

319106-05

트러플 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증 최종보고서

농림축산식품부

농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
농생명산업기술개발사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004775-01

트러플 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증

2024년 07월 30일

주관연구기관 / 전남산림자원연구소
공동연구기관 / 한국교원대학교 / 한국농수산대학교
/ 장흥군버섯산업연구원

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 "트러플 인공재배를 위한 심종묘 생산 및 현장 실증"(개발기간 2019. 09. ~ 2024. 02.)과제의 최종보고서로 제출합니다

납본일자 2024. 07. 30.

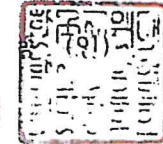
주관연구기관명 : 전남신림지원연구소

(대표자) 오 덕



공동연구기관명 : 한국교원대학교 산학협력단

(대표자) 최 현



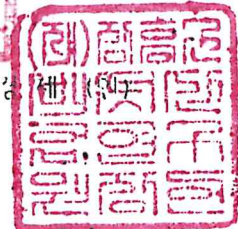
공동연구기관명 : 한국농수산대학 산학협력단

(대표자) 박 (인)



공동연구기관명 : 장흥군버섯산업연구원

(대표자) 김 경



주관연구책임자 오 덕 실

공동연구책임자 엄 인 훈

공동연구책임자 서 건 식

공동연구책임자 : 김 경 제

국기연구개발사업의 권리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 함(기)

최종보고서

모바일공
발번() 오인()

중앙행정기관명	농림축산식품부		사업명	사업명	농업혁신기술개발사업		
전문기관명	농림식품기술기획평가원		내역사업명				
공고번호			출발연구개발 식별번호				
			연구개발과제번호	319105-05			
기술분류	국가과학기술표준분류	LB1208	50%	LB0302	25%	LB1208	25%
	농림식품과학기술분류	AA0303	100%		%		%
출발연구개발명	국문						
연구개발과제명	국문	트러플(서양송로) 인공재배를 위한 접종모 생산 및 원형 실증					
	영문	Production of inoculated seeding and field experiment for the artificial cultivation of Truffle					
주관연구개발기관	기관명	전남산림지원연구소		사업사물제번호	412-83-02602		
	주소	[9941283 전남 나주시 선로면		법인등록번호			
연구책임자	성명	오 욱 실		직위	지방농지연구원		
	연락처	직장전화		휴대전화			
		전자우편		국가연구자번호			
연구개발기간	전체	2019. 09. 20 - 2024. 02. 19(4년 5개월)					
	단계	1단계 2019. 09. 20 - 2024. 02. 19(4년 5개월)					
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		연구책임자 외	
	원금	원금	원금	원금	원금		합계
총계	1,000,000	0	0	0	0	1,000,000	
1단계	1년차	150,000	0	0	0	150,000	
	2년차	214,000	0	0	0	214,000	
	3년차	212,000	0	0	0	212,000	
	4년차	212,000	0	0	0	212,000	
	5년차	212,000	0	0	0	212,000	
공동연구개발기관 등	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고	
공동연구개발기관	한국과학기술연구원	김민석	교수			공동 대학	
	한국농수산대학교	서건식	교수			공동 대학	
	한국농수산대학교	김관재	부장			공동 지자체출연인	
위탁연구개발기관	충남대학교	이주환	대표			위탁 기업	
연구개발담당자	성명	김 현 석		직위	연구원		
실무담당자	연락처	직장전화		휴대전화			
		전자우편		국가연구자번호			

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하여, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024년 4월 19일

연구책임자: 오 욱 실

주관연구개발기관의 장: 오 욱 실

공동연구개발기관의 장: 오 욱 실

위탁연구개발기관의 장: 이 주 환



농림축산식품부장관-농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

사업명		농생명산업기술개발사업		총괄연구개발 식별번호					
내역사업명		생명자원 부가가치 제고기술		연구개발과제번호		319106-05			
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB1208	50%	LB0302	25%	LB1208	25%		
	농림식품 과학기술분류	AA0303	100%		%		%		
총괄연구개발명									
연구개발과제명		트러플 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증							
전체 연구개발기간		2019. 09. 20 - 2024. 02. 19 (4년 5개월)							
총 연구개발비		총1,000,000천원 (정부지원연구개발비:1,000,000천원, 기관부담연구개발비 : 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)							
연구개발단계		기초[√] 응용[] 개발[] 기타[]		기술성숙도		착수시점 기준(1단계) 종료시점 목표(5단계)			
연구개발과제 유형									
연구개발과제 특성									
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		트러플의 국내자원 확보 및 접종묘 생산을 위한 원천 기술 개발						
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> - 트러플 인공재배를 위한 최적 균주 및 수종 선발 - 국내 트러플 자생지 환경 조건 규명 및 대량 인공재배 접종묘 대량 생산기술 최적화 - 국외 트러플 우량균주 확보 및 접종묘 생산 최적화 기술 적용 - 현장 실증 재배시험 - 국내 트러플 확인용 분자마커 개발 및 현황 확인 기술 개발 - 국내외 수집 트러플 자원 품질 평가 및 성분 분석 						
	1단계 (1차년도)		목표	<ul style="list-style-type: none"> - 보유균주 배양 특성 조사 - 국내 트러플 서식환경 조사 - 국외트러플 우량균주 확보 및 접종묘 현장실증 재배시험 - 국내외 수집 트러플 자원 품질 평가 및 성분 분석 			내용	<ul style="list-style-type: none"> - 최적 고체배지 · <i>T. puberulum</i> : PDA>MNNA / <i>T. borchii</i> : PDA>RDA>SDA - 최적 산도 : pH 8에서 가장 균체량 많음. - 뉴질랜드 트러플 재배농가 방문 및 가공품 조사 - 중국 연구기관 및 연구시설 방문 - 최적 배합 비율 선정 - 균근 형성 및 뿌리 조직내 균사 침투 확인 : SEM, TEM - 토양조사 : 국내 염기성토양 (pH7~8)의 석회암지대 분포 조사 - 기주조사 : 참나무류, 개암나무의 서식지역 조사 - 조사지 선정 및 시료 채취 · 충청북도(단양, 제천 등), 강원도(영월, 횡성, 삼척, 태백 등), 경상북도(문경, 안동, 울진 등) 채집지 선정 · 총 9개 연구 지역에서 90개의 토양 및 뿌리 샘플 채취 · 외생균근 확인 및 NGS 분석 	

연구개발 목표 및 내용	1단계 (1차년도)	내용	<ul style="list-style-type: none"> - 해외 트러플 균주 확보를 위한 ATCC, CBS 등 균주보존센터 검색 - 해외 접종묘에서 균사 분리 : 조직분리, 계대분리 · 상토혼합:버미큐라이트(80):펠라이트(18):석회(2):균핵절편(0.1) · 깊이별 종자파종(1, 2, 3cm)에 따른 발근 소요일수 조사 · 균근형성 여부 조사 : 형태적, 분자생물학적 확인 - 시험포 조성 · 장소/규모 : 충남 예산/ 100평(비닐하우스) *접종묘 150주 식재예정 · 시험 종 : Black truffle - 격리재배 포장 조성 · 장소/내용 : 경기 화성 / 포트묘 생산 *개암나무 파종 - 수집자원 일반성분 분석 · 수분(74.37±0.64%), 조회분(2.07±0.26%), 조단백질(1.82%), 조지방(0.67±0.01%) - 수집자원 및 관련제품 향기 성분 분석 추진
	1단계 (2차년도)	목표	<ul style="list-style-type: none"> - 신규균주 배양특성 및 접종묘 생산 조건 연구 - 국내 트러플 조사 및 균근 합성 기술 개발 - 국외트러플 우량균주 확보 및 접종묘 현장실증 재배시험 - 국내외 수집 트러플자원 품질평가 및 이화학적 성분 분석
		내용	<ul style="list-style-type: none"> - 자실체 멸균조건 : 100℃, 1시간 - 최적온도 : <i>T. puberulum</i> 23℃ / <i>T. borchii</i> 23℃ - 최적배지 : <i>T. puberulum</i> PDA / <i>T. borchii</i> PDA - 최적산도 : <i>T. puberulum</i> pH8 / <i>T. borchii</i> pH7 - 접종묘 확보(300본) : (수종) 개암나무 / (균주) 3균주 - 배지조건별 균사체 대량배양 특성 조사 - 격리재배를 위한 방충시설 및 재배선반, 급수시설 등 설치 - 자생 트러플 자실체 확보 · <i>Tuber huidongense</i>(포항), <i>T. himalayense</i> (단양), <i>Tuber</i> sp. (경주, 울진) - 해외 트러플 자실체 확보 · <i>T. indicum</i>, <i>T. aestivum</i>, <i>T. melanosporum</i>, <i>T. magnatum</i> - 접종묘 제작 : 500본 · <i>T. indicum</i>(상수리나무), <i>T. indicum</i>(소나무), <i>T. indicum</i>(루브라참나무), <i>T. melanosporum</i>(루브라참나무), <i>T. aestivum</i>(루브라참나무), <i>T. himalayense</i>(떡갈나무), <i>T. huidongense</i>(떡갈나무), <i>T. melanosporum</i>(상수리나무) - 재배지 토양 조건 확인 · 토양산도 pH6~7 적합, 유효인산, 전질소·유기물 함량 증가에 따라 감염률 감소 - 균주 분양 및 보존 : 2종(<i>T. borchii</i>, <i>T. puberulum</i>) - 접종묘 수입 : 150주 / 토양 조건에 따른 접종묘 생육특성 조사 - 자실체 향기 성분 분석 · <i>T. aestivum</i>에서 총 11개의 volatile compound가 발견되었고, 1주차에는 2-butanone와 dimethylsulfide이 다량 검출됨. - 자실체 아미노산 등 정비성분 분석 · 구성아미노산, 유리아미노산 16종이 검출됨. 주요 아미노산으로 glutamic acid 및 aspartic acid 확인되었으며, 핵산 관련 물질 5'-GMP 검출됨.

연구개발 목표 및 내용	1단계 (3차년도)	목표	- 트러플 접종묘 대량생산 기술 개발 및 국내자생지 조사
		내용	- 수종·토양 조건에 따른 접종묘 균근 형성 조사 - 국내 트러플 균근 및 자실체 현지조사 - 트러플 균주 확보 최적 방안 연구 - 트러플 실증재배 최적 조건 연구 - 국내 자생 트러플 균주의 순수분리 및 대량생산 - 국내 트러플의 외생균근 특성 파악 - 트러플 균사 분리 및 <i>Tuber koreanum</i> 균사 배양 조건 연구 - 트러플 재배 적지판정을 위한 국내 자생지 환경 분석 - 트러플 재배를 위한 시험림 조성 - 트러플 확인용 분자마커 개발 - 접종도입묘 격리 해체 후 묘목 이전 관리 - 균주확보를 위한 균주분양 신청 : 1종 · <i>Tuber borochii</i> , ATCC - 균주분리를 위한 해외 및 국내 자생 자실체 확보 : 2종 · <i>Tuber asetivum</i> , <i>Tuber himalayense</i> - 확보된 자실체 및 균주를 이용한 다양한 수종에서의 접종묘 생산 가능성 검토 - 트러플 수집자원 및 관련 제품의 미네랄, 비타민류 등 유용 성분 분석 - β -Glucan 및 에르고스테롤 등 면역관련 기능성성분 분석 - 접종묘 대량생산 시설 구축 및 접종묘 생산 - 수입접종묘 격리재배 관리
	1단계 (4차년도)	목표	- 트러플 접종묘 대량생산 기술 개발 및 국내자생지 조사
		내용	- 수종·균주에 따른 접종묘 균근 형성 조사 및 생육 관리 - 국내 트러플 균근 및 자실체 현지 조사 - 트러플 실증재배 최적 조건 연구 - 국내 자생 트러플 균주의 순수분리 및 대량생산 - 트러플의 외생균근 특성 파악 - 트러플 서식지 토양환경 및 균근 분석 - 트러플 접종묘 야외 성장조건 실험 - 트러플 확인용 분자마커 개발 - 국내 트러플 발생지 환경 특성 조사 · 기후, 토양 성분, 미생물, 버섯류 조사 · 발생 자실체 추적 조사 - 접종 도입묘 관리: 도입(2020년) 이후 포트재배 관리 중, 균근 잔존 여부 확인 후 노지 재배 추진 - 확보된 자실체 및 균주를 이용한 다양한 수종에서의 접종묘 생산 가능성 검토 - 해외 균주 확보: 네덜란드의 CBS, <i>Tuber</i> 균주 3종 분양 · 분양균주 성장 확인 후 ITS 분석으로 균주 동정 · 2022년 수집한 국내 자생 자실체의 동정 결과, 전년도와 동일한 <i>Tuber himalayense</i> 로 판명됨. · 공동연구기관에 해외 균주 분양 : 2종 - 수집자원 및 관련제품의 유용성분과 기능성 성분 분석 - 트러플 균사 생육 조건 확립 및 대량배양 - 수집자원 균사체 및 균사배양물 기능성성분 분석 - 수집자원 균사체 및 균사배양물 향기성분 분석 - 접종묘 대량생산 시설 구축 및 접종묘 생산 - 수입접종묘 현장실증 적응성 조사

연구개발 목표 및 내용	1단계 (5차년도)	목표	- 트러플 접종묘 대량생산 기술 개발 및 국내자생지 조사
		내용	<ul style="list-style-type: none"> - 트러플 접종묘 생산기술 연구 <ul style="list-style-type: none"> · 수종별, 군주별 총 208본 접종묘 생산 → 개암나무 균근형성 우수 · 균사체 이용 접종법 개발 : 알긴산나트륨법 균근형성을 낮음. - 트러플 접종묘 현장실증 연구 <ul style="list-style-type: none"> · 총 330분을 2개 지역으로 구분하여 식재 · 재배환경 및 관리법에 따라 균근형성 유지 결과 다름. - 국내 트러플 자생지 조사 : 3개소(제주도, 문경, 경주) <ul style="list-style-type: none"> · 자실체 및 균근 확보, 생육환경 조사 등 - 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 <ul style="list-style-type: none"> · 기간/장소 : 23. 6. 3. ~ 10. / 호주(퍼스 시) · 호주지역 트러플 재배농장, 가공공장, 연구기관 견학 등 - 국내 자생 트러플 유전적 다양성 분석 <ul style="list-style-type: none"> · 대상 : <i>Tuber himalayense</i> · 수집지역에 따른 유전적 차이 존재, 유전적 다양성 : 0.3 - 국내 자생 트러플 유전적 다양성 분석 및 마커 <ul style="list-style-type: none"> · 대상 : <i>Tuber koreanum</i> · 재현성이 높고 마커가 뚜렷한 9개의 SSR마커 선정 · 수집지역에 따른 유전적 차이 존재, 유전적 다양성 : 0.7 - 국내 트러플 자생지(충주) 기상환경 조사 - 보유 군주 기내 배양 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> · 온도 20℃, 산도 pH 7이상, 영양원 무기질(칼륨, 마그네슘 등) 우수 - 소나무 이용 트러플 접종묘 생산 기술 조사 - 해외 트러플 접종묘 생산 기술 연구 현황 조사 <ul style="list-style-type: none"> · The Pallier Method, The Tanguy Method, The three-step method, The Angellozzi method, The jaad method - 해외 트러플 접종묘 생산 및 판매업체 현황 조사 : 13개 업체 존재. - 트러플 균사체 및 배양액 성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> · 일반성분, 미네랄, 유리당, 유기산 분석

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 고유 군주확보 및 자생수종을 이용한 접종묘 생산기술 개발 ○ 국내 트러플 자생지 확보 및 자생지 특성(토질, 기상 조건 등) 확보 ○ 국내 자생지의 자실체 발생 시기 특정 및 생활사 제작 ○ 국내 자생 트러플 확보 및 재분류 동정 ○ 국내 트러플 인공재배를 위한 기초 기술 확보 ○ 해외 트러플 접종묘 및 자실체 생산 방법 및 재접종법 분석 ○ 트러플 품종별 균사체 배양 조건 확립 및 대량배양 기초기술 확보 ○ 트러플 접종묘 현장 실증재배지 확보 및 인공재배 기초 기술 확보 ○ 트러플 품종별 유용성분 데이터 확보(자실체, 균사체, 가공상품)
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> - 본 연구에서 확보된 국내 트러플 자생지 이외의 자생지 및 균주 추가 확보 - 국내·해외 유전자원, 자실체 보존 관리를 통한 생명자원 활용 - 트러플 접종묘 생산 기술 현장 적용을 통한 기술이전을 통한 사업화 추진 - 대한민국 고유 트러플 재배기술 확보를 통한 트러플 생산국가로서의 국가이미지 제고 - 재배환경(토양 특성 및 환경 조건) 확인으로 농장 조성 컨설팅과 재배 교육 활용 - 트러플 품종별 성분데이터 활용 건강기능식품 등 시제품 개발 - 국내 트러플을 이용한 가공상품 개발을 통한 수입품 대체 - 새로운 소득원 발굴을 통한 소득 증대 및 버섯산업 활성화를 통한 지속 가능한 미래 먹거리 산업기술 발전
---------------------------	---

연구개발성과의
비공개여부 및 사유

해당사항 없음.

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
10		3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
국문핵심어	서양송로		인공재배		접종묘 생산		현장 실증		균근성 버섯			
영문핵심어	Truffle		Artificial cultivation		Inoculated seedling production		Field experiment		Mycorrhizal mushroom			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

가. 연구개발의 필요성

1). 연구개발의 개요

트러플은 세계 3대 진미 중 하나로 고가에 유통되는 버섯으로 크게 화이트 트러플과 블랙 트러플로 구분되어 유통되고 있으며 화이트 트러플이 향미가 더 우수하여 화이트 트러플은 5백만원/kg, 블랙 트러플은 1~2백만원/kg에 유통되고 있음(그림 1.).



그림 1. 트러플 자실체 형태 특성

주요 발생지역은 유럽에서는 이탈리아, 프랑스, 영국, 스페인, 스웨덴, 핀란드이며, 아시아에서는 중국, 일본, 아프리카에서는 모로코, 남아프리카공화국, 기타지역으로는 뉴질랜드, 호주, 멕시코, 칠레 등 세계 각지에서 발생되고 있음(그림 2.).



그림 2. 세계 트러플 발생지역

대표적인 외생균근(Ectomycorrhizae) 버섯의 하나인 트러플(Truffle)은 부가가치가 높은 버섯으로 한국과 일본에서의 송이버섯(*Tricholoma matsutake*)에 대한 연구열정 만큼이나 유럽에서 활발하게 연구되고 있으며, 특히 1940~50년대부터 주산지인 프랑스, 이탈리아, 스페인에서 무분별한 채취 및 자연환경변화에 따라 트러플의 생산이 급감하여 초과수요에 따른 가격 급등현상이 일어나면서 인공재배에 대한 연구와 상업적인 재배가 더욱 활성화되기 시작됨.

1885년 외생균근(Ectomycorrhizae)이 처음으로 발견되면서 트러플 인공재배에 대한 연구가 시작되었다고 할 수 있지만, 본격적인 인공재배는 접종묘(inoculated seedling)를 조립한 프랑스와 이탈리아의 트러플 농장(truffle orchard)에서 수확이 이루어지기 시작한 1970년대 후반이라고 할 수 있음.

이러한 성공에도 불구하고 수확량이 아직은 매우 제한적이어서 현재까지도 전 세계에 공급되고 있는 트러플의 대부분은 재배보다는 자연산에 의존하고 있으며, 상업적으로 널리 재배하는 종은 black truffle(*Tuber melanosporum*)이 대부분을 차지함. 유럽에서 트러플 자연생산은 기후변화와 인간의 무분별한 채취로 인해 50년 이내에 끝날 것이라는 전망이 나오고 있으며, 이와 관련하여 Paul Thomas(Mycorrhizal Systems Ltd.)는 이를 해결하기 위해서 재배를 위한 연구와 수십만 헥타르 이상의 농장을 구축해야한다고 주장함.

현재까지 개발된 인공재배 기술은 크게 두 가지 방법이 있으며, ‘Talon’s Method’와 ‘Techniques for controlling the synthesis of truffle ectomycorrhizae on seedling root system’임. 『Talon’s Method』는 19세기 초 프랑스 농부인 Joseph Talon이 생산량을 늘리기 위해서 고안한 자연접종 방법으로, 트러플이 발생한 나무 아래 묘목을 심은 후 어느 정도 자라면 새로운 장소에 옮겨심는 방법으로, 묘목의 접종여부를 확인할 수 없었기 때문에 트러플 생산에 실패하는 경우가 많았지만 거의 200년 동안 유럽에서 트러플 생산에 기여함.

『Techniques for controlling the synthesis of truffle ectomycorrhizae on seedling root system』은 1970년대 초 생산량과 접종여부의 신뢰성을 개선하기 위한 연구노력을 통해 개발된 방법으로 통제된 조건 하에서 묘목의 뿌리에 트러플 균을 감염시키고 안정화시킨 후 재배에 적합한 지역에 식재하는 방법임. 1978년 프랑스에서는 위의 방법으로 세계 최초로 트러플이 수확되었으며, 최근까지도 프랑스에서만 매년 30~45만 그루의 접종묘가 생산되고 있음. 프랑스 외에도 이탈리아, 스페인, 스웨덴, 호주, 미국, 뉴질랜드 등 각 국의 임학자와 미생물학자들의 연구가 활발히 이루어져 독립적인 묘목 감염기술, 농장 조성기술, 재배기술 등을 확립하고 실제로 묘목접종 및 재배가 이루어지고 있으나 이들의 연구는 모두 독립적으로 이루어져 일반적인 배양 및 재배방법은 노출되어 있으나, 묘목 접종기술을 비롯한 구체적인 농장부지 조성 및 접종묘목 생육기술은 비공개로 유지되고 있음(그림 3).



묘목 재배 → 접종묘 생산 → 접종묘 이식 → 트러플 농장

그림 3. 트러플 재배 모식도

현재 세계시장에서 유통되고 있는 14종의 truffles 중 요리품질과 시장가치로 평가한 결과, Perigord black truffle, Italian white truffle, Winter truffle, Summer truffle의 4종(그림 4.)이 우수한 것으로 알려져 있으며, 균주확보 및 연구를 병행하면서 국내 자생의 새로운 균주 확보 및 접종묘 개발 연구가 지속적으로 필요한 실정임(표 1.).

표 1. 세계적으로 유통되고 있는 트러플종에 따른 상업적인 평가

영 명	학 명	식용가치	시장성
Perigord black truffle	<i>Tuber melanosporum</i>	*****	****
Italian white truffle	<i>T. magnatum</i>	*****	*****
Winter of musky truffle	<i>T. brumale</i>	****	***
Summer truffle	<i>T. aestivum</i>	****	***
Burgundy truffle	<i>T. uncinatum</i>	***	**
Red truffle	<i>T. rufum</i>	**	**
Bagnoli truffle	<i>T. bituminatum</i>	**	**
Hollow truffle	<i>T. excavatum</i>	**	**
Truffle mesenterique	<i>T. mesentericum</i>	**	**
Indian truffle	<i>T. indicum</i>	*	*
Chinese truffle	<i>T. sinense</i>	*	*
Himalayan truffle	<i>T. himalayense</i>	*	*

- ▶ ***** : 시장성, 식용가치 가장 우수, * : 시장성, 식용가치 가장 낮음
- ▶ 출처 : Evaluation of The Potential of Growing of *Tuber melanosporum* as Corp on Mainland Australia for Export and Domestic Consumption (P.P. Stahle & D. Ward)



그림 4. 트러플 종별 사진(구글 사진 인용)

트러플은 부가가치가 매우 높은 버섯으로 2017년 이탈리아 경매에서 850g의 화이트 트러플이 약 87,500\$에 낙찰되기도 하였으며(그림 5., 좌), 2004년에는 852g에 52,000\$에 낙찰됨(그림 5., 우).



그림 5. 경매에 낙찰된 트러플

현재까지 인공재배 기술이 확립된 종은 *T. melanosporum* 이 유일하며, *T. borchii*(Zambonelli, 2000)와 *T. aestivum*(Chevalier & Frochot, 2000)은 상당한 진전이 있는 것으로 파악되며, *T. magnatum*은 많은 문제로 뚜렷한 성과는 이루지 못하고 있음. 일본 미야기현 임업시험장과 세레스농학연구소에서 인공재배 연구를 하고 있는 송로(松露)는 트러플종이 아니고 소나무에서 공생하는 *Rhizopogon rubescens*로 우리나라에서 알버섯으로 불리는 버섯임. 중국에서는 ‘Chinese Truffle’이라고 불리는 야생 트러플을 채취하여 유럽과 일본에 수출하고 있는데, 이는 *T. sinensis*종으로 중국 수확량의 95%가 雲南(50%), 四川(35%), 티벳(10%) 지방에서 채취되고 있음. Chinese Truffle은 외형상 French Black Truffle과 유사하여 일반인들은 구별이 어려우나, 색깔이 덜 검고 향이 약하여 하품으로 평가되어 저렴한 가격에 유통됨.

표 2. 트러플의 균근형성 및 인공재배가 가능한 것으로 알려진 수종

영 명	학 명	비 고
White oak	<i>Quercus pubescens</i>	참나무속
Black oak	<i>Quercus sessiflora</i>	
Rouvre oak	<i>Quercus padunculata</i>	
Holly oak	<i>Quercus ilex</i>	
Kermes oak	<i>Quercus coccifera</i>	
Hazel	<i>Corylus acellana</i>	개암나무속
Lime tree	<i>Tilia</i> sp.	피나무속
Yoke elm(hornbeams)	<i>Carpinus</i> sp.	서어나무속
Poplar	<i>Populus</i> sp.	포플러속
Chestnut	<i>Castanea</i> sp	밤나무속
Pine tree	<i>Pinus</i> sp.	소나무속
Cedars	<i>Cedrus</i> sp.	개잎갈나무속
Beeches	<i>Fagus</i> sp.	너도밤나무속
Walnuts	<i>Juglans</i> sp.	호두나무속
Olives	<i>Olea</i> sp.	올리브나무속
Willows	<i>Salix</i> sp.	버드나무속

현재 국내에서는 1종(*Tuber himalay-ensis*)만이 포항 인근 활엽수림에서 발견되었으며, 현재까지는 DNA 분석을 통한 동정만 이루어진 상태이며, 균주확보 및 배양·재배에 대한 연구는 거의 이루어지지 못하고 있음. 접종묘를 이용한 주요 인공재배 트러플인 Perigord black truffle의 재배가 가능한 수종은 16종으로 조사되었지만 상업적인 생산에 주로 이용되는 것은 주로 참나무류(5수종)와 헤이즐릿 등 6수종이 대부분 이용되고 있음.

우리나라의 경우, 트러플의 전량을 수입에 의존하고 있는 실정으로, 최근에 다양한 트러플 제품이 요리에 적용되는 등 향후 트러플에 대한 수요는 급증할 것으로 보이며, 이에 따라 트러플 및 관련 제품의 내수를 충당하기 위해 국내 트러플 재배·생산을 위한 기반이 필요한 시점임. 트러플은 외국에서 높은 수익성을 보장받는 품목으로 인식되어지고 있으며, 트러플의 경우 한번 재배·생산되기 시작하면 30~60년간 지속적으로 생산이 가능함. 다른 작물에 비해 재배관리에 필요한 유지 및 보수 작업이 적은 편으로 인건비가 크게 절감되어 보다 높은 수익을 얻을 수 있음(America Truffle Company, 2010.). 예를 들면 포도재배와 트러플 재배를 비교한 경우 트러플 수익성이 약 7~10배 높은 것으로 나타났으며, Chardonnay(포도)와 Summer truffle(트러플)을 비교한 결과 트러플은 단위면적당 수익은 사업으로 분석됨(Paul Franson, 2010., 표 3.).

표 3. Chardonnay(포도) 및 Summer truffles(송로버섯)의 수익분석

재배상품	회수 기간(년)	총투자규모 (\$/acre)	단위면적당 수익(\$/acre)	단위면적당 총 누적 수익 흐름(\$/acre, 25년간)
Chardonnay	9- 10	\$ 23,000	\$ 3,600- 5,000	\$ 57,000
Summer truffles	6- 7	\$ 30,000	\$ 36,000	\$ 650,000

트러플은 비타민, 아미노산, 미네랄, 레티놀 등 항산화 기능이 뛰어난 성분을 다량 함유하고 있어 피부노화의 주범인 활성산소를 억제하고 주름 개선에 효과적인 것으로 알려졌으며, 또한 노폐물 배출 및 자생력을 키우는 효능이 뛰어나 화장품 업계에서 고급화 상품에 함유하고 있으며, 2018년에는 ‘주목받는 화장품 성분 BEST 10’에 선정됨(그림 6.).



그림 6. 국내 출시된 트러플 함유 화장품

최근 트러플이 고급식재료로 알려지기 시작하면서 예능, 음식 등 다양한 채널을 통해 방송매체에 등장하면서 대중들에게 널리 알려지게 되었고 점차 관심을 많이 가지게 됨(그림 7.).

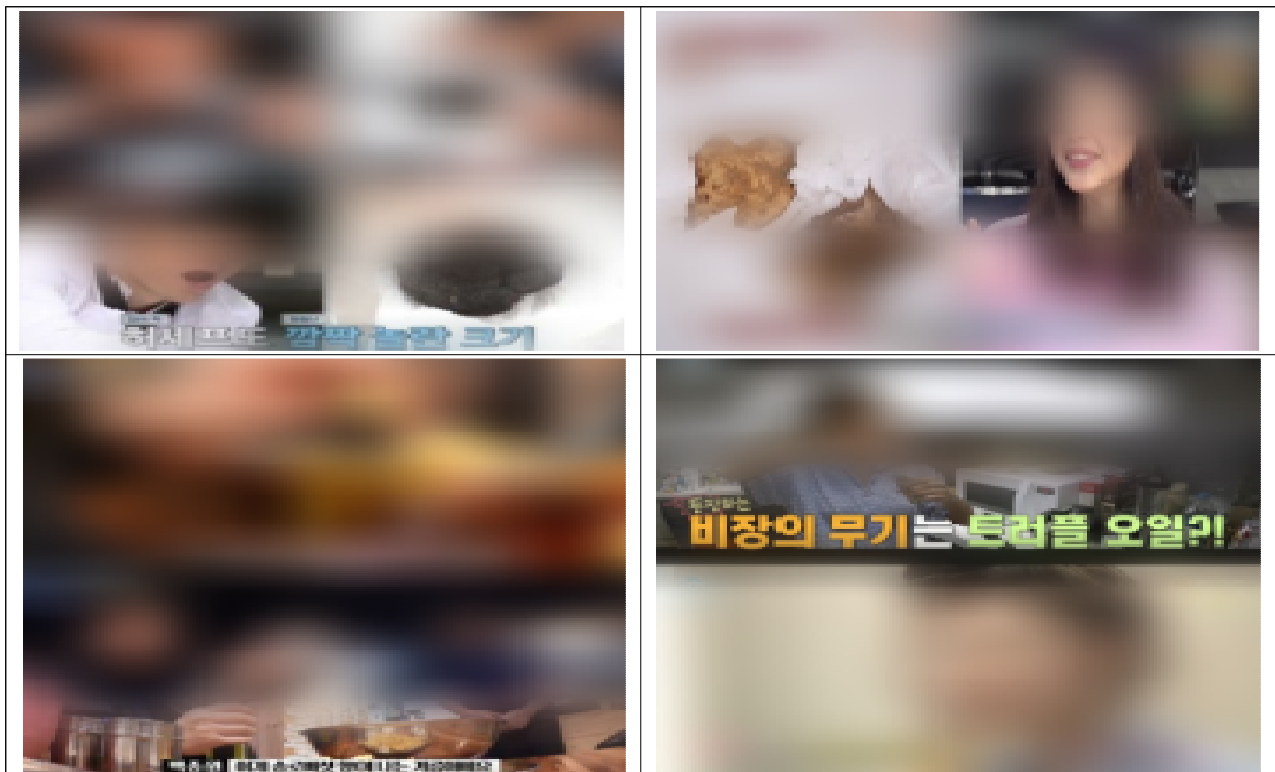


그림 7. 국내 방송매체를 통한 트러플 출연

수익성이 탁월하고 대체작목이 마땅히 없는 현실을 고려할 때 트러플 재배는 향후 우리 농업에 있어서 매우 중요한 소득작물이 될 수 있으며, 이탈리아, 프랑스 등지에서 트러플을 채취·수확하는 체험, 트러플 특선 요리 및 와인시음을 할 수 있는 체험 프로그램을 마련하여 관광객을 유치하는 사업이 활성화 되어 있기 때문에(Langhe-Roero and Monferrato Tours, 2019) 국내에서도 트러플 재배지 및 주변 지역 외식업체 등을 바탕으로 체험·관광 등의 서비스를 제공함으로써 관광의 활성화, 지역의 일자리 마련 등 6차산업의 발달 및 새로운 부가가치 창출을 기대할 수 있음.

따라서 본 연구과제를 수행함으로써 트러플을 자원으로 활용하여 트러플 재배지 조성(1차 산업) 및 제조·가공(2차 산업), 체험·관광 서비스 제공(3차 산업) 등 일련의 과정을 점진적으로 추진하였을 시 효과적으로 농촌융복합산업(6차산업)을 도모할 수 있을 것으로 기대됨.

2). 연구개발 대상의 국내·외 현황

가). 국내 기술 수준 및 시장 현황

(1) 기술현황

(가) 국내의 버섯 재배 연구는 주로 죽어있는 유기체에서만 살아가는 사물부생균(oligotrophic saprobes)에 관한 버섯의 인공재배에만 집중되고 있으나, 살아있는 생물의 세포원형질에서만 생육이 가능한 활물기생균에 대한 연구는 상대적으로 소홀하여 선진국에 비해 뒤쳐진 상황임.

(나) 최근 국립산림과학원에서 활물기생균인 송이버섯을 재배기술을 개발하였으며, 이는 전세계적으로 첫 송이버섯 재배의 성공으로 많은 연구진의 관심을 받고 있지만, 아직까지는 접종묘 이식 후 상당한 시간이 필요하며 해결되지 않은 부분이 많아 인공재배기술 개발까지는 더 많은 연구가 필요한 상황임.

(다) 본 연구팀의 장현유 교수는 트러플에 대한 2건의 연구과제를 수행하여 트러플 재배를 위한 원천 기술을 확보하고 있으며 트러플의 인공재배 가능성을 확인한 바 있음(그림 8.).

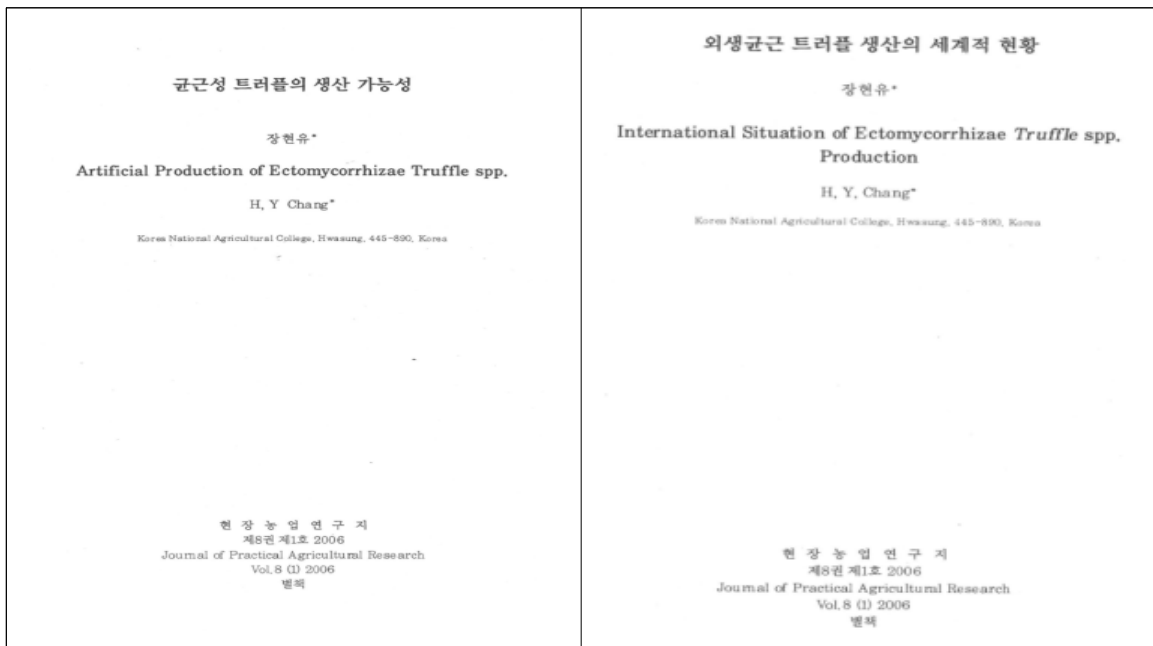


그림 8. 한국농수산대학교팀 트러플 기초 연구 추진

(라) 본 연구팀의 오득실 연구관은 트러플 균사체 증식을 위한 연구성으로 우수포스터 상을 받은 바 있으며, 중국에서 개최된 학회에 참가하여 중국 트러플 유통 및 연구현황을 조사함(그림 9., 10.).

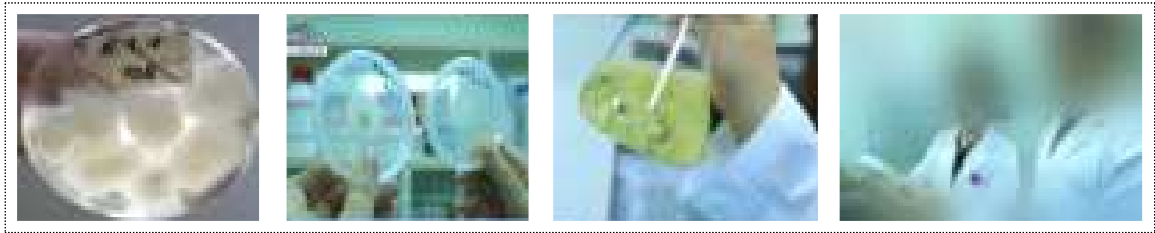


그림 9. 전남산림자원연구팀 트러플 균사체 배양 기초 연구 추진

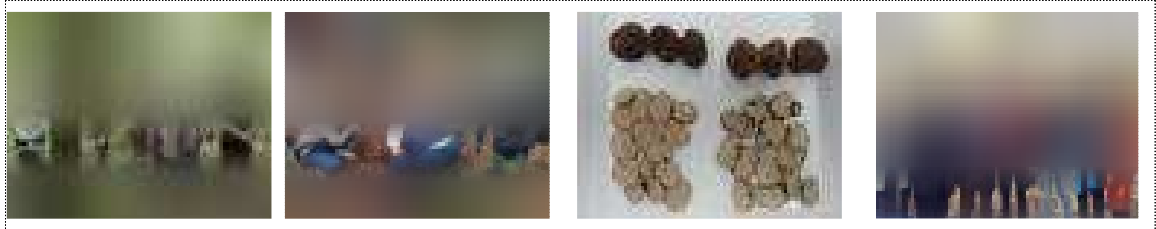


그림 10. 전남산림자원연구팀 중국 트러플 자생지 조사 및 재배기술 정보 습득

(2) 시장현황

- (가) 국내 트러플(생 트러플과 조제 트러플)의 수입량은 그림 9.과 같음. 생 트러플은 2007년부터 수입되기 시작하였고, 조제 트러플은 2012년부터 수입되기 시작하였으며, 생 트러플의 수입량은 2007년 177kg에서 2018년에는 927kg으로 5배 이상 증가하였다. 조제 트러플의 수입량은 2012년 89kg에서 2018년 1,170kg으로 13배 이상 증가하였으며, 수입액은 5.3억원에 해당 됨.
- (나) 두 품목 모두 2016년 이후 수입이 급증하였으며, 이는 방송매체를 통한 미디어 노출이 증가되었기 때문으로 보임. 또한 해외여행객의 선물용 등 정식 통관을 거치지 않는 개별 구매를 포함하면 반입량은 이보다 훨씬 많을 것으로 추정됨(그림 11.).

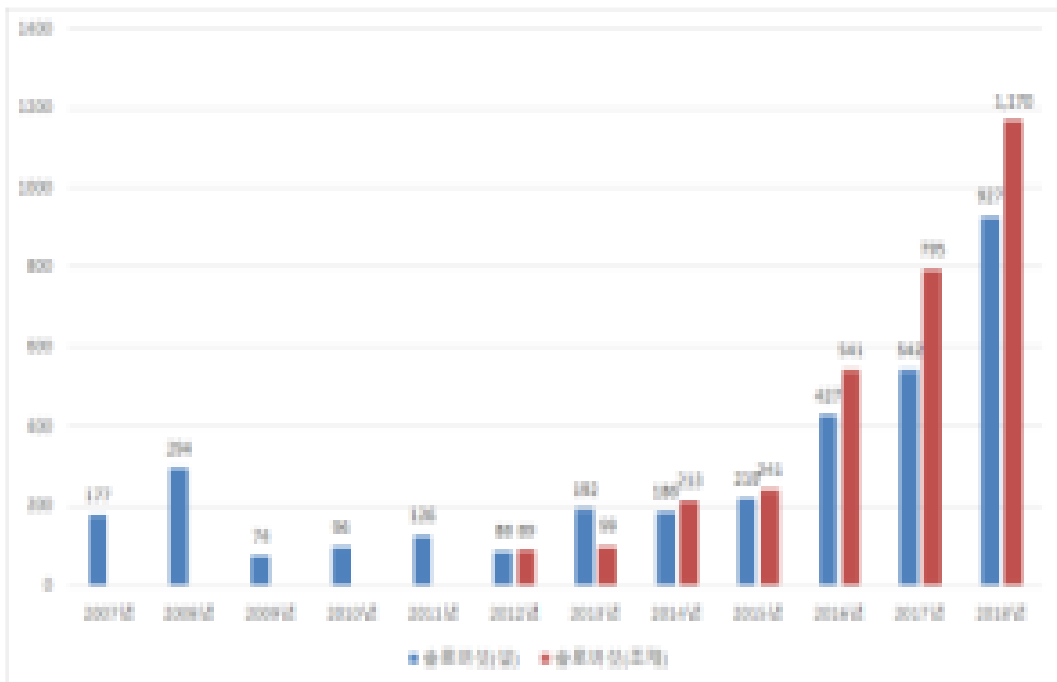


그림 11. 트러플 국내 수입 추이(단위 : 원/kg, 자료: 한국무역협회)

- (다) 생 트러플의 수입단가는 2012년까지 상승세를 유지하다 2013년부터 50~60만원/kg 수준을 유지하고 하였고, 조제 트러플의 수입단가는 수입 당시부터 꾸준한 하락세로, 2016년부터 약 12만원/kg을 유지하고 있음(그림 12.).



그림 12. 트러플 국내 수입 단가 추이(단위 : 원/kg, 자료: 한국무역협회)

(라) 국가별 수입현황은 생 트러플과 조제 트러플 모두 이탈리아가 대부분을 차지하고 있으며, 최근 들어 중국, 프랑스, 호수, 스페인 등 수입국가의 다변화가 이루어지고 있음(그림 13.).

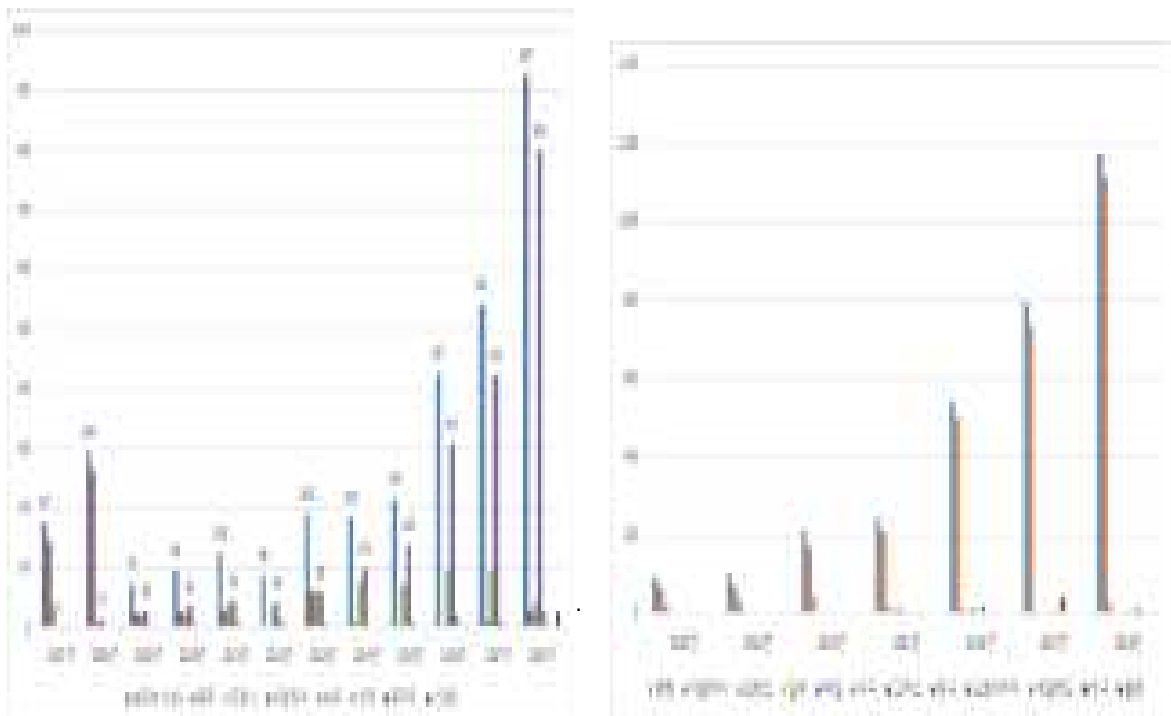


그림 13. 생트러플(좌), 조제트러플(우) 국가별 국내 수입 동향(단위 : kg, 자료: 한국무역협회)

(마) 현재 국내에서 유통되는 트러플 가공제품들은 모두 해외에서 수입되는 것으로 트러플 소금, 트러플 오일, 트러플 초콜릿, 페이스트 제품 등이 주를 이루고 있다. 최근에는 트러플 햄버거, 트러플 짜장면, 트러플 스낵과 같이 트러플이 첨가된 상품개발이 늘어나 점차 대중화 되고 있는 추세임(그림 14.).



그림 14. 국내 시판중인 트러플 이용 국내 생산 제품

(사) 이러한 상황에서 앞으로 트러플의 재배기술이 개발되면 더 많은 사람들이 쉽게 구입하여 먹을 수 있을 것으로 예상되며 트러플 국내시장은 크게 성장하고 해외 수입제품에 대한 경쟁력을 갖 추게 될 것임.

(아) 최근 국내 백화점 및 호텔에서 고급 식재료로 인기를 끌고 있는 트러플 제품을 판매하는 행사가 진행되고 있음(그림 15.).



그림 15. 국내 유명 백화점 및 유통시장에서 실시된 트러플 관련 행사

(자) 생 트러플과 조제 트러플의 기본 세율은 각각 27%와 20%이며, WTO 협정세율은 27%와 30%이다. 주 수입국인 이탈리아, 프랑스가 속한 EU와의 FTA에 따라 세율이 지속해서 인하 중에 있으며, 중국 역시 FTA에 따라 세율이 인하되고 있는 추세임(표 4.).

표 4. 트러플 협정 세율

(단위 : %)

품 목	협정국	2015	2016	2017	2018	2019
생트러플	한·EU FTA	17.1 14.7	14.7 12.2	12.2 9.8	9.8 7.3	7.3
	한·중국 FTA	25.6	24.3	22.9	21.6	20.2
조제트러플	한·EU FTA	12.7 10.9	10.9 9.0	9.0 7.2	7.2 5.4	5.4
	한·중국 FTA	18.6	17.3	16.0	14.6	13.3

자료 : 관세법령정보포털(unipass.customs.go.kr)

(3) 경쟁기관 현황

(가) 국내 트러플 연구 기관 없음. 단 트러플과 동일한 활물기생균인 송이버섯에 대한 연구는 국립산림과학원과 경북산림환경연구원, 강원도산림과학연구원에서 실시하고 있으나 아직까지 재배기술 개발은 이루지 못하고 있는 실정임.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

1). 기술현황

트러플 재배연구는 우선적으로 기주식물에 트러플 균을 접종하는 것이 중요하며, 접종원으로 사용하는 것은 포자, 균사체, 균사체 토양 등이 있음. 최근 일본은 참나무류와 소나무에 *Tuber japonicum*과 *T. himalayense*는 포자접종, *T. longispinosum*은 균사체 토양 접종을 통해 균근형성을 성공시킴(Kinoshita et al. 2018). 또한 *T. indicum*은 배양된 균사체를 접종하여 균근형성을 성공시킴(Yamada et al. 2017).

유럽지역에서는 *T. maculatum*-*Pinus strobus*, *T. borchii*-*P. strobus*와 포플러, *T. aestivum*, *T. brumale*, *T. melanosporum*-*Corylus avellana*, *T. brumale*-*P. nigra* 등 트러플과 기주식물을 이용하여 균근합성을 성공시킴(Murat C. 2015, 그림 16.).



그림 16. 유럽지역 트러플 연구시설 모습

프랑스와 이탈리아에서는 1960년부터 인공재배에 한발 다가가기 위한 좀 더 확실한 방법을 연구하여, 1970년대 초 재배에 성공하여 현재는 트러플균을 다양한 기주의 나무 즉, 참나무류, *Ostrya carpinifolia* (자작나무과의 새우나무류), 개암나무(*Corylus avellana*)를 이용하여 접종묘를 생산하였으며, 프랑스의 Agri Truffe 등 여러 기업에서 접종묘 생산하여 판매하고 있으며, 가격은 수종과 수령에 따라서

다양하지만 대략 한 주당 15~20유로(한화 20,000~ 27,000원)선에서 거래가 이루어지고 있음(그림 17., [https://www. agritruffe.eu.](https://www.agritruffe.eu)).

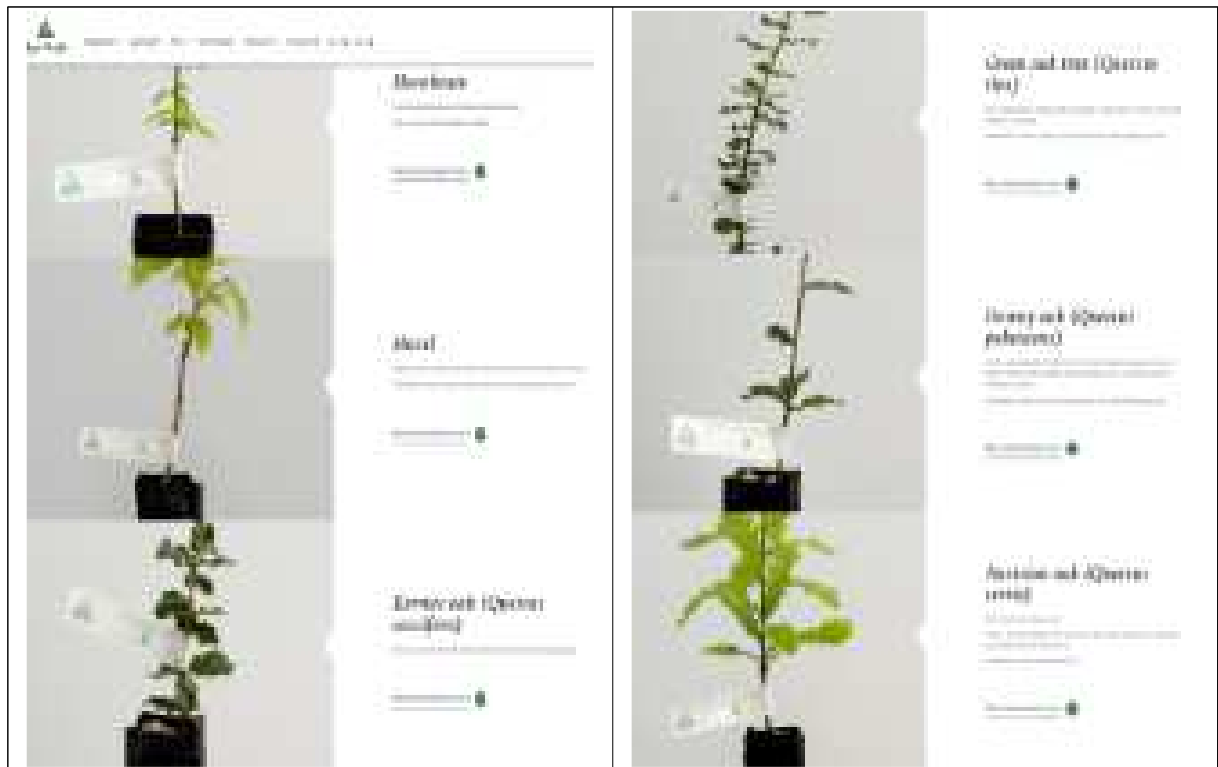


그림 17. Agri Truffe 홈페이지 내 접종묘 판매

트러플균의 접종과정이 성공적인 접종묘 생산을 좌우하는 매우 중요한 단계이며 접종 후 1~2년에 걸친 재배기간도 매우 중요함. 비록 접종묘 생산에 성공하였다고 하더라도 재배기간 동안 수분관리를 잘못하거나, 온도, 광도, 토양산도, 토양양분 등의 관리가 부실하거나, 특히 다른 균근균에 오염되면 재배는 실패하게 됨. 토양내 유기물이 너무 많아 부후성 곰팡이가 증식되는 것도 바람직하지 않으며, 그 이유는 이들 부후성균이 접종묘목 뿌리의 정단부를 에워싸고 가용분비물을 먼저 이용하게 됨으로써 트러플균의 기주와의 공생을 방해하기 때문임. 현재 유럽에서 생산되고 있는 접종묘를 살펴보면 뿌리의 일부만이 트러플균근을 형성하고 나머지 대부분은 다른 균근을 형성하고 있는 경우가 많음.

2018년 북미 지역의 블랙 트러플 과학기반 육성기업인 American Truffle Company(ATC)의 Robert Chang은 과학적인 방법을 이용하여 미국에서 최초로 블랙트러플(*Tuber melanosporum*)을 처음으로 수확함. ATC는 2011년 식재한 트러플농장을 특정 기후 및 토양 조건에 맞게 엄격하고 과학적으로 관리 하였으며, Paul Thomas 박사는 과학적 트러플 재배의 성공은 현재 4대륙에 걸쳐 진행되고 있으며 트러플 농장의 재배기술이 성숙한 만큼 북미에서 더 많은 수확을 기대하고 있음(그림 18., www.prnewswire.com).

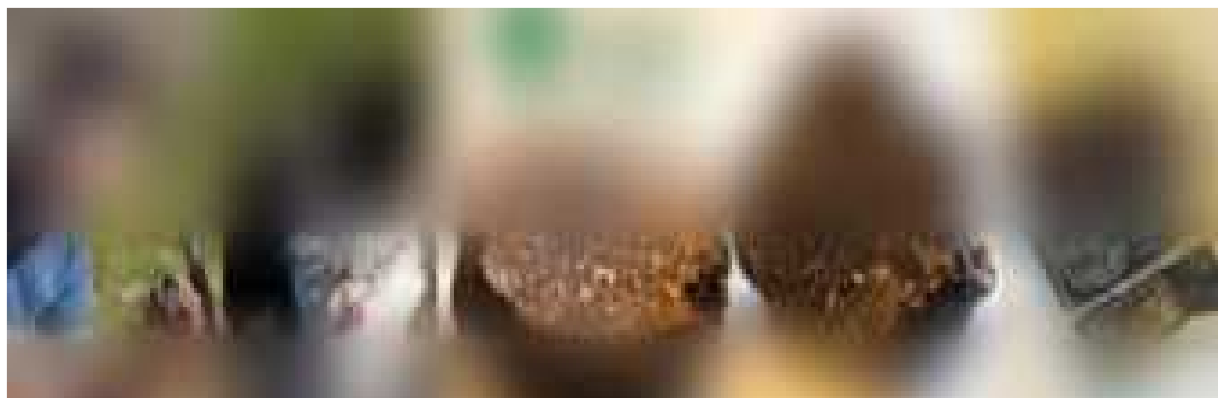


그림 18. American Truffle Company(ATC)에서 재배한 트러플

일본에서 현재까지 20종의 트러플이 발견되었으며, 최근 트러플 재배를 위해 포자배양액을 이용한 연구가 진행되어, 아직 감염율은 낮지만 일부 성공하였으며, 앞으로 기주와의 공생관계 및 재배조건을 밝혀 더 확실한 재배조건을 찾기위해 연구 중 임(그림 19., www.chunichi.co.jp).



그림 19. 일본에서 재배에 성공한 블랙트러플

영국에서는 새로운 유전자 변형기술을 개발중에 있으면 성공할 경우 기존 6년인 트러플 재배기간을 3년으로 단축시킬 수 있게 됨과 동시에 생산량 증대를 기대하고 있음(www.dailymail.co.uk).

2017년 태국에서 새로운 트러플 2종이 발견되었으며 이는 열대성 기후에서 발견된 최초의 트러플이었으며(그림 20., www.channelnewsasia.com), 2018년에는 미국 플로리다에서 피칸나무 숲에서 자라는 새로운 2종이 발견됨.(그림 21., www.sci-news.com).



그림 20. 태국에서 발견된 새로운 트러플(*Tuber thailandicum*)

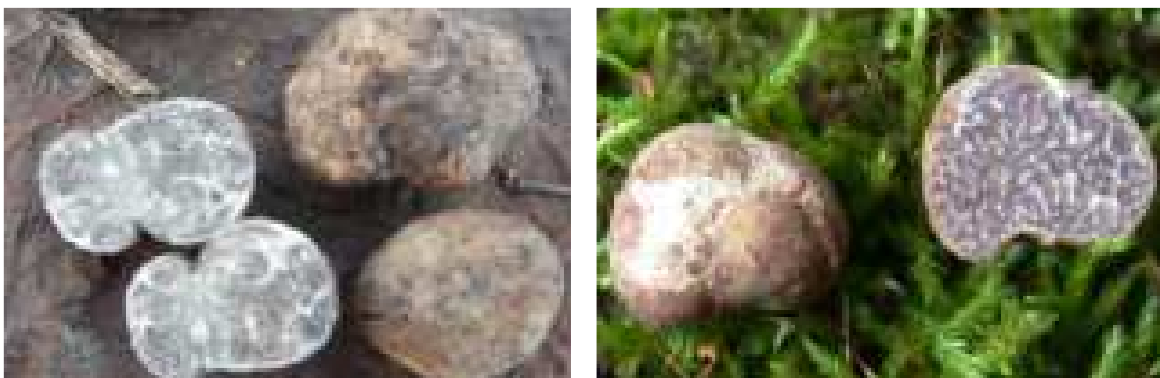


그림 21. 미국에서 발견된 새로운 트러플(*Tuber brennemanii*(좌), *Tuber floridaum*(우))

2). 시장현황

세계 트러플 생산동향(2016)을 상위 생산 10개국을 중심으로 살펴본 결과, 총 생산량의 67.21%를 담당하고 있는 것으로 나타남.

주요 생산지역은 이탈리아 중·북부, 스페인 서부, 프랑스 남·동부로 순으로 이들 지역은 전체 생산(상위 생산 10개국의 총 비중)의 1/2 규모 이상(56%)을 차지하고 있으며(Tridge, 2016), 최근 중국이 아시아 지역에서 새로운 트러플 생산지역으로 부각되고 있음(그림 22.).

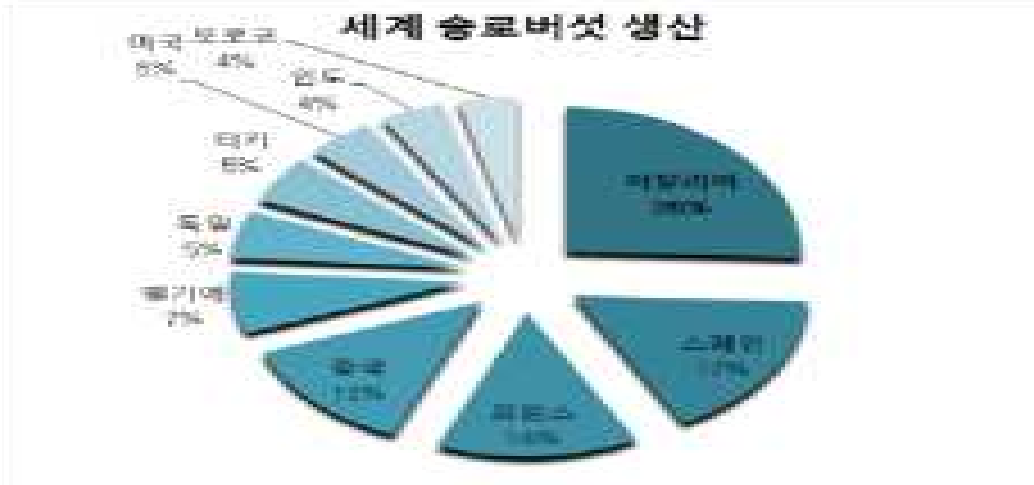


그림 22. 세계 송로버섯 생산규모(2016)

또한 Tridge(2016)에 따르면 상위 수출 10개국은 세계 수출의 69.5%로 많은 비중을 이루며 상위 수입 10개국은 세계 수입의 49.2%를 차지하고 있는 것으로 나타남.

상위 수출 3개국은 독일, 이탈리아, 벨기에로 이들 국가는 전체 수출(상위 수출 10개국의 총 비중)의 약 48%를, 상위 수입 3개국은 독일, 영국, 미국으로 전체 수입(상위 수입 10개국의 총 비중)의 약 47%로 대부분의 수출 및 수입 규모를 담당하고 있는 것으로 보이며, 독일의 경우, 생산은 5%로 적은 규모이나 수출 규모가 14.2%인 것으로 볼 때 트러플 원료 수입한 후 가공을 거쳐 수출을 하고 있는 것으로 파악됨(표 5.).

표 5 . 트러플의 세계 수입 및 수출 동향

순위 ¹	국가	수출			수입			국가	순위 ¹
		수출액 (USD)	수출 비중 (%)	수출량 (MT)	수입액 (USD)	수입 비중 (%)	수입량 (MT)		
1	독일	\$2.17B	14.2	379.05K	\$1.23B	8.1	187.63K	독일	1
2	이탈리아	\$1.56B	10.2	218.03K	\$1.21B	8	248.24K	영국	2
3	벨기에	\$1.37B	9	200.33K	\$1.10B	7.2	214.23K	미국	3
4	폴란드	\$1.21B	8	223.74K	\$1.00B	6.6	157.33K	프랑스	4
5	미국	\$951.55M	6.3	159.72K	\$795.90M	5.2	170.07K	네덜란드	5
6	네덜란드	\$881.76M	5.8	167.97K	\$573.13M	3.8	102.71K	캐나다	6
7	프랑스	\$873.65M	5.7	203.03K	\$406.95M	2.7	41.52K	홍콩	7
8	영국	\$588.86M	3.9	103.43K	\$406.67M	2.7	87.01K	벨기에	8
9	스위스	\$500.17M	3.3	54.56K	\$386.24M	2.5	83.37K	스페인	9
10	캐나다	\$469.04M	3.1	92.63K	\$359.22M	2.4	57.87K	오스트리아	10

* 수출 및 수입은 수출액을 기준으로 순위가 매겨짐. *www.tridge.com

세계 트러플 시장은 2019~2023년 동안 연평균성장률 19% 이상 성장할 것으로 예상되며, 375백만불 (US \$) 시장으로 성장할 것으로 기대됨(<https://www.technavio.com>). 트러플의 공급은 이탈리아 17.3%, 스페인 11.2%, 프랑스 9.4%, 중국 8.7%, 벨기에 4.6% 순으로 차지하고 있으며(<https://tridge.com>).

com), 2016~2017년 기간동안 프랑스는 *Tuber melanosporum* 30톤, *T. aestivum* var *uncinatum* and *mesentericum*을 25톤 생산했고, 98톤 정도를 수입하였음(<https://trufflefarmingwordpress.com>).

2018년에 프랑스는 black truffle 30톤 생산하였으나 스페인은 45톤을 생산하여 프랑스의 재배농가를 위협하고 있음(<https://www.freshplaza.com>).

2017년 호주의 트러플 생산량은 20톤, 칠레 0.5톤, 뉴질랜드 0.5톤 등이 생산되었으며 (<https://trufflemelbourne.com>), 이들 지역은 모두 새롭게 트러플 농장을 조성한 곳으로 매년 생산량이 증가할 것으로 보임. 중국은 트러플을 300톤 정도 생산하며, 프랑스로 15톤 정도 수출하고 있으며, (<https://www.scmp.com>), 2016년 프랑스는 중국으로부터 300,000euros(약 5.3톤)의 트러플을 수입함. 트러플 생산량은 전 세계적으로 조성한 트러플 농장으로 인해 매년 증가할 것으로 기대되며, 우리나라에서도 외국으로부터 많은 양의 냉동 및 신선 트러플과 가공한 트러플 제품들이 수입되고 있음.

3). 경쟁기관현황

접종묘목을 일정한 부지에 식목 및 재배하는 방법에는 The Pallier Method(J. Grente), The Tanguy Method(P. Sourzat), The Malaurie(P. Sourzat) 등 다양한 부지 규모와 면적당 식목수량 등에 따라 다양한 재배방법이 개발 되었으며, 최근 접종묘목을 생산하여 판매하는 회사들이 늘어나고 있는 추세임 (표 6.).

표 6. 해외 Truffle 인공재배기술 보유 및 접종묘목 공급업체 현황

국 가 명	회 사 명	홈페이지
스페인	Cultivos Forestales S.L	cultivosforestales.com
영 국	The present tree	thepresenttree.com
	The English truffle	www.englishtruffles.co.uk
미 국	New World Truffieres, Inc.	oregontruffles.com
	Garland Gourmet Mushrooms&Truffles	garlandtruffles.com
프랑스	Sainte- Alvere	truffe- perigord- noir.com
	Agri- truffe	www.agritruffe.eu
호 주	Tasmanian Truffle Enterprises- Truffleland	www.tastruffles.com.au
	Perigord Truffles of Tasmania	ww.tamarvalleytruffles.com.au

최근에는 대규모 투자가 이루어지면서 묘목 생산부터 접종, 식목, 농장관리, 생산, 가공 및 판매 까지 일관된 생산라인을 갖춘 기업화된 단지 규모의 농장을 위한 재배방법들이 연구되고 있음.

이러한 대형 농장들의 연구를 책임지고 있는 대표적인 연구자는 프랑스의 P. Sourzat, 이탈리아의 A. Zambonelli, 미국의 F. Garland, 뉴질랜드의 I. Hall, 독일의 Khanaqa 등이 대표적이거나 이탈리아와 프랑스는 국가적인 차원에서 트러플에 보호차원의 정책을 유지하기 때문에 재배기술 전반이 노출되지 않고 있으며, 상업적으로 접종묘목을 판매하거나 재배농장을 확장하고 있는 미국, 호주, 뉴질랜드의 기술이 일부 노출되고 있음. 이 중에서 산업비밀 차원에서 접종기술을 제외한 전반적인 재배방법을 공개하고 있는 사람은 독일의 Khanaqa 박사(The Institute of Plant Nutrition, University of Hanover)와 뉴질랜드의 Ian Hall 박사(New Zealand Institute for Crop & Food Research)임(표 7.).

표 7. 지식재산권 현황

국 가	년 도	내 용
EU	2017	Molecular method for the identifocation of mating type genes of Truffles species
미국	2017	Aqueous extract of Truffle and cosmetic composition thereof
미국	2016	Production of natural truffle flavours from truffle mycelium.
EU	2016	Medium for cultivating truffles, truffle mycelium, and truffle fruiting body
EU	1990	Keepable Truffles and method of producing same
EU	1990	Process for obtaining oil flavoured with natural black truffle and apparatus to carry it out
미국	1990	Process for the production of an aromatic product having the odor and taste of black truffles, product and aromatic body obtained
미국	1986	Method of producing an artificial truffle
미국	1985	Product for the fertilization of mycorhizal mushrooms and application to the fertilization of truffle- beds

4). 기타현황

전 세계적으로 Tuber속에는 679종(<http://www.ubdextfungorum.org>)이 기록되어 있고, 중국에서는 76종(<https://stateoftheworldsfungi.org>), 일본에서는 20여종(Kinoshita et al. 2016), 한국에서는 3종(한국균학회 2013)이 기록되어 있음.

특히 중국과 일본에서 발견된 대부분의 종은 유럽과 북미지역에서 발견되지 않는 자생종으로 알려져 있으며, 우리나라는 이 분야에 체계적인 연구가 이루어지지 않아 한 종만 알려져 있지만, 이번 연구과제를 통해 다양한 국내종이 발견될 수 있을 것으로 기대됨.

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

[1차년도]

- 주관기관(전남산림자원연구소) : 보유균주 배양 특성 조사

가. 연구개발 수행방법

1). 최적 고체배지 선발 연구

전남산림자원연구소에 보유하고 있는 균주 2종(*Tuber puberulum*, *T. brochii*)을 대상으로 하여 각 균주의 균사 생장에 적합한 고체배지를 조사하기 위해 표 8.과 같이 Potato Dextrose Agar(PDA), Malt Extract Agar(MEA), Sabouraud Dextrose Agar(SDA) 등 Difco사의 상용배지 3종류를 선택하였으며, 각각의 배지는 제조사의 권장 사용량에 따라 제조하였다. 또한 균근성 버섯류의 균 분리와 배양에 널리 사용되는 Modified Melin- Norkrans(MMN)배지인 MMNA배지와 자체 제조한 Roasted Soybean Dextrose Agar (RDA)를 제조하여 상용배지와 함께 시험에 사용하였다. 배지는 고압멸균(121°C, 20분)한 후, petri-dish(85x15mm)에 25ml씩 분주하여 상온에서 고형화한 후, 접종원을 cork borer를 이용하여 직경 8mm의 동일한 크기 떼어내어 각 처리구별로 7개씩 접종하였다. 접종 후 23°C 항온 배양기에서 암배양하였으며 7일 간격으로 균사의 성장량을 측정하였다. 성장량 측정은 평판배지 표면에 약한 빛을 투과시켜 균사의 위치에 점을 찍은 후 캘리퍼스로 길이를 측정하였으며, 균총의 형태적 특징을 사진으로 기록하고, 균사의 밀도는 육안으로 관찰하였다.

표 8. 고체배지별 조성표

PDA (Potato Dextrose Agar)	Composition	권장량 39g/l	권장량 500ml
	Potato Starch	4.0g	19.5g
	Dextrose	20.0g	
	Agar	15.0g	
MEA (Malt Extract Agar)	Composition	권장량 33.6g/l	권장량 500ml
	Maltose, Technical	12.75g	16.8g
	Dextrin	2.75g	
	Glycerol	2.35g	
	Peptone	0.78g	
Agar	15.0g		
SDA (Sabouraud Dextrose Agar)	Composition	권장량 65g/l	권장량 500ml
	Pancreatic Digest of Casein	5.0g	32.5g
	Peptic Digest of Animal Tissue	5.0g	
	Dextrose	40.g	
Agar	15.0g		
MMNA (Modified Melin- Norkrans Agar)	Composition	함량(g/l)	권장량 500ml
	Glucose	10.0g	5g
	Malt Extract	3.0g	1.5g
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.25 (1ml)	0.5ml
	KH ₂ PO ₄	0.5 (5ml)	2.5ml
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.15 (1ml)	0.5ml
	CaCl ₂	0.05 (1ml)	0.5ml
	FeCl ₃ (1% solution)	1.2 ml	0.6ml
	NaCl	0.025 (1ml)	0.5ml
	Thiamine·HCl	100μg (1ml)	0.5ml
Agar	15.0g	7.5g	
RDA (Roasted Soybean Dextrose Agar)	Composition	함량(g/l)	권장량 500ml
	Soybean	3.0g	1.5g
	Dextrose	20.0g	10.0g
	Agar	15.0g	7.5g

2). 배지별 최적 산도 선발 연구

전남산림자원연구소에 보유하고 있는 균주 2종(*Tuber puberulum*, *T. brochii*)을 대상으로 하여 각 균주의 균사 생장에 적합한 액체배지 및 산도를 조사하기 위해 표 9.와 같이 Potato Dextrose Broth(PDB), Malt Extract Broth(MEB), Sabouraud Dextrose Broth(SDB) 등 Difco사의 상용배지 3 종류를 선택하여 각각의 배지를 제조사의 권장 사용량에 따라 제조하였다. 또한 균근성 버섯류의 균 분리와 배양에 널리 사용되는 Modified Melin-Norkrans(MMN) 배지와 연구소에서 자체 제작한 Roasted Soybean Dextrose Agar(SDA)를 상용배지와 함께 시험에 사용하였다. 배지조성에 따라 시약을 증류수에 완전히 녹인 후, NaOH와 NaCl를 사용하여 pH 4, 5, 6, 7, 8 산도를 조절한 후 50ml colonial tube에 25ml씩 분주하고 121°C에서 20분간 고압멸균 시킨 뒤 배지온도가 20°C가 될 때까지 무균실에서 냉각시켰다. 접종원은 cork borer를 이용하여 직경 8mm의 동일한 크기 떼어내어 무균실내 클린벤치에서 접종하였다. 각 처리구별로 5반복으로 실시하였으며 23°C, 암조건에서 배양하면서 7일 간격으로 진탕하였다. 균사체 배양특성은 매주 육안으로 확인하고 최종적으로 접종 후 42일에 균사

체를 필터를 이용하여 필터링한 후 50℃에서 24시간 건조하여 균사체의 건조량을 조사할 계획이다.

표 9. 액체배지별 조성표

PDB (Potato Dextrose Broth)	Composition	함량(g/l)
	Potato Starch	4.0g
Dextrose	20.0g	
MEB (Malt Extract Broth)	Composition	함량(g/l)
	Maltose, Technical	12.75g
	Dextrin	2.75g
	Glycerol	2.35g
	Peptone	0.78g
SDB (Sabouraud Dextrose Broth)	Composition	함량(g/l)
	Pancreatic Digest of Casein	5.0g
	Peptic Digest of Animal Tissue	5.0g
	Dextrose	20.0g
MMNB (Modified Melin- Norkrans Broth)	Composition	함량(g/l)
	Glucose	10.0g
	Malt Extract	3.0g
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.25 (1ml)
	KH ₂ PO ₄	0.5 (5ml)
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.15 (1ml)
	CaCl ₂	0.05 (1ml)
	FeCl ₃ (1% solution)	1.2 ml
	NaCl	0.025 (1ml)
	Thiamine·HCl	100μg (1ml)
RDB (Roasted Soybean Dextrose Broth)	Composition	함량(g/l)
	Roasted Soybean	3.0g
	Dextrose	20.0g

3). 접종묘 생산을 위한 최적 배합토 조성 조사

트러플은 pH 7.5~8.0사이의 토양에서 생육이 가장 잘 되기 때문에 접종묘 생산시 토양의 산도를 맞춰주는 것이 매우 중요하다. 접종묘 생산을 위한 배합토를 제조하기 위하여 일반적으로 사용되는 상토에 질석, 펄라이트, 생석회 각각의 산도와 비율별로 첨가하여 제조한 배합토의 산도를 조사하였다(표 10.).

표 10. 배지별 조성표

구 분	상토(g)	질석(g)	펄라이트(g)	생석회(g)
대조구	10			
처리구 1	6	2	2	
처리구 2	6	2		2
처리구 3	6		2	2
처리구 4	6	2	1	1
처리구 5	6	1	2	1
처리구 6	10	2	2	1
처리구 7	10	2	2	0.5
처리구 8	10	2	2	0.3

4). 해외 재배기술 조사

가). 뉴질랜드 재배농가 방문 및 시장현황 조사

트러플 인공재배 해외 선진지인 뉴질랜드를 `20. 1. 1. ~ 1. 5.까지 5일간 방문하여 트러플 재배농가 2곳을 방문하여 재배기술 및 가공품, 유통현황을 조사하였다.

나). 중국 재배기술 연구 현황 조사 및 연구시설 방문

트러플 자연채취와 인공재배를 동시에 하고 있는 중국 운남성을 `19. 12. 4. ~ 8.까지 5일간 방문하여 트러플 인공재배 연구 시설을 견학하고 연구담당자들과 면담을 실시하였다.

5). 트러플 접종묘 균근 현미경 촬영

가) 시료 전처리 및 SEM 촬영

현미경 촬영을 위해 아래 방법으로 시료를 전처리 한 후 저진공 주사전자현미경(LV-SEM; Low Vacuum Scanning Electron Microscope, 모델명: JSM-IT300, JEOL Ltd., Japan)을 이용하여 관찰하였다.

1. 시료를 채취하여 고정액 [2% GA (Glutaraldehyde) + 2% PA (Paraformaldehyde)(in 0.05M cacodylate buffer pH 7.2)]을 넣어 실온에서 4시간 고정한다.
2. 고정액을 조심스럽게 피펫으로 제거한 다음, 0.05M cacodylate buffer로 30분 간격으로 3회 교환하여 washing한다.
3. 1% OsO₄(in 0.05M cacodylate buffer pH 7.2)로 fume hood(실온)에서 1시간 고정 후 0.05M cacodylate buffer pH 7.2로 30분 간격으로 3회 washing 한다.
4. 30%, 50%, 70%, 90%, 95% ethyl alcohol로 30분 간격으로 탈수시킨다.
5. 100% ethyl alcohol로 30분 간격으로 2회 탈수시킨다.
6. 탈수된 시료를 Isoamyl acetate로 2회 치환한다.
7. 탈수된 시료를 임계점 건조한다.
8. 건조된 시료를 Pt coating 후 10~15kv의 가속전압 조건하에서 SEM을 관찰한다.

나). 시료 전처리 및 광학현미경•TEM 촬영

현미경 촬영을 위해 아래 방법으로 시료를 전처리 한 후 건조하여 전계방사형 투과전자현미경 (FE-TEM; Field Emission Transmission Electron Microscope)을 이용하여 200KV 가속전압에서 관찰하였으며, 이때 분석 TEM 분석조건은 필라멘트 가속전압은 200KV이고 제조사는 JEOL Ltd., Japan이고 모델명은 JEM-2100F이며, EDS 분석은 Oxford Instruments plc, UK 사의 X-MaxN T, 80T를 이용하여 AZtecTEM 이라는 프로그램 상에서 분석하였다.

1. 시료를 채취하여 고정액 [2% GA (Glutaraldehyde) +2% PA (Paraformaldehyde) (in 0.05M cacodylate buffer pH 7.2)]을 넣어 실온에서 4시간 고정한다.
2. 고정액을 조심스럽게 피펫으로 제거한 다음, 0.05M cacodylate buffer로 30분 간격으로 3회 교환하여 washing한다.
3. 1% OsO₄(in 0.05M cacodylate buffer pH 7.2)로 fume hood(실온)에서 1시간 고정 후 0.05M cacodylate buffer pH 7.2로 30분 간격으로 3회 washing 한다.
4. 30%, 50%, 70%, 90%, 95% ethyl alcohol로 30분 간격으로 탈수시킨다.
5. 100% ethyl alcohol로 30분 간격으로 2회 탈수시킨다.
6. 100% ethyl alcohol과 LR White resin을 2:1, 1:1, 1:2로 혼합한 용액으로 6시간 간격으로 치환하여 수지 침투를 시킨다.
7. 100% LR White resin으로 2회 치환 후 gelatin capsules에 시료와 LR White resin을 넣고 밀봉한 후 60℃ 오븐에서 24시간 경화시킨다.
8. 경화된 시료를 ultramicrotome에 유리칼을 장착하여 1~3um 두께로 단면을 제작한 후 슬라이드 글라스에 올려 75℃ hot place 위에서 건조하여 시료를 슬라이드 글라스에 고정시킨다.
9. 고정된 시료를 0.5% toluidine blue O를 이용하여 염색한 후 광학현미경을 관찰한다.
10. 광학현미경으로 관찰한 부위에서 균근이 관찰된 부위를 선택하고 나머지 부분은 trimming하여 제거한 후 80~100um 두께로 다이아몬드 나이프를 이용하여 절편을 제작한다.
11. 제작된 절편을 nickel grid 위에 mounting 한 후 건조한 다음 4% uranyl acetate와 0.4% lead citrate를 이용하여 이중염색한다.

6). 트러플 균사체 대량 배양 최적 조건 연구

배지 산도에 따른 균사체 배양 특성 및 균사체량 증대 최적 조건을 연구하기 위하여 표 11.과 같은 조성으로 배지를 조성한 후 산도를 pH6, 7, 8로 조절하고, 25℃, 암배양 조건에서 무균한 공기를 공급하여 진탕배양을 실시하였으며, 배양 중 일주일 간격으로 산도별 배양 특성을 조사하였다.

표 4. 트러플 대량 액체배지 조성 및 산도

구분	처리구 1	처리구 2	처리구 3	비고
조성	대두박 450g, 탄산칼슘 60g, 황산마그네슘 60g, 설탕 3.5kg			350L 기준
산도	pH 6	pH 7	pH 8	

7). 트러플 접종묘 생산을 위한 양묘 시설 구축

트러플 접종묘를 생산하기 위하여 필요한 온도, 습도, 광, 환기 등 최적 조건을 확보하기 위한 비가림 시설, 차광 시설, 보온 시설이 구비된 양묘 시설 구축을 위한 공사를 추진하였다.

나. 연구 결과

1). 균주별 최적 고체배지 선발 연구

*Tuber puberulum*에서는 PDA배지(X축:65.5cm, Y축:65.6cm), MMNA(X축:65.4cm, Y축:64.9cm), MEA(X축:62.4cm, Y축:62.2cm), RDA(X축:57.7cm, Y축:59.2cm), SDA(X축:44.1cm, Y축:44.6cm)

순서로 성장속도가 빨랐다. 대부분의 배지에서는 균사가 접종원을 중심으로 원형으로 뻗어 나갔지만 MMNA 배지에서만 초기에는 원형을 이루다 3주 이후부터 불규칙적인 형태로 균사가 생육하는 특징을 보였다(표 12., 그림 23., 24.).

표 12. *Tuber puberulum*의 고체배지별 6주간 균사 성장량

배지종류	1주		2주		3주		4주		5주		6주	
	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축
PDA	9.3	9.1	16.8	17.5	28.7	28.3	40.3	39.3	52.9	52.5	65.5	65.6
SDA	9.4	9.0	13.1	12.0	18.0	18.2	28.8	28.9	36.5	36.7	44.1	44.6
MEA	9.9	9.8	16.7	16.6	26.3	27.7	36.9	36.5	49.7	49.3	62.4	62.2
RDA	9.0	8.9	16.3	16.3	29.3	27.9	41.4	40.5	49.6	49.9	57.7	59.2
MMNA		9.8		17.5		27.2		38.4	51.4	51.7	65.4	64.9

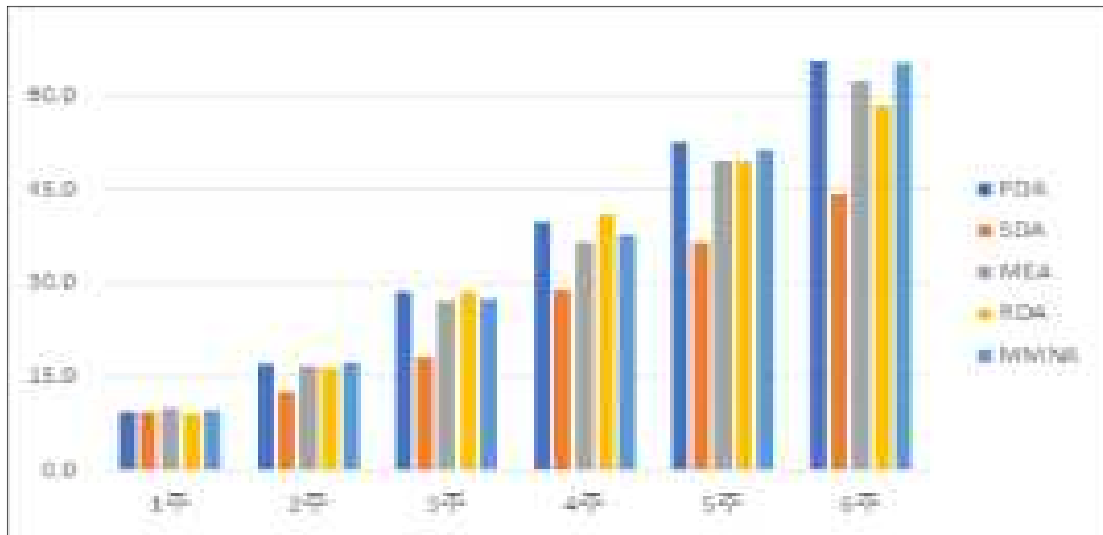
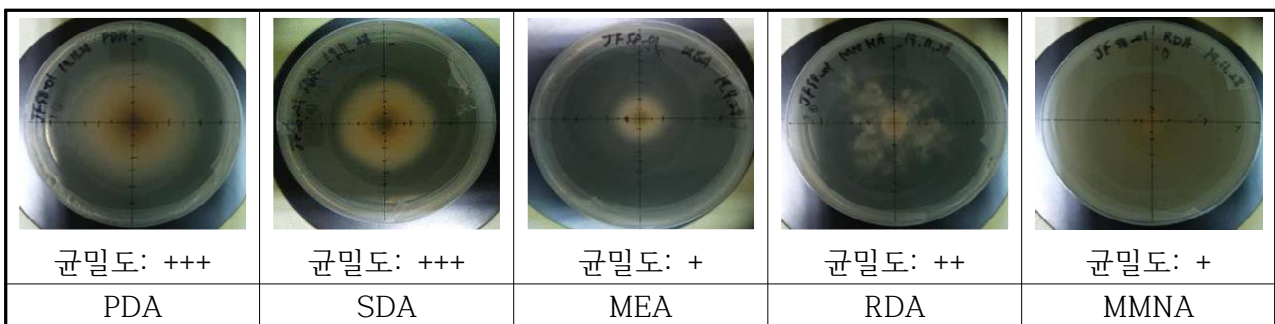


그림 23. *Tuber puberulum*의 고체배지별 6주간 성장량(cm)



* +++ : 균사밀도 높음, ++ : 균사밀도 보통, + : 균사밀도 낮음

그림 24. *Tuber puberulum*의 고체배지별 형태적 특성(접종 후 43일)

*Tuber borchii*에서는 PDA배지(X축:78.1cm, Y축:78.4cm), RDA(X축:70.4cm, Y축:71.8cm), SDA(X축:57.8cm, Y축:63.7cm), MMNA(X축:47.3cm, Y축:46.8cm), MEA(X축:36.7cm, Y축:37.5cm) 순서로 성장속도가 빨랐다. 또한 배양특성에 있어서 Dextrose가 첨가된 배지조성(PDA, SDA, RDA)에서 균사의 성장량이 상대적으로 높았으며, RDA 배지에서 배양속도가 빨랐으나, 균밀도가 매우 낮았다(표 13., 그림 25., 26.).

표 13. *Tuber borchii*의 고체배지별 6주간 균사 성장량

배지종류	1회		2회		3회		4회		5회		6회	
	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축	X축	Y축
PDA	14.0	14.3	29.4	28.5	42.1	41.1	56.6	55.6	67.3	67.0	78.1	78.4
SDA	12.0	12.1	20.5	20.2	31.1	31.1	43.0	43.5	50.4	53.6	57.8	63.7
MEA	10.1	10.3	12.9	12.7	20.0	20.4	27.0	25.6	31.8	31.5	36.7	37.5
RDA	7.9	8.0	48.5	48.7	59.8	59.6	64.5	62.8	67.5	67.3	70.4	71.8
MMNA	14.3	14.1	18.7	19.7	24.4	25.5	29.4	31.0	38.4	38.9	47.3	46.8

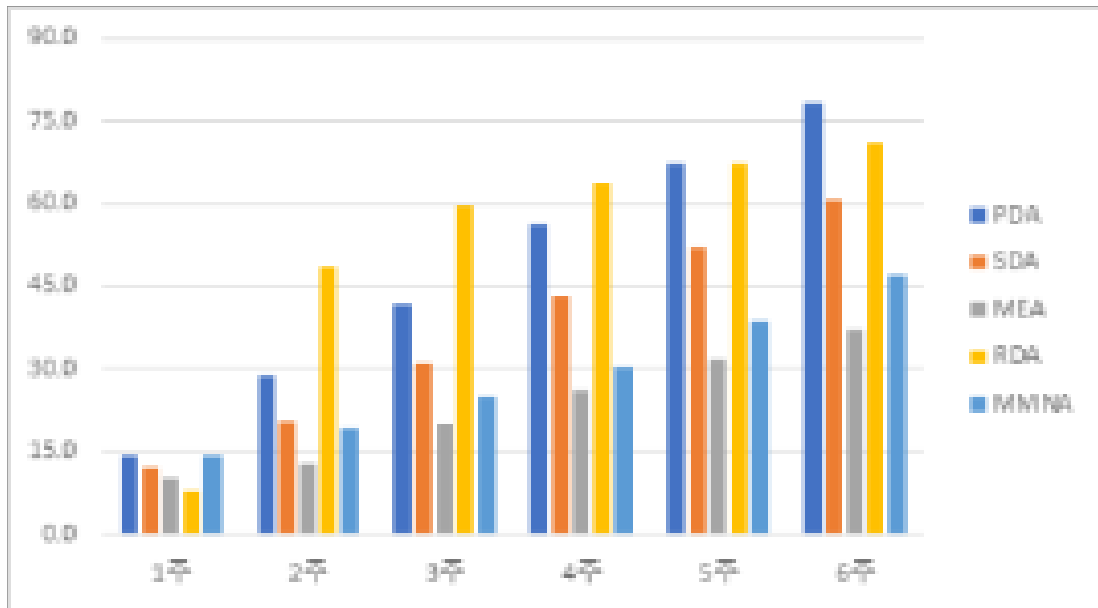
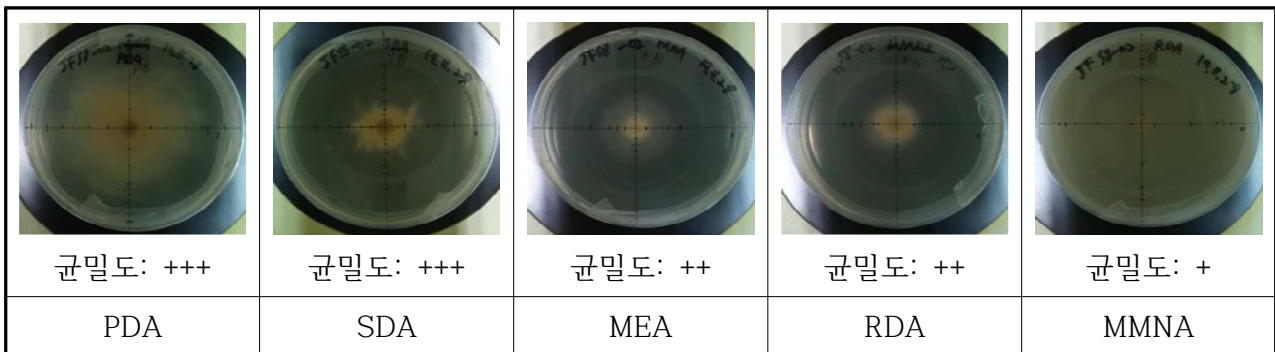


그림 25. *Tuber borchii*의 고체배지별 평균 균사 성장량(cm)



* +++ : 균사밀도 높음, ++ : 균사밀도 보통, + : 균사밀도 낮음

그림 26. *Tuber borchii*의 고체배지별 형태적 특성(접종 후 43일)

2). 균주별 액체배지에 따른 최적 산도 선발 연구

*Tuber puberulum*에서는 PDB 배지에서 pH 5에서만 약간의 균사체가 배양되었으며, 나머지 산도 조건에서는 균사체가 배양되지 않았다. SDB 배지에서는 모든 산도 조건에서 균사체가 배양되지 않았다. MEB와 MMNB 배지에서는 pH 5~8까지 균사체가 배양되었으며, pH 8에 가까울수록 균사체량이 많은 것으로 관찰되었다. RDB 배지에서는 pH 5~8까지 균사가 자랐으며 다른 배지에 비해 균사체량이 많았다 (그림 27.).

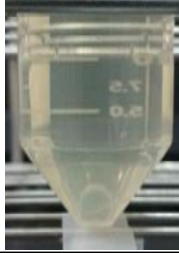


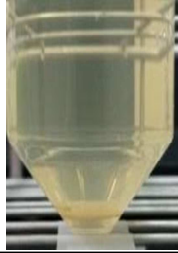








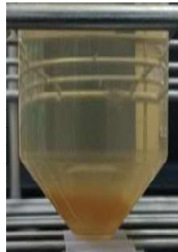


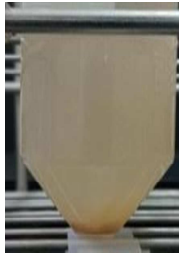
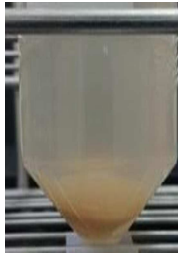
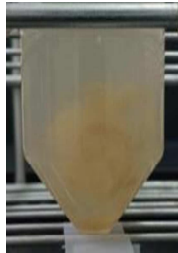
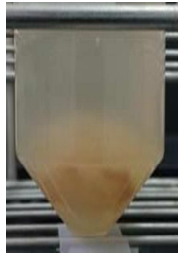
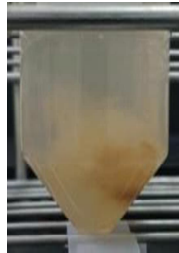


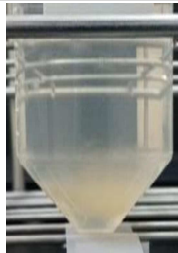


배지명	PDB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배지명	SDB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배지명	MEB				
산도	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배지명	RDB				
산도	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배지명	MMNB				
산도	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					

그림 27. 배지 및 산도에 따른 *Tuber puberulum*의 성장 정도(접종 후 42일)

*Tuber puberulum*에서는 PDB 배지에서는 pH7~8 조건에서 약간의 균사체가 배양되었으며, 나머지 산도조건에서는 균사가 자라지 않았다. SDB 배지에서는 모든 산도 조건에서 균사체가 배양되지 않았다. MEB, MMNB배지에서는 모든 산도조건에서 균사체가 배양되었으며, pH6 이상에서 균사체양이 많았다. RDB 배지에서는 모든 산도조건에서 균사체가 배양되었으며, 다른 배지에 비해 균사체양이 많았다(그림 28.).

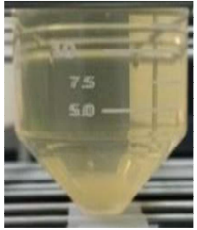

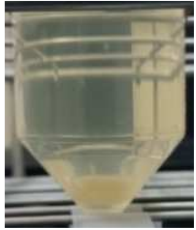
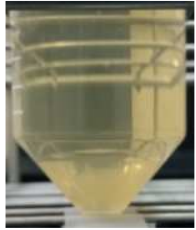
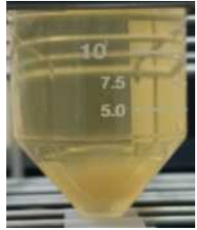
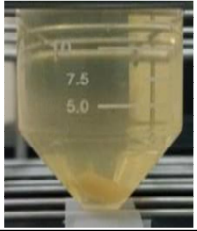
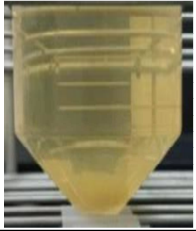



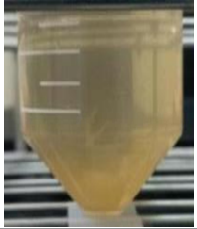
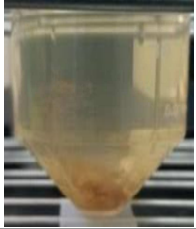
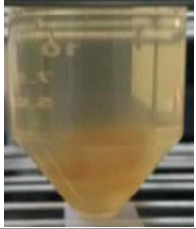
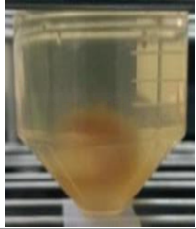
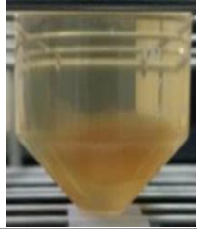
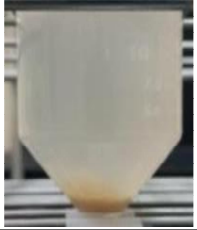
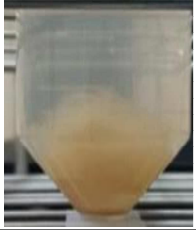
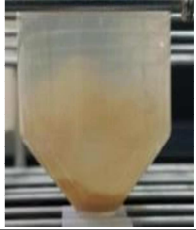
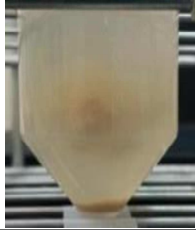

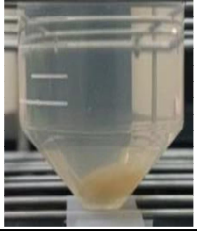
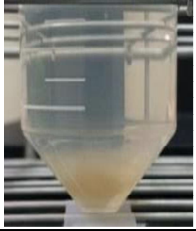
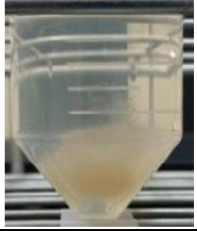
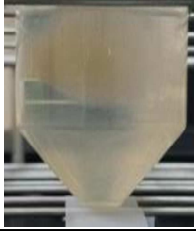
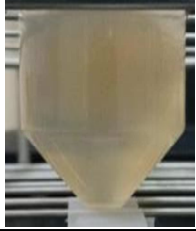
배 지 명	PDB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배 지 명	SDB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배 지 명	MEB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배 지 명	RDB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					
배 지 명	MMNB				
산도조건	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
균사체 배양사진					

그림 28. 배지 및 산도에 따른 *Tuber borchii*의 성장 정도(접종 후 42일)

3). 접종묘 생산을 위한 최적 배합토 조성 조사

트러플 자생 지역의 토양과 배합토 재료들의 산도를 측정한 결과는 표 14.와 같았으며, 특히 일반 시판용 상토의 산도는 pH 5.5~6.5로 약산성이었으며, 트러플 재배에 적합한 산도(pH7.5~8.0)으로 조정할 필요가 있었다. 이를 기준으로 배합비율을 달리하여 8개 시험군으로 배합토를 제작하여 산도를 측정한 결과, 배합비율에 따라 산도가 pH 7.77 ~ 5.98까지 다양하게 측정되었으며(표 15.), 그 결과 배합토의 산도 조절에 가장 효과적인 재료는 생석회였으며, 질석은 토양의 산도 조절제로 사용이 가능할 것으로 보이지만 상대적으로 가격이 비싸 통기성 및 장기적인 토양 산도 조절용, 펄라이트는 토양 산도에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 보이고, 통기성을 높이기 위한 용도로 판단된다.

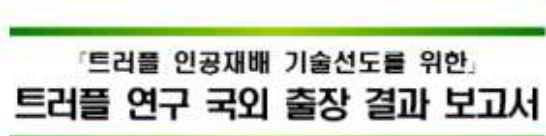
표 14. 배합토 원료별 산도

시료명	트리플 재배지 토양	상토	질석	펄라이트	증류수
산도(pH)	8.21	6.38	8.95	7.28	6.22

표 15. 배합토 조성에 따른 산도

처리구	상토(g)	질석(g)	펄라이트(g)	생석회(g)	산 도
증류수	-	-	-	-	6.23
대조구	10				5.28
처리구 1	6	2	2		5.98
처리구 2	6	2		2	7.77
처리구 3	6		2	2	7.48
처리구 4	6	2	1	1	7.77
처리구 5	6	1	2	1	7.60
처리구 6	10	2	2	1	7.11
처리구 7	10	2	2	0.5	7.07
처리구 8	10	2	2	0.3	6.83

4). 뉴질랜드 재배농가 방문 및 시장현황 조사 국외 연수 결과



목 차

- ① 추진배경 1
- ② 출장개요 1
- ③ 주요 연수 내용 2



「트러플 인공재배 기술선도를 위한」 트러플 연구 국외 출장 결과 보고서

국내 트러플 인공재배 원천기술개발 및 고품질 대량생산 기술개발 R&D 연구수행을 위한 국외 출장 결과를 보고 드림.

I 추진배경

- 국내 고유 트러플 균주를 활용하여 자생수종 인공접종 기술 개발을 위한 선진기술 및 정보 습득 필요
- 트러플 국내시장 및 관심은 점차적으로 커지는 반면 대부분 수입에 의존하고 있어 트러플 재배기술 연구에 대한 수요 증대

〈 연구개발(R&D) 과제 개요 〉

- 기간/연구비: '19.9.20~'24.2.19(53개월)/1,000백만원(국비 100%, 농림축산식품부)
- 과제명: 트러플(서양송로)인공재배를 위한 고품질 생산 및 현장실증
- 내 용: 트러플 고품질 생산 및 대형종식 기술 개발 연구 등

II 출장개요

1. 연수계획

- 목 적 : 연구과제(R&D) 효율적 추진을 위한 정보 수집 및 선진기술 습득·교류 협력을 통한 글로벌 연구능력 배양
- 기 간 : 2020. 1. 1.(수) - 5.(일) / 4박 5일
- 연수국가 : 뉴질랜드
- 인 원 : 2명(연구소 1, 한국교원대학교 1)
- 연구소 참여자: 김현서 주무관
- 주요 방문지
- (재배농가) 2B Truffles Cottage B&B, Ohiva Black Diamonds

- 가격: 32\$ (환율 약 25,000원)

- ▶ 돼지고기를 이용한 트러플 요리로 트러플 오일이 기본적으로 첨가됨.
- ▶ 트러플소금페이스트오일이 제공되어 기호에 따라 첨가 가능.

○ 현장 사진



메뉴판 사진

트러플 음식

○ 출장자 의견

- ① 타 메뉴에 비해 트러플 메뉴는 가격대가 높게 형성되어 있음
- ② 뉴질랜드내에서도 고급레스토랑에서만 한정적으로 판매되고 있음.
- ③ 트러플의 대중화를 위해서는 다양한 종류의 음식이 개발되어야 할 것이며, 특히 시각적인 효과를 내기 위해서 트러플 오일 뿐만 아니라 트러플 페이스트, 트러플 가루 등을 음식에 첨가하는 것이 좋을 것으로 사료 됨.
- ④ 트러플은 높은 가격에 유통되고 있는 식재료로 음식의 주재료가 아닌 향을 내기 위한 첨가재료로만 사용되고 있으나, 추후 트러플 인공 재배를 통한 대량 생산이 가능해 진다면 주재료로 사용되게 되어 더 많은 음식이 개발 될 것으로 사료 됨.
- ⑤ 국내에서도 트러플을 이용한 다양한 제품(죽, 스낵, 햄버거 등)들이 개발되어 유통되고 있는 만큼, 국내기술을 이용하여 트러플 대량 재배가 성공한다면 새로운 소득작목이 될 것으로 사료 됨.

2. 연수명단 및 역할

기 관 명	스 록	직위/직급	성 명	역 할
국			1명	
산림과학연구소	김현서	주무관	김현서	결종묘 생산·재배기술 습득 및 시장 조사

3. 세부 국외 출장 일정

일 시	시 간	제 목 기 (명목지)	주요일정	비 고
1.1.(수)	16:45 08:05	인천국제공항 오슬란드공항	○ 인천 국제공항 출발 ○ 오슬란드 국제공항 도착	
1.2.(목)	전일	오슬란드	○ 뉴질랜드 트러플 시장 조사 - 트러플 음식과 방문 - 판매장, 대형마트 등 시장현황 조사	
1.3.(금)	전일	트루루아	○ 트러플 재배농가 방문 - 고품질 생산 및 재배 기술 습득	
1.4.(토)	전일	트루루아 오슬란드	○ 트러플 재배농가 방문 - 고품질 생산 및 재배 기술 습득	
1.5.(일)	10:00 17:40	오슬란드공항 인천국제공항	○ 오슬란드 국제공항 출발 ○ 인천 국제공항 도착	

III 주요 연수 내용

1. 방문지 별 주요 내용

가. 트러플 음식점 방문

- 주요 내용 : 트러플 음식 현황 조사 및 시식
 - > 트러플을 이용한 메뉴는 한 가지 밖에 없었음
 - 메뉴명: PANCOU of braised pork leg, truffle parmesan creme

나. 뉴질랜드내 식료품 판매장 및 대형마트 시장 조사

○ 주요 내용

- > 식료품 판매장 및 대형마트 트러플 및 버섯류 판매현황 조사
 - 뉴질랜드에서는 유통되고 있는 버섯은 대부분이 알송이버섯이었으며, 일부 대형에서 프로그버섯이 판매되고 있음.
 - 판매형태는 소포장(팩포장) 및 밀크 형태로 판매되고 있음.
 - 알송이버섯은 핵색갈색알송이가 2가지 품종이 판매되고 있으며, 가격은 핵색알송이가 핵송이 1달러(약 800원)정도 비쌌음.
 - 품종에 따라 껍질로 포장하여 판매하고 있으며, 품질기준은 것의 무게를 기준으로 구분하고 있음

○ 현장 사진



버섯류 판매 모습

버섯류 판매 모습

버섯류 판매 모습

버섯류 판매 모습 및

- 수확 : 종전과 과를 이용하여, 잎의 후·사실이 적음
- 기타 내용
 - 뉴질랜드 장미생산량은 160kg 정도로 대부분 내수로 유통되며, 대부분 잎무늬 증상으로 수확 됨.
 - 판매상품 : 절종묘, 꽃, 소말, 버터, 생크림류, 건조트러플
 - 출현량을 일대비가 시간당 150kg로 매우 비싸므로 직접 거둬 출현시키는 것이 효율적이며, 특별한 종이 필요한 것이 아니며, 주안으로 인한 배종시간 단축도 또한 신질인 것 가능함.

- ① 농장주는 뉴질랜드 트러플생산자협회 임원으로 트러플 검종묘 생산에서부터 재배, 유통, 가공까지 관리하고 있어 앞으로 연구과제를 수행하는데 많은 기술 교류 및 협력이 필요할 것으로 사료 됨.
- ② 본 농장에서는 화이트트러플(*Tuber brachii*), 블랙트러플(*Tuber melanosporum*) 2종을 재배하고 있어, 품종에 따른 재배기술 및 재배특성 차이점을 파악할 수 있음.
- ③ 농장주는 여러 지역에서 트러플로 재배하고 있어 재배지에 따른

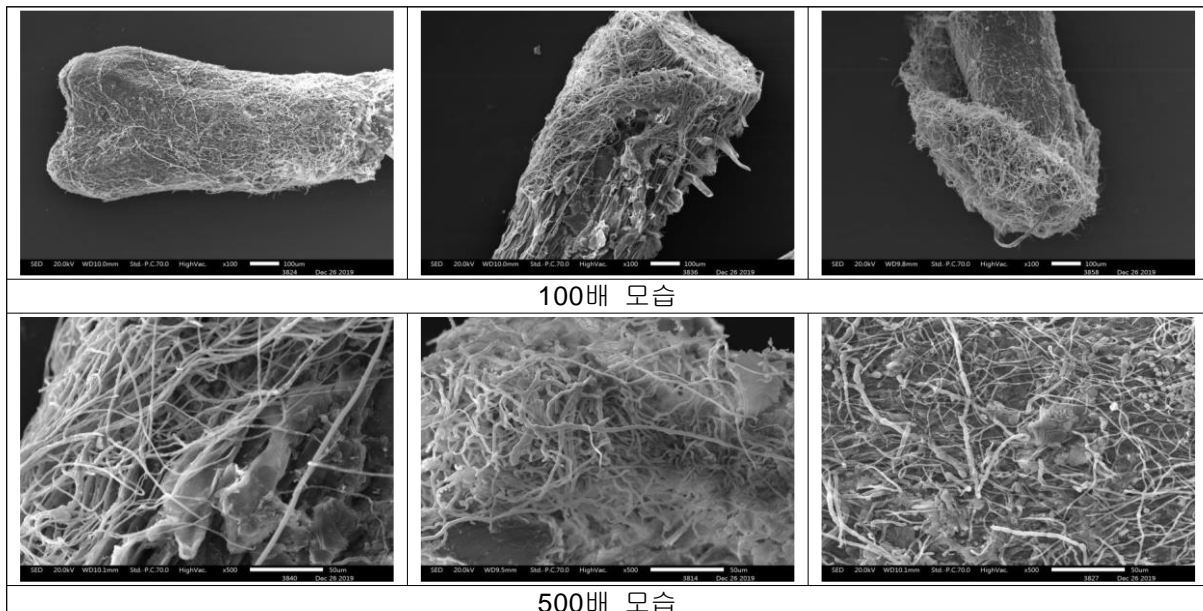
5). 트러플 접종묘 균근 현미경 촬영

가). 시료 확보

현미경 촬영을 위한 균근 시료는 중국에서 인공재배 중인 접종묘에서 확보하였으며, DNA분석 결과 *Tuber indicum*으로 확인된 시료만을 대상으로 현미경 관찰을 실시하였다.

나). SEM 촬영

저진공 주사전자현미경(LV-SEM; Low Vacuum Scanning Electron Microscope, 모델명: JSM-IT300, JEOL Ltd., Japan)을 이용하여 관찰한 결과, 뿌리 외부 및 내부조직에 트러플 균사가 균근을 형성하고 있음을 확인하였다(그림 29.).



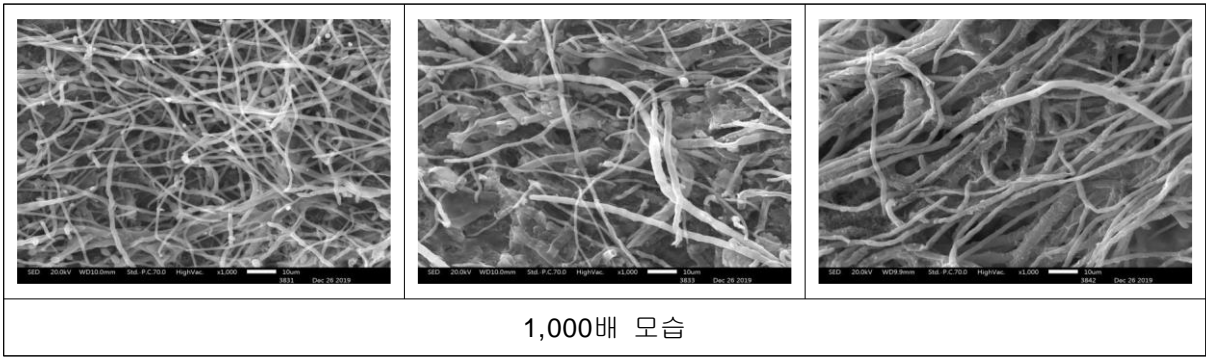


그림 29. SEM을 이용한 균근형성 모습

다). 광학현미경 촬영

광학현미경을 이용하여 관찰한 결과, 뿌리 외부 및 내부조직에 트러플 균사가 균근을 형성하고 있음을 확인하였다(그림 30.).

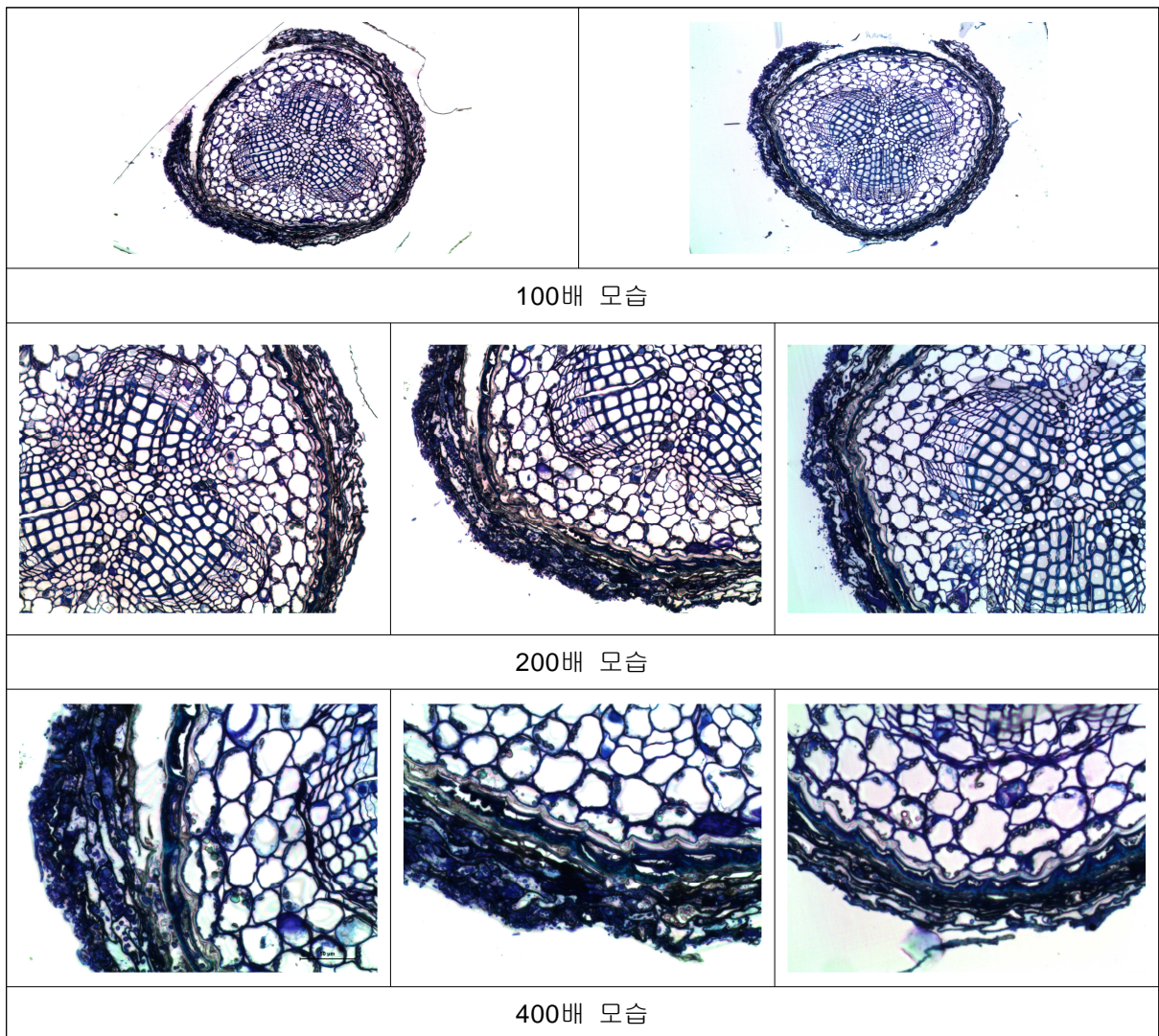


그림 30. 광학현미경을 이용한 균근형성 모습

라). TEM 촬영

TEM을 이용하여 관찰한 결과, 뿌리 외부 및 내부조직에 트러플 균사가 균근을 형성하고 있음을 확인하였다(그림 31.).

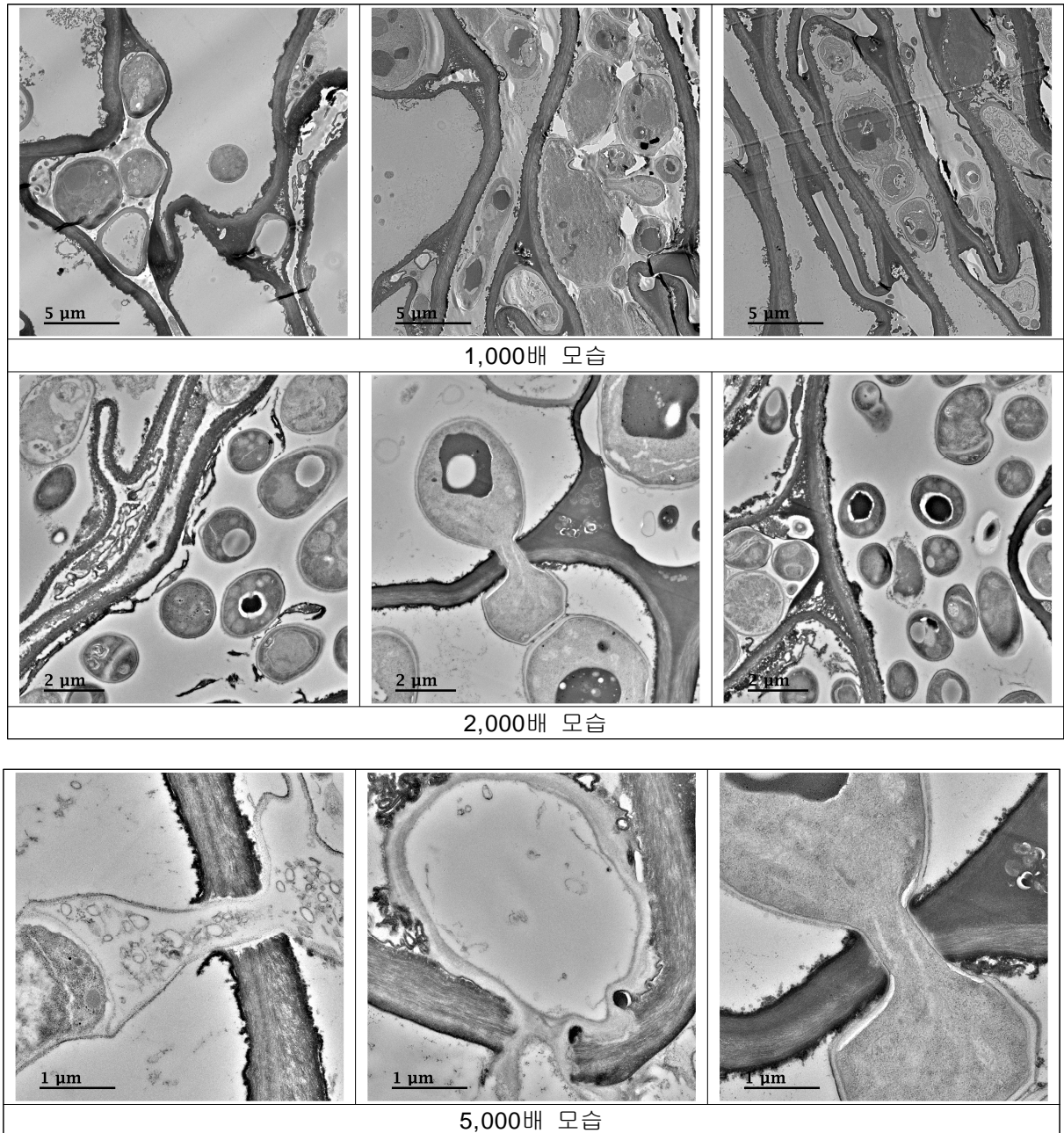


그림 9. TEM을 이용한 균근형성 모습

6). 트러플 균사체 대량 배양 최적 조건 연구(위탁:송강버섯 주식회사)

배지 산도에 따른 균사체 배양 특성 및 균사체량 증대 최적 조건을 연구하기 위하여 산도별로 배지를 제조한 후 121 °C에서 30분간 멸균하고, 20 °C까지 냉각시키고, 미리 준비된 액체 접종원 2 균주(*Tuber puberulum*, *T. brochii*)를 이용하여 무균조건하에서 250ml씩 접종하였다. 접종이 완료된 배지는 25 °C, 암배양 조건하에서 배양 중에 있음(그림 32.).



그림 32. 대량 액체배양 모습

7). 트러플 접종묘 생산을 위한 양묘 시설 구축(위탁:송강버섯 주식회사)

트러플 접종묘를 생산시설을 구축하기 위하여 교통, 관리 등을 고려하여 부지를 선정하였으며, 선정된 부지의 평탄화 작업 및 기초공사를 실시하였다. 기초공사가 완료된 부지에 기본골조 작업을 진행 중임(그림 33.).



그림 33. 접종묘 생산 시설 구축 모습

- 제1공동(한국교원대학교) : 국내 트러플 자생지 환경조건 규명 및 인공재배 접종묘 대량 생산기술 최적화

가. 연구개발 수행방법

1). 트러플(Tuber spp.) 확보를 위한 채집지역 선정

가). *Tuber spp.*는 Ca^{2+} 농도가 높은 석회암 지대에 서식하며, pH 7~8 정도로 높은 지역에 서식하고 있음.

나). 숙주식물로는 트러플의 종에 따라 차이가 있으나, 대체로 참나무 또는 개암나무의 뿌리에 외생균근을 형성하여 공생하고 있음.

다) 우리나라의 석회암지대는 동쪽에 모여 있으며 다른 산림 토양의 평균 pH 5.8 보다 높은 것으로 알려져 있으며, 해당 지역은 아래 그림(그림 33.)에 노란색과 주황색의 점으로 표시된 지역임.

라) 우리나라에서 트러플이 발견된 곳은 충북 단양, 경북 포항 지역이며, 1년차에서는 이 지역을 중심으로 하여 현장조사 및 시료를 채취함.



그림 33. 우리나라 석회암지대의 분포 (환경부, 2015)

마). 위의 지역은 행정구역상 강원도, 충청북도, 경상북도, 전라북도와 전라남도에 분포하고 있으며, 이를 기준으로 다음 9개 지역을 국내 트러플 확보를 위한 연구지역으로 선정(표 16.)하였다. 연구지역으로 선정한 곳은 우리나라 석회암지역의 자생식물 연구 혹은 지반침하에 관한 연구 등이 이루어진 곳으로 석회암지대에 대한 연구를 진행했던 곳이다(단양 석회암지역의 식물상에 관한 연구, 김 등., 1998; 제천지역 석회암의 역학적 특성에 관한 연구, 김 등., 2012; 평창, 영월(강원도)의 석회암 지역 식물상, 남 등., 2012; 석회암 지역 재해 등급도 작성 및 응용에 관한 사례 연구, 정 등., 2002; 강원도 정선 지역 오르도비스기 정선 석회암의 속성 역사, 봉 등., 2000; 석회암지대 산림식생의 유형과 환경특성, 윤 등., 2009; 강우 시 석회암 풍화토 사면의 안정해석에 관한 연구, 김 등., 2005; 우리나라의 고생대 석회암지역의 카르스트 지형과 토양생성작용에 관한 연구, 강.,1992; 단양지역에 분포한 석회암동굴계의 수질에 대한 분석, 임 등., 1993; 등).

표. 16. 지역별 채집지역 및 장소

행정구역		채집 지역	채집 장소
충북	제천	보덕암 인근	
	단양	양당리 경로당 인근	
강원도	삼척	천은사 인근	(강원도 삼척시 미로면 내미로리 산 314-6)
	태백	태백시 역둔원동로 1147	맵 근처에서 하늘연못펜션 주변 채집
	횡성	세덕사 인근(덕고마을)	세덕사 주변 덕고마을 숲 채집
	영월	법흥사 인근	
	정선	정선군 화암면 백전리 599	
경북	문경	문경대학교 인근	
	울진	신광사 인근	(경북 울진군 북면 맞덕구길 162-31)
	안동	일출사 인근	(경북 안동시 녹전면 일출길 207)

2). 채집지 서식환경 분석 및 외생균근 및 근권 토양 채집

- 가). 각 채집 지역별로 10곳의 채집지를 선정하여 숙주식물의 뿌리 및 토양 채집을 채집하여 총 90개의 토양 및 뿌리 시료 확보.
- 나). 채집지의 식생 등 서식환경 분석은 외생균근의 탐색 후 트러플이 확인된 지역을 중심으로 세밀하게 조사하여 연구에 반영할 예정임.
- 다). 채집지역내에 서식하는 숙주식물을 무작위로 선정하여 뿌리가 보이도록 토양을 파낸 뒤 뿌리의 외생균근 형성을 확인하고 뿌리를 채집한 후 뿌리 주변의 토양을 500g 채집.

3). 외생균근균의 분자적 동정

- 가). 현미경 상에서 뿌리를 관찰하여 외생균근 확인
 - (1) 실체현미경을 이용하여 뿌리를 관찰하면서 외생균근을 형성한 부분을 떼어 분석에 사용.
- 나). 뿌리에 형성된 외생균근의 염기서열 분석
 - (2) 깨끗한 균투를 DNeasy plant mini kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하고, 시료에 AP1 Lysis buffer를 넣고 homogenizer를 이용하여 뿌리 절편을 잘 분쇄.
 - (3) RNase A stock solution을 첨가한 후 65℃에서 15분간 배양하고, AP2 buffer를 첨가하여 열음에 담귀 반응시킨 뒤 원심분리. HiSpin column을 이용하여 DNA를 걸러내고 AW buffer를 이용하여 걸러진 DNA를 추출
 - (4) 추출한 DNA를 ITS1F와 ITS4 프라이머를 이용하여 ITS (internal transcribed spacer) 지역에 대하여 PCR을 수행.
- 다). 차세대 염기서열 분석 (next generation sequencing, NGS)
 - (1) NGS를 통하여 뿌리에 공생하고 있는 외생균근 군집을 분석하여 트러플 탐색.
 - (2) 여러 종류의 NGS 방법 중에서 Illumina 방법을 사용하였는데, 이 방법은 이전의 454 pyrosequencing에 비해 적은 비용으로 더 긴 서열과 많은 reads수를 제공하기 때문에 균류 군집구조의 복잡성을 이해하는데 도움을 주는 것으로 알려져 있음(Schmidt ea al., 2013).
 - (3) 뿌리의 공생균을 분석하기 위해 -80℃에서 냉동 보관된 뿌리 샘플을 지역 당 2개씩 군집으로 분리한 후 굵은 뿌리를 제거하고 잔뿌리만을 사용.
 - (4) 지역별 뿌리를 35℃ 이하에서 air-dried하여 수분을 제거한 후 수분이 제거된 뿌리를 0.3~0.5mm 크기로 잘게 자른 후, DNeasy Plant mini kit을 이용하여 DNA를 추출하였음.
 - (5) 추출한 DNA를 ITS1F와 ITS4의 primer로 PCR한 후 Chunlab에 분석 의뢰.

4). 결과 분석 (7개 지역 결과 분석 중)

가). 채집지별 토양 pH

(1) 현재 경상북도 문경지역과 충청북도 단양지역의 토양 시료를 분석 중에 있으며 토양의 pH를 측정한 결과, 경북 문경지역은 pH5.1~6.9, 충북 단양지역은 pH5.1~7.0으로 나타남(표 17.).

(2) 토양의 기타 화학적 환경 분석은 뿌리와 토양의 외생균근 분석을 완료한 후 분석 예정임.

표 17. 경북 문경지역과 충북단양지역의 토양시료 산도 조사

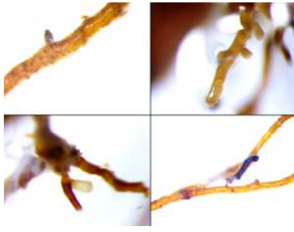
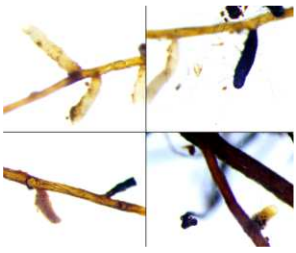



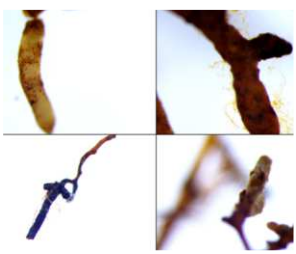
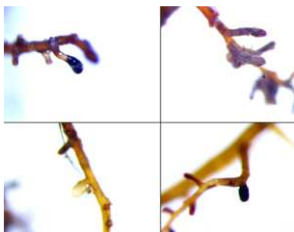
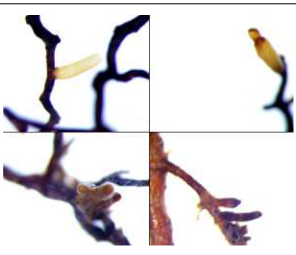

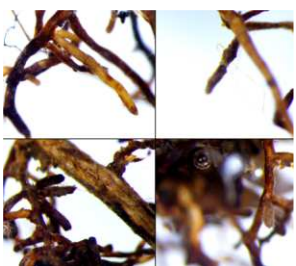


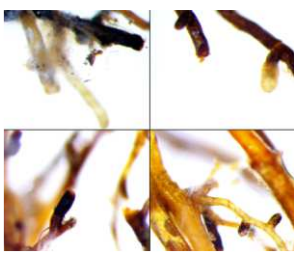
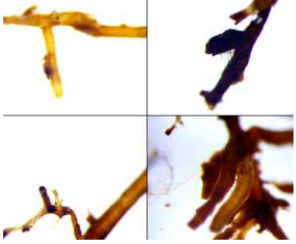
채취 지역	시료 번호	토양 pH	채취 지역	시료 번호	토양 pH
경북 문경	1252	6.1	충북 단양	1262	6.4
	1253	6.3		1263	7.2
	1254	6.4		1264	5.7
	1255	6.0		1265	6.3
	1256	6.9		1266	6.1
	1257	6.3		1267	5.5
	1258	6.1		1268	4.6
	1259	5.3		1269	6.6
	1260	6.0		1270	7.0
	1261	5.1		1271	5.1

나). 채집지의 외생균근 분석 결과(표 18.)

(1) 외생균근의 형태적 특성

표 18. 경북 문경지역과 충북단양지역 외생균근 형태적 특성

경상북도 문경		충청북도 단양	
시료 번호	외생균근	시료 번호	외생균근
1252		1262	
1253		1263	
1254		1264	

경상북도 문경		충청북도 단양	
시료 번호	외생균근	시료 번호	외생균근
1255		1265	
1256		1266	
1257		1267	
1258		1268	
1259		1269	
1260		1270	
1261		1271	

(2) 염기서열을 이용하여 확인한 외생균균의 종 목록(표 19.)

현재까지 외생균균을 형성한 뿌리를 분리하여 DNA염기서열을 분석한 결과 문경지역에서는 14종, 단양 지역에서는 9종의 외생균균이 식물뿌리에서 발견되었으나, 트러플은 현재까지 발견되지 않았음.

(3) 문경에서 *Sebacina*속과 *Thelephoraceae*에 속하는 종이 우점하였으며, 단양에서는 *Russula*에 속하는 종이 우점하는 것으로 나타남.

표. 19. 경북 문경지역과 충북단양지역 외생균균 동정

경상북도 문경		충청북도 단양	
종	비율(%)	종	비율(%)
<i>Amanita pallidorosea</i>	5	<i>Archaeorhizomyces borealis</i>	7.7
<i>Aspergillus penicillioides</i>	5	<i>Hyaloscyphaceae</i>	7.7
<i>Cenococcum geophilum</i>	5		
<i>Cladosporium sp.</i>	5	<i>Hyaloscyphaceae sp.</i>	7.7
<i>Cystobasidium minutum</i>	5	<i>Lactarius asiae- orientalis</i>	15.4
<i>Elaphomyces atropurpureus</i>	5		
<i>Entoloma rhodopolium</i>	5	<i>Malassezia restricta</i>	15.4
<i>Helotiales sp.</i>	5	<i>Paecilomyces javanicus</i>	7.7
Hyaloscyphaceae sp.	5		
<i>Rhizoscyphus sp.</i>	5	<i>Russula sp.</i>	23.1
<i>Russula nigricans</i>	5		
<i>Sebacina sp.</i>	20	<i>Russulaceae sp.</i>	7.7
<i>Sebacinales sp.</i>	5	<i>Sebacinales</i>	7.7
<i>Thelephoraceae</i>	20		

다). 뿌리와 토양에 존재하는 모든 균류를 분석하여 트러플을 탐색하기 위하여 NGS(illumina sequencing) 분석을 천렵에 의뢰하였고, 현재 분석이 진행 중에 있음.

• 제2공동(한국농수산대학교) : 해외 트러플 균주 및 접종요 확보

가. 연구개발 수행방법

1). 수입 접종요 균주 확보

가). 해외 접종요목 수입

- (1) 요목 수종 중 *Quercus*속은 역병 관련하여 수출 금지 품목으로 격리 재배 요구
- (2) 미국 오레곤주 요목 센타와 절충

나). 수출 검역 절차

- (1) 수출국의 식물 위생 증명서 발급 필요
- (2) 국내 관세청과 식물 검역 절차 진행 중

다). 해외 우수 균주 확보

- (1) ATCC 균주 또는 CBS 균주 보존센터의 균주 미보유로 균주 확보에 어려움이 있음
- (2) 접종 요목 수입 후 균근에서 균사 분리 시도 중

2). 수입 접종묘 생산방법 벤치 마킹

가). 해외 Truffle 재배기술 현황 파악

(1) 접종 묘목을 일정한 부지에 식목 및 재배하는 방법

(가) The Pallier Method(J. Grente), The Tanguy Method(P. Sourzat), The Malaurie(P. Sourzat) 등

나). 최근 접종 묘목을 생산하여 판매하는 회사: 8개 국가

(1) 국가별 회사명 주소 및 홈페이지 파악(표 19.).

표 19. 해외 트러플 접종묘 판매 회사 목록

Nation	Company name	Homepage
Germany	Institute Dr.Khanaqa- Khalidiah Farm	embers.aol.com/DrAKhanaqa
Spain	Cultivos Forestales S.L	cultivosforestales.com
USA	New World Truffieres, Inc.	oregontruffles.com
	Garland Gourmet Mushrooms&Truffles	garlandtruffles.com
	oakland- truffles	oakland- truffles.com
France	Sainte- Alvere	truffe- perigord- noir.com
	AYME TRUFFLE	eat- french- truffle.com
Japan	Marinex Sa(マリネックス東京事務所)	truffle- farm.com
	セレス農学ジャパン	ceresnogaku.com
Australia	Tasmanian Truffle Enterprises- Truffleland	tastruffles.com.au
	Perigord Truffles of Tasmania	perigord.com.au
England	Truffle UK Ltd.	truffle- uk.co.uk
	Ttruffle Tree Ltd.	truffle- tree.co.uk
New-zealand	Crop and Food Research (Ian Hall)	crop.cri.nz

3). 최근 기업화 생산단지 조성 현장실증 현황 연구

가). 묘목생산→접종→식목→농장관리→생산→가공판매까지 일관된 생산라인을 갖춘 기업화된 단지 규모의 농장을 위한 재배방법들이 연구 되고 있음.

나). 대표적인 연구자

(1) (프랑스) P. Sourzat / (이탈리아) A. Zambonelli / (미국) F. Garland

(2) (뉴질랜드) I. Hall / (독일) Khanaqa 등

4). 국가별 트러플 보호차원 정책 유지 현황파악

가). 국가적인 차원에서 트러플 보호 차원 유지정책 : 이탈리아, 프랑스

나). 상업적으로 접종 묘목 판매, 재배농장을 확장하고 있는 국가 : 미국, 호주, 뉴질랜드

다). 접종기술을 제외한 전반적 재배방법 공개

(1) 독일의 Khanaqa 박사(TheInstitute of Plant Nutrition, University of Hanover).

(2) 뉴질랜드의 Ian Hall 박사(New Zealand Institute for Crop & Food Research)

5). 트러플 국제적 인공재배 현황 파악

- 가). *Tuber melanosporum*와 *T. estivum*(Burgundy truffle)등 유럽 트러플은 아주 고귀한 식품이며 세계적으로 kg당 수백 달러에 팔림
- 나). *Tuber melanosporum*과 *T. aestivum*(Burgundy truffle)은 뉴질랜드와 미국의 혼합기술 결과로 제한된 범위내에서 재배 되어 왔음
- 다). Tuber종은 상호적으로 백색과 상록 참나무류와 헤즐릿의 기주체의 뿌리에서 외생균근으로 자람.
- 라). *Tuber melanosporum*와 *T. aestivum*은 미남중부 지역에서 환경적인 필요 조건을 가지고 있음.

6). 국외 균주 수집

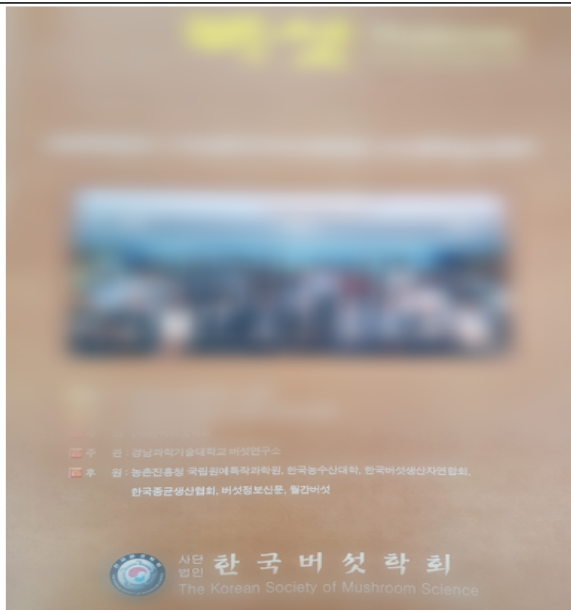
- 가). 현재 뉴질랜드의 Dr I. Hall, Dr Khanaqa, 이탈리아의 A. Zambonelli 균주 보유
- 나). 재배연구의 목표 균주인 *T. melanosporum*, *T. magnatum*, *T. aestivum*,는 ATCC와 CBS에 균주가 없어서 생산 국가에서 직접 Fresh Fruit body를 구입하여 조직분리 및 포자분리를 통해 균주의 확보 및 육종을 하여야 하는 상황
- 다). 프렌치 블랙 트러플을 접종한 나무(*Tuber melanosporum*/일반명 : Perigord black truffle)

표 20. 해외 접종묘목으로 사용되는 대표적인 수종

학 명	<i>Corylus avellana</i>	<i>Quercus ilex</i>	<i>Quercus robur</i>
열매특징			
특이점	<ul style="list-style-type: none"> · 프랑스 검은 트러플 버섯을 접종한 최초이자 가장 널리 심어진 수종. · 헤이즐넛은 심은지 3년만에 트러플을 생산하는 것으로 알려짐. · 참나무나 다른 오래 살았던 숙주 보다 트러플을 몇 년 일찍 생산 · 동일한 나무에서 트러플과 함께 수확할 수 있는 우수한 식용 견과류를 생산 	<ul style="list-style-type: none"> · 홀리 오크는 지중해 유럽에서 흔히 볼 수 있는 아름다운 상록수 · 스페인에서 트러플을 재배하는데 널리 사용됨 	<ul style="list-style-type: none"> · 자연림과 농장에서 트러플의 훌륭한 기주목 · 잉글리쉬 오크는 블랙트러플과 버건디트러플 주요 발생 수종 · 전 세계에서 광범위하고 성공적으로 사용됨.

7). 세계적 트러플 연구 현황 학술 발표

- (1) 학회명/장소 : (사)한국버섯학회 추계학술대회 / 경남과학기술대학교 100주년 기념관 아트홀
- (2) 일 자 : 2019년 10월 30 ~ 31일
- (3) 발 표 내 용 : 트러플 일반 현황 및 인공재배 관련 해외 기술 소개



시간	발표내용	발표자	좌장
10. 30 (수)			
11:00~13:00	이사회 및 운영위원회 (경남과학기술대학교 100주년 기념관 회의실 (14층))		
13:00~	오프닝 : 경남과학기술대학교 100주년 기념관		
13:30~13:35	[개회식] (사)한국버섯학회 회장 참현유		
13:35~13:40	[환영식] 경남과학기술대학교 출장		
13:40~13:45	[축사] 산림버섯연구센터 센터장		
13:45~14:00	기념촬영 및 집례절차		
14:00~14:30	[특강] 생물전환기법을 이용한 버섯신이 꽃병이의 기능성 식용소재화 및 제형화 (경남과학기술대학교)	조수정 교수 (경남과학기술대학교)	정구현 소장 (경기도원버섯연구소)
14:30~15:00	[특강] 버섯산업 현황과 정책방향 (충청남도농업기술원)	박태준 차장 (충청남도농업기술원)	
15:00~15:30	[특강] 버섯 스타트업 연구현황 및 전망 (국립농업과학원)	유정기 연구사 (국립농업과학원)	
15:30~16:00	포스터 발표(총의 출당)	전시물품 설명회	
16:00~16:30	[특강] 표고버섯 배양배지 사업모델화 (한국농수산식품유통공사)	황석재 차장 (한국농수산식품유통공사)	
16:30~16:50	[발표] 표고 신종류 "발갯살"의 육종 및 특성 (국립산림과학원)	한영희 박사 (국립산림과학원)	고한규 실장 (산림버섯연구센터)
16:50~17:10	[발표] 표고버섯 고품질 재배 노하우 (버섯연구센터, 연안RI)	주태웅 실장 (버섯연구센터, 연안RI)	
17:10~17:30	[발표] ICT 표고 농업인이 되기까지 (버섯연구센터)	김홍주 대표 (버섯연구센터)	
17:30~18:00	결기총회, 임명장 수여 및 시상, 기념촬영		
18:00~18:30	축소 및 간담회할 어를		
18:30~21:00	간담회		
10. 31 (목)			
09:00~	오프닝 : 경남과학기술대학교 100주년 기념관		
09:30~10:00	[특강] 트러플 인공재배 방법 연구 (한국농수산대학)	정현규 교수 (한국농수산대학)	신필근 박사 (경진농산)
10:00~10:20	[발표] 기온변화 대응을 위한 제주도 내 아열대성 버섯재배 방법 및 자생외 병진 실험 (제주대학교)	고필영 박사 (제주대학교)	
10:20~10:40	[발표] Mycorrhizae : Plant roots and fungal (국립농업과학원)	한기훈 박사 (국립농업과학원)	
10:40~11:10	[발표] 한국버섯수출의 문제점 (지리산버섯)	김호복 대표 (지리산버섯)	이성원 교수 (경남과학기술대학교)
11:10~11:30	[발표] 경남버섯연구 현황 및 계획 (경남농업기술원)	김민근 박사 (경남농업기술원)	
11:30~11:50	[발표] 고지대와 울릉도(독도)의 특산물인 참외의 고지대재배 관련 실험결과 (산림버섯연구센터)	김정환 박사 (산림버섯연구센터)	
11:50~12:30	시상 및 폐회		
12:30~13:30	점심 식사		
13:30~14:30	기념촬영, 임명장 수여, 오프닝		



서양송로(트러플)과 송로(알버섯)의 차이

Perigord black truffle
Winter truffle

Italian white truffle
Summer truffle

• 서양송로 : 자낭균
• 송로 : 담자균

트러플은 왜 고가의 버섯인가?

1. 세계 3대 요리
2. 균근성 : 땅 속의 다이아몬드
3. 향 : 냉동시키지 않은 것

트러플은 언제부터 연구가 시작되었는가?

1940, 50년대 주산지인 프랑스, 이탈리아, 스페인에서의 야생 Truffle의 생산이 급감하여 초과수요와 가격 급상승 현상이 일어나면서 인공재배에 대한 연구와 상업적인 재배가 더욱 활성화

트러플은 언제부터 연구가 시작되었는가?

1885년 외생균근(ectomycorrhizae)이 처음으로 발견되면서 Truffle 인공재배에 대한 연구가 시작

트러플은 언제부터 연구가 시작되었는가?

1970년대 후반 본격적인 인공재배는 접종묘목(inoculated seedling)을 조림한 프랑스와 이탈리아의 일부 트러플 농장(truffle orchard)에서 수확이 이루어지기 시작

세계 최초 트러플의 인공재배로 수확한 방법(재래)

Talon's Method

- 19세기 초 프랑스 농부인 Joseph Talon이 생산량을 늘리기 위해 고안한 자연접종 방법.
- 트러플을 생산하고 있는 나무 아래 도토리를 심은 후 자란 감염묘목을 새로운 장소에 옮겨심는 방법.
- 묘목의 접종 여부를 확인할 수 없었기 때문에 트러플 생산에 실패하는 경우도 많았지만 거의 200년 동안 유럽에서 생산에 기여.
- 추가 연구로 트러플 나무 뿌리의 상호 공생관계 이해를 도출해 냈으며, 'mycorrhizae(fungus root)' 라는 용어와 개념을 만들어내게 됨.



Talon's Method

- 통제된 조건 하에서 기주묘목의 뿌리에 배양한 트러플 균을 감염, 안정화시킨 후에 재배환경 조건이 일치하는 지역에 식목하는 방법.
- 이 방법으로 1978년 프랑스에서 세계 최초로 트러플이 수확.
- 최근까지도 프랑스에서만 매년 30~45만 그루의 접종묘목이 생산되고 있음.
- 프랑스 외에도 미국, 호주 등 각국의 임학자와 미생물 학자들의 연구가 활발히 이루어져 독립적인 묘목 감염기술, 농장 조성기술, 재배기술 등을 확립하고 실제로 묘목접종 및 재배가 이루어지고 있음.
- 하지만 독립적인 연구이기 때문에 대부분의 기술이 비공개 비밀로 남아있고, ATCC와 CBS에서 조차 트러플 균주를 보유하고 있지 못함.



트러플 인공재배 과정



Garland와 Oakland truffle의 접종묘목재배법과 일본의 자연림 재배법



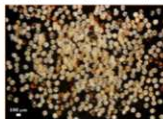
Garland와 Oakland truffle의 접종묘목재배법



일본의 자연림 재배법

1. 포자현탁액 제조

- 많은 세균이 부착되어 있어 항생제를 사용하더라도 균분리가 매우 어렵다.
- 신선한 트러플은 깨끗이 세척하여 살균된 사질토가 담겨있는 유리병에 넣고 일정기간(2개월 이상) 두면 트러플 내부에 있던 세균에 의해 균핵 덩이가 부패하면서 포자가 형성된다.



2. 종자소독 및 묘목준비

- 2% 차아염소산나트륨으로 종자소독을 실시하고 소독된 토양을 사용한 화분에서 일정기간(약 6개월) 키운다.
- 묘목이 약 50cm 정도 자라면 포자현탁액에 침지한 뒤, 다시 소독된 토양이 포함된 화분에 6개월 이상 성장시킨다.



3. 감염묘 확인 및 본토이식

트러플 포자가 감염된 묘목은 철저히 위생적으로 관리되는 묘상에서 약 6개월 정도 성장한 후 현미경을 통한 감염여부를 확인한다.



4. 본토이식 후 균환관리

- 약 2년 이상 정상적으로 성장해야 뿌리 주변에서 트러플 발생.
- 수확 전 자동물공급장치(스프링클러)를 설치하여 뿌리 주변이 건조하지 않도록 관리해야함.
- 일반적으로 트러플 발생 시기는 10월이고 인위적인 물 공급 작업을 중단해야함.



Truffle 재배에 적당한 기후조건 및 지역

Truffle 재배에 적당한 기후조건 (프랑스와 이태리)	최적조건
Annual rainfall(년강수량)	600-1500mm
Mean daily temperature in summer(여름일평균기온)	17.5°-22.5°C
Mean daily temperature in winter(겨울 일평균기온)	1° - 8°C
Annual sunshine hours(년 일조시간)	1900 - 2800
Summer sunshine hours(여름 일조시간)	1200 - 1800
Approximate degree days	900 - 1900

외생균근균 배양에 필요한 단계적 기술내용

단계	내용
1. 균분리와 배양	-자실체 (fruiting body, 버섯) 조직분리 -포자(spore)에서 분리하는 다중하나 희미가 적음 -균근(mycoorrhizas)에서 분리는 매우 어려움
2. 균주 관리	-균주배양 균주 확보 -최적 배양 조건 이해 -배양매양 -장기보관 방법
3. 소규모 접종	-무균 시험관내 표본 접종: 조직배양용 용출 -균종과 기주와의 친연성 규명 - 균주 선발 -묘상에서 균근균 접종효과 규명 - 균주선발
4. 대규모 접종원 생산	-균사체 접종원: 균사체 (slurry), 고체형 균사체 (필름화) -포자체 접종원: 액배양 포자(slurry), 건조배양 포자, 필름화 포자 -뿌리 조직배양체: 균근집포원

균근성 버섯재배에서 고려할 복잡성의 증가 내용

고려할 내용	생물적 비생물적 환경 요인
1. 균	균의 숙주배양 (1)
2. 기주식물 + 균	균근 형성 (1+2)
3. 소독된 토양에 접종	탄수화물, 양분, 수분 (1+2+3)
4. 비소독 토양에 접종	다른 미생물의 경쟁 (1+2+3+4)
5. 현지에서 버섯생산	환경, 기상조건 (1+2+3+4+5)

균근성 버섯의 재배기술 개발 상황

○: 개발, ×: 미개발, ?: 미확인

균근성 버섯	기주식물	균근 형성	접종원		접종료	산지 이식	버섯 생산
			포자	균사			
송이 <i>Tricholoma matsutake</i>	소나무	○	×	×	×	×	×
늘이 <i>Sarcodon aspratus</i>	참나무속	×	×	×	×	×	×
까리버섯(송이까리버섯) <i>Ramaria botrytis</i>	참나무속	×	×	×	×	×	×
달이(까양송로) <i>Tuber melanosporum</i>	개암나무, 참나무속	○	○	×	○	○	○
송로(알버섯) <i>Rhizoglyphus rubescens</i>	소나무속	○	○	×	○	○	○
피코리버섯 <i>Cantharellus cibarius</i>	참나무과, 소나무과 등	○	×	○	○	×	○
그늘버섯 <i>Boletus edulis</i>	소나무과, 참나무과 등	○	×	×	×	×	×
모래알버섯 (비식용) <i>Pisolithus tinctorius</i>	소나무과, 참나무과 등	○	○	○	○	○	○

균근의 종류와 특성

균근	특징	기주 식물	균류	생태적의 중요성
외생균근 (Ectomycorrhiza)	· 7차원 산호형 · 켈리프린에 균사층 형성 · 표피 및 피층 세포사이로 침투하여 Hartig 망형성	· 소나무과 · 참나무과 · 자작나무과 · 버드나무과	송이, 늘이, 달이, 송로, 광대버섯, 피코리버섯 등 산림내 땅에서만 나는 버섯	-극표면에서 -자갈층과양질 주요 구성체 -기능 면에서 · 수분흡수 · 양분흡수 · C 순환 · 아열대지역의 버섯생산 · 켈리포르
내생균근 (Arbuscular mycorrhiza: AM)	· 피층세포 내내 Arbuscular (나무모양) 형성	· 외생균근 기주 외의 대부분 수종	· 집합자 균류 중, <i>Gigas, Gigaspora, Scuteolospora, Acalospora, Entrophospora</i> 등 160여종	

균근성 버섯의 유통

버섯종 (학명), (영어명)	주요 생산국	가격 (US\$/kg)	유통량 (ton)	주요시장
송이 (<i>Tricholoma matsutake</i>) (pine mushroom)와 유사종	한국, 중국, 일본, 아나나, 미국 등	\$30-500	3000	일본
늘이 (<i>Sarcodon aspratus</i>) (hedghegog mushroom)	한국	\$10-30	50	한국
달이 (<i>Tuber melanosporum</i>) (Perigord black truffle)와 유사종	스페인, 이태리, 프랑스, 스웨덴, 뉴질랜드, 중국, 등	\$600 - 1000	400	유럽
피코리버섯 (<i>Cantharellus cibarius</i>) (chantarelle)	유럽, 북아메리카	\$10	200,000	유럽, 북아메리카
그늘버섯 (<i>Boletus edulis</i>) (cep)와 유사종	유럽, 북아메리카	\$10	50,000	유럽, 중국, 북아메리카

(Hall & Brown, 1989; Hall et al, 1990; 김재수 등, 1999; 김홍은 등, 2000)

트러플종의 상업적인 평가

일반명	학명	요리의 질	시장성
Perigord black truffle	<i>Tuber melanosporum</i>	*****	*****
Italian white truffle	<i>T. magnatum</i> (=Tartufo bianco)	*****	*****
Winter or musky truffle	<i>T. brumale</i>	****	***
summer truffle	<i>T. aestivum</i>	****	***
Burgundy truffle	<i>T. uncinatum</i>	***	**
Red truffle	<i>T. rufum</i>	**	**
Bagnoli truffle	<i>T. bituminatum</i>	**	**
Hollow truffle	<i>T. excavatum</i>	**	*
(unknown)	<i>T. macrosporium</i>	**	**
Truffe mesenterique	<i>T. mesentericum</i>	**	**
Indian truffle	<i>T. indicum</i>	*	*
Chinese truffle	<i>T. sinense</i>	*	*
Himalayan truffle	<i>T. himalayense</i>	*	*
Desert truffles	<i>Trefezia spp</i>	**	**

블랙 트러플의 균근형성을 지원하는 수종

일반명	학명
White oak	<i>Quercus pubescens</i>
Black oak	<i>Q. sessiflora</i>
Rouvre oak	<i>Q. pedunculata</i>
Holly oak	<i>Q. ilex</i>
Kermes oak	<i>Q. coccifera</i>
Hazel	<i>Corylus avellana</i>
Lime tree	<i>Tilia sp</i>
Yoke elm(hornbeams)	<i>Carpinus sp</i>
Poplar	<i>Populus sp</i>
Chestnut	<i>Castanea</i>
Pine tree (unknown)	<i>Pinus spp</i>
Cedars	<i>Cistus sp</i>
Beeches	<i>Cedrus spp</i>
Walnuts	<i>Fagus spp</i>
Rock roses	<i>Juglans spp</i>
Olives	<i>Helianthemum spp</i>
Hop-hornbeam	<i>Olea spp</i>
Willows	<i>Ostrya carpinifolia</i>
	<i>Salix spp</i>

해외 Truffle 인공재배기술 보유 및 집중요역 공급업체 현황

국가	회사명	홈페이지
독일	Institute Dr.Khanaqa-Khalidiah Farm	embers.aol.com/DrAKhanaqa
	Cultivos Forestales S.L	cultivosforestales.com
스페인	New World Truffleries, Inc.	oregontruffles.com
	Garland Gourmet Mushrooms&Truffles	garlandtruffles.com
미국	oakland-truffles	oakland-truffles.com
	Sainte-Alvere	truffe-perigord-noir.com
프랑스	AYME TRUFFE	eat-french-truffle.com
	Marinex S a(マリネックス東京事務所)	truffle-farm.com
일본	セレス農学ジャパン	ceresnogaku.com
	Tasmanian Truffle Enterprises-	tatruffles.com.au
호주	Truffleland	perigord.com.au
	Perigord Truffles of Tasmania	perigord.com.au
영국	Truffle UK Ltd.	truffle-uk.co.uk
	Truffle Tree Ltd.	truffle-tree.co.uk
뉴질랜드	Crop and Food Research (Ian Hall)	crop.cri.nz

현재 농식품부로부터 "트러플 인공재배를 위한 집중요 생산 및 현장실증 연구"라는 과제(주관: 전남산림자원연구소)를 2019~2024년(5년) 수행하고 있기에 머지않아 트러플이 유망 소득작목이 될 것으로



- 제3공동(장흥군버섯산업연구원) : 트러플 국내외 수집 자원 품질 평가 및 이화학적 특성 분석

가. 연구개발 수행방법

1). 재료 확보

본 실험에 사용된 트러플 시료는 중국 운남성에서 2019년 12월 채취한 생물을 구입하여 -72℃ 초저온 냉동고에 급속 동결 보관하면서 사용하였다(그림 33.).



그림 33. 트러플 자실체 확보

2). 분석 방법

일반성분은 AOAC방법에 따라 분석하였다. 수분은 시료 0.5g을 각각 칭량접시에 담고 105℃ dry oven에서 항량이 될 때까지 건조시켜 무게를 측정하여 구하였다. 조회분은 시료 0.5 g을 250℃에서 예비 회화한 후 600 ℃에서 직접 회화법으로, 조단백질의 함량은 Kjeldahl법으로 측정된 질소량에 질소 계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조지방의 함량은 Soxhlet 추출법으로, 조섬유는 Henneberg Stohmann 개량법으로 구하였다. 그리고 가용성 무질소물의 함량은 총량에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 함량을 뺀 값으로 산출하였다.

3). 분석 결과

트러플 일반성분 함량 분석결과는 표 21.과 같다. 수분은 74.37±0.64%로 배지재배 표고버섯 81.6%, 느타리버섯 90.15%, 큰느타리버섯 89%에 비해 낮게 나타났다. 조회분은 2.07±0.26%로 표고버섯 1.04%, 팽이버섯 0.84%, 느타리버섯 0.74%, 큰느타리버섯 0.7%에 비해 높게 나타났다. 조단백질은 1.82%로 표고버섯 4.55%, 팽이버섯 2.2%, 느타리버섯 2.68%, 큰느타리버섯 3.09% 보다 낮게 나타났고, 조지방은 0.67±0.01%로 표고버섯 0.33%, 팽이버섯 0.22%, 느타리버섯 0.08%, 큰느타리버섯 0.16%로 2~8배 이상 높게 검출되었다.

표 21. 트러플균사체 및 균사 배양액의 일반성분 함량

구 분	Approximate composition(%)					
	수분	조회분	조지방	조섬유	조단백질	가용성 무질소물
트러플	74.37± 0.64	2.07± 0.26	0.67± 0.01	2.07± 0.26	1.82± 0.07	19.0

[2차년도]

- 주관기관(전남산림자원연구소) : 보유균주 최적 배양조건 및 접종묘 대량생산 조건 연구

가. 연구개발 수행방법

1). 최적 고체배지 선발 연구

전남산림자원연구소에서 보유 중인 트러플 균주 2종(*Tuber puberulum*, *Tuber brochii*)을 대상으로 각 균주의 배지 조성 및 산도 조건 그리고 배양온도 조건을 달리하여 배양특성을 조사하였다. 시험에 사용된 배지는 총 4가지로 PDA(Potato Dextrose Agar), CMA(Corn meal Agar), Hamada (Hamada medium), 그리고 YEA(Yeast Extract Agar)로 시험하였다. 배지원료에 따른 오차를 최소화 하기 위하여 배지 제조시 Agar는 Bacto Agar(BD, USA)를 공통으로 사용하였으며, PDA 배지는 Potato Dextrose Broth(MBcell, Korea), CMA 배지는 Corn Meal Broth(MBCell, Korea)를 사용하였다. Hamada 배지와 YEA 배지는 조성에 맞게 시약을 구매하여 사용하였다(표 22.). 산도는 pH 5, 6, 7, 8을 대상으로 하였으며, 한천을 첨가하기 전 시약을 충분히 녹인 상태에서 2M NaOH 와 1M HCl을 이용하여 적정하였다. 산도적정이 끝난 배지는 20mg/L 한천을 첨가한 후 120℃에서 15분간 고압 멸균 하였다. 멸균 후 70℃까지 식혀 22mL씩 Petri dish(Ø 9cm)에 분주하여 상온에서 고형화하였다. 접종은 미리 배양한 접종원을 cork borer를 이용하여 직경 8mm의 동일한 크기로 잘라낸 후 각 처리구별로 접종하였다. 배양 온도는 20℃, 23℃, 25℃의 세 가지 조건하에서 암배양 하였으며 7일 간격으로 균사의 성장량을 측정하였다. 성장량 측정은 고체평판배지 표면에 약한 빛을 투과시켜 균사의 위치에 점을 찍은 후 버니어 캘리퍼스로 길이를 측정하였으며, 균총의 형태적 특징을 사진으로 기록 하고 균사의 밀도는 육안으로 관찰하였다.

표 22. 고체배지별 조성표

PDA (Potato Dextrose Agar)	Composition	함량(g/l)
	Potato Starch	7.0
	Dextrose	20.0
	Agar	20.0
CMA (Corn Meal Agar)	Composition	함량(g/l)
	Corn Meal Infusion	2.0
	Agar	20.0
Hamada (Hamada Medium)	Composition	함량(g/l)
	Yeast extract	5.0
	Glucose	20.0
	KH ₂ PO ₄	1.0
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
	Agar	20.0
YEA (Yeast Extract Agar)	Composition	함량(g/l)
	Yeast extract	2.0
	Peptone	2.0
	Glucose	10.0
	KH ₂ PO ₄	1.0
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
	Agar	20.0

2). 수종별 접종묘 생산기술 연구

유럽 및 호주 등 현재 트러플 재배를 목적으로 운영되는 농장에서는 참나무류나 개암나무 등을 식재하고 트러플 자실체를 갈아 포지에 주기적으로 기주식물에 접종하는 방법을 사용하여 트러플을 생산하는 것으로 알려져 있다. 해외의 선진기술을 국내에 적용시키고자 국내 자생하는 수종 중 3종(상수리나무, 증가시나무, 개암나무)을 선정하여 접종묘 생산 연구를 진행하였다. 대상수종의 종자를 구매하여 파종 및 실생묘를 증식했으며 트러플균을 접종시키기 위해 자실체가 포함된 현탁액을 제조하여 접종을 수행하였다. 접종에 쓰인 자실체는 *T. indicum* 품종을 사용하였으며 자실체 현탁액은 20g 내외의 자실체를 멸균수 1L에 넣고 믹서기를 이용하여 20분 이상 충분히 갈아 제조하였다. 현탁액의 접종은 파종 후 8주가 지난 실생묘 뿌리의 흙을 제거하고 현탁액에 약 5초씩 침지하여 접종하였으며, 접종 후 화분에 정식하였다. 정식된 화분의 토양은 토양의 배수성을 높이기 위해 상토:질석:펄라이트 = 10:1:1로 배합했고 석회고토비료를 배합 시 첨가하여 산도를 pH 7~8이 되도록 조절하였다. 현탁액 접종 후 5주 간격으로 균근형성 유무를 확인하였으며, 추가적으로 자실체 현탁액을 근권부 주변에 20uL씩 접종하였다. 접종묘의 관리는 직사광선을 받지 않도록 차광망을 설치하였으며, 트러플의 자생조건을 고려하여 과습하지 않도록 관리하였다(그림 33.).



그림 33. 접종묘 생산 과정의 모식도

3). 신규 균주 분리 연구

트러플 시장에서 통용되는 트러플 품종은 크게 14가지 품종으로 그중 현재 상업적으로 인공재배에 성공한 *Tuber melanosporum*을 비롯하여 5개의 트러플 자실체를 구매하였으며, 냉동보관하면서 접종용 포자현탁액 제조, 균 분리용 시료 등으로 사용하였다(그림 34.).

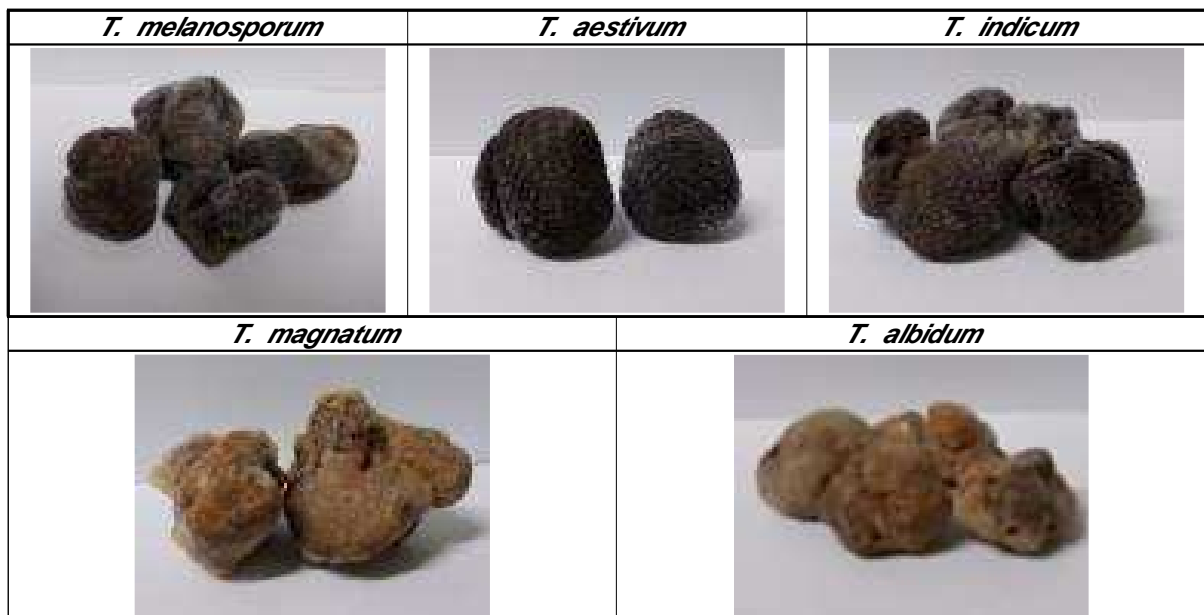


그림 34. 해외에서 수입한 트러플 자실체

트러플은 땅속에서 자생하고 있어 다른 버섯과는 다르게 자실체에 다양한 미생물 및 오염원이 존재하고 있어 조직분리를 통한 균 분리가 매우 어렵다. 따라서 자실체에 존재하는 단포자를 분리 및 발아시켜 균을 확보하고자 하였다. 단포자를 순수 분리하기 위해서는 다른 미생물 및 오염원을 제거하면서, 트러플의 포자는 발아가 가능한 방법을 찾는 것이 필요하였으며 미생물 살균법 중 저온살균법을 응용하였다. 자실체 20g을 멸균수 1L에 넣고 믹서기를 이용하여 20분간 충분히 갈아 현탁액을 제조하였으며, 1.5ml tube에 1ml씩 분주하였다. 이때 현탁액은 충분히 흔들여 포자가 가라앉지 않도록 하였다. 살균온도는 80℃, 85℃, 90℃, 95℃, 100℃로 달리하여 1시간씩 살균한 후, PDA 한천배지에 100 μ l씩 도말하여 23℃에서 암배양 하면서 일주일 간격으로 배지를 육안으로 확인하여 포자 발아 및 오염 여부를 현미경을 이용하여 확인하였다.

나. 연구 결과

1). 최적 배양 조건 비교 연구

보유 균주(2종)의 최적 고체배지 배양 조건을 확인하기 위해 배지 4종(PDA, CMA, Hamada, YEA), 산도 4조건(pH 5, 6, 7, 8), 배양온도 3조건(20℃, 23℃, 25℃)하에서 비교 분석한 결과, *Tuber puberulum*의 경우 PDA배지, pH 8, 배양온도 23℃ 조건에서 77.3cm \pm 1.4로 가장 빠른 균사 성장을 보였다(표 23.). 배지 조성에 따른 *Tuber purberulum*의 균사 성장 속도의 차이는 PDA, HAMADA, YEA, 그리고 CMA 순으로 균사의 성장속도가 빨랐으며 배양 산도 조건은 pH 8, pH 7, pH 6, pH 5 순으로, 배양온도는 23℃, 20℃, 25℃ 순으로 조사되었다(그림 36.). 처리구별 균밀도를 비교한 결과 PDA, Hamada, YEA에서 배양된 처리구들은 모두 높은 균밀도를 보였으나 CMA에서 배양된 처리구들은 균밀도가 다소 떨어지는 것으로 관찰되었다(그림 37.).

표 23. *Tuber puberulum*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사 성장량(D+28)

산도	배양온도	20℃				23℃				25℃			
		배지조성	PDA	CMA	Hamada	YEA	PDA	CMA	Hamada	YEA	PDA	CMA	Hamada
pH 5	평균(mm)	51.5	32.9	50.0	37.5	61.3	31.9	51.2	46.9	43.6	32.2	45.2	32.8
	표준편차	1.0	0.5	0.1	0.5	2.6	1.0	0.8	1.0	5.6	1.5	1.6	3.8
pH 6	평균(mm)	56.3	35.4	61.2	45.6	64.1	38.9	64.0	49.3	54.6	37.1	54.2	42.2
	표준편차	0.3	1.2	1.1	1.3	1.8	0.8	1.1	0.9	1.7	0.4	1.2	1.4
pH 7	평균(mm)	64.2	37.7	59.6	48.6	71.4	39.7	66.3	56.2	60.2	35.6	57.6	48.8
	표준편차	2.4	0.5	1.8	1.7	2.4	1.2	1.3	4.6	1.8	1.1	0.3	0.4
pH 8	평균(mm)	68.1	37.0	57.7	53.7	77.3	39.8	64.6	58.3	65.2	38.5	58.9	51.1
	표준편차	1.5	1.1	0.8	1.2	1.4	1.0	1.1	0.5	1.0	1.5	0.8	0.5



그림 36. *Tuber puberulum*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사 성장량(D+28)

	20℃					23℃			
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8		pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
PDA					PDA				
균밀도	+++	+++	+++	+++	균밀도	+++	+++	+++	+++
CMA					CMA				
균밀도	++	++	++	++	균밀도	+++	+++	+++	+++
Hamada					Hamada				
균밀도	+++	+++	+++	+++	균밀도	+++	+++	+++	+++
YEA					YEA				
균밀도	+++	+++	+++	+++	균밀도	+++	+++	+++	+++

	25℃			
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
PDA				
균밀도	+++	+++	+++	+++
CMA				
균밀도	++	++	++	++
Hamada				
균밀도	+++	+++	+++	+++
YEA				
균밀도	+++	+++	+++	+++

그림 37. *Tuber puberulum*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사배양 사진

*Tuber borchii*의 경우 PDA배지, pH 7, 배양온도 23℃ 조건에서 평균 직경 81.9cm±1.0으로 가장 빠른 균사생장을 보였다(표 24.). 배지 조성에 따른 *Tuber borchii*의 균사 성장 속도의 차이는 PDA, HAMADA, YEA, 그리고 CMA 순으로 빨랐다. 배양 산도 조건은 pH7, pH8, pH6, pH5 순서로 균사의 생장에 더 적합한 것으로 조사되었고, 배양온도는 23℃, 20℃, 25℃ 순서로 조사되었다(그림 38.). Hamada, YEA 배지에서 배양된 균밀도가 상대적으로 PDA와 CMA에서 배양된 균사에 비해 균밀도가 확연히 높게 나타나, 배지 조성에 따라 균밀도에 영향을 주는 것으로 나타났다(그림 39.).

표 24. *Tuber borchii*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사 성장량(D+21)

산도	배양온도	20℃				23℃				25℃			
		배지조성	PDA	CMA	Hamada	YEA	PDA	CMA	Hamada	YEA	PDA	CMA	Hamada
pH 5	평균(mm)	63.6	50.9	57.0	52.2	71.1	34.8	50.8	41.7	23.9	21.7	27.2	24.8
	표준편차	1.0	3.0	5.0	1.5	1.4	1.2	1.2	1.0	8.0	2.6	4.0	1.1
pH 6	평균(mm)	71.7	60.3	70.1	70.2	80.5	58.3	69.3	71.9	61.1	49.3	50.5	48.5
	표준편차	1.9	2.0	2.1	1.2	1.1	1.5	1.8	0.7	2.0	0.9	6.5	0.4
pH 7	평균(mm)	77.3	66.9	66.1	66.0	<u>81.9</u>	55.7	70.5	72.4	78.5	55.8	60.2	62.4
	표준편차	0.4	1.1	1.1	0.4	<u>1.0</u>	2.4	0.7	0.8	0.4	1.0	0.4	0.4
pH 8	평균(mm)	76.3	67.6	63.4	63.8	80.4	67.0	69.4	72.7	77.1	55.1	61.9	63.0
	표준편차	0.4	1.1	1.1	0.4	1.0	2.4	0.7	0.8	0.4	1.0	0.4	0.4



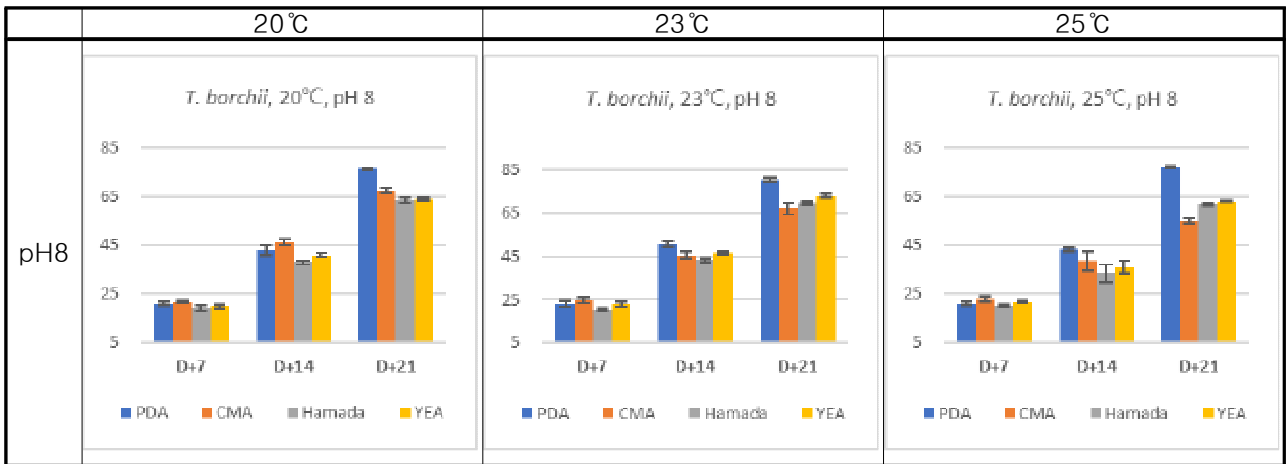


그림 38. *Tuber borchii*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사 성장량(D+28)

	20°C					23°C			
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8		pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
PDA					PDA				
균밀도	++	++	++	++	균밀도	++	++	++	++
CMA					CMA				
균밀도	+	+	+	+	균밀도	+	+	+	+
Hamada					Hamada				
균밀도	++	++	+++	+++	균밀도	++	++	+++	+++
YEA					YEA				
균밀도	++	++	+++	+++	균밀도	++	++	+++	+++

	25°C			
	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
PDA				
균밀도	++	++	++	++
CMA				
균밀도	+	+	+	+
Hamada				
균밀도	+	++	+++	+++
YEA				
균밀도	+	++	+++	+++

그림 39. *Tuber borchii*의 배지조성별, 산도별, 온도별 균사배양 사진

2). 수종별 접종묘 생산기술 연구

트러플 접종묘 생산을 위해 5월 중순에 종자를 파종하여 실생묘를 육성하였으며 그중 건전한 묘목을 골라 상수리나무 40본, 종가시나무 20본, 개암나무 18본을 접종묘 생산 연구에 사용하였다. 트러플 자실체 및 균사체의 서식 환경조건을 고려하여 배수가 잘 되도록 배합토를 제조하고 석회고토비료를 이용하여 산도를 pH7과 pH8로 조절하여 정식하였다. 1차로 트러플 자실체 현탁액 접종은 7월 15일에 실시하였으며, 그 후 5주 간격으로 뿌리에서 균근 형성 유무를 확인하였지만 균근은 확인하지 못했다. 균근형성 확인 후 추가적인 포자현탁액을 이용하여 추가 접종하였으며, 지속적으로 접종묘 온습도 관리 및 현탁액 접종을 통해 균근 형성 유무를 확인할 예정이다(그림 40.).







수종	상수리	
산도	pH 7	pH 8
보유주수	19주	20주
사진		
수종	종가시	
산도	pH 7	pH 8
보유주수	10주	8주
사진		
수종	개암	
산도	pH 7	pH 8
보유주수	3주	1주
사진		

그림 40. 현재 생육중인 접종묘 관리 모습

3). 신규 균주 분리 연구

트러플 자실체에서 미생물 및 오염원을 사멸시키고 트러플 포자만 발아시키기 위해 저온살균법을 응용하여 살균 온도조건을 달리하여 실험한 결과 100℃에서 처리한 시험에서만 오염이 발생하지 않았으며, 나머지 80℃~95℃ 처리 조건에서는 오염이 발생하였다(그림 41.). 또한, 도말 후 포자의 발아 상태를 현미경으로 관찰한 결과 포자발아를 확인하였다(그림 42.). 그러나, 트러플 자실체로부터 포자발아를 위한 포자현탁액의 멸균 조건을 구명하였지만 발아된 포자의 군사성장속도가 매우 느려 이 부분에 대해서는 추가적으로 연구가 필요할 것으로 사료된다.






온도	80℃	85℃	90℃	95℃	100℃
배양 모습					
오염유무	오염 발생	오염 발생	오염 발생	오염 발생	오염 미발생

그림 41. 처리온도별 저온살균 후 배양 결과(도말 후 8일)

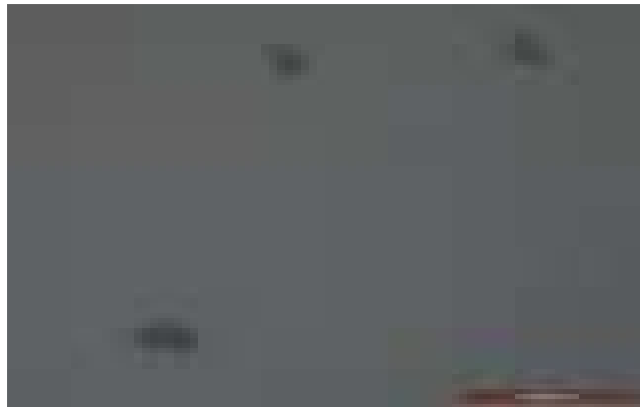


그림 42. 100℃ 처리 후 자실체에서 단포자 발아 확인(100배 확대)

4). 트러플 포자현탁액 제조 및 종균 배양 연구

트러플 자실체를 이용하여 포자현탁액 제조를 위해 트러플 자실체를 70% 에탄올에 10분간 담근 후, 멸균수를 이용하여 표면을 세척하고, 막자사발을 이용하여 자실체를 분쇄한 후, 멸균수 500ml에 희석하였다. 제조한 현탁액을 80℃에서 120분간 살균처리한 후, 냉장보관하였으며, 살균처리 하지 않은 것은 바로 오염균이 발생하였다. 자실체 현탁액을 이용하여 접종묘 생산을 위한 종균을 제작하고자 상토와 마사를 50:50, 70:30의 비율로 배합하고 121℃에서 60분간 멸균 후 상온에서 하루 간 냉장시켰다. 그 후 종균병에 자실체 현탁액을 10ml씩 접종하고 배양실(22℃, 암조건)에서 배양하면서 종균병내 군사배양 상태를 관찰하였다. 4주간 관찰한 결과 트러플 군사의 성장보다 오염균의 생장이 빨라 병 종균을 만들 수 없었으며(그림 43.), 이를 보완하기 위하여 포자현탁액 및 배지멸균을 위한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.



그림 43. 포자현탁액 제조 및 병종균 배양 실험

5). 접종묘 대량증식을 위한 기주묘 대량 증식(위탁:송강버섯 주식회사)

접종묘 생산을 위한 기주묘 확보 및 증식을 위한 연구를 수행하였다. 트러플 접종을 위한 기주묘목의 확보를 위해 상수리나무와 신갈나무 종자를 파종하여 실생묘를 생산 및 증식하였다. 그 중 생육이 왕성한 상수리나무 120주, 신갈나무 30주를 선정하여 기주묘의 성장 정도나 접종방법에 따른 차이를 확인하기 위하여, 질석:마사의 비율을 50:50, 70:30, 100:0로 달리 배합하여 실생묘를 증식 및 관리하였다. 또한, 3차년도에 개암나무를 기주묘로 사용하기 위해 현재 150개 정도의 삼목묘를 준비하였다. 삼목묘 개암나무로부터 3~4개의 눈을 포함하여 절단하였으며 삼목 전 발근제에 침전시켜 뿌리의 생장이 촉진되도록 유도하였다. 이 또한 세 가지로 토양 배합을 달리하여 삼목을 진행 중이며 완전히 뿌리가 내리면 접종용 묘목으로 사용 예정이다(그림 44.).



그림 44. 기주묘 증식 준비 작업 사진

6). 트러플 균사체 대량 배양 최적 조건 연구(위탁:송강버섯 주식회사)

전남산림자원연구소로부터 *T. puberulum*을 분양받아 균사체 대량 최적배양 연구를 진행하였다. 분양 받은 균주를 500ml PDB 액체배지에 접종하여 1차 접종원을 제조한 후 대량 배양 최적 조건 연구를 수행하였다. 300L 규모의 대용량 배양기에 280L의 PDB 배양액을 제조하고 1M NaOH와 0.1N HCl를 사용하여 배양액의 산도를 pH 5.5, pH 6.5, pH 7 로 적정 후 각각 접종을 수행하여 배양 정도를 비교하였다. 배양은 20℃ 상온에서 12주간 배양하였으며 실험결과 pH 7에서 배양이 가장 잘 되는 것으로 나타났고 pH 6.5에서는 배양속도가 약간 느렸으며, pH 5.5 조건에서는 현저하게 느려졌다. 또한, 액체 접종원을 이용하여 접종 하였을 때, 트러플 균의 성장속도가 느려 오염이 많이 발생하였다.(그림 45.).



그림 45. 균사체 대량 증식 조건 실험

7). 접종묘 대량생산을 위한 육묘상 설치 및 접종묘 격리재배시설 설치(위탁:송강버섯 주식회사)

1년차도에 완공한 트러플 접종묘 생산을 위한 양묘시설내에 접종묘 대량생산을 위한 육묘상, 관수 시설, 차광시설 및 수입접종묘 격리재배를 위한 격리시설을 설치하였다. 하우스 내부의 바닥면 고르기 작업 후 방수포를 깔아 바닥공사를 마무리하고 철제 파이프를 박아 육묘상을 설치 및 접종묘 증식 및 관리를 위한 관수 시설을 추가로 설치하였다(그림 46.).

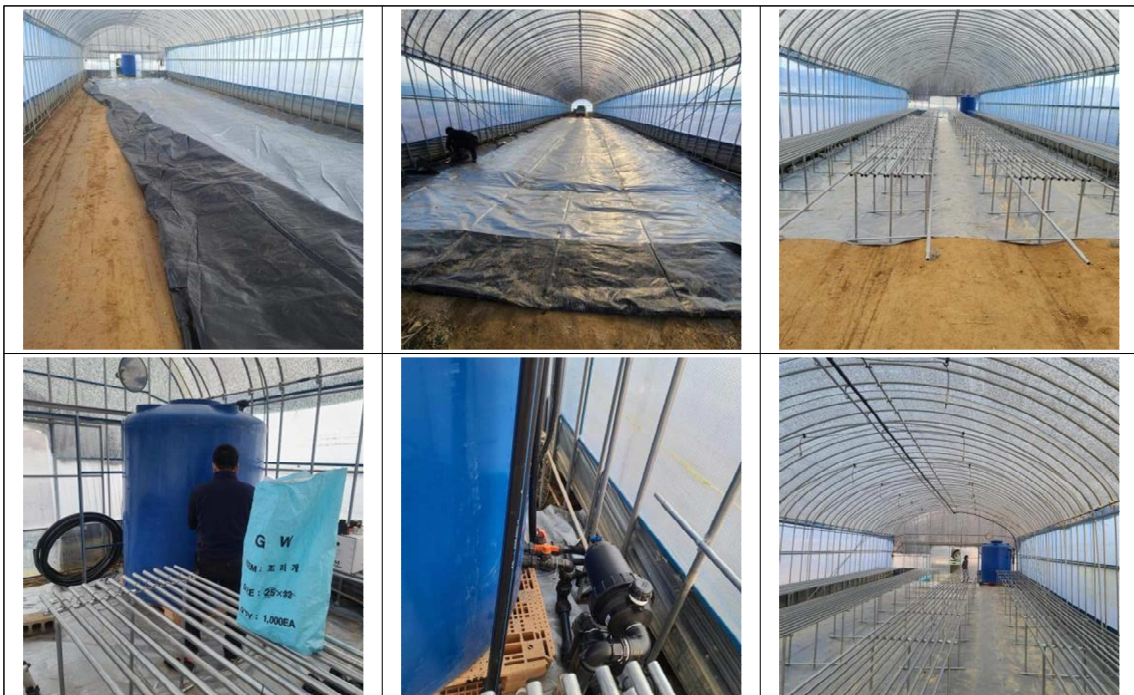


그림 46. 접종묘 생산시설 구축 모습

- 제1공동(한국교원대학교) : 국내 트러플 자생지 환경조건 규명 및 인공재배 접종묘 대량 생산기술 최적화

가. 연구개발 수행방법

1). 국내 자생 트러플 균주의 순수분리 및 대량생산

- 가). NGS 분석정보를 바탕으로 국내에서 자생 트러플이 출현한 지역 주변의 토양 및 뿌리 탐색
- 나). 선정된 지역과 숙주식물을 중심으로 자실체, 외생균근 및 근권 토양 채취
 - (1) NGS 결과, 외생균근 분석 정보를 토대로 2020년 3월부터 11월 사이에 균근 및 자실체 채집
 - (2) 자실체가 확인된 지역의 토양은 성분 분석 의뢰(제일분석센터, 서울)
 - (3) 외생균근 및 자실체 DNA sequencing 결과 4개 지역에서 3종의 트러플 자실체 확보
- 다). *Tuber huidongense*: 경북 포항시, 떡갈나무 근권
- 라). *Tuber* sp.: 경북 경주시, 경북 울진군 북면, 갈참나무 근권
- 마). *Tuber himalayense*: 충북 단양군, 떡갈나무 근권

표 25. 1차년도, 2차년도 NGS 및 외생균근 분석 정보

채집지		뿌리 NGS	토양 NGS	Root tip sequencing
강원	영월	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.
	정선	-	<i>Tuber</i> sp.	
	횡성	<i>Tuber</i> sp.	-	
충북	단양	<i>Tuber</i> sp.	-	<i>Tuber himalayense</i>
	제천	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.	
경북	울진	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber flavidosporum</i> , <i>Tuber</i> sp.
	안동	<i>Tuber</i> sp.	-	
	문경	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.
	포항	-	-	<i>Tuber huidongense</i> , <i>Tuber himalayense</i>
	경주	-	-	<i>Tuber</i> sp.
전남	화순	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.	

표 26. 국내 자생 트러플류 균주 확보 현황

균주번호	species	채집지	숙주식물	Accesssion No. (NCBI)	ident(%)
GB20001	<i>Tuber huidongense</i>	경북 포항	떡갈나무	GU979035.1	99
GB20011	<i>Tuber</i> sp.	경북 경주	갈참나무	AB553505.1	99
CB20001	<i>Tuber himalayense</i>	충북 단양	떡갈나무	LC508584.1	99
GB20046	<i>Tuber</i> sp.	경북 울진	갈참나무	AB553505.1	99

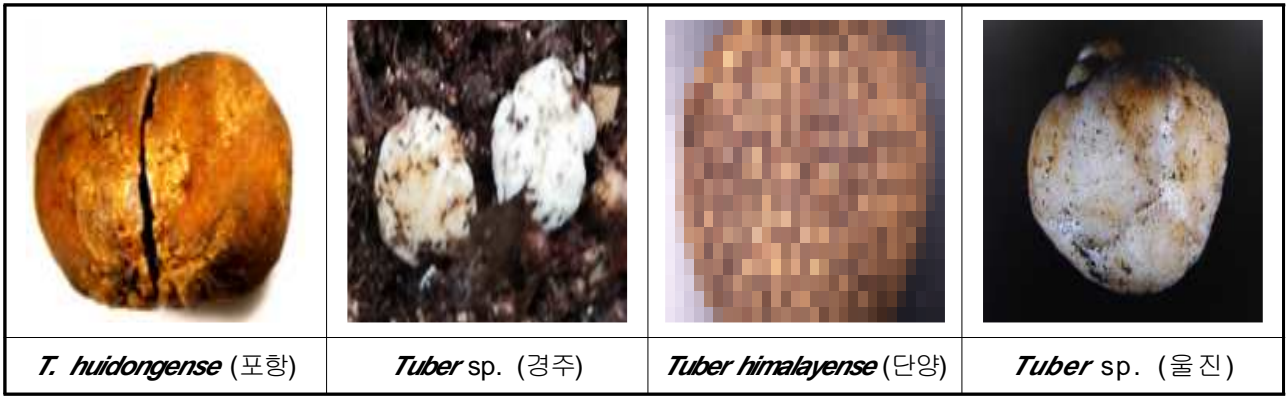


그림 47. 국내 자생 트러플 자실체

2). 트러플 접종묘 제작

가). 숙주식물 유묘 확보

- (1) 구입, 직접 채취 등을 통하여 종자 확보(국내 자생 참나무류, 소나무, 루브라참나무)
- (2) 표면살균 후 플라스틱 포트(160ml)에 멸균된 토양과 함께 무균 상태로 배양
- (3) 균주 접종이 가능해질 때까지 2~3개월 정도 온실에서 생육
- (4) 현재 1500개 이상의 무균 유묘 확보

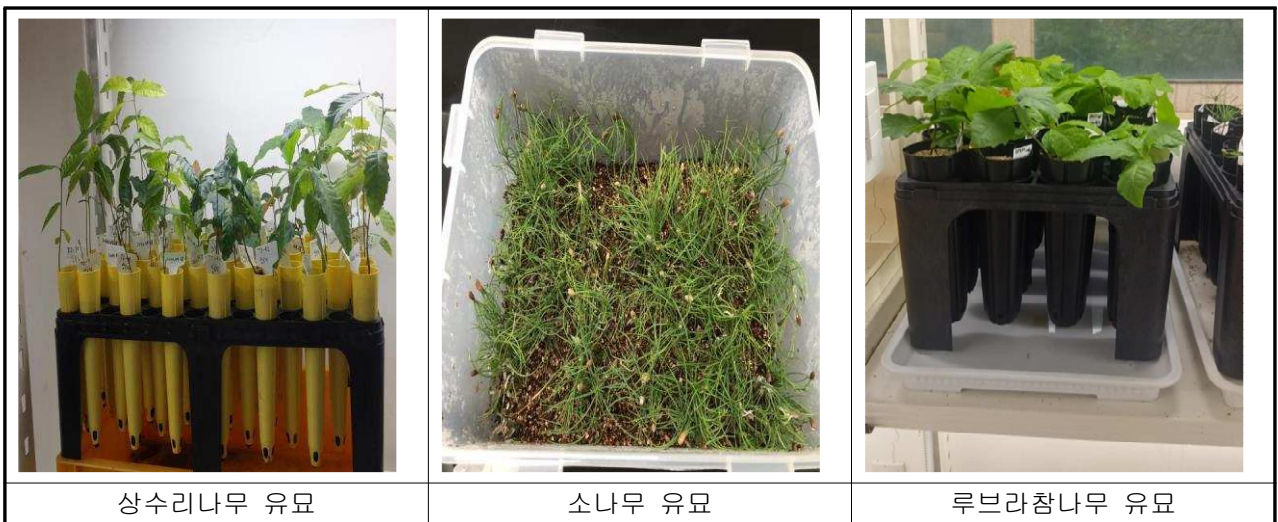


그림 48. 트러플 접종묘 유묘 확보

나). 유묘에 접종할 국내외 트러플 균주 선정

- (1) 직접 채취를 통한 국내 트러플 자실체 확보
 - (가) 3종 [*T. huidongense* (포항), *T. sp.*(경주, 울진), *T. himalayense* (단양)]
- (2) 수입을 통한 해외 트러플 자실체 확보
 - (가) 4종 [*T. indicum*, *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. magnatum*]

다). 선정된 균주를 식물의 뿌리에 접종하여 접종묘 제작

- (1) 자실체 표면의 이물질을 떼어낸 뒤 균질하게 갈아줌
- (2) 자실체를 멸균된 토양과 혼합하여 무균 배양된 유묘 뿌리에 접종
- (3) 참나무, 소나무 등에 국내, 국외 자실체를 접종하여 500개 이상의 접종묘 생산



그림 49. 트러플 자실체 분쇄를 통한 접종용 현탁액 제작

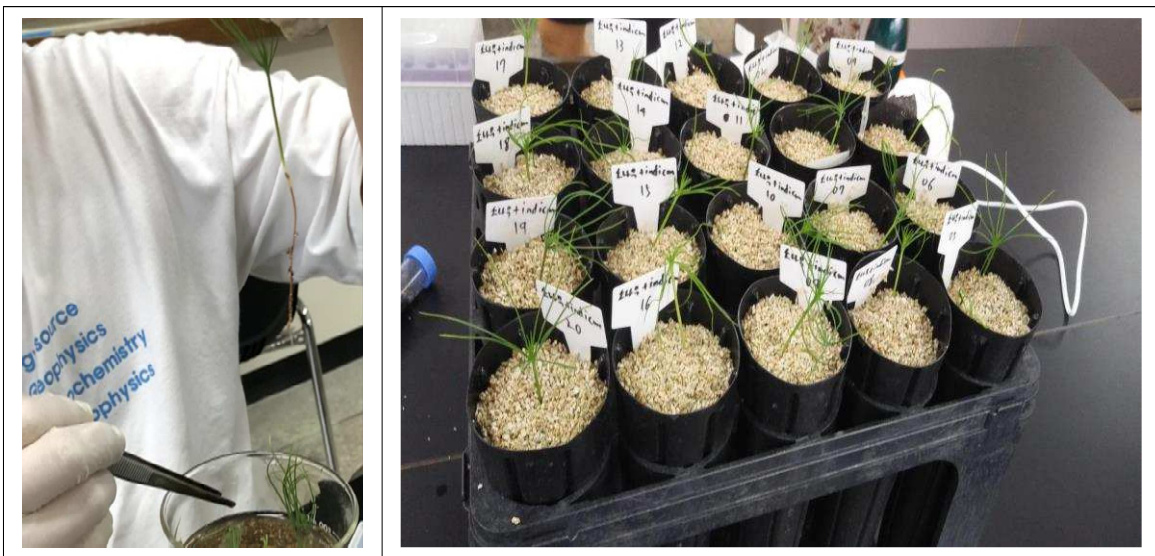


그림 50. 트러플 자실체 분쇄를 통한 접종용 현탁액 제작

3). 온실에서 포트 배양을 통한 접종묘의 최적 성장 조건 확인

가). 온실에서 접종묘 배양 실험

(1) 온실에서 4~6개월간 배양하면서 균근 감염 확인

(가) 상수리나무 내 *Tuber indicum* 균근 감염 확인(2020년 4월 접종 후, 10월 균근 확인)

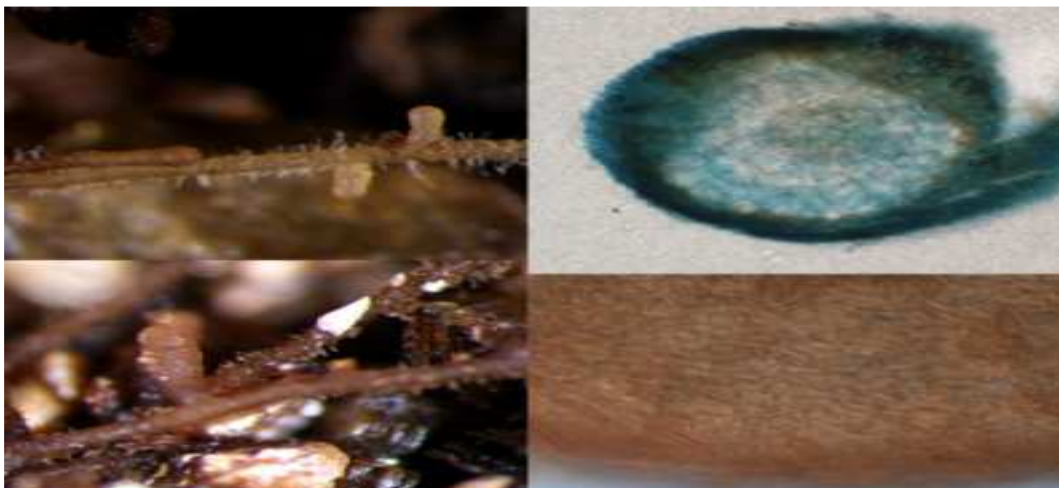


그림 51. 상수리나무에 형성된 균근(*T. indicum*)

나). 토양 성분과 트러플의 관계분석

(1) NGS 분석을 통한 외생균근균 군집 분석 : NGS 분석 결과 자낭균의 비율이 55.57%로 가장 높음.

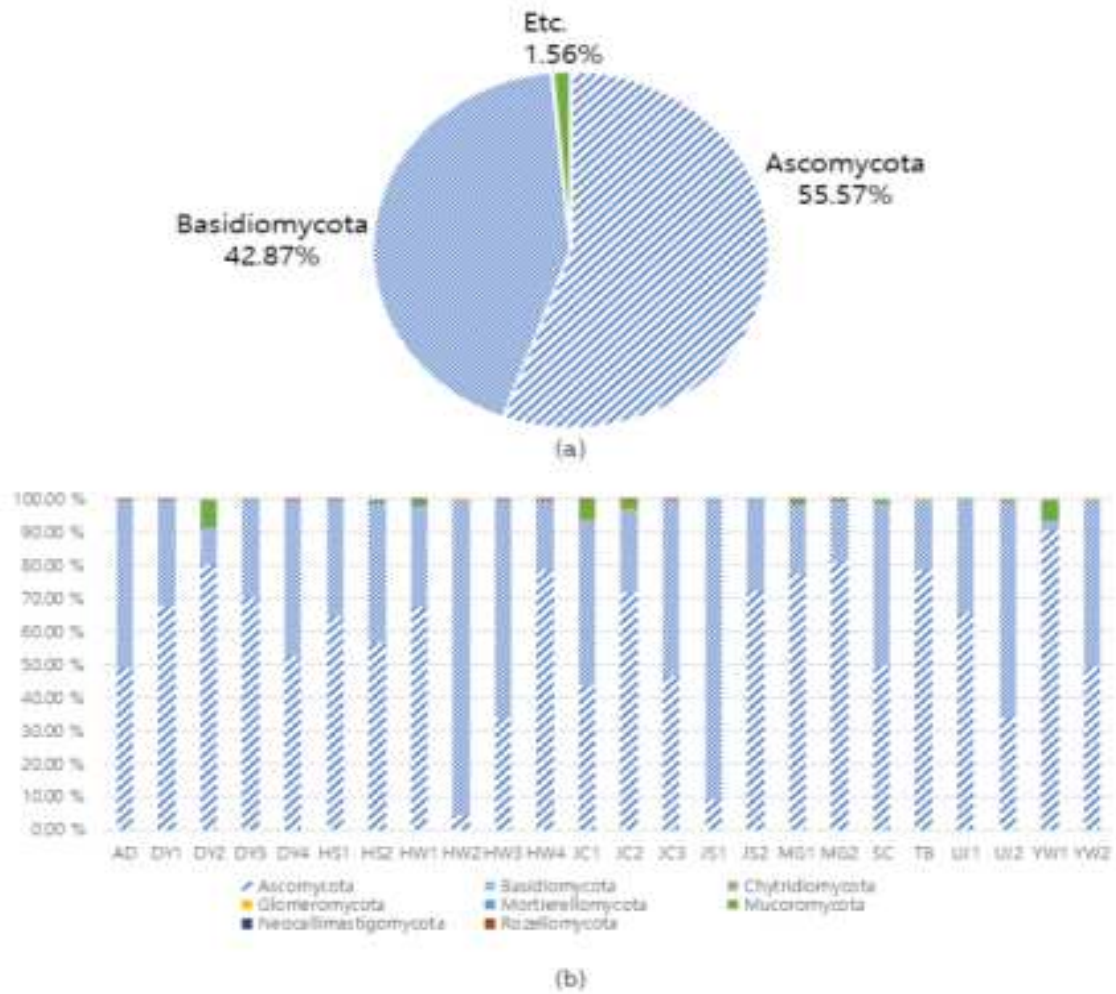


그림 52. NGS 분석에 따른 외생균근균 비율

(2) 뿌리 NGS 분석 결과 상대빈도가 가장 높은 종은 *Cenococcum*속으로 분석됨.

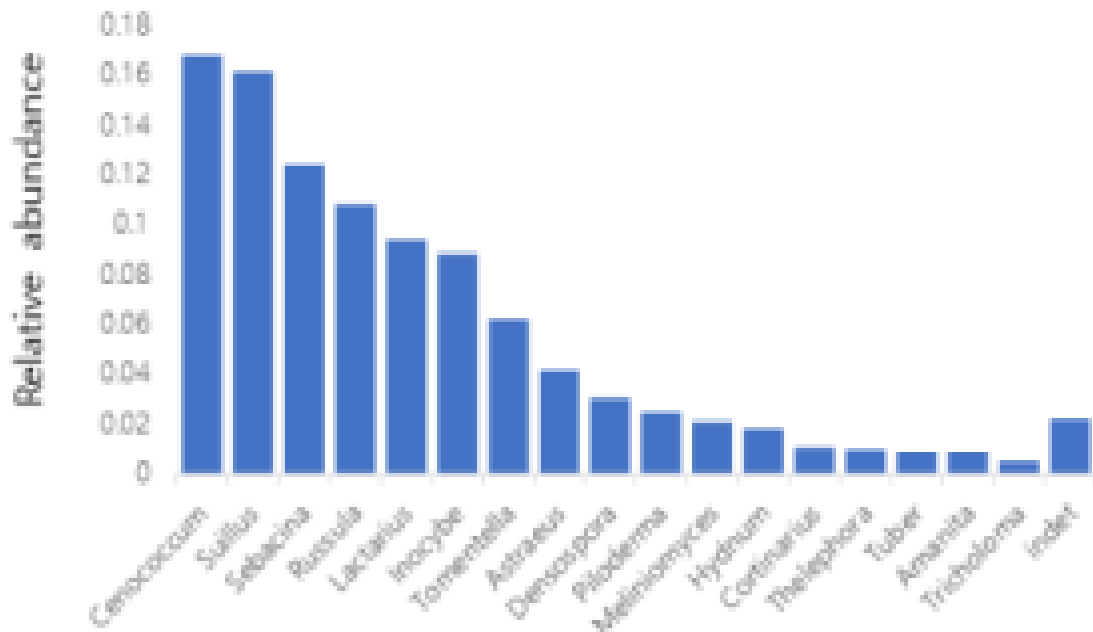


그림 53. 뿌리 NGS 분석에 따른 외생균근균 현황

(3) 토양 NGS 분석 결과 상대빈도가 가장 높은 종은 *Russula*속으로 분석됨.

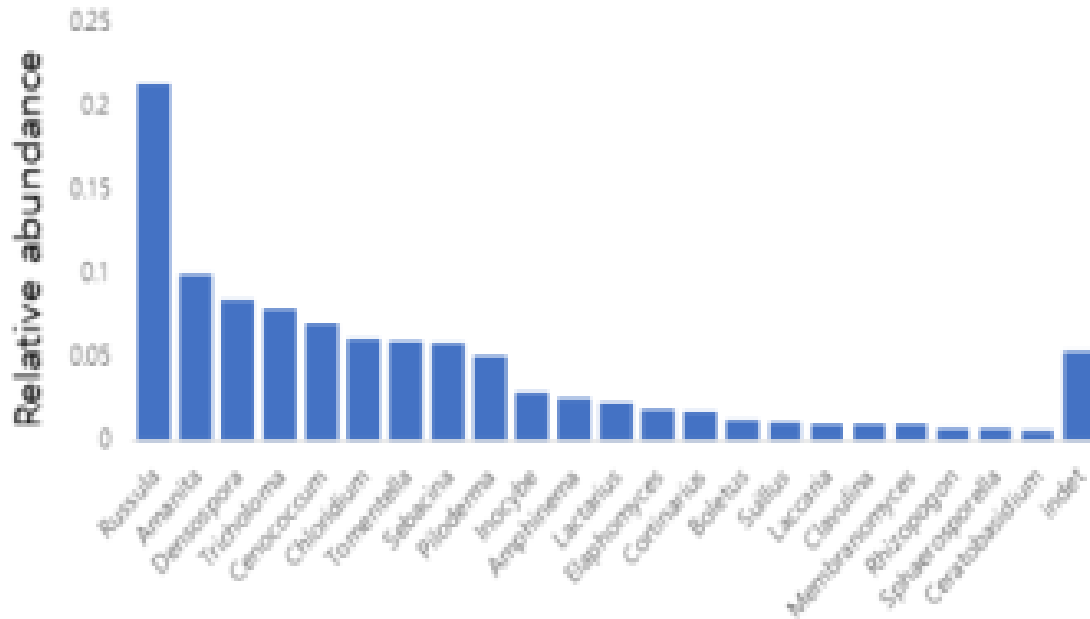


그림 54. 토양 NGS 분석에 따른 외생균근균 현황

(4) 토양 성분과 외생균근균의 관계 분석

표 27. 토양 분석 결과

collection site	pH	TN(%)	P(mg/g)	Ca	OM(%)
AD	5.79	0.22	27.3	4.37	5.41
DY1	7.05	0.41	22.7	16.76	14.15
DY2	7.13	0.36	11.6	20.09	13.59
DY3	6.07	0.31	7.7	6.19	11.05
DY4	7.69	0.34	8.8	13.39	11.83
HS1	5.21	0.2	26.3	2.44	5.09
HS2	5.22	0.21	26.6	2.55	6.11
HW1	4.66	0.77	33.2	2.73	16.33
HW2	4.86	0.25	13.6	0.44	9.57
HW3	5.19	0.29	13.5	0.94	9.29
HW4	4.84	0.41	15.9	0.96	11.68
JC1	5.91	0.38	11.1	8.61	9.74
JC2	5.56	0.29	11	6.8	8.6
JC3	6	0.41	13.8	11.99	9.51
JS1	5.97	0.2	5.5	10.37	11.55
JS2	6.04	0.31	7.7	11.48	11.27
MG1	6.23	0.07	8.6	7.02	7.24
MG2	6.08	0.24	10.1	4.19	7.64
SC	6.67	0.35	8.4	9.97	8.46
TB	7.46	0.88	21.6	27.23	15.13
UJ1	5.76	0.29	18.3	3.42	7.67
UJ2	6.6	0.17	21.9	3.74	4.24
YW1	5.49	0.39	56.6	3.47	8.79
YW2	5.71	0.32	62.8	4.06	6.56

- ▶ 자낭균은 유효인산의 영향을 가장 많이 받으며, 감소하는 경향성을 나타냄.

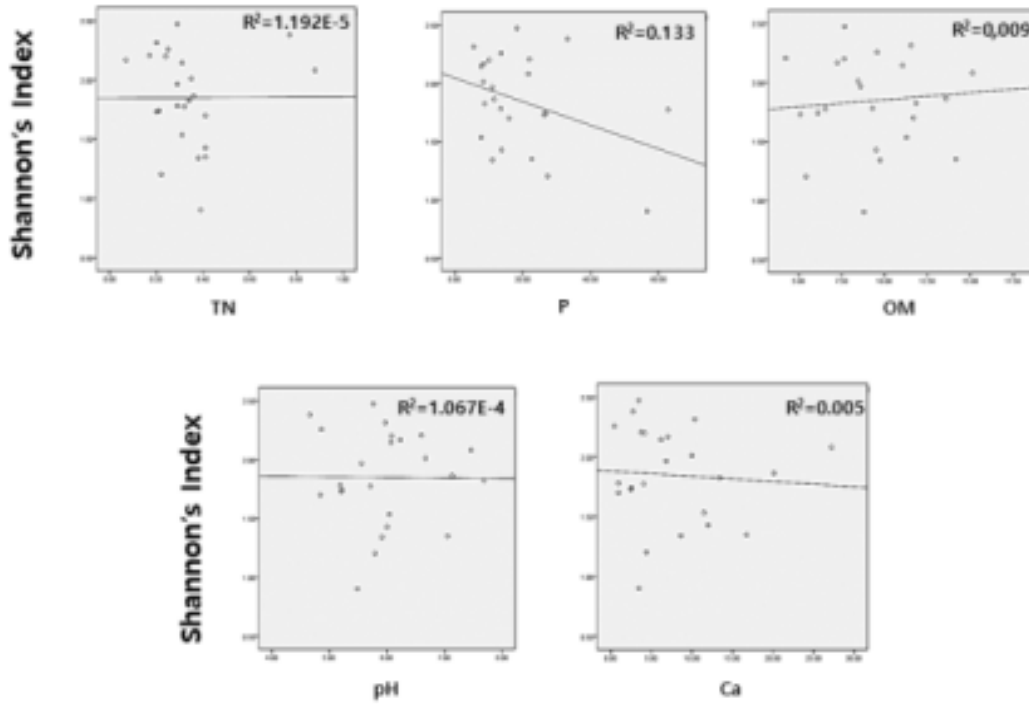


그림 55. 자낭균 유효인산에 의한 경향 분석

- ▶ 분석된 담자균은 대부분 외생균근으로 토양 pH와 치환성 칼슘 농도에 큰 영향을 받으며 감소하는 경향을 보임.

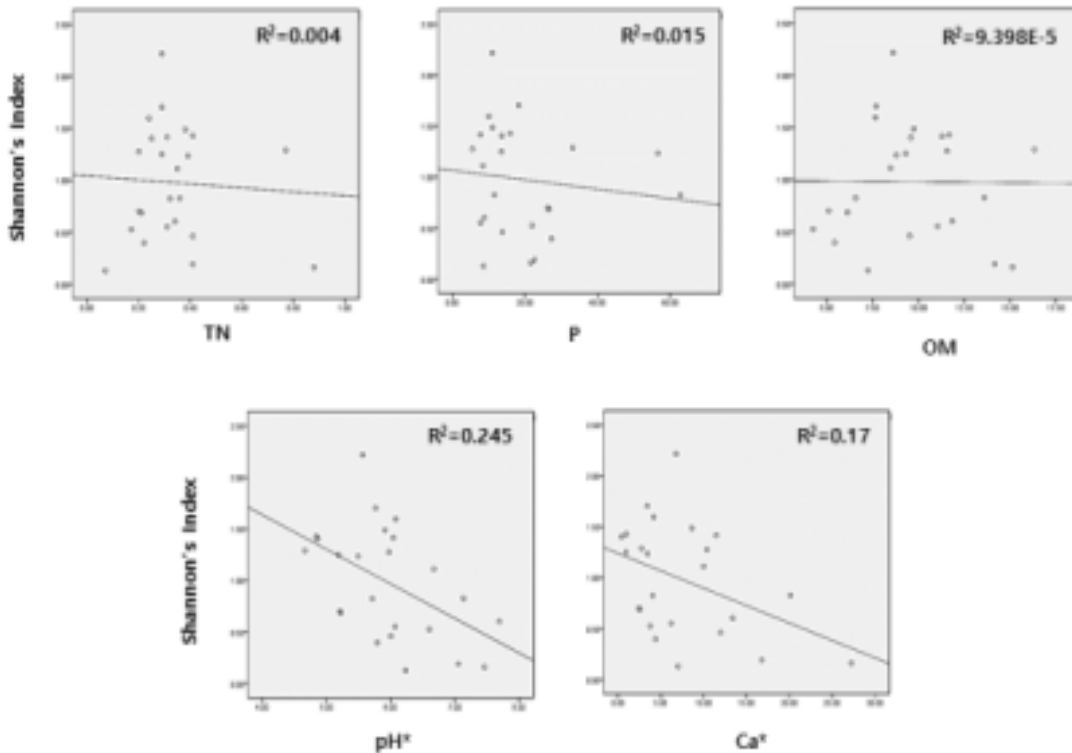


그림 56. 토양산도 및 치환성 칼슘농도의 담자균 분포에 미치는 영향

- ▶ 토양산도, 치환성 칼슘, 유효인산의 농도가 증가함에 따라 뿌리 외생균근의 다양성은 감소하는 경향을 보였으며, 전질소함량 및 유기물함량의 증가에 따라 뿌리 외생균근의 다양성은 증가하는 경향을 보임.

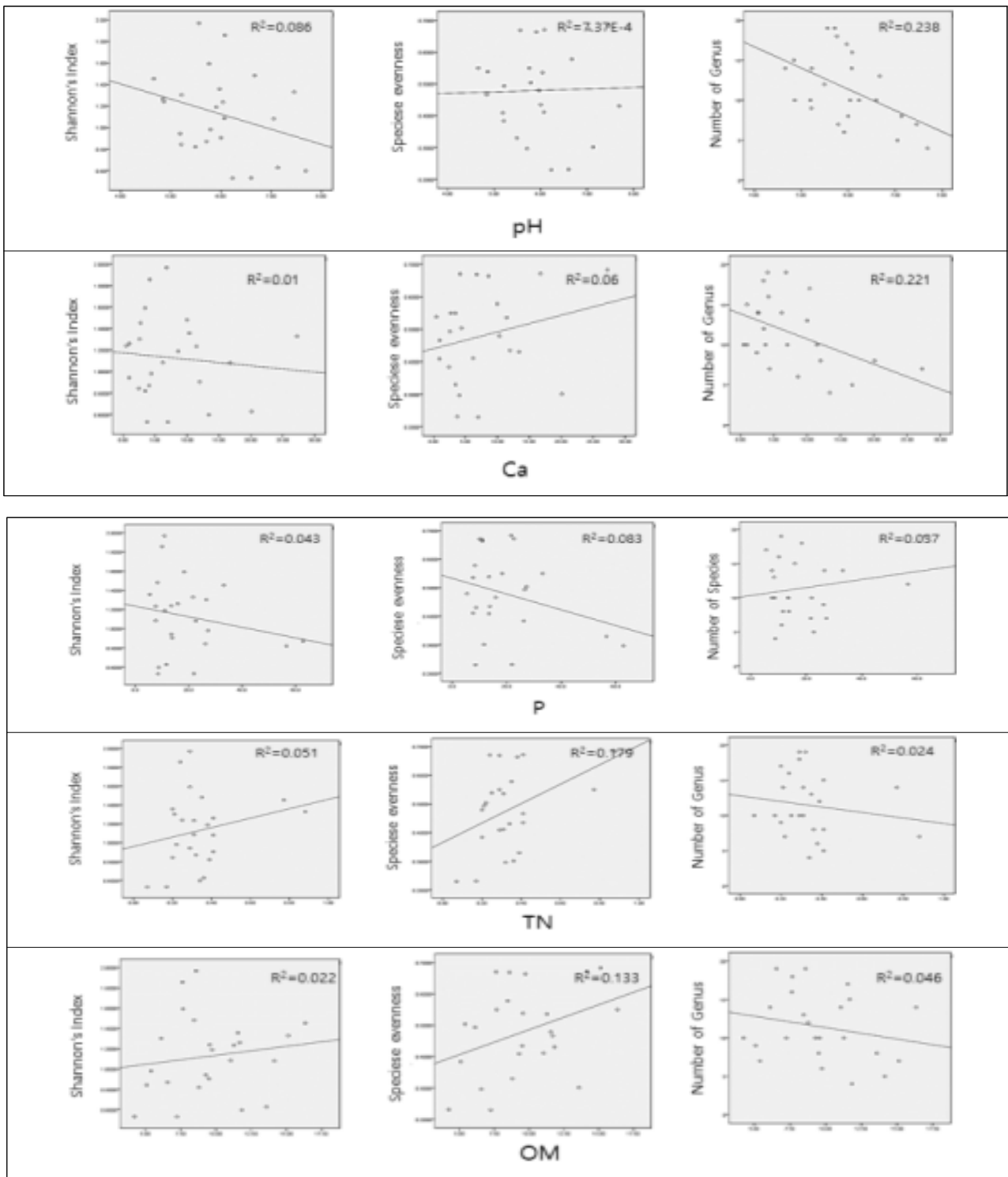


그림 57. 토양성분과 뿌리 외생균근(ECM) 다양성 관계

- ▶ 토양산도가 증가함에 따라 토양 ECM의 다양성에 영향은 없었으나, 균등도는 증가하였으며 속 수는 감소하는 경향을 보임.
- ▶ 치환성칼륨과 전질소함량, 유기물함량의 증가에 따라 함에 따라 토양 ECM의 다양성은 감소하는 경향을 보임.
- ▶ 유효인산의 농도가 증가함에 따라 토양 ECM의 다양성은 증가하는 경향을 보임.

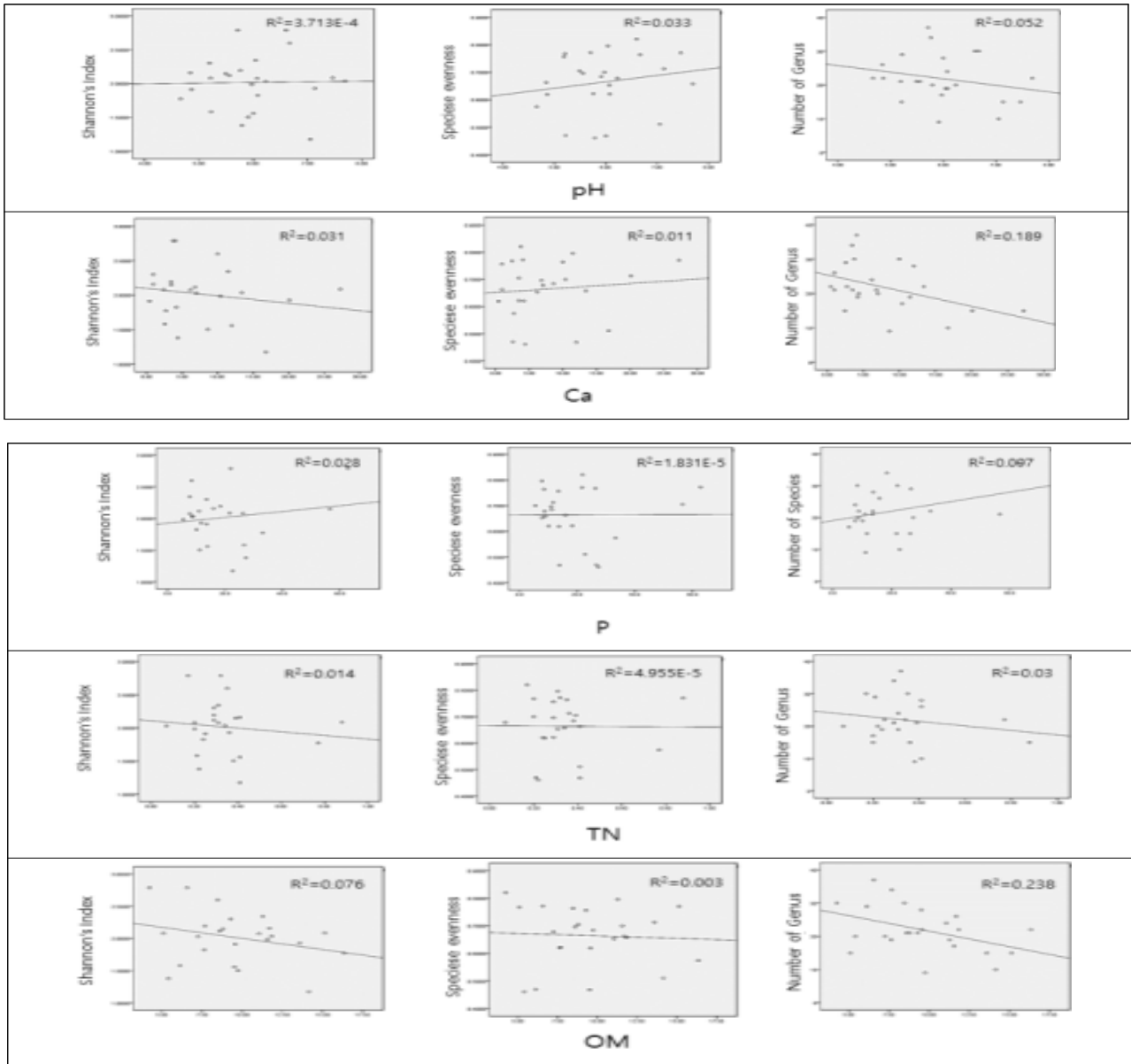


그림 58. 토양성분과 토양 외생균군(ECM) 다양성 관계

- ▶ pH별 군집 유사도 분석(CCA 분석) 결과 pH가 7 이상인 지역의 유사도가 가장 높음.

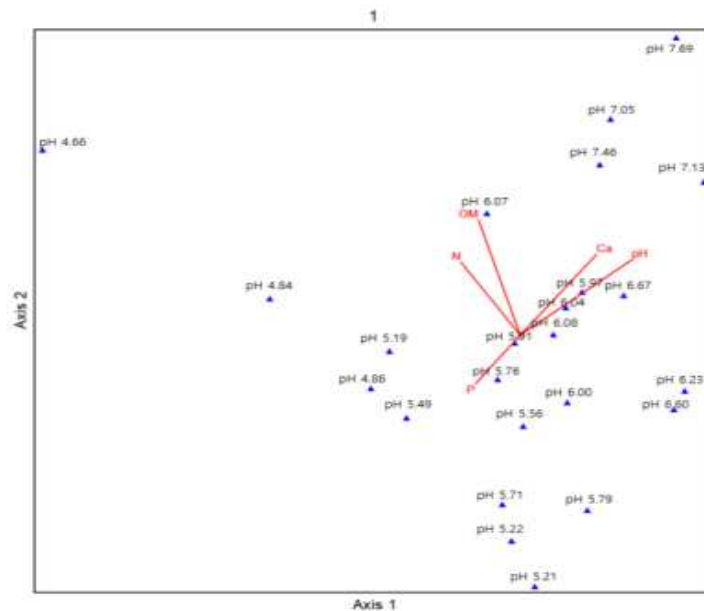


그림 59. pH별 군집유사도 분석

- ▶ 각 ECM별 토양성분과의 관계분석(PCA 분석)결과 *Tuber*속은 토양산도와 칼슘농도의 영향을 가장 많이 받는 것으로 분석됨.

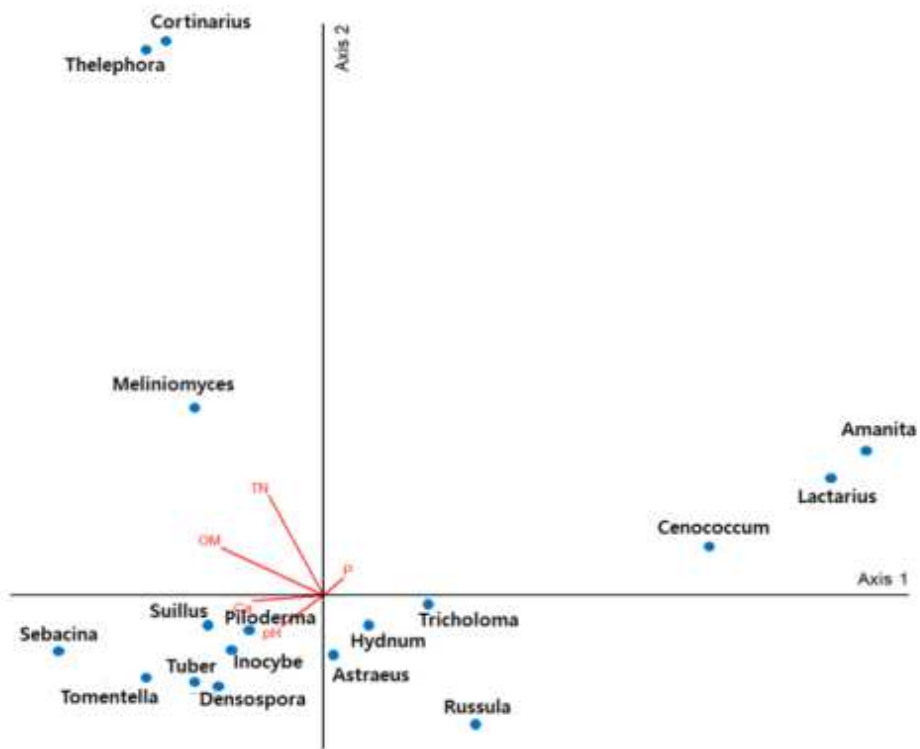


그림 60. 토양성분과의 관계분석

- ▶ *Tuber*속과 토양성분과의 관계분석 결과 pH6~7 사이에서 참나무류 뿌리와 잘 공생하는 것으로 조사 되었으며, 유효인산, 전질소 함량, 유기물 함량이 증가함에 따라 *Tuber*속의 뿌리감염율이 감소하는 것으로 조사됨.

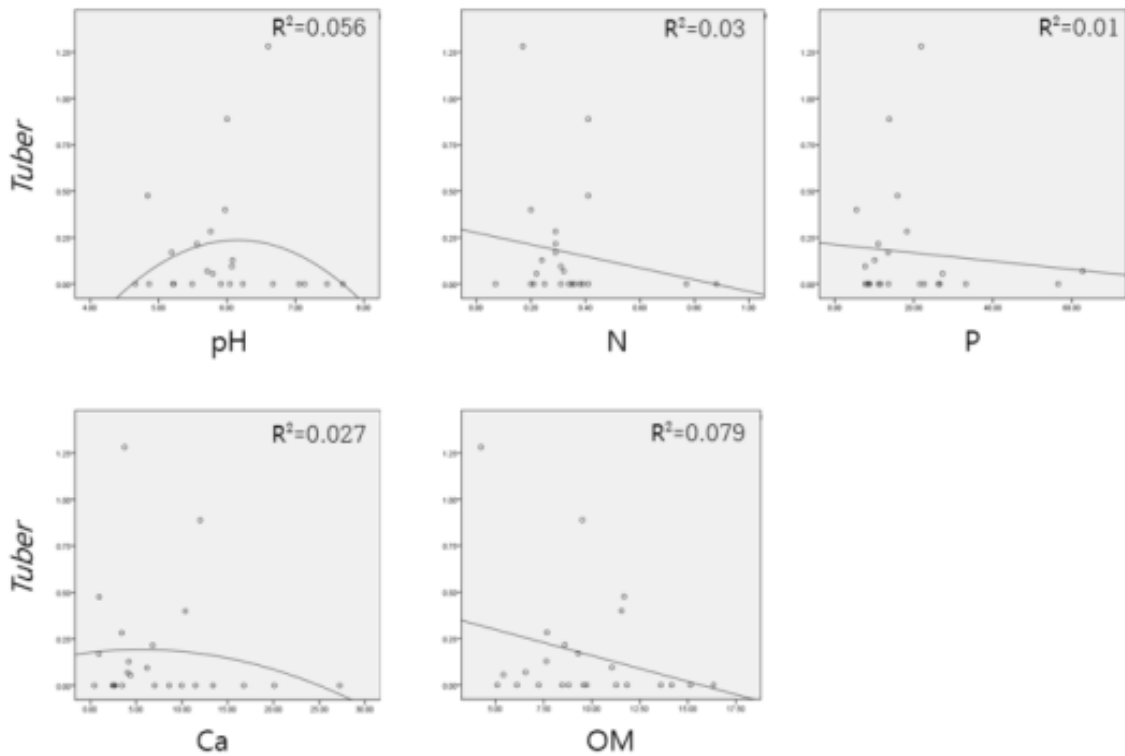


그림 61. *Tuber*속과 토양성분과의 관계분석

• 제2공동(한국농수산대학) : 해외 트러플 균주 및 접종묘 확보

가. 연구개발 수행방법

1). 수입 접종묘 균주 확보 및 보존

가). 접종묘 관리(접종균주 : *Tuber melanosporum*)

- (1) 수입된 접종묘 150주는 식물 검역으로 1년간 격리 재배 진행 중
- (2) 격리재배지인 시험포(충남 예산)에 2020년 4월 3일에 묘목 148주를 옮겨 격리 재배 중
- (3) 접종묘의 뿌리에서 균근을 확인하고, truffle 균주 분리 실험을 진행 중이나 균사 미확인

2). 균주 분양 및 보존

나). 전남산림자원연구소 보유 균주를 분양받아 보존과 기초 실험에 사용하고 있음

- (1) 분양균주: *Tuber borchii*, *Tuber puberalum*

3). 일본 트러플 인공재배 관련 데이터 수집

가). 일본은 고급 균근성 버섯 재배에 관련하여 송이, 트러플 연구를 國立研究開發法人 森林綜合研究所 등에서 국가 프로젝트로 진행하고 있어 보안이 철저하여 보고서 이외의 정보는 획득하기 어려움.

나). 송이의 경우, 균주 선발부터, 장기보존을 위한 연구와 무균묘목 생산, 균근 형성을 위한 접종묘목 제작과 접종묘의 적응에 따른 대규모 균환 형성, 더 나아가서는 자연상태에서의 균근 형성 촉진에 대해서도 연구가 이루어지고 있음.

다). 트러플은 자생하고 있는 균주에 대한 활용 방안, 트러플 균주의 식별 방법, 트러플 재배를 위한 장소 등 환경 조건 조사 및 분석, 트러플 접종묘 제작과 균근 형성 묘목의 야외 적응 연구 등을 수행하고 있음.

라). *Tuber japonicum* 등 20종 이상의 트러플이 발견된 것으로 알려져 있으며, 2015년부터 자생종인 백색 트러플의 인공재배 연구를 시작하여 2023년 2월에 일본 임업연구소에서 인공재배가 성공했다고 발표했으나, 상용화까지는 10년 이상 걸릴 것으로 예상됨.

	
<p>森林綜合研究所에서 직접 재배한 인공재배 트러플 출처: https://www.asahi.com/ajw/articles/14838521</p>	<p>일본에도 있는 트러플 “인공재배화를 목표로” [일본 트러플 인공재배 기술 관련 자료]</p>

ISBN-978-4-909941-07-7 高級菌根性きのこ栽培技術の開発— マツタケ・トリュフの栽培化に向けて   国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所 第4期中長期計画成果 (育種・生物機能-4)	목 차 1. 본 프로젝트의 목적과 과제 구성(本プロジェクトの目的と課題構成) 2 2. 송이 균현의 형상 알아보기(マツタケのシロの姿を知る) 3 2-1. 시로의 상태를調べる 森林総合研究所 山口宗義 2-2. 시로의メタボローム解析、プロテオーム解析 森林総合研究所 下川知子 益谷 謙 3. 송이 균근 형성 묘 만들기(マツタケ菌根形成苗を作る) 7 3-1. 마츠타케 유망균의選抜 森林総合研究所 村田仁 市原 謙 3-2. 마츠타케균의長期保存 森林総合研究所 小長谷啓介 3-3. 無菌実生苗や取り木苗によるシロ拡大促進 茨城県農業技術センター 小林久季 3-4. 北海道のマツでマツタケ菌根形成苗をつくる 北海道立総合研究機構 宣考次盛生 東智則 北海道大学 玉井 裕 3-5. 菌根形成苗の大型化 東京大学 松下龍久 信州大学 山田明義 3-6. 自然感染による菌根形成苗の作出 長野県農業総合センター 古川仁 片桐一弘 増野和彦 信州大学 山田明義 4. 야외에서 송이 균현 만들기(野外でマツタケのシロを作る) 18 4-1. 環境改善によるシロ活性化技術開発 岩手県農業技術センター 成松真樹 森林総合研究所 山口宗義 4-2. シロ形成のためのマツの根を増やす 京都府農業技術センター 藤田徹 森林総合研究所 山口宗義 4-3. 林地接種によるバカマツタケの子実体発生 奈良県森林技術センター 河合昌孝 今治安弥 5. 국산 트러플 재배를 목표로 하여(国産トリュフ栽培を目指す) 25 5-1. 일본의 트러플(日本のトリュフ) 森林総合研究所 木下晃彦 5-2. 트러플을 키우는 곳(トリュフの育つところ) 森林総合研究所 古澤仁美 5-3. 트러플 균근 형성 묘 만들기과 삼기 트리ュフ菌根形成苗作り植える 森林総合研究所 仲野翔太 山梨県森林総合研究所 柴田 尚 5-4. 야외에서 균근형성시기기 野外で菌根形成させる 森林総合研究所 野口享太郎 5-5. 트러플 균주 식별하기 트리ュフの菌株を識別する 森林総合研究所 中村慎樹 木下晃彦 6. 좀 더 알아보기(참고문헌, よりよく知るために) 32
---	--

고급 균근성 버섯 재배기술의 개발 - 송이, 트러플의 재배화 [일본 트러플 인공재배 기술 관련 자료]

그림 62. 일본 트러플 관련 연구 동향 자료 수집

4). 중국 트러플 접종묘 생산, 판매처 탐색

- 가). 72종의 자생종이 있는 것으로 알려져 있는 중국은 여러 연구를 통하여 새로운 트러플 종류와 다양한 활용 가능성을 발견
- 나). 2012년부터 트러플 농장을 조성하여 트러플 생산 기반 확보.
- 다). 현재 운남, 쓰촨, 귀주, 절강, 산둥, 북경, 학북, 신장, 내몽골, 산시 닝샤 등 11개의 자치구에서 트러플 재배를 위해 연구기지를 설립하였고, 전체규모는 3,000헥타(200ha)를 차지.
- 라). 중국은 광활한 석회암지대와 산비탈이 산재한 지형으로 트러플의 생산을 위한 최적의 환경조건을 갖추고 있음.
- 마). 많은 트러플 관련 연구소 및 업체에서는 재배방법과 품종 육성 연구를 진행하고 있으며, 접종묘 생산과 판매, 재배확대 추진 중.



개암나무



소나무



- 접종묘 4~5년생부터 생산가능
- 10년 이후부터 다수확 안정기
- 생산연수는 60~70년 예상

그림 63. 中国科学院昆明植物研究所의 생산 접종묘



그림 64. 中国块菌(松露)保护与利用及其 중국 트러플(트러플) 및 그 보호 및 활용 种植园管护纲要
농장 관리 및 보호 개요[중국 트러플 인공재배 기술 관련 자료]

5). 트러플 접종묘 수입관련 절차 확인

식물방역법에 위배되지 않고, 수입할수 있는 접종묘는 미국 오레곤주 묘목 센터(New World Truffieres, Inc.)에서 참나무류 접종묘 외에 개암나무(*Corylus avellana*, Hazel)를 사용한 접종묘를 생산·판매하고 있는 것으로 확인되었다. 개암나무는 참나무류보다는 작아 나무 관리에 용이하며, 트러플 생산도 정착 후 참나무류보다 빠르게 가능하고, 부수적으로 헤즐넛이 생산되기 때문에 경제적으로도 우수한 수종으로 판명되어 개암나무 접종묘를 적합한 절차를 거쳐 수입하였고, 식물병해충 유입에 대한 대비로 1년간의 격리 재배지에서 접종묘를 관리하였다.

표 28. 우리나라 수입금지식물 관련 조항

■ 식물방역법 시행규칙 [별표 1] <개정 2023. 2. 22.> 수입 금지 식물, 금지 지역 및 금지 병해충(제4조제1호가목 및 제12조제2항 관련)		
금지식물	금지지역	금지병해충
<i>Quercus</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> - 유럽: 독일·네덜란드·영국·스페인·벨기에·프랑스·스웨덴·이탈리아·덴마크·노르웨이·아일랜드·슬로베니아·폴란드·스위스·그리스·리투아니아·세르비아·체코·크로아티아·핀란드 - 북아메리카: 미국(캘리포니아주마린(Marin)·몬트레이(Monterey)·나파(Napa)·샌마테오(SanMateo)·산타클라라(SantaClara)·산타크루스(SantaCruz)·소노마(Sonoma)·앨러미다(Alameda)·솔라노(Solano)·멘도시노(Mendocino)·험볼트(Humboldt)·콘트라코스타(ContraCosta)·레이크(Lake)·샌프란시스코(SanFrancisco)·트리니티(Trinity)카운티, 오레곤주 커리(Curry)카운티 및 뉴욕주 나소(Nassau)카운티만 해당한다) 	참나무역병 [<i>Phytophthora ramorum</i>]
<p>위 표의 수입 금지 식물 중 법 제10조제2항제2호에 따라 수입 금지 식물에 서식하는 병해충에 대한 위험관리방안을 그 수출국이 제시하고, 농림축산식품부장관이 식물에 서식하는 병해충에 대한 위험관리방안의 타당성에 대하여 병해충위험분석을 한 결과 국내 식물에 피해를 줄 우려가 없다고 인정하여 고시한 지역의 식물은 제외한다.</p>		

6). 수입 트러플 접종묘 시험포 관리

가). 미국 오레곤주 수입 접종묘 시험포 관리

(1) 충남 예산 시험포에 1년간 식물검역소 관리하에 격리 생육 중임

- (2) 격리 기간: 2020년 4월 3일 ~ 2021년 4월 2일(예정)
- (3) 단일구조의 비닐하우스에서 곤충 등 유입과 유출을 막기 위하여 전체 방충망 설치하고 출입 통제
- (4) 직사광선과 고온기를 대비하여 80% 차양막 설치와 온습도는 smart sensor를 지상에서 20cm 위쪽에 설치하여 측정 관리함



그림 65. 수입접종묘 격리 재배 시험포

나). 접종묘 생육 관리

- (1) 상토는 피트모스와 일반 원예용 상토를 사용하였고, 산도 조절을 위하여 탄산칼슘을 첨가 혼합함
- (2) 관수는 지하수를 사용하여 직접 관수를 하였음
- (3) 일반적으로 산도가 pH 7.0-8.6의 토양으로 알려져 있어 토양 조성파 산도를 4개의 구역으로 나누어 148주를 심고, 관리함
- (4) 격리 6개월 차에 접종묘 생육조사와 토질 조사를 한 결과, 4개 구역의 토양 산도는 모두 pH7 정도로 변하였고, 접종묘는 72주가 생육되고 있으며, 생존율은 48.6%임

I. 피트모스 pH4.6					II. 상토+탄산칼슘 pH8.7					III. 상토+탄산칼슘 pH8.8					IV. 상토+탄산칼슘 pH7																						
1	5	9	13	17	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41	45	49	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41	45	49	1	5	9	13	17	21	25
2	6	10	14	18	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42	46	50	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42	46	50	2	6	10	14	18	22	26
3	7	11	15	19	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43	47	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43	47	3	7	11	15	19	23	27		
4	8	12	16	20	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	4	8	12	16	20	24	28		

그림 66. 수입접종묘 격리 재배 시험포 접종묘 배치도

I. 피트모스					II. 상토+탄산칼슘					III. 상토+탄산칼슘					IV. 상토+탄산칼슘																						
1	5	9	13	17	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41	45	49	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41	45	49	1	5	9	13	17	21	25
2	6	10	14	18	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42	46	50	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42	46	50	2	6	10	14	18	22	26
3	7	11	15	19	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43	47	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43	47	3	7	11	15	19	23	27		
4	8	12	16	20	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44	48	4	8	12	16	20	24	28		

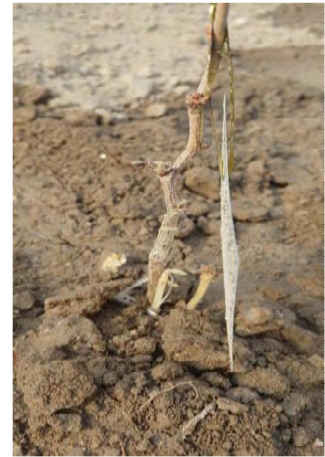
그림 67. 수입접종묘 격리 재배 시험포 접종묘 생육 상황



접종묘 생육 모습



정상 접종묘



고사된 접종묘

그림 68. 수입접종묘 격리 재배 시험포 접종묘 생육 상황

7). 격리 재배 동안의 시험포 기상환경 및 묘목 관리

- 가). 시험포의 6월 최고기온(44.5℃)과 최저기온(15.3℃)이 큰 차이를 보여 차광막을 설치함
- 나). 6월 평균기온은 25.7℃였지만, 온도 및 수분 조절을 위하여 수시로 관수하였음에도 불구하고 상대습도(74.7%)가 낮았음
- 다). 9월부터 다시 일교차가 심해져 점차적으로 관수 횟수를 줄여 관수량을 조절함
- 라). 측창을 닫고 관리 중이지만, 12월부터는 시험포의 기온이 영하로 내려감.

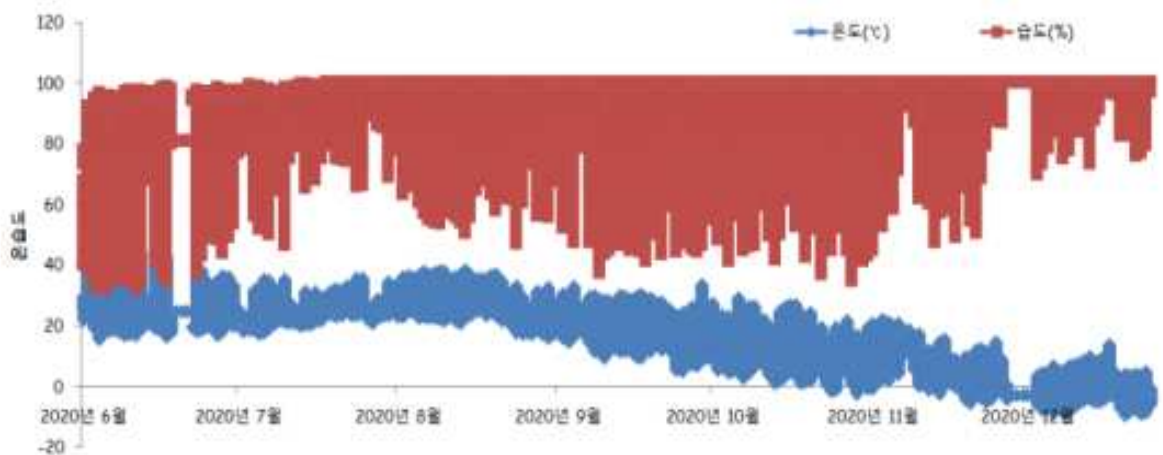


그림 69. 격리 재배 동안 시험포내 온습도 변화

표 29. 격리 재배동안 시험포내 온습도 측정값

	2020년6월	2020년7월	2020년8월	2020년9월	2020년10월	2020년11월	2020년12월	2021년1월
평균온도(℃)	25.7±7.0	24.2±4.1	27.1±4.1	20.4±5.4	12.9±6.9	7.2±5.9	-1.5±4.1	-3.5±3.7
최고기온(℃)	44.5	39.9	38.4	34.8	33.4	22.2	14.6	4.7
최저기온(℃)	15.3	16.8	20.6	9.1	0.9	-4.1	-9.5	-9.1
평균상대습도(%)	74.7±19.4	86.2±13.3	90.3±12.7	88.0±16.1	88.5±16.8	90.2±15.5	97.3±6.7	97.2±5.6

8). 트러플 균주의 특성 및 접종묘 제작

가). *Truffle* 균주 배양 및 증식 test

- (1) 전남삼림자원연구소에서 분양받은 2종의 트러플 균주 *Tuber borchii*, *T. puberalum*를 보존균주하고, 균사 생장 특성 조사와 종자 접종용으로 사용함
- (2) 균사 생장 특성 조사는 6종의 한천배지(MEA, MP, Hamada, GY, CM, PDA)를 이용하여 20℃에서 20일간 배양하였음(표 30.)
- (3) 20℃에서 20일 동안 배양한 결과는 *Tuber borchii* 는 Hamada 배지와 GY배지에서 가장 빠른 생장을 보이고, *T. puberalum* 은 생장이 늦음(표 31.)
- (4) 질석을 이용한 고체배지에서 2종의 트러플 균주 *Tuber borchii*, *T. puberalum* 배양하여 균주 보존과 접종묘 제작 실험에 활용하였음.

표 30. 버섯 균사배양용 한천배지 조성

(단위: g/L)

	MEA	MP	Hamada	GY	MCM	PDA
Malt extract	20	10	-	-		
Yeast extract		-	5	2	2	
Peptone	1	1	-	2	2	
Glucose	20	10	20	10	20	
KH ₂ PO ₄		-	1	1	1	
K ₂ HPO ₄					0.46	
MgSO ₄ ·7H ₂ O		-	0.5	0.5	0.5	
PDA						39
Agar	20	20	20	20	20	

표 31. *Tuber borchii*, *T. puberalum* 의 균사 생장

	<i>T. borchii</i>	<i>T. puberalum</i>
MEA	19.7± 1.2	30.1± 2.8
MP	41.2± 1.8	26.3± 3.6
Hamada	58.1± 1.9	29.3± 0.6
GY	54.7± 2.4	29.1± 1.9
MCM	36.5± 1.9	27.2± 1.2
PDA	43.3± 1.5	30.8± 0.4

9). 접종묘 제작 실험

가). 소나무를 접종묘 제작용 수종으로 선택함

나). 종자 소독은 5% NaClO₃ 원액 처리 시간별 오염과 종자 발아 소요 일수를 조사하였음.

다). 종자는 소독처리 후 water agar에 치상하여 발아를 조사하였음(표 32.).

라). 발아 종자는 트러플 균이 배양된 질석 배지에 이식하여 생육 시켰으나, 오염발생과 접종묘 고사.

마). 발아묘가 생육하는데 문제가 없는 것으로 판단되어 화분의 크기를 점차 scale up 예정

표 32. 종자 처리시간별 오염과 발아 소요일수

구 분	5% NaClO ₃ 처리시간(분)					
	0	10	20	30	40	50
발아율(%)	0	100	75	50	0	25
발아소요일수(일)	-	11.5	27.7	11.5	-	70
오염여부(%)	100	0	25	0	0	0

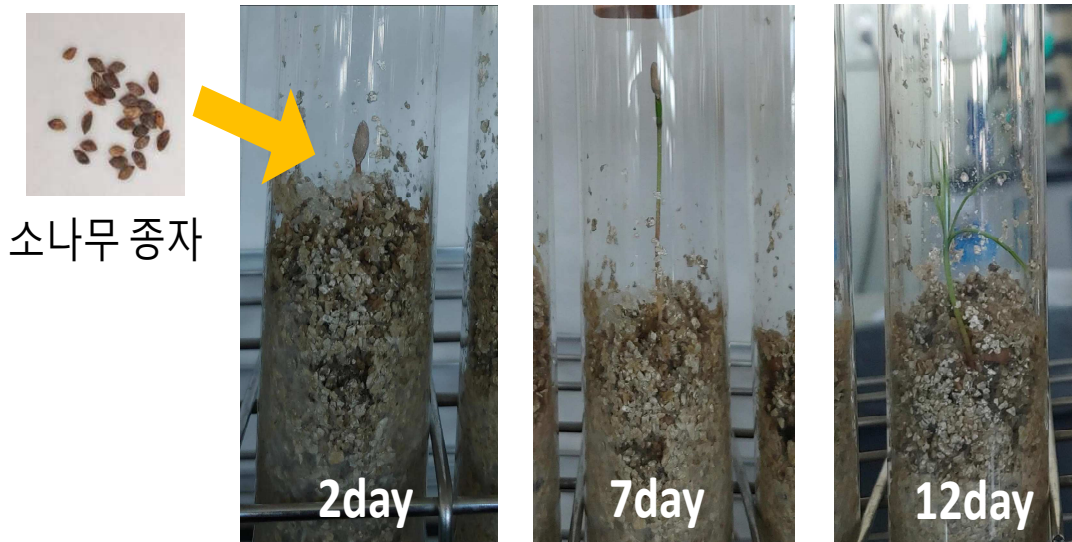


그림 70. 발아묘 시기별 생육 현황

- 제3공동(장흥군버섯산업연구원) : 국내외 수집 트러플 자원 품질 평가 및 성분분석

가. 연구개발 수행방법

1). 재료 확보

본 실험에 사용된 시료는 전남산림자원연구소에서 구매한 트러플 관련 가공품을 냉장고에 냉동보관하여 사용하였다(그림 71.).

		
<i>T. aestivum</i>	<i>T. melanosporum</i>	<i>T. magnatum</i>
		
트러플 생물	여름트러플 슬라이스	겨울트러플 슬라이스
		
트러플 마요네즈	트러플 버터	트러플 페스토

그림 71. 분석용 시료(자실체, 가공상품) 확보

2). 분석 방법

가). 향기 성분

트러플 세 품종(*Tuber aestivum*, *Tuber melanosporum*, *Tuber magnatum*)의 보관기간에 따른 향기 성분의 변화를 측정 및 분석하였다. 트러플의 휘발성 향기성분은 Agilent Technologies G1888 headspace sampler를 이용하여 포집하였다. 20mL 헤드스페이스 바이알(5188-2753, Agilent, Palo Alto, CA, USA)에 트러플 시료를 1g을 넣은 뒤 screw cap (5190-3986, Agilent, Palo Alto, CA, USA)으로 입구를 밀봉하였다. 헤드스페이스 바이알은 oven 60 °C, loop temp. 70°C, transfer line temp. 80°C로, 유리병에 SPME fiber needle을 넣고 15분 동안 휘발성 향기성분을 흡착시키고, 250 °C의 GC-MS 주입구에서 탈착하였다. HS-SPME를 통해 얻은 각각의 휘발성 향기성분은 GC-MSD를 이용하여 분석하며, 각 peak의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 GC-MS의 Wiley library의 spectrum을 이용한다(표 33.).

표 33. 향기성분 동정을 위한 GC-MS 분석 조건

항 목	분 석 조 건																								
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series																								
Detector	Agilent Technologies 1200 Series DAD																								
Column	Poroshell HPH C18 (2.1 x 150 mm, 4um)																								
Column temp	40 °C																								
	A: 10 mM Sodium phosphate Di- basic : 10 mM Sodium tetraborate ' 7H2O = 1:1 pH 8.2 (adjusted with phsporic acid), B:Acetonitrile : Methanol : Water = 45 : 45 : 10																								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time(min)</th> <th>A(%)</th> <th>B(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>84</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>72</td> <td>28</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>15.1</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	Time(min)	A(%)	B(%)	0	98	2	5	84	16	9	72	28	13	60	40	15	40	60	15.1	10	90	17	10	90
Time(min)	A(%)	B(%)																							
0	98	2																							
5	84	16																							
9	72	28																							
13	60	40																							
15	40	60																							
15.1	10	90																							
17	10	90																							
Buffer solution																									
Wavelength (nm)	UV 338																								
Flow rate	0.35 mL/min																								
Injection volume	5 µL																								

나). 유리아미노산 분석

시료 0.5g에 증류수를 가하고 homogenizer로 마쇄하여 교반 후 침출시켜 10ml로 정용한 다음 원심 분리(3,000rpm, 30 min)하여 0.45 µm membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과하였다. 얻은 여액 10ml에 sulfosalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리 (50000rpm, 30분)하여 단백질 등을 제거하고, 상등액을 0.45µm membrane filter로 여과하여 얻은 시료를 HPLC로 분석하였으며, 아미노산 함량 계산은 integrator에 의한 외부표준법으로 하였다(표 34.).

다). 구성아미노산 분석

시료 0.5g을 시험관에 넣고 6N-HCl 용액 10ml를 가한 후 110°C에서 24시간 가수분해 시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50°C에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨다. 20mM HC (pH2.2)을 사용하여 5ml로 정용하였고, 0.45µm membrane filter로 여과 후 HPLC용 분석 시료로 사용 하였다. 분석조건은 표 34.와 같고, 아미노산 함량 계산은 integrator에 의한 외부표준법으로 하였다 (표 34.),

표 34. 아미노산 분석 조건

항 목	분 석 조 건																								
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series																								
Detector	Agilent Technologies 1200 Series DAD																								
Column	Poroshell HPH C18 (2.1 × 150 mm, 4um)																								
Column temp	40℃																								
	A: 10 mM Sodium phosphate Di- basic : 10 mM Sodium tetraborate ' 7H2O = 1:1 pH 8.2 (adjusted with phsporic acid), B: Acetonitrile : Methanol : Water = 45 : 45 : 10																								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time(min)</th> <th>A(%)</th> <th>B(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>84</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>72</td> <td>28</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>15.1</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	Time(min)	A(%)	B(%)	0	98	2	5	84	16	9	72	28	13	60	40	15	40	60	15.1	10	90	17	10	90
Time(min)	A(%)	B(%)																							
0	98	2																							
5	84	16																							
9	72	28																							
13	60	40																							
15	40	60																							
15.1	10	90																							
17	10	90																							
Buffer solution																									
Wavelength (nm)	UV 338																								
Flow rate	0.35 mL/min																								
Injection volume	5 µL																								

라). 핵산관련 물질 분석

분쇄된 시료 0.5g을 측정할 후 증류수 50ml에서 추출하였다. 얻어진 추출액을 100℃ 항온수조에서 1분간 정치 후 꺼낸 다음, 30초 동안 vortexing 하고 실온에서 충분히 식힌 후 여과하여 실험에 사용하였다(표 35.).

표 35. 핵산관련 물질 분석 조건

항 목	분석조건															
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series															
Column	Symmetry C18 5µm 4.6x250mm column															
Solvent	50mM phosphate buffer (pH 5.8) : Methanol = 95:5															
Column temp.	20℃															
Wavelength	UV 254 nm															
Flow rate	0.4 mL/min															
Gradient	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>A</th> <th>B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>12</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>13.5</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> </tbody> </table>	Time (min)	A	B	0	95	5	3	100	0	12	50	50	13.5	50	50
Time (min)	A	B														
0	95	5														
3	100	0														
12	50	50														
13.5	50	50														

3). 분석 결과

가). 향기성분 분석 결과

트러플 시료의 품종별 (*T. aestivum*, *T. melanosporum*, *T. magnatum*) 보관기간에 따른 향기성분의 결과는 표 36, 37, 38. 및 그림 72.와 같다. 여름 트러플이라고 알려져있는 *T. aestivum*에서 총 11개의 volatile compound가 발견되었고, 1주차에는 2-butanone과 dimethylsulfide이 다량 검출되었다. 2주차에는 1주차에 소량 분포하였던 2-heptanone, 2-nonanone, 2-octanone가 검출되지 않았지만, 3-octanone와 pentanal, 2-methyl-이 새롭게 검출되었다. *T. melanosporum*은 블랙 트러플로 트러플하면 가장 먼저 인식되는 품종이다. 다음 품종에서는 총 12개의 volatile compound가 검출되었다. 이 중 dimethylsulfide, butanal, 2-methyl-, 1-butanol, 2-methyl- styrene, 3-octanone, 2-nonanone는 1주차에 향기성분으로 검출되었지만 2주차에 검출이 되지 않았고, cinnamic acid, p-(trimethylsiloxy)-methylester, butanal, 3-methyl-, 1-pentanol, 1-octene, 2-methyl-, 1-undecanol이 새롭게 검출되었다. 흰색 트러플로도 알려지며 가장 고가로 거래되는 품종인 *T. magnatum*은 총 18개의 volatile compound이 검출되어 있으며 앞의 두 개의 품종과는 다르게 2,4-dithiapentane이 검출되었다. 이는 흰색트러플 특유의 아로마 오일 향을 내는 물질로, 티오에테르의 일종이며 황이 포함되어 있어 향이 강렬하다. 현지 오일, 소스, 소금 등에 이 향을 입혀 트러플 관련 가공제품으로 출시된다.

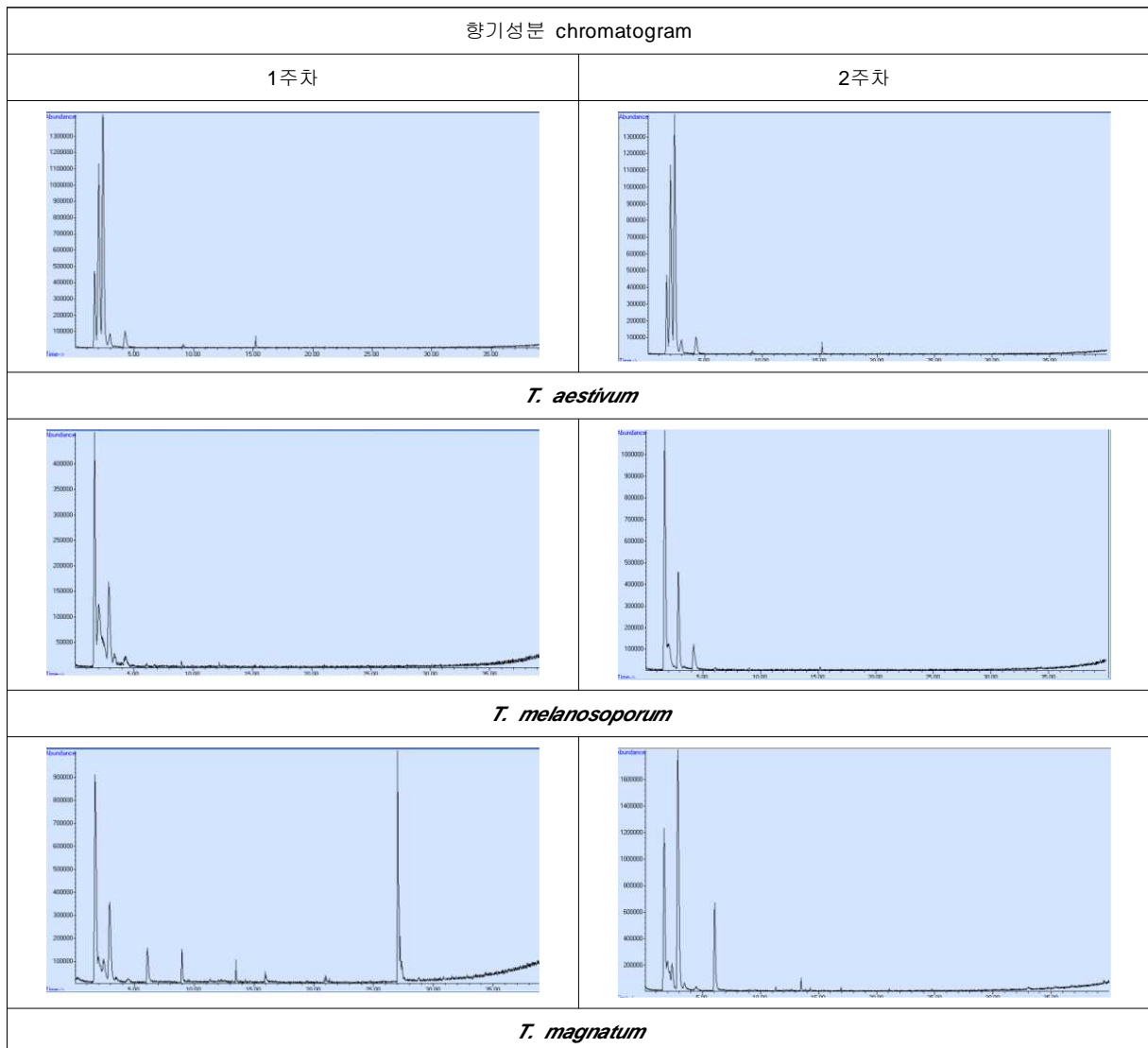


그림 72. 보관기간에 따른 트러플 품종별 향기성분 chromatogram.

표 36. 보관기간에 따른 *Tuber astivum*의 향기성분 변화

Sample	No.	Compound	보관기간 (주)	
			Area% ¹⁾	
			1	2
<i>T. astivum</i>	1	Molybdenum.dicarbonyl-bis(n- 4- pinocarvone)	11.778	30.779
	2	Dimethylsulfide	35.491	17.294
	3	2- Butanone	44.222	41.389
	4	Butanal. 2- methyl-	3.001	1.357
	5	1- Butanol. 2- methyl-	3.775	7.837
	6	Styrene	0.151	0.292
	7	2- Heptanone	0.301	- ²⁾
	8	2- Nonanone	0.591	-
	9	2- Octanone	0.068	-
	10	3- Octanone	-	0.158
	11	Pentanal. 2- methyl-	-	0.109

¹⁾ % of total.

²⁾ Not detected.

표 37. 보관기간에 따른 *T.melanosporum*의 향기성분 변화

Sample	No.	Compound	보관기간 (주)	
			Area% ¹⁾	
			1	2
<i>T.melanosporum</i>	1	Molybdenum.dicarbonyl-bis(n- 4- pinocarvone)	27.684	57.255
	2	Dimethylsulfide	23.352	- ²⁾
	3	Butanal. 2- methyl-	37.405	-
	4	1- Butanol. 2- methyl-	9.266	-
	5	Styrene	0.334	-
	6	3- Octanone	0.154	-
	7	2- Nonanone	0.302	-
	8	cinnamic acid. p- (trimethylsiloxy)- methylester	-	9.944
	9	Butanal. 3- methyl-	-	21.762
	10	1- pentanol	-	7.427
	11	1- octene.2- methyl	-	0.5
	12	1- undecanol	-	0.405

¹⁾ % of total.

²⁾ Not detected.

표 38. 보관기간에 따른 *T.magnatum*의 향기성분 변화

Sample	No.	Compound	보관기간 (주)	
			Area% ¹⁾	
			1	2
<i>T.magnatum</i>	1	Molybdenum.dicarbonyl-bis(n- 4- pinocarvone)	16.24	25.634
	2	2- Butanone	6.626	4.943
	3	Butanal, 3- methyl-	44.597	42.08
	4	2- Octanol	1.297	1.046
	5	Hexanal	11.612	11.4
	6	Benzaldehyde	0.334	0.362
	7	1,3- Hexadiene, 3- ethyl- 2 methyl-	1.787	0.722
	8	2,4- Dithiapentane	3.076	- ²⁾
	9	2- Butanamine, 2- methyl-	10.782	-
	10	3- Penten- 1- ol	0.965	-
	11	Butanedial	0.351	-
	12	Heptanal	0.426	-
	13	2- Octenoic acid, (E)-	0.164	-
	14	Furan, 2- pentyl-	0.221	-
	15	2- undecenal	0.172	-
	16	cinnamic acid. p- (trimethylsiloxy)- methylester	-	8.19
	17	Octanal	-	1.965
	18	2- Octenal, (E)-		0.141

¹⁾ % of total.

²⁾ Not detected.

나). 유리아미노산 분석 결과

트러플 자실체와 트러플 관련 가공제품의 유리아미노산 결과는 표 39.와 같다. 모든 시료에서 16종의 아미노산이 검출되었으며, 주요아미노산은 cystine, glutamic acid, aspartic acid으로 나타났다. 총 유리아미노산 함량은 화이트 트러플 슬라이스가 1266.39 mg%로 가장 높게 나타났고, 트러플 페스토가 70.56mg%로 가장 낮은 유리아미노산함량을 나타냈다. 그 중 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, histidine, phenylalanine의 8가지 성분의 총 함량은 70.56 ~1266.39mg%이었다. 필수아미노산 함량은 화이트 트러플 슬라이스에서 1266.39mg%, 트러플 생물에서 1064.64mg% 순으로 높게 나타났다. 일반적으로 맛은 유리아미노산에 의해 좌우되는데, aspartic acid, glutamic acid는 시료의 감칠맛을 내는 성분으로 알려졌다으며, leucine과 isoleucine은 씹슬한 맛에 영향을 줄 수 있다고 알려졌다. 본 결과에 따라 슬라이스 제품에 다량 함유되어 있는 aspartic acid와 glutamic acid가 트러플의 풍미에 크게 영향을 줄 것으로 사료된다.

표 39. 트러플 및 제품들의 유리아미노산 함량

(mg%)

	화이트트러플 슬라이스	블랙트러플 슬라이스	트러플 마요네즈	트러플 버터	트러플 페스토	트러플 생물
Aspartic acid	311.48± 32.67	86.85± 24.06	57.39± 9.44	31.5± 5.12	22.58± 1.01	208.26± 5.79
Glutamic acid	560.44± 97.74	160.87± 31.47	65.35± 15.26	39.52± 8.64	36.68± 2.05	42.78± 6.74
Serine	155.82± 30.98	76.25± 2.21	20.34± 3.51	12.46± 2.53	10.14± 0.94	152.18± 0.37
Histidine	151.09± 30.61	40.7± 6.31	12.75± 4.25	6.98± 2	4.59± 0.01	97.27± 0.65
Glycine	175.43± 48.87	47.38± 9.06	19.06± 4.43	13.56± 2.52	9.92± 1.16	95.81± 0.89
Threonine	169.16± 28.8	45.02± 8	17.44± 3.96	10.08± 2.35	7.24± 0.68	124.21± 1.85
Arginine	258.42± 49.78	66.32± 9.62	25.73± 5.06	17.46± 3.29	21.4± 0.76	255.12± 0.96
Alanine	251.47± 42.4	169.22± 4.37	31.72± 5.17	19.76± 3.28	14.46± 1.87	540.48± 4.23
Tyrosine	126.96± 23.47	31.22± 6.6	14.59± 3.35	6.42± 3.72	5.7± 0.81	95.01± 0.97
Cystine	726.68± 181.02	252.5± 13.33	49.08± 6.03	32.99± 2.96	43.42± 4.01	546.26± 7.07
Valine	180.53± 24.97	65.62± 7.86	22.96± 4.74	14.36± 3.07	11.1± 0.96	270.79± 1.96
Methionine	84.5± 16.59	32.36± 2.86	19.68± 0.37	18.65± 1.17	14.79± 1.01	116.51± 3.19
Phenylalanine	107.2± 19.14	28.7± 6.05	15.08± 3.04	9.16± 1.87	7.75± 0.74	70.15± 1.16
Isoleucine	130.05± 20.32	60.97± 3.51	18.62± 3	12.07± 2	9.82± 0.68	140.9± 1.34
Leucine	164.81± 33.73	42.29± 9.8	22.86± 4.81	13.86± 3	12.12± 1.16	119.95± 0.62
Lysine	279.05± 70.28	50.48± 11.75	14.81± 4.28	6.03± 1.51	3.14± 4.44	124.86± 6.27
TAA ¹⁾	3833.08± 751.36	1256.75± 148.11	427.47± 79.97	264.87± 49.04	234.86± 12.78	3000.54± 5.09
EAA ²⁾	1266.39± 244.45	366.14± 56.13	144.21± 27.72	91.19± 16.97	70.56± 9.69	1064.64± 3.21
EAA/TAA(% ³⁾)	33.05± 0.1	29.07± 1.04	33.72± 0.18	34.43± 0.03	29.97± 2.5	35.48± 0.05

¹⁾ TAA, total amino acid.

²⁾ EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+His+Lys).

³⁾ EAA/TAA(%), essential amino acid/total amino acid.

다). 구성아미노산 분석 결과

트러플 자실체와 트러플 관련 가공제품의 구성아미노산 결과는 표 40.과 같다. 모든 시료에서 16종의 아미노산이 검출되었으며, 주요아미노산은 cystine, lysine, glutamic acid, aspartic acid으로 나타났다. 총 구성아미노산 함량은 트러플 생물에서 177770.5 mg%로 가장 높게 나타났고, 트러플 버터가 557.02mg%로 가장 낮은 구성아미노산함량을 나타냈다. 그 중 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, histidine, phenylalanine의 8가지 성분의 총 함량은 159.81 ~ 6320.81mg%이었다. 필수아미노산 함량은 트러플 생물에서 6320.81 mg%, 화이트트러플 슬라이스에서 3580.01mg% 순으로 높게 나타났다.

표 40. 트러플 및 제품들의 구성 아미노산 함량

(mg%)

	화이트트러플 슬라이스	블랙트러플 슬라이스	트러플 마요네즈	트러플 버터	트러플 페스토	트러플 생물
Aspartic acid	914.32± 38.71	613.83± 83.93	241.83± 49.93	33.85± 4.17	476.47± 19.12	1477.47± 80.52
Glutamic acid	1133.52± 11.66	770.39± 130.57	248.75± 71.96	44.4± 9.96	803.4± 9.71	2340.67± 19.44
Serine	434.21± 15.62	337.22± 43.36	157.07± 30.14	21.75± 2.57	246.02± 2.17	725.42± 63.06
Histidine	365.26± 6.42	244.29± 33.48	83.21± 14.9	14.09± 1.29	189.94± 5.89	747.37± 61.77
Glycine	583.97± 26.82	310.82± 41.51	72.51± 12.61	11.35± 1.26	199.59± 2.13	748.38± 61.38
Threonine	469.45± 1.3	326.38± 40.83	117.02± 22.19	22.96± 2.01	238.11± 7.66	785.28± 19.96
Arginine	632.81± 15.83	324.54± 42.18	144.77± 22.16	21.38± 0.93	394.74± 11.38	829.8± 72.92
Alanine	467.48± 12.04	488.01± 67.81	128.24± 24.82	18.65± 1.94	232.92± 4.1	933.74± 37.3
Tyrosine	511.08± 6.96	231.25± 32.47	50.26± 9.61	8.2± 0.95	145.31± 3.27	623.54± 32.02
Cystine	1446.92± 66.68	1671.01± 171.39	660.7± 97.35	237.63± 0.05	603.15± 31.97	3770.67± 530.34
Valine	411.86± 2.05	333.19± 39.4	154.26± 29.38	20.3± 2	314.77± 10.67	828.07± 6.36
Methionine	193± 15.31	156.03± 21.75	32.43± 4.73	8.06± 0.23	117.79± 6.52	400.46± 26.72
Phenylalanine	330.02± 4.97	229.08± 27.72	115.72± 21.87	13.97± 1.4	240.6± 6.84	504.23± 17.49
Isoleucine	329.98± 0.42	323.04± 39.8	132.02± 25.67	20.44± 1.64	258.29± 7.19	623.57± 15.56
Leucine	474.58± 13.87	372.83± 47.6	186.1± 36.29	29.58± 2.83	401.19± 5.98	774.96± 56.22
Lysine	1005.86± 33.19	546.15± 60.18	214.94± 36.97	30.4± 0.1	421.52± 22.36	1666.86± 153.45
TAA ¹⁾	9704.31± 132.94	7278.04± 923.99	2739.83± 510.58	557.02± 30.81	5283.8± 137.55	17770.5± 1040.08
EAA ²⁾	3580.01± 39.36	2530.98± 310.77	1035.7± 191.99	159.81± 10.84	2182.22± 73.12	6320.81± 304.09
EAA/TAA(% ³⁾	36.89± 0.1	34.78± 0.15	37.81± 0.04	28.68± 0.36	41.3± 0.31	35.58± 0.37

¹⁾ TAA, total amino acid.

²⁾ EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+His+Lys).

³⁾ EAA/TAA(%), essential amino acid/total amino acid.

라). 핵산관련 물질 분석 결과

트러플 자실체와 트러플 관련 가공제품의 핵산 관련 물질 분석 결과는 표 41.과 같다. 화이트 트러플 슬라이스와 블랙 트러플 슬라이스, 트러플 생물에서만 5'-GMP가 검출되었다. 핵산 관련 물질은 화이트 트러플 슬라이스에서 6.12mg%로 가장 많은 양이 검출되었으며, 트러플 생물에서 5.09mg%, 블랙트러플 슬라이스에서 1.64mg% 순으로 높게 나타났다. 이러한 핵산 관련 물질의 경우 5'-GMP가 가장 강한 맛을 나타내며, 핵산물질의 함량은 건조방법과 건조 온도에 따라서 변한다고 보고된 바 있다.

표 41. 트러플 및 제품들의 핵산관련 물질 함량

(mg%)

	5'-GMP ¹⁾
화이트 트러플 슬라이스	6.12± 0.12 ²⁾
블랙 트러플 슬라이스	1.64± 0.07
트러플 마요네즈	-
트러플 버터	-
트러플 페스토	-
트러플 생물	5.09± 0.52

¹⁾ 5'-Guanosine monophosphate.

²⁾ All values are mean±SD.

[3차년도]

- 주관(전남산림자원연구소) : 트러플 접종묘 대량생산 조건 및 자생지 조사

가. 연구개발 수행방법

1). 접종묘 대량 생산을 위한 최적 조건 연구

가). 균주 확보 연구

(1) 자실체 현미경 관찰

(가) 자실체를 메스를 이용하여 얇게 자른 후 슬라이드 글라스에 샘플을 제작하여 광학현미경을 이용하여 자실체 단면 관찰(그림 71.)하여 자실체 단면내 다량의 포자 및 자낭확인



그림 71. 트러플 자실체 단면 현미경 관찰

(나) 자실체 조직분리 시험

- 자실체 내부조직을 떼어내어 PDA배지에 치상한 후 향온배양기(암배양, 25℃)에서 배양하면서 균사 확인 한 결과 균사 형성 안됨(그림 72.).

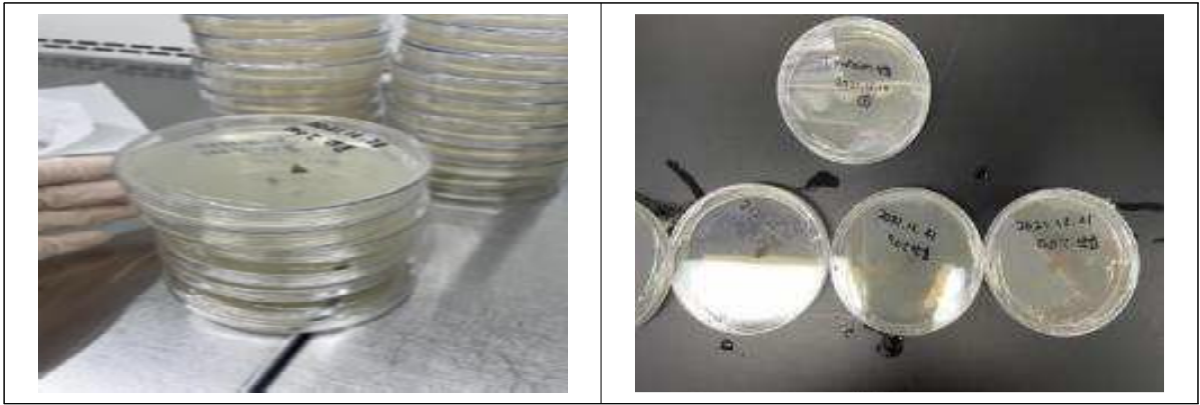


그림 72. 조직분리 후 배양 관찰

(다) 포자 발아

- 트러플 자실체를 호모게나이저를 이용하여 분쇄 후 멸균수에 3회 세척하고 감압장치를 이용하여 필터링하여 이물질을 최대한 제거하고 포자현탁액 제조(그림 73.).



그림 73. 자실체를 이용한 포자현탁액 제조

- 준비된 포자현탁액을 정제한 후 상층액을 이용하여 시료를 제작하여 광학현미경 관찰한 결과 포자낭은 모든 종에서 동일하게 관찰되었으며, 포자의 형태와 크기는 상이함(그림 74.).

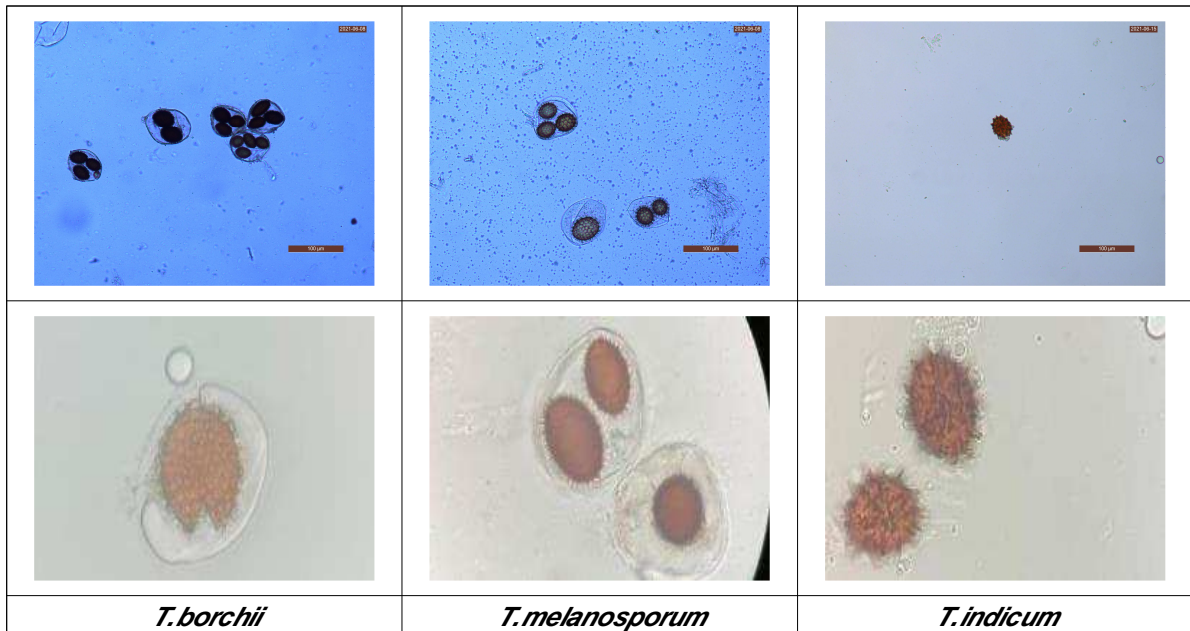


그림 74. 트러플 종별 포자 형태 관찰

- 포자현탁액으로부터 순수 분리된 포자를 배양하면서 균사생장을 광학현미경을 이용하여 관찰 결과 *T. indicum* 포자로부터 균사발아 확인(그림 75.).

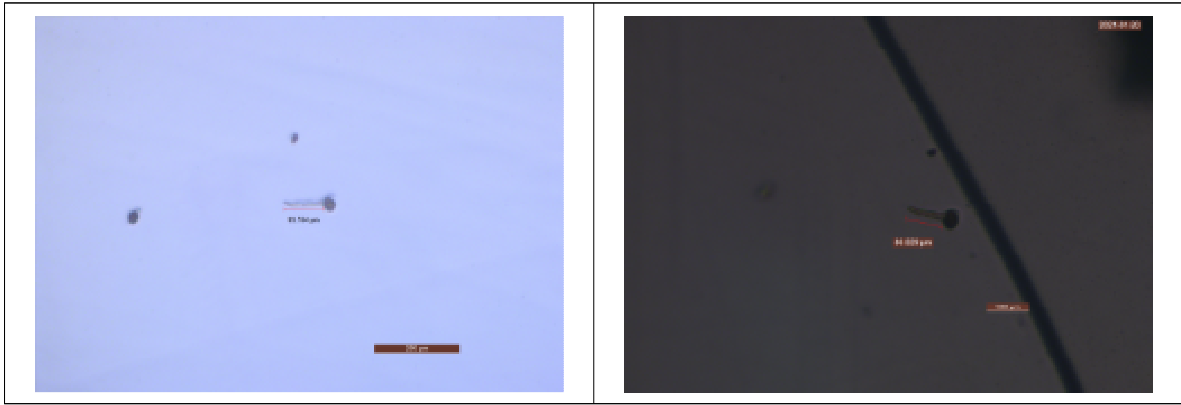


그림 75. 트러플 포자 발아 후 균사생장 모습

(라) 보유균주 계대배양

- 보유하고 있는 균주 2종을 균활력 유지 및 액체접종원 생산용 종균으로 사용하기 위해 계대 배양하면서 보관(그림 76.).

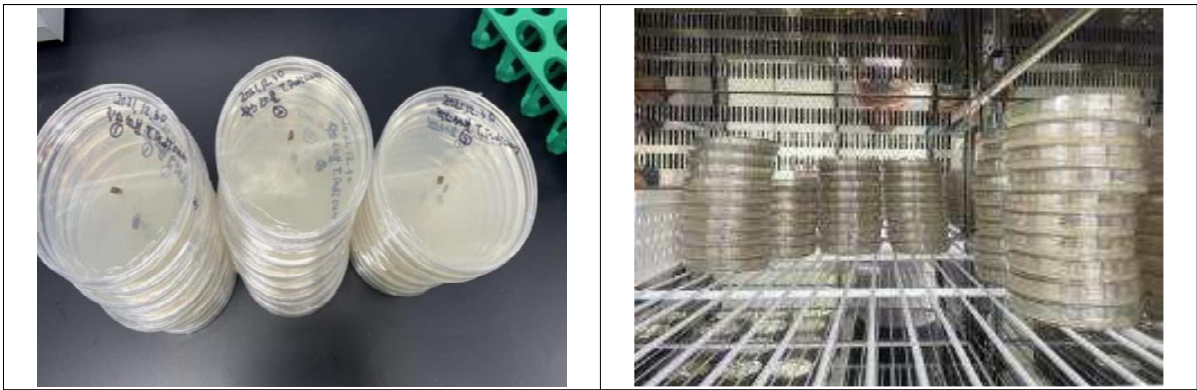


그림 76. 트러플 보유균주 계대배양 및 관리

나). 수종, 트러플 종에 따른 접종묘 생산 및 생육 연구

(1) 접종묘 생산 및 생육 관리

(가) 온실하우스내에서 수종별, 균주별 접종묘 생산

- 상수리, 개암, 종가시, 개가시의 유묘에 트러플 자실체 현탁액을 이용하여 접종한 후 온습도 관리 하면서 한달 간격으로 균근 형성 확인(그림 77., 78., 표 42.)



그림 77. 수종별, 균주별 접종묘 생산



그림 78. 수종별 접종묘 관리

표 42. 수종별 균주별 접종묘 목록

NO.	위치	수종	수량	접종균주	접종일자
1	접종묘생육실	종가시나무	5	<i>Tuber aestivum</i>	2021- 01- 18
2	접종묘생육실	종가시나무	4	<i>Tuber aestivum</i>	2021- 01- 18
3	접종묘생육실	종가시나무	4	<i>Tuber indicum</i>	2021- 01- 18
4	접종묘생육실	종가시나무	4	<i>Tuber magnatum</i>	2021- 01- 18
5	접종묘생육실	종가시나무	3	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 01- 18
6	접종묘생육실	상수리나무	1	<i>Tuber magnatum</i>	2021- 02- 08
7	접종묘생육실	상수리나무	1	<i>Tuber indicum</i>	2021- 02- 08
8	온실	상수리나무	63	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 04
9	온실	상수리나무	170	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 06
10	온실	가시나무	25	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 06
11	온실	가시나무	27	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 06
12	온실	상수리나무	104	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 28
13	온실	상수리나무	88	<i>Tuber indicum</i>	2021- 05- 31
14	온실	상수리나무	55	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 06- 09
15	온실	상수리나무	50	<i>Tuber borchii</i>	2021- 06- 09
16	온실	개암나무	5		수입접종묘
17	온실	상수리나무	14	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 07
18	온실	상수리나무	15	<i>Tuber borchii</i>	2021- 07- 07
19	온실	신갈나무	5	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 07
20	온실	신갈나무	5	<i>Tuber borchii</i>	2021- 07- 07
21	온실	떡갈나무	2	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 07
22	온실	떡갈나무	2	<i>Tuber borchii</i>	2021- 07- 07
23	온실	밤나무	2	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 07
24	온실	줄참나무	3	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 23
25	온실	줄참나무	3	<i>Tuber borchii</i>	2021- 07- 23
26	온실	굴참나무	1	<i>Tuber melanosporum</i>	2021- 07- 23
27	온실	상수리나무	1	<i>Tuber borchii</i>	2021- 07- 23
28	온실	개암나무	4	<i>Tuber indicum</i>	2021- 07- 23
29	온실	굴참나무	1	<i>Tuber himalayensis</i>	2021- 10- 20
30	온실	신갈나무	1	<i>Tuber koreanum.</i>	2021- 10- 20
		계		668본	

(나) 접종묘 월별 균근 형성 확인



그림 79. 접종묘 균근형성 현미경 관찰

(2) 접종묘 생산을 위한 유묘 육성

무균묘 생산을 위해 종자를 파종하기 전에 미리 락스를 이용하여 종자의 표면을 살균하였으며, 파종할 토양은 질석과 펄라이트를 8:2비율로 혼합한 후 121℃에서 15분간 멸균한 후 충분히 식히고 미리 준비된 종자를 파종하고 온실하우스내에서 관리(그림 80.).



그림 80. 수종별 유묘 생산(상수리, 개가시)

2). 국내 트러플 자생지 조사

가) 국내 자실체 발생 예상지 조사

(1) 트러플 자생예정지 조사

(가) 석회암 지대를 중심으로 조사지를 선정하고 조사지 내 토양 및 균근 시료 채취, 조사지역은 근처에 시멘트공장이 있는 지역으로 석회암지대임(그림 81).



그림 81. 트러플 자생지에정지 조사(장성)

(나) 조사지내 수집토양 산도 조사

채취한 토양은 산도측정기를 이용하여 산도를 측정하였으며, 3반복 후 평균치 조사

표 43. 조사지내 토양 산도 측정

조사구	기주	산도	비고
장성(월선봉)	상수리	6.54	
	상수리	5.86	
	신갈나무	6.02	

- 조사지내 수집균근 및 토양 NGS 분석 의뢰 중

나) 국내 자실체 발생지 환경특성 조사

(1) 트러플 자실체 발생지(4개소) 환경특성 조사

표 44. 트러플 발생지 토양 특성 조사표

구분	입도분석				산도 (pH)	유효인산 (mg/kg)	치 환성 양 이온 (cmol/kg ⁻¹)			
	모래(%)	미사(%)	점토(%)	토성			K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
경주	76.5	18.1	5.5	LS (양질사토)	4.8	40.3	0.17	0.10	3.94	1.13
포항	42.9	34.0	23.1	L(양토)	6.0	44.1	0.37	0.63	29.67	14.54
울진	73.2	20.4	6.4	SL (사질양토)	4.9	25.0	0.21	0.10	4.19	1.53
단양	30.8	52.8	16.4	SIL (미사질양토)	7.8	52.7	0.78	0.05	29.57	9.33

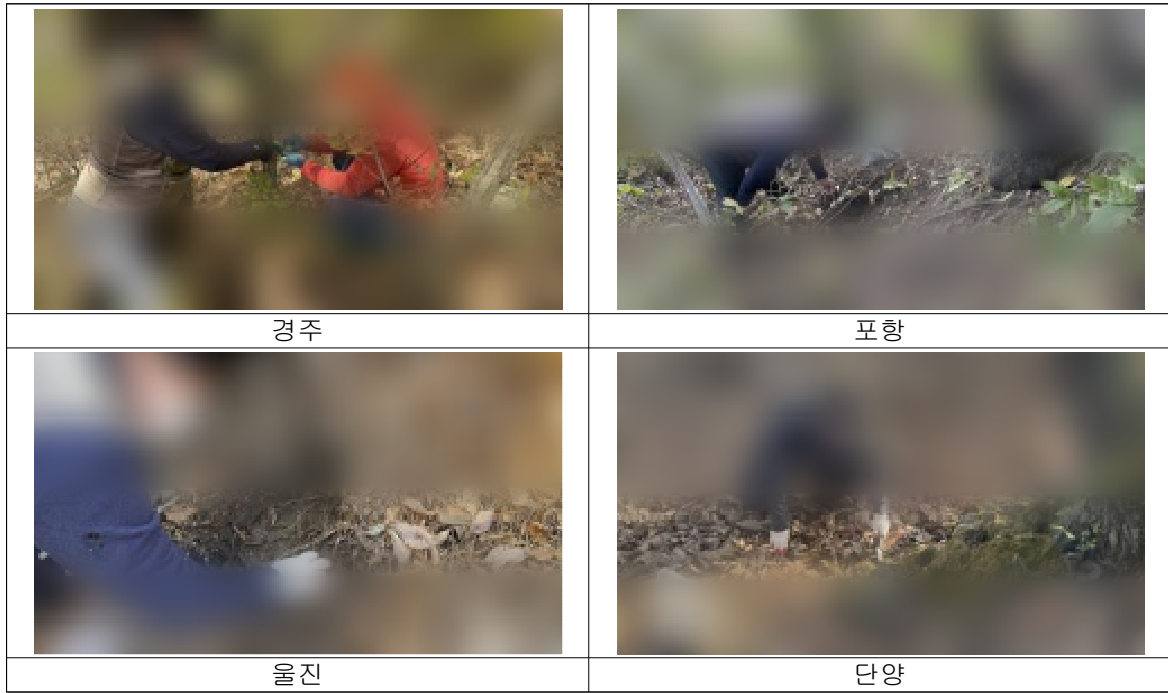


그림 82. 트러플 자생지 조사

(2) 조사지 교목층 식생특성 조사

트러플 자생지를 대상으로 하여 자생지내 20*20m의 조사구내 목본류를 조사한 결과, 경주지역에서 가장 다양한 수종(곰솔, 졸참나무, 상수리, 아까시나무, 자귀나무, 때죽나무, 물푸레나무, 벚나무 등 7종), 포항지역에서는 2수종(굴참나무, 굴피나무)이 분포하고 있었으며, 울진(소나무), 단양(떡갈나무)로 구성됨(그림 83.).

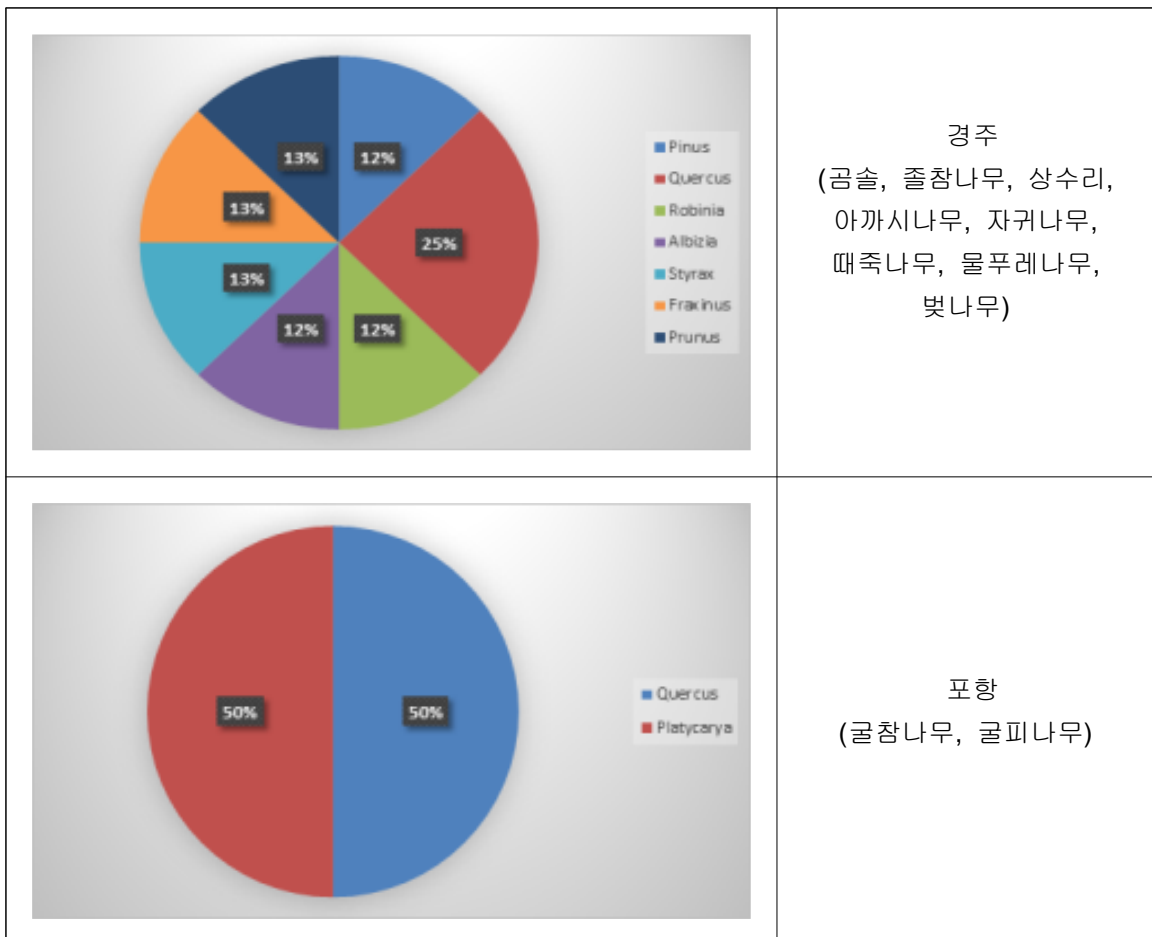
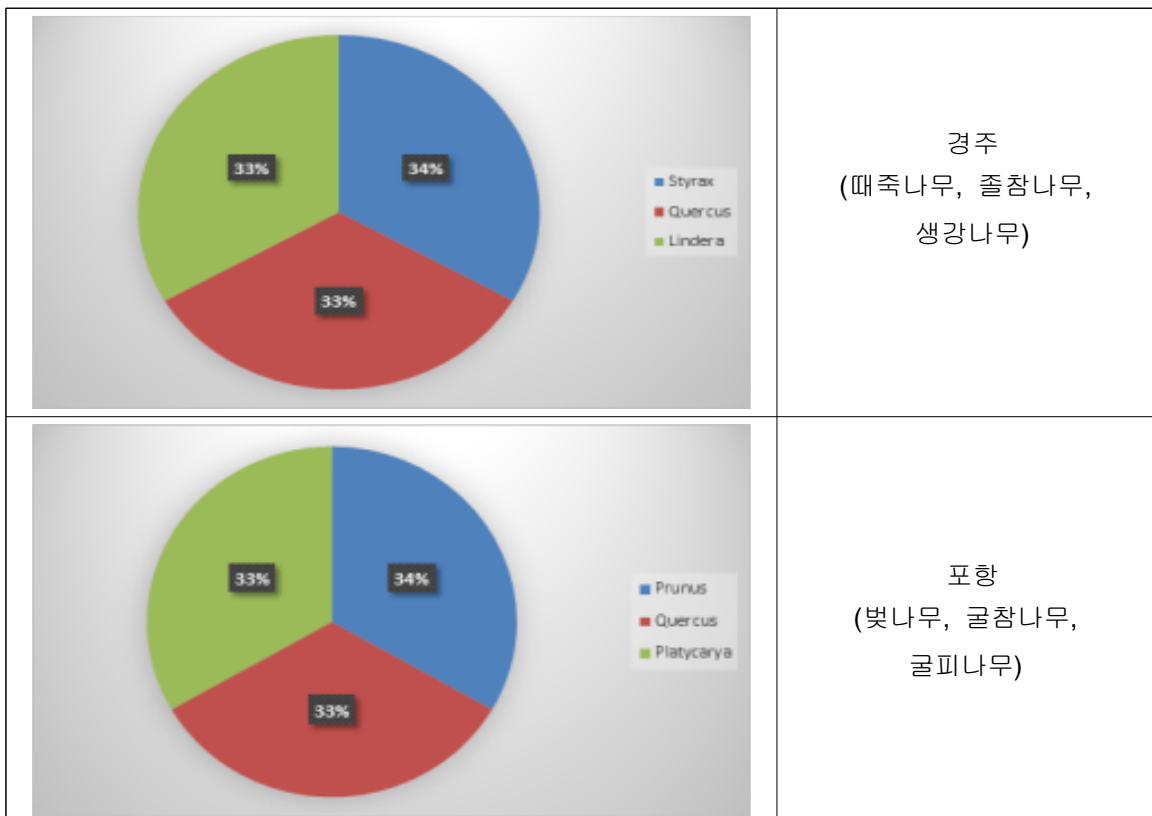




그림 83. 트러플 자생지 내 교목층 수종분포도

(3) 조사지내 아교목층 식생특성 조사

트러플 자생지를 대상으로 하여 자생지내 20*20m의 조사구내 아교목층을 조사한 결과, 경주지역에서는 3종(때죽나무, 졸참나무, 생강나무), 포항지역에서는 3종(벗나무, 굴참나무, 굴피나무), 울진지역에서는 9종(떡갈나무, 개울나무, 생강나무, 당단풍, 졸참나무, 쪽동백, 굴참나무, 밤나무, 벗나무), 단양에서는 5종(고욤나무, 붉나무, 칩, 으름덩굴, 뽕나무)로 구성됨(그림 84.).



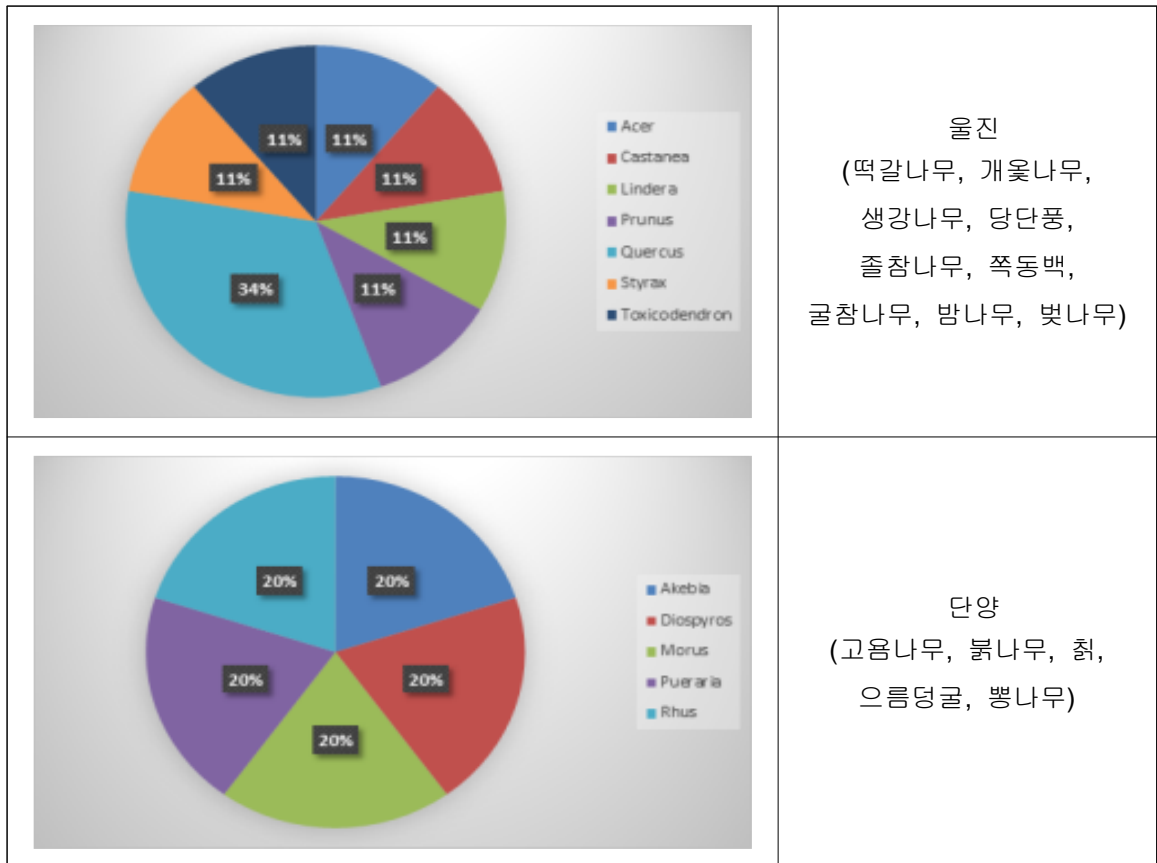


그림 84. 트러플 자생지 내 아교목층 분포도

(4) 조사지내 관목층 식생특성 조사

트러플 자생지를 대상으로 하여 자생지내 20*20m의 조사구내 관목층을 조사한 결과, 경주지역에서는 16종(병꽃나무, 생강나무, 작살나무, 쥐똥나무, 초피나무, 덜꿩, 조릿대, 조록싸리, 족제비싸리, 개울나무, 청리매덩굴, 화살나무, 감태나무, 노간주나무, 철쭉나무), 포함지역에서는 3종(떡갈나무, 졸참나무, 조록싸리), 울진지역에서는 10종(산철쭉, 당단풍, 싸리나무, 회나무, 화살나무, 국수나무, 병꽃나무, 진달래, 생강나무, 말발도리), 단양에서는 5종(화살나무, 산딸기, 광대싸리, 팽나무, 뽕나무)로 구성됨(그림 85.).

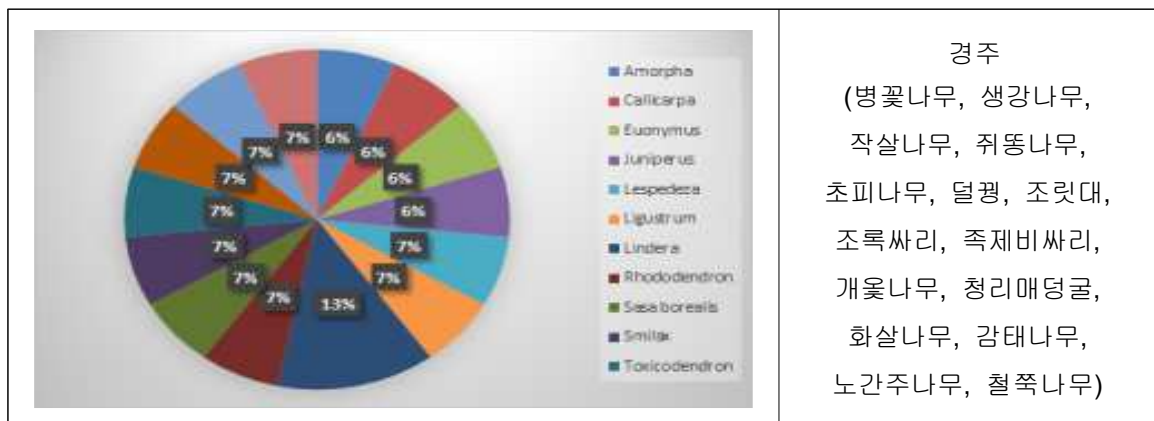




그림 85. 트러플 자생지 내 관목층 분포도

(5) 조사지내 초본층 식생특성 조사

트러플 자생지를 대상으로 하여 자생지내 20*20m의 조사구내 초본층을 조사한 결과, 경주지역에서는 12종(비목, 기름새, 주름조개풀, 애기나리, 산죽제비고사리, 감태, 쇠물푸레, 자귀, 계요등, 으름덩굴, 왁살고사리, 그늘사초), 포항지역에서는 16종(굴피, 미국가막사리, 이고들빼기, 닭의장풀, 그늘사초, 산국, 새, 개머루, 썩, 망초, 장대나물, 맑은대썩, 자귀나무, 쥐똥나무, 화살, 초피), 울진지역에서는 13종(풀비름대, 실사초, 새, 산철쭉, 왁살고사리, 죽도리풀, 달뿌리풀, 청가시덩굴, 대사초, 죽제비고사리, 양지꽃, 참취, 조록싸리), 단양에서는 10종(망초, 산국, 사위질빵, 인동덩굴, 강아지풀, 찔레꽃, 멧석딸기, 썩, 땃땃이덩굴, 큰기름새)으로 구성됨(그림 86.).

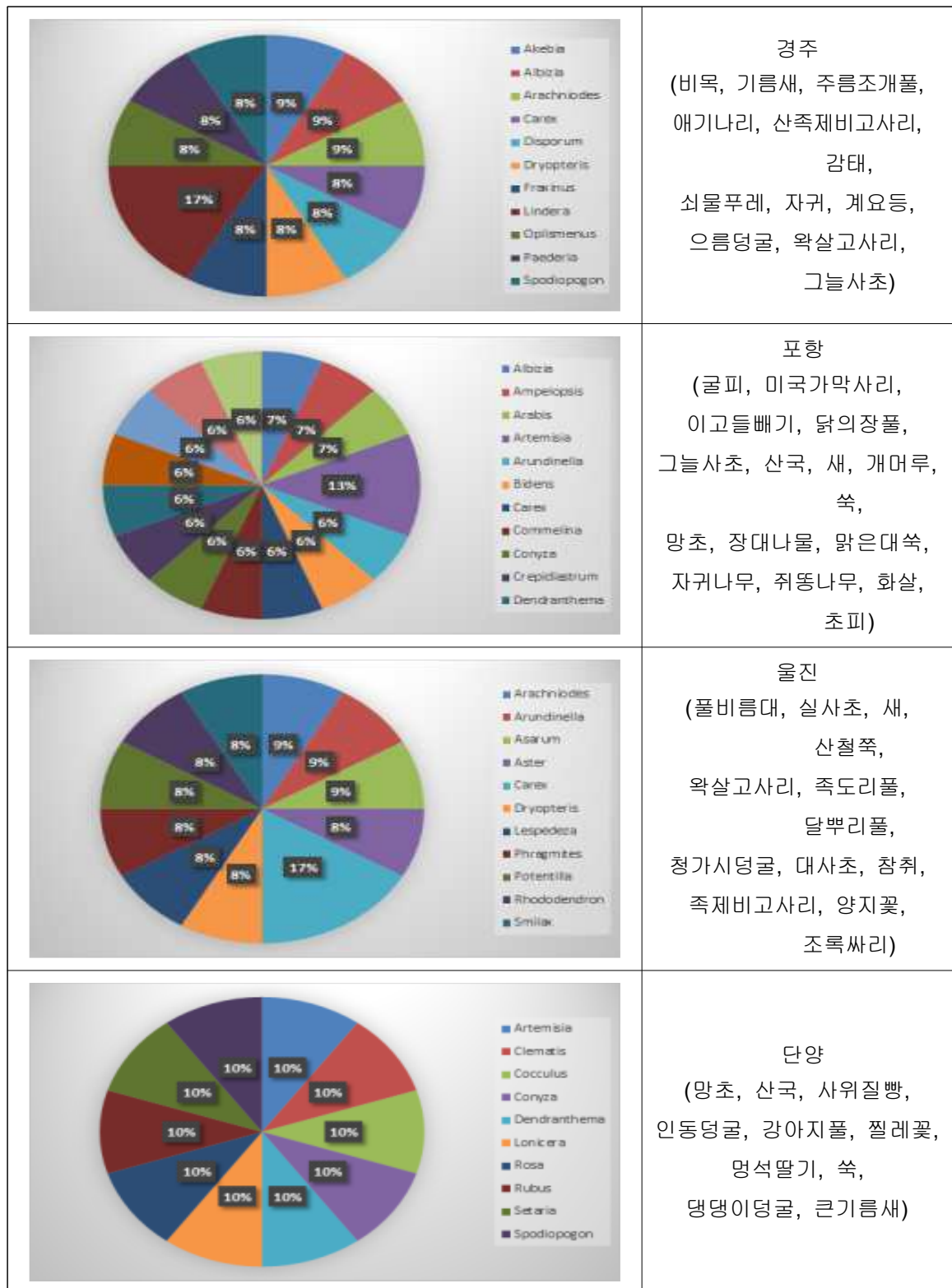


그림 86. 트러플 자생지 내 초본층 분포도

표 45. 트러플 자생지(경주) 임황·지황 조사표

표준지 임황·지황 조사표						
조사일자	11월 11일	표본점 크기	10*10m	조사자	백민주	
표본점 위치						
표준지번호	1		사진번호			
소재지	도	경주군(시)	외동읍	모항리 산 13(원원사주변)		
현지취득 GPS 좌표	N	35° 41.8700'	" E	129° 21.0740'	"	
지황조사						
해발고	238 m	경사	35°	방위	N45E	토성
지형	a. 평탄지 / 완구릉지 / 산록 / 산복 / 산정 / () b. 능선 / 계곡 / 상 / 중 / 하() c. 경사지 / 평탄지 / 암반 / 암석지 / ()				토양수분	건조/약건/적윤/약습/습
지종	사업지 / 사업제한지		토양형			토심
암석 노출도	0 - 10 - 30 - 50 - 75%				침식상태	無, 표층A, 심층B
지리	0 - 100 - 200 - 300 - 400 - 500 - 600 - 700 - 800 - 900 - ~				지위	임상별 지위지수 적용
임황조사						
토지이용	산림 : 임목지 / 미임목지 / 제지 비산림 : 경작지 / 초지 / 습지 / 주거지 / 기타()					
임상	침엽수림 / 활엽수림 / 혼효림	수관밀도	1 / 2 / 3 / 4 + 드론촬영			
경급(50%)	치수, 소경목, 중경목, 대경목	영급	생장추 조사			
소유	국유림 / 공유림 / 사유림	임종	천연림 / 인공림			
지종	사업지 / 사업제한지		갱신형태	조림 / 천연하종 / 맹아 / 기타		
임분상태 및 하층식생 등 서술						
기타						
5년간 사업이력	있음()/없음					
임분피해	피해종류	덩굴 / 기상 / 산불 / 병해충 / 기타(소나무 재선충)			피해정도	(상, 중, 하)
	별근조사	0		고사목조사		
박피/공동	있음 / 없음 / 내용()					
특이사항						

표 45. 트러플 자생지(단양) 임황·지황 조사표(계속)

표준지 임황·지황 조사표						
조사일자	11월	12일	표본점 크기	10*10m	조사자	백민주

표본점 위치

표준지번호	4			사진번호		
소재지	도	단양군(시)		매표읍	고양리 138	
현지취득 GPS 좌표	N	37°	4' 42.7116"	E	128°	16' 40.70532"

지황조사

해발고	252 m	경사	5°	방위	S60°W	토성	
지형	a. 평탄지/ 완구릉지 / 산록 / 산복 / 산정 / (요철형) b. 능선 / 계곡 / 상 / 중 / 하() c. 경사지 / 평탄지 / 암반 / 암석지 / ()					토양수분	건조/약건/적윤/약습/습
지종	사업지 / 사업제한지		토양형			토심	
암석노출도	0 - 10 - 30 - 50 - 75%					침식상태	無, 표층A, 심층B
지리	0 - 100 - 200 - 300 - 400 - 500 - 600 - 700 - 800 - 900 - ~					지위	임상별 지위지수 적용

임황조사

토지이용	산림 : 임목지 / 미임목지 / 제지 비산림 : 경작지 / 초지 / 습지 / 주거지 / 기타()						
임상	침엽수림 / 활엽수림 / 혼효림	수관밀도	1 / 2 / 3 / 4 + 드론촬영				
경급(50%)	치수, 소경목, 중경목, 대경목	영급	V				
소유	국유림 / 공유림 / 사유림		임종	천연림 / 인공림			
지종	사업지 / 사업제한지		갱신형태	조림 / 천연하종 / 맹아 / 기타			
임분상태 및 하층식생 등 서술							

기타

5년간 사업이력	있음()/없음						
임분피해	피해종류	덩굴 / 기상 / 산불 / 병해충 / 기타(소나무 재선충)			피해정도	(상, 중, 하)	
	벌근조사	0		고사목조사			
박피/공동	있음 / 없음 / 내용()						
특이사항							

표 45. 트러플 자생지(울진) 임황·지황 조사표(계속)

표준지 임황·지황 조사표						
조사일자	11월 12일	표본점 크기	10*10m	조사자	백민주	

표본점 위치

표준지번호	3		사진번호			
소재지	도	울진군(시)	복읍	덕구리 산 255		
현지취득 GPS 좌표	N	37° 41.8700'	" E	129° 21.0740'	"	

지황조사

해발고	122 m	경사	41°	방위	S60W	토성	
지형	a. 평탄지 / 완구릉지 / 산록 / 산복 / 산정 / () b. 능선 / 계곡 / 상 / 중 / 하 () c. 경사지 / 평탄지 / 암반 / 암석지 / ()					토양수분	건조/약건/적윤/약습/습
지종	사업지 / 사업제한지		토양형			토심	
암석출도	0 - 10 - 30 - 50 - 75%					침식상태	無, 표층A, 심층B
지리	0 - 100 - 200 - 300 - 400 - 500 - 600 - 700 - 800 - 900 - ~					지위	임상별 지위지수 적용

임황조사

토지이용	산림 : 임목지 / 미임목지 / 제지 비산림 : 경작지 / 초지 / 습지 / 주거지 / 기타()						
임상	침엽수림 / 활엽수림 / 혼효림	수관밀도	1 / 2 / 3 / 4 + 드론촬영				
경급(50%)	치수, 소경목, 중경목, 대경목	영급	V				
소유	국유림 / 공유림 / 사유림		임종	천연림 / 인공림			
지종	사업지 / 사업제한지		갱신형태	조림 / 천연하종 / 맹아 / 기타			
임분상태 및 하층식생 등 서술							

기타

5년간 사업이력	있음()/없음						
임분피해	피해종류	덩굴 / 기상 / 산불 / 병해충 / 기타(소나무 재선충)				피해 정도	(상, 중, 하)
	벌근조사	0		고사목조사			
박피/공동	있음 / 없음 / 내용()						
특이사항							

표 45. 트러플 자생지(포항) 임황·지황 조사표(계속)

표준지 임황·지황 조사표						
조사일자	11월 11일	표본점 크기	10*10m	조사자	백민주	

표본점 위치

표준지번호	2		사진번호			
소재지	도	포항군(시)	구룡포읍	성동리 산 41		
현지취득 GPS 좌표	N	35° 41.8700'	" E	129° 21.0740'	"	

지황조사

해발고	26 m	경사	41°	방위	S60W	토성	
지형	a. 평탄지/ 완구릉지 / 산록 / 산복 / 산정 / (요철형) b. 능선 / 계곡 / 상 / 중 / 하() c. 경사지 / 평탄지 / 암반 / 암석지 / ()					토양수분	건조/약건/적윤/약습/습
지종	시업지 / 시업제한지		토양형			토심	
암석출도	0 - 10 - 30 - 50 - 75%					침식상태	無, 표층A, 심층B
지리	0 - 100 - 200 - 300 - 400 - 500 - 600 - 700 - 800 - 900 - ~					지위	임상별 지위지수 적용

임황조사

토지이용	산 림 : 임목지 / 미임목지 / 제지 비산림 : 경작지 / 초지 / 습지 / 주거지 / 기타()						
임상	침엽수림 / 활엽수림 / 혼효림	수관밀도	1 / 2 / 3 / 4 + 드론촬영				
경급(50%)	치수, 소경목, 중경목, 대경목	영급	생장추 조사				
소유	국유림 / 공유림 / 사유림		임종	천연림 / 인공림			
지종	시업지 / 시업제한지		갱신형태	조림 / 천연하종 / 맹아 / 기타			
임분상태 및 하층식생 등 서술							

기타

5년간 시업이력	있음()/없음						
임분피해	피해종류	덩굴 / 기상 / 산불 / 병해충 / 기타(소나무 재선충)				피해정도	(상, 중, 하)
	벌근조사	0		고사목조사			
박피/공동	있음 / 없음 / 내용()						
특이사항							

3). 트러플 접종묘 현장실증 연구 대상지 확보

가) 현장실증 시험지 확보

(1) 트러플 현장실증 대상지 선정

연구소내에서 트러플 접종묘 현장실증을 위한 시험지를 조사하였으며, 경사가 완만하고, 광량, 배수, 토양산도, 토성 등을 고려하여 2곳을 선정하였으며, 토양개량을 위해 석회를 살포하여 토양 산도 조절을 실시함(그림 86.).



그림 86. 본소 내 트러플 현장실증 시험 대상지 선정

표 46. 현장실증 대상지 산도 조사

	1	2	3	평균
실증재배지 1	5.41	5.68	5.85	5.65
실증재배지 2	4.6	4.5	4.8	4.63

(2) 현장실증을 위한 기반시설 및 적합환경 조성 계획 수립 중

배수로 설치, 복토(마사토), 산도 조절(석회 살포), 비닐멀칭, 고랑 설치 등

4). 트러플 접종묘 대량생산 및 현장실증 연구(위탁:송강버섯 주식회사)

가) 접종묘 대량생산 연구

(1) 수종별 유묘 육성

(가) 실생묘 생산 : 개암, 상수리 대상 종자 파종 및 실생묘 생산

상수리의 경우 발아율이 85%로 매우 높았으며, 개암은 10%미만으로 발아율이 매우 낮음.



그림 89. 수종별 실생묘 생산

(나) 삼목묘 생산 : 개암나무 모수의 가지를 채취하여 발근제를 처리하고 삼목 후 발근 확인
 종자발아율이 낮은 개암나무를 대상으로 하여 삼목에 따른 발근율을 조사한 결과 발아율과 마찬가지로 발근율도 매우 저조하였음(그림 90.).



그림 90. 개암나무 삼목묘 생산

(2) 접종방법별 접종묘 생산

(가) 현탁액 제조 : 자실체 멸균을 위해 2가지 방법(락스 처리, 고온 처리)을 이용하여 멸균한 후 멸균수에 자실체를 넣고 믹서기로 5초간 분쇄

(나) 접종 : 준비된 실생묘에 현탁액을 직접 10ml씩 주입한 후 한 달 간격으로 균근 확인



그림 91. 접종묘 대량생산

나) 접종묘 대량생산 시설 확충 및 실증 연구 시험지 대상지 조사(위탁:송강버섯 주식회사)

(1) 접종묘 대량생산 시설 확충

(가) 기존 생산시설 내 추가적으로 바닥재 및 선반 설치



그림 92. 접종묘 대량생산 시설 설치

(2) 실증 연구 시험 대상지 조사(위탁:송강버섯 주식회사)

(가) 확보된 접종묘 현장실증 연구를 위한 적합한 부지 조사 및 선정

(나) 부지 선정 후 배수로 설치, 토양산도 조절, 제초 작업 추진 중



그림 93. 현장실증 연구를 위한 부지 선정

다). 수입 접종묘 격리재배 관리(위탁:송강버섯 주식회사)

(1) 온·습도 관리 및 병해충 방제

(가) 온·습도 관리 : 여름철 고온피해 방지를 위해 주기적인 환기 및 차광시설 점검을 실시하였으며, 고사방지를 위해 하루 2회 관수 실시함.

(나) 병해충 방제 : 주기적으로 나무 병충해를 확인하였으며, 병해충 예방을 위해 분기별로 약제처리를 하였으며, 병해충 발견시 추가적으로 약제 살포함(그림 94.).



그림 94. 온습도 및 병해충 방제 모습

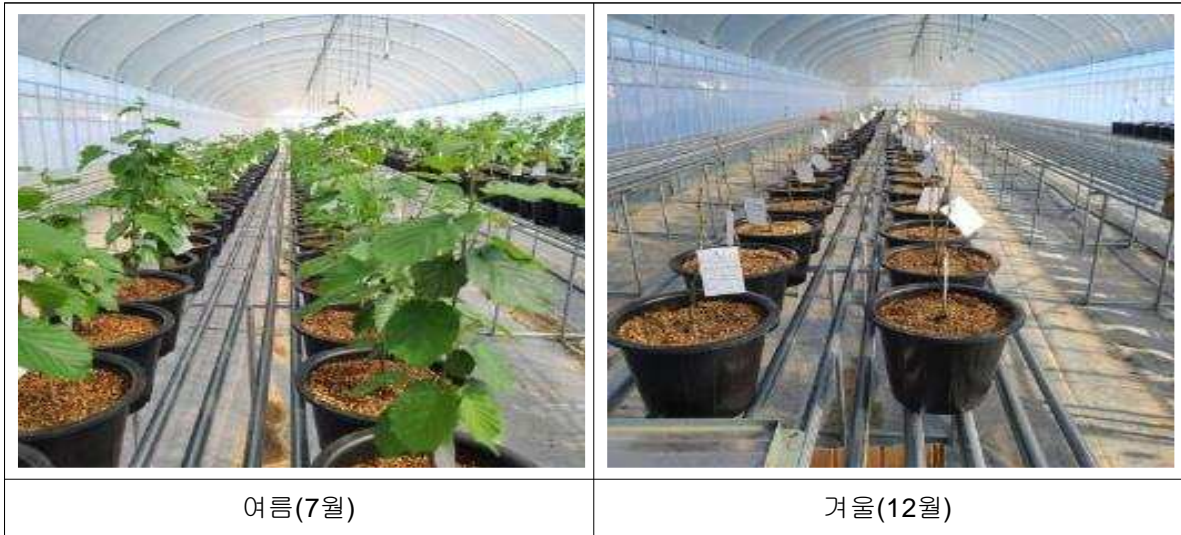


그림 95. 수입접종묘 시기별 상태

(2) 격리재배 심사(위탁:송강버섯 주식회사)

(가) 국립식물검역원에서 2회 심사 후 격리재배 해제 완료('21. 11. 12.)

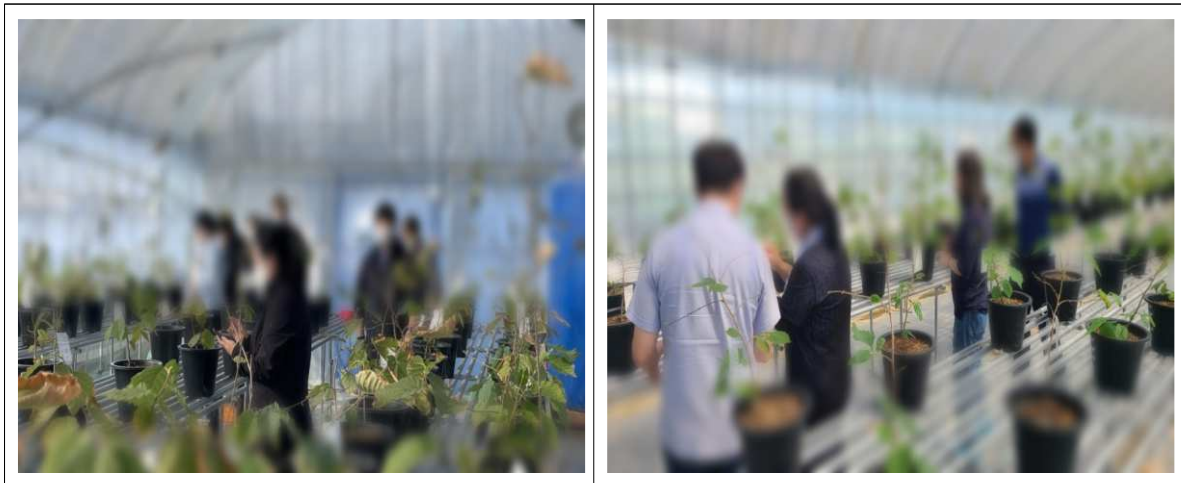


그림 96. 격리재배 심사 모습

(나) 격리재배 해제 후 온습도 관리 및 동해방지를 위해 바닥으로 이동



그림 97. 격리재배 해지 후 동해방지 관리 모습

- 제1공동(한국교원대학교) : 국내 트러플 자생지 환경조건 규명 및 인공재배 접종묘 대량 생산기술 최적화

가. 연구개발 수행방법

1). 국내 자생 트러플 균주의 순수분리 및 대량생산

가) NGS 및 외생균근 분석

- (1) 뿌리 NGS 분석정보를 바탕으로 국내에서 자생 트러플 외생균근이 존재하는 지역 확인
- (2) 3개 지역에서 2종의 트러플 자실체 확보
 - (가) *Tuber huidongense*: 경북 포항시 떡갈나무 근권
 - (나) *Tuber koreanum*: 경북 경주시, 경북 문경시 갈참나무 근권

표 47. 3차년도 NGS 및 외생균근 분석 정보

채집지		숙주식물	뿌리 NGS	Root tip sequencing
강원	영월(남면)	소나무	<i>Tuber</i> sp.	
	영월(무릉도원면)	참나무	<i>Tuber_uc</i>	
	삼척	참나무	<i>Tuber</i> sp.	
충남	천안	참나무	<i>Tuber</i> sp.	
경북	문경	참나무	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.
	울진	참나무	<i>Tuber</i> sp.	
	의성(안사면)	소나무	<i>Tuber</i> sp.	
	의성(신평면)	소나무	<i>Tuber</i> sp.	
충북	단양(적성면)	참나무	<i>Tuber</i> sp.	<i>Tuber</i> sp.

표 48. 3차년도 국내 자생 트러플류 균주 확보 현황

균주번호	species	채집지	숙주식물	Accession No. (NCBI)	ident(%)
GB21001	<i>Tuber huidongense</i>	포항	떡갈나무	MT940570.1	100%
GB21002	<i>Tuber koreanum</i>	문경	갈참나무	OK275104.1	99.69%
GB21008	<i>Tuber koreanum</i>	경주	갈참나무	AB553502.1	99.80%

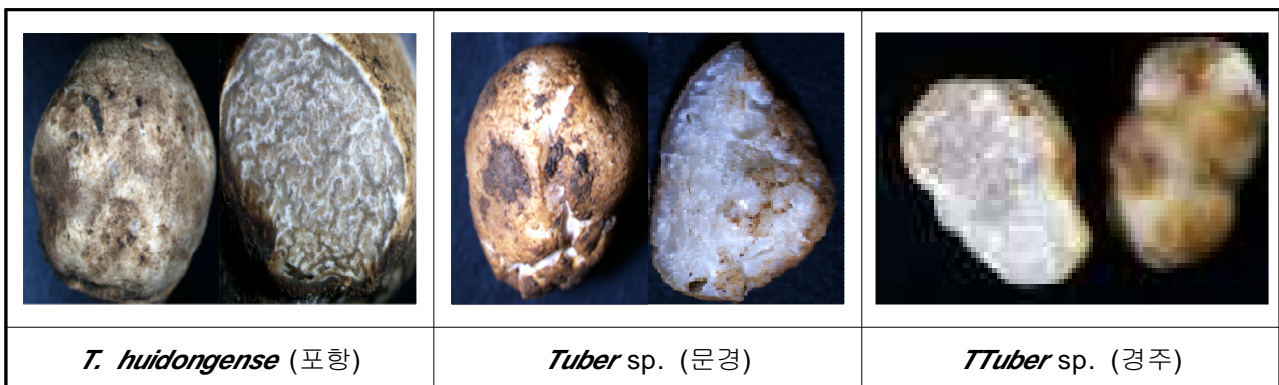


그림 98. 국내 자생 트러플 자실체

나) 트러플 접종묘 제작 및 대량생산

(1) 접종묘 생산을 위한 균주 확보

(가) 직접 채취를 통한 국내 트러플 자실체 확보

- 3종 [*T. huidongense* (포항), *T. koreanum*.(경주, 울진, 문경), *T. himalayense* (단양)]

(나) 수입을 통한 해외 트러플 자실체 확보

- 5종 [*T. indicum*, *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. borchii*, *T. magnatum*]









		
<i>T. huidongense</i> 자실체	<i>T. koreanum</i> 자실체	<i>T. himalayense</i> 자실체
		
<i>T. indicum</i> 자실체	<i>T. melanosporum</i> 자실체	<i>T. aestivum</i> 자실체
		
<i>T. borchii</i> 자실체	<i>T. magnatum</i> 자실체	

그림 99 . 수입을 통한 해외 트러플 자실체

(2) 숙주식물 유묘 확보

(가) 구입, 직접 채취 등을 통하여 종자 확보(국내 자생 참나무류, 개암나무)

(나) 표면살균 후 플라스틱 포트(160ml)에 멸균된 토양과 함께 무균 상태로 배양

(다) 균주 접종이 가능해질 때까지 2~3개월 정도 온실에서 생육



그림 100. 트러플 접종묘 유묘 확보

(3) 트러플 자실체를 식물의 뿌리에 접종하여 접종묘 제작

(가) 자실체를 멸균된 토양과 혼합하여 무균 배양된 유묘 뿌리에 접종

(나) 참나무류에 국내, 국외 트러플 자실체를 접종하여 2021년도 600개 이상의 접종묘 생산

(다) 현재 총 1,200개 이상의 접종묘 확보



그림 101. 트러플 접종묘 생산

표 49. 3차년도 트러플 접종묘 확보 현황

Truffle species		접종묘 개체수	
		3차년도	합계
<i>T. borchii</i>	수입	191	222
<i>T. indicum</i>	수입	20	120
<i>T. melanosporum</i>	수입	333	473
<i>T. aestivum</i>	수입	0	167
<i>T. magnatum</i>	수입	0	53
<i>T. himalayense</i>	자생	59	90
<i>T. huidongense</i>	자생	18	28
<i>T. koreanum</i>	자생	65	85
합계		686	1,238

(1) 균근 형성 확인

(가) 접종묘 균근 감염 확인

- 온실 순수배양실에서 2020년 4월 ~ 2021년 10월 동안 배양 후 균근 감염 확인(그림 102.)
- *T. huidongense* 접종묘의 균근 형성 비율이 100%로 가장 높았고, *T. magnatum* 접종묘는 감염이 확인되지 않음.



그림 102. 균근 형성 확인

다) 국내 트러플의 외생균근 특성 파악

(1) *Tuber huidongense*



그림 103. 상수리나무에 형성된 *T. huidongense* 균근

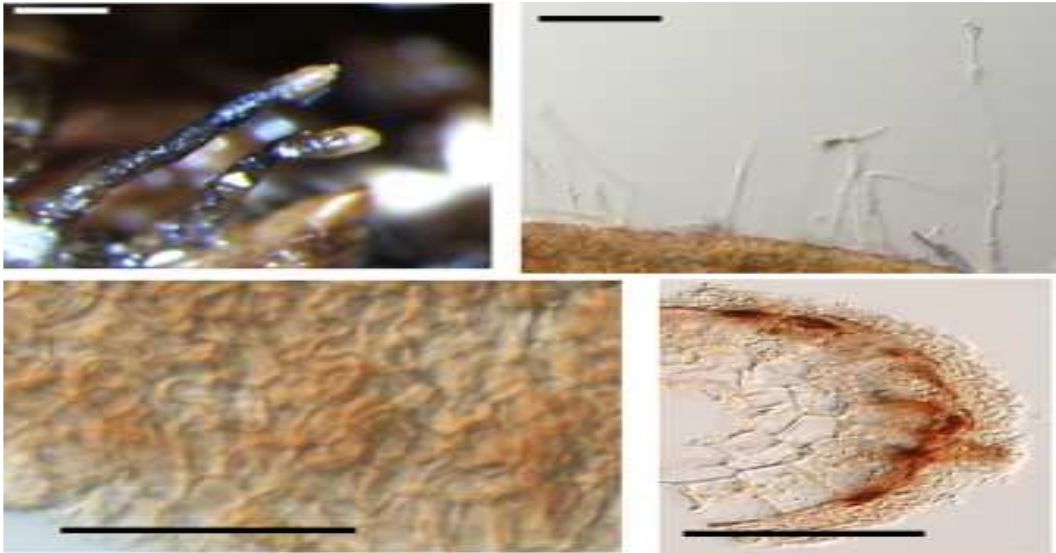


그림 104. 떡갈나무에 형성된 *T. huidongese* 균근

(2) *Tuber himalayense*

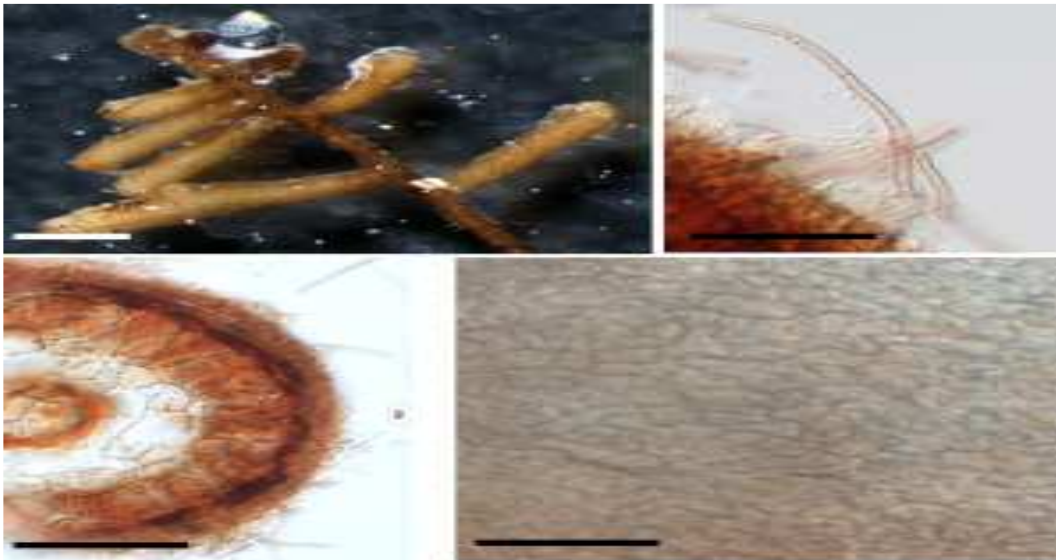


그림 105. 상수리나무에 형성된 *T. himalayense* 균근

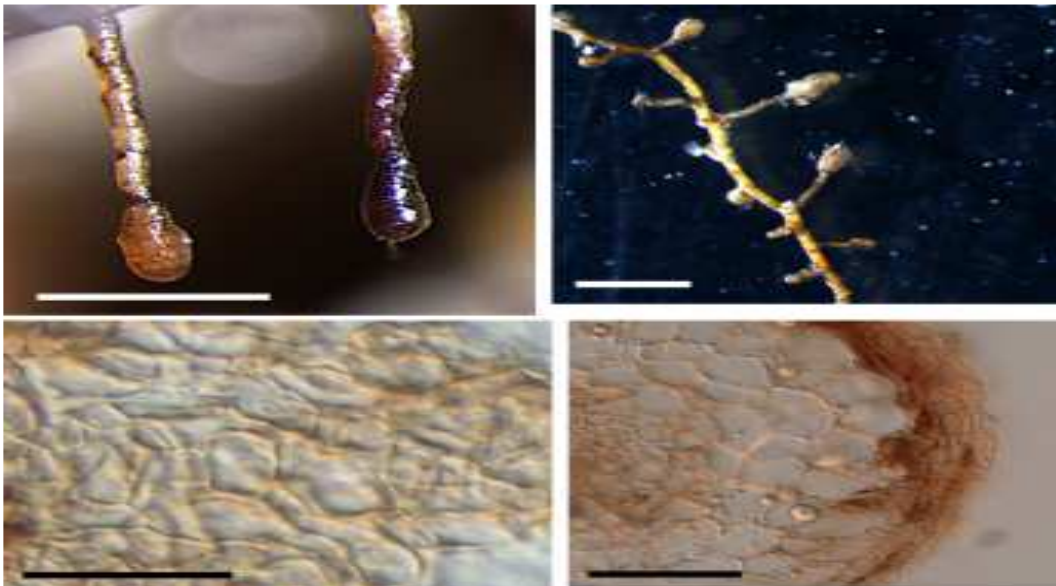


그림 106. 떡갈나무에 형성된 *T. himalayense* 균근

(3) *Tuber koreanum*

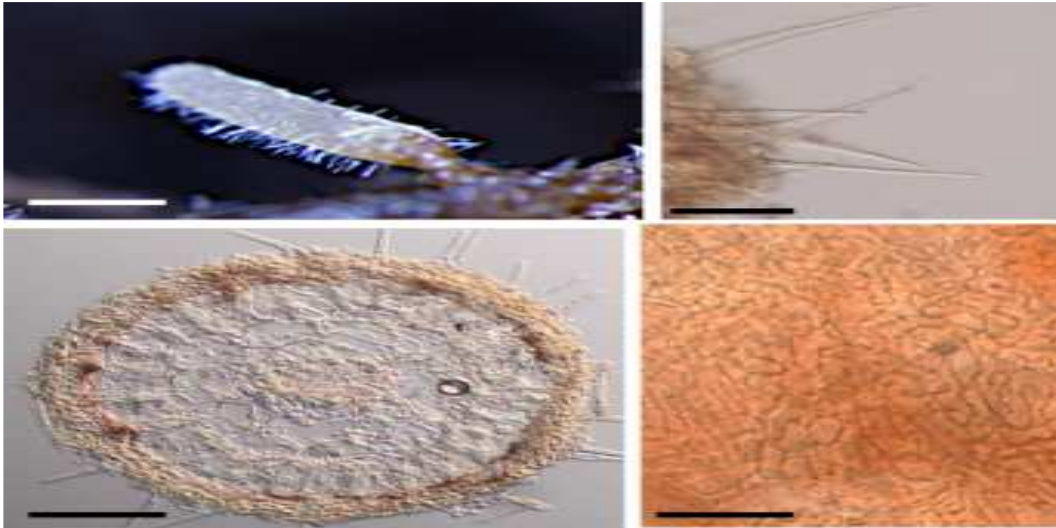


그림 107. 상수리나무에 형성된 *T. koreanum* 균근

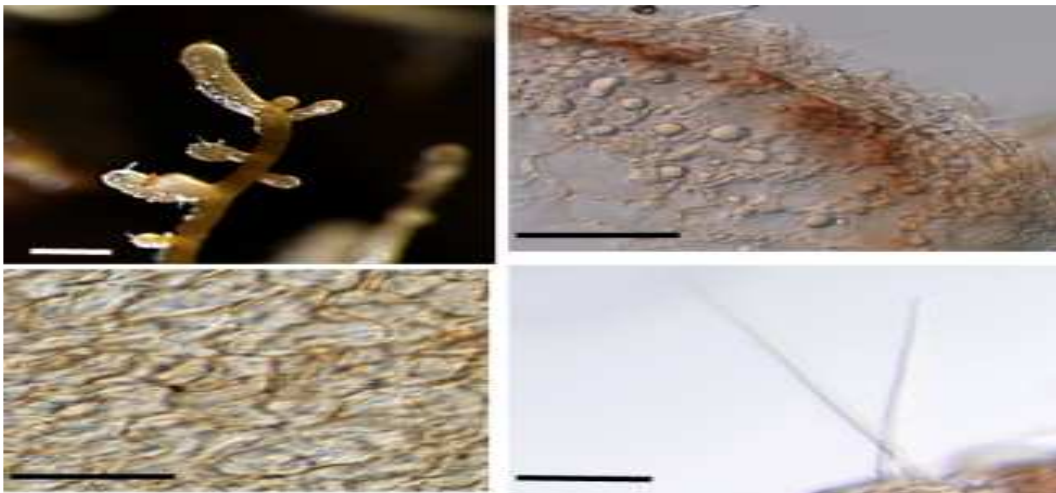


그림 108. 떡갈나무에 형성된 *T. koreanum* 균근

라) *Tuber borchii*, *Tuber huidongense*, *Tuber koreanum* 균사 분리

(1) *Tuber borchii*, *Tuber huidongense*, *Tuber koreanum* 트러플 자실체 표면살균 후, MEA 배지에 배양.

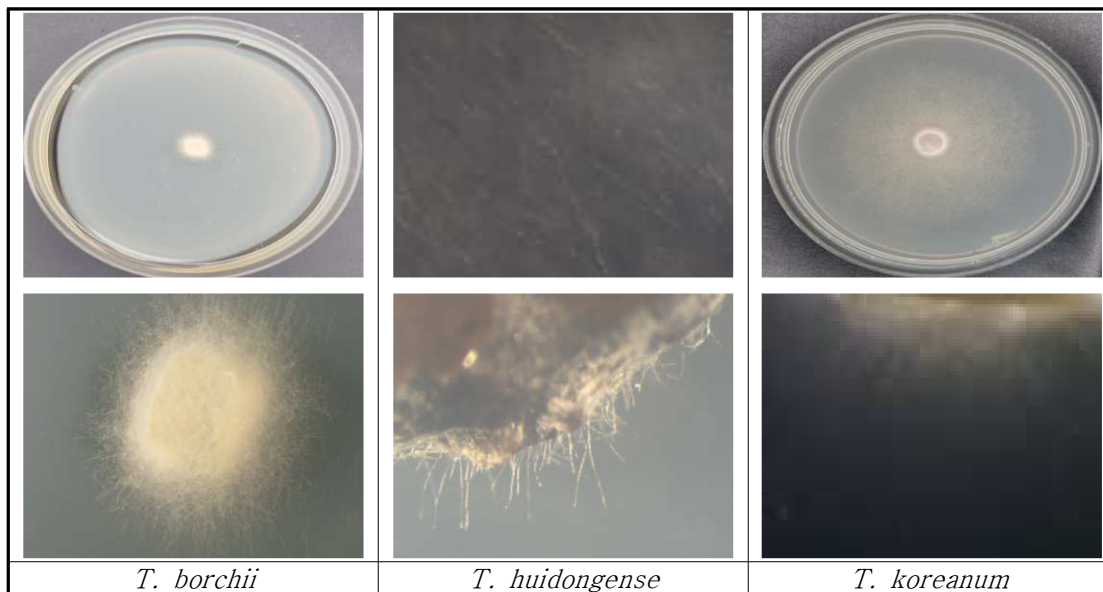


그림 109. *T. borchii*, *T. huidongense*, *T. koreanum* 균사

마) *Tuber koreanum* 균사 배양 조건 확인

- (1) *T. koreanum*을 대상으로 각 균주의 pH 조건, 온도 조건, 배지 종류를 달리하여 배양 특성 조사
- (2) pH 조건
- (가) MEA 및 PDA 배지를 준비한 후, pH를 Sodium hydroxide (NaOH)와 2-morpholino ethane sulfonic acid (MES)를 사용하여 4가지 조건(pH 5, pH 6, pH 7, pH 8)의 산성도로 조절
- (나) MEA, PDA배지 중앙에 1개의 접종물을 접종하고 3가지 온도조건(18℃, 22℃, 25℃)의 암실에서 30일 동안 배양
- (다) 형성된 콜로니의 직경을 측정하고 비교함.
- (3) 온도 조건
- (가) 4가지 pH 조건(pH 5, pH 6, pH 7, pH 8)의 MEA와 PDA 배지를 준비
- (나) MEA, PDA배지 중앙에 1개의 접종물을 접종하고 3가지 온도조건 (18℃, 22℃, 25℃)의 암실에서 30일 동안 배양
- (다) 형성된 콜로니의 직경을 측정하고 비교함.
- (4) 배지 조건
- (가) pH6으로 조정한 7가지 배지 준비
potato dextrose agar(PDA), malt extract agar(MEA), corn meal agar(CMA), oat meal agar(OMA), modified Melin-Nokran agar(MMNA), sabouraud dextrose agar(SDA), yeast malt extract agar(YMA)
- (나) *T. koreanum* 균사체를 7가지 배지 조건에서 25℃의 암실에서 30일 동안 배양
- (다) 형성된 콜로니의 직경을 측정하고 비교함.
- (라) *Tuber koreanum*의 경우 pH 6, 배양온도 25℃, MEA조건에서 가장 빠른 균사 성장을 보임.
- (마) 배지 조성에 따른 균사 성장 속도의 차이는 MEA, PDA, CMA, OMA, YMA, 그리고 MMN순으로 빨랐으며, SDA에서는 균사가 성장하지 않았음.

표 50. 고체배지별 조성표

Growth medium	Composition
PDA	Dextrose(20g/L), Potato starch(4g/L), Agar(15g/L)
MEA	Maltose(12.75g/L), Dextrin(2.75g/L), Pepton(0.78g/L), Agar(15g/L)
CMA	Corn meal(50g/L), Agar(15g/L)
OMA	Oat meal(60g/L), Agar(12g/L)
MMNA	Maltextract(15g/L), Peptin(5.82g/L) Agar(15g/L)
SDA	Dextrose(40g/L), Peptone(10g/L), Agar(15g/L)
YMA	Dextrose(10g/L), Malt extract(3g/L) Pepton(5g/L), Yeast extract(3g/L), Agar(15g/L)

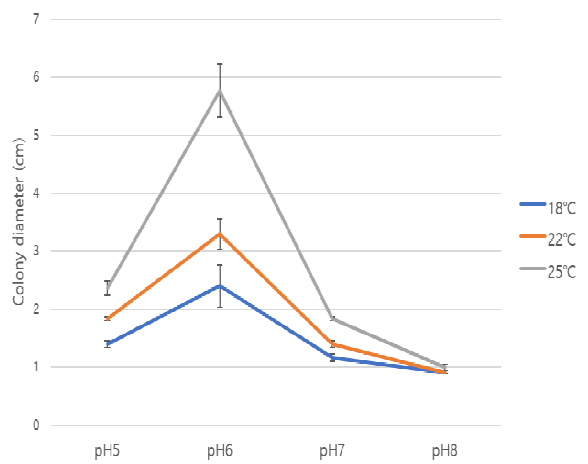
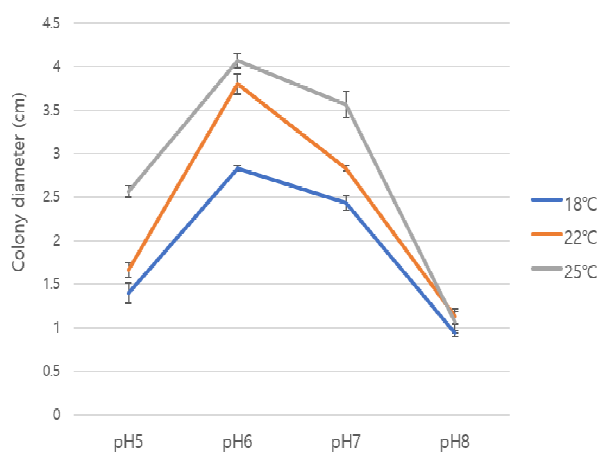
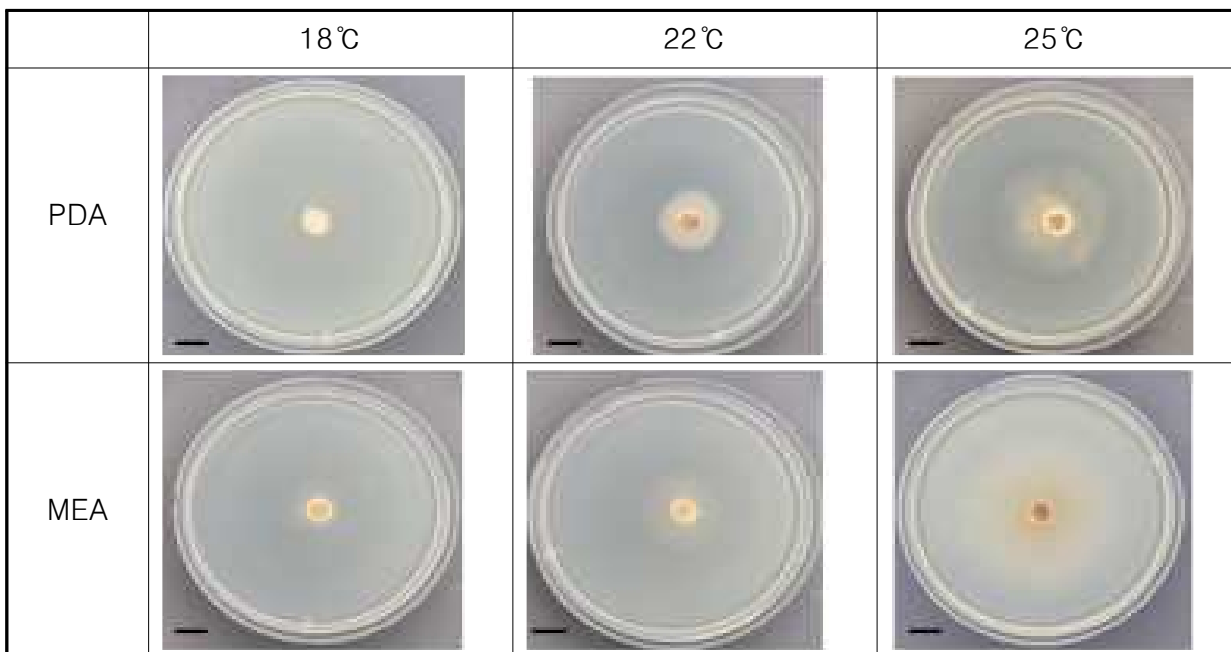
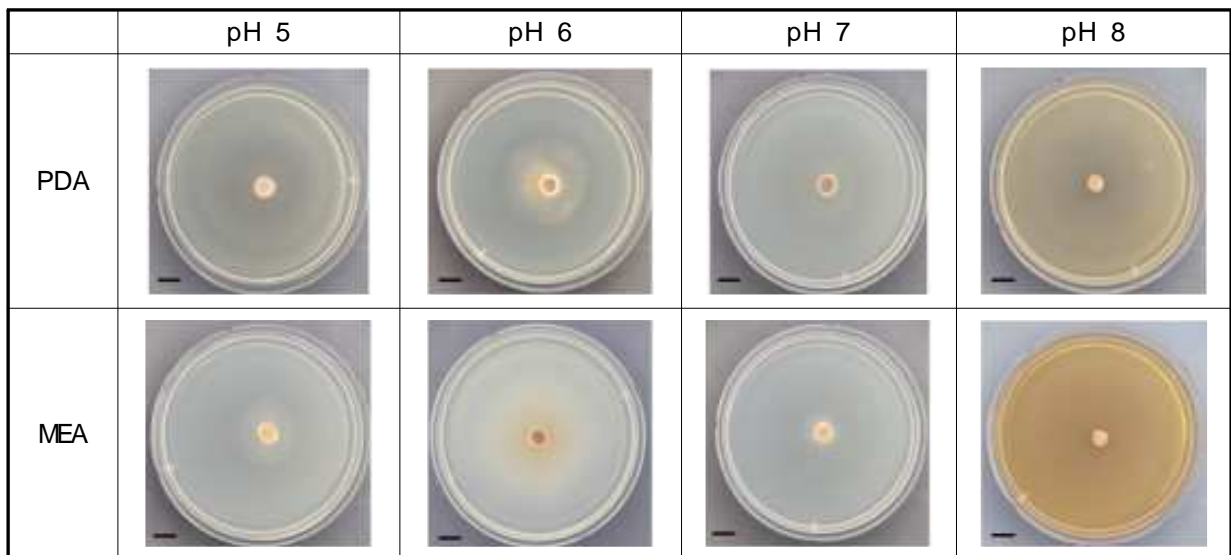


그림 110. 산도별, 온도별 *T. koreanum*의 균사 성장량

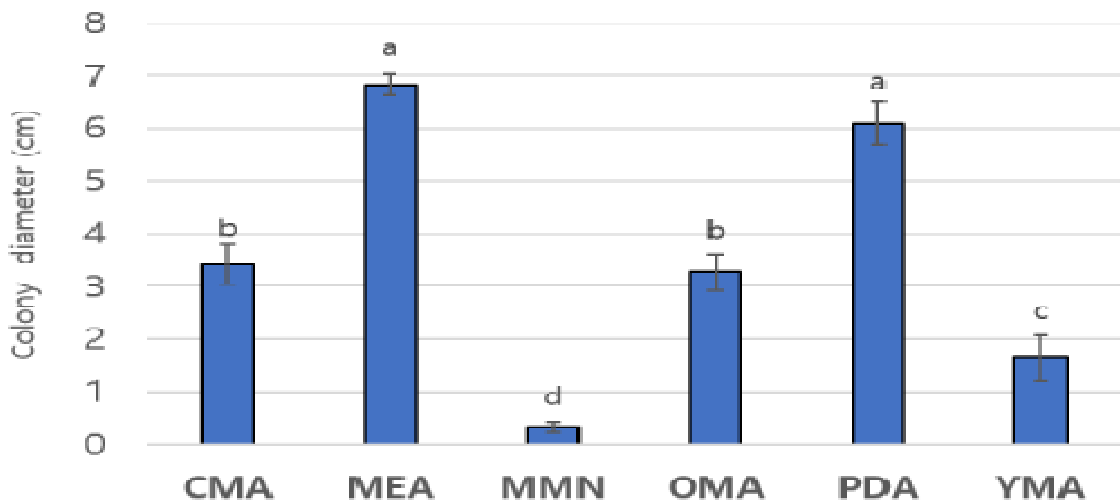
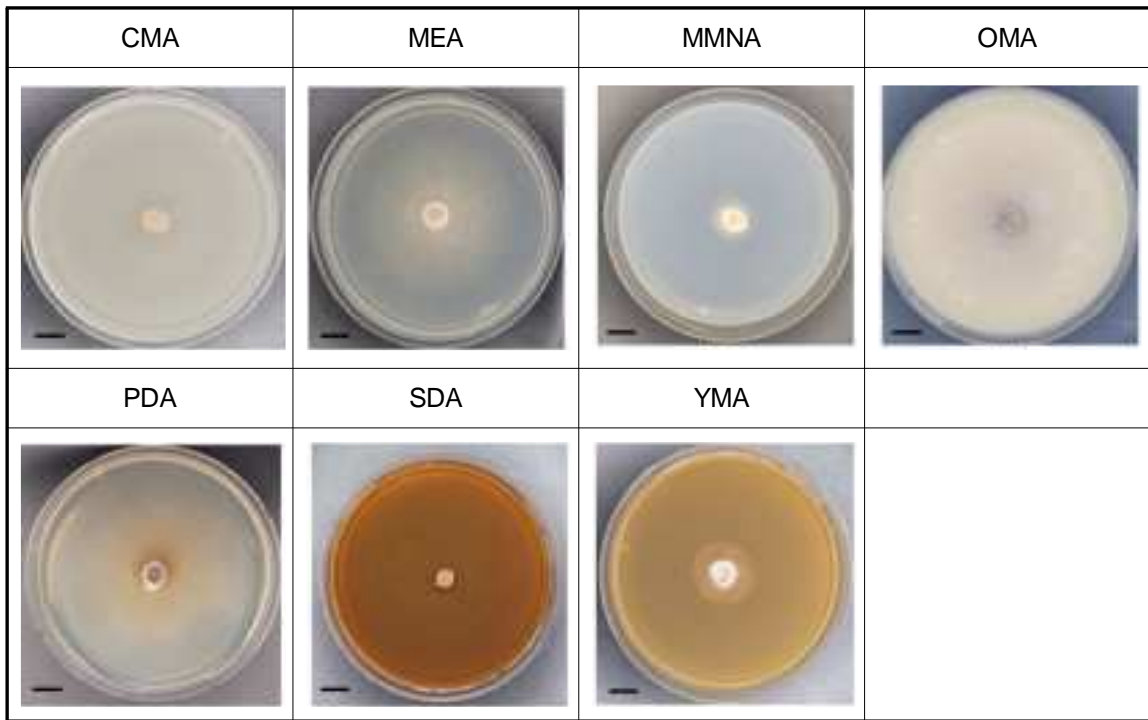


그림 111. 배지별 *T. koreanum*의 균사 성장량

2). 트러플 재배 적지판정

가) 자실체 발견지역 토양 온도 모니터링

(1) 연구 방법

(가) 2021년 3월~11월 동안 자실체 발견지역 토양 온도 모니터링

(나) 지표로부터 15cm 부근 토양 온도 모니터링(Data logger를 이용하여 30분 간격으로 측정)

(2) 연구 결과

(가) 경주는 3월~11월 중 최고온도 24.6℃, 최저온도 7.0℃, 평균온도 16.4℃(그림 62), 포항은 3월~11월 중 최고온도 30.8℃, 최저온도 10.1℃, 평균온도 19.2℃(그림 63), 울진은 4월~11월 중 최고온도 25.2℃, 최저온도 4.0℃, 평균온도 16.3℃(그림 64), 단양은 4월~11월 중 최고온도 25.5℃, 최저온도 4.6℃, 평균온도 16.6℃(그림 65), 문경은 10월~11월 중 최고온도 20.2℃, 최저온도 7.2℃, 평균온도 12.9℃(그림 66)를 보임.

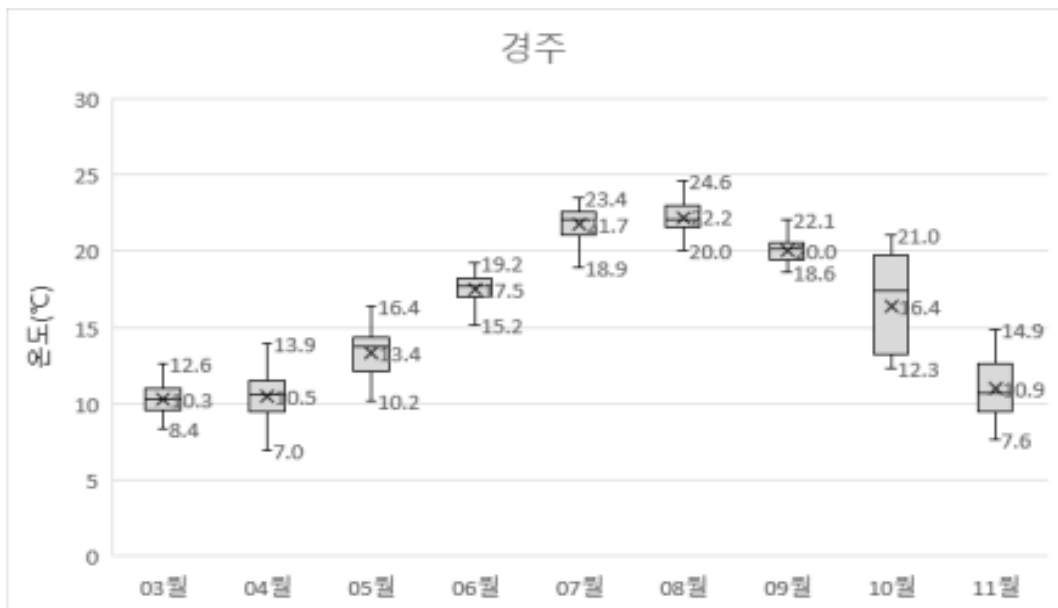


그림 112. 경주 3월~11월 토양 온도

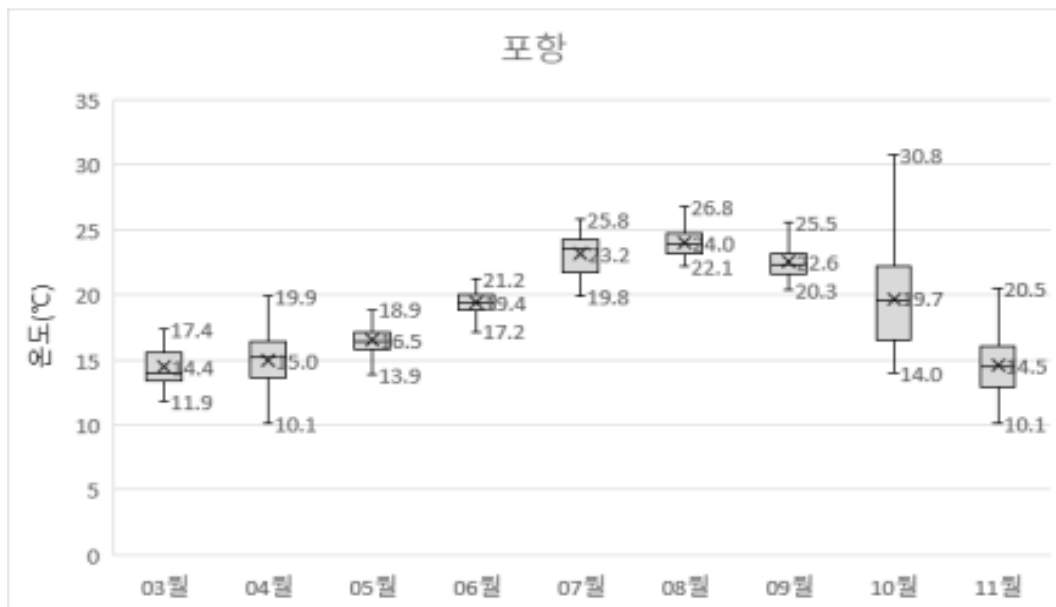


그림 113. 포항 3월~11월 토양 온도

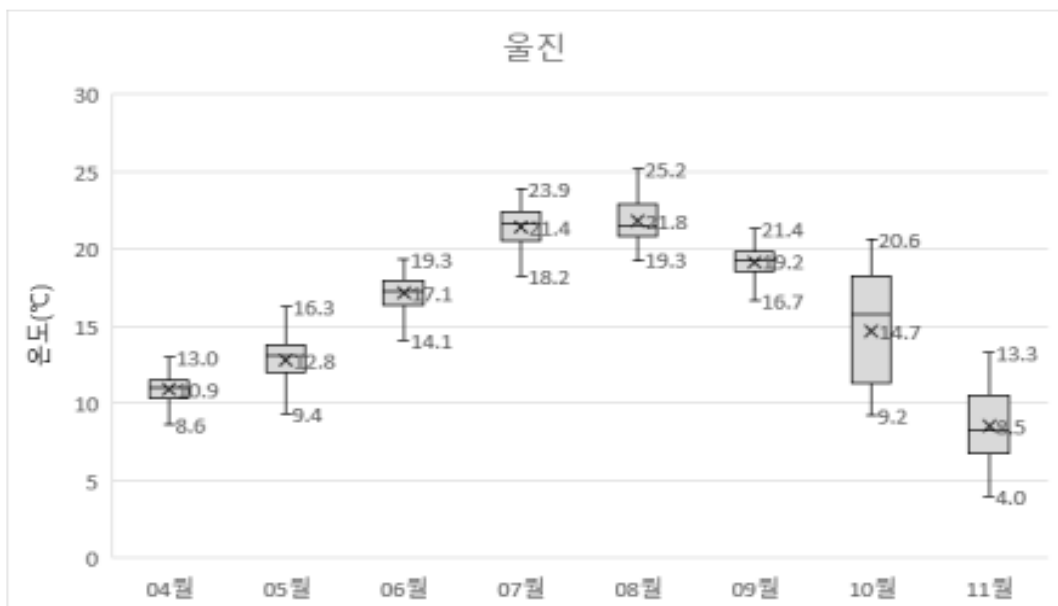


그림 114. 울진 3월~11월 토양 온도

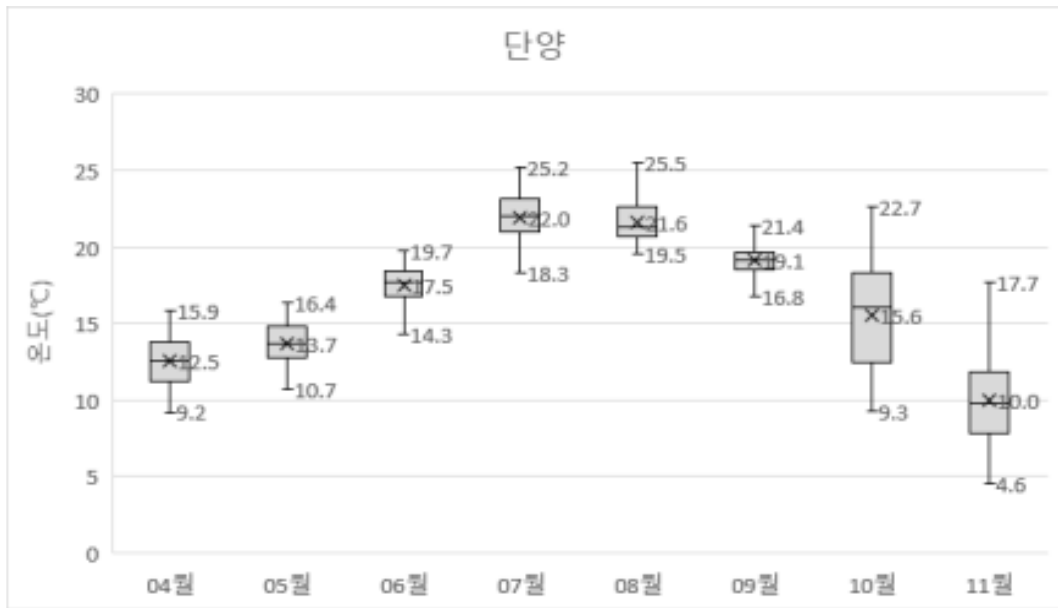


그림 115. 단양 3월~11월 토양 온도

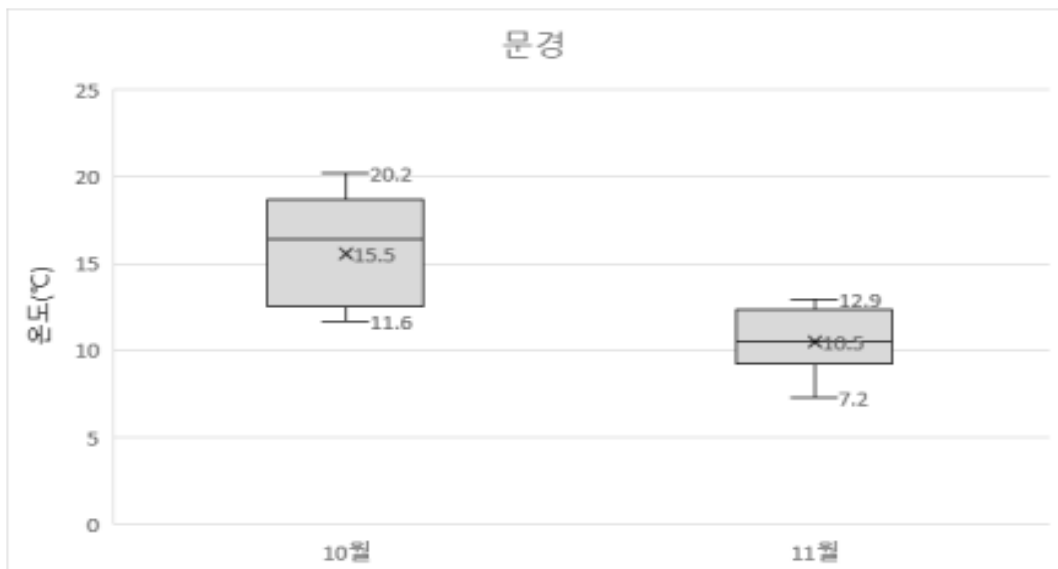


그림 116. 문경 10월~11월 토양 온도

나) 자실체 발견지역 식생 조사

(1) 연구 방법

(가) 2021년 9월 초 자실체 발견지역의 식생 조사를 진행함.

(나) 해발 고도, 방위, 낙엽 부식층 등을 측정, 주변 군락을 조사하고 미농무성 분류방법에 따른 토성을 분석함.

(2) 연구 결과

(가) 해발 고도는 최저 39m(포항)부터 최고 251m(단양)으로 다양하게 나타남.

(나) 방위는 남동향이 2곳, 북동향 1곳, 북향 1곳, 서향 1곳으로 나타남.

(다) 낙엽부식층은 *T. himalayense*, *T. huidongense*의 자실체가 발견되었던 단양, 포항은 거의 존재하지 않았으며, *T. koreanum*의 자실체가 발견되었던 경주, 울진, 문경은 약 2cm에서 8cm 정도의 범위로 나타남(표 51.).

표 51. 자실체 발견지역 식생 조사표

지역	경주	포항	울진	단양	문경
해발	227m	39m	112m	251m	243m
방위	285° 서	149° 남동	4° 북	132° 남동	24° 북동
토성	사양토, 사질식양토	식토, 식양토	사양토, 사질식양토	사질식토, 사질식양토, 식양토	사양토
낙엽 부식층	약 2cm	-	약 5cm	-	약 8cm
군락	갈참나무 군락	흑호두나무 군락	소나무군락	감나무 군락	참나무 군락

다) 자실체 발견지역 토양 분석

(1) 연구 방법

- (가) 2021년 3월~11월 동안 자실체 발견지역의 토양을 폴리에틸렌 백에 약 1kg를 담아 분석
- (나) pH, 총 질소, 유효 인산, 치환성 칼륨, 치환성 칼슘, 유기물, 수분 등의 화학적 특징과 모래, 미사, 점토의 비율 및 미농무성 분류에 따른 토성 등의 물리적 특징을 분석.

(2) 연구 결과

- (가) 경주는 3월~11월 중 평균 pH 5, 포항은 3월~11월 중 평균 pH 5.64, 울진은 5월~11월 중 평균 pH 4.38, 단양은 4월~11월 중 평균 pH 7.14, 문경은 9월~10월 중 평균 pH 5.52를 나타냄.
- (나) 경주의 3~11월 중 평균 모래는 69.84%, 미사는 13.16%, 점토는 17%로 사양토의 토성을 보임. 포항의 3~11월 중 평균 모래는 47.46%, 미사는 21.7%, 점토는 30.85%로 사질식양토의 토성을 보임. 울진의 5~11월 중 평균 모래는 65.68%, 미사는 14.22%, 점토는 20.04%로 사질식양토의 토성을 보임. 단양의 4~11월 중 평균 모래는 56.8%, 미사는 21.31%, 점토는 21.89%로 사질식양토의 토성을 보임. 문경의 9~10월 중 평균 모래는 35.6%, 미사는 41.35%, 점토는 23.05%로 양토의 토성을 보임(표 52). 트러플 재배의 적절한 토성은 사양토, 사질식양토, 양토로 알려져 있는데(Fischer, C et al., 2017), 5개 지역 모두 사양토, 사질식양토, 양토에 속함(표 52.).

표 52. 자실체 발견 지역 토양 성분 조사표

날짜	이름	pH [1:5]	총 질소	유효 인산 (mg/kg)	치환성 칼륨 (Cmol/kg)	치환성 칼슘 (Cmol/kg)	유기물 (%)	수분 (%)	모래 (%)	미사 (%)	점토 (%)	토성 (美농무성 분류)
210326	경주(981)	5.56	0.89	76.9	0.42	.	39.24	.	62.3	14.6	23.1	사질식양토
210326	경주(1545)	6.34	0.63	63.8	0.28	.	26.45	.	68.6	14.7	16.7	사양토
210422	경주(981)	4.58	0.62	227.3	0.27	6.32	8.22	.	71.7	7.5	20.8	사질식양토
210527	경주(981)	4.74	0.63	226.8	0.42	3.68	12.16	.	77.2	11.3	11.5	사양토
210707	경주(981)	4.77	0.74	127.6	0.41	8.57	17.15	.	71	6.8	22.2	사질식양토
210805	경주(981)	4.67	0.67	133.7	0.88	11.41	0.93	21.47	67.7	12.7	19.6	사양토
210902	경주(981)	4.97	0.62	146	0.46	6.18	15.08	35.27	82	11.6	6.4	양질사토
211007	경주(981)	5.06	0.55	67	0.26	5.8	6.36	21.26	61.8	16.9	21.3	사질식양토
211104	경주(981)	4.91	1.16	382.4	0.34	6.52	17.7	27.39	66.3	22.3	11.4	사양토
210326	포항(933)	6.12	0.49	69.8	0.63	.	28.1	.	39.9	26.4	33.7	식양토
210422	포항(933)	5.5	0.42	202.7	0.33	19.57	7.48	.	53.2	16.5	30.3	식양토
210527	포항(933)	5.81	0.42	221.8	0.55	19.42	7.26	.	55.2	9	35.8	식양토
210707	포항(933)	5.5	0.29	94.1	0.56	21.8	7.46	.	41.5	20.6	37.9	식양토
210805	포항(933)	5.35	0.44	150.1	1.16	36.97	2.4	22.35	42.2	16.1	41.7	식토
210902	포항(933)	5.68	0.31	136.9	0.39	15.1	8.67	32.77	45.3	36.5	18.2	양토
211007	포항(933)	5.72	0.38	85.1	0.52	18.91	5.63	22.36	57.5	19.5	23	사질식양토
211104	포항(933)	5.46	0.32	141.7	0.43	17.74	4.93	24.14	44.9	29	26.2	양토
210527	울진(1008)	4.3	0.92	301.4	0.21	2.6	9.61	.	67	9.5	23.5	사질식양토
210707	울진(1008)	4	0.65	104.5	0.21	2.75	12.25	.	68.7	9	22	사질식양토
210805	울진(1008)	3.87	0.92	132.6	0.5	6.09	9.71	17.09	70.9	9.7	19.4	사양토
210902	울진(1008)	4.1	0.87	75.2	0.21	2.72	13.8	28.1	62.5	17.8	19.7	사양토
211104	울진(1008)	5.61	0.73	403.9	0.17	1.88	9.8	25.12	59.3	25.1	15.6	사양토
210408	단양(1329)	7.48	0.47	16.4	0.74	22.07	5.38	.	56.4	36.1	7.5	사양토
210527	단양(1329)	7.24	0.55	178.5	0.66	17.43	8.28	.	54.2	11.6	34.2	식양토
210707	단양(1329)	7.42	0.4	61.7	0.59	16.12	7.42	.	62	12.3	25.7	사질식양토
210805	단양(1329)	6.97	0.46	106.6	1.28	37.21	5.19	26.77	47.1	17	35.9	사질식토
210902	단양(1329)	6.93	0.47	109.8	0.47	16.17	4.57	27.82	64.7	19.7	15.6	사양토
211001	단양(1329)	7.04	0.45	65.5	0.77	18.41	6.35	26.91	55.5	24.2	20.3	사질식양토
211104	단양(1329)	6.89	0.51	157.4	0.68	18.55	5.44	20.56	57.7	28.3	14	사양토
210902	문경(1124)	5.27	0.34	74.9	0.56	7.29	5.64	31.14	14.9	58.9	26.2	미사질양토
211001	문경(1124)	5.77	0.28	19.2	0.54	7.07	6.22	30.44	56.3	23.8	19.9	사양토

라) NGS 결과 분석

(1) 연구 방법

(가) 2021년 4월~6월 동안 채집한 울산(US), 천안(CA), 영월(YW), 문경1(MK1), 문경2(MK2)의 참나무류의 뿌리의 공생균을 대상으로 NGS 진행

(2) 연구 결과

(가) 5개의 지역 중 *Tuber* 속의 DNA reads 수의 비율은 천안(CA) 0.03%, 영월(YW) 0.04%, 문경 1(MK1) 0.32%, 문경2(MK2) 0.65%로 나타났고, 울산(US)에서는 발견되지 않음(표 53.).

(나) 5개의 지역 중 *T. koreanum*의 자실체가 발견된 MK1은 *Russula* 속이 26.76%, Atheliaceae과가 47.71%로 높게 관찰됨(표 53, 그림 117.)

표 53. 울산, 천안, 영월, 문경1, 문경2 균류의 상대 수도표

Taxon name	US	CA	YW	MK1	MK2
<i>Russula</i>	9.89%	13.96%	35.31%	26.76%	1.10%
<i>Leptodontidium</i>	5.27%	14.08%	17.16%	0.00%	0.02%
<i>Suillus</i>	0.00%	0.00%	7.08%	0.00%	0.00%
Agaricales spp.	0.10%	0.06%	4.37%	0.08%	0.54%
Tricholomataceae spp.	0.00%	0.00%	4.16%	0.00%	0.00%
Helotiales spp.	32.01%	30.51%	3.55%	0.38%	14.52%
<i>Cortinarius</i>	0.02%	0.25%	3.16%	0.00%	0.05%
<i>Mycena</i>	0.24%	0.28%	2.63%	0.00%	0.00%
<i>Lactarius</i>	1.97%	0.23%	2.38%	0.19%	0.00%
<i>Cenococcum</i>	0.18%	0.49%	2.25%	0.59%	5.73%
<i>Pezoloma</i>	1.74%	2.70%	1.89%	0.35%	1.65%
<i>Astraeus</i>	0.00%	0.00%	1.82%	2.58%	3.87%
<i>Rhizoderma</i>	1.68%	0.00%	1.71%	0.00%	0.28%
Hyaloscyphaceae spp.	6.20%	1.62%	1.42%	1.02%	9.44%
Thelephoraceae spp.	0.01%	1.34%	1.20%	2.75%	9.97%
<i>Fusarium</i>	5.63%	1.89%	0.81%	0.00%	0.51%
<i>Tomentella</i>	0.13%	2.43%	0.51%	0.00%	3.47%
<i>Amanita</i>	0.78%	0.23%	0.46%	0.73%	17.05%
Atheliaceae spp.	0.01%	0.00%	0.43%	47.71%	0.00%
<i>Sebacina</i>	0.05%	0.06%	0.25%	6.27%	2.33%
<i>Lachnum</i>	1.04%	1.43%	0.19%	0.48%	1.42%
<i>Inocybe</i>	0.01%	0.06%	0.19%	0.48%	13.47%
Chaetothyriales spp.	0.31%	1.05%	0.10%	0.05%	0.07%
<i>Oidiodendron</i>	3.56%	4.15%	0.07%	0.00%	2.49%
<i>Hymenoscyphus</i>	0.01%	2.45%	0.06%	0.00%	0.26%
<i>Penicillium</i>	0.21%	1.78%	0.04%	0.03%	0.14%
Capnodiales spp.	1.49%	0.23%	0.04%	0.11%	0.19%
<i>Leotia</i>	0.02%	1.82%	0.01%	0.00%	1.19%
Pleosporales spp.	0.00%	1.31%	0.01%	0.00%	0.00%
<i>Pseudogymnoascus</i>	0.12%	1.51%	0.00%	0.00%	0.07%
<i>Gymnostellatospora</i>	0.37%	1.50%	0.00%	0.00%	0.02%
<i>Trichoderma</i>	0.37%	1.41%	0.00%	0.08%	0.93%
Hydnodontaceae spp.	2.48%	0.00%	0.00%	0.00%	0.09%
Elaphomycetaceae spp.	10.42%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Membranomyces</i>	4.08%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Boletaceae spp.	2.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tuber</i>	0.00%	0.03%	0.04%	0.32%	0.65%
Others	7.58%	11.12%	6.71%	9.02%	8.48%

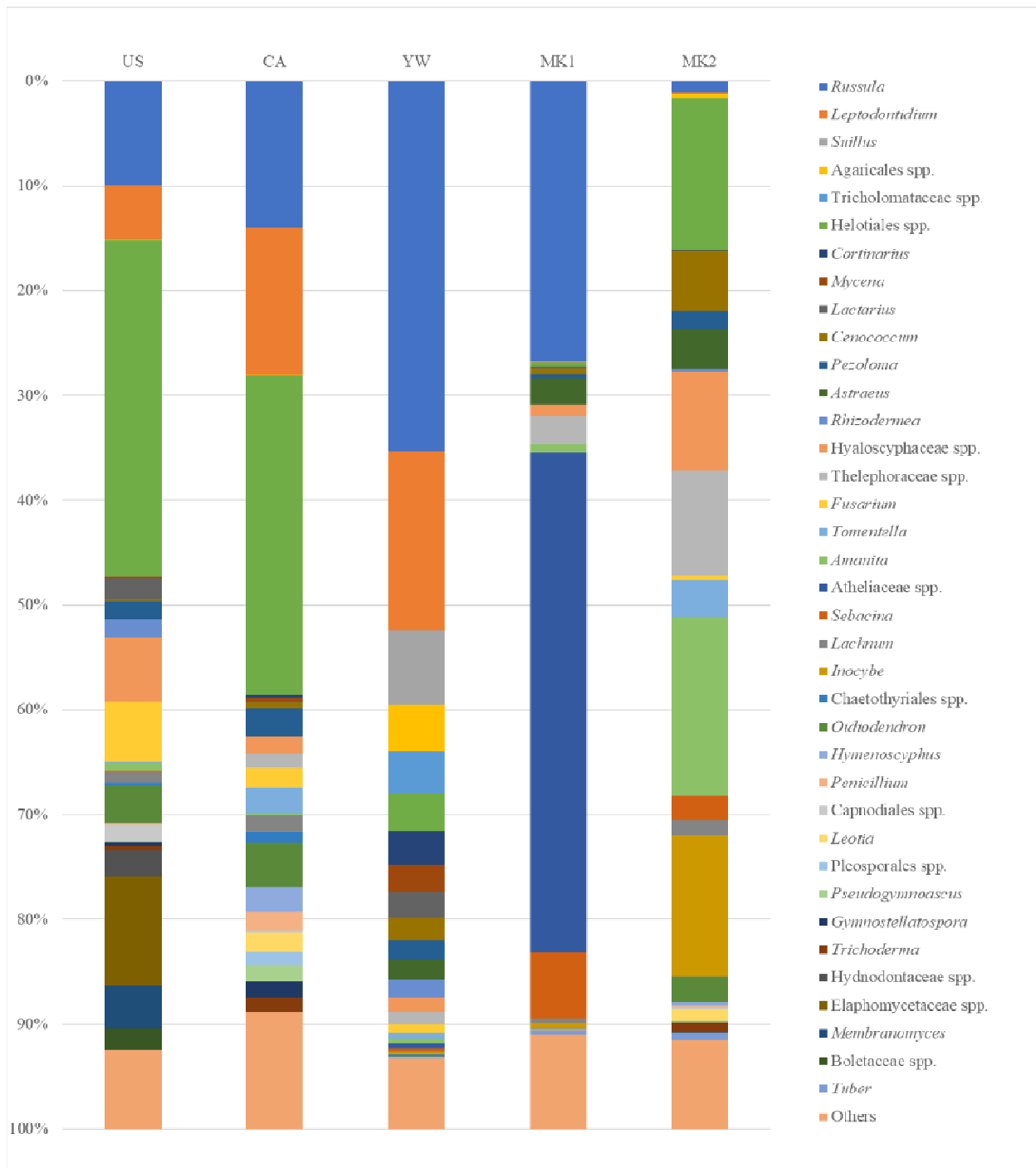


그림 117. 울산, 천안, 영월, 문경1, 문경2 균류의 상대 수도 그래프

(다) 5개의 지역 중 MK1 site는 2021년 8월 *T. koreanum*의 자실체가 발견된 곳인데, 전체 균류 중 *Russula* 속 26.76%, Atheliaceae과 47.71%, Sebacina 속 6.27% 등 담자균문의 비율이 92.9%로 매우 높게 관찰됨(표 54.).

표 54. 울산, 천안, 영월, 문경 지역의 분류군별 비율

	US	CA	YW	MK1	MK2
Ascomycota	75.9%	75.0%	32.2%	7.0%	46.4%
Basidiomycota	22.7%	24.4%	67.4%	92.9%	53.4%
Others	1.4%	0.6%	0.3%	0.1%	0.2%

3). 트러플 재배를 위한 시험림 조성

가) 시험림 선정

(1) 한국교원대학교 온실 밭 (16.4m X 6.6m = 108.24m²)

나) 시험림 조성

(1) 토양 pH 조성 및 토양 성분 분석

(가) pH조성 : 2021년 4월 21일, 석회와 시험림 토양을 혼합하여 토양의 pH 7~8 조성

(나) 2021년 3월~11월 동안 시험림의 토양을 폴리에틸렌 백에 약 1kg를 담아 제일분석센터 (Seoul, Korea)에 분석 의뢰

(다) pH, 총 질소, 유효 인산, 치환성 칼륨, 치환성 칼슘, 유기물, 수분 등의 화학적 특징과 모래, 미사, 점토의 비율 및 미농무성 분류에 따른 토성 등의 물리적 특징을 분석.

표 55. 시험림 토양 성분 분석 결과

날짜	이름	pH[1:5]	총 질소	유효인산 (mg/kg)	치환성 칼륨 (Cmol/kg)	치환성 칼슘 (Cmol/kg)	유기물 (%)	수분 (%)	모래 (%)	미사 (%)	점토 (%)	토성 (미농무성 분류)
21.03.30	시험림	7.5	0.29	176.9	0.092	.	9.14	.	73.7	11.9	14.4	사양토
21.04.21	시험림	7.67	0.2	149.3	0.17	17	1.91	.	82	12.4	5.6	양질사토
21.06.30	시험림 white mulching	7.58	0.86	54.8	0.12	17.12	1.79	14.42	70.8	25.9	3.2	사양토
	시험림 black mulching	7.05	0.12	44.3	0.12	11.94	1.22	14.76	78	10.4	11.6	사양토
21.11.08	시험림 white mulching	6.59	0.18	304.5	0.12	7.19	3.47	15.58	83.2	12.7	4.2	양질사토
	시험림 black mulching	6.52	0.13	53	0.14	9.25	16	6.52	81.7	13.4	4.9	양질사토

(1) Mulching

(가) 2021년 5월, mulching 소재로 white woven polypropylene fabrics of 100 g/m²와 black woven polypropylene fabrics of 80 g/m²를 사용하였고 각각의 소재를 두 겹씩 겹쳐서 mulching 함(그림 118.).



그림 118. 시험림 mulching

- black mulching이 white mulching보다 잡초 제거 효과가 높음(그림 119.).



그림 119. 시험림 mulching 소재에 따른 잡초제거 차이

(2) 토양 및 대기 온도 모니터링

(가) 2021년 7월~12월 동안 시험림 야외 온도 모니터링

(나) 2021년 7월~10월 동안 시험림 토양 온도 모니터링

(다) Data logger를 이용하여 30분 간격으로 측정

(라) 시험림 야외는 7월~12월 중 최고온도 44.6℃, 최저온도 -15.8℃, 평균온도 17.3℃(그림 120.).

(마) 시험림 white mulching 토양은 7월~10월 동안 최고온도 35.4℃, 최저온도 11.2℃, 평균온도 23.4℃, 시험림 black mulching 토양은 7월~10월 동안 최고온도 35.9℃, 최저온도 11.1℃, 평균온도 24.1℃(그림 121.).

(사) 시험림 black mulching 토양이 시험림 white mulching 토양보다 평균 온도가 약 0.7℃ 높음.

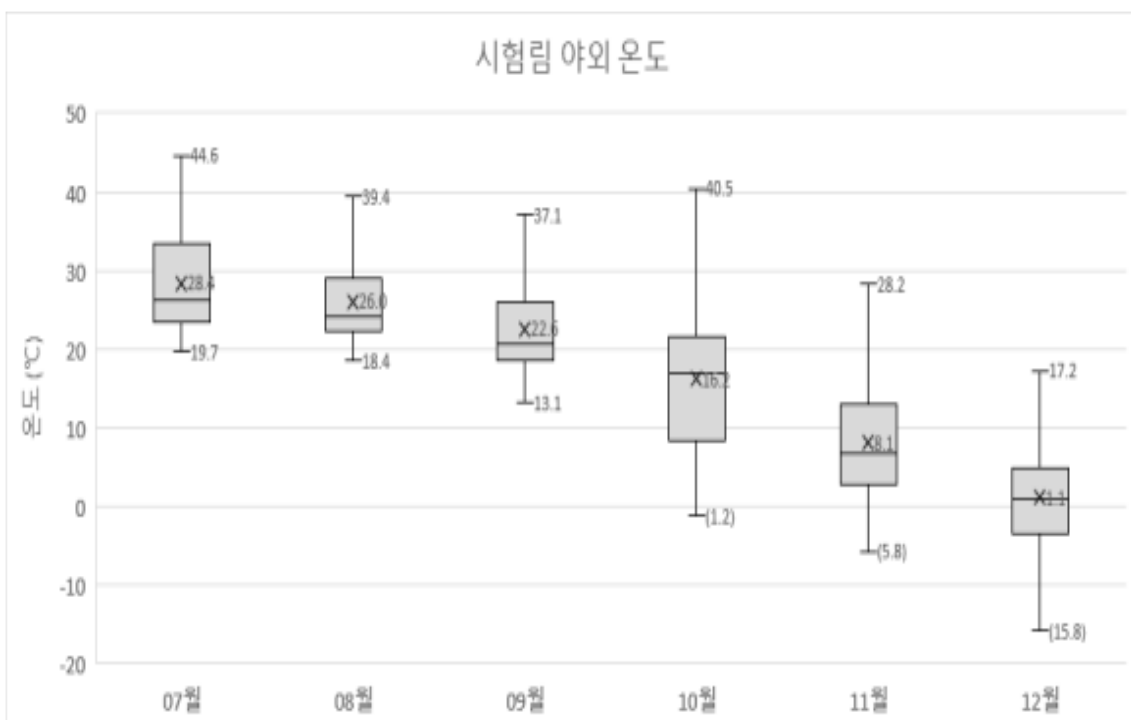


그림 120. 시험림 대기 온도

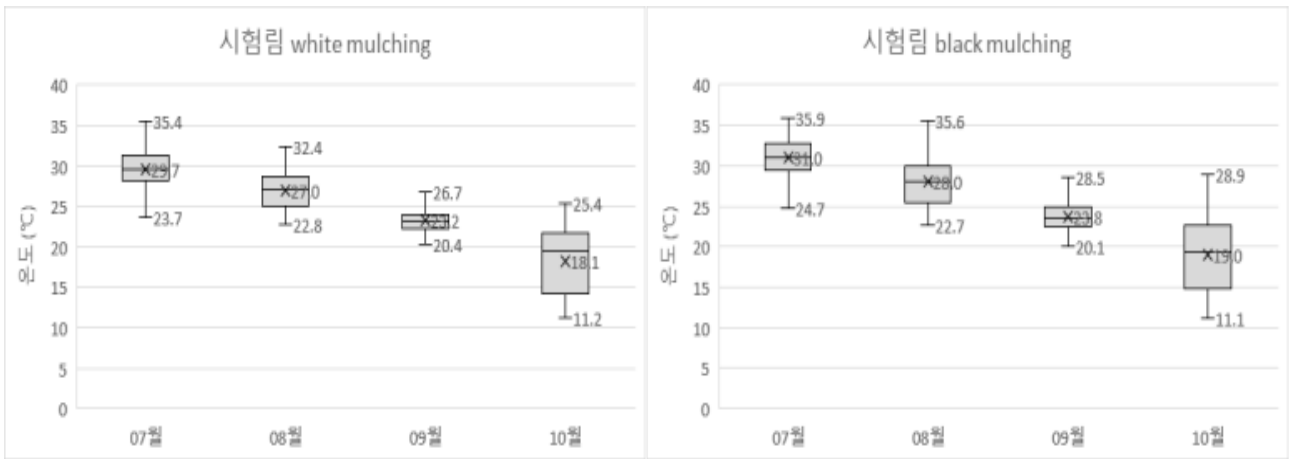


그림 121. 시험림 white mulching(좌) 시험림 black mulching(우) 토양 온도 비교

(3) 시험림에 트러플 접종묘 이식

(가) 2021년 6월 말, *T. indicum* 접종묘 30그루 시험림 이식

(나) 70cm 간격으로 접종묘 이식(그림 122.).



그림 122. *T. indicum* 접종묘 시험림 이식

(다) 이식 6개월 후 (2021년 12월 말), 시험림에 이식한 *T. indicum* 접종묘 중 하나인 T-38의 외생균근 형태적 관찰 및 분자적 동정을 통해 *T. indicum* 균근이 유지됨을 확인함(그림 123.).



그림 123. T-38에 형성된 균근

4) 트러플 확인용 분자마커 개발

가) 해외 트러플 mating gene 시퀀스를 이용한 *Tuber koreanum* mating gene 탐색

- (1) NCBI를 이용한 *Tuber spp.* (*T. melanosporum*, *T. indicum*, *T. borchii*)의 mating gene 유전자 지도 확보
- (2) 해외 *Tuber spp.* mating gene 연구에 사용된 Primer list 확보
- (3) *Tuber spp.* 중 *Tuber koreanum*이 *Tuber borchii*의 분자적 유연관계가 가까운 것 확인

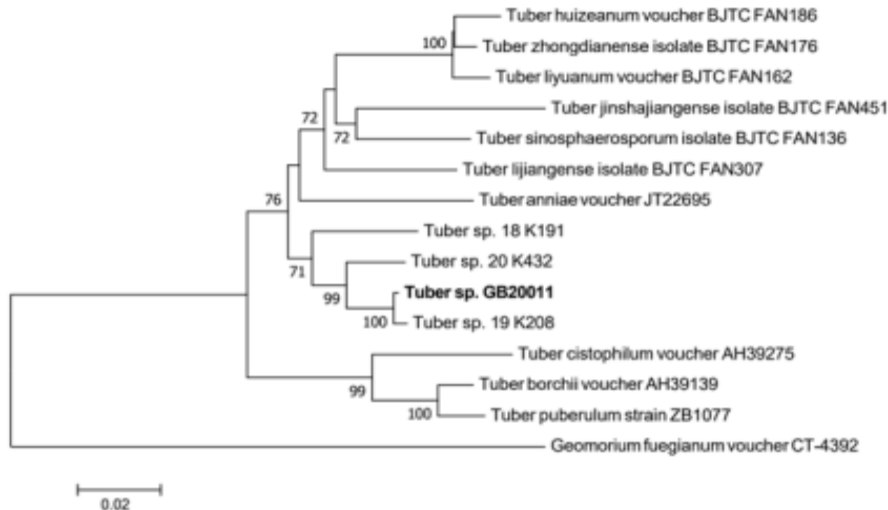


그림 124. *Tuber koreanum*(GB20011)과 *Tuber borchii* 유연관계

- (4) *Tuber borchii*의 mat gene primer를 이용하여 *Tuber koreanum* 자실체에서 DNA extraction 후 PCR 수행
* mat 1-1-1은 b1 · b3 primer / mat 1-2-1은 b23 · b33 primer 이용

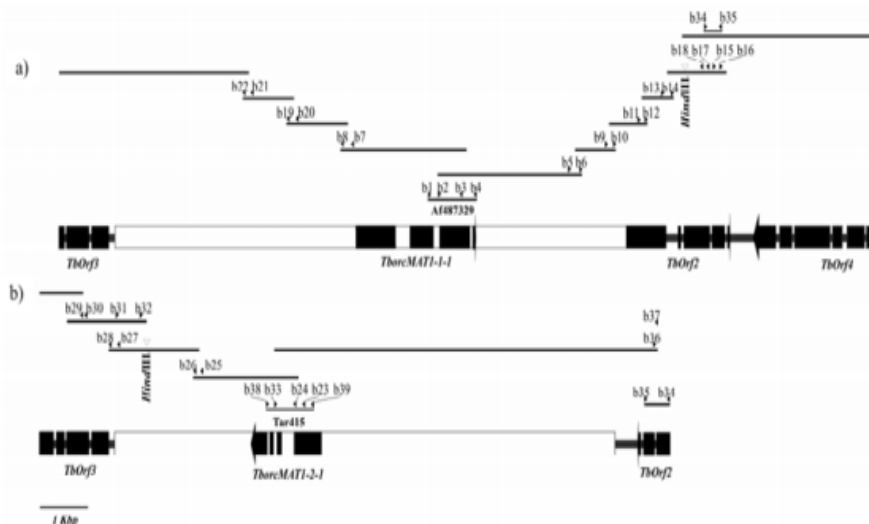


그림 125. *Tuber borchii* Mat gene 및 Primer

- (5) *T. borchii*의 MAT primer b1-b3 pair와 b23-b33 pair를 이용한 1차 분리 결과 24개의 *Tuber koreanum* 자실체 sample 중 9개의 sample에서 band가 확인.
- (6) 신중으로 blast에서 일치하는 결과는 나타나지는 않으나, bor MAT 1-1-1과 bor MAT 1-2-1의 *Tuber borchii* hypothetical protein gene, partial cds부분과 유의미한 일치도를 보임.
- (7) *Tuber sp.*의 MAT gene이 *T. borchii*의 MAT gene과 유의미한 서열 유사성을 가진 것을 확인했으며 실제 MEGA를 통한 분석 결과 시퀀싱 지역에 공통 서열이 존재하는 것을 확인.

No.	Sample Name	Description	Score	E value					
1	07M1-b1_E09	Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	734	0.0	5	13M1-b1_A10	Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	726	0.0
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97			Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97			Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97
		Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	734	0.0			Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	725	0.0
2	43M1-b1_F05	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97	6	31M1-b1_B10	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97			Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97
		Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	717	0.0			Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	723	0.0
3	31M1-b1_G03	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97	7	24M1-b1_C10	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97			Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97
		Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	739	0.0			Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	907	0.0
4	11M1-b1_H09	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97	8	borM1-b1_D10	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	357	3e-94
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97			Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	357	3e-94
		Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	726	0.0			Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	833	0.0
5	13M1-b1_A10	Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: ysh1-7	368	1e-97	9	43M2-b23_E10	Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-2-1 gene, complete cds	833	0.0
		Tuber indicum gene for mating type protein MAT1-1-1, partial cds, isolate: SM1-1	368	1e-97					
		Tuber borchii hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1-1-1 and hypothetical proteins genes, complete cds	734	0.0					

그림 126. Tuber koreanum PCR 시퀀싱 결과 (1차)

- (8) MAT 1-1-1로 추정되는 샘플은 9개 중 8개에서 확인되었으나, MAT 1-2-1로 추정되는 샘플은 1개 샘플만 확인되어 *Tuber* sp. GB200046~GB200053 자실체를 이용한 2차 MAT gene 분리 실험 진행
- (9) PCR 결과 8개의 자실체 샘플 중 7개에서 Band 확인되었으며, GB200048, GB200052 2개의 자실체 샘플에서 MAT 1-1-1과 MAT 1-2-1의 밴드가 동일한 강도로 관찰됨.

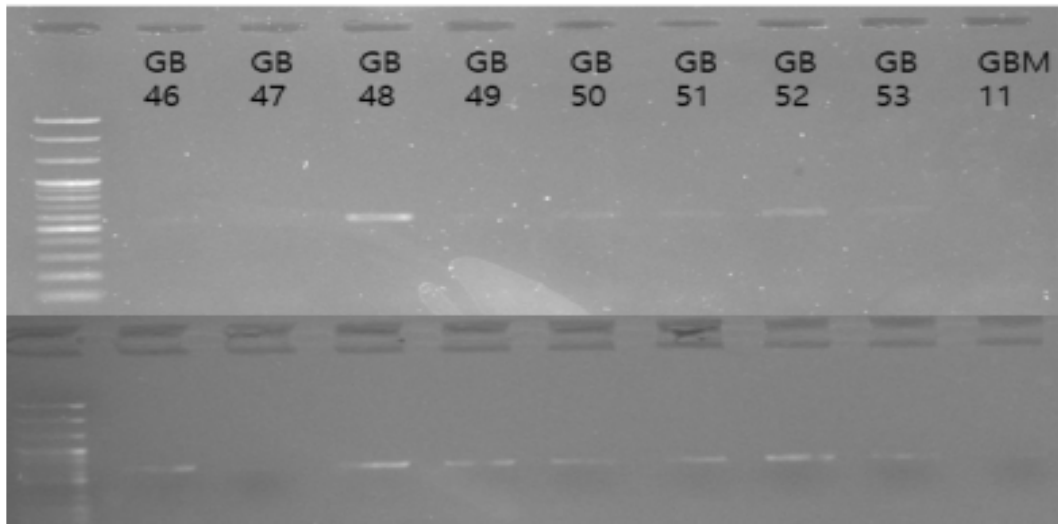


그림 127. Tuber koreanum PCR 전기영동 결과 (2차)

표 56. Tuber koreanum MAT gene 전기영동 후 밴드 확인 결과(2차)

구분	GB200046	GB200047	GB200048	GB200049	GB200050	GB200051	GB200052	GB200053
MAT1- 1- 1			○		○	○	○	
MAT1- 2- 1	○		○	○	○	○	○	

가) *Tuber koreanum* specific Primer 제작

(1) *Tuber borchii* primer를 이용해 확보한 *Tuber koreanum* MAT 시퀀스를 이용하여 specific한 primer 제작

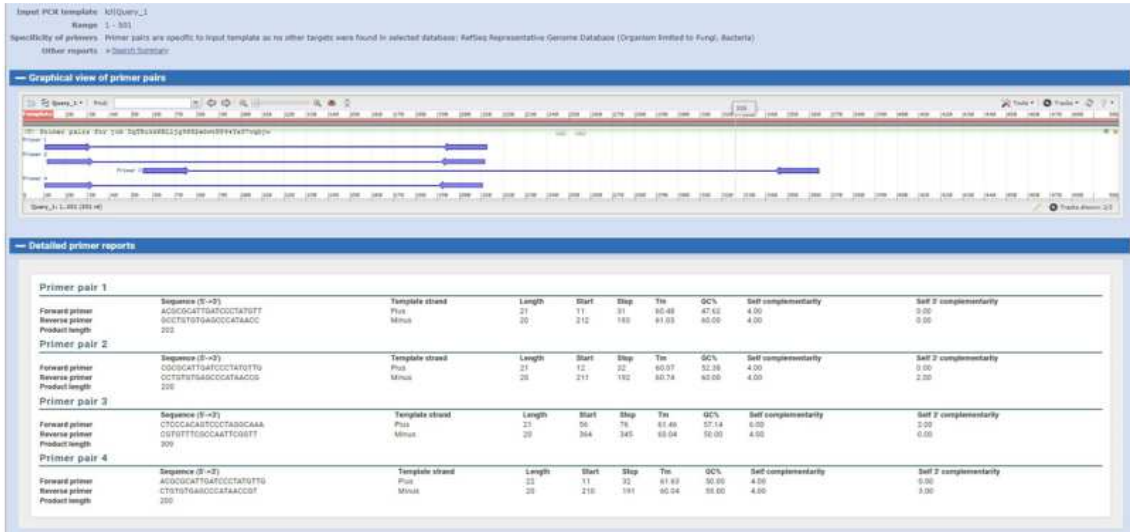


그림 128. *Tuber koreanum* MAT 1-1-1 specific primer list

(2) *Tuber sp.* GB20030 MAT 1-1-1, *Tuber sp.* GB20043 MAT 1-2-1 의 시퀀스 data를 Primer 3 program과 Blast를 이용하여 primer 설계

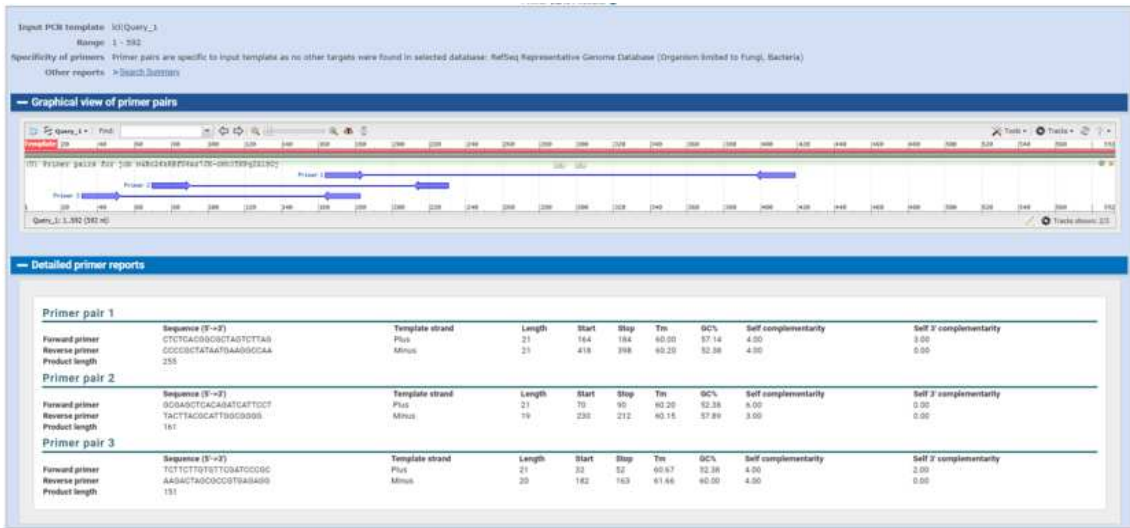


그림 129. *Tuber koreanum* MAT 1-2-1 specific primer list

• 제2공통: 한국농수산대학 : 국외 트러플 우량균주 확보 및 접종묘 생산 최적화 기술 적용 현장 실증 재배시험

가. 연구개발 수행방법

1). 접종묘 도입 시험포 조성

가) 격리 관리된 접종목의 시험포 이전

- (1) 충남 예산 시험포에서 국립식물검역소 관리하에 1년간 격리 생육함
- (2) 수입은 2020년 4월 3일이지만, 격리 시험포의 식재일이 4월 21일로 시험포 이전은 5월에 시행함.
- (3) 수입된 접종묘 150주였으나, 검역 후 식재된 묘목 수는 148주였음.

나) 격리 해제 후 시험포 이전

- (1) 시험포를 전복 정읍 예정지에 접종목을 토양에 직접 옮겨 심으려고 하였으나, 격리 기간 중 포트(직경 15cm)에 심어진 채로 관리되어 왔고, 생육도 저조하였음.
- (2) 또한, 1년의 격리기간 중 고사한 묘목을 제외한 81개 접종묘 중 이전 중 7그루가 사멸하여 최종적으로는 74그루가 남음.
- (3) 한번 토양에 옮겨 심어지면 다시 이전이 어렵고 본교와의 거리가 있어 밀접 관리의 어려움이 있고, 격리 기간 중 묘목의 생육 상태가 좋지 않았기 때문에 정식을 하였을 경우, 살아 남을 수 없을 가능성이 있어, 화분에 1년 더 관리하기로 하고 시험포를 본교 온실로 변경함.
- (4) 온실하우스에서 화분 직경 30cm 크기의 화분으로 분갈이하여 관리함.
- (5) 분갈이용 토양 조성은 마사토:산흙:피트모스=4:4:2 비율로 하여 pH6.5~7.0으로 조절하였음.



2021. 4월 중 예산 격리재배지



2021. 5월 중 한농대 온실

그림 130. 격리재배지 이전 전·후 모습

다) 접종묘 관리

- (1) 이전 작업 후 잎이 말라 죽는 현상이 있었으나, 묘목 성장과는 크게 영향이 없었음.
- (2) 나무 생육과 새순형성에 방해가 되는 손상되거나 마른 잎사귀, 잡초는 수시로 제거 작업.
- (3) 7~8월 중 화분 토양과 묘목 근처에 자주색 곰팡이와 버섯이 발생하기도 하였으나, 장마철(고온다습) 일시적 현상으로 현재는 없음.



그림 131. 장마철 화분에 발생한 곰팡이 및 버섯류

- (4) 화분 토양에 곰팡이 등이 형성되기도 하였으나, 나무에 별다른 병징은 없었음.
- (5) 온실하우스는 여름철 내부 온도가 $30.0 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ 가 되도록 관리하여 직사광선과 고온 등을 피해를 최소화하고, 충분한 수분공급을 하여 건조되는 것을 방지하였음.
- (6) 겨울철 하우스내 온도는 최저 0°C 이상으로 영하로 떨어지지 않게 관리하고 있음
- (7) 실내온도와 화분 속 토양 내 온도는 차이는 $\pm 1 \sim 2^{\circ}\text{C}$ 내외를 유지하고 있음
- (8) 10월부터 낙엽 발생 시작으로 수분공급을 조절하고 있음. 자연적으로 이끼류가 화분 표면에 형성되어 수분 증발 억제 효과가 있을 것으로 생각됨.
- (9) 낙엽 후에도 새순 형성과 생장은 안정적임.



그림 132. 접종묘 새순 발생 및 이끼류 형성

라). 접종묘의 균근 및 감염 확인을 위한 공동연구기관 분양

(1) 접종묘의 균근 및 감염 확인을 위하여 전남산림자원연구소와 교원대학교에 각각 5주씩 총 10주 제공(2021년 6월).

2). 접종묘 생산 연구

가). 대상 수종 탐색

- (1) 커피나무(*Coffea* sp.): 토양 pH6~6.5, 온도범위 7~30℃의 비옥한 배수가 잘 되는 토양에서 생육. 초기 생육이 매우 느림.
- (2) 회양목(*Buxus microphylla* var. *koreana*): 본래 한국에서 자생하는 나무로 경북, 충북을 중심으로 하는 석회암 지대의 지표 식물임
- (3) 자작나무(*Betula platyphylla* var. *japonica*): 높은 산지의 바위지대나 화강암지대, 석회암지대와 같은 바위가 많은 산지에서 생육함
- (4) 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*): 난대 및 온대 남부의 년 강수량이 1,200mm 이상이고, 겨울 강수량이 100mm 이상되는 지역에 조림이 가능하며 해발고 400m 이하의 산기슭 및 계곡에 토심이 깊고 배수가 잘되는 곳에서 생육함
- (5) 국내에서 자생하면서 석회암지대에서도 잘 자랄 수 있는 수종 위주로 조사하였음
- (6) 그 외에 개암나무, 너도밤나무와 자작나무속인 서어나무를 추가할 계획임
- (7) 커피나무의 경우, 국내에서 하우스에서 재배 관리되고 있는 수종으로 온습도 및 토양관리가 용이할 수 있기에 포함시켰으나 외생균근 형성에 관한 보고가 없음.

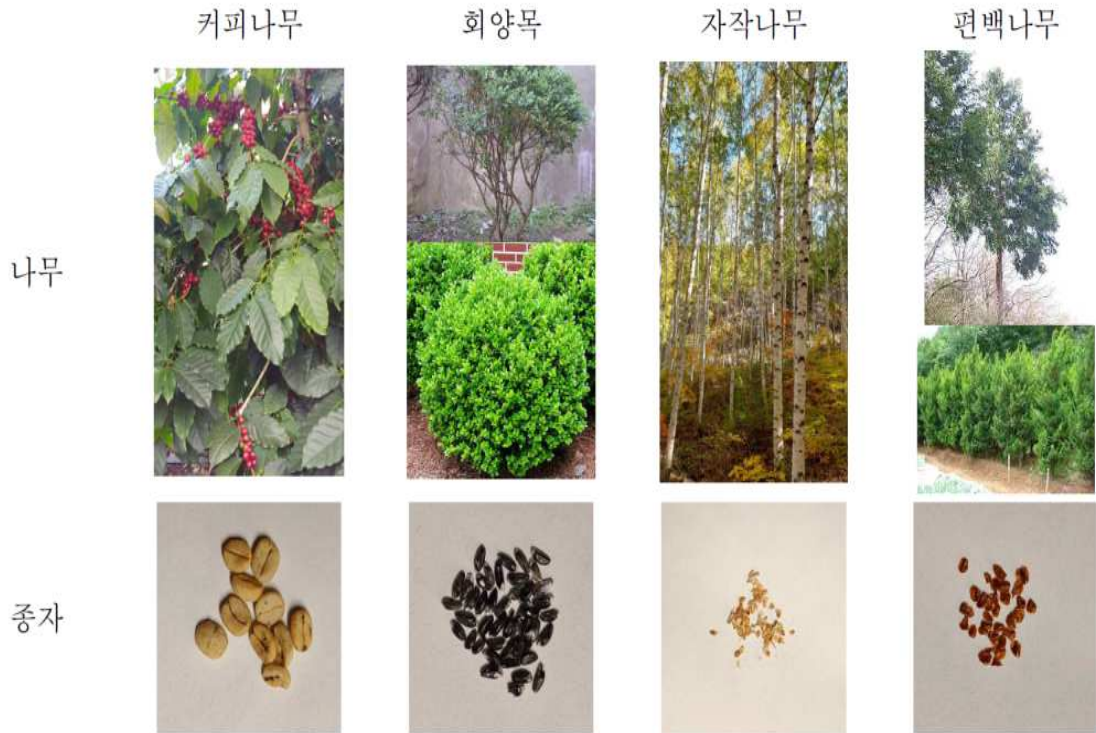


그림 133. 접종묘 생산을 위한 적합 수종 조사

나). 커피나무 접종묘 제작

- (1) 상토에서 발아 2개월된 묘목을 사용하였음
- (2) 접종묘 토양 조성은 vermiculite(질석)만을 사용하여 수분을 조절하고, 살균하여 사용함
- (3) 접종 균주는 *Tuber melanosporum*(자실체, 수입), *Tuber borchii*(균사체, 전남산림자원연구소 분양), *Tuber puberalum*(균사체, 전남산림자원연구소 분양) 3종 이용
- (4) 대조구는 살균한 질석에 이식하였고, *T.borchii*, *T.puberalum*은 균이 배양된 질석을 이식용 질석과 혼합하여 사용하였고, 수입한 여름트리플(*T.melanosporum*) 생자실체는 변형된 Hamada 액체배지에 균질기를 사용하여 현탁액을 질석에 혼합하여 이식함
- (5) 수분 공급도 멸균하여 사용하였고, 실내온도는 $26.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 를 유지시킴
- (6) 9월에 식재하여 4개월째 생육중에 있으나, 균근 형성은 안 보임

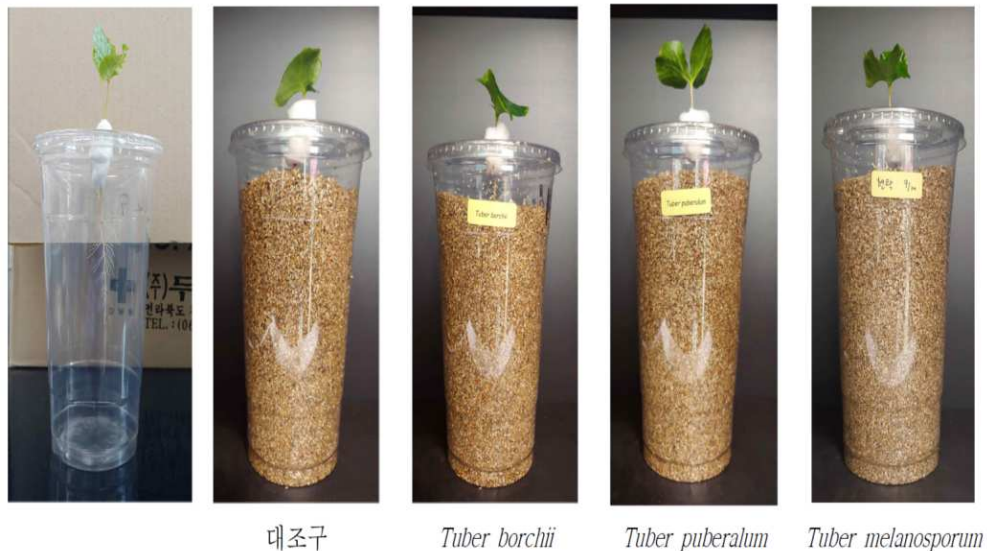


그림 134. 커피나무 이용 접종묘 생산

3). 트러플 균주 확보 및 보존

가). 해외 유전자은행 분양

- (1) 유럽 22개국이 속해있는 European Culture Collections Organisation(ECCO) 에서 트러플 균주 보유 및 분양 여부 조사
- (2) American Type Culture Collection (ATCC): *Tuber borchii Vittadini*, *Tuber albidum Pico*를 보유하고 있으나 *Tuber borchii* 균주만 분양 가능, 신청 완료.
- (3) Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (CBS): *Tuber borchii*, *Tuber albidum*, *Tuber puberulum*, 분양 신청 완료.
- (4) ATCC와 CBS에서 균주를 보유하고 있는 것으로 파악되고, 현재 분양 의뢰한 상태임

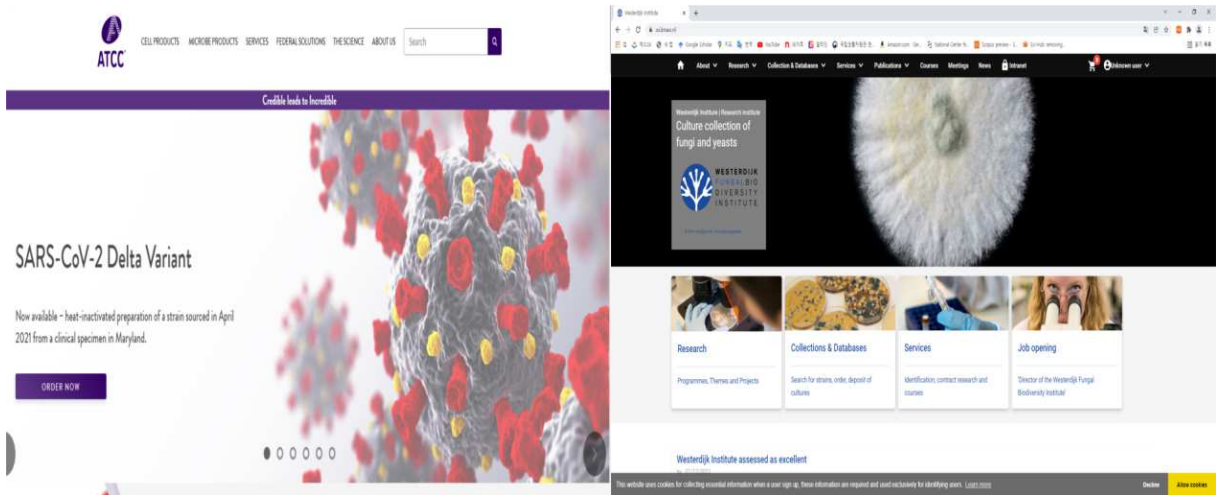


그림 135. 해외 균주 분양 홈페이지

나). 해외 야생 자실체 확보 및 균분리

- (1) 수입 업체로부터 이탈리아 지역에서 냉장 포장으로 배송되는 생자실체 구입
 - (가) Summer truffle(*T. melanosporum*): 이탈리아 알바지역에서 여름(6~11월)철 채집
 - (나) Burgundy truffle(*T. aestivum*): 이탈리아 늦가을 채집



Summer truffle



Burgundy truffle

그림 136. 수입 트러플 자실체

- (다) 균주 동정은 현재 분석 중이며, water agar, modified Hamada agar 등 다양한 배지에 조직 분리 및 포자 발아로 균 분리.

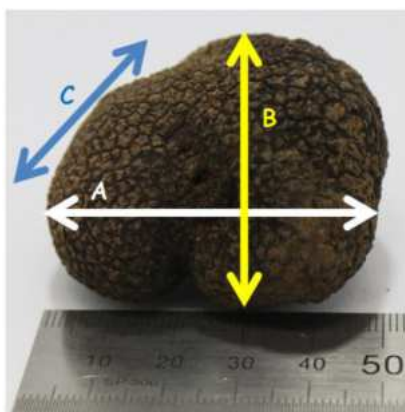
다). 국내 야생 자실체 확보 및 균 분리

- (1) 2021년 12월 충북 충주지역에서 자실체 발생 확인하였으며, 몇 해 전부터 발생한 것으로 추정.
- (2) 조경수가 조성된 지 약 20년 정도 되었으며, 주요 수종은 5종임.
 - (가) *Pinus strobus*(스트로브잣나무), *Acer palmatum*(단풍나무), *Albizia julibrissin*(자귀나무), *Buxus microphylla*(회양목), *Ginkgo biloba*(은행나무)
- (3) 채집된 자실체는 무게가 14.4g ~ 99.4g으로 다양한 크기임
- (4) 채집장소의 토양을 채취하여 토양 분석 중이며, 발생지역 토양의 미생물군 조사 중임
- (5) 자실체는 *T. himalayense*로 동정되었으며, 균분리를 위해 다양한 배지를 사용하여 조직 분리 중.



그림 137. 국내 트러플 자생지(충북 충주) 식생 및 채집 자실체

표 57. 채집 자실체 크기 및 무게



A	B	C	무 게
35.49mm	29.42mm	29.53mm	14.4g
51.12mm	47.76mm	36.18mm	34.8g
49.21mm	45.47mm	39.51mm	44.2g
56.70mm	47.20mm	42.53mm	51.4g
59.07mm	52.79mm	49.64mm	64.9g
62.43mm	57.03mm	42.30mm	70.8g
70.60mm	51.9mm	44.00mm	73.2g
75.52mm	68.44mm	32.33mm	79.3g
79.72mm	71.01mm	46.27mm	99.4g

• 제3공동(장흥군버섯산업연구원) : 수집자원 및 관련 시제품의 유용성분 분석

가. 연구개발 수행방법

1). 미네랄 성분

미네랄성분은 건식분해법으로 전처리하여 분석하고 분석 조건은 표 58.과 같다. 즉 시료 1g을 60 0℃에서 회화시켜 백색회분을 얻은 후, 회분을 2배 희석한 진한 염산 10 mL를 가해 여과하여 수욕상 에서 증발 건조 시킨 후 4배 희석한 염산을 10mL를 가하고 증류수를 가하여 100mL로 정용한 다음 여 액을 분석 시료로 사용하였다. 각 무기성분의 정량은 원자흡광광도계(Perkin Elmer AAnalyst 400) 를 이용하여 각 원소의 표준 용액 농도를 0.5, 1.0 및 5.0ppm으로 조제하여 표준 검량 곡선을 작 성하여 분석하였다.

표 58. 무기성분 분석을 위한 원자흡광광도계 조건

Parameter	Condition
Instrument	Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin Elmer AAnalyst 400)
Fuel flow	C2H2, 2.0 L/min
Oxidant flow	Air, 10.0 L/min
Wavelength (nm)	K: 766.49, Mg: 285.51, Na: 589.00, Ca: 422.67

2). 비타민류

가). 비타민 C

비타민 C 분석은 시료 1g에 같은 양의 10% 메타인산 용액을 50mL 메스플라스크에 넣고 5분간 sonication 시켜준다. 그 후 5% 메타인산용액으로 50mL로 정용한 뒤, filter paper No2 (Advantec, Japan)로 여과한 후 HPLC로 측정한다. 비타민 C의 함량은 외부표준법으로 계산하였으며, HPLC 조건은 표 59.와 같다.

표 59. 비타민 C 분석을 위한 HPLC 조건

Parameter	Condition
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Agilent XDB- C18 (Method Development Kit) (4.6 × 150 mm, 5um)
Solvent	0.05M KH2PO4 : ACN(60 : 40)
Column temp.	28.8℃
Wavelength	UV 254 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 µL

나). 비타민 D₂ 및 에르고스테롤

시료 1g에 에탄올 20mL, 10% 피로갈롤에탄올용액 40mL, 90% 수산화칼륨용액 10mL을 가하여 sonication을 30분 진행한 후 85℃ 조건에서 45분간 환류추출을 시켰다. 환류추출 후 시료를 방냉한 뒤 분액 깔데기로 전량 옮겼다. 헥산 80mL을 넣어 30분간 진탕혼합 한 후 헥산층을 취하였고 다음 과정을 3반복 수행하였다. 깔데기에 잔류한 시료를 회수하기 위해 1N KOH를 이용하여 수차례 세척하여 헥산층을 취하였다. 여과지와 무수황산나트륨을 이용하여 헥산층을 여과 시키고 40℃에서 완전 농축시킨 후 메탄올 5mL로 녹여서 HPLC로 측정하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하고, HPLC조건은 표 60.과 같다.

표 60. 비타민 D₂ 및 에르고스테롤 분석을 위한 HPLC 조건

Parameter	Condition
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Agilent XDB- C18 (Method Development Kit) (4.6 × 150 mm, 5µm)
Solvent	98% Methanol
Column temp.	28.8℃
Wavelength	UV 280 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 µL

3) 면역관련 기능성성분

가). 베타글루칸

시료의 β-glucan 함량은 mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit (Megazyme, Ireland)를 이용하여 측정하였다. 먼저 total glucan은 100mesh 체로 거른 분쇄 시료 100mg을 tube에 넣어 37% HCl 1.5mL을 넣고 45분간 30℃ water bath에 넣어 분해하였다. 그 후 증류수 10mL을 넣어 vortex하고, 100℃에서 2시간 incubation 시켰다. 그 후 실온에서 식히면서 2 N KOH를 10mL씩 넣고 200mM sodium acetate buffer (pH 5.0)로 100mL 정용 후 충분히 mixing 하였다. 200mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3-β-glucanase (20U/mL)와 β-glucosidase (4U/mL) 0.1mL를 상등액 0.1mL에 넣고. reagent blank는 acetate buffer 0.2mL을 넣고, D-glucose standard 0.1mL과 acetate buffer 0.1mL을 넣고 혼합 후 40℃에서 60분 동안 incubation 하였다. GOPOD(Glucose oxidase/peroxidase mixture, Megazyme) 3mL을 넣고 40℃에서 20분 동안 incubation 한 후, 510nm에서 흡광도를 측정하였다. α-Glucan은 100 mesh 체로 거른 분쇄 시료 100mg 을 tube에 넣고 2 M KOH 2mL씩 넣고 20분간 mixing 하였다. 1.2M sodium acetate buffer(pH3.8) 8mL를 넣고 섞은 후 amyloglucosidase(1630U/mL) plus invertase (500U/mL) 0.2mL을 넣고, 잘 섞어서 40℃ water bath에서 30분간 incubation 하였다. 상등액 0.1mL에 200mM sodium acetate buffer(pH5.0) 0.1 mL, GOPOD 3mL을 넣고 40℃에서 20분간 incubation 한 후, 510nm 흡광도에서 측정하여 α-glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α-glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액(1mg/mL)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량 (g/100g) 값으로 계산하였다. β-glucan 함량은 total glucan 함량에서 α-glucan 함량을 빼준 값으로 계산하였다.

나. 분석 결과

1). 미네랄 성분 분석 결과

트러플 원물과 트러플을 활용하여 제작된 제품들의 미네랄 성분은 다음 표 61.과 같다. 나트륨은 세포막 전압을 유지하는 중요한 인자로서, 삼투압 유지와 수분 평형에 관여하며, 산업기의 균형 조절 및 신경 자극 전달에도 중요한 역할을 한다. 나트륨 과잉 섭취로 인한 증상은 비특이적이며, 오심, 근무력증, 기면 혼수 등 정신 상태의 변화를 포함한다. 장기적인 과잉 섭취는 혈압상승, 뇌졸중, 심근경색, 등의 심장질환 및 신장 질환의 발병과 진행을 촉진한다. 다음 시료 중 나트륨의 함량은 트러플 소금에서 195046.17mg%로 가장 높게 나타났고, 18.12mg%로 트러플 원물에서 가장 낮은 나트륨 함량이 나타났다. 마그네슘은 뼈와 치아의 구성요소이며, 인체 내 300여종 이상 효소의 조효소 역할을 한다. 따라서 마그네슘 부족 시 혈청 칼슘 농도 저하 등의 증세를 보일 수 있다. 마그네슘 함량은 트러플 오일에서 1.01mg%로 가장 낮은 함량을 보였으며, 221.68 mg%로 가장 높은 함량을 나타냈다. 체내 칼슘의 대부분은 주로 뼈에 존재하였다.

그 외 체내 여러 조직에서 신경의 자극전달, 근육이나 혈관의 수축 및 이완 조절 등의 대사과정에 관여한다. 따라서 칼슘은 인체의 구성과 성장에 필요한 영양소이다. 하지만 일정 수준 이상으로 섭취하면 변비가 발생하거나, 신장조직이 파괴될 수 있고 신장결석의 위험도가 증가할 수 있다. 칼슘의 함량은 3.92mg%로 트러플 콘 타르푸토에서 가장 낮은 함량을 보였으며, 트러플 소금에서 139.70mg%로 가장 높은 함량을 보였다. 칼륨은 세포내액의 주요 전해질로 나트륨과 함께 정상적인 삼투압을 유지시킴으로써 수분평형을 유지하며 세포액을 보전하는 기능을 한다. 건강한 상태에서는 칼륨의 결핍증이 나타나지 않지만, 결핍되면 심부정맥, 근육 약화 등의 증상이 나타난다. 칼륨 함량은 트러플 오일에서 1.69mg%로 가장 낮지만, 트러플 오일에서 2587.92mg%로 가장 높게 나타났다. 다음 시료 중 트러플 소금의 적절한 섭취로 미네랄 함량 과잉이 일어나지 않도록 주의하여야 한다.

표 61. 트러플 원물 및 트러플 제품 무기성분 함량

Samples	Mineral (mg%)			
	Na	Mg	Ca	K
트러플 원물 (건조)	18.12± 0.09 ¹⁾	98.59± 0.23	18.73± 0.21	2587.92± 34.47
블랙 트러플 슬라이스	167.48± 3.55	16.99± 0.02	14.73± 0.05	784.17± 5.83
화이트 트러플 슬라이스	4172.31± 233.91	15.26± 0.09	11.36± 0.19	568.06± 13.30
트러플 마요네즈	431.41± 7.71	4.10± 0.03	4.82± 0.04	48.41± 0.36
트러플 머스타드	2514.07± 67.24	36.06± 0.09	24.17± 0.10	328.63± 7.61
트러플 소금	195046.17± 7463.25	221.68± 0.43	139.70± 1.18	798.12± 58.78
트러플 콘 타르푸토	2196.15± 55.37	3.75± 0.03	3.92± 0.05	34.20± 0.17
트러플 오일	1915.61± 86.77	1.01± 0.00	5.42± 0.08	1.69± 0.01
트러플 페스토	2885.47± 87.56	29.29± 0.05	30.44± 0.22	334.11± 2.28
트러플 핫소스	1917.43± 49.62	7.21± 0.02	5.58± 0.09	320.90± 6.58

¹⁾ All data were presented by means±standard deviation.(N=3)

2). 비타민 C 성분분석 결과

트러플 원물과 트러플을 활용하여 제작된 제품들의 비타민C 성분은 다음 표 62.와 같다. 비타민 C는 대표적인 수용성 비타민으로서 다양한 산화스트레스에 대항하여 최초의 항산화 역할을 수행하는 것으로 알려져 있으며 기질로부터 생성물을 전환하는데 있어 촉매역할을 하는 효소로 알려져있다. 기존에 항산화 물질일 풍부하다고 알려져 있는 트러플은 비타민C, 라이코펜, 갈산 같은 항산화 물질이 풍부하여 암, 심장병, 당뇨 등을 억제한다고 확인되었다. 비타민 C 함량 측정 결과 트러플 건조 원물에서 10.15mg/100g으로 가장 높은 함량을 보였고, 화이트트러플슬라이스와 블랙 트러플슬라이스에서 각각 1.90, 1.65mg/100g으로 나타났다. 또한 트러플을 활용하여 만든 가공 제품인 마요네즈, 머스타드, 소금, 타르푸토, 페스토에서 비타민 C함량은 0.33~0.55mg/100g으로 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 트러플오일과, 핫소스에서는 비타민 c가 불검출 되었다.

표 62. 트러플 원물 및 트러플 제품 비타민 C 함량

Samples	(mg/100g)
	Vitamin C
트러플 원물 (건조)	10.15± 0.33 ¹⁾
블랙트러플슬라이드	1.65± 0.09
화이트트러플슬라이드	1.90± 0.11
트러플 마요네즈	0.33± 0.02
트러플 머스타드	0.42± 0.03
트러플 소금	0.37± 0.05
트러플 콘 타르푸토	0.55± 0.09
트러플오일	N.D ²⁾
트러플 페스토	0.48± 0.09
트러플 핫소스	N.D

¹⁾ All data were presented by means±standard deviation.(N=3)

²⁾ Not detected.

3). Ergosterol 성분 분석 결과

트러플 원물과 제품의 에르고스테롤 함량은 표 63.와 같다. 에르고스테롤은 vitamin D2 전구체로서 버섯에 풍부하게 존재한다고 알려져 있으며, 자외선 조사에 의해 vitamin D2로 전환되어 충분한 vitamin D2 공급원이 될 수 있다. 트러플 제품 중 Vitamin D2 함량은 블랙 트러플 슬라이스와 화이트 트러플 슬라이스에서 각각 331.41mg%, 302.43mg%로 높게 검출되었으며 다음으로 트러플 원물을 포함한 트러플 소금, 트러플 머스타드, 트러플 페스토 순으로 높게 나타났다. 반면에 지방함량이 높은 트러플 콘 타르푸토, 트러플 오일에서는 검출되지 않았다.

표 63. 트러플 원물 및 트러플 제품 ergosterol 함량

Samples	(mg/100g)
	Ergosterol
트러플 원물 (건조)	596.91± 7.46 ¹⁾
블랙 트러플 슬라이스	331.41± 6.61
화이트 트러플 슬라이스	302.43± 6.1
트러플 마요네즈	23.19± 0.68
트러플 머스타드	91.06± 0.55
트러플 소금	108.22± 4.17
트러플 콘 타르푸토	ND ²⁾
트러플 오일	ND
트러플 페스토	74.4± 0.56
트러플 핫소스	22.28± 0.36

¹⁾ All data were presented by means±standard deviation.(N=3)

²⁾ Not detected.

4). 비타민D2 성분 분석 결과

트러플 원물과 제품의 비타민D2 함량은 표 64.와 같다. 트러플 제품 중 Vitamin D2 함량은 블랙 트러플 슬라이스와 화이트 트러플 슬라이스에서 각각 0.32mg%, 0.28mg%로 높게 검출되었으며 트러플 원물을 포함한 제품인 머스타드, 소금, 페스토에서도 미량 검출되었다. 반면에 마요네즈, 타르푸토, 오일, 핫소스와 같이 원물을 포함하지 않은 소스류에서는 검출되지 않았다. 비타민D는 D2(ergocalciferol)와 D3(cholecalciferol) 두 가지 형태로 나누어지며, 뼈 건강과 심혈관질환, 항암 활성에 효과가 있다고 보고되어 있다. D2는 주로 식물 및 버섯에서 합성되고 D3는 고등어, 참치, 계란 등에서 많이 발견된다.

표 64. 트러플 원물 및 트러플 제품 vitamin D₂ 함량

Samples	(mg/100g)
	Vitamin D2
트러플 원물 (건조)	0.45± 0.02 ¹⁾
블랙 트러플 슬라이스	0.32± 0.02
화이트 트러플 슬라이스	0.28± 0.01
트러플 마요네즈	ND ²⁾
트러플 머스타드	0.02± 0
트러플 소금	0.07± 0
트러플 콘 타르푸토	ND
트러플 오일	ND
트러플 페스토	0.04± 0
트러플 핫소스	ND

¹⁾ All data were presented by means±standard deviation.(N=3)

²⁾ Not detected.

5). β-Glucan 함량 분석 결과

트러플 원물과 트러플을 활용하여 제작된 제품들의 β-glucan 성분은 다음 표 65.와 같다. 트러플 원물에서의 함량은 20.54%로 다른 시중에 판매되는 제품들에 비해 유의적인 차이로 높게 나타났으며, 트러플 핫소스에서는 β-glucan이 검출되지 않았다. 트러플 원물에 천일염을 첨가하여 통조림으로 제작한 블랙트러플슬라이스와 화이트트러플슬라이스를 제외한 시판 제품에서 β-glucan 함량은 0.47~1.28%로 나타났다. 다음 결과로 트러플을 활용하여 생산된 제품은 맛과 향뿐만 아니라 면역 증진에도 도움이 될 것으로 사료 된다.

표 65. 트러플 원물 및 트러플 제품 β-glucan 함량

Samples	(%)
	β- glucan
트러플 원물 (건조)	20.54± 0.46 ¹⁾
블랙트러플슬라이드	5.81± 0.12
화이트트러플슬라이드	6.17± 0.14
트러플 마요네즈	0.47± 0.04
트러플 머스타드	0.72± 0.14
트러플 소금	0.92± 0.02
트러플 콘 타르푸토	0.47± 0.14
트러플오일	0.55± 0.26
트러플 페스토	1.28± 0.05
트러플 핫소스	N.D 2)

¹⁾ All data were presented by means±standard deviation.(N=3)

²⁾ Not detected.

[4차년도]

- 주관(전남산림자원연구소) : 트러플 인공재배를 위한 최적 균주 및 자생 수종 선발

가. 연구개발 수행방법

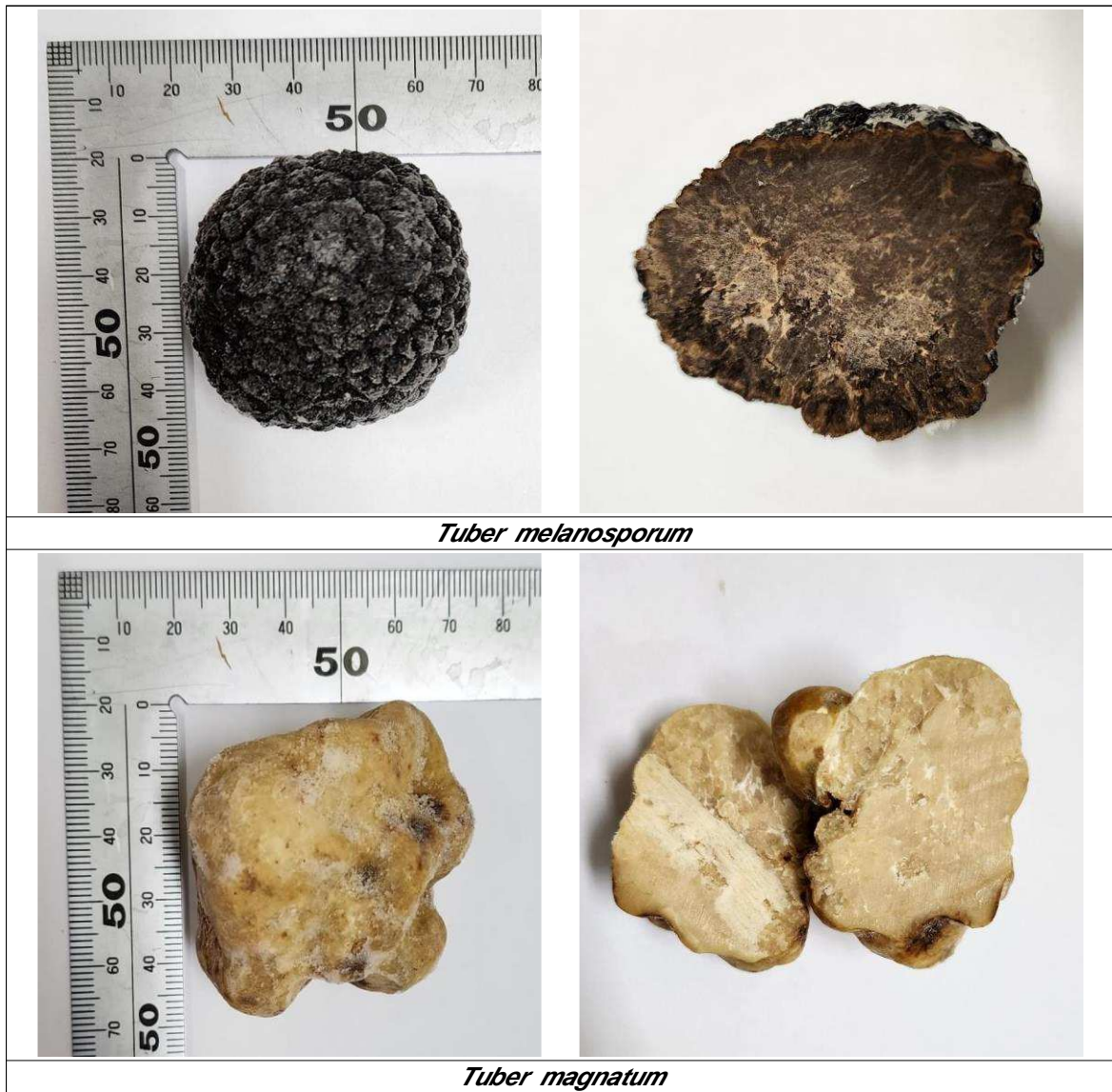
1) 국내 자생 수종 이용 접종묘 생산 및 시험포지 확보

가). 국내 자생 수종이용 접종묘 생산 및 균근형성 특성 조사

(1) 자실체 구입 및 균주 확보

(가) 트러플 균주 확보를 위하여 트러플 2종을 구입하여 MMNA배지에 조직분리를 실시하였으나, 균 분리는 되지 않음.

(나) 남은 자실체는 접종묘 생산을 위한 접종원으로 사용하기 위하여 현탁액을 제조하여 냉장보관 중.



Tuber melanosporum

Tuber magnatum

그림 137. 트러플 자실체 모습

(2) 접종묘 생산시설 구축

(가) 접종묘 대량생산을 위한 묘목생산 및 접종묘 생육관리를 위하여 보온, 관수시설이 확보된 하우스를 설치하였으며, 내부에 접종묘 효율적인 생육관리를 위하여 선반을 설치함.



그림 138. 묘목 및 접종묘 생육시설 구축

(3) 접종묘 생산 및 생육관리

(가) 4수종(상수리, 개암, 종가시, 소나무)를 대상으로 하여 트러플 4종(*Tuber melanosporum*, *T. indicum*, *T. borchii*, *T. aestivum*)의 포자현탁액을 접종한 후 한달 간격으로 균근형성을 확인하여 총 208본의 접종묘를 확보함(그림 139., 140., 표 66.).

(나)실증시험포에 이식하기 전, 접종묘를 건전한 상태로 유지하기 위하여 온도, 습도, 햇빛 등을 관리하였으며, 한 달 간격으로 무작위로 뿌리를 채취하여 균근의 존재 유무를 확인함.

표 66. 트러플 접종묘 보유 현황

수종	균주	혼합비율	수량(본)	비고
상수리	<i>Tuber melanosporum</i>	상토 100%	11	
	<i>T. indicum</i>	상토 100%	57	
	소계		68	
개암나무	<i>T. melanosporum</i>	상토 100%	4	상토:질석
		7:3	4	
		5:5	5	
		3:7	5	
	소계		18	
	<i>T. borchii</i>	상토 100%	1	상토:질석
		7:3	4	
		5:5	5	
		3:7	5	
	소계		15	
	<i>T. aestivum</i>	상토 100%	4	상토:질석
		7:3	4	
		5:5	5	
		3:7	5	
	소계		18	
	종가시나무	<i>T. melanosporum</i>		13
<i>T. borchii</i>			12	
<i>T. aestivum</i>			14	
<i>T. indicum</i>			14	
소계			53	
소나무	<i>T. melanosporum</i>		10	
	<i>T. borchii</i>		11	
	<i>T. aestivum</i>		10	
	<i>T. indicum</i>		4	
	소계		36	
수종별 총 합계			208	



그림 139. 접종묘 생산 및 균근확인



그림 140. 접종묘 생육관리

나). 접종묘 실증시험포 조성

(1) 실증시험포 형태에 따른 접종묘 생육 및 자실체 생산 특성을 알아보기 위하여 두 가지 형태의 실증시험포를 조성함(그림 141.).

(2) 실증시험포-1 조성

(가) 실증시험포-1은 기존 묘포장에 오염 및 관리를 용이하게 하기 위해 제초 및 자갈, 뿌리 등 이물질을 제거한 후, 배수 및 산도관리를 효율적으로 하기 위하여 마사토를 이용하여 50cm 높이로 복토 하였으며, 산도조절을 위해 석회를 살포함.

(나) 최초 실증시험포-1의 6곳에서 토양샘플을 채취하여 산도를 측정된 결과 평균산도는 pH6.5였으나 석회 살포 후 최대 pH8.6, 평균 pH8.25로 상승하여 트리플 생육에 적합하게 조절됨.

(다) 산도가 조절 된 후, mulching에 따른 재배 및 접종묘 생육 특성을 조사하기 위하여 black mulching과 white mulching을 설치함.

(라) 추후, 그림 142.와 같이 접종묘를 식재하여 접종묘 생육 및 균근 형성 특성을 조사할 계획임.



그림 141. 실증시험포-1 조성

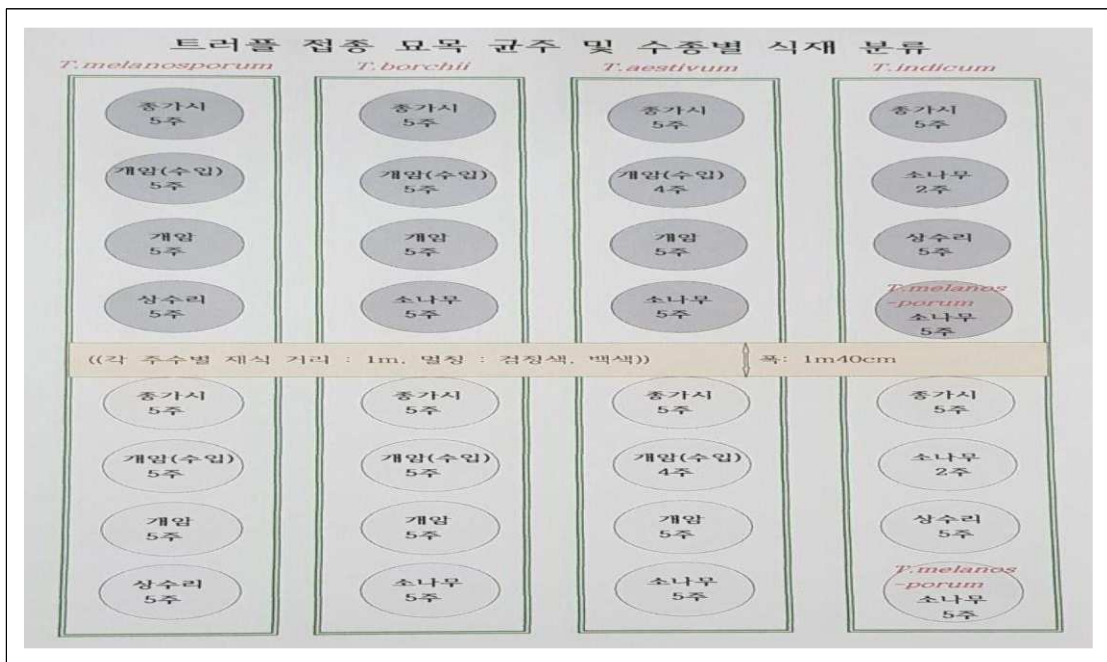


그림 142. 실증시험포-1 접종묘 수종별·균주별 식재 배치

(3) 실증시험포-2 조성

(가) 실증시험포-1 인근 공터에 오염 및 관리를 용이하게 하기 위해 제초 및 자갈, 뿌리 등 이물질을 제거한 후, 배수 및 산도관리를 효율적으로 하기 위하여 분형태로 흙을 쌓아올렸으며, 산도조절을 위해 석회를 살포함.

(나) 최초 실증시험포-2의 6곳에서 토양샘플을 채취하여 산도를 측정된 결과 평균산도는 pH6.0이었으나 석회 살포 후 최대 pH8.3, 평균 pH8.17로 상승하여 트리플 생육에 적합하게 조절됨.

(다) 추후 접종묘를 식재하여 접종묘 생육 및 균근 형성 특성을 조사할 계획임.



그림 143. 실증시험포-2



그림 144. 실증시험포 산도측정

3). 국내 트러플 발생지 현장 조사 및 시료 확보

가). 국내 트러플 자생지 조사








(1) 전남 화순지역 현장 조사

- (가) 조사지역은 폐광지역 인근으로 모암이 석회암인 지역으로, 트러플 자생이 예상되는 지역임.
- (나) 조사지역내 2곳을 대상으로 하여 토양 시료를 확보하였으며, 토양산도를 측정한 결과 토양 산도는 용곡리 지역에서 평균 pH8.17로 알카리성으로 나왔으며, 수리지역은 평균 pH6.6으로 중성에 가까웠음(그림 145., 표 66.).
- (다) 채취한 시료를 NGS 분석한 결과, 균근 및 군사분포는 확인되지 않았으나 지속적으로 시료 채취 및 분석을 실시할 예정임.



그림 145. 토양시료 확보 및 산도측정

표 66. 조사지별 토양산도 분석표

번호	조사지	토양산도(pH)		산도 평균	토양사진	비고
1	백아면 용곡리 (소나무 부근)	1차	8.07	7.93		평균 PH 8.17
		2차	7.86			
		3차	7.86			
2	백아면 용곡리 (소나무 부근)	1차	8.43	8.41		
		2차	8.36			
		3차	8.44			
3	백아면 수리 (소나무 부근)	1차	7.81	7.46		
		2차	7.27			
		3차	7.30			
4	백아면 수리 (밤나무 부근)	1차	6.37	6.20		
		2차	6.08			
		3차	6.14			
5	백아면 수리 (소나무 부근)	1차	6.69	6.70		평균 PH 6.64
		2차	6.63			
		3차	6.67			
6	백아면 수리 (참나무 부근)	1차	6.65	6.65		
		2차	6.66			
		3차	6.65			
7	백아면 수리 (소나무 부근)	1차	6.29	6.22		
		2차	6.14			
		3차	6.25			

나). 국내 트러플 자실체 발생지 조사

(1) 충북 충주지역 자실체 발생지 현장 조사

- (가) 충주지역 자실체 발생지 현장 조사를 통해, 토양, 균근, 자실체 등 시료 확보
- (나) 충주지역에서는 동일지역내 2개소에서 자실체가 발견되었으며, 한 곳은 기주가 잣나무였으며, 다른 한 곳은 소나무였다. 두 곳 모두 인공적으로 조성된 곳으로 주기적인 관리가 되고 있었음.
- (다) 충주지역 수집된 자실체는 모두 *Tuber himalayense*임.
- (라) 자실체가 발견된 장소의 토양시료를 채취한 후 한국임업진흥원에 토양분석을 의뢰하였으며, 두 곳 모두 토성은 모래 함유가 높은 사질양토, 토양산도는 7.7~7.8로 약 알카리성을 보였으며, 그 외 성분은 유사하게 분석됨(그림 146., 표 67.).

(사) 자실체 발생예상지에서는 자실체는 발견되지 않았으며, 토양 NGS 분석결과 균근 및 균사는 분포하는 않는 것으로 분석됨.

표 68. 트러플 발생지내 토양분석표(제주도)

구분	입도분석				산도 pH	유기물 (%)	전질소 (%)	유효 인산	CEC	치환성양이온			
	모래 (%)	미사 (%)	점토 (%)	토성						K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺	Mg ⁺
제주도 (서어나무)	49.7	30.4	20.0	양토	6.5	16.94	0.765	47.4	27.8	1.08	0.20	20.58	4.87

출발일	2022. 09. 09
종료일	2022. 09. 09
출발구분	대규모 출격

부부장	연구책임자	산림자원조사	산림자원조사
장	장	비서	조교
비서			

안국군악의 순계악술대의 참석 및 트러플 자생지 현지조사 결과 보고

안국군악의 순계악술대의 참석 및 트러플 자생지 현지조사 결과 보고

본지역의 트러플 자생지 조사 연구성과 발표 및 제주도내 트러플 자생지 조사결과 보고

- 출장 개요**
 - 출발목적 : 연구성과 발표 및 제주도 내 트러플 현지 조사 등
 - 출장지 : 제주도(제주 국제컨벤션센터)
 - 출발일자 : '22. 4. 28 ~ 30(3일간)
 - 출장자 : 송정 등 3명
- 주요 내용**
 - 지역 참석 및 연구성과 발표
 - 최신 근황 관련 연구 동향 소개 및 연구성과 확인
 - 연구성과 포스터 발표 : 전남도내 트러플 자생지 현황 조사
 - 연구자-연구기관 간 연구성과 교류 및 협력 방안 모색
 - 트러플 연구기관별 연구추진 현황 보고
 - 참석자 : 전남도내(2명), 한국교원대(6명), 순경버섯 주식회사(1명)
 - 연구기관별 추진상황 보고
 - 전남도내 : 전남도내 자실체 발생지 조사, 현장실용 연구 추진 등
 - 한국교원대 : 트러플 마커 개발 및 현장모 아외 적용 시험 등
 - 순경버섯주식회사 : 국내 자실체조사용 장비 및 현장실용 분석 등
 - 기타사항 : 연구기관 간 연구성과(균주, 검출기술 등) 공유 및 협력사항 논의
 - 연구추진(4년차) 조성 및 현장 확인 + 7월 중 발표 예정

향후 추진계획

- 연구성과회 및 전남도내 트러플 자생지 현장 조사 ('22. 7월 중(예정))
- 트러플 현장실용 연구용 장비 개발 추진 ('22. 7월 중(예정))

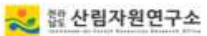


그림 148. 자실체 발생예상지 현장조사 및 연구성과 발표 학회 참석 보고서

(가) 자실체 발생지 특성 비교

(가) 자실체가 발견된 충주지역과 제주지역의 토양특성을 비교한 결과, 충주지역은 약알카리성의 사질양토인 반면, 제주지역은 중성의 양토로 분석되었으며, 기주 역시 침엽수(소나무, 잣나무)와 활엽수(서어나무)로 큰 차이를 보였다. 이와 같은 결과로 볼 때 트러플은 활물기생버섯인 송이와 비교하였을 때, 생육조건이 기주의 다양성이 높고, 군주에 따라서 다른 생육조건을 가지고 있는 것으로 판단됨.

(나) 또한, 숲 속에서는 발견되지 않고 개방된 길가나 정원에서 발견되는 것으로 보아 충분히 공기가 유통되어 환기가 되고 햇빛이 잘 들어오는 곳에서 자실체가 발생하는 것으로 사료됨.

출발일	2022. 12. 07
종료일	2022. 12. 07
출발구분	대규모 출격

부부장	장	산림자원조사	산림자원조사
장	장	비서	조교
비서			

트러플 현장 조사 및 세미나 출장 결과 보고

트러플 현장 조사 및 세미나 출장 결과 보고

제주지역 트러플 자생지 현장 조사를 통한 자실체 조사 및 연구기관별 연구성과 공유를 위한 세미나 결과 보고

- 출장 개요**
 - 출발목적 : 트러플 자생지 조사 및 연구성과 발표 등
 - 출장지 : 제주 서귀포시 일대
 - 출발일자 : '22. 12. 7 ~ 3(3일간)
 - 출장자 : 2명(김현석, 김은주)
- 주요 내용**
 - 트러플 자생지 조사 및 자실체-균근-토양 시료 채취
 - 트러플 자생지 조사(1개소) : **지실재(*T. himalayensis*) 30개 개원**
 - 발달단계주 서귀포시 1100호 주변
 - 트러플 자생해결지 추가 조사(3개소) : 토양 및 균근 시료 채취
 - 무오법영사, 서귀포자연휴양림, 영실탈영로 주변
 - 트러플 연구기관별 연구추진 현황 보고
 - 참석자 : 본소(2명), 한국교원대(6명), 순경버섯 주식회사(1명)
 - 연구기관별 추진상황 보고
 - (연구소) 전남도내 자실체 발생지 조사, 현장실용 연구 추진 등
 - (한국교원대) 트러플 마커 개발 및 현장모 아외 적용 시험 등
 - (순경버섯주식회사) 현장모 현장실용 추진 및 현장모 생산설비 구축
 - (기타사항) 연구기관 간 연구성과(균주, 검출기술 등) 공유 및 협력
- 향후 추진계획**
 - 연차보고서(4년차) 작성 및 제출 : '23. 2. 15.한

관련 사진

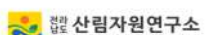


그림 149. 트러플 자실체 발생지 현장조사 결과 보고서

3). 트러플 접종묘 대량생산 및 현장실증 연구(위탁:송강버섯 주식회사)

가). 접종묘 대량생산 연구

(1) 유묘 육성

(가) 실생묘 생산 : 개암종자 파종 및 실생묘 생산

개암종자의 발아율을 높이기 위해서 수확(8월) 후 바로 파종을 실시하였으며, 발아율을 90% 이상으로 높힐 수 있었음.



그림 150. 개암나무 실생묘 생산

나). 접종묘 현장실증 시험포 조성 및 현장실증

(1) 접종묘 현장실증 시험포 조성

(가) 부지 선정 후 배수로 설치, 토양산도 조절, 제초 작업 추진(그림 151.).

(나) 확보된 접종묘 시험포 이식 및 생육 관리(그림 152.)



그림 151. 현장실증 시험포 조성



그림 152. 접종묘 이식 및 생육관리

다). 접종묘 대량생산시설 및 시험포 현장 세미나 개최

- (1) 접종묘 대량생산을 위한 접종기술 시연
- (2) 접종묘 대량생산 시설 및 접종묘 생육 기술 교류
- (3) 접종묘 실증시험 실증포 견학 및 생육상태 확인



그림 153. 현장세미나 모습

<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="font-size: 8px;">총무팀장</td> <td style="font-size: 8px;">김영희</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">팀장</td> <td style="font-size: 8px;">김영희</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">팀원</td> <td style="font-size: 8px;">김영희</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">팀원</td> <td style="font-size: 8px;">김영희</td> </tr> </table>	총무팀장	김영희	팀장	김영희	팀원	김영희	팀원	김영희	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="font-size: 8px;">주최</td> <td style="font-size: 8px;">산림청</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">주최자</td> <td style="font-size: 8px;">산림청</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">주최처</td> <td style="font-size: 8px;">산림청</td> </tr> <tr> <td style="font-size: 8px;">주최자</td> <td style="font-size: 8px;">산림청</td> </tr> </table>	주최	산림청	주최자	산림청	주최처	산림청	주최자	산림청	<h2 style="text-align: center;">22년 트러플 연구과제 연공세미나 및 중간점검 회의 출장결과 보고</h2> <p style="font-size: 8px;">본회의 접종묘 대량생산 및 현장실증 연구포 현황을 소개 및 연구 성과 공유를 위한 세미나 형식 결과물 보고 드림.</p> <h3>1 출장 개요</h3> <ul style="list-style-type: none"> ○ 출장목적 : 추진상황 중간 점검 및 트러플 현장 조사 등 ○ 출장지 : 전남 담양·장성 일대 ○ 출장일자 : 22. 7. 21. ~ 22(2일간) ○ 참석자 : 18명 <ul style="list-style-type: none"> - 전남산림자원연구소 : 이복근 산림바이오사업장, 김현희 연구사 등 3명 - 한림고등학교 : 김현희 교수 등 6명 - 한국농수산대학 : 서건석 교수, 김원경 박사 등 3명 - 김홍권보안산업연구원 : 김원재 부장, 김승희 연구원 등 5명 - 유승필보안 : 이무준 대표 <h3>2 주요 내용</h3> <ul style="list-style-type: none"> ○ 연구기관별 추진상황 및 계획 보고 <ul style="list-style-type: none"> - 전남산림자원연구소 : 수종별 현장용 종자 및 자생지 조사 진행 - 한림고등학교 : 현장용 종자관리 및 현장용 종자관리 기밀 진행 - 김홍권보안산업연구원 : 종자별 현장용 및 장기 실험 분석 - 유승필보안 : 접종묘 대량생산 시설의 구축 및 현장 실증지대 확보조사 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 접종묘 대량생산 및 현장실증 재배 시험포 확인 <ul style="list-style-type: none"> - 장 소 : 전남 담양 고서면(국립연구기관 내) - 주요내용 : 접종묘 대량생산 및 생육기술 교류, 현장용 현장실증 시험포 점검 ○ 트러플 자생지 현장조사 <ul style="list-style-type: none"> - 장 소 : 전남 담양의 신평리 일대 - 주요내용 : 현장용 시험포 자생지 점검 및 시험포 조성 ○ 기타 협의내용 <ul style="list-style-type: none"> - 김홍권보안산업연구원 : 기밀관리 및 현장용 종자 관리 - 현장용 시험포 관리 및 현장용 종자 관리 <h3>3 향후 추진계획</h3> <ul style="list-style-type: none"> ○ 수종별 접종묘 생산 및 관리 : 계속 ○ 트러플 자생지 조성(장성 등) : 계속 ○ 접종묘 생산시설 및 현장실증 시험포 구축 : 8 - 9월 ○ 하반기 현장 세미나 추진(중부 등주) : 10.18-19
총무팀장	김영희																		
팀장	김영희																		
팀원	김영희																		
팀원	김영희																		
주최	산림청																		
주최자	산림청																		
주최처	산림청																		
주최자	산림청																		

22년 트러플 연구과제 연공세미나 및 중간점검 회의 출장결과 보고

그림 154. 현장세미나 개최 보고서

- 제1공동(한국교원대학교) : 국내 트러플 자생지 환경조건 규명 및 인공재배 접종묘 대량 생산 기술 최적화

가. 연구개발 수행방법

1). 국내 자생 트러플 확보 및 접종묘 생산

가). 외생균근 분석

- (1) 야외 환경에 자생하는 트러플 외생균근균 확인
- (2) 충북 충주와 경북 포항에서 잣나무과 떡갈나무 뿌리를 채취하여 트러플이 외생균근을 형성 하고 있는 것을 확인(표 69.).

표 69. 4차년도 야외 환경 외생균근균 분석 결과

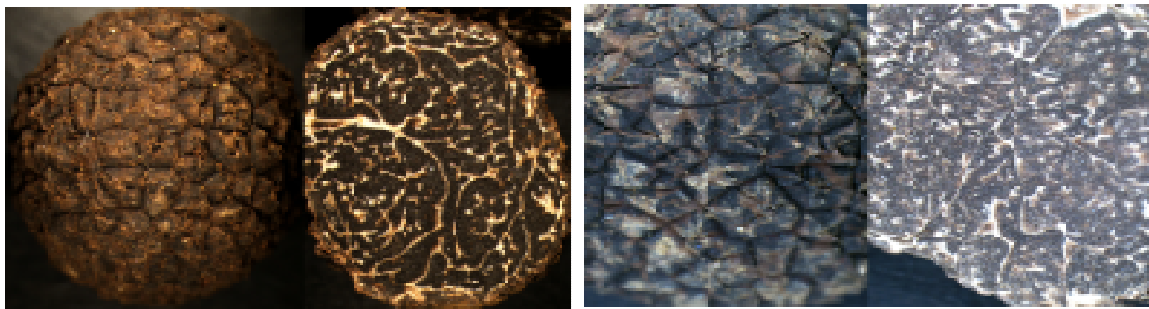
채집지		숙주식물	Root tip sequencing
충북	충주	잣나무	<i>T. himalayense, T. torulosum</i>
경북	포항	떡갈나무	<i>T. himalayense</i>

나). 자생 트러플 자실체 확보 및 분동정

- (1) 충북 충주와 제주 지역에서 트러플 자실체를 확보하여 염기서열을 분석하여 동정한 결과 *Tuber himalayense*임을 확인하였으며(표 70, 그림 154.), 자실체로부터 균주를 분리하기 위한 연구 수행 중임.

표 70. 4차년도 국내 자생 트러플 자실체 확보 현황

균주번호	species	채집지	숙주식물	Accesssion No.(NCBI)	ident(%)
JJ22001	<i>Tuber himalayense</i>	제주	개서어나무	OQ054791.1	100%
CB22001	<i>Tuber himalayense</i>	충주	잣나무	OQ054616.1	98.73%



T. himalayense (제주)

T. himalayense (충주)

그림 154. 수집 자실체 모습

다). 트러플 접종묘 생산

(1) 접종묘 생산을 위한 균주

(가) 국내 자생 트러플 자실체 확보

3종 : *T. himalayense* (단양, 제주, 충주), *T. huidongense*(포항), *T. koreanum* (경주, 울진, 문경)

(나) 해외 수입 트러플 자실체 확보

5종 : *T. indicum*, *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. borchii*, *T. magnatum*

(2) 숙주식물 유묘 확보

(가) 참나무류, 개암나무 유묘(그림 155.)

- 구입, 직접 채취 등을 통하여 종자 확보
- 표면살균 후 플라스틱 포트(160ml)에 멸균된 토양과 함께 무균 상태로 배양
- 균주 접종이 가능해질 때까지 2~3개월 정도 온실에서 생육

(나) 소나무 유묘(그림 155.)

- 구입을 통한 종자 확보
- 표면살균 후 유리 배양병에 멸균된 토양과 함께 무균 상태로 배양
- 균주 접종이 가능해질 때까지 3~4주 정도 온실에서 생육



개암나무 유묘



소나무 유묘

그림 155. 확보된 수종별 유묘

(3) 트러플 접종묘 제작

(가) 트러플 자실체를 식물의 뿌리에 접종하여 접종묘 제작

- 자실체를 멸균된 토양과 혼합하여 무균 배양된 유묘 뿌리에 접종

(나) 트러플 균사체를 식물의 뿌리에 접종하여 접종묘 제작

- 균사체를 멸균된 토양과 혼합하여 무균 배양된 유묘 뿌리에 접종

(4) 트러플 균근 형성 확인

(가) 온실 순수배양실에서 2020년 4월 ~ 2022년 12월 동안 배양 후 균근 감염 확인

- (나) *T. borchii*, *T. huidongense*, *T. koreanum*, *T. himalayense*, *T. indicum*, *T. melanosporum* (그림 156.) 등 접종한 균주 모두 참나무와 개암나무 묘목의 뿌리에 접종묘 형성.



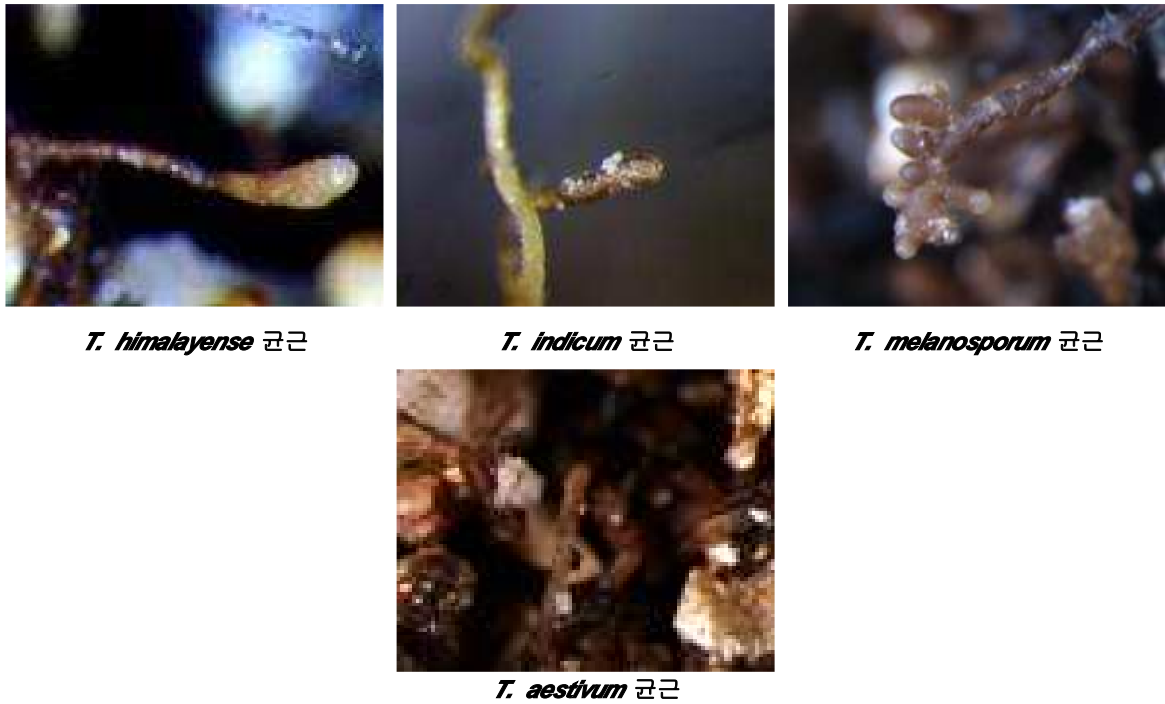
T. borchii 균근



T. huidongense 균근



T. koreanum 균근



T. himalayense 균근

T. indicum 균근

T. melanosporum 균근

T. aestivum 균근

그림 156. 수종별, 균주별 균근 형성 확인

(다) 소나무에 균사체를 이용하여 접종한 *T. koreanum* 외생균근 형성 확인(그림 157.).
- 2022년 5월 접종 후, 11월 균근 형성 확인.

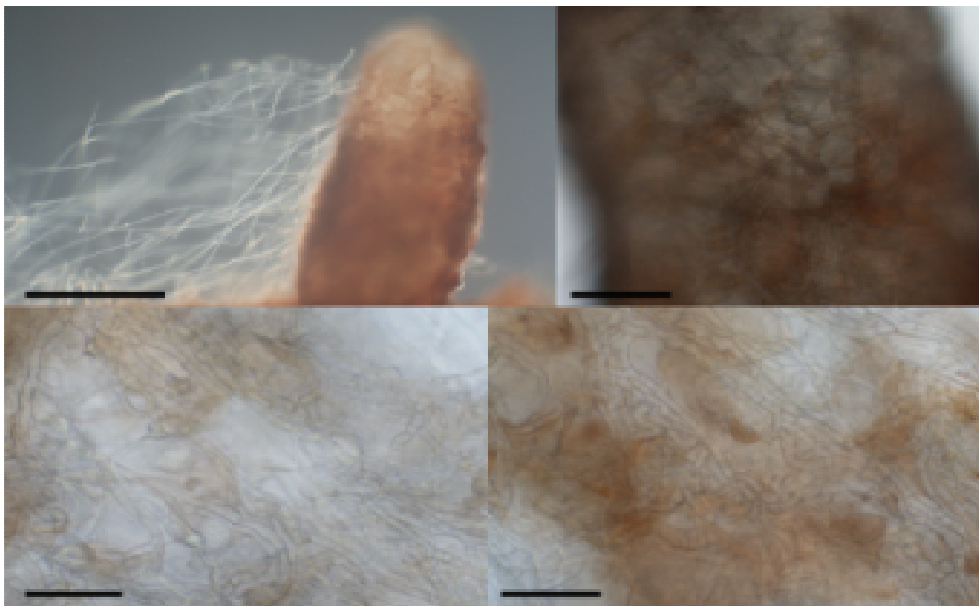


그림 157. 소나무에 형성된 *Tuber koreanum* 균근

라). 상수리나무에 형성된 트러플의 외생균근 특성 파악

(1) *Tuber borchii*

(가) 접종 후 6개월 뒤 외생균근의 형태학적 및 해부학적 특성 관찰함.

(나) 주로 관찰되는 외생균근의 분지된 형태의 특성(Mycorrhizal system)은 simple, monopodial pinnate pattern을 보임. 균근은 최대 1.77mm 길이, 직경은 최대 410 μ m로 분지 되지 않은 균근의 형태(Unramified ends)는 둥근 끝을 가진 직선형, 원통형, 곤봉형의 형태(straight, cylindrical, club-shaped with rounded ends)를 보였고 색은 주로 whitish light brown to

brown이나 드물게는 dark brown을 보이기도 함. 균투의 표면(Mantle type)은 13–21 μ m 두께의 non-interlocking pattern을 보였으며 색은 yellowish와 reddish borwn을 보임. 균사(Emanating hyphae)는 최대 두께 124 μ m, 직경 4 μ m의 simple, straight, bristle-like, awl-shaped와 함께 격벽을 가지는 형태를 보임(그림 158.).

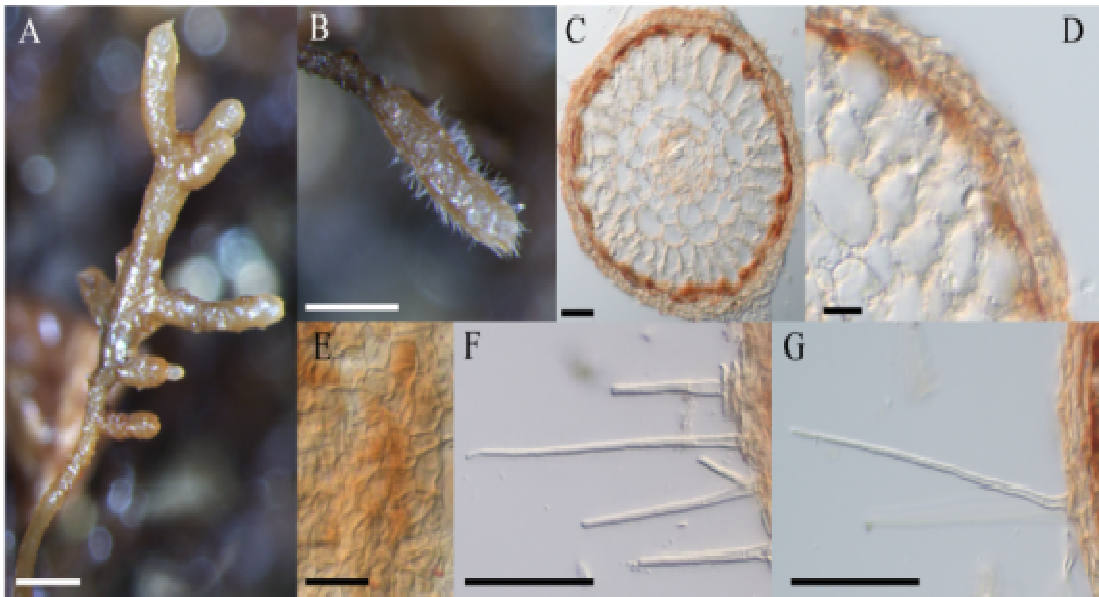


그림 158. 상수리 나무에 형성된 *Tubera borchii*의 균근

(Scale bars: A, B=500 μ m; C–E=20 μ m; F, G=50 μ m).

(1) *Tubera melanosporum*

(가) 접종 후 6개월 뒤 외생균근의 형태학적 및 해부학적 특성 관찰함.

(나) 주로 관찰되는 외생균근의 분지된 형태의 특성(Mycorrhizal system)은 대부분 simple 드물게 monopodial pinnate pattern을 보임. 균근은 최대 1.68mm 길이, 직경은 최대 620 μ m, 분지 되지 않은 균근의 형태(Unramified ends)는 구불구불(bent)하고 둥근 끝을 가진 직선형, 원통형, 곤봉형의 형태(straight, cylindrical, club-shaped with rounded ends)를 보였고 색은 주로 ochre, brown, dark brown, black을 보임. 균투의 표면(Mantle type)은 16–22 μ m 두께의 interlocking pattern을 보였으며 색은 reddish borwn과 brown을 보임. 균사(Emanating hyphae)는 최대 두께 128 μ m, 직경 2 μ m의 bent, simple, straight, bristle-like, awl-shaped, right-angle ramification의 함께 격벽을 가지는 형태를 보임(그림 159.).

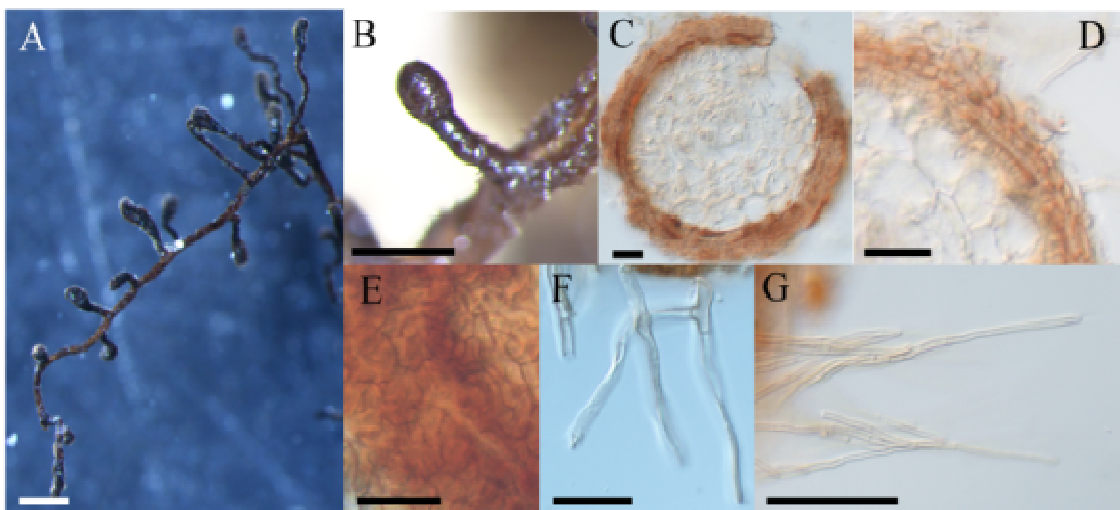


그림 159. 상수리나무에 형성된 *Tubera melanosporum*의 균근

(Scale bars: A, B=500 μ m; C–E=20 μ m; F, G=50 μ m)

마). 개암나무에 형성된 국내 트러플의 외생균근 특성 파악

(1) *Tuber himalayense*

(가) 접종 후 6개월 뒤 외생균근의 형태학적 및 해부학적 특성 관찰함.

(나) 주로 관찰되는 외생균근의 분지된 형태의 특성(Mycorrhizal system)은 최대 1.24mm 길이의 monopodial pinnate pattern을 보임. 균근의 색은 밝은 갈색에서 어두운 갈색(light brown to dark brown)을 가지고 있으며 분지 되지 않은 균근의 형태(Unramified ends)는 길이는 최대 0.92mm, 직경은 최대 271 μ m의 직선형(Straight)이고 원통형의 곤봉 형태(club-shaped and cylindric)이며 둥글고(rounded) 구불구불(tortuous)하며 부드러운(velvety) 질감을 가지고 있음. 균투의 표면(Mantle type)은 퍼즐 모양이 불규칙적으로 배열(Interlocking irregular pattern)된 8-19 μ m 두께의 패턴으로 구성되고, 균사의 특징(Emanating hyphae)은 최대 73.47 μ m 두께, 직경 3.77 μ m의 뾰족한 털(Bristle-like)과 송곳 형태(bulkheads)와 함께 격벽을 가짐(그림 160.).

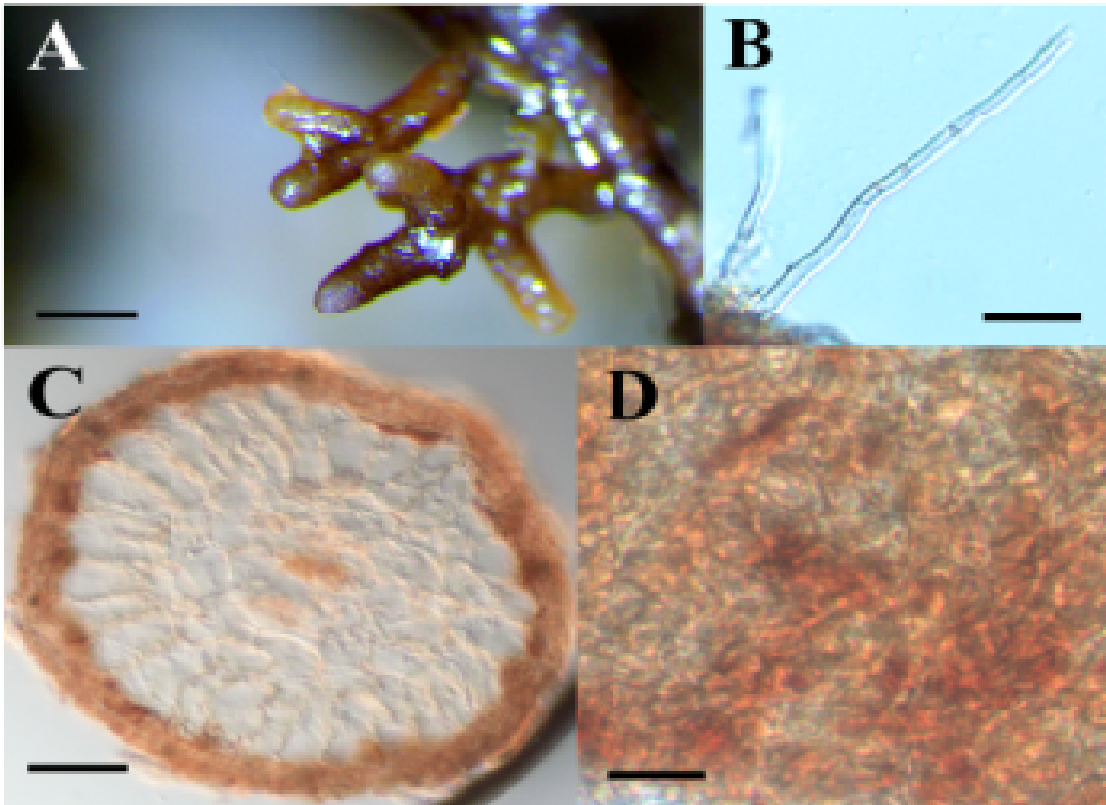


그림 160. 개암나무에 형성된 *T. himalayense*의 균근
(Scale bars: A,C=1mm; B,D=50 μ m)

(2) *Tuber huidongense*

(가) 접종 후 6개월 뒤 외생균근의 형태학적 및 해부학적 특성 관찰함.

(나) 주로 관찰되는 외생균근의 분지된 형태의 특성(Mycorrhizal system)은 길이는 최대 1.74mm로 monopodial pyramidal이며 부드러운(velvety) 질감을 가지고 있음. 균근의 색은 연갈색에서 갈색(light brown to brown)을 가지고 있으며 분지 되지 않은 균근의 형태(Unramified ends)는 최대길이 1.71mm, 최대직경 322 μ m의 직선형(Straight)이고 원통형의 곤봉 형태(club-shaped and cylindric)를 가지고 있음. 균투의 표면(Mantle type)은 둥근 세포 모양이 불규칙적으로 배열(non-interlocking irregular pattern)된 7~33 μ m 두께의 패턴으로 구성되고, 균사의 특징(Emanating hyphae)은 최대두께 17.14 μ m, 직경 2.85 μ m의 날카로운 형태(acuminate)와 함께 얇은 격벽(thin walled)을 가짐(그림 161.).

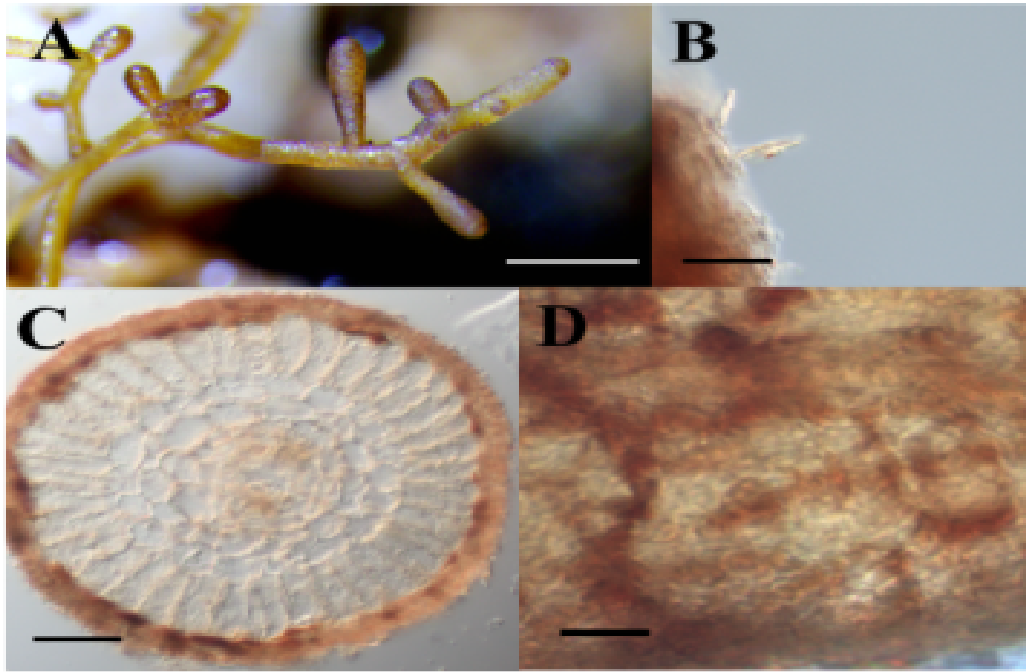


그림 161. 개암나무에 형성된 *T. huidongense* 균근
(Scale bars: A=500µm; B-D=50µm)

(3) *Tuber koreanum*

(가) 주로 관찰되는 외생균근의 분지 된 형태의 특성(Mycorrhizal system)은 최대길이 1.44mm의 monopodial pinnate과 솜과 같은 (cottony) 질감을 가지고 있음. 균근의 색은 옅은 갈색에서 갈색(beige brown to brown)을 가지고 있으며 분지 되지 않은 균근의 형태(Unramified ends)는 최대길이 1.94mm, 최대직경 210µm의 직선형(Straight)이고 원통형의 균봉 형태(club-shaped and cylindric)를 가지고 있음. 균투의 표면(Mantle type)은 둥근 세포 모양이 불규칙적으로 배열(non-interlocking irregular pattern)된 9-16µm 두께의 패턴으로 구성되고, 균사의 특징(Emanating hyphae)은 최대 58.33µm 두께, 직경 1.96µm의 Bristle-like과 송곳 형태(bulkheads)를 가짐(그림 162.).

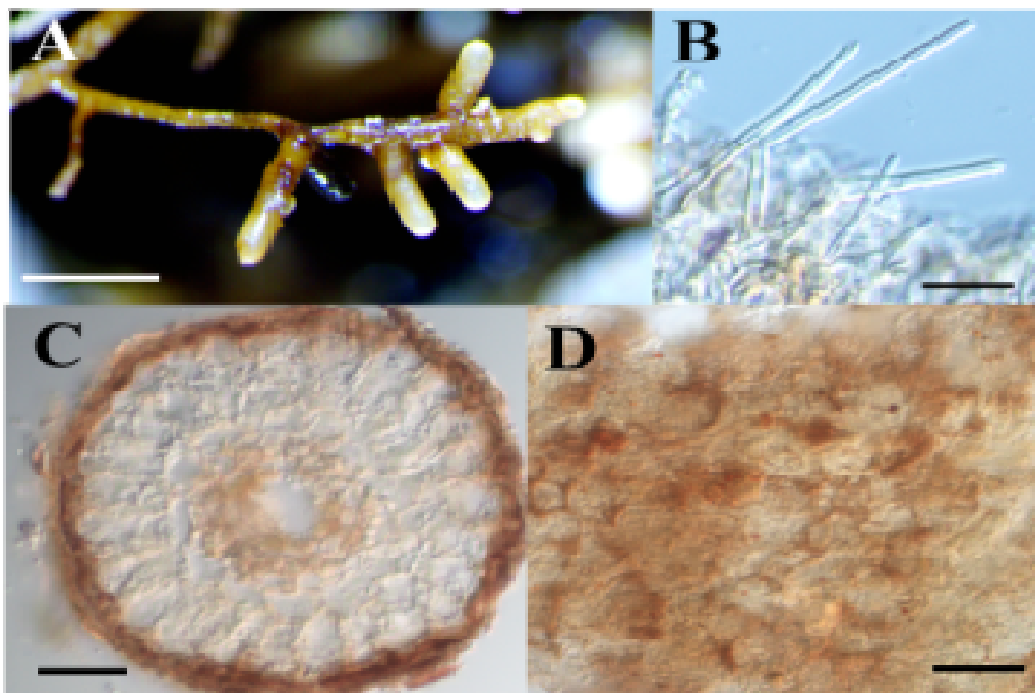


그림 162. 개암나무에 형성된 *T. koreanum* 균근
(Scale bars: A=700µm; B-D=50µm)

2). 국내 자생 트러플 탐색 및 군집구조 분석

가). 2021년 2월~3월 동안 단양2(DY2), 의성1(US1), 의성2(US2), 예천(YC), 삼척(SC), 울진(UJ), 영월(YW), 단양1(DY1) 지역에서 채집한 소나무와 참나무류의 뿌리 공생균을 대상으로 NGS 진행.
 나). 8개의 지역 중 *Tuber* 속의 DNA reads 수의 비율은 삼척(SC) 참나무류 75.63%, 울진(UJ) 참나무류 0.02%, 영월(YW) 소나무 0.0.1%, 단양1(DY1) 참나무류 55.67%, 의성1(US1) 소나무 0.01%, 의성2(US2) 소나무 0.04%로 나타났고, 삼척(SC) 소나무, 울진(UJ) 소나무, 영월(YW) 참나무류, 단양1(DY1) 소나무, 단양2(DY2) 소나무, 단양2(DY2) 참나무류, 의성1(US1) 참나무류, 의성2(US2) 참나무류, 예천(YC) 소나무, 예천(YC) 참나무류에서는 발견되지 않음(표 71., 72., 그림 163.).

표 71. 단양2, 의성1, 의성2, 예천 균류의 상대 수도표

Taxon name	DY2 소나무	DY2 참나무	US1 소나무	US1 참나무	US2 소나무	US2 참나무	YC 소나무	YC 참나무
<i>Acephala</i>	0.30%	0.04%	0.15%	0.00%	0.23%	3.55%	0.00%	0.93%
<i>Agaricus</i>	0.00%	0.00%	0.83%	0.30%	0.23%	0.06%	0.10%	0.00%
<i>Amanita</i>	92.59%	0.12%	0.08%	0.10%	1.79%	0.00%	0.10%	0.00%
<i>Amphinema</i>	0.00%	0.00%	0.00%	12.26%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Archaeorhizomyces</i>	0.00%	0.00%	0.24%	0.10%	0.44%	0.00%	0.10%	0.00%
<i>Astraeus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.02%	1.46%	0.80%	0.00%
<i>Athelia</i>	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%
<i>Auricularia</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Boletus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.51%	0.00%
<i>Byssocorticium</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Cantharellus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.72%
<i>Cenococcum</i>	0.18%	0.00%	0.69%	1.62%	0.50%	3.01%	0.80%	0.34%
<i>Ceratobasidium</i>	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Chaetocladium</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Chaetomium</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Chaetosphaeria</i>	0.00%	0.00%	0.08%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Chaetothyrium</i>	0.06%	0.04%	0.03%	0.00%	2.06%	0.15%	9.34%	0.29%
<i>Chloridium</i>	0.02%	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.09%	0.20%	0.00%
<i>Cladophialophora</i>	0.24%	0.00%	0.00%	0.00%	0.97%	0.27%	0.10%	0.00%
<i>Clavulina</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.04%
<i>Coltricia</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Cortinarius</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	8.17%	0.00%	0.00%
<i>Delicatula</i>	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Densospora</i>	0.34%	5.95%	0.29%	3.44%	0.53%	1.55%	0.20%	6.48%
<i>Entoloma</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Geastrum</i>	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.26%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Geminibasidium</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Geoglossum</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.30%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Geomyces</i>	0.00%	0.00%	0.06%	1.42%	0.00%	0.45%	0.40%	0.04%
<i>Gomphidius</i>	0.00%	0.77%	0.00%	0.00%	0.32%	0.81%	0.00%	0.00%
<i>Guehomyces</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.34%	0.00%	0.00%
<i>Gymnostellatospora</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.70%	0.00%

표 71-1. 단양2, 의성1, 의성2, 예천 균류의 상대 수도표(계속)

Taxon name	DY2 소나무	DY2 참나무	US1 소나무	US1 참나무	US2 소나무	US2 참나무	YC 소나무	YC 참나무
<i>Helotia</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Humicola</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Hydnellum</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Hydnum</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Hymenochaete</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Hymenoscyphus</i>	0.14%	0.87%	36.54%	5.07%	0.20%	6.05%	49.50%	2.02%
<i>Hypocrea</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.51%	0.00%	0.00%
<i>Infundichalara</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Inocybe</i>	0.10%	34.37%	12.07%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%	0.13%
<i>Irpex</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Laccaria</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	30.71%
<i>Lactarius</i>	0.00%	0.00%	1.22%	0.00%	24.76%	0.15%	0.20%	0.04%
<i>Leohumicola</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.81%	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Leotia</i>	0.16%	0.00%	0.04%	13.88%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Meliniomyces</i>	0.02%	0.00%	0.00%	0.00%	0.01%	0.78%	0.00%	0.00%
<i>Membranomyces</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Mortierella</i>	0.06%	0.16%	0.08%	0.20%	0.11%	0.00%	0.00%	0.46%
<i>Multifurca</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Mycena</i>	0.10%	0.00%	0.00%	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Odontia</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.46%
<i>Oidiodendron</i>	2.01%	1.34%	0.40%	0.10%	2.03%	61.68%	1.41%	0.25%
<i>Peniophorella</i>	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Peziza</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	25.99%	0.00%	0.50%	31.22%
<i>Pezoloma</i>	0.02%	0.04%	0.10%	0.71%	0.00%	0.42%	0.00%	0.13%
<i>Phlebia</i>	0.02%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Piskurozyma</i>	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Polyozellus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.20%	0.15%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Polyporus</i>	0.00%	0.00%	0.06%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Pseudogymnoascus</i>	0.02%	0.00%	0.01%	0.71%	0.00%	0.51%	0.80%	0.04%
<i>Pseudoplectania</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Rectipilus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Rhizopogon</i>	0.00%	0.57%	0.00%	0.00%	0.00%	0.30%	0.00%	0.00%
<i>Rhizoscyphus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Roridomyces</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Russula</i>	1.09%	0.40%	0.49%	23.20%	0.97%	0.18%	15.16%	3.41%
<i>Saitozyma</i>	0.20%	0.04%	0.15%	1.42%	0.17%	0.12%	0.00%	0.00%
<i>Schizophyllum</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Sebacina</i>	1.63%	0.30%	39.18%	19.05%	4.33%	0.60%	0.10%	0.00%
<i>Solicoccozyma</i>	0.00%	0.04%	0.07%	1.22%	0.00%	0.03%	0.10%	0.04%
<i>Strelitziana</i>	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Suillus</i>	0.00%	35.81%	0.00%	0.00%	0.02%	0.09%	0.00%	0.00%
<i>Tainosphaeria</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%
<i>Talaromyces</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.14%	0.48%	0.00%	0.00%
<i>Tetracladium</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Thelephora</i>	0.22%	0.04%	5.90%	1.32%	1.90%	5.49%	16.47%	0.08%
<i>Tomentella</i>	0.16%	15.47%	0.00%	0.10%	2.12%	0.24%	0.70%	20.95%
<i>Trametes</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Trechispora</i>	0.00%	0.00%	0.01%	0.51%	0.00%	0.21%	0.00%	0.08%
<i>Tremellodendropsis</i>	0.00%	3.20%	0.00%	10.94%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Trichocladium</i>	0.00%	0.00%	0.08%	0.10%	0.00%	0.84%	0.60%	1.14%
<i>Tricholoma</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	29.65%	0.09%	0.00%	0.00%
<i>Tuber</i>	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tylospora</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Xenopolyscytalum</i>	0.00%	0.30%	1.08%	0.10%	0.00%	0.30%	0.10%	0.00%

표 72. 삼척, 울진, 영월, 단양군 균류의 상대 수도표

Taxon name	SC 소나무	SC 참나무	UJ 소나무	UJ 참나무	YW 소나무	YW 참나무	DY1 소나무	DY1 참나무
Acephala	6.69%	0.10%	0.58%	3.13%	0.14%	0.09%	10.18%	0.47%
Agaricus	0.01%	0.00%	0.26%	0.00%	0.00%	8.97%	0.00%	0.00%
Amanita	0.01%	0.02%	0.10%	0.07%	80.32%	0.00%	32.12%	0.13%
Amphinema	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.04%
Archaeorhizomyces	0.17%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.13%
Astraeus	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	12.04%	0.26%
Athelia	0.01%	0.01%	0.00%	0.00%	0.28%	0.39%	0.00%	0.00%
Auricularia	2.73%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.31%	0.00%
Boletus	0.00%	0.00%	0.06%	2.85%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Byssocorticium	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%
Cantharellus	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Cenococcum	6.56%	0.02%	0.36%	0.07%	0.06%	72.67%	5.51%	9.18%
Ceratobasidium	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Chaetocladium	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.13%	0.09%	0.00%
Chaetomium	0.07%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%
Chaetosphaeria	0.00%	0.00%	0.03%	0.03%	0.00%	0.00%	0.09%	0.04%
Chaetothyrium	0.45%	0.07%	0.68%	1.45%	0.02%	0.15%	1.77%	0.00%
Chloridium	0.18%	0.00%	1.44%	3.23%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%
Cladophialophora	0.43%	0.07%	2.76%	6.39%	0.01%	0.26%	0.00%	0.34%
Clavulina	0.00%	0.00%	0.00%	0.05%	0.00%	0.00%	0.00%	0.26%
Coltricia	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Cortinarius	0.00%	0.00%	18.91%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Delicatula	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	11.67%	0.00%
Densospora	3.77%	0.50%	0.60%	0.31%	0.05%	0.32%	0.47%	2.49%
Entoloma	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Geastrum	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.19%	0.00%
Geminibasidium	0.02%	0.00%	0.17%	0.02%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Geoglossum	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Geomyces	2.47%	1.01%	0.00%	0.00%	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%
Gomphidius	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Guehomyces	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Gymnostellatospora	0.70%	0.06%	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%
Helotia	0.00%	0.00%	0.00%	0.59%	0.08%	0.00%	0.00%	0.09%
Humicola	0.13%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Hydnellum	0.03%	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Hydnum	0.00%	0.00%	17.5%	15.58%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Hymenochaete	0.00%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Hymenoscyphus	1.03%	0.41%	4.25%	0.00%	0.00%	0.15%	3.36%	1.07%
Hypocrea	0.08%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Infundichalara	0.00%	0.00%	12.85%	0.10%	0.00%	0.00%	2.99%	0.00%
Inocybe	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.19%	0.00%	0.00%
Irpex	0.00%	0.00%	0.00%	0.07%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Laccaria	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Lactarius	0.76%	0.00%	20.05%	49.28%	1.58%	0.02%	0.09%	0.09%
Leohumicola	0.03%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%
Leotia	0.62%	0.42%	0.00%	0.00%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%
Meliniomyces	1.60%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.71%	0.00%	0.39%
Membranomyces	8.43%	0.00%	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	12.83%
Mortierella	0.78%	0.84%	0.51%	1.22%	0.01%	0.28%	0.00%	0.13%
Multifurca	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.49%	0.00%	0.00%
Mycena	0.00%	0.00%	8.57%	0.00%	0.00%	0.11%	0.37%	0.00%
Odontia	3.73%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Oidiodendron	2.92%	0.23%	4.47%	9.38%	0.20%	0.95%	10.46%	0.52%
Peniophorella	0.00%	0.00%	0.49%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Peziza	3.31%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

표 72-1. 삼척, 울진, 영월, 단양1 군류의 상대 수도표(계속)

Taxon name	SC 소나무	SC 참나무	UJ 소나무	UJ 참나무	YW 소나무	YW 참나무	DY1 소나무	DY1 참나무
<i>Pezoloma</i>	0.00%	0.12%	0.01%	0.05%	0.00%	1.16%	0.28%	0.00%
<i>Phlebia</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Piskurozyma</i>	0.03%	0.13%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Polyozellus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Polyporus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.13%
<i>Pseudogymnoascus</i>	3.08%	0.60%	0.00%	0.00%	0.01%	0.02%	0.00%	0.00%
<i>Pseudoplectania</i>	0.00%	0.00%	0.44%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Rectipilus</i>	0.00%	0.00%	0.21%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Rhizopogon</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.02%	0.00%	0.00%
<i>Rhizoscyphus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.17%	0.00%	0.00%
<i>Roridomyces</i>	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Russula</i>	0.02%	0.09%	1.17%	1.36%	14.92%	7.66%	3.45%	0.00%
<i>Saitozyma</i>	2.07%	2.83%	0.49%	0.14%	0.05%	0.11%	0.65%	0.00%
<i>Schizophyllum</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.06%	0.00%	0.00%
<i>Sebacina</i>	39.86%	11.84%	0.35%	0.19%	1.48%	0.52%	0.00%	0.13%
<i>Solicozozyma</i>	0.94%	3.05%	0.00%	0.03%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Strelitziana</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Suillus</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tainosphaeria</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Talaromyces</i>	0.05%	0.00%	0.11%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tetracladium</i>	0.02%	0.01%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Thelephora</i>	0.00%	1.37%	2.10%	3.83%	0.29%	0.22%	2.71%	1.85%
<i>Tomentella</i>	5.92%	0.00%	0.00%	0.09%	0.42%	0.06%	0.00%	13.65%
<i>Trametes</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.04%	0.00%	0.00%
<i>Trechispora</i>	0.04%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	3.87%	0.00%	0.13%
<i>Tremellodendropsis</i>	0.00%	0.01%	0.00%	0.00%	0.02%	0.06%	0.00%	0.00%
<i>Trichocladium</i>	0.00%	0.44%	0.00%	0.24%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tricholoma</i>	0.00%	0.00%	0.22%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Tuber</i>	0.00%	75.63%	0.00%	0.02%	0.01%	0.00%	0.00%	55.67%
<i>Tylospora</i>	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>Xenopolyscytalum</i>	0.25%	0.06%	0.00%	0.00%	0.01%	0.00%	0.19%	0.00%

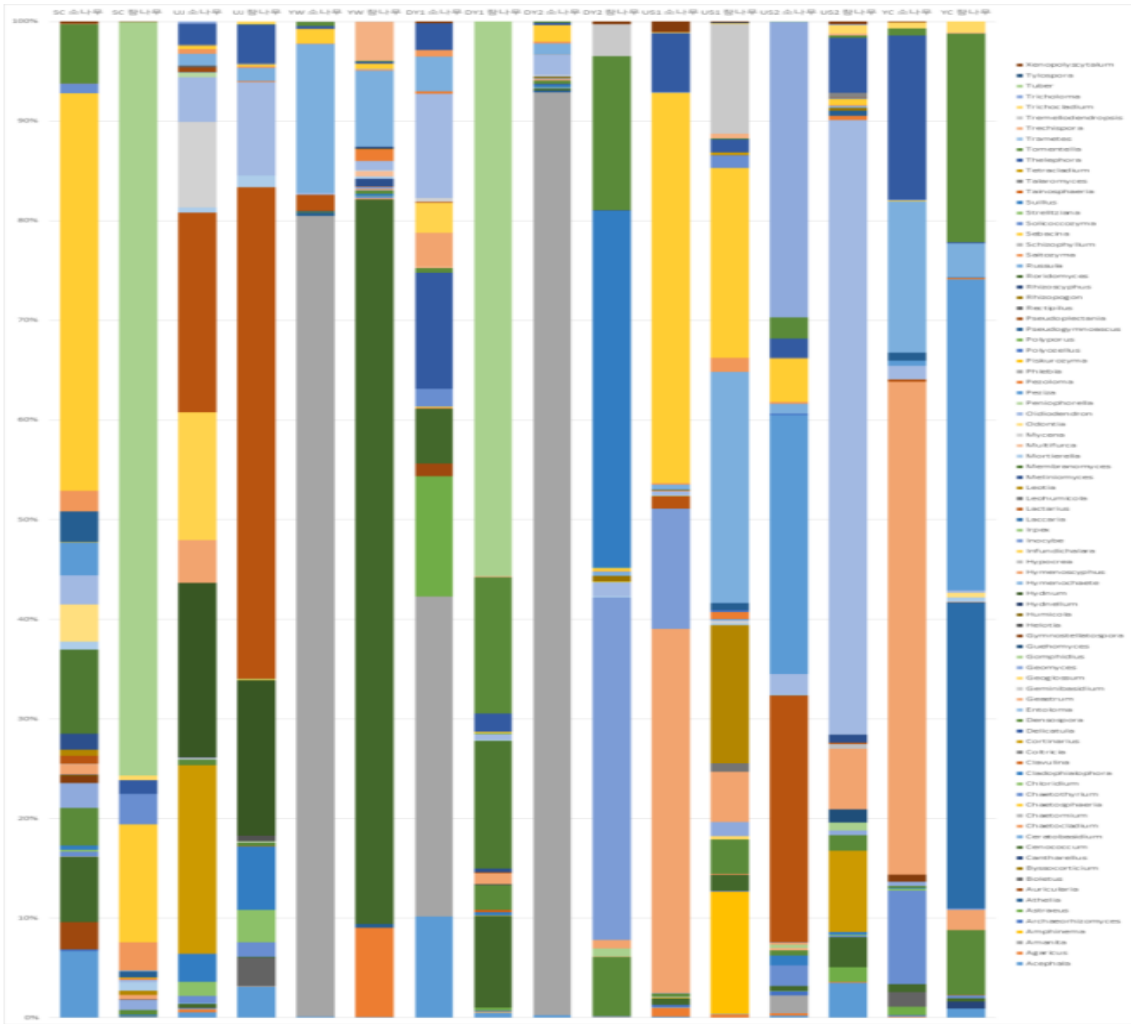


그림 163. 삼척(SC), 울진(U), 영월(YW), 단양(DY1), 단양2(DY2), 의성(US1), 의성2(US2), 예천(YC) 균류의 상대 수도

표 73. 삼척(SC), 울진(UJ), 영월(YW), 단양1(DY1) 지역의 분류군별 비율

	SC 소나무	SC 참나무	UJ 소나무	UJ 참나무	YW 소나무	YW 참나무	DY1 소나무	DY1 참나무
Ascomycota	52.5%	57.1%	38.9%	44.8%	41.7%	44.1%	42.9%	43.5%
Basidiomycota	42.5%	35.7%	55.6%	48.3%	50.0%	47.1%	47.6%	47.8%
Others	5.0%	7.1%	5.6%	6.9%	8.3%	8.8%	9.5%	8.7%

표 74. 단양2(DY2), 의성1(US1), 의성2(US2), 예천(YC) 지역의 분류군별 비율

	DY2 소나무	DY2 참나무	US1 소나무	US1 참나무	US2 소나무	US2 참나무	YC 소나무	YC 참나무
Ascomycota	44.0%	29.2%	53.6%	50.0%	40.0%	50.0%	54.2%	39.1%
Basidiomycota	48.0%	62.5%	39.3%	43.8%	53.3%	47.1%	41.7%	52.2%
Others	8.0%	8.3%	7.1%	6.3%	6.7%	2.9%	4.2%	8.7%

3). *Tuber* 서식지 토양 성분 분석

가). *Tuber* 서식지와 *Tuber* 비발견지의 토양 성분 비교

- (1) *Tuber* 서식지 5곳(경주, 울진, 포항, 단양, 문경)과, *Tuber* 비발견지 5곳(예천, 단양 적성면, 울산, 삼척, 태백)의 토양 성분의 차이를 분석함(표 75.). *Tuber* 서식지는 2020~2022년 중 *Tuber*의 자실체가 발견된 지역이고, *Tuber* 비발견지는 2020~2022년 중 참나무 속과 공생하는 외생균근균의 NGS분석 결과 *Tuber*가 발견되지 않은 지역임.
- (2) 유기물 함량에서 유의미한 차이가 있었고, 다른 성분들에는 유의미한 차이가 발견되지 않음.

표 75. *Tuber* 서식지와 *Tuber* 비발견지 토양 성분의 비교(Student *t*-test)

	<i>t</i>	p	<i>Tuber</i> 서식지 (평균± 표준오차)	<i>Tuber</i> 비발견지 (평균± 표준오차)
pH	- 0.410	0.693	5.63± 0.55	5.37± 0.29
TN	- 1.312	0.226	0.47± 0.06	0.35± 0.07
AP	1.255	0.245	53.88± 34.70	161.66± 78.57
EK	0.010	0.992	0.56± 0.13	0.57± 0.14
ECa	0.045	0.965	11.05± 3.61	11.29± 3.80
OM	- 2.469	0.039*	10.96± 1.30	7.01± 0.94
Water	0.329	0.751	23.57± 3.22	25.12± 3.44
Sand	- 0.586	0.574	47.06± 10.07	38.92± 9.58
Silt	0.618	0.554	44.72± 11.16	53.58± 9.02
Clay	- 0.278	0.788	8.22± 1.89	7.50± 1.76

*표시는 p<0.05 수준에서 유의미한 차이를 나타냄.

(TN: 총 질소(%), AP: 유효 인산(mg/kg), EK: 치환성 칼륨(me/100g), ECa: 치환성 칼슘(me/100g), OM: 유기물(%), Water: 토양 수분량(%))

나). *Tuber* 서식지 토양의 계절적 성분 변화

- (1) *Tuber* 서식지 4곳(경주, 울진, 포항, 단양)에서 토양의 화학적 성분, 물리적 성분의 계절 간 차이를 비교함.
- (2) 화학적 성분의 변화를 살펴보았을 때, pH와 총 인은 계절 간 유의미한 차이가 나타나지 않음. 유효 인산은 가을과 겨울에 여름보다 높은 경향을 보였으며(p=0.152), 봄은 가을, 겨울보다 유의미하게 낮음(p<0.05). 치환성 칼륨은 여름이 가을, 겨울보다 유의미하게 높으며(p<0.05), 봄보다는 높은 경향을 보임(p=0.07). 치환성 칼슘은 여름에 가을(p=0.161), 겨울(p=0.174), 봄(p=0.151) 보다 높은 경향을 보였지만 유의미한 차이는 없음. 유기물 함량은 여름보다 가을(p=0.107), 겨울(p=0.166)에 높은 경향을 보였으며, 봄은 여름보다 유의미하게 높음(p<0.05)(그림 164.).

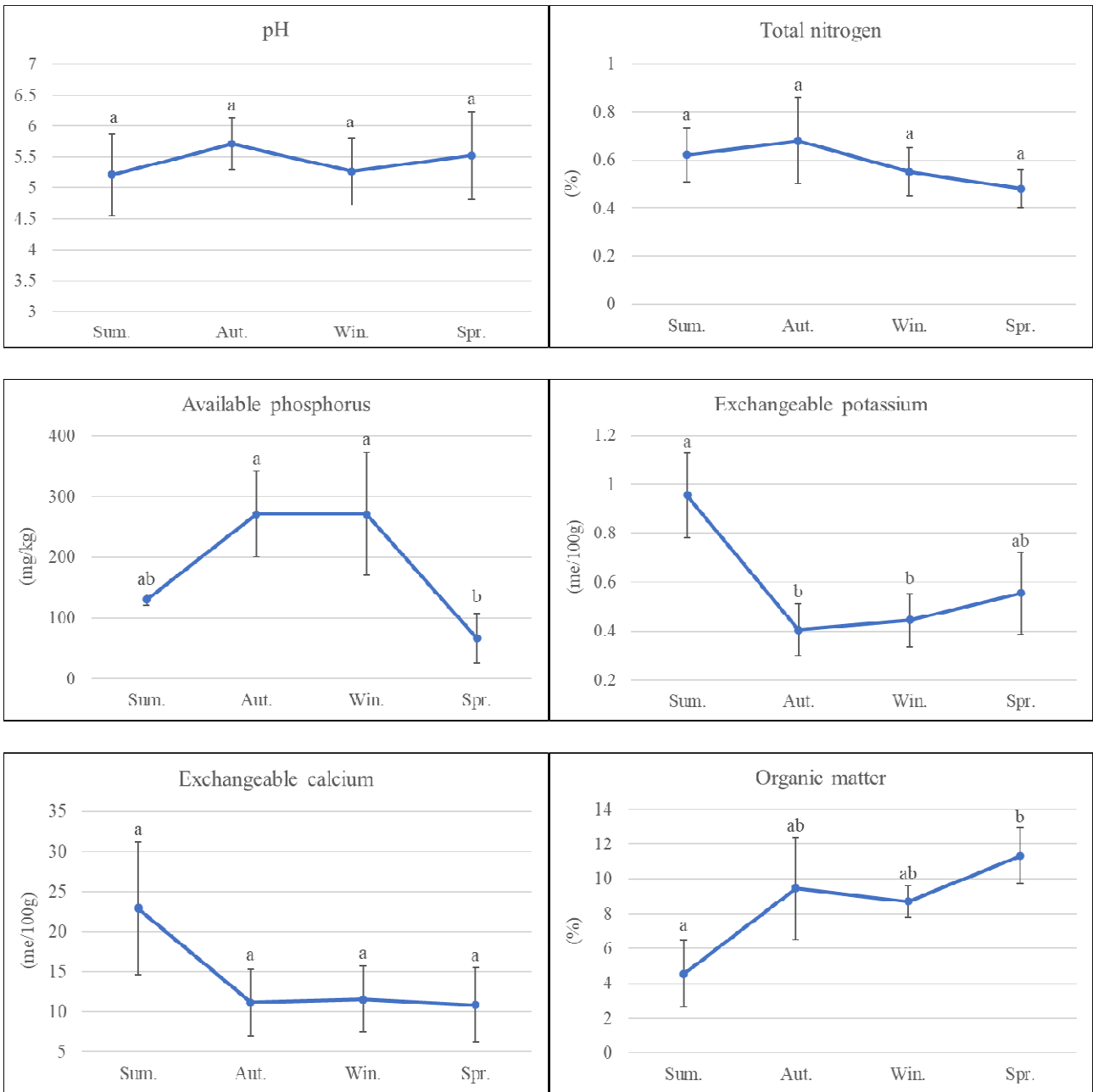


그림 164. *Tuber* 서식지 토양 화학적 성분의 계절적 변화.

평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄(LSD post-hoc test).
(Sum.: 여름, Aut.: 가을, Win.: 겨울, Spr.: 봄)

(3) 물리적 성분의 변화를 살펴보았을 때(그림 20), 토양 온도는 여름이 가을, 겨울, 봄보다, 가을, 봄이 겨울보다 유의미하게 높으며($p < 0.05$), 가을과 봄은 차이가 없음. 토양 수분량은 가을이 겨울보다 높은 경향이 있으며($p = 0.15$), 계절 간 유의미한 차이가 없음. 모래는 계절 간 유의미한 차이 없이 일정한 모습을 보임. 미사는 봄이 여름, 겨울보다 유의미하게 높으며($p < 0.05$), 가을보다는 높은 경향을 보임($p = 0.152$). 점토는 봄이 여름, 겨울보다 유의미하게 낮으며($p < 0.05$), 가을보다는 낮은 경향을 보임($p = 0.187$). 모래, 미사, 점토 평균 값의 비율로 토성을 구했을 때, 여름, 겨울은 사질식양토, 가을, 봄은 사양토로 나타남(그림 165.).

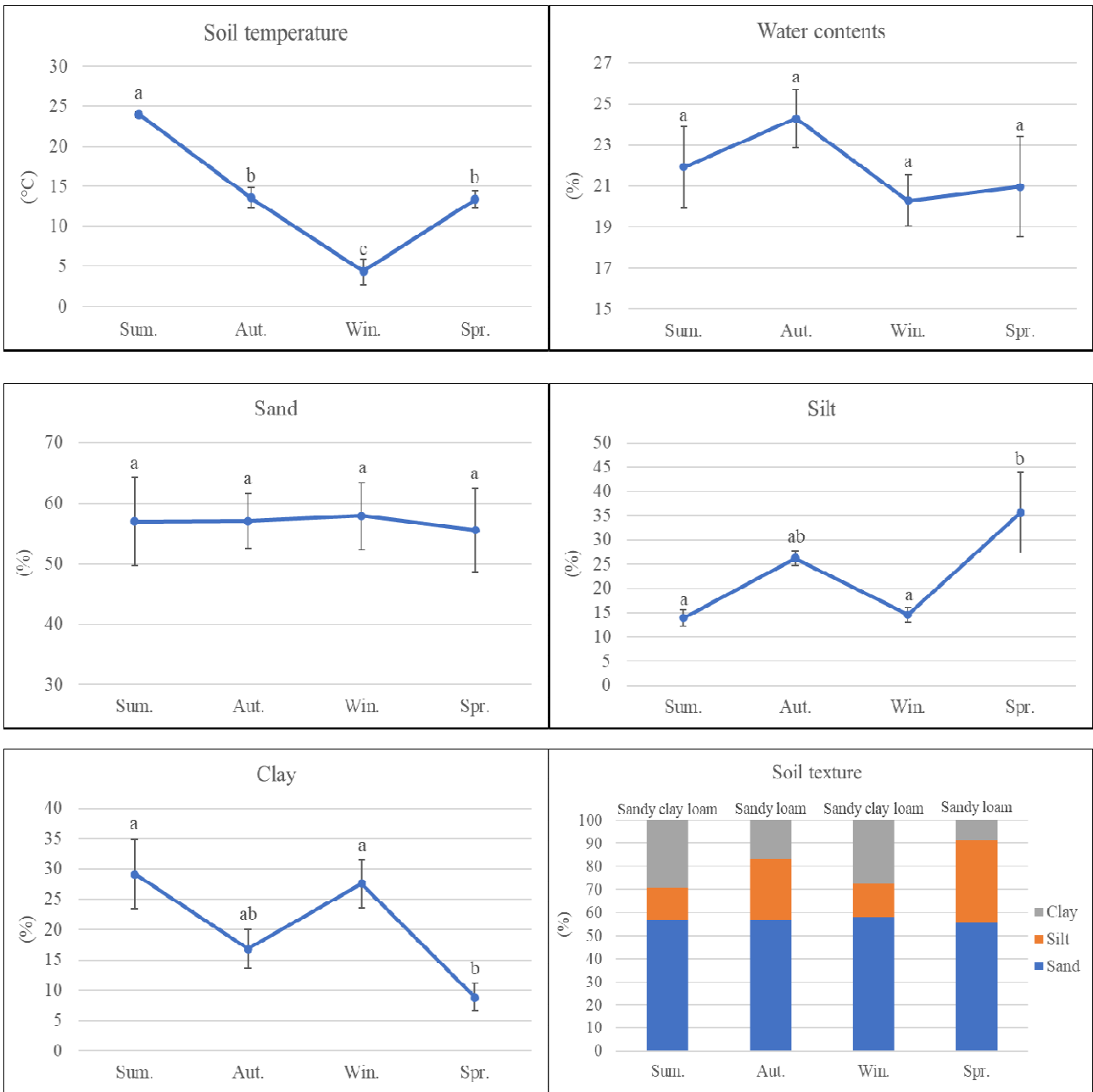


그림 165. *Tuber* 서식지 토양 물리적 성분의 계절적 변화.

평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄(LSD post-hoc test).
(Sum.: 여름, Aut.: 가을, Win.: 겨울, Spr.: 봄)

가). *Tuber koreanum* 서식지와 *Tuber huidongense*, *Tuber himalayense* 서식지의 토양 성분 비교

- (1) *T. koreanum* 서식지(경주, 울진)와 *T. huidongense* 서식지(포항), *T. himalayense* 서식지(단양)의 토양 성분을 비교함.
- (2) 화학적 성분을 살펴보았을 때, pH, 총 인, 치환성 칼륨, 치환성 칼슘이 *T. koreanum* 서식지인 경주, 울진과 *T. huidongense* 서식지인 포항, *T. himalayense* 서식지인 단양에서 차이가 나타남. pH는 연평균으로 보았을 때 경주 4.74, 울진 4.46, 포항 5.58, 단양 6.96으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 낮은 양상을 나타냄. 총 질소(%)은 연평균으로 보았을 때 경주 0.74, 울진 0.78, 포항 0.34, 단양 0.48으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 높은 양상을 나타냄. 유효 인산(mg/kg)은 연평균으로 보았을 때 경주 318.23, 울진 185.9, 포항 125.1, 단양 111.75으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 높은 양상을 보여주었는데, 경주와 울진은 계절에 따라 큰 변동을 나타냄. 치환성 칼륨

(me/100g)은 연평균으로 보았을 때 경주 0.48, 울진 0.31, 포항 0.63, 단양 0.94으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 낮은 양상을 나타냄. 치환성 칼슘 (me/100g)은 연평균으로 보았을 때 경주 7.11, 울진 3.09, 포항 22.81, 단양 23.52으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 낮은 양상을 나타냄. 유기물 함량(%)은 연평균으로 보았을 때 경주 8.93, 울진 11.21, 포항 5.62, 단양 8.31으로 울진, 포항, 단양은 여름, 가을, 겨울, 봄으로 갈수록 유기물 함량이 증가하는 양상을 보여주었고, 경주는 계절적 변동이 크게 나타남(그림 166.).

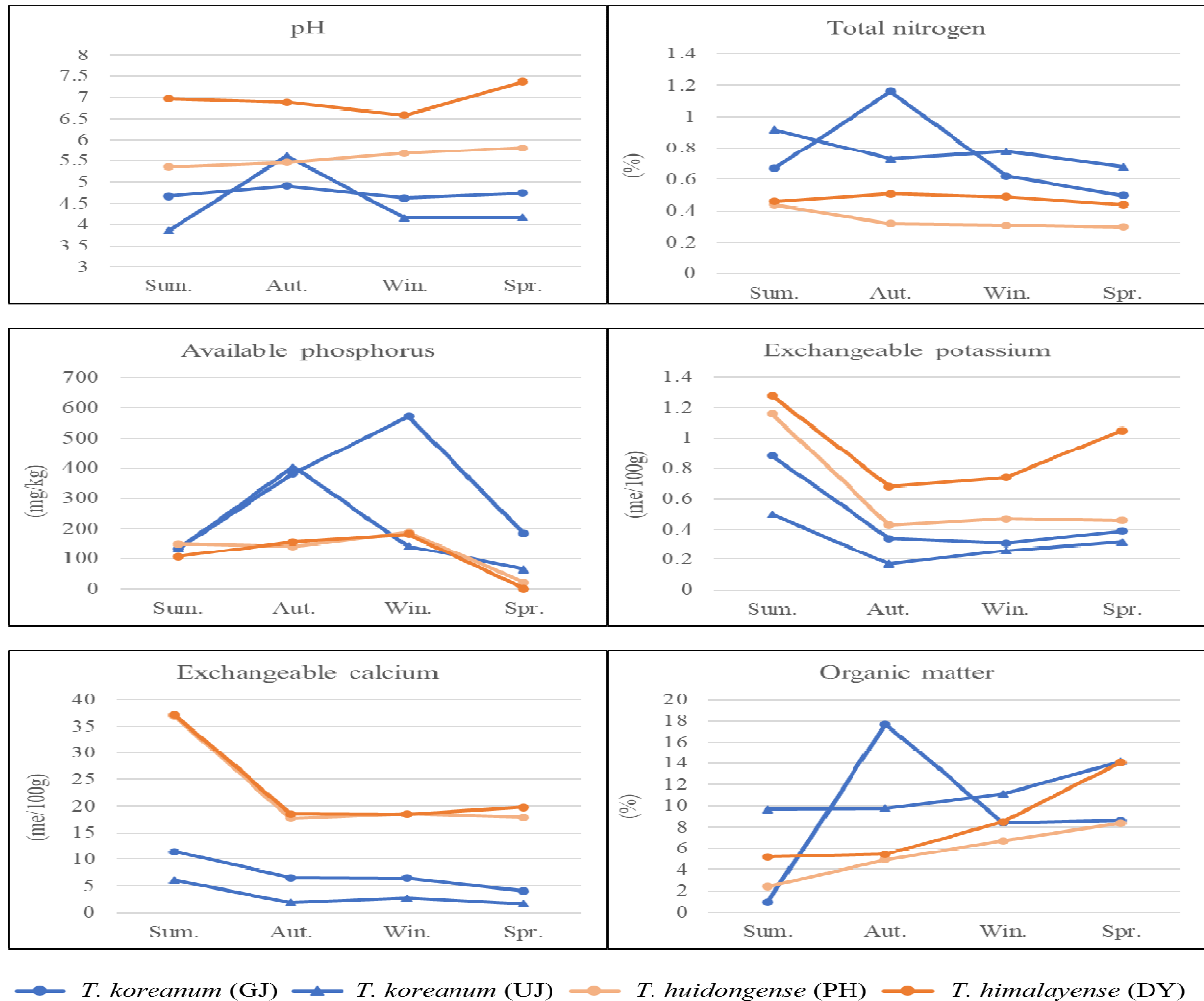
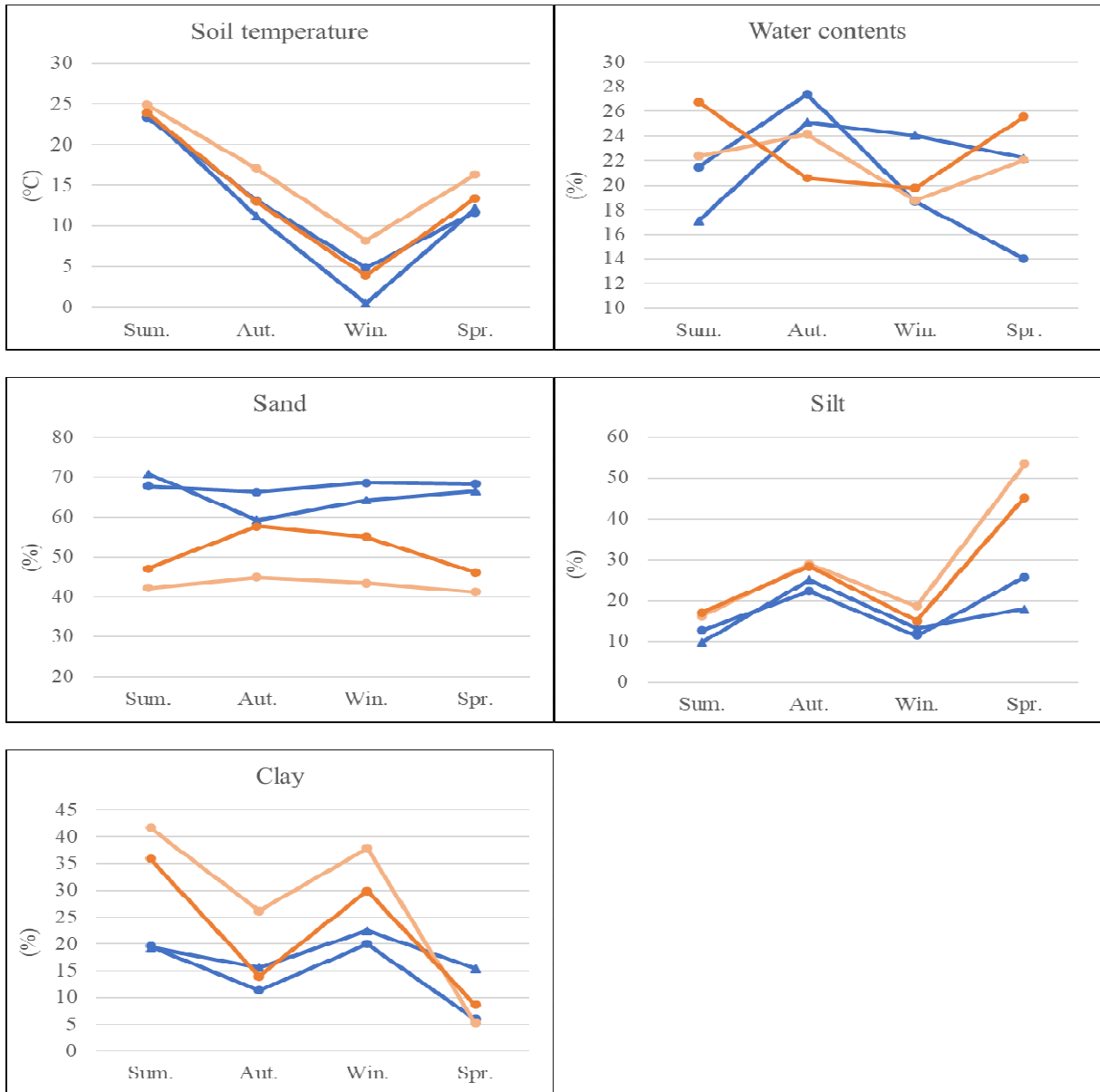


그림 166. *Tuber koreanum* 서식지(경주, 울진)와 *T. huidongense* 서식지(포항), *T. himalayense* 서식지(단양)의 토양 화학적 성분 비교
(Sum.: 여름, Aut.: 가을, Win.: 겨울, Spr.: 봄, GJ: 경주, UJ: 울진, PH: 포항, DY: 단양)

(3) 물리적 성분을 살펴보았을 때, 모래, 미사, 점토의 비율, 토성이 *T. koreanum* 서식지인 경주, 울진과 *T. huidongense* 서식지인 포항, *T. himalayense* 서식지인 단양에서 차이가 나타남. 토양 온도(°C)는 연평균으로 보았을 때 경주 13.28, 울진 11.94, 포항 16.61, 단양 13.57로 포항이 가장 높고, 울진이 가장 낮고, 경주와 단양은 비슷한 양상을 나타냄. 토양 수분량(%)은 연평균으로 보았을 때 경주 20.4, 울진 22.11, 포항 21.82, 단양 23.17으로 모든 지역에서 계절에 따른 변동이 크게 나타나 서식지에 따른 차이는 나타나지 않음. 모래(%)는 연평균으로 보았을 때 경주 67.73, 울진 65.28, 포항 42.98, 단양 51.5으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 높은 양상을 나타냄. 미사(%)는 연평균으로 보았을 때 경주 18.03, 울진 16.5, 포항 29.28, 단양 26.38으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진이 포항과 단양에 비해 더 낮은 양상을 나타냄. 점토(%)는 연평균으로 보았을 때 경주 14.25, 울진 18.23, 포항 27.78, 단양 22.13으로 *T. koreanum* 서식지인 경주와

울진이 포항과 단양에 비해 더 낮은 양상을 나타냄(그림 167.).



—●— *T. koreanum* (GJ) —▲— *T. koreanum* (UJ) —●— *T. huidongense* (PH) —●— *T. himalayense* (DY)

그림 167. *T. koreanum* 서식지(경주, 울진)와 *T. huidongense* 서식지(포항), *T. himalayense* 서식지(단양)의 토양 물리적 성분 비교

(Sum.: 여름, Aut.: 가을, Win.: 겨울, Spr.: 봄, GJ: 경주, UJ: 울진, PH: 포항, DY: 단양)

(4) 모래, 미사, 점토의 비율을 합하여 서식지별 토성을 살펴보면, *T. koreanum* 서식지인 경주는 연중 모래의 비율이 66.3~68.6%로 차이가 적고, 미사 11.4~25.7%, 점토 6~20%로 연중 사양토와 사질식양토로 나타남. 마찬가지로 *T. koreanum* 서식지인 울진은 연중 모래의 비율이 59.3~70.9%, 미사 9.7~25.1%, 점토 15.4~22.5%로 세 성분 모두 10% 내외의 작은 차이를 나타내며 연중 사양토와 사질식양토로 나타남. *T. koreanum* 서식지인 경주와 울진 모두 공통적으로 연중 사양토와 사질식양토의 범위 내에서 나타나는 것으로 나타남. *T. huidongense*의 서식지인 포항에서는 연중 모래의 비율이 41.3~44.9%로 큰 차이가 없는 반면, 미사 16.1~53.4%, 점토 5.3~41.7%의 큰 차이로 식토, 식양토, 양토, 미사질양토의 다양한 토성이 나타남. *T. himalayense*의 서식지인 단양에서는 연중 모래의 비율이 46.1~57.7%, 미사 15~45.2%, 점토 8.7~35.9%의 큰 차이로 사질식토, 사질식양토, 사질양토, 양토의 다양한 토성이 나타남(그림 168.).

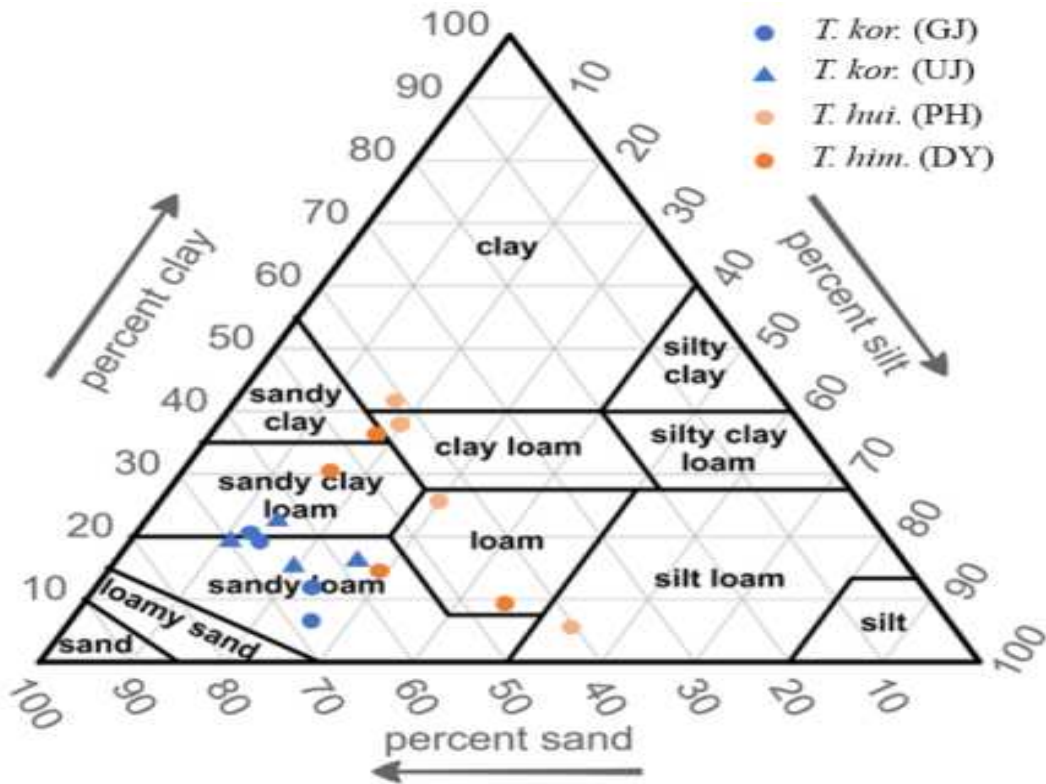


그림 168. *Tuber koreanum*, *T. huidongense*, *T. himalayense* 서식지의 토성
 (*T. kor.*: *T. koreanum*, *T. hui.*: *T. huidongense*, *T. him.*: *T. himalayense*, GJ: 경주, UJ: 울진, PH: 포항, DY: 단양)

4). *Tuber koreanum* 서식지 외생균근균 군집 구조

T. koreanum 서식지인 경주와 울진을 대상으로 자실체 발견 나무 근권 뿌리와 뿌리 주변의 토양을 DNA 추출원으로 하여 21년 7월(여름), 21년 10월(가을), 22년 1월(겨울), 22년 4월(봄)의 외생균근균 군집 구조를 조사함.

가). 외생균근균 군집의 구성

- (1) 경주, 울진 지역 뿌리, 토양 샘플 통틀어 총 45속의 외생균근균이 발견됨.
- (2) 경주에서 외생균근균은 뿌리에서 19속, 토양에서 38속으로 총 40속이 발견됨(표 76.).
- (3) 울진에서 외생균근균은 뿌리에서 19속, 토양에서 33속으로 총 33속이 발견됨(표 77.).
- (4) 외생균근균의 상대 수도를 100% 기준으로 계절별로 구한 뒤 평균과 표준오차를 산출하였을 때, 경주 뿌리에서는 *Scleroderma*가, 경주 토양에서는 *Ramaria*, 울진 뿌리에서는 *Hydnotrya*, 울진 토양에서는 *Amanita*가 가장 높게 나타남.

표 76. 경주의 외생균근균 속 목록 및 상대 수도(평균±표준오차)

Genus	Relative abundance (%)	
	Gyeongju	
	Root	Soil
<i>Scleroderma</i>	46.266± 25.008	0.173± 0.093
<i>Russula</i>	23.341± 21.371	2.994± 0.878
<i>Astraeus</i>	12.198± 12.189	0.534± 0.489
<i>Boletus</i>	9.839± 9.794	2.045± 0.817
<i>Sebacina</i>	3.556± 2.176	4.761± 3.307
<i>Cenococcum</i>	2.015± 0.804	2.015± 0.142
<i>Tylopilus</i>	1.562± 1.534	0.033± 0.033
<i>Lactifluus</i>	0.534± 0.481	7.059± 3.512
<i>Tomentella</i>	0.403± 0.310	2.230± 0.674
<i>Amanita</i>	0.121± 0.078	0.369± 0.129
<i>Densospora</i>	0.061± 0.019	18.592± 3.061
<i>Acephala</i>	0.030± 0.022	0.028± 0.017
<i>Coltriciella</i>	0.023± 0.016	
<i>Pseudotomentella</i>	0.027± 0.027	0.686± 0.571
<i>Chloridium</i>	0.005± 0.005	18.161± 3.985
<i>Meliniomyces</i>	0.006± 0.004	0.092± 0.059
<i>Entoloma</i>	0.006± 0.003	1.959± 0.609
<i>Hydnum</i>	0.003± 0.003	15.549± 6.072
<i>Tuber</i>	0.003± 0.003	
<i>Laccaria</i>		0.048± 0.032
<i>Cortinarius</i>		0.017± 0.017
<i>Inocybe</i>		0.032± 0.018
<i>Tricholoma</i>		0.294± 0.227
<i>Stephanospora</i>		0.062± 0.027
<i>Amphinema</i>		0.017± 0.017
<i>Piloderma</i>		0.017± 0.017
<i>Melanogaster</i>		0.321± 0.091
<i>Suillus</i>		0.097± 0.033
<i>Rhizopogon</i>		1.158± 0.331
<i>Retiboletus</i>		0.015± 0.015
<i>Alpova</i>		0.158± 0.067
<i>Sistotrema</i>		0.895± 0.256
<i>Ramaria</i>		19.288± 3.361
<i>Coltricia</i>		0.082± 0.082
<i>Hydnотrya</i>		0.042± 0.015
<i>Otidea</i>		0.011± 0.011
<i>Leucogaster</i>		0.061± 0.035
<i>Lactarius</i>		0.047± 0.029
<i>Efribulobasidium</i>		0.027± 0.027
<i>Tomentellopsis</i>		0.033± 0.033

표 77. 울진의 외생균근균 속 목록 및 상대 수도(평균±표준오차)

Genus	Relative abundance (%)	
	Uljin	
	Root	Soil
<i>Hydnotrya</i>	33.444± 20.283	0.443± 0.201
<i>Melanogaster</i>	29.537± 11.003	0.423± 0.185
<i>Laccaria</i>	16.587± 15.714	0.409± 0.257
<i>Russula</i>	14.283± 9.273	19.958± 7.416
<i>Amanita</i>	2.792± 2.139	36.071± 7.044
<i>Cenococcum</i>	2.658± 1.197	3.807± 0.353
<i>Tylophilus</i>	0.463± 0.463	0.015± 0.010
<i>Piloderma</i>	0.121± 0.121	0.152± 0.088
<i>Densospora</i>	0.040± 0.012	17.070± 4.975
<i>Meliniomyces</i>	0.014± 0.004	0.393± 0.216
<i>Elaphomyces</i>	0.010± 0.004	8.050± 3.948
<i>Scleroderma</i>	0.010± 0.005	0.486± 0.393
<i>Sistotrema</i>	0.019± 0.019	0.016± 0.010
<i>Entoloma</i>	0.009± 0.009	0.314± 0.119
<i>Chloridium</i>	0.007± 0.006	4.200± 1.306
<i>Tuber</i>	0.001± 0.001	0.493± 0.373
<i>Tomentella</i>	0.002± 0.002	0.055± 0.025
<i>Amphinema</i>	0.002± 0.002	0.065± 0.016
<i>Inocybe</i>	0.001± 0.001	6.388± 6.173
<i>Astraeus</i>		0.005± 0.005
<i>Boletus</i>		0.101± 0.042
<i>Sebacina</i>		0.005± 0.005
<i>Acephala</i>		0.135± 0.087
<i>Pseudotomentella</i>		0.010± 0.010
<i>Cortinarius</i>		0.164± 0.076
<i>Lyophyllum</i>		0.029± 0.018
<i>Alnicola</i>		0.010± 0.010
<i>Suillus</i>		0.314± 0.102
<i>Rhizopogon</i>		0.105± 0.050
<i>Retiboletus</i>		0.005± 0.005
<i>Paxillus</i>		0.010± 0.010
<i>Clavulina</i>		0.151± 0.099
<i>Ramaria</i>		0.151± 0.099

나). 외생균근균 군집의 계절적 변화

- (1) 경주 뿌리 샘플에서 Scleroderma가 34.207%로, 울진 뿌리 샘플에서 Hydnotrya가 41.187%로 연중 가장 높은 비율을 차지함(표 78.).
- (2) 경주 토양 샘플에서 Ramaria가 1.068%, Densospora가 0.992%, Chloridium가 0.959%, Hydnum이 0.932%로 연중 높은 비율을 차지하였고, 울진 토양 샘플에서 Amanita가 2.222%, Russula가 1.511%, Densospora가 0.948%로 연중 높은 비율을 차지함(표 79.).

표 78. 경주, 울진의 뿌리 샘플에서 계절에 따른 외생균근균 상대 수도(%)의 변화

Taxon Name	Root sample									
	Gyeongju					Uljin				
	Total	Sum.	Aut.	Win.	Spr.	Total	Sum.	Aut.	Win.	Spr.
<i>Scleroderma</i>	34.207	3.847	66.985	53.981	0.265	0.007		0.005	0.023	0.004
<i>Hydnotrya</i>						41.187		78.879	0.009	25.460
<i>Melanogaster</i>						16.342	24.048	0.267	43.800	22.679
<i>Laccaria</i>						10.924	61.530	0.007	2.311	0.080
<i>Russula</i>	13.107	0.043	4.649	0.024	38.680	10.882	8.845	5.241	38.829	0.436
<i>Astraeus</i>	4.398	33.839			0.012					
<i>Boletus</i>	3.553	27.217			0.060					
<i>Sebacina</i>	2.229	0.014	3.437	0.252	4.153					
<i>Amanita</i>	0.089		0.272	0.024	0.042	4.363	1.197	8.819	0.400	0.157
<i>Cenococcum</i>	1.393	0.029	1.609	2.301	0.880	2.491	0.911	2.759	5.563	0.419
<i>Tylopilus</i>	0.572	4.276	0.066			0.306			1.727	
<i>Tomentella</i>	0.297	0.057	1.036		0.090	0.002	0.010			
<i>Lactifluus</i>	0.384		0.118	1.142	0.006					
<i>Densospora</i>	0.033	0.072	0.015	0.048	0.018	0.038	0.038	0.042	0.064	0.004
<i>Meliniomyces</i>	0.004			0.006	0.006	0.015	0.005	0.021	0.018	0.004
<i>Acephala</i>	0.020			0.054	0.012					
<i>Entoloma</i>	0.004		0.007		0.006	0.006			0.032	
<i>Coltriciella</i>	0.017		0.051		0.012					
<i>Pseudotomentella</i>	0.015				0.048					
<i>Tuber</i>	0.002				0.006	0.002		0.005		
<i>Chloridium</i>	0.004			0.012		0.005		0.002	0.023	
<i>Hydnum</i>	0.002			0.006						
<i>Elaphomyces</i>						0.008	0.010	0.011		0.008
<i>Sistotrema</i>						0.007				0.038
<i>Piloderma</i>						0.080			0.450	
<i>Amphinema</i>						0.002			0.009	
<i>Inocybe</i>						0.001		0.002		

표 79. 경주, 울진의 토양 샘플에서 계절에 따른 외생균근균 상대 수도(%)의 변화

Taxon name	Soil sample									
	Gyeongju					Uljin				
	Total	Sum.	Aut.	Win.	Spr.	Total	Sum.	Aut.	Win.	Spr.
<i>Ramaria</i>	1.068	0.969	0.571	0.993	1.917	0.011	0.003	0.019	0.025	
<i>Amanita</i>	0.020	0.017	0.032		0.035	2.222	2.412	3.298	2.244	1.380
<i>Russula</i>	0.164	0.062	0.198	0.291	0.123	1.511	3.100	2.529	1.419	0.033
<i>Chloridium</i>	0.959	0.769	1.164	1.339	0.535	0.236	0.300	0.279	0.196	0.202
<i>Densospora</i>	0.992	0.742	1.314	1.107	0.851	0.948	1.043	0.927	1.179	0.738
<i>Hydnum</i>	0.932	0.360	0.514	0.513	2.848					
<i>Lactifluus</i>	0.436	0.047	0.093	0.517	1.359					
<i>Sebacina</i>	0.250	0.025	0.775	0.170	0.069	0.001		0.003		
<i>Inocybe</i>	0.002	0.002	0.003			0.852	0.048	3.724	0.005	
<i>Elaphomyces</i>						0.824	0.821	2.775	0.116	0.048
<i>Cenococcum</i>	0.112	0.064	0.102	0.136	0.169	0.275	0.293	0.545	0.275	0.083
<i>Boletus</i>	0.110	0.155	0.013	0.096	0.173	0.005	0.007	0.003	0.005	0.006
<i>Entoloma</i>	0.102	0.121	0.067	0.152	0.054	0.024	0.055	0.042	0.015	0.002
<i>Tomentella</i>	0.117	0.091	0.214	0.087	0.077	0.004	0.010	0.008	0.002	
<i>Astraeus</i>	0.025	0.074			0.012	0.001		0.003		
<i>Rhizopogon</i>	0.061	0.074	0.038	0.077	0.046	0.008	0.020	0.014	0.005	
<i>Sistotrema</i>	0.047	0.042	0.048	0.077	0.015	0.001		0.003	0.002	
<i>Melanogaster</i>	0.017	0.017	0.026	0.006	0.019	0.035	0.075	0.075	0.017	
<i>Alpova</i>	0.008	0.010		0.015	0.008					
<i>Melinomyces</i>	0.005	0.010		0.003	0.004	0.018	0.027	0.008	0.010	0.026
<i>Laccaria</i>	0.002	0.005	0.003			0.025	0.017	0.017	0.067	0.004
<i>Leucogaster</i>	0.003	0.005		0.006						
<i>Scleroderma</i>	0.009	0.005	0.006	0.025		0.060	0.010	0.249	0.005	0.002
<i>Stephanospora</i>	0.003	0.005	0.003	0.003						
<i>Suillus</i>	0.005	0.005	0.006		0.012	0.023	0.044	0.033	0.025	0.002
<i>Tomentellopsis</i>	0.002	0.005								
<i>Tylopilus</i>	0.002	0.005				0.001	0.003	0.003		
<i>Acephala</i>	0.002	0.002			0.004	0.006			0.010	0.009
<i>Amphinema</i>	0.001	0.002				0.004	0.007	0.003	0.005	0.002
<i>Cortinarius</i>	0.001	0.002				0.009	0.027		0.015	0.002
<i>Hydnotrya</i>	0.002	0.002		0.003	0.004	0.043	0.058	0.130	0.012	
<i>Lactarius</i>	0.002	0.002	0.006							
<i>Piloderma</i>	0.001	0.002				0.011	0.034	0.011	0.007	
<i>Pseudotomentella</i>	0.036	0.002	0.128	0.003	0.019	0.001	0.003			
<i>Alnicola</i>						0.001	0.003			
<i>Clavulina</i>						0.011	0.037	0.011	0.005	
<i>Coltricia</i>	0.005			0.019						
<i>Efibulobasidium</i>	0.002			0.006						
<i>Lyophyllum</i>						0.001			0.002	0.002
<i>Otidea</i>	0.001				0.004					
<i>Paxillus</i>						0.001	0.003			
<i>Retiboletus</i>	0.001		0.003			0.001		0.003		
<i>Tricholoma</i>	0.019			0.012	0.081					
<i>Tuber</i>						0.059	0.003	0.241	0.010	0.004

5). 트리플 접종묘 야외 성장조건 실험

가). 시험림 조성

- (1) 위치 : 충청북도 청주시 한국교원대학교 내 (16m X 6.5m = 104m²)
- (2) Mulching : double white woven polypropylene fabrics 10줄
double black woven polypropylene fabrics 10줄



그림 169. 시험림 mulching

(3) 토양 성분 분석

시험림 조성시 pH는 모두 pH8.38과 pH8.28 이었으나 6개월 후에는 pH7.0과 pH7.32로 낮아졌으며 그 외에 토양 화학성분이 변화하였으며, 토성도 사양토에서 사질 양토로 변화함(표 80.).

표 80. 시험림 토양 성분 분석 결과

날짜	이름	pH [1:5]	총 질소	유효 인산 (mg/kg)	치환성 칼륨 (Cmol/kg)	치환성 칼슘 (Cmol/kg)	유기물 (%)	수분 (%)	모래 (%)	미사 (%)	점토 (%)	토성 (美농무성 분류)
220325	black mulch	8.38	0.21	228.6	0.16	19.93	4.44	15.25	75.3	14.1	10.6	사양토
	white mulch	8.28	0.17	253.7	0.08	9	4.43	15.25	73.7	14.7	11.6	사양토
220925	black mulch	7	0.08	87.9	0.16	13.63	3.66	14.14	80.8	11	8.2	양질사토
	white mulch	7.32	0.11	81.2	0.12	13.37	4.05	16.92	84.4	7.8	7.8	양질사토

(4) 시험림 토양 온도 및 대기 온·습도

- (가) 2022년 3월~12월 동안 지표로부터 15cm 부근의 시험림 토양 온도를 Data logger를 이용하여 30분 간격으로 측정하여 모니터링함.
- (나) 3월~12월 동안 시험림 black mulching 토양 온도의 최고온도 29.9도, 최저온도 1.1도, 평균온도 18.8도이고 white mulching 토양 온도의 최고온도 28.9도, 최저온도 0.8도, 평균온도 17.6도로 시험림 black mulching 토양이 시험림 white mulching 토양보다 평균 온도가 약 1.2도 높음(그림 170.).

Soil temperature in experimental site

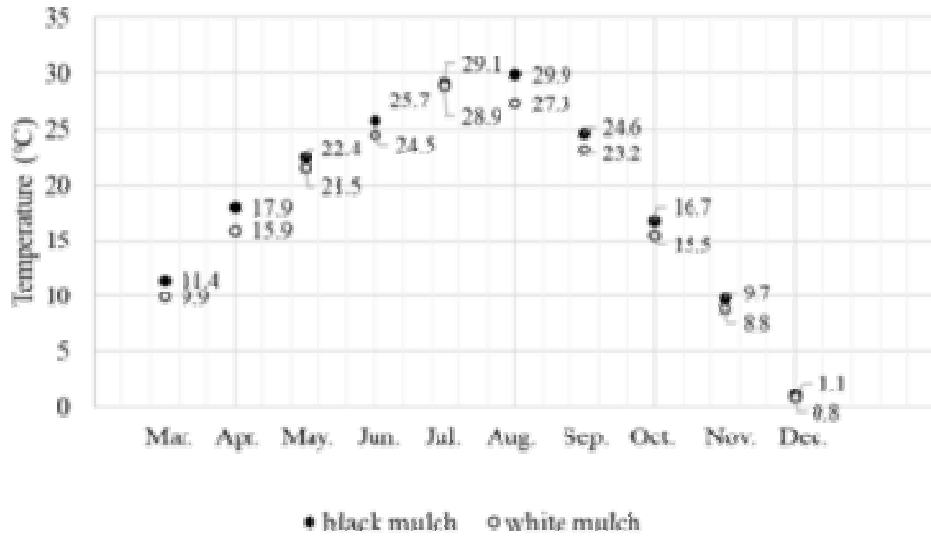
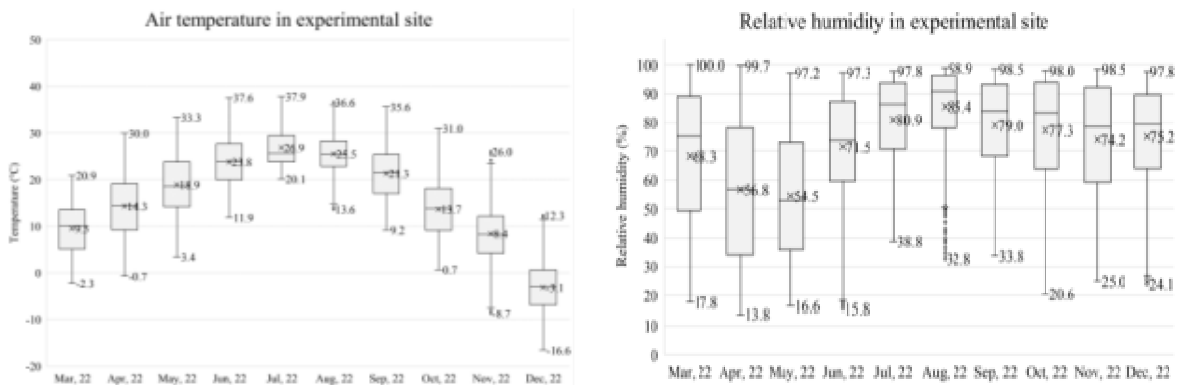


그림 170. 시험림 토양 평균 온도

(다) 2022년 3월~12월 동안 시험림 대기 온도 및 상대 습도를 Data logger를 이용하여 30분 간격으로 측정하여 모니터링함(그림 171.).

(라) 3월~12월 중 시험림 대기 온도의 최고온도 37.9도, 최저온도 -16.6도, 평균온도 16.5도

(마) 3월~12월 중 시험림 대기 상대 습도는 최고습도 100%, 최저습도 13.8%, 평균습도 72.3%



대기 온도

상대 습도

그림 171. 시험림 대기 온도 및 상대 습도

나). qRT-PCR용 *Tuber* 종 특이 primer 개발

(1) qRT-PCR을 이용하여 토양 내 *Tuber* 균사량을 측정하기 위해 *Tuber* 종 특이 primer를 개발함(표 81.).

표 81. *Tuber* 종 특이 primer

<i>Tuber</i> species	Primer name	Product size (bp)	Ta (°C)
<i>T. koreanum</i>	TK- f1	131	62
	TK- r8		
<i>T. melanosporum</i>	TM- f1	116	62
	TM- r1		

다). *T. indicum* 접종묘 야외 성장 조건 실험

- (1) 2021년 6월 30일, black mulch 14개체, white mulch 14개체, control 2개체 총 30개체 이식
- (2) 이식 후 1년(22.06.30), 1년 3개월(22.09.30)이 된 시점에 이식한 접종묘에서 5cm 떨어진 토양을 채취하여 qRT-PCR로 토양 내 *Tuber* 균사량을 측정함
- (3) *T. indicum*의 균사량은 black mulch보다 white mulch에서 유의미하게 높게 나타남(그림 171.).

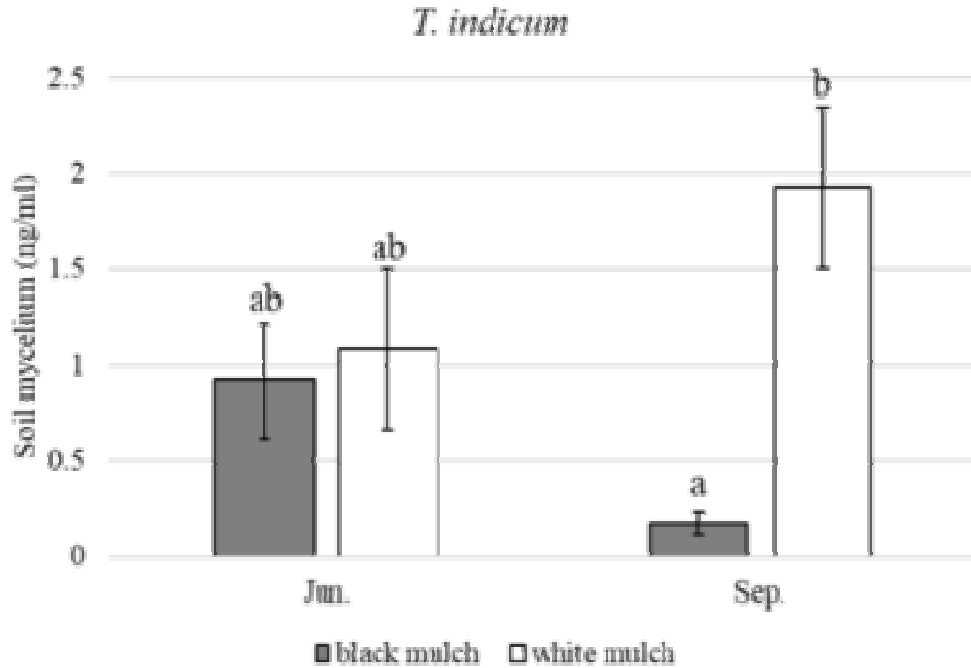


그림 171. black mulch와 white mulch에서 나타난 *Tuber indicum*의 토양 내 균사량

평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄.
($p < 0.05$, one-way ANOVA according to Tukey's multiple comparison test.)

라). *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. melanosporum*, *T. borchii* 접종묘 야외 성장 조건 실험

(1) 시험림에 접종묘 이식

- (가) 2022년 3월 25일, *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. melanosporum*, *T. borchii* 접종묘를 각각 20개체씩 선정하였고 *Tuber* 종 당 black mulch에 10개체, white mulch에 10개체씩 이식함.
- (나) 각 개체 간 간격은 80cm로 조정(그림 172.).



그림 172. 시험림에 이식한 접종묘

(2) mulching에 따른 *Tuber* spp. 균사 성장량

(가) 시험립 이식 후 3개월(22.06.25), 6개월(22.09.25)이 된 시점에 이식한 접종묘에서 5cm 떨어진 토양을 채취하여 qRT-PCR로 토양 내 *Tuber* 균사량을 측정함.

(나) *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. borchii*의 균사 성장량은 black mulch보다 white mulch에서 유의미하게 높게 나타났으며 *T. melanosporum*의 균사 성장량은 시간이 지남에 따라 증가하지 않았지만 이식 후 3개월과 6개월 된 시점에서 모두 black mulch보다 white mulch에서 균사량이 더 많은 경향을 보임(그림 173.).

(다) White mulch가 black mulch보다 *Tuber* spp.의 균사 성장에 더 긍정적인 영향을 미친다는 것을 확인함.

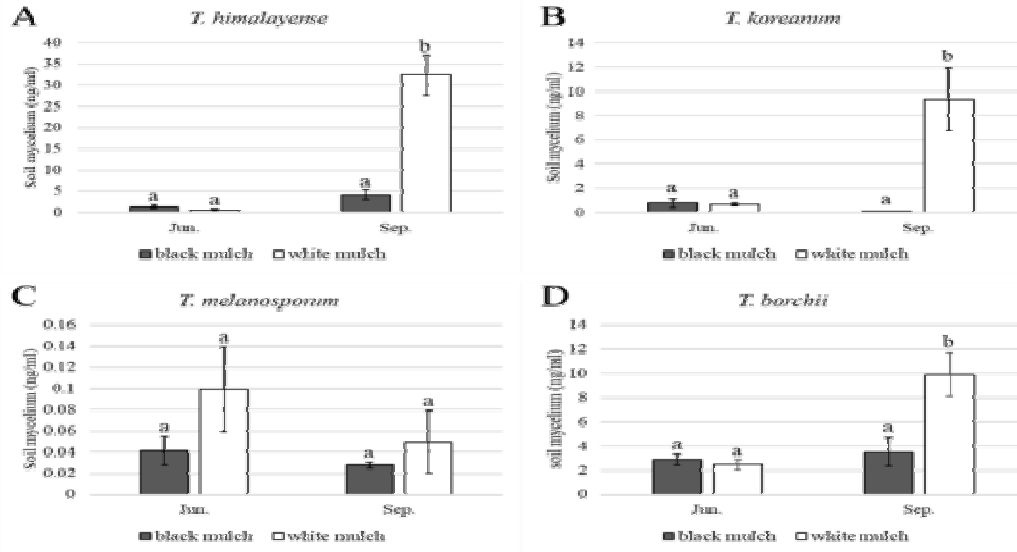


그림 173. black mulch와 white mulch에서 나타난 *Tuber* spp.의 토양 내 균사량
 평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄
 (p<0.05, one-way ANOVA according to Tukey's multiple comparison test.)

(3) mulching에 따른 접종묘의 성장

(1) mulching에 따른 접종묘의 최장 줄기 길이와 잎 개수의 변화율을 비교함.

(2) *T. borchii*의 접종묘는 black mulch보다 white mulch에서 접종묘의 최장 줄기 길이 및 잎 개수가 유의하게 증가하였으나 *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. melanosporum*의 접종묘 성장에는 black mulch와 white mulch 간 차이가 없었음(그림 174.).

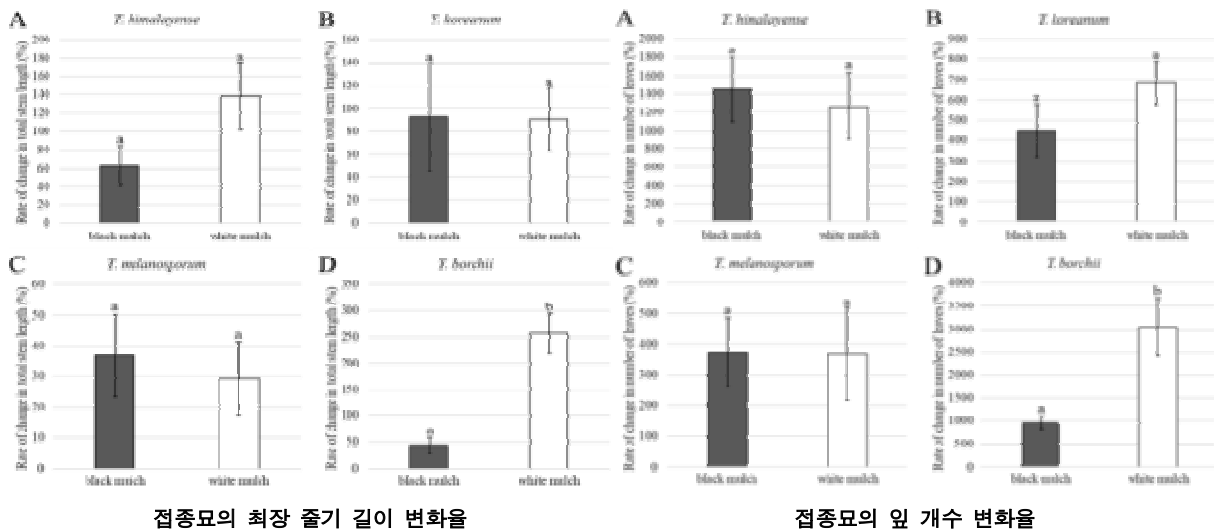


그림 174. black mulch와 white mulch에서 나타난 *Tuber* spp.의 토양 내 균사량
 평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄
 (p<0.05, one-way ANOVA according to Tukey's multiple comparison test.)

(4) *Tuber* 종에 따른 균사량 비교

(가) 시험림 이식 후 6개월이 지난 시점(22.09.25)의 토양 내 균사량을 *Tuber* 종 간 비교함.

(나) 균사량은 black mulch와 white mulch에서 모두 *T. himalayense*, *T. borchii*, *T. koreanum*, *T. melanosporum* 순으로 풍부하게 나타났고 자생종 간 비교를 했을 때, *T. himalayense*가 *T. koreanum* 보다 유의미하게 많은 균사량을 보였고 국외종 간 비교를 했을 때, *T. borchii*가 *T. melanosporum*보다 유의미하게 많은 균사량을 보임(그림 175.).

(다) *Tuber* 종에 따라 균사량의 차이가 있음을 확인함.

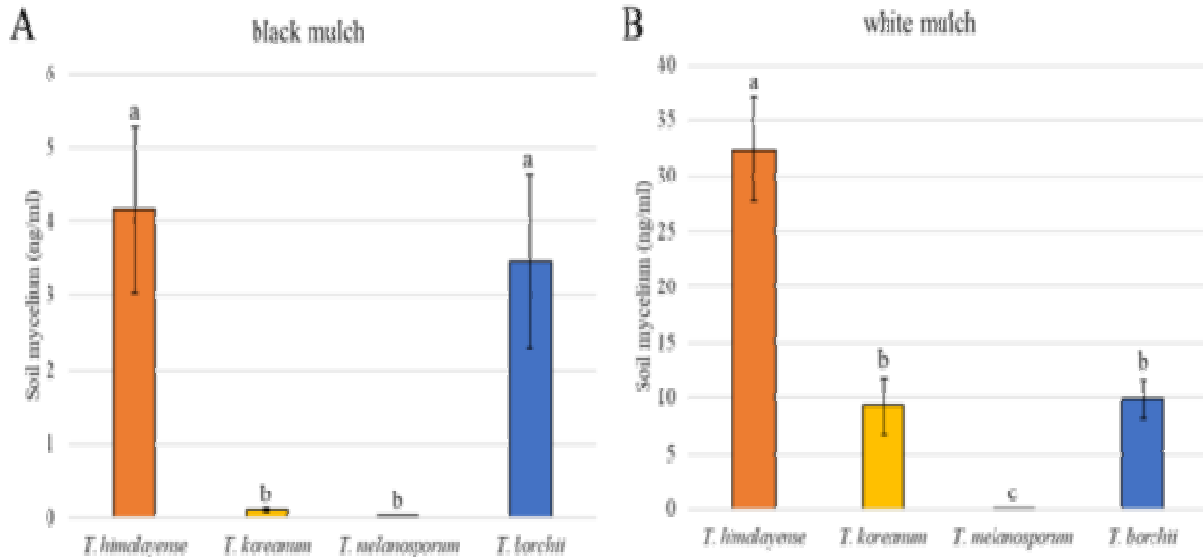


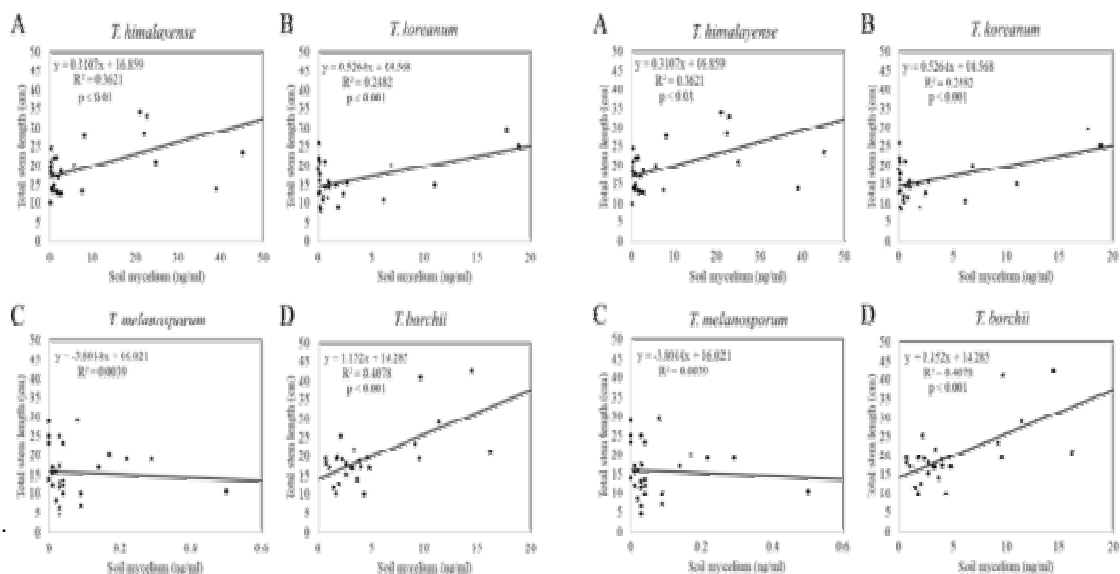
그림 175. 시험림 이식 후 6개월이 지난 시점의 *Tuber* spp.의 균사량

평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄(p<0.05, LSD post-hoc test)

(5) 접종묘의 성장과 *Tuber* spp.의 균사량 간의 관계 분석

(가) 접종묘의 최장 줄기 길이는 *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. borchii*의 균사량과 유의한 양의 상관관계를 보였고, 접종묘의 잎 개수는 또한 *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. borchii*의 균사량과 유의한 양의 상관관계를 보임(그림 176.).

(나) 이를 통해 *Tuber* spp.의 균사량이 증가할수록 숙주식물의 성장도 증가한다는 양의 상관관계를 확인함.



접종묘 최장 줄기길이와 균사량 간 회귀분석

접종묘 잎 개수와 균사량 간 회귀분석

그림 176. 접종묘 생육특성과 균사량 간 회귀분석

(6) 트러플 접종묘 온실 성장조건 실험

(가) 2022년 4월 6일, *T. himalayense*, *T. koreanum*, *T. melanosporum*, *T. borchii* 접종묘를 시험림 토양과 함께 포트에 이식.

(나) 2022년 10월 6일, 이식 후 6개월이 지난 시점의 포트 내 토양을 채취하여 qRT-PCR을 이용한 토양 내 *Tuber* 균사량 측정

(다) 4종 중 *T. melanosporum*이 가장 많은 균사량을 보인 반면 *T. himalayense*는 가장 적은 균사량을 보였음(그림 177.).

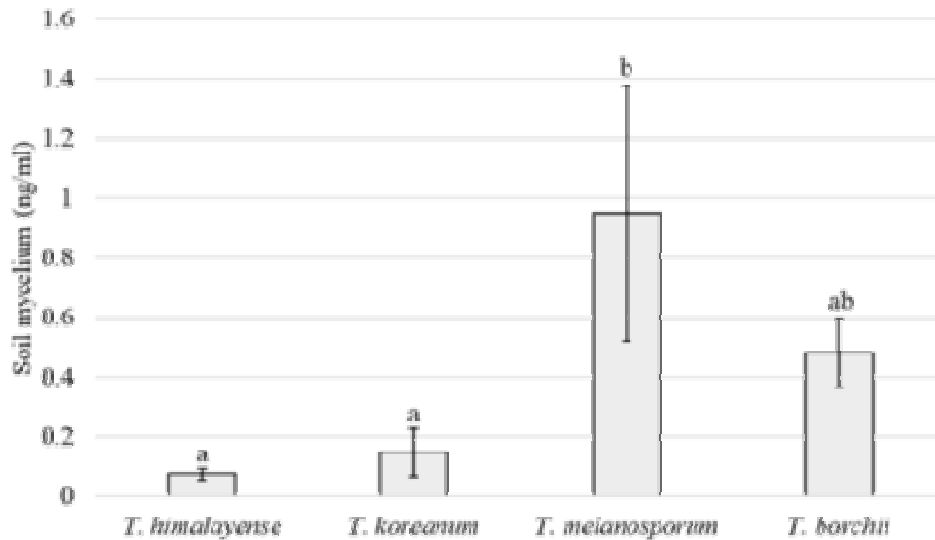


그림 177. 포트 이식 후 6개월이 지난 시점의 *Tuber* spp.의 균사량

평균±표준오차와 서로 다른 알파벳으로 유의미한 차이를 나타냄
($p < 0.05$, one-way ANOVA according to Tukey's multiple comparison test.)

6). 트러플 확인용 분자마커 개발

가). *Tuber koreanum* mating type 확인용 분자마커 개발

(1) *Tuber koreanum* mating gene amplicon 획득(표 85.)

(가) *T.koreanum* 자실체 GB20030에서 획득한 501bp의 amplicon 서열은 NCBI Nucleotide BLAST 결과 *T.borchii*의 MAT1-1-1 서열(KM210559.1)과 93.57%의 일치도를 보임.

⇒ GB20030 amplicon이 서열이 *T.koreanum*의 MAT1-1-1 partial임을 확인함.

(나) *T.koreanum* 자실체 GB20043에서 획득한 589bp의 amplicon 서열은 NCBI Nucleotide BLAST 결과 *T.borchii* MAT1-2-1 서열(KM210558.1)과 93.77%의 일치도를 보임.

⇒ GB20043 amplicon 서열이 *T.koreanum*의 MAT1-2-1 partial임을 확인함.

표 82. *Tuber koreanum* 자실체 amplicon BLAST 결과

프라이머	Description	길이	일치도	Accession 번호	출처
b1 & b3	<i>Tuber borchii</i> hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1- 1- 1 and hypothetical proteins genes, complete cds	501bp	93.57%	KM 210559.1	자실체 (GB20030)
b23 & b33	<i>Tuber borchii</i> hypothetical protein gene, partial cds; and Mat1- 2- 1 gene, complete cds	589bp	93.77%	KM 210558.1	자실체 (GB20043)

(2) *Tuber koreanum* mating gene(MAT) 특이적 프라이머 제작(표 83.)

(가) *Tuber koreanum* mating gene partial 서열을 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에서 Prime-BLAST를 이용하여 프라이머를 설계함.

(나) GB20030 amplicon 시퀀스를 이용하여 *T.koreanum* MAT1-1-1 프라이머를 제작하였으며, GB20043 amplicon 시퀀스를 이용하여 *T.koreanum* MAT1-2-1 프라이머를 제작함(표).

(다) TKM1-1-1과 TKM1-1-2는 *T.koreanum* MAT1-1-1 서열에 특이적 프라이머이며, TKM2-2-1과 TKM2-2-2는 *T.koreanum* MAT1-2-1 서열에 특이적 프라이머임.

표 83. *Tuber koreanum* MAT 프라이머 목록

프라이머		Tm(°C)	Product size
TKM1- 1- 1 (forward)	21mer	60.48	202bp
TKM1- 1- 2 (reverse)	20mer	61.03	
TKM2- 2- 1 (forward)	20mer	55.93	251bp
TKM2- 2- 2 (reverse)	20mer	56.01	

(3) *uber koreanum* 교배형(mating type) 확인(그림 178., 표 84.)

(가) *T. koreanum* MAT 프라이머를 이용하여 *T. koreanum*의 8개의 자실체 DNA에서 PCR한 결과 8개 자실체 모두 MAT1-2-1 교배형임을 확인함.

(나) *T. koreanum*이 접종된 참나무 묘목 포트 7개에서 채취한 토양 균사 DNA를 PCR한 결과 1개의 포트에서 MAT1-1-1 교배형을 확인함.

(다) PDA 배지에 배양된 5개의 *T. koreanum* 균사체 DNA를 PCR한 결과 5개 균사체 모두 MAT1-1-1 교배형을 확인함.

(라) 참나무 묘목(T-530)에서 수집한 5개의 *T. koreanum* 외생균근 DNA를 PCR한 결과 3개의 외생균근에서 MAT1-1-1 교배형을, 2개의 외생균근에서 MAT1-2-1 교배형을 확인함.

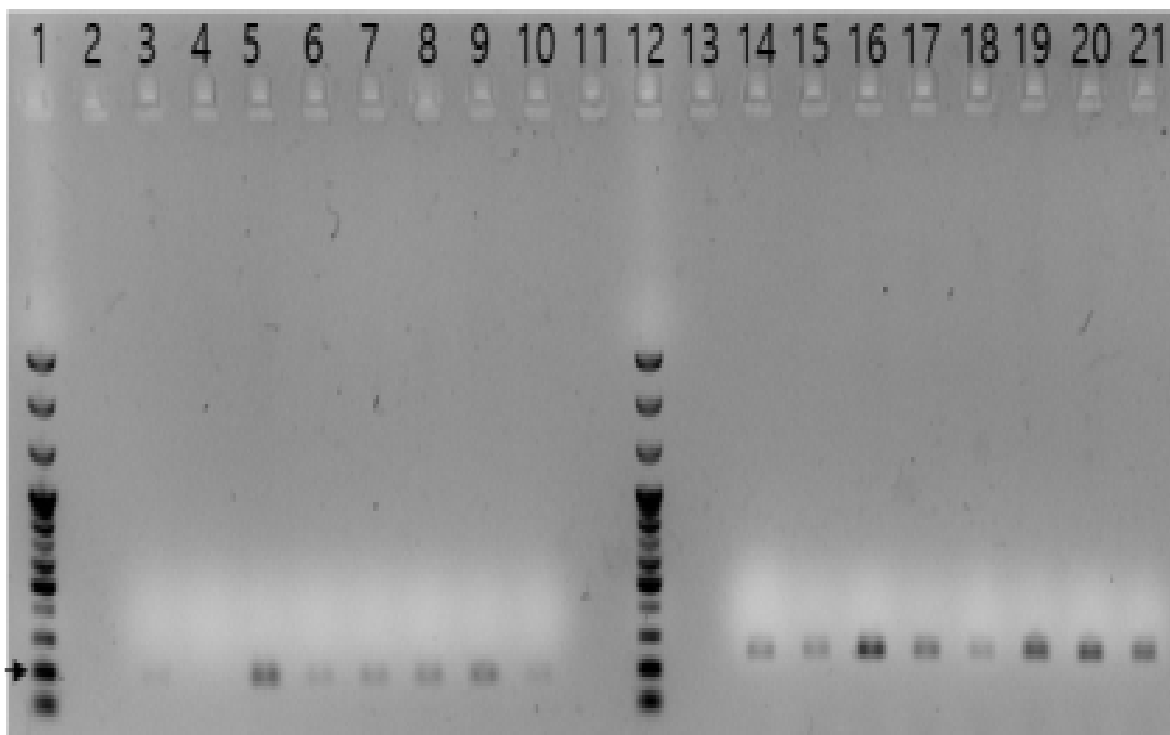


그림 178. *Tuber koreanum* 자실체 MAT PCR 결과

표 84. *Tuber koreanum* MAT PCR 결과 및 교배형

표 본	유 형	MAT 1- 1- 1 band	MAT 1- 2- 1 band	교배형
GB20046	자실체	-	O	MAT 1- 2- 1
GB20047	자실체	-	O	MAT 1- 2- 1
GB20048	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
GB20049	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
GB20050	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
GB20051	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
GB20052	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
GB20053	자실체	O	O	MAT 1- 2- 1
S1611	토양 균사	-	-	-
S1618	토양 균사	-	-	-
S1619	토양 균사	-	-	-
S1669	토양 균사	-	-	-
S1670	토양 균사	O	-	MAT 1- 1- 1
S1671	토양 균사	-	-	-
S1676	토양 균사	-	-	-
my1	균사체	-	O	MAT 1- 1- 1
my2	균사체	-	O	MAT 1- 1- 1
my3	균사체	-	O	MAT 1- 1- 1
my4	균사체	-	O	MAT 1- 1- 1
my5	균사체	-	O	MAT 1- 1- 1
E530- 1	외생균근	-	O	MAT 1- 2- 1
E530- 2	외생균근	O	-	MAT 1- 1- 1
E530- 3	외생균근	O	-	MAT 1- 1- 1
E530- 4	외생균근	O	-	MAT 1- 1- 1
E530- 9	외생균근	-	O	MAT 1- 2- 1

- 제2공동(한국농수산대학교) : 국외 트러플 우량균주 확보 및 접종묘 생산 최적화 기술 적용 및 현장실증

가. 연구개발 수행방법

1). 국내 발생지 환경(토양, 온습도 등) 조사

가). 국내 자생지 토양 성분 분석

(1) *Tuber himalayense* 자실체가 대량 발견된 충북 충주의 발생지와 그 주변의 토양 성분을 분석하였음(표 85.).

표 85. 자생지 주변의 토양 성분비교

	A	B	C	D
pH	8.3	7.4	7.3	3.7
전질소	0.25%	0.08%	0.13%	0.29%
유기물	80.40g/ kg	40.34g/ kg	61.72g/ kg	90.51g/ kg
K	0.74cmole/ kg	0.38cmole/ kg	0.43cmole/ kg	0.24cmole/ kg
Ca	11.99cmole/ kg	7.51cmole/ kg	12.44cmole/ kg	1.22cmole/ kg
Mg	5.17cmole/ kg	3.44cmole/ kg	5.46cmole/ kg	0.44cmole/ kg
P ₂ O ₅	43.74mg/ kg	134.15mg/ kg	55.74mg/ kg	9.85mg/ kg
유효규산	387.9mg/ kg	190.7mg/ kg	324.6mg/ kg	55.4mg/ kg
토성	양토	양질사토	사양토	사양토

*A: 스트로브잣나무, B: 소나무(정원 부근), C: 소나무(정문 부근), D:염불암(미발생지역)

- (2) 토양 분석 결과, 트러플 농장을 조성하고 있는 기존의 보고와 마찬가지로 토양 pH가 7.5~8.0 정도로, 산성 토양보다는 알칼리성 토양에서 트러플 재배에 효과적인 것으로 판단
- (3) 국내에서 자실체가 1개라도 발견된 부근의 토양의 pH는 7.3~8.3이었지만, 트러플이 발생하지 않은 인근 야산(D)은 pH3.7로 큰 차이를 보임
- (4) 소나무가 식재된 곳은 2곳 모두 pH 7.3~7.4로 같은 시기에 조성되었고 관리된 결과로 보여짐.
- (5) 토성은 양토~사양토까지 다양한 양상을 보임.
- (6) 유럽의 보고에서는 야생 트러플 자생지의 토양은 중 활성 CaCO₃의 존재가 트러플 자생지의 특징으로 나타나는데, 자실체가 발생하지 않는 D지역에서 Ca, 인산, 규산 수치가 낮은 수준의 함량을 보임.
- (7) 자세한 토양 정보를 확인하기 위해서는 활성CaCO₃ 분석을 추후 검토해야 할 것으로 판단됨.
- (8) 농장 구축을 위한 토양 개선 작업시 pH뿐만 아니라 미량원소의 조절도 필요할 것으로 판단

나) 국내 자생지의 기상 환경 조사

- (1) 충주지역의 2022년 평균 기온과 강수량은 표 86.과 같이 조사되었음(기상청)
- (2) 자생지의 환경 조사를 위해 온습도 sensor를 나무 지상부와 자실체 발생지 지하에 설치하였음 (그림 179., 180.).
- (3) 자생지의 위치는 충주호가 옆이고, 산 중턱(해발 150m)에 위치하고 있어, 충주 평균값과 측정지역의 지상부의 온도 편차가 있음
- (4) 강수량이 집중된 6~8월에는 지상부의 상대습도가 90% 이상을 계속 유지하였음

(5) 측정지역의 지상부와 지하부의 온도 차이는 7, 8월을 제외하고는 3°C이내였고, 7월 지상부의 온도가 33.7°C였지만 지하부는 18.5°C를 유지했으며, 12월~1월에는 거의 영상을 유지함.

표 86. 충주지역 2022년 월별 평균 기온 및 강수량

시 기	평균기온 (°C)	평균 최고기온 (°C)	평균 최저기온 (°C)	강수량 (mm)	일 최고 강수량 (mm)
22년 01월	- 3.4	3	- 9.4	2	0.9
22년 02월	- 2	4.4	- 8.2	4.3	2.8
22년 03월	6.7	13.2	0.4	79.9	32.4
22년 04월	13.4	21.1	5.9	45.8	18.7
22년 05월	17.8	25.3	10.1	8.6	4.7
22년 06월	22.9	28.3	17.7	219	89.8
22년 07월	26	30.5	22.3	350.5	83.2
22년 08월	25	28.8	21.6	457.3	143.7
22년 09월	20.5	26.7	15.5	102	50.6
22년 10월	12.7	19.5	6.8	96.5	59
22년 11월	7.6	15.2	1.5	79.5	28.9
22년 12월	- 4.8	0.8	- 9.8	18.8	9.9
23년 01월	- 3	3	- 8.2	22	9.5

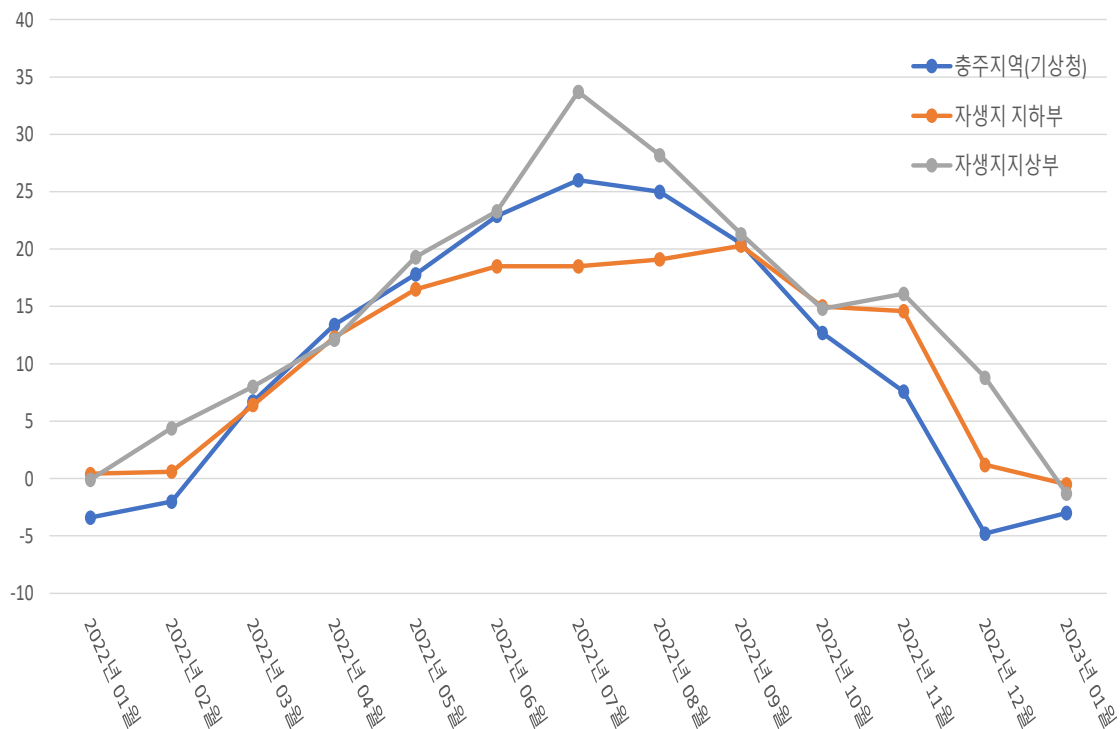


그림 179. 충주지역과 자생지의 연간 기온 변화.

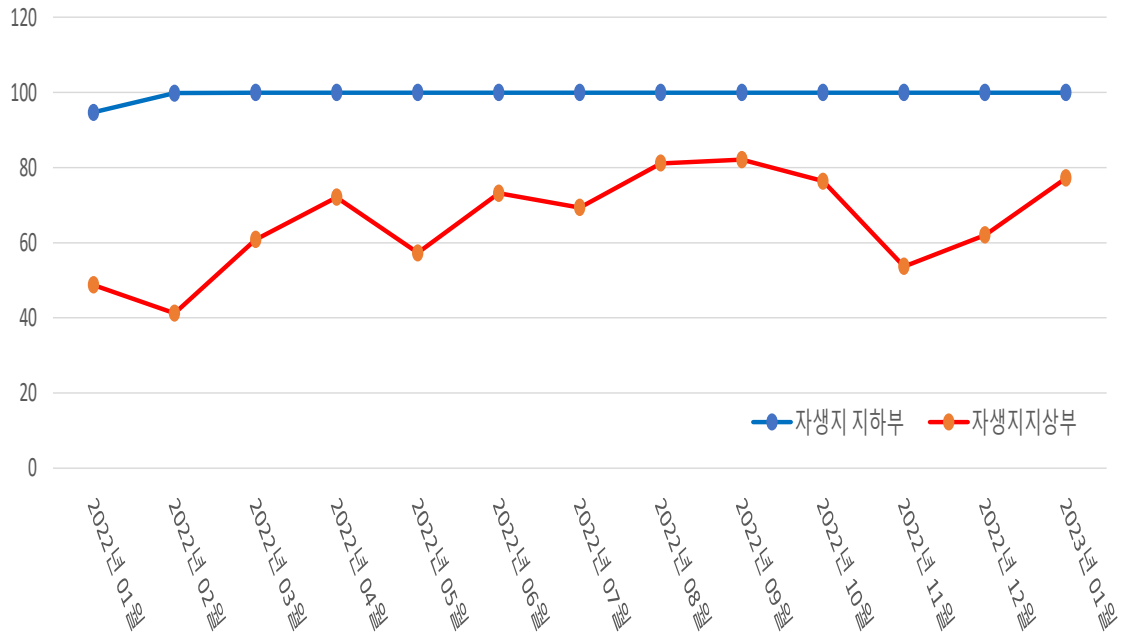


그림 180. 자생지의 지상부와 지하부 연간 습도 변화

다). 토양 미생물 조사

- (1) 트러플 자실체가 발생한 지역의 토양을 4월과 10월 2차례 채취하여 토양내 분포하는 곰팡이류를 조사하였음(표 87.).
- (2) 시기에 따라 분리 동정된 곰팡이 종류는 차이가 있지만, *Penicillium* sp. 와 같이 지속적으로 존재하는 곰팡이류도 확인됨.
- (3) 토양 분리 균주들은 동정 후 보존.
- (4) 본 조사만으로는 분리 동정된 곰팡이와 트러플 발생과의 연관관계는 추정하기 어렵고 더 많은 자생지 조사를 통하여 구명할 필요가 있음.

표 87. 자생지 토양에서 분리된 곰팡이

토양채취 시기	분리 곰팡이
4월	<i>Clonostachys rosmaniae</i> , <i>Metarhizium pinghaense</i> , <i>Mortierella alpina</i> , <i>Mucor hiemalis</i> f. <i>corticola</i> , <i>Penicillium brasilianum</i> , <i>Penicillium</i> cf. <i>glabrum</i> , <i>Penicillium daejeonium</i> , <i>Penicillium jianfenglingense</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Talaromyces kendrickii</i>
10월	<i>Lophiostoma</i> sp., <i>Mariannaea punicea</i> , <i>Marquandomyces marquandii</i> , <i>Metarhizium pinghaense</i> , <i>Mucor irregularis</i> , <i>Paraphoma radicina</i> , <i>Penicillium</i> cf. <i>glabrum</i> , <i>Penicillium exsudans</i> , <i>Penicillium jianfenglingense</i> , <i>Penicillium scabrosum</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Phaeosphaeria</i> sp., <i>Purpureocillium lilacinum</i> , <i>Volutella consors</i>

라). 9월 이후 트러플 발생지 주변 발생 버섯 조사 결과

- (1) 2021년에 발생한 트러플 자실체가 건조되거나 오염된 상태로 발견되기도 하여 그 주변을 중심으로 조사함(그림 181.).
- (2) 그물버섯류, 만가닥류, 검은무리버섯, 무당버섯 등 균근성 버섯이 발생함.
- (3) 땅송이라고 불리는 검은무리버섯은 소나무 부근에서 주로 발생하였음.



그림 181. 자생지 주변 발생 버섯류

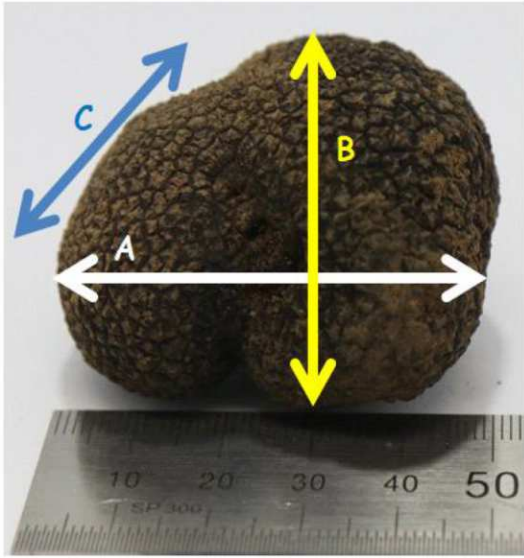
마). 2022년 자생지 트러플 수집

- (1) 9월 초부터 스트로브잣나무 주변에서 발생 확인되어 11개체 수집함.
- (2) 발생 초기는 크기와 무게가 전년에 비하여 작았으나, 10월 이후 채집한 자실체는 최소 15g 이상으로 비교적 대형의 자실체로 발견됨(그림 182., 표 88.).
- (3) 이 지역에서 수집 확보된 자실체는 27개체로 세척 후 저온 보존하고 있으며, 2023년 접종묘 제작에 활용할 계획임.



그림 182. 9월 초 발생된 자실체

표 88. 2022년 9월 1차 채집 자실체 크기 및 무게



A	B	C	무 게
39.72mm	35.05mm	31.74mm	22.6g
34.10mm	29.75mm	20.51mm	10.3g
36.25mm	34.96mm	29.87mm	20.23g
69.09mm	64.82mm	51.43mm	127.18g
34.94mm	29.58mm	19.90mm	10.85g
27.60mm	24.32mm	21.30mm	8.06g
25.18mm	19.40mm	19.04mm	5.04g
23.91mm	18.41mm	14.50mm	3.32g
17.90mm	17.35mm	17.30mm	3.07g
14.46mm	14.93mm	14.34mm	1.8g
13.16mm	13.92mm	11.96mm	1.28g

2). 수입 접종묘의 노지 재배

- 가). 나무 생육과 새순형성에 방해가 되는 손상되거나 마른 잎사귀, 잡초는 수시로 제거 작업
- 나). 화분 토양에 곰팡이 등이 형성되기도 하였으나, 나무에 별다른 병징은 없었음
- 다). 온실하우스는 여름철 내부 온도가 $30.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$ 가 되도록 관리하여 직사광선과 고온피해 등을 최소화하고, 충분한 수분공급을 하여 건조되는 것을 방지하였음
- 라.) 겨울철 하우스내 온도는 실외온도가 영하일 경우도 10°C 이상으로 유지 관리하고 있으며, 실내온도와 화분 속 토양 내 온도는 차이는 $\pm 1 \sim 2^\circ\text{C}$ 내외를 유지하고 있음
- 마). 자연적으로 생성된 이끼류가 화분 표면에 형성되어 수분 증발 억제 효과가 있을 것으로 생각되고, 토양 손실이 많은 화분은 흙 투입과 자생지의 이끼를 수거해 덮어 관리하고 있음
- 바). 이끼가 형성된 화분이 나무의 생장이나 수분 관리가 용이함
- 사). 격리 재배 후 온실에서 화분으로 관리되고 있으나, 아직 나무의 굽기와 생육이 유묘에 가까워 노지로 옮기지 못하였음.
- 아). 가지치기 등 관리 후 2023년 3월 이후 대형 화분이나 노지로 재식을 계획하고 있음

3). 국내외 수입 자실체 및 균주를 이용한 접종묘 생산

- 가). 소나무, 회양목, 자작나무, 편백나무, 구상나무, 상수리, 개암나무 종자를 구입하여 접종묘 제작을 위한 seeding 작업 중
- 나). 수집된 균주는 한천배지와 질석배지에 배양하여 접종묘를 제작할 예정임
- 다). 커피나무에 제작한 접종묘는 생육이 극히 불량하여 화분으로 옮겨 재식하여 온실과 노지에서 생육 조사할 예정임

4) 트리플 균주 확보 및 보존

가). 해외 유전자은행 분양

- (1) American Type Culture Collection (ATCC): *Tuber borchii* 균주 1종
- (2) Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (CBS)
 - (가) *Tuber borchii*, *Tuber albidum*, *Tuber puberulum* 균주 3종

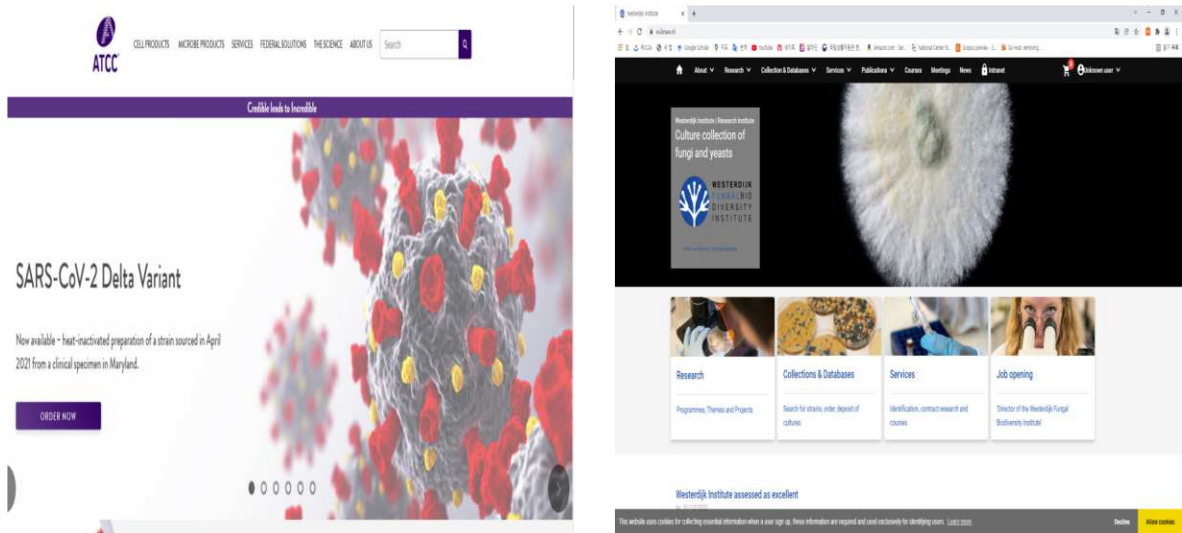


그림 183. 해외균주 분양 홈페이지

표 89. 해외균주 분양 목록

균주번호	균주명	비고	분양 일자
CBS135990	<i>T.borchii</i>	네덜란드 CBS	2022년10월26일
CBS272.72	<i>T.albidum</i>	네덜란드 CBS	2022년10월26일
CBS273.72	<i>T.puberulum</i>	네덜란드 CBS	2022년10월26일
MYA1019	<i>T.borchii</i>	미국 ATCC	2022년01월19일

(나) 분양 받은 균주는 ATCC의 MMN 배지를 활용하여 재생하였고, 배양실험 등에 활용

(다) 해외에서 분양 받은 균주와 전남산림자원연구소 분양 균주 및 국내 채집 자실체의 염기서열 분석한 결과는 그림 184.와 같음.

– *Tuber borchii*

- 미국 ATCC에서 분양 받은 MYA1019는 초기 전남산림자원연구소에서 분양 받은 *T.borchii* 균주와 동일하였고, *T.borchii* group에 포함됨
- 네덜란드 CBS135990 균주는 *T.borchii* 가 아닌 *T.rufum* group에 포함됨

– *Tuber puberulum*

- 네덜란드 CBS273.72은 분양 후 재생부터 균사 생장 특성이 다른 *Tuber* 균주와는 차이가 있었음
- 분석 결과, 담자균류에 속하는 다른 종으로 동정되어 CBS에 균주 문의 예정

– *Tuber albidum*

- CBS272.72 균주와 전남산림연구소에서 분양 받은 *T.puberulum* 균주가 동일한 것으로 분석됨.
- *T.albidum*의 유전정보가 부족하여 이 2개의 균주의 정확한 동정을 하기에는 추후 검토가 필요함

- *Tuber himalayense*

- 2022년 수집한 국내 자생 자실체의 동정 결과, 전년도와 동일한 *T. himalayense* 로 판명됨
- 생장과 염기서열이 확인된 네덜란드 분양 균주 CBS135990 와 CBS272.72 는 전남산림자원 연구소와 한국교원대학교에 분양

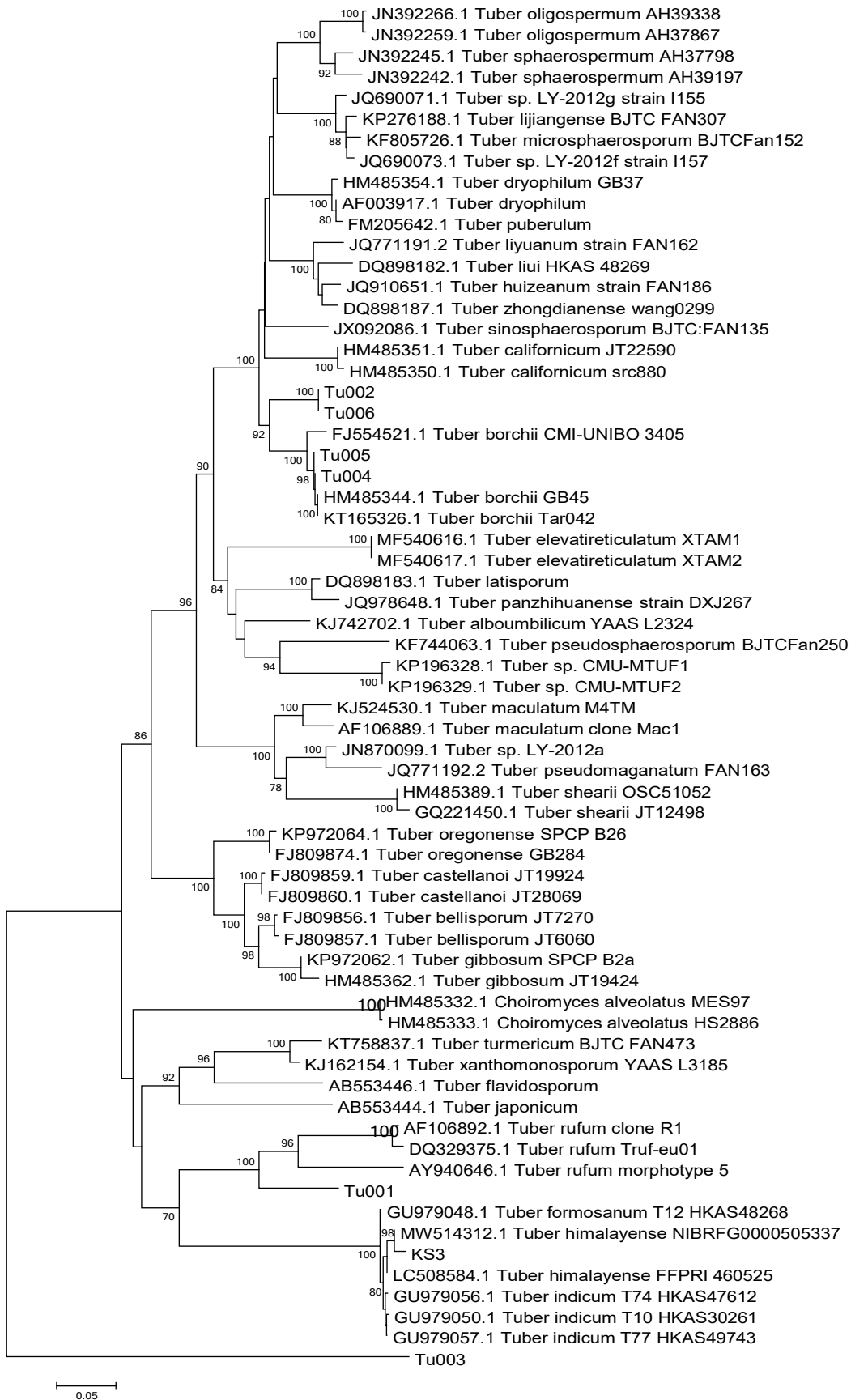


그림 184. 국내외 수집 트러플 균주 및 자실체의 ITS 염기서열 분석.

• 제3공동(장흥군버섯산업연구원) : 수집자원 및 관련제품의 유용성분과 기능성 성분 분석

가. 연구개발 수행방법

1). 트러플 품종별 균사 배양

가). 트러플 품종별 배양 및 분석용 시료 확보

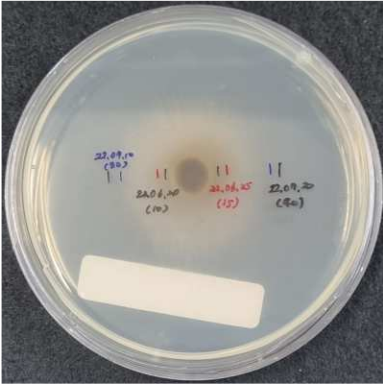
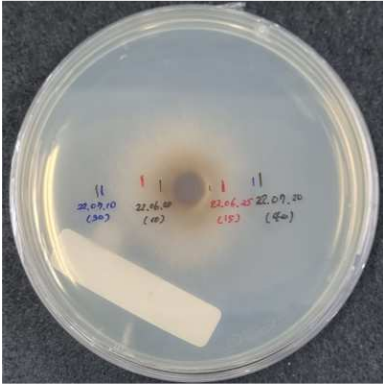
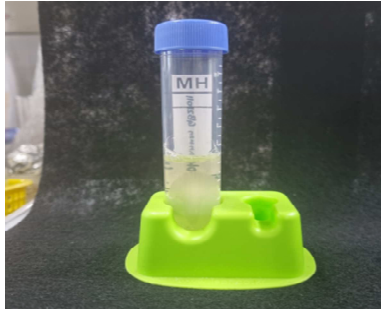





			
<i>T. koreanum</i> 고체배양	<i>T. borchii</i> 고체배양		
YG agar (4주, 25°C)	YG agar (2주, 25°C)		
			
<i>T. koreanum</i> 액체배양	<i>T. borchii</i> 액체배양		
YG broth (2주, 25°C, 100rpm)			
			
<i>T. koreanum</i> 대량 액체배양	<i>T. borchii</i> 대량 액체배양	<i>T. koreanum</i> 대량 액체배양	<i>T. borchii</i> 대량 액체배양
YG broth (5주, 25°C, 100rpm)			
↓			
감압여과			
↓			
동결 건조(수율 측정)			

그림 185. 트러플 균사체 배양 및 분석용 시료 확보

나. 분석방법

1). 비타민D2 및 ergosterol 분석

시료 1g에 에탄올 20ml와 10% 피로갈콜에탄올용액 40ml, 90% 수산화칼륨용액 10ml을 가하여 sonication을 30분 진행한 후 85℃조건에서 45분간 환류추출을 시켰다. 환류추출 후 시료를 방냉한 뒤 분액 깔데기로 전량 옮겼다. 헥산 80ml을 넣어 30분간 진탕혼합한 후 헥산층을 취하였고 다음 과정을 3반복 수행하였다. 깔데기에 잔류한 시료를 회수하기 위해 1N KOH를 이용하여 수차례 세척하여 헥산층을 취하였다. 여과지와 무수황산나트륨을 이용하여 헥산층을 여과시키고 40℃에서 완전 농축시킨 후 메탄올 5mL로 녹여서 HPLC로 측정하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하고, HPLC조건은 표 90.과 같다.

표 90. 비타민D₂ 및 ergosterol 분석 조건

항 목	분석조건
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Agilent XDB- C18 (Method Development Kit) (4.6× 150mm, 5μm)
Solvent	98% Methanol
Column temp.	28.8℃
Wavelength	UV 280 nm
Flow rate	1.0ml/min
Injection volume	20μl

2). β-Glucan 분석

시료의 β-glucan 함량은 mushroom and yeast beta-glucan assay procedure kit (Megazyme, Ireland)를 이용하여 측정하였다. 먼저 total glucan은 100mesh 체로 거른 분쇄 시료 100mg을 tube에 넣어 37% HCl 1.5ml를 넣고 45분간 30℃ water bath에 넣어 분해하였다. 그 후 증류수 10ml을 넣어 vortex하고, 100℃에서 2시간 incubation 시켰다. 그 후 실온에서 식히면서 2N KOH를 10ml씩 넣고 200mM sodium acetate buffer(pH 5.0)로 100ml 정용 후 충분히 mixing 하였다. 200mM sodium acetate buffer에 녹인 exo-1,3-β-glucanase(20U/ml)와 β-glucosidase(4U/ml) 0.1ml를 상등액 0.1ml에 넣고. reagent blank는 acetate buffer 0.2ml을 넣고, D-glucose standard 0.1ml와 acetate buffer 0.1ml를 넣고 혼합 후 40℃에서 60분 동안 incubation 하였다. GOPOD(Glucose oxidase/peroxidase mixture, Megazyme) 3ml를 넣고 40℃에서 20분 동안 incubation 한 후, 510nm 에서 흡광도를 측정하였다. α-Glucan은 100mesh 체로 거른 분쇄 시료 100mg을 tube에 넣고 2M KOH 2ml씩 넣고 20분간 mixing 하였다. 1.2M sodium acetate buffer(pH3.8) 8ml를 넣고 섞은 후 amyloglucosidase(1630 U/ml) plus invertase(500U/ml) 0.2ml를 넣고, 잘 섞어서 40℃ water bath 에서 30분간 incubation 하였다. 상등액 0.1ml에 200mM sodium acetate buffer(pH5.0) 0.1ml, GOPOD 3ml를 넣고 40℃에서 20분간 incubation 한 후, 510nm 흡광도에서 측정하여 α-glucan 함량의 계산에 사용하였다. 측정된 total glucan과 α-glucan의 흡광도는 표준물질인 glucose 용액

(1 mg/ml)을 GOPOD 시약과 반응시킨 반응액의 흡광도를 이용하여 각각 함량 (g/100g) 값으로 계산하였다. β -glucan 함량은 total glucan 함량에서 α -glucan 함량을 빼 준 값으로 계산하였다.

3). 아미노산 분석

가). 유리아미노산 분석

시료 0.5g에 증류수를 가하고 homogenizer로 마쇄하여 교반 후 침출시켜 10ml로 정용한 다음 원심분리(3,000rpm, 30min)하여 0.45 μ m membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과하였다. 얻은 여액 10ml에 sulfosalicylic acid 25mg을 첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리 (50,000rpm, 30분)하여 단백질을 제거하고, 상등액을 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 얻은 시료를 HPLC로 분석하였으며, 아미노산 함량 계산은 integrator에 의한 외부표준법으로 하였다. 아미노산 HPLC 조건은 표 91.과 같다.

나) 구성아미노산 분석

시료 0.5g을 시험관에 넣고 6N-HCl 용액 10ml를 가한 후 110 $^{\circ}$ C에서 24시간 가수분해 시켜서 얻은 여액을 원심분리하고, 상등액을 50 $^{\circ}$ C에서 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨다. 20mM HC(pH2.2)을 사용하여 5ml로 정용하였고, 0.45 μ m membrane filter로 여과 후 HPLC용 분석 시료로 사용하였다. 분석조건은 표 91.과 같고, 아미노산 함량 계산은 integrator에 의한 외부표준법으로 하였다.

표 91. 아미노산 분석 조건

항 목	분 석 조 건																								
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series																								
Detector	Agilent Technologies 1200 Series DAD																								
Column	Poroshell HPH C18 (2.1 \times 150mm, 4 μ m)																								
Column temp	40 $^{\circ}$ C																								
	A: 10 mM Sodium phosphate Di- basic : 10 mM Sodium tetraborate ' 7H ₂ O = 1:1 pH 8.2 (adjusted with phsporic acid), B: Acetonitrile : Methanol : Water = 45 : 45 : 10																								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time(min)</th> <th>A(%)</th> <th>B(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>84</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>72</td> <td>28</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>15.1</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>17</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	Time(min)	A(%)	B(%)	0	98	2	5	84	16	9	72	28	13	60	40	15	40	60	15.1	10	90	17	10	90
Time(min)	A(%)	B(%)																							
0	98	2																							
5	84	16																							
9	72	28																							
13	60	40																							
15	40	60																							
15.1	10	90																							
17	10	90																							
Buffer solution																									
Wavelength(nm)	UV 338																								
Flow rate	0.35ml/min																								
Injection volume	5 μ l																								

4). 향기성분 분석

트리플 두 품종(*T. borchii*, *T. koreanum*)의 균사체 향기성분을 측정 및 분석하였다. 트리플의 휘발성 향기성분은 Agilent Technologies G1888 headspace sampler를 이용하여 포집하였다. 20ml 헤드스페이스 바이알(5188-2753, Agilent, Palo Alto, CA, USA)에 트리플 시료를 0.1g을 넣고 뒤 screw cap (5190-3986, Agilent, Palo Alto, CA, USA)으로 입구를 밀봉하였다. 헤드스페이스 바이알은 oven 100℃, loop temp. 110℃, transfer line temp. 115℃로 유리병에 SPME fiber needle을 넣고 15분 동안 휘발성 향기성분을 흡착시키고, 250℃의 GC-MS 주입구에서 탈착하였다. HS-SPME를 통해 얻은 각각의 휘발성 향기성분은 GC-MSD를 이용하여 분석하며, 각 peak의 휘발성 향기성분을 동정하기 위하여 GC-MS의 Wiley library의 spectrum을 이용하였다(표 92.).

표 92. 향기성분 분석 조건

항 목	분 석 조 건												
Instrument	Agilent 7890A GC(Agilent, Palo Alto, CA, USA)												
Detector	Agilent 5975C MSD(Agilent, Palo Alto, CA, USA)												
El ionization voltage	70 eV												
Column	HP- 5MS column (250mm L. x 0.25mm I.D., Agilent Co. USA)												
Column temp	<table border="1"> <thead> <tr> <th>InitiRate / min</th> <th>value °C</th> <th>Hold time</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>-</td> <td>40</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>210</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>280</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	InitiRate / min	value °C	Hold time	-	40	5	3	210	5	8	280	10
	InitiRate / min	value °C	Hold time										
	-	40	5										
	3	210	5										
8	280	10											
Carrier gas	Helium, 1.0 ml/min												

다. 분석 결과

1). β-Glucan 함량 분석 결과

트리플 품종별(*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사체 및 자실체의 β-glucan 함량을 분석한 결과는 다음 표 93.과 같다. 버섯에는 항암활동을 하는 다양한 성분의 당류가 정제되어 있는데 이러한 당류는 면역력을 증가시키고 암세포의 증식을 억제하는 효능이 있다. *T. borchii* 및 *T. koreanum* 균사체의 β-glucan 함량은 각각 10.73%, 9.41%로 트리플 자실체보다 유의적으로 낮게 함유한 것으로 보인다. 다음 연구를 통해 트리플 자실체뿐만 아니라 균사체 수준에서도 10% 내외의 β-glucan 함량이 검출되어, 균사체 수준에서의 활용 가능성을 확인하였다.

표 93. β-Glucan 분석 결과

Samples	Contents		
	Total glucan	α- Glucan	β- Glucan
<i>T. borchii</i> 균사체	20.76± 0.4	10.02± 0.19	10.73± 0.21 ¹⁾
<i>T. koreanum</i> 균사체	15.92± 0.31	6.51± 0.13	9.41± 0.18
트리플 자실체	24.96± 0.54	4.42± 0.08	20.54± 0.46

¹⁾ All data were presented by means ± standard deviation. (N=3)

2). Ergosterol 및 vitamin D2 함량

트리플 품종별(*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사체 및 자실체의 ergosterol 및 vitamin D₂ 함량을 분석한 결과는 다음 표 94.와 같다. 에르고스테롤은 효모나 맥각을 비롯하여 표고버섯 등 균류에 들어있는 스테로이드로 에르고스테린(ergosterin)이라고도 한다. 햇빛에 노출시키면 자외선의 작용으로 이성질화를 일으켜 비타민 D₂가 되므로 프로비타민 D라고 한다. 에르고스테롤과 비타민 D의 연관 관계는 1927년 밝혀졌으며, 구루병을 완화시키고 골다공증 예방효과의 효능이 알려졌다. 분석 결과 트리플 자실체의 ergosterol 함량이 트리플 균사체에 비해 유의적으로 낮은 함량을 보이지만, vitamin D₂의 함량은 유의적으로 높은 함량을 보였다.

표 94. Ergosterol 및 vitamin D₂ 분석 결과

Samples	Contents (mg%)	
	Ergosterol	Vitamin D ₂
<i>T. borchii</i> 균사체	1166.77± 16.22 ¹⁾	0.79± 0.04
<i>T. koreanum</i> 균사체	1035.95± 8.16	0.58± 0.01
트리플 자실체	596.91± 7.46	10.15± 0.33

¹⁾ All data were presented by means ± standard deviation. (N=3).

3). 아미노산 함량 분석 결과

가). 구성아미노산 함량

트리플 품종별(*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사체 및 자실체의 구성아미노산 함량을 분석한 결과는 표 95.와 같다. 모든 시료에서 16종의 아미노산이 검출되었으며, 주요 아미노산은 glutamic acid, arginine, lysine으로 나타났다. 총 구성아미노산 함량은 트리플 자실체에서 17,770.5mg%로 가장 높게 나타났고, *T. koreanum* 균사체에서 6,150.79 mg%로 가장 낮은 구성아미노산 함량을 나타냈다. 그 중 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, histidine, phenylalanine의 총 함량은 2,502.57~ 6,320.81mg%이었다. 필수아미노산 함량은 트리플 자실체에서 6,320.81mg%, *T. borchii* 균사체에서 3,114.78mg% 순으로 높게 나타났다.

나). 유리아미노산 함량

트리플 품종별 (*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사체 및 자실체의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 표 96.과 같다. 모든 시료에서 16종의 아미노산이 검출되었으며, 주요 아미노산은 glutamic acid, alanine으로 나타났다. 총 유리아미노산 함량은 트리플 자실체에서 3,000.54mg%로 가장 높게 나타났고, *T. koreanum* 균사체에서 1,198.68mg%로 가장 낮은 구성아미노산 함량을 나타냈다. 그 중 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine, histidine, phenylalanine의 총 함량은 433.32~1064.64mg%이었다. 필수아미노산 함량은 트리플 자실체에서 1,64.64mg%, *T. borchii* 균사체에서 617.55mg% 순으로 높게 나타났다. 일반적으로 맛은 유리아미노산에 의해 좌우되는데 glutamic acid는 시료의 감칠맛을 내는 성분으로 알려졌다. 본 결과에 따라 트리플 균사체에서 트리플 자실체 보다 유의적으로 더 높은 glutamic acid 함량을 보여 풍미에 크게 영향을 줄 것으로 사료된다.

표 95. 구성아미노산 분석 결과

Total amino acids	(mg%)		
	<i>T. borchii</i> 균사체	<i>T. koreanum</i> 균사체	트리플 자실체
Aspartic acid	476.12± 64.07	322.89± 47.11	1477.47± 80.52
Glutamic acid	1131.88± 198.62	937.45± 177.21	2340.67± 19.44
Serine	464.56± 66.79	417.85± 60.27	725.42± 63.06
Histidine	357.05± 49.22	246.74± 19.45	747.37± 61.77
Glycine	434.93± 86.37	355.01± 49.45	748.38± 61.38
Threonine	494.78± 78.33	426.07± 64.22	785.28± 19.96
Arginine	966.73± 172.81	1016.57± 92.03	829.8± 72.92
Alanine	443.36± 75.58	384.12± 55.38	933.74± 37.3
Tyrosine	243.45± 30.42	214.33± 15.91	623.54± 32.02
Valine	394.17± 60.28	343.37± 12.04	828.07± 6.36
Methionine	116.07± 13.14	111.8± 3.41	400.46± 26.72
Phenylalanine	307.21± 39.69	254.46± 13.52	504.23± 17.49
Isoleucine	341.96± 50.21	291.29± 9.25	623.57± 15.56
Leucine	473.48± 80.56	377.63± 37.92	774.96± 56.22
Lysine	630.06± 77.17	451.21± 63.47	1656.86± 153.45
TAA¹⁾	7275.8± 1143.25	6150.79± 713.8	17770.5± 1040.03
EAA²⁾	3114.78± 448.6	2502.57± 216.45	6320.81± 304.09
EAA/TAA(%)³⁾	42.85± 0.57	40.76± 1.21	35.58± 0.37

¹⁾ TAA, total amino acid.

²⁾ EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+His+Lys+Phe).

³⁾ EAA/TAA(%), essential amino acid/total amino acid.

표 96. 유리아미노산 분석 결과

(mg%)

Total amino acids	<i>T. borchii</i> 균사체	<i>T. koreanum</i> 균사체	트러플 자실체
Aspartic acid	114.31± 57.17	72.68± 0.98	208.26± 5.79
Glutamic acid	425.31± 91.97	157.68± 13.83	42.78± 6.74
Serine	143.89± 21.31	98.36± 6.22	152.18± 0.37
Histidine	48.34± 17.98	38.39± 1.15	97.27± 0.65
Glycine	72.65± 20.58	80.56± 5.93	95.81± 0.89
Threonine	147.85± 9.63	77.14± 1.61	124.21± 1.85
Arginine	115.46± 54.32	63.69± 1.84	255.12± 0.96
Alanine	269.95± 83.38	242.69± 22.99	540.48± 4.23
Tyrosine	56.36± 52.14	49.69± 4.36	95.01± 0.97
Valine	117.19± 80.2	71.89± 0.18	270.79± 1.96
Methionine	78.57± 12.73	42.23± 2.01	116.51± 3.19
Phenylalanine	52.28± 48.21	48.42± 3.5	70.15± 1.16
Isoleucine	67.47± 43.69	59.54± 0.78	140.9± 1.34
Leucine	67.28± 44.04	46.9± 0.78	119.95± 0.62
Lysine	38.58± 16.94	48.81± 8.44	124.86± 6.27
TAA¹⁾	1815.48± 175.09	1198.68± 28.89	3000.54± 5.09
EAA²⁾	617.55± 228.7	433.32± 14.87	1064.64± 3.21
EAA/TAA(%)³⁾	33.56± 9.36	36.18± 2.11	35.48± 0.05

¹⁾ TAA, total amino acid.

²⁾ EAA, essential amino acid(Thr+Val+Met+Ile+Leu+His+Lys+Phe).

³⁾ EAA/TAA(%), essential amino acid/to(*Tuber borchii*, *Tuber koreanum*)tal amino acid.

4). 향기성분 분석 결과

향기성분 분석방법은 휘발성 물질을 함유하는 액체나 고체 시료를 용기에 넣은 뒤 시료 상층부에 휘발한 물질을 트랩에 포집한 뒤 열탈착해서 GC-MS에 주입하는 방법이 주종을 이루고 있으며, 여기에는 SPME(solid phase micro extraction), LPME(liquid phase micro extraction), purge and trap 방법 및 dynamic headspace purge and trap 등 다양한 방법들이 보고되어 있다. 이 중 headspace법은 가장 최근에 고안된 실험방법으로 시료에 열을 가하지 않고도 자연에 떠도는 향기를 분석하므로 재현성도 양호하고, 사람의 코가 느끼는 성분의 비율을 잘 재현할 수 있다고 알려져 있다. 트러플 품종별(*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사의 향기성분 결과는 표 96., 97., 그림 186., 187.과 같다. *T. koreanum* 균사에서 총 8개의 volatile compound가 검출되었다. 검출된 성분 중 propanal은 주로 산화된 샘플에서 발견되기 때문에 분유 등 제품의 산화를 모니터링하기 위한 성분으로 사용된다고 알려져 있으며 lidocaine은 국소마취제로 사용한다고 알려져 있다. 3.190분에 검출된 butanal, 2-methyl-은 초콜렛과 너티향에 주로 분포하며 1-pentanol은 살구, 바나나향의 독한냄새를 가진

것으로 알려져 있으며 보리 재배종에 널리 분포하고 있다. 5.852분에 검출된 hexanal은 갓 자른 풀 냄새와 비슷하며 과일향을 내는 데 첨가하여 사용된다. Benzaldehyde는 아몬드와 비슷한 방향으로 저렴하기 때문에 향료로 많이 사용되며 검출된 furan, 2-pentyl-은 콩비린내를 유발하는 향기성분으로 알려져 있다. 20.786분에 검출된 nonanal은 강한 과일 향을 가진다고 알려져 있다. *T. borchii* 균사에서는 총 9개의 volatile compound가 검출되었으며 *T. koreanum* 균사와 동일한 향기 성분인 lidocaine, butanal, 2-methyl-, 1-pentanol, hexanal이 공통으로 검출되었다. 이외에도 1.725분에 검출된 2-butanamine, 2-methyl-는 감자덩이 줄기의 진균 감염 판별에 관한 연구가 진행된 바 있으며 1.874분에 검출된 arsine은 순한 마늘향을 가진다고 알려져 있다. Butanal, 3-methyl-은 과일, 풀, 초콜릿에 분포하는 향으로 알려져 있으며, 반 휘발성 화합물인 nonadecane 또한 검출되었다. 트러플 특유의 아로마 오일향을 내는 물질은 2,4-dithiapentane로 알려져 있으며, 시중의 오일, 소스, 소금 등에 이 향기성분을 입혀 관련 가공제품을 생산하고 있는데 두 트러플(*T. borchii*, *T. koreanum*) 균사에서는 모두 검출되지 않았다.

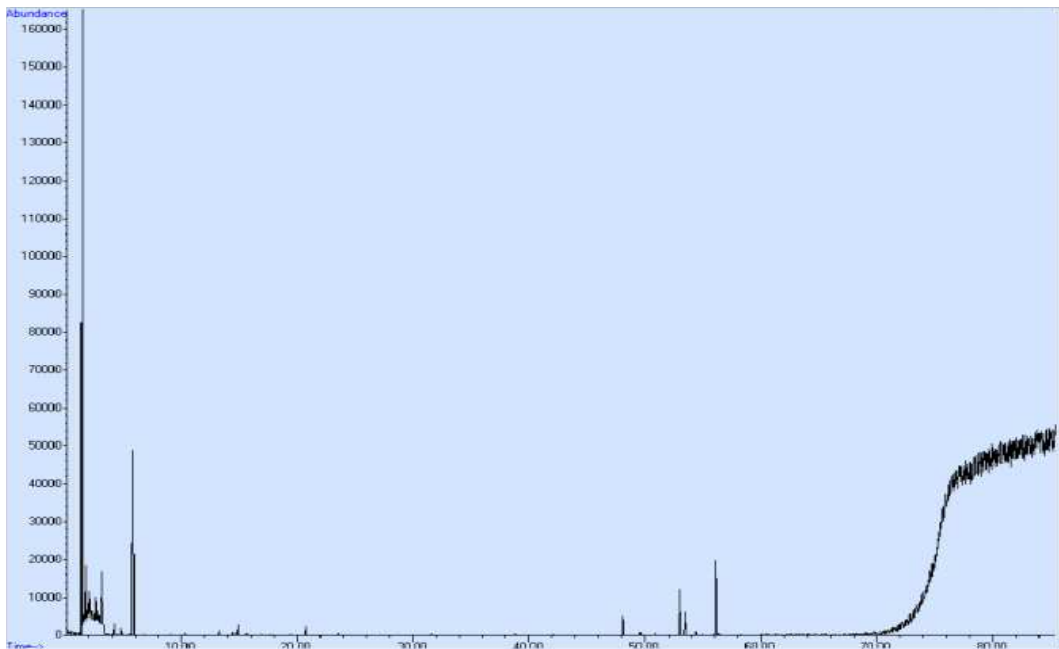


그림 186. Head-space를 활용하여 측정된 *T. koreanum* 균사의 향기성분 GC 패턴

표 96. *T. koreanum* 균사의 향기성분(Head-space법)

No.	R.T. Min	Compounds
1	1.723	Propanal
2	2.093	Lidocaine
3	3.190	Butanal, 2- methyl-
4	4.850	1- Pentanol
5	5.852	Hexanal
6	13.182	Benzaldehyde
7	14.950	Furan, 2- pentyl-
8	20.786	Nonanal

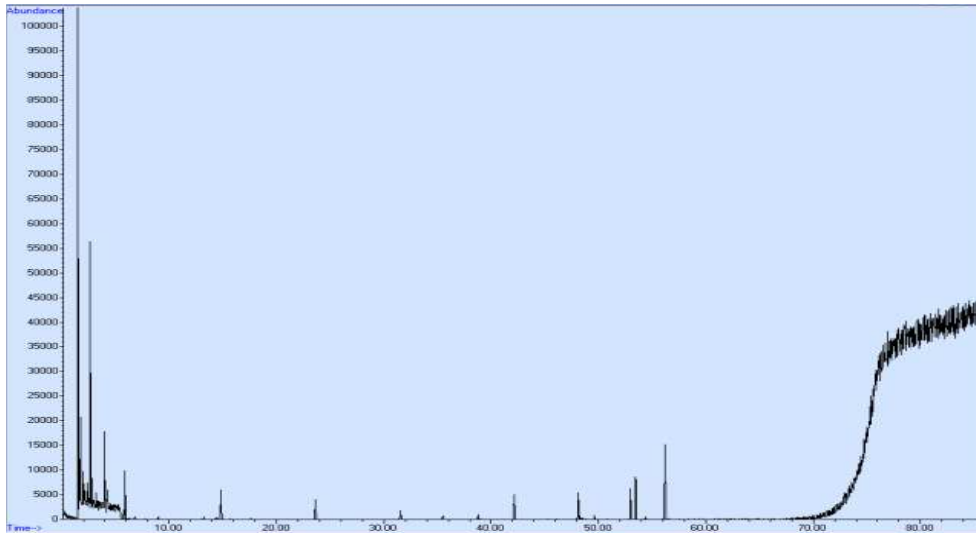


그림 187. Head-space를 활용하여 측정된 *T. borchii* 균사의 향기성분 GC 패턴.

표 97. *T. borchii* 균사의 향기성분(Head-space법)

No.	R.T. Min	Compounds
1	1.674	Butane, 2-methyl-
2	1.725	2-Butanamine, 2-methyl-
3	1.874	Arsine
4	2.091	Lidocaine
5	2.635	Butanal, 3-methyl-
6	2.749	Butanal, 2-methyl-
7	3.945	1-Pentanol
8	5.874	Hexanal
9	56.164	Nonadecane

[5차년도]

- 주관(전남산림자원연구소) : 트러플 인공재배를 위한 최적균주 및 자생 수종 선발

가. 연구개발 수행방법

1). 접종묘 생육 관리 및 현장 실증 재배

가). 접종묘 생육관리

(1) 22년도에 접종한 접종묘를 대상으로 하여 생육관리 실시

(가) 수 종 : 4수종(상수리, 개암, 종가시, 소나무)

(나) 균 주 : 4균주(*Tuber melanosporum*, *T. indicum*, *T. borchii*, *T. aestivum*)

(다) 수 량 : 총 208본(수종별 각 52본)

- (2) 접종묘 균근형성 유무를 확인 한 결과, 개암나무에서 균근형성이 다른 수종에 비해 우수한 것으로 조사 됨.



그림 188. 접종묘 생육 관리 모습

나). 현장 실증 재배 연구(위탁:송강버섯 주식회사)

- (1) 균근형성이 확인된 접종묘를 대상으로 하여 준비된 실증포에 이식한 후 접종묘 생육 및 균근 유지 확인 함.
- (2) 연구소에 내부에 있는 실증포에 130본, 위탁연구기관 실증포에 200본을 각각 이식함.
- (3) 이식 초기에는 접종묘 생육상태가 양호하였으며 균근도 잘 유지 되었으나, 접종묘 중 고사목이 발생하였으며, 균근이 사멸되고 다른 토양 미생물에 의한 균근이 형성되는 현상이 발생함.



그림 189. 실증재배 시험 모습

2). 접종묘 생산 기술 연구

가). 접종묘 생산기술 연구

- (1) 접종묘 생산을 위한 새로운 방법을 찾기 위해 균사체를 이용한 접종을 실시함.
- (2) 준비된 트러플(*Tuber melanosporum*) 접종원을 Mill을 이용하여 분쇄한 후, 알긴산나트륨 처리법을 이용하여 무균묘 뿌리 부분에 접종하고 화분에 식재함.

(3) 접종후 1개월 간격으로 균근형성 유무를 확인하였으나, 균근 미확인.

(4) 알긴산나트륨은 균사체를 뿌리에 잘 부착하게 하는 장점이 있으나, 뿌리의 생육을 억제하는 단점도 있어 접종묘의 생육이 매우 불량하였음.

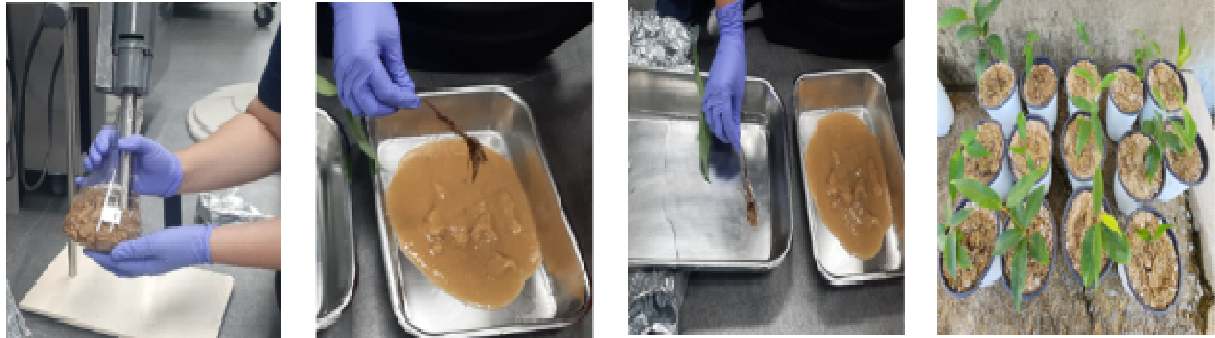


그림 190. 알긴산나트륨 접종법 모습

표 98. 신규 트러플 접종묘 보유 현황

수종	균주	수량(본)	비고	
상수리	<i>Tuber melanosporum</i>	11	알긴산나트륨 접종법 이용	
	소계	11		
개암나무	<i>T. melanosporum</i>	18		
	소계	18		
종가시나무	<i>T. melanosporum</i>	13		
	소계	13		
소나무	<i>T. melanosporum</i>	10		
	소계	10		
수종별 총 합계		52		

3). 국내 트러플 자생지 조사

가). 경북지역 자실체 발생지 현장 조사

- (1) 경북지역(문경, 경주) 자실체 발생지 현장 조사를 통해, 토양, 균근, 자실체 등 시료 확보.
- (2) 자실체 발생지에서는 넓은 면적에서 자실체가 발견되었으며, 대부분 자실체는 지표면에서부터 깊이 5cm내외에 분포하고 있었으며, 크기는 0.5~1cm내외로 크기가 작음.
- (3) 제주지역 수집된 자실체는 모두 *Tuber koreanum*임.



그림 191. 자실체 발생지 현장조사(1차)

나). 제주지역 자실체 발생지 현장 조사

- (1) 제주지역 자실체 발생지 및 발생예상지 현장 조사를 통해, 토양, 균근, 자실체 등 시료 확보함.
- (2) 자실체 발생지에서는 넓은 면적에서 자실체가 발견되었으며, 대부분 자실체는 지표면에서부터 깊이 5cm내외에 분포하고 있었으며, 일부지역에서는 지표면 위로 노출되어 있었으며, 크기는 0.5~5cm까지 다양하였음.
- (3) 제주지역 수집된 자실체는 모두 *Tuber himalayense*임.
- (4) 조사지는 인공적으로 조성된 곳으로 주기적인 관리가 되고 있었음.
- (5) 자실체가 발견된 장소의 토양시료를 채취한 후 한국임업진흥원에 토양분석을 의뢰하였으며, 토성은 모래 함유가 중간 정도인 양토, 토양산도는 6.5로 중성을 보였으며(표 99.), 이러한 수치는 22년도에 분석한 토양분석 결과와 거의 유사하였음.

표 99. 트러플 발생지내 토양분석표(제주도)

구분	입도분석				산도 pH	유기물 (%)	전질소 (%)	유효인산	CEC	치환성양이온			
	모래 (%)	미사 (%)	점토 (%)	토성						K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺	Mg ⁺
제주도 (서어나무)	48.5	30.7	19.8	양토	6.6	16.14	0.772	46.5	28.0	1.11	0.22	21.62	4.94

출장일	2023. 8. 1.
출장지	호주(퍼스 시)
출장인원	본소 2명 등 총 6명

목적	산림자원개발	산림자원연구	산림자원연구
주요내용	호주(퍼스 시)	호주(퍼스 시)	호주(퍼스 시)
비고			

「산림자원개발 및 산림연구 교류를 위한」
한국비섯학회 비섯생태조사 참석 결과 보고



한국비섯학회 비섯생태조사 참석 결과 보고

전국유 유전자원 수집 및 비섯연구 세미나를 통한 상호 과학기술 교류 및 협력을 위한 출장 결과를 보고드립니다.

1. 출장개요

○ 기간 / 장소 : 2023. 8. 28(월) ~ 30(수) / 제주도
 ○ 인 원 : 3명(정원사·김소중·배준원 연구원)

○ 제주도 비섯생태 현황 세미나 참석
 - 제주도 비섯 자원현황 및 향후 연구 계획 발표
 - 생태조사 결과 발표 우수자 시상 등 *시업상 수상(과장)



그림 192. 자실체 발생지 현장조사(2차)

4). 해외 트러플 인공재배 선진지 견학

- 가). 출장 일자 : 2023. 6. 3. ~ 6. 10., 7박 8일간
- 나). 출 장 지 : 호주(퍼스 시)
- 다). 출장인원 : 본소 2명 등 총 6명
- 라). 주요내용 : 호주 트러플 재배농가 및 가공회사 방문 및 기술 습득 등

<p>세계로 대도약! 우리도 전남 행복시대</p> <hr/> <p>「트러플 인공재배 기술선도를 위한」 호주 공무 국외출장 결과 보고</p> <hr/> <p></p>	<p style="text-align: center;">목 차</p> <p>① 추진배경 1</p> <p>② 출장개요 1</p> <p>③ 주요 연수 내용 3</p>
--	---

그림 193. 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 출장 보고서

「트러플 인공재배 기술선도를 위한」 트러플 연구 국외 출장 결과 보고서

국내 트러플 인공재배 원천기술개발 및 점종묘 대량생산 기술개발 R&D 연구수행을 위한 국외 출장 결과를 보고 드림.

I 추진배경

- 국내 고유 트러플 균주를 활용하여 자생수종 인공점종 기술 개발을 위한 선진기술 및 정보 습득 필요
- 트러플 국내시장 및 관심은 점차적으로 커지는 반면 대부분 수입에 의존하고 있어 트러플 재배기술 연구에 대한 수요 증대

〈 연구개발(R&D) 과제 개요 〉

- 기간/연구비 : '19.9.20~'24.2.19(53개월)/1,000백만원(국비 100% 농림축산식품부)
- 과제명 : 트러플(서양송로)인공재배를 위한 점종묘 생산 및 현장실증
- 내용 : 트러플 점종묘 생산 및 대량증식 기술 개발 연구 등

II 출장개요

1. 연수계획

- 목적 : 연구과제(R&D) 효율적 추진을 위한 정보 수집 및 선진기술 습득·교류 협력을 통한 글로벌 연구능력 배양
- 기간 : 2023. 6. 3.(토) ~ 10.(토) / 7박 8일
- 연수국가 : 호 주
- 인원 : 6명(연구소 2, 조선태 2, 한국교원대 1, 장흥바싯연 1)
- 연구소 참여자 : 오득실 연구소장, 김현석 주무관

- 1 -

III 주요 연수 내용

1. 방문지 별 주요 내용

가. 트러플 가공공장 방문(Great Southern Truffles)

- 주요 내용 : 트러플 가공공장 시설 견학 및 가공상품 확인
- ▷ 주소 : 4/139 Buxton St, Mount Hawthorn WA 6016, Tel 08-6500-4200
- ▷ 트러플이용 다양한 가공상품 판매 중
- 판매중 상품 : 5종(오일, 소금, 꿀, 버터, 마스타드)
- 주요재료 : 대량 생산용 100% 자생 수종, 대량 생산용 점종



○ 주요 방문지

- (트러플 가공 회사) Great Southern Truffle
- (트러플 점종묘 생산 및 재배지) Silverplace
- (트러플 재배 농장) Oak Valley Truffle, Nannup Truffle farm
- (트러플 현형 재형 및 6차 산업화 농장) Milgrove Truffle

2. 연수명단 및 역할

소속	대상	역할	비고
산림자원 연구소	소장 (오득실)	트러플 인공재배 연구 네트워크 구축 트러플 산업화 방안 모색(가공상품 개발, 유통 등)	RCDFP 총괄책임자
	임기재 다급 (김현석)	트러플 유전자원 수집 및 현지 조사 트러플 점종묘 생산 및 재배기술 확보	RCDFP 연구책임자

3. 세부 국외 출장 일정

일차	출발지	도착지	방문지명	업무수행내용	비고
6.3.(토)	인천	시드니	출국 (QF 088)	이 동(인천→시드니)	종타스 항공
6.4.(일)	시드니	퍼스	어둠 (QF 645)	이 동(시드니→퍼스) 트러플 재배 및 가공관계자 미팅	종타스 항공
6.5.(월)	퍼스	덴마크	Great Southern Truffles	트러플 가공상품 생산 공장 방문 이 동(퍼스→덴마크)	권용치장
6.6.(화)	덴마크	영지법	Silverplace	트러플 인공재배 농가 방문 이 동(덴마크→영지법)	권용치장
6.7.(수)	영지법		Oak Valley Truffle	트러플 인공재배 농가 방문 및 채종	권용치장
6.8.(목)	영지법	퍼스	Milgrove Truffles	트러플 인공재배 농가 방문 트러플 점종묘 생산 업체 방문	권용치장
6.9.(금)	퍼스	시드니	Nannup Truffle Farm	트러플 시장 동향 및 가공상품 조사 이 동(시드니→퍼스)	종타스 항공
6.10.(토)	시드니	인천	입국 (QF 087)	도착 및 해산	종타스 항공

- 2 -

○ 출장자 의견

- ① 타 제품에 비해 트러플 상품은 가격대가 높게 형성되어 있음.
- ② 제품에 이용되는 트러플은 대부분 품질이 낮았으며, 품질이 좋은 트러플은 식당이나 개인 등으로 판매됨.
- ③ 트러플의 대중화를 위해서는 다양한 종류의 제품이 개발되어야 할 것이며, 특히 시각적인 효과를 내기 위해서 트러플 오일 뿐만 아니라 트러플 페이스트, 트러플 분말 등이 첨가된 제품을 개발하는 것이 좋을 것으로 사료 됨.
- ④ 트러플은 높은 가격에 유통되고 있는 식재료로 음식의 주재료가 아닌 향을 내기 위한 첨가재료로만 사용되고 있으나, 추후 트러플 인공 재배를 통한 대량 생산이 가능해 진다면 주재료로 사용되게 되어 더 많은 제품이 개발 될 것으로 사료 됨.
- ⑤ 국내에서도 트러플을 이용한 다양한 제품(죽, 스낵, 햄버거 등)들이 개발되어 유통되고 있는 만큼, 국내기술을 이용하여 트러플 대량 재배가 성공한다면 새로운 소득작목이 될 것으로 사료 됨.

나. 호주내 식료품 판매장 및 대형마트 시장 조사

- 주요 내용
- ▷ 식료품 판매장 및 대형마트 트러플 가공제품 판매현황 및 음식 조사
- 호주에서 유통되고 트러플 가공제품은 대부분의 대형마트에서 판매되고 있었으며, 판매장에 따라 제조사가 다양함.
- 판매되고 있는 제품형태는 소세지, 치즈, 소스류, 맥주 등 냉장 유통을 필요로 하는 제품이 대부분이었음.
- 트러플 전문 식당은 따로 없었으며, 고급식당에서 계란스크림분, 피자에 트러플 자실제 슬라이스를 올린 메뉴가 있었음.

- 4 -

그림 193. 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 출장 보고서(계속)

○ 현장 사진



트러플 가공 제품

트러플 이용 음식

- 5 -

○ 출장자 의견

- ① 식료품 매장이나 대형마트에서 판매되고 있는 대부분은 냉장보관을 필요로 하는 제품으로 판매에 제약이 있음. 이를 극복하기 위하여 장아찌 등 보관유통이 편하고 유통기간이 긴 제품 개발이 필요할 것으로 보임.
- ② 어린이나 젊은 사람들이 쉽게 먹을 수 있는 초코렛이나 카라멜 종류의 간단한 간식 제품 개발 필요함.

다. 제배농가 방문(Silver Place)

○ 주요 내용

- 주소 : 56 Mcherry Lane, Scotsdale WA 6333 , +61 430 485 306
- 규모 : 1.0ha, 1,000본
- 재배 현황
 - ▶ 2020년에 집중요 직접 생산 후 2023년애 야외 식재
 - ▶ *Tuber brochii*(*Pinus* sp, *Ilex* sp, *Quercus* sp.) 500본
 - ▶ *Tuber melanosporum*(*Pinus* sp, *Ilex* sp, *Quercus* sp.) 500본
- 재배 기술
 - ▶ 토양조건 : pH(7.5~8)유지
 - ▶ 수 종 : *Pinus* sp, *Ilex* sp, *Quercus* sp.
 - ▶ 식 재 법 : 수종별로 식재 하였으며, 식재간격은 5m로 식재
 - ▶ 관 리 법 : 특별한 관리는 따로 하고 있지 않음.
 - 식재 후 야생동물(뽕거루) 피해 발생하여 보호막 설치함.
 - ▶ 관 수 법 : 관수호수 설치 후 기상상태에 따라 관수 실시
 - ▶ 식 재 : 집중 후 관근이 확인된 집중요만 재배지에 식재
 - ▶ 기 타 : 다양한 수종 및 트러플 종류 대상으로 하여 집중요 형성 및 생육관리 방법 연구 중.

- 6 -

○ 현장 사진



트러플 재배농장 모습

- 7 -

○ 출장자 의견

- ① 농장주는 호주 내 가공회사(Great Southern Truffles)와 함께 집중요 생산 및 재배기술 향상을 위한 연구를 공동 추진하고 있어 국내 연구진과 연구협력 및 기술교류가 필요할 것으로 사료 됨.
- ② 본 농장에서는 화이트트러플(*Tuber brochii*), 블랙트러플(*Tuber melanosporum*) 2종을 재배하고 있어, 품종에 따른 재배기술 및 재배특성 차이점을 파악할 수 있을 것으로 사료 됨.

라. 제배농가 방문(Oak Valley Truffle)

○ 주요 내용

- 홈페이지 : <https://oakvalleytruffles.com.au/>
- 주 소 : Seven Day Road, Cnr Appadene Rd, Manjimup WA 6258
Tel +61 (0) 476 056 567
- 규 모 : 10.0ha, 35,000본 재배 중
- 재배 현황
 - ▶ 2010년 최초로 집중요 구입 및 식재하여 13년간 재배 중
 - ▶ 연간 생산량 약 2.5ton
- 재배 기술
 - ▶ 토양조건 : pH(7.5~8)유지
 - ▶ 수 종 : 참나무류(관리 용이), 개암나무류(관리 어려움)
 - ▶ 식 재 법 : 혼효식재 하였으나, 참나무류가 주를 이루었으며 식재간격은 5m로 식재
 - ▶ 관 리 법 : 특별한 관리는 하고 있지 않음.
 - ▶ 관 수 법 : 관수호수 설치 후 기상상태에 따라 관수 실시
 - ▶ 수 목 : 혼린된 개를 이용하여 탐색 후 사람이 채취

- 8 -

그림 193. 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 출장 보고서(계속)

- 기타 내용

- ▶ 대부분의 개암나무는 참나무류에 피암되어 생육이 좋지 않았음.
- ▶ 작업별(트러플 탐색, 트러플 채취, 세척, 선별, 포장)로 조직화 되어 있었으며, 트러플 탐색은 주로 외부 전문가에게 의뢰함.

○ 현장 사진



트러플 재배농장 모습

○ 출장자 의견

- ① 농장주는 호주 트러플생산자협회 임원으로 트러플 접종요 생산에서부터 재배, 유통, 가공까지 관리하고 있어 앞으로 연구과제를 수행하는데 많은 기술 교류 및 협력이 필요할 것으로 사료 됨.
- ② 또한 관리자는 트러플 재배 뿐만 아니라 트러플 탐색견 훈련 기술을 가지고 있어 추후 탐색견 확보를 위해 훈련 기술 공유를 위해 지속적인 교류가 있어야 할 것으로 사료 됨.

마. 재배농가 방문(Millgrove Truffles)

○ 주요 내용

- 주소 : 411 Springall Rd, Manjimup WA 6258 , +64 428 771 198
- 홈페이지 : <https://millgrovetruffles.com.au/>
- 규모 : 10ha, 350그루 재배 중
- 재배 현황
 - ▶ 2007년 최초로 접종요 식재하여 16년간 재배 중
 - ▶ 재배종은 *Tuber melanosporum*(블랙트러플)임.
 - ▶ 2015년 최초로 트러플 수확(35kg)하였으며, 100kg(16), 200kg(20), 500kg(22)으로 지속적으로 생산량이 증가하고 있음.
- 재배 기술
 - ▶ 토양조건 : pH(7.5-8)유지 ⇨ 추가적인 석회 살포는 하지 않음.
 - ▶ 수 관 : 해이클릿류
 - ▶ 식 재 법 : 식재간격은 사방 5m 유지
 - ▶ 관 리 법 : 충분한 햇빛이 토양에 도달하도록 주기적으로 전정 및 낙엽·잡초 제거
 - ▶ 관 수 법 : 바닥에 관수시설을 설치하여 건조기에만 살포
 - ▶ 수 확 : 훈련된 개를 이용하여 탐색 후 사람이 채취

- ▶ 수확 후 관리 : 수확된 트러플은 세척 후 비닐을 이용하여 건조하고 및 냉장보관
- ▶ 기 타 : 트러플 탐색 후 미숙성인 경우 모래로 덮어 주어 완전히 숙성된 후 채취.

- 기타 내용

- ▶ 가격/유통 : 2~2.5\$/g / 유통업체 납품, 개인 판매
- ▶ 판매상품 : 소금, 빵, 치즈 등
- ▶ 관광상품 : '트러플 헌터' 프로그램 운영
 - ※ 트러플 탐색시기(6-8월)에 맞춰, 트러플 요리 등 체험, 체험료 150\$/인

○ 현장 사진



트러플 재배농장 모습



트러플 이용 음식 만들기 및 시식행사 체험

가. 출장자 의견

그림 193. 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 출장 보고서(계속)


<p>③ 본 농장은 2007년도에 최초로 트러플 접종묘를 식재 한 후 접종묘의 관리 및 재배만 하고 있으며, 추가적으로 접종묘 식재를 하지 않고 있으나, 이러한 재배법은 추후 소비가 늘어났을 때 대응하기가 어려우므로 국내에서 트러플 재배시에는 주기적으로 새로운 접종묘를 식재하여 매년 일정량의 트러플이 생산될 수 있도록 재배하여야 할 것으로 사료 됨.</p> <p>④ 트러플 채취를 위해서는 트러플 특성상 동물(개, 돼지)를 이용하여야 하기 때문에 트러플 탐색견 확보가 절대적으로 필요하며, 국내에서는 토종견인 진돗개를 이용하면 좋은 결과가 있을 것으로 사료 됨.</p> <p>바. 재배농가 방문(Nannup Truffle Farm)</p> <p>○ 주요 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 홈페이지 : https://www.nannuptruffles.com.au/ - 규모 : 100ha. 호주 내 최대규모 농장 - 재배 현황 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 2018년 최초로 접종묘 식재, 6년째 재배 중 ▶ 수확량 : 1kg('20) → 5kg('21) → 10kg('22) → 100kg 예상('23) - 재배 기술 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 도양조건 : pH(7.5~8)유지 ▶ 수종 / 식재법 : 헤이즐넛류 / 식재간격은 4~5m로 식재 ▶ 관 리 법 : 잡초로부터 보호하기 위하여 초기에 제초매트 설치 및 친환경 제초제 살포. ▶ 수 확 : 훈련된 개를 이용하여 탐색 후 사람이 채취 - 기타 내용 <ul style="list-style-type: none"> ▶ 개인이 직접 재배하지 않고 접종묘를 일정한 금액을 납부하여 부지하면 농장관리자가 대신 재배해 주고 수익금 일부를 부지자에게 돌려주는 형태로 운영되고 있음. <p style="text-align: center;">- 13 -</p>	<p>○ 현장 사진</p>  <p style="text-align: center;">트러플 재배농장 모습</p> <p>○ 출장자 의견</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 농장주는 호주 트러플생산자협회 임원으로 트러플 접종묘 생산에서부터 재배, 유통, 가공까지 관리하고 있어 앞으로 연구과제를 수행하는데 많은 기술 교류 및 협력이 필요할 것으로 사료 됨. ② 추후 한국에서도 대규모 투자유치를 통해 유사한 형태의 트러플 재배농장을 운영할 수 있을 것으로 보이며, 이를 위해서 트러플 인공재배 기술이 하루빨리 확보가 확보되어야 함. <p style="text-align: center;">- 14 -</p>
--	--

그림 193. 해외 트러플 인공재배 선진지 견학 출장 보고서(계속)

• 제1공동(한국교원대학교) : 국내 트러플 자생지 환경조건 규명 및 인공재배 접종묘 대량 생산 기술 최적화

가. 연구개발 수행방법

1). 트러플 유전적 다양성

가). *Tuber himalayense*의 유전적 다양성 분석

(1) 연구 방법

2020년에 충청북도 단양군의 떡갈나무 근권에서 수집된 2개의 자실체와 2022년에 충청북도 충주시의 잣나무와 소나무 근권에서 각각 3개씩 수집된 6개의 자실체, 제주특별자치도의 개서어나무 근권에서 수집된 4개의 자실체를 분석에 사용함. Nakamura et al. (2020)의 연구에서 개발된 SSR 프라이머를 이용하여 유전 분석을 수행하였으며 집단별 유전적 다양성을 GenAlEx와 PowerMarker를 이용하여 계산함.

(2) 연구 결과

*Tuber himalayense*의 유전적 다양성을 추정된 결과는 주요 대립유전자(Major Allele Frequency)는 0.5000~1.000이며 평균은 0.7111, 유전형의 수(Genotype Number)는 1.0000~3.0000이며 평균은 2.0667, 대립유전자의 수(Gene Number)는 1.0000~3.0000이며 평균은 2.0667, 유전 다양성(Gene Diversity)는 0.0000~0.6111이며 평균 0.3741, 다형성 정보(Polymorphism Information Contents)는 0.0000~0.5355이며 평균은 0.3120, 분자 분산분석(AMOVA) 결과 *Tuber himalayense* 전체 유전변이의 83%는 집단 간 차이(Among Populations)에 기인하며 17%는 개체 간 차이(Among Individuals)에 기인하는 것으로 확인됨. 자실체의 유전적 유사도를 파악하기 위한 PCoA

분석에서는 유사도가 지리적 분포와 대체로 일치하였으나 제주와 충주 잣나무 근권의 자실체에서는 유전형의 차이가 존재하여 두 개의 집단으로 형성되는 것이 관찰됨. 따라서 SSR 분석을 통한 국내 *Tuber himalayense*의 유전적 다양성을 분석한 결과, 동일한 *Tuber himalayense*이지만 수집된 지역에 따라 유전적으로 차이가 존재하는 것이 관찰되었으며 유전적 다양성은 0.3으로 확인됨.

표 100. *T. himalayense*의 유전적 분석에 사용한 프라이머 목록

Name of locus	Primer set	Primer (5'-3')	Dye	Repeat motif	Test samples			
					Fragment size	No. of alleles	1-D	Evenness
TH6	3	F: GCTGTTTCGTGTCACGCTG	6-FAM	(CCT)11	255-261	3	0.62	0.91
		R: TCCTCTTCAGTGCGTTGGTC						
TH10	1	F: CAGGCAAGCCGTGATCAATG	PET	(CT)11	192-202	5	0.76	0.89
		R: AAGGGAGCGGAAACTGGAAG						
TH12	1	F: CCGTCTCTCCACAGTTCC	VIC	(CT)8	431-434	2	0.26	0.66
		R: CCGGCACTTGAATTGAACG						
TH13	3	F: TTTGTGCAGTTTCGGGATG	NED	(TAT)8	424-433	2	0.23	0.62
		R: ATCTTTGGCGACCTCGAGTG						
TH22	2	F: GTACCGCGGACCGATATCTG	NED	(GA)8	353-361	8	0.79	0.76
		R: TCGTAACTGACCACCAACCG						
TH27	3	F: CTCGCATGCAAGAACGGATG	VIC	(TTG)8	350-365	6	0.78	0.86
		R: ACGACACGTGCCCTATCTTC						
TH30	2	F: GTGATGGGATGACGGACAGG	VIC	(CTG)9	258-291	6	0.64	0.61
		R: TTTGCCCGCATCTTCTTTC						
TH31	3	F: AAAGTTGCGTTTCGGTGTCG	NED	(TG)8	227-237	3	0.34	0.58
		R: ACGATGCGTCTCCCATCAAG						
TH34	2	F: TGCCATAACTGCGACTACG	6-FAM	(AG)9	418-430	4	0.64	0.81
		R: AGCACTAGTCCATGGAACGC						
TH38	3	F: GGACACACGCACTCACATTG	PET	(TC)11	288-313	5	0.66	0.75
		R: GCACCCGTACCCTAGCTTAC						
TH41	1	F: GCGCAAGAAGAATGGAACCG	PET	(TC)14	368-380	5	0.69	0.78
		R: CCACCACAAAGCACACTTG						
TH47	2	F: TGGTCTCCACAGTAGCAAC	PET	(AG)14	241-276	6	0.63	0.62
		R: CGCTCGGCAACCATACAAAG						
TH51	1	F: GTCAGCCCTGGAAGGATCTG	VIC	(GA)8	215-231	5	0.48	0.55
		R: GCGGCTCTTCACTTGGAAAG						
TH52	1	F: TTCGGACGCAGCGATACTTC	6-FAM	(CTT)10	289-315	8	0.86	0.95
		R: GAATAAACGCGCGGCTTACC						
TH54	2	F: GGGACGATATGCGAGAAGGC	NED	(TGA)8	191-197	3	0.59	0.87
		R: TTCTTCTCCCTCCAGTCC						

(Nakamura, Noritaka, et al. "Genotypic diversity of the Asiatic black truffle, *Tuber himalayense*, collected in spontaneous and highly productive truffle grounds." *Mycological Progress*19 (2020): 1511-1523.)

표 101. *T. himalayense*의 유전적 특성

	M.A.F	Genotype No.	Allele No.	Gene Diversity	PIC
TH10	0.5833	3.0000	3.0000	0.5694	0.5045
TH12	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
TH41	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
TH51	0.6667	2.0000	2.0000	0.4444	0.3457
TH52	0.6667	2.0000	2.0000	0.4444	0.3457
TH22	0.5000	3.0000	3.0000	0.6111	0.5355
TH30	0.6667	2.0000	2.0000	0.4444	0.3457
TH34	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
TH47	0.7500	2.0000	2.0000	0.3750	0.3047
TH54	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000	0.0000
TH6	0.5000	3.0000	3.0000	0.6111	0.5355
TH13	0.5000	3.0000	3.0000	0.6111	0.5355
TH27	0.6667	2.0000	2.0000	0.4444	0.3457
TH31	0.6667	2.0000	2.0000	0.4444	0.3457
TH38	0.5000	3.0000	3.0000	0.6111	0.5355
Mean	0.7111	2.0667	2.0667	0.3741	0.3120

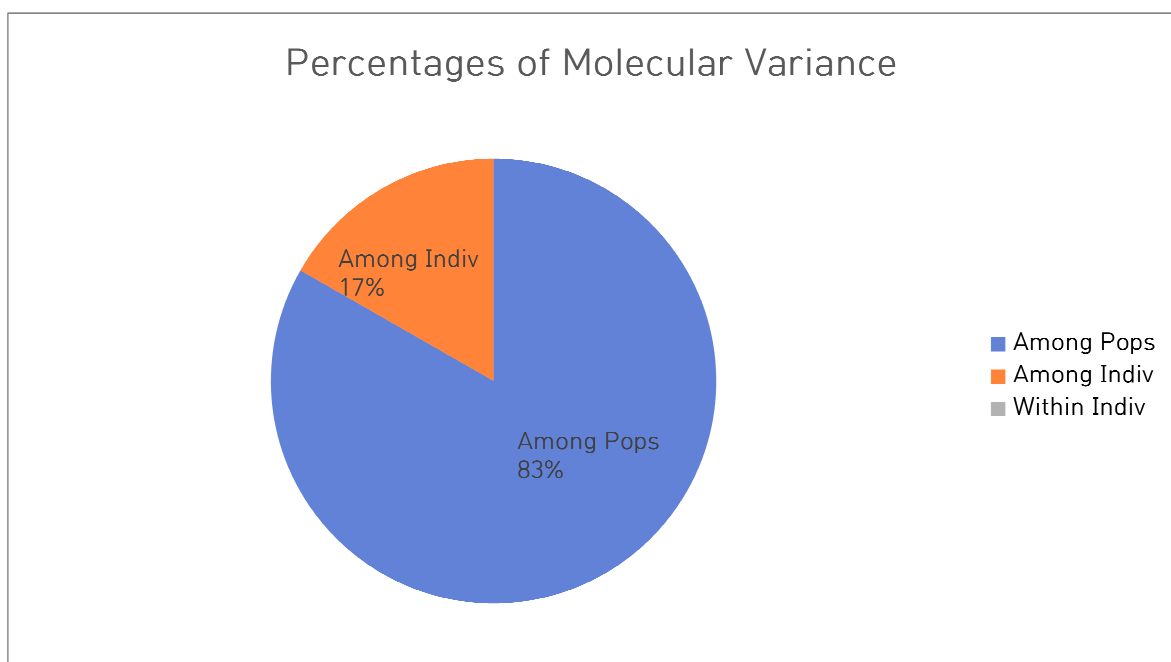


그림 194. *T. himalayense*의 AMOVA 분석 결과

(Among Pops: Among Population, Within Indiv: Within individual)

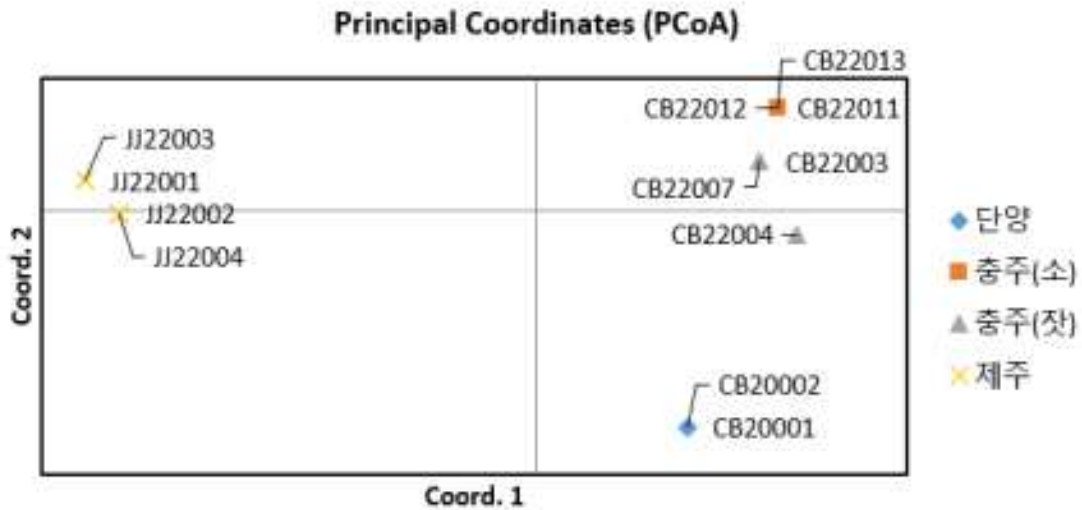


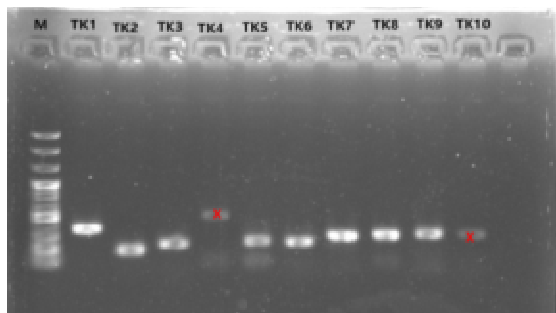
그림 195. The Principal Coordinates Analysis of *T. himalayense*.

나). *Tuber koreanum* 마커 개발

(1) 연구 방법

*Tuber koreanum*은 한국 신종이며 유전적 분석을 위해 마커 개발을 함. 전장 유전체 분석을 위해 *T. koreanum* 자실체로부터 순수 분리된 균사체를 사용하여 DNA를 추출한 후 전장 유전체 분석과 SSR 영역 추출을 Macrogen(Seoul, Korea)에 의뢰함. 설계된 SSR 프라이머 중에서 염기서열의 배열이 불연속적이며 G 염기가 4개 이상 연속된 영역을 포함하고 서열 반복 횟수가 5회 이상인 SSR 프라이머를 선정하여 20개의 후보 마커를 선정함. 선정된 후보 마커는 PCR을 진행하여 재현성이 높고 마커가 뚜렷한 9개의 SSR 마커를 최종적으로 선정함.

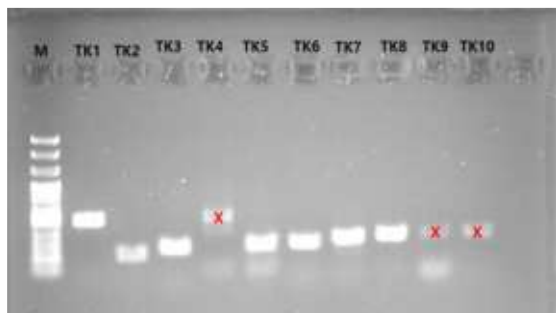
(2) 연구 결과



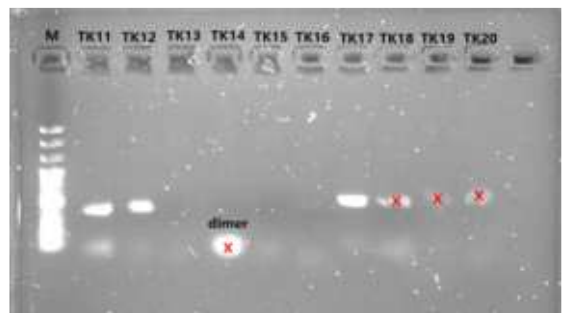
TK1~TK10 재현성 1차 실험



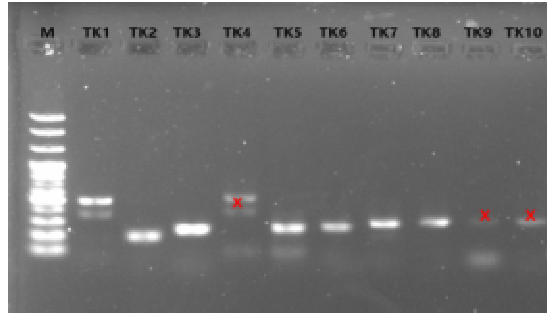
TK11~TK20 재현성 1차 실험



TK1~TK10 재현성 2차 실험



TK11~TK20 재현성 2차 실험



TK1~TK10 재현성 3차 실험
그림 196. 재현성 실험 결과

표 102. *Tuber koreanum* SSR 마커 목록

No.	Locus	Primer (5'-3')	Repeat motif	Fragment size(bp)
1	TK1	F:CGTAACTGTGCGCCCTAGTA R:CATCATGCCCAACTAACCGC	(TCA)6	347
2	TK2	F:ACTCGAGAAGCCTTCCTCCT R:GTCCACCAAGAACCTGAGGG	(ATT)5	190
3	TK3	F:TTGCCCCGCATCTACCTTTT R:ACGGTTGGATTGAGGAACCC	(GTG)6	231
4	TK5	F:ACCACCACCACCAACAACT R:GGAGACGCGTGTAGATGAGG	(CCT)6	249
5	TK6	F:TCGCACCTTCACCTGAACTC R:CGCTTGTTATGCTCCTGTGC	(AGG)12	258
6	TK7	F:AGCATTTGATGACCCTGCCA R:AGGGCCAAGAAAAGGAGGTG	(CAG)5	289
7	TK8	F:CCTTCGCAACCAGCAAACAA R:TGGGAGAGAGTGAGCGGTTA	(CTG)6	299
8	TK11	F:CTCGCTGCCGGACATATTCT R:CCCCATTCCATCCTATGCC	(GAGGGA)5	319
9	TK17	F:AACTCAGCTCAACTCAGCCC R:TCCCATTGCTTCCTTGCTT	(GAG)5	406

다). *Tuber koreanum*의 유전적 다양성 분석

(1) 연구 방법

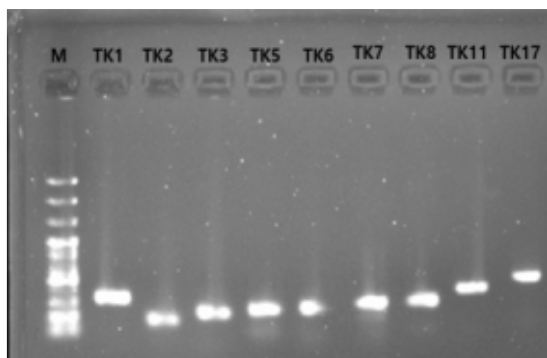
2020년에 경상북도 경주시와 울진군의 갈참나무 근권에서 수집된 3개의 자실체와 2021년 경상북도 문경시의 갈참나무 근권에서 수집된 3개의 자실체, 2023년에 경상북도 문경시와 경주시의 이전과 동일한 근권에서 수집한 3개의 자실체를 연구에 사용함. 선정된 9개의 SSR 프라이머를 이용하여 유전 분석을 수행하였으며 집단별 유전다양성을 GenAlEx와 PowerMarker를 이용하여 계산함.

나). 연구 결과

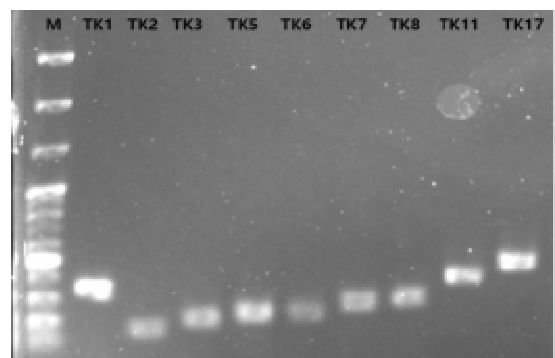
*Tuber koreanum*의 유전적 다양성을 추정한 결과 주요대립유전자(Major Allele Frequency)는 평균은 0.3333, 유전형의 수(Genotype Number)는 5.0000~6.0000이며 평균은 5.8889, 대립유전자의 수(Gene Number)는 5.0000~6.0000이며 평균은 5.8889, 유전다양성(Gene Diversity)는 0.7407~0.7901이며 평균 0.7846, 다형성 정보(Polymorphism Information Contents)는 0.6987~0.7615이며 평균은 0.7545임. 분자분산분석(AMOVA) 결과 *T. koreanum* 전체 유전변이의 80%는 개체 내 차이(Within Individuals)에 기인하며 20%는 집단 간 차이(Among Populations)에 기인하는 것으로 확인됨. 자실체의 유전적 유사도를 파악하기 위한 PCoA 분석에서는 유사도가 지리적 분포와 대체로 일치하였으나 문경의 자실체에서는 유전형의 차이가 존재하여 두 개의 집단으로 형성되는 것이 관찰됨. 따라서 SSR 분석을 통한 국내 *Tuber koreanum*의 유전적 다양성을 분석한 결과 동일한 *T. koreanum* 이지만 수집된 지역에 따라 유전적으로 차이가 존재하는 것이 관찰되었으며 유전적 다양성은 0.7로 확인됨.

표 103. *Tuber koreanum*의 유전적 특성

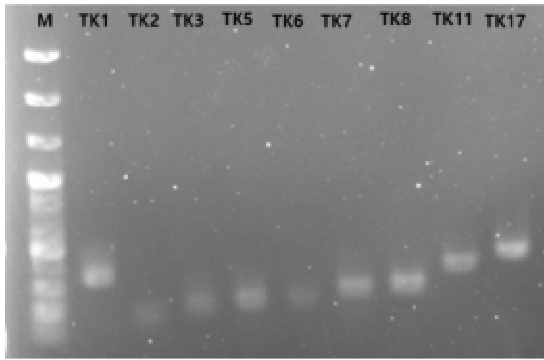
	M.A.F	Genotype No.	Allele No.	Gene Diversity	PIC
TK1	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK2	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK3	0.3333	5.0000	5.0000	0.7407	0.6987
TK5	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK6	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK7	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK8	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK11	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
TK17	0.3333	6.0000	6.0000	0.7901	0.7615
Mean	0.3333	5.8889	5.8889	0.7846	0.7545



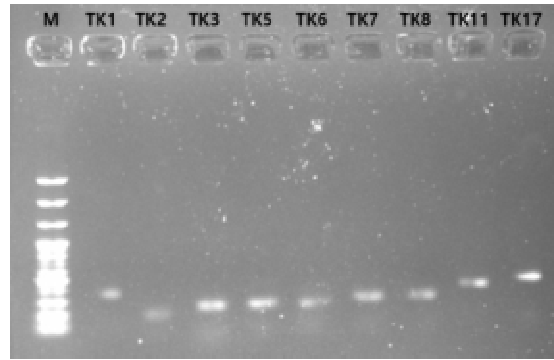
울진(GB20048) 분석 결과



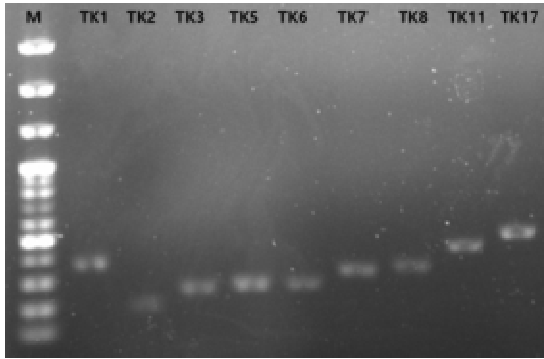
울진(GB20049) 분석 결과



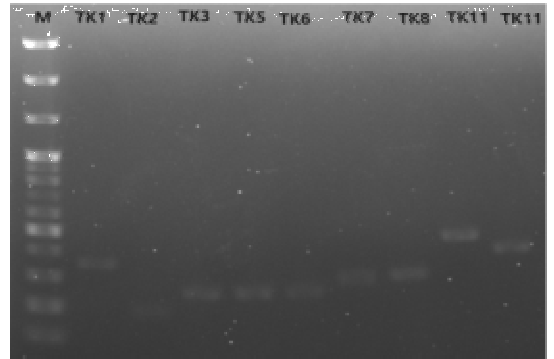
울진(GB20050) 분석 결과



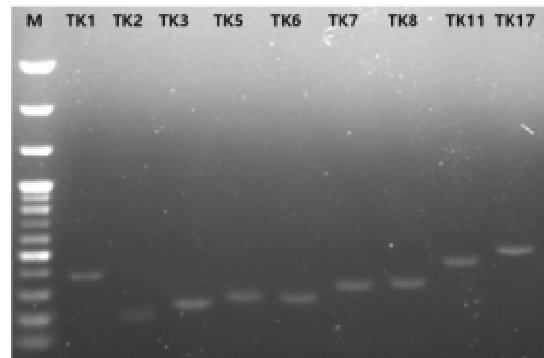
경주(GB20042) 분석 결과



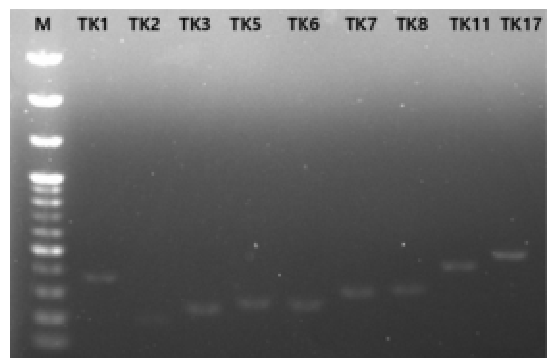
경주(GB21031) 분석 결과



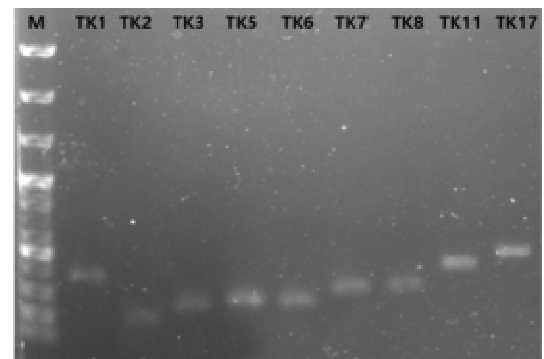
경주(GB23025) 분석 결과



문경(GB21007) 분석 결과



문경(GB23001) 분석 결과



문경(GB23002) 분석 결과

그림 197. 재현성 실험 결과

Percentages of Molecular Variance

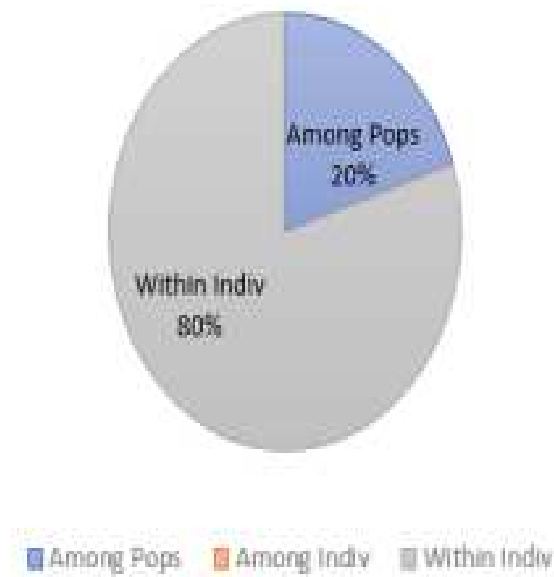


그림 198. *Tuber koreanum* AMOVA 분석 결과

(Among Pops: Among Population, Within Indiv: Within individual)

Principal Coordinates (PCoA)

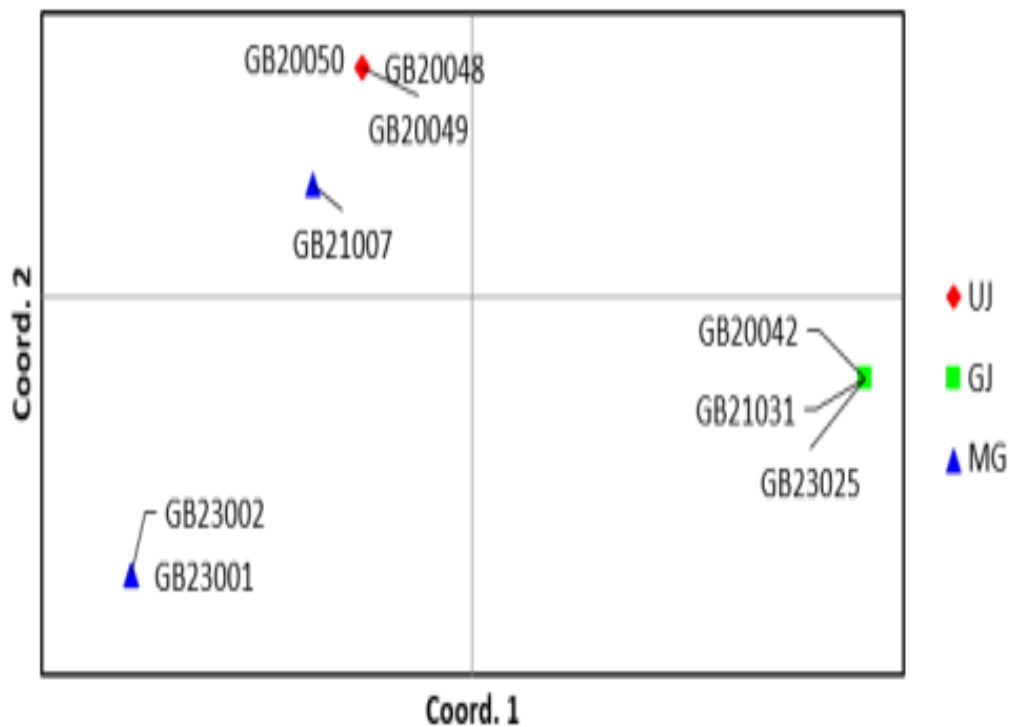


그림 199. The Principal Coordinates Analysis of *Tuber koreanum*

(UJ: UJin, GJ: Gyeongju, MG: Mungyeong)

• 제2공동(한국농수산대학교) : 국외 트러플 우량균주 확보 및 접종묘 현장실증 재배시험

가. 연구개발 수행방법

1). 국내 자생지 기상환경 조사

프랑스 truffle 생산지의 기상 조건은 여름이 덥고 강우량이 풍부할 때 생장에 유리하며, 자실체 형성은 겨울철에 낮은 온도에 의해 촉발된다고 알려져 있다. 국내 자생지인 충청북도 북부에 위치한 충주시는 내륙 중앙부에 위치하여 연교차가 큰 대륙성 기후를 보인다. 충주시는 계명산(775m), 남산(56m) 등 사방이 300~800m 내외의 크고 작은 산으로 둘러싸여 분지를 이루고 있으며, 동쪽으로는 충주호가 있고, 남쪽으로는 달천강이 흘러 남한강까지 이어진다. 연평균기온은 11.7℃이며, 8월의 평균기온은 25.2℃, 1월의 평균기온은 -3.2℃로, 연교차는 28.4℃이다. 연강수량은 1214.3mm으로 연강수량의 58%를 차지하는 여름철(6~8월) 강수량은 701.0mm이고, 겨울철(12~2월) 강수량은 73.3mm이다. 상대습도는 67.3%이다(표 103.).

표 103. 충주지역과 프랑스 생산지역의 기후 비교

	충주지역	Burgundy 생산지역	Appalachian 생산지역
연간강수량(mm)	1,214.3	400~ 1,500	600~ 1,500
1일 강수량(mm)	73.3	40~ 80	50~ 80
1일 최대 강수량(mm)	172	100~ 300	100~ 250
1월 평균 온도(℃)	- 7.7~ 3.3	- 20~ 10	- 20~ 0
7월 평균 온도(℃)	21.7~ 30.4	20~ 26	20~ 30
일조량(hour)	2,000~ 2,400	1,500~ 3,000	1,700~ 3,000

프랑스와 비교해서 충주지역의 기후 조건(2014년~2023년 평균)은 일조량을 조금 부족한 것을 제외하고 아주 유사한 경향을 보이는 것을 알 수 있었다. 자생지의 위치는 충주호의 옆이고, 계명산 부근의 산중턱, 해발 150m에 위치하고 있어, 더 세밀한 환경 조사를 위해 온습도 sensor를 나무 지상부와 자실체 발생지 지하에 설치하여 기상환경을 측정하였다.

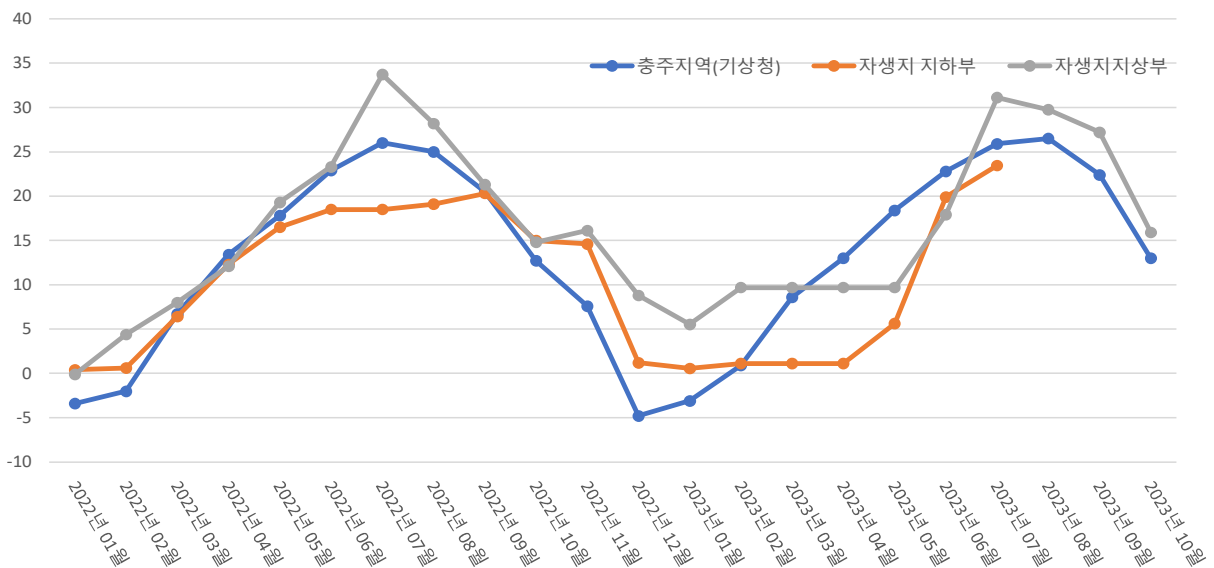


그림 200. 충주지역과 자생지의 연간 기온 변화.

충주 평균 최고기온이 30℃정도 인 것과 다르게 측정지역의 지상부의 7월 평균온도는 33.7℃로 차이가 있었다. 7월 평균 기온이 높은 것은 조사한 2022~2023년의 이상기온 때문으로 추정된다. 그리고 일조량도 평균치보다 높을 것으로 추측되었으며, 측정지역의 지상부와 지하부의 온도 차이는 7, 8월을 제외하고는 3℃이내 였다. 7월 지상부의 평균온도가 33.7℃였지만, 지하부는 18.5℃를 유지했으며, 12월~1월에는 평균적으로 -3~0℃를 유지하였다.

강수량이 집중된 6~8월에는 지상부의 상대습도가 90% 이상이었고 그 외 평균적으로는 60~70%정도를 유지하였다. 트러플이 발생하는 지하부의 상대습도는 연중 100%를 기록하였으며, 최고 지온은 20℃를 넘지않고, 최저지온도 0℃ 이하를 기록하지 않았다. 이는 충주가 외국과 비교해서 기상 조건은 트러플 재배에서 큰 차이가 없는 지역으로 국내 인공재배지로도 적당한 지역으로 판단된다. 일조량을 위해 경사도 (<15%)가 있는 곳을 선택하는 것도 유리하다.

기후 등을 환경 조건과 자생지에서 자실체가 형성 발견되는 시기로 국내 자생 트러플의 성장 주기를 추측해 보면, 1~2월에 트러플이 완전 성숙되어 3월부터는 트러플의 포자가 발아하여 기주식물체 뿌리에 감염이 일어난다. 균근 형성을 시작하는 4월부터는 토양 중의 외연 균사를 발달시키고, 성장 증식되면서 5월~6월부터는 트러플 원기가 형성되고 자실체로 성장하기 시작한다. 8~9월부터는 트러플 자실체가 비대성장하여 간혹 자실체가 발견되기 시작하고, 10월부터 이듬해 1월~2월까지 트러플 자실체가 계속 성숙하는 것으로 보인다. 송이의 경우 20℃ 이상에서는 균사 생장이 일어나고 19℃ 이하의 지온에서 자실체 발생이 유도되는 것으로 보고되어 있으나, 트러플의 경우 지하부가 20℃를 넘는 경우가 거의 없어 자실체 발생 유도기에 특별히 저온 충격은 필요 없는 것으로 보인다.

또한, 트러플 발생지는 토양이 노출되어 있는 경우는 거의 없었고, 이끼류가 덮여있어 토양 수분 유지와 온도 유지가 용이 하였던 것으로 추정된다.

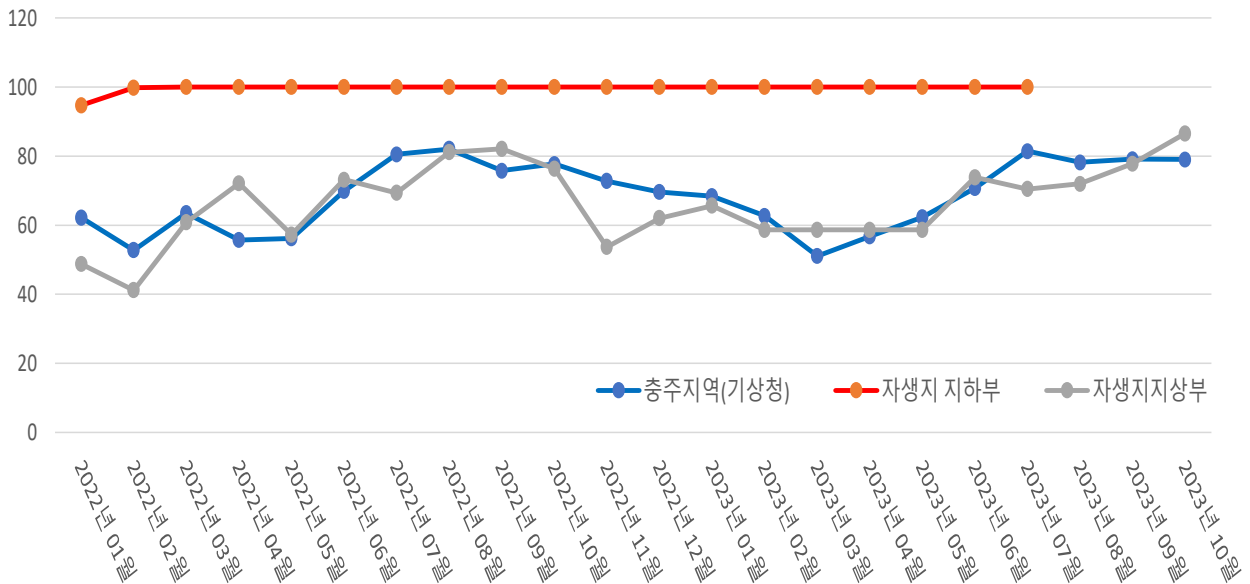


그림 201. 충주지역과 자생지의 연간 습도 변화.

2). 보유균주 배양특성 조사

보유균주를 대상으로하여 한천배지 5종에서의 온도별 균사 생장을 조사하였다. 이 실험에는 2차년도 실시한 균사 성장 결과에서 우수했던 Hamada agar와 분양기관에서 추천하는 배지, 균사 성장에 pH가 미치는 영향도 보기 위해 배지 최종 pH가 7.3±0.2인 Czapek Dox agar도 추가하였다. 온도는 15, 20, 25, 30℃ 4단계로 나눠 30일간 조사하였다.

실험에 사용한 균주 5균주(표 104.) 모두는 30℃에서는 성장하지 못하였다. 배지별(표 105.)로 성장 특성을 살펴보면, MEA 배지에서 CBS135990균주는 전혀 성장하지 않았다. 그 외의 균주들도 다른 배지에 비하여 생장이 아주 저조하여, 그나마 20℃에서 늦은 성장을 보였다. MEA 배지는 CBS에서 CBS272.72 균주의 배양을 위해 추천한 배지였지만, 15℃(8mm), 20℃(13.3mm)에서만 성장을 보였다. Hamada 배지에서는 20℃, 25℃에서 생장이 빨랐으며, MYA1019 균주가 20℃에서 43mm로 빨랐다. SABG 배지에서는 30℃를 제외한 온도에서 모두 성장하였고, MYA1019 균주가 20℃에서 67.3mm로 가장 빨랐으며, CBS135990 균주는 15℃(35mm), 20℃(47.7mm)이 반면 25℃(10.3mm)에서 생장이 늦어졌다. 미국 ATCC에서 추천한 배지인 MMN 에서는 모든 균주가 20℃ 가장 고루게 성장하였다. Czapek Dox agar에서의 균사 생장이 모든 공시균주 및 온도 실험에서 가장 안정적인 성장을 보였다. 이 성장 실험으로 공시균주의 최적온도는 20℃이고, pH는 7.0 이상이고, 배지 성분 중 칼륨, 암모니아, 마그네슘, 철 등 무기질이 함유된 배지가 균사 성장에 도움이 되는 것으로 판단되었다.

자생지 지온이 1년 평균 20℃를 넘지 않는 조건에서 트러플 자실체가 발견되었고, 온도가 균사 성장에 미치는 영향을 조사한 결과를 종합하여 검토하면 균사 생장은 20℃ 이하가 최적으로 판단된다.

표 104. 공시균주 목록

균주번호	origin No.	균주명	비고
T1	CBS135990	<i>T.borchii</i>	네덜란드 CBS
T2	CBS272.72	<i>T.albidum</i>	네덜란드 CBS
T4	MYA1019	<i>T.borchii</i>	미국 ATCC
T5		<i>T.borchii</i>	전남산림자원연구소
T6		<i>T.puberalum</i>	전남산림자원연구소

표 105. 분양균주 균사배양용 한천배지 조성

(단위: g/L)

	Czapek Dox (Millipore 70185)	Hamada	ATCC MMN	MEA (Oxoid CM59)	SABG
Malt extract		-	3		
Yeast extract		5			
Peptone		-			10
Glucose		20	10		20
KH ₂ PO ₄		1	0.5		1
MgSO ₄ ·7H ₂ O		0.5	0.15		1
(NH ₄) ₂ C ₄ H ₄ O ₆			0.25		
CaCl ₂			0.05		
NaCl			0.025		
FeCl ₃ (1% sol.)			1.2ml		
Thiamine HCl			100µg		
Agar	50	20	1.5%	50	20

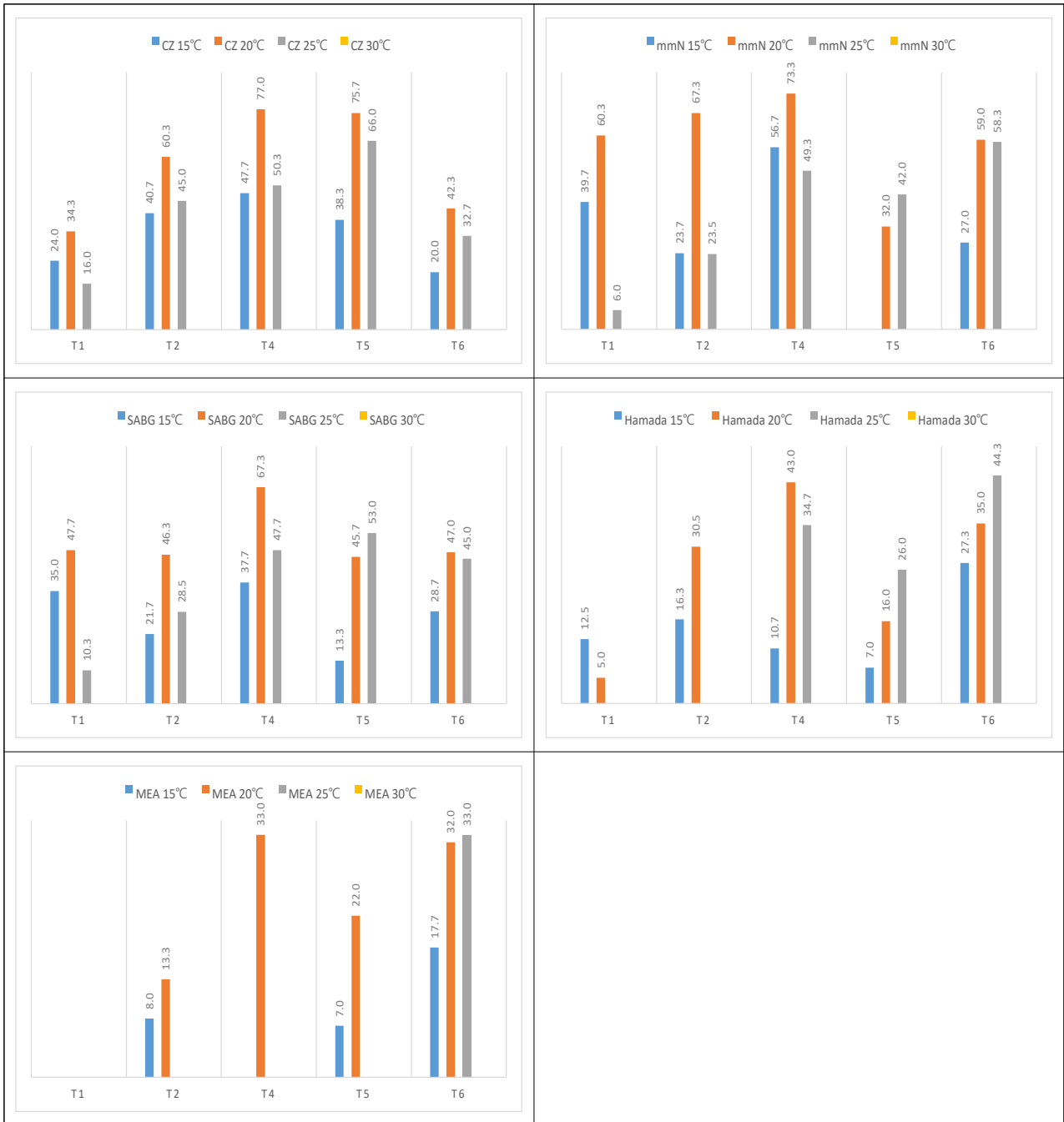


그림 202. 해외 수집균주의 5종의 배지에서의 온도별 균주 성장 조사

3). 소나무 접종묘 생산 연구

국내에서 자생하고, 쉽게 구할 수 있는 해송(곰솔, *Pinus thunbergii*)을 이용하여 접종묘 생산을 실험하였다. 준비된 종자는 1~2% 차아염소산나트륨(NaOCl, Sodium Hypochlorite)에 10~30분 침지시키고, 흐르는 물에 세척하여 사용하였다. 세척한 종자는 water agar에 치상하여 발아 유도 시켰고, 발아된 종자는 Petri dish로 옮겨 메쉬로 뿌리를 고정시켰다. 그 상태로 40일정도 묘목을 성장을 관리하고, 묘목에 측근(겉뿌리)이 형성되기 시작하면, 트러플 균사가 배양된 한천배지 조각을 측근이 형성되고 있는 부위에 접종하였다. 균근이 형성되도록 묘목의 건조 및 오염 방지 등을 유의하면 관리하였다. 균사 접종 후 100일정도에 균근 형성이 확인되었다. 접종묘를 제작하기 위해서는 CBS 분양 균주를 MMN 한천배지에 배양하여 그 균사체를 활용하였다.

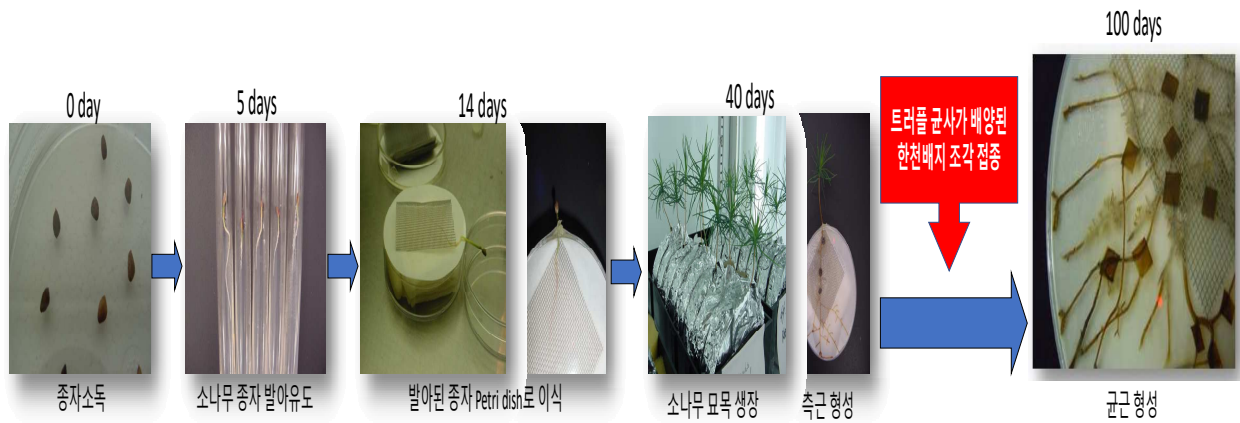


그림 203. 소나무를 이용한 트리플 감염묘(접종묘) 생산을 위한 균근 형성 방법

무균상에서 균근이 형성된 묘목은 접종묘의 대량 생산을 위해 mother plant로 사용하였다. 트리플 균사체를 MMN 배지에 액체 배양한 후, 배양된 균사체는 살균수로 배지 성분 등을 세척하고, Mineral 용액에 균사를 넣고 균질기로 마쇄하였다(그림 204.).

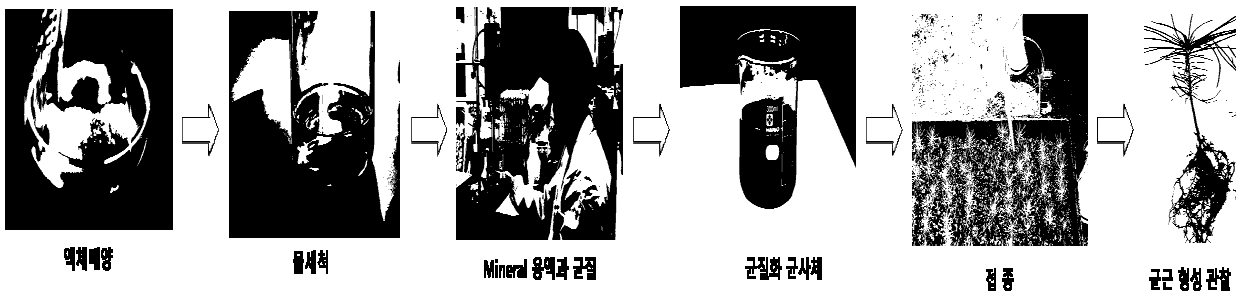


그림 204. 트리플 접종묘 대량생산 방법

질석을 5:5(v/v) 비율로 혼합하여 상토에 묘목을 심고, 정중앙에 균근이 형성된 mother plant를 심고 주변에 묘목을 밀식 정식하고, 균질화된 균사체를 실험 화분에 직접 접종하였다. 그 후 묘목을 관리하며 균근 형성을 관찰하였다. 실험 화분은 무균상에서 균근이 형성된 묘목(트리플 감염묘, mother plant)을 원예용 포트(30×50cm)의 중앙에 심고, 양 옆으로 40주씩 촘촘히 심어 제작하였다. 한 개의 실험 화분에 약 80주 정도로 밀식하여 1달정도 실험용 조제 상토에 안정화를 시킨 후, 균질화 한 트리플 균주를 500ml씩 2개월 간격으로 2회 접종하며 묘목 성장을 관리하였다(그림 205.).

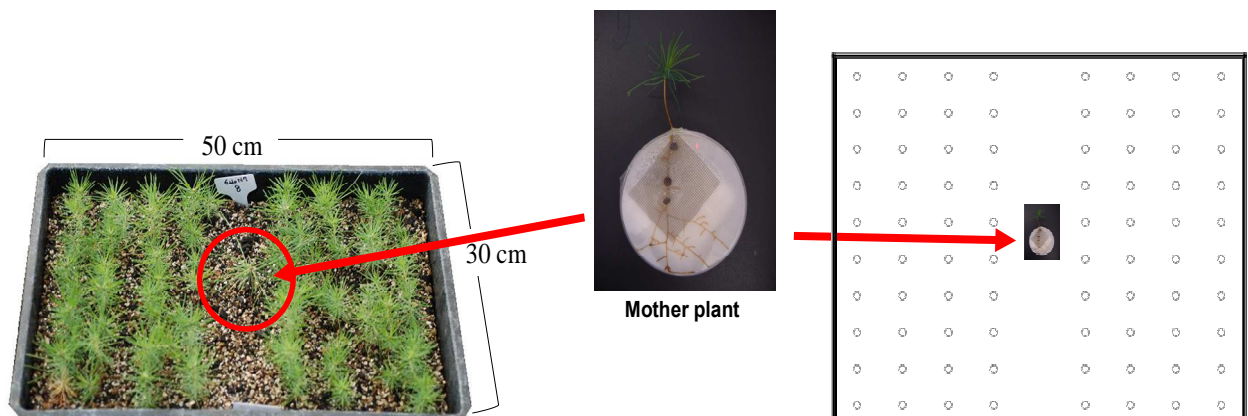


그림 205. 트리플 감염묘(접종묘) 제작 방법

감염묘(접종묘) 대량 생산을 위한 실험으로 묘목 생장 관리 중에 트러플 균사체의 추가 접종이 균근 형성에 미치는 영향을 알아보기 위해 추가 접종에 대한 대조구와 처리구(2회 추가 접종)를 비교하였다(그림 205.).

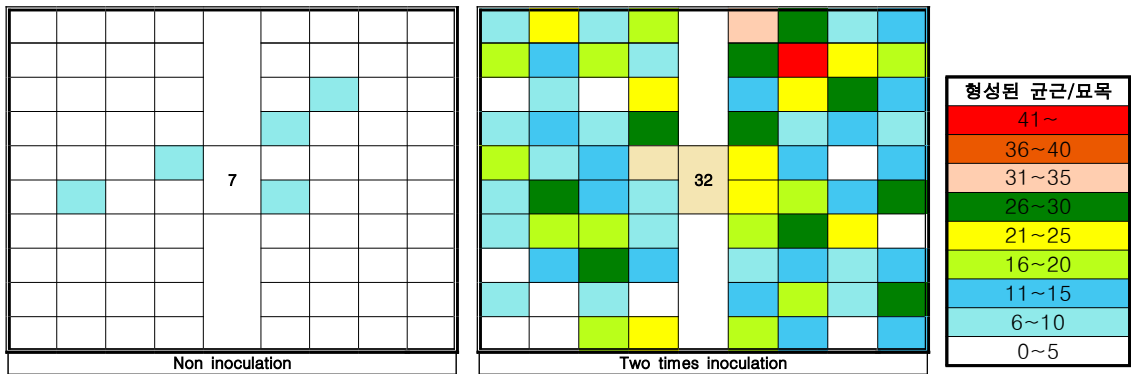


그림 205. 트러플 감염묘(접종묘) 생산에서 균사체 추가 접종 유무에 따른 차이

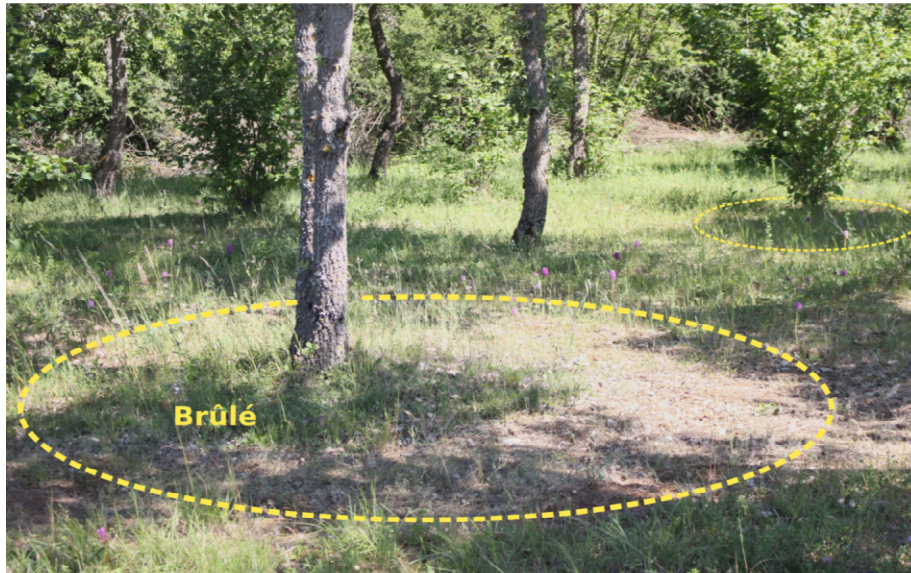
추가 접종을 하지 않은 대조구의 뿌리에서는 균총(균근) 형성이 묘목 당 10개 이내로 아주 저조하였으나, 처리구에서는 전체적으로 균사의 확산 감염은 확인되었다. 대조구에서 단 1개의 묘목이 Mother plant의 7개보다 높은 수준의 감염이 확인되었고, 처리구(2회 추가 접종)에서 Mother plant의 균근은 추가 접종하지 않은 처리구의 4배 이상인 32개의 colony가 확인되었으며, 대부분의 묘목에서 균총(균근) 형성이 양호하였다. 추후, 식물체에 감염된 균근(균총)형성균과 접종균과의 동일균 여부를 구명할 예정이다.

4). 국외트러플 인공재배연구 및 감염묘 생산현황

가). 국외 Truffle 접종묘 생산 방법 조사 및 트러플 재배기술 현황

트러플은 접종묘를 이용한 재배 방법이 개발되기 전까지는 *Tuber melanosporum*과 같은 자연산 트러플이 많이 수확되는 부근에서(트러플 포자의 밀도가 높은 곳으로 추정되면서 적절한 환경을 가진 지역) 채집한 도토리를 파종하여 자연재배를 하였다. 이 방법은 20세기 중반까지 지속되어 주로 3 종류의 참나무(*Quercus pubescens*(잔털참나무), *Q. ilex*(상록참나무), *Q. robur*(유럽참나무))를 파종하거나 묘목을 자생지에 심어 관리하였다. 파종에 사용된 종자(도토리)는 트러플 수확지의 나무에서 채취하여 사용하였다.

전통적인 재배방식은 재배 나무 주변부가 잘 정리되었거나 직접 수작업으로 brûlés*(트랙터 등으로 기계화 작업으로 발전됨)을 하여 가지치기를 한 가지나 낙엽을 덮어 재배지를 관리하였다. 그러나 이러한 방식으로 관리 재배한 재배지의 생산성이 높지 않아 1970년대 이후에는 이러한 재배 방식은 상업적으로 활용하지 않고 있다(그림 206.).



* 트러플의 균사체는 생태계와 상호 작용하고 숙주 나무 밑 주변부 식물의 성장이나 번식을 저하시킴. 따라서 땅에 초본 식물류 종류가 단조롭고 개체수가 적은 지역은 일반적으로 트러플버섯이 표면 아래에 놓여 있음을 의미함. 이를 "브릴레(brulé)" 또는 "번트(burnt)" 방법이라고 함. *사진출처: 저자 Laure Schneider-Maunoury / 라이선스 CC-BY

그림 206. 나무 밑 “brûlés” 부분

(1) The Pallier Method

식목, 경작, 관수, 가지치기, 시비 및 식물 위생처리의 관리 방법을 개선, 강화하여 균근(트러플) 감염 나무를 재배하는 것으로 적합한 토양(석회질 함유)에 균근 감염 나무를 400~800그루/ha 정도로 밀도있게 심는다. 잡초나 경쟁 식물을 제거하고, 나무의 성장을 촉진하기 위해 토양을 자주 갈아주고(tilling), 나무 위주의 관수 시스템(점적관수)으로 나무의 활착(정착)을 유도한다. 적절한 가지치기로 나무 그늘이 많이 생기지 않고, 나무사이의 공간을 확보하여 개방적 환경을 유지시킨다. 이 방법은 비교적 빠른 수확을 가능하게 하며, 개암나무(헤이즐)를 기주로 사용하면, *T. melanosporum*은 적합한 것으로 보고되어 있다.

(2) The Tanguy Method

이 방법은 균근이 감염된 나무를 심은 후 잔디와 같은 초본식물로 나무 주변을 자연친화적 환경으로 만드는 것으로 나무를 심은 후 2~3년 동안 경작과 토양에 대한 관리를 하지 않는 방식이다. 그 후 정착된 초본 식물(주로 정착하는 식물은 *Bromus Erectus* Huds., *Festuca ovina* L.(김의풀), *Elymus repens* L.(구주개밀) 등)의 잔디 깎기 정도의 관리를 한다.

구주개밀(*Elymus repens* L.)은 유럽 원산의 귀화식물로 우리나라 경기도, 강원도, 전북, 경북 등에 분포함. 김의풀(*Festuca ovina* L) 산지의 건조하고 양지바른 풀밭에서 자라는 여러해살이 풀로, 우리나라 전역에 분포함.

이 방식으로 석회질이 풍부한 토양에 잔디를 형성하여 토양의 건조를 막아 버섯 생산성을 높이는 효과는 있으나, 초본 식물로 인한 곤충류, 민달팽이 등의 유입으로 피해가 발생하거나, 나무의 성장에 영향을 주어 균근의 활력 저하시키고, 버섯 생산이 지연될 가능성도 있다.

(3) The three-step method

2002년 Sourzat가 제안한 방법으로 20~30년정도 소요되는 트러플 재배기간 동안에 필요한 필수적인 단계를 구분하여 관리하는 방법이다.

- 식목 첫해에는 균근 나무의 성장과 정착을 최우선으로 관리한다.
- 주변환경과의 네트워크 형성(동식물, 곰팡이 포함)으로 생태계를 구축하고, 나무 뿌리에는 트러플과 다른 균근균을 감염시켜 다른 곰팡이(병원균 등)의 침입을 예방한다.
- 내구성을 유지하면서 생산량과 품질 향상을 목적으로 수확한다.

(4) The Angellozzi method

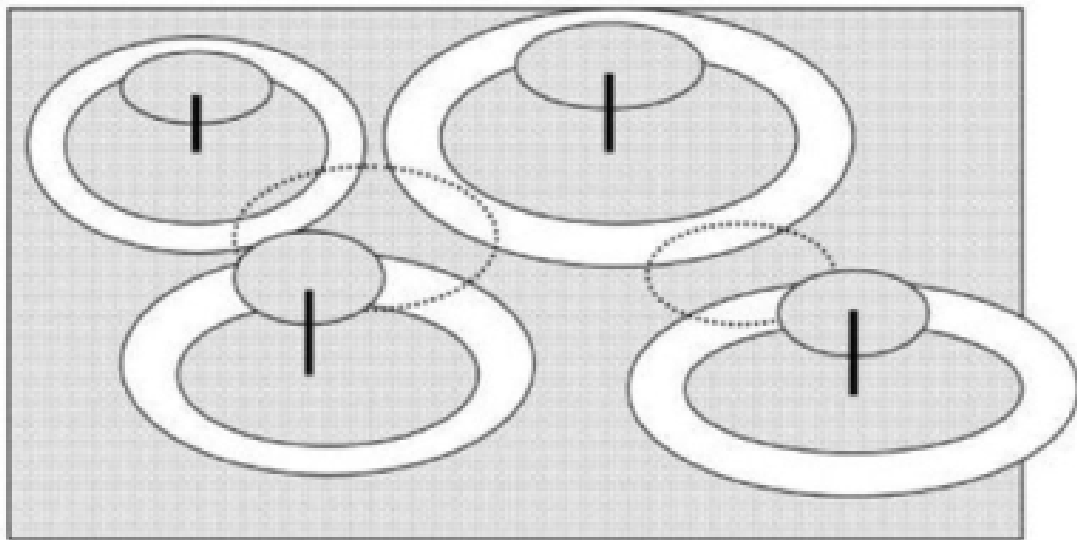
이 방법은 나무의 성장을 위해 토양의 지상부와 지하부의 뿌리 관리에 중점을 두고 있다. 적절한 환경이 조성된 장소에 완벽하게 균근화된 나무를 최대한 깊게 심고, 제한적 관수관리, 가지치기를 통한 나무의 성장을 제어, 통제하여 트러플의 생산량과 내수성(지속성)을 지속시키는 방법으로 프랑스, 이탈리아에서 적용하고 있다.

단계별로 살펴보면, 1단계는 나무를 심기 위해 토양 상태를 조사(특히 석회질 함량) 하고, 필요하다면 적합한 토질(부토, 석회 비료 등)로 개량하는 작업과 토양을 고르게 갈아 정리하고, 수종을 결정하고, 우량의 접종묘 선별, 나무의 수량이 결정되면 심는 방향과 간격 등 고려하여 나무를 심는다.

2단계는 트러플 균근이 정착되기 전까지 나무의 유지관리로 관수, 나무지상부의 주변 풀 제거, 가지치기 및 트랙터 등을 이용한 땅갈이

3단계, 수확기에도 다음 재배생산을 위해서 토양의 통기성 유지, 수분보충 조절, 나무의 가지치기나 베는 방법으로 농장을 제한적 폐쇄로 관리

4단계는 트러플 균근의 재생과 세력 확장될 수 있도록 나무를 제거하면서 관리한다(그림 207.).



트러플 지속적인 생산을 위해 나무의 성장 제어관리가 필요함; 제한적 관수, 나뭇가지치기, 땅갈이 등

출처: www.tuber2023.com Pierre Sourzat / The technical framework of truffle cultivation

그림 207. 나무와 균근의 활력을 위한 영역 확보

(5) The jaad method

2007년경에 개량된 방법으로 심어진 나무에 균근의 감염 되면, 나무에는 두둑을 만들고 양 옆으로 고랑(20cm정도)을 깊게 파서 관리하는데, 이때 잘린 뿌리가 재생되도록 관리하는 방법으로 아직까지 효과에 대한 보고는 없다.

(6) 재접종 기술

나무의 나이에 따라 3년생은 줄기에서 30cm, 4년생은 40cm 정도 떨어진 곳에 직경 25cm, 깊이 25cm~30cm 정도의 땅을 파고, 나무의 크기에 따라 구멍의 개수는 4~6개로 다르게 한다. 구멍의 1/3을 재파종 혼합물(포자현탁액 혼합한 배지)로 채운 다음 남은 흙으로 덮어 준다. 매년 나무 줄기로부터의 거리를 약간 멀게 이동하며 균사 현탁액 접종을 반복한다.

나). 해외 트러플 및 접종묘 생산·판매 관련 기업 및 단체 현황


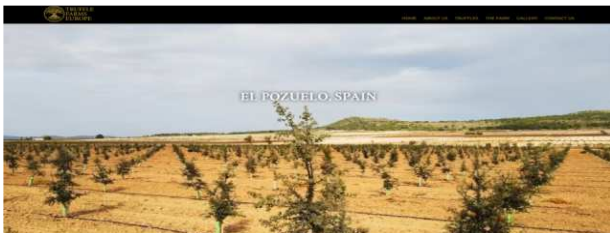
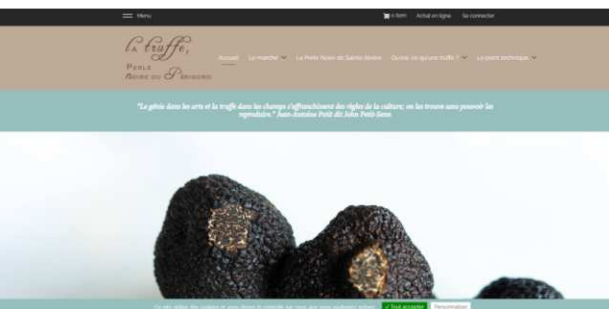

트러플은 이탈리아, 프랑스의 경우, 국가적으로 보호 정책을 하고 있어서 균주를 특별관리하고 있으며, 유전자원 고갈 등 보호 차원에서 트러플 농장에 대한 관리가 이루어지고 있고, 미국, 호주, 뉴질랜드 등과 같이 넓은 영토를 기반으로 상업적으로 접종 묘목 판매, 재배농장을 확장하고 있는 국가도 있다.

대규모 접종 묘목 생산 및 판매를 하는 기업과 단체에서는 묘목 생산부터 균주 접종, 접종묘를 생산하는 것까지 철저히 관리하고 있으며, 구입하는 농장의 환경조건과 재배 방식까지 검토하여 재배 기술을 전수하고 있다. 기업과 단체는 세계 각국의 트러플 전문가들의 도움을 받아 균주 확보나 재배 방식의 개선을 하고 있다.

트러플을 생산하는 국가들에서 접종묘의 생산·판매와 관련 있는 회사나 단체를 조사하였다(표 105.). 스페인의 Cultivos Forestales Y Micologicos(CFM)은 총 3종의 트러플 균주를 취급하고 있으며, *Tuber melanosporum* 생산을 위해서는 *Quercus ilex*(상록참나무), *Q. faginea*(포르투칼오크), *Q. coccifera*, *Corylus avellana*(개암나무)을 사용하고 있으며, *T. aestivum* 생산을 위해서는 *Q. ilex*(상록참나무), *C. avellana*(개암나무), *C. colurna*, *Pinus pinea*(돌소나무)을 이용하고 있다. *T. borchii*는 *Pinus pinea*만 사용하고 있다. 미국에서 주로 판매되고 있는 균주는 *T. melanosporum*과 *T. magnatum*였다. 프랑스는 주로 수확기기에 생트러플 판매나, 가공품, 묘목을 판매하고 있다. 트러플은 수확기에만 생트러플로 판매되는 경우가 많기 때문에, 규모화된 농장에서는 트러플을 생산하여 장기간 저장·유통을 위한 건조트러플, 오일, 피클 등 가공하여 판매하고 있다.

조사한 6개국에서 접종묘 판매는 상시판매보다는 주문 제작을 하는 곳이 많았고, 미국의 경우 12개월 전 계획 주문하여 토질개선(토양 pH 7.5 조절) 후 배송받을 수 있는 토양 환경 등 시스템을 요구하고 있다. 뉴질랜드는 트러플협회가 있어서 전문가의 도움 등으로 국가표준기준을 설정하고, 접종묘를 관리하고 있으며, 주로 *T. melanosporum*, *T. aestivum*, *T. borchii*에 대한 접종묘를 생산하고, 적어도 수령 1년 이상된 묘목을 판매하고 있다.

표 105. 접종묘를 생산판매하는 회사 정보 (2023년)

<p>Cultivos Forestales Y Micologicos(CFM), Spain</p>  <p>Website: cultivosforestales.com</p>	<p>Truffle Farms Europe, Spain</p>  <p>Website: trufflefarms.com</p>
<p>La Truffe du perigord, France</p>  <p>Website: truffe-perigord-noir.com</p>	<p>AYME TRUFFLE, France</p>  <p>Website: ayme-truffe.com</p>

New World Truffieres, Inc., USA



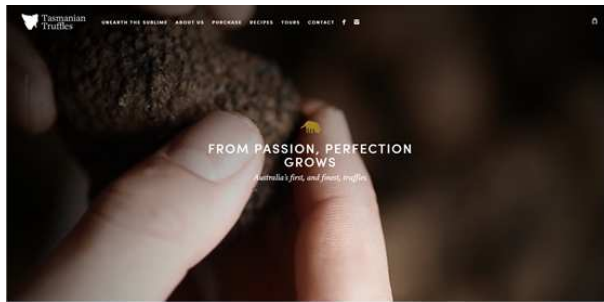
Website: oregontruffles.com

Garland Truffles, Inc., USA



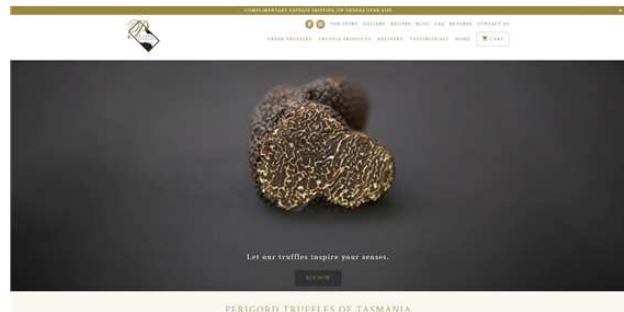
Website: garlandtruffles.com

Tasmanian Truffle, Australia



Website: tastruffles.com.au

Perigord Truffles of Tasmania, Australia



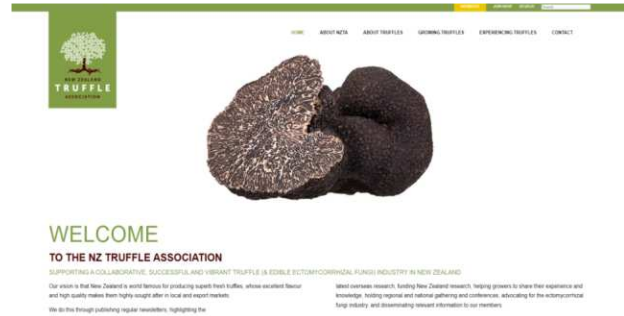
Website: perigord.com.au

Trufficulture Nurseries, Australia



Website: trufficulture.com.au

NZ TRUFFLE ASSOCIATION, New Zealand



Website: nztruffles.org.nz

Truffle UK Ltd., England



Website: truffle-uk.co.uk

Truffle Tree Ltd., England



Website: truffle-tree.co.uk

The English truffle company, England



Website: englishtruffles.co.uk

• 제3공동(장흥군버섯산업연구원) : 균사배양물 등 수집자원의 이화학적 특성 분석

가. 연구개발 수행방법

1). 트러플 품종별 균사 배양

가) 트러플 품종별 배양 및 분석용 시료 확보

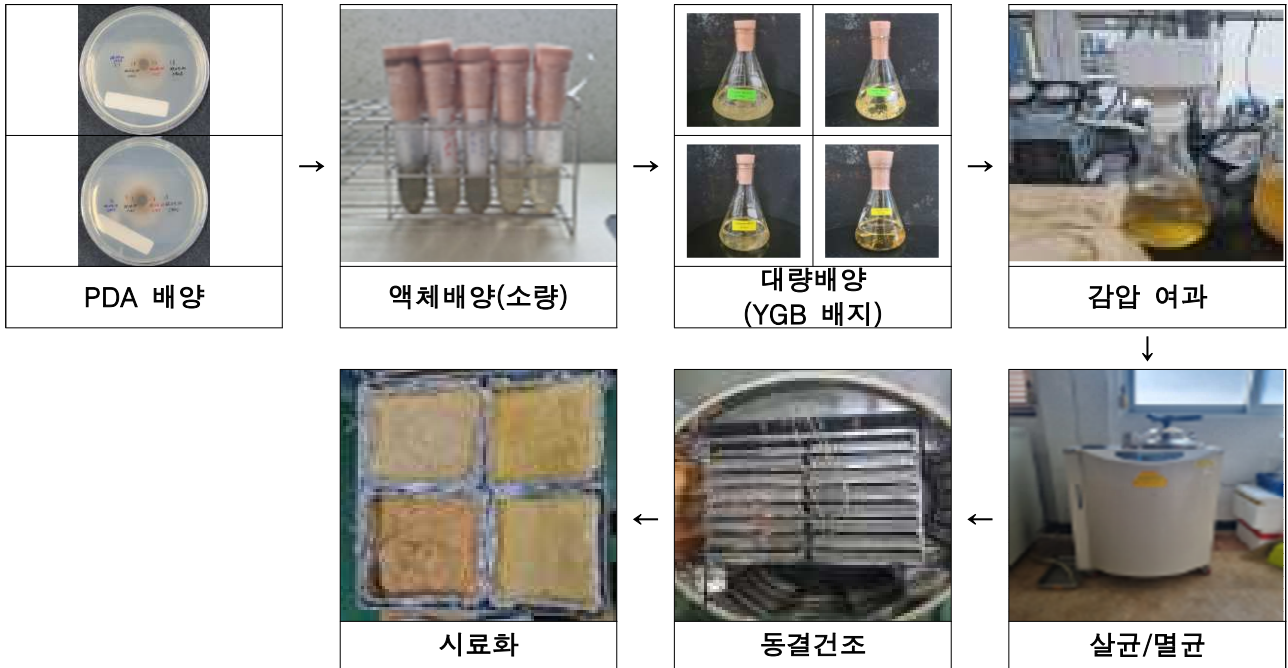


그림 208. 트러플 균사체 배양 및 분석용 시료 확보

나. 분석 방법

1). 일반성분

일반성분은 AOAC방법에 따라 분석하였다. 수분은 시료 0.5 g을 각각 칭량접시에 담고 105℃ dry oven에서 항량이 될 때까지 건조시켜 무게를 측정하여 구하였다. 조회분은 시료 0.5g을 250℃에서 예비 회화한 후 600℃에서 직접 회화법으로, 조단백질의 함량은 Kjeldahl법으로 측정된 질소량에 질소계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조지방의 함량은 Soxhlet 추출법으로, 조섬유는 Henneberg Stohmann 개량법으로 구하였다. 그리고 가용성 무질소물의 함량은 총량에서 수분, 조회분, 조단백질, 조지방 및 조섬유의 함량을 뺀 값으로 산출하였다.

2). 미네랄 성분

미네랄 성분은 건식분해법으로 전처리하여 분석하고 분석 조건은 표 와 같다. 즉 시료 1g을 600℃에서 회화시켜 백색회분을 얻은 후, 회분을 2배 희석한 진한 염산 10mL를 가해 여과하여 수용상에서 증발 건조 시킨 후 4배 희석한 염산을 10 mL를 가하고 증류수를 가하여 100mL로 정용한 다음 여액을 분석시료로 사용하였다. 각 무기성분의 정량은 원자흡광광도계 (Perkin Elmer AAnalyst 400)로 각 원소의 표준 용액 농도를 0.5, 1.0 및 5.0 ppm으로 조제하여 표준 검량 곡선을 작성하여 분석하였다. 원자흡광광도계의 조건은 표 106.과 같다.

표 106. 무기성분 분석을 위한 원자흡광광도계 조건

Parameter	Condition
Instrument	Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin Elmer AAnalyst 400)
Fuel flow	C2H2, 2.0 L/min
Oxidant flow	Air, 10.0 L/min
Wavelength (nm)	K: 766.49, Mg: 285.51, Na: 589.00, Ca: 422.67

3). 유리당

유리당은 시료 1g에 증류수를 가하여 60℃에서 4시간 추출 한 후, 원심분리(3,000 rpm, 30 min)하여 0.45µm membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과한 여액을 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)를 이용하여 분석하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하고, HPLC조건은 표 107.과 같다.

표 107. 유리당 분석을 위한 HPLC 조건

Parameter	Condition
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Detector	ELSD detector
Column	ZORBAX Carbohydrate (4.6 mm × 150 mm)
Solvent	75% Acetonitrile
Column temp.	30℃
Flow rate	1.4 mL/min
Injection volume	5 µL

4). 유기산

유기산 분석은 시료 0.2g에 증류수를 가하고 60℃에서 4시간 추출한 다음, 원심분리(5,000 rpm, 15min)하여 상층액을 0.45µm membrane filter(Millipore Co., USA)를 이용하여 여과한 여액을 HPLC로 분석하였다. 함량은 외부표준법으로 계산하였으며, HPLC조건은 표 108.과 같다.

표 108. 유기산 분석을 위한 HPLC 조건

Parameter	Condition
Instrument	Agilent Technologies 1200 Series
Column	Grace Prevail Organic Acid (4.6 mm × 250 mm, 5µm)
Solvent	25 mM KH ₂ PO ₄ (pH 2.5)
Column temp.	30℃
Wavelength	UV 210 nm (DAD)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	5 µL

다. 분석 결과

1). 일반성분 분석 결과

배양이 완료된 *Tuber borchii*와 *Tuber koreanum*을 여과하여 균사체와 배양액 일반성분을 분석하였으며, 분석결과는 표 109.와 같다. 수분은 *T. borchii* 균사 배양액이 6.73%로 가장 높은 함량을 보였고, 조회분은 *T. borchii*와 *T. koreanum*의 균사 배양액에서 각각 43.43%, 43.69%로 균사 배양액에서 높은 함량을 보였다. 조지방은 4개의 시료에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 조섬유와 조단백질 및 가용성 무질소물은 두 개의 품종 모두 균사 배양액보다 균사체에서 높은 함량을 보였다. 이중 *T. borchii* 및 *T. koreanum* 균사체의 단백질 함량이 31.4%, 29.14%로 높은 함량을 보였으며, 균사체 자체로 단백질원으로서의 사용이 가능함을 확인하였다.

표 109. 트러플균사체 및 균사 배양액의 일반성분 함량

	Organic acid contents(mg%)			
	<i>T. borchii</i> 균사체	<i>T. borchii</i> 배양액	<i>T. koreanum</i> 균사체	<i>T. koreanum</i> 배양액
수분	6.59± 0.62	9.35± 0.45	6.73± 0.33	8.43± 0.4
조회분	4.53± 0.26	43.43± 0.77	4.48± 0.45	43.69± 1.09
조지방	0.25± 0.02	0.15± 0.01	0.26± 0.03	0.13± 0.02
조섬유	2.88± 0.20	0.76± 0.11	2.71± 0.53	0.63± 0.09
조단백질	31.4± 1.00	24.02± 0.26	29.14± 0.85	22.72± 0.48
가용성 무질소물	54.35	22.29	56.68	24.4

2). 미네랄 성분 분석 결과

배양이 완료된 *Tuber borchii*와 *Tuber koreanum*을 여과하여 균사체와 배양액을 분리하고 동결건조하여 무기성분 함량을 측정하였으며 결과는 표 110.과 같다. 나트륨은 세포막 전압을 유지하는 중요한 인자로서, 삼투압 유지와 수분 평형에 관여하며, 산염기의 균형 조절 및 신경 자극 전달에도 중요한 역할을 한다. 나트륨 과잉 섭취로 인한 증상은 비특이적이며, 오심, 근무력증, 기면 혼수 등 정신 상태의 변화를 포함한다. 장기적인 과잉 섭취는 혈압상승, 뇌졸중, 심근경색, 등의 심장질환 및 신장 질환의 발병과 진행을 촉진한다. 다음 시료의 나트륨 함량은 *T. koreanum*의 균사체(332.18mg%) 및 *T. borchii*의 균사체(229.37mg%)가 *T. koreanum* 배양액(10,917mg%)과 *T. borchii* 배양액(11,874.91mg%) 보다 낮은 나트륨 함량을 보였다. 마그네슘은 뼈와 치아의 구성요소이며, 인체 내 300여종 이상 효소의 조효소 역할을 한다. 따라서 마그네슘 부족 시 혈청 칼슘 농도 저하 등의 증세를 보일 수 있다. 또한 체내 칼슘의 대부분은 주로 뼈에 존재하며, 그 외 체내 여러 조직에서 신경의 자극전달, 근육이나 혈관의 수축 및 이완 조절 등의 대사과정에 관여한다. 따라서 칼슘은 인체의 구성과 성장에 필요한 영양소이다. 하지만 일정 수준 이상으로 섭취하면 변비가 발생하거나, 신장조직이 파괴될 수 있고 신장결석의 위험도가 증가할 수 있다. 마그네슘과 칼슘 함량은 트러플 자실체 건조물이 각 균사체와 배양액보다 유의적으로 높은 함량을 보였다. 칼륨은 세포내액의 주요 전해질로 나트륨과 함께 정상적인 삼투압을 유지함으로써 수분평형을 유지하며 세포액을 보전하는 기능을 한다. 건강한 상태에서는 칼륨의 결핍증이 나타나지 않지만, 결핍되면 심부정맥, 근육 약화 등의 증상이 나타난다. 칼륨 함량도 나트륨과 마찬가지로 균사체보다 배양액에서 높은 미네랄 함량을 보였다.

표 110. 트러플균사체 및 균사 배양액의 무기성분 함량

Samples	Mineral contents(mg%)			
	Na	Mg	Ca	K
<i>T. borchii</i> 균사체	229.37± 4.41	0.52± 0.00	0.61± 0.06	1,543.67± 16.65
<i>T. borchii</i> 배양액	11,874.91± 196.80	0.56± 0.00	1.62± 0.06	9,680.44± 155.85
<i>T. koreanum</i> 균사체	332.18± 3.16	0.48± 0.01	0.63± 0.04	1,408.33± 21.57
<i>T. koreanum</i> 배양액	10,917± 203.15	0.43± 0.00	1.70± 0.06	10,386.42± 185.13
트러플 자실체 건조물	167.48± 3.55	16.99± 0.02	14.73± 0.05	784.17± 5.83

3). 유리당 함량

배양이 완료된 *Tuber borchii*와 *Tuber koreanum*을 여과하여 균사체와 배양액 유리당 함량을 분석하였으며, 분석결과는 표 111.과 같다. 균사체에서는 galactose만 함유하고 있으며, 균사체 배양액에서는 glucose와 sucrose가 검출되었다. Galactose 함량은 *T. borchii*가 6.53%로 *T. koreanum*에 비해 높은 함량을 보였다. Glucose와 sucrose 함량은 품종별로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 트러플 균사 배양시에 들어있는 배지의 성분인 glucose와 sucrose가 검출된 것으로 사료된다.

표 111. 트러플균사체 및 균사 배양액의 유리당 함량

Samples	Free sugar contents(%)			
	Galactgose	Glucose	Sucrose	Total
<i>T. borchii</i> 균사체	6.53± 0.10	-	-	6.53± 0.10
<i>T. borchii</i> 배양액	-	1.13± 0.12	1.68± 0.08	2.81± 0.20
<i>T. koreanum</i> 균사체	5.84± 0.38	-	-	5.84± 0.38
<i>T. koreanum</i> 배양액	-	1.10± 0.23	1.76± 0.14	2.86± 0.18
트러플 자실체 건조물				

4). 유기산 함량

배양이 완료된 *Tuber borchii*와 *Tuber koreanum*을 여과하여 균사체와 배양액 유기산 함량을 분석하였으며, 분석결과는 표 112.와 같다. 트러플 균사체에서는 oxalic acid, malic acid, citric acid 3종이 검출되었고, 균사 배양액에서는 malic acid, lactic acid, citric acid 세종이 검출되었다. Oxalic acid는 주로 식물 등의 세포벽에 존재하는 물질로 시료 간에 유의적인 차이를 보이지 않았고, malic acid는 다양한 과일에 존재하는 유기산 중 하나로 균사 배양액 보다 균사체에서 높은 함량을 나타내었다. Lactic acid는 균사 배양액에서만 검출되는 성분으로 주로 발효 과정에 발생하는 유기산이다. Citric acid는 모든 시료에서 검출 되었으며, *T. borchii* 균사체에서 4.39%로 가장 높은 함량을 보였다. 총 유산균 함량은 *T. borchii*에서 7.59%로 가장 높은 함량을 보였고, *T. koreanum* 균사 배양액에서 5.69%로 가장 낮은 함량을 나타냈다.

표 112. 트러플균사체 및 균사 배양액의 유기산 함량

	Organic acid contents(mg%)			
	<i>T. borchii</i> 균사체	<i>T. borchii</i> 배양액	<i>T. koreanum</i> 균사체	<i>T. koreanum</i> 배양액
Oxalic acid	0.06± 0	-	0.07± 0.01	-
Malic acid	3.14± 0.18	2.61± 0.03	3.08± 0.09	2.55± 0.14
Lactic acid	-	2.21± 0.05	-	2.09± 0.18
Citric acid	4.39± 0.23	1.21± 0.01	4.18± 0.26	1.05± 0.20
Total	7.59± 0.04	6.03± 0.09	7.33± 0.14	5.69± 0.25

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1). 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

- 보유균주 최적 배양조건 규명
 - 온도, 최적배지(영양원), 산도 확인
- 국내 자생 트러플 균주 확보
 - *T. huidongense*, *T. himalayense*, *T. koreanum* 3종 확보
- 국외 트러플 균주 및 수입접종묘 확보·관리
 - *T. borchii*, *T. albidum*, *T. pubralum* 3종 확보
 - 수입접종묘 확보 및 시험포 관리
- 해외 접종묘 생산방법 벤치마킹
 - 해외 접종묘 생산지 조사 및 유통회사 조사분석
 - 해외 접종묘 생산 및 관리 방법 조사분석
 - 해외 트러플 연구개발 및 산업동향 조사
- 트러플 접종묘 생산기술 개발
 - 수종별, 균주별 접종기술 확보
- 트러플 자생지 확보 및 특성 조사
 - 국내 트러플 자생지 확보
 - 자생지내 외생균 분포 특성 확보
 - 자생지 토양특성(토질 등) 확보
 - 자생지 기상환경 특성 확보
 - 국내자생지와 해외 주요생산지 환경 비교 분석
 - 국내 자생 트러플 생활사 확인
- 트러플 접종묘 현장실증포 조성 및 재배기술 연구
 - 국내 현장실증포 조성(3개소)
 - 접종묘 생육특성 조사
 - 접종묘 현장 재배기술 및 관리법 확보
- 국내외 수집 자원 품질 특성 연구
 - 트러플 자실체 일반성분 분석
 - 트러플 및 관련제품 기능성성분 분석
 - 트러플 및 관련제품 정미성분 분석
 - 트러플 향기성분 분석
- 국내외 수집 균주 배양체 품질 평가
 - 트러플균사배양체 품질 특성 분석

(2) 정량적 연구개발성과

- 학술포스터대회 발표 26건
- 논문 게재 10건 : SCI 3건, 비SCI 7건
- 지식재산권(특허) 출원 : 3건
- 인력양성 : 7명
- 고용창출 : 8명
- 교육홍보 : 9건

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명			연도	1차년도 (2019)	2차년도 (2020)	3차년도 (2021)	4차년도 (2022)	5차년도 (2023)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표	논문 (SCI급)	목표(단계별)	-	-	1	1	1	3	20	
		실적(누적)	-	-	1	2	0	3		
	논문 (비SCI급)	목표(단계별)	-	2	2	2	2	8	20	
		실적(누적)	-	1	2	2	2	7		
	학술발표	목표(단계별)	-	2	3	3	3	11	15	
		실적(누적)	1	5	6	8	6	26		
연구개발과제 특성 반영 지표	인력양성	목표(단계별)	-	1	1	1	1	4	10	
		실적(누적)	-	1	1	3	2	7		
	고용창출	목표(단계별)	1	2	2	2	2	9	15	
		실적(누적)	-	1	2	2	3	8		
	교육·홍보	목표(단계별)	1	1	2	2	2	8	20	
		실적(누적)	1	-	3	4	1	9		
	계	목표(단계별)	2	8	11	11	11	43	100	
		실적(누적)	3	8	15	21	14	61		

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Report on <i>Tuber huidongense</i> , a Truffle Species Previously Unrecorded in Korea	The Korean Journal of Mycology	Hyeok Park, Ahn - Heum Eom	48(4)	대한민국	한국균학회	비SCI (SCOPUS)	2020. 12.30.	eISSN : 2383 - 5249	100
2	Community Structure of Ectomycorrhizal Fungal communities Colonizing <i>Quercus</i> spp. in Limestone Areas of Korea	한국균학회지	이종철	49(1)	대한민국	한국균학회	비SCI (SCOPUS)	2021.3	2383 - 5249	100

3	Morphological and Phylogenetic Characteristics of <i>Tuber himalayense</i> Collected from Rhizosphere of <i>Quercus dentata</i> in Korea	한국균학회지	Hyeok Park	49(1)	대한민국	한국균학회	비SCI (SCOPUS)	2021.3	2383 - 5249	100
4	Report on a New Truffle Species, <i>Tuber koreanum</i> sp. nov., from Korea	MYCOBIOLOGY	Hyeok Park	49(6)	대한민국	Taylor and Fransis	SCI	2021.12 .31.	2092 - 9323	100
5	Mycorrhization of <i>Quercus</i> Spp. with <i>Tuber huidongense</i> and <i>T. himalayense</i> Collected in Korea	MYCOBIOLOGY	Ju- Hui Gwon	50(2)	대한민국	Taylor and Fransis	SCI	2022	2092 - 9323	100
6	Effect of Temperature pH and Media on the Mycelial Growth of <i>Tuber koreanum</i>	MYCOBIOLOGY	Ju- Hui Gwon	50(4)	대한민국	Taylor and Fransis	SCI	2022	2092 - 9323	100
7	Mycorrhization of <i>Quercus acutissima</i> with <i>Tuber borchii</i> and <i>Tuber melanosporum</i>	한국균학회지	Jung- Min Lee	50(4)	대한민국	한국균학회	비SCI (SCOPUS)	2022.12	2383 - 5249	100
8	트러플로 쓰이는 <i>Tuber melanosporum</i> , <i>Tuber aestivum</i> , 및 <i>Tuber magnatum</i> 의 유용성분	한국버섯학회지	정희경	20(4)	대한민국	한국버섯학회	비SCIE	2022. 12.21	2288 - 8853 (Online) / 1738- 0294	100
9	Mycorrhizal Formation of Korean Truffle Species, <i>Tuber koreanum</i> with Oak Tree	한국균학회지	Ju- Hui Gwon	51(2)	대한민국	한국균학회	비SCI (SCOPUS)	2023	2383 - 5249	100
10	트러플 활용기술 동향 : 2023년 상반기까지의 특허를 중심으로	한국버섯학회지	김현석	21(3)	대한민국	한국버섯학회	비SCIE	2023. 10.	2288- 8853	100

구분	증빙
SCI(3)	

RESEARCH NOTE

Report on *Tuber huidongense*, a Truffle Species Previously Unrecorded in Korea

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

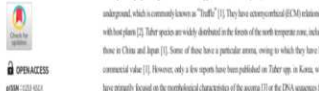
Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

The truffle bodies and roots of a *Tuber* species were collected from the rhizosphere of *Quercus dentata* in Pohang, Korea. The morphological characteristics of the ascospores and ectomycorrhizal roots were studied, and phylogenetic analyses were performed using the sequences of the internal transcribed spacer, large subunit DNA, and *efl1* DNA. Based on the features of the truffle bodies, the species was identified as *Tuber huidongense*, which has not been reported earlier in Korea. The morphological characteristics and phylogenetic analysis of *T. huidongense* are described in the present study.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*

Tuber huidongense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



RESEARCH NOTE

Mycorrhization of *Quercus acuticostata* with *Tuber berchii* and *Tuber melanosporum*

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

The mycorrhizal formation of *Quercus acuticostata* by the truffle species, *Tuber berchii* and *Tuber melanosporum*, was studied. The truffle bodies and roots of *Q. acuticostata* were collected from the rhizosphere of *Q. acuticostata* in Pohang, Korea. The morphological characteristics of the ascospores and ectomycorrhizal roots were studied, and phylogenetic analyses were performed using the sequences of the internal transcribed spacer, large subunit DNA, and *efl1* DNA. Based on the features of the truffle bodies, the species were identified as *Tuber berchii* and *Tuber melanosporum*, which have not been reported earlier in Korea. The morphological characteristics and phylogenetic analysis of *T. berchii* and *T. melanosporum* are described in the present study.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus acuticostata*

Tuber berchii and *Tuber melanosporum* are the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



RESEARCH ARTICLE

트러플로 쓰이는 *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum* 및 *Tuber magnatum*의 유용성분

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

Useful components of *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum*, and *Tuber magnatum* used as truffles

The truffle bodies and roots of *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum*, and *Tuber magnatum* were collected from the rhizosphere of *Quercus dentata* in Pohang, Korea. The morphological characteristics of the ascospores and ectomycorrhizal roots were studied, and phylogenetic analyses were performed using the sequences of the internal transcribed spacer, large subunit DNA, and *efl1* DNA. Based on the features of the truffle bodies, the species were identified as *Tuber melanosporum*, *Tuber aestivum*, and *Tuber magnatum*, which have not been reported earlier in Korea. The morphological characteristics and phylogenetic analysis of *T. melanosporum*, *T. aestivum*, and *T. magnatum* are described in the present study.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*

Tuber melanosporum, *Tuber aestivum*, and *Tuber magnatum* are the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



BIOSCI(7)

성화암 지대 철나무속 식물에 공생하는 외생균근균의 군집구조

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

Community Structure of Ectomycorrhizal Fungal Communities Colonizing *Quercus* spp. in Limestone Areas of Korea

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this study, we analyzed the diversity of ectomycorrhizal (ECM) fungal communities of *Quercus* spp. roots in the limestone area. We identified 46 genera of ECM using next-generation sequencing (NGS) analysis. Soil chemical composition analysis confirmed soil pH, soil moisture, soil nutrient concentrations, total nitrogen content, organic phosphorus, and organic matter content. Shannon's index was calculated according to the changes in soil chemical composition. The results of cluster analysis showed that *Isaria*, *Tremella*, *Tuber*, *Geoglossum*, *Arctiia*, *Suillus*, and *Phellinus* were the main genera of symbiotic ECM fungi that showed a close relationship with high pH and calcium content.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*

Tuber species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



Morphological and Phylogenetic Characteristics of *Tuber himalayense* Collected from Rhizosphere of *Quercus dentata* in Korea

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

We collected the ascospores of *Tuber* species from the rhizosphere of *Quercus dentata* in Cheongju, Korea. We observed the morphological characteristics of ascospores, ascogonia, and asci, and identified the truffle based on the results of the phylogenetic analysis conducted using the DNA sequences of an internal transcribed spacer, a large subunit DNA, translation elongation factor 1- α DNA (TEF1), and *mtf1*. Finally, we identified the fungal species as *Tuber himalayense* B.C. Zhang & B.W. Hou, which has not been reported previously in Korea. We evaluated the morphological characteristics and conducted phylogenetic analysis of the ascospores and asci (ascogonia) associated with *Q. dentata* of *T. himalayense*.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*, *Tuber*, *Tuber himalayense*

Tuber himalayense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



트러플 활용기술 동향: 2023년 상반기까지의 특허를 중심으로

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

Trends in truffle mushroom utilization technology: A patent database survey through the first half of 2023

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

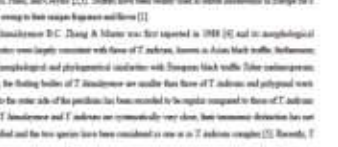
Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this review, we examine the latest technological developments in the utilization of truffles, a gourmet ingredient reported to be one of the world's most gourmet ingredients, considering changing global consumption trends. Global demand for truffles is expected to increase steadily, with an average annual growth rate of 8.8% from 2023 to 2030. As truffles are considered the demand for truffles is expected to be concentrated in developed countries such as the United States, European countries, and Japan in Korea, truffles are utilized in various industries, including food, functional foods, and cosmetics. Patent research demand for truffles has remarkably increased high since 2019, and truffle products have been performing well in the market. Consequently, there were substantial patents obtained for newly developed truffle-related products and technologies. This review aims to provide objective research information through the systematic analysis of patent applications in Korea and internationally, focusing on technologies involving truffles, and can aid in setting directions for research and development.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*, *Tuber*, *Tuber himalayense*

Tuber himalayense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



Mycorrhizal Formation of Korean Truffle Species, *Tuber koreense* with Oak Trees

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this study, we examined the mycorrhizal formation of *Tuber koreense* with oak trees in the limestone area. We identified 46 genera of ECM using next-generation sequencing (NGS) analysis. Soil chemical composition analysis confirmed soil pH, soil moisture, soil nutrient concentrations, total nitrogen content, organic phosphorus, and organic matter content. Shannon's index was calculated according to the changes in soil chemical composition. The results of cluster analysis showed that *Isaria*, *Tremella*, *Tuber*, *Geoglossum*, *Arctiia*, *Suillus*, and *Phellinus* were the main genera of symbiotic ECM fungi that showed a close relationship with high pH and calcium content.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*

Tuber koreense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



트러플 활용기술 동향: 2023년 상반기까지의 특허를 중심으로

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

Trends in truffle mushroom utilization technology: A patent database survey through the first half of 2023

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this review, we examine the latest technological developments in the utilization of truffles, a gourmet ingredient reported to be one of the world's most gourmet ingredients, considering changing global consumption trends. Global demand for truffles is expected to increase steadily, with an average annual growth rate of 8.8% from 2023 to 2030. As truffles are considered the demand for truffles is expected to be concentrated in developed countries such as the United States, European countries, and Japan in Korea, truffles are utilized in various industries, including food, functional foods, and cosmetics. Patent research demand for truffles has remarkably increased high since 2019, and truffle products have been performing well in the market. Consequently, there were substantial patents obtained for newly developed truffle-related products and technologies. This review aims to provide objective research information through the systematic analysis of patent applications in Korea and internationally, focusing on technologies involving truffles, and can aid in setting directions for research and development.

Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*, *Tuber*, *Tuber himalayense*

Tuber himalayense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data



트러플 활용기술 동향: 2023년 상반기까지의 특허를 중심으로

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

Trends in truffle mushroom utilization technology: A patent database survey through the first half of 2023

Hyuk Park¹, Jun-Ho Gwon¹, Jung-Chul Lee¹, Hyun-Suk Kim², Duk-Sik Oh¹, and Ah-Hwan Bae¹

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 30733, Korea

²National Forestry Research Center, Inje 53033, Korea

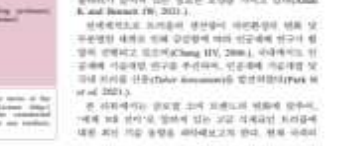
Corresponding author: baeh@knu.ac.kr

ABSTRACT

In this review, we examine the latest technological developments in the utilization of truffles, a gourmet ingredient reported to be one of the world's most gourmet ingredients, considering changing global consumption trends. Global demand for truffles is expected to increase steadily, with an average annual growth rate of 8.8% from 2023 to 2030. As truffles are considered the demand for truffles is expected to be concentrated in developed countries such as the United States, European countries, and Japan in Korea, truffles are utilized in various industries, including food, functional foods, and cosmetics. Patent research demand for truffles has remarkably increased high since 2019, and truffle products have been performing well in the market. Consequently, there were substantial patents obtained for newly developed truffle-related products and technologies. This review aims to provide objective research information through the systematic analysis of patent applications in Korea and internationally, focusing on technologies involving truffles, and can aid in setting directions for research and development.









Keywords: *Ascomycota*, *Ectomycorrhizae*, *Quercus dentata*, *Tuber*, *Tuber himalayense*

Tuber himalayense is the genus *Tuber*. It is a truffle species, heterothallic form a dikaryotic ascogonium, which is commonly known as "Truffle". The host associated ECM relationships with plants [2]. Truffle species are widely distributed in the forest of the north temperate zone, including those in China and Japan [3]. Some of these have particular areas, among which they have high commercial value [4]. However, only a few species have been published in *Tuber* spp. in Korea, which have primarily focused on the morphological characteristics of the ascospores [5] or the DNA sequence data


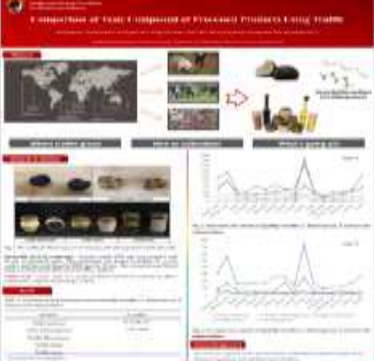









□ 국내 및 국제 학술회의 발표

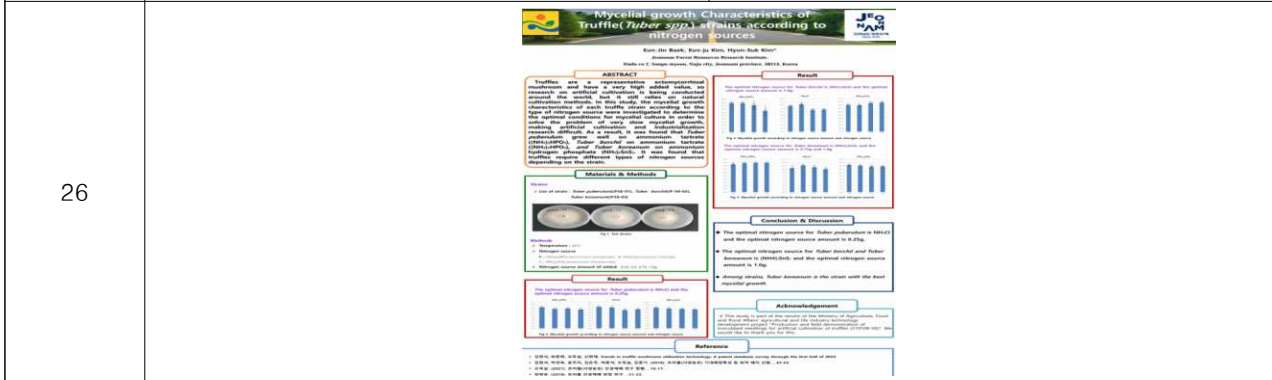
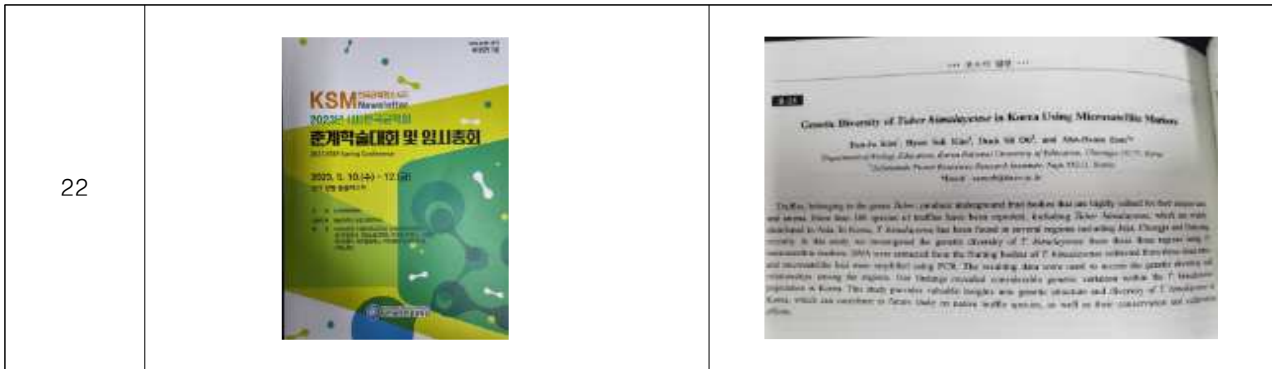
번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국버섯학회 추계학술대회	장현유	2019. 10. 31.	경남과학기술대학교	한국
2	20년 한국균학회 추계학술대회	Jong- Chul Lee	2020. 08. 20	부산 소노벨	한국
3	2020년 한국생물과학협회	Hyeok Park	2020. 10. 22	온라인 학술대회	한국
4	2020년 한국생물과학협회	Jong- Chul Lee	2020. 10. 22	온라인 학술대회	한국
5	IUMS 2020 virtual	Hyeok Park	2020. 11. 16	온라인 학술대회	Korea
6	IUMS 2020 virtual	Jong- Chul Lee	2020. 11. 16	온라인 학술대회	Korea
7	2021년 한국균학회 추계학술대회	Ju- Hui Gwon	2021. 5. 19	부산백스코	한국
8	2021년 한국균학회 추계학술대회	Ju- Hui Gwon	2021. 10. 27.	전남대학교 (광주캠퍼스) 용봉홀	한국
9	2021년 한국균학회 추계학술대회	Seok- Yong Park	2021. 10. 27.	전남대학교 (광주캠퍼스) 용봉홀	한국
10	제76회 한국생물과학협회 정기학술대회	Jae- Wook Choi	2021. 8. 12.	온라인	한국
11	한국약용작물학회	임승빈	21.05.13. ~ 14.	온라인	한국
12	한국식품저장유통학회	임승빈	21.08. 25.~ 27.	여수	한국
13	2022년 한국균학회 추계학술대회	Jung- Min Lee	2022. 04. 27	제주 ICC 국제컨벤션센터	한국
14	2022년 한국균학회 추계학술대회	Seok- Yong Park	2022. 04. 27	제주 ICC 국제컨벤션센터	한국
15	2022년 한국균학회 추계학술대회	Sung- Jin Bae	2022. 04. 27	제주 ICC 국제컨벤션센터	한국
16	제77회 한국생물과학협회 정기학술대회	Seok- Yong Park	2022. 08. 10	경북대학교 글로벌프라자	한국
17	2022년 한국균학회 추계학술대회	Jung- Min Lee	2022. 10. 12	단국대학교(천안캠퍼스) 학생극장	한국
18	2022년 한국균학회 추계학술대회	Seok- Yong Park	2022. 10. 12	단국대학교(천안캠퍼스) 학생극장	한국
19	2022년 한국균학회 추계학술대회	Eun- Ju Kim	2022. 10. 12	단국대학교(천안캠퍼스) 학생극장	한국
20	한국식품 저장유통학회	하늘이	2022. 8. 16 ~ 18	포항	한국
21	2023년 한국균학회 추계학술대회	Jung- Min Lee	2023. 05. 10	경기 양평 블룸비스타	한국
22	2023년 한국균학회 추계학술대회	Eun- Ju Kim	2023. 05. 10	경기 양평 블룸비스타	한국
23	한국식품 저장유통학회	임승빈	2023. 8. 16 ~ 18	제주	한국
24	Asian Mycological Congress 2023	Eun- Ju Kim	2023. 10. 10	부산 BEXCO	한국
25	Asian Mycological Congress 2023	Yun- Jeong Kim	2023. 10. 10	부산 BEXCO	한국
26	2023 한국버섯학회 추계학술대회	Hyun- Suk Kim	2023. 10. 26.	탄금호 국제조정경기장	한국

번호	중	빙
1		
2		
3		
4		

<p>5, 6</p>	<p>[MEM-DW2-P10] Diversity of ectomycorrhizal root tips isolated from Fagaceae plants along the soil pH level Hyun-Hwan Lee* <i>Department of Ecology Education, Korea National University of Education, Chungju 281-701, Republic of Korea</i> hyunhlee210@gmail.com</p> <p>Soils in limestone area have high pH level due to the high calcium concentration. Limestone soils are well-drained and can be sandy soil. Therefore, symbiosis with mycorrhizas is essential for plant in this area. Ectomycorrhizal fungi (ECM) are microorganisms which mainly form a symbiotic relationship with woody plants. They play an important role that contributing to the cycle of forest ecosystem. ECM increase the absorption of water or mineral nutrient, and provide the resistance against stress or pathogen to host plant. In this study, we confirmed the ECM species isolated from mycorrhizal root tips in the limestone area, and</p>  <p style="text-align: right;">2</p>	<p>[MEM-DW2-P11] Species diversity of ectomycorrhizal fungi in limestone areas using next generation sequencing method Jang-Daeh Lee*, Ahn-Hyeon Eom* <i>Department of Ecology Education, Korea National University of Education, Chungju 281-701, Republic of Korea</i></p> <p>Ectomycorrhizal fungi (ECM) are organisms that form symbiotic relationships with plant roots. They promote nutrient absorption of host plants and provide them from root pathogens or environmental stress. Thus, the ECM community can affect the plant community directly or indirectly. Limestone refers to a rock that contains at least 50% of the carbonate minerals. There is three areas host to symbiotic with more mycorrhizas because of selective symbiosis.</p> <p>In this study, we identified ECM and confirmed species diversity in limestone soil areas. We sampled ectomycorrhizal roots from the plants belonging to genera <i>Quercus</i>, including <i>sessiflora</i> and <i>acuta</i>, <i>Quercus sp.</i>, <i>Jackia sp.</i>, <i>Hemiphanax sp.</i>, <i>Taphozia sp.</i>, <i>Sarcophaga sp.</i>, <i>Yungiporia sp.</i>, <i>Jiangshen sp.</i>, <i>Clitogium</i>, <i>Merizolus</i> <i>Murgessporia</i> of the nearest ectomycorrhizal fungi by NGS analysis of ITS2-ETS1. As a result, we confirmed 78 fungal species from 18 genera from plant roots. In the area with low pH, the genera <i>Termitomyces</i> prevailed, and in the area with high pH, the genera <i>Sclerococcium</i> prevailed. In addition, the diversity of ECM tended to decrease with the increase of pH. We confirmed that species diversity of ECM communities increased continuously according to pH level of soils.</p> <p style="text-align: right;">70</p> 
<p>7</p>	 <p style="text-align: right;">KSM 2021 Spring International Meeting</p>	 <p style="text-align: right;">Mycoheritization of Quercus spp. with Tuber Atractinomyces and Tuber Aleocharomyces isolated in Korea</p>
<p>8</p>	 <p style="text-align: right;">제76회 한국생물과학협회 정기학술대회</p>	<p>[MEM-DW2-P12] Community Structure Analysis of Ectomycorrhizal Fungi Belonging to <i>Pisum abrotanifera</i> and <i>Quercus</i> spp. in Ulsan Jae-Wook Choi*, Seok-Yong Park, Heng-Yun Lee, Ahn-Hyeon Eom* <i>Department of Ecology Education, Korea National University of Education, Chungju 28171</i></p> <p>Ectomycorrhizal fungi (EMF) are ecologically important symbionts that co-exist with plants and provide a variety of benefits. This study investigated the differences in the EMF communities structure according to host plants. The study was conducted in two mixed forests during succession, and both were dominated by <i>Pisum abrotanifera</i> and <i>Quercus</i> spp. In each region, the roots were collected by selecting 5 each of <i>Pisum abrotanifera</i> and <i>Quercus</i> spp. about 100 samples (three sites) were randomly taken from the host plant stems of the collected samples and DNA was analyzed by the NGS (Next Generation Sequencing, Illumina MiSeq). The analysis results were filtered with a 97% cut-off condition, and the sequences corresponding to EMF were taxonomically classified and used for community structure analysis. As a result, the EMF community structure found in <i>Pisum abrotanifera</i> and <i>Quercus</i> spp. differed depending on the host plant.</p>
<p>9</p>	 <p style="text-align: right;">KSM 2021 Autumn International Meeting</p>	 <p style="text-align: right;">Mycoheritization of Two Spine Oak Trees with Tuber sp. Colored in Korea</p>
<p>10</p>	 <p style="text-align: right;">KSM 2021 Autumn International Meeting</p>	 <p style="text-align: right;">Effect of pH on the Diversity and Taxonomic Community Structure of Quercus spp. in Limestone Area</p>

11		
12		
13		
14		
15		

<p>16</p>		
<p>17</p>		
<p>18</p>		
<p>19</p>		
<p>20</p>		
<p>21</p>		



[기술적 성과]

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	상수리나무와 떡갈나무를 이용한 한국산 송로버섯의 접종묘 생산 방법	대한민국	염안흠, 박혁, 권주희	2022. 4.22.	10-2022-0049485				100%		
2	한국산 상수리나무를 이용한 유럽산 트리플 접종묘의 생산 방법	대한민국	염안흠, 이정민, 오득실, 김현석	2022. 12.7.	10-2022-0169400				100%		
3	멸칭을 이용한 루베르 종의 재배방법 및 종 특이적 분자생물학 분석을 통한 균사생장 측정 방법	대한민국	염안흠, 이정민	2023. 8. 7.	10-2023-0102668				100%		

증빙	
<p>출원서류</p> <p>출원번호통지서</p> <p>출원번호: 2022-1237 특 가 사 항: 심사청구(의) 공개신청(의) 출원번호: 한국특허청(의) 출원번호 10-2022-0102668 (특허청 공고번호) 출원인 명칭: 한국과학기술원(의) 출원번호 10-2022-0102668 대리인 명칭: 김정현(의) 2031-03321-4 발명자 명칭: 염안흠, 이정민, 오득실, 김현석 발명의 명칭: 멸칭을 이용한 루베르 종의 재배방법 및 종 특이적 분자생물학 분석을 통한 균사생장 측정 방법</p> <p>특 허 청 장</p> <p>※ 권리의 출원은 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인 가능하며, 출원번호를 통해 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 출원번호 10-2022-0102668 (출원번호 10-2022-0102668)에 대한 출원번호 통지서 및 심사청구(의) 공개신청(의) 통지서 등 관련 서류는 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 권리의 우선, 연차 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고개번호) 정보변경(명), 행정신고서를 제출하여 출원번호의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. ※ 기타 심사 절차(예외)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고개상담센터(144-8000)에 문의하여 주시기 바랍니다. ※ 심사제도 안내: https://www.kipo.go.kr</p>	<p>발명서류</p> <p>출원번호통지서</p> <p>출원번호: 2022-1237 특 가 사 항: 심사청구(의) 공개신청(의) 출원번호: 한국특허청(의) 출원번호 10-2022-0102668 (특허청 공고번호) 출원인 명칭: 한국과학기술원(의) 출원번호 10-2022-0102668 대리인 명칭: 김정현(의) 2031-03321-4 발명자 명칭: 염안흠, 이정민, 오득실, 김현석 발명의 명칭: 멸칭을 이용한 루베르 종의 재배방법 및 종 특이적 분자생물학 분석을 통한 균사생장 측정 방법</p> <p>특 허 청 장</p> <p>※ 권리의 출원은 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인 가능하며, 출원번호를 통해 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 출원번호 10-2022-0102668 (출원번호 10-2022-0102668)에 대한 출원번호 통지서 및 심사청구(의) 공개신청(의) 통지서 등 관련 서류는 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 권리의 우선, 연차 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고개번호) 정보변경(명), 행정신고서를 제출하여 출원번호의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. ※ 기타 심사 절차(예외)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고개상담센터(144-8000)에 문의하여 주시기 바랍니다. ※ 심사제도 안내: https://www.kipo.go.kr</p>
<p>관련서류</p> <p>출원번호통지서</p> <p>출원번호: 2023-0807 특 가 사 항: 심사청구(의) 공개신청(의) 출원번호: 10-2023-0102668 (출원번호 10-2023-0963076-45) (특허청 공고번호) 출원인 명칭: 한국과학기술원(의) 출원번호 10-2023-04047-7 대리인 명칭: 김정현(의) 2031-03321-4 발명자 명칭: 염안흠, 이정민 발명의 명칭: 멸칭을 이용한 루베르 종의 재배방법 및 종 특이적 분자생물학 분석을 통한 균사생장 측정 방법</p> <p>특 허 청 장</p> <p>※ 권리의 출원은 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인 가능하며, 출원번호를 통해 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 출원번호 10-2023-0102668 (출원번호 10-2023-0963076-45)에 대한 출원번호 통지서 및 심사청구(의) 공개신청(의) 통지서 등 관련 서류는 특허청의 인터넷 사이트(www.kipo.go.kr)에서 확인할 수 있습니다. ※ 권리의 우선, 연차 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고개번호) 정보변경(명), 행정신고서를 제출하여 출원번호의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다. ※ 기타 심사 절차(예외)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고개상담센터(144-8000)에 문의하여 주시기 바랍니다. ※ 심사제도 안내: https://www.kipo.go.kr</p>	

[경제적 성과]

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

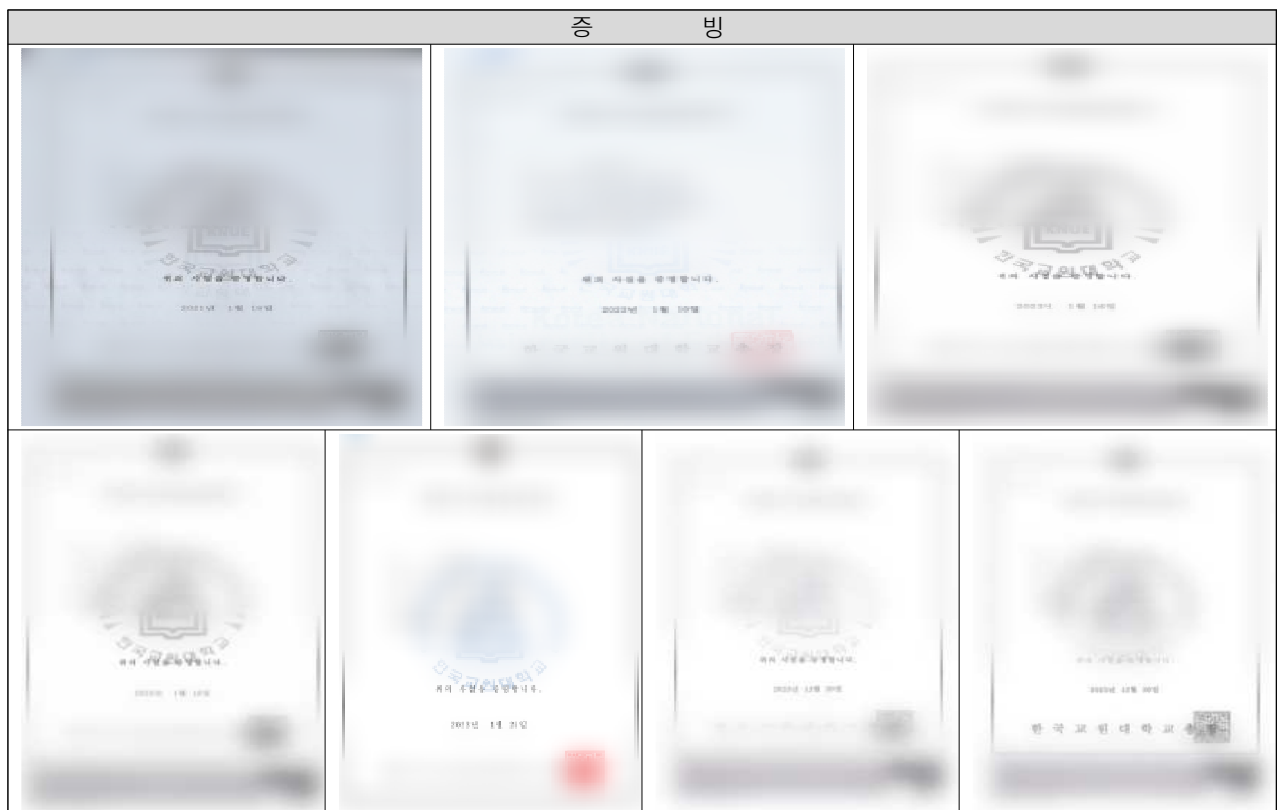
□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)				합계
			2020년	2021년	2022년	2023년	
1	트리플 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장실증	한국교원대학교	-	1	-	-	1
2		전남산림자원연구소	1	1	2	2	6
3		한국농수산대학교	-	-	1	-	1
합계			1	2	3	2	8

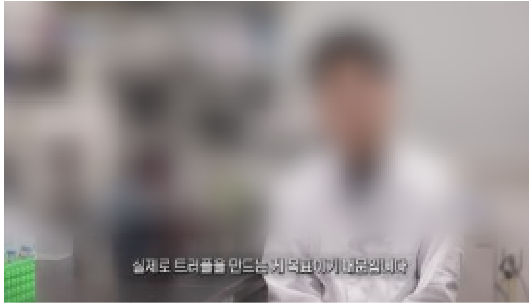
[사회적 성과]

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기존 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	졸업	2020												
2	졸업	2021		1			1			1				
3	졸업	2022		1				1		1				
4	졸업	2023		3			2	1		3				
5	졸업	2024		2			1	1		2				
계			0	7	0	0	4	3	0	7	0	0	0	0



4



5



6



언론보도 결과보고

□ 보도자료명 : 전남 산림자원연구소 '땅속의 다이아몬드' 트러플 인공 재배 연구 기사

□ 보도 내역 : 37회

구분	언론사명	보도 일자	기사 제목	비고
1	라디오전남뉴스	11.3	전남산림자원연구소, '땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공 재배 연구	전남산림뉴스
2	아시아경제	11.3	전남 산림자원연구소 '땅속의 다이아몬드' 트러플 인공 재배 연구 기사	전남산림뉴스
3	매스넷뉴스	11.3	전남도, '땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구 기사	전남산림뉴스
4	일요서울	11.3	[전남도브리핑] 세계 3대 귀미 '땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구	전남산림뉴스
5	송정리창	11.3	전남산림자원연구소, '땅속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구	전남산림뉴스
6	연합뉴스	11.3	전남도산림자원연구소, 2024년까지 국내 10억 원 투입	전남산림뉴스
7	무등일보	11.3	국내 최초 '트러플' 인공재배 연구한다	산림
8	전남일보	11.3	'땅 속의 다이아몬드' 송정리창 전남산림자원연구소 인공재배 연구	산림
9	뉴스워치	11.3	'땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구	전남산림뉴스
10	광남일보	11.3	'땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구 전남산림자원연구소, 연구기간 전월, 2024년까지 국내 10억 지원	산림
11	남도일보	11.3	'땅 속 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구 본격화	산림
12	브레이크뉴스	11.3	'땅 속의 다이아몬드' 트러플 인공재배 연구 전남산림자원연구소, 연구기간 전월, 2024년까지 국내 10억	전남산림뉴스
13	글로벌이코노믹	11.3	세계 3대 귀미 송정리창 '트러플' 인공재배 연구 특수 전남도산림자원연구소, 2024년까지 국내 10억 원 투입	전남산림뉴스







□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	과총 제2023-148호	제 33회 과학기술 우수논문상	우수논문상	한국교원대학교 (엄안흠)	2023. 07. 06	한국과학기술단체총연합회
2	수상	우수논문상	우수논문상	(재)장흥군버섯산업연구원	2023. 8. 18.	한국식품저장유통학회
3	수상	우수논문상	우수논문상	한국교원대학교 (엄안흠)	2022. 10. 13.	한국균학회
4	수상	우수논문상	우수논문상	(재)장흥군버섯산업연구원	2022. 08. 16.	한국식품저장유통학회

번호	증빙	번호	증빙
1		2	
3		4	

□ 교육 지도

번호	교육명	일자	장소	교육 대상	주요내용
1	트러플의 특징과 재배	22.10.5	한국농수산대학교	한국농수산대학교 버섯전공 (30명)	트러플의 균류 특성 및 재배, 가공 유통 등 전반적인 산업 현황
2	특용작물 미래포럼 심포지엄 - 균근성 버섯의 인공재배	22.6.16.	국립원예특작과학원	버섯 및 특용작물 관련 종사자 : 107명 (농진청 36, 도농기원 34, 대학 13, 기타 24)	균근성 버섯의 인공재배- 해외 버섯 연구 동향으로 본 버섯연구 방향
3	균근성 균류의 특징 및 산업적 이용	2023.5.3.	한국농수산대학교 융합교육관	미래산업CEO 버섯과정 (25명)	국내 트러플 자생지 및 연구 현황

번호	증	빙
1		
2		
3		

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 보유균주 최적 배양조건 규명	- 온도, 최적배지(영양원), 산도 확인	○ 100%
○ 국내 자생 트러플 균주 확보	- <i>Tuber huidongense</i> , <i>T. himalayense</i> , <i>T. koreanum</i> 3종 확보	○ 100%
○ 국외 트러플 균주 및 수입접종묘 확보·관리	- <i>Tuber borchii</i> , <i>T. albidum</i> , <i>T. puberulum</i> 3종 확보 - 수입접종묘 확보 : 150본 / 시험포 관리, 유지	○ 100%
○ 해외 접종묘 생산방법 벤치마킹	- 해외 접종묘 생산지 조사 및 유통회사 조사분석 - 해외 접종묘 생산 및 관리 방법 조사분석 - 해외 트러플 연구개발 및 산업동향 조사 : 일본, 중국	○ 100%
○ 트러플 접종묘 생산기술 연구	- 수종별, 균주별 접종기술 확보 *특허출원: 2건	○ 100%
○ 트러플 자생지 확보 및 특성 조사	- 국내 트러플 자생지 확보 : 경주, 문경 등 7개소 - 자생지내 외생균 분포 특성 확보 - 자생지 토양특성(토질 등) 확보 - 자생지 기상환경 특성 확보 - 국내 자생지와 해외 주요 생산지 환경 비교 분석 - 국내 자생 트러플 생활사 확인	○ 100%
○ 트러플 접종묘 현장실증포 조성 및 재배기술 연구	- 국내 현장실증포 조성(3개소) : 나주, 담양, 청주 - 접종묘 생육특성 조사 - 접종묘 현장 재배기술 및 관리법 확보 *특허 출원 : 1건	○ 100%
○ 국내외 수집 자원 품질 특성 연구	- 트러플 자실체 일반성분 분석 - 트러플 및 관련제품 기능성성분 분석 : 미네랄, 비타민C, 비타민D ₂ , 에르고스테롤, 베타글루칸 - 트러플 및 관련제품 정미성분 분석 : 아미노산, 핵산 - 트러플 향기성분 분석	○ 100%
○ 국내외 수집 균주 배양체 품질 평가	- 트러플균사배양체 품질 특성 분석 (아미노산, 향기성분, 미네랄, 베타글루칸, 비타민 D ₂ , 에르고스테롤, 유리당, 유기산, 일반성분)	○ 100%

4. 목표 미달 시 원인분석(해당사항 없음)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 국내 고유 균주 확보 및 자생수종을 이용한 접종묘 생산기술 개발
- 국내 트러플 자생지 및 자실체 발생 예정지 확보
- 자실체 생산을 위한 토질 및 환경조건 구명을 통한 재배환경 조성 기술 확보
- 국내 트러플 인공재배를 위한 기초 기술 확보
- 국내외 트러플 품종별 배양 조건 확립 및 대량 배양 기초기술 확보
- 트러플 접종묘 현장 실증재배지 확보 및 인공재배 기초기술 확보
- 국내 자생 트러플 생활사 확인
- 국내외 트러플(자실체, 균사체, 시제품) 성분 분석을 통한 기초데이터 확보

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 본 연구에서 확보된 국내 트러플 자생지 이외의 자생지 및 균주 추가 확보
- 국내외 수집 자실체 및 유전자원 보존 관리
- 국내 트러플 생활사 및 재배기술 관련 교육 자료 활용
- 트러플 인공재배를 위한 농장조성 및 재배 시 교육 및 컨설팅 자료 활용
- 트러플 접종묘 생산 기술 현장 적용을 통한 기술이전을 통한 사업화 추진
- 대한민국 고유 트러플 재배기술 확보를 통한 트러플 생산국가로서의 국가이미지 제고
- 트러플 관련 건강기능식품 등 시제품 개발 활용
- 국내 트러플을 이용한 가공상품 개발을 통한 수입품 대체
- 새로운 소득원 발굴을 통한 소득 증대 및 버섯산업 활성화를 통한 지속 가능한 미래 먹거리 산업기술 발전

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2024	2025	2026	2027	2028
국외논문	SCIE	-	-	-	-	-
	비SCIE	-	-	-	-	-
국내논문	SCIE	-	-	-	-	-
	비SCIE	-	1	-	-	-
특허출원	국내	-	-	-	-	-
	국외	-	-	-	-	-
특허등록	국내	-	1	1	1	-
	국외	-	-	-	-	-
인력양성	학사	-	-	-	-	-
	석사	-	-	-	-	-
	박사	-	-	-	-	-
사업화	시제품개발	-	-	-	-	-
	상품출시	-	-	-	-	-
	기술이전	-	-	-	-	-
	공정개발	-	-	-	-	-
	매출액(단위 : 천원)	-	-	-	-	-
	기술료(단위 : 천원)	-	-	-	-	-
비임상시험 실시		-	-	-	-	-
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	-	-	-	-
		2상	-	-	-	-
		3상	-	-	-	-
	의료기기	-	-	-	-	-
진료지침개발		-	-	-	-	-
신의료기술개발		-	-	-	-	-
성과홍보		-	-	-	-	-
포상 및 수상실적		-	-	-	-	-
정성적 성과 주요 내용		-	-	-	-	-

< 별 첨 자 료 >

참고문헌

1. <https://gourmetattitude.com/>
2. <https://planet-vie.ens.fr/>
3. <https://www.truffefrance.com/>
4. www.tuber2023.com
5. <https://www.atcc.org/>
6. <https://wi.knaw.nl>
7. www.micofora.com
8. Christine R Fischer, Daniel Oliach, José Antonio Bonet, Carlos Colinas. 2017. Best practices for cultivation of truffles "best practices for cultivation of truffles".
9. Johann Bruhn. 2011. Burgundy Black Truffle Cultivation in an Agroforestry Practice. AGROFORESTRY IN ACTION. The Center for Agroforestry at the University of Missouri
10. Shota Nakano, Akihiko Kinoshita, Keisuke Obase, Noritaka Nakamura, Hitomi Furusawa, Kyotaro, Noguchi and Takashi Yamanaka. 2022. Physiological characteristics of pure cultures of a white-colored truffle *Tuber japonicum*. Mycoscience. 63:53-57.
11. Ulrich Stobbe, Simon Egli, Willy Tegel, Martina Peter, Ludger Sproll, Ulf Büntgen. 2013. Potential and limitations of Burgundy truffle cultivation. Appl Microbiol Biotechnol. 97:5215-5224
12. Alessandra Zambonelli, Mirco Iotti, Ian Hall. 2015. Current status of truffle cultivation: recent results and future perspectives. Micologia Italiana vol. 44

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업 트리플 인공 재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증 연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(농림식품기술기획평가원)에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	319106-5		
사업구분					
연구분야				과제구분	단위
사업명	농생명산업기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	트러플 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증			과제유형	(기초,응용,개발)
연구개발기관	전남산림자원연구소			연구책임자	오득실
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2019.9.~2020.2	150,000	-	150,000
	2차년도	2020.2.~2021.2	214,000	-	214,000
	3차년도	2021.2.~2022.2	212,000	-	212,000
	4차년도	2022.2.~2023.2	212,000	-	212,000
	5차년도	2023.2.~2024.2	212,000	-	212,000
	계	2019.9.~2024.2.	1,000,000	-	1,000,000
참여기업	-				
상대국	-	상대국연구개발기관	-		

2. 평가일 : 2024. 4. 15.

3. 평가자(연구책임자)

소속	직위	성명
전남산림자원연구소	연구소장	오득실

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	오득실
----	-----

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량

- 국내 고유 균주확보 및 자생수종을 이용한 접종묘 생산기술 개발
- 국내 트러플 자생지 확보 및 자생지 특성(토질, 기상 조건 등) 확보
- 국내 자생지의 자실체 발생 시기 특정 및 생활사 제작
- 국내 자생 트러플 확보 및 재분류 동정
- 국내 트러플 인공재배를 위한 기초 기술 확보
- 해외 트러플 접종묘 및 자실체 생산 방법 및 재접종법 분석
- 트러플 품종별 균사체 배양 조건 확립 및 대량배양 기초기술 확보
- 트러플 접종묘 현장 실증재배지 확보 및 인공재배 기초 기술 확보
- 트러플 품종별 유용성분 데이터 확보(자실체, 균사체, 가공상품)

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 트러플 접종묘 생산 기술 현장 적용을 통한 기술이전을 통한 사업화 추진
- 대한민국 고유 트러플 재배기술 확보를 통한 트러플 생산국가로서의 국가이미지 제고
- 국내 트러플을 이용한 가공상품 개발을 통한 수입품 대체
- 새로운 소득원 발굴을 통한 소득 증대 및 버섯산업 활성화를 통한 지속 가능한 미래 먹거리 산업기술 발전

3. 연구개발결과에 대한 활용 가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 연구에서 확보된 국내 트러플 자생지 이외의 자생지 및 균주 추가 확보
- 국내·해외 유전자원, 자실체 보존 관리를 통한 생명자원 활용
- 재배환경(토양 특성 및 환경 조건) 확인으로 농장 조성 컨설팅과 재배 교육 활용
- 트러플 품종별 성분데이터 활용 건강기능식품 등 시제품 개발

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 각 기관별 수행 과제 및 업무 분장에 따른 정량, 정성 지표 완료
- 본 과제 수행에 필요한 국·공립 연구소 및 국내외 전문 인력을 적극적으로 활용하여 본 연구의 질적 수준과 연구의 완성도를 높임

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- SCI 논문 - 3건(정량목표 달성 100%)
- 비SCI 논문 - 7건(정량목표 미달성 87%)
- 포스터 발표 - 26건(정량목표 초과 달성 230%)
- 특허 출원 - 3건(정량목표 초과 달성 150%)

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체 평가
○ 보유균주 최적 배양조건 규명	10	10	- 온도, 최적배지(영양원), 산도 확인
○ 국내 자생 트러플 균주 확보	10	10	- <i>T. huidongense</i> , <i>T. himalayense</i> , <i>T. koreanum</i> 3종 확보
○ 국외 트러플 균주 및 수입접종요 확보·관리	10	10	- <i>T. borchii</i> , <i>T. albidum</i> , <i>T. puberulum</i> 3종 확보 - 수입접종요 확보 및 시험포 관리
○ 해외 접종요 생산방법 벤치마킹	10	10	- 해외 접종요 생산지 조사 및 유통회사 조사분석 - 해외 접종요 생산 및 관리 방법 조사분석 - 해외 트러플 연구개발 및 산업동향 조사
○ 트러플 접종요 생산기술 연구	15	15	- 수종별, 균주별 접종기술 확보
○ 트러플 자생지 확보 및 특성 조사	15	15	- 국내 트러플 자생지 확보 - 자생지내 외생균 분포 특성 확보 - 자생지 토양특성(토질 등) 확보 - 자생지 기상환경 특성 확보 - 국내자생지와 해외 주요생산지 환경 비교 분석 - 국내 자생 트러플 생활사 확인
○ 트러플 접종요 현장실증포 조성 및 재배기술 연구	10	10	- 국내 현장실증포 조성(3개소) - 접종요 생육특성 조사 - 접종요 현장 재배기술 및 관리법 확보
○ 국내외 수집 자원 품질 특성 연구	10	10	- 트러플 자실체 일반성분 분석 - 트러플 및 관련제품 기능성성분 분석 - 트러플 및 관련제품 정미성분 분석 - 트러플 향기성분 분석
○ 국내외 수집 균주 배양체 품질 평가	10	10	- 트러플균사배양체 품질 특성 분석
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구를 통하여 트러플 인공재배를 위한 다양한 연구를 실시하였으며, 그 결과 ①트러플 접종묘 생산 및 재배기술 개발 ②국내 트러플 자생지 확인 및 특성 확인 ③국내외 트러플 유전자원 및 자실체 확보 ④해외 트러플 인공재배 기술 및 연구 현황 확보 ⑤트러플(자실체, 균사체, 가공제품)의 일반성분, 기능성성분, 향기성분 분석하였음. 그 결과, SCI(3건), 비SCI(7건), 특허출원(3건), 포스터발표(25건)하여 계획보다 초과 달성하였음. 또한, 새로운 농업분야 소득원 개발을 위해 트러플 인공재배기술을 개발하고 재배환경 특성을 확립한 부분은 농생명산업기술개발사업 목적에 부합하며, 매우 우수한 결과라고 판단됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

본 연구에서는 당초 연구 계획서에 제시하였던 정량적 연구 목표 중 비SCI 1편을 미달성하였으나, 이는 특허 출원을 위하여 논문발표 대신 특허 출원을 진행하였기 때문이며, 다른 연구 성과부분은 모두 달성 또는 초과달성 하였음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구에서 개발된 트러플 접종묘 생산 및 재배기술 관련 3건을 특허 등록하여 본 연구개발로 도출된 특허 기술의 우수성을 알리고 새로운 소득 작목으로 육성하고자 함. 또한, 후속과제를 발굴하여 트러플 인공재배기술에 대한 추가적인 연구과제를 수행하고, 발생된 많은 연구성과들을 활용하여 트러플 재배시 컨설팅 및 교육자료로 활용하고자 함.

IV. 보안성 검토

1. 연구책임자의 의견

본 연구과제에서 도출된 트러플 접종묘 생산 및 재배기술에 관한 특허는 현재 출원만 진행된 상태이며, 등록이 되지 않아 추후 3년간 보안이 필요하다고 판단됨.

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

본 연구과제 공동연구기관의 연구진들의 의견을 들은 결과, 보안이 필요할 것을 판단됨.

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	농생명산업기술개발사업	
연구과제명	트리플(서양송로) 인공재배를 위한 접종묘 생산 및 현장 실증			
주관연구개발기관	전남산림자원연구소		주관연구책임자	오 득 실
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	1,000,000,000원	-	-	1,000,000,000원
연구개발기간	2019. 9. 20. ~ 2024.2.19.(4년 5개월)			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 보유균주 최적 배양 조건 규명	- 온도, 최적배지(영양원), 산도 확인
② 국내 자생 트리플 균주 확보	- <i>T. huidongense</i> , <i>T. himalayense</i> , <i>T. koreanum</i> 3종 확보
③ 국외 트리플 균주 및 수입접종묘 확보, 관리	- <i>T. borchii</i> , <i>T. albidum</i> , <i>T. pubrralum</i> 3종 확보 - 수입접종묘 확보 및 시험포 관리
④ 해외 접종묘 생산기술 확보	- 해외 접종묘 생산지 조사 및 유통회사 조사분석 - 해외 접종묘 생산 및 관리 방법 조사분석 - 해외 트리플 연구개발 및 산업동향 조
⑤ 트리플 접종묘 생산기술 확보	- 수종별, 균주별 접종기술 확보
⑥ 트리플 자생지 확보 및 특성 조사	- 국내 트리플 자생지 확보 - 자생지내 외생균 분포 특성 확보 - 자생지 토양특성(토질 등) 확보 - 자생지 기상환경 특성 확보 - 국내자생지와 해외 주요생산지 환경 비교 분석 - 국내 자생 트리플 생활사 확
⑦ 트리플 접종묘 현장실증포 조성 및 재배기술 연구	- 국내 현장실증포 조성(3개소) - 접종묘 생육특성 조사 - 접종묘 현장 재배기술 및 관리법 확보
⑧ 국내외 수집 자원 품질 특성 연구	- 트리플 자실체 일반성분 분석 - 트리플 및 관련제품 기능성성분 분석 - 트리플 및 관련제품 정미성분 분석 - 트리플 향기성분 분석
⑨ 국내외 수집 균주 배양체 품질 평가	- 트리플균사배양체 품질 특성 분

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타연구활용등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T P R O T E C T I O N	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI	논 문 평 관 I F						
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	명	건	건		
가중치	20	20								15				15	10	10		10		
최종 목표	2	2								9				11	3	4		5		
당해 년도	목표	2	2							9				11	3	4		5		
	실적	3	0							10				25	3	7		6		
달성률 (%)	150	0								110				230	100	175		120		

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	상수리나무와 떡갈나무를 이용한 한국산 송로버섯의 접종묘 생산방법
②	한국산 상수리나무를 이용한 유럽산 트러플 접종묘의 생산 방법
③	멀칭을 이용한 루베르종의 재배방법 및 종특이적 분자생물학 분석을 통한 균사생장 측정 방법

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√				√				
②의 기술		√				√				
③의 기술		√				√				

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	특허 등록 후 트러플 접종묘 대량생산 기술 이전을 통한 새로운 소득작목 육성
②의 기술	특허 등록 후 트러플 접종묘 대량생산 기술 이전을 통한 새로운 소득작목 육
③의 기술	특허 등록 후 트러플 접종묘 대량생산 기술 이전을 통한 새로운 소득작목 육성

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타연구 활용(기))
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문				학 술 발 표	정 책 활 용	
											SCI		비 SCI	논 문 평 관 I F					
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건		
가중치		100																	
최종목표		2											1						
연구기간내 달성실적																			
연구종료후 성과창출 계획		2											1						

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화에상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화에상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)