

# 장기 저장 후 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*) 균주의 균사 생존력과 재배 특성에 대한 연구

이혜정 · 노현수<sup>1</sup> · 김종국<sup>2</sup> · 이창윤\*

그린피스 버섯연구소, <sup>1</sup>경상대학교 미생물학과, <sup>2</sup>경북대학교 생명과학부

## Mycelial viability and cultivation characteristics of *Hypsizygus marmoreus* after long-term storage in different conditions

Hye-Jung Lee, Hyeon-Su Ro<sup>1</sup>, Jong-Guk Kim<sup>2</sup> and Chang-Yun Lee\*

Greenpeace Mushroom Institute, Cheongdo 714-852, Korea

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Research Institute of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Life Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

**ABSTRACT :** Mycelial viability and cultivation characteristics of strains of *Hypsizygus marmoreus* after long-term storage were investigated. The experimental conditions were the storage at 4°C using a slant culture technique with or without mineral oil, and in liquid nitrogen tank in the presence of 10% glycerol or 10% glycerol with 5% trehalose. The mycelia of four strains of *H. marmoreus* were thawed at 9, 21, 33, and 45 months after beginning of the storage, and then the growth of the mycelia was measured on a PDA plate with serial transfers to new plate for the recovery. The mycelial growth data after 45 months showed that the mycelia were mostly viable but not fully active particularly when they were stored in liquid nitrogen with 10% glycerol. The growth activity could be fully recovered after second transfer to new PDA plate. Cultivation of mushroom fruiting body using the recovered mycelia also demonstrated that the storage methods employed in this work were applicable for the long-term storage of *H. marmoreus*.

**KEYWORDS :** Mycelial viability, long-term storage, *Hypsizygus marmoreus*

### 서론

버섯을 상업적으로 재배하기 위해서는 버섯 종류의 선정, 재배 기술의 확보, 환경제어 기술의 확립 등의 다양한 기술을 확보하여야 한다. 그 중에서도 물리적,

화학적인 요인들에 의한 버섯 균주의 변이를 최소화 하는 기술을 확보하는 것이 우선시 되고 있으나, 아직까지 명확한 결론 도출이 이루어지지 않고 있다. 그래서 대부분의 재배자들은 조직배양을 통해 얻어진 균사를 원균으로 사용하고, 단기 보존을 위한 목적으로 계대배양법을 사용하거나, 장기 보존을 위해서는 사면배지에 균사를 일정기간동안 생장시켜 4°C 저온저장고에 보관하는 저온저장법 등을 이용하고 있으며 필요에 따라 균사를 활성화하여 사용하고 있다. 계대배양법을 이용할 경우에는 균사가 생장하는 중에도 균사내에서 유전적 또는 물리적 변화가 생길 수 있으며, 계대배양의 횟수가 많아질수록 종균이 퇴화하고, 균주의 유전적 변화가 심하며, 생존율이 저조해진다는 보고가 있다(Peng and Wu, 1972; Lee et al, 1999). 장기 보존을 위해서 재배자들이 사용하고 있는 사면배지를 사용한 4°C 저온저장 방법은 저장 후 3-6개월이 경과되면 저온저장고에서 꺼내어 균주

J. Mushrooms 2014 March, 12(1):29-34  
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2014.12.1.29>  
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853  
 © The Korean Society of Mushroom Science

\*Corresponding author  
 E-mail : leeniger@hanmail.net  
 Tel : +82-10-2526-4011, Fax : +82-54-371-5547

Received January 14, 2014  
 Revised January 17, 2014  
 Accepted January 22, 2014

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

를 활성화하여 영양분이 고갈된 배지를 교환해 주는 작업을 지속적으로 실시해야 한다. 이러한 과정에서 세균 또는 곰팡이의 오염이 발생할 수 있으며, 계대 배양법과 동일하게 균주의 유전적, 생리적인 문제가 발생할 수 있다. 이러한 문제점을 개선하기 위해 균주를 안정적으로 장기 저장할 수 있는 방법들이 개발되었으며 지속적인 연구가 이루어지고 있다.

특히, 버섯은 일부종을 제외하고는 균사상태에서 포자를 형성하지 않으므로 균사체 상태로 보존이 이루어진다. 균사체 보존 방법으로는 멸균 증류수를 이용한 보존법(McGinnis *et al*, 1974; Boesewinkel, 1976; Ellis, 1979; Lee *et al*, 1998), 동결건조보존법(Smith and Onions, 1983), mineral oil 보존법(Kobayashi, 1984; Li and Chen, 1981), 액체질소보존법(Hwang, 1968; Jong, 1978; Smith, 1991) 등이 있다.

느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus* (peck.) Bigelow)은 서양에서 “beech mushroom”으로, 일본에서는 “Bunashimeji”로 불리우며, *Basidiomycetes*, *Agaricales*, *Tricholomataceae*에 속하는 식용버섯이다. 분포지역은 동아시아, 유럽 그리고 북아메리카 지역이고 너도 밤나무(Beech tree) 또는 버드나무(willow)와 같은 활엽수의 죽은 나무 그루터기에서 자란다(Lee *et al*, 2012). 느티만가닥버섯은 일본에서 처음으로 인공 재배되었으며(Ohashi, 2010), 우리나라에서는 1990년대 초반에 도입되었으나 버섯 특유의 쓴맛과 재배특성상 100일 이상의 배양기간을 필요로 하는 문제점 때문에 활성화되지 못하였다. 그러나 2002년에 일본의 다카라주조와 기술제휴로 (주) 풀무원다카라아그리에서 시험재배를 시작하여 최근에는 경북 청도의 “그린피스”와 강원도 홍천의 “참맛버섯”에서 재배를 활성화하여 배양 기간을 80일로 단축하고, 쓴맛을 제거한 품종을 개발하여 해외로 수출을 개척하고 있으며 국내에서도 소비가 증가되고 있는 버섯 중 하나이다.

본 연구에서는 느티만가닥버섯 재배종 3종과 국내 야생종 1종을 계대배양법, 사면배지 보존법, mineral oil 보존법, 액체질소 보존법 등으로 장기보존한 후 균주의 균사 생장력과 버섯의 수확량을 대조구와 비교하여 느티만가닥버섯 균주의 안정적인 장기 보존 방법을 확립하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

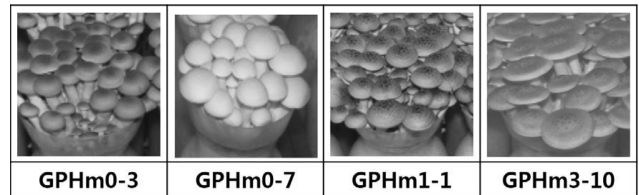
### 공시균주

본 시험에서는 “그린피스 버섯연구소”에서 2007년

**Table 1.** Strains of *Hypsizygus marmoreus*

Strain No.	Year of collection	Location	remarks
GPHm <sup>a</sup> 0-3	2007	Kyoto, Japan	Commercial strain
GPHm0-7	2007	Kyoto, Japan	Commercial strain
GPHm1-1	2007	Hukuoka, Japan	Commercial strain
GPHm3-10	2007	Dukyu Mt. Korea	Wild starin

<sup>a</sup>GPHm, Green Peace *Hypsizygus marmoreus*



**Fig. 1.** Morphology of strains of *Hypsizygus marmoreus* used in this study.

도에 수집하여 액체질소에 보관 중인 GPHm0-3, GPHm0-7, GPHm1-1, GPHm3-10 균주를 공시균주로 사용하였다. 공시균주는 병 재배 후 발생한 자실체를 조직배양을 실시하여 5회 계대 배양한 다음 액체질소와 4°C 저온저장고에 저장하였다 (Table 1, Fig. 1).

### 계대배양법

각 균주는 PDA(Potato dextrose agar, Oxoid, UK) 평판배지에 접종한 다음 24°C 배양기에서 15일 동안 배양한 후 배양된 평판배지의 가장자리 부분을 직경 5 mm의 멸균된 straw를 이용하여 떼어낸 후 준비된 PDA 평판배지에 접종하였다. 계대배양 주기는 15일에 1회씩 실시하고 계대배양을 할 때 마다 횟수를 표기하였다.

### 사면배지 보존법

각 균주는 계대배양법과 동일하게 준비하여 사면배지(시험관 직경 18 mm, 길이 180 mm, PDA 10 ml, 121°C, 20 min 동안 멸균, PP 마개)에 접종하여 균사가 배지의 2/3 정도 생육되었을 때 parafilm으로 입구를 완전히 밀봉한 후 4°C 저온저장고에 넣어 보관하였다.

### Mineral oil 보존법

Mineral oil은 121°C에서 30분 동안 멸균한 후 실온에서 냉각시킨 다음 mineral oil의 온도가 실온과 동일할 때 사용하였다.

각 균주는 사면배지 보존법과 동일하게 준비하여 균사가 배지의 2/3 정도 생육되었을 때 멸균된 mineral oil(Sigma, M8410)을 사면배지 위로 1 cm 까지 공기 방울이 생기지 않도록 분주한 후 parafilm으로 입구를 완전히 밀봉한 후 4°C 저온저장고에 넣어 보관하였다.

**액체질소 보존법**

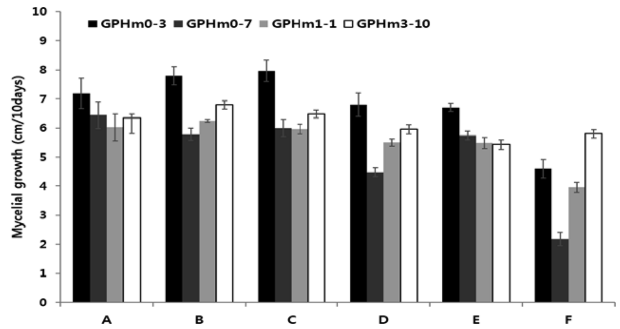
각 균주는 계대배양법과 동일하게 준비하여 배양된 평판배지의 가장자리 부분을 직경 5 mm의 멸균된 straw를 이용하여 5조각을 떼어낸 후 동결보호제(10% Glycerol, 10% Glycerol + 5% Trehalose)가 첨가된 1.8 ml의 Cryovial에 넣어 3시간 동안 20°C에 방치한 후 -18°C 저온저장고에 옮겨 24시간이 경과한 다음 액체질소 탱크(MVE, 1520 ETERNE)에 넣어 보관하였다.

**균주 생존 능력 측정**

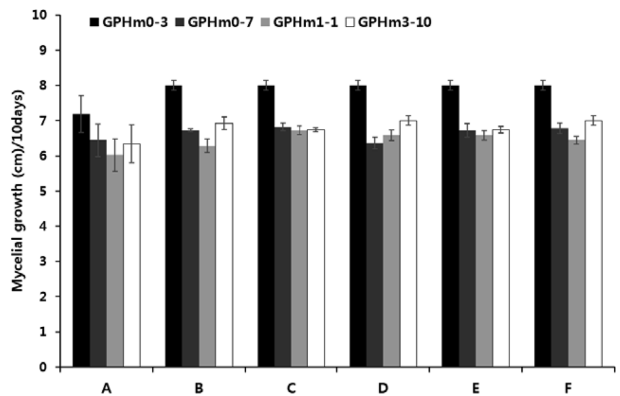
보존 균주의 생존 능력은 저장 후 9, 21, 33, 45개월이 경과된 시점에서 보존된 균주를 꺼내어 PDA평판배지에 계대배양한 다음 생장길이를 측정하는 균사 성장력으로 검증하였다. 균사의 성장력은 저온저장고에서 꺼낸 균주를 PDA배지에 접종하여 24°C 배양기에서 10일 동안 배양할 때를 1회 계대로 정의하고 10일에 1회씩 계대 배양하여 5회 동안 계대 배양한 다음 균사 성장 길이를 측정하여 조사하였다.

**균주 재배 성능의 측정**

저온저장고에서 균주를 꺼내어 활성화 하는 방법은 균주 생존 능력 측정의 방법과 동일하게 실시하였고, 3회 계대배양이 이루어진 후 PDA 평판배지에서 10일 동안 배양된 균사 절편을 직경 5 mm straw를 이용하여 3조각을 떼어낸 후 대두분 액체배지(대두분 0.3%, 설탕 3%, MgSO<sub>4</sub> 0.05%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05%)에 접종하였다. 접종된 대두분 액체배지는 24°C에서 15일 동안 배양하고 자석교반기를 이용하여 파쇄한 후 느티만가닥버섯 재배용 배지(Polypropylen 병 ; 850 cc, 58φ, 함수율 65%, 톱밥 47%, 대두피 14%, 미강 20%, 콘코브 20%)에 접종하였다. 대두분 액체배지가 접종된 배지는 80일 동안 배양실(온도 20°C, 습도 75%, CO<sub>2</sub> 3000 ppm)에서 배양하고, 균균기를 실시한 다음 생육실(온도 15°C, 습도 99%, CO<sub>2</sub> 3000 ppm)에서 20~23일 동안 생육한 후 느티만가닥을 수확하여 중량을 측정하였다. 버섯수확시기는 대조구의 수확시기를 기준으로 하였고, 대조구가 수확되는 시



**Fig. 2.** Effect of storage conditions on the mycelial growth of *Hypsizygus marmoreus*. The growth of different strains be measured after the 1<sup>st</sup> transfer onto PDA plate. Each strain was stored for 45 months at given conditions. A, control (current sample); B, subculture; C, slant culture; D, slant culture with mineral oil; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; F, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)



**Fig. 3.** Full recovery of mycelial growth activity after the 5<sup>th</sup> successive transfer on PDA. Each strain was stored for 45 months at given conditions. A, control (current sample); B, subculture; C, slant culture; D, slant culture with mineral oil; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; F, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)

점에 4가지의 실험구를 동시에 수확하는 방법을 사용하였다. 버섯의 재배는 1회에 4병씩, 3반복을 실시하였고 data의 신뢰성을 높이기 위해 100 g 이하와 200 g 이상이 수확된 data는 제외하였다.

**결과 및 고찰**

**장기 저장에 따른 균주의 생존력 검증**

장기 저장에 따른 균주의 생존력 검증을 수행하여 9, 21, 33, 45개월 동안 보관된 균주를 PDA 평판배지에 접종하여 1, 2, 3, 4, 5차 계대배양에 따른 균사

생장길이를 측정하여 생존력 검증을 수행하였다(Fig. 2, 3). 대조구로는 조직배양 직후부터 PDA 평판배지를 사용하여 15일 간격으로 계대배양을 실시한 균주를 사용하였다. 9, 21, 33, 45개월 동안 보관된 4종의 느티만가닥버섯 균주를 PDA 평판배지를 사용하여 5차 동안 계대 배양하여 균사생장 길이를 측정한 결과(9, 21, 33개월의 data는 표기하지 않음) 대조구에서(조직배양 직후 5회 계대 배양 후 10일 동안 24°C 배양기에 배양하여 균사 생장 길이 측정) GPHm0-3 균주  $7.18 \pm 0.52$  cm, GPHm0-7 균주  $6.44 \pm 0.47$  cm, GPHm1-1 균주는  $6.02 \pm 0.46$  cm, GPHm3-10 균주  $6.34 \pm 0.54$  cm였다. 결과와 비교하여 조직 배양 후 15일 간격으로 PDA배지를 사용하여 43개월 동안(87회) 계대배양을 실시한 계대배양법에서는 GPHm0-7 균주를 제외한 3종의 균주에서는 균사 길이가 대조구보다 0.62~0.22 cm 정도 더 빨리 성장하는 결과를 나타내었다. 45개월 동안(91회) 계대배양을 실시한 결과에서도 대조구에 비해 균사 생장이 빠른 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 느타리버섯에서는 계대배양 횟수가 많아질수록 종균이 퇴화하고, 균주의 유전적 변화가 심하며, 생존율이 저조해진다는(Lee *et al.*, 1999)보고와 5회 이상의 계대배양에서는 균주의 생장력이 감소하며, 8회 이후의 계대배양부터는 급격히 균주의 생장력이 감소한다는(Kang *et al.*, 2002) 보고와는 상이한 결과를 나타내었다. 이러한 차이는 느타리버섯과 느티만가닥버섯의 균사 생존력의 차이에 기인한 것으로 예측할 수 있으므로 버섯 종류에 따른 좀 더 체계적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

4°C 사면배지에 45개월 동안 장기 저장하여 1차 계대 후 균사 생장길이를 측정된 결과에서는 GPHm0-3 균주가 대조구의  $7.18 \pm 0.52$  cm와 비교하여 0.78 cm 정도 생육이 빨랐으나 나머지 3종의 균주에서는 모두 균사의 생장이 느려지는 결과를 나타내었다. 그러나 5회 계대가 진행된 후에는 균주 간에 차이는 있지만 대조구와 비교하여 실험에 사용된 4개의 균주 모두 빠른 균사 성장을 나타내었다. 저온저장고에서 해동하여 1차 계대 배양한 결과 균사 생장이 대조구에 비해 느려지는 결과를 나타낸 것은 4°C 사면배지에서 장기 보존하는 기간 동안 GPHm0-3 균주를 제외하고, 3종의 균주에서는 균사 생장이 느려지는 것은 45개월 동안 저장 중에 배지의 양분결핍, 분비된 대사산물에 의한 일부 균체의 사멸에 기인한 결과로 추정된다. 그러나 5회 계대 배양을 실시하여 균사의 생장길이를 측정된 결과에서는 대조구와 비교하여 균사의 생장력이 차이를 보이지 않아 해동 직후 사멸된

균체의 회복이 일어난 것으로 판단된다.

4°C 사면배지에 mineral oil을 첨가한 실험구에서는 1차 계대배양에서 4종류의 균주 모두에서 생육이 느려지는 결과를 얻었으며, 특히 GPHm0-3과 GPHm0-7 균주에서는 현저하게 생장 길이가 감소하는 결과를 나타내었으나, 5차 계대배양을 실시한 후 측정된 균사 생장길이는 4종의 균주에서 모두 1차 계대 배양의 균사 생장 길이에 비해 빨리 성장이 이루어진 결과를 얻었다. 1차 계대배양과는 달리 5차 계대배양에서는 균사의 성장속도가 빨라지는 결과를 나타낸 것은 균주를 장기 저장할 때 보호제로 사용한 mineral oil이 균사 외벽을 감싸고 있어 해동 직후 1차 계대 배양에서 물로 세척하였음에도 불구하고 잔존한 mineral oil이 배지의 영양분 흡수를 저해하는 작용을 한 것으로 추정되며, 5차 계대를 진행하는 동안 신규로 성장하는 균사가 잔존한 mineral oil의 영향을 받지 않아 생장력이 회복된 것으로 판단된다.

액체질소에 45개월 동안 보관하는 실험구에서는 동결보호제로 glycerol 10%와 glycerol 10%에 trehalose 5%를 첨가한 것을 사용하였다. 그 결과, 1차 계대 배양에서 glycerol 10%에 trehalose 5%를 첨가한 실험구에서는 균사 생장력이 대조구와 비교하여 차이가 없었으며, 5차 계대 배양에서도 안정적인 결과를 나타내었다. 그러나 Glycerol 10%를 단용으로 사용한 실험구에서는 1차 계대 배양에서 국내 야생종인 GPHm3-10 균주를 제외하고는 다른 실험구에 비해 균사 생장력이 급격히 느려진 것을 확인하였으나, 5차 계대 배양에서는 4종류의 균주가 모두 안정적인 균사 생육을 나타내었다. 액체질소 보존법은 포자 형성이 잘되지 않는 자낭균류와 균사로만 성장하는 담자균류의 보존에 적합하다(Nakasone *et al.*, 2004). 또한 영국의 International Mycological Institute(IMI)에서는 다양한 곰팡이를 액체질소를 이용하여 보존할 경우 평균 93% 이상이 22년 동안 생존함을 확인한 바 있다(Smith, 1991). 그러나 액체 질소 보존의 경우 동결보호제 종류에 따라 균사의 생존력이 달라진다. 동결보호제의 종류는 다양한 분류방법이 있지만 주로 고분자와 저분자로 나눌 수 있으며, 저분자 동결 보호제는 Glycerol, DMSO(Dimethylsulfoxide), PEG(Polyethyleneglycol)등이 있으며, 주요 작용으로는 세포막을 투과하여 세포 내에 빙핵 형성을 감소시켜 세포내 물질이 동결될 때 팽창에 의한 세포벽의 손상을 감소시키는 역할을 하고, 고분자 동결보호제는 Sucrose, Lactose, Trehalose등이 있으며, 주요 작용으로는 세포막 투과를 하지 못하거나 소량 투과하

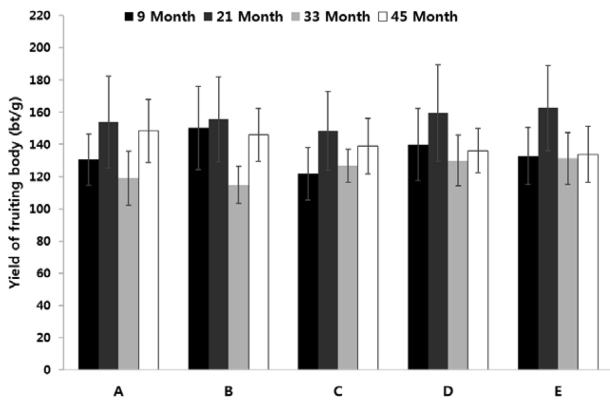


Fig. 4. Yield of fruiting body by the storage condition of *Hypsizygus marmoreus* GPHm 0-3. A, subculture; B, slant culture; C, slant culture with mineral oil; D, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)

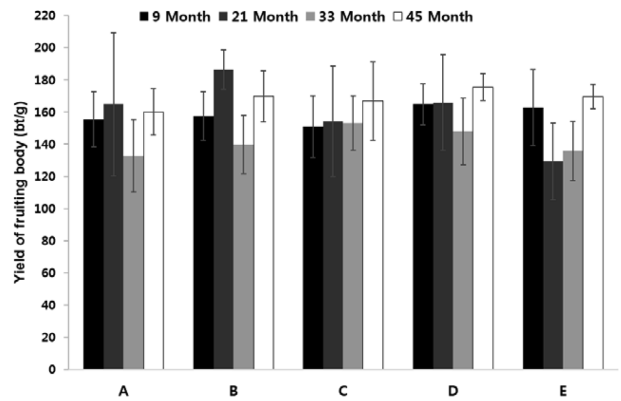


Fig. 6. Yield of fruiting body by the storage condition of *Hypsizygus marmoreus* GPHm 1-1. A, subculture; B, slant culture; C, slant culture with mineral oil; D, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)

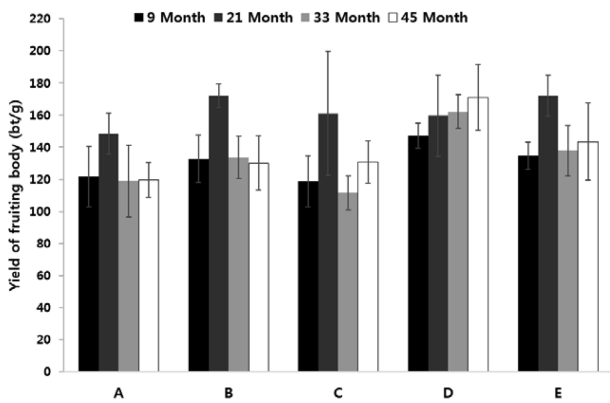


Fig. 5. Yield of fruiting body by the storage condition of *Hypsizygus marmoreus* GPHm 0-7. A, subculture; B, slant culture; C, slant culture with mineral oil; D, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)

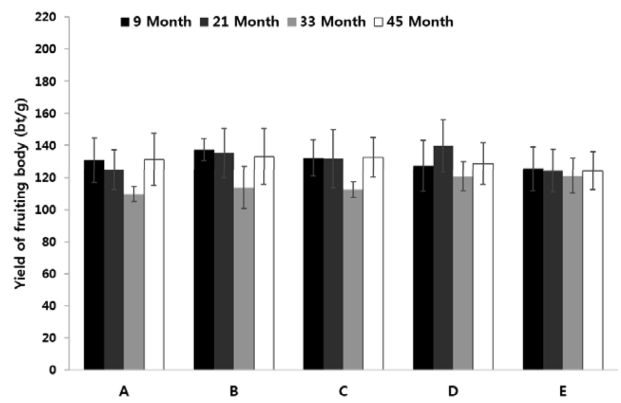


Fig. 7. Yield of fruiting body by the storage condition during 9, 21, 33, 45 months for GPHm 3-10 of *Hypsizygus marmoreus*. A, subculture; B, slant culture; C, slant culture with mineral oil; D, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol and 5% trehalose; E, preservation in liquid nitrogen with 10% glycerol)

여 세포막의 변성을 막아 세포의 생존력을 높여주는 역할을 한다(Nash, 1966). 본 실험의 결과에서는 가장 광범위하게 사용되는 동결 보호제인 Glycerol 10%을 단용으로 사용하는 것보다는 Glycerol 10%에 세포막의 손상을 방지하는 역할을 하는 고분자 동결 보호제 중에서 Trehalose 5%를 첨가하여 보존하였을 때 생존력이 높다는 결론을 얻었으나, 균사가 생존이 이루어진 후에는 지속적인 계대배양을 진행하면, 균사의 원래 생존력을 얻었을 것으로 판단된다.

**장기 저장에 따른 균주의 재배성능 검증**

장기 저장에 따른 균주의 재배성능 검증을 수행하

여 9, 21, 33, 45개월 동안 보관된 균주를 해동하여 PDA 평판배지에 접종하여 3차 계대배양 후 액체배지에 접종하여 15일 동안 배양한 후 병 재배의 방식에 따라 재배를 수행하였다.

본 연구에 사용된 4종류 균주의 재배성능 실험에서 21개월 저장하였던 실험구에서 대체적으로 수량이 우수한 결과를 나타내었으나 9, 33, 45개월 동안 저장되었던 실험구는 각각의 개월 수에 따른 균주의 재배 실험 특성상 온도, 환기, 습도 등의 요인들에 따라 재배의 형태가 달라지는 변수를 감안하더라도 사면 배지를 사용하는 보관방법을 선택할 경우 4°C 사면 배지에 mineral oil을 첨가하여 보존한 실험구에서의

수량이 다른 실험구에 비해 적게 나타나는 경향을 보이므로 느티만가닥버섯 균주의 보존을 위해서는 mineral oil 보존법보다는 3~6 개월에 배지를 변경하여야 하는 번거로움이 있더라도 보존 기간 동안 배지를 교체하는 작업 중에 오염을 방지할 수 있다면, 사면배지 보존법이 더 효율적일 것으로 판단된다(Figs. 4~7). 액체질소에 장기간 보존한 실험구에서는 4종류의 균주 모두에서 동결보호제로 Glycerol 10%에 Trehalose 5%를 첨가하여 보존한 실험구에서 계대배양을 지속적으로 진행한 대조구에 비해 수량성이 높은 결과를 보였다. 그러므로 느티만가닥버섯 균주의 장기보존은 동결보호제로써 Glycerol 10%에 Trehalose 5%를 첨가하여 액체질소에 보존하는 것이 균주의 원래 특성을 유지하여 재배 실패율을 낮추는데 기여 할 것으로 판단된다(Figs. 4~7).

## 적 요

본 연구는 다양한 조건에서 장기 보존한 느티만가닥버섯 균주의 균사 생존력과 재배성능 검증을 수행하였다. 균사 생존력은 장기 보존된 균주를 9, 21, 33, 45개월 단위로 해동하여 PDA 평판배지에 접종한 다음 1, 2, 3, 4, 5차 계대배양에 따른 균사 생장길이를 측정하여 검증하였다. 액체질소에 보존한 균사를 해동 직후 실시한 1차 계대배양에서는 동결보호제로써 Glycerol 10%를 단용으로 처리한 실험구에서 균사생장이 저조한 결과를 나타내었으나, 5차 계대배양에서는 버섯 균사의 생장력이 다른 실험구와 동일한 수준으로 회복되어, 저장방법에 따른 균사의 생존력에는 큰 영향이 없는 것으로 판단된다. 그러나 느티만가닥버섯을 액체 질소에 장기간 보존하고자 할 때는 동결보호제로 사용되는 Glycerol 10%에 Trehalose 5%를 첨가하여 보존해야 균사의 생존력을 유지하는데 도움이 된다.

장기 저장에 따른 느티만가닥버섯 균주의 재배 성능 시험에서는 4°C 사면배지에 보호제로써 mineral oil을 사용하는 것이 사면배지 자체로 보존하는 것에 비해 수확량이 감소하는 결과를 나타내므로 장기 저장시에 mineral oil을 사용하는 것은 지양해야 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림축산식품부에서 시행한 2008년부터

2014년 까지 시행된 버섯 수출 연구 사업단에서 지원한 연구비로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Boesewinkel HJ. 1976. Storage of fungal cultures in water. *Trans Br Mycol Soc* 66:183-185.
- Ellis JJ. 1979. Preserving fungus strains in sterile waters. *Mycologia* 7:1072-1075.
- Hwang SW. 1968. Investigation of ultra-low temperature for fungal cultures. An evaluation of liquid-nitrogen storage for preservation of selected fungal cultures. *Mycologia* 60:613-621.
- Jong SC. 1978. The biology and cultivation of edible mushroom. In Conservation of the cultures, p119-135, ed. Chang ST, Hayes WA. Academic Press.
- Kang KH, Song JH, Kim HN. 2002. The genetic variations of *Pleurotus spp.* on subculture. *Korean J Mycology* 30(1):23-30.
- Kobayashi T. 1984. Maintaining cultures of Basidiomycetes by mineral oil method I. Bulletin of Forestry and Forestry Products Research Institute. 325:141-147.
- Lee CY, Song HS, Ro HS, Woo JR, You YH, Kim JK. 2012. Comparison of Endo-, Exo-cellular enzyme activity for new strains of *Hypsizygus marmoreus*. *Kor J Life Sci* 22(6):837-843.
- Lee DH, Kim CJ, Shin KS. 1998. Preservation of mushroom cultures in sterile distilled water. *Korean J Mycology* 26(1): 91-96.
- Lee PH, Chi JH, Kim YH, Yu SH. 1999. Comparison in productivity of *Pleurotus ostreatus* sawdust spawn under different storage conditions. *Korean J Mycology* 27:319-321.
- Li ZQ, Chen YY. 1981. An evaluation of mineral oil seal preservation of Basidiomycetes cultures. *Acta Microbiologica Sinica* 21:45-52.
- McGinnis MR, Padhye AA, Ajello L. 1974. Storage of stock cultures of filamentous fungi, yeasts, and some aerobic *Actinomycetes* in sterile distilled water. *Appl Microbiol* 28: 218-222.
- Nakasone KK, Peterson SW, Jong SC. 2004. Preservation and distribution of fungal cultures. In Biodiversity of fungi - Inventory and monitoring methods. p37-47, ed. Mueller GM, Bills GF, Foster MS. Elsevier Academic Press.
- Nash T. 1966. Chemical constitution and Physical properties of compounds able to protect living cells against damage due to freezing and thawing. In Cryobiology, p179-211, ed. Meryman HT. Academic Press.
- Ohashi H. 2010. Trends of mushroom production and marketing. In "Annual report of mushroom 2010" (ed. by Ohashi, H.). p. 18, Plant's world Co. Ltd.
- Peng JT, Wu LC. 1972. Variations in the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mushroom science* 8:103-113.
- Smith D, Onions AHS. 1983. A comparison of some preserving techniques for fungi. *Trans Br Mycol Soc* 80:333-337.
- Smith D. 1991. Maintenance of filamentous fungi. In Maintenance of microorganisms and cultured cells - A manual of laboratory methods. In Maintenance of filamentous fungi, p133-159, ed. Kirsop BE, Doyle A. Academic Press.