

보문

## 환경조건이 표고톱밥배지의 갈변에 미치는 영향

김영호, 전창성, 박수철<sup>1</sup>, 유창현<sup>2</sup>, 성재모<sup>3</sup>, 공원식\*

국립원예특작과학원 버섯과, <sup>1</sup>농촌진흥청 연구정책과, <sup>2</sup>산림버섯연구소, <sup>3</sup>강원대학교

### The effect of environmental condition to the mycelial browning of *Lentinula edodes* (Berkeley) Sing. during sawdust bag cultivation

Young-Ho Kim, Chang-Sung Jhune, Soo-Chul Park<sup>1</sup>, Chang-Hyun You<sup>2</sup>, Jae-Mo Sung<sup>3</sup>, Won-Sik Kong\*

Applied Microbiology Division, National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-707.

<sup>1</sup>Forest Mushroom Research Center, Yeosu 469-803.

<sup>2</sup>Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon.200-701, Korea.

(Received September 3, 2009. Accepted September 8, 2009)

**ABSTRACT :** Recently sawdust cultivation of Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) is getting increased because log cultivation is getting difficult to get oak logs. It is important to make mycelia browning on the substrate surface in sawdust cultivation. This browned surface plays an important role like as artificial bark of the oak log, which protects the other pests and suppresses water evaporation in the substrate. The period for mycelia browning is so long that the sawdust cultivation of Shiitake mushroom can not spread well into the mushroom farms. In this article we would like to discuss about the effect of environmental condition to the mycelial browning during sawdust bag cultivation for the To reduce the period required for browning of substrates, sawdust substrates was illuminated light with difference intensity. One hundred Lux light illumination was needed for producing normal yield of fruit body but fruit body yield was low and abnormally shaped fruit body was produced when cultured under the dark condition of incubation. Illumination over 200lux is necessary for the successful browning of substrates during incubation. Optimum incubation temperature for browning of substrates and fruiting was 25 °C. The treatment of cotton plug with different size to identify the effect of aeration on the browning of substrates and fruiting showed rapid mycelial growth and reduced the periods for browning as the size of cotton plug was bigger. However, yield of fruit body was the highest at 16mm diameter cotton plug as compared to 20mm of that. CO<sub>2</sub> content in vessel of substrates was low as the size of cotton plug was bigger during incubation. CO<sub>2</sub> content during incubation of substrate was highest in periods between 8 week and 14 week after inoculation of shiitake when substrate was changed color into brown. C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> content in vessel with substrates was highest at 8mm diameter cotton plug and it was increased by order of 12, 16, 20, 0, 4 mm diameter cotton plug during substrate incubation. Sawdust substrate was soaked in cold water for different time to identify soaking effect of sawdust substrate on fruit body yield and activities of enzymes in these substrates were investigated. The fruit body yield was increased up to 40% by soaking substrates in comparison with unsoaked substrates. The soaked substrates showed 165, 175g/1,000ml at treatment of 4 and 15 hours, respectively. Cellulose activities in soaked substrates were not changed with soaking time, but activities of laccase, lignin degradation enzyme, were drastically increased up to 4 times in comparison with unsoaked substrates.

**KEYWORDS :** Environmental condition, *Lentinula edodes*, Mycelial browning, Sawdust cultivation, Shiitake mushroom

## 서 언

표고는 주로 참나무원목을 이용하여 재배하며 원목 내에서 균사생장기간이 길어 첫 버섯을 수확하려면 1년 이상 소요되고, 재배기간이 최소한 5년이나 걸리고 재료에 대한 버섯으로의 회수율도 낮다. 또한 앞으로 표고 재배용 원목의 수

요가 많고 참나무의 확보가 어려워 구득이 어려워지고 있다. 따라서 최근 톱밥을 이용한 표고 재배가 점차 증가하고 있는 경향이다 (Ando, 1974; Diehle and Royse, 1985; Royse, 1985).

톱밥을 이용한 표고버섯 재배에 있어서 균사가 완전히 성장하면 백색으로 되며 이 상태에서 버섯을 발생시키면 버섯 수도 적고 푸른곰팡이병 등에 오염되어 많은 수량을 기대할

\* Corresponding author : <wskong@korea.kr>

수 없게 된다. 따라서 배지표면에 나무의 표피와 같은 역할을 할 수 있는 인공표피가 형성되도록 갈변화시키는 것이 중요하다. 적갈색으로 갈변화된 것은 외부공기와 접촉시켜도 다른 균이 오염되지 않을 뿐 아니라 배지내 수분증발을 억제하고 버섯발생을 양호하게 한다. 그러나 표고의 톱밥재배에서 배지의 갈변을 위하여 100일에서 150일까지 배양되면서 완료되는 톱밥배지는 너무 긴 재배기간을 요구하며, 농가에서는 그로 인하여 시설비의 과다 투자와 배양실의 확보 등의 문제로 1990년 초부터 본격화된 톱밥재배연구에 비하여 아직까지도 전국적으로 농가의 확대는 미진한 편이다. 따라서 표고톱밥 재배시 배지의 갈변을 촉진시키거나 갈변이 빠른 균주를 조기에 선별할 수 있는 시스템의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다. 표고에서 광, 온도, 통기조건, 침수 등의 균사배양 및 발생에 관여하는 환경을 인위적으로 조절하여 표고 톱밥재배를 안정적으로 실시하고 재배기간을 단축시킬 수 있는 방법을 모색하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 광조사에 따른 배지의 변화

광의 조사를 위하여 광원으로는 100 W의 백열전구를 이용하였으며, 광을 골고루 조사하기 위하여 광원을 중심으로 1,000 ml의 종균병에 담겨져 30일동안 배양하여 균사생장이 완료된 톱밥배지를 등글게 포진하고 25°C, 습도 70%에서 갈변을 위하여 60일간 배양하였으며 매일 아침마다 위치와 모양을 바꾸어 광의 조사가 전면에서 이루어지도록 하였다. 광의 세기를 광도계로 측정하였으며 광의 세기를 조절하기 위하여 광원아래에 차광막을 설치하여 광도를 0, 100, 200, 400 Lux로 조절하면서 갈변시작일과 90일간의 배양 후 갈변되는 정도를 육안으로 조사하였고, 다음 재배사로 옮겨 자실체의 수량과 기형버섯의 생성량을 조사하였다.

### 배지내 통기량의 조절

배지내의 통기량을 조절하기 위하여 1,000 ml의 종균병에 톱밥배지를 넣고 마개를 하여 4, 8, 12, 16, 20 mm의 구멍을 뚫고 구멍의 크기대로 솜마개를 하여 121°C, 90분간 살균하여 접종 후 25°C, 습도 70%의 배양실에서 균사 배양이 완료될 때까지는 암상태에서 40일간 배양하고 배양이 완료된 후에는 200 Lux의 광을 조사하면서 60일간 배양하면서 갈변이 시작되는 시기를 조사하였고, 재배직전에 갈변율을 육안으로 조사한 후 자실체의 생산을 위해 재배사로 옮겨 자실체 발생을 유도하여 자실체의 수량과 기형버섯의 생성량을 조사하였다.

### 배지내 CO<sub>2</sub> 와 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>의 변화량 조사

통기량을 조절하기 위하여 4, 8, 12, 16, 20, mm의 솜마개를 한 1,000 ml 종균병의 배지를 150일동안 배양하면서 초기 균사생장 기간인 4주까지는 1주일 간격으로 4주부터 22

주까지는 2주일에 한번씩, 각 처리별로 1 ml의 주사기로 병내의 기체를 빼내어 gas chromatography(Varian 6000)로 분석하였다. 이때 분석조건은 이산화탄소는 TCD detector, Porapak N column(1/8" × 2 m), column온도는 90°C로, flow rate: 3 ml/min, 그리고 injection volume : 1 ml로 실시하였으며, 에틸렌은 FID detector, Alumina column(1/8" × 1 m), column 온도는 150°C, acetonitrile flow rate: 3 ml/min, 그리고 injection volume : 1 ml로 실시하였다.

### 톱밥배지의 침수

표고 톱밥배지의 침수효과를 구명하고자 120일간 배양된 배지를 15°C의 냉수에 온도를 유지하면서 0, 4, 15 시간 동안 침수하였다. 침수된 배지는 재배사로 옮겨 자실체를 발생시켜 자실체의 수량과 기형버섯 발생률을 측정하였다. 침수된 배지의 일부는 효소측정을 위하여 3시간 간격으로 배지를 꺼내어 endoglucanase,  $\beta$ -1,4-glucosidase, laccase 와 peroxidase의 활성을 분석하였다.

### 세포외 효소의 측정

톱밥 배지중의 유리수를 원심분리 추출하여 nylon mesh 로 걸른 후 glass microfibre filter(whatman GF/C)로 여과하고 10분간 12,000×g로 원심분리하여 불순물을 제거하고 상등액을 4°C에서 80% ammonium sulfate용액으로 염석(precipitation)하였다. 가라앉은 침전물을 원심분리하여 모은 후 10 mM sodium acetate용액에 dialysis하여 조효소액을 조제한 후 extracellular enzyme들을 측정하였다.  $\beta$ -1,4-glucanase는 0.5 ml의 50 mM의 citrate buffer(pH 4.6)로 제조된 1% carboxymethyl cellulose(Sigma. low viscosity)용액에 0.5 ml의 조효소액을 넣고 37°C에서 60분간 진탕하여 반응시킨 후 끓는 물에 10분간 넣어 반응을 정지시키고 생성된 환원당의 양을 Somogi-nelson 법에 의하여 측정하였다. 생성된 환원당은 분당 1  $\mu$ mol의 glucose 양으로 환산하여 1 unit로 하였다.

$\beta$ -1,4-glucosidase의 측정은 0.1 ml의 조효소액을 0.9 ml의 0.1% p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside(50mM sodium acetate buffer : pH 5.0)에 넣어 30°C에서 60분간 반응시킨 후 0.002 M의 EDTA를 함유한 0.5 M glycine buffer(pH 9.0)로 반응을 정지시키고 p-nitrophenol의 농도를 400 nm(extinction coefficient 13700 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)에서 측정하였다. Laccase의 측정은 Bourbonnais(1990)의 방법으로 조효소액 50  $\mu$ l와 23.3 mM ABTS 100  $\mu$ l와 250 mM Na-tartrate(pH 3.0) 100  $\mu$ l를 혼합하여 증류수를 가하여 최종 1 ml로 하여 436 nm에서 1분간의 optical density(O. D)의 변화량을 측정하였다(extinction coefficient : 13,700 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Laccase 1 unit는 1분간 산화된 1  $\mu$ mol의 ABTS 량으로 나타내었다.

Lignin-peroxidase는 Tien과 Kirk(1983)의 방법으로 조효소액 200  $\mu$ l를 취하여 증류수 550  $\mu$ l, 10 mM의

Table 1. Fruit body yield of *L. edodes* and degree of browning of sawdust substrate by different photo intensity.

Photo intensity (Lux)	Period for beginning of browning (days)	Degree of browning*	Fruit body yield (g/pot)	Individual weight of fruit body (g)	Percent of abnormal fruit body (%)
0	-	0	37 c	34.0	40.0
100	21	++	143 b	14.3	3.3
200	20	+++	163 a	14.6	8.9
400	20	+++	140 b	13.5	3.2

\* Degree of browning : +; 10~30%, ++; 30~60%, +++; above 60%, \*\* Pot weight : 750g/1,000m, \*\*\* Light source : 100W bulb, \*\*\*\* incubation period : total 90 days, \*\*\*\*\*The different letters(a, b, c, d) are significantly different at 1% level by DMRT.

veratryl alcohol 200  $\mu\text{l}$ , 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50  $\mu\text{l}$ 와 250 mM sodium tartrate 200  $\mu\text{l}$ 를 cuvette에서 잘 혼합한 후 UV spectrophotometer를 사용하여 310 nm에서 1분간 optical density(O.D)의 변화량을 측정하였다(extinction coefficient : 9,300M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Lignin-peroxidase 1 unit는 1분간 산화된 1  $\mu\text{mol}$ 의 veratryl alcohol과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양으로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

#### 표고 톱밥배지의 배양시 광주조건

표고 톱밥배지의 갈변화를 위하여 광의 조사는 필수적이라 할 수 있다. 따라서 본 시험에서는 톱밥재배에서 적절한 광의 광도를 측정하기 위하여 배양이 완성된 배지를 광도별로 처리하였다(Table 1). 전혀 광을 조사하지 않은 암배양상태에서는 배지는 전혀 갈변되지 않았으며 광을 조사한 처리구에서는 20~21일 사이에 갈변이 일어나기 시작하였고 배양을 완료한 때에는 광조사가 약했던 100 Lux 처리구에서는 갈변이 충분히 되지 않았으며 갈변화를 위해서는 200 Lux이상의 광이 필요한 것으로 나타났다. Leatham 과 Kirk(1983)이 보고한 바에 의하면 광을 조사하지 않았을 때는 전혀 갈변이 일어나지 않았으며 균사가 완전히 자란 후

56일간 광처리를 48시간 동안만 하였을 때도 갈변은 되지 않았으며 56일중 22일만을 처리하였을 때 갈변되었다고 보고하여 본 시험의 결과와 일치되었다. 또한 그는 광원의 종류별로 시험하였을 때 청색광은 갈변화를 촉진시킨다고 보고하였다(Leatham and stahmann, 1987). 광도별로 처리한 배지의 자실체 발생을 보았을 때 광을 조사하지 않은 처리구는 자실체의 수량이 적었을 뿐만 아니라 자실체가 기형으로 발생되는 비율이 매우 높았다. 광처리구 중에서 200 Lux처리구가 가장 수량이 높았고 개체중도 높았다. Leatham and Kirk(1983)의 보고에서도 56일의 갈변기간 중 2일만을 광 조사하였을 때 원기가 형성되지 않았다고 하여 본 시험과 일치된 결과를 나타내었다.

#### 표고 톱밥배지의 배양온도 조건

균사 배양후 배지를 후숙시키기 위하여 배양기간 중 배양 온도를 달리하여 표고 톱밥배지의 갈변율과 자실체의 수량을 조사하였다(Table 2). 온도가 낮을 때와 온도가 높을 때 갈변이 시작되는 것이 20일에서 21일로 20, 25°C에 비하여 1~4일 늦은 경향이었다. 이는 온도가 낮을 때는 표고균사의 대사작용이 늦어짐에 기인된 것으로 생각되며 온도가 높을 때는 균사가 고온 장애를 받는 것으로 생각된다. Tokimoto

Table 2. Fruit body yield of *L. edodes* and degree of browning of sawdust substrate by different incubation temperature.

Temperature (°C)	Period for beginning of browning (days)	Degree of browning*	Fruit body yield (g/pot)	Individual weight of fruit body (g)	Percent of abnormal fruit body (%)
15	20	++	143 b	14.3	3.3
20	18	++	138 b	23.7	11.4
25	17	+++	156 a	24.0	10.3
30	21	++	123 c	21.6	17.6

\* Degree of browning:+;10~30%,++;30~60%,+++; above 60% , \*\* Pot weight : 750g/1,000ml, \*\*\* Incubation period : total 90 days, \*\*\*\* The different letters(a, b, c, d) are significantly different at 1% level by DMRT.

Table 3. Period of mycelial growth and degree of browning by the use of different diameter of cotton plug .

Cotton plug diameter (mm)	Period of mycelial growth (day)	Browning period (day)	Degree of browning*	Fruit body yield (g/1,000ml)
4	38	96	+	8 e
8	36	91	++	74 d
12	33	91	++	84 a
16	30	85	+++	163 c
20	29	85	+++	157 b

\* Degree of browning : + : below 30% ++ : 30~70% +++ : above 70%, \*\* Pot weight : 750g/1,000ml, \*\*\* Incubation period : 150 days, \*\*\*\* The different letters(a, b, c, d) are significantly different at 1% level by DMRT.

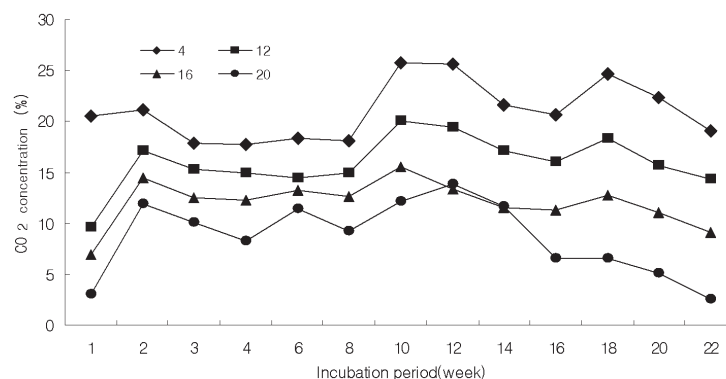
와 Kawai(1975)에 의하면 톱밥배지에서 용기가 생기게 되는데, 이 용기는 균사막과 pp봉지사이에서 공간을 형성하게 되어 공기의 순환을 증진시키고 균사막의 갈변화를 촉진시킨다고 하였다. 용기의 발생온도 시험에서 15℃보다 25℃에서 10일정도 용기가 먼저 발생한다고 보고하였는데 본 시험에서 15℃의 갈변이 늦은 것도 용기의 형성이 늦기 때문인 것으로 사료된다. 자실체의 발생에서는 광도처리와 마찬가지로 갈변이 빠른 처리가 자실체의 수량도 높았고 기형버섯의 발생비율도 낮았다. 따라서 온도가 너무 높은 것보다는 적정 온도에서 배양된 것이 톱밥배지의 갈변화를 촉진시키는 것으로 나타났다.

### 표고 톱밥배지의 배양중 통기조건

톱밥배지내에 공기의 통기량을 조사하기 위하여 중균병의 솜마개 크기를 조절하였다. 솜마개의 크기가 클수록 균사생장이 빨랐으며, 갈변되는 기간은 짧았고 갈변정도는 높았다. 자실체의 수량에 있어서는 마개가 클수록 높아지는 경향이 있었으나 오히려 너무 마개가 큰 것보다는 16mm의 솜마개가 더 많은 수량을 보였다. 이는 마개가 클수록 통기가 잘 되고 산소의 공급이 원활하여 균사의 성장을 빠르게 해주며 공

기중의 산소는 phenoloxidase와 같이 갈변화에 영향을 주는 효소들의 산화반응을 촉진시켜 갈변화를 빠르게 진행시킨 것으로 생각된다. 20mm의 솜마개를 사용한 배지에서 수량이 감소한 원인은 원활한 통기성으로 인한 배지내 수분의 증발로 추정된다.

솜마개 크기별로 배양하면서 통기성을 조사하기 위하여 봉지내의 CO<sub>2</sub> 함량 변화를 조사하였다(Fig. 1). 배양기간중 봉지내의 CO<sub>2</sub> 함량은 2%에서 28%까지 증진되었으며 균사생장 동안 CO<sub>2</sub>의 양은 점차 증가하면서 10주에서 14주까지 CO<sub>2</sub> 함량이 정점을 이루었다가 16주부터 급격히 감소되었다. 솜마개의 크기가 클수록 CO<sub>2</sub> 함량이 낮은 경향이었고 초기에는 4mm의 마개보다 솜마개를 하지 않은 것이 CO<sub>2</sub> 함량이 낮았으나 4주부터는 높아지는 경향이였다. 이는 솜마개가 없는 것이 접종 후 균사의 활착이 늦어지기 때문으로 생각된다. 배양 6주까지는 균사가 성장하는 기간으로 균사생장시 20mm의 솜마개에서는 CO<sub>2</sub> 함량이 20%를 넘지 않았으나 솜마개가 없는 것은 40%의 CO<sub>2</sub> 함량을 나타냈다. 갈변이 왕성하게 이루어지는 시기인 8주부터는 CO<sub>2</sub> 함량이 급격히 증가하고 갈변이 완료된 시점에서 CO<sub>2</sub> 함량은 다시 낮아지는 경향을 보였다. Table 3에서 갈변이 가장 많이 이루어졌던 16

Fig. 1. Changes of CO<sub>2</sub> concentration in substrate by the use of different diameter of cotton plug during mycelial growth period

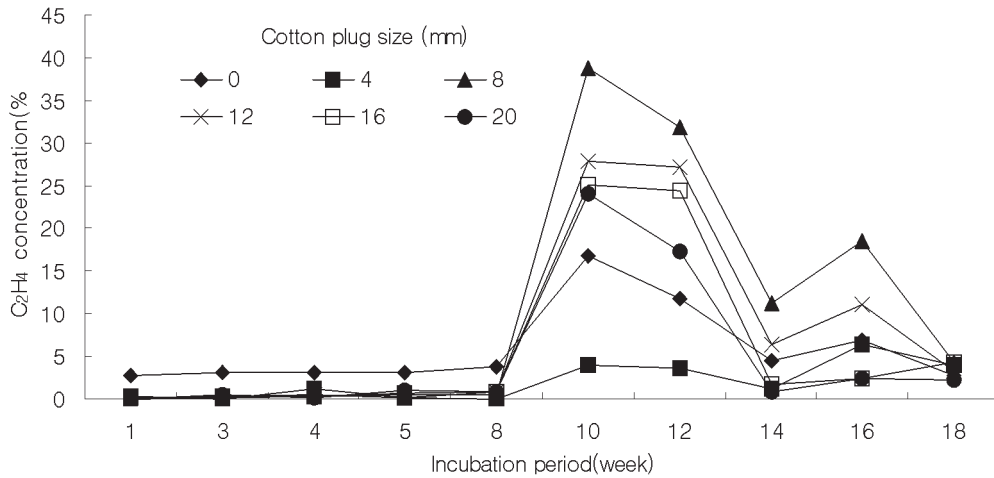


Fig. 2. Changes of C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> concentration in substrates by the use of different diameter of cotton plug during mycelial growth period.

과 20mm의 솜마개는 CO<sub>2</sub> 함량이 가장 낮게 변화하여 균사의 갈변은 통기성과 밀접한 관계를 갖는 것으로 추정된다.

표고균사의 생육중 ethylene의 생성기작과 기능은 정확하게 밝혀져 있지 않지만, ethylene은 과일류에서는 홀몬으로 조직의 노화에 관여하는 것으로 알려져 있으나, 곰팡이에서는 Bull와 Trinci(1977)가 *Armillaria mellea*에서 뿌리곰팡이( rhizomorph)을 생성할 때 아미노산, Indoleacetic acid 등과 함께 균사가 뭉치게 하는 역할을 하여 균사다발을 생성하는 데 결정적인 역할을 한다고 보고하였다. 본 시험에서 Fig. 2과 같이 ethylene은 균사생장기간 동안의 초기 5주까지는 거의 생성되지 않았으나 8주부터 갈변이 시작되고 균사가 돌기를 형성하기 위하여 뭉치기 시작하는 시기부터는 ethylene의 생성이 갑자기 많아지기 시작하여 14주부터는 발생량이 급격히 줄어들었다. 초기에는 마개를 하지 않은 처리가 ethylene의 발생량이 많았으나 8주부터는 8mm의 솜마개에서 가장 많이 발생하였고 12, 16, 20, 0, 4mm의 순으로 발생되었다.

초기에 솜마개를 하지 않은 처리가 높았던 것은 고무마개로 인한 통기의 불량때문으로 생각된다. 그러나 갈변이 진행되는 동안에 0~4mm의 솜마개에서 통기의 불량에도 불구하고

하고 낮았던 이유는 균사의 생장이 느리고 균사의 뭉침이 적었기 때문으로 생각되며 이것은 ethylene이 균사를 뭉치게 하는 역할을 한다는 Bull와 Trinci(1977)의 보고와 일치된다. Vance와 Garraway(1973)는 균체내에서 생성된 에틸알콜이 균사체내의 phenol 형성을 감소시키고, glucose의 흡수와 대사를 저해하며 phenol 화합물을 변화시킨다고 보고하였다. 본 시험에서의 ethylene 발생은 균체내에서 생성된 ethanol을 균체외로 방출함에 의한 것으로 사료된다

**표고 톱밥배지의 침수에 따른 자실체 특성변화**

표고 버섯을 발생시키기 위하여 톱밥배지에 자극을 주는 방법으로 침수를 하는 것이 표고재배에 있어서 일반적으로 사용되는 방법이다. 표고배지의 침수시간별로 자실체의 수량을 조사하였다(Table 4). 침수를 하지 않은 것과 침수를 한 것은 수량의 차이가 컸으며, 4시간과 15시간 침수한 것의 자실체 수량은 7g의 차이밖에 나지 않았으나 15시간 침수한 것과 침수하지 않은 처리에서는 침수를 하지 않은 처리가 수량이 45.2%나 감소되어 배지의 침수로 인한 수량의 차이는 매우 컸다. 이는 원목의 경우는 원목의 크기가 커서 물이 골목내에 완전히 스며드는데 소요되는 시간이 길지만 톱밥의

Table 4. Fruit body yield of *L. edodes* by different soaking time of sawdust substrate.

Soaking time (hour)	fruit body yield (g/pot)	Biological efficiency* (%)	Individual weight of fruit body (g)	Percent of abnormal fruit body (%)	Dry yield of fruit body (%)
0	96 c	13	7.4	3.4	18.4
4	164 b	22	8.4	0	12.8
15	175 a	24	9.1	0	12.2

\* Biological efficiency : (fresh mushroom/ substrate) X 100, \*\* Pot weight : 750g/1,000ml, \*\*\* The different letters(a, b, c) are significantly different at 1% level by DMRT.

Table 5. Changes of enzyme activities by soaking period of sawdust substrates.

Soaking period (hours)	Cellulase		Ligninase	
	Endo-glucanase	Glucosidase	Laccase	Peroxidase
0	1.63	1.77	0.80	trace
3	1.63	1.77	1.94	t
6	1.63	1.74	3.08	t
9	1.63	1.72	1.15	t
12	1.63	1.74	1.18	t

\* water temperature : 15°C

경우 배지의 크기가 작기 때문에 침수시간에 따른 수량의 변화는 그리 크지 않은 것으로 사료된다.

자실체발생 자극을 위하여 표고 톱밥배지를 침수할 때 침수시간별로 섬유소와 lignin을 분해하는 효소의 활성을 조사하였다(Table 5). Cellulose를 분해하는 효소들은 침수를 하여도 거의 변화를 나타내지 않았으나 리그닌 분해효소인 laccase는 침수 6시간까지 증가하였으나 9시간부터는 급격히 감소하였다. 이는 cellulose를 분해하는 효소들이 세포와 결합력이 약하고 분해과정 중에도 기질을 분해한 후 소모되기 때문에 침수 중에 변화를 나타내지 않는 것으로 생각되며, laccase는 세포와의 결합력이 강할 뿐만 아니라 lignin을 분해하는 과정에서 lignin의 분해산물과 계속적으로 작용하는 특성을 지니고 있으므로 침수 중에 배지내로 흘러나와 배지내에서의 활성이 높아진 것으로 생각되며 9시간 이상에서는 오랜 침수로 인하여 배지내의 효소가 침수된 물에 희석되어 장시간 침수하였을 경우에는 활성이 낮아진 것으로 추정된다. Tokimoto와 Fukuda(1997)에 의하면 원목을 침수한 후 자실체 발생기간까지에서 cellulase 분해효소들은 침수 3일 후 급격히 증가되었다가 자실체 발생시기에는 낮아지는 경향을 보였고 laccase는 침수 7일 후부터 급격히 증가하여 자실체의 발생에 영향을 준다고 하였으나 본 시험에서의 결과는 약간 상이함을 나타내었다.

## 적 요

표고 톱밥배지의 갈변을 촉진시키기 위하여 광을 조사한 결과 100Lux 이상의 광처리에서 원하는 수량을 얻을 수 있었으며 암상태에서의 자실체의 발생은 기형버섯율이 높았으며 수량도 저조하였다. 그러나 갈변은 200 Lux이상의 광에서 정상적으로 이루어졌으며 가장 빨리 갈변이 되기 시작하였다. 온도별 처리에서는 25°C의 배양온도를 유지하여 배양한 것이 갈변시작일도 가장 빨랐고 갈변도 가장 많이 진행되었으며 수량과 개체중량도 가장 높았으며 정상적인 수량을

나타낸 처리 중 기형버섯의 발생량도 가장 적었다. 배지내에 통기성이 미치는 영향을 조사하기 위하여 솜마개의 크기를 달리하여 처리한 결과 마개의 크기가 클수록 균사의 성장량도 빨랐으며 갈변이 이루어지는 시기도 빨랐다. 그러나 자실체의 수량은 솜마개의 직경이 16mm일 때 가장 높았으며 마개가 클수록 배지내의 CO<sub>2</sub>함량은 낮았으며 배양기간 중 갈변이 진행되는 8주에서 14주 사이에서 CO<sub>2</sub>함량이 가장 높았다. 배양기간 중 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>함량은 8mm의 솜마개에서 가장 많이 발생하였으며 12, 16, 20, 0, 4mm의 솜마개로 발생하였다. C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>함량도 CO<sub>2</sub>함량과 같이 8주에서 14주사이의 배양기간에서 가장 높았다. 침수시간에 따른 자실체의 발생효과를 구명하기 위하여 침수시간별로 자실체의 수량과 효소들의 활성을 조사하였다. 침수를 하지 않은 배지는 수량이 침수를 한 배지에 비하여 약 40%가 감소하였다. 침수시간은 4시간과 15시간 침수한 것이 각각 165g/1000ml, 175g/1000ml이었다. 침수시 cellulase분해효소는 침수에 따른 변화가 없으나 lignin 분해효소인 laccase는 침수시간에 따라 약 4 배 정도까지 효소의 활성이 증가되었다.

## 참고문헌

- Ando, M. 1974. Fruit-body formation on *Lentinus edodes*(Berk.) Sing. on artificial media. *Mushroom Sci.* IX(Part1) ; 415-422.
- Bourbonnais, R. and Paice, M. G. 1990 Oxidation of nonphenolic substrates. An expended role for laccase in lignin degradation. *FFBS Lett.* 267 ; 99-102.
- Bull, A. T. and Trinci, A. P. 1977. The physiology and metabolic control of fungal growth. *Adv. Microb. Physiol.* 15:1-84.
- Diehle, D. A. and Royse, D. J. 1985. Shiitake cultivation on sawdust : evaluation of selected genotypes for biological efficiency and mushroom size. *Mycologia* 78 ; 929-933

- Leatham, G. F. and Kirk, T. K. 1983. Regulation of lignolytic activity by nutrient nitrogen in White rot basidiomycetes. FEMS Microbiol. Lett 16 ; 65–67.
- Leatham, G. F. and Stahmann, M. A. 1987. Effect of light and aeration on fruiting of *Lentinus edodes*. Trans. Br. Mycol. Soc. 88(1) ; 9–20
- Royse, D. J. 1985. Effect of spawn run time and substrates nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. Mycologia. 77(5) ; 756–762.
- Tien, M. and Kirk, T. K. 1983. Lignin–degrading enzyme from hymenomycete *Phanerochate chrysosporium* Burds. Science 221 ; 661–663.
- Tokimoto, K., and Fukuda, M. 1997. Changes in enzyme activities in bedlogs of *Lentinus edodes* accompanying fruit–body development. Mokuzai Gakkaishi 43(5) ; 444–449.
- Tokimoto, K., and Kawai, A. 1975. Nutritional aspects on fruit–body development in replacement cultures of *Lentinus edodes* (Berk) Sing.. Rep. Tottori Mycol. Inst. (Japan) 12 ; 25–30.
- Vance, C. P. and Garraway, M. O. 1973. Growth stimulation of *Armillaria mellea* by ethanol and other alcohols in relation to phenol concentration. Phytopathology, 63(6) ; 743–748.