

팽이버섯 재배시 액체종균 사용 효과

류영현* · 윤영석 · 조우식 · 박선도 · 최부술 · 김종국¹

경상북도 농촌진흥원
¹경북대학교 미생물학과

Effect of Liquid Spawn on *Flammulina velutipes* Cultivation

Young-Hyun Ryu*, Young-Seok Yoon, Woo-Sik Jo, Sun-Do Park,
Boo-Sull Choi and Jong-Kuk Kim¹

Kyungpook Provincial RDA, Taegu 702-320

¹Department of Microbiology, Kyungpook National University,
Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT: The effects of liquid spawn to sawdust substrate on the growth of *Flammulina velutipes* were conducted for two years. The duration of optimal incubation for preculture and main culture of liquid spawn was 4 days and 6 days, respectively. When using liquid spawn, the application time for the first pinhead formation was similar with sawdust spawn, and incubation time of sawdust substrate was variable with liquid spawn and inoculum quantity. But, the overall yield of mushroom fruitbody was increased by using liquid spawn, excepting sesame hull extract medium.

KEYWORDS: *Flammulina velutipes*, Liquid spawn, Cultivation

팽이버섯(*Flammulina velutipes*)은 담자균류중 Tricholomataceae family에 속하는 버섯으로서 팽나무, 뽕나무, 사시나무, 버드나무등 활엽수의 줄기나 뿌리를 분해하여 영양분을 획득하는 백색부후균(White rot fungi)의 일종으로 항암효과(우, 1982)와 더불어 여러 가지 필수아미노산을 함유(Crisan 등, 1978)하고 있어 사람들에게 기호성이 우수한 버섯이다.

팽이버섯은 국내에서 1980년대 후반부터 온도, 습도, 광 등의 환경 조건을 인위적으로 조절이 가능한 시설에서 기계화된 병재배시스템으로 재배해 왔다(윤, 1971, 1979). 국내에서는 팽이버섯의 독특한 선택과 맛으로 시장성이 점점 커지고 있으나 팽이버섯 재배 시설과 장비 그리고 숙련된 기술 등을 필요로 하기 때문에 다른 버섯에 비해서 재배하기 까다로운 버섯으로 알려져 있다.

팽이버섯의 재배 과정은 톱밥과 미강을 기질로

하여 Polypropylene병에 배지를 담아 살균후 종균을 접종해서 배양, 발이, 억제 그리고 자실체부분의 생육 과정을 거쳐 재배되고 있다.

현재 사용되고 있는 종균은 대부분 톱밥과 미강을 기질로 한 배지에 균주를 접종하여 배양한 톱밥종균을 사용하고 있는 실정이다. 톱밥종균은 살균된 병 배지에 접종시 접종한 종균과 배지 부위간의 건조로 인해 균사확장이 늦어지는 원인이 되고 있으며 특히 톱밥종균은 3주이상 배양된 균주를 사용하기 때문에 균사의 노화와 오염이 우려되고 있다.

액체 배지를 이용한 액체종균은 종균량을 어느 정도 조절할 수 있을 뿐만 아니라 종균의 배양 기간을 크게 단축시킬 수 있는 이점이 있다(Stamets, 1993). 현재 팽이버섯 재배시 액체종균에 대한 체계적인 배양 기술, 기질 그리고 접종 방법 등에 대한 연구는 국내에서 거의 수행되지 못한 실정이다.

본 연구에서는 톱밥종균을 대체할 수 있는 액체종균의 개발을 위해서 적정 기질과 접종량 등에 따른 팽이버섯의 생육 특성에 관한 몇 가지 시험 결과

*Corresponding author

를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주 및 배지

팽이버섯 종균배양 및 재배에는 팽이버섯 ASI 4031호를 사용하였으며, PDA배지에 접종한 후 15일마다 계대배양하면서 접종원으로 이용하였다.

액체 종균용 배지는 미강을 5%(W/V)로 증류수에 열수추출한 미강배지, 참깨박 5%(W/V)를 증류수에 열수추출한 깻묵추출액 배지, 감자 200 g을 증류수 1 l에 추출한 뒤 dextrose 20 g을 넣은 PDB배지 그리고 Yeast extract 0.5%, Polypeptone 1%, Dextrose 2%를 첨가한 YPD배지를 사용하였다.

액체종균 배양과정

액체 종균배양과정은 PDA평판배지에서 15일간 배양된 균사체를 살균 증류수 50 ml와 혼합한 후 멸균된 blender로 파쇄한 후 PDB배지 400 ml가 든 2 l 용량의 삼각플라스크상에 50 ml 접종한 후 회전식 진탕배양기(비전과학에서 25°C, 130 rpm으로 전배양을 4일간 실시하였다. 본배양은 본배양 배지 3 l가 든 5 l 용량의 3 neck flask(Duran사, 독일)에 전배양액 200 ml를 접종한 후 실내온도 25°C에서 500 rpm으로 배양을 실시하였다(Stirrer: Direct Driven Stirrer, 날개지름: 80 mm, 제작사: 영지정밀공업사). 본배양시의 통기는 3 neck flask에 있는 2개의 통기구에 면전(지름 24 mm, 길이 34 mm)을 하여 통기를 하였다. 액체종균의 배양과 접종원으로서 이용시에는 배양액의 균총숫자가 많을수록 유리할것으로 생각되어 생육 곡선은 균총숫자로 작성하였는데 본배양시 접종후 1~8일동안 배양액 100 µl를 채취하여 PDA 평판배지상에 도달한 후 3일후 균총숫자를 집계하여 작성하였다.

팽이버섯 재배 과정

버섯 재배용 배지로 미강 톱밥 80%(V/V)와 미강 20%(V/V)를 혼합한 톱밥배지를 사용하였으며 배지의 수분은 각각 65%와 55%로 조절한 후 자동입병기로 850 cc P·P병에 톱밥배지를 550 g정도씩 충전한 후 121°C에서 1시간 고압살균하였다. 살균이

끝난 후 15°C정도로 식은 톱밥배지에 본 배양된 액체종균을 15, 25, 50 ml씩 접종하였으며 대조구로서 25일간 배양된 일반톱밥종균을 15 g씩 접종하였다.

접종후 배양실에서 온도 20°C, 습도 70%의 조건으로 배양한 후, 배양완료후 균규모를 실시한 뒤에 12°C, 습도 90%로 조절된 말리실에서 자실체를 발이유기시켜 초발이소용일수를 조사하였고 버섯이 5~10 mm 정도 자랐을 때 3~4°C에서 1주일 정도 억제시키면서 버섯의 발생을 고르게 한 후 생육실로 옮겨 자실체의 갓이 피기 전까지 생육시킨 다음 수확하여 수량을 점검하였다.

결과 및 고찰

액체배양시 균총수의 변화

액체배양시 접종후 6~7일경에 모든 액체배지에서 균총수가 최대치에 달했으며 미강 추출액배지의 균사 생장은 초기에 가장 좋았다(Fig. 1). 미강 추출액과 참깨박 추출액에서는 미세한 고형물로 인해 절단되는 균사체 숫자의 증가로 균총수가 크게 증가되었으나, PDB배지와 YPD배지의 경우 완전히 물에 용해되는 관계로 교반력에 의한 균총수만 증가한 것으로 보였다.

톱밥병재배시의 배양기간

액체종균사용시 톱밥병재배의 배양일수를 보면 (Table 1) 톱밥배지의 배지수분을 65% 정도로 조절 시에는 YPD배지 50 ml 접종구가 15일로 가장 빨랐고 미강 추출액종균 접종구의 경우 대조구와

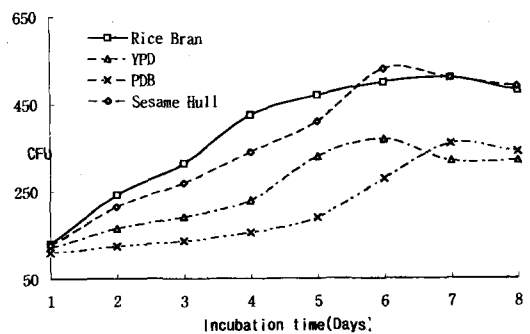


Fig. 1. Growth curve of Liquid Spawn on medium (CFU: colonies/0.1 ml).

Table 1. Effect of Liquid Spawn on the days for Incubation

Bottle Medium moisture	Medium					
	Quant. of Inoculum (ml/bottle)	YPD	PDB	R · B	S · H	Control
65% †	50	15 ^G	18 ^E	21 ^C	32 ^B	
	25	16 ^F	18 ^E	21 ^C	34 ^A	22 ^C
	15	17 ^{EF}	19 ^{EF}	21 ^C	34 ^A	
55% ‡	50	15 ^F	18 ^E	20 ^{CD}	35 ^A	
	25	17 ^E	20 ^D	21 ^{BC}	35 ^A	22 ^B
	15	17 ^E	22 ^B	22 ^B	35 ^A	

R.B: Rice Bran Extract Medium, S.H: Sesame Hull Extract Medium

Control: Sawdust Spawn, (Quantity of Inoculum: 15 g/bottle)

†, ‡: The different letter indicate values are significant at DMRT 5%.

†: CV: 4.3 LSD 5%: 0.89, ‡: CV: 4.72, LSD 5%: 1.01

비슷하였으며 YPD배지와 PDB배지의 경우 3~7일 정도 더 빨랐다. 이것은 YPD배지와 PDB배지의 경우 팽이버섯 균사가 즉시 이용할 수 있는 포도당과 단백질이 영양원으로 작용하였음을 알려주고 있다. 반면에 참깨박 추출액 중균의 경우 배양이 매우 느려 32~34일 정도 소요되었다.

툽밥배지의 배지수분을 55% 정도로 조절했을 때에는 YPD배지 50 ml 접종구가 15일로 가장 빨랐으며 미강 추출액 중균은 대조구와 비슷하거나 1~2일 정도 빨랐고, 참깨박 추출액 중균은 35일 정도 소요되었다. YPD배지와 PDB배지중균의 경우에는 툽밥배지수분 65%일 때와 마찬가지로 2~7일 정도 배양이 빨랐다.

툽밥병재배시의 초발이 소요기간

액체중균별 초발이 소요일수는 (Table 2) 툽밥배지 수분함량과 관계없이 참깨박추출액 중균을 제외하고는 비슷하였으며 참깨박추출액 배지에서는 21일 이상 소요되었다.

참깨박 추출액에는 팽이버섯의 균사 생장에 나쁜 영향을 끼치는 물질이 존재하는 것으로 생각되며 이에 대한 연구가 더 필요한 것 같다.

툽밥병재배시의 자실체 수량성

액체중균에 따른 팽이버섯 자실체의 수량성을 보면 (Table 3), 참깨박 추출액 배지를 제외하고는 대조구와 비슷하거나 높았다.

툽밥배지의 수분이 65% 정도일 때는 미강배지 15 ml 접종구, YPD 50 ml 접종구, PDB배지 15 ml 접종구의 수량은 대조구와 비슷하였으며, 미강

Table 2. Effect of Liquid spawn on the days for First Pinhead formation

Bottle Medium moisture	Medium					
	Quant. of Inoculum (ml/bottle)	YPD	PDB	R · B	S · H	Control
65% †	50	9 ^D	10 ^{DE}	9 ^{DE}	21 ^C	
	25	9 ^D	10 ^D	9 ^{DE}	23 ^B	10 ^D
	15	9 ^D	10 ^{DE}	10 ^{DE}	30 ^A	
55% ‡	50	9 ^D	9 ^D	9 ^D	29 ^B	
	25	10 ^D	9 ^D	10 ^D	30 ^A	10 ^D
	15	10 ^D	9 ^D	10 ^D	27 ^C	

R.B: Rice Bran Extract Medium, S.H: Sesame Hull Extract Medium

Control: Sawdust Spawn, (Quantity of Inoculum: 15 g/bottle)

†, ‡: The different letter indicate values are significant at DMRT 5%.

†: CV: 8.2 LSD 5%: 0.99, ‡: CV: 8.39 LSD 5%: 1.09

Table 3. Effect of Liquid spawn to Relative Yield of *Flammulina velutipes*. (%)

Bottle Medium moisture	Medium		YPD	PDB	R · B	S · H	Control
	Quant. of Inoculum (ml/bottle)						
65% [†]	50		100 ^B	115 ^{AB}	113 ^{AB}	58 ^C	100 ^B
	25		123 ^A	123 ^A	123 ^A	68 ^D	
	15		124 ^A	97 ^B	104 ^{AB}	51 ^C	
55% [‡]	50		113 ^{BC}	108 ^{BC}	138 ^A	63 ^D	100 ^C
	25		120 ^B	105 ^{BC}	118 ^B	65 ^D	
	15		108 ^{BC}	103 ^{BC}	103 ^{BC}	62 ^D	

R.B: Rice Bran Extract Medium, S.H: Sesame Hull Extract Medium

Control: Sawdust Spawn, (Quantity of Inoculum: 15 g/bottle)

^{†,‡}: The different letter indicate values are significant at DMRT 5%.

[†]: CV: 20.4 LSD 5%: 19.0, [‡]: CV: 16.3 LSD 5%: 15.46

배지 50 ml 접종구와 PDB 50 ml 접종구의 수량은 대조구보다 10% 정도 높았고, 미강배지 25 ml 접종구와 YPD배지 25 ml, 15 ml 접종구, 그리고 PDB배지 25 ml 접종구의 수량은 대조구에 비해서 20% 정도 높았다.

톱밥배지의 수분이 55% 정도일 때는 미강배지 50 ml 접종구가 수량성이 가장 좋았는데, 참깨 추출액 배지를 제외하고는 대체적으로 수량성이 높았다.

톱밥배지의 수분을 55% 정도로 했을 때에는 톱밥배지 수분 65%시에서와는 다르게 액체배지의 접종량에 따라서 거의 수량이 비례하였다.

톱밥배지의 수분이 65% 정도일 때는 미강 추출액 배지의 경우 50 ml와 25 ml, YPD배지의 경우 25 ml와 15 ml, 그리고 PDB 배지에서는 50 ml와 25 ml 접종구가 우수하였다.

반면에 톱밥배지 수분이 55% 정도일 때는 미강 추출액배지, YPD배지 PDB배지 액체종균 접종구에는 15 ml와 50 ml 접종구 모두가 대조구보다 수량성이 우수하였다.

참깨박 추출액배지 액체종균은 전반적으로 톱밥종균을 사용한 대조구에 비해서 톱밥배지의 수분함량에 관계없이 배양일수, 초발이 소요일수, 수량성이 모두 뒤떨어졌는데 아마 참깨박 배지내의 어떤 성분이 팽이버섯 균사생장에 나쁜 영향을 미쳐 배양일수가 길어지게 되어 수량성도 크게 감소하게 한 원인이 되었을 것으로 짐작되며 이에대한 실험이 앞으로 요구된다.

액체종균의 전체적인 사용효과를 보면 수량성이나 배양일수 등을 볼 때 YPD액체종균이 가장 유리하였으나 전체적인 배지의 경제성을 고려해 볼 때는 미강추출액 액체종균이 가장 유리한 것으로 판단되었다.

미강추출액 액체종균의 경우 미강내에 함유되어 있는 여러 가지 탄수화물과 단백질 성분 그리고 미량 요소들로 인해서 버섯 균사 생장에 유리한 영양원으로 작용했을 것이며 이것은 톱밥에 미강을 영양첨가원으로 사용하는 버섯재배방법에 잘 나타나 있다(이, 1991; 장, 1996).

적 요

액체종균의 전배양 4일, 본 배양 6일 이하가 적합하였다. 톱밥종균을 사용한 대조구와 비교해 볼 때 YPD액체종균의 경우 배양일수는 5~7일 정도 배양이 빨랐고, 초발이 소요일수는 비슷하였으며 수량은 비슷하거나(배지수분 65%, 50 ml 접종), 24%까지(배지수분 65%, 15 ml) 증가하였다. PDB액체종균의 경우 배양일수는 비슷하거나(배지수분 55%, 15 ml 접종), 2~4일 단축되었고(배지수분 65%, 15~50 ml 접종), 초발이 소요일수는 비슷하였으며 수량성은 비슷하거나(배지수분 55%, 15 ml 접종) 23%까지(배지수분 65%, 25 ml 접종) 증가하였다. 미강 추출액 액체종균의 경우 배양일수와 초발이 소요일수는 비슷하였고, 수량성은 3%(배지수분 55%, 15 ml 접종)에서 38%(배지수분

55%, 50 ml 집중)까지 증가하였다. 참깨박 추출액 액체중균의 경우 균총 형성 숫자는 많았으나 배양 일수와 초발이 소요일수는 모두 대조구보다 길어졌고, 수량성도 크게 감소되었다.

참고문헌

- 박용환, 장학길, 고승수, 차동열. 1978. 팽이버섯 병재 배에 관한 연구. 농시연보 제20집, 129-134
- 우명식. 1982. 팽나무버섯의 항암성분에 관한 연구. 한국균학회지 10(4): 213-216
- 윤정구. 1971. *Collybia velutipes*균의 인공배지 배양에 관한 연구. 충북대학 논문집 5: 143-167.
- 이상선. 1991. 전통적인 버섯배지에서 사용되는 미강의 역할. 한국균학회지 19(1): 47-53.
- 장학길. 1996. 톱밥재지에 대한 영양첨가가 팽이버섯의 성장 및 배지의 화학적 성분변화에 미치는 영향. 한국균학회지 4(1): 31-34.
- 차동열. 1989. 최신버섯재배기술. 상록사, 348-354.
- Chang, S. T. and Miles, P. G. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC press Inc., 255-258.
- Crisan, E. V. and Sands, A. 1978. Nutritional value, In the biology and cultivation of edible mushrooms, 145-150.
- Paul stamets, Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, Ten speed press. 1993, 146-150.