

사업구분 : 수탁연구	Code 구분 : LS0212	버섯(전반기)
연구과제 및 세부과제명	연구기간	연구책임자 및 참여연구원(☎)
앞새버섯 재배법 확립연구	'05~'08	경기도원 버섯연구소 주영철(229-2601)
적합배지개발 시험	'05~'06	경기도원 버섯연구소 김정환(229-6126) (참여연구원) 원선이, 서건식, 지정현, 주영철
색인용어	앞새버섯, 적합배지, 이화학적, 수량	

ABSTRACT

This study was carried out to develop artificial culture method of *Grifola frondosa* in polypropylene bag. To find out the suitable medium composition of *G. frondosa*, physicochemical conditions were investigated. The T2 formulation(55 : 25 : 8 : 12 mixing ratio of oak sawdust, oak chip, wheat bran and soybean cake) showed the shortest time to complete the crop cycle and the highest yields(weight of fresh mushrooms harvested at maturity). Those physicochemical conditions were 4.3 of pH, 2.4% of crude oil contents, 54.1% of total carbon, 1.42% of total nitrogen, 38.1 of C/N ratio, 75.5% of porosity and 0.21g/cm³ of bulk density. Among the physicochemical factors, pH, crud oil and total nitrogen may affect mushroom yield. Therefore, development of suitable medium would benefit from increased production efficiency of *G. frondosa* mushrooms and be commercial potential.

Key words : *Grifola frondosa*, Artificial cultivation, Yield, Suitable medium

1. 연구목표

건강과 참살이에 대한 관심은 고조되고 있는 가운데 인삼이나 베이비 채소와 같은 기능성 농산물의 소비는 꾸준히 증가하고 있다. 앞새버섯은 식용이면서 약리작용이 뛰어난 기능성 버섯으로 인체의 면역세포를 조절하여 면역력을 증가시키고(Wu 등, 2006), 암세포에 대하여 기존의 화학치료제와 병행시 부작용을 줄이면서 효과적으로 암세포를 억제하였으며(Kodama 등, 2005) 그 밖에도 AIDS 원인균인 HIV에 대한 억제작용(Nanba 등, 2000), 혈당강하작용(Nadeem 등, 2002), 혈압강하작용(Choi 등, 2001) 등이 있는 것으로 알려져 있다. 한편, 기존 버섯유래의 항암제(구름버섯: Krestin, 표고버섯: Lentinan, 치마버섯: Shizophyllan)들은 경구투여보다는 주사제에 의해 효과가 있다고 알려져 있으나, 앞새버섯

유래의 항암제(MD fraction)는 특이한 분자 고리에 의해 경구투여로도 효과가 있다고 알려지면서 기능성 버섯으로 주목 받게 되었다(Mark, 2001).

앞새버섯은 1981년에 일본에서 325톤이 상업적으로 생산된 이후, 그 생산량이 꾸준히 증가하여 1985년에 1,500톤, 1991년에 8,000톤, 1993년에 10,000톤을 넘어 현재는 전세계적으로 거의 40,000톤 이상 생산되고 있다(Shen과 Royse, 2001). 우리나라에서도 1989년에 앞새버섯 우량계통인 앞새1호가 육성되고 인공재배법이 개발되었으나(정과 주, 1989), 균배양율이 낮고 수량성이 낮아 농가에 보급되지는 못하였다. 그러나 최근 느타리버섯, 팽이버섯 등 일부품종의 생산비중이 급격히 증가하여 농가 수취가격이 하락하고 있어 재배버섯의 다양화가 요구되고 있으며, 그 중에서 생산·소비자의 관심이 높은 앞새버섯의 안정 생산법을 확립하기 위해서 본 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

가. 종균 및 접종원 제조

본 시험에 사용된 균주는 버섯연구소의 수집균주(*Grifola frondosa*, KME44009)를 공시균주로 PDB(Potato Dextrose Broth) 배지에서 증식시키면서 액체종균용 접종원으로 사용하였다. 액체종균은 배지조성은 표 1과 같이 제조하여 18ℓ 내열성 배양병에 담아 121℃에서 20분간 멸균한 후 접종원을 첨가하여 약 10일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다.

표 1. 액체종균용 배지조성

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

나. 배지제조 및 접종

봉지재배에 적합한 배지조성을 찾기 위하여 참나무톱밥, 참나무칩, 미루나무톱밥, 콘코브를 주재료로, 영양원으로는 밀기울, 미강, 건비지, 옥수수피를 사용하여 표 2와 같이 5조합을 만들어 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 막는다. 입봉이 완료되면 배기를 시켜가면서 살균을 실시하는데 121℃ 도달 후에 60분 이상 유지하였다. 살균을 완료한 배지는 냉각실에서 배지온도를 25℃이하로 냉각한 후 액체종균 접종기를 이용하여 봉지당 20ml씩 분주하면서 접종하였다.

표 2. 혼합배지의 주재료와 영양원의 조성비율

처 리	주재료				영양원			
	참나무톱밥 ^ㄱ	참나무칩 ^ㄴ	미루나무톱밥	콘코브	밀기울	건비지	옥수수피	미강
T1	75	-	25	-	-	-	-	15
T2	55	25	-	-	8	12	-	-
T3	55	25	-	-	14	-	6	-
T4	30	30	-	20	-	-	-	20
T5	65	25	-	-	-	7	-	3

ㄱ 참나무톱밥 입자크기별 조성비 : 1mm이하 18%, 1~2mm 64%, 2~4mm 36%

ㄴ 참나무칩 입자크기별 조성비 : 1mm이하 8%, 1~2mm 24%, 2~4mm 52%, 6mm이상 16%

다. 배양 및 생육관리

종균접종이 완료된 배지는 배양실로 옮겨 20℃의 온도에서 소량의 환기를 시켜가면서 습도를 60~70% 유지하면서 배양한다. 원기가 형성된 배지는 생육실로 옮겨 원기형성부위의 봉지를 칼로 도려내어 자실체의 발생을 유도하였다. 이때 실내온도는 15℃, 습도는 95% 이상, CO₂ 농도는 1000ppm이 넘지 않도록 조절하여 생육을 실시하였다.

라. 배지의 이화학성 분석

배지재료 및 혼합배지의 수분함량은 105℃ 건조중량법으로, pH는 배지재료와 증류수를 1 : 10의 무게비로 혼합하여 1시간 동안 정치한 후 pH meter(MeterLab Ion 450)로 측정하였다. 수집된 배지재료들에 대한 성분분석을 위해 시료를 건조하여 분쇄해서 총탄소는 회화법으로, 총질소 함량은 단백질 자동분석기를(Buchi B-324)를 이용한 Kjeldahl법으로 정량분석 하였다. 또한 조지방 함량은 조지방 자동분석기(Soxtherm 416)를 이용하여 soxhlet법으로 분석하였으며, 배지의 공극률과 용적밀도는 100mL 코아용기를 이용하여 측정하였다.

마. 배양 및 생육특성 조사

배양 및 생육특성은 느타리버섯의 배양 및 생육조사 기준과 농촌진흥청 표준조사법에 준하여 실시하였으며, 잎새버섯의 특성에 맞게 일부 변형하여 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

배지재료의 화학적 특성은 표 3과 같다. 주재료 중에서는 참나무톱밥과 참나무칩의 pH가 각각 3.4, 3.5로 낮았고, 미루나무톱밥은 7.4로 다소 높았다. 영양원 가운데는 건비지와 옥수수피의 pH가 각각 4.7, 4.8로 낮았으며 미강과 밀기울은 각각 6.3, 6.4이었다. 조지방

함량은 톱밥의 종류에 관계없이 0.2~0.3% 수준이었고, 영양원 중에서는 미강이 17.1%로 가장 높은 함량을 보여주었으며, 건비지(4.8%), 밀기울(4.1%), 옥수수피(3.9%)순으로 나타났다. 주재료의 총탄소 함량과 총질소 함량의 유의적인 차가 없었으나, 영양원 가운데 총탄소 함량은 옥수수피(54.2%)>건비지(53.7%)>미강(51.4%)>밀기울(52.9%)순이었으며, 총질소 함량은 건비지(3.2%)>밀기울(2.5%)>미강(2.3%)>옥수수피(1.5%)순으로 나타났다.

표 3. 배지재료별 화학적 특성

배지종류	pH	조지방(%)	T-C(%)	T-N(%)	C/N	
주재료	참나무톱밥	3.4	0.2	55.3	0.2	276
	참나무칩	3.5	0.3	54.9	0.2	274
	미루나무톱밥	7.4	0.2	55.0	0.2	275
	콘 코 브	5.1	0.4	54.3	0.4	135
영양원	건 비 지	4.7	4.8	53.7	3.2	16
	옥수수피	4.8	3.9	54.2	1.5	36
	미 강	6.3	17.1	51.4	2.3	22
	밀 기 울	6.4	4.1	52.9	2.5	21

표 4는 혼합배지 처리별 이화학적 특성을 나타내었다. 혼합배지의 pH는 참나무톱밥과 참나무칩만을 주재료로 사용된 T2, T3, T5가 각각 4.4, 4.6, 4.3으로 pH가 낮았으나 T1과 T4는 각각 5.3, 5.9로 상대적으로 높게 나타났다. 일반적으로 pH는 균사의 생장에 관여하는 중요한 요소로서 잎새버섯은 pH 4~5에서 균사생장이 양호한 것으로 알려져 있는데, T2, T3, T5의 pH가 최적범위 내에 포함되는 것으로 나타났다. 한편, T1과 T4의 pH가 높게 나타난 이유는 pH가 비교적 높은 원재료인 미루나무톱밥(7.4), 콘코브(5.1), 미강(6.3)에 의해 pH도 함께 높아진 것으로 추정된다.

조지방 함량은 주로 미강이 많이 함유된 처리구에서 상대적으로 높게 나타났으며 T4가 6.6%로 가장 많이 함유 되었다. 총탄소 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 총질소 함량은 건비지와 밀기울이 사용된 T2가 1.42%로 가장 높았으며 T1(0.92%), T5(0.89), T4(0.85), T3(0.74)순으로 나타났다. 배지의 C/N율은 자실체의 형성과 수율에 영향을 주는 것으로, 일반적으로 C/N율이 낮을수록 부식속도가 빠르다고 한다(Philippoussis 등, 2002). 우리의 잎새버섯 10계통의 생리실험결과도 C/N율 10~20에서 균사생장이 양호한 것으로 나타나, 영양원 요구도가 비교적 높은 것으로 조사되었다. 혼합배지의 C/N율 분석 결과 T2가 38.1로 가장 낮게 조사되어 영양원의 비율이 다른 처리구보다 높은 것으로 나타났다. T1(58.4), T5(61.1), T4(63.1), T3(73.5) 순으로 조사되었다. 주재료 형태와 공극률을 또한 균사의 배양기간에 직접적으로 영향을 주는 것으로 알려져 있는데(Philippoussis

등, 2002), 혼합배지의 물리성 분석결과 T1(대조구)의 공극률이 73.1%로 참나무칩이 첨가된 T2, T3, T4, T5 처리구보다 상대적으로 낮았다. 또한 용적밀도는 참나무칩 첨가구(T2~T5)가 0.21g/cm³로 T1의 0.23g/cm³에 비해 가벼운 것으로 나타났다. 이상의 결과, T2의 배지조성이 다른 처리구보다 잎새버섯의 균사생장에 더 적합한 것으로 생각된다.

표 4. 혼합배지 종류별 화학적 특성

배지 종류	수분 (%)	pH	조지방 (%)	T-C (%)	T-N (%)	C/N	공극률 (%)	용적밀도 (g/cm ³)
T1	63.5	5.3	4.8	53.7	0.92	58.4	73.1	0.23
T2	60.0	4.4	2.4	54.1	1.42	38.1	75.5	0.21
T3	62.8	4.6	1.3	54.4	0.74	73.5	75.0	0.21
T4	60.6	5.9	6.6	53.6	0.85	63.1	74.0	0.21
T5	60.4	4.3	1.8	54.4	0.89	61.1	73.3	0.21

혼합배지의 배양중 배지내부의 온도변화는 그림 1과 같다. 배양 초기의 온도는 20℃이었으나 균사의 배양이 진전됨에 따라 모든 처리구의 온도가 서서히 올라가 12일째 23℃에 도달하여 유지되다가 15일을 기점으로 다시 낮아지는 경향을 보였다. 균사배양중 배지품온의 상승은 균사가 배지내 양분을 흡수, 분해하면서 발생하는 에너지 때문이며, T2의 배지품온의 상승이 높았던 것은 균사배양이 다른 처리구보다 활발하게 이루어졌기 때문으로 여겨진다.

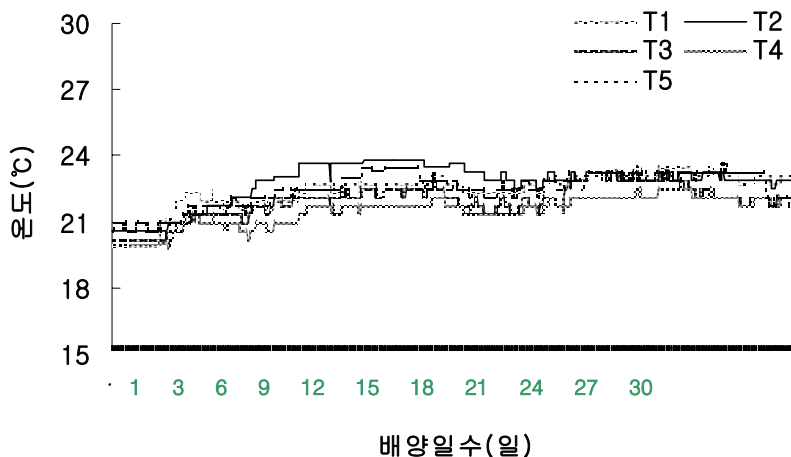


그림 1. 혼합배지 종류별 배양중의 온도변화

혼합배지 종류별 배양 및 생육특성은 표 6과 같다. 배양일수는 T2와 T5가 41일로 가장 짧았으나 이에 비해 대조구(T1)는 47일로 6일 가량 늦은 것으로 조사되었다. 배양을 또한 T2와 T5가 각각 98.0%, 95.0%로 양호하였으나, 대조구(T1)는 42.5%로 잎새버섯의 균사 배양이 원활하지 않음을 알 수 있었다. 초발이 소요일수는 T2가 8일로 가장 짧았으며 T5는 9일, T3은 12일, T1은 15일 순이었으나, T4는 발이가 되지 않았다. 일반적으로 발이과정은 영양생장을 계속한 2핵 균사가 영양원, 광, 온도 등의 자극을 받아 자실체 원기를 형성한다고 알려져 있는데, 버섯 발생에 필요한 물질을 T4배지에서 충분히 공급받지 못해 발이가 진행되지 않은 것으로 생각된다. 전체적으로 재배일수는 T2가 66일로 대조구(T1)의 79일 보다 약13일 정도 단축된 것으로 나타났다. 배지종류별 자실체 특성은 갓 크기에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 T2와 T5의 다발 크기가 대조구(T1) 다발보다 큰 것으로 나타났다. 수량은 1.5kg 봉지에서 T2가 338.0g, T5가 234.8g, T3가 205.4g, T1이 145.2g 순으로 나타났으며, T2가 T1(대조구) 보다 약2.2배 이상 증수되는 것으로 나타났다.

표 6. 혼합배지 종류별 배양 및 생육특성

처리 종류	배양 일수 (일)	배양율 (%)	초발이 소요 일수 (일)	생육 일수 (일)	재배 일수 (일)	자실체 특성					수 량 (g/봉지)
						다 발		갓			
						직경 (mm)	높이 (mm)	두께 (mm)	폭 (mm)	길이 (mm)	
T1	47	42.5	15	17	79	128.8	92.8	1.1	38.7	26.7	145.2d [↓]
T2	41	98.0	8	17	66	152.0	111.8	1.6	35.2	23.3	338.0a
T3	45	77.5	12	18	75	149.8	84.9	1.2	31.8	22.1	205.4c
T4	44	72.5	미발이	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	41	95.0	9	18	68	159.8	84.5	1.5	30.8	23.9	234.8b

↓ DMRT at 5%

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

※ 봉지구격 : 1.5kg

배지의 이화학적 특성중 버섯수량에 가장 영향을 주는 요인을 찾고자 상관분석을 실시한 결과(표 7), 버섯수량에 pH가 가장 높은 상관($r=-0.92$)을 보였으며, 조지방함량($r=-0.83$)과 질소함량($r=-0.64$)순으로 나타났다. 한편, 우리의 잎새버섯 수집 10계통(KME44001~44010)의 생리실험결과 pH는 4.0~5.0으로 약산성에서 균사생장이 우수하였으며, 최적 C/N을 범위도 10~20으로 영양원의 요구도가 다소 높은 것으로 조사되었다. 이상의 결과를 종합해보면 T2 배지조성이 pH 4.4, 조지방함량 2.4%, C/N율 38.1로서 다른 처리구의 배지조성보다 균사생장에 더 적합하였기에 수량성에 영향을 끼친 것으로 판단된다.

표 7. 배지의 이화학적 성분과 수량과의 상관관계 분석

pH	조지방	질소	C/N	용적밀도	공극률
-0.92	-0.83	0.641	-0.55	-0.43	0.48

재배기간이 짧고 수량성이 우수한 T2배지와 관행의 배지로 알려진 T1을 대조로 경제성을 분석한 결과는 표 8과 같다. T1과 T2의 재배기간 각각 79일, 66일을 기준으로 1일 1,000봉씩 재배시 T1은 연4.9회 재배가 가능하였으며, T2의 재배기간은 약0.9회 증가하여 연5.5회 재배가 가능하였다. 봉지당 수량 T1(145.2g)과 T2(338.0g) 차이에 기인한 연간 생산량도 T1의 710kg에 비해 T2는 1,656kg으로 약 946kg 증수되는 효과가 있었다. 위의 두 가지 이익적 요소에서 배지재료비의 상승에 따른 손실적 요소를 뺀 결과 연간 12,471천원의 수익이 발생하였으며, 앞새버섯이 안정생산이 가능함에 따라 버섯 농가의 새로운 소득 작목으로 개발이 가능하리라 생각된다.

표 8. 경제성 분석

(단위 : 천원/1,000봉지/년4.9회)

손실적 요소(A)	이익적 요소(B)
○ 경영비 증가(배지재료비 증가) - 2,062천원-2,031천원=31,000원	○ 연간 재배횟수 : 4.9회→5.5회(0.9회 증가) - 3,380천원×0.9회=3,042천원 ○ 수량증수 : 710kg→1,656kg(946kg증수) - 946kg×10,000원=9,460천원
소 계 : 31,000원	소 계 : 12,502,000원
추정수익액(B-A) = 12,471,000원	

* 앞새버섯 1kg 가격 : 10,000원 기준

4. 적 요

앞새버섯의 안정생산을 위한 적합배지를 선별하기 위하여 주재료로 참나무톱밥 등 4종, 영양원으로 미강 등 4종을 5조합하여 적합배지를 개발하고자 하였다. 배지재료 및 종류별 이화학적특성을 분석하고 수량성을 조사한 결과는 다음과 같다.

- 가. 배지재료별 pH는 참나무톱밥과 참나무칩이 3.4~3.5, 건비지와 옥수수피가 각각 4.7과 4.8로 나타났고, 미강의 조지방 함량이 17.1%로 건비지, 옥수수피 밀기울에 비해 상대적으로 높았으며, 질소함량은 건비지 3.2%, 밀기울 2.5%, 미강 2.3% 순으로 나타났다.
- 나. 혼합배지 종류별 pH는 T2, T3, T5가 4.3~4.6으로 T1, T4에 비해 낮았으며, 조지방 함량은 미강의 함량이 많은 T4가 높았고, 상대적으로 T2의 질소함량이 높아 낮은 C/N율을 나타냈다.

- 다. 혼합배지 종류별 용적밀도는 T1이 0.233g/cm³로 T2~T5의 0.205~0.214g/cm³에 비해 높았으나, 공극률은 처리간의 유의적인 차이가 나타나지 않았음.
- 라. 배양일수는 T2, T5가 26일로 T1(관행)에 비해 6일 짧았으며, 배양율도 각각 98, 95%로 우수하였다.
- 마. T2의 초발이소요일수가 8일로 관행의 15일보다 7일 짧아 전체 재배일수가 13일 단축되었으며, 수량은 338g/1.5kg봉지로 관행 대비 2.3배 증수되었다.
- 바. 배지의 이화학적 특성중 수량에 영향을 미치는 요인을 찾기위해 상관분석을 실시한 결과 pH, 조지방함량, 질소함량 순으로 나타났다.
- 사. T2의 배지조성과 관행구(T1)와의 경제성분석결과 연간 재배횟수와 수량성에서 이익적 요소가 발생하여 연12,471천원의 수익이 발생하였다.

5. 인용문헌

- 정인창. 1996. 잎새버섯(*Grifola frondosa* 9006)의 균사체 배양조건. 서라벌대학 논문집. 19 : 95-109
- 정환채, 주현규. 1989. 잎새버섯 우량계통 육성과 인공재배법 개발. 농사시험연구논문집. 31 : 43-47
- 차동열, 유창현, 김광포. 최신 버섯 재배기술. 농진회(1989)
- Choi, H.S., Cho, H.Y., Yang, H.C., Ra, K.S., Suh, H.J. 2001. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Res. Intl.* 34 : 177-182
- Fukushima, M., Ohashi, T., Fujiwara, Y., Sonoyama, K., Nakano, M. 2001. Cholesterol-lowering effects of maitake(*Grifola frondosa*) fiber, shitake(*Lentinula edodes*) fiber, and enokitake(*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Soc. Exp. Biol. Med.* 226 : 758-765
- Kodama, N., Murata, Y., Asakawa, A., Inui, A., Hayashi, M., Sakai, N., Nanba, H. 2005. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice. *Nutrition*, 21 : 624-629
- Nanba, H., Kodama, N., Schar, D., Turner, d. 2000. Effects fo maitake(*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycosci.* 41 : 293-295.
- Mark, M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential -A review. *Altern. Med. Rev.* 6 : 48-60
- Phillippoussis, A., Diamantopoulou, P., Zervakis, G. 2002. Monitoring of mycelium growth and fructification of *Lentinula edodes* on several lignocellulosic residues. In : Sanchez, J.E., Huerts, G., Montiel, E.(Eds.), *Mushroom Biology and Mushroom*

- products. UAEM, Cuernavaca, Mexico, pp.279-287
- Phillippoussis, A., Diamantopoulou, P., Zervakis, G. 2003. Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shitake mushroom *Lentinula edodes*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19 : 551-557
- 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.
- Wu, M.J., Cheng, T.L., Cheng, S.Y., Lian, T.W., Wang, L., Chiou, S.Y. 2006. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 2906-2914

6. 연구결과 활용제목

- 잎새버섯 재배에 적합한 배지조성(영농활용, 2007)