목재공학 26(1) : 19~28
Mokchae Konghak 26(1) : 19~28, 1998

液體種菌 接種에 의한 표고톱밥栽培 效果*1

이 태 수*2 · 조 남 석*3 · 민 두 식*3

Effect of Sawdust Culture on Oak Mushroom, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler by Inoculation of the Liquid Spawn*1

Tai-Soo Lee*2 · Nam-Seok Cho*3 · Du-Sik Min*3

ABSTRACT

For cultivation on sawdust-bed of oak-mushroom until present time, inoculation of spawn on sawdust bed has been performed by sawdust spawn. But, liquid spawn may have advantages for rapid mass production of spawn, and now, sawdust-cultivation by liquid spawn inoculation should be applied instead of sawdust spawn. Therefore, investigations were performed to evaluate the effect of sawdust-cultivation by liquid spawn inoculation.

The results were as follows :

1. When 11 kinds of liquid media were applied, the oak-mushroom culture medium was the most excellent in growth. Most suitable temperature at PDA was 25℃, and 22.5~27.5℃ in range were optimal for liquid culture. In liquid culture, amount of mycelial growth increases rapidly up to 40 days of cultivation. Incubation at fermentor brought yield of 106mg dry mycelia per 40ml media after 17 days.
2. In 1*l*-spawn bottle, growth of mycelium by inoculation of 20ml-liquid spawns were faster than 6g-sawdust spawn in spread of mycelia. On 2kg-bag culture, inoculations of 10ml-, 20ml- and 30ml-liquid spawns were all slower than 20g-sawdust spawn in mycelial spread. So, amount increasement in ampunt of liquid spawn should be discussed. Yields of mushrooms until third sproutings of 2kg-bag culture were 580g in 30ml-liquid spawn inoculation, but 510g, 486g and 470g from 20g-sawdust spawn, 20ml-liquid spawn and 10ml-liquid spawn, respectively. Thus, 30ml-liquid spawn inoculation was highest in yield.

Keywords : Oak-mushroom, sawdust-bed, liquid spawn

1. 서 론

표고(*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Lentinus edodes* (Berk.) Singer)는 중국, 한국, 일본, 대만 등 동남아 지역에서 오래 전부터 식용되어 온 버섯이며, 표고의 수요와 생산량이 급격히 신장되고

*1 접수 1997년 9월 3일 Received September 3, 1997
*2 임업연구원 Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea
*3 충북대학교 농과대학 College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

있어서 표고재배는 최근 세계적인 버섯산업으로 확대되는 추세에 있다.

우리나라의 표고톱밥재배는 1991년도부터 임업연구원에서 본격적인 재배기술의 연구(이 · 윤, 1991)가 시작되었고, 閔(1991, 1993, 1994)의 연구와 톱밥재배에 관한 여러 사람들의 시험 결과 활엽수 톱밥배지를 이용한 표고 재배시 톱밥재배의 생산성이 높은 사실이 밝혀진 바 있다(변 등, 1995; 이 등, 1993; 윤 등 1995). 그 이후 표고 톱밥재배에 적합한 품종으로 산림5호와 산림6호가 개발되었으며(Matsumoto & Kitamoto, 1987), 현재는 여러 곳의 종균배양소가 생기게 되고 재배자도 늘게 되었다.

표고를 액체배지에서 직접 배양하거나 액체배지에서 버섯을 발생시키려는 시험이 시도되고 있다. Matsumoto와 Kitamoto(1987)는 너도밤나무 톱밥 23%, 쌀겨 7%, 수돗물 70%로 조성한 액체배지 30g을 100ml의 플라스크에 넣고 배양한 후 18℃의 수도물을 채워 24시간 침수하여 버섯발생을 유도한 결과 30~40일후의 침수처리한 것이 소형의 자실체가 발생되지만 개체수는 3.8개로 가장 많았다고 하였다. Matsuo 등(1992)은 글루코오스 50g, 펩톤 2.5g외에 각종 무기질을 첨가한 배지를 기본배지로 하여 바닐린, 비타민, 이스트추출물 등을 첨가해본 결과 이스트추출물 2.5g/l를 첨가하는 것이 버섯의 발생에 효과적이었다. Song 등(1987, 1990)은 11종의 배지에 표고균사를 액체 배양해본 결과 yeast extract와 malt 및 pepton등을 혼합한 배지에서 생장이 가장 좋았고, 2kg의 커피박(粕) 배지에 100ml의 액체종균을 접종한 경우와 100g의 면실피 고체종균을 각각 접종해 본 결과 1차 버섯 발생기간이 액체종균 69일에 비하여 고체종균은 119일 이어서 액체종균 접종의 버섯발생이 빨랐다고 하였으며, 균사의 액체배양시 식물성기름이나 옥수수기름을 첨가하면 균사생장이 빨라지고 균사량도 증대된다고 하였다.

Mohamed 등(1992)은 액체배지에서 표고의 균사생장이 빠름을 밝히고 버섯이 발생되는 배지를 선발하였으며 이 배지를 이용하여 액체배양에서의 光照射 효과를 시험한 결과 35일간 처음 1~2주간은 어둡게 하였다가 후에 빛을 계속 주는 것이 계속적으로 빛을 주거나, 빛을 주다가 이후 어둡게 하는 것보다 버섯 발생량이 많았다고 보고하였다.

Kawai 등(1996)은 1.9kg의 표고 톱밥배지에 30 ml의 액체종균 접종과 30g의 톱밥종균을 각각 접종하여 비교하여 본 결과 생물학적 효율(BE : 생버섯량을 배지 건중량으로 나누어 환산한 비율)이 톱밥종균 117 : 액체종균 126으로 액체종균의 생물학적 효율(BE)이 다소 높았고, 버섯의 초기발생이 빨랐다고 하였다.

우리나라에서는 아직까지 표고균의 액체배양액을 이용한 톱밥종균 배양이나 액체종균 접종에 의한 표고 톱밥재배에 대한 연구는 거의 없었다. 또 지금까지 표고톱밥재배는 톱밥종균의 접종에 의존하여 왔으며 액체종균의 접종은 실시되지 못하였다.

그러므로 본 연구에서는 액체종균의 톱밥배지 접종을 이용한 버섯 재배를 연구하기 위하여 액체종균 배양에 적합한 배지를 선발하고 액체배지 배양시 표고균의 생장특성등을 조사하였으며, 발효조 배양한 액체종균을 톱밥배지에 접종하여 버섯 발생과 톱밥재배 효과를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 액체배양용 배지의 선발

2.1.1 공시균주

표고 공시균주는 산림 5호(고온성, 톱밥재배용)와 임협 1호(고온성, 원목재배용)를 각각 접종하였다.

2.1.2 공시 배지

액체배양용 배지 선발을 위하여 11종의 평판배지와 액체배지를 각각 다음의 Table 1과 같이 구분 조제하여 비교시험하였다.

평판배지는 11종의 배지에 대하여 한천을 포함한 배지를 조성한 후, 각 배지별로 pH를 조정하여 살균한 다음 9cm 크기의 샤레에 분주하였고, 액체배지는 한천을 포함하지 않은 11종의 액체배지를 다음과 같이 조제하였다.

각 배지별로 배양용기는 100ml 플라스크에 40ml의 액체종균을 넣은 후, 직경 6mm의 유리구슬 10개와 길이 3cm, 직경 8mm의 마그네틱바를 함께 넣어 121℃에서 20분간 고압살균하여 사용하였다.

2.1.3 접종 및 생장량 조사

표고 공시균주인 산림5호(고온성, 톱밥재배용)와 임협1호(고온성, 원목재배용) 등 두 품종을 각각 접종하였다. 접종 방법은 PDA배지상에서 배양한 균사체를 5mm 크기로 절단하여 1개씩 접종하고, 배양온도는 22.5℃에서 균사의 생장상태를 매일 측정 비교하였다.

액체배지 접종은 전술한 100ml 플라스크에 40ml의 액체종균을 넣은 후, 여기에 PDA배지상에서 배양한

Table 1. Selected media for liquid culture of oak mushroom.

Medium	Composition and pH of liquid medium	Agar addition for Plate medium	Reference
Modified Hamada	Glucose 10g, Yeast 5g, KH_2PO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, DW 1,000ml, pH 5.1	20g	Ogawa(1977)
PD/PDA	Potato (unskin) 200g (boiling in DW 1,000ml, remove potato; fill up DW to 1,000ml),Glucose (Dextrose) 20g, pH 6.1	PDA 39g DW 1,000ml	Kim, H. K (Sung, J. M., 1995)
GPM	Glucose 20g, Pepton 1g, Malt ext. 20g, DW 1,000ml, pH 5.9	20g	Kim, H. K. (Sung, J. M., 1995)
GA	Glucose 10g, Ammonium tartrate 1g, H_2PO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, Ferrous citrate 5mg, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 4.4mg, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 5mg, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 55.5mg, Vitamin B_1 10mg, Nicotic acid 10mg, DW 1,000ml, pH 5.3	20g	Kim, Y. R. (Air conditioned cultivation, 1995); Ohta (1986)
Oyster-mushroom culture	Yellow sugar 30g, Yeast ext. 3.0g, KH_2PO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g, DW 1000ml, pH 5.2	20g	Sung, J. M. (1995)
Czapex-dox	Sucrose 30g, $NaNO_3$ 2g, K_2HPO_4 1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, KCl 0.5g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01g, DW 1,000ml, pH 5.2	20g	Kim, H. K. (Sung, J. M., 1995)
MYG	Malt ext. 5g, Yeast ext. 5g, Glucose 20g, DW 1,000ml; pH 4.8	20g	Damai (1995)
Modified wood-extract	Pepton 1g, Glucose 20g, Oak sawdust ext. 200ml (sawdust 200g was boiled in DW 2,000ml for 20 min., used 200ml), DW 800ml, pH 5.3	20g	Kim , Y. R. (Air conditioned cultivation, 1995)
Oak-mushroom culture	Glucose 50g, Pepton 2.5g, Yeast ext. 2.5g, $KH_2PO_4$1.0g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.5g, $FeSO_4 \cdot 6H_2O$ 10mg, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 7.2mg, $ZnCl_2$ 4mg, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1mg, DW 1,000ml, pH 5.3	20g	Mohamed *et al.* (1992)
Lyophyllum-mushroom culture	Glucose 20g, L-Valine 1.1g, H_2PO_4 0.1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0mg, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0mg, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.2mg, $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.2mg, Nicotic acid 0.1mg, Thiamine 0.2mg, DW 1,000ml, pH 5.6	20g	Yoshida *et al.* (1994)
PG	Pepton 6g, Glucose 30g, KH_2PO_4 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1g, $FeSO_4 \cdot 6H_2O$ 10mg, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1mg, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 3mg, $ZnCl_2$ 3mg, Thiamine 10mg, $MoO_3 \cdot H_2O$ 3mg, DW 1,000ml, pH 4.6	20g	Ikegaya (1988)

산림 5호 및 임협 1호의 균사체를 5mm 크기로 절단하여 1개씩 접종하였다. 접종한 후 매일 1회씩 1분간 교반기로 진탕시켜 균사체가 분산되도록 하였고, 22.5±1℃에서 20일간 배양한 액체배지를 특수 여과지(miracloth)로 여과한 후 멸균수로 충분히 씻어 105℃의 건조기에 넣고 항량이 될 때까지 약 2일간 건조한 후 데시케이터에 넣어 상온이 될 때까지 식힌 후 균사의 건중량을 측정하였다. 건중량의 측정은 다음의 식에 의하였다.

$$W_f = W_t - W_p$$

W_f : 균사체 건중량
W_t : 전체무게
W_p : 특수 여과지 무게

2.2 배양온도별 균사 생장량 조사

2.2.1 공시 균주

표고 공시균주는 산림 5호(고온성, 톱밥재배용)와

임협 1호(고온성, 원목재배용)를 각각 접종하였다.

2.2.2 접종 및 생장량 조사

100ml 플라스크에 Mohamed 등(1992)의 표고용 액체배지를 40ml를 넣어 멸균후 배지로 사용하였고, 산림 5호와 임협 1호를 사용하여 평판배양한 5mm 균사체를 3개씩 접종하였으며, 배양온도는 17.5, 20.0, 22.5, 25.0, 27.5, 30.0 및 32.5℃ 등 7개 온도로 구분하였다. 매일 1회씩 1분간 교반기로 진탕시켜 균사체가 분산되도록 하여 25일간 배양후 균사체의 건중량을 조사하였다.

2.3 배양기간별 균사 생장량 조사

2.3.1 공시 균주

표고 공시균주는 산림 5호(고온성, 톱밥재배용)와 임협 1호(고온성, 원목재배용)를 각각 접종하였다.

2.3.2 접종 및 생장량 조사

액체배양기간중 균사생장량(균체량)의 변화를 알기 위하여 100ml 플라스크에 표고용 액체배지 40ml를 넣고 pH 5.3으로 조정하여 살균 후 산림 5호와 임협 1호 균사체를 5mm 크기로 3개씩 접종하고 22.5±1℃에서 15, 20, 25, 30, 35, 40 및 45일 등 7개 기간으로 구분, 매일 1회씩 1분간 마그네틱 스터러로 진탕시켜 균사체가 분산되도록 하여 배양하였으며, 기간별로 균사체의 건중량을 조사하였다.

2.4 발효조를 이용한 액체종균 배양

2.4.1 공시균주

표고 공시균주는 산림 5호(고온성, 톱밥재배용)를 접종하였다.

2.4.2 발효조 배양액 조성 및 접종

발효조(Broun社, 15 *l* 용량)에 Table 1에 표시한 표고용 액체배지 8 *l* 를 넣고 배양 중 거품이 생기지 않도록 Antifoamer 10ml를 첨가하여 121℃에서 20분간 고압살균하였다. 살균이 끝난 배지는 상온(25℃)이 될 때까지 충분히 식혔다. 발효조에 대한 표고균의 접종은 먼저 100ml 삼각플라스크에 40ml의 증류수를 넣고 살균한후, 여기에 PDA배지상에 배양한 산림 5호 균사체(5mm 크기)를 10개씩 떼어 넣은 것을 증류수와 함께 발효조에 투입하였다.

2.4.3 균사생장량 조사

접종후 배양온도는 22.5±1℃, 회전속도 120rpm, 공기유입량 3 *l* /분으로 조정하여 17일간 배양한 결과 발효조 내에 균사체가 다량 만연되었으므로 이를 발효조에서 꺼낸 후 건물량 측정용 시료로 사용하였다. 생성된 균사체의 건중량 측정은 배지 40ml를 특수 여과지로 여과하여 증류수로 충분히 세척한 후 105℃의 건조기에 넣고 항량이 될 때까지 약 2일간 건조시킨 후 데시케이터에 넣어 상온이 될 때까지 식힌 다음 건물량을 측정하였다.

2.5 액체종균 접종에 의한 톱밥배지 배양

2.5.1 종균병의 톱밥배지 배양

2.5.1.1 공시 종균

공시 종균은 발효조에서 17일간 표고용 액체배지로 배양한 표고(산림5호)의 액체종균을 사용하였다.

2.5.1.2 톱밥배지 조성, 접종 및 생장량 조사

종균병 내의 톱밥배지 조성은 상수리나무 톱밥 800g과 쌀겨 200g을 혼합하고, $CaCO_3$ 0.6%, KNO_3 0.4% 및 설탕 2%를 영양제로써 첨가한 후 물을 넣어서 함수율을 65%로 조정하였다.

1 *l* PP 종균병에 740g씩 톱밥배지를 채워(종균병 포함 800g) 병내 톱밥의 충진 깊이를 13.8cm로 맞추어 주고 중앙에 직경 1.5cm의 구멍을 뚫어준 마개하였다. 이것을 121℃에서 30분간 멸균하고 여기에 전술한 표고용 액체종균(산림5호)을 10ml 및 20ml씩 각각 접종하였고, 대조로 톱밥종균 6g을 병내 중앙부와 측면에 각각 20개씩 접종하였다. 균사생장은 접종후 10, 20, 30 및 40일 등 기간별로 종균병 내에서 하부로 생장하는 균사의 만연 깊이를 측정하였다.

2.5.2 PP봉지내 톱밥배지 배양 및 버섯발생

2.5.2.1 공시 종균

공시 종균은 발효조에서 17일간 표고용 액체배지로 배양한 표고(산림5호)의 액체종균을 사용하였다.

2.5.2.2 톱밥배지 조성, 접종 및 균사생장량 조사

종균병 내의 톱밥배지 조성은 전술한 PP배양병의 톱밥배지 조성과 같이 하였다. 톱밥배지 배양용 PP봉지에 톱밥배지를 2kg씩 채우고 4각으로 다진 후 마개를 씌워 121℃에서 90분간 멸균하였다. 여기에 전술한 표고용 액체종균을 10, 20 및 30ml씩 각각 표면 살포하여 접종하였고, 대조로 톱밥종균 20g을 표면 살포로 접종하였으며 각 처리별로 20개씩 접종하였다. 접종후 일자별(10, 20, 30, 40, 50, 55, 60 및 65일)로 균사의 만연 면적을 투명지에 그려 구적기로 측정한 후 표면 만연율을 조사하였다.

2.5.2.3 암배양, 명배양 및 버섯발생 처리

접종후 22.5±1℃ 내외의 배양실에서 2개월간 암배양하고 1개월간 150 lux 내외로 명배양하여, 톱밥

배지 표면이 갈변되었을 때 물에 24시간 침수한 후 발생실로 옮겨 버섯발생을 유도하였다. 발생실의 온도는 17.5℃ 내외, 습도는 80% 이상으로 유지시켜 주었으며, 침수 후 1차 버섯발생은 65일간 지속되었다. 1차 발생이 완료된 톱밥배지는 다시 1일간 물에 침수하여 발생실(17.5℃ 내외)로 옮긴 후 65일째부터 110일째까지 2차 발생을 시켰다. 110일째 다시 1일간 물에 침수하여 발생실로 옮긴후 110일째부터 140일째까지 3차 버섯발생을 시켰으며, 3차발생까지의 수확량을 합계하였다. 버섯은 갓이 7할 정도 벌어졌을 때 수확하여 생산량과 품질을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 액체배양용 배지의 선발

샤레를 이용한 평판배양은 배양이 용이하고 균사체의 생장 및 변화과정의 측정이 용이하여 균의 생리적 특성조사에 보편적으로 쓰이고 있으므로(성 등, 1995; Togashi · Takizawa, 1992; Tokimoto *et al.*, 1973) 액체종균용 배지 선발시 기초연구로 평판배양을 액체배양과 함께 실시하였다. Table 1에 표시된 11종의 고체배지를 이용하여 산림 5호 및 임협 1호 균을 평판배양한 결과 10일후 균총 생장량은 Table 2와 같았다.

각종 평판배지상에서 10일간 생장량이 평균치보다 10%이상 빠른 것은 산림5호에 있어서 PDA배지와 목분추출액배지였고, 임협 1호에서는 목분추출액 배지였다. 그러나 목분추출액 배지와 Czapex-dox 배지는 표면에 만연된 균사밀도가 매우 얇고 성긴 특징이 있었으며, 균사밀도가 치밀하고 두꺼운 것은 느타리용 액체배지, 표고용 액체배지, PG배지 등이었다.

액체배지상의 균사생장은 먼저 100ml의 플라스크에 40ml씩 11종의 액체배지를 채우고, PDA배지상에서 배양한 5mm 크기의 산림 5호 및 임협 1호 균사 1개씩을 접종하여 20일간 배양한 후 건중량을 측정한 결과는 Table 3과 같다.

각 액체배지상의 표고균사 생장량(건중량)은 평판배지상의 균사생장과 큰 차이가 있었다. 평판배지상에서는 생장이 빨랐던 PDA배지나 목분추출액배지의 건중량은 매우 적었고 반면, 비교적 균사밀도가 치밀하였던 느타리용 액체배지(성 등, 1995)와 표고용 액체배지(성 등, 1995) 및 PG배지(Ikegaya · Goto, 1988) 등에서 균사 건중량이 많았다. 샤레를 이용한 평판배양시의 균사 생장직경보다 균사밀도가 액체배양시 밀접한 연관이 있는것으로 나타나고 있다. 이것은 평판배지의 균사생장과 액체배지의 균사생장 특성이 다소 다르게 나타날 수 있음을 보여주는 결과이다.

표고 균주의 액체배양시 가장 균사생장이 좋았던 것은 Mohamed 등(1992)의 표고용 액체배지 이었다. 이 배지에서 생장된 산림 5호 및 임협 1호 균사체의 건중량은 각 액체배지의 평균 균사 건중량보다 약 1.8배나 높은 것으로 나타나 11종의 액체배지중 가장 우수한 것으로 나타났다.

표고 액체종균의 배양하여 종균병 내의 톱밥배지

Table 2. Mycelial growth on plate of solid medium after 10 days.

Medium	Sanlim No. 5 Growth diameter (mm)	Sanlim No. 5 Growth rate (%)*1	Imhyup No. 1 Growth diameter (mm)	Imhyup No. 1 Growth rate (%)*1	Density of mycelia*2
Modified Hamada	59	98	59	97	+
PDA	71	118	66	108	+
GPM	64	107	59	97	+
GA	59	98	64	105	+
Oyster-mushroom culture	63	105	61	100	++
Czapex-dox	48	80	53	87	-
MYG	62	103	60	98	+
Modified wood-extract	70	117	77	126	-
Oak-mushroom culture	61	100	61	100	++
Lyophyllum-mushroom culture	59	98	66	108	+
PG	44	73	43	70	++
Average	60	100	61	100	

Notes; *1 Mycelial growth based on average, *2 Density of mycelia, - : thin and coarse, + : medium, and ++ : thick and dense.

Table 3. Dried mycelial weight in liquid culture after 20 days.

Medium	Sanlin No. 5		Imhyup No. 1	
	Dried weight (mg/40ml)	Rate*1 (%)	Dried weight (mg/40ml)	Rate*1 (%)
Modified Hamada	27.7	118	24.0	84
PD	15.6	66	20.4	73
GPM	18.3	78	28.3	101
GA	20.2	86	23.8	85
Oyster-mushroom culture	28.8	123	37.0	132
Czapex-dox	19.4	83	16.0	57
MYG	29.0	123	26.6	95
Modified wood-extract	8.6	37	12.4	44
Oak-mushroom culture	42.4	180	49.8	178
Lyophyllum-mushroom culture	24.0	102	33.8	121
PG	25.0	106	35.8	128
Average	23.5	100	28.0	100

Note; *1 Based on average dried weight.

Table 4. Dried weight of mycelium by temperature after 25 days(mg/40μl).

Strain	Temperature (℃)						
	17.5	20.0	22.5	25.0	27.5	30.0	32.5
Sanlim No. 5	86^{b*1}	90^{b}	158^{c}	164^{c}	154^{c}	81^{b}	6^{a}
Imhyup No. 1	56^{b}	63^{b}	123^{c}	129^{c}	110^{c}	54^{b}	14^{a}

Note; *1 Alphabetical grouping of mycelial dried weight according to Duncan's multiple range test at p = 0.05.

나 PP봉지 내의 톱밥배지에 접종할 경우 균체량이 많이 생산되는 액체배지가 유리할 것으로 판단되었으므로, 액체종균 배양을 위한 기본배지는 균체량이 월등히 높았던 Mohamed 등(1992)의 표고용 액체배지를 선발하였다.

3.2 배양온도별 균사 생장량 조사

액체배지에서의 온도별 균사생장을 조사하기 위하여, 100ml의 플라스크에 40ml씩 표고용 액체배지(Mohamed *et al.*, 1992)를 넣고 PDA배지상에서 배양한 산림 5호와 임협 1호 균사체를 각각 5mm 크기로 3개씩 접종한 후 25일간 배양하여 온도별 균사 건중량을 측정한 결과는 Table 4와 같았다.

액체배지 배양에 있어서는 같은 처리내의 반복간에도 차이가 큰 편이었으며, 온도별 균사생장량(건중량)은 22.5~27.5℃가 좋았고, 유의차는 없었으나 25℃가 비교적 우수한 것으로 나타나고 있다.

3.3 배양기간별 균사 생장량

표고용 액체배지를 100ml용기에 40ml씩 넣고, 여기에 PDA배지상에서 배양한 산림 5호 및 임협 1호 표고균사를 5mm 크기로 떼어 3개씩을 접종한 후 15, 20, 25, 30, 35, 40 및 45일 등 7개 기간으로 배양하여 건중량을 측정한 결과는 Table 5와 같다.

액체배지의 배양기간별 건중량을 측정한 결과도 앞의 온도별 건중량 조사와 마찬가지로 반복간 차이가 많이 나타났다. 반복간의 차가 비교적 컸기 때문에 배양후 25~35일간 및 40~45일간의 건중량에서는 5%수준에서 유의차가 나타나지 않았다.

액체배지상의 표고균사 생장은 25일까지 매우 빠르게 증가되었고, 이후 40일까지는 비교적 빠르게 균체량이 증가하였으나 40일부터는 균체량의 증가가 완만하였다. 이 결과는 Song 등(1990)이 3종의 액체배지에 표고균을 접종하여 1개월간 배양한 결과 균체량이 계속적으로 빠르게 증가되었다 것과 유사하게 균체량의 증가가 계속되었다.

3.4 발효조를 이용한 액체종균 배양

발효조에서 17일간 배양한 표고(산림 5호) 액체종

Table 5. Increase of dried weight of mycelia on liquid culture by culture period(mg/40ml).

Strain	Culture of days						
	15	20	25	30	35	40	45
Sanlim No. 5	33a*1	101b	158c	166c	179c	214d	219d
Imhyup No. 1	35a	107b	123c	134c	142c	180d	185d

*1 Alphabetical grouping of mycelial dried weight according to Duncan's multiple range test at p = 0.05.

Table 6. Dried weight of Sanlim No. 5 of *L. edodes* mycelia after 17 days culture in fermentor.

	Replicate			Mean
	1	2	3	
Dried weight (mg/40ml)	105	106	108	106.3

균 40ml를 특수 여과지로 여과하여 105℃로 건조시킨 후 데시케이터에서 항량이 될 때까지 식혀 건중량을 측정한 결과 Table 6과 같다.

발효조에서 배양한 액체종균의 건중량 106.3㎎을 환산하면 1 *l* 당 약 2.7g의 건중량을 얻을 수 있음을 보여준다. Kawai 등(1996)은 발효조를 이용한 액체배양시 80일간 배양한 표고 균사의 건중량이 *l* 당 7g 이었다고 하여 본 시험에서 사용된 액체종균 보다 많은 것으로 보고하였는데 이는 본 연구에서 17일간 배양한 것보다 배양기간이 길었던 점이 원인으로 생각된다.

다만 본 연구에서는 종균병 및 PP봉지내의 톱밥배지에 액체종균을 접종하기 위해서 접종용 액체종균 배양을 목적으로 17일간만 배양하였으나, 금후 배양기간이 길어짐에 따라서 균체량의 증가에도 변화가 클 것으로 생각되었으므로, 발효조의 조건이나 배양기간에 따른 표고 균사의 생장에 대하여 보다 깊은 연구가 필요한 것으로 생각된다.

3.5 액체종균 접종에 의한 톱밥배지 배양

3.5.1 종균병의 톱밥배지 배양

발효조에서 배양한 표고 액체종균 산림 5호를 플라스틱 배양병내에 13.8cm의 깊이로 채운 톱밥배지에 접종한 후 시일 경과에 따른 균사의 만연 정도를 측정한 결과는 Table 7과 같다.

액체종균 20ml 접종과 10ml 접종간의 균사생장은 유의차가 없었으며 액체종균 10ml와 톱밥종균 6g 사이에도 차가 없었으나, 액체종균 20ml와 톱밥종균 6g 사이에는 차이가 나타나 액체종균 20ml이 톱밥종균 6g보다 효과적임을 보여 주었다.

Table 7. Mycelial growth of Sanlim No. 5 on sawdust-medium inoculation of liquid- and sawdust-spawn in PP bottle(1 *l*).

Period (days)	Depth of mycelial growth(cm)		
	Sawdust spawn 6g	Liquid spawn 10ml	Liquid spawn 20ml
10	0.7	1.2	1.6
20	5.2	5.7	6.7
30	9.2	10.8	11.4
40	12.5a	13.0ab	13.8b

*1 Alphabetical grouping of mycelial growth according to Duncan's multiple range test at p = 0.05.

종균병내에 톱밥종균을 접종할 경우는 4g 내외를 접종하고 있으나, 본 시험에서는 6g으로 조정하여 접종하였는데 톱밥종균보다 다소 많은 양인 액체종균 10ml는 효과가 나타나지 않은 반면, 3배 이상 증량한 20ml에서는 생장이 빠른 것으로 나타났다. 또 종균병의 직경이 9.5cm로 적은 편이어서 액체종균이 좁은 면적에 골고루 배지 표면과 구멍내에 침투될 수 있었던 것도 액체종균의 만연율이 빨랐던 원인으로 생각되었다.

액체종균의 접종은 무균실 내에서 주사침이 없는 100ml용 주사기로 일정량씩 접종하여 잡균의 오염을 방지할 수 있었다. 발효조를 이용할 경우 액체종균의 배양기간이 톱밥종균에 비하여 빠르고 대량생산이 용이한 점을 고려할 때, 금후 무균 시설에서 종균병 내의 톱밥배지에 톱밥종균 대신 액체종균을 접종하여 종균을 배양하는 방안에 대한 실용적인 검토가 필요한 과제로 판단되었다.

3.5.2 PP봉지의 톱밥배지 배양 및 버섯발생

발효조에서 17일간 배양한 표고 액체종균(산림5호)을 PP봉지 내의 톱밥배지에 접종한 후 기간별로 균사 만연율을 조사한 결과 Table 8과 같다.

톱밥배지 2kg에 대한 접종에 있어서는 톱밥종균

Table 8. Mycelial growth on the surface of 2kg sawdust-medium by inoculation of liquid- and sawdust-spawn.

Period (days)	Spread of mycelia on surface(%)			
	Liquid spawn 10ml	Liquid spawn 20ml	Liquid spawn 30ml	Sawdust spawn 20g
10	15.4	15.5	24.0	31.0
20	26.0	30.0	38.7	74.2
30	36.0	41.8	51.4	95.2
40	51.9	57.7	72.9	100.0
50	64.4	78.0	92.1	
55	80.0	95.0	100.0	
60	97.2	100.0		
65	100.0			

Table 9. Yield of fresh oak mushrooms until third fruit-body sproutings on 2kg sawdust medium by Sanlim No. 5.

	Spawn type			
	Liquid spawn 10ml	Liquid spawn 20ml	Sawdust spawn 20g	Liquid spawn 30ml
Mushroom yield (g/bag)	470±85	486±84	510±68	580±90
LSD(0.05)*2	–	–	–	
Average numbers of fruit-body (ea/bag)	36.0	38.7	55.9	59.3
Average weight of a fruit-body (g/ea)	13.0	12.6	9.1	9.8

Notes; *1 ± : standard deviation, N=20.
*2 - : line means nonsignificant difference in mushroom yield according to LSD test.

20g 접종이 40일후에 배지 전체 표면을 만연시킨 반면, 액체종균 30ml는 이보다 10일이 늦은 55일, 20ml는 60일, 10ml는 65일이 각각 소요되어 톱밥종균의 만연율이 훨씬 빨랐다.

폭이 좁은 종균병과 달리 표면적이 넓은 톱밥배지에 종균을 접종할 경우 액체는 바닥으로 흘러 내려가고 균사체만 위에 남게 되는데 그 양은 배지 표면에 고르게 뿌려지는 톱밥배지의 양보다 훨씬 적었고 접종직후 종균의 활력도 덩어리 상태로 뿌려진 톱밥종균이 더 왕성한 것으로 관찰되었으나, 이에 대하여는 금후 계속적인 연구와 검토가 필요하다. 앞서 종균병 내의 톱밥배지에 대한 액체종균 접종시 톱밥종균 6g 보다 다소 많은 양인 10ml의 액체종균 접종시는 유의차가 없었고, 3배 이상의 양인 20ml 접종시에는 확실히 균사생장이 빨랐던 점을 감안하면, 톱밥배지의 만연속도와 유사한 균사만연을 위하여 액체종균의 적정한 접종량 증가를 검토 필요한 것으로 생각되었다.

한편, 액체종균의 톱밥배지 접종도 무균실에서 100ml용 주사기를 사용하여 접종하였으며, 잡균오염은 없었으므로 액체종균에 의한 톱밥배지 접종이 가능하다. 그러나 액체종균을 톱밥배지에 잡균의 오염없이 대량 접종하기 위해서는 새로운 실용적 방안의 개발이 필요한 것으로 생각되었다.

접종후 2개월간 22.5℃ 내외의 배양실에서 암배양한 톱밥배지는 1개월간 명배양 하였다. 3개월후 톱밥배지의 표면이 갈변되고 일부 원기가 형성된 것이 확인되었으므로 물에 24시간 침수하여 발생처리 하여 65일까지 1차 버섯 발생을 시켰다. 65일후 2차 침수하여 110일까지 2차, 110일 후 다시 침수하여 3차 버섯 수확을 하였다. 발생실의 온도는 17.5℃ 내외, 습도는 80% 이상을 유지시켜 주었다.

3차 발생기간까지의 처리별 버섯발생량 및 개체수, 또한 개체당 평균중량은 Table 9와 같다.

3차까지의 버섯수확량은 각 처리별로 표준편차가 크게 나타나 같은 처리내에 있어서도 생산량이 불균일함을 보이고 있다. 버섯의 품질은 발생 개체수가 적었던 액체종균 10ml 및 20ml 접종이 좋은 편이었으며, 30ml 접종 및 톱밥종균 20g 접종은 큰 차이가

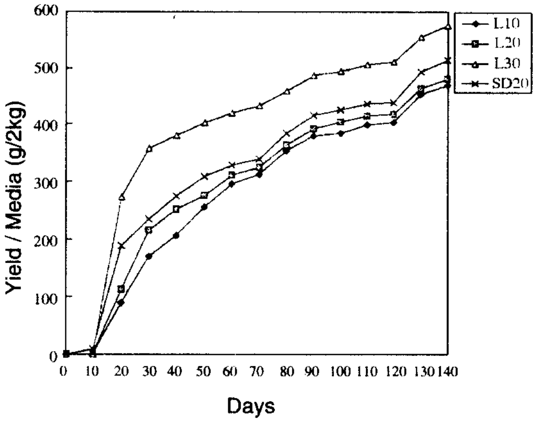

Fig. 1. Accumulated yields of oak-mushrooms until third fruit-body sproutings on 2kg sawdust-medium by inoculation type.

Notes; L10 : Application of 10ml liquid spawn to 2kg-sawdust medium, L20 : 20ml Liquid spawn, L30 : 30ml Liquid spawn, SD20 : 20g Sawdust spawn.

없었다.

버섯발생량에서 액체종균 10ml, 20ml 및 톱밥종균 20g 접종의 버섯 생산량은 470~510g으로 나타났고 처리간의 유의차는 없었다. 그러나 표고 액체종균 30ml의 접종은 2kg 배지 1개당 580g으로 나타나서 월등히 많은 양의 버섯이 생산되어 다른 처리에 대한 유의차를 나타내었다.

액체종균을 30ml 접종한 톱밥배지에서 버섯생산량이 월등히 많았던 이유는 30ml의 액체종균에 포함된 종균량이 다른 처리보다 많았고, 액체종균에 포함된 영양물질의 혼입량도 많아진 점에 기인된 것으로 생각된다. 특히 액체종균으로 사용된 표고용액체배지는 Mohamed 등(1992)이 액체배지에서 직접 표고버섯의 자실체를 발생시키기 위하여 개발한 배지이다. 또 액체배지에서 자실체 발생시킬 때 효모추출물을 첨가하게 되면 자실체 발생 수량에 현저한 효과가 있다고 한 Matsuo 등(1992)의 보고를 감안할 때 액체종균에 포함된 효모추출물의 영향도 있었을 것으로 판단되었다.

Kawai 등(1996)은 1.9kg의 톱밥배지에 액체종균 30ml와 톱밥종균 30g을 각각 접종한 후 버섯을 발생시킨 결과 생물학적 효율(BE: 버섯 생중량을 배지 건중량으로 나눈 것의 백분율)이 각각 126 : 117로 나타나서 액체종균의 접종이 효과적이었다고 하였는데 본 연구에서 액체종균 30ml 접종이 톱밥종균 20g 접종보다 버섯 생산량이 많았던 것은 유사한 결과로 생각된다.

한편, 3차 발생기간까지의 기간별 발생추이는 Fig. 1과 같이 액체종균 30ml 접종이 타 접종과 비교하여 볼 때, 버섯을 발생시키기 시작한 때 부터 65일까지의 발생 기간인 1차 발생기에 월등히 많은 버섯 생산량을 보여주고 있으며, 2차 및 3차 발생기간 중에는 다른 처리와 큰 차이를 나타내지 않아 초기 발생량을 증가시켜 준 것으로 판단되었다.

4. 결 론

지금까지는 표고의 톱밥재배는 톱밥종균을 접종하여 재배하여 왔으나, 액체종균은 단시간 내에 종균의 대량생산이 가능하므로 톱밥종균 대신 액체종균의 접종에 의한 톱밥재배 필요성이 증대되고 있다. 따라서 이 연구는 표고균의 생리적 특성 조사와 톱밥배지에 액체종균을 접종한 후 버섯 발생 효과에 대하여 시험하였다.

표고 균사를 11종의 액체배지에 배양하여 가장 생장이 좋은 액체배지를 선발하였다. 표고 균사의 생리적 특성을 알기 위하여 산림 5호와 임협 1호의 배양온도별, 배양기간별 생장을 조사하고, 산림 5호에 대하여 발효조를 이용하여 17일간 배양한 균사의 건중량을 조사하였다. 또 발효조에서 배양한 액체종균과 톱밥종균을 표고 종균배양병(1 l)에 비교 접종하여 균사의 만연속도를 측정하였고, 액체종균과 톱밥종균을 각각 2kg 톱밥배지에 접종하여 균사의 만연 및 버섯 발생을 조사한 결과 다음과 같다.

1. 공시한 11가지의 액체배지를 이용하여 표고 균사를 액체배양한 결과 표고용 액체배지가 가장 우수한 것으로 선발되었다. 표고 균사의 생장은 액체배양시 22.5~27.5℃가 좋았다. 액체배양시 균사량 증가는 40일까지 비교적 빠르게 증가하였으나 그 이후에는 증가가 완만하였다. 표고균을 발효조에서 17일간 배양한 결과, 액체배지 40ml당 106mg의 균사 건중량을 얻었다.
2. 표고 종균배양병(1 l)에 액체종균을 20ml을 접종한 결과, 균사만연속도가 톱밥종균 6g 접종보다 빨랐다. 표고 액체종균을 톱밥배지에 접종한 결과, 톱밥종균 20g 접종에 비하여 액체종균 10ml, 20ml 및 30ml 접종이 다소 만연속도가 늦기 때문에 액체 종균량을 증가시켜 주는 것이 필요한 것으로 검토되었다. 액체종균과 톱밥종균

의 톱밥배지 접종시 3차 수확기까지의 버섯 발생량은 2kg 배지당 액체종균 30*ml* 접종이 580g, 톱밥종균 20g 접종이 510g, 액체종균 20ml 접종이 486g, 그리고 액체종균 10ml 접종이 470g 으로 각각 나타나 액체종균 30ml 접종이 가장 좋았다.

참 고 문 헌

1. 閔斗植. 1991. 참나무類 칩을 利用한 표고버섯栽培와 廢殘渣의 飼料化. **韓國林學會誌** 80(4) : 436～444
2. 閔斗植. 1993. 참나무류칩을 利用한 표고버섯栽培. **木材工學** 21(1) : 7～13
3. 閔斗植. 1994. 낙엽송 톱밥을 利用한 표고버섯 栽培와 경제성. **韓國林學會誌** 83(4) : 512～520
4. 邊炳浩 外 5人. 1995. 단기임산 신소득원 개발에 관한 연구(Ⅱ) - 2. 임산버섯 자원개발 -. 山林廳 : 53～134
5. 성재모외 9인. 1995. 느타리버섯 액체종균을 이용한 느타리버섯 생산에 관한 연구. 농수산부특정연구과제 1차년도 보고서 : 113
6. 尹甲熙, 李元珪, 李泰洙, 邊炳浩, 李昌根. 1995. 표고 톱밥栽培에 關한 硏究(Ⅰ). 톱밥培地 條件에 따른 버섯 發生量과 品質. **山林科學論文集** 51 : 101～109
7. 李昌根 外 9人. 1993. 단기임산 신소득원 개발에 관한 연구(Ⅱ) - 3. 임산버섯 생산성 향상시험 -. 山林廳 : 101～156
8. 李泰洙, 尹甲熙. 1991. 微生物化學 및 표고菌床栽培硏修. 林業硏究院 海外出張歸國報告書(日本) : 39
9. Ikegaya, N., and M. Goto. 1988. Effect of phenolic compounds on fruit-body formation of *Lentinus edodes* in liquid culture. *Trans. Mycol. Soc.* 29 : 401～441
10. Kawai, G., H. Kobayashi, Y. Fukushima, and K. Ohsaki. 1996. Effect of liquid mycelial culture used as spawn on sawdust cultivation of shiitake(*Lentinula edodes*). *Mycoscience* 37 : 201～207
11. Matsumoto T., and Y. Kitamoto. 1987. Induction of fruit-body formation by water flooding treatment in sawdust culture of *Lentinus edodes*. Trans. *Mycol. Soc. Japan* 28 : 473～443
12. Matsuo, N., A. B. B. Mohamed, S. Meguro, and S. Kawachi. 1992. The effects of yeast extract on the fruiting of *Lentinus edodes* in a liquid medium. *Mokkuzai Gakkaishi* 38(4) : 400～402
13. Mohamed, A. B. B., S. Meguro and S. Kawachi. 1992. The effect of light on primordia and fruit body formation of *Lentinus edodes* in liquid medium. *Mokuzai Gakkaishi* 38(6) : 600～604
14. Ogawa, M. 1977. Mycrobial ecology of Mycorhizal Fungus-*Tricholoma matsutake*(Ito et Imai) Sing. in pine forest Ⅲ, Fungal florae in Shiro Soil and of the mycorihza, *Bull. Gov. For. Exp. Sta.* 293 : 105～170
15. Ohta, A. 1986. Basidiospore germination of *Tricholoma matsutake*(Ⅱ). Evaluation of germination conditions and microscopic observations of germination stages. *Trans. Mycol. Soc.* 27 : 473～480
16. Song, C. H., K. Y. Cho, and N. G. Nair. 1987. A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes. Bot. Gard.* 79(6) : 866～876
17. Song, C. H., K. Y. Cho and N. G. Nair. 1990 Effect of triacylglycerols on growth, lipid profile and lipase activity of *Lentinus edodes. Mush. J. Tropics* 10 : 9～19
18. Togashi, I. and N, Takizawa. 1992. Fungal contamination in the bed culture of *Lentinus edodes*(Berk.) Sing. *J. Hokkaido Forest Prod. Res. Inst.* 6(3) : 1～5
19. Tokimoto, K., M. Komatsu and T. Takemaru. 1973. Incompatibility factors in the natural population of *Lentinus edodes* in Japan. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* 10 : 371～376
20. Yoshida, H., S. Fujimoto, and J. Hayashi. 1994. Nutritional requirements for the vegetative growth of Lyophyllum fumosum. *Trans. Mycol. Soc.* 35 : 89～96
20. 玉井裕. 1995. 電氣的細胞融合による食用擔子菌の品種改良に關する硏究. 北海道大學 林產學專攻 博士學位論文 : 108
21. 龍澤 南海雄. 1995. 空調栽培. きのこ年鑑. 農村文化社 : 123～128