

천마생산을 위한 천마버섯균의 수집과 우량종균 제조에 관한 연구

성재모* · 정범식¹ · 문희우 · 김수호

강원대학교 농업생명과학대학, '(주)동양화학

Studies on collection and spawn manufacture of *Armillaria* spp. for production of *Gastrodia* tuber

Jae-Mo Sung*, Beom-Sig Jung¹, Hee-Woo Moon and Su-Ho Kim

College of Agricultural Life Science, ¹Dong Yang Chemical Company

ABSTRACT: *Armillaria* isolates (KNU-A110, KNU-A234, KNU-A1022 and KNU-A1030) were excellent isolates for producing *Gastrodia* tuber in farm cultivation. Depth of soil between 10 cm~19 cm was favorable for producing *Gastrodia* tuber and rhizomorph at cultivated area. Eighty nine isolates were collected from 5 countries; 16 from Japan, 22 from USA, 26 from France, 4 from Africa and 21 from Korea. Mycelial fan of most isolates were better formed on basal medium with lemon extract than without lemon. *A. mellea* (KNU-A997) were strongly pathogenic to *Gastrodia* but *A. gallica* (KNU-A110) were excellent symbiotic to *Gastrodia* tuber. Mycelial growth were good on basal medium containing 0.25%~0.5% ethanol and sawdust spawn added wheat bran and corncob. Liquid culture inoculation were not only fast growth of mycelium but also reduction of contamination.

KEYWORDS: *A. mellea*, *A. gallica*, Ethanol, *Gastrodia* tuber, Liquid culture inoculation, rhizomorph, saw dust spawn

천마(*Gastrodia elata*)는 염록소가 없어 담자균인 *Armillaria*속균과 공생하는 난과 식물로써 (Hamada, 1939; Kusano, 1911; 周鉉, 1987) 간질병, 증풍, 경기, 두통, 간장과 신경질환 치료의 특효약으로 동양에서는 3000년전부터 사용되고 있는 귀중한 약재자원이다. 일생동안의 대부분을 *Armillaria*속균으로 부터 영양을 공급받아 영양기관의 생장과 번식기관의 형성에 결정적인 도움을 받는다. 지하경은 장타원형으로 뿌리가 없으며 번식은 유성생식을 제외하고는 전기간을 과경으로 존재한다. 천마와 공생관계를 유지하는 *Armillaria*속균은 삼림에 피해를 주는 담자균류에 속하는 수목 병원균으로 Fries(1821)에 의하여 처음 명명된 후 *Armillaria mellea* (Vahl) Quel로 사용되고 있다. 지금까지 약 30종이 알려져 있으며 외국에서는 중요한 병원균으로 보고되고 있다(Day, 1937; Dickinson and Lucas, 1983; Sung and Cha; 1988;

Sung et al, 1991, 1994). *Armillaria*속균 중 *A. gallica*는 수목병원성이 약하지만 천마와 공생관계가 있는 균으로 밝혀졌다(성 등, 1994a; 1994b; 1994c).

천마는 중국, 일본, 한국에만 분포하는 것으로 중국에서는 천마와 *Armillaria*속균과의 관계 등을 구명하여 천마재배에 관하여 보고한바 있으며, *Armillaria*속균에 의한 천마의 침입생리등이 보고되었다(주현, 1987; Zhang and Li, 1980). 또한 일본에서도 천마와 *Armillaria*속균과의 관계를 구명하여 보고하였으며(Kusano, 1911), 천마를 채집하여 그에 대한 생활사와 형태에 대하여 보고하였다. 한국에서 천마에 대한 연구는 이(1983)에 의하여 *Armillaria*속균과의 관계를 구명한 특허문헌이 있으며, 홍(1990)에 의하여 *Armillaria mellea*의 균사 배양 및 균사속 생산에 관한 연구가 이루어졌다. 성(1988; 1994a)은 뽕나무버섯균중에 *A. gallica*가 천마와 공생관계가 있고, 본 균주를 사용하여 여러 가지 실험을 통하여 천마재배에 꼭 필요한 균주로

*Corresponding author

판명되어 보고된 바 있다.

향후 천마재배를 안정화시키기 위하여 천마와 *Armillaria*속균의 균주를 수집하여 우량종균을 개발함과 동시에 우량종균 제조기술을 개발하여 천마 생산에 기초자료로 활용되어 농촌소득증대는 물론 국내에 천마공급을 원활히 하여 국민보건 향상에도 기여할 목적으로 본 연구를 실시하여 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주의 수집 및 특성조사

균주 수집 강원도와 경기도 일대의 삼림과 천마재배지등을 대상으로 4~10월에 걸쳐 수집하였으며 자실체는 60°C에서 6~10시간 열풍건조하여 보존하였고, 단포자분리는 121°C(1.2 kg/cm²)에서 20분간 고압멸균한 무균상태의 유산지와 Petridish상에서 얻은 포자문으로부터 포자현탁액을 조제하여 Water agar에 일정비율로 도말한 후 25°C 항온기에서 2~3일 배양하여 발아된 포자를 해부현미경하에서 분리하였다. 조직분리는 전전한 자실체의 갓 또는 대의 조직을 cleanbench 내에서 3 mm³크기로 Water agar상에 이식하여 2~5일간 25°C 항온기에서 배양된 균사체를 Malt agar에 옮겨 모균주로 사용하였다. 또한 천마재배지의 골목에 형성된 부채모양의 균사체와 천마와 공생하는 수목에 형성된 균사체에서도 조직분리와 동일한 방법으로 균을 분리할 수 있었다. 그리고 미국, 일본, 프랑스, 아프리카 등에서 동정 또는 미동정된 균주를 분양받아 본 연구의 공시균주로 사용하였다.

균주의 특성조사 분리된 균주를 2% Malt extract, 0.2% Yeast extract, 1.8% Agar(MYEA)로 조제된 배지에 접종하여 25°C의 항온기에서 1개월간 배양하면서 균사의 자람, 색, 균사속 형성, 배지착색 등 배양적 특성을 조사하였다. 또한 프랑스에서는 오렌지에서 Mycelial fan이나 자실체가 잘 형성된다는 보고가 있어 레몬 첨가배지에서 각균주의 배양적 특성을 관찰하였으며 천마와의 공생력 예비 실험으로 천마에 대한 병원성을 검정하였고 같은 균주라도 환경에 따라 어떠한 배양적 차이가 있는지 관찰하였다.

우량 종균 제조 기술개발

최적배지 개발 KNU-A110을 공시균주로하여 참나무톱밥과 쌀겨를 4 : 1(w/w)로 혼합하여 중류수로 수분조절한 것을 대조구로 하였으며, 순수한 중류수 대신 Ethanol(0.5%)용액, Tannic acid(0.5%)용액, Ethanol(0.5%)+Tannic acid(0.5%) 용액, 달맞이꽃 추출액, 잣나무 가지 추출액, 잣나무수피 추출액, 굴참나무 가지 추출액, 굴참나무 수피 추출액으로 수분을 65%로 조절하였다. 식물추출액은 식물체 500 g에 3 l의 물을 가하여 1시간 동안 끓인물을 사용하였다. 수분조절이 끝난 배지는 직경 1.5 cm, 길이 18 cm의 Test-tube에 11 cm까지 충진하여 121°C(1.2 kg/cm²)에서 30분 살균후 Petridish에서 배양된 균사체를 직경 4 mm의 Cork-borer로 취하여 각각 접종하고 24±1°C에서 30일간 배양하여 배양된 균사의 길이를 6반복으로 측정하여 평균값으로 data를 정리하였다. 또한 이 실험에서 가장 우수한 효과를 보인 Ethanol의 농도를 조사하기 위하여 0%, 0.25%, 0.5%, 1.0%, 1.5%의 에탄올용액에서 위의 방법과 유사한 방법으로 실험하였다. 또한 고압멸균시 Ethanol의 소실정도를 알아보기 위해 2% Malt extract, 0.2% Yeast extract의 기본배지에 Ethanol을 0%, 0.1%, 0.25%, 0.5%로 첨가하여 고압멸균한 배지와 기본배지만을 고압멸균후 Filtering을 통하여 Ethanol을 0%, 0.1%, 0.25%, 0.5%를 첨가한 배지에 Petri-dish에서 배양된 균사체를 직경 4 mm의 Cork-bore로 취하여 각각 2개씩 접종하고 24±1°C에서 120 rpm으로 10일간 회전식 진탕배양기에서 배양하였으며 배지량은 250 ml 삼각 Flask에 100 ml씩 맞추었다. 균체정량은 100 mesh의 Testing sieve로 거른 후 거름종이에 옮겨 상온에서 12시간 방치후 Dry-oven에서 12시간 건조시켜 건조균체량을 측정하였다. 또한 부산물을 영양원으로 이용할 수 있도록 하기 위하여 참나무톱밥 : 쌀겨 : 첨가제의 비율을 중량비 70 : 15 : 15로 하고 첨가제로는 밀기울, 옥수수수속, 펄프박, 맥주박, 코코아박, 커피박을 첨가하였으며 대조구는 참나무톱밥과 쌀겨의 비율을 중량비 4대 1로 혼합하였다. 멸균, 접종, 배양, 측정방법은 위의 방법과 유사하게 진행하였다.

액체접종원 배양기술 개발

*Armillaria*속균은 생장이 느리기 때문에 특히

액체 접종원이 필요한 실정이다. 전접종원은 16개의 250 ml 삼각 Flask에 4% Malt extract, 0.3% Yeast extract, 0.25% Ethanol 배지를 100 ml씩 넣고 121°C(1.2kg/cm²)에서 20분간 살균하였으며 Petridish에서 배양된 균사체를 직경 4 mm의 Cork-borer로 취하여 각각 5개씩 접종하고 24±1°C에서 120 rpm으로 6일간 회전진탕배양하였다. 액체접종원은 2개의 20 l 유리용기에 4% Malt extract, 0.3% Yeast extract, 0.25% Ethanol, 0.25% Corn-oil 조성의 배지를 16 l씩 넣고 초기 pH를 6.5로 맞추어 121°C(1.2 kg/cm²)에서 60분간 살균한 뒤 배양된 전접종원을 각각 800 ml씩 접종하여 접종비 5%(v/v)가 되게 하였다. 접종후에는 24±1°C에서 통기량 0.5 vvm(vol. of air/vol. of medium/min)으로 6일간 배양하여 2000개의 참나무톱밥과 쌀겨의 혼합률을 4 : 1로 하는 1 l 용기의 pp종균병에 약 15 ml씩 접종하였다. 또한 배지수 분량의 0.25% Ethanol, 0.5% Ethanol을 첨가한 pp종균병을 각각 1000개씩 제조하여 위의 방법과 같은 액체접종원으로 접종하였다.

균주보관과 계대배양에 관한 시험

3개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년 동안 15°C~20°C로 유지되는 지하실에 보관중에 있는 KNU-A110균주를 2% Malt extract, 0.2% Yeast extract, 1.8% Agar 배지에 접종하여 25°C의 항온기에서 1개월간 배양하여 균사의 활력이나 오염율을 조사하였다. 또한 KNU-A110, KNU-A234, KNU-A252, KNU-A1022, KNU-A1030 5균주를 2% Malt extract, 0.2% Yeast extract, 1.8% Agar 배지에서 7회에 걸쳐 계대배양하여 균사활력에 미치는 계대배양의 영향 등을 조사하였다.

균주별 천마공생 특성조사

KNU-A110 등 9균주를 참나무 원목에 접종시켜 1994년 봄에 자마와 함께 매몰한 후 1995년 5월 공생 정도를 조사하였다.

결 과

균주수집 및 특성조사

균주 수집 외국에서 분양 받은 균주로는 일본에서 16균주, 프랑스에서 26균주, 미국에서 22균주,

Table 1. Isolates of *Amillaria* sp. from Japan

Species of <i>Amillaria</i>	No. of isolates	Host
<i>A. gallica</i>	7	<i>Gastrodia</i> sp.
<i>A. sinapina</i>	2	<i>Gastrodia</i> sp.
<i>A. ostoyae</i>	1	<i>Gastrodia</i> sp.
<i>A. jezoensis</i>	3	<i>Gastrodia</i> sp.
<i>A. singula</i>	1	<i>Gastrodia</i> sp.
Not known	2	<i>Gastrodia</i> sp.

Table 2. Isolates of *Amillaria* sp. from France

Species of <i>Amillaria</i>	No. of isolates	genotype of isolates
<i>A. mellea</i>	8	Haplloid 1균주
<i>A. sinapina</i>	3	Haplloid 3균주
<i>A. gallica</i>	3	
<i>A. America IX</i>	2	
<i>A. cepistepis</i>	2	
<i>A. ostoyae</i>	1	
Not known	7	Haplloid 2균주

아프리카에서 4균주이며 우리나라에서는 강원도와 경기도 일대의 삼림과 천마 재배지등을 대상으로 4월부터 10월까지 수집하였다. 일본에서 분양 받은 균주는 모두 천마와 공생하는 장소에서 분리된 것으로 천마와의 공생친화도 등의 연구를 거쳐 우량균주로 선발될 가능성이 높으며 종의 동정은 Table 1과 같다.

프랑스에서 분양받은 25균주 중에는 6종의 *Amillaria* sp.가 포함되어 있으며 6균주의 Haplloid 균주가 포함되어 있어 Tester로 사용할 수도 있으리라 기대된다. 종별 균주수를 보면 Table 2와 같다.

미국에서 분양 받은 균주는 11종에 22균주이며 13개의 Haplloid 균주를 포함하고 있어 Tester로 사용이 가능할 것으로 보이며 천마재배에 우량균주인 KNU-A110과 비슷한 특성이 있는 균주들이 있으므로 우량균주로 선발 가능을 보여준다. 미국에서 분양 받은 균주의 종별 균주수를 보면 Table 3과 같다.

아프리카의 균주는 4균주로 모두 *A. hemimii*로 3균주는 *Homothallic*이고 1균주는 *Heterothallic*이다. 한국에서는 1994년에 21개 균주가 분리되었으며 *Amillaria*속균에 이병된 식물이나 천마재배지에서 발생한 자실체에서 분리한 균주가

Table 3. Isolates of *Amillaria* sp. from USA

Species of Armillaria	No. of isolates	genotype of isolates
<i>A. lutea</i>	3	Haploid 1균주
<i>A. cepaestipes</i>	3	Haploid 1균주
<i>A. mellea</i>	3	Haploid 1균주
<i>A. calvescens</i>	2	Haploid 1균주
<i>A. borealis</i>	2	Haploid 2균주
<i>A. ostoyea</i>	1	Haploid 1균주
<i>A. gemina</i>	2	Haploid 2균주
<i>A. America IX</i>	2	Haploid 2균주
<i>A. America X</i>	1	Haploid 1균주
<i>A. tabescens</i>	2	Haploid 1균주
<i>A. sinapina</i>	1	Haploid 1균주

Table 4. Effect of liquid culture added with ethanol on *Armillaria* spawn production

Souce of spawn	% of failure	% of contamination	Culture period(day)
Saw dust spawn	46.4	41.1	87
Liquid culture	19.2	11.8	51
Liquid culture (Et 0.25%)	13.0	6.8	39
Liquid culture (Et 0.505)	8.2	4.7	42

9균주이며, 천마재배지의 원목에서 분리된 균주가 11균주이고, 천마와 공생중인 장소에서 분리된 것이 1균주였다.

특성 조사 천마 재배지에서 분리되는 균들을 MYEA 배지에서 배양적 특성에 따라 3가지 군으로 나눌 수 있었는데 제1군에 속하는 균주들은 기중균사는 거의 없이 균사속만을 왕성하게 형성하였으며 제2군에 속하는 균주들은 배지표면에 갈색의 Crustose를 두텁게 형성하며 균사속 형성도 왕성하였다. 제3군은 기중균사와 Rhizomorph의 형성이 미약하나 배지를 붉게 물들이는 특징이 있었다. 또한 같은 균주라도 빛, 온도 등의 환경이 약간만 달라도 배양형태가 많이 변화하였다.

레몬을 첨가한 배지에서는 거의 대부분의 균주에서 Mycelial fan이 왕성하게 형성되었으며 78 균주중 KNU-A992를 비롯한 5 균주에서 자실체가 형성되었다.

병원성 검정에 대한 예비 실험에서는 *A. mellea* 인 KNU-A997 균주에서 병원성이 있는 것으로 나

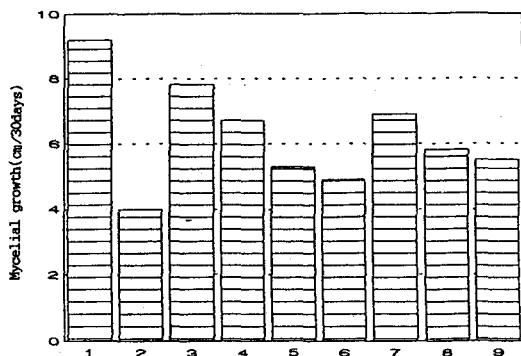


Fig. 1. Effect of ethanol addition on mycelial growth (KNU-A110) within basal medium
 1: Ethanol(0.5%), 2: Tannic acid(0.5%), 3: Ethanol(0.5%)+Tannic acid(0.5%), 4: Extraction of Oenothera tetrapterae, 5: Extraction of Pinus koraiensis branch, 6: Extraction of Pinus koraiensis bark, 7: Extraction of Quercus variabilis branch, 8: Extraction of Quercus variabilis bark, 9: Control Mycelial growth(cm/30days)

타났으며 *A. gallica*인 KNU-A110 균주에서는 병원성이 검정되지 않았다.

우량 종균 제조 기술개발

최적배지 개발 Ethanol(0.5%), Tannic acid(0.5%), Ethanol(0.5%) + Tannic acid(0.5%), 달맞이꽃 추출액, 잣나무 가지 추출액, 잣나무 수피 추출액, 굴참나무 가지 추출액, 굴참나무 수피 추출액으로 증류수를 대신하여 수분조절을 한 실험에서는 비교구에 비하여 대체로 공시균주인 KNU-A110 균주의 생장을 촉진시키었으며 특히 Ethanol(0.5%)의 처리구에서는 명확한 효과를 나타내었다. 생장량은 6반복의 평균값으로 구하였다(Fig. 1).

위의 실험결과 Ethanol 첨가구에서 탁월한 효과를 보였으므로 Ethanol의 농도별 실험을 한 결과 0%, 0.25%, 0.5%, 1.0%, 1.5%의 처리중 수분량에 Ethanol 0.25%를 첨가한 실험구에서 공시균주 KNU-A110의 균사생육이 가장 왕성하였다. 생장량은 5반복의 평균값으로 구하였다(Fig. 2).

Ethanol의 첨가는 한번에 첨가하는 것보다 여러 번 첨가하는 것이 더 효과적인 것으로 보고되고 있으나 현실적으로는 부적절한 방법임으로 고압멸균시 손실량이 균사생장에 미치는 영향을 실험해본 결과 Ethanol을 첨가후 멸균한 것은 0.25%에서

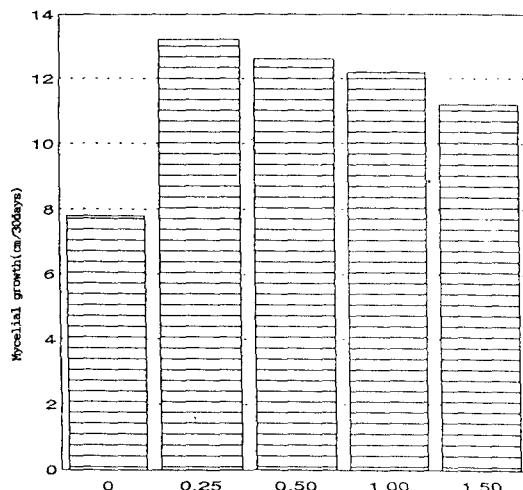


Fig. 2. Effect of ethanol concentration added sawdust inoculum mycelial growth by *Armillaria gallica* (KNU-A110).

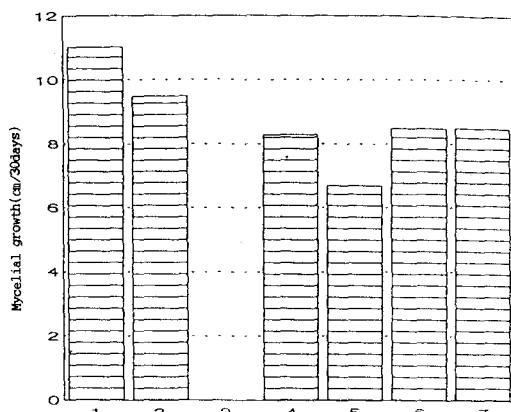


Fig. 4. Effect of addition of by-product on mycelial growth by *Armillaria gallica* (KNU-A110).

1:wheat bran, 2:corn cob, 3:pulp residues, 4:beer residues, 5:cocoa residues, 6:coffee residues, 7:control

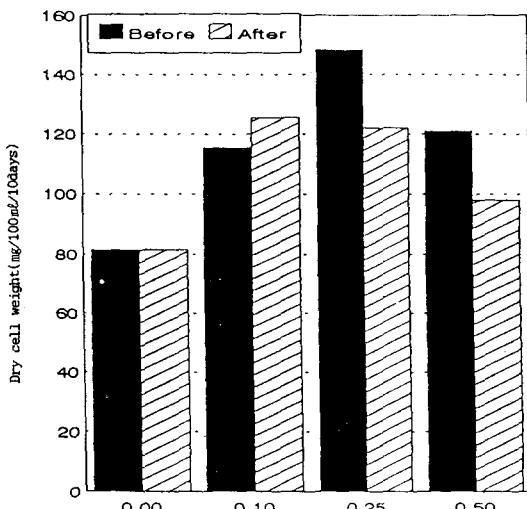


Fig. 3. Effect of ethanol after sawdust inoculum sterilization on mycelial growth by *Armillaria gallica* (KNU-A110).

가장 효과가 좋았고 멸균후 Filtering을 통하여 첨가한 배지에서는 0.1%에서 가장 효과가 좋았다 (Fig. 3).

톱밥에 부산물을 첨가한 배지에서 뚜렷한 첨가효과를 확인할 수 없었으나 밀기울, 옥수수속, 펄프박, 맥주박, 코코아박, 커피박을 첨가한 처리구중 밀기울과 옥수수속 첨가구에서 우수한 것으로 나타

났다(Fig. 4).

액체접종원 배양기술 개발

액체 접종원을 사용하여 종균을 접종한 실험에서 는 톱밥종균을 접종원으로 사용하는 대조구의 경우 총 불량률 46.4%, 오염율 41.1% 이었으며 배양병들의 2/3가 생육이 완료된 것을 배양기간으로 계산 하여 배양기간 87일이 소요된 것에 비하여 현격한 차이를 보였는데 액체 접종원을 사용한 경우 총 불량률 19.2%, 오염율 11.8%였고 배양기간도 51일 이었다(Table 4). 또한 총 불량률 중에는 과습으로 인한 물의 피해가 다소 있었으므로 액체접종의 접종량 및 액체접종 배지의 수분함량에 관한 연구가 진행된다면 더욱 좋은 결과를 낳을 수도 있을 것으로 사료된다.

배지 수분량의 0.25%, 0.5%의 Ethanol을 첨가한 배지에 액체 접종원을 사용한 처리구에서는 0.25% 첨가의 경우 총 불량률 13%, 오염율 6.8%, 배양기간 39일이 소요되었고 0.5% 첨가의 경우 총 불량률 8.2%, 오염율 4.7%, 배양기간 42일 이 소요되어 앞으로 천미종균 생산 방법에 많은 변화를 줄뿐 아니라 다른 종균의 생산에도 큰 영향을 미치리라 기대된다

균주보관과 계대배양에 관한 시험

Table 5. Difference of symbiotic relationship among *Armillaria* isolates

Isolates	Species	Degree of symbiosis	Relationship
KNU-A110	<i>A. gallica</i>	Excellent	symbiosis
KNU-A234	<i>A. gallica</i>	Excellent	symbiosis
KNU-A252	<i>A. gallica</i>	Excellent	symbiosis
KNU-A926	<i>A. tabescens</i>	good	symbiosis
KNU-A931	<i>A. tabescens</i>	good	symbiosis
KNU-A935	<i>A. ostoyae</i>	good	symbiosis
KNU-A941	<i>A. ostoyae</i>	good	symbiosis
KNU-A919	<i>A. mellea</i>	Pathogenic	penetration
KNU-A997	<i>A. mellea</i>	Pathogenic	penetration

3개월, 6개월, 1년, 2년, 3년, 4년 동안 15°C~20°C로 유지되는 지하실에 보관하고 있는 KNU-A110균주를 MYEA 배지에 접종하여 25°C의 항온기에서 1개월간 배양하여 본 결과 균사의 활력이나 오염율에서 특이할만한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 KNU-A110, KNU-A234, KNU-A252, KNU-A1022, KNU-A1030 5균주는 MYEA 배지에서 7회에 걸쳐 계대배양한 결과 균주에 따라 약간씩 차이를 보였으나 대체적으로 활력이 감소되었다. KNU-A110, KNU-A252의 경우 12% 가량 활력이 감소하였고 KNU-A234, KNU-A1022의 경우 8% 가량 활력이 감소하였으며 KNU-A1030는 17% 감소하였다.

균주별 천마공생 특성조사

KNU-A110등 9개 균주를 원목에 접종시켜 1994년 봄에 자마와 함께 매물후 1995년 5월 공생 정도를 조사하여 본 결과 천마의 대량 생산은 아직 조사할수 없었으나 공생정도는 다음과 같다 (Table 5).

고 찰

천마(*Gastrodia* sp.)는 중풍, 고혈압, 당뇨, 성기능장애 뿐만 아니라 스트레스 해소, 피로회복등에 특효약으로 쓰여 동양에서는 오래 전부터 귀중한 약재자원으로 알려져(Kusano, 1911; Tuyama and Sugino, 1966; 周鉉와 劉, 1987) 왔으며 잎과 뿌리가 없어 자가영양을 취하지 못하고 공생균인 *Armillaria* sp.에 영양을 의존하여 생장함이 밝혀졌다(Kusano, 1911; Tuyama and Sugino, 1966;

이, 1983; 周鉉와 劉, 1987). 이 균주를 이용하여 국내에서 천마재배가 이루어지고 있으며 중국과 일본에서도 인공재배에 대한 관심이 높아지고 있으나 균주에 많은 문제점이 있는 것으로 연구 결과 밝혀졌다(성등, 1994a; 1994b; 1994c).

Armillaria 속균을 이용하여 천마를 재배하는데 문제되는 점을 해결하기 위하여 춘천, 홍천, 원주, 양구, 인제, 진천, 가평등 강원도를 중심으로 120여 농가의 천마재배농가를 조사하였다. 그결과 조사농가의 20% 가량은 전혀 천마를 생산할 수 없었으며 30% 가량은 소량의 천마만을 생산할 수 있었고 나머지 50% 만이 정상적으로 천마를 생산할 수 있었다. 실패한 농가의 대부분은 균주의 선택이 잘못된 것으로 판명되었으므로 천마를 재배하는데 균주의 선택이 무엇보다 중요한 것으로 나타났다. 생장환경에 대해서는 토양의 pH는 4.5-5.8 이었으며 토성은 양토나 식양토이고 천마의 매물깊이는 10-20 cm가 좋은 것으로 나타났다. 균주를 잘 사용하면 환경에는 영향은 별로 받지 않으나 배수가 잘되는 남향을 향하는 것이 좋은 것으로 나타났다. 좋은 균주를 사용하면 천마가 많이 형성되어 겨울에 한해에 견디는 힘이 부족하므로 동해를 막기 위한 방법을 생각하여야 하며 1994년도처럼 더울 때에는 더위에도 세심한 주의를 할 필요가 있다. 산에 재배한 포장에서는 많은 양의 천마를 생산 한 것으로 보아 천마를 재배하려면 산림속이 좋은 것으로 조사결과 밝혀졌다

이미 농가조사에서 구명되었듯이 천마재배를 하려면 균주의 선택이 중요한데 이미 선정된 균주로 밝혀진 KNU-A110 균주와 배양형태 등에서 매우 유사하며 활력이 더욱 뛰어난 KNU-A252 균주등

4균주가 있는데 앞으로 이들 균주에 대한 특성조사를 거쳐 새로운 균주로 선정된다면 천마재배에 좋은 효과를 볼수 있으리라 기대된다. 천마를 연구하게 위해서는 우선적으로 공생균인 *Armillaria* sp.에 대한 연구가 선행되어야 하므로 계속적으로 균주를 채집분리하였으며, 외국의 균주도 분양받아 연구하는 것이 균주의 선발은 물론 유전자원보존 측면에서도 중요하다고 생각된다.

뽕나무버섯균은 생장속도가 대단히 느리므로 최적배지를 선발하는 것이 중요한데 기본배지에 Ethanol을 첨가하면 생장이 촉진된다는 것이 구명되었는데, Pentland(1967)의 연구 결과와 같은 경향을 보이는 것으로 에탄올을 조금씩 조금씩 분할하여 첨가하는 것이 적은 양으로 큰 효과를 볼수 있다고 보고되어 있고 배지의 살균중에도 다소 유실 된다는 보고도 있다. 본 연구에서는 톱밥배지의 0.25%(v/v)이나 0.5%(v/v)으로 첨가하고 살균하는 것이 좋은 결과를 얻을 수 있었는데 물 대비 0.25%-0.5% 첨가하면 배양기간도 단축시킬수 있고 오염도 방지 할수 있었으므로 배지조제시 에탄올을 첨가하는 것이 좋은 효과를 얻을 수 있으리라 본다.

현재 종균배양소에서는 종균을 만들때 톱밥종균을 사용하는데 톱밥종균은 오염율이 많고 배양기간이 오래 걸리나 액체 접종원을 사용하면 오염율도 줄일수 있고 배양기간도 단축시킬수 있으나 액체배양은 기술을 요하기 때문에 농가에서는 할수 없지만 기술을 익힌다면 배양소에서는 가능하리라 보고 앞으로 이러한 기술을 보급시키는 것이 중요한 일이라 생각된다.

뽕나무버섯균을 15°C에서 3개월에서 4년까지 보관한 KNU-A110균주를 MYEA 배지를 이용하여 배양한 결과 균사의 활력이나 오염율에서 특이할만한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 KNU-A110, KNU-A234, KNU-A252, KNU-A1022, KNU-A1030 5균주를 MYEA 배지에서 7회에 걸쳐 계대배양한 결과 균주에 따라 약간씩 차이를 보였으나 대체적으로 활력이 감소하는 경향이 있으므로 종균을 만든후 바로 사용하는 것이 좋은것으로 나타났다. 따라서 재배농가에서는 종균을 구입할때 먼저 천마의 재배면적을 계산하여 참나무와 뽕나무버섯균의 필요량을 계산하여 12개월 전에 준비하여야 될줄로 생각된다.

본 연구를 통하여 농가에서 실제 재배에 문제점

으로 나타나는 것이 균주의 사용이 천마를 재배하는데 중요한 요인으로 나타났으므로 균주를 수집하여 천마와의 공생관계를 구명하고 균이 잘 자라는 배양기를 구명하는 것이 중요하다. 본 연구가 이들의 문제점을 어느 정도 밝히었으므로 앞으로 본 연구결과가 천마생산에 기초자료로 이용되리라 본다.

적  요

본 연구는 천마를 인공적으로 재배하기 위하여 *Armillaria* 속균을 수집하였으며 천마재배지를 조사하여 우수한 균주를 선발하기 위하여 본 실험을 실시하였다. 현재 천마 재배지에서 가장 우수한 균주는 KNU-A110, KNU-A234, KNU-A1022, KNU-A1030 등 4균주로 조사되었다. 재배지의 토양에 깊이는 10cm~19 cm가 천마의 생산이나 Rhizomorph의 형성에 가장 적당한 것으로 조사되었다. 일본에서 5종 16균주, 미국에서 11종 22균주, 프랑스에서 6종 26균주, 아프리카에서 1종 4균주를 분양 받았으며 1994년도에 우리 나라에서 21균주를 분리하였다. 대부분의 균주가 레몬을 첨가한 배지에서 왕성하게 Mycelial fan을 형성하였으며 *A. mellea*인 KNU-A997 균주에서 병원성이 있는 것으로 나타났고 *A. gallica*인 KNU-A110 균주에서는 병원성이 검정되지 않았다. 종균 제조배지의 첨가물로는 Ethanol 0.25%~0.5%가 우수하였으며 농가 부산물의 첨가로는 밀기울과 옥수수속의 첨가에서 효과가 있었다. 액체 접종원은 배양속도를 빠르게 할뿐 아니라 오염률을 현격히 저하시키는 것으로 밝혀졌다.

감사의 글

본 연구는 1994년도 농촌진흥청 농업특성화제 연구비로 수행된 것으로 농촌진흥청의 연구비 지원에 감사한다.

참고문현

- Day, W. R. 1937. The parasitism of *Armillaria mellea* in relation to conifers. *Quart. J. For.* 21: 9-12.
 Dickinson, C. and J. Lucas. 1983. The En-

- cyclopedia of Mushrooms. *Crescent Books, New York.*
- Fries, E. M. 1821. Systema Mycologium. *Gryphiswaldiae.*
- Hamada, M. 1939. Studies über die mykorrhiza von Galeola. septentrionalis REICHB.-Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha. *Die Pflanze* 151-210.
- Kusano, S. 1911. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. *J. Coll. Agric. Tokyo.* 4(1): 1-68.
- Pentland, G. D. 1967. Etnanol produced by *Aureobasidium pullullans* and its effect on the growth of *Armillaria mellea*. *Canadian J. Microbiology.* 11: 1631-1639
- Sung, J. M. and J. Y. Cha. 1988. Unreported foot and root rot of *Pinus koraiensis* caused by *Amillaria mellea* in Korea. *Kor. J. Plant Pathology* (Abstract).
- Sung, J. M., Park, Y. J. Kim, H. J. and Harrington, T. C. 1991. Biology and taxonomic concepts of *Armillaria* in Pinus forests in Korea. *Kor. J. Pl. Path.* 7(1): 6-16.
- Sung, J. M., Yang, K. J., Lee H. K. and Harrington, T. C. 1994. Studies on Korean species of *Armillaria*. *Kor. J. Pl. Path.* 10(4): 261-269.
- Tuyama, T. and T. Sugino. 1966. Notes on *Gastrodia* of Japan(3). *J. Japan.* 41: 11.
- Zhang, W. and B. Li. 1980. The biological relationship of *Gastrodia elata* and *Armillaria mellea*. *Acta Botanica Sinica.* 22(1): 57-63.
- 강태수, 1989. *Pleurotus ostreatus*의 액체종균생 산에 관한 연구. 강원대 석사학위논문. 1-46.
- 성재모, 양근주, 이현경, T.C. Harrington. 1994a. 한국산 뽕나무버섯균의 종에 관한 연구. 한국식물병리학회지 10(4): 261-269.
- 성재모, 정범식, 양근주, 이현경, T.C. Harrington. 1994b. *Armillaria*속균을 이용한 천마 생산. 한국균학회지 23(1): 61-70.
- 성재모, 김광포, 지근억. 1994c. 천마의 재배기술체계획립과 식품개발에 관한 연구. 농촌진흥청 특정연구보고서 제1차년도. 1-82.
- 이지열, 1983. 천마의 인공재배법. 대한민국특허공고
- 周鉉, 劉成運, 1987. 천마형태학, 중국과학출판사, p133
- 홍재식, 1990. *Armillaria mellea*의 균사배양 및 균사속 생산에 관한 연구. 한국균학회지, No. 3, 149-157.