Journal of Mushroom Science and Production
Vol. 10, No 1, p21-28 March 2012
Printed in S. Korea
Copyright © 2012 by The Korea Society of Mushroom Science

버들송이의 균사배양조건 및 최적 접종량 설정

이기권, 유영진*, 최규환, 정종성
전라북도농업기술원 작물경영과

Condition of mycelial culture and inoculum volume of spawn on cultivation of *Agrocybe cylindracea*

Kee-Kwon Lee, Young-Jin Yu*, Kyu-Hwan Choi and Jong-Seong Jeong
Jeollabuk-do Agricultural Research and Crop-Management, Iksan, 570-704

(Received March 6, 2012, Revised March 17, 2012, Accepted March 19, 2012)

ABSTRACT: Studies were made to optimize the media composition and cultural condition for mycelial growth of *Agrocybe cylindracea*. Sawdust spawn of media composition for optimal growth was found to be pine sawdust combination of 30% wheat bran and poplar sawdust combination of 20% corn bran were the best of the optimal combination. The optimal concentration of white sugar was 1.0~1.5%. The nitrogen sources was found to be yeast extract and soybean powder. Also, optimal concentration were 0.7g/ℓ and 0.1g/ℓ , respectively. The mineral sources of optimal medium compositions were $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3g/ℓ , KH_2PO_4 0.5g/ℓ and K_2HPO 1.2g/ℓ . Optimal amount of inoculum for cultivation of *A. cylindracea* were 20~25g/850㎖ and 25㎖/850㎖ in the sawdust spawn and liquid spawn, respectively.

KEYWORDS : *Agrocybe cylindracea*, Liquid spawn, Sawdust spawn, Mycelial growth

서 론

본 연구의 버들송이는 주름버섯목(Agricales), 소똥버섯과(Bolbitiaceae), 볏짚버섯속(*Agrocybe*)에 속하며, 활엽수의 고사목이나 그루터기에 다발지어 발생하는 사물기생균으로 봄부터 가을까지 자생하는 버섯이다. 버들송이는 다른 버섯에 비하여 섬유질이 많아 씹으면 단맛이 있고 아삭아삭하여 독특한 향이 있어 대중의 기호에 맞아 연중생산이 가능한 버섯으로서 한국, 일본, 북미, 유럽, 아프리카 등지에서 자생하고(今關之世, 1958), 우리나라에서는 1987년 경기도 광릉에서 이 버섯을 채집하여 처음으로 분류동정 되었다(이, 1988).

이 버섯의 형태적 특징을 보면 버섯 발생시 자실체의 갓 색깔은 어릴 때 암갈색이나 성숙하면서 기후조건에 따라 갓의 색이 다소 변하고, 건조시에는 연노랑 또는 흰색으로 변하며 우기때는 습도가 높아서 갓의 색택이 담황색~연갈색을 띈다. 자실체의 표면은 성숙 후 주름이 생기며 갓의 끝부분이 간혹 갈라지기도 한다(Lee, 1998). 버들송이에 대한 연구는 최근 많은 연구자(Esser 등, 1974, 1977; Labarere 등, 1987; Meinhardt 등, 1981; Noel 등, 1987)들 간에 유전 및 산업적인 측면에서 버들송이에 관한 연구가 진행되고 있으나 이 버섯에 관한 인공재배에 관해서는 연구가 미흡한 상태이다. Takacs(1974)는 액체배양시 질소원 종류가 자실체의 수량에도 영향을 미친다고 보고하였다. 한편 Zadrazil 등(1978, 1980)은 밀짚을 이용한 버들송이 재배시 질소원 종류와 자실체 수량과의 관계를 연구한 결과 질소원을 첨가함으로 자실체 수량이 증가되었으나 고농도의 암모니아 및 요소 첨가시에는 균사생장이 저조 된다고 보고하였다. 그러나 많은 연구에도 불구하고 이 버섯은 균배양기간이 길고 종균 저장력도 약하며, 배양중에 잡균 오염율이 높아 농가에 널리 재배되지 못하고 있는 실정이다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 본 연구는 종균배양조건과 이용에 관한 시험을 수행하였다.

* Corresponding author 〈jin1959@korea.kr〉

재료 및 방법

공시균주

본시험에 사용한 균주는 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과에 보존하고 있는 버들송이 1호(*Agrocybe cylindracea*) 균주를 사용하였다. 원균은 미리 준비된 PDA(potato dextrose agar)의 평판배지에 접종하여 25℃에서 15일간 배양한 후 자란 균주를 PEG-8000(보존제) 10% 용액을 1.2㎖ 마이크로 튜브에 0.8㎖씩 분주한 다음 121℃, 15분간 멸균 후 보존액이 상온(25℃)이 되었을 때 직경이 8㎜인 코크보러를 사용하여 균사절편 8개씩 보존액에 침지

한 후 4℃에 보관하고 시험에 사용할 때 마다 1개씩 꺼내어 액체종균 배양조건 및 자실체발생을 위한 톱밥종균 제조용 원균으로 사용하였다.

액체종균배지의 배지원 선발

1) 탄소원 선발 및 최적농도

버들송이의액체종균제조를위해탄소원종류는dextrose, mannose, sucrose, 백설탕, 흑설탕을 0.5~3.5%농도로 조절하여 121℃에서 15분간 고압 멸균한 다음 페트리디시 평판에 20㎖씩 분주하여 미리 준비된 버들송이 균을 접종하고 25±1℃ 암상태에서 15일간 배양하고 균사생장 직경을 측정하였다.

2) 무기염류 선발 및 최적농도

무기염류의선발및농도를조사하기위하여$MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4, K_2HPO_4를 사용하였다. 첨가량을 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$는 0.1~0.9g/ℓ , KH_2PO_4, K_2HPO_4는 0.1~1.9g/ℓ 로 처리하여 121℃에서 15분간 고압 멸균하고 페트리디시 평판에 20㎖씩 분주하여 미리 준비된 버들송이 균을 접종하고 25±1℃ 암상태에서 15일간 배양한 다음 균사생장 직경을 측정하였다.

3) 질소원 선발 및 최적농도

질소원선발은 yeast extract와 일반적으로 농가에서 많이 사용하고 있는 볶음콩가루를 0.1~0.9g/ℓ 로 처리를 달리한 다음 121℃에서 15분간 고압 멸균한 다음 페트리디시 평판에 20㎖씩 분주하여 미리 준비된 버들송이 균을 접종하고 25±1℃ 암상태에서 15일간 배양한 다음 균사생장 직경을 측정하였다.

톱밥종균 배지의 배지원 선발

1) 톱밥과 첨가제 종류

톱밥의 종류는 미송, 포플러로 하였으며 이들을 단독으로 사용하였다. 첨가제는 밀기울, 미강, 옥수수가루를 사용하였고, 톱밥에 첨가제 혼합을 10, 20, 30, 40%(v/v)로 하고 수분함량은 65%로 조절한 다음 준비된 시험관(ø 3.0×24.0㎝)에 20g씩 다져서 담고 121℃에서 60분간 고압멸균 하였다.

2) 버섯 균 접종 및 배양

멸균이 끝난 톱밥과 첨가제별 혼합비 처리 시험관에 미리 PDA(potato dextrose agar)에서 15일간 배양시킨 균사를 직경 1.5㎝ 코크보러로 절단하여 톱밥종균 배지원별 배지 중앙에 접종하고, 25℃에서 12일간 배양하였다. 균사생장속도는 12일간 배양된 시험관의 균사신장 길이를 측정하기위해 육안 조사하여 톱밥종균의 최적조건을 선발하였다.

종균의 접종량 설정

1) 톱밥종균 접종효과

톱밥배지용 배지를 수분함량 65%로 조절 한 후 100g씩 정량하고 배지를 250㎖삼각플라스크에 다진 다음 실리콘 마개로 막고 121℃에서 60분간 고압멸균 하였다. 배지에 미리 준비한 PDA (potato dextrose agar)평판배지에서 15일간 배양된 균사를 크기가 5㎜×30㎜로 절단한 후 삼각플라스크 배지 중앙부위 구멍에 1개, 배지 상층의 양쪽에 1개씩 2개를 접종한 다음 25℃ incubator에서 암 상태로 23일간 배양하였다. 배양이 완료된 톱밥종균을 톱밥배지 병(850㎖)당 톱밥종균을 15, 20, 25, 30, 35g/850㎖병 씩 clean bench내에서 접종하여 23±2℃로 설정된 배양실에 넣고 배양완료기간을 조사하였다. 배양이 완료된 병(850㎖)을 자동균긁기 기계로 균긁기를 실시하여 발이와 생육을 유도해서 자실체 수량을 조사하였다.

2) 액체종균 접종효과

미송톱밥에 밀기울 30%(v/v)을 첨가하여 수분을 65%로 조절한 톱밥배지에 선발된 액체종균을 병(850㎖)당 15, 20, 25, 30, 35㎖씩 접종하고 23±2℃로 설정된 배양실에 넣고 배양완료기간을 조사하였다. 배양이 완료된 병(850㎖)을 자동균긁기 기계로 균긁기를 실시하여 발이와 생육을 유도한 다음 자실체 수량을 조사하였다.

결과 및 고찰

액체배지 배지원 선발 및 최적농도 설정

1) 탄소원 선발 및 최적농도

버들송이 균사 생장속도에 미치는 탄소원은 Table 1에서와 같이 dextrose, white sugar에서 균사생육이 양호하였다. 그 중에서 농가에서 대량 배양하기는 가격이 비교적 저렴한 white sugar가 적합 할 것으로 판단되었다. 이 때 첨가농도는 1~1.5% 첨가에서 성장속도가 빠른 것으로 조사 되었다. 홍 등(1986)은 영지버섯 균사생장에 탄소원으로 souble starch와 cellobiose가 가장 양호하다고 하였고, 팽이버섯은 mannitol이 균사생장과 자실체 형성에 가장 효과가 있다고 보고하였다. 또한 표고버섯에서는 glucose(김 등, 1987), 버들송이는 starch, dextrine(김 등, 1988), 잣버섯은 galactose(김 등, 1994), 개암버섯은 sorbitol(강 등, 1994)이 균사생장에 양호한 탄소원으로 보고된 바 있다. 이러한 결과를 볼 때 버섯 균주 종류별로 적합한 탄소원이 각각 다른 것으로 판단된다.

2) 무기염류 선발 및 최적농도

최적 무기염류의 선발과 처리량을 조사하기위하여 white sugar 1.5%가 첨가된 배지에 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2HPO_4를 각각 0.5~3.5(g/ℓ)첨가하여 페트리디시에 접종한 후 15일간 배양하였다. 그 결과 Table 2와 같이 버들송이의 균사생장에 효과가 있었다. 이러한 결과는 buffering reagent로 작용하

Table 1. Effect of various carbon sources and concentration on the mycelial growth of *A. aegerita* after 15 days incubation

(㎜/15days)

Carbon soure	Isolates 08005							Isolates 08006						
	Concentration(%)							Concentration(%)						
	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5
Dextrose	41.4	38.4	35.9	33.7	33.5	31.0	27.8	42.2	43.4	40.2	40.4	37.7	34.2	32.3
Mannose	43.3	44.4	45.3	43.8	42.5	42.2	42.6	41.6	45.6	46.8	45.2	43.0	43.5	42.1
Sucrose	41.7	41.8	43.6	45.7	47.7	46.4	47.0	41.3	41.3	42.1	42.9	45.8	46.3	47.3
White sugar	41.7	46.5	43.9	42.2	43.0	42.1	42.0	44.4	47.9	42.2	43.4	43.7	42.2	43.4
Black sugar	42.6	45.4	42.8	42.3	44.9	45.3	45.5	44.7	46.9	43.1	43.6	44.0	44.6	44.7

※ control : PDA(Isolates 08005 43.4㎜, Isolates 08006 45.8㎜)

Table 2. Effect of mineral sources on the mycelial growth of *A. aegerita* after 15 days ncubation

(㎜/15days)

Division		Isolates 08005					Isolates 08006				
		Treatment (g/ℓ)					Treatment (g/ℓ)				
		0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
K2HPO4	Colony diameter	52.0	51.8	51.5	51.5	51.0	44.4	46.2	44.2	43.4	44.2
	Mycelial density*	+++	+++++	+++	+++	++	++++	+++++	+++	+++	++
MgSO4 7H2O	Colony diameter	53.4	53.0	52.2	52.5.	51.0	45.7	44.5	45.2	45.1	41.0
	Mycelial density	+++++	++++	+++	+++	+++	+++++	+++	+++	+++	++

※ Control : PDA(Isolates 08005 49.2㎜, Isolates 08006 42.3㎜)

* Mycelial density : +++++;quite compact, ++++;compact, +++; thick, ++;thin

Table 3. Effect of yeast extract and soybean powder on the mycelial growth of *A. aegerita* after 15 days incubation

(㎜/15days)

Division		Isolates 08005					Isolates 08006				
		Treatment (g/ℓ)					Treatment (g/ℓ)				
		0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
Yeast extract	Colony diameter	55.4	55.0	54.0	54.4	52.1	47.1	44.6	45.6	46.2	42.5
	Mycelial density*	+	++	+++	++++	++++	+	+++	+++	++++	++++
Soybean powder	Colony diameter	56.9	55.1	54.2	55.0	55.5	51.6	49.3	49.2	49.9	50.0
	Mycelial density	++++	+++	+++	+++	+++	+++++	++++	+++	+++	++++

※ Control : PDA(Isolates 08005 48.7㎜, Isolates 08006 37.9㎜)

* Mycelial density : ++++; quite compact, +++; compact, ++; thick, +; thin

는 PO_4^{3-}, 세포 구조를 결정하는 K^+, 균류의 세포벽의 생합성 촉진 및 균류의 투과성에 영향을 미치는 Mg^{2+}의 효과에 기인한 것으로 생각된다. 따라서 버들송이버섯 균사생육의 최적 무기염류 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$는 0.1g/ℓ, K_2HPO_4의 경우는 0.3g/ℓ를 처리하였을 때 균사생육이 양호 하였다. 이러한 결과는 Hong(1983) 등이 느타리버섯과 목이의 진탕배양에 의한 균사체 생산에 관한 연구에서 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$와 KH_2PO_4가 균사생장에 가장 좋은 무기염류로 보고하였고, 차(2004)는 버들송이의 균사생육 최적 무기염류는 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$와 KH_2PO_4로 보고하였는데 본 연구에서는 K_2HPO_4의 무기염류가 균사생육을 촉진하는 것으로 조사되어 다소 차이가 있었다.

3) 질소원 선발 및 최적농도

최적 질소원 선발과 처리량을 조사하기 위하여 white sugar 1.5%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g/ℓ, K_2HPO_4 0.3g/ℓ를 첨가한 후 yeast extract와 soybean powder를 0.1~0.9g/ℓ의 처리로 페트리디시에 치상하고 15일간 배양한 후 버들송이의 균사생육을 조사하였다. 그 결과는 Table 3과 같이 yeast extract 0.7g/ℓ, soybean powder 0.1g/ℓ를 처리하였을 때 버들송이의 균사신장이 양호한 것으로 조사되었다. 그런데

Table 4. Optimum culture condition of liquid spawn

Division	Carbon sources		Nitrogen sources		Mineral sources	
Sources	Dextrose	White sugar	Yeast ex.	Soybean powder	K_2HPO_4	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$
Treatment(g/10ℓ)	50	100	7	1	3	1

Table 5. Composition of various kinds of sawdust and supplement

Various kind of sawdust	Various kinds of supplement	Mixing ratio
Pine sawdust	Wheat bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4
	Rice bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4
	Corn bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4
Poplar sawdust	Wheat bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4
	Rice bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4
	Corn bran	9:1, 8:2, 7:3, 6:4

Table 6. Effect of pine sawdust and various kinds of supplement and their mixing ratios on mycelial growth of *A. aegerita*

(㎜/30days)

Isolates 08005				Isolates 08006			
Various kind of supplement	Mixing ratio	[a]Mycelial growth	[b]Mycelial density	Various kind of supplement	Mixing ratio	[a]Mycelial growth	[b]Mycelial density
Wheat bran	9:1	35.0	++	Wheat bran	9:1	34	++
	8:2	50.2	++		8:2	49.2	++
	7:3	54.2	++++		7:3	54.6	++++
	6:4	52.9	+++		6:4	53.6	++++
Rice bran	9:1	48.5	+	Rice bran	9:1	49.2	+
	8:2	41.5	++		8:2	41.4	++
	7:3	38.2	++		7:3	38.0	++
	6:4	33.2	++		6:4	34.2	++
Corn bran	9:1	19.9	+	Corn bran	9:1	19.5	+
	8:2	29.2	+		8:2	28.2	+
	7:3	41.4	++		7:3	41.6	++
	6:4	48.3	+++		6:4	47.7	+++

[a] Mycelial growth(㎜/30 days)

[b] Mycelial density : +; thin, ++; thick, +++; compact, ++++; quite compact

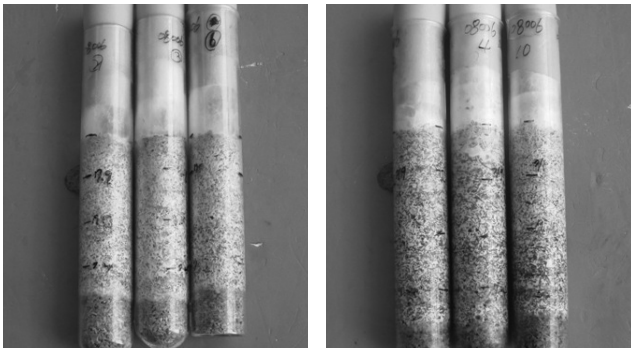
시료의 처리가 높아질수록 버들송이의 균사생육이 저조하였다. 버섯종류별 질소원에 대한 연구 결과로는 잣버섯(신 등. 2003)이나 큰느타리버섯(강 등. 2000)은 유기태 질소원인 malt extract와 yeast extract를 혼합한 배지에서 균사생장이 양호하다고 보고하였고, 풍뎅이동충하초(이 등. 2000)는 균사생육시 무기태 질소원인 ammonium phosphate가 우수한 질소원으로 보고하였다. 하지만 농가가 쉽게 구입 할 수 있고 경제성을 고려한다면 유기태 질소원으로는 현재 액체배양 농가에서 널리 사용하고 있는 콩가루를 사용하는 것이 유리할 것으로 생각된다.

버들송이의 액체배지 최적조건은 Table 4와 같이 액체배지를 10ℓ 를 제조할 때 탄소원으로는 dextrose 50g, 백설탕 100g, 질소원은 yeast extract 7g과 soybean powder 1g, 무기물 K_2HPO_4 3g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g의 처리로 액체배지 제조가 양호하였다.

톱밥종균 배지원 선발

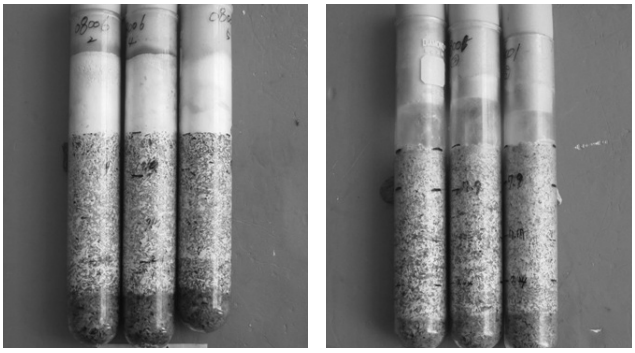
1) 톱밥종류별 및 첨가제 선발

톱밥종류와 첨가제의 혼합비율은 Table 5에서와 같이 톱밥의 종류 및 첨가제 혼합비를 달리하여 버들송이의 균사생육을 조사하였다. 미송톱밥을 단독처리하여 첨가제를 혼합한 톱밥배지의 균사생장 및 밀도는 Table 6에서와 같다. 미송톱밥을 주재료로 하고 밀기울과 미강, 옥수수가루를 처리하였을 때 밀기울처리에서 전제적으로 균사생육이 양호



〈Isolate 08005〉 〈Isolate 08006〉

Fig. 1. Treatment of wheat bran on the mycelial growth of isolate 08005 and 08006 of *A. aegerita*.



〈Isolate 08005〉 〈Isolate 08006〉

Fig 2. Treatment of corn bran on the mycelial growth of isolate 08005 and 08006 of *A. aegerita*.

Table 7. Effect of poplar sawdust and various kinds of supplement and their mixing ratios on mycelial growth of *A. aegerita*

(㎜/30days)

Isolates 08005				Isolates 08006			
Various kind of supplement	Mixing ratio	[a]Mycelial growth	[b]Mycelial density	Various kind of supplement	Mixing ratio	[a]Mycelial growth	[b]Mycelial density
Wheat bran	9:1	54.4	++	Wheat bran	9:1	67.1	++
	8:2	53.9	++		8:2	63.8	++
	7:3	51.1	+++		7:3	55.2	+++
	6:4	43.4	++++		6:4	48.2	++++
Rice bran	9:1	44.4	+	Rice bran	9:1	48.2	+
	8:2	40.1	++		8:2	45.6	++
	7:3	25.5	+++		7:3	32.6	+++
	6:4	27.4	++		6:4	27.8	++
Corn bran	9:1	54.9	++	Corn bran	9:1	67.6	++
	8:2	56.6	+++		8:2	66.9	+++
	7:3	53.8	+++		7:3	63.2	+++
	6:4	52.3	+++		6:4	58.5	+++

[a] Mycelial growth(㎜/30 days).

[b] Mycelial density : +; thin, ++; thick, +++; compact, ++++; quite compact.

하였다. 이 때 미송톱밥과 밀기울의 혼합비는 7:3비율(부피비)이 적합한 것으로 판단된다(Fig. 1). 하지만 옥수수가루를 처리한 시험구에서는 균사생육과 균사밀도가 저조하여 옥수수가루를 이용한 버들송이의 톱밥종균은 적합하지 않은 것으로 판단되었다. 옥수수가루는 배지를 살균한 후 왁스성분 및 점액물질이 많이 발생하여 톱밥배지의 공극을 막아 균사생장을 지연시키는 것으로 판단된다. 포플러톱밥을 단독처리하여 첨가제를 혼합한 톱밥배지의 균사 생장량 및 밀도는 Table 7에서와 같다. 포플러톱밥을 주재료로 하고 밀기울과 미강, 옥수수가루를 처리하였을 때 옥수수가루 처리에서 전제적으로 균사생육이 양호하였다. 이 때 미송톱밥과 밀기울의 혼합비는 8:2비율(v/v)이 적합한 것으로 판단되었다(Fig 2). 하지만 포플러 톱밥은 미송톱밥을 처리한 것보다 균사생육과 균사밀도가 양호하여 버들송이버섯의 자실체 발생을 위한 주재료로 포플러톱밥이 양호할 것으로 판단되었다.

종균 접종량 설정

1) 톱밥종균 접종량 설정

버들송이의 병재배 시설에서 톱밥종균을 활용한 버들송이버섯 연중 생산을 위한 기초자료로 활용하기위하여 미송톱밥과 밀기울(7:3;v/v)의 혼합배지에서 자란 톱밥종균을 850㎖들이 pp병의 톱밥배지에 15, 20, 25, 30, 35g씩 접종하고 처리별 균사체 증가량을 조사한 결과는 Fig 3과 같다. 접종량이 증가 할수록 전체적인 균사체의 증가는 많아지는 경향이었다. 그러나 접종량 30g 이상에서 균사체의 증가량

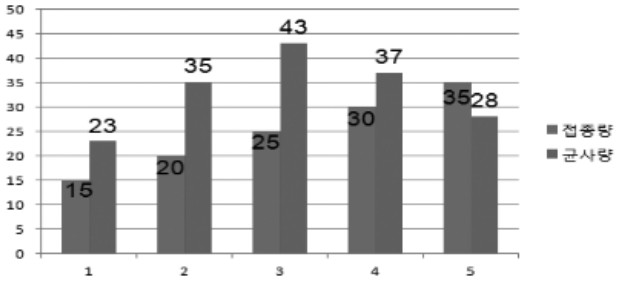


Fig 3. Yield of spawn of *A. aegerita* by inoculation sawdust spawn amount.
※ Condition of growth : Temperature 23±2℃, Moisture 70~75%
Conventional : Pine sawdust 80%+ Wheat bran 20%

이 줄어드는 경향이었다. 이것은 균사체가 증식되는 배양과정에 균사가 생장되면서 호흡에 의해 열이 발생되는데 열을 방출할 수 있는 용기의 통기구를 균사가 막아 호흡열의 방출과 신선한 공기 유입에 문제가 발생하여 균 증식이 원활하지 못한 것으로 판단되었다.

톱밥종균을 접종량별로 850㎖ pp병에 각각 15, 20, 25, 30, 30g씩 접종하였을 때 균배양 완성기간과 자실체발생비율 및 자실체 수량을 비교한 결과는 Table 8과 같다. 균배양 완성기간은 15g를 접종하였을 때 38일이 소요되었고, 나머지는 32~33일로 큰 차이는 없었다. 그런데 자실체발생비율은 25g 접종시 97%로 가장 양호하였고, 15g과 35g 접종에서 84%와 85%의 자실체발생비율을 보여 좋지 않았고, 20~25g 접종시 96~97%의 자실체발생비율을 보여 가장 양호하였다. 자실체 수량은 35g 접종시 병당 102g의 수량을 보여 가장 저조하였으며 20g과 25g에서 각각 113g, 114g의 수량(Fig 4)을 보여 버들송이버섯을 톱밥종균으로 재배할 때 최적 접종량은 20~25g으로 판단 할 수 있었다.

2) 액체종균 접종량 설정

병재배 시설에서 액체종균을 활용한 버들송이버섯의 연중 생산을 위한 기초자료로 활용하기 위하여 Table 4의 조성비로 제조한 액체종균을 10l에 12일간 배양한 액체종균의 접종량을 850㎖ pp병 용기의 톱밥배지에 15, 20, 25, 30, 35㎖씩 접종하고 용기내에서 생육한 균사체량을 조사하였는데 그 결과는 Fig 5와 같이 접종량이 증가 할수록 균사체량은 증가하는 추세였다. 이 때 가장 적합한 액체종균 접종량은 25㎖로 조사되었는데, 액체종균과 톱밥종균의 균사 생장량을 비교하였을 때 Table 9에서와 같이 액체종균 접종의 균사체 생육이 다소 차이를 보였지만 유의성은 없었고, 오염율은 톱밥종균에서 다소 높아 톱밥종균으로 버들송이를 접종할 때 사후 관리가 필요한 것으로 판단되었다.

액체종균을 850㎖ pp병에 각각 15, 20, 25, 30, 30㎖씩 접종하였을 때 균배양 완성기간과 자실체발생비율 및 자실

Table 8. Yield of fruit body of *A. aegerita* by inoculation sawdust spawn amount

Inoculation amount (g/850㎖)	Inoculation period	Formation of fruit body(%)	Yield of fruit body (g/850㎖)
15	38	84	103c*
20	32	96	113a
25	33	97	114a
30	33	91	108b
35	32	85	102c

※ Condition of growth : Temperature 16~18℃, Moisture 90~95%
Conventional : pine sawdust 80%+ Wheat bran 20%

* Different letters represent significant difference at 5% level by Duncan's multiple range test

Fig 4. Status of *A. aegerita* in 850㎖ pp bottle.

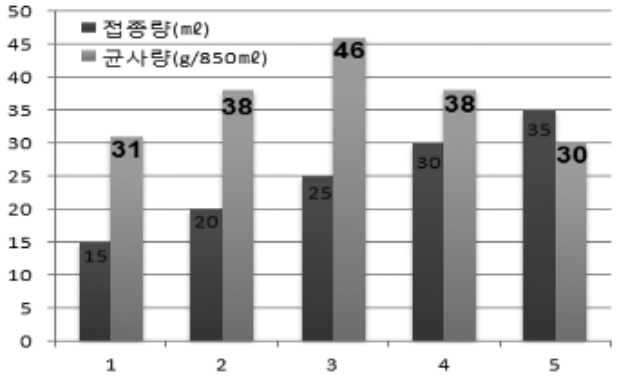


Fig 5. Yield of spawn of *A. aegerita* by inoculation amount of liquid spawn
※ Condition of growth : Temperature 23±2℃, Moisture 70~75%
Conventional : Pine sawdust 80%+ Wheat bran 20%

Fig 6. Status of *A. aegerita* in 850㎖ pp bottle.

Table 9. Comparison of mycelial growth during culture period of inoculation sawdust spawn and liquid spawn

Division(Inoculation amount)	mycelial growth(㎜)	Contamination of ratios(%)
Sawdust spawn(25g/850㎖)	73.0	2~4%
Liquid spawn(25㎖/850㎖)	76.7	1~3%

※ Culture period : 34days

Table 10. Yield of fruit body of *A. aegerita* by inoculation liquid spawn amount

Inoculation amount (g/850㎖)	Inoculation period	Formation of fruit body(%)	Yield of fruit body (g/850㎖)
15	35	84	103c*
20	32	96	113b
25	33	98	117a
30	33	92	110b
35	32	89	109b

※ Condition of growth : Temperature 16~18℃, Moisture 90~95%
Conventional : pine sawdust 80%+ Wheat bran 20%

* Different letters represent significant difference at 5% level by Duncan's multiple range test

체 수량을 비교한 결과는 Table 10과 같다. 균배양 완성기간은 15㎖를 접종하였을 때 35일이 소요되었고, 나머지는 32~33일로 큰 차이는 없었다. 자실체발생비율은 15㎖ 접종할 때 84%의 자실체발생비율을 보여 가장 저조하였으며, 20~25㎖ 접종시 96~98%의 자실체발생비율을 보여 초기 자실체 발생 비율이 양호한 것으로 판단되었다. 자실체 수량은 15㎖을 접종 할 때 병당 103g으로 가장 저조하였고, 25㎖으로 접종하였을 때 117g의 수량(Fig 5)을 보여 버들송이를 액체종균으로 재배할 때 최적 접종량은 25㎖으로 판단하였다. 정(2003)은 버들송이버섯의 액체종균을 10㎖씩 접종하였을 때 배양기간이 30일, 초기자실체발생비율도 92%로 밝혔지만 본 연구와는 조금 차이가 있음을 알 수 있었다.

적 요

본 연구는 버들송이버섯의 균사 생육 최적조건을 구명하여 액체종균을 제조하고 또한 톱밥종균의 영양원을 선발하기위하여 시험을 수행하였고, 선발된 종균에 대한 종균 접종량을 설정하여 병재배에 적합한 조건을 구명하고자 하였다. 버들송이버섯의 톱밥종균은 미송톱밥(70%)+밀기울(30%)의 비율, 포플러톱밥(80%)+옥수수가루(20%) 조건으로 배합할 때 균사 생육이 양호하였다. 액체종균에 대한 영양원 선발 및 첨가량은 백설탕 1.0~1.5%, yeast extract 0.7g/ℓ, 콩가루 0.1.7g/ℓ, 무기물은 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3g/ℓ, KH_2PO_4 0.5g/ℓ, K_2HPO 1.2g/ℓ 가 최적 조건이었다. 이때 선발된 배지의 접종량은 액체 및 톱밥종균을 25㎖/850㎖과 20~25g/850㎖

로 접종 할 때 자실체 발생이 양호하였다.

감사의 말씀

이 연구는 지역특화기술개발과제에서 시행한 기술개발과제의 연구결과입니다.

참고문헌

강안석, 차동렬, 홍인표, 장현유, 유승헌. 1994. 개암버섯의 균사생장에 영향을 미치는 배양조 건에 관한 연구. 한국균학회지 22(2) : 153-159.

김한경, 박용환, 차동열, 정환채. 1987. 표고버섯 톱밥 인공재배에 관한 연구. 한국균학회지 15(1) : 42-47.

김한경, 박정식, 김양섭, 차동열, 박용환. 1988. 버들송이의 균사생장 조건에 관한 연구. 농시 논문집 30(3) : 141-150.

김한경, 박정식, 차동열, 김양섭, 문병주. 1994. 잣버섯 인공재배에 관한 연구(I)-균사체 배양 조건에 관하여- 한국균학회지 22(2) : 145-152.

이지열. 1988. 원색한국버섯도감, p:137. 아카데미서적. 서울.

정종천, 홍인표, 장갑열, 박정식. 2003. 버들송이버섯의 액체종균 배양조건과 접종량. 한국균학회 31(2) : 94-97.

차월석, 이명령, 조배식, 박세영, 오동규. 2004. 플라스크배양에서 버들송이버섯 균사체 배양에 관한연구. JLS 14(4) : 560-566.

홍재식, 이종배, 고무석, 김정숙, 이극노, 김명곤, 정기태. 1986. 합성배지에서 불노초가 생산하 는 섬유소 분해효소에 관한 연구. 한국균학회지 14(2) : 121-130.

今關之世, 木鄕次雄. 1958. 原色日本菌類圖鑑(I). 保育社: p 58.

Esser, K., Semerdzieva, M. and Stahl, U. 1974. genetische Untershchungen an dem basidiomycetes *Agrocybe aegerita*. Theoretical and Appl Genetics. 45 : 77-85.

Esser, K. and Meinhardt, F. 1977. A common genetic control og Dikaryotic and Monokaryotic Fruiting in the Basidiomycetes *Agrocybe aegerita*. Molec. Gen. Genet. 115 : 113-115.

Hong, J. S. and K. H. Kang. 1983. Fruit-body formation of Pleurotus florida on the synthetic medium. Kor. J. Mycol. 11 : 121-128.

Kang, M. S., Kang, T. S., Kang, H. R. Shon and J, M. Sung. 2000. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of Pleurotus eryngii. Kor. J. Mycol. 28 : 73-80.

Labarere, J., Noel. T and Imbernon, M. 1987. Selection and genetic analysis of antibiotic resistant mutant strains in Agrocybe aeberita. International society for mushroom science Ⅻ. P 85

Lee, J. K., Y. S. Choi, and J. M. Sung, 2000. Investigation on cultural characteristics of mycelial growth by Cordyceps scarabaeicola. Kor. J. Mycol. 28(2) : 81-87.

Lee, J. Y. 1998. Coloured Korean Mushroom. Ⅰ. Academic Press. 137

Meinhardt, F. and Esser, K. 1981. Genetic studies of the basidiomycetes *Agrocybe aegerita*. Part Ⅱ genetic control of fruit body formation and its practical implications. Theor. Appl. Genet. 60 : 265-268.

Noel, T. and Labarere, J. 1987. Isolation and Regeneration of protoplasts from Homokaryotic mycelia of *Agrocybe aegerita*. ISMS Ⅻ p. 109.

Noel, T. and Labarere, J. 1987. Isolation of DNA from *Agrocybe aegerita* and construction of a genetic library in Escherichia coli. ISMS Ⅻ p. 110.

Shin, S. E., Cha, W. S and Kang, S. H. 2003. A study on the mycelial growth of Lentinus lepideus in liquid culture. Kor. J. Life Science. 18 : 292-297.

Takacs, T. 1974. Fruitbody production of *Agrocybe aegerita*(Brig) Sing on culture media of Various nitrogen sources. Acta. Agron. Acad. Sci. Hung. 23 : 423-443.

Zadrazil, F. and Brunnert, H. 1978. Der einfluss Verschiedener stickstoffqellen auf den abbou von stroh und den Fruchtkorperetrag von *Agrocybe aegerita*. Mush. Sci. X(PartⅡ) : 843-850.

Zadrazil, F. 1980. Conversion of Different plant waste into Feed by Basidiomycetes. Euro. J. Appl. Microbiol Biotechnol 9 : 243-248.