

과제구분	기본	수행시기		전반기	
연구과제 및 세부과제	연구분야	수행기간	연구실	책임자	
소득유망버섯 육성 및 부가가치 향상 기술 개발	버섯	'21~	친환경미생물연구소 버섯연구팀	김연진	
우유(밀키)버섯 안정생산기술 개발	버섯	'23	친환경미생물연구소 버섯연구팀	최준영	
색인용어	신소득, 신품목, 안정생산, 우유버섯, 재배기술				

ABSTRACT

This study was conducted to establish mass cultivation and stable cultivation technology of milky mushroom(*Calocybe indica*). The results of a test to review the conditions for mycelium culture of milky mushrooms and develop a cultivation method that can stably produce fruiting bodies are as follows. As a result of mycelial culture for 6 days at 30°C temperature treatment, mycelial growth was the fastest among the treatments at 71.9 mm for 'KME80234', 77.4 mm for 'KME80487', and 60.1 mm for 'KME80488'. For 14 days in pH 7 culture medium, the amount of mycelial growth among treatments was the highest at 0.056 g for 'KME80234', 0.061 g for 'KME80487', and 0.058 g for 'KME80488'. For 8 days in 5 types of media, mycelial growth was the fastest for 'KME80234' (75.1 mm) and 'KME80487' (73.9 mm) on MCM medium, and 'KME80488' (73.1 mm) on MYP medium. Therefore, the appropriate culture conditions for milky mushrooms are temperature 30° C, pH 6-7, MCM and MYP medium was judged to be suitable. As a result of the cultivation test in growth room, fruiting bodies were generated in the strains 'KME80234' and 'KME80487', and there was no significant difference in the number of fruiting bodies depending on the cultivation method. 'KME80234' strain had the highest biological efficiency of 79.6% in box cultivation, and also showed a biological efficiency of 63.0% in bag cultivation. And 'KME80487' strain showed a biological efficiency of 63.2% in bag cultivation.

Key words: Cultivation technique, Milky mushroom, New income source, New item, Stable production

1. 연구목표

우유버섯(*Calocybe indica*)는 주름버섯강 주름버섯목 만가닥버섯과 밤버섯속에 속하는 고온성 열대 버섯이다. 1974년 인도에서 처음 보고되어 평균기온이 25℃에서 35℃ 사이 습한 열대 및 아열대 지역 부식질이 많은 땅에서 5-8월 우기에 발생한다고 알려져 있으며(Patel *et al.*, 2016), 자실체는 양송이처럼 유백색에 포자는 백색에 타원형으로 이 버섯이 자생하는 인도 지역에서는 ‘Kuduk’, ‘Dudhichhata’, ‘Milky mushroom’, ‘White summer mushroom’ 등 다양하게 불린다(Krishnamoorthy *et al.*, 2020). 우유버섯은 건조 버섯 100 g 기준 단백질 21.4%, 지질 4.9%, 섬유 12.9%, 회분 13.1% 및 탄수화물 48.5%를 포함하여 영양가가 매우 높은 버섯으로도 알려져 있으며(Kumar *et al.*, 2019) 저장성이 우수하여 저장 중에 갈변, 반점 등 쉽게 변질되지 않는다는 장점이 많은 버섯으로 보고된 바 있다(Krishnamoorthy *et al.*, 2003). 1997년 재배법이 소개된 이래 벚짚을 이용한 생산 기술을 시작으로 벚짚, 밀짚 등을 기질로한 재배 및 복토 재료 관련 연구가 이어지고 있으며, 우리나라에서도 균사체의 생리학적 배양적 특성에 관한 연구가 진행되었다. 그러나 대량생산을 위한 안정적인 재배기술에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 특히, 경기도 지역은 느타리, 표고 등 일부 버섯의 재배 비중이 높은데, 우유버섯 등 새로운 버섯의 소득 품목 육성을 통해 다양한 버섯을 재배할 수 있는 여건을 제공할 필요가 있다.

본 연구를 통해 우유버섯의 균사체 배양을 위한 조건을 검토하고 자실체를 안정적으로 생산할수 있는 재배방식을 구명하고자 하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 방법

가. 공시재료

본 연구의 배양 및 재배시험에 사용한 균주는 경기도농업기술원 친환경미생물연구소에서 수집하고 배양한 ‘KME80234’, ‘KME80487’, ‘KME80488’을 사용하였다.

나. 균사배양 적정 온도 선발

배양된 시험균주의 균사 선단부분을 직경 5 mm cork borer로 잘라낸 후 PDA배지에 접종하였다. 5℃ 간격으로 설정된 각각의 항온배양기에서 암배양하며 2일 간격으로 균사생장 정도를 측정하였다.

다. 균사배양 적정 pH 선발

NaOH, HCl을 이용하여 pH 3-10까지 pH 1.0 간격으로 조정된 PDB(Potato dextrose broth) 제조하여 Test tube에 분주하였다. 배양된 시험균주 균사 선단부분을 동량으로

잘라낸 후 각 Test tube에 접종하여 진탕배양기를 이용하여 25℃로 설정된 항온배양기에서 2주간 암배양하였다. 배양된 균사체를 수거하여 무게를 측정하였다.

라. 균사배양 적정 배지 선발

Cz, MCM, PDA, MYP, GPYM 5종의 배지를 petri-dish에 20 ml씩 분주하였다. 배양된 시험균주 균사 선단부분을 잘라낸 후 분주된 각 petri-dish에 접종하여 25℃로 설정한 항온배양기에서 암배양하며 2일 간격으로 균사성장 정도를 측정하였다.

표 1. 시험배지 조성

구분	배지조성(g/l)				
	Cz	MCM	PDA	MYP	GPYM
Potato	-	-	200.00	-	-
Glucose	-	20.00	20.00	-	10.00
Sugar	30.00	-	-	-	-
Malt extract	-	-	-	3.00	3.00
Yeast extract	-	2.00	-	3.00	3.00
Peptone	-	2.00	-	5.00	5.00
NaNO ₃	3.00	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1.00	1.00	-	-	-
KH ₂ PO ₄	-	0.46	-	-	-
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.50	0.50	-	-	-
KCl	0.50	-	-	-	-
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01	-	-	-	-
Agar	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00

※ Cz: Czapek Dox Agar, MCM: Mushroom Complete Media, PDA: Potato Dextrose Agar, MYP: Malt extract Yeast extract Peptone, GPYM: Glucose Peptone Yeast extract Malt extract

마. 생육배지 제조 및 접종

공시균주를 PDA(Potato dextrose agar) 배지에 접종한 후 7일 이상 배양하여 접종원 제조를 위해 사용하였다. 접종원 배지는 증류수 1 L에 KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, 설탕 30 g, 대두박 3 g을 혼합하여 삼각플라스크에 넣어 제조하였으며, 10일 이상 배양된 접종원을 생육배지에 바로 접종하거나 중균으로 활용하였다.

생육배지는 면실피와 소맥피를 8:2의 부피비 혼합 후 수분함량 65~68%로 조정하여 P.P병(1,100 ml, 입구 직경 75 ϕ)에 0.78 kg을 입병하였고, 봉지(직경 21.4 mm)는 1.2 kg을, 상자(가로 435 mm, 세로 435 mm, 높이 85 mm)는 Vinyl을 깔고 5 kg을 입봉하였다. 배지는 121°C에서 90분간 고압살균을 실시한 후 냉각실에서 15°C까지 냉각하였으며, 액체배지 내 배양된 중균을 병(15~17 ml), 봉지(26~28 ml), 상자(120~125 ml)에 접종하였다.

바. 배양 및 생육관리

접종된 생육배지는 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 설정된 배양실에서 35일간 배양 후 자실체 발이유도를 위해 부엽토를 활용하여 복토 작업을 실시하였고, 냉·난방과 공조시설을 갖춘 생육 재배실로 옮겨 자실체 발생을 유도하였다. 원기형성기까지 생육실을 온도 $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $97 \pm 2\%$ 로 설정하였고, 이 후 자실체 형태에 맞춰 온도, 습도, 환기를 조절하면서 3회 반복 재배하였다.

사. 이화학적 측정

배지의 pH는 건조 후 시료 5 g에 증류수 95 ml를 넣고 상온에서 1시간동안 침출한 뒤 Filter paper로 거른 용액을 수소이온농도측정기(Mettler Toledo FiveEasy™ Plus FEP20, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 전탄소량과 전질소량 분석을 위해 시료를 건조하여 분쇄한 뒤 원소자동분석기(Elementar vario MAX cube, Germany)를 이용하여 전탄소와 전질소 함량을 분석하고 전탄소량을 전질소량으로 나누어서 탄질비를 구하였다.

아. 생육특성 조사

자실체 생육특성 조사는 국립종자원 왕송이 품종보호 출원과 심사를 위한 특성조사 기준(2014)에 준하여 수행하였고, 개체 수량을 추가로 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 균사배양 적정 온도조건

15°C 에서 35°C 까지 5°C 씩 온도차이를 두어 6일간 균사를 배양하여 길이를 측정한 결과는 표 2, 그림 1과 같다. 시험균주 3종 모두 30°C 에서 균사생장 속도가 빨랐으며, 균주 간에는 ‘KME80234’ (71.9 mm)와 ‘KME80487’ (77.4 mm)이 ‘KME80488’ (60.1 mm)에 비해 상대적으로 균사생장이 빨랐다. 이 결과는 28°C 부터 균사생장이 왕성하다가 30-32°C 범위에서 균사생장이 가장 빨랐다는 Lee 등(2020)의 보고와 유사하였다.

표 2. 균주 및 온도처리별 균사생장 (단위: mm/6일)

구분	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
KME80234	16.2±1.9	30.8±3.1	54.5±3.8	71.9±1.6	59.1±4.8
KME80487	21.6±1.3	38.3±0.8	53.8±1.0	77.4±1.6	50.4±3.2
KME80488	11.7±1.0	18.6±5.8	44.5±2.2	60.1±1.7	11.8±1.6

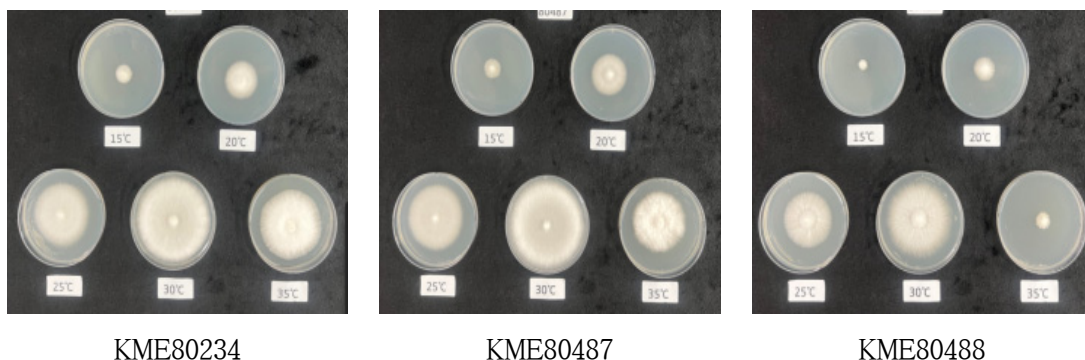


그림 1. 균주 및 온도처리별 균사생장

나. 균사배양 적정 pH

pH 3에서 pH 10까지 1의 간격으로 배양액을 제조하여 14일 배양 후 균사체 무게를 측정한 결과는 표 3, 그림 2와 같다. 시험균주 3종 모두 pH 7에서 가장 많은 균체량을 보였으며, pH 8부터 균체량이 급격히 떨어지는 경향을 보여, pH 7이 우유버섯 균사생장에 적당한 것으로 판단된다. 균주 간 균체량은 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 균사

생장이 pH 6에서 왕성하고 pH 9 이상부터 감소하였다는 보고(Lee *et al.*, 2020)와 유사한 경향을 보였다. 일부 수치 간 차이는 균사생장 정도를 측정하는 방식의 차이에서 기인한 것으로 보이며, 우유버섯 균사생장 적정 pH는 7로 판단된다.

표 3. 균주 및 pH 처리별 균사생장

(단위: g/14일)

구분	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
KME80234	0.034 ±0.004	0.040 ±0.007	0.042 ±0.010	0.046 ±0.008	0.056 ±0.012	0.042 ±0.007	0.038 ±0.007	0.038 ±0.010
KME80487	0.035 ±0.001	0.049 ±0.012	0.047 ±0.011	0.053 ±0.010	0.061 ±0.009	0.044 ±0.009	0.042 ±0.005	0.032 ±0.005
KME80488	0.037 ±0.005	0.051 ±0.005	0.048 ±0.008	0.050 ±0.004	0.058 ±0.008	0.044 ±0.007	0.043 ±0.002	0.030 ±0.009



KME80234

KME80487

KME80488

그림 2. 균주 및 pH 처리별 균사생장

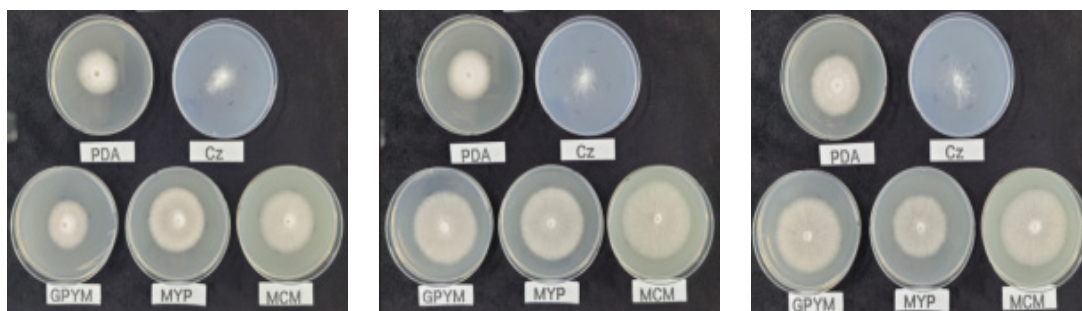
다. 균사배양 적정 배지

배지 5종에 8일간 균사배양 후 길이를 측정한 결과는 표 4, 그림 3과 같다. MCM 배지가 다양한 균주에 대해 일관된 성장 조건을 제공하는 배지로 나타났다. MCM 배지는 균주 간 성장 속도의 차이를 최소화하면서도, ‘KME80234’ 균주에서 75.1 mm/8일로 빠른 균사 성장속도를 보였다. MYP배지는 ‘KME80488’ 균주의 성장에 효과적인 것으로 나타났다. 76.2 mm/8일의 균사 성장 속도로 가장 빠르게 성장하였

고, MYP배지는 특정 균주에 적합함을 보였다. 이러한 결과는 Maltose 2%, Yeast extract 1%, NaNO₃ 0.1%, Asparagine 0.7%, Acetic acid 0.1%, MnSO₄ 0.7 mm로 구성된 MYNA배지가 PDA 배지를 활용한 배양에 비해 균사생장이 빠르다는 기존의 보고와 유사하였다(Lee *et al.*, 2020).

표 4. 균주 및 배지처리별 균사생장 (단위: mm/8일)

구분	PDA	Cz	GPYM	MYP	MCM
KME80234	47.4±5.7	68.6±4.2	42.8±9.0	55.7±3.3	75.1±4.7
KME80487	47.6±8.5	66.1±2.7	71.2±2.6	71.3±2.1	73.9±2.7
KME80488	52.5±7.4	45.6±3.0	72.1±3.1	76.2±2.6	73.1±1.4



KME80234

KME80487

KME80488

그림 3. 균주 및 배지처리별 균사생장

라. 재배방식별 자실체 특성

면실피와 소맥피를 8:2의 부피비 혼합한 생육배지는 수분함량 66.4%, pH 5.58, 총탄소함량 46.7%, 총질소함량 1.51%로 나타났으며(표 5), 병, 봉지, 상자를 활용한 재배시험 결과는 표 6, 표 7, 그림 4와 같다. 자실체 발생 및 생육 시험 결과 KME80234', 'KME80487' 균주만 병, 봉지, 상자에서 모두 자실체가 발생하였으며, KME80488 균주는 자실체가 발생되지 않았다. 발생된 자실체 평균 개체 중은 62.0-70.8 g으로 중량차이는 크지 않았으나 유효개체수가 적을수록 대가 굵고 길게 나타나는 경향을 보였다.

자실체 형태는 균주간 차이를 보였다. 'KME80234'의 자실체는 대가 굵고 갓이 둥근 형태인 반면, 'KME80487' 자실체는 상대적으로 대가 길고 갓이 오뎝한 형태였다.

재배방식별로 보았을 때, 'KME80234' 균주는 상자재배에서 생물학적 효율이 79.6%로 가장 높았으며, 봉지재배에서도 63.0%의 높은 생물학적 효율을 보였다. 반면,

‘KME80487’ 균주는 봉지재배에서 생물학적 효율이 63.2%로 상대적으로 높아 특정 균주에 최적화된 재배 방식을 통해 우유버섯의 생산을 극대화할 수 있을 것으로 보이며, 재배 방식 선택이 우유버섯의 생산성과 자실체의 특성, 그리고 경제성에 중요한 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

본 시험은 단일 생산주기를 기준으로 자실체 생산효율을 비교하였으며, 향후 생산 주기 확대, 자실체 수량 증대, 생력화 등 우유버섯의 대량재배기술 발전에 보탬이 되기를 기대한다.

표 5. 생육배지 화학성

배지조성	배지량	수분함량(%)	pH	T-C(%)	T-N(%)	C/N
면실피+밀기울 (8:2, v/v)	0.78 kg(병)					
	1.2 kg(봉지)	66.4±0.3	5.58±0.01	46.69±0.04	1.51±0.01	31.00±0.11
	5 kg(상자)					

표 6. 재배방식별 자실체 특성

구분	유양개체수 (개/용기)	개체 중량 (g)	대 길이 (mm)	대 직경 (mm)	갓 직경 (mm)	갓 두께 (mm)	
병 (0.78 kg)	KME80234	1.3±0.2	66.2±34.6	82.3±16.9	35.2±8.9	60.0±15.2	18.0±4.1
	KME80487	1.2±0.3	62.8±36.3	118.1±15.1	20.6±3.5	67.8±15.4	19.5±3.5
	KME80488	미발이 및 생육부진					
봉지 (1.2 kg)	KME80234	4.1±1.2	62.0±28.9	68.1±28.9	30.9±9.8	60.9±12.7	18.9±3.4
	KME80487	3.6±1.7	70.8±17.0	135.0±42.5	25.5±4.4	66.5±14.9	24.3±4.7
	KME80488	미발이 및 생육부진					
상자 (5 kg)	KME80234	22.0±5.2	60.8±25.3	66.7±14.3	25.4±6.9	63.0±13.8	22.1±6.2
	KME80487	11.3±6.7	69.4±19.4	120.9±11.3	23.6±1.7	65.8±10.6	25.3±2.6
	KME80488	미발이 및 생육부진					

※ 배양일수: 30일(1.1 l 병, 1.2 kg 봉지), 40일(5 kg 상자), 초발이소요일수: 13-17일, 생육기간: 초발이 후 3주 간
 ※ 생육조건: 27-31℃(온도), 97~99%(상대습도), 2,000 ppm이하(CO₂농도)

표 7. 재배방식별 생물학적 효율

구분	건배지중량 (g/용기)	생체중 (g/용기)	생물학적효율 (%)
병 (0.78 kg)	KME80234	86.1	32.8
	KME80487	262.1	75.4
	KME80488	미발이 및 생육부진	
봉지 (1.2 kg)	KME80234	254.2	63.0
	KME80487	403.2	63.2
	KME80488	미발이 및 생육부진	
상자 (5 kg)	KME80234	1337.6	79.6
	KME80487	1,680.0	46.7
	KME80488	미발이 및 생육부진	

※ 생체중: 평균 유효경수 × 평균 개체 중량, 생물학적 효율: (생체중 / 건배지 중량) × 100

※ 배지 수분함량: 66.4%

KME80234



병재배



봉지재배



상자재배

KME80487



병재배



봉지재배



상자재배

그림 4. 재배방식별 자실체 형태

4. 적요

우유(밀키)버섯의 균사체 배양을 위한 조건을 검토하고 자실체를 안정적으로 생산할 수 있는 재배방식을 구명하고자 시험을 수행한 결과는 다음과 같다.

- 가. 온도 처리별 6일 균사배양 결과 ‘KME80234’ 71.9 mm, ‘KME80487’ 77.4 mm, ‘KME80488’ 60.1 mm로 30℃ 처리에서 균사생장이 가장 빨랐다.
- 나. pH 처리별 14일 균사배양 결과 ‘KME80234’ 0.056 g, ‘KME80487’ 0.061 g, ‘KME80488’ 0.058 g으로 pH7 배양액에서 균사생장량이 가장 많았으며, 배지 조성 시 pH7이 적절한 것으로 판단된다.
- 다. 5종의 배지에서 8일 균사배양 결과 MCM배지에서 ‘KME80234’ (75.1 mm), ‘KME80487’ (73.9 mm)의 균사생장이 가장 빨랐으며, MYP배지에서 ‘KME80488’ (73.1 mm)의 균사생장이 가장 빨랐다.
- 라. 재배시험 결과 ‘KME80234’, ‘KME80487’ 균주에서 자실체가 발생하였고, 재배방식에 따른 자실체 개체수량은 큰 차이를 보이지 않았다.
- 마. ‘KME80234’ 은 상자재배에서 생물학적 효율이 79.6%로 가장 높았고, 봉지재배에서는 63.0%로 나타났으며, ‘KME80487’ 은 봉지재배에서 생물학적 효율이 63.2%로 상자재배(46.7%) 대비 높았다.

5. 인용문헌

- Krishnamoorthy AS, Muthuswamy MT, Nakkeeran S. 2000. Technique for commercial production of milky mushroom *Calocybe indica* P&C. *Indian J Mush*:18: 19-23.
- Krishnamoorthy AS. 2003. Commercial prospects of milky mushroom (*Calocybe indica*) in the tropical plains in India. In: Current vistas in Mushroom Biology and Production. (eds: R.C. Upadhyay, S. K. Singh, R. D. Rai). *J Mushroom India* 1: 131-135.
- Kumar V, Singh G, Singh S, Kannaujia JP. 2019. Effect of different inorganic and organic additives on spawn growth of two strains (CI-17-04 and CI-17-08) of milky mushroom (*Calocybe indica*). *J Pharmacognosy Phytochemistry* 8: 2716-2719.
- Lee CJ, Min GJ, Park HS, Lee EJ. 2020. Culture Characteristics and Optimal Conditions for Mycelial Growth of *Calocybe indica*. *Kor J Mycol* 48: 273-284.
- Mohit GS, Singh R, Mishra P, Singh DV, Kumar A. 2018. Effect of sugarcane leaves as substrate on production milky mushroom (CI.-16-02 and CI.-16-03). *J*

Pharmacognosy Phytochemistry 5: 523-526.

Patel P, Trivedi R. 2016. Yield performance of *Calocybe indica* on different agricultural substrates. *Int Re J En Sci* 2: 66-71.

Phutela UG, Phutela RP. 2012. Effect of physical and chemical factors on growth of *Calocybe indica* (P & C). *Int J Adv Life Sci* 2: 8-16.

Sharma SK, Lall AM. 2013. Non-enzymatic antioxidant expression and nutritional composition of *Calocybe indica* under different organic supplementations. *J cell and tissue research* 13: 3541-3544.

6. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도
						23
우유(밀키) 버섯 안정생산 기술 개발	책임자	친환경미생물연구소	농업연구사	최준영	세부과제총괄	○
	공동연구자	친환경미생물연구소	농업연구사	이채영	특성조사	○
	〃	〃	〃	김연진	성적분석	○
	〃	〃	〃	김정한	재배관리	○
	〃	〃	농업연구관	이찬중	연구자문	○
〃	〃	〃	임갑준	방향설정	○	