발 간 등 록 번 호
11-1541000-000862-01

느타리버섯류 우량품종 육성

(Breeding of Superior Varieties in Pleurotus spp.)

농민버섯연구소

농림수산식품자료실
0020436

농 림 수 산 식 품 부

0.7
239ㄴ
2011-113

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “느타리버섯류 우량품종 육성” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011 년 4 월 25 일

주관연구기관명 : 농민버섯연구소
주관연구책임자 : 김경수
연 구 원 : 황동일
연 구 원 : 유정재
연 구 원 : 박정식
협동연구기관명 : 한국종균생산협회
협동연구책임자 : 이정우
연 구 원 : 장순호
연 구 원 : 우성이
협동연구기관명 : 천안연암대학
협동연구책임자 : 김규현

요 약 문

Ⅰ. 제 목

느타리버섯류 우량품종 육성

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

전 세계적으로 종자전쟁이라고 할 만큼 품종의 중요성은 크게 인식되고 있으며, 특히 느타리와 큰느타리버섯은 주로 외국에서 도입된 품종이 재배되고 있는 실정이며, 민간 종균 배양소에서는 중국 등 외국에서 도입된 계통을 판매하고 있는 실정이다. 따라서 우리나라의 농가의 요구에 부응 할 수 있으며 가장 느타리 재배가 많은 봄, 가을과 저온성 느타리 품종의 육성이 절실하다고 하겠다.

큰느타리버섯 품종 중에 등록된 품종인 “큰느타리1, 2호”는 형태적 특성이 좋지 않아 현재 재배되지 않고 있으며, 일본에서 선발 및 교배 육성된 품종을 도입하여 계대배양 또는 자실체의 조직을 분리하여 증식된 종균을 이용하고 있는 실정이다. 따라서 국내 환경 여건에 알맞는 고품질 다수성 신품종개발을 목표로 한다.

2. 연구개발의 필요성

가. 국내에는 농업과학기술원과 광주버섯연구소에서 버섯연구를 수행하고 있으나 느타리 균상재배용 품종 육성은 하지 않고 있으며, 대부분 외국에서 도입된 균주를 품종판매신고하여 재배되고 있는 실정이다.

나. 국제식물신품종 보호동맹 (UPOV: The International Union for the Protection of New

Varieties of Plants) 에 가입에 의해 느타리버섯이 보호품종으로 등록되어 우리나라 고유의 다양한 느타리버섯의 품종개발이 더욱 절실히 요구되고 있다.

다. 국내환경에 적합한 품종 육성의 필요성 : 국내의 큰느타리버섯 품종 중에 등록된 “큰느타리 1, 2호”는 형태적 특성이 좋지 않아 현재 재배되지 않고 있으며, 일본에서 선발 및 교배 육성된 품종을 도입하여 계대배양 또는 자실체의 조직을 분리하여 증식된 종균을 이용하고 있는 실정이고 단일 품종의 계속된 재배에 의한 균주의 노화, 유전적 변이 등에 따른 문제가 본격적으로 나타나 많은 재배 농가에 심각한 피해를 입히고 있다는 점을 들 수 있으며, 국내 환경 여건에 알맞는 우량 모본의 교배에 의하여 고품질 다수성 신품종개발이 필요하다.

라. 품종다양화를 위한 육성 모본 확보 : 큰느타리버섯 재배가 처한 현재의 어려움중의 하나는 단일 품종의 대규모 재배 시 발생하는 연작피해이며 이는 연작피해 발생시 대체할 수 있는 대체 품종 개발의 미비에 기인한다. 기존의 품종과 상이한 유전적 배경과 품종적 특성을 지닌 계통들이 선발되어 육성모본화 되어야 한다.

마. 구별성 및 신규성 확보 : 큰느타리버섯의 신품종이 국내 재배 환경에 적합하다라고 판단되어도 이를 국내 재배 농가가 안정적으로 사용하기위해서는 구별성 즉, 유전적 배경이 기존의 큰느타리버섯과 구별되어야 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

제 1 세부 과제 : 춘추기용 고품질 느타리 품종육성

구 분	연구개발의 목표	연구개발의 내용 및 연구범위
1차년도 (2006-2007)	○ 느타리버섯의 모균주 선발 ○ 단핵균주의 교배형 결정 ○ 교배균주 선발	· 균주 수집 - 수집균주의 온도 적응성 시험과 자실체 형태, 색택에 의한 선발 · 우수 모균주의 선정 · 선발된 모균주의 단핵균주 선발 · 교배형 검정을 통한 교배형의 결정 · 선발 모균주 단핵주간 교배 · 선발 균주간 Di-mono 교배
2차년도 (2007-2008)	○ 교배 2핵 균주의 선발 ○ 교배 균주의 병재배에 의한 1차 검정	· 교배 모균주는 1차 년도와 동일하게 계속 수집 · 모균주의 온도 적응성 시험 · 수집균주의 단핵 균주 선발 - 교배형 검정을 통한 교배형의 결정 - 선발 모균주 단핵주간 교배 - 선발 균주간 Di-mono 교배 · 선발 균주의 병재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사
3차년도 (2008-2009)	○ 1차 선발 균주의 상자재배 ○ 균상재배에 의한 농가실증시험을 위한 균주 선발	· 병(甁)선발 균주 상자재배 및 균상재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등
4차년도 (2009-2010)	○ 선발 균주의 상자재배 ○ 균상재배에 의해 농가실증시험을 위한 균주 선발 ○ 1차 농가실증 시험	· 선발 균주의 상자재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등 · 균상재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등
5차년도 (2010-2011)	○ 최종 균주 선발 ○ 최종선발균주의 유전자 검정 ○ 농가 경영분석	· 농가 실증 시험 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등 · 최종 선발 균주의 유전자 분석

제 1 협동 과제 : 저온성 느타리버섯의 품종육성

구 분	연구개발의 목표	연구개발의 내용 및 연구범위
1차년도 (2006-2007)	○ 수집균주의 저온성 검정 ○ 교배형 분리 ○ 교배균주 선발	· 수집 균주의 저온 적응성 평가 - 저온 발생을 통한 생력 검사 - 선발균 주의 자실체 발생 후 포자를 채취 - 포자도말 과정 후 단포자분리 - 단포자의 교잡을 통하여 4극성 분리 · 선발 모균주 단핵주간 교배 · 선발 균주간 Di-mono 교배
2차년도 (2007-2008)	○ 교배 2핵 균주의 선발 ○ 교배 균주의 병재배에 의한 1차 검정	· 교배 모균주는 1차 년도와 동일하게 계속 수집 · 모균주의 온도 적응성 시험 · 수집균주의 단핵 균주 선발 - 교배형 검정을 통한 교배형의 결정 - 선발 모균주 단핵주간 교배 - 선발 균주간 Di-mono 교배 · 선발 균주의 병재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사
3차년도 (2008-2009)	○ 1차 선발 균주의 상자재배 ○ 균상재배로 농가실증시험을 위한 균주 선발	· 병(甁)선발 균주 : 상자 및 균상재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등
4차년도 (2009-2010)	○ 선발 균주의 상자 재배 ○ 균상재배에 의해 농가실증시험을 위한 균주 선발 ○ 1차 농가실증 시험	· 선발 균주의 상자재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등 · 균상재배 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등
5차년도 (2010-2011)	○ 최종 균주 선발 ○ 최종선발균주의 유전자 검정 ○ 농가 경영분석	· 2차 농가 실증 시험 - 형태적 특성 조사 : 수량, 갓색택, 갓형태, 대길이, 대굵기 - 배양적 특성조사 : 균사 배양 상태, 초발이 소요일수 등 · 최종 선발 균주의 유전자 분석

제 2 협동 과제 : 큰느타리버섯 우량품종 육성

구 분	연구개발의 목표	연구개발의 내용 및 연구범위
1차년도 (2006-2007)	○ 유전자원수집 ○ 특성검정	· 균주 수집 · 우수 모균주 선발 - 배양적 특성 - 재배적 특성 · 조사항목: 균사생장, 균총밀도, 기중균사 형성정도, 균사활착소 요일, 초발이소요일, 수확소요일, 자실체발생형, 갓직경, 대직경, 대길이, 개체중, 유효경수, 병당유효수확량
2차년도 (2007-2008)	○ 우량 모본 선발 ○ 교잡주 선발 및 육성	· 육종 모본 선정 후 교배 - 단핵주간 교배 - 다포자 교배 · 조사항목 : 균사생장, 균총밀도, 기중균사 형성정도, 교배형, 균사활착소요일, 초발이 소요일, 수확소요일, 자실체발생형, 갓직경, 대직경, 대길이, 개체중, 유효경수, 병당유 효수확량
3차년도 (2008-2009)	○ 근연종간 교잡 주 선발 및 특성 검정	· 근연종간 교잡 *P. eryngii* 교배주 + *P. eryngii.* var. *ferulae*, *P. eryngii* 교배주 +*P. eryngii.* var. *nebrodensis* · 조사항목: 균총밀도, 기중균사 형성정도, 균사활착소요일, 초발이소요일, 수확소요일, 자실체발생형, 갓직경, 대직경, 대길이, 개체중, 유효경수, 병당유효수확량
4차년도 (2009-2010)	○ 우량계통선발 - 우수성 검정 - 신규성 검정 ○ 구별성 검정	· 최종 우량계통 선발 - 신규성 검정 : 자실체 형태 조사 - 우수성 검정 : 품질, 수량등 조사 · 육종을 위한 우수 모본 선발 - 모본을 공시균주로 하여 다형성분석 (RAPD, RFLP)을 실시 : 모균주와 독립적인 유전적 배경을 지닌 조합주 선발
5차년도 (2010-2011)	○ 생산력검정 및 품종등록 ○ 농가 실증 및 경영분석	· 우량 선발 균주 시험 - 1차 piloting 재배 : 소규모 병재배 실시 - 2차 농가 실증재배 : 농가실증 재배 · 농가에서 대량 실증 재배 : 경영분석

Ⅳ. 연구개발결과

제 1 세부 과제 : 춘추기용 고품질 느타리 품종육성

가. 느타리버섯 온도 적응성과 갓색택 조사 등으로 모균주 선발
나. 단핵균주의 선발과 교배형 결정
다. 단핵균주의 mono x mono 교배 와 di x mono 교배로 2핵 균주 선발
라. 교배 2핵균주의 병재배에 의한 1차 검정
마. 1차 선발 균주의 상자재배
바. 상자재배로 선발된 균주의 균상재배 및 농가실증재배
사. 최종 우량균주 선발
아. 최종선발균주의 유전자 검정 및 특성조사
자. 춘추기용 느타리 품종 "안성 1호" 육성

제 1 협동 과제 : 저온성 느타리버섯의 품종육성

가. 수집균주의 저온성 검정으로 우수 모균주 선발
나. 선발된 균주의 단핵균주 분리 및 교배형결정
다. Mono x mono 교배 와 di x mono 교배로 2핵 균주 선발
라. 교배 균주의 병재배에 의한 1차 검정
마. 1차 선발 균주의 상자재배
바. 상자재배로 선발된 균주의 균상재배 및 농가실증재배
사. 최종 우량균주 선발
아. 최종선발균주의 유전자 검정
자. 저온성느타리 "종협1호" 육성

제 2 협동 과제 : 큰느타리버섯 우량품종 육성

가. 큰느타리 유전자원수집과 특성검정으로 우량 모본 선발
나. 단핵주간 교배 및 다포자 교배교잡으로 2핵 균주 선발
다. *Pleurotus eryngii* 교배주 x *P. eryngii.* var. *ferulae* 교배와 *P. eryngii* 교배주 x *P. eryngii.* var. *nebrodensis* 근연종간 교잡으로 2핵 균주선발 및 특성 검정
라. 우량계통선발 : 우수성 검정, 신규성 검정
마. 유전자 다형성 분석으로 구별성 검정
바. 생산력검정 및 품종등록
사. 농가 실증
아. 큰느타리버섯 우량 품종 “연암1호” 육성

Ⅴ. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구 성과

가. 춘추기용느타리 우량품종 "안성1호"육성

나. 저온성느타리 우량품종 "종협1호"육성

다. 큰느타리 우량품종 "연암1호" 육성

2. 활용방안

가. 춘추기용, 저온성 및 큰느타리 우량품종이 등록되어 현장 농가에 보급이 가능할 것이다.

나. 육성된 품종은 종균협회를 통한 전국 전국배양소에 보급하여 우수한 품종을 농가에 보급함으로써 실질적인 농가 소득 증대에 기여한다.

다. 저온성 품종이 보급됨으로써 저온기 에너지를 절약함으로써 유류대를 절약 할 수 있다.

라. 새로운 큰느타리가 보급됨으로써 병버섯 농가의 품종 선택 범위가 넓어진다.

3. 기대성과

가. 기술적 측면

1) 국내환경에 적합한 느타리버섯류의 우량 균주의 선발 및 신품종육성을 통한 유전자원 확보한다.

나. 경제 · 산업적 측면

1) 안정생산 저해로 인해 경영적 어려움을 겪는 느타리버섯 재배농가의 시설과 국내 재배환경에 적합한 우량 신품종 도입을 통해 안정적 유지 및 경영 가능하다.

2) 국내 고유 품종 육성을 통해 미육성시 발생 예상되는 UPOV 체제하의 균주사용료(로얄티) 지불에 의한 생산원가 고비용화를 예방하여 경영환경 개선 효과가 예상된다.

3) 연중 안정생산이 가능하여 농가소득에 크게 기여할 수 있다.

4) 큰느타리의 경우 연중 안정생산으로 경쟁력이 높아져 유럽·일본등도 인기가 높고 고가이므로 수출작목으로 유망하게 된다.

SUMMARY

The objective of this project was to breed the varieties of *Pleurotus ostreatus* and *P. eryngii*.

1. "Ansungneutaribeosut No 1" (NM-013), a new oyster mushroom was developed at Nongmin mushroom research institute. Its mycelium grows at incubation temperature of 25～30℃ on PDA(Potato Dextrose Agar) and MCM(Mushroom Complete medium). An average temperature for growing fruiting body is 15～18℃. Its took 46 days that primordia after incubation on cotton waste media. Fruiting body color is blackish-gray. Its yield is about 28.3 kg per 3.3m^2 under optimum cultivation condition.

2. We bred a new variety of *Pleurotus ostreatus.* Its name is "Jonghyupneutaribeosut No1" (KM-009). It was bred by mating monokaryotic strain isolated from KM-50 and dikaryotic strain Suhan No1. Its mycelium grows at incubation temperature of 25～30℃ on PDA(Potato Dextrose Agar) and MCM(Mushroom Complete medium). An average temperature for growing fruiting body is 10～13℃. Its took 32 days that primordia after incubation on cotton waste media. Fruiting body color is blackish-gray. Its yield is about 24.8 kg per 3.3m^2 under optimum cultivation condition.

3. The objective of this project was to breed the cultivar of *Pleurotus eryngii* and their construction of stabilized production system. By the results of breeding program, could be selected the superiority crossbred, strain no. ya-887. The strain showed the predominant vegetative characters in comparision with an existing cultivar of *Pleurotus eryngii*. The strain is named “Yonamneutari No. 1”.

CONTENTS

Chapter 1. Outline of the report on development of research ---------- 2
1. Purpose of the project ---------- 2
2. Need of the project ---------- 2
3. Scope of the project ---------- 4
Chapter 2. Status of research in Korea and other countries ---------- 12
Chapter 3. Contents and products of the development of research ---------- 16
Item 1. Breeding of superior varieties in *Pleurotus ostreatus* on spring and autumn seasons ---------- 16
1. Introduction ---------- 16
2. Materials and methods ---------- 16
3. Results ---------- 20
Item 2. Breeding of superior varieties in *Pleurotus ostreatus* on low temperature season ---------- 37
1. Introduction ---------- 37
2. Materials and methods ---------- 37
3. Results ---------- 42
Item 3. Breeding of superior varieties in *Pleurotus eryngii* ---------- 59
1. Introduction ---------- 59
2. Materials and methods ---------- 59
3. Results ---------- 68
Chapter 4. Objective and contribution of this result to mushroom industry ---------- 87
Chapter 5. Practical application of this result ---------- 88
Chapter 6. International information of mushroom breeding ---------- 89
Chapter 7. References ---------- 90

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 ---------- 15

제1절 연구개발의 목적 ---------- 15

제2절 연구 개발의 필요성 ---------- 15

제3절 연구개발의 범위 ---------- 16

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ---------- 17

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과 ---------- 17

제1절 춘추기용 고품질 느타리 품종육성 (제1 세부과제) ---------- 17

1. 서 언 ---------- 17

2. 재료 및 방법 ---------- 17

가. 균주 및 배양 ---------- 17

나. 단핵균주 ---------- 20

다. 교배형 결정과 교잡균주 육성 ---------- 20

라. 교잡주 (hybrid)의 병재배에 의한 선발 ---------- 20

마. 상자재배를 이용한 자실체 특성검정 ---------- 20

바. 균상재배와 농가실증을 재배 ---------- 21

사. Genomic DNA 분리 ---------- 21

아. RAPD에 의한 균주간 hybrid 확인 ---------- 21

자. 최종선발 균주의 특성 조사 ---------- 22

3. 결 과 ---------- 22

가. 유전 자원 수집 ---------- 22

나. 유전 자원의 특성 검정과 모균주 선발 ---------- 23

다. 선발 모균주의 교배형 결정 ---------- 25

라. 단핵균주의 교배와 2핵 균주의 선발 ---------- 26

마. 교배 균주의 병재배 실시 ---------- 28

바. 상자재배에 의한 중온성 느타리 계통 선발 ---------- 32

사. 선발 균주의 균상재배 와 농가실증 ---------- 34

아. 선발 균주(NM-013)의 유전자 다형성 분석 ---------- 35

자. 우량 선발 NM-013균주의 특성 조사 ---------- 36

(1) 한천 배지에서의 균사생장 ---------- 36

(2) 배양온도별 선발균주의 균사생장 ---------- 36

(3) 생육 및 자실체 특성 ---------- 37

(4) 수량성 ---------- 38

(5) 버섯 자실체 특성 ---------- 38

제2절 : 저온성 느타리버섯의 품종육성(제 1 협동과제) ---------- 39
1. 서언 ---------- 39
2. 재료 및 방법 ---------- 39
가. 공시균주 및 배지 ---------- 39
나. 균사체 배양 최적 배양온도 ---------- 41
다. 단핵균주의 선발 ---------- 41
라. 교배형 결정과 교잡균주 육성 ---------- 41
마. 우수 교잡주 (hybrid) 병선발 및 자실체 특성 검정 ---------- 41
바. 상자재배를 이용한 자실체 특성검정 ---------- 42
사. 균상재배 ---------- 43
아. 선발 균주의 genomic DNA 분리 ---------- 44
자. RAPD에 의한 균주간 유연관계 분석 ---------- 44
3. 결 과 ---------- 44
가. 균주 수집과 교배형 결정 ---------- 47
나. 교배 균주 선발 ---------- 47
다. 병재배 실시 ---------- 47
라. 상자재배에 의한 저온성 느타리 계통 선발 ---------- 53
마. 균상 재배 생산력 검정 ---------- 56
바. 최종선발된 우량 균주의 특성 조사 ---------- 57
(1) 한천 배지에서의 균사생장 ---------- 57
(2) 선발균주의 배양온도별 균사생장 ---------- 57
(3) 저온성 선발 균주의 자실체 특성 ---------- 58
(4) RAPD에 의한 다형성 검정 ---------- 60

제3절 : 큰느타리버섯 우량품종 육성(제 2 협동과제) ---------- 61
1. 서언 ---------- 61
2. 재료 및 방법 ---------- 61
가. 공시균주 및 배양 ---------- 61
나. 큰느타리버섯 및 유사종의 배양적 조건 ---------- 63
(1) 배지별 균사생장 정도 ---------- 64
(2) 온도구별 균사생장 정도 ---------- 64
다. 큰느타리버섯 및 유사종의 톱밥배지에서의 배양적 조건---------- 64
(1) 온도별 재배조건 ---------- 64
(2) 배양기간별 재배조건 ---------- 65
(3) 수종별 재배조건 ---------- 65

라. 우량균주 선발 교잡 ---------- 65
(1) 우량모본 선발 ---------- 65
(2) 단포자분리 및 우량 단핵주 선발 ---------- 67
(3) 교배형 결정과 교잡균주 육성 ---------- 67
(4) 우량교잡주 선발 및 자실체 특성 검정 ---------- 67
마. 큰느타리버섯 근연종간 교배조합 육성 ---------- 68
(1) 균주수집 ---------- 68
(2) 큰느타리버섯 유사종의 발생특성 조사를 통한 우량 모본 선발
---------- 69
(3) 단포자분리 및 우량 단핵주 선발 ---------- 69
(4) 교배형 결정과 교잡균주 육성---------- 69
(5) 우량교잡균주 선발 및 자실체 특성 검정 ---------- 70
3. 결 과 ---------- 70
가. 균주 수집 ---------- 70
나. 큰느타리버섯 및 유사종의 배양적 조건---------- 70
(1) 배지별 균사생장 정도 ---------- 70
(2) 온도구배별 균사생장 정도 ---------- 71
다. 큰느타리벗서 및 유사종의 톱밥배지에서의 배양적 조건 ---------- 72
(1) 온도별 재배조건 ---------- 72
(2) 배양기간별 재배조건 ---------- ---------- 74
(3) 수종별 재배조건 ---------- 74
라. 우량균주 선발 교잡 ---------- 76
(1) 우량모본 선발 ---------- 76
(2) 단포자 교배형 결정 및 단핵주 특성 조사---------- 76
(3) 배주 육성 및 특성 검정---------- 78
마. 병재배 생산력 검정 ---------- 82
바. 최종선발된 우량 균주의 특성 조사 ---------- 83
(1) 큰느타리버섯 서날 균주의 자실체 특성 ---------- 83
사. 큰느타리버섯 근연종간 교배조합 육성 ---------- 84
(1) 큰느타리버섯 유사종의 발생특성 조사를 통한 우량모본 선발---------- 84
(2) 단포자 교배형 결정 및 단핵주 특성 조사---------- 86
(3) 교배주 육성 및 특성 검정---------- 87
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ---------- 89
1. 목표 달성도 ---------- 89
2. 관련 분야에의 기여도 ---------- 89

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획 ---------- 90
1. 연구개발성과 ---------- 90
2. 성과 활용 계획 ---------- 90
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 ---------- 91
제 7 장 참고문헌 ---------- 92

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

전 세계적으로 종자전쟁이라고 할 만큼 품종의 중요성은 크게 인식되고 있으며, 특히 느타리와 큰느타리버섯은 주로 외국에서 도입된 품종이 재배되고 있는 실정이다. 느타리버섯의 경우에는 국가기관에서 품종육성을 그만 둔지가 5년 이상 되었으며, 민간 종균 배양소에서는 중국 등 외국에서 도입된 계통을 판매하고 있는 실정이다. 느타리버섯은 사계절이 뚜렷한 우리나라 농가의 요구에 부응 할 수 있는 충분한 품종을 보유하지 못하고 있으며, 국제 경쟁력을 가지는 품종 또한 전무하다고 할 수 있어 새로운 품종개발에 대한 요구가 크다고 할 수 있다. 따라서 우리나라 농가의 요구에 부응 할 수 있으며 느타리 재배가 가장 많은 봄, 가을과 저온성 느타리 품종의 육성이 절실하다고 하겠다.

국내의 큰느타리버섯 품종 중에 등록된 품종인 “큰느타리1, 2호”는 형태적 특성이 좋지 않아 현재 재배되지 않고 있으며, 일본에서 선발 및 교배 육성된 품종을 도입하여 계대배양 또는 자실체의 조직을 분리하여 증식된 종균을 이용하고 있는 실정이고 단일 품종의 계속된 재배에 의한 균주의 노화, 유전적 변이 등에 따른 문제가 본격적으로 나타나 많은 재배 농가에 심각한 피해를 입히고 있는 현실을 개선하고자 국내 환경 여건에 알맞는 우량 모본의 교배에 의하여 고품질 다수성 신품종개발을 목표로 한다.

제2절 연구 개발의 필요성

1. 연구개발대상 기술의 경제적·산업적 중요성 및 연구개발의 필요성

가. 국내에는 국립원예특작과학원과 광주버섯연구소에서 버섯연구를 수행하고 있으나 느타리 균상재배용 품종 육성은 하지 않고 있으며, 대부분 외국에서 도입된 균주를 품종판매신고하여 재배되고 있는 실정이다.

나. 따라서 동일한 품종이 민간 배양소마다 다른 품종으로 통용되어 농가의 혼돈과 그에 따른 재배기술의 잘못보급으로 농가의 피해가 막심한 편이다.

다. 국제식물신품종 보호동맹 (UPOV: The International Union for the Protection of New Varieties of Plants) 에 가입에 의해 느타리버섯이 보호품종으로 등록되어 우리나라 고유의 다양한 느타리버섯의 품종개발이 더욱 절실히 요구되고 있다.

라. 생활 수준 향상에 따른 국내 소비자의 기호와 육종가의 요구에 적합한 품질의 느타리버섯을 생산하기 위한 육종 소재의 개발 기술이 필요하다.

마. 느타리버섯은 다은 주요농산물에 비해 단위면적 당 소득이 가장 높은 농산물로서 농가의 소득 증대에 기여하는 바가 크다.(1999).

바. 무농약·무공해 식품은 소비자 선호도 1위로서 버섯은 자연 친화적 식품의 대표이며, 소비자로부터 사랑을 받고 또한 대외 경쟁력 있는 농민들의 고소득 작목으로서 느타리버

섯이 계속 유지되어야 한다.

사. 국내환경에 적합한 품종 육성의 필요성 : 국내의 큰느타리버섯 품종 중에 등록된 품종인 “큰느타리1, 2호”는 형태적 특성이 좋지 않아 현재 재배되지 않고 있으며, 일본에서 선발 및 교배 육성된 품종을 도입하여 계대배양 또는 자실체의 조직을 분리하여 증식된 종균을 이용하고 있는 실정이고 단일 품종의 계속된 재배에 의한 균주의 노화, 유전적 변이 등에 따른 문제가 본격적으로 나타나 많은 재배 농가에 심각한 피해를 입히고 있다는 점을 들 수 있음. 국내 환경 여건에 알맞는 우량 모본의 교배에 의하여 고품질 다수성 신품종개발이 필요하다.

아. 품종다양화를 위한 육성 모본 확보 : 큰느타리버섯 재배가 처한 현재의 어려움중의 하나는 단일 품종의 대규모 재배 시 발생하는 연작피해이며 이는 연작피해 발생시 대체할 수 있는 대체 품종 개발의 미비에 기인한다. 기존의 품종과 상이한 유전적 배경과 품종적 특성을 지닌 계통들이 선발되어 육성모본화 되어야 하며 이는 다수의 유전자원 확보 노력과 병행, 각 육성 모본의 여러 품종적 특성을 D.B.화하여 지속적으로 품종을 육성하려는 노력이 있어야함. 이는 우량 품종적 특성을 지닌 이핵주 및 이로부터 얻어진 단핵주 모두에서 검정되고 D.B.화 하여야 한다.

자 구별성 및 신규성 확보 : 큰느타리버섯의 신품종이 국내 재배 환경에 적합하다라고 판단 되어도 이를 국내 재배 농가가 안정적으로 사용하기위해서는 구별성 즉, 유전적 배경이 기존의 큰느타리버섯과 구별되어야 하며, 유전적 배경의 변화를 유도하기 위하여 다양한 육종기술이 도입되어 변이 유도 작업이 선행되어야함. 또한 기존의 수집되어진 큰느타리 버섯 자실체 특성에 부가되는 다른 품종특성이 확보되어야한다. 이러한 상술한 특성을 확보하여야 만 국내 육성 품종으로 등록이 가능하며, 이를 통해 국제식물신품종보호동맹 (UPOV) 체제하에서 국내 버섯 재배 농가에서의 큰느타리 품종 사용을 자유롭게 하리라 판단된다.

제3절 연구개발의 범위

1. 농촌진흥청 버섯과와 광주버섯연구소 등 연구기관으로 부터의 분양 또는 야생균주 수집 그리고 외국으로 부터의 유전 자원을 수집한다.
2. 수집된 유전자원은 특성 검정 재배를 통하여 우량 모균주 선발
3. 선발된 모균주에서 단핵 균주 선발하고 단핵균주의 교배형을 결정한다.
4. 선발된 1핵 균주간의 교배를 통하여 2핵 균주를 선발하고 이들 균주를 병재배, 상자재배, 균상재배 순으로 균주를 선발하고, 최종적으로 농가 실증재배를 실시하여 우량계통 선발한다.
5. 최종 선발된 균주된 유전자 다형 분석으로 품종의 구별성을 구명한다.
6. 우량계통으로 선발된 계통은 품종보호출원하여 품종으로 등록 한다.

제2장 국내외 기술개발 현황

1. 원형질체 육성에 의한 원형느타리 1호가 육성됨(1990. 농업과학기술원)
2. 단핵균주의 교배에 의해 삼복느타리가 육성됨(2000. 농업과학기술원)
3. 단핵균주의 교배에 의해 다조아 병느타리 버섯이 육성됨(2005. 광주버섯연구소)
4. 1997년부터 일본에서 균주와 재배기술을 도입하여 기존의 팽이버섯장에서 일본과 같은 재배기술로 재배되고 있음. 현재에는 가장 발달된 재배기술력을 가지게됨.
5. 큰느타리 병재배의 공조시설 발달로 재배되고 있으며, 소수·대형 품종의 육종에도 성공하여 연간 약 2,000톤이 생산되고 있음(일본).

제3장 연구개발 수행 내용 및 결과

제1절 춘추기용 고품질 느타리 품종육성 (제1 세부과제)

1. 서 언

느타리버섯(*Pleurotus* spp.)은 여러 가지 종이 있으나 우리나라에서는 *P. ostreatus*가 대부분이며, 주로 활엽수 고사목에서 자생하면서 목재중의 리그닌이나 섬유소 등을 분해하여 이용하는 백색 목재부후균이다(Hashimoto et al, 1974). 느타리버섯의 인공재배 초기에는 포플라 등의 원목을 이용하였으나 재배가 점차 늘어남에 따라 재배기질도 폐솜, 톱밥, 비트펄프, 면실박 등 많은 농림부산물이 사용되고 있다. 우리나라의 봄 가을 재배에 주로 이용되고 있는 품종은 수한 1호, 장안5호, 김제9호 등 여러가지 품종이 있다. 그러나 이들 품종은 품질은 좋으나 기후에 매우 민감하고, 수분에 약할 뿐 아니라 세균성 갈반병 등에도 매우 민감하다. 따라서 버섯 재배가 잘 되는 경우 보다는 실패하는 확률이 높아 그로 인한 농가의 소득저하와 피해는 심각하다. 그리고 병재배를 하는 농가들은 춘추 2호를 주로 재배하는데 춘추2호는 수한 1호보다 품질이 낮아 가격 경쟁에서 수한에 많이 밀리고 있는 실정이다. 따라서 버섯 재배 농가들은 품질은 수한 1호와 비슷하면서 재배하기는 춘추2호 처럼 쉬운 품종을 요구하고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 농가들의 요구에 부응하는 느타리버섯의 육성이 절실한 실정이다. 따라서 다양한 유전 자원을 수집하고 이들 균주들을 모균주로 하여 육성된 많은 계통들의 범위를 줄여 가고자 병재배, 상자재배, 균상재배, 농가 실증재배를 실시하고 우수한 계통을 선발 하였다. 그리고 최종적으로 선발된 균주는 유전자 다형 분석을 실시하고 구별성을 검정 하였으며, 최종적으로 1품종을 선발하고 "안성1호 느타리"로 명명하고 품종보호를 출원할 계획이다.

2. 재료 및 방법

가. 균주 및 배양

이 시험에 이용한 균주는 농촌진흥청과 농민버섯연구소에 보존 중인 균주를 사용하였으며, 4℃ 균주 보관실에 보관 중인 균을 균주의 활력을 찾기 위하여 감자한천 배지에 이식한 후 직경이 3㎝이상 자랐을 때 균총의 가장자리에서 직경 7㎜의 cork borer로 떼어 새로운 배지에 이식하였다. 균이 접종된 배지는 암상태의 25℃ 항온기에서 7일간 배양 후 본 시험에 사용하였다(Table1-1).

Table 1-1. *Pleurotus* species used in this study

Species	Strain No.	Varieties
Pleurotus ostreatus	ASI 2018	농기201호
	ASI 2183	원형2호
	ASI 2344	춘추2호
	ASI 2504	수한
	ASI 2706	흑평
	ASI 2194	애느타리
	ASI 2487	청풍
	ASI 2708	김제10호
	ASI 2730	청도22호
	ASI 2726	신농11호
	ASI 2228	춘추1호
	ASI 2736	부평흑단4호
	ASI 2792	한라1호
	NM-154	농기201 X 수한
	NM-834	애느타리 X 춘추2호
	NM-275	NM-154 X 청풍

균주의 균사 생장에 사용한 배지는 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium ; MCM) 과 감자한천배지(Potato Dextrose Agar ; PDA) 등 2가지 배지를 사용하였으며, 이를 고압살균기에서 121℃ 20분간 살균하여 무균상 내에서 petridish(직경 90㎜)에 20㎖를 분주하여 식힌 후에 각각 균을 접종하여 25℃에서 7일간 배양하였다 (Table 1-2).

Table 1-2. Composition of media used for mycelial culture of *Pleurotus* species

Ingradients(g/ℓ)	Media	
	PDA	MCM
K_2HPO_4		1
KH_2PO_4		0.46
$MgSO_4$-$7H_2O$		0.5
Glucose		20
Peptone		2
Yeast extract		2
PDA(Difco)	39	
Agar		20

나. 단핵균주

단포자 발아 분리는 Vaughans-Ward와 Isikhuemhen(2004)의 방법을 응용하였다. 성숙한 자실체에서 3～4시간 동안 낙하시킨 담자포자를 멸균수에 현탁하여 버섯완전배지에 도말시킨 후 약 10～12일간 25℃에서 배양하였다. 발아된 단핵균주의 균사체가 서로 닿기전 멸균한 접종침을 사용하여 다른 PDA 배지에 이식 한 후 약 7～14일간 배양하였다. 단핵 균주 여부를 조사하기 위하여 균총의 가장자리에서 꺽쇠연결체(clamp connection) 형성 여부를 조사한 후 꺽쇠 연결체가 없는 균주를 단핵균주로 선발 하였다. 선발된 단핵균주는 버섯완전배지에서 배양하여 4℃에서 보관하면서 원균으로 사용하였다.

다. 교배형 결정과 교잡균주 육성

모균주로 선발된 균주는 단핵 균주를 선발하여 각 단핵균주간 상호 교배를 실시하여 각 교배조합별 꺽쇠연결체를 조사하여 각 균주별 교배형을 결정 하였다. 우량교잡주 선발을 위하여 mono-mono 와 di-mono 교잡법을 수행하였다. Mono-mono 교배를 위하여 버섯완전배지에 선발된 두 단핵체를 약 1㎝ 간격으로 대치접종하였다. Di-mono 교배는 단핵체를 먼저 중앙에 접종한 뒤 2～3일 뒤 2핵균주를 약 1㎝ 간격으로 접종하여 1주일간 배양하였다. 이후 단핵균주간 교배는 접합된 부위, di-mono 교배는 단핵주의 가장자리 균사를 현미경으로 관찰하여 꺽쇠연결체 형성 유무를 확인하여 꺽쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다.

라. 교잡주 (hybrid)의 병재배에 의한 선발

Mono-mono 교배와 di-mono 교배를 통하여 선발된 교잡주의 자실체 검정을 위해 병재배를 실시 하였다. 우선 접종원 제조는 포플러 톱밥과 미강을 8 : 2(v/v)비율로 혼합하여 수분을 65%(v/v)정도로 조절하였으며 혼합된 톱밥 배지를 250㎖ 삼각플라스크에 넣어 고압살균으로 121℃에서 60분간 살균하였다. 살균 후 실온으로 냉각시킨 후 교잡주를 접종하여 25℃ 배양실에서 20일간 배양을 하였다. 병재배는 850㎖ P.P. 병에 포플러 톱밥과 밀기울을 8 : 2(v/v)비율로 혼합하여 제조한 후 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 30일정도 배양하고 배양이 완료된 병은 균긁기를 실시하였으며 자실체 발생을 유도하기 위하여 습도 95%, 실내온도 15-18℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다(유 등, 2006).

마. 상자재배를 이용한 자실체 특성검정

병재배에 의해서 1차 선발된 균주는 상자에서 자실체의 특성검정을 위해 폐면에 수분을 75% 정도로 조절 한 후 플라스틱 상자(42.5 x 42.5 x 10.5㎝)에 5㎏정도 입상 한 후 65℃에서 8시간정도 살균한 후 50-55℃에서 3-4일간 발효를 시켰다. 살균 발효가 끝난 배지는 약 20℃로 식힌 후 미리 배양된 톱밥종균을 분쇄한 상태로 배지에 접종하여 21-23℃배양실에서 30일간 배양하였다. 배양이 완료된 상자는 생육실에 옮겨 15～18℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다.

바. 균상재배와 농가실증을 재배

자실체 특성검정은 상자재배와 동일하게 폐면을 충분히 수분과 혼합하여 균상에 건물 중 기준 40kg 정도 입상 한 후 65℃ 내외에서 8시간 살균하고, 50-55℃에서 3-4일간 배지 발효하여 식힌 후 미리 배양된 종균을 분쇄한 상태로 균상배지(폐면)에 접종하여 배양하였다. 배양이 완료되면 온도를 15~18℃ 정도에서 버섯을 생육 시켰다.

사. Genomic DNA 분리

Genomic DNA 추출을 위한 균사배양은 PDA plate에 균사를 접종하여 26℃의 항온기에서 7일간 배양하였다. 그 후 버섯완전배지의 액체배지에 PDA에서 자란 균사체를 접종 한 후 7일간 배양 하였다. 배양된 균사체를 동결건조 후 유발에 넣고 액체질소를 첨가하여 곱게 마쇄하였다. DNA는 TOYOBO사의 Mag Extractor(Plant DNA purification kit)를 사용하여 추출하였다. 마쇄된 균사체 200㎎에 lysis buffer 400㎕를 넣고, vortexing후 65℃에서 10분 반응시켰다. 반응 후, phenol : chloroform : isoamyalcohol(25:24:1)을 600㎕를 넣고 vortexing후 13,000rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 새로운 tube에 옮기고 흡착액 600㎕와 자성비드 40㎕를 넣은 후 trapper에 튜브를 끼워 자성비드에 DNA가 붙게하였다. 자성비드를 세정액과 70% ethanol로 두 번 세척하였다. 상온에서 10분 동안 진공 건조시켜 50㎕의 멸균수에 녹였다. Trapper에 튜브를 끼워 자성비드와 DNA가 녹아있는 액을 분리한 후 새로운 tube에 옮겨 4℃에 보관하면서 PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

아. RAPD에 의한 균주간 hybrid 확인

URP-PCR은 Bioneer PCR Premix kit에 genomic DNA 2㎕, primer 1㎕(Table 1-3), 멸균수 17㎕를 첨가하였다. template DNA를 변성 시키기 위해 94℃에서 5분간 처리후, 증폭을 위해 94℃에서 1분간 변성, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 중합을 35cycle반복한 후 마지막으로 72℃에서 10분간 중합반응을 보였다. 증폭된 산물은 1.5% agrose gel에서 전기영동하였고 EtBr로 염색하여 UV illuminator 위에서 band를 확인하였다.

Table 1-3. List of 3 URP primers used in PCR-fingerprint of *Pleurotus* species

Products*	Sequences
URP07	5'-ATCCAAGGTCCGAGACAACC-3'
URP10	5'-CCCAGCAACTGATCGCACAC-3'
URP11	5'-GTGTGCGATCAGTTGCTGGG-3'

*Accession numbers of SRILS UniPrimer Kit (Seolin Sci Co.)

자. 최종선발 균주의 최적 배양온도

최종적으로 선발된 우량계통의 최적 배양 온도를 구명하기 위하여 20분간 고압살균 (121℃, 1.2kg/㎠) 된 MCM과 PDA 배지를 20㎖씩 직경 90㎜ petridsh 분주하여 고화시킨 평판배지에 균사체를 직경 7㎜인 cork borer로 절취하여 접종하여 20, 25, 30℃로 조절된 항온기에서 7일간 배양한 다음 균총의 직경을 조사하였다.

3. 결 과

가. 유전 자원 수집

봄 가을 재배에 알맞는 느타리 품종을 육성하기 위해 먼저 다양한 유전 자원을 수집하였다. 유전 자원은 미국, 캐나다, 중국, 과테말라, 일본 등 다양한 국가에서 버섯균주를 수집하고 농촌진흥청, 광주버섯연구소, 농가, 야생 균주 등 다양한 방법으로 수집 하였으며, 총 82개 균주를 수집하였다. 수집처별 균주는 Table1-4와 같으며, 해외에서 수집된 균주와 야생수집 균주는 농촌진흥청 버섯과와 광주버섯연구소에 유전자원으로 기탁하였다.

Table 1-4. Orign of collected mushroom species

Orign of mushroom species		Number of collected
USA	*Pleurotus. ostreatus*	3
	P. cornucopiae	1
China	*P. ostreatus*	6
	P. cornucopiae	5
Canada	*P. ostreatus*	3
	P. eryngii	1
Guatemala	*Lentinula edodes*	1
Japan	*P. ostreatus*	1
	P. eryngii	1
	Grifola frondosus	2
	Lyophyiium ulmarium	1
Korea	*P. ostreatus*	57
Total		82

나. 유전 자원의 특성 검정과 모균주 선발

수집된 느타리 균주는 상자재배를 실시하여 특성을 검정 하였으며, 아울러 농가에서 많이 재배되고 있는 품종과 농가의 육성 희망 등에 대한 종합적인 의견을 청취하여 육성자의 주관적인 판단에 의해 모균주를 선발 하였다. 특히 농민들의 대다수 의견은 수한1호(2504)를 능가하는 품종을 육성해 주기를 원했다.

표 1-5는 상자재배 결과 각 균주의 특성을 나타낸 것인데 주로 선발의 관점을 자실체 색택에 두었는데, 2504, 2706, 2730, 춘추2호(2344) 등을 모균주로 선발 하였으며, 농민버섯연구소에 보관 중인 농민 59호 등의 균주들도 일부 모균주로 사용 하였다.

Table 1-5. 느타리버섯 상자재배에서의 자실체 특성

균주번호	초발이 소요일수(일)	생육일수 (일)	수확량	갓(mm)	대(mm)		개체중 (g/개)	갓색깔 (초기)	균덩이 (개/상자)
			(g/상자**)	직경	굵기	길이			
2535	29	35.0±0.0	2,267.0±24.6	47.0±2.6	9.0±2.0	63.3±1.5	8.0	진회색	4
2504 (수한1)	25	34.0±1.7	2,161.3±662.9	42.3±11.0	15.0±2.6	46.3±4.7	12.0	진회색	-
2726 (신농11호)	#DIV/0!	36.7±1.2	2,116.3±168.4	52.3±3.1	19.7±1.5	55.3±8.4	14.7		1
2729	#DIV/0!	40.7±2.3	1,863.7±31.5	49.7±3.1	13.7±2.5	55.0±1.0	9.3		3
2731	26	37.3±5.0	1,857.7±1,005.6	41.7±1.5	20.0±1.7	70.3±10.5	18.0	흑회색	2
2732	#DIV/0!	35.0±0.0	1,842.0±329.1	51.7±4.5	15.0±3.6	27.7±5.7	9.2	진회색	2
2706 (흑평)	#DIV/0!	35.0±0.0	1,818.0±236.5	54.0±1.0	19.7±0.6	45.7±5.5	13.1	회색	-
2488	#DIV/0!	38.0±0.0	1,796.3±157.6	47.3±4.0	13.3±1.2	42.3±6.5	8.7		1
2733	27	36.0±6.9	1,785.7±503.3	43.7±3.2	13.3±1.2	43.3±2.1	10.0	회색	-
2708 (김제10호)	29	43.0±4.6	1,767.0±660.5	47.0±3.6	17.3±2.5	71.3±10.0	17.7	흑회색	-
2734	25	33.0±1.7	1,699.0±214.1	45.7±3.8	15.7±1.2	61.3±6.0	11.3	진회색	-
2549	25	34.3±1.2	1,686.3±469.1	42.7±0.6	14.7±0.6	70.3±6.8	12.6	회색	-
2183 (원형2호)	#DIV/0!	36.0±1.7	1,685.7±489.0	51.7±2.9	16.0±1.0	51.3±0.6	10.3	진회색	2
2707	25	36.3±2.3	1,649.0±491.5	57.7±3.2	19.0±2.0	46.0±7.8	18.4	진회색	-
2721	25	32.0±0.0	1,598.0±490.9	42.7±5.5	15.0±3.0	54.3±5.5	9.7	진회색	-
2180	#DIV/0!	37.0±1.7	1,490.7±364.2	47.3±7.1	19.0±3.0	50.3±10.3	13.0	회색	-
2595	#DIV/0!	42.3±8.5	1,481.3±100.2	48.0±4.4	20.7±2.1	44.0±7.2	13.3		-
2722	#DIV/0!	38.3±4.9	1,471.0±1,046.5	44.0±3.6	13.3±2.1	56.7±12.2	8.4	진회색	-
2598	29	36.3±1.5	1,421.3±328.3	43.7±2.9	22.0±2.6	36.3±3.2	12.3	흑회색	2
2711	29	39.0±6.9	1,415.0±684.1	55.3±6.1	16.0±1.0	72.7±9.0	20.0	진회색	1
2719	#DIV/0!	45.3±2.9	1,368.3±162.0	40.0±4.4	10.7±0.6	47.0±2.6	9.0		-
2018 (농기201호)	#DIV/0!	42.7±4.0	1,241.0±233.5	51.0±4.0	14.7±0.6	50.0±4.6	13.0		-
2477	30	38.0±0.0	1,203.0±230.4	54.0±4.6	19.0±0.0	47.0±8.2	11.3		-
2728	29	42.7±8.1	1,164.3±261.0	49.0±1.7	10.3±0.6	48.7±3.8	6.3		-
2724	28	35.3±5.8	1,157.3±217.0	50.7±2.1	19.7±1.5	27.7±5.9	12.0	진회색	-
2487	25	52.0±0.0	1,134.0±239.0	44.3±5.9	9.3±0.6	45.7±7.8	8.0		-
2596	#DIV/0!	38.7±3.1	1,084.7±243.0	54.7±2.1	19.3±1.5	30.3±4.6	10.3		-
2228 (춘추1호)	29	47.5±7.8	1,042.5±139.3	50.7±4.0	13.7±0.6	111.7±3.5	16.7		1
2240	#DIV/0!	46.7±4.6	1,016.3±319.3	51.7±5.8	20.0±1.0	39.0±4.4	14.5		-
2194 (애느타리)	30	45.0±7.5	875.0±360.7	51.0±3.6	17.0±1.0	54.7±8.5	12.7		-
2717	#DIV/0!	50.3±2.9	842.7±452.8	50.7±7.5	16.3±2.1	50.0±4.0	13.0		-
2594	26	33.5±2.1	790.5±176.1	46.7±3.5	11.7±2.3	67.0±12.5	11.3	회색	-
2738	25	32.0±0.0	789.3±394.1	47.3±3.5	17.3±0.6	75.0±8.9	19.3	진회색	2
2593	#DIV/0!	40.0±3.5	666.0±276.3	50.3±2.1	14.3±1.5	38.3±8.1	8.3		-
2479	25	48.7±4.2	660.3±227.3	50.0±3.0	12.0±1.0	21.7±3.2	6.3	연회색	-
2730 (청도22호)	30	43.3±9.2	525.3±349.5	46.0±1.7	16.7±2.1	41.0±4.6	10.0		-
2181	29	39.3±2.3	491.7±160.1	51.7±0.6	14.0±2.0	55.0±4.4	12.3		-
2001	25	53.7±0.6	433.0±34.0	44.0±1.7	11.3±0.6	44.7±1.2	6.8		-
2344 (춘추2호)	#DIV/0!	42.0±0.0	340.5±98.3	45.3±4.0	11.7±1.5	49.7±14.2	11.3		1

* ; DIV/0i : no data, ** ; 42.5 x 42.5 x 10.5 cm

다. 선발 모균주의 교배형 결정

수집 균주의 특성을 조사하고 선발된 모균주로 부터 병재배를 실시하여 자실체를 형성시킨 후 자실체로 부터 포자를 획득하여 PDA 배지에서 발아시킨 후 발아된 균주를 현미경하에서 균사체의 clamp 형성 유무를 확인 한 후 clamp가 없는 것들을 단핵균주로 선발하였다. 표 1-6, 7, 8, 9는 단핵균주의 교배형 결정을 하였는데 흑평의 경우에 A1B1과 A2B2 단핵균주가 많았으며, A1B2와 A2B1의 단핵균주는 상대적으로 적었다. 그리고 춘추 2호와 2730균주도 흑평과 더불어 뚜렷한 4극성을 보였다. 2194 균주도 대체로 4극성을 보여 A1B1균주가 6개, A1B2 균주가 4개, A2B1 균주가 3개, A2B2 균주가 5개로 나타났다. 그러나 2194-1번과 2194-11이 조금 다른 양상의 결과를 보여 조금 더 검토해 보아야 할 것으로 사료 되었다.

Table 1-6. 흑평(2706)의 교배형 결정

2706		A1B1								A1B2				A2B1		A2B2				
		2	14	15	16	19	1	3	9	10	11	17	20	4	18	5	12	6	8	13
I	2		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	14	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	15	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	16	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	19	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−		−	−	+	+	+	+	+
	1	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	+	+	−	+	+	+	+
	3	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+
	9	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+
II	10	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	+	+	+	+	−	−	−
	11	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	+	+	+	+	−	−	−
	17	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−			+	+	+	+	−	−	−
	20	−	−	−	−		−	−	−	−	−			+		+	+	−	−	−
III	4	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+		−	−	−	−	−	−
	18	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+		−		−	−	−	−	−
IV	5	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	−	−		−	−	−	−
	12	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−	−		−	−	−
	6	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−
	8	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−
	13	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	

Table 1-7. 춘추2호의 교배형 결정

교배형	단핵체 균주번호
I	1
II	4, 8, 13, 15, 16
III	2, 9, 10, 18
IV	3, 7, 11, 12, 14, 17, 19, 20

Table 1-8. 2730 균주의 교배형 결정

교배형	단핵체 균주번호
I	4, 10, 11, 23, 24, 28, 30
II	7, 8, 18, 21, 25, 26
III	5, 29
IV	1, 2, 12, 22, 27

Table 1-9. 2194 균주의 교배형 결정

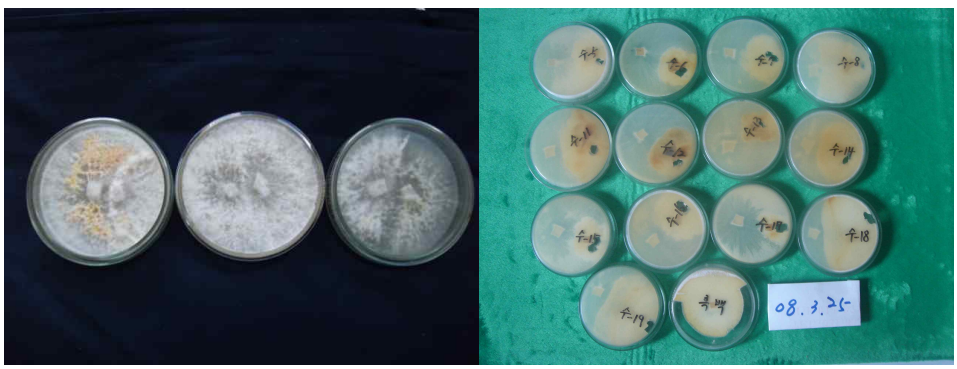
2194		A1B1						A1B2				A2B1			A2B2				
		4	6	12	15	20	22	1	5	10	14	2	3	19	7	8	11	18	21
A1B1	4		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	6	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	12	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	15	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	20	−	−	−	−		−	+	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
	22	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+
A1B2	1	−	−	−	−	+	−		−	−	−	+	+	+	−	−	−	−	−
	5	−	−	−	−	−	−	−		−	−	+	+	+	−	−	−	−	−
	10	−	−	−	−	−	−	−	−		−	+	+	+	−	−	−	−	−
	14	−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	+	−	−	−	−	−
A2B1	2	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+		−	−	−	−	−	−	−
	3	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−		−	−	−	−	−	−
	19	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−	−		−	−	+	−	−
A2B2	7	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−
	8	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−
	11	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−		−	−
	18	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−
	21	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	

라. 단핵균주의 교배와 2핵 균주의 선발

모균주로 선발된 균주들은 교배형 확인을 한 후 각 균주별로 단포자 교배와 di-mono 교배를 실시하고 모든 교배형에서 clamp 형성 유무를 확인 한 후 2핵 균주를 획득하였고 각 교배 교합별 2핵 균주의 획득 균주수는 표 1-10과 같다.

Table 1-10. 느타리 중온성 계통간 교잡

교 잡 조 합	교잡 균주 수
춘추2호 x 원형2호	60
춘추2호 x 2730	53
춘추2호 x 2194	28
2061 x 2088	1
2055 x 2088	3
2074 x 2088	6
2228 x 2344	3
2228 x 2374	5
2228 x 2259	2
2253 x 2265	1
624 x 2337	3
624 x 2001	4
624 x 2259	3
원형1 x 2088	1
2393 x 1975	1
2504 x 춘추 1	6
2504 x 흑평1호	6
수한 1호(mono) x 흑백(di)	10
수한 1호(mono) x 농민1(di)	1
계	197



Mono x mono　　Di x mono

Fig. 1-1. Mono-mono and di-mono mating among *P. ostreatus*

마. 교배 균주의 병재배 실시

교배로 선발 되어진 2핵 균주들은 모든 균주를 모두 균상 재배를 실시 할 수 없기 때문에 병재배와 상자재배로 그 계통을 줄여 나가야 한다. 따라서 교배로 선발된 2핵 균주들을 병재배를 실시하였다. 병재배의 배지 조성은 농가들에게서 가장 많이 사용하고 있는 톱밥 (50%) + 비트펄프(30%) + 면실박(20%)으로 하였다.

1차 병재배 결과 수량이 많거나 갓 색택이 진하면서 대가 하얀 것을 중심으로 NM-233 균주외 50 균주를 선발하였다. 그리고 각 계통별 성적은 그림 1-2, 표 1-11, 12, 13과 같다. 표 1-14는 표 1-10외에 더 많은 교배와 병재배를 실시하고 상자재배를 위한 선발 균주수를 나타낸 것이다.

그림 1-2. 느타리버섯 춘추기용 교잡 균주의 병재배 형태.

Table 1-11. 춘추2호 X 원형2호 교배 균주의 병재배 결과 특성

균주번호	초발이 소요일수(일)	수확일수(일)	유효경수(병)	수량(병)	대(mm)		개체중(g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
NM-233	8	16	13±5.1	124±22.7	13.0	45.3	8.3	오목반구형	진회색	
NM-263	3	13	39±2.6	123±4.9	10.7	46.3	6.0	깔대기형	청회색	연회색
NM-236	3	12	42±2.6	121±5.9	10.0	37.5	4.0	얕은깔대기형	연회색	연회색
NM-247	7	15	18±3.2	118±13.6	11.7	56.3	9.3	오목반구형	연회갈색	연회색
NM-217	5	13	26±1.8	115±10.3	10.3	47.7	7.3	얕은깔대기형	회색	연회색
NM-259	2	12	36±4.8	115±7.1	9.7	52.3	7.0	오목반구형	연회색	연회색
NM-212	3	12	27±3.1	114±14.3	10.0	56.7	7.7	얕은깔대기형	진회갈색	연회색
NM-242	4	13	21±1.0	114±3.8	9.3	61.7	7.3	오목반구형	연회색	연회색
NM-246	5	12	25±2.5	114±7.5	11.3	74.3	10.3	반구형	연회색	연회색
NM-231	4	15	21±4.0	113±15.0	8.3	49.0	5.0	얕은깔대기형	진회갈색	연회색
NM-262	5	13	31±2.1	108±5.1	9.7	39.3	6.7	오목반구형	회색	연회색
NM-215	3	13	16±4.1	108±7.4	10.3	61.3	9.3	얕은깔대기형	회색	연회색
NM-216	5	13	15±2.9	108±15.0	10.3	49.7	7.0	깔대기형	진회색	연회색
NM-264	4	11	16±1.3	106±6.4	10.3	46.7	8.0	얕은깔대기형	연회갈색	연회색
NM-232	2	10	25±2.2	105±6.0	13.7	48.0	10.0	오목반구형	회색	회백색
NM-207	6	14	25±4.4	104±7.4	10.0	47.0	7.3	반구형		연회색
NM-249	4	11	27±3.0	104±14.3	11.0	41.3	8.0	오목반구형	진회갈색	회갈색
NM-252	3	11	25±2.9	104±9.0	13.0	41.7	8.7	오목반구형	회색	연회갈색
NM-248	3	11	35±3.0	103±2.6	12.3	50.0	8.7	오목반구형	연회색	연회색
NM-268	3	10	27±7.8	103±4.9	11.3	44.3	7.3	오목반구형	진회색	회백색
NM-235	4	12	24±2.9	102±9.9	11.3	48.7	8.7	오목반구형	연회색	연회색
NM-203	3	12	35±7.5	102±5.8	10.0	50.0	7.7	반구형	연회갈색	회백색
NM-271	5	15	19±0.7	102±1.4	12.0	35.0	8.3	오목반구형	회색	연회색
NM-230	3	14	19±1.7	102±10.6	10.0	62.3	6.3	오목반구형	연회갈색	연회색
NM-226	4	12	23±2.4	100±12.8	12.3	41.7	7.0	얕은깔대기형	진회색	진회색
NM-257	3	12	24±4.3	100±15.4	9.7	55.3	6.3	얕은깔대기형	연회색	연회색
NM-224	5	12	16±1.3	99±11.0	12.7	41.3	8.7	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-229	13	20	19±4.8	99±5.4	10.0	50.7	7.0	오목반구형		연회색
NM-253	4	11	25±0.0	99±17.7	11.3	42.0	8.0	오목반구형	청회색	연회색
NM-269	8	13	26±14.2	98±6.6	15.0	36.0	10.3	얕은깔대기형	회색	연회색
NM-201	6	13	13±5.7	98±15.1	11.3	43.3	8.7	반구형	연회색	회백색
NM-213	5	13	23±2.0	97±7.6	10.0	48.0	7.7	얕은깔대기형	진회갈색	진회색
NM-255	8	16	29±5.5	97±13.2	9.7	50.0	6.7	얕은깔대기형	회색	회색
NM-218	4	13	18±0.8	97±5.1	10.7	40.3	6.0	반구형	진회색	연회색
NM-261	4	12	18±4.6	97±16.4	10.0	41.0	8.0	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-219	6	13	15±5.0	96±25.0	11.3	46.7	6.3	얕은깔대기형	연회갈색	연회색
NM-220	7	14	15±1.5	96±8.1	11.3	37.3	7.0	얕은깔대기형	회갈색	회색
NM-234	4	12	18±3.8	95±2.1	11.0	45.7	8.3	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-237	4	13	19±9.3	95±2.5	9.3	58.3	6.0	오목반구형	회색	연회색
NM-208	5	13	26±3.5	95±14.9	8.3	47.0	5.3	오목반구형	회색	연회색
NM-214	3	14	26±0.0	95±0.0	9.0	48.7	6.0	오목반구형		연회색
NM-202	5	12	17±5.2	94±18.5	12.3	50.3	9.0	오목반구형	연회색	연회색
NM-228	11	20	15±1.5	94±9.5	9.7	47.7	6.7	오목반구형		회백색
NM-243	3	13	19±3.5	94±11.0	10.3	49.0	7.3	오목반구형	연회갈색	연회색
NM-244	3	12	14±2.1	92±8.5	13.0	39.3	9.7	반구형	진회색	회색
NM-241	2	12	25±3.5	91±3.2	9.7	49.3	7.0	오목반구형	연회색	연회색
NM-239	3	12	27±5.8	91±9.9	8.3	57.7	5.7	오목반구형	연회색	연회색
NM-238	4	13	16±3.2	91±9.0	10.0	57.0	7.3	얕은깔대기형	연회색	연회색
NM-221	2	11	22±8.9	90±15.6	9.3	60.7	5.3	얕은깔대기형	연갈색	연회갈색
NM-260	4	11	16±2.1	89±7.3	11.0	41.3	9.7	얕은깔대기형	연청회색	연회색
NM-204	4	13	24±6.9	87±9.5	6.7	46.7	6.7	얕은깔대기형	진회갈색	연회갈색
NM-256	3	12	10±8.5	87±13.3	10.0	45.0	7.0	오목반숙형	회갈색	연회색
NM-225	4	12	13±6.6	86±10.2	10.3	41.7	5.0	편평형	회갈	연회갈색
NM-265	4	11	18±6.6	85±11.1	13.0	28.3	7.3	오목반구형	회갈색	회색
NM-266	5.0	12.0	19±3.1	85±12.1	9.3	50.0	7.3	오목반구형	연회갈색	연회색
NM-210	9	18	14±3.0	84±10.1	11.3	34.0	5.7	오목반구형		회색
NM-258	3	12	19±3.7	84±14.5	10.7	47.0	8.3	깔대기형	회색	연회갈색
NM-227	5	13	24±8.3	83±20.3	11.3	46.7	5.0	오목반구형	회색	회색
NM-254	3	11	26±4.5	83±11.0	12.7	31.3	6.7	얕은깔대기형	청회색	연회색
NM-270	4	11	15±4.2	82±12.0	12.0	27.3	5.3	오목반구형	회갈색	회색
원형2호	5	13	19±4.7	102±12.0	11.0	35.2	8.0	반구형	진회색	회색
춘추2호	2	10	26±5.0	88±11.5	10.2	33.4	7.1	얕은깔대기형	회색	회색

Table 1-12. 춘추2호 X 2730 교배 균주의 병재배 결과 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
NM-1220	4	10	38±5.8	132±7.6	9.8	40.7	7.3	오목반구형	진회색	연회갈색
NM-1221	5	10	29±7.0	132±11.2	10.8	66.0	10.3	오목반구형	청회색	연회색
NM-1213	3	9	40±11.9	129±21.3	8.5	85.0	7.7	깔대기형	회색	연회색
NM-1205	4	10	32±2.2	126±14.6	9.3	75.7	5.7	오목반구형	진회갈색	연회갈색
NM-1201	5	12	11±2.1	124±6.4	13.0	55.7	10.0	깔대기형	진회색	진갈색
NM-1238	6	12	22±1.7	118±1.8	10.5	49.0	9.3	오목반구형	연회갈색	연회색
NM-1224	6	13	30±9.1	117±22.5	10.8	53.3	7.0	깔대기형	청회색	연회색
NM-1218	7	13	28±4.0	116±8.5	10.5	49.0	9.0	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-1236	4	10	21±1.2	113±19.2	9.5	65.3	7.7	깔대기형	진회색	연회갈색
NM-1207	8	15	20±3.5	112±11.3	10.5	68.0	8.0	얕은깔대기형	연회갈색	연회색
NM-1217	8	14	21±8.7	107±16.9	12.0	68.7	8.0	얕은깔대기형	회색	회갈색
NM-1222	6	12	14±1.6	104±17.0	11.5	64.0	10.3	깔대기형	연청회색	연회색
NM-1216	4	9	32±4.0	103±22.0					회색	
NM-1212	3	8	37±6.1	100±22.1	10.0	80.7	4.7	깔대기형	회색	진회갈색
NM-1235	5	14	14±3.4	99±16.8	10.5	47.3	6.0	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-1208	5	13	23±4.3	97±19.1	11.0	67.0	8.3	깔대기형	진회갈색	진회색
NM-1234	6	13	17±1.5	97±1.0	11.3	50.0	9.0	오목반구형	회갈색	연회색
NM-1202	9	15	29±3.0	94±15.5	9.3	60.3	6.0	얕은깔대기형	회갈색	진회색
NM-1237	5	10	23±5.0	93±14.6	10.5	44.0	6.0	오목반구형	진회색	연회갈색
NM-1211	6	12	22±4.0	92±11.2	9.0	51.0	5.0	깔대기형	청회색	회색
NM-1210	3	10	27±11.3	92±19.1					진회갈색	
NM-1203	6	13	12±3.2	88±27.6	11.3	35.3	6.0	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-1231	7	15	14±2.1	84±13.5	14.5	43.0	8.3	오목반구형	회색	회색
NM-1230	6	15	10±1.5	83±7.0	14.8	48.0	8.3	오목반구형	회색	연회색
NM-1219	6	10	21±2.5	81±19.3	7.8	39.0	5.0	얕은깔대기형	진회색	회색
NM-1239	5	10	25±4.6	81±11.8	11.8	46.7	6.3	오목반구형	회갈색	연회색
NM-1240	6	12	14±1.3	77±5.0	11.8	35.3	7.0	오목반구형		회색
NM-1223	6	12	20±0.6	77±3.8	11.0	43.3	7.0	깔대기형	진회색	연회색
NM-1226	6	12	13±2.1	76±9.3	15.0	38.7	10.7	얕은깔대기형	회색	연회색
NM-1209	3	9	26±5.7	74±14.1					회색	연회갈색
NM-1229	4	10	11±6.4	74±19.1	13.0	47.3	13.3	깔대기형	진회색	연회색
NM-1225	6	13	5±1.3	71±21.8	20.0	33.3	12.3	오목반구형	흑회색	회색
NM-1227	6	13	10±0.0	70±0.0					청회색	청회색
NM-1233	5	12	7±1.6	70±15.7	14.8	55.7	10.3	깔대기형	진회색	연회색
NM-1228	8	13	13±1.4	64±1.4						
NM-1232	8	16	5±0.0	64±0.0					청회색	
NM-1217	6	13	12±2.9	51±19.5	11.5	41.0	6.0	얕은깔대기형	청회색	연회색
춘추2호	2	10	26±5.0	88±11.5	10.2	33.4	7.1	얕은깔대기형	회색	회색
2730	5	12	16±5.2	78±11.7	14.2	35.7	6.3	오목반구형	진회색	회색

Table 1-13. 춘추2호 X 2194 교배 균주의 병재배 결과 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
NM-834	4	10	48±6.5	158±5.6	7.3	41.7	4.3	편평형	진회색	연회색
NM-831	3	9	59±14.6	148±8.8	8.8	56.0	4.3	오목반구형	회갈색	회갈색
NM-805	4	10	69±19.3	148±4.8	10.5	41.3	5.0	편평형	진청회색	연회색
NM-812	3	8	48±5.6	145±4.8	7.5	75.3	5.5	깔대기형	회갈색	연갈색
NM-809	4	9	46±2.4	141±7.2	12.5	44.7	8.3	오목반구형	회색	회색
NM-832	3	9	79±8.2	139±2.9	8.0	67.3	4.3	오목반구형	회갈색	회갈색
NM-835	4	10	42±4.1	139±10.5	9.8	64.7	5.7	오목반구형	진회색	연회갈색
NM-814	4	9	51±8.2	138±8.5	8.5	35.7	7.3	얕은깔대기형	진회색	진회색
NM-838	4	12	65±5.3	136±2.8	6.0	52.3	5.7	오목반구형	청회색	연회색
NM-818	4	10	34±1.4	136±8.3	10.5	54.3	7.0	오목반구형	진회색	진회색
NM-826	3	9	43±3.3	136±5.9	10.3	69.3	6.0	오목반구형	갈색	회갈색
NM-837	3	8	73±23.5	135±11.2	11.5	64.3	6.2	얕은깔대기형	진회색	진회색
NM-811	4	9	45±3.4	135±3.7	10.5	58.0	7.0	오목반구형	갈색	회갈색
NM-839	5	12	46±6.3	135±20.3	9.0	43.0	8.3	오목반구형	청회색	연회색
NM-806	4	9	42±16.6	134±15.8	9.0	52.0	5.3	편평형	진회색	진회색
NM-808	4	8	32±14.4	133±19.6	14.8	46.7	9.5	얕은깔대기형	진청회색	진회색
NM-828	4	9	35±3.8	133±8.5	11.8	63.7	6.3	오목반구형	진회색	진회색
NM-822	3	8	47±27.2	133±11.0	9.8	86.7	7.3	깔대기형	회갈색	연회갈색
NM-827	3	8	46±14.1	132±13.6	7.3	102.3	5.8	깔대기형	회갈색	연갈색
NM-807	3	8	45±5.2	131±9.5	8.8	82.3	6.2	깔대기형	회갈색	회색
NM-803	3	8	41±15.6	129±6.6	12.0	46.3	7.3	깔대기형	청회색	연청회색
NM-816	4	9	42±2.6	128±4.1	10.3	66.0	6.7	오목반구형	진회갈색	진회색
NM-801	3	8	60±8.0	127±11.5	9.8	62.0	7.0	얕은깔대기형	진회색	연회갈색
NM-815	4	8	47±6.2	127±6.8	12.3	56.0	5.7	얕은깔대기형	갈색	회갈색
NM-821	3	8	45±33.6	126±6.1	11.8	63.3	6.5	오목반구형	진회갈색	회갈색
NM-823	3	8	33±11.6	126±7.2	8.3	80.3	5.5	오목반구형	진회색	연회색
NM-836	3	9	44±7.6	124±19.3	9.8	51.7	6.0	오목반구형	진회갈색	회갈색
NM-824	3	8	23±7.8	124±7.8	11.0	33.0	6.7	오목반구형	진회색	회색
2194	3	10	16±3.9	80±10.3	10.4	47.1	7.9	얕은깔대기형	진회색	진회
춘추2호	2	10	26±5.0	88±11.5	10.2	33.4	7.1	얕은깔대기형	회색	회색

Table 1-14. 중온성 느타리 육성을 2핵균주 육성과 상자재배를 위한 선발 균주수

교잡품종	조합균주수	선발균주수
농기201 x 수한	63	-
원형2 x 춘추2	72	2
농기201 x 수한	4	-
원형2 x 춘추2	4	-
원형2 x 수한	4	1
원형2 x 흑평	4	-
p1982 x 원형2	24	4
p1982 x 청도22	24	3
원형2 x 청도22	64	-
애느타리 x 춘추2	40	3
춘추2 x 청도22	40	8
원형2 x 청도22	9	-
애느타리 x 춘추2	9	-
애느타리 x 청도22	9	-
춘추2 x 청도22	9	-
청풍 x 애느타리	56	-
청풍 x 춘추2	35	-
춘추1 x 수한	56	-
춘추1 x 흑평	42	1
춘추1 x 신농 11호	2	1
논공99 x 수한	8	-
삼구9 x 수한	9	-
한라1 x 수한	38	-
춘추2 x 수한	14	-
청풍 x 춘추2	4	-
청풍 x 원형2	4	-
합 계	**645**	**23**

바. 상자재배에 의한 중온성 느타리 계통 선발

교배로 선발 되어진 2핵 균주들은 모든 균주를 모두 균상 재배를 실시 할 수 없기 때문에 병재배와 상자재배로 그 계통을 줄여 나가야 한다. 따라서 교배로 얻어진 645개 균주들을 병재배를 실시하고(성적 미제시), 병 재배에서 우수한 균주21개 계통을 선발하여 상자재배를 실시하였다. 상자재배에 실시한 온도는 16℃ 내외에서 실시하였다.

상자재배에 사용된 배지는 폐면을 사용 하였으며 모든 재배법은 느타리버섯 폐면재배법에 따라 실시하였다. 상자 재배에 의해 선발된 균주는 균상 재배를 실시하고 최종적으로 농가 실증재배를 할 균주로 육성해 나가야 한다. 표 1-15에서 보는 바와 같이 품질이 우수한 계통도 균덩이 비율이 높은 것도 있기 때문에 균덩이 비율이 낮으면서 자실체 색택이 검은색을 기준으로 균상 재배를 실시하였다.

Table 1-15. 느타리 중온성 육성을 위한 상자재배

교잡품종	초발이 소요일수 (일)	수확량 (g/상자*)	갓(mm)		대(mm)		개체중 (g/개)	갓색깔	균덩이 (%)	갓모양	품질등급
			가로	세로	굵기	길이					
원형2×춘추2-1	29±1	1,281.0±8.5	79.7±5.0	71.5±1.5	21.0±0.9	104.7±1.6	41.6	진회	5	얕은깔대기	2
원형2×춘추2-2	32±1	1,081.0±67.9	89.7±4.6	89.2±11.0	18.0±1.3	77.7±7.0	37.7	회	2	얕은깔대기	2
원형2×수한1-2	46±1	1,630.7±189.7	42.7±4.6	44.0±1.0	15.7±3.1	48.7±1.5	36.5	흑회	2	반구형	1
춘추1×흑평-1	29±1	1,218.5±152.0	71.2±5.2	67.7±4.5	17.7±3.1	69.8±5.2	22.7	진회	10	얕은깔대기	2
춘추1×신농11-1	35±0	1,440.3±75.0	50.0±8.7	45.0±5.0	11.0±1.0	50.0±8.7	28.7	흑회	1	얕은깔대기	1
p1982×청도22-1	36±1	2,142.0±25.5	81.2±1.6	78.3±2.2	15.3±0.8	72.8±3.9	22.7	회	0	오목반구	2
p1982×청도22-2	27±0	1,948.0±322.4	76.2±5.8	73.2±5.0	14.0±1.3	95.0±4.8	27.1	회	1	얕은깔대기	2
p1982×청도22-3	35±1	2,256.5±225.6	81.0±1.9	77.7±3.8	19.8±0.8	65.7±1.6	40.4	진회	0	얕은깔대기	2
애느타리1×춘추2-1	29±1	951.0±25.5	65.2±1.7	63.5±3.8	17.5±1.5	103.5±2.4	25.5	진회	15	얕은깔대기	2
애느타리1×춘추2-2	33±1	2,209.5±7.8	88.2±5.6	83.0±3.5	22.3±0.5	50.0±3.7	40.7	진회	0	얕은깔대기	2
애느타리1×춘추2-3	29±1	1,223.5±625.8	84.2±12.2	79.2±14.0	21.0±3.0	57.0±2.7	32.2	진회	23	오목반구	2
춘추2×청도22-1	33±2	1,839.8±539.2	73.8±4.7	64.2±9.5	16.7±0.5	81.7±4.8	28.5	회	0	얕은깔대기	5
춘추2×청도22-2	30±1	1,705.5±584.8	101.0±3.5	97.7±4.6	18.5±2.3	52.5±7.7	47.7	진회	40	깔대기	1
춘추2×청도22-3	29±1	1,139.5±84.1	78.0±7.9	76.2±3.6	13.5±1.0	51.8±3.9	34.5	진회	10	얕은깔대기	4
춘추2×청도22-4	29±1	2,025.5±275.1	70.0±6.0	71.2±4.4	15.3±1.0	51.8±3.7	27.2	진회	14	얕은깔대기	5
춘추2×청도22-5	30±0	1,638.0±166.9	103.0±3.6	96.7±7.6	13.8±0.8	79.8±12.1	48.7	진회	3	얕은깔대기	1
춘추2×청도22-6	29±1	1,828.5±374.1	88.7±3.6	79.3±7.2	18.5±1.6	74.5±2.6	43.1	진회	4	얕은깔대기	1
춘추2×청도22-7	32±1	1,836.0±239.0	71.8±3.0	73.0±5.5	14.2±1.0	96.2±6.0	38.9	진회	0	깔대기	2
춘추2×청도22-8	27±0	1,305.0±79.2	88.5±2.8	53.5±2.3	15.5±0.5	89.7±1.0	42.4	진회	0	오목반구	1
p1982×원형2-2	28±0	918.0±39.6	80.2±12.4	69.8±11.4	25.5±5.0	47.0±18.4	37.0	진회	0	얕은깔대기	2
p1982×원형2-3	36±1	855.0±52.3	83.8±7.4	66.5±5.2	28.2±4.0	29.0±1.4	34.7	진회	0	깊은깔대기	2
p1982×원형2-4	29±1	1,400.0±360.6	84.5±3.6	75.5±3.8	28.3±1.0	45.0±1.4	42.5	진회	5	얕은깔대기	2
p1982×원형2-5	27±0	1,331.5±0.7	76.2±2.2	73.3±0.8	20.3±1.2	75.0±1.7	29.3	진회	27	얕은깔대기	1
원형2	29±2	1,684.3±256.0	94.8±4.1	88.8±3.9	17.2±1.6	37.3±2.8	31.3	회	0	얕은깔대기	2
애느타리1	28±1	1,917.8±428.8	95.4±5.7	91.1±9.9	24.2±1.9	62.4±7.4	44.1	진회	21	오목반구	2
춘추2	28±1	1,437.3±490.5	89.4±11.0	84.7±11.2	17.0±1.7	72.8±10.6	32.0	진회	0	얕은깔대기	2
흑평	26±2	1,900.8±371.3	92.7±5.1	91.2±7.8	15.4±1.1	32.1±9.5	32.3	진회	1	얕은깔대기	2
청도22	29±±1	1,996.0±107.7	91.3±1.8	90.4±±2.2	20.0±±1.3	36.3±±4.5	39.1	회	0	얕은깔대기	2
p1982	29±±1	1,570.8±108.3	91.0±3.7	90.4±4.8	21.4±1.1	110.8±7.4	38.7	회	65	얕은깔대기	2

* 42.5 x 42.5 x 10.5 cm

사. 선발 균주의 균상재배 와 농가실증

상자재배 결과 선발된 7개 계통을 폐면 균상재배를 실시하여 농가 실증시험을 실시하기 위한 균주 선발 시험을 실시하였다. 배지는 폐면의 수분을 70% 내외로 맞춘 후 1주일간 야외 발효를 한 다음 3.3 m^2 당 40 kg을 입상 한 후 65 ℃에서 8시간 살균 후 50-55 ℃에서 4일간 후 발효를 실시하였다. 종균 재식은 후발효가 끝난 후 배지 온도가 20 ℃ 정도 되었을 때 실시하였다. 균사배양 기간은 20 일간 실시하였으며 버섯의 발이 유기와 생육은 16℃ 내외에서 실시하였다.

Table 1-16. 중온성 느타리 육성을 위한 균상재배

균주 번호	초발이 소요일수 (일)	수확 일수 (일)	수확량 (g/3.3m^2)	갓(mm)		대(mm)		갓색깔(눈 측정)		균덩이 (%)	갓모양	등급
				가로	세로	굵기	길이	초기	후기			
춘추2x 청도22-2	27.0±0.0	34.0±0.0	27,009±50.2	102.0±9.0	88.2±2.2	24.3±0.5	60.5±9.7	흑색	회색	0	깊은깔대기	1
춘추2x 청도22-5	27.0±0.0	35.0±0.0	21,069±60.1	101.3±1.0	87.8±2.9	20.7±0.8	40.5±4.9	흑색	진회색	0	얕은깔대기	2
춘추2x 청도22-6	31.0±0.0	37.0±0.0	18,585±113.8	87.2±8.9	72.5±5.3	19.3±4.0	48.5±3.3	흑회색	진회색	15	얕은깔대기	1
춘추2x 청도22-8	28.0±1.4	34.0±0.0	17.415±74.2	76.2±5.8	73.2±5.0	14.0±1.3	95.0±4.8	흑색	진회색	5	얕은깔대기	2
2347 x 2730	30.5±0.7	36.0±1.4	24,201±347.2	86.8±18.0	81.5±21.9	17.3±2.7	58.5±8.5	흑색	진회색	0	얕은깔대기	2
원형2× 수한1-2	26.0±1.0	36.0±0.0	29,352±189.7	42.7±4.6	44.0±1.0	15.7±3.1	48.7±1.5	흑색	흑회색	0	반구형	1
춘추1× 신농11-1	37.0±0.0	35.0±0.0	25,925±75.0	50.0±8.7	45.0±5.0	11.0±1.0	50.0±8.7	흑색	흑회색	0	얕은깔대기	1
수한1호	27.0±0.0	35.0±1.4	15,096±286.5	103.3±10.8	96.0±9.7	24.1±1.2	37.3±2.0	흑회색	진회색	0	얕은깔대기	1

초발이 소요일 수는 종균 재식 후 27-30일 정도 소요 되었으며, 수확량은 원형 2호 x 수한 1-2 교배 균주에서 29kg 정도로 가장 높았다. Table 1-16과 시험자의 주관적 판단에 의해 원형 2호× 수한1-2 교배균주(NM-013)와 춘추1 × 신농11-1 교배균주(NM-4504) 등 두 균주를 선발하여 경기도 용인, 충남 홍성, 예산에서 농가 실증재배 시험을 실시하였다.

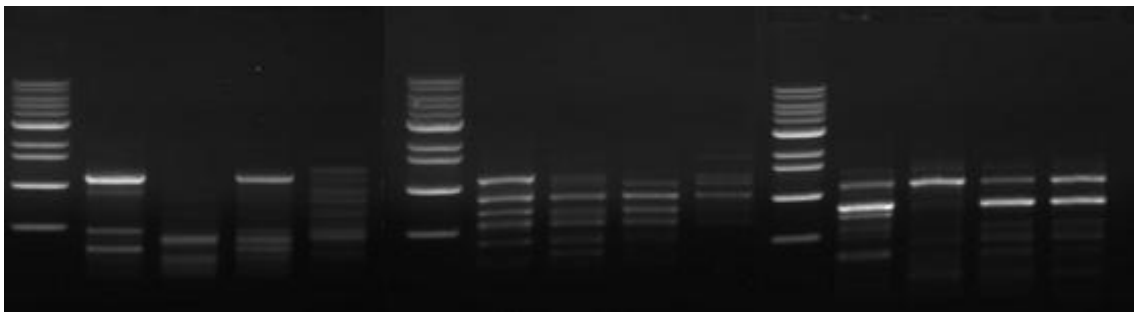
Table 1-17. 중온성 선발 균주의 농가 실증재배 결과

균주번호	초발이 소요일수 (일)	갓색깔		수확량 (kg/3.3m^2)
		초기	후기	
NM-013 (원형2×수한1-2)	46.0±1.0	흑 색	흑회색	28.3±0.2
NM-4504 (춘추1×신농11-1)	35.0±0.0	흑 색	흑회색	25.8±0.2
춘추 2호	44.8±1.0	회갈색	회 색	26.3±0.2
수한 1호	40.1±0.2	흑 색	흑회색	24.5±0.2

그림 1-3. 느타리버섯 농가 실증.

농가 실증재배 시험 결과(표 1-17, 그림 1-3) NM-013 균주가 가장 양호한 수량을 나타내었고 자실체 색택 또한 흑회색으로 우수한 편이었다. 따라서 이 균주를 "안성 1호"로 명명하고 국립종자원에 품종 보호출원을 하고 농가에 본격적으로 공급 할 예정이다.

아. 선발 균주(NM-013)의 유전자 다형성 분석



1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5*

그림 1-4. Random amplified polymorphic DNA patterns by URP primers.

* 1) Marker ; 2) 춘추2호 ; 3) 수한1호 ; 4) 원형2호 ; 5) NM-013,

NM-013 균주의 균사체로부터 DNA를 분리한 후 URP primer를 이용하여 모균주와 DNA 밴드 패턴을 조사한 결과(그림 1-4), 모균주와 DNA 밴드 패턴이 달라 hybrid 임을 알 수 있었다.

자. 우량 선발 NM-013균주의 특성 조사

(1) 한천 배지에서의 균사생장

최종 선발된 NM-013 균주의 균사생장을 조사하기 위하여 MCM과 PDA배지에 접종하여 25℃ 항온기에서 7일간 배양한 후 균사생장 직경을 조사한 결과 표 1-18 과 같다. 배지 종류별 균사생장을 살펴보면, PDA배지에서 균사생장이 좋아 이 균주의 증식용 배지로 양호한 것을 볼 수 있었다. 배지별 균총 형태는 그림 1-5와 같은데 균총 형태도 PDA 배지에서 더 나은 결과를 보였다.

Table 1-18. Mycelial growth of the *P. ostreatus* on two media in 7 days

Strains	Mycelial growth (㎜/7 days)	
	PDA	MCM
KM-013	83.3±2.9	70.7±1.2
춘추 2 호	77.5±10.6	77.5±11.6
수한 1 호	51.3±34.3	51.3±16.0

춘추2호, 수한1호, 원형2호, NM-013*

춘추2호 수한1호, 원형2호, NM-013**

Fig. 1-5. Morphology of *P. ostreatus* NM-013 colonies grown on PDA and MCM plates in 5 days.
* PDA, ** MCM

(2) 배양온도별 선발균주의 균사생장

수집균주의 배양온도에 따른 균사생장 특성을 조사하기 위하여 각각 20, 25, 30℃에서 7일간 배양하여 균사생장 길이를 조사한 결과 NM-013균은 25℃에서 양호한 균사생장을 보였다.

Table 1-19. Mycelial growth of the *P. ostreatus* on various temperatures in 7 days

Strains	Mycelial growth (㎜/7 days)					
	PDA			MCM		
	20℃	25℃	30℃	20℃	25℃	30℃
NM-013	73.3±10.4	83.3±2.9	68.3±12.6	64.0±13.9	70.7±1.2	65.7±12.7
춘추 2호	70.1±7.1	77.5±10.6	84.0±1.4	60.5±0.7	77.5±11.6	85.0±0.0
수한 1호	41.8±10.4	51.3±24.3	63.8±21.7	39.5±20.4	51.3±16.0	75.0±1.0

(3) 생육 및 자실체 특성

NM-013 균주의 균사 생장 적온은 25~30℃ 이고 버섯의 생육적온은 14~16℃ 기고 자실체 색택은 춘추 2호 보다 검은 흑회색이고 갓형태는 반구형을 보였다(표 1-20, 그림 1-6).

표 1-20. NM-13 균주의 생육과 자실체 특성

계 통	균사생장 적온	버섯발생 적온	생육적온	갓색깔	갓형태
NM-013	25~30℃	12~18℃	14~16℃	흑회색	반구형
춘추2호	25~30℃	12~17℃	14~16℃	회색	편편형

Fig. 1-6. NM-013의 자실체 형태.

(4) 수량성

NM-013 균주의 초발이 소요일수는 약 46일 정도이고 수량은 3.3m^2 당 28.3 kg 정도를 보여 춘추 2호보다 우수한 결과를 보였다(표 1-21).

표 1-21. 균상재배시 버섯 발생 특성 및 자실체 수량

계 통	균배양기간 (일)	초발이 소요일수	갓 모양	수량 (kg/3.3m^2)	수량지수
NM-013	25 ± 5	46.0±1.0	반구형	28.3±0.2	108
춘추2호	25 ± 5	44.8±1.0	편평형	26.3±0.2	100

(5) 버섯 자실체 특성

NM-013 균주는 대가 굵고 갓이 흑회색이며, 유통 시 부스러짐에 강하여 품질이 춘추 2호보다 우수한 결과를 보였다(표 1-22).

표 1-22. NM-013 균주의 버섯 자실체 특성

계 통	대길이 (mm)	대굵기 (mm)	갓직경 (mm)	갓두께 (mm)	갓색깔	갓경도 (부스러짐)	품질
NM-013	48.7±1.5	15.7±3.1	44.0±1.0	2.5±0.5	흑회색	강	상
춘추2호	43.3±2.9	10.0±0.0	38.3±2.9	5.3±2.1	회색	중	중

이상의 결과를 요약하면 최종적으로 균사 생장이 양호하고, 갓색택도 흑회색을 보이며, 수량도 우수한 중온성 느타리 NM-013 계통을 육성하고 "안성 1호"라고 명명하고 품종보호출원하여 농가에 보급 할 계획이다.

제 2 절 : 저온성 느타리버섯의 품종육성(제 1 협동과제)

1. 서언

유류가 상승으로 겨울철 버섯 재배 농가들의 어려움은 실로 심각 하다고 볼 수 있다. 기존에는 원형느타리를 주로 재배 하였으나 원형느타리는 갓의 색택이 연하기 때문에 가격이 상대적으로 낮아 농가들로 부터 외면당하고 있다. 따라서 겨울철에도 봄. 가을이 재배 적기인 수한 1호느타리 계통이 많이 재배되고 있는 실정이다. 그러나 수한느타리계통도 온도를 13℃ 이상으로 유지해야 정상적인 품질의 버섯이 생산된다. 그렇기 때문에 농가들 재배사 온도를 유지하기 위해서 버섯재배 경영비는 실로 심각하다고 볼 수 있다. 그래서 무엇보다 갓이 검은 색이면서 생육 온도가 10℃ 정도에서도 정상적으로 버섯 생육이 가능한 품종의 육종은 매우 중요하다고 볼 수 있다.

저온성 느타리 품종의 갓이 수한느타리처럼 검으면서 원형느타리나 흑평처럼 겨울철 재배가 가능한 저온성 품종의 육성에 목표를 두었다. 따라서 수한을 중심으로 저온성으로 알려진 균주을 중점적으로 교배를 실시하고 우수한 계통을 선발하고 육성하는데 주안점을 두었다.

2. 재료 및 방법

가. 공시균주 및 배지

종균협회 부설연구소에 보유중인 느타리 균주와 농촌진흥청으로 부터 수집한 공시균주는 균주의 활력을 찾기 위하여 4℃ 균주 보관실에 보관 중인 균을 감자한천 배지(PDA)에 이식한 후 직경이 3㎝이상 자랐을 때 균총의 가장자리에서 직경 7㎜의 cork borer로 떼어 새로운 배지에 이식하였다. 균이 접종된 배지는 암상태의 25℃ 항온기에서 7일간 배양 후 본 시험에 사용하였으며 공시균주는 표 2-1과 같다.

표 2-1. 느타리버섯의 균주 현황

종	균주번호	품종
Pleurotus ostreatus	ASI 2018	농기201호
	ASI 2183	원형2호
	ASI 2344	춘추2호
	ASI 2504	수한1호
	ASI 2706	흑평
	ASI 2194	애느타리
	ASI 2487	청풍
	ASI 2708	김제10호
	ASI 2730	청도22호
	ASI 2726	신농11호
	ASI 2228	춘추1호
	ASI 2736	부평흑단4호
	ASI 2792	한라1호
	KM-154	농기201 X 수한
	KM-834	애느타리 X 춘추2호
	KM-275	KM-154 X 청풍

수집균주와 최종 선발균주의 균사 생장에는 버섯완전배지(MCM)와 감자한천배지(PDA)를 사용하였으며, 이를 고압살균기에서 121℃에 20분간 고압살균하여 무균상 내에서 petridish(직경 90㎜)에 20㎖를 분주하여 식힌 후에 각각 균을 접종하여 25℃에서 배양하였다(표2-2).

표 2-2. 균사 생장에 사용한 배지조성

Ingredients	PDA	MCM
K_2HPO_4		1g
KH_2PO_4		0.46g
$MgSO_4$-$7H_2O$		0.5g
Glucose		20g
Peptone		2g
Yeast extract		2g
PDA(Difco)	39g	
Agar		20g
Distilled water		1000㎖

*PDA : Potato Dextrose Agar, MCM : Mushroom Complete Media

나. 균사체 배양 최적 배양온도

최종 선발된 균주의 균사생장에 적합한 최적 온도를 구명하기 위하여 PDA와 MCM 배지를 직경 90㎜ petridsh에 20㎖씩 분주하여 고화시킨 평판배지에 균사체를 직경 7㎜인 cork borer로 절취하여 접종하고 배양온도가 각각 20, 25, 30℃로 조절된 항온기에서 7일간 배양한 다음 균총의 직경을 조사하였다.

다. 단핵균주의 선발

단포자 발아 분리는 Vaughans-Ward와 Isikhuemhen(2004)의 방법을 응용하였다. 성숙한 자실체에서 3~4시간 동안 낙하시킨 담자포자를 멸균수에 현탁하여 버섯완전배지에 도말시킨 후 약 10~12일간 25℃에서 배양하였다. 이들 콜로니를 다시 다른 배지에 이식 후 약 7~14일간 배양 후 단포자 여부를 조사하기 위하여 균총의 가장자리에서 멸균한 접종침으로 균사체를 채취하여 MCM에 이식 한 후 균이 어느 정도 자라면 균사에서 꺽쇠연결체(clamp connection) 형성 여부를 조사하여 단핵균주를 선발하였다. 분리된 단핵균주는 버섯완전배지 시험관에 배양하여 4℃에서 보관하면서 원균으로 사용하였다.

라. 교배형 결정과 교잡균주 육성

선발 모균주의 교배형 결정을 위하여 단핵균주간 교잡을 실시하였으며, 우량교잡주 선발을 위해서는 mono-mono 와 di-mono 교잡법을 수행하였다. Mono-mono 교배를 위하여 버섯완전배지에 선발된 두 단핵체를 약 1㎝ 간격으로 대치접종하였다. Di-mono 교배는 단핵체를 먼저 중앙에 접종한 뒤 2~3일 뒤 이핵균주를 약 1㎝ 간격으로 접종하여 1주일간 배양하였다. 이후 mono-mono교배는 균주간 접합된 부위를 현미경으로 관찰하여 꺽쇠연결체 형성 유무를 확인하였고 di-mono교배는 단핵균주의 가장자리 부분의 균사체에서 꺽쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다.

마. 우수 교잡주 (hybrid) 병선발 및 자실체 특성 검정

Mono-mono 교배와 di-mono 교배를 수행하여 선발된 교잡주 자실체 특성 검정을 위해, 우선 접종원 제조는 포플러 톱밥과 밀기울을 8 : 2(v/v)비율로 혼합하여 수분을 65%(v/v)정도로 조절하였으며 혼합된 톱밥 배지를 250㎖ 삼각플라스크에 넣어 고압살균으로 121℃에서 60분간 살균하였다. 살균 후 실온으로 냉각시킨 후 교잡주를 접종하여 25℃ 배양실에서 20일간 배양을 하였다. 병재배는 850㎖ P.P. 병에 포플러 톱밥과 밀기울을 8 : 2(v/v)비율로 혼합하여 제조한 후 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 30일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실시하였으며 자실체 발생을 유도하기 위하여 습도 95%, 실내 온도 10-13℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다(유 등, 2006).

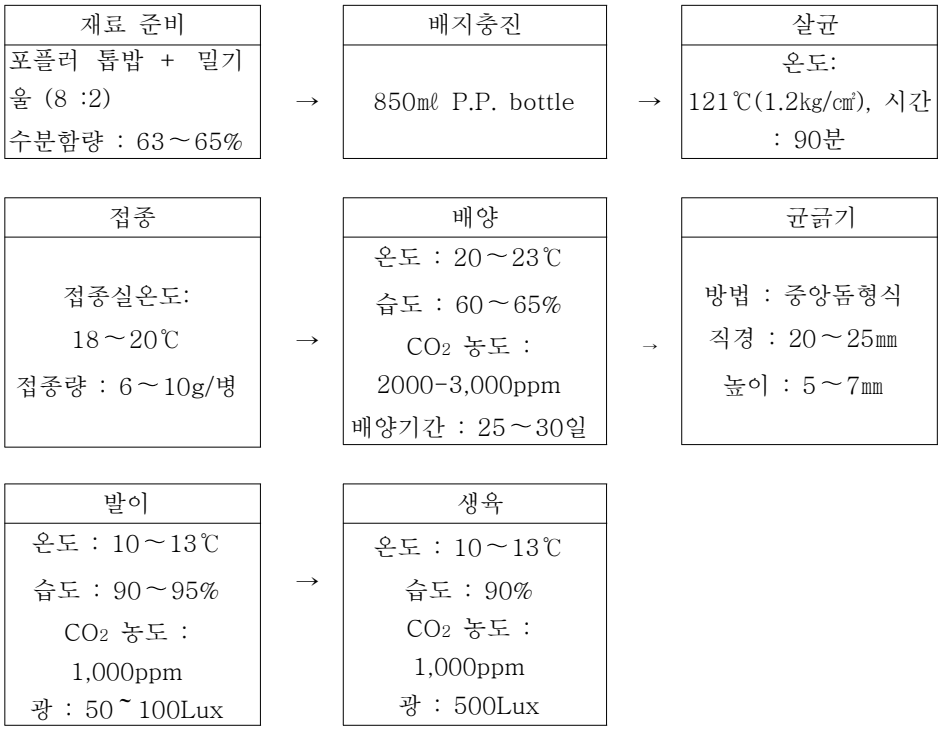


그림 2-1. 느타리버섯 병재배 과정.

바. 상자재배를 이용한 자실체 특성검정

병재배에 의해서 1차 선발된 균주는 상자에서 자실체의 특성검정을 위해 폐면에 수분을 75% 정도로 조절 한 후 플라스틱 상자(42.5 x 42.5 x 10.5㎝)에 수분을 조절한 배지를 5㎏정도 한 후 65℃에서 8시간정도 살균한 후 50-55℃에서 3-4일간 발효를 시켰다. 살균 발효가 끝난 배지는 약 20℃로 식힌 후 미리 배양된 톱밥종균을 분쇄한 상태로 배지에 접종하여 21-23℃배양실에서 30일간 하였다. 배양이 완료된 상자는 생육실에 옮겨 10～13℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다.

그림 2-2. 느타리버섯 상자재배 과정

사. 균상재배

저온기 재배의 경우 일반적으로 폐면 배지를 재배사 내의 균상에 입상하여 60-65℃에서 10시간 정도 살균한 다음 배지내의 상온을 약 55℃정도로 유지하여 3-4일간 후 발효한 다음 하온 한 후 종균을 접종하였다. 배양은 25℃ 내외에서 약 30일 정도 배양 한 후 10~13℃에서 자실체를 발이를 유기하고 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다.

아. 선발 균주의 genomic DNA 분리

배양된 균사체를 동결건조 후 유발에 넣고 액체질소를 첨가하여 곱게 마쇄하였다. 마쇄된 균사체 200㎎에 lysinrs buffer 400㎕를 넣고, vortexing후 65℃에서 10분 반응시켰다. 반응 후 동량의 chloroform 600㎕를 넣고 vortexing후 13,000rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 새로운 tube에 옮기고 흡착액 600㎕와 자성비드 40㎕를 넣은 후 trapper에 자성비드에 DNA가 붙게하였다. 상등액을 취한후 70% ethanol로 첨가 두 번 반복 후 세척하였다. 상온에서 10분 동안 진공 건조시켜 50㎕의 DDW에 녹였다. Trapper에 자성비드와 DNA가 녹아있는 액을 분리한후 새로운 tube에 옮긴다. 흡광률 (O.D.)을 측정해서 template DNA농도를 조정하였다.

자. RAPD에 의한 균주간 유연관계 분석

URP-PCR은 (Bioneer PCR Premix kit) Premix Kit에 genomic DNA2㎕, primer 1㎕, DDW 17㎕를 첨가하였다. template DNA를 변성 시키기 위해 94℃에서 5분간 처리후, 증폭을 위해 94℃에서 1분간 변성, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 중합을 35cycle반복한 후 마지막으로 72℃에서 10분간 중합반응을 보였다. 증폭되니 산물은 1.5% agrose gel에서 전기영동하였고 EtBr로 염색하여 UV illuminator 위에서 band를 확인하였다.

표 2-3. 느타리버섯의 PCR-fingerprint에 사용된 URP primers의 list

Products*	Sequences
URP07	5′-ATCCAAGGTCCGAGACAACC-3′
URP10	5′-CCCAGCAACTGATCGCACAC-3′
URP11	5′-GTGTGCGATCAGTTGCTGGG-3′

*Accession numbers of SRILS UniPrimer Kit (Seolin Sci Co.)

3. 결 과

가. 균주 수집과 교배형 결정

총 43균주의 유전자원을 수집하여 2006년 12월 부터 2007년 2월까지 상자재배를 실시하여 수집균주의 특성을 검정한 결과는 표 2-4와 같다. 초발이 소요일수는 ASI 2504와 2505 균주가 31일로 가장 짧았으며, 수확량은 ASI 2228 균주가 상자당 2,489g 으로 가장 높게 나타났다. 자실체의 색택은 느타리버섯의 품질을 좌우하는데 아주 중요한 요소인데 대체로 회색과 진회색으로 양호한 결과를 나타내었다.

표 2-4. 느타리 계통 저온 상자재배에서의 자실체 특성 조사

균주번호	초발이 소요일수(일)	생육일수(일)	수확량(g/상자)	갓(mm)	대(mm)		개체중(g/개)	갓색깔 초기
				직경	굵기	길이		
2228 (춘추1호)	48±0	29±0	2,489.0±163.2	39.2±4.2	11.4±0.9	51.2±13.2	17.0	회색
2594	34±3	65±9	2,028.7±507.4	39.6±6.9	14.0±5.1	34.2±6.3	13.3	회색
2488	35±1	65±2	1,950.3±13.5	41.8±3.7	14.4±1.9	24.3±5.3	12.7	진회색
2722	34±1	43±1	1,940.7±389.4	43.0±1.2	10.4±2.4	25.1±5.2	11.7	회색
2505	31±0	63±2	1,896.7±207.5	35.0±2.5	10.0±1.2	25.6±6.8	9.7	회색
2732	38±3	39±4	1,884.3±218.3	41.4±3.5	14.0±2.8	32.3±6.2	18.7	진회색
2733	32±1	45±2	1,881.0±470.4	45.0±2.5	22.0±1.0	21.7±4.9	14.0	회색
2708 (김제10호)	33±0	43±7	1,843.7±55.3	37.8±1.1	7.2±0.8	16.9±2.3	8.7	회색
2726 (신농11호)	46±2	40±2	1,820.3±164.3	44.8±2.9	10.4±1.7	20.2±5.0	11.0	진회색
2729	37±2	40±2	1,773.3±418.6	42.2±2.4	12.8±2.4	29.6±7.0	11.7	진회색
2711	33±2	46±2	1,763.7±201.1	44.6±2.6	9.8±1.5	21.5±5.1	13.0	회색
2731	41±0	39±1	1,760.3±180.5	49.6±2.2	12.0±0.7	34.2±7.2	16.3	진회색
2719	32±2	38±2	1,730.3±282.5	43.4±2.7	10.8±2.2	15.6±5.4	9.0	흑회색
2597	37±5	45±8	1,659.7±479.2	42.2±2.7	10.4±1.9	24.5±1.9	11.3	진회색
2709	32±1	51±2	1,632.7±190.3	42.0±3.5	22.0±2.5	25.1±2.9	16.3	진회색
2180	40±1	58±2	1,630.3±345.9	44.0±2.6	14.6±2.1	23.2±6.2	11.7	진회색
2727	33±0	47±2	1,630.0±40.6	42.6±2.9	17.6±1.1	20.0±3.7	13.0	진회색
2016	40±3	71±2	1,600.0±134.6	43.8±1.6	12.2±1.6	15.8±3.2	10.7	연회색
2706 (흑평)	41±4	38±2	1,585.0±97.2	42.8±4.4	15.2±0.8	18.0±3.3	10.0	회색
2718	39±4	41±5	1,567.0±249.3	42.6±1.8	18.6±1.5	28.0±8.8	18.7	진회색
2730 (청도22호)	43±2	37±2	1,521.7±21.5	42.8±3.3	20.0±1.6	30.4±7.1	15.3	회색
2736(부평흑단4호)	35±2	38±1	1,509.0±137.7	44.8±1.1	12.8±2.2	16.4±2.1	8.3	흑회색
2595	39±0	31±4	1,506.0±257.2	46.6±3.0	24.0±1.6	21.2±2.5	21.0	진회색
2721	33±0	46±0	1,483.0±180.1	43.6±3.4	21.8±3.0	24.3±4.3	16.3	진회색
2183 (원형2호)	42±2	63±4	1,477.3±134.4	41.0±2.0	13.6±1.9	25.9±3.3	9.7	진회색
2598	35±1	47±1	1,473.7±332.4	42.4±3.8	19.8±2.7	18.9±3.5	15.0	진회색
2504 (수한)	31±0	68±3	1,470.0±183.7	41.8±1.8	15.0±1.9	20.7±5.0	13.7	진회색
2707	37±4	44±4	1,469.3±90.3	47.6±1.1	19.0±1.4	19.1±3.3	17.0	진회색
2344 (춘추2호)	32±1	62±0	1,443.0±140.1	41.4±2.1	10.8±1.3	29.4±7.3	11.0	진회색
2728	38±3	31±4	1,439.3±157.7	44.6±3.6	13.0±0.7	27.0±4.0	15.0	진회색
2506	39±1	71±1	1,438.3±81.3	41.4±2.2	16.4±3.2	16.7±3.8	10.3	회색
2596	38±2	46±3	1,429.7±91.5	46.8±2.5	10.0±1.4	15.5±4.8	13.3	
2734	33±0	47±2	1,354.0±317.0	43.0±1.9	22.0±1.0	21.7±4.9	14.0	진회색
2724	33±0	48±2	1,331.3±263.4	43.6±4.0	17.0±2.8	21.4±5.6	12.7	회색
2549	33±0	64±4	1,318.3±39.8	43.2±3.6	14.2±2.4	21.2±5.9	7.7	진회색
2737	31±0	35±5	1,219.3±29.9	36.6±2.6	15.4±1.5	31.6±5.4	15.0	진회색
2194 (애느타리)	39±1	44±5	1,196.7±40.2	41.4±4.5	13.8±2.0	31.1±5.9	16.0	진회색
2717	45±3	37±3	1,183.3±257.0	40.2±2.6	16.0±1.0	16.9±3.6	11.7	진회색
2735	32±0	44±10	1,162.0±148.4	38.0±4.2	15.4±1.1	18.4±5.5	10.7	진회색
2018 (농기201호)	39±3	71±2	1,148.7±183.2	43.4±3.1	17.0±1.9	24.6±5.9	15.3	연회색
2001	35±2	67±2	1,062.0±171.5	46.2±1.8	13.0±1.9	13.1±1.7	10.7	회색
2240	58±4	#DIV/0!	934.7±193.4	46.2±3.6	23.4±1.5	37.4±4.9	22.0	진회색
2477	39±1	61±6	816.7±248.4	46.6±2.7	14.8±1.8	26.7±6.4	10.7	회색

*상자크기 : 42.5 x 42.5 x 10.5㎝

상자재배로 모균주의 특성을 확인 한 후 겨울철에 많이 재배되고 있는 원형2호, 수한 1호, 농기 201 등 3균주에 대한 교배형 결정을 수행 하였다. 교배형은 자실체로 부터 포자를 얻어 단포자를 PDA 배지에서 발아 시킨 후 각 균사체의 clamp를 확인 후 없는 것을 단핵 균주로 분리 하였다. 각 균주별 단핵균주를 상호 교배하여 clamp가 있는 것을 조사한 것은 표 2-5, 2-6, 2-7 인데 대부분의 느타리버섯과 마찬 가지로 뚜렷한 4극성을 보였다.

표 2-5. 원형2호의 교배형 결정

2183		A1B1											A1B2				A2B1		A2B2		
		3	5	6	7	8	9	10	11	12	15	33	1	2	4	14	31	32	13	29	30
I	3		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	5	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	6	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	7	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	8	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	9	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	10	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	11	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	12	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	15	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	33	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	+	+	+
II	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	+	−	−	−
	2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	+	+	−	−	+
	4	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	+	+	−	−	−
	14	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+	−	−	−
III	31	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+		−	−	−	−
	32	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−		−	−	−
IV	13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−		−	−
	29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−		−
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	

표 2-6. 수한1호의 교배형 결정

교배형	단핵체 균주번호
I	2, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 24, 26, 27
II	4, 5, 11
III	3, 7, 8, 25
IV	1, 15, 23

표 2-7. 농기201호의 교배형 결정

교배형	단핵체 균주번호
I	1, 4, 6, 8, 10, 16, 18
II	3, 14, 17 20
III	2, 12, 19
IV	5, 7, 9, 11, 13, 15

나. 교배 균주 선발

먼저 품질과 수량이 우수한 수한 1호, 원형 2호, 춘추 1호 등을 모균주로 선정하여 이들 균주의 단핵 균주를 교배하여 표 2-8와 같이 총 184개의 2핵 균주를 선발하였다.

표 2-8. 저온성 느타리 교배 조합 및 선발 균주 수

교잡품종	교잡주 수
(춘추 2호 x KM-834) x 수한 1호	3
(춘추 2호 x KM-154) x 한라 1호	3
애느타리(2194) x 춘추 2호(2344)	4
수한 1호(2504) x 원형 2호(2183)	50
수한 1호(2504) x 농기201호(2018)	47
원형 2호(2183) × 흑평(2706)	31
원형 2호(2183) × 청도22(2730)	46
합 계	184

다. 병재배 실시

모균주로 교배된 선발균주 184개 균주를 10-13℃ 정도에서 병 재배를 실시하였고 각 특성을 조사하여 표 2-9, 2-10, 2-11, 2-12, 2-13, 2-14, 2-15, 그림 2-3에 나타내었다. 저온성은 저온에서도 버섯이 정상적으로 생장하는 품종을 선발하는 것이 매우 중요하기 때문에 저온에서도 강하고 갓의 색택이 검으면서 수량이 많은 것을 중심으로 선발 하였다.

표 2-9. 수한1호 X 원형2호 교잡조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		게체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-313	4	13	31±2.5	145±10.2	13.3	40.0	9.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-309	4	12	31±3.6	137±13.1	10.3	39.0	7.0	얕은깔대기형	진청색	진회색
KM-312	3	10	27±4.6	135±34.8	15.3	46.3	12.3	얕은깔대기형	청회색	연회색
KM-310	4	12	33±2.2	129±22.1	10.0	49.0	6.3	깔대기형	회색	회색
KM-315	6	13	18±1.4	127±9.9	13.0	54.3	6.7	오목반구형	회색	연회색
KM-304	3	11	38±2.5	125±9.5	16.0	26.7	9.0	반구형	진청회색	연회색
KM-314	4	13	30±4.6	125±12.7	10.0	53.7	7.0	오목반구형	진청회색	회색
KM-305	3	12	43±11.5	122±9.7	8.7	42.7	5.0	얕은깔대기형	청회색	회색
KM-331	6	15	18±5.7	107±11.9	10.0	67.7	7.0	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-351	2	10	31±4.4	107±7.4	8.7	53.7	5.3	오목반구형	연회색	회백색
KM-333	2	10	24±1.5	104±8.0	10.0	57.3	7.3	오목반구형	연청회색	회백색
KM-328	3	11	21±2.9	103±4.7	10.7	70.7	9.0	오목반구형	연회색	연회색
KM-330	7	16	16±1.2	99±5.7	12.3	60.0	9.7	오목반구형	연회색	연회색
KM-361	4	13	21±2.0	99±6.1	10.7	52.3	8.7	반구형	연청회색	연회색
KM-337	2	10	31±3.8	98±12.8	9.3	57.3	7.7	오목반구형	연회색	회백색
KM-358	3	12	16±3.6	98±3.6	11.7	36.0	9.0	오목반구형	진회색	연회색
KM-301	4	10	24±7.9	98±16.5	14.0	35.0	9.0	깔대기형	회색	연회색
KM-318	5	13	18±6.3	97±6.1	10.3	40.0	7.3	오목반구형	진청회색	회색
KM-349	3	11	22±1.3	97±4.8	11.0	50.0	9.7	오목반구형	회색	연회색
KM-316	5	12	18±6.4	95±6.7	10.3	45.3	6.7	오목반구형	진청회색	회색
KM-306	4	13	22±3.5	94±29.5	9.3	54.3	7.0	오목반구형	연청회색	회백색
KM-345	6	15	16±3.6	94±12.3	10.3	50.0	6.7	오목반구형	진회색	진회색
KM-348	2	10	22±9.0	94±8.7	11.0	51.7	8.7	오목반구형	회색	연회색
KM-360	3	13	14±3.9	94±22.8	11.3	68.3	9.0	오목반구형	연청회색	연청회색
KM-334	5	12	16±3.1	94±3.8	10.3	55.7	7.3	얕은깔대기형	연청회색	회백색
KM-325	3	12	20±5.7	92±11.8	14.0	55.7	9.3	얕은깔대기형	회색	회색
KM-366	6	12	15±4.4	92±9.7	10.0	41.7	7.0	반구형	청회색	연회색
KM-324	4	11	21±3.6	91±3.5	13.0	40.7	8.3	오목반구형	회색	회색
KM-369	8	14	11±4.0	91±11.4	11.0	40.3	7.3	오목반구형	연청회색	연청회색
KM-329	5	15	16±1.9	90±10.1	9.3	61.3	7.0	오목반구형	회색	연회색
KM-354	5	11	29±12.2	90±8.7	10.3	41.0	6.3	얕은깔대기형	회색	회색
KM-335	5	12	18±6.7	88±17.7	12.7	38.3	6.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-352	3	10	25±4.1	88±11.5	9.7	47.7	6.7	반구형	연회색	연회색
KM-311	5	14	18±2.5	87±22.3	10.7	51.3	7.7	오목반구형	회색	연회색
KM-339	6	15	14±7.0	87±21.6	11.3	44.7	7.0	오목반구형	회색	회색
KM-346	2	10	28±6.2	85±4.9	8.0	69.7	5.7	오목반구형	회색	연회색
KM-307	4	14	18±4.6	85±19.9	10.7	43.0	7.7	오목반구형	연청회색	연회색
KM-353	6	12	14±2.5	84±5.9	11.7	43.0	8.0	얕은깔대기형	연회색	회백색
KM-317	6	14	14±3.8	83±14.2	13.3	35.0	7.3	오목반구형	진회색	회색
KM-321	6	12	14±1.2	83±16.6	14.0	48.3	8.3	얕은깔대기형	회색	회색
KM-350	2	10	37±13.7	83±6.2	9.0	47.0	7.7	오목반구형	회색	연회색
KM-357	6	14	16±3.3	83±48.2	10.0	63.7	9.0	오목반구형	진회색	연회색
KM-371	11	13	12±5.7	82±13.2	13.5	30.0	11.0	얕은깔대기형	회색	회색
KM-303	5	13	18±6.7	79±11.4	10.7	44.0	7.7	오목반구형	연회색	연회색
KM-367	7	13	13±5.6	79±8.2	13.5	40.0	10.0	오목반구형	회색	회색
KM-319	3	10	23±4.2	78±7.8	15.7	49.0	8.3	깔대기형	진회색	회색
KM-332	2	10	23±3.6	78±20.1	12.0	47.0	6.3	오목반구형	회색	회색
KM-347	3	11	17±9.6	77±14.5	7.0	65.0	5.0	오목반구형	연청회색	회색
KM-362	8	17	16±13.4	77±24.0	10.7	29.3	6.7	반구형	진회색	진회색
KM-340	5	13	11±4.2	75±6.4	11.7	45.0	7.3	오목반구형	진회색	회색
원형2호	5	13	19±4.7	102±12.0	11.0	35.2	8.0	반구형	진회색	회색
수한1호	3	10	15±2.8	99±11.2	16.9	32.6	8.3	깔대기형	진회색	진회색

표 2-10. 수한1호 X 농기201호 교잡조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (개/병)	수량 (g/병)	대(mm)		개체중 (g/개)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-151	2	10	25±5.4	114±11.3	14.7	42.0	8.7	얕은깔대기형	회색	회색
KM-147	4	14	15±4.6	106±14.2	10.3	24.0	6.0	편평형	회색	회색
KM-131	5	12	22±3.1	100±9.7	12.7	48.3	8.3	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-142	3	12	16±1.7	100±8.5	11.3	36.7	9.0	얕은깔대기형	회색	회색
KM-149	4	13	14±1.7	98±8.5	12.3	29.7	8.7	얕은깔대기형	회색	회색
KM-153	4	12	14±3.0	97±12.1	14.0	20.0	7.0	편평형	회색	회갈색
KM-154	**5**	**13**	**16±3.2**	**97±12.0**	**13.3**	**44.3**	**10.0**	**얕은깔대기형**	**진회색**	**진회색**
KM-146	4	12	23±7.9	96±12.3	10.0	49.5	8.0	오목반구형	회색	회색
KM-138	3	14	18±0.6	93±10.8	14.7	32.0	9.7	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-158	4	13	14±1.7	93±21.6	10.3	26.3	5.0	편평형	진회색	진회색
KM-117	3	11	20±4.4	91±6.1	10.3	34.7	6.7	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-139	4	14	24±0.0	90±0.0	12.0	26.0	7.0	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-101	2	10	25±0.0	89±9.5	14.7	39.3	7.7	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-115	3	11	23±2.4	88±2.9	11.3	55.3	8.0	오목반구형	회색	연회색
KM-109	2	11	23±7.2	87±9.5	9.7	33.7	5.0	얕은깔대기형	흑회색	진회색
KM-126	5	13	14±2.9	86±11.0	10.7	35.3	8.3	깔대기형	회갈색	회색
KM-140	2	10	13±2.5	85±15.3	16.0	22.7	7.7	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-136	2	11	31±7.9	82±10.1	9.7	23.7	5.3	얕은깔대기형	흑회색	진회색
KM-148	3	11	10±7.2	82±29.0	19.0	29.7	11.3	얕은깔대기형	연회색	진회색
KM-118	5	13	14±7.6	81±18.0	11.3	27.3	5.0	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-143	4	15	12±2.3	80±10.4	13.0	55.0	9.0	얕은깔대기형	회색	진회색
KM-112	4	13	19±4.2	79±12.7	8.7	54.0	6.0	오목반구형	회색	회색
KM-150	2	10	21±7.0	78±5.7	18.0	46.0	12.0	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-124	3	11	16±3.7	78±9.7	13.0	51.3	9.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-134	5	14	14±1.5	78±7.8	13.3	39.3	8.0	얕은깔대기형	회색	진회색
KM-114	2	11	30±6.4	75±7.2	8.7	45.7	5.7	오목반구형	진회색	회갈색
KM-163	4	13	11±1.4	75±14.4	16.0	36.7	11.0	깔대기형	흑회색	진회색
KM-157	5	13	8±2.1	74±9.3	13.7	41.7	9.0	얕은깔대기형	회색	회색
KM-122	5	12	13±2.2	74±9.4	12.3	48.3	8.3	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-133	4	12	12±1.4	74±15.5	13.5	48.5	10.0	오목반구형	회색	회색
KM-137	3	12	17±1.3	74±13.5	11.0	41.7	7.3	깔대기형	진회색	진회색
KM-144	2	10	24±7.3	74±10.3	16.0	21.3	8.0	얕은깔대기형	진회색	진회갈색
KM-103	2	12	8±0.0	74±12.0	10.0	17.3	7.0	깔대기형	회색	회색
KM-127	6	13	10±4.4	73±19.4	11.7	45.0	8.7	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-125	6	14	9±1.2	72±10.8	11.7	56.3	9.0	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-105	2	12	9±3.5	72±6.6	11.3	39.0	7.7	깔대기형	진회색	회색
KM-152	3	12	10±1.9	72±14.3	13.7	34.0	10.3	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-116	5	12	12±1.8	72±3.7	11.3	58.7	8.7	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-129	4	12	12±4.0	70±18.4	10.3	34.3	6.7	얕은깔대기형	회색	회색
KM-110	4	12	19±3.0	70±7.0	8.7	37.3	3.7	오목반구형	회색	회색
KM-128	5	13	10±2.1	70±7.8	12.7	53.3	9.0	얕은깔대기형	회색	회색
KM-159	5	13	11±6.4	69±12.0	13.7	43.0	7.3	깔대기형	청회색	진회색
KM-135	3	11	14±3.4	68±16.1	11.3	36.3	8.7	얕은깔대기형	회갈색	진회색
KM-108	4	12	12±0.0	67±0.0	10.7	30.0	6.0	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-113	3	10	10±5.1	67±18.9	11.0	55.0	7.7	얕은깔대기형	진회색	회갈색
KM-155	3	11	14±1.0	64±2.6	13.0	43.0	8.0	깔대기형	흑회색	연회색
2018	2	11	16±6.4	75±13.3	10.0	30.8	6.2	얕은깔대기형	흑회색	진회색
수한1호	3	10	15±2.8	99±11.2	16.9	32.6	8.3	깔대기형	진회색	진회색

표 2-11. 원형2호 X 흑평 교잡조합의 병재배 특성 (31균주)

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-435	5	11	40±3.0	120±7.2	10.0	37.3	5.3	반구형	회색	연회색
KM-403	5	11	26±0.7	111±1.4	12.0	36.3	7.7	반구형	진회색	연회색
KM-416	5	14	25±0.0	110±0.0	8.7	42.7	6.0	얕은깔대기형	회색	진회색
KM-404	5	12	37±2.8	109±6.2	7.0	50.0	5.0	반구형	연회색	연회색
KM-438	6	14	29±6.9	107±11.4	9.7	39.7	5.7	반구형	회색	연회색
KM-413	8	23	20±0.0	105±0.0	10.3	44.0	7.0	반구형	회색	회색
KM-432	5	11	26±1.5	101±13.3	10.0	24.0	5.3	반구형	회색	회색
KM-414	5	14	17±1.2	101±6.6	10.0	31.0	6.0	반구형	진회색	연회색
KM-421	4	13	17±2.2	101±15.9	10.0	49.7	7.0	반구형	연회색	연회색
KM-434	6	12	36±4.3	100±13.6	9.7	41.7	5.3	오목반구형	회색	연회색
KM-433	4	11	56±6.2	99±19.4	9.0	40.0	5.3	반구형	연회갈색	회색
KM-420	5	12	28±5.0	97±5.9	10.0	47.3	5.3	오목반구형	연회색	연회색
KM-439	5	11	32±18.6	94±10.6	13.0	48.3	10.0	오목반구형	회색	회색
KM-406	5	12	47±1.5	94±4.5	6.7	28.7	3.0	반구형	회색	연회색
KM-419	5	15	18±6.4	94±3.5	10.3	40.0	7.3	오목반구형	회색	연회색
KM-401	8	14	18±2.8	91±4.9	10.3	28.7	5.3	반구형	진회색	회색
KM-405	7	16	24±1.7	90±7.0	10.3	41.7	6.0	반구형	진회색	회색
KM-426	5	12	21±8.1	90±13.7	10.0	48.0	6.3	오목반구형	회색	회색
KM-424	7	17	13±0.0	89±0.0	10.0	51.0	7.0	반구형	진회색	연회색
KM-427	3	12	14±0.7	89±5.7	10.3	33.3	8.3	오목반구형	회색	진회색
KM-409	4	13	18±6.4	87±13.7	9.7	38.3	5.7	오목반구형	진회색	연회색
KM-431	5	12	29±3.6	85±15.9	7.3	51.0	4.0	오목반구형	회색	연회색
KM-429	4	12	21±3.0	84±7.6	12.0	42.0	6.0	오목반구형	진회색	회색
KM-415	4	14	12±4.0	82±15.7	14.0	48.7	10.7	오목반구형	진회색	진회색
KM-448	8	9	10±0.0	78±0.0	13.3	32.7	6.7	오목반구형	진회갈색	진회색
KM-436	5	13	12±1.8	77±14.1	11.0	49.0	8.7	오목반구형	진회색	회색
KM-423	6	15	11±4.0	77±12.3	10.0	36.7	7.7	오목반구형	진회색	연회색
KM-402	7	12	10±0.0	73±1.0	14.0	26.3	7.7	오목반구형	진회색	회색
KM-408	7	12	12±0.6	66±5.3	13.7	38.3	7.7	오목반구형	진회색	회색
KM-422		16	13±5.2	65±8.5	12.0	48.7	8.3	얕은깔대기형	진회색	연회색
KM-417	7	23	12±0.7	64±4.2	10.3	28.0	5.0	얕은깔대기형	진회색	회색
원형2호	5	13	19±4.7	102±12.0	11.0	35.2	8.0	반구형	진회색	회색
2706	3	11	37±11.1	99±11.6	10.4	33.2	4.7	반구형	진회색	진회색

표 2-12. 원형2호 X 청도22호 교배조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수(병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-762	4	9	39±17.5	143±17.2	9.3	82.0	5.0	반구형	회색	회색
KM-702	4	12	44±1.9	123±18.5	7.8	36.0	4.0	편평형	회색	연회색
KM-737	4	12	41±17.0	121±15.8	9.8	41.0	7.3	중고편평형	회색	연회색
KM-760	6	12	36±9.5	120±5.2	10.0	39.0	6.0	편평형	회색	연회색
KM-758	6	14	23±3.7	118±11.9	10.5	42.7	5.7	반구형	흑청색	회색
KM-757	6	12	33±21.9	116±8.5	12.0	49.7	10.7	오목반구형	흑회색	연회색
KM-706	4	8	24±12.6	116±19.0	11.3	82.0	8.7	오목반구형	회갈색	회백색
KM-722	6	14	26±4.2	115±16.3	9.8	64.7	7.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-730	3	9	53±13.2	111±8.0	11.5	68.7	6.7	오목반구형	회색	연회색
KM-764	4	9	31±9.8	111±19.3	11.8	39.0	5.0	반구형	회색	회색
KM-725	4	13	32±18.4	111±24.5	11.8	68.7	8.0	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-761	2	8	16±6.1	110±26.5	16.0	45.0	9.3	오목반구형	청회색	연회색
KM-721	6	4	29±1.5	106±1.5	10.0	41.3	6.0	오목반구형	회색	회백색
KM-731	4	8	18±7.9	105±18.9	14.0	97.3	11.2	얕은깔대기형	회갈색	회갈색
KM-754	10	14	29±6.4	105±17.9	14.8	52.0	8.0	오목반구형	회색	연회색
KM-708	4	9	41±8.2	104±21.6	9.8	54.7	5.7	오목반구형	청회색	연회색
KM-746	10	16	30±2.0	104±9.0	15.8	49.7	8.3	반구형	회색	연회색
KM-726	3	8	34±16.5	103±22.4	10.3	68.7	5.5	오목반구형	회색	연회색
KM-763	5	12	38±23.0	102±14.3	12.0	45.0	7.0	오목반구형	진회색	연회색
KM-750	12	22	17±0.0	101±0.0	12.8	38.7	6.7	오목반구형		연회색
KM-743	6	13	16±3.2	101±9.9	14.0	55.0	8.3	얕은깔대기형	회색	회색
KM-753	6	12	19±5.5	100±38.3	10.5	37.3	7.0	오목반구형	진회색	연회색
KM-748	9	16	29±1.7	99±12.1	9.8	41.3	5.7	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-707	4	9	36±15.5	98±24.5	11.8	65.3	6.0	편평형	회색	연회색
KM-719	7	13	20±3.4	98±15.7	12.0	45.0	6.7	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-704	4	10	47±13.4	97±13.5	9.3	51.7	5.3	편평형	회색	연회색
KM-755	9	15	14±3.7	96±7.4	12.0	45.0	7.3	오목반구형	연회색	연회색
KM-723	6	16	23±4.7	95±14.4	14.3	38.0	7.7	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-720	7	14	29±1.4	94±10.9	12.0	48.3	5.7	오목반구형	회색	연회색
KM-741	8		12±4.9	93±19.1	14.0	43.3	11.3	얕은깔대기형	회색	회색
KM-738	9	14	18±10.0	92±26.4	11.5	64.3	8.3	오목반구형	회색	연회색
KM-717	7	16	15±3.4	92±30.9	10.8	66.0	9.7	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-752	6	14	17±4.6	91±13.5	13.5	30.7	8.0	오목반구형	연청회색	연회색
KM-729	3	8	17±2.2	90±32.9	10.3	68.3	6.8	얕은깔대기형	회갈색	연회색
KM-751	6	13	23±4.6	88±18.1	10.8	44.3	6.7	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-703	6	12	21±4.2	87±8.1	11.5	56.0	8.0	얕은깔대기형	진회색	진회색
KM-701	4	8	30±28.2	85±40.6	11.5	68.7	7.0	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-727	6	12	20±6.6	85±15.3	10.3	55.3	6.0	깔대기형	청회색	진회색
KM-749	10	16	15±2.5	84±17.7	12.3	41.0	9.0	오목반구형	진회색	회색
KM-733	6	17	18±3.5	83±9.2	11.3	61.7	8.0	얕은깔대기형	진회색	회색
KM-756	10	16	23±3.5	83±10.6	13.0	38.3	8.0	오목반구형	진회색	연회색
KM-715	6	16	15±2.8	80±9.2	13.5	45.0	6.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-728	5	12	28±10.8	80±15.6	9.3	56.3	5.7	얕은깔대기형	연회색	연회색
KM-739	8	15	15±1.5	77±10.4	18.5	54.7	10.3	얕은깔대기형	회색	연회색
KM-759	6	14	11±3.2	74±13.3	11.3	50.7	0.0	오목반구형	회색	회색
KM-740	6	13	14±2.5	73±15.4	12.5	34.7	10.0	깔대기형	진회색	회색
원형2호	5	13	19±4.7	102±12.0	11.0	35.2	8.0	반구형	진회색	회색
2730	5	12	16±5.2	78±11.7	14.2	35.7	6.3	오목반구형	진회색	회색

표 2-13. 애느타리 x 춘추 2호 교배조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-045	8	9	11±1.3	80±13.2	11.3	38.0	7.2	얕은깔대기형	흑색	흑회색
KM-047	9	10	12.±3.3	52±9.2	10.7	60.3	8.0	얕은깔대기형	흑색	흑회색
KM-050	12	10	10±3.1	49±2.5	11.3	54.7	7.7	얕은깔대기형	흑색	회갈색
KM-834	**8**	**8**	**15±4.3**	**103±2.5**	**13.4**	**47.8**	**7.6**	**얕은깔대기형**	**흑색**	**흑회색**
춘추2호	8	10	12±5.6	95±22.1	12.0	47.9	8.5	편편형	회갈색	회색
수한	8	9	11±1.9	71±14.4	16.7	42.7	6.7	얕은깔대기형	흑색	흑회색

표 2-14. (춘추 2호 x KM-834) x 수한 1호 교배조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-111	7	7	20±0.7	122±5.7	10.3	39.3	6.1	얕은깔대기형	흑색	흑회색
KM-119	**11**	**10**	**11.±0.0**	**117±4.2**	**11.3**	**37.0**	**8.7**	**얕은깔대기형**	**흑색**	**흑회색**
KM-120	12	10	41±12.7	115±7.1	10.7	44.7	7.0	깊은깔대기형	흑색	회갈색
춘추2호	8	10	12±5.6	95±22.1	12.0	47.9	8.5	편편형	회갈색	회색
수한	8	9	11±1.9	71±14.4	16.7	42.7	6.7	얕은깔대기형	흑색	흑회색

표 2-15. (춘추 2호 x KM-154) x 한라1호 교배조합의 병재배 특성

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수 (일)	유효경수 (병)	수량(병)	대(mm)		개체중 (g)	갓모양	갓색깔	
					굵기	길이			초기	후기
KM-009	**7**	**8**	**11±1.3**	**73±14.5**	**11.0**	**44.3**	**7.3**	**얕은깔대기형**	**흑색**	**흑회색**
KM-022	7	8	9±0.6	69±6.8	10.4	39.6	8.2	얕은깔대기형	흑색	흑회색
KM-025	8	8	16±1.7	88±9.1	9.7	42.9	7.4	깊은깔대기형	흑색	흑회색
춘추2호	8	10	12±5.6	95±22.1	12.0	47.9	8.5	편편형	회갈색	회색
수한	8	9	11±1.9	71±14.4	16.7	42.7	6.7	얕은깔대기형	흑색	흑회색

그림 2-3. 느타리 계통간 교잡주의 병재배 자실체 전경.

라. 상자재배에 의한 저온성 느타리 계통 선발

느타리 계통간 교배로 선발 되어진 2핵 균주들은 모든 균주를 모두 균상 재배를 실시 할 수 없기 때문에 병재배와 상자재배로 그 계통을 줄여 나가야 한다. 따라서 육성되어진 184 균주을 병재배를 실시하고 그 병재배에서 우수한 균주 7개교잡 계통을 선발하여 상자재배를 실시하였다. 상자재배에 실시한 온도는 10-13℃정도의 기준으로 하였다. 상자재배에 사용된 배지는 폐면을 사용 하였으며 모든 재배법은 느타리버섯 폐면 재배법에 실시하였다. 상자 재배에 의해 선발된 균주는 균상 재배를 실시하였다. 표 2-16, 그림 2-4에서 보는 바와 같이 품질이 우수한 계통도 균덩이 비율이 높은 것도 있기 때문에 균덩이 비율이 적으면서 자실체 색택이 검은색을 기준으로 KM-141균주 등 9균주를 선발 하고 균상 재배를 실시하였다.

표 2-16. 느타리 저온성 육성균주의 상자재배

교잡품종	초발이 소요일수(일)	수확량 (g/상자)	갓(mm)		대(mm)		개체중 (g/개)	갓색깔	균덩이 (%)	갓모양	품질등급
			가로	세로	굵기	길이					
원형2×수한- 1	28±1	1,765.5±115.3	95.8±3.5	93.7±3.9	25.5±0.5	91.8±5.0	54.2	진회	0	깔대기	2
원형2×수한- 2	28±1	1,522.0±43.8	112.0±12.0	108.3±10.6	25.2±0.8	66.8±1.7	64.8	진회	0	얕은깔대기	2
원형2×흑평 -1	35±1	2,179.5±74.2	101.5±3.9	104.5±5.9	23.0±2.2	31.7±3.3	47.1	진회	5	얕은깔대기	2
원형2×흑평 -2	29±1	1,743.0±609.5	80.8±5.5	74.0±2.6	22.0±1.3	63.3±5.2	23.0	진회	0	얕은깔대기	4
원형2×흑평- 3	32±1	2,147.0±282.8	110.8±6.4	104.3±5.5	20.5±0.5	15.5±1.5	43.6	진회	0	얕은깔대기	2
원형2×흑평- 4	28±1	1,534.0±11.3	106.7±6.4	85.3±1.0	21.5±1.4	75.8±0.8	40.4	진회	4	오목반구	2
원형2×흑평- 5	30±0	2,828.0±168.3	126.2±10.3	106.5±9.3	25.3±2.2	56.5±6.3	58.3	진회	1	얕은깔대기	2
애느타리×청도22-1	29±1	1,988.5±767.2	103.3±7.8	99.2±7.7	27.5±2.3	54.3±6.3	52.2	회	20	얕은깔대기	2
애느타리×청도22-2	34±0	1,355.0±152.7	105.2±2.0	94.2±0.8	25.8±2.6	43.3±2.7	35.8	회	0	얕은깔대기	4
애느타리×청도22-3	28±0	1,520.0±903.7	89.3±2.2	84.2±3.3	20.5±1.0	80.0±6.3	44.6	진회	0	얕은깔대기	2
애느타리×청도22-4	31±0	1,648.3±785.9	109.7±18.2	105.7±15.3	28.0±2.2	54.2±7.0	66.3	진회	1	오목반구	1
애느타리×청도22-5	28±0	1,566.0±66.5	101.3±1.0	87.8±2.9	20.7±0.8	40.5±4.9	45.3	진회	2	깔대기	2
애느타리×청도22-6	28±1	1,347.5±518.3	103.5±5.9	95.5±1.5	21.7±1.0	37.3±5.5	36.9	진회	1	깔대기	2
애느타리×청도22-7	35±1	1,729.0±568.5	101.0±3.2	93.0±3.7	17.8±1.2	79.0±1.7	47.3	진회	3	얕은깔대기	2
애느타리×청도22-8	31±2	1,950.0±708.5	86.3±3.7	81.0±4.2	28.3±1.5	36.8±6.4	34.4	진회	3	얕은깔대기	2
애느타리×청도22-9	34±0	2,373.0±1,066.3	56.7±5.8	58.8±2.7	17.3±1.2	73.3±3.6	31.2	진회	0	얕은깔대기	5
애느타리×청도22-10	30±0	2,199.5±4.9	81.0±6.8	82.3±8.0	17.7±1.0	80.5±2.4	39.2	진회	0	깔대기	5
원형흑색×수한-1	28±1	1,600.0±87.7	72.2±5.2	66.8±5.9	29.3±0.8	81.0±1.8	31.2	회회	18	오목반구	2
원형흑색×수한-2	29±0	1,232.0±25.5	118.8±18.6	111.3±10.0	23.2±1.8	76.0±8.7	64.7	회회	35	오목반구	2
원형흑색×수한-3	26±2	1,178.5±46.0	132.0±7.3	103.3±7.3	22.8±1.2	17.5±0.5	59.2	회	0	얕은깔대기	2
원형흑색×수한-4	27±0	1,571.0±123.0	89.3±6.0	82.7±8.1	28.7±3.9	35.8±2.3	47.1	진회	0	얕은깔대기	1
원형흑색×수한-5	30±1	1,076.5±808.2	93.7±5.2	84.3±3.5	18.0±1.7	36.5±2.4	40.1	흑회	0	깔대기	1
원형흑색×수한-6	28±1	1,411.0±32.5	90.7±7.5	84.3±6.0	27.7±2.2	18.7±1.6	39.6	흑회	0	깔대기	1
수한	26±3	1,362.5±159.2	103.3±10.8	96.0±9.7	24.1±1.4	37.3±2.0	36.6	흑회	0	얕은깔대기	1

*상자크기 : 42.5 x 42.5 x 10.5㎝

표 2-17. 느타리 계통간 교잡주의 폐면 상자재배 생산력 검정

균주번호	초발이 소요일수 (일)	수확일수(일)	수확량 (g/상자)	갓색깔	균덩이(%)	갓모양	등급
KM-141	26±4	111±3	1,709.0±188.1	흑회	3	얕은깔데기	1
KM-144	27±0	113±4	1,714.0±55.2	진회	1	얕은깔데기	2
KM-236	29±1	108±11	1,281.0±8.5	진회	5	얕은깔데기	3
KM-365	28±1	109±10	1,522.0±43.8	진회	0	얕은깔데기	3
KM-222	28±1	67±54	819.5±542.4	진회	8	얕은깔데기	4
KM-223	32±1	101±8	2,068.0±101.8	진회	17	깔대기	1
KM-732	35±1	80±18	1,858.5±161.9	진회	0	얕은깔대기	2
KM-749	33±1	77±37	2,065.5±159.1	진회	0	얕은깔대기	3
KM-823	33±1	99±8	2,209.5±7.8	진회	0	얕은깔데기	2
KM-831	29±1	68±35	1,223.5±625.8	진회	23	오목반구	2
KM-1015	29±1	85±18	1,988.5±767.2	회	20	얕은깔대기	2
KM-1230	30±0	73±30	1,638.0±166.9	진회	3	얕은깔대기	1
KM-4145	28±0	107±6	1,462.5±245.4	진회	8	오목반구	2
KM-4428	29±1	104±3	1,754.5±447.6	진회	15	오목반구	4
KM-4440	31±1	113±5	1,538.5±204.4	진회	30	얕은깔데기	4
KM-4501	35±1	98±3	1,715.0±83.4	진회	1	깊은깔데기	4
KM-4502	29±1	116±0	1,432.0±97.6	진회	0	얕은깔데기	1
KM-4537	28±0	85±12	1,207.5±495.7	진회	0	얕은깔데기	1
KM-4539	28±1	84±26	1,415.0±79.2	진회	0	얕은깔대기	2
KM-4601	33±3	102±8	1,309.5±238.3	진회	0	깊은깔데기	3
KM-4628	26±3	108±8	1,342.5±771.5	진회	0	얕은깔데기	2
KM-4629	28±1	100±8	1,243.0±5.7	진회	9	깊은깔데기	3
KM-4647	28±1	99±0	1,215.0±217.8	진회	25	깔대기	2
KM-001	28±1	100±2	1,600.0±87.7	회	18	오목반구	2
KM-002	29±0	109±0	1,232.0±25.5	회	35	오목반구	2
KM-005	30±1	113±1	1,076.5±808.2	흑회	0	깔대기	1
KM-006	28±1	95±0	1,411.0±32.5	흑회	0	깔대기	1
KM-009	32±5	13±1	1,376.7±117.7	흑회	0	얕은깔대기	1
KM-119	40±0	8±1	1,461.1±192.7	흑회	0	얕은깔대기	1
원형1호	29±2	72±23	1,684.3±256.0	회	0	얕은깔대기	3
춘추2호	28±1	98±10	1,437.3±490.5	진회	0	얕은깔데기	2
청 풍	30±1	99±10	1,389.3±339.5	진회	0	얕은깔데기	2
수한1호	26±3	94±43	1,362.5±159.2	흑회	0	얕은깔데기	1

*상자크기 : 42.5 x 42.5 x 10.5㎝

그림 2-4. 느타리 계통간 교잡주의 폐면재배를 이용한 상자재배 전경

마. 균상 재배 생산력 검정

선발된 균주를 기준으로 KM-4336 등 6균주를 균상 재배를 실시한 결과는 표 2-18과 같다. KM-009 균주가 갓색깔이 흑회색으로 나타났고, 수량은 수한 1호 느타리에 비해 조금 떨어지는 경향을 나타내었으나 저온인 10℃ 정도에서도 버섯이 정상적으로 생장하고 품질이 우수하였다. 따라서 이 균주를 저온성 품종으로 선발하고 "종협1호"로 명명하고 품종보호 출원하여 농가에 보급 할 예정이다.

표 2-18. 느타리 계통간 교잡주의 폐면 균상재배 생산력 검정

균주번호	초발이 소요일수	수량(g/3.3m^2)	품질	갓색깔	균덩이
KM-4336	29.0±0.0	29,522 ± 518	2	회색	0%
KM-4509	32.7±2.1	31,375 ± 1180	2	회색	0%
KM-2026	32.6±0.0	29,623 ± 1505	2	회색	0%
KM-110	33.1±0.0	28,913 ± 1431	2	진회색	0%
KM-009	**32.0±5.0**	**24,780 ± 2118**	**1**	**흑회색**	**0%**
KM-119	40.0±0.0	26,299 ± 3468	2	흑회색	0%
춘추2호(대조)	24.0±0.7	26,302 ± 1520	2	회색	10%
수한1호(대조)	26.3±0.0	24,523± 1489	2	진회색	0%

바. 최종선발된 우량 균주의 특성 조사

(1) 한천 배지에서의 균사생장

최종 선발된 KM-009 균주의 균사생장을 조사하기 위하여 버섯완전배지(MCM)와 PDA배지에 접종하여 25℃ 항온기에서 7일간 배양한 후 균사생장 직경을 조사한 결과 표 2-19 와 같다. 배지 종류별 균사생장을 살펴보면, MCM과 PDA배지에서 양호한 결과를 보였으나 PDA 배지에서 더 나은 결과를 보였다.

표 2-19. KM-009 균주의 배지 종류별 균사생장

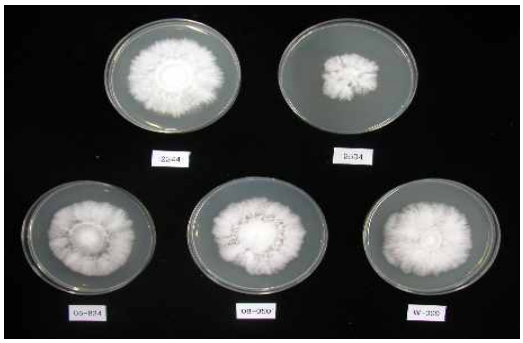
계통	균사생장 (㎜/7 days)	
	PDA	MCM
KM-009	81.7±2.9	75.7±4.0
춘추 2호	77.5±10.6	77.5±11.6
수한 1호	51.3±34.3	51.3±16.0

(2) 선발균주의 배양온도별 균사생장

최종 선발된 KM-009 균주의 배양온도에 따른 균사생장을 조사하기 위하여 20, 25, 30℃에서 7일간 배양하여 균사생장 길이를 조사한 결과 표 2-20, 그림 2-5와 같다. KM-009 균주는 MCM과 PDA 배지 모두에서 25℃에서 가장 좋은 균사 생장을 보였다.

표 2-20. 배지 종류에 따른 온도별 균사생장

계통	균사생장 (㎜/7 days)*					
	PDA			MCM		
	20℃	25℃	30℃	20℃	25℃	30℃
KM-009	70.0±11.8	81.7±2.9	78.3±11.5	65.7±6.0	75.7±4.0	71.7±2.9
춘추2호	70.1±7.1	77.5±10.6	84.0±1.4	60.5±0.7	77.5±11.6	85.0±0.0
수한1호	41.8±10.4	51.3±24.3	63.8±21.7	39.5±20.4	51.3±16.0	75.0±1.0



춘추2호, 수한1호
KM-834, KM-050, KM-009*

춘추2호, 수한1호
KM-834, KM-050, KM-009**

그림 2-5. KM-009 균주의 MCM 및 PDA 배지에서의 균총 형태.
* ; MCM, ** ; PDA

(3) 저온성 선발 균주의 자실체 특성

최종 선발된 KM-009 균주의 병재배는 균배양기간은 25±5일, 초발이일수는 11±1일이었으며, 자실체 생육일수는 10±2일이었다. 상자재배는 균배양기간은 25±5일, 초발이일수는 44.8±1.0일이었으며, 자실체 생육일수는 17±4일이었다. KM-009는 초발이일수와 자실체 생육일수가 가장 빨랐으며, 10℃의 저온에서도 양호한 버섯 생육을 보였다(표 2-21, 2-22, 2-23, 그림 2-6).

표 2-21. 저온성 선발 균주의 병재배에 자실체 특성 및 수량

균주번호	초발이 소요일수 (일)	자실체 생육일수 (일)	유효경수 (g/병)	갓색깔		수확량 (g/병)
				초기	후기	
KM-009	7±1	8±0	11.5±1.3	흑색	흑회색	73.8±14.5
춘추2호	8±1	10±2	12.0±5.6	회갈색	회색	95.5±22.1
수한	8±0	9±1	11.5±1.9	흑색	흑회색	71.0±14.4

표 2-22. 저온성 선발 균주의 균상재배에서 자실체 특성 및 수량

균주번호	초발이 소요일수 (일)	자실체 생육일수 (일)	갓색깔		수확량 ($kg/3.3m^2$)
			초기	후기	
KM-009	32.0±5.0	8±1	흑색	흑회색	24.8±0.1
춘추2호	44.8±1.0	17±4	회갈색	회색	26.3±0.2
수한	40.1±0.2	13±1	흑색	흑회색	24.5±0.2

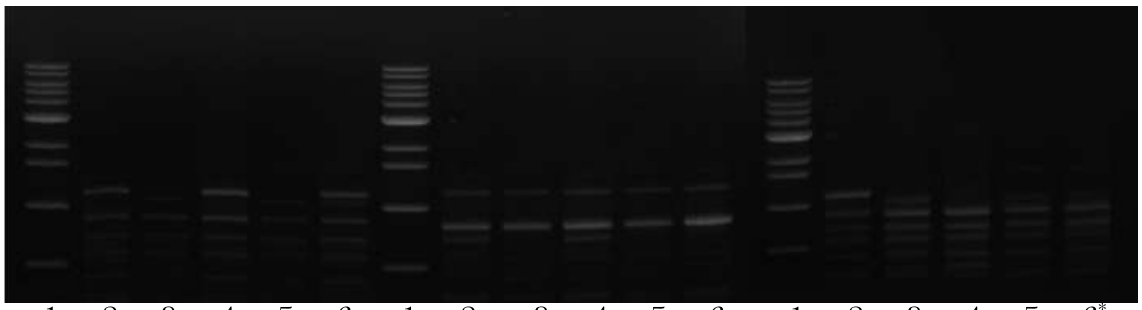
표 2-23. 버섯 자실체 품질 특성

계통	대길이	대굵기	갓직경	갓두께	갓색깔	갓경도 (부스러짐)	품질
KM-009	66.7±5.8	13.3±2.9	56.7±5.8	7.7±2.5	흑회색	강	상
춘추2호	43.3±2.9	10.0±0.0	38.3±2.9	5.3±2.1	회색	중	중
수한	26.7±2.9	18.0±5.2	61.7±2.9	3.7±0.6	흑회색	강	상

그림 2-6. 저온성 KM-009 균주의 자실체.

(4) RAPD에 의한 다형성 검정

URP는 다양한 생물종에 적용 가능하며 농업, 식물 및 인체 등에 관련된 곰팡이, 세균 및 버섯 등의 미생물 종간, 종내 동정을 할 수 있어서 매우 유용하게 적용되었다. 본 시험에서는 URP primer를 이용하여 느타리버섯 교배균주와 모균주를 PCR분석을 실시하였다. Primer에 따라 PCR 다형성 band를 보였다(그림 2-7). URP7 primer에서는 KM-009는 1,200bp부분에서 춘추2호로 band가 같았으며, URP10 primer에서는 KM-009는 1,200bp, 800bp 부분에서 수한1호 band 부분을 볼 수 있어 hybrid임을 확인 할 수 있었다.



1 2 3 4 5 6, 1 2 3 4 5 6, 1 2 3 4 5 6*

그림 2-7. URP를 이용한 KM-009 균주의 RAPD 양상.

* : 1 ; Marker, 2 ; 춘추2호, 3 ; 수한1호, 4 ; KM-834, 5 ; KM-050, 6 ; KM-009.

이상의 결과를 요약하면 저온기인 10℃ 내외에서도 우수한 형질을 보인 KM-009 균주를 최종 선발하고 "종협 1호"로 명명하고 품종보호출원하여 농가에 보급 할 예정이다.

제 3 절 : 큰느타리버섯 우량품종 육성(제 2 협동과제)

1. 서언

국내의 큰느타리버섯 품종 중에 등록된 품종인 “큰느타리1, 2호”는 형태적 특성이 좋지 않아 현재 재배되지 않고 있으며, 일본에서 선발 및 교배 육성된 품종을 도입하여 계대배양또는 자실체의 조직을 분리하여 증식된 종균을 이용하고 있는 실정이고 단일 품종의 계속된 재배에 의한 균주의 노화, 유전적 변이 등에 따른 문제가 본격적으로 나타나 많은 재배 농가에 심각한 피해를 입히고 있다는 점을 들 수 있음. 국내 환경 여건에 알맞는 우량 모본의 교배에 의하여 고품질 다수성 신품종개발이 필요하다.

큰느타리버섯 재배가 처한 현재의 어려움중의 하나는 단일 품종의 대규모 재배 시 발생하는 연작피해이며 이는 연작피해 발생시 대체할 수 있는 대체 품종 개발의 미비에 기인한다. 기존의 품종과 상이한 유전적 배경과 품종적 특성을 지닌 계통들이 선발되어 육성모본화 되어야 하며 이는 다수의 유전자원 확보 노력과 병행, 각 육성 모본의 여러 품종적 특성을 D.B.화하여 지속적으로 품종을 육성하려는 노력이 있어야함. 이는 우량 품종적 특성을 지닌 이핵주 및 이로부터 얻어진 단핵주 모두에서 검정되고 D.B.화 하여야 한다.

큰느타리버섯의 신품종이 국내 재배 환경에 적합하다라고 판단 되어도 이를 국내 재배 농가가 안정적으로 사용하기위해서는 구별성 즉, 유전적 배경이 기존의 큰느타리버섯과 구별되어야 하며, 유전적 배경의 변화를 유도하기 위하여 다양한 육종 기술이 도입되어 변이 유도 작업이 선행되어야함. 또한 기존의 수집되어진 큰느타리 버섯 자실체 특성에 부가되는 다른 품종특성이 확보되어야한다. 이러한 상술한 특성을 확보하여야 만 국내 육성 품종으로 등록이 가능하며, 이를 통해 국제식물신품종보호동맹 (UPOV) 체제하에서 국내 버섯 재배 농가에서의 큰느타리 품종 사용을 자유롭게 하리라 판단된다.

상술한 바와같은 제문제점들이 해소되어 국내 환경 여건에 알맞는 고품질 다수성 신품종개발을 목표로 한다.

2. 재료 및 방법

가. 공시균주 및 배양

느타리버섯속에는 많은 종이 포함되어 있으며 그 중 주요 재배종으로는 일반느타리를 비롯하여 여름느타리, 사철느타리, 큰느타리 등이 있다. 이들 종간에는 구분이 모호한 종들이 다수 포함되어 있으므로 본 연구에서는 표3-1과 같이 생물학적 종을 기준으로한 Zervakis and Balis (1996)의 구분을 중심으로 Ⅵ group의 큰느타리버섯 유사종을 대상으로 실험을 수행하였다.

Table 3-1. Established biological species within Pleurotus, their corresponding synonyms and/or taxa at a subspecies level, and the respective intersterility groups

Group	Species
Ⅰ	*P.ostreatus, P.columbinus, P.florida, P.salignus, P.spodoleucus*
Ⅱ	*P.pulmonarius, P.sajor-caju, P.sapidus*
Ⅲ	*P.populinus*
Ⅳ	*P.cornucopiae, P.citrinopileatus*
Ⅴ	*P.djamor, P.flabellatus, P.ostreatoroseus, P.salmoneostramineus, P.euosmus*
Ⅵ	*P.eryngii, P.ferulae, P.nebrodensis, P.hadamardii, P.fossulatus*
Ⅶ	*P.cystidiosus, P.abalonus*
Ⅷ	*P.calyptratus*
Ⅸ	*P.dryinus*
Ⅹ	*P.purpureo-olivaceus*
ⅩⅠ	*P.tuberregium*

* A pluralistic approach in the study by Zervakis and Balis (1996)

큰느타리종 및 유사종의 수집은 농업과학기술원에서 수집되어 있던 균주와 천안연암대학 부설 버섯연구소에서 분양받은 균주를 포함하여 *P. eryngii* 62균주, *P. ferulae* 19균주, *P. fossulatus* 6균주, *P. nebrodensis* 6균주였다(표3-2). 수집균주의 기원은 일본, 중국, 대만, 네팔의 아시아국가와 미국, 네델란드, 캐나다 등 다양하였는데 국내에서 수집된 균주의 경우도 국내 자생이 안되므로 일본이나 다른나라에서 도입된 것으로 볼 수 있었다. 또한 공시된 균주 중 ASI 0399, 2125는 *P. eryngii* 로, ASI 0414는 *P. ferulae*, ASI 0465, 0413는 *P. fossulatus* 라는 것이 최(2005)의 ITS sequencing에 의하여 확인된 균주로서 다른 균주들을 비교하는데 표준으로 사용되었다.

수집한 공시균주는 균주의 활력을 찾기 위하여 4℃ 균주 보관실에 보관 중인 균을 감자한천배지(PDA)에 이식한 후 직경이 3㎝이상 자랐을 때 균총의 가장자리에서 직경 7㎜의 cork borer로 떼어 새로운 배지에 이식하였다. 균이 접종된 배지는 암상태의 25℃ 항온기에서 7일간 배양 후 본 시험에 사용하였다.

Table 3-2. Collected strains tested in this study

ASI	Species	Origin	Year	ASI	Species	Origin	Year
2591	*P. eryngii*	Japan	2001	2539	*P. eryngii*	Nepal	2000
2592	*P. eryngii*	Japan	2001	2540	*P. eryngii*	Nepal No-1	2000
2691	*P. eryngii*	Japan	2001	2542	*P. eryngii*	Canada	2000
2705	*P. eryngii*	China	2001	2547	*P. eryngii*	Japan	2000
2740	*P. eryngii*	BCRC36037	2003	2584	*P. eryngii*	Korea	2000
2741	*P. eryngii*	CBS100.82	2003	0249	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2742	*P. eryngii*	CBS102.502	2003	0283	*P. eryngii*	Japan	1995
2743	*P. eryngii*	CBS102.503	2003	0295	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2744	*P. eryngii*	CBS102.504	2003	0297	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2745	*P. eryngii*	CBS102.505	2003	0298	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2746	*P. eryngii*	CBS 109.621	2003	0301	*P. eryngii*	Japan	1996
2747	*P. eryngii*	CBS 613.91	2003	0324	*P. eryngii*	Japan	1997
2750	*P. eryngii*	Taiwan	2003	0325	*P. eryngii*	Japan	1997
2751	*P. eryngii*	Japan	2003	0399	*P. eryngii*	Japan	1997
2752	*P. eryngii*	Korea	2003	0403	*P. eryngii*	C333	1997
2753	*P. eryngii*	JapanMP038	2003	2618	*P. ferulae*	CBS 100.82	2001
2754	*P. eryngii*	Japan077	2003	2619	*P. ferulae*	CBS 613.91	2001
2755	*P. eryngii*	Japan079	2003	2668	*P. ferulae*	China	2001
2756	*P. eryngii*	Japan	2003	2684	*P. ferulae*	China	2001
2757	*P. eryngii*	China	2003	2713	*P. ferulae*	China	2002
2758	*P. eryngii*	Korea	2003	2798	*P. ferulae*	CBS282.32	2004
2759	*P. eryngii*	Korea	2003	2801	*P. ferulae*	China 2684	2004
2760	*P. eryngii*	Korea	2003	2803	*P. ferulae*	China	2004
2775	*P. eryngii*	Japan	2002	2806	*P. ferulae*	KCTC26065	2004
2373	*P. eryngii*	Korea	1996	2807	*P. ferulae*	ChinaYA-14F	2004
2381	*P. eryngii*	Japan	1997	2808	*P. ferulae*	China	2004
2391	*P. eryngii*	Japan	1997	2809	*P. ferulae*	Korea	2004
2394	*P. eryngii*	Japan	1997	0414	*P. ferulae*	CCRC 36214	1997
2317	*P. eryngii*	Japan	1995	2777	*P. ferulae*		*2002*
2320	*P. eryngii*	Japan	1995	2778	*P. ferulae*	BFA05	2002
2326	*P. eryngii*	Japan	1995	2779	*P. ferulae*		*2002*
2332	*P. eryngii*	Japan 3338	1995	2623	*P. ferulae*	CBS 282.32	2001
2340	*P. eryngii*	Korea	1995	2776	*P. ferulae*		*2002*
2341	*P. eryngii*	Japan	1995	2780	*P. ferulae*		*2002*
2346	*P. eryngii*	Korea	1996	2748	*P. fossulatus*	ATCC52666	2003
2125	*P. eryngii*	America	1986	2749	*P. fossulatus*	ATCC62885	2003
2155	*P. eryngii*	Germany	1987	2799	*P. fossulatus*	ATCC52666	2004
2302	*P. eryngii*	Korea	1995	2800	*P. fossulatus*	Taiwan	2004
2363	*P. eryngii*	Korea	1996	0413	*P. fossulatus*	CCRC 36238	1997
2507	*P. eryngii*	China	1999	0465	*P. fossulatus*	ATCC 62885	1997
2513	*P. eryngii*	Netherlands	2000	2685	*P. nebrodensis*	China	2001
2514	*P. eryngii*	Somycel 3058	2000	2720	*P. nebrodensis*	Korea	2002
2515	*P. eryngii*	Netherlands	2000	2723	*P. nebrodensis*	China	2002
2516	*P. eryngii*	Somycel 3060	2000	2802	*P. nebrodensis*	ChinaYA-15F	2004
2517	*P. eryngii*	Netherlands	2000	2804	*P. nebrodensis*	Japan	2004
2518	*P. eryngii*	Netherlands	2000	2805	*P. nebrodensis*	Korea k-8	2004

나. 큰느타리버섯 및 유사종의 배양적 조건

큰느타리버섯 및 유사종의 배양적 조건을 규명하고자 사용한 배지는 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium ; MCM) 등 4가지 배지(표 3-3)를 사용하였으며, 조제 후 이를 고압살균기에서 121℃, 20분간 살균하였으며 이를 무균상 내에서 petridish(직경 90㎜)에 20㎖를 분주한 후 이후의 실험에 사용하였다.

(1) 배지별 균사생장 정도

공시되어진 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium ; MCM) 등 4가지 배지(표 3-3)에 큰느타리버섯 및 유사종으로 공시되어진 균주 *P. eryngii* ASI 2755 외 11균주(표 3-4) 접종한 후 25℃ 항온기에서 7일간 배양하였다. 배지별 균사생장 정도, 균총밀도, 기중균사 형성정도 등이 측정되었다.

표 3-3. 균사 생장에 사용한 배지조성

Ingredients	PDA	YM	MCM	MEA
K_2HPO_4			1g	
KH_2PO_4			0.46g	
$MgSO_4$-$7H_2O$			0.5g	
Glucose		10g	20g	
Peptone		5g	2g	5g
Yeast extract		3g	2g	
Malt extract		3g		20g
PDA(Difco)	39g			
Agar		20g	20g	20g
Distilled water	1000㎖	1000㎖	1000㎖	1000㎖

*PDA : Potato Dextrose Agar, MCM : Mushroom Complete Media, YM: Yeast extract malt, MEA: Malt Extract Agar

(2) 온도구배별 균사생장 정도 :

감자한천배지(PDA)에 큰느타버섯 및 유사종 공시균주를 접종한 후 이를 5℃~35℃ 범위에서 5℃ 단위로 구배된 각각의 항온기에서 7일간 배양하였다. 이후 온도별 균사생장 정도, 균총밀도, 기중균사 형성정도 등이 측정되었다.

다. 큰느타리버섯 및 유사종의 톱밥배지에서 배양적 조건

큰느타리버섯 안정생산체계 구축의 일환으로 큰느타리버섯 및 유사종의 톱밥배지에서의 최적 배양 조건을 규명하고자 다음과 같은 실험이 수행되었다. 자실체발생용 톱밥배지는 포플라 톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%등을 포함한 총중량 630g을 850cc PP병에 충진하여 이후의 자실체 발생 실험용 톱밥배지로 공시하여 사용하였다. 자실체발생을 위한 재배실 환경은 14~15℃, 상대습도 90%, CO_2 농도 1,000 PPM 이하, 조도 100~200 Lux로 공시하였다.

(1) 온도별 재배조건

큰느타리버섯의 온도에 따른 재배적 조건을 결정하고자 공시된 톱밥배지를 121℃에서 90

분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 40일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실시하였으며 이후 각기 10, 15, 17, 20℃에서 발이시켜 발생양상(초발이 소요일수, 수확 소요일수, 유효경수, 수확량)을 조사하였다.

(2) 배양기간별 재배조건

큰느타리버섯 및 유사종의 배양기간별 자실체 발생 특성을 조사하고자 공시된 톱밥배지를 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 배양 기간을 30일, 40일, 50일로 구배한 후 배양하였으며 각각을 균긁기 한 후 공시한 재배환경에서 자실체 발생을 유도, 각각의 자실체 발생 특성(초발이 소요일수, 수확 소요일수, 유효경수, 수확량)을 조사하였다.

(3) 수종별 재배조건

인공 병재배를 수행하기 위한 기초연구로 주재료가 되는 톱밥수종에 따른 균주별 생장정도를 비교해 보고자 수행되었으며, 병재배는 850㎖ P.P. 병에 공시된 톱밥배지의 조성물 중 톱밥을 각각 미송, 포플러, 참나무 톱밥으로 대치하여 제조한 후 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 40일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실시하였으며 자실체 발생을 유도하기 위하여 습도 95%, 실내 온도 10-13℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다(유 등, 2006). 조사되어진 자실체 발생 특성으로는 균사활착 소요일, 초발이 소요일, 수확소요일, 유효경수, 수확량 등 이다.

라. 우량균주 선발 및 교잡

(1) 우량모본 선발

총 62개의 이핵주가 우량 모본 선발 실험에 공시되었다(표 3-4). 우선 각각의 균사생장, 균총밀도 및 공중균사 발생상 등이 조사되었으며, 이를 공시한 자실체 발생조건하(14~15℃, 상대습도 90%, CO_2 농도 1,000 PPM 이하, 조도 100~200 Lux)에서 자실체 발생을 유도하였으며 이후 유효경수, 갓직경, 대직경, 대길이 및 개체중을 조사하였다. 또한 공시한 배지(포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%등을 포함한 총중량 630g을 850cc PP병에 충진)의 균주별 이용도를 조사하였다. 또한 발생되어진 자실체로부터 단포자를 분리하여 이후 교배형 결정 및 mono-mono mating을 위해 보관 되어졌다.

Table 3-4. Collected strains tested in this study

ASI	Species	Origin	Year	ASI	Species	Origin	Year
2591	*P. eryngii*	Japan	2001	2326	*P. eryngii*	Japan	1995
2592	*P. eryngii*	Japan	2001	2332	*P. eryngii*	Japan 3338	1995
2691	*P. eryngii*	Japan	2001	2340	*P. eryngii*	Korea	1995
2705	*P. eryngii*	China	2001	2341	*P. eryngii*	Japan	1995
2740	*P. eryngii*	BCRC36037	2003	2346	*P. eryngii*	Korea	1996
2741	*P. eryngii*	CBS100.82	2003	2125	*P. eryngii*	America	1986
2742	*P. eryngii*	CBS102.502	2003	2155	*P. eryngii*	Germany	1987
2743	*P. eryngii*	CBS102.503	2003	2302	*P. eryngii*	Korea	1995
2744	*P. eryngii*	CBS102.504	2003	2363	*P. eryngii*	Korea	1996
2745	*P. eryngii*	CBS102.505	2003	2507	*P. eryngii*	China	1999
2746	*P. eryngii*	CBS 109.621	2003	2513	*P. eryngii*	Netherlands	2000
2747	*P. eryngii*	CBS 613.91	2003	2514	*P. eryngii*	Somycel 3058	2000
2750	*P. eryngii*	Taiwan	2003	2515	*P. eryngii*	Netherlands	2000
2751	*P. eryngii*	Japan	2003	2516	*P. eryngii*	Somycel 3060	2000
2752	*P. eryngii*	Korea	2003	2517	*P. eryngii*	Netherlands	2000
2753	*P. eryngii*	JapanMP038	2003	2518	*P. eryngii*	Netherlands	2000
2754	*P. eryngii*	Japan077	2003	2539	*P. eryngii*	Nepal	2000
2755	*P. eryngii*	Japan079	2003	2540	*P. eryngii*	Nepal No-1	2000
2756	*P. eryngii*	Japan	2003	2542	*P. eryngii*	Canada	2000
2757	*P. eryngii*	China	2003	2547	*P. eryngii*	Japan	2000
2758	*P. eryngii*	Korea	2003	2584	*P. eryngii*	Korea	2000
2759	*P. eryngii*	Korea	2003	0249	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2760	*P. eryngii*	Korea	2003	0283	*P. eryngii*	Japan	1995
2775	*P. eryngii*	Japan	2002	0295	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2373	*P. eryngii*	Korea	1996	0297	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2381	*P. eryngii*	Japan	1997	0298	*P. eryngii*	Taiwan	1995
2391	*P. eryngii*	Japan	1997	0301	*P. eryngii*	Japan	1995
2394	*P. eryngii*	Japan	1997	0324	*P. eryngii*	Japan	1996
2317	*P. eryngii*	Japan	1995	0325	*P. eryngii*	Japan	1997
2320	*P. eryngii*	Japan	1995	0399	*P. eryngii*	Japan	1997
2326	*P. eryngii*	Japan	1995	0403	*P. eryngii*	C333	1997

(2) 단포자분리 및 우량 단핵주 선발

단포자 발아 분리는 Vaughans-Ward와 Isikhuemhen(2004)의 방법을 응용하였다. 성숙한 자실체에서 3~4시간 동안 낙하시킨 담자포자를 멸균수에 현탁하여 버섯완전배지에 도말시킨 후 약 10~12일간 25℃에서 배양하였다. 이들 콜로니를 다시 다른 배지에 이식 후 약 7~14일간 배양 후 단포자 여부를 조사하기 위하여 균총의 가장자리에서 멸균한 접종침으로 균사체를 채취하여 MCM에 이식 한 후 균이 어느 정도 자라면 균사에서 꺽쇠연결체(clamp connection) 형성 여부를 조사하여 단핵균주를 선발하였다. 우량 단핵주 선발을 위하여 분리된 단핵균는 각각 버섯완전배지에 접종, 배양하여 각각의 균사배양특성(균사생장정도, 균총밀도, 공중균사형성 정도 등)이 조사되어졌으며 이중 우수한 배양적 특성을 보이는 선발, 이후의 교잡 실험에 사용하고자 4℃에서 원균으로 보존되었다.

(3) 교배형 결정과 교잡균주 육성

선발 모균주의 교배형 결정을 위하여 단핵균주간 교잡을 실시하였으며, 우량교잡주 선발을 위해서는 mono-mono 와 di-mono 교잡법을 수행하였다. Mono-mono 교배를 위하여 버섯완전배지에 선발된 두 단핵체를 약 1㎝ 간격으로 대치접종하였다. Di-mono 교배는 단핵체를 먼저 중앙에 접종한 뒤 2~3일 뒤 이핵균주를 약 1㎝ 간격으로 접종하여 1주일간 배양하였다. 이후 mono-mono교배는 균주간 접합된 부위를 현미경으로 관찰하여 꺽쇠연결체 형성 유무를 확인하였고 di-mono교배는 단핵균주의 가장자리 부분의 균사체에서 꺽쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다.

(4) 우량 교잡주선발 및 자실체 특성 검정

Mono-mono 교배와 di-mono 교배를 수행하여 선발된 교잡주 자실체 특성 검정을 위해, 우선 접종원 제조는 포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%(v/v)정도로 조절하였으며 혼합된 톱밥 배지를 250㎖ 삼각플라스크에 넣어 고압살균으로 121℃에서 60분간 살균하였다. 살균 후 실온으로 냉각시킨 후 교잡주를 접종하여 25℃ 배양실에서 20일간 배양을 하였다. 병재배는 850㎖ P.P. 병에 포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%으로 혼합하여 제조한 후 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 40일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실시하였으며 자실체 발생을 유도하기 위하여 14~15℃, 상대습도 90%, CO_2 농도 1,000 PPM 이하, 조도 100~200 Lux의 환경하에서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다.

마. 큰느타리버섯 근연종간 교배조합 육성

(1) 균주수집

큰느타리 근연종의 수집은 농업과학기술원에서 수집되어 있던 균주와 천안연암대학 부설 버섯연구소에서 분양받은 균주를 포함하여 *P. ferulae* 19균주, *P. fossulatus* 6균주, *P. nebrodensis* 6균주였다(표 3-5). 수집균주의 기원은 일본, 중국, 대만, 네팔의 아시아국가와 미국, 네델란드, 캐나다 등 다양하였는데 국내에서 수집된 균주의 경우도 국내 자생이 안되므로 일본이나 다른나라에서 도입된 것으로 볼수 있었다. 또한 공시된 균주 중 ASI 0414는 *P. ferulae*, ASI 0465, 0413는 *P. fossulatus* 라는 것이 최(2005)의 ITS sequencing에 의하여 확인된 균주로서 다른 균주들을 비교하는데 표준으로 사용되었다.

Table 3-5. Collected strains tested in this study

ASI	Species	Origin	Year
2618	*P. ferulae*	CBS 100.82	2001
2619	*P. ferulae*	CBS 613.91	2001
2668	*P. ferulae*	China	2001
2684	*P. ferulae*	China	2001
2713	*P. ferulae*	China	2002
2798	*P. ferulae*	CBS282.32	2004
2801	*P. ferulae*	China 2684	2004
2803	*P. ferulae*	China	2004
2806	*P. ferulae*	KCTC26065	2004
2807	*P. ferulae*	ChinaYA-14F	2004
2808	*P. ferulae*	China	2004
2809	*P. ferulae*	Korea	2004
0414	*P. ferulae*	CCRC 36214	1997
2777	*P. ferulae*		*2002*
2778	*P. ferulae*	BFA05	2002
2779	*P. ferulae*		*2002*
2623	*P. ferulae*	CBS 282.32	2001
2776	*P. ferulae*		*2002*
2780	*P. ferulae*		*2002*
2748	*P. fossulatus*	ATCC52666	2003
2749	*P. fossulatus*	ATCC62885	2003
2799	*P. fossulatus*	ATCC52666	2004
2800	*P. fossulatus*	Taiwan	2004
0413	*P. fossulatus*	CCRC 36238	1997
0465	*P. fossulatus*	ATCC 62885	1997
2685	*P. nebrodensis*	China	2001
2720	*P. nebrodensis*	Korea	2002
2723	*P. nebrodensis*	China	2002
2802	*P. nebrodensis*	ChinaYA-15F	2004
2804	*P. nebrodensis*	Japan	2004
2805	*P. nebrodensis*	Korea k-8	2004

(2) 큰느타리 유사종의 발생 특성 조사를 통한 우량 모본 선발

시험에 공시된 총 31개의 균주 중 14개 균주가 배양적 특성(표 3-6) 및 자실체 발생 특성 검정이 공시된 배지 및 재배환경하에서 실시되었다. 대조균으로 공시한 *P. eryngii* ASI 2741와 자실체 발생 특성이 대등하거나 우수한 계통을 선발하였다. 결과 측정 시점은 큰느타리버섯 수확적기인 갓이 나팔처럼 펴지기 전, 대의 길이는 10~11cm, 대의 직경은 2.5~3.0cm일 때로 정하였다.

Table 9. Used strains in this study

Isolate No.	Scientific Name	Origin
ASI 2798	*P. ferulae*	CBS282.32
ASI 2801	*P. ferulae*	China / 2684
ASI 2803	*P. ferulae*	China
ASI 2806	*P. ferulae*	/ KCTC26065
ASI 2807	*P. ferulae*	China / YA-14F
ASI 2808	*P. ferulae*	China
ASI 2809	*P. ferulae*	China
ASI 2748	*P. fossulatus*	/ ATCC52665
ASI 2749	*P. fossulatus*	/ ATCC62885
ASI 2800	*P. fossulatus*	Taiwan
ASI 2802	*P. nebrodensis*	China / YA-15F
ASI 2804	*P. nebrodensis*	Japan
ASI 2805	*P. nebrodensis*	Korea / k-8
ASI 2741	*P. eryngii*	/ CBS100.82

(3) 단포자분리 및 우량 단핵주 선발

단포자 발아 분리는 Vaughans-Ward와 Isikhuemhen(2004)의 방법을 응용하였다. 성숙한 자실체에서 3~4시간 동안 낙하시킨 담자포자를 멸균수에 현탁하여 버섯완전배지에 도말시킨 후 약 10~12일간 25℃에서 배양하였다. 이들 콜로니를 다시 다른 배지에 이식 후 약 7~14일간 배양 후 단포자 여부를 조사하기 위하여 균총의 가장자리에서 멸균한 접종침으로 균사체를 채취하여 MCM에 이식 한 후 균이 어느 정도 자라면 균사에서 꺽쇠연결체(clamp connection) 형성 여부를 조사하여 단핵균주를 선발하였다. 우량 단핵주 선발을 위하여 분리된 단핵균는 각각 버섯완전배지에 접종, 배양하여 각각의 균사배양특성(균사생장정도, 균총밀도, 공중균사형성 정도 등)이 조사되어졌으며 이중 우수한 배양적 특성을 보이는 선발, 이후의 교잡 실험에 사용하고자 4℃에서 원균으로 보존되었다.

(4) 교배형 결정과 교잡균주 육성

선발 모균주의 교배형 결정을 위하여 단핵균주간 교잡을 실시하였으며, 우량교잡주 선발을 위해서는 mono-mono 와 di-mono 교잡법을 수행하였다. Mono-mono 교배를 위하여 버섯완전배지에 선발된 두 단핵체를 약 1㎝ 간격으로 대치접종하였다. Di-mono 교배는 단핵체를 먼저 중앙에 접종한 뒤 2~3일 뒤 이핵균주를 약 1㎝ 간격으로 접종하여 1주일간 배양하였다. 이후

mono-mono교배는 균주간 접합된 부위를 현미경으로 관찰하여 꺽쇠연결체 형성 유무를 확인하였고 di-mono교배는 단핵균주의 가장자리 부분의 균사체에서 꺽쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다.

(5) 우량 교잡주선발 및 자실체 특성 검정

Mono-mono 교배와 di-mono 교배를 수행하여 선발된 교잡주 자실체 특성 검정을 위해, 우선 접종원 제조는 포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%(v/v)정도로 조절하였으며 혼합된 톱밥 배지를 250㎖ 삼각플라스크에 넣어 고압살균으로 121℃에서 60분간 살균하였다. 살균 후 실온으로 냉각시킨 후 교잡주를 접종하여 25℃ 배양실에서 20일간 배양을 하였다. 병재배는 850㎖ P.P. 병에 포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%으로 혼합하여 제조한 후 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 40일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실시하였으며 자실체 발생을 유도하기 위하여 14~15℃, 상대습도 90%, CO_2 농도 1,000 PPM 이하, 조도 100~200 Lux의 환경하에서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다.

3. 결 과

가. 균주 수집

큰느타리종 및 유사종의 수집은 농업과학기술원에서 수집되어 있던 균주와 천안연암대학 부설 버섯연구소에서 분양받은 균주를 포함하여 *P. eryngii* 62균주, *P. ferulae* 19균주, *P. fossulatus* 6균주, *P. nebrodensis* 6균주였다(표 3-2). 수집균주의 기원은 일본, 중국, 대만, 네팔의 아시아국가와 미국, 네델란드, 캐나다 등 다양하였는데 국내에서 수집된 균주의 경우도 국내 자생이 안되므로 일본이나 다른나라에서 도입된 것으로 볼 수 있었다.

나. 큰느타리버섯 및 유사종의 배양적 조건

(1) 배지별 균사생장 정도

공시되어진 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium ; MCM) 등 4가지 배지(표 3-3)에 큰느타리버섯 및 유사종으로 공시되어진 균주 *P. eryngii* ASI 2755 외 11균주(표 3-4) 접종한 후 25℃ 항온기에서 7일간 배양하였다. 배지별 균사생장 정도가 측정되었다.

PDA 배지를 비롯한 4가지배지에서의 균사생장을 비교해 보면 비록 균주간에 차이는 있으나 큰느타리종의 균주들은 PDA 배지보다는 MEA 배지에서 잘 자랐으며, 큰느타리 유사종은 YM에서 잘 자라는 균주가 더 많았다. 따라서 현재 균의 계대배양 및 보존에 사용하는 배양기

에 대한 검토가 이루어질 필요가 있다고 사료되었다.

Table 3-4. Growth length in the different media

Strain	Species	Growth length (mm)			
		PDA	MCM	MEA	YM
2755	*P. eryngii*	45±3.9	33±5.7	47±1.7	40±5.2
2756	*P. eryngii*	25±4.1	25±3.7	40±2.9	24±1.4
2757	*P. eryngii*	28±1.3	29±2.5	40±5	30±4.4
2759	*P. eryngii*	36±2.1	39±4.4	46±1.1	40±4.6
2760	*P. eryngii*	26±1.3	34±1.8	44±3.8	42±3.2
2748	*P. fossulatus*	18±1.1	59±4.1	53±5.5	68±3
2749	*P. fossulatus*	35±10.4	58±3.8	55±2.8	53±4
2776	*P. ferulae*	18±2.3	37±2.5	40±1.3	33±2.1
2777	*P. ferulae*	14±0	30±5.1	30±2.9	32±5.5
2778	*P. ferulae*	23±0.4	27±1.1	30±2.5	32±2.7
2779	*P. ferulae*	16±0.8	31±2.5	29±4.5	30±4.4
2780	*P. ferulae*	35±4.6	39±3.1	40±3	43±3.2

(2) 온도구배별 균사생장 정도 :

감자한천배지(PDA)에 큰느타버섯 및 유사종 공시균주를 접종한 후 이를 5℃~35℃ 범위에서 5℃ 단위로 구배된 각각의 항온기에서 7일간 배양하였다. 이후 온도별 균사생장이 측정되었다. 그 결과, 온도에 따른 균사생장정도는 대부분 유사한 경향을 나타내었으며 최적온도는 30℃인 것으로 조사되었다. 종간에는 *P. fossulatus*종이 다른 종에 비하여 가장 빨리 자라고 다음이 큰느타리순으로 나타났다 (표 3-5). 비록 큰느타리 유사종의 균사배양 최적온도가 30℃이지만 병재배의 배양 중에는 배양실에 많은 병이 배양되므로 배양실 온도가 호흡열에 의하여 상승하지 않도록 22~25℃에서 배양하게 된다.

Table 3-5. Growth length in the different temperature

Strain	Species	5℃	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃
2755	*P. eryngii*	9.3	11.4	15.4	23.0	30.0	60.0	14.7
2756	*P. eryngii*	8.0	10.6	15.6	17.6	20.2	32.2	10.7
2757	*P. eryngii*	9.0	10.4	13.8	22.4	25.6	52.6	13.7
2758	*P. eryngii*	9.3	11.2	11.2	18.2	22.2	51.6	14.0
2759	*P. eryngii*	9.0	11.8	13.8	20.6	30.8	58.0	15.7
2760	*P. eryngii*	9.0	11.8	17.8	23.4	31.0	52.0	14.7
2775	*P. eryngii*	7.7	12.4	16.4	31.8	30.4	62.0	17.0
2713	*P. ferulae*	8.7	7.6	15.6	22.8	21.4	53.4	12.0
2776	*P. ferulae*	8.0	10.2	15.8	26.4	20.6	54.2	9.0
2777	*P. ferulae*	7.3	8.8	8.2	17.2	14.6	17.2	10.0
2778	*P. ferulae*	7.7	12.6	20.0	27.6	26.6	37.2	24.3
2779	*P. ferulae*	5.7	7.6	9.0	/	11.0	8.4	5.0
2780	*P. ferulae*	8.0	14.0	19.0	31.4	31.6	42.2	14.7
2798	*P. ferulae*	8.0	7.6	14.2	17.2	15.4	27.0	13.7
2801	*P. ferulae*	9.0	9.8	18.4	31.2	21.6	41.0	10.0
2803	*P. ferulae*	8.7	11.6	15.0	29.4	29.0	30.2	16.7
2748	*P. fossulatus*	10.7	19.0	23.0	34.4	24.0	78.4	40.3
2749	*P. fossulatus*	10.7	25.6	41.2	72.4	73.6	84.0	31.3
2799	*P. fossulatus*	9.0	25.6	41.6	58.2	77.0	70.2	27.7
2800	*P. fossulatus*	8.0	10.4	15.0	20.4	17.6	28.4	16.7
2802	*P. nebrodensis*	8.0	9.0	16.8	31.2	25.8	47.6	9.3
2804	*P. nebrodensis*	8.0	8.6	11.8	16.4	19.0	53.0	9.0
2805	*P. nebrodensis*	6.3	9.2	11.8	14.8	14.6	14.8	6.7

다. 큰느타리버섯 및 유사종의 톱밥배지에서 배양적 조건

큰느타리버섯 안정생산체계 구축의 일환으로 큰느타리버섯 및 유사종의 톱밥배지에서의 최적 배양 조건을 규명하고자 다음과 같은 실험이 수행되었다.

(1) 온도별 재배조건

큰느타리버섯의 온도에 따른 재배적 조건을 결정하고자 공시된 톱밥배지를 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 40일정도 배양이 완료된 후 균긁기를 실

시하였으며 이후 각기 10, 15, 17, 20℃에서 발이시켜 발생양상(초발이 소요일수, 수확 소요일수, 유효경수, 수확량)을 조사하였다. 그 결과 (표 3-5) 종에 따라 큰느타리종은 15~20℃에서 발생되었으며, 유사종인 *P. eryngii* var. *ferulae*(이하 *P. ferulae*)와 *P. eryngii.* var. *fossulatus* (이하 *P. fossulatus*)는 균주에 따른 차이가 심하여 일정한 경향을 찾을 수 없었다. 또한 *P. eryngii* var. *nebrodensis*(이하 *P. nebrodensis*) 종은 한균주를 제외하고는 대부분 버섯이 나오지 않아 더 면밀한 검토가 필요하였다.

Table 3-6. Cultivation of collected strains at the different temperature

Strain	Species	10℃				15℃				17℃				20℃			
		F	H	N	Y	F	H	N	Y	F	H	N	Y	F	H	N	Y
0403	*P. eryngii*					17	27	1	34	14	24	1	22	6	14	2	74
2125	*P. eryngii*					21	27	2	37	12	17	3	59	6	15	2	63
2155	*P. eryngii*					10	24	1	53	10	17	1	95	6	14	4	91
2302	*P. eryngii*					17	45	2	43	16	23	2	85	17	21	2	86
2320	*P. eryngii*	10	27	8	49	9	17	10	36	6	12	11	43	3	15	2	28
2332	*P. eryngii*									24	27	1	39	17	24	1	55
2394	*P. eryngii*	16	40	1	31	9	20	2	76	12	17	1	56	14	17	2	53
2547	*P. eryngii*	16	37	1	98	18	45	1	55	17	29	1	66	14	17	2	87
2584	*P. eryngii*									9	17	1	82	14	21	2	55
2750	*P. eryngii*					21	27	1	60	17	27	1	103				
2751	*P. eryngii*	18	38	1	65	10	18	2	72	9	21	1	76	12	17	2	75
2756	*P. eryngii*									10	19	1	56	14	24	1	46
2759	*P. eryngii*									10	15	6	95	12	17	3	104
0414	*P. ferulae*					17	42	2	74								
2619	*P. ferulae*													14	17	1	34
2623	*P. ferulae*					18	27	1	6								
2778	*P. ferulae*					10	20	2	73	9	17	3	67	12	17	2	74
2803	*P. ferulae*	20	42	1	43					10	17	3	82	12	17	1	92
0465	*P. fossulatus*									17	47	2	71				
2749	P. fossulatus	7	17	20	124	4	11	22	121	4	10	17	124				
2799	*P. fossulatus*	7	17	18	104	3	10	32	126	3	10	24	109	2	7	11	134
2800	*P. fossulatus*									18	27	1	24	17	21	1	21
2720	*P. nebrodensis*	19	42	1	41												

* F : Days of fruiting, H : Days for harvesting,
N : No. of fruitbody, Y : Yield (g/850㎜)

(2) 배양기간별 재배조건

큰느타리버섯 및 유사종의 배양기간별 자실체 발생 특성을 조사하고자 공시된 톱밥배지를 121℃에서 90분간 멸균하여 접종원을 접종 한 후 25℃ 배양실에서 배양 기간을 30일, 40일, 50일로 구배한 후 배양하였으며 각각을 균긁기 한 후 공시한 재배환경에서 자실체 발생을 유도, 각각의 자실체 발생 특성(초발이 소요일수, 수확 소요일수, 유효경수, 수확량)을 조사하였다. 그 결과, 일반느타리종은 이 온도에서 30일 가량 배양하면 충분하지만 큰느타리와 아위느타리는 표 3-7에서 보는 바와 같이 배양기간이 길어질수록 발이일수가 빨라지고 40일 배양에서 가장 좋은 수량을 나타내는 것을 볼 수 있었다. 따라서 기존의 재배법에서는 큰느타리버섯을 40일간 배양하는 것이 안정생산을 가져올 것으로 생각되었다. 그러나 앞으로 경제성을 높이기 위해서는 배양기간을 단축할 수 있는 배지를 개발하는 것이 바람직할 것이다.

Table 3-7. Productivities according to the incubation period

Days of incubation	Strain	Species	Days for fruiting	Days for harvest	Yield (g/850ml)
30	2394	*P. eryngii*	10	17	98
	2302	*P. eryngii*	17	18	73
	2798	*P. ferulae*	18	17	16
	2800	*P. fossulatus*	22	18	24
	2803	*P. ferulae*	18	18	50
40	2394	*P. eryngii*	7	12	116
	2798	*P. ferulae*	15	13	40
	2800	*P. fossulatus*	9	13	34
	2803	*P. ferulae*	9	13	65
50	2394	*P. eryngii*	7	11	98
	2798	*P. ferulae*	10	13	40
	2800	*P .fossulatus*	9	13	36
	2803	*P. ferulae*	6	13	84

(3) 수종별 재배조건

인공 병재배를 수행하기 위한 기초연구로 주재료가 되는 톱밥수종에 따른 균주별 생장정도를 비교해 보고자 수행되었으며 그 결과 (표3-8, 그림 3-1), 균주간 차이가 있으나 포플라 수종의 톱밥에서 다소 늦기는 하나 큰 차이를 볼 수 없었다. 톱밥 수종에 따른 생산성을 보면

(표 3-9) 큰느타리는 미송톱밥에서 발이기간이 다소 짧은 것으로 나타났으며, 큰느타리 유사종은 균주에 따라 다른 반응을 보여 톱밥 수종 자체는 크게 영향을 주지 않는 것으로 보였다. 근래에는 큰느타리재배에서 톱밥 구득이 어려워지고 있어 콘코브 등을 사용하는 경우가 많으므로 이에 대한 검토 및 미강 이외의 보조제를 바꾸어 실험하는 것이 필요하다고 사료된다.

Table 3-8. Growth length according to the differnt sawdust media

Strains	Sawdust	7days	14days	21days	28days
2798	Pine	29.8	55	92	131.2
2800	Pine	30.2	60	98	136.4
2801	Pine	33	58.8	90.8	120.4
2798	Oak	38.8	69.4	103.4	136.6
2800	Oak	32.2	63.2	100.2	138
2801	Oak	32.8	58.8	89.2	100.8
2798	Poplar	37.4	65.2	99.6	129.8
2800	Poplar	31.4	61.2	93.6	125.4
2801	Poplar	28.4	52.8	82	111.4

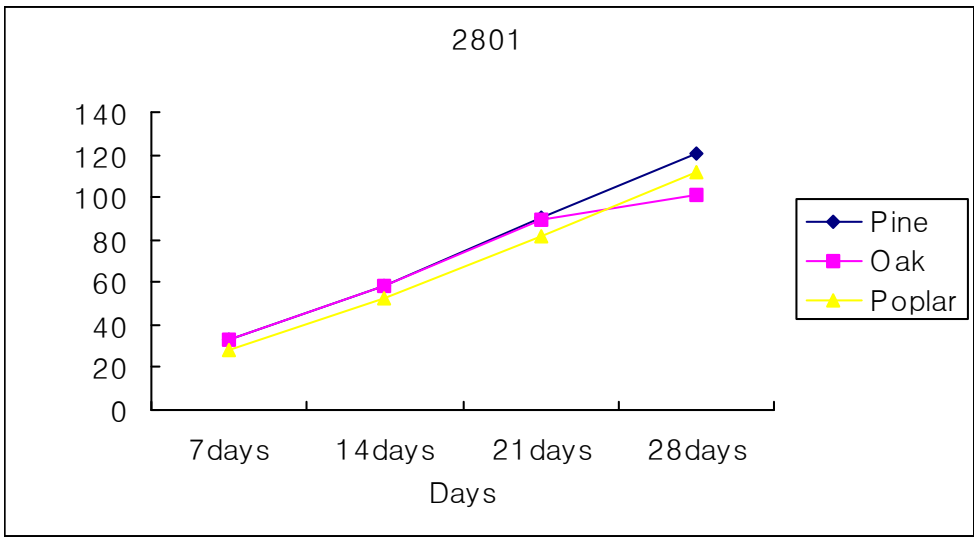


Fig. 3-1. Growing pattern according to the different sawdust media.

Table 3-9. Productivities according to the substrate

Strain	Substrate	Days of incubation	Days for fruiting	Days for harvest	Yield (g/850ml)
2798 *P. ferulae*	oak	40	16	12	48
	poplar	40	14	12	26
	pine	40	20	15	30
2800 *P. fossulatus*	oak	40	14	14	45
	poplar	40	20	16	32
	pine	40	18	16	22
2803 *P. ferulae*	oak	40	14	11	72
	poplar	40	15	13	55
	pine	40	15	11	80
2394 *P. eryngii*	oak	40	10	13	90
	poplar	40	11	13	88
	pine	40	7	12	98

라. 우량균주 선발 및 교잡

(1) 우량모본 선발

총 62개의 이핵주가 우량 모본 선발 실험에 공시되었다(표 3-4). 우선 각각의 균사생장, 균총밀도 및 공중균사 발생상 등이 조사되었으며(결과 미제시), 이를 공시한 자실체 발생조건하(14~15℃, 상대습도 90%, CO_2 농도 1,000 PPM 이하, 조도 100~200 Lux)에서 자실체 발생을 유도하였으며 이후 유효경수, 갓직경, 대직경, 대길이 및 개체중을 조사하였다. 또한 공시한 배지(포플라톱밥 70g, 콘코프 85g, 대두피 15g, 패분 3g, 면실박 13g, 함수율 63%등을 포함한 총중량 630g을 850cc PP병에 충진)의 균주별 이용도를 조사하였다. 또한 발생되어진 자실체로부터 단포자를 분리하여 이후 교배형 결정 및 mono-mono mating을 위해 보관 되어졌다.

(2) 단포자 교배형 결정 및 단핵주 특성조사

우량 교배주 육성을 위한 전단계로 자실체 발생 유도를 통해 얻어진 자실체로부터 단포자를 분리하였다. 현재까지 자실체가 얻어진 균주로부터 최소 100개 이상의 단핵주를 분리한 후, 각 균주별 단핵주의 일핵균사체 특성을 조사, 교배주 육성에 사용될 우량 영양생장적 특성을 지닌 단포자를 선발코자 하였으며, 이와 병행하여 단핵주간 자간 교배를 통해 교배형을 결정하였다. 육성 모본선발 실험에서 성적이 우수했던 ASI 2755 및 ASI 2759를 포함하여 유전자원 확보 및 균주 개선 목적으로 이외의 균주 또한 동일한 실험을 실시하였다. 공시된 이핵체로부터 얻어진 단핵균사체의 영양생장적 특성을 조사하였으며 제시된 결과는 이중 육성모본 선발 실험에서 성적이 우수하였던 ASI 2755 및 ASI 2759의 단포자 분리주만의 결과를 제시하였다(

표 3-10 및 표 3-11). 결과를 통해 단핵균사체중 영양생장적 특성(균사생장, 균총밀도 및 공중균사형성정도)이 우수한 단핵주를 선발하였다(표3-10 및 표3-11). 본 연구에서 설정한 품종 육성 목표 중 우량품종이라 함은 육성되어지는 품종이 기존의 큰느타리 품종의 제특성 중 양적 형질을 대체할 수 있는 수준의 것이어야 하고 수량성 등을 포함하는 양적형질은 균총밀도, 균사생장 등의 영양생장적 특성의 집합체이다. 따라서 교배조합 육성 전에 교배에 사용되는 단핵주중 양적 형질이 우수한 계통의 선발 또한 필수적이다. 이러한 사전 검증을 통해 육성되는 교배주는 모본보다 양적 형질이 우수한 품종이 출현한 가능성이 높아진다. 결과를 통해 영양생장적 특성이 우수한 단핵주가 확보되었으며 선발된 단핵주의 효율적 교배를 위해 단핵주간 자간교배를 통한 교배형을 결정하였다(표 3-12 및 표 3-13). 교배형이 결정된 교배형 집단 중 각 1개 단포자 균주를 선발, tester 균주로 사용하였고, tester 균주와 이외의 단포자 균주와의 교배친 검정을 통해 교배형을 확인하였다(결과 미제시). 교배형 결정을 통해 ASI 2755균주를 포함 전 균주가 4개의 교배형(AxBx, AxBy, AyBx 및 AyBy)으로 구분되어졌다.

Table 3-10. Vegetative characters of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2755.

Monospore Isolate No.	Mycelial growth(mm)	Mycelial compactness	Aerial mycelium
2755-1	41	+	+
2755-2	44	+	+
2755-4	39	+	+
2755-5	43	+	++
2755-6	45	+++	+
2755-7	42	++	++
2755-8	**43**	+++	+
2755-9	**49**	+++	+++
2755-10	44	++	++
2755-11	49	+++	++
2755-12	47	++	+++
2755-13	44	++	+++
2755-15	42	+++	+++
2755-17	49	+++	+++
2755-20	47	+++	++
2755-21	23	++	+++
2755-23	46	+++	+
2755-24	35	++	++
2755-27	45	+++	+
2755-30	34	++	++
2755-35	39	++	++
2755-37	42	++	++
2755-42	30	++	+++
2755-58	49	+++	+

Table 3-11. Vegetative characters of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2759.

Monospore Isolate No.	Mycelial growth(mm)	Mycelial compactness	Aerial mycelium
2759-1	22	+	++
2759-2	14	+	+++
2759-3	43	++	+
2759-4	44	++	++
2759-5	31	++	++
2759-6	11	++	++
2759-7	19	+	+
2759-8	**49**	+++	++
2759-10	21	++	++
2759-13	49	++	++
2759-14	35	++	++
2759-15	19	+	+++
2759-16	42	+++	++
2759-17	49	+++	++
2759-18	43	++	++
2759-19	10	+	+++
2759-20	9	+	+++
2759-21	17	++	+++
2759-22	40	++	++
2759-23	35	++	++
2759-24	42	++	+
2759-25	33	+++	++
2759-27	34	++	++
2759-29	21	++	++
2759-30	36	++	++
2759-32	47	+++	++
2759-33	35	++	++
2759-37	43	++	++
2759-38	9	+	++
2759-39	37	++	++
2759-41	28	++	+++
2759-42	45	+++	+
2759-44	36	++	++
2759-46	38	+++	++
2759-47	45	++	++
2759-51	28	++	++
2759-52	32	++	++
2759-53	43	++	++
2759-57	37	++	++
2759-58	42	++	++
2759-68	36	++	++
2759-76	46	+++	+
2759-77	29	+	+++
2759-79	38	++	++
2759-82	22	++	+++
2759-84	43	++	++
2759-85	42	++	++
2759-87	48	+++	+
2759-92	19	++	+++
2759-94	38	++	++
2759-95	41	++	++
2759-96	20	+	+++
2759-104	42	++	++
2759-105	43	+++	++

Table 3-12. Mating type of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2755.

ASI 2755		Mating type							
		AxBx		AxBy		AyBx			AyBy
		8	11	9	27	6	20	23	58
AxBx	8	-	-	-	-	-	-	-	+[a]
	11	-	-	-	(+)	-	-	-	+
AxBy	9	-	-	-	-	+	+	+	+
	27	-	(+)	-	-	+	+	+	+
AyBx	6	-	-	+	+	-	-	-	(+)
	20	-	-	+	+	-	-	-	-
	23	-	-	+	+	-	-	-	-
AyBy	58	+	+	-	-	(+)	-	-	-

[a]Symbols used are; + compatible mating(A≠, B≠), - incompatible mating(A═, B≠ or A═, B═), (+) incompatible mating with presence of unfused clamp connections(A≠, B═) on a contact zones.

Table 3-13. Mating type of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2759.

ASI 2759		Mating type							
		AxBx		AxBy	AyBx			AyBy	
		3	22	8	13	24	32	17	22
AxBx	3	-	-	-	-	-	-	+[a]	+
	22	-	-	-	-	-	-	+	+
AxBy	8	-	-	-	+	+	+	-	-
AyBx	13	-	-	+	-	-	-	-	-
	24	-	-	+	-	-	-	(+)	-
	32	-	-	+	-	-	-	-	-
AyBy	17	+	+	-	-	(+)	-	-	-
	22	+	+	-	-	-	-	-	-

[a]Symbols used are; + compatible mating(A≠, B≠), - incompatible mating(A═, B≠ or A═, B═), (+) incompatible mating with presence of unfused clamp connections(A≠, B═) on a contact zones.

육성모본으로 선발된 이핵체 ASI 2755 및 ASI 2759로부터 분리되어진 후 일차적으로 양적형질이 우수하며 교배형이 결정된 단포자 분리주(표 3-11~3-13)들 간의 mono-mono mating을 통해 교배주 육성이 시도되었다(표 3-14). 결과, 총 72개의 자간 교배 조합 중 42개의 화합성 교배 조합을 확보할 수 있었으며 이후 자실체 발생 특성 검정 실험에 공시되어졌다. 자간교배를 통해 계통내 단포자 분리주의 교배형 인자가 검정되어졌는데, ASI 2755 계통은 교

배형이 A_1B_1, A_1B_2, A_2B_1, 및 A_2B_2로 검정되었으며, ASI 2759 계통은 A_1B_1, A_1B_3, A_3B_1, 및 A_3B_3와 같이 다소 차이가 있는 교배형 인자를 보유함을 확인할 수 있었다.

Table 3-14. Identification of mating genotypes of monospore isolates derived from *P. eryngii* ASI 2755 and ASI 2759

P. eryngii				ASI 2755							
	Mating types			I		II		III			IV
		deduced mating genotypes		A_1B_1		A_1B_2		A_2B_1			A_2B_2
			monospore isolates	8	11	9	27	6	20	23	58
ASI 2759	I	A_1B_1	3	−	−	−	(+)	−	−	−	+
	II	A_1B_3	8	−	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+
			42	(+)	−	(+)	(+)	+	+	+	+
	III	A_3B_1	24	−	−	+	+	−	−	−	+
			32	−	−	+	+	−	−	−	+
			76	−	−	+	+	−	−	−	+
	IV	A_3B_3	17	+	+	+	+	+	+	+	+
			87	+	+	+	+	+	+	+	+
			105	+	+	+	+	+	+	+	+

[a]Symbols used are; + compatible mating(A≠, B≠), - incompatible mating(A═, B≠ or A≠, B═), (+) incompatible mating with presence of unfused clamp connections(A≠, B═) on a contact zones.

(2) 교배주 육성 및 특성 검정

분류학적 구별성이 확보된 큰느타리 버섯 종중 일차적으로 균사생장, 균총밀도 등 을 조사하여 양적형질이 우수한 계통을 선발한 후 이로부터 단포자를 분리, 교배형을 결정한 후 이차적으로 단핵주의 양적형질 조사를 실시하였다. 양적 형질이 우수하고 교배형이 결정된 단핵주간 mono-mono mating을 실시, 양적형질이 우수하다라고 판단되는 화합성 이핵체 조합(42개 조합)을 확보하였다. 이중 계통간 양적형질이 매우 우수한 단포자 분리주 조합 20개가 자실체 발생 특성 검정 실험에 공시되었다. 조사항목으로는 교배 조합간 균사생장, 균총밀도등의 영양생장적 특성이 조사되었으며, 이를 공시된 톱밥병 재배용 배지에서 공시된 발이 유기 환경을 통해 자실체 발생을 유도하였다. 교배 조합별 자실체 발생이 유기되었으며 이후, 균사활착 소요일수, 초발이 소요일수, 자실체 유효경수, 갓직경, 대직경, 대길이, 개체중등의 자실체 발생 특성 등이 조사되었다(표 3-15, 그림 3-2). 결과, ASI 2755-8×ASI2759-17(이하 ya-817) 외 4개 조합이 우수한 자실체 발생 특성을 보여주었다. 현재 5개 화합성 이핵체를 대상으로 3차

병재배를 통하여 생산력검정을 실시하였으며 그 결과를 토대로 이후 농가 실증 재배를 실시하였다.

표 3-15. 자간교배주 간 자실체 발생 특성 조사

교배조합	배양 일수	발이 일수	수확 일수	유효 경수	갓직경 (mm)	대길이 (mm)	대굵기 (mm)	자실체 개체중(g)	병당 수확량(g)
asi 2755-6×8[a]	28	11	9	2.0±0.7	29.3±2.2	78.9±7.6	29.3±2.1	40.7±11.2	81.1±36.4
asi 2755-6×42	30	10	10	3.0±0.7	23.4±2.3	50.2±10.6	33.3±1.2	33.3±16.4	92.5±24.0
asi 2755-8×17	31	9	9	1.7±0.3	57.3±1.7	85.6±3.1	28.7±1.2	93.3±18.4	158.1±15.7
asi 2755-8×87	28	9	6	1.5±0.5	37.0±5.7	97.0±13.4	37.0±5.7	94.2±28.4	155.5±15.0
asi 2755-8×105	42	10	9	3.0±0.7	23.4±2.3	50.2±10.6	21.7±9.1	31.1±14.5	86.2±12.1
asi 2755-9×24	32	10	9	2.5±0.5	32.4±5.2	72.6±12.7	33.3±1.2	58.7±13.0	120.1±16.3
asi 2755-9×32	30	9	10	2.2±0.3	29.2±3.8	70.2±12.0	31.1±6.3	72.8±15.0	148.5±18.1
asi 2755-9×76	30	10	10	2.1±0.5	28.4±5.5	65.5±10.5	32.0±5.5	70.0±10.0	150.5±20.5
asi 2755-11×8	28	8	9	2.1±0.5	35.3±2.1	70.5±10.2	35.0±5.0	84.2±20.0	149.5±10.5
asi 2755-11×17	35	8	9	3.0±0.7	28.2±3.8	51.5±6.6	20.7±3.8	26.5±11.0	79.1±23.1
asi 2755-11×87	28	9	9	2.2±0.3	30.4±5.0	60.3±5.0	26.7±2.1	53.3±8.9	120.5±36.5
asi 2755-11×105	32	11	9	1.5±0.5	26.7±2.1	64.3±5.8	26.7±3.5	53.3±8.9	87.1±22.6
asi 2755-20×8	30	10	10	3.5±0.5	35.3±5.5	**75.6±5.5**	**24.3±5.5**	58.4±10.0	140.5±20.5
asi 2755-20×42	30	10	10	3.0±0.5	26.5±5.8	55.5±5.6	25.7±3.5	36.5±11.0	92.1±25.1
asi 2755-23×8	30	10	10	2.5±0.5	30.4±3.2	70.2±8.5	30.3±4.2	58.5±15.0	110.1±25.8
asi 2755-23×42	31	9	9	2.5±0.5	38.3±1.2	92.6±2.7	38.3±1.2	48.7±13.0	121.8±26.3
asi 2755-27×24	34	12	11	3.5±0.5	24.2±2.0	50.5±5.5	21.5±5.2	35.2±18.4	95.5±25.5
asi 2755-27×32	40	8	9	1.5±0.8	38.3±2.1	79.2±9.0	38.3±2.1	47.4±6.4	72.1±12.4
asi 2755-27×76	30	9	9	2.2±0.3	25.4±4.4	82.3±2.3	25.4±4.4	33.3±16.4	77.4±35.8
asi 2755-58×3	31	10	10	3.0±0.5	28.5±5.0	65.5±5.5	25.0±5.5	46.5±11.0	120.5±25.5
asi 2741[b]	29	10	10	2.3±0.5	33.2±8.2	68.8±21.8	33.3±8.3	69.8±25.2	140.1±14.2

[a]mono-mono mating; asi 2755-monospore isolates X asi 2759-monospore isolates, [b]새송이 1호

그림 3-2. 우량 교배주 선발을 위한 자가교배주간 자실체 발생특성 조사

마. 병재배 생산력 검정

선발된 균주를 기준으로 ASI 2755-8×ASI2759-17(이하 ya-817) 외 4개 조합의 병재배를 실시한 결과는 표 3-16 및 그림 3-2와 같다. ASI 2755-8×ASI 2759-87(이하 ya-887)계통은 대조구로 사용한 새송이1호 품종에 비하여 수확소요일수가 6일로 약 40% 단축되었으며 유효경수는 떨어지나 대길이가 길고 대직경이 상대적으로 굵으며 자실체 개체중이 우수하여 병당 수확량이 대조구와 비교, 우수하였다. 또한 상대적으로 적은 유효경수는 자실체 품질특성이 우수하여 솎기작업의 번거로움을 다소 해결해줄 수 있는 장점으로 부각되었다. 따라서 이 균주를 큰느타리 우량품종으로 선발하고 “연암1호”로 명명, 품종보호 출원 예정이며 이후 농가 보급 예정이다.

표 3-16. 큰느타리 계통간 교잡주의 병재배 생산력 검정

교배조합	배양 일수	발이 일수	수확 일수	유효 경수	갓직경 (mm)	대길이 (mm)	대굵기 (mm)	자실체 개체중(g)	병당 수확량(g)
asi 2755-**8×17 (ya-817)**	31	9	9	1.7±0.3	57.3±1.7	85.6±3.1	28.7±1.2	93.3±18.4	158.1±15.7
asi 2755-**8×87 (ya-887)**	28	9	6	**1.5±0.5**	37.0±5.7	**97.0±13.4**	**37.0±5.7**	94.2±28.4	**155.5±15.0**
asi 2755-9×32 (ya-932)	30	9	10	2.2±0.3	29.2±3.8	70.2±12.0	31.1±6.3	72.8±15.0	148.5±18.1
asi 2755-9×76 (ya-976)	30	10	10	2.1±0.5	28.4±5.5	65.5±10.5	32.0±5.5	70.0±10.0	150.5±20.5
asi 2755-11×8 (ya-118)	28	8	9	2.1±0.5	35.3±2.1	70.5±10.2	35.0±5.0	84.2±20.0	149.5±10.5
asi 2741[b]	29	10	10	2.3±0.5	33.2±8.2	68.8±21.8	33.3±8.3	69.8±25.2	140.1±14.2

[a]mono-mono mating; asi 2755-monospore isolates X asi 2759-monospore isolates, [b]새송이 1호

그림 3-3. 우량 교배주 자실체 발생 특성 조사

바. 최종선발된 우량 균주의 특성 조사

(1) 큰느타리버섯 선발 균주의 자실체 특성

최종 선발된 ya-887 균주의 병재배는 균배양기간은 28일, 초발이일수는 9일이었으며, 자실체 생육일수는 6일로 초발이일수와 자실체 생육일수가 가장 빨랐으며, 유효경수, 대길이, 대직경, 개체중 등 우수한 자실체 품질 특성을 보였다(표 3-16, 3-17, 3-18, 그림 3-2).

표 3-17. 큰느타리버섯 선발 균주(ya-887)의 자실체 특성 및 수량

균주번호	초발이 소요일수 (일)	자실체 생육일수 (일)	유효경수 (g/병)	자실체 개체중(g)	수확량 (g/병)
ya-887	9±0	6±0	1.5±0.5	94.2±28.4	155.5±15.0
새송이1호	10±0	10±0	2.3±0.5	69.8±25.2	140.1±14.2

표 3-18. 큰느타리버섯 선발 균주(ya-887)의 자실체 품질 특성

계통	대길이	대굵기	갓직경	품질
ya-887	**97.0±13.4**	33.2±8.2	37.0±5.7	상
새송이1호	68.8±21.8	33.3±8.3	33.2±8.2	상

그림 3-4. ya-887 균주의 자실체(농가실증).

사. 큰느타리버섯 근연종간 교배조합 육성

(1) 큰느타리 유사종의 발생 특성 조사를 통한 우량 모본 선발

시험에 공시된 총 31개의 균주 중 14개 균주가 배양적 특성(표 3-19) 및 자실체 발생 특성 검정이 실시되었다. 대조균으로 공시한 *P. eryngii* ASI 2741와 자실체 발생 특성이 대등하거나 우수한 계통을 선발하였다. 결과, *P. ferulae*종의 경우 ASI 2809균주가 대조균과 대등한 성적을 보였다(표 3-20, 그림 3-5). ASI 2809 계통은 대길이가 다소 작으나 유효경수가 균일하게 2-3개 발생하였으며, 균사활착 소요일 수 및 초발이 소요일수 또한 다른 공시균에 비하여 우수하였다. 결과 측정 시점은 큰느타리버섯 수확적기인 갓이 나팔처럼 펴지기 전, 대의 길이는 10~11cm, 대의 직경은 2.5~3.0cm일 때로 정하였다.

Table 3-19. Used strains in this study

Isolate No.	Scientific Name	Origin
ASI 2798	*P. ferulae*	CBS282.32
ASI 2801	*P. ferulae*	China / 2684
ASI 2803	*P. ferulae*	China
ASI 2806	*P. ferulae*	/ KCTC26065
ASI 2807	*P. ferulae*	China / YA-14F
ASI 2808	*P. ferulae*	China
ASI 2809	*P. ferulae*	China
ASI 2748	*P. fossulatus*	/ ATCC52665
ASI 2749	*P. fossulatus*	/ ATCC62885
ASI 2800	*P. fossulatus*	Taiwan
ASI 2802	*P. nebrodensis*	China / YA-15F
ASI 2804	*P. nebrodensis*	Japan
ASI 2805	*P. nebrodensis*	Korea / k-8
ASI 2741	*P. eryngii*	/ CBS100.82

Table 3-20. Reproductive characters of *Pleurotus eryngii* varities

Isolate No.	No. of significant sporophores	Diameter of pileus(mm)	Diameter of stipe(mm)	Length of stipes(mm)	Weigth of each sporophores(g)
ASI 2798	1.7±0.3	55.4±14.7	27.5±6.0	53.5±11.5	37.2±19.9
ASI 2749	2.2±0.6	21.8±11.6	26.2±4.5	55.4±10.2	34.3±18.6
ASI 2800	1.4±0.6	60.6±16.9	31.4±7.2	57.4±10.5	47.9±26.7
ASI 2801	3.3±0.6	22.3±10.5	27.4±6.9	77.8±19.7	30.6±18.7
ASI 2806	1.5±1.2	59.1±17.3	29.5±6.2	56.9±12.0	43.1±24.0
ASI 2807	2.6±1.4	20.8±13.6	24.7±5.3	83.0±22.3	32.3±18.6
ASI 2802	2.2±0.6	16.0±0.00	23.5±2.1	92.0±9.9	25.1±1.5
ASI 2808	2.8±1.8	21.1±10.1	24.2±6.5	80.7±28.3	31.0±21.2
ASI 2809	**2.3±0.7**	**52.1±16.4**	**29.2±7.8**	**55.6±13.5**	**40.7±26.4**
ASI 2804	2.2±0.3	59.6±16.9	29.4±12.9	19.4±22.9	40.1±4.9
ASI 2013	1.5±1.1	45.4±10.7	29.6±11.2	21.4±7.2	23.1±13.5
ASI 2805	1.5±0.9	52.4±8.7	18.3±9.2	32.6±9.8	37.1±14.2
ASI 2015	2.7±1.3	30.4±11.8	21.8±10.1	21.7±11.2	27.1±11.5
ASI 2741	3.1±0.6	32.3±24.9	26.5±6.4	78.2±21.2	47.2±20.1

(2) 단포자 교배형 결정 및 단핵주 특성조사

우량 교배주 육성을 위한 전단계로 자실체 발생 유도를 통해 얻어진 자실체로부터 단포자를 분리하였다. 현재까지 자실체가 얻어진 균주로부터 최소 100개 이상의 단핵주를 분리한 후, 각 균주별 단핵주의 일핵균사체 특성을 조사, 교배주 육성에 사용될 우량 영양생장적 특성을 지닌 단포자를 선발코자 하였으며, 이와 병행하여 단핵주간 자간 교배를 통해 교배형을 결정하였다. 육성 모본선발 실험에서 성적이 우수했던 ASI 2755를 포함하여 유전자원 확보 및 균주 개선 목적으로 이외의 균주 또한 동일한 실험을 실시하였다. 공시된 이핵체로부터 얻어진 단핵균사체의 영양생장적 특성을 조사하여 표 3-21에 제시하였으며(ASI 2755 결과만 제시), 결과를 통해 단핵균사체중 영양생장적 특성(균사생장, 균총밀도 및 공중균사형성정도)이 우수한 단핵주를 선발하였다. 본 연구에서 설정한 품종 육성 목표 중 우량품종이라 함은 육성되어지는 품종이 기존의 큰느타리 품종의 제특성 중 양적 형질을 대체할 수 있는 수준의 것이어야 하고 수량성등을 포함하는 양적형질은 균총밀도, 균사생장 등의 영양생장적 특성의 집합체이다. 따라서 교배조합 육성 전에 교배에 사용되는 단핵주중 양적 형질이 우수한 계통의 선발 또한 필수적이다. 이러한 사전 검증을 통해 육성되는 교배주는 모본보다 양적 형질이 우수한 품종이 출현한 가능성이 높아진다. 결과를 통해 영양생장적 특성이 우수한 단핵주가 확보되었으며 선발된 단핵주의 효율적 교배를 위해 단핵주간 자간 교배를 통한 교배형을 결정하였다(표 3-22)(ASI 2755 결과만 제시). 교배형 결정을 통해 ASI 2755균주를 포함 전 균주가 4개의 교배형(AxBx, AxBy, AyBx 및 AyBy)으로 구분되어졌으며, 각균주별 교배형 인자 검정은 수행중에 있다. 교배형 뿐만아니라 교배형 인자 검정을 통해 종간 교배의 가능성 또한 타진할 예정이다.

Table 3-21. Vegetative characters of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2755.

Monospore Isolate No.	Mycelial growth(mm)	Mycelial compactness	Aerial mycelium
2755-1	41	+	+
2755-2	44	+	+
2755-4	39	+	+
2755-5	43	+	++
2755-6	45	+	+
2755-7	42	++	++
2755-8	43	+	+
2755-9	49	++	++
2755-10	44	++	++
2755-11	49	++	++
2755-12	47	++	+++
2755-13	44	++	+++
2755-15	42	+++	+++
2755-17	49	+++	+++
2755-20	47	++	++

Table 3-22. Mating type of monospore isolates derived from parental dikaryon *Pleurotus eryngii* ASI 2755.

		Mating type							
		AxBx				AxBy	AyBx		AyBy
		2	10	13	15	20	7	9	12
AxBx	2	-	-	-	-	-	+[a]	-	+
	10	-	-	-	-	-	(+)	-	+
	13	-	-	-	-	-	-	-	+
	15	-	-	-	-	-	-	(+)	+
AxBy	20	-	-	-	-	-	+	+	-
AyBx	7	-	(+)	+	-	+	-	-	-
	9	-	-	-	-	+	-	-	-
AyBy	12	+	+	+	+	-	-	-	-

[a]Symbols used are; + compatible mating(A≠, B≠), - incompatible mating(A=, B≠ or A≠, B=), (+) incompatible mating with presence of unfused clamp connections(A≠, B=) on a contact zones.

(3) 교배주 육성 및 특성 검정

분류학적 구별성이 확보된 큰느타리 버섯 종중 일차적으로 균사생장, 균총밀도 등을 조사하여 양적형질이 우수한 계통을 선발한 후 이로부터 단포자를 분리, 교배형을 결정한 후 이차적으로 단핵주의 양적형질 조사를 실시하였다. 양적 형질이 우수하고 교배형이 결정된 단핵주간 mono-mono mating을 실시, 양적형질이 우수하다라고 판단되는 이핵체 조합을 확보하였다. 조사항목으로는 교배조합간 균사생장, 균총밀도 등 의 영양생장적 특성이 조사되었으며, 이를 공시된 톱밥병 재배용 배지에서 공시된 발이 유기 환경을 통해 자실체 발생을 유도하였다. 교배조합별 자실체 발생이 유기되었으며 이후, 균사활착 소요일수, 초발이 소요일수, 자실체 유효경수, 갓직경, 대직경, 대길이, 개체중등의 자실체 발생특성 등이 조사되었다(표 3-23). 이와 병행하여 교배조합간 구별성을 확보하기 위하여 핵산 지문이 검정중이다.

표 3-23. 자간교배주간 자실체 발생 특성 조사

교배조합	배양 일수	발이 일수	수확 일수	유효 경수	갓직경 (mm)	대길이 (mm)	대굵기 (mm)	자실체 개체중(g)	병당 수확량(g)
asi 2755-8×13[a]	31	9	9	1.7±0.3	57.3±1.7	85.6±3.1	28.7±1.2	93.3±18.4	158.1±15.7
asi 2755-11×17	35	8	9	3.0±0.7	28.2±3.8	51.5±6.6	20.7±3.8	26.5±11.0	79.1±23.1
asi 2755-27×32	40	8	9	1.0±0.0	38.3±2.1	79.2±9.0	38.3±2.1	47.4±6.4	47.1±5.8
asi 2755-27×76	30	9	9	2.2±0.3	25.4±4.4	82.3±2.3	25.4±4.4	33.3±16.4	77.4±35.8
asi 2755-11×105	32	11	9	1.5±0.5	26.7±2.1	64.3±5.8	26.7±2.1	53.3±8.9	87.1±22.6
asi 2755-6×9	28	11	9	2.0±0.7	29.3±2.2	78.9±7.6	29.3±2.1	40.7±11.2	81.1±36.4
asi 2755-23×42	32	9	9	2.5±0.5	38.3±1.2	92.6±2.7	38.3±1.2	48.7±13.0	121.8±26.3
asi 2755-8×87	28	9	6	1.5±0.5	37.0±5.7	97.0±13.4	37.0±5.7	94.2±28.4	155.5±15.0
asi 2755-23×58	32	9	9	2.3±0.7	29.2±7.8	55.6±13.5	29.3±8.7	40.7±28.1	93.1±29.8
asi 2741[b]	29	10	10	2.3±0.5	33.2±8.2	68.8±21.8	33.3±8.3	69.8±25.2	140.1±14.2

[a]mono-mono mating; asi 2755-monospore X asi 2759-monospore, [b]새송이 1호

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표 달성도

느타리버섯의 우량품종 육성은 다음과 그림과 같은 추진체계에 의해 이루어 졌다.

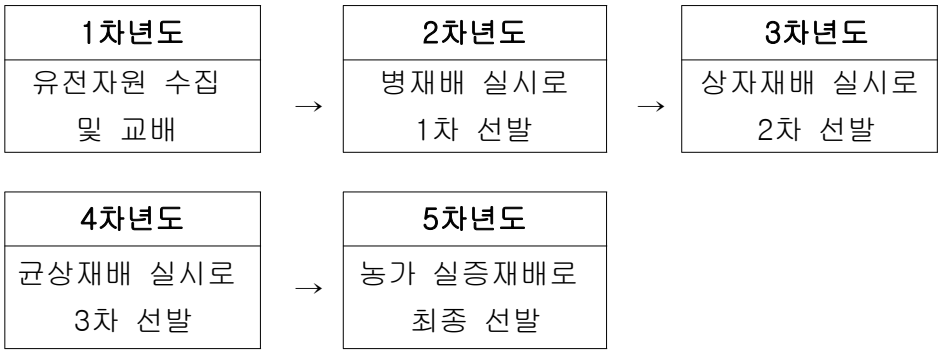


그림 4-1. 느타리버섯 육종의 추진체계.

그림과 4-1과 같이 모든 연구는 정상적으로 추진되었으며, 최종적으로 춘추기 재배용 느타리 1품종(“안성1호”)과 저온성 느타리 1품종(종협 1호“)이 육성 되었다. 따라서 처음 계획했던 연구 목표는 100% 달성 하였다.

2. 관련 분야에의 기여도

버섯 품종도 다른 작물과 마찬가지로 국제식물신품종 보호동맹(UPOV)에 등록된 품목이기 때문에 외국 품종이 도입되어 사용 할 경우 로열티를 지불해야 한다. 그러나 중온성 및 저온성 품종이 육성 되어 농가에 보급되면 농가의 품종선택 범위가 넓어질 뿐만 아니라 버섯재배를 위한 경영비의 감소도 바라 볼 수 있다. 그리고 수집된 유전자원과 교배로 육성되어진 계통들은 육종의 모본으로서의 가치도 높다고 볼 수 있다.

제 5 장　연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구개발성과

가. 중고온성 느타리 1 품종을 육성하여 품종 보호 출원
나. 저온성 느타리 1 품종을 육성하여 품종 보호 출원 예정

2. 성과 활용 계획

가. 중고온성 느타리 품종의 농가 보급으로 품종의 다양성을 확보하고 고온기 에너지 절감으로 농가 소득 증대 기여.
나. 저온성 느타리 보급으로 저온기 생육온도조절을 위한 에너지 절감
다. 확보된 유전 자원과 육성된 2핵 균주들은 앞으로 품종육성의 유전자원으로 활용
라. 육성된 품종은 한국종균생산협회 회원사들에게 분양하여 농가에 종균을 공급
마. 월간 버섯등 버섯 잡지를 통해 새로이 육성된 품종이 농가에 소개 예정

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 새로운 느타리 *Pleurotus albidus* 가 육성됨 (2011. 아르헨티나)
2. 느타리 단핵균주의 선발시 꺽쇠연결체가 없으면서 균사 생장이 매우 빠른 것은 선발하지 말아야 한다. 왜냐하면 4극성 중 A형 인자가 같고 B형 인자가 다른 경우에는 2핵이 될 수 있기 때문이다.

제 7 장 참고문헌

유영복, 공원식, 장갑열, 김인엽, 오세종, 전창성. 2006. 노랑 느타리 품종 '금빛'의 특성. 한국버섯학회지 4(3) : 83-87

Fujimori, F. and Okuda, T. 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. *Fungi. J. Antibiot* (Tokyo) 47 : 173- 182

Gherbawy, Y. A., Farghaly. R. M. 2002. Mycoflora of Chicken-Viscera with Aid of RAPD Technique as a Tool for Confirmation. *Mycobiology* 30(1) : 5-12

Laroche, A., Gaudet, D. A. Schaalje, G. B. Erickson, R. S. and J. Ginns 1995. Grouping and identification of low temperature using mating RAPD and RFLP analysis. *Mycol. Res.* 99, 297-310.

Raper, C. A., Raper, J. R., Miller, R. E. 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 64 : 1088-1117.

Vaughans-Ward, K., Isikhuemhen, O. S. 2004. Spore germination in *Grifola frondosa* (Maitake). New challenges in mushroom science. Proceedings of the 3rd meeting of far east collaboration on edible fungi research p21.

Jung, K. J., Choi, D. S. 2007. Cultivation technique using plastic container and selection the superior strain of nameko mushroom (*Pholiota nameko*). *Printed in S. KOREA* 5(2) : 51-58.

Jang, K. Y., Jhune, C. S., and Shin, C. W. 2003. Studies on the morphological and physiological characteristics of *Pleurotus cystidiosus* O. K. Miller, the abalong mushroom. *Korean J. Mycology* 31(3) : 141-147.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림수산식품개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림수산식품개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.