

왕송이버섯(*Tricholoma giganteum*)균의 저장조건

정종천* · 박정식 · 장갑열 · 전창성 · 이찬중 · 김승환

농업과학기술원 응용미생물과

Studies on the Storage Condition for *Tricholoma giganteum* Mycelium

Jong-Chun Cheong*, Jeong-Sik Park, Kab-Yeul Jang, Chang-Sung Jhune,
Chan-Jung Lee and Seung-Hwan Kim

Applied Microbiology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology,
Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

(Received December 17, 2007)

ABSTRACT: In some cases, the problem with the mycelium of *Tricholoma giganteum* is delayed mycelial growth or non-regeneration. Therefore, this study was conducted to understand the mycelial storage condition of *T. giganteum* and to investigate the regeneration ratio of mycelial growth. *T. giganteum* obtained from KACC in RDA was evaluated for its simple preservation at 10°C and subcultured on different media. Mycelium of *T. giganteum* was cultured on the PBA (potato bamboo extract medium) for seven days at 30°C. Using simple preservation method, the mycelium of *T. giganteum* (MKACC 50852) and *Pleurotus ostreatus* (Chunchu No. 2) were stored on six different media in two kinds of storage vessels (tube and vial) for a period of 1-12 months at 4°C, 15°C, and 25°C storage temperatures. At 4°C storage condition, mycelial regeneration was failed in all agar media, but was successful in the sawdust medium for 3 months. At 15°C storage, mycelial activity was maintained up to six months. On the other hand, *P. ostreatus* produced well-regenerated mycelia both at 4°C and 15°C storage up to 12 months. In conclusion, it is estimated that the mycelia storage condition of *T. giganteum* must be done at 15°C and subcultured within six months.

KEYWORDS: Mycelial growth, Mycelial storage condition, *Tricholoma giganteum*

왕송이버섯(*Tricholoma giganteum*)은 한국, 일본, 열대 아시아, 아프리카 등지에 분포한다(김 등, 2004). 우리나라에서는 여름철에 제주도의 감귤재배용 비닐하우스와 경기도 인천에서 채집하였다는 보고(김 등, 2004; 김 등, 2005)가 있으며, 일본에서도 군마(群馬)현, 구마모토(熊本)현 등지에서 채집하였다는 보고(今關 등, 1997)가 있다.

이 버섯의 특징은 형태적으로 갓의 크기가 95~285 mm로 초기에는 반구형 또는 만두형이나 성장하면 중앙부위에 다소 넓은 홈이 있고, 갓의 끝부위가 초기에는 안쪽으로 말려 있으나 성장하면 편평하게 퍼진다. 갓 표면의 색은 옅은 황색에서 성장하면서 옅은갈색~연분홍색을 띤다. 대의 크기는 160~450×15~41 mm로 원통형이며 하부쪽이 굵고, 대 표면의 색은 백색~갓보다 옅은 색을 띤다. 그리고 어린 버섯일 때는 아린 맛이 있으므로 성숙한 버섯을 식용으로 한다(김 등, 2004). 볶음, 톱밥, 폐면을 이용한 상자재배가 가능하며 자실체는 대형으로 다발성이기 때문에 수확작업이 유리할 것으로 본다.

우리나라에서 이 버섯의 인공재배에 관한 연구는 1996

년부터 3년간에 걸쳐 농업과학기술원에서 최초로 시도되었는데, 미송톱밥에 밀기울을 첨가한 배지에서 자실체의 발생이 잘 되었다는 보고가 있다(김 등, 1996~1998). 그러나 이 버섯의 대량생산 체계를 확립하기 위하여 2002년도부터 실험을 추진하던 중, 균주 증식이 지연되는 문제점을 발견하고 이 버섯균의 저장조건에 관한 실험을 실시하게 되었다.

버섯균을 실험대상으로 하는 연구자들이나 버섯 종균을 배양하는 농장에서는 균주보존기관에서 분양받은 원균을 CDA, MCM, MEA, PBA, PDA 등 선발된 한천배지상의 시험관에 배양한 다음 4~6°C의 냉장조건에 간이보존하고 3~6개월 간격으로 꺼내어 증식 배양하면서 이용하고 있다. 그러나 풀버섯 등 고온성 버섯은 10°C 이상에서, 팽이버섯 등 저온성 버섯은 4°C에서 보존하여야 한다(차 등, 1989; 박, 1997). 이때 일부 버섯균은 장기간에 걸쳐 계속 증식과 저장을 되풀이 하다보면 균사체 재생이 지연되거나 배양에 실패하여 어려움을 겪는 경우가 있다. 따라서 새로운 버섯자원의 특성검정을 수행할 때 균사체의 저장조건 실험을 병행하여야 할 것으로 생각되는데, 왕송이버섯균의 저장조건에 관한 연구 결과는 찾을 수가 없었다.

*Corresponding author <E-mail: jccheong@rda.go.kr>

본 시험은 왕송이버섯균의 간이보존 방법을 구명하기 위하여 저장온도, 저장기간, 저장용기를 달리하여 저장한 후 꺼내어, 균사절편을 한천배지상에 옮겨 배양하고 균사 직경을 비교하였으며, 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시 균주

본 시험에 사용한 균주는 농업과학기술원 응용미생물과에 보존 중인 왕송이버섯균(*Tricholoma giganteum*) 'MKACC 50852'이며, 대조균주로는 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*) '춘추2호'를 사용하였다.

공시 배지

왕송이버섯균의 증식을 위해서 PBA 배지(potato bamboo extract agar; potato 200 g, bamboo sawdust 20 g, sugar 10 g, malt extract 7 g, peptone 1 g, KH_2PO_4 1 g, MgSO_4 0.5 g, agar 20 g, DW 1,000 ml; Cheong *et al.*, 2000)를 이용하여 30°C에서 15일간 petri-dish에 배양하여 사용하였다. 느타리버섯은 PDA 배지(potato dextrose agar < Difco-213400 > 39 g, DW 1,000 ml)를 이용하여 25°C에서 7일간 배양하여 사용하였다.

저장 방법

왕송이버섯균의 저장방법을 구명하기 위하여 균 배양용기는 시험관(직경 18 mm, 길이 18 cm)과 바이알(15 ml와 30 ml들이) 2종을 사용하였다(Fig. 1). 시험관에는 PBA 배지(느타리는 PDA)를 10 ml씩, 바이알 15 ml들이에는 5 ml씩 분주하여 121°C에서 20분간 살균한 후 사면으로 균했다. 바이알 30 ml들이에는 미송톱밥과 미강 20%(v/v)을 혼합하여 수분함량을 65%로 조절한 후 용적 20 ml로 채워 넣고(용기 높이의 70% 정도) 121°C에서 30분간 살균하였다. 각각의 용기에서 균배양이 완료된 후 저장온도

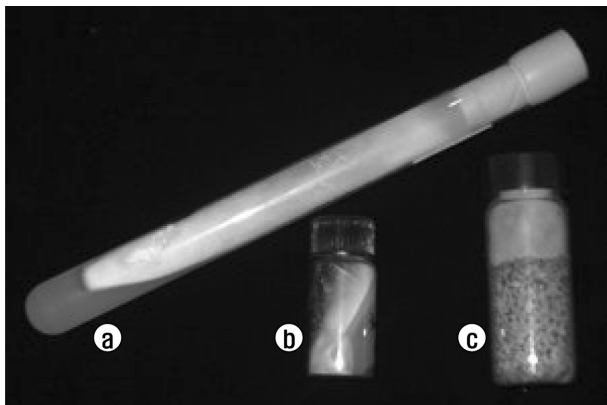


Fig. 1. Storage vessels and medium. a: 16 mm tube (PBA), b: 15 ml vial (PBA), c: 30 ml vial (Douglas fir sawdust + rice bran 20%, v/v).

4°C, 15°C, 25°C에서, 저장기간은 1, 2, 3, 6, 12개월로 달리하였다. 각 저장기간이 완료되는 시점을 맞추기 위하여 용기와 버섯 종류에 따른 균사생장기간과 저장기간을 역산하여 배지제조 및 균접종을 실시하였다. 즉 왕송이버섯균은 시험관의 PBA 사면배지에서 균사생장이 15일 정도, 바이알 15 ml들이에서 7일 정도 소요되며, 느타리버섯균은 7일과 5일이 소요되므로 이를 역산하여 균을 접종하였다. 그리고 바이알 30 ml들의 톱밥배지에 왕송이버섯균은 저장개시 20일 전, 느타리버섯균은 10일 전에 균을 접종하였다. 또한 저장기간도 12, 6, 3, 1개월 역순으로 처리하여, 저장 후 새로운 배지에 옮겨볼 때 균사생장직경을 같은 시점에서 비교할 수 있도록 하였다.

균사생장량 비교

왕송이버섯균의 저장온도, 저장기간, 저장용기를 달리하여 처리하고 저장이 끝난 후 균사절편의 직경이 8 mm가 되도록 코르크보러를 사용하여 직경이 87 mm인 샤레의 PBA 배지에 옮겨 30°C에서 15일간, 느타리버섯균은 25°C에서 7일간 PDA 배지에 배양하고 균사생장직경을 비교하였다.

결과 및 고찰

저장 온도

저장온도 4°C, 15°C, 25°C에서 저장기간 1, 2, 3, 6, 12개월까지의 저장이 끝난 후 직경 87 mm 샤레의 PBA 배지에 옮겨 30°C에서 15일간 배양하고 균사생장 직경을 조사한 결과(Fig. 2), 저장온도 4°C에서 1개월 이상 경과하였을 때 왕송이버섯균은 균사재생이 되지 않았다. 저장온도 15°C에서는 12개월이 경과한 경우에도 균사재생이 이루어졌으며, 25°C에서 6개월까지는 저장이 가능하였으나 12개월이 경과하였을 때는 균사생장이 지연되는 경향이 있었다. 반면에 느타리버섯균은 저장온도 4°C에서 12개월까지도 저장이 가능하였고, 15°C에서는 6개월, 25°C에서는 1개월까지 저장이 가능하였으나 그 이후에는 균사생장이 저조하였다(Fig. 3). 따라서 직경 16 mm 시험관을 사용하여 버섯균을 저장할 경우 왕송이버섯균의 저장온도는 15°C, 느타리버섯균은 4°C로 저장하는 것이 바람직한 것으로 판단된다.

저장 용기

저장이 끝난 각각의 왕송이버섯균을 직경 87 mm 샤레의 PBA 배지에 옮겨 30°C에서 15일간 배양하고 균사생장 직경을 조사한 결과(Fig. 2), 저장온도 4°C와 15°C에서는 시험관과 바이알 저장 간에 차이가 없었으나 25°C에서 시험관 저장은 6개월까지 균사생장이 되었으나 바이알 저장은 3개월까지만 균사생장이 되어 시험관 저장이 유리한 것으로 보였다. 이는 25°C에 저장시 균의 호흡에 의한 배

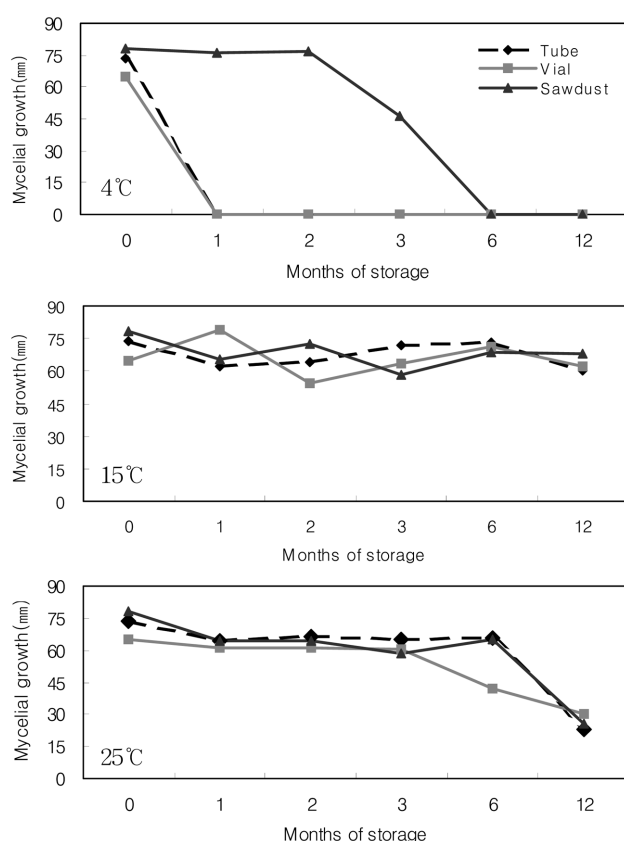


Fig. 2. Comparison of mycelial growth of *Tricholoma giganteum* under different storage condition; periods, temperatures, and vessels. * Tube: 16 mm (PBA), Vial: 15 ml (PBA), Sawdust: 30 ml vial (Douglas fir sawdust + rice bran 20%, v/v).

지의 양분 요구량으로 인하여 배지 양이 5 ml인 바이알보다는 10 ml인 시험관의 배지용량 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 느타리버섯의 경우 저장온도 4°C에서는 시험관 저장이 12개월 이상에서도 균사생장이 되었으나 바이알 저장에서는 6개월까지만 균사생장이 되었다. 저장온도 15°C의 경우 시험관에서 6개월, 바이알에서는 12개월까지 균사생장이 되었으며, 저장온도 25°C에서 시험관은 1개월, 바이알은 2개월간 유지되었다. 느타리버섯의 경우 고온에서 바이알 저장시 균사생장이 시험관에 비하여 길게 유지되는 것은 바이알이 마개에 의한 밀폐도가 시험관보다 크게 유지되는 특징으로 인하여 배지의 건조와 호흡이 억제됨으로써 양분 고갈이 지연됨에 기인하는 것으로 생각된다.

한천배지와 톱밥배지

왕송이버섯균의 저장을 위하여 바이알 용기를 사용하여 균사생장이 잘 되는 PBA 배지와 톱밥배지를 비교하였다. PBA 배지는 15 ml들이 바이알에 5 ml를 넣고 살균 후 사면으로 굳혀서 접종하였으며, 톱밥배지는 30 ml들이 바이알에 20 ml 정도의 용량에 채워지도록 다지고 살균하여

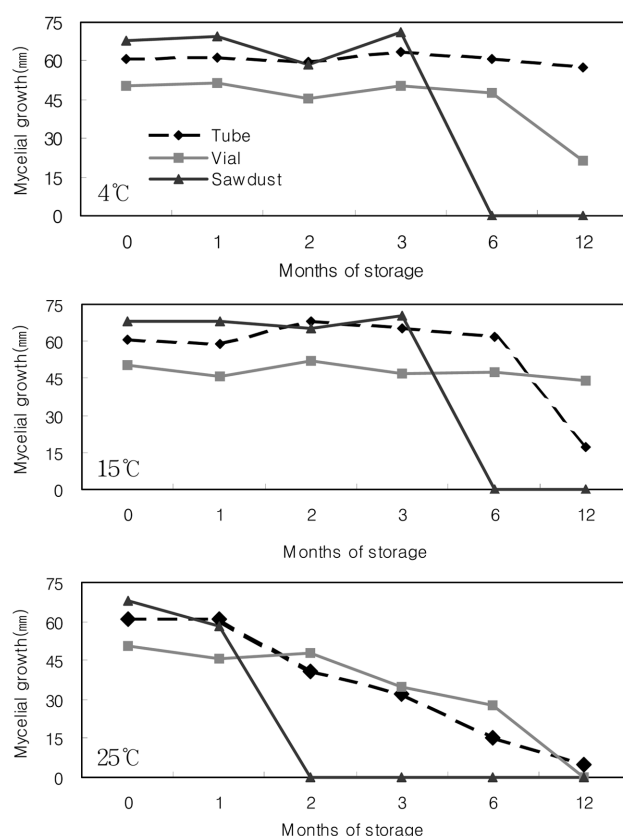


Fig. 3. Comparison of mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* under different storage condition; periods, temperatures, and vessels. * Tube: 16 mm (PDA), Vial: 15 ml (PDA), Sawdust: 30 ml vial (Douglas fir sawdust + rice bran 20%, v/v).

균을 접종하였다(Fig. 1). 왕송이버섯균은 저장온도 4°C에서 바이알을 사용한 PBA 배지에 저장시 1, 2, 3, 6, 12개월간 모두 균사생장이 되지 않았으나, 바이알의 톱밥배지에 1~2개월 저장시에는 균사생장이 양호하였고, 3개월에는 균사생장이 지연되었으며 6개월 이후에는 재생이 되지 않았다. 저장온도 15°C에서는 PBA 배지, 톱밥배지 공히 6개월 저장까지는 균사생장이 되었으며 12개월에는 조금 낮아지는 경향이였다. 저장온도 25°C에서 PBA 배지에서는 3개월 까지 균사생장이 되었으며 그 이후는 현저하게 낮아지고, 톱밥배지에서는 6개월까지 균사생장이 있었고 12개월 저장시에는 현저히 낮아지는 경향이였다. 이에 비하여 느타리버섯은 4°C에서 바이알 PDA 배지에 저장시 6개월까지는 균사생장이 있었고 12개월에는 현저히 낮아졌으며, 톱밥배지에서는 3개월까지 균사생장이 있었고 6개월 이후에는 균이 재생하지 못하였다. 저장온도 15°C에서는 PDA 배지에서 12월까지 균사생장이 되었으나 톱밥배지는 6개월 이후 균이 재생하지 못하였다. 또한 저장온도 25°C에서는 PDA 배지에서 2개월 까지 균사생장이 있었고 3~6개월에는 현저하게 낮아졌으며 12개월이 경과하였을 때는 균이 재생하지 못하였다. 그리고 톱밥배지에서

는 1개월까지 균사생장이 되었고 2개월 이후에는 균이 재생하지 못하였다. 본 시험 결과를 종합하여 볼 때 왕송이버섯균은 15~25°C, 느타리버섯균은 4~15°C 범위에 3~6개월간 저장시 균사생장이 되었으며 배지의 종류나 저장 용기에 따라서는 저장기간이 12개월까지 경과되어도 균사생장이 되었다. 버섯균의 저장 원리는 주어진 용기내의 기질을 근간으로 하여 균의 대사활동을 억제하면서도 장기간 활력을 유지하고자 하는 점을 감안할 때, 저장 가능한 온도범위 내에서 가급적 저온으로 관리하는 것이 장기간 보존에 유리할 것이다. 따라서 왕송이버섯균은 15°C로 저장하면서 6개월 이내에 계대배양하는 것이 바람직하다고 판단된다.

적 요

균주보존기관에서 분양받은 버섯 원균은 선발된 한천배지 시험관에 배양한 다음 4~10°C 정도에서 간이보존하면서 일정기간 마다 계대배양하여 이용하고 있다. 이때 일부 버섯균은 균사체 재생이 지연되어 어려움을 겪는 경우가 있다. 본 시험은 왕송이버섯(*Tricholoma giganteum*) 균의 간이보존 방법을 구명하기 위하여 저장온도(4, 15, 25°C), 용기종류(시험관, 바이알), 저장기간(배양직후, 1, 2, 3, 6, 12개월)을 달리한 후 균사절편(코르크보러, 직경 8 mm)을 한천배지상에 옮겨 30°C에서 7일간 배양하고 균사직경을 비교하였다. 왕송이버섯균은 저장온도 4°C에서 한천배지에 1~12개월간 저장시는 모두 균사생장이 안되었으나, 툽밥배지에 저장 2개월까지는 균사생장이 양호하

였고, 6개월 이후에는 재생이 안 되었다. 저장온도 15°C에서는 한천배지의 용기종류, 툽밥배지 공히 6개월 저장까지는 균사생장이 되었으나 12개월에는 조금 낮아지는 경향이였다. 이에 비하여 느타리버섯(춘추2호)은 4°C 및 15°C에서 6개월까지 배지종류에 상관하지 않고 균사생장이 잘 되었으며 12개월에는 조금 낮아지는 경향이였다. 따라서 왕송이버섯균은 저장온도에 민감하게 반응하는 것으로 판단되며, 15°C에서 저장하면서 6개월 이내에 계대배양하는 것이 바람직하다고 생각된다.

인용문헌

- 김양섭, 석순자, 원항연, 이강효, 김완규, 박정식. 2004. 한국의 버섯: 식용버섯과 독버섯. 동방미디어.
- 김양섭, 석순자, 김완규, 원항연, 이강효, 현관희, 김봉찬, 김정선, 양영택, 김성학. 2005. 한라산의 버섯. 제주도농업기술원.
- 김한경, 정종천, 김광포. 1996. 시험연구사업보고서(생물자원부 편): 660-665. 농업과학기술원.
- 김한경, 정종천, 김광포. 1997. 시험연구사업보고서(생물자원부 편): 979-986. 농업과학기술원.
- 김한경, 정종천, 김광포. 1998. 시험연구사업보고서(생물자원부 편): 863-873. 농업과학기술원.
- 박용환. 1997. 최신버섯학. 한국버섯원균영농조합.
- 차동열, 유창현, 김광포. 1989. 최신 버섯재배 기술. 상록사.
- 今關六也, 大谷吉雄, 本郷次雄. 1997. 日本のきのこ(일본의 버섯). 山と溪谷社.
- 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. *Mycobiology* **28**: 165-170.