

이산화탄소가 잎새버섯의 자실체 발생 및 생육에 미치는 영향

지정현^{1,2} · 김정한^{2*} · 주영철² · 서건식³ · 강희완¹

¹한경대학교 생물환경 정보통신전문대학원, ²경기도농업기술원 버섯연구소, ³한국농업대학 특용작물학과

Effects of Elevated Carbon Dioxide on the Fruiting Initiation and Development of *Grifola frondosa*

Jeong-Hyun Chi¹, Jeong-Han Kim^{2*}, Young-Cheoul Ju², Geon-Sik Seo³ and Hee-Wan Kang¹

¹Graduate School of Biotechnology and Information Technology, Hankyong National University, Ansung 456-749, Korea

²Mushroom Research Station, Gyeonggi Province ARES, Gwangju, 464-873, Korea

³Department of Industrial Crop, Korea National Agriculture College, Hwaseong, 445-893, Korea

(Received May 13, 2009. Accepted May 27, 2009)

ABSTRACT: Effects of CO₂ concentration (500, 800, 1,000 and 1,500 ppm) on the initiation and development of fruit body of *Grifola frondosa* on sawdust cultivation were studied. Optimum concentrations of carbon dioxide for the initiation and development of the fruit body showed the ranges from 500 to 800 ppm. Fruit body initiation was accelerated at lower than 800 ppm CO₂ exposure but the maturing of the fruit body was not influenced by above treated CO₂ concentrations. The higher ratio of primordial formation, faster fruit body initiation and higher yield were obtained at below 800 ppm of CO₂ level, whereas over 1,000 ppm of CO₂ levels showed abnormal and lower quality of fruiting bodies. Based on the above results, it is concluded that the favorable CO₂ level for bag culture of *G. frondosa* was below 800 ppm.

KEYWORDS: CO₂ concentration, fruit body development, *Grifola frondosa*, yield

우리나라의 버섯 재배는 전통적으로 느타리, 표고, 팽이, 양송이를 중심으로 이루어져 왔으나, 소비자의 다양한 욕구와 기능성 먹거리의 선호에 따라 버섯송이, 만가닥버섯 등과 같은 다양한 식용버섯의 재배로 다변화 되어가고 있다. 또한 버섯 재배농가의 대형화, 자동화 병재배로의 전환 등으로 버섯 생산은 꾸준히 증가하는데 반해 소비는 증가하지 않아 새로운 버섯에 대한 관심이 점점 고조되고 있는 실정이다.

잎새버섯은 식용이면서 약리작용이 뛰어난 기능성 버섯으로 항암작용(Wu *et al.*, 2006; Kodama *et al.*, 2005), 항바이러스작용(Nanba *et al.*, 2000), 혈당강하작용(Talpur *et al.*, 2002), 혈압강하작용(Choi *et al.*, 2001), 콜레스테롤 억제작용(Fukushima *et al.*, 2001), 항산화작용(Mau *et al.*, 2002) 등의 기능성이 보고된 바 있고, 주산지인 일본에서는 1990년대 후반부터 생산과 소비가 꾸준히 증가하고 있다.

우리나라에서도 1989년에 잎새버섯 우량계통인 '잎새1호'가 육성되었고 인공재배법이 개발되었으나(정과 주, 1989), 재배용 배지에서 균사 생장률과 수량성이 낮아 농가에 널리 보급되지는 못하였다. 또 본 연구진은 2005년

부터 잎새버섯의 안정생산을 위한 재배연구를 수행하여 2007년에 다수확 우량계통인 '참잎새'를 육성하고(김 등, 2006), 봉지재배용 적합배지를 개발하여 보급하였으나(김 등, 2008), 국내에서 대량생산을 위한 재배환경연구가 미비하여 농가 보급 및 확대에 한계가 있었다.

담자균류의 자실체 형태형성 즉, 자실체의 발생과 생육은 유전적인 요인과 더불어 광, 온도, 대기 중의 상대습도와 이산화탄소의 농도 등 환경요인의 영향을 크게 받는다. 특히 이산화탄소의 농도는 담자균류의 자실체 발생과 형태형성에 영향을 주어 버섯의 품질을 결정하는 중요한 요인이 되기도 하는데 특히 고농도의 이산화탄소에 노출되면 기형버섯이 발생하기도 한다(Tschierpe, 1959; Niederpruem, 1963; Tschierpe and Sinden, 1964; Taber, 1966; Long and Jacobs, 1974; Kinugawa *et al.*, 1986, 1994). Ingold와 Nawarz(1967)는 *Sphaerobolus stellatus*의 경우 이산화탄소의 축적이 자실체 발생을 촉진시키는 것으로 보고하고 있는데 이는 느타리와 큰느타리 병재배 시 균 굵기 후 역상 발이하면 버섯 발생량이 많아지는 현상으로도 확인할 수 있다. 또 Hintikka와 Korhonen(1970)은 이산화탄소의 높은 농도 하에서 리그닌 분해성 담자균류는 영양균사의 생장이 촉진되지만 퇴비에서 서식하는 담자균류는

*Corresponding author <E-mail:kjh75@gg.go.kr>

이산화탄소의 농도가 증가함에 따라 균사생장이 억제 받는 것을 보고한바 있다. 이와 같이 이산화탄소의 농도는 담자균류의 균사생장 및 자실체 형태 형성에 많은 영향을 주는 것으로 보고되어 있고 재배 현장에서도 환기 조절 실패로 인하여 이산화탄소의 농도 증가에 따른 발이 불량, 기형버섯의 발생 등 피해를 주고 있다.

따라서 본 연구는 잎새버섯의 안정적 재배법을 확립하기 위하여 재배 환경 중 생육실의 이산화탄소 농도가 잎새버섯 자실체의 발생 및 생육에 미치는 영향을 조사하였고 이를 기초로 고품질버섯 다수확을 위한 생육 기간 중 최적의 환기조건을 제시하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 종균 제조

본 시험에 사용된 균주는 버섯연구소에서 육성한 ‘참잎새’ [*Grifola frondosa*, (Fr.) S.F. Gray, GMPF44009]를 공시균주로 사용하였으며 종균은 액체종균을 제조하여 사용하였다. 액체종균은 PDB(Potato Dextrose Broth, Difco) 배지에 전 배양한 접종원을 종균용 액체 배지에 접종하여 약 10일간 배양하여 사용하였다. 종균용 액체배지는 증류수 10 l에 대두박 15 g, 설탕 200 g, 밀가루 50 g, KH_2PO_4 0.5 g, MgSO_4 5 g, 식용유 10 ml를 첨가하여 18 l의 내열성 배양병에 담아 121°C에서 20분간 멸균한 후 사용하였다.

재배용 배지 제조 및 종균 접종

잎새버섯 재배를 위한 배지조성은 주재료로 참나무톱밥(80%)을 사용하였고 여기에 영양원으로 건비지와 밀기울을 부피비로 동일 비율로 첨가(20%)한 후 혼합하면서 수분함량을 60~65%로 조절하였다. 혼합된 배지는 내열성 P.P.봉지에 1 kg씩 충전한 후 가볍게 다지고 직경 2~2.5 cm의 막대기로 구멍을 뚫은 후 필터가 달린 스크류 마개로 봉지 입구를 막았다. 입봉이 완료된 배지는 고압증기멸균기로 121°C 도달 후에 60분 이상 유지하여 살균하였다. 배지 살균 후 냉각실로 옮겨 배지의 온도를 25°C이하가

될 때 까지 냉각시킨 후 액체종균 접종기를 이용하여 봉지 당 액체종균을 20 ml씩 접종하였다.

배양

종균접종이 완료된 배지는 21±1°C의 배양실에서 약 31일간 배양하였다. 배양실은 이산화탄소 농도가 1,000 ppm이 넘지 않도록 환기를 시켜가면서 습도를 50% 이하로 유지하였다. 배양이 완료된 배지는 상면 공간부분에 균사가 부상하고 매트 상으로 올라오는 시기까지 약 6일간 후숙 배양을 실시한 후 발이유도를 위해 생육실로 옮겼다.

이산화탄소 농도가 자실체 발생 및 생육에 미치는 영향 조사

개봉하지 않은 봉지 안에서 자실체 원기가 형성되면 원기형성 부위를 칼로 잘라내어 자실체의 발생을 유도하였다. 원기가 형성된 배지는 4그룹으로 나누어 이산화탄소 농도를 각각 500, 800, 1,000 및 1,500 ppm으로 조절된 생육실로 옮겨 이산화탄소가 자실체 발생 및 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 이산화탄소 농도는 CO_2 센서(Gas Data PAQ, Gas Data LTD, UK)로 측정하여 환기 컨트롤러를 이용하여 생육기간 중 각각의 농도로 지속되도록 조절하였다. 이산화탄소 농도 이외의 생육실의 환경조건은 온도 15±1°C, 습도 90%이상, 광은 500lux의 백색 형광등을 연속광으로 조사하였다. 배양 및 생육특성은 느타리버섯의 조사기준에 준하여 실시하였고 자실체 생육조사는 잎새버섯의 특성에 맞게 조사하였다(大森와 小出, 2006). 또한 자실체의 갯 색은 색도계(Minolta CR200, Japan)를 이용하여 L, a, b 값을 측정하였다.

결과 및 고찰

잎새버섯 재배 중 이산화탄소의 농도가 자실체 원기 형성과 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 생육실의 이산화탄소 농도가 500, 800, 1,000 및 1,500 ppm이 되도록 환기를 이용하여 조절하였으며 배양이 완료된 배지를 생육실로 옮겨 생육기간 중의 이산화탄소 농도 변화를 측정한 결과 Fig. 1과 같다. 각 생육실은 자실체 발이부터 수확까지 전 생육기간 동안 상대습도가 90%이상 유지되면서 주어진 이산화탄소 농도가 유지되도록 환기를 이용하여 조절하였다. 이산화탄소의 농도는 1,000 ppm이하 처리구에서는 편차가 크지 않았으나, 1,500 ppm 처리구에서는 편차가 다소 심하였다. 그러나 각 처리구간 이산화탄소 농도가 역전되는 현상은 없었고 자실체 생육에 따른 이산화탄소의 증가도 관찰할 수 없었기 때문에 이산화탄소 농도는 자실체 생육 후기까지 설정한 농도로 유지된 것으로 판단되었다.

종균 접종 후 37일간 21±1°C에서 암상태로 배양한 배지를 이산화탄소를 조절된 각 처리구에 광을 조사하면서

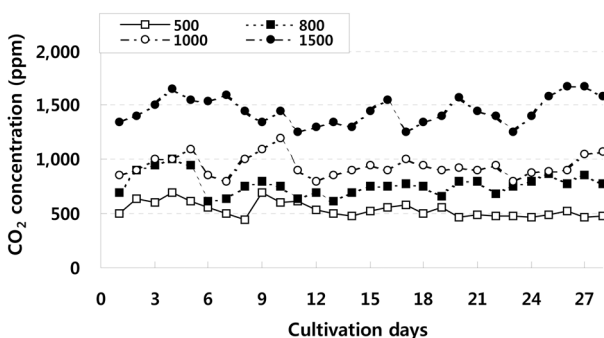


Fig. 1. Changes of CO_2 concentration in the growth chamber during the cultivation period of *G. frondosa*.

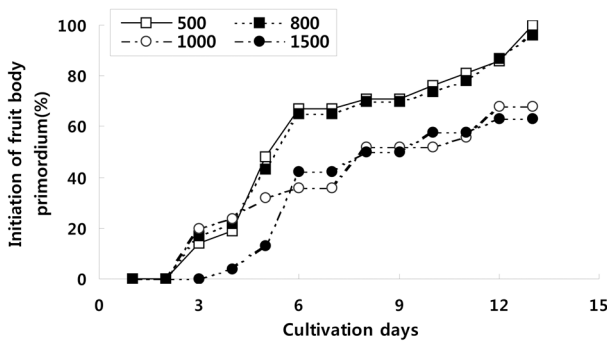


Fig. 2. Effect of CO₂ concentration on the primordium initiation of *G. frondosa*.

배양하면 봉지 안에서 500 ppm과 800 ppm 처리구에서 6일 후, 그리고 1,000 ppm과 1,500 ppm 처리구에서는 각각 11일과 12일 후에 자실체 원기가 발생하였다(Table 1). 자실체 원기가 형성된 부분은 비닐을 칼로 도려내어 자실체 발생 및 발달을 유도하였다. Fig. 2와 같이 재배 일수가 경과함에 따라 모든 처리구에서 자실체 발생율은 서서히 증가하다가 4일부터 6일까지 급격히 증가되는 경향을 보였으며, 발이 경과 13일째에는 500 ppm과 800 ppm에서의 발이율이 각각 100%와 96%로 우수하였던 반면 1,000 ppm과 1,500 ppm에서 발이율은 각각 68%와 63%로 다소 낮았다. 일반적으로 버섯은 호기성 생물이기 때문에 버섯의 생장 및 분화에 산소는 필수적이다. 古川(1992)에 따르면 담자균류의 자실체의 발생은 호기적 환경이 적당하고 통기가 나쁜 환경에서는 발생이 억제된다고 보고하였는데, 본 시험결과 및 실험버섯도 이산화탄소 농도가 높은 환경 즉 환기가 불량한 환경에서는 자실체 분화가 늦어지는(혹은 비정상적인) 경향을 보였다.

이산화탄소 농도가 싹새버섯의 자실체 발생에 미치는 영향을 조사한 결과 초발이 소요일수(Table 1)는 500 ppm과 800 ppm 처리구에서 6일로 1,000 ppm과 1,500 ppm 처리구에 비해 5~6일 빨랐으나, 생육일수는 모든 처리구에서 14일~15일로 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 초발이 소요일수는 전체 재배일수에 영향을 주었고 500 ppm

과 800 ppm 처리구에서 57일 소요된 반면 1,000 ppm 처리구에서 62일, 그리고 1,500 ppm 처리구에서 64일 소요되어 1,000 ppm 이하의 이산화탄소 농도는 전체 재배일수를 5~7일 가량 단축시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 버섯의 수확량은 이산화탄소 농도가 높은 환경에서 감소하는 것으로 나타나 500 ppm과 800 ppm 처리구에서는 227 g을 생산하였으나 1,000 ppm 처리구에서는 191 g, 1,500 ppm 처리구에서는 205 g이 생산되어 싹새버섯은 이산화탄소가 축적되지 않도록 환기를 충분히 시켜주는 것이 수확량 증가에 중요한 요인으로 작용하는 것을 알 수 있다.

담자균류의 형태 형성은 광, 온도, 습도, 이산화탄소의 농도 등과 같은 환경요인에 의해 결정되는데 이중 이산화탄소와 산소의 농도, 각종 휘발성 물질, 풍속 등은 담자균류의 자실체의 형태 형성에 큰 영향을 주는 것으로 알려져 있다(古川, 1992). 이산화탄소의 농도는 버섯균이 생장하면서 호흡작용을 통하여 산소를 이용하고 이산화탄소를 배출하기 때문에 재배사 내부의 이산화탄소 농도는 쉽게 고농도로 될 수 있다. 버섯균의 형태 형성 중 갓의 전개는 포자형성과 밀접한 관계를 유지하는데 산소는 포자형성을 위한 필수 요인이 된다. 따라서 산소가 부족한 환경은 이산화탄소의 축적이 과도하게 되어 고농도의 이산화탄소가 집적되고 이 경우에는 기형의 갓이 형성되는 것을 종종 볼 수 있다.

Table 2는 이산화탄소 농도에 따른 싹새버섯 자실체의 형태적 특성을 조사한 결과이다. 다발의 장경(A)은 각 처리구간 유의적인 차이가 없었으나 단경(A')은 500 ppm과 800 ppm 처리구에서 발생한 자실체가 1,000 ppm과 1,500 ppm 처리구에서 발생한 자실체보다 큰 것으로 나타났다. 자실체 형태를 가늠할 수 있는 장단비(A'/A)를 분석한 결과 500 ppm과 800 ppm 처리구에서 발생한 자실체가 각각 0.85와 0.80으로 비교적 원형에 가깝고 형태가 균일하였으나 1,000 ppm과 1,500 ppm에서 생산된 자실체는 0.70~0.72로 형태가 약간 타원형이며 불균일하고 품질이 좋지 않은 것으로 나타났다(Fig. 3). 싹새버섯은 이산화탄소의 농도가 높을수록 갓 길이가 길어지기 때문에 자실체 형태의 균일도를 떨어뜨리는 것으로 나타났다(Table 2). 일반

Table 1. Effects of CO₂ concentrations on the fruit body development and yield of *G. frondosa*¹⁾

CO ₂ concentration(ppm)	Initiation of fruiting body (days)	Development of fruiting body (days)	Total cultivation period (days)	Yield (g/bags)	BE ^a (%)
500	6	14	57	227.2 ^a	64.9
800	6	14	57	227.8 ^a	65.1
1,000	11	14	62	191.1 ^b	54.6
1,500	12	15	64	205.2 ^b	58.6

¹⁾ Isolate GMGF-44009 was incubated at 21±1°C for 37 days in 1 kg P. P. bag with cultivation substrate. And then fruiting bodies were induced under controlled environmental conditions.

^a Biological efficiency (BE) = fresh weight of mushrooms divided by air-dried substrates × 100.

^{a-b} Different letters indicate the significantly different (p<0.05).

Table 2. Morphological properties of the fruiting bodies of *G. frondosa* under various CO₂ concentrations¹⁾

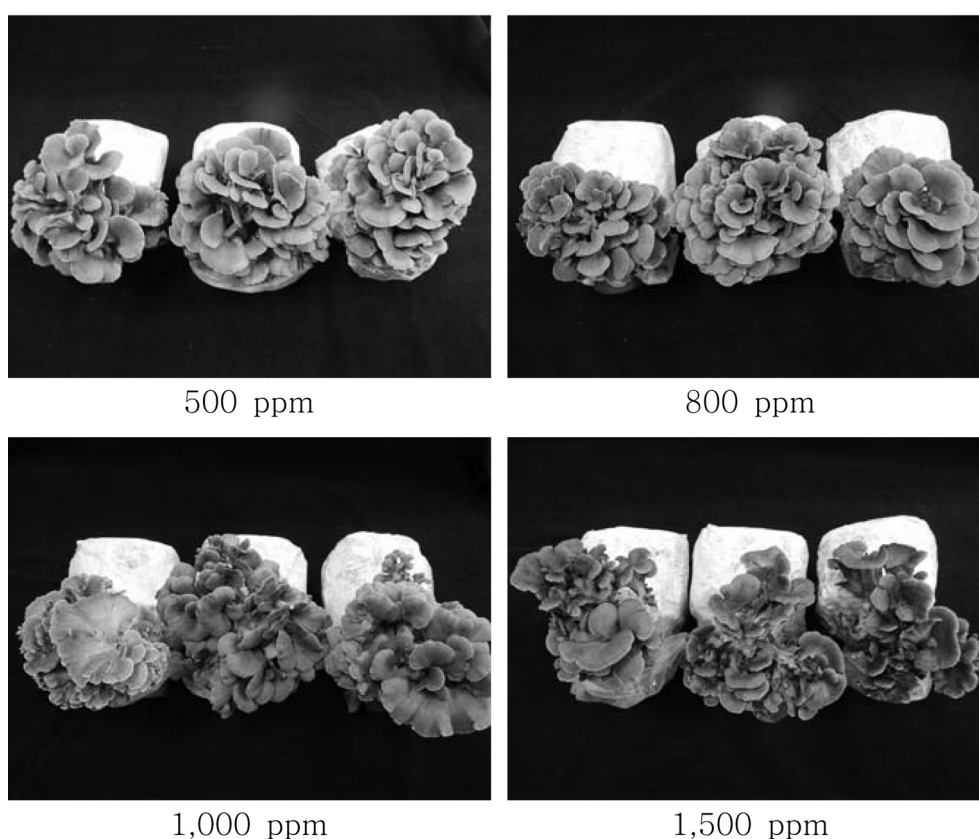
CO ₂ concentration (ppm)	Cluster of fruiting body				Pileus size			Pileus color ^b		
	Major diameter(A) (mm)	Minor diameter(A') (mm)	Ratio ^a	Height (mm)	Width (mm)	Length (mm)	Thickness (mm)	L	a	b
500	154.3 ^a	131.4 ^a	0.85 ^a	97.6 ^a	35.3 ^a	26.3 ^c	2.17 ^b	51.9 ^a	5.10 ^a	15.0 ^b
800	165.6 ^a	133.3 ^a	0.80 ^a	97.4 ^a	32.3 ^a	23.4 ^c	2.15 ^b	51.6 ^a	5.30 ^a	15.1 ^b
1,000	157.0 ^a	112.4 ^b	0.72 ^b	95.8 ^a	34.2 ^a	33.5 ^b	2.19 ^b	51.7 ^a	5.21 ^a	16.1 ^b
1,500	159.2 ^a	110.5 ^b	0.70 ^b	95.5 ^a	34.4 ^a	60.7 ^a	2.48 ^a	51.7 ^a	5.32 ^a	15.5 ^b

¹⁾ Incubation and cultivation conditions were the same as that in Table 1.

^a Ratio = major diameter(A)/minor diameter(A') of a cluster of fruiting body

^b Pileus color : L, lightness; a, reddish; b, yellowish.

^{a-b} Different letters indicate the significantly different ($p < 0.05$).

**Fig. 3.** Morphological properties of *G. frondosa* grown under various CO₂ concentrations.

적으로 고농도의 CO₂는 버섯의 종류와 관계없이 대의 신장을 촉진하고 갓의 전개를 저해하며 기형버섯의 발생률이 높은 것으로 알려져 있다(古川, 1992). 특히 잎새버섯의 경우에는 대의 신장보다 갓이 잘 발달하는 것이 품질이 균일하고 우수하기 때문에 생육실내의 상대습도가 일정하게 유지되는 조건에서 이산화탄소 농도를 가능한 한 800 ppm 이하로 유지하면서 재배하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

적요

이산화탄소의 농도가 잎새버섯의 자실체 원기 발달과 생육에 미치는 영향을 조사한 결과 자실체 원기는 500과 800 ppm에서 각각 100, 96%가 자실체로 발달되었으나 1,000과 1,500 ppm에서는 각각 68, 63%만이 자실체로 발달하였다. 초발이 소요일수도 고농도의 이산화탄소 환경 하에서는 늦어지는 경향이었으나 자실체 생육은 시험한

이산화탄소 범위내에서는 큰 차이가 없었다. 전체 재배일 수는 500과 800 ppm에서 57일, 1,000 ppm에서 62일, 1,500 ppm에서 64일이 소요되었다. 1 kg 봉지 당 수확량은 500과 800 ppm에서 227 g, 1,000 ppm에서 191 g, 1,500 ppm에서 205 g으로 낮은 농도의 이산화탄소 조건에서 유의적으로 우수하였다. 자실체의 형태는 500과 800 ppm에서는 비교적 원형에 가까운 균일한 형태로 나타났으나, 1,000 ppm에서는 형태가 불균일하고, 1,500 ppm에서는 기형으로 성장하여 잎새버섯의 고품질 생산을 위해서는 800 ppm 이하로 생육하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구결과는 농촌진흥청 현장협력기술개발과제 연구비지원의 일부결과이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 김정환, 원선이, 지정현, 주영철. 2006. 잎새버섯 균주선발 및 생리특성 연구. 경기도농업기술원 시험연구보고서. pp. 617-629.
- 김정환, 최종인, 지정현, 원선이, 서건식, 주영철. 2008. 잎새버섯 봉지재배에 적합한 배지조성 연구. 한국균학회지 36: 26-30.
- 정환재, 주현규. 1989. 잎새버섯 우량계통 육성과 인공재배법 개발. 농사시험연구논문집 31: 43-47.
- 古川久彦. 1992.きのこ學. 共立出版株式會社.
- 大森清壽, 小出博志. 2006.キノコ栽培全科. pp. 97-109. 社團法人 農山漁村文化協會.
- Choi, H. S., Cho, H. Y., Yang, H. C., Ra, K. S. and 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. and Nakano, M. 2001. Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake(*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake(*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Soc. Exp. Biol. Med.* 226: 758-765
- Hintikka, V. and Korhonen, K. 1970. Effect of carbon dioxide on the growth of lignicolous and soil-inhabiting Hymenomycetes. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae.* 62(5): 1-29.
- Ingold, C. T. and Nawaz, M. 1967. Carbon dioxide and fruiting in *Sphaerobolus*. *Ann. Bot. (N. S.)* 31: 351-357.
- Kinugawa, K., Suzuki, A., Takamatsu, Y., Kato, M. and Tanaka, K. 1994. Effect of concentrated carbon dioxide on the fruiting of several cultivated basidiomycetes (II). *Mycoscience* 35: 345-352.
- Kinugawa, K., Takamatsu, Y., Suzuki, A., Tanaka, K. and Kondo, N. 1986. Effect of concentrated carbon dioxide on the fruiting of several cultivated basidiomycetes. *Trans. mycol. Soc. Japan* 27: 327-340. (In Japanese.)
- Kodama, N., Murata, Y., Asakawa, A., Inui, A., Hayashi, M., Sakai, N. and Nanba, H. 2005. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice. *Nutrition* 21: 624-629
- Long, P. E. and Jacobs, L. 1974. Aseptic fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 63: 99-107.
- Mau, J. H., Lin, H. C. and Song, S. F. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res. Intl.* 35: 519-526
- Nanba, H., Kodama, N. Schar, D. and Turner, D. 2000. Effects fo maitake(*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience* 41: 293-295
- Niederpruem, D. J. 1963. Role of carbon dioxide in the control of fruiting of *Schizophyllum commune*. *J. of Bacteriol.* 85: 1300-1308.
- Taber, W. A. 1966. Morphogenesis in basidiomycetes. In: "The Fungi," (ed. by Ainsworth, G. C. and Sussman, A. S.) Vol. 2, pp. 387-412. Academic Press, New York.
- Talpur, N. A., Echard, B. W., Fan, A. Y., Jaffari, O., Bagchi, D. and Preuss, H. G. 2002. Antihypertensive and metabolic effects of whole maitake mushroom powder and its fractions in two rat strains. *Mol. Cell. Biochem.* 237: 129-136.
- Tschierpe, H. J. 1959. Der Einfluss von Kohlendioxyd auf die Fruchtkorperbildung und die Fruchtkorperform des Kulturchampignons. *Mush. Sci.* 4: 235-250.
- Tschierpe, H. J. and Sinden. 1964. Weitere Untersuchungen uer die Bedeutung von Kohlendioxyd fur die Fructifikation des Kulturchampignons, *Agaricus campestris* var. *bisporus* (L) Lge. *Arch. Mikrobiol.* 49: 405-425.
- Wu, M. J., Cheng, T. L., Cheng, S. Y., Lian, T. W., Wang, L. and Chiou, S. Y. 2006. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2906-2914.