

발 간 등 록 번 호

11-1541000-000873-01

최 종
연구보고서

표고 신품종 육성 및 국내유통 표고 품종의
식별체계 구축

Breeding of New Shiitake Cultivars and Construction
of Identifying Systems for the Shiitake Cultivars
Distributed in Domestic Markets

산림조합중앙회 산림버섯연구소

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “표고 신품종 육성 및 국내 유통 표고품종의 식별체계 구축” 과제(협동과제:UPOV에 대비한 국내 표고품종의 식별체계 연구)의 최종보고서로 제출합니다.

2011 년 4 월

주관연구기관명 : 산림버섯연구소	협동연구기관명 : 국립산림과학원
주관연구책임자 : 유 창 현	협동연구책임자 : 가 강 현
1세부연구책임자 : 유 창 현	연 구 원 : 박 원 철
2세부연구책임자 : 고 한 규	연 구 원 : 김 용 울
연 구 원 : 최 선 규	연 구 원 : 김 명 길
연 구 원 : 노 종 현	연 구 원 : 유 선 화
연 구 원 : 김 선 철	연 구 원 : 유 성 열
연 구 원 : 김 경 진	연 구 원 : 홍 기 성
연 구 원 : 이 병 석	연 구 원 : 정 숙 주
연 구 원 : 박 광 태	
연 구 원 : 김 현 숙	
연 구 원 : 조 상 진	
	참 여 기 업 명 : (주)바이오닉스
	참여기업책임자 : 김 기 환
	연 구 원 : 전 지 연
위탁연구기관명 : 단국대학교	
위탁연구책임자 : 김 성 환	
연 구 원 : 권 혁 우	
연 구 원 : 박 지 은	

요 약 문

I. 제 목

표고 신품종 육성 및 국내유통 표고 품종의 식별체계 구축

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구목적

본 과제는 표고버섯의 유전자원을 확보하고 특성을 조사하여 품종육성의 모균주로 활용하여 원목재배용과 톱밥재배용 우량 신품종을 육성하무로서 표고재배임가의 소득증대에 기여하고자 한다. 또한 UPOV에 대비한 표고품종을 식별할 수 있는 기술 개발과 국내 표고품종의 심사기준을 확립하여 국내의 표고산업 발전에 기여하고자 함.

- 표고의 유전자원 수집, 특성검정 및 보존
- 원목재배용 표고버섯 신품종의 개발
- 톱밥재배용 표고버섯 신품종의 개발
- 모균주 및 교배균주의 생리·생화학적 특성
- 국내 표고 품종의 품종별 DNA 지문을 이용한 식별체계 구축
- 고품질, 다수확 표고품종을 통한 재배농가의 소득 증대 기여

2. 연구필요성

- 우량품종 육성을 위하여 가장 중요한 다양한 버섯 유전자원 수집 및 균주별 균사배양, 재배적인 특성파악과 표고 유전자원의 퇴화방지를 위해 안전하게 장기적인 보존방법이 필요함.
- 국내에서 개발된 표고 품종이 매우 적어 최근 UPOV 협약 시행에 따라 외국 품종 재배시 로열티 지불 가능성이 매우 높아지고 있음.
- 국내 품종보호출원 품종은 18개이나 지역별, 온도발생형별 품종이 다양하지 못하고, 표고 재배자들은 국내 기후에 적합한 우량 신품종에 대한 요구가 많음.
- 톱밥재배 임가들이 급증하는데 비하여 우량품종 및 재배기술이 부족하며, 품종의 특성 및 품질이 불명확한 중국산 톱밥배지의 대량수입으로 재배실패 및 수익성이 악화되고 있음

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 버섯 유전자원 특성조사

국내외의 버섯 유전자원을 수집하여 생리적 특성 및 자실체 특성을 조사하여 품종육성의 모균주로 활용하고자 한다. 또한 표고균주의 장기보존을 위해 최적 보존법을 구명한다.

2. 교배균주 육성

모균주에서 담자포자를 순수분리, 교배균주를 육성하고 원목재배와 톱밥재배를 실시하여 자실체 특성조사를 통해 우수 균주를 선발한다.

3. 교배균주의 특성

모균주와 교배균주의 리그닌 분해력, 병 내성, 중금속 내성 등을 통해 생리적, 생화학적 특성 등을 조사한다.

4. 표고 DUS test guideline

표고의 DUS 지침서를 작성하기 위해, 국내외의 표고 품종에 대한 특성정보 자료를 수집하여 국내 고유의 개발 품종의 신규성과 구별성을 인정받을 수 있는 기준을 마련하고자 한다.

5. 품종 식별용 분자 마커 개발

국내에서 유통되는 표고 품종을 식별할 수 있는 Microsatellite와 SNP의 분자마커를 개발한다.

6. 표고 품종 DB 구축

품종검색은 품종의 대표특성(품종명, 온도형, 국가별)을 토대로 쉽게 품종을 찾을 수 있도록 웹 기반의 서비스를 제공한다.

IV. 연구개발 결과

1. 유전자원 수집

연구기간동안 버섯 유전자원은 318개 균주를 수집하였으며, 그중 표고균주는 232개 균주를 수집하였다. 수집 표고균주에 대한 배양온도별(10-35℃, 5℃간격), 산도별(pH 4, 5, 6, 7, 8), 배지별(PDA, MCM, YM, MEA, OEA) 균사생장을 조사하였으며, 지역별로 수집된 균주들의 RAPD 패턴을 비교하여 유연관계를 조사하였고, 원목재배 및 톱밥재배를 실시하여 F0437, F0466 등 22개 균주를 선발하여 신품종 육성에 활용하였다.

2. 최적 보존방법

표고균주의 장기 보존을 위한 액체질소보존법은 글리세롤 10%가 균주생존 및 생장에 최적이었다.

3. 교배균주 육성

모균주 20개를 이용하여 총 10,792개 교배조합을 통해 1,619개 교배균주를 선발하였으며 이들 중 1,385균주는 원목재배, 1,047균주는 톱밥재배를 실시하였다. 각각의 재배에서 모든 교배균주는 균주별 버섯수확량, 개체중 등을 조사하고 형태가 우수한 균주들은 제원조사를 하여 우수균주를 선발하였다. 그중 자실체 수량과 품질이 우수한 원목재배용 1균주, 톱밥재배용 2균주는 입가실증시험을 실시하였다. 최종적으로 톱밥재배용 품종 산조705, 산조706, 원목재배용 품종 산조111호를 품종보호출원하였다. 이 시험을 통하여 육성한 나머지 유망균주들에 대해서는 추후 시험을 계속하므로써 우량한 품종이 더 육성될 것이다.

또한 원목재배에서 자실체 특성검정에 3-5년 이상의 기간이 소요되므로 빠른 신품종 육성을 위하여 원목 내부의 균사 만연 기간을 단축하고자 원목의 상압살균으로 5~6개월만에 첫버섯을 발생시키는 조기 검정법에 대한 연구를 수행하였다.

4. 생리생화학적 특성

모균주 및 교배균주에 대한 목재기질 분해효소, 해균에 대한 길항력조사, 중금속 내성특성, laccase 활성 및 IGS region 분석을 통해 생리생화학적 특성을 조사하였다. 모균주의 단핵균주와 교배균주들에서 서로 다른 생리적 특성을 보였으며, 특히 IGS region 분석결과, 모균주와 교배균주의 DNA 염기서열이 상이하게 조사되었다.

5. 표고버섯 TG 확립

표고 신품종 심사를 위해 특성조사표를 작성하였으며 원목재배용 품종은 대선형성 유무등 38개, 톱밥재배용 품종은 원목품종 특성 일부를 포함한 36개 형질의 기준표를 마련하였다.

6. 품종 식별용 분자 마커 개발

표고의 분자학적 마커를 개발하기 위해 총 89개 균주를 이용하여 microsatellite markers(LedA2, LedA8, LedB2, LedB6, and LedD6)의 5개를 개발하였고, SNP markers는 Laccase에서 47개, Exo-β-1,3-glucanase 1에서 17개, Exo-β-1,3-glucanase 2에서 11개를 찾았다. 정확성과 다형성이 많은 것에 따라서 SNP markers는 Laccase에서 8개, Exo-β-1,3-glucanase 1에서 8개, Exo-β-1,3-glucanase 2에서 4개를 개발하였다.

7. 표고 품종 DB 구축

품종정보는 국내외 자료(학회지, 홈페이지, 출판자료 등)를 토대로 국내품종 20개, 일본품종 163개, 중국품종 126개에 대하여 작성하였다. 각 품종정보는 DB구축을 위한 자료정리와 국내 등록품종에 대해서는 이미지 정보를 추가하였다. 아울러 표고에 대한 일반적인 재배법, 종균배양소, 용어설명 등에 대한 정보도 함께 제공할 수 있도록 하였다.

V. 연구결과와 활용계획

1. 유전자원 수집

본 과제를 통해 수집된 표고 232개 유전자원은 지속적인 표고 신품종 개발의 모균주 활용과 기후온난화에 적합한 품종개발의 기초 연구자료로 활용할 것이다.

2. 표고균주 최적보존방법

표고 품종의 원균을 액체질소보존시 보존제로 10% 글리세롤을 처리한 장기안정 보존방법을 확립하였으며, 이를 통해 신품종의 육성은 물론, 퇴화문제를 근본적으로 해결하여 재배자들의 불신을 줄일수 있을 것이다.

3. 교배균주 육성

20개의 모균주로부터 단핵균주를 분리하여 10,792개 교배조합을 통해 1,675개 교배균주를 선발하여 원목 및 톱밥재배로 자실체 수량, 품질 등을 조사하여 우수균주를 선발하고 입가실증시험을 실시하였다. 최종적으로 원목재배용 산조111호, 톱밥재배용 산조705, 706호를 육성하여 품종보호출원을 하였다. 나머지 원목재배용 유망균주들은 연구과제가 종료된 후에도 자실체의 특성조사가 지속적으로 진행될 것이다. 현재까지 품종보호출원을 한 톱밥재배용 2품종과 원목재배용 1품종은 농가에 보급하여 소득증대에 기여할 것이다.

4. 표고버섯 TG 확립

본 과제를 통해 표고 품종을 심사할 수 있는 심사 지침서가 작성되어, 품종을 육성하고자 하는 기관 또는 개인 육종가들이 활용할 수 있으며, 기초 기반기술로 실용화 측면에서 활용 가능하다. 연구결과들은 연구성과 설명회 또는 컨설팅 등의 방법을 활용하여 버섯 재배자들에게 제공할 것이다.

5. 표고품종 식별용 분자 마커 개발

표고 품종을 식별할 수 있는 분자학적 마커가 개발되어 새롭게 개발되는 품종의 유전자 지문을 확립할 수 있으며 모균주의 출처나 지역적 정보가 제공되어 품종보호권을 실현할 수 있는 기반을 제공하였다.

6. 표고 품종 DB 구축

표고 품종 데이터 베이스(DB)를 통해 품종에 대한 정보를 손쉽게 검색할 수 있으며, 대표특성(품종명, 온도형, 국가별)을 토대로 쉽게 품종을 찾을 수 있도록 국립산림과학원 홈페이지(<http://www.kfri.go.kr>)에 정보서비스를 제공하였다

SUMMARY

I . Title

Breeding of New Shiitake Cultivar and Construction of Identifying Systems for the Shiitake Cultivar Distributed in Domestic Markets

II . Purpose and Necessity of Research and Development

This study has been conducted to develop shiitake(*Lentinula edodes*) cultivars which have competitiveness in foreign market as well as in domestic market and to establish an identifying system for shiitake cultivar distributed in domestic market.

1. Purpose

- To collect shiitake from diverse sources as genetics resources for breeding
- To preserve the collected and bred shiitake as genetic resources
- To evaluate the physiological and morphological characteristics of shiitake genetic resources
- To breed new shiitake cultivar useful for cultivation in oak log beds
- To breed new shiitake cultivar useful for cultivation on sawdust blocks
- To establish an identifying system for shiitake cultivar distributed in domestic market
- To aid the increase of farmers' income through the breeding of high-quality and high-yield shiitake cultivar

2. Necessity of Research

- Collection of shiitake genetics resources for breeding

To breed shiitake cultivar with high-quality, researches on collection of mushroom genetic resources from diverse sources, cultivation of collected mushroom cultures, examination of cultural properties and development of stable and long-term preservation methods that protect both the collected cultures and bred cultures without deterioration, are necessary.

- Amid the UPOV agreement comes into force, there are very few commercially useful shiitake cultivar developed in Korea. Thus, the farmers who cultivate foreign cultivar are faced with royalty payment.
- The number of domestic shiitake cultivar applied for the protection of new cultivar is 18, but the cultivar do not have much suitable properties for cultivation at diverse locations with different temperatures. Thus, shiitake farmers are demanding the breeding of new high-quality cultivar suitable for growing at domestic climate.
- Despite the number of farmers who cultivate shiitake using sawdust-based media is increasing, currently, the number of high-quality cultivar and cultivation technology are not enough for catching up the trends. In addition, mass importation of sawdust-cultivation media from China which are not characterized well in domestic climate regarding their quality and cultivation properties is resulting in the failure of mushroom farming and aggravating farmers' earning.

III. Contents and Scope of Research and Development

1. Investigation of the properties of mushroom genetic resources

Mushroom genetic resources will be collected from domestic and foreign sources and their physiological properties and fruitbody characters investigated in order to use them as mother strains for new cultivar breeding. The best storage method will also be studied to keep the useful genetic resources for a long time.

2. Breeding of new valuable shiitake strains

Hybrid strains will be generated through crossing of the basidiospores that are purely isolated from some selected mother strains and cultivated both on log beds and sawdust-based media, and their fruitbody evaluated to select new valuable cultivar.

3. Investigation of the properties of hybrid strains

Lignin degrading ability, disease resistance, heavy metal resistance will be

investigated through physiological and biochemical studies on the hybrid strains and their mother strains

4. Preparation of DUS test guideline for shiitake

To prepare DUS test guideline for shiitake, information on all the shiitake cultivars that are available in Korea as well as foreign countries will be collected and compared in details.

5. Development of molecular markers for cultivar identification

Microsatellite and SNP makers will be developed to identify shiitake cultivars being circulated in domestic market.

6. Building of a DB for shiitake cultivars

User-friendly DB will be constructed in web to provide service that helps for cultivar search based on major information on cultivar name, temperature type, origin of country etc.

IV. Results of Research and Development

1. Collection of mushroom genetic resources

A total of 318 mushroom genetic resources were collected. Among the collection, 232 genetic resources were shiitake. The growth properties of all the collected mushroom resources were examined at different temperature, pH, and media. Genetic relationship of all the collected resources were defined by RAPD analyses. The good mother strains which were actually used for breeding work were selected through growth test on oak log beds and sawdust-based media.

2. Optimal preservation method for genetic resources

After test run on different preservation conditions, the best preservation was found when the shiitake strains in 10% glycerol were preserved in liquid nitrogen.

3. Breeding of new cultivars

From 20 mother strains, a total of 10,792 crossings were performed and

1,675 hybrid strains were selected for their mushroom formation and production. After growth test on oak log beds and sawdust-based media and evaluation of the quality and production yield, finally Sanjo 705ho, Sanjo 706ho, and Sanjo 111ho were bred and applied for the protection of new cultivars.

4. Establishment of shiitake TG

Inventory of shiitake mushroom property investigation to apply for new cultivar registration and criterion table containing comparative properties of 38 cultivar for log bed cultivation and 36 cultivar for sawdust-media based cultivation were established, respectively.

5. Development of molecular markers for shiitake cultivar identification

From the test results with 89 shiitake strains, five microsatellite markers (LedA2, LedA8, LedB2, LedB6, and LedD6) and 75 SNP markers (47 from Laccase, 17 from Exo- β -1,3-glucanase 1, and 11 from Exo- β -1,3-glucanase 2) were developed. Among the SNP markers, 20 markers (8 from Laccase, 8 from Exo- β -1,3-glucanase 1, and 4 from Exo- β -1,3-glucanase 2) were further selected by the consideration of their accuracy and polymorphism.

6. Building of a DB for shiitake cultivar

Cultivar information in DB were made based on cultivar information (20 domestic cultivar, 163 Japanese cultivar, 126 Chinese cultivar) collected at home and abroad (referring academic societies, home page, published materials, etc.). Image information also added to the DB. Information on cultivation method, the name of mushroom spawning place, and explanation of terms could also be provided.

V. Research Results and Their Application Plans

1. Collection of genetic resources

All the collected mushroom genetic resources will be continuously used to the breeding of new shiitake cultivar and applied to use as basic research materials for developing cultivar suitable for climate change.

2. Optimal culture preservation method

With the establishment of optimal culture preservation method, it is now possible to preserve newly bred strains as well as collected strains for the mid- and long-term periods. This will help the deterioration of cultivar properties and subsequently, reduce the farmers' distrust on the developed cultivar.

3. Breeding of hybrid strains

Even if the project finishes, research on the 1,675 hybrid strains which were selected from 10,792 mating combinations and inoculated onto oak log beds will continuously be performed for the selection of strains with valuable fruitbody properties. Currently, three strains(two for sawdust media-based cultivation, one for log cultivation) have been applied for the protection of new cultivar. The new cultivar will be distributed to farmers and expected to contribute to the farmer's earning.

4. Establishment of shiitake TG

The shiitake evaluation criterion for newly bred cultivar is prepared through the present research. The criterion is a basic infrastructure and thus will be applied to any institute or people who want to develop new cultivar. The criterion will be delivered to mushroom farmers through presentation and consulting for shiitake breeding research.

5. Development of molecular markers for shiitake cultivar identification

With the development of molecular markers for identifying shiitake cultivar, it is possible to establish genetic fingerprinting of newly developed cultivar. Together with the information on the origin of its mother strains and their ecological sources, the genetic fingerprinting tools will provide scientific infra to help the protection of the newly developed cultivar.

6. Building of a DB for shiitake cultivar

The cultivar information DB allow us to easily search information on any shiitake cultivar. This web service is designed to get cultivar information on the basis of major properties (the name of cultivar, temperature type, origin of culture etc.).

CONTENTS

Chapter 1. General Introduction

- Section 1. Necessity of research development
- Section 2. Contents and purpose of research development
- Section 3. System of research development
- Section 4. Prospect of research development

Chapter 2. Evaluation of genetic resources

- Section 1. Collection of genetics resources
- Section 2. Physiological characteristics
- Section 3. Morphological characteristics
- Section 4. Preservation of genetic resources
- Section 5. Summary

Chapter 3. Breeding

- Section 1. Selection of parental strains
- Section 2. Hybrid strains
- Section 3. Physiological properties of hybrid strains
- Section 4. Fruitbody properties of hybrid strains
- Section 5. Selection of hybrid strains
- Section 6. Early determination method for fruitbody properties
- Section 7. Summary

Chapter 4. Physiological and biochemical properties of hybrid strains

- Section 1. Establishment of the evaluation method for physiological and biochemical properties
- Section 2. Physiological and biochemical properties of hybrid strains
- Section 3. Biochemical properties of mycelia and deformed fruits
- Section 4. Physiological properties of good strains
- Section 5. Summary

Chapter 5. Construction of Identifying Systems for the Shiitake Cultivar Distributed in Domestic Markets

Section 1. Evaluation criterion for new shiitake cultivars

Section 2. Development of molecular markers for shiitake cultivar identification

Section 3. Building of a DB for shiitake cultivar

Section 4. Summary

Chapter 6. Product of research development and its application

Section 1. Research objectives and the point of assessment

Section 2. Major product from the research

Section 3. Future development direction

Chapter 7. Overseas information on science and technology

Chapter 8. Reference

목 차

제 1 장 총론	15
제 1 절 연구개발의 필요성	15
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용	18
제 3 절 연구개발의 추진체계	24
제 4 절 연구결과의 활용방안 및 기대효과	25
제 2 장 유전자원 특성조사	27
제 1 절 유전자원 수집	27
제 2 절 유전자원의 생리적 특성	36
제 3 절 유전자원의 자실체 특성	50
제 4 절 표고균주 장기보존법	57
제 5 절 결과 요약	59
제 3 장 교배균주 육성	60
제 1 절 모균주의 선발	60
제 2 절 교배균주 육성	62
제 3 절 교배균주 생리적 특성	68
제 4 절 교배균주 자실체 특성	77
제 5 절 우수균주 선발	92
제 6 절 자실체 조기 검정법	107
제 7 절 결과 요약	111

제 4 장 육종균주의 생리·생화학적 특성	112
제 1 절 생리·생화학적 특성검정법 확립	112
제 2 절 교배균주 생리·생화학적 특성	113
제 3 절 균사 및 기형자실체의 생화학적 특성	134
제 4 절 우수균주의 생리학적 특성	141
제 5 절 결과 요약	146
제 5 장 표고 품종 식별체계 구축	147
제 1 절 표고 신품종 심사기준	147
제 2 절 품종 식별용 DNA 마커 개발	151
제 3 절 품종 특성 DB 구축	190
제 4 절 결과 요약	192
제 6 장 연구개발 성과 및 활용	193
제 1 절 연구목표 및 평가 착안점	193
제 2 절 연구개발의 성과활용	195
제 3 절 연구개발의 기대효과	200
제 7 장 해외과학 기술정보	202
제 8 장 참고문헌	222

제 1 장 총 론

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 경제적·산업적 중요성

- 표고버섯은 2004년도 기준으로 총생산액 2,500억원, 재배 농가 9천 호에 이르는 대표적인 농가소득 임산물임
- 우리나라는 2002년에 국제식물신품종보호동맹(UPOV)에 50번째로 정식 가입하였으며, 2008년부터는 표고버섯이 “종자산업법”에 의거한 품종보호 대상 작물임
- 2008년부터 UPOV 협약에 의해 외국품종 재배시 많은 로열티 지불이 예상됨
 - 국내에 유통되는 표고버섯 원복재배용 품종은 외국에서 수입한 미등록종균이 60%이상.
 - 톱밥재배용은 100%임.
- 국내에서 육성된 품종은 20개 (산림조합중앙회 9품종, 산림과학원 10품종, 농진청 1품종) 이나 농가에서 재배하는 품종은 3~4개에 집중되어 있음
 - 일본의 경우 153개의 표고 품종이 품종보호출원이 되어 있음(2005년 기준)
 - 우리나라에서 육성된 품종은 대부분이 일본 품종과 매우 유사하여 국제분쟁의 소지가 많음.
- 국내의 지역별 기상환경 및 재배자의 요구도를 만족할 만한 다양한 품종의 개발이 절실함.
 - 외국의 다국적 기업인 Sylvan이나 Amycel 등의 거대한 종균회사로부터 한국 종균시장을 지킬 수 있는 새로운 우수 품종 육성이 시급함.
- 세계 각국은 유전자원의 보존 및 수집에 대하여 국가적 차원에서 지원을 하고 있음
- 최근 건표고보다 생표고의 수요가 더 많고 톱밥재배를 하는 농가가 늘어나고 있음.
 - 톱밥재배에 의한 생산량 : 중국 90%, 일본 60%
 - 현재까지 표고 품종의 구별은 전통적인 방법의 대치배양, 자실체의 형태와 색, 버섯발생시기로 구별하지만 근연의 유사한 품종일 경우 구별성을 찾을 수 없음
- 최근에는 품종을 쉽게 구분하고자 동위효소 분석, 미토콘드리아 DNA의 RFLP 분석, 리보솜 DNA의 ITS 영역 분석, 표고 게놈의 RAPD와 AFLP 분석법 등이 활발하게 연구되고 있음.
- 2008년 표고의 UPOV 발효에 대비하여 국내 품종의 보호와 표고 품종의 DNA 분자지문 분석 기술이 개발되어야 함
- 국내 표고품종의 DB 구축을 통해 향후 신품종 개발에 필요한 최신 정보 제공과 품종개발자에게 필요한 정보 서비스 기반을 구축.

2. 연구개발대상 기술의 국내·외 현황

가. 세계 수준

표고의 종 구분은 분류학적(생물학적 종의 개념과 계통유전학적 종의 개념)으로 많은 논란이 되어 왔다(Hibbett, 1992; Hibbett *et al.*, 1995). 현재는 *Lentinus* 속 보다는 *Lentinula* 속에 포함시키는 것이 타당한 것으로 받아들여지고 있다(Pegler, 1983; Hibbett, 1992).

일본은 1998년부터 버섯의 품종보호출원을 실시하고 있고, 현재 32종, 318 품종이 등록되었고, 이중 표고가 153 품종이 육성자의 권리를 보호받는 품종보호출원으로 등록되었다(2005년 현재). 또한 중국도 수백 개의 표고 품종을 보유한 것으로 알려져 있으나 표고 품종의 육성에 대한 구체적인 내용과 등록품종에 대한 자세한 특성 정보는 잘 알려져 있지 않다.

버섯의 육종은 기존의 교배육종법 이외에도 자외선, 화학물질, 열처리 등에 의한 돌연변이 유기, 원형질체 융합, 형질전환방법 등이 시도되고 있으나 품종이 육성되어 실용화된 것은 거의 없다.

최근 생명공학이 발전하면서 버섯분야에서도 이를 접목하여 형질전환의 신품종을 만들 고자 하는 노력이 있다. 1998년 Nature지에는 사상균(버섯에서 양송이 포함)에 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용하여 형질전환이 가능하다는 최초 보고가 있었고(de Groot 등, Nat. Biotechnol. 1998; Chen 등, AEM, 2000), 제한 효소를 이용한 REMI 방법이 이용되고 있다. 그러나 이러한 생명공학을 이용한 육종은 농산물 안전성 문제 및 국민 건강에 밀접한 관계로 유전자변형체(GMO)에 대한 사회적 여론을 고려해야 하며, 이 방법의 버섯 육종 실험은 현재까지 명확한 기술정립이나 메카니즘이 구명되지 않았기 때문에 이를 이용한 신품종육종은 어려운 실정이다.

버섯류의 아직까지 전통적 육종방법인 교잡육종법이 주로 이루어지고 있다. 2004년 Genome지에는 표고버섯의 교배인자(mating factor)를 동정하였으며 randomly amplified polymorphic DNA(RAPD)이용하여 교배인자의 분자적 마커를 개발하였다고 보고한 바 있다(Tanaka 등, Genome 2004). 이는 버섯의 교배형을 단기간에 분석 조사하여 품종육종시간을 단축하고 양적, 질적 우수한 품종을 육성할 토대를 만들고 있다.

나. 국내 수준

지금까지의 국내의 품종육성은 대부분이 외국 품종의 도입 육종법이나 수집균주에 대한 선발시험을 거쳐 우수품종을 등록하였으며, 근래에 와서 일핵균주를 이용한 교잡육종법으로 새로운 균주를 육성하여 품종등록을 시작하고 있다.

국내의 표고 품종육성은 산림조합중앙회 산림버섯연구소와 산림청 산하 국립산림과

학원에서만 수행하고 있다. 개인 및 민간 연구소에서도 표고 품종육성 연구를 수행하여야 하나, 현재는 전무한 상태이다.

표고의 육종은 다른 버섯과는 달리(느타리 경우 2개월 안에 자실체 관찰 가능), 기간이 오래 걸린다. 자실체를 관찰하기 위해서는 원목에 종균을 접종하고 이듬해부터 버섯이 발생하며 최소 3년 동안의 수량 및 버섯특성을 조사하여야 신품종 여부를 판단할 수 있기 때문에 그 만큼 시간적 제약과 지속 가능한 연구여건이 뒷받침 되어야 한다.

1981년부터 현재까지 국립산림과학원에서 10개 품종, 산림조합중앙회에서 9개 품종, 농업과학기술원에서 1개 품종이 등록되어 있으나 대부분이 국내의 수집균주의 선발시험에 의한 것이고 일부만 교배에 의하여 육성된 품종이다. 육성된 품종의 구분도 자실체의 형태적인 차이에 의존하고 있으며 DNA 분석은 초기단계에 있어 향후 표고품종 식별에 대해 국제적으로 공인받을 수 있는 방법 개발이 필요하나 이에 대한 연구결과가 미흡한 실정이다.

다. 국내·외의 연구현황

(1) 국내 연구 현황

표고버섯의 신품종은 1981년부터 현재까지 산림조합중앙회에서 9개 품종, 국립산림과학원에서 10개 품종, 농업과학기술원에서 1개 품종이 등록되어 있다. 국내의 표고 품종육성은 산림버섯연구소와 국립산림과학원에서만 수행하고 있다. 민간 종균 배양에서는 종균을 판매하고 있으나 품종육성 연구는 전무한 상태이다 또한 과거 대부분이 도입 육종법이나 입수균주에 대한 지역 적응성 실연시험을 거쳐 품종을 등록하는 차원의 소극적 방법이었다. 표고버섯은 다른 버섯과 달리 1기작의 재배기간이 4~5년으로 길고 연구비도 많이 들어가기 때문에 적극적으로 육종을 하지 못하고 있어 민간 종균배양소에서는 일본이나 중국의 우수 품종을 비공식적으로 수입하여 재배농가에 판매하고 있다. 따라서 2008년부터 표고 품종이 국제식물신품종보호동맹(UPOV) 발효에 따라 국내 보급균주의 고유의 품종임을 주장할 수 없으면 품종사용에 대해 로열티를 지불해야 하는 상황이다.

(2) 국외 연구 현황

일본은 표고 품종육성을 수행하는 연구소 및 중·대형 민간업체가 25개 이상 되고, 품종보호출원을 하여 등록된 품종의 수만 153개이다(2005년 기준). 중국은 현재 원목재배용 품종은 알려진 것만 26개 이상 된다. 톱밥재배용 품종은 수백여 개이며, 연구기관도 지방 농업과학원이나 대학을 중심으로 연구를 강화하여 대형의 화고가 생산되는 품종등 다양한 특성의 품종을 육성하고 있다. 이들 국가들은 국립연구기관에서 국내외의 다양한

유전자원을 수집하여 특성을 평가하고 보존하며 필요한 연구기관에 균주를 분양하고 있다. 육종방법은 주로 단핵균주간 교배를 많이 하고 원형질체 융합도 일부 시도되고 있다.

최근에는 표고의 자실체 발생 관련 특이 유전자 탐색에서 105개 유전자를 분리하였다. 이들 유전자는 개발된 EST 제작기술 및 이로부터 기능적 마커인 SNP 표지의 개발과 분석법은 표고에도 적용되어 2005년 일본에서는 표고의 자실체 형성과정에서 발현되는 유전자들이 동정되어 이에 대한 EST가 개발되었고, 각 EST를 증폭시킬 수 있는 primer가 개발되었다. 동정된 유전자들은 총 105개로 이중 자실체 특이 발현 유전자는 51개, 성숙된 자실체에 대한 특이 발현 유전자는 54개이었고, 최종적으로 유전변이 연구에 사용될 20개쌍의 primer가 확정 발표되었다. 그래서 우리도 이와 같은 기술 확보가 절대적으로 필요하다.

일본은 1998년부터 버섯의 품종등록을 실시하고 있으며 현재 32종, 318 품종이 등록되었고, 이중 표고가 153 품종이 등록되었다. 아직까지 표고 품종구분은 전통적으로 이핵균사간의 대치배양, 자실체의 형태와 색, 버섯발생 시기 등으로 구분하고 있다. 그러나 2005년부터 팔의 품종구분에 DNA 분석법을 도입하고 있어, 조만간 표고 품종 구분에 DNA 지문분석이 도입될 것으로 예상된다.

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발의 최종목표 및 성격

가. 연구개발의 최종목표

- 표고의 유전자원 수집, 특성검정 및 보존
- 원목재배용 표고버섯 신품종의 개발
- 톱밥재배용 표고버섯 신품종의 개발
- 국내 표고 품종의 품종별 DNA 지문을 이용한 식별체계 구축
- 고품질, 다수확 표고품종을 통한 재배능가의 소득 증대 기대

나. 연구개발의 성격

표고의 원목용, 톱밥배지용 우량 신품종을 육성하여 외국품종에 대한 로얄티 지불을 경감시키며, 향후 UPOV 대비한 표고품종을 식별할 수 있는 기술 개발과 국내 표고품종의 심사기준을 확립하는 것으로 연구개발 성격상 제품 또는 공정개발에 해당할 것으로 판단됨.

2. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

가. 1차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 유전자원 수집	· 국내외 유전자원 수집	- 국내자생종, 유통품종, 해외균주
	· 보유 및 수집균주의 배양적 특성조사	- 배지별 군사생장 특성 - 배지수분함량, 배양온도, 산도등 기초 생리조사
○ 교배균주 육성	· 우수 모균주 선발, 포자채취 및 발아	- 단핵균주분리, 교배형 검정
	· 교배균주 육성	- 화합성 단핵균주간 Mono-mono, - Clamp connection 현미경 검정 및 이핵균사선발
	· 교배균주의 배양특성조사, 우수균주 선발	- 군사생장속도, 군사밀도
	· 병저항력검정 및 환경내성	- 표고균주 및 배노밀 등 화학내성조사 - 푸른곰팡이병, <i>Hypocrea</i> 등에 대한 저항력조사
○ 자실체 특성 검정	· 기존 수집균주 톱밥재배 특성조사	- 배지 갈변정도, 버섯발생시기, 형태, 색깔, 수량성
	· 기존 수집균주 원목재배 특성조사	- 군사활착률, 만연도조사
	· 교배균주의 톱밥재배 특성 검정	- 톱밥배지갈변 정도, 버섯형태, 색깔, 수량, 품질 - 해균 발생 빈도 조사
	· 원목재배 자실체 특성 조기 검정법 개발	- 원목의 열처리(온도, 시간) 시험
○ 표고 품종의 DNA 지문을 이용한 품종식별	· 표고 보급품종 수집	- 국내 등록품종, 국내 유통 외국산 품종, 기존품종
	· 등록품종에 대한 국내외 심사 특성 및 등록 현황 자료 확보	- 일본, 중국 등 외국의 품종심사 기준표 및 등록품종에 대한 상세정보
	· 국내 품종에 대한 cDNA library 구축 및 유전자 선별	- 자실체 발생 등 표현형 발현 관여 유전자의 탐색

나. 2차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 유전자원 수집	· 국내외 유전자원 수집	- 국내자생종, 유통품종, 해외균주 입수
	· 수집균주의 배양적 특성조사	- 배지별 군사생장 특성 - 배지수분함량, 배양온도, 산도등 기초 생리조사
○ 교배균주 육성	· 1차년 우수 모균주 선발, 포자채취 및 발아	- 단핵균주분리, 교배형 검정
	· 교배균주 육성	- 단핵균주간 자간 및 타간교배
	· 교배균주 배양특성조사, 우수균주 선발	- 군사생장속도, 군사밀도등 - 리그닌 분해력 조사
	· 모균주와 교배균주간 동위 효소 비교	- 총 단백질 및 esterase등
	· 교배균주의 병저항력 등 검정	- 푸른곰팡이 등 병저항력 조사 - 셀룰로오스, 리그닌 분해효소 검정
○ 자실체 특성 검정	· 1년차 원목재배 발생 버섯 수량 검정	- 1년차 원목재배 버섯 발생량 - 버섯의 특성조사
	· 1차년 선발균주 톱밥재배 특성 검정	- 1차년 우수 교배균주 재배 - 톱밥배지상 군사생장을 및 갈변화 정도 - 버섯형태, 색깔, 수량, 품질
	· 1차년 선발균주 원목재배 특성 검정	- 1차년 우수 교배균주 접종 - 군사활착률, 만연도조사
	· 원목재배 자실체 특성 조기 검정법 개발	- 종균 접종방법 및 수종별 시험
○ 품종별 형태적특성 및 DNA 지문 profile 확립	· 품종별 양적형질·질적형질 조사 및 품종간 비교 분석	- 양적형질 조사 - 질적형질 조사
	· 국내유통 외국산 품종의 실태 파악 및 기존품종과 비교분석	- 대치배양 의한 품종구분 - 다변량 분석에 의한 품종구분 기준 조사
	· 선별된 유전자의 DNA 염기서열 비교 분석 및 SNP marker 개발	- 품종간 DNA 염기서열 변이 조사 및 SNP 개발
	· DNA marker 분석에 의한 국내 외 품종의 Genotyping	- 품종의 DNA marker 유전자형 규정

다. 3차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 수집균주 유연관계 및 보존법 구명	· 균주별 유연관계 분석	- 분자생물학적 유연관계분석
	· 표고균주 장기보존법 구명	- 보존 온도, 보존제별 군사활력 조사
	· 유전자원 수집	- 수집 및 기초생리 실험
○ 교배균주 육성	· 1,2,3차년 우수 모균주 선발, 포자채취 및 발아	- 단핵균주분리, 교배형 검정
	· 교배균주 육성	- 단핵균주간 자간 및 타간교배
	· 교배균주의 배양특성조사, 우수 균주 선발	- 군사생장속도, 군사밀도 등 - 리그닌 분해력 조사
	· 우수 교배균주의 병저항성 조사	- 3차년 지속, 병저항성 균주 선발
	· 자실체 관련 유전자표조사	- 자실체 발생온도, 인피유무 관련전유전자 검정
○ 자실체 특성 검정	· 1, 2년차 수집균주 재배특성 조사	- 1, 2년차 원목재배 버섯특성 및 발생량 조사
	· 2차년 선발균주 톱밥재배	- 1차 우수 선발균주의 2차 특성 검정 - 신균주 톱밥배지 군사생장 및 갈변화 조사
	· 2차년 선발균주 원목재배	- 2차년 우수 교배균주 접종 - 군사활착률, 만연도조사 - '07년 접종균주 자실체 특성조사
	· 자실체 특성 조기 검정법 개발	- 골목의 크기, 버섯발생촉진 방법
○ 품종구분 설정과 통합DB 구축	· 국내 표고 품종심사를 위한 지침서 확립	- 양적형질, 질적형질, DNA 지문을 통합한 표고품종심사용 기준표 작성
	· 표현형 및 DNA marker 분석에 의한 품종 구분 결과 비교	
	· 국내외 품종의 신속한 식별을 위한 DNA marker 분석법 확립	- 국내외 품종 식별용 DNA marker 개발
	· 국내외 등록품종의 특성(표현형 및 DNA 지문)자료의 DB화 및 정보 제공 서비스 기반 구축	- 품종 특성과 유전정보를 제공할 수 있는 데이터베이스 구축 및 품종에 대한 종합정보 제공

라. 4차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 수집 및 선발균주의 유연관계 비교 분석	<ul style="list-style-type: none"> · 유연관계분석 및 배양 특성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 기존 품종과의 유연관계 분석 - 생리, 생화학적 특성 조사 - 원목 및 톱밥재배자실체 특성 정리
	<ul style="list-style-type: none"> · 장기보존법 구명 	<ul style="list-style-type: none"> - 최적 보존처리 및 저장기간구명 - 국내의 균주수집 및 군사생장 조사
○ 교배균주 육성	<ul style="list-style-type: none"> · 수집균주의 재배 특성 검정 	<ul style="list-style-type: none"> - 자실체 특성조사
	<ul style="list-style-type: none"> · 교배균주 육성 	<ul style="list-style-type: none"> - 단핵균주간 교배 및 선발
	<ul style="list-style-type: none"> · 선발균주 품종심사 항목별 실험 	<ul style="list-style-type: none"> - 선발 우수 균주의 생리, 생화학적 특성 비교
	<ul style="list-style-type: none"> · 교배선발균주와 기존 균주간 특성 비교(톱밥, 원목재배) 	<ul style="list-style-type: none"> - 단핵, 이핵균주 특성 비교 - 국내외 품종과의 자실체 특성 비교 - 균배양 특성 및 리그닌 분해력
	<ul style="list-style-type: none"> · 병저항성 환경내성 균주선발 	<ul style="list-style-type: none"> - 병저항성, 환경내성, 화학내성 등 비교
○ 우수 선발균주의 톱밥재배자실체 특성 검정	<ul style="list-style-type: none"> · 우수 선발균주 톱밥재배 농가실증 	<ul style="list-style-type: none"> - 1차 3개 지역 농가 실증시험 - 1,2,3차년 우수 선발균주 재배 - DUS 규정 적용 - 자실체 수량, 버섯등급별 비교 - 톱밥재배시 내병성 비교 - 선발균주의 DNA 지문 작성

마. 5차년도

연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
○ 품종 보호출원 및 특성 및 전산화	· 품종 보호 출원	- 원목용 우량품종 : 1균주 - 톱밥용 우량품종 : 2균주
	· 각종 배양 특성 전산화	- 균주별 배양특성 - 원목 및 톱밥자실체 특성
	· 장기보존법 최적화구명	- 최적 보존처리 및 저장기간구명
○ 선발균주 육성	· 교배균주의 재배특성 검정	- 기 접종균주별 특성조사 계속
	· 품종심사 항목별 보완실험	- 선발 우수 균주의 생리, 생화학적 특성 비교
	· 육성 교배균주의 DB 구축	- 국내외 품종과의 특성 비교 - 계대 보존에 따른 안정성 확보
	· 병저항성 품종 선발	- 전년도 보완 실험 진행 - 병저항성, 환경내성, 화학내성 등 비교 분석
○ 우수 선발균주의 자실체 특성 검정	· 우수 선발균주 톱밥재배 농가실증	- 2차 농가 실증시험 - 예년도 우수 선발균주 재배 - DUS 규정 적용 - 자실체 수량, 버섯등급별 비교 - 톱밥재배 생산성 검정
	· 우수 선발균주 원목재배 농가실증	- 1차 농가 실증시험 - 예년도 우수 선발균주 재배 - DUS 규정 적용 - 자실체 수량, 버섯등급별 비교 - 원목재배 생산성 검정 - 선발균주의 DNA 지문 작성

제 3 절 연구개발의 추진체계

1. 연구개발의 추진전략·방법

가. 1차년도

- 표고의 유전자원 수집 및 특성 검정
 - 벼싹채집, 구입 및 교환(원목 및 톱밥재배용 균주구분)
 - 균주별 톱밥 및 원목 재배로 자실체 특성검정
- 수집균주의 배양특성조사
 - 배지별 균사생장 속도, 균사밀도 등 조사
- 수집균주의 병저항성 조사
- 모균주 선발, 단핵 균주 분리, 교배형 결정
 - 자실체 형태, 품질 우수 균주의 포자 채취, 포자발아 및 단핵균주 분리, 교배
- 원목재배시 벼싹의 형태적 특성 조기 검정방법 개발
- 국내의 표고 등록 품종, 유통 품종 및 외국산 표고 등록품종의 수집
- UPOV 대비한 표고의 검사기준 자료 및 등록품종의 자료 확보
- 표고 품종의 자실체 발달 단계별 발현 특이 유전자에 대한 cDNA library 구축 및 유전정보 획득

나. 2차년도

- 수집균주의 배양, 재배 특성 검정
 - 수집균주의 균사생장속도, 균종 형태조사, 톱밥, 원목재배 특성조사
- 교배균주의 육성
 - 우수 모균주에서 분리한 단핵균주간 교배 및 Di-mon 교배로 이핵균주 육성
- 톱밥 및 원목 재배용 교잡균주의 자실체 특성조사
 - 실내 선발균주의 톱밥 및 원목재배에 의한 자실체 발생시기, 형태, 수량성 등 조사
- 수집, 교배균주의 병저항성 조사 지속
 - 해균과의 대치배양 및 환경내성, 화학내성 조사
- 자실체 조기 검정방법 개발
 - 종균집중방법, 원목수종 및 크기별 벼싹발생시기, 특성조사
- 국내 유통 외국산 품종의 신태 파악 및 reference collection과 비교
- 유전자의 DNA 염기서열 비교 분석 및 자실체 발달 단계별 관여 특이 유전자의 SNP marker 개발
- DNA marker 분석에 의한 국내외 품종의 유전자형 규정

다. 3차년도

- 수집균주의 배양 및 자실체 특성 검정 계속
- 교배균주 육성 및 원목재배, 톱밥재배 특성 검정 : 2차년도와 동일
 - 톱밥재배 1차 선발 우수균주의 2차 선발시험 : 자실체 수량 및 품질이 우수한 균주 선발
 - 시설재배사내에서의 고품질 생표고생산 중심으로 연구

- 교배균주의 병원균 및 저항성 정도 조사
- 원목의 열처리(열수, 수증기)방법에 의한 균사생장기간 단축 및 버섯 조기 발생유도
- 표현형 및 DNA marker 분석에 의한 품종 식별 결과 비교
- 국내외 품종의 신속한 식별을 위한 DNA marker 분석법 확립
- 국내 등록품종의 품종심사기준 자료(양적 및 질적 형질과 유전자 자료)의 DB화 및 정보 서비스 기반 구축

라. 4차년도

- 수집균주의 자실체 특성 검정 계속
- 교배균주의 육성 및 자실체 특성 검정
- 2차 원목 및 톱밥재배에서 우수한 균주 선발 : 3차년도와 동일한 방법
 - 재배특성이 가장 우수한 균주를 선발하여 농가실증시험에 사용
- 톱밥재배 우수 균주의 농가실증 시험
 - 3개 농가 선정
 - 병해발생정도, 첫버섯 발생시기, 수량, 품질 등 기존품종과 비교함
- 우수 균주의 유전적인 독립성 및 균일성조사
 - DNA 분석, 생리생화학적 특성조사로 기존 보급품종 및 양친과의 구별성 조사

마. 5차년도

- 원목재배용 우량품종 농가실증시험
 - 지역별 각 1개 농가(총 3개 농가)에서 기존 품종과 특성 비교
 - 연구기간이 종료된 후에도 계속 특성조사를 하여 우수 품종은 품종보호 출원을 함
- 톱밥재배용 신규 우량품종 농가실증시험
 - 3개 농가에서 우수 교배 선발균주의 버섯수량, 품질, 내병성, 환경저항성 등 특성조사
- 신품종의 품종보호 출원
 - 기존 보급품종 및 양친과의 구별성 확보
- 표고버섯 유전자원을 균주별로 배양 및 재배적 특성을 전산화하고 안전하게 보존하며 육종재료로 계속 활용

제 4 절 연구결과의 활용방안 및 기대효과

1. 연구개발결과의 활용방안

- 국내외 다양한 표고버섯 유전자원을 수집하여 배양적 특성 및 원목, 톱밥재배에 의한 균주별 특성을 조사하여 전산화하고 균주를 안정적으로 장기 보존이 가능하며 품종 육성기관에서 연속적으로 육종의 귀중한 자료로 활용함.
- 교배형이 결정된 단핵균주는 장기보존을 하면서 이후, 다른 화합성 균주와 항상 교배를 할 수 있어 시간의 단축은 물론 비용도 대폭 절감할 수 있음.

- 교배에 의하여 육성된 균주중 군사배양이나 자실체 특성이 우수하나 최종적으로 품종화 하지 못한 균주는 다시 여교배나 Di-mon 교배균주를 하여 단점을 보완한 후 품종화하는 균주로 활용.
- 원목 및 톱밥재배용으로 육성된 우리 고유의 품종은 종자산업법에 따라 품종보호출원을 하였고, 즉시 농가에 보급함으로써 2008년부터 시행되는 외국 품종에 대한 로열티 지불을 방지함.
- 원목에서의 자실체 조기특성 검정법의 개발은 농가에서 원목재배기간을 단축시켜 버섯의 품종육성과 조기생산기술로 연계할 수 있음.
- 톱밥재배용 품종 육성시험을 통하여 각종 관련시험을 수행함으로써 재배기술이 정립되고, 재배기간을 단축하여 재배사의 활용률이 증대됨.
- UPOV에 대비한 표고품종의 등록심사기준을 마련하고 신품종 육성시, 기존 품종이나 양친과의 구별에 활용함.

2. 기대성과

가. 기술적 측면

- 본 연구를 수행하면서 수집균주에 대한 장기, 안전 보존방법이 구명됨으로써 육성품종의 원균이나 다른 연구기관의 버섯균주에도 적용할 수 있는 기술임.
- 표고의 육종에 가장 효율적인 교배방법 및 검정방법이 확립됨.
- 표고버섯 균주간의 생리·생화학적 특성 조사방법이 확립되고 주요 내적, 외적 형질에 대한 유전적 특성이 밝혀짐.
- 표고버섯의 양적 및 질적 형질에 대한 분류기준이 구명되어 품종구분의 한 방법으로 활용하는 기술이 개발될 것임.
- 유통 품종의 품종구분을 위한 DNA 표시자 개발 기술이 확립되고 품종별 DNA 지문 profile이 작성됨.

나. 경제적·산업적 측면

- 우리 고유의 품종을 육성 보급하면서 2008년부터 일본이나 중국 품종 재배시 지불해야 하는 로열티를 매년 20억원 이상 절감할 수 있음.
- 표고버섯의 수량과 품질이 기존 품종보다 6%이상 향상됨으로 연간 표고재배농가 소득이 150억원 이상 증대됨.
- 현재 외국에 수출되는 표고버섯은 연간 400~500만불 정도로 주로 일본 품종을 재배하고 있으나 우리 품종으로 대체하면 일본에 수출을 해도 사전에 품종에 대한 국제적인 분쟁의 소지를 제거함.

제 2 장 유전자원 특성조사

제 1 절 유전자원 수집

표고버섯 품종육성 등 소득 품목의 육성개발을 위해 다양한 자원을 확보하고자 국내외로 부터 버섯균주를 수집하였다. 수집한 균주는 PDA 평판배지상 25℃에서 배양하여 오염여부 등을 확인하여 버섯균만 순수 분리하였다.

버섯 유전자원으로 표고버섯을 중심으로 느타리버섯 등 다양한 산림버섯을 수집하고자 하였다. 이를 위해 해외균주 수집, 국내 재배 유통 균주 수집 및 야생균주 채집 등을 실시하였다. 국내로는 야생버섯채집, 버섯균주 및 DNA은행, 재배농가, 유통품종 등에서, 해외로는 일본, 중국, 대만, 러시아 등에서 버섯수집이 이루어졌다.

국내 야생버섯 채집은 2007년 10월 18, 19일에 강원도 평창군 진부면의 발왕산과 박지산에서 하였다. 발왕산에서 표고버섯 7개 균주와 박지산에서 표고 5개 균주를 채집하였다. 발왕산과 박지산에서 채집한 표고버섯 12개 균주는 인근지역으로 균주의 분리 후 동일성 여부를 확인하고자 균주간 대치배양을 실시하였다. 먼저 발왕산에서 채집한 표고 자실체 7개에 대하여 B1, D1, E1, F1, G1, H1, I1 으로 번호를 부여하여 조직분리를 실시한 결과, 2개의 자실체 G1과 H1은 자실체의 상태가 불량하여 조직분리를 하였으나 균의 분리가 이루어지지 않았다. 박지산에서 채집한 표고 자실체 5개에 대하여 가1-1, 가2-1, 나1, 다1, 라1로 번호를 부여하여 조직분리를 실시한 결과, 모두 균의 분리가 이루어졌다. 균 분리가 이루어진 10개 균주에 대하여 독립성을 확인하고자 균주간 대치배양을 실시하였으며, 그 결과 10개의 균주(B1, D1, E1, F1, I1, 가1-1, 가2-1, 나1, 다1, 라1) 모두에서 대치선이 형성되어 독립성을 보였다. 또한, 이들 10개 균주와 산림조합개발품종 7개 품종(산조 101, 103, 108, 109, 302, 501, 502호)와의 대치배양을 통한 독립성조사에서 모두 대선을 형성하여 독립성을 나타내었다. 발왕산 채집 5개 균주(B1, D1, E1, F1, I1)와 박지산 채집 5개 균주(가1-1, 가2-1, 나1, 다1, 라1)를 선발하였으며 산림버섯연구소 균주번호를 부여하여(발왕산 채집균주 FMRI 0936, 0937, 0938, 0939, 박지산 채집균주 FMRI 0940, 0941, 0942, 0943, 0944, 0945) 균주를 보존하였다.

야생버섯 수집이외에도 재배임가, 연구소 등 국내외에서 버섯균주를 수집하였다. 이처럼 다양한 방법으로 표고 등의 버섯류를 수집하였으며, 표고 247균주, 느타리 8균주 등 136균주로 총 383균주가 수집되었다. 수집한 버섯균주들 중에서 표고버섯으로는 232개 균주(2006년 131, 2007년 44, 2008년 12, 2009년 17, 2010년 28), 느타리버섯 6균주, 잎새버섯 10균주, 목이 3균주, 기타버섯류 86균주 등 총 318균주가 순수분리되어 산림버섯연구소 균주번호 FMRI(Forest Mushroom Research Institute)를 부여한 후 균을 보존하였다.

또한 유전자원의 교류는 최근 발효된 농업유전자원법에 저촉이 되는 사항으로 유

전자원의 성격에 따라 국가의 승인이나 허가사항으로 국내외 반출, 반입이 통제를 받고 있는 사항이므로 균주의 성격과 교류목적에 부합이 된다면 유전자원의 교류도 가능할 것이다.



<그림 2-1>. 야생 표고버섯 채집사진(2007년 10월 18, 19일, 강원 진부)

<표 2-1> 강원 평창 진부의 야생 표고 자실체 균분리 및 균사생장조사

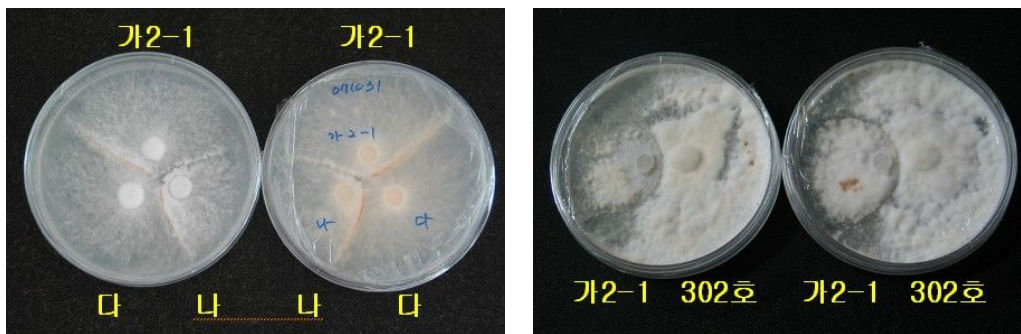
(PDA, 25℃)

수집번호	수집일자	원산지	세부지역	균사생장 (mm/7일)	균사밀도	연구소 균주번호
B1	2007.10.18	한국	발왕산	48	+++	FMRI 0936
D1	"	"	"	40	+++	FMRI 0937
E1	"	"	"	33	+++	FMRI 0988
F1	"	"	"	47	+++	FMRI 0939
G1	"	"	"	균분리안됨	-	-
H1	"	"	"	균분리안됨	-	-
I1	"	"	"	49	+++	FMRI 0940
가1-1	2007.10.19	한국	박지산	32	+++	FMR I0941
가2-1	"	"	"	51	+++	FMRI 0942
나1	"	"	"	42	+++	FMRI 0943
다1	"	"	"	54	+++	FMRI 0944
라1	2007.10.19	한국	박지산	38	++	FMRI 0945

<표 2-2> 야생 채집 표고 10균주의 수집균주간 독립성 조사

균주 번호	D1	E1	F1	II	가1-1	가2-1	나1	다1	라1
B1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D1		+	+	+	+	+	+	+	+
E1			+	+	+	+	+	+	+
F1				+	+	+	+	+	+
II					+	+	+	+	+
가1-1						+	+	+	+
가2-1							+	+	+
나1								+	+
다1									+

* + 대선형성, - 대선형성 안됨



<야생 수집균주간 대치배양>

<야생 수집균주와 산조302호와 대치배양>

<그림 2-2> 야생수집 균주의 균주간(가2, 나, 다) 및 품종(산조302호)과의 대치배양

<표 2-3> 야생 채집 표고 10균주와 표고 7품종간의 독립성조사

균주 번호	산조 101호	산조 103호	산조 108호	산조 109호	산조 302호	산조 501호	산조 502호
B1	+	+	+	+	+	+	+
D1	+	+	+	+	+	+	+
E1	+	+	+	+	+	+	+
F1	+	+	+	+	+	+	+
II	+	+	+	+	+	+	+
가1-1	+	+	+	+	+	+	+
가2-1	+	+	+	+	+	+	+
나1	+	+	+	+	+	+	+
다1	+	+	+	+	+	+	+
라1	+	+	+	+	+	+	+

<표 2-4> 연도별 균주수집 및 보존현황

구분	표고	느타리	얇새	개암	만가닥	목이	기타	합계
1차년도	131	2	10	4	6	-	20	173
2차년도	44	3	-	-	1	1	14	63
3차년도	12	1	-	-	-	-	10	23
4차년도	17	-	-	-	2	1	4	24
5차년도	28	-	-	-	-	1	6	35
계	232	6	10	4	9	3	54	318

<표 2-5> 표고균주의 국가별 수집수

국가	한국		일본	중국	기타	합계
	자생종	기타				
균주수	60	20	57	58	37	232

<표 2-6> 표고 수집균주 목록

균주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0664	농업과학기술원	한국	-	2006.1.1
FMRI 0665	농업과학기술원	일본	-	2006.1.1
FMRI 0666	강원 원주	한국	재 배 입 가	2006.7.15
FMRI 0667	강원 강릉	중국	재 배 입 가	2006.7.15
FMRI 0668	강원 강릉	일본	재 배 입 가	2006.7.15
FMRI 0669	강원 화천	일본	재 배 입 가	2006.7.15
FMRI 0670	강원 고성	중국	재 배 입 가	2006.7.15
FMRI 0671	-	중국	요녕성 식용균연구소	2006.8.22
FMRI 0672	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0673	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0674	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0675	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0676	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0677	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0678	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0679	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0680	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0681	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18
FMRI 0682	한국중균생산협회	일본	기노꼬 센터	2006.9.18

<표 2-6> 표고 수집군주 목록(계속)

군주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0683	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0684	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0685	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0686	한국중균생산협회	일본	기노코 센터(2143)	2006.9.18
FMRI 0687	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0688	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0689	한국중균생산협회	일본	기노코 센터(2142)	2006.9.18
FMRI 0690	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0691	한국중균생산협회	일본	기노코 센터	2006.9.18
FMRI 0692	한국중균생산협회	-	국 내 보 존	2006.9.18
FMRI 0693	한국중균생산협회	-	-	2006.9.18
FMRI 0694	한국중균생산협회	일본	모리상교(1122)	2006.9.18
FMRI 0695	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0696	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0697	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0698	한국중균생산협회	일본	모리상교(1131)	2006.9.18
FMRI 0699	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0700	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0701	한국중균생산협회	일본	모리상교(819)	2006.9.18
FMRI 0702	한국중균생산협회	일본	모 리 상 교	2006.9.18
FMRI 0703	한국중균생산협회	일본	메 이 지	2006.9.18
FMRI 0704	한국중균생산협회	일본	아 끼 야 마	2006.9.18
FMRI 0705	한국중균생산협회	일본	메 이 지	2006.9.18
FMRI 0706	한국중균생산협회	일본	호쿠렌(1791)	2006.9.18
FMRI 0707	한국중균생산협회	-	산 립 청	2006.9.18
FMRI 0708	한국중균생산협회	-	산 립 청	2006.9.18
FMRI 0709	한국중균생산협회	-	산 립 청	2006.9.18
FMRI 0710	한국중균생산협회	-	산 립 청	2006.9.18
FMRI 0711	한국중균생산협회	-	산 립 청	2006.9.18
FMRI 0712	강원 횡성	한국	재 배 임 가	2006.9.22
FMRI 0713	강원 횡성	-	재 배 임 가	2006.9.22
FMRI 0714	경기 여주 산북	-	재 배 임 가	2006.9.27
FMRI 0715	경기 여주 산북	-	재 배 임 가	2006.9.27
FMRI 0716	경기 여주 산북	-	재 배 임 가	2006.9.27
FMRI 0717	강원 영동	일본	재 배 임 가	2006.11.06
FMRI 0718	강원 영동	한국	재 배 임 가	2006.11.06
FMRI 0719	오이타현	일본	재 배 임 가	2006.11.06
FMRI 0720	오이타현	일본	재 배 임 가	2006.11.06
FMRI 0721	오이타현 大木町	일본	재 배 임 가	2006.11.06
FMRI 0722	전북 완주	한국	재 배 임 가	2006.11.17
FMRI 0723	국립산림과학원	한국	지리산 달둔	2006.11.27
FMRI 0724	국립산림과학원	한국	지리산 달둔	2006.11.27
FMRI 0725	국립산림과학원	한국	지리산 달둔	2006.11.27
FMRI 0726	국립산림과학원	한국	지리산 달둔	2006.11.27

<표 2-6> 표고 수집군주 목록(계속)

군주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0727	국립산림과학원	한국	지리산 와운	2006.11.27
FMRI 0728	국립산림과학원	한국	계방산	2006.11.27
FMRI 0729	국립산림과학원	한국	한라산	2006.11.27
FMRI 0730	국립산림과학원	한국	남제주, 남원	2006.11.27
FMRI 0731	국립산림과학원	한국	오대산, 상원사	2006.11.27
FMRI 0732	국립산림과학원	한국	오대산, 상원사	2006.11.27
FMRI 0733	국립산림과학원	한국	오대산, 상원사	2006.11.27
FMRI 0734	국립산림과학원	한국	계방산 대한동	2006.11.27
FMRI 0735	국립산림과학원	한국	계방산 대한동	2006.11.27
FMRI 0736	국립산림과학원	한국	계방산 대한동	2006.11.27
FMRI 0737	현지견학	일본	군마현	2006.12.01
FMRI 0738	현지견학	중국	하남성 정주시 도하구 원회면	2006.12.01
FMRI 0739	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0740	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0741	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0742	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0743	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0744	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0745	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0746	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0747	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0748	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0749	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0750	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0751	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0752	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0753	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0754	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0755	야생버섯균주은행	중국	상하이	2006.12.07
FMRI 0756	야생버섯균주은행	중국	청도	2006.12.07
FMRI 0757	야생버섯균주은행	중국	상하이	2006.12.07
FMRI 0758	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0759	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0760	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0761	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0762	야생버섯균주은행	일본	-	2006.12.07
FMRI 0763	야생버섯균주은행	중국	심양	2006.12.07
FMRI 0764	야생버섯균주은행	중국	청도	2006.12.07
FMRI 0765	야생버섯균주은행	중국	심양	2006.12.07
FMRI 0766	야생버섯균주은행	중국	베이징	2006.12.07
FMRI 0767	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.07
FMRI 0768	야생버섯균주은행	중국	심양	2006.12.07
FMRI 0769	야생버섯균주은행	중국	심양	2006.12.07
FMRI 0770	경북 김천	-	-	2006.12.14
FMRI 0771	-	중국	요녕성	2006.12.15

<표 2-6> 표고 수집군주 목록(계속)

군주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0772	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0773	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0774	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0775	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0776	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0777	-	중국	요녕성	2006.12.15
FMRI 0778	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0779	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0780	야생버섯균주은행	중국	상하이	2006.12.19
FMRI 0781	야생버섯균주은행	대만	-	2006.12.19
FMRI 0782	야생버섯균주은행	중국	청도, 농산물시장	2006.12.19
FMRI 0783	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0784	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0785	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0786	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0787	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0788	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0789	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0790	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0791	야생버섯균주은행	중국	-	2006.12.19
FMRI 0792	야생버섯균주은행	일본	-	2006.12.19
FMRI 0793	야생버섯균주은행	중국	청도	2006.12.19
FMRI 0794	야생버섯균주은행	한국	-	2006.12.19
FMRI 0795	국립산림과학원	한국	향로봉, 강원도 고성	2007.1.2
FMRI 0796	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발820m	2007.1.2
FMRI 0797	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발840m	2007.1.2
FMRI 0798	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발1,050m	2007.1.2
FMRI 0799	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발1,230m	2007.1.2
FMRI 0800	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발820m	2007.1.2
FMRI 0801	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발1,200m	2007.1.2
FMRI 0802	국립산림과학원	한국	개방산, 홍천군, 해발1,260m	2007.1.2
FMRI 0803	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,020m	2007.1.2
FMRI 0804	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,150m	2007.1.2
FMRI 0805	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,140m	2007.1.2
FMRI 0806	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,150m	2007.1.2
FMRI 0807	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,140m	2007.1.2
FMRI 0808	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,180m	2007.1.2
FMRI 0809	국립산림과학원	한국	소개방산, 홍천군, 해발1,140m	2007.1.2
FMRI 0810	국립산림과학원	한국	강원도 인제	2007.1.2
FMRI 0846	경기 양평	중국	중국수입톱밥배지	2007.4.11
FMRI 0847	경기 양평	중국	중국수입톱밥배지	2007.4.11

<표 2-6> 표고 수집군주 목록(계속)

군주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0852	경기 광주	중국	하남성 톱밥배지	2007.5.11
FMRI 0853	경기 안성	중국	중국톱밥배지	2007.5.11
FMRI 0854	충남 천안	-	-	2007.5.17
FMRI 0855	충남 천안	-	-	2007.5.17
FMRI 0856	충남 천안	일본	-	2007.5.17
FMRI 0857	충남 천안	일본	-	2007.5.17
FMRI 0858	충남 천안	한국	-	2007.5.17
FMRI 0859	충남 천안	한국	-	2007.5.17
FMRI 0931	중국 신빈표고	중국	신 빈 현	2007.8.3
FMRI 0932		중국	칭 원 현	2007.8.3
FMRI 0933	야생버섯균주은행	한국	오 대 산	2007.9.13
FMRI 0934	야생버섯균주은행	한국	설 악 산	2007.9.13
FMRI 0935	삼구농원	일본	동경나리타공항	2007.10.5
FMRI 0936	강원 평창 진부	한국	발 왕 산	2007.10.18
FMRI 0937	강원 평창 진부	한국	발 왕 산	2007.10.18
FMRI 0938	강원 평창 진부	한국	발 왕 산	2007.10.18
FMRI 0939	강원 평창 진부	한국	발 왕 산	2007.10.18
FMRI 0940	강원 평창 진부	한국	발 왕 산	2007.10.18
FMRI 0941	강원 평창 진부	한국	박 지 산	2007.10.19
FMRI 0942	강원 평창 진부	한국	박 지 산	2007.10.19
FMRI 0943	강원 평창 진부	한국	박 지 산	2007.10.19
FMRI 0944	강원 평창 진부	한국	박 지 산	2007.10.19
FMRI 0945	강원 평창 진부	한국	박 지 산	2007.10.19
FMRI 0946	-	한국	오 대 산	2007.10.19
FMRI 0947	-	한국	오 대 산	2007.10.19
FMRI 0948	-	한국	오 대 산	2007.10.19
FMRI 0953	경기 여주 산북	대만	-	2008.03.26
FMRI 0957	-	중국	-	2008.06.09
FMRI 0959	삼보농원	일본	충남 부여군 굴암면	2008.06.10
FMRI 0960	경기 광주	중국	중국수입배지	2008.06.19
FMRI 0961	경기 광주	중국	중국수입배지	2008.06.19
FMRI 0962	경기 광주	중국	중국수입배지	2008.06.19
FMRI 0979	강원 가리왕산	한국	해발980-1200m(다른가지)	2008.10.11
FMRI 0980	강원 가리왕산	한국	해발980-1200m(다른가지)	2008.10.11
FMRI 0981	강원 가리왕산	한국	해발980-1200m(다른가지)	2008.10.11
FMRI 0982	강원 가리왕산	한국	해발980-1200m(다른가지)	2008.10.11
FMRI 0983	충북 음성 주덕	일본	가네보 톱밥배지농가	2008.11.21
FMRI 0984	충북 청주	-	송덕헌재배자 원목재배	2008.12.24
FMRI 0991	동경도매시장	일본	-	2009.03.09
FMRI 0992	동경도매시장	일본	도지끼현산	2009.03.09
FMRI 0993	동경도매시장	일본	那須高原産 (나수고원산)	2009.03.13
FMRI 0994	충북 괴산	일본	-	2009.03.19

<표 2-6> 표고 수집군주 목록(계속)

군주번호	수집처	원지역	세부지역	수집일자
FMRI 0995	충북 괴산	중국	-	2009.03.19
FMRI 0998	강원 양양 서면 오색리	한국	좌표S505188 Y156177	2009.05.18
FMRI 0999	강원 인제, 점봉산방향	한국	-	2009.06.01
FMRI 1010	가락시장	중국	-	2009.06.22
FMRI 1012	충남 천안	일본	재 배 임 가	2009.07.16
FMRI 1013	충북 괴산	일본	재 배 임 가	2009.08.10
FMRI 1023	강원 고성 향로봉	한국	-	2009.09.11
FMRI 1024	강원 고성 향로봉	한국	-	2009.09.11
FMRI 1033	충북 괴산	일본	-	2009.10.12
FMRI 1035	표고CNC회사	네덜란드	-	2009.11.10
FMRI 1036	표고CNC회사	벨기에	-	2009.11.10
FMRI 1037	표고CNC회사	독일	-	2009.11.10
FMRI 1130	충남 청양	대만	재 배 임 가	2009.10.19
FMRI 1045	충남 천안	-	재 배 임 가	2010.06.03
FMRI 1046	경기 여주	-	재 배 임 가	2010.06.15
FMRI 1047	충북 괴산	-	재 배 임 가	2010.06.21
FMRI 1054	영국 보로우마켓	중국	-	2010.08.07
FMRI 1059	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1060	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1061	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1062	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1063	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1064	-	한국	점봉산 해발 1000m	2010.10.07
FMRI 1065	동경 Jusco 매장	일본	-	2010.10.07
FMRI 1072	-	중국	북 경	2010.11.29
FMRI 1073	-	한국	문경 점촌농협	2010.11.29
FMRI 1074	-	중국	북 경	2010.11.29
FMRI 1075	-	한국	전북 무주	2010.11.29
FMRI 1076	-	중국	운남성 곤명시	2010.11.29
FMRI 1077	-	핀란드	-	2010.11.29
FMRI 1078	-	한국	태 안	2010.11.29
FMRI 1079	-	중국	상 해	2010.11.29
FMRI 1080	-	대만	-	2010.11.29
FMRI 1081	-	대만	-	2010.11.29
FMRI 1082	-	중국	심 양	2010.11.29
FMRI 1083	-	일본	지 바 현	2010.11.29
FMRI 1084	-	중국	심 양	2010.11.29
FMRI 1085	-	중국	북 경	2010.11.29
FMRI 1086	-	중국	심 양	2010.11.29
FMRI 1126	충남 청양	중국	고 전	2010.12.24
FMRI 1127	충남 청양	중국	고 전	2010.12.24

제 2 절 유전자원의 생리적 특성

1. 배양 특성조사

가. 시험방법

수집한 표고 290균주(2006년 20, 2007년 100, 2008년 100, 2009년 50, 2010년 20)에 대하여 배양온도별(10~35℃, 5℃ 간격), 배양산도별 균사생장(pH 4, 5, 6, 7, 8), 배양배지별(PDA, MCM, YM, MEA, MMM, OEA(Oak extract agar)로 균사생장 및 밀도를 조사하였다. 시험균주는 PDA 배지 25℃에서 접종원으로 배양하여 균사 선단부위(disk 7mm)를 PDA배지에 이식하여 온도별로 7일간 배양하여 균총의 직경(mm)을 조사하였으며, 각각의 pH별로 PDA시험배지(HCl과 NaOH로 pH조절) 또는 배양배지별 시험배지에 접종하여 7일간 배양하여 균총의 직경(mm)을 조사하였다. 또한, 유통품종과의 대치배양을 통하여 독립성을 조사하였으며, 야생에서 채집한 균주에 대하여 수집균주간의 대치배양을 통하여 독립성을 조사하였다.

나. 시험결과

표고 수집 290개 균주에 대하여 PDA배지에서 배양온도별(10℃, 15℃, 20℃, 25℃, 30℃)로 균사생장을 조사한 결과, 모든 균주가 25℃에서 가장 우수하였다. 이들 균주들 중에서 25℃에서 75mm이상으로 균사생장이 빠른 균주는 F673, F771, F618, F857, F618, F449의 6개 균주였으며, 30℃의 고온에서 40mm이상 성장한 균주는 F654, F689, F698, F856, F857의 5개 균주였고, 15℃의 저온에서 40mm이상 성장한 균주는 F358, F362, F365, F767, F432, F449, F437의 7개 균주였다. 이들 고온이나 저온에서 균사생장이 빠른 균주들은 신품종 육성의 유용한 모균주로 활용성이 높을 것으로 사료된다. 표고균주에 대하여 배지 산도별(pH 4, 5, 6, 7, 8)로 균사생장을 조사한 결과, 표고균주는 약산성 pH 6의 배지에서 균사생장이 우수하였다. 표고균주에 대하여 배양배지별(PDA, YM, MEA, MCM, MMM, OEA(참나무톱밥추출배지))로 균사생장을 조사한 결과, 대부분의 표고균주는 기본배지로 사용하고 있는 PDA배지에서 균사생장이 좋았으며, MEA배지에서도 균사생장이 좋았다. 이중 F995균주는 PDA배지에서 균사생장이 좋았으며, F992균주는 PDA배지에서보다 MEA배지에서 균사생장이 우수하였다.

<표 2-7> 배양 온도별 균사생장조사(표고 290균주)

(℃, PDA배지, mm/7일)

균주번호	10	15	20	25	30	35	균주번호	10	15	20	25	30	35
FMRI 0040	16	29	44	61	16	7	FMRI 0682	21	38	63	66	8	7
FMRI 0081	13	32	42	63	9	7	FMRI 0683	22	38	64	70	8	7
FMRI 0094	15	33	44	59	28	7	FMRI 0684	17	35	52	57	7	7
FMRI 0098	16	36	44	62	35	7	FMRI 0685	9	18	61	70	7	7
FMRI 0072	15	29	39	54	10	7	FMRI 0686	8	15	46	54	7	7
FMRI 0073	16	35	43	61	36	8	FMRI 0687	9	15	55	58	7	7
FMRI 0068	16	36	47	61	14	8	FMRI 0688	8	15	54	64	7	7
FMRI 0084	14	29	38	60	15	8	FMRI 0689	8	14	46	56	45	7
FMRI 0101	12	27	41	47	8	7	FMRI 0690	7	17	50	57	38	7
FMRI 0634	19	36	47	68	27	7	FMRI 0691	6	10	18	22	8	7
FMRI 0635	15	33	39	53	34	7	FMRI 0692	9	23	60	70	35	7
FMRI 0637	18	30	40	51	24	7	FMRI 0693	9	21	60	70	7	7
FMRI 0641	16	34	42	59	24	8	FMRI 0694	9	19	60	67	7	7
FMRI 0642	14	34	39	65	18	8	FMRI 0695	9	16	56	69	7	7
FMRI 0644	19	39	48	68	22	10	FMRI 0696	9	18	55	64	7	7
FMRI 0646	14	36	45	59	11	9	FMRI 0697	8	21	61	73	32	7
FMRI 0649	19	34	42	58	34	7	FMRI 0698	8	18	52	61	48	7
FMRI 0650	16	29	34	52	18	7	FMRI 0699	8	20	60	68	38	7
FMRI 0654	18	35	44	63	47	7	FMRI 0700	8	21	53	60	35	7
FMRI 0656	18	34	45	58	24	7	FMRI 0701	10	19	59	67	9	7
FMRI 0664	18	28	43	52	13	7	FMRI 0702	8	16	41	47	7	7
FMRI 0665	18	35	58	70	11	7	FMRI 0703	10	21	61	68	10	7
FMRI 0667	18	36	60	68	12	7	FMRI 0704	8	15	52	56	12	7
FMRI 0668	20	35	63	72	8	7	FMRI 0705	10	15	35	62	24	7
FMRI 0669	15	32	54	62	7	7	FMRI 0706	11	16	36	63	26	7
FMRI 0670	16	31	52	61	7	7	FMRI 0707	10	17	39	68	27	7
FMRI 0671	19	36	60	65	11	7	FMRI 0708	10	16	43	69	26	7
FMRI 0672	17	28	44	53	7	7	FMRI 0709	10	15	29	55	25	7
FMRI 0673	19	39	66	75	12	7	FMRI 0710	10	21	36	71	24	7
FMRI 0674	17	33	52	57	11	7	FMRI 0711	10	18	34	53	26	7
FMRI 0675	16	33	54	56	7	7	FMRI 0713	10	16	34	53	22	7
FMRI 0676	21	36	61	69	10	7	FMRI 0722	10	17	38	66	26	7
FMRI 0677	15	24	42	47	7	7	FMRI 0730	8	9	26	41	16	7
FMRI 0678	18	32	62	70	7	7	FMRI 0739	11	18	45	72	25	7
FMRI 0679	17	34	56	61	7	7	FMRI 0740	11	17	34	65	21	7
FMRI 0680	19	38	59	65	26	7	FMRI 0742	9	13	23	36	18	7
FMRI 0681	14	26	50	49	7	7	FMRI 0743	8	16	36	51	20	7

<표 2-7> 배양 온도별 균사생장조사(계속)

(℃, PDA배지, mm/7일)

균주번호	10	15	20	25	30	35	균주번호	10	15	20	25	30	35
FMRI 0744	12	24	42	66	28	7	FMRI 0108	19	38	55	66	14	7
FMRI 0745	8	14	34	49	20	7	FMRI 0799	12	28	40	45	27	7
FMRI 0746	8	14	37	52	20	7	FMRI 0311	16	28	36	46	22	7
FMRI 0747	8	13	30	55	19	7	FMRI 0314	17	30	44	54	19	7
FMRI 0748	8	12	36	51	18	7	FMRI 0346	19	34	54	62	28	7
FMRI 0749	8	11	27	55	17	7	FMRI 0036	14	30	43	54	15	7
FMRI 0348	14	27	38	51	24	7	FMRI 0037	14	32	48	66	33	7
FMRI 0349	12	25	39	47	23	7	FMRI 0035	16	39	52	74	35	8
FMRI 0350	13	25	40	49	25	7	FMRI 0038	18	35	47	71	24	7
FMRI 0351	15	26	36	47	14	7	FMRI 0720	19	28	44	64	28	7
FMRI 0352	15	34	49	53	19	7	FMRI 0726	18	30	40	51	22	7
FMRI 0353	19	34	50	59	8	7	FMRI 0741	18	24	43	47	15	7
FMRI 0354	16	29	41	48	9	7	FMRI 0753	23	38	54	62	34	7
FMRI 0355	18	37	55	69	21	7	FMRI 0755	22	38	55	71	37	7
FMRI 0356	19	30	42	50	22	7	FMRI 0756	20	34	48	59	28	7
FMRI 0357	15	35	42	51	32	7	FMRI 0757	21	27	30	29	23	7
FMRI 0358	20	40	61	71	26	7	FMRI 0758	14	31	44	52	20	7
FMRI 0359	13	23	40	50	13	7	FMRI 0759	18	32	44	51	9	7
FMRI 0360	13	20	31	42	8	7	FMRI 0760	19	31	53	65	20	7
FMRI 0361	17	31	50	57	26	7	FMRI 0761	21	35	55	66	20	7
FMRI 0362	20	40	56	70	39	7	FMRI 0762	11	22	28	33	14	7
FMRI 0363	20	38	55	67	43	7	FMRI 0763	19	33	51	67	21	7
FMRI 0364	18	33	47	56	24	7	FMRI 0764	18	30	45	60	11	7
FMRI 0365	23	41	56	70	18	7	FMRI 0765	20	35	53	66	31	7
FMRI 0366	20	38	48	58	28	7	FMRI 0766	13	27	38	56	14	7
FMRI 0367	21	38	52	61	30	7	FMRI 0767	21	41	56	72	35	7
FMRI 0368	20	35	53	66	15	7	FMRI 0768	21	34	49	57	32	7
FMRI 0369	16	35	51	60	8	7	FMRI 0769	16	27	41	51	11	7
FMRI 0371	16	27	29	34	7	7	FMRI 0778	24	39	54	67	33	7
FMRI 0372	17	30	45	50	21	7	FMRI 0779	15	29	43	62	14	7
FMRI 0373	16	23	30	29	16	7	FMRI 0780	14	25	29	40	9	7
FMRI 0374	19	30	45	55	9	7	FMRI 0781	20	32	48	64	19	7
FMRI 0375	20	34	43	53	10	7	FMRI 0782	15	34	40	55	9	7
FMRI 0376	22	39	51	71	35	7	FMRI 0783	19	36	49	72	15	7
FMRI 0377	18	33	46	52	38	7	FMRI 0784	16	29	41	65	20	7
FMRI 0378	18	28	47	50	32	7	FMRI 0785	21	35	48	63	28	7
FMRI 0741	7	11	16	28	10	7	FMRI 0786	15	37	47	70	24	7

<표 2-7> 배양 온도별 균사생장조사(계속)

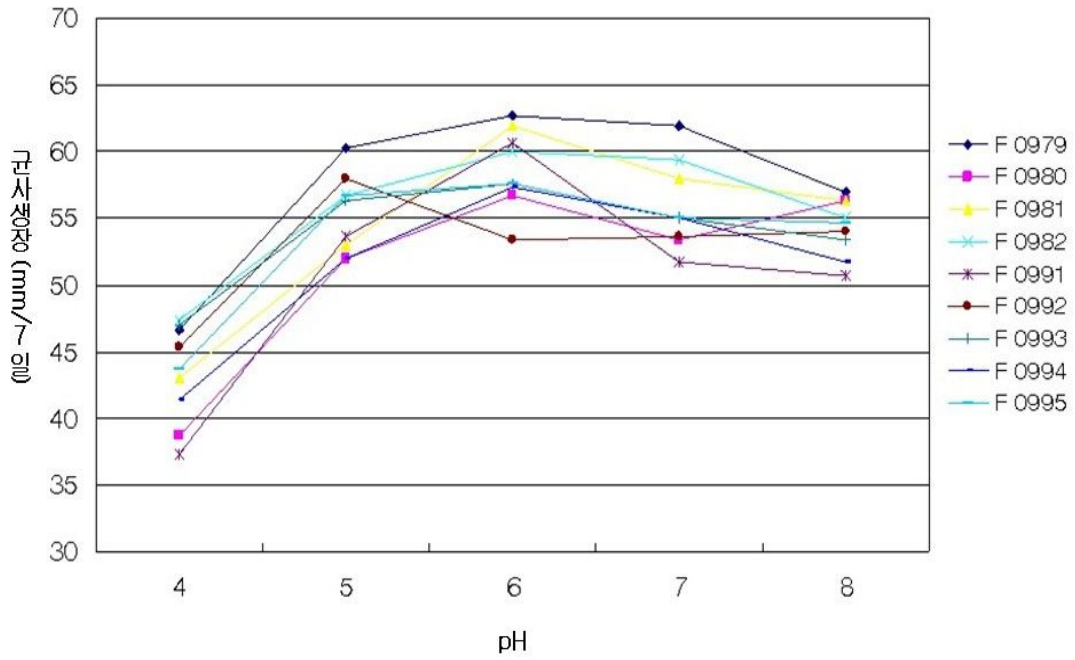
(°C, PDA배지, mm/7일)

균주번호	10	15	20	25	30	35	균주번호	10	15	20	25	30	35
FMRI 0787	20	32	44	65	26	7	FMRI 0798	13	27	39	48	9	7
FMRI 0788	18	31	42	55	39	7	FMRI 0799	12	21	32	39	9	7
FMRI 0789	19	30	47	67	16	7	FMRI 0800	12	26	40	48	16	7
FMRI 0790	24	38	50	66	22	7	FMRI 0801	15	29	38	41	15	7
FMRI 0791	11	28	43	68	35	7	FMRI 0802	18	32	40	55	12	7
FMRI 0792	14	25	31	35	13	7	FMRI 0803	17	37	44	66	38	7
FMRI 0793	17	31	42	61	14	7	FMRI 0804	18	30	34	52	33	7
FMRI 0794	20	38	53	70	29	7	FMRI 0805	12	25	36	50	27	7
FMRI 0854	20	36	49	59	24	7	FMRI 0806	10	17	26	26	7	7
FMRI 0855	17	31	38	63	23	7	FMRI 0807	16	36	53	67	11	7
FMRI 0856	18	37	52	73	41	7	FMRI 0808	10	18	34	47	9	7
FMRI 0857	21	37	54	75	42	7	FMRI 0809	13	31	46	66	26	7
FMRI 0858	17	28	31	48	14	7	FMRI 0810	17	38	52	69	39	7
FMRI 0859	17	33	39	56	24	7	FMRI 0846	12	26	35	54	15	7
FMRI 0933	20	29	33	51	15	7	FMRI 0847	15	35	46	66	19	7
FMRI 0934	14	31	38	59	20	7	FMRI 0852	13	33	43	55	22	7
FMRI 0348	18	27	36	52	13	7	FMRI 0853	21	33	42	66	19	7
FMRI 0352	21	38	49	59	33	7	FMRI 0931	20	35	44	61	11	7
FMRI 0361	16	30	40	54	8	7	FMRI 0932	14	26	30	53	23	7
FMRI 0362	21	37	47	67	10	7	FMRI 0935	16	35	51	64	20	7
FMRI 0368	13	31	42	55	15	7	FMRI 0299	18	32	48	60	15	7
FMRI 0714	13	22	32	51	24	7	FMRI 0727	12	24	29	45	9	7
FMRI 0715	15	33	39	52	36	7	FMRI 0734	11	20	27	32	10	7
FMRI 0716	16	34	45	58	21	7	FMRI 0106	14	28	39	43	9	7
FMRI 0721	17	37	46	64	28	7	FMRI 0719	21	37	52	62	13	7
FMRI 0737	15	31	42	45	10	7	FMRI 0769	16	27	41	51	11	7
FMRI 0738	10	22	27	44	13	7	FMRI 0780	14	25	29	40	9	7
FMRI 0771	19	36	53	75	35	7	FMRI 0782	15	34	40	55	9	7
FMRI 0772	11	31	43	56	21	7	FMRI 0786	15	37	47	70	24	7
FMRI 0773	14	37	50	65	34	7	FMRI 0791	11	28	43	68	35	7
FMRI 0774	16	33	43	58	37	7	FMRI 0854	20	36	49	59	24	7
FMRI 0775	23	36	52	74	38	7	FMRI 0858	17	28	31	48	14	7
FMRI 0776	17	31	43	60	8	7	FMRI 0859	17	33	39	56	24	7
FMRI 0777	15	28	41	53	10	7	FMRI 0934	14	31	38	59	20	7
FMRI 0795	11	18	26	40	23	7	FMRI 0618	15	39	54	77	37	7
FMRI 0796	13	28	38	53	30	7	FMRI 0795	14	22	31	61	8	7
FMRI 0797	12	19	29	51	19	7	FMRI 0961	14	36	46	65	8	7

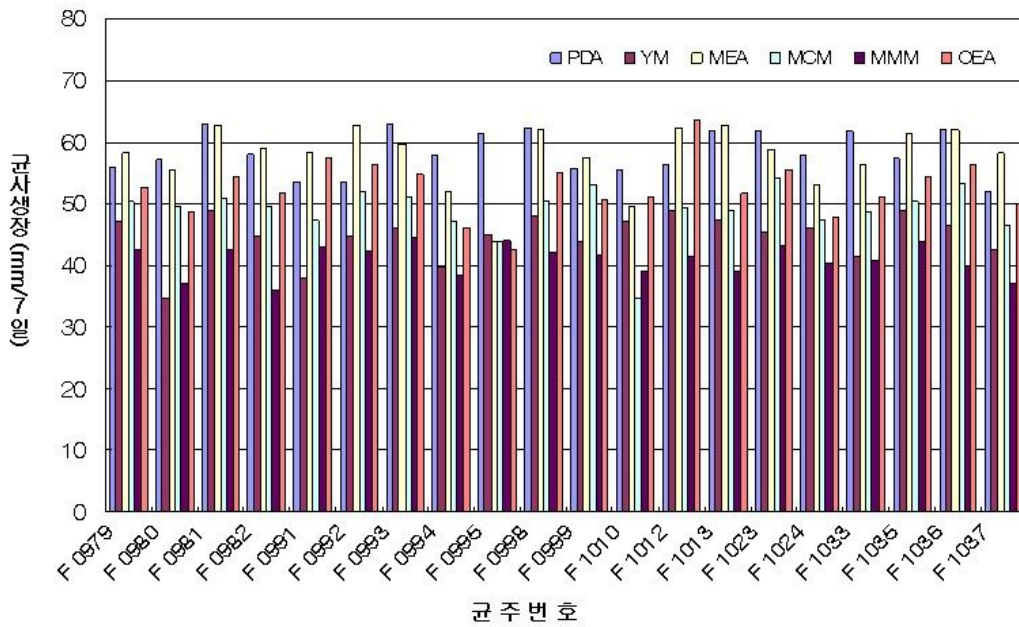
<표 2-7> 배양 온도별 균사생장조사(계속)

(°C, PDA배지, mm/7일)

균주번호	10	15	20	25	30	35	균주번호	10	15	20	25	30	35
FMRI 0980	14	32	45	57	10	7	FMRI 0575	14	36	53	57	16	7
FMRI 0981	16	34	47	58	8	7	FMRI 0537	21	35	53	61	17	7
FMRI 0541	10	36	48	55	12	7	FMRI 0569	17	36	51	64	17	7
FMRI 0552	14	34	53	68	19	7	FMRI 0476	17	37	49	65	18	7
FMRI 0960	13	35	49	62	30	7	FMRI 0576	14	28	39	48	18	7
FMRI 0357	12	33	48	60	32	7	FMRI 0439	18	39	53	73	19	7
FMRI 0358	16	37	53	68	36	7	FMRI 0486	13	29	46	57	20	7
FMRI 0363	12	36	49	68	37	7	FMRI 0437	19	40	51	68	20	7
FMRI 0394	17	36	50	74	34	7	FMRI 0481	10	20	27	34	21	7
FMRI 0404	16	33	43	67	34	7	FMRI 0979	19	39	48	61	22	7
FMRI 0419	18	36	49	70	32	7	FMRI 0359	12	27	39	54	22	7
FMRI 0432	18	41	51	74	42	7	FMRI 0361	11	25	38	58	25	7
FMRI 0474	17	38	52	74	37	7	FMRI 0436	19	34	46	74	27	7
FMRI 0483	14	30	49	59	32	7	FMRI 0485	16	34	54	59	27	7
FMRI 0484	17	32	49	57	33	7	FMRI 0991	12	23	34	56	37	7
FMRI 0496	18	35	56	66	30	7	FMRI 0992	12	23	42	56	31	7
FMRI 0502	16	36	54	70	30	7	FMRI 0993	11	22	39	56	25	7
FMRI 0578	18	37	56	69	31	7	FMRI 0995	14	26	42	60	33	7
FMRI 0982	11	30	39	53	10	7	FMRI 0998	15	25	40	57	28	7
FMRI 0348	13	29	47	60	10	7	FMRI 0999	14	20	33	57	36	7
FMRI 0470	14	27	36	51	10	7	FMRI 1010	14	24	37	51	22	7
FMRI 0536	15	32	49	62	11	7	FMRI 1012	9	15	29	42	25	7
FMRI 0430	16	32	43	68	11	7	FMRI 1013	11	25	49	60	13	7
FMRI 0459	16	35	44	59	11	7	FMRI 1023	13	23	46	61	29	7
FMRI 0468	14	31	37	48	11	7	FMRI 1024	13	26	50	67	35	7
FMRI 0574	14	25	36	46	11	7	FMRI 1033	12	23	44	63	29	7
FMRI 0959	17	36	47	63	12	7	FMRI 1130	12	22	39	52	14	7
FMRI 0465	12	22	26	29	12	7	FMRI 1035	8	20	32	42	17	7
FMRI 0540	15	29	45	54	14	7	FMRI 1036	11	22	29	35	25	7
FMRI 0568	18	35	55	71	14	7	FMRI 1037	12	23	43	59	36	7
FMRI 0429	19	33	46	67	15	7	FMRI 0953	12	21	35	56	20	7
FMRI 0397	16	36	53	73	16	7	FMRI 0957	13	24	44	61	25	7
FMRI 0449	21	42	57	79	16	7	FMRI 0962	11	23	36	59	31	7
FMRI 0562	16	33	46	61	16	7	FMRI 0983	13	24	43	65	35	7



<그림 2-3> 수집 표고균주의 pH별 균사생장조사(PDA배지, 25°C)



<그림 2-4> 수집 표고균주의 배지별 균사생장조사(25°C)

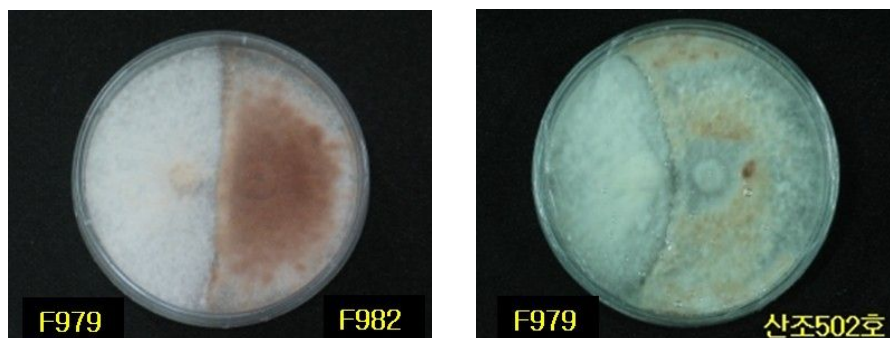
산림조합중앙회 육성개발 표고 7개 품종들과 대치배양을 통하여 독립성을 조사한 결과, 대부분의 균주가 대선을 형성하여 독립성을 나타내었다. 수집균주들이 기존품종과 독립성을 나타내고 있어서 UPOV 협약에 따라 요구되는 신품종의 독립성 조건에 부합할 수 있는 모균주로의 활용가능성을 보여주었다.

또한, 2008년 10월 강원 가리왕산에서 채집한 표고 4개 균주(F979, 980, 981, 982)는 균주간에 대치배양에서 대선이 형성되어 독립성을 나타내었으며, 다른 지역의 수집균주인 F404(지리산), F436(제주도), F795(강원 고성)와도 모두 대선을 형성하여 동일한 강원도 지역의 균주와 지리산 또는 제주도의 원거리 균주와도 독립성을 나타내었다.

<표 2-8> 야생 채집표고 7균주의 표고 품종과의 독립성 조사

구 분	산 조 101호	산 조 103호	산 조 108호	산 조 109호	산 조 302호	산 조 501호	산 조 502호
F979~982, F404, 436, 795	+	+	+	+	+	+	+

* + 대선형성, - 대선형성안됨



<야생 수집균주간 대치배양>

<야생 수집균주와 산조302호와 대치배양>

<그림 2-5> 야생수집균주의 균주간(F0979, F0982) 및 품종(산조502호)과의 대치배양

<표 2-9> 야생 채집표고 6균주의 수집균주간 독립성 조사

균주번호	F980	F981	F982	F404	F436	F795
F979	+	+	+	+	+	+
F980		+	+	+	+	+
F981			+	+	+	+
F982				+	+	+
F404					+	+
F436						+

* + 대선형성, - 대선형성 안됨

2. 해외수집균주의 생리적 특성 및 유연관계 조사

가. 시험방법

(1) 생리적 특성조사

F282(미국) 등 아시아 및 유럽 등 세계적으로 수집된 표고 30개 균주에 대하여 배양특성을 조사하고자 하였으며, 시험균주는 PDA 배지 25℃에서 접종원으로 배양하여 균사선단부위(disk 7mm)를 PDA배지에 이식하여 온도별 배양(10~30℃, 5℃ 간격), 독립성, 피막 및 갈변도조사를 하였다.

(2) 유연관계 조사

해외에서 수집한 표고균주에 대하여 ITS영역의 염기서열분석과 RAPD를 이용한 분자유전학적 방법을 통하여 균주간 유연관계를 살펴보았다. 균주의 균사절편(7mm³) 4개를 100ml PDB (Potato Dextrose Broth, Difico) 액체배지에 접종하여 25℃에서 21일간 정치배양하였다. 배양한 균사체는 여과지(No.2, Avantec)에 거르고 접종하였던 균사절편을 제거하고 증류수로 세척하였다. 걸러진 균사체는 -70℃에서 24시간 동결한 후 72시간이상 동결건조하였다. 건조한 시료는 -70℃에 보관하였다. 동결건조한 시료를 액체질소를 사용하여 사발에서 마쇄하였다. 균주의 DNA를 추출하기 위하여 Plant DNA Extraction (TOYOBO) 방법을 응용하였다. 추출한 DNA는 사용하기 전에 희석하여 PCR (Polymerase Chain Reaction)에 이용하였다.

표고 수집 F282균주에 대하여 rDNA의 ITS I·II 영역의 염기서열을 분석하여 우리 연구소 표고품종 7개의 염기서열과 비교해 보았다. 프라이머는 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하였으며, PCR 반응처리하여 아가로즈 전기영동으로 증폭을 확인한 후 증폭된 단일밴드를 겔 일투신하여 클로닝을 실시하였다. 클로닝 PCR을 이용하여 클로닝 여부를 확인하고 4개의 클론에 대하여 각각의 클론별로 Forward와 Reverse 부위를 염기서열 분석하였다. Chromas 프로그램을 사용하여 염기서열을 확인하고, DNASTAR 프로그램 Seqman으로 염기서열을 배열하여 표고균주의 ITS I·II 영역의 염기서열을 분석하였다.

표고 수집균주에 대하여 오피론 프라이머 30개(OPA, OPB, OPC, OPE, OPF, OPG series)를 사용하여 RAPD(Randomly amplified polymorphism DNAs)를 실시하였다. 반응물의 총량은 25 μ l로 1units/ μ l Taq polymerase (Bioneer), 250uM dNTP, 10mM Tris-HCl, 40mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 10pmol primer 1 μ l, DNA 2 μ l, 멸균수로 25 μ l를 맞추어 사용하였다. 반응에 사용한 프라이머는 10mer의 오피론 올리고머였다. PCR 혼합물을 DNA thermal cycler를 사용하여 94℃ 5분 denaturation 시킨 후, 94℃ 1분 denaturation, 38℃ 1분 annealing, 72℃ 1분 polymerization으로 45cycle, 그리고 72℃ 10분 extension 반응시킨 후에 4℃에 저장하였다. PCR 증폭의 확인은 PCR Product를 DNA 마커(1kb plus DNA ladder

marker)와 함께 아가로즈 겔에 전기영동하여 염색시약 (EtBr, ethidium bromide)으로 염색한 후 UV상에서 영상분석기 (Gel documentation System, Biorad, USA)를 사용하여 관찰하였으며, 밴드유무에 따라 NYSYSpc(2.1)의 UPGMA를 사용하여 균주간의 유연관계를 분석하였다.

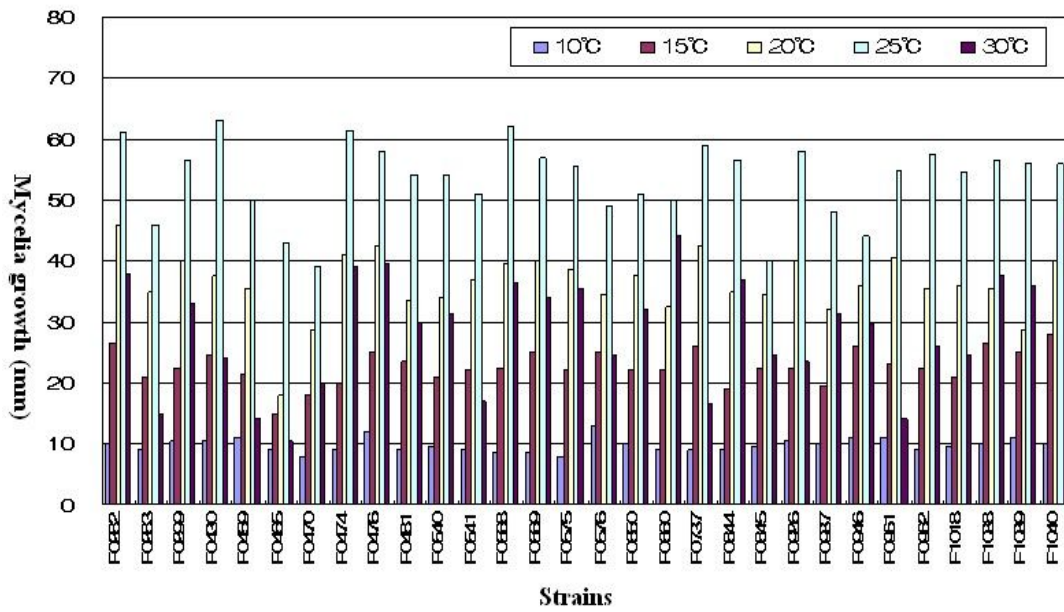
<표 2-10> 시험균주 목록

균주번호	수집지	수집년도	균주번호	수집지	수집년도
FMRI 0282	USA	1985	FMRI 0576	USA	2005
FMRI 0283	USA	1995	FMRI 0650	Thailand	2006
FMRI 0299	Taiwan	2003	FMRI 0660	Russia	2007
FMRI 0430	Papua New Guinea	2005	FMRI 0737	Japan	2006
FMRI 0459	USA	2005	FMRI 0844	Russia	2007
FMRI 0465	Hong Kong	2005	FMRI 0845	Japan	2007
FMRI 0470	Germany	2005	FMRI 0926	China	2007
FMRI 0474	Thailand	2005	FMRI 0937	Korea	2007
FMRI 0476	Thailand	2005	FMRI 0946	Korea	2007
FMRI 0481	USA	2005	FMRI 0961	China	2008
FMRI 0540	Nepal	2005	FMRI 0962	China	2008
FMRI 0541	Nepal	2005	FMRI 1018	China	2009
FMRI 0568	Papua New Guinea	2005	FMRI 1038	Netherlands	2009
FMRI 0569	Papua New Guinea	2005	FMRI 1039	Belgium	2009
FMRI 0575	Netherlands	2005	FMRI 1040	Germany	2009

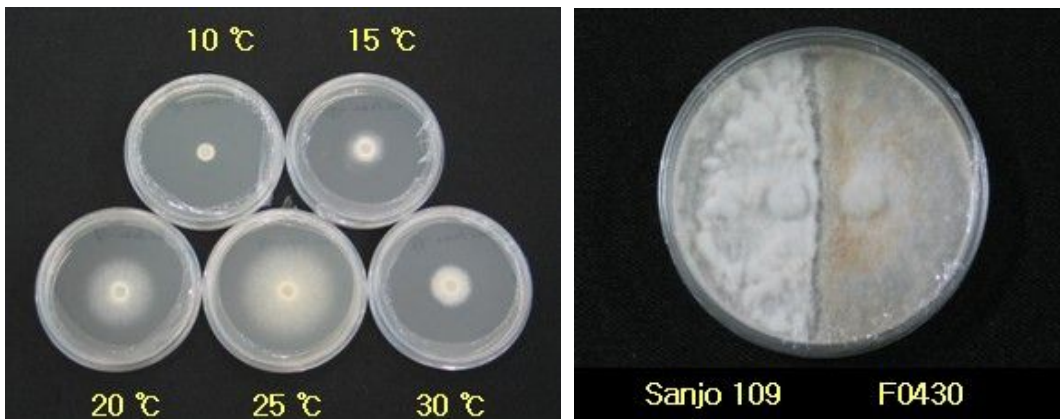
나. 시험결과

(1) 생리적 특성조사

배양온도별 균사생장조사 결과를 살펴보면, 표고 균주는 25℃에서 균사생장이 가장 우수하였으며, 다음으로 20℃에서 균사생장이 좋았다. F0474, F0660, F1040균주는 30℃에서도 40mm/7일 이상의 균사생장을 보였으며, F0465균주는 30℃에서 균사생장이 매우 느렸다. 표고 수집 30개 균주에 대하여 균주간 및 표고 10개 품종(산조 101호, 103호, 108호, 109호, 302호, 502호, 701호, 702호)과 독립성을 조사한 결과, 모든 균주가 균주간에 대선을 형성함으로써 독립성을 나타내었으며, 보급 품종과도 대선을 형성하여 독립성을 나타내었다. 표고 30개 균주 중에서 F0459, F0474, F0476, F0541, F0568, F1040균주가 배양 28일에 균사에 갈변이 일어나서 다른 균주들 보다 피막과 갈변형성이 빠름을 보였다.



<그림 2-6> 배양온도별 균사생장조사

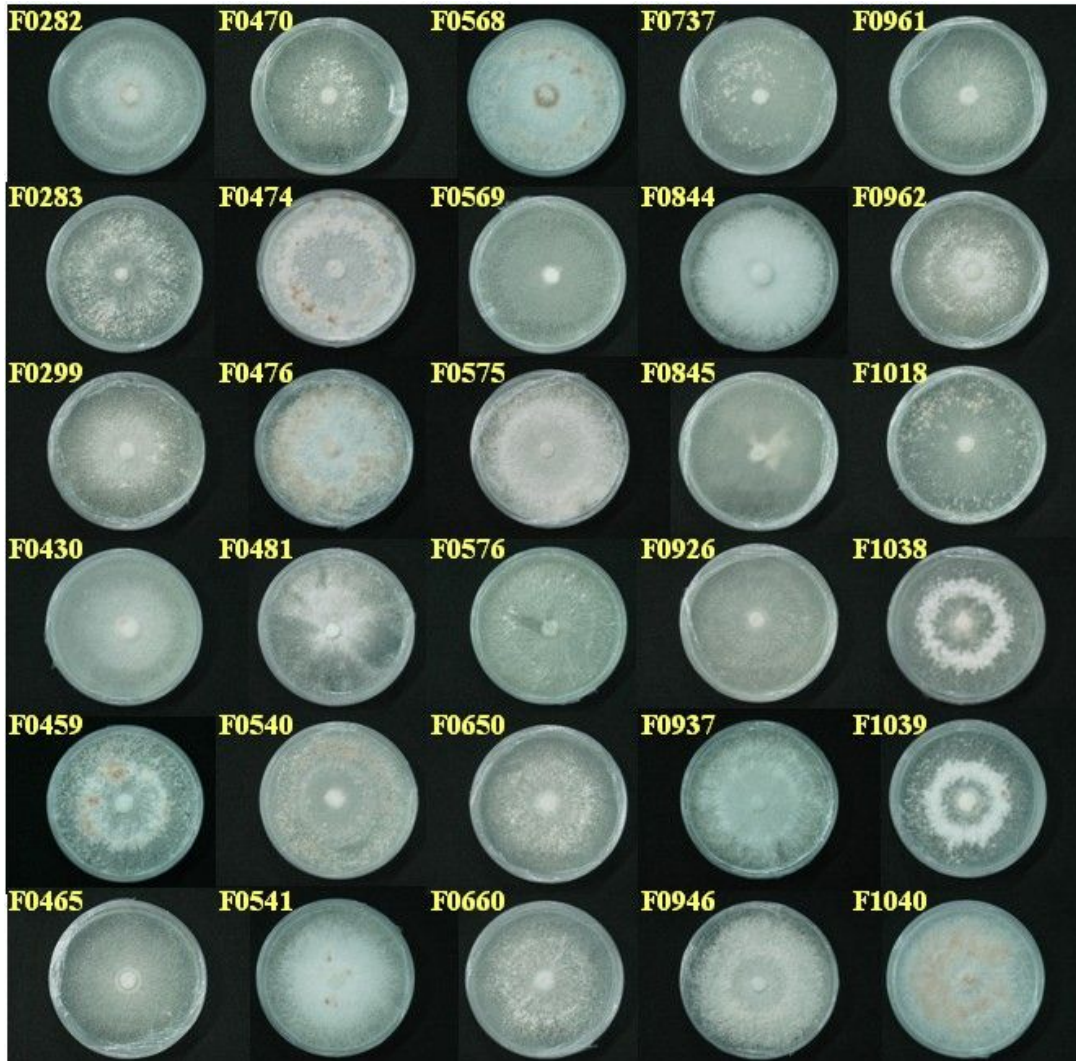


<그림 2-7> 배양온도별 균사생장 및 표고품종과 독립성조사(FMRI 0430)

<표 2-11> 해외수집 표고 30개 균주와 국내 보급 10개 품종과의 독립성조사

균주 번호	산 조 101호	산 조 103호	산 조 108호	산 조 109호	산 조 302호	산 조 501호	산 조 502호	산 조 701호	산 조 702호	산 조 110호
F0282	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* 표고 30개 균주 모두 대선행성, ** + 대선행성, - 대선행성 안됨



* 갈변정도 : 강(F1040), 중(F0476), 약(F0568, F0474, F0459, F0541), 갈변안됨 (F0282, F0470, F0737, F0961, F0283, F0569, F0844, F0962, F0299, F0575, F0845, F1018, F0430, F0481, F0576, F0926, F1038, F0540, F0650, F0937, F1039, F0465, F0660, F0946)

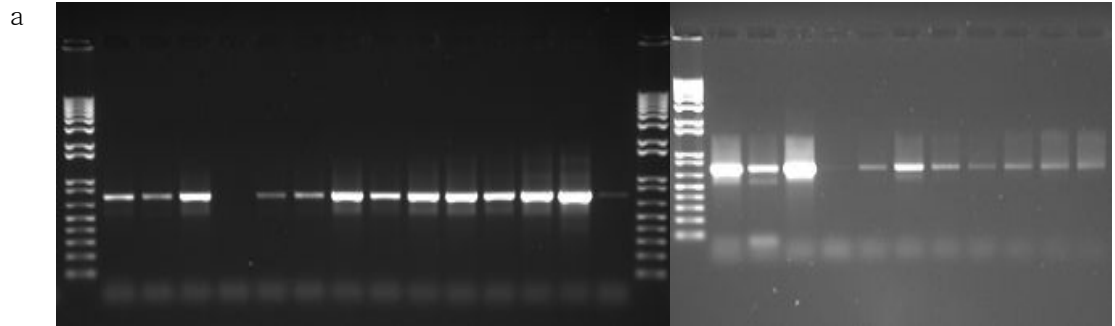
<그림 2-8> 균사의 피막 및 갈변(PDA배지, 25℃, 28일)

(2) 유연관계 조사

표고 F282균주의 ITS 영역(I, II)을 염기서열 분석한 결과, ITS 영역의 PCR 증폭에 사용된 프라이머 부위를 제거한 후 ITS 영역(I, II)의 염기서열은 718bp였다. 이것은 산림버섯연구소 개발 표고 7개품종의 ITS 영역 염기서열 718bp와 동일한 크기였다. 이처럼 표고 등록품종과 수집균주들은 거의 동일하여 구별성을 찾기가 어려웠다. 따라서 ITS영역의 염기서열 분석을 통한 수집 표고균주들간의 유연관계를 조사하기는 어려웠다.

RAPD를 실시한 결과, 프라이머 OPA8, 12는 450~3000bp사이 에 1~5개의 밴드가 증폭되었고, OPB 2, 4는 450~3000bp사이 에 1~6개의 밴드, OPC 6, 9는 650~4000bp사이 에 2~8개의 밴드, OPC 11, 12, 13, 16, 19 에서는 400~1650bp사이 에 5~7개의 밴드가 나타났고, OPC 14와 18은 증폭이 잘 이루어지지 않았다. OPE 13, 16, 17 프라이머에서는 200~1650bp사이에서 3~6개의 밴드가 나타났으며, OPE 11, 12, 14, 15, 18, 20 프라이머에서는 증폭이 잘 이루어지지 않았다. OPF 12, 16은 500~2000bp사이 에 2~6개의 밴드, 프라이머 OPG 19는 500~2000bp사이 에 2~3개의 밴드가 증폭되었다. 오페론 프라이머를 사용한 RAPD는 프라이머에 따라서 1~10개의 밴드가 나타났으며, 3200~1700bp사이에서 총 79개의 밴드가 나타났다. 이처럼 프라이머에 따라서 증폭되는 밴드의 수와 크기가 다양하게 나타났다.

아시아(한국, 일본, 중국, 대만, 태국, 홍콩, 네팔)를 비롯하여 유럽(독일, 네덜란드, 벨기에), 러시아, 파푸아뉴기니, 미국지역의 표고균주에 대한 RAPD를 이용한 유연관계를 살펴본 결과, 7개의 그룹(그룹 I ~ VII)으로 나누어졌다. 그룹 I은 아시아균주, 그룹 II는 유럽, 그룹 III은 미국, 그룹 IV는 파푸아뉴기니, 그룹 VII은 러시아, 그룹 V는 태국, 그룹 VI은 한국균주였다. 이렇듯 크게는 아시아, 유럽, 미국, 파푸아뉴기니, 러시아의 5개 그룹으로 나누어짐을 보였다. 그러나 4개의 그룹인 II(유럽), III(미국), VI(파푸아뉴기니), VII(러시아) 내에 아시아균주가 모두 들어 있었으며, 미국 그룹 III에는 독일균주도 포함되어 있었다. 아시아그룹 I에는 미국과 네덜란드 균주가 포함되어 있었다. 아시아균주 중에서 1개의 태국균주(그룹 V)와 1개의 한국균주(그룹 VI)는 각각 독립적인 그룹으로 나누어져서 다른 균주들보다 유연관계가 멀게 나타났다. 7개의 그룹들 중에서 러시아 그룹 VII이 가장 유연관계가 먼 경향이였다. 그러나 해외의 수집균주는 각국의 자생균주가 아니라 국가간에 균주의 교환이 이루어져 국가나 지역별 확실한 구별이 어려운 것으로 추정된다.



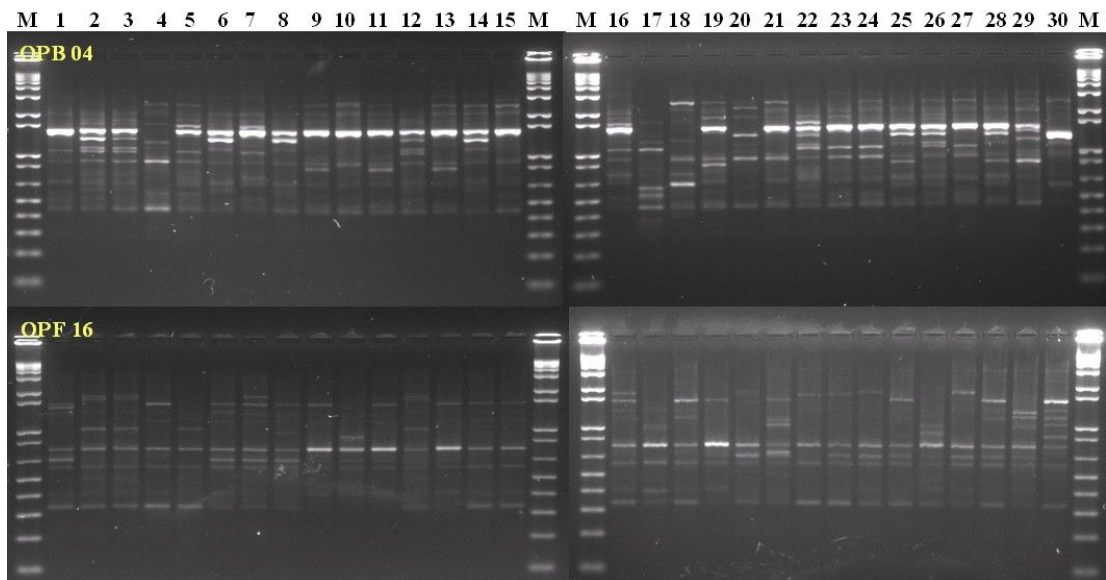
b

```

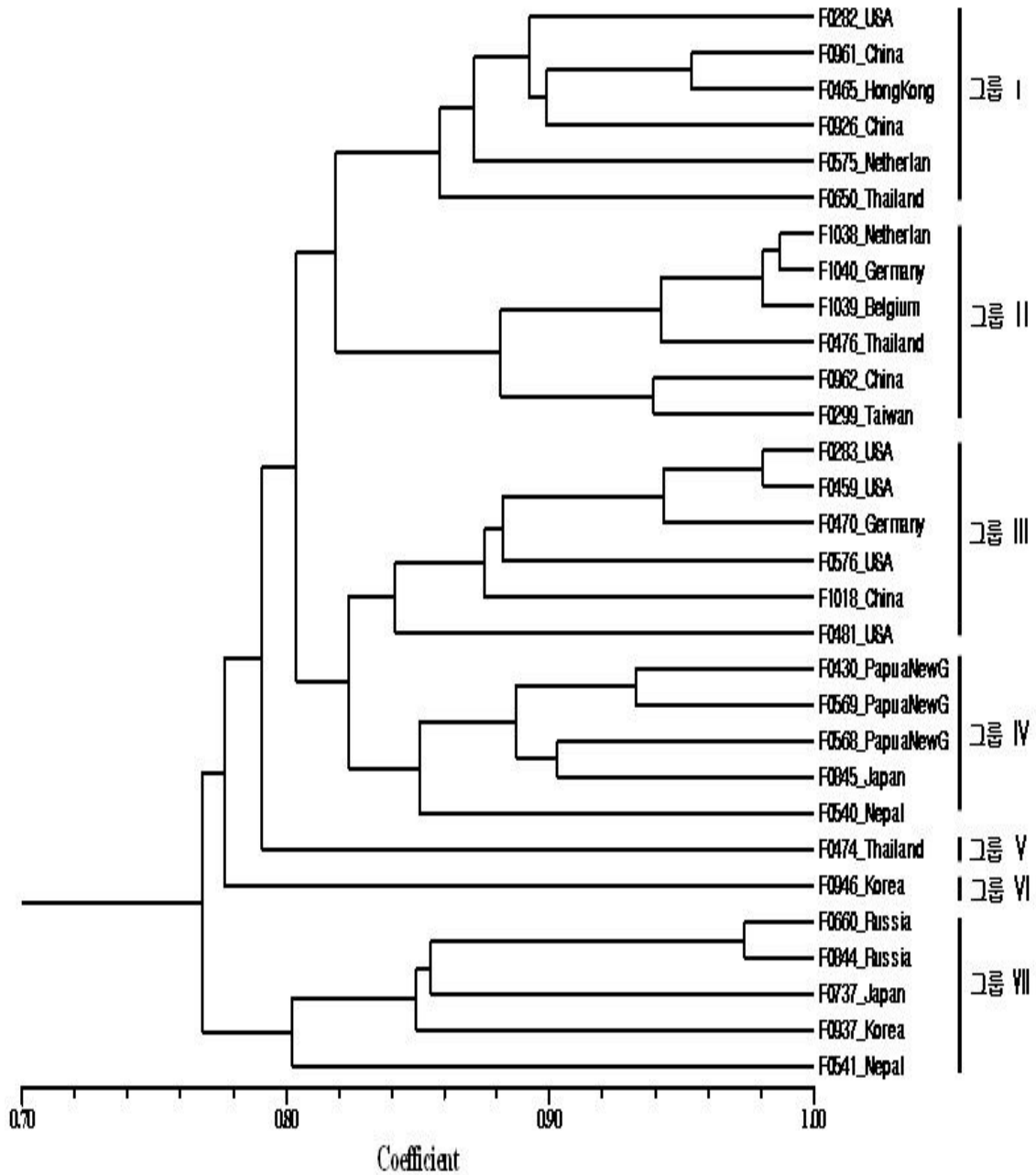
AAGGATCATTATTGAATTTTTGGTGGTGGATTGTTGCTGGCCTTGGGTATGTGCACATCCTCCTCCGATTCTATTCA
TCCACCTGTGCACTTTTGTAGGAGTTCTTTCATCGGGTTTTGAAGGTGCTCATTATGAGTTACTTGAAAAGACTAGTT
GACAAGGCTTCTATGTTCTTATAAACCATTGAAGTATGTTATAGAATGATCTTGTTATTGGGACTTTATTGACCCTTTAA
ACTTAATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGCTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA
TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTCTGGTATTCCGGAGGATGCCTGTTTGAGTG
TCATTAATCTCAACTTTATAAGTTTTACTTATTAAAGCTTGGATGTTGGAGGCTTGCAGGCGTTTGCAGCTCCTCT
TAAATTTATTAGTGGGAACCTGTTTTGTTAGTTCTAACCTTGGTGTGATAATTATCTACATTTTGGTGGAACCTTACAA
TAATAAAGCTCTATTGGTTTGGGTTGTTGCATTTAGTTTGCATCTCAATCTGTTCTATTCAATTGGAGAAAAAGGGAAGTCCG
CTTCTAACTGTCTTGATTGACTATATATAACTTATTTGCTTGACCTCAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAA

```

<그림 2-9> 표고 균주의 ITS 영역(I, II) 증폭밴드 및 염기서열
a. ITS 영역(I, II) 증폭밴드, b. ITS 영역(I, II) 염기서열(718bp)



<그림 2-10> 올리고프라이머를 이용한 표고 30균주의 RAPD 전기영동
순서: 1.F0282, 2. F0283, 3.F0459, 4.F0481, 5.F0576,6 .F0430,7 .F0568, 8.F0569, 9.F1038, 10.F0575, 11.F1040, 12.F0470, 13.F1039, 14.F0660, 15.F0844, 16.F0540, 17.F0541, 18.F0474, 19.F0476, 20.F0650, 21.F0737, 22.F0845, 23.F1018, 24.F0961, 25.F0962, 26.F0926, 27.F0465, 28.F0299, 29.F0946, 30.F0937



<그림 2-11> RAPD를 이용한 표고 30개 균주의 유연관계

제 3 절 유전자원의 자실체 특성

1. 시험방법

가. 원목재배

연구소에서 기존에 수집하여 보유하고 있는 표고균주를 포함하여 총 400균주에 대하여 원목재배를 실시하여 수집균주의 자실체 특성을 조사하였다. 각 균주별로 참나무톱밥 종균을 배양하였으며, 각 균주당 원목을 5본씩 접종(시험목 길이 120cm, 직경 12~15cm내외)하여 분당수확량, 발생개체수, 개체중 등의 자실체 특성을 조사하였다. 일부 우수한 형질을 보이는 균주는 교잡균주의 모균주로 활용하고자 하였다.

나. 톱밥재배

표고 수집균주 180개(2006년 10, 2007년 50, 2008년 50, 2009년 50, 2010년 20균주)에 대하여 톱밥봉지지면재배를 실시하여 수집균주의 자실체 특성을 조사하였다. 각 균주별로 참나무톱밥 종균을 배양하여 톱밥배지의 접종원으로 사용하였다. 톱밥배지(원통형 1.5kg, 톱밥80%+미강15%+면실피5%+탄산칼슘0.5%)에 24봉씩 접종, 배양하였다. 실내 배양실에서 약 100일간 배양 및 갈변을 진행하고, 지면재배 비닐하우스로 이동, 상면의 비닐을 개봉하여 첫 버섯을 수확하고 지속적인 배양과 갈변을 진행 한 후 자실체를 발생시켰으며, 수확량, 발생개체수, 개체중 등의 자실체 특성을 조사하였으며, 일부 우수한 형질을 보이는 균주는 교잡균주의 모균주로 활용하고자 하였다.

2. 시험결과

가. 수집균주 원목재배 특성검정 및 우수균주 선발

표고 수집균주 400개(2006년 200, 2007년 80, 2008년 50, 2009년 50, 2010년 20균주)에 대하여 원목재배를 실시하여 하였으며, 원목재배에 따른 표고 수집균주의 자실체 특성을 조사하였다. 표고 수집 280균주(2006년, 2007년 접종)는 접종 2, 3, 4년차의 분당수확량, 버섯발생량, 개체중 등의 자실체 특성을 조사하였으며, 6개의 우수균주를 육종 모균주로 선발하였다. F437, F693, F707균주는 버섯의 수확량이 많았으며 F446, F517, F536 균주가 자실체 특성에서 우수한 것으로 나타났다. 이들 균주들을 품종육성 등 농가소득 증대를 위한 모균주로서 활용할 수 있을 것이다.

표고 수집 120균주(2008년~2010년 접종)는 원목재배를 실시하여 접종 1년차, 2년차, 3년차가 완료되었으며, 표고 8개 균주가 우수한 것으로 나타났다, F768균주는 수확량이 많았으며, F765, F781, F857, F298, F299, F960, F961균주는 품질이 우수하였다. F961균주는 원목재배용 품종육성을 위한 모균주로서 활용하였으며, F857균주는 원목재배용 및 톱밥재배용 품종육성을 위한 모균주로서 활용하였다. 이들 수집균주에 대하여 계속적으로 재배를 진행하여 자실체 특성을 조사할 예정이다.

<표 2-12> 표고수집균주 원목재배 자실체 수확량 및 특성(2006년 집중)

균주번호	수집국	본당수확량 (g)	개체중 (g)	주요특성	수집지역
F390	일 본	82	11.7		임시 T-241
F391	일 본	220.8	21		임시 Bo2
F392	일 본	169.1	19.3		임시 1-3
F393	일 본	0	0	저온성	임시 16-3
F394	일 본	41.1	16.5		정강현
F395	일 본	431.6	11		임시 DNG 3
F396	일 본	0	0	주년재배용	정강현 (066호)
F397	일 본	0	0	주년용	정강현
F398	일 본	401.5	13.1	주년재배용	정강현 (삼2-6)
F399	일 본	80.5	25.8	주년재배용	정강현 (삼541호)
F400	일 본	295.9	12.9		정강현 (삼907호)
F401	일 본	0	0		임시 구주 T-24
F402	일 본	88.3	22.8		임시 구주 6-5
F403	일 본	0	0		임시 27-4
F404	한 국	244.6	16.7		지리산
F405	일 본	5.1	41	춘주,중저온	명치제과 904호
F406	일 본	56.3	14.5	저온성	명치제과 908호
F407	일 본	224.5	18.3	중저온성	명치제과 1610호
F408	일 본	11.4	11.4	고온성	명치제과 1303호
F409	대 만	269.1	15.2		
F410	일 본	0	0		균심연구소 364
F411	일 본	14.6	7.3		균심연구소 500
F412	일 본	570.1	19.3		균심연구소 572
F413	일 본	10.5	10.5		균심연구소 358
F414	일 본	0	0	중온성,단생	명치제과 1303
F415	한 국	59.8	11.4		대한산련
F416	한 국	509.5	12.7		대한산련
F417	한 국	719.8	23.5	농기3호	교배종
F418	일 본	5.3	21		삼산업 W4
F419	한 국	184	16.9	제주1호	대한산련
F420	한 국	22.3	14.8		대한산련 농기1호
F421	한 국	41.8	10.8	주년재배용	대한산련 농기2호
F422	일 본	0	0	시판종	
F423	일 본	210	17.7		조취연구소
F424	일 본	282.1	32.7		조취연구소
F425	일 본	27.5	24.4		금량현
F426	일 본	79.3	19.2		발효IF0 3072
F427	일 본	0	0		발효IF0 3071
F428	일 본	0	0		발효연구소
F429	파푸아뉴기니	3.8	10	연갈색,고온성	SM-020
F430	파푸아뉴기니	0	0	연갈색,고온성	SM-037
F431	한 국	368	22.6		산림조합중앙회
F432	영 국	260.1	21.9		Nottigham H-L13

* 시험성적의 일부만 제시함

<표 2-13> 우수선발 수집균주의 자실체 특성('06, '07년 집중 280균주)

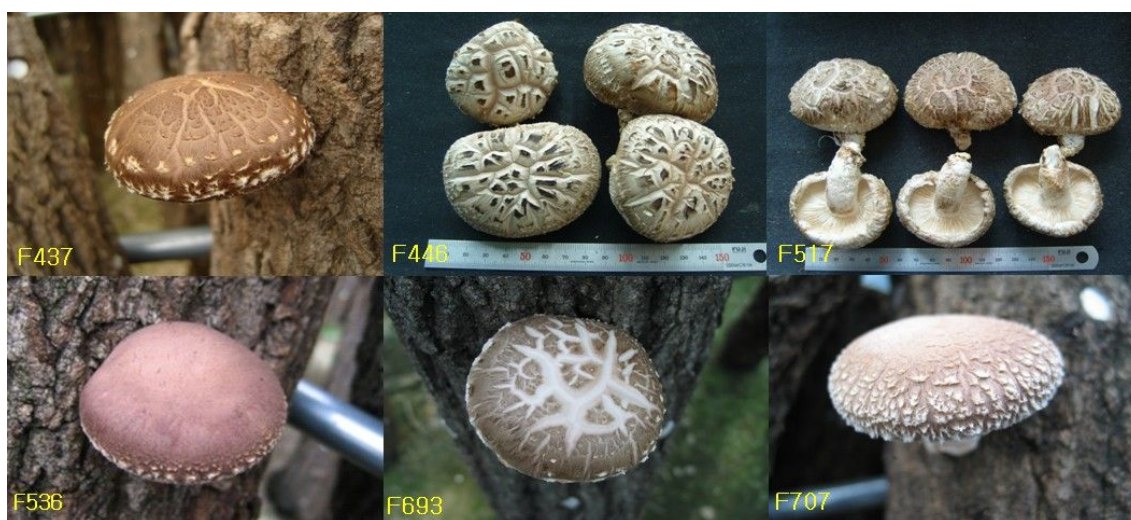
○ 버섯 생산량

균주명	수 집 내 역	본당생산량 (g)	본당개체수 (개)	개체중량 (g)	비고
F437	1987, 한국	689	37	18.9	다수확
F446	1990, 한국	244	12	21.3	품질우수
F517	1997, 일본	247	15	16.8	품질우수
F536	1994, 중국	288	14	20.7	품질우수
F693	2006, 한국	925	42	22.5	다수확 품질우수
F707	2006, 한국	728	46	17.8	다수확 품질우수

○ 자실체 제원

(단위:mm)

균주명	갓직경	갓두께	대길이	대두께	갓직경/ 대길이	갓인피부위
F437	45.0	13.0	40.0	10.0	1.13	주변
F446	55.3	12.6	60.6	12.5	0.91	주변
F517	58.5	11.5	42.5	11.5	1.38	주변
F536	58.3	13.5	57.5	13.3	1.01	주변
F693	49.5	13.2	49.0	10.5	1.01	주변
F707	55.9	11.5	63.9	13.0	0.87	주변



<그림 2-12> 우수선발 수집균주의 자실체 특성

<표 2-14> 우수선발 수집균주의 자실체 특성('08~'10년 집중 2, 3년차 진행중)

○ 버섯생산량

균주명	수 집 내 역	본당생산량 (g)	본당개체수 (개)	개체중량 (g)	비고
F765	2006, 중국	136.1	6	23.5	품질우수
F781	2006, 대만	243.2	8	28.9	품질우수
F857	2007, 대만	277.8	8	34.7	품질우수
F768	2006, 중국	320.0	10	20.0	다수확
F298	2003, 대만	42.0	2	23.3	품질우수
F299	2003, 대만	48.0	2	26.7	품질우수
F960	2008, 중국	46.2	2	21.0	품질우수
F961	2008, 중국	169.4	6	28.5	품질우수

○ 자실체 채원

(단위:mm)

균주명	갓직경	갓두께	대길이	대두께	갓직경/ 대길이	갓인피부위
F765	55.5	13.2	48.0	12.5	1.15	주변
F781	48.9	11.5	53.9	12.2	0.90	주변
F857	55.1	14.0	48.2	10.8	1.14	주변
F768	52.0	13.5	50.1	12.0	1.03	주변
F298	51.9	12.5	52.3	13.5	0.99	주변
F299	58.6	14.8	56.0	13.4	1.04	주변
F960	55.4	13.3	53.4	12.5	1.03	주변
F961	54.2	14.1	50.0	14.0	1.08	주변



<그림 2-13> 우수선발 수집균주의 자실체 특성(집중 2, 3년차 진행중)

나. 수집균주의 톱밥재배 특성검정 및 우수균주 선발

표고 수집균주 180개에 대하여 톱밥봉지지면재배를 실시하여 자실체 특성을 조사하였다. 수집 표고균주들 중에서 8개의 균주 F299, F356, F776, F954, F961, F979, F995, F1012가 우수균주로 선발되었다. F954, F961, F979, F995균주는 수확량이 많았으며, F299, F356, F776, F1012균주는 품질이 우수하였다. F299, F356 균주는 톱밥재배용 품종육성을 위한 모균주로 활용하였으며, F954균주는 톱밥재배용 및 원목재배용 품종육성을 위한 모균주로 활용하였다.

<표 2-15> 표고 수집균주 톱밥재배 수량 및 특성

균주 번호	수집년도	생산량 (g/배지kg)	개체중 (g)	국가명	주요특성	기존균주명
F715	2006.9.27	17.9	13.8	-	다수확	-
F716	2006.9.27	57.6	22.2	-	저온성	-
F737	2006.12.01	9	25.5	일본	-	토무
F738	2006.12.01	8	27.9	중국	고온성	937
F771	2006.12.15	91.6	11.2	중국	중온성	36017(향087)
F772	2006.12.15	53	13.8	중국	-	36018(감복1호)
F773	2006.12.15	5.6	16	중국	-	36019(동고1호)
F774	2006.12.15	38.6	9.7	중국	-	36024(동-1)
F775	2006.12.15	8.1	21.1	중국	중저온성	36021(L-903)
F776	2006.12.15	42.4	16.3	중국	-	36032(향1)
F777	2006.12.15	26.5	8.6	중국	-	36033(향867)
F795	2007.1.2	19.1	13	한국	향로봉	411
F796	2007.1.2	48.6	11.8	한국	개방산,해발820m	663
F797	2007.1.2	2.7	12.1	한국	개방산,해발840m	664
F798	2007.1.2	40.4	13.1	한국	개방산,해발1,050m	665
F799	2007.1.2	16.3	14.9	한국	개방산,해발1,230m	666
F800	2007.1.2	2.1	8.4	한국	개방산,해발820m	667
F801	2007.1.2	19.4	9.4	한국	개방산,해발1,200m	668
F802	2007.1.2	1.2	15	한국	개방산,해발1,260m	669
F803	2007.1.2	24.2	11.9	한국	소개방산,해발1,020m	670
F804	2007.1.2	2	31	한국	소개방산,해발1,150m	671
F805	2007.1.2	10.5	10.1	한국	소개방산,해발1,140m	672
F806	2007.1.2	10.1	14.3	한국	소개방산,해발1,150m	673
F807	2007.1.2	66.3	10.6	한국	소개방산,해발1,140m	674
F809	2007.1.2	1.4	21.5	한국	소개방산,해발1,140m	676
F810	2007.1.2	56.2	14.3	한국	강원도 인제	731
F846	2007.4.11	22	32.7	중국	-	-
F847	2007.4.11	16.3	20.4	중국	-	-
F852	2007.5.11	135.4	15.1	중국	-	-
F853	2007.5.11	22.4	20.6	중국	-	-
F931	2007.8.3	71.8	10.8	중국	중국야생	
F932	2007.8.3	65.8	16.7	중국	중고온성	1363
F935	2007.10.5	33	21.9	일본	-	-
F936	2007.10.18	9.2	22.2	한국	발왕산	-

* 시험성적의 일부만 제시함

<표 2-16> 우수선발 수집균주의 자실체 특성

○ 버섯생산량

균주명	수 집 내 역	총중량 (g/24봉)	개체수 (개/24봉)	개체중 량(g)	생산량 (g/배지kg)	비고
F299	2003, 대만	2,151	102	21.1	89.6	품질우수
F356	2005, 중국	2,998	99	30.28	104.1	품질우수
F776	2006, 중국	1,323	81	16.3	42.4	품질우수
F954	2008, 중국	3,317	377	8.8	110	다수확
F961	2008, 중국	3,620	392	9.2	241.3	다수확
F979	2008, 한국	2,950	307	9.6	241.3	다수확
F995	2009, 중국	7,351	438	16.8	306.3	최고수확
F1012	2009, 일본	1,014	65	15.6	42.3	품질우수

○ 자실체 제원

(단위:mm)

균주명	갓직경	갓두께	대길이	대두께	갓직경 /대길이	갓인피부위
F299	68.6	19.8	56.0	13.4	1.23	주변
F356	53.9	17.6	51.3	10.2	1.05	주변
F776	48.9	14.1	43.4	12.6	1.13	주변
F954	42.2	10.2	45.3	9.5	0.93	주변
F961	40.3	9.4	48.8	12.1	0.82	주변
F979	45.1	11.5	50.1	11.7	0.90	주변
F995	51.5	11.9	46.4	18.3	1.11	전체
F1012	53.1	14.7	53.1	18.7	1.00	주변



<그림 2-14> 우수선발 수집균주의 자실체 특성

○ 수집한 유전자원에 대하여 조사한 배양특성 자료들과 원목 및 톱밥재배 자실체 특성 자료들을 데이터베이스로 정리하였으며, 신 품종개발 등을 위한 기초 연구자료로 활용될 것이다.

<표 2-17> 버섯 유전자원 데이터 베이스

균주번호	배양 온도별 균사생장 (°C, PDA, mm/7일)							배양 배지별 균사생장 (25°C, mm/7일)					배양 pH별 균사생장 (25°C, PDA, mm/7일)					톱밥재배		원목재배	
	10	15	20	25	30	35	PDA	YM	MEA	MMM	MCM	OEA	4	5	6	7	8	생산량 (g/배지kg)	개체중 (g)	분당생산 량(g)	개체중 (g)
FMRI 0664	18	28	43	52	13	7	60	55	60	37	50	55	66	66	63	59	56	5.8	26.7	1,427.7	11.3
FMRI 0665	18	35	58	70	11	7	54	44	56	39	47	53	59	58	58	54	54	79.8	13.9	908.7	11
FMRI 0666	13	21	50	54	13	7	54	50	57	32	51	55	57	52	53	51	50	13.4	28.5	766.6	11.2
FMRI 0667	18	36	60	68	12	7	60	50	63	37	49	54	58	55	55	53	51	58.5	9.3	459.0	14.1
FMRI 0668	20	35	63	72	8	7	60	56	58	37	47	52	58	62	60	57	55	116.6	11.1	622.6	11.4
FMRI 0669	15	32	54	62	7	7	68	60	64	44	51	60	70	69	69	67	65	102.1	10	1,110.6	9.7
FMRI 0670	16	31	52	61	7	7	55	48	54	37	45	51	59	57	55	50	48	136.4	7.8	997.6	11.3
FMRI 0671	19	36	60	65	11	7	59	58	63	37	49	56	62	63	60	56	53	100.4	7.5	840.6	8.9
FMRI 0672	17	28	44	53	7	7	57	52	61	40	46	59	69	68	67	64	58	54.9	26.7	140.4	10.4
FMRI 0673	19	39	66	75	12	7	60	56	65	43	53	57	62	55	51	51	48	2.5	30	804.2	8.4
FMRI 0674	17	33	52	57	11	7	36	35	44	30	37	41	38	43	43	40	40	0	0	183.3	10.2
FMRI 0675	16	33	54	56	7	7	60	48	59	36	45	61	65	63	60	56	52	3.6	16.7	548.6	11.9
FMRI 0676	21	36	61	69	10	7	58	42	55	35	43	55	65	58	55	53	51	129.3	10	196.2	9.4
FMRI 0677	15	24	42	47	7	7	52	39	56	32	43	51	52	54	56	49	45	134.7	9.1	253.8	8
FMRI 0678	18	32	62	70	7	7	57	50	64	44	49	59	69	57	56	54	55	52	16	458.9	7.2
FMRI 0679	17	34	56	61	7	7	33	25	38	31	31	36	38	36	35	33	31	41.9	10.7	573.5	10.2
FMRI 0680	19	38	59	65	26	7	53	43	59	43	48	45	60	58	55	53	52	33.2	23.6	667.9	7.4
FMRI 0681	14	26	50	49	7	7	54	49	54	39	47	51	55	56	55	53	49	19.5	11.3	982.5	13.3
FMRI 0682	21	38	63	66	8	7	62	34	58	36	48	52	55	42	41	35	34	11.2	28.2	475.3	10.2
FMRI 0683	22	38	64	70	8	7	68	54	61	43	54	61	73	69	70	66	65	12.3	21.3	23.6	10.1
FMRI 0684	17	35	52	57	7	7	61	59	62	39	55	57	63	57	60	51	48	52.7	17.8	446.7	7.9
FMRI 0685	9	18	61	70	7	7	70	63	69	43	60	58	69	68	68	63	62	166.5	13.1	324.3	6.2
FMRI 0686	8	15	46	54	7	7	58	61	61	29	51	52	75	76	74	67	66	55.3	7.5	231.5	8.2
FMRI 0687	9	15	55	58	7	7	56	47	54	35	45	53	73	73	67	59	58	91.4	7	323.4	9.3

* 수집 유전자원에 대한 데이터베이스의 일부를 발췌함

제 4 절 표고균주 장기보존법

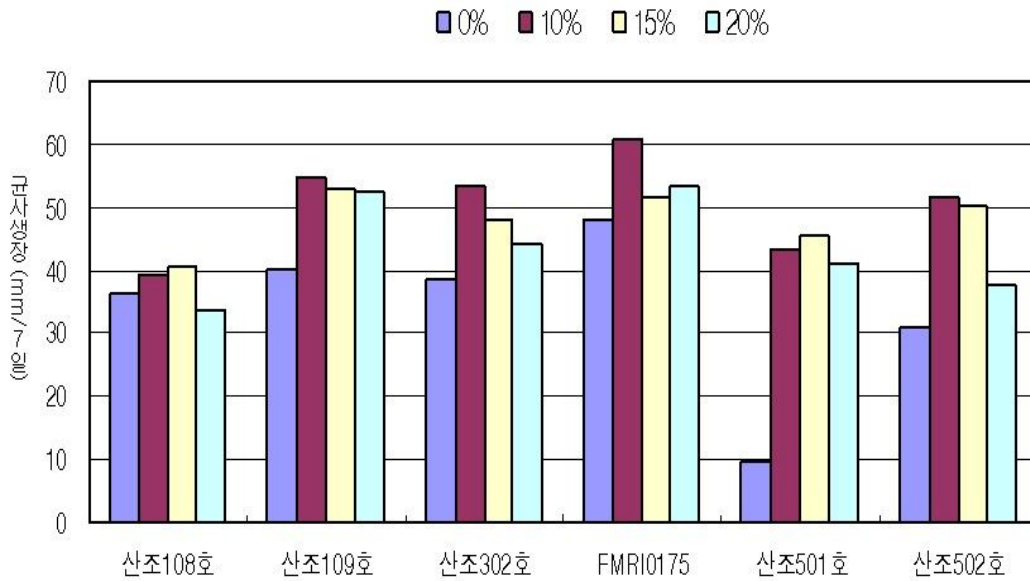
1. 재료 및 방법

시험균주는 표고 6균주(고온성 2, 중온성 2, 저온성 2)에 대하여 글리세롤 보존제를 사용하여 약 -190°C 의 극저온 온도인 액체질소내 균주보존 최적화를 위한 시험을 하였다. PDA배지에서 배양된 표고균주의 절편($\phi 7\text{mm}$)을 크라요튜브 용기를 이용해서 글리세롤 농도(0, 10, 15, 20%)별로 액체질소내에 보존한 후 보존 12, 24, 36개월 후 25°C PDA평판배지에서 균의 생존 및 균사생장을 조사하였다. 또한, 보존 12, 24, 36개월 균주에 대하여 원목재배를 실시하여 자실체의 특성을 조사하였다.

2. 시험결과

표고 6개 균주의 액체질소내 균주보존 12, 24, 36개월 후 생존여부를 확인한 결과, 글리세롤 보존제 농도 0, 10, 15, 20% 모두에서 생존하였다. 균주를 액체질소 균주보존고에서 꺼내어 PDA 평판배지에 이식한 1차 배양(25°C , 7일배양)에서는 균사생장이 느렸으며, 이를 새로운 PDA 평판배지상에 계대이식한 2차 배양(25°C , 7일배양)에서는 균사생장이 빨라졌다. 이는 표고 균주의 저온냉장보존 후 균을 이식배양할 때와 같은 경향으로 저온 및 극저온에 보존되었던 균이 1차 이식 배양하여 2차로 계대이식배양 후에 활력이 우수해짐을 보였다. 글리세롤 보존제를 이용한 액체질소내에 36개월간 보존된 표고균주는 생존하였고, 글리세롤 보존제 10% 농도에서 균사생장이 우수하였다.

액체질소내 보존(12개월) 표고 6개 균주와 대조균주로 저온냉장(3°C) 보존한 표고 6균주에 대하여 2009년 시험목에 종균을 접종하여 접종 2년차 버섯발생을 조사하였다. 액체질소내 보존균주와 저온보존균주의 버섯수확량이 유사하였으며, 자실체도 양호함을 보였다. 또한, 액체질소내 보존 24, 36개월 균주에 대하여 2010년, 2011년에 원목접종하여 배양중에 있으며, 이들 균주들에 대하여 계속적인 버섯발생과 조사를 통하여 자실체 특성을 조사하고자 한다.



<그림 2-15> 표고 6균주의 액체질소내 보존 36개월 후 균사생장(PDA, 25℃, 7일)

<그림 2-16> 액체질소 보존균주의 원목재배 자실체생산량(2009년 접종 후 2년차)
(분당 수확량, g)

균주번호	저온보존	액체질소보존 (12개월)
산조108호	190.5	186.6
산조109호	208.6	222.2
산조302호	190.8	171.0
FMRI0175	133.6	145.2
산조501호	40.8	45.4
산조502호	60.2	50.8



제 5 절 결과요약

본 시험은 우량 품종육성 등을 위한 재료로 활용하고자 다양한 버섯유전자원을 수집하여 실내에서 배양특성조사와 실외에서 원목 및 톱밥재배로 자실체 특성을 조사하였다.

총 5년의 연구기간 동안 버섯 유전자원으로 318개 균주를 수집하였으며, 그 중에서 표고균주로는 232개 균주를 수집하였다. 수집 표고균주에 대하여 배양 온도별(10~35℃, 5℃간격), 산도별(pH4, 5, 6, 7, 8), 배지별(PDA, MCM, YM, MEA, OEA) 균사생장을 조사하였으며, 모든 표고균주의 최적 온도는 25℃, 산도는 pH 6의 약산성, 배지는 PDA였다. 이중 25℃에서 균사생장이 빠른 F693 등 6개 균주, 30℃ 고온의 F654 등 5개 균주, 15℃ 저온의 F358 등 7개 균주는 신품종육성의 유용한 모균주로 활용성이 높을 것으로 본다. 국내외 수집 표고 30개 균주에 대하여 RAPD를 이용하여 유연관계를 조사한 결과, 7개의 그룹으로 나뉘었으나 지역별 확실한 구별은 어려웠다. 표고균주에 대한 장기 보존을 위하여 액체질소보존법으로 보존제 농도별로 36개월까지 보존 후 균생존여부를 조사한 결과, 글리세롤 10%를 보존제로 사용시 균주생존 및 생장에 최적이었다.

표고 400개 수집균주에 대하여 원목재배를 실시하여 분당수확량, 버섯발생량, 개체중 등의 자실체 특성을 조사하였으며, 이중 F437, F693, F707, F768 4개 균주는 수량이 많았고 F446, F517, F536, F765, F781, F857, F298, F299, F960, F961는 버섯 품질 우수균주로 선발하였으며, 이중 F961균주는 원목재배용 품종육성을 위한 모균주로, F857균주는 원목재배용 및 톱밥재배용 품종육성을 위한 모균주로서 활용하였다.

표고 수집 180개 균주에 대하여 톱밥봉지지면재배를 실시하여 자실체 특성을 조사하였으며, 8개의 균주 F299, F356, F776, F954, F961, F979, F995, F1012를 우수균주로 선발하였다. 이중 F299, F356 균주는 톱밥재배용 품종육성을 위한 모균주로, F954균주는 톱밥재배용 및 원목재배용 품종육성을 위한 모균주로 활용하였다.

수집한 유전자원에 대하여 배양특성과 원목 및 톱밥재배 자실체 특성을 조사한 자료들은 수집균주의 데이터베이스로 정리하였으며, 이들 자료들은 신품종개발 등을 위한 기초 연구자료로 활용할 것이다.

<표 2-18> 연구기간 년도별 유전자원의 수집 및 특성조사 (균주수)

시 험 년 도	2006	2007	2008	2009	2010	합 계
유전자원수집	173	63	23	24	35	318
배양특성조사	20	100	100	50	20	290
원 목 재 배	200	80	50	50	20	400
톱 밥 재 배	10	50	50	50	20	180

제 3 장 교배균주 육성

제 1 절 모균주의 선발

본 과제에 사용된 육성 모본들은 국내 및 해외에서 수집된 균주들 중 제 2장에서 언급한 바와 같이 생리적 특성, 자실체 특성조사 등을 통해 우수한 특성을 가진 균주들을 선발하고 담자포자를 수집하였다.

5년간 총 20개 균주(원목용 8, 톱밥용 12균주)를 육성모본으로 선발하여 사용하였으며 이들 중 산조101호 7개 균주는 국내에서 개발되어 유통되고 있는 품종들이고 DG9001 및 DG9002는 우리연구소에서 육성하여 시험 중인 균주들이다. 해외에서 수집된 균주들은 모두 2003년부터 2009년까지 수집되었으며 중국, 일본 등 현지에서 재배되고 있는 균주들 이고 일본 2균주, 중국 6균주, 대만 2균주, 네팔 1균주 이다.

품종을 육성하기 위해서는 우수한 유전형질을 가진 모본의 선발이 중요하다. 특히 육종 목표에 부합하는 형질을 가진 계통을 선발하여 사용해야 한다. 표고재배는 원목 및 톱밥재배는 냉난방 시설이 구비된 재배사보다는 비닐하우스 등의 간이 재배사에서 이루어지는 것이 대부분이다. 따라서 최근 급격한 기후변화에 따른 계절별 기온 양극화 극복이 매우 중요한 문제이고 이를 위해 고온에 강하며 품질이 비교적 우수하고 다수확 생표고 생산용 품종을 육성하기 위한 모균주 들을 선발하였다. 선발된 모균주들 중 산조 101호, 110호, 702호, DG 9001, 9002, FMRI 1012, 0315, 등은 고온에 강하면서 발생온도 범위와 기간이 넓고 생산효율이 높은 특성을 가진 균주들이며 산조 108호, 701호, FMRI 0299, 0954, 0961 등은 자실체의 품질이 우수하고 형태가 균일한 특성을 가진 균주들이다.

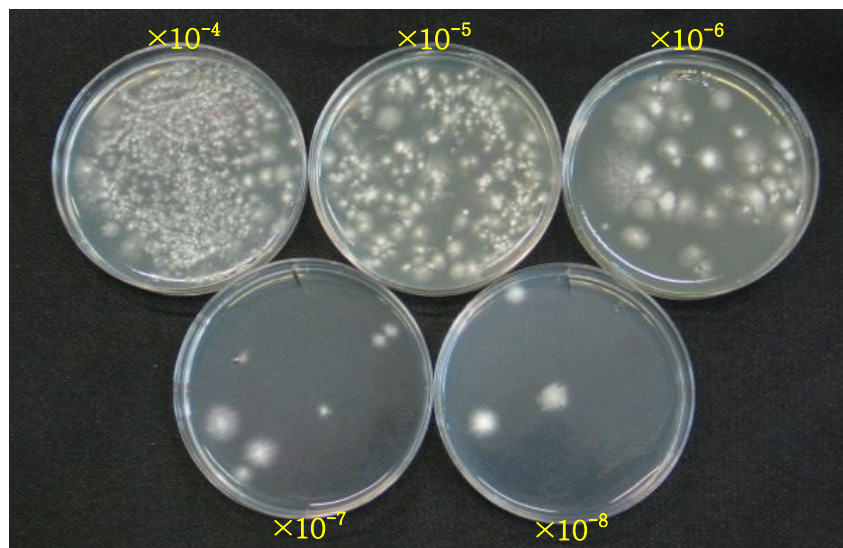
<표 3-1> 선발 모균주 재배특성

균주명(번호)	온도형(℃)	주요특성	개발(수집)국가
산조101호	12-25	원목재배용, 고온에서 버섯발생이 쉽고 많음 배양기간이 짧고 버섯발생기간이 매우 짧	산림버섯연구소
산조103호	14-26	원목재배용, 중대엽, 버섯의 형태와 품질이 우수 육질이 매우 단단하며 개체중이 높음	산림버섯연구소
산조108호	12-24	원목재배용, 중대엽, 배양기간은 150일 내외 연중 수확기간이 길고 버섯은 습에 강함	산림버섯연구소
산조110호	12-28	원목재배용, 고온에서 생산성이 높고 습에 강함 병해충에 강하며 상수리나무가 적합	산림버섯연구소
산조701호	12-24	툽밥재배용, 지면봉지재배용 품종 갓색이 밝고 육질이 단단하며 품질이 우수함	산림버섯연구소
산조702호	10-23	툽밥재배용, 중대엽, 갓색이 밝고 육질은 보통 배양기간이 짧아 버섯발생이 빠르고 많음	산림버섯연구소
DG9001	15-27	툽밥재배용, 중소엽, 다수확 생표고 생산용으로 육질 다소 무름. 산림버섯연구소 육성 균주	산림버섯연구소
DG9002	15-27	툽밥재배용, 중엽, 다수확 생표고 생산용으로 산림버섯연구소 육성 균주	산림버섯연구소
산림5호	11-21	툽밥재배용, 중엽, 균상재배에 적합하고 버섯발생작업은 침수가 적합	국립산림과학원
FMRI1012	15-25	원목재배용, 고온기 버섯발생이 양호하고, 여름부터 가을사 이에 버섯발생, 육질이 충실하며 대가 짧고, 휴양기 짧음	일 본
FMRI0259	중고온성	툽밥재배용, 중대엽, 후육으로 갓색은 갈색 버섯생산량이 많고 배양기간은 90일 내외	대 만
FMRI0299	중고온성	툽밥재배용, 중엽, 갓색은 황갈색으로 밝으며 육질이 단 단함. 자실체 형태가 고르고 우수함	대 만
FMRI0315	18-28	툽밥재배용, 중소엽, 육질은 무르고 갓색은 갈색 버섯생산량이 많고 배양기간이 70일로 짧음	중 국
FMRI0356	중고온성	툽밥재배용, 중엽, 후육이고 갓색이 황갈색으로 밝으며 습에 강함	중 국
FMRI0386	7-15	툽밥재배용, 중대엽, 후육이고 갓이 쉽게 퍼지 않음. 품 질 우수하고 화고 비율 높음	중 국
FMRI0540	고온성	원목재배용, 다수확 품종이며, 품질이 우수함.	네 팔
FMRI0857	15-25	원목재배용, 버섯 발생온도범위가 넓고, 접종후 이듬해 봄부터 가을까지 주년재배용, 휴양기간이 40일로 길다	일 본
FMRI0961	저온성	툽밥재배용, 대엽으로 육질이 단단함 백화고 재배에 특화되어 있는 품종	중 국
FMRI0965	10-20	야생균주, 중소엽으로 육질은 보통 중온성 또는 중저온성으로 추정	한국 강원
FMRI0962	8-18	툽밥재배용, 갓은 둥글고 가지런하며 갈색임 적정배양기간은 160-180일 임	중 국

제 2 절 교배균주 육성

1. 일핵균주 분리 및 선발

교배균주 육성에 사용된 일핵균주는 모균주의 자실체에서 수집한 담자포자를 연속희석법으로 멸균수에 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ 배 까지 희석하고 PDA(감자한천배지)에 도말 후 25℃에서 배양하여 7~10일후에 발아된 일핵균주를 분리하였다. 분리된 균주 중 현미경으로 꺾쇠연결체(clamp connection)가 없는 것을 확인하여 접종침으로 새로운 배지로 옮겨 배양한 후, 균사 성장, 균총형태 등의 배양특성을 종합 검토하여 교배용 일핵균주를 선발하였다.



<그림 3-1> 연속희석법에 의한 담자포자 발아

2. 일핵균주 생리 특성

총 20개의 모균주로부터 담자포자를 채취, 발아시켜 현미경 검경으로 일핵균사만을 순수 분리하여 균사생장 및 균총의 특징 등을 조사하였다. 생리 특성 조사에서 균사의 생장이 너무 저조하거나 균총형태가 불규칙한 균주들은 기각하였다. 다음은 산조701호 및 산조702호에서 분리한 일핵균주의 특성을 조사한 자료이다.

가. 산조701호의 일핵균주

산조701호 모균주에서 분리된 130개 일핵균주 중 현미경검경과 성장조사 등을 거쳐 50개 일핵균주를 선발하였다. 이들 균주를 PDA배지에 접종한 후 25℃에서 12일간 배양을 하여 균사생장 및 배양 특성을 조사한 결과 평균생장량은 30.5mm/7일이고 701-34균주가 40mm/7일로 가장 빨랐으며 11, 26번균주는 배양 14일차에 약하게 갈변이 관찰되었다.

<표 3-2> 산조701호 일핵균주 배양 특성

균주번호	균사생장 (mm/7일)	균사 밀도	갈변 정도	균주번호	균사생장 (mm/7일)	균사 밀도	갈변 정도
701-1	35.3	++	-	701-26	24.7	++	+
701-2	27.3	++	-	701-27	33.3	++	-
701-3	18.0	+++	-	701-28	26.0	++	-
701-4	26.7	++	-	701-29	28.7	++	-
701-5	28.7	++	-	701-30	32.7	++	-
701-6	28.0	++	-	701-31	32.0	++	-
701-7	32.0	++	-	701-32	29.3	++	-
701-8	29.3	++	-	701-33	30.7	++	-
701-9	32.0	++	-	701-34	40.0	++	-
701-10	32.7	++	-	701-35	34.0	++	-
701-11	36.7	++	+	701-36	29.3	++	-
701-12	32.7	++	-	701-37	35.3	+++	-
701-13	23.3	++	-	701-38	35.3	++	-
701-14	37.3	++	-	701-39	25.3	++	-
701-15	30.7	++	-	701-40	31.3	++	-
701-16	38.0	++	-	701-41	35.3	++	-
701-17	28.7	+++	-	701-42	32.7	++	-
701-18	28.0	++	-	701-43	30.0	++	-
701-19	24.7	++	-	701-44	28.0	++	-
701-20	28.7	++	-	701-45	33.3	++	-
701-21	34.0	++	-	701-46	33.3	++	-
701-22	32.7	++	-	701-47	30.0	++	-
701-23	34.0	++	-	701-48	34.7	++	-
701-24	27.3	++	-	701-49	23.3	++	-
701-25	24.7	++	-	701-50	25.3	++	-

* 균사밀도: + 약, ++ 중, +++ 강

* 갈변정도: - 없음, + 연합, ++ 진함, +++ 매우진함

나. 산조702호의 일핵균주

산조702호 모균주에서 분리된 80개 일핵균주 중 현미경검경과 성장조사 등을 거쳐 20개 일핵균주를 선발하였다. 이 균주들을 PDA배지에 접종한 후 25℃에서 12일간 배양을 하여 균사생장 및 배양 특성을 조사한 결과 평균생장량 15.3mm/7일로 산조701호에서 분리된 일핵균주에 비해 저조하였으며 702-3균주에서 배양 15일차에 약한 갈변이 관찰되었다.

<표 3-3> 산조702호 균주의 일핵균주별 배양특성

균주번호	균사생장 (mm/7일)	균사 밀도	갈변 정도	균주번호	균사생장 (mm/7일)	균사 밀도	갈변 정도
702-1	10.7	++	-	702-11	18.7	++	-
702-2	15.3	++	-	702-12	15.3	++	-
702-3	12.7	++	+	702-13	13.3	++	-
702-4	14.7	++	-	702-14	16.0	++	-
702-5	13.3	++	-	702-15	14.0	++	-
702-6	10.0	++	-	702-16	19.3	+++	-
702-7	15.3	++	-	702-17	10.7	++	-
702-8	16.7	++	-	702-18	28.0	++	-
702-9	16.0	++	-	702-19	13.3	++	-
702-10	18.0	++	-	702-20	15.3	++	-

- * 균사밀도: + 약, ++ 중, +++ 강
- * 갈변정도: - 없음, + 연합, ++ 진함, +++ 매우진함



<그림 3-2> 일핵균주 다양한 균총형태
* PDA, 25°C, 12일 암배양

3. 교배균주 육성

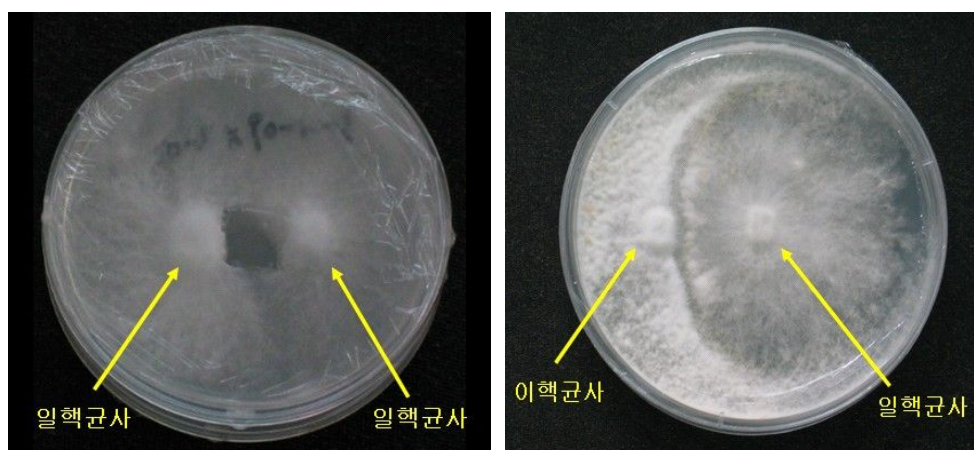
가. Mono-Mono mating

20개의 모균주로 부터 선발된 일핵균주는 PDA 평판배지에 10mm간격으로 대치 배양 하였다. 두 균주의 균사 성장 말단 부위가 서로 접촉된 것을 확인하고 1주일 간 더 배양한 후 균사가 접합된 중심부위를 이식·배양하였다. 배양균주는 현미경

으로 clamp connection의 생성여부를 다시 확인하고 모균주와의 독립성 검정, 균사의 생장 등을 종합하여 우수한 교배균주를 선발하였다. 총 22개 조합 10,740의 교잡을 실시하였으며 이중 현미경검경을 통하여 1차로 4,438균주를 선발하였다. 선발된 교배균주들은 PDA에서 배양하여 균사밀도, 피막형성, 갈변정도를 조사하고 리그닌 분해효소 활성을 측정하였다.

나. Di- Mono mating

선발 일핵균주는 산조701호, 산조702호 등의 기존 품종들의 버섯품질과 재배특성 등을 개선하기 위해 Di-Mono mating을 실시하였다. PDA 평판배지에 일핵균주를 우선 접종하여 7일간 배양 후 이핵균주를 접종하여 14일간 배양하여 일핵균사 부위를 이식·배양하였다. 배양균주는 현미경을 통하여 clamp connection의 생성여부를 검정하고 모균주와의 독립성 검정, 균사의 생장 등을 조사하여 교배균주를 선발하였다. 총 1,000개 조합의 교배를 실시하였으며 현미경검경을 통하여 이핵화가 확인된 765균주를 1차로 선발하였다. 선발된 교배균주들은 PDA에서 배양하여 균사밀도, 피막형성, 갈변정도를 조사하고 리그닌 분해효소 활성 등을 측정하였다.



<그림 3-3> Mono-Mono & Di-Mono mating

<표 3-4> 교배균주 육성현황

(단위: 균주)

교 배 조 합	교배조합수	이핵균주	최종선발	비 고
산조101호 × 산조103호	400	36	13	원목재배
산조101호 × 산조108호	400	223	149	원목재배
산조101호 × FMRI0259	400	87	31	원목재배
산조103호 × 산조108호	400	132	68	원목재배
FMRI0965 × FMRI0857	500	223	116	원목재배
FMRI0965 × FMRI0961	600	157	105	원목재배
FMRI0857 × 산조101호	400	341	40	원목재배
FMRI1012 × 산조110호	400	310	50	원목재배
산림5호 × FMRI0259	400	68	26	톱밥재배
FMRI0329 × FMRI0386	400	52	21	톱밥재배
FMRI0329 × FMRI0259	400	34	18	톱밥재배
FMRI0329 × 산림5호	400	89	35	톱밥재배
DG9001 × DG9002	400	45	18	톱밥재배
FMRI0965 × FMRI0962	1,000	163	93	톱밥재배
산조701호 × FMRI0299	380	150	19	톱밥재배
산조701호 × FMRI0315	400	67	23	톱밥재배
산조701호 × 산조702호	400	220	104	톱밥재배
산조701호 × DG9002	400	32	16	톱밥재배
산조701호 × 산조101호	400	246	150	원목/톱밥재배
산조701호 × FMRI0965	1,500	457	210	원목/톱밥재배
산조701호 × FMRI0857	380	254	58	원목/톱밥재배
산조701호 × FMRI0540	380	287	127	원목/톱밥재배
Di × Mono	1,000	765	129	원목/톱밥재배
총 계	10,740	4,438	1,619	

4. 교배균주의 모균주와 구별성

현미경 검경을 통해 1차로 선발된 4,438개의 교배균주를 삼각형 형태로 대치 접종한 후 25℃ 항온기에서 20일간 암배양을 하고 상온에 꺼내 20일간 명배양을 한 후에 모균주와의 대선 유무를 관찰하였으며 대선이 뚜렷하게 형성된 교배균주만을 선발하였다. Mono-Mono mating에서 1차 선발된 3,673개의 교배균주 중 모균주와 대선형성이 뚜렷한 1,492균주를 최종적으로 선발하였고, Di-Mono Mating에서 1차 선발된 765균주 중 129개 교배균주가 선발되어 총 1,619개의 교배균주가 최종 선발되었다.

<표 3-5> 산조701호 × FMRI0965 조합 모균주와 대선형성 유무

교배조합	대선형성유무		교배조합	대선형성유무	
	산조701호	FMRI0965		산조701호	FMRI0965
산조701호-1xFMRI0965-3	-	-	산조701호-7xFMRI0965-1	+	-
산조701호-1xFMRI0965-18	+	-	산조701호-7xFMRI0965-9	+	-
산조701호-2xFMRI0965-5	+	-	산조701호-7xFMRI0965-10	-	-
산조701호-2xFMRI0965-6	+	-	산조701호-7xFMRI0965-16	+	+
산조701호-2xFMRI0965-10	-	-	산조701호-7xFMRI0965-18	+	+
산조701호-2xFMRI0965-11	-	-	산조701호-9xFMRI0965-5	+	-
산조701호-2xFMRI0965-12	-	+	산조701호-9xFMRI0965-7	+	-
산조701호-2xFMRI0965-15	-	+	산조701호-9xFMRI0965-12	+	-
산조701호-2xFMRI0965-16	+	+	산조701호-9xFMRI0965-22	+	+
산조701호-2xFMRI0965-18	+	+	산조701호-10xFMRI0965-2	+	-
산조701호-2xFMRI0965-19	-	+	산조701호-10xFMRI0965-12	+	-
산조701호-2xFMRI0965-20	-	+	산조701호-10xFMRI0965-18	-	-
산조701호-4xFMRI0965-14	-	-	산조701호-10xFMRI0965-19	-	-
산조701호-4xFMRI0965-18	+	+	산조701호-11xFMRI0965-10	-	-
산조701호-4xFMRI0965-19	-	+	산조701호-11xFMRI0965-12	+	-
산조701호-5xFMRI0965-13	-	-	산조701호-11xFMRI0965-19	+	+
산조701호-5xFMRI0965-14	+	-	산조701호-12xFMRI0965-15	+	+
산조701호-5xFMRI0965-15	+	-	산조701호-12xFMRI0965-17	+	+
산조701호-6xFMRI0965-1	-	-	산조701호-12xFMRI0965-18	+	+
산조701호-6xFMRI0965-3	-	+	산조701호-13xFMRI0965-10	-	+
산조701호-6xFMRI0965-4	-	-	산조701호-13xFMRI0965-19	+	+
산조701호-6xFMRI0965-9	-	+	산조701호-13xFMRI0965-22	+	+
산조701호-6xFMRI0965-10	-	+	산조701호-13xFMRI0965-24	+	+
산조701호-6xFMRI0965-14	-	+	산조701호-13xFMRI0965-29	+	-
산조701호-6xFMRI0965-15	-	+	산조701호-16xFMRI0965-3	+	-
산조701호-6xFMRI0965-17	-	-	산조701호-16xFMRI0965-21	+	+
산조701호-6xFMRI0965-18	+	-	산조701호-16xFMRI0965-22	+	+
산조701호-6xFMRI0965-19	+	-	산조701호-16xFMRI0965-23	+	+

* +: 대선 형성됨, -: 대선 형성안됨

제 3 절 교배균주 생리적 특성

1. 교배균주 배양특성

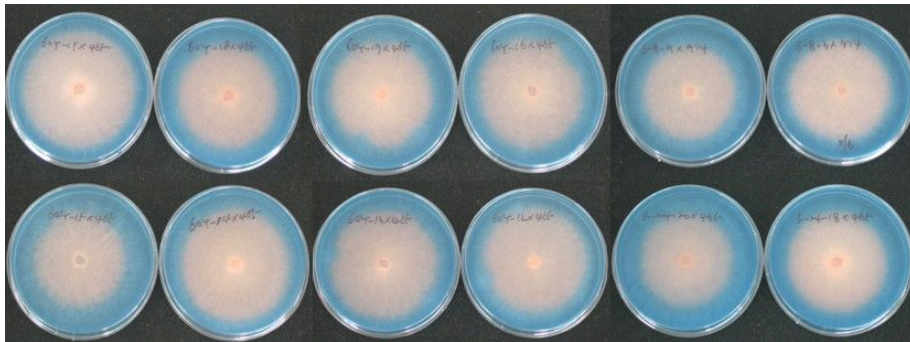
■ 재료 및 방법

가. 성장량, 피막형성, 갈변정도

독립성검정을 통하여 선발된 교배균주들은 $\varnothing 87\text{mm}$ Petri-dish PDA 배지의 중앙에 접종하여 25°C 에서 암배양하여 7일 후에 균사의 성장정도와 균밀도, 21일 후에 갈변정도, 30일경에 피막유무 등 배양특성을 조사하였다. 균사의 성장정도는 60mm/7일 이상을 A, 60미만 - 50mm/7일 이상을 B, 50미만 - 40mm/7일 이상을 C, 40mm/7일 미만을 D로 등급화 하였다.

나. 리그닌 분해력

선발된 교배균주들은 리그닌 분해효소 활성(Ligninase activity) 조사용 평판배지에 배양한 결과 시험균주의 성장에 따라 청색에서 백색 또는 옅은 노란색부위(clear zone)를 형성하였다. 배지 성분중 polymeric dye(remazol brilliant blue R)와 리그닌 분해효소와의 정색반응을 이용하여 clear zone이 형성된 직경을 접종 10일 후 측정하였다. 리그닌 분해력은 70mm/10일 이상을 A, 70미만 - 60mm/10일 이상을 B, 60 미만 - 50mm/10일 이상을 C, 50mm/10일 미만을 D로 등급화 하였다.



<그림 3-4> 교배균주의 리그닌 분해력 검정

다. 톱밥배지 성장

모균주와 독립성이 구별된 교배균주에 대해 참나무톱밥 배지에서 균사생장을 비교하였다. 접종 1주일마다 균사생장 정도를 측정하였다. 균사생장이 75mm/5주 이상을 A, 75미만 - 65mm/5주 이상을 B, 65미만 - 55mm/5주 이상을 C, 55mm/5주 미만을 D등급화 하였다.

■ 시험 결과



<그림 3-5> 참나무톱밥배지에서 교배균주의 균사생장

<표 3-6> 육성 교배균주 생리적 특성

등급	PDA 균사생장 ⁽¹⁾		리그닌 분해력 ⁽²⁾		톱밥배지 균사생장 ⁽³⁾	
	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)
A	388	24.0	474	29.3	318	19.6
B	485	30.0	511	31.6	597	36.9
C	432	26.7	376	23.2	450	27.8
D	314	19.3	258	15.9	254	15.7
계	1,619	100	1,619	100	1,619	100

(1) PDA 균사생장(mm/7일): 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D

(2) 리그닌 분해력(mm/10일): 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D

(3) 톱밥배지 균사생장(mm/5주): 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D.

<표 3-7> 선발 교배군주 내역 및 배양특성

군주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장		
		군사 생장	등급	군사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	군사 생장	등급	
산조702호	모 군 주	65.0	A	++	++	+++	51.0	C	78.0	A	
산조701호		57.0	B	++	++	+	69.0	B	67.0	B	
FMRI0965		47.0	C	+++	+++	+	63.0	B	63.0	C	
FMRI0962		63.0	A	++	+++	+++	71.0	A	71.0	B	
08-001		산조702호-1x산조701호-24	48.0	C	+	+	+	50.5	C	62.0	C
08-002		산조702호-1x산조701호-41	51.0	B	+	+	+++	70.0	B	70.0	B
08-003		산조702호-2x산조701호-30	54.0	B	++	++	++	46.0	D	66.5	B
08-004		산조702호-4x산조701호-39	57.0	B	++	++	+++	44.5	D	70.5	B
08-005		산조702호-4x산조701호-46	50.0	B	++	+	+	59.0	C	73.0	B
08-006		산조702호-5x산조701호-39	50.0	B	++	+	+++	63.5	B	65.0	B
08-007		산조702호-6x산조701호-2	52.0	B	++	++	+++	44.0	D	70.0	B
08-008		산조702호-6x산조701호-4	56.0	B	+++	+++	+++	55.0	C	68.5	B
08-009		산조702호-6x산조701호-11	51.0	B	++	+	++	53.5	C	65.5	B
08-010		산조702호-6x산조701호-12	52.0	B	++	++	+++	46.0	D	69.5	B
08-011		산조702호-6x산조701호-19	55.0	B	++	+	+	51.0	C	67.5	B
08-012		산조702호-6x산조701호-24	52.0	B	++	++	+	47.0	D	71.0	B
08-013		산조702호-6x산조701호-27	51.0	B	+	+	+	39.5	D	78.0	A
08-014		산조702호-6x산조701호-28	62.0	A	+	+	+	60.5	B	70.5	B
08-015		산조702호-6x산조701호-32	55.0	B	++	++	++	54.5	C	68.5	B
08-016		산조702호-6x산조701호-43	54.0	B	++	++	+++	59.0	C	70.0	B
08-017		산조702호-6x산조701호-44	48.0	C	++	+	+	60.0	C	67.0	B
08-018		산조702호-6x산조701호-50	57.0	B	+++	+++	+++	54.0	C	71.0	B
08-019		산조702호-7x산조701호-11	57.0	B	+++	+++	+++	71.0	A	67.5	B
08-020		산조702호-7x산조701호-12	57.0	B	+++	+++	+++	72.5	A	72.5	B
08-021		산조702호-7x산조701호-16	52.0	B	+++	++	+++	66.5	B	72.0	B
08-022		산조702호-7x산조701호-17	57.0	B	+++	+++	+++	70.0	B	67.0	B
08-023		산조702호-7x산조701호-18	52.0	B	+++	+++	++	62.5	B	70.0	B
08-024		산조702호-7x산조701호-20	58.0	B	++	+	+	63.5	B	70.5	B
08-025		산조702호-7x산조701호-21	59.0	B	+++	+++	+++	71.0	A	65.0	B
08-026		산조702호-7x산조701호-24	62.0	A	+++	+++	+++	57.5	C	68.5	B
08-027	산조702호-7x산조701호-27	65.0	A	+++	+++	+++	61.5	B	72.5	B	
08-028	산조702호-7x산조701호-41	67.0	A	+++	+++	+++	75.5	A	65.5	B	
08-029	산조702호-7x산조701호-44	66.0	A	+++	++	+++	72.0	A	70.0	B	
08-030	산조702호-7x산조701호-46	62.0	A	+++	+++	+++	65.5	B	69.0	B	

(1) PDA 군사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D

(2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D

(5) 톱밥배지 군사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배군주 내역 및 배양특성(계속)

군주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-031	산조702호-7x산조701호-47	57.0	B	+++	++	+++	71.5	A	64.5	C
08-032	산조702호-7x산조701호-49	64.0	A	++	++	+++	72.0	A	54.0	D
08-033	산조702호-9x산조701호-1	52.0	B	+++	+++	+++	53.5	C	66.0	B
08-034	산조702호-9x산조701호-5	55.0	B	+++	+++	+++	54.0	C	66.0	B
08-035	산조702호-9x산조701호-7	64.0	A	+++	+++	+++	56.5	C	79.0	A
08-036	산조702호-9x산조701호-13	58.0	B	+++	+++	+++	65.0	B	72.0	B
08-037	산조702호-9x산조701호-16	52.0	B	+++	+++	+++	52.5	C	71.5	B
08-038	산조702호-9x산조701호-26	44.0	C	++	+	++	43.5	D	73.5	B
08-039	산조702호-9x산조701호-29	51.0	B	++	+	++	53.0	C	72.5	B
08-040	산조702호-9x산조701호-35	50.0	B	+++	+++	++	62.0	B	73.0	B
08-041	산조702호-9x산조701호-47	48.0	C	++	+	++	0.0	D	66.5	B
08-042	산조702호-10x산조701호-39	51.0	B	++	++	+++	57.5	C	74.5	B
08-043	산조702호-11x산조701호-2	50.0	B	+++	++	+++	40.0	D	64.5	C
08-044	산조702호-11x산조701호-6	49.0	C	+	+	+	33.0	D	64.5	C
08-045	산조702호-11x산조701호-12	57.0	B	++	++	+++	52.0	C	61.5	C
08-046	산조702호-11x산조701호-24	61.0	A	++	+	+++	45.0	D	66.5	B
08-047	산조702호-11x산조701호-25	57.0	B	+++	++	+++	44.5	D	64.5	C
08-048	산조702호-11x산조701호-30	57.0	B	+++	++	+++	45.0	D	61.0	C
08-049	산조702호-11x산조701호-32	59.0	B	++	++	+++	44.5	D	64.0	C
08-050	산조702호-11x산조701호-39	63.0	A	+++	++	+++	62.0	B	73.5	B
08-051	산조702호-11x산조701호-41	64.0	A	+++	++	+++	67.5	B	76.0	A
08-052	산조702호-11x산조701호-44	63.0	A	+++	++	+++	41.0	D	75.0	A
08-053	산조702호-11x산조701호-50	60.0	A	++	+	++	68.0	B	80.0	A
08-054	산조702호-12x산조701호-5	59.0	B	++	++	+++	70.0	B	74.0	B
08-055	산조702호-12x산조701호-13	60.0	A	++	+	+++	75.5	A	66.5	B
08-056	산조702호-12x산조701호-16	52.0	B	++	+++	+++	57.5	C	77.5	A
08-057	산조702호-12x산조701호-18	51.0	B	++	++	++	70.5	A	75.5	A
08-058	산조702호-12x산조701호-20	56.0	B	+	+	+	68.0	B	77.5	A
08-059	산조702호-12x산조701호-21	55.0	B	++	++	+++	61.5	B	73.5	B
08-060	산조702호-12x산조701호-26	53.0	B	++	+	+	불균일	D	79.0	A

(1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D

(2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D

(5) 톱밥배지 균사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배군주 내역 및 배양특성(계속)

군주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-061	산조702호-12x산조701호-29	49.0	C	++	++	++	68.0	B	70.5	B
08-062	산조702호-12x산조701호-35	60.0	A	+++	+	+++	74.0	A	73.5	B
08-063	산조702호-12x산조701호-37	57.0	B	+	+	+	71.5	A	66.5	B
08-064	산조702호-12x산조701호-45	60.0	A	+	+	+	76.0	A	75.0	A
08-065	산조702호-12x산조701호-47	53.0	B	+++	+++	+++	74.0	A	76.5	A
08-066	산조702호-12x산조701호-49	61.0	A	++	++	+++	72.0	A	79.0	A
08-067	산조702호-13x산조701호-6	56.0	B	+	+	+	54.0	C	73.5	B
08-068	산조702호-13x산조701호-9	56.0	B	+	+	+	56.5	C	75.0	A
08-069	산조702호-13x산조701호-21	69.0	A	+	+	+	53.0	C	67.0	B
08-070	산조702호-13x산조701호-22	59.0	B	+	++	++	불균일	D	71.0	B
08-071	산조702호-13x산조701호-24	57.0	B	+	+	+	48.0	D	62.0	C
08-072	산조702호-13x산조701호-25	58.0	B	+	+	++	53.0	C	64.5	C
08-073	산조702호-13x산조701호-32	63.0	A	+	+	++	62.0	B	64.5	C
08-074	산조702호-13x산조701호-33	61.0	A	+	+	+	46.0	D	55.0	C
08-075	산조702호-13x산조701호-39	54.0	B	+++	++	+++	74.0	A	68.5	B
08-076	산조702호-13x산조701호-40	62.0	A	+	+	+	54.0	C	61.5	C
08-077	산조702호-13x산조701호-42	65.0	A	+	+	++	54.5	C	45.0	D
08-078	산조702호-13x산조701호-44	64.0	A	+	++	++	56.0	C	69.5	B
08-079	산조702호-13x산조701호-46	61.0	A	+	+	+	34.0	D	62.5	C
08-080	산조702호-15x산조701호-4	62.0	A	+	+	+	62.5	B	68.5	B
08-081	산조702호-15x산조701호-21	61.0	A	++	+	+	57.5	C	68.5	B
08-082	산조702호-15x산조701호-39	67.0	A	++	++	++	66.5	B	63.0	C
08-083	산조702호-16x산조701호-1	65.0	A	+	+	+	49.5	D	71.0	B
08-084	산조702호-16x산조701호-16	65.0	A	++	+	+	64.5	B	69.0	B
08-085	산조702호-16x산조701호-18	63.0	A	+++	++	+++	71.0	A	62.0	C
08-086	산조702호-16x산조701호-21	58.0	B	++	+	+++	47.0	D	21.5	D
08-087	산조702호-16x산조701호-35	68.0	A	+++	++	+++	72.5	A	77.0	A
08-088	산조702호-16x산조701호-38	60.0	A	++	+	+	63.5	B	77.5	A
08-089	산조702호-17x산조701호-9	59.0	B	++	+	+	66.5	B	75.5	A
08-090	산조702호-17x산조701호-19	60.0	A	++	+	+	58.0	C	64.5	C

(1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D

(2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++

(4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D

(5) 톱밥배지 균사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배균주 내역 및 배양특성(계속)

균주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-091	산조702호-17x산조701호-22	57.0	B	++	+	+	58.5	C	77.0	A
08-092	산조702호-17x산조701호-30	60.0	A	++	+	+	57.0	C	67.5	B
08-093	산조702호-17x산조701호-39	60.0	A	++	++	++	59.5	C	58.0	C
08-094	산조702호-17x산조701호-44	60.0	A	++	+	+	51.5	C	67.0	B
08-095	산조702호-18x산조701호-2	57.0	B	+	+	+	0.0	D	70.5	B
08-096	산조702호-18x산조701호-5	57.0	B	+++	++	+	42.5	D	66.0	B
08-097	산조702호-18x산조701호-7	59.0	B	++	+	+	42.5	D	79.0	A
08-098	산조702호-18x산조701호-29	47.0	C	++	+	+	67.5	B	73.0	B
08-099	산조702호-18x산조701호-35	64.0	A	++	+	+	66.5	B	78.0	A
08-100	산조702호-18x산조701호-37	51.0	B	+	+	+	65.0	B	75.5	A
08-101	산조702호-18x산조701호-47	55.0	B	++	+	+	49.0	D	71.0	B
08-102	산조702호-19x산조701호-2	60.0	A	++	+	+	64.0	B	74.0	B
08-103	산조702호-19x산조701호-19	67.0	A	++	+	+	60.5	B	81.0	A
08-104	산조702호-20x산조701호-47	51.0	B	++	+	+	64.5	B	76.0	A
08-105	FMRI0965-1xFMRI0962-1	50.0	B	+++	++	+	42.0	D	70.5	B
08-106	FMRI0965-1xFMRI0962-7	50.0	B	+++	+++	+++	74.5	A	69.0	B
08-107	FMRI0965-1xFMRI0962-8	51.0	B	+++	++	++	41.0	D	70.0	B
08-108	FMRI0965-2xFMRI0962-7	50.5	B	+++	+++	+++	73.0	A	72.5	B
08-109	FMRI0965-2xFMRI0962-11	50.0	B	++	++	+	59.5	C	69.0	B
08-110	FMRI0965-2xFMRI0962-14	49.0	C	++	++	++	78.0	A	71.5	B
08-111	FMRI0965-2xFMRI0962-15	49.0	C	++	+	+	67.5	B	67.0	B
08-112	FMRI0965-2xFMRI0962-20	49.0	C	++	++	++	69.5	B	65.5	B
08-113	FMRI0965-4xFMRI0962-2	52.0	B	+++	++	+++	74.0	A	69.5	B
08-114	FMRI0965-4xFMRI0962-13	48.0	C	++	+	+	49.0	D	40.5	D
08-115	FMRI0965-5xFMRI0962-1	46.0	C	++	+++	+++	0.0	D	76.5	A
08-116	FMRI0965-5xFMRI0962-3	52.0	B	+++	++	++	0.0	D	65.0	B
08-117	FMRI0965-5xFMRI0962-5	48.0	C	++	++	++	68.0	B	82.5	A
08-118	FMRI0965-5xFMRI0962-7	48.5	C	+++	+++	+++	79.5	A	67.0	B
08-119	FMRI0965-5xFMRI0962-10	44.0	C	++	+++	++	72.0	A	73.0	B
08-120	FMRI0965-5xFMRI0962-16	36.5	D	++	++	++	78.5	A	70.5	B

- (1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D
- (2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D
- (5) 톱밥배지 균사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배군주 내역 및 배양특성(계속)

군주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-121	FMRI0965-6xFMRI0962-7	54.0	B	+++	+++	+++	68.0	B	73.5	B
08-122	FMRI0965-6xFMRI0962-11	48.5	C	+++	++	+	62.5	B	55.0	C
08-123	FMRI0965-7xFMRI0962-3	29.0	D	+	+	+	50.0	D	75.0	A
08-124	FMRI0965-7xFMRI0962-9	35.0	D	+	+	+	71.0	A	73.5	B
08-125	FMRI0965-7xFMRI0962-12	34.0	D	+	+	+	74.0	A	68.5	B
08-126	FMRI0965-7xFMRI0962-19	36.0	D	+	+	+	60.0	C	73.0	B
08-127	FMRI0965-9xFMRI0962-7	35.0	D	+	++	++	70.5	A	75.5	A
08-128	FMRI0965-9xFMRI0962-11	28.0	D	+	++	+	63.0	B	72.5	B
08-129	FMRI0965-10xFMRI0962-5	31.0	D	+	+	+	77.0	A	55.5	C
08-130	FMRI0965-10xFMRI0962-6	41.0	C	+	+	+	69.0	B	67.0	B
08-131	FMRI0965-13xFMRI0962-5	37.0	D	++	++	+	72.5	A	61.5	C
08-132	FMRI0965-13xFMRI0962-6	44.0	C	+	+	+	53.0	C	76.0	A
08-133	FMRI0965-13xFMRI0962-10	38.5	D	+	+	+	58.5	C	74.0	B
08-134	FMRI0965-13xFMRI0962-16	38.0	D	++	+++	++	70.5	A	63.0	C
08-135	FMRI0965-13xFMRI0962-18	41.0	C	+	+	+	60.5	B	69.5	B
08-136	FMRI0965-14xFMRI0962-5	44.0	C	++	++	+	76.0	A	62.5	C
08-137	FMRI0965-14xFMRI0962-7	47.5	C	++	+++	+++	80.0	A	67.5	B
08-138	FMRI0965-14xFMRI0962-12	47.5	C	++	+	+	68.5	B	76.5	A
08-139	FMRI0965-15xFMRI0962-7	40.0	C	+	+	+	78.0	A	75.0	A
08-140	FMRI0965-16xFMRI0962-1	47.5	C	+++	++	++	64.5	B	72.5	B
08-141	FMRI0965-16xFMRI0962-7	51.0	B	+++	+++	+++	76.5	A	71.5	B
08-142	FMRI0965-16xFMRI0962-10	51.5	B	+++	+++	+++	65.0	B	66.0	B
08-143	FMRI0965-16xFMRI0962-12	48.0	C	++	+++	++	72.0	A	68.0	B
08-144	FMRI0965-16xFMRI0962-18	47.5	C	+++	+++	++	75.0	A	41.5	D
08-145	FMRI0965-17xFMRI0962-2	41.5	C	+	+	+	79.0	A	69.0	B
08-146	FMRI0965-17xFMRI0962-7	38.5	D	+	++	+	76.5	A	66.5	B
08-147	FMRI0965-18xFMRI0962-7	50.5	B	+++	+++	++	81.0	A	69.0	B
08-148	FMRI0965-19xFMRI0962-20	45.0	C	+++	++	+	56.0	C	67.0	B
08-149	FMRI0965-20xFMRI0962-2	50.0	B	++	+	+	82.0	A	68.0	B
08-150	FMRI0965-21xFMRI0962-2	47.0	C	++	+	+	79.0	A	56.5	C

- (1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D
- (2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D
- (5) 톱밥배지 균사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배군주 내역 및 배양특성(계속)

군주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-151	FMRI0965-21xFMRI0962-7	45.0	C	++	+++	+++	73.0	A	52.0	D
08-152	FMRI0965-22xFMRI0962-7	44.5	C	++	++	++	70.0	B	75.5	A
08-153	FMRI0965-23xFMRI0962-7	41.5	C	++	+	+	80.0	A	75.0	A
08-154	FMRI0965-24xFMRI0962-2	31.5	D	+	+	+	75.5	A	80.0	A
08-155	FMRI0965-24xFMRI0962-4	31.0	D	+	++	++	71.5	A	72.0	B
08-156	FMRI0965-24xFMRI0962-13	58.5	B	++	+	+	47.5	D	76.0	A
08-157	FMRI0965-24xFMRI0962-17	42.0	C	+	++	+	51.0	C	70.0	B
08-158	FMRI0965-25xFMRI0962-7	44.5	C	++	+++	++	54.5	C	72.5	B
08-159	FMRI0965-26xFMRI0962-19	36.0	D	+	+	+	60.5	B	72.0	B
08-160	FMRI0965-29xFMRI0962-2	38.5	D	+	+	+	78.5	A	68.0	B
08-161	FMRI0965-30xFMRI0962-7	37.0	D	+	++	+	70.0	B	67.0	B
08-162	FMRI0965-31xFMRI0962-7	37.0	D	+	+++	++	66.5	B	73.5	B
08-163	FMRI0965-31xFMRI0962-17	30.5	D	+	++	+	61.5	B	66.5	B
08-164	FMRI0965-32xFMRI0962-2	36.5	D	+	+	+	71.0	A	70.0	B
08-165	FMRI0965-35xFMRI0962-8	39.0	D	++	+	+	59.5	C	63.5	C
08-166	FMRI0965-37xFMRI0962-10	48.0	C	++	+	+	63.0	B	68.0	B
08-167	FMRI0965-37xFMRI0962-12	45.5	C	++	+	+	75.0	A	66.0	B
08-168	FMRI0965-37xFMRI0962-18	39.5	D	+	+	+	79.5	A	18.5	D
08-169	FMRI0965-39xFMRI0962-7	54.5	B	+++	+++	+++	44.0	D	73.0	B
08-170	FMRI0965-39xFMRI0962-13	56.5	B	+++	+++	+	46.0	D	70.5	B
08-171	FMRI0965-39xFMRI0962-14	43.0	C	+++	++	+++	48.0	D	70.0	B
08-172	FMRI0965-39xFMRI0962-15	54.0	B	++	+++	++	40.0	D	68.0	B
08-173	FMRI0965-39xFMRI0962-17	57.0	B	+++	+++	+++	53.0	C	72.5	B
08-174	FMRI0965-39xFMRI0962-20	48.0	C	+++	++	+++	48.0	D	77.0	A
08-175	FMRI0965-40xFMRI0962-2	39.0	D	+	++	+	37.0	D	99.0	A
08-176	FMRI0965-40xFMRI0962-14	32.0	D	+	+	+	45.0	D	74.5	B
08-177	FMRI0965-41xFMRI0962-13	59.0	B	+++	+++	+++	0.0	D	73.0	B
08-178	FMRI0965-41xFMRI0962-14	56.0	B	+++	++	+++	0.0	D	61.0	C
08-179	FMRI0965-41xFMRI0962-15	50.0	B	+++	++	+	55.0	C	76.0	A
08-180	FMRI0965-41xFMRI0962-17	53.0	B	+++	++	+++	44.0	D	74.5	B

- (1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D
- (2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D
- (5) 톱밥배지 균사생장(mm/5주)등급: 75이상 A, 75미만-65이상 B, 65미만 55이상 C, 55미만 D

<표 3-7> 선발 교배균주 내역 및 배양특성(계속)

균주명	교 배 조 합	PDA					리그닌 분해력		톱밥배지 생장	
		균사 생장	등급	균사 밀도	갈변 정도	피막 정도	분해환	등급	균사 생장	등급
08-181	FMRI0965-42xFMRI0962-7	58.0	B	+++	+++	+++	43.0	D	79.5	A
08-182	FMRI0965-42xFMRI0962-11	49.0	C	++	+	+	48.5	D	67.0	B
08-183	FMRI0965-42xFMRI0962-13	51.0	B	+++	+++	+	45.0	D	76.5	A
08-184	FMRI0965-42xFMRI0962-14	55.0	B	+++	+++	+	48.0	D	76.0	A
08-185	FMRI0965-42xFMRI0962-20	55.0	B	+++	++	+	44.0	D	90.0	A
08-186	FMRI0965-43xFMRI0962-7	40.5	C	++	+++	+	44.0	D	85.0	A
08-187	FMRI0965-43xFMRI0962-17	36.0	D	+	++	+	48.0	D	89.5	A
08-188	FMRI0965-43xFMRI0962-20	37.5	D	+	++	+	45.0	D	76.0	A
08-189	FMRI0965-44xFMRI0962-7	58.0	B	+++	+++	+++	40.5	D	81.5	A
08-190	FMRI0965-44xFMRI0962-11	58.5	B	+++	++	++	46.0	D	87.0	A
08-191	FMRI0965-44xFMRI0962-14	57.5	B	+++	+++	+++	40.0	D	76.5	A
08-192	FMRI0965-44xFMRI0962-15	57.0	B	+++	+++	+	48.5	D	85.0	A
08-193	FMRI0965-44xFMRI0962-20	54.0	B	+++	++	++	45.5	D	75.0	A
08-194	FMRI0965-45xFMRI0962-1	49.5	C	+++	+	+	0.0	D	72.0	B
08-195	FMRI0965-45xFMRI0962-7	49.5	C	+++	+++	++	41.0	D	67.0	B
08-196	FMRI0965-45xFMRI0962-12	53.5	B	++	+	+	49.5	D	69.0	B
08-197	FMRI0965-46xFMRI0962-7	52.5	B	+++	+++	+++	53.0	C	73.0	B

- (1) PDA 균사생장(mm/7일)등급: 60이상 A, 60미만-50이상 B, 50미만-40이상 C, 40mm/7일 미만 D
- (2) 피막정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (3) 갈변정도: 약 +, 중 ++, 강 ++
- (4) 리그닌 분해력(mm/10일)등급: 70이상 A, 70미만-60이상 B, 60미만- 50이상 C, 50미만 D

위 표는 선발된 교배균주의 배양특성을 조사한 결과 중 일부를 나타낸 것이다. PDA 배지에서 균사생장, 리그닌 분해력, 톱밥배지 생장은 등급화 하였으며 각 항목 간에 연관성은 보이지 않았다. PDA 배지에서 균사생장량이 A등급이라 하더라도 리그닌 분해력이나 톱밥배지 생장량은 B 또는 C를 보이는 경우도 다수 존재 하였다. 또한 PDA배지에서 균사의 밀도가 높으면 갈변과 피막형성 정도도 높은 값을 보이는 경향을 보였으나 반대인 경우도 일부 관찰되었다. 그리고 모균주가 PDA 배지에서 생장량, 리그닌 분해력이 높은 경우 교배균주들도 다른 모균주를 사용한 그룹에 비해 높은 결과를 보였다.

제 4 절 교배균주 자실체 특성

1. 원목재배 자실체 특성

가. 원목재배 종균 접종

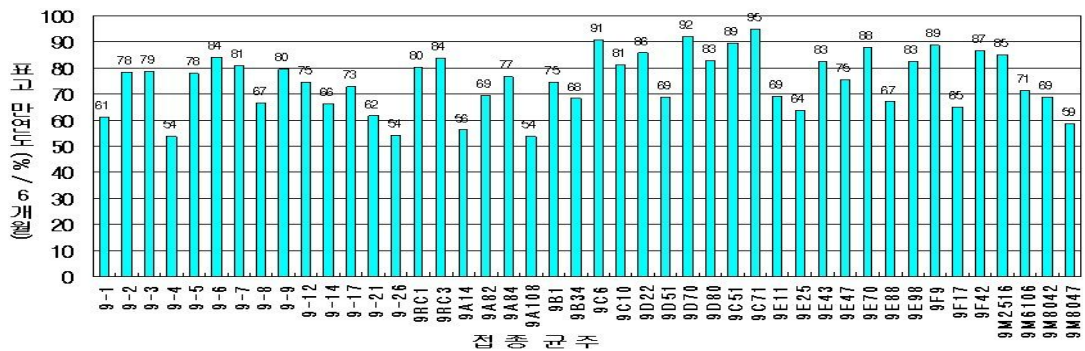
시험에 사용된 원목은 강원도 인제, 여주 산북, 충북 영동 등지에서 12월에 벌채한 신갈나무와 상수리나무를 주로 사용하였다. 시험목 길이는 120cm, 직경은 12 ~ 15cm 규격의 원목을 선별하여 접종하였다. 매년 4월 중순에 전년도에 선발된 교배균주를 접종하여 1년간 배양 후 그 이듬해부터 2년간 자실체를 수확하여 총 3년에 걸쳐 자실체 특성을 조사하였다.

<표 3-8> 연차별 교배균주 및 종균 접종 분수

연도	계	2006	2007	2008	2009	2010	2011
교배균주(수)	1,385	179 (수집균주)	233	310	300	348	15 (우수균주)
시험본(수)	13,000	2,000	2,300	2,200	2,500	2,000	2,000

나. 시험목 균사 만연도 조사

매년 새로운 접종목에 대하여 접종 6개월 후 균사 만연율을 조사하였다. 시험여건상 전체조사 대신에 임의적으로 50여개의 균주를 샘플링 하여 20cm 단목으로 잘라 표고 균사 만연 부위를 트레싱페이퍼에 그려 총 면적대비 균사 만연 부위를 비율로 표시하였다. 매년 새로 접종한 시험목의 모든 조사균주는 50%이상 균사 만연이 이루어졌으며, 2009년도에 접종한 시험균주 중 9C6, 9D70, 9C71균주는 균사 만연율이 90%이상으로 조사되었고, 특히 9C71균주가 95%로 가장 균사 만연율이 높았다.



<그림 3-6> 2009년 접종 시험목의 균사만연율

다. 자실체 생산성

(1) 2007년 원목집종 교배균주

산조 101호와 산조103호의 교배조합 7E 계열은 실내시험을 통해 68개 균주를 선발하여 3년간 버섯수확량을 조사한 결과, 본당 수확량이 1000g이상이 넘는 균주는 7E-57등 9개 균주 이었으며, 7E-40등 40개 균주는 500g이하로 수확되었다. E시리즈 균주중 최고 본당 수확량은 1,250g으로 기록되었지만 전체적으로 품질과 생산성이 많이 낮았다. 산조 101호와 산조108호의 교배조합을 통해 선발된 교배균주에 대한 3년간 버섯 수확량은 7G11가 본당 수확량이 1963g으로 최고이었으나 개체중이 14.9g으로 낮았다. 본당 1000g이상의 균주도 7G11 등을 포함한 34균주이었으며, 500g이하는 61균주가 되었다. 산조101호를 한쪽 모균주로 교배조합에서 산조103호 보다는 산조108호의 교배조합이 대체적으로 다수확성임을 볼 수 있었다. 우수균주에 대한 자실체 제원내역은 다음 장에서 기술하고자 한다.

(2) 2008년 원목집종 교배균주

2008년에는 산조101호와 톱밥재배용 품종인 산조701호의 일액균사간 교배조합을 통한 선발 8A시리즈 교배균주 181개와 다양한 모균주를 이용한 일액균사와 이핵균사의 Di-mono mating을 한 137개의 8AD교배균주가 원목에 접종되었다. 다음해부터 2년간 버섯생산량을 비교하였다. 8A균주 중에서 8A-174균주만이 본당 1084g이었고, 500g 이상인 균주는 30개 균주이었다. 8AD 시리즈 균주들은 1000g이 넘는 균주가 없었으며 500g 이상인 균주도 8AD-59를 포함한 9균주가 기록되었다. 각각의 시험균주에 대한 생산량과 개체중, 자실체 제원조사가 진행되었다. 우수균주에 대한 자실체 제원내역은 다음 장에서 기술하고자 한다.

(3) 2009년 원목집종 교배균주

2009년에는 산조701호와 야생에서 채집되어 모균주로 선발된 FMRI0961, FMRI0962, 수집균주 FMRI0965를 이용하여 각각 100개씩 교배균주를 선발하여 원목에 접종하였다. 자실체 특성을 알아보기 위해서 2010년 버섯발생을 하였으나, 원목재배용 품종의 경우, 자실체 특성 파악을 위해서는 최소 2년 이상 조사가 진행되어야 하기 때문에 본 연구보고서에서는 생략한다. 향후 버섯자실체 특성 및 생산성을 검토한 후 연구기간이 종결 된 후라도 우수한 품종이 선발되면 품종보호출원을 할 계획이다.

<표 3-9> 2007년 원목집종 교배균주 자실체 수확량(7E)

(단위: g,개)

균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체중량	균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체중량
7E-1	551.1	36.4	15.1	7E-35	951.5	35.5	26.8
7E-2	535.2	37.0	14.5	7E-36	630.4	33.1	19.1
7E-3	304.9	24.7	12.3	7E-37	796.9	64.3	12.4
7E-4	596.7	35.7	16.7	7E-38	849.9	67.5	12.6
7E-5	439.4	36.1	12.2	7E-39	1236.0	73.9	16.7
7E-6	450.5	37.0	12.2	7E-40	484.5	32.1	15.1
7E-7	337.4	26.4	12.8	7E-41	592.0	34.7	17.0
7E-8	538.8	36.9	14.6	7E-42	945.7	51.8	18.2
7E-9	559.5	37.3	15.0	7E-43	673.8	38.3	17.6
7E-10	457.4	39.9	11.5	7E-44	505.3	35.0	14.5
7E-11	327.4	25.6	12.8	7E-45	1131.3	62.3	18.2
7E-12	608.2	46.1	13.2	7E-46	87.6	4.6	18.9
7E-13	480.3	37.1	13.0	7E-47	477.6	27.8	17.2
7E-14	411.6	25.1	16.4	7E-48	214.2	16.0	13.4
7E-15	1217.1	78.3	15.5	7E-49	763.4	55.3	13.8
7E-16	971.5	75.3	12.9	7E-50	763.2	68.3	11.2
7E-17	991.8	71.2	13.9	7E-51	805.2	54.0	14.9
7E-18	1126.4	84.1	13.4	7E-52	735.1	60.4	12.2
7E-19	626.0	45.9	13.7	7E-53	645.1	41.9	15.4
7E-20	746.5	53.2	14.0	7E-54	415.6	31.3	13.3
7E-21	1033.5	60.6	17.0	7E-55	138.3	10.6	13.0
7E-22	1143.5	69.2	16.5	7E-56	332.9	23.1	14.4
7E-23	866.4	49.7	17.4	7E-57	1249.6	81.3	15.4
7E-24	255.8	16.9	15.1	7E-58	209.4	22.3	9.4
7E-25	1228.7	98.3	12.5	7E-59	737.3	69.7	10.6
7E-26	526.9	36.8	14.3	7E-60	1092.3	90.1	12.1
7E-27	871.7	62.0	14.1	7E-61	392.9	32.3	12.2
7E-28	746.7	56.5	13.2	7E-62	950.9	85.4	11.1
7E-29	795.9	122.8	6.5	7E-63	514.8	51.4	10.0
7E-30	550.3	34.0	16.2	7E-64	811.3	70.8	11.5
7E-31	550.2	37.7	14.6	7E-65	787.8	76.0	10.4
7E-32	900.9	66.5	13.5	7E-66	524.3	42.1	12.4
7E-33	997.9	53.7	18.6	7E-67	448.3	38.5	11.7
7E-34	562.9	39.7	14.2	7E-68	264.2	23.5	11.2

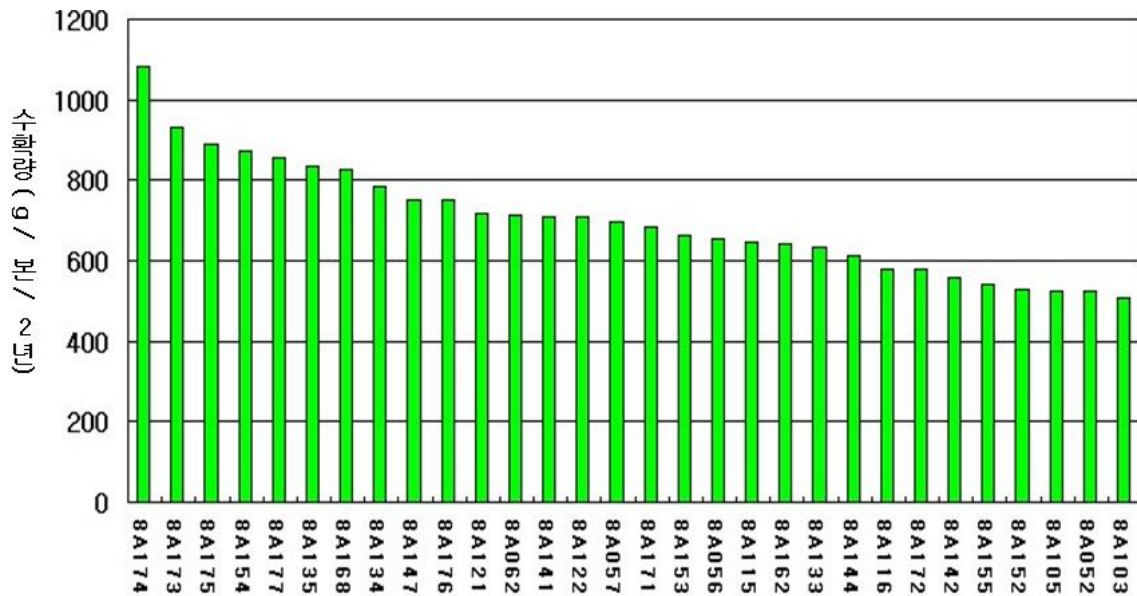
<표 3-10> 2007년 원목집종 교배균주 자실체 수확량(7G)

(단위: g,개)

균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체 중량	균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체 중량	균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체 중량
7G1	1163.0	83.5	13.9	7G31	1129.3	104.6	10.8	7G61	711.1	36.6	19.4
7G2	1732.8	104.1	16.7	7G32	1181.4	112.9	10.5	7G62	593.3	36.1	16.5
7G3	935.5	66.3	14.1	7G33	972.5	70.0	13.9	7G63	872.3	63.1	13.8
7G4	770.4	59.4	13.0	7G34	965.5	63.0	15.3	7G64	622.3	34.3	18.1
7G5	1333.1	87.4	15.3	7G35	1200.8	93.6	12.8	7G65	961.2	53.2	18.1
7G6	1032.5	66.8	15.5	7G36	842.5	80.0	10.5	7G66	746.4	38.9	19.2
7G7	984.9	59.7	16.5	7G37	1266.4	82.2	15.4	7G67	732.4	41.9	17.5
7G8	1616.6	103.1	15.7	7G38	834.2	57.5	14.5	7G68	1043.2	49.0	21.3
7G9	1272.7	82.0	15.5	7G39	1023.1	77.4	13.2	7G69	1028.2	46.2	22.3
7G10	1924.7	128.2	15.0	7G40	905.0	59.3	15.3	7G70	224.8	22.8	9.9
7G11	1963.1	131.4	14.9	7G41	270.6	34.6	7.8	7G71	430.0	24.0	17.9
7G12	824.9	47.7	17.3	7G42	633.1	33.1	19.1	7G72	515.4	27.4	18.8
7G13	1176.8	79.3	14.8	7G43	404.6	21.1	19.2	7G73	139.2	15.2	9.2
7G14	1931.1	121.6	15.9	7G44	320.2	19.2	16.7	7G74	422.8	22.8	18.5
7G15	1154.8	78.8	14.7	7G45	677.6	34.1	19.9	7G75	404.9	28.7	14.1
7G16	1651.4	101.2	16.3	7G46	371.6	25.6	14.5	7G76	574.5	33.3	17.3
7G17	1162.8	95.6	12.2	7G47	469.6	33.6	14.0	7G77	573.8	31.8	18.0
7G18	1277.6	94.1	13.6	7G48	374.7	36.2	10.4	7G78	286.6	24.6	11.7
7G19	892.4	33.4	26.7	7G49	363.3	21.6	16.9	7G79	399.0	35.0	11.4
7G20	1828.2	104.0	17.6	7G50	382.9	39.7	9.7	7G80	276.2	22.2	12.4
7G21	1344.3	90.8	14.8	7G51	728.9	30.7	23.8	7G81	493.8	33.8	14.6
7G22	574.4	63.9	9.0	7G52	393.9	92.2	4.3	7G82	186.2	24.2	7.7
7G23	1837.7	117.2	15.7	7G53	578.5	27.0	21.4	7G83	523.4	31.9	16.4
7G24	946.8	63.6	14.9	7G54	361.7	24.2	14.9	7G84	436.6	19.4	22.6
7G25	644.7	44.5	14.5	7G55	409.0	33.0	12.4	7G85	1137.1	50.4	22.6
7G26	1904.8	92.3	20.6	7G56	205.8	8.8	23.4	7G86	664.9	42.4	15.7
7G27	706.2	75.5	9.4	7G57	914.9	52.9	17.3	7G87	879.2	41.5	21.2
7G28	1736.9	147.4	11.8	7G58	560.0	29.5	19.0	7G88	733.5	28.0	26.2
7G29	984.9	79.2	12.4	7G59	435.1	19.9	21.9	7G89	806.7	53.5	15.1
7G30	1056.5	65.5	16.1	7G60	588.0	31.3	18.8	7G90	1408.8	64.1	22.0

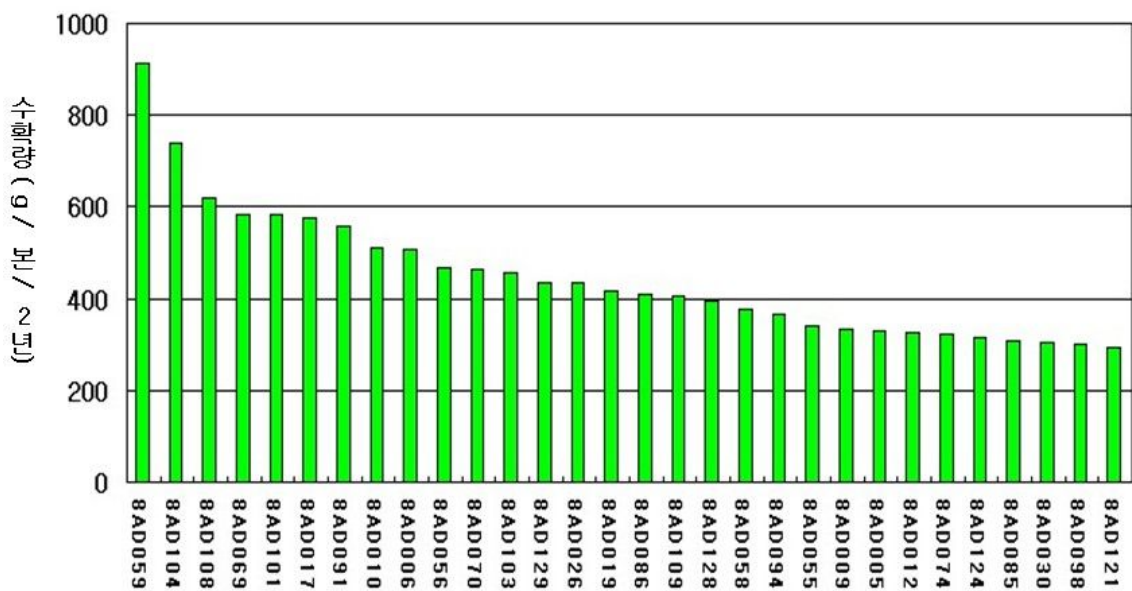
<표 3-10> 2007년 원목집종 교배균주 자실체 수확량(7G) 계속 (단위: g,개)

균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체중량	균주명	본당 수확량	본당 개체수	개체중량
7G91	387.9	19.2	20.3	7G122	400.5	27.3	14.7
7G92	366.8	18.8	19.5	7G123	347.6	20.6	16.9
7G93	1087.9	64.7	16.8	7G124	550.4	34.4	16.0
7G94	701.2	29.7	23.6	7G125	606.8	28.8	21.1
7G95	1522.4	42.2	36.1	7G126	443.2	29.2	15.2
7G96	691.4	52.2	13.3	7G127	780.0	82.0	9.5
7G97	673.8	47.8	14.1	7G128	493.3	32.8	15.0
7G98	458.6	39.1	11.7	7G129	1536.2	44.2	34.8
7G99	430.1	24.1	17.8	7G130	811.3	57.1	14.2
7G100	451.7	28.7	15.7	7G131	496.7	20.5	24.3
7G101	253.1	14.4	17.6	7G132	322.0	25.3	12.8
7G102	325.4	21.4	15.2	7G133	646.2	25.0	25.9
7G103	156.8	10.8	14.5	7G134	177.6	9.1	19.5
7G104	378.4	22.2	17.1	7G135	1027.2	56.0	18.4
7G105	522.4	23.7	22.1	7G136	658.6	51.4	12.8
7G106	969.0	50.1	19.4	7G137	704.3	36.6	19.3
7G107	237.7	9.7	24.5	7G138	334.7	21.0	16.0
7G108	238.4	14.7	16.3	7G139	50.6	2.6	19.5
7G109	405.0	22.8	17.8	7G140	624.4	32.7	19.1
7G110	316.2	14.2	22.3	7G141	273.0	13.5	20.2
7G111	517.2	29.2	17.7	7G142	326.4	26.4	12.4
7G112	387.3	29.1	13.3	7G143	292.4	18.4	15.9
7G113	684.8	48.8	14.0	7G144	539.4	49.4	10.9
7G114	351.2	27.2	12.9	7G145	780.4	44.4	17.6
7G115	508.1	26.6	19.1	7G146	496.3	25.1	19.8
7G116	453.2	27.7	16.4	7G147	550.0	34.5	15.9
7G117	185.0	11.0	16.8	7G148	355.8	35.8	9.9
7G118	455.7	20.5	22.3	7G149	260.4	14.4	18.1
7G119	440.1	27.9	15.8	7G150	1242.6	75.6	16.4
7G120	298.8	26.8	11.1	7G151	368.6	26.6	13.9
7G121	400.0	28.3	14.2	7G152	484.0	40.0	12.1



교 배 군 주

<그림 3-7> 2008년 원목접종 교배군주 자실체 수확량(8A)



교 배 군 주

<그림 3-8> 2008년 원목접종 교배군주 자실체 수확량(8AD)

2. 톱밥배배 자실체 특성

■ 재료 및 방법

가. 시험배배 균주

<표 3-11> 연차별 교배균주의 시험배배 균주수

연 도	계	2006	2007	2008	2009	2010	2011
교배균주(수)	1,149	82 (수집)	252	307	300	188	20 (우수균주)
시험규모(봉)	39,228	4,100	6,048	7,368	7,200	4,512	10,000

나. 톱밥배지의 제조

자실체 발생시험용 톱밥배지는 참나무(상수리) 톱밥을 주원료로 사용하였으며, 입봉기를 이용하여 중량 1.5kg의 원통형 배지를 제조하였다. 참나무 톱밥은 평균입자가 고운 것(1~2mm)과 약간 굵은 것(2~3mm) 두 가지를 5 : 5로 혼합하여 사용하였으며 수분함량은 55~58%내외로 조절하였다. 톱밥배지의 재료 혼합비율은 아래 표와 같다.

<표 3-12> 톱밥배지 제조시 재료의 혼합비율 (단위 : %)

참나무톱밥 (1~2mm)	참나무톱밥 (2~3mm)	미 강	면실피	탄산칼슘
42.5	42.5	15	5	0.5(중량비)

* 혼합비율 : v/v, 함수율 55~58%내외

다. 살 균

톱밥배지는 상압살균으로 100℃에서 240분간 실시하였다. 미생물의 증식을 방지하기 위하여 배지입봉후 3시간 이내에 살균하였으며 살균후에는 별도로 구비된 냉각실에서 약 12시간 급냉하여 배지내부의 온도가 20℃미만으로 낮아졌을 때 시험균주를 접종하였다.

라. 교배균주 접종

접종원은 일반적으로 사용되는 톱밥종균을 균주별로 미리 배양하여 사용하였으며 접종 1~2일전 저장실에서 배양실로 이동시켜 충분한 활력을 가질 수 있도록 하였다. 접종은 클린부스 내에서 배지의 상단면 숨마개를 열고 접종스푼을 이용하여 접종하였다.

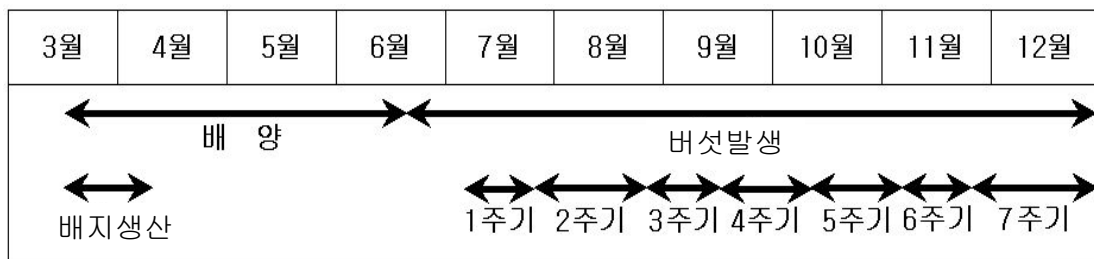
마. 톱밥배지의 배양

톱밥배지의 배양은 온도와 환기량 등의 인위적 조절이 가능한 공조 배양실에서 하였다. 접종 후 10일까지는 배양온도를 18℃로 고정하여 살균 후 남아있을 수 있는 배지표면의 응결수를 제거하고 초기 오염을 억제하였다. 배양 10일부터 25일까지는 23℃로 배양온도를 높여주어 균사가 빠르게 생산할 수 있도록 하였으며, 균사의 배양이 배지의 30%가량 진행되었을 때부터 배양온도를 21℃로 낮추어 주어 균사 호흡열에 의한 피해를 방지하였다. 배양 약 40일차부터 배지의 상면부터 표면에 피막이 형성되기 시작하였으며 표면용기도 관찰되었다. 표면용기는 초기에는 단단하지만 배양이 진행되면서 점차 상면부터 연화되는 현상이 관찰되었다. 균주가 다양하여 균주별로 배양정도가 다르나 모든 균주가 배양인 완료된 배양 40일경부터는 배양실 내부의 전등을 켜서 갈변이 원활히 진행되도록 조치하였다.

바. 자실체 발생

시험균주들의 첫 버섯발생은 배양이 완료된 배지를 6월 중순경 차광 및 살수 시설이 구비된 비닐재배사로 이동한 후 3일 이내에 상면을 개봉하고 이동과정에서 받은 물리적 충격과 온도편차에 의해 자실체가 발생할 수 있도록 처리 하였다. 배지의 개봉은 상면으로부터 약 1cm 내외를 절단하여 상면 비닐을 제거하였으며, 개봉 후 수분관리는 배지의 표면이 건조되지 않도록 1일 약 3~5회 동력 분무기로 배지 표면에 직접 물이 닿지 않도록 안개분무를 실시하였다. 낮시간에는 차광망을 이용하여 재배사 내부로 직사광선이 들어오는 것을 막아 재배사 내부의 온도가 너무 높아지지 않도록 조절하였다.

<표 3-13> 톱밥배지의 시기별 처리일정



개봉시 발생한 첫 버섯을 수확한 다음 20일 정도 배지의 후기 갈변작업을 하여 버섯의 본 발생작업을 실시하였다. 2주기 이후부터는 발생작업 약 3일 전부터 점차 살수량을 늘려준 후 스프링클러를 이용하여 4시간 살수 후 배지의 상면이 재배사 바닥에 닿도록 뒤집은 후 다시 4시간 살수를 실시한 후 반일간 두었다가 원위치 하는 방법으로 발생작업 하였으며, 8월중순(8/12~8/26) 15일을 제외하고 휴면기간 없이 발생작업을 실시하였다.

■ 시험 결과

가. 교배균주의 톱밥배지 배양특성

톱밥재배에 균주별로 접종한 후 약 90일간 배양된 것을 각 교배균주 별, 모균주 별로 구분하여 배지표면 갈변정도를 조사하였다. 아래 표는 2008년에 육성된 교배균주의 톱밥배지 갈변율에 대하여 조사한 것으로 전체갈변 평균은 80%내외이나 동일한 모균주에서 유래된 교배균주간에도 갈변정도가 다소 다르게 조사되었다. 특히 산조701호×산조702호 교배조합에서 갈변 50% 미만인 균주가 8균주로 가장 많았다.

<표 3-14> 2008년 육성 교배균주의 톱밥배지 표면갈변 정도별 균주수
(단위: 균주)

교배조합	표면 갈 변 정 도(%)									계
	90	80	70	60	50	40	30	20	10	
산조701×산조702호	38	30	18	10	3	3	2	0	0	104
FMRI0965×FMRI0962	52	21	10	5	1	1	0	0	0	90
FMRI0965×산조701호	75	18	6	5	3	0	0	0	0	107
계	165	69	34	20	7	4	2	0	0	301

* 6균주 잠균오염으로 측정 못함

나. 자실체 수량 및 특성조사

각 교배균주별로 버섯발생작업을 하여 자실체 형태, 중량 등을 조사하였다. '08년에는 총 307개의 교배균주에 대하여 1.5kg의 원통형 배지를 24봉씩 생산, 재배를 실시한 결과 전체의 6.1%인 19개 균주가 자실체가 발생되지 않았고 자실체가 발생된 282개 균주 중 233균주(75.9%)는 정상자실체가 발생되었고, 나머지 49균주(16.0%)는 주름이 형성되지 않는 기형자실체가 발생하였다.

<표 3-15> 교배균주의 자실체 발생 상태(2008)

교 배 조 합	자 실 체 발 생(균주수)				
	계	정 상	기 형	미발생	기 타 ¹⁾
산조701호×산조702호	104	56	41	7	0
FMRI0965×FMRI0962	93	74	5	11	3
FMRI0965×산조701호	110	103	3	1	3
총 계	307	233	49	19	6
비 율(%)	100	75.9	16.0	6.1	2.0

1) 배양중 잠균오염으로 측정안됨

2) 톱밥배지 배양90일(암배양 40일+명배양50일)



<그림 3-9> 교배균주의 자실체 발생 전경

교배조합별로는 산조701호와 산조702호를 교배한 조합에서 총 104균주 중 41균주(39.4%)에서 갓 주름이 형성되지 않는 기형자실체가 발생되어 기형율이 가장 높았다. 또한 기형버섯이 발생된 균주들의 배지 갈변정도를 비교하였을 때 60% 이상 갈변된 균주도 44개 균주나 되어 배지의 갈변과 기형버섯의 발생이 크게 상관관계가 없는 것으로 조사되었다.



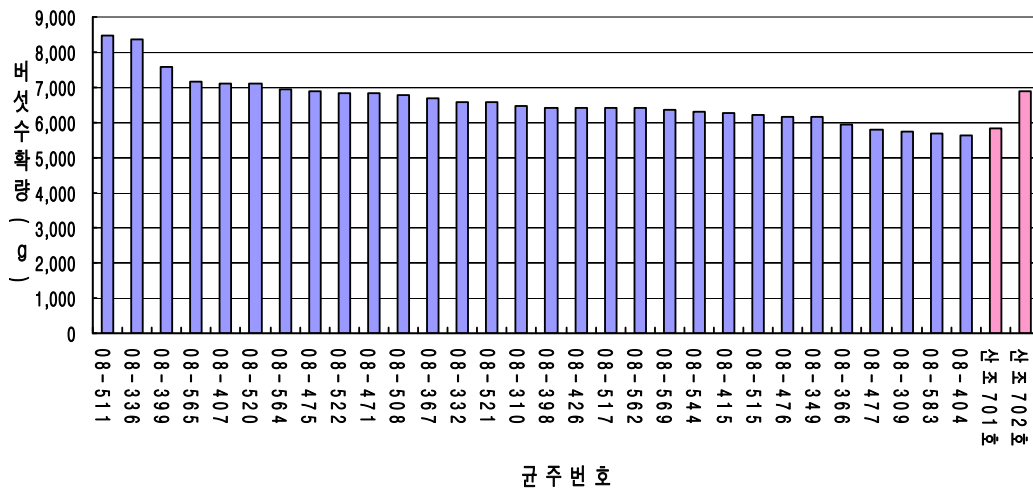
<그림 3-10> 정상자실체(우)와 기형자실체(좌)

<표 3-16> 기형버섯 발생균주의 배지표면 갈변정도

(단위: 균주수)

구 분	표면 갈 변 정 도 별 균 주 수									계
	90	80	70	60	50	40	30	20	10%	
산조701호×산조702호	13	7	7	9	0	3	2	0	0	41
FMRI0965×FMRI0962	2	2	1	0	0	0	0	0	0	5
FMRI0965×산조701호	2	0	1	0	0	0	0	0	0	3
계	17	9	9	9	0	3	2	0	0	49

아래 그림은 자실체 수량을 기준으로 상위 30개 균주를 나타낸 것이다. 자실체 생산량이 가장 높은 균주는 08-511로 수량이 1.5kg 배지 1봉당 353.1g을 수확하여 약 23.5%의 회수율을 보였다. 08-336균주도 348.9g을 수확하였으며 두균주의 개체 중은 각각 12.5g과 7.1g으로 저조한 편이었다. 또한 수량 상위 30균주 중 08-565, 367, 349, 366균주는 갓 주름이 형성되지 않는 기형자실체가 발생된 균주이다.



<그림 3-11> 톱밥재배용 교배균주 자실체 수확량(상위30균주)

<표 3-17> 06년 육성균주의 버섯수량(30균주) 발취

균주번호	버섯수확량(g)				총 계	kg당수확량 (g)	비고
	1주기	2주기	3주기	4주기			
06-190	0	0	480	310	790	26	기형
06-191	0	400	750	50	1,200	40	
06-192	0	0	60	0	60	2	
06-193	0	526	1,500	90	2,116	71	
06-194	0	0	60	0	60	2	기형
06-195	0	0	0	0	0	0	
06-196	0	0	120	140	260	9	기형
06-197	0	608	790	40	1,438	48	
06-198	0	30	180	150	360	12	
06-199	40	174	60	80	354	12	기형
06-200	0	140	580	370	1,090	36	기형
06-201	80	261	100	240	681	23	기형
06-202	0	0	0	60	60	2	기형
06-203	0	0	0	40	40	1	기형
06-204	0	0	20	30	50	2	기형
06-205	0	0	0	0	0	0	
06-206	0	20	0	0	20	1	기형
06-207	0	0	0	0	0	0	
06-208	0	0	0	0	0	0	
06-209	0	0	0	0	0	0	
06-210	0	0	0	290	290	10	기형
06-211	0	36	1,970	650	2,656	89	
06-212	0	0	0	0	0	0	
06-213	0	0	0	0	0	0	
06-214	0	0	0	30	30	1	기형
06-215	0	0	0	0	0	0	
06-216	0	0	20	30	50	2	기형
06-217	0	0	0	0	0	0	
06-218	0	0	0	0	0	0	
06-219	0	0	0	0	0	0	

<표 3-18> 07년 육성균주의 버섯수량(30균주) 발취

균주번호	버섯수확량(g)				총 계	kg당수확량 (g)	비고
	07-189	2주기	3주기	4주기			
07-341	556	266	0	0	822	27	기형
07-342	0	0	0	0	0	0	
07-343	171	76	380	0	627	21	
07-344	50	50	0	0	100	3	
07-345	157	0	720	0	877	29	
07-346	0	0	0	40	40	1	
07-347	868	40	500	0	1,408	47	
07-348	0	1,220	0	0	1,220	41	기형
07-349	954	386	40	120	1,500	50	
07-350	0	950	0	0	950	32	
07-351	0	0	0	0	0	0	
07-352	0	0	0	0	0	0	
07-353	70	0	770	120	960	32	
07-354	0	60	660	20	740	25	
07-355	0	60	120	30	210	7	
07-356	0	0	0	90	90	3	
07-357	0	0	0	90	90	3	
07-358	70	147	30	0	247	8	기형
07-359	0	224	0	70	294	10	기형
07-360	186	365	540	0	1,091	36	
07-361	0	298	0	0	298	10	
07-362	0	0	100	50	150	5	
07-363	0	0	0	0	0	0	
07-364	0	0	0	0	0	0	
07-365	0	0	300	40	340	11	
07-366	344	553	1,420	634	2,951	98	
07-367	0	0	0	0	0	0	
07-368	0	440	0	0	440	15	
07-369	0	110	0	210	320	11	
07-370	0	1,180	0	280	1,460	49	

<표 3-19> 08년 육성균주의 버섯수량(30균주) 발취

균주번호	버섯수확량(g)				총 계	kg당수확량 (g)	비고
	07-189	2주기	3주기	4주기			
08-001	0	0	0	0	0	0	
08-002	0	0	0	0	0	0	
08-003	0	250	0	320	570	19	
08-004	0	0	0	20	20	1	
08-005	0	0	0	30	30	1	
08-006	0	0	0	0	0	0	
08-007	0	0	420	0	420	14	
08-008	0	0	0	20	20	1	
08-009	0	0	0	0	0	0	
08-010	30	0	0	0	30	1	
08-011	0	0	200	0	200	7	
08-012	0	28	0	0	28	1	기형
08-013	0	1,540	560	0	2,100	70	
08-014	0	0	320	90	410	14	
08-015	0	0	60	0	60	2	기형
08-016	50	0	0	0	50	2	
08-017	0	0	0	100	100	3	
08-018	0	0	0	0	0	0	
08-019	0	0	60	110	170	6	
08-020	0	0	0	0	0	0	
08-021	0	0	320	160	480	16	
08-022	0	0	1,360	410	1,770	59	
08-023	0	0	200	0	200	7	
08-024	0	0	0	0	0	0	
08-025	0	0	0	0	0	0	
08-026	0	0	180	60	240	8	
08-027	0	0	0	50	50	2	
08-028	0	0	0	0	0	0	
08-029	0	0	0	0	0	0	
08-030	0	0	0	50	50	2	

<표 3-20> 09년 육성균주의 버섯수량(30균주) 발취

균주번호	버섯수확량(g)				총 계	kg당수확량 (g)	비고
	07-189	2주기	3주기	4주기			
9F-001	1,775	128	140	0	2,043	68	
9F-002	0	0	0	0	0	0	
9F-003	0	0	140	0	140	5	
9F-004	0	130	0	0	130	4	
9F-005	0	0	230	70	300	10	
9F-006	0	29	220	0	249	8	
9F-007	0	0	0	0	0	0	
9F-008	0	0	60	50	110	4	
9F-009	0	0	0	150	150	5	
9F-010	0	0	0	570	570	19	
9F-011	0	0	0	0	0	0	
9F-012	0	0	0	0	0	0	
9F-013	0	0	0	0	0	0	
9F-014	0	0	0	0	0	0	
9F-015	249	491	280	30	1,050	35	
9F-016	177	0	240	0	417	14	
9F-017	0	0	0	0	0	0	
9F-018	0	22	240	0	262	9	
9F-019	0	23	40	0	63	2	
9F-020	0	120	40	0	160	5	
9F-021	0	0	0	0	0	0	
9F-022	0	0	0	0	0	0	

제 5 절 우수균주 선발

1. 우수 교배균주 선발

가. 원목재배용 우수 교배균주

2007년도 원목에 종균을 접종한 후, 이듬해부터 3년간 자실체 수확량 및 특성을 비교하였다. 7E 교배균주 중에서 우수한 자실체 특성을 지닌 균주는 7E-35, -38, -45, -62 균주로 선발되었고, 각각의 분당 수확량은 951, 850, 1131, 735g 이었다. 같은 교배조합중에 최고 수확량인 7E-57(1250g) 균주 보다는 낮았지만, 자실체 제원 및 색깔 등에서 우수하였다. 연구가 종료된 이후도 확대재배 및 반복시험을 통해 우수성을 재차 검토할 계획이다. 7G 교배균주 중에서는 7G-14, 62, 93, 106 균주가 우수한 자실체 특성을 보였으며, 그중 품질과 생산량을 고려하여 7G-106(산조 111호) 균주를 품종보호출원하였다. 품종보호출원 세부내역은 다음장에 작성하였다.

2008년에는 181개의 8A교배균주와 137개의 8AD교배균주가 원목에 접종되었다. 8A균주 중에서 8A-141, -144, -164, -165균주가 생산량 및 자실체 형질을 비교하여 우수균주로 선발이 되었고, 8AD 계열중 8AD-6, -38, -94, -129균주가 우수균주로 선발되었다. 원목재배 특성상 1작기가 3~4년이 소요되기 때문에 반복시험과 확대재배 시험을 통해 자실체의 형질 및 제원조사가 지속적으로 이루어질 계획이다.

<표 3-21> 원목재배 우수균주 자실체 제원

(단위 : mm)

균주	갓직경	갓두께	대길이	대두께	갓직경/ 대길이	갓인피부위
7E-35	60.0	14.2	56.8	18.2	1.05	전체
7E-38	67.0	24.5	48.0	15.0	1.39	주변
7E-45	52.8	12.3	49.8	18.2	1.06	주변
7E-62	64.2	13.8	58.2	13.2	1.10	주변
7G-14	50.3	12.8	47.6	12.4	1.05	주변
7G-62	51.5	12.4	48.3	17.2	1.05	주변
7G-93	53.3	13.1	53.6	14.2	0.99	주변
7G-106	57.5	13.6	53.5	14.5	1.07	주변
8A141	60.0	12.6	51.8	17.0	1.15	전체
8A144	56.2	14.5	48.2	18.2	1.16	전체
8A164	65.5	15.0	67.7	16.2	0.96	전체
8A165	63.0	11.5	50.5	23.5	1.24	전체
8AD06	54.6	12.0	41.3	16.3	1.32	전체
8AD38	62.0	14.5	58.5	16.5	1.05	전체
8AD94	54.0	12.0	47.0	20.5	1.14	전체
8AD129	60.0	11.6	52.6	19.0	1.14	전체

나. 톱밥재배용 우수 교배균주

교배균주 중 버섯의 수량, 형태, 색깔 등을 종합적으로 판단하여 우수균주를 선발하였으며 주요 특징은 다음과 같다.

(1) 07-502(임가실증시험 완료)

자실체 크기는 중엽형으로 색택이 밝고 상면이 볼록한 반구형이다. 갓전체에 인피가 있고 발생량이 많은 편이다. 버섯의 육질이 매우 단단하며 대가 전체적으로 통통한 형태이다. 육질은 다소 무르고 개체중이 26.4g으로 무거운 편이다. 수량은 배지 1kg당 230.1g으로 우수하다.. 자실체 발생은 주로 앞주기에 더 많이 발생되었으며 5주기이후에는 점차 버섯품질이 감소하였다.

<표 3-22> 07-502균주의 자실체 특성

(단위 : mm)

갓직경	갓두께	갓색깔	주름유무	대모양	주름밀도
63.2	15.7	황갈	유	기둥형	보통
대길이	대굵기	길이비율 ¹⁾	갓인피부위	수확량 ²⁾ (g/kg)	개체중(g)
50.7	15.2	1.2	전체	230.1	26.4

1) 길이비율: 갓직경 / 대길이의 비율

2) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



<그림 3-12> 07-502균주의 자실체 모습 좌: 2주기 우: 3주기

(2) 07-66(산조705호)

자실체 크기는 중대엽형으로 색택이 밝고 상면이 불룩한 반구형이다. 갓주변에 인피가 있고 발생량이 많은 편이다. 대가 굵고 길며 전체적으로 통통한 형태이다. 육질은 다소 무르고 개체중이 23.0g으로 무거운 편이다. 수량은 배지 1kg당 260.2g으로 매우 우수하다.. 자실체 발생은 주로 2, 3주기에 집중되었으며 4주기이후에는 자실체 수량이 점차 양이 감소하였다.

<표 3-23> 07-66균주의 자실체 특성 (단위 : mm)

갓직경	갓두께	갓색갈	주름유무	대모양	주름밀도
55.9	11.7	황갈-갈색	유	기둥형	보통
대길이	대굵기	길이비율 ¹⁾	갓인피부위	수확량 ²⁾ (g/kg)	개체중(g)
45.4	14.4	1.2	주변	260.2	23.0

1) 길이비율: 갓직경 / 대길이의 비율

2) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



<그림 3-13> 07-66균주의 자실체 모습 좌: 2주기 우: 3주기

(3) 08-76(산조706호)

자실체는 중대엽형으로 갈색이고 평반구형이다. 갓주변에 인피가 있고 갓색은 갈색이다. 육질은 보통이며, 개체중은 28.3g으로 매우 우수하다. 버섯발생이 쉽고 주기별로 발생량 및 품질이 고르다. 버섯수확량은 배지 1kg당 249.7g으로 우수한 편이다.

<표 3-24> 08-76균주의 자실체 특성

(단위 : mm)

갓직경	갓두께	갓색깔	주름유무	대모양	주름밀도
69.0	14.9	황갈-갈색	유	기둥형	보통
대길이	대굵기	길이비율 ¹⁾	갓인피부위	수확량 ²⁾ (g/kg)	개체중(g)
62.6	20.2	1.1	주변	249.7	28.3

1) 길이비율: 갓직경 / 대길이의 비율

2) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



<그림 3-14> 07-76균주의 자실체(3주기)

(4) 08-108(11년 입가실증시험 진행중)

중고온성으로 추정되며 자실체 색깔은 매우밝은 갈색이고 크기는 중엽으로 평편형이다. 갓전체에 인피가 있고 대가 짧은 편이다. 육질은 단단한 편이며 개체중이 25.8g으로 무겁다. 자실체수량은 배지 1kg당 156.9g이다. 자실체 발생은 주기별로 고르며 5주기가 최성기였다.

<표 3-25> 08-108균주의 자실체 특성

(단위 : mm)

갓직경	갓두께	갓색깔	주름유무	대모양	주름밀도
57.8	15.1	황갈색	유	기둥형	보통
대길이	대굵기	길이비율 ¹⁾	갓인피부위	수확량 ²⁾ (g/kg)	개체중(g)
47.9	17.2	1.2	주변	156.9	25.8

1) 길이비율: 갓직경 / 대길이의 비율

2) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



<그림 3-15> 08-108균주의 자실체(3주기)

(5) 10-B175(11년 임가실증시험 진행중)

중온성 또는 중저온성으로 추정되며 자실체 황갈색~갈색이고 크기는 중엽으로 평반구형이다. 갓주변에 인피가 있고 대가 짧은 편이다. 육질은 단단하며 저온에서 발생개체수가 많다. 개체중이 26.7g으로 매우 무겁다. 자실체수량은 배지 1kg당 100.0g이다. 자실체 발생은 기온이 다소 낮은 10월과 11월에 가장 많았다.

<표 3-26> 10-B175균주의 자실체 특성

(단위 : mm)

갓직경	갓두께	갓색갈	주름유무	대모양	주름밀도
49.6	14.6	황갈색 ~갈색	유	기둥형	보통
대길이	대굵기	길이비율 ¹⁾	갓인피부위	수확량 ²⁾ (g/kg)	개체중(g)
38.0	11.0	1.3	주변	100.0	26.7

1) 길이비율: 갓직경 / 대길이의 비율

2) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



<그림 3-16> 10-B175균주의 자실체(5주기)

2. 우수 선발균주 임가실증시험

가. 원목재배 임가실증시험

원목재배용 우수균주로 선발한 10-13 균주의 임가실증시험은 2010년도에 3개소 경기 용인, 경기 가평, 전북 완주지역에서 임가당 1,000본 씩 집중하여 지역별 환경적응성시험을 진행하였다. 농가실증 결과에 대하여 원목재배 및 톱밥재배 각각 구체적인 자료를 현재까지 진행되었던 연구내용을 중심으로 구체적으로 작성하였으며, 원목재배 특성상 접종 1년 후부터 자실체를 조사할 수 있기 때문에 연구기간이 종료된 이후에도 버섯 생산성 및 실증시험 참여자의 의견수렴과 자실체 채원특성을 비교 검토하여 재배농가에게도 지속적으로 기술지도나 교육을 통해 품종의 특성을 알리고, 품종보호출원의 가능성을 알아볼 예정이다.

나. 톱밥재배 임가실증시험

(1) 선발임가 현황

선발된 07-93 등 4개 우수교배균주의 지역별 환경적응성과 형태적 안정성 등을 확인하기 위해 임가실증시험을 진행하였다. 실증임가는 우리나라 남부, 중북에 걸쳐 안배를 하였으며 재배경력 및 규모가 일정수준 이상 되는 선도 재배임가를 선정하였다.

<표 3-27> 실증시험 수행임가 현황(3개소)

지 역	재배방식	배지형태	재배경력	연간 재배규모
충북 괴산	지면봉지재배	1.3kg 원통형	7년	50,000봉
충남 청양	지면봉지재배	1.3kg 원통형	10년	500,000봉
전남 장흥	균상재배	3.0kg 봉형	9년	200,000봉

(2) 시험균주

2008년 부터 임가 실증시험을 수행하였으며 매년 2개씩 우수균주를 선발하여 진행하였다. 연구과제 수행 5년차에 진행중인 11년 임가실증시험은 현재 진행중으로 추후에 결과를 얻을 수 있을 것이다. 본 보고서에서는 지면상 2009년과 2010년에 수행된 임가실증시험에 대하여 작성코자 한다. 임가실증시험을 수행한 07-93 균주 등 4균주의 주요특성은 아래 표과 같다.

<표 3-28> 임가실증시험 균주 특성

구 분	균 주 명	
	07-93	08-52
특 성	<ul style="list-style-type: none"> · 중고온성 · 갓색은 밝은 황갈색이고 대가 다소 김 · 갓형태는 반구형이고 육질은 중간 · 버섯발생이 빠르고 발생량이 많음 · 버섯발생 최성기까지의 기간은 약 130일 임 	<ul style="list-style-type: none"> · 중고온성 · 중엽형으로 갓색이 매우 밝은 황갈색 · 육질은 충실하고 대가 짧고 굵음 · 버섯발생량은 보통이고 형태가 우수함 · 버섯발생 최성기까지의 기간은 약 150일 임
구 분	균 주 명	
	07-432	07-502
특 성	<ul style="list-style-type: none"> · 중온성 · 갓색은 밝은 황갈색이나 주름발달이 없는 곤봉형 · 갓형태는 반구형이고 육질은 중간 · 배지표면의 갈변 및 버섯발생이 느림 · 버섯발생 최성기까지의 기간은 약 160일 임 	<ul style="list-style-type: none"> · 중고온성 · 중엽형으로 갓색은 밝은 황갈색임 · 갓형태는 평반구형이고 갓주위에 인피가 있음 · 살수 및 뒤집기 등의 충격에 버섯발생이 잘됨 · 버섯발생 최성기까지의 기간은 약 160일 임

(3) 톱밥배지 생산 및 재배

07-93등 4개 시험균주의 적응성 및 안정성을 확인하기 위해 톱밥배지의 생산은 각 임가의 관행적인 방법으로 배지를 생산하고 재배하였다. 실증임가는 배지를 매년 3, 4월에 생산하여 6월부터 12월까지 6주기 이상 자실체 발생작업을 실시하였다. 각 임가별 시험균주의 배지 생산 및 재배현황은 다음 표와 같다.

<표 3-29> 임가별 시험균주의 배지 생산현황

실증지역	재 배 형 태	생산량(봉)	배지생산시기
충북 괴산	지면재배(1.3kg 원통형)	8,000(4,000봉/균주)	3월
충남 청양	지면재배(1.3kg 원통형)	8,000(4,000봉/균주)	4월
전남 장흥	균상재배(3.0kg 봉형)	6,000(3,000봉/균주)	3월

<표 3-30> 임가별 시험균주의 재배일정

지역 \ 월	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
충북 괴산	← 배지 배양 →				1주기	2주기	3주기	4주기	5주기	6주기	7주기
충남 청양	← 배지 배양 →				1주기	2주기	3주기	4주기	5주기	6주기	
전남 장흥	← 배지 배양 →				1주기	2주기	3주기	4주기	5주기	6주기	



<그림 3-17> 실증임가 톱밥배지 배양

(4) 임가실증 균주 자실체 특성

아래 표는 임가실증시험을 통해 조사된 시험균주들의 자실체 특성이다. 07-93균주는 갓색이 황갈색으로 밝으나 습에 다소 약하고 버섯발생량이 많으나 고온기(8월)에는 대가 매우 긴 특성을 보였다. 또한 주기가 뒤로 갈수록 버섯의 품질이 급격히 낮아지는 경향을 보였고 주야간 기온차가 심한 9월말경에는 버섯이 대량발생하여 품질이 저조하였다. 08-52균주는 갓색이 황갈색이고 습에 강한 특성을 보였으며 버섯의 발생량은 적당하여 품질도 우수하였다. 그러나 버섯이 약 80-90% 가량 개화되었을때 갓의 주면 말림이 다소 불규칙 적었고 전체적인 버섯생산량이 기존 품종에 비해 다소 떨어지는 경향을 보였다. 07-432 균주는 우리연구소에서 자실체 특성조사에서 갓 주름이 형성되지 않는 특성을 보였는데 임가실증시험에서도 동일한 형태의 자실체가 발생되었다. 07-432 균주는 대길이가 66.9mm로 긴편이며 갓이 작아 독특한 형태를 가지고 있으며 버섯발생량은 4주기, 5주기가 가장 많았다. 다만 일반적인 균주에 비해 배양속도와 갈변이 20일 가량 느리고 버섯수확량이 산조701호에 비해 낮은 특성을 보였다. 07-502 균주는 산조701호에 비해 버섯발생이 빠르고 발생량이 많은 특성을 보였으며 습에 강해 여름철 고온 다습한 시기에도 버섯의 색택이 밝고 수확량이 많았다. 07-502균주는 배지 1kg 당 270g의 버섯수확량을 기록하였으며 07-432균주는 배지 1kg 당 110g의 낮은 수확량을 기록하였다. 그러나 07-432 균주는 기존 표고톱밥 재배형태 보다 환경조절이 가능한 시설 내에서 재배하여 적절한 환경을 조성해주면 자실체의 품질과 수확량이 증가할 것으로 예측된다.

<표 3-31> 07-93균주의 임가실증 자실체 특성

(단위: mm)

갓 형태	갓 색	갓 직 경	갓 두께	인피부착부위
평반구형	황갈색	66.9±2.1	16.3±3.8	둘레
대 길이	대 두께	주름밀도	대길이비율 (갓직경/대길이)	수확량 ¹⁾ (g/kg)
63.7±2.7	14.9±2.3	보통	1.2±0.1	254

1) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)

<표 3-32> 08-52균주의 임가실증 자실체 특성

(단위: mm)

갓 형태	갓 색	갓 직 경	갓 두께	인피부착부위
반구형	황갈색	67.8±3.2	35.3±2.2	둘레
대 길이	대 두께	주름밀도	대길이비율 (갓직경/대길이)	수확량 ¹⁾ (g/kg)
53.0±4.7	26.4±3.1	보통	1.3±0.2	213

1) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



07-93<4주기, 10.08.26>



07-52<4주기, 10.08.26>

<그림 3-18> 임가실증시험 균주 버섯발생 최성기 전경

<표 3-33> 07-432 균주의 입가실증 자실체 특성 (단위: mm)

갓 형태	갓 색	갓 직 경	갓 두 께	인피부착부위
반구형	황갈색	47.6±4.4	25.6±2.8	둘레
대 길 이	대 두 께	주름밀도	대길이비율 (갓직경/대길이)	수확량 ¹⁾ (g/kg)
66.9±6.4	12.1±2.1	없음	0.7±0.1	110

1) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)

<표 3-34> 07-502균주의 입가실증 자실체 특성 (단위: mm)

갓 형태	갓 색	갓 직 경	갓 두 께	인피부착부위
평반구형	황갈색	69.1±9	15.1±2	전 체
대 길 이	대 두 께	주름밀도	대길이비율 (갓직경/대길이)	수확량 ¹⁾ (g/kg)
49.7±10	17.2±4.2	조밀	1.4±0.3	270

1) 톱밥배지 1kg 당 수확된 버섯의 중량(g)



07-432<4주기, 09.09.25>

07-502<2주기, 09.08.31>

<그림 3-19> 입가실증시험 균주 버섯발생 최성기 전경

3. 우수균주의 품종보호출원

우리연구소에서 육성한 품종들에 대해 종자산업법 제 26조 1항 및 같은 법 시행규칙 제28조에 따라 원목재배용 1, 톱밥재배용 2개 품종을 품종보호출원을 하였다. 육성품종들의 육성과정과 특징은 다음과 같다.

가. 원목재배용 산조111호

(1) 육성과정

우리연구소에서 2005년부터 고온성 우수균주 선발의 육성목표에 따라 고온성품종(산조101호)과 고온성 품종(산조108호)의 담자포자를 순수분리, 교잡육종을 통해 개발하여 2007년부터 2010년까지 재배시험을 통해 선발된 교배균주 품종이다.

7G-106 균주는 2005년 상반기 산조101호의 담자포자 3-1-13과 산조108호 담자포자 3-3-12의 단포자를 순수분리하여 PDA배지에서 일핵균사의 성장속도를 조사하였으며, 2006년 상반기 일핵균사와 일핵균사끼리 교배하였다. 이때 선발된 교배균주와 모균주와의 대치배양으로 독립계통을 규명하였다. 또한 톱밥배지 시험관시험과 리그닌분해력의 비교시험과 온도별(5~30℃) 균사성장조사시험을 하였다.

1차 원목재배실연 시험기간은 2007년부터 2010년 12월까지 경기도 여주군 여주읍 상거리 본 연구소 시험재배장에서 자실체 생산성 및 특성을 조사하였다. 또한 2차 원목재배실연시험기간은 2008년부터 2010년 12월까지, 3차 접종 2009년에 동 시험재배장에서 진행하였다. 자실체 특성조사 기간동안 2008년과 2009년에 상기 균주가 다른 교배균주들간의 비교를 통해 우수균주로 선발되었으며, 상기 시험내용을 종합한 결과, 본 품종의 신규성, 균일성, 구별성이 뚜렷하여 산조111호로 명명하고 표고버섯 신품종으로 품종보호출원을 하였다.

(2) 주요특성

산조111호의 균사성장 최적온도는 25℃ 이며 버섯 발생온도는 11-26℃의 중온성 품종이다. 버섯발생온도 범위가 넓어 수확기간이 길다. 버섯의 대모양은 기둥형이고 대길이는 보통이다. 갓색은 밝은 갈색-갈색이고 갓형태는 주로 평반구형이다.

<표 3-35> 산조111호의 자실체 주요 제원

구 분	대선형성	균사성장온도	균사성장 속도 (mm/7일)	갓직경(mm)
산조101호(대조)	있음	25℃	5.7±0.2	57.6±5
산조111호	있음	25℃	4.6±0.3	57.5±3

구 분	대길이(mm)	인피부착	발생형	갓모양
산조111호(대조)	48.4±8	주변	집중	편평형
산조101호	53.5±4	전체	산발	평반구



<그림 3-20> 산조111호 자실체발생

<표 3-36> 개발품종과 대조품종의 특성 비교

구 분	산조101호(대조)	산조111호
온 도 범 위	12-24℃	15-25℃
온 도 형	중고온성	중고온성
육 성 방 법	선발육성	교배육성
생 산 성	2.0kg/분	2.2kg/분
특 성	<ul style="list-style-type: none"> -습기에 강함 -최근 버섯품질 하락 -버섯발생이 쉽고 빠름 -고온기에 대가 길다 	<ul style="list-style-type: none"> -생산성이 높고, 품질이 우수함 -색택이 밝고, 중엽형으로 대가 굵고 길다 -연중 버섯발생이 잘되며 주년재 배가 가능 -11월에 버섯발생이 가능함

나. 톱밥재배용 산조705호

(1) 육성과정

산조705호는 우리연구소에서 수집한 FMRI0315와(03년) 2009년 본연구소에서 품종보호출원한 산조701호의 일핵균주간 교잡으로 육성된 품종이다. 2006년 모균주 FMRI0315 및 산조701호에서 순수 분리한 일핵균주들을 교배하였고, 교배균주들을 실내에서 대치배양을 통한 모균주와의 구별성 확인, PDA배지상 온도별 성장, 리그닌(Remazol Brilliant Blue R)분해력, 톱밥배지의 성장조사 등 균주별 생리화학적특성을 조사하여 23균주를 1차로 선발하였다.

이들 균주들은 2008년 톱밥배지(1.3kg/봉, 참나무톱밥 84.5%+미강 15% + 탄산칼슘 0.5%, 함수율 57%)에서 자실체 특성 검정을 실시하였다. 검정용 톱밥배지는

21~25℃ 공조배양실에서 암배양 60일, 명배양(갈변) 40일 총 100일간 배양하였다. 배양이 완료된 후 차광된 재배사에서 지면봉지재배를(상면발생) 하여 버섯의 생산량이 많고 자실체의 색택이 밝으며 육질 및 형태가 우수한 07-66균주(임시번호)를 최종 선발하였다.

07-66균주는 2009년부터 2010년까지 2년 동안 우리연구소에서 확대검정시험을 통해 버섯발생 온도형, 자실체 형태적 특성, 수확량 등의 세부특성을 조사하였고 안정성과 균일성이 재확인 하였다.

(2) 주요특성

우리연구소의 특성 검정시험 결과를 종합하면 산조705호(07-66)는 버섯의 발생온도 범위가 19~27℃로 고온성이며, 버섯 발생 및 생육은 20~25℃내외에서 가장 좋다. 갯형태는 평반구형이며 대가 굵고 길며 대의 육질이 매우 충실한 특성을 가지고 있다.

<표 3-37> 산조705호의 자실체 주요 제원

구 분	대선형성	균사생장온도	균사생장 속도 (mm/7일)	갯직경(mm)
산조701호(대조)	있음	25℃	4.5±0.4	51.1±5
산조705호	있음	25℃	4.7±0.2	55.9±7

구 분	대길이(mm)	인피부착	발생형	갯모양
산조701호(대조)	37.1±8	주변	집중	평반구
산조705호	64.6±12	전체	집중	평반구



<그림 3-21> 산조705호 자실체발생

다. 톱밥재배용 산조706호

(1) 육성과정

산조706호는 우리연구소에서 품종보호출원 한 산조701호와 산조702호의 일핵균주 간 교잡으로 육성된 품종이다. 2008년 모균주 산조701호 및 산조702호에서 분리한 일핵균주들을 교배하였고, 교배균주들을 실내에서 대치배양을 통한 모균주와의 구별성 확인, PDA배지상 온도별 성장, 리그닌(Remazol Brilliant Blue R)분해력, 톱밥배지의 성장조사 등 400균주의 균주별 생리화학적 특성을 조사하여 우수한 104개 균주를 1차로 선발하였다.

이들 균주들은 2009년 톱밥배지(1.3kg/봉, 참나무톱밥 84.5%+미강 15% + 탄산칼슘 0.5%, 함수율 57%)에서 자실체 특성 검정을 실시하였다. 검정용 톱밥배지는 21~25℃ 공조배양실에서 암배양 60일, 명배양(갈변) 40일 총 100일간 배양하였다. 배양이 완료된 후 차광된 재배사에서 지면봉지재배를(상면발생) 하여 버섯의 생산량이 많고 자실체의 색택이 밝으며 육질 및 형태가 우수한 08-76균주(입시번호)를 최종 선발하였다.

08-76균주는 2009년부터 2010년까지 2년 동안 우리연구소에서 확대검정시험을 통해 버섯발생 온도형, 자실체 형태적 특성, 수확량 등의 세부특성을 조사하였고 안정성과 균일성이 재확인 되었다.

(2) 주요특성

우리연구소의 특성 검정시험 결과를 종합하면 산조706호(08-76)는 버섯의 발생온도 범위가 15~25℃로 고온성이며, 버섯 발생 및 생육은 20~24℃내외에서 가장 좋다. 갯형태는 평반구형으로 크며, 대가 길고 굵다.

<표 3-38> 산조706호의 자실체 주요 제원

구 분	대선형성	균사생장온도	균사생장 속도 (mm/7일)	갯직경(mm)
산조701호(대조)	있음	25℃	4.5±0.4	51.1±5
산조706호	있음	25℃	4.2±0.6	69.9±10

구 분	대길이(mm)	인피부착	발생형	갯모양
산조701호(대조)	37.1±8	주변	집중	평반구
산조706호	61.7±8	주변	집중	평반구



<그림 3-22> 산조706호 자실체발생

<표 3-39> 개발품종과 대조품종의 특성 비교

구 분	산조701호(대조)	산조705호	산조706호
육성방법	12-24℃	교배육성	교배육성
버섯발생 온도범위	중고온성	19-27℃	15-25℃
온 도 형	선발육성	중고온성	중고온성
버섯 생산성	23%	26%	25%
특 성	<ul style="list-style-type: none"> -여름-가을재배 대표적 품종 -버섯품질 우수 -색택이 밝고 육질이 단단함 -버섯발생늦고 재배 어려움 	<ul style="list-style-type: none"> -산조701호보다 최성기까지 1개월빠름 -산조701호에 비해 버섯발생량 많음 -중대엽형, 대가굵고 길며, 갓이 크다 -고온기 버섯발생 유리,8-10월초 -툭툭재배용 버섯모양 특화품종 	<ul style="list-style-type: none"> -재배가 쉽고 측면발생이 덜함 -중대엽형으로 대가굵고 육질이 단단함 -생산량 고르며,9월중-10월초가 가장 많음 -산조701호 대체품종

제 6 절 자실체 조기 검정법

표고 원목재배는 첫 버섯의 발생까지 1년 이상이 소요되고, 자실체 특성을 검정하여 완료하기까지 5년 이상의 장기간이 소요되므로 신품종 육성의 가장 큰 걸림돌이 되어 왔다. 이런 단점을 극복하고 신품종 육성기간을 단축시키기 위하여 자실체 특성을 조기에 검증하고 신품종 개발을 위한 우수 모균주와 교배균주를 빠르게 선발하고자 하였다.

우선 조기 버섯발생을 위해 원목 내부에 균사만연 기간을 단축하고자, 원목(강참, 신갈나무)에 열처리(상압살균, 열수처리)를 하였다. 상압살균은 98℃에서 30, 60분간, 열수처리는 60, 80℃에서 30, 60, 90분간 스팀으로 처리하였다. 종균 접종은 첫 버섯 발생시기가 늦은 중온성(산조302호), 저온성(산조502호) 2개 품종을 사용하였고, 접종깊이 3cm로 천공하여 에어식균기로 접종하였다.

종균 접종 3개월 후 버섯목 표면과 내부의 균사생장을 조사한 결과 표면은 80℃에서 30분간 스팀 처리구(15.1%)를 제외하고 무처리구(22.2%)에 비하여 균사생장이 양호하였고, 특히 상압살균 처리구가 57.8~61.6%로 우수하였다. 내부는 처리구 모두 43.1~100.4%로 무처리구(33.6%)에 비하여 양호하였고, 그 중 상압살균 처리구(30, 60분)가 각각 96.6, 100.4%로 가장 우수하였다. 해균 오염은 전체적으로 11~27.5%로 열수처리구가 무처리구(3%)에 비해 많았으며, 60분간 상압살균한 처리구에서는 전혀 발생하지 않았다. 종합적으로 상압살균 처리구가 표고 균사생장이 가장 우수하였고 해균 오염도 또한 가장 낮았다.

따라서 자실체 조기검정법 확립을 위하여 98℃에서 60분간 상압살균한 후 접종간격(10±2cm, 5±2cm), 깊이(24, 50mm)와 원목 굵기(8~18cm)에 따라 균사생장과 버섯발생을 비교하였다.

1. 종균 접종간격에 따른 버섯발생 비교

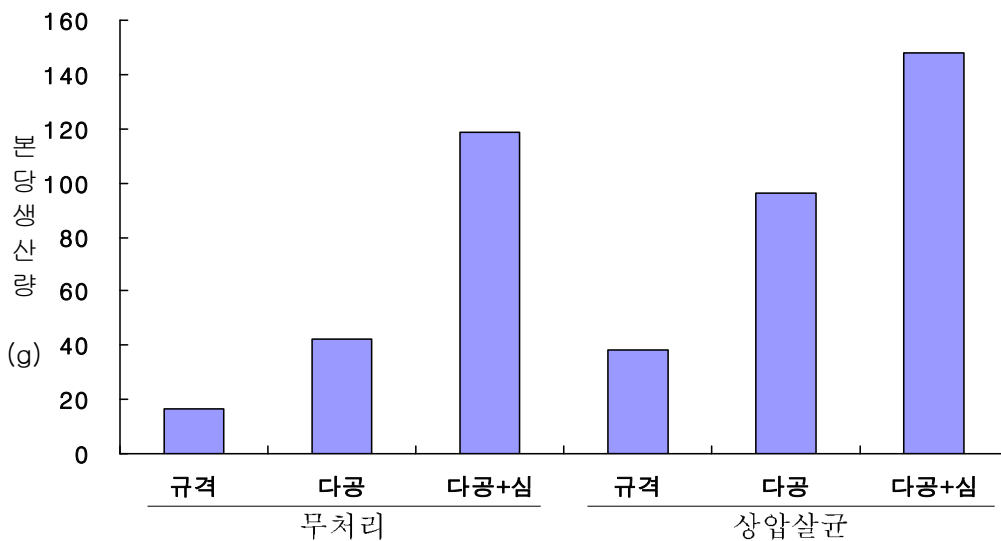
조기 버섯발생을 유도하기 위하여 신갈나무(직경 12±2cm)를 98℃에서 60분간 상압살균한 후 접종간격은 10±2cm, 5±2cm, 접종깊이는 24, 50mm로 하여 버섯 발생이 빠른 중고온성(산조108호)와 버섯 발생이 늦은 저온성(산조502호)를 각각 접종하였다.

종균 접종 3개월 후 접종간격과 깊이에 따른 버섯목 표면과 내부의 균사생장을 조사한 결과 표면은 품종(산조108, 502호)과 관계없이 모두 전체적으로 무처리구(10±2cm, 2.4cm)에 비하여 상압살균 처리구가 균사만연율이 훨씬 우수하였고, 상압살균 처리구중에서는 다공(5±2cm, 2.4cm)과 다공+심(5±2cm, 5cm) 접종처리구가 각각 57.4~67.2%, 58.7~59.4%로 규격 접종처리구(51.4~55.9%)보다 우수하였다.

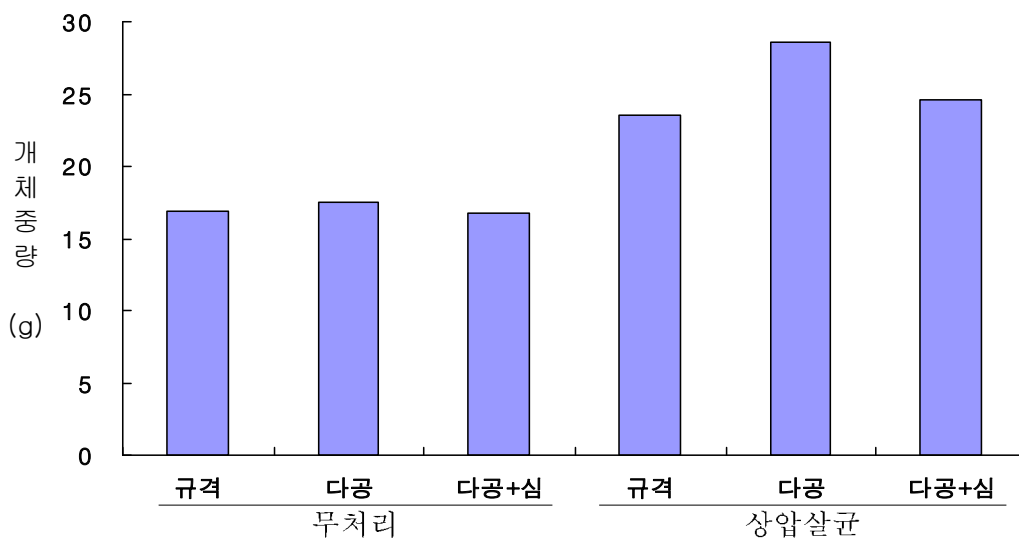
내부 균사만연율 또한 표면과 마찬가지로 상압살균 처리구중에서 다공과 다공+

심 집중처리구가 각각 77.7~92.3%, 79.6~89.4%로 규격 집중처리구(50~66.9%)보다 훨씬 우수하였다.

중간 집중 5개월 후 처리구간 분당 생산량을 조사한 결과 산조108호의 경우 상압살균 처리구가 전체적으로 우수(30~147g)하였으며 그중 다공+심 집중 처리구가 147g으로 가장 우수하였다. 저온성(산조502호)은 전혀 발생하지 않았다. 개체중량 또한 상압살균 처리구가 전체적으로 우수(23.5~28.6g)하였으며 그 중 다공 집중 처리구가 가장 우수하였다. 그러나 미살균 처리구에서는 처리구간 큰 차이는 없었다(16.8~17.5g).



<그림 3-23> 집중방법에 따른 버섯 생산량 비교 (산조108호)



<그림 3-24> 집중방법에 따른 버섯 품질 비교 (산조108호)

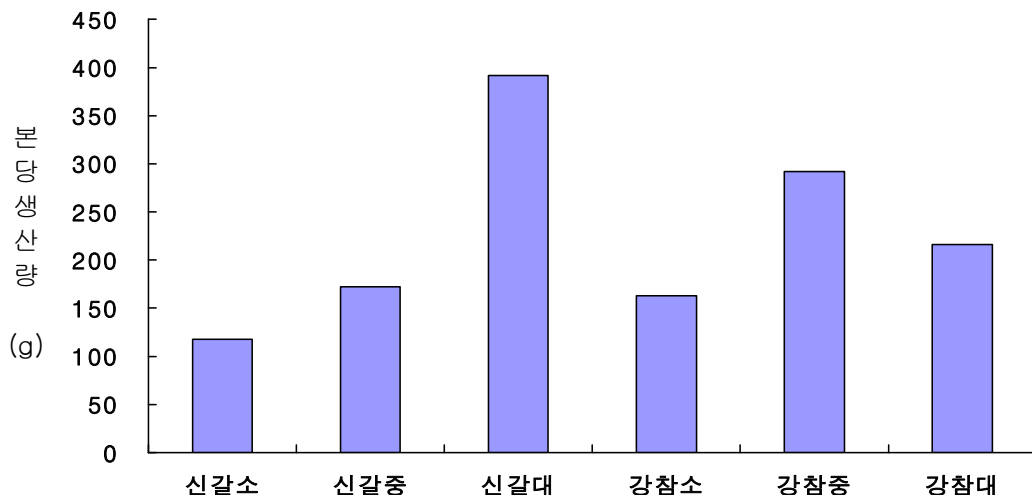
2. 원목 굵기에 따른 버섯발생 비교

조기 버섯발생을 유도하기 위하여 상수리나무, 신갈나무(직경 $8\pm 2\text{cm}$, $12\pm 2\text{cm}$, $16\pm 2\text{cm}$)를 98°C 에서 60분간 상압살균한 후 버섯 발생이 빠른 중고온성(산조108호)와 버섯 발생이 늦은 저온성(산조502호)를 다공(간격 $5\pm 2\text{cm}$, 깊이 24mm)으로 접종하였다.

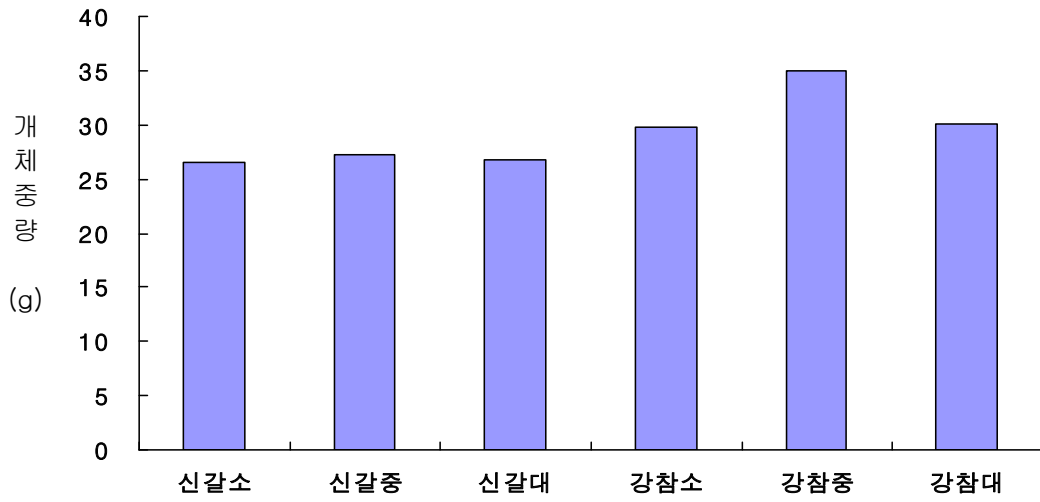
종균 접종 3개월 후 원목 굵기에 따른 버섯목 표면과 내부의 균사생장을 조사한 결과 표면은 신갈나무가 상수리나무에 비하여 균사만연도가 우수하였으며, 신갈나무와는 달리 상수리나무의 경우 미신장 부위가 많았다.

내부 균사만연을 또한 표면과 마찬가지로 신갈나무 처리구가 전체적으로 우수하였으며, 그 중 소경목 처리구가 다른 처리구에 비하여 가장 우수하였다.

종균 접종 5개월 후 처리구간 본당 생산량을 조사한 결과 산조108호의 경우 대경목을 제외하고 상수리나무에서 생산량이 많았으며, 그중 신갈나무 대경목 처리구에서 392.6g 으로 가장 많았다. 산조502호의 경우 신갈나무 소경목에서만 소량 발생하였다. 개체중량 또한 산조108호의 경우 상수리나무 처리구에서 전체적으로 우수($29.8\sim 35\text{g}$)하였으며, 상수리나무에서는 중경목에서 우수한 반면 신갈나무에서는 원목 굵기와 상관없이 비슷하였다($26.5\sim 27.3\text{g}$). 산조502호의 경우 신갈나무 소경목에서 일부 발생(개체중량 37.3g) 하였다.



<그림 3-25> 수종 및 굵기에 따른 버섯 생산량 비교 (산조108호)



<그림 3-26> 수종 및 굵기에 따른 버섯 품질 비교 (산조108호)



<그림 3-27> 표고 품종별 자실체 조기발생 모습 (접종 5개월)

제 7 절 결과요약

본 과제에서는 고온에 강하며 품질 및 수확량이 높은 신품종의 육성을 목표로 산조101호 등 20개의 모균주를 선발하여 교잡육성에 사용되었으며 5년간 총 10,740 조합의 Mono×Mono 또는 Di×Mono 교잡을 실시하여 실내에서 모균주와 독립성, 배양속도, 리그닌 분해활력, 톱밥배지 성장속도, 피막, 갈변 등의 배양특성을 조사하고 1,619균주를 최종적으로 선발하여 원목 및 톱밥배지에 접종하여 자실체 특성을 검정하였다.

원목재배에서는 5년간 총 1,385균주를 육성하여 교배균주 접종 후 원목의 배양 정도를 조사하고 이듬해 부터 버섯발생작업을 통해 수확된 버섯 중 우수균주를 선발하고 그 자실체의 제원조사를 실시하였다. 자실체 특성조사에서 형태가 우수하고 수확량이 높은 7E-35 등 16개 균주를 선발하였고, 확대재배시험과 임가실증시험 등을 통하여 향후 품종보호출원 가능성을 검정할 계획이다.

또한 톱밥재배에서는 1,047개 교배균주 접종 후 배양기간동안 배양 및 갈변정도, 버섯발생량 등을 조사하고 그중 우수균주의 제원조사를 실시하였으며 07-66 등 20개의 자실체 형태가 우수하고 수확량이 높은 우수균주를 선발하였다. 이들 우수균주들은 확대검정시험을 통하여 세부적인 특성을 검정하였으며 이들 중 가장 우수한 4개 균주는 임가실증시험을 실시하였다. 우수균주들 중 아직 임가실증시험을 수행하지 못한 균주들은 과제 종료 이후에도 시험을 진행하여 우수한 균주들은 품종보호출원할 예정이다.

한편 육성된 균주의 톱밥재배를 통한 자실체 검정에서는 갓 주름이 형성되지 않는 기형버섯이 일부 균주에서 발생되었는데 이들의 배양속도, 리그닌 분해력 톱밥배지에서의 갈변특성 등을 정상균주와 비교해 보았을 때 커다란 차이를 발견할 수 없었으며 추후 분자생물학적 검정방법 등을 통하여 비교가 필요하다.

육성된 교배균주의 자실체 조기검정법에 대한 시험은 신갈나무 소경목(직경 $8\pm 2\text{cm}$)을 98°C 에서 60분간 상압살균 후 다공접종(간격 $5\pm 2\text{cm}$, 깊이 24mm)한 처리구가 가장 우수하였다. 각 처리구의 버섯 발생을 조사한 결과 일부 균주는 접종 3개월(7월10일)만에 버섯의 발생하였고 나머지 대부분 균주는 접종 5개월 후 버섯이 발생하여 조기검정이 가능하였다.

임가실증시험 및 연구소 확대검정시험을 통하여 균주의 우수성, 안정성, 등이 검정된 산조111호, 산조705호, 산조706호에 대하여 2011년 4월 4일 국립산림품종관리센터에 품종보호출원 하였다. 또한 현재 육성 중인 균주들은 위 과정을 계속 수행하여 우수성이 입증된 균주에 대해 추가로 품종보호출원 할 계획이다.

또한 품종보호출원 된 균주들은 향후 각 품종별로 최적의 재배방법 및 배지조성을 정립하고 표고재배 임가에 보급 및 교육을 실시하여 소득증대에 기여할 수 있도록 할 계획이다.

제 4 장 육종균주의 생리·생화학적 특성

제 1 절 생리·생화학적 특성검정법 확립

1. 시험균주

- FMRI0189 균주, FMRI0950 균주
- 산조101호와 산조108호 교배균주

2. 분석특성

가. 목재기질분해효소(Extracellular enzyme) 활성조사

표고의 주요 기주는 목재이다. 따라서 목재기질을 분해하는 효소의 활성정도가 초기활착에 중요하게 작용한다고 할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 각 기질에 대한 분해효소의 활성을 검토할 수 있는 실험법을 확립하였다.

3. 실험방법

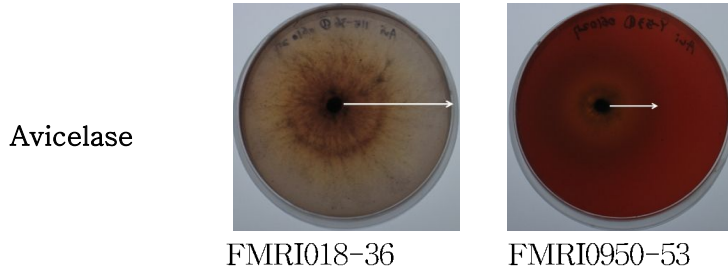
세포외 효소 활성을 검정하기 위해, PDA에서 배양된 표고균사를 발색반응배지(chromogenic media)로 접종하여 측정하였다. 발색반응배지는 0.1%의 yeast nitrogen base (Difco, USA)를 기본으로 하여, 효소반응을 위한 탄소원으로는 β -glucosidase는 D-cellobiose(Sigma, USA)를, avicelase는 Avicel PH-101 (Fluca, Switzerland)을, CM-cellulase는 CM-cellulose(Sigma, USA)를 0.5% 첨가하여 사용하였으며, 발색반응(chromogenic reaction)을 위한 염색약으로 0.5%의 Congo Red (Sigma, USA)를 사용하였다 (Hyun *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2007). 각 균주가 접종된 발색반응배지를 25°C에서 약 20일간 배양 후 세포외 효소 활성으로 인하여 발색배지상에 투명하게 나타나는 투명환(clear zone)을 측정하였다. 또한 Protease의 경우에는 효소반응을 위한 영양원으로 Skim milk Powder를 사용하여 배지를 만들고 접종된 균사가 분비하는 효소에 의해 생성되는 분해환을 측정하였다. 분해환은 균사의 접종원부터 분해환이 형성된 부분까지를 측정하였다. 0~20 mm의 분해환을 형성하는 균주는 약한 효소활성을 보이는 균주, 20~50 mm의 분해환을 형성하는 균주는 중도적인 효소활성을 보이는 균주, 그리고 50 mm 이상의 분해환을 지닌 균주를 강한 효소활성을 보이는 균주로 평가하였다.

4. 시험결과

가. 계통간 차이

- FMRI0189 균주, FMRI0950 균주

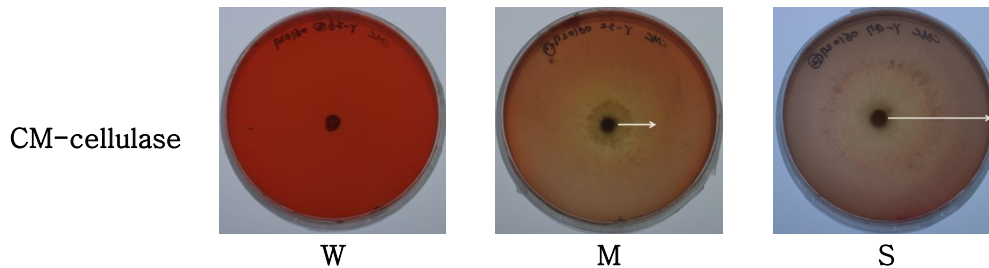
대부분의 FMRI0189 균주가 균사 성장도와 환생성 유무에서 FMRI0950 균주보다 우수한 특성을 보였다.



<그림 4-1> 계통간 효소활성차이
※ 화살표: 투명환(clear zone) 표시

나. 교배균주

성장하는데 시간이 걸리는 균주와 적응·성장이 빠른 균주, 중도적인 성장을 보이는 균주로 구분 가능하다는 것을 확인하였다. 균주간의 목재기질활성정도를 평가에 본 실험에서 설립한 방법을 적용하는 것이 가능하다고 판단하였다.



<그림 4-2> 한 부모에서 나온 교배균주간의 효소활성차이
※ 화살표: 투명환(clear zone) 표시

제 2 절 교배균주 생리·생화학적 특성

1. 시험균주

가. 모균주

산조101호, 산조108호

나. 단핵균주

산조101호 단핵균주(20개), 산조108호 단핵균주(20개)

다. 교배균주

산조101호와 108호 교배에 의해 얻어진 163개 균주

2. 분석특성

가. 목재기질 분해효소(Extracellular enzyme) 활성조사

표고의 기질은 목재이다. 즉 기질성분을 분해할 수 있는 효소의 활성정도가 표고균사의 초기활착에 중요하다고 할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 목재기질 분해효소의 활성정도를 평가하고 비교하였다.

나. *Trichoderma atroviride*에 대한 길항력 조사

표고재배에서 문제가 되는 푸른곰팡이병의 주범인 *Trichoderma atroviride*를 대상으로 교배균주의 해균에 대한 길항력을 평가하였다..

다. 중금속(copper)에 대한 저항력

표고균주는 중금속(구리)에 대한 내성을 검정하였다.

라. 버섯 분화 관련 효소(laccase)활성 조사

국내에서 이 효소의 효율적 평가를 수행하는데 있어서 기존에 사용되었던 시약이 더 이상 공급되지 않는 연유로 평가법의 설정이 우선 이루어져야하는 실정인바 본 연구에서는 손쉽게 눈으로 그 활성을 검정하거나 과학적으로 정량을 수행할 수 있는 방법을 우선 개발 하고자 하였다.

마. IGS region rDNA 분석

지금까지 표고 균주의 유전적 분류를 위하여 분석된 유전자 중에서 일반적으로 많이 쓰이던 리보조음 RNA 유전자 및 베타 튜블린 유전자는 종 수준에서 균주간 차이를 구분하는 염기서열 부위가 충분치 않아 품종 개발에 적용하기에는 한계가 있다. 이에 따라 rDNA 유전자 subunit repeat 자리 중 intergenic space region인 IGS rDNA 유전자 부위가 일부에서 시도된바 있다. 이에 따라 본 연구에서도 그 활용 가능성을 조사하였다.

3. 실험방법

가. 목재기질 분해효소(Extracellular enzyme) 활성조사

β -glucosidase, avicelase, CM-cellulase, amylase, pectinase, xylanase, protease을 조사하였다. 세포외 효소 활성을 검정하기 위해, PDA에서 배양된 표고균사를 발색 반응배지 (chromogenic media)로 접종하여 측정하였다. 발색반응배지는 0.1%의 yeast nitrogen base (Difco, USA)를 기본으로 하여, 효소반응을 위한 탄소원으로는 β -glucosidase의 경우 D-cellobiose (Sigma, USA)를, avicelase의 경우 Avicel PH-101 (Fluca, Switzerland)을, CM-cellulase의 경우 CM-cellulose (Sigma, USA)를, amylase의 경우 Starch from potato (Sigma, USA)를, pectinase의 경우 Polygalacturonic acid (MP Biomedical, France)를, xylanase의 경우 Xylan oat spelts (Sigma, USA)를 0.5% 첨가하여 사용하였으며, 발색반응 (chromogenic

reaction)을 위한 염색약으로 0.5%의 Congo Red (Sigma, USA)를 사용하였다 (Hyun *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2007). 각 균주가 접종된 발색반응배지를 25℃에서 약 20일간 배양 후 세포외 효소 활성으로 인하여 발색배지상에 투명하게 나타나는 투명환(clear zone)을 측정하였다. Protease의 경우에는 효소반응을 위한 영양원으로 Skim milk Powder를 사용하여 배지를 만들고 접종된 균사가 분비하는 효소에 의해 생성되는 분해환을 측정하였다. 분해환은 균사의 접종원부터 분해환이 형성된 부분까지를 측정하였다. 0~20 mm의 분해환을 형성하는 균주는 약한 효소활성을 보이는 균주, 20~50 mm의 분해환을 형성하는 균주는 중도적인 효소활성을 보이는 균주, 그리고 50 mm 이상의 분해환을 지닌 균주를 강한 효소활성을 보이는 균주로 평가하였다.

나. *Trichoderma atroviride*에 대한 길항력 조사

실험에 사용한 *Trichoderma atroviride*는 현미경으로 포자의 형태를 관찰하였고 (그림 4-3). ITS (Internal transcribed spacer) rDNA 유전자 염기서열 분석을 통하여 *Trichoderma atroviride*임을 확인한 후 실험에 이용하였다(그림 4, 5). 표고균주와 표고 병원균인 *Trichoderma atroviride*를 각각 PDA에서 대치배양시키고, 약 14일간 배양 후 두 균의 위치와 대치선 유무에 따라서 병원균에 대한 표고의 길항력을 평가하였다. 대치선이 없으며 *Trichoderma atroviride*가 표고균사 쪽으로 2/3 이상 넘어온 표고균주를 약한 길항력을 보이는 균주, 대치선이 희미하게 형성되며 *Trichoderma atroviride*가 표고균사 쪽으로 1/3정도 넘어온 표고균주를 중도적인 길항력을 보이는 균주, 대치선이 형성되어 육안으로 뚜렷하게 보이고 *Trichoderma atroviride*와 표고가 배지 가운데에서 대치하는 표고균주를 강한 길항력을 보이는 균주로 평가하였다.



<그림 4-3> PDA에서 자란 *Trichoderma atroviride*의 colony morphology(왼쪽), 현미경으로 관찰한 포자모습(오른쪽). Bars means 10 μ m..

GGCTCGTNGTGAN CAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA ACTCCCAAAC
 CCAATGTGAACCATAACCAA ACTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGC
 GTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGGACCAACCAA ACTCTTTTC
 TGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAA
 ATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGA
 ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCAT
 CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
 CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACC
 TCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGC
 CGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACA ACTCGCACCGGGAGCGCGGCGC
 GTCCACGTCCGTAAAACACCCA ACTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGT
 AGGAATACCCGCTGAACTTAAGCTATCAATAAGCGGAGGAA

<그림 4-4> *Trichoderma atroviride*의 ITS rDNA nucleotide sequence.

<표 4-1> NCBI blast search result를 이용한 *Trichoderma* 균주 동정

Rank	Accession Number	Description	Sequence Description	E value	Max identity
1	EU551197	<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS	0.0	99%
2	EU076960	<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS	0.0	99%
3	EF417482	<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS	0.0	99%
4	AF456917	<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS	0.0	99%
5	AF456917	<i>Trichoderma atroviride</i>	ITS	0.0	99%

다. 중금속(copper)에 대한 저항력

표고균주를 PDA에서 전배양을 한 후, Cu²⁺가 0.1 mM, 0.5 mM, 1 mM, 10 mM로 포함된 각각의 PDA에 접종한다. 25°C 배양기에서 약 15일간 배양한 후 그 성장도를 측정함으로써 중금속에 대한 내성을 검정하였다. 중금속은 Cu²⁺이온으로 CuSO₄를 사용하였다. 1 mM Cu²⁺ ion이 첨가된 배지에서 0~20 mm의 균사 성장도를 보인 균주는 약한 내성을 보이는 균주, 20~50 mm의 균사 성장도를 보인 균주는 중도적인 내성을 보이는 균주, 그리고 50 mm 이상의 균사 성장도를 보인 균주를 강한 내성을 보이는 균주로 평가하였다.

라. 버섯 분화 관련 효소(laccase)활성 조사

2가지 발색 시약 (Remazol Brilliant Blue R[RBBR], Guaiacol)을 이용하여 액체배지와 고체배지 상에서 laccase 활성을 검정하였다. 고체배지에서는 생성되는 환을 측정하였으며 액체배지의 경우에는 2ml튜브에 1.5ml씩 액체배지를 분주하였고 25℃, 3일간 배양하고, 분광광도계를 이용하여 Guaiacol은 495nm 이고 RBBR은 560nm에서 흡광도를 측정하고 비교하였다.

마. IGS region rDNA 분석

균사체로부터 DNA를 추출하고, PCR을 통하여 IGS1 & 2 region을 증폭하였다. PCR 반응은 Gene Amp-950 cycler (ABI, USA)를 이용하여 수행하였다. 유전자의 증폭을 위해서 PCR 반응물의 조성은 10× reaction buffer 5 μl, 10 mM dNTPs 1 μl, 5× Band doctor 2.5 μl, 20 pmol primer 각 1 μl, template DNA 2 μl, 3차 멸균 증류수 37 μl, 5 U EF-Taq polymerase 0.5 μl (Solgent, Korea)를 첨가하여 총 50 μl의 반응물을 만든 후 반응하였다. 반응조건은 94℃에서 4분간 pre-heating시킨 다음, 94℃에서 50초간 denaturation, 55℃에서 50초간 annealing, 72℃에서 2분간 extension을 1 cycle로 하여, 총 30 cycle을 반응시킨 다음 72℃에서 10분 동안 post extension하고 4℃로 유지하였다. PCR 반응산물은 1% agarose gel상에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하여 확인하였으며 크기는 1 kb DNA ladder marker (Promega, USA)와의 비교를 통해 확인하였다. IGS 유전자의 PCR 산물은 Gel extraction kit (Qiagen, USA)을 이용하여 정제하였다. 정제된 산물은 T&A Cloning vector (RBC, Taiwan)에 subcloning한 후 plasmid를 추출하여 HindIII 제한효소를 처리하여 cloning 여부를 확인하였다. 추출된 plasmid는 Macrogen사(Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열은 Chromas v2.31을 이용하여 편집하였다. 비교를 위한 다중염기서열 정렬은 ClustalW 2 프로그램을 이용하여 수행하였으며 기존에 보고된 표고 IGS 염기서열은 GenBank 데이터베이스로부터 다운받아 사용하였다. 계통도 분석은 PAUP*4.010b를 이용하여 Neighbor-Joining 방법 (Kimura, 1980)으로 제작하였고, 계통도내 분지의 신뢰도 (bootstrap 값)를 조사하기 위해서는 1,000번의 bootstrap resampling 분석을 실시하였다 (Swofford, 2002).



IGS1 primer sequence.

IGS1-F : 5'-CCGGTACCACGATCCGCTGAGGTTAAGCCC-3'

IGS1-R : 5'-CCGGTACCCTTTCAGAGTCCTATGGCCGTG-3'

IGS2 primer sequence.

IGS2-F : 5'-CCGGTACCATCCACGGCCATAGAACTCTGA-3'

IGS2-R : 5'-CCGGTACCTTGAGACAAGCATATGACTACT-3'

<그림 4-5> IGS rDNA region map 모식도와 IGS1&2 primer sequence

4. 시험결과

가. 목재기질 분해효소(Extracellular enzyme) 활성조사

(1) 모균주(산조101호, 산조108호)

각 기질을 분해하는 효소의 활성 정도에서 차이가 있음을 알 수 있었으며 이런 특성은 향후 육성균주의 특성을 파악하는데 필요한 작업이라고 고려되었다.

(2) 단핵균주(1-1~20, 3-1~20, 총 40균주)

한 어버이(n+n)에서 나온 단포자 균주간에 목재의 기질을 이용하는 능력에 차이가 있었다. 교잡을 위한 단포자 선별에 크게 도움이 될 수 있는 하나의 수단으로 육종에 이용될 수 있을 것이라고 사료되며 특히 protease, xylanase, pectinase, amylase의 활성은 우수균주 선별에 유용할 것으로 사료되었다.

<표 4-2> 모균주와 단핵균주의 목재기질 분해효소 활성 비교

효소활성		산조101호	산조108호	산조101호 단핵균주	산조108호 단핵균주
β-glucosidase	Strong	1/1*		3/20	18/20
	Moderate			5/20	2/20
	Weak		1/1	12/20	0/20
Avicelase	Strong			3/20	4/20
	Moderate			3/20	8/20
	Weak	1/1	1/1	14/20	8/20
CM-cellulase	Strong			0/20	9/20
	Moderate			3/20	6/20
	Weak	1/1	1/1	17/20	5/20
Amylase	Strong			0/20	7/20
	Moderate			2/20	3/20
	Weak	1/1	1/1	18/20	10/20
Pectinase	Strong	1/1		2/20	1/20
	Moderate			2/20	7/20
	Weak		1/1	16/20	12/20
Xylanase	Strong			0/20	6/20
	Moderate			0/20	1/20
	Weak	1/1	1/1	20/20	13/20
Protease	Strong		1/1	0/20	0/20
	Moderate	1/1		15/20	9/20
	Weak			5/20	11/20

*: 해당되는 효소활성을 보이는 균주수 / 총균주수

(3) 교배균주

단포자의 교배형(n+n)인 163개의 균주간에도 기질 이용능력에 차이가 있었으며, 이는 육종균주 선발에 유용한 생화학 지표로 사용될 가능성이 있음을 알 수 있었다(표 4-3). 교배유형별로 β-glucosidase 효소활성을 비교하였을 때, 교배에 사용된 단핵균주의 효소활성이 모두 강할 때, 강한 활성을 보이는 88개 교잡균주 중에서 16개의 교잡균주만이 이런 교배조합에 의해 만들어졌지만, 산조101호에서 분리

된 단핵균주의 효소활성이 강하고 산조108호에서 분리된 단핵균주의 효소활성이 약할 때 강한 효소활성을 보이는 88개 교잡균주 중에서 36개의 균주가 만들어졌다. 교배에 사용된 단핵균주 모두 강한 Avicelase활성을 보였을 때 전체 84개의 강한 avicelase활성을 보이는 교잡균주 중에서 오직 2개 균주만이 이런 교배조합에 의하여 만들어졌다. 산조101호에서 분리된 단핵균주의 효소활성이 약하고 산조108호에서 분리된 단핵균주의 효소활성이 중도적인 경우에 전체 84개의 강한 효소활성을 보이는 교잡균주 중에서 23개 균주가 만들어졌다. 또한 Pectinase와 Xylanase에서는 교배에 사용된 산조101호와 산조108호로부터 각각 분리된 단핵균주들의 효소활성이 모두 약할 경우에 32개 교잡균주와 28개의 교잡균주가 강한 효소활성을 보임으로서 산조101호에서 분리된 단핵균주와 산조108호에서 분리된 단핵균주 어느 한쪽이 강한 활성을 지니는 경우보다 강한 효소활성을 지니는 교잡균주를 더 많이 만드는 교배조합이라는 것을 알 수 있었다. Protease는 두 단핵균주가 모두 중도적인 효소활성을 보일 때 12개의 강한 효소활성을 지니는 교잡균주가 만들어짐으로서, 강한 protease를 지니는 교잡균주를 만드는 확률이 높은 것으로 나타났다 (표 4-4). 배지 상에서의 모습은 그림 6과 같다. 교배에 있어서 모균주, 단핵균주, 교배균주 어느 한 단계에서만 측정하고 판단하는 것이 아니라 모든 단계에서 측정하고 상호적으로 판단해야한다는 것을 알 수 있었다.

<표 4-3> 모균주와 교배균주의 목재기질 분해효소 활성 비교

효소활성		산조101호 (모균주)	산조108호 (모균주)	교배균주
β-glucosidase	Strong	1/1*		88
	Moderate			18
	Weak		1/1	57
avicelase	Strong			84
	Moderate			24
	Weak	1/1	1/1	55
CM-cellulase	Strong			90
	Moderate			17
	Weak	1/1	1/1	56
Amylase	Strong			29
	Moderate			54
	Weak	1/1	1/1	80
Pectinase	Strong	1/1		65
	Moderate			52
	Weak		1/1	117
Xylanase	Strong			41
	Moderate			22
	Weak	1/1	1/1	100
Protease	Strong		1/1	18
	Moderate	1/1		130
	Weak			25

*: 해당되는 효소활성을 보이는 균주수, 시험균주수 : 163개 균주

<표 4-4> 모균주와 교배균주의 목재기질 분해효소 활성 비교

효소활성		교배균주								Total	
		S1×S2	S1×M2	S2×M1	S1×W2	S2×W1	M1×M2	M1×W2	M2×W1		W1×W2
β-glucosidase	Strong	16**	3	24	36		4		5		88
	Moderate	1		8		9					18
	Weak	10	1	17	25		2		2		57
avicelase	Strong	2	3	5	5	11	12	3	23	20	84
	Moderate			1	1	4	2	1	7	8	24
	Weak	1	1	1	4	9	7	7	14	11	55
CM-cellulase	Strong			5		42		2	19	19	87
	Moderate			2	8	3	2		5	20	
	Weak			2		28	1		14	11	56
Amylase	Strong			1		14	1	2	2	9	29
	Moderate			2		8	2	5	7	30	54
	Weak			5		23	2	5	8	37	80
Pectinase	Strong		4		6	5	1	4	13	32	65
	Moderate		1		2	2		4	10	33	52
	Weak		1	2	5	2	2	3	4	27	46
Xylanase	Strong					11			2	28	41
	Moderate					1				21	22
	Weak					20			4	76	100
Protease	Strong						12	4	1	1	18
	Moderate						40	62	11	7	120
	Weak						7	12	2	4	25

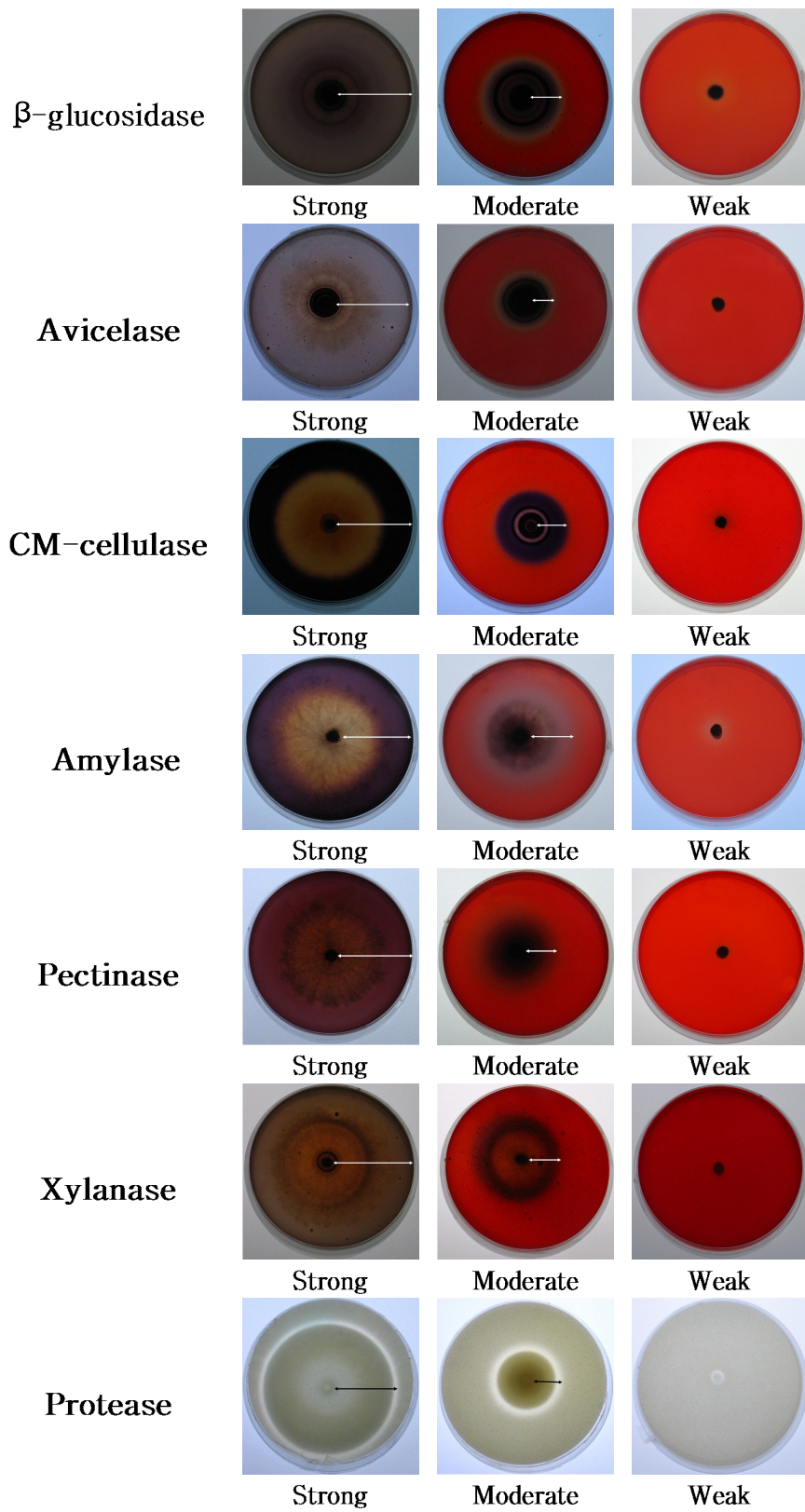
*: 교배에 사용된 단핵균주의 효소활성.

S: 강한 세포외효소 활성, M: 중도적인 세포외효소 활성,

W: 약한 세포외효소 활성.

1: 산조101호의 단핵균주, 2: 산조108호의 단핵균주

** : 해당되는 효소활성을 보이는 균주수



<그림 4-6> Chromagenic media를 이용한 목질기질 분해효소 검정
 ※ 화살표: 투명환(clear zone) 표시

나. *Trichoderma atroviride*에 대한 길항력 조사

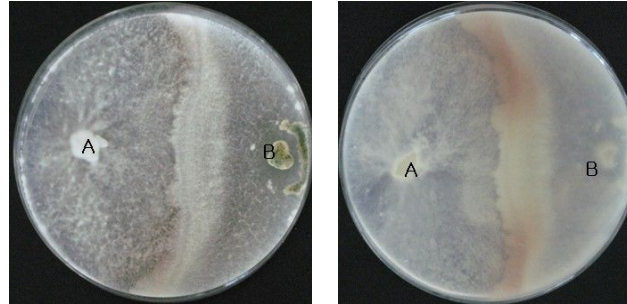
대치배양을 통하여 길항력 측정을 통하여 표고균주는 *T. atroviride*에 대하여 크게 약한 길항력을 보이는 균주, 중도적인 길항력을 보이는 균주, 그리고 강한 길항력을 보이는 균주로 구분이 되었다(그림 4-7).

성장도 측정, 세포외 효소활성 측정, 표고 병해균 방제용 항진균제 내성의 결과에 의해서 우수한 성향을 보이는 40 개의 교잡균주를 선발하여 우수한 40개의 교잡균주 위주로 길항능력을 측정하였다

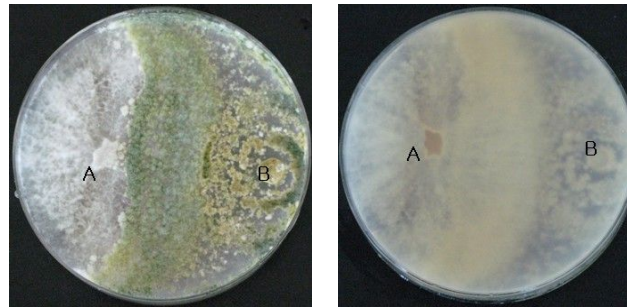
두 모균주가 *T. atroviride*에 대하여 보이는 길항력을 비교하였을 때, 산조101호는 강한 길항력을 보이는 반면에 산조108호는 중도적인 길항력을 보였다. 각각의 모균주로부터 분리된 단핵균주의 길항력을 비교하였을 때, 산조101호의 단핵균주 중에서 1 개 균주가 강한 길항력을 보이고 1 개 균주가 중도적인 길항력을 보인 반면에 산조108호의 단핵균주는 2 개 균주가 강한 길항력을 보이고 3 개 균주가 중도적인 길항력을 보였다.

두 모균주는 중도적이거나 강한 길항력을 보였으나, 교잡균주 중에서 8 개의 균주가 강한 길항력을 보이고, 17 개 균주가 중도적인 길항력을 보였으며, 15 개 균주가 모균주에서 잠재되어있던 약한 길항력을 보였다. 그리고 단핵균주와 교잡균주간의 길항력을 비교하였을 때, 산조101호의 20 개의 단핵균주 중에서 18 개 균주, 산조108호의 20 개의 단핵균주 중에서 15 개 균주가 약한 길항력을 보였지만 교잡균주 중에서는 40 개 중 25 개 균주가 중도적인 길항력 이상의 특성을 보였다.

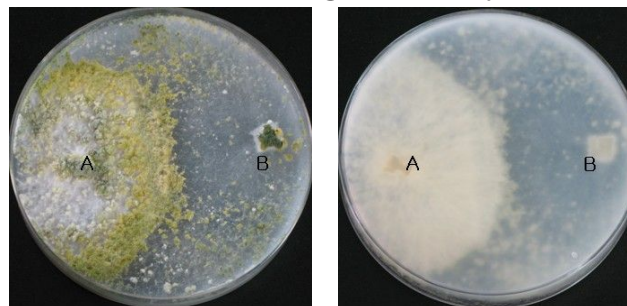
산조101호에서 분리된 길항력이 약한 단핵균주와 산조108호에서 분리된 길항력이 강한 단핵균주의 교배 ($W1 \times S2$)에 의해서는 강한 길항력을 보이는 1 개의 교잡균주를 만들어졌으나, 두 단핵균주 모두 약한 길항력을 보이는 교배 ($W1 \times W2$)에서는 5 개의 강한 길항력을 보이는 교잡균주가 만들어졌다(표 4-6). 목재기질 분해효소에서와 마찬가지로 모균주, 단핵균주, 교배균주의 종합적인 평가가 필요하다는 것을 알 수 있었다.



Strong antagonistic ability



Moderate antagonistic ability



Weak antagonistic ability

<그림 4-7> *Trichoderma atroviride*(B로 표시)에 대한 표고 교배균주(A로 표시)의 길항능력 정도

<표 4-5> *Trichoderma atroviride*에 대한 표고균주의 길항정도

Strain	Resistance
Sanjo 101 ho	S
Sanjo 108 ho	M
P001	W
P005	M
P008	M
P015	M
P020	M
P028	W
P033	S
P037	W
P041	S
P046	S
P048	S
P052	S
P064	S
P066	W
P068	M
P075	M
P078	M
P079	M
P081	W
P082	S
P084	M
P085	W
P086	M
P091	W
P093	M
P098	M
P102	M
P109	W
P114	M
P117	M
P121	W
P122	W
P130	W
P136	S
P147	M
P148	M
P153	W
P154	W
P156	W
P162	W

S: 강한 길항력, M: 중도적 길항력, W: 약한 길항력

<표 4-6> 교배에 사용된 단핵균주의 *Trichoderma atroviride*에 대한 길항력에 따른 교배균주의 길항력 비교

길항력	교배균주								Total	
	*S1×S2	S1×M2	S2×M1	S1×W2	S2×W1	M1×M2	M1×W2	M2×W1		W1×W2
Strong					1**	1		1	5	8
Moderate					5			3	9	17
Weak					3			3	9	15
Total					9	1		7	23	40

*: 교배에 이용된 단핵균주의 길항력 정도

S: strong antagonistic ability, M: moderate antagonistic ability,

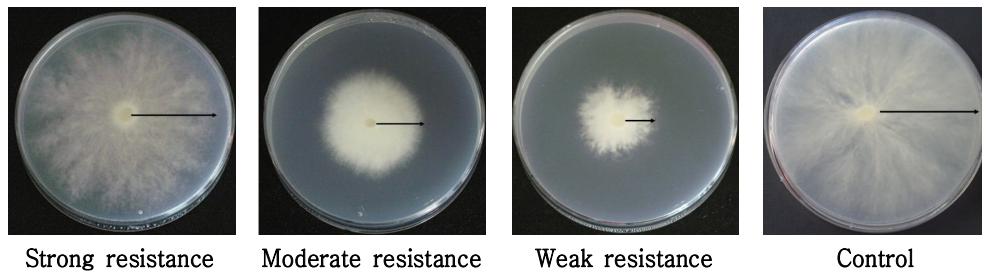
W: Weak antagonistic ability.

1: 산조101호 단핵균주, 2: 산조 108호 단핵균주

** : 해당 길항력을 보이는 균주수

다. 중금속(copper)에 대한 저항력

실험에 사용한 표고균주는 Cu^{2+} 에 대한 중금속 내성 측정 결과에 따라 약한 내성을 보이는 균주, 중도적인 내성을 보이는 균주, 그리고 강한 내성을 보이는 균주로 구분이 되었다(그림 4-8). 모균주인 산조101호와 산조108호는 모두 Cu^{2+} 에 중도적인 내성을 보였다. 그러나 산조101호의 단핵균주와 산조108호의 단핵균주 중에서 각각 3 개의 균주가 모균주에서는 잠재되어 있던 강한 내성을 보였다. 모균주와 교잡균주의 중금속 내성을 비교하였을 때 모균주인 산조101호와 산조108호는 모두 중도적인 내성을 보였지만, 각각의 모균주로부터 얻어진 단핵균주의 교배를 통하여 만들어진 교잡균주 중에서 25 개 균주가 강한 내성을 보였다. 산조101호의 단핵균주 중에서 강한 내성을 보이는 균주와 산조108호의 단핵균주 중에서 중도적 내성을 보이는 균주간의 교배 (S1×M2)에서 2 개의 강한 내성을 보이는 교잡균주가 만들어졌다. 그러나 두 단핵균주가 모두 약한 내성을 보이는 교배 (W1×W2)에서는 교배에 사용된 단핵균주 중에서 어느 한쪽의 내성이 강한 경우보다 더 많은 수인 6개의 강한 내성을 보이는 교잡균주가 만들어졌다. 대부분의 강한 저항력을 보이는 교배균주를 만드는 교배조합이 어느 한쪽에 편중되는 것이 아니라 고르게 퍼져있는 것을 알 수 있었다(표 4-8). 따라서 교배에서 모균주와 단핵균주의 저항력이 약하다고 교배에서 배제시키는 것이 아니라 종합적인 평가가 필요하다는 것을 알 수 있었다.



<그림 4-8> 표고교배균주의 copper 내성정도

화살표: 1mM Cu²를 포함한 PDA에 접종후 25℃애소 15일 배양후 자라난 균사체 길이

<표 4-7> 교배균주의 중금속 내성 평가

Strain	Resistance	Strain	Resistance
Sanjo 101 ho	M	P082	S
Sanjo 108 ho	M	P084	S
P001	S	P085	M
P005	M	P086	S
P008	S	P091	S
P015	M	P093	S
P020	S	P098	M
P028	S	P102	S
P033	S	P109	M
P037	M	P114	M
P041	S	P117	M
P046	W	P121	S
P048	S	P122	S
P052	M	P130	M
P064	S	P136	S
P066	M	P147	S
P068	S	P148	S
P075	S	P153	M
P078	S	P154	M
P079	S	P156	M
P081	S	P162	S

S: 강한 저항성, M: 중도적 저항성, W: 약한 저항성

<표 4-8> 교배에 사용된 단핵균주의 copper 내성에 따른 교배균주의 copper내성평가

1mM/ml cooper에 대한 저항력	교배에 사용된 단핵균주의 저항성									Total
	*S1×S2	S1×M2	S2×M1	S1×W2	S2×W1	M1×M2	M1×W2	M2×W1	W1×W2	
Strong		2**		3	2	6	2	3	6	24
Moderate		1	1			1	1	5	3	15
Weak		1								1
Total		4	1	3	2	7	3	11	9	40

*: mating type combination.

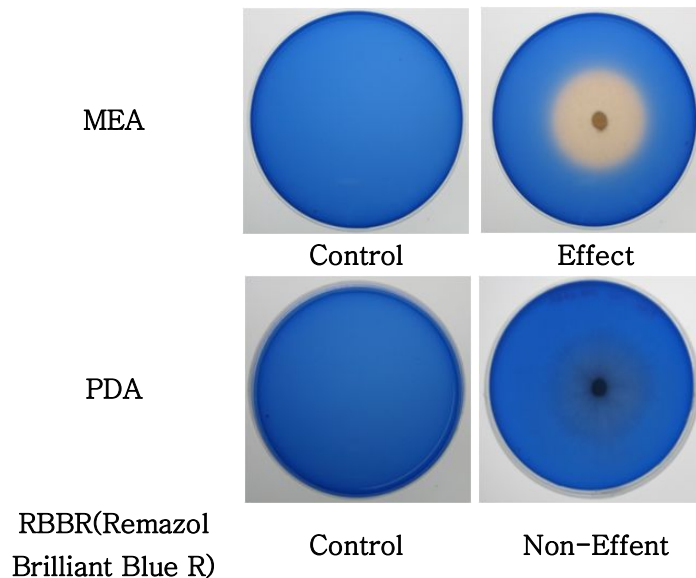
S: 강한 저항성, M: 중도적 저항성, W: 약한 저항성.

1: 산조101호의 단핵균주, 2: 산조108호의 단핵균주

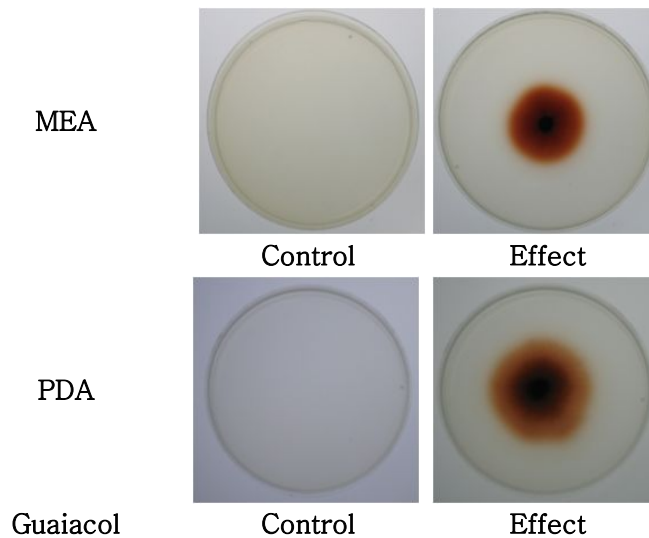
** : 해당 저항성을 나타내는 균주수

라. 버섯 분화 관련 효소(laccase)활성 조사

Guaiacol과 RBBR(Remazol Brilliant Blue R)을 사용하여 Laccase를 측정하였는데 위의 실험에는 6개의 우수한 선발교잡균주를 사용하였고 Guaiacol이 들어가 있는 agar plate(PDA, MEA)에서는 모두 반응이 일어났으며 RBBR이 들어가 있는 agar plate(PDA, MEA)에서는 MEA에서만 반응이 일어났다. 즉 agar plate에서는 균들 간에 비교를 할 수가 없었다.

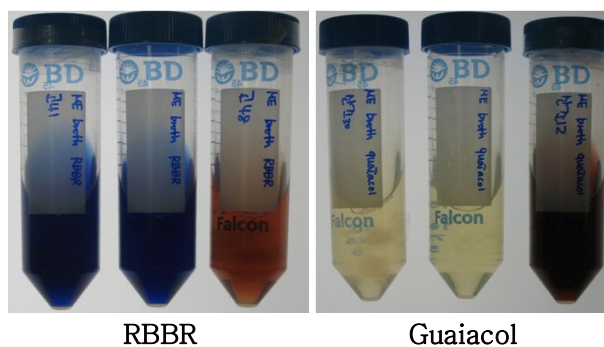


<그림 4-9> RBBR(Remazol Brilliant Blue R)를 이용한 표고균주의 laccase 활성 검정



<그림 4-10> Guaiacol을 이용한 표고균주의 laccase 활성 검정

그래서 액체배지를 사용하여 Guaiacol의 경우 495nm, RBBR의 경우에는 560nm에서 흡광도를 측정하였다(그림 4-11). 모균주 두개는 대체적으로 Laccase활성이 좋았으며 최종 선발균주 6개중 3개는 좋은 활성을 보였으며 1개는 활성이 좋지 않았다. 그리고 대체적으로 Guaiacol에서 좋은 활성을 나타냈는데 이것은 기질 차이로 보여지며 Laccase 활성 측정을 할 때 한 가지만 쓰는 것 보다 Guaiacol과 RBBR을 같이 사용하여 비교 하는 것이 Laccase 활성 측정 때 더욱 정확한 결과를 낼 수 있을 거라고 사료되었다.(표 4-9).



<그림 4-11> 액체배지 상에서 RBBR과 Guaiacol을 이용한 표고균주의 laccase 활성 검정
 왼쪽: 약한 효소활성, 가운데: 대조구, 오른쪽: 강한 효소활성, 25℃, 7일간 배양

<표 4-9> 교배균주와 모균주의 laccase 효소 측정평가표.

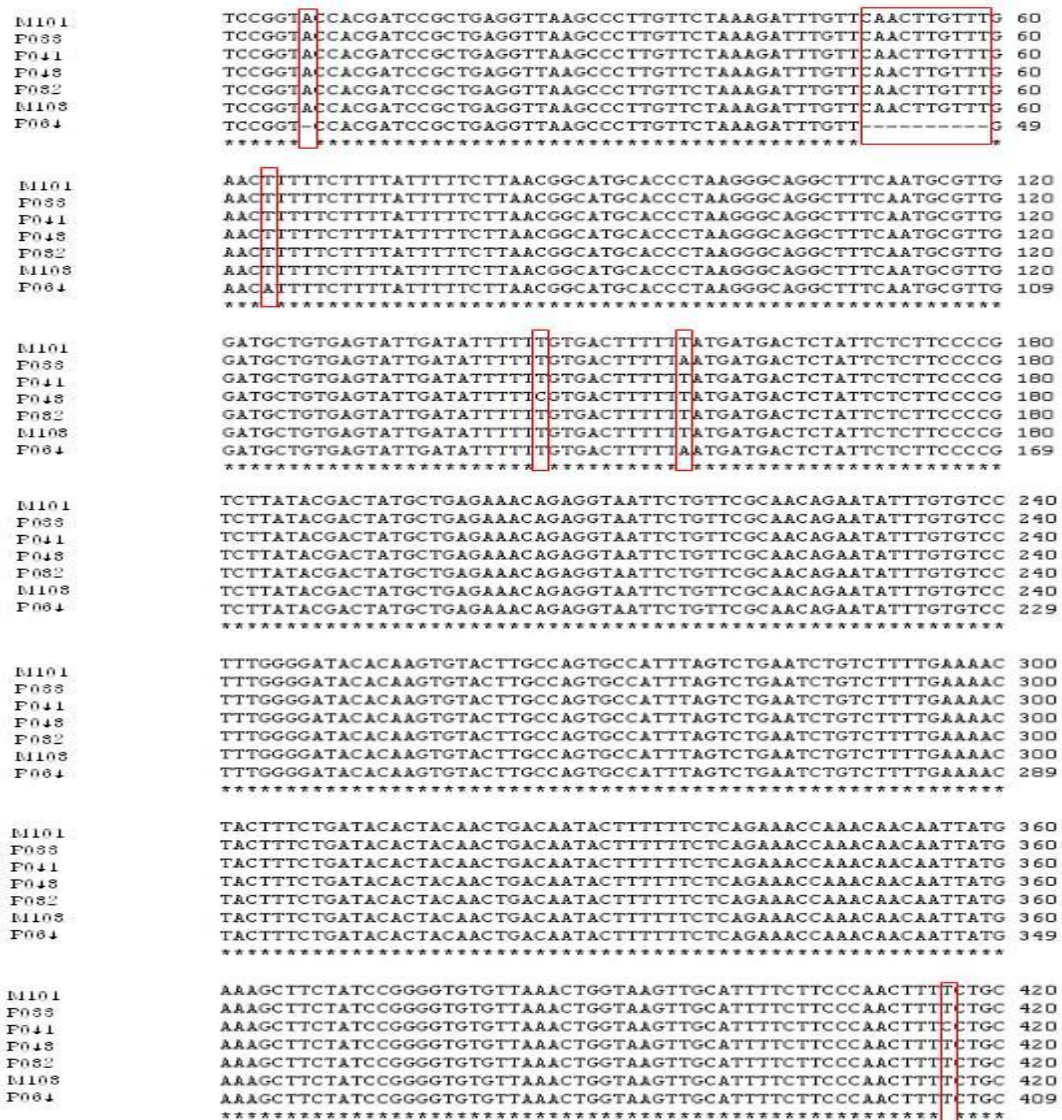
Strain	Guaiacol		RBBR		Guaiacol		RBBR	
	PDA	MEA	PDA	MEA	PDbroth	MEbroth	PDbroth	MEbroth
P033	E	E	N	E	0.508	1.574	0.310	1.761
P041	E	E	N	E	0.639	1.004	0.114	1.473
P048	E	E	N	E	0.983	1.778	0.085	0.814
P064	E	E	N	E	0.762	1.525	0.143	1.174
P082	E	E	N	E	0.008	0.002	0.077	0.131
P136	E	E	N	E	0.662	1.538	0.257	1.575
산조101	E	E	N	E	0.677	1.513	0.199	1.579
산조108	E	E	N	E	0.603	1.358	0.177	1.508

E: Effect, N: Non-Effect

마. IGS region rDNA 분석

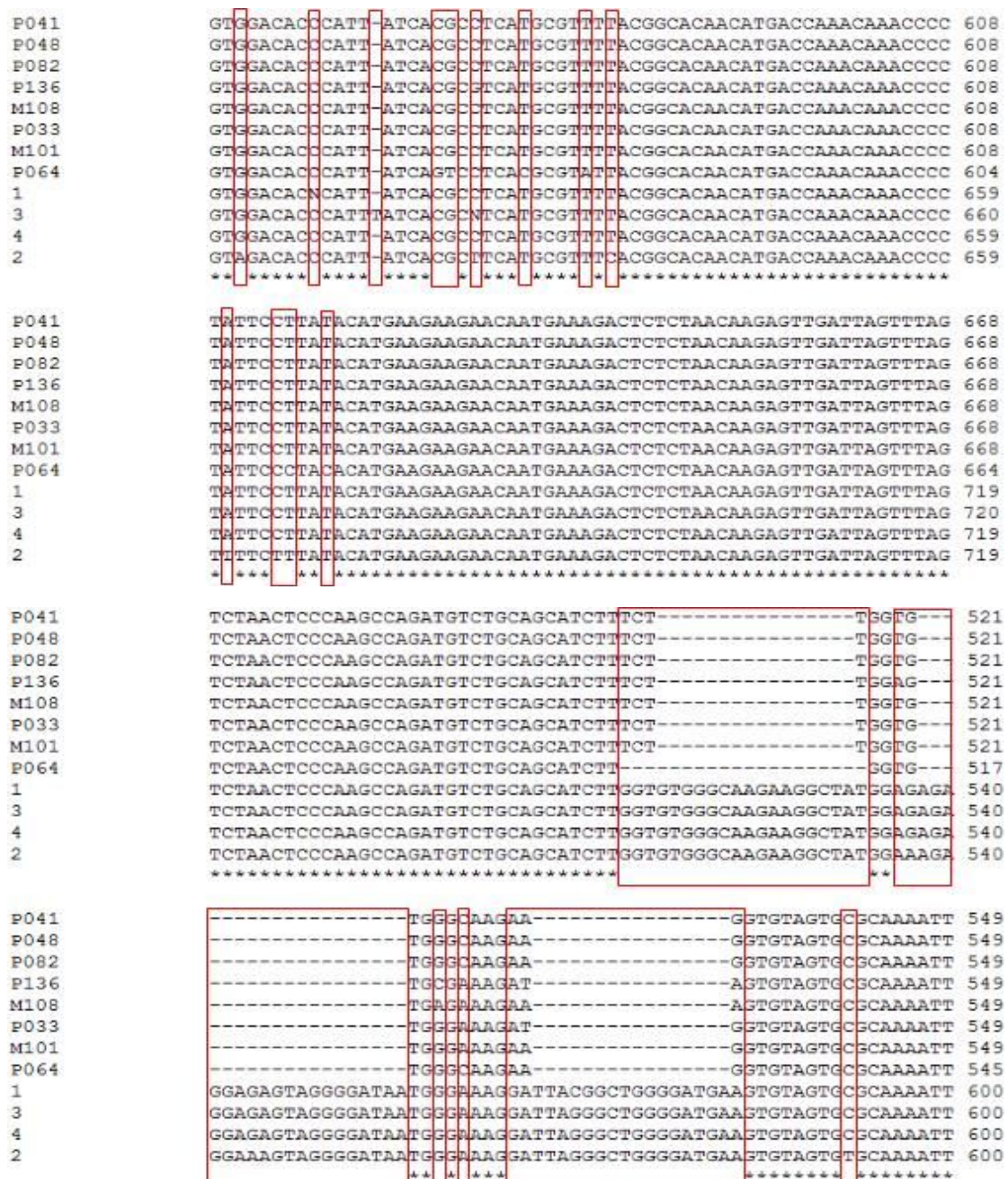
그림 12의 IGS1 rDNA 유전자 분석 결과 모균주 M101(산조101)과 M108(산조108)간의 차이가 뚜렷하게 존재하여 구분 할 수 있었다. ITS로는 구분이 쉽게 가지 않았으나 IGS1 sequence 상에서는 증폭된 유전자의 길이를 비교하였을 때 M101은 1069 bp의 크기를 가지고 있었고 M108은 1085 bp로서 16 bp 이상 길이가 길었다. 그리고 정렬된 비교에 있어서는 570 bp이 후부터 여러 군데 site에서 A-T 또는 C-G transversion 이 존재하여 구분이 뚜렷하였다. 이들 두 모균주를 교배하여 나온 교배균주인 P033, P041, P048, P082, P064 등의 IGS1 염기서열을 본 결과 모균주 M101과 동일한 길이를 보인 것은 P033 이었고 모균주 M108과 동일한 길이를 보인 것은 P048로서 1069 bp 였다. 이들은 같은 크기를 보였지만 염기서열에 있어서 deletion 과 transversion이 존재하면서 서로 간에 염기서열 유사도에 차이가 존재하였다. 한편 교배균주 P041과 P082는 1084 bp 크기의 길이로서 모균주 M108에 가까운 길이를 보였다. 이에 반해 교배균주 P064 는 1058로서 비교된 균주중 가장 작은 길이인 1058 bp로서 두 모균주와 커다란 차이를 보였고 다른 교배균주들과도 커다란 길이 차이를 보였다. 이러한 길이에 기초하여 볼 때 교잡균주 P064와 P033은 주로 모균주 산조 101호의 유전자를 받았다고 사료되고 P041, P048, P082는 모균주 산조108호의 유전자를 받은 것으로 사료된다. 물론 mutation 된 부분도 상당히 존재하였다. 흥

미로운 사실은 교배를 통하여 얻어진 균주에 있어서 IGS1 염기서열에 차이가 교배균주 간 존재한다는 것이었다. 염기서열에 차이가 나는 부분을 빨간선으로 박스 표시하였다. 본 연구 결과는 모균주와 교잡균주 그리고 교잡 균주 간에도 여러 곳에서 염기서열의 차이가 나는 것을 보여주었다. 따라서 IGS1 유전자 부위는 모균주의 구분은 물론 교잡균주 간의 차이를 나타내는데도 유용할 것으로 사료된다. 앞으로 좀 더 교배균주의 수를 확대하여 교배균주 내에서 유전자학적으로 얼마만큼의 변이가 IGS1에서 나타나는지 그리고 교배균주를 계속해서 계대하면서 얼마만큼 변이가 나타는지 조사하여 본 유전자 부위가 교배균주의 구분을 위한 안전된 유전마커로서 사용될 수 있는지 여부를 검토하는 것이 필요한 것으로 사료되었다.



<그림 4-12> 모균주와 교배균주들 간의 IGS2 region 염기서열 비교.

IGS2 부위에 대한 유전자 염기서열 비교는 그림 4-13에 제시하였다. 증폭된 유전자의 길이는 교배균주 P064를 제외하고는 모균주와 교배균주 모두 848 bp로서 동일하였다. P064는 IGS2 rDNA 분석에서 길이가 가장 작게 나타나 전체 rDNA unit 상에 교배시 genetic deletion 이 발생한 것으로 사료된다. 전반적으로 이들 모균주와 교배균주간에 차이는 IGS2에서 차이가 매우 근소하였다.



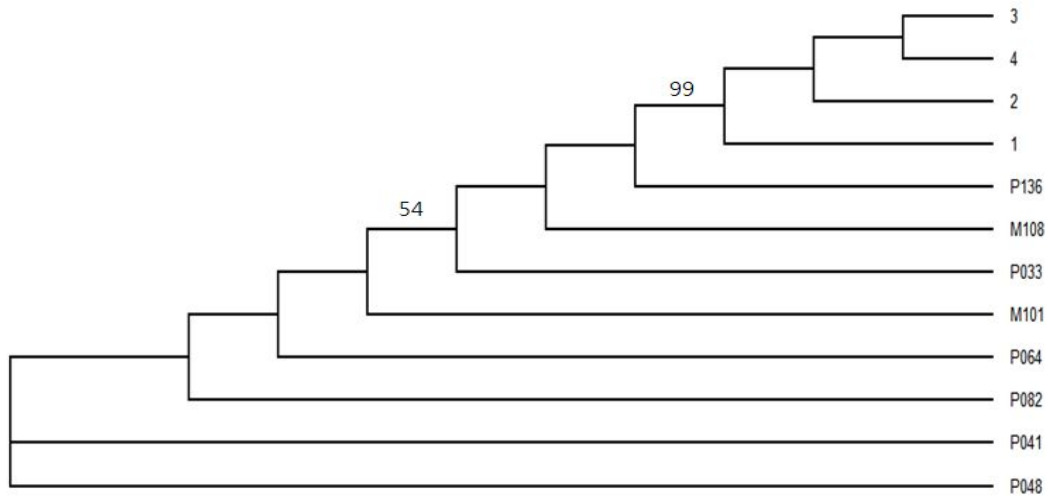
<그림 4-13> 모균주와 교배균주들 간의 IGS2 region 염기서열 비교.

한편 IGS2 부위의 유용성을 좀 더 추가로 검토하고자 한 농가에서 재배되고 있는 출처가 알려지지 않은 균주 4개 (1, 2, 3, 4)를 수집하여 비교분석을 하여 보았다 (그림 4-14). 농가에서는 4개가 몇 년간 재배되는 같은 계통의 균주라는 것만 알고 있었다. IGS2부근의 유전자 분석 결과 이들 4개의 농가균주는 매우 유사한 염기서열 구조를 가지고 있었다. 이들 간에는 균주 3을 제외하고는 모두 719 bp로서 길이가 동일하였다. 흥미롭게도 앞서 비교하였던 M101과 M108 계통의 모균주와 교배균주에 대하여서 이들 농가의 4개 균주는 모두 뚜렷하게 유전적으로 다른 계통으로 구분 할 수 있었다. 유전자 길이만 비교하여도 유전적 차이가 충분하였고 여러 군데 rDNA site 에서도 염기서열에 차이가 있었다. 이 결과에 비추어 볼 때 IGS2 region은 유전적으로 계통이 상이한 표고 균주를 구분하는데 사용 가능한 것으로 사료된다. 이러한 구분은 그림 15에 제시한 계통도 분석에서 쉽게 볼 수 있다. 농가에서 수집한 균주 1, 2, 3, 4,는 본 연구에서 교배한 교배균주와 서로 다른 그룹으로 묶이면서 구분이 지어짐을 볼 수 있었다.

```

P041      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
P048      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
P082      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
P136      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGAG--- 521
M108      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
P033      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
M101      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTTCT-----TGGTG--- 521
P064      TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTT-----GGTG--- 517
1         TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTGGTGTGGGCAAGAAGGCTATGGAGAGA 540
3         TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTGGTGTGGGCAAGAAGGCTATGGAGAGA 540
4         TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTGGTGTGGGCAAGAAGGCTATGGAGAGA 540
2         TCTAACTCCCAAGCCAGATGTCTGCAGCATCTTGGTGTGGGCAAGAAGGCTATGGAAAGA 540
*****
P041      -----TGGGCAAGAA-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
P048      -----TGGGCAAGAA-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
P082      -----TGGGCAAGAA-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
P136      -----TGCGAAAGAT-----AGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
M108      -----TGAGAAAGAA-----AGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
P033      -----TGGGAAAGAT-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
M101      -----TGGGAAAGAA-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 549
P064      -----TGGGCAAGAA-----GGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 545
1         GGAGAGTAGGGGATAATGGGAAAGGATTACGGCTGGGGATGAAGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 600
3         GGAGAGTAGGGGATAATGGGAAAGGATTAGGGCTGGGGATGAAGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 600
4         GGAGAGTAGGGGATAATGGGAAAGGATTAGGGCTGGGGATGAAGTGTAGTGC-----CGCAAAATT 600
2         GGAAAGTAGGGGATAATGGGAAAGGATTAGGGCTGGGGATGAAGTGTAGTGTG-----CGCAAAATT 600
*****

```

<그림 4-15> 교잡균주(P series)와 모균주M101 & M108 그리고 4개 농가수집균주(1,2,3,4)의 IGS2 region 염기서열에 기초한 Cladogram 계통

제 3 절 균사 및 기형자실체의 생화학적 특성

1. 분석균주

가. 모균주

산조701호, FMRI0961

나. 교배균주

산조701호와 FMRI0961 교배에 의해 얻어진 정상균주와 갓을 형성하지 못하는 기형균주

2. 분석특성

가. laccase 활성정도 검정

분화와 관련되어있는 laccase의 활성정도와 자실체의 기형 관련유무를 판별하였다.

나. IGS region 분석

자실체에서 나타나는 기형형질의 유전적 상관관계를 IGS region분석을 통하여 알아보았다.

3. 시험방법

가. laccase 활성정도 검정

2가지 발색 시약 (Remazol Brilliant Blue R[RBBR], Guaiacol)을 이용하여 액체배지와 고체배지 상에서 laccase 활성을 검정하였다. 고체배지에서는 생성되는 환을 측정하였으며 액체배지의 경우에는 2ml튜브에 1.5ml씩 액체배지를 분주하였고 25℃, 3일간 배양하고, 분광광도계를 이용하여 Guaiacol은 495nm 이고 RBBR은 560nm에서 흡광도를 측정하고 비교하였다(제2절에서 사용한 방법과 동일)

나. IGS region 분석

균사체로부터 DNA를 추출한 이후, PCR을 통하여 IGS1 & 2 region을 증폭한다. PCR 반응은 Gene Amp-950 cyciler (ABI, USA)를 이용하여 수행하였다. 유전자의 증폭을 위해서 PCR 반응물의 조성은 10× reaction buffer 5 μ l, 10 mM dNTPs 1 μ l, 5× Band doctor 2.5 μ l, 20 pmol primer 각 1 μ l, template DNA 2 μ l, 3차 멸균 증류수 37 μ l, 5 U EF-Taq polymerase 0.5 μ l (Solgent, Korea)를 첨가하여 총 50 μ l의 반응물을 만든 후 반응하였다. 반응조건은 94°C에서 4분간 pre-heating시킨 다음, 94°C에서 50초간 denaturation, 55°C에서 50초간 annealing, 72°C에서 2분간 extention을 1 cycle로 하여, 총 30 cycle을 반응시킨 다음 72°C에서 10분 동안 post extention하고 4°C로 유지하였다. PCR 반응산물은 1% agarose gel상에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하여 확인하였으며 크기는 1 kb DNA ladder marker (Promega, USA)와의 비교를 통해 확인하였다. IGS 유전자의 PCR 산물은 Gel extration kit (Qiagen, USA)을 이용하여 정제하였다. 정제된 산물은 T&A Cloning vector (RBC, Taiwan)에 subcloning한 후 plasmid를 추출하여 HindIII 제한효소를 처리하여 cloning 여부를 확인하였다. 추출된 plasmid는 Macrogen사(Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열은 Chromas v2.31을 이용하여 편집하였으며 비교를 위한 다중염기서열 정렬은 ClustalW 2 프로그램을 이용하여 수행 하였으며 기존에 보고된 표고 IGS 염기서열은 GenBank 데이터베이스로부터 다운받아 사용하였다. 계통도 분석은 PAUP*4.010b를 이용하여 Neighbor-Joining 방법 (Kimura, 1980)으로 제작하였고, 계통도내 분지의 신뢰도 (bootstrap 값)를 조사하기 위해서는 1,000번의 bootstrap resampling 분석을 실시하였다 (Swofford, 2002). (제 3절에서 사용한 방법과 동일)

4. 실험결과

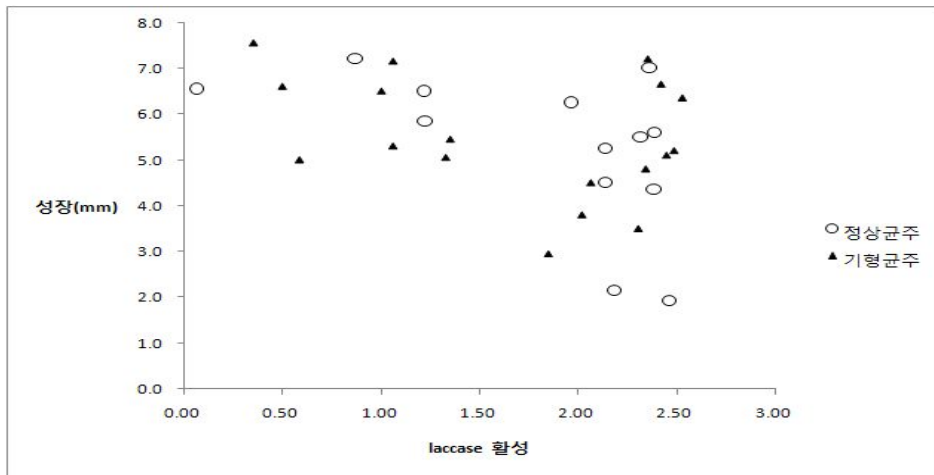
가. laccase 활성정도 검정

각 균주의 갈변정도, laccase활성정도, 자실체 기형유무는 표 4-10과 같다. 좀더 상관관계를 정확히 알아보기 위해서 상관관계를 분석하였다(그림 4-17, 18, 19) 이를 보았을때 laccase활성 그리고 자실체의 기형유무 간에는 크게 관련이 없는 것을 알 수 있었다.

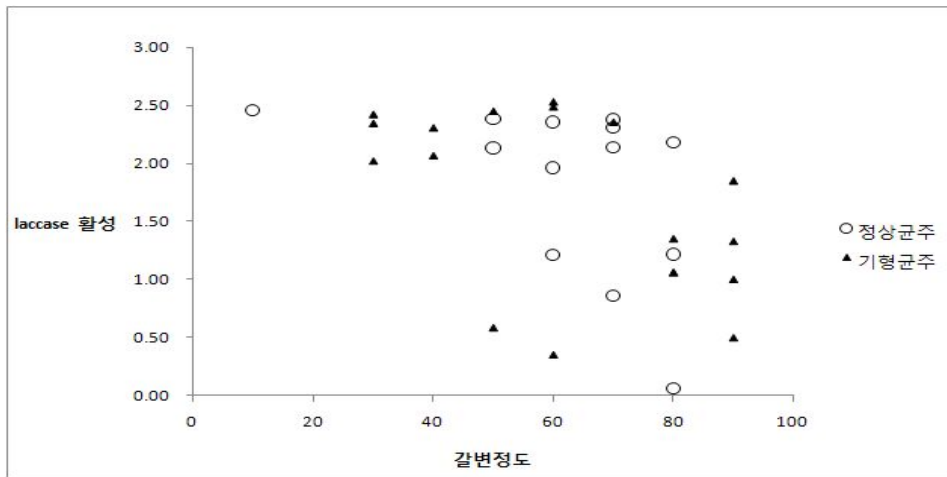
<표 4-10> 정상균주와 기형균주의 Laccase 활성과 성장정도 조사 결과.

교배조합 : 산조701호 X FMRI0961

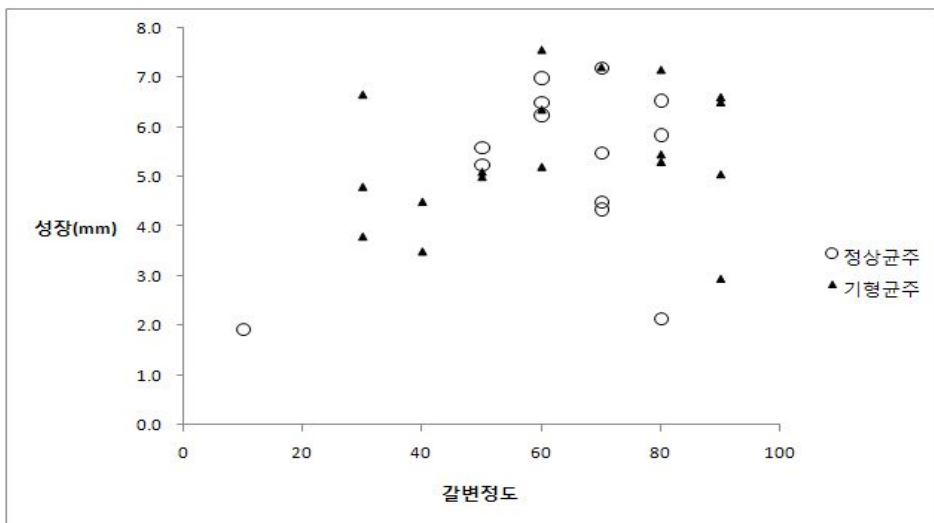
	균주번호	교배조합	배지표면 갈변정도	기형 유무	Laccase 활성	표준편차	1일 평균성장 (mm)
1	08-108	701-02 X 291-07	70	정상	0.86	0.89	7.2
2	08-110	701-02 X 291-14	50	정상	2.14	0.44	5.3
3	08-112	701-02 X 291-20	50	기형	0.59	0.28	5.0
4	08-114	701-04 X 291-13	10	정상	2.46	0.01	1.9
5	08-123	701-07 X 291-03	50	기형	2.45	0.11	5.1
6	08-128	701-09 X 291-11	80	기형	1.06	0.44	5.3
7	08-129	701-10 X 291-05	30	기형	2.42	0.08	6.7
8	08-130	701-10 X 291-06	60	기형	2.49	0.02	5.2
9	08-135	701-13 X 291-18	50	정상	2.39	0.02	5.6
10	08-138	701-14 X 291-12	70	정상	2.39	0.08	4.4
11	08-143	701-16 X 291-12	70	정상	2.32	0.04	5.5
12	08-148	701-19 X 291-20	90	기형	1.85	0.31	3.0
13	08-152	701-22 X 291-07	80	정상	0.06	0.05	6.6
14	08-155	701-24 X 291-04	30	기형	2.02	0.25	3.8
15	08-157	701-24 X 291-17	40	기형	2.31	0.09	3.5
16	08-162	701-31 X 291-07	80	기형	1.06	0.92	7.2
17	08-163	701-31 X 291-17	60	기형	2.53	0.03	6.4
18	08-167	701-37 X 291-12	80	정상	2.18	0.15	2.2
19	08-169	701-39 X 291-07	80	정상	1.22	0.12	5.9
20	08-172	701-39 X 291-15	70	정상	2.14	0.12	4.5
21	08-173	701-39 X 291-17	40	기형	2.07	0.09	4.5
22	08-174	701-39X 291-20	30	기형	2.34	0.01	4.8
23	08-176	701-40 X 291-14	60	정상	1.22	0.31	6.5
24	08-178	701-41 X 291-14	60	정상	2.36	0.01	7.0
25	08-180	701-41 X 291-17	70	기형	2.36	0.01	7.2
26	08-185	701-42 X 291-20	90	기형	1.33	0.27	5.1
27	08-187	701-43 X 291-17	80	기형	1.35	0.63	5.5
28	08-188	701-43 X 291-20	90	기형	0.50	0.40	6.6
29	08-189	701-44 X 291-07	60	기형	0.35	0.16	7.6
30	08-192	701-44 X 291-15	60	정상	1.97	0.23	6.3
31	08-193	701-44 X 291-20	90	기형	1.00	0.30	6.5
32	FMRI0961				0.85	0.08	5.1
33	산조701호				2.32	0.03	6.1



<그림 4-16> 성장과 laccase 활성의 관계



<그림 4-17> laccase 활성과 갈변정도의 관계



<그림 4-18> 성장과 갈변정도의 관계

나. IGS region 분석

두 모균주 산조701호와 FMRI0961의 교배로 나온 교배균주에 대한 분석에 일환으로 IGS1 부분의 분석을 시도하였다. 우선 교배균주 2균주인 08-128(자실체 기형균주)과 08-152(정상균주)를 대상으로 IGS1 부분을 PCR 증폭하여 그 염기서열 정보를 얻은 후 먼저 GenBank DNA 데이터베이스에서 표고의 IGS rDNA 임을 확인하였다. 그 다음 이들 2개 균주의 염기서열을 정렬하고 비교하였다(그림 4-19). 두 균주 간에는 1150bp와 1149 bp로서 1개 bp 만 차이가 있었다. 두 모균주 산조701호와 FMRI0961의 교배로 나온 자실체 정상균주와 기형균주에 대한 IGS1 분석을 통하여 두 모균주와 교배균주(정상균주, 기형균주)간의 유전적 연관관계를 비교하였다(그림 4-20).

기형형질을 보이는 균주가 어느 한쪽 모균주, 혹은 양쪽 모균주에 같이 그룹핑되기 보다는 따로 떨어져나오는 것을 알 수 있었다. 이를 볼 때, 기형형질이 어느 한쪽 모균주의 유전자를 받아오기 보다는 교배에 의해 유전자 재조합을 통하여 이루어질 것이라는 것을 예측할 수 있었다.

```

08-128      CCGCCAGTGTGCTGGAATTGCCCCCTCCGGTACCACGATCCGCTGAGGTTAAGCCCTTGT 60
08-152      CCGCCAGTGTGCTGGAATTGCCCCCTCCGGTACCACGATCCGCTGAGGTTAAGCCCTTGT 60
*****

08-128      TCTAAAGATTTGTTCAACTTGTTTGAACTTTTCTTTTTATTTTTCTTAACGGCATGCACC 120
08-152      TCTAAAGATTTGTTCAACTTGTTTGAACTTTTCTTTTTATTTTTCTTAACGGCATGCACC 120
*****

08-128      CTAAGGGCAGGCTTTCAATGCGTTGGATGCTGTGAGTATTGATATTTTTTGTGACTTTTT 180
08-152      CTAAGGGCAGGCTTTCAATGCGTTGGATGCTGTGAGTATTGATATTTTTTGTGACTTTTT 180
*****

08-128      TATGATGACTCTATTCTCTTCCCCGCTTTATACGACTATGCTGAGAAAACAGAGGTAATTC 240
08-152      TATGATGACTCTATTCTCTTCCCCGCTTTATACGACTATGCTGAGAAAACAGAGGTAATTC 240
*****

08-128      TGTTGCAACAGAAATATTGTGTCCCTTTGGGGATACACAAGTGTACTTGCCAGTGCCATT 300
08-152      TGTTGCAACAGAAATATTGTGTCCCTTTGGGGATACACAAGTGTACTTGCCAGTGCCATT 300
*****

08-128      TAGTCTGAATCTGTCTTTTGA AAAACTACTTTCTGATACACTACA ACTGACAATACTTTTT 360
08-152      TAGTCTGAATCTGTCTTTTGA AAAACTACTTTCTGATACACTACA ACTGACAATACTTTTT 360
*****

08-128      TCTCAGAAACCAAAACAACAAATTATGAAAAGCTTCTATCCGGGTGTGTTAAACTGGTAAAGT 420
08-152      TCTCAGAAACCAAAACAACAAATTATGAAAAGCTTCTATCCGGGTGTGTTAAACTGGTAAAGT 420
*****

08-128      TGCATTTTCTTCCCAACTTTTCTGCAGCTTTTGTGTCTATCTATTCCCTTATATGATGAAA 480
08-152      TGCATTTTCTTCCCAACTTTTCTGCAGCTTTTGTGTCTATCTATTCCCTTATATGATGAAA 480
*****

08-128      ATTTCCATACATTGCGAGTTTCCACTTGAGTGTCCAATTAGTACTCCCTAATGCAGAAAT 540
08-152      ATTTCCATACATTGCGAGTTTCCACTTGAGTGTCCAATTAGTACTCCCTAATGCAGAAAT 540
*****

```

```

08-128      GTTCTTTATATTCCCCCTCTATACCATGTTGAACCCATAAAAGCATGTGTTGAGTGTGGGC 600
08-152      GTTCTTTATATTCCCCCTCTATACCATGTTGAACCCATAAAAGCATGTGTTGAGTGTGGGC 600
*****

08-128      CATCTCCAAAAGAGATGCGCTGGCAGGAAGCAGGGGTTGACACTATGAGGGTTATAATGT 660
08-152      CATCTCCAAAAGAGATGCGCTGGCAGGAAGCAGGGGTTGACACTATGAGGGTTATAATGT 660
*****

08-128      CCTTCCTTTGGATGTCTGAACTACCTTTTCTTTTCACTCTCTCTCTTTTTTCTCTTAGAGT 720
08-152      CCTTCCTTTGGATGTCTGAACTACCTTTTCTTTTCACTCTCTCTCTTTTTTCTCTTAGAGT 720
*****

08-128      GCTGTAACTAATTGGTCATAATCCCCTCCTTGCAGGTACTTATGGTATCAGTGAAGTTGT 780
08-152      GCTGTAACTAATTGGTCATAATCCCCTCCTTGCAGGTACTTATGGTATCAGTGAAGTTGT 780
*****

08-128      TTATATATTGTACTTCAGTATATCATCAGTAAAAGTGGTGCAGTAAAGTGTGTTAAATTATA 840
08-152      TTATATATTGTACTTCAGTATATCATCAGTAAAAGTGGTGCAGTAAAGTGTGTTAAATTATA 840
*****

08-128      ACAGTCCAGTCAGTCAGTATAAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATAACAGTTC 900
08-152      ACAGTCCAGTCAGTCAGTATAAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATAACAGTTC 900
*****

08-128      AGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAATTATAACAG 960
08-152      AGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAATTATAACAG 960
*****

08-128      TTAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTACAACAGTTTGGTCAAGTAAAGTGTGTTAAATTATAGT 1020
08-152      TTAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTACAACAGTTTGGTCAAGTAAAGTGTGTTAAATTATAGT 1020
*****

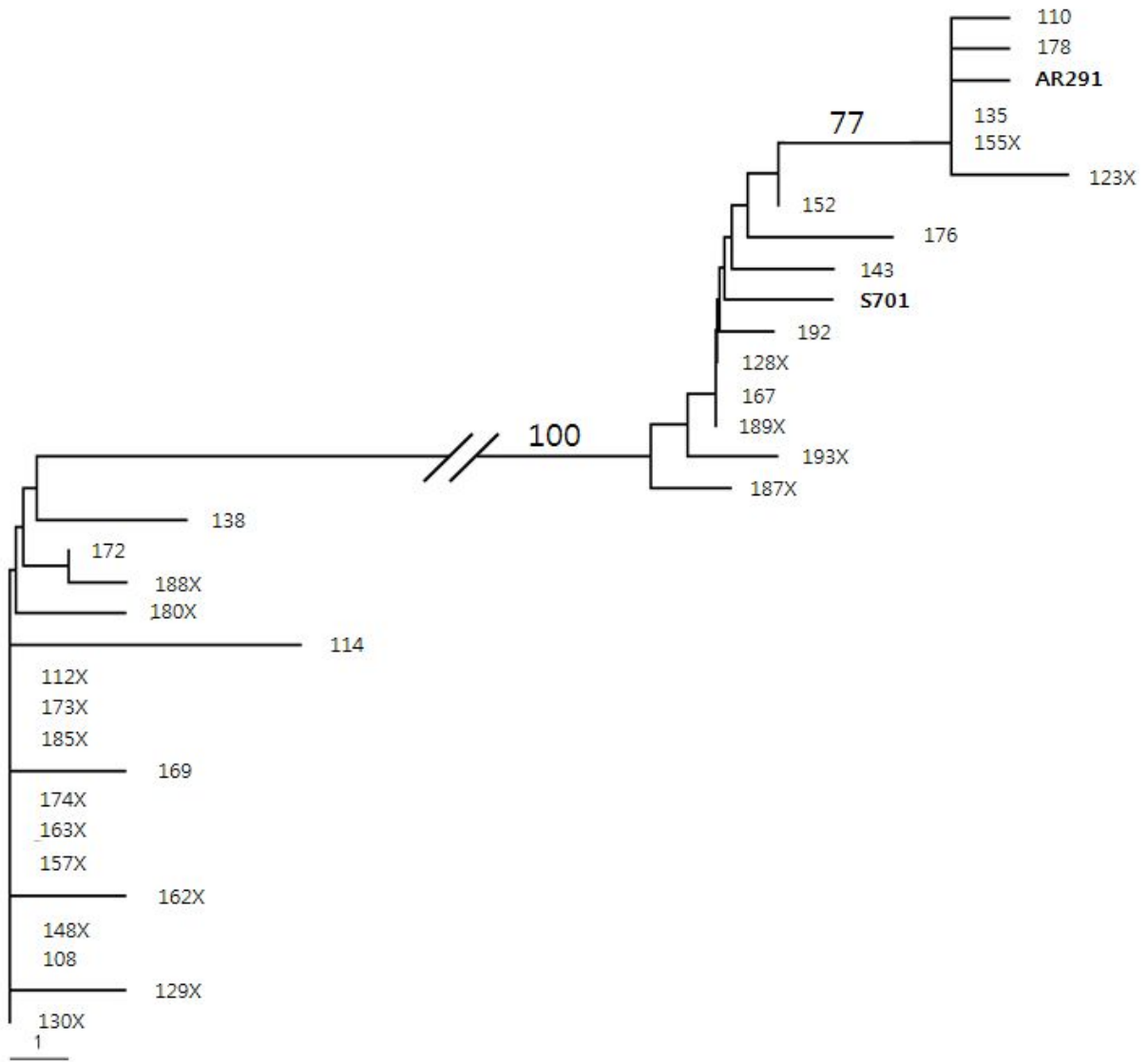
08-128      TACTAAAGATTGGGAAAAAAGAAGGGTACATAGTTGGATTAAGTTGTAACCTAATATCCA 1080
08-152      TACTAAAGATTGGGAAAAAAGAAGGGTACATAGTTGGATTAAGTTGTAACCTAATATCCA 1080
*****

08-128      CGGCCATAGGACTCTGAAAAGGGTACCGGAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCATCACACT 1139
08-152      CGGCCATAGGACTCTGAAAAGGGTACCGGAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCATCACACT 1140
*****

08-128      GGCGGCCGCT 1149
08-152      GGCGGCCGCT 1150
*****

```

<그림 4-19> 산조701호와 FMRI0961의 교배로 나온 교배균주 08-128(자실체 기형 균주)과 08-152(정상균주)의 IGS1 염기서열 비교



<그림 4-20> 기형균주와 정상균주 그리고 모균주간의 phylogenetic tree 모균주: FMRI0961과 S701(산조701), X붙은 균주: 기형균주

제 4 절 우수균주의 생리학적 특성

1. 분석균주

가. 모균주

산조110호 모균주: 산림4호, 산조502호

참아람 모균주: FMRI0367, 산조701호

나. 교배균주

산조110호, 참아람

2. 분석특성

가. 목재기질 분해효소(Extracellular enzyme) 활성조사

육성품종인 신품종 균사가 골목 혹은 배지에 초기 활착정도를 간이적으로 평가하기 위해서 목재기질분해효소의 활성정도를 평가하고 비교하였다.

나. laccase 활성 검정

Lignin 분해효소이자 분화에 관련되어있는 laccase 활성정도를 검토했다.

다. IGS1 region 분석

외국균주와의 유연관계를 알아보기 위하여 IGS1 region을 분석하였다.

3. 실험방법

가. 목재기질 분해효소 측정(Extracellular enzyme activity)

β -glucosidase, avicelase, CM-cellulase, amylase, pectinase, xylanase, protease을 조사하였다. 세포외 효소 활성을 검정하기 위해, PDA에서 배양된 표고 균사를 발색반응 배지 (chromogenic media)로 접종하여 측정하였다. 발색반응배지는 0.1%의 yeast nitrogen base (Difco, USA)를 기본으로 하여, 효소반응을 위한 탄소원으로는 β -glucosidase의 경우 D-cellobiose (Sigma, USA)를, avicelase의 경우 Avicel PH-101 (Fluca, Switzerland)을, CM-cellulase의 경우 CM-cellulose (Sigma, USA)를, amylase의 경우 Starch from potato (Sigma, USA)를, pectinase의 경우 Polygalacturonic acid (MP Biomedical, France)를, xylanase의 경우 Xylan oat spelts (Sigma, USA)를 0.5% 첨가하여 사용하였으며, 발색반응 (chromogenic reaction)을 위한 염색약으로 0.5%의 Congo Red (Sigma, USA)를 사용하였다 (Hyun *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2007). 각 균주가 접종된 발색반응 배지를 25°C에서 약 20일간 배양 후 세포외 효소 활성으로 인하여 발색배지상에 투명하게 나타나는 투명환(clear zone)을 측정하였다. Protease의 경우에는 효소반응을 위한 영양원

으로 Skim milk Powder를 사용하여 배지를 만들고 접종된 균사가 분비하는 효소에 의해 생성되는 분해환을 측정하였다. 분해환은 균사의 접종원부터 분해환이 형성된 부분까지를 측정하였다. 0~20 mm의 분해환을 형성하는 균주는 약한 효소활성을 보이는 균주, 20~50 mm의 분해환을 형성하는 균주는 중도적인 효소활성을 보이는 균주, 그리고 50 mm 이상의 분해환을 지닌 균주를 강한 효소활성을 보이는 균주로 평가하였다.

나. Laccase 활성 측정

Malt extract broth에 1% Guaiacol(sigma) 첨가하여 2ml tube에 1.5ml씩 분주하고 1개의 agar core를 접종하여 25℃ 3일간 incubation 후 흡광도 495nm에서 측정하였다.

다. IGS1 region rDNA 분석(4차년도와 동일)

균사체로부터 DNA를 추출하고 PCR을 통하여 IGS1 region을 증폭하였다. PCR 반응은 Gene Amp-950 cycler (ABI, USA)를 이용하여 수행하였다. 유전자의 증폭을 위해서 PCR 반응물의 조성은 10× reaction buffer 5 μ l, 10 mM dNTPs 1 μ l, 5× Band doctor 2.5 μ l, 20 pmol primer 각 1 μ l, template DNA 2 μ l, 3차 멸균 증류수 37 μ l, 5 U EF-Taq polymerase 0.5 μ l (Solgent, Korea)를 첨가하여 총 50 μ l의 반응물을 만든 후 반응하였다. 반응조건은 94℃에서 4분간 pre-heating시킨 다음, 94℃에서 50초간 denaturation, 55℃에서 50초간 annealing, 72℃에서 2분간 extension을 1 cycle로 하여, 총 30 cycle을 반응시킨 다음 72℃에서 10분 동안 post extension하고 4℃로 유지하였다. PCR 반응산물은 1% agarose gel상에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하여 확인하였으며 크기는 1 kb DNA ladder marker (Promega, USA)와의 비교를 통해 확인하였다. IGS 유전자의 PCR 산물은 Gel extraction kit (Qiagen, USA)을 이용하여 정제하였다. 정제된 산물은 T&A Cloning vector (RBC, Taiwan)에 subcloning한 후 plasmid를 추출하여 HindIII 제한효소를 처리하여 cloning 여부를 확인하였다. 추출된 plasmid는 Macrogen사(Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열은 Chromas v2.31을 이용하여 편집하였다. 비교를 위한 다중염기서열 정렬은 ClustalW 2 프로그램을 이용하여 수행하였으며 기존에 보고된 표고 IGS 염기서열은 GenBank 데이터베이스로부터 다운받아 사용하였다. 계통도 분석은 PAUP*4.010b를 이용하여 Neighbor-Joining 방법 (Kimura, 1980)으로 제작하였고, 계통도내 분지의 신뢰도 (bootstrap 값)를 조사하기

위해서는 1,000번의 bootstrap resampling 분석을 실시하였다 (Swofford, 2002).

4. 시험결과

가. 목재기질 분해효소 측정

(1) 산조110호와 모균주간의 효소활성비교

산조110호의 avicelase와 CM-cellulase의 활성은 약했지만, 나머지 5개의 효소 활성은 중도적인 것을 알 수 있었다. 모균주인 산림4호와 산조502호의 효소활성은 표 11과 같이 나타났다.

<표 4-11> 산조110호와 모균주인 산림4호·산조502호의 목재기질분해효소 활성

효소	균주명		
	산조110호	산림4호	산조502호
β -glucosidase	M	M	M
Avicelase	W	S	M
CM-cellulase	W	S	S
Amylase	M	M	W
Pectinase	M	W	W
Xylanase	M	W	W
Protease	M	M	M

(2) 참아랍과 모균주 FMRI0367·산조701호의 효소활성 비교

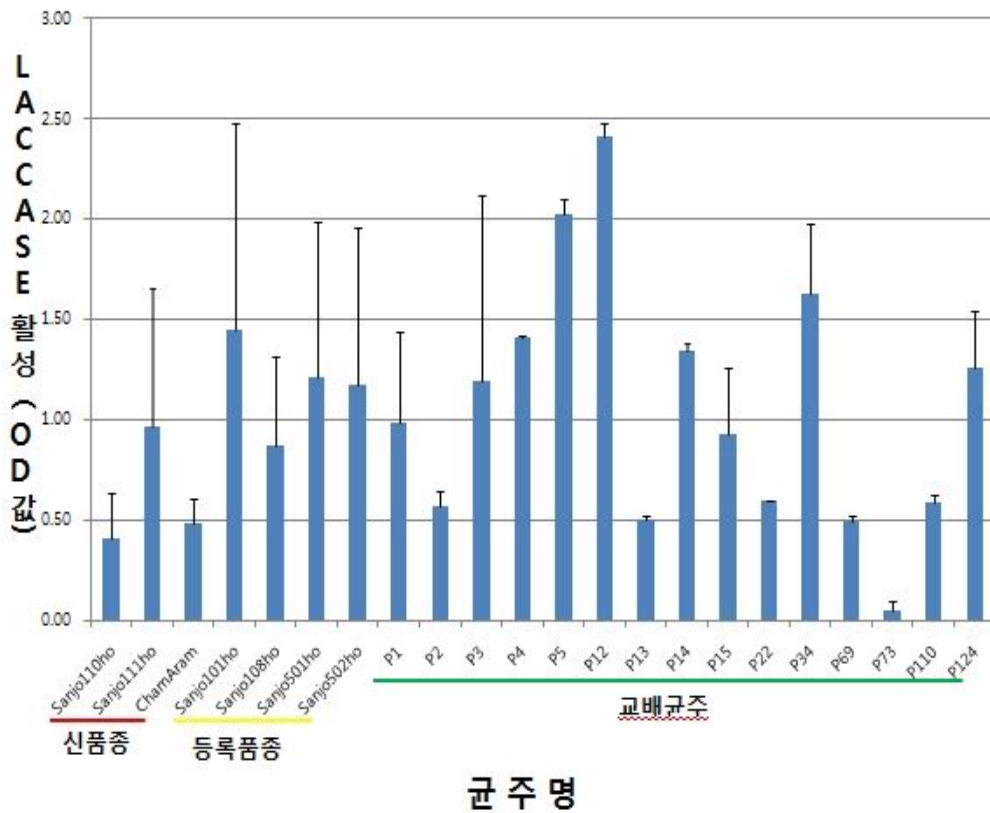
참아랍의 β -glucosidase, avicelase, pectinase, xylanase의 활성은 강하였고, 나머지 3가지 효소는 중도적인 활성을 보였다. 모균주인 FMRI0367과 산조701호의 효소활성은 표 12와 같이 나타났다.

<표 4-12> 참아랍과 모균주인 FMRI0367·산조701호의 목재기질 분해효소 활성

효소	균주명		
	참아랍	FMRI0367	산조701호
β -glucosidase	S	S	S
Avicelase	S	M	M
CM-cellulase	M	S	M
Amylase	M	W	W
Pectinase	S	S	M
Xylanase	S	S	S
Protease	M	M	M

나. Laccase 활성검정

최근 품종보호출원중인 산조110호, 참아람, 산조111호의 laccase활성과 등록품종인 산조101호, 산조108호, 산조501호, 산조502호의 laccase활성, 산조101호와 산조108호의 15개 교배균주의 효소활성을 비교하였다(그림 4-21). 신품종의 laccase 활성이 오차범위를 고려하였을 때, 신품종과 등록품종의 효소활성이 유사한 것을 알 수 있었다. 출원품종인 산조111호의 경우에는 등록품종에 비하여 효소활성이 강한 것을 알 수 있었다.



<그림 4-21> 출원품종, 등록품종, 교배균주(산조101호와 산조108호의 교배)간의 laccase 활성 비교.

다. IGS1 region rDNA 분석

육성한 신품종과 등록품종의 IGS1 region sequence를 이용하여 유연관계를 분석하였다.(그림 4-22) 산조110호와 참아람은 일본균주와 다르게 그룹 지어지는 것을 알 수 있었다. 즉 유전적으로 충분히 구분이 가능한 다른 품종이라는 것을 알 수 있었다.



<그림 4-22> 신품종, 등록품종(산림조합균주), 일본균주의 phylogenetic tree 상에서의 유연관계 분석

제 5 절 결과 요약

표고버섯은 참나무를 기질로 하여 분해하는데 세포외 효소 활성을 검정하기 위해, β -glucosidase, avicelase, CM-cellulase, amylase, pectinase, xylanase, protease을 조사하였다. PDA에서 배양된 표고균사를 발색반응배지 (chromogenic media)로 접종하여 측정하는 실험법을 확립하였다. 이를 이용하여 모균주, 일핵균주, 교배균주의 목재기질 분해효소의 활성을 측정한 결과, protease, xylanase, pectinase, amylase의 활성은 우수균주 선별에 유용하였다. 해균(*T. atroviride*)에 대한 길항력을 조사한 결과, 산조101호는 강한 길항력을 보이는 반면에 산조108호는 중도적인 길항력을 보였다. 각각의 모균주로부터 분리된 단핵균주의 길항력을 비교하였을 때, 산조101호의 단핵균주 중에서 1 개 균주가 강한 길항력을 보이고 1 개 균주가 중도적인 길항력을 보인 반면에 산조108호의 단핵균주는 2 개 균주가 강한 길항력을 보이고 3 개 균주가 중도적인 길항력을 보였다. Cu^{2+} 에 대한 중금속 내성 측정 결과에 따라 약한 내성을 보이는 균주, 중도적인 내성을 보이는 균주, 그리고 강한 내성을 보이는 균주로 구분이 되었다. 버섯 분화 관련 효소(laccase)활성도 결과, Guaiacol과 RBBR을 같이 사용하여 비교 하는 것이 Laccase 활성 측정이 더욱 정확한 결과를 낼 수 있었다. IGS region rDNA 분석시 모균주 M101(산조101)과 M108(산조108)간의 차이가 뚜렷하게 존재하여 구분 할 수 있었다. ITS로는 구분이 쉽게 가지 않았으나 IGS1 sequence 상에서는 증폭된 유전자의 길이를 비교하였을 때 M101은 1069 bp의 크기를 가지고 있었고 M108은 1085 bp로서 16 bp 이상 길이가 길었다. 따라서 모균주와 교잡균주 그리고 교잡 균주간에도 여러 곳에서 염기서열의 차이가 나는 것을 보여주었다. IGS1 유전자 부위는 모균주의 구분은 물론 교잡균주간의 차이를 나타내는데도 유용할 것으로 사료되었다.

제 5 장 표고 품종 식별체계 구축

제 1 절 표고 신품종 심사기준

1. 국내 표고 품종심사를 위한 지침서 확립

표고 신품종 심사를 위한 특성조사표에 포함된 표고의 각 형질은 원목재배 38개 형질, 톱밥재배 36개 형질로 이중 31개 형질은 동일하다. 단지 마지막 단계에서 버섯 재배방식의 차이에 의해 구별되는 형질만 차이가 있다. 이와 같은 결과들은 2008년 6월에 “신품종심사를 위한 표고버섯 특성조사요령”(산림청 국립산림품종관리센터)으로 발간하였다.

표고 특성조사를 수행함에 있어, 표고는 품종 구분을 위해 원목재배용 품종은 38개 항목에 대해, 그리고 톱밥재배용 품종은 36개 항목에 대해 그 특성을 조사한 다음 대조품종과 비교해야만 한다. 조사할 항목들 중 어떤 것은 육안으로나 수치상으로 확연히 구분되어 조사에 어려움이 없는 경우도 있지만 어떤 것은 주관적인 판단을 내려야할 경우도 있다. 육안으로나 수치상으로 확연히 구분되는 것은 제삼자도 쉽게 이해할 수 있는 부분이기 때문에 별다른 문제가 없지만 주관적인 판단이 필요한 항목들은 나름대로 공정성을 기하면서 판단을 내려야 하기 때문에 조사자의 경험은 무엇보다 많이 필요한 부분이다. 주의해야 할 항목들을 살펴보면 다음과 같다.

- (1) 대선형성 유무 : 대부분은 대조품종과 구분이 가능한 대치선이 형성되지만, 때에 따라서는 대치선과 함께 균층의 차이도 품종 구분에 도움을 주는 경우가 있다.
- (2) 균사생장 온도 및 속도 : 균사생장 온도 조사는 2℃ 간격으로 진행되기 때문에 항온실 내부 온도가 설정온도와 같은지에 대해 실험이 종료될 때까지 세밀한 관찰이 필요하다. 따라서 항온실 내부에 수은 온도계를 넣어두고 수시로 온도변화를 점검해야 한다. 또한 이러한 점검은 균사생장 속도를 조사할 때도 마찬가지로 적용된다. 이밖에도 조사는 소수점 이하 단위까지 측정되기 때문에 조사자의 변경은 수치의 변화로 연결될 수도 있다. 따라서 조사는 담당자에 국한되어 이루어지는 것이 보다 정확하다.
- (3) 갓의 직경 및 두께, 대의 길이 및 두께 : 임의로 갓의 개산 정도를 ‘80~90% 정도’로, 그리고 버섯을 무게 기준으로 ‘상위 30개, 중위 40개, 하위 30개’로 정했기 때문에 조사자에 따라서 갓이나 대의 크기가 다르게 조사될 수도 있다. 따라서 조사는 담당자에 국한되어 이루어지는 것이 좋다.
- (4) 갓의 색 : 갓이 높은 습도에 노출되면 짙은 색을 띤다. 따라서 발생작업에 들어간 이후부터는 과습한 조건이 되지 않게 주의한다.
- (5) 인피 부착부위 : 습도가 지나치게 높거나 또는 높은 습도에 노출되었다가 급격

히 마르게 되면 인피가 갓 표면에 붙어서 확인이 어려운 경우가 있다. 따라서 발생 작업 이후부터는 수분 관리에 신경써야한다.

(6) 주름살 부착 모양, 측면 모양 및 밀도 : 주름살의 부착 모양이나 측면 모양. 그리고 주름살의 밀도는 발생시기에 따라 자실체 마다 미약하나마 차이가 있다. 따라서 조사는 주발생시기에 이루어져야 하며, 반복수도 많아야 한다. 또한 조사자도 담당자에 한정되어 있는 것이 측정의 일관성에 도움이 된다.

(7) 대의 털 색깔 : 습도가 높으면 대의 털 색깔이 갈색으로 변하는 경우가 있기 때문에 많은 자실체를 확인한 후 판단해야 한다.

(8) 발생시기 및 발생형 : 골목 내부와 주변 환경이 어떤지에 따라 또는 해균이나 해충에 의한 피해 정도에 따라 버섯의 수확량과 품질은 달라지기기 때문에 골목이 극단적인 과습이나 과건, 직사광선, 해균 및 해충 등에 노출되지 않게 주의해야한다.

(9) 건물율 및 평균 건중량 : 표고 자실체는 수분 흡수율이 높기 때문에 습도의 높고 낮음에 따라서 무게 차이가 발생할 여지가 많다. 따라서 발생시기에는 습도관리에 주의한다.

이상은 원목재배용 품종 조사 항목들 중 주의해야 할 것들을 언급한 것이지만 톱밥재배용 품종 조사에서도 큰 차이가 없다.

2. 표현형 조사

국내 표고 등록품종 16개와 일본 품종 3개에 대해, 원목재배와 톱밥재배에서 발생한 버섯들에 대한 형질을 표고버섯 특성조사요령에 따라 조사를 하였다.

조사된 24개 형질 중 8개 형질(포자형성유무, 갓과 대의 위치, 갓 모양, 인피 색, 주름살 유무, 주름살 색, 대 모양, 대 털)은 공통적이었고, 나머지는 조금씩 차이가 있었다. 아래 표는 버섯품종들에 대한 일부 자료를 나타낸 것이다. 표고 원목재배에서는 산조502호와 산조108호를 제외한 모든 품종들이 조사되었다.

<표 5-1> 표고 품종별 갓과 대의 형질 비교

품종명	버섯 무게 (g)	갓			대				
		직경 (mm)	두께 (mm)	색깔	길이	길이 비율	굵기	굵기 비율	색(털)
산림1호	21.4	57.9	17.3	흰색	29.3	2.0	13.7	4.3	없음
산림2호	26.1	61.2	17.3	갈색	36.9	1.7	10.8	5.7	없음
산림3호	30.6	65.4	14.9	갈색	38.3	1.7	12.7	5.2	없음
산림4호	16.1	52.4	15.6	갈색	30.5	1.7	11.6	4.5	없음
산림5호	27.4	63.4	17.8	흰색	36.1	1.8	13.7	4.7	있음
산림7호	12.4	47.2	13.2	갈색	27.7	1.7	9.7	5.2	없음
산림8호	16.3	51.4	14.9	갈색	30.0	1.7	10.0	5.3	없음
산림9호	16.7	48.3	12.9	갈색	34.8	1.0	12.7	2.5	없음
산조 10호	23.0	50.9	16.2	갈색	42.3	1.2	14.0	3.7	있음
산조 50호	29.0	63.5	14.6	흰색	36.9	1.7	16.4	3.9	없음
산조 30호	22.7	60.0	14.4	갈색	35.0	1.7	12.7	4.9	없음
산조 10호	14.2	51.5	10.0	갈색	35.5	1.5	8.0	6.7	없음
산조 30호	17.5	50.0	16.6	갈색	35.1	1.5	11.3	4.5	없음
산조 10호	20.0	55.2	15.9	갈색	34.7	1.6	12.6	4.4	없음
산조 10호	20.9	54.1	15.0	갈색	35.8	1.5	11.4	4.8	없음
농기3호	20.4	50.8	19.8	갈색	25.2	2.0	11.1	4.6	없음
모리 25호	24.7	51.1	16.7	갈색	38.8	1.3	17.3	3.0	없음
모리 44호	15.5	51.0	15.2	갈색	31.7	1.7	8.8	6.0	없음
관홍535	37.7	65.5	13.3	갈색	33.3	2.0	22.3	3.2	없음

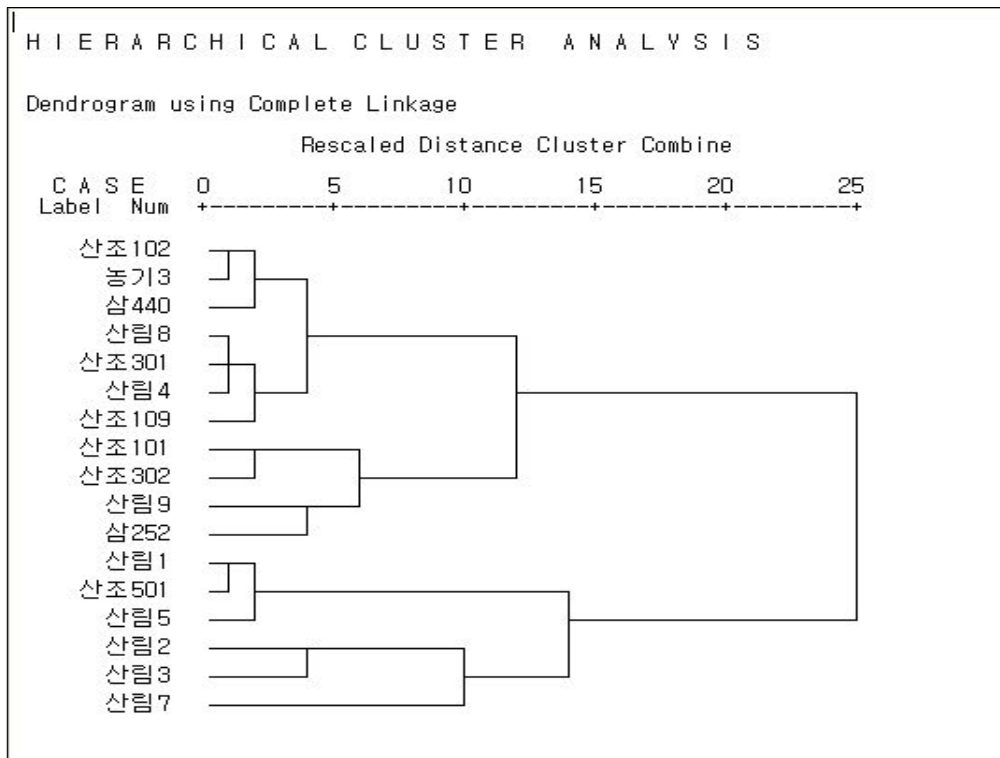
표고 원목재배용 품종은 TG 상에서 질적형질 만을 가지고 SPSS 프로그램을 이용한 군집분석을 시도하였다. 여기에 이용한 질적형질은 표 5-2과 같다.

<표 5-2> 군집분석을 위한 표고 원목재배의 질적 형질

포자	갓과 대의 위치	갓			인피		주름살					대			발생 형태	발생 시기
		측면	중단면	색깔	부착부위	색	유무	부착모양	측면모양	폭	밀도	색	모양	색		

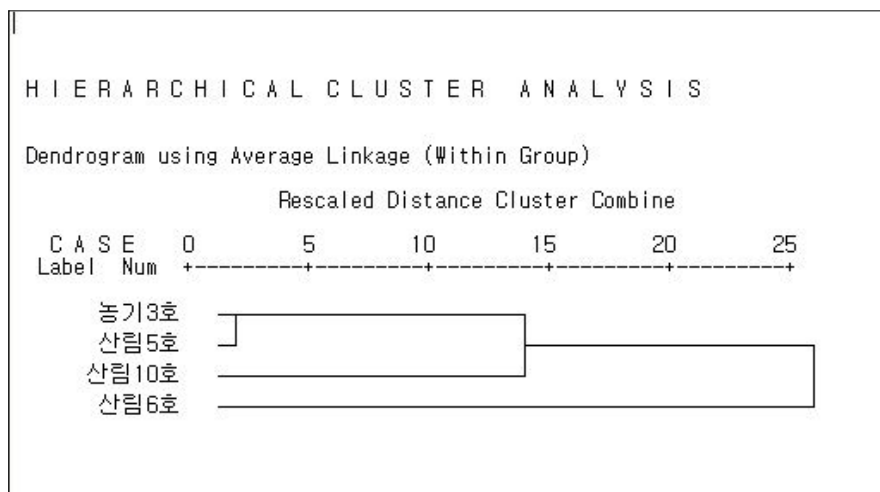
5%의 거리값에서는 등록품종들이 6개 그룹으로 나누어졌다(그림 5-1). 제1그룹은 산조105호, 농기3호, 모리44호, 산림8호, 산조301호, 산림4호, 산조109호, 제2그룹은 산조101호, 산조302호, 제3그룹은 산림9호, 모리252호, 제4그룹은 산림1호, 산조502호, 산림5호, 제5그룹은 산림7호로 나타났다. 이와 같은 질적 형질 비교는 외형적으

로 서로 유사하다는 것을 의미한다.



<그림 5-1> 표고 원목재배용 품종들에 대한 질적 형질 비교

표고 톱밥재배용 품종의 질적 형질 비교는 원목재배용에서 발생형태와 발생시기를 제외한 모든 형질이 같다. 이들 비교에서는 5% 수준에서 농기3호와 산림5호가 같은 그룹에 속했고, 나머지 산림10호와 산림6호는 별개 그룹으로 나누어졌다 (그림 5-2).



<그림 5-2> 표고 톱밥재배용 품종들에 대한 질적 형질 비교

제 2 절 품종 식별용 DNA 마커 개발

1. Microsatellite 유전자형 분석 결과

DNA 마커를 개발하기 위해 사용한 표고는 총 89개 균주(국내 야생종 29개, 등록품종 20개, 일본품종 20개, 중국품종 20개)로 이를 대상으로 Laccase, Exo-β-1,3-glucanase 1, 2-encoding의 full sequence 시도하였다(표 5-3).

<표 5-3> 표고 균주에서 3가지 유전자의 PCR 결과

균주	ORIGIN	Lac1-B	exo1	exo2	균주	ORIGIN	Lac1-B	exo1	exo2
산조101	등록품종	X	X	X	474	일본등록		0	
산조103	등록품종	0	X	X	505	일본등록		0	
산림5,10	등록품종	0	0	0	Y602	일본등록	0	0	0
나머지	등록품종	0	0	X	Y707	일본등록			
36	국내야생	0			A500	일본등록			
37	국내야생	0			115	일본등록			
38	국내야생				535	일본등록	0		
42	국내야생	0			북연600	일본등록			
51	국내야생				N603	일본등록	0		
53	국내야생	0	0	0	7L-5	일본등록	0		
55	국내야생				유지로	일본등록	0		0
57	국내야생	0	0	0	465	일본등록			
60	국내야생	0	0	0	468	일본등록	0		
62	국내야생	0	0		763	일본등록		0	
63	국내야생	0		0	526	일본등록	0	0	
64	국내야생	0		0	324	일본등록	0		
128	국내야생	0	0		478	중국도입	0	0	0
129	국내야생	0	0	0	479	중국도입	0		0
135	국내야생	0			480	중국도입			
136	국내야생	0	0	0	481	중국도입		0	
176	국내야생				482	중국도입	0	0	
177	국내야생				483	중국도입	0		
188	국내야생				484	중국도입	0	0	0
369	국내야생	0	0		485	중국도입			
370	국내야생				486	중국도입			
411	국내야생	0	0		487	중국도입			
665	국내야생	0		0	488	중국도입			
666	국내야생	0		0	489	중국도입			
669	국내야생				490	중국도입	0	0	0
672	국내야생	0			491	중국도입			
674	국내야생	0	0	0	1363	중국도입		0	
675	국내야생	0	0	0	494	중국도입			
731	국내야생				495	중국도입			
A567	일본등록	0		0	496	중국도입			
290	일본등록	0	0		497	중국도입	0		
436	일본등록				937	중국도입			0
440	일본등록								

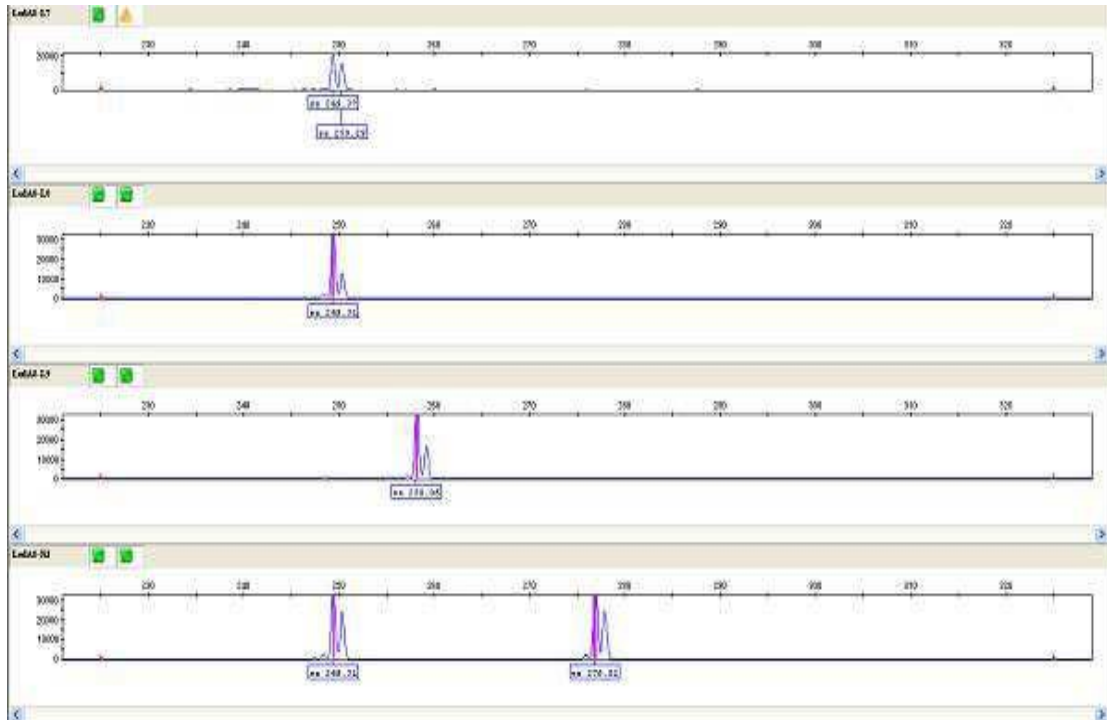
Microsatellite marker 정보는 NCBI에서 검색하여 genotyping에 필요한 프라이머를 디자인 및 합성을 하였고, PCR 조건 수립 및 산물을 만들고 유전자 분석을 한 후 BLASTIN을 검색을 하여 확인하였다. NCBI (National Center for Biotechnology Information)에 GenBank DB 검색 결과는 DQ231475, DQ231476, DQ231477, DQ231478, DQ231479 이상 5건이 검색되었다. GenBank으로부터 얻어진 정보를 도태로 MS 유전자형 분석을 위한 올리고 디자인하였고, PCR을 수행하여 SIZE 및 Directed Sequencing 분석을 통하여 참고문헌 서열과 정보를 비교하여 적합하다는 판단을 하였다. 디자인한 프라이머 정보 및 PCR 조건은 다음과 같다.

<표 5-4> Microsatellite 유전자형 분석용 프라이머 정보

Primer	Sequence	Length	Tm값	Product size
LedA2-F	5'-FAM ACT GGT GCT TTA GTG GTC G-3'	19mer	57℃	118bp
LedA2-R	5'-TTC GGA TCC CTT TGC CTC-3'	18mer	57℃	
LedA8-F	5'-FAM TCA TCT CCT TCC CAT GTT CC-3'	20mer	57℃	275bp
LedA8-R	5'-CAA TAC CGG TAA CAC GTC C-3'	19mer	57℃	
LedB2-F	5'-FAM ACC ACC TTC CTT GAT CTC C-3'	19mer	57℃	205bp
LedB2-R	5'-CTA AAC ACC AAC ATC CGC C-3'	19mer	57℃	
LedB6-F	5'-FAM GGT GAG AAA GAG ATC GAG G-3'	19mer	57℃	192bp
LedB6-R	5'-GTG GCC GTG ATG TTC CTT-3'	18mer	57℃	
LedD6-F	5'-FAM GCT CCT TCA CCT CGA CTT TGA-3'	21mer	59℃	272bp
LedD6-R	5'-AGT GAA GGA ACA CCA CGG TCA-3'	21mer	59℃	

위에서 확보된 Microsatellite 마커를 이용하여 등록 품종, 국내 야생종, 일본품종, 중국품종은 Genetic analyzer (ABI 3730XL, Applied biosystems/USA)을 이용하여 단편 분석 (Fragment analysis) 수행한 후 Gene Mapper version 4.0 소프트웨어를 가지고 유전자형 분석을 수행하였다. 시료 목록과 유전자형 분석 결과를 살펴보면, Genetic analyzer을 이용한 단편 분석(Fragment analysis) 후에 Microsatellite의 유전자형으로 분석된 Raw data의 예로서, LedA8 프라이머를 이용하여 표고 품종 산립7호, 산립8호, 산립9호 및 농기3호를 동정한 것이다(그림 5-3).

한편, 본 결과는 참여기업의 핵심기술과 특허권으로 진행된 사항이므로 기술이전은 사업타당성을 검토한 해당업체가 기술이전 여부에 관하여 개발업체와 협의되어야 할 사항이다.



<그림 5-3> LedA8 프라이머를 이용하여 위에서부터 표고품종 산림7호, 산림8호, 산림9호, 농기3호

가. LedA2 Micrasatellite maker을 이용한 유전자형 분석 결과

Sample Name	Allele1	Allele2	Size1	Size2	GQ
LedA2-C_1363	A4		115		0.0281
LedA2-C_478	A4		115		0.0281
LedA2-C_479	A4		115		0.0562
LedA2-C_480	A2	A4	82	115	0.0281
LedA2-C_481	A4		115		0.0562
LedA2-C_482	A4		115		0.0562
LedA2-C_483	A4		115		0.0281
LedA2-C_484	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-C_485	A4		115		0.0281
LedA2-C_486	A4		115		0.0562
LedA2-C_487	A4		115		0.0562
LedA2-C_488	A4		115		0.0562
LedA2-C_489	A2	A4	82	115	0.0281
LedA2-C_490	A4		115		0.0281
LedA2-C_491					0
LedA2-C_494	A4		115		0.0281
LedA2-C_495	A2	A4	82	115	0.0281
LedA2-C_496	A4		115		0.0562
LedA2-C_497	A4		115		0.0281
LedA2-C_937	A2	A4	82	115	0.0625

LedA2-산조108	A3	A4	111	115	0.007
LedA2-산조109	A3	A4	111	115	0.007
LedA2-산조101	A5	A6	118	121	0.0347
LedA2-산조501	A4		115		0.0312
LedA2-산조301	A4		115		0.0625
LedA2-산조102	A4		115		0.0141
LedA2-산조502					0
LedA2-산조302	A3	A4	111	115	0.0312
LedA2-산조103	A4		115		0.0141
LedA2-J_115	A4		115		0.0562
LedA2-J_290	A4		115		0.0281
LedA2-J_324	A4		115		0.0281
LedA2-J_436					0
LedA2-J_440	A2	A4	82	115	0.0281
LedA2-J_465	A4		115		0.0562
LedA2-J_468	A4		115		0.0281
LedA2-J_474	A4		115		0.0562
LedA2-J_505	A4		115		0.0281
LedA2-J_526	A4		115		0.0312
LedA2-J_535	A4		115		0.0281
LedA2-J_763	A4		115		0.0562
LedA2-J_7L-5	A4		115		0.0562
LedA2-J_A500	A4		115		0.0562
LedA2-J_A567	A4		115		0.0281
LedA2-J_BY600	A4		115		0.0562
LedA2-J_N603	A4		115		0.0562
LedA2-J_Y602	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-J_Y707	A2	A4	82	115	0.0281
LedA2-J_YujIro	A4		115		0.0281
LedA2-K_128	A4		115		0.0281
LedA2-K_129	A4		115		0.0562
LedA2-K_135	A4		115		0.0281
LedA2-K_136	A4		115		0.0562
LedA2-K_176	A4		115		0.0562
LedA2-K_177	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-K_188	A4		115		0.0562
LedA2-K_369	A4		115		0.0562
LedA2-K_36					0
LedA2-K_370	A4		115		0.0281
LedA2-K_37	A4		115		0.0281
LedA2-K_38	A4		115		0.0281
LedA2-K_411	A4		115		0.0281
LedA2-K_42					0
LedA2-K_51	A4		115		0.0281
LedA2-K_53	A4		115		0.0281
LedA2-K_55	A4		115		0.0562
LedA2-K_57	A2	A4	82	115	0.0281

LedA2-K_60	A4		115		0.1249
LedA2-K_62	A4		115		0.0281
LedA2-K_63	A4		115		0.0562
LedA2-K_64	A4		115		0.0281
LedA2-K_665	A4		115		0.0281
LedA2-K_666	A4		115		0.0141
LedA2-K_669	A2	A4	82	115	0.06245
LedA2-K_672	A4		115		0.0562
LedA2-K_674	A4		115		0.0281
LedA2-K_675	A4		115		0.0562
LedA2-K_731	A4		115		0.0562
LedA2-산림10	A3	A4	111	115	0.007
LedA2-산림1	A4		115		0.0141
LedA2-산림2	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-산림3	A4		115		0.0141
LedA2-산림4	A3	A4	111	115	0.0141
LedA2-산림5	A3	A4	111	115	0.007
LedA2-산림6	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-산림7	A3	A4	111	115	0.0156
LedA2-산림8	A2	A4	82	115	0.0141
LedA2-산림9	A2	A4	82	115	0.007
LedA2-농기3	A1	A4	78	115	0.0281

(국내 야생종-K, 중국 도입종-C, 일본 등록 품종-J로 약어 표기하였음, GQ값은 0인 것은 분석이 되지 않거나 정확도가 떨어지는 데이터임)

- 대립 유전자형 종류 및 SIZE

Allele type	A1	78
	A2	82
	A3	111
	A4	115
	A5	118
	A6	121

나. LedA8 Micrasatellite maker을 이용한 유전자형 분석 결과

(국내 야생종-K, 중국 도입종-C, 일본 등록 품종-J로 약어 표기하였음, GQ값은 0인 것은 분석이 되지 않거나 정확도가 떨어지는 데이터임)

Sample Name	Allele 1	Allele 2	Size 1	Size 2	GQ
LedA8-C_1363	A2	A11	249	277	0.0281
LedA8-C_478	A14		286		0.0562
LedA8-C_479	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-C_480	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-C_481	A2	A11	249	277	0.0625

LedA8-C_482	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-C_483	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-C_484	A14		286		0.0562
LedA8-C_485	A11	A14	277	283	0.0562
LedA8-C_486					0
LedA8-C_487	A2		249		0.0281
LedA8-C_488	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-C_489					0
LedA8-C_490	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-C_491	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-C_494	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-C_495	A2		249		0.0281
LedA8-C_496	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-C_497	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-C_937	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-산조101					0
LedA8-산조108	A11		277		0.0281
LedA8-산조109	A4	A13	259	280	0.0281
LedA8-산조501	A15		286		0.0281
LedA8-산조301	A2		249		0.0562
LedA8-산조102	A14		283		0.0562
LedA8-산조502	A15		286		0.0562
LedA8-산조302	A2		249		0.0562
LedA8-산조103	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-J_115	A7	A15	267	286	0.0625
LedA8-J_290	A15		286		0.0281
LedA8-J_324	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-J_436	A2		249		0.0281
LedA8-J_440	A2		249		0.0281
LedA8-J_465	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-J_468	A2	A15	249	286	0.0562
LedA8-J_474	A2		249		0.0562
LedA8-J_505	A9		273		0.0562
LedA8-J_526	A15		286		0.0281
LedA8-J_535	A2		249		0.0562
LedA8-J_763	A4		259		0.0562
LedA8-J_7L-5	A15		286		0.0562
LedA8-J_A500	A2	A11	249	277	0.0281
LedA8-J_A567	A2		249		0.1249
LedA8-J_BY600	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-J_N603	A2	A11	249	277	0.0625
LedA8-J_Y602	A4	A11	259	277	0.0281
LedA8-J_Y707	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-J_YujIro	A11	A15	277	286	0.0281
LedA8-K_128	A1	A11	247	277	0.0281
LedA8-K_129	A7	A8	267	270	0.0562
LedA8-K_135	A6		265		0.0281

LedA8-K_136	A6		265		0.0281
LedA8-K_176	A14		283		0.0281
LedA8-K_177	A2		249		0.0281
LedA8-K_188	A2		249		0.0562
LedA8-K_36	A8	A9	270	273	0.0141
LedA8-K_369	A11		277		0.0312
LedA8-K_37	A5		262		0.0625
LedA8-K_370	A5		262		0.0562
LedA8-K_38	A10		275		0.1249
LedA8-K_411	A6		265		0.0562
LedA8-K_42	A1	A14	247	283	0.0141
LedA8-K_51					0
LedA8-K_53	A8		270		0.0562
LedA8-K_55	A6		265		0.0562
LedA8-K_57	A8		270		0.0562
LedA8-K_60	A8		270		0.0281
LedA8-K_62	A4	A6	259	265	0.0562
LedA8-K_63	A11		277		0.0281
LedA8-K_64	A8	A14	270	283	0.0562
LedA8-K_665	A3		255		0.1249
LedA8-K_666	A11		277		0.0281
LedA8-K_669					0
LedA8-K_672	A3		255		0.0562
LedA8-K_674	A13	A15	280	286	0.0562
LedA8-K_675	A4	A7	259	267	0.0562
LedA8-K_731	A9		273		0.0562
LedA8-산림1	A15		286		0.0562
LedA8-산림10	A2		249		0.0281
LedA8-산림2	A2	A11	249	277	0.0562
LedA8-산림3	A9		273		0.0281
LedA8-산림4	A2		249		0.0562
LedA8-산림5	A2		249		0.0281
LedA8-산림6	A11	A14	277	283	0.0562
LedA8-산림7	A2		249		0.0281
LedA8-산림8	A2		249		0.0562
LedA8-산림9	A4		259		0.0562
LedA8-농기3	A2	A11	249	277	0.0562

- 대립 유전자형 종류 및 SIZE

Allele type	A1	247
	A2	249
	A3	255
	A4	259
	A5	262
	A6	265
Allele type	A7	267
	A8	270
	A9	273
	A10	275
	A11	277
	A12	280
	A13	283
	A14	286

다. LedB2 Micrasatellite maker을 이용한 유전자형 분석 결과

(국내 야생종-K, 중국 도입종-C, 일본 등록 품종-J로 약어 표기하였음, GQ값은 0인 것은 분석이 되지 않거나 정확도가 떨어지는 데이터임)

Sample Name	Allele 1	Allele 2	Size 1	Size 2	GQ
LedB2-C_1363	A3	A4	210	213	0.1249
LedB2-C_478	A3		210		0.1249
LedB2-C_479					0
LedB2-C_480	A4		213		0.1249
LedB2-C_482	A4		213		0.0281
LedB2-C_483	A4		213		0.0281
LedB2-C_484	A3		210		0.1249
LedB2-C_485	A3		210		0.0281
LedB2-C_486	A4		213		0.0625
LedB2-C_487	A4		213		0.0281
LedB2-C_488	A4		213		0.1249
LedB2-C_489	A4		213		0.1249
LedB2-C_490	A4		213		0.1249
LedB2-C_491	A4		213		0.0281
LedB2-C_494	A4		213		0.1249
LedB2-C_495	A4		213		0.0281
LedB2-C_496	A4		213		0.0281
LedB2-C_497	A4		213		0.0281
LedB2-C_937	A4		213		0.0312
LedB2-산조101					0
LedB2-산조108	A4		213		0.1249

LedB2-산조109	A4		213		0.1249
LedB2-산조501	A3		210		0.1249
LedB2-산조301	A4		213		0.1249
LedB2-산조102	A3		210		0.1249
LedB2-산조502	A3		210		0.0562
LedB2-산조302	A4		213		0.1249
LedB2-산조103	A4		213		0.0281
LedB2-J_115	A3		210		0.1249
LedB2-J_290	A3		210		0.0312
LedB2-J_324	A3		210		0.0281
LedB2-J_436	A4		213		0.0281
LedB2-J_440	A4		213		0.1249
LedB2-J_465	A4		213		0.0562
LedB2-J_468	A4		213		0.0281
LedB2-J_474	A1	A2	185	198	0.0102
LedB2-J_505	A3		210		0.1249
LedB2-J_526	A3		210		0.1249
LedB2-J_535	A4		213		0.1249
LedB2-J_763	A4		213		0.1249
LedB2-J_7L-5	A3		210		0.0281
LedB2-J_A500	A3	A4	210	213	0.1249
LedB2-J_A567	A3		210		0.0562
LedB2-J_BY600	A4		213		0.1249
LedB2-J_N603	A3		210		0.0281
LedB2-J_Y602	A4		213		0.0562
LedB2-J_Y707	A4		213		0.0625
LedB2-J_YujIro	A3	A4	210	213	0.0562
LedB2-K_129	A3		210		0.0281
LedB2-K_135	A3		210		0.0281
LedB2-K_136	A3		210		0.1249
LedB2-K_176	A3		210		0.0281
LedB2-K_177	A3	A4	210	213	0.1249
LedB2-K_188	A3		210		0.0562
LedB2-K_36	A3		210		0.0281
LedB2-K_369	A3		210		0.1249
LedB2-K_37					0
LedB2-K_370	A3		210		0.0562
LedB2-K_38	A3		210		0.1249
LedB2-K_411					0
LedB2-K_42					0
LedB2-K_51					0
LedB2-K_53					0
LedB2-K_55	A3		210		0.0281
LedB2-K_60					0
LedB2-K_62					0
LedB2-K_63					0
LedB2-K_64	A3		210		0.0281

LedB2-K_665					0
LedB2-K_666	A3		210		0.0562
LedB2-K_669	A3	A4	210	213	0.06245
LedB2-K_672	A3	A4	210	213	0.1249
LedB2-K_674					0
LedB2-K_675					0
LedB2-K_731	A3	A4	210	213	0.0156
LedB2-산림1	A3		210		0.0281
LedB2-산림10	A3	A4	210	213	0.0562
LedB2-산림2	A4		213		0.0281
LedB2-산림3	A3		210		0.0281
LedB2-산림4	A3	A4	210	213	0.1249
LedB2-산림5					0
LedB2-산림6	A3		210		0.0312
LedB2-산림7	A4		213		0.0562
LedB2-산림8	A3		210		0.1249
LedB2-산림9	A4		213		0.0562
LedB2-농기3	A4		213		0.1249

- 대립 유전자형 종류 및 SIZE

Allele type	A1	185
	A2	198
	A3	210
	A4	213

라. LedB6 Micrasatellite maker을 이용한 유전자형 분석 결과

(국내 야생종-K, 중국 도입종-C, 일본 등록 품종-J로 약어 표기하였음, GQ 값은 0인 것은 분석이 되지 않거나 정확도가 떨어지는 데이터임)

Sample Name	Allele 1	Allele 2	Size 1	Size 2	GQ
LedB6-C_1363	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-C_478	A4		184		0.0562
LedB6-C_479					0
LedB6-C_480	A2		178		0.1388
LedB6-C_481	A6		189		0.0562
LedB6-C_482	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-C_483	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-C_484	A4		184		0.0562
LedB6-C_485	A4		184		0.0562
LedB6-C_486	A2		178		0.0562
LedB6-C_487	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-C_488	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-C_489	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-C_490	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-C_491	A4	A6	184	189	0.0281

LedB6-C_494	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-C_495	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-C_497	A4	A6	184	189	0.0625
LedB6-C_937	A4	A6	184	189	0.0312
LedB6-산조101					0
LedB6-산조108	A2		178		0.0562
LedB6-산조109	A2		178		0.0562
LedB6-산조501	A4		184		0.0562
LedB6-산조301	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-산조102	A4	A6	184	189	0.0562
LedB6-산조502	A4		184		0.0562
LedB6-산조302	A6		189		0.0562
LedB6-산조103	A2	A4	178	184	0.0281
LedB6-J_115	A4		184		0.0562
LedB6-J_290	A4		184		0.0562
LedB6-J_324	A4		184		0.0625
LedB6-J_436	A6		189		0.1249
LedB6-J_440	A2		178		0.0625
LedB6-J_465	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-J_468	A4	A6	184	189	0.0281
LedB6-J_474	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-J_505	A4		184		0.1249
LedB6-J_526	A4		184		0.0562
LedB6-J_535	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-J_763	A1	A2	175	178	0.007
LedB6-J_7L-5	A2	A6	178	184	0.0562
LedB6-J_A500	A6		184		0.0562
LedB6-J_A567	A6		184		0.0562
LedB6-J_BY600	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-J_N603	A2	A4	178	184	0.0562
LedB6-J_Y602	A2		178		0.1249
LedB6-J_Y707	A2		178		0.1249
LedB6-J_Yujiro	A2	A4	178	184	0.0281
LedB6-K_129	A4		184		0.0562
LedB6-K_135	A4		184		0.0562
LedB6-K_136	A4		184		0.0562
LedB6-K_176	A4	A6	184	189	0.0562
LedB6-K_177	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-K_188	A4		184		0.0562
LedB6-K_36	A4		184		0.1249
LedB6-K_369	A4		184		0.0562
LedB6-K_37					0
LedB6-K_38	A4	A7	184	239	0.0141
LedB6-K_411	A4		184		0.0625
LedB6-K_42	A4		184		0.0562
LedB6-K_51	A4		184		0.1249
LedB6-K_53	A4		184		0.0562

LedB6-K_55	A4		184		0.1387
LedB6-K_57	A2	A4	175	184	0.007
LedB6-K_60	A2	A4	175	184	0.007
LedB6-K_62	A4		184		0.1249
LedB6-K_63	A4		184		0.0562
LedB6-K_64	A4		184		0.0562
LedB6-K_665	A4		184		0.0562
LedB6-K_666	A3	A4	181	184	0.0625
LedB6-K_669					0
LedB6-K_672	A3	A4	181	184	0.0141
LedB6-K_674	A4		184		0.0562
LedB6-K_675	A4		184		0.0562
LedB6-K_731					0
LedB6-K_731					0
LedB6-산립1	A4		184		0.0562
LedB6-산립10	A5	A6	186	189	0.007
LedB6-산립2					0
LedB6-산립3	A4		184		0.0562
LedB6-산립4	A2	A6	178	189	0.0281
LedB6-산립5	A2	A6	184	189	0.0312
LedB6-산립6	A4		184		0.0562
LedB6-산립7	A2		178		0.0562
LedB6-산립8	A4		184		0.0562
LedB6-산립9	A3	A4	181	184	0.0141
LedB6-_농기3	A2	A6	178	189	0.0281

- 대립 유전자형 종류 및 SIZE

Allele type	A1	175
	A2	178
	A3	181
	A4	184
	A5	186
	A6	189
	A7	239

마. LedD6 Micrasatellite maker을 이용한 유전자형 분석 결과

(국내 야생종-K, 중국 도입종-C, 일본 등록 품종-J로 약어 표기하였음, GQ 값은 0인 것은 분석이 되지 않거나 정확도가 떨어지는 데이터임)

Sample Name	Allele 1	Allele 2	Size 1	Size 2	GQ
LedD6-C_1363	A6	A7	216	222	0.0562
LedD6-C_478	A6		216		0.0562
LedD6-C_479	A4	A7	210	222	0.007
LedD6-C_480	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-C_481					0

LedD6-C_482	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-C_483	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-C_484	A6		216		0.1249
LedD6-C_485					0
LedD6-C_486	A7		222		0.0281
LedD6-C_487	A6	A7	216	222	0.0562
LedD6-C_488	A6	A7	216	222	0.0281
LedD6-C_489	A6	A7	216	222	0.0281
LedD6-C_490	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-C_491	A6	A7	216	222	0.0562
LedD6-C_494	A6	A7	216	222	0.0281
LedD6-C_495	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-C_496	A6	A7	216	222	0.0281
LedD6-C_497					0
LedD6-C_937	A6	A7	216	222	0.0562
LedD6-산조101					0
LedD6-산조108					0
LedD6-산조109					0
LedD6-산조501	A6		216		0.0562
LedD6-산조301	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-산조102	A6	A7	216	222	0.1249
LedD6-산조502	A6		216		0.0562
LedD6-산조302					0
LedD6-산조103	A4	A6	210	216	0.0562
LedD6-J_115	A6		216		0.0562
LedD6-J_290	A6		216		0.0562
LedD6-J_324	A6		216		0.0562
LedD6-J_436	A2	A7	185	222	0.0281
LedD6-J_440	A4		210		0.0562
LedD6-J_465	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-J_468	A6	A7	216	222	0.0562
LedD6-J_474	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-J_505	A6		216		0.0562
LedD6-J_526	A6		216		0.0562
LedD6-J_535	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-J_763	A3	A4	189	210	0.0625
LedD6-J_7L-5	A4	A6	210	216	0.0281
LedD6-J_A500	A6		216		0.0562
LedD6-J_A567	A6		216		0.0562
LedD6-J_BY600	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-J_N603	A4	A6	210	216	0.1249
LedD6-J_Y602					0
LedD6-J_Y707	A4	A7	210	222	0.0281
LedD6-J_Yujiro	A4	A6	210	216	0.0562
LedD6-K_128	A5	A6	212	216	0.0562
LedD6-K_129	A6		216		0.1249
LedD6-K_135	A6		216		0.0562

LedD6-K_136	A6		216		0.0562
LedD6-K_176	A6	A7	216	222	0.1249
LedD6-K_177	A4	A7	210	222	0.0562
LedD6-K_188	A6		216		0.0562
LedD6-K_36					0
LedD6-K_369					0.0281
LedD6-K_37					0
LedD6-K_370	A6		216		0.0562
LedD6-K_38	A6	A8	216	250	0.0281
LedD6-K_411	A3	A6	189	216	0.0281
LedD6-K_42					0
LedD6-K_51	A6		216		0.0562
LedD6-K_53	A1	A6	182	216	0.0281
LedD6-K_55	A3	A6	189	216	0.1249
LedD6-K_57	A6		216		0.0562
LedD6-K_60	A6		216		0.0562
LedD6-K_62	A6		216		0.0562
LedD6-K_63	A6		216		0.0562
LedD6-K_64	A3	A6	189	216	0.0281
LedD6-K_665	A6		216		0.0562
LedD6-K_666	A3	A6	189	216	0.0562
LedD6-K_669	A5	A6	212	216	0.00705
LedD6-K_672	A3	A6	189	216	0.0562
LedD6-K_674	A6		216		0.0562
LedD6-K_675	A6		216		0.0562
LedD6-K_731	A3		189		0.0281
LedD6-산림1	A6		216		0.1249
LedD6-산림10					0
LedD6-산림2	A4	A7	210	222	0.1249
LedD6-산림3	A6		216		0.0562
LedD6-산림4	A4	A7	210	222	0.1249
LedD6-산림5	A6	A7	216	222	0.0281
LedD6-산림6	A6		216		0.0562
LedD6-산림7	A4	A9	210	257	0.0281
LedD6-산림8	A6		216		0.1249
LedD6-산림9	A3	A6	189	216	0.0625
LedD6-_농기3	A4	A7	210	222	0.0562

- 대립 유전자형 종류 및 SIZE

Allele type	A1	182
	A2	185
	A3	189
	A4	210
	A5	212
	A6	216
	A7	222
	A8	250
	A9	257

등록 품종에 한하여 분석한 결과를 살펴보면, GQ값이 낮거나 정확도가 떨어지는 데이터를 제외하고 정리하면, 구별이 어렵거나 중복되는 것은 SNP genotyping 분석 결과로 상호 보완한다.

<표 5-5> Microsatellite marker에 의한 국내 표고품종의 식별

Microsatellite marker	Allele1	Allele2	Size 1	Size 2	등록 품종명
LedA2	A1	A4	78	115	농기3호
LedA2	A2	A4	82	115	산림2호, 산림6호, 산림8호, 산림9호
LedA2	A3	A4	111	115	산림10호, 산림4호, 산림5호, 산림7호, 산조108호, 산조109호, 산조302호
LedA2	A4		115		산림1호, 산림3호, 산조501호, 산조301호, 산조102호, 산조103호
LedA2	A5	A6	118	121	산조101호
LedA8	A11	A14	277	283	산림6호
LedA8	A11		277		산조108호
LedA8	A14		283		산조102호
LedA8	A15		286		산림1호, 산조501호, 산조502호
LedA8	A2	A11	249	277	농기3호, 산림2호, 산조103호
LedA8	A2		249		산림10호, 산림4호, 산림5호, 산림7호, 산림8호, 산조301호, 산조302호
LedA8	A4	A13	259	280	산조109호
LedA8	A4		259		산림9호
LedA8	A9		273		산림3호
LedB2	A3	A4	210	213	산림10호, 산림4호
LedB2	A3		210		산림1호, 산림3호, 산림6호, 산림8호, 산조501호, 산조102호, 산조502호
LedB2	A4		213		농기3호, 산림2호, 산림7호, 산림9호, 산조108호, 산조109호, 산조301호, 산조302호, 산조103호
LedB6	A2	A4	178	184	산조103호
LedB6	A2	A6	178	189	농기3호, 산림4호, 산림5호, 산조301호
LedB6	A2		178		산림7호, 산조108호, 산조109호
LedB6	A3	A4	181	184	산림9호
LedB6	A4	A6	184	189	산조102호
LedB6	A4	A7	184	222	농기3호
LedB6	A4		184		산림1호, 산림3호, 산림6호, 산림8호, 산조501호, 산조502호
LedB6	A5	A6	186	189	산림10호
LedB6	A6		189		산조302호

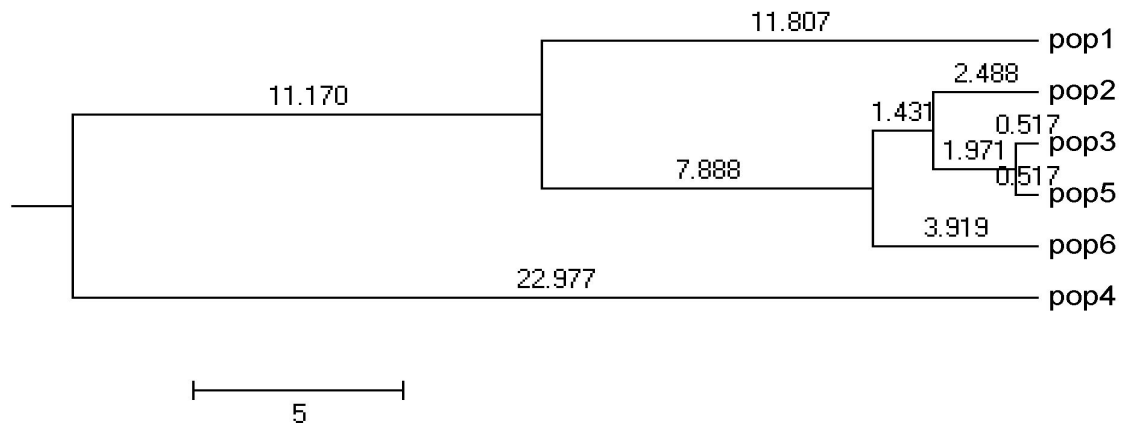
LedD6	A3	A6	189	216	산림9호
LedD6	A4	A6	210	216	산조103호
LedD6	A4	A7	210	222	산림2호, 산림4호, 산조301호
LedD6	A4	A9	210	257	산림7호
LedD6	A6	A7	216	222	산림5호, 산조102호
LedD6	A6		216		산림1호, 산림3호, 산림6호, 산림8호, 산조501호, 산조502호

Microsatellite genotyping한 결과를 토대로 Power Marker V3.0을 이용하여 원산지에 따른 품종간의 Population structure, Phylogenetic analysis 및 Association analysis를 하였다(그림 4).

■ 6개 그룹으로 분류하여 분석한 Phylogenetic analysis 결과

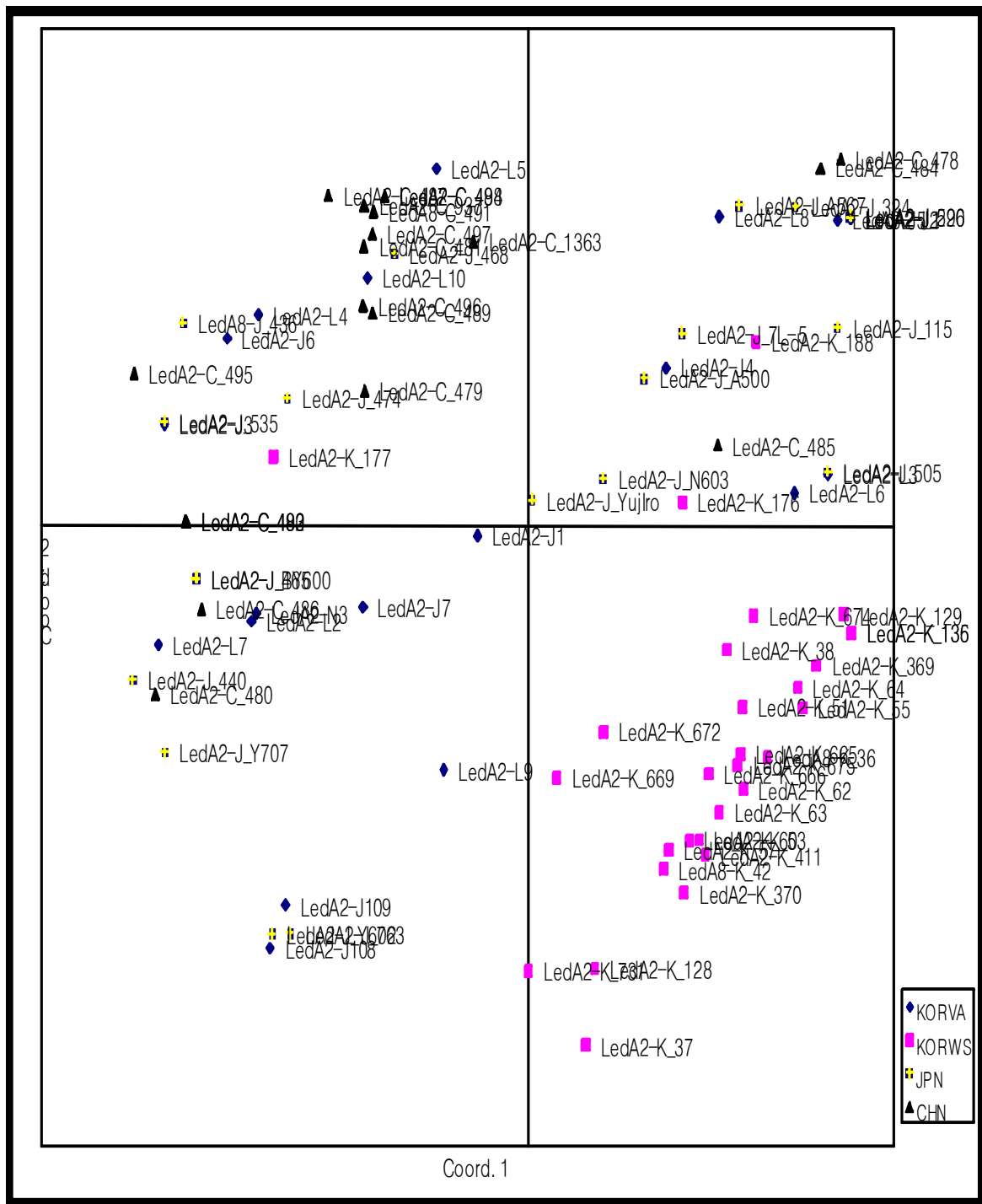
- POP1 농업진흥청 농기3호
- POP2 국립산림과학원 등록 품종 10종 ; 산림1호부터 산림10호
- POP3 산림 버섯 조합 등록 품종 9종 ; 산조101호부터 산조103호, 산조108호, 산조109호
- POP4 국내 자연산 29종
- POP5 일본 등록 품종 20종
- POP6 중국 도입 품종 20종

∴ Total 89개체



<그림 5-4> Microsatellite marker를 이용한 계통학적 분석

분석한 표고균주의 집단간 계통수를 그렸을 때, 국내에서 개발된 품종은 일본품종과 유사성이 높았다. 한편, 국내 야생 표고균주는 국내외 표고 품종과는 다른 그룹에 포함되어 앞으로 새로운 품종을 개발하는데, 모균주로 사용하면 일본과 중국과는 유전적으로 차별화된 품종을 개발할 수 있을 가능성이 있었다<그림 5-5>.



<그림 5-5> 89개체간의 상호 연관성을 본 표고 버섯의 Ordination 결과

- KORVA ; 한국 등록 품종(◆)
- KORWA ; 한국 야생 품종(■)
- JPN ; 일본 등록 품종(⦿)
- CHN ; 중국 도입 품종(▲)

<표 5-6> Microsatellite marker들의 통계분석 결과

■ Summary statistics

Marker	Major. Allele. Frequency	Genotype No	Sample Size	No. of obs.	Allele No
LedA2	0.8512	5	89	84	6
LedA8	0.3235	27	89	85	14
LedB2	0.5000	5	89	72	5
LedB6	0.5190	10	89	79	7
LedD6	0.5329	14	89	76	9
Mean	0.5453	12.2	89	79.2	8.2

Marker	Availability	Gene Diversity	Heterozygosity	PIC
LedA2	0.9438	0.2657	0.2857	0.2514
LedA8	0.9551	0.8327	0.4471	0.8167
LedB2	0.8090	0.5267	0.1389	0.4149
LedB6	0.8876	0.6320	0.4430	0.5740
LedD6	0.8539	0.6435	0.6053	0.5996
Mean	0.8899	0.5801	0.3840	0.5313

위와 같은 결과를 토대로 다음과 같은 결과를 얻었다.

① Microsatellite marker 다형 분석

원산지별로 표고 품종을 5개의 Microsatellite marker별로 대립유전자의 크기는 LedA2 (78~121bp), LedA8 (247~286bp), LedB2 (185~213bp), LedB6 (175~239bp), LedD6 (182~257bp)로 관찰되었으며 대립유전자의 출현 빈도는 LedA2 (0.85) > LedD6 (0.53) > LedB6 (0.52) > LedB2 (0.50) > LedA8 (0.32) 순으로 대립유전자의 빈도가 높게 나왔다.

② Microsatellite marker 다형의 유전자 빈도

Microsatellite marker 다형의 유전자 빈도를 조사한 결과는 위의 Table에서 보는 바와 같이 관찰된 대립유전자의 수 14~5개로서 LedA8 (0.83) > LedD6 (0.64) > LedB6 (0.63) > LedB2 (0.53) > LedA2 (0.27) 순으로 대립유전자의 빈도가 나타났다.

③ Heterozygosity, PIC(Polymorphism information content) 분석

Expected heterozygosity는 0.14~0.60사이로 평균 0.38 나타났고, PIC 분석 결과 LedA8 (0.81), LedD6 (0.60), LedB6 (0.57)로서 변별력이 높게 나왔으며, 5개 마커의 조합시에는 0.53 수치로 나타났다.

2. SNP 유전자형 분석 결과

SNP 분석은 표고의 형질에 관여한다고 추정되는 3개의 유전자를 선택 하였고, NCBI에 얻어진 정보를 이용하여 PCR 프라이머를 디자인하였다. 자세한 정보는 아래와 같다.

가. Laccase : blue copper oxidase 효소의 한 종류로 자실체 형성과 색소에 영향

을 주는 것으로 알려져 있다.

LOCUS FJ473386 2816 bp DNA linear PLN 22-DEC-2008

DEFINITION Lentinula edodes laccase gene, complete sequence.

FEATURES Location/Qualifiers

나. Exog-β-1,3-glucanase 1과 2 coding 유전자 : 세포벽을 용해시키는 데 관여하는 효소로 버섯의 형태 중에서 stripe의 모양에 영향을 준다.

LOCUS AB192344 4511 bp DNA linear PLN 28-APR-2005

DEFINITION Lentinula edodes exg1 gene for exo-beta-1,3-glucanase, complete cds.

FEATURES Location/Qualifiers

LOCUS AB205402 5322 bp DNA linear PLN 29-OCT-2005

DEFINITION Lentinula edodes exg2 gene for exo-beta-1,3-glucanase, complete cds.

FEATURES Location/Qualifiers

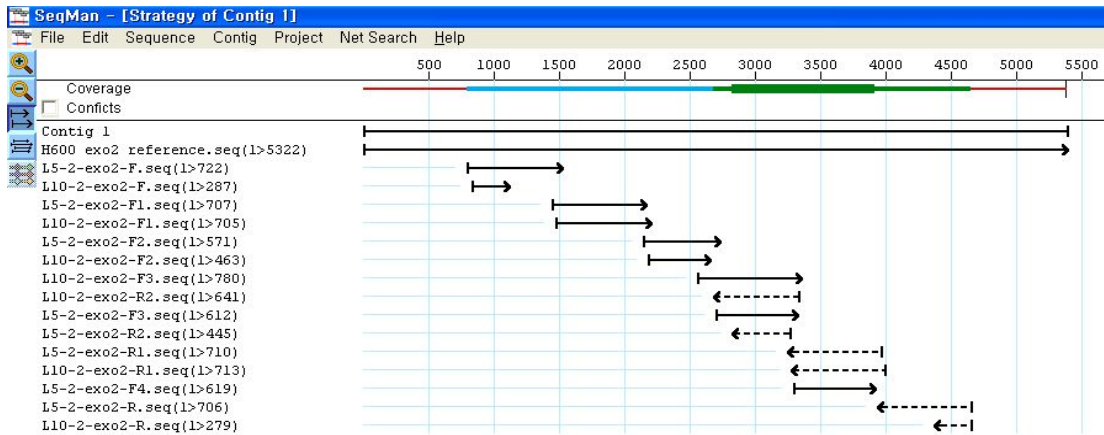
Directed Sequencing을 하기위하여 PCR용 프라이머 및 염기서열 분석용 프라이머를 각각 디자인하였다(표 5-7).

<표 5-7> SNP 마커 분석용 프라이머 디자인

구분	Name	SEQUENCE	mer	Tm(℃)
Laccase1-B	Lac1-B	ATG CTT CCC TTC GTT TCT CTT	21	55
	Lac1-B1	ATCCCGACGGACCTGAAT	18	57
	Lac1-B2	AAGGGTGCAGCATCGATT	18	55
	Lac1-Rev	TCA AGG TAA TTG AGC AGG GGT	21	57
	Lac1-Rev1	TTTCTTTGACCCTACTGC	18	52
exo-glucanase1	exo1-F	AAC TTC TTC GGC TAC CAT GGC	21	59
	exo1-R	GCA AAT ACC TCA ATC ACA GAT	21	54
	exo1-F1	AAG CTG TCA CCT GGG CGG	18	61
	exo1-R1	GTC AGC AGT CGT CAA GAA	18	55
	exo1-F2	TTG TGT GCA TAT ACT CGT	18	50
	exo1-R2	GTG TAG AAA ACG TAC CGA	18	52
exo-glucanase2	exo2-F	ACCTCATCATGCCCTCCACGC	21	63
	exo2-R	ATA CTG AGT CTA ACT CTG GCT	21	55
	exo2-F1	TCC ATC CTG TCG CTC AAT	18	55
	exo2-R1	GAG CAA TCC TCA CAA GCT	18	55
	exo2-F2	ACC CGA CAG ACG ATA TTG	18	55
	exo2-R2	AAT GCC ACA TGT TTG AGG	18	52
	exo2-F2	ATC ACC TCC ATT TAC CCT	18	52
	exo2-R2	CTC AAC TAC TAT CGC ACC	18	55
	exo2-F3	AAC ACA CCG ATC TTT GTT	18	50
	exo2-F3	TGC GGT GAA ACT TCT GGA	18	55
	exo2-F4	CTTCCAGGATATAAACA	18	48

PCR 산물은 품종별로 확보한 후에 별도의 정제과정을 각각 실시하였고, 또한 Primer walking 방법을 통하여 Full length Sequencing을 실시한 후 다중 정렬 분석을 통하여 SNP 위치 파악했다. 분석 순서는 아래와 같다.

① Primer walking 방법을 통한 Full length 염기 서열 분석 : 산림5호, 산림10호를 염기 서열 분석한 모식도



② 분석된 품종별 염기서열을 Clustal W 소프트웨어를 이용하여 다중 서열 분석 : 산림5호(L5), 산림10호(L10)와 호켄 600(H600/ 일본)을 비교한 결과(그림 6)

```

CLUSTAL W (1.83) multiple sequence alignment

L5      ---AGTCATCCGCGATACTACATCCTATGGTCAGACCGTGAGCGAGAATTTATTTCATCGT 57
L10     CGAAGTCATCCGCGATACTACAACCTATGGTCAGACCGTGAGCGAGAATTTATTTCATCGT 60
H600    -GAAATCATCCGCGATACTACAACCTATGGTCAGACCGTGAGCGAGAATTTATTTCATCGT 59
          *****

L5      CAACAAGCAACTCGCCCCAGATGGGTTTCAACGCTCGTAAAGTTTGCATTTCGCATCTCCAT 117
L10     CAACAAGCAACTCGCCCCAGATGGGTTTCAACGCTCGTAAAGTTTGCATTTCGCATCTCCAT 120
H600    CAACAAGCAACTCGCCCCAGATGGGTTTCAACGCTCGTAAAGTTTGCATTTCGCATCTCCAT 119
          *****

L5      GTCTGTACATTTACATTTTGCAGAACCGTACTCGCTGGGCTCACYCCCTCTACTGGATCT 177
L10     GTCTGTACATTTACATTTTGCAGAACCGTACTCGCTGGGCTCACCTCCTCTACTGGATCT 180
H600    ATCTGTACATTTACATTTTGCAGAACCGTACTCGCTGGGCTCACCTCCTCTACTGGATCT 179
          *****

L5      TTTCCGGGTCCACTAATCTCAGGAATAAGGTCTGCTTTATCCTTATCAGAAATGGTTACA 237
L10     TTTCCGGGTCCAYTAACTCAGGAATAAGGTCTGCTTTATCCTTATCAGAAATAGTTACA 240
H600    TTTCCGGGTCCACTAATCTCAGGAATAAGGTCTGCTTTATCCTTATCAGAAATAGTTACA 239
          *****

L5      ATTTCTTTGACCCCTACTGCAAAACAGGGGGTCAAGATTC AACCTCAACGTCACGGACCAACT 297
L10     ATTTCTTTGACCCCTACTGCAAAACAGGGGGTCAAGATTC AACCTCAACGTCACGGACCAACT 300
H600    ATTTCTTTGACCCCTACTGCAAAACAGGGGGTCAAGATTC AACCTCAACGTCACGGACCAACT 299
          *****

L5      TACGGATCCAAAGTATGGTTAGAAGCACCACCGTTGTGGGTATATCCATGTTTAAATGAAGA 357
L10     TACGGATCCAAAGTATGGTTAGAAGCACCACCGTTGTGGGTATATCCATGTTTAAATGAAGA 360
H600    TACGGATCCAAAGTATGGTTAGAAGCACCACCGTTGTGGGTATATCCATGTTTAAATGAAGA 359
          *****
    
```

<그림 5-6> Laccase full sequences를 하여 Clustal W 분석을 통해 염기서열 차이는 곳을 SNP 마커로 선발(L5: 산림5호, L10: 산림10호, H600: 호켄600)

>laccase SNP contig (2,249bp)

TCTGGCGGCTGAGCTAGTCTGCCTCGTGTACGGAGCCGAAGTCATCCGCGATACTACAACCTATGGTCAGACCGTGAGCGAGAATTTATTCATCGTCAACAAGCAACTCGCCCCAGATGGGTTTCAACGCTCGTAAGTTTACATTCGCATCTCCATR_SNP1_TCTGTACATTTACATTTTGCAGAACCGTACTCGCTGGGCTCACYCCCTCTACTGGATCTTTTCCGGGYCCAYTAATCTCRGGRAATAAGGTCTGCTTTATCCTTATCAGAATAGTTACAA TTTCTTTGACCCTACTGCAAACAGGGS_SNP2_GTCAGATTCAACCTCAACGTCACGGACCAACTTACGGATCCAAGTATGGTTAGAAGCACCACCGTTGTGGGTATATCCATGTTTAAATGAAGAATATCAGTCTAATATAACCTTGTTTCGTCA_Y_SNP3_TATCAGCACTGGCATGGCCTCTTCCAGAAAACGACCAACTATGCAGAY_SNP4_GGTGTAGCATTTGTTTCTCAATGCCCATTGCCGCAACCATTCGTTCTCTACGACTTTCAAGTCCAGATCAAGCRGGCGTACGATATCTAGTCATTTTCTTiGgAGCAWTTTGTGATTGACAACGCGATTTATAGACCTTCTGGTATCATTACACATATCGGTACAAGTGAGCTTGACGGTYCTACGATATGACGTTGCTTTGAYcCCCCGATTTGTATAGTATTGCGATGGGCTTCGAGGGCCTCTTGTAATTTATGACCCTCAAGATCCGCA GGCTATCTGTACGACGTCGATGACGGTAAGTCGCGCtgSAGRKCTTTTTttcAKTTTTTGATAYTCATTG GCTCCGStTTTTcATTWAGAAACTACCGTGCTTACTATTGCCGACTGGTAAGTCCCCGGAAGGTCTCTRC TYGRACGGTGCTCWCTAAGAS_TCAACAGGTTTACAACACCAGCACCGAGCTKATCGCAGCCGCGTTGCT CCCCCTGCCGATGCTACTTTGATTAATGAAAAGGGCGCTATCTTGGTGGGTACGTTTCAACAGGATGAGATTGTTGRCATGCTTTCTAAGATGTTCCCGYTGcATAGCCCGCTGTTCTCTCGCGGTCATCAATGTACA ACAAGGAAAGCGCTATCGTTTCCGGATGATTTCAATAGCTTGTGATGCCW_SNP5_ATCACAACTTTTCCA TCGACGGTCATAGATTAACAGTCATAGAAGTTGACGGAGAGAATCA_YGAACCTGCCACAGTCGATAAYAT TCAGATCTTCCCTGGCCAGCGCTATTTCTTTCGTTYGRMTGCAACCCAGCCTGTGGATAACTATTGGGTT CGTGcATTGTCTAGTAGTGGCGTTGGTTTTTCCGGATTTACAGGCGGTCTCAATTTCTGGAATCCTGCCGAT ACCAAGGAGCTCCAGATGCTGATCCGAC_YACAACATAATTCGACTGGCGTGGTR_SNP6_TTGACGGAAATCGA TGCTGCACCCTTTGGAAAATCCGGGAGCACCTGGACTTCCCTTCCCCGGAGGTGCTGACGAAGTGCTCAAT Y_SNP7_TGACGCTCGGTTTCAATCTTCCCGCCACATTCTTCATGAACGACACCCAATACATACCTCCGACT GTTCCAGTYCTTCTACAGATTTTGAGCGGAGCACAGTCRCCTCAAGATTTGTTGCCGCCAGGCAGTGTAT ATACCTTGCCGATAAATAAGACTAT_YGAGATAAACTTYTTCGGAAACGCTACGCCAGGAGGTCTCATCC ATTCCATCTGCATGGCGTAAGAS_SNP8_TCATTcAGTCCTCATATTGAACTCATATCTGATTGTACCTGT AGCACTCATTCGATGTCGTTCCGGAGCGCAGATAACACCACCTTACAATTATRAGAATCCCCTAAGTTGTAC CTATGTTGTCCAY_SNP9_CCAAAGCAGTGTCGTGACTTACCAAATTCAGGTCCGTCGAGATGTGACTTC TGTAGCTATTGGAAACCAGACAACCATTTCGATTTGTCACCGATAATCCTGGCCCTTGGTTTTTGCATTGG TGAGCCTGTTTGTCTATTTGTGGTATTTcATTcATGCTGAAAAGTTTGCTTCTCW_SNP10_AGCCATATCG ACCTTCATTTGGAATTGTGAAATCTTStCTACCTTTACTTTcAGAAATAATTTGYTGACCRCCTTTTTCT AGCGGACTTGCCGTCGTAATGGCTGAAGCTCCCTCTCTRGTCAAAGCAACTGACGTKACCACCTCGTATGTC CAAAGGTTCTAGTCTTTTCCCGGTACTGACTGAGTCATATGTATGATCCTTTTCAGCTGCTTGGGACGAA CTTGTCCCATTACGACAGCTAG

Figure 1. 국내에 등록된 20 strains, wild-type 28 strains, 일본 20 strains 및 중국 20 strains을 full length sequencing한 후에 multiple alignment하여 찾은 SNP 위치에서 10set의 TaqMan probe 디자인 부분을 표시하였다. 위에서 R = A or G (puRine), Y = C or T (pYrimidine), K = G or T (Keto), M = A or C (aMino), S = G or C (Strong-3H bonds) and W = A or T (Week-2H bonds)을 뜻한다.

③ Laccase에서 찾아낸 SNP 위치를 표시한 Contig (2,249bp)

TCTGGCGGCTGAGCTAGTCTGCCTCGTGTACGGAGCCGAAGTCATCCGCGATACTACAACCTATGGTCAGAACCTATGGTTCAGACCGTGAGCGAGAATTTATTCATCGTCAACAAGCAACTCGCC CAGATGGGTTTCAACGCTCGTAAGTTTACATTCGCATCTCCATRTCTGTACATTTA CATTTTGCAGAACCGTACTCGCTGGGCTCACYCCCTCTACTGGATCTTTTCCGGGYC CAYTAATCTCRGGRAATAAGGTCTGCTTTATCCTTATCAGAATAGTTACAATTTCT TTTGACCCTACTGCAAACAGGGSgTCAGATTCAACCTCAACGTCACGGACCAACTT ACGGATCCAAGTATGGTTAGAAGCACCACCGTTGTGGGTATATCCATGTTTAAATGA

AGAATAATCAGTCTAATAATAACCTTGTTTCGTCAYTATCAGCACTGGCATGGCCCTCTT
 CCAGAAAACGACCAACTATGCAGAYGGTGTAGCATTTGTTTCTCAATGCCCCATTG
 CCGCAACCATTTCGTTCTCTACGACTTTCAAGTTCCAGATCAAGCRGGCGTACGAT
 ATCTAGTCATTTTCTTtGgAGCAWTTTGTGTGATTGACAACGCGATTTATAGACCTT
 CTGGTATCATTCACACATATCGGTACAAGTGAGCTTGACGGTGYCTACGATATGAC
 GTTGCTTTGAYeCCCCCGATTGTATAGTATTGCGATGGGCTTCGAGGGCCTCTTG
 TAATTTATGACCCTCAAGATCCGCAGGCCTATCTGTACGACGTCGATGACGGTAAG
 TCGCGGtgSAGRKCTTTTTTtAcAKTTTTGATAYTCATTGGCTCCGSTTTTTCAATTWA
 GAAACTACCGTGCTTACTATTGCCGACTGGTAAGTCCCCGGAAGGTCTCTRCTYG
 RACGGTGCTCWCTAAGASTCAACAGGTTTCAACAACACCAGCACCGAGCTKATCGCA
 GCCCGGTTGTCTCCCCCTGCCGATGCTACTTTGATTAATGGAAAAGGGCGTATCT
 TGGTGGGGTACGTTTTCAACAGGATGAGATTGTTGRCATGCTTTCTAAGATGTTCC
 GYTGATAGCCCGCTGTTCCCTCTCGCGGTCAATGTACAACAAGGAAAGCGCTA
 TCGTTTCCGGATGATTTCAATAGCTTGTGATGCCWATCACAACCTTTTCCATCGACG
 GTCATAGATTAACAGTCATAGAAGTTGACGGAGAGAATCAYGAACCTGCCACAGTC
 GATAAYATTCAGATCTTCCCTGGCCAGCGCTATTTCTTTTCGTTYTGRMTGCAACCCA
 GCCTGTGGATAACTATTGGGTTTCGTGCTAGTAGTGGCGTTGGTTTTTCCG
 GATTTACAGGGTCTCAATTTCTGGAATCTGCGATACCAAGGAGCTCCAGATGTTCC
 GATCCGACYACAATAATTCGACTGGCGTGGTRTTGACGGAATCGATGCTGCACCC
 TTTGGAAAATCCGGGAGCACCTGGACTTCCCTTCCCCGGAGGTGCTGACGAAGTGC
 TCAATYTGACGCTCGGTTTTCAATCTTCCCGCCACATTTCTTCATGAACGACACCCAA
 TACATACCTCCGACTGTTCCAGTYCTTCTACAGATTTTGAGCGGAGCACAGTCRCC
 TCAAGATTTGTTGCCGCCAGGCAGTGTATATACCTTGGCGATAAATAAGACTATY
 AGATAAACCTTYTTCGGAAACGCTACGCCAGGAGGTCTCATCCATCCATCTGCAT
 GGCGTAAGASTCATTTCAGTCTCATATTGAACTCATATCTGATTGTACCTGTAGCA
 CTCATTCGATGTCGTTCCGGAGCGCAGATAAACACCCTTACAATTATRAGAATCCCG
 TAAGTTGTACCTATGTTGTCCAYCCAAAGCAGTGTGCTGACTTACCAAAAATTCAGG
 TCCGTCGAGATGTGACTTCTGTAGCTATTGGAAAACCAGACAACCATTTCGATTTGTC
 ACCGATAATCCTGGCCCTTGGTTTTTGCAATTGGTGAGCCTGTTTGCTATTTGTTGGT
 ATTTCAATTCATGCTGAAAAGTTTTGCTTCTCWAGCCATATCGACCTCATTTGGAA
 TTGTGAAATCTTSTCTACCTTTACTTTTCAGAAATAAATTTGYTGACCCRCTTTTTTCT
 AGCGGACTTGGCGTCGTAATGGCTGAAGCTCCCTCTCTRGTCAAAGCAACTGACGT
 KACCACTCGTATGTCCAAAGGTTCTAGTCTTTTCCCGGTACTGACTGAGTCATATG
 TATGATCCTTTTTTCAGCTGCTTGGGACGAACTTGTTCCCATACGACAGCTAG

④ Exoglucanase 1에서 찾아낸 SNP 위치를 표시한 Contig (1,819bp)

TCTTCTCTTTTTTCGTAAGTGTGCTTATYGCCTGTTCTTCTTTATCTCTCGCTGTTGC
 TATCTCTCCCGGTTTTCCGATGGCAATGAAAAGGTCCGAGGTGTTAATCTTGGAG
 GTTGGCTTGTGCTCGAAGTGTGTATCGCAGTATTTCTCGTGGTTGGCGTCTCGCTC
 ATGTAYTTCACAAGCCATGGATAACACCCTCACTATTCGACAACACTGGTAAGTCT
 TACACAGCATAACATCCGACTCCTTTGCTCTGATACGCATCAAAGGAAATAGCGCTA
 TAGTCGACGAGTACACATTTTGTCAAATGCAAGATCGCGCGATAGTCCATCCGTT
 CTGGAAGCGCAATTGGAATAGCTGGATTACCGAGTCCGATTTTCAAGCAATCGCTGA
 CGCGGGGTAAGTTCTCCTCCAAGATGAATCTCYGTCCACAAGCTCACCAAAAAMT
 CGCAGGTGGAATCATGTTTCGTTCTCCAATTGGTTACTGGGGCTTTGAAGTTGGTCC
 GGGCGAACCATAACATCTCTGGACAACCTGCCTTACCTTCAAAAAGCTGTACCTGGG
 CGGGTAATCATGGTTTTGAAAAGTTATCGTAGATCTTCATGGTTYGTCTACTCGTTS
 ATATTTGTGCGATTATTCCAATGATCTTTTTGRCAGGTGCTCCTGGTAGTCAGAACC
 GGTACAAACTACTTACTGCCATCTAGTCCGTAYACTCAATCCATTGCTGTTCCCTTA
 GTTTCGACAATTCGGTTCAGCGCATGGACTACCCGTACGTCAAGCCCTTTTGTTG
 CATATACTCGTAATTGATTTTTGCTCAGRACATGGCACTCCAATGGCACGAACGTT
 GCCCCTACTGATGCTATCATCAAGACAATCGCTGACATGTTCAAGGACAATCCAGG
 TGTGGTYCCATAAATCGCWCCCTTTGAACGAGTGAGTTAAATCCACGCGCTGTACCA
 CGCCCAATGTCGATGACTTGCCTCCAGACCTGCAGGCTTTGACGGCAGCAATGTTT
 TGAGCGTCGTAAGACAGTACTGGAGAGACAGTTAYGGCAACATTCGGTACGTTTTT
 TACACCTAGCCACATGTCCATGCACCTCATCTCAGTTCAGTACCTTACGGATCCTC
 TCAGCAAAGCRACACCCTCGTTCTTATTCATGATGCCTTCCAACCCTTGAGCTACT
 GGAACGGCTTCTTGACGACTGCTGACAACAACGCTCAGGGCGTGGCTATGGATACG
 CACATCTACCAGATGTTTCAGTGTATRGTTGAGTAGCAGCATAGCCTTCACAGTTC
 GACATAATGAATGKATTAATCTTGCAGGGTGTGCGCATGTTCGGATGATGAACACAT
 TCAATCAGCCTGTGGTCAGAAATCCACGTTGTCCGGTTTCGACCTTTGGCTCATTG
 TTGGCAGTGGACTCCTGCGATGACCGACTGCGCAACGATCTCAACGGCCGAGGT
 ATTGGTTTCGCGTTACGACGTAAGTTTTCAATTTAACCTTGTTCATTTCGATCGTAGTTC
 TCATGATATCTATTTATATCGCTGAACCTCGCTCTGRCATGTTCTTATTTTTTCAT
 CCTACGCCGCTCAACCATAACAGGGCTCTTACTCCGGTTCTACGGCTGTGGGCAGCT

GCCTGGCCTCACAGGTTCCGCGTCAAGCTTCAGCTCGTCCTACAAGACGTTTTTG
AGAAAGAGCTGGGAAGCCCAGGCAATCACGTTTCGAAGCTGCTGGTGCTGGATGGAT
CCAGTGGACTTGGAAAGGCTGARAATGCGGATGAATGGACRTATCAGGCAGGCCTGA
TGAATGGCTGGATCCACAGACCCTA

⑤ Exoglucanase 2에서 찾아낸 SNP 위치를 표시한 Contig (3,801bp)

TCTCAGCTTCGCGACCCTCGTCTTGTCTTTAGGAACGTCGTGTTCTGCACCTCTCGG
TGCTGGAACCGCTGCGCCAACCTGGTCTGTTTCCCTTTACAAGGCCTTCAATTGAATT
CAAATTCTCACCTACCGCATAGATCCCTACTGGATGCAGAACATCAAGCATCAGGG
TACGGCTGCATTTAACTCTAACCCAAAGTGGTTACCAGGTATTTTCGCAACGTCAAGG
ATTTTCGGTGCCAAAGGCGATGGTGTACTGACGACACCGCTGCTATAAAGTTTTGTG
GCTGATCTGTCGCGCTGGGACTTGACTCTGAGATTTTSTCGCCAACAGTAATGCCA
TCTCATCGGGAGGTCGATGTGGGGGAGGTTCTTGTGCATCATCCACGTTTGGCGCT
TCTCTTCTTGA AAAATATCATCTACTCATCGAATTACTAGTGTATCCCCAGCTGTAG
TCTTTTTCCCGCAAGGAACCTACCTCGTCTCTTCACCCATTATCGCATACTATTAC
ACACAATAATCGGCGATGCTCGTGTTCCTCCTACCCTGCTTGCATCGCCCTCCTTC
GCTGGTATGGCTGTAATAGGTGAGTTATACCAGCACCCCTATTTCCATCCTGTCGCT
CAATAACCTTGTTCAGATGCTGACCCTTACATCCCGAACGGAGGTGGTGAGTAATTA
TTTTCATATTAATCAAAAATCTGTTTATGCTGTTGAAGGCGCACAGTGGTACACAA
ATCAGAGTACGTTTTCCCGTGTGTCTTGGATTTTTCAATGATGACGTTCCACTACC
TTTTTCTAGACAACCTTGTGAGTCTTCAATCCGTGACAATTGATGTATGTAGTCCG
ACCTGGACTTCTTTAGCTTTCGCTCYGTACGAAAACCTTCGTGATTGACGTCAGACA
GTGGGTCTTGCCTTTTCATTTCTTGGAGTCTTTGATTCTAACTGGTATTCAACTTA
GAGTTCCTGCTACGAATAGCCAAGGGACTGGTATTTACTGGCAGGTAATGCCATTG
AACTCTTTTCGGAGAAATRGCGGGCTTGAATAAACTGTTTCAGGTGGCCCAAGCGACA
AGCCTGATGAATATCGTCTTCGAGATGTCCACAGCAGCTGACACCGCACACCAAGG
TATGCCCATATACATTCACAAGCAACAGCGTCCGAGCCTGAGTGTATTGCTATAGG
TATCTGGATGGAGAATGGATCTGGAGGCTTCATGGGTGATTTAGTGAGCCCAAAG
AACCCGACAGACGATATYGAGTCGACAGACTAACYATCATTCAATTTATCCTCAGGT
ATTCATATGTGAGGTCTGGTATGTCTCTGCACATTTGTTGAATCTAATTCAGGAA
TAGGGAGGCAAATTTGGAATGTGGGTGGCAACCAACAGTAAGTTGTATTATTCGT
CGTCGCGGGAAGGACTATCATCGACTATGAACAACTAAGATTCACTGTTCGAAACATCA
CTGTCAATAACGCCAACACTGCTGTCTTTGGGATTTGGAACCTGGGGTATGACAAAA
ACAGCATCTTTGCATCAAATGATAAAAATTTCTGTGTAGGCTGGACATTTCAAGGG
GTTACCATTAATAACTGCCAAGTCCGTTCTGATTTGAGGGCATACATACGTGCGAA
ACTGAATCGTTTTAGGTGGCTTTGATCTCAGACTGGTGGATTGACTGAGTCAAC
CCAGGTGCGTACTCATGTTTTTCGATGAAATCTCTTGGAAAGTGATAAAAATTTTG
CAGACTGTCGGCGGGGAAGCCATTAATTGACGCTGTGGTATCAAACACACCCGATCTT
TGTTTCGCACGTCGCAGCCTAGCAACGGCAAACCTTGCTGGCTCTATTGTTATAAACA
ACGCTCAGCTGACGAATGTCCCAACTGCAGTTGGAGTAGTTGGAGGAGCCACCGTGT
CTCGTGGTGGTACGACTACCATAGCCTCATTTGGCCAAGGAAATGTTTTACAAAGG
AACAAATGGCGCATCAACCTTTACTCAAGGAAGTATTCCTGCAGCAAACAAAGCGT
CATCTTTGCTAGATAGTGCAGGTCATATATTTGGTAAAATGCATCCCCAGTACRCC
AATTATGCTGTCAGCCAATTCGTCAGCGTCAAAGACAATGGTGCAAAGGGAGATGG
TCACACCGACGACACAGCTGCCCTTAACGCAATATTTGCCAAGGTCTGTCTCTCAG
GTTTTAYCGTACGCCRTAACGCGAGCTTCAATTTCTGACTATTTTCTCCACAGTTTTT
CGGGTTGCAATATCATTTTTCTTTCGATGCTGGGACATATATTGTAACCCAGACCCTC
ACCATACCTGCAGGCACCCAAATAGTTCGGAGAGGGCTGGTCTGTGATTGCGGGGTC
AGGTGCTGCTTTCCAGGATATAAACAACCCGAAGCCGTTGTTGCAGGTGGGGGCTG
CGAATTCTCAAGGCATTAATGGAGATTAGCGACATAAATATTTCCACCGTGGGACCC
AGTATGCATTTTTCTGATTTTCATTTTCTTGAATCCTCAAACATGTGGCATTACA
GCTCCGGGTGCGATAGTAGTTGAGTGGAAATGTCAAACAACCTGCTGGACAAAACGG
TGGAGCCGGAATGTGGGACTCGCACATCAGGCTCGGAGGCGGTACGAGTTCTAAAT
GACCTGGTGCACCTTCATTGACTATCTCTGTAGCTGCGGGAACCAACCTCGAATCT
GCCAATGCCCTTCAAGCGGCACTGGTGGTACAGCAGCATGTTTTGCCTCTTTCCCTT
GCTCTAATTTGACAGCTGGGTCTACTGCCTATCTTGGAGTATGTTATCTCCAGAC
CCGATAAATGTGTTCTTACTGAATCATTTTTACTTAGGGTGATTTAAATTTGTCCG
TTCTGTGACCACTATGCTAACTCCATCTGATTCTAGGTACATGGGTGCGCTTCGCC
TAATATCCCCTGATACGTTCTTCCGTAAGTACTGACCTCCCTTCTCTCTTGAAGGTTTG
GCTGGCTGGTATGAATGGATTTAGCTTACCAGAACTTCTCGTTGATGTTTTTTTC
TAGATCATGACCTTGACGGAGATGGTGTATCGCAACTAGAGTTGTTTTCTGGAAG
AGGGATCCCTTTCAGAGTCTGCTGGTCCGGTTTTGGATGATTGGCACAGGTATGATAG
CTTAAATGAAATCTTTATGTTTGCATGACTCTCATTTTTTCTGGAATTTAGCTTG
TGAGGATTGCTCTATAGTAATAAAAGACAAACATATAATCATAAATCTTCTGAAG
CTGAACATCATGCGTTGTACCAATATTTCTTTGGTCAACGCTCAAAAATCATTATAT
GGGCTTAAATCAAACCGAGACAGTAAGTTGCACAACCAATGTTGTGACTTCCCATC
TCGTTACCACTTTCTGTAGCCTTACTATCAGCCCTCCCTGCTGTGACTTCGCCTT
TTTTCAATTAACCTCTGCCTTCAATGATCCAACGATCTTTGGTGGGAGTAGCGCTTGG

GCATTGCATGTCACATCTTCTTCCAATATCCTGGTATTCGGTAAGATAAATASTACA
 TTATGAGTTACAGGACTTATCCGCGATCTTCTGTGAACAGGTGCCGGACTTTATAG
 TTTTTTCCAGGTTTCGTTTCACCTTTGCTCGAAATAAACAACTACTYACACACCCCGC
 GTTCAGAGCTTTGGACAAGACTGTCTGGACTCCAACAATTGCCAGTTCGAAATCTT
 GAATGTTGATTCCACTTCATCGATCAATTTGTATAGTGTCACTACAGTCGGGACAA
 CCTTTCAGCTCAGCGTCAACAATAATGGTGTCTGTAATCAATCGGGAAATGTGGAT
 G

선발된 SNP는 SNP 변이 위치를 기준으로 Realtime PCR을 이용한 SNP 유전자형을 분석을 위하여 형광 probe를 디자인 하였다. 형광 probe는 Laccase 관련해서 SNP1~10, Exoglucase 1 관련해서 exo1-1~exo1-10, Exoglucase 2 관련해서 exo2-1~exo2-5 이상 총 25sets를 디자인해서 합성하였으나 probe screening 결과 정확도와 변별력에 문제로 SNP8, SNP10, Exo1-4, Exo1-10, Exo2-1 이상 5set는 제외시켰다.

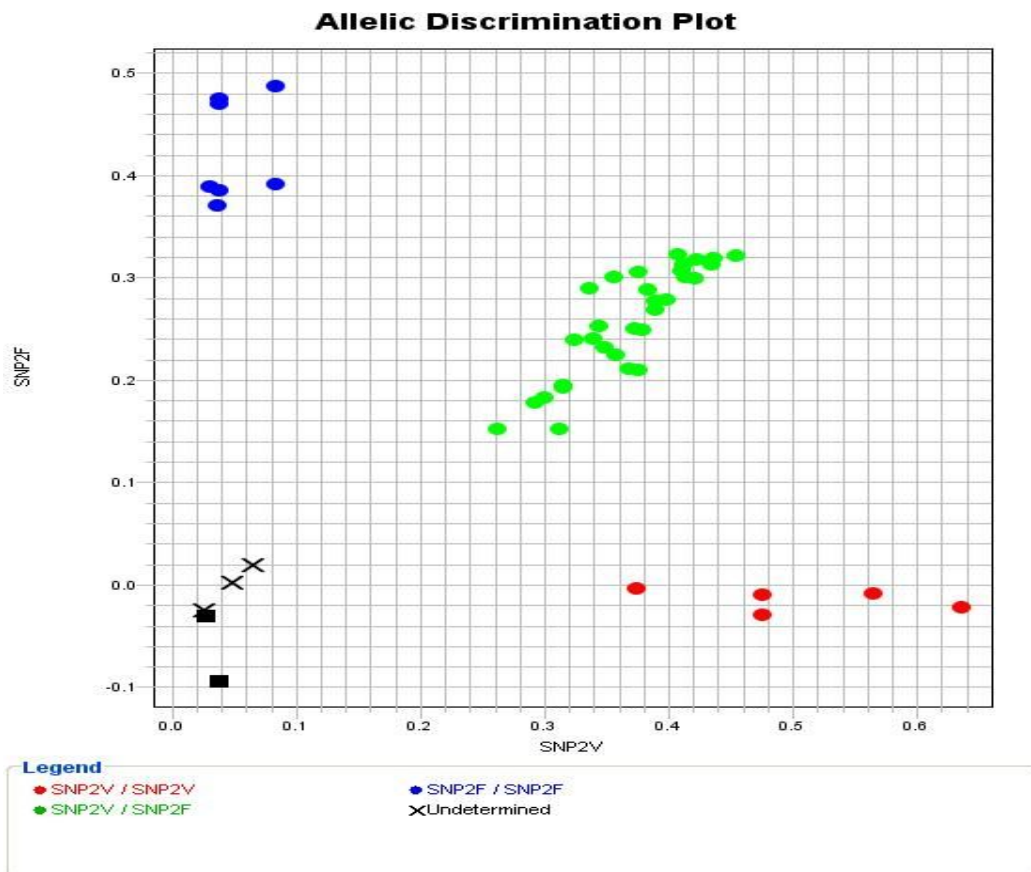
<표 5-8> 각 SNP의 프라이머 정보 및 변이 위치

Probe 명칭 및 Sequencing 정보		length
SNP1_AG-AGV1	ATC TCC ATA TCT GTA CAT TT	20
SNP1_AG-AGM1	TCC ATG TCT GTA CAT TT	17
SNP1_AG_AGR	CGA GTA CGG TTC TGC AAA ATG T	22
SNP2_CG-AGV2	CTG ACG CCC TGT TTG	15
SNP2_CG-AGM2	TCT GAC CCC CTG TTT G	16
SNP2_CG-CGR	TCC GTG ACG TTG AGG TTG AA	20
SNP3_CT-CTV2	CCA GTG CTG ATA GTG ACG A	19
SNP3_CT-CTM2	CAG TGC TGA TAA TGA CGA	18
SNP3_CT-CTR	GCA TAG TTG GTC GTT TTC TGG AAG A	25
SNP4_CT-CTV2	ATG CTA CAC CGT CTG CAT A	19
SNP4_CT-CTM2	AAT GCT ACA CCA TCT GCA TA	20
SNP4_CT-CTR	GAA TGG TTG GCG GCA ATG G	19
Probe 명칭 및 Sequencing 정보		length
SNP5_AT-ATV2	AAA AGT TGT GAT TGG CAT C	19
SNP5_AT-ATM2	AAG TTG TGA TAG GCA TC	17
SNP5_AT-ATR	TCT CTC CGT CAA CTT CTA TGA CTG TT	26
SNP6_AG-AGV1	CTG GCG TGG TAT TGA	15
SNP6_AG-AGM1	CTG GCG TGG TGT TGA	15
SNP6_AG-AGR	AGG GTG CAG CAT CGA TTC C	19
SNP7_CT-CTV2	AGC GTC AGA TTG AGC A	16
SNP7_CT-CTM2	AGC GTC AAA TTG AGC A	16
SNP7_CT-CTR	GTG GCG GGA AGA TTG AAA CC	20
SNP8_CG-CGV1	ATG GCG TAA GAC TCA T	16
SNP8_CG-CGM1	ATG GCG TAA GAG TCA T	16
SNP8_CG-CGR	GTG CTA CAG GTA CAA TCA GAT ATG AGT T	28
SNP9_CT-CTV2	ACT GCT TTG GGT GGA CA	17
SNP9_CT-CTM2	CTG CTT TGG ATG GAC A	16
SNP9_CT-CTR	ACG GAC CTG AAT TTT GGT AAG TCA	21
SNP10_AT-ATV1	TTT GCT TCT CAA GCC AT	17
SNP10_AT-ATM1	AGT TTG CTT CTC TAG CCA T	19
SNP10_AT-ATR	CGG CAA GTC CGC TAG AAA AAG	21

Exo1_1_CT-CTV2	CTC GCT CAT GTA CTT CAC AA	20
Exo1_1_CT-CTM2	CTC GCT CAT GTA TTT CAC AA	20
Exo1_1_CT-CTR	TGT CGA ATA GTG AGG GTG TTA TCC A	25
Exo1_2_CT-CTV2	CTT GTG GAC GGA GAT T	16
Exo1_2_CT-CTM2	TTG TGG ACA GAG ATT	15
Exo1_2_CT-CTR	TTG GAA GAC GAA CAT GAT TCA ACC T	25
Exo1_3_CT-CTV2	ATG GAT TGA GTG TAC GGA C	19
Exo1_3_CT-CTM2	ATG GAT TGA GTA TAC GGA C	19
Exo1_3_CT-CTR	CGG AAT TGT CGA AAC TAA GGA ACA G	25
Exo1_4_AG-AGV1	TTT TGC TCA GAA CAT GG	17
Exo1_4_AG-AGM1	TTT TGC TCA GGA CAT GG	17
Exo1_4_AG-AGR	CAA CGT TCG TGC CAT TGG A	19
Exo1_5_CT-CTV2	AAT GTT GCC GTA ACT G	16
Exo1_5_CT-CTM2	AAT GTT GCC ATA ACT G	16
Exo1_5_CT-CTR	CAT GTG GCT AGG TGT AGA AAA CGT A	25
Exo1_6_AG-AGV1	CAG CAA AGC AAC ACC	15
Exo1_6_AG-AGM1	CAG CAA AGC GAC ACC	15
Exo1_6_AG-AGR	GGG TTG GAA GGC ATC ATG AAT AAG A	25
Exo1_7_AG-AGV1	AGA TGT TCA GTG ATA GTG TGA	21
Exo1_7_AG-AGM1	ATG TTC AGT GAT GGT GTG A	19
Exo1_7_AG-AGR	GAA CTG TGA AGG CTA TGC TGC TA	23
Exo1_8_GT-GTV2	CTG CAA GAT TAA TCC ATT CA	20
Exo1_8_GT-GTM2	CTG CAA GAT TAA TAC ATT CA	20
Exo1_8_GT-GTR	ACA GGC TGA TTG AAT GTG TTC ATC A	25
Exo1_9_AG-AGV1	CTC GCC TCT GAC ATG T	16
Exo1_9_AG-AGM1	CGC CTC TGG CAT GT	14
Exo1_9_AG-AGR	TTG AGC GGC GTA GGA TGA AAA	21
Exo1_10_R-AGV2	ATC CGC ATT TTC AGC C	16
Exo1_10_R-AGM2	ATC CGC ATT CTC AGC C	16
Exo1_10_R-AGR	TGT GGA TCC AGC CAT TCA TCA G	19
Exo2_1_CT-CTV1	TTT TAG CTT TCG CTC CGT ACG	21
Exo2_1_CT-CTM1	TTA GCT TTC GCT CTG TAC G	
Probe 명칭 및 Sequencing 정보		length
Exo2_1_CT-CTR	TGT CTG ACG TCA ATC ACG AAG TTT	24
Exo2_2_AG-AGV1	TCG GAG AAA TAG CGG C	16
Exo2_2_AG-AGM1	CGG AGA AAT GGC GGC	15
Exo2_2_AG-AGR	TGG GCC ACC TGA ACA GTT TAT TC	23
Exo2_3_CT-CTV2	TCG ACT CGA TAT CGT C	16
Exo2_3_CT-CTM2	TCG ACT CAA TAT CGT C	16
Exo2_3_CT-CTR	ACA TAC CAG ACC TCA CAT TGA ATA CCT	27
Exo2_4_AG-AGV1	CCC CAG TAC ACC AAT T	16
Exo2_4_AG-AGM1	CCC AGT ACG CCA ATT	15
Exo2_4_AG-AGR	TGA CGA ATT GGC TGA CAG CAT	21
Exo2_5_CT-CTV2	CGG GTG TGT GAG TAG T	16
Exo2_5_CT-CTM2	CGG GTG TGT AAG TAG T	16
Exo2_5_CT-CTR	ACA GTC TTG TCC AAA GCT CTG AAC	24

89개 품종 중에 86품종은 Real time PCR을 수행한 후 Step-one 소프트웨어를 이용하여 분석하고, gene annotation 분석을 수행하였다. 그리고 479, 479, 496 품종은 시료 상태가 좋지 않아서 제외시켰다.

① Allelic Discrimination plot : Laccase에서 확인한 SNP변이로 디자인 한 SNP2 probe으로 46품종을 Real time PCR 반응하여 screening한 결과 예이다(그림 7). 그림에서 SNP 2 probe로 보면, Homozygote 1은 구아닌, Homozygote 2는 사이토신, Heterozygote는 구아닌/ 사이토신에 변이를 보이는 것을 품종별로 이차원 평면에 도식화한 것이다.



<그림5-7> SNP2 probe으로 46품종을 Real time PCR 반응하여 screening한 결과

- 형광물질 VIC으로만 수식되면 ; Homozygote 1, 빨간색
- 형광물질 FAM으로만 수식되면 ; Homozygote 2, 파란색
- 형광물질 VIC/ FAM 모두 수식되면 ; Heterozygote, 연두색

② 품종별로 SNP genotyping한 결과 (KFRI 품종 번호기준)

<표 5-9> SNP1~SNP5 probe data

시료명(KFRI)	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5
1	X	G/C	G/A	G/A	T/A
2	X	G/C	G/A	G/A	T/T
3	A/G	G/G	G/G	A/A	T/A
5	A/G	G/G	G/G	A/A	T/T
36	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
37	G/G	X	X	X	X
38	G/G	C/C	A/A	G/G	X
51	G/G	X	X	X	X
53	G/G	X	X	X	X
55	A/G	G/G	G/A	X	T/A
57	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
60	A/G	X	X	X	X
62	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
63	A/G	G/G	G/G	A/A	T/A
64	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
128	G/G	X	X	X	X
129	A/A	X	X	X	X
135	G/G	X	X	X	T/T
136	G/G	X	X	X	X
137	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
169	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
176	G/G	X	A/A	X	T/T
180	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
192	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
195	X	X	X	X	X
299	X	G/C	G/A	G/A	T/A
369	G/G	C/C	A/A	G/A	T/A
370	G/G	C/C	A/A	G/A	T/A
401	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
402	X	G/C	G/A	G/A	T/T
403	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
404	A/G	G/G	G/G	A/A	T/T
405	A/G	G/G	X	A/A	T/T
406	X	G/C	G/A	G/G	A/A
시료명	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5
407	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
408	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
411	A/G	G/G	X	A/A	X
478	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
480	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
481	G/G	X	A/A	X	T/T

482	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
483	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
484	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
485	A/A	G/G	G/G	A/A	A/A
486	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
487	X	X	X	X	X
488	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
489	A/G	G/C	G/A	G/A	A/A
490	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
491	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
494	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
495	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
497	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
504	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
665	A/A	X	X	X	T/T
666	G/G	C/C	A/A	A/A	A/A
669	X	X	X	X	X
672	G/G	X	X	X	T/T
674	A/G	G/G	G/G	A/A	T/A
675	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
689	X	G/C	G/A	G/A	T/A
751	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
754	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
755	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
756	G/G	C/C	A/A	G/G	T/A
760	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
761	A/G	G/G	G/G	X	X
802	X	X	X	X	X
803	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
804	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
805	G/G	C/C	A/A	G/G	T/A
807	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
808	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
809	A/G	G/G	G/G	A/A	T/A
810	A/G	G/C	G/A	G/A	T/A
812	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
813	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
814	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
815	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
816	A/A	G/G	G/G	A/A	A/A
시료명	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5
817	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T
42	G/G	X	X	X	T/T
177	X	G/C	G/A	G/A	T/A
188	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
731	G/G	C/C	A/A	G/G	T/T
806	A/G	G/C	G/A	G/A	T/T

<표 5-10> SNP6~exol-2 probe data

시료명(KFRI)	SNP6	SNP7	SNP9	exol-1	exol-2
1	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
2	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
3	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
5	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
36	G/G	A/A	G/G	G/A	A/A
37	G/G	A/A	X	G/G	X
38	G/G	A/A	G/G	G/A	A/A
51	G/G	A/A	X	X	X
53	X	A/A	G/G	G/G	X
55	A/G	G/A	G/A	G/G	G/A
57	A/G	G/A	G/A	G/A	A/A
60	X	G/A	X	G/G	X
62	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
63	A/A	G/A	G/A	G/G	G/A
64	G/G	A/A	G/G	G/A	G/A
128	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A
129	X	G/G	X	G/A	X
135	X	A/A	G/G	G/A	A/A
136	X	A/A	G/G	G/A	X
137	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
169	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
176	G/G	A/A	G/G	G/A	G/G
180	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
192	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
195	X	X	X	X	X
299	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
369	A/G	G/A	G/A	G/G	G/A
370	A/G	G/A	G/A	G/G	G/A
401	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
402	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
403	G/G	A/A	G/G	G/A	G/A
404	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
405	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
406	A/A	G/G	A/A	G/G	G/G
407	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G
408	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G
시료명	SNP6	SNP7	SNP9	exol-1	exol-2
411	A/A	G/A	G/A	G/A	G/G
478	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
480	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
481	G/G	A/A	G/G	G/A	G/A
482	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
483	A/G	G/A	X	G/G	G/G
484	A/G	G/A	X	G/G	G/G
485	A/A	G/G	X	A/A	G/G

486	A/G	G/A	X	G/G	G/G
487	X	G/A	X	X	X
488	A/G	G/A	X	G/A	G/G
489	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
490	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
491	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
494	A/G	G/A	X	G/A	G/G
495	A/G	G/A	X	G/G	G/G
497	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
504	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
665	X	A/A	G/G	G/G	G/A
666	A/G	G/G	G/A	G/G	G/G
669	X	X	X	X	X
672	G/G	A/A	G/G	G/G	G/A
674	A/A	G/A	G/A	A/A	G/G
675	G/G	A/A	G/G	G/G	G/A
689	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
751	A/G	G/A	X	G/G	G/G
754	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
755	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
756	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
760	A/G	G/A	X	G/G	G/G
761	A/G	G/A	X	A/A	A/A
802	X	X	X	X	X
803	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
804	G/G	A/A	G/G	G/A	G/A
805	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
807	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
808	G/G	A/A	G/G	G/A	G/A
809	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
810	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
812	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G
813	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
814	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G
815	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G
816	A/A	G/G	A/A	G/G	G/G
817	A/G	G/A	G/A	G/A	G/A
42	G/G	A/A	X	G/G	A/A
시료명	SNP6	SNP7	SNP9	exol-1	exol-2
177	A/G	G/A	G/A	G/A	G/G
188	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G
731	G/G	A/A	G/G	G/G	G/A
806	A/G	G/A	G/A	G/G	G/G

<표 5-11> exo1-3~exo1-8 probe data

시료명(KFRI)	exo1-3	exo1-5	exo1-6	exo1-7	exo1-8
1	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
2	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
3	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
5	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
36	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
37	G/G	X	X	G/G	X
38	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
51	G/G	A/A	A/A	G/G	X
53	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
55	G/A	A/A	X	A/G	C/A
57	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
60	A/A	A/A	X	A/A	C/C
62	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
63	G/A	A/A	A/G	A/G	C/C
64	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
128	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
129	G/A	X	X	X	X
135	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
136	X	A/A	X	A/A	C/C
137	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
169	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
176	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
180	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
192	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
195	X	X	X	X	X
299	A/A	A/A	G/G	A/A	C/C
369	G/A	A/A	A/G	G/G	A/A
370	G/A	A/A	A/G	G/G	A/A
401	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
402	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
403	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
404	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
405	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
406	G/G	G/G	A/A	G/G	C/A
407	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
408	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
411	G/G	X	A/A	G/G	A/A
478	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
480	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
시료명	exo1-3	exo1-5	exo1-6	exo1-7	exo1-8
481	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
482	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
483	G/G	G/A	X	X	X
484	G/G	G/A	X	X	X
485	G/G	A/A	X	X	X

486	G/G	G/A	X	X	X
487	X	X	X	X	X
488	G/G	G/A	X	X	X
489	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
490	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
491	G/A	G/A	A/A	X	X
494	G/G	G/A	X	X	X
495	G/G	G/A	X	X	X
497	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
504	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
665	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
666	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
669	X	X	X	A/G	X
672	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
674	G/G	A/A	A/A	G/G	C/C
675	X	A/A	A/G	A/G	C/A
689	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
751	G/G	G/A	X	X	X
754	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
755	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
756	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
760	G/G	G/A	X	X	X
761	G/A	A/A	X	X	X
802	X	X	X	X	X
803	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
804	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
805	G/A	G/A	A/G	A/G	C/C
807	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
808	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
809	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
810	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
812	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
813	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A
814	G/G	A/A	A/A	G/G	C/A
815	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
816	G/A	G/A	A/G	A/G	C/A
817	G/A	A/A	A/G	A/G	C/A
42	X	A/A	X	A/A	C/C
177	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A
188	G/G	G/A	A/A	G/G	C/A
731	G/A	G/A	A/G	A/G	C/C
시료명	exol-3	exol-5	exol-6	exol-7	exol-8
806	G/G	G/A	A/A	G/G	A/A

<표 5-12> exo1-9~exo2-5 probe data

시료명(KFRI)	exo1-9	exo2-2	exo2-3	exo2-4	exo2-5
1	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
2	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
3	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A
5	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
36	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
37	X	A/A	A/A	A/A	X
38	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
51	X	X	G/A	A/G	A/A
53	X	X	X	A/A	A/A
55	X	X	G/A	A/G	G/A
57	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A
60	G/G	X	A/A	A/A	A/A
62	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
63	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A
64	G/G	X	G/A	A/G	A/A
128	G/G	X	A/A	A/A	A/A
129	X	X	X	A/G	G/A
135	G/G	X	A/A	A/G	A/A
136	G/G	A/A	A/A	A/G	A/A
137	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
169	A/G	X	X	G/G	G/A
176	A/G	G/G	A/A	A/G	G/A
180	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
192	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
195	X	X	X	X	X
299	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
369	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
370	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
401	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
402	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
403	A/G	X	A/A	G/G	G/G
404	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
405	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
406	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
407	A/A	X	X	G/G	G/G
408	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
411	X	X	X	A/G	X
478	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
480	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
481	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
482	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
시료명	exo1-9	exo2-2	exo2-3	exo2-4	exo2-5
483	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
484	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
485	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A

486	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
487	X	X	X	X	X
488	A/G	X	X	G/G	G/G
489	A/G	X	A/A	G/G	G/G
490	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
491	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
494	A/G	X	X	G/G	G/G
495	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
497	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
504	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
665	A/G	A/G	G/G	G/G	A/A
666	A/G	A/G	G/A	A/G	A/A
669	X	A/G	X	X	X
672	A/G	A/A	A/A	A/A	A/A
674	G/G	A/G	G/A	A/G	A/A
675	X	A/G	G/A	A/G	A/A
689	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
751	A/G	X	X	X	X
754	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
755	A/G	G/G	G/G	A/G	G/A
756	A/G	X	A/A	G/G	G/G
760	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
761	G/G	X	X	G/G	G/G
802	X	X	X	X	X
803	G/G	A/A	A/A	A/G	G/A
804	A/G	X	X	G/G	G/G
805	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
807	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
808	A/G	X	X	G/G	G/G
809	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A
810	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
812	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A
813	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
814	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
815	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
816	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
817	A/A	X	X	G/G	G/G
42	G/G	X	G/A	A/G	A/A
177	A/G	G/G	X	A/G	G/A
188	A/G	A/A	A/A	A/G	G/A
731	G/G	A/G	G/A	A/G	A/A
806	A/A	A/A	A/A	A/G	G/A

SNP DATA 분석 (PowerMarker V3.0 및 DNASTAR V7.0을 이용) 결과

① Laccase SNP 대립유전자의 빈도

89개 품종을 총 9 probe을 사용하여 분석한 결과 SNP1 A/G(51%) 이형접합체, SNP2 G/C(46%) 이형접합체, SNP3 G/A(47%) 이형접합체, SNP4 G/A(47%) 이형접합체, SNP5 T/T(42%) 동형접합체, SNP6 A/G(60%) 이형접합체, SNP7 G/A(64%) 이형접합체, SNP9 G/A(52%) 이형접합체가 대립유전자의 빈도가 높게 분석 되었다(표 13).

<표 5-13> Laccase SNP 대립유전자의 빈도

Marker	Allele	Count	Freq
SNP1	A/A	4	0.047619
SNP1	A/G	43	0.511905
SNP1	G/G	28	0.333333
SNP2	C/C	18	0.214286
SNP2	G/C	39	0.464286
SNP2	G/G	12	0.142857
SNP3	A/A	20	0.238095
SNP3	G/A	40	0.47619
SNP3	G/G	9	0.107143
SNP4	A/A	11	0.130952
SNP4	G/A	40	0.47619
SNP4	G/G	16	0.190476
SNP5	A/A	5	0.059524
SNP5	T/A	32	0.380952
SNP5	T/T	35	0.416667
SNP6	A/A	6	0.071429
SNP6	A/G	50	0.595238
SNP6	G/G	20	0.238095
SNP7	A/A	24	0.285714
SNP7	G/A	54	0.642857
SNP7	G/G	5	0.059524
SNP9	A/A	2	0.02381
SNP9	G/A	44	0.52381
SNP9	G/G	21	0.25

② Exoglucanase 1과 2의 대립유전자의 빈도

89품종을 총 11 probe을 사용하여 분석한 결과 EXO1-1 G/G(50%) 동형접합체, EXO1-2 G/G(57%) 동형접합체, EXO1-3 G/G(49%) 동형접합체, EXO1-5 G/A(48%) 이형접합체, EXO1-6 A/A(38%) 동형접합체, EXO1-7 G/G(40%) 동형접합체, EXO1-8 C/A(38%) 이형접합체, EXO1-9 A/G(33%) 이형접합체, EXO2-2 A/A(62%) 동형접합체, EXO2-3 A/A(70%) 동형접합체, EXO2-4 A/G(62%) 이형접합체, EXO2-5 G/A(51%) 이형접합체가 대립유전자의 빈도가 높게 나왔다(표 14).

<표 5-14> Exoglucanase 1과 2의 대립유전자의 빈도

Marker	Allele	Count	Freq
exo1-1	A/A	3	0.035714
exo1-1	G/A	36	0.428571
exo1-1	G/G	42	0.5
exo1-2	A/A	7	0.083333
exo1-2	G/A	21	0.25
exo1-2	G/G	48	0.571429
exo1-3	A/A	7	0.083333
exo1-3	G/A	31	0.369048
Marker	Allele	Count	Freq
exo1-3	G/G	41	0.488095
exo1-5	A/A	38	0.452381
exo1-5	G/A	40	0.47619
exo1-5	G/G	1	0.011905
exo1-6	A/A	32	0.380952
exo1-6	A/G	28	0.333333
exo1-6	G/G	6	0.071429
exo1-7	A/A	9	0.107143
exo1-7	A/G	28	0.333333
exo1-7	G/G	34	0.404762
exo1-8	A/A	23	0.27381
exo1-8	C/A	32	0.380952
exo1-8	C/C	13	0.154762
exo1-9	A/A	24	0.285714
exo1-9	A/G	28	0.333333
exo1-9	G/G	23	0.27381
exo2-2	A/A	52	0.619048
exo2-2	A/G	6	0.071429
exo2-2	G/G	3	0.035714
exo2-3	A/A	59	0.702381
exo2-3	G/A	8	0.095238
exo2-3	G/G	2	0.02381
exo2-4	A/A	17	0.202381
exo2-4	A/G	52	0.619048
exo2-4	G/G	12	0.142857
exo2-5	A/A	26	0.309524
exo2-5	G/A	43	0.511905
exo2-5	G/G	10	0.119048

④ 두 개의 SNP marker간의 대립유전자에 따른 p-value 수치

유전자별로 두 개의 SNP marker별로 Mutual information 값을 보면 SNP2-SNP3 (0.85), NP3-SNP4 (0.67), SNP6-SNP7 (0.66), SNP7-SNP9 (0.61), exo1-2-exo1-3 (0.47), exo1-6-exo1-7 (0.73), exo1-7-exo1-8 (0.63), exo2-4-exo2-5 (0.61)으로 높은 수치로 p-value 수치는 0으로 나오는 것으로 미루어 두 개의 marker간의 동등한 비율로 분석이 가능하다(표 15).

<표 5-15> 두 개의 SNP marker간의 대립유전자에 따른 p-value 수치

Row	Marker1	Marker2	Mutual Information	ChiSquare p-value
1	SNP1	SNP2	0.536062622	2.04E-14
2	SNP2	SNP3	0.850280479	0
3	SNP3	SNP4	0.674615823	0
4	SNP4	SNP5	0.264379453	1.66E-09
5	SNP5	SNP6	0.365354174	1.13E-12
6	SNP6	SNP7	0.663965201	0
7	SNP7	SNP9	0.614407688	0
8	SNP9	exo1-1	0.118632182	0.009941203
9	exo1-1	exo1-2	0.136103521	1.98E-05
10	exo1-2	exo1-3	0.474352044	0
Row	Marker1	Marker2	Mutual Information	ChiSquare p-value
11	exo1-3	exo1-5	0.17092006	0.000637718
12	exo1-5	exo1-6	0.132684634	0.005352673
13	exo1-6	exo1-7	0.726659828	0
14	exo1-7	exo1-8	0.62550922	0
15	exo1-8	exo1-9	0.255333469	9.21E-09
16	exo1-9	exo2-2	0.154560311	0.001386652
17	exo2-2	exo2-3	0.547034864	4.44E-16
18	exo2-3	exo2-4	0.268943662	3.15E-07
19	exo2-4	exo2-5	0.614815576	0

⑤ SNP marker의 Gene Diversity와 PIC값

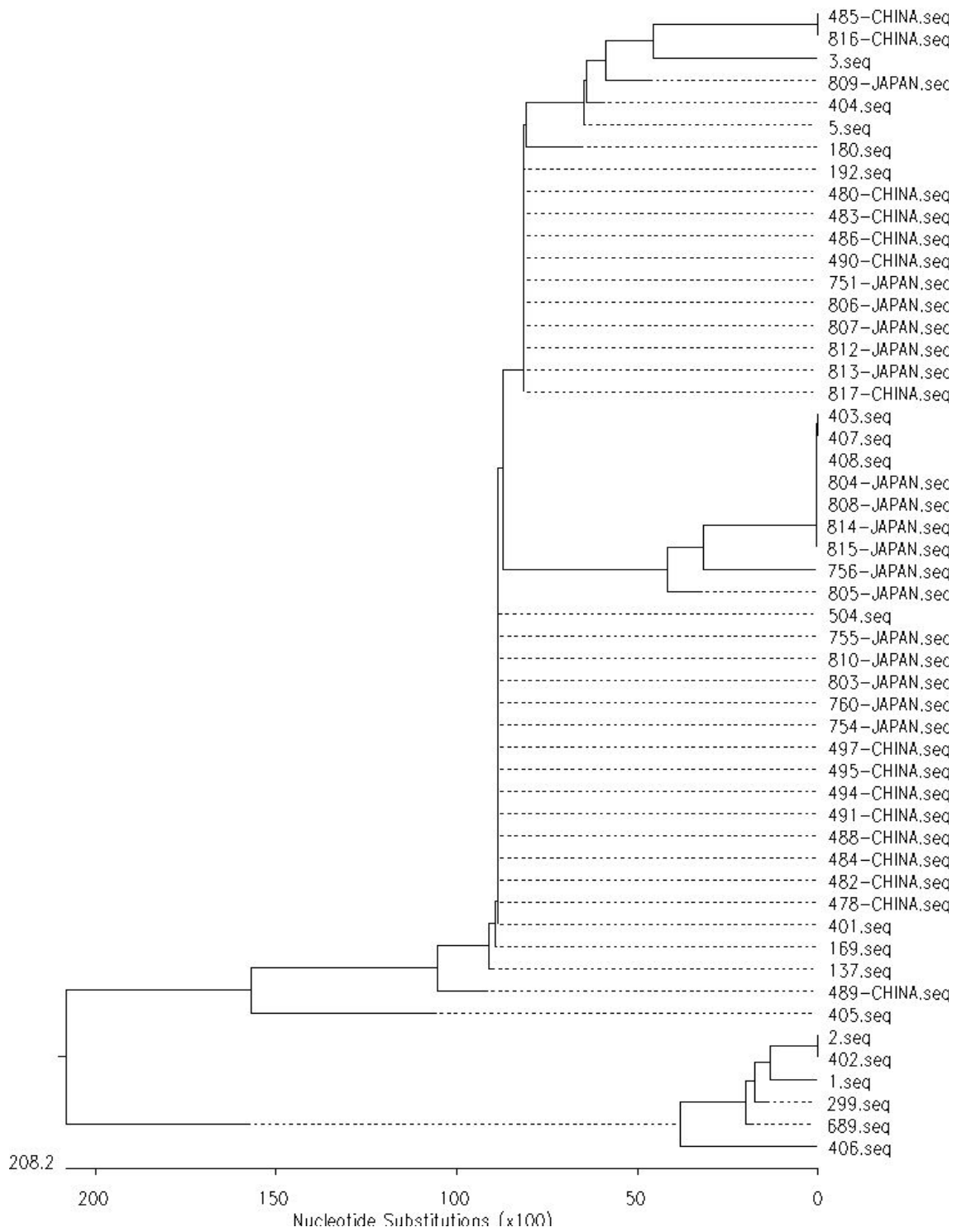
89개 품종을 유전자별로 살펴보면, Exoglucanase 1이 Gene Diversity 평균 0.6452, PIC값이 0.5783 으로 가장 높은 수치로 나왔으나 SNP marker 특성상 전반적인 값의 편차는 작고, 전체 PIC의 평균값은 0.5563 > 0.5이상이므로 일부를 제외한 나머지는 유의한 수치에 포함이 된다(표 16).

<표 5-16> SNP marker의 Gene Diversity와 PIC값

Marker	Major.Allele.Frequency	Gene Diversity	PIC
SNP1	0.5119	0.6131	0.5446
SNP2	0.4643	0.6862	0.6378
SNP3	0.4762	0.6732	0.6222
SNP4	0.4762	0.6789	0.6304
SNP5	0.4167	0.6573	0.5915
SNP6	0.5952	0.5748	0.5229
SNP7	0.6429	0.5014	0.4303
SNP9	0.5238	0.6216	0.5593
Mean	0.5133	0.6258	0.5673
exo1-1	0.5000	0.5638	0.4697
exo1-2	0.5714	0.5950	0.5416
exo1-3	0.4881	0.6151	0.5423
exo1-5	0.4762	0.5649	0.4689
exo1-6	0.3810	0.6927	0.6339

exo1-7	0.4048	0.6896	0.6332
exo1-8	0.3810	0.7197	0.6697
exo1-9	0.3333	0.7208	0.6676
exo2-2	0.6190	0.5354	0.4721
Mean	0.4419	0.6452	0.5783
exo2-3	0.7024	0.4651	0.4235
exo2-4	0.6190	0.5541	0.5043
exo2-5	0.5119	0.6244	0.5614
Mean	0.6131	0.5447	0.4903

⑥ Laccase 유전자 기준으로 국내 야생종은 품종 특성 파악 문제로 제외하고, 국내 등록품종, 일본 등록품종, 중국 도입품종을 기준으로 본 계통분류상 결과이다. (단, Jotun Hein method로 그려본 phylogenetic tree이며, 결과에 정확도가 떨어지는 데이터는 배제하였고 고유 번호로 표기하였고, Laccase SNP marker로 동일 표현형은 박스로 표시함)



<그림 5-8> Laccase의 SNP를 이용한 표고 품종의 계통도

유전자별로 SNP 마커 기준으로 계통분류상에 분류는 Microsatellite 마커 분석과는 상이한 결과가 나올 수 있다. 나름대로 생각해 보면, Microsatellite 마커 분석은 형질에 무관한 품종간의 식별이라고 하면, SNP 마커는 형질에 관여하는 유전자를 기준으로 하였기 때문에 다른 분석이 나오는 것처럼 보이나, 더 중요한 것은 품종별 특성과 연관 지어 생각하는 것이다. 또한 PIC값의 결과 Microsatellite 및 SNP 마커 모두 유의한 값을 나타내므로 품종 구별에 중요한 기준을 제시하리라 본다.

SNP 마커는 Laccase(47개), Exo- β -1,3-glucanase 1(17개), 2(11개)중 Laccase에서 10개, Exo- β -1,3-glucanase 1에서 10개, Exo- β -1,3-glucanase 2에서 5개 총 25개를 primer를 제작하여 primer screening를 실시하여 20개(Laccase(8개), Exo- β -1,3-glucanase 1(8개), 2(4개))를 확정하였다.

제 3 절 품종 특성 DB 구축

품종정보는 국내외 자료(학회지, 홈페이지, 출판자료 등)를 토대로 국내품종 20개, 일본품종 163개, 중국품종 126개에 대하여 작성하였다. 각 품종정보는 DB구축을 위한 자료정리와 국내 등록품종에 대해서는 이미지 정보를 추가하였다. 아울러 표고에 대한 일반적인 재배법, 종균배양소, 용어설명 등에 대한 정보도 함께 제공할 수 있도록 하였다. 또한 각 품종을 검색함에 있어 편리성을 확보하기 위하여, 국내, 일본, 중국으로 3개를 범주로 나누었고, 각 품종의 대표특성(품종명, 온도형, 국가별)을 토대로 쉽게 품종을 찾을 수 있는 검색 프로그램을 적용하였다. 염기서열 정보는 홈페이지 상에서는 비공개로 설정하였다(그림 5-9). 표고분야를 연구하는 분들에게는 언제든지 제공 가능한 상태이다.

현재 표고 품종 정보에 대한 것은 국립산림과학원 홈페이지(<http://www.kfri.go.kr>)에 방문하여 누구나 이용할 수 있다. 특히 이들 정보들은 원하는 특성을 선택 또는 조합하여 원하는 품종을 찾을 수 있도록 되었다. 표 5-17은 홈페이지 상에서 찾아들어난 품종들에 대해서 품종 특성이 기술된 한 예를 보여주는 것으로 각 품종들에 대한 자세한 정보를 이용할 수 있다.

<표 5-17> DB구축 관련 자료 예

품종명	온도형	발생 온도	재배형	재배 방식	품종특성	등록 기관
산림1호	저온형	5~18℃	추춘형	원목재배	원목재배용 품종으로서 버섯발생온도는 5~18℃이다. 주 발생시기는 3월초순-5월하순, 9월중순-12월중순이며, 주로 건표고재배에 사용한다. 주로 건표고재배에 사용하며 가을에서 봄까지의 생표고재배로도 적합하다. 봄이 되어 표고재배의 최저기온이 8℃이상이면 발생하기 시작하여 10~20℃가 되면 많이 발생한다. 가을에는 표고재배지의 최저기온이 10℃이하가 계속될 때 발생하기 시작하여 8℃이하가 되면 발생이 많아진다. 버섯 생장이 빠르므로 채취 적기가 지나지 않도록 수시로 채취해야 한다.	국립산림과학원
산조 101호	고온형	12~25℃		원목재배	버섯 발생온도 범위는 12~25℃, 주발생온도는 17~22℃이다. 균사 발육이 빨라 버섯나무 만드는 시간이 매우 짧다. 버섯은 대엽, 중육이고 종균 접종 후 약 150일 경과되면 첫 버섯발생이 발생한다. 집중발생은 이듬해 봄철 5월부터 많은 양이 발생된다. 연중 수확기간이 길며 발생조각이 대단히 용이하다. 골목은 자극에 극히 예민하여 도골효과가 크며, 과격한 도골과 빈번한 작업은 소엽 버섯이 되며 골목수명도 짧아진다. 생버섯 용도에 적합하여 자금 투자회수가 매우 빠르다. 고온 다습기(7~8월)에는 품질이 저하되므로 발생을 억제하고 골목을 휴양시킨다.	산림버섯연구소
菌興 135호	저온형	7~15℃		원목재배	이 품종은 야생품종 [TMI 182](조취현일노정(鳥取縣日野町, 돗토리현 히노초)산)과 야생품종 [TMI 131](에지현이모군충진(愛知縣伊予郡總津産, 아이치현)산)와의 교배품종으로 1969년 3월부터 1978년 4월에 걸쳐 육성된 저온발생형, 대엽후육계로 자연재배용으로서 일본전역에 적합한 표고이다. 갓의 색은 저온성 계통중에서 비교적 연하고 연한 갈색, 육질은 단단하고 강하다. 인피는 갓의 주변부에 붙어있으며 유색으로 자다. 자루는 길이와 굵기는 보통이며 백색이다. 자실체의 발생온도는 7~15℃, 2~4월에 집중발생한다. 또한 강수량이 많지 않은 해에도 다른 품종에 비해 잘 발생한다. 수량성은 높고, 발생성수기는 종균접종 후 3년째, 자실체 1개당 평균 건중량은 3.0~3.5g으로 무겁다. 대조품종인 [킹코1호], [킹코182호], [킹코198호] 및 [킹코222호]와의 대치배양에 있어서는 모두 명확하게 대선이 형성된다.	재단법인 일본버섯센터
무향1호	중고온성	18~28℃		툽밭재배	중온형, 적정온도 18~28℃, 남방표고산지 하계 당가(當家) 품종, 다갈색(茶褐色)이고 고생산성 배양일수 70일 고온 회갈색(灰褐色) 형태가 둥글고 바르다, 단생, 대엽이고 후육, 60~70일이면 버섯 발생, 균발생(發菌)이 빠르다, 병에 저항력이 있다. 수율 120%, 배양일수는 70일가량, 대엽이고 둥글고 바르며, 춘하계재배품종. 고온형, 균봉(菌棒)접종시기 1~5월, 배양일수 60~70일, 비교적 크다. 회갈색(灰褐色), 둥글고 바르다, 고온에서 우수한 선종(選種), 연간 재배량 3500만봉지(袋). 수율은 120~150%, 중고온, 갈색, 버섯발생이 빠르다, 버섯이 특히 크고 후육, 춘하조추(春夏早秋)재배	식용균 (2007.2)

국립산림과학원
표고 품종 정보

표고 품종에 대한 모든 것 -
신뢰성과 맛을 함께 주세요 !!

국가별 정보: 한국(KOREA) - 검색하기, 중국(CHINA) - 검색하기, 일본(JAPAN) - 검색하기

SEARCH: 국가선택, 품종선택, 재배방법별, 품종별, 검색

- 중간배양소
- 연구용 균주분양 신청
- 표고 관련 용어
- 표고 재배법
- 농업유전자원입
- 품종특성 조사요령 PDF

관련 기관: 산림청, 국립산림품종관리센터, 국립종자원, 일본농림수산성, 중국농업국

오늘 방문수: 158, 전체 방문수: 102,482

국립산림과학원 (9)130-712 서울특별시 용태동구 세기로 51(국립산림과학원) / 대표전화: 02981-2522, ARS: 02981-2521 Mail to webmaster.

<그림 5-9> 표고 품종 정보를 제공하는 홈페이지(<http://www.kfri.go.kr>)

제 4 절 결과요약

본 과제에서는 표고 품종 식별체계 구축을 위해 표고 품종심사 기준, 식별용 DNA 마커 개발, 국내 및 해외 개발품종 특성의 DB 구축등을 수행하였다.

표고 품종심사 기준은 각 품종들간에 구분될 수 있는 형질을 정리하여 2008년 6월에 '신품종심사를 위한 표고버섯 특성조사요령'(산림청 국립산림품종관리센터)을 발간하였으며 이 요령에 따라 국내 표고 등록품종 16개와 일본품종 3개에 대하여 원목재배와 톱밥재배에서 발생한 버섯들에 대한 형질을 표고버섯 특성조사요령에 따라 실시하였다.

품종 식별용 DNA 마커 개발은 Microsatellite 및 SNP 유전자형 분석을 상호보완적으로 실시하여 총 89개 균주(국내 야생종 29, 등록품종 20, 일본품종 20, 중국품종 20개)조사하였다. 우선 Microsatellite 유전자형 분석용 프라이머는 20mer 내외 길이로 10개를 제작하여 PCR을 실시하였으며 여기서 나온 값을 토대로 Microsatellite genotyping을 실시한 결과 국내에서 개발된 품종은 일본품종과 유사성이 높았고 국내 야생표고 균주는 국내외 표고 품종과는 다른 그룹에 포함되어 향후 신품종 육성에 사용된다면 해외 균주들과는 유전적으로 차별화 된 품종을 개발할 수 있는 가능성을 얻었다.

SNP 유전자형 분석은 표고의 형질에 관여한다고 추정되는 Laccase-B, Exo-glucanase1, Exo-glucanase2에 대한 SNP 마커 분석용 프라이머를 제작하여 분석하였다. PCR 산물은 품종별로 확보한 후에 별도의 정제과정을 각각 실시하여 Primer walking 방법을 통하여 Full length Sequencing을 실시한 후 다중 정렬 분석을 통하여 SNP 위치를 파악하여 최종적으로 20개(Laccase(8개), Exo-β-1,3-glucanase 1(8개), 2(4개)의 SNP마커를 확정하였다.

품종 특성 DB구축은 국내외 자료를 토대로 국내품종 20개 일본품종 163개, 중국 품종 126개에 대하여 작성하였고 각 품종별로 품종명, 온도형, 개발국가 등의 대표 특성을 토대로 쉽게 검색할수 있도록 구분지어 국립산림과학원 홈페이지 (<http://www.kfri.go.kr>)에서 쉽게 열람할 수 있도록 하였다.

제 6 장 연구개발 성과 및 활용

제 1 절 연구목표 및 평가 착안점

구분	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 유전자원 수집 (200개 균주) ○ 모균주 선발 10개 및 단핵주 분리 (800개) ○ 교배균주 육성, 배양 특성조사 (300균주) ○ 유통 표고 품종 수집 ○ 등록 품종에 대한 국내외 심사 특성 및 등록 현황자료 확보 ○ 국내 등록품종의 분자표지자 마커 탐색 ○ 국내 품종에 대한 cDNA library 구축 및 유전자 선별 	<ul style="list-style-type: none"> 30% 25% 10% 5% 10% 15% 5% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 표고버섯의 수집균주 수 ○ 우수 모균주 및 단핵균핵 분리수의 특성조사 수 ○ 교배균주 수 및 특성조사 내용 ○ 품종수집의 적합성 여부 ○ 국내외 심사기준 및 등록품종의 심사표 확보 유무 ○ DNA 표지자 선정의 적절성 유무 ○ cDNA library 구축 및 선별 유전자의 유전정보 파악 유무
2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 유전자원 수집 (70균주) ○ 교배균주 육성 (500균주) ○ 교배균주의 배양 특성조사 ○ 교배균주 원목, 톱밥재배 특성 조사 (500균주) ○ 교배균주 병저항성특성 조사 ○ 품종별 형태적 특성 조사 및 품종간 비교 분석 ○ 유전자의 DNA 염기서열 비교 분석 및 SNP marker 개발 ○ DNA marker 분석에 의한 국내외 품종(종균)의 Genotyping 	<ul style="list-style-type: none"> 5% 15% 15% 25% 5% 15% 10% 10% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수집균주 수 ○ 교배 육성 균주수 ○ 육성된 교잡균주의 균사생리 ○ 시험균주 수 ○ 시험균주 수 ○ 양적·질적형질 선택의 적합성 ○ 유전자별 SNP에 대한 Realtime PCR용 Primer set 개발 유무 ○ 표현형 특성 확인 품종에 대한 DNA marker 유전자형 규정 유무
3차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 유전자원 수집, 보존시험 (30 균주) ○ 교배균주 육성 (500균주) ○ 교배균주 배양 특성 조사 ○ 원목, 톱밥재배 특성 검정 (500균주) ○ 자실체 조기 검정법 개발 ○ 국내 표고 품종심사를 위한 지침서 확립 ○ UPOV 규격에 부합하는 품종 심사용 DNA 표지 개발 ○ 품종특성과 유전정보를 제공할 수 있는 데이터베이스 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 5% 15% 15% 20% 10% 5% 20% 10% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 수집균주 수, 균주 보존 처리 유무 ○ 수집균주 수, 균주 보존 처리 유무 ○ 교배균주의 균사생리 ○ 수집균주 수, 균주 보존 처리 유무 ○ 수집균주 수, 균주 보존 처리 유무 ○ UPOV 국제 규격에 부합하는 품종 심사 기준표 작성 여부 ○ 품종의 DNA 지문 결과에 대한 재현성 유무 및 DNA marker 유전자형에 따른 품종의 식별력 평가 ○ 데이터베이스 구축 유무

구분	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
4차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 균주별 유연관계분석 ○ 균주의 장기보존법 최적화 ○ 교배균주육성, 배양조사 ○ 균주별 병저항성 검정 ○ 원목, 톱밥재배 특성검정 (300균주) ○ 톱밥재배 농가실증시험(2균주) 	<ul style="list-style-type: none"> 15% 10% 5% 15% 35% 20% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 특성조사내용 및 분석 결과 ○ 보존처리방법 및 종류, 조사방법 ○ 지역 원목재배 실증시험 및 생산성 검정 ○ 병저항성 검정 ○ 특성검정 공시균주수 ○ 실증시험 지역 및 농가수
5차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 균주별 특성 전산화 ○ 원목, 톱밥재배 특성검정 (200균주) ○ 원목재배 우수균주 농가 실증시험 (3농가) ○ 톱밥재배 우수균주 실증시험 (3농가) ○ 우수균주의 DNA 분석 ○ 품종 보호 출원(4품종) 	<ul style="list-style-type: none"> 10% 20% 20% 20% 15% 15% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 전산화 특성수 및 내용 ○ 특성검정 균주수 ○ 실증시험 지역 및 농가수 ○ 실증시험지역 및 농가수 ○ 균주별 DNA 분석 결과 ○ 품종 출원수
최종 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 표고 유전자원 수집 : 300균주 ○ 원목재배용 신품종 육성 : 1 품종 ○ 톱밥재배용 신품종 육성 : 2 품종 ○ 품종특성을 판단할 수 있는 DNA 표지 개발 : 20 품종 ○ 품종 특성 제공 DB 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 10% 25% 35% 15% 15% 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 유전자원 수집수, 특성검정내용, 보존 방법 및 전산화 ○ 신품종의 수 및 우수성 ○ 신품종의 수 및 우수성 ○ 국제규격에 맞는 지침서작성 및 품종식별 DNA 표지 개발 여부 ○ 데이터베이스 구축 유무

제 2 절 연구개발의 성과활용

1. 실용화 및 산업화

가. 수집 유전자원

본 과제를 통해 수집된 232개 표고균주에 대한 생리특성 및 자실체 특성조사로 향후 새로운 신품종의 모균주로 활용할 것이며, 모균주와 교배균주의 생리 생화학 적 특성의 결과를 토대로 새로운 신품종의 육종기간의 단축할 수 있는 기틀을 제공 하였다. 또한 산림조합중앙회 산림버섯연구소에서는 품종보호출원이나 품종생산판 매킨고된 표고 품종에 대해서 재배농가의 톱밥배지 분양요청이나 시험재배의 요구 에 대해서 지속적인 기술지도와 보급이 진행될 것이다.

나. 품종보호출원

No.	출원명	품종보호출원일	비 고
1	산조111호	2011. 4. 4.	원목재배용
2	산조705호	2011. 4. 4.	톱밥재배용
3	산조706호	2011. 4. 4.	톱밥재배용

1) 톱밥재배용 품종

- 본 과제를 통한 신품종 산조705호, 산조706호의 표고톱밥배지 생산·공급
- 산림버섯연구소 생산, 공급 능력
 - 분양 100만봉, 자체재배 10만봉(톱밥배지 1.5kg, 총생산 1,650톤)
- 표고 톱밥 실증사업 수행을 통한 재배기술 확립
- 배지분양 임가 표고톱밥재배 기술지도
- 기술력, 안정성 등을 감안하여 초기에는 기존 출원된 품종을 우선 이용하고 점차 개발 품종으로 전환

2) 원목재배용 품종

- 본 과제를 통해 개발된 신품종 산조111호의 종균 생산·공급
- 산림버섯연구소 생산 및 공급 능력 : 500톤/년
- 기존 품종의 종균공급 실적

연 도	'06	'07	'08	'09	'10	'11	합계
생산량(톤)	236	189	143	140	148	150	856

2. 교육 및 지도

No.	교육명	교 재 명	주 요 내 용	활용년도
1	표고 교육	표고재배기술	표고품종설명 및 병해충예방	2007
2	실업고 표고재배기술교육	표고재배기술	표고품종육성방법 및 표고 재배기술설명	2007
3	표고품종설명 및 재배기술	표고재배기술	표고품종설명 및 재배기술	2008
4	표고재배기술교육	표고재배기술	표고재배기술	2008
5	표고재배기술교육	표고재배기술	표고재배 최신기술	2008
6	표고재배기술	표고재배기술	표고재배 최신기술	2008
7	표고재배자 톱밥표고 합동 교육 및 선진지견학	톱밥재배기술	표고 톱밥재배기술 및 견학	2008
8	특화지도원 표고재배교육	표고재배기술	특화지도원 표고재배전문 기술 및 견학	2008
9	표고재배기술교육	표고재배기술	표고품종육성방법 및 표고 재배기술설명	2009
10	표고교육	표고재배기술	표고품종 설명 및 재배기술 설명	2009
11	표고육종 및 재배기술 교육	표고재배기술	버섯의 생리 및 표고품종육 성법과 재배기술교육	2009
12	수준별 톱밥재배기술 교육 (초급)	표고 톱밥재배 기술	표고 톱밥재배, 재배특성, 품종특성 등 설명	2010
13	수준별 톱밥재배기술 교육 (중급)	표고 톱밥재배 기술	표고 톱밥재배 기술교육 국 내외 품종 재배특성 설명	2010
14	표고버섯 톱밥재배기술 초 급반(2차) 교육	표고톱밥재배 기술	표고톱밥재배 현황 및 기술, 품종특성설명	2010
15	표고 톱밥재배기술 수준별 교육 결과보고	표고톱밥재배 수준별 교육	표고 톱밥재배 현황 및 재 배기술, 품종특성설명	2010
16	표고톱밥재배 기술 수준별 교육(중급반)	표고톱밥재배 기술	표고톱밥재배 현황 및 기술, 품종별 재배요령	2010
17	표고원목재배 기술교육	표고재배기술	가정내 원목재배, 접종 배양	2011

3. 특허, 논문, 학술발표

가. 특허

No.	출원명	등록자명	출원번호	산업재산권 종류	출원연도
1	표고 품종을 동정할 수 있는 프라이머 및 이를 이용하여 표고 품종을 동정하는 방법	가강현 등 5인	10-2008-00942 93	특허	2008
2	원목재배용 버섯나무 거치대	고한규; 박광태	2020090005227	실용신안	2009
3	라카아제 SNP 마커를 이용하여 표고버섯의 계통을 구별하는 방법	가강현 등 5인	2011-20987	특허	2011
4	라카아제 SNP 마커를 이용하여 표고버섯의 계통을 구별하기 위해 사용되는 PCR용 프라이머	가강현 등 5인	2011-20988	특허	2011

나. 논문게재

게재 연도	논문명	주저자	학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
2009	Microsatellite markers for population-genetic studies of shiitake (<i>Lentinula edodes</i>) strains	Ki Hwan Kim	Genes & Genomics	31(6)	국내	SCIE
2008	Extracellular enzyme activities of the monokaryotic strains generated from basidiospores of shiitake mushroom	Hyuk Woo Kwon	Mycobiology	36(1)	국내	비SCI
2011	표고 교잡균주들의 세포외 laccase 활성 검출에 미치는 배지성상과 발색반응 시약의 영향분석	김준영	한국균학회지	39(1)	국내	비SCI
2011	발색반응 분석법을 이용한 표고 교배균주의 세포외효소 분비 능력 평가	권혁우	한국균학회지	39(2)	국내	비SCI

다. 국내 및 국제학술 발표

NO.	발표자	발표제목	발표일시	장소/국명
1	가강현	버섯관련 연구동향 및 품종보호 현황	2007.07.19	국립산림 과학원
2	김성환	생화학적 특성조사를 통한 표고버섯의 단 포자균주 및 교배균주의 특성고찰	2008.06.04	진주산업 대학교
3	고한규	표고버섯의 재배현황 및 신품종 육성	2008.06.05	진주산업 대학교
4	고한규, 유 창현 등 5명	Studies on the cultural characteristics of several strains of Lentinula edodes	2008.09.19	일본
5	김성환, 권 혁우, 고한 규, 유창현	Biochemical Properties of Hybrid Strains of Lentinula edodes	2008.09.19	일본
6	권혁우	표고 교배균주의 균사생장 및 자실체 특 성 조사를 통한 우수균주 선발	2009.11.04	한국농수 산대학교
7	노종현, 고 한규 등 6명	Breeding of Hybrid strain of Shiitake for Sawdust Block Cultivation	2010.08.02	영국
8	김준영	Identification and characterization of fungi isolated from mushroom fly infested oak log beds used for shiitake cultivation	2010.08.02	영국

4. 홍보실적(저널, 전시회등)

가. 신문, 방송, 저널 등

No.	홍보유형	매체명	제목	일시
1	월간잡지	월간버섯	통계자료로 본 우리나라의 버섯산업	2007.09.03
2	월간잡지	산림지	표고품종특성소개	2008.02.01
3	지방TV방송	매일경제TV	알기쉬운나라경제	2008.04.04
4	월간잡지	산림지	표고병해충발생환경	2008.05.01
5	월간잡지	산림지	표고유전자지문분석	2008.06.02
6	월간잡지	산림지	표고버섯 효능	2008.07.01
7	월간잡지	산림지	버섯유전자원	2008.08.01
8	월간잡지	산림지	신품종육성방법및현황	2008.09.01
9	월간잡지	산림지	표고톱밥재배현황	2008.10.01
10	월간잡지	산림지	표고톱밥재배기술	2008.11.03
11	기타	임산버섯	표고산업을 선도하는 산림 버섯연구소	2009.01.08
12	중앙전문지	원예산업신문	표고버섯 로열티 절감위한 연구비 늘여야	2009.04.08
13	Internet/PC통신	아시아경제	한-일'버섯전쟁'	2009.07.16
14	중앙TV방송	KBS 9시뉴스	표고 중금속 검출관련 해 명자료	2010.09.15
15	잡지, 신문	월간버섯, 버섯정보 신문	표고 신품종 산조705, 706, 111호 육성	2011. 5월 예정

나. 전시회 등 참여

No.	유형	행사명칭	전시품목	장소	활용년도
1	전시회	산주와의 만남	표고버섯, 기자재	경주	2007
2	전시회	산주와의 만남	표고버섯, 기자재	합평	2008
3	박람회	산림박람회	표고버섯, 기자재	안산	2009
4	기타	산림경영컨설팅	표고버섯, 기자재	안산	2009
5	박람회	코리아푸드엑스포2010	출원품종	코엑스	2010

다. 기타활용실적

연도	자격증	합격자	비고
2006	버섯종균기능사	3명	
2007	버섯종균기능사	4명	
2008	버섯종균기능사	5명	
2009	버섯종균기능사	10명	
2010	버섯종균기능사	3명	
2011	버섯종균기능사	29명	필기시험합격, 5월실기예정

5. 연구인력 양성

No.	인력양성 성명	인력양성년도	인력양성 대상수	비고
1	권혁우, 김준영, 안금란	2008	3	
2	김준영	2011	1	
3	안금란	2011	1	

제 3 절 연구개발의 기대효과

1. 기술적 측면

위와 같이 개발된 기술은 국내 유통 표고의 품종 구분 정립과 UOPV에 국내 표고 품종기준 설정에 선점 기술을 제공할 수 있는 기회가 될 수 있을 것이다. 아울러 표고 품종에 대한 국제적 분쟁소지를 미연에 방지하고 새로이 개발하려는 표고 품종에 대한 기준을 설정해 주는데 기여하였다.

표고의 일핵균주 분리, Mono-Mono와 Di-Mono의 교배, 교배균주의 선발기준, 생리화학적 특성조사, 원목의 열처리 기술은 표고 육종의 기간을 단축하고 효율을 높이는데 활용할 수 있게 되었다. 또한 표고균주의 장기 안전 보존법이 확립되었다.

2. 경제적 · 산업적 측면

우리나라는 2003년에 표고가 총생산액 2,362억원, 재배농가 9,000호, 전체 버섯생산량 19%(36,209톤)에 이르는 대표적인 단기소득 임산물이다. 현재까지 외국산 표고 품종이 국내에 60% 이상 점하고 있는 시점에서 2008년에 표고가 UPOV 협약에 따른 로열티 지불 대상이 되기에 국내의 표고시장에 커다란 영향을 줄 것으로 보고 있다. 본 과제를 통하여 육성한 원목재배용 산조111호, 톱밥재배용 산조705호, 706호는 순수한 우리기술로 개발한 것으로 외국 품종과 대체시 연간 13억원(표고생산액 2,200억원 × 대체율 20% × 로열티 3%로 계산) 이상의 로열티 경감효과가 있을 것이다. 또한 신품종의 증수 및 품질향상 효과를 5%만 계산하여도 버섯재배 농가에 연간 20억원 이상의 연소득을 증대시킬 수 있다.

그래서 국내 유통 표고의 품종구분 체계를 확립하고, 국제적인 규격에 맞는 표고 품종조사표를 작성하고, 국내 재배자를 위한 표고 품종의 데이터를 제공함으로써, 쉽게 표고의 신품종 개발과 국제적으로 공인된 표고 품종기준을 갖추므로 인해 국가간의 분쟁을 미연에 방지함으로써 경제적 산업적 그 파급효과는 매우 클 것으로 기대하고 있다.

우리나라는 2003년 기준으로 표고가 일본에 255톤(4,014천불), 홍콩에 89톤(2,096천불)을 수출하고 있다. 하지만, 조만간 일본은 자국내에 수입하는 버섯 및 버섯 가공품에 대한 원산지 표지는 물론이고 품종을 기입하게 함으로써 자국의 버섯산업을 보호하려고 한다. 이러한 시점에서 국내 표고품종의 국제적인 공인 시스템을 갖추고, UOPV의 BMT(Working group on Biochemical and Molecular Techniques) 분과위원회에서는 새로운 DNA 표지개발에 의한 품종구분 가이드라인을 제공하고자 하기에 앞서 이러한 기술을 접목한 품종조사법은 공인받은 국내 표고 품종에서 생산된 버섯 수출을 촉진할 수 있을 것이다.

제 7 장 해외과학 기술정보

제 1 절 일본 출장 자료

1. 출장개요

- 출장목적 : 일본의 표고 연구개발 현황 및 UPOV 일본 전략 조사
- 장 소 : 일본
- 기 간 : 2006. 12. 10 ~ 12. 16
- 출 장 자 : 국립산림과학원 녹색자원이용부 바이오에너지연구과 가강현

2. 주요 활용 내용

가. 농림수산성 종묘과(Seeds and Seedlings Division, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries)

- 주제 : 일본에서 벼싹류의 DUS, 일본 벼싹류의 유통 현황

- 접촉인사 :

· 仙波 徹(Toru Semba) : 농림수산성 생산국 종묘과 국제반(국제협력 및 교류 담당). E-mail : tooru_semba@nm.maff.go.jp

· 板垣 靖(Yasushi Itagaki) : 농림수산성 생산국 종묘과 심사관(벼싹, 관상수 담당). E-mail : yasusi_itagaki@nm.maff.go.jp

Semba 과장이 일본에서 식물 품종 보호 제도에 대한 개괄적인 내용(역사, 조직 구성, 법규 및 수정 사항, 법규 강화, 품종보호 대상종, DUS, 품종출원, 출원자 권리, 출원비용, 출원건수, 등록품종, 국제교류)에 대해서 설명해 주었다. 이와 같은 정보는 일본의 등록품종 홈페이지(<http://www.hinsyu.maff.go.jp>) 들어가면 알 수 있다. 일본은 육종가의 권리를 강화시키기 위해서 2005년에 품종 유효기간은 20년에서 25년, 수목의 경우 25년에서 30년으로 연장하였다. 품종출원 건수는 약 1,400여 개로 외국품종의 출원건수가 지속적으로 증가 추세에 있다. 현재 출원하여 등록하는데 3년 정도의 소요기간이 필요한데, 이 부분에 대해서 앞으로 2.5년 정도로 단축시키는데 노력하고 있다. 일본은 품종심사관이 22명 있고 벼싹분야 심사관은 1명(Yasushi Itagaki) 이다. 일본은 앞으로 일본과 한국, 일본과 중국의 심사업무 협력을 추진하고 있고, 아시아지역에서 한·중·일 심사업무 협력체계를 개발하여 궁극적으로 UPOV 체계로 가는 것을 목표로 하고 있다.

Itagaki 벼싹 심사관은 일본에 현재 정부에서 지정한 32종의 벼싹들이 있고, 특히 표고분야가 다른 벼싹들에 비해 품종수도 많고 가장 많은 생산량을 가지고 있어 중요 작물로 다루고 있다고 하였다. 표고의 경우 품종 특성조사는 1년 안에 대부분의 형질조사가 가능하다고 한다. 균상재배는 1년, 원목재배는 1-2년 소요된다고 한다. 특성조사는 대개 회사에서 DUS의 기본 조사를 하고 심사관이 회사를 방문하여 체크하는 정도이다. 벼싹품종은 매년 15-16개가 품종심사를 받고 있다. 표고는 5-6개의 큰 회사에서 주로 품종등록 신청이 이루어지고 있다.

하나의 버섯 DUS test guideline는 새로운 버섯 품종이 출원되었을 때, 1년 안에 작성을 하며, 약 800,000¥의 경비가 들고, 3번정도 모이고, 1-2번 버섯재배장을 방문하라고 한다.

나. 장야현임업종합센터 (Nagano Forestry Research Center)

- 주제 : 버섯관련 연구현황 및 품종개발

- 접촉인사 :

· 關 貞德(Sadanori Seki) : 소장

· 増野 和産(주임연구원) : 버섯재배, 육종, 신품종 개발 (노루궁뎅이, 맛버섯, 개암버섯, 검은비늘버섯, 기타 버섯 등). E-mail : masuno-kazuhiko@pref.nagano.jp

· 小出 博志 : 출원품종(버섯) 현지조사원 (큰느타리, 분화시메지, 맛버섯의 DUS 참여). 과거에 3번 국립산림과학원 방문 경험 있었음(10년전)

장야현 임업종합센터는 버섯 육종, 품종 개발 및 기술보급을 하고 있다. 버섯분야는 버섯 균상재배기술, 버섯 원목재배기술, 균근성 버섯류의 이용개발을 하고 있다. 이 센터는 和産 주임연구원 혼자서 개암버섯, 검은비늘버섯, 노루궁뎅이, 맛버섯의 품종을 개발하여 품종등록을 하였다. 품종등록은 연구자 이름으로 등록하는 것이 아니라 장야현에서 품종등록 하는 방식을 취하고 있었다. 모든 권리가 센터 연구자에 돌아오는 것이 아니라 장야현에서 소유권을 갖고 있다. 맛버섯의 경우 일본 전역에서 800여개의 균주를 수집하여 선발육종하여 품종을 등록시켰다. 앞으로는 교배육종에 의한 방법에 의해 신품종 육성에 주안점을 두고 있다. 그리고 야생버섯과 비슷한 형태의 버섯재배법을 개발 중에 있다. 개암버섯은 졸참나무를 이용하여 단목재배법을 시도하고 있다. 나무를 땅속에 묻어서 재배하면 2년이 걸리는데, 단목봉지재배법은 1년 안에 개암버섯을 재배할 수 있는 방법이고 특허출원을 준비하고 있으나, 장야현에서 특허비용(40만¥-50만¥)이 없어 미루고 있는 상태이었다.

다. JA 中野市 (버섯 유통 센터 방문)

- 주제 : 버섯관련 연구현황 및 품종개발

- 접촉인사 :

· 望月 隆 (Takashi Mochizuki) : 과장 (영농부 버섯 판매과)

· 篠田 清嗣 : 버섯기술과 지도개발계장

중야시는 장야현의 동북부에 위치한 도시로 해발 367m, 평균강수량이 1,000mm 정도, 평균기온이 11.8℃, 인구가 46,700 명 되는 곳이다. 이 지역은 강수량이 적어 다른 버섯들에 비해 팽이버섯 재배가 잘 되는 곳이다. 전국적으로 팽이버섯은 115,000톤이 생산되는데, 장야현에서 30,000톤이 생산된다. 이 버섯은 도쿄, 나고야, 오사카, 큐슈, 오키나와 등으로 공급된다.

유통센터는 부지면적 3ha 정도이고 버섯유통센터와 종균센터를 겸하고 있다. 10

년전에는 1종류 이었으나, 현재는 70종류(버섯종류, 규격 등 포함)로 확대되었다. 취급버섯은 팽이버섯, 새송이, 맛버섯, 느티만가닥버섯, 흰목이, 바이링구 등이다. 종균센터는 2005년에 팽이버섯 170만병, 느티만가닥버섯 80만병을 생산하였다. 살균기는 모두 12대가 있고, 한번에 2,688병을 멸균할 수 있다.

라. 국립종묘관리센터(National Center for Seeds and Seedlings, NCSS)

- 주제 : NCSS 역할 및 식물 신품종 식별법

- 접촉인사 :

· Masao Okawa : Research Coordinator. E-mail : okawasan@ncss.go.jp

· Yoshito Seino : Senior Researcher (주로 향기 성분 분석)

· Naoki Asano : Senior Researcher

· Masanori Osono : 과수의 SSR 분석

· Yukari Inoue : GC, LC 분석, 관상식물, strawberry, 카네이션, 국화 DUS

조사

· Tomozo Takashima : 과장

· Tsuneo Nishikawa : Division-chief

· Uchida Masayuki : Chief DUS test Advisor

국립종묘관리센터는 식물의 출원품종에 대한 재배실험을 담당하고 있다. NCSS는 1986년에 Potato Foundation Stock Seed Farms, Tea Tree Stock Farms, Sugarcane Foundation Stock Seed Farms과 종묘과의 분소를 통합하여 설립된 곳이다. NCSS는 2001년 4월에 독립행정법인이 되었다. NCSS는 Tsukuba에 본부가 있고, 일본 전역에 12개 stations, 1개 sub-station과 1개 branch가 있고, 총 336명(2005년 4월 1일 기준)이 근무하고 있다.

NCSS에서 하는 일은 1) 품종등록제도 하에서 출원품종을 조사하기 위한 DUS 테스트, 2) 품종의 생산과 보급을 최적화하기 위해 종자와 종묘의 검사, 3) 건강하고 병이 없는 종자와 종묘의 생산과 보급(감자, 차나무, 사탕수수의 양질의 종자와 종묘의 공급원 역할), 4) 식물 유전자원의 보존과 증식(신품종 개발의 기반 구축), 5) 종자와 종묘 관련 첨단기술을 상업화하기 위한 조사와 연구하는 것이다.

NCSS는 후보 품종이 새로운 것인지 아닌지를 판별 위한 조사자료를 제공하기 위하여 DUS 테스트를 수행한다. DUS 테스트 동안 후보 품종은 포지 또는 하우스에서 재배하면서 형태적 특징(색깔, 모양, 크기 등)과 생리적 특징(병해충에 대한 저항성 등)을 조사하여 기존품종과 유사성을 비교한다.

<표 1> 품종등록출원과 DUS 테스트의 건수 변화

구분	1989	1993	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
품종등록출원 숫자	497	750	878	821	942	1,157	1,002	1,280	1,337
조사한 출원 숫자	1,699	2,477	3,657	3,451	3,363	3,210	3,018	3,493	3,615
DUS 테스트 숫자	130	309	452	439	416	398	395	388	499

NCSS는 품종명 조사, 종자 품질 조사, 종자와 종묘의 적절한 보급위한 지도, 종자 품질 보증을 수행한다.

<표 2> 종자와 종묘의 검사 건수

구분	1989	1993	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
품종명 조사	24,054	26,827	17,555	18,959	18,853	18,219	19,497	19,948	18,947
품질 테스트	8,604	8,706	7,155	7,068	7,639	7,466	7,149	7,519	7,158
품질 인증	1,562	1,687	1,374	1,365	1,331	1,098	1,111	1,202	1,136

NCSS는 건강하고 병이 없는 감자와 사탕수수 기본종자와 차나무 stock 종자의 생산과 보급을 한다. 감자 씨앗과 실생묘 생산의 경우, 신품종이 만들어지면 NCSS는 기본 씨앗(1)을 생산하고, 현에서는 stock 종자 생산(10), 농업 기관에서는 종자 생산(100), 농부는 일상적인 재배(1000)를 하게 된다. 괄호안의 숫자는 기본종자(1)에 기초한 각 단계별 증식된 수량을 나타낸다. NCSS에서 기본종자 증식 시스템은 신품종이 들어오면 정단분열조직에서 비루스가 없는 식물체를 생산 → 시험관내에서 증식 → 하우스에서 증식 → 스크린 하우스에서 증식 → 야외에서 증식(기본 농장) → 야외에서 증식(기본 종자 농장) 순서로 이루어진다. 이때, 증식의 모든 단계에서 병해충 테스트(눈으로 병징 조사, 접종 테스트, 혈청학적 테스트)를 수행한다.

<표 3> Foundation and stock 씨앗의 과거 보급 결과 (감자 1bag : 20kg)

구분	1989	1993	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
감자 (bag)	94,466	85,182	78,305	77,053	74,201	76,709	73,914	67,682	68,960
감자 품종수	22	27	34	38	40	43	46	52	52
사탕수수 (단위: 1,000)	2,120	2,415	2,757	2,897	2,599	2,647	2,327	2,350	2,869
차나무 (단위: 1,000)	206	60	28	44	25	29	39	25	21

농림수산성의 유전자은행 프로젝트의 중앙은행으로써 국립농생물과학연구소 (National Institute of Agrobiological Sciences)와 함께, NCSS는 식물 신품종 육성에 재료가 될 수 있는 식물체의 보존과 번식에 대한 sub-bank로 기여한다. NCSS는 감자, 과수, 차나무, 산업적 작물 등의 생식질을 보존하고 유전자원으로 활용될 수 있는 식물의 특성을 조사한다. NCSS는 채소작물의 보존, 특성조사, 종자의 재 증식과 종자 발아 테스트를 수행한다.

<표 4> 보존되고 조사된 유전자원의 숫자

구분	1989	1993	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
보존된 생식질 숫자	4,006	6,632	8,793	8,937	9,320	9,635	9,851	10,060	10,077
씨앗 재 증식	550	644	626	626	573	764	591	774	802
특성조사 숫자	2,505	3,250	24,178	24,178	24,162	22,405	23,925	25,324	24,484
발아 테스트 숫자	-	-	-	-	-	-	-	-	5,100

NCSS의 연구활동은 업무를 효율적으로 수행하기 위해 새로운 기술을 도입하고 있다. DUS 테스트 분야는 향기성분과 구성성분을 포함한 생리생태적 특성의 연구 방법 개발과 DNA profiling을 이용한 품종 구분 방법 개발을 하고 있다. 종자와 종묘 검사 분야는 전염성 병에 대한 단순 검사법의 개발과 DNA profiling을 이용한 GMO 종자 검사법의 개발을 하고 있다. 기본종자의 생산과 보급 분야는 감자 기본

종자 위한 PCR법을 이용한 테스트 기술 개발, 감자 기본종자의 생산관리기술 위한 시스템 확립과 조직배양 기술을 이용한 기본종자의 생산관리기술 위한 시스템 확립 연구를 하고 있다.

품종심사 건수가 많은 것은 카네이션, 국화, 장미 등이며, 카네이션 경우 1년에 100 품종 정도를 조사한다고 한다. 장미의 경우, DUS 테스트에 새로운 형질로 넣기 위해서 향기성분(라벤다향)을 조사중에 있었다. 그러나 종묘과 심사관은 이들 형질에 대해서 인정하지 않는다며, 연구자들과 다른 면을 볼 수 있었다.

마. 산림총합연구소 (Forestry and Forest Products Research Institute)

- 주제 : 일본 버섯류의 연구 현황

- 접촉인사 :

· 大가 위 창 (Ohtsuka Satoshi) : 기획조정부 연구협력과 주외연결전문직

· 馬場崎 勝彦 (Katsuhiko Babasaki) : 버섯미생물연구영역 버섯연구실장

E-mail : kbaba@ffpri.affrc.go.jp

Satoshi는 산림총합연구소에 대한 간단한 전반적인 설명을 하였고, 약 30분간의 홍보 VTR을 상영하였다. 산림총합연구소는 1905년에 설립되어 100년의 전통을 가진 연구소로 쓰쿠바에 본부를 두고 6개의 지소(Hokkaido Research Center, Tohoku Research Center, Kansai Research Center, Shikoku Research Center, Kyushu Research Center, Tama Forest Science Garden)로 구성되어 있고, 총 659명중에 연구직이 448명이 일하고 있다.

산림총합연구소는 임무는 삼림, 임업, 목재생산관련 연구를 통해서 풍부하고 다양한 삼림의 혜택을 생산하여 순환형 사회를 형성하는데 노력하고, 인류의 지속가능한 발전에 기여한다는 것이다. 비전은 일본의 미래에 핵심적인 선도적인 산림연구기관으로 나아가는 것이다. 그에 따라 4가지 역할로 1) 과학기술의 발전에 기여, 2) 행정시책의 추진에 기여, 3) 사회활동의 활성화에 기여, 4) 국제협력의 추진에 기여하는 것으로 임무를 추진하기 위한 구체적인 목표를 두고 있다.

아울러, 2006년부터 2011년까지 중기계획을 설정해 놓고 있다. 일본에서 핵심연구소의 하나로, 산림총합연구소는 정부와 사회의 필요에 적절히 대처하는 과학적인 지식을 축적하고 그에 따라 기초와 개발 연구 양쪽에 우선적인 주제를 장려하고 있다.

Babasaki 박사는 버섯품종의 DNA 판별법(DNA typing of mushroom variety)에 대한 주제로 발표를 하였고, 약간의 토론도 하였다. 현재 일본의 버섯품종은 등록품종과 시장품종으로 나누는데, 시장품종중 재배품종은 대부분 비등록 품종에 해당되고 있다. 종균개발은 3가지 유형으로 1) 대기업형 : 종균개발, 공장생산 및 판매 3-4개 업체, 2) 중소기업형 : 종균개발 및 판매(시판품종 공급원 역할) 주가 14개 업체이고 100개 미만, 3) 보급형 : 보급형 및 연구개발(새로운 종의 버섯재배) 약 40

여개가 있다. 버섯품종육종법은 교배(주로 표고에서 mono-mono로 육종)와 선발육종(주로 맛버섯과 팽이버섯)을 하고 있다.

DNA 품종판명을 이용한 예로서는 1) 버섯발생 불량 구조 해명, 2) 수입 표고 품종판별, 3) 표고 산지별 판별, 4) 버섯품종 표시, 5) 표고 DNA 품종판별이 있었다. DNA 판별법에 사용하는 방법은 1) RFLP, 2) RAPD, 3) AFLP, 4) CAPS, 5) SSR, 6) ISSR, 7) SNP, 8) Sequencing, 9) Typing using retrotransposable elements로 나누는데, 버섯분야에서 주로 사용하는 방법은 2), 3), 8)법이다. 현재 일본에서는 버섯분야에서 6), 7) 방법은 사용하고 있지 않다.

수입 표고 판별법은 중국에서 건표고 수입이 69% 증가, 생표고 수입이 38% 증가로 중국산 표고에 대해서 집중적으로 조사하고 있다. 일본은 중국산 표고에서 균분리 하여 직접 톱밥재배를 수행하여 기존의 국내품종과 형태적 차이 비교와 DNA 분석을 시도하고 있다. 수입 표고는 5계통(건표고 3종, 생표고 2종)으로 나누어지는데, 모두 일본품종과 매우 유사한 것으로 나타나고 있다. 중국이 일본에 수출하는 표고 품종은 일본내 연구자는 일본품종으로 연구결과가 나온 것으로 단정하고 있다. 표고 이외의 버섯들은 쓰쿠바 시내에 유입되는 외국산 버섯종에 대해서 DNA 분석을 시도하고 있다.

일본내 시판 표고 89품종의 RAPD 분석을 통해 이들에 대한 결과를 DB 구축을 통해 외국산 표고품종을 구별하는 시도도 하고 있다. RAPD 분석결과 이들로부터 STS 프라이머를 제작하여 일본 고유품종과 얼마나 같은지 다른지도 분석하고 있다.

DNA 지침에 의한 표고품종 조합법은 140개 품종에서 리보솜DNA중 IGS-1 DNA 부분을 시퀀스하여 이들을 DDBJ와 EMBL 같은 world wide web 상에 등록하여 web 상에서 표고 품종을 판별 가능하도록 준비하고 있다. 국내 시판품종 140개는 국내 등록품종 62개와 재배품종 78개를 분석한 것으로 전국 14개사 종균협회에서 수집한 것이다. 그리고 야생 표고균주 22개와 시장에서 분리한 5개 균주의 DB 구축을 마무리 하였다. 62개 품종품종의 IGS-1 덴드로그램에서는 같은 회사 품종 간에서는 그룹화가 가능하였다. 일본의 야생 표고균주의 IGS-1 분석에서는 시판 표고품종과 다른 그룹에 속하여 야생 표고품종을 단시간 내에 시판품종으로 개량하기에는 어려움이 있을 것으로 추정하고 있었다. 그리고 일본산, 과푸아뉴기니아, 보르네오, 호를넬루산 표고는 일본산과 다른 것으로 나타났다. 그래서 IGS-1 결과는 산지표시의 지표로 사용가능하지 않을까 생각하고 있었다. 시판품종 140개의 IGS-1 결과에서는 큰 차이가 보이지 않았다. 수입 표고 계통은 일본의 오래된 등록 품종과 유사하였고, 건표고 산지별 상품중에서는 품종분포와 병립해서 중국산 주요 계통의 혼재율 지표 등으로 사용 가능하여 버섯산업계의 평정화에 기여할 것으로 기대하고 있다.

인공재배 융합송이는 시장에서 표고 또는 송이로 시판되어 이들의 분석을 실시하였다. 이 버섯은 표고와 송이의 원형질체융합으로 육종한 품종이다. 이 품종의 균사

는 껍쇄연결체가 존재하여 송이는 아닌 것으로 나타났고, RAPD 분석에서도 차이가 있는 것으로 나타나서 송이가 아닌 것으로 나타났다.

맛버섯 발생 불량조사는 종균회사와 생산자 간에 발생한 문제를 해결하기 위해서 수행한 것이다. 종균회사는 생산자가 부적절한 재배법에 의한 결과로 보고, 생산자는 퇴화품종을 종균회사에서 공급하였기에 발생한 문제로 보고 있어 이와 같은 문제를 해결하기 위한 것이다. 종균의 퇴화를 어떻게 분석할 수 있을까 하여 미토콘드리아 DNA 분석을 하였다. 일본내에서 시판되는 60개의 맛버섯 품종은 mitochondrial DNA-RFLP 분석을 통해 구명해보고자 하였다. 이 분석결과 전체 13개 그룹으로 나누어졌고, 23개, 21개, 나머지 소수로 구성되어 있었다. 23개 그룹은 시설재배, 21개 그룹은 원목재배 품종으로 나누어졌다. 발생불량은 시설재배에서 발생하였고, 재배품종은 하나의 계통이 사용된 것이다. 미토콘드리아 DNA 변이 분석에 의해서는 발생불량을 판별할 수 없었다.

흰색과 갈색 품종의 dual cultivation에 의해 chimeric 버섯발생이 발생하였다. 이 chimeric 버섯은 종균을 만들어 버섯재배를 다시하였을 경우에 버섯 색깔별 여러 가지 변이가 발생하였다. 이 결과는 종균이 섞여서 버섯발생 불량이 나올 수 있는 가능성을 추정하는 결과로 판단되었으나, 실제적으로 종균불량을 구명하는데는 어려움이 있었다.

재배특성에 대한 균사간의 상호작용 효과 분석은 유전자 문제와 증식과정 문제에 주안점을 두어 분석하였다. 판매되는 종균이 유전자가 동일하다고 하지만, 실제로 그렇지 않을 경우에 재배과정에서 버섯발생 불량이 나올 수 있었다. 즉 버섯발생 불량은 재배특성에서 균사간의 상호작용에 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

3. 관찰 및 평가 (여행목적의 달성 및 여행 의의 평가)

○ 농림수산성 종묘과 버섯담당 심사관은 일본정부가 정한 버섯이 32개 있고, 이 중에서 19개 버섯류는 TG가 완성되었고, 나머지 종에 대해서는 품종출원하는 것이 있을 때 TG를 만든다고 한다. 이번 출장에서는 19개 버섯류 TG를 얻었고, 버섯품종 200개가 수록된 책자도 얻었다.

○ 장야현 임업종합센터에서는 맛버섯, 개암버섯, 노루궁뎅이, 검은비늘버섯의 신 품종 육성을 하고 있었고, 이곳에서는 이들 버섯류의 출원품종에 대한 정보를 얻었다.

○ 일본은 버섯류에 대한 UPOV 대응은 다른 품종보호대상 작물과 마찬가지로 정해진 규칙에 따라 대응한다는 버섯담당 심사관이 말하였다. 정확한 의미는 알 수 없으나, UPOV 회원국이 정해진 시기에 따라 개방하는 품목에 대하여 순차적으로 대응할 것으로 여겨졌다.

○ 일본 버섯류의 DNA에 의한 품종확인 연구는 산림종합연구소 버섯미생물 연구영역에서 담당하고 있다. 표고는 일본 전역에서 수입되는 것(특히, 중국산)에 대해서 조사하였고, 다른 버섯류는 쓰쿠바 시내에 유입되는 버섯들에 대해서 조사하고 있다.

○ 일본에서 가장 크게 문제가 되는 버섯은 표고이었고, 이 버섯에 대한 수입은 주로 중국에서 이루어지기에 중국산 표고에 대해서는 재배 특성과 DNA 관련 연구를 수행하였고, 중국산 표고가 일부 일본 품종이라는 결과를 얻은 것을 알 수 있었다.

○ 일본은 표고에 대해서는 일본내 등록품종에 대한 DNA 정보(예, 리보솜 DNA 의 IGS-1 부분)를 DDBJ와 EMBL 등과 같은 web 사이트에 공개하여 다른 나라에서도 표고 품종을 일본 품종과 비교할 수 있도록 할 예정이라고 한다.

○ 일본은 식물신품종보호에 대한 각국 품종심사자의 인적교류와 일본 자체적으로 train course 과정을 만들어 각국의 품종심사자의 교육과 정보교환을 할 것으로 계획하고 있다. 이 과정은 2007년부터 시행할 것이라고 하였다. 특히, 아시아권 국가들 간에 품종심사에 대한 harmonization과 국가간 협력에 큰 비중을 두고 있었다. 그러나 약간의 문제는 정부예산 삭감으로 인해 광범위한 범위에서 일이 추진되기는 어려운 상황이었다.

○ 일본은 UPOV가 유럽중심구조이기에 아시아중심구조의 협력체계를 준비하고 아마도 그 중심권에 일본이 가장 큰 역할을 하려고 한다.

4. 입수자료 및 정보 (복사 제분하여 버섯관련 연구자에게 배포)

- 일본 버섯 등록 품종 200 (도서실)
- 버섯류의 DNA 품종 판별 기술의 개발 현황 (도서실)
- 일본의 품종등록제도에 대하여 (도서실)
- 일본 정부에서 지정한 버섯명 및 학명 일람 (도서실)
- 일본에서 등록된 버섯 품종 리스트 (1963-2006) (도서실)
- 버섯별 특성분류 조사보고서 (도서실)
 1. 느타리(ひらたけ, *Pleurotus ostreatus*), 昭和 53년 3월
 2. 목이(きくらげ, *Auricularia auricula*), 昭和 56년 3월
 3. 노랑느타리(たもぎたけ, *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*), 昭和 57년 3월
 4. 잎새버섯(まいたけ, *Grifola frondosa*), 昭和 58년 3월
 5. 털목이(あらげきくらげ, *Auricularia polytricha*), 昭和 59년 3월
 6. 양송이(つくりたけ, *Agaricus bisporus*), 昭和 60년 3월
 7. (しろたもぎたけ, *Hypsizygus ulmarius*), 昭和 61년 3월
 8. 개암버섯(くりたけ, *Naematoloma sublateritium*), 昭和 62년 3월
 9. 버들송이(やなぎまつたけ, *Agrocibe cylindracea*), 平成 2년 3월
 10. 늦은호엔부엘버섯(むきたけ, *Panellus secretinus*), 平成 3년 3월
 11. 표고(しいたけ, *Lentinula edodes*), 平成 8년 3월
 12. 잣빛만가닥버섯(はたけしめじ, *Lyophyllum decastes*), 平成 8년 3월
 13. 검은비늘버섯(ぬめりすぎたけ, *Pholiota adiposa*), 平成 9년 3월
 14. 산느타리(うすひらたけ, *Pleurotus pulmonarius*), 平成 10년 3월

- 15. 팽이버섯(えのきたけ, *Flammulina velutipes*), 平成 11年 3月
- 16. 큰느타리버섯(エリンギ, *Pleurotus eryngii*), 平成 13年 3月
- 17. 맛버섯(なめこ, *Pholiota nameko*), 平成 14年 3月
- 18. 느티만가닥버섯(ぶなしめじ, *Hypsizigus marmoreus*), 平成 15年 3月
- 19. 노루궁뎅이(야마ぶしたけ, *Hericium erinaceum*), 平成 17年 3月

제 2 절 중국 출장 자료

1. 출장 개요

- 출장목적 : 제43차 ‘국제식물신품종보호동맹(UPOV) 채소 실무기술작업반회의 (Technical Working Party For Vegetables, TWV)’ 참석
- 출장기간 : 2009. 4. 19(일) ~ 25(토) (6박 7일)
- 출 장 자 : 국립산림과학원 녹색자원이용부 바이오에너지연구과 가강현

2. 주요 내용

가. 회의 개최지 및 참석자

- 개최장소 : 중국 베이징, Beijing Friendship Hotel, Building 7 회의실
- 회의주제 : 43차 UPOV-TWV의 각 분야별 토의 및 정리
- 회의일시 : 2009년 4월 19일(일) ~ 24일(금)
- Olympic Green 투어 : 2009년 4월 25일(토)
- 참 석 자 : 회원국 대표(UPOV 부의장 포함) 및 실무자, 47명
 - Petrit TOPI (알바니아, Director, National Seed and Seedling Institute)
 - Doug WATERHOUSE (호주, Chief, Plant Breeder's Rights Office)
 - Ricardo ZANATTA MACHADO (브라질, Federal Agricultural Inspector)
 - Diliyan Rousev DIMITROV (불가리아, Senior Expert, IASAS)
 - Xinming ZHANG (중국, Director, Division for Plant Variety Testing)
 - Yuanyuan DU (중국, Agronomist, Division for Plant Variety Testing)
 - Liping WANG (중국, Examiner, Division for Plant Variety Protection)
 - Yang YANG (중국, Examiner, Division for Plant Variety Protection)
 - Hao TANG (중국, Agronomist, Division for Plant Variety Testing)
 - Qi TANG (중국, Vice-Dean, 상해 식용균연구소)
 - Ryuyu LI (중국, Research Professor, Jinan DUS Testing Station)
 - Radmila SAFARIKO (체코공화국, Head of Division, UKZUZ)
 - Sergio SEMON (유럽공동체, Community Plant Variety Office)
 - Francois BOULINEAU (프랑스, Horticultural DUS)
 - Swenja TAMS (독일, Referentin)
 - Romana BRAVI (이탈리아, National Office for Seed Certification)
 - Hideki MAEDA (일본, Examiner, Plant Variety Protection Office)

- Yuji NIWA (일본, Examiner, Plant Variety Protection Office)
- Akihiro FURUI (일본, DUS Testing Division)
- Rikuo FUKUI (일본, The National Edible Mushroom Spawn Association)
- Kees VAN ETTEKOVEN (네덜란드, Manager, Naktuinbouw)
- Raoul HAEGENS (네덜란드, Naktuinbouw)
- Marian A. VAN LEEUWEN (네덜란드, Naktuinbouw)
- Julia BORYS (폴란드, Head, DUS Testing Department)
- 최근진 (한국, 심사관, 국립종자원)
- 신현주 (한국, 심사관, 국립종자원)
- 권용락 (한국, 임업연구사, 국립산림품종관리센터)
- 가강현 (한국, 임업연구사, 국립산림과학원)
- Marianna ANDRASKOVA (슬라바키아, Central Controlling and Testing Institute in Agriculture)
- F. Niall GREEN (영국, Herbage & Vegetable Crops)
- Kitisri SUKHAPINDA (미국, Attorney Advisor, USPTO)
- Rolf JORDENS (UPOV 사무국, 부의장)
- Peter BUTTON (UPOV 사무국, Technical Director)
- Makoto TABATA (UPOV 사무국, Senior Counsellor)

나. 회의 내용

- UPOV의 부의장(Mr. Rolf Jördens)이 개회 선언.
- Yanquan Shi 부국장(중국 농업부 과학기술교육국)이 43차 UPOV-TWV 개최 축하 개회사
 - 중국은 2009년 3월까지 농업부에서 74속, 임업부에서 78속 총 6,338개 품종출원하여 2,312개가 승인되었음.
 - 2008년에 중국정부는 국가지적재산권전략개요를 시작하였고, 식물품종보호(PVP)는 중요한 문제 중 하나이며, 11차 국가인민회의 2차 회기에서는 식물품종보호를 포함한 국가지적재산권전략의 이행을 지속하기로 결정.
 - 중국은 PVP에 대한 정보교환과 협력을 강화하고 특히 UPOV의 사무국과 UPOV 회원국 간에 정보교환과 협력을 할 것이며, 세계적인 PVP 개발에 기여할 것임.
- UPOV-TWV 분과 Mrs. Radmila Safarikova 의장(체고공화국)이 참석자들에 대한 환영 인사
- 식물품종보호의 개발에 대한 보고 (Mr. Xiangming Lin. 중국 농업부 과학기술교육국, GMO 생물안전성과 IPR 과장)
 - 중국의 식물 신품종 보호에 대한 소개(법령, 조직, 출원품종, TG, 국제협력)
 - 중국은 58속 중의 TG(test guideline)가 만들어졌고, 44속 중의 TG가 개발중에

있어 총 102가 TG가 있음

식물품종보호 시스템	
농업분야	임업분야
곡물류, 면화, 유지종자, 삼, 당류 작물 채소(수박과 mask melon 포함), 담배 뽕나무, 차, 과수(진과류 제외), 관상식물 (목본식물 제외), 포도, 녹비작물, 초본약 용식물, 고무를 포함한 열대작물	산림수목, 대나무, 목본덩굴식물 관상수목, 과수(진과류 나무), 목본 유지식물, 음료 및 조미료 식물, 목 본약용식물

○ 각국 참가자들이 자기 소개 및 각국의 PVP 현황 소개

- 호주 : 호주 PBR 시스템은 UPOV 협약의 1991년 조약 채택. 600속 종들이 품종보호, 5명의 PBR 심사관. 채소품종은 총 출원품종의 약 5% 해당. 품종심사 평균 기간은 30-40개월 소요. ISO 9001 시스템 도입과 합법적인 승인 결과로 심사관들은 심사의 모든 면에서 완전한 책임과 심사기간을 30개월까지로 단축하는데 기여.

- 브라질 : 2008년에 전자출원시스템이 갖춰졌고, 2008년에 207개 출원품종. 농작물이 54%, 관상작물이 26%, 채소가 9%, 과실작물이 4.5%, 산림수목이 4.5%, 사료작물이 2%에 해당하였음.

- 불가리아 : 불가리아는 Executive Agency for Variety Testing, Field Inspection and Seed Control (IASAS)가 품종보호 담당. 2008에 68개 채소 품종으로 전년대비 17% 증가. 41개 채소 품종이 등록. 불가리아는 토마토, 양파, 완두콩이 주요한 교배 품종임.

- Community Plant Variety Office (CPVO) : 2008년에 CPVO는 3,014개 품종출원을 받았고, 전년 대비 1%정도 증가한 것임. CPVO는 종이 없는 사무실을 만드는 것을 목표로 모든 서류는 스캔 하여 데이터베이스와 전자문서로 처리. 2009년 9월에 CPVO는 관상식물과 산림수목의 기술분과를 맡게 될 것임. 2008년에 채소 품종은 411개 출원하여 2007년에 비해 39% 증가. 연구개발 프로젝트에서, 토마토 DUS 테스트를 위한 병 저항성 유전자와 연계된 분자마커의 개발과 평가가 2008년에 여러 포럼에서 논의되었음. 작물에서 균일성 기준과 DUS 테스트에서 미래 이행 가능성과 관련하여 분자생물학적 테스트의 신빙성을 확보하고자 노력하고 있음.

- 체코 공화국 : National Plant Variety Office (NPVO)는 식물품종의 국가 목록, 품종보호와 권고를 담당하고 있음. 과거 5년 동안, 연간 550-600 개의 품종이 출원되었고, 2008년에 채소 품종은 전체의 10% 정도에 해당. NPVO는 이미 ISO 9001의 인증을 위한 사전준비를 끝냈고, 공식적인 감사를 기다리고 있음.

- 프랑스 : GEVES는 2008년에 ISO 9001 증서를 받았음. GEVES는 DUS 검사시스템이 ISO 9001에 따라 시작됨으로 인해 개선될 것으로 기대됨.

- 독일 : 채소품종의 출원숫자는 적은편이지만 안정적인. VCU는 채소품종의 기술적인 목록이 조만간에 만들어 질 것으로 여겨짐.

- 이탈리아 : PVP는 산업부에서 관장하며, 농림식품부(MIPAAF)는 품종의 국가 목록을 담당함. 국립종자인증연구소(ENSE)는 MIPAAF 대신에 농작물의 DUS 테스트를 담당. 2008년에 197개가 품종출원 되었고, 45% 토마토, 10% 고추, 8% 수박, 7% 상추 순 이었음. 80개 채소 품종이 승인되었음.

- 일본 : 품종출원은 2008년에 전년대비 19% 감소. 2008년에 1,245개 품종출원 되어 1,192개 품종이 승인되었음. 채소품종은 7% 해당, 17개는 벼품종임. 일본정부는 심사 평균기간을 30개월 목표를 세웠음.

- 네덜란드 : Naktuinbouw는 국가목록의 모든 DUS 테스트를 담당. 모든 채소와 관상식물은 Roelofarendsveen에서 수행하고 농업작물은 Naktuinbouw에서 필드 조사. 중국과 네덜란드 사이에 PBR에 대한 2년간 쌍무협력 프로젝트가 2008년에 성공적으로 체결. 두 나라는 미래에 협력관계를 지속적으로 유지하기로 결정. 비슷한 프로젝트가 네덜란드와 인도네시아 사이에서 진행되었고, 베트남과 이집트와도 비교되는 프로젝트가 예정되었음. CPVO에서 지원받은 프로젝트는 병 저항성 확립을 위한 DNA 기술로 이 기술은 잠재적인 제한점이 나타났음. 저항성 테스트를 위해 정확히 동정된 균주의 이용성 및 유지.

- 폴란드 : Research Centre for Cultivar Testing(COBORU)는 국가품종목록과 PBR의 등록을 담당. 또한 DUS와 VCU 테스트, 기술목록의 출판, 품종등록 후 시스템과 품종 권고사항을 담당함. 폴란드는 DUS 테스트 분야에서 많은 나라들(체코, 헝가리, 슬로바키아, 리투아니아, 라트비아, 루마니아 등)과 쌍무협력을 구축. 매년 COBORU는 DUS 테스트 교육 프로그램을 운영. 2008년에 1,446개가 품종보호, 889개는 국내 557개는 외국산임. 646개 농업작물, 297개 채소작물, 383개 관상식물, 120개 과수 품종임. 국가목록에는 2,510개 품종이 있고, 그들 중 1,282개는 농작물, 908개는 채소 그리고 320개는 과수 품종임.

- 한국 : 2008년에 한국은 34개 속 종이 품종보호 대상종으로 확대되어 총 223개 속 종이 품종보호를 받고 있음. 2009년 2월까지 품종출원 건수는 4,114개 이고 이중 2,567개(관상식물 56%, 채소 18%, 곡물 16%, 과수 5%, 기타 5%)는 품종보호 인증을 받았음. 채소 중중에서 상위 5개 품목은 고추(20%), 배추(15%), 무우(13%), 수박(11%), 상추(9%) 임. 2008년에 26차 TWC 분과회의가 제주에서 개최되었고, 2009년 9월 서울에서 TWA가 개최될 예정임. 그리고 산림분야에서 국립산림품종관리센터가 새로 만들어 졌다는 것을 보고하였음.

- 슬로바키아 : 1990년 이후 1,165개가 품종출원 되어 604개가 인증되었음. 2008년에 농업부에서는 28개 출원품종을 받았고, 60개는 품종보호를 받았음. 31개 농작물, 15개 사료 품종, 3개 과수품종, 1개 약용식물, 10개 포도품종임. 51개 출원품종이 취소되었음. 슬로바키아는 출원품종 대다수가 농작물로 특히 곡물과 옥수수가 해당됨. 2008년 말까지 품종보호는 밀 100개 품종과 보리 75개 품종이 승인되었음.

- 영국 : 디지털 영상을 이용한 자동화된 관리가 영국 DUS 테스트에 방풍나물 뿌리의 기록을 위해 도입하여 수작업과 자동화 작업의 3년간 자료 비교 분석 중. 병 저항성 특성에 대한 일치성(조화)을 확보하기 위하여 CPVO에서 제안된 연구 프로젝트 참여.

- International Seed Federation (ISF) : ISF의 세계종자회의가 2008년 5월에 Prague에서 개최되어 59개국 1,480명 참석. 2009년 Antalya에서 회의는 1,250명 참석. ISF 지적재산권위원회는 생식질 접근문제에 관심이 있었고 특히 모수형질 또는 기술적인 면을 포함한 품종관련 사항에 관심. DUS 테스트에 분자마커 이용에 대한 ISF 입장 변경. 2009년 5월에 Antalya에서 ISF 회의에서 채택 계획임. ISF는 UPOV, OECD, ISTA, FAO와 제2차 세계종자회의를 공동구성 하였고 9월 8-10일 로마에서 개최될 예정임.

○ 제안된 각 TG에 대한 검토

- 양송이류 (Agaricus L.) : 유럽연합, Mr. Sergio Semon 발표
- 아스파라거스 : 네덜란드, Mr. Kees van Ettehoven 발표
- Black Salsify : 네덜란드, Mr. Kees van Ettehoven 발표
- Dock : 체코공화국, Mrs. Radmila Safarikova 발표
- Globe Artichoke and Cardoon : 프랑스, Mr. francois Boulineau 발표
- 상추 : 프랑스, Mr. francois Boulineau 발표
- Raphanus sativus L. : 독일, Mrs. Swenja Tams 발표
- 표고 : 일본, Mr. Yuji Niwa 발표
- 고구마 : 한국, Mr. Keun-Jin Choi 발표
- 토마토 : 유럽연합, Mr. Sergio Semon 발표

3. 표고 TG에 대한 논의 내용

○ 보고자 : Mr. Yuji Niwa (일본, 버섯심사관)

○ 주요내용 : 일본의 표고 재배법 소개와 TG의 세부사항 논의

- 학명 표기에서 라틴명보다 TG의 기본 규격에 맞게 학명 표기
- 표고의 보통명 영명에서 Oak mushroom 추가 제안
- 5개 시험관을 3개 시험관으로 수정
- 종균은 3개월 미만으로 수정
- 종균 제조법은 양송이 TG 참고하여 수정
- 시험관 마개에서 솜과 플라스틱 캡에서 실리스토퍼 마개 추가 제안
- 식물 단어 대신 자실체 표기로 문장표현 수정
- 원목재배와 톱밥재배에서 재배법 상 논란. 원목 숫자와 톱밥재배 블록의 숫자 보다는 측정되는 자실체 숫자에 기준하여 원목 숫자와 톱밥 블록 숫자 정하는 것에 대한 토의. 아직 결정되지 않았고 추후 결정하기로 하였음. 일본측에서 제안한 100개 보다는 적은 숫자로 결정될 것으로 보임. 중국은 원목재배 20개와 톱밥재배 60

개를 제안하였음.

- 원목재배와 톱밥재배 타입별 TG 제안 필요성 논의
- 기중균사 같변화를 어떻게 측정할 것인가 논의
- 양적형질의 등급 표기에서 1, 2, 3과 3, 5, 7 표현 논의
- 양송이 TG에 따라서 표고 TG 작성으로 수정 보완 필요성 제기
- 온도 특성 항목은 너무 많은 온도 범위 측정에 논란이 제기되었고 추후 Technical Question에서 서면 보고하기로 하였음.

- 표고 TG는 11번째 특성까지 논의되었고, 2010년에 다시 논의하기로 하였고, TG 작성과정에서 상호 코멘트 하기로 잠정 합의하였음. 전반적으로 국제간의 합의에 이르기에는 많은 시간이 필요할 것으로 판단되었음. 아울러 우리나라 품종들에 대한 정확한 정보와 일본측이 제안한 특성정보의 정보교환을 토대로 재 작성되는 TG에 반영할 수 있는 내용들에 대한 논의가 국내적으로 필요하였음.

- 일본측 제안자는 코멘트는 좋으나, 각각의 특성 항목에 대한 삭제 요구는 자제해 달라고 하였음.

- 중국측 입장은 공격적이기 보다는 상당부분 유화된 분위기였고, 중국은 현재 100여개 표고 품종이 유통되고 특히 30-40개 정도가 널리 유통되고 있다고 하였음 (Dr. Tan Qi 의견, 상해농업과학원 표고 육종담당자).

- 일본측 참석자

Mr. Yuji Niwa : 농림수산성, 버섯 심사관, 작년에 자리 옮김. 그 전에는 버섯 심사관이 Yasushi Itagaki 이었음(2006년에 만났음). Niwa 심사관은 바로 전에 품종의 국제적 분쟁을 해결하는 일에 담당했던 사람임.

Mr. Hideki Maeda : 농림수산성, 국립종묘관리센터(National Center for Seeds and Seedlings, NCSS, 쓰꾸바), 심사관. 이번에 무우, 토마토, 고구마 등 TG에 답변.

Mr. Akihiro Furui : 농림수산성, DUS tester, 토마토 담당

Mr. Rikuo Fukui : 흑켄 기술자문관. 표고 TG 작성에 대한 기술적 조언, 국립식용버섯종균협회

4. 기타 활동 사항

○ 중국농업과학원 미생물 발효와 버섯종균의 감독과 시험 센터 과학자 Hu Qing-Xiu 부교수 면담(박춘근 박사 소개)

○ 한국의 버섯관련 산업에 관심을 표명하였고, 특히 식물가공에 따른 한국측 버섯의 중금속 기준을 알고 싶어 하였음. 이 부분은 식품의약품안전청의 식품공전에 대해 소개해 주었음.

○ 중국의 버섯산업과 관련된 정보교환과, 2006년도에 발간된 중국의 '식용균기술표준회편' 책자를 얻었음. 이 책자는 중국 식용균의 표준재배기술, 버섯의 식물가공에 따른 기준이 상세히 설명되어 있음. 책자는 국립산림과학원 도서실에 비치되어 누

구나 이용할 수 있음.

- 중국은 꽃송이버섯의 재배를 2000년부터 본격적으로 시작하여 현재 연간 20만톤을 생산하며, 주요 재배지역은 복건성, 하남성, 산둥성 순이며 1kg당(생버섯) 4,000원 수준으로 거래되고 있다고 하였음. 배지재료는 활엽수를 사용하고 있다고 함.
- 중국 과학자는 2009년 또는 2010년에 한국을 방문하여 버섯재배 현장을 방문하고 싶다고 하여, 한국을 방문하게 되면 안내해 줄 수 있다고 답변하였음. 또한 버섯 관련 공동연구를 추진하자고 하였으나, 아직 어떤 방법으로 접근해야 할지에 대해서는 추후 논의하기로 하였음.
- 중국 농업과학원은 현재 1만명 정도가 근무하고, 임업과학원(20개 지소 포함)은 4,500명 정도 근무하며, 베이징 임업과학원에는 1,500명 정도 근무.

5. 수집한 자료(국립산림과학원 도서관 보관)

- The Protection of New Varieties of Agricultural Plants in China. 2009. The Office for the Protection of New Varieties of Plants, Ministry of Agriculture. 22p.(도서관)
- 식용균기술표준취편. 2006. 중국표준출판사. 413p. (도서관).

제 3 절 영국 출장 자료

1. 출장 개요

- 출장목적 : 제9회 세계균학회(IMC)
- 출장기간 : 2010. 7. 31(토) ~ 8. 8(일) (8박 9일)
- 출 장 자 : 산림버섯연구소 시험개발과 고태규

2. 주요 내용

가. 회의 개최지 및 참석자

- 학회주최 : 영국균학회, 에딘버러
- 참석자 : 83개국 1760명

나. 학술위원회

- 1) Cell biology, biochemistry and physiology(세포생물학, 생화학, 생리학)
- 2) Environment, ecology and interactions(환경, 생태학)
- 3) Evolution, biodiversity and systematics(진화학, 생물다양성, 계통분석학)
- 4) Fungal pathogenesis and disease control(균병학 및 방제)
- 5) Genomics, genetics and molecular biology(게놈분석 유전학, 분자생물학)

다. 학술발표

- 발표자 : 고태규
- 발표제목 : 원목재배용 표고버섯 신품종 육종

‘Breeding of New *Lentinula edodes* Strains Suitable for Cultivation in Oak Log Beds’

○ 발표요지 : 산림조합 원목재배용 등록품종인 산조101, 103, 108호의 단포자를 분리, 이식하여 단핵균주간의 교배로 233개 이핵균주들을 육성하였으며 자실체 특성을 조사한 결과, FMRI-7E62균주를 선발하였다.

라. 영국 식용버섯 거래가격

○ 유럽의 유통버섯은 과거부터 양송이가 주종을 이루어왔으며 현재도 대부분의 버섯은 양송이 계통의 버섯이 80%이상을 점유하고 있으며, 표고버섯의 품질은 우리나라 기준으로 중하위이며, 가격은 다른 식용버섯가격에 2배정도 비싸게 거래되고 있다. 표고재배는 이루어지고 있지 않으며, 중국 절강성에서 톱밥재배용 버섯이 수입되어 유통되고 있음.

○ 영국 식용버섯 거래가격

버섯명	가격(파운드/kg)	판매포장단위(g)	비고
큰양송이(포토벨라)	8.76	250	
표고버섯	17.93	150	중국수입
양송이(소형)	8.45	200	
양송이(중형)	4.83	350	
양송이(흰색종)	3.17	350	
양송이(갈색종)	4.76	250	
양송이(갈색종 대형)	5.96	250	
양송이(크림종)	10.96	250	
느타리	11.93	150	

마. 활용방안

- 산림버섯연구소의 연구결과 발표를 통해 국제적 위상 제고와 표고 신제품개발의 발전기반 향상
 - 세계적인 균학자와 지속적인 정보교류 및 유전자원 확보의 네트워크 형성
- 유럽의 식용버섯의 재배, 유통, 소비패턴의 분석 및 세계버섯시장 진출의 기초자료 확보
 - 유럽에서 표고버섯은 고가이고, 양송이버섯을 제외한 유럽내 버섯 생산 및 공급량이 부족하며 향후 새로운 버섯작목으로 재배시설이 확충되리라 예상
- 새로운 임산버섯 재배기술을 참고하여 연구소의 수입원 창출 기대
 - 우리나라에서 아직 생소한 임산버섯(송로; truffle, 곰보; morel 등) 인공재배의 동향 및 향후 이용가능성 검토

제 4 절 일본 출장 자료

1. 출장 개요

- 출장목적 : 제5회 동아시아 국제버섯심포지움
- 출장기간 : 2008. 9. 17(수) ~ 9. 21(일) (4박 5일)
- 출 장 자 : 산림버섯연구소 유창현, 고한규

2. 주요 내용

가. 회의 개최지 및 참석자

- 학회주최 : 일본버섯학회, 후쿠오카 규슈대학
- 참석자 : 8개국 174명

나. 주요강연

- 제목; Gerplasm characteristics comparison of strains of *Pleurotus nebrodensis* cultivated in China(Jinxia Zhang) (Chinese Academy of Agricultural Sciences Beijing, China)

- 제목; Characteristics of new antihypertensive agents from edible fungi, *Pholiota adiposa* and *Sacchromyces cerevisiae*(Jong-Soo Lee)

- 제목; The anti-androgen effect and preventative effect of osteoporosis by ethanol extracts of *Ganoderma lucidum*(Ryuichiro Kondo) (Kyushu University, Japan)

- 제목; Classification of *Ganoderma* strains cultivated in China using molecular methods(Jingsong Zhang)

- 제목; Breeding of *Flammulina velutipes* though self-crossing and crossing(Xu Zhen)

- 제목; Application of AFLP and PCR-based gene markers to discriminating among cultivars in *Lentinula edodes*(Kazuhisa Terashima)

- 제목; Mycovirus as a causal agent of degeneration in cultivated mushrooms(Yumi Magae)

- 제목; Biochemical properties of hybrid strains of *Lentinula edodes*(Seong-Hwan Kim)

- 제목; Characteristics of mycelial growth in *Lentinus lepideus* strains(Yun-Hae Lee)

- 제목; Reutilization of cultural waste from cultivation of some edible mushrooms for a substrate in the sawdust based cultivation of *Hericium erinaceum*(Koji Takabatake)

- 제목; Application of DNA analysis for investigation of pathogenic fungi on mushroom cultivations(Kazuhiro Miyazaki)

다. 버섯농장 견학

(1) 大木지역; 버섯마을(농사조합법인)-만가닥 병채배 농장

○ 1일 배지생산규모 : 30,000병

○ 원균접종(품종A314; 후쿠오카지역 개발품종)후 클린룸내에서 8일정도 균사생장을 안정화시킨 후, 배양실을 옮겨 19~20℃, 습도 85%내외로 30일 배양. 21~23℃, 습도 65%로 50일간 배양, 14~15℃로 발이 유도 및 5일간 버섯발생후 수확 및 포장 판매.

○ 모든 작업이 자동기계화가 되고 있음.

○ 폐배지를 활용하여 아스파라거스(1,000¥/kg)를 재배함.

- 배지의 부재료인 영양원기질(미강,밀기울)에 대한 품질표가 부착되어 반입되고 있음. 벼 품종, 생산년도, 생산지역, 등급등 배지의 품질관리에 매우 유용한 내용이라 사료됨.

- 폐배지활용시 1동에서 3,000kg/년 생산하며 유기질 비료 사용시 2,000kg 생산으로 생산량이 폐배지 활용이 상대적으로 높음. 버섯 폐배지 활용을 다른 작물에 연계시켜 부산물 이용을 극대화 시키고 있음.

- 만가닥버섯은 우리나라 풀무원(주)에서 백일송이라는 상표로 생산, 판매하고 있으며 균의 배양기간은 90일정도로 오래걸리나 버섯수량이 많고 유통기간이 다소 긴 장점이 있음.

라. 阿蘇지역(버섯특화지역)

○ 아소산의 국립공원과 더불어 다양한 버섯(표고, 느타리, 잎새버섯, 새송이버섯, 만가닥버섯, 나메고 등)을 생산, 가공하여 버섯테마공원으로 관광단지화 하였음.

- 버섯음식점, 버섯생산, 염장가공, 전시, 판매, 버섯채배 체험, 건강보조식품 등을 통해 지역경제 활성을 도모함.

3. 활용방안

○ 일본에서는 우리나라의 표고품종 육성과 보급에 대한 관심이 큰 것으로 보아 일본품종 재배임가의 로얄티 지불 대응책 마련이 시급함.

○ UPOV를 대비한 산림버섯연구소의 표고 신품종개발 조기달성 체계화.

○ 해외 유명한 연구기관 및 버섯전문가들과 연구교류를 통해 우리나라 고유의 신품종 육성 기반 확립.

○ 국제학회 연구발표를 통한 지속적인 대외홍보 효과 및 표고 신품종의 신규성, 차별성의 국제적 신뢰도 유도.

○ 버섯 소비의 대중화를 위한 관광지에 전문식당, 체험농장 등의 시설 아이디어 수집.

○ 접견자

성명	국적	소속/직책	주요사항 및 발표내용
Shoji Ohga	일본	큐슈대학교 교수	동아시아 버섯학회 일본측대표
Keisuke Tokimoto	일본	균심연구소 수석연구원 박사	표고 육종연구
Kazuhisa Terashima	일본	" 주임연구원 박사	"
Zhang Jing Song	중국	상해 식용균연구소 부소장	동아시아 버섯학회 중국측대표
Hirokazu Kawagishi	일본	Shizuoka대학 교수	버섯 기능성 탐색, 구조분석
Yoichi Honda	일본	교토대학 교수	버섯관련 유전자, 분자생물학 연구
Akira Suzuki	일본	Chiba대학 교수	버섯 저장연구
안광득	일본	Technosuruga Lab. Co.	DNA 바코드 연구
Takao Terashita	일본	Kinki 대학	약용버섯 기능성 연구
Kitamoto Yutaka	일본	아사노(주) 연구소장	임산버섯연구
Chen Ping	중국	심양성 식용균연구소	버섯육종연구
Katsuji Yamanaka	일본	균학연구소 소장	버섯육종연구
Yoshinobu Kitajima	일본	만가닥버섯농장 기술부장	버섯재배연구
Shuhei Kaneko	일본	후쿠오카산림업기술센터 연구부장	임산버섯연구
Yumi Magae	일본	츠크바 산림업연구소 박사	버섯 바이러스 연구
Sato Noriko	일본	큐슈대학 교수	임업경제, 생산성 연구
Xu Zhen Shang	중국	상해 식용균연구소	팽이 육종연구
Kazuhiro Miyazaki	일본	큐슈 산림업연구소	버섯해균 연구
이 재 동	한국	부산대학교 교수	동아시아 버섯학회 한국측대표
이 영 식	한국	강원도산림개발연구원 원장	강원도 산림개발원 총괄
최 중 운	한국	" 농학박사	임산버섯연구(개암버섯 개발중
김 희 규	한국	" 녹지연구사	생물공학기술연구
손 의 섭	한국	한국마그너스(주) 회장	표고 균사체 기능성물질이용
김 병 각	한국	서울대 명예교수	영지 기능성 연구
박 원 철	한국	국립산림과학원 연구관	임산버섯 연구
박 승 규	한국	그린피스농장 전무	대규모 버섯재배
이 창 윤	한국	그린피스 연구실장	팽이, 새송이, 만가닥 연구
김 광 상	한국	장흥군 버섯연구소 소장	연구소 총괄
김 경 제	한국	" 이학박사	생물공학 연구
반 승 언	한국	" 연구원	버섯 육종
이 윤 혜	한국	경기 버섯연구소 이학박사	버섯재배환경연구
장 명 준	한국	" 연구원	"
김 성 환	한국	단국대학교 미생물학 교수	버섯 생리생화학, 분자생물학연구
정 종 천	한국	농진청 응용미생물과 연구사	버섯 재배기질, 액체배양 연구
이 창 수	한국	건국대학교 교수	버섯 분자생물학 연구
이 중 수	한국	배재대학교 교수	버섯 기능성 연구
차 재 순	한국	충북대학교 교수	버섯 형질전환 연구
조 우 식	한국	경북 농업기술원 연구사	버섯자원 및 재배법 개발
김 두 경	한국	한국 마시몽 사장	버섯 가공업체 대표

제 8 장 참고문헌

- Badham, E. R. 1991. Growth and competition between *Lentinus edodes* and *Trichoderma hazianum* on sawdust substrates. *Mycologia* 83, 455-463.
- Chang, S.T. and Miles, P.G. 2004. Mushrooms. Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. CRC Press. 451p.
- Chiu, S.W., Ma, A.M., Lin, F.C., and Moore, D. 1996. Genetic homogeneity of cultivated strains of shiitake (*Lentinula edodes*) used in China as revealed by the polymerase chain reaction. *Mycol. Res.* 100: 1393-1399.
- Couto, S. R. and Herrer, J. L. T. 2006. Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. *Biotechnol. Advances.* 24, 500-513.
- Hankin, L. and Anagnostakis, S. L. 1977. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect Cx cellulase activity of microorganisms. *J. Gen. Microbiol.* 98:109-115.
- Hibbett, D. S., Y. Fukumasa-Nakai, A. Tsuneda and M. J. Donoghue. 1995. Phylogenetic diversity in shiitake inferred from nuclear ribosomal DNA sequence. *Mycologia* 87: 618-638.
- Hyun, M. W., Yoon, J. H., Park, W. H. and Kim, S. H. 2006. Detection of cellulolytic activity in *Ophiostoma* and *Leptographium* species by chromogenic reaction. *Mycobiology* 34, 108-110.
- Ishikawa, H., Nagao, M., Oki, T. and Goto, M. 1980. Physiological changes in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. mycelia induced by *Trichoderma* metabolites. *Reports of the Tottori Mycological Institute* 18, 205-216.
- Kawamura, N., Nakamura, Y. and Goto, M. 1980. Relationship between resistance of *Lentinus edodes* to *Hypocrea muroiana* and components

- of culture media. *Reports of the Tottori Mycological Institute* 18, 205–216.
- Kwan, H., Chiu, S., Pang, K. and Cheng, S. 1992. Strain typing in *Lentinula edodes* by polymerase chain reaction. *Exp. Mycol.* 16: 163–166.
- Leatham, G. F. 1985. Extracellular enzymes produced by the cultivated mushroom, *Lentinus edodes* during degradation of a lignocellulosic medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:859–867.
- Lee, S. T. and Lee, J. J. 1997. Insoluble dye substrate for screening and assay of xylan-degrading enzymes. *J. Microbiol. Methods* 29:1–5.
- Lee, T. S., W. C. Bak, H. D. Kang, S. K. Kim, B. H. Byun, C. K. Yi, W. K.
- Lee and D. S. Min. 1997. Classification of Korean *Lentinula edodes* strains by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *Kor. J. Mycology* 25: 219–225.
- Matsumoto, T. and Fukumasa–Nakai, Y. 1993. Mitochondrial DNA polymorphism and inheritance in *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* 31: 153–161.
- Matsumoto, T., Terashima, K. and Hasebe, K. 2003. Strain typing in cultivated strains of shiitake (*Lentinula edodes*) in Japan by AFLP analysis. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 41: 20–25.
- Park, W.M., Ko, H.G., Park, R.J., Hong, K.S. and Kim, G.H. 1997. Differentiation of *Lentinus edodes* isolates in Korea by isozyme polymorphism and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Kor. J. Mycol.* 25: 176–190.
- Royse, D.J. and Nicholson, M.S. 1993. Allozymes, ribosomal DNA and breeding in *Lentinula*. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* 31: 162–167.
- Terashima, K. and Matsumoto, T. 2004. Strain typing of shiitake (*Lentinula edodes*) cultivars by AFLP analysis, focusing on a heat-dried fruiting body. *Mycoscience* 45: 79–82.

Terashima, K., Matsumoto, T., Hasebe, K. and Fukumasa-Nakai, Y. 2002a. Genetic diversity and strain-typing in cultivated strains of *Lentinula edodes* (the shiitake mushroom) in Japan by AFLP analysis. *Mycol. Res.* 106: 34-39.

Terashima, K., Matsumoto, T., Hayashi, E. and Fukumasa-Nakai, Y. 2002b. A genetic linkage map of *Lentinula edodes* (shiitake) based on AFLP markers. *Mycol. Res.* 106: 911-917.

Tokimoto, K. and Komatsu, M. 1979. Effect of carbon and nitrogen sources in media on the hypha interference between *Lentinus edodes* and some species of *Trichoderma*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 45, 261-264.

Toyomasu, T. and Zennyoz, A. 1981. On the application of isoenzyme electrophoresis to identification of strains in *Lentinus edodes* (Shiitake). *Mushroom Science* 11(2): 675-684.

Yoon, J. H., Hong, S. B, Ko S. J. and Kim, S. H. 2007. Detection of extracellular enzyme activity in *Penicillium* using chromogenic media. *Mycobiology* 35, 166-169.

Yoon, J. H., Park, J. E., Suh, D. Y., Hong, S. B., Ko, S. J. and Kim, S. H. 2007. Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulase in fungi. *Mycobiology* 35:21-24.

김돌이, 박원철. 2001. 계방산, 오대산 및 지리산 야생 표고균주의 유전적 변이. *한국균학회지* 29: 99-103.

김응래, 이준삼, 황계성. 1980. 표고의 각 계통별 발생량과 생태적 및 형태적 특징에 관한 연구. *한국균학회지* 8: 33-43.

이문호, 김용율. 2005. 공무국의 출장보고서 : 제9차 BMT 회의 참가보고서. 국립산림과학원.

유창현. 2003. 한국 버섯산업의 발전사. *한국버섯학회지* 1: 1-8.

유영복, 공원식, 오세중, 정종천, 장갑열, 전창성. 2005. 버섯과학과 버섯산업의 동향. *한국버섯학회지* 3: 1-23.

성재모, 유영복, 차동철. 2000. 버섯학 pp. 141-143

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.