

잎새버섯에서 배지조성이 병재배 자실체 생산성에 미치는 영향

김정한* · 전대훈 · 강영주 · 정윤경 · 이윤희 · 지정현

경기도농업기술원 버섯연구소

Effects of Fruiting Productivity of *Grifola frondosa* Using Bottle Cultivation according to Different Substrate Composition

Jeong-Han Kim*, Dae-Hoon Jeon, Young-Ju Kang, Yun-Kyeong Jeong, Yun-Hae Lee and Jeong-Hyun Chi

Mushroom Research Institute, Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services, Gwangju 12805, Korea

ABSTRACT : To determine a favorable substrate formulation for *Grifola frondosa*, physicochemical conditions, culture properties, and yields according to various substrate formulations were investigated. Based on these analyses, T4 (80:5:15 ratio of oak sawdust to dried bean-curd refuse to corn husk) resulted in a shorter cultivation period and higher yields (weight of fresh mushrooms harvested at maturity) than those of other treatments. The physicochemical properties of T4 were pH 5.4, 2.4% crude fat contents, 54 C/N ratio, 74.3% porosity, and 0.26 g/cm³ bulk density. These results emphasize the importance of optimal substrate development on the production efficiency of *G. frondosa* mushrooms and have implications for commercial applications.

KEYWORDS : Bottle cultivation, *Grifola frondosa*, Productivity, Substrate, Yield

서 론

잎새버섯은 인체의 면역세포를 조절하여 면역력을 증가시켜 암을 억제하며 [1], 암세포에 대하여 기존의 화학치료제와 병행시 부작용을 줄이면서 효과적으로 억제한다고 알려져 있다 [2]. 이 밖에도 항바이러스작용 [3], 콜레스테롤 억제작용 [4], 항산화작용 [5] 등의 기능성도 보고되었다.

버섯 유래 대부분의 β -glucan은 glucose- β (1, 3) 결합의

주사슬에 glucose-(1, 6) 결합의 끝가지 형태를 지니고 있는 것으로 알려져 있는데, 잎새버섯은 glucose-(1, 6) 결합의 주사슬에 glucose-(1, 3) 결합의 끝가지와 glucose-(1, 3) 결합의 주사슬에 glucose-(1, 6) 결합 끝가지 둘 다를 지니고 있어 다른 버섯보다 구조가 복잡하고 독특한 형태를 취하고 있다 [6]. 이러한 특이한 분자 고리에 의해 기존 버섯유래의 항암제 (Lentinan; 표고버섯, Shizophyllan; 치마버섯) 보다 면역조절과 항암효과의 임상효과가 더 우수하며 또한 주사슬이 아닌 경구투여로도 효과가 있다고 알려져 더욱 주목 받게 되었다 [7].

잎새버섯 재배기술 개발에 관한 국내 연구로는 2007년에 잎새버섯 품종 '함박'의 특성 및 재배 [8], 2008년부터 2009년 사이에 잎새버섯 봉지재배에 적합한 배지조성 [9], 광 조건 [10], 탄산가스연구가 이뤄졌으며 [11], 2012년부터 2013년 사이에 봉지재배시 적정 배지량 및 발효톱밥 첨가 효과 [12], 원목재배 기술 개발 [13]이 보고되었다. 그렇지만 느타리버섯류에 비해 버섯 발생이 까다롭고 수량성이 낮아 버섯 농가에서 활발하게 재배되지 않는 실정이다.

일반적으로 병재배기술은 단위면적당 생산효율이 높아 팽나무버섯(팽이), 느타리버섯, 큰느타리버섯, 만가닥버섯

Kor. J. Mycol. 2016 September, 44(3): 150-154
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2016.44.3.150
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

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

Received April 19, 2016
Revised May 31, 2016
Accepted June 23, 2016

©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. Isolate 'Charm' (*Grifola frondosa*) was selected for this study (A) and its panorama by bottle cultivation (B) from 80% oak sawdust and 5% of dried bean-curd refuse and 10% of corn husk.

의 주요 재배방법으로 이용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 잎새버섯의 안정 생산과 재배 확대를 위해서 병재배용 적합배지를 개발하여 새로운 소득 작목으로 육성하고자 연구를 수행하게 되었다.

재료 및 방법

종균 및 접종원 제조

본 시험에 사용된 균주는 경기도농업기술원 버섯연구소의 선발한 균주 참잎새버섯(*Grifola frondosa*, (Fr.) S.F. Gray)을 시험균주로 potato dextrose broth (PDB) 배지에서 증식시키면서 액체종균용 접종원으로 사용하였다(Fig. 1A). 액체종균 배지조성은 증류수 10 L 기준으로 대두박 15 g, 설탕 200 g, 밀가루 50 g, KH_2PO_4 0.5 g, MgSO_4 5 g, 식용유 10 mL를 첨가하여 18 L 내열성 배양병에 담아 121°C 에서 20분간 멸균한 후 접종원을 100 mL 접종하여 약 10일간 배양하여 액체종균으로 사용하였다.

배지제조 및 접종

병재배에 적합한 배지조성을 찾기 위하여 참나무톱밥, 참나무칩, 미루나무톱밥을 주재료로, 영양원으로는 건비지, 옥수수피, 미강을 이용하여 Table 1과 같이 6조합을 만들어 혼합하여 수분함량을 $60 \pm 2\%$ 로 조절하여 병(850 mL)당 450 g, 500 g씩 배지를 충전하였다. 충전된 배지는 121°C 에서 90분간 고압살균 후 20°C 이하로 냉각하여 액체종균을 이용하여 병당 20 mL씩 접종하였다.

배양 및 생육관리

종균접종이 완료된 배지는 배양실로 옮겨 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도에서 소량의 환기를 시켜가면서 배양하고 병의 배양 상단의 공간에 균사가 모일 때까지 후숙을 실시하였다. 배양이 완료된 배지는 자실체의 발생을 유도하기 위해 균굽기를 통하여 생육실로 옮겨 생육을 실시하되 이때 온도는 20°C , 습도는 95% 이상 유지하며, 버섯이 발이된 이후부터 CO_2 농도는 1,000 ppm이 넘지 않도록 조절하며 버섯 품질을 위하여 온도를 서서히 낮추면서 생육을 실시하였다.

배지의 이화학적 분석

배지재료 및 혼합배지의 수분함량은 105°C 건조중량법으

Table 1. The substrate formulation supplemented with various combinations of selected nutrients of *Grifola frondosa* (volume/volume)

Treatment	Major substrate ingredients			Nutrient supplement		
	OS ^a	OC ^b	PS	DBR	CH	RB
T1	55	25	-	10	10	-
T2	40	40	-	10	10	-
T3	25	55	-	10	10	-
T4	80	-	-	5	15	-
T5	70	-	-	15	15	-
T6	75	-	25	-	-	15

^aOS particle size ratio: ~1 mm 18%, 1~2 mm 64%, 2~4 mm 36%.

^bOS particle size ratio: ~1 mm 8%, 1~2 mm 24%, 2~4 mm 52%, 6 mm~ 16%.

OS, oak sawdust; OC, oak chip; PS, poplar sawdust; DBR, dried bean-curd refuse; CH, corn husk; RB, rice bran.

로, pH는 건조 배지재료와 증류수를 1:10의 무게비로 혼합하여 1시간 동안 정치한 후 pH meter (Mettler Toledo, Columbus, OH, USA)로 측정하였다. 수집된 배지재료들에 대한 성분 분석을 위해 시료를 건조하여 분쇄해서 총탄소는 회화법으로, 총질소 함량은 단백질 자동분석기(Auto-Kjeldahl Unit K-370; BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, CH)를 이용한 Kjeldahl법으로 정량분석 하였다. 또한 조지방 함량은 자동분석기(Behr Extraction Apparatus E6; Behr Labor-Technik, Duesseldorf, DE)를 이용하여 Soxhlet법으로 분석하였다.

배양 및 생육 특성 조사

배양 및 생육 특성은 느타리버섯의 배양 및 생육 조사 기준과 농촌진흥청 표준조사법에 준하여 실시하되 잎새버섯의 특성에 맞게 일부 변형하여 조사하였으며 [9, 11], 그 결과의 통계처리는 SAS 프로그램을 이용하여 Duncan의 다중범위검정(Duncan's-multiple range test)을 통하여 평균 값들에 대한 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

배지재료의 화학적 특성은 Table 2와 같다. 주재료 중에서는 참나무톱밥과 참나무칩의 pH가 각각 4.8, 4.0으로 차이가 있었으며 미루나무톱밥은 pH 7.8로 참나무류에 비해 높았다. 조지방 함량은 미강이 17.1%로 가장 높고 질소함량은 건비지가 5.16%로 높았다.

주재료의 형태와 공극률 또한 균사의 배양기간에 직접적으로 영향을 주는 것으로 알려져 있는데 [14], 혼합배지 처리별 이화학적 특성은 Table 3과 같다. 혼합배지의 공극률 분석결과 배지 충전량이 450 g/병일 때 75.2~77.5%로 500 g/병 충전시보다 높았고, 용적밀도는 반대의 경향으로 500 g/병이 450 g/병보다 높게 나타났다. 수분함량은 모든 처리구가 60~62%로 조절되었고, pH는 5.0~5.5으로 균사생장 적합 pH 4~5 [15]보다 다소 높았다. 조지방 함량은 미강이 첨가된 T6에서 4.8%로 상대적으로 높고, 총탄소 함량은 차이를 보이지 않았다. 총질소 함량은 영양원의 비율이 높은 T5가 2.2%로 높고, C/N율은 T1~T4의 처리구가 34~42이며, 질소원의 비율이 높은 T5가 25로 가장 낮고, T6이 61로

Table 2. Chemical properties of raw materials for substrate formulation

Raw materials of substrate		pH (1:10)	EC (ds/m)	Crude fat (%)	Total carbon (%)	Total nitrogen (%)	C/N
Major substrate ingredients	OS	4.8	0.23	0.2	54.7	0.16	341
	OC	4.0	0.19	0.3	54.9	0.08	686
	PS	7.8	0.23	0.2	54.7	0.15	364
Nutrient supplements	DBR	6.6	2.22	4.8	53.4	5.16	10
	CH	4.8	1.49	3.9	54.3	1.25	43
	RB	6.7	1.87	17.1	50.5	2.53	20

OS, oak sawdust; OC, oak chip; PS, poplar sawdust; DBR, dried bean-curd refuse; CH, corn husk; RB, rice bran.

Table 3. Physicochemical properties in the bottle cultivation with the various substrate formulation of *Grifola frondosa*

Treatment		Porosity (%)	Bulk density (g/cm ³)	Moisture (%)	pH (1:10)	EC (S/m)	Crude fat (%)	Total carbo (%)	Total nitrogen (%)	C/N ratio
T1	450 ^a	77.5	0.22	61	5.1	1.01	2.3	54.1	1.28	42
	500	75.8	0.24							
T2	450	77.2	0.23	60	5.2	0.97	2.1	54.2	1.51	36
	500	75.5	0.25							
T3	450	76.3	0.24	60	5.0	0.97	2.2	54.4	1.54	35
	500	75.3	0.25							
T4	450	76.4	0.24	59	5.4	1.05	2.4	54.1	1.61	54
	500	74.3	0.26							
T5	450	75.2	0.25	60	5.5	1.34	3.3	53.9	2.20	25
	500	72.7	0.27							
T6 (control)	450	76.3	0.24	62	5.3	0.59	4.8	53.7	0.92	61
	500	75.4	0.25							

^asubstrate amount (g)/850 mL bottle.

Table 4. Cultural characteristics and productivity in the bottle cultivation with the various substrate formulations of *Grifola frondosa*

Treatment		Spawn running (days)	Primordia develop- ment (days)	Fruiting body develop- ment (days)	Cultivation period (days)	Productivity		
						yield (g/850 mL bottle)	CV ^b	BE ^c
T1	450	30	10	11	51	68.9 ^d	6.5	39
	500	30	12	12	54	107.2 ^{ab}	15.6	55
T2	450	30	11	11	52	68.3 ^d	15.7	38
	500	30	11	11	52	97.4 ^{bc}	8.2	49
T3	450	30	11	12	53	91.8 ^c	15.0	50
	500	30	10	11	51	104.2 ^{abc}	18.3	52
T4	450	30	10	12	52	91.1 ^c	15.6	49
	500	30	10	11	51	112.0 ^a	9.6	55
T5	450	30	-	-	-	-	-	-
	500	30	-	-	-	-	-	-
T6	450	30	-	-	-	-	-	-
	500	30	20	12	62	88.3 ^c	15.3	47

^{a-c}Different letters within a column are significantly different ($p < 0.05$).

^bCoefficient of variation.

^cBiological efficiency (%) = [fresh weight of fruiting body (g)/dried weight of substrate (g)] $\times$ 100.

가장 높았다.

혼합배지 종류별 배양 및 생육 특성은 Table 4와 같다. 초발이 소요일수는 T1~T4가 10~12일로 조사되었으나 영양원의 비율이 높은 T5, 영양원의 비율이 낮은 T6에서는 발이가 되지 않거나 또는 아주 지연되는 경향을 보여주었다. Kim 등[9]은 잎새버섯 봉지재배에 적합한 배지의 C/N율이 약 40으로 보고하였는데, T5와 T6의 C/N율이 각각 25, 61로 질소원의 과잉 또는 결핍으로 인하여 버섯 발생이 지연 또는 안 되는 것으로 나타난 것으로 추측된다. 모든 처리구의 생육일수는 11~12일로 비슷하게 나타났으나, 재배기간은 초발이 소요일수가 영향을 끼쳐 T1~T4가 51~54일이었고, T6은 62일로 대조구가 8~12일 지연되는 것으로 나타났다. 일반적으로 버섯의 재배기간(crop cycle)은 버섯농가의 경제성에 중요한 영향을 끼치는데, Kim 등[9]의 봉지재배시 재배기간이 66일과 비교하면 병재배 재배기간은 51~54일로 약 10일 이상 단축시키는 것으로 생산효율을 높일 수 있었다. 이는 봉지재배의 배지량이 1.2 kg으로 병재배시의 배지량(450~500 g)보다 2배 이상 높아서 균사의 배양과 숙성에 더 많은 기간이 소요되었을 것으로 생각된다. 병당 수량은 배지량 450 g보다 500 g에서 전반적으로 높게 나타났으며 T1, T3, T4가 104~112 g으로 수량이 유의적으로 우수하였다. 그러나 T1, T3, T4 중 수량 편차는 T4의 변이계수가 9.6으로 가장 낮은 잎새버섯 병재배 안정생산용 배지로 T4가 적합할 것으로 판단된다.

혼합배지 종류별 자실체의 형태적 특성은 Table 5와 같다. 자실체 다발의 장경은 입병량 500 g이 450 g보다 큰 것으로 조사되었으며, 수량이 우수했던 처리구의 장경이 비교

적 큰 것으로 나타났다. 자실체 형태를 가늠할 수 있는 장단비(A'/A) 분석결과 모든 처리구의 장단비가 0.7~0.8로 원형과 타원형의 중간적 형태를 띠는 것으로 나타났으며 이는 Chi 등[11]의 봉지재배에 의한 자실체(장단비 0.7~0.85)와 비슷하였다. 갓 크기는 T6가 T1~T4보다 갓의 직경은 작고 두께는 더 두꺼운 것으로 조사되었다. 그러나 갓 색은 처리간의 차이가 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과 잎새버섯 병재배시 참나무톱밥 80%, 건비지 5%, 옥수수피 15%가 안정생산용 배지로 적합할 것으로 판단되며, 이때의 이화학적 성분은 수분함량 60%, pH 5.4, C/N율 54, 공극률 74.3%, 용적밀도 0.26 g/cm³이었다.

적 요

잎새버섯을 새로운 소득 품목으로 개발하고자 안정생산용 배지개발 연구를 위하여 참나무톱밥, 참나무칩, 미루나무톱밥 3종과 영양원으로 건비지, 옥수수피, 미강 3종을 혼합비율별 6처리로 시험을 수행하였다. 배지재료 및 배지조성별 이화학적 특성을 분석하고 재배 및 자실체 생산성을 조사한 결과는 다음과 같다. 배지재료별 pH는 참나무톱밥, 참나무칩, 옥수수피가 4.0~4.8, 건비지, 미강이 각각 6.6과 6.7로 나타났고, 미강은 조지방 함량이 17.1%로 높았으며, 질소함량은 건비지 5.2%, 미강 2.5%, 옥수수피 1.3% 순으로 나타났다. 공극률은 배지충진량 450 g이 500 g보다 높고 반대로 용적밀도는 낮은 경향이였다. 수분함량은 모든 처리구에서 59~62%, pH는 5.0~5.5으로 나타났고, 조지방 함량은 미강의 함량이 많은 T6(대조구)가 높고, 영양원이 비율

Table 5. Morphological characteristics in the bottle cultivation with the various substrate formulations of *Grifola frondosa*

Treatment		Cluster			Pileus				Pileus color		
		Major diameter (A) (mm)	Minor diameter (A') (mm)	Ratio ^a (A'/A)	Height (mm)	Width (mm)	Length (mm)	Thickness (mm)	L	a	b
T1	450	128	105	0.82	66.5	31.6	53.1	1.88	47.6	5.23	13.7
	500	139	106	0.77	62.8	32.7	60.6	1.68	51.8	4.73	16.1
T2	450	122	94	0.77	61.0	31.2	56.1	1.71	48.3	5.21	14.2
	500	136	113	0.83	64.2	31.4	59.3	1.80	50.4	5.20	14.7
T3	450	136	96	0.71	62.7	30.5	51.3	1.61	49.2	5.10	15.1
	500	142	109	0.76	67.5	32.1	54.5	1.71	50.1	5.30	14.7
T4	450	134	102	0.76	70.3	38.8	64.6	2.13	48.8	5.21	14.3
	500	143	107	0.75	66.4	29.6	59.6	1.88	49.1	5.14	16.0
T6	500	126	87	0.69	70.5	24.3	57.6	2.20	47.9	5.28	14.4

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

L, lightness; a, reddish; b, yellowish.

이 높은 T5의 질소함량이 가장 높았다. 초발이 소요일수는 T1~T4가 10~11일이었으나 T6은 20일로 다소 지연되었고, T5와 T6의 450 g 처리구에서는 발생이 되지 않았다. 병당 수량은 배지량 450 g보다 500 g에서 전반적으로 높게 나타났다. 혼합배지 중에서는 T1, T3, T4가 104~112 g으로 수량이 유의적으로 우수하였다. 그렇지만 병당 수량 편차는 T4의 변이계수가 9.6으로 가장 낮았다. 이상의 결과 T4의 배지조성(참나무톱밥 80%, 건비지 5%, 옥수수피 15%, v/v)이 초발이소요일수 10일로 대조구의 20일에 비해 10일 단축되었고 수량도 관행 대비 1.27 배 증수되어 적합배지로 선발하고, 이때의 배지의 이화학적 성분은 pH 5.4, 조지방 2.4%, C/N율 74.3%, 공극률 74.3%, 용적밀도 0.26 g/cm³이었다.

감사의 글

이 논문은 농촌진흥청 공동연구사업 <버섯 로열티 대응 유망 재배버섯류의 국산품종 지역 보급체계 구축> 협동연구개발과제(과제번호: PJ0102232016) 출연금 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Wu MJ, Cheng TL, Cheng SY, Lian TW, Wang L, Chiou SY. Immunomodulatory properties of *Grifola frondosa* in submerged culture. *J Agric Food Chem* 2006;54:2906-14.
- Kodama N, Murata Y, Asakawa A, Inui A, Hayashi M, Sakai N, Nanba H. Maitake D-fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice. *Nutrition* 2005;21:624-9.
- Nanba H, Kodama N, Schar D, Turner D. Effects of maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience* 2000;41:293-5.
- Fukushima M, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Nakano M. Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Exp Biol Med* (Maywood) 2001; 226:758-65.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int* 2002;35:519-26.
- Nanba H, Hamaguchi A, Kuroda H. The chemical structure of an antitumor polysaccharide in fruit bodies of *Grifola frondosa* (maitake). *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 1987;35:1162-8.
- Mayell M. Maitake extracts and their therapeutic potential. *Altern Med Rev* 2001;6:48-60.
- Kong WS, Yoo YB, Jhune CS, You CH, Cho YH, Park YH, Kim KH. Cultivation and characterization of commercial strain "Hambak" derived by di-mono crossing in *Grifola frondosa*. *J Mushroom Sci Prod* 2007;5:1-6.
- Kim JH, Choi JI, Chi JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Investigation on favorable substrate formulation for bag cultivation of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 2008;36:26-30.
- Chi JH, Kim JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Studies on favorable light condition for artificial cultivation of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 2008;36:31-5.
- Chi JH, Kim JH, Ju YC, Seo GS, Kang HW. Effects of elevated carbon dioxide on the fruiting initiation and development of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 2009;37:60-4.
- Lee JH, Mun YG, Jeong TS, Choi JK, Park YH, Kim KH, Yoo YB. Determination of proper amounts of media and effects of fermented sawdust addition on yields of *Grifola frondosa* in the bag culture. *J Mushroom Sci Prod* 2012;10:179-83.
- Lee JH, Lee NG, Park YH, Mun YG, Jeong TS, Kwon SB, Kim JR, Yoo YB. Development of the log cultivation techniques of the maitake *Grifola frondosa*. *J Mushroom Sci Prod* 2013;11: 240-3.
- Philippoussis AN, Diamantopoulou PA, Zervakis GI. Correlation of the properties of several lignocellulosic substrates to the crop performance of the shiitake mushroom *Lentinula edodes*. *World J Microbiol Biotechnol* 2003;19:551-7.
- Chi JH, Kim JH, Won SY, Seo GS, Ju YC. Optimal condition of mycelial growth of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 2007;35: 76-80.