

# 톱밥재배용 표고 품종의 단핵균사체와 2핵균사체의 한천과 톱밥배지에서의 균사생장

김민경<sup>1</sup>, 김성태<sup>1</sup>, 김소라<sup>1</sup>, 김은지<sup>1</sup>, 진미경<sup>1</sup>, 이용국<sup>1</sup>, 서건식<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국농수산대학 버섯학과

## Mycelial Growth of Monokaryotic and Dikaryotic Strains of *Lentinula edodes* Cultivars for Sawdust Cultivation on the Agar and Sawdust Culture media

M. K. Kim<sup>1</sup>, S. T. Kim<sup>1</sup>, D. Y. Kim<sup>1</sup>, E. J. Kim<sup>1</sup>, M. K. Jin<sup>1</sup>, Y. K. Lee<sup>1</sup>, and G. S. Seo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Korea National College of Agriculture and Fisheries, 1515, Kongjwipatjwi-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 54874, Korea

### Abstract

In order to develop the culture material for breeding of *Lentinula edodes*, dikaryotic and monokaryotic mycelia were cultured in agar and sawdust medium. The cultivars were used Sanjo No. 701, Sanjo No. 705, Chamaram and Chuje No. 2 in this study. The mycelial growth of the cultivars were highest in PDA except for Sanjo No. 705, but Sanjo No. 705 showed the best mycelial growth in MCM. Regardless of the cultivars, the mycelial growth showed the most stable in MEA. There was no significant difference in mycelial growth among the cultivars in sawdust medium, but it was about 10% faster than that of Sanjo No. 701 and 705. Monokaryotic strains of Sanjo No. 701 and Chamaram showed less mycelial growth than dikaryotic mycelium. Dikaryotic mycelium of Chamaram showed better mycelial growth than that of Sanjo No. 701, but monokaryotic mycelium of Chamaram showed lower mycelial growth than Sanjo No. 701. The selected monokaryotic mycelium has a wide variance of mycelial growth, and the morphologies of the colonies are very diverse, so those are presumed that wide variances of monokaryotic are selected in genetically, and these monokaryotic mycelium are expected to be a good breeding materials.

**Key Words** : *Lentinula edodes*, Monokaryotic mycelium, Mycelial growth

1\*교신저자 : 한국농수산대학, g-s-seo@af.ac.kr

## I. 서론

우리나라의 표고 재배는 1920년대 일본에서 종균을 도입하여 시작한 것으로 알려져 있으나, 국내 기술에 의한 표고재배는 1955년 경기도 임업시험장에서 표고 군사의 순수배양을 성공하였고, 생산은 1957년 대한산림조합 연합회에서 종균을 배양 보급하면서 시작되었다(유, 2003). 재배 초기에는 주로 건표고 수출용으로 생산하였으며, 1958년에는 건표고 14톤을 생산하였다. 1959년에는 39톤의 생산량 중 27톤을 처음으로 수출하여 수출액 83천불의 성과를 올렸다. 1960년에는 55톤을 생산하여 이중 45톤을 수출, 수출액 136천불, 1969년에는 161톤을 생산, 수출액 402천불, 1975년에는 건표고 455톤 생산, 1979년에는 건표고 839톤을 생산하여 그중 692톤을 대만, 홍콩 등에 수출하여 8,856천불의 외화를 획득하였다(임업연구원 1998). 1990년대 중반까지는 주로 원목재배를 하였으나, 1990년대 중반 이후 튤파 배 봉지재배법이 대만, 중국 등지에서 도입되어 2000년대 이후에는 점차 재배 농가가 증가하는 추세이다.

한편 표고버섯 품종은 대부분 일본과 중국 등지에서 도입하여 사용하여 왔으나, 2001년 국제식물신품종보호연맹(UPOV) 가입 이후 외국 품종을 바로 국내에서 재배는 불가능하게 되었다. 따라서 2000년대 이후 표고버섯 품종 육성에 관한 연구가 국립산림과학원과 산림조합중앙회 등을 중심으로 활발히 진행되어 2016년까지 53건이 품종보호 출원되어 24건이 등록되었다(산림청 국립산림품종관리센터 [www.nfsv.go.kr](http://www.nfsv.go.kr)).

버섯의 신품종 육성 방법은 교배, 돌연변이선발, 원형질체 융합법 등이 알려져 있으나 버섯은 유성생식을 하는 균류이기 때문에 교배육종법이 가장 안정적이다. 버섯의 교배육종법에는 단핵군사체를 상호 교배하는 mono×mono교배, 2핵군

사체와 단핵군사체를 교배하는 di×mono교배가 있다. 교배 육종을 위해서는 단핵군사체 선발이 필수적이고 선발된 단핵 군사체의 배양적 특성을 포함한 생리 화학적 특성은 육종 소재의 기본적인 자료가 될 수 있다.

표고 튤파배봉지재배용 품종 육성에 관한 연구는 노 등(2015a 와 b)이 산조 701호를 중심으로 하여 교배균주의 배양적 특성을 조사하였고, 이 등(2014)은 산조701호 등 산림조합중앙회에서 육성한 4품종의 배양적 특성과 자실체 형성에 관한 연구를 보고한바 있다. 또 김 등(2011)은 국내외에서 수집한 30개 균주의 배양 및 재배적 특성과 갈변과의 상관관계를 분석하였고, 이 등(2006)은 종균의 종류별 표고버섯 생산성을 조사한바 있다. 그러나 기존의 품종보다 우수한 품종을 육성하기 위해서는 다양한 유전적 형질을 보유하고 있는 육종소재의 선발과 기본적인 데이터의 축적이 필요하다.





따라서 본 연구에서는 표고버섯 육종 소재를 확보하기 위하여 산림조합중앙회에서 육성한 튤파 배 봉지재배용 품종인 참아람, 산조 701호의 단핵군사체를 확보하였고, 이를 포함하여 산조705호와 중국 도입균주인 추제 2호의 배양적 특성을 한천과 튤파배지에서 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시균주

본 시험에 공시한 표고 균주는 산림조합 산림버섯연구센터에서 튤파배봉지재배용으로 육성한 산조 701호, 산조 705호, 참아람과 중국에서 도입한 추제 2호의 자실체에서 분리한 2핵군사체와 단핵군사체를 이용하였다. 시험에 이용한 품종의 자실체 특성은 <Table 1>과 같다.

**Table 1. Characteristics of *L. edodes* cultivars used in this study<sup>1)</sup>**

Cultivars	Optimum temperature for the fruiting	Fruit bodies	Cultivars	Optimum temperature for the fruiting	Fruit bodies
SanJo No.701	12~24℃		ChamARam	8~21℃	
SanJo No.705	19~27℃		ChuJe No.2	Unknown	

<sup>1)</sup>Characteristics of *L. edodes* cited the results of the Forest Mushroom Research Center(Go et al., 2014).

## 2. 2핵균사체 및 단핵균사체 분리

공시균주는 2016년 톱밥봉지재배법으로 재배하는 농가에서 자실체를 수집하여 조직분리방법으로 2핵균사체를 분리하여 사용하였으며, 단핵균사체 분리는 산조 701과 참아람 자실체를 수집하여 대를 절단한 후 살균 샐레에 주름살이 아래로 향하도록 정치하여 약 24시간 후에 담자포자를 분리하였다. 분리된 담자포자는 희석평판배양법으로 PDA 배지에 치상하여 상온에서 포자 발아를 유도였다. 포자가 발아되어 형성된 균총을 떼어내어 새로운 배지에 접종한 후 배양된 균사체의 껍쇠(clamp connection) 형성유무를 광학현미경으로 관찰하여 껍쇠가 관찰 되지 않는 균총을 단핵균사체로 선별하였다. 각 품종 당 단핵 균사체는 20균주를 선별하였다.

## 3. 공시배지

공시균주의 배양적 특성을 조사하기 위하여 MCM(mushroom complete medium,  $K_2HPO_4$  1g,  $K_2HPO_4$  0.46g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5g,

dextrose 20g, peptone 2g, yeast extract 2g, agar 20g, D.W. 1,000ml), PDA(potato dextrose agar, commercial PDA 39g, 1,000 ml), MEA(malt extract agar, malt extract 20g, peptone 1g, dextrose 20g, agar 20g, D.W. 1,000ml) 등 한천배지를 고압살균기에서 121℃, 15psi(1.1kg/cm<sup>2</sup>)로 15분간 살균하여 살균된 직경 90mm의 petri-dish에 약 25ml씩 분주하여 사용하였다.

톱밥배지는 참나무톱밥과 미강을 80:20(v/v)으로 혼합하여 수분함량을 60%로 조절한 후 30×210mm 시험관에 충전한 후 고압살균기에서 121℃, 15psi(1.1kg/cm<sup>2</sup>)로 60분간 살균하여 사용하였다.

## 4. 배양적 특성 조사

한천과 톱밥배지에서의 균사생장 조사는 공시한 각각의 배지에 PDA에서 미리 배양한 공시균주의 접종원을 접종하여 25±1℃의 항온기에서 암상태로 배양하였다. 접종 후 10일간 배양하여

한천배지의 경우는 균총의 직경을, 톱밥배지는 균총의 길이를 조사하였다. 한천배지의 각 처리구는 3반복을 실시하였으며 톱밥배지는 9반복을 실시하였다. 통계처리는 각 처리구별 반복에 대한 평균±표준편차를 구하였다.

5. 현미경 조사

단핵 균사는 포자의 희석평판 후 선별한 균사체를 한천배지에 배양한 후, 각각의 균사체의 균사를 광학현미경(올림푸스 CX21LED)을 사용하여 최종 400배율로 균사의 껍질연결(clamp connection) 유무를 확인하였다. 또한 단핵균사 간의 교배 실험에서도 광학현미경 400배율로 균사의 껍질연결 유무를 조사하여 교배를 확인을 하였다.

직경을 측정하였다(Table 2).

공시 표고 품종의 군사생장은 산조 705호를 제외한 품종 모두 PDA에서 가장 양호하였으나 산조 705호는 MCM에서의 군사 생장이 가장 양호하였다. MCM 에서의 군사생장은 산조 705호, 참아람, 추제 2호, 산조 701호 순으로 군사생장이 좋았으나 모두 오차 범위 안에 있어서 MCM은 표고 품종에 관계없이 비슷한 군사생장을 보이는 것으로 확인되었다. 그러나 PDA에서는 추제 2호, 산조 701, 참아람, 산조 705호 순으로 군사생장이 좋았고 품종 간 군사생장의 차이가 인정되었다. MEA 배지의 경우도 PDA보다 품종간 차이는 미약하였지만 품종간의 군사생장의 차이가 인정되어 추제 2호, 산조 701, 참아람, 산조 705호 순으로 군사 생장이 양호하였다. 한편 공시한 4품종의 군사생장 평균은 MCM에서 69.9mm, PDA에서 73.8mm, MEA에서 69.6mm으로 PDA에서 가장 양호하였으나 균주 간 표준편차는 MEA 1.3, PDA 6.0, MCM 5.9를 보이고 있기 때문에 품종에 관계없이 표고 균사를 배양한다면 MEA가 가장 안정적인 것으로 판단된다. 한편 이 등(2014)은 PDA 등 6종류의 한천배지를 공시하여 표고 2핵균사체의 군사생장을 조사한 결과 산조 1호가 모든 배지에서 참아람보다 우수하여 본 연구와는 차이가 있었다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 한천 및 톱밥배지에서 군사생장

한천배지에서 공시균주의 군사 생장을 조사하기 위하여 톱밥배지용 표고 품종 4균주를 각각 PDA배지에 접종하여 7일간 25±1°C의 항온실에서 배양한 후, 이를 접종원으로 하여 일반적으로 버섯균사 배양에 사용하는 한천배지인 MCM, PDA, MEA에 접종하여 10일간 배양한 후 균총의

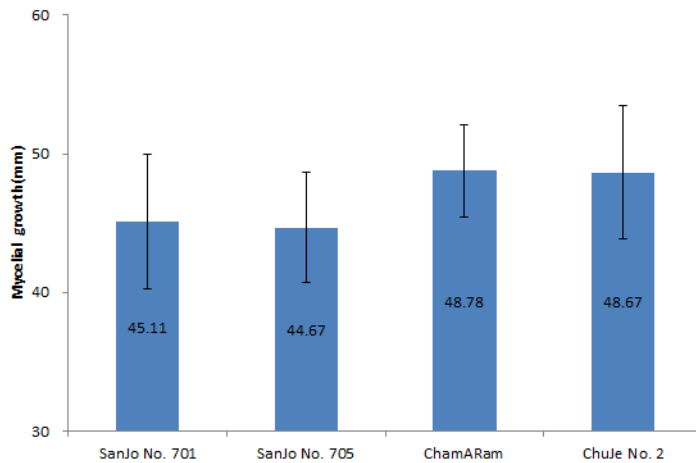
Table 2. Mycelial growth of *L. edodes* cultivars on the culture media

Cultivars <sup>1)</sup>	MCM	PDA	MEA
SanJo No. 701	68.3±13.2	76.0±1.0	70.7±1.2
SanJo No. 705	71.3±4.2	66.0±8.7	62.3±8.7
ChamARam	70.3±8.1	73.0±2.6	68.7±4.0
ChuJe No. 2	69.7±8.5	80.3±3.8	76.7±0.6

<sup>1)</sup> Cultivars were incubated for 10days on 25±1°C. All cultures were replicated 3 times and each value shows the mean with standard deviation.

톱밥배지에서 공시균주의 군사생장을 조사하기 위하여 살균된 톱밥배지에 PDA 배지에 미리 배양한 접종원을 접종하여 10일간  $25\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 10일간 배양한 후에 군사 생장 길이를 측정하였다. 그 결과 그림 1과 같이 톱밥배지에서는 참아람과 추제 2호가 각각  $48.8\pm 3.4\text{mm}$ ,  $48.7\pm 4.9\text{mm}$ , 산조

701호와 산조 705호가 각각  $45.1\pm 4.8\text{mm}$ ,  $44.7\pm 4.0\text{mm}$ 의 군사생장을 보였다. 톱밥배지에서는 참아람과 추제 2호 품종 간의 차이는 없었으며 산조 701호와 705호보다 약 10%정도 빠르게 군사 생장하는 것으로 나타났다.



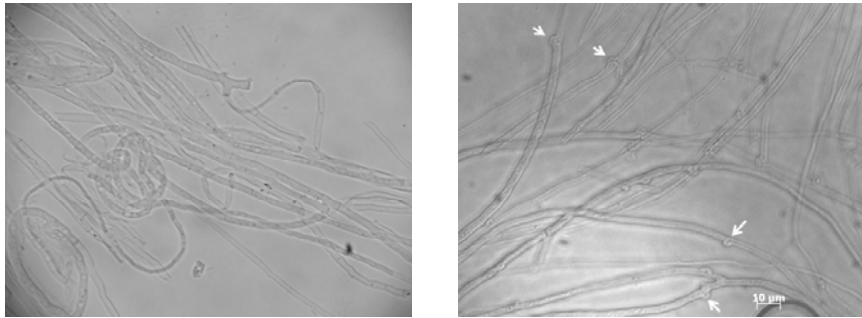
**Fig. 1. Mycelial growth of *L. edodes* cultivars on the sawdust medium. cultivars were incubated for 10days on  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . All cultures were replicated 9 times and each value shows the mean with standard deviation**

버섯 신품종을 육성하기 위한 육종법으로는 도입육종법, 교배육종, 돌연변이선발, 원형질체 융합법 등이 사용되고 있다(유 등, 2010). 도입육종법은 국내에 존재하지 않는 유전자원을 외국에서 도입하여 재배 시험 등을 거쳐 품종을 육성하는 방법으로 국내에서는 1980년대 초반 도입하여 1987년 품종 육성한 큰느타리(*Pleurotus eryngii*)와 1994년에 도입하여 1990년대 후반부터 본격적으로 재배한 신령버섯(*Agaricus blasiliensis*)이 대표적인 버섯이다. 그러나 야생종을 수집하여 육종 재료로 사용하여 신품종을 육성한다면 큰 문제는 없을 것이나 외국에서 재배되고 있는 품종을 도입하여 단순히 재배시험을 거쳐 품종을

등록 보급하는 것은 2001년 국제식물신품종보호연맹(UPOV) 가입 이후에는 불가능하게 되었다. 따라서 교배육종, 돌연변이선발, 원형질체 융합법 등을 활용해서 신품종을 육성해야하나 현재까지는 버섯은 유성생식을 하는 균류이기 때문에 전통적인 버섯 육종법인 교배육종법이 가장 안정적인 것으로 판단된다. 교배육종법에는 단핵군사체를 상호 교배하는 mono×mono교배, 2핵군사체와 단핵군사체를 교배하는 di×mono교배가 있다. 교배 육종을 위해서는 단핵군사체 선별이 필수적이고 선별된 단핵 군사체의 배양적 특성을 포함한 생리 화학적 특성은 육종 소재의 기본적인 자료가 될 수 있다.

따라서 본 연구에서는 산림조합 산림버섯연구 센터에서 최근 육성한 산조701호와 참아람 자실체에서 담자포자를 확보하여 이를 PDA 배지에 치상하여 발아된 균사체를 선발하는 방법으로 단핵 균사체를 각 선발하였다. 선발된 균사체는 단핵

유무를 확인하기 위하여 명시야 광학현미경으로 꺾쇠연결(clamp connection) 유무를 관찰하였으며(Fig. 2), 꺾쇠가 형성되지 않은 균사체를 각 품종 당 20균주씩 선발하여 배양 시험에 공시하였다.



**Fig. 2. Monokaryotic and dikaryotic mycelia of *L. edodes* observed by light-field microscope(×400). Arrowheads shows the clamp-connections**

선발된 단핵 균사체는 PDA에 접종하여 25±1°C의 항온기에서 8일간 배양한 후 균사생장 길이를 조사하였다. 참아람 2핵 균사체는 55.3mm, 산조 701호 2핵균사체는 51.3mm 정도 균사생장한 반면 단핵 균사체는 2핵 균사체보다 균사생장이 저조하여 참아람 단핵균사체는 21.7~34.3mm의 범위에 평균 22.7±3.8mm, 산조 701호 단핵균사체는 23.7~27.7mm의 범위에 평균 27.7±6.2mm의 균사생장을 보였다. 2핵균사체는 참아람이 산조

701호보다 균사생장이 양호하였으나 단핵균사체는 전체적으로는 산조 701호가 참아람보다 균사생장이 양호하였다.

본 시험에 공시한 단핵 균사체의 균사생장이 매우 다양하고 형성된 균총의 형태도 매우 다양하여 유전적으로 매우 다양한 단핵 균사체가 선발된 것으로 추정할 수 있고, 이들 단핵 균사체는 교배육종을 위한 좋은 육종 소재로 기대된다(Fig. 3).



**Fig. 3. Morphology of monokaryotic mycelial colonies of *L. edodes* cultivar Sanjo No. 701**

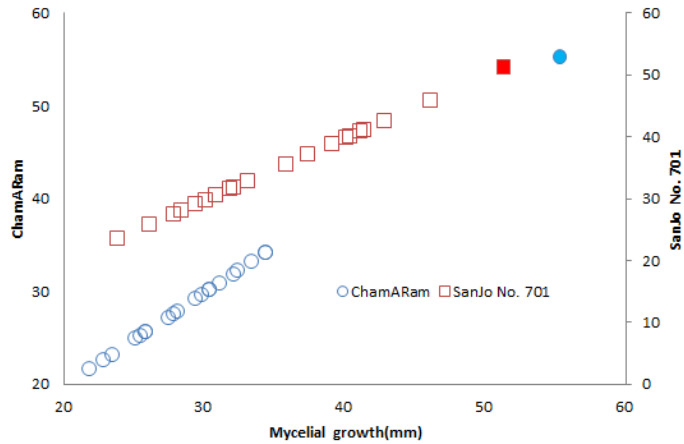


Fig. 4. Mycelial growth of mokaryotic isolates of *L. edodes* on the culture media. Cultures were incubated for 8 days on the PDA at  $25\pm 1^\circ\text{C}$ . All cultures were replicated 3 times

한편 본 시험에 공시한 품종의 재배적 특징은 <Table 1>에서 나타낸 바와 같이 모두 최근에 톱밥봉지 재배용으로 육성 혹은 도입된 품종으로 산림버섯연구센터의 자료에 따르면(고 등, 2014) 산조 701호 품종은 톱밥봉지재배용으로 육성하여 2009년에 등록된 품종으로, 버섯 발생 및 생육 온도는  $12\sim 24^\circ\text{C}$ 로 중고온성 품종이다(Table 1). 적합한 재배방법은 지면봉지재배이고, 고온에서도 버섯 품질이 우수하며 버섯이 단단하고 병해에 강한 것으로 기술하고 있다. 그러나  $15^\circ\text{C}$  이하에서는 버섯 발생이 늦고 발생량이 감소하기 때문에 10월 중순 이후에는 버섯 품질 및 발생량이 떨어지는 단점이 있는 것으로 알려져 있다.

산조 705호 품종은 2011년에 등록된 품종으로 버섯 발생 및 생육 온도는  $19\sim 27^\circ\text{C}$ 로 산조 701호보다 발생 및 생육 온도가 높은 중고온성 품종이다(Table 1). 버섯 발생이 빠르고 발생량이 많으며 갓은 중대엽현, 대가 굵고 길은 것이 특징이며, 단점으로는 자실체의 조직이 치밀하지 못하여

갓과 대가 무르며, 이는 고온에서 재배했을 때 특히 심하게 나타나는 것으로 알려져 있다.

참아람은 산조 701호를 기본으로 중온성 품종과의 교배에 의해 육성되었으며 2010년에 등록하였다. 버섯 발생 및 생육 온도는  $9\sim 21^\circ\text{C}$ 로 중온성 품종이다(Table 1). 이 품종의 특징은 대가 짧고 굵으며 육질이 단단하여 병해에 강하나 고온에서는 버섯발생은 양호하나 품질이 떨어지고, 가을철에는 온도자극에 민감하여 대량 발생하는 것이 단점으로 알려져 있고, 이 품종은 산조 701호와 버섯 수량 및 품질이 비슷하나 낮은 온도에서 재배가 가능한 것이 장점으로 알려져 있다.

추제 2호는 중국에서 배양 배지를 수입하여 생육하는 형태로 국내에서 유통되고 있으며 육질이 단단하고 화문이 잘 발달하며 대가 굵은 특징을 가지고 있다.

이와 같이 본 시험에 공시한 표고버섯 품종은 재배적 특성과 품질이 다양하여 육종소재로 활용이 기대되는 품종이고, 본 연구에서는 육종 소재

발굴의 일환으로 단핵균사체의 선발과 배양시험을 통하여 육종소재로의 활용 가능성을 제시하였다.

#### IV. 적요

표고 육종 소재를 개발하기 위하여 톱밥봉지재 배용 품종의 2핵균사체와 단핵균사체를 한천배지와 톱밥배지에서 배양적 특성을 조사하였다. 품종은 산조 701호, 산조 705호, 참아람, 추제 2호를 사용하였다. 공시 표고 품종의 군사생장은 산조 705호를 제외한 품종 모두 PDA에서 가장 양호하였으나 산조 705호는 MCM에서의 군사 생장이 가장 양호하였다. 품종에 관계없이 표고 군사는 MEA에서 가장 안정적인 군사생장을 보였다. 톱밥배지에서 공시균주의 군사생장은 품종 간의 큰 차이는 보이지 않았으나 산조 701호와 705호보다 약 10%정도 빠르게 성장하는 것으로 나타났다. 산조701호와 참아람의 단핵균사체는 2핵 균사체보다 군사생장이 저조하였다. 2핵균사체는 참아람이 산조 701호보다 군사생장이 양호하였으나 단핵균사체는 전체적으로는 산조 701호가 참아람보다 군사생장이 양호하였다. 선발된 단핵 균사체는 군사생장이 매우 다양하고, 형성된 균총의 형태도 매우 다양하여 유전적으로 매우 다양한 단핵 균사체가 선발된 것으로 추정할 수 있고, 이들 단핵 균사체는 교배육종을 위한 좋은 육종 소재로 기대된다.

#### V. 참고문헌

1. 고한규, 최선규, 김선철, 박용훈, 김경진, 이원호, 노종현, 이병석, 김인엽, 이형근. (2014). 표고버섯재배기술. 산림조합중앙회 산림버섯연구센터. 79-88.
2. 김영호, 전창성, 박수철, 유창현, 성재모, 공원식. (2011). 표고 수집 균주의 재배적 특성 및 갈변과의 상관관계. 한국버섯학회지 9(4):145-154.
3. 노종현, 고한규, 박흥수, 구창덕. (2015). 표고 톱밥재배용 모균주 선발과 교배균주의 군사 배양 및 생육특성. 한국버섯학회지 13(1):41-49.
4. 노종현, 구창덕, 박흥수, 고한규. (2015). 표고 톱밥재배용 교배균주의 자실체 온도형 및 생산성 비교. 한국버섯학회지 13(4):294-300.
5. 유영복, 공원식, 장갑열, 김범기. (2010). 버섯의 육종. (In 버섯학). 자연과 사람. 186-243.
6. 유창현. (2003). 한국버섯산업의 발전사. 한국버섯학회지 1(1):1-8.
7. 이봉훈, 박원철, 윤갑희. (2006). 톱밥종균, 성형종균 및 액체 종균을 사용한 표고톱밥배지에서의 생산성 비교. 한국균학회지 34(2): 79-83.
8. 이원호, 김인엽, 고한규, 김선철, 최선규, 노종현, 박흥수. (2014). 표고버섯의 배양적 특성 및 자실체 형식에 관한 연구. 한국버섯학회지 12(1):24-28.
9. 임업연구원. (1998). 표고재배기술. 임업연구원 연구자료. 제141호. pp351.
10. 산림청 국립산림품종관리센터  
www.nfsv.go.kr