 다소 감소하였으나 YM 배지에서 보다 높았다(Fig. 1).

산가용성 다당류의 함량은 YM 배지에서는 0.47~0.52%(w/w)로 배양기간에 따른 뚜렷한 변화를 보이지 않았으며 CP 배지에서는 8~12일째에는 0.32~0.37%(w/w)로 YM의 경우보다 낮은 함량을 보였으나 배양 16일째는 1.05%(w/w)로 높은 증가를 나타내었다. 알칼리 가용성 다당류의 경우도 산가용성 다당류의 경우와 비슷한 경향을 보였으며 그 함량은 YM 배지에서는 1.41~1.50%(w/w)이었으나 CP 배지에서는 2.02~3.04%(w/w)로 높았다.

Table 2. Changes in the content of alcohol insoluble substance, acid soluble polysaccharide and alkali soluble polysaccharide of *Fomitopsis pinicola* mycelium during submerged culture in the different medium

(g/100 g of mycelium, wet basis)

Polysaccharide ¹⁾	Medium ²⁾	Cultivation periods (days)		
		8	12	16
AIS	YM	3.22±0.12 ^{ab,3)}	3.17±0.14 ^{ab}	3.20±0.11 ^{ab}
	CP	8.32±0.29 ^{aa}	6.94±0.54 ^{ba}	6.96±0.25 ^{ba}
AcSP	YM	0.52±0.05 ^{aa}	0.47±0.02 ^{aa}	0.49±0.02 ^{ab}
	CP	0.32±0.03 ^{bb}	0.37±0.02 ^{bb}	1.05±0.03 ^{aa}
AISP	YM	1.50±0.09 ^{ab}	1.47±0.09 ^{ab}	1.41±0.05 ^{ab}
	CP	2.02±0.12 ^{ca}	2.25±0.11 ^{ba}	3.04±0.11 ^{aa}

¹⁾AIS; alcohol insoluble substance, AcSP; acid soluble polysaccharide, AISP; alkali soluble polysaccharide.
²⁾YM; YM medium, CP; citrus peel water extract medium.
³⁾Values are mean±SD of triplicate determinations. Mean with different superscript with in a row(a-b) and a column(A-B) indicate significant differences at p<0.05.



Fig. 1. Photograph of *Fomitopsis pinicola* mycelium cultured in the CP medium.

Chang 등(22)은 YM 배지와 CP배지에서 각각 10일간 배양하여 얻은 소나무잔나비버섯의 균사체를 구성 AIS 함량은 각각 6.51% 및 7.44%, 산가용성 다당류는 0.39% 및 0.18%, 알칼리가용성 다당류의 함량은 4.56% 및 5.21%로 보고한 것과 다소의 차이를 보였는데 이러한 결과는 배양조건에 따른 차이에서 온 결과라 사료된다.

균사체의 성장에 따른 조직학적 변화

CP 배지에서 배양한 균사체가 YM 배지에서 배양한 경우보다 AIS 및 알칼리 가용성 다당류의 함량이 높은 현상(Table 2)과 관련하여 세포조직에서의 나타나는 현상과 관련이 있는지를 관찰하기 위하여 균사체를 YM 및 CP배지에서 각각 8일(YM-1,2 및 CP-1,2), 10일(YM-3,4 및 CP-3,4), 12일(YM-5,6 및 CP-5,6), 16일간 배양(YM-7,8 및 CP-7,8)하여 전자현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 2~4와 같다. CP배지에서 10일간 배양한 균사체의 세포벽(CP-3,4)은 YM 배지의 경우(YM-3,4)보다 비후한 것으로 나타났으며, YM 배지에서 12일간 배양하였을 때의 세포벽 두께(YM-5,6)는

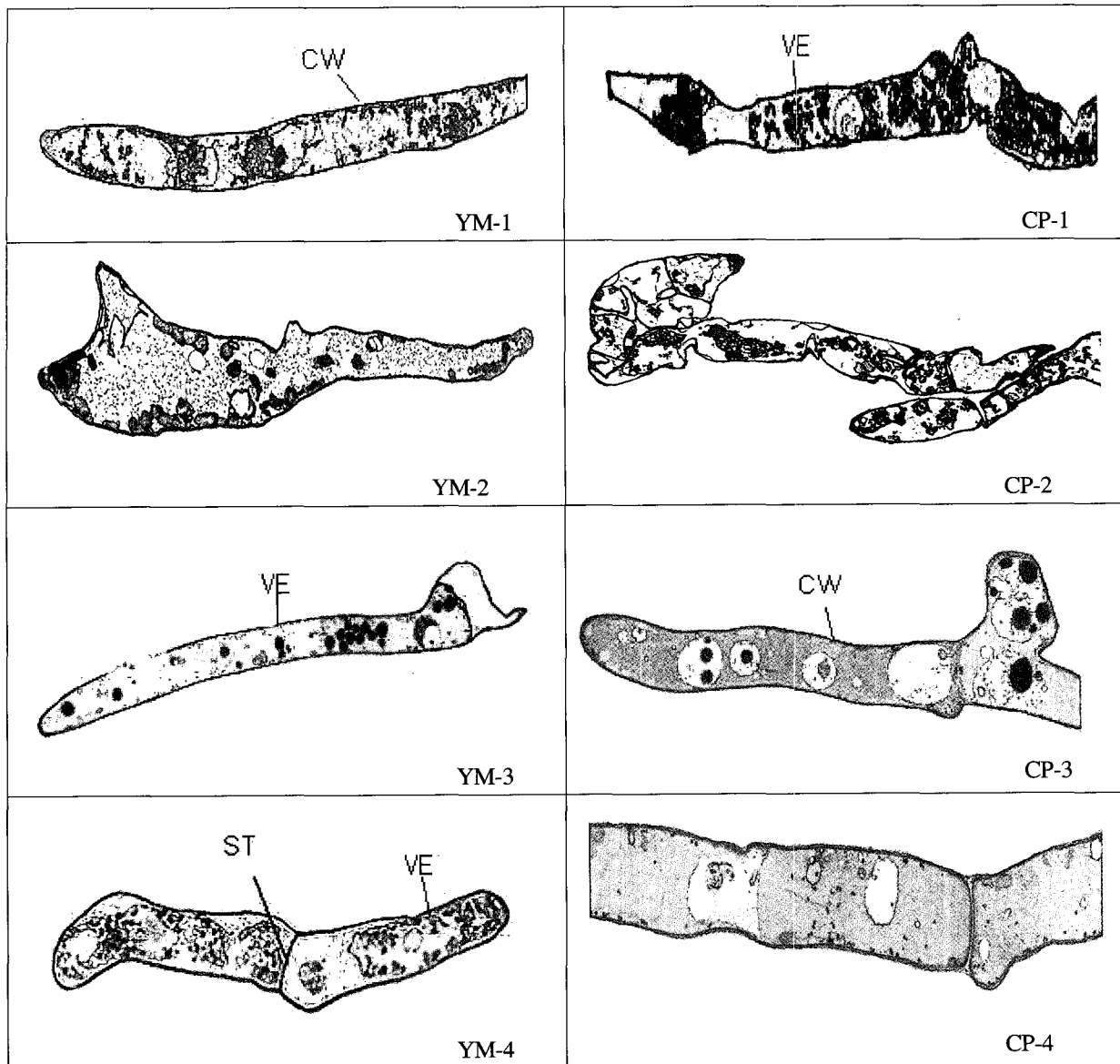


Fig. 2. Electron micrographs of *Fomitopsis pinicola* mycelium during submerged culture in the different medium(x2,500).

Abbreviations: YM-1,2 and CP-1,2; cultivation for 8 days in YM and CP medium, respectively. YM-3,4 and CP-3,4; cultivation for 10 days in YM and CP medium, respectively. CW; cell wall, VE; vesicle, ST; septum.

$0.2 \pm 0.05 \mu\text{m}$ 이었으나 CP 배지 경우의 세포벽 두께(CP-5,6)는 $0.5 \pm 0.05 \mu\text{m}$ 로 YM 배지 경우 보다 약 2.5배가 비후하였다. 이 같은 결과는 세포벽을 구성하는 다당류의 함량(Table 2)과 일치하는 결과로 YM 배지에서보다 CP 배지에서 세포벽 관련물질의 생합성이 촉진되는 것으로 여겨진다.

균사체에 존재하는 막성체인 소포(YM-1~8 및 CP-1~8, vesicle)는 균사의 세포벽 생육과 관련이 있는데 생장이 정지되면 소포는 선단부로부터 점차 소멸되어 세포전체에 널리 분포하게 되고, 생육이 재개되면 선단에 다시 축적한다(29). 그러나 본 실험에서는 소포가 균사체 세포질 내에 광범위하게 분포(YM-5~8, CP-5~8)하여 소포의 분포상태가 균사체의 생육에 뚜렷한 영향을 미치는 못하는 것으로

나타났으며 균사체 분화과정에 mitochondria의 cristae가 발달하였다(YM-9,10 및 CP-9,10).

식물체의 분화과정에는 다층막성구조(multivesicular body)가 액포의 형성과정과 밀접한 관계가 있고, 이 구조는 원형질막의 함입으로 분화되는 것과 세포질내에서 활면소포체가 세포질의 일부를 분리시켜 다층막성계로 분화하여 액포내로 유리되며, 자식성 소화과정을 통하여 액포가 확장되거나 또는 형성되는 것으로 알려져 있다(30-32).

소나무잔나비버섯 균사체의 경우도 식물세포의 분화과정과 유사하게 균사체내에 액포가 발달(YM-1~10, CP-1~10)하였으며, 세포질내 cytolysome으로 지칭되는 다층막성구조(YM-9,10 및 CP-9,10)는 액포의 형성과 밀접한 관계가

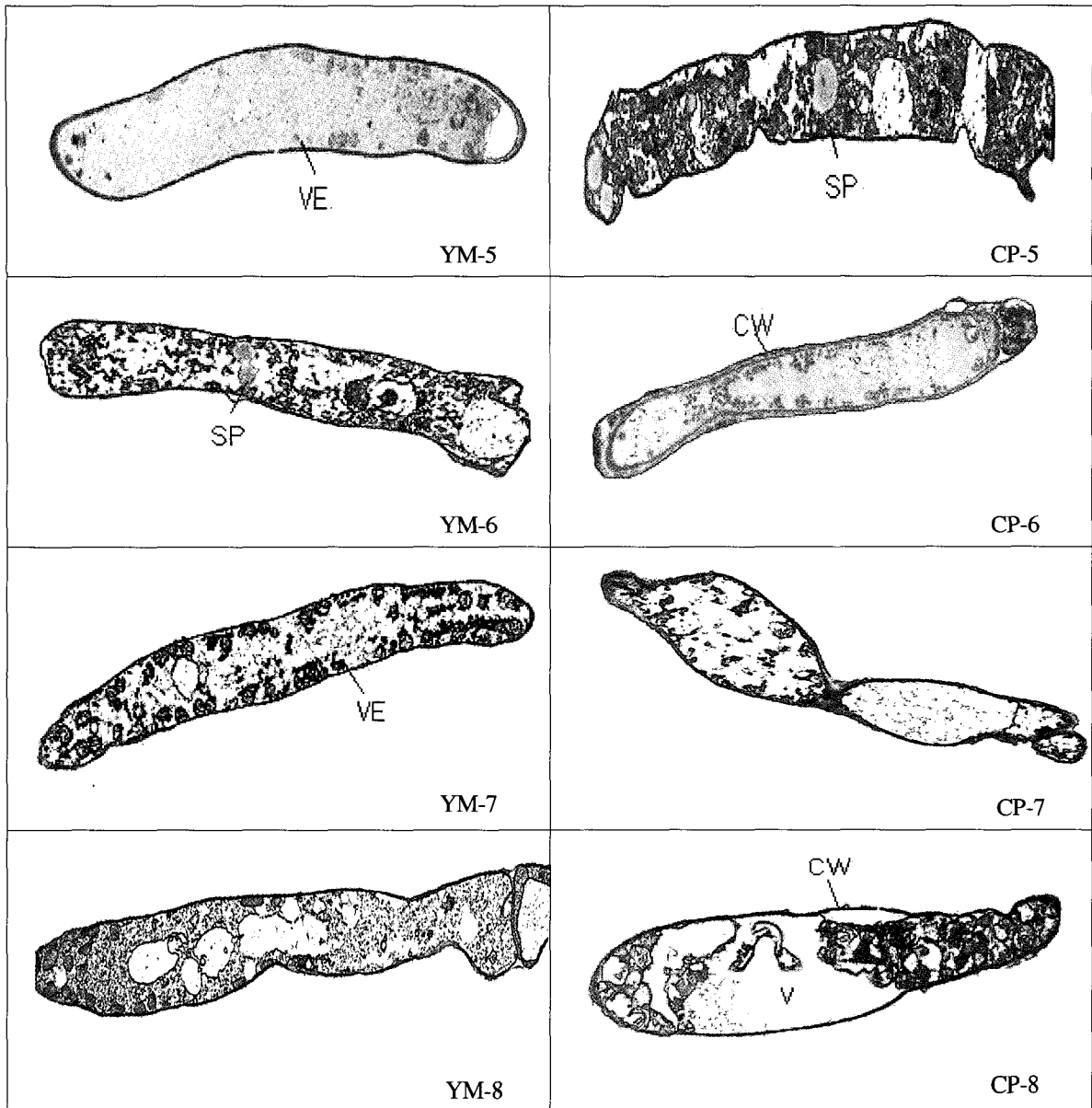


Fig. 3. Electron micrographs of *Fomitopsis pinicola* mycelium during submerged culture in the different medium(x3,000).

Abbreviations: YM-5,6 and CP-5,6; cultivation for 12 days in YM and CP medium, respectively. YM-7,8 and CP-7,8; cultivation for 16 days in YM and CP medium, respectively. SP; spherosome, VE; vesicle, CW; cell wall.

있는 것으로 보인다. 또한 이 다층막성구조는 세포질에서 유리되는 것으로 나타났다(CP-10).

액포가 발달하는 다층막성구조는 myelin figures, membrane complex 및 cytolysomes 등으로 불리어지고 있는데 이 구조는 액포형성과 밀접한 관계가 있다(33, 34).

YM-9,10에서 나타난 바와 같이 YM 배지에서보다 CP 배지에서 균사체가 먼저 액포화 되는 것은 균사체의 분화가 빨라 YM 배지보다 CP 배지가 먼저 성숙되는 것으로 여겨진다. 또한, 배양 12일에는 균사체 세포질에서 spherosome 이 세포내 불연속층으로 지질과립이 침적되어 나타나고 있는데(YM-6, CP-5), 이러한 지질과립은 지질소낭, 유적,

oleosome, 지질체, mitosome, 저장지방 및 spherosome 등으로 다양하게 불리어지고 있다(35). 배양 16일에는 spherosome 이 분해되기 시작하여 액포내 그 분해산물이 나타났다(YM-7,8, CP-8). 또, YM-4,8 및 CP-4,7에서 보는 바와 같이 격벽(septum)이 존재하여 2개의 세포로 분화되는 현상을 나타내었다.

이상의 결과로 보아 본 실험에서 균사체는 기존의 YM 배지보다는 CP 배지에서 세포벽 합성이 보다 빠르게 형성되어 생육이 촉진되는 것으로 여겨진다.

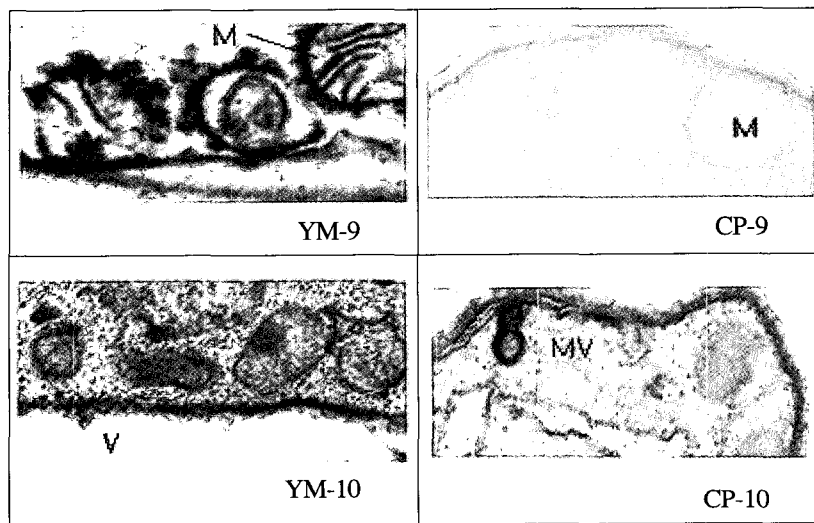


Fig. 4. Electron micrographs of *Fomitopsis pinicola* mycelium during submerged culture in the different medium(YM-9 and YM-10; x9,000, CP-9 and CP-10; x 8,000).

Abbreviations: YM-9, 10; cultivation for 8 and 12 days in YM medium, respectively. CP-9, 10; cultivations for 10 and 12 days in CP medium, respectively. M; mitochondria, V; vacuole, MV; multivesicular body.

요 약

굴껍질배지에서의 소나무잔나비버섯(*Fomitopsis pinicola*) 균사체 배양에 따른 다당류의 함량과 세포의 형태학적 변화를 관찰하였다. 균사체의 수율이 가장 높은 배양 12일째의 생균사체 수율과 균사체의 알코올불용성물질의 함량은 YM 배지에서는 각각 11.29%(w/v, wet basis) 및 3.17%(w/w, wet basis)이었으나 CP배지에서는 각각 40.21%(w/v) 및 6.94%(w/w)였다. 그러나 산가용성 다당류는 YM배지에서 높았으나 알칼리가용성 다당류 함량은 CP 배지에서 높았다. 균사체 세포벽은 CP 배지에서 배양한 경우가 YM 배지의 경우보다 전반적으로 비후하였으나 막성체(membranous vesicle) 소포(vesicle)는 뚜렷한 차이가 없었다. 세포질내 cytolysome으로 지칭되는 다층막성구조(multivesicular body)는 vacuole의 형성과 밀접한 관계가 있는 것으로 나타났으며, CP 배지에서 YM 배지에서보다 액포의 발달이 촉진됨으로서 세포벽 합성과 생육이 촉진되는 것으로 사료되었다.

참고문헌

- Shin, C.S., Lee, H.K., Koh, C.S., Kim, Y.I., Shin, Y.S., Yoo, K.Y., Park, H.Y., Park, Y.S. and Yang, B.G. (1997) Risk factors for the development of NIDDM in Yonchon County, Korea. *Diabetes Care*, 20, 1842-1846
- Lee, S.I., Kim, J.S., Oh, S.H., Shin, J.K., Jang, K.H. and Kim, S.D. (2005) Antidiabetic effect of *Fomitopsis pinicola*. Symposium Abstract(Spring) of J. East Asian Soc. Dietary Life, P-8.
- Lee, S.B., Oh, S.H., Lee, Y.K. and Kim, S.D. (2005) Characteristics of dough fermentation and quality characteristics of bread using submerged-culture broth of *Fomitopsis pinicola* mycelium. *Korean J. Food Preserv.*, 12, 583-590
- Anna Jarosz-Wilkolazka, Geoffrey M. Gadd. (2003) Oxalate production by wood-rotting fungi growing in toxic metal-amended medium. *Chemosphere*, 52, 541-547
- Rösecke, J., Pietsch, M., and König, W.A. (2000) Volatile constituents of wood-rotting basidiomycetes. *Phytochem.*, 54, 747-750
- Rösecke, J., and König, W.A. (2000) Constituents of various wood-rotting *Basidiomycetes*. *Phytochem.*, 54, 603-610
- Keller, A.C., Maillard, M.P. and Hostettmann, K. (1995) Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola*. *Phytochem.*, 41, 1041-1046
- Hamuro, J., Hadding, U. and Bitter-Suerman, D. (1978) Solid phase activation of alternative pathway of complement by β -1,3-glucans and its possible role for tumor regressing activity. *Immunol.*, 34, 695-705
- Lee, S.Y. (1988) Colored Korean mushrooms. Academic Press, New York., p.251

10. Koh, J.B. (2003) Effects of liquid culture of *Agaricus blazeimurill* on growth, lipid and protein levels, and enzyme activities in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 887-892
11. Ma, S.J. (1983) Effects of the substances extracted from dried mushroom by several organic solvents on the stability of fat. J. Food Sci., 15, 150-154
12. Kim, G.J., Kim, H.S. and Chung, S.Y. (1992) Effects of varied mushroom on lipid compositions in dietary hypercholesterolemic rats. Korean J. Soc. Food Nutr., 21, 131-135
13. Ebihara, K. and Minamishima, Y. (1984) Protective effect of biological response modifiers on murine cytomegalovirus infection. J. Virology, 51, 117-121
14. Chihara, G., Hamuro, J.M., Arai, Y. and Fuokuoka, F. (1970) Fractionation and purification of polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* sing. Cancer Res., 30, 2776-2781
15. Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. (1974) Protein-bound polysaccharide preparation PS-K, effective against mouse sarcoma180 and rat ascites hepatoma ah-3 by oral use. Gann., 65, 577-585
16. Keller, A.C., Maillard, M.P. and Hostettmann, K. (1996) Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola*. Phytochem., 41, 1041-1046
17. Gruen. (1976) Promotion of stipe elongation in *Flammulina velutipes* by a diffusate from excised lamellae supplied with nutrients. Can. J. Bot., 54, 1306-1315
18. Lee, B.W., Im, G.H., Kim, D.W., Park, K.M., Son, S.H. and Shon, T.H. (1993) Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. Kor. J. Appl. Microbial Biotechnol., 21, 609-614
19. Fraser, I.M. (1956) The growth promptive effect of several amino acids on the common cultivated mushroom. Mushroom Sci., 3, 190-200
20. Chi, J.H., Ha, T.M., Kim, Y.H. and Rho, Y.D. (1996) Studies on the main factors effecting the mycelial growth of *Phellinus linteus*. Korean J. Mycol., 24, 214-222
21. Park, Y.D., Hong, Y.K., Whang, W.K., Huh, J.D. and Park, S. (1989) Comparisons of protein-bound polysaccharide contents obtained from mycelial cultured broth and fruit body of *Coriolus versicolor*. Kor. J. Mycol., 17, 223-228
22. Chang, K.H., Shin, J.G., Lee, M.Y., Lee, S.I., Kim, J.S., Oh, S.H. and Kim, S.D. (2005) Extraction characteristics of polysaccharide from *Fomitopsis pinicola* jeseng mushroom. J. East Asian Soc. Dietary Life, 15, 100-105
23. Jang, K.H., Shin, K.O. and Kim, S.D. (2005) Free amino acid and polysaccharide content of submerged mycelial culture of *Fomitopsis pinicola*. Korean J. Food Preserv., 12, 379-386
24. Yu, T.S., Park, E.K. and Park, J.M. (1996) The effects of cadmium on the enzyme activities in cadmium-tolerant yeast cells. J. Korean Appl. Microbial Biotechnol., 24, 268-273
25. Son, M.A., Kim, M.H., Shin, S.R., Song, J.H. and Kim, K.S. (1998) Changes on the cell wall components of jujube fruits during drying. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 5, 350-354
26. McDonald, K. (1984) Osmium ferricyanide fixation improves microfilament preservation and membrane visualization in a variety of animal cell types. J. Ultr. Res., 86, 107-118
27. Choi, M.J. and Lee, J.Y. (1983) Physiological and ecological studies on mycelia of *Armillariella mellea*. Kor. J. Mycol., 11, 79-84
28. Chung, K.S., Koo, Y.J., Yoo, J.Y., Choi, S.Y. and Shin, D.H. (1991) Mycelial growth of *Ganoderma lucidum* and *Grifola frondosa* in milk whey. Kor. J. Mycol., 19, 61-65
29. Bartnicki-Garcia, S. (1973) Fundamental aspects of hyphal morphogenesis in microbial differentiation(23rd Symposium of The Soc. for General Microbiology) (eds. Ashworth J. M. & Smith J. E.). Univer. Press, Cambridge
30. Halperin, W. and A. C. Jensen. (1973) Ultrastructural changes during growth and embryogenesis in carrot cell cultures. J. Ultrastruct. Res., 18, 428-432
31. Kim, W.K., Kim, C.W., Park, H.D. and Yang, H.Y. (1976) Electron microscopic studies on the multivesicular bodies and cytolysomes. Kor. J. Elect. Micros., 6, 21-32
32. Mesquita, J.F. (1972) Ultrastructure de formations comparables aux vacuoles autophagiques dans des racines de l'*Allium cepa* L. et du *Lupinus albus* L. Cytologia, 37, 95-110
33. Carbonell, L.M. and Pollak, J.E. (1962) Myelin figures in yeast cultures of *Paracoccidioides brasiliensis*. J. Bacteriol., 83, 1356-1357
34. Thomas, P.L. and Issac, P.K. (1967) An electron microscope study of intravacuolar bodies in the uredia of wheat stem rust and in hyphae of other fungi. Can. J. Bot., 45, 1473-1478
35. Adams, C.A. and Nonellie, L. (1975) Composition and structure of protein bodies and spherosomes isolated from ungerminated seeds of *Sorgum bicolor* Monch. Plant Physiol., 55, 1-6

(접수 2006년 2월 27일, 채택 2006년 5월 12일)