

| | | |
|----------------|------------------|--|
| 사업구분 : 수탁연구 | Code 구분 : LS0212 | 버섯(전반기) |
| 연구과제 및 세부과제명 | 연구기간 | 연구책임자 및 참여연구원(☎) |
| 앞새버섯 재배법 확립연구 | '05~'08 | 경기도원 버섯연구소 주영철(229-2601) |
| 균주선발 및 생리특성 연구 | '05~'06 | 경기도원 버섯연구소 김정환(229-6126) (참여연구원) 원선이, 서건식, 지정현, 주영철 |
| 색인용어 | 앞새버섯, 우량균주, 생리특성 | |

ABSTRACT

This study was carried out to obtain basic data on physiological characteristics for an artificial cultivation of *Grifola frondosa*. Ten strains of *G. frondosa* were collected from Korea, China and Japan and those were isolated and tested. Among four different culture media which have been used for culture of mushrooms, PDA medium was selected for the favorable culture medium. The optimal conditions for the mycelial growth of *G. frondosa* were 25~28°C and pH 4~5 respectively. The carbon and nitrogen sources for the optimum mycelial growth were fructose and peptone, respectively. Highest mycelial growth was observed when the C/N ratio was 10~20. Ten strains of *G. frondosa* were compared for spawn run, crop cycle time, quality and yield. Significant differences among lines were found for yield and crop cycle time when mushrooms were produced on nutrient-supplemented(12% soybean cake, 8% wheat bran) oak sawdust(55%) and chip(25%) substrate. Four strains(KME44001, 44008, 44009 and 44020) were found to have the highest yield(356.7g, 342.2g, 327.5g and 343.9g, respectively). KME44009 had a short spawn run time, high yield, good color and quality compare with other strains. As results of selection test of good strain, KME44009 deemed to have the best commercial potential.

Key words : *Grifola frondosa*, Artificial cultivation, Mycelial growth, Physiological characteristics

1. 연구목표

앞새버섯(*Grifola frondosa*)은 민주름버섯목 구멍장이버섯과(Poyporaceae)에 속하는 담자균으로서 가을에 졸참나무, 물푸레나무의 뿌리 근처에 사물기생하여 다발로 발생하는 백색 목재부후균으로 한국, 동아시아, 유럽, 북미 등에 분포되어 있다. 자실체는 하나의 줄기(stem)에서 몇 개의 가지를 이루고 그 선단에 수십~수백 개의 갓이 부착되어 전체의

크기가 10~30cm가 되는 별려진 솔방울과 같은 버섯이다. 갓은 부채꼴로 2~5cm, 두께는 2~4mm이며 표면은 초기에 흑색이며 차차 커감에 따라 흑갈색~회색으로 되며 육질을 백색으로 유연하며 섬유상의 무늬를 갖고 있다.

잎새버섯은 단백질과 비타민 B₂와 C가 다량 함유되어 있으며 Ergosterol, Mannitol, Trehalose와 α -glucan, β -glucan등 항암활성물질인 다당체를 많이 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(정과 주(1989)). 특히 잎새버섯의 열수 추출물인 MD-fraction에는 항암 및 면역조절작용으로 표고, 양송이, 느타리버섯, 팽나무버섯보다도 훨씬 높은 항암효과가 있음이 보고되었다(Mark, 2001).

우리나라에서도 1985년부터 잎새버섯에 대한 인공재배법을 개발하기 위한 연구를 수행하여 1986년에 재배법과 더불어 "잎새1호"가 육성 되었다(정과 주, 1989). 그러나 배양기간이 길고 오염률이 높아 농가에 보급되지는 못하였다. 최근 느타리버섯, 팽이버섯 등의 위주로 단순하게 진행된 국내 버섯시장은 소비가 한계에 이르면서 수취가격 하락으로 인해 농가들의 어려움은 심화되고 있다. 본 시험은 느타리, 팽이버섯 등 일부품종의 편중재배를 해소하고 잎새버섯이 새로운 농가소득원으로 개발보급 될 수 있도록 하기 위해 국내외에서 다양한 계통을 수집하였으며, 수집계통의 생리적 특성을 구명하고 다수확 우량계통을 선발하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

본 실험에 사용한 균주는 국내외에서 수집 분리되어 버섯연구소에 보관중인 균주 (KME44001~44010)를 공시균주로 사용하였다. 각 균주는 PDA(Potato Dextrose Agar) 평판배지에 접종한 후 25±1℃ 항온기에서 배양하여 실험에 접종원으로 사용하였다. 균사 생육에 적합한 기본배지를 선발하기 위하여 표 1의 배지조성을 갖는 합성배지를 121℃에서 15분간 고압살균(1.5kg/cm²) 후 살균된 petri-dish(87∅×15mm)에 15~20mL씩 분주하여 조제한 배지에 PDA배지에서 미리 배양된 공시균주의 균사 선단부분을 직경 5mm cork borer로 잘라 낸 다음 petri-dish의 중앙에 옮겨 25±1℃의 항온기에서 배양하면서 균사의 성장정도, 균체중량 및 밀도를 조사하였다.

표 1. 배지종류별 배지조성

| 배지조성 | 배지(g/ℓ) | | | |
|---------------------------------------|---------|------|-----|-----|
| | PDA | MCM | MEA | YMA |
| Potato dextrose | 24 | | | |
| K ₂ HPO ₄ | | 1 | | |
| KH ₂ PO ₄ | | 0.46 | | |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | | 0.5 | | |
| Dextrose | | 20 | 20 | 10 |
| Peptone | | 2 | 1 | 5 |

| 배지조성 | 배지(g/ℓ) | | | |
|---------------|---------|-----|-----|-----|
| | PDA | MCM | MEA | YMA |
| Malt extract | | | 20 | 3 |
| Yeast extract | | 2 | | 3 |
| Agar | 20 | 20 | 20 | 20 |

PDA : Potato dextrose agar, MCM : Mushroom complete medium, MEA : malt extract agar, YMA : Yeast malt extract agar

〈시험 1〉 적정 배양온도 구명

잎새버섯의 균사생장에 적합한 온도를 구명하기 위하여 PDA배지에 공시균주를 접종한 후 15, 20, 25, 30, 35℃로 설정된 항온기에서 14일간 배양하면서 균사의 성장정도, 균체중량 및 밀도를 조사하였다.

〈시험 2〉 적정 pH구명

균사생장에 적합한 pH 선발을 위해 PDA와 PDB배지를 제조하여 0.1N-HCl과 0.1N-NaOH를 이용하여 pH를 4, 5, 6, 7, 8로 조절하여 공시균주를 접종한 후 항온기에서 14일간 배양하였다. 배양후 평판배지에서 자란 균사체의 크기를 측정하였으며, PDB배지는 여과지(Whatman No.2)로 여과하여 80℃의 건조기에서 24시간 건조 후 균체량을 측정하였다.

〈시험 3〉 적정 영양원 선발

잎새계통의 균사생장에 적합한 영양원을 선발하기 위하여 PDA를 기본배지로 하여 탄소원은 glucose 등 8종과 질소원은 yeast extract 등 7종을 탄소원과 질소원 함량이 동일하도록 조절하여 배지를 제조하였다. 각 영양원별로 조제된 배지는 직경 5mm균사체를 접종하여 25℃ 항온기에서 14일간 배양해서 균사의 성장정도, 균체정량 및 밀도를 조사하였다.

〈시험 4〉 적정 C/N을 구명

탄소원과 질소원의 함량비(carbon/nitrogen)시험은 탄소원으로 glucose, 질소원으로 peptone을 사용하였다. 질소원의 양을 고정하고 탄소원인 glucose의 농도를 조절하여 C/N ratio를 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70으로 조정하여 사용하였다.

〈시험 5〉 우량균주 선발 시험

본 실험에 사용한 계통은 버섯연구소에 보관중인 균주로 44001은 중국, 44008과 44009는 일본의 수집계통이며, 기타 7계통은 농과원에서 분양을 받아 PDB배지에서 약 2주간 배양

하여 액체종균용 접종원으로 사용하였다. 액체종균의 배지조성은 표 2의 조성으로 제조하여 18ℓ 내열성 배양병에 담아 121℃에서 20분간 멸균한 후에 접종원을 첨가하여 약 10일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다.

표 2. 액체종균용 배지조성

| 대두박 | 설탕 | 밀가루 | KH ₂ PO ₄ | MgSO ₄ | 식용유 | 증류수 |
|-----|------|-----|---------------------------------|-------------------|------|-----|
| 15g | 200g | 50g | 0.5g | 5g | 10mL | 10L |

가. 배지제조 및 접종

우량계통 선발용 배지는 참나무톱밥+참나무칩+건비지+밀기울(55 : 25 : 12 : 8)의 조성으로 배지를 혼합하여 수분함량을 60~65%로 조절하였다. 잘 혼합된 배지는 2kg 내열성 P.P봉지에 1.5k씩 충전한 후 가볍게 다져 2~2.5cm의 막대기로 구멍을 뚫은 후 필터가 달린 스퀴류 마개로 봉지의 입구를 막고, 입봉이 완료되면 배기를 시켜가면서 살균을 실시하는데 121℃ 도달 후에 60분 이상 유지하였다. 살균을 완료한 배지는 냉각실에서 서서히 냉각 후 액체종균 접종기를 이용하여 봉지당 20mL씩 분주하면서 접종하였다.

나. 배양 및 생육관리

종균접종이 완료된 배지는 배양실로 옮겨 20℃ 온도에서 소량의 환기를 시켜가면서 습도를 60%유지하면서 배양하였다. 원기가 형성된 배지는 생육실로 옮겨 원기형성부위만 칼로 봉지를 도려서 자실체의 발생을 촉진시켰다. 이때 실내온도는 15℃, 습도는 95%이상, CO₂농도는 1000ppm이하의 조건하에서 생육을 실시하였다.

다. 배양 및 생육특성 조사

배양 및 생육특성은 느타리버섯의 배양 및 생육조사 기준 및 농촌진흥청 표준조사법에 준하였으며, 잎새버섯의 특성에 맞게 일부 변형하여 조사하였다. 자실체 특성은 색도계 (Minolta CR200, Japan)를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였으며, 물성측정기(Sun Rheometer, Compac-10D, Japan)를 이용하여 경도(hardness), 응집성(Cohesiveness), 검성(Gumminess)을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

〈시험 1〉 적정 배양온도 구명

KME44001 등 잎새버섯 9계통과 대조구인 잎새1호를 사용하여 담자균류가 잘 자라는 PDA 등 4종의 배지를 제조하여 균사를 배양한 결과(표 3), PDA배지에서 균사생장정도와

균체중량이 가장 우수하였다. 계통간의 균사생장정도는 PDA배지에서 44006계통이 71mm로, 균체중량은 MEA배지에서 44002계통이 147mg으로 각각 가장 높게 나타났다. 정과 주(1989)등도 잎새버섯 우량계통 육성 연구에서 ASI-9002, 9003, 9006(잎새1호), 9008계통의 적합배지로 PD(potato dextrose)배지를 선발하였으며 9001, 9004계통은 ME(malt extract)배지를 적합배지로 선발하였다. 본 시험결과 44002계통은 ME배지에서 균사생장이 우수하였으며, 기타 계통들은 전반적으로 PDA배지에서 균사생장이 우수한 것으로 나타났다.

표 3. 배지종류별 균사생장정도

(배양 14일, 25℃)

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | 균체중량(mg) | | | |
|----------|------------|-----|-----|-----|----------|-----|------|-----|
| | PDA | MCM | MEA | YMA | PDA | MCM | MEA | YMA |
| 잎새1호 | 56 | 41 | 41 | 3 | 109 | 28 | 27 | 25 |
| KME44001 | 58 | 46 | 46 | 37 | 116 | 78 | 75 | 66 |
| KME44002 | 65 | 61 | 54 | 51 | 130 | 69 | 147 | 87 |
| KME44003 | 61 | 51 | 47 | 42 | 92 | 65 | 70 | 40 |
| KME44004 | 66 | 49 | 53 | 35 | 75 | 24 | 51 | 40 |
| KME44006 | 71 | 55 | 53 | 34 | 82 | 30 | 78 | 25 |
| KME44007 | 53 | 50 | 45 | 39 | 114 | 45 | 112 | 37 |
| KME44008 | 65 | 54 | 56 | 47 | 87 | 65 | 78 | 63 |
| KME44009 | 62 | 49 | 52 | 42 | 101 | 60 | 56 | 65 |
| KME44010 | 62 | 54 | 48 | 40 | 111 | 58 | 85 | 69 |
| 계 | 62a | 51b | 49b | 40c | 102a | 52b | 77ab | 51b |

PDA : potato dextrose agar, MCM : mushroom complete medium, MEA : malt extract agar, YMA : yeast extract malt extract agar, * DMRT at 5% Level

잎새버섯 균사체에 대한 최적온도를 구명하기 위하여, 최적의 배지로 선발된 PDA배지에 균사를 접종한 후 15~35℃의 항온기에서 균사를 배양하면서 균사생장정도와 균체중량을 측정하였다(표 4). 잎새계통들의 균사생장은 전반적으로 25℃에서 가장 우수하였으며 잎새1호, 44003 등의 일부계통은 30℃에서 균사생장이 우수하였다. 계통중에는 44002계통의 균사생장(균사생장 : 68.0mm, 균체중량 : 140mg)이 가장 우수하였으며, 35℃이상에서는 모든 계통들의 균사생장이 이루어지지 않았다. 잎새버섯의 균사생장 적온에 대한 연구로는 정과 주(1989)가 25℃, 다른 정(1996)은 28℃, 차 등(1989)은 20~25℃로 각각 보고하였는데, 위의 결과를 종합하면 계통에 관계없이 25℃ 전후에서 균사생장이 우수한 것으로 판단된다.

표 4. 배양온도별 군사생장정도

(배양 14일)

| 구 분 | 군사생장정도(mm) | | | | 균체중량(mg) | | | |
|----------|------------|-----|-----|-----|----------|-----|------|-----|
| | 15℃ | 20℃ | 25℃ | 30℃ | 15℃ | 20℃ | 25℃ | 30℃ |
| 앞새1호 | 28 | 49 | 57 | 65 | 80 | 88 | 110 | 55 |
| KME44001 | 28 | 51 | 56 | 22 | 79 | 90 | 116 | 76 |
| KME44002 | 37 | 57 | 68 | 66 | 73 | 74 | 140 | 67 |
| KME44003 | 26 | 48 | 61 | 66 | 66 | 68 | 106 | 50 |
| KME44004 | 24 | 47 | 60 | 51 | 36 | 56 | 61 | 41 |
| KME44006 | 27 | 56 | 70 | 54 | 47 | 56 | 89 | 90 |
| KME44007 | 27 | 47 | 56 | 54 | 56 | 65 | 115 | 84 |
| KME44008 | 25 | 52 | 60 | 60 | 73 | 99 | 123 | 85 |
| KME44009 | 24 | 50 | 59 | 60 | 64 | 86 | 124 | 93 |
| KME44010 | 25 | 50 | 59 | 59 | 74 | 111 | 117 | 78 |
| 계 | 27c | 51b | 60a | 53b | 65b | 79b | 110a | 72b |

〈시험 2〉 적정 pH구명

앞새버섯 군사생장에 적합한 pH를 구명하기 위한 실험 결과(표 5), 시험에 사용된 계통 모두 pH 4~5에서 군사생장이 우수한 것으로 나타났다. 또한 pH가 높아질수록 군사생장량이 감소하여 pH 8이상에서 모든 계통의 군사생장이 이루어지지 않았다.

군사생장정도는 pH 5에서 44002계통이 61mm, 균체중량은 pH 4에서 44009계통이 47mg으로 가장 우수하였다. 한편, 정 등(1991)은 유청을 이용한 앞새버섯 균사체 배양시 pH 5.2에서 가장 좋은 것으로 보고하였으며, Lee 등(2004)은 세포외 다당체 및 균체생산을 위한 앞새버섯의 액체배양 최적조건이 pH 5.5라고 보고하였다. 또한 정(1996)은 pH 5에서 앞새버섯 9006계통의 군사생장이 우수하다고 한 것으로 말미암아 앞새버섯 계통간 다소 차이는 있었지만 pH 4~5 정도의 약산성에서 군사생장이 우수한 것으로 생각된다.

표 5. pH별 군사생장정도

(배양 14일, 25℃)

| 구 분 | 군사생장정도(mm) | | | | 균체중량(mg) | | | |
|----------|------------|----|----|---|----------|----|----|----|
| | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 앞새1호 | 36 | 45 | 29 | 9 | 35 | 35 | 36 | 20 |
| KME44001 | 32 | 30 | 25 | 9 | 39 | 25 | 28 | 23 |
| KME44002 | 57 | 61 | 34 | 8 | 37 | 42 | 39 | 8 |
| KME44003 | 32 | 29 | 24 | 9 | 30 | 26 | 29 | 14 |
| KME44004 | 23 | 21 | 18 | 8 | 45 | 27 | 36 | 21 |

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | 균체중량(mg) | | | |
|----------|------------|-----|-----|----|----------|------|------|-----|
| | 4 | 5 | 6 | 7 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| KME44006 | 40 | 39 | 27 | 9 | 23 | 37 | 27 | 21 |
| KME44007 | 42 | 35 | 31 | - | 29 | 22 | 22 | 20 |
| KME44008 | 33 | 31 | 26 | 9 | 31 | 26 | 27 | 21 |
| KME44009 | 50 | 45 | 35 | - | 47 | 38 | 38 | 23 |
| KME44010 | 32 | 30 | 25 | 9 | 38 | 35 | 32 | 20 |
| 계 | 38a | 37a | 27b | 9c | 35a | 31ab | 31ab | 20b |

〈시험 3〉 적정 영양원 선발

잎새버섯 수집계통의 균사생장에 적합한 탄소원을 구명한 결과 표 6과 같다. 균사생장정도는 fructose, 균체중량은 glucose에서 각각 가장 우수하여 단당류가 이당(sucrose, maltose)과 다당(dextrin, starch)보다 균사생장에 더 유리한 것으로 생각된다. 계통중에는 44002계통이 fructose를 이용했을때 80.6mm로 가장 우수하였고 균체중량은 44003계통이 dextrose를 이용했을때 150mg으로 가장 우수하였다. 한편, 이 등(2004)은 잎새버섯을 액체 배양시 탄소원으로 glucose를 사용하는 것이 galactose, maltose, sucrose, starch를 사용하는 것보다 균체량 및 세포외 다당체량을 더 많이 증가시켰다고 보고하여 우리의 결과와 유사한 것으로 나타났다. 그러나 정(1996)은 malt extract를 2% 첨가한 배지에서 균사생장과 밀도가 우수하다고 하였으며, 유청배지(정 등, 1991)에서는 2% soluble starch와 xylose가 균사생육에 좋은 탄소원이라고 한 것과 약간 차이가 있는데 이는 기본배지 조성 과 계통간의 차이로 다르게 나타나는 것으로 생각된다.

표 6. 탄소원에 따른 균사생장정도

(배양 14일, 25℃)

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | | | | | 균체중량(mg) | | | | | | | |
|----------|------------|------|------|------|------|------|------|------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Glu | Fru | Xyl | Sor | Suc | Mal | Dex | Sta | Glu | Fru | Xyl | Sor | Suc | Mal | Dex | Sta |
| 잎새1호 | 73.6 | 77.2 | 74.4 | 55.4 | 65.0 | 68.4 | 73.4 | 71.8 | 80 | 66 | 58 | 42 | 62 | 69 | 76 | 51 |
| KME44001 | 69.0 | 73.4 | 44.8 | 47.0 | 52.8 | 61.4 | 64.0 | 59.4 | 88 | 70 | 63 | 52 | 51 | 56 | 79 | 74 |
| KME44002 | 77.2 | 80.6 | 80.2 | 58.4 | 60.0 | 68.8 | 73.8 | 66.4 | 141 | 102 | 117 | 54 | 60 | 89 | 88 | 130 |
| KME44003 | 69.8 | 74.4 | 28.8 | 46.6 | 58.4 | 63.6 | 65.6 | 60.8 | 114 | 97 | 108 | 57 | 62 | 131 | 150 | 119 |
| KME44004 | 64.8 | 72.2 | 69.4 | 46.0 | 55.8 | 53.2 | 62.4 | 58.2 | 86 | 67 | 88 | 60 | 41 | 48 | 68 | 44 |
| KME44006 | 79.0 | 80.0 | 79.8 | 78.2 | 73.0 | 77.6 | 79.2 | 75.0 | 128 | 107 | 76 | 67 | 54 | 75 | 81 | 72 |
| KME44007 | 61.0 | 67.2 | 70.4 | 46.2 | 42.8 | 52.8 | 55.8 | 57.6 | 104 | 106 | 88 | 76 | 54 | 83 | 86 | 97 |
| KME44008 | 70.2 | 70.0 | 48.6 | 44.4 | 41.8 | 58.2 | 57.8 | 57.2 | 108 | 107 | 98 | 53 | 56 | 84 | 75 | 100 |
| KME44009 | 71.4 | 69.0 | 71.8 | 55.6 | 54.6 | 63.8 | 68.6 | 66.8 | 120 | 110 | 110 | 71 | 57 | 114 | 121 | 115 |

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | | | | | 균체중량(mg) | | | | | | | |
|----------|------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|----------|-----|------|------|-----|-------|------|------|
| | Glu | Fru | Xyl | Sor | Suc | Mal | Dex | Sta | Glu | Fru | Xyl | Sor | Suc | Mal | Dex | Sta |
| KME44010 | 72.8 | 74.8 | 74.8 | 44.4 | 51.4 | 64.0 | 65.8 | 59.6 | 105 | 114 | 95 | 85 | 66 | 80 | 82 | 93 |
| 계 | 70.9b | 73.9a | 64.3b | 52.2c | 55.6c | 63.2bc | 66.6b | 63.3b | 107a | 94a | 90ab | 61bc | 56c | 82abc | 90ab | 89ab |

Glu : glucose, Fru : fructose, Xyl : xylose, Sor : sorbitol, Suc : sucrose, Mal : maltose, Dex : dextrin, Sta : starch

앞새버섯 균사생장에 적합한 질소원을 구명한 결과(표 7), peptone과 yeast extract를 첨가한 배지에서 균사생장정도와 균체중량이 우수하였으나, ammonium nitrate, ammonium tartrate, potassium nitrate, sodium nitrate 첨가구에서는 상대적으로 균사생장이 약한 것으로 조사되었다. 계통중에서는 질소원으로 peptone을 이용했을때 균사생장정도는 4401 계통이 78mm, 균체중량은 44010계통이 137mg으로 각각 가장 우수하였다. Lee 등(2004)은 앞새버섯을 액체배양시 질소원으로 polypeptone과 yeast extract를 사용할 때 균체 및 세포외 다당체 생산이 우수한 것으로 보고하여 우리의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 한편, 정 등(1991)은 유청배지(정 등, 1991)에서는 potassium nitrate를, 정(1996)은 *G. frondosa* 9006의 균사체 배양 연구에서 bacto soytone을 선발하여 본 연구결과 다소 상이 하였는데 이는 계통간의 차이 때문일 것으로 판단된다.

표 7. 질소원에 따른 균사생장정도

(단위 : mm, mg/14일)

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | | | | | 균체중량(mg) | | | | | | | |
|----------|------------|-----|------|------------|-------------|------------|------------|------------|----------|------|------------|-------------|------------|------------|--|--|
| | Y. extract | Pep | Tryp | A. nitrate | A. tartrate | P. nitrate | S. nitrate | Y. extract | Pep | Tryp | A. nitrate | A. tartrate | P. nitrate | S. nitrate | | |
| 앞새1호 | 62 | 69 | 57 | 20 | 12 | 22 | 56 | 107 | 119 | 102 | 30 | 26 | 33 | 42 | | |
| KME44001 | 63 | 78 | 65 | 37 | 18 | 23 | 51 | 88 | 117 | 79 | 18 | 26 | 9 | 25 | | |
| KME44002 | 69 | 72 | 75 | 34 | 26 | 11 | 48 | 130 | 131 | 119 | 24 | 20 | 37 | 32 | | |
| KME44003 | 58 | 69 | 59 | 21 | 15 | 9 | 47 | 73 | 115 | 107 | 25 | 18 | 21 | 21 | | |
| KME44004 | 61 | 71 | 58 | 26 | 12 | 13 | 48 | 64 | 113 | 98 | 19 | 27 | 13 | 37 | | |
| KME44006 | 70 | 69 | 71 | 12 | 15 | 14 | 50 | 112 | 119 | 86 | 35 | 27 | 33 | 98 | | |
| KME44007 | 54 | 73 | 61 | 26 | 17 | 10 | 50 | 89 | 111 | 109 | 27 | 10 | 22 | 66 | | |
| KME44008 | 66 | 69 | 68 | 27 | 18 | 18 | 49 | 112 | 100 | 72 | 11 | 15 | 20 | 16 | | |
| KME44009 | 60 | 69 | 64 | 33 | 18 | 13 | 61 | 115 | 116 | 101 | 17 | 20 | 25 | 30 | | |
| KME44010 | 71 | 77 | 75 | 35 | 20 | 22 | 63 | 117 | 137 | 102 | 30 | 18 | 25 | 43 | | |
| 계 | 63b | 72a | 65b | 27d | 17e | 16e | 52c | 100a | 117a | 97ab | 23c | 20c | 24c | 35c | | |

Y. extract : yeast extract, Pep : peptone, Tryp : tryptone, A. nitrate : ammonium nitrate, A. tartrate : ammonium tartrate, P. nitrate : potassium nitrate, S. nitrate : sodium nitrate

〈시험 4〉 적정 C/N율 구명

균사체 생장을 위한 C/N율을 검정한 결과(표 8), C/N율 20에서 균사생장이 가장 우수하였으며, C/N율이 증가함에 따라 모든 계통의 균사생육은 감소하는 것으로 나타났다. C/N율 10에서는 5계통(앞새1호, 44001, 44003, 44006, 44010), 20에서는 3계통(44002, 44008, 44009), 30에서는 2계통(44004, 44007)의 균사생장이 우수하였으며, 계통중에서는 44002계통의 균사생장이 125mm, 균체중량이 125mg으로 각각 가장 우수하였다.

표 8. C/N율에 따른 균사생장정도

| 구 분 | 균사생장정도(mm) | | | | | | | | 균체중량(mg) | | | | | | | |
|----------|------------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|----------|------|-----|------|------|------|------|-----|
| | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 |
| 앞새1호 | 63 | 68 | 72 | 62 | 60 | 65 | 54 | 46 | 56 | 125 | 85 | 101 | 98 | 65 | 31 | 16 |
| KME44001 | 58 | 61 | 70 | 55 | 58 | 64 | 50 | 41 | 31 | 72 | 53 | 69 | 37 | 38 | 37 | 36 |
| KME44002 | 71 | 71 | 125 | 64 | 66 | 62 | 54 | 45 | 74 | 106 | 125 | 55 | 53 | 42 | 27 | 41 |
| KME44003 | 61 | 62 | 68 | 61 | 53 | 64 | 54 | 43 | 80 | 57 | 39 | 35 | 38 | 35 | 32 | 17 |
| KME44004 | 59 | 62 | 65 | 58 | 58 | 64 | 53 | 36 | 32 | 33 | 51 | 54 | 40 | 26 | 25 | 18 |
| KME44006 | 68 | 71 | 73 | 64 | 63 | 67 | 55 | 45 | 58 | 63 | 53 | 47 | 44 | 29 | 50 | 20 |
| KME44007 | 58 | 54 | 56 | 50 | 48 | 57 | 44 | 32 | 42 | 67 | 69 | 78 | 28 | 42 | 60 | 56 |
| KME44008 | 61 | 67 | 72 | 64 | 66 | 65 | 55 | 47 | 41 | 41 | 63 | 23 | 47 | 34 | 30 | 24 |
| KME44009 | 57 | 62 | 65 | 61 | 61 | 63 | 51 | 41 | 64 | 57 | 103 | 58 | 56 | 28 | 27 | 27 |
| KME44010 | 65 | 68 | 74 | 63 | 66 | 66 | 55 | 44 | 39 | 42 | 30 | 32 | 31 | 61 | 26 | 27 |
| 계 | 62b | 65ab | 69a | 60b | 61b | 64ab | 52c | 42d | 51ab | 66ab | 67a | 55ab | 47ab | 50ab | 34ab | 28b |

〈시험 5〉 우량균주 선발 시험

각 균주별 배양특성을 조사한 결과(표 9), 배양일수는 전반적으로 28일에서 30일 정도로 나타났으나, KME44026계통은 배양이 완료되지 못하였다. 배양율은 44026계통만을 제외하면 98%이상으로 전반적으로 우수하였다. 44001, 44008, 44009계통은 균사밀도 및 균사배양특성이 우수한 것으로 조사되었다. 그러나 44017, 44020, 44021, 44028, 44030계통은 배양과정중에 황색 결로수가 발생하였으며, 44035계통은 배지표면의 갈변증상이 나타나기도 하였다.

표 9. 균주별 배양특성

| 처리내용 | 배양일수(일) | 후숙(일) | 배양율(%) | 균사밀도 |
|----------|---------|-------|--------|-------|
| KME44001 | 28 | 10 | 98 | +++ J |
| KME44008 | 30 | 10 | 100 | +++ |
| KME44009 | 30 | 10 | 100 | +++ |
| KME44017 | 28 | 10 | 100 | ++ |

| 처리내용 | 배양일수(일) | 후숙(일) | 배양율(%) | 균사밀도 |
|----------|---------|-------|--------|------|
| KME44020 | 30 | 10 | 100 | ++ |
| KME44021 | 28 | 10 | 100 | ++ |
| KME44026 | 미배양 | - | 0 | - |
| KME44028 | 28 | 10 | 100 | +++ |
| KME44030 | 30 | 10 | 100 | ++ |
| KME44035 | 28 | 10 | 100 | + |

↓ 균사밀도 + : 낮음, ++ : 보통, +++ : 높음

※ 배양조건 : 온도 : 20±1℃, 습도 : 65%

계통별 생육특성 및 자실체 특성은 표 10과 같다. 초발이 소요일수는 KME44028계통이 5일로 가장 빨랐으며 나머지 계통은 7일~9일이었다. 생육일수는 44028계통이 13일로 가장 짧았으며, 44009번 계통이 15일, 44008계통이 19일 순이었다. 전체적인 재배일수는 44028계통이 56일로 가장 짧아 접종부터 수확까지 두 달 내에 재배완료 가능하였으며, 44009계통은 62일로 다른 계통들의 66~70일에 비해 상대적으로 빠른 것으로 조사되었다. 자실체 특성에 있어서 44008, 44009, 44020계통은 다발 직경과 높이가 각각 176.2~

표 10. 계통별 생육 및 자실체 특성

| 계통 종류 | 초발이 소요 일수 (일) | 생육 일수 (일) | 재배 일수 (일) | 자실체 특성 | | | | | | | | | | | 수량 (g/ 봉지 [♯]) |
|--------------|------------------------|-----------------|-----------------|-------------------------|--------------|------------|------------|------------|-----------------|-----------|-----------|-----------------------------|------------|------------|--------------------------------|
| | | | | 다발 | | 갓 | | | 색도 [♯] | | | 물리성 | | | |
| | | | | 직경 (mm) | 높이 (mm) | 두께 (mm) | 폭 (mm) | 길이 (mm) | L | a | b | 경도 (kg/cm ²) | 응집성 (%) | 검성 (kg) | |
| KME 44001 | 9 | 21 | 68 | 185.2 a [♯] | 99.5 bc | 1.45 bc | 24.7 c | 15.6 d | 65.7 a | 2.45 d | 15.9 c | 19.6 b | 81.0 a | 4.2 a | 356.7 a |
| KME 44008 | 8 | 19 | 67 | 189.7 a | 114.1 a | 1.56 ab | 23.4 c | 17.0 cd | 64.3 ab | 3.42 c | 17.4 b | 26.0 a | 84.2 a | 4.2 a | 342.2 ab |
| KME 44009 | 7 | 15 | 62 | 183.9 a | 107.6 ab | 1.64 a | 46.3 a | 29.8 a | 58.6 d | 1.90 e | 12.5 f | 6.0 e | 72.4 b | 1.3 b | 327.5 abc |
| KME 44017 | 7 | 21 | 66 | 170.2 b | 105.2 abc | 1.39 dc | 24.0 c | 18.3 bc | 58.4 d | 3.65 b | 17.9 a | 26.2 a | 80.0 a | 4.0 a | 301.7 dc |
| KME 44020 | 7 | 20 | 67 | 176.2 ab | 108.5 ab | 1.49 bc | 25.4 bc | 17.5 c | 62.7 bc | 1.61 f | 13.3 e | 16.3 cd | 81.2 a | 4.1 a | 343.9 ab |
| KME 44021 | 7 | 21 | 66 | 169.6 b | 109.8 ab | 1.31 de | 24.8 c | 18.4 bc | 62.5 c | 2.51 d | 16.3 c | 14.5 d | 76.5 ab | 4.1 a | 312.4 bdc |
| KME 44028 | 5 | 13 | 56 | 164.6 b | 94.9 c | 1.26 e | 24.9 c | 17.4 c | 56.0 e | 2.61 d | 15.1 d | 18.2 bc | 78.2 ab | 4.2 a | 291.2 d |
| KME 44030 | 8 | 22 | 70 | 168.6 b | 103.1 bc | 1.45 bc | 27.2 b | 19.4 b | 55.0 e | 4.41 a | 16.9 b | 19.4 b | 81.1 a | 4.1 a | 283.9 d |

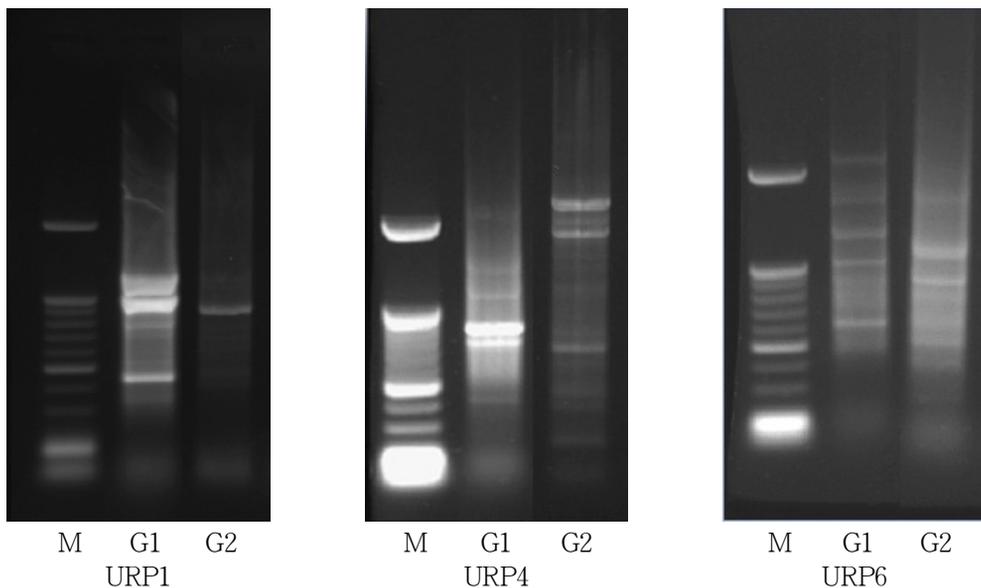
↓ DMRT at 5% level, ♯ L : 명도, a : 적색도, b : 황색도, ♯ 배지무게 : 1.5kg

※ 생육조건 : 온도 : 15±1℃, 습도 : 95%, CO₂농도 : 500±50ppm, ※ 배지무게 : 1.5kg

189.7mm, 107.6~114.1mm로 다른 계통보다 자실체 다발직경이 컸으며, 갓 크기에 있어서는 44009계통이 다른 계통에 비해 갓의 두께, 폭, 길이가 뚜렷하게 큰 것으로 조사되었다. 갓 색과 관련한 명도(L값) 분석결과 44030, 44028계통의 명도값이 55.0, 56.0으로 각각 나타나 갓 색이 가장 진하였다. 갓의 물리성은 44009의 경도가 6.0kg/cm^2 , 응집성이 72.4% 검성이 1.3kg으로 다른 계통에 비해 현저하게 낮은 것으로 나타났다. 이는 44009계통의 갓이 내부결속력을 다지기 보다는 부피생장에 치우쳐 갓의 두께 및 크기가 신장되었을 것으로 판단되며, 잎새버섯 특유의 아삭아삭한 식감을 높여주는 요인으로 판단되었다.

이상의 결과, 44009 계통은 톱밥배지에서 균사배양이 우수하였으며, 재배기간도 62일로 다른계통에 비해 비교적 빠른 것으로 나타났다. 특히 갓이 크고 두꺼워 자실체의 형태가 균일하여 품질이 우수하며, 식감과 수량성도 뛰어나 상품성이 우수할 것으로 판단되어 참 잎새버섯으로 명명하여 2007년 국립종자관리소에 생산판매신고할 예정이다.

본 시험에서 선발된 KME44009계통과 대조품종인 잎새1호와 DNA다형성을 비교 분석한 결과, URP1, URP4, URP6 등의 primer에서 대조구와 전혀 다른 밴드양상을 나타내어서로 다른 품종임이 확인되었다(그림 1).



※ M : Mark, G1 : 잎새1호, G2 : KME44009

그림 1. KME44009와 잎새1호와 DNA 다형성 비교

4. 적 요

앞새버섯의 생리적 특성을 구명하고, 우량계통을 선발 보급하기 위하여 수집계통들의 특성검정을 수행한 결과는 다음과 같다.

- 가. 앞새버섯 수집계통의 군사생장에 적합한 배지는 PDA배지로 군사생장과 균체중량이 가장 우수하였다.
- 나. 앞새버섯의 군사배양 적온은 25℃였으며, 35℃에서는 군사생장이 억제 되었다.
- 다. KME44002 계통을 제외한 전 계통이 pH 5 보다 pH 4에서 군사생장이 우수하였다.
- 라. 군사생장에 적합한 탄소원은 glucose와 fructose, 질소원은 peptone이었으며 C/N율은 10~20으로 나타났다.
- 마. 배양일수는 28~30일 이었으며 KME44001, KME44008, KME44009 계통의 군사밀도와 군사배양이 우수하였다.
- 바. KME44028 계통의 초발이 소요일수 및 생육일수가 각각 5일, 13일로 가장 짧았으며 전체 재배기간은 56일 이었다.
- 사. 수량은 KME44001, KME44008, KME44009, KME44020 계통이 327.5~356.7g으로 유의차이가 없었으나, KME44009 계통의 갓이 크고 자실체 형태 및 품질이 균일하며 색택도 양호하여 상품성도 가장 뛰어난 것으로 판단된다.
- 아. DNA다형성 분석 결과, URP1, URP4, URP6 프라이머에서 앞새1호와 다른 밴드양상이 나타났다.

5. 인용문헌

- 정인창. 1996. 앞새버섯(*Grifola frondosa* 9006)의 군사체 배양조건. 서라벌대학 논문집. 19 : 95-109
- 정환채, 주현규. 1989. 앞새버섯 우량계통 육성과 인공재배법 개발. 농사시험연구논문집. 31 : 43-47
- 차동열, 유창현, 김광포. 최신 버섯 재배기술. 농진회(1989)
- Lee B.C., Bae J.T., Pyo H.B., Choe T.B., Kim S.W., Hwang, H.J., Yun, J.W. 2006. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme Microbial Technol.* 35 : 369-376
- Mark M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential -A review. *Altern. Med. Rev.* 6 : 48-60
- Shen, Q., Royse, D. J. 2001. Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake(*Grifola frondosa*) *Appl. Microbiol.*

Biotechnol. 57 : 74-78.

Shen, Q., Royse, D. J. 2002. Effects of genotypes of maitake(*Grifola frondosa*) on biological efficiency, quality and crop cycle time. 58 : 178-182.

6. 연구결과 활용제목

- 잎새버섯 신품종 「참잎새」 육성(생산판매신고, 2007)