

침엽수 톱밥에서 표고 균사생장 촉진에 관한 연구

박경목 · 김동찬 · 이종윤¹ · 양재경¹ · 유창현² · 정원일*

한국과학기술원 생명과학과

¹ 경북대학교 임산공학과

² 농촌진흥청 균이과

Acceleration of Mycelial growth of *Lentinus edodes* in Coniferous Sawdust

Kyung-Mok Park, Dong-Chan Kim, Jong-Yoon Lee¹, Jae-Kyung Yang¹
Chang-Hyun You² and Won-Il Chung*

Plant Molecular Biology Lab., Department of Life Science, KAIST, Taejon, Korea

¹ Department of Wood Science and Technology, College of Agriculture,

Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

² Department of Mushroom and Applied Mycology, Agricultural Sciences Institute,
Suwon, Korea

ABSTRACT: In *Lentinus edodes*(oak mushroom) cultivation, commonly are logs and sawdusts of oak and some other broadleaved tree species used. Recently oak trees have been substantially diminished due to extensive logging. Thus, to develop comparable synthetic formula using other tree species for the cultivation of *Lentinus edodes*, we investigated the effect of various nutrients and pretreatment on *L. edodes* mycelial growth in coniferous sawdusts(i.e., Pine and Larch). We found that 1.5 hr pretreatment of sawdust with hot water and adding 10% rice bran, 3% charcoal, 0.02% NH₄Cl and 0.5-1% lignosulfonic acid were effective for the growth of *L. edodes* in pine sawdust media. In larch sawdust, pretreatment with acetone for one hr and adding 20% rice bran, 3% charcoal and 0.02% NH₄Cl increased *L. edodes* mycelial growth. We also analyzed the components of oak and coniferous sawdusts and found oak has higher content of xylose and lower content of lignin, arabinose and mannose than conifers. Rice bran, compared with BITEL(HOKKEN Co.) known for better commercial substitute for rice bran, has lower content of xylose and galactose, but the similar C/N ratio.

KEYWORDS: *Lentinus edodes*, coniferous sawdust, efficient substrate, additive effect, pretreatment, componential difference.

緒 言

표고버섯은 전통적으로 야외에서 원목재배 방법으로 재배되어 왔으나 원목값이 비싸고 재배가 어려울 뿐만 아니라 재배기간도 길어 비경제적이기 때문에 최근에는 톱밥을 이용한 plastic bag 또는

병재배 방법이 개발되어 단기간에 많은 생산이 이루어지고 있다(Chang and Miles, 1989). 그런데, 표고재배는 활엽수톱밥(특히 참나무)을 이용한 재배가 주를 이루고 있어 특정 수종의 감소추세와 더불어 침엽수 톱밥의 활용방안에 대한 연구의 필요성이 대두되었다(Shieh 등, 1991). 또한 표고균사는 생육이 느려 병이 발생되기 쉬울 뿐만 아니라 일부분만 감염되어도 자실체 수량 및 크기를 감소시키는 결

*Corresponding author

과를 초래한다(Daniel, 1985; 大賀祥治, 1986). 따라서 톱밥을 이용한 표고버섯 재배시 경제적으로 안정생산을 하기 위해서는 침엽수 톱밥을 표고재배에 이용할 수 있게 하는 방안과 재배초기에 균사활착을 촉진시키는 것이 무엇보다 중요한 문제라 하겠다.

본 연구에서는 참나무와 침엽수의 성분차이를 조사해 침엽수에서 부족성분이 무엇인지 규명하고, 아울러 재배초기 균사 활착을 촉진시키기 위해 다양한 첨가물의 효과 검토와 톱밥배지의 전처리 등을 통해 표고버섯 생산에 효과적인 배지개발을 위한 기초자료를 얻고자 했다. 또한 통상적으로 사용하는 첨가물인 미강과 일본에서 개발한 첨가제(BITEL)의 효과와 성분을 비교분석해 미강의 부족성분을 보완할 수 있는 방안을 검토하고자 하였다.

材料 및 方法

공시재료

Lentinus edodes ASI 3046을 농업기술연구소 균이과에서 분양받아 공시균주로 이용했으며 공시목은 참나무, 낙엽송, 소나무 등으로 한국과학기술원 원내 및 근처 야산에서 자생하는 것을 멸채한 후 톱밥제조기(농촌진흥청 기계화 연구소 제작)로 톱밥을 제조하여 사용했다. 보존배지와 기본배지로는 PDA(Potato Dextrose Agar)배지를 이용했으며 모든 실험은 톱밥배지에서 수행했다.

톱밥배지 전처리

톱밥 폭쇄처리는 경북대 목재화학 연구실과 한국화학연구소 공작실에서 공동으로 제작한 폭쇄기로 압력 20 kg/cm^2 - 35 kg/cm^2 에서 2-10분간 톱밥을 폭쇄처리 했다. 냉수추출, 온수추출, 아세톤추출, 알칼리추출은 시료를 20 g 칭량하여 500 ml 삼각플라스크에 취하고 냉수, 온수, 95% 아세톤, 1.0% NaOH를 100 ml 씩 첨가하여 실온에서 30분, 60분, 90분 동안 냉치한 후, 미리 칭량한 1G3 glass filter로 충분하게 세척, 여과하여 항온건조기에서 항량에 도달할 때 까지 건조, 칭량하였다. 생물학적 처리는 유기농법에 이용되는 Effective Microorganisms(EM)을 「자연농법국제연구개발센타」(한국지부)에서 분양받아 물 1 l에 5 g의 흑설탕을 넣어 녹인 후 10 ml의 EM을 접종하고 이것을 톱밥에 수분함량이 약 50% 정도

되게 혼합 후 37°C에서 1 주일간 발효한 다음 시료로 사용했다.

목재성분분석 및 일본의 톱밥배지 첨가제와 미강의 성분 비교분석

조성분 분석은 TAPPI 표준법 및 JIS 표준법에 의하여 분석하였고 C/N 비는 Element analysis(Model: Carlo Elba-1106)를 이용해 구하였으며, 구성당 분석은 Aidole-Acetate 법에 의해 G.L.C로 분석하였다.

배지조제 및 균사생장속도 측정

30×200 mm test tube에 wet weight 50 g의 톱밥배지(수분함량 65%)를 넣고 가비중이 0.19가 되게 다진 후 121°C에서 20분 동안 살균하여 배지를 조제했으며, PDA배지에서 subculture 한 균사체를 직경 5 mm hollow stainless steel tube로 절취해 접종하고 25°C, 암상태에서 5-30일 동안 배양한 후, 한 구당 4-6 반복한 것의 평균치를 구하였다. 유의성 검정은 LSD($\alpha=0.05$) 통계분석을 이용했다.

톱밥배지 상에서 균사생장에 미치는 첨가물의 효과조사

탄소원, 질소원, 탄닌산, lignosulfonic acid 및 첨가제(미강, BITEL)의 첨가 효과는 모두 톱밥배지 전조중량의 적정 퍼센트 단위로 첨가한 다음 위에서 명시한 것과 동일한 방법으로 배지를 조제하고 균사생장 속도를 측정했다.

結果 및 考察

수종별 톱밥배지 재료에 따른 표고버섯 균사생장 속도는 낙엽송>소나무 순이었으며 각 배지재료의 여러 전처리에 따른 균사생장속도를 측정한 결과, 폭쇄처리와 생물학적 처리시에는 control보다 오히려 균사생장 속도가 느렸으나, 냉수로 한번 씻어낸 경우에 전반적으로 좋은 결과를 보였다(Fig. 1). 이를 토대로 냉수, 온수, aceton, alkali(NaOH) 처리를 시간 별로 행한 결과 소나무는 모든 처리에서 효과가 있었으며 특히 온수로 1.5 hrs 추출시 가장 좋았다. 낙엽송은 온수, aceton 등으로 추출시 균사생장이 빨랐지만 alkali 추출시에는 추출시간이 길어짐에

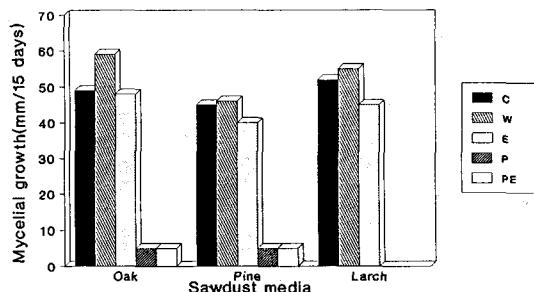


Fig. 1. The pretreatment effect of various sawdust media on *L. edodes* mycelial growth.
C: Control, W: Washing with cold water, E: EM(Effective Microorganism) treatment, P: Popping, PE: Popping + EM treatment

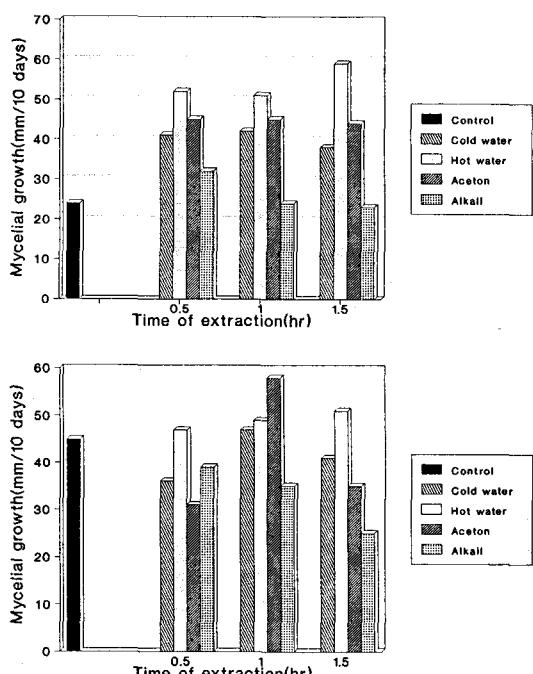


Fig. 2. Pretreatment effect of coniferous sawdust with various solvents on the mycelial growth of *L. edodes*.
(A) Pine sawdust, (B) Larch sawdust

따라 균사생장이 저하되었다(Fig. 2).

참나무와 여러 침엽수들의 목재성분을 비교분석한 결과, 각 수종 모두 alkali 추출 성분이 가장 많았으며, 소나무는 참나무와 낙엽송에 비해 냉수, 온수 및 alkali 추출성분이 적었고 aceton 추출성분이 많

Table 1. Composition of wood (Unit : %)

Species Characters	Pine	Larch	Oak
Cold water extract	1.4	6.2	3.7
Hot water extract	2.5	8.1	5.6
Aceton extract	4.1	1.9	2.1
Alkali extract	14.4	21.8	21.8
Klason lignin	29.0	27.0	20.0
C	72.8	72.6	71.8
N	0.4	0.4	0.6
C/N ratio	182	182	120

Table 2. Sugar composition of woods

Species	Sugar composition (%)					
	Rham.	Ara.	Xyl.	Man.	Gal.	Glc.
Pine	T	4.7	15.4	16.4	T	63.5
Larch	T	2.4	5.9	16.5	9.6	65.6
Oak	T	0.6	24.9	1.6	1.3	71.6

Rham: Rhamnose, Ara: Arabinose, Xyl: Xylose, Man: Mannose, Gal: Galactose, Glc.: Glucose, T: Trace

았다. Lignin 함량은 소나무에서 29%로 가장 많았고 C/N 비는 소나무 182, 낙엽송 182, 참나무 120 등으로 높게 나타났다(Table 1). 텁밥의 질소성분이 0.4~0.6%로 낮은 것은 표고균이 극 소량의 N 원으로도 lignin을 포함한 상당량의 탄수화물을 대사할 수 있다는 것을 암시하고 있다. 당의 종류별 구성성분을 본 결과 총 당 중에서 glucose의 함량이 가장 많았고 다른 종류는 수종에 따라 차이가 있었다. 참나무는 다른 침엽수에 비해 arabinose, mannose 함량이 적게 나타났으며 xylose 함량은 높았으나 낙엽송은 다른 수종에 비해 galactose의 함량이 상당히 높았고 xylose의 함량이 낮았다(Table 2). 수종별 미강의 첨가량을 달리하여 표고버섯 균사의 생장량을 측정한 결과, 미강은 참나무와 소나무에서는 20%, 낙엽송은 10%의 첨가가 적합했는데 이 같은 결과는 清水 豊 등(1981)의 실험결과와 거의 일치했다(Fig. 3). 우리나라에서 많이 사용하는 미강과 일본에서 개발한 첨가제, BITEL의 첨가효과를 비교 조사한 결과 미

장은 BITEL에 비해 균사생장에 미치는 효과가 상당히 떨어지는 것으로 나타났다(Fig. 4). 그 원인을 규명코자 첨가제의 성분을 비교분석한 결과, BITEL은 미강에 비해 냉수와 ethanol-benzene의 추출물이 적고 lignin과 회분의 함량이 낮았으며, C/N 비는 22 정도로 유사하게 나타났다(Table 3). 이것

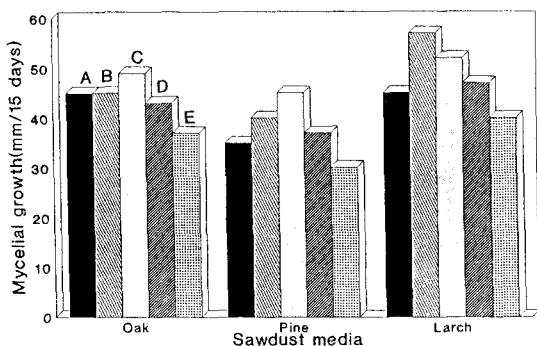


Fig. 3. Effect of rice bran on *L. edodes* mycelial growth in various sawdust media.

Percent of rice bran in total sawdust medium: A: 0%, B: 10%, C: 20%, D: 30%, E: 40%

으로 볼 때 미강이나 BITEL은 톱밥배지에 보수력 증가의 효과(清水 豊 등, 1981) 뿐만 아니라 부족한 N원의 공급에도 중요한 역할을 할 것이라 사료되며 이 두 첨가물의 효과가 다른 것은 C/N 비 차이에서 기인한 것이 아님을 알 수 있었다. BITEL은 미강에 비해 xylose와 galactose 함량이 2배 이상 높았으나 glucose는 약간 적었다(Table 4). 이같이 목재성분과 첨가물 성분을 비교 분석한 결과를 토대로 침엽수 톱밥배지에 첨가효과가 두드러진 C원을 조사한 결과, 톱밥배지 전조중량의 2%로 탄소원을 첨가할 때 균사생장 속도는 charcoal, starch, saccharose 순으로 좋았으며 glucose는 효과가 없었다(Table 5). 이는 Song 등(1987)이 균사체 생장에서 최적 탄소원은 glucose란 보고와는 차이가 있었다. Charcoal의 효과가 두드러진 이유는 이것이 어떤 균사생장 저해 물질의 흡착에 기인한 것이 아닌가 생각된다. Charcoal은 9%까지 함량이 증가할 수록 균사생장 속도는 좋았으나 첨가량에 따른 균사생장의 촉진 정도를 고려해 볼 때 적정 수준은 3%였다(Fig. 5). C원 실험에서 참나무나 BITEL에 함유량이 풍부한 xy-

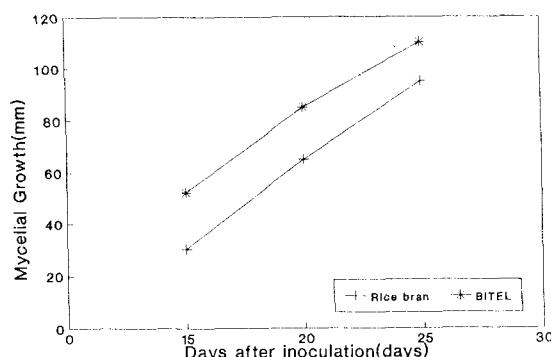


Fig. 4. Effect of additives on *L. edodes* mycelial growth in a oak sawdust medium.

Table 3. Composition of additives

Characters	Additives	Bitel	Rice bran
cold water extract		18.6	37.4
ethanol-benzene extract		7.9	32.5
alkali extract		75.0	85.1
klason lignin		9.0	24.4
ash		5.0	10.5
C		43.1	47.5
N		1.9	2.0
C/N ratio		22.2	23.4

Table 4. Sugar composition of additives

Additives	Sugar composition (%)					
	Rhamnose	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose
Bitel	T	3.2	3.2	1.6	3.2	88.7
Rice bran	T	3.8	1.3	1.3	1.3	92.3

T: Trace

Table 5. Effect of various 2% C and 0.2% N sources on the mycelial growth of *L. edodes* in coniferous sawdust substrate
(Unit : mm/15 days)

Nutrients		Pine	Larch	LSD ($\alpha = 0.05$)
C	Control	49	55	*
	Glucose	48	53	*
	Starch	54	60	***
	Maltose	54	58	**
	Saccharose	49	60	***
	Chacoal	58	65	****
	Galactose	50	58	**
N	Cotrol	49	55	*
	Ammonium chloride	55	60	***
	Potassium nitrate	55	60	***
	Ammonium nitrate	52	58	**
	Ammonium sulfate	53	58	**
	Pepton	49	55	*
	Urea	40	51	

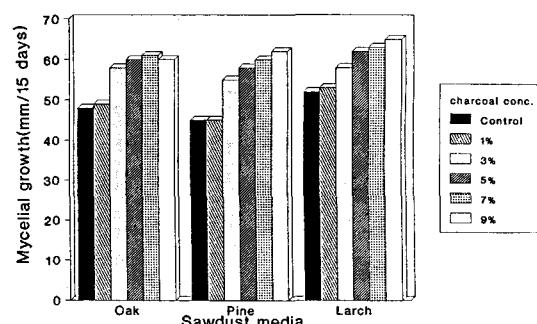


Fig. 5. Effect of charcoal on *L. edodes* mycelial growth in oak, pine and larch sawdust medium.

lose는 제외했는데 그 이유는 농기연('85-'89) 실험에서 xylose가 가장 부적합한 탄소원이란 보고가 나왔기 때문이다. 그러나 Michael 등(1984)이 *Saccharomyces cerevisiae* 균주를 이용한 실험에서 어떤 당의 이용성이 다른 당에 의해 영향을 받는다고 보고한 바, xylose와 다른 당의 복합첨가 효과는 더 연구해 볼 필요성이 있는 것 같다. N원은 아미노산,

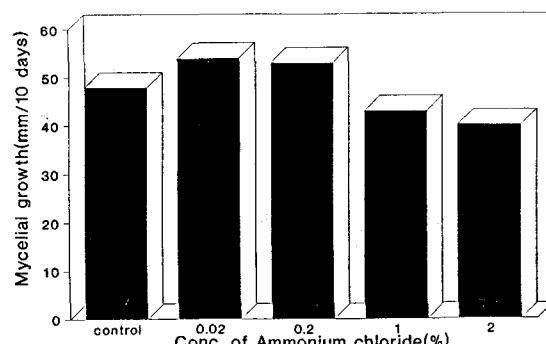


Fig. 6. Effect of ammonium chloride on *L. edodes* mycelial growth in a pine sawdust medium.

Table 6. Effect of tannic acid on the mycelial growth of *L. edodes*

Sawdust medium	Concentration of tannic acid (%)	Mycelial growth (mm)		
		10 days	15 days	25 days
Oak	Control	31	50	92
	0.01	31	51	93
	0.1	30	50	93
	1.0	29	49	90
	1.5	28	47	88
	Control	27	46	90
Pine	0.01	27	46	91
	0.1	28	46	91
	1.0	28	47	90
	1.5	24	43	88
	Control	35	55	104
Larch	0.01	35	55	104
	0.1	35	53	103
	1.0	34	52	100
	1.5	34	53	101
	Control	35	55	104

hexan, glucosamine, chitin, vitamin 등의 주요 세포 구성성분의 합성에 필수불가결한 요소인 바, 톱밥 배지에서 표고균사 생장에 적합한 N원을 조사한 결과, ammonium chloride와 potassium nitrate가 가장 적합했으며, urea는 0.2% 첨가시 균사생장을 저하시켰다(Table 5). A. chloride의 최적 첨가량은 0.02%였다(Fig. 6). 침엽수 톱밥에 tannic acid의 첨가는 균사생장에 별 다른 영향을 끼치지 못했으며

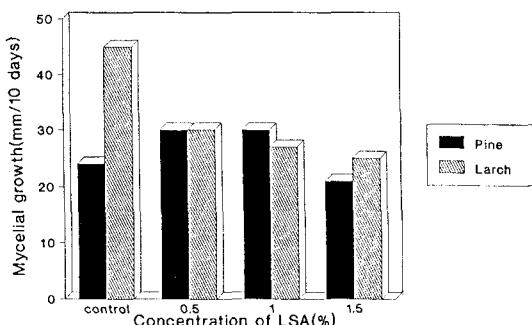


Fig. 7. Effect of lignosulfonic acid on *L. edodes* mycelial growth in coniferous sawdust medium.

1.5% 이상 첨가시에는 균사생장이 오히려 저연되었다(Table 6). Tannic acid의 첨가효과는 Park 등(1992)의 결과와는 달랐으나 다른 보고 논문(閔, 1992)에서는 톱밥자체에 균사발육을 촉진할 만큼 충분한 양의 유기산이 있기 때문에 표고균사 생장과 자실체형성에 tannic acid의 효과가 없었다고 발표하였다. 稲葉和功 등(1979, 1980)이 페프페액을 Phenyl-Sepharose column을 이용해 분획했을시 몇몇 fractionⁱⁱ 표고균사 생장의 촉진에 상당히 효과적이었다고 보고하였기에 페프페액의 이용방안의 검토와 이들의 균사생장 촉진효과를 보기 위해 전체 페프페액 중 약 40%를 차지하는 lignosulfonic acid(백기현 등, 1993)를 Aldrich사로부터 구입해 첨엽수 톱밥배지에서 첨가 효과를 조사한 결과 소나무에서는 배지 건조중량의 1.5% 이하 첨가시 균사생장 촉진 효과를 보였으나 낙엽송 배지에서는 소량의 첨가에도 control보다 균사생장 속도가 느렸다(Fig. 7).

概要

첨엽수 톱밥을 이용한 표고버섯 재배용 인공골목에서 버섯 생산량과 질을 향상하기 위하여 균사생장에 적합한 배지재료의 조건, 목재성분 비교분석, 톱밥배지의 전처리, 다양한 첨가물들의 효능검토 등을 통해 인공기질 조성구축의 기본자료를 도출했으며 그 결과는 아래와 같다.

1. 수종별 톱밥배지 재료에 따른 균사생장 속도는 낙엽송 > 소나무 순이었으며 참나무와 이들 각각에 대한 목재성분을 비교분석한 결과, 전반적인 C/N

ratio는 공통적으로 높게 나타났으나 참나무가 다른 첨엽수에 비해 lignin과 arabinose, mannose 함량이 적고 xylose 함량이 높았으며, 낙엽송은 다른 수종에 비해 galactose의 함량이 상당히 높았다.

2. 각 배지재료의 전처리에 따른 균사생장속도를 측정한 결과, 폭쇄처리와 생물학적 처리시에는 control보다 오히려 균사생장 속도가 느렸으나, 배지를 냉수로 한번 씻어낸 경우에 전반적으로 좋은 결과를 보였다. 이를 토대로 각 처리를 시간별로 행한 결과 소나무는 온수로 1.5 hr, 낙엽송은 acetone으로 1.0 hr 추출시 균사생장이 가장 빨랐다.

3. 톱밥배지에 첨가하는 미강은 20% 이하가 적합했으나 균사생장에 미치는 효과가 일본에서 개발한 첨가제, BITEL의 약 80% 수준인 것으로 나타났으며, 이들 성분을 비교 분석한 결과 C/N 비는 유사하나 BITEL이 미강에 비해 xylose와 galactose 함량이 2배 이상 높았다.

4. 톱밥배지에서 표고균사의 생장을 촉진시키기 위하여 C원, N원 첨가효과를 조사한 결과, C원으로는 charcoal 3%, N원으로는 ammonium chloride와 potassium nitrate 0.02%가 좋았다.

5. 톱밥배지에 tannic acid의 첨가는 첨엽수 뿐만 아니라 참나무에서도 균사생장에 별 다른 영향을 끼치지 못했으며, 1.5% 이상 첨가시에는 균사 생장이 오히려 저연되었다.

6. 첨엽수 톱밥배지에 LSA(lignosulfonic acid)의 첨가효과를 조사한 결과, 소나무에서는 배지 건조중량의 1.5% 이하 첨가시 균사생장이 control보다 약 1.3배 정도 높았으나, 낙엽송 배지에서는 소량의 첨가에도 control보다 균사생장 속도가 느렸다.

謝辭

본 연구는 농촌진흥청 농업 특정연구과제 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사하는 바이다.

参考文献

- Chang, S. T. and Hayes, W. H. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic press, New York. p. 445-459.
 Chang, S. T. and Philip G. Miles. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC press. p. 189-223.

- Daniel J. Royse. 1985. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. *Mycologia* 77(5): 756-762.
- Michael O. Garraway and Robert C. Evans. 1984. Fungal nutrition and physiology. A Wiley-Interscience Publication p. 78-80.
- Shieh Jui-Chung, Song-Gen Hwang and Masashi Sumimoto. 1991. Cultivation of Shiitake mushrooms on the logs of a conifer, *Cunninghamia lanceolata*. *Mokuzai Gakkaishi* 37(3): 266-274.
- Shieh Jui-Chung, Song-Gen Hwang and Masashi Sumimoto. 1991. Cultivation of Shiitake Mushrooms in Plastic Bags of Coniferous(*Cunninghamia lanceolata*) Sawdust. *Mokuzai Gakkaishi*. 37(12): 1193-1199.
- Song C. H. and Cho K. Y. 1991. Effect of low temperature shock treatment on sporophore initiation, lipid profile and nutrient transport in *L. edodes*. *Mycologia*. 83(1): 24-29.
- Song C. H., Cho K. Y. and Nair, N. G. 1987. A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia*. 79: 866-876.
- Tatsuo Ishikawa. 1989. Control of growth and differentiation by cAMP in fungi. *Bot. Mag. Tokyo* 102: 471-490.
- 閔斗植. 1992. 참나무류 칩을 이용한 표고버섯 재배. “참나무류 칩을 이용한 표고버섯 재배” 과제 최종 보고서 제출 논문(충북대 농대).
- 박원목, 송치현, 현재우. 1992. 표고버섯(*Lentinus edodes*)의 영양생리 및 기질개발. *한국균학회지* 20(1): 77-82.
- 백기현, 조남석, 임기표, 조병목, 황명호. 1993. 목질계 biomass의 완전 이용을 위한 무공해 펠트화 공정의 개발. *한국과학재단 특정연구 보고서*, p. 10.
- 신동소, 조남석, 조병목, 임기표, 이화행. 1987. 임산화학. 향문사, p. 143-170.
- 稻葉和功, 飯塚義富, 越島哲夫. 1979. 亞硫酸 パルプ廃液成分によるシイタケ菌絲 の生育促進. 木材學會誌 25(7): 510-515.
- 稻葉和功, 飯塚義富, 越島哲夫. 1980. シイタケ菌絲の生育を促進する亞硫酸排液区分 の分割. 木材學會誌 26(7): 482-487.
- 鈴木敏雄, 近藤民雄. 1980. 食用菌しん類の栽培に関する研究(第1報) ヤナギマツタケ 菌について. 木材學會誌 26(6): 432-436.
- 清水 豊, 近藤民雄. 1981. 食用きのに鋸屑栽培における米ぬか添加の効果. 木材學會誌 27(1) : 54-58.
- 大賀祥治. 1986. きのこ栽培に関する研究(第6報) シイタケ栽培におけるほど木への添 加物投與が菌絲生長ならびに子實體發生におよぼす影響. 木材學會誌 32 (7): 545-551.