

## 폴버섯의 군사배양 적합조건 및 우량균주 선발

장명준\* · 이한범 · 김정환 · 이윤혜 · 주영철

경기도농업기술원 버섯연구소

## The Suitable Condition for Mycelial Growth of *Volvariella volvacea* strains and Selection of the Superior strain

Myoung-Jun Jang\*, Han-Bum Lee, Jeong-Han Kim, Yun-Hae Lee and Young-Cheol Ju

Mushroom Research Station, GARES, Gyeonggi Province Gwang-ju 464-870, Korea

(Received November 4, 2009. Accepted December 30, 2009)

**ABSTRACT:** This study was carried out to obtain basic data on mycelial growth characteristics for an artificial cultivation of *Volvariella volvacea*. Twelve URP primers were used to assess genetic relationship of *V. volvacea* and its result was divided into two groups. But there was nothing different in morphological characteristics in *V. volvacea*. Among five kinds of mushroom media, MCM medium was selected as the favorable culture medium. The optimal range of temperature and pH for mycelial growth on *V. volvacea* were 35°C and pH 6-8, respectively. Carbon sources had not an effect on 10 strains of *V. volvacea*, and nitrogen source for the optimum mycelial growth was yeast extract. Also, we selected GMVV 79004 as a superior strain of 10 strains *V. volvacea* based on the mycelial growth and yield.

**KEYWORDS:** Media, Mycelial characteristics, pH, Temperature, *Volvariella volvacea*

폴버섯류는 전 세계적으로 100여개 이상의 종, 이중, 품종이 소개되어 있으며(Chang과 Philip, 2004), 이 중 폴버섯(*Volvariella volvacea*)은 난버섯과(Pluteaceae)에 속하는 버섯이며, 전통적으로 벚짚에서 재배되어 왔기 때문에 벚짚버섯(paddy-straw mushroom)이라고도 한다. 폴버섯 자실체의 성장은 크게 자실체형기(Pinhead), 작고 어린 자실체(tinybutton), 어린 자실체(button), 신장(elongation) 및 성숙의 5단계로 나뉘어 지며, 군사생장이 약 32-35에서 성장하는 고온성 균주이다. 그리고 고온다습한 조건에서 자라기 때문에 성장속도가 매우 빠른 버섯으로 폐면, 벚짚 등을 이용하여 재배하고 있다(Chang과 Philip, 2004). 폴버섯은 한국과 일본의 표고, 유럽과 미국의 양송이와 더불어 세계 3대 재배버섯으로 고온다습한 아열대지방에서 재배되고 있으며(Chang과 Philip, 2004), 2005년 폴버섯의 세계 총생산량은 44만톤 내외이고, 중국의 생산량은 27.4만톤(Shiyong과 Zaipel, 2007)에 달하며, 중국의 균목록집(周, 2007)에는 52종의 폴버섯이 기재되어 있다. 현재 폴버섯은 세계 많은 나라에서 재배되고 있으나 국내에서는 재배되고 있지 않아 수입 의존도가 매우 높다. 그러나 우리나라는 해외에서 염장된 버섯을 수입하며, 요식업체에서는 슛총각버섯이라는 별명으로 고급 식재료로 이용되고 있다.

폴버섯의 약리효과를 살펴보면 면역 증강물질인 베타글루칸이 냉알칼리 추출물에서 분리되었으며(Etsu 등, 1992), 고형

암 이식 실험용 쥐에 대한 항종양활성을 실험한 결과 항암효과가 인정되었고, 괴혈병, 치은염, 창상 등에 응용된다고 하였다(한, 2009)

폴버섯의 인공재배는 중국에서 1822년경 시작되었고, 필리핀에서 Bresadola(1912)가 시험재배를 실시하였으며, 중국, 베트남, 인도네시아, 필리핀 및 태국과 같은 고온다습한 아열대지방에서 주로 재배되고 있다(Chang과 Philip, 2004).

폴버섯의 배지재료로 Akinyele와 Akinyosoye (2005)는 폐면에 미강을 혼합할 경우 군사생장이 양호하다고 하였으며, Cambel 등(1997)은 콘코브, Belewu 등(2005)은 바나나 잎을 이용하여 재배한 결과 폴버섯 재배에 성공하였다고 하였다. 국내에서 폴버섯 재배에 관한 연구가 1974년 농촌진흥청 농업과학원에서 벚짚발효배지를 이용한 재배방법 개발을 진행하였으나, 다른 재배버섯과 달리 사용한 재료에 대한 생산성이 낮고, 저장이 어려워 운송도중 변질될 가능성이 높다고 하여(박 등, 1974), 이후 폴버섯의 재배방법에 대한 연구가 진행되지 못했다. 그러나 현재 수입 의존도가 높은 폴버섯에 대해 우리나라의 재배기술을 확립하여 재배에 대한 안정성 확보가 필요하며, 느타리, 팽이버섯 등 일부 품종의 편중재배를 해소하여 버섯시장에 대한 신수요 창출이 필요한 실정이다. 따라서 폴버섯 재배법 확립을 위해 폴버섯 군사생리특성을 구명하고, 우량균주를 선발하여 폴버섯의 안정적인 재배법을 개발하고자 본 연구를 실시하게 되었다.

\*Corresponding author <E-mail : plant119@gg.go.kr>

## 재료 및 방법

### 시험균주 및 유연관계 분석

본 시험에 사용한 균주는 농촌진흥청 농업유전자원센터 (KACC)에서 분양받은 4개의 균주와 미국 미생물보존센터 (ATCC) 등 외국에서 수집한 6개의 균주를 공시균주로 사용하였다. 균주별 유연관계를 분석하기 위하여 PDB (potato dextrose broth)배지에 균사를 정치배양한 후 배양된 균체를 3 MM filter paper 위에 놓고 vacuum으로 배지를 제거한 후 균체를 동결건조 하여 액체질소를 넣고 마쇄하였다. 마쇄된 균사체 0.2 g에 Nucleic lysis buffer 1 와 Proteinase K (25 mg/ml) 10  $\mu$ l를 넣고 2-3분 vortexing 후 60°C 1시간동안 반응시켰다. 반응 후 14,000 rpm 에서 10분 동안 원심분리 하여 상등액 250  $\mu$ l를 4개 E-tube에 나누어 담았다. 수거된 시료에 DNA binding buffer 500  $\mu$ l 를 첨가 혼합한 후, Spin column에 옮겨 14,000 rpm에서 1분씩 4회 반복하여 원심분리하고 column에 모았다. 75% 800 에탄올로 세척한 후 14,000 rpm, 1분 동안 원심분리하고 75% 300  $\mu$ l 에탄올로 세척한 후 14,000 rpm, 1분 동안 원심분리 하였다. Elution buffer 100  $\mu$ l 를 첨가한 후 14,000 rpm, 2분 동안 원심분리한 후 전기영동 하여 DNA의 분해여부를 확인 하였다. 프라이머의 종류는 URP primer 12종을 이용하였으며, PCR 조건은 94°C에서 5분간 예열, 94°C에서 1분간 변성, primer에 따라 50~54°C로 온도조절하여 1분간 부착, 72°C에서 2분 동안 확장을 1 cycle로 하여 총 35 cycle을 돌린후 72°C에서 10분 post extension하고, 4°C로 유지하였다. PCR 산물은 1.4% agarose gel에서 100 V 로 전개한 후 EtBr (ethidium bromide)에서 10분간 염색하여, UV transilluminator lamp 상에서 밴드를 관찰하였다. RAPD를 이용한 각 균주간 유연관계분석은 균주간 유사도를 근거로 UPGMA (unweighted paired group methods with arithmetic average)법을 이용하여 군분석하였다.

### 기본배지 선발

Table 1의 배지조성을 갖는 고체 합성배지를 121°C에서 15분간 고압살균(1.5 kg/cm<sup>2</sup>) 후 살균된 petri-dish (87 × 15 mm)에 15~20 ml씩 분주하였고, 생체중 조사를 위하여 멸균된 셀로판지를 배지표면에 올려놓았다. 접종원으로 PDA배지에서 미리 배양된 공시균주의 균사 선단부분을 직경 5 mm cork borer로 잘라낸 다음 고체 합성배지가 분주된 petri-dish의 중앙에 옮겨 32°C 항온기에서 7일 동안 정치배양한 후 균사생장길이와 생체중을 조사하였다.

### 균사생장 최적온도와 pH

균사생장을 위한 최적온도를 조사하기 위하여 PDA배지에 살균된 셀로판지를 배지표면에 올려놓은 후 공시균주를 접종하였다. 그리고 접종된 평균접시를 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38 및 41°C로 설정된 항온기에서 5일동안 정치배양한 후 균사생장길이와 생체중량을 조사하였다. 그리고 균사생육을 위한

**Table 1.** The composition of culture media used in this study

| Ingredient                           | Concentration (g/l) |      |     |     |     |
|--------------------------------------|---------------------|------|-----|-----|-----|
|                                      | GPYM                | MCM  | MYP | PDA | CDA |
| Potato dextrose                      |                     |      |     | 24  |     |
| Dextrose                             |                     | 20   |     |     |     |
| Glucose                              | 10                  |      |     |     |     |
| Peptone                              | 10                  | 2    | 5   |     |     |
| Sucrose                              |                     |      |     |     | 10  |
| Malt extract                         | 15                  |      | 3   |     | 7   |
| Yeast extract                        | 10                  | 2    | 3   |     |     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      |                     | 1    |     |     |     |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      |                     | 0.46 |     |     |     |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O |                     | 0.5  |     |     |     |
| Dried compost                        |                     |      |     |     | 40  |
| Agar                                 | 20                  | 20   | 20  | 20  | 20  |

최적 pH 선발을 위해 1/2 GPYM 액체배지를 조제하였고, 0.1 N-HCl과 0.1 N-NaOH를 이용하여 pH를 3, 4, 5, 6, 7 및 8로 조절하여 250 ml 삼각플라스크에 100 ml 씩 분주하였다. 살균 후 공시균주를 접종하여 항온기에서 30, 250 rpm 으로 7일간 진탕배양한 후 Whatman No. 2여과지로 여과시킨 다음 50°C의 건조기에서 48시간 건조하여 균체량을 측정하였다.

### 영양원 선발

풀버섯 균주의 균사생장에 적합한 탄소원을 선발하기 위하여 Czapek-Dox배지를 응용하여 탄소원(glucose 등 9종) 30 g, NaNO<sub>3</sub> 3 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g 및 증류수 1,000 ml로 제조하였으며, 질소원을 선발하기 위하여 Sucrose 30 g, 질소원(peptone 등 8종) 3 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g 및 증류수 1,000 ml로 제조하였다. 탄소원 및 질소원 모두 250 ml 삼각플라스크에 100 ml씩 분주하여 살균하였으며, 공시균주를 접종한 다음 32°C에서 250 rpm 으로 7일간 진탕배양한 후 균사 생장정도를 측정하였다.

### 종균제조

풀버섯 우량균주 선발을 위한 종균배지는 버섯연구소에서 수집한 풀버섯 10균주를 PDA평판배지에서 5일간 배양하여 접종원으로 사용하였다. 배지는 면실피, 밀기울 및 탄산칼슘을 90:10:1(v/v)로 혼합하여 삼각플라스크에 일정량 담아 고압살균하였다. 접종원을 배지에 접종하여 30°C에서 20일동안 배양하여 종균으로 사용하였다.

### 생육배지 제조 및 배양관리

우량균주선발을 위한 기본배지는 면실피 + 밀기울 + 탄산칼슘(90:10:1)에 일정량의 물을 공급시킨 후 망사가 깔린 파렛트 위에 높이 1~1.2 m, 폭 1~1.2 m로 쌓고 통기가 잘되는

얇은 부직포를 덮어 호기성 발효를 유도하면서 8일간 야외발효를 실시하였고, 이 기간의 야외온도는 평균 23.8°C(2008년 6~8월 평균 실외온도)이었다. 야외발효가 끝난 배지를 혼합기에 넣은 후 배지수분을 65±5%가 되도록 조절한 후 450 mm × 450 mm × 150 mm의 상자에 5 kg 씩 담았다. 배지 품은 기준 65°C에서 12시간 저온 증기살균을 실시하고 58°C에서 72시간 동안 후 발효를 실시하였다. 폴버섯 종균은 상자당 100 g씩 혼합접종한 후 배양온도 30°C, 상대습도 70%의 조건에서 20일 동안 균배양을 하였다. 배양일수는 종균접종 이후부터 균배양이 완료될 때까지의 소요일수로, 배양일은 전체 투입상자 중 오염되거나 배양이 완료되지 않은 상자를 제외한 건전 배양 상자수에 대한 백분율로 나타내었다.

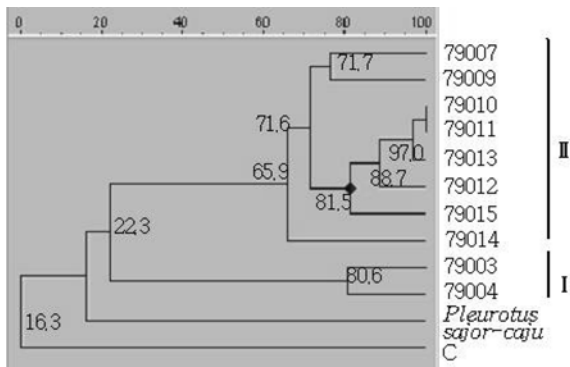
#### 생육관리 및 생육조사

배양완료 후 버섯발생을 유도하기 위하여 온도를 30°C, 상대습도는 90% 내외로 조절하였고, 버섯발생 후 환기는 버섯의 형태를 관찰하면서 적절히 조절하였다. 발이유도 및 생육관리를 실시하면서 초발이 소요일수, 생육일수, 자실체 너비, 자실체 높이, 상자당 수량, 상자당 수확 개체수를 조사하였다. 자실체의 색도는 색차계(CM-3800d, Konica Minolta社)로 측정하여 L, a, b값으로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

#### 계통별 유연관계 분석

URP primer 12종으로 PCR밴드양상을 분석한 결과, Fig 1과 같이 나타났으며, PCR 반응산물이 이루어진 URP 1, 3, 8이 유연관계 분석에 유용하였으며, 10개의 수집계통을 크게 GMVV 79003과 GMVV 79004의 그룹, 그 외 8계통의 그룹으로 분류할 수 있었다. URP primer는 느타리버섯의 품종간 PCR 다형성 분석에 유용하다는 연구결과가 있으나(김 등, 2007), 폴버섯은 느타리버섯에 비하여 증폭된 밴드수가 적어 분석에 유용한 primer가 적었고, 보다 다양한 primer로 폴버섯의 유전적 유연관계를 통한 계통분류가 필요하다고 판단되었다.



**Fig. 1.** Grouping of *V. volvacea* strains by URP 1, URP 3 and URP 8 primers. The numbers of each branch indicate the coefficient value. The right number indicates the strain number.

#### 배지종류에 따른 균사 성장량

Table 2와 Table 3은 배지 종류에 따른 폴버섯 균주별 평균

**Table 2.** Effect of media on mycelial growth of *V. volvacea* strains

| Strain Number          | Length of mycelial growth (mm/7 days) |          |          |          |           |
|------------------------|---------------------------------------|----------|----------|----------|-----------|
|                        | GPYM                                  | MCM      | MYP      | PDA      | CDA       |
| GMVV79003              | 47c <sup>a</sup>                      | 69a      | 59b      | 58b      | 70a       |
| GMVV79004              | 57d                                   | 87a      | 74b      | 60c      | 76b       |
| GMVV79007 (ATCC22377)  | 48d                                   | 78a      | 68c      | 51d      | 72b       |
| GMVV79009              | 50d                                   | 87a      | 75b      | 64c      | 87a       |
| GMVV79010              | 50d                                   | 87a      | 74b      | 66c      | 87a       |
| GMVV79011              | 53d                                   | 87a      | 78b      | 58c      | 87a       |
| GMVV79012 (KACC43558)  | 43c                                   | 87a      | 54b      | 33d      | 87a       |
| GMVV79013 (KACC43559)  | 40b                                   | 54a      | 61a      | 57a      | 58a       |
| GMVV79014 (KACC43560)  | 60d                                   | 87a      | 87a      | 73c      | 80b       |
| GMVV79015 (KACC43561)  | 58d                                   | 87a      | 80b      | 73c      | 87a       |
| Mean ± SD <sup>b</sup> | 50d ± 6                               | 81a ± 11 | 71b ± 10 | 59c ± 12 | 79ab ± 10 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

<sup>b</sup>Standard deviation.

**Table 3.** Effect of media on mycelial fresh weight of *V. volvacea* strains

| Strain Number          | Fresh weight of mycelia (mg/7 days) |           |           |           |           |
|------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                        | GPYM                                | MCM       | MYP       | PDA       | CDA       |
| GMVV79003              | 306b <sup>a</sup>                   | 414a      | 331b      | 209c      | 196       |
| GMVV79004              | 310b                                | 419a      | 408a      | 200c      | 214c      |
| GMVV79007 (ATCC22377)  | 174c                                | 266a      | 336b      | 151d      | 192c      |
| GMVV79009              | 288b                                | 386a      | 390a      | 226c      | 199c      |
| GMVV79010              | 303c                                | 342a      | 406b      | 189d      | 207d      |
| GMVV79011              | 303b                                | 363a      | 396a      | 223c      | 230c      |
| GMVV79012 (KACC43558)  | 276b                                | 412a      | 315b      | 162d      | 220c      |
| GMVV79013 (KACC43559)  | 162b                                | 283a      | 290a      | 177b      | 168b      |
| GMVV79014 (KACC43560)  | 340a                                | 364a      | 379a      | 227b      | 228b      |
| GMVV79015 (KACC43561)  | 247b                                | 315a      | 314a      | 333a      | 219b      |
| Mean ± SD <sup>b</sup> | 271b ± 59                           | 356a ± 55 | 357a ± 44 | 210c ± 51 | 207c ± 19 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

<sup>b</sup>Standard deviation.

균사 생장량을 나타낸 것으로 균사 생장길이는 MCM에서 81 mm, CDA에서 79 mm로 다른 처리구에 비해 가장 길었고, 생체중량은 MCM에서 356 mg, MYP배지 357 mg으로 다른 배지보다 높았다. MCM에서는 모든 균주가 다른 배지에서 생육하였던 것보다 균사 생장길이 및 생체중량이 모두 높았다. 따라서 풀버섯 균주별 평균 균사 생장길이와 생체중이

모두 높았던 MCM을 최적배지로 선발하였다.

#### 배양온도에 따른 균사 생장량

풀버섯의 균사배양에 적합한 온도를 조사한 결과 Table 4 및 Table 5와 같다. 전반적으로 29~38°C의 범위에서 풀버섯의 균사 생장길이가 우수하였으며, 41°C에서 급격히 감소하는 경

**Table 4.** Effect of temperature on mycelial growth of *V. volvacea* strains

| Strain Number            | Length of mycelial growth (mm/5 days) |         |          |          |          |          |         |         |
|--------------------------|---------------------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|
|                          | 20                                    | 23      | 26       | 29       | 32       | 35       | 38      | 41      |
| GMVV79003                | 15e <sup>a</sup>                      | 37d     | 64c      | 75b      | 87a      | 87a      | 87a     | 15e     |
| GMVV79004                | 13e                                   | 34d     | 66c      | 77b      | 87a      | 87a      | 87a     | 9f      |
| GMVV79007<br>(ATCC22377) | 9f                                    | 25d     | 39c      | 72b      | 70b      | 87a      | 87a     | 14e     |
| GMVV79009                | 10e                                   | 21d     | 58b      | 84a      | 87a      | 87a      | 87a     | 33c     |
| GMVV79010                | 13d                                   | 28c     | 50b      | 87a      | 87a      | 87a      | 87a     | 6e      |
| GMVV79011                | 9e                                    | 23c     | 61b      | 83a      | 87a      | 87a      | 87a     | 14d     |
| GMVV79012<br>(KACC43558) | 11e                                   | 24d     | 30c      | 39b      | 37b      | 42b      | 61a     | 8e      |
| GMVV79013<br>(KACC43559) | 9d                                    | 19c     | 53b      | 87a      | 87a      | 87a      | 87a     | 11d     |
| GMVV79014<br>(KACC43560) | 14c                                   | 44b     | 80a      | 87a      | 87a      | 87a      | 87a     | 6d      |
| GMVV79015<br>(KACC43561) | 13d                                   | 40c     | 66b      | 87a      | 87a      | 87a      | 87a     | 7e      |
| Mean±SD <sup>b</sup>     | 12d ± 2                               | 30c ± 9 | 57b ± 14 | 78a ± 15 | 80a ± 16 | 83a ± 14 | 84a ± 8 | 12d ± 8 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

<sup>b</sup>Standard deviation.

**Table 5.** Effect of temperature on mycelial fresh weight of *V. volvacea* strains

| Strain Number            | Fresh weight of mycelia (mg/5 days) |           |           |            |             |            |            |           |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|------------|-------------|------------|------------|-----------|
|                          | 20                                  | 23        | 26        | 29         | 32          | 35         | 38         | 41        |
| GMVV79003                | 100d <sup>a</sup>                   | 115d      | 170c      | 353b       | 326b        | 413a       | 412a       | 112d      |
| GMVV79004                | 205cd                               | 164d      | 280c      | 416b       | 446b        | 564a       | 446b       | 129d      |
| GMVV79007<br>(ATCC22377) | 173cd                               | 133d      | 116d      | 164c       | 213b        | 256a       | 271a       | 129cd     |
| GMVV79009                | 158c                                | 177c      | 191c      | 279b       | 342a        | 402a       | 341a       | 157c      |
| GMVV79010                | 113e                                | 135d      | 219d      | 300c       | 373b        | 427a       | 321c       | 111e      |
| GMVV79011                | 119d                                | 116d      | 187d      | 275c       | 397b        | 506a       | 414b       | 139d      |
| GMVV79012<br>(KACC43558) | 126c                                | 126c      | 191b      | 179b       | 166b        | 212b       | 364a       | 121c      |
| GMVV79013<br>(KACC43559) | 97c                                 | 132c      | 159c      | 333b       | 395b        | 500a       | 359b       | 125c      |
| GMVV79014<br>(KACC43560) | 114d                                | 141d      | 275c      | 513a       | 475a        | 491a       | 407b       | 160d      |
| GMVV79015<br>(KACC43561) | 101e                                | 124e      | 283d      | 406c       | 489b        | 580a       | 549a       | 127e      |
| Mean ± SD <sup>b</sup>   | 131d ± 36                           | 136d ± 20 | 207c ± 57 | 322b ± 107 | 362ab ± 106 | 435a ± 122 | 388ab ± 77 | 131d ± 17 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

<sup>b</sup>Standard deviation.

향이었다. 균주별로는 26~38°C에서 GMVV 79014, 29~38°C에서 GMVV 79009, 79010, 79011, 79013, 79015, 32~38°C에서 GMVV 79003, 79004, 35~38°C에서 GMVV 79007, 38°C에서 79012가 가장 우수하였다. 균주별로 균사 생장길이가 모두 높았던 온도는 38°C이었고, 35°C의 경우는 GMVV 79012를 제외한 모든 균주가 우수한 경향이었다. 배양온도에 따른 평균 생체중량은 32~38°C에서 우수한 결과를 나타내었고, 38°C에서 균주간 편차가 가장 작은 경향이었다. 균주별로 살펴보면 32~38°C에서 GMVV 79009, 29~35°C에서는 GMVV 79014, 35~38°C에서는 GMVV 79003, 79007, 79015에서 생체중량이 높았으며, 38°C에서만 생육이 우수하였던 균주는 GMVV 79004, 79010, 79011, 79013이었다. 균주별로 모두 생체중량이 높은 처리온도는 없었으나, 35°C의 경우 GMVV 79012를 제외한 모든 균주가 우수한 경향이었다.

Chang(1994)은 폴버섯의 균사생장적온이 32~36°C라고 하였으며, 차 등(1994)은 균사생장 온도범위가 20~45°C, 최적온도는 35°C라고 하였는바 본 실험에서 유사한 경향이었다. 따라서 폴버섯 수집균주별로 다양한 온도 적응성을 나타내었으나 대체적으로 29~38°C에서 균사 생장량이 우수하였으며, 이 중 35°C에서 GMVV 79012를 제외한 모든 균주에서 균사 생장량이 양호하였기에 이를 폴버섯에 적합한 최적 온도로 선발하였다.

#### pH에 따른 균사 생장량

pH에 따른 폴버섯 평균 균사 생장량은 pH 6~8에서 높은 경향이었으며, pH가 낮아질수록 균사 생장량이 불량하였다 (Table 6). 균주별로는 pH 6~8은 GMVV 79007, 79010, 79014, 79015, pH 5~7은 GMVV 79012, pH 7~8은 79004, 79009, 79013의 균사 생장량이 우수하였으며, pH 7에서만 우수한 결과를 나타낸 균주로는 GMVV 79003가 있었고, pH 8에서만 우수한 경향을 보인 균주는 GMVV 79011이었다. pH 7의 경우 GMVV 79011균주를 제외한 모든 균주의 균사생장이 우수하였고, pH 8에서는 GMVV 79003 및 79012를 제외한 모든 균주의 균사생장이 우수하였다.

Chang과 Philip (2004)은 폴버섯에 적합한 pH의 범위는 5.0~8.5라고 하였으며, 최적 pH는 7.5라고 하였는바 본 실험에서도 유사한 경향이었다. 따라서 폴버섯 균사생장에 적합한 pH범위는 6~8로 판단되었다.

#### 탄소원에 따른 균사 생장량

Table 7은 탄소원에 따른 균사 생장량을 조사한 것으로 탄소원의 종류와 상관없이 모두 평균 균사 생장량이 양호하였으며, 처리구별 균사 생장량간의 유의차가 없었다. 균주별로 GMVV 79003과 79011은 glucose, galactose, xylose, maltose, sucrose에서 균사생장이 우수하였고, GMVV 79004는 galactose, xylose, maltose에서 균사생장이 양호하였다. 그리고 GMVV 79007은 sucrose, GMVV 79009는 glucose, xylose, sucrose, GMVV 79010, 79013, 79015는 xylan, GMVV 79012는 starch, xylan, GMVV 79014는 lactose, starch, xylan

**Table 6.** Effect of pH on mycelial dry weight of *V. volvacea* strains

| Strain Number              | Dry weight of mycelia (mg/7 days) |               |                |                |               |               |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
|                            | pH 3                              | pH 4          | pH 5           | pH 6           | pH 7          | pH 8          |
| GMVV79003                  | 83d <sup>a</sup>                  | 133c          | 156c           | 174b           | 232a          | 185b          |
| GMVV79004                  | 71d                               | 135c          | 174b           | 185b           | 203a          | 207a          |
| GMVV79007 (ATCC22377)      | 65d                               | 130c          | 150b           | 171a           | 178a          | 185a          |
| GMVV79009                  | 64c                               | 149b          | 150b           | 155b           | 163a          | 173a          |
| GMVV79010                  | 77c                               | 144b          | 147b           | 211a           | 218a          | 200a          |
| GMVV79011                  | 63d                               | 148c          | 161c           | 182b           | 207b          | 268a          |
| GMVV79012 (KACC43558)      | 103b                              | 166b          | 171a           | 171a           | 174a          | 159b          |
| GMVV79013 (KACC43559)      | 90d                               | 174c          | 196b           | 205b           | 242a          | 216a          |
| GMVV79014 (KACC43560)      | 107c                              | 190b          | 193b           | 223a           | 231a          | 261a          |
| GMVV79015 (KACC43561)      | 116c                              | 177b          | 181b           | 221a           | 224a          | 229a          |
| Mean $\pm$ SD <sup>b</sup> | 84d $\pm$ 19                      | 155c $\pm$ 21 | 168bc $\pm$ 18 | 190ab $\pm$ 24 | 207a $\pm$ 27 | 208a $\pm$ 36 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

<sup>b</sup>Standard deviation.

에서 균사생장이 우수한 것으로 나타났다. 폴버섯 수집균주에 따라 적합한 탄소원이 다양하여 단당류에서 다당류까지 광범위한 탄소원에 대한 적응성을 가진 것으로 생각된다.

Chandra와 Purkayastha (1977)는 균사생장에 대부분의 탄수화물은 양호하고, glucose나 glucose 총합체에서 균사 생장량이 아주 양호하다고 하였으나 본 연구결과와 다른 것은 균주의 차이에 의한 것으로 추정된다.

#### 질소원에 따른 균사 생장량

Table 8은 무기태 질소 NaNO<sub>2</sub> 등 4종과 유기태 질소 Yeast extract 등 4종을 각각 첨가하여 실험한 결과로서 질소원에 따른 평균 균사 생장량은 유기태 질소인 Yeast extract은 182 mg, Peptone은 175 mg으로 다른 처리구에 비해 높은 반면 상대적으로 무기태 질소 첨가구에서는 상대적으로 균사 생장량이 낮은 경향이었다. 질소원의 경우 탄소원과 달리 질소원에 대한 적응도가 광범위하지 못했고, 유기태 질소원에서 우수한 양상을 보였다. 균주별로 살펴보면 GMVV 79003은 NH<sub>4</sub>Cl, yeast extract, peptone에서 균사 생장량이 우수하였고, GMVV 79004는 유기태 질소인 yeast extract, peptone, urea, tryptone 모두에서 균사생장이 우수하였다. 그리고 GMVV 79007과 79014는 tryptone에서, GMVV 79009, 79010 및 79011은 yeast extract, peptone에서, GMVV 79012와 79015는 yeast extract에서, GMVV 79013은 peptone에서 균사생장이 높았다.

Oforu-Asiedu 등 (1984)은 폴버섯 균사에 적합한 질소원은 peptone이라고 하여 본 연구결과와 일치하였고, yeast extract

**Table 7.** Effect of carbon sources on mycelial dry weight of *V. voluacea* strains

| Strain Number              | Dry weight of mycelia (mg/7 days) |               |               |              |               |               |               |              |               |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
|                            | Glu <sup>a</sup>                  | Gal           | Xylo          | Fru          | Mal           | Suc           | Lac           | Sta          | Xyla          |
| GMVV79003                  | 187a <sup>b</sup>                 | 190a          | 238a          | 100b         | 219a          | 215a          | 89b           | 100b         | 130b          |
| GMVV79004                  | 186b                              | 227a          | 214a          | 109c         | 220a          | 160b          | 103c          | 108c         | 123c          |
| GMVV79007<br>(ATCC22377)   | 201b                              | 206b          | 199b          | 82c          | 206b          | 251a          | 82c           | 80c          | 89c           |
| GMVV79009                  | 119a                              | 94b           | 113a          | 63c          | 99b           | 106a          | 56c           | 63c          | 86bc          |
| GMVV79010                  | 110b                              | 120b          | 113b          | 96b          | 104b          | 120b          | 106b          | 111b         | 145a          |
| GMVV79011                  | 212a                              | 205a          | 195a          | 125b         | 213a          | 206a          | 121b          | 101b         | 126b          |
| GMVV79012<br>(KACC43558)   | 66cd                              | 77c           | 57d           | 96b          | 79c           | 71c           | 105b          | 111a         | 129a          |
| GMVV79013<br>(KACC43559)   | 104c                              | 74d           | 75d           | 107c         | 84d           | 85d           | 123b          | 106c         | 156a          |
| GMVV79014<br>(KACC43560)   | 86b                               | 81b           | 88b           | 91b          | 78b           | 70b           | 108a          | 100a         | 121a          |
| GMVV79015<br>(KACC43561)   | 108b                              | 80c           | 86c           | 82c          | 104b          | 110b          | 105b          | 111b         | 133a          |
| Mean $\pm$ SD <sup>c</sup> | 138a $\pm$ 53                     | 135a $\pm$ 64 | 138a $\pm$ 66 | 95a $\pm$ 17 | 141a $\pm$ 64 | 139a $\pm$ 65 | 100a $\pm$ 20 | 99a $\pm$ 16 | 124a $\pm$ 22 |

<sup>a</sup>Glu: glucose, Gal: galactose, Xylo: xylose, Fru: fructose, Mal: maltose, Suc: sucrose, Lac: lactose, Sta: starch, Xyla: xylan.<sup>b</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.<sup>c</sup>Standard deviation.**Table 8.** Effect of nitrogen sources on mycelial dry weight of *V. voluacea* strains

| Strain Number              | Dry weight of mycelia (mg/7 days) |                   |                    |                                 |               |               |               |                |
|----------------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
|                            | NaNO <sub>2</sub>                 | NaNO <sub>3</sub> | NH <sub>4</sub> Cl | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> | Yeast extract | Peptone       | Urea          | Tryptone       |
| GMVV79003                  | 84c <sup>a</sup>                  | 93c               | 164a               | 110b                            | 173a          | 156a          | 86c           | 122b           |
| GMVV79004                  | 105b                              | 87b               | 104b               | 105b                            | 169a          | 153a          | 148a          | 153a           |
| GMVV79007<br>(ATCC22377)   | 68c                               | 62c               | 84c                | 68c                             | 157b          | 166b          | 166b          | 186a           |
| GMVV79009                  | 71c                               | 65c               | 68c                | 54c                             | 187a          | 171a          | 144b          | 130b           |
| GMVV79010                  | 72d                               | 112d              | 95d                | 76d                             | 192a          | 179a          | 138c          | 159b           |
| GMVV79011                  | 107c                              | 97c               | 99c                | 114c                            | 152a          | 166a          | 130b          | 125b           |
| GMVV79012<br>(KACC43558)   | 86c                               | 91c               | 109c               | 71c                             | 176a          | 139b          | 129b          | 122b           |
| GMVV79013<br>(KACC43559)   | 91e                               | 149c              | 151c               | 119d                            | 210b          | 264a          | 112d          | 120d           |
| GMVV79014<br>(KACC43560)   | 73c                               | 87c               | 93c                | 75c                             | 201b          | 192b          | 192b          | 277a           |
| GMVV79015<br>(KACC43561)   | 69c                               | 72c               | 93c                | 72c                             | 204a          | 165b          | 160b          | 152b           |
| Mean $\pm$ SD <sup>b</sup> | 83c $\pm$ 15                      | 92c $\pm$ 25      | 106c $\pm$ 30      | 86c $\pm$ 23                    | 182a $\pm$ 20 | 175a $\pm$ 34 | 141b $\pm$ 29 | 155ab $\pm$ 48 |

<sup>a</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.<sup>b</sup>Standard deviation.

및 tryptone 또한 질소원으로 적합한 것으로 나타났다. 그러나 풀버섯에 적합한 질소원으로는 균주간 표준편차가 가장 작은

yeast extract를 선발하였다.

풀버섯은 무기태질소 보다는 유기태질소에서 균사 생장이

우수하였고, 古川久彦(1992)은 탄소원 및 질소원 이외에도 전체 버섯에 공통적인 생장필수인자로 티아민을 보고하였으며, 향후 이에 대한 추가실험이 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

#### 우량균주 선발을 위한 균주별 배양 및 생육특성

Table 9는 생육온도 30에서 상자재배한 결과로서 GMVV 79011, 79012 및 79013균주를 제외한 모든 균주에서 배양일

**Table 9.** Cultivation period of *V. volvacea* strains (unit : days)

| Strain Number            | Incubation period <sup>a</sup> | Pinhead formation <sup>b</sup> | Total cultivation period <sup>c</sup> |
|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| GMVV79003                | 11                             | 3                              | 26                                    |
| GMVV79004                | 11                             | 3                              | 26                                    |
| GMVV79007<br>(ATCC22377) | 11                             | 3                              | 26                                    |
| GMVV79009                | 11                             | 3                              | 26                                    |
| GMVV79010                | 11                             | 4                              | 27                                    |
| GMVV79011                | 13                             | 4                              | 28                                    |
| GMVV79012<br>(KACC43558) | 13                             | 4                              | 28                                    |
| GMVV79013<br>(KACC43559) | 13                             | 4                              | 29                                    |
| GMVV79014<br>(KACC43560) | 11                             | 3                              | 26                                    |
| GMVV79015<br>(KACC43561) | 11                             | 3                              | 26                                    |

<sup>a</sup>Inoculation ~ Mycelial incubation completion

<sup>b</sup>Mycelial incubation completion ~ Pinhead formation completion

<sup>c</sup>Incubation period ~ Harvesting period

수가 11일로 나타났는데, 이는 표준재배법(2004, 농촌진흥청)에 의해 재배되고 있는 느타리버섯의 배양일수 20~30일에 비해 훨씬 빠른 경향이었다. 초발이 소요일수는 균주 모두 3~4일이었으며, 재배일수도 균주간의 차이 없이 모두 26~29일 소요되었다. 배양율은 GMVV 79004, 79007 및 79011에서 100%로 안정적인 균사배양이 가능하였다.

#### 폴버섯 균주별 생육 및 자실체 특성

Table 10은 폴버섯 균주별 생육 및 자실체 특성으로서 너비는 GMVV 79004에서 36 mm로 가장 컸고, 높이는 GMVV 79007에서 45.7 mm로 가장 높았으며, 자실체의 형태는 GMVV 79003과 GMVV 79004는 너비/높이가 0.9이상으로 원형에 가까웠으며, 그 외 균주들은 타원형에 가까운 형태였다. 폴버섯 균주간 수량은 GMVV 79004가 292 g/box으로 다른 균주들에 비해 높았고, 색도의 경우 전체적으로 명도값이 낮아 검정색에 가까운 색상을 나타내었다.

이상의 결과 균사 배양특성 및 자실체 생육특성이 다른 균주에 비해 우수하며, 수량이 높은 GMVV 79004를 우량균주로 선발하였다. 이는 폴버섯은 일정 재료에 대한 생산성이 매우낮다(박 등, 1974)고 보고되어 있는바 균주별 비교에서 수량이 가장 우수하였던 GMVV 79004를 이용하여 재배에 관한 추가연구가 수행되어져야 할 것으로 사료된다.

#### 적 요

폴버섯 균주에 대한 계통별 유연관계를 분석결과 URP 1, 3, 8에서 2개의 분류군으로 나누어지며, GMVV 79003과 GMVV 79004의 1그룹, 그 외 8계통의 1그룹으로 나타났다.

**Table 10.** Characteristic of fruit-body growth in *V. volvacea* strains

| Strain Number            | Shape       |             |               | Color <sup>a</sup> |      |       | Yield (g/box)     |
|--------------------------|-------------|-------------|---------------|--------------------|------|-------|-------------------|
|                          | Length (mm) | Height (mm) | Length/Height | L                  | a    | b     |                   |
| GMVV79003                | 32.2        | 35.9        | 0.90          | 28.30              | 5.31 | -3.59 | 116d <sup>b</sup> |
| GMVV79004                | 36.0        | 38.3        | 0.94          | 28.38              | 4.44 | -6.24 | 292a              |
| GMVV79007<br>(ATCC22377) | 33.3        | 45.7        | 0.74          | 25.64              | 6.62 | -5.79 | 198c              |
| GMVV79009                | 30.0        | 42.4        | 0.71          | 26.62              | 4.35 | -8.64 | 221b              |
| GMVV79010                | 29.3        | 38.9        | 0.75          | 26.75              | 5.38 | -3.94 | 116d              |
| GMVV79011                | 28.2        | 37.2        | 0.76          | 30.84              | 5.53 | -3.80 | 113d              |
| GMVV79012<br>(KACC43558) | 27.2        | 34.6        | 0.81          | 27.76              | 6.30 | -2.36 | 117d              |
| GMVV79013<br>(KACC43559) | 28.7        | 34.5        | 0.83          | 29.07              | 4.23 | -5.93 | 42e               |
| GMVV79014<br>(KACC43560) | 29.6        | 37.8        | 0.79          | 30.06              | 4.58 | -4.95 | 200c              |
| GMVV79015<br>(KACC43561) | 29.9        | 38.3        | 0.79          | 30.09              | 5.31 | -2.43 | 195c              |

<sup>a</sup>L: Lightness, a: redness, b: yellow.

<sup>b</sup>Values followed by the same letter do not differ significantly at  $p > 0.05$  according to Duncan's multiple range test.

배지종류에 따른 균사 생장량을 조사한 결과 MCM배지에서 균사 생장길이 및 생체중량이 다른 처리구에 비해 높은 경향이었고, 폴버섯 수집균주의 배양온도 35°C, pH는 7과 8이 선택되었다. 탄소원들에 대한 균사 생장량의 균주간 유의차가 없었으며, 질소원들에 대한 균사 생장량은 유기태 질소원에서 전반적으로 생육이 우수하였고 이 중 yeast extract를 선발하였다. GMVV 79011, 79012 및 79013균주를 제외한 모든 균주에서 배양일수가 11일로 나타났고, GMVV 79004, 79007 및 79011에서 배양율이 100%로 높았고, 수량이 GMVV 79004가 292 g/상자로 다른 균주들에 비해 우수하였다. 이상의 결과로 안정적인 균사배양과 짧은 재배기간 및 높은 수량을 나타낸 GMVV 79004를 우량균주로 선발하였다.

### 참고문헌

- 김종균, 임선화, 이대성, 지정현, 서건식, 주영철, 강희완. 2007. URP-PCR 다형성에 의한 국내 느타리버섯 품종의 유전적 특성 분석. 한국균학회지 35: 61-67.
- 농촌진흥청. 2004. 표준영농교본. 느타리버섯.
- 박용환, 장학길, 정청삼, 김동수. 1974. 한국에 있어서 폴버섯 [*Volvariella volvacea*(Bull. ex Fr.) Sing.] 재배에 관한 몇가지 시험. 한국균학회지 2: 21-24.
- 차동열, 유창현, 김광포. 1994. 최신 버섯재배 기술. 농진회. pp. 427-440.
- 한용봉. 2009. 식용버섯. 성분과 생리활성. 고려대학교출판부. pp. 421-425.
- 古川久彦. 1992.きのこ學. 共立出版株式會社.
- 周宇光. 2007. 中國菌中目錄. pp. 643-644. 化學工業出版社.
- Akinyele, B. J. and Akinyosoye, F. A. 2005. Effect of *Volvariella volvacea* cultivation on the chemical composition of agrowastes. African Journal of Biotechnology. 4: 979-983.
- Belewu, M. A. and Belewu, K. Y. 2005. Cultivation of mushroom (*Volvariella volvacea*) on banana leaves. African Journal of Biotechnology. 4: 1401-1403.
- Bresadola, J. 1912. Basidiomycetes Philippinensis. Ser. 1. Hedwigia. 51: 306-326.
- Chang, S. T. 1994. Mushroom biology and mushroom products. Chapter 8. Biology and cultivation technology of *Volvariella volvacea*. pp. 73-83. The Chinese University Press.
- Chang, S. T. and Philip, G. M. 2004. Mushrooms. pp. 277-302. CRC. PRESS.
- Cambel, T. L., Marquez, D. L. and Marcelino, J. P. 1997. Mushroom (*Volvariella volvacea*) production in corn cobs. Philippine Journal of crop science. 22: 69.
- Chandra, A. and Purkayastha, R. P. 1977. Physiological studies on Indian edible mushrooms. Transactions of British Mycological Society. 69: 63-70.
- Etsu Kishida, Chigusa Kinoshita, Yoshiaki Sone and Akira Misaki. 1992. Structures and Antitumor activities of polysaccharides isolated from mycelium of *Volvariella volvacea*. Biosci Biotechnol Biochem. 56: 1308-1309.
- Ofosu-Asiedu, A., Schmidt, O. and Liese, W. 1984. Growth studies of *Volvariella volvacea* for cultivation on wood waste. Material and Organism. 19: 241-251.
- Shiyong, Jun. and Zaipel, Jishu. 2007. 食用菌栽培技術. 第4章 草腐型食用菌栽培. pp. 112-118. 化學工業出版社.