

표고 지면재배용 참나무 톱밥배지의 분해와 갈변의 형태적 특성

구창덕^{1*} · 이선정² · 이화용¹

¹충북대학교 산림학과, ²고려대학교 환경생태공학과

Morphological Characteristics of Decomposition and Browning of Oak Sawdust Medium for Ground Bed Cultivation of *Lentinula edodes*

Chang-Duck Koo^{1*}, Seon-Jeong Lee² and Hwa-Yong Lee¹

¹Department of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

²Department of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 136-713, Korea

ABSTRACT : This study investigated the internal and external morphological characteristics of decomposition and browning of oak sawdust medium for ground bed cultivation of *Lentinula edodes*. Within fifty days after *L. edodes* inoculation, surface hyphae on the bed browned. In 110 days, the fungal hyphae occupied and decomposed wood fibers, vessels and parenchymatous cells from the inside as white profuse hyphal mass was amorphously dissolving the saw dust particles from the outer surface. Most of the white hyphal bed surface became cleanly brown, however, some colony surface became blackened and slimy with contaminating bacteria, hyphae and spores. The brown layer was ca. 0.34 mm thick with highly dense and white hyphal mass beneath, whereas the blackened layer was ca. 1.17 mm thick with shrunken hyphae and less decomposed sawdust particles beneath. The surface hardness of the brown surface was ca. 0.73 kgf/cm², soft and resilient, while that of the blackened was ca. 0.91 kgf/cm², hard and nonresilient. By 150 days *Lentinula edodes* mushrooms fruited only on the brown surface and not on the blackened medium.

KEYWORDS : Browning of sawdust cultivation media, Characteristics of saw dust decomposition, Ground bed cultivation of *Lentinula edodes*

서론

표고(*Lentinula edodes*(Berk) Sing.)는 맛과 향이 좋은 식용버섯이면서, 항암작용 물질인 렌티난(lentinan)과 혈관

속 콜레스테롤 함량을 낮추는 에리타데닌(eritadenin)을 함유하고 있어 약용버섯이기도 하다(Stamets, 2000; Park et al., 2011). 표고는 현재 중국에서만 345만톤(Yu, 2012), 그리고 일본과 한국, 대만 등에서 약 15만톤을 생산되지만, 자연적으로는 봄과 가을에 죽은 활엽수 줄기에서 발생하는 백색부후균으로 한국, 일본, 중국, 동남아, 뉴질랜드까지 광범위하게 분포한다(Park and Lee, 1999; Mao, 2000).

표고는 참나무 원목에서 주로 생산되었지만, 톱밥재배로도 생산량이 증가되고 있다. 특히 톱밥재배는 배지 효율이 30%로 원목재배의 15%보다 월등이 높고, 재배기간이 짧아 자금회전이 빠르고, 재배과정을 일부 기계화 할 수 있다. 전체 표고생산량 중에서 톱밥재배로 생산되는 비율은 우리나라에서 약 15%, 일본에서 60%, 중국이나 대만에서는 거의 100%이다(Park et al., 2008). 한편 표고 톱밥재배는 주로 봉지를 이용하지만, 봉지내부에서 표고가 발생하는 문제가 있어서, 봉지를 이용하지 않는 지면재배법이 개발되고 있다(Fig. 1, Fig. 2).

Kor. J. Mycol. 2013 June 41(2): 85-90
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.2.85>
 pISSN 0253-651X
 ©The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail : koocdm@chungbuk.ac.kr

Received January 5, 2013

Revised May 22, 2013

Accepted June 18, 2013

Ⓢ 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.



Fig. 1. Mycelial growth of *Lentinula edodes* on ground bed cultivation.



Fig. 2. Fruiting of *Lentinula edodes* on ground bed cultivation.

표고톱밥재배에서 배지표면 균사의 갈변은 배지내 균사체 보호와 버섯발생을 위하여 매우 중요한 과정이지만 (Kim *et al.*, 2007) 표고발생과 직접적인 관련성은 적다 (Kim *et al.*, 2011). 최근에는 표고 톱밥배지의 갈변을 억제시키는 유전자(BCR)가 알려졌다(Kim *et al.*, 2012). 하지만 배지가 백색 균사체인 상태에서는 수분손실이 크며, 박테리아나 푸른곰팡이 등이 쉽게 번성하여 표고발생과 생장이 어렵다. 표고 톱밥재배에서 표고균사가 충분히 자라서 50일 정도되면 공기 중에 드러난 균사표면은 갈변이 된다(Forest Mushroom Research Institute, 2009). 그러나 갈변 표면의 특징과 그 내부에 대하여는 알려진 것이 없으므로, 본 연구에서는 표고톱밥 지면재배에서 톱밥의 분해과정과 배지 갈변층의 구조를 현미경적으로 조사 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 톱밥은 중평군 중평읍 남치리에 위치한 한솔농장의 비닐하우스에서 2010년 2월 18일부터 38일간 퇴적발효된 참나무 톱밥으로, 함수율을 약 63%로 맞춘 후 살균은 65°C에서 11시간 유지하였다. 종균은 참나무 톱밥과 미강의 비율을 9:1(V:V)로 섞은 후 함수율을 약 60%로 맞추어 내열성 비닐에 1.3 kg씩 담아 멸균하고, 산조 701호 품종을 접종하여 약 20°C에서 약 2달간 배양하였다. 살균을 마친 참나무 발효톱밥과 배양된 종균을 7:3(V:V)으로 섞어서 길이 5.0 m, 폭 1.3 m, 두께 15 cm 로 입상하였다. 배지의 수분증발을 막으면서 배지 내 통기를 위하여 2 cm 간격으로 비닐구멍이 나있는 유공비닐로 배지를 덮었다.

배지는 접종 약 50일후에 갈변되었으며, 100일 후에는 배지

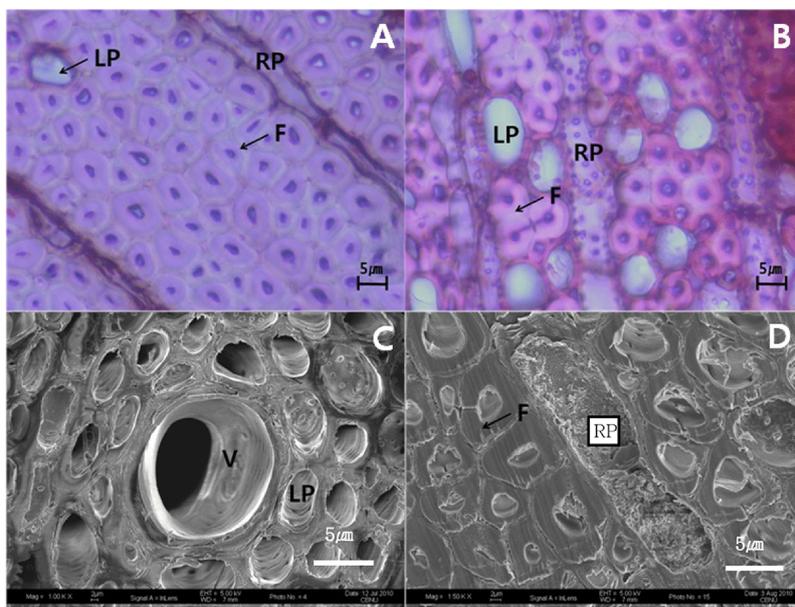


Fig. 3. Light microscope photographs (A, B) and scanning electron micrographs (C, D) of cross-sections of oak sawdust. A: libriform fibers (F) with thick walls and ray parenchyma (RP). $\times 400$. B: libriform fibers, longitudinal parenchyma and ray parenchyma with pits. $\times 400$. C: vessel (V) and vascentric longitudinal parenchyma (LP). $\times 1000$. D: thick walled libriform fiber (F) and ray parenchyma (RP). $\times 1500$.

의 경도를 과실경도계(FHM-1, ATAGO, Japan)로 측정하였다. 표고균사가 분해한 톱밥 알갱이는 글루타르알데히드 용액으로 전고정하고, OsO₄로 후고정한 후 백금으로 코팅하여 전계 방출형 주사전자현미경(LEO-1530, Carl Zeiss, Germany, 충북대학교 공동실험실습관)으로 톱밥의 분해와 배지의 갈변 특성을 조사하였다. 톱밥분해는 조각내 도관, 목섬유, 가도관, 방사 유세포 등의 형태변화로써, 갈변현상은 배지표면과 내부에서 표고 균사조직의 배열 등 형태적 특성으로써 조사하였다.

결과 및 고찰

표고 지면배지에서의 목재조직 분해

표고 접종 전 참나무 톱밥의 목재조직은 세포벽이 매우 두꺼운 목섬유(Fig. 3A, 3D)와 벽이 얇지만 단순벽공이 있는 축방향 유세포(Fig. 3B), 직경이 큰 도관 등에서 균사의 침입이 없었다(Fig. 3C).

배양 30일 정도에 지면배지는 표고의 흰색 균사로 치밀하게 덮혔고(Fig. 1), 배양 50일 후부터는 배지 표면의 균

사가 갈변되기 시작하였다. 지면배지에서 표고균사가 110일 동안 성장한 톱밥의 조직외부는 치밀한 균사층으로 싸이고, 조직내부는 표고균사로 점유되고 세포벽은 용해되었다(Fig. 4). 도관과 목섬유 내부는 점유한 표고균사에 의하여 세포벽에 구멍이 나면서 분해되었고(Fig. 4A, 4E, 4F), 축방향 및 방사 유세포에도 표고균사가 세포간극과 벽공을 통과하면서 분해하였다(Fig. 4B). 톱밥의 외부를 치밀하게 점유한 균사는 톱밥의 바깥쪽 세포벽을 용해하여 조직을 부정형으로 변화시켰다(Fig. 4C, 4D).

일반적으로 백색부후균은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌을 모두 분해하기 때문에, 부후가 진행됨에 따라 세포벽은 내강으로부터 얇아지는 박벽화 현상이 나타나고 결국 중간층까지도 분해된다(Wilcox 1968, 1973). 표고균도 백색부후균으로 셀룰로오스를 분해하는 엔도글루카나제(endoglucanase), 엑소셀로바이오하이드롤라제(exocellobiohydrolase), 베타글루코시다아제(β -glucosidase), 리그닌의 페놀을 산화시키는 락카제(laccase)(Savoie *et al.*, 1998)와 리그닌 페록시다아제(Li-peroxidase) 및 망간 페록시다아제(Mn-peroxidase) 효소를 분비한다

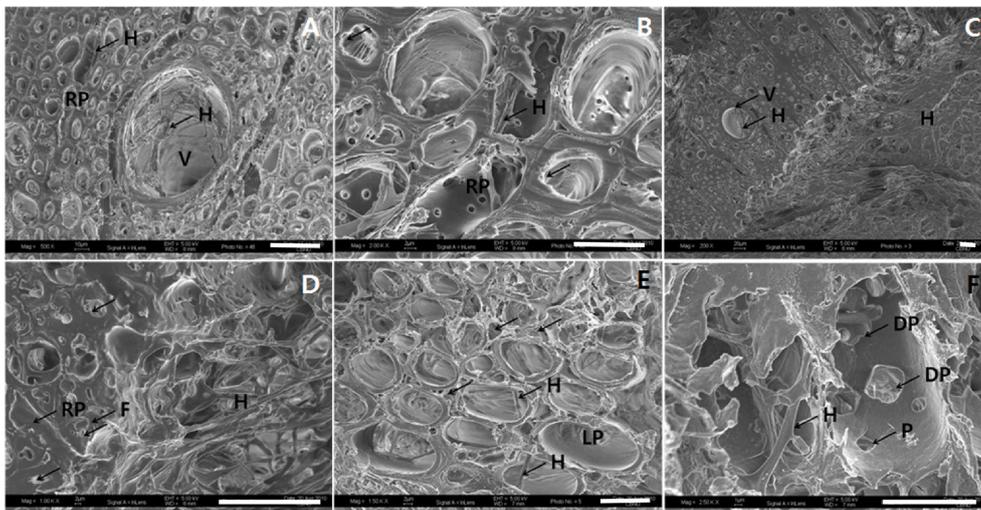


Fig. 4. Scanning electron micrographs of oak sawdust decomposed by *Lentinula edodes* hyphae 110 days after inoculation in ground bed cultivation. A: Profuse hyphae (H) in vessel (V) and ray parenchyma (RP) $\times 500$, B: Decomposition of cell walls by hyphae (H) in libriform fibers and ray parenchymatous cells (RP). $\times 2000$, C: Amorphously degraded oak sawdust surface by massive mycelial hyphae (H). $\times 200$, D: Degradation of oak sawdust by massive hyphae. $\times 1000$, E: Degraded middle lamellae of longitudinal parenchymatous cells by hyphae $\times 1500$, F: Decomposed pit (DP) by hyphae in parenchymatous cell wall. $\times 2500$. White scale bar = 20 μ m.

Table 1. Comparison of characteristics of brown surface and black surface of ground bed cultivation medium for *Lentinula edodes*

Characteristics	Brown layer surface	Black layer surface
Composition	<i>Lentinula edodes</i> dense hyphae	Contaminating bacteria and fungal spores
Thickness (μ m)	0.34 \pm 0.04 ^a	1.17 \pm 0.06
Hardness (kgf/cm ²)	0.73 \pm 0.08	0.91 \pm 0.04
Layer resiliency	resilient	nonresilient
Primordium formation	Yes	No

^a: mean \pm standard deviation

(Yoo *et al.*, 2010). 톱밥의 목질 세포벽 내부조직까지 균사가 생장하여 톱밥을 분해하는 것을 확인할 수 있었다.

표고 지면재배 균사 갈변층의 물리적 성질

표고균 접종 약 110일 후, 지면배지는 대부분 갈변되었지만 일부는 검정색으로 변하면서 물리적 특성이 달랐다 (Table 1). 갈변층 표면에서는 표고균사가 치밀하게 분지하여 망상을 형성하고, 그 두께는 0.34 ± 0.04 mm 였고, 그

아래는 흰색의 탄력있는 균사층이 형성되어 있었다(Fig. 5). 반면에 검정색으로 변한 층은 두께가 1.17 ± 0.06 mm 로 갈색 갈변층의 3배나 두꺼웠고, 표면에서는 표고 균사가 없이 세균과 표고 이외의 곰팡이 균사와 포자가 점유하였으며, 내부에서는 표고균사층이 탄력이 없이 수축되었고(Fig. 6), 일부 분해가 덜 된 톱밥이 드러나 있었다. 이 때 지면배지의 표면경도는 갈색부분에서 약 0.73 ± 0.08 kgf/cm², 검정색 부분에서 약 0.91 ± 0.04 kgf/cm²이었다. 표고균사 접종 150일 후에

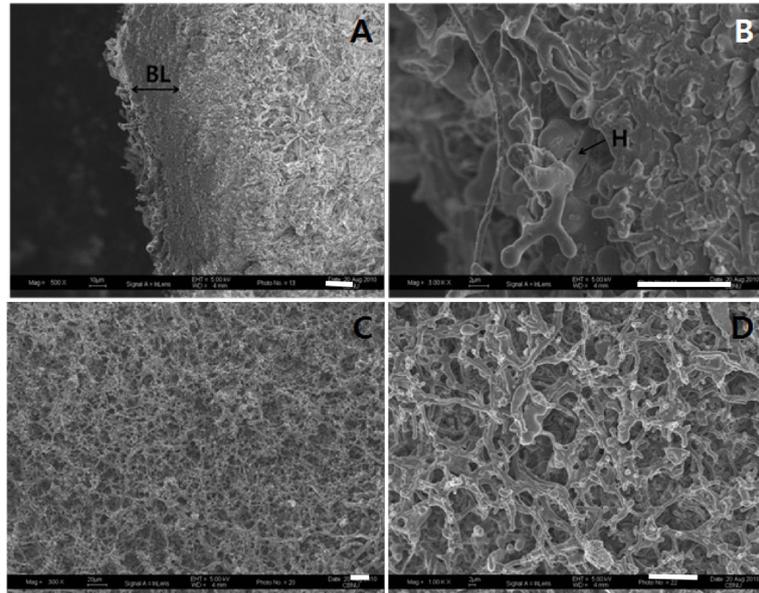


Fig. 5. Scanning electron micrographs of brown layer of *Lentinula edodes* ground bed cultivation medium. A: Profile of brown layer. fluffy surface, brown layer (BL) and hyphal mass. $\times 500$. B: Fluffy hyphae (H) on outer surface of the layer. $\times 3000$. C: Reticulate and fluffy outer surface. $\times 300$, D: Closer view of fluffy surface in C. $\times 1000$. White bar = $10\mu\text{m}$.

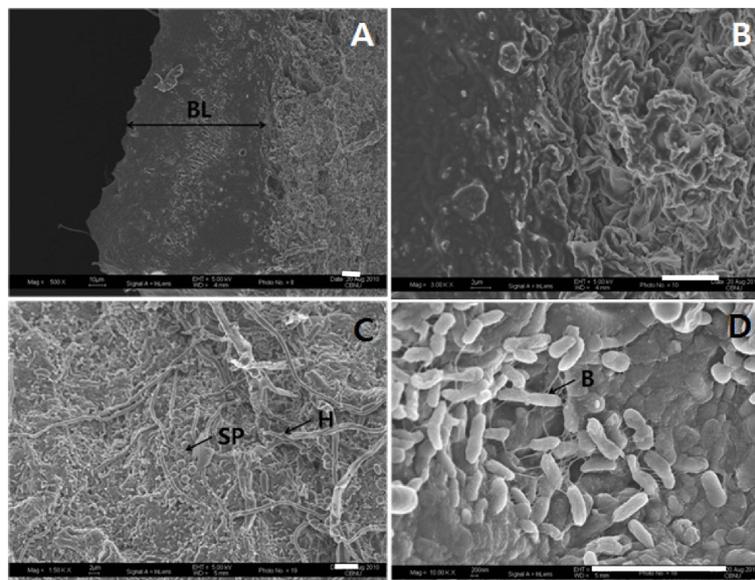


Fig. 6. Scanning electron micrographs of blackened layer of *Lentinula edodes* ground bed cultivation medium. A: Relatively smooth blackened layer (BL) and shrunken hyphal mass $\times 500$. B: Closer view of boundary between blackened outer layer and shrun-ken hyphal mass inside $\times 3000$. C: Surface of blackened layer covered with spores (SP) and contaminating fungal hyphae (H) $\times 1500$, D: Bacterial cells (B) on the blackened surface. $\times 10000$. White scale bar = $10\mu\text{m}$

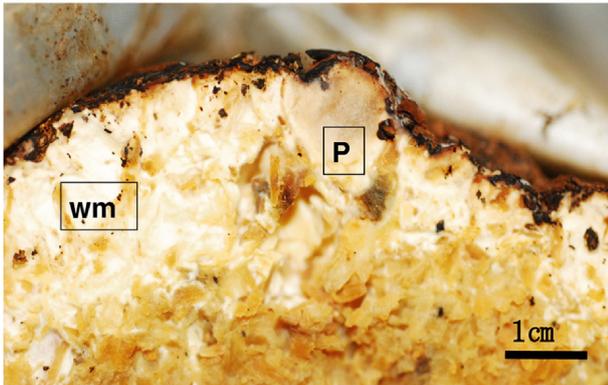


Fig. 7. Primordium formation (P) of *Lentinula edoes* from white mycelial layer (wm) beneath the brown layer of sawdust medium.

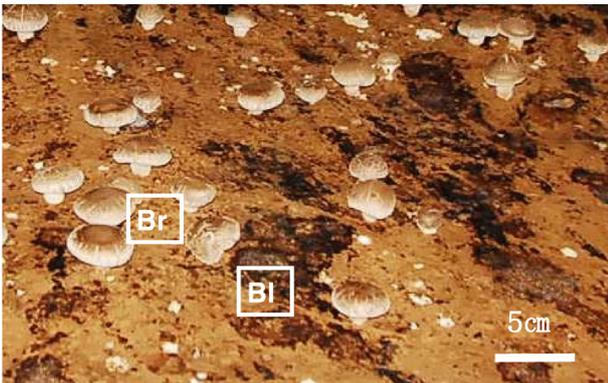


Fig. 8. Browning (Br) and blackening (Bl) on surface of ground bed cultivation medium of *Lentinula edodes*. Black surface did not produce fruiting bodies.

갈변층 내부에서는 탄력있는 흰색 균사층에서 원기가 형성되고(Fig. 7) 배지 표면에서는 자실체가 발생하였지만, 검정색으로 변한 표면에서는 자실체가 발생하지 않았다(Fig. 8).

표고톱밥 배지에서 갈변표면층은 수분유지와 병원균 침입방지, 그리고 봉지내 측면 발생 억제에 중요하다(Kim *et al.*, 2007; Forest Mushroom Research Institute, 2009). 갈변을 일으키는 요인은 빛으로, 표고 균사체에 빛이 쬐이면 25~30일째부터 갈변이 시작될 수 있으며, 이에 직접 관련된 주요 효소는 티로시나제(tyrosinase)로 알려졌다(Kim *et al.*, 2009). 이 효소는 표고자실체의 주름살에서 멜라닌 생성에도 관여한다(Sato *et al.*, 2009). 한편 이 갈변현상은 표고균사가 *Trichoderma* 같은 병원균이나 유전형질이 다른 표고 균주와 만났을 때에도 일어난다(Savoie *et al.*, 1998). 그러나 이 갈변현상은 버섯의 원기발생이나 버섯발생량과는 직접적인 관련이 적으나(Kim *et al.*, 2011), 빛이나 온도 등의 자극에 크게 영향을 받는다(Forest Mushroom Research Institute, 2009). 결론적으로 표고균사가 톱밥조각을 충분히 분해하여 균사체에 에너지와 양분을 축적한 후, 배지표면에 갈변층을 형성하면, 그 아래에 활력이 높은 표고균사층이 보호되고 수분유지가 가능하여 자실체 발생에 적합한 환경이 유지된 것으로 추정된다.

적 요

본 연구에서는 표고톱밥 지면재배에서 참나무 톱밥 조각의 분해와 배지의 갈변 특성을 내외부 형태적으로 조사하였다. 표고균 접종 50일후에는 갈변이 시작되었다. 접종 110일 후 표고균사는 참나무 톱밥 목부조직내 도관, 목섬유, 유세포의 내외부에서 세포벽을 분해하고, 톱밥 표면에 밀집한 균사는 세포외벽을 부정형으로 분해하였다. 그동안에 흰색인 배지 표면 균사는 대부분 깨끗한 갈색으로 변하였고, 이 갈변층 두께는 약 0.34 mm 로 표고균사가 치밀하였고, 그 아래에는 흰색의 활력있는 균사층이 있었다. 반면에 검정색 층은 두께가 약 1.17 mm 로 미끈거리는 표면에는 세균과 잡균 균사 및 포자들이 점유하고, 그 아래에는 활력이 쇠퇴한 균사층이 존재하였다. 갈변표면의 경도는 약 0.73 kgf/cm²로 검정색 표면의 경도 약 0.91 kgf/cm²보다 물렀으나 탄력이 있었다. 표고 자실체는 표고균사 접종 150일 후에 밝은 갈색의 배지 표면에서는 발생하였으나, 검정색 표면층에서는 발생하지 않았다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비와 산림청 ‘산림과학기술개발사업(과제번호: S120909L100100)’의 지원에 의하여 연구되었습니다. 연구에 도움을 준 충북 중평군의 한솔농장 이근희씨에게 감사드립니다.

인용문헌

- Forest Mushroom Research Institute. 2009. Oak Mushroom Cultivation Technology. pp. 230. Forest Cooperatives, Gyeonggi-do. (in Korean).
- Kim, Y. H., Jhune, C. S., Park, S. C., You, C. H., Sung, J. M. and Kong, W. S. 2009. The changes in intracellular enzyme during the mycelial browning of *Lentinula edodes* (Berkeley) Sing. *J. Mushroom Science and Production* 7:110-114. (in Korean).
- Kim, Y. H., Jhune, C. S., Park, S. C., You, C. H., Sung, J. M. and Kong, W. S. 2011. Cultural characteristics on collected strains of *Lentinula edodes* and correlation with mycelial browning. *J. Mushroom Science and Production* 9:145-154. (in Korean).
- Kim, Y. H., Park, S. C., Jhune, C. S., You, C. H., Sung, J. M. and Kong, W. S. 2012. BCR (Brown Color repressor) gene isolation related to mycelial browning of *Lentinula edodes*. *J. Mushroom Science and Production* 10:120-128. (in Korean).
- Kim, Y. H., You, C. H., Sung, J. M. and Kong, W. S. 2007. Enzymatic activities related mycelial browning of *Lentinula edodes* (Berkeley) Sing. *J. Mushroom Science and Production* 5:91-97. (in Korean).
- Mao, X. L. 2000. The Macrofungi in China. pp. 719. Hanam Science and Technology Publication Ltd. Jungju. (in Chinese).
- Park, W. C., Yoon, G. H., Kim, S. C. and Hong, G. S. 2008. New cultivation technology for sustainable production of *Lentinula edodes*. pp. 307. National Forest Research Institute. Seoul. (in Korean).

- Park, W. H. and Lee, H. D. 1999. Illustrated Book of Korean Medicinal Mushrooms. pp. 758. Kyohak Publishing Co. Seoul. (in Korean).
- Park, Y. A., Lee, K. T., Bak, W. C., Kim, M. K., Ka, K. H. and Koo, C. D. 2011. Eritadenin contents analysis in various strains of *Lentinula edodes* using LC-MS/MS. *Kor. J. Mycol.* 39:239-242. (in Korea).
- Sato, T., Kanda, K., Okawa, K., Takahashi, M., Watanabe, H., Hirano, T., Yaegashi, K., Sakamoto, Y. and Uchimiya, H. 2009. The tyrosinase-encoding gene of *Lentinula edodes*, *Letyr*, is abundantly expressed in the gills of the fruit-body during post harvest preservation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73:1042-1047.
- Savoie, J. M., Mata, G. and Billette, C. 1998. Extracellular laccase production during hyphal interactions between *Tricholoma* sp. and shiitake, *Lentinula edodes*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49:589-593.
- Stamets, P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. pp. 574. Ten Speed Press, Berkeley.
- Wilcox, W. W. 1968. Change in wood microstructure through progressive stages of decay. pp. 46. USDA For. Prod. Lab. Res. Paper FPL 70.
- Wilcox, W. W. 1973. Degradation in relation to wood structure. In: Wood degradation and its preservation by preservative treatments, Vol. : Degradation and preservation of wood, pp. 107-148. Eds. D. D. Nicholas. Syracuse Univ. Press, New York.
- Yoo, Y. B., Koo, C. D., Kim, S. H. Seo, G. S., Shin H. D., Lee, J. W., Lee, C. S. and Jang, H. Y. 2010. Mushroom Science. Nature and Human Being. Seoul, pp. 453. (in Korean).
- Yu, L. 2012. Present development situation and tendency of edible mushrooms industry in China. *Mushroom Science XVIII*:3-9. Proceedings of the 18th Congress of the International Society for Mushroom Science. Edited by J. Zhang, H. Wang and M. Chen. China Agriculture Press, Beijing.