GOVP1200512727

최 종
연구보고서

표고의 새로운 배지개발과 생산성향상에 관한 연구

Studies on Development of New Substrates and Improvement of Productivity for Shiitake Cultivation

연 구 기 관

임 업 연 구 원

(경북대학교, 강원대학교)

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “표고의 새로운 배지개발과 생산성 향상에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 5월 일

주관연구기관명 : 임업연구원
총괄연구책임자 : 박원철
세부연구책임자 : 박원철
세부연구책임자 : 윤갑희
세부연구책임자 : 박지두
연 구 원 : 여운홍
연 구 원 : 이상길
연 구 원 : 김길하
연 구 원 : 가강현
연 구 원 : 박현
연 구 원 : 김명길
연 구 원 : 이학주
연 구 원 : 강호덕
연 구 원 : 최중식
연 구 원 : 이봉훈
연 구 원 : 나정은
협동연구기관명 : 경북대학교
협동연구책임자 : 이종윤
연 구 원 : 양재경
연 구 원 : 임부길
협동연구기관명 : 강원대학교
협동연구책임자 : 이종규

요 약 문

I. 제목

표고의 새로운 배지 개발과 생산성 향상에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

표고톱밥재배 방법은 경노동성으로 재배과정의 대부분을 기계화할 수 있으며, 재배원목을 톱밥으로 조체하여 사용함으로써 거의 100% 이용할 수 있는 특징이 있다. 또한, 톱밥재배의 버섯 생산성도 원목재배에 비하여 2~3배 이상 달할 수 있는 등 많은 장점이 있는 새로운 재배방식으로 유망한 재배기술이다. 그러나 표고재배자의 증가로 인하여 주 재배 수종인 참나무 자원 부족과 가격상승 등이 큰 문제로 대두되고 있어서 다양한 새로운 배지개발이 요구되고 있는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 주요 미이용 활엽수종의 톱밥배지 자원 개발을 위하여 톱밥배지에 대한 영양분 탐색과 표고 균의 영양 요구성, 적정 영양원과 배지조성 등을 구명하고, 균사배양 특성과 생산성을 검정함으로써 실용화 가능한 새로운 톱밥배지를 개발하고자 하였다.

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

현재 표고버섯 재배에 있어 사용되지 못하고 있는 국내산 침엽수재를 이용하여 표고버섯 재배용 톱밥배지를 개발하는데 본 연구의 목적이 있다.

국내의 표고재배는 대부분 원목 재배에 의존하고 있으며, 최근에 톱밥배지를 이용한 표고재배방법이 많이 시도 되고 있는 현실에 있다. 현재 톱밥배지의 대부분은 활엽수인 참나무류 수종만 이용되고 있고, 참나무 톱밥에 활엽수

톱밥을 혼합하여 사용하는 재배방법이 있으나, 생산성은 기대에 미치지 못하고 있는 실정에 있다. 따라서 활엽수인 참나무 대체 수종 및 침엽수를 이용한 톱밥배지 개발이 현재 시급한 현실에 있어 본 과제의 성공적인 수행 시 부족한 톱밥배지의 원활한 공급 및 미 이용되고 있는 침엽수 톱밥의 배지로써 이용이 기대된다.

표고재배에 필요한 참나무 원목의 요구량이 많아짐에 따라 표고재배용 원목의 가격이 급격히 상승하고 있으며, 일부에서는 참나무 원목의 수급이 원활하지 못하여 표고재배규모를 축소하는 경향도 있다. 따라서 참나무 원목의 가격 상승으로 인한 표고생산 원가가 동시에 상승되고 있어 미 이용 침엽수재 톱밥배지의 개발은 원료의 안정적인 공급에 따른 원가절감과 표고버섯 생산에 있어 판매단가의 안정 등을 도모할 수 있다.

국내 참나무 원목의 품귀현상으로 인한 중국산 참나무의 수입이 증가되고 있고, 약리작용 및 기능성 식품 소재로 평가받고 있는 표고버섯의 수요가 지속적으로 증대하고 있다. 소비자의 가격만족을 위해서는 표고재배용 원목가격이 저렴해야만 하고, 이러한 표고버섯의 안정적인 공급과 소비확대를 본 연구 수행으로 타파할 수 있을 것으로 판단된다.

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

표고는 우리나라 식용인산버섯중 가장 중요한 버섯으로써 농가의 단기소득을 위한 산업으로 크게 성장하여 왔다. 현재 표고재배농가는 약 1만호가 되는데 약 4,000톤을 생산하여 약 1,600억원의 수입을 올리고 있다. 표고는 단위면적당 생산성이 타 작목에 비해 높은 농가의 주요 소득원으로 재배농가가 계속 급증하고 있다. 이와 같이 표고의 수요와 가치, 의학적 효능 등이 증대되고 있어, 표고의 재배기술이 꾸준히 개발되어 왔다. 표고 재배기술과 아울러 표고의 생산성 및 품질에 영향을 주는 가장 근본적인 요인의 하나가 우량품종의 육성이다. 일본, 중국 등 버섯산업의 선진국에느 수백 개의 다양한 표고품종이 개발되어 있어 선택의 폭이 넓지만, 우리나라는 아직 16개밖에 개발되어 있지 않아 품종의 다양성이 매우 빈약한 실정이다. 따라서 본 연구는 여러 가지 품종 육종기술을 정립하고, 새로 만들어진 균주에 대한 생산성검정을 통하여 우수균주를 선발하기 위하여 실시하였다.

4. 병해방제기술 개발

표고버섯은 재배과정중에 다양한 종류의 병해에 의해 피해를 입고 있으며, 이들에 의한 생산성 저하는 다른 작목에 비해 상대적으로 큰 것으로 알려져 있다. 특히 병원균에 의한 피해는 진균, 세균, 바이러스 등에 의해 발생하며 진균의 종류만도 150여종이나 알려져 있고, 피해정도는 표고버섯 균사의 생장정도, 병원균의 병원성, 환경요인(온도, 습도, 광 등)에 따라 크게 달라질 수 있으므로 이들 병원균의 생리, 생태 등에 생물학적 특징이 밝혀진다면 표고버섯 재배시에 적절한 환경관리를 통하여 효과적이 방제가 가능하리라 판단된다. 그러나 우리나라에서는 아직 표고 재배시에 발생하는 병해의 종류, 피해 수준, 생리 및 생태, 방제 등에 대한 종합적인 연구가 이루어져 있지 않은 상태이므로 이 연구에서 표고버섯 병해의 발생상황 조사, 병원균의 분리 및 동정, 병원성 검정, 생리 및 생태 조사, 방제기술의 개발 등에 대한 연구를 수행하여 표고버섯 병해의 효과적인 방제기술개발을 통한 표고버섯 생산성 향상에 이바지 하고자 한다. 또한 표고버섯 병해 방제기술의 개발은 다른 재배버섯의 병해 방제에도 적용시킬 수 있는 모델이 될 수 있을 것이다.

5. 충해방제기술 개발

현재 우리 나라 농가의 표고재배 확대에 따라 버섯나무 해충의 발생이 증가하고 있으나 효율적인 방제 기술이 개발되지 않아 막대한 생산량 감소를 초래하고 있는 실정으로 효과적인 방제제 개발이 시급함. 표고 충해의 방제기술이 개발되면, 표고 생산성 향상과 함께 양질의 표고 생산으로 재배농가의 소득을 크게 증대시킬 수 있을 것이다.

버섯의 품질을 저해하는 요인중 해충에 의한 피해가 70~80%를 차지하는 것으로 조사된 바 있어, 표고 생산성 향상을 위해서는 생산기반이 되는 버섯나무 가해해충인 털두꺼비하늘소와 톱밥재배시 문제가 되는 긴수염버섯파리의 효과적인 방제법 구명이 필수적이다.

우리 나라에서는 표고충해의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구가 체계적으로 이루어진 경우가 없으나, 일본 등지에서는 이 분야의 연구가 오랫동안 진행되어 현재는 효과적인 방제법을 확립하고 있는 단계이다.

일본의 경우 표고버섯나무 해충으로 하늘소과 47종, 나무좀과 7종 등이 조사되었으며, 털두꺼비하늘소 방제를 위하여 유충가해기의 약제살포시험, 연무시험, 훈증시험, 기피제 처리시험 등이 실시된 바 있으나 만족할만한 약제방제법이 보고되지는 않았다.

표고충해 피해는 재배농가의 확대에 따라 더욱 심각해질 것으로 생각되며 우리나라에 분포하는 해충의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구를 체계적으로 수행함으로서 표고 품질향상 및 생산성을 제고할 것이다.

표고 품질 및 생산성 저하를 가져오는 털두꺼비하늘소와 같은 버섯나무해충의 효과적인 방제방법 확립과 버섯파리에 대한 살충활성 및 기피활성을 보이는 생리활성물질을 탐색하여 효율적인 방제체계를 확립코자 한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

- ○ 톱밥배지내 표고균사 생장특성 조사
- ○ 배지내 표고균사 영양요구성 탐색
- ○ 톱밥배지용 영양제 개발
- ○ 적정 배지조성 및 배양조건 구명
- ○ 생산성 검정 및 실연재배

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

- ○ 표고균사 생장저해물질 탐색
- ○ 표고균 영양원 탐색 및 톱밥배지용 영양제 개발
- ○ 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발
- ○ 생산성 검정을 시도

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

○ 표고균주자원 수집
○ 선발육종에 의한 균주 제조
○ 교잡육종에 의한 균주 제조
○ 원형질체 융합에 의한 균주 제조
○ 유전적·생리적·재배적 특성조사
○ 톱밥재배용 우량품종 개발

4. 병해 방제기술 개발

○ 병원균의 분리 및 동정
○ 병해 발생상황 조사
○ 병원성 검정
○ 병원균의 생리 및 생태 조사
○ 병해저항성 품종선발
○ 병해 방제기술 개발

5. 충해 방제기술 개발

○ 표고버섯나무 해충조사
○ 털두꺼비하늘소의 수종별 산란 선호성 조사
○ 섭식유인 및 산란유인 요인분석
○ 산란 우수약제 선발
○ 살성충 우수약제 선발
○ 기피물질 개발

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

미이용 활엽수의 표고톱밥배지 자원화 가능성을 검토하기 위하여 공시한

8수종의 톱밥배지에 대하여 표고 균 배양전후의 화학적 조성분 함량의 변화를 조사한 결과, 표고 균을 배양한 톱밥배지의 추출성분은 냉수추출성분이 가장 현저하게 증가하였다. 또한, 3개월간 배양한 톱밥배지의 모든 수종에서 리그닌 분해가 관찰되었는데, 서어나무가 31.4%로 가장 높았다. 배양전후 표고톱밥배지의 pH는 표고재배 적합수종(신갈나무)에 비하여 대부분 낮은 것으로 나타났다. 그러나, 영양제(밀기울) 첨가 배지에서는 표고 균에 적합한 pH로 변화되었다. 표고균 배양전후 톱밥배지에서의 미량성분 탐색결과 표고원목재배에서와 마찬가지로 Zn, Cu 등의 이용율이 매우 높았다. 톱밥배지의 영양생장 및 생식생장에 큰 영양을 주는 톱밥배지에서의 C/N율 탐색하였다. 영양제(밀기울)를 혼입한 톱밥배지의 표고균 배양전의 C/N율은 60:1~70:1이었으나, 배양완료후의 C/N률은 42:1~52:1로 일반 버섯류의 발생에 적합한 30:1~40:1에 근접하였다. 미이용 수종의 배지에 관하여 얻어진 이러한 기초 자료들은 새로운 배지기질을 개발하는데 많은 참고가 될 것이다. 수종별로 배양성(균사생장 및 배지분해 정도)이 양호한 영양원과 그 영양원의 첨가 수준을 구명하였다. 최종적으로는 각 수종별, 배지조성별로 배지중량의 25% 이상 생산성이 양호한 배지를 선발하였다. 개발된 우수한 배지에 대한 농가 실증시험결과 실용화 수준의 좋은 결과를 얻었다. 금후 좋은 활엽수 톱밥배지 자원으로 실용화되어 폭넓게 활용될 수 있을 것이다

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

표고버섯(*Lentinula edodes*)은 참나무류, 밤나무, 서어나무 등의 활엽수에 사물기생하는 담자균류로서, 목재를 영양원으로 생육하는 대표적인 식용버섯으로 알려져 있다. 현재 국내의 표고버섯은 원목재배나 톱밥재배(균상재배)에 의해 생산되고 있다. 원목재배에 주로 사용되는 수종에는 상수리나무, 졸참나무, 신갈나무, 갈참나무, 굴참나무 등이 있으며, 이들은 주로 참나무류이다. 또한 이들 수종을 사용한 톱밥재배가 생산적인 면에서 효율적이라고 알려져 있다. 농가의 표고 원목재배가 지속적으로 확대됨에 따라 활엽수, 특히 참나무류 원목의 구입단가가 급상승 하였으며, 이와 더불어 표고버섯의 접종시기에는 원목을 대량으로 확보하기 어려운 상황에 있다. 이러한 현실 속에서 국내의 침엽수 톱밥을 표고버섯(*Lentinula edodes*)재배에 응용하려는 시도로서 활엽수

톱밥과 혼합하여 사용하는 방법이 일부 알려져 있지만, 실제로 버섯재배 농가에서 사용하는 경우는 드물다. 표고버섯 재배에 침엽수 톱밥을 혼합 사용하지 않는 이유는 자실체 수확량 저조와 자실체 품질 저하 때문이라고 할 수 있다. 최근 버섯생산 전문업체 에서는 활엽수 톱밥 및 침엽수 톱밥 혼합 배지를 이용하여 표고버섯을 생산하고 있으나, 톱밥배지 중량당 생표고 발생량은 순수 활엽수 톱밥에 비해 저조한 것으로 보고되고 있다.

침엽수재를 이용한 표고버섯재배와 관련된 연구로는 Matsui등이 일본산 삼나무(*Cyptomeria japonica* D.Don)의 표고버섯 생장 저해물질을 탐색한 결과, 침엽수인 삼나무에 존재하는 휘발성 물질인 terpenoids류가 저해물질이라는 사실을 보고하였는데, 그 중에서도 ferruginol, sugiol, phyllocladanol, sandaracopimarinol, β-sitosterol 등이 저해물질일 가능성이 높으며, 특히 이 물질들 가운데 ferruginol이 가장 저해가능성이 높다고 하였는데, 이러한 물질들은 대부분 열수 추출(속슬렛 추출)물로부터 유래된다고 하였다. 그 외에도 다수의 연구보고에서 ferruginol을 균사생장 저해물질로 추측하고 있다.

일본 林野廳의 연구보고에 따르면, 표고버섯재배에 침엽수인 삼나무 톱밥을 이용할 목적으로 수년간 균사생장에 관련된 물질을 탐색한 결과, 삼나무의 내수피와 심재부에 함유되어 있는 ferruginol이 균의 생장저해효과를 유발한다고 하였으며, 또한 이 물질은 다른 버섯류의 균사생장에는 거의 영향이 없었다고 하였다.

Kawachi등은 표고균사 생장 저해효과를 유발할 수 있는 예상물질로서 benzene, cumene, tetralin, trans-dekalin, phenol, *o*-isopropylphenol, thymol을 선택하여 표고균사 액체배양시 소량 첨가하여 균체 중량을 측정한 결과, thymol이 가장 높은 저해를 유발하였다고 보고 하였다. Nakazima등은 삼나무의 내수피와 심재부를 각종의 용제로 추출한 다음, 추출액을 한천배지에 첨가하여 표고균사를 생육한 결과, n-hexane 및 ethyl ether 가용부가 균사생육 저해를 나타냈다고 보고한 바 있다.

따라서 침엽수 톱밥을 표고재배에 사용하기 위해서는 먼저 표고버섯의 균사생장 저해물질을 제거하기 위한 전처리 방법을 개발하여야 함과 동시에 참나무 톱밥배지를 대체할 수 있는 새로운 톱밥배지의 개발이 절실한 실정에 있다.

본 연구는 국내산 침엽수재인 낙엽송, 소나무, 잣나무 톱밥을 표고버섯재배에 이용하기 위한 시도로서, 표고버섯 재배용 침엽수 톱밥배지의 개발을 목표로 하여 표고버섯 균사생장을 위한 침엽수재톱밥의 전처리 방법, 표고균사 생장저해물질 탐색, 침엽수 톱밥배지용 영양제 탐색에 관하여 연구하였다. 본 연구에서 최종적으로 얻어진 결과는 다음과 같다.

낙엽송, 소나무, 잣나무 톱밥에 존재하는 표고균사 생장 저해물을 제거하기 위해 톱밥을 각종 전처리 방법으로 처리하였으며, 이에 적합한 각종 탄소원, 질소원 및 각종 생장 촉진물을 적용 시험하였다. 그리고 소나무에 존재하는 저해 물질군을 분리하여 저해정도를 파악하였다.

최종적으로 본 연구로부터 도출된 결과에 바탕을 둔 표고재배용 300 g 톱밥배지를 제조하여 비닐봉투 재배를 시도한 결과, 기존의 현장에서 생산되는 참나무 톱밥배지에 비해 거의 90%에 도달하는 버섯을 수확할 수 있었다.

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

표고 톱밥재배용 우량균주를 육성하기 위해 mono-mono(1핵균사-1핵균사) 교배법, di-mon(2핵균사-1핵균사) 교배법 및 원형질체융합법 등을 실시한 결과, mono-mono교배법으로 5개의 새로운 교잡균주를 제조하였고, di-mon 교배법에 의해 31개의 교잡균주를 만들었다. Mono-mono 교배법에 비해 di-mon 교배법으로 만든 교잡균주가 대체로 균사생장이 빠름으로써 di-mon 교재법이 새로운 균주제조에 효과적인 것으로 나타나 앞으로 널리 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

모균주와 자식균주인 교잡균주간의 유전적 유사도를 조사한 결과, 대체적으로 자식균주가 모균주의 형질을 많이 갖고 있었지만, 모균주와 상당한 차이를 보이는 경우도 적지 않아, 본 결과가 교잡육종시 유전자분석에 기초자료로 사용될 수 있다.

상기 교잡균주와 국내외에서 수집한 수집균주 총54개를 공시하여 톱밥재배용 우량균주 선발시험을 실시하였다. 생산성검정을 위하여 톱밥배지의 형태와 조성을 여러 가지로 시도한바, 사각형 배지에서는 FRI 488 및 FRI 486이 2kg 배지에서 각각 353g 및 303g의 버섯발생량을 보여 우수균주로 나타났다. 또한, 원통형배지에서는 FRI 491 및 FRI 169가 1.75kg 배지에서 각각 364g 및 280g

의 버섯발생량을 보여 우수균주로 나타났다. 이들 우수균주는 앞으로 품종등록을 위한 후보균주로 활용될 수 있을 것이다.

4. 병해방제기술 개발

이 연구를 통하여 얻어진 주요 결과로는 우리나라 표고버섯 재배지에서 주로 발생하는 병해의 종류 및 발생정도를 파악할 수 있었고, 그중에서 주홍꼬리버섯, 검은썩음병 등이 주요 병해인 지역도 있었지만 푸른곰팡이병이 거의 모든 재배지역에서 가장 흔하게 발생하는 병해임을 확인하였다. 또한 우리나라에서 재배품종으로 개발되었거나 현재 재배중인 24종의 표고품종에 대하여 푸른곰팡이병균에 대한 상대적인 저항성/감수성 조사결과는 향후 푸른곰팡이병에 저항성 표고품종을 육종시에 이용할 수 있는 기초자료를 제시하였다. 또한 병원균의 생장을 저해시키는 살균제(치아벤다졸) 및 생물제제(트리코프리)의 선발과 병원균의 생리, 생태조사는 병해에 의한 피해를 경제적 피해수준 이하로 유지시키기 위하여 화학적, 생물적, 생태적 방제법의 종합적 방제전략 수립을 가능하게 하였으나 연구기간이 제한되어 있어 재배현장에서의 적용시험을 많이 하지 못한 점이 아쉬운 점으로 남아 있다.

5. 충해방제기술 개발

충해 방제기술 개발은 다른 재배버섯 충해 방제기술의 개발에도 적용될 수 있으며 충해 방제기술의 개발은 표고 생산성 향상 뿐만 아니라 버섯의 품질을 향상시킴으로서 농가소득 증대에 크게 기여할 것으로 판단된다.

우리나라의 표고재배에 문제가 되는 2종 충해에 대하여 방제약종을 선발하고, 성충이 산란기피를 보이는 생리활성물질을 탐색함으로써 전국의 표고 재배농가에서 방제에 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

SUMMARY

1. Development of New Sawdust Substrates from Unused Broad-leaved Trees

Studies were made to investigate the possibilities of unused broad-leaved trees to be resources for the sawdust substrates of shiitake(*Lentinula edodes*) cultivation. Eight species of broad-leaved trees were tested. When the changes of chemical components after incubation of shiitake mycelia were analysed, cold water extracts were most remarkably increased among the various extracts from the sawdust cultures of shiitake. Also, resolution of lignin was observed in the sawdust cultures of three-month incubation from all of the tree species tested, and the percentage of resolution was highest in case of *Carpinus laxiflora* as 31.4%.

The pH values of sawdust cultures of shiitake before and after incubation were generally lower than those of *Quercus mongolica* which is suitable for sawdust cultivation. But, the pH value of culture added by nutrient(wheat bran) was changed to the suitable value for the growth of shiitake mycelia.

The minor components of sawdust cultures of shiitake before and after incubation were analysed, and the result was the percentages of use were very high in case of Zn and Cu like log-cultivation of shiitake.

The C/N ratio of sawdust cultures, which gives big effects on vegetative growth and reproductive growth, was investigated. The C/N ratio of sawdust culture of shiitake added with nutrient(wheat bran) was 60:1~70:1 before incubation. But, after incubation, the C/N ratio was 42:1~52:1 which is approaching value to the ratio 30:1~40:1 suitable for fruit-body formation of general mushrooms.

These basic data will give a lot of informations to the development of

new substrates. Sources and additive levels of nutrients were studied for the cultures(mycelial growth and resolution of media) of various tree species.

At last, desirable culture media were selected for the various tree species and media components to produce fruit-bodies whose amount was over 25% of medium weight. Practical farm cultivation was performed with selected excellent media, and good results were gained at practical levels. In future, these broad-leaved tree species will be widely used as practical resources for the sawdust cultivation of shiitake.

2. Development of sawdust medium using a domestic softwood to grow *Lentinula edodes*

The *Lentinula edodes,* a representative edible mushroom, has been routinely cultivated on a bed log of oriental oak. It is, however, recognized that a *L. edodes* mushroom grows poorly on a bed log of softwood such as *Pinus densiflora.* The extractives of *P. densiflora* are known to be resistant to fungi.

Mycelial growth of *L. edodes* by pretreatments of softwood was studied on a sawdust medium. The sawdust used was from the following softwood species : *Larix leptolepis, Pinus densiflora* and *Pinus koraiensis.* The pretreatment consisted of cold-water (48h), hot-water (3h) and steam extractions (3h) at a ratio of 500 g : 3000 ml (sawdust : distilled water). The sawdust medium was a mixture of 76% sawdust , 20% rice bran, 3% glucose, 0.4% potassium nitrate and 0.6% calcium carbonate.

Following sawdust pretreatments proved most suitable : *L. leptolepis* (steam extraction), *P. densiflora* (hot-water extraction) and *P. koraiensis* (hot-water extraction). Mycelial growth on *P. koraiensis* sawdust increased in proportion to an increase in hot-water extraction time. Mycelial growth

was optimum on the sawdust extracted for 12 hours, hot-water extraction beyond this period proved unsuitable. With the exception of *P. densiflora* at 100 ㎍/㎖, antifungal activity occurred in every sample. Maximum inhibition of mycelial growth was obtained from following concentration of hot-water extractives : *P. densiflora* (10^4 ㎍/㎖) and *P. koraiensis* (10^4 ㎍/㎖). This study has provided useful preliminary information for the cultivation of *L. edodes*.

Mycelial growth of *L. edodes* by supplement nutrition of softwood was studied on a sawdust medium. The sawdust used was from the following softwood species : *Larix leptolepis*, *Pinus densiflora* and *Pinus koraiensis*. The added nutritions consisted of carbon nutritions(sucrose, active carbon, xylose, glucose, paper pellet), nitrogen nutritions(potassium nitrate, ammonium chloride, asparagine, glutamic acid) and vegetable oil(rice bran oil). The sawdust medium was a mixture of 76% sawdust , 20% rice bran, 3% carbon nutrition, 0.4% nitrogen nutrition and 0.6% calcium carbonate.

Following addition of carbon and nitrogen nutritions on the sawdust medium proved most suitable : *L. leptolepis* (glucose, glutamic acid), *P. densiflora* (active carbon, asparagine) and *P. koraiensis* (xylose, glutamic acid). The highest mycelial growth was obtained from sawdust medium of optimum condition with 97 % of *L. leptolepis*, 110 % of *P. densiflora* and 98 % of *P. koraiensis*. This study has provided useful preliminary information for the cultivation of *L. edodes*.

To separate inhibition compound related to growing *L. edodes* in the softwood, we carried out hot water extraction. Hot water extracts were prepared powder by freeze drying. The powdered extractives were further treated by a series of organic solvent extractions, to separate the extractives into portions of *n*-hexane soluble, ethyl acetate soluble, methanol soluble and methanol insoluble.

Inhibitory activities of the extractives on mycelial growth of *L. edodes* were examined on a potato dextrose agar (PDA) medium at 25 ℃

for 10 days. The highest inhibition exhibited by the ethyl acetate soluble portion among these organic solvents.To clarify the inhibitive compounds directly from *P. densiflora* sawdust, organic solvent extractions were done by *n*-hexane, ethyl acetate and methanol for the sawdust.

The extractives were fractionated by silica gel column chromatography and thin layer chromatography, and as a result, inhibitive compounds were isolated and classified as groups depend on the organic solvents. The inhibitory activity for the mycelial growth appeared by all fractions of the solvent extractives. Especially, the highest inhibition on fungal growth were recognized by each inhibition compounds group Ⅰ and Ⅱ in ethyl acetate and methanol extractives. The *n*-hexane extractives fraction No. Ⅱ and Ⅲ showed the greatest inhibition among six fractions of the extractives. In conclusion, the inhibitory compounds of ethyl acetate, methanol and *n*-hexane extractives are supposed containing a relatively large amount of inhibitory substances.

Finally we have prepared softwood sawdust medium through the sawdust preparation, addition of nutrient and deleting of inhibition compounds. The mushroom yield of block medium prepared from the best results in this research was equal to oak wood block medium

3. Development of Breeding Techniques and Selection of Excellent Shiitake Strains

Hybridization techniques, i. e., mono-mono method and di-mon method, and protoplast fusion technique were attempted to improve shiitake (*Lentinula edodes*) strains suitable for sawdust cultivation. Five new hybrid strains were made by mono-mono method, and thirty one hybrid strains were made by di-mon method. Generally, the mycelial growth of hybrid strains from di-mon method is faster than that from mono-mono method. Thus, di-mon method is more preferable.

Genetic similarity between parent strains and progeny hybrid strains was investigated. In many cases, they are genetically similar, but some of them are considerably different.

Selection for excellent strains suitable for sawdust cultivation was performed with fifty four strains, i. e., above hybrid strains and collected strains. Productivity of fruit-body is tested by different media composition and media shape. In case of brick-shape media, FRI 488 and FRI 486 were selected as excellent strains in yield and quality, showing fruiting of 353g and 303g per 2kg-medium, respectively. In case of cylindrical media, FRI 491 and FRI 169 were selected as excellent strains in yield and quality, showing fruiting of 364g and 280g per 1.75 kg-medium, respectively.

Results of the above experiments can be widely used. First of all, di-mon method was proved to be effective technique for the breeding of new shiitake strains. Thus, the technique can be used in many other institutes throughout the country. Also, it may be applicable to breeding of many other kinds of edible mushrooms.

Genetic similarity test will offer basic knowledges to shiitake researchers about genetics relaled to the parent shiitake strains and progeny hybrid strains.

Meanwhile, the excellent shiitake strains selected in the experiments can be used as important materials to provide for registered spawns of shiitake. Even one excellent spawn can increase considerable amounts of incomes of both spawn companies and shiitake cultivators. Eventually, it will greatly help for the big progression of shiitake industries. Thus, the research works about breeding and development of new strains will last cotinuously.

4. Development of Disease Management for Shiitake Cultivation

This study was carried out to find out the effective methods for controlling the major diseases, which give a severe damage on shiitake mushroom production. The occurrence of the disease was surveyed to determine the notorious disease and to estimate the damage. In the first year's survey, we found that the green mold fungi cause severe and very common damages on shiitake mushroom cultivation.

In addition, pathogenicity of causing fungi against various varieties of shiitake mushroom, which are commonly cultivated throughout Korea. There were variations in pathogenicity of tested isolates, and the most pathogenic fungi was *T. harzianum*. There were wide variations in resistance or susceptibility of strains of shiitake mushroom, too. Among 24 strains tested, Imhyup 1-Ho, Le465, and Le301 showed relatively resistance against green mold fungi. In contrast, Sanrim 2-Ho, Sanrim 7-Ho, Imhyup 2-Ho, Nonggi 1-Ho, and Nonggi 2-Ho were susceptible. Ohters show relatively medium levels of resistance. These information can be efficiently used for the breeding of green mold disease-resistant varieties of shiitake mushroom.

To obtain the basic information for developing the integrated disease management system, physiological and ecological studies were performed on the pathogenic fungi, i.e., *Trichoderma harzianum, T. pseudokoningii (T. citrinoviride), T. atroviride.* Optimum temperature for the mycelial growth of green mold fungi was 25℃, and the growth was gradually decreased by increasing temperature. Sucrose and fructose were better than maltose and xylose as carbon sources. The best nitrogen source for mycelial growth was KNO_3. Green mold fungi could grow at the range of pH 5 - pH 9, but the best pH was pH 4. Light condition was very important factor for the sporulation. Continuous light condition or alteration of light and dark(12:12) showed no differences in sporulation, but sporulation was dramatically decrease at the 40% level under continuous dark condition. Mycelail growth and sporulation were possible at 15℃, but sporulation was not observed at

35℃.

Among screened fungicides, thiabendazole was the most effective with the 90% inhibition of mycelial growth at the concentration of 10 ㎍/㎖. Benomyl had the similar efficacy to thiabendazole, but showed inhibition of shiitake mushroom at the higher concentrations. As a biological control agent, Tricho-free which is extracts from microbial culture and registered agent as one of mushroom nutirents. Tricho-free inhibited mycelial growth and sporulation of green mold fungi completely at the concnetration of 10 ㎍/㎖. Thus, we want to strongly recommend this biological control agent for the control of green mold fungi.

In addition, control of environments in mushroom cultivation area will be very helpful for the effective management of the disease caused by green mold fungi.

First of all, good aeration and drainage are the first requirements for the evasion from green mold disease. Finally, the most effective management, which means that the damage can be maintained under the economically damaged level, can be obtained by the integration of chemical, biological, and ecological method.

5. Development of Insect Pest Management for Shiitake Cultivation

The toxicity of thirteen commercial insecticides on oak longicorn beetle (*Moechotypa diphysis*) were investigated in terms of insecticidal activity and residual effect. All experiments were tested at the recommended concentration of each insecticide. For *M. diphysis* adults, the insecticides showed over 90% insecticidal activity were chlorpyrifos-methyl, fenitrothion, fenthion, benfuracarb, furathiocarb, bifenthrin, λ-cyhalothrin, acetamiprid and endosulfan. And insecticides had 100% residual effect for 21days on *M. diphysis* adults were fenitrothion, furathiocarb, λ-cyhalothrin,

acetamiprid and endosulfan.

The toxicity of benfuracarb and λ-cyhalothrin on oak longicorn beetle, *Moechotypa diphysis* was investigated in terms of residual effect and control efficacy in the field. Mycelial growth inhibition of *Lentinula edodes* was also investigated in the laboratory. Benfuracarb and λ-cyhalothrin showed 100% of control values and over 90% residual activities of benfuracarb and λ-cyhalothrin were continued for 15 and 20 days after treatment, respectively. Benfuracarb and λ-cyhalothrin did not affect the mycelial growth of *L. edodes* Imhyup 1 strain. These results indicate that benfuracarb and λ-cyhalothrin might be used for the control of *M. diphysis* adults in the field.

The toxicities of 13 commercial insecticides on *Lycoriella mali* were investigated on their insecticidal activities, mycelial growth of two *Lentinula edodes* strains, residual effects and control efficacy. For the adults, insecticides showing over 95% insecticidal activity were chlorpyrifos-methyl, fenthion, fenitrothion, benfuracarb, furathiocarb and deltamethrin. For the larvae, diflubenzuron and cyromazine showed over 90% insecticidal activity. Fenthion, benfuracarb, furathiocarb, deltamethrin, diflubenzuron and cyromazine did not affect the mycelial growth of *L. edodes* strain, Imhyup 1. And deltamethrin, diflubenzuron and cyromazine did not affect another strain, Sanlim-5. Insecticides showing over 80% residual effect for 14 days were benfuracarb to the adults and diflubenzuron and cyromazine to the larvae. In the control efficacy test on *Lycoriella mali* under sawdust cultivation shed condition, 90% control values for the larvae were obtained in 10 days after insecticides treatment with furathiocarb, fenthion, benfuracarb, deltamethrin, diflubenzuron and cyromazine. And for the adults, benfuracarb, fenthion and furathiocarb showed control values 93.3, 88.9, 86.7%, respectively. These results indicate that benfuracarb, fenthion, and furathiocarb can be used for the control of *Lycoriella mali* in the field. However, further studies are needed on the

effect of insecticides treatment on fruit-body yield and chemical residue in the mushroom tissues.

Another study has been carried out to investigate the fumigant toxicity, the contact toxicity and the ovipositional repellency of 25 monoterpenoids against oak longicorn beetle adults, *Moechotypa diphysis*. Monoterpenoids with 100% of fumigant toxicity were 1,8-cineole, fenchone, pulegone and γ-terpinene at 20 ㎕/954 ㎖ (air) concentration, pulegone and γ-terpinen at 10 ㎕/954 ㎖ (air) concentration, pulegone at 5 ㎕/954 ㎖ (air) concentration. Most monoterpenoids showed low or no contact toxicity but only pulegone showed about 70% mortality. Some monoterpenoids with had repellency to female adults with Y-tube olfactometer were bornylacetate, carvacrol, 1,8-cineole and menthol at 1㎕ dose, while citronellol showed attractant response. Carveol, geraniol and perillyl alcohol of 25 monoterpenoids showed ovipoistional repellency of 82.1%, 78.3%, 87.5%, respectively, at the concentration of 1,000ppm in the laboratory condition. In the field, the result tested with three monoterpenoids indicated that geraniol was the most effective at the concentration of 10,000ppm and 1,000ppm, but residual effect wasn't found.

CONTENTS

Chapter 1. Overview of Research Project.....31

Chapter 2. Present Status of Technology Development in Domestic and Foreign Countries.....37

Chapter 3. Research Methodology and Results.....39

Project Ⅰ. Development of New Sawdust Substrates from Unused Broad-Leaved Trees.....39

1. Materials and Methods.....39
1) Preparation of hardwood sawdust 39
2) Investigation of medium nutrients.....40
3) Variation of medium nutrients according as an addition before and after culture.....42
4) The effects of medium nutrients addition and the characteristics of culture at sawdust medium of Shiitake(*Lentinula edodes*).....43
5) Yield of fruit body as the amounts of medium nutrients and the species of wood at sawdust medium.....44
6) Farming cultivation test of sawdust medium having high mushroom production by each tree 44
7) Recycling test of disused log resource after log cultivation of *Lentinula edodes*.....45
8) The actual condition of mushroom cultivation on sawdust in Korea.....46

2. Results and Discussion.....46
1) Analysis of hardwood sawdust medium components before and after culture.....46
2) The pH variation of before and after culture.....51
3) Investigation of small amount nutrients at hardwood sawdust medium.....52
4) Investigation of C/N ratio at hardwood sawdust medium.....55
5) Screening of appropriate hardwood sawdust medium nutrients.....57
6) The yields of fruit body as existence of medium nutrients.....65
7) The yields of fruit body as amounts of medium nutrients.....66
8) Farming cultivation test of sawdust medium having high mushroom production by each tree.....72
9) Recycling test of disused log resource after log cultivation of *Lentinula edodes*.....73
10) The actual condition of mushroom cultivation on sawdust in Korea.....78

Project II. Development of Sawdust Medium Using a Domestic Softwood to Grow *Lentinula edodes*.....80

1. Materials and Methods.....80
1) Wood species and preparation of sawdust.....80
2) Contents of cold water extracts & Fractionation of cold water extracts by organic solvent.....80
3) Pre-treatment of sawdust and separation of extracts.....81
4) Preparation of sawdust medium and Mycelial growth test.....81
5) Chemical analysis of sawdust medium.....84
6) Element analysis and C/N ratio.....84
7) Test of nutrient and additives.....85

8) Test of waste amino acid.....85
9) Fractionation of hot water extracts.....86
10) Mycelial growth test of compounds separated by organic solvent fractionation.....86
11) Separation of compounds by column chromatography.....86
12) Preparation of block medium and yield test of fruit body.....87
2. Results and Discussion.....87
1) Wood chemical composition.....87
2) Changes of cold water extracts on the extraction time & Fractionation of cold water extracts by the organic solvents.....88
3) Mycelial growth on the wood meal medium extracted cold water.....90
4) Effects of cold water extracts on the mycelial growth.....91
5) Chemical composition of medium followed fungal growth.....94
6) Investigation of nutrient for improvement of mycelial growth.....97
7) Pre-treatment of sawdust for elimination of inhibition compounds.....99
8) Effects of hot water extracts on the mycelial growth.....101
9) Choice of carbon source and C/N changes of medium.....103
10) Choice of nitrogen source and effects of vegetable oil.....105
11) Proposition about optimal softwood sawdust & Effects of waste amino acid.....106
12) Mycilial growth inhibition by the hot water extracts, Compounds fractionated from hot water extracts and mycelial growth.....109
13) Effects of organic solvents on the mycelial growth.....112
14) Compounds fractionated from pine wood and mycelial growth.....114
15) Weights changes of block medium and yield day of first fruiting body.....117
16) Fresh weight of mushroom.....120

Project Ⅲ. Development of Breeding Techniques and Selection of Excellent Shiitake Strains.....122

1. Collection of Shiitake Strains.....122
1) Materials and Methods.....122
2) Results and Discussion.....122
2. Production of New Strains by Hybridization and Protoplast Fusion....122
1) Materials and Methods.....122
2) Results and Discussion.....123
3. Genetic Characteristics of Hybrid Strains.....128
1) Materials and Methods.....128
2) Results and Discussion.....130
4. Selection of Excellent Strains by Physiological and Cultural Characters.....134
1) Materials and Methods.....134
2) Results and Discussion.....135

Project Ⅳ. Development of Disease Management for Shiitake Cultivation.....152

1. Disease Survey on Shiitake Cultivation.....152
1) Materials and Methods.....152
2) Results and Discussion.....152
2. Isolation and Identification of Green Mold Fungi.....155
1) Materials and Methods.....155
2) Results and Discussion.....155
3. Pathogenicity of Green Mold Fungi and Disease Susceptibility/ Resistance of Various Strains of Shiitake.....158
1) Materials and Methods.....158
2) Results and Discussion.....158
4. Studies of Physiological and Ecological Characterisits of Green Mold Fungi.....164

1) Materials and Methods....164
2) Results and Discussion....164
5. Development of Biological, Chemical and Ecological Management Strategy for Green Mold Fungi....169
1) Materials and Methods....169
2) Results and Discussion....169

Project V. Development of Insect Pest Management for Shiitake Cultivation....174

1. Investigation of Insect Pest on Shiitake....174
1) Materials and Methods....174
2) Results and Discussion....174
2. Study on the Ovipositional Preference of oak longicorn beetle....176
1) Materials and Methods....176
2) Results and Discussion....177
3. Selection of Insecticides for the Control of oak longicorn beetle....180
1) Materials and Methods....180
2) Results and Discussion....183
4. Selection of Insecticides for the Control of *Lycoriella mali*....188
1) Materials and Methods....188
2) Results and Discussion....192
5. Selection of Plant-Derived Bioactive Substances for the Control of oak longicorn beetle and *Lycoriella mali*....197
1) Materials and Methods....197
2) Results and Discussion....200

Chapter 4. Achievement and Contribution to the Related Areas....214

Chapter 5. Application Plan of Acquired Results.....222

Chapter 6. Science and Technology Information Collected from Foreign Countries through the Project.....224

Chapter 7. References.....230

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요.....31

제 2 장 국내외 기술개발 현황.....37

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과.....39

제 1 절 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발 39
1. 재료 및 방법.....39
가. 공시 톱밥 준비.....39
나. 톱밥배지 수종별 조성분 분석 및 영양원 탐색.....40
다. 배양전과 배양후의 영양제 첨가에 따른 양분 동태.....42
라. 톱밥배지의 영양제 첨가 효과 및 표고 균 배양 특성.....43
마. 수종별 영양제 첨가 수준별 톱밥 배지의 버섯 생산성.....44
바. 수종별 생산성이 우수한 톱밥배지의 농가 실연재배 시험.....44
사. 표고원목재배가 끝난 폐버섯나무 자원의 재활용 시험.....45
아. 우리나라의 톱밥 버섯재배 실태.....46
2. 결과 및 고찰.....46
가. 톱밥 배지 수종별, 배양 전후 톱밥배지의 조성분 분석.....46
나. 배양 전과 배양 후 표고 톱밥배지의 pH.....51
다. 톱밥배지에서의 미량 성분 탐색.....52
라. 톱밥배지에서의 C/N율 탐색.....55
마. 톱밥배지에 적합한 영양원 선발.....57
바. 영양제 첨가 유무가 버섯 생산성에 미치는 영향.....65

사. 영양원 첨가 수준별 톱밥배지의 버섯 생산성.....66
아. 수종별 생산성이 우수한 톱밥배지의 농가 실연재배 시험.....72
자. 표고원목재배가 끝난 폐버섯나무 자원의 재활용 시험.....73
차. 우리나라의 톱밥 버섯재배 실태.....78

제 2 절 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발.....80
1. 재료 및 방법 80
가. 공시수종 및 톱밥제조.....80
나. 냉수추출물 함량 측정 및 냉수추출물의 유기용제 분획.....80
다. 톱밥의 전처리 및 추출물의 분리.....81
라. 톱밥배지의 조제 및 균사생장시험.....81
마. 배지의 화학적 조성 분석.....84
바. 배지의 원소분석 및 C/N측정.....84
사. 톱밥배지 영양원 및 생장촉진 첨가물의 효능시험.....85
아. 페아미노산의 첨가 효능시험.....85
자. 열수추출물의 분획.....86
차. 유기용제 분획물의 균사생장시험.....86
타. 컬럼크로마토그래피에 의한 물질의 분리.....86
파. 블록배지의 조제 및 버섯 발생 시험.....87

2. 결과 및 고찰.....87
가. 목재의 화학적 조성.....87
나. 냉수추출물 함량 측정 및 냉수추출물의 유기용제 분획.....88
다. 냉수추출된 목분 배지에 있어서 균사 생장.....90
라. 냉수추출물이 균사생장에 미치는 영향.....91
마. 표고균사생장에 따른 배지의 화학적 조성 변화.....94
바. 표고균사 생장 촉진을 위한 첨가 영양원의 탐색.....97
사. 저해물질 제거를 위한 톱밥의 전처리.....99
아. 침엽수재 열수추출물이 균사생장에 미치는 영향.....101
자. 최적 탄소원 선정 및 배지의 C/N율 변화.....103

차. 최적 질소원 선정 및 식물성유 첨가 효과.....105
타. 최적 침엽수 톱밥배지의 도출 및 폐아미노산의 효능.....106
파. 열수추출물의 균사생장저해, 열수추출물의 분획 및 균사생장.109
하. 유기용제 추출물이 균사생장에 미치는 영향.....112
기. 소나무 추출물의 분획 및 균사생장저해 시험.....114
니. 블록배지의 중량감소율 및 최초 발생기간.....117
디. 생산된 버섯의 생중량.....120

제 3 절 육종기술 개발 및 우량품종 육성.....122
1. 표고균주 자원수집.....122
가. 재료 및 방법.....122
나. 결과 및 고찰.....122
2. 교배 및 원형질체융합에 의한 신균주제조.....122
가. 재료 및 방법.....122
나. 결과 및 고찰.....123
3. 교잡균주의 유전적 특성조사.....128
가. 재료 및 방법.....128
나. 결과 및 고찰.....130
4. 표고균주의 생리적, 재배적 특성검정을 통한 우량품종 개발.....134
가. 재료 및 방법.....134
나. 결과 및 고찰.....135

제 4 절 병해방제기술 개발.....152
1. 표고병해 발생상황 조사.....152
가. 재료 및 방법.....152
나. 결과 및 고찰.....152
2. 병원균의 분리 및 동정.....155
가. 재료 및 방법.....155
나. 결과 및 고찰.....155
3. 푸른곰팡이 병원성 및 표고균주별 저항성/감수성 검정.....158

가. 재료 및 방법 158
나. 결과 및 고찰 158
4. 병원균의 생리, 생태 조사 164
가. 재료 및 방법 164
나. 결과 및 고찰 164
5. 생물적, 생태적, 화학적 방제기술 개발 169
가. 재료 및 방법 169
나. 결과 및 고찰 169

제 5 절 충해방제기술 개발 174
1. 표고버섯 해충조사 174
가. 재료 및 방법 174
나. 결과 및 고찰 174
2. 털두꺼비하늘소의 산란선호성 연구 176
가. 재료 및 방법 176
나. 결과 및 고찰 177
3. 털두꺼비하늘소에 대한 방제약제 선발 180
가. 재료 및 방법 180
나. 결과 및 고찰 183
4. 긴수염버섯파리에 대한 방제약제 선발 188
가. 재료 및 방법 188
나. 결과 및 고찰 192
5. 털두꺼비하늘소 및 버섯파리에 대한 생리활성물질 선발 197
가. 재료 및 방법 197
나. 결과 및 고찰 200

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 214

제 5 장 연구개발결과의 활용계획 222

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보.....224

제 7 장 참고문헌.....230

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

표고톱밥재배 방법은 경 노동성으로 재배과정의 대부분을 기계화할 수 있으며, 재배 원목자원을 거의 100% 이용할 수 있고 생산성도 원목자원에 비하여 2~3배 이상 달할 수 있는 등 많은 장점이 있는 새로운 재배 방식이다. 톱밥재배는 원목재배와는 달리 기계화에 의한 대량 생산체제로 적은 인력으로 연중 언제나 생산이 가능할 뿐만 아니라 원목재배로는 버섯을 발생시킬 수 없는 단경기에도 생산 및 출하를 할 수 있으며, 1세대 재배기간도 6개월로 원목재배의 4~5년보다 획기적으로 빠른 유망한 재배기술이다. 일본이나 대만, 중국 등에서는 70년대부터 본격적인 연구가 이루어지기 시작하였으며 이미 실용화되고 있다. 우리나라에서도 90년대에 재배기술을 정립하고 공장화 대량 생산기술을 보급하였으나 연중 수요공급체계 단절과 과중한 초기 생산투자비 부담으로 활성화되지 못하고 있지만, 많은 재배자들이 지대한 관심을 가지고 실용화 재배 모델을 탐색하고 있다. 그러나, 해가 갈수록 버섯 재배용 톱밥원료의 부족, 가격상승 등 자원고갈과 생산비 증가가 큰 문제로 대두되고 있어서 재배자원을 안정되게 염가로 구입할 수 있는 다양한 새로운 배지개발이 요구되고 있다. 표고원목재배에 있어서는 버섯나무 성분과 자실체 발생량의 변화를 검토하기 위하여 5년간 표고 균 생장에 소비한 버섯나무의 미량성분을 조사한 결과 Cu 78.5%, Zn 60.9%, Mn 36.7% 등이었으며, Fe, Mg, Na 등도 명확한 감소가 일어났다는 연구보고가 있다(Tokimoto *et al.*, 1982). 표고톱밥재배 또한, 이들 미량성분이 표고 균의 영양생장 혹은 생식생장에 대하여 중요한 요인이 있을 것이라고 추정되지만 우리나라의 주요 활엽수종의 톱밥배지에 대한 연구보고는 아직 이루어지지 않고 있다. 본 연구에서는 미이용 활엽수 톱밥배지에 대하여 표고 균이 이용하고 있는 미량성분의 양분 함량과 배양 전후의 성분을 탐색하여 표고 균의 성분이용 관계를 검토하고자 하였다. 또한, 균사배양 및 버섯발생에 중요한 역할을 하는 톱밥배지 내의 총탄소원함량과 총질소원함량의 비율(C/N율)을 파악하여 새로운 배지개발 기재로써의 적성을 검토하

고자 하였다. 또한, 각 수종별로 배양효과가 높고, 버섯 생산성이 양호한 영양원과 첨가수준을 구명하여 새로운 배지조성 조건을 구명하고자 하였다.

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

현재 표고버섯 재배에 있어 사용되지 못하고 있는 국내산 침엽수재를 이용하여 표고버섯 재배용 톱밥배지를 개발하는데 본 연구의 목적이 있다.

국내의 표고재배는 대부분 원목 재배에 의존하고 있으며, 최근에 톱밥배지를 이용한 표고재배방법이 많이 시도 되고 있는 현실에 있다. 현재 톱밥배지의 대부분은 활엽수인 참나무류 수종만 이용되고 있고, 참나무 톱밥에 활엽수 톱밥을 혼합하여 사용하는 재배방법이 있으나, 생산성은 기대에 미치지 못하고 있는 실정에 있다.

따라서 활엽수인 참나무 대체 수종 및 침엽수를 이용한 톱밥배지 개발이 현재 시급한 현실에 있어 본 과제의 성공적인 수행 시 부족한 톱밥배지의 원활한 공급 및 미 이용되고 있는 침엽수 톱밥의 배지로써 이용이 기대된다.

표고재배에 필요한 참나무 원목의 요구량이 많아짐에 따라 표고재배용 원목의 가격이 급격히 상승하고 있으며, 일부에서는 참나무 원목의 수급이 원활하지 못하여 표고재배규모를 축소하는 경향도 있다. 따라서 참나무 원목의 가격 상승으로 인한 표고생산 원가가 동시에 상승되고 있어 미 이용 침엽수재 톱밥배지의 개발은 원료의 안정적인 공급에 따른 원가절감과 표고버섯 생산에 있어 판매단가의 안정 등을 도모할 수 있다.

국내 참나무 원목의 품귀현상으로 인한 중국산 참나무의 수입이 증가되고 있고, 약리작용 및 기능성 식품 소재로 평가받고 있는 표고버섯의 수요가 지속적으로 증대하고 있다. 소비자의 가격만족을 위해서는 표고재배용 원목가격이 저렴해야만 하고, 이러한 표고버섯의 안정적인 공급과 소비확대를 본 연구 수행으로 타파할 수 있을 것으로 판단된다.

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

표고는 우리나라 식용인산버섯중 가장 중요한 버섯으로써 농가의 단기소득을 위한 산업으로 크게 성장하여 왔다. 현재 표고재배농가는 약 1만호가 되

는데 약 4,000톤을 생산하여 약 1,600억원의 수입을 올리고 있다. 표고는 단위 면적당 생산성이 타 작목에 비해 높은 농가의 주요 소득원으로 재배농가가 계속 급증하고 있다. 이와 같이 표고의 수요와 가치, 의학적 효능 등이 증대되고 있어, 표고의 재배기술이 꾸준히 개발되어 왔다. 표고 재배기술과 아울러 표고의 생산성 및 품질에 영향을 주는 가장 근본적인 요인의 하나가 우량품종의 육성이다. 일본, 중국 등 버섯산업의 선진국에느 수백 개의 다양한 표고품종이 개발되어 있어 선택의 폭이 넓지만, 우리나라는 아직 16개밖에 개발되어 있지 않아 품종의 다양성이 매우 빈약한 실정이다. 따라서 본 연구는 여러 가지 품종 육종기술을 정립하고, 새로 만들어진 균주에 대한 생산성검정을 통하여 우수균주를 선발하기 위하여 실시하였다.

4. 병해방제기술 개발

표고버섯은 재배과정중에 다양한 종류의 병해에 의해 피해를 입고 있으며, 이들에 의한 생산성 저하는 다른 작목에 비해 상대적으로 큰 것으로 알려져 있다. 특히 병원균에 의한 피해는 진균, 세균, 바이러스 등에 의해 발생하며 진균의 종류만도 150여종이나 알려져 있고, 피해정도는 표고버섯 균사의 생장정도, 병원균의 병원성, 환경요인(온도, 습도, 광 등)에 따라 크게 달라질 수 있으므로 이들 병원균의 생리, 생태 등에 생물학적 특징이 밝혀진다면 표고버섯 재배시에 적절한 환경관리를 통하여 효과적이 방제가 가능하리라 판단된다. 그러나 우리나라에서는 아직 표고 재배시에 발생하는 병해의 종류, 피해 수준, 생리 및 생태, 방제 등에 대한 종합적인 연구가 이루어져 있지 않은 상태이므로 이 연구에서 표고버섯 병해의 발생상황 조사, 병원균의 분리 및 동정, 병원성 검정, 생리 및 생태 조사, 방제기술의 개발 등에 대한 연구를 수행하여 표고버섯 병해의 효과적인 방제기술개발을 통한 표고버섯 생산성 향상에 이바지 하고자 한다. 또한 표고버섯 병해 방제기술의 개발은 다른 재배버섯의 병해 방제에도 적용시킬 수 있는 모델이 될 수 있을 것이다.

5. 충해방제기술 개발

현재 우리 나라 농가의 표고재배 확대에 따라 버섯나무 해충의 발생이 증가하고 있으나 효율적인 방제 기술이 개발되지 않아 막대한 생산량 감소를 초

래하고 있는 실정으로 효과적인 방제제 개발이 시급함. 표고 충해의 방제기술이 개발되면, 표고 생산성 향상과 함께 양질의 표고 생산으로 재배농가의 소득을 크게 증대시킬 수 있을 것이다.

버섯의 품질을 저해하는 요인중 해충에 의한 피해가 70~80%를 차지하는 것으로 조사된 바 있어, 표고 생산성 향상을 위해서는 생산기반이 되는 버섯나무 가해해충인 털두꺼비하늘소와 톱밥재배시 문제가 되는 긴수염버섯파리의 효과적인 방제법 구명이 필수적이다.

우리 나라에서는 표고충해의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구가 체계적으로 이루어진 경우가 없으나, 일본 등지에서는 이 분야의 연구가 오랫동안 진행되어 현재는 효과적인 방제법을 확립하고 있는 단계이다.

일본의 경우 표고버섯나무 해충으로 하늘소과 47종, 나무좀과 7종 등이 조사되었으며, 털두꺼비하늘소 방제를 위하여 유충가해기의 약제살포시험, 연무시험, 훈증시험, 기피제 처리시험 등이 실시된 바 있으나 만족할만한 약제방제법이 보고되지는 않았다.

표고충해 피해는 재배농가의 확대에 따라 더욱 심각해질 것으로 생각되며 우리나라에 분포하는 해충의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구를 체계적으로 수행함으로서 표고 품질향상 및 생산성을 제고할 것이다.

표고 품질 및 생산성 저하를 가져오는 털두꺼비하늘소와 같은 버섯나무해충의 효과적인 방제방법 확립과 버섯파리에 대한 살충활성 및 기피활성을 보이는 생리활성물질을 탐색하여 효율적인 방제체계를 확립코자 한다.

제 2 절 연구개발 내용 및 범위

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

- ○ 톱밥배지내 표고균사 생장특성 조사
- ○ 배지내 표고균사 영양요구성 탐색
- ○ 톱밥배지용 영양제 개발
- ○ 적정 배지조성 및 배양조건 구명

○ 생산성 검정 및 실연재배

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

○ 표고균사 생장저해물질 탐색
○ 표고균 영양원 탐색 및 톱밥배지용 영양제 개발
○ 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발
○ 생산성 검정을 시도

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

○ 표고균주자원 수집
○ 선발육종에 의한 균주 제조
○ 교잡육종에 의한 균주 제조
○ 원형질체 융합에 의한 균주 제조
○ 유전적·생리적·재배적 특성조사
○ 톱밥재배용 우량품종 개발

4. 병해 방제기술 개발

○ 병원균의 분리 및 동정
○ 병해 발생상황 조사
○ 병원성 검정
○ 병원균의 생리 및 생태 조사
○ 병해저항성 품종선발
○ 병해 방제기술 개발

5. 충해 방제기술 개발

○ 표고버섯나무 해충조사
○ 털두꺼비하늘소의 수종별 산란 선호성 조사
○ 섭식유인 및 산란유인 요인분석

○ 산란 우수약제 선발

○ 살성충 우수약제 선발

○ 기피물질 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 새로운 톱밥배지 개발

표고 톱밥재배용 균주선발과 톱밥재배법이 개발되었고, 이를 위한 미이용 수종의 표고 톱밥재배용 배지개발연구가 추진되어, 낙엽송톱밥의 이용과 그 추출물의 재배 응용 등의 기초연구가 시도되고 있으나 체계적인 연구는 아직 착수되지 않았다.

일본에서는 1965년대에 국공립 임업시험장을 중심으로 삼나무 등 침엽수톱밥에 적합한 표고균사 선발, 침엽수 수종의 균사생장 저해물질의 분리·동정 등 침엽수 톱밥의 이용 연구도 지속적으로 추진되고 있고, 균사 저해물질 제거를 위한 톱밥 전처리에 관한 연구도 단편적으로 수행되었다. '93년도에는 삼나무톱밥을 고온.고압처리하여 재배하는 방법을 개발, 실용화를 위한 보완연구가 아직까지 계속되고 있다.

중국에서의 재배방법은 주로 자연기후를 이용한 톱밥재배를 주로 하고 있으며, 아직은 재배수종이 풍부하므로 미이용 수종에 관한 새로운 배지개발은 착수되지 않고 있다.

미이용 수종의 톱밥배지개발은 초기연구단계로 수종에 따른 균사생장 특성이나 균주의 기질 선택성 등 기초연구가 이루어지지 않았다. 특히 침엽수톱밥은 휘놀성 물질 등 균사 및 자실체 발생 저해물질이 많아서 이러한 저해물질의 탐색, 제거방법 구명 등 기초적인 연구가 추진되고 있는 실정이다.

제 2 절 육종기술 개발 및 우량품종 육성

임업연구원에서는 약 20년동안 표고 우량종균개발을 수행하여온 바, 그동안 산림1~8호 등 8개 우량종균을 육성하였고, 임업협동조합의 임협1~7호 등 7개 품종, 농업과학기술원의 1개품종을 검정, 보급함으로써 농가소득에 크게 기여한 바 있으나, 표고산업의 선진국인 일본, 중국 등에서는 개발된 표고품종이 수백종에 이른다. 따라서 이들 국가와 경쟁하기 위하여는 새로운 육종기술 개발과 다양한 우량종균의 개발이 절실히 요구되고 있다. 다만, 새로운 우량 표고균주의 육성방법은 중국과 일본 등도 우리 나라와 같이 교잡육종기술에 많

이 의존하고 있는 실정이다.

제 3 절 병충해 방제기술 개발

우리나라에서는 표고병해의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구가 체계적으로 이루어진 경우가 없으나, 일본 등지에서는 이 분야의 연구가 오랫동안 진행되어 현재는 효과적인 방제법을 확립하고 있는 단계이다.

우리 나라에서는 표고충해의 종류, 생태 및 방제법에 대한 연구가 체계적으로 이루어진 경우가 없으나 버섯의 품질을 저해하는 요인중 해충에 의한 피해가 70~80%를 차지하는 것으로 조사된 바 있으며, 임업연구원에서 1987년 표고골목해충인 털두꺼비하늘소의 생태 및 방제용 살충제 선발을 실시한 바 있으며 김규진과 황창연 (1996)에 의해 한국남부 표고버섯 및 느타리버섯재배지에 분포된 해충상에 관한 연구가 이루어졌다.

표고버섯에 피해를 주는 버섯파리류는 국내 6종이 보고 되어 있는데 (Lee 등, 1999; Kim 등, 1999), 그 중 긴수염버섯파리는 우점종으로 표고 톱밥재배시 년중 대량 발생하여 균사체 및 자실체 조직을 직접 가해하여 수확량감소를 초래하고 버섯에 병을 유발하는 각종 병원체를 매개하여 자실체 오염으로 상품가치를 저하시키는 등 피해를 일으킨다 (Lee 등, 1999; Kim 등, 1999). 하지만 아직 국내에서는 표고 톱밥재배시에 발생하는 버섯파리에 관한 방제 연구가 아직 미흡한 실정이다.

표고버섯을 가해하는 주요해충으로는 버섯파리, 응애, 털두꺼비하늘소, 선충류가 보고되고 있다 (Hussey, 1972; Snetsinger, 1972; Kobayashi & Taketani 1994).

일본의 경우 표고버섯나무 해충으로 하늘소과 47종, 나무좀과 7종 등이 조사되었으며, 털두꺼비하늘소 방제를 위하여 유충가해기의 약제살포시험, 연무시험, 훈증시험, 기피제 처리시험 등이 실시된 바 있으나 만족할만한 약제방제법이 보고되지는 않았다. 하지만 일본, 미국 등지에서는 생리활성물질 탐색 분야의 연구가 오랫동안 지속적으로 진행되어 현재는 효과적인 방제법을 확립하고 있는 단계이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

1. 재료 및 방법

가. 공시톱밥 준비

미이용 활엽수종의 표고 톱밥재배용 배지 개발을 위하여 공시할 신갈나무 등 8수종의 공시목을 선정하여, 1999년 4월에 경기도 포천군 소흘면 직동리에 소재한 임업연구원 중부임업시험장 시험림에서 벌채하였다. 각 수종별 공시목의 벌채지, 생산재적은 다음 표1과 같다. 또한, 공시 톱밥을 제조하기 위하여 벌채한 공시목을 제재한 다음 톱밥제조기를 이용하여 톱밥입자크기 1-2mm로 분쇄하고 톱밥체로 정선하여 기건 상태로 건조하였다.

Table 1. List of felled trees in order to make sawdust in this experiment

Tree species	Korean name	Location	Cutting Volume (㎥)
Quercus mongolica	신갈나무	Soheul-yeub, Pochon-gun, Kyeonggi-do	0.36
Quercus variabilis	굴참나무	Soheul-yeub, Namyangju-gun, Kyeonggi-do	0.32
Castanea crenata	밤나무	Soheul-yeub, Namyangju-gun, Kyeonggi-do	0.33
Prunus leveilleana	개벚나무	Soheul-yeub, Pochon-gun, Kyeonggi-do	0.35
Alnus hirsuta	산오리나무	Soheul-yeub, Pochon-gun, Kyeonggi-do	0.35
Betula platyphylla var. *japonica*	자작나무	Soheul-yeub, Pochon-gun, Kyeonggi-do	0.35
Carpinus laxiflora	서어나무	Soheul-yeub, Namyangju-gun, Kyeonggi-do	0.31
Fraxinus rhynchophylla	들메나무	Soheul-yeub, Pochon-gun, Kyeonggi-do	0.33

나. 톱밥배지 수종별 조성분 분석 및 영양원 탐색

1) 공시 톱밥수종

신갈나무(대조), 굴참나무, 밤나무, 개벚나무, 산오리나무, 자작나무, 서어나무, 들메나무

2) 공시 표고균주 : 산림5호

3) 처리 : 무처리 톱밥배지, 표고 균 접종후 3개월 배양한 톱밥배지

라. 배지조성(중량비)

가) 톱밥 100%

나) 톱밥 80%+ 밀기울 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리 0.4%

4) 톱밥배지 조제시의 배지크기 및 배양용기, 배지 함수율

2kg배지, 통기휠터가 부착된 표고 톱밥배지 배양용 내열성 비닐봉지, 배지함수율 60~65%

5) 살균 및 배양조건 : 121℃에서 90분 고압살균하여 종균을 접종한 다음, 온도 20~22℃의 무균 배양실에서 3개월간 배양하였다.

6) 톱밥배지 수종별 조성분 분석

톱밥배지 개발을 위한 수종별 특성을 파악하기 위하여 신갈나무 등 8수종의 활엽수톱밥의 조성분 함량을 분석하였다. 또한, 기본배지의 조성분과 표고균사 배양과의 관계를 탐색하기 위하여 각 수종별 톱밥 80%에 일반적으로 사용하는 영양재인 밀기울 20%를 중량비로 혼합한 후 탄산칼슘 0.6%, 질산칼리 0.4%를 첨가한 배지에서의 표고균사 배양전(살균후, 무접종)과 배양후(접종후 3개월 배양)의 배지조성분 함량을 조사하였다. 조성분 분석방법은 다음과 같다.

가) 냉수 추출물(cold water extract)

1) 기건시료 약 2g을 500㎖의 비이커에 넣고, 증류수 300㎖를 첨가한 후 25±5℃(또는 실온)에서 가끔 교반하면서 48시간 동안 방치한다.

2) 48시간 후, Glass filter(1G3)를 사용하여 시료를 흡입·여과하고 다시 증류수로 세정한다.

3) 세정된 시료(Glass filter포함)를 105±3℃의 건조기에서 4시간 동안 건조 후, 다시 desicator에서 1시간 정도 냉각시킨 후 무게를 단다.

※추출물량 : [(처리전 시료의 전건무게-처리후 시료의 전건시료무

게)/처리전의 전건무게] ×100

나) 온수 추출물(Hot water extract)

1) 시료 2g을 300㎖의 삼각플라스크에 넣고 증류수 100㎖를 취하여 환류 냉각기를 부착하여 비등수욕 중에서 3시간 동안 처리한다.

2) Glass filter(1G3)로 흡입·여과, 열수로 세정한 후, 105±3℃의 건조기에서 4시간 건조 후, desicator에서 냉각시킨 후 무게를 단다.

※추출물량 : [(처리전 시료의 전건무게-처리후 시료의 건전무게)/처리전 전건무게] ×100

다) 알카리추출(1% NaOH extract)

1) 시료 2g을 200㎖의 비이커에 취하고, 1% NaOH 100㎖을 가한 후 때때로 교반하면서 100℃의 항온수조에서 1시간 동안 반응한다.

2) Glass filter(1G3)로 흡입·여과 후, 온수(증류수)로 세척한 다음 10%의 빙초산 50㎖를 가하여 중화시키고 70~89℃의 온수 300㎖로 충분히 세척한 다음 건조시킨다.

※추출물량 : [(처리전 시료의 전건무게-처리후 시료의 전건시료무게) / 처리전의 전건무게] × 100

라) 유기용제 추출물(Etanolbenzene extract)

1) 기건시료 약 2g을 Soxhelt추출관에 넣고, 무게를 미리 측량한 250㎖의 플라스크에 유기용제 150㎖을 가하여 100℃의 항온수조에서 6~8시간 추출한다.

2) 추출이 완료되면, 유기용제를 농축기를 이용하여 용매를 증발시키고 105±3℃의 건조기에서 4시간 건조시킨 후, desicator로 옮겨 약 1시간 정도 냉각시킨 후, 플라스크의 무게를 측정한다.

※추출물량 : [(추출후 flask와 추출물 무게-추출전 flask의 무게) / 처리전 시료의 전건무게] ×100

마) Klason lignin 정량

1) 탈지시료 1g을 50㎖의 비이커에 취하고 72% H_2SO_4를 목재의 경우에 준하여 15㎖를 가한 후, 20℃에서 자주 교반하면서 2시간 가수분해한다.

2) 1ℓ의 삼각플라스크에 옮겨 증류수를 가하여 H_2SO_4의 농도가 3%가 되도록 희석(전체 액량이 784㎖이 되도록)한 다음, 환류냉각기를 붙여 10

0℃의 항온수조에서 4시간 동안 반응한다.

3) Glass filter(1G4)로 흡입하여 여과하고 건조한다.

※lignin :

[(처리전 시료의 전건무게-처리후 시료의 전건시료무게)/처리전의 전건무게] ×100

바) 회분(Ash)

1) 기건시료 약 2g을 미리 무게를 달아놓은 도가니(뚜껑달린 것, 50~100㎖)에 넣고 처음에는 약하게 가열하다가 점차 강하게 작열(575±25℃)시켜 3시간 정도 탄화시킨다.

2) 탄화 완료된 시료를 desicator에서 1시간 냉각후 무게를 측정한다.

※ 회분량(%) :

처리후 시료의 전건무게) / (처리전의 시료의 전건무게) × 100

다. 배양전과 배양후의 영양제 첨가에 따른 양분동태

1) 미량원소의 성분함량 분석

톱밥배지 개발을 위한 수종별 특성을 파악하기 위하여 신갈나무 등 7수종의 톱밥배지 미량원소 함량을 분석하였다. 또한, 기본배지의 조성분과 표고균사 배양과의 관계를 탐색하기 위하여 각 수종별 톱밥 100% 및 톱밥 80%에 일반적으로 사용하는 영양제인 밀기울 20%를 중량비로 혼합한 후 탄산칼슘 0.6%, 질산칼리 0.4%를 첨가한 배지에서의 표고균사 배양전(살균후, 무접종)과 배양후(접종후 3개월 배양)의 미량원소 함량 변화를 조사하였다. 미량원소 분석은 토양, 식물체, 토양미생물 등의 토양화학분석법(농촌진흥청, 1988)에 의하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 건조 시료 1g을 분해용 시험관에 평량한 다음, 97% H_2SO_4 2㎖ 첨가하고, 촉매제 Perchloric acid 50% 20㎖첨가하여 240~260℃에서 투명하게 될 때까지 분해하였다. 이후 뜨거운 증류수로 분해액을 filtering하여 100㎖ volume metric flask에 증류수로 100㎖ mess up시킨 후 AA기로 양이온 및 음이온을 측정하였다.

2) 총탄소함량과 총질소함량 분석

표고균 배양전 후의 영양제(밀기울) 첨가 여부에 따른 C/N율(총탄소함량 대 총질소함량) 분석방법은 다음과 같다.

가) 총탄소함량 측정법(600℃ 연소법)

건조 시료 10g을 증발 접시에 평량한 다음, 연기가 나지 않을 때까지 연소(hood 내에서 작업)후 전기회로에서 600℃로 1시간 연소시킨 다음 데시케이터에서 상온까지 식힌 후 무게를 측정하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$T\text{-}C(\%) = \frac{\text{초기 시료 무게} - \text{태운 후 시료 무게}}{\text{초기 시료 무게}} \times 100(\%) \div 1.8$$

나) 총질소함량 측정법(Kjeldahl법)

건조시료 1g을 분해용 시험관에 평량한 후 97% H_2SO_4 20㎖를 첨가하고 촉매제(K_2SO_4:$CuSO_4 \cdot 5H_2O$=9:1) 첨가(한 Tea spoon 정도)하여 10 level (온도)에서 투명한 초록색이 될 때까지 분해한 후에 (BÜchi Digestion Unit K-435) 자동적정기(BÜchi Distillation Unit B-324)로 질소함량을 측정한다.

라. 표고톱밥배지의 영양제 첨가효과 및 표고 균 배양특성

1) 공시 영양제 : 쌀겨, 밀기울, 콘코브, 면실박, 대두피, 옥수수피(콘부란), 비트펄프, 한천부산물, 건비지등 8종의 영양제를 기건(氣乾)하여 2mm 멧쉬체로 정선(精選)한 다음 공시하였다.

2) 공시톱밥 : 신갈나무(대조), 굴참나무, 밤나무, 개벚나무, 산오리나무, 자작나무, 서어나무, 들메나무 등 8수종의 기건 톱밥을 2mm 멧쉬체로 정선한다음 공시하였다.

3) 공시균주 : 산림5호

4) 배지조성 : 톱밥 80%+ 영양제 20%(W/W), 함수율 60~65%로 조정하여 시험관에 충전하였다.

5) 살균 및 접종 : 120℃에서 40분간 고압살균 후 냉각시켜 별도로 배양한 표고균사 colony선단부를 5mm cork boar로 절취하여 접종하였다.

6) 배양방법 : 20~22℃ 배양실에서 25일간 배양하였다.

7) 조사내용 : 접종후 5일 간격으로 시험관에서의 표고균사 생장량과 톱밥배지 중량감소율을 측정하여 수종별 영양제 첨가별 균사생장량과 톱밥배지 분

해정도를 비교하여 영양제 첨가에 따른 배양효과를 조사하였다.

마. 수종별, 영양제 첨가수준별 톱밥배지의 버섯 생산성

1) 공시 영양제 : 쌀겨, 밀기울, 콘코브, 면실박, 대두피, 옥수수피(콘부란), 비트펄프, 한천부산물, 건비지등 8종의 영양재를 기건시켜 2mm 멧쉬체로 정선 후 공시하였다.

2) 배지조성 및 살균 : 중량비로 기건상태의 톱밥을 80%, 85%, 90%에 기건 상태의 영양제를 20%, 15%, 10%로 혼합하여 각각 100% 조성비의 배지를 함수율 60~65%의 배지로 혼합, 2kg씩 배양용 봉지에 입봉한 121℃에서 90분간 고압살균하였다.

3) 종균 접종 및 배양, 버섯발생 : 살균한 배지를 24시간 냉각시킨 후, 톱밥재배 전용품종인 산림5호 종균을 접종하여 20~22℃의 청정한 배양실에서 4개월간 배양하였다. 배양이 완료되면 배양봉지를 제거하고 봉지내의 분해수를 흐르는 물에 세정한 다음 24시간 동안 침수하여, 온도 15~18℃ 습도 90%의 버섯 발생실에 전개하여 버섯 생산이 종료될 때까지 발생량을 조사하였다.

바. 수종별 생산성이 우수한 톱밥배지의 농가 실연재배 시험

1) 공시 톱밥배지 : 수종별로 미이용 활엽수톱밥배지의 적정 영양원을 개발하기 위하여 실시한 생산성 검정결과 우수한 배지조성으로 구명된 미이용 활엽수 톱밥배지 20처리를 공시톱밥배지로 사용하였다. 배지의 크기, 형태, 공시품종 등은 전항(마항)의 시험방법과 같다. 이들 공시배지는 임업연구원의 무균 배양실에서 4.5개월 동안 완전히 배양하여 사용하였다.

2) 실연재배 장소 및 기간 : 충남 당진군 정미면 봉생리 및 매방리에 소재하는 농가로써 중국산 표고톱밥배지를 재배하고 있는 농가를 선정하여 농가에서 재배하여 생산량을 조사하였다. 재배사는 90평형 수막식 비닐하우스로 소형 난로와 살수시설이 있으며, 1월 20일부터 4월 20일까지 약 3개월간의 생표고 발생량을 조사하였다.

3) 배지조성 : 수종별로 공시한 우수 톱밥배지 조성은 다음과 같다.

가) 신갈나무 : 톱밥 80%+미강 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리 0.4%+설탕 1.5%, 톱밥 85%+면실박 15%, 톱밥 80%+대두피 20%

나) 굴참나무 : 톱밥 80%+밀기울 20%, 톱밥 90%+면실박 10%, 톱밥 90%+건비지 10%

다) 자작나무 : 톱밥 80%+밀기울 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리 0.4%+설탕 1.5%

라) 산오리나무 : 톱밥 80%+면실박 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리 0.4%+설탕 1.5%, 톱밥 80%+밀기울 20%

마) 밤나무 : 톱밥80%+밀기울 20%, 톱밥80%+미강 20%, 톱밥80%+대두피 20%

바) 개벚나무 : 톱밥85%+밀기울 15%, 톱밥80%+면실박 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리0.4%+설탕1.5%, 톱밥80%+대두피 20%+탄산칼슘0.6%+질산칼리 0.4%+설탕1.5%

사) 서어나무 : 톱밥80%+밀기울 20%+탄산칼슘0.6%+질산칼리0.4%+설탕 1.5%, 톱밥85%+건비지 15%, 톱밥85%+면실박 15%

아) 들메나무 : 톱밥80%+미강 20%, 톱밥80%+밀기울 20%+탄산칼슘 0.6%+질산칼리0.4%+설탕1.5%

사. 표고원목재배가 끝난 폐버섯나무의 자원의 재활용 시험

1) 배지적성 검토

가) 공시재료 : 공시균주로 산림5호를 사용하였으며, 공시 톱밥배지로는 무처리 신갈나무톱밥(대조구, 이하 톱밥으로 칭함)과 표고재배 폐버섯나무톱밥(이하 폐톱밥 으로 칭밥)을 사용하였다.

나) 처리방법 : 톱밥에 폐톱밥을 20%단위로 혼합시켜 5종으로 분류하고 또한 여기에 각종별로 쌀겨 10%를 가한 10종의 배지를 시험관에 충진, 고압살균한 다음, 종균을 접종하고 배양후 톱밥배지적성을 검토하였다.

2) 조성배지의 버섯 생산성 검정

가) 배지조성 및 배양 : 무처리의 신갈나무 톱밥에 폐버섯나무 톱밥을 0, 20, 40, 60, 80% 혼합하여 5처리구로 배지를 조성하고 4개월간 배양하였다.

나) 버섯 발생량 조사 : 20~22℃, 습도 80~90%의 발생실에서 3.5개월간 버섯을 수확하였다.

아. 우리나라의 톱밥 버섯재배 실태

1) 톱밥 버섯재배용 영양제 이용

톱밥 버섯재배에 사용하는 영양원 조사 : 국내에서 재배하고 있는 표고 등 식용버섯 재배에 이용하고 있는 양양원의 사용실태를 조사하였다.

2) 표고톱밥재배 현황

국내에서의 표고톱밥재배 현황을 조사하였다. 중국산 표고톱밥배지를 수입하여 재배하는 농가는 재배품종, 재배규모, 배지의 규격, 생산량 등 기초적인 재배실태를 조사하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 톱밥배지 수종별, 배양 전후 톱밥배지의 조성분 분석

1) 살균전 공시 수종 톱밥의 화학적 조성

대조 수종인 신갈나무 이외에 굴참나무, 밤나무, 산오리나무, 서어나무, 자작나무, 들메나무, 개벚나무의 화학적 조성을 조사하였는데 그 결과는 그림 1과 같다.

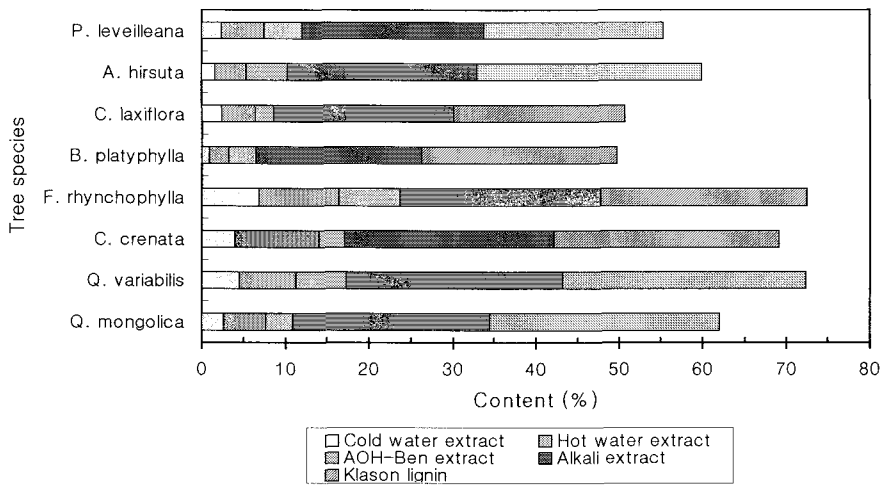


Figure 1. Chemical compositions of each sawdust using this experiment

목재의 조성분중 냉수 및 열수 추출성분은 저분자량의 수용성 탄수화물과 가수분해형 탄닌 및 배당체로 구성되어 있는데, 이들 중 저분자량의 수용성 당

류는 표고와 같은 목재 분해균이 목재 분해시 직접 이용이 가능한 성분으로 목재의 균에 대한 내후성에 매우 큰 영향을 미친다. 공시 수종 중 냉수 및 열수와 같은 수용성 용매에 의한 추출성분의 함량이 가장 높게 나타난 들메나무의 경우 심재의 구름버섯에 대한 중량감소율을 조사한 결과 20.9%로 매우 높아 내후성이 낮다는 연구 결과와 비교해 볼 때 일치하였다. 그러나 수용성 추출 성분 중에는 항균활성이 있는 탄닌류가 포함되어 있으므로 참나무류의 경우 수용성 추출성분의 함량은 높지만 내후성은 낮은 것으로 보고가 되어있으므로 수용성 추출성분의 함량만으로 표고재배용 적정자원으로 선정하기에는 무리가 있는 것으로 판단되었다.

일반적으로 목재 성분중 리그닌은 페놀성 고분자 화합물로써 목재의 강도와 같은 물리적 특성에 관여할 뿐만 아니라 균의 침입으로부터 나무를 보호해 주는 barrier 역할을 하는 물질로써 목재의 내후성과 직접적인 관계가 있다. 즉 목재내의 기본 골격성분인 셀룰로오스 및 헤미셀룰로오스를 둘러쌓고 있어 목재 분해균이 생장시 이용하는 탄소원인 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 분해를 막아주는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 공시 수종의 리그닌 함량을 조사한 결과 내후성이 양호한 수종인 신갈나무, 굴참나무, 밤나무가 자작나무과의 산오리나무, 서어나무, 자작나무보다 높게 나타났다.

2) 수종별 살균 톱밥배지(밀기울 20% 첨가)의 화학적 조성

표고 톱밥 배지 조성시 탄소원인 톱밥 80%에 영양원으로 사용되는 밀기울을 20% 첨가하여 배지를 제조하여 고압살균한 후의 접종전 톱밥배지의 화학적 조성은 표 2 에 나타내었다.

Table 2. Chemical compositions of sterilized sawdust medium before inoculation

(unit : %)

Treatment / Species	Cold water extract	Hot water extract	Alkali extract	Alcohol-benzen extract	Klason lignin	Ash
Q. mongolica	9.47	18.24	37.63	7.54	26.59	2.30
Q. variabilis	12.59	18.82	41.59	8.37	26.88	2.92
C. crenata	11.50	22.80	46.48	7.46	24.53	3.04
F. rhynchophylla	14.93	19.81	39.41	11.60	22.43	2.51
B. platyphylla	8.97	13.25	36.31	7.37	22.38	2.17
C. laxiflora	11.16	15.03	37.73	8.31	20.11	2.79
A. hirsuta	9.51	13.36	35.28	7.69	27.27	2.30
P. leveilleana	8.17	13.69	35.91	6.82	21.80	2.14

표고 톱밥 배지 제조시 표고 균의 초기영양원으로 이용이 가능한 미강이나 밀기울을 첨가하는데 본 실험에서는 톱밥에 밀기울을 20%첨가한 배지를 사용하여 이에 대한 화학적 조성분을 조사하였다.

밀기울은 저분자량의 탄수화물과 단백질, 비타민 및 무기미량 원소를 함유하고 있는 재료로써 표고의 초기 성장을 촉진시키는 역할을 한다. 본 배지의 화학적 조성을 조사한 결과 수용성 및 유기용제용성의 추출성분 함량이 크게 증가하였는데 이는 첨가한 밀기울내에 함유된 추출성분이 용출 되었기 때문이며, 이에 반해 리그닌 함량은 오히려 감소하였는데 이 현상은 첨가한 밀기울내에 리그닌이 함유되어 있지 않기 때문으로 판단된다.

또 제조 배지의 회분 함량은 원래 공시목에 대하여 약 1.6%정도씩 증가하였는데 이것은 배지 제조시 첨가한 0.6%의 탄산칼슘과 실리카의 함량이 큰 밀겨가 톱밥배지 내에 포함되었기 때문이다.

3) 배양한 후의 표고 톱밥배지(밀기울 20% 첨가)의 추출성분 변화

표고 톱밥배지에 3개월간 배양후 배지의 조성분의 변화율을 조사한 결과는 표 3에 나타냈다. 표 3의 조성분 변화율을 수종별로 비교하기 위해 방사선 그래프로 그린 결과는 그림 2와 같다. 그림 2에서 보는 바와 같이 추출성분중 표고 재배에 따른 추출성분의 함량 변화는 공시수종 모두 냉수 추출성분이 가장 현저하게 증가하였으며, 백색 부후균인 구름버섯에 대한 내후성이 낮

은 자작나무과 수종인 산오리나무, 자작나무, 서어나무의 추출성분 증가율은 냉수, 열수, 알칼리 추출성분 순으로 감소하였는데 이는 표고균이 성장함에 따라 배지내 존재하는 탄수화물을 저분자화 함으로써 일어난 현상으로 판단된다.

Table 3. Component contents and fluctuation rates of sawdust media before and after cultivation (unit : %)

Treatment / Species	Cold water extract			Hot water extract			Alkali extract			Alcohol-benzen extract		
	B	A	C	B	A	C	B	A	C	B	A	C
Quercus mongolica	9.47	13.52	42.8	18.24	18.71	2.6	37.63	42.47	12.9	7.54	8.18	8.5
Quercus variabilis	12.59	13.04	3.6	18.82	19.16	1.8	41.59	41.72	0.3	8.37	6.92	-17.3
Carpinus crenata	11.50	13.10	13.9	22.80	19.14	-16.1	46.48	41.94	-9.8	7.46	7.72	3.5
Fraxinus rhynchophylla	14.93	13.88	-7.0	19.81	19.98	0.9	39.41	41.69	5.8	11.60	8.03	-30.8
Betula platyphylla	8.97	14.51	80.2	13.25	19.02	43.5	36.31	45.28	24.7	7.37	8.82	19.7
Carpinus laxiflora	11.16	12.33	10.5	15.03	17.21	14.5	37.73	45.34	20.2	8.31	7.13	-14.2
Alnus hirsuta	9.51	13.80	45.1	13.36	20.08	50.3	35.28	46.87	32.9	7.69	7.59	-1.3
Prunus leveilleana	8.17	14.72	80.2	13.69	18.32	33.8	35.91	42.22	17.6	6.82	8.67	27.1

※ B : before cultivation, A : after cultivation, C : rate of increase

물론 온수나 알칼리와 같이 용해력이 큰 추출 조건에서 추출되는 성분의 절대량을 비교하면 냉수 추출성분보다는 크지만 이들의 상대적 증가량은 감소하는 것으로 나타났다(표 3 참조).

이를 증명할 수 있는 하나의 현상으로는 백색부후균에 대하여 비교적 내후성이 큰 참나무과 및 물푸레나무과의 공시 수종의 추출성분 증가율이 낮은 것으로도 설명이 가능하다,

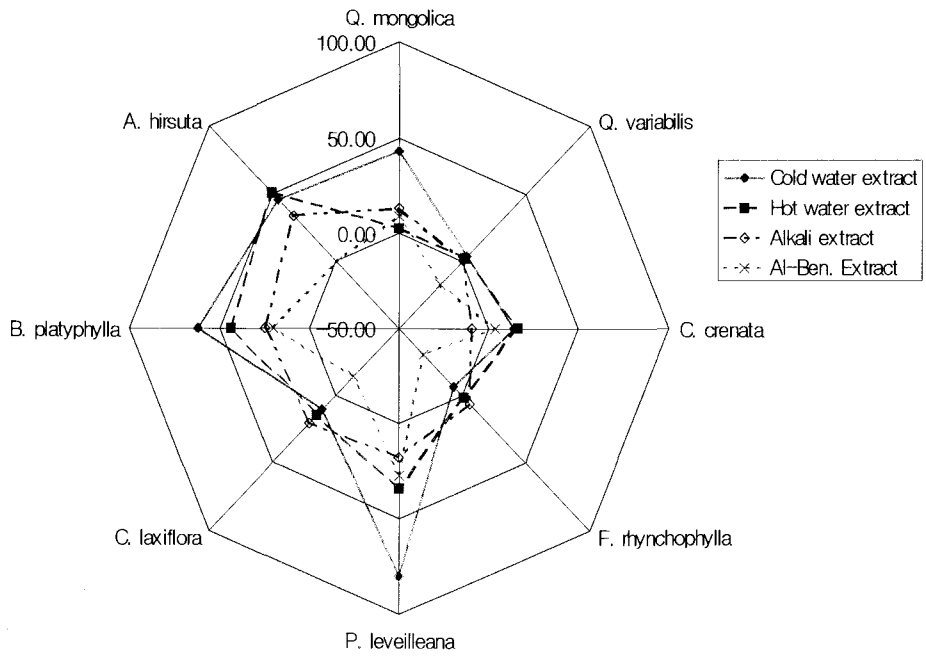


Figure 2. Fluctuation rates of components classified by tree species of sawdust media before and after cultivation

4) 톱밥 배지내의 리그닌 함량 변화

톱밥배지내의 난분해물질인 리그닌의 함량을 조사한 결과를 그림 3에 나타냈다. 표고는 백색 부후균이므로 목재내의 리그닌을 분해할 수가 있다. 그래서 표고 재배후의 배지 내에 존재하는 리그닌 함량을 조사한 결과 3개월 재배시 공시 수종 모두에서 리그닌 분해가 관찰되었으며 특히 미생물에 의한 부후가 빠른 수종인 서어나무에서의 리그닌 감소율이 31.4%로 가장 높았으며 다음이 표고자목으로 널리 사용되는 신갈나무(30.9%)순으로 나타났다(그림 3).

백색 부후균인 구름버섯에 의한 내후성을 조사한 결과 내후력이 낮은 수종인 들메나무의 리그닌 감소율이 20.8%로 가장 낮게 나타났는데 이에 대한 결과는 추후 재검토되어야 할 사항으로 간주된다.

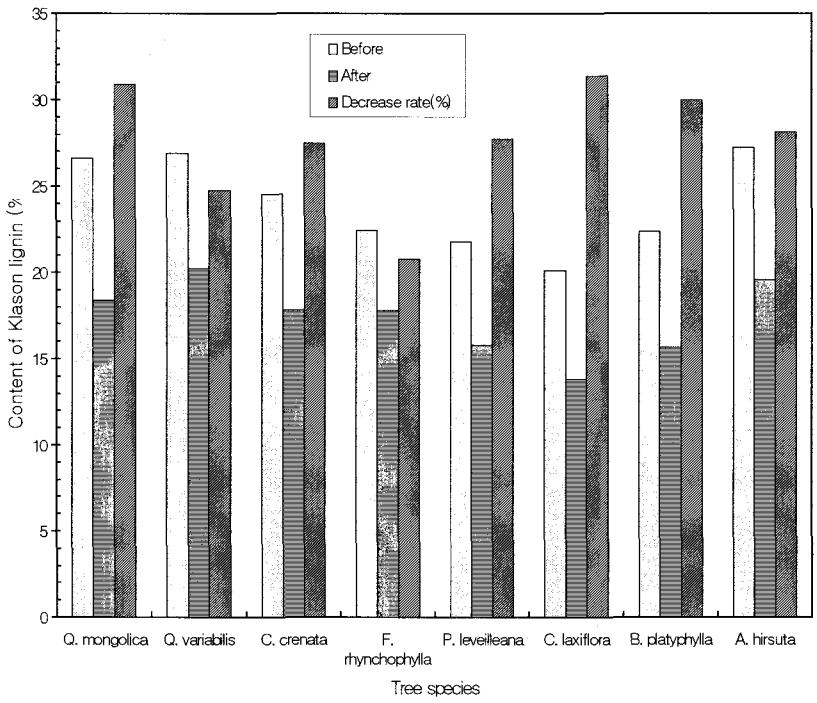


Figure 3. Klason lignin content and decreasing rate of sawdust media

나. 배양전과 배양후 표고 톱밥배지의 pH

공시 8수종의 무처리 톱밥과 밀기울을 영양제(밀기울)를 첨가한 표고 톱밥배지의 배양 전후의 pH 변화를 조사한 결과는 다음 표 4와 같았다. 살균전 톱밥 단용구에서는 밤나무가 4.33으로 가장 낮았으나 배양후는 다른 수종과 큰 차이를 보이지 않았고, 표고재배 적합수종인 신갈나무에 비하여 자작나무, 산오리나무, 밤나무, 개벚나무, 들메나무의 pH가 낮은 것으로 나타났다. 그러나 영양제 첨가배지에서는 대조 수종과 유사하게 나타나 배지 pH는 영양제 첨가로 개선할 수 있음을 알 수 있었다.

Table 4. pH changes of each sawdust medium between only sawdust and sawdust including 20% wheat bran before and after autoclave

Tree species	100% Sawdust			80% Sawdust+ 20% wheat bran		
	After autoclave	After cultivation	Change	After autoclave	After cultivation	Change
Q. mongolica	4.50	4.15	△0.35	5.43	3.95	△1.48
Q. variabilis	4.72	4.08	△0.64	5.61	3.96	△1.65
C. laxiflora	4.77	4.04	△0.73	5.69	4.07	△1.62
B. platyphylla	4.98	3.77	△1.21	5.75	4.07	△1.68
A. hirsuta	4.85	3.97	△0.88	5.72	4.07	△1.65
C. crenata	4.33	3.88	△0.45	5.44	3.92	△1.52
P. leveilleana	4.77	3.94	△0.83	5.84	3.95	△1.89
F. rhynchophylla	4.87	3.84	△1.03	5.75	3.97	△1.78

다. 톱밥배지에서의 미량성분 탐색

버섯재배의 영양조건은 탄소원, 질소원, 그리고 무기염, 비타민 및 핵산 염기로 대별되는데, P. K. Mg, Ca, Fe, Cu, Mn, Mo 등은 보통 합성배지를 이용한 실험에서 버섯이 생장에 필요한 원소로써 제각기 이온 형태로 이용되고 있다. 표고톱밥재배의 표고의 영양생장 및 생식생장에 있어서 영양생리는 조사되어 있지 않으나 표고 원목재배의 경우에는 5년간 재배한 버섯나무를 대상으로 다양한 양분의 이용과 목섬유 분해, 이용에 관하여는 이미 보고된바 있다 (Tokimoto *et al.*, 1982). 신갈나무 톱밥을 대조로 한 들메나무 등 6수종의 미이용 활엽수 톱밥배지의 미량원소 함량과 톱밥배지 배양 후의 미량성분 함량을 그림 4~그림 7에 나타내었다. 미량원소별로 결과를 살펴보면 다음과 같다.

Zn은 표고 원목재배의 경우 5년간 60.9%가 소비된 것으로 보고되어 소비율이 매우 높았는데, 표고 톱밥배지에서도(그림 4) 높은 이용율을 보이고 있다. 톱밥원료에 영양제(밀기울)을 혼용한 배지는 톱밥원료에 비하여 대부분 함유량이 높은 것으로 나타나 영양제 첨가도 성분 증가에 관여하고 있음을 알 수 있었다. 영양원 혼용배지에서 배양후 이용율이 가장 높은 것은 신갈나무였고 개벚나무, 서어나무, 자작나무 등은 전혀 이용되지 않았다.

Cu는 표고 원목재배에서 5년 동안 78.5%의 높은 이용율을 보인 것으로 보고된바 있다. 영양제를 혼용한 톱밥배지의(그림 5) 경우도 들메나무를 제외하고는 모든 수종에서 높은 소비경향을 보여주고 있다. 톱밥원료 배지 보다 영양제를 혼용한 배지가 성분의 감소경향을 보여주었다. 영양제 혼용배지에서 밤나무의 이용율이 가장 높았다.

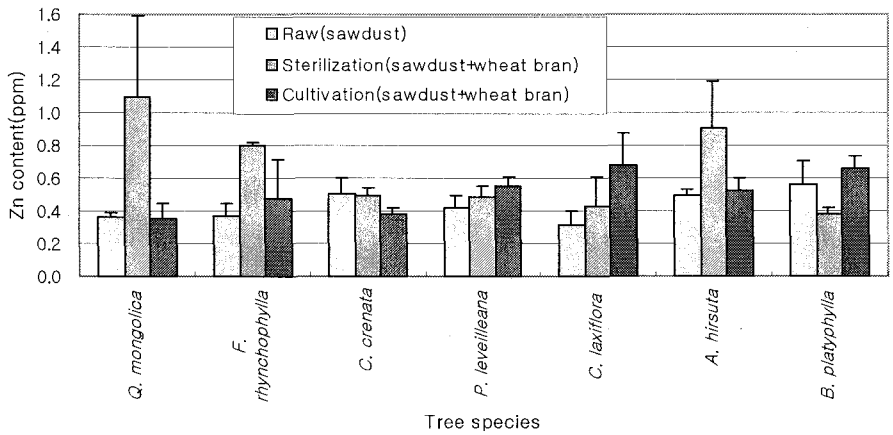


Figure 4. Changes of Zn content following raw material, sterilized and mushroom cultivation of each sawdust

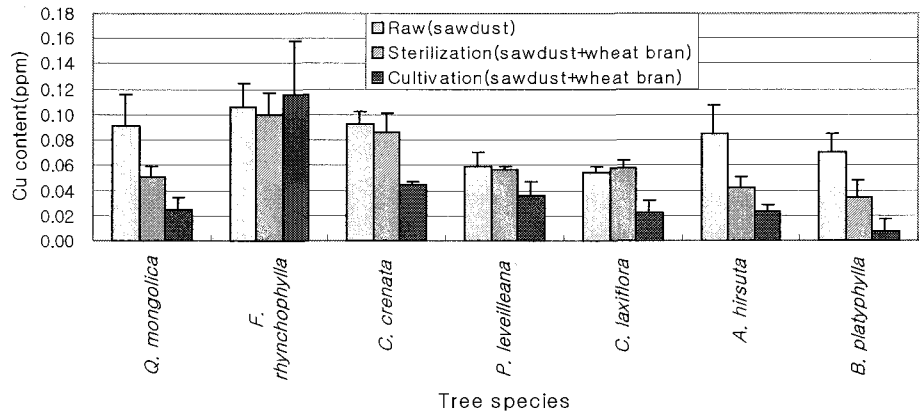


Figure 5. Changes of Cu content followimg raw material, sterilized and mushroom cultivation of each sawdust

Fe은 표고 원목재배의 경우 명확한 성분의 감소가 인정된 것으로 보고된 바 있으며, 톱밥배지에서도(그림 6) 영양제 혼용배지에서 대부분 높은 이용 경향을 나타내고 있다. 그러나, 밤나무의 경우는 오히려 증가하는 특이성을 보여주었다. Mn은 표고 원목재배에서 5년 동안 36.7%의 이용율을 보인 것으로 보고된바 있으며 톱밥배지의(그림 7) 경우도 대부분 높은 이용율을 나타내었다. 밤나무나 들메나무는 이용경향을 보이지 않았다. 특히, 신갈나무·서어나무 등 표고원목재배 적정수종에서 높은 함량과 이용율이 나타난 것은 주목할만 하다.

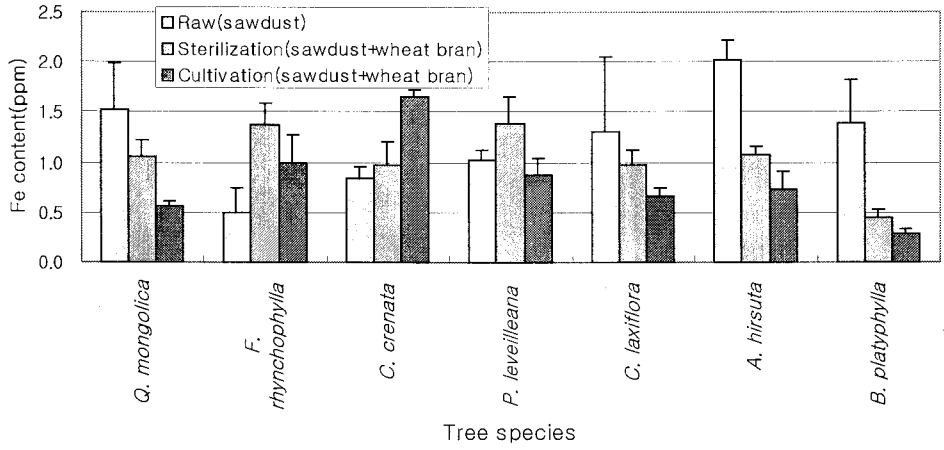


Figure 6. Changes of Fe content following raw material, sterilized and mushroom cultivation of each sawdust

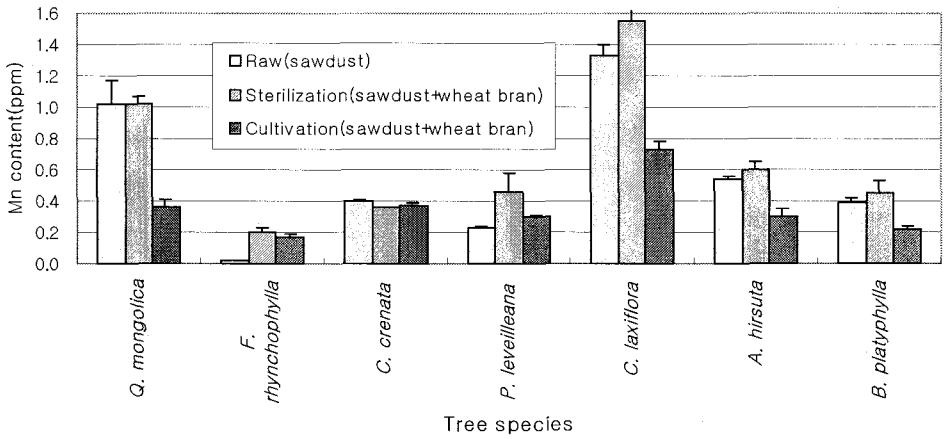


Figure 7. Changes of Mn content following raw material, sterilized and mushroom cultivation of each sawdust.

라. 톱밥배지에서의 C/N율 탐색

1) 살균전 무처리 톱밥배지의 C/N율

살균전 무처리 톱밥의 C/N율은 그림 8과 같이 산오리나무가 대조 수종인 신갈나무와 유사하였으며 기타 수종은 다소 높은 것으로 나타났다. 배양 후의 C/N율은 들메나무가 219:1로써 표고균의 성분 이용도가 가장 낮은 것으로 나타났다. 톱밥 단용 배지의 배양 후 C/N율은 전 수종이 107~214:1의 범위로 버섯류의 생식생장 최적 C/N율로 알려진 30:1~40:1 보다 3배 이상 높은 것으로 나타나 톱밥 단용으로는 버섯재배 이용이 불가능한 것으로 나타났다.

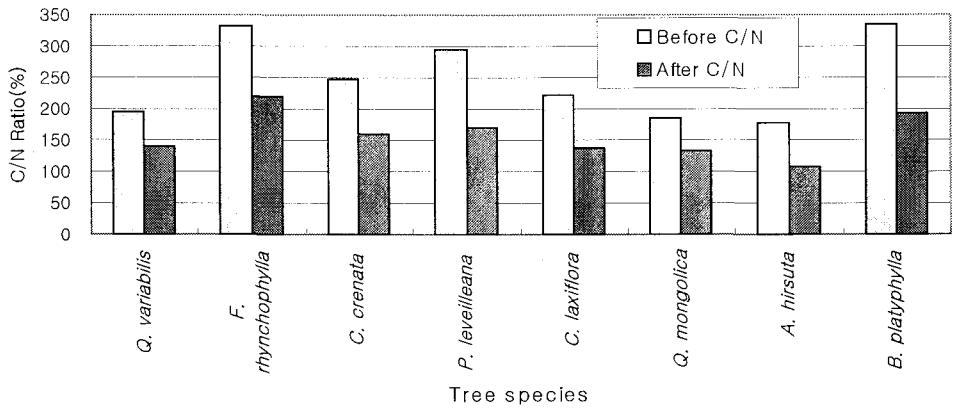


Figure 8. C/N rate before and after *Lentinula edodes* cultivation at only sawdust medium

2) 영양제(밀기울) 혼용 톱밥배지의 배양 전후의 C/N율

영양제를 첨가한 균 배양전과 배양후의 톱밥배지 C/N율은 그림 9에 나타내었다. 살균후 배양전의 C/N율은 약 60~70으로 대부분 대조수종인 신갈나무와 유사하였는데, 밤나무가 가장 낮았으며 개벚나무, 자작나무가 가장 높았다. 각 수종별 톱밥배지의 배양후의 C/N율은 약 42~52 범위로 들메나무, 서어나무. 자작나무가 대조수종보다 높았고, 산오리나무, 밤나무가 낮은 것으로 나타났다. 배양후의 톱밥배지 C/N율은 일반적인 버섯류 생식생장 적합 C/N율 30~40 보다 약 12정도 높게 나타나고 있으므로 밀기울과 같은 영양원을 혼용할 경우, 탄소원 함량을 낮추거나 질소원의 함량을 높여줄 수 있는 적정한 영양원을 선발하고 첨가수준에 관한 충분한 검토가 있어야 할 것으로 생각한다.

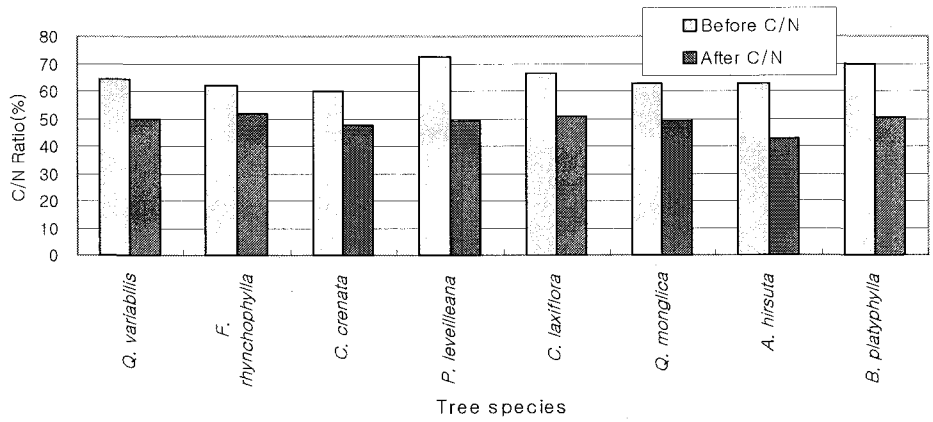


Figure 9. C/N rate before and after *Lentinula edodes* cultivation at 80% sawdust and 20% wheat bran.

마. 수종별 톱밥배지에 적합한 영양원 선발

각 수종별 톱밥배지의 균사배양에 적합한 영양원과 영양원의 첨가조건을 구명하기 위하여 신갈나무 등 8수종의 톱밥배지에 쌀겨 등 9 영양원을 첨가하여 배양특성을 조사하였다. 각 배지 수종별, 영양원 첨가 수준별 톱밥배지에서의 균사 생장량과 배지 중량 감소율의 조사결과는 다음과 같다.

1) 신갈나무 : 균사 생장량은 한천부산물 15% 첨가구, 배지중량 감소율은 밀기울 10%, 한천부산물 15% 첨가구가 양호하였다(그림 10~그림 11).

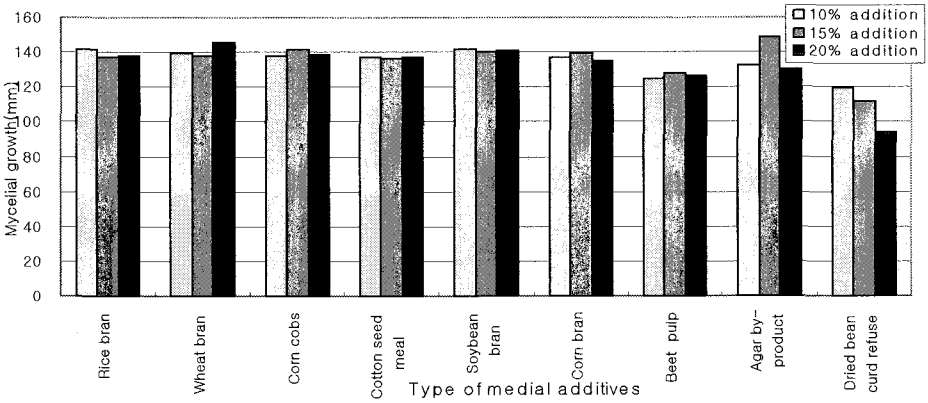


Figure 10. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Quercus mongolica* sawdust cultivation for 35 days

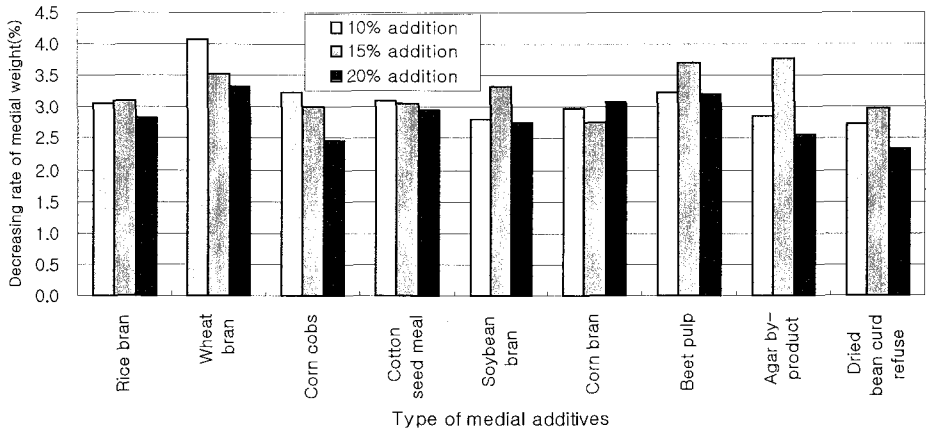


Figure 11. Decreasing rate of medium weight of *Quercus mongolica* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

2) 굴참나무 : 균사 생장량은 한천부산물 10% 첨가구, 배지중량 감소율은 대두피 15%첨가구가 양호하였다(그림 12~그림 13).

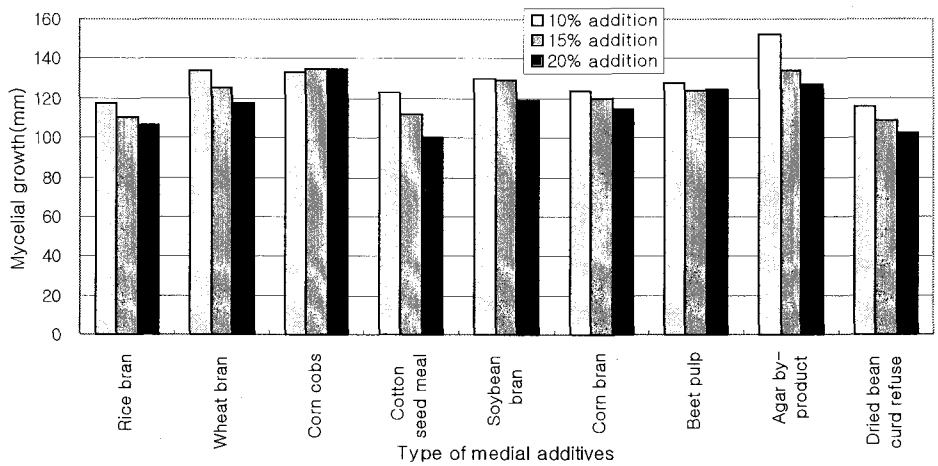


Figure 12. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Quercus variabilis* sawdust cultivation for 35 days

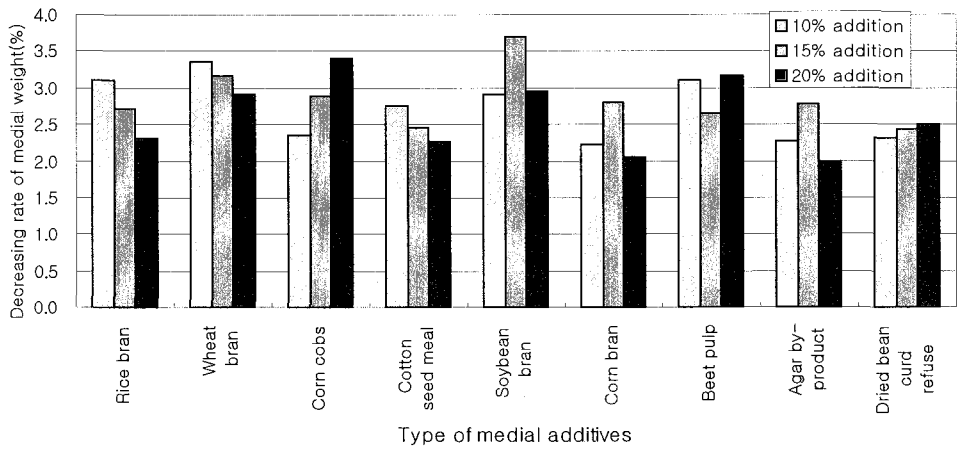


Figure 13. Decreasing rate of medium weight of *Quercus variabilis* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

3) 자작나무 : 균사 생장량은 쌀겨 10~15% 첨가구, 배지중량 감소율은 밀기울 15%, 대두피 10% 첨가구가 양호하였다(그림 14~그림 15).

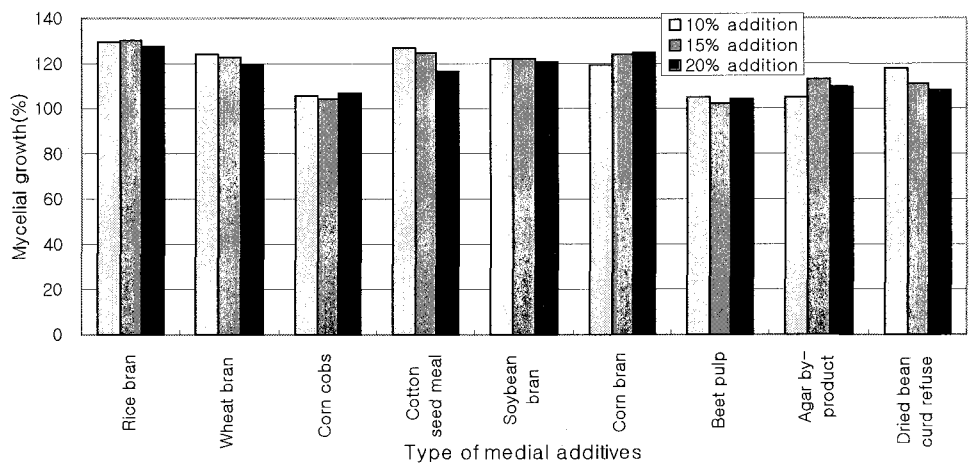


Figure 14. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Betula platyphylla* var. *japonica* sawdust cultivation for 35 days

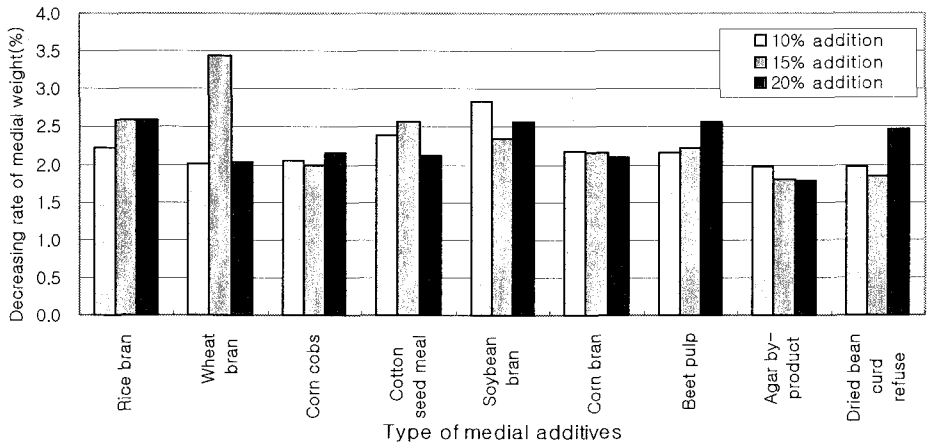


Figure 15. Decreasing rate of medial weight of *Betula platyphylla* var. *japonicas* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

4) 산오리나무 : 균사 생장량은 면실박 10% 첨가구가, 배지중량 감소율은 면실박 10%, 옥수수피와 비트펄프 15%첨가구가 가장 양호하였다(그림 16~그림 17).

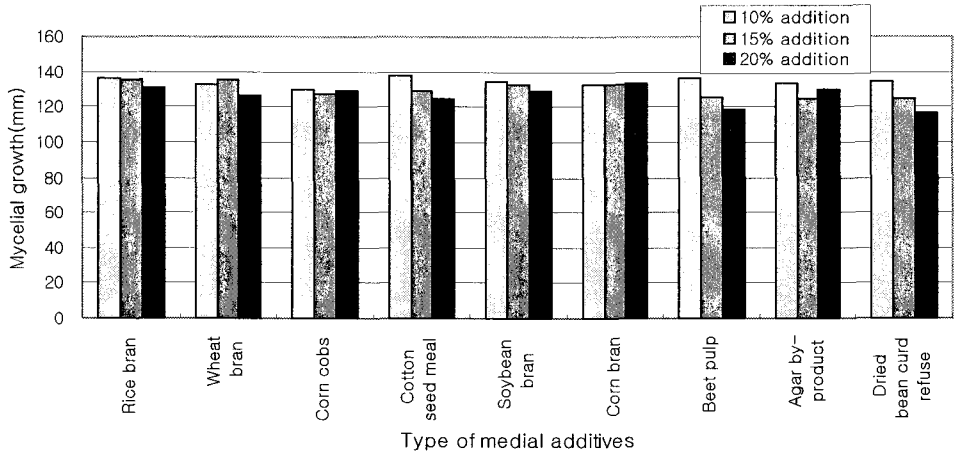


Figure 16. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Alnus hirsuta* sawdust cultivation for 35 days

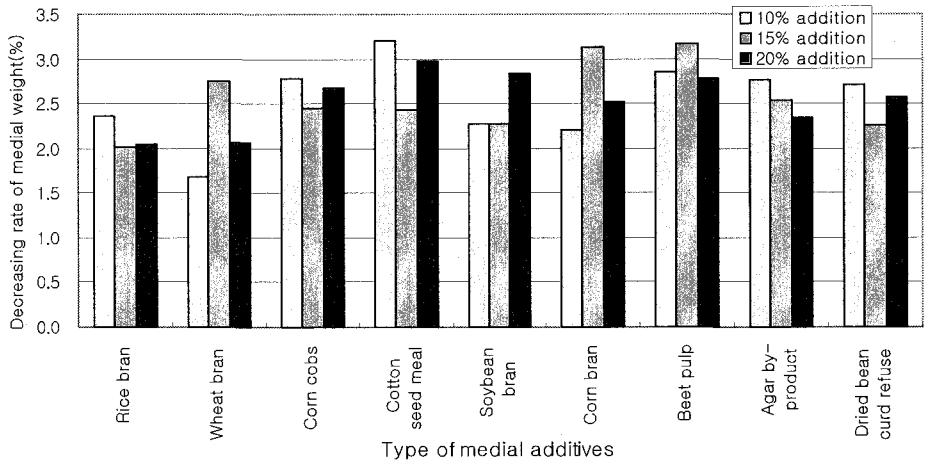


Figure 17. Decreasing rate of medial weight of *Alnus hirsuta* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

5) 밤나무 : 균사 생장량은 밀기울 15~20%, 면실박 15% 첨가구가, 배지중량 감소율은 대두피 15~20%첨가구가 가장 양호하였다(그림 18~19).

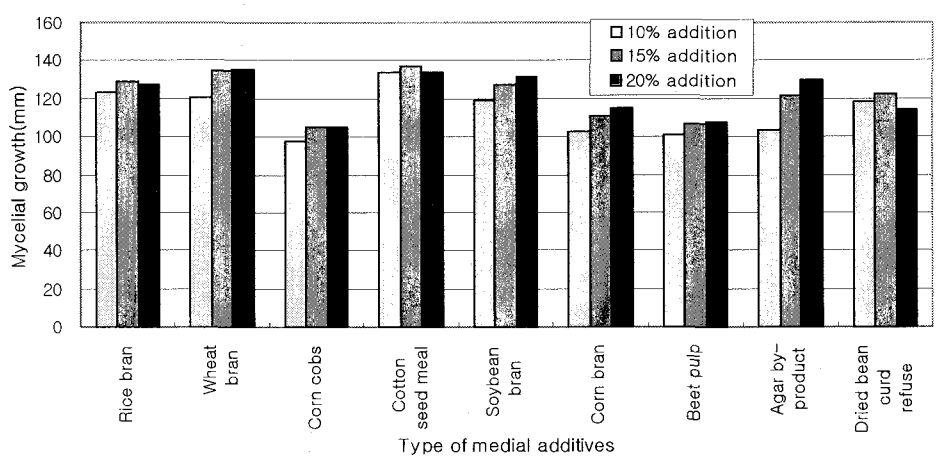


Figure 18. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Castanea crenata* sawdust cultivation for 35 days

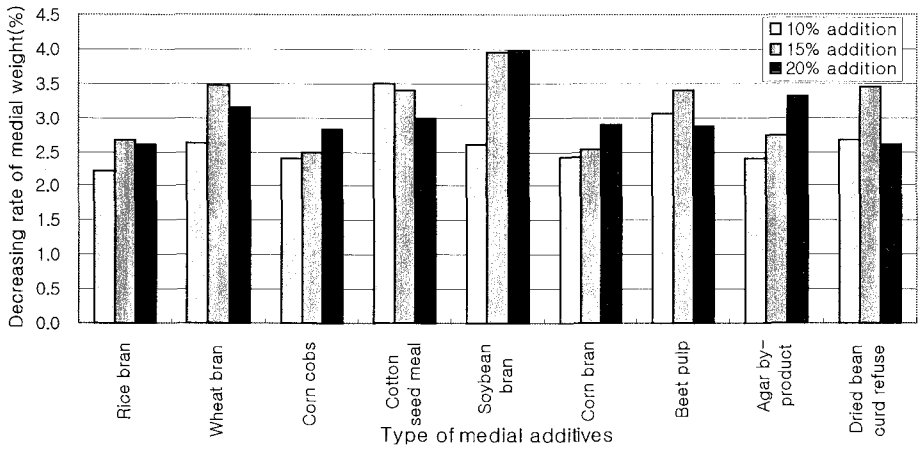


Figure 19. Decreasing rate of medial weight of *Castanea crenata* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

6) 개벚나무 : 균사 생장량은 밀기울 20%첨가구가, 배지중량 감소율은 대두피와 건비지 10%첨가구가 가장 양호하였다(그림20~그림 21).

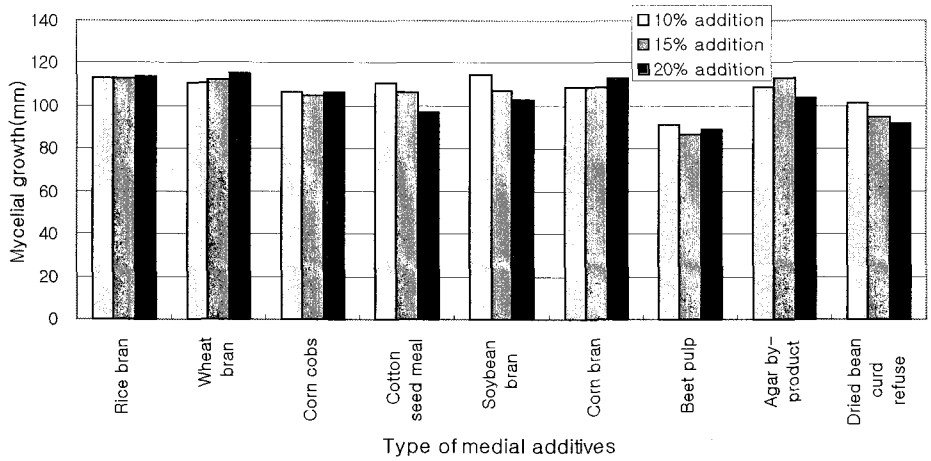


Figure 20. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Prunus leveilleana* sawdust cultivation for 35 days

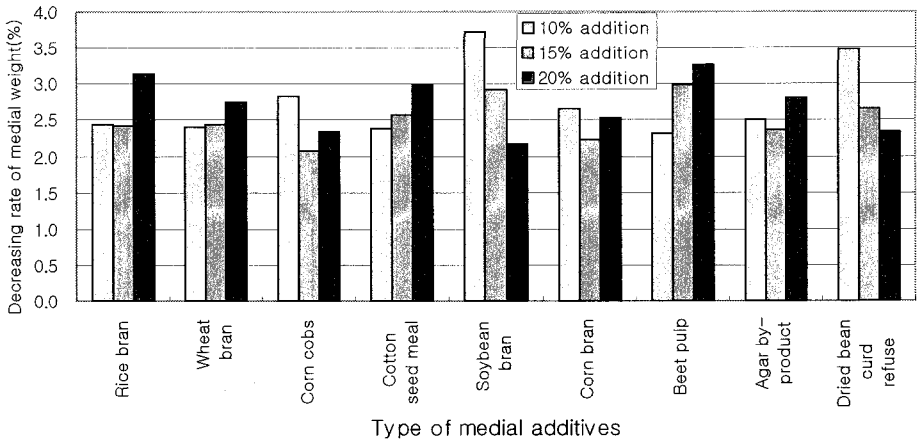


Figure 21. Decreasing rate of medial weight of *Prunus leveilleana* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

7) 서어나무 : 균사 생장량은 옥수수피, 밀기울 10%첨가구가, 배지중량 감소율은 콘코브 20%첨가구와, 면실박 15%첨가구가 가장 양호하였다(그림22~그림 23).

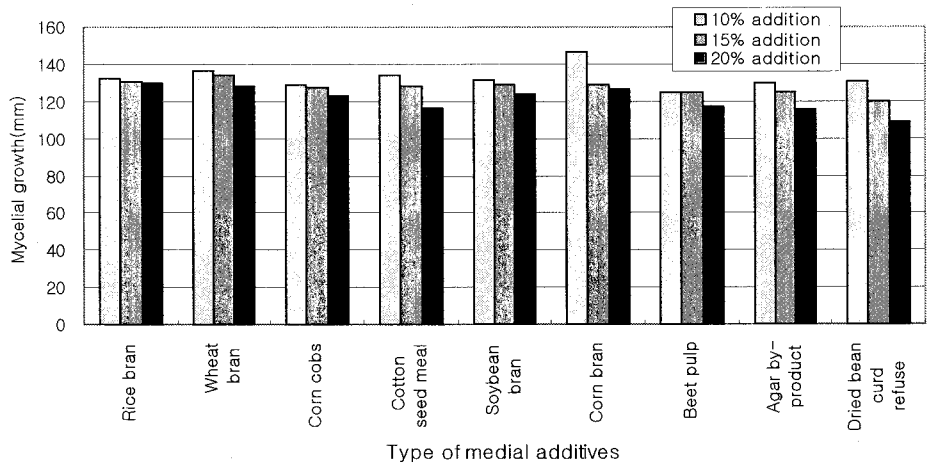


Figure 22. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Carpinus laxiflora* sawdust cultivation for 35 days

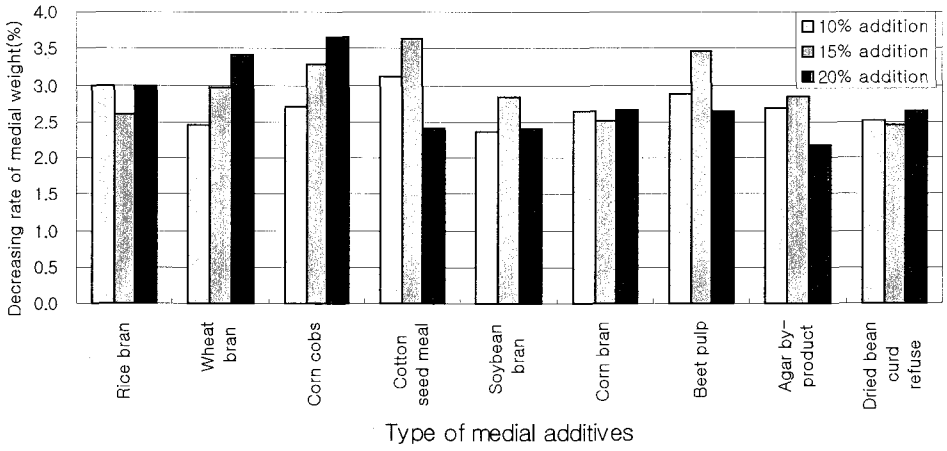


Figure 23. Decreasing rate of medial weight of *Carpinus laxiflora* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

8) 들메나무

균사 생장량은 쌀겨 15%, 밀기울 10%첨가구가, 배지중량 감소율은 비트펄프 15%, 쌀겨 15%, 콘코브 20%,첨가구가 가장 양호하였다(그림 24~그림 25).

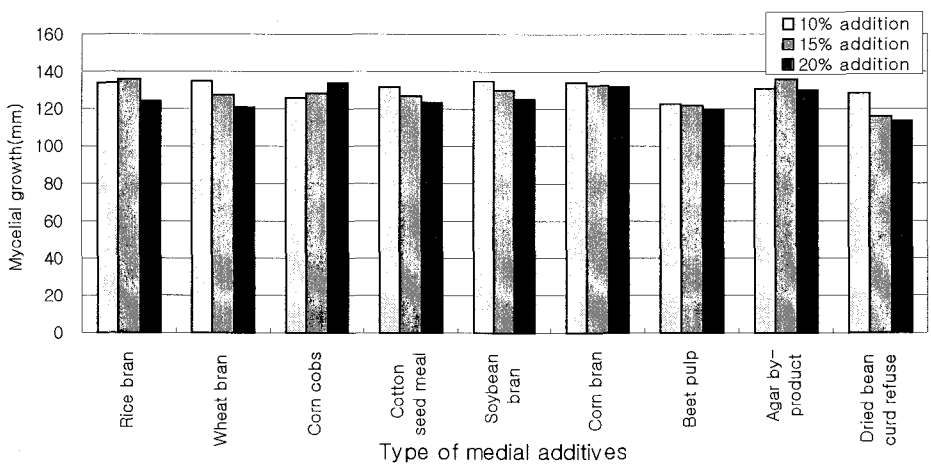


Figure 24. Mycelial growth of *Lentinula edodes* at the *Fraxinus rhynchophylla* sawdust cultivation for 35 days

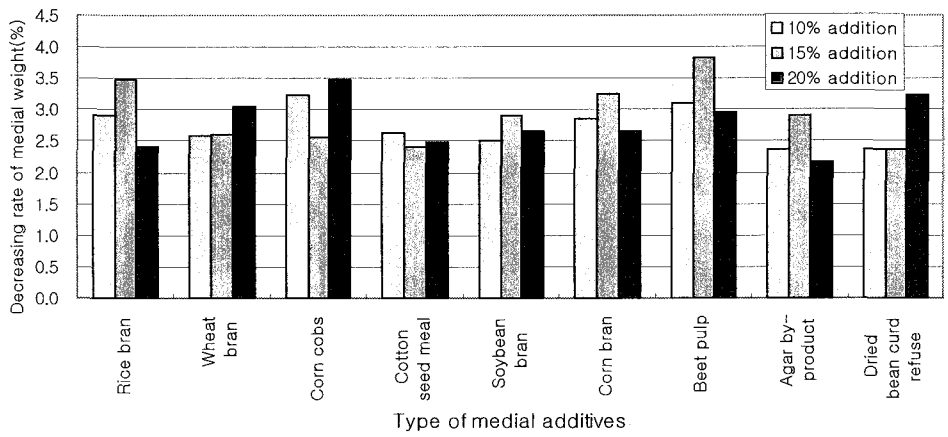


Figure 25. Decreasing rate of medial weight of *Fraxinus rhynchophylla* sawdust during the *Lentinula edodes* cultivation for 35 days

바. 영양원 첨가 유무가 버섯 생산성에 미치는 영향

1) 톱밥 단용배지와 영양제 혼용 배지의 표고 생산량

영양원 혼용배지의 버섯 생산량은 톱밥 단용배지에 비하여 5배 이상의 높은 생산성을 보여(표 5), 영양원 첨가가 버섯 생산성에 절대적인 영향이 있음을 잘 보여주고 있다. 영양원을 첨가하지 않은 톱밥 단용배지에서는 산오리나무, 서어나무, 굴참나무가, 영양원 혼용배지에서는 굴참나무, 서어나무, 들메나무, 산오리나무 등이 대조수종(신갈나무)이상으로 생산성이 양호하였다.

Table 5. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* between only sawdust medium and sawdust medium including nutrient additives for 135 days cultivation and 150 days harvesting

(unit : g)

Tree species	Korean name	Medium (2 kg)			
		Only sawdust		Sawdust and nutrient additives	
		Total productivity	Each weight	Total productivity	Each weight
Quercus mongolica	신갈나무	116^{bc}	10.0	571^{abc}	7.7
Quercus variabilis	굴참나무	125^{b}	7.3	677^{a}	8.8
Castanea crenata	밤나무	93^{c}	11.4	544^{bc}	8.4
Prunus leveilleana	개벚나무	91^{c}	9.7	512^{c}	9.2
Alnus hirsuta	산오리나무	178^{a}	10.7	622^{abc}	10.9
Betula platyphylla var. *japonica*	자작나무	95^{c}	13.0	539^{bc}	10.7
Carpinus laxiflora	서어나무	156^{a}	10.7	668^{ab}	11.5
Fraxinus rhynchophylla	들메나무	57^{d}	3.8	635^{abc}	9.1

2) 톱밥 단용배지와 및 영양원 혼용 톱밥배지에서 발생한 표고의 품질

톱밥 단용 배지와 영양원 혼용배지에서 발생한 버섯의 품질을 보면 들메나무를 제외하고는 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 영양원 첨가배지의 버섯 발생량이 영양원을 첨가하지 않은 배지보다 약 5배 이상으로 많아 자실체의 개체중에 영향한 것으로 보인다.

톱밥 단용구에서는 자작나무, 산오리나무, 밤나무, 서어나무가, 양양원 혼용구에서는 모든 수종이 대조수종(신갈나무) 이상으로 양호하게 나타났다.

사. 수종별 영양원 첨가 수준별 톱밥배지의 버섯 생산성

8수종에 대하여 9종의 영양원을 4수준으로 첨가하여 2kg톱밥배지를 조

제하여 4개월간 배양이 완료된 배지를 발생처리 하여 조사한 표고 생산량은 다음과(그림 26~그림33) 같았다.

1) 신갈나무(대조수종)

대조수종인 신갈나무 톱밥배지에서의 영양원 선택성이 뚜렷이 나타났다. 면실박 15%(782.3±3.5g/배지), 대두피 20%(744.7±20.8g/배지) 에서 가장 양호한 결과를 보였다. 콘코브(옥수수속대), 비트펄프 등은 좋지 않았다.

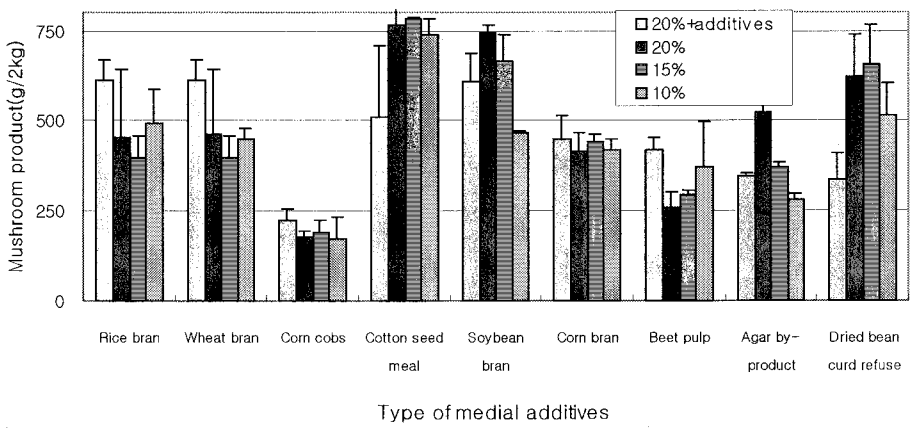


Figure 26. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Quercus mongolica* sawdust medium

2) 굴참나무

굴참나무는 수피가 두꺼운 콜크층으로 구성되어 있어서 표고 원목재배의 경우는 생산성이 나쁜 수종이나, 톱밥으로 분쇄하여 사용할 경우, 높은 생산성이 기대되므로 공시 하였다. 건비지 10%(740.0±97.4g/배지), 면실박 10%(671.7±96.2g/배지)수준에서 생산성이 양호하였다.

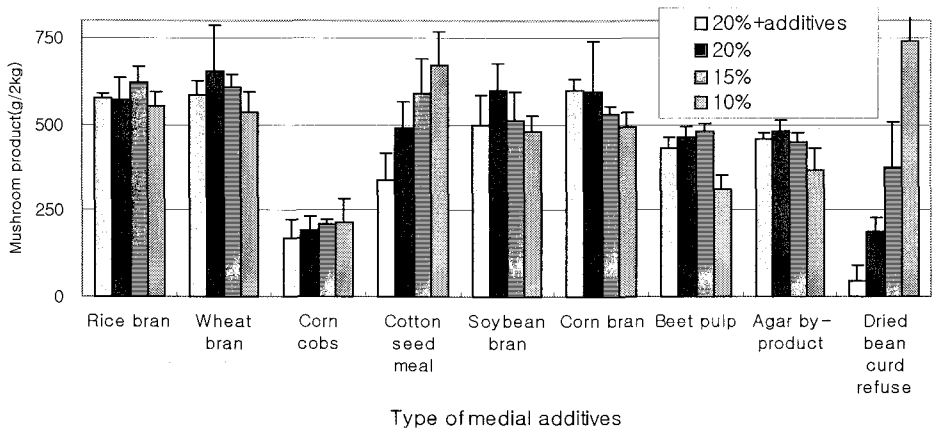


Figure 27. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Quercus variabilis* sawdust medium

3) 자작나무

참나무 배지에서 많이 사용하는 "밀기울 20%+첨가물"혼용구에서 양호하였으나(510.7±39.8g/배지), 전체적인 생산성은 낮은 편이었다.

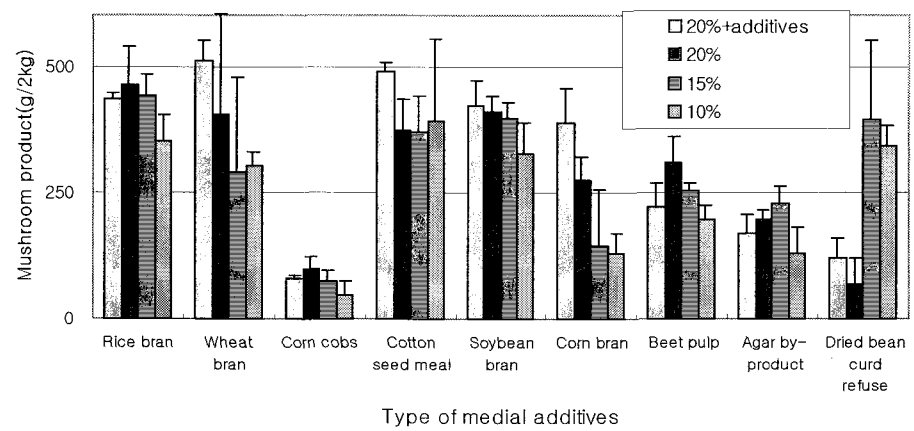


Figure 28. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Betula platyphylla* var. *japonica* sawdust medium

4) 산오리나무

수피가 약하여 산오리나무는 밀기울 20%(766.3±47.1g/배지), 면실박 20%+첨가물(661.3±43.2g/배지)에서 생산성이 양호하였다.

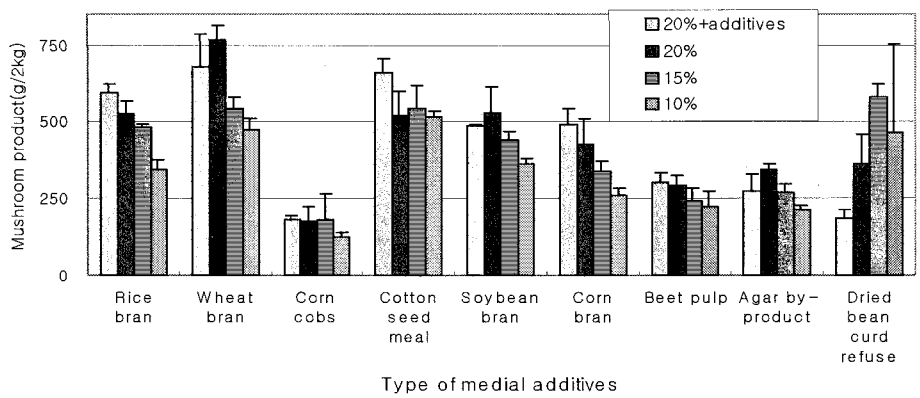


Figure 29. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Alnus hirsuta* sawdust medium

5) 밤나무

밀기울 20%+첨가물 처리구가 가장 양호하였으며(576.3±42.5g/배지), 미강 20%, 건비지 15% 혼용구 순이었다.

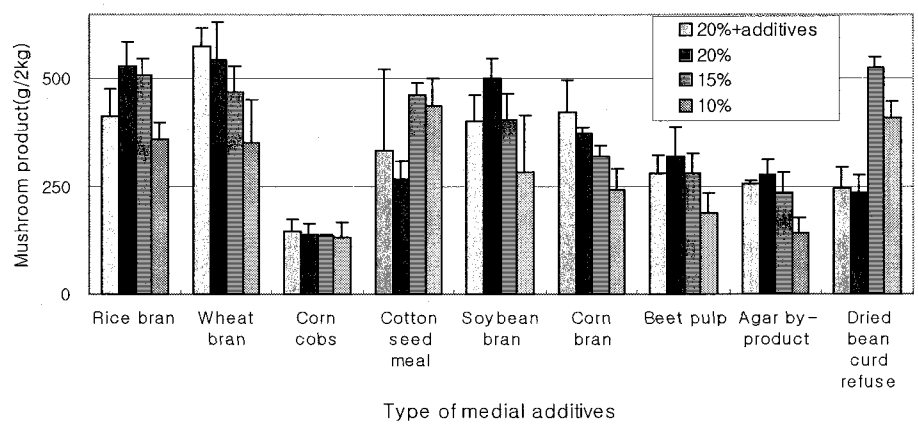


Figure 30. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Castanea crenata* sawdust medium

6) 개벚나무

밀기울 15%(599.3±157.2g/배지), 대두피 20%+첨가물(545.7±33.5g/배지) 처리구가 양호하였으며, 영양원 선택성이 매우 강하게 나타났다.

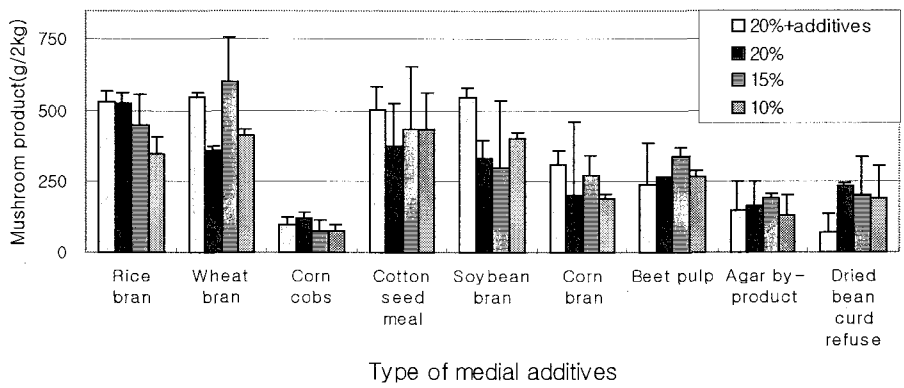


Figure 31. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Prunus leveilleana* sawdust medium

7) 서어나무 :

미강 20%(783.5±72.8g/배지), 밀기울 20%+첨가물(754.7±159.5g/배지)에서 안정적 생산성을 보였고, 다음으로 면실피•대두피•건비지 20%순이었다.

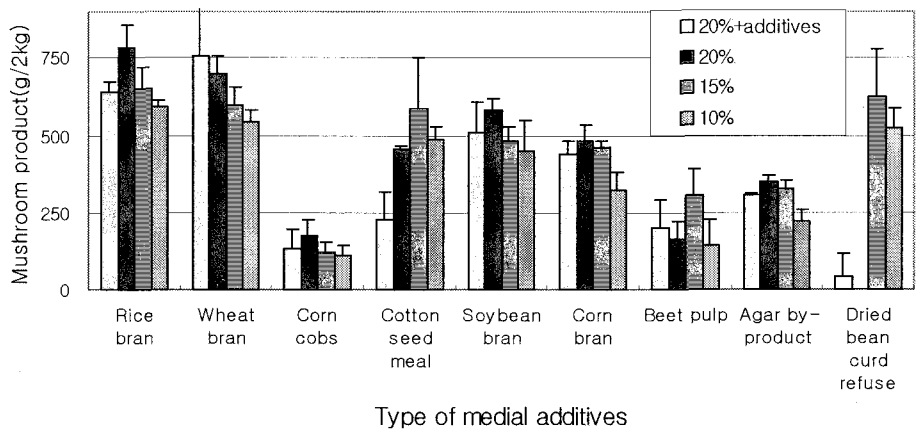


Figure 32. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Carpinus laxiflora* sawdust medium

8) 들메나무

밀기울 20%+첨가물(616.7±38.1g/배지), 미강 20%(612.0±37.3g/배지)가 가장 양호하였다. 영양원 선택성이 매우 강하게 나타났다.

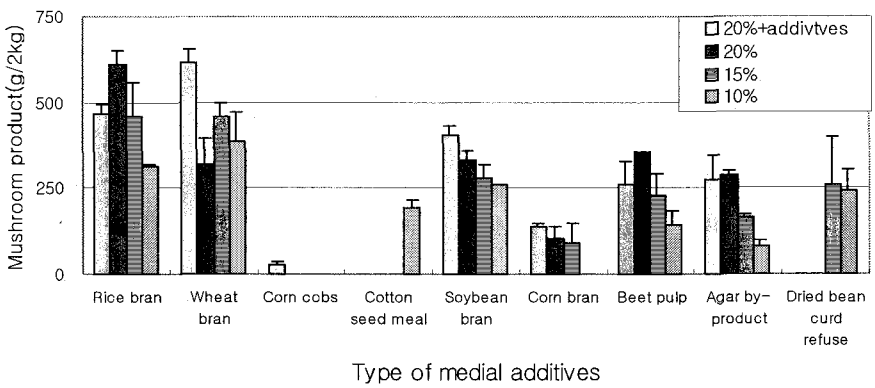


Figure 33. Mushroom productivity of *Lentinula edodes* by levels of nutrient additives at the *Fraxinus rhynchophylla* sawdust medium

아. 수종별 생산성이 우수한 미이용 활엽수 배지의 농가 실연재배 시험

실내 검정결과 생산성이 우수한 것으로 구명된 미이용 활엽수 배지 20처리를 대상으로 실용화 가능성을 검토하고자 농가의 비닐하우스에서 자연재배하여 약 3개월간 버섯의 생산성을 조사하였다. 그 결과 10처리구(10배지조성)의 배지가 배지중량 25%수준 이상의 양호한 생산성이 있는 것으로 확인되어(그림 34) 금후 실용화하는데 아무 문제가 없는 것이 입증되었다. 생표고 생산량은 2kg톱밥배지 1개당 495~627g 범위이었다. 재배 농가 간에 생산량의 차이가 있었는데, 이는 재배농가의 관리상 차이라고 생각한다.

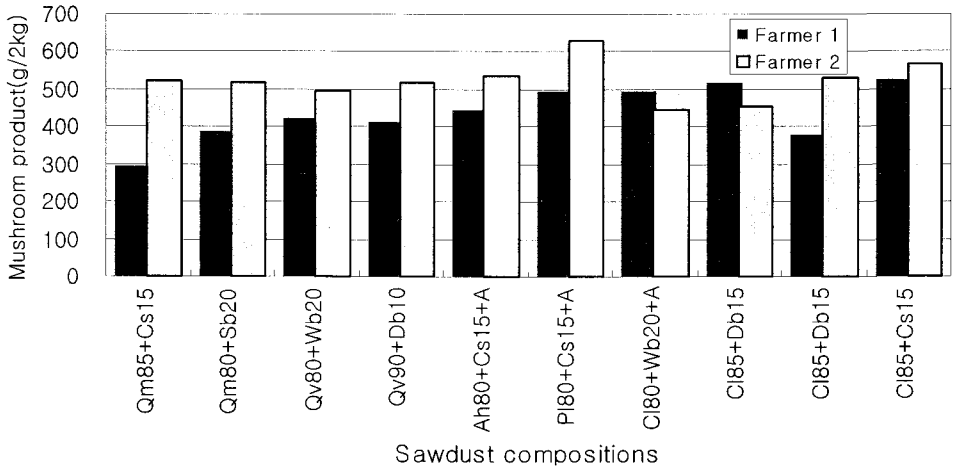


Figure 34. Mushroom production of *Lentinula edodes* by farmerhouse cultivation using unused hardwood sawdust media developed from this experiment

Qm : *Quercus mongolica*, Qv : *Q. variabilis*, Ah : *Alnus hirsuta*, Pl : *Pruns leveilleana*, Cl : *Carpinus laxiflora*, Cs : Cotton seed meal, Sb : Soybean bran, Wb : Wheat bran, Db : Dried bean curd refuse.

자. 표고원목재배가 끝난 폐버섯나무의 자원의 재활용 시험

1) 표고재배 폐버섯나무의 이용현황 조사

폐버섯나무의 자원과 이용현황을 파악하기 위하여 4개 지역의 표고 주산지에서 재배형태, 재배기간, 톱밥으로 이용 가능한 폐버섯나무 자원 및 폐버섯나무의 이용현황 등을 조사 하였다(표 6). 재배형태는 모두 비가림 간이하우스 재배방식을 채택하여 인가 부근에서 집약적인 재배관리를 하고 있었다. 재배기간은 3~5년이 주종을 이루고 있었으며, 폐버섯나무의 60%이상은 톱밥제조용으로 이용이 가능한 것으로 조사 되었다. 재배 완료된 폐버섯나무는 톱밥제조업자가 염가로 구입하여 축사 깔개용, 유기질비료용으로 가장 많이 이용되고 있었다.

Table 6. The use condition of disused logs of *Lentinula edodes* cultivation

Region	Experimental site	Cultivation period(year)	Usable amount (%)	Use condition
Jangheung	Farming association	4-5	60	Cattle shed
	Cultivator	4-6	60-70	Compost
	Distribution Corporation	5-6	30	Compost
Yeongdong	Farming association	3-5	50-80	Cattle shed (from 1994)
	NS Forestry Co.	3-5	50-80	Cattle shed (from 1994)
Gongju	Farming association	4-7	60-70	Cottle shed Organic fertilizer
Sangju	Producer association	5	60-70	-

2) 표고재배 폐버섯나무 톱밥의 배지적성

폐버섯나무 톱밥의 영양성분 측면에서 검토하여 보면(표 7), 조섬유에서만 대조구에 비하여 2.31% 감소하는 경향을 보였는데 이는 재배기간동안 표고균사가 생장하면서 목섬유를 분해한 결과라고 생각 된다. 또한, 이에 반하여 조지방질, 조회분, 칼슘, 인등의 성분은 대조구에 비하여 다소 증가하는 것으로

나타났는데 이 또한 폐버섯나무 목섬유 중에 영양성분이 함유되어 있는 표고균사체가 혼재하고 있는데에 기인한 것이 아닌가 생각 한다. 따라서 폐버섯나무 톱밥을 재배자원화하기 위하여는 감소된 조섬유를 보완하기 위한 재배전 버섯나무톱밥의 혼용조건과 영양제의 첨가효과를 동시에 검토할 필요성가 있으므로 폐버섯나무 톱밥배지에서의 균사 배양특성과(표 8) 폐버섯나무 톱밥혼입과 영양제(쌀겨) 첨가에 따른 표고균사 배양특성(표 9~10)을 조사하였다.

Table 7. Nutrition components of raw log and disused log of *Quercus mongolica*. (unit : %)

	Moisture	Protein	Fat	Fiber	Ash	Ca	P
Raw log	9.74	1.74	0.47	51.28	1.23	0.55	0.03
Disused logs	10.42	1.74	0.61	48.97	1.96	0.97	0.04

*Disused logs after 5-year cultivation of *Lentinula edodes*(diameter 10cm)

톱밥원료 100%중 버섯나무 폐톱밥의 혼입에 따른 표고균사의 배양효과(표 8)는 배지분해율(배지중량 감소율)과 균사생장량(시험관 길이방향 생장)으로 비교 검토하였다. 배지분해율과 균사생장 모두 폐톱밥 20%첨가 까지는 대조구와 유사하였으며 50%이상 혼입시에는 다소 저하 되었다.

재배전 버섯나무톱밥에 폐버섯나무톱밥을 혼입한후 쌀겨 첨가에 따른 표고균사 배양효과를 검토(표 9~표 10) 하였다. 쌀겨 10% 첨가시에는 폐톱밥 혼용구가 대조구보다 양호한 경향을 나타내었다. 이에 반하여 쌀겨 20% 첨가시에는 재배전 버섯나무톱밥 단용구가 버섯나무 폐톱밥 혼입구 보다 월등히 우수한 것으로 나타났으며, 기타 혼입구에서도 폐버섯나무 톱밥 혼입량이 증가될수록 배양효과가 다소 낮아지는 경향을 보여 주었다. 폐버섯나무 톱밥의 혼입효과는 40%일 때 가장 양호하였다.

Table 8. Cultural characteristics of *Lentinula edodes* sawdust cultivation without rice bran or wheat bran

Medial composition	Degradation rate(%)	Mycelial growth (mm)
Qm. sawdust 100%(control)	7.7	121
Qm. sawdust 80% + Disused sawdust 20%	7.5	108
Qm. sawdust 50% + Disused sawdust 50%	6.8	104
Qm. sawdust 20% + Disused sawdust 80%	7.0	93
Disused sawdust 100%	6.2	88

※ Test tube cultivation in 20℃ for 30 days.
Qm indicates *Quercus mongolica* sawdust

Table 9. Cultural characteristics of *Lentinula edodes* sawdust cultivation including 10% rice bran

Medial composition	Degradation rate(%)	Mycelial growth (mm)
Qm. sawdust 90% + Rice bran 10%	6.5	106
Qm. sawdust 70% + Disused sawdust 20% + Rice bran 10%	7.3	105
Qm. sawdust 50% + Disused sawdust 40% + Rice bran 10%	7.4	110
Qm. sawdust 30% + Disused sawdust 60% + Rice bran 10%	7.1	107
Disused sawdust 90% + Rice bran 10%	7.6	100

※ Test tube cultivation in 20℃ for 30 days.
Qm indicates *Quercus mongolica* sawdust

Table 10. Cultural characteristics of *Lentinula edodes* sawdust cultivation including 20% rice bran

Medial composition	Degradation rate(%)	Mycelial growth (mm)
Qm. sawdust 80% + Disused sawdust 0% + Rice bran 20%	13.0	96
Qm. sawdust 60% + Disused sawdust 20% + Rice bran 20%	7.3	101
Qm. sawdust 40% + Disused sawdust 40% + Rice bran 20%	7.6	113
Qm. sawdust 20% + Disused sawdust 60% + Rice bran 20%	6.7	111
Qm. sawdust 0% + Disused sawdust 80% + Rice bran 20%	6.6	110

※ Test tube cultivation in 20℃ for 30 days.
Qm indicates *Quercus mongolica* sawdust

3) 표고재배 폐버섯나무 톱밥배지의 표고 생산성 검토

임업연구원에서 산림4호와 산조5호를 재배한 표고 폐버섯나무톱밥을 공시하여 각각의 배지 조성별 버섯 발생량을 조사한 결과(표 11) 배지중량의 25%수준의 생산성이 나타나 금후 새로운 표고톱밥재배 자원으로써 유망함을 알수 있었다. 다만, 발생버섯의 품질이 다소 저하되므로(표 12) 금후 적정한 영양원 개발이 필요하다고 사료된다.

Table 11. Mushroom production of *Lentinula edodes* sawdust cultivation using sawdust and disused log sawdust of *Quercus mongolica*

Medial composition(%)	Fresh weight of mushroom (g/2kg medium)‡		Remark
	Salrim 4*	Sanjo 5*	
Qm 80+Disused log 0 +Additives	625(31.3%)	614(30.7%)	Operating index for *Lentinula edodes* sawdust cultivation is 25-30% mushroom yield to medium weight
Qm 60+Disused log 20 +Additives	570(28.5%)	581(29.0%)	
Qm 40+Disused log 40 +Additives	523(26.2%)	521(26.1%)	
Qm 20+Disused log 60 +Additives	548(27.4%)	449(22.5%)	
Qm 0+Disused log 80 +Additives	533(26.7%)	484(24.2%)	

‡ 4 months cultivation in 20-22℃ after Salrim 5 inoculation and then mushroom production for 3 months and half a month

* Disused logs of Salrim 4 and Sanjo 5 cultivars

Qm indicates *Quercus mongolica* sawdust

Table 12. Fruiting body weight changes of *Lentinula edodes* according to the fruiting period of disused log sawdust medium

Medium composition(%)	Fruiting days					
	15	30	45	60	75	90
Qm 80(control)+Rice bran 20+Additives	13.1g	9.6g	10.7g	6.9g	8.1g	8.0g
Qm 60+Disused log 20+Rice bran 20+Additives	10.4	6.9	8.2	5.3	6.1	4.0
Qm 40+Disused log 40+Rice bran 20+Additives	9.8	6.1	10.9	7.0	6.6	6.5
Qm 20+Disused log 60+Rice bran 20+Additives	9.7	8.0	9.4	8.2	6.8	7.0
Disused log 80+Rice bran 20+Additives	12.7	7.1	13.4	7.7	7.0	5.5

* Qm indicates *Quercus mongolica* sawdust

차. 우리나라의 톱밥버섯재배 경영실태

1) 톱밥 버섯재배용 영양제 이용

가) 표고 톱밥재배에의 이용 : 마른 재료의 중량비로 쌀겨 또는 밀기울 15~20%, 수수기울 13%를 톱밥에 혼입하여 사용하고 있었다.

나) 느타리(애느타리) : 마른 재료의 용적비로 비트펄프 10~15%, 면실피 15%~33%, 쌀겨 및 면실박 10%, 폐면 33%, 볏짚 33%(용적비)를 혼입하여 사용하고 있었다.

다) 팽이 : 마른재료의 용적비로 톱밥 75~80%에 쌀겨를 20~25% 혼입하여 사용하고 있었다.

2) 표고톱밥재배 현황

표고 톱밥배지를 공급해주는 배양센타도 없으며, 계속적인 재배경영을 하는 농가도 찾아보기 어려워 재배경영 실태는 파악할 수가 없었다. 그러나, 중국으로부터 표고톱밥배지를 수입하여 저온기에 한시적으로 재배하고 있는 사례가 있어(표 13) 그 실태를 조사하였다.

Table 13. Cultivation condition of *Lentinula edodes* sawdust medium made in China in Korea

Region	Cultivar	Size	Shape	Scale	Cost/ medium	Production/ medium
Yongin	Warm temperautre (China)	1.5kg	Cylinderical	10,000ea	1,250won	250-300g
Dangjin	Warm temperautre (China)	1.5kg	Cylinderical	18,000ea	900won	100g (under production)
Jangheung	Middle temperautre (China)	3.5kg	Cylinderical	100,000ea	1,400won	60g (Whako, under production)
Yeongju	Low temperautre (China)	1.5kg	Cylinderical	50,000ea	1,300won	600-700g
Sachon	Low temperautre (China)	2.2kg	Cylinderical	50,000ea	1,400won	800-1,000g

재배 품종으로는 고온성 및 중온성 80%, 저온성 20%를 사용하고 있었으며 배지 구입처는 절강성이 83%이고 강서성, 천진 등 기타 지역이 17%이었다. 톱밥배지 중량은 1.5kg배지가 62%로 가장 많고, 기타 배지가 38%로써 3.5kg, 2.2kg, 2.0kg, 1.3kg 등이었다. 재배규모로는 대규모 50,000~240,000개, 소규모 8,000~18,000개를 부정기적으로 재배하고 있었다.

생표고 생산량은 배지중량의 20% 이상이 33%, 20%이하가 67%이었다.

제 2 절 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

1. 재료 및 방법

가. 공시수종 및 톱밥제조

국내의 전 지역에 다양하게 분포하고 있으며, 건조 척박한 토양에서도 잘 자라는 소나무(Red pine, *Pinus densiflora*) 및 국내 특산 수종인 잣나무(Korean pine, *Pinus koraiensis*)를 선택하였고, 또한 적절한 용도가 확립되지 않은 수종인 낙엽송(Japanese larch, *Larix leptolepis*)을 공시 수종으로 선택하였다. 원목 벌채 후, 톱밥제조기를 사용하여 톱밥을 제조하였으며, 이때 수피는 제거하지 않고 톱밥을 제조하였다. 이를 기건상태에서 충분히 건조한 다음, 10 mesh pass - 60 mesh on 부분만을 수집하여 분석시료로 사용하였다.

나. 냉수추출물 함량 측정 및 냉수추출물의 유기용제 분획

톱밥 2g을 500ml conical 비이커에 넣고 증류수 300ml를 첨가 한 후, 실온에서 가끔 교반하면서 일정시간 처리한 다음, 미리 중량을 알고 있는 1G3 glass filter에 여과하여 증류수로 순차, 세척하였다. 냉수 추출물량은 최초 투입된 시료의 전건 중량과의 차이에서 추출물량을 구하였으며, 이때 추출시간은 6시간 간격으로 추출하였다.

톱밥으로부터 획득된 냉수추출물(여과액)은 보관 및 저장과 균사생장 저해효과를 검정하기 위하여 그림 1과 같은 방법으로 분말 상태로 조제하였다.

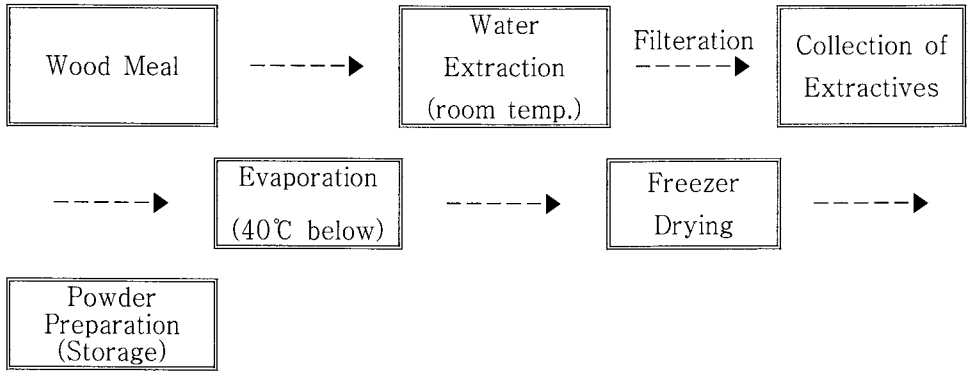


Fig. 1. Preparation of powder from soft wood meals by cold water extraction .

냉수추출물 분말 1g에 증류수 10ml 첨가하여 용해한 다음, petroleum ether, diethyl ether, ethyl acetate를 사용하여 그림 2와 같이 분획, 농축, 건조하여 수율을 측정하였다.

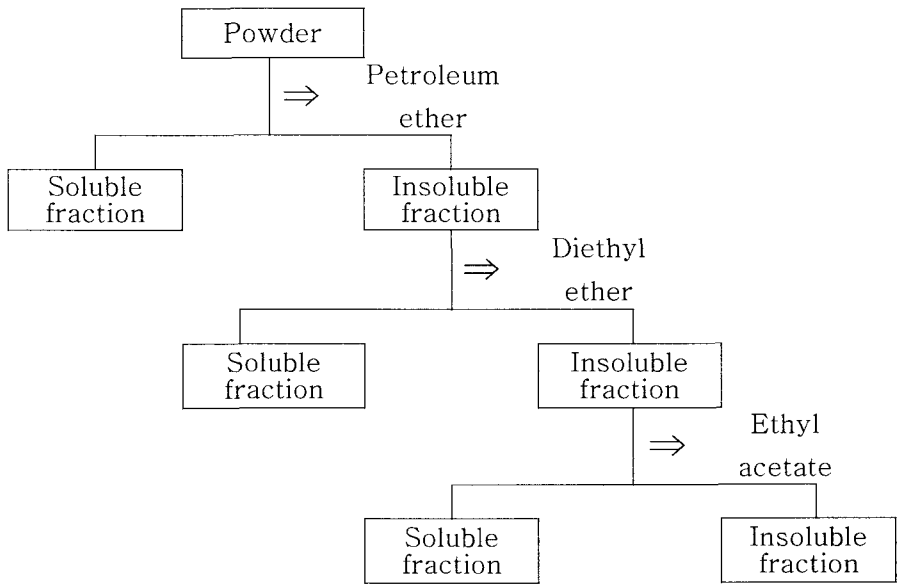


Fig. 2. Separation scheme of cold water extractives.

다. 톱밥의 전처리 및 추출물의 분리

침엽수에 존재하는 버섯 생장저해물을 제거하기 위한 전처리로서 냉수추출, 열수추출, 증기처리를 하였다. 냉수추출은 48 시간 동안 실온에서 침적처리하였으며, 열수추출은 일정시간(3-12시간)동안 100℃에서 가열 처리하였다. 이때, 물과 톱밥은 6:1의 중량 비율로서 혼합 추출하였으며, 또한 증기처리는 수증기를 사용하여 2시간동안 훈증 처리하였다. 추출물량은 전건 톱밥 중량을 기준으로 하여 추출물의 중량%로 표시하였다. 또한 추출물의 분리를 위하여 추출액을 냉동건조하여 분말 상태로 조제하였다.

라. 톱밥배지의 조제 및 균사생장시험

톱밥배지는 표1과 같은 조건으로 조제하였으며, 최종적으로 증류수를 첨가

하여 중량기준 함수율 65%로 조정하였다. 또한 전처리한 톱밥의 경우도 기건상태로 건조하여 동일한 조건으로 하였다.

Table. 1. Composition of sawdust medium for *Lentinula edodes*.

Component	Mixing rate, weight %
Sawdust	76.0
Rice bran	20.0
Carbon source	3.0
Nitrogen source	0.4
Calcium carbonate ($CaCO_3$)	0.6

균사생장시험은 액체배지 이용법, paper disk 이용법, 톱밥배지 이용법, PDA 배지 이용법을 사용하여 균사의 생장 및 억제를 시험하였다. 각 시험법의 적용은 실험목적에 따라 각기 다르게 적용하였다.

1) 공시균의 배양

표고버섯(*Lentinula edodes*) 균주로는 산림 5호(임업연구원)를 사용하여 PDA(감자 · 한천배지)상에서 계대배양하여(25℃) 공시균으로 사용하였다.

2) 액체배지 이용법

Glucose-peptone 배지 20 ml를 100 ml 삼각플라스크에 투입한 후, 121℃에서 30분간 멸균하였다. 그 후 각종추출물(분말 또는 액)을 일정농도로 첨가한 다음, PDA 배지상에서 배양된 공시균을 접종하여 25℃의 배양기에서 15일간 정치 배양하였다. 배양기간 종료 후 배양액을 GF/A 여과지를 이용, 흡인여과하여, 획득된 균사체를 105℃에서 8시간 건조 후, 중량을 측정하였다. 이때 대조구는 추출물을 투입하지 않고, 시험구와 모든 조건을 동일하게 하였다.

균사체 중량을 이용하여 growth index로 표시하였으며, 그 식은 다음과 같다.

$$\text{Growth Index} = \frac{\text{The dry weight of the mycelium on the test}}{\text{The dry weight of the mycelium on control}}$$

3) Paper disk 이용법

추출물(분말, 액)을 4% 에탄올에 용해한 다음, 50 ㎕를 채취, 직경 8 mm의 paper disk에 함침 후, clean bench에서 건조시키면서 자외선 살균하였다. 건조, 살균된 paper disk는 그림 1-3에 나타낸 바와 같이 일직선으로 PDA배지 위에 올려 놓은 후, 중앙부에 직경 10 mm의 공시균을 접종하여 10일간 25℃에서 배양 한 후 균사체의 생장을 관찰하였다.

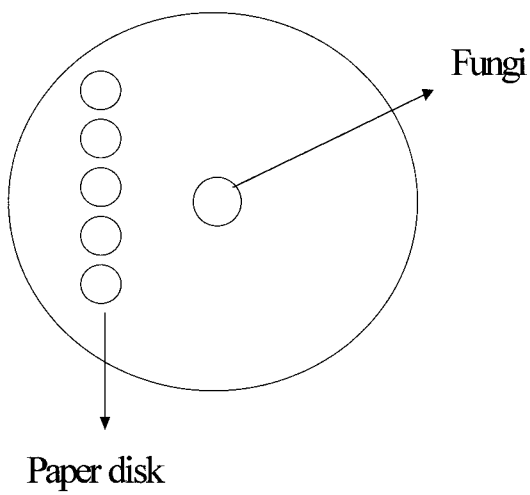


Fig.3. Anti-fungal test of cold water extractives on a PDA plate.

4) 톱밥배지 이용법

톱밥배지는 시험관(∅ 1.5cm × 18.0 cm) 또는 페트리디쉬(∅ 9cm)에 투

입, 압착하여 가비중을 조절하였다. 이때 톱밥배지의 가비중은 시험관 0.20, 페트리디쉬 0.60으로 하였다. 배지멸균 후, PDA배지에서 배양된 표고 접종원(산림5호)을 직경 10mm로 펀칭하여 배지에 접종 한 다음, 25℃에서 배양하였다.

균사 생장량의 측정을 위해 시험관 배양에서는 배지의 공시균 접종면을 기준으로 수직방향으로 생장된 균사의 길이를, 페트리디쉬 배양에서는 접종 공시균을 중심으로 하여 생장된 균사의 생장환 길이를 mm 단위로 측정하였다. 또한 시험관 배양에서는 최초에 투입된 습윤배지중량을 기준으로 하여 배양 후 감소된 배지중량을 백분율로 계산하였다.

5) PDA배지 이용법

톱밥으로부터 추출, 여과하여 획득한 추출액을 냉동, 건조하여 분말상으로 조제한 다음, 일정 농도로 PDA 배지에 완전 용해시킨 후, 멸균처리 한 다음, 직경 9 cm의 페트리디쉬에 투입, PDA배지에서 배양된 직경 10mm의 공시균을 접종하였다. 이때 대조구는 추출 분말이 투입되지 않는 PDA배지를 사용하였다. 접종 후, 25℃에서 일정기간 배양 된 균사는 mm 단위로 생장길이를 측정하였다. 추출물의 균사생장 저해는 아래의 식에 의거하여 계산하였다.

Antifungal activity, % = [1 - (fungal growth diameter in the test petridish / fungal growth diameter in the control petridish)]×100

마. 배지의 화학적 조성분석

톱밥배지의 화학적 조성분석을 위해 목재화학 분석법에 의거 유기용제 추출물 함량, 무기물 함량, Klason lignin, Holocellulose 함량을 분석하였다. 탄수화물의 조성은 전건 톱밥배지 0.1g을 사용하여 alditol-acetate법에 따라 acetate 유도체로 조제한 다음, gas chromatography(Shimadzu GC-14A)로 분석하였다. 이때 내부 표준물질로는 inositol을 사용하였다.

바. 배지의 원소분석 및 C/N 측정

전처리된 침엽수 톱밥을 사용하여 톱밥배지를 조제한 다음, 균사를 접종,

150일 동안 25℃에서 배양 한 다음, 이를 감압 건조하여 분쇄한 다음, 원소분석기(CHNS-932, LECO)를 사용하여 탄소(C)·수소(H)·산소(O)·질소(N)의 함량을 측정하였으며, 탄소와 질소의 함량을 이용하여 C/N율을 계산하였다

사. 톱밥배지 영양원 및 생장 촉진 첨가물의 효능 시험

톱밥배지의 영양원 및 첨가물의 효능시험은 표 1과 같은 조건으로 톱밥배지를 조제한 다음, 6. 라항과 동일한 방법으로 효능을 평가하였다. 이때, 탄소원으로 sucrose(덕산약품), 활성탄(덕산약품), xylose(삼전약품), glucose(삼천약품) 및 골판지 원지(삼양제지)로부터 제조된 고지 펠렛을 각각 사용하였으며, 질소원으로는 KNO_3(삼전약품), NH_4Cl(삼전약품), asparagine (Acros organics), glutamic acid(Junsei co.)를 각각 첨가 사용하였다. 촉진첨가물로는 식물성유인 현미유(신양유지(주))를 배지 전건중량기준으로 3-5% 첨가하였다.

아. 폐아미노산의 첨가 효능 시험

국내의 J사로부터 제공받은 아미노산 폐액을 시험을 위하여 표 2와 같은 배지를 사용하였다. 이때 폐아미노산의 질소원으로서의 효능검정을 위하여 수종별로 다르게 투입되는 질소원대신에 폐아미노산을 농도별로 첨가하였으며, 이와는 별도로 생장촉진제로써의 효능 시험을 위해 표2와 같은 조건으로 조제된 톱밥배지에 폐아미노산을 톱밥과 미강의 전건 중량을 기준으로 하여 0.01%, 0.05%, 0.10%, 0.50%, 1.00%로 혼합, 투입하여 톱밥배지를 조제하였다.

폐아미노산의 질소원 및 생장촉진제로서의 효능 평가는 라 항과 동일한 방법으로 하였다.

Table. 2. Composition of sawdust medium for *L. edodes*.

Components	Mixing rate, weight %	Species			
		Quercus variabilis	*Larix leptolepis*	*Pinus densiflora*	*Pinus koraiensis*
Sawdust	80.0	non-treatment	non-treatment	hot water extraction	hot water extraction
Rice bran	20.0	add	add	add	add
Carbon source	3.0[a]	sucrose	glucose	active carbon	xylose
Nitrogen source[b]	0.4[a]	KNO_3	glutamic acid	asparagine	glutamic acid
Calcium carbonate	0.6[a]	$CaCO_3$	$CaCO_3$	$CaCO_3$	$CaCO_3$
Vegetable oil	3.0[a]	non	non	non	add

[a] Based on the total oven dry weight of sawdust and rice bran

[b] Used waste amino acid instead of nitrogen source

자. 열수추출물의 분획

굴참나무 및 소나무 톱밥으로부터 조제된 열수추출물 분말 0.5g 을 극성이 다른 유기용제를 사용하여 다단으로 추출하였다. 먼저 *n*-hexane 용제의 가용부와 불가용부를 분획 한 다음, 이 불가용부를 다시 ethyl acetate 용제 가용부와 불가용부를 분획하였고, ethyl acetate의 불가용부는 다시 methanol 용제로 분획하였다. 분획 후, 가용부는 40℃ 이하에서 감압, 농축하여 용제를 증발 시키고, 냉동 건조하여 중량기준 수율을 측정하였다.

차. 유기용제 분획물의 균사생장시험

각종 유기용제 가용부로 획득된 분말상의 분획물은 6. 마항과 동일한 방법으로 균사생장시험을 하였다.

타. 컬럼크로마토그래피에 의한 물질의 분리

유기용제 분획물은 실리카겔 컬럼을 이용하여 물질을 2차 분획하였으며, 이때 elution 용제는 n-hexane, ethyl acetate, methanol을 적정 비율로 혼합하

여 사용하였다. 또한 물질의 정확한 분획을 위하여 TLC를 사용하였다.

파. 블록배지의 조제 및 버섯 발생 시험

버섯생산량 및 버섯배지의 중량 감소율 측정은 비닐봉지재배법에 의하여 측정하였다. 수종별 최적의 배지 300g을 150×100×55mm(가로×세로×높이) 크기의 표고버섯재배용 P.P.비닐 봉투에 투입한 다음 밀봉하였다. 블록톱밥배지의 가비중은 굴참 0.95 g/ml, 낙엽송 0.77 g/ml, 소나무 0.65 g/ml 그리고 잣나무 0.69 g/ml로 하였다. 블록배지의 조성은 표 2와 동일하게 하였으며, 대조구로는 굴참나무 블록배지를 사용하였다. 조제된 블록배지는 120℃에서 90분간 살균하여 표고버섯 종균(산림 5호)를 접종 한 다음, 암배양실(상대습도 60%, 23℃)에서 60일 동안 배양하고 명배양실(상대습도 60%, 23℃)에서 30일 동안 배양하면서 배지 중량 감소율을 측정하였다. 또한 버섯발생을 위하여 24시간 동안 침수처리한 다음 발생실(상대습도 90%, 15-18℃)에서 4개월동안 까지 발생시켰다. 버섯생산량은 갓 수확한 버섯의 생중량으로 하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 목재의 화학적 조성

낙엽송, 소나무, 잣나무의 화학적 조성은 실제로 표고톱밥재배에 직접 이용될 수 있는 수피가 혼입된 톱밥을 사용하여 분석하였다. 목재의 화학적 조성을 표 3에 나타냈다. 전반적으로 추출성분들이 기존의 data에 비해 약간 높게 나타났는데, 이는 수피의 혼입으로 인한 추출물량의 증가 때문으로 생각된다.

표 4에 나타낸 목재의 탄수화물 조성은 침엽수재 헤미셀룰로오스 주체인 glucomannan에서 유래된다고 생각되는 mannose잔기가 16-21% 나타났으며, cellulose에서 대부분 유래되는 glucose 잔기가 60% 이상을 차지하고 있었다. 또한 낙엽송에서 galactose 잔기 함량이 높게 나타난 이유로는 arabinogalactan의 존재 때문인 것으로 생각된다.

Table 3. Chemical composition of wood

Species	Cold water extractives	Hot water extractives	Alcolol-benzene extractives	1% NaOH extractives	Lignin Content	Ash Content
Larix leptolepis	6.1	8.1	5.5	24.1	27.0	0.3
Pinus densiflora	1.4	2.5	4.1	14.4	29.0	0.4
Pinus koraiensis	4.3	6.5	4.6	18.9	28.1	0.4

Table 4. Carbohydrates composition of wood

Species	Sugar composition(%)					
	Rhamnose	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose
Larix leptolepis	-	2.4	5.9	16.5	9.6	65.6
Pinus densiflora	-	4.7	15.4	16.4	-	63.5
Pinus koraiensis	-	3.6	7.3	21.2	-	67.9

나. 냉수추출물 함량측정 및 냉수 추출물의 유기용제 분획

1) 냉수추출시간에 따른 추출물량의 변화

그림 4는 냉수추출시간에 따른 침엽수재의 냉수추출물 함량을 나타낸 것이다. 냉수추출물량은 3수종 모두 6%이하로 나타났으며, 추출물량은 낙엽송이 5%내외로 가장 높게 나타났고, 소나무가 약 2%의 수준으로 가장 낮게 나

타났다. 또한 추출시간이 30시간 이상에서는 추출물량은 크게 변하지 않았다. 그래서 냉수 추출물, 즉 저분자 탄수화물, tannin, 배당체 제거를 위한 최소 추출시간은 30시간이라고 판단되었다.

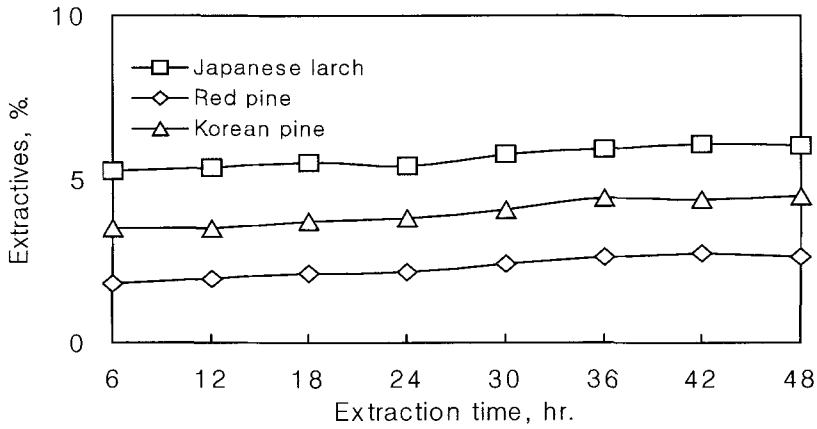


Fig. 4. The chages of cold water extractives on the extraction time fom wood meal

2) 유기용제에 의한 냉수추출물의 분획

분말상태로 조제된 냉수추출물을 유기용제에 의해 분획한 결과는 표 5에 나타냈다.

Table 5. The separation of the cold water extracted powder by organic solvent

Species	Petroleum ether solubles	Diethyl ether solubles	Ethyl acetate solubles	Residues
Larix leptolepis	1.0	1.4	1.0	96.6
Pinus densiflora	1.2	3.8	2.5	92.5
Pinus koraiensis	0.7	2.7	0.5	96.1

냉수추출물을 구성하고 있는 물질의 대부분은 ethyl acetate 불용 물질로 나타났다. Ethyl acetate 불용부에 속하는 물질로는 탄수화물 및 페놀성 배당체 등이 있다. Ethyl acetate 가용부를 비롯한 petroleum ether 가용부 및 diethyl ether 가용부는 전체 냉수추출물의 8% 이하에 불과하다. 이러한 결과로 살펴볼 때 왁스, 지방산, 저분자의 극성 페놀성 화합물, 플라보노이드 화합물 등이 냉수추출물 중에 8% 정도 함유되어 있다는 것을 알 수 있으며, 이러한 물질들이 균사 생장 저해 물질로 작용 할 가능성이 높다고 추측된다.

다. 냉수추출된 목분 배지에 있어서 균사 생장

냉수추출된 목분에 미강을 첨가한 후, 균사 생장을 측정한 결과는 표 6과 같다.

냉수추출한 목분을 사용했을 때 표고 균사의 생장속도는 낙엽송에 있어서 가장 빠르게 나타났으며, 소나무의 경우 균사 생장 속도가 가장 느리게 나타났다. 이러한 결과는 표 6의 ethyl acetate 가용(petroleum ether 가용부 및 diethyl ether 가용부 포함) 물질의 함량과 상관 관계가 있다고 생각된다. 즉 ethyl acetate 가용 물질의 함량이 높을수록 균사생장 속도가 느려진다는 것을 추측할 수 있으며, 이것은 ethyl acetate 가용 물질에 균사 생장 저해 물질이 포함되어 있을 가능성이 높다고 추측된다.

Table 6. Mycelial growth in the medium with cold water extracted wood meal

Species	Mycelial growth(mm)		
	12days	18days	24days
Larix leptolepis	39	65	78
Pinus densiflora	29	52	62
Pinus koraiensis	35	61	73

라. 냉수추출물이 균사 생장에 미치는 영향

그림 5는 침엽수의 냉수추출물을 분말로 조제하여 액체 배양액에 일정 농도로 투입하여 배양 했을때 균사 생장량을 나타낸 것이다.

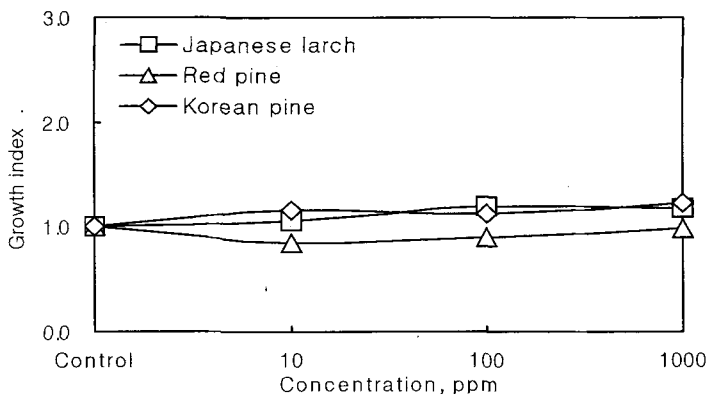


Fig. 5. Effects of cold water extracted powder on the growths of *L. edodes* in a glucose-pepton media by shaking culture.

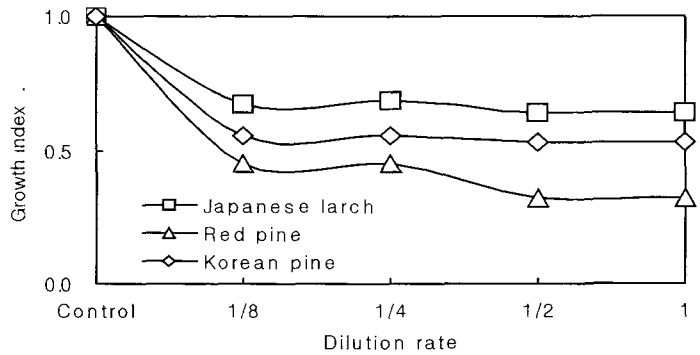


Fig. 6. Effects of cold water extracted solution on the growths of *L. edodes* in a glucose-pepton media.

소나무의 경우 약간의 균사 생장저해가 나타나는 경향을 보이고 있지만, 투입 농도별로는 큰 유의성을 나타내지 않았다. 낙엽송과 잣나무 냉수추출물은 저해가 전혀 나타나지 않았다. 이에 대한 원인으로는 냉수추출액을 분말 상태로 조제하는 동안에 균사생장 저해 물질이 변질 또는 휘발(유출)되었을 가능성을 추측해 볼 수 있다. 이러한 가정을 확인하기 위해 냉수 추출 원액을 일정 농도로 희석한 후 glucose-peptone 배지와 혼합하여 균사생장 시험을 시도하였다. 그 결과를 그림 6에 나타내었다. 이때 growth index가 1.0 이하로 나타났는데, 이는 저해성이 있다는 것을 의미하고 있다. 분말 상태의 냉수추출물과 원액 상태의 냉수추출물의 균사생장 저해효과는 확실히 다르게 나타났다. 수종별로는 소나무 목분에서 균사생장 저해가 가장 높게 나타났다.

사진 1은 냉수추출 원액에 대한 균사생장 저해효과를 나타낸 사진으로 냉수추출물을 투입하지 않은 대조구에서는 액체배지 표면 위에 균사체가 관찰되지만 냉수추출액이 투입된 시험구에서는 균사체가 관찰되지 않았다.

사진 2는 냉수추출 원액과 냉수추출 원액으로부터 조제된 분말의 균사생장 저해성 시험 결과로 냉수추출 원액이 함침된 paper disk 외측 부위에서는 균사가 전혀 생장하지 못하였지만, 냉수추출 원액으로부터 조제된 분말을 용해하여 함침한 paper disk 외측 부위에서는 균사가 생장되고 있는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 사실은 냉수추출 원액에는 균사생장 저해물질이 존재하고 있지만, 냉수추출 원액으로부터 조제된 분말에서는 균사생장 저해가 약하게 나타

났다. 이러한 결과는 냉수추출원액으로부터 분말을 제조하는 농축, 감압과정에서 저해물질의 일부가 손실된 것으로 생각된다.

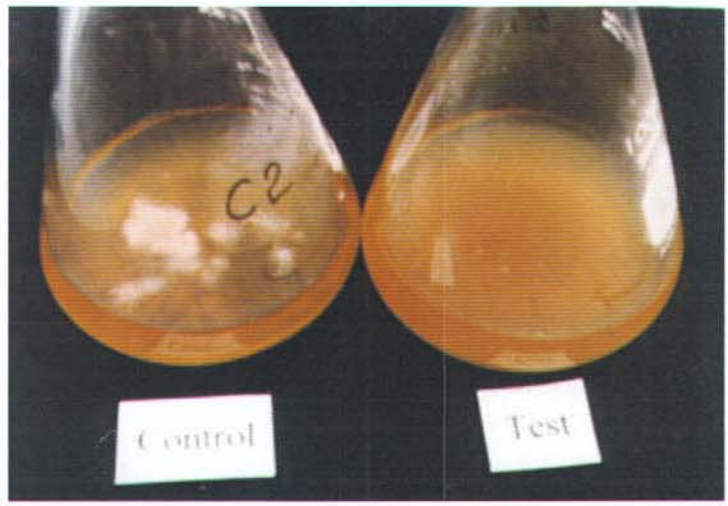


Photo 1. Anti-fungal growth test of cold water extractives(original liquid).

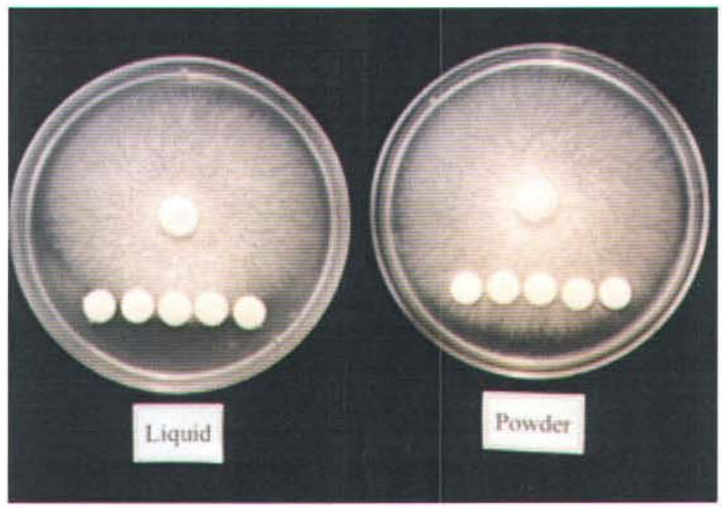


Photo 2. Comparison of fungal growth between liquid and powder prepared from cold water extractives.

났다. 이러한 결과는 냉수추출원액으로부터 분말을 제조하는 농축, 감압과정에서 저해물질의 일부가 손실된 것으로 생각된다.

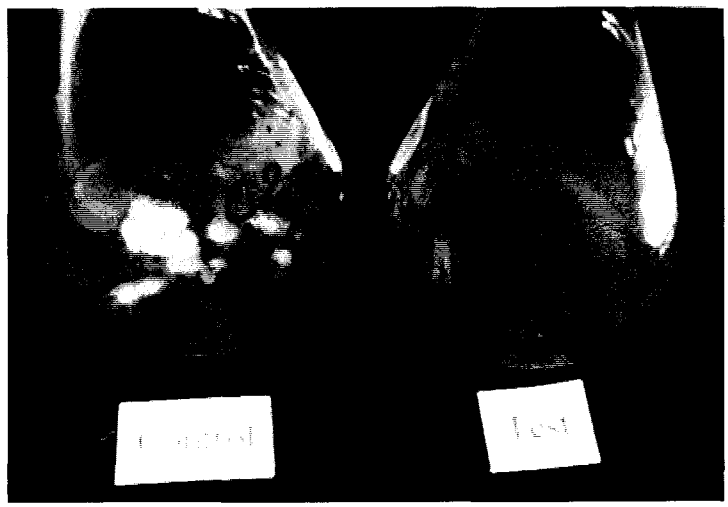


Photo 1. Anti-fungal growth test of cold water extractives(original liquid).

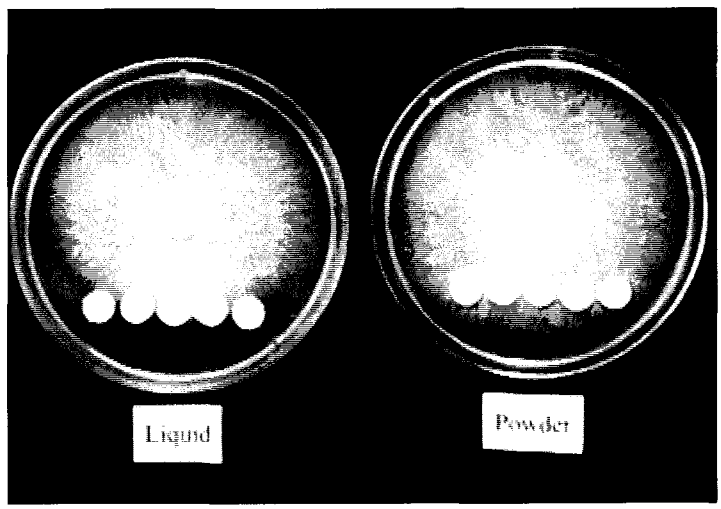


Photo 2. Comparison of fungal growth between liquid and powder prepared from cold water extractives.

마. 표고균사생장에 따른 배지의 화학적 조성 변화

표고버섯은 자연계에서 각종 효소를 분비하여 목재를 분해 시킴으로써, 탄소원, 질소원, 무기염류을 소모하면서 생장한다. 특히 목재중에 존재하는 리그닌, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 등이 버섯의 생장에서 주요한 탄소원으로 알려져 있지만, 균사생장에 관련된 정확한 연구자료는 현재까지 소수에 지나지 않는다.

표 7은 냉수 전처리 한 톱밥을 사용하여 배지를 조제하고 표고균사를 접종하여 30일 이상 생장시킨 톱밥배지의 화학적 조성을 분석한 결과로 균사 접종 전 톱밥배지와 균사 생장 후 톱밥배지에 있어서 유기용제 추출물 함량, 무기물 함량, 리그닌 함량, holocellulose 함량을 비교하였다.

Table 7. Chemical composition of medium with cold water extracted sawdust

Characters	Japanese larch		Red pine		Korean pine	
	Before fungal culture	After fungal culture	Before fungal culture	After fungal culture	Before fungal culture	After fungal culture
Organic solvent extractives , %	13.8	16.4	16.9	18.4	17.2	24.1
Inorganic matters, %	2.8	3.6	3.2	4.9	2.7	4.4
Klason lignin, %	30.5	27.4	27.8	26.9	27.2	26.9
Holocellulose, %	57.9	54.0	65.7	41.9	60.1	56.6

유기용제 추출물 함량 및 무기물 함량은 배양전 보다 배양 후 배지에서 증가된 경향을 나타냈는데, 이는 표고균사의 생장에 유기용제 추출물 및 무기물이 거의 소모되지 않았다는 것을 의미한다.

그러나 이러한 성분이 증가되었다는 사실은 표고균사가 유기용제 추출물 및 무기물 이외의 다른 성분 즉 탄소원(리그닌, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스등)을

영양물질로 사용했기 때문에 톱밥배지 내에서 상대적으로 증가되었기 때문으로 생각된다.

톱밥내의 무기물 함량은 침엽수 목재인 경우에 1%를 초과하지 않는 다는 것이 학계에 보고되어 있는데도 불구하고, 배양 전 톱밥배지에서 2 - 3%로 나타난 이유는 배지의 조제시 첨가된 무기물 및 미강으로 부터 유래된 무기물 때문이다.

균사 배양 전후의 리그닌 함량은 낙엽송 3%, 소나무 1%, 잣나무 0.3% 감소하였다. 이러한 감소는 표고균사 생장시 영양분으로 리그닌이 소모되었기 때문으로 생각된다.

이와 유사한 결과로 목재중의 탄수화물인 셀룰로오스 및 헤미셀룰로오스 함량을 나타내는 holocellulose 함량 또한 4 - 14% 감소되었는데 이것 또한 균사가 생장시 이용했기 때문으로 생각된다.

수종별 측면에서 고찰해보면, 낙엽송은 리그닌과 holocellulose의 이용(소모) 비율이 비슷하지만, 소나무와 잣나무에서는 리그닌보다 탄수화물인 holocellulose 이용비율이 더 높게 나타났다. 수종별로 페놀성 화합물과 탄수화합물 이용비율이 각기 다르게 나타난 원인은 현재로서는 원인이 불분명하다. 다만 이러한 원인으로 추측되는 사실은 수종간에 균사가 이용할 수 있는 성분의 함량이 차이가 났기 때문으로 유추된다.

이러한 사실은 Yamanaka연구에 따르면, 표고의 원목 재배시 영양균사는 목재중의 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스를 우선적으로 분해하여 탄소원으로 이용한다는 것이다. 또한 목재중의 리그닌 관련 물질들이 현저히 영양균사 생장을 촉진 시킨다고 한다는 사실과 거의 일치하고 있다.

이러한 사실로 미루어 볼 때 표고균사는 탄수화물의 이용 비율이 다른 물질에 비해 높다는 사실을 추측할 수 있다.

표고균사 생장에 소모된 탄수화물 종류 및 소요량을 파악하기 위해 실시한 배지의 당 조성 분석 결과를 표 8에 나타냈다. 배지를 구성하고 있는 각 탄수화물의 함량은 상대적 비율로 계산하여 나타냈다.

균사 생장 전후 배지의 탄수화물 조성을 살펴보면, 낙엽송 배지에서는 xylose 함량이 배양 후 배지에서 약간 낮게 나타났는데, 이것은 균사 생장시 다른 탄수화물보다 xylose 이용율이 높다는 것을 암시하고 있다.

소나무와 잣나무 배지에서는 pentose계 당류인 arabinose와 xylose의 함유비율이 현저하게 저하 했는데, 이는 다른 탄수화물보다 더 높은 비율로 arabinose와 xylose를 균사가 이용했다는 것을 확신 할 수 있다. 특히 arabinose와 xylose는 목재중에서는 헤미셀룰로오스를 구성하는 탄수화물로 알려져 있다.

균사배양 후 배지내에서 glucose 및 mannose 함량이 증가되는 경향을 나태는데, 이는 다른 탄수화물에 비해 glucose 및 mannose가 적게 이용된 것으로 추측할 수 있지만, 다른 측면에서 볼 때, 배지 내에 존재하는 균사체의 영향때문 이라고도 할 수 있다.

균사의 주성분은 다당체(polysaccharide, 80-90%)이고, 특히 담자 균사를 구성하는 섬유질은 glucan과 키틴으로 이루어져 있고, 기질 구성성분은 manno-protein으로 구성되어 있다는 사실이 이를 증명하고 있다.

Table 8. Carbohydrate composition of medium with cold water extracted sawdust.

Species	Growth of fungi	Carbohydrate composition, %					
		Rhamnose	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose
Japanese larch	Before	T	6.0	10.9	21.2	T	61.9
	After	T	6.5	9.9	22.0	T	61.6
Red pine	Before	T	12.2	14.3	16.3	T	57.2
	After	T	7.2	10.9	21.4	T	60.5
Korean pine	Before	T	12.9	20.1	13.3	T	53.6
	After	T	7.8	10.6	25.7	T	55.9

T; trace, below 0.1%

종합적으로 비교, 검토해볼 때, 균사의 생장 영양소(탄소원)는 mannose,

xylose, glucose일 가능성이 상당히 높다. 이러한 측면에서 배지의 영양원 첨가 실험시 이러한 당류를 첨가하여 실험해 보는 것이 타당성 있다고 판단된다.

바. 표고균사 생장 촉진을 위한 첨가 영양원의 탐색

버섯의 원활한 생장을 위해서는 배지에 충분한 영양원이 있어야 한다. 특히 인공적으로 만든 배지에서 영양원이 부족 할 경우 균사생장이 불량하거나 자실체 형성도 적다. 탄소원은 버섯의 생활 에너지 자원으로 이용되는 주요한 영양원으로 각종 효소를 분비하여 목재나 낙엽을 분해시킴으로서 자연상태에서 탄소원을 획득한다.

표고버섯 인공재배에는 glucose와 sucrose가 현재 우수하다고 알려져 있다. 그림 7과 8은 냉수처리한 톱밥배지에 첨가할 수 있는 영양원(carbon source) 탐색과 관련하여 sucrose, 활성탄, xylose, glucose, 폐지를 각각 첨가하여 표고균사의 생장을 검토한 결과이다.

그림 7에 각 탄소원에 따른 표고균사의 생장 길이를 나타냈다.

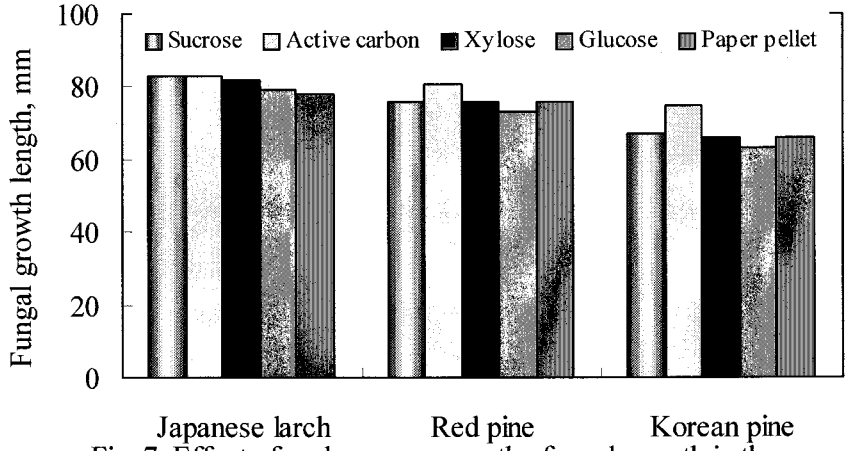


Fig. 7. Effect of carbon source on the fungal growth in the cold water extracted sawdust medium for *Lentinus edodes*.

낙엽송 톱밥배지에서는 sucrose가 가장 균사 생장길이가 우수하게 나타났는데, sucrose는 1990년부터 임업연구원에서 연구 검토하여 추천하는 탄소원이

다.

소나무 및 잣나무 톱밥배지에서는 활성탄 첨가가 균사생장 길이 측면에서 가장 우수하였다. 그리고 나머지 첨가물은 sucrose보다 균사 생장 길이가 낮게 나타났다.

한편 본 실험에서 균사의 생장을 평가하는 항목인 균사 생장 길이는 균사의 밀도나 영양분의 분해를 전혀 고려하지 않는 측면이 있기 때문에, 균사 배양전 사용된 습윤배지의 중량을 기준으로 하여 배지의 중량 감소율을 평가한 결과 그림 8에 나타냈다.

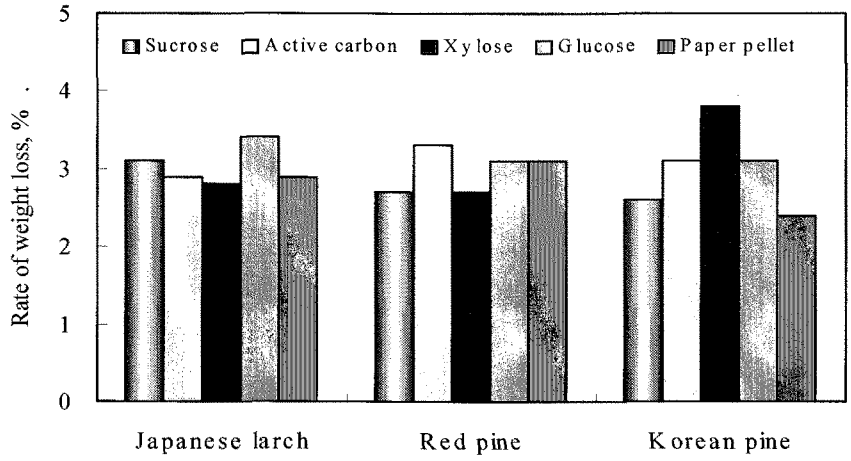


Fig. 8. Effect of carbon source on the weight loss in the cold water extracted sawdust medium for *Lentinus edodes*.

그림 8의 중량 감소율과 그림 7의 균사 생장 길이의 결과는 일치하지 않았다.

그림 8에서 나타낸 바와 같이 낙엽송 톱밥배지에서는 glucose, 소나무 톱밥배지에서는 활성탄 그리고 잣나무에서는 xylose가 다른 탄소원에 비해 우수한 효과를 나타냈다. 이 결과와 표8의 톱밥배지내의 탄수화물 조성을 비교해 볼 때, 중량감소율을 측정하는 것이 균사생장 길이 측정하는 것보다 더 적합한 지표라고 생각된다. 특히 표 8의 잣나무 배지에서 xylose 함량이 급격히 감소되

는 결과를 나타냈는데 이것은 그림 8의 배지 중량 감소율 결과와 거의 일치하고 있었다. 이러한 결과를 종합해 볼 때, 수종에 따른 표고균사 생장 촉진을 위한 효과적인 첨가 탄소원(영양원)은 각기 다르다는 사실을 알 수 있었다.

이것은 톱밥의 종류에 따라 탄수화물의 구성 및 함량이 다르기 때문에 각 수종 별로 균사가 요구하는 탄소원도 달라 질 수 있다고 생각된다. 이러한 결과에 대해서는 향후 깊이 있는 연구가 필요하다고 생각된다.

사. 저해물질제거를 위한 톱밥의 전처리

침엽수 톱밥의 균사생장을 위한 효과적인 전처리 방법을 적용시키기 위해, 국내산 침엽수재인 낙엽송, 소나무 및 잣나무 톱밥을 냉수, 열수(3시간) 또는 증기로 전처리한 다음, 이를 톱밥배지로 사용하여 시험관에서 25일간 균사 생장한 결과를 그림 9에 나타냈다.

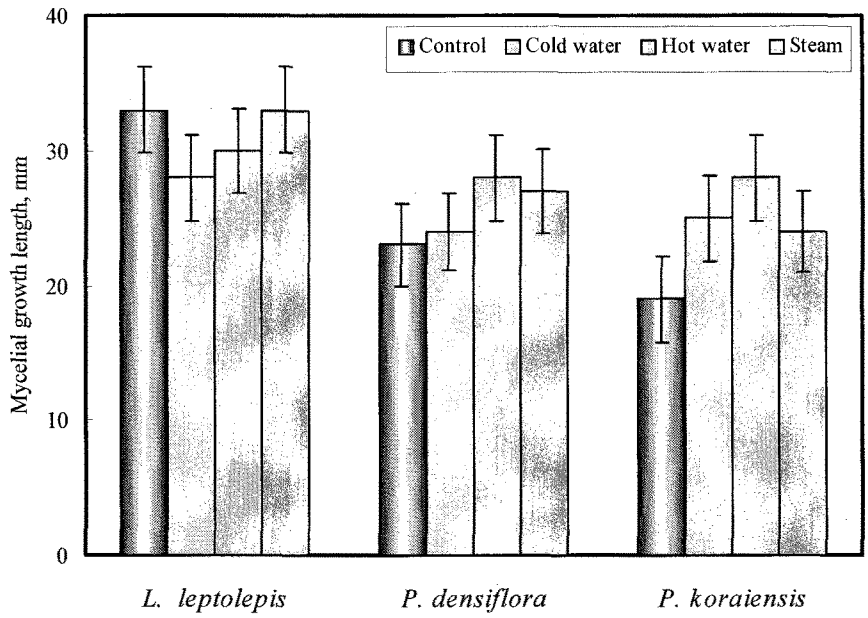


Fig. 9. Effect of pretreatment for mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium of *L. leptolepis*, *P. densiflora* and *P. koraiensis* (10 days incubation at the 25℃).

* Control; non-extraction, Cold water; cold water extraction, Hot water; hot water extraction, Steam; steam extraction

톱밥배지의 균사생장에 있어서 전처리 효과는 수종에 따라 다르게 나타났다. 낙엽송 톱밥에서는 전처리를 한 톱밥배지가 대조구에 비해 균사생장 속도가 저하된 반면에, 소나무 및 잣나무 톱밥배지에서는 균사생장 속도가 상승하였다. 즉, 낙엽송에서는 톱밥의 전처리가 균사생장에 기여하지 못했지만, 소나무 및 잣나무에서는 균사생장 속도 향상에 기여했다는 것을 알 수 있다.

즉 낙엽송 톱밥에서는 균사의 직접적인 영양분으로 작용할 수 있는 물질(저분자 탄수화물 등)이 전처리에 의해 제거되었기 때문에 균사생장 속도가 저하되었다고 생각된다. 특히 소나무와 잣나무에서는 냉수보다는 열수처리가 전처리 방법으로서 더 효과적이었다.

열수처리 시간의 효과를 판정하기 위해 잣나무 톱밥을 3시간에서 12시간까지 열 수 추출 한 다음, 이 톱밥을 이용하여 배지로 조제한 다음, 페트리디쉬 배양에 의거하여 11일 동안 균사생장한 결과를 그림 10에 나타냈다.

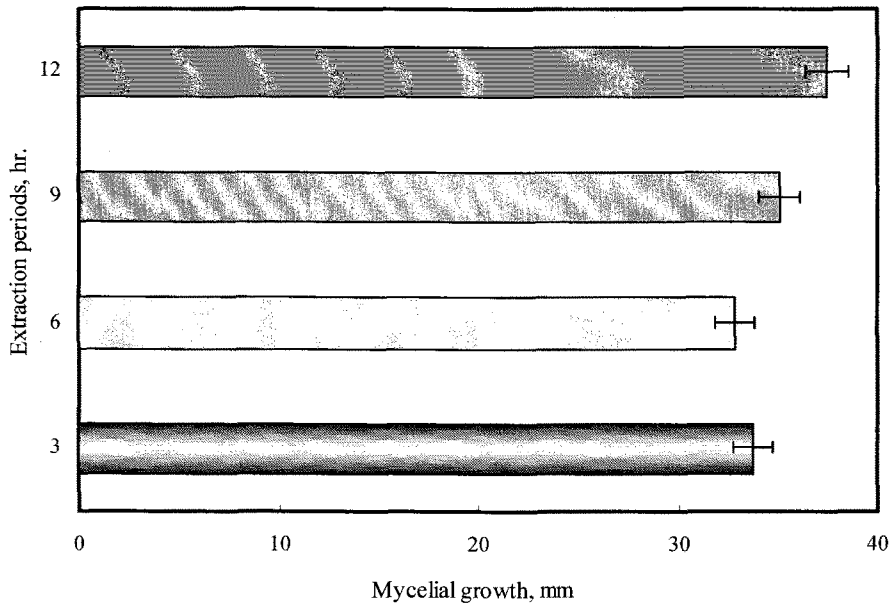


Fig. 10. Effect of hot water extraction time for mycelial growth of *L. edodes* in the sawdust medium of *P. koraiensis* (11 days incubation at the 25℃).

잣나무 톱밥의 시간에 따른 열수 추출물 양은 3시간에 7.9%, 12시간에

9.3% 수 준이었지만, 3시간 추출 톱밥과 12시간 추출톱밥을 사용한 배지에서의 균사생장량은 약간의 유의성을 나타내었다. 하지만, 실제로 버섯재배 현장에서는 전처리비용과 시간을 고려하여 전처리 시간을 결정하여야 할 것으로 판단된다.

아. 침엽수재 열수추출물이 균사생장에 미치는 영향

침엽수톱밥을 활엽수 톱밥과 혼합하여 조제한 배지나, 침엽수 톱밥만을 사용하여 조제한 배지에서의 표고균사생장은 활엽수, 특히 순수 참나무 톱밥배지에 비해 저조하였다. 이를 개선하기 위해서 침엽수 톱밥을 열수로 전처리한 다음, 이로부터 조제된 배지에서는 균사생장이 향상된다는 사실을 확인할 수 있었다. 균사생장속도의 증가는 톱밥의 전처리 결과인데, 이때 침엽수 톱밥의 전처리 효과는 두가지 측면에서 고려될 수 있다. 첫 번째는 톱밥의 물리적 공극 구조 변화의 영향을 생각해볼 수 있고, 두 번째는 침엽수 톱밥에 존재하는 균사생장 저해 화합물의 제거를 추측해 볼 수 있다. 이러한 관점에서, 균사생장을 저해하는 화합물의 추출 및 제거로 인한 균사생장 촉진효과를 확인하기 위해, 침엽수 톱밥의 열수 추출분말을 PDA배지에 혼합한 다음 균사 생장저해 효과를 확인하였다.

표 9에 나타낸바와 같이 열수추출물의 균사생장 저해는 소나무 추출액의 경우 1,000ppm 수준에서 나타났으며, 잣나무 추출액의 경우 100ppm 수준에서 나타났다.

Table 9. Antifungal activity of acquired hot water extractives from softwood in the PDA medium

Species	Antifungal activity, %		
	100 ppm	1,000 ppm	10,000 ppm
Pinus densiflora	N.D.	6.7	32.4
Pinus koraiensis	4.8	20.7	48.3

Notes; N.D. : Not detected

이러한 결과는 침엽수재 열수추출물에 균사생장을 저해하는 화합물이 함유되어 있다는 사실을 확인하게 해준다.

그림 11은 잣나무 톱밥의 열수처리 시간을 변화시키면서, 획득한 추출물을 PDA배지에 농도를 각기 다르게 투입한 다음, 균사생장을 시험한 결과이다.

잣나무 톱밥의 열수추출물 농도는 균사생장에 영향을 나타냈다. 특히 농도 100 ppm과 1,000 ppm에서의 균사생장속도 차이는 그다지 분명하지 않았지만, 10,000 ppm에서는 균사생장 저해 효과가 뚜렷하게 나타났다. 하지만 톱밥의 열수처리 시간에 따른 추출물의 균사생장 저해효과는 유의성이 나타나질 않았다. 즉, 잣나무 톱밥의 열수처리에 있어서, 처리시간이 길어짐에 따라 새로운 균사생장 저해 화합물이 출현하여 균사생장을 저해한다는 생각보다는 처리시간이 장기화 됨에 따라 양적으로 저해물질이 다량증가 된다는 사실을 추측할 수 있다. 이것은 추출시간을 변화 시켜도 제거되는 저해 화합물의 종류는 거의 유사하다는 사실을 추측 가능하게 해준다.

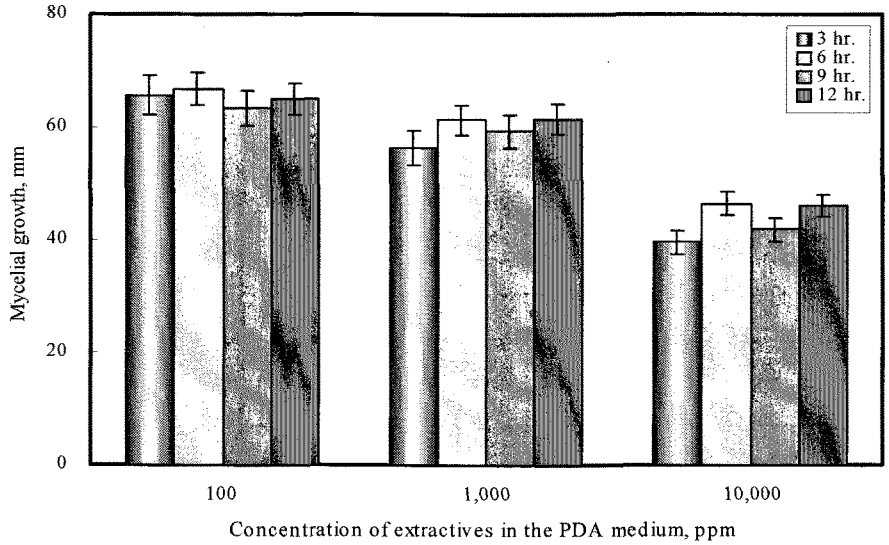


Fig. 11. Effect of mycelial growth inhibition of *L. edodes* in the Potato-Dextrose-Agar(PDA) plate medium by hot water extractives of *P. koraiensis* (10 days incubation at the 25℃).

자. 최적 탄소원 선정 및 배지의 C/N율 변화

표고버섯의 톱밥재배에 실제로 적용되는 탄소원은 glucose나 sucrose등이 대표적인 것으로 알려져 있고, 재배농가에서도 이들을 첨가 탄소원으로 사용하고 있다. 탄소원은 버섯의 생활에너지 자원으로 이용되는 주요한 영양원으로 최적의 투입농도는 1-5%농도로 알려져 있다. 그림 12는 침엽수 시험관 톱밥배지에 있어서 각종 탄소원 종류를 다르게 첨가했을 때, 톱밥배지의 중량변화를 나타낸 것이다. 이때 낙엽송 톱밥은 전처리를 하지 않았고, 소나무 및 잣나무는 열수처리한 톱밥을 사용하였다.

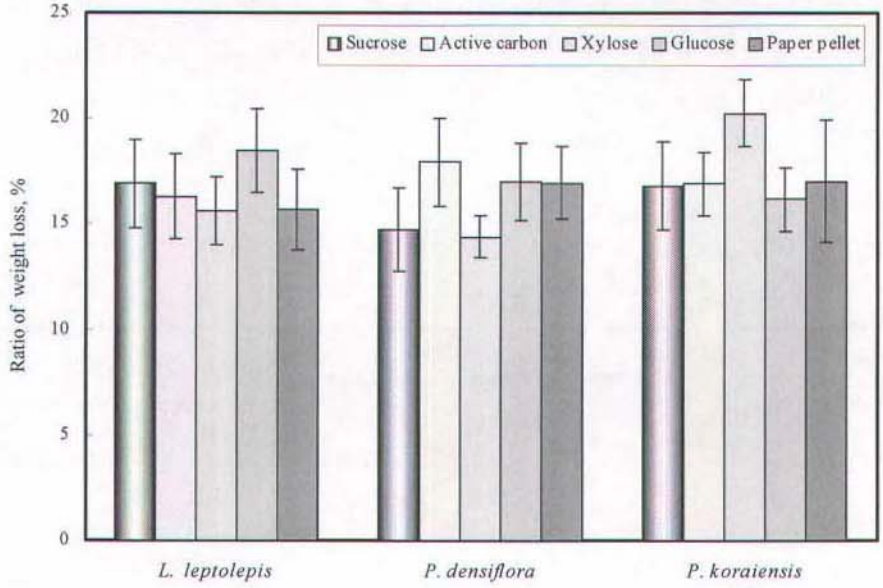


Fig. 12. Effect of carbon nutritions for mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium of *L. leptolepis*, *P. densiflora* and *P. koraiensis* (132 days incubation at the 25℃).

버섯의 신진대사가 활발히 진행되면 배지의 중량 감소는 이와 더불어 증가되는 것으로 판단됨과 동시에 중량감소의 정도는 균사생장과 직접적인 연관관계가 있다고 생각되었다.

침엽수 수종에 따라서 최적의 탄소원은 다르게 나타났다. 낙엽송에서는 glucose, 소나무에서는 활성탄, 잣나무에서는 xylose가 가장 최적의 탄소원으로 판단되었으며, 이때 수종에 따라 최적의 탄소원이 다르게 나타나는 원인은 각 수종마다 고유의 화학적 조성과 탄수화물 조성 차이 때문으로 추측된다.

표 10에 전처리된 침엽수 톱밥배지에 최적의 탄소원을 투입하여 시험관에서 150 일 동안 생장시킨 후, 톱밥배지의 원소조성과 C/N율을 분석한 결과이다.

톱밥배지의 중량감소율은 약 15%로 나타났으며, 수종에 따라 큰 차이는 없었다. 배지중의 원소조성에 있어서 탄소의 함량 저하가 뚜렷하게 나타났으며, 질소 함량은 큰 변화가 없었다. C/N율은 균사생장 전보다 10-15%가 감소되었다. 이러한 사실은 표고균사 생장시 질소원보다 탄소원이 더 높은 비율로 이용한다는 사실을 추측할 수 있었다. 이것은 표고버섯 재배시 질소원보다는 탄소원을 더욱더 신중하게 선택, 고려해야 한다는 사실을 실감하게 해준다.

Table 10. Change of element content and C/N ratio in the sawdust medium.

Species	Carbon nutrition	Fungi growth	Medium yield, %	Element content, %				C/N ratio
				C	H	N	O	
Larix leptolepis	Glucose	Before	100.0	44.5	4.5	0.7	49.3	65.0
		After	84.9	37.8	3.6	0.7	42.8	54.0
Pinus densiflora	Active carbon	Before	100.0	47.6	4.5	0.6	47.3	79.3
		After	85.8	38.1	3.7	0.6	43.4	63.5
Pinus koraiensis	Xylose	Before	100.0	45.4	4.7	0.7	49.2	64.9
		After	84.3	38.1	3.6	0.7	41.9	54.4

차. 최적 질소원 선정 및 식물성유 첨가 효과

버섯의 생장에 있어서 탄소원 다음으로 많은 영향을 미치는 질소원은 아미노산, 단백질, 효소의 합성에 필수적인 영양원으로 알려져 있다. 현재 재배농가에서는 질산칼륨을 톱밥배지 조제시 사용하고 있다.

그림 13은 기존의 표고톱밥재배에 사용되는 질소원인 질산칼륨 이외에 염화암모늄, 아스파라긴, 글루탐산을 질소원으로 각각 첨가했을 때 균사생장 결과를 나타낸 것으로, 전반적으로 수종에 관계없이 아미노산의 일종인 아스파라긴과 글루탐산이 균사생장면에서 유리하였다.

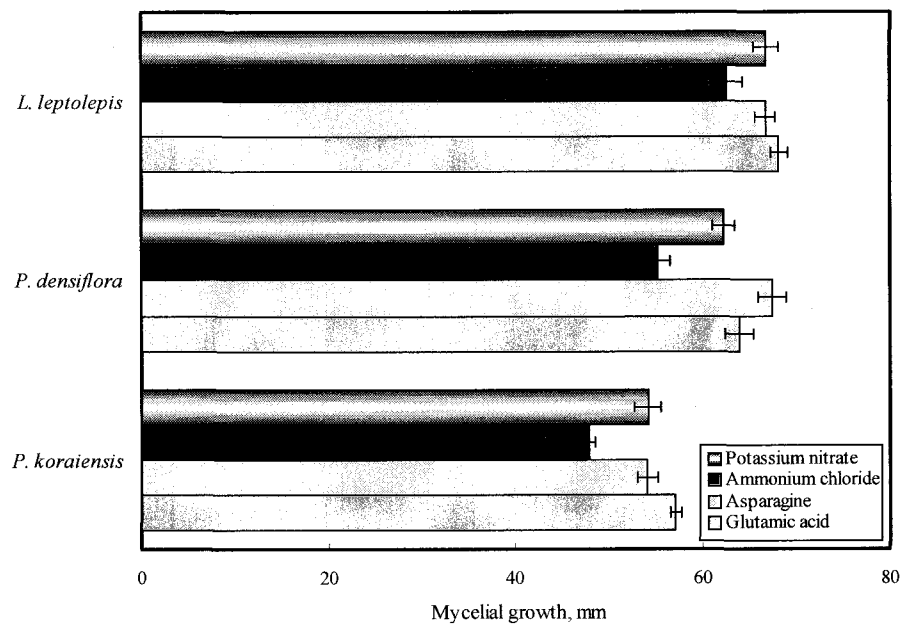


Fig. 13. Effect of nitrogen nutritions for mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium of *L. leptolepis*, *P. densiflora* and *P. koraiensis* (11 days incubation at the 25℃).

낙엽송 및 잣나무 톱밥배지에서는 글루탐산, 소나무에서는 아스파라긴이 가장 효과가 좋았으며, 이들의 효과는 유의성이 인정되었다.

한편, 고등균류인 버섯 균사체 생장속도는 상대적으로 타 미생물에 비해 낮을 뿐 만 아니라, 그 수율도 저조한 편에 속한다. 이를 보완하기 위해서 영양

요구나 첨가제에 관한 연구가 액체배양 분야에서는 많이 연구되고 있다. 특히 식물성유(vegetable oil)에 의한 균사체 생장촉진이 관심을 끌고 있다. 그림 14는 식물성유인 현미유를 침엽수 톱밥배지에 첨가했을 때 균사생장 촉진효과를 나타냈다. 액체배양에서 식물성유의 첨가는 대조구에 비해 균사체 생장량이 거의 2-3배 증가되는 결과를 나타냈는데, 톱밥배지에서는 그 효과가 뚜렷하지 않았다. 이는 액체배양시 첨가된 lipid가 균사체 세포벽 성분을 일부 변화시킴으로서, 막 투과율(membrane permeability)에 영향을 주어 영양분 이동 속도가 증가되었기 때문으로 추측되지만, 이러한 효과는 고체배지인 톱밥에서는 발생할 빈도가 낮았기 때문으로 추측된다.

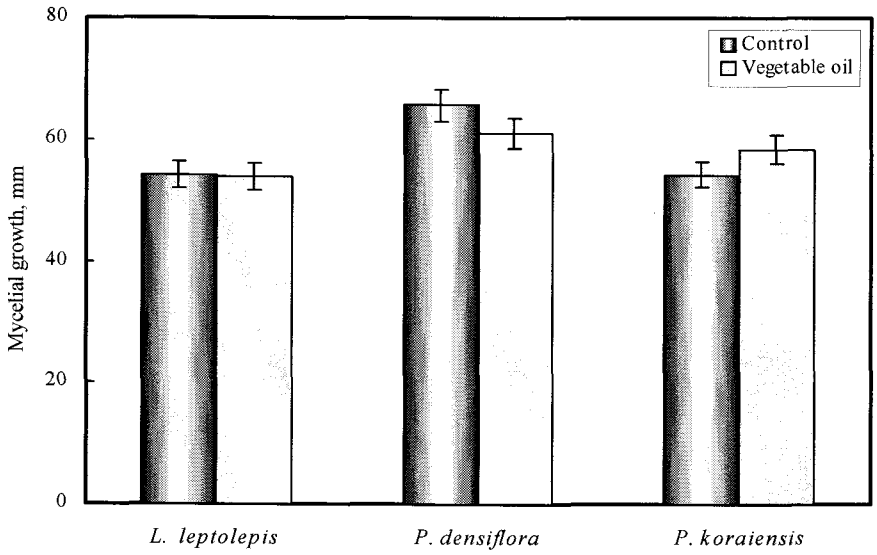


Fig. 14. Effect of vegetable oil for mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium of *L. leptolepis*, *P. densiflora* and *P. koraiensis* (11 days incubation at the 25℃).

타. 최적 침엽수 톱밥배지의 도출 및 폐아미노산의 효능

1) 최적 침엽수 톱밥배지의 도출

표고균사생장을 위해 본 연구에서 도출된 최적 침엽수 톱밥배지는 Table 11과 같다. 침엽수 수종에 따른 최적의 각종 전처리 및 영양원은 각기 다르게 나타났다.

Table 11. Optimal condition of softwood sawdust medium for fungal growth of *L . edodes*.

Species	Pretreatment	Carbon nutrition	Nitrogen nutrition	Vegetable oil
Larix leptolepis	–	Glucose	Glutamic acid	–
Pinus densiflora	Hot water extraction, 3 hour	Active carbon	Asparagine	–
Pinus koraiensis	Hot water extraction, 12 hour	Xylose	Glutamic acid	Rice bran oil

이를 최적 배지로 하여 표고균사를 생장시켰을때, 균사생장량을 그림 14에 나타냈다. 그림 15는 영양분이 첨가된 굴참나무 톱밥배지를 대조구로 하여 본 연구에서 도출된 침엽수 톱밥배지에서의 균사 생장량을 백분율로 표시한 것이다.

침엽수 톱밥과 기존의 영양원 만을 투입하여 조제한 배지에서는 균사생장비율이 굴참나무에 비해 낙엽송 80%, 소나무 및 잣나무 55-60% 수준이었다. 그러나 본 연구에서 도출한 전처리법, 영양원, 첨가물을 이용하여 조제한 침엽수 톱밥배지에서는 균사생장비율이 굴참에 비해 낙엽송 및 잣나무는 거의 100%에 도달하였으며, 소나무는 100%를 초과하였다. 그러나 본 연구에서 제시한 침엽수 톱밥배지 조제법은 참나무 톱밥배지에 비해 에너지 비용 및 공정면에서 불리한 측면을 내포하고 있으며, 자실체(버섯) 생산에 있어서 배지의 효율평가가 숙제로 남아있다.

앞으로 이러한 배지를 이용하여 자실체 생산측면까지 실험이 종료되어야만 경제성 및 효율성이 평가될 수 있을 것이고, 이를 기초로 하여 현장 적용도 가능하리라 판단된다.

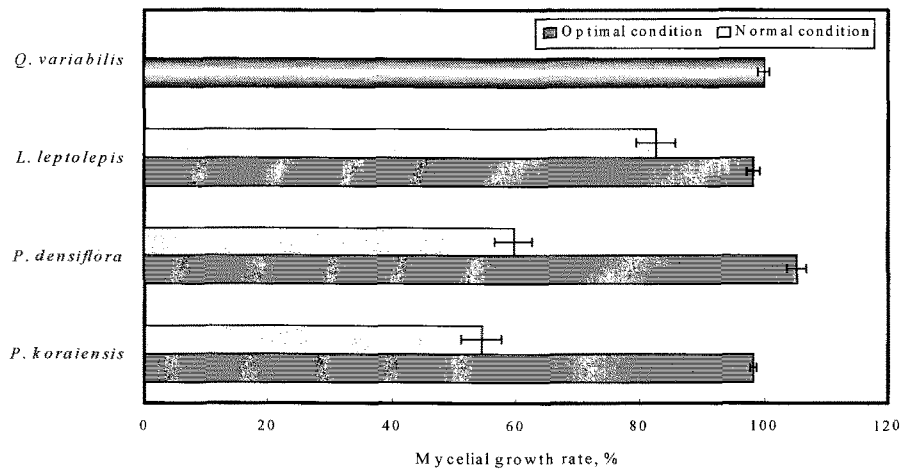


Fig. 15. Comparison of control condition(non pretreatment and common nutrients) and optimal condition in the mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium of *L. leptolepis*, *P. densiflora* and *P. koraiensis* (11 days incubation at the 25℃).

2) 페아미노산의 효능

그림 16은 페아미노산을 톱밥배지에 질소원 및 균사생장 촉진제로 첨가하였을때 균사생장량을 나타낸 것 이다.

톱밥배지의 질소원 대신에 페아미노산을 첨가하였을 때, 굴참나무 톱밥배지에서는 0.01%-0.05% 페아미노산의 첨가가 표고 균사생장에 효과를 나타내었으며, 0.05% 페아미노산의 첨가에서 가장 효과적이었다. 그리고 잣나무 톱밥배지는 0.01% - 0.10% 페아미노산의 첨가가 표고 균사생장에 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 낙엽송과 소나무 톱밥에서는 페아미노산의 첨가가 표고 균사 생장에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 굴참나무 톱밥배지에서는 페아미노산이 질소원으로써의 이용가능성이 긍정적으로 평가되었으며 최적의 첨가 농도는 0.05% 수준이었다.

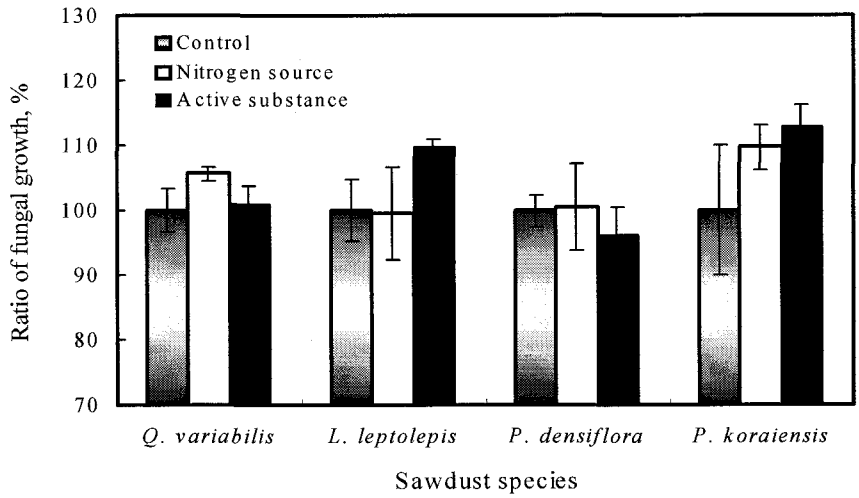


Fig. 16. Optimal additive condition of waste amino acid as a nitrogen source or active substance on the sawdust media.

* Nitrogen source : *Q. variabilis and P. koraiensis* - 0.05%

L. leptolepis and P. densiflora - 0.01%

Active substance : Sawdust of all species - 0.05%

생장촉진제로써 첨가한 폐아미노산의 표고 균사생장 결과를 나타내었다. 시험구는 각 수종 톱밥배지에 폐아미노산을 0.01%, 0.05%, 0.10%, 0.50%, 1.00% 농도로 첨가 하였다. 그 결과 굴참나무와 소나무 톱밥배지에서는 폐아미노산의 첨가가 표고 균사 생장에 큰 영향을 나타내지 않았으며, 낙엽송 톱밥배지에서는 균사생장 촉진제로써의 효과가 우수하게 나타났으며, 유효 첨가 농도는 0.01% ~ 0.05%라 판단되며, 잣나무에서는 질소원 및 생장 촉진제로써의 효과가 모두 나타났는데 유효 첨가 농도는 0.01% ~ 0.10%로 판단되었다.

소나무 톱밥배지에서는 질소원 및 생장 촉진제로써 폐아미노산의 효능은 나타나지 않았다.

파. 열수추출물의 균사 생장저해, 열수추출물의 분획 및 균사생장

1) 열수추출물의 균사생장 저해

그림 17에 소나무 열수추출물의 균사생장 저해 결과를 나타내었다. 이때

대조구는 열수 추출물(분말)이 투입되지 않는 PDA배지를 사용하였다.

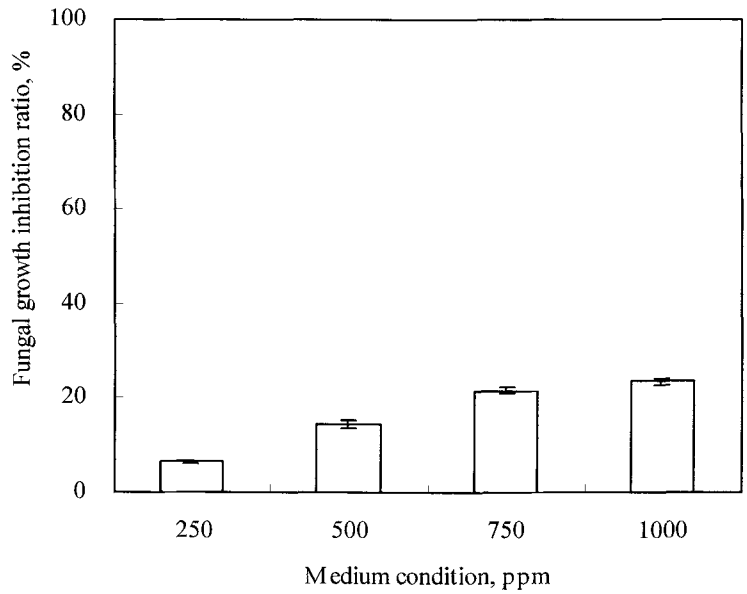


Fig. 17. Effect of mycelial growth inhibition of *L. edodes* in the PDA plate medium by hot water extractives of *P. densiflora*.
(10 days incubation at the 25℃)

250 ppm 에서는 균사 생장 저해도가 10% 미만 이었으며, 500 ppm에서는 14.5%, 750 ppm에서 21.56% 그리고 1000 ppm에서 가장 높은 약 24%의 균사 생장 저해도를 나타냈다.

이러한 결과로서 소나무 열수추출물에는 표고균사생장을 저해하는 화합물이 존재한다는 사실을 알 수 있었으며, 소나무 톱밥의 열수 추출은 표고균사생장을 저해하는 화합물을 제거할 수 있다는 사실을 증명할 수 있었다.

2) 열수 추출물의 분획 및 균사생장

열수추출물에 존재하는 균사생장 저해물질을 분리, 확인하기 위해 극성이 다른 용제를 이용하여 다단으로 추출하였으며, 분획한 결과는 그림 17에 나타냈다.

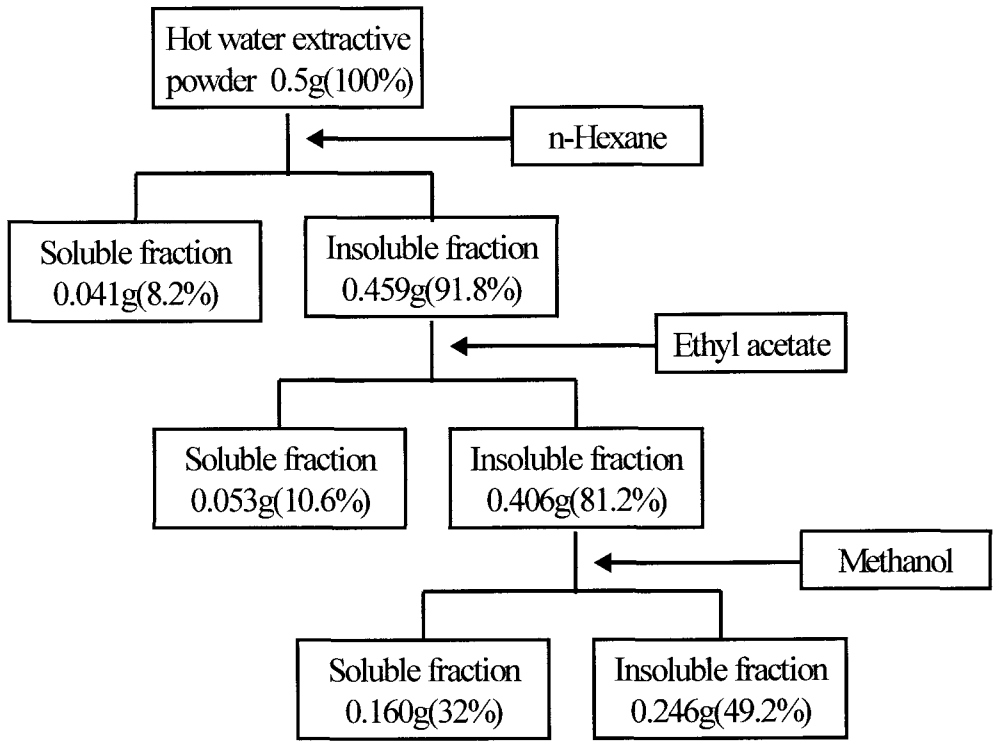


Fig. 18. Fractionation procedures for hot water extractives from *P. densiflora* sawdust.

n-hexane 가용분 8.2%, ethyl acetate 가용분 10.6%, methanol 가용분 32% 그리고 methanol 불가용분 49.2%가 얻어졌으며, 열수추출분말에 존재하는 물질들은 용제극성이 높을수록 가용분의 함량이 높게 나타났다. 소나무 톱밥 열수추출 분말의 *n*-hexane 가용부, ethyl acetate 가용부, methanol 가용부 그리고 methanol 불용부를 PDA배지에 혼합한 다음, 균사 생장시험한 결과를 그림 19에 나타냈다.

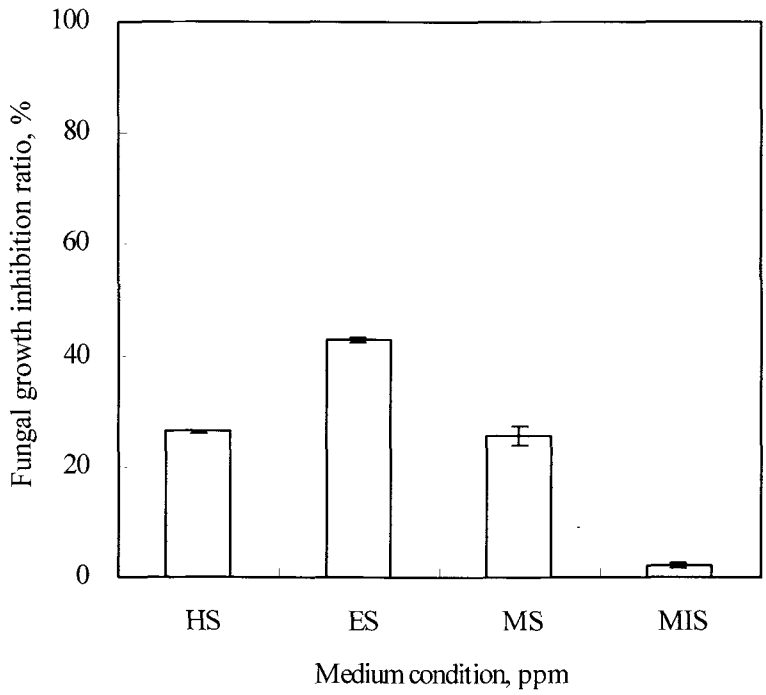


Fig. 19. Effect of mycelial growth inhibition of *L. edodes* in the PDA plate medium by solvent extraction from hot water extractives of *P. densiflora* (1000ppm, 10 days incubation at the 25℃).
HS : n-Hexane soluble fraction, ES : Ethyl acetate soluble fraction
MS : Methanol soluble fraction, MIS : Methanol insoluble fraction

열수 추출 분말의 균사 생장 저해비율은 ethyl acetate의 가용부에서 약 45%로 가장 높은 저해비율을 보였으며, *n*-hexane과 methanol의 가용부에서는 약 25%, 그리고 metanol의 불가용부에서는 거의 저해가 없는 것으로 판단된다. 소나무 열수 추출물에 존재하는 균사생장 저해물질들은 여러 가지가 존재한다는 것을 확인 할 수 있었다. 다만 용제추출에 의한 저해물질의 분리는 효율성이 낮다고 판단되었다. 왜냐하면 저해물질들이 3가지 용제에 모두 용해되기 때문에 효율적 분리는 어렵다고 생각되었다.

하. 유기용제 추출물이 균사생장에 미치는 영향

n-hexane, ethyl acetate, methanol의 용제로 추출되어진 굴참나무 톱밥과 소나무 톱밥 추출물은 PDA배지에 0.1% (1000ppm)의 농도로 혼합한 다음, 균사 생장저해효과는 그림 20과 같은 결과를 얻었다.

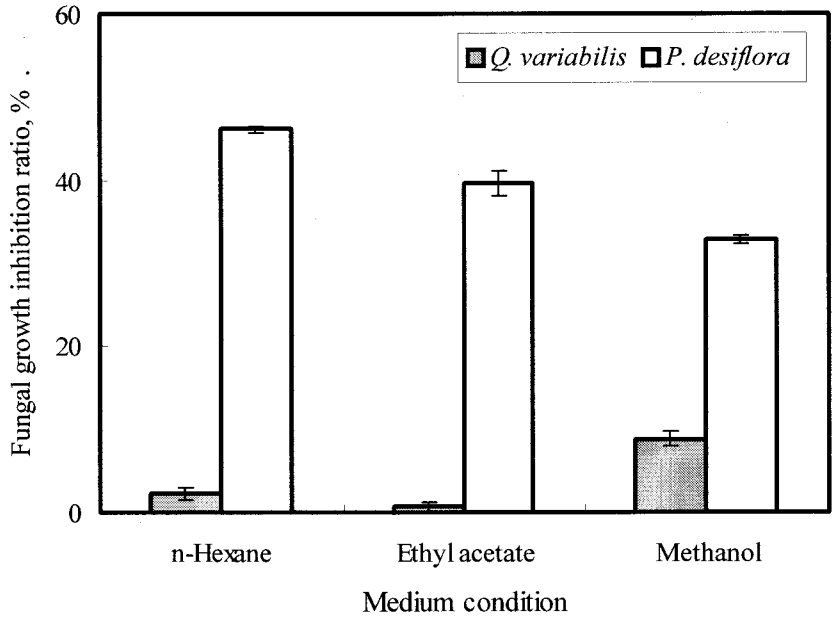


Fig. 20. Fungal growth inhibition ratio of sawdust extractives by solvent in the PDA medium(1000ppm, 10 days incubation at the 25℃).

굴참나무 톱밥의 각 용제 추출물의 균사 생장저해 비율은 10% 미만으로 저해가 거의 일어나지 않았고, 소나무 톱밥의 각 용제 추출물의 균사 생장저해비율은 *n*-hexane 추출물에서 약 46%로 가장 높은 저해비율을 보였으며, ethyl acetate에서 약 39% 정도의 저해비율과 methanol 추출물에서는 약 33% 정도였다. 소나무 톱밥 추출물은 열수 추출물에 존재하는 균사생장 저해물질 보다 용제의 극성이 가장 낮은 *n*-hexane 추출물에서 표고 균사 생장을 저해시키는 저해물질이 많다는 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 표고 균사 생장에 추출물의 양과는 밀접한 관계가 없는 것으로 판단된다.

소나무 톱밥을 *n*-hexane, ethyl acetate, methanol의 용제로 직접 추출하여 획득한 용제 추출물을 0.0124% (125ppm), 0.025% (250ppm), 0.05% (500ppm),

0.075% (750ppm) 및 0.1% (1,000ppm)의 농도로 용제를 휘발시킨 다음, PDA 배지에 완전 용해시켜 배지를 조제하여 10일동안 표고 균사 생장율을 측정하였다. 이로부터 조제된 배지에서 표 12에 결과를 나타냈다.

Table 12. Fungal growth inhibition ratio of solvent extractives acquired from *P. desiflora* in the PDA medium(10 days incubation at the 25℃).

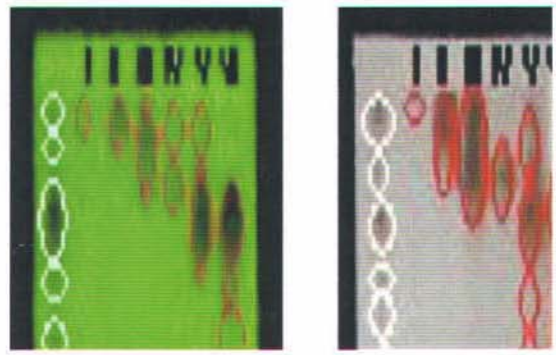
Extractives, ppm	Fungal growth inhibition ratio, %		
	n-Hexane	Ethyl acetate	Methanol
125	36.5	27.0	25.2
250	41.2	38.3	35.7
500	43.1	38.3	37.2
750	45.4	38.5	41.6
1000	46.1	39.6	44.6

소나무의 n-hexane 추출물이 다른 두가지 용제에 비해 높은 균사 생장 저해율을 나타냈다. 특히 125 ppm의 농도에서 36.5%의 저해율을 나타내었고, 250 ppm 이상에서는 농도에 따른 억제율은 거의 큰 변화가 없었으며 level-off 되었다. 이러한 현상은 ethyl acetate에서도 동일하게 나타났다. 그러나 메탄올 추출물에서는 추출물농도에 따른 균사의 생장억제 효과가 명백하게 나타났다.

기. 소나무 추출물의 분획 및 균사생장저해시험

소나무 톱밥 용제 추출물들은 농축한 다음, 실리카겔 칼럼크로마토그래피를 하여 추출물들을 분획하였으며, 분획된 추출물은 각 추출물에 따른 전개용매,

UV light (254nm) 및 10% H_2SO_4 으로 TLC에 의해 확인을 하였다. 용제 추출물들의 성분들은 methanol 추출물이 가장 많은 화합물로 구성되었으며, ethyl acetate, *n*-hexane의 용제 순서대로 함유 화합물의 수가 적게 나타났다. 먼저 *n*-hexane 추출물의 분획결과, 사진 3에서는 용제 추출물 중 극성이 가장 낮은 *n*-hexane 추출물의 분획 결과를 전개 용매 *n*-hexane: ethyl acetate = 1:1을 사용하여 TLC에서 확인한 결과를 나타내었다.



A B

Photo 3. Confirmation of *n*-hexane soluble fractions by column chromatography.

A : UV light, B : 10% H_2SO_4 Column : ∅ 60mm, silica gel 60 2000g
TLC plate : silica gel 60 F254, 0.5mm (MERCK)
Dissolvent of n-Hexane soluble fraction was *n*-Hexane: Ethyl acetate=1:1

이 *n*-hexane 추출물은 methanol과 ethyl acetate 용제 보다 분획이 잘 되었으며, 6개의 분획물질을 획득할 수 있었다. 그림 21은 *n*-hexane의 6개 분획물질에 대한 표고 균사 생장율을 나타내었다. 이 물질들은 PDA 배지에서 0.1% (1000ppm)로 표고 균사생장저해를 확인한 결과 2번과 3번 분획물에서 가장 높은 약 35% 비율을 나타내었다.

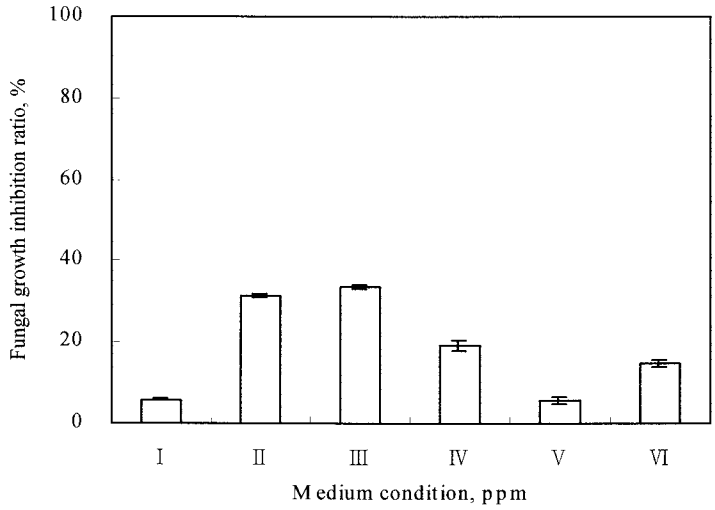


Fig. 21. Effect of flaction extractives for fungal growth of *L. edodes* on PDA medium at 25℃ for 10days. (extractives : 1000ppm)

소나무 톱밥 methanol 추출물의 분획은 전개 용매 *n*-hexane:ethyl acetate = 1:1을 사용하였으며, 소나무 톱밥 ethyl acetate 추출물의 분획은 전개용매 *n*-hexane:ethyl acetate = 2:1로 TLC에서 확인하였다. 그 결과, methanol 추출물과 ethyl acetate 추출물은 *n*-hexane 추출물 보다 다양한 물질을 함유한 것으로 확인되었으나, 단일 물질로 분리되지는 않았다. 이 두 용제 추출물의 분획은 크게 2그룹으로 분리되어졌다. 이 분획물질들은 표고 균사생장 저해를 확인하기 위해 0.1% (1000ppm)로 PDA 배지에 첨가하여 관찰한 결과 methanol 추출물 2그룹에서 약 90%의 균사생장 저해 비율을 나타내었으며, ethyl acetate 추출물 2그룹에서도 약 70% 와 약 60%의 균사생장 저해 비율을 보였다.

그림 22는 methanol 추출물의 분획 2그룹, ethyl acetate 추출물의 분획 2그룹 그리고 *n*-hexane 추출물의 분획 2 fraction이 표고 균사 생장에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 이 러한 결과는 추출물의 단일 물질의 영향이 아닌 여러 가지 추출물의 시너지 효과에 의해 표고 균사생장이 억제되는 것으로 추측된다.

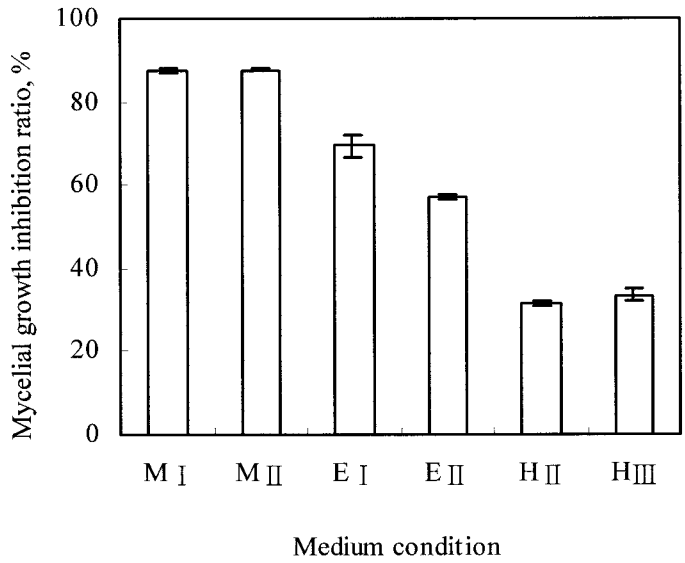


Fig. 22. Inhibition effects of each fraction of extractives (1000 ppm) from *P. densiflora* on mycelial growth of *L. edodes* on PDA medium at 25℃ for 10days.

M Ⅰ: group of two (No. 1,2) inhibitory compounds
M Ⅱ: group of two (No. 3,4) inhibitory compounds
E Ⅰ: group of two (No. 1,2) inhibitory compounds
E Ⅱ: group of three (No. 3,4,5) inhibitory compounds
H Ⅱ: inhibitory compound of the No. 2
H Ⅲ: inhibitory compound of the No. 3

니. 블록배지의 중량 감소율 및 최초 발생기간

그림 23은 표고버섯 산림 5호 균을 접종 한 다음, 암배양실(60%, 23℃)에서 60일 동안 배양하고 명배양실(60%, 23℃)에서 30일 동안 배양하면서 배지 중량 감소율을 측정하였다.

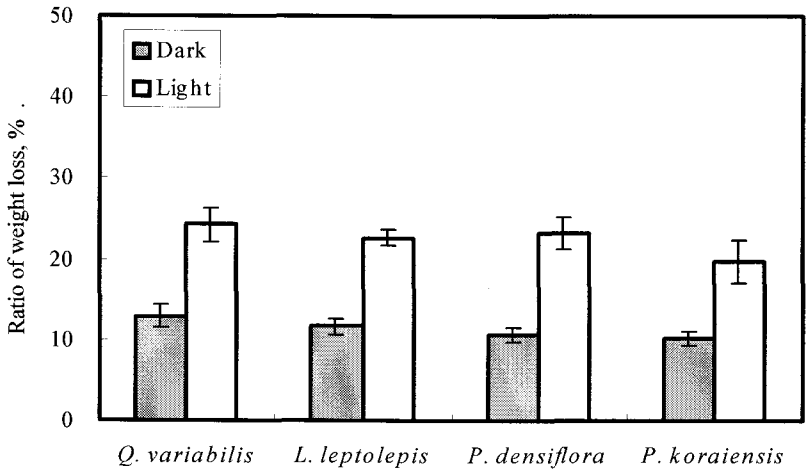


Fig. 23. Effect of optimum nutritions for mycelial growth of *L. edodes* in the softwood sawdust medium.(Dark 60 days from inoculation and light 30 days from dark 60 days incubation at the 25℃)

암배양 60일째 각 수종의 중량 감소율은 대조구인 굴참나무 톱밥배지에서 약 13%였으며, 시험구인 낙엽송, 잣나무 그리고 잣나무 톱밥배지에서는 약 10 - 12%였다. 또한 암배양 후, 명배양 30일째 중량 감소율은 굴참나무 톱밥배지에서 약 24%였으며, 낙엽송 22.7%, 소나무 23.2% 그리고 잣나무 19.7%의 중량 감소율을 보였다. 이 암배양과 명배양 중량 감소율을 비교한 결과, 명배양시 중량 감소율이 암배양 때 보다 시간적으로 2배 빠르다는 것을 알 수 있었으며, 최종 중량 감소율이 가장 높은 것은 굴참나무 톱밥배지였고, 가장 중량 감소율이 낮은 것은 잣나무 톱밥배지였다.

300g 블록 톱밥배지는 암배양과 명배양이 끝난 다음, 톱밥배지는 다시 24시간 동안 침수 처리를 하고, 이 톱밥배지는 자실체 생산을 위해 발생실(90%, 15-18℃)에서 자실체 생산 능력이 없을 때까지 120일 동안 발생시켰다. 자실체 발생을 위한 배양 조건은 배지 중량에 따라 암배양과 명배양 기간을 조절해야 하며, 표고 균사생장을 위해 충분한 암배양과 배지의 갈변을 위해 명배양도 충분히 이루어져야 한다. 또한 배지의 건조를 방지하기위해 배양시 습도를 60%로 조절해야한다. 이러한 배양 조건이 갖추어졌을 때 활력 있는 균사

체를 유지시킴으로써 자실체의 발생이 잘 될 것으로 판단된다. 그림 24는 각 수종 톱밥배지에서 최초 발생된 버섯의 발생시기를 나타내었다.

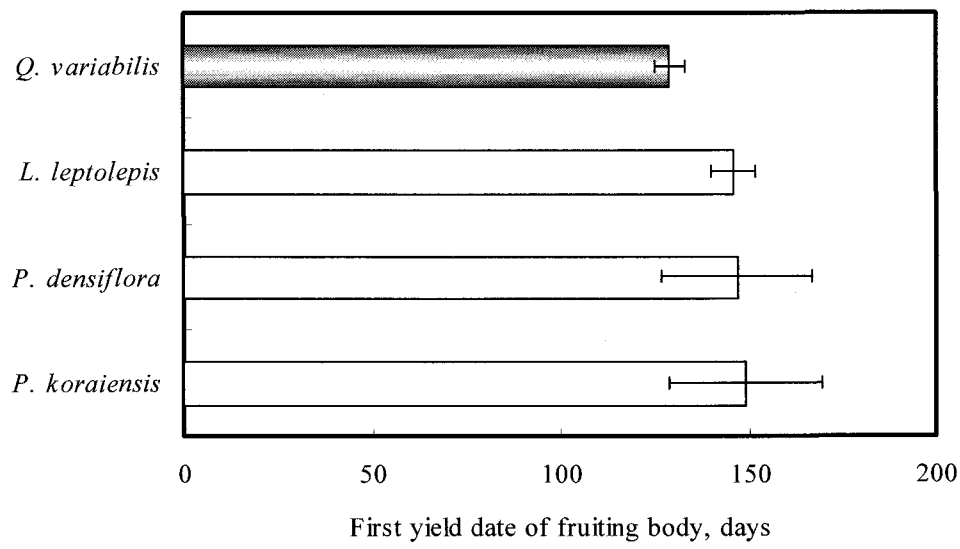


Fig. 24. Investigation of first production period for fruiting body of *L. edodes* from the 300g block medium cultivations. (After an incubation of 90 days)

표고버섯의 수확은 자실체의 갓주름이 70-80%일 때 이루어졌다. 표고버섯 균을 배지에 접종한 후, 최초 발생된 자실체는 굴참나무 톱밥배지에서 129일이었으며, 침엽수재 톱밥배지인 낙엽송, 소나무 그리고 잣나무는 각각 146일, 147일, 149일에 발생되었다.

이 결과에서 대조구인 굴참나무 톱밥 블록배지와 침엽수재 톱밥 블록배지들과는 15일 이상의 시간차를 나타내었다. 이는 표고버섯 균사가 자실체를 형성하기위해서 영양원을 분해하는 능력이 굴참나무 톱밥과 침엽수재 톱밥인 낙엽송, 소나무, 잣나무와는 다르다고 판단된다. 따라서 대조구인 굴참나무 톱밥배지와 침엽수재 톱밥배지의 암배양과 명배양을 다르게 조절하는 것이 바람직하다고 판단된다.

디. 생산된 버섯의 생중량

표고버섯 발생을 위해 발생실의 습도는 90%가 적당하며, 수분은 300g 블록 톱밥배지에 일정하고 균일하게 공급되는 수분 낙하식 분산 조절법이 필요하다고 생각된다. 또한 발생실에서 블록 톱밥배지는 버섯이 바르게 나올 수 있도록 배지의 위치를 조절하는 것이 필요하다고 판단된다. 그림 25는 300g 블록 톱밥배지에서 발생처리 120일 동안 수확된 표고버섯의 총 생 중량을 나타내었다.

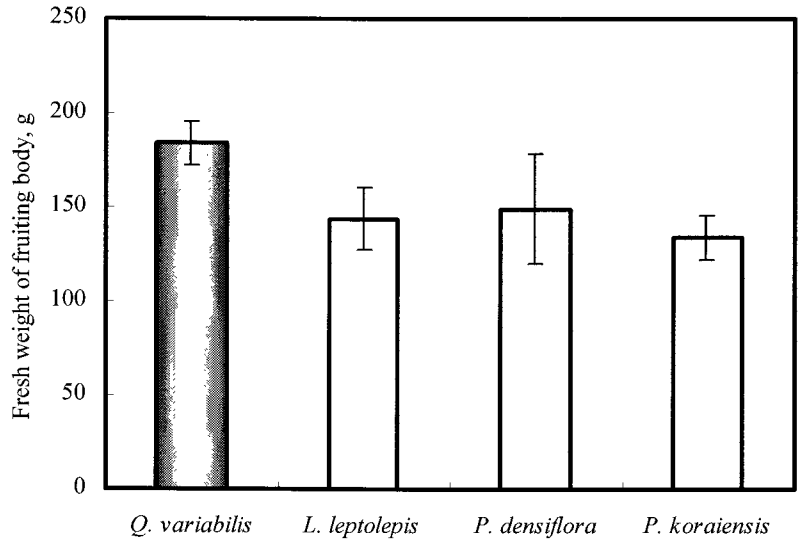


Fig. 25. Fresh weights of fruiting bodies harvested from the 300g block medium cultivations (harvesting period of 120 days).

대조구인 300g 굴참나무 블록 톱밥배지에서는 약 184g으로 배지의 61.3%가 수확되었고, 낙엽송 톱밥배지는 배지의 48%인 약 144g, 소나무 톱밥배지의 49.7%인 약 149g 그리고 잣나무에서 배지의 44.7%인 약 134g이 수확되었다. 이러한 결과는 300g 블록배지의 중량 감소율에 따른 자실체 발생의 량이 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 침엽수재들 중에서 소나무 톱밥을 열수처리하고, 최적영양원(탄소원: active carbon, 질소원: asparagine)을 첨가한 300g 블록배지에서 가장 우수하였다. 이와 같이 블록 톱밥배지의 표고버섯 재배는 전

문적이고 경험적인 지식을 갖춰서 이루어져야 하며, 실용적인 재배시설도 설비하여야만 표고버섯의 생산성을 높일 수 있다고 생각한다

제 3 절 육종기술 개발 및 우량품종 육성

1. 표고균주 자원수집

가. 재료 및 방법

국내외에서 새로운 표고균주를 수집하여 균주보존실에 보관하였다.

나. 결과 및 고찰

수집한 균주는 총 42개이며, 중국도입균주가 33개, 국내수집균주가 9개이다. 수집한 표고균주에 FRI 번호를 부여한 후 선발육종에 사용하였다(즉, 제3항의 우량품종 개발시험에 공시하였다). 또한, 수집균주를 교잡육종 및 원형질체융합에 의한 새로운 균주제조에 공시하였다.

2. 교배 및 원형질체융합에 의한 신균주제조

가. 재료 및 방법

1) Mono-mono(1핵균사-1핵균사) 교배법

수집한 균주들을 공시하여 mono-mono 교배법에 의한 교잡육종을 실시하였다. 즉, 표고균주 FRI 150, 151, 152, 153, 178, 179의 단포자로 부터 1핵균사를 만들어 서로 다른 균주간의 교잡을 시도하였다. 두 균주의 균사를 PDA평판배지상에서 대치배양을 하면, 수일 후 균사가 서로 융합을 한다. 균사융합부위를 취하여 교잡균주의 생성여부를 조사하였다. 제조한 교잡균주가 2핵균사임을 확인하기 위하여 현미경을 사용하였으며, 모균주와 다른 독립균주인지를 알기 위하여 대치배양을 실시하였다.

2) Di-mon(2핵균사-1핵균사) 교배법

수집한 균주들을 공시하여 di-mon 교배법에 의한 교잡육종을 실시하였다. 즉, 표고균주 산림5호의 단포자로부터 1핵균사 4개를 만들어 FRI 533, 534, 535 및 536로 명명한 후, FRI 483 등 6개의 중고온성 2핵균사와의 교잡을 시도하였다. 또한, 상기한 산림5호의 4가지 1핵균사와 FRI 478 등 4개의 중고온성 2핵균사와의 교잡을 시도하였다. 먼저 1핵균사를 PDA평판배지에서 약 1주일간 키운 후 균총의 가장자리에 2핵균사를 치상하여 1핵균사를 에워싸고

약 3주일간 자라나간 끝부분의 균사를 취하여 교잡균주의 생성여부를 조사하였다. 재조한 교잡균주가 2핵균사임을 확인하기 위하여 현미경을 사용하였으며, 모균주와 다른 독립균주인지를 알기 위하여 대치배양을 실시하였다.

3) 원형질체융합기법

산림4호로 부터 원형질체 분리를 위하여 먼저 액체배양된 균사를 채취한 후 Omni mixer로 3분간 마쇄한 용액을 25℃에서 3일간 정치배양하였다. 이 배양액을 3,500g로 20분간 원심분리하였다. 분리한 균사체에 여러 가지 분해효소를 처리하여 원형질체 나출을 실시하였다.

나. 결과 및 고찰

1) Mono-mono 교배법에 의한 신균주제조

Mono-mono(1핵균사-1핵균사)교배법은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 한천배지 상에서 서로 다른 균주의 1핵균사를 합치게 하여 신생 2핵균사를 만드는 방법이다.

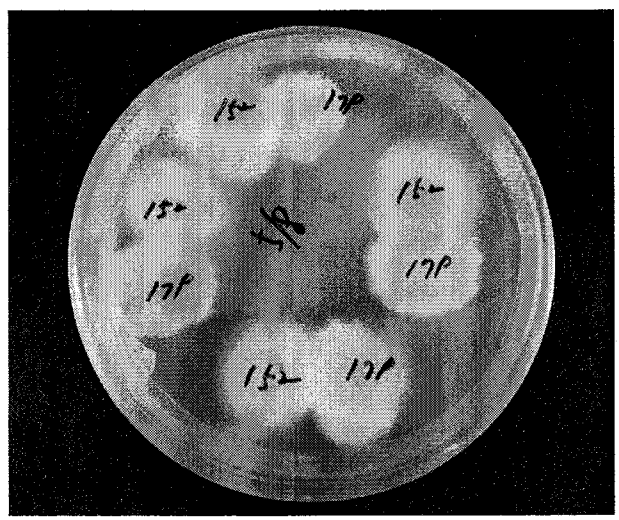


Fig. 1. Mono-mono method for hybridization of shiitake strains to make new superior strains

Fig. 2. Confrontation cultures were made between a hybrid strain(H) and its parent strain(P). Arrow indicates the zone-line formation showing the hybrid strain is independent of the parent strain

본 시험 결과, mono-mono(1핵균사-1핵균사)교배법에 의해 Table 1과 같이 FRI 397 등 새로운 균주 5개를 제조하였다. 교잡균주의 균사는 현미경 검경 결과 clamp connection이 관찰되고, 모균주와의 대치배양 결과 대치선이 생김으로써 모균주와는 다른 독립균주임이 확인되었다(Fig. 2).

Table 1. Hybrid strains produced by Mono-mono mating method

Mating of strains	Hybrid strains produced	Temperature types of hybrid strains
FRI 151×178	FRI 397	Low
FRI 153×178	FRI 398	Low
FRI 150×152	FRI 399	Low
FRI 152×178	FRI 400	Low
FRI 152×179	FRI 401	Low

2) Di-mon 교배법에 의한 신균주제조

Di-mon(2핵균사-1핵균사)교배법은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 한천배지 상에서 서로 다른 균주의 2핵균사와 1핵균사를 접종하면, 2핵균사가 1핵균사를 에워싸고 자라나가면서 교배가 진행되어 신생 2핵균사가 만들어지는 방법이다.

Fig. 3. Di-mon method for hybridization of shiitake strains to make new superior strains

2핵균사인 FRI 483 등 6개 중고온성 표고균주를 공시하여 산림5호의 1핵균사(4극성이므로 4가지가 있음)인 FRI 533, 534, 535 및 536와 Di-mon(2핵균사-1핵균사)교배법에 의해 다음의 Table 2와 같이 22개의 새로운 중고온성 균주를 제조하였다. 교잡균주의 균사는 현미경검경 결과 clamp connection이 관찰되고, 모균주와의 대치배양 결과 대치선이 생김으로써 모균주와는 다른 독립균주임이 확인되었다.

Table 2. Hybrid strains of mid and high temperature type produced by di-mon mating method

Hybrid strains produced	Mating of strains
FRI 537	FRI 483 × 533
FRI 538	FRI 483 × 534
FRI 539	FRI 483 × 535
FRI 540	FRI 483 × 536
FRI 541	FRI 486 × 533
FRI 542	FRI 486 × 534
FRI 543	FRI 486 × 535
FRI 544	FRI 488 × 533
FRI 545	FRI 488 × 534
FRI 546	FRI 488 × 535
FRI 547	FRI 488 × 536
FRI 548	FRI 490 × 533
FRI 549	FRI 490 × 534
FRI 550	FRI 490 × 535
FRI 551	FRI 490 × 536
FRI 552	FRI 491 × 533
FRI 553	FRI 491 × 534
FRI 554	FRI 491 × 535
FRI 555	FRI 491 × 536
FRI 556	FRI 496 × 533
FRI 557	FRI 496 × 534
FRI 558	FRI 496 × 536

2핵균사인 FRI 478 등 3개의 중저온성 표고균주를 공시하여 산림5호의 1핵균사 FRI 534 등 4개 균주와 di-mon(2핵균사-1핵균사)교배법에 의해 다음의 Table 3과 같이 9개의 새로운 중저온성 균주를 제조하였다. 교잡균주의 균사는 현미경검경 결과 clamp connection이 관찰되고, 모균주와의 대치배양 결과 대치선이 생김으로써 모균주와는 다른 독립균주임이 확인되었다.

Table 3. Hybrid strains of mid and low temperature type produced by di-mon mating method

Hybrid strains produced	Mating of strains
FRI 616	FRI 478 × 534
FRI 617	FRI 478 × 535
FRI 618	FRI 484 × 534
FRI 619	FRI 484 × 535
FRI 620	FRI 484 × 536
FRI 621	FRI 485 × 534
FRI 622	FRI 485 × 535
FRI 623	FRI 485 × 536
FRI 624	FRI 494 × 534

한편, di-mon 교배법으로 제조된 교잡균주의 균사생장이 mono-mono 교배법으로 만든 교잡균주의 균사생장에 비해 대체로 훨씬 빠른 것으로 관찰되어 di-mon 교배법으로 제조된 교잡균주의 활력이 보다 양호한 것으로 생각된다.

3) 원형질체융합기법

외국에서 보고된 두가지 원형질체나출기법을 산림5호를 공시하여 수행해 본 결과는 다음과 같다.

가) 1차로 시도한 효소조합 적용결과

0.1% Chitinase, 2% Cellulase, 0.1% Zymolyase의 조합은 원형질체 수율이 극히 낮아 다른 조합을 시도해야 할 것으로 판단된다.

나) 2차로 시도한 효소조합 적용결과

Cellulase 50㎎, Novozyme 50㎎, β-Glucuronidase 5㎎/ℓ의 조합으로 2시간 처리시 4.4×10^7/㎖ 수준의 원형질체를 얻을 수 있어 높은 수율을 보여주었다.

원형질체융합기법은 복잡하고 긴 과정이 소요되므로 di-mon 교배법이 보다 간단하고 효과적인 육종방법으로 사료된다.

3. 교잡균주의 유전적 특성조사

가. 재료 및 방법

본 실험에 사용한 시료는 표고버섯 균사체중 6개의 모균주(FRI 405, 484, 488, 490, 491, 496)와 이들 모균주를 교배시킨 15개의 자식균주를 사용하여 유전적 유연관계를 분석하였다(Table 1).

Table 1. The shiitake strains used in RAPD analysis

Parents	Progenies		
FRI 488 X 405	FRI 544	FRI 546	FRI 547
FRI 490 X 405	FRI 548	FRI 549	FRI 550
FRI 491 X 405	FRI 553	FRI 554	FRI 555
FRI 496 X 405	FRI 618	FRI 619	FRI 620

표고버섯 균사체의 대량증식을 위해 시료 균주들을 Rotary shaker에서 30일간 현탁배양하였다. 진탕배양중인 균사체를 수집하여 filter paper로 분리한 후,

증류수로 세척하였다. Genomic DNA를 추출하기 전에 표고균사체를 -75℃에서 동결 건조시킨 후 균사체 1g을 액체질소(-196℃)를 첨가하여 마쇄시켰다. Genomic DNA의 추출 방법은 CTAB 추출방법을 사용하였으며, 시료에 3㎖ CTAB extraction 용액에 2.5 M NaCl, 0.5% PVP-10, 1% Cetavlon (hexadecyltrimethyl-ammonium bromide), 0.5 M Tris-HCl (pH 8.0), 0.25 M EDTA (pH 8.0) 등을 첨가하여 이용하였다. 균사체가 추출용액에서 골고루 혼합된 다음 6㎕ β-mercaptoethanol을 첨가하여 65℃의 water bath에서 40분동안 중탕하여 단백질을 제거하였다. 혼합된 시료는 5분동안 12,000rpm으로 원심분리 하여 상층액을 수집하여, 같은 양의 cholroform isoamylalchol (24 : 1)를 첨가시키고 5분동안 12,000rpm으로 원심분리 한다. 새로운 tube에 상층액을 제거하여 -20℃의 Isopropanol을 첨가하여 -20℃에서 24시간 Genomic DNA를 침전시킨 후 5분동안 12,000rpm으로 원심분리하였다. 침전된 Genomic DNA를 150㎕ TE로 현탁하였다.

PCR에 의한 DNA증폭을 위해 사용한 random primer는 Operon사의 10-base oligonucleotide primer kit를 사용하였다(Table 2). PCR 증폭을 위해 0.5㎕ 10mM dNTPs(dATP, dGTP, dTTP, dCTP), 2.5㎕ 25mM MgCl2, 2.5㎕ 10X Buffer, 0.5 unit Taq Polymerase 등이 함유된 10㎕의 premix를 준비하였고, 5㎕ primer, 5㎕ Genomic DNA를 첨가하여 20㎕의 reaxtion mixture를 0.2㎖의 PCR tube에 넣고 PCR 증폭기로 증폭시켰다. PCR 증폭조건은 94℃에서 1분간 denaturation, 36℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 extension 과정으로 45 cycle동안 반복하였다.

PCR 증폭산물은 TAB buffer 용액에 1.2% agarose와 10㎎/㎖ EtBr을 첨가하여 4시간 동안 전기영동을 실시하여 분리시키고, UV transilluminator에서 사진 촬영하였다. PCR 증폭산물은 100bp DNA ladder를 사용하여 증폭된 DNA와 크기를 비교하였다. PCR을 이용하여 증폭된 DNA를 바탕으로 UPGMA 분석을 통해 모균주와 자식균주간에 유연관계를 분석하였다.

Table 2. Sequences of primers (Operon Technologies Inc.)

No.	Primer sequences	No.	Primer sequences	No.	Primer sequences	No.	Primer sequences
OPA-01	CAGGCCCTTC	OPA-11	CAATCGCCGT	OPB-01	GTTTCGCTCC	OPB-11	GTAGACCCGT
OPA-02	TGCCGAGCTG	OPA-12	TGCGCGATAG	OPB-02	TGATCCCTGG	OPB-12	CCTTGACGCA
OPA-03	AGTCAGCCAC	OPA-13	CAGCACCCAC	OPB-03	CATCCCCCTG	OPB-13	TTCCCCCGCT
OPA-04	AATCGGGCTG	OPA-14	TCTGTGCTGG	OPB-04	GGACTGGAGT	OPB-14	TCCGCTCTGG
OPA-05	AGGGGTCTTG	OPA-15	TTCCGAACCC	OPB-05	TGCGCCCTTC	OPB-15	GGAGGGTGTT
OPA-06	GGTCCCTGAC	OPA-16	AGCCAGCGAA	OPB-06	TGCTCTGCCC	OPB-16	TTTGCCCGGA
OPA-07	GAAACGGGTG	OPA-17	GACCGCTTGT	OPB-07	GGTGACGCAG	OPB-17	AGGGAACGAG
OPA-08	GTGACGTAGG	OPA-18	AGGTGACCGT	OPB-08	GTCCACACGG	OPB-18	CCACAGCAGT
OPA-09	GGGTAACGCC	OPA-19	CAAACGTCGG	OPB-09	TGGGGGACTC	OPB-19	ACCCCCGAAG
OPA-10	GTGATCGCAG	OPA-20	GTTGCGATCC	OPB-10	CTGCTGGGAC	OPB-20	GGACCCTTAC

나. 결과 및 고찰

CATB 방법으로 표고 Genomic DNA를 추출한 결과 0.13 ~1.20$\mu g/\mu \ell$의 순수 DNA를 얻을 수 있었다. Genomic DNA를 추출한 후 40개의 Primer를 이용하여 DNA를 증폭시킨 결과, OPA primer에서는 OPA-01, OPA-02, OPA-04, OPA-05, OPA-08, OPA-10, OPA-11, OPA-12, OPA-13, OPA-16, OPA-18, OPA-19의 12개, OPB primer에서는 OPB-01, OPB-06, OPB-10, OPB-11, OPB-12의 5개에서 DNA의 증폭이 효과적으로 일어났다(Fig. 1~3).

사용된 primer에서 표고의 다형상 밴드로 보이는 증폭산물이 0.50-0.75kb, 0.75-1.0kb 크기에서 공통적으로 관찰되었다(Fig. 1). Primer에 따라 각 균주간에 뚜렷한 다형상 밴드의 차이를 나타낸 것도 있었으나, DNA 밴드가 거의 같은 패턴으로 나오는 경우도 있었다 (Fig. 2).

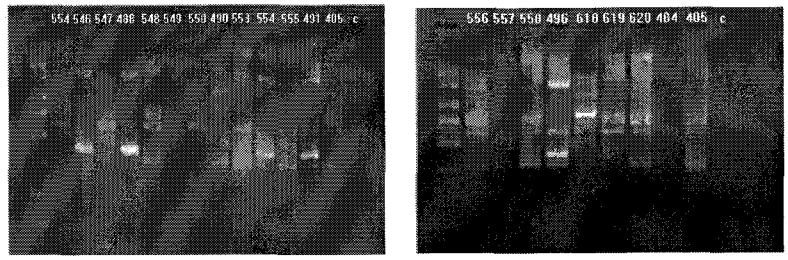


Fig. 1. RAPD profiles in mycelia of shiitake strains with primer OPA-02

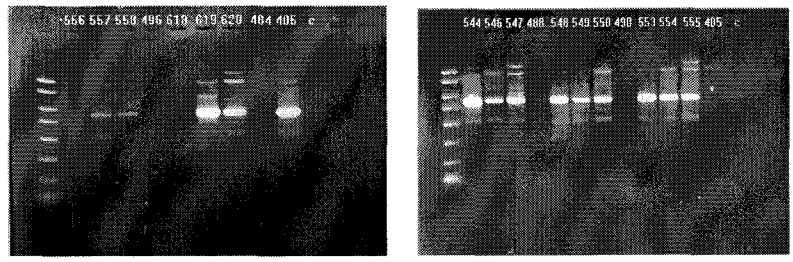


Fig. 2. RAPD profiles in mycelia of shiitake strains with primer OPB-1

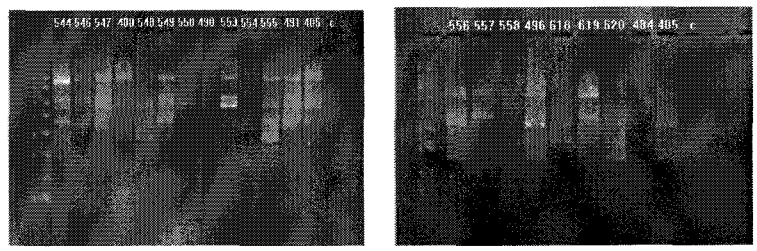


Fig. 3. RAPD profiles in mycelia of shiitake strains with primer OPA-12

표고균주들에 대한 유연관계를 분석한 결과, 544 균주와 548균주는 유사도 75%, 546균주와 555 균주는 유사도 76%의 비교적 높은 유연관계를 나타내었다. 반면 618 균주와 620 균주는 유사도 37%의 매우 낮은 유연관계를 나타내었다. 특히, 본 연구에서 특이 사항으로 서로 같은 양친에서 생산된 자식간에 유전적 유연관계가 매우 낮은 경우를 확인할 수 있었다 (Fig. 4).

표고균주를 5개의 그룹으로 나누어, parent를 100으로 보았을 때의 progeny의 유사도를 수치로 나타내었다(Table 2). Group2의 548균주는 모균주 중 490, group4의 557균주는 모균주 중 496균주의 형질을 더 많이 띠고 있음을 알 수 있다. 반면 group4의 556균주는 모균주와의 비교 분석결과 유연관계가 매우 낮으므로 496균주와 405균주의 교배에 의해 생긴 자손인지가 의문이다. 본 연구에서는 표고 모균주와 자식 균주간의 유전적 유연관계를 구명하여 실질적인 유전력을 검정할 수 있는 기반을 마련하였다.

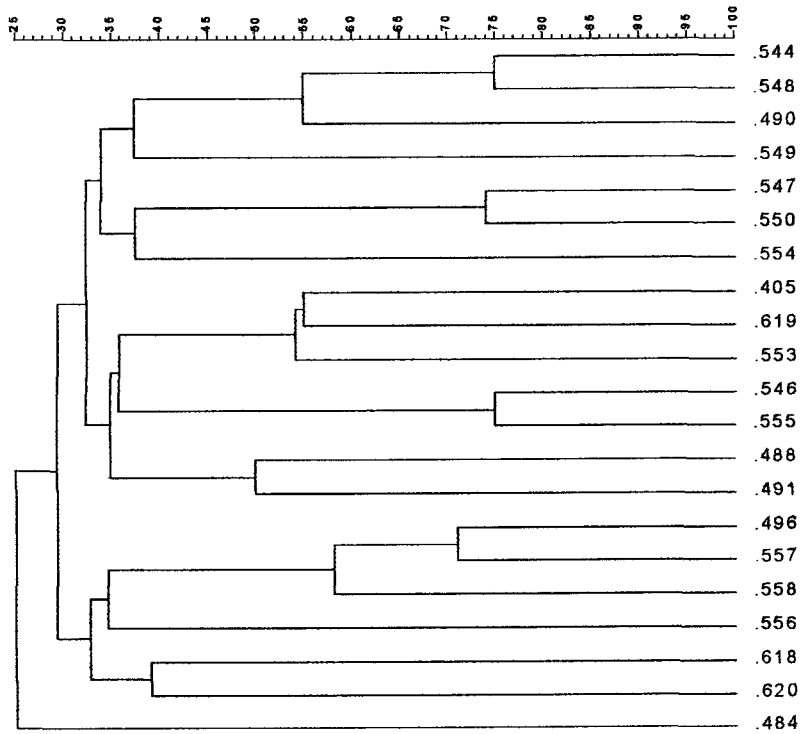


Fig. 4. UPGMA dendrogram derived from the RARD profiles of genomic DNA in the 21 samples of shiitake strains. Genetic similarities were obtained by random amplified polymorphec DNA analysis with 20 primers.

Table. 2. Genetic similarities between parents and their progenies.

	group1			group2			group3			group4			group5		
parent		488	405		490	405		491	405		496	405		484	405
progeny	544	31	30	548	60	31	553	50	54	556	25	22	618	-	19
	546	-	45	549	39	42	554	35	25	557	71	29	619	-	55
	547	33	47	550	48	26	555	30	29	558	57	36	620	-	32

4. 표고균주의 생리적, 재배적 특성검정을 통한 우량품종 개발

가. 재료 및 방법

1) 사각형배지에 의한 우량균주 선발

임업연구원 버섯연구실에 보존하고 있는 교잡균주와 수집균주중 FRI 478 등 공시 26개 균주에 대하여 2kg의 사각형 톱밥배지(신갈나무톱밥+밀기울 혼밥배지)에 접종하여 22℃, 60~70%의 배양실에서 약 3~4개월간의 암·명배양을 마친 후 발생작업을 통해 자실체의 특성과 생산성을 조사하였다.

2) 원통형배지에 의한 우량균주 선발

임업연구원 버섯연구실에 보관중인 교잡균주와 수집균주중 FRI 169 등 28개 균주를 공시 균주로 사용하였다.

배지의 조성이 다를 때의 표고 생산성을 확인하기 위해 중국 절강성식 배지 및 기존의 배지 등 2가지의 배지를 실험에 사용하였다. 절강성식 배지는 톱밥 68%(신갈나무 톱밥을 1-2mm:2-3mm:3-5mm = 1:1:1 비율로 혼합), 미강 20%, 면자각10%, 석고1%, 설탕1% 비율로 잘 섞어준 후 수분함량을 65%로 조절하여 직경 10cm, 길이 약 40cm의 PP봉지(봉지 입구에 filter가 부착된 플라스틱 캡을 설치함)에 1,750g 씩 넣어 원통형 배지를 만들었다. 기존의 배지는 톱밥 78%(절강성식과 동일한 방법으로 혼합), 미강 19%, 설탕 3% 비율로 잘 섞은 후 절강성식과 동일한 방법으로 원통형 배지를 만들었다.

PP봉지에 넣은 배지를 121℃에서 90분간 고압살균하였다. 종균접종은 배지 온도를 약 20℃까지 떨어뜨린 다음 무균상에 배지를 올려놓고 일정한 간격으로 배지 윗면 4군데를 칼로 찢어 스프링봉 접종기를 이용하여 종균을 배지당 약 10~15g 씩 접종하였다. 배지배양은 공조시설이 되어 있는 임업연구원 버섯연구실 배양실(온도 22℃, 습도 40-50%)에서60-70일간 암배양, 20-30일간 명배양 후 농가실연재배를 하였다.

경기도 하남, 성남, 양평 등지에서 현지 농가실연재배를 실시하였다. 차광막과 카시미론으로 덮여있고 수막시설이 되어있는 비닐하우스에서 1월부터 6월까지 침봉 물주입에 의한 버섯발생작업을 수행하였다. 재배사 내부의 온도 및 습도 변화를 확인하기 위하여 자기온습도계(SATO, Sigma-II)를 재배사의 중간위치에 고정시켰고 매일 변화되는 양상을 체크하였다. 버섯이 발생할 때

의 온도 및 습도 변화 확인은 버섯 원기의 형성시기를 고려하여 버섯 수확 3일 전부터 체크하였다. 톱밥배지에서 생산된 버섯의 양과 발생온도를 조사분석하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 사각형배지에 의한 우량균주 선발

사각형배지에서 배양한 후 경기도 양평의 재배농가에서 침봉물주입에 의한 발생처리 및 버섯을 수확하였다. 3차 수확까지의 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 공시균주중 FRI 483, 486, 488, 490, 491, 496 등이 생산성과 품질이 양호하여 유망균주로 나타났다. 이중 FRI 488과 FRI 486 등이 2kg배지당 각각 353g과 303g의 생산성을 보여 우수균주로 사료된다.

Table 1. Fruit-body yields of promising shiitake strains selected for brick-shaped sawdust media

Strains	Productivity per medium	Avg. wt. of fruit-body
FRI 483	220g/2kg	22g
FRI 486	303g/2kg	19g
FRI 488	353g/2kg	10g
FRI 490	258g/2kg	16g
FRI 491	254g/2kg	17g
FRI 496	280g/2kg	14g

2) 원통형배지에 의한 우량균주 선발

종균접종이 끝난 후 약 3개월간의 배양을 거치면서 톱밥배지가 갈변숙성이 되었다(Fig. 1~2). 숙성이 된 배지를 현지 재배지로 옮겨서 살수와 침봉물주입을 하면 3-5일후에 발이가 되고 5-7일후에 성숙한 자실체가 되었다(Fig. 3~6).

배지를 재배사로 옮기고 나서 버섯이 처음 발생한 2월 20일까지는 재배사 내의 온도가 평균 약 5℃정도로 유지되다가 상품성 있는 버섯이 수확된 2월 28일에는 온도가 5-13℃(평균 9℃), 습도는 70-95%였으며, 2월 21일부터 2월 27일까지의 평균 온도는 약 7℃, 습도는 평균 약 90% 정도였다. 이 시기에 버섯이 발생한 배지는 FRI 169, 483, 486, 488, 490, 491, 496 등이며, FRI 208, 527은 버섯이 발생하지 않았다. 2차로 버섯이 발생한 시점인 4월 23일경의 재배사 내부의 온도는 평균 15℃, 습도는 70-95% 정도 되었는데, 이때는 FRI 208균이 접종된 배지를 제외한 모든 배지에서 버섯이 발생했다.

대체로 재배사 출입구를 개방하여 환기를 시키거나 버섯발생을 위한 침봉을 통한 배지내 수분공급 시기를 제외하고는 전 재배기간에 걸쳐 온도 편차가 약 10℃, 습도 편차는 약 15% 정도 되었다.

버섯의 생산량을 확인한 결과(Table 2), 절강성식 배지에서는 FRI 169 등 9개 균주가 유망한 것으로 나타났다. 이중 FRI 491과 FRI 169의 생산량이 배지 1.75kg당 각각 364kg과 280kg을 보임으로써 우수균주로 사료된다. 일반적으로 알려진 수입중국배지의 버섯 생산량보다는 많지 않았지만 모든 균주에서 버섯 발생을 확인할 수 있었고 발생 날짜에 따른 균주간의 구분이 어느 정도 이루어졌다.

기존의 배지에서는 FRI 488이 생산량이 가장 많았고 균주간에 생산량의 차이가 많이 났다.

Fig. 1. Early stage of mycelial growth in cylindrical sawdust media after spawn inoculation of shiitake strains

Fig. 2. Mature stage of cylindrical sawdust media after ca. 3 months from spawn inoculation

Fig. 3. Pipe-vinyl house for practical sawdust-cultivation of shiitake strains tested

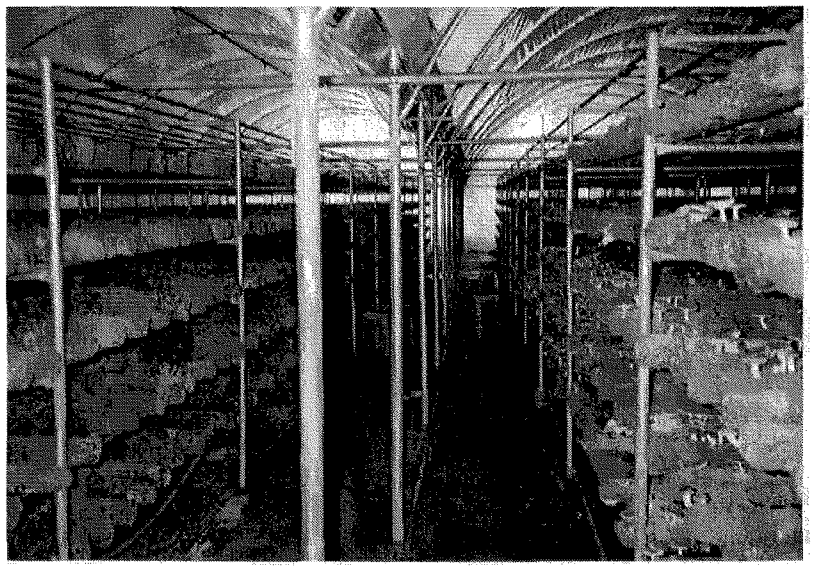


Fig. 4. Inside view of pipe-vinyl house for sawdust-cultivation

Fig. 5. Primordia formation of shiitake on cylindrical 1.75kg-sawdust medium inoculated with FRI 169 strain

Fig. 6. Fruit-body formatiom of shiitake strain FRI 169 on cylindrical 1.75kg-sawdust media

Table 2. Fruit-body yields of promising shiitake strains tested at a Chinese style sawdust medium and a conventional sawdust medium

Strains	Chinese medium		Conventional medium	
	Fruiting(g) [1]	Quantity [2]	Fruiting(g)	Quantity
FRI 169	280.2	13.0	51.6	1.6
FRI 208	107.1	1.9	79.0	3.0
FRI 483	161.2	6.7	211.0	8.8
FRI 486	221.7	8.7	220.0	18.0
FRI 488	139.8	5.0	291.0	10.7
FRI 490	264.0	14.5	NT [3]	NT
FRI 491	364.3	14.2	NT	NT
FRI 496	224.3	9.8	NT	NT
FRI 527	156.0	6.2	67.0	2.8

[1] Average amount of fresh fruit-body harvested from sawdust media

[2] The average number of fruit-body per sawdust medium

[3] Not tested

균주간의 버섯 품질을 비교해 보면(Table 3), FRI 208 배지에서 생산된 버섯이 가장 양호한 것으로 나타나며, FRI 496 배지에서 생산된 버섯 품질이 다른 품종들에 비해 상대적으로 가장 떨어짐을 확인할 수 있었다.

기존의 배지에서도 절강성식 배지와 유사한 결과를 얻었는데, FRI 208 배지에서는 버섯 발생이 많지 않았고 FRI 486 배지에서 생산된 버섯의 품질이 다른 품종보다 더 좋았다.

기존의 배지와 절강성식 배지의 균주간 품질의 유사성에도 불구하고 버

섯이 발생한 시점에는 약간의 차이점을 보였는데, 첫 버섯의 발생시기에 있어서 절강성식 배지가 기존의 배지보다 약간 빠름을 확인할 수 있었고 FRI 169나 FRI 527 같은 경우에는 기존의 배지보다 절강성식 배지에서 버섯 발생이 1-2개월 정도 빨랐다.

Table 3. Fruit-body quality of promising shiitake strains tested at a Chinese style medium and a conventional medium

Media[1)]	Strains (FRI)	Fresh wt.(g) of fruit-body	Pileus(mm)		Stipe(mm)	
			Diameter	Thickness	Length	Diameter
I	169	30.6±22.1	68.0±21.6	21.1± 6.7	29.7±10.4	11.4± 4.3
	208	39.9±12.3	70.0±14.4	26.5± 2.6	44.7± 6.5	17.4± 2.7
	483	29.3±22.0	64.3±22.6	19.7± 8.4	45.9± 7.2	12.0± 3.7
	486	35.0±15.8	68.2±14.9	23.1± 4.6	39.1± 9.8	12.3± 2.0
	488	32.0±10.8	71.8± 8.5	22.9± 3.7	39.9± 6.9	12.7± 2.2
	490	28.2±19.0	62.5±17.3	17.8± 3.2	35.4± 8.5	11.7± 1.9
	491	33.6±18.6	69.3±13.3	21.3± 3.7	38.3±14.8	13.4± 4.6
	496	21.9±11.6	59.8±12.7	20.1± 4.1	36.6± 8.2	12.5± 4.0
	527	27.9±12.2	65.1±14.2	25.7± 4.0	43.3± 8.2	15.1± 2.5
II	169	28.0± 6.4	69.2± 8.6	27.7± 6.0	43.5± 4.1	18.4± 0.9
	208	30.0± 3.0	56.3± 5.3	33.3± 3.3	51.8± 5.8	26.1± 2.1
	483	30.7±14.6	61.5±16.8	23.9± 4.1	43.8± 8.8	16.5± 5.6
	486	41.6±22.1	72.4±18.3	28.7± 5.4	43.5±10.6	17.0± 4.6
	488	25.5±13.5	56.6±14.7	24.1± 4.8	40.2± 9.3	14.6± 3.7
	527	25.5± 7.8	60.0± 9.6	26.4± 5.5	40.9± 5.8	15.3± 3.0

[1)] I : Chinese style medium, II : Conventional medium

우량균주 선발을 위한 실험 결과, 절강성식 배지에서의 생산성이 양호하게 나타났으므로 절강성식 배지에서 재배한 유망균주의 특성을 조사분석하였다. 아울러 기존의 배지로 재배하였을 때의 특성도 간단히 기술하였다. 버섯 발생시기의 온도 및 습도 변화의 체크에 있어서 습도의 변화는 버섯 발생에 무난한 평균 80%대를 유지했기 때문에 생략하였다. 온도는 버섯발이 3일전부터의 기록을 참고하였다. 균주별 특성은 다음과 같다.

① FRI 169

버섯은 2월 23일부터 6월 14일까지 매월 규칙적으로 발생했다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -1~23℃(평균 3~20℃)로 온도범위만을 고려했을 때는 평균 15℃이상에서 버섯발생이 많다고 볼 수도 있으나 발생 량 중 대부분은 2월에 집중되어있는 것으로 보아 평균 5~12℃ 정도가 버섯발생에는 적합한 것으로 여겨진다(Fig. 7, 8).

기존의 배지에서는 4월 29일부터 6월 14일까지 산발적으로 약간의 버섯발생이 있었다.

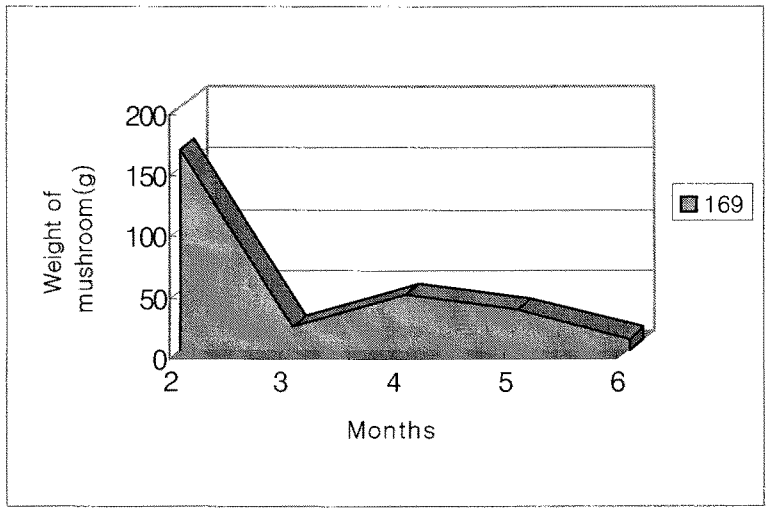


Fig. 7. Monthly productivity of FRI 169 by a Chinese style sawdust media

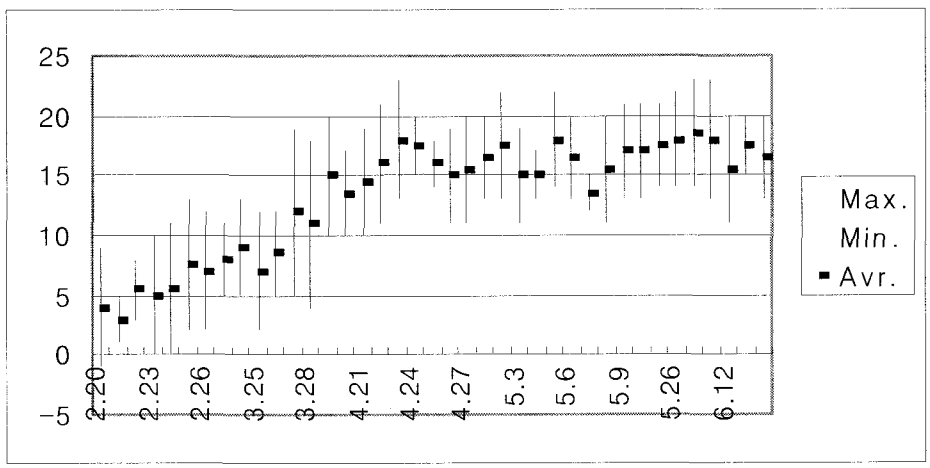


Fig. 8. Fruiting temperature of FRI 169 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

② FRI 208

버섯은 4월 22일부터 6월 17일까지 발생했다. 다른 품종들에 비해 버섯발생이 특정 온도에 집중되어 있는데, 버섯발생 시기의 온도범위 11~22℃(평균 13.5~20℃) 중 평균 15℃ 이하에서는 버섯발생이 거의 없는 것으로 보아 이 균의 버섯발생 온도는 이미 국내 톱밥배양실험 결과 보고된 15±3℃가 가장 적합한 것으로 여겨진다(Fig. 9, 10).

기존의 배지에서는 6월 17일에 버섯 발생이 관찰되었다.

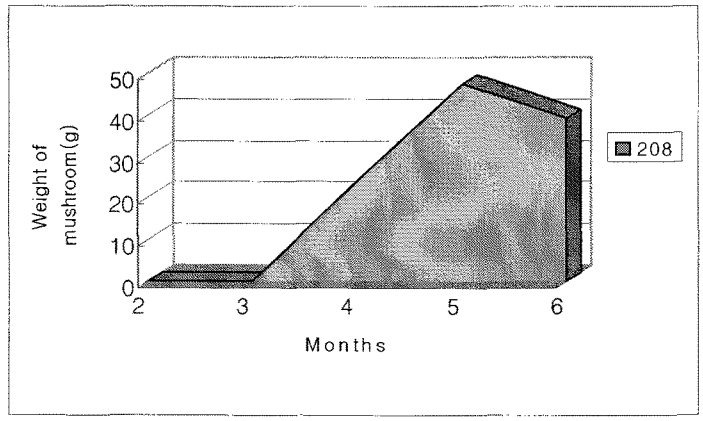


Fig. 9. Monthly productivity of FRI 208 by a Chinese style sawdust media

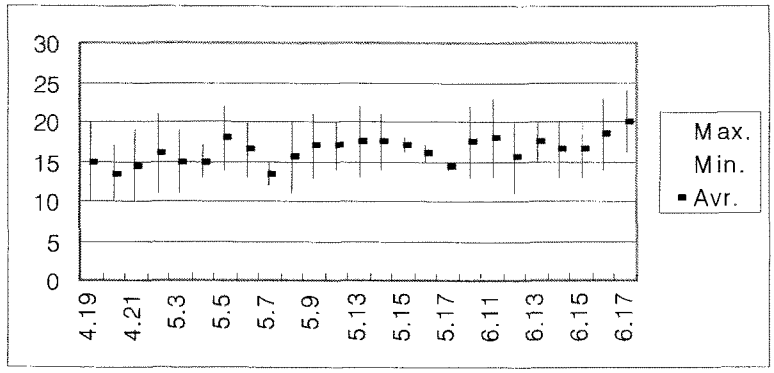


Fig. 10. Fruiting temperature of FRI 208 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

③ FRI 483

버섯은 2월 23일부터 6월 17일까지 발생했으며, 3월과 5월에는 발생이 없었다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -1~28℃(평균 3~20℃)로 중국 측에서 밝힌 버섯발생 온도범위인 8~20℃와 유사한 결과이며, 4월에 버섯발생이 집중되는 것을 고려해 본다면 이 시기의 평균온도인 10~18℃가 버섯발생에 최적일 것으로 생각한다(Fig. 11, 12).

기존의 배지에서는 3월 2일부터

6월 17일까지 매월 발생이 관찰되었고 발생 량에 있어서는 적게 발생한 5월을 제외하고 다른 달에는 비슷했다.

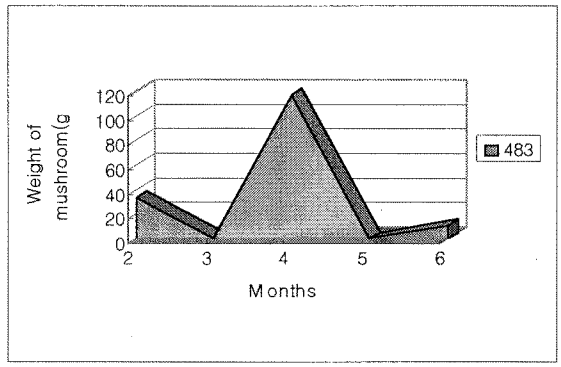


Fig. 11.Monthly productivity of FRI 483 by a Chinese style sawdust media

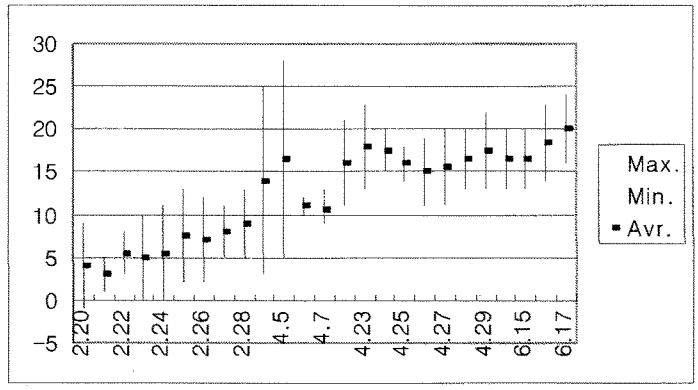


Fig. 12. Fruiting temperature of FRI 483 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

④ FRI 486

버섯은 2월 23일부터 5월15일까지 발생했으며 매월 규칙적으로 발생되었다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -3~23℃(평균 3~18℃)로 이는 중국 측에서 밝힌 18~28℃보다는 낮은 온도에서 발생된 것이고 버섯발생이 집중적으로 이루어 진 2월과 4월의 온도를 고려해 본다고 하더라도 적합한 온도범위는 평균 18℃, 최고온도 23℃를 넘지 않을 것으로 여겨진다(Fig. 13, 14).

기존의 배지에서는 3월 2일부터 6월 17일까지 매월 발생이 관찰되었고 발생량에 있어서는 4월이 다른 달에 비해 약간 적었고 5월이 가장 많았다.

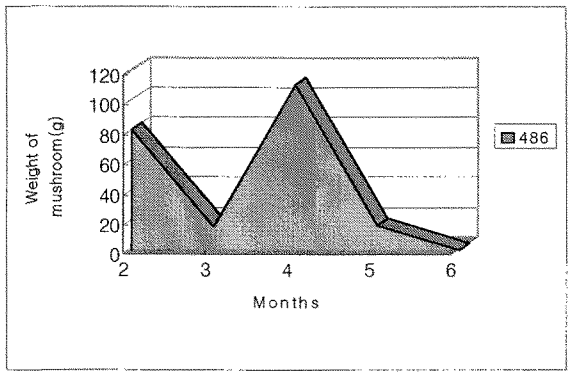


Fig. 13. Monthly productivity of FRI 486 by a Chinese style sawdust media

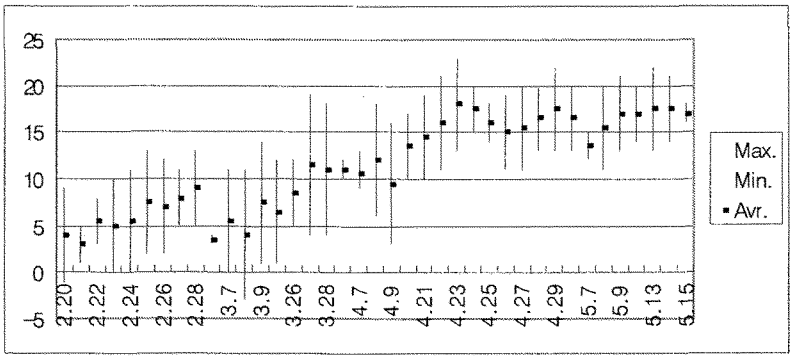


Fig. 14. Fruiting temperature of FRI 486 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

⑤ FRI 488

버섯은 2월 23일부터 6월 14일까지 발생했으며, 3월을 제외하고는 매월 발생했다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -1~23℃(평균 3~19℃)로 중국 측에서 밝힌 14~22℃보다는 낮은 온도에서 발생되었다. 버섯발생이 다른 달에 비해 많았던 2월과 4월 중 4월의 평균기온만을 고려한다면 10~23℃(평균 13~18℃)로 중국 측 제시 온도와 유사하지만 본 실험에서는 4월보다는 2월에 버섯 발생이 약간 더 많았다는 것을 유의해야할 것 같다(Fig. 15, 16).

기존의 배지에서는 3월 9일부터 6월 17일까지 매월 발생이 관찰되었고 발생량에 있어서는 4월이 가장 많았고 6월이 가장 적었다.

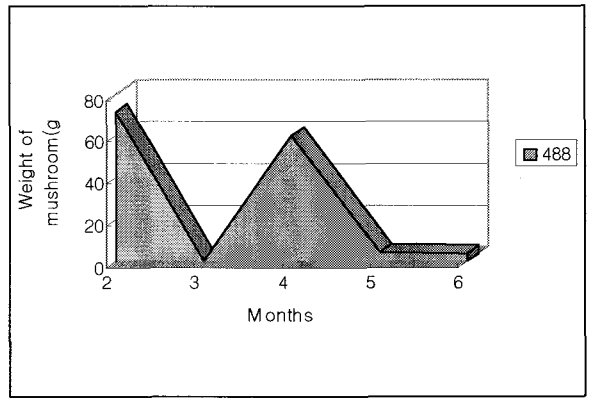


Fig. 15. Monthly productivity of FRI 488 by a Chinese style sawdust media

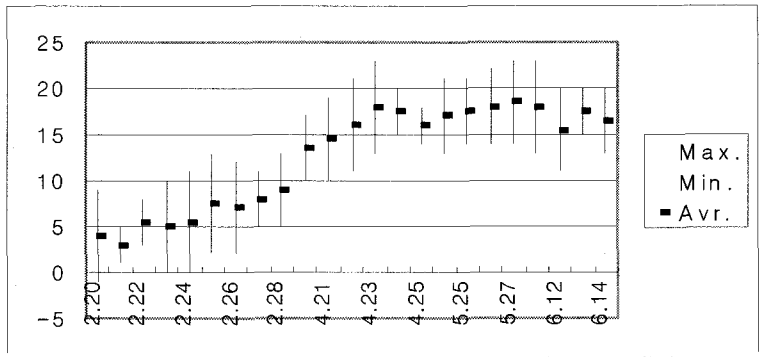


Fig. 16. Fruiting temperature of FRI 488 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

⑥ FRI 490

버섯은 2월 23일부터 6월 17일까지 5월을 제외하고 매월 발생했다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -3~23℃(평균 3~20℃)로 중국 측에서 밝힌 14~25℃보다는 낮은 온도에서 발생되었다. 그리고 버섯발생이 비교적 많았던 2월과 4월 중 2월 말경의 평균기온인 5~9℃가 발생에 약간 더 유리할 것으로 여겨진다(Fig. 17, 18)

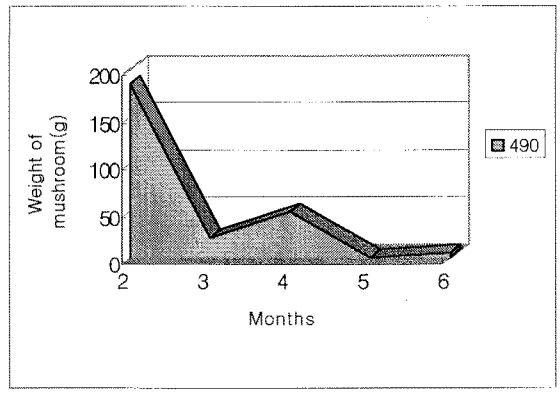


Fig. 17. Monthly productivity of FRI 490 by a Chinese style sawdust media

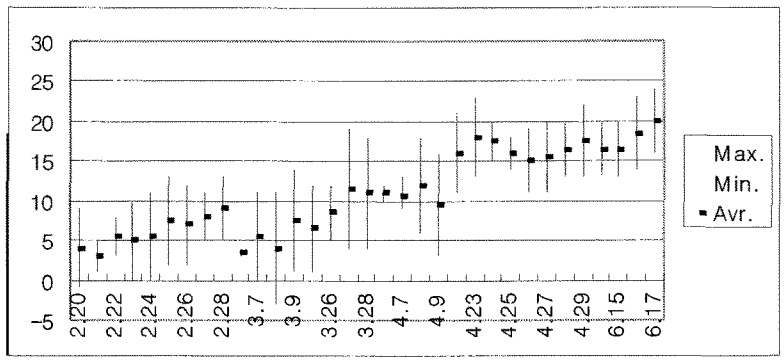


Fig. 18. Fruiting temperature of FRI 490 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

⑦ FRI 491

버섯은 2월 20일부터 6월 17일까지 매월 규칙적으로 발생했다. 버섯발생 시기의 온도범위는 -3~23℃(평균 3~20℃)로 중국 측에서 밝힌 18~28℃와는 온도 격차가 많이 벌어지는 결과를 얻었다. 비록 다른 품종들에 비해 6월에 버섯발생이 많았고 4~6월의 평균기온이 14~20℃ 정도 되는 등 억지로 기 보고된 온도범위에 넣을 수도 있지만 본 실험에서는 평균기온이 3~9℃인 2월에 버섯발생이 집중되어있다는 점을 유의해야할 것 같다(Fig. 19, 20).

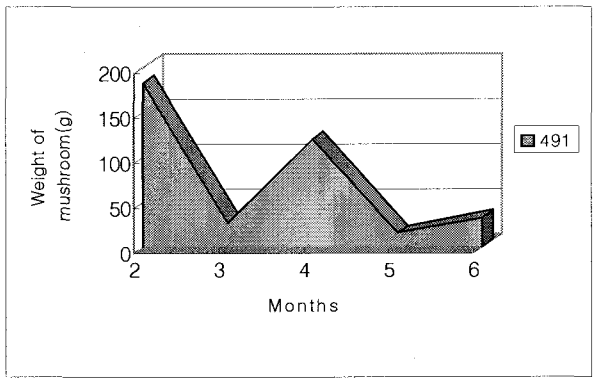


Fig. 19. Monthly productivity of FRI 491 by a Chinese style sawdust media

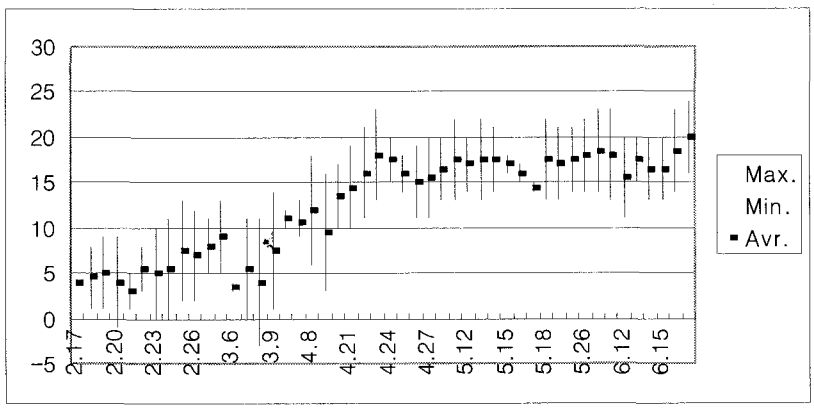


Fig. 20. Fruiting temperature of FRI 491 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

⑧ FRI 496

버섯은 2월 20일부터 6월 14일까지 매월 규칙적으로 발생했다. 중국 측에서는 버섯발생 온도범위를 18~28℃로 FRI 491과 같이 중고온형으로 분류하고 있지만 본 실험에서는 버섯발생 시기의 온도범위가 -1~23℃(평균 3~20℃)였으며 버섯발생도 저온기인 2월이 4월보다 많았다(Fig. 21, 22).

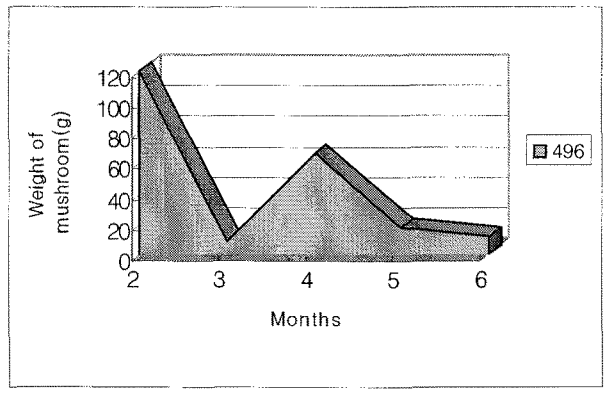


Fig. 21. Monthly productivity of FRI 496 by a Chinese style sawdust media

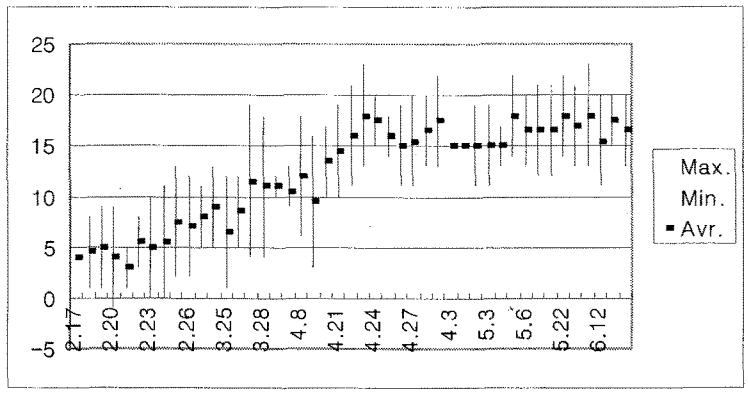


Fig. 22. Fruiting temperature of FRI 496 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

⑨ FRI 527

버섯은 3월 28일부터 6월 17일까지 매월 규칙적으로 발생했다. 버섯발생 시기의 온도범위는 1~26℃(평균 7~22℃)로 대부분의 버섯은 평균 15℃이상에서 발생했다(Fig. 23, 24).

기존의 배지에서는 4월 29일부터 6월 17일까지 매월 발생이 관찰되었고 4월과 6월에는 버섯 발생 량이 미미했다.

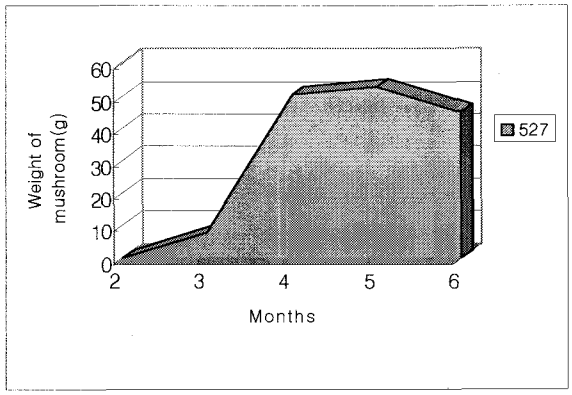


Fig. 23. Monthly productivity of FRI 527 by a Chinese style sawdust media

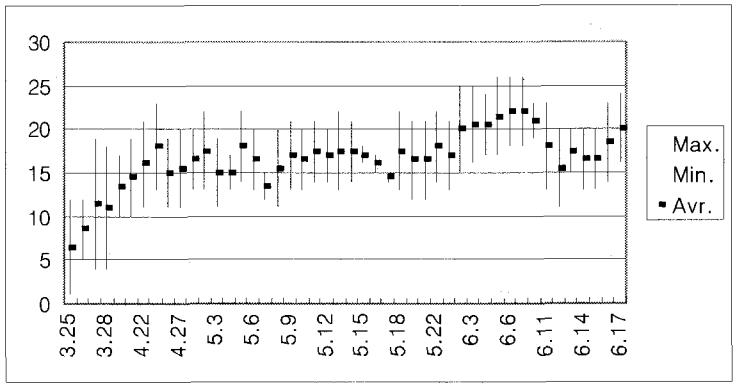


Fig. 24. Fruiting temperature of FRI 527 tested by a Chinese style sawdust cultivation from January to June

제 4 절 병해방제기술 개발

1. 표고병해 발생상황 조사

가. 재료 및 방법

1) 조사장소

강원도, 경북지역의 8개 표고버섯 재배지역에서 조사하였다.

2) 조사방법

표고버섯 원목재배지를 방문하여 재배품종, 병해종류별 발병본수, 피해정도를 조사하여 표고버섯 병해조사 야장(Table 1)에 기록하였다(18종류의 병원균, 경쟁균, 잡균 조사).

나. 결과 및 고찰

표고버섯 재배사(강원도 춘천시 서면 2개 지역, 남산면 2개 지역, 홍천군 두촌면 2개 지역, 경북 안동시 2개 지역)를 조사한 결과, 병해발생은 재배사별로 차이가 많았으며 환경관리가 잘 안된 배재사에서 특히 푸른곰팡이의 발생이 심하였고 그 외 검은혹버섯, 검은썩음병, 기와층버섯, 톱밥버섯, 구름버섯, 꽃구름버섯, 치마버섯 등이 발견되었다(Fig.1). 춘천시 서면에 위치한 재배사에서는 특히 검은수염점질균(2%)과 푸른곰팡이(43%)가 가장 많았으며, 경북 안동시의 재배사에서는 주홍꼬리버섯(10%)과 푸른곰팡이(22%)가 주된 병원균으로 조사되었다. 특이할 사항은 홍천군 두촌면의 재배사에서는 병해에 의한 피해가 아주 낮은 수준이었는데, 그 이유는 재배사의 천정이 높아서 통풍이 원활하고 배수가 좋아 재배사의 환경조절에 의한 병해 방제가 이루어진 것으로 생각되며, 반면 다른 재배사에서는 대체로 높은 비율로 원목이 푸른곰팡이에 감염되어 있었는데 이들 재배사의 환경은 일률적으로 천정이 낮고 통풍 및 배수가 불량하여 재배조건이 열악하였다.

Table 1. Check list of disease survey on shiitake mushroom cultivation logs and *mushrooms*

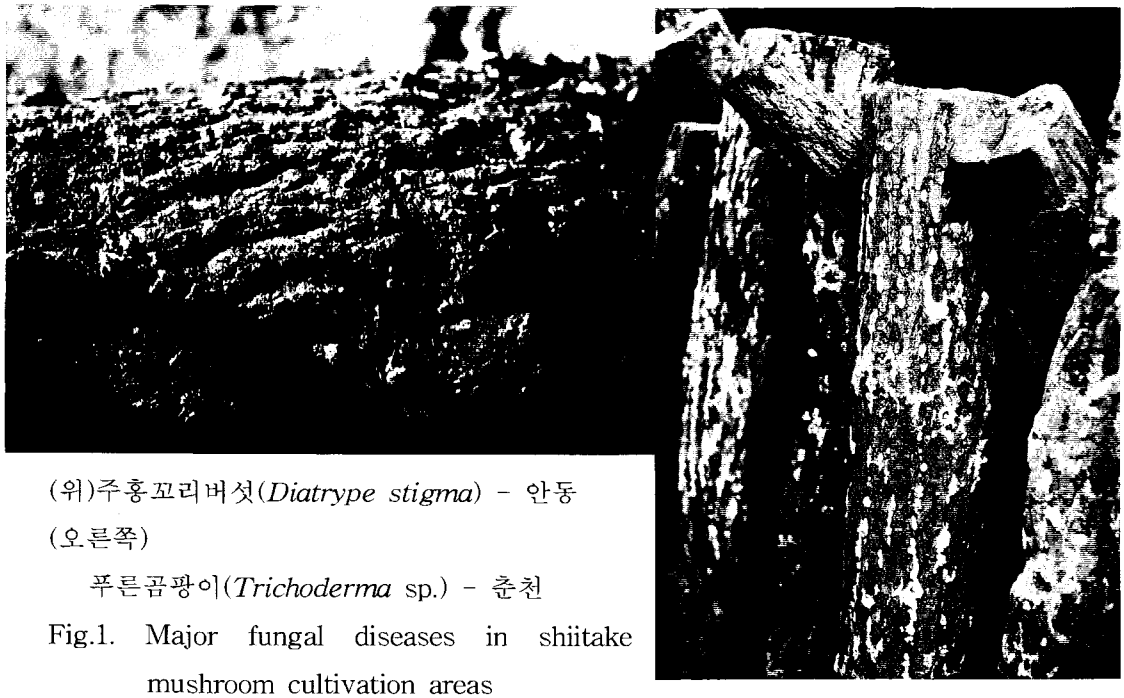
조사장소		일시	1999. . .
재 배 자		연 락 처	

종균품종		종균공급처	□ 종균배양소 □ 자체제작
종균종류	□ 톱밥 □ 성형	종균접종방법	□ 스프링식 □공압식반자동 □기타
종균접종시기			

No.	발병조건	병 해 종 류	학 명	구 분	발병본수	비 고
1	고온건조	검은단추버섯	*Hypocrea schweinitzii*	병원균		
2		검은혹버섯	*Hypoxylon truncatum*	병원균		
3		주홍꼬리버섯(골목버짐버섯)	*Diatrype stigma*	병원균		
4		치마버섯	*Schizophyllum commune*	경쟁균		
5	고온다습	푸른곰팡이	*Trichoderma viride*	병원균		
6		기와층버섯	*Inonotus xeranticus*	경쟁균		
7		검은썩음병(점버섯류)	*Trichoderma harzianum*	병원균		
8		톱밥버섯	*Odontia* sp.			
9		긴송곳버섯	*Mycoacia copelandii*			
10		좀구멍버섯	*Poria versipora*	경쟁균		
11		아교버섯	*Merulius tremellosus*			
12		세균	*Pseudomonas* spp.			
13	중온다습	고무버섯	*Bulgaria inquinans*	잡 균		
14		구름버섯	*Coriolus versicolor*	경쟁균		
15		꽃구름버섯류	*Stereum* sp.	경쟁균		
16		트리코더마 폴리스포럼	*Trichoderma polysporum*	병원균		
17		진흙버섯	*Phellinus gilvus*	경쟁균		
18		자주색솔 점질균	*Stemonitis* sp.	병원균		
		조사본수 합계				
기타 특기사항(재배환경 등)						

꽃구름버섯(*Stereum* sp.) - 춘천

기와층버섯(*Inonotus xeranticus*) - 춘천



(위)주홍꼬리버섯(*Diatrype stigma*) - 안동

(오른쪽)

푸른곰팡이(*Trichoderma* sp.) - 춘천

Fig.1. Major fungal diseases in shiitake mushroom cultivation areas

2. 병원균의 분리 및 동정

가. 재료 및 방법

1) 조사항목

표고버섯 병원균의 분리 및 동정을 실시하였다.

2) 조사방법

표고버섯 원목재배지를 방문하여 병원균에 감염된 골목, 자실체, 병원균의 구조체 등을 채집하여 병원 균주를 분리, 동정하였다.

나. 결과 및 고찰

골목, 자실체 등으로부터 병원균을 분리하여 배지상에서 보관하면서 현미경을 이용하여 병원균의 형태적 특징을 관찰하고 배양적 특징을 조사하였다. 분리, 동정된 병원균 및 경쟁균은 푸른곰팡이(*Trichoderma* spp.), 주홍꼬리버섯(*Diatrype stigma*), 검은혹버섯(*Hypoxylon truncatum*), 검은수염점질균(*Stemonitis* sp.), 구름버섯(*Coriolus versicolor*), 기와층버섯(*Inonotus xeranticus*), 치마버섯(*Schizophyllum commune*) 등이었다.

분리된 병원균 중에서 가장 큰 피해를 입히는 것으로 조사된 푸른곰팡이 병원균주를 분리하여 배양하면서 현미경을 이용하여 형태적 특징과 배양적 특성에 의해 동정한 결과, 춘천 및 안동지역에서 채집, 분리한 푸른곰팡이 4균주는 춘천에서 분리한 균주가 *Trichoderma pseudokoningii* (*T. citrinoviride*)로, 안동에서 분리한 균주는 *T. harzianum*, *T. atroviride* I, II로 동정되었다. *T. pseudokoningii*는 밝은 녹색의 포자를 형성하였으며 포자는 상대적으로 빨리 형성된 반면, *T. harzianum*은 짙은 녹색의 포자를 형성하였고 포자형성은 대체로 빨랐지만, *T. atroviride*는 짙은 녹색의 포자를 늦게 형성하는 특성을 지니고 있었다.(Fig.2, Table 2, Fig.3)

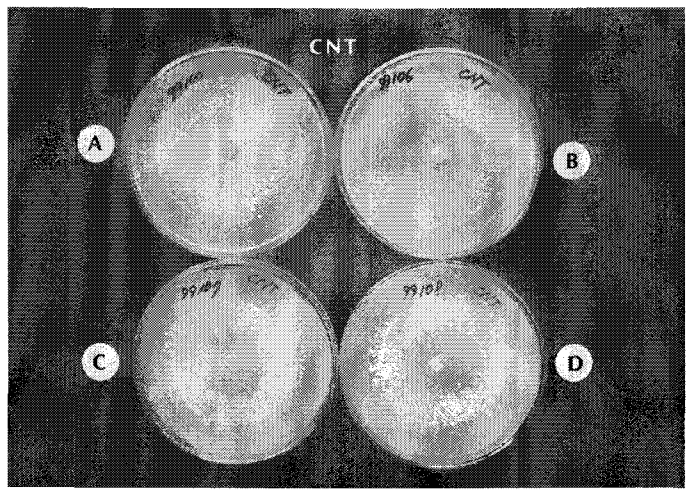
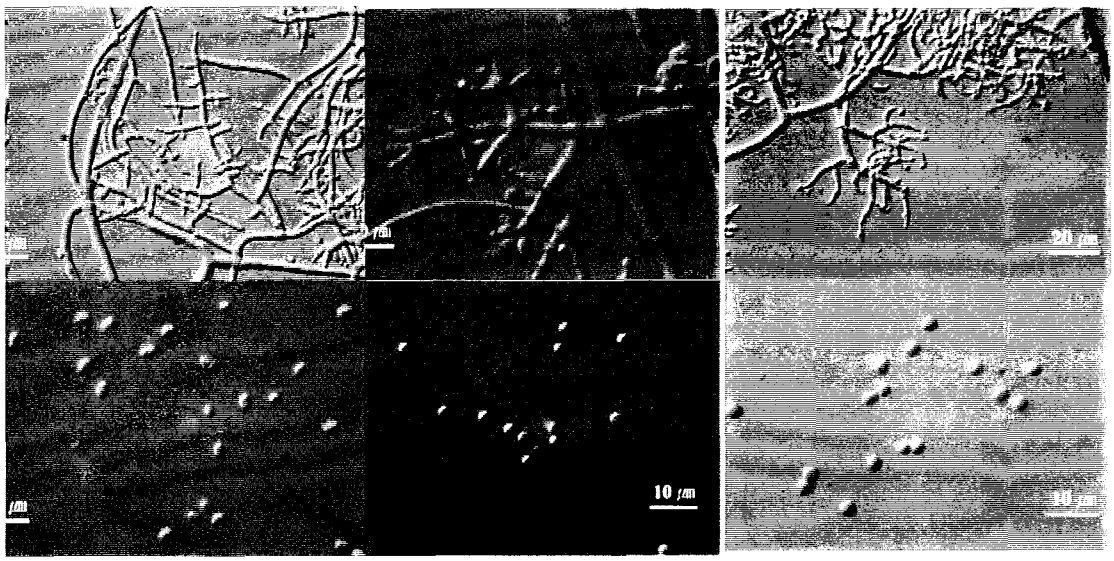


Fig.2. Colony morphology of 4 isolates of *Trichoderma* spp. isolated from the infected wood logs or Shiitake mushrooms. A: *T. pseudokoningii*, B: *T. harzianum*, C: *T. atroviride* I, D: *T. atroviride* II.

Table 2. Identification of 4 green mold isolates from Shiitake mushroom cultivation areas in Chunchon and Andong

Isolate no.	Isolation area	Cultural characteristics	Identification
99100(A)	Chunchon	light green spores relatively early sporulation medium changed yellow	*Trichoderma pseudokoningii* (*T.citrinoviride*)
99106(B)	Andong	dard green spores relatively early sporulation	*Trichoderma harzianum*
99107(C-I)	Andong	dark green spores relatively late sporulation	*Trichoderma atroviride* I
99108(C-II)	Andong	dark green spores relatively late sporulation	*Trichoderma atroviride* II



A B C

Fig. 3. Microscopic observations of conidiophores and conidia produced by three different *Trichoderma* species prevalent on shiitake mushroom cultivation area in Chunchon and Andong.

A: *T. citrinoviride* (*T. pseudokoningii*), Condiophores are hyaline, smooth walled, arising mostly from the substratum to form irregularly shaped tufts, main branches long and relatively straight. Conidia small, 2.8-3.5x1.8-2.4 ㎛, dilute green, smooth walled, ellipsoidal, apex broadly rounded.

B: *T. harzianum*, Conidiophores are hyaline, smmoth walled, main axis 2.9-4.2 ㎛ in width, primary branches arising nearly at right angles, or bent slightly toward the apex. Conidia green, smooth, 2.8-3.5x2.3-3.1, subglobose to ovate, rarely ellipsoidal.

C: *T. atroviride*. Conidiophores are hyaline, smooth walled, main branches long. Conidia smooth walled, greenish, subglobose, rarely globose or ovoid, 3.1-4.1x2.8-3.4 ㎛ in size.

3. 푸른곰팡이 병원성 및 표고균주별 저항성/감수성 검정

가. 재료 및 방법

1) 조사항목

푸른곰팡이 균주간의 병원성 비교하고, 푸른곰팡이병균(4종)에 대한 표고품종(24종)의 저항성 또는 감수성을 조사하였다.

2) 조사방법

표고원목재배시 가장 심한 피해를 입히고 있는 것으로 조사된 푸른곰팡이병균에 대하여 국내에서 개발 또는 재배되고 있는 표고품종들의 저항성/감수성을 시험관 내에서와 톱밥배지에서 검정을 실시하였다.

가) 시험관내의 검정

푸른곰팡이 4균주와 표고 균주 24균주(Table 3)를 사용하여 PDA배지 상에 표고균주와 푸른곰팡이 균주를 대치배양하여 푸른곰팡이에 대한 표고균주의 저항성/감수성 비교하고 표고접종부위에서 agar disc를 떼어내어 표고균의 재생여부를 확인하여 푸른곰팡이의 병원성 정도를 상대적으로 비교하였다.

나) 톱밥배지에서의 검정

시험관내의 검정에서 푸른곰팡이 균주들에 대하여 저항성, 중도저항성, 감수성을 나타내는 표고균주를 각 2균주씩 선발하여 톱밥봉지에 배양한 후, 푸른곰팡이 포자현탁액을 접종하고 푸른곰팡이에 의한 감염정도를 비교하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 시험관 내에서 푸른곰팡이병균에 대한 표고품종별 저항성/감수성 검정

시험관내에서 푸른곰팡이와 표고균주의 대치배양 결과, 동일 표고 균주라고 할지라도 푸른곰팡이 균주에 대한 반응이 다소 다르게 나타났지만 대체로 푸른곰팡이 4균주에 대하여 저항성, 중도저항성, 감수성을 나타내는 그룹으로 나눌 수 있었다. 국내에서 개발 또는 재배되고 있는 표고 품종(24품종; 산림 1-8호, 임협 1,2,5,6,7호 농기 1-3호, 일본 품종 등)이 푸른곰팡이병균에 어느 정도 저항성/감수성을 나타내는 지를 조사한 결과, 품종에 따라서 많은 차이가 있었다. 임협1호, 7호, 일본품종 465, 301 는 대체로 저항성을 나타내었고, 산림2호, 7호, 임협2호, 농기1호, 2호 등은 감수성을 나타내었으며 나머지 품종은 중간의 저항성/감수성을 나타내었다.(Table 4)

또한 푸른곰팡이 균주간의 병원성 비교에서는 *T. harzianum*이 가장 병원성이 강한 균

주로 나타났고, 다음이 *T. pseudokoningii, T. atroviride* 순으로 나타났다.(Fig. 4와 5, Table 5와 6)

2) 톱밥배지에서의 표고품종별 저항성/감수성 검정

시험관에서 실시된 품종별 저항성/감수성 검정결과에 따라 저항성, 감수성, 중간 품종을 2품종씩 선발하여 톱밥배지에 접종하여 배양한 후에 푸른곰팡이병균의 포자현탁액을 접종하여 푸른곰팡이병의 발생정도를 조사한 결과, 푸른곰팡이 포자현탁액을 분무 접종한 처리에서는 푸른곰팡이에 피해를 확인할 수 있었으나 대조처리에서는 푸른곰팡이가 전혀 발생하지 않았다.(Fig 6과 7) 병원성이 강한 균주로 알려진 *T. harzianum*이 병원성이 약한 *T. atroviride*보다 더 심한 피해를 보였으나, 저항성, 중도저항성, 감수성으로 생각되는 표고균주들 간에는 뚜렷한 유의성이 있는 결과를 보여주지 않았다.

Table 3. List of various strains of *Lentinula edodes* used in the experiment

Culture Collection #	Strains	Temperature conditions for fruiting[1)]	L/S[2)]
1	Sanrim 1-Ho	L	L
2	Sanrim 2-Ho	H	L
3	Sanrim 3-Ho	L	L
4	Sanrim 4-Ho	H	L
5	Sanrim 5-Ho	H	S
6	Sanrim 6-Ho	H	S
7	Sanrim 7-Ho	H	L
8	Sanrim 8-Ho	M	L
38	Imhyup 1-Ho	H	L
39	Imhyup 1-Ho	mutant	L
40	Imhyup 2-Ho		L
41	Imhyup 5-Ho		L
42	Imhyup 6-Ho	M	L
43	Imhyup 7-Ho	H	L
44	Nonggi 1-Ho		
45	Nonggi 2-Ho		
46	Pyogo		
47	Le357		
48	Nonggi 3-Ho	H	L/S
49	Geobukdeung		
50	Le465		
51	Bio-shiitake		
52	Le301		
53	*Neolentinus lepideus*		

[1)]Temperature conditions for mushroom production. L: low, M: medium, H: high temperature.

[2)]L/S: L: strain for log cultivation, S: strain for sawdust cultivation.

Table 4. Resistance and susceptiblity of *Lentinula edodes* strains against *Trichoderma* species

Strains	Resistant(R)	Intermediate(I)	Susceptible(S)
T. pseudokoningii	52,53	1,3,4,5,8,38,39,41,42,43, 45,46,47,48,50	2,6,7,40,44,49,51
T. harzianum	38,50,52,53	1,2,3,4,5,8,39,41,42,43, 45,46,47,48	6,7,40,44,49,51
T. atroviride I	38,39,41,43,50,52,53	1,2,3,4,5,8,42,46,47,48	6,7,40,44,45,49,51
T. atroviride II	39,43,46,50,52,53	1,3,4,5,8,38,41,42,47,48	2,6,7,40,44,45,49,51

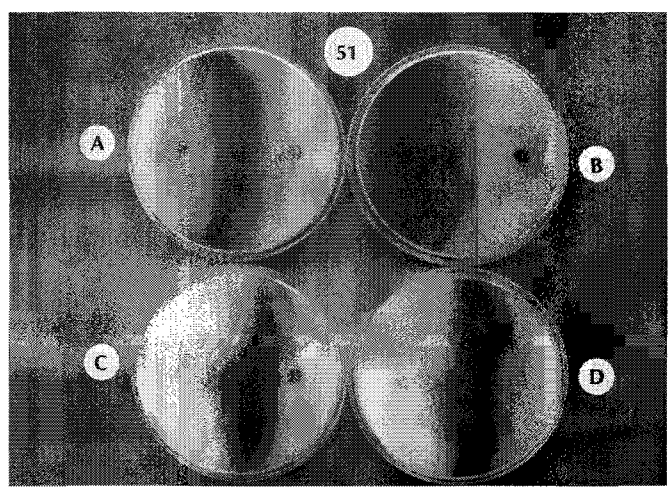


Fig. 4. Variations in pathogenicity of 4 isolates (A-D) of *Trichoderma* species against a strain of *Lentinula edodes* (51).

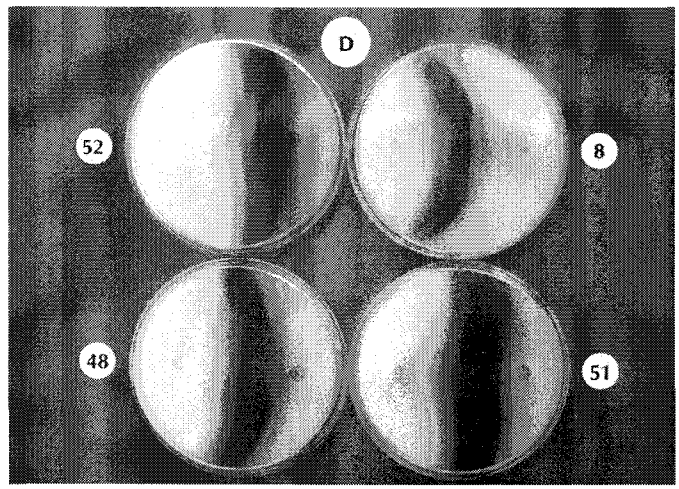


Fig. 5. Differential responses of various strains (8, 48, 51, 52) of *Lentinula edodes* to *T. atroviride* II (D).

Table 5. Frequency of survival isolates and relative comparison of *Trichoderma* species in pathgenicity by trans-culturing of dual-cultured isolates of *Lentinula edodes* with *Trichoderma* species

Strains \ Distance(cm) from *L. edodes* agar plug in dual-culture	1	2	3
T. pseudokoningii	(2) (8) (9)		(1)*
T. harzianum	all varieties of *L. edodes* trans-cultured were not restored.[1]		
T. atroviride I	(2)	(12) (6)	(4)
T. atroviride II	(9) (6)	(7) (1)	(2)

* The numbers in parenthesis indicate the number of varieties of *L. edodes* re-grown after trans-culturing.

[1]All varieties of *L. edodes* were dead by dual-culturing with *T. harzianum*.

Table 6. Disease severity of *Trichoderma* species on culture block of each variety of *L. edodes*

Resistance/Susceptibility		Resistant(R)		Intermediate(I)		Susceptible(S)	
Treatment	Varieties	38	50	1	3	40	44
T. harzianum	(S)	50	67	100	83	80	90
T. atroviride I	(W)	47	20	40	40	0	0
Untreated		0	0	0	0	0	0

Each figure indicate the mean of three replicates.
Disease severity was determined 3 weeks after inoculation and expressed by the relative area of the invaded part of the surface of the inoculated blocks.

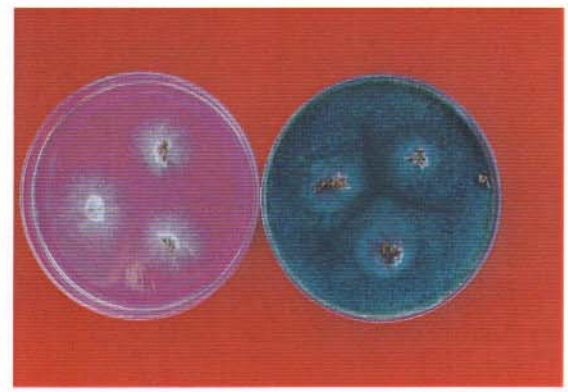


Fig. 6. Inoculation of green mold on sawdust culture. (left) untreated, (right) inoculated.
Fig. 7. Re-isolation of *Trichoderma* species from the inner part of sawdust blocks. (left) untreated, (right) inoculated.

4. 병원균의 생리, 생태 조사

가. 재료 및 방법

1) 공시균주

푸른곰팡이중에서 병원성이 가장 강한 것으로 판명된 *Trichoderma harzianum* 균주를 사용하였다.

2) 푸른곰팡이의 균사생장에 미치는 온도, pH, 탄소원, 질소원의 영향

가) 멸균한 PDB배지에 cork borer로 절단한 병원균의 균사조각을 접종하고 다양한 배양온도(10, 15, 20, 25, 30, 35)에서 배양하면서 균사 생중량(fresh weight) 및 건중량(dry weight) 측정 비교하였다.

나) 가)와 동일한 방법으로 접종원을 접종하고 다양한 pH (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9)조건으로 25℃에서 배양하면서 균사 생중량(fresh weight) 및 건중량(dry weight) 측정 비교하였다.

다) 탄소원의 종류에 따른 균사생장량을 비교하기 위하여 WB(물한천배지)에 공통적으로 질소원(asparagine 1%)을 첨가하고 탄소원은 단당류(glucose, xylose, fructose), 이당류(sucrose, maltose), 다당류(starch, cellulose(carboxymethyl cellulose - CMC)를 10% (100g/ℓ)의 농도로 첨가하여 배지를 제조한 후 접종원을 접종하고 균사 생중량(fresh weight) 및 건중량(dry weight) 측정 비교하였다.

라) 질소원의 종류에 따른 균사생장량을 비교하기 위하여 WB(물한천배지)에 공통적으로 탄소원(glucose 10%)을 첨가하고 질소원은 KNO_3, $(NH_4)_2SO_4$, urea, peptone, asparagine 등을 첨가하여 배지를 제조한 후 접종원을 접종하고 균사 생중량(fresh weight) 및 건중량(dry weight) 측정 비교하였다.

3) 푸른곰팡이 균주의 포자형성에 미치는 광의 영향

푸른곰팡이는 포자를 수없이 많이 형성하여 재배사내에서 전반되므로 포자형성에 미치는 온도와 광의 영향을 조사하기 위하여 PDA(고체배지)와 PDB(액체배지)에 접종원을 접종하고 다양한 온도(15, 25, 35)와 광조건(광, 암, 광 암 12시간씩 교대)을 처리하면서 균사생장 및 포자형성량을 Haemacytometer를 사용하여 측정 비교하였다.

나. 결과 및 고찰

푸른곰팡이 균주는 25℃에서 균사생장이 가장 왕성하였고 30℃, 35℃로 갈수록 점점 생장이 둔화되었다. 탄소원으로는 sucrose, fructose 등을 xylose, maltose 등보다 잘 이용

하였고, 질소원으로는 KNO_3를 가장 잘 이용하였다. pH4에서 생장이 가장 양호하였고 pH5에서 pH9사이에서도 생장이 대체로 양호하였으나 pH3의 산성에서는 생장이 불량하였다. 온도와 광조건을 달리한 포자형성량은 25℃ 광상태에서 가장 많은 포자를 형성하였고 광/암을 12시간씩 교대로 처리한 조건에서도 크게 차이가 없었다. 그러나 암상태에서는 포자형성이 40% 수준으로 감소되었다. 15℃의 조건에서도 균사생장 및 포자형성이 가능하였으나 35℃에서는 포자가 형성되지 않았다.

1) 배양온도가 균사생장에 미치는 영향

푸른곰팡이는 25℃에서 균사생장량이 가장 많았고, 30, 35℃로 온도가 높아질수록 균사생장량이 점차 감소하여 35℃에서는 25℃에 비하여 약 1/3수준에 머물렀다.(Fig.8)

2) 온도와 광이 포자형성에 미치는 영향

표고재배지역에서 푸른곰팡이의 발생은 주로 포자의 전반에 의해 더욱 확산되므로 포자형성을 억제하면 병 발생 및 진전을 크게 억제할 수 있다. 15℃에서의 포자형성량은 25℃에서의 생성량에 비해서 동일한 광조건하에서는 약 1/5수준에 머물렀으며, 동일한 온도조건에서 광조건은 암조건보다 포자형성량에 있어서 2배 이상 차이가 나타났다. 35℃에서는 광조건하에서 균사생장은 가능하였으나 포자는 형성되지 않았고 암조건하에는 균사생장도 되지 않았다.(Fig.12).

3) 탄소원의 종류가 균사생장에 미치는 영향

탄소원 중에서 sucrose가 균사생장을 가장 양호하게 하였고, fructose, glucose, maltose, xylose의 순으로 균사생장에 영향을 미쳤다.(Fig.9)

4) 질소원의 종류가 균사생장에 미치는 영향

질소원 중에서는 peptone이 다른 질소원에 비하여 월등히 균사생장을 양호하게 하였고, KNO_3, $(NH_4)_2SO_4$, urea, asparagine 등은 서로 비슷하였다.(Fig.10)

5) pH가 균사생장에 미치는 영향

pH4에서 균사생장량이 가장 양호하였고 pH5-9사이는 pH4와 크게 차이를 보이지 않았으나 pH3에서는 균사생장량이 1/2정도로 감소하였다.(Fig.11)

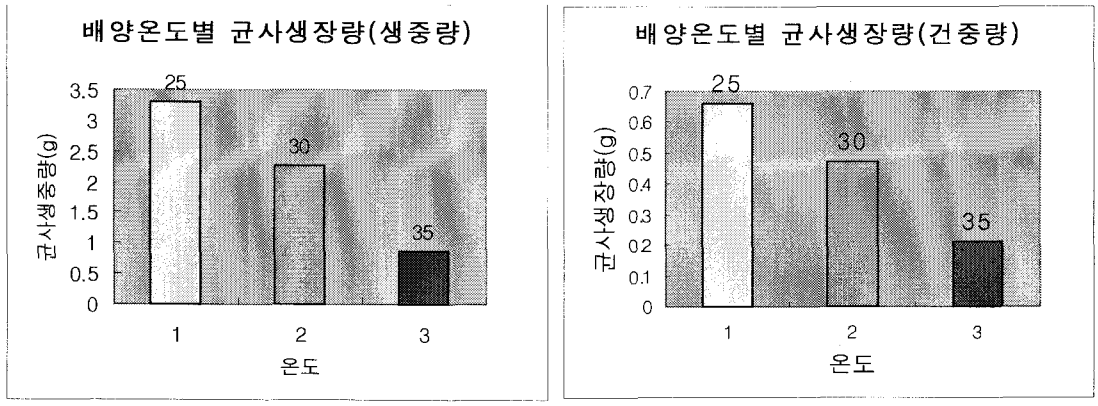


Fig. 8. Effect of temeprature on mycelial growth of *Trichoderma harzianum*. (Left) fresh weight, (Right) dry weight.

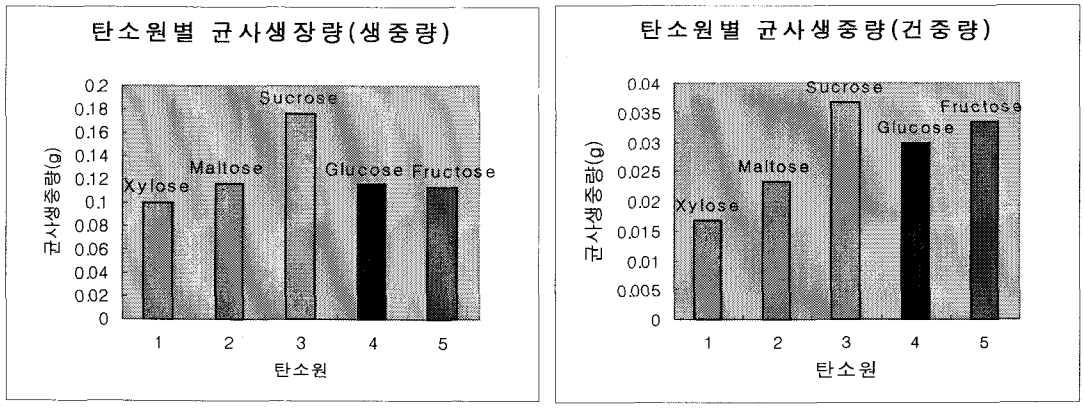


Fig. 9. Effect of carbon sources on mycelial growth of *Trichoderma harzianum*. (Left) fresh weight, (Right) dry weight.

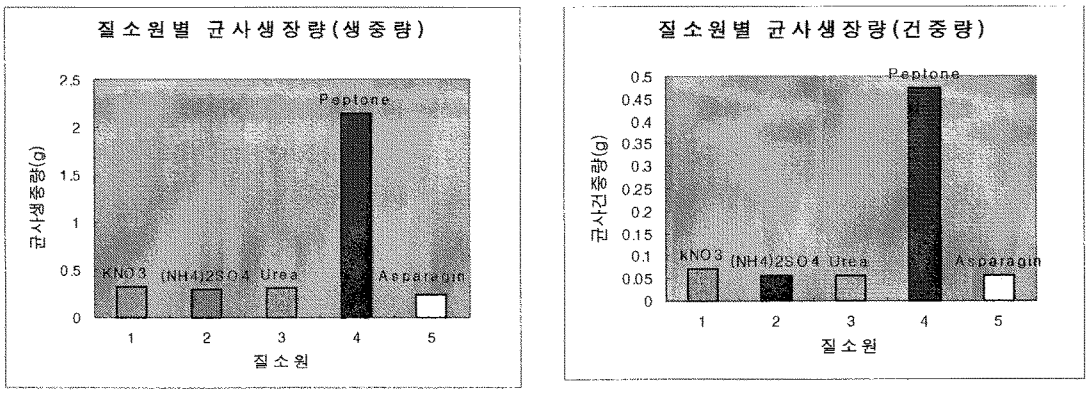


Fig. 10. Effect of nitrogen sources on mycelial growth of *Trichoderma harzianum*. (Left) fresh weight, (Right) dry weight.

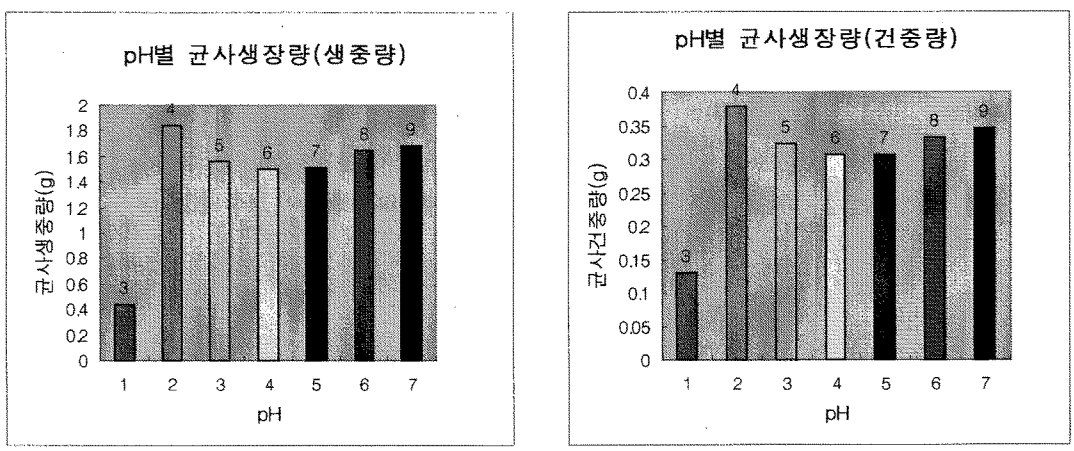


Fig. 11. Effect of pH on mycelial growth of *Trichoderma harzianum*. (Left) fresh weight, (Right) dry weight.

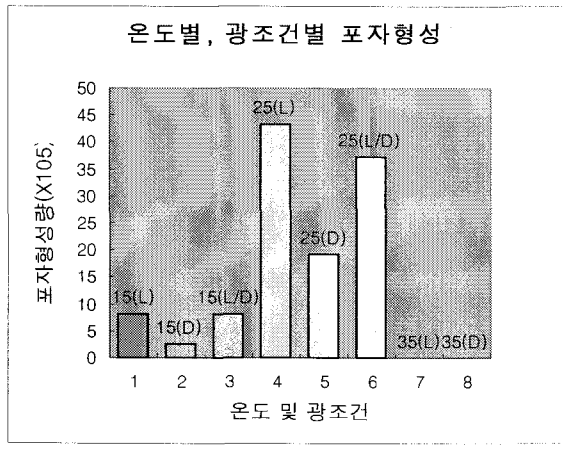


Fig. 12. Effect of temperature and light condition on sporulation of *Trichoderma harzianum*.

L: light, D: dark, L/D: alteration of light and dark (12:12h)

5. 생물적, 생태적, 화학적 방제기술 개발

가. 재료 및 방법

1) 푸른곰팡이 방제약제(살균제) 비교검정

푸른곰팡이 방제를 위하여 사용되고 있는 thiabendazole, benomyl, prochloraz 등 3종의 살균제를 사용하여 푸른곰팡이 4균주와 표고 균주 24균주의 균사생장 및 포자형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 약제를 농도별로 첨가한 배지에서 배양한 후에 균사생장 및 포자형성 억제 정도를 비교하였다.

2) 푸른곰팡이 방제약제(영양제) 비교검정

버섯영양제로 등록 사용되고 있는 영양제(Trichofree I, Trichofree II, Key Green-721, 참나무 목초액, 소나무 목초액)의 푸른곰팡이병균 4종에 대한 균사생장 억제효과를 조사하기 위하여 공시 영양제를 농도별로 배지에 첨가하고 푸른곰팡이 접종원을 접종하여 배양하고 푸른곰팡이병균의 균사생장억제 및 포자형성 억제율을 측정 비교하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 푸른곰팡이 방제약제(살균제) 비교검정

공시 약제 중에서 판마시(thiabendazole)는 2.5㎍/㎖의 처리농도에서 푸른곰팡이 균주들의 균사생장을 약 90%, benomyl은 95% 억제하였지만, 50㎍/㎖의 처리 농도에서 thiabendazole은 표고균의 균사생장에 전혀 영향을 미치지 않았으나 benomyl은 60%정도의 억제율을 나타내었으므로 benomyl은 높은 농도로 처리시 표고균의 생장을 억제시키는 결과를 초래하여 버섯생산에 나쁜 영향을 미치게 될 것으로 생각되어 thiabendazole이 효과적인 방제약제로 추천된다.

또한 thiabendazole과 benomyl 공히 푸른곰팡이의 포자형성을 높은 비율로 억제하는 것으로 나타났는데, 이는 제한된 공간 내에서 병원균의 포자형성을 억제시켜 병원균의 증식과 전반을 막는데 효과적인 것으로 생각된다.(Table 7과 8, Fig. 13)

2) 푸른곰팡이 방제약제(영양제) 비교검정

버섯영양제로 등록된 트리코프리-I은 10 ㎍/㎖의 농도에서 균사생장과 포자형성을 100% 억제하여 푸른곰팡이 방제를 위하여 살균제 대용으로 사용이 가능한 생물적 방제제로 생각된다.(Table 9, 10, 11, 12, Fig.14와 15)

Table 7. Comparison of three fungicides in inhibitory effects on mycelial growth of *Trichoderma* species

Fungicides	thiabendazole				benomyl				prochloraz		
Isolates \ Conc.(μg/mℓ)	0.1	0.5	1	2.5	0.1	0.5	1	2.5	10	50	100
T. pseudokoningii	0	26.7	58.8	94.5	0	0	35.6	96.1	100	100	100
T. harzianum	0	19.2	66.7	93.3	0	0	57.6	86.2	40.0	76.5	76.5
T. atroviride I	0	16.1	43.5	82.7	0	27.9	77.3	98.0	58.8	74.1	72.9
T. atroviride II	0	14.9	44.7	78.5	0	25.5	76.1	97.6	47.1	75.3	91.8

Each figure indicate the mean inhibition rate of three replicates measured 3 days after inoculation.

Table 8. Inhibition rate of thiabendazole and benomyl for the sporulation of *Trichoderma* species

Fungicides	thiabendazole				benomyl			
Isolates \ Conc.	0.1	1	10	50	0.1	1	10	50
T. pseudokoningii	59.0	49.2	81.5	99.8	6.0	7.2	77.0	99.3
T. harzianum	84.2	90.2	80.9	90.8	17.5	0	63.3	96.5
T. atroviride I	62.7	88.9	96.6	100	56.9	89.1	100	100
T. atroviride II	87.5	85.7	100	100	65.3	95.2	100	100

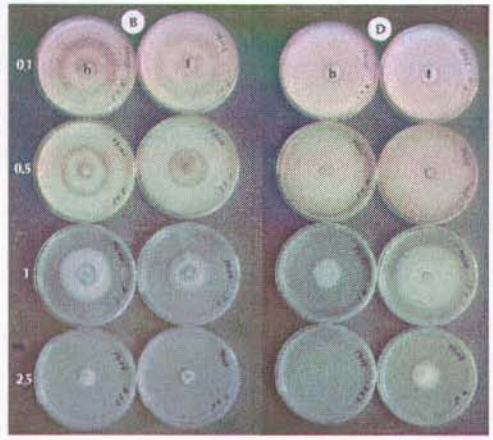


Fig. 13. Inhibiton in mycelial growth of 2 isolates of *Trichoderma* spp. on PDA supplemented with benomyl(left) and thiabendazole(right).
B: *T. harzianum*, D: *T. atroviride* II.

Table 9. Comparison of mushroom fertilizers and disinfectant in inhibitory effects on mycelial growth of *Trichoderma* species

Fungicides	Trichofree I				Trichofree II				Biospot			
Isolates \ Conc.(μg/mℓ)	10	100	250	500	10	100	250	500	10	100	250	500
T. pseudokoningii	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0
T. harzianum	100	100	100	100	0	35.8	100	100	0	0	0	0
T. atroviride I	100	100	100	100	15.9	100	100	100	0	0	0	0
T. atroviride II	100	100	100	100	0	100	100	100	0	0	0	0

Each figure indicate the mean inhibition rate of three replicates measured 6 days after inoculation.

Table 10. Comparison of mushroom fertilizers and disinfectant in the spore formation of *Trichoderma* species

Fungicides	Trichofree I				Trichofree II				Biospot			
Isolates \ Conc.(㎍/㎖)	10	100	250	500	10	100	250	500	10	100	250	500
T. pseudokoningii	0	0	0	0	0	0	0	0	4.6	4.1	4.4	6.9
T. harzianum	0	0	0	0	4.5	1.8	0	0	5.6	6.2	7.0	4.5
T. atroviride I	0	0	0	0	2.5	0	0	0	4.9	4.6	4.1	3.9
T. atroviride II	0	0	0	0	0.4	0	0	0	2.0	1.7	1.8	1.6

Each figure indicate the average amount of spores($x10^7$) formed on three plates measured 20 days after inoculation.

Table 11. Comparison of clear zone formation by mushroom fertilizers and wood vinegers

Isolates	Trichofree I	Trichofree II	Key Green -721	Wood vinegar	
				Oak	Pine
T. pseudokoningii	8.50	3.80	1.47	0	0
T. harzianum	8.50	1.75	1.42	0	0
T. atroviride I	8.50	3.70	1.25	0	0
T. atroviride II	8.50	2.02	0	0	0

Each figure indicate the radial length of clear zone 6 days after inoculation

Table 12. Inhibition rate of mushroom fertilizers and wood vinegers for the sporulation of *Trichoderma* species

Isolates	Trichofree I	Trichofree II	Key Green -721	Wood vinegar	
				Oak	Pine
T. pseudokoningii	100	21.7	3.3	0	0
T. harzianum	100	7.3	2.4	0	0
T. atroviride I	100	0	8.3	0	0
T. atroviride II	100	0	0	0	0

Each figure indicate the mean inhibition rate of three replicates measured 14 days after inoculation.

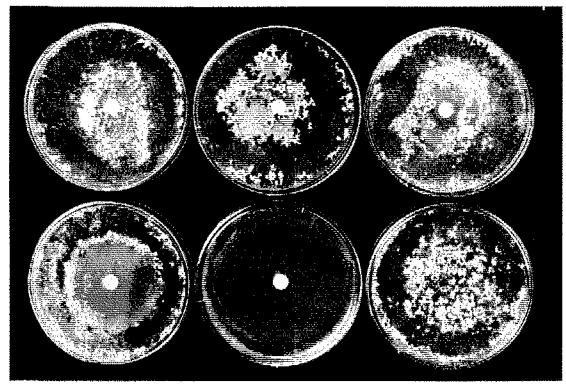


Fig. 14. Effects of mushroom nutrients and wood vineger on spore germination and mycelila growth of *T. pseudokoningii*.
pine vineger, oak vineger, Key Green-721
Trichofree II, Trichofree I, untreated.

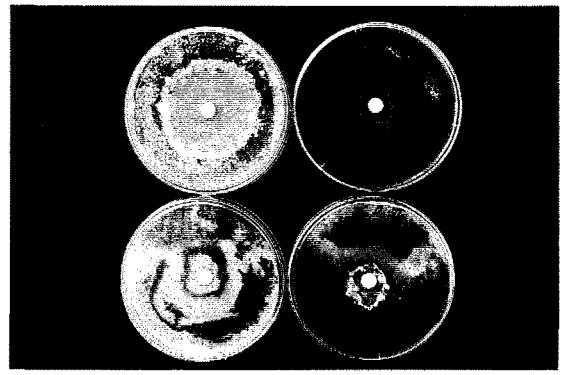


Fig. 15. Inhibitory effects of Trichofree II on spore germination and mycelial growth of *Trichoderma* sp.
T. pseudokoningii, *T. harzianum*,
T. atroviride II, *T. atroviride* I.

제 5 절 충해 방제기술 개발

1. 표고버섯 해충조사

가. 재료 및 방법

1) 표고재배용 골목해충

1999년과 2000년에 표고 집단재배가 이루어지고 있는 경기 포천, 충북 괴산 및 전남 장흥지역에서 버섯의 균사가 자라고 있는 골목을 가해하고 있는 해충과 버섯의 자실체를 가해하는 해충을 조사하였다.

2) 표고재배상(균상) 해충

1999년과 2000년에 톱밥배지를 이용한 표고재배상에서 표고를 가해하고 있는 해충과 수확 후 생표고버섯의 자실체를 가해하는 해충을 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 표고재배용 골목해충

표고버섯의 균사가 자라고 있는 골목을 가해하고 있는 해충은 Table 1과 같았으며 조사지역에 관계없이 털두꺼비하늘소가 우점종이었으며 채집 개체수에서는 지역에 따라 상당한 차이를 나타내었다. 특히 표고골목에 대해 관리가 재대로 이루어지지 않은(거의 방치상태였음) 괴산지역의 경우 상당히 높은 밀도로 발생하여 버섯재배농가의 적극적인 관리체계가 이루어지지 않으면 버섯생산에 막대한 지장을 초래할 것으로 판단되었다.

Table 1. Insect pests of bed logs in *Lentinula edodes*

Korean name	Scientific name	Parts damaged
털두꺼비하늘소	*Moechotypa diphysis*	epiderm, cambium
깔다구풀색하늘소	*Leontium viride*	heartwood
크리스토프쇠범하늘소	*Plagionotus christophi*	"
보라톡토기	*Hypogastrura communis*	carpophore
버섯파리류	*Fungivora* sp.	"
참나무하늘소	*Mallambyx raddei*	heartwood
참피나무깨다시하늘소	*Mesosa hirsuta*	"
흰점박이하늘소	*Glenea relicta*	"
떡갈나무하늘소	*Lamia gottschei*	"
참나무좀	*Eidophelus imitans*	cambium
루이스나무좀	*Xyleborus lewisi*	"
왕바구미	*Sipalus hypocrita*	"

2) 표고재배상(균상) 해충

표고버섯의 자실체를 가해하고 있는 해충은 Table 2에서와 같이 곤충류는 버섯파리류가 많았으며 긴수염버섯파리가 우점종이었다. 톡토기류는 자실체 주름살 사이에서 가해하고 있음을 조사하였다.

Table 2. Pests of carpophore in *Lentinus edodes*

Korean name	Scientific name	Parts damaged
얼룩톡토기류	*Morulina gigantea*	carpophore
반날개류	*Philonthus* sp.	〃
큰무늬버섯벌레	*Dacne japonica*	〃
보라톡토기	*Hypogastrura communis*	〃
버섯파리류	*Fungivora* sp.	〃
긴수염버섯파리	*Lycoriella mali*	〃
밑빠진버섯벌레	*Scaphidium amurense*	〃
민달팽이	*Philomycus confusa*	〃
쥐며느리	*Armadilldium vulgare*	〃
벼룩파리류	*Megaselia* sp.	〃
회색톡토기	*Achorutes armatus*	〃
가는버섯벌레	*Dacne fungorum*	〃

2. 털두꺼비하늘소의 산란선호성 연구

가. 재료 및 방법

1) 표고재배 원목

본 조사에 사용된 원목은 1999년 1월 중에 벌채된 것으로 1.2m 길이이며, 직경은 6~20㎝였다. 이 원목은 3월 중순경에 표고 재배장에서 임협1호, 산림4호, 한국종균 290호 등 8가지 표고 종균으로 접종되었다. 접종 당시 원목 내 수분함량은 습량기준으로 30~35%였다. 접종 원목은 상수리나무 12본, 졸참나무 12본, 신갈나무 32본, 굴참나무 80본으로 재배장내에서 수종 구분 없이 무작위로 추출하여 5층, 약 60㎝ 높이로 정자(井字)목 쌓기로 처리하였다.

2) 수종별 산란선호성 조사

1999년 6월초에 각 개체 원목에 대하여 원목 직경, 외수피와 내수피(외수

피와 목부조직 사이의 층)의 두께, 털두꺼비하늘소가 뚫은 산란공 수, 그리고 실제 알이 있는 산란공의 수를 조사하였다. 수종별로 10~30여개의 산란공에 대해서 외부형태와 크기를 측정하였으며, 실제 산란 여부는 산란공 주변의 수피를 벗겨서 내수피내에서 알의 존재와 위치를 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 참나무 수종별 외수피와 내수피의 두께

굴참나무의 외수피 두께는 7.4±1.5㎜로서 다른 3 수종(상수리 2.0±0.3㎜, 신갈 1.1±0.3㎜, 졸참 1.3±0.5㎜) 보다 3~7배나 두꺼웠다(Fig. 1). 하지만 표고균사의 활착과 계속적인 신장에 매우 중요한 것으로 알려진 내수피의 두께는 굴참나무는 3.7±0.6㎜, 상수리가 4.8±0.4㎜로 가장 두꺼웠고, 신갈은 3.9±0.3㎜, 졸참은 3.6±0.4㎜였다(Fig. 1). 굴참나무에서는 외수피가 내수피보다 두껍지만, 다른 3 수종에서는 모두 내수피가 더 두꺼웠다.

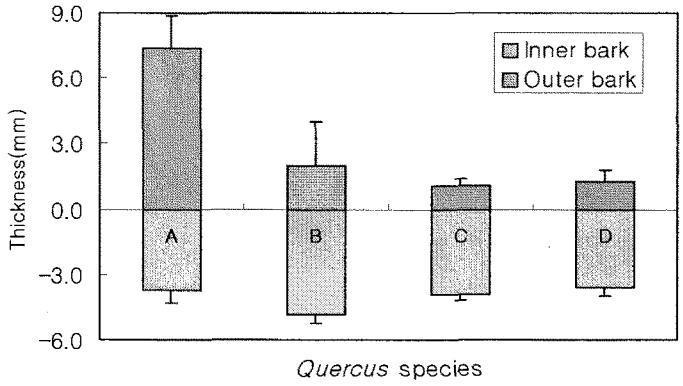


Fig. 1. Thickness of outer bark and inner bark (secondary phloem tissues) of *Quercus* species. A: *Q. variabilis*, B: *Q. acutissima*, C: *Q. mongolica*, D: *Q. serrata*.

2) 참나무 수종별 털두꺼비하늘소의 산란선호성

참나무 수종별로 탈두꺼비하늘소의 산란빈도를 비교한 결과, 이 하늘소가 산란에 선호하는 수종은 신갈나무였다(Table 3). 조사된 신갈나무 원목 32개 전부에 산란공이 뚫려있었으며, 원목당 산란공의 수도 평균 20개로 4개 수종 중에서 가장 많았다. 또한 그 산란공에 실제로 알이 있는 빈도(산란빈도)는 56%였고, 이 알 중에서 35%가 6월초에 이미 부화하여 유충이 내수피를 가해하고 있었다. 이 하늘소가 다음으로 선호하는 수종은 상수리나무로 조사된 전체 원목의 91%에 산란공을 뚫었으며, 원목당 산란공 수는 평균 14개, 산란빈도는 33%였다.

털두꺼비하늘소가 졸참나무에 뚫은 산란공의 갯수는 원목당 평균 3개로 위 두 수종에 비하여 적었고, 굴참나무에도 소수의 원목에 원목당 평균 3개의 산란공을 뚫었으나 산란빈도는 15%로 상수리나무나 신갈나무에 비하여 크게 낮았다 (Table 3). 그리고 굴참나무에서는 조사 당시에 부화된 유충은 없었다.

Table 3. Ovipositional behavior of *Moechotypa diphysis* on oak mushroom cultivation logs by *Quercus(Q.)* species

Properties	*Q. variabilis*	*Q. cutissima*	*Q. mongolica*	*Q. serrata*
Shape of ovipositional holes (㎜)	wide oval (8-12×6-8)	narrow fusiform (7-9×2-5)	narrow fusiform (6-9×1.5-3.5)	narrow fusiform (5-9×1-3)
Infection rate(%)[1]	9	91	100	67
Number of holes /infected log	3/1-37[2]	14/1-70	20/2-85	3/1-10
Actual rate of oviposition (%)[3]	15	33	56	-[4]
Hatch rate(%)[5]	0	25	35	-
Eggs/hole	1-5	1-2	1-2	1-2

[1]number of infected logs/number of investigated logs.
[2]mean/range
[3]percentage of egg-present holes/investigated ovipositional holes.
[4]not investigated.
[5]hatch rate until the investigation date, 3rd June.

신갈나무의 경우 털두꺼비하늘소의 산란공 수는 원목당 20개 미만인 것이 전체 조사 원목의 70%를 차지하였으나, 몇 개의 원목에는 70개의 구멍이 있는 것도 있었다(Fig. 2).

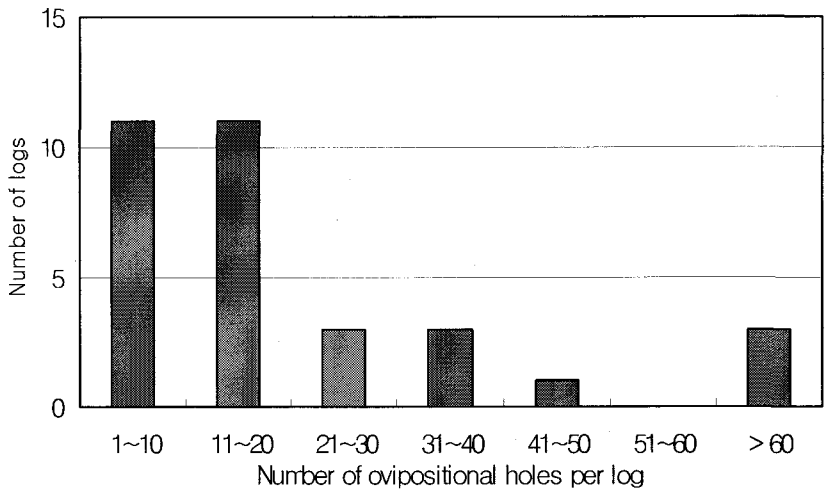


Fig 2. Number of logs by the class of ovipositional holes per *Quercus mongolica* log. The holes drilled by *Moechotypa diphysis*.

3) 원목 직경과 산란 선호성과의 관계

털두꺼비하늘소는 직경이 6㎝ 미만의 원목을 선호한다. 하지만 표고재배 원목으로는 주로 직경 6-14㎝ 내외가 많이 쓰이는데, 이용된 원목의 직경이 6-16㎝ 범위에 있는 이번 조사에서는 직경에 따른 이 해충의 산란 선호성이 나타나지 않았다(Fig. 3). 즉 직경과 산란공수와의 상관관계는 r=0.22로서 10% 유의수준에서 유의성이 없었다.

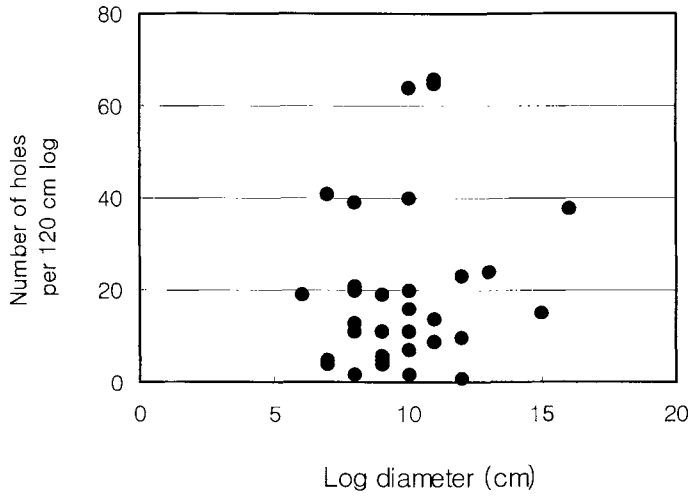


Fig. 3. Realtionship between log diameter of *Quercus mongolica* and Number of ovipositional holes per 120㎝-long log. r=0.22.

3. 털두꺼비하늘소에 대한 방제약제 선발

가. 재료 및 방법

1) 약종 선발시험

가) 시험 곤충

실내시험용 털두꺼비하늘소 (*Moechotypa diphysis*, Fig. 4)는 1999년 8월 충북 괴산지역의 표고버섯 골목재배지에서 성충을 채집하여 시험에 이용하였다.

나) 시험 약제

시험에 사용된 살충제는 시판되고 있는 유기인제 4종(chlorpyrifos-methyl 25% EC, fenitrothion 50% EC, fenthion 50% EC, flupyrazofos 10% EC), 카바메이트제 3종(benfuracarb 30% EC, furathiocarb 10% EC, methomyl 24.1% SC), 피레스로이드제 3종 (bifenthrin 2% WP, deltamethrin 1% EC, λ-cyhalothrin 1% EC), 네오니코티노이드제 2종(acetamiprid 8% WP,

imidacloprid 10% WP), 유기염소제 1종(endosulfan 35% EC) 등 모두 13종이었다.

다) 살충활성 검정

털두꺼비하늘소에 대한 살충활성 검정은 참나무토막 (평균 Φ5.5 x 13cm)을 추천농도의 약액에 30초간 침지한 후 음건하여, 투명한 원통형아크릴용기(Φ 9 x 15cm)에 넣고 성충을 5마리씩 접종하였으며 접종 48시간 후 사충율을 조사하였다. 모든 시험은 4반복이상으로 하였으며, 시험조건은 온도 25~28℃, 광주기 16L : 8D, 상대습도 50~60%로 하였다.

라) 잔효성 조사

잔효성 조사방법은 살충활성 검정과 같은 방법으로 수행하였으며, 약제처리 후 3, 6, 9, 14, 21일째에 성충을 5마리씩 접종하고 48시간 후 사충율을 조사하였다. 모든 시험은 4반복이상으로 하였다.

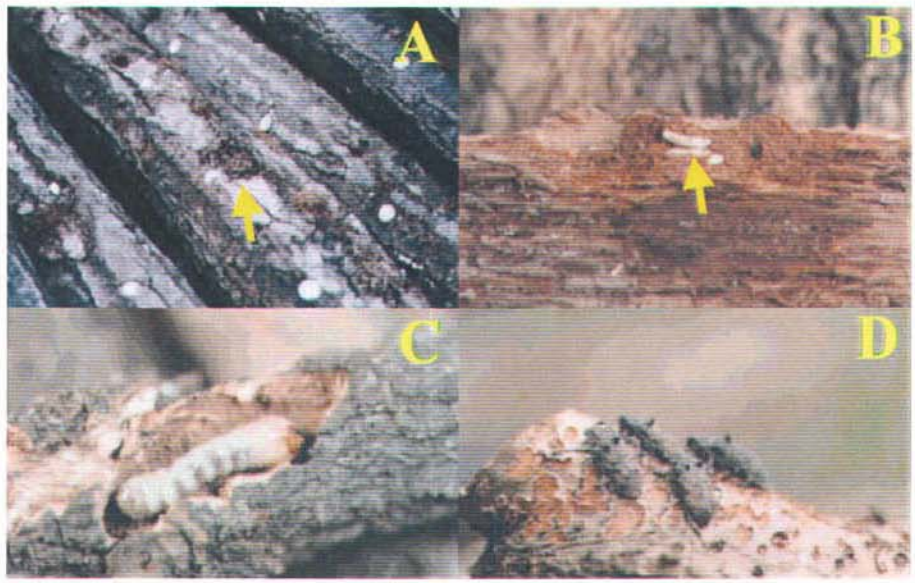


Fig. 4. Damage of oak mushroom bed logs by *M. diphysis*(A), Eggs(B), larva(C) and adults(D).

2) 방제약제 적용시험

가) 시험 곤충

털두꺼비하늘소(*Moechotypa diphysis*)는 2001년 4~5월에 충북 청원군 표고버섯 원목재배지에서 성충을 채집하여 시험에 이용하였다.

나) 시험 약제

이 시험에 사용된 살충제 실내시험에서 선발한 카바메이트제인 benfuracarb 30% EC)와 피레스로이드제인 λ-cyhalothrin(1% EC) 등 2종을 공시하였으며, 관행적으로 사용하고 있는 유기염소제인 endosulfan (35% EC)을 대조약제로 처리하였다.

다) 포장에서의 잔효성 및 방제효과 시험

진효성 시험은 참나무원목(평균직경 15 x 길이 120㎝)을 추천농도로 희석한 각 약제를 골고루 분무하여 충북대학교내 야산에 방치하였다. 약제 처리 후 5, 10, 15, 20일째에 원목 5개씩을 차광망으로 만든 육면체(높이 80 x 가로 100 x 세로 100㎝) 안에 넣고 성충 20마리씩 접종한 후 5일째에 사충수를 조사하였다. 방제효과 시험은 잔효성 시험과 같은 방법으로 수행하였으며, 원목에 약제처리 1시간 후에 털두꺼비하늘소 성충 20마리씩을 접종하였다. 접종 후 5일째와 10일째에 사충수를 조사하여 방제가를 구하였다. 모든 시험은 3반복으로 하였다.

라) 약제의 표고균사생장에 미치는 영향 조사

시험방법은 시험관(Φ1.8×18㎝)에 8g의 상수리톱밥배지(미강:톱밥=1:9)를 넣은 후, 솜으로 입구를 막고, 121℃에서 1시간 동안 고압증기 살균하여 살균된 시험관에 멸균수로 희석한 처리농도별 약제를 11mL씩 넣는다. 대개 표고균사의 생장은 건조배지대비 175%(습량기준, 64%)의 수분함량에서 가장 잘 자라므로 (Koo 등, 1999), 8g의 톱밥배지에 14mL의 수분함량이 필요하여 11㎖를 첨가하여 시험하였고(3㎖는 톱밥배지에 함유됨), 약량은 14mL를 기준으로 하

여 희석하였다. 11mL의 약제가 시험관 속의 톱밥배지에 골고루 스며든 것을 확인하고, PDA배지에서 배양된 표고균사(임협 5호)를 7㎜의 cork borer로 떼어내어 시험관의 톱밥배지에 접종하였다. 표고균이 접종된 시험관을 25℃의 incubator에 넣고, 균사생장이 안정된 것으로 보이는 10일 후 1차로 균사생장 길이를 측정하고, 그로부터 13일 후 2차 균사생장 길이를 측정하였다(Koo 등, 1999; 김 등, 2000). 균사생장량은 2차측정 균사생장길이-1차측정 균사생장길이로 구하였고, 균사생장 억제율 (%)은 (1-처리구의 균사생장량/비처리구의 균사생장량)× 100 공식으로 구하였다. 각 처리는 10반복으로 하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 약종 선발시험

현재 시판되고 있는 13종 살충제를 추천농도(ppm)로 하여 털두꺼비하늘소 성충에 대한 살충력을 비교한 결과는 Table 4와 같다. 성충에 대해서 90%이상의 살충력을 나타낸 살충제는 유기인계의 chlorpyrifos-methyl, fenitrothion, fenthion, 카바메이트계의 benfuracarb, furathiocarb, 피레스로이드계의 bifenthrin, λ-cyhalothrin, 네오니코틴노이드계의 acetamiprid, 그리고 대조약제인 유기염소계의 endosulfan이었다. 그 외 약제들은 살충효과가 떨어지는 것으로 나타났다.

Fig. 5는 털두꺼비하늘소 성충에 살충력이 있는 chlorpyrifos-methyl와 9종의 살충제의 잔효성을 참나무가지에 추천농도(ppm)로 처리하고 21일째까지 조사한 결과이다. 유기인계의 fenitrothion, 카바메이트계의 benfurcarb, 피레스로이드계의 λ-cyhalothrin, 네오니코티노이드계의 acetamiprid, 그리고 대조약제인 유기염소계의 endosulfan은 21일째까지 100%의 잔효성을 나타내었다. 그 외 fenthion, furathiocarb, bifenthrin, deltamethrin은 잔효성은 인정되나 효과가 떨어지는 것으로 나타났다.

잔효성이 우수한 살충제는 처리 후 상당기간 동안 계속 처리하지 않아도 지속적인 해충방제효과를 보이기 때문에 사용측면에서 경제적이라 할 수 있다.

그러나 반대로 잔효성이 길어 잔류독성을 야기 시킨다면 환경 및 인축에 미치는 부작용이 크기 때문에 사회문제로까지 대두될 수 있다. 앞으로 환경친화형 농약사용의 필요성을 고려해볼 때, acetamiprid, fenitrothion, furathiocarb, λ-cyhalothrin 4종약제는 endosulfan 대용으로 털두꺼비하늘소 방제에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 4. Toxicity of insecticides to adults of oak longicorn beetle (*M. diphysis*) under laboratory conditions

Common name	AI[a)](%) &formulation	Field rate (ppm)	% Mortality (Mean±SD)
Organophosphates			
Chlorpyrifos-methyl	25 EC	312.5	93.3± 9.4
Fenitrothion	50 EC	500	93.4 8.9
Fenthion	50 EC	500	100± 0.0
Flupyrazofos	10 EC	100	40.0± 16.3
Carbamates			
Benfurcarb	30 EC	300	100± 0.0
Furathiocarb	10 EC	100	97.5± 4.3
Methomyl	24.1 SC	241	53.3± 14.9
Pyrethroids			
Bifenthrin	2 WP	20	93.3± 9.4
Deltamethrin	1 EC	10	85.0± 16.5
λ-cyhalothrin	1 EC	10	100± 0.0
Neonicotinoids			
Acetamiprid	8 WP	40	100± 0.0
Imidacloprid	10 WP	50	87.5± 4.3
Other			
Endosulfan	35 EC	577.5	100± 0.0

[a)]Active ingredient

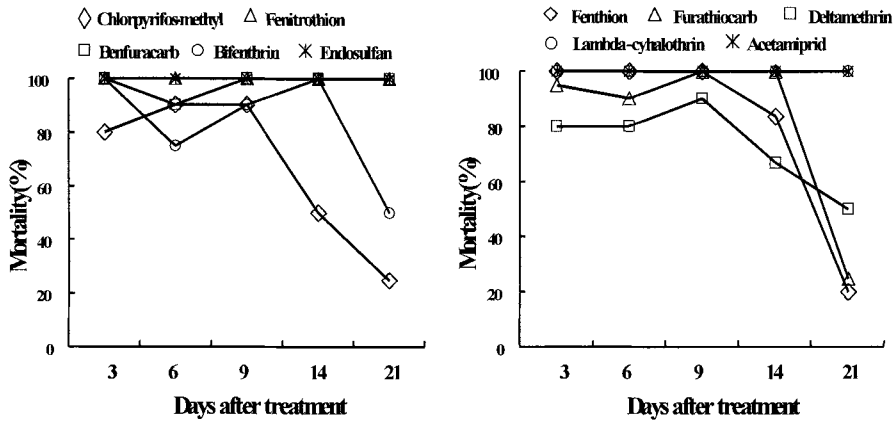


Fig. 5. Residual effects of insecticides to adult of *M. diphysis*.

2) 방제약제 적용시험

가) 잔효성 및 방제효과

적용약제별 털두꺼비하늘소의 잔효성 시험 결과(Fig. 6)는 benfuracarb가 15일째까지 그리고 λ-cyhalothrin은 20일째까지 90%이상의 살충활성을 나타냈다. 한편 대조약제인 endosulfan은 5일째의 71.2%에서 20일째의 63.9%의 살충활성으로 낮아져서, 두 약제보다 잔효성이 떨어지는 것으로 나타났다. 김 등(2000)은 실내에서 털두꺼비하늘소 성충에 대한 10종 살충제의 잔효성 조사에서 acetamiprid, benfurcarb, endosulfan, fenitrothion, λ-cyhalothrin 등 5종이 21일째까지 100%의 살충활성을 나타내었음을 보고하였다. 본 실험에서 이 5종의 살충제로 포장에서 살충활성을 검토하였으나, benfuracarb와 λ-cyhalothrin 외에는 효과가 낮았다.

Table 5는 benfuracarb와 λ-cyhalothrin이 털두꺼비하늘소에 대한 방제효과가 어느 정도인가를 조사한 결과이다. Benfuracarb와 λ-cyhalothrin을 처리한 후 5일째와 10일째에 방제가가 각각 100%로 대조약제인 endosulfan보다 높

았다. 현재 일반농가에서는 털두꺼비하늘소 방제용 약제로 등록되어 있지 않은 유기염소계인 지오릭스(endosulfan)분제를 방제에 이용하고 있다. 그러나 benfuracarb와 λ-cyhalothrin은 지오릭스분제보다 독성이 낮아 대체약제로서 이용이 가능할 것으로 생각된다(Tomlin, 2000).

나) 약제의 표고균사생장에 미치는 영향

Benfuracarb와 λ-cyhalothrin의 추천농도와 배량농도에서 표고버섯의 균사생장 에 미치는 영향을 조사하였다(Table 6). 추천농도와 배량농도에서 표고버섯품종인 임협 1호에 대해서 benfuracarb, λ- cyhalothrin, endosulfan은 표고균사생장을 10%이하로 억제하여 영향이 적었다. 김 등(2001)은 실내에서 13종 살충제가 표고균사(임협 1호와 산림5호) 생장에 미치는 영향을 조사하였는데, 영향이 적었던 약제로는 임협1호에 대해서 benfuracarb, fenthion, furathiocarb, deltamethrin, cyromazine, diflubenzuron이, 산림5호에 대해서는 deltamethrin, cyromazine, diflubenzuron이었다. 특히 산림 5호는 임협 1호에 비하여 살충제에 대한 감수성이 높아 품종 간에 차이가 있었으며, Sato와 Asawa(1995)는 표고버섯원목에 fenitrothion을 1000배로 하루 밤 침지하고 1년 후에 생산된 자실체에 대한 농약잔류량 조사에서 흔적(trace)만이 나타났으므로 일본 후생성 식품중 잔류농약 기준치인 0.05ppm이하였음을 보고하였다. 이 결과로 미루어볼 때 본 실험에서는 표고자실체에 이 약제의 잔류분석은 하지 않았지만, 약제처리 후 그 이듬해 봄에 수확하기 때문에 자실체에 대한 잔류독성에는 영향이 거의 없을 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해보면, benfuracarb와 λ-cyhalothrin이 잔효성과 방제효과가 우수하고 표고균사생장에 영향이 적어 털두꺼비하늘소 방제에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 5. Control effects of insecticides to adults of *M. diphysis* under field conditions

AI[a](%) & Insecticide	Recommended formulation	Control values (%)			
		con. (ppm)	n	5DAT[b]	10DAT
Carbamate					
Benfurcarb	30 EC	300	60	100±(0)[c]	100±0(0)
Pyrethroid					
λ-cyhalothrin	1 EC	10	60	100±0(0)	100±0(0)
Organochloride					
Endosulfan	35 EC	577.5	57	79.3±4.3(12)	85.3±5.5(9)
Control	-	-	60	0±0	0±0

[a]Active ingredient
[b]Days after treatment
[c]Number of survived adults

Table 6. Effects of insecticides on the mycelial growth of *Lentinula edodes* in a sawdust medium

Insecticide	Conc. (ppm)	Mycelial growth(㎝)	Mycelial growth inhibition (%)
		Lentinula edodes	Imhyup 1
Benfuracarb	600	7.0±0.4	3.2±6.5 a[a]
	300	5.4±0.3	1.6±3.6 a
λ-cyhalothrin	20	6.7±1.7	9.3±6.7 a
	10	5.2±0.5	4.1±6.5 a
Endosulfan	700	7.2±0.1	6.1±4.4 a
	350	5.5±0.2	0.0±0.0 a
Control	-	5.5±0.1	-

[a]Mean followed by the same letters are not significantly different at =5%, by Duncan's multiple range test [SAS Institute, 1991].

4. 긴수염버섯파리에 대한 방제약제 선발

가. 재료 및 방법

1) 시험 곤충

시험에 공시한 긴수염버섯파리 (*Lycoriella mali*)(Fig. 7)는 충북대학교 버섯재배실에서 채집한 것을 이용하였다. 시험조건은 온도 18~20℃, 광주기 16L : 8D, 상대습도 95~100%로 하였다.

2) 시험균주

본 시험에 사용한 균주는 표고버섯(*Lentinula edodes*)의 품종인 임협 1호와 산림 5호를 PDA배지 내에서 배양하여 시험에 사용하였다.

3) 시험약제

시험에 사용된 살충제는 시판제로서 유기인제 4종, 카바메이트제 3종, 피레스로이드제 3종, 네오니코티노이드제 2종, 유기염소제 1종, IGR제 2종으로 모두 15종이며, 이들의 일반명, 상품명, 유효성분 및 제형 그리고 추천농도는 Table 7과 같다.

4) 살충활성 검정

긴수염버섯파리에 대한 살충활성 검정은 플라스틱 컵 (Φ5.5×4㎝)에 상수리톱밥 4g을 넣고, 추천농도의 약액 5ml를 골고루 spray한 후 음건하여, 성충 10마리씩을 접종하고, 24시간 후에 사충율을 조사하였다. 그리고 IGR제 약제에 대해서는 유충에 대해서도 72시간 후에 사충율을 조사하였으며 5반복으로 수행하였다.

5) 잔효성 조사

잔효성 시험 방법은 살충활성 시험과 같은 방법으로 수행하였으며, 약제처리 후 3, 6, 9, 14일째에 성충을 각각 접종하여 24시간 후 사충율을 조사하였고, IGR제 약제는 유충에 대해서도 같은 방법으로 접종하여 72시간 후 사충율을 조사하였으며 3반복 이상으로 수행하였다.

6) 균사에 미치는 영향 조사

시험관 (Φ1.8×18cm)에 8g의 상수리톱밥배지 (미강:톱밥=1:9)를 넣고, 솜으로 입구를 막고(Fig. 8), 121℃에서 1시간 동안 고압증기 살균한다. 살균된 시험관에 멸균수로 희석한 처리농도별 약제를 11㎖씩 넣는다. 대부분의 표고균

사는 건조배지대비 175%의 수분함량에서 생장이 가장 잘 되며, 8g의 톱밥배지에 14㎖의 수분함량이 필요하지만 3㎖는 톱밥배지 속에 이미 존재하고 있는 수분함량이므로 11㎖를 첨가하여 시험하였다. 단 약량은 14㎖를 기준으로 하여 희석하였다. 11㎖의 약제가 시험관 속의 톱밥배지에 골고루 스며든 것을 확인하고, PDA배지에서 배양된 표고균사를 7㎜의 cork borer로 떼내어 시험관의 톱밥배지에 접종한다.

표고균이 접종된 시험관을 25℃의 Incubator에 넣고, 10일 후 1차로 균사생장길이를 측정하고, 그로부터 13일 후 2차 균사생장길이를 측정 (균사 생장량은 2차측정 균사생장길이 - 1차측정 균사생장길이)하여, 균사생장 억제율을 구하였다. 공식은 아래와 같다. 각 처리는 10반복으로 하였다.

$$균사생장억제율(\%) = \frac{무처리구균사생장길이 - 처리구균사생장길이}{무처리구균사생장길이} \times 100$$

7) 포장시험

버섯종균통에 200g의 톱밥배지를 넣고, 멸균한 후 표고균을 접종하여 18℃의 버섯재배실에서 배양한다. 원기가 형성되는 것을 확인한 98일째에 버섯종균통을 제거하고, 그로부터 5일 후 표고버섯 자실체를 1차 수확한다. 실제 농가의 톱밥배지에서 표고버섯 재배시 1차 수확 후 버섯파리가 대량 발생함을 감안하여 1차 수확이 끝난 모든 배지를 선발된 약제의 추천농도 희석액에 24시간 동안 침지하였다. 24시간 동안 약액에 침지한 톱밥배지를 버섯재배실로 옮겨 약제 처리일로부터 10일 후에 2차 자실체가 발생하는 것을 확인하고, 유충 및 성충에 대해서 생충수를 조사하여 방제가를 구하였으며, 공식은 아래와 같다. 각 처리는 15반복으로 하였다.

$$방제가(\%) = \frac{무처리구의생충수 - 처리구의생충수}{무처리구의생충수} \times 100$$

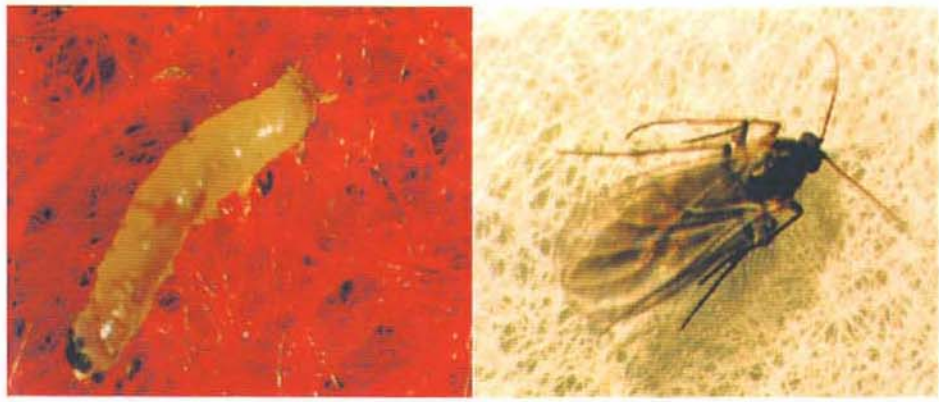


Fig. 7. Larva and adult of *Lycoriella mali*.

Fig. 8. Bioassay methods of *Lentinula edodes* mycelium grown in a sawdust medium.

Table 7. Insecticides used in the study of toxicity

Common name	Trade name	AI[a)](%) & formulation	Recommended conc. (ppm)
Organophosphates			
Chlorpyrifos-methyl	Reldan	25EC	312.5
Fenitrothion	Sumithion	50EC	500
Fenthion	Lebaycid	50EC	500
Flupyazofos		10EC	100
Carbamates			
Benfuracarb	Oncol	30EC	300
Furathiocarb	Deltanet	10EC	10
Methomyl	Lannate	24.1SC	214
Pyrethroids			
Bifenthrin	Talstar	2WP	20
Deltamethrin	Deltrain	1EC	10
λ-cyhalothrin	Halothrin	1EC	10
Neonicotinoids			
Acetamiprid	Mospilan	8WP	40
Imidacloprid	Cornido	10WP	50
Insect Growth Regulators			
Diflubenzuron	Dimilin	25WP	400
Cyromazine	Trigard	75WP	375
Organochlorines			
Endosulfan	Thiolix	35EC	577.5

[a)]Active ingredient.

나. 결과 및 고찰

1) 약제 감수성

각 살충제의 추천농도 (ppm)하에서 살충활성 시험결과 긴수염버섯파리 성충에 대해서 chlorpyrifos-methyl, fenitrothion, methomyl, endosulfan이 100%의 살충율을 보였고, fenthion, benfuracarb, furathiocarb, deltamethrin이 각각 97.5, 97.5, 97.5, 95%의 살충율을 나타내었다. IGR제 약제인 diflubenzuron과 cyromazine은 긴수염버섯파리 성충에 대해서는 효과가 없었으나, 유충에 대해서는 각각 92.3%, 90.3%의 살충력을 보였다(Table 8).

2) 잔효성

약제별 긴수염버섯파리의 잔효성 조사결과 성충에 대해서는 chlorpyrifos-methyl과 endosulfan이 약제 처리 후 14일째까지 90%이상의 잔효성을 나타냈으며, fenitrothion과 benfuracarb는 6일째까지 높은 살충력을 보였으나 9일째부터는 효과가 떨어졌다. IGR제 약제인 diflubenzuron과 cyromazine은 성충에 대해서 효과가 없었으나, 유충에 대해서는 14일째까지 80%이상의 잔효성을 나타내었다(Fig. 9).

3) 균사생장에 미치는 영향

살충제의 추천농도에서 표고버섯의 균사생장 억제율(Table 9)은 임협 1호와 산림 5호에 대해서 fenthion, benfuracarb, furathiocarb, deltamethrin, λ-cyhalothrin, acetamiprid, endosulfan, diflubenzuron, cyromazine이 표고버섯 균사가 생장하는데 억제작용이 적었으며, 대부분의 약제에 대해 산림 5호가 임협 1호보다 감수성을 보였는데 특히 chlorpyrifos -methyl과 fenitrothion에서 뚜렷한 차이를 보인다.

살충제의 배량농도에서 표고버섯의 균사생장 억제율(Table 9)은 전체적으로 추천농도에서 보다 높은 값을 보였으며, 표고버섯 품종인 임협 1호와 산림 5호 모두에 대해서 억제율이 적었던 약제는 deltamethrin, diflubenzuron, cyromazine이었고, 다음으로 benfuracarb, endosulfan순으로 조사되었다.

4) 포장시험

긴수염버섯파리에 살충활성과 잔효성이 있고 균사생장에 영향이 적은 약제를 선발하여 방제효과를 조사한 결과는 Fig. 9와 같다. 살충제에 대해서 균사억제율이 임협 1호보다 더 감수성이었던 산림 5호를 이용하였으며, 유충에 대해서 fenthion, benfuracarb, furathiocarb, deltamethrin, λ-cyhalothrin, diflubenzuron, cyromazine이 90% 이상, 그리고 성충에 대해서는 benfuracarb, fenthion, furathiocarb가 각각 93.3, 88.9, 86.7%의 방제가를 나타내었다. 이상의 결과에서 benfuracarb와 furathiocarb는 긴수염버섯파리 방제에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 8. Toxicity of insecticides to adults or Larvae of *L. mali* under laboratory conditions

Common name		n	% Mortality(Mean±SD)
Organophosphates			
Chlorpyrifos-methyl		42	100±0.0 a[1)]
Fenitrothion		46	100±0.0 a
Fenthion		50	97.5±2.5 ab
Flupyazofos		47	77.5±5.6 d
Carbamates			
Benfuracarb		45	97.5±2.5 ab
Furathiocarb		45	97.5±2.5 ab
Methomyl		40	100±0.0 a
Pyrethroids			
Bifenthrin		46	60.0±10.6 e
Deltamethrin		44	95.0± 3.1 abc
λ-cyhalothrin		50	82.5± 4.6 cd
Neonicotinoids			
Acetamiprid		43	85.0± 3.5 bcd
Imidacloprid		47	85.0± 6.1 bcd
Insect Growth Regulators			
Diflubenzuron	(adult)	41	16.3±11.3 f
	(larva)	43	92.3± 2.5 abc
Cyromazine	(adult)	40	5.0± 5.0 f
	(larva)	49	90.3± 3.5 a-d
Organochlorines			
Endosulfan		48	100± 0.0 a
Control		50	3.3± 3.3 f

[1)]Mean followed by the same letters are not significantly different at =5%, by Duncan's multiple range test [SAS Institute, 1991].

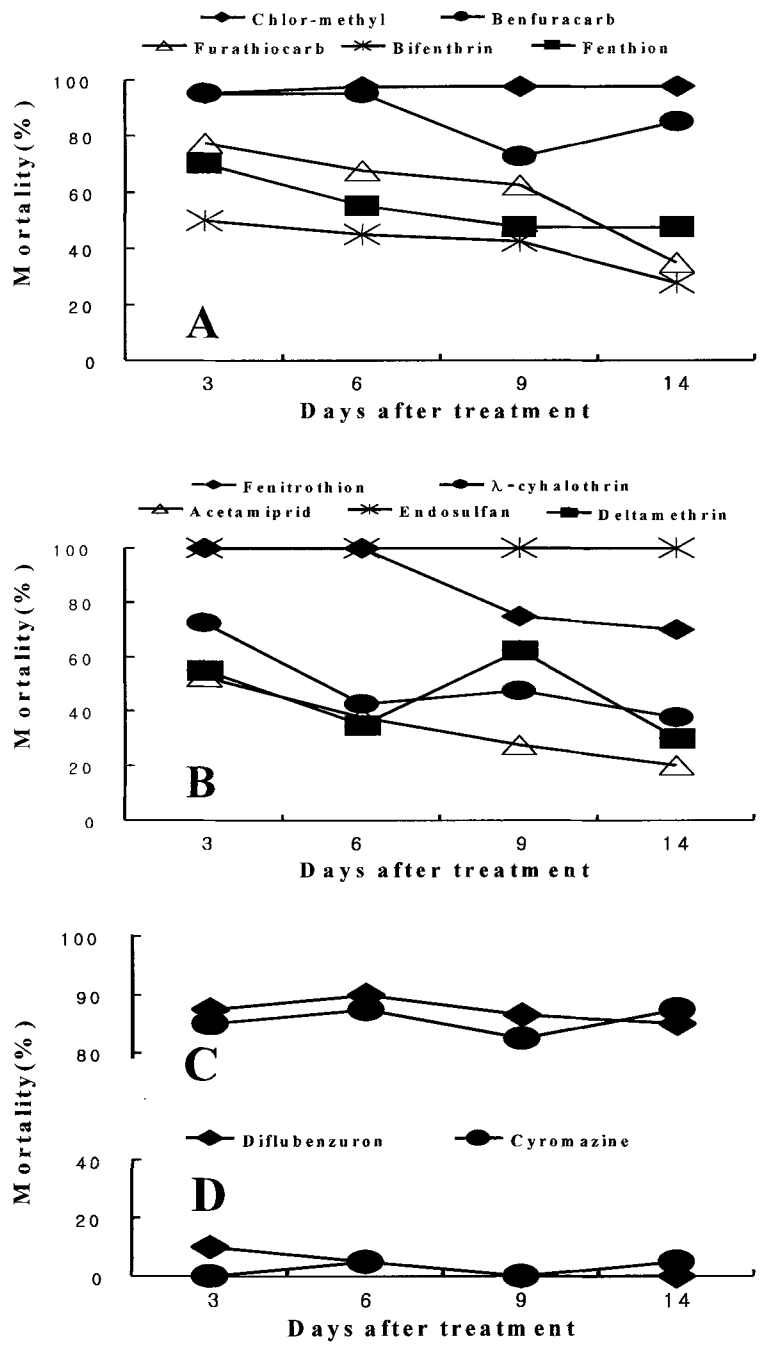


Fig. 9. Residual effects of insecticides to adult (A, B, D) and larva (C) of *Lycoriella mali*.

Table 9. Effects of insecticides on the growth of *Lentinula edodes* mycelium grown in a sawdust medium

Insecticide	Concentration (ppm)	Mycelial growth (% inhibition)	
		Lentinula edodes strains	
		Lymhyup 1	Sanlim 5
Organophosphates			
Chlorpyrifos-methyl	500	45.6±27.2	100±0.0
	250	18.8±16.4	100±0.0
Fenitrothion	1,000	12.3±5.6	44.2±27.1
	500	1.4±0.7	47.2±10.8
Fenthion	800	49.1±25.4	100±0.0
	400	13.6±10.4	82.4±28.9
Carbamates			
Benfuracarb	600	3.2±6.5	26.5±25.5
	300	1.6±3.6	33.4±28.1
Furathiocarb	200	3.4±5.3	49.8±14.7
	100	0.8±4.5	20.5±19.1
Pyrethroids			
Bifenthrin	40	50.4±25.0	80.0±23.8
	20	0.1±1.7	19.5±11.0
Deltamethrin	20	9.3±5.7	10.9±4.9
	10	0.1±4.5	11.4±9.1
λ-cyhalothrin	20	12.3±12.4	22.9±12.2
	10	4.1±6.5	29.4±19.1
Neonicotinoids			
Acetamiprid	80	10.6±5.3	29.3±12.1
	40	0.0±0.0	27.0±11.3
Insect Growth Regulators			
Diflubenzuron	800	3.7±2.3	9.5±4.7
	400	0.0±0.0	1.5±1.8
Cyromazine	150	2.5±3.3	8.9±3.9
	75	0.0±0.0	1.7±1.2
Organochlorines			
Endosulfan	1,155	6.1±4.4	37.3±17.4
	577.5	0.0±0.0	11.0±8.3

5. 털두꺼비하늘소 및 버섯파리에 대한 생리활성물질 선발

가. 재료 및 방법

1) 털두꺼비하늘소 시험

가) 시험 곤충

털두꺼비하늘소는 2002년 5~6월에 충북 청원군 미원면 야산에서 성충을 채집하여 시험에 이용하였다.

나) 공시물질

Monoterpenoid는 시판되고 있는 상품을 구입하여 시험에 이용하였다. Citronellol (95%), eugenol (99%), geraniol (98%), safrole (97%), β-myrcene (90%)는 Sigma에서 구입하였고, bornylacetate (97%), camphor (96%), carvacrol (98%), carveol (97%), carvone (98%), 1,8-cineole (99%), citral (95%), citronellic acid (98%), P-cymene (99%), fenchone (98%), isosafrole (97%), limonene (97%), linalool (97%), menthol(99%), menthone (90%), α-pinene (98%), β-pinene (99%), pulegone (85%), perillyl alcohol (96%), γ-terpinene (97%)은 Aldrich에서 구입하였다.

다) 훈증독성 시험

털두꺼비하늘소에 대한 monoterpenoid의 훈증독성은 자른 후 4개월 정도 된 참나무토막(평균 Φ5.5×13cm)을 투명한 원통형아크릴용기(Φ9×15cm)에 넣고, 성충을 다섯 마리씩 접종하였다. 시험에 사용한 monoterpenoid는 액상으로 filter paper(Φ5.5cm/2)에 일정량(5, 10, 20㎕/954㎖공기)의 원액을 처리하여 원통형아크릴용기 바닥에 놓고 monoterpenoid가 용기 밖으로 휘발되는 것을 막기 위해 페트리디쉬(Φ9cm)를 뚜껑으로 사용하였다. 처리 3, 6, 12, 24시간 후에 사충수를 조사하였으며, 모든 시험은 4반복 이상으로 하였다. 시험 조건은 온도 25~28℃, 광주기 16L : 8D, 상대습도 50~60%로 하였다. 결과 분석은 Tukey's studentized range test (SAS Institute, 1991)를 이용하였다.

라) 접촉독성 시험

접촉독성 시험은 monoterpenoid를 에탄올에 용해시켜 100 ppm의 triton

X-100 계면활성수용액과 혼합하여 희석액 중에 에탄올과 계면활성수용액의 비율이 2.5 : 7.5가 되도록 조제한 희석액 (10,000 ppm)에 자른 후 4개월 정도 된(2002년 2월에 벌채) 참나무토막(평균 Φ5.5×13cm)이 충분히 젖도록 3분 동안 침지한 후 음건하여, 원통형아크릴용기(Φ9×15cm)에 넣고, 성충을 5마리씩 접종하고, 48시간 후에 사충수를 조사하였다. 단 훈증으로 인한 영향을 최소화하기 위해 철망이 부착 된 페트리디쉬(Φ9cm)를 뚜껑으로 사용하였다. 에탄올과 계면활성수용액(100 ppm의 triton X-100)의 비율이 2.5 : 7.5가 되도록 조제한 희석액은 털두꺼비하늘소 성충의 접촉독에 영향이 없었다. 모든 시험은 4반복으로 하였으며, 시험조건은 훈증독성 시험과 같게 했다. 결과 분석은 Tukey's studentized range test (SAS Institute, 1991)를 이용하였다.

마) 후각계를 이용한 기피반응 시험

후각계를 이용한 기피반응시험은 Y-tube olfactometer (ID 6cm; stem 24cm; arm 22cm angle to the stem 70°)에서 검정하였다. 시험에 사용된 monoterpenoid로 털두꺼비하늘소 암컷 성충의 반응에 빛으로 인한 유인성을 배제하기 위해서 직사광선이 없는 암실조건에서 시험하였으며, 성충을 움직이게 하는 광원으로써 형광등(FPL27EX-N)에 검정색 셀로판지를 코팅해서 사용하였다. 진공펌프 (THOMAS MEDI PUMP®)로 Y-tube olfactometer의 내부에 흐르는 공기의 유속을 100㎖/min의 조건으로 하였다. 각 arm을 통해 들어오는 공기는 activated charcoal, silica gel blue로 여과하여 신선한 공기가 흐르도록 했으며, 한쪽의 arm 말단부에는 적정량의 monoterpenoid를 처리한 (0.25, 1, 5㎕) filter paper를 놓았고, 다른 한쪽은 무처리의 filter paper를 놓았다. Stem의 말단부에 털두꺼비하늘소 암컷 성충을 놓고, 4분내에 arm의 말단부에 접촉한 암컷 성충을 반응한 것으로 간주했다. 한 화합물에 대해서 30마리씩 시험하였으며, 광원에 의한 오차를 줄이기 위해 Y-tube olfactometer의 위치를 반복마다 서로 바꾸어 주었다. 다른 약제를 시험하기 전에 Y-tube olfactometer는 에탄올과 증류수로 씻고, 100℃에서 적어도 2시간 이상 건조시켜서 사용하였다. 결과 분석은 binominal sign test(Zar, 1996)를 이용하였다.

바) 산란기피시험

털두꺼비하늘소에 대한 monoterpenoid의 산란기피 시험은 직육면체 아크릴상자(가로 26×세로 30×높이 30cm)에서 수행했다. 참나무토막은 최소 4개월 전(2002년 2월에 벌채)에 잘랐던 것을 사용하여 자연상태에서 산란하는 나무조건과 동일하게 했다. 참나무토막에 화합물처리 방법은 접촉독성시험에서 처리한 방법과 동일하게 하였으며, 직육면체 아크릴상자에는 화합물이 처리된 참나무토막과 무처리의 참나무토막을 함께 넣어서 털두꺼비하늘소 암컷 성충이 두 개중 선택조건하에서 산란한 산란공수를 조사하였다. 화합물 처리목과 무처리목이 있는 아크릴상자에 털두꺼비하늘소 성충 암컷과 수컷의 비율을 1:1로 하여 20쌍씩 접종하였다. 에탄올과 계면활성수용액(100 ppm의 triton X-100)의 비율이 2.5:7.5가 되도록 조제한 희석액10,000ppm)은 털두꺼비하늘소 암컷성충의 산란에 영향을 미치지 않았다. 모든 시험은 3반복으로 수행했다. 결과 분석은 binominal sign test(Zar, 1996)를 이용하였다.

사) 포장에서의 산란기피 시험

산란기피 시험은 충북대학교 내의 야산에 직육면체 차광망(가로 100×세로 100×높이 80cm)을 설치하고, 1,000, 10,000ppm으로 희석한 화합물을 골고루 분무한 참나무원목(평균직경 15×길이 120cm)과 무처리의 참나무원목을 넣고, 털두꺼비하늘소 성충(♀:♂=1:1)을 화합물처리 후 0, 3, 6일째에 각각 30쌍씩 접종하고, 3일후에 산란공수를 조사하였다. 모든 시험은 3반복으로 수행했다. 시험에 사용된 모든 참나무 원목은 일반농가에서 사용되는 참나무 원목과 같은 조건의 것을 사용하였다. 결과 분석은 binominal sign test (Zar, 1996)를 이용하였다.

2) 버섯파리 시험

가) 시험 곤충

시험에 이용한 버섯파리는 경남 진주시 진성면 동산리에서 채집한 검정

날개버섯파리(*Phorodonta flavipes*) 유충 및 성충을 이용하였으며 성충은 우화 1일차 성충을, 유충은 3령충을 접종하였다.

나) 공시물질

이 시험에 사용된 물질은 실험실에서는 양고추냉이(horse- radish) 추출 정유원액을 이용하였으며 포장(버섯재배사)에서는 양고추냉이 추출정유를 이용하여 시제품으로 제작한 캡스탄 분사제((주) 비아이지)를 이용하였다.

다) 시험방법

(1) 실내검정

버섯파리 유충은 페트리디쉬(150×15㎜)에, 성충은 4.4ℓ의 플라스틱용기에 접종한 후 공시물질을 부직포에 10㎕부터 160㎕까지 처리하고 밀폐한 다음 48시간 후 사충율을 조사하였다.

(2) 포장시험

진주시 진성면 동산리 소재 느타리버섯 재배사 132㎡ 규모에 공시물질 48g과 96g를 처리한 후 48시간 후 사충율을 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 털두꺼비하늘소 시험

가) 훈증독성

털두꺼비하늘소 성충에 대한 monoterpenoid의 훈증독성은 실내에서 수행했다(Table 10). 각 약제에 대한 훈증활성은 확연한 차이를 나타냈다. 20㎕/954㎖(공기)의 농도에서 대부분의 화합물은 24시간까지 살충률이 0~40%를 나타냈으나 cineole, fenchone, pulegone, γ-terpinene은 24시간이내에 100%의 살충률을 보였다. 이 4개의 monoterpenoid를 이용하여 20, 10, 5㎕/954㎖(공기)의 농도로 처리하여, 각각 3, 6, 12, 24시간째에 훈증독성으로 인한 살충률을 조사

하였다(Fig. 10). 20㎕/954㎖(공기)를 처리하였을 때에는 4약제 모두 12시간이내에 90%이상의 살충률을 보였고, 10㎕/954㎖(공기)를 처리하였을 때에는 pulegone이 6시간째부터 γ-terpinene은 3시간째부터 각각 100%의 살충률을 나타냈다. 5㎕/954㎖(공기)를 처리했을 때에는 pulegone만이 12시간째부터 100%의 살충률을 나타냈다. 각 약제는 농도에 따라 훈증독성 활성에 차이가 있었으며, pulegone이 5㎕/954㎖(공기)까지의 농도에서 100%의 살충률을 보여 훈증독성에 대해서는 가장 효과가 우수한 것으로 나타났다.

Ngoh *et al.*(1998)은 이질바퀴에 대한 9종의 monoterpenoid 중 sarfrole과 isosarfrole이 훈증효과가 높았고, Roger와 Hamraoui(1995)는 강남콩바구미에 대해서 13종의 monoterpenoid 중 linalool이 가장 높았다고 보고하였다. Rice와 Coats(1994)은 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*)에 대한 훈증독성에서 합성유기인계 살충제인 DDVP와 비교하여 pulegone의 LC_{50}값이 더 낮게 나타냈고, fenchone은 DDVP와 유사한 LC_{50}값을 보였다고 하였다. 또한 Prates *et al.* (1998)은 가루개나무좀(*R. dominica*)에 대해 1,8-cineole의 훈증효과가 뛰어났으며, Kim과 Ahn(2001)은 (+)- fenchone이 저곡해충인 쌀바구미와 팥바구미 그리고 권연벌레에 대해서 100%의 훈증독성을 보였다고 보고하였다.

나) 접촉독성

털두꺼비하늘소 성충에 대한 접촉독성 시험에 대한 결과는 Table 11에 나타냈다. 30개의 monoterpenoid에 대해 10,000ppm에서 70%의 살충률을 보인 pulegone이 가장 높게 나타났고, 그 외 대부분의 화합물은 살충력이 없거나, 아주 경미하게 나타났다. 그러나 pulegone은 훈증독성 시험에서 5㎕의 적은 약량에서도 살충율이 높게 나타났다는 것을 볼 때(Table 10), 접촉독성 시험을 수행시 유출되는 적은 양의 휘발성분이 살충률에 영향을 미칠 수 있을 것이라 생각된다.

Ngoh *et al.* (1998)은 이질바퀴에 대한 9종의 monoterpenoid 중 eugenol이 가장 우수한 접촉독을 나타냈고, Kim과 Ahn (2001)은 (+)-fenchone이 쌀바구미와 팥바구미에 대해서 우수한 접촉독성이 있음을 보고하였다. 또 Lee *et al.* (1997)은 34종의 monoterpenoid에 대한 western corn rootworm(딱정벌레목)은 토양처리, 점박이응애은 잎침지법, 집파리는 국부처리에서 살충활성을 조사한

결과, western corn rootworm에 대해서 carveol과 perillaldehyde, 점박이응애에 대해서 carvomenthenol과 terpinon-4-ol, 집파리에 대해서 citronellic acid, thymole이 각각 대조약제에 비교하여 활성이 낮았지만, 높은 살충활성을 나타내었고, Ngoh *et al.*(1998)은 이질바퀴에 대한 9종의 monoterpenoid중 eugenol이 가장 우수한 접촉독을 나타내었다고 보고하였다. 또 Harwood *et al.*(1990)은 거세미나방의 경우에는 인공사료에 monoterpenoid를 처리하여 유충의 살충률 조사한 결과 menthone, α-pinene, pulegone이 효과가 있다고 보고한바 있다. 그러나 본 실험의 결과에서와 같이 많은 논문에서 monoterpenoid 화합물이 접촉독이 없거나, 아주 경미한 것으로 보고된바 있다(Keita *et al.*, 2000; Rice and Coats, 1994; Tiberi *et al.*, 1999).

다) 후각계를 이용한 기피반응

25개의 monoterpenoid를 이용하여 털두꺼비하늘소 암컷성충에 대한 Y-tube olfactormeter에서 수행한 후각반응은 bornylacetate, carvacrol, 1,8-cineole, menthol이 1㎕의 약량에서 각각 70.0, 66.7, 67.9, 74.1%로 약제에 대해 기피반응을 보였고, 반면 citronellol은 69.2%의 유인반응을 보였다(Table 12). 위의 유의성($P<0.05$)이 있었던 5 화합물를 중심으로 10㎕, 1㎕, 0.25㎕의 농도별 후각반응을 평가하였다(Table 13). 모든 화합물에 대해 0.25㎕에서는 유의성이 없었으며, 1㎕를 처리했을 때는 유의성($P<0.05$)이 있었다. 10㎕를 처리했을 때에는 1,8-cineole, menthol은 각각 69.0($P<0.05$), 75.0($P<0.01$)%의 기피반응을 보였으나, bornylacetate와 carvacrol에서는 기피나 유인반응에 대한 유의성이 없었다. Citronellol은 1㎕에서 69.2 ($P=0.038$)%로 유인반응을 보였지만, 10㎕에서는 74.1($P<0.01$)%의 기피반응을 보였다. 이러한 결과처럼 농도에 따라 후각반응의 차이는 차후 상세한 검토가 필요하다.

또 본 실험에서 1,8-cineole은 털두꺼비하늘소에 대해 기피반응을 보였으나, Ngoh *et al.*(1998)는 이질바퀴약충에 대한 후각계(linear track olfactometer)를 이용한 9종의 monoterpenoid의 기피반응은 safrole이 가장 우수한 것으로 나타났다. 한편 Byers *et al.*(1985)은 α-pinene이 소나무좀(*Tomicus piniperda*)에 대해서 유인성이 있다고 보고하였다. 그러나 털두꺼비하늘소에 대해서는 이들 화합물들은 반응하지 않았다. 이것은 monoterpenoid

가 해충에 대해서 특이하게 작용할 수 있다는 것을 시사한다.

라) 산란기피효과

Monoterpenoid를 10,000ppm의 농도로 하여 참나무에 처리했을 때 털두꺼비하늘소 암컷 성충에 대한 산란기피효과를 보았다(Table 14). 25개의 monoterpenoid 중에서 80%이상의 산란기피효과를 보인 화합물은 carveol (97.6%), citronellol(84.0%), geraniol(84.8%), linalool(88.2%), perillyl alcohol(87.8%), pulegone(84.6%)으로 나타났으며, 특히 6 화합물 모두 고도의 유의성($P<0.01$)을 보였다. 산란기피율이 80%이상인 화합물을 가지고 10,000ppm과 1,000ppm에서 각각 산란기피효과를 보았다(Table 15). 모든 화합물에 대해 10,000ppm에서는 Table 14에서 보여주었던 것과 마찬가지로 높은 산란기피효과를 보였고, 1,000ppm에서는 carveol, perillyl alcohol이 각각 82.1, 87.5%로 다소 높은 산란기피효과를 보였다. Geraniol은 78.3%의 산란기피율을 보여 carveol과 perillyl alcohol보다 낮게 나타났으나 무처리목과 처리목 사이에서 고도의 유의성($P=0.005$)을 보였다. Tiberi *et al.* (1999)은 *Thaumetopoea pityocampa* (제주나방과)에 대해서 limonene은 산란기피효과가 있다고 보고하였고, 특히 소나무에서 생성되는 (*S*)-(-)- limonene보다 (*R*)-(+)-limonene이 산란기피효과가 더 큰 것으로 보고하였다. 본 실험의 결과에서는 limenone이 산란기피에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Keita *et al.* (2000)은 *O. basilicum* (basil)의 essential oil을 이용하여 콩바구미과의 *Callosobruchus maculatus*에 대해 산란수를 조사한 결과 0.8개로 무처리의 55개와 비교하여 산란기피효과에 있어서 큰 차이가 있었으며, basil의 주성분은 주로 알코올군의 linalool, methyl chavicol, 1,8-cineol 등이며, 이번 실험의 결과에서도 3종 화합물(carveol, geraniol, perillyl alcohol) 또한 알코올군이었다.

마) 포장에서의 산란기피효과

실내검정에서 산란기피효과가 우수했던 carveol, perillyl alcohol, geraniol을 가지고 야외포장시험을 수행한 결과는 Fig. 11과 같다. 선택조건하에서 각각 10,000ppm과 1,000ppm으로 처리하여 산란공수를 조사한 결과, 10,000ppm에서는 3화합물 모두 3일째에는 무처리목과 처리목사이에 산란공수의 차이가 확

연하게 나타났다. Carveol은 무처리목에서 38개, 처리목에서 14개의 산란공수가 조사되었으며, geraniol은 무처리목에서 34개, 처리목에서는 6개가 조사되었고, perillyl alcohol은 무처리목에서 24개, 처리목에서는 5개의 산란공수가 조사되었다. 그러나 6일째부터는 현저하게 산란기피효과가 떨어졌으며, perillyl alcohol만이 6일째에 무처리목에서 30개, 처리목에서는 16개로 다소 산란공수의 차이를 보였다. 1,000ppm에서는 geraniol만이 3일째에 무처리목 41개, 처리목 6개의 산란공수 차이를 보여 산란기피효과를 볼 수 있었고, 다른 화합물들은 산란공수 차이가 경미하거나 무처리목보다 처리목에서 산란공수가 더 많이 조사되었다.

Roger와 Hamraoui(1995)는 carvacrol, linalool, eugenol, thymol, terpineol이 강낭콩바구미(*Acanthoscelides obtectus*)에 대해 산란수 감소가 있었다고 보고하였다. 앞으로의 과제로는 나타난 시험 결과에서 본 것처럼 잔효성을 유지하는 제형개발 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Table 10. Fumigant toxicity of monoterpenoids against *Moechotypa diphysis* adults at 24 h after filterpaper application in 954㎖ fumigation chamber

Monoterpenoid	n[a)]	Conc.(㎕)	% Mortality[b)] (Mean±SD)	
Bornyl acetate	20	20	20±0	c
Camphor	20	20	0±0	d
Carvacrol	20	20	0±0	d
Carveol	20	20	0±0	d
Carvone	20	20	40±0	b
1,8-Cineole	20	20	100±0	a
Citral	20	20	0±0	d
Citronellic acid	20	20	0±0	d
Citronellol	20	20	0±0	d
Eugenol	20	20	0±0	d
Fenchone	20	20	100±0	a
Geraniol	20	20	0±0	d
Isosafrole	20	20	10±11.5	cd
Limonene	20	20	40±16.3	b
Linalool	20	20	0±0	d
Menthol	20	20	0±0	d
Menthone	20	20	0±0	d
P-cymene	20	20	25±10.0	bc
Perillyl alcohol	20	20	0±0	d
Pulegone	20	20	100±0	a
γ-Terpinene	20	20	100±0	a
Safrole	20	20	0±0	d
α-Pinene	20	20	0±0	d
β-myrcene	20	20	0±0	d
β-Pinene	20	20	10±11.6	cd
Control	20	-	0±0	d

[a)]Number of insects tested.
[b)]Means followed by the same letter are not significantly different P=0.05 by Tukey's studentized range test (SAS Institute, 1991).

Table 11. Contact toxicity of monoterpenoids against *M. diphysis* adults at 48 h after oak log-dip application

Monoterpenoid	n[a)]	Conc.(ppm)	% Mortality[b)] (Mean±SD)	
Bornyl acetate	20	10,000	0±0	d
Camphor	20	10,000	0±0	d
Carvacrol	20	10,000	0±0	d
Carveol	20	10,000	0±0	d
Carvone	20	10,000	35±12.9	b
1,8-Cineole	20	10,000	0±0	d
Citral	20	10,000	0±0	d
Citronellic acid	20	10,000	0±0	d
Citronellol	25	10,000	37.5±9.6	b
Eugenol	20	10,000	0±0	d
Fenchone	20	10,000	0±0	d
Geraniol	23	10,000	25±5.8	c
Isosafrole	20	10,000	0±0	d
Limonene	20	10,000	0±0	d
Linalool	20	10,000	0±0	d
Menthol	20	10,000	20±0	c
Menthone	20	10,000	0±0	d
P-cymene	20	10,000	0±0	d
Perillyl alcohol	20	10,000	0±0	d
Pulegone	20	10,000	70±11.6	a
γ-Terpinene	20	10,000	0±0	d
Safrole	20	10,000	0±0	d
α-Pinene	20	10,000	0±0	d
β-myrcene	20	10,000	0±0	d
β-Pinene	20	10,000	0±0	d
Control	20	-	0±0	d

[a)]Number of insects tested.
[b)]Means followed by the same letter are not significantly different P=0.05 by Tukey's studentized range test (SAS Institute, 1991).

Table 12. Repellency of monoterpenoids against *M. diphysis* females using a Y-tube olfactometer

Monoterpenoid	Conc. (μℓ/filter paper)	No. of insects in Sample side(S)	Control side(C)	No choice	%[a]	Sign-test[b]
Bornyl acetate	1	9	21	0	70.0	$P<0.05$
Camphor	1	11	12	7	52.2	ns[c]
Carvacrol	1	10	20	0	66.7	$P<0.05$
Carveol	1	17	10	3	37.0	ns
Carvone	1	12	11	7	47.8	ns
1,8-Cineole	1	9	19	2	67.9	$P<0.05$
Citral	1	13	11	6	48.8	ns
Citronellic acid	1	14	16	0	53.3	ns
Citronellol	1	18	8	4	30.8	$P<0.05$
Eugenol	1	10	12	8	54.5	ns
Fenchone	1	10	13	7	56.5	ns
Geraniol	1	9	17	4	65.4	ns
Isosafrole	1	12	15	3	55.6	ns
Limonene	1	15	9	6	37.5	ns
Linalool	1	13	11	6	45.8	ns
Menthol	1	7	20	3	74.1	$P<0.01$
Menthone	1	15	12	3	44.4	ns
p-cymene	1	16	10	4	38.5	ns
Perillyl alcohol	1	18	11	1	37.9	ns
Pulegone	1	12	12	6	50.0	ns
γ-Terpinene	1	6	19	5	76.0	ns
Safrole	1	14	11	5	44.0	ns
α-Pinene	1	11	11	8	50.0	ns
β-myrcene	1	18	9	3	33.3	ns
β-Pinene	1	15	11	4	42.3	ns

[a]Repellency (%)=C / S+C x 100
[b]Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).
[c]ns : not siginificant.

Table 13. Repellency of five monoterpenoids against *M. diphysis* females using a Y-tube olfactometer

Monoterpenoid	Conc. (μℓ/filter paper)	No. of insects in Sample side(S)	Control (C)	No choice	%[a]	Sign-test[b]
Bornylacetate	10	15	11	4	42.3	ns[c]
	1	9	20	1	69.0	$P<0.05$
	0.25	12	13	5	52.0	ns
Carvacrol	10	9	16	5	64.0	ns
	1	9	21	0	70.0	$P<0.05$
	0.25	13	14	3	51.9	ns
1,8-Cineole	10	9	20	1	69.0	$P<0.05$
	1	8	18	4	69.2	$P<0.05$
	0.25	12	14	4	53.8	ns
Citronellol	10	7	20	3	74.1	$P<0.01$
	1	18	8	4	30.8	$P<0.05$
	0.25	15	13	2	46.4	ns
Menthol	10	7	21	2	75.0	$P<0.01$
	1	8	20	2	71.4	$P<0.01$
	0.25	13	16	1	55.2	ns

[a]Repellency (%)=C / S+C x 100
[b]Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).
[c]ns : not siginificant.

Table 14. Ovipositional repellency of monoterpenoids against *M. diphysis* females in the two-choice condition

Monoterpenoids	Conc. (ppm)	No. of ovipositional holes		%[a]	Sign-test[b]
		Treated log (T)	Untreated log (U)		
Bornylacetate	10,000	8	4	33.3	ns[c]
Camphor	10,000	9	12	57.1	ns
Carvacrol	10,000	12	21	63.6	ns
Carveol	10,000	1	40	97.6	$P<0.01$
Carvone	10,000	11	18	62.1	ns
1,8-Cineole	10,000	4	1	20.0	ns
Citral	10,000	2	4	66.7	ns
Citronellic acid	10,000	7	11	61.1	ns
Citronellol	10,000	8	42	84.0	$P<0.01$
Eugenol	10,000	2	2	50.0	ns
Fenchone	10,000	6	6	50.0	ns
Geraniol	10,000	5	28	84.8	$P<0.01$
Isosafrole	10,000	11	16	59.3	ns
Limonene	10,000	12	17	58.6	ns
Linalool	10,000	8	60	88.2	$P<0.01$
Menthol	10,000	6	11	64.7	ns
Menthone	10,000	4	5	55.6	ns
P-cymene	10,000	2	2	50.0	ns
Perillyl alcohol	10,000	9	65	87.8	$P<0.01$
Pulegone	10,000	8	44	84.6	$P<0.01$
γ-Terpinene	10,000	2	2	50.0	ns
Safrole	10,000	8	13	61.9	ns
α-Pinene	10,000	9	11	55.0	ns
β-myrcene	10,000	11	5	31.3	ns
β-Pinene	10,000	6	7	53.8	ns

[a]Ovipositional repellency (%)=U / T+U x 100

[b]Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).

[c]ns : not siginificant.

Table 15. Ovipositional repellency of six monoterpenoids against *M. diphysis* females in the two-choice condition

Monoterpenoids	Conc. (ppm)	No. of oviposition hole		%[a]	Sign-test[b]
		Treated log (T)	Untreated log (U)		
Carveol	10,000	0	11	100	$P<0.01$
	1,000	5	23	82.1	$P<0.01$
Citronellol	10,000	0	13	100	$P<0.01$
	1,000	16	21	56.8	n.s[c]
Geraniol	10,000	0	10	100	$P<0.01$
	1,000	5	18	78.3	$P<0.01$
Linalool	10,000	8	60	88.2	$P<0.01$
	1,000	15	23	60.5	n.s
Pulegone	10,000	8	41	83.7	$P<0.01$
	1,000	34	23	40.4	n.s
Perillyl alcohol	10,000	9	72	88.9	$P<0.01$
	1,000	3	21	87.5	$P<0.01$

[a]Ovipositional repellency (%)=U / T+U x 100
[b]Significant differences were analysed by binominal sign test (Zar, 1996).
[c]n.s : Not siginificant.

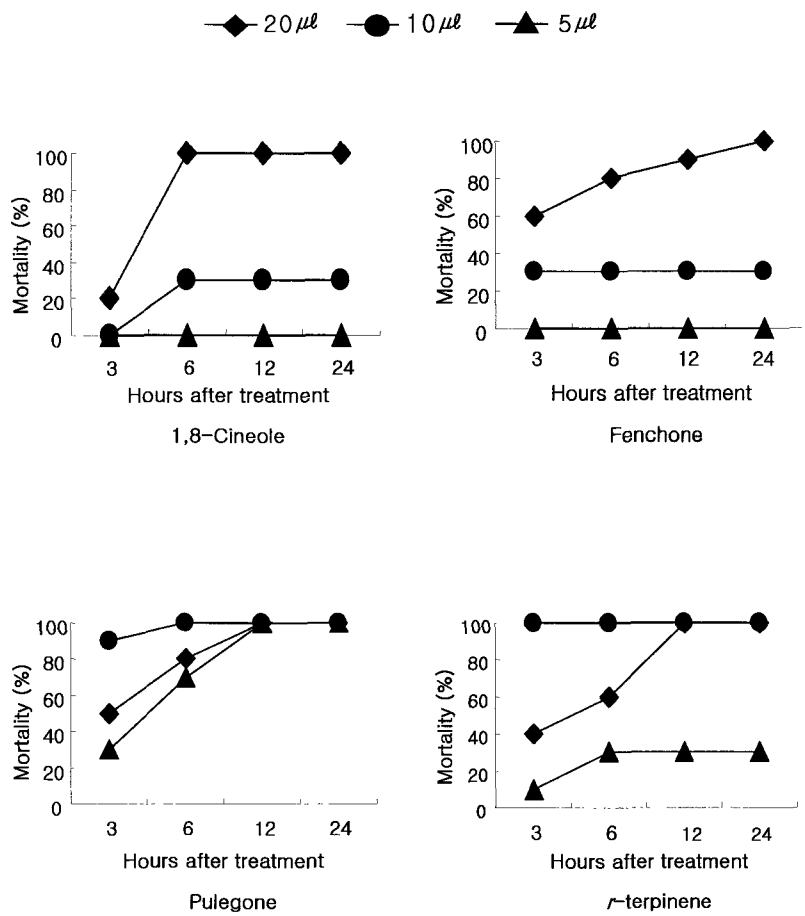


Fig. 10. Fumigant toxicity of four monoterpenoids against *M. diphysis* adults in 954 ㎖ fumigation chamber.

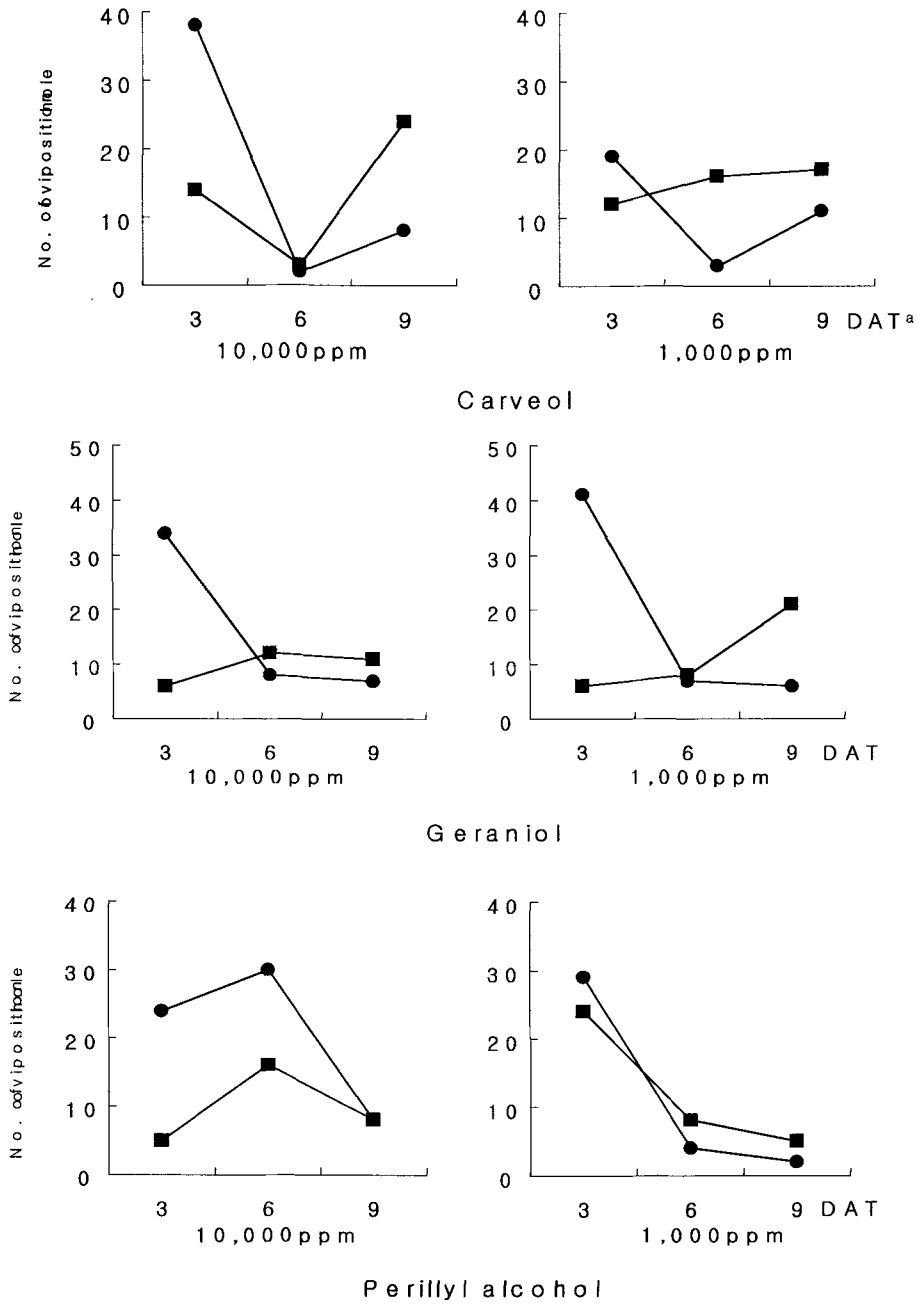


Fig. 11. Ovipositional repellency of carveol, geraniol and perillyl alcohol against *M. diphysis* females in the field (● Untreated log, ■ Treated log).
[a)]Days after treatment.

2) 버섯파리 시험

가) 실내검정

양고추냉이 추출물의 검정날개버섯파리 성충 및 유충에 대한 실내시험 결과 성충과 유충에 살충활성을 보였으며 유충 보다 성충에서 살충활성이 높게 조사되었다.

Table 16. Insecticidal activity of horse radish oil against *Phorodonta flavipes*

Treated no.	Conc. (㎕)	Mortality (%)	
		adult	larva
1	10	27.5	15
2	20	77.6	25
3	40	100	60
4	80	100	100
5	160	100	100
6	-	0	0

나) 포장시험

느타리버섯 재배사에서 검정날개버섯파리에 대한 포장시험을 한 결과, 성충에 대한 살충효과는 50%, 75%의 살충효과를 보였으나 유충에 대한 살충효과는 미흡한 것으로 조사되었다(Table 17).

Table 17. Insecticidal activity of horse radish oil against *Phorodonta flavipes* in the field

Treated material	Conc.	Mortality (%)	
		larva	adult
horse radish oil	48g/132㎡	25	50
	96g/132㎡	40	75

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

가. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

구 분	평가의 착안점 및 달성도	
	착 안 사 항	달성도 (%)
1차년도 (1999)	○ 대상 수종 선정은 합리적인가	100
	○ 배지개발 접근방법은 타당한가	100
2차년도 (2000)	○ 대상 수종의 톱밥배지 조성조건은 적합한가	100
	○ 배지별 균사생장과 성분이용특성은 조사되었는가	100
	○ 영양제 첨가조건 및 배양조건은 조사되었는가	100
3차년도 (2001)	○ 선발배지의 적성검사는 수행하였는가	100
	○ 선발배지의 생산성조사는 적절한가	100
	○ 선발배지의 버섯품질은 실용성이 있는가	100
4차년도 (2002)	○ 개발된 배지는 생산성이 있는가	100
	○ 개발된 배지는 실용성이 있는가	100
	○ 개발된 배지는 경제성이 있는가	100

나. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

구 분	평가의 착안점 및 달성도	
	착 안 사 항	달성도 (%)
1차년도 (1999)	○ 대상수종 선정 및 배지개발 접근방법은 타당한가	100
	○ 목재 주성분 분석과 추출물함량 측정방법은 타당한가	100
	○ 균사생장 저해물질분석은 잘 이루어지고 있는가	100
2차년도 (2000)	○ 배지성분분석을 통한 영양원 탐색은 타당한가	100
	○ 균사생장촉진을 위한 영양원은 가능성이 있는가	100
3차년도 (2001)	○ 저해물질 제거를 위한 전처리방법은 타당한가	100
	○ 침엽수톱밥배지의 첨가 영양원은 효과적인가	100
	○ 침엽수톱밥배지의 성능탐색결과는 합리적인가	100
4차년도 (2002)	○ 신균주의 균사생장 저해인자는 구명되었는가	100
	○ 선발된 영양제는 실용적인가	100
	○ 선발된 톱밥배지의 생산성은 검토되었는가	100

다. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

구 분	평가의 착안점 및 달성도	
	착 안 사 항	달성도 (%)
1차년도 (1999)	○ 표고균주자원 수집은 충분한가 ○ 새로운 육종이 합리적으로 수행되었는가 ○ 공시균주의 생산성검정은 원만히 수행되었는가	100 100 100
2차년도 (2000)	○ 표고균주자원 수집은 충분한가 ○ 새로운 육종이 합리적으로 수행되었는가 ○ 공시균주의 생산성검정은 원만히 수행되었는가	100 100 100
3차년도 (2001)	○ 표고균주자원 수집은 충분한가 ○ 새로운 육종이 합리적으로 수행되었는가 ○ 공시균주의 생산성검정은 원만히 수행되었는가	100 100 100
4차년도 (2002)	○ 새로운 육종기술이 정립되었는가 ○ 우량품종개발의 목표가 달성되었는가	100 100

라. 병해 방제기술 개발

구 분	평가의 착안점 및 달성도	
	착 안 사 항	달성도 (%)
1차년도 (1999년)	○ 피해수준 조사는 제대로 이루어지고 있는가 ○ 병원균의 분리, 동정은 잘 이루어지고 있는가 ○ 표고균주별 병해저항성 검정은 잘 이루어지고 있는가	100 100 100
2차년도 (2000년)	○ 피해수준 조사는 제대로 이루어 졌는가 ○ 피해부위별 병원균의 분리, 동정은 잘 이루어졌는가 ○ 표고균주별 병해저항성의 검정은 잘 이루어졌는가 ○ 다양한 환경하에서 병원균의 생장조사는 성공적으로 이루어졌는가	100 100 100 100
3차년도 (2001년)	○ 병해 발병기작 구명은 밝혀졌는가 ○ 병해 방제기술의 개발은 성공적인가	100 100

마. 충해 방제기술 개발

구 분	평가의 착안점 및 달성도	
	착 안 사 항	달성도 (%)
1차년도 (1999)	○ 표고가해 해충상조사를 원만히 수행되었는가 ○ 수종별 산란 선호성 구명은 잘 추진되고 있는가 ○ 성충유인 요인분석은 타당한가 ○ 우수약제 선발은 제대로 추진되고 있는가	100 100 100 100
2차년도 (2000)	○ 수종별 산란 선호성은 구명되었는가 ○ 성충유인 요인분석은 타당한가 ○ 우수약제선발은 제대로 추진되고 있는가 ○ 기피제 개발추진은 타당한가	100 100 100 100
3차년도 (2001)	○ 성충유인 요인분석은 잘 되었는가 ○ 우수약제는 선발 되었는가 ○ 기피제는 개발되었는가	100 100 100

2. 기술적 기여도

가. 새로운 톱밥배지 개발

미이용 수종의 표고 톱밥배지 개발과정에서 구명되는 연구결과는 톱밥을 원료로 하여 재배할 수 있는 각종 버섯의 재배기술개발에도 폭넓게 응용될 수 있으므로 버섯재배기술 전반에 미치는 파급효과도 상당히 크다.

표고 톱밥재배에 이용할 수 있는 각종 영양제와 배지적성 검토과정에서 구명되어지는 결과는 표고 생산성 향상을 위한 연구 분야에서 폭넓게 이용될 수 있다.

침엽수의 톱밥배지 개발 결과는 국내의 표고버섯 생산 기술자들에게 연구결과와 관련하여 세미나를 통하여 수차례 홍보함으로서 침엽수 톱밥을 이용한 표고재배에 대한 관심을 가지기 시작했다. 캐나다 온타리오주 University of Guelph에서 개최된 제 48회 캐나다 버섯인 협회 연차 세미나(2003년 4월 28일)에서도 본 연구결과와 관계하여 여러 명의 연구자 및 재배업자가 연구결과 및 내용을 문의하였다. 미국 펜실바니아주 Pennsylvania state university의 Peter Romaine 교수(현재 북미 버섯인 협회 의장)는 균사생장 저해물질의 제거방법과 저해물질의 이용법에 대한 연구결과에 대한 세미나를 요청하였다. 카나다 온타리오주 University of Guelph의 버섯연구실험동 개관기념 세미나(2003년 4월)에서 침엽수를 이용한 표고버섯 재배 관련 연구결과를 발표함으로서, 캐나다 및 미국의 버섯재배업자들의 문의가 수차례 있었다.

나. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

우량품종을 육성할 수 있는 새로운 기술이 정립됨으로써 임업연구원뿐만 아니라 타 연구소나 버섯관련 기업에도 표고품종육성을 수행하기 위한 중요한 기술자료를 제공하게 되고, 아울러 다른 버섯의 우량품종육성에도 도움을 줄 수 있다.

다. 병충해 방제기술 개발

병충해 방제기술개발은 버섯품종별로 특정병충해에 저항성을 나타내는 기작 구명과 방제기술 개발을 통하여 우량품종의 육종에 응용함으로서 문제가

되는 병충해에 대하여 내병충성인 품종을 개발할 수 있고, 다른 재배버섯 병충해 방제기술의 개발에도 적용될 수 있다.

3. 경제 · 산업적 기여도

가. 새로운 톱밥배지 개발

표고 톱밥재배」에 이용할 수 있는 미이용 활엽수 및 침엽수종이 개발되면 현재 사용되고 있는 참나무 수종보다 30%이상 원목 구입비를 절약할 수 있으며, 개발된 미이용 수종의 부가가치도 개발전보다 100%이상 상승될 수 있을 것이다. 또한, 국제경쟁력이 강화되어 연간 326만불에 달하는 중국산 표고 수입을 대체하게 될 것이다.

배지구입형 표고톱밥재배시의 년간 배지 수용규모는 최소, 한 농가당 40,000개(2.5kg배지)로 수익은 4천만원 정도('97 우리나라 재배사례)이며, 앞으로 원목재배 농가 8,000여호의 30%까지만 표고톱밥재배가 보급된다고 하여도 연간 농가소득액은 960억원으로 확대될 것이다.

표고 톱밥재배가 활성화되면 연중 계획생산을 할 수 있으므로 생표고 수출이 증대될 것이고, 또한, 표고 톱밥재배는 원목재배에 비하여 재배재료(원목)에 대한 버섯생산 수율이 높으므로 자원(재배수종)을 5~6배 절약할 수 있을 것이다.

나. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

표고톱밥재배가 실용화되어 표고재배의 약10%를 점유하게 되면, 표고 톱밥재배용 우량신품종 1개를 개발, 보급하는 경우 연간 약 80억원의 표고 판매 소득이 예상되고, 이러한 우량품종을 여러개 개발할 때의 소득증대효과는 지대한 것으로 생각된다. 또한 1개품종당 약 80만불의 수출증대효과가 기대되며, 우량신품종의 국내시장 점유에 따라 중국으로 부터의 표고수입은 크게 감소되는 것은 물론 국내에서 생산된 표고를 보다 저렴한 가격으로 유통시킬 수 있고, 무엇보다도 신선한 표고를 먹을 수 있는 장점이 있다.

다. 병충해 방제기술 개발

본 연구 결과, 표고재배자에게 표고의 주요해균인 푸른곰팡이와 주요해충인 털두꺼비하늘소에 대한 기초지식을 제공함으로써 방제요령을 습득할 수 있는 계기를 마련하였다. 표고의 병충해 방제기술의 개발은 표고 생산성 향상뿐만 아니라 버섯의 품질을 향상시킴으로서 농가소득 증대에 크게 기여할 것이다. 특히, 근래에 대규모 표고단지가 해균에 의해 막대한 피해를 입어 극심한 손실을 입는 경우가 있어 이에 대한 방제대책이 절실히 요구되는 시점에서 본 연구 결과는 귀중한 참고자료로 쓰일 것이다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 새로운 톱밥배지 개발

산림청 및 농촌진흥청, 기타 버섯관련기관의 교육과 임업협동조합을 통하여 전국의 표고 재배농가 및 영농조합에 기술을 보급하여 실용화한다.

전국의 종균배양소와 톱밥을 이용한 버섯재배 농가에 보급, 실용화한다.

개발된 기술을 다른 재배버섯의 배지개발에 응용하고, 새로운 버섯재배법 개발에 활용한다.

기술개발에 의한 저가 톱밥배지 보급으로 톱밥배지 구입형 재배를 일반화하여 건강식생활 유도와 의식수준을 향상한다.

본 연구를 통하여 새로이 개발된 기계 및 장치 공구 등을 농가에 보급하여 노동력을 절감시키고 생산성을 높여 국가경쟁력을 높이고 농촌근대화를 도모한다.

제 2 절 육종기술 개발 및 우량품종 육성

본 연구를 통해 di-mon 교배법이 간단하고 효과적인 표고균주의 육종기술로 정립되었으므로 보고서는 물론 여러 가지 전문학술지 등을 통해 누구나 본 연구성과를 접할 수 있도록 홍보한다. 본 시험 결과 표고 우수균주가 선발되어 품종등록을 위한 기초자료를 마련하였다. 품종등록을 하려면 추가연구가 필요하며, 궁극적으로 품종등록을 신청하고, 심사과정을 거쳐 등록을 마치면 각종 매체를 통해 홍보한다. 아울어 이를 원하는 전국 각지의 표고종균배양소에 원균을 분양하여 줌으로써 전국의 표고재배자에게 종균을 판매하도록 하여 표고재배자가 재배에 활용할 수 있게 한다. 궁긍적으로 표고 우량품종의 개발은 우리나라의 표고톱밥재배의 실용화가 늦어지고 있는 현 시점에서 톱밥재배를 정착시키는데 크게 기여할 것이다.

제 3 절 병충해 방제기술 개발

이 연구를 통하여 얻은 결과중에서 우리나라에서 재배품종으로 개발되었거나 현재 재배중인 표고품종 24종에 대하여 4종류의 푸른곰팡이 분리균주를 접

종하여 각 균주들에 대한 표고품종의 상대적인 저항성/저항성 정도를 조사하여 얻어진 결과는 표고의 새로운 품종 육종개발시 푸른곰팡이병에 저항성 품종을 육종하는데 이용할 수 있는 기초자료가 될 수 있다.

털두꺼비하늘소와 긴수염버섯파리에 대한 방제약종은 선발되었으나 약제등록을 위해서는 추가적인 약제등록시험 절차가 필요하며 생리활성물질 개발분야에 대한 진전된 연구와 실용화와 관련하여 잔효성을 유지하는 제형개발 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

긴수염버섯파리에 대한 방제약종은 느타리버섯 방제에도 활용이 가능할 것으로 판단되며 털두꺼비하늘소에 대한 생리활성물질 개발 연구는 우리 나라 소나무에 막대한 피해를 주고있는 소나무재선충병의 매개충인 솔수염하늘소의 방제를 위한 연구에 응용할 수 있을 것으로 판단된다.

제 6 장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학 기술정보

1. 중국 상해지역의 표고톱밥재배기술 연수

가. 여 행 자 : 임업연구원 화학미생물과 임업연구관 박원철
임업연구원 화학미생물과 임업연구사 윤갑희

나. 여 행 지 : 중국 상해시식용균연구소 및 재배현지

다. 여행목적 : 중국의 표고톱밥재배기술 연수

라. 여행경비 : 농림부특정연구과제 연구비(국외여비)

※ 표고의 새로운 배지개발과 생산성 향상 연구

마. 여행기간 : 2003. 3. 24.~3. 29.(6일간)

2. 수행내용

가. 상해시농업과학원 식용균연구소

(상해시 남화로 35호, 上海市 南華路 35號)

(1) 설립일시 : 1960년

(2) 운영방식

(가) 처음에는 정부에서 100% 출자한 정부기관이었으나, 현재는 정부보조 30%, 외부 연구용역 40%, 자체수입(산업화 회사 등) 40%로 자체운영하고 있음

(나) 각 연구실 중심으로 운영하고 있으며, 연구수요가 많고 연구결과가 실용화되어 연구소 수입에 크게 기여하는 등 실적이 좋은 연구부서는 연구실자체 실정에 맞도록 얼마든지 증원이 가능하도록 하여 실용화 성과 중심의 경쟁적인 체제로 운영하고 있었음

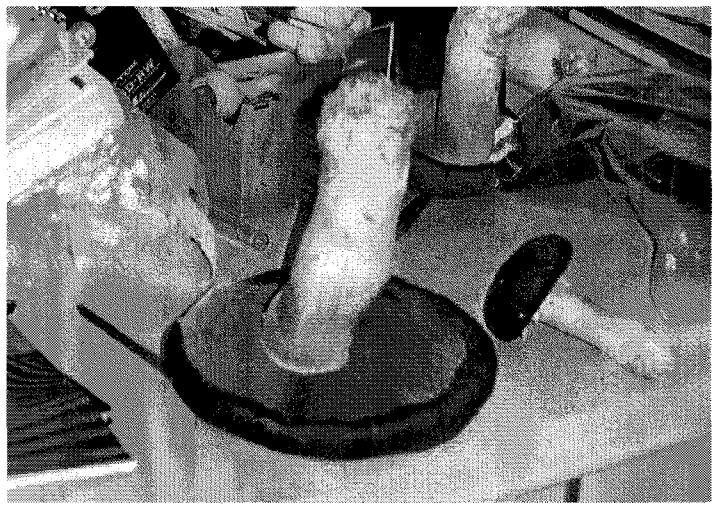
(3) 조 직

(가) 연구소 직원 : 70명

(나) 연구부서(4) : 유전육종연구실, 정보자원연구실, 신품종개발 및 시설재배연구실, 약용진균(약용버섯)연구실

(다) 행정부서(1) : 행정실

(라) 산업화부서(5) : 버섯종균전시 판매, 상해백신식약용버섯유한공사, 상해영신생물과기유한공사, 상해농림식용버섯유한공사, 상해구발식용균 생산품 품질 감독검정 시험센터



▲ 독청버섯아재비*Stropharia rugosoannulata*를 대형 식용버섯으로 새로이 개발하고 있음, 갓지름이 약 25cm를 상회한 대형 버섯임

▲ 버섯을 의약품(건강식품)으로 개발, 자체 회사에서

상품을 제조하여 판매하고 있음

나. 표고톱밥재배실태(시범농가 현지답사)

(上海市松江區食用菌技術普及所 관할, 책임자 錢海明)

(1) 배지조제

(가) 크기 : 지름 10cm, 길이 50cm(중량 약 1.5kg), 함수율 60~65%

(나) 조 성 : 톱밥78% + 면실박 + 미강20% + 설탕1% + 석고 1%

(2) 배지살균

대규모 배지생산에서는 121℃/1.2kg/㎠에서 1~1.5시간 고압살균하고 있으며 일반농가에서는 100℃에서 8시간 동안 상압살균 하는 것이 다수임

(3) 종균접종 : 9월 하순(배지의 이면과 표면에 각 4개소 천공, 종균 접종 후 접종구멍을 테이프로 밀봉함. 상해지역의 9월 하순의 온도 범위는 17.58℃~25.64℃이고, 평균온도는 21.38℃임

(4) 배지배양 : 9월 하순~11월 중순(2개월), 비가림 및 차광, 실내에서 배지를 3~4단으로 적층하여 배양. 이 시기의 온도 범위는 7.8℃~16.51℃이고, 평균 온도는 11.76℃임. 배양중의 톱밥배지 손실율은 10%~20%임.

(5) 버섯수확 : 11월 중순에서 다음해 5월 초순까지 약 5개월간 버섯을 수확하며 이때의 온도 범위는 13.63~22.08℃이고, 평균온도는 17.45℃임. 3월 하순은 버섯수확 말기에 해당함, 1.5kg배지 한개 당 약 1kg의 생표고를 수확하며 품질은 좋지 않음

(6) 표고톱밥재배 경영 참고자료(하우스 1동, 연간 배지 6,000개 재배)

<수입> : 66,000元(한화 10,560,000원)

- 생산량 : 생표고 1kg(배지 1개당)×6,000개=6,000kg
- 판매액 : 11元×6,000kg=66,000元(한화 10,560,000원)

<지출> : 18,900元(한화 3,024,000원)

- 비닐하우스 임대료 : 900元(한화 144,000원)/1동/년

※ 크 기 : 폭 6m, 길이 30m(54.5평, 상해 표준모델)

※ 배지 수용량 : 1.5kg배지 6,000개 재배

※ 토지사용료 : 300元(한화 48,000원)/년, 임대주 부담

※ 비닐하우스 설치경우 : 6,000元(한화 960,000원)소요

- 배지구입비 : 2.5元×6,000개=15,000元(한화 2,400,000원)

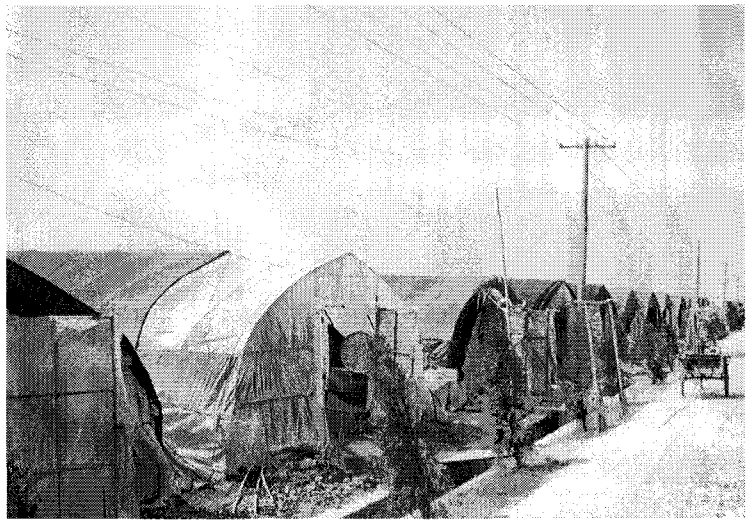
※ 1.5kg배지 1개당 2.5元(한화 400원)

※ 약 2개월간 배양된 것

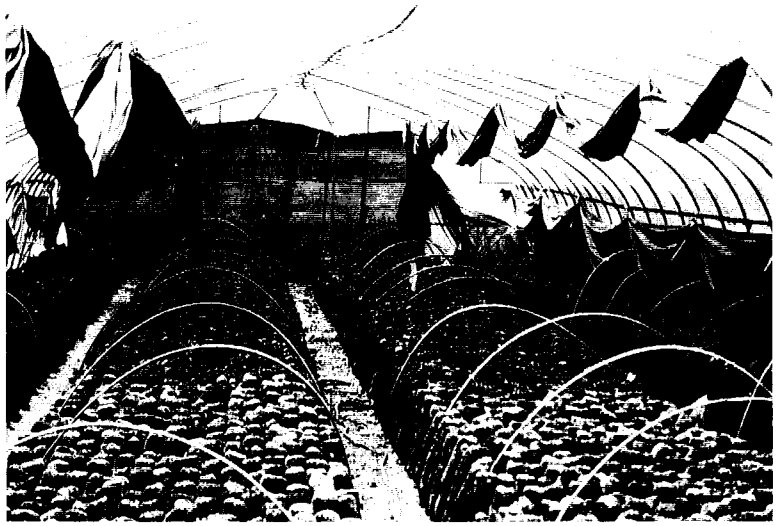
- 재배경영비 : 0.5元×6,000개= 3,000元(한화 480,000원)

<수익> : 47,100元(한화 7,536,000원)

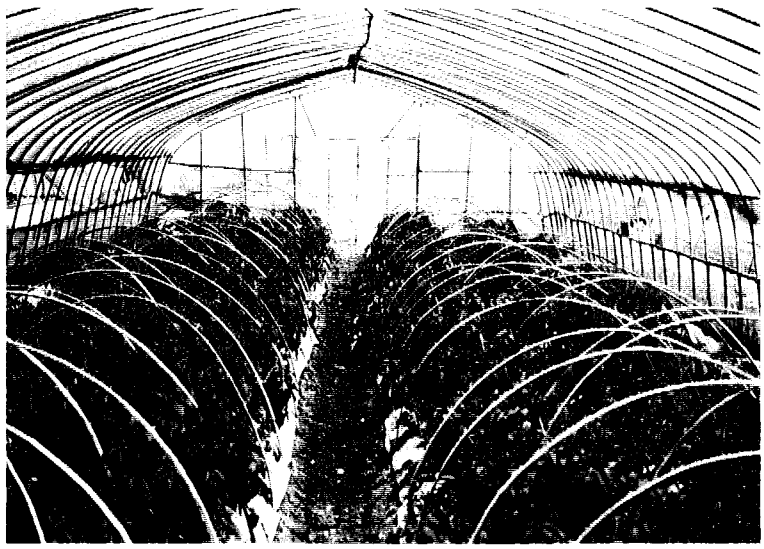
※ 66,000元-18,900元 = 47,100元(한화 7,536,000원)



▲ 상해 시범농가의 톱밥재배사(표준모델) 전경
이 지역에 80동의 재배사가 설치되어 있음



▲ 재배사 내부, 작년 11월 입상, 수확 말기임.
지면에 철선을 띄워놓고 상호교차 세워둠



▲ 여름철(6~8월)은 고온기로 버섯을 재배하지
않고, 채소를 재배하여 효율적으로 이용함

다. 중국의 버섯연구소와 재배현지를 다녀온 소감

- 수요가 많고 실용화 전망이 밝은 버섯연구 조직의 대폭확대 필요

(1) 버섯산업에 있어서 세계적으로 가장 우수한 경쟁력을 갖고 있는 중국의 버섯연구는 갈수록 다양화되고 이제는 대규모 산업화(공장화)를 고려한 시험적인 집중투자까지 이루어지고 있음

(2) 또한, 새로운 연구분야로 버섯을 이용한 의약품(건강식품) 개발이 1994년부터 시작되어 2003년 3월 현재까지 3종의 특허를 획득했으며, 2002년도의 개발상품(영지 건강식품 등) 판매액이 약 100만元(한화 1억6천만원)이나 된다고 함

(3) 우리도 국제경쟁력제고를 위하여는 다량증식이 가능한 임산버섯의 업화를 위하여 다양한 연구를 집중 실시하는 등, 대폭적인 연구조직 확대가 시급하다고 사료됨

제 7 장 참고문헌

1. 미이용 활엽수종의 톱밥배지 개발

Egar, G., H-D Gottward and U. Von Netzer : Mushroom Sci., 9(part 1), 1974. : 575.

Marsh, P. B., E. E, Tayler and L. M. Bassler : Plant Dis. Rep., Suppl., , 1959 : 252, 261.

Haruhiko Ishikawa, 1967, Physiological and Ecological Studies on *Lentinus edodes*(Berk.) Sing., Journal of Agricultural Laboratory No.8 : 1~57.

原 佐喜男, 1988, 3, シイタケ栽培指標, 長野縣林業指導所 : 23~24, 85.

小出博志, 竹內嘉江, 1994, シイタケの菌床栽培技術の開發-菌床栽培實用化試驗-, 長野縣林業總合センタ-研究報告(第8號) : 35~61.

Keisuke Tokimoto, Tadakazu Hiroi, Atsumi Nishida, Atsushi Tamai, and Masaki Fukuda, 1982. Changes of bed-log components and fruit-body yield during *Lentinus edodes* cultivation, *Rept. Tottori Mycol. Inst.(Japan)* 20 : 117~122.

Kazuo Watanabe, 1995, Effects of Physical properties of cultures on flushing patterns of fruiting bodies in the sawdust based cultivation of shiitake, *Lentiuus edodes* I, *Mokuzai gakkaishi* vol. 41, No.8 : 767~773.

大平郁男, 1991, シイタケ菌によるコナラの腐朽樣式と子實體發生に關する研究, 菌蕈研究所研究報告 29 : 70~128.

大平郁男, 古川郁夫, 作野友康, 1992, 菌蕈研究所業績報告 第 264號 : 327.

朴容煥 편저, 1997. 3. 10. 最新 버섯학, 한국버섯원균영농조합. : 115.

渡辺和夫, 1995, シイタケ菌床栽培における字實體發生に及ぼす諸要因について, 奈良縣林試研報 No.25 : 1~11.

寺嶋芳江, 1992, ナメコ菌床栽培の培地基材としてのマテバシイ(*Pasania edulis*) 鋸屑 の適性, 日林誌 74 : 359~363.

吉澤伸夫, 伊藤朋子, 横田信三, 出井利長, 竹村次郎, 1995, マイタケ廢菌床

の 利用するきのこ栽培(Mushroom Cultivation by Using *Grifola frondosa* Cultural Wasters), 日本 木材學會 40周年記念大會要旨輯 : 616.

2. 미이용 침엽수종의 톱밥배지 개발

민두식, 조남석, 성재모, 조재명. 1995. 표고버섯(새로운 재배와 경영). 농민신문사. pp. 183~194.

Matsui, T., Y. Matsushita., K. Sugamoto., K. Ogawa., A. Komiyama and S. Muta. 2001. Mycelial Growth Inhibition of Shiitake (*Lentinula edodes*) by Several Terpenoids Isolated from Sugi (*Cryptomeria japonica*) Wood. Mokuzai Gakakaishi 47(1): 58~62.

Kawachi, S., S. Meguro and S. Inada. 1991. Cultivation of Shiitake (*Lentinula edodes*) on Wood-Meal Medium of *Cryptomeria japonica*. Inhibitory effect of ferruginol on mycelial growth. Mokuzai Gakkaishi 37(10): 971~975.

Nakajima, K., T. Yoshimato and T. Fukuzumi. 1980. Substances Inhibiting Growth of Shiitake Mycelium in Sugi Wood (*Cryptomeria japonica* D. Don). Mokuzai Gakkaishi 26(10): 698~702.

林野聽. 1984. 食用きのこ類の高度生産技術に開する總合研究. pp. 11~14.

박상진, 이종윤, 조남석, 조병묵. 1993. 목재과학 실험서. 광일문화사. pp. 473~534.

Bochardt, L. G. and D. B. Easty. 1983. Improvement in gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetate. Tappi 65(4): 127~128.

Yamanaka, K. 1995. Mushroom production and mushroom science. Mokuzai Gakkaishi 41(9): 795~804.

Shinsaku, K. ; Sadatoshi, M. ; Satoko, I. : *Mokuzai Gakkaishi*, 37, 971-975 (1991).

林野廳 : "食用きのこ類の高度生産技術た開する總合研究", 1983, p. 11-14.

大政正武 : 微生物, 2(6), 10-17 (1986).

Ken, N. ; Tomataka, Y. ; Toshio, F : *Mokuzai Gakkaishi*, 26, 698-702

(1980)
薩田淸明, 三木 康 : "滅菌・消毒マニユアル", 藤田企畫出版, 1982, p.32-34.
井上嘉幸 : "木材保護化學". 內全老學圃新社, 1969. p.261-262

3. 육종기술 개발 및 우량품종 육성

박원철, 이태수, 이원규, 변병호, 이창근. 1996. 선발육종 및 교잡육종에 의한 원목재배용 표고균주 육성. 한국임학회지 85(2):309-315.

이원규, 이은영, 박원철, 이창근. 1993. 표고 신품종 육성(I). 임업연구원연구보고 47:121~ 128.

박원철, 이태수, 변병호, 이창근. 1996. 표고 톱밥재배 적합품종 육성 및 발생처리에 관한 연구. 산림과학논문집 54:1-5.

박원철, 이은영, 윤갑희, 이원규, 이창근, 홍기성. 1994. 우리나라 표고의 생장, 부후특성 및 톱밥배양에 관한 연구. 한국임학회지 83(1):12-19.

이태수, 강호덕, 박원철, 이창근, 민두식. 1996. 우리나라 표고균주의 균사 및 자실체 조직내 단백질의 전기영동상. 산림과학논문집 54:207-213.

이태수, 박원철, 윤갑희, 고민규, 김세권, 김경희, 양성일, 김종원. 1997. Esterase 동위효소의 전기영동상에 의한 한국 표고균주의 계통구분. 산림과학논문집 55:164 -168

이태수, 박원철, 강호덕, 김세권, 변병호, 이창근, 이원규, 민두식. 1997. RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)검정을 이용한 한국 표고균주의 계통분류. 산림과학논문집 55:169-175.

차동렬, 유창현, 김광포. 1989. 최신버섯재배기술. 450 pp. 농진회.

성재모, 유영복, 차동렬, 1998. 버섯학. 614 pp. 교학사.

김경수, 유창현, 차동렬. 1995. 최신식용버섯재배기술. 443 pp. 현암출판사.

金甲成, 李應來, 金永鍊, 邊炳彩. 1992. 短期林産 新所得源 開發에 關한 硏究 (Ⅱ) -표고栽培 經營모델 開發-. 山林廳:212-216.

朴魯朝. 1990. 표고 生産性에 미치는 多孔接種栽培. 建國大學校 農畜開發大學院 碩士學位論文:48pp.

李泰洙. 李元珪. 1995. 표고原木栽培 技術向上과 高品質 버섯生産. 버섯栽培의 新技術開發 特別講演會. 韓國菌學會:25-40.

李泰洙. 1995, 최근 원목재배의 비가림시설 재배에 관하여. 임산버섯 37호: 38-43.

小出博志, 竹内嘉江, 1994, シイタケの菌床栽培技術の開發-菌床栽培實用化試驗-, 長野縣林業總合センター研究報告(第8號) : 35~61.

渡辺和夫, 1995, シイタケ菌床栽培における子實體發生に及ぼす諸要因について, 奈良縣林試研 No.25 : 1~11.

寺嶋芳江, 1992, ナメコ菌床栽培の培地基材としてのマテバシイ(*Pasania edulis*) 鋸屑の適性, 日林誌 74 : 359~363.

吉澤伸夫, 伊藤朋子, 横田信三, 出井利長, 竹村次郎, 1995, マイタケ廢菌床の利用するきのこ栽培 (Mushroom Cultivation by Using *Grifola frondosa* Cultural Wasters), 日本 木材學會 40周年記念大會要旨輯 : 616,

赤石 博外 30人. 1995. '96年版きのこ年鑑. 農村文化社:268-283.

安藤正武, 溫水竹則, 日高忠利, 久保田暢子. 1969. シイタケ各系統生態および 形態的特性. 日本林試年報 224:1-38.

石川春彦. 1966. シイタケ子實體の發育機構. 菌蕈 12(10):12-17.

溫水竹則, 安藤正武, 堂園安生. 1950. シイタケ子實體の發生時期, 發生量および形態. 日本林試研報 116:27-57.

永井行夫, 伊藤達次郎, 西村九鳥子. 1962. シイタケ各系統の發生および生態的, 形態的特徵. 日本林試研報 147:79-117

橋岡良夫, 小松光雄, 有田郁夫. 1961. 交雜によって得られたシイタケ子實體の形態學的 生理學的性質. 菌茸研報:69-84

時本 景亮. 1996. 표고원목재배의 생리생태. 임산버섯 41호: 9-16

古塚 秀夫. 1988. しいたけ栽培經營の1000本當り生産量に基づく作況指數の算出と産地の類型區分. Rept. Tottori Mycol. Inst. 26:79-104

原 佐喜男. しいたけ經營指標. 長野縣林業指導所.173pp.

田中 英一郎. 1989. しいたけ原木林造成の手引き.76pp

日本推茸農協聯. 推茸要覽. 80pp.

朝日産業. 1996. 4連穴穿孔機광프렛

秋山種菌. 1996. 推茸用.6連完全自動植菌機광프렛

農村文化社編輯部. 1994. '95年版きのこガイドブック. 農村文化社: 128-147

Tai-Soo Lee, Won-Chull Bak, Ho-Duck Kang, Se-Kwon Kim, Byung-Ho Byun, Chang-Keun Yi, Won-Kyu Lee and Du-Sik Min. Classification of Korean Lentinula edodes Strains by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. 1997. Kor. J. Mycol. 25(3)219-225.

Haruhiko Ishikawa, 1967, Physiological and Ecological Studies on *Lentinus edodes*(Berk.) Sing., Journal of Agricultural Laboratory No.8 : 1~57.

Keisuke Tokimoto, Tadakazu Hiroi, Atsumi Nishida, Atsushi Tamai, and Masaki Fukuda, 1982. Changes of bed-log components and fruit-body yield during *Lentinus edodes* cultivation, *Rept. Tottori Mycol. Inst.(Japan)* 20 : 117~122.

Kazuo Watanabe, 1995, Effects of Physical properties of cultures on flushing patterns of fruiting bodies in the sawdust based cultivation of shiitake, *Lentiuus edodes* Ⅰ, *Mokuzai gakkaishi* vol. 41, No.8 : 767~773.

Przybylowicz P. 1988. Shiitake Growers Handbook. The Art and Science of Mushroom Cultivation. 217 pp. Kendall/Hunt Pub. Co. Iowa.

Chang, S.T., Buswell, J.A., and Chiu, S.W. 1993. Mushroom Biology and Mushroom Products. 370 pp. Nam Fung Printing Co., Hong Kong.

4. 병해방제기술 개발

성재모, 유영복, 차동렬. 1998. 버섯학. 614 pp. 교학사.

이종규 등. 1996. 영지의 새로운 병원성 진균, *Xylogone sphaerospoa*. 한국균학회지. 24(4):246-254.

이종규. 1999. 버섯병해의 종류와 예방 및 방제전략. 한국버섯연구회.

차동렬, 유창현, 김광포. 1989. 최신 버섯재배 기술. 450 pp. 농진회.

古川久彦, 野淵 輝. 1986. 栽培きのこ 害菌·害蟲. (社)全國林業開發普及協會.

羅信昌, 王家靑, 王淑才. 1994. 食用菌病蟲雜菌乃防治. 350 pp. 農業出版社.

Beach, W. S. 1937. Control of mushroom diseases and weed fungi. Pennsyl

vania State College of Agriculture Bulletin 351:1-32.

Elliot, T. J. 1995. Science and Cultivation of Edible Fungi. pp. 549-686. (Diseases and Disorders).

Fletcher, J. T. , White, P. F., and Gaze, R. H. 1989. Mushrooms: Pest and Disease control. 2nd ed. 174 pp. Intercept, Andover, UK.

Harman, G. E. and Kubicek , P. C. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol II. Enzymes, biological control and commercial applications. Mycoparasitism and lytic enzymes (153-172 pp.), *Trichoderma* as a weed mould or pathogen in mushroom cultivation (267-288 pp.), Taylor and Francis Ltd.

Ishikawa, H., Nagao, M., Oki, T., and Kawabe, K. 1980. Physiological changes in Lentinus edodes mycelia induced by *Trichoderma* metabolites. Rept. Tottori Mycol. Inst. 18:105-110.

Jablonsky, I. 1981. The influence of environmental factors on yield and fruitbody development of *Lentinus edodes*. Zeitsch. Mykol. 47(2):291-300.

Komatsu, M. 1975. Antifungal activity of *Hypocrea* and *Trichoderma* occurring on the bed-logs of shiitake mushroom, *Lentinus edodes*(Berk.)Sing. Rept. Tottori Mycol. Inst. 12:189-190.

Liao, Y. M. 1985. Efficacy of fungicides on control of *Trichoderma* spp. in sawdust cultivation of shiitake. J. Agric. Res. China 34:329-340.

Maher, M. J. 1991. Science and Cultivation of Edible Fungi. pp. 365-442. (Diseases)

Ohira, I. 1974. Competition between *Diatrype stigma* and *Lentinus edodes*. Rept. Tottori Mycol. Inst. 11:42-49.

Pryzybylowicz, P. and Donoghue, J. 1988. Shiitake growers handbook. 217 pp. Kendall/Hunt Publishing Co. Dubuque, Iowa.

Seaby, D. A. 1987. Infection of mushroom compost by *Trichoderma* species. Mushroom J. 179:355-361.

Sinden, J. W. 1971. Ecological control of pathogens and weed-molds in mushroom culture. Ann. Rev. Phytopathol. 9:411-432.

Sinden, J. W. 1972. Disease Problems in Technologically Advanced Mushroo

m Nurseries. Mushroom Science 8:125-130.

Stamet, P., and Chilton, J.S. The Mushroom Cultivator. A Practical Guide t o Growing Mushrooms at Home. pp. 233-318. (The Contaminants of Mus hroom Culture: Identification and Control)

Tu, C. C. and Liao, Y. M. 1989. Major Diseases of Cultivated Mushroom a nd Their Control in Taiwan. Mushroom Science XII. pp. 615-626.

Wetzel, H. A., Wuest, P. J., Snetsinger, R., Royse, D. J., and Tetrault, R. C. 1982. Integrated pest management for mushroom farming. p.61-67. Penn State Handbook for Commercial Mushroom Growers edited by Wuest, P. J. Pennsylvania State University Press.

Wuest, P. J., Royse, D. J. and Beelman, R. B. 1987. Cultivating Edible Fung i. pp. 321-420. (Pathology and Entomology). Elsevier.

5. 충해방제기술 개발

Brattsten, L.B. 1983. Cytochrome P-450 involvement in the interactions between plant terpenes and insect herbivores. *In* Plant resistance to insects, ed. by P. A. Hedin[ed.], 173-195 pp. ACS (Am. Chem. Soc.), Washington, DC.

Byers J.A., Q.H. Zhang and G, Birgersson. 2000. Strategies of a bark beetle,*Pityogenes bidentatus*, in an olfactory landscape. Naturwissenschaften 87:503-507.

Cantelo, W. W. and J. S. McDaniel (1978) Mushroom flies controlled by incorporating diazinon. J. Econ. Entomol. 71:670~673.

Collart, M.G. and S.F. Hink. 1986. Sublethal effects of *d*-limonene on the cat flea (*Ctenocephalides felis*). Entomol. Exp. Appl. 42: 225-229.

Eva M. Pettersson. 2001 Volatile attractants for three pteromalid parasitoids attacking concraled spruce bark beetles. Chemoecology 11: 89-95.

Hardwood, S.H., A.F. Moldenke and R.E. Berry. 1990. Toxicity of peppermint monoterpenoids to the variegated cutworm (Lepidoptera:

Noctuidae). J. Econ. Entomol. 83:1761-1967.

Hink, W.F. and B.J. Fee. 1986. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, to all life stages of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). J. Med. Entomol. 23: 400-404.

Keita, S.M., C. Vincent, J.P. Schmit, S. Ramaswamy and A. Belanger. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera:Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 36: 355-364.

Kobayashi, F. and A. H. Taketani (1994) Forest insect pests. Yokendo Ltd. 567pp. (in Japanase).

Koo, C. D., J. S. Kim, N. S. Cho, D. S. Min, S. Ohga (1999) Effect of moisture content for mycelial growth and primordial formation of *Lentinula edodes* in a sawdust-based substrate. Mushroom Science and Biotechnology 7:169~174.

Ngoh, S.P., L. E.W. Choo, F.Y. Pang, Y. Huang, M.R. Kini and S.H. Ho. 1998. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American Cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Pestic. Sci.* 54: 261-268.

Pesticide handbook (2000) Korea Agri. Chem. Indu. Assoc. 222 pp.

SAS Institute. 1991. SAS/STAT User's Guide: Ststistics, version 6.04. SAS Institute, Cary, N.C., U.S.A.

Sato, Y., and K. Asawa (1995) Uptake of the insecticide, fenitrothion, by fruit bodies of shiitake (*Lentinus edodes*) from treated bed logs. J. Jpn. For. Sor. 77: 220~223.

Tiberi, R., A. Niccoli, M. Curini, F. Epifano, M.C. Marcotullio and O. Rosati. 1999. The role of the monoterpene composition in *Pinus spp.* needles, in host selection by the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. Phytoparasitica 27: 263-272.

Tomlin, C.D.S. (2000) The pesticide manual. British Crop Protection Council. 1250pp.

Yoo, J.S., G.H. Kim, J.S. Yoo, S.G. Lee and J.D. Park. 2001. Control effects of benfuracarb and λ-cyhalothrin to oak longicorn beetle, *Moechotypa diphysis* Pascoe, infesting the oak mushroom bed logs. Korean J. Pestic. Sci 5:47-49 (in Korean).

Zar, J. H. 1996. Biostatical Analysis, 3rd ed. Prentice-Hall International, Inc.

구창덕, 김재수, 김길하, 한규성, 조남석, 박재인, 민두식 (1999) 표고재배용 참나무원목의 수종별 털두꺼비하늘소의 산란빈도. 한국임학회지. 88: 533~540.

김길하, 유정수, 이상길, 박지두 (2000) 표고골목해충인 털두꺼비하늘소의 살충제 감수성. 한응곤지. 39:207~209.

김길하, 유정수, 구창덕, 이상길, 박지두 (2001) 표고 톱밥재배에서 긴수염버섯파리(*Lycoriella mali*)의 방제약제 선발. 한국농약과학회지. 5:62~66.

김규진, 황창연 (1996) 한국남부 표고버섯 및 느타리버섯재배지에 분포된 해충상에 관한 연구. 한응곤지. 35:45~51.

이범영 (1987) 표고골목해충인 털두꺼비하늘소의 생태에 관한 연구. 임업연구보고서. 35:139~145.