

GOVP1199908609

635.8
L293 I

최 종
연구보고서

표고 품종 개량에 관한 연구

Studies on the improvement of
Lentinus edodes strains

임협중앙회 임산미생물사업소

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “표고 품종 개량에 관한 연구”과제의 최종보고서로 제출합니다

1998. 12. .

주관연구기관명 : 임협중앙회

임산미생물사업소

총괄연구책임자 : 홍 기 성

연구 원 : 안 광 문

장 환 용

김 찬 래

김 성 회

고 한 규

협동연구책임자 : 박 원 목

연구 원 : 편 철 우

김 규 현

요 약 문

I. 제 목

표고 품종 개량에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

본 연구는 농가의 주요한 소득원으로 자리잡아 가고 있는 표고의 우량품종을 개발하여 재배 농가에 보급함으로써 소득을 증대시키고 더 나아가 표고의 품질을 높여 수출을 증대시키기 위하여 수행되었다.

본 연구에서는 ① 품질과 생산성이 우수한 새로운 원목재배용 신품종의 개발로 국내의 표고 산업을 보호하고 무분별하게 불법 도입된 외국종균의 난립을 억제하고자 한다. 또한 ② 우리 나라의 기후 환경에 맞는 고유한 품종을 개발하고, 나아가 지역별로 특성화될 수 있는 품종을 개발하여 기후와 지리적 특성을 최대한 이용한 고품질의 버섯을 생산할 수 있도록 하고, ③ 새로운 품종의 개발과 아울러 보다 우수하고 활력있는 종균을 배양하고자 표고균의 생리적인 특성 및 배양적인 특성을 규명하여 종균배양의 기초를 정립시키고자 하였다.

본 연구의 궁극적인 목표는 표고 재배에 있어서 무엇보다도 중요한 새로운 품종의 개발과 우수한 종균의 생산기술을 정립시킴으로써 표고 재배농가의 수익을 높이고 나아가 농업분야의 국가경쟁력을 제고시키고자 하는 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구에서는 표고의 신품종개발을 위하여 국내에 자생하고 있는 표고를 채집하여 순수분리한 야생 표고 균주와, 국내에서 재배되고 있는 품종 등을 수집하여 연구를 수행하였으며, 육종방법으로는 선발육종과 교잡육종을 실시하였다.

선발육종은 실내실험을 통해 선발된 균주에 대해 톱밥재배 및 원목재배를 실시하여 균사의 발육상태와 부후력, 버섯생산량 등에 중점을 두고 우수한 품종을 선발하였다. 또한 교배육종을 통해 얻어진 균주에 대해서는 균사의 생리특성을 조사하여 우수한 균주를 선발한 후 톱밥재배를 실시하여 톱밥배지 상에서의 배양 특성 및 버섯생산량을 조사하였다.

본 연구에서는 품종의 개발과 아울러 활력이 좋고 우수한 종균을 배양하고자 종균배양시험을 실시하였다. 종균배양의 기초연구로서 영양원 첨가 효과 및 재배 기질의 혼합비율에 따른 균사의 생장 및 후속도를 조사하였다

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 표고 품종개발 연구결과

가. 선발 육종

표고 품종 개발 연구의 유전 자원 확보를 위하여 수집한 균주의 총 수량은 95 균주였다. 수집된 균주를 수집내역별로 보면 국내에서 자생하는 야생의 버섯에서 분리한 것이 15균주(W), 국내 재배농가에서 재배하고 있는 버섯에서 분리한 균주가 38균주(C), 임협 임산미생물사업소에서 보관중인 균주가 28균주(CH, H)였으며, 대조구로서 임협1호 등을 포함한 등록품종이 14균주(Co)였다.

수집된 균주는 순수분리 및 동정유 하였고, 대치배양을 통해 균주간의 대치선 형성유무로 이, 동종인지의 여부를 식별하였으며, 대치배양결과 이종으로 판별된 63개 균주를 고정하여 보관하였다.

수집된 균주 중에서 대치배양을 통해 이종인 것으로 판별된 63균주에 대해서는 동위효소분석법(Isozyme Analysis Method)과 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)기법을 이용하여 계통분석을 실시하였다.

Isozyme 분석에 의한 계통분석은 Esterase, Acid phosphatase, Peroxidase 등 3가지 동위효소의 밴드양상을 분석하기 위하여 전기영동을 실시하였는데 그 결과 63개 균주들이 최종적으로 5개 집단으로 나누어졌으며 세부적으로는 10개의 집단으로 다시 구분할 수 있었다.

63균주에 대한 RAPD분석 결과, 크게 5개의 집단으로 나누어 졌다. 여러종류의 Primer를 사용하여 나타나는 밴드의 양상을 조사하였는데 그 중에서 Operon 03, 18, 19의 세종류의 Primer가 표고의 유전분석에 용이한 특이 Primer임이 밝혀졌다.

63개 균주에 대해서 온도별 균사생장율을 조사한 결과 25℃에서 배양한 것이 가장 양호한 것으로 나타났으며 평균 균사신장길이가 33.1-37.2mm였으며 천체균주의 40%가 포함되었다. 28℃에서는 29.1-33.0mm 균사신장길이 범위에 33%의 균

주가 포함되었고, 20℃에서는 25.1~29.0mm 군사신장길이 범위에 46%의 군주가 포함되어 제일 군사생장이 불량한 것으로 나타났다.

63군주에 대해 리그닌 분해력을 조사한 결과 발생한 발육면적은 최고 높은 경우 43.8mm²까지 나타났으며, 대부분의 군주가 25mm²전후의 군사생장을 보였다.

톱밥배지상에서의 군사발육을 조사한 결과 평균 군사 발육이 6그룹으로 신장치가 나누어졌고, 3.12 ~ 3.33mm범위에는 22개 군주로 가장 많은 수가 포함되었고, 군주간 발육 신장치 폭이 평균 1.06mm로 나타났다.

톱밥배지에서의 발이특성을 조사한 결과 10±5℃의 변온 처리에서 용기현상과 시원체 형성은 대체적으로 낮은 빈도수를 보여 주었으며, 15±5℃의 경우, 용기현상 및 시원체, 자실체 형성이 두드러지는 경향을 볼 수 있었다. 이를 통해 10±5℃에서 용기 및 자실체가 형성되는 군주들은 저온성 품종이라 생각되며, 15±5℃에서의 자실체발이는 중온성 품종, 20±5℃의 변온처리시 자실체 발이는 고온성 품종으로 사료된다. 대조군주 중 Co5, Co8, Co9, Co14는 대부분 저온성 품종의 버섯이므로 10±5℃의 변온처리시 시원체 형성을 위한 자극을 주어 발이가 유도되었다. 하지만 시험군주는 대부분 중온성 품종과 고온성 품종의 비율이 높았다. 또한 배지의 갈변현상과 자실체의 발이 및 발생량과의 상관관계가 없는 것으로 나타났다.

지역별 온도분포를 조사한 결과 남부지방의 온도가 중부지방에 비하여 겨울 최저 온도가 2℃정도 높고, 반대로 여름 최고기온의 경우 중부지방이 2℃정도 낮은 것으로 조사되었는데, 이것은 앞에서도 언급한 바와 같이 그 지역에 적합한 품종을 선택하는데 가장 중요한 지표가 된다.

한편 지역별 재배품종을 조사한 결과 중부지방에서는 전체 재배량의 60%정도가 고온성 품종이었으며, 그밖에 저온성, 중온성의 순으로 반면에 남부지방에서는 저온성 품종이 평균 50%정도 재배되어 저온성 품종을 가장 많이 재배하는 것으로 조사되었으며, 지역에 따라 차이는 있지만 고온성과 중온성은 비슷한 비율로 각각 25%정도 재배되고 있는 것으로 나타났다.

실내시험을 거쳐 선발된 품종에 대해 지역적용 품종을 선발하기 위하여 지역실연시험을 실시하고자 재배실연지를 선정하였다. 재배실연지는 제주도를 제외한 전국 8도에서 비교적 버섯재배가 많이 행해지고 있는 곳을 한 곳씩 선택하였으며, 제주도와 온도가 가장 비슷하다고 생각되는 전남에서는 두 곳을 선정하였다. 선정된 지역 중 경남울산, 전북완주, 전남장흥, 전남곡성 등 네 곳은 연평균기온이 13℃내

되었다. 연평균기온이 낮은 곳으로는 경기여주, 강원홍천 등 두 곳이었는데 연평균기온이 10℃내외였다. 그 밖에 충북영동, 충남공주, 경북상주 등 세 곳은 연평균기온이 중간정도의 기온을 보이며 대체로 11℃에서 12℃의 범위내에 있었다.

원목재배 실연시험을 위한 품종은 기후조건을 먼저 고려하여 연평균기온이 높고 연중 최저기온이 비교적 높은 곳에는 저온성품종과 중온성품종을 위주로 집중하였고, 연평균기온이 낮고 연중 최고기온이 비교적 낮은 지역에는 주로 고온성 품종을 집중하는 등 기후조건에 맞는 품종을 선별하여 집중하였다. 공시목으로는 표고재배 자목으로 농가에서 선호하는 나무에 따라 참나무류 중에서 선별하여 사용하였으며, 집중기간은 1997. 3. 28 ~ 4. 30일 동안 참나무 8,000본을 시험집중하였다. 시험균주수는 18개 균주로 고온성 8 품종, 중온성 4 품종, 저온성 6 품종의 성형준균을 실연재배자의 관행적 방법으로 집중하였다.

균사활착율을 조사한 결과 모두 97%이상의 양호한 활착율을 나타내었으며, 지역별, 품종별 활착율의 차이는 보이지 않았다.

각 지역별 집중 3개월 후의 표면만연율을 조사한 결과 지역별로는 큰 차이가 없는 것으로 나타났지만 경기여주의 저온성과 중온성의 표면만연율은 남부지방에 비하여 상대적으로 낮았으며, 품종별로는 남부지방에서 집중한 중온성의 만연율이 37.7%로 가장 우수한 것으로 나타났다.

집중 6개월 후의 균사속도를 조사한 결과 표면만연율이 우수했던 중온성 품종이 속도율 또한 우수한 것으로 나타났으며, 고온성 품종의 속도율은 표면만연율에 비해 높은 것으로 나타났다.

지역별 재배실연시험 결과 1998년 1년간의 버섯생산량은 품종별로 고온성이 310.9g으로 가장 많은 생산량을 보였으며, 중온성이 297.9g, 저온성이 263.8g 생산되어 품종별로 생산량의 차이가 있음을 보였다. 지역별 생산량의 차이를 조사한 결과 고온성 품종의 경우 충남공주지역이 329.1g으로 가장 많은 생산량을 보였고 경기여주의 경우에는 304.0g으로 가장 적은 생산량을 보였다. 저온성 품종의 버섯발생량은 경기여주에서는 243.7g인데 반해 전남장흥은 277.2g의 버섯이 생산되어 약 34g정도의 버섯이 더 생산되는 것으로 나타났다.

균주별 생산량을 살펴보면 고온성 품종 가운데 가장 생산량이 많은 균주는 본당 347.7g의 버섯이 생산된 H4 균주였으며, H1 균주도 325.8g의 버섯이 생산되었

다. H4 균주의 경우 갓이 크고 다습한 환경에서도 비섯이 습도에 강해 우리 나라처럼 여름철이 고온다습한 기후에서도 고품질의 버섯을 생산할 수 있고, 안개가 많은 지역 등에서도 품질에 문제가 적기 때문에 지역적응성이 매우 높은 품종이라 사료된다. H1 균주는 대가 짧은 특징이 있고 산간이나 분지지형 등 일교차가 큰 지역에서는 아주 고품질의 버섯을 생산할 수 있을 것이라 사료된다. 특히 이 두 균주는 대조균주인 H8 균주보다 생산성이 우수한 것으로 나타나 앞으로 계속적인 조사 결과를 종합하여 신품종으로 등록할 수 있을 것으로 사료된다.

중온성 품종 중에는 대조균주인 M4 균주가 315.4g의 버섯이 생산되어 가장 우수한 것으로 나타났으며, 시험 균주인 M1 균주의 경우에는 305.8g의 버섯이 생산되었다. 저온성 품종의 경우에도 대조균주인 L5 균주가 290.8g이 생산되어 가장 우수하였으며, 시험균주 중에는 L2 균주가 275.8g으로 우수하였다.

나. 교배 육종

전국 각지 및 임산미생물사업소에서 '97년도에 종균을 접종하여 재배실연 중에 있는 버섯나무에서 발생한 자실체 중에서 품종육성 목적에 적합한 유전형질이 발현된 자실체 및 단포자를 수집하여 시험재료로 사용하였다.

교배육종을 위하여 수집된 자실체는 고온성 25개를 비롯하여 중온성 계통이 16개, 저온성이 18개 였고, 각각의 자실체에서 50개 정도의 단포자를 분리하여 배양실험을 실시한 결과 활력이 우수한 110개의 1핵 균사 균주를 선발할 수 있었다.

균사생장 및 배양특성을 조사하여 선발된 1핵 균사간에 균사융합을 실시하여 새로운 신품종을 육성하고자 단포자 분리를 통해 얻어진 110개의 1핵 균사간의 교배시험을 통해 1핵 균사간의 교배계를 검정하고 교배를 실시한 결과 27개(M01-M27)의 새로운 교잡균주를 얻을 수 있었다.

한편 1핵 균사와 자실체조직에서 분리된 2핵균사체와 상호교배를 실시하는 다이몬(Di-mon) 교배법을 이용하여 2핵 균사와 1핵 균사간의 교배를 실시하고 모균주와의 대치배양을 통해 18개(D01-D18)의 새로운 교잡균주를 얻을 수 있었다.

1핵 균사간의 교배와 다이몬교배법을 이용하여 새롭게 교배 육성된 45균주의 배양온도별 균사의 성장속도를 보면 25℃에서 균사의 생장이 가장 양호한 것으로 나타났다. 균사의 발육특성을 조사한 결과 선택은 짙은 백색에서 옅은 백색으로

다양하게 나타났으며, 균사의 치밀도를 보면 밀도가 높은 것이 7균주, 보통이 25, 낮은 것이 13개로 나타났다.

균사배양실험 결과 균사의 신장이 우수하면서 비교적 균사의 색택이 진하고, 균사의 치밀도가 높은 균주로는 1핵균사간의 교배에서 선발된 M04, M21 등 2균주와 다이몬 교배에 의하여 만들어진 D01, D03, D11, D18 등 6균주가 우수한 것으로 나타났다.

시험관에 톱밥을 충전한 후 배양한 결과 M04, D03 등은 대조구의 등록품종과 균사신장이 비슷한 것으로 나타났고, 다른 4균주 중에서 D18을 제외한 나머지 균주들의 균사신장도 비교적 우수한 것으로 나타났다.

교잡육종에 의해 선발된 균주에 대한 톱밥재배 실연 결과 대조품종인 C 1 균주가 15℃(10-20℃)에서 발생처리 했을 때 662g이 생산되어 가장 많은 생산량을 보였고, 교배육종에 의해 선발된 균주 중에서는 M04 균주가 525g의 버섯이 생산되어 가장 양호한 것으로 나타났다. 온도별로 발생처리를 하여 품종간의 발생량 차이를 조사한 결과 대체로 15℃에서 발생처리 하였을 때 가장 많은 버섯이 생산되는 것으로 나타났지만 대조품종의 C 2 균주는 10℃(5-15℃)에서 가장 많은 버섯이 생산되었다.

다. 종균 배양

본 연구에서는 버섯재배에서 씨앗의 역할을 하는 종균의 질을 높이기 위하여 종균배양에 필요한 재배기질의 개선을 위한 시험과 영양원을 첨가하여 균사의 활력을 높이기 위한 시험을 실시하였다.

총 18종의 탄소원 중 균사생장치 및 균사밀도를 측정한 결과 Maltose가 가장 우수한 균사생장 및 균사밀도를 보여 주었다. 유기질소원 중에서는 Serine이 가장 우수하였고, 10종의 무기질소원 중에서는 Ammonium nitrate에서 가장 우수한 균사 생장을 보였다. 무기염류에서 균사생장을 비교한 결과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 3.5g/l에서 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.02g/l에서 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.01g/l에서 $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.08g/l에서 균사 생장이 최대치를 보였다. Thiamine HCl 결과 100 μ g/l의 농도에서 균사 생장이 최대를 보였다.

종균배양의 재배기질을 개선하기 위한 시험에서는 참나무톱밥 80%+밀기울 20%에서 균사생장이 95.8mm로 가장 균사생장이 우수하였으며, 균사밀도면

에서는 생미강, 탈지강, 밀기울을 넣은 처리구가 매우 우수하였다. 종균 후속도와 시원체 형성에서는 참나무톱밥 80%+밀기울 20%가 가장 우수하게 평가되었고, 참나무톱밥 80%+생미강20%도 높게 평가되었다.

농가 부산물인 미강, 왕겨, 울무박, 사탕수수박, 코코넛박을 이용한 종균배양 시험 결과 사탕수수 100%에서 균사생장 및 균사밀도에서 우수한 성적을 보였고, 코코넛박 80% + 미강 20%에서 기존 참나무 톱밥보다 우수하였다. 이는 종균 제조 시 다른 재료를 이용할 수 있다는 가능성을 제시하여 주었다.

2. 결 론

가. 선발육종

본 시험을 수행하기 위하여 수집된 63균주에 대해서는 차후에도 자체계획을 수립하여 지속적인 톱밥 및 원목에서의 실연재배를 실시하여 우수한 균주를 선발할 계획이다. 또한 확보된 우수한 유전자원에 대해서는 지속적인 관리로 앞으로 교잡육종 등에 적극적으로 활용할 수 있을 것이라 사료된다.

우량균주를 선발하기 위하여 온도별 균사 발육을 조사하였고 실연재배를 실시한 결과 품종의 온도별 특성을 결정하는데 중요한 단서를 제공하는 지역별 적합한 품종을 선택할 수 있었으며 새로운 품종을 개발, 육성하는 데 기초자료로 활용할 수 있었다.

본 시험 결과 고온성 품종 중에서 대조구 보다 생산성이 우수하고 품질이 좋은 H1품종과 H4품종에 대해 99년도에 신품종으로 등록할 계획이며, 차후 본 사업소의 자체예산 및 계획으로 연구를 계속 추진하여 저온성 품종 및 중온성 품종에 대해서도 생산성 검정이 마무리 되는 대로 품종등록을 할 수 있을 것이라 사료된다.

나. 교잡 육종

현재 우리 나라의 표고재배는 원목재배가 대부분이고 톱밥재배는 거의 현실화 되어있지 못하다. 일본만 하더라도 톱밥재배가 많이 활성화되어 전체 생산량의 40%까지 이르고 있다. 우리 나라에서 톱밥재배가 활성화되지 못하는 이유는 재배기술이 정립되지 못했을 뿐만 아니라 톱밥재배용 품종이 많이 개발되지 않았기

때문이다. 본 연구에서는 교잡육종을 통해 얻어진 품종에 대해 톱밥배지에서 실
연시험을 실시하여 좋은 결과를 얻었으며 앞으로 계속 품종개발에 박차를 가해
생산성이 안정되고 품질이 우수한 톱밥재배용 품종을 개발할 예정이다.

또한 자연상태의 유전자원에는 한계가 있기 때문에 육종기술면에 있어서도 더
욱 다양하고 정밀한 기술을 개발하여 단순히 균주의 수집에 의한 선발육종에 그
치지 않고 야생균주의 우수한 형질을 집적시킨 초우량품종을 육성할 수 있도록
하기 위해 노력할 것이다.

다. 종균 배양

종균배양 시험결과로 얻어진 연구결과에 대해서 임산미생물사업소에서는 각종
영양원이 첨가된 배지에서 배양된 종균을 이용하여 원목재배 및 톱밥재배를 실시
할 계획이며, 그 결과 우수한 영양원으로 선발된 영양원에 대해서는 현실적인 여
건을 고려하여 가능한 실제 종균 생산에 참가할 계획이다. 또한 재배기질로 우수
하게 선발된 밀기울을 20% 첨가한 종균을 배양한 후 종균으로 이용하여 현재 톱
밥재배를 진행 중에 있으며 톱밥재배용 배지의 재료로도 미강 대신 밀기울을 혼
합하여 시험중에 있다. 그러나 국내에서는 밀의 생산량이 적고 밀기울의 가격도
미강보다 비싸며, 구하기도 쉽지 않기 때문에 수급에 있어서의 문제점을 고려해야
할 것으로 사료된다. 농가 부산물을 이용한 종균배양 실험결과에서도 사탕수수나
코코넛박을 주재료로 이용하였을 때가 참나무톱밥을 이용한 대조구보다 균사생장
및 균사밀도가 더 우수하였지만 재료를 대량으로 구하는 데는 어려움이 따를 것
으로 판단되므로 보다 쉽게 구할 수 있는 배지첨가물이나 배지재료를 계속해서
연구해야 할 것으로 사료된다.

3. 연구개발 결과 활용에 대한 건의

1998년 말에는 선진국을 중심으로 국제 식물 신제품 보호 연맹(UPOV)을 맺어
자국의 신제품에 대해 엄격하게 보호하는 협약을 맺고 있으며, 세계적으로 유전자
원 경쟁시대가 도래함에 따라 우리도 우리의 유전자원을 지키고 보호하기 위해서
우수한 유전자원에 대해서는 충분한 연구와 재배실연시험으로 생산성을 검증한
후 서둘러 품종으로 등록해야 할 필요가 절실하다.

새로운 품종을 육종하는 데에는 많은 시간과 노력, 자본이 필요하며 무엇보다도 우수한 인력과 노하우가 갖춰져야 한다. 현재 우리 나라에서는 대부분의 투자가 근시안적이어서 수익이 있는 사업에는 어떠한 투자와 노력도 아끼지 않으면서 모든 사업의 근간이 되는 기초과학분야에는 노력을 기울이고 있다. IMF경제체제 하에서 경쟁력을 갖추고 생존하는 기업들은 그만큼 연구개발분야에 투자를 많이 한 기업들이다. 벼식분야에서도 눈앞의 수익성만 볼 것이 아니라 품종의 개발과 같이 기초적이고 장기적인 투자가 필요한 분야에 더욱 정부지원과 투자를 늘려 나가야 할 것이다.

SUMMARY

I. Title

Studies on the improvement of *Lentinus edodes* strains

II. The Importance and objective of the study

This study was carried out to improve the good oak mushroom strains for increase in income from oak mushroom cultivation and further to enlarge export of the mushroom.

The objectives of this were as follows.

- ① Protection of domestic Oak mushroom industry from improper and illegal foreign-spawns of Oak mushroom by developing new strains with high quality and productivity for log-cultivation.
- ② Improvement of suitable strains for domestic environmental conditions.
- ③ Establishment of vital and superior spawn cultivation and Examination of physiological and cultural characteristics of its.

The final objectives of this study were to establish the techniques of spawn production, to develop new strains, to improve farmer's profit, and moreover to promote the national competition of mushroom industry in the agriculture.

III. The context and extent of the study

To search for new genetic sources of Oak mushroom, we collected wild and cultivated ones in the country. Breeding was practiced through selection and crossing. Selected isolates through the breeding in a vitro were cultivated in saw-dust and logs to investigated mycelial

growth, spawn running period and yield of fruiting body. Besides, the selected strains were tested in saw-dust.

Also, as basic research of spawn production the effect of additional substrates and mixture ratio of several agricultural wastes were investigated.

IV. The Results and suggestions of the study

Section 1. Selection Breeding

To secure the genetic sources for Oak mushroom, we collected 95 strains: 15(W) from domestic, 38(C) from growing mushroom in farms, 28(CH, H) from kept in Forestry Microbiology Center, and from 14 strains(Co) registered. The strains were examined by vegetative compatibility into pure and independent strains. That results showed 63 different strains.

We analyzed Isozyme method and Random amplified polymorphic DNA marker to assess genetic similarity among 63 strains. The used isozymes were Esterase, Acid phosphatase, and Peroxidase. 63 strains were divided into 5 groups and subdivided to 10 groups.

In the analysis of Random amplified polymorphic DNA patterns, 63 strains were classified into 5 groups. The amount of genetic variation was evaluated after polymerase chain reaction amplification with a set of 20 random 10-mer primers, Among the primers the specific ones of *L. edodes* DNA were operon 3, 18, and 19. The suitable temperature of mycelial growth was at 25°C for 40 percentages of 63 strains. The highest lignin degradation activity was of 43.8mm². Most of strains

degraded 25mm. At $15\pm 5^{\circ}\text{C}$ was most frequently observed bumping action and primordia of Oak mushroom. That results revealed temperature ranges for low, medium, or high-temperature strains.

We applied the vitro test results local log-cultivation. In 8 cultivation regions, annual mean temperatures were 13°C in Kyungnam-Ulsan, Jeonbuk-Wanju, Jeonnam-Janghung and Jeonnam-Koksung, $11\sim 12^{\circ}\text{C}$ in Chungbuk-Yongdong, Chungnam-kongju and Kyungbuk-Sangju, and 10°C in Kyonggi-Yoju and Kangwon-Hongchon. 8,000 oak logs were inoculated by a conventional method during March 28 to April 30 in 1997. Inoculated strains were high-temperature ones, 4 medium -temperature ones and 6 low-temperature ones.

The survivable rate of the inoculation in logs was almost 97%, and the rate was not different among regions and strains. After 3 months, medium-temperature strains from the south region grew better than others. The mushroom production of high-temperature strains was the best with 309.6g and the yield of the strain was the highest in Chungnam-Kongju with 327.9g. The mushroom of H4 strain had a bigger cap and higher quality than any other strains. H4 was durable in high humidities and temperatures during summer. H1 strain produced more mushroom than others but they had shorter stems. We think that the two strains can be registered as new strains for mushroom cultivation.

Section 2. Cross Breeding

Materials for cross breeding were single spores and fruiting bodies that had been inoculated in 1997 and harvested in spring in 1998.

That harvested samples were of high quality and quantity. Monocaryotic strains were isolated from the hyphae of the single spore that germinated on potato dextrose agar medium. Dicycaryotic strains were isolated from fruiting body tissue. Among the collected mono or di-caryotic strains, more vital mycelium was selected through its growth and log degrading rate. For this experiment 25 isolates were obtained from high-temperature strains, 16 isolates from mid-temperature ones and 18 isolates from low-temperature ones. Forty single spores were obtained from 50 mushrooms. Then, the vital 110 monocaryotic strains were selected. From mono-monocaryotic hyphae mating 27 new isolates(M01~M27) were obtained. In addition, from mono-dicycaryotic hyphae mating 18 new isolates(D01~D18) were collected. The 45 strains from mono-mono mating and mono-di mating were examined to determine the suitable temperatures for mycelial growth. The activity of mycelial growth was highest at 25°C. Seven strains formed very dense hyphae colonies. The 2 strains(M04, M21) obtained from mono-mono mating and the 4 strains(D01, D03, D11, D18) obtained from mono-di mating were excellent. We harvested the 662g with the control strain(C1) but 525g with M04 strain from saw-dust cultivation.

Section 3. Spawn cultivation

This study was for cultivating *L. edodes* spawn that is like seeds in crops. To improve the quality of the spawn we searched for the variable substrates and substrate additives. Among the 18 kinds of carbon sources, maltose produced the most favorable mycelial growth

and compactness. Among the 12 kinds of amino acids and 11 kinds of inorganic nitrogen sources, serine and ammonium nitrate best enhanced the mycelial extension. Also, the reasonable amounts for mycelial stimulation in the trace element was the 3.5g/liter of $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, the 0.02g/liter of $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, the 0.01g/liter of $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, and the 100 μ g/liter of thiamine \cdot HCl.

The effect of the addition of agricultural wastes on spawn production was studied. The treatment of oak saw-dust 80%+wheat bran 20% was proved to be best for mycelial growth to 95.8mm in test tube. Besides, the addition of rice bran, non-fat rice bran or wheat bran was observed that they the compactness of the mycelium was very dense. The spawn maturity and primordia production were highest when the mushroom was cultivated in oak saw-dust 80%+rice bran 20% substrate. Several agricultural wastes, especially rice bran, rice hull, coconut waste, job's tear and sugar cane bagasse, were tested as alternative substrates for spawn culture. The best substrate was sugar cane bagasse. And, coconut waste 80%+rice bran 20% was a very good alternative substrate. We conclude that sugar cane bagasse and coconut waste can be alternative substrates in spawn production.

CONTENTS

Chapter I. Introduction	1
Section 1. Background of the Research	1
Section 2. Purpose and Context of the Research	2
Chapter II. Selection Breeding	4
Section 2. Identification and Collection of Shiitake Isolates	4
§1. Collection of Shiitake Isolates	4
§2. Pure Culture and reservation	4
§3. Identification of Shiitake Isolates	10
Section 3. Analysis of Shiitake Strains	12
§1. Assay of Isozyme	12
§2. Assay of Random Amplified Polymorphic DNA	18
Section 4. Mycelial Activity Test	22
§1. Temperature Test	22
§2. Lignin degradation Test	24
Section 5. Saw-dust Cultivation	26
§1. Saw-dust Cultivation	26
§2. Fruiting Body	27
Section 6. Log Cultivation	31
§1. Cultural Environment Assay	31
§2. Cultural Region Assay	34
§3. Log degradation Assay	36
§4. Yield Assay	41
Section 7. Summary	45
Chapter III. Cross Breeding	48
Section 1. Introduction	48
Section 2. New Strains by Cross Breeding	48
§1. Strains Collection	48
§2. Mycelial Mating	50
Section 3. Mycelial Physiology	53
Section 4. Saw-dust Cultivation	54
§1. Saw-dust Cultivation	54

§ 2. Fruiting Body	55
Section 5. Summary	58
Chapter IV. Spawn Production	60
Section 1. Introduction	60
Section 2. Spawn Production	60
§ 1. Spawn Preparation	60
Section 3. Nutrition Selection	62
§ 1. Carbon Sources	62
§ 2. Organic Nitrogen Sources	63
§ 3. Inorganic Nitrogen Sources	64
§ 4. Trace Element	65
§ 5. Thiamine HCl	68
Section 4. Additives Selection	68
§ 1. Additives Test	68
§ 2. Substrate Test	70
Section 5. Summary	72
Chapter V. References	73

목 차

제 1 장 서 론	1
제 1 절 연구배경	1
제 2 절 연구목적 및 내용	2
제 2 장 선발 육종	4
제 1 절 서 론	4
제 2 절 균주 수집 및 분리 동정	4
1. 균주 수집	4
2. 순수 분리 및 보존	8
3. 균주 동정	10
제 3 절 품종 계통 분석	12
1. Isozyme 분석	12
2. Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD) 분석	18
제 4 절 군사 활력 조사	22
1. 온도별 배양	22
2. 목재 부후력조사 (효소 활성 특성조사)	24
제 5 절 톱밥 재배 실연	26
1. 톱밥 배지 배양	26
2. 실내 지실체 발이	27
제 6 절 원목재배 실연	31
1. 지역별 재배 환경 조사	31
2. 재배 실연지 선정	34
3. 버섯나무화 과정 조사	36
4. 버섯생산량 조사	41
제 7 절 요약	45
제 3 장 교배 육종	48
제 1 절 서 론	48
제 2 절 교잡육종에 의한 우량품종 육성	48
1. 균주 수집	48
2. 군사 교배	50
제 3 절 군사 생리 시험	53
제 4 절 톱밥 재배 실연	54
1. 톱밥 배지 배양	54

2. 실내 지실체 발이	55
제 5 절 요약	58
제 4 장 중균 배양	60
제 1 절 서론	60
제 2 절 중균 배양	60
1. 중균 세조	60
제 3 절 영양원 선발	62
1. 탄소원	62
2. 유기 질소원	63
3. 무기 질소원	64
4. 무기염류	65
5. Thiamine HCl	68
제 4 절 첨가제 선발	68
1. 첨가기질 시험	68
2. 배지 재료 선발	70
제 5 절 요약	72
제 5 장 참고문헌	73

제 1 장 서 론

제 1 절 연구배경

표고는 그 맛과 향이 뛰어나 예로부터 동양의 요리에 중요한 재료로서 이용되어 왔으며, 왕에게 진상되기도 하였다. 또 우수한 음식으로서의 뿐만 아니라 혈중 콜레스테롤치를 낮추고 항종양효과, 항바이러스 효과 등 의학적 가치가 입증되어 그 수요가 꾸준히 증가하고 있다. 따라서 일찍부터 표고의 인공재배가 시도되었으며, 표고의 수요와 가치가 증대되면서 재배기술 또한 나날이 발전되고 있다. 표고재배 농가에서는 단위 면적 당 생산성이 타 작목에 비해 높기 때문에 주요 소득원이 되었으며 버섯류 중에서 수출이 가장 많이 되는 품목이기도 하다.

이러한 표고의 생산성과 품질을 높이기 위해서는 재배기술의 발전과 더불어 우량품종의 개발이 절실히 요구되고 있다. 표고 우량품종 1개를 육성, 보급하면 재배농가에 연간 약 180억원의 수익증대효과를 가져오는 것으로 추산되며, 아울러 고품질 표고를 생산함으로써 표고의 국제경쟁력을 높여 수출을 증대시키고 상대적으로 수입을 줄일 수 있게 된다.

버섯 선진국인 일본은 버섯의 품종개발이 60여 년 전부터 표고를 주체로 하여 식용버섯 품종 개발에 전념하여 현재는 다수의 균류연구소, 종균배양소에서 종균의 품종 개발 시험 연구가 활발하게 수행되어 60여 개의 품종이 보급되고 있다. 따라서 표고재배 농가에서는 그 지역환경 및 재배경영 방식에 따른 표고 품종의 선택이 폭이 넓어 시장 경쟁력에 유리한 입지를 차지하고 있다.

현재 우리 나라에서 국가기관에 공식 등록된 표고 품종은 임업연구원에서 8종, 임협 임산미생물사업소에서 7종, 농업과학기술연구원에서 1종 등 모두 16종으로 일본 등 외국에 비해 수적인 면에서 월등히 적다. 또한 각 지역 특성에 맞게 품종 개발이 이루어지지 않았으므로 버섯품질과 생산량이 떨어지고 다양한 기후 환경에 적응 가능한 품종 계통의 세분화가 미비하여 일시에 버섯이 대량 출하되어 가격 폭락의 원인이 되고 있다. 또한 개발된 품종의 종류가 다양하지 못하여 재배자들의 다양한 욕구를 충족시키지 못하므로, 일부 농가에서는 국내에서 재배 실연을 거치지 않은 외국 종균을 도입하여 재배하였다가 피해를 보는 등의 사례가 빈번해 지고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 국내 표고 균주를 수집 및 계통을 분석하여 우량 균주를 선

발하고자 하며, 우량한 신품종을 보급함으로써 재배 농가의 소득을 높이고 외국산 표고의 국내 수입 및 소비 증가에 대응하고 국제 경쟁력을 강화함으로써 수출증대에 이바지하고자 한다.

최근 선진 30여개 국가가 참여하는 식물신품종 보호연맹(UPOV)의 협약으로 자국에서 개발한 신품종을 타국에서 무단으로 증식하거나 판매, 수출을 금지하고 손해배상을 청구할 수 있는 규정이 발효된 바 있다. 이러한 현실속에서 자국의 유전자원을 수집하고, 보호하는 역할은 매우 중요하며 W.T.O체제 출범 이후 국가간의 접경 없는 무한 경쟁 시대에 표고의 우량 품종 개발 보급으로 농산촌의 소득 증대에 기여하여 도농간 소득 격차를 줄임과 아울러 농촌인구의 안정적 정착 효과를 이룰 수 있을 것으로 전망된다.

제 2 절 연구목적 및 내용

본 연구는 농가의 주요한 소득원으로 자리잡아 가고 있는 표고의 우량품종을 개발하여 재배 농가에 보급함으로써 소득을 증대시키고 더 나아가 표고의 품질을 높여 수출을 증대시키기 위하여 수행되었다.

본 연구에서는 표고의 신품종개발을 위하여 국내에 자생하고 있는 표고를 채집하여 순수분리를 통한 야생 표고 균주와, 국내에서 재배되고 있는 품종 등을 수집하여 품종개발을 실시하였다.

우선 수집된 균주에 대해서는 분리와 동정을 거쳐 새로운 균주로서 1차 선발한 후 고정하여 보관하였다. 균주간의 계통검정은 Isozyme 분석 및 분자생물학적 RAPD분석의 방법을 이용하였다. 선발된 공시균주는 실내에서 균사의 생리 특성 검정시험을 통하여 균사의 신장속도, 균체량, 균사의 효소 활성화(리그닌) 등을 조사 하였고, 또한 균사의 발이 적응능력을 찾기위하여 발이 적응시험을 실내에서 톱밥배지, 한천배지상에서 인위적 환경을 조화시켜서 적응 실연으로 균주간의 발이 형성 유무, 특성을 탐색하였다.

그리고 실외에서 지역적응 실연을 위하여 표고의 생리특성에 적합한 지역을 찾기 위하여 기상환경(온도, 습도, 강우량, 일조량, 적산온도)를 조사하였고 표고 재배 지역별 접종량 및 품종별 종균 사용량을 조사하였다. 이러한 기초자료는 표고 원목재배 적응 실연지 선정, 지역별 적합품종의 선발 및 지역별 재배기술의

개발 등에 활용 가치가 높은 것으로 판단된다.

한편 우량 균주로 선발된 균주들의 단포자를 분리 육성하여 이들간의 교배 육종을 시도하였으며 새로이 교배된 균사의 생리적 특성 조사과 톱밥재배 실연을 통해 우량 교배균주를 얻을 수 있었다. 선발된 균주에 대해서는 톱밥재배를 실시하여 톱밥배지 상에서의 배양특성 및 버섯생산량을 조사하였다

또한 품종의 개발과 맞물려 활력이 좋고 우수한 종균을 배양하고자 종균배양 시험을 실시하여, 영양원 첨가 효과 및 재배기질의 혼합비율에 따른 균사의 생장 및 부후특성을 조사하였다.

본 연구의 궁극적인 목표는 표고 재배에 있어서 무엇보다도 중요한 품종의 개발과 우수한 종균 생산기술을 정립시킴으로서 표고 재배농가의 수익을 높이고 나아가 농업분야의 국가경쟁력을 제고시키고자 하는 것이다.

제 2 장 선발 육종

제 1 절 서 론

선발육종법은 국내의 표고 주산지로부터 우량종균을 수집하거나 자생하는 야생 표고를 채집하여 이들 균주에 대한 생산성 검정을 실시하여 우수 균주를 선발하는 육종법이다. 일반적으로 야생표고는 변이성이 높기 때문에 야생 균주를 도입하여 그 중 자실체의 형질 및 수확량이 우수한 균주를 신품종으로 선발하는 것이 매우 중요하다.

표고 품종의 개량 및 육종의 방법 중 가장 널리 이용되는 선발육종을 시행하기 위해서 먼저 국내에서 자생하는 고유의 야생 표고와 재배 표고를 수집하였다. 야생표고는 그 지역 자연환경에 맞는 품종으로 육성하기에 유리한 유전형질을 지니고 있으며 각 지방마다 과거 재배하였던 재배 표고도 지리적 차이의 다양한 환경조건에 적응된 버섯으로 자실체 모양과 크기의 차이를 나타내며 점진적으로 새로운 표고 품종으로 되어질 수 있는 가능성을 지니고 있다. 따라서 이러한 표고의 균주를 순수분리하여 수집 및 보관하는 것은 새로운 유전자원의 탐색과 우량 표고 품종의 개발에 중요한 소재가 될 수 있다. 각 지역에서 수집된 균주를 이용하여 과학적인 계통분석과 균사의 부후력을 조사하여 우수하게 평가된 균주로 실연 재배를 실시함으로써 지역별 특성화 품종을 육성할 수 있을 것이다.

제 2 절 균주 수집 및 분리 동정

1. 균주 수집

표고 품종 육종 개량의 유전 자원 확보를 위하여 국내 각 지역에 분포되어 있는 다양한 균주를 수집하였다. 공시 시험 시료로서 자연산의 야생 표고 균주(그림 2-1, 2-2) 및 재배 표고 균주<그림 2-3, 2-4>, 유전자원으로 보관중인 보존 균주 등 95개의 균주를 수집하여 연구를 수행하였다. 균주 수집 방법 및 지역별 수집량은 다음의 <표 2-1>에 나타낸 바와 같다.

자연산의 야생 표고를 채집하여 조직분리한 균주는 15개로 지역별로 보면 강원도에서 채집한 것이 6개, 경기도가 2개, 경상남도가 7개 등이었다. 국내 재배

버섯에서 분리한 균주는 총 38균주였는데 지역별로는 경기도 4개, 충청도 13개, 전라도 6개, 경상도 14개, 제주도 1개 등이었다. 지역별 재배균주의 기원은 대부분이 알려지지 않았지만 대개는 종균배양소에서 야생균주를 채집하여 보급한 것이거나, 외국에서 등록된 균주가 불법적으로 들어와 유통되는 것이라 사료된다. 본 사업소에서 기존에 수집하여 보관중이던 균주는 28개로 야생 채집 균주와 국내 재배균주들이다. 대조구로서 본 사업소에서 기등록한 7개 품종과 임업연구원과 농업과학기술원에서 등록한 바 있는 7개 품종을 분양받아 시험에 이용하였다.

가. 균주 수집 수량 : 총 95개 균주

1) 국내 야생 균주 : 15개 균주

- 강원도 : 평창 오대산(1), 인제 설악산(5)
- 경기도 : 가평 명지산(2)
- 경남 : 거제 북병산(3), 산청 지리산(4)

2) 국내 재배균주 : 38개 균주

- 경기도 : 김포(2), 포천(2)
- 충남·북 : 청원(2), 영동(3), 공주(5), 청양(3)
- 전남·북 : 김제(1), 함평(1), 보성(1), 곡성(1), 영암(2)
- 경남·북 : 대구(7), 군위(1), 포항(2), 김천(2), 밀양(2)
- 제주도 : 서귀포(1)

3) 기존 보유균주 : 28개 균주

- 임협중앙회 임산미생물 사업소 보존 균주

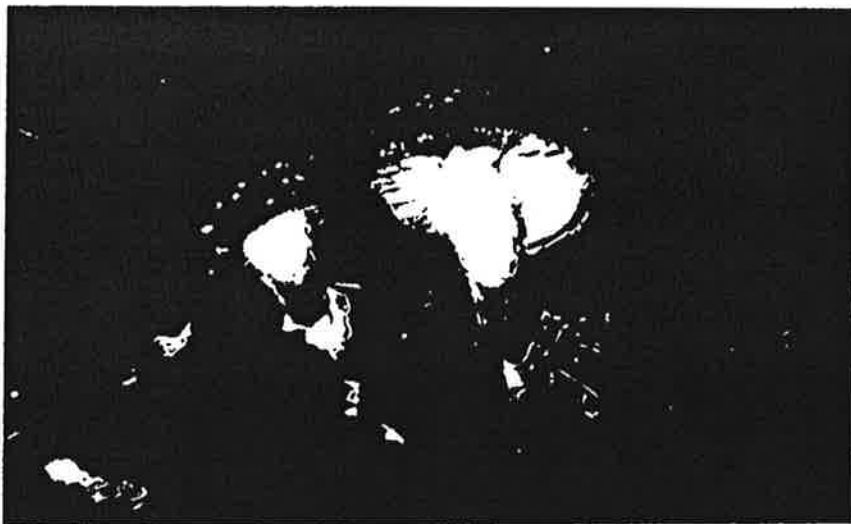
4) 대조구의 수집 균주 : 14개 균주

- 임협 등록품종 (Co1, Co2, Co3, Co4, Co5, Co6, Co7)
- 임업연구원 등록품종 (Co8, Co9, Co10, Co11, Co12, Co13)
- 농업과학원 등록품종 (Co14)

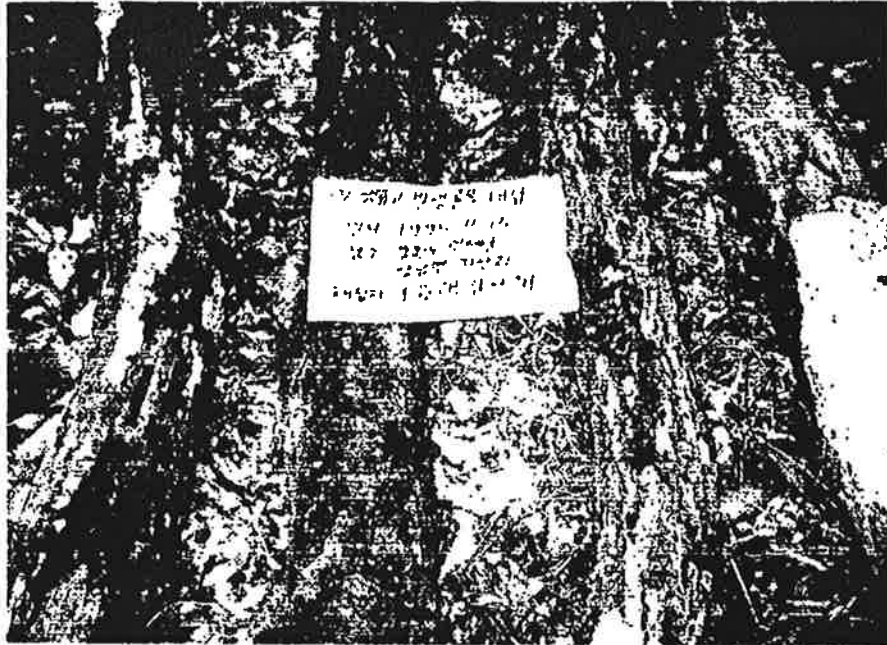
<표 2-1> 표고 균주 수집 내역

※ () 안은 수집균주수

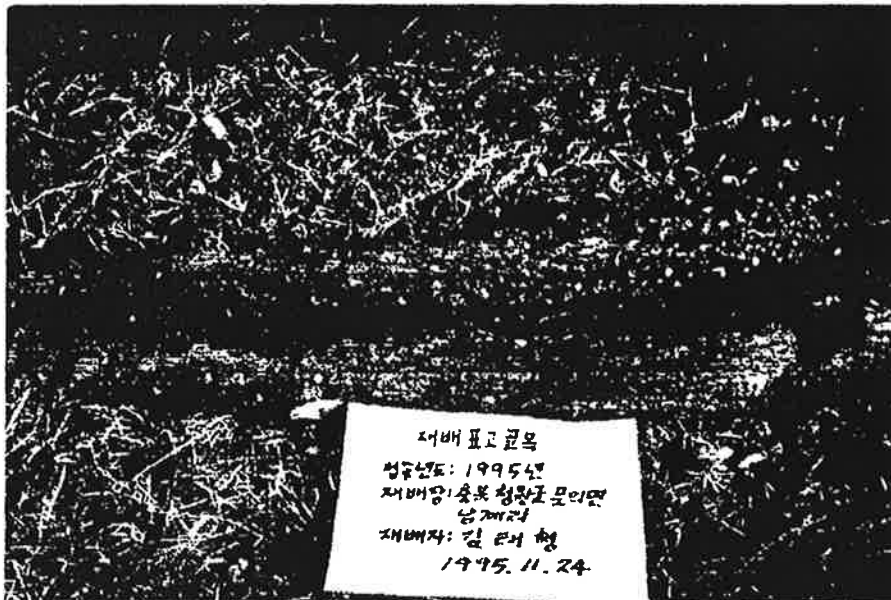
구 분	균주수	수 집 지 역	균주 번호	비 고
국 내 야생균주	15	강원도:평창 오대산(1), 인제 설악산(5) 경기도:가평 명지산 (2) 경남 :거제 북병산(3), 산청 지리산(4)	W0000	버섯나무, 자실체
국 내 재배균주	38	경기도:김포(2), 포천(2) 충남북:청원(2), 영동(3), 공주(5), 청양(3) 전남북:김제(1), 함평(1), 보성(1), 곡성(1), 영암(2) 경남북:대구(7), 군위(1), 포항(2), 김천(2), 밀양(2) 제주도:서귀포(1)	C0000	버섯나무, 자실체
보유균주	28	임산미생물 사업소 유전자원 보존균주 (28)	CH0000 H0000	분리균주
대조구의 수집균주	14	임협 기등록 품종 균주(7) 임업 연구원 분양 균주(6) 농업 과학원 분양 균주(1)	Co 00	분리균주
계	95			



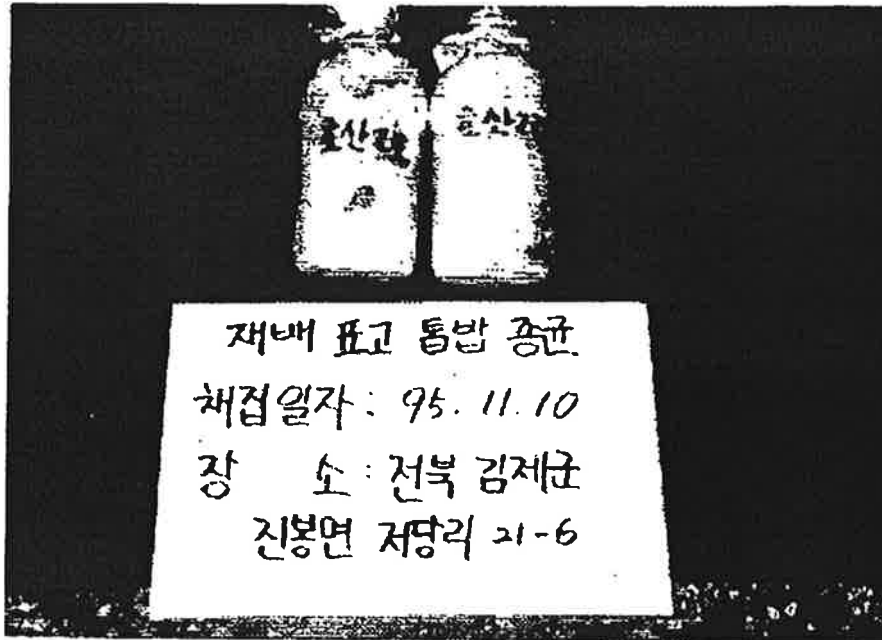
<그림 2-1> 야생 표고의 채집



<그림 2-2> 야생 표고 발생목의 채집



<그림 2-3> 저배표고 버섯나무 수집



<그림 2-4> 재배표고 톱밥종균 수집

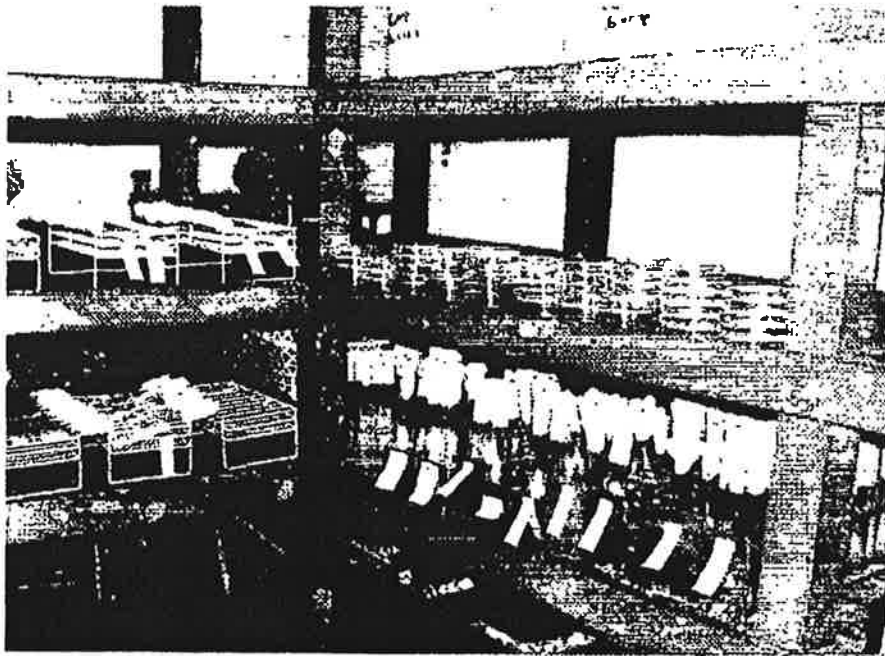
2. 순수 분리 및 보존

수집한 시료는 표고 균사만으로 순수하게 분리하기 위하여 무균실 크린벤취에서 준비된 소독 기구를 이용하여 배지에 이식하여 배양하였다. 균의 분리 및 순수배양을 위한 배지는 감자한천배지를 이용하였다.

감자한천배지는 인공조제되어 판매되는 것을 구입하여 사용하였다. 구입한 배지재료의 정량을 증탕으로 증류수에 녹여 배지를 조제하였다. 조제된 배지는 121℃에서 15분간 고압살균한 후 배지의 온도가 55-60℃정도가 될 때까지 식힌 다음 직경 90mm의 가스살균된 일회용 샤알레에 20ml씩 분주하여 굳힌 것을 사용하였다.

수집된 시료의 상태는 자실체, 재배 버섯나무, 재배 톱밥 균주, 인공배지 배양균주의 형태였다. 수집된 시료는 무균실에서 준비된 평판배지상에 자실체의 내부 조직 또는 균이 자란 기질의 조각, 배양된 균사 조각 등을 메스나 핀셋으로 떼어 내어 배지 상에 이식하여 배양하였다. 배양한 균사는 새로운 한천배지상에 다시

이식하여 배양하면서 균사배양상태의 육안관찰 및 현미경 검사를 실시한 후 순수한 표고 균사인 것만을 선별하였다. 순수분리된 균주는 채집지, 채집 연월일, 균주번호 등을 보존대장에 기록하여 각각의 균주에 일련번호를 부여하였으며, 시험관(24mm)에 사면으로 미리 준비해둔 감자한천배지에 이식하여 저온저장고에 보존하였다. 저온저장한 균주에 대해서는 3개월에 1회씩 계대배양을 실시하여 균사의 발육상태와 활력을 조사함으로써 균사의 안정성을 확인하고, 균사의 활력이 유지되도록 하였다(그림 2-5).



<그림 2-5> 수집된 균주의 보존 및 관리

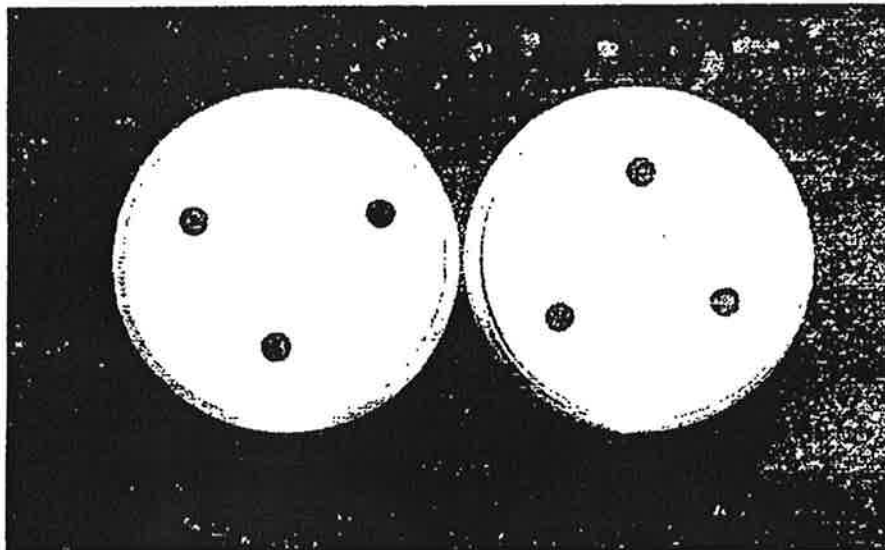
순수분리된 균주는 재실험에 이용할 경우 감자한천 평판배지상에서 실험 15일 전에 미리 접종하여 균사가 배지 표면적의 80%정도 자랐을 때 균사생장선단부를 직경 4mm의 cork borer를 이용하여 절취한 후 실험에 이용하였다. 톱밥재배나 원목재배를 위한 종균배지는 삼각플라스크에 톱밥과 미강을 4:1(W/W)의 비율로 혼합한 배지를 30%(V/V)정도 충전한 후 121℃에서 45분간 살균하여 사용하였다. 준비된 종균배지에 감자한천배지상에서 미리 배양된 균사조각을 접종한 후 약 30일간 배양하여 접종원으로 이용하였다. 대량의 종균을 접종할 경우에는 1,200cc

용량의 폴리프로필렌 재질의 종균병에 톱밥배지를 충전하고 톱밥배지에서 미리 배양해둔 접종원을 시약스폰으로 한스폰(약 3-5g)씩 접종하여 35일간 배양한 후 종균으로 사용하였다.

평판배지나 톱밥배지에서 배양하면서 균사발육상태의 육안검사 및 성능검사를 계속 실시하여 재검정이 필요한 경우는 현미경 하에서 표고균사의 형태적 특징과 clamp connection 형성 유무를 관찰 확인하였다.

3. 균주 동정

채집 및 수집한 표고 균주는 유전적으로 상이한 독립균주만을 찾아서 시험재료 사용하고자 하였다. 균주의 유전적 특성이 다른 계통인가를 알아보기 위해서 95개의 수집균주에 대해서 상호간 대치배양을 실시하였다. 대치배양은 균주간의 생리적인 차이를 이용하여 유사성을 판단하는 방법으로, 감자한천 평판배지 상에 약 1.5cm정도의 간격으로 확인하고자 하는 두 균주를 접종하여 배양하면서 균사의 융합여부를 관찰하여 같은 균주인지의 여부를 판단하는 것이다. 이 때 두 균주의 균사가 서로 융합되지 않고 뚜렷한 대치선이 형성되면 서로 다른 균주로 판단하고, 대치선이 형성되지 않고 두 균주의 균사가 서로 섞여 자라면 같은 균주로 판단한다(그림 2-6).



<그림 2-6> 수집균주에 대한 대치배양 시험

95개의 수집균주에 대해 상호간 대치배양을 실시한 결과 95개의 균주 중 32개의 균주는 반복 수집된 균주임이 판명되었고 최종적으로 63개의 계통이 다른 표고품종의 시료를 얻을 수 있었다. 32개의 균주 중 22개는 이미 국내에서 국가기관에 등록된 품종과 동일한 것으로 판명되었으며, 그 중에서는 야생 표고도 포함되었는데 그것은 표고버섯 재배농가에서 포자의 비산으로 근처 야산에서 발생되는 버섯인 것으로 추정된다. 그 밖에 10개의 균주는 상이한 지역에서 수집되었지만 같은 품종으로 확인되었다.

일부 균주 중에서는 과거 외국에서 입수된 표고종균으로 국내에 재배되면서 근처 야산으로 포자가 날아가거나 버섯 수확후 폐목처리시 표고균주가 전이되는 경우가 있었다. 이러한 균주는 국적이 불명하며 도래된 경위를 알 수가 없었다. 따라서 다른 계통으로 확인된 균주들 중에는 외국 균주들이 포함되어 있을 것으로 생각되었으나 그들에 대한 입수경위를 추적하기가 어려웠다.

대치배양을 실시한 결과 다른 계통으로 밝혀진 63균주에 대해서는 다음과 같이 일련번호를 부여하여 계통으로 고정하였다.

가. 국내 야생 균주 : 14개

W1001 W1002 W1003 W1004 W1005 W1006 W2001 W2002
W8001 W8003 W8004 W8005 W8006 W8007

나. 국내 재배 균주 : 9개

C2002 C4002 C6003 C7002 C7003 C7005 C7006 C7007 C8001

다. 임산미생물사업소 보유 균주: 26개

H1001 H1002 H1003 H1004 H1006 H1007 H1009 H1010 H1011
H1012 H1013 H1014 H1015 H1016 H1017 H1018 H1019 CH1001
CH1002 CH1003 CH1004 CH1005 H1006 CH1007 No001 As001

라. 등록 균주(대조균주) : 14개

Co1 Co2 Co3 Co4 Co5 Co6 Co7 Co8 Co9 Co10 Co11 Co12 Co13
Co14

제 3 절 품종 계통 분석

1. Isozyme 분석

가. 재료 및 방법

공시 균주는 MYG액체배지(malt extract 5g, yeast extract 10g, glucose 5g, water 1 liter)를 이용하여 25℃에서 2주간 배양하였다. 배양 후 여과지를 이용하여 여과하고 증류수로 2-3회 세척하여 균사체를 준비하였다. 준비된 균사체에 0.1M Tris-HCl buffer(0.1M Tris, 2mM EDTA, pH 7.2)를 가하고 막자사발에 같은 후 4℃에서 15,000g로 30분간 원심분리한 다음 상등액을 취하여 전기영동을 실시하였다.

전기영동 gel은 6-26% porosity gradient polyacrylamide gel을 사용하였고 gel buffer와 tray buffer는 각각 0.25M Tris-HCl buffer (pH8.9)와 0.125M Tris-borate buffer (pH 8.9)를 사용하였다.

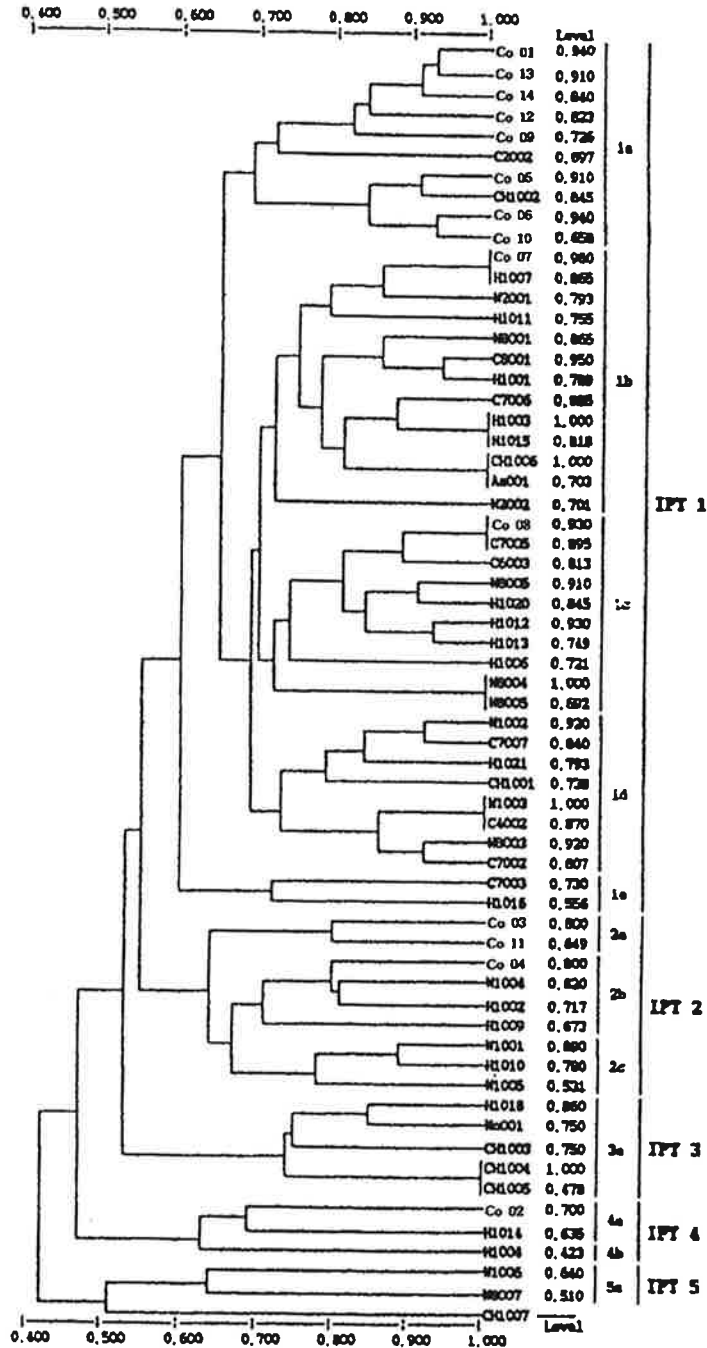
전기영동이 끝난 gel은 표고의 계통분석에 유효한 것으로 알려진 Esterase, Acid phosphatase, Peroxidase 등의 동위효소에 대한 염색기질을 이용하여 염색한 후 밴드양상을 분석하였다. Esterase 염색을 위하여 gel을 0.1M Tris-HCl buffer(pH 7.2)에 30분간 침지하였으며, 염색용액(α -naphthyl acetate 50mg, Fast blue RR salt 85mg, 0.1M Tris-HCl buffer pH 7.2 120ml)에 담고 35℃로 30분간 염색하였다. 염색이 완료된 gel은 5% acetic acid용액에 넣어 분석전까지 보관하였다. Acid phosphatase 염색은 gel을 5% acetate buffer (pH 4.5)에 30분간 침적후 염색용액(Fast Garnet GBC salt 70mg, α -naphthyl acid phosphate 80mg, 10% MgCl₂ 6ml, Acetate buffer pH 4.5 10ml)에 넣고 35℃ 암상태에서 30분간 염색하였다. Peroxidase의 염색은 gel을 증류수에 15분간 침지 후 0.03% H₂O₂ : benzidine soln : 증류수가 1 : 1 : 4로 혼합되어진 용액에서 암상태로 1~2분 동안 침지하여 염색하였다.

결과에 대한 분석은 band의 Rf 값을 구하고 이를 바탕으로 각 균주간의 유사도 지수를 구하여 D-matrix를 작성하고 Var Cluster Analysis Program에 의해 각 균주들의 계통을 분석하였다.

나. 동위효소 분석에 의한 계통식별

대치배양에 의해 다른 계통인 것으로 판명된 63개 균주에 대해 동위효소분석

을 실시한 결과 크게 5개의 계통으로 나누어지는 것을 볼 수 있었다. 분석결과를 이용하여 계통의 수행도를 그린 결과는 <그림 2-7>과 같다.



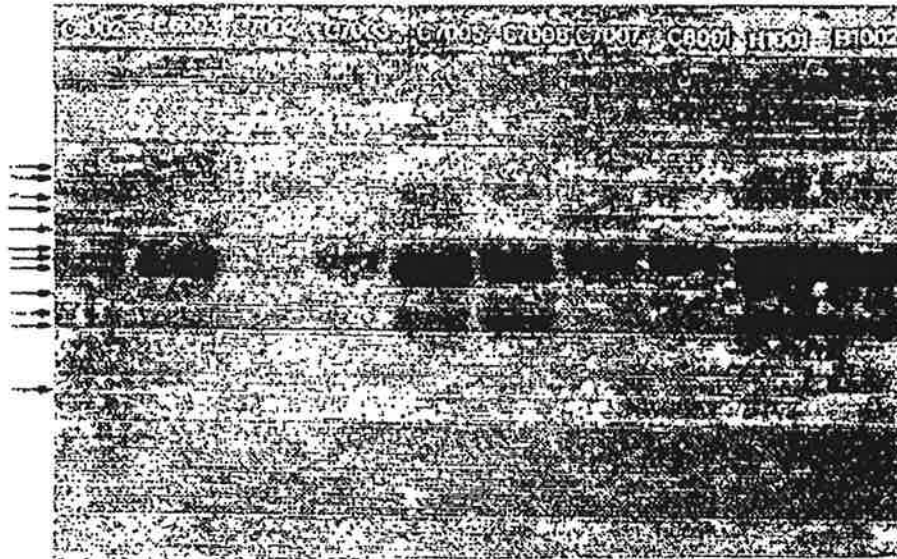
<그림 2-7> 동위효소 분석에 의한 63균주의 계통도

Esterase, Acid phosphatase, Peroxidase 등 세종류의 동위효소에 대해 각각의 염색기질을 이용하여 염색하였을 때 각기 다른 결과를 얻을 수 있었는데, 표고의 계통분석에는 Esterase가 가장 유효한 것으로 나타났다. 각 동위효소별 분석결과는 다음과 같다

(1) Esterase 결과

63개 균주에 대해 전기영동을 실시한 후 Esterase염색을 실시한 결과 아래에 나타낸 바와 같이 10개의 group으로 계통구분이 이루어 졌다. 1 group 에는 주로 대조구인 등록품종이 속해 특이하였고, 22균주가 2group에 속하는 것으로 나타나 가장 많은 수가 포함되었다. Esterase염색을 실시한 전기영동 양상은 <그림 2-8>과 같다.

- 1 group : 10균주
Co1, Co5, Co6, Co7, Co9, Co10 Co12, Co13, Co14, C2002
- 2 group : 22균주
Co8, W2001, W2002, W8001, W8004, W8005, W8006, C6003, C7005, C8001, H1001, C7006, H1003, H1006, H1007, H1011, H1012, H1013, H1015, H1020, CH1006, As001
- 3 group : 8균주
W1002, W1003, W8003, C4002, C7002, C7007, H1021, CH1001
- 4 group : 1균주
H1016
- 5 group : 2균주
Co3, Co11
- 6 group : 4균주
Co4, W1004, H1002, H1009
- 7 group : 3균주
W1001, W1005, H1010
- 8 group : 7균주
H1018, CH1002, CH1003, CH1004, CH1005, CH1007, No001
- 9 group : 4균주
Co3, Co11, W8007, H1014
- 10 group : 2균주
H1004, W1006



<그림 2-8> Esterase염색시 밴드 양상

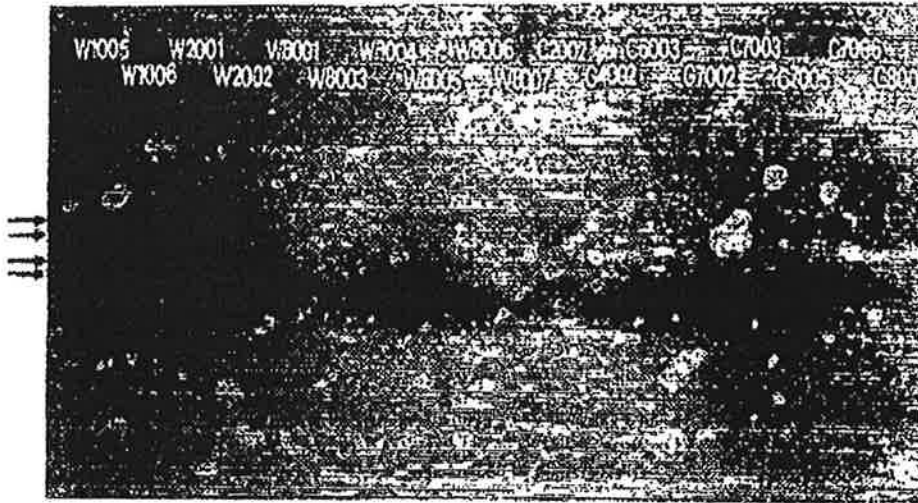
(2) Acid phosphatase 결과

Isozyme중 Acid phosphatase의 경우 전체 5개의 band가 관찰되었으며 3개의 group으로 분류되었다. 대부분은 1 group에 속하기 때문에 Acid phosphatase의 동위효소로는 품종의 계통을 구별하기 어려웠다. 3개의 group은 다음과 같다. <그림 2-9>에서는 Acid phosphatase염색 밴드양상을 보여주고 있다.

○ 1 group : 59관주

C01 C02 C03 C04 C05 C06 C07 C08 C09 C010 C011 C012 C013
 C014 W1001 W1002 W1003 W1004 W1005 W2001 W2002 W8001 W8003
 W8004 W8005 W8006 W8007 C4002 C6003 C7002 C7003 C7005 C7006
 C7007 C8001 H1001 H1002 H1003 H1006 H1007 H1009 H1010 H1011
 H1012 H1013 H1015 H1016 H1017 H1018 H1019 CH1001 CH1002
 CH1003 CH1004 CH1005 H1006 CH1007 N001 As001

- 2 group : 1군주
W1006
- 3 group : 3군주
C2002, H1004, H1014



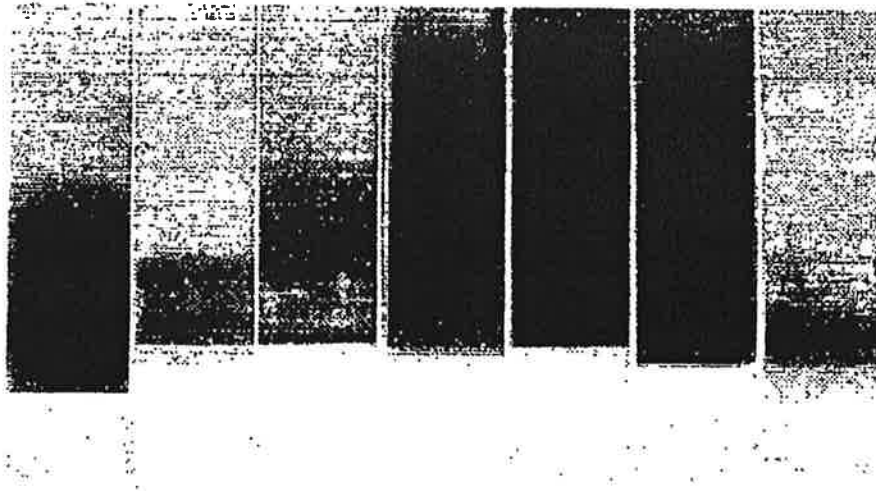
<그림 2-9> Acid phosphatase염색 밴드 양상

(3) Peroxidase 결과

Isozyme중 Peroxidase의 경우 전체 12개의 band가 관찰되었으며 7개의 group으로 구분되었다. 대부분 1 group에 포함되었고 Esterase band처럼 세분화된 다양성은 보이지 않았다. Peroxidase염색 밴드양상은 <그림 2-10>에 나타난 바와 같다.

- 1 group : 45군주
Co1 Co2 Co4 Co5 Co6 Co7 Co8 Co9 Co11 Co12 Co13 W1001
W1006 W2001 W8001 W8003 W8004 W8006 W8007 C2002
C4002 C6003 C7002 C7003 C7005 C7006 C7007 C8001 H1001
H1002 H1003 H1006 H1007 H1009 H1010 H1011 H1013 CH1001
CH1002 CH1003 CH1004 CH1005 H1006 CH1007 As001
- 2 group : 2군주
Co10, W1004

- 3 group : 2균주
W8005, H1012
- 4 group : 10균주
CO14, W1002, W1003, W1005, W2002, H1015, H1016, H1020
H1021, No001
- 5 group ; 1균주
H1004
- 6 group : 1균주
H1018
- 7 group : 1균주
H1014



<그림 2-10> Peroxidase 염색시 밴드 양상

2. Random Amplified Polymorphic DNA(RAPD) 분석

가. 재료 및 방법

공시 균주는 MYG액체배지(malt extract 5g, yeast extract 10g, glucose 5g, water 1 liter)를 이용하여 25℃에서 2주간 배양하였다. 배양 후 여과지를 이용하여 여과하고 증류수로 2-3회 세척하여 균사체를 준비하였다. DNA추출을 위해 lysis buffer(50mM Tri-HCl: pH 7.2, 50mM EDTA: pH 7.2, 3% sodium dodecyl sulfate, 1% 2-mercaptoethanol)로 마쇄한 후 초원심분리기로 여러차례 분리과정을 거쳐 DNA를 얻었으며 PCR의 최적조건을 밝혀내었고 20개의 primer 중 가장 band가 상이하게 나오는 primer를 이용하여 나온 자료로 Cluster analysis를 하였다.

(1) PCR 조건 및 전기영동

1~5ng의 DNA가 들어 있는 25 μ l solution에 1mM MgCl₂, 0.3M primer, 0.5 unit의 Taq DNA polymerase, 10 μ M의 dCTP, dGTP, dATP, dTTP, 100mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 160 μ g/ml BSA, 50% glycerol, 0.1% Triton X-100을 첨가하고 mineral oil 가했다. DNA 증폭을 위해 thermal cycler의 95℃에서 2분 동안 1cycle을 작동하게 하였고 94℃, 30 초 45cycle, 40℃에서 1분, 72℃에서 2분후 마지막으로 72℃에서 5분간 incubation하였으며 처리된 시료는 12.5 μ l을 1.4% agarose gel에서 전기영동하였다. EtBr로 염색하여 그들의 상이한 band 차이로 계통을 구별하였다.

(2) 특이 Primer의 선발

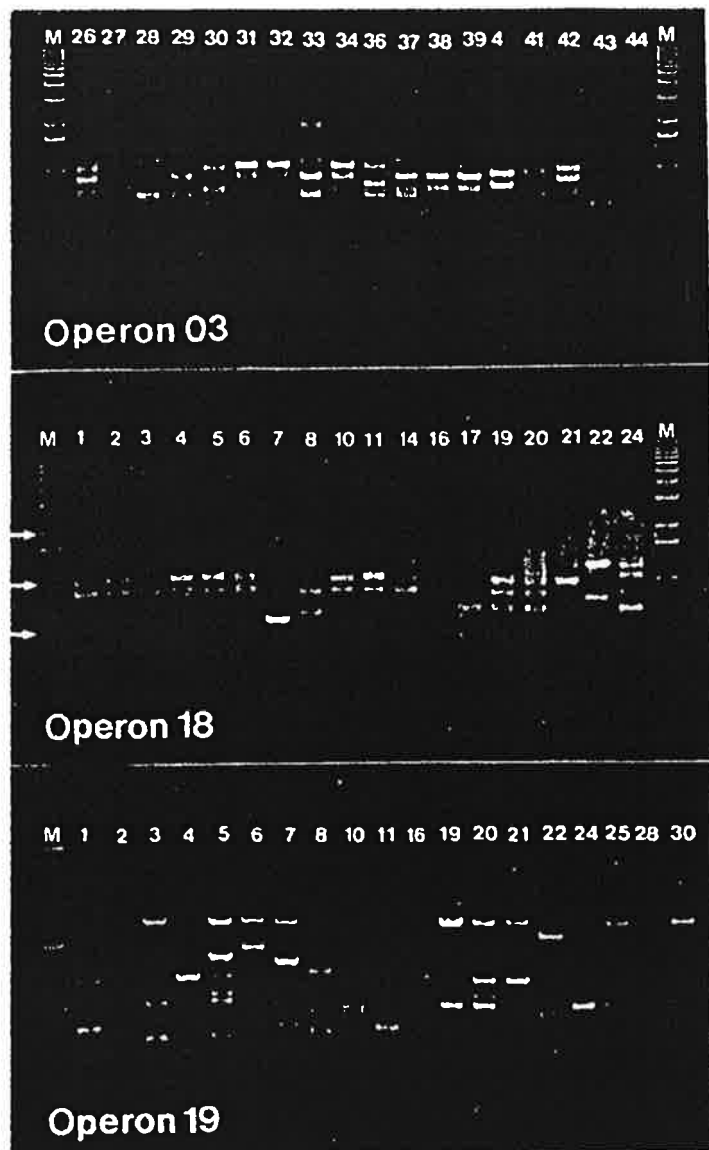
10개의 상이한 염기서열을 지니는 20종류 Primer중에서 3개의 Primer가 특이적으로 반응하였다. 그들의 염기서열은 다음과 같다.

OPA-03 : 염기서열 - 5'AGTCAGCCAC3'

OPA-18 : 염기서열 - 5'AGGTGACCGT3'

OPA-20 : 염기서열 - 5'GTTGCGATCC3'

선발된 3종류의 Primer를 이용한 전기영동 양상은 다음의 <그림 2-11>에 나타낸 바와 같다.



<그림 2-11> 3종류의 Primer를 이용한 DNA 전기영동상

(3) RAPD 분석 방법

상이한 band수와 동일한 band수의 차이로 계통을 분류하였는데 공식은 $N_{XY}/2(N_X+N_Y)$ 으로 N_{XY} 는 각 균주와의 조합을 통해서 일치하는 band수의 개수이며 N_X+N_Y 는 일치하지 않는 band수이다. 이들의 결과를 NTSYT-pc라는 컴퓨터 프로그램으로 자료를 입력하였고 그결과 균주간의 유사성 및 유연관계를 그림으로 나타내었다.

나. RAPD 결과

63개 균주에 대해 RAPD를 실시한 결과 크게 5개 group으로 계통분석을 할 수 있었다. Group별 균주수 및 속한 균주번호는 아래에 표시한 바와 같다. 5 group에는 국내 수집균주인 H1018 한 균주만이 속해 외국에서 도입된 품종일 가능성을 보여주었으며, 1 group에는 22개로 가장 많은 균주가 속하는 것을 알 수 있었다. 밴드양상을 분석하여 얻은 수형도는 <그림 2-12>에 나타낸 바와 같다.

(1) 1 group : 26균주

Co1, Co2, H1007, Co11, W1005, W1006, W8003, C4002, W8004, C6003, C7003, C7005, C7006, W2001, W2002, W8006, H1001, H1002, Co7, H1020, H1006, CH1003, W1004, W8001, C7007, H1012

(2) 2 group : 15균주

W8007, CH1001, C8001, H1021, H1013, H1016, H1014, CH1006, No001, As001, H1004, CH1002, CH1007, H1015, H1003

(3) 3 group : 11균주

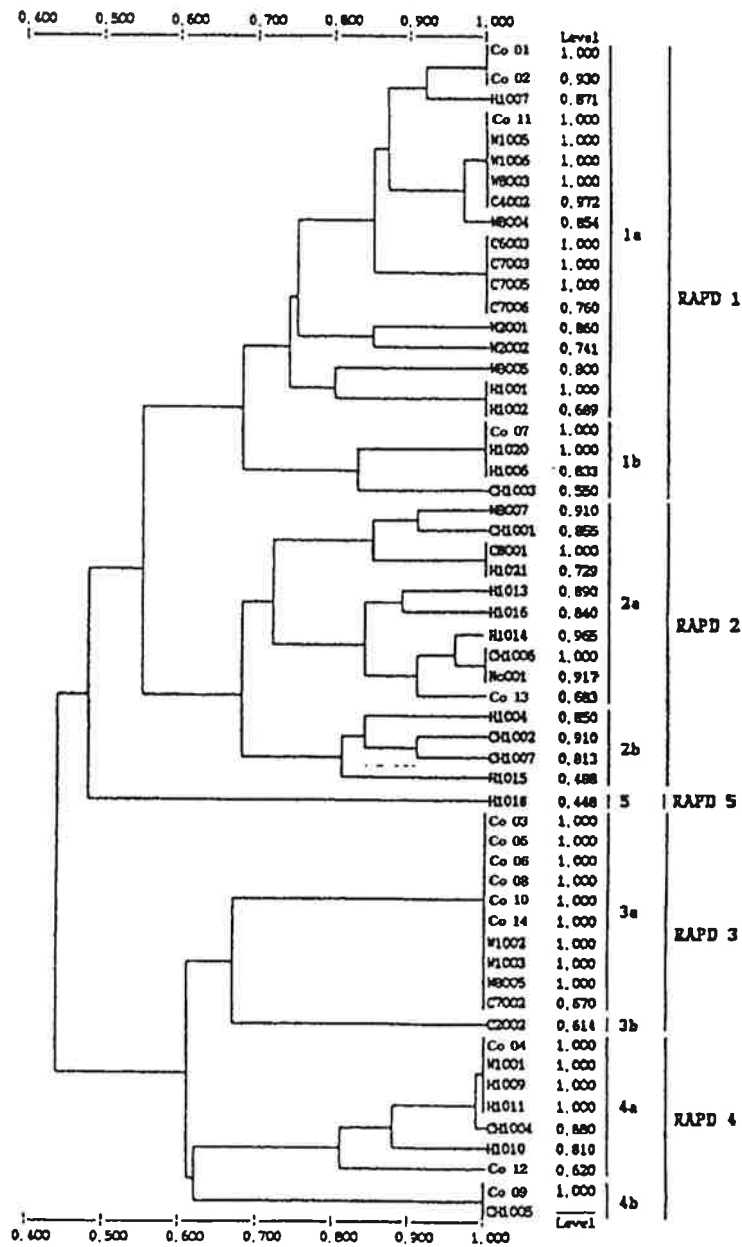
Co3, Co5, Co6, Co8, Co10, Co14, W1002, W1003, W8005, C7002, C2002,

(4) 4 group : 10균주

Co4, W1001, H1009, H1011, CH1004, H1010, Co9, Co12, Co13, CH1005

(5) 5 group : 1균주

H1018



<그림 2-12> RAPD분석에 의한 수형도

제 4 절 균사 활력 조사

1. 온도별 배양

배지는 Potato (dried) 4g, Dextrose 20g, Agar 15g 등을 혼합하여 판매하는 혼합 조제품을 구입하여 사용하였다. 배지시약 39g을 D.W1000ml에 용해시켜 배지를 조제하였으며, 조제된 배지는 121℃, 1.2kg/cm²에서 15분간 고압살균한 후 가스살균된 일회용 Petri-dish (직경90mm)에 배지용량 20ml씩을 분주한 후 실험에 이용하였다. 접종을 위해서 미리 배양해둔 균사를 직경 5mm cork-borer를 이용하여 절취한 후 배지 중앙에 1점씩 각각 접종 한 후 Incubator에서 배양온도 20℃, 25℃, 28℃구분하여 균사의 신장치, 형태적 특성을 관찰하였다. 균사의 신장치를 온도별로 비교하였을 때 <표 2-2>와 같은 결과를 보였다.

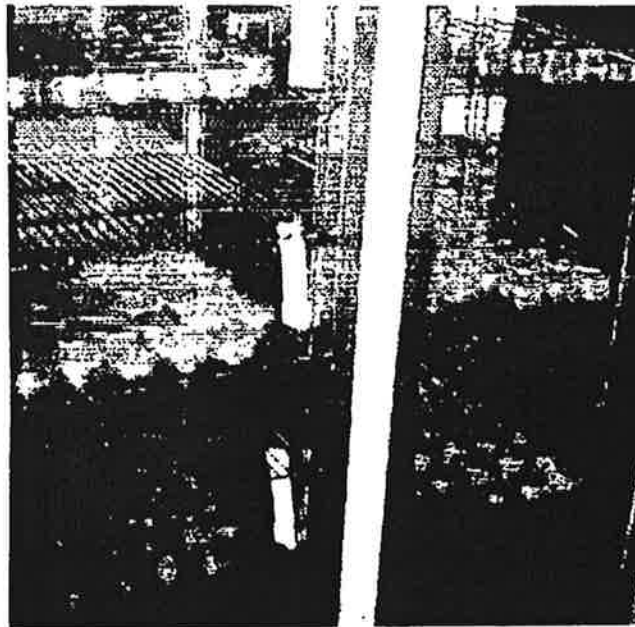
<표 2-2> P.D.A 배지상에서 배양온도별 균사생장속도 비율

균 사 신장치(mm)	20℃		25℃		28℃		비 고
	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)	
9.6 ~ 13.0	1	1	-	-	3	4	
13.1 ~ 17.0	1	2	1	2	3	5	
17.0 ~ 21.0	3	5	4	6	5	8	
21.1 ~ 25.0	21	33	5	8	12	19	
25.1 ~ 29.0	29	46	14	22	16	25	
29.1 ~ 33.0	8	1.3	14	22	21	33	
33.1 ~ 37.2	-	-	25	40	3	5	
계	63	100	63	100	63	100	

온도 25℃에서 배양된 균주의 균사신장 길이가 33.1~37.2mm로 비율적으로 40%, 28℃배양은 29.1-33.0mm에서 33%, 20℃배양은 25.1~29.0mm 46%를 보이며 25℃배양이 균사 발육 신장에 제일 양호하게 나타났다.

균사 발육특성은 균사 색택(백색)에서 짙은색이 22개 균주, 보통이 25개 균주, 옅은색 16개를 얻고 치밀도는 치밀이 27개 균주, 보통이 27개 균주, 엉성한 균주는 9개 균주, 균사환문은 형성 16개 균주, 무형성 47개 균주로 나타났다. 균사의 색택, 치밀도, 환문형의 차이에 따라 균사의 신장치에 차이를 보이지는 않았다.

<그림 2-13>은 온도별 균사배양 특성을 조사하기 위해 항온기에서 균사를 배양하고 있는 모습이다.



<그림 2-13> 온도별 균사배양

2. 목재 부후력조사 (효소 활성 특성조사)

<표 2-3>의 배지조성과 같이 Ligninase activity media를 평판배지로 조제한 후 미리 배양해둔 63개 균주의 균사를 직경 5mm cork-borer로 절취한 후 배지 중앙에 올려놓고 25℃ 항온기 배양하였다.

<표 2-3> Ligninase activity media 조성

Composition (per liter)		Composition-Stock mineral solution	
KH ₂ O ₄	0.60g	CaCl ₂ ·2H ₂ O	7.4g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.50g	Ferric citrate	1.2g
K ₂ HPO ₄	0.40g	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.7g
(NH ₄) ₂ tartrate	0.22g	MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.5g
Sorbose	40.00g	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.1g
poly R-478 dye (sigma)	0.20g	Thiamine HCl	10.0mg
Agar (oxid No.3)	15.00g	Distilled water	1 liter
Stock mineral solution	10.00ml		

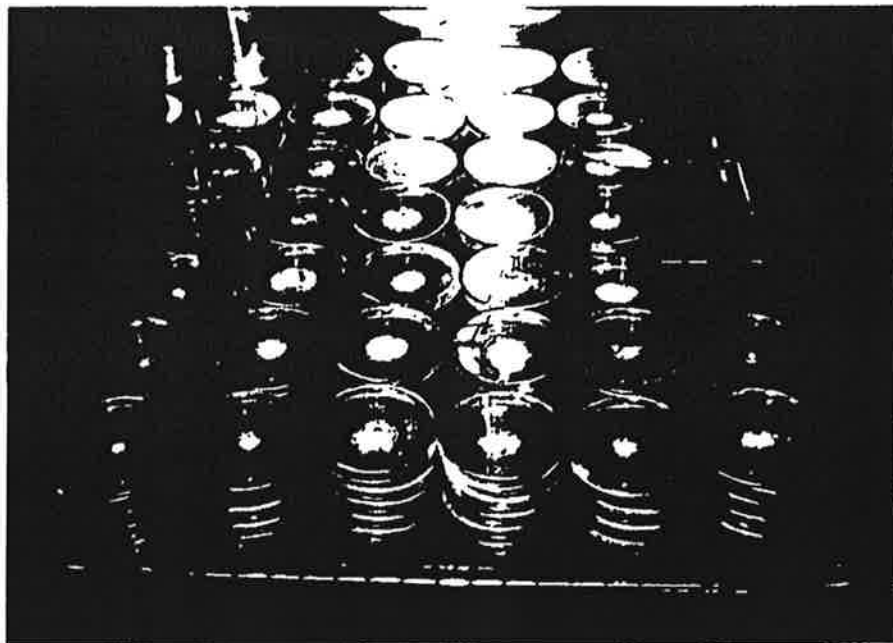
리그닌 분해력을 조사하기 위해 Ligninase activity 배지상에 공시균주를 발육시켜 Lignine 분해효소를 생성케하여 배지 조성의 poly-R-478dye (자색)에서 정색 반응을 일으켜 백색띠를 형성하는 것을 이용하여 측정하였다<그림 2-14>.

본 시험을 통하여 63균주에 대해 리그닌 분해력을 조사한 결과 <표 2-4>에 나타낸 바와 같이 clearing zone의 형성에 의한 Ligninase 활성치가 다양하게 나타났고, 균주간 수치가 높은것부터 낮은것과 발생한 발육폭은 최고 높은 경우 43.8mm²까지 나타났으며, 대부분의 균주가 25mm²전후의 균사생장을 보였다.

<표 2-4> 표고균사 Lignin clearing Zone (25℃, 16일)

(단위 : mm²)

부후면적 균주	공시균주	균주수
4.3 ~ 9.8	W1006 W8004	2
12.0 ~ 18.5	W2002, W8005, CH1004, C7003, H1001, H1011, No001, Co7	8
18.6 ~ 24.5	W1002, W1003, W2001, W8001, W8003, CH1001, CH1002, CH1006, C4002, C7002, C7005, C7007, H1012, H1014 Co2, Co3, Co6, Co8, Co11	19
24.6 ~ 30.5	W1001, W1004, W8007, W8006, CH1003, CH1007, C6003, C7006, H1002, H1004, H1006, H1007, H1018, Co10, Co14	15
30.6 ~ 36.5	W1005, CH1005, C8001, H1003, H1009, H1013, Co10, Co4 Co9, Co12, Co13	6
36.6 ~ 42.5	C2002, H1010, H1016, H1017, H1019, Co5	2
42.6 ~ 48.1	H1015, As001	



<그림 2-14> 리그닌 분해력 조사

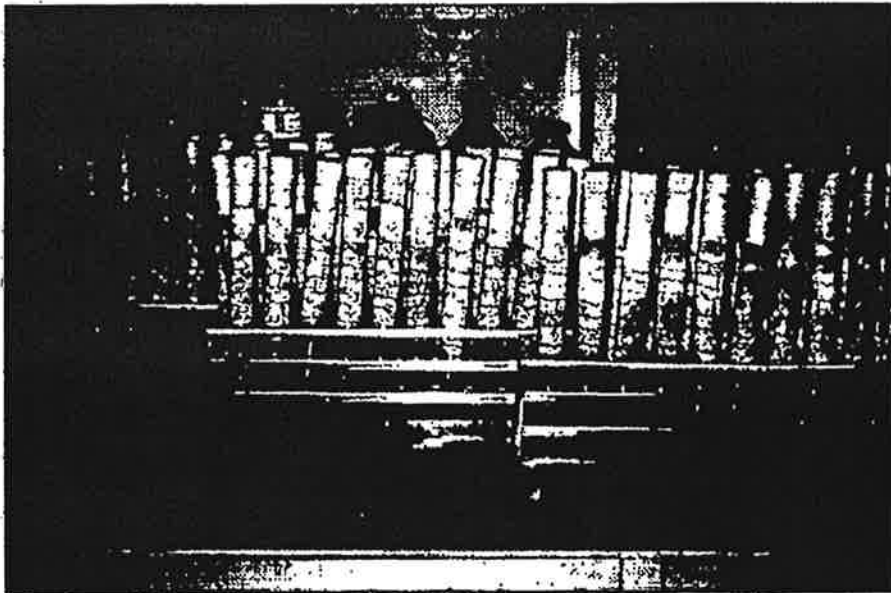
제 5 절 톱밥 재배 실연

1. 톱밥 배지 배양

톱밥재배를 통한 자실체 형성의 전단계로서 톱밥배지에서의 균주별 군사생장 및 발육특성을 조사하였다. 톱밥배지는 참나무 톱밥과 미강을 무게비율로 4 : 1로 혼합한 후 물을 첨가하여 수분함량이 65%가 되도록 조절하였다. 조제된 배지는 24mm시험관에 균일하게 충전한 후 121℃에서 45분간 고압살균하여 사용하였다.

조제된 배지에 감자한천배지에서 미리 배양해둔 군사를 직경 5mm cork-borer로 절취하여 접종하였다. 균주별로 접종을 한 후 25℃에서 27일간 배양시켜서 신장치와 발육특성을 조사하였다. 군사 신장치는 1일 평균 군사 발육을 토대로 품종을 나누었다(그림 2-15).

군사발육은 <표 2-5>에 나타낸 바와 같다. 평균 군사 발육이 6그룹으로 신장치가 나누어졌고 균주수를 보면 2.46 ~ 2.66mm 범위에는 4개 균주, 2.67 ~ 2.88mm범위에는 6개 균주, 2.89 ~ 3.11mm범위에는 20개 균주, 3.12 ~ 3.33mm범위에는 22개 균주, 3.34 ~ 3.55mm범위에는 8개 균주, 3.56 ~ 3.68mm범위에는 3개 균주로 균주간 발육 신장치 폭이 평균 1.06mm로 나타났다.



<그림 2-15> 톱밥배지에서의 군사생장 조사

<표 2-5> 톱밥배지에서의 균주별 균사신장

균사 신장(1일)	구분 균주수	균 주 번 호
2.46 ~ 2.66	4	W1006, W8001, W8005, CH1006
2.67 ~ 2.88	6	W2002, W8004, CH1007, H1003, No001, Co2
2.89 ~ 3.11	20	W1002, W1003, W1005, W2001, CH1003, CH1005, C4002 C8001, H1001, H1002, H1006, H1010, H1012, H1013, H1016, As001, Co1 Co9, Co11, Co14
3.12 ~ 3.33	22	W1004, W8003, W8006, W1001, CH1001 CH1002, C6003, C7003, C7005, C7006 H1007, H1011, H1014, H1015, H1018, Co3, Co4, Co6, Co7, Co8, Co10, Co12
3.34 ~ 3.56	8	W8007, CH1004, C2002, C7002, C7007, H1004 H1017, Co5
3.56 ~ 3.68	3	H1009, H1019, Co13
계	63	

2. 실내 지실체 발이

인공배지상에서 자실체 발생을 유도하기 위하여 톱밥재배를 실시하였다. 자실체형성을 유도하기 위한 배지는 참나무 톱밥배지를 사용하였다. 배지는 톱밥과 미강을 4:1(W/W)의 비율로 잘 혼합한 후 수분을 65%로 조절하여 조제하였다. 조제된 배지는 500CC 광구 유리병에 1/2정도가 되도록 충전하고, 121℃에서 45분간 고압살균하여 사용하였다. 접종원은 감자한천배지상에서 미리 배양해 둔 균사를 직경 5mm cork-borer로 절취하여 사용하였다.

접종된 배지는 25℃의 배양실에서 50일간 배양 후 발생처리를 하였다. 인위적 환경에서의 자실체 발생을 유도하기 위하여 온도, 습도, 광도 등을 실내 발생실에서 인위적으로 조절하였고, 온도처리는 공시균주의 계통이 다양하므로 발이 온도별 처리 구분은 6개 Group으로 나누어 발이특성을 조사하였다.

발이특성을 조사한 결과는 <표 2-6>에 나타난 바와 같이 10±5℃의 변온 처리에서 용기현상과 시원체 형성이 대체적으로 낮은 빈도수를 보여 주었으며, 15±5℃의 경우, 용기현상 및 시원체, 자실체 형성이 두드러지는 경향을 볼 수 있었다.

이를 통해 10±5℃에서 용기 및 자실체가 형성되는 균주들은 저온성 품종이라 생각되며, 15±5℃에서의 자실체발이는 중온성 품종, 20±5℃의 변온처리시 자실체

발이는 고온성 품종으로 사료된다(그림 2-16).

대조군주 중 Co5, Co8, Co9, Co14는 대부분 저온성 품종의 버섯이므로 $10 \pm 5^\circ\text{C}$ 의 변온처리시 시원체 형성을 위한 자극을 주어 발이가 유도되었다. 하지만 시험군주는 대부분 중온성 품종과 고온성 품종의 비율이 높았다. 또한 배지의 갈변현상과 자실체의 발이 및 발생량과의 상관관계는 없는 것으로 나타났다.

<표 2-6> 톱밥배지상 발육특성 및 자실체 발이적응

구분 군주	배 지 갈변현상	10°C(5~15)			15°C(10~20)			20°C(15~25)		
		용기현상	시원체	자실체	용기현상	시원체	자실체	용기현상	시원체	자실체
W1001	++				+++		○	+		○
W1002	+				++	○		+	○	
W1003	++				++			+	○	
W1004	++				+	○		+		○
W1005	+				+	○		+	○	
W1006	+				++		○	+		
W2001	+	++	○		+		○	+		○
W2002	+++				++		○	++		
W8001	+				+			+		
W8003	++				++	○		++		○
W8004	+				++		○	+++	○	
W8005	++				+	○		+		
W8006	+++				++		○	+++		○
W8007	++			○	+			+		
C2002	++				++		○			
C4002	+			○	++		○	+		
C6003	++			○	++		○	+		
C7002	++				++		○	++		
C7003	+	+++		○	+			+		
C7005	+				++		○	+		
C7006	+++	++		○	+	○		+		
C7007	+++	+++		○	++			+		
C8001	+				+++		○	+++		○
H1001	+				++		○	+		
H1002	++	++		○	++	○		+		
H1003	++				+++		○	+++		○
H1004	+++	++		○	++	○		++		
H1006	++	+++		○	++					
H1007	++				++		○	+		
H1009	+	++		○	+		○	+		
H1010	++				++		○	+++		○

(계속)

구분 균주별	배 지 갈변현상	10℃(5~15)			15℃(10~20)			20℃(15~25)		
		용기현상	시원체	자실체	용기현상	시원체	자실체	용기현상	시원체	자실체
H1011	+				+		○	+		
H1012	+	++		○	+++		○	+		○
H1013	++	+++		○	++	○		+		
H1014	+++				++		○	+++		○
H1015	+				+++		○	+++		○
H1016	+				+++		○	++		
H1017	+++				++		○	+		
H1018	+++	+++		○	++	○		+		
H1019	++	+++		○	++	○		+		
CH1001	+++				++		○	+		○
CH1002	++	+		○				+		
CH1003	+	+		○				++		
CH1004	++	+		○						
CH1005	+				++		○	+		○
CH1006	++				++		○	+	○	
CH1007	++				++		○	+	○	
N ₀ 001	++	+		○	++	○		+		
A _s 001	+++				++		○	++		○
C ₀ 1	+++	+++		○	+++		○	+++		○
C ₀ 2	+	++		○	+		○	+		
C ₀ 3	+++				+		○	+		○
C ₀ 4	++				+		○	+++		○
C ₀ 5	++	++	○		++		○	+		
C ₀ 6	++				++		○	+		○
C ₀ 7	+++				++		○	+		○
C ₀ 8	+	++	○		++			+		
C ₀ 9	+++	++	○		+++		○	++		○
C ₀ 10	+	++		○	++		○	+		
C ₀ 11	+++	++			++		○	+++		○
C ₀ 12	++				++		○	+		○
C ₀ 13	+++				++		○	+		○
C ₀ 14	+++	++	○		++		○	++		○

¹⁾+++ : 다량, ++ : 중량, + : 소량



<그림 2-16> 톱밥배지에서 버섯발생

제 6 절 원목재배 실연

1. 지역별 재배 환경 조사

표고 원목재배 품종의 지역별 적응실연시험을 통하여 자연환경의 영향에 대한 적응성과 생산성이 높은 유전자형을 가진 균주를 선발하기 위하여 지역별로 고온성, 중온성, 저온성 균주를 각각 집중하였다. 전국 22개 지역에 대해 각 지역별 기상환경을 분석하기 위하여 1991년부터 1995년까지 5년간의 평균 기상통계를 조사하였다. 표고재배와 직·간접적으로 관련이 있는 기상환경으로서 온도, 습도, 강수량, 일조시간, 적산온도 등을 조사하였다.

온도는 표고 원목재배와 가장 밀접한 관계를 갖는 기후인자로 표고의 품종구분을 고온성, 저온성이라고 할 만큼 표고 발생은 온도에 민감하다. 22개 지역의 온도를 조사해 본 결과 중부지방인 경기도 강원도 충청남북도 등의 평균기온은 제천이 9.8℃로 가장 낮았고, 서울이 12.4℃로 가장 높았으며, 대부분이 10℃에서 12℃사이에 분포하고 있었다. 반면 전라남북도와 경상남북도 등 남쪽지방에서는 문경이 11.5℃로 가장 낮았고, 거제가 14.2℃로 가장 높았으며, 대부분이 12℃에서 14℃사이에 분포하여 중부지방에 비하여 년평균기온이 2℃정도 높은 것으로 조사되었다. 특히 겨울 최저기온이 높을 경우 저온성 버섯을 재배할 수 있는 기간이 길어지고, 여름 최고기온이 낮으면 상대적으로 고온성, 중온성 버섯을 수확할 수 있는 기간이 길어지므로 지역별 온도분포를 정확히 분석하여 버섯재배의 기초자료로 삼아야 할 것이다.

다음으로 습도는 65%에서 75%사이로 비슷하게 나오는 것으로 조사되었다. 습도는 버섯의 품질이나 병해의 발생과 밀접한 관련이 있다. 예를들어 습도가 높으면 아무리 비가림시설재배를 한다고 하더라도 버섯의 선택이 나빠지므로 고품질의 버섯을 기대하기가 어려운 것이다. 하지만 습도는 광범위한 지역적 특성이라기 보다 버섯재배장의 입지 조건이나 주위의 지형지물 등에 의해서 많은 영향을 받기 때문에 버섯재배장의 입지를 잘 고려하여야 할 것이다.

다음의 <표 2-7>에서는 온도, 습도 외에도 버섯의 생산량 및 품질, 생산시기 등에 영향을 미치는 강수량, 일조시간, 적산온도 등에 대해서 전국의 지역별 상황을 보여주고 있다.

<표 2-7> 지역 기상상황 ('91~'95 평균)

지역별	구분	온도 (°C)			습도 (%)	강수량 (mm)	일조시간 (hr)	적산온도 (°C)
		평균온도	최고	최저				
강원도	춘천	10.9	16.8	5.8	72.1	1215.1	1757.2	4072.7
	홍천	9.9	17.1	4.0	73.0	1265.8	2009.2	3852.3
	원주	10.5	17.1	5.8	72.5	1194.7	2031.1	4226.3
경기도	강화	11.1	16.1	6.2	74.6	1089.1	2318.9	4038.6
	서울	12.4	17.1	8.5	66.0	1311.6	2022.2	4514.3
	양평	10.8	17.3	5.2	75.1	1286.0	2130.6	4214.3
충남북	보은	10.3	17.1	4.4	74.3	1008.4	2249.5	4031.0
	충주	11.2	17.6	5.8	76.5	1214.9	2181.4	4051.5
	청주	10.3	17.1	4.4	71.8	1206.9	2305.5	4352.0
	제천	9.8	16.6	3.8	73.8	1254.8	1861.7	3942.7
	추풍령	11.6	18.5	6.6	68.5	1055.5	2189.2	4239.8
	대전	12.7	18.4	7.7	68.9	1140.9	2266.5	4554.8
	서산	11.8	17.6	7.2	72.5	1045.5	2241.0	4321.1
	부여	11.8	18.3	6.4	71.8	1206.9	2305.5	4352.0
전남북	금산	11.2	18.2	5.3	71.1	1070.9	2198.7	3853.2
	전주	13.0	18.4	8.3	70.5	1179.6	2266.7	4608.9
	광주	13.3	18.9	9.2	69.7	1098.0	2305.3	4683.8
경남북	장흥	12.8	19.0	7.3	71.9	1115.9	2308.8	4463.6
	대구	14.1	19.8	9.2	63.1	918.0	2305.2	4863.3
	산청	12.3	18.9	7.4	68.8	1307.0	2295.7	4301.6
	거제	14.2	18.9	10.0	72.8	1482.1	2303.7	4777.5
	문경	11.5	17.4	6.0	64.2	1088.9	2210.0	4260.9

지역별 온도분포를 조사한 결과 남부지방의 온도가 중부지방에 비하여 겨울 최저온도가 2℃정도 높고, 반대로 여름 최고기온의 경우 중부지방이 2℃정도 낮은 것으로 조사되었는데, 이것은 앞서서도 언급한 바 대로 그 지역에 적합한 품종을 선택하는 데 가장 중요한 지표가 된다.

본 연구에서는 지역별 적합품종을 육성하는 데 목표를 두고 각 지역별로 어떤 품종을 많이 재배하고 있는가를 조사하였다. 조사결과 <표 2-8>에 나타난 바와 같이 중부지방에서는 전체 재배량의 60%정도가 고온성 품종이었으며, 그 밖에 저온성, 중온성의 순으로 재배량이 많은 것으로 조사되었다. 반면에 남부지방에서는 저온성 품종이 평균 50%정도 재배되어 저온성 품종을 가장 많이 재배하는 것으로 조사되었으며, 지역에 따라 차이는 있지만 고온성과 중온성이 비슷한 비율로 재배되고 있는 것으로 나타났다. 지역별 집중품종의 분포는 단지 위도에 따라서만 분포 양상이 다른 것이 아니고, 우리 나라의 특유의 동고서저의 지형적 특성, 분지지형이나, 산간지대, 평야지대 등 재배장의 입지지형에 의해서도 영향을 받는 것으로 조사되었다. 예를들어 경북지방은 같은 남부지방이지만 상대적으로 고온성 품종의 재배가 많은 데 이것은 산이 많고, 분지형의 지형인 곳 등 지형적인 영향으로 인한 여름에 시원하고 겨울에는 추운 기온 때문인 것으로 추정되었다.

각 지역별 표고 재배품종의 집중비율은 다음 <표 2-8>에 나타난 바와 같다.

<표 2-8> 각 지역별 표고 재배품종의 집중비율 ('91-'96년평균)

구분 지역	중균품종 (%)				비 고
	고온성	중온성	저온성	계	
경 기	63	12	25	100	
강 원	61	9	30	100	
충 북	62	16	22	100	
충 남	45	11	44	100	
전 북	32	42	26	100	
전 남	17	12	71	100	
경 북	49	20	31	100	
경 남	27	29	44	100	
세 주	11	39	50	100	
평 균	41	21	38	100	

2. 재배 실연지 선정

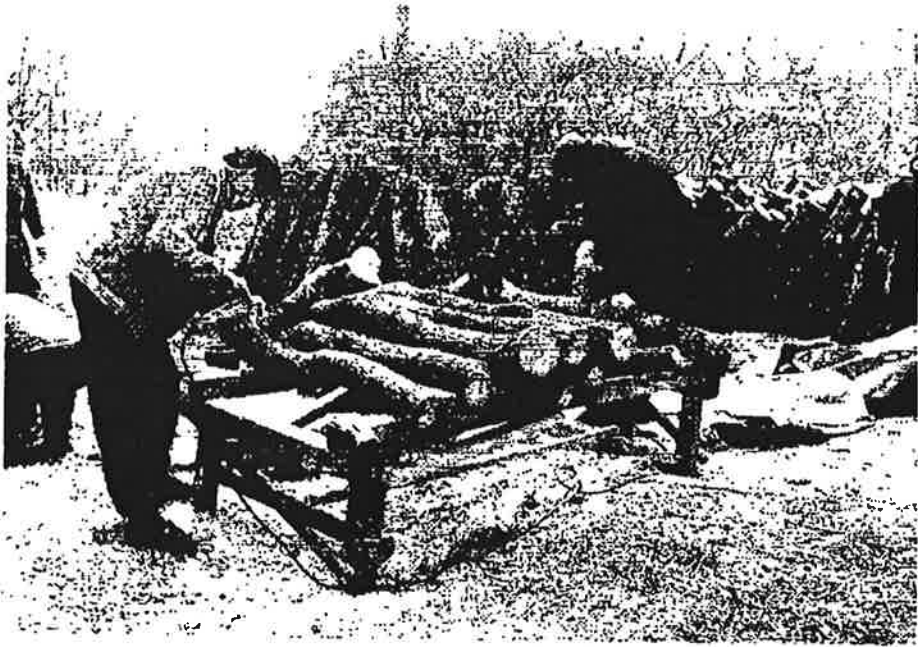
실내시험을 거쳐 선발된 품종에 대해 지역적응 품종을 선발하기 위하여 지역 실연시험을 실시하고자 재배실연지를 선정하였다. 재배실연지는 제주도를 제외한 전국 8도에서 한 곳씩 비교적 벚싹재배가 많이 행해지고 있는 곳을 선택하였으며, 제주도와 온도가 가장 비슷하다고 생각되는 전남에서 두 곳을 선정하였다.

선택된 지역은 <표 2-9>에 나타낸 바와 같다. 선정된 지역의 기후조건을 살펴보면 연평균기온이 비교적 높은 곳으로는 경남울산, 전북완주, 전남장흥, 전남곡성 등 4곳으로 연평균기온이 13℃내외였다. 연평균기온이 낮은 곳으로는 경기여주, 강원홍천 등 두 곳이었는데 연평균기온이 10℃내외였다. 그 밖에 충북영동, 충남공주, 경북상주 등 세 곳은 연평균기온이 중간정도의 기온을 보이며 대체로 11℃에서 12℃의 범위내에 있었다.

<표 2-9> 재배실연지 및 실연자 명단

실연지역	실연자	주 소
경기여주	임 협	경기 여주군 여주읍 상거리 산 10-2번지
강원홍천	김윤세	강원 홍천군 상오안리 360번지
충북영동	강희준	충북 영동군 영동읍 계산리 664-21
충남공주	이병업	충남 공주시 신평면 대룡1리 400번지
경북상주	김육현	경북 상주시 공검면 양청리 188번지
경남울산	김정채	경남 울산시 울주군 삼동면 출강리258번지
전북완주	권윤택	전북 전주시 덕진구 진북동 동양APT D동 506호
전남곡성	기록도	전남 곡성군 죽곡면 반송리
전남장흥	이성격	전남 장흥군 관산읍 방촌리 278번지

원목재배실연을 위한 공시목으로는 표고재배 자목으로 농가에서 선호하는 나무에 따라 참나무류 중에서 선별하여 사용하였으며, 실내시험을 거쳐 선발된 균주를 가지고 지역적응성 및 생산량 검정을 위하여 원목 접종작업을 실시하였다. 접종기간은 1997. 3. 28 ~ 4. 30일 동안 참나무 8,000본을 시험접종하였다. 시험균주수는 18개 균주로 고온성 8 품종, 중온성 4 품종, 저온성 6 품종의 성형종균을 실연재배자의 관행적 방법으로 접종하였다(그림 2-17, 2-18).



<그림 2-17> 원목 천공작업



<그림 2-18> 성형중구를 이용한 접종

본 실험에서는 지역별 적응품종을 선택함에 있어 이러한 기후조건을 먼저 고려하여 연평균기온이 높고 연중 최저기온이 비교적 높은 곳에는 저온성품종과 중온성품종을 위주로 집중하였고, 연평균기온이 낮고 연중 최고기온이 비교적 낮은 지역에는 주로 고온성 품종을 집중하는 등 기후조건에 맞는 품종을 선별하여 집중하였다. 각 지역별 집중품종 및 집중수량은 <표 2-10>에 나타낸 바와 같다.

<표 2-10> 재배실연지별 집중내역

집중 일자	실 연 지 역	성 명	집 중 품 종 계 통	집중 본수
4.15	강원 홍천군 홍천읍 상오안리	김윤제	고온성 8	400
4.28 4.30	경기여주군 여주읍 상거리	임 협	고온성 8, 중온성 4 저온성 6	3,600
4.11	충북 영동군 영동읍 계산리	강희준	고온성 8	800
3.28	충남 공주시 신평면 대룡리	이병업	고온성 8	400
4.12	전북 완주군 상관면 의암리	권윤택	중온성 4, 저온성 6	500
4.09	장흥군 관산읍 방촌리	이성적	중온성 4, 저온성 6	500
4.08	곡성군 죽곡면 반송리	기록도	중온성 4, 저온성 6	500
4.02	상주시 이안면 여울리	김육현	고온성 8	400
4.03	울산시 울주군 삼동면 출강리	김정채	고온성 8, 중온성 4 저온성 6	900
계				8,000

3. 버섯나무화 과정 조사

가. 지역별, 품종별 균사활착율 조사

집중한 버섯나무에 대해 집중한 종균이 얼마나 잘 활착되었는가 확인하는 것은 매우 중요하다. 종균의 균사활착율은 종균이나 재배용 원목의 상태를 입증하는 기초자료일 뿐만 아니라 차후 버섯나무화 과정과 버섯생산량 등과 직결되는 지표이다. 집중 직후의 온도, 보습, 차광 등 집중목 관리 또한 균사활착율에 큰 영향을 미친다.

본 실연시험에서는 각 지역별로 종균접종 1개월후에 각 시험군주별로 접종목 5본씩을 무작위로 선정한 후 송곳을 이용하여 종균접종구멍의 스티로폼마개를 열어보아 육안으로 종균활착여부를 조사하였고 활착된 구멍수를 총구멍수로 나누어 활착율을 계산하였다.

군사활착율을 조사한 결과 <표 2-11>에 나타난 바와 같이 모두 97%이상의 양호한 활착율을 나타내었으며, 지역별, 품종별 활착율의 차이는 보이지 않았다.

<표 2-11> 지역별, 품종별 군사활착율(접종 후 1개월)

지역 군주	경기 여주	강원 홍천	충북 영동	충남 공주	경북 상주	경남 울산	전북 완주	전남 곡성	전남 장흥	전국 평균
고 은 성	H1	100	99	98	100	100	100			99.50
	H2	98	100	100	98	100	98			99.00
	H3	100	98	99	100	99	98			99.00
	H4	100	100	100	100	99	100			99.83
	H5	100	99	100	98	100	98			99.16
	H6	100	99	98	100	100	100			99.50
	H7	98	100	99	100	98	100			99.16
	H8	98	99	100	100	98	99			99.00
	평균	99.25	99.25	99.25	99.50	99.25	99.12			99.27
중 은 성	M1	100				99	100	99	97	99.00
	M2	100				100	100	100	100	100.0
	M3	100				97	100	100	99	99.20
	M4	99				100	99	99	100	99.40
	평균	99.75				99.00	99.75	99.50	99.00	99.40
저 은 성	L1	100				100	100	100	98	99.60
	L2	100				100	99	100	100	99.80
	L3	99				99	100	99	97	98.80
	L4	98				100	100	98	100	99.20
	L5	100				97	100	97	99	98.60
	L6	100				97	100	98	100	99.00
	평균	99.50				98.83	99.83	98.66	99.00	99.16

나. 지역별, 품종별 균사의 표면만연율 조사

각 지역별로 접종 후 3개월이 경과된 버섯나무에 대해서 무작위적으로 5본씩을 선발한 후 같이 수피를 완전히 제거하고 목질부 표면에 균사가 만연된 면적을 조사하였다(그림 2-19). 수피를 제거한 버섯나무의 표면에 트레이싱 페이퍼를 대고 버섯균의 자라나간 선단부의 대선을 옮겨 그린 후 구적계를 이용하여 만연면적을 구하였으며, 원목의 표면적은 말구와 원구의 직경을 조사한 후 말구직경법에 의거 구하였다. 표면만연율은 만연면적을 표면적으로 나누어 계산하였다.

각 지역별 접종 3개월 후의 표면 만연율을 조사한 결과는 다음의 <표 2-12>과 같다. 지역별로는 큰 차이가 없는 것으로 나타났지만 경기여주의 저온성과 중온성의 표면만연율은 남부지방에 비하여 상대적으로 낮았으며, 품종별로는 남부지방에서 접종한 중온성의 만연율이 37.7%로 가장 우수한 것으로 나타났다.

<표 2-12> 지역별, 품종별 균사의 표면만연율(접종 후 3개월)

지역 균주	경기 여주	강원 홍천	충북 영동	충남 공주	경북 상주	경남 울산	전북 완주	전남 곡성	전남 장흥	전국 평균
고 온 성	H1	41.1	43.1	40.2	40.2	42.3	39.2			41.01
	H2	38.2	39.9	41.2	39.4	40.2	34.5			38.90
	H3	40.1	35.2	39.9	31.2	38.2	40.6			37.53
	H4	30.5	28.2	35.2	43.8	34.6	27.2			33.25
	H5	33.2	38.2	37.6	40.3	32.9	34.1			36.05
	H6	34.1	44.1	24.3	34.5	34.4	42.8			35.70
	H7	36.4	39.2	43.2	32.1	38.2	39.2			38.05
	H8	43.9	38.8	34.4	28.2	26.2	38.4			34.98
	평균	37.18	38.33	37.00	36.21	35.87	37.00			36.93
중 온 성	M1	35.5				39.5	37.5	34.6	39.5	37.32
	M2	34.9				44.6	41.1	38.2	35.9	38.94
	M3	29.9				34.0	39.2	42.3	33.5	35.78
	M4	38.5				38.8	34.5	41.3	40.0	38.62
	평균	34.70				39.22	38.07	39.10	37.22	37.66
저 온 성	L1	31.1				34.2	37.5	40.0	39.6	36.48
	L2	37.9				43.5	42.1	29.3	34.8	37.52
	L3	36.4				40.1	29.7	36.4	35.6	35.64
	L4	35.9				28.3	34.5	38.2	38.4	35.06
	L5	32.4				35.6	33.1	41.2	40.1	36.48
	L6	39.2				40.4	41.2	38.4	38.8	39.60
	평균	35.48				37.01	36.35	37.25	37.88	36.79

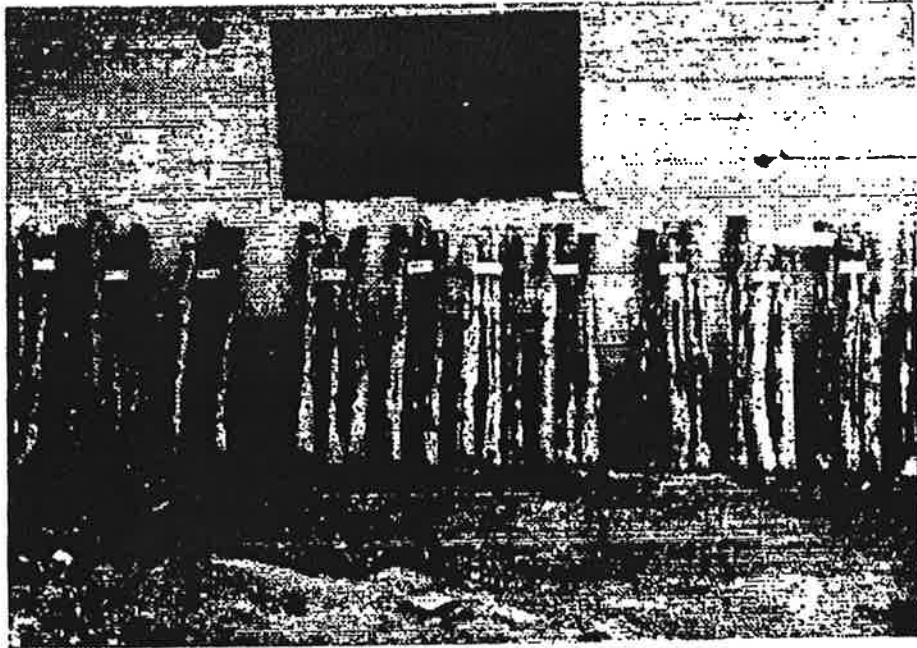
다. 지역별, 품종별 버섯나무의 속도율 조사

접종 6개월 후에는 지역별 품종별 균사속도를 조사하였다. 균사속도는 버섯나무화울 또는 부후울, 침투율이라고도 하며 균사가 목재의 내부로 얼마나 침투해 들어갔는가를 알아보는 것이다. 이것은 각 품종의 목재부후력과 밀접한 관련이 있으며, 접종 후의 버섯나무관리에 큰 영향을 받는다. <그림 2-20>은 속도율조사를 위해 버섯나무를 조개 놓은 모습이다.

접종 6개월 후의 균사속도를 조사한 결과는 다음의 <표 2-13>에 나타낸 바와 같아서 표면만연율이 우수한 중온성 품종이 속도율 또한 우수한 것으로 나타났으며, 고온성 품종의 속도율은 표면만연율에 비해 높은 것으로 나타났다.

<표 2-13> 지역별, 품종별 균사속도(접종 후 6개월)

지역	경기	강원	충북	충남	경북	경남	전북	전남	전남	전국
군주	여주	홍천	영동	공주	상주	울산	완주	곡성	장흥	평균
고온성	H1	38.7	40.6	40.7	34.4	33.9	35.5			37.30
	H2	43.1	29.6	38.6	40.6	36.0	34.4			37.05
	H3	38.7	37.0	34.3	23.0	38.3	43.5			35.80
	H4	42.8	36.7	39.2	44.2	40.6	26.3			38.30
	H5	28.3	42.8	25.0	40.3	44.2	38.0			36.43
	H6	36.2	43.1	38.7	33.3	45.7	35.0			38.66
	H7	43.4	28.3	33.9	35.1	37.5	42.1			36.71
	H8	40.3	34.4	35.9	33.3	37.7	40.6			37.03
	평균	38.93	36.56	35.78	35.52	39.23	36.92			37.16
중온성	M1	39.2				35.1	37.7	42.2	40.7	38.98
	M2	44.6				38.1	36.5	35.5	38.1	38.56
	M3	35.6				40.9	26.8	38.8	33.8	35.18
	M4	36.0				41.3	38.3	39.6	28.3	36.70
	평균	38.85				38.85	34.82	39.02	35.22	37.35
저온성	L1	40.0				40.3	35.6	41.3	35.5	38.54
	L2	43.1				34.3	41.1	28.8	31.5	35.76
	L3	42.6				36.3	40.6	36.7	28.3	36.90
	L4	26.9				27.1	35.4	42.6	34.4	33.28
	L5	35.3				40.3	34.9	37.7	41.9	38.02
	L6	38.6				38.7	37.0	40.9	37.9	38.62
	평균	37.75				36.16	37.43	38.00	34.91	36.85



<그림 2-19> 균사의 표면만연율 조사



<그림 2-20> 균사의 속도율 조사

4. 버섯생산량 조사

재배 실연지역인 9개 지역에 대해 지역별, 품종별 버섯생산량을 조사하였다. 버섯의 발생처리나 버섯나무의 관리는 각 지역에서 기존에 해 오던 방식대로 하여 기존의 재배하고 있는 다른 품종들과 동일한 조건에서 발생처리를 하였다. 따라서 발생처리의 횟수나 방법 등은 지역별, 품종별로 약간씩의 차이가 있다. 예를 들어 고온성 품종의 경우에는 적극적으로 발생처리를 하는 반면 저온성 품종은 거의 발생처리를 하지 않고 자연상태에서 또는 약간의 관수만 하는 상태에서 발생하는 버섯을 수확하였다. 또 일부 고온성 품종중에도 지나친 발생처리를 할 경우 버섯의 품질이 저하되고 작은 버섯이 많이 발생하며 버섯나무가 손상되는 등의 피해가 우려되므로 발생처리 횟수나 방법 등에서도 신중을 기했다.

또한 버섯의 발생시기 또한 지역별로 달라서 중부지방인 강원지방은 비교적 겨울이 길고 여름의 기온이 낮아 고온성 버섯의 경우에도 여름기에 수확이 되지만, 연중 생산가능일수는 적은 편이었다. 반면에 남부지방의 경우에는 겨울의 기온이 높아 저온성 품종을 재배할 경우 시설내에서 겨울내내 버섯이 생산되었다.

버섯생산량은 <표 2-14>에서 보는 바와 같이 품종별로는 고온성이 310.9g으로 가장 많은 생산량을 보였으며, 중온성이 297.9g, 저온성이 263.8g 생산되어 품종별로 생산량의 차이가 있음을 보였다. 지역별로 품종간에 생산량의 차이가 있어서 고온성 품종의 경우 충남공주지역이 329.1g으로 가장 많은 생산량을 보였고 경기여주의 경우에는 304.0g으로 가장 적은 생산량을 보였다. 공주지역은 기후가 고온성을 재배하기에 비교적 적합하고 연중생산가능일수가 긴 편이어서 생산량이 많은 것으로 판단되었다.

저온성 품종의 경우에는 별도의 발생처리를 하지 않기 때문에 기후에 의한 영향을 고온성 품종보다 더 많이 받는다. 실제 버섯발생량에 있어서도 경기여주의 저온성 품종들의 평균버섯발생량은 243.7g인데 반해 남부지역의 전남장흥지역은 277.2g의 버섯이 생산되어 약 34g정도의 버섯이 더 생산되는 것으로 나타났다. 특히 남부지방 중에서도 장흥의 경우에는 시설재배를 실시하고 침수에 의한 발생처리를 하는 등의 이유로 인해 가장 많은 버섯을 수확할 수 있었다.

군주 간에도 생산량에 큰 차이를 볼 수 있었는데 고온성 품종 가운데 가장 생산량이 많은 군주는 347.7g의 버섯이 생산된 H4 군주였으며 그 다음은 325.8g이 생산된 H1 군주였다

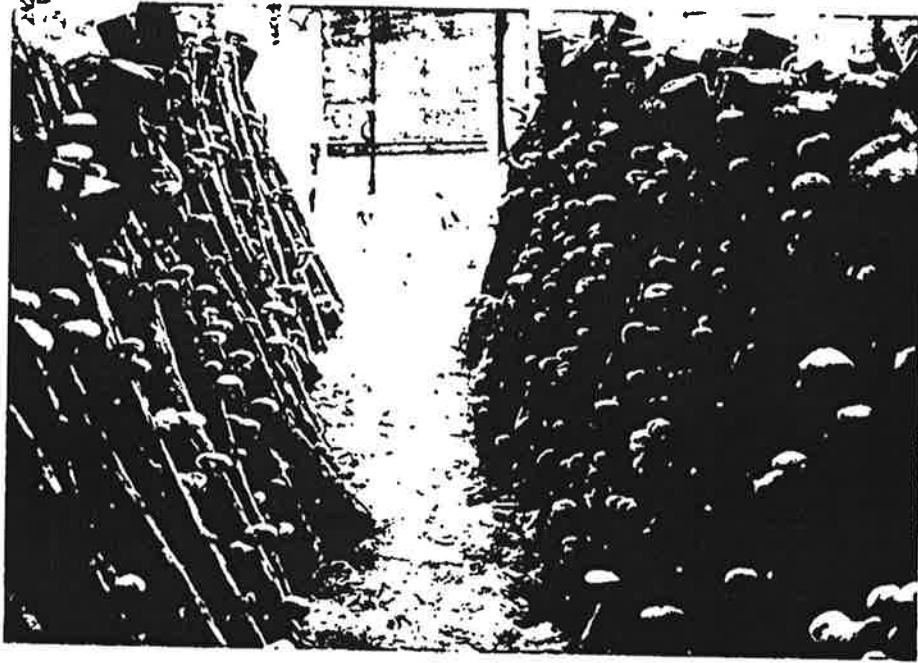
<표 2-14> 지역별 균주간 버섯발생량 비교

(g/갈목1본)

지역 균주	경기 여주	강원 홍천	충북 영동	충남 공주	경북 상주	경남 울산	전북 완주	전남 곡성	전남 장흥	전국 평균
고 온 성	H1	322	325	329	319	332	328			325.83
	H2	317	309	315	318	321	343			320.50
	H3	289	295	301	290	294	288			292.83
	H4	343	339	354	357	355	338			347.66
	H5	277	285	278	369	270	266			290.83
	H6	250	245	252	347	249	255			266.33
	H7	322	318	319	311	328	321			319.83
	H8	312	344	322	322	309	329			323.00
	평균	304.00	307.50	308.75	329.12	307.25	308.50			310.85
중 온 성	M1	287				302	311	306	323	305.80
	M2	254				277	281	291	299	280.40
	M4	267				286	291	300	305	289.80
	M3	296				316	317	321	327	315.40
	평균	276.00				295.25	300.00	304.50	313.50	297.85
저 온 성	L1	233				253	276	266	279	261.40
	L2	254				257	269	303	296	275.80
	L3	238				242	247	273	254	250.80
	L4	221				235	258	251	262	245.40
	L5	288				282	287	303	294	290.80
	L6	228				251	273	264	278	258.80
	평균	243.66				253.33	268.33	276.66	277.16	263.82

버섯의 형태는 H4 균주의 경우 갓이 크고 고온다습한 경우에도 습에 강해 습기에 의해 버섯의 품질이 떨어지지 않으므로 우리 나라처럼 여름철이 고온다습한 기후에서도 고품질의 버섯을 생산할 수 있고, 안개가 많은 지역 등에서도 품질이 좋은 버섯을 생산할 수 있어 지역적응성이 매우 높은 품종이라 사료된다(그림2-21, 2-22). H1 균주는 대가 짧아 우리 나라 사람의 취향에 맞고 산간이나 분지지형 등 일교차가 큰 지역에서는 아주 고품질의 버섯을 생산할 수 있을 것이라 사료된다(그림 2-23, 2-24). 이 두 균주는 대조균주인 H8 균주 보다 생산성이 우수한 것으로 나타나 앞으로 지속적인 조사 결과를 종합하여 신품종으로 등록할 예정이다.

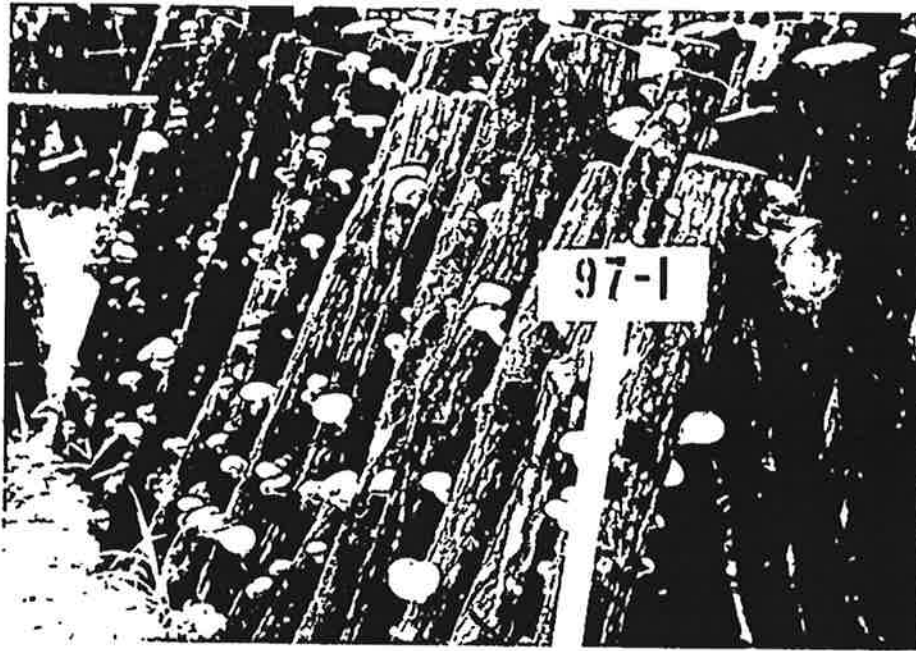
중온성 품종 중에는 대조균주인 M4 균주가 315.4g의 버섯이 생산되어 가장 우수하였고, 시험균주인 M1 균주의 경우에는 305.8g의 버섯이 생산되었다. 저온성 품종의 경우에도 대조균주인 L5 균주가 290.8g이 생산되어 가장 우수하였으며, 시험균주 중에는 L2 균주가 275.8g으로 우수하였다.



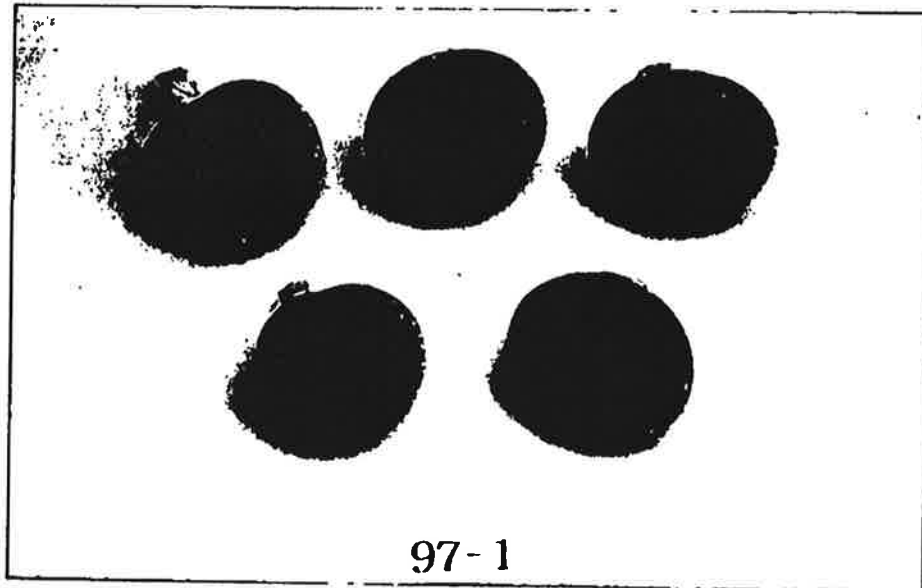
<그림 2-21> H4 균주의 버섯발생



<그림 2-22> H4 균주의 버섯형태



<그림 2-23> H4 균주의 버섯발생



<그림 2-24> H4 균주의 버섯형태

제 7 절 요약

표고 품종 육종 개량의 유전 자원 확보를 위하여 수집된 균주의 총 수량은 95 균주였다. 수집된 균주를 수집내역별로 보면 국내에서 자생하는 야생의 버섯에서 분리한 것이 15균주(W), 국내 재배농가에서 재배하고 있는 버섯에서 분리한 균주가 38균주(C), 임협 임산미생물사업소에서 보관중인 균주가 28균주(CH, H)였으며, 대조구로서 임협1호 등을 포함한 등록품종이 14균주(Co)였다.

수집된 균주는 순수분리 및 동정용 하였고, 대치배양을 통해 균주간의 대치선 형성유무로 이중인지의 여부를 식별하였으며, 대치배양결과 이중으로 판별된 63개 균주를 고정하여 보관하였다.

수집된 균주 중에서 대치배양을 통해 이중인 것으로 판별된 63균주에 대해서는 동위효소분석법(Isozyme Analysis Method)과 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)기법을 이용하여 계통분석을 실시하였다.

Isozyme 분석에 의한 계통분석을 실시한 결과 63개 균주들이 최종적으로 5개 집단으로 나누어졌으며 세부적으로는 10개의 집단으로 다시 구분할 수 있었다.

63균주에 대한 RAPD분석 결과 크게 5개의 집단으로 나누어 졌다. 여러종류의 Primer를 사용하여 나타나는 밴드의 양상을 조사하였는데 그 중에서 Operon 03, 18, 19의 세종류의 Primer가 표고의 유전분석에 용이한 특이 Primer임이 밝혀 졌다.

63개 균주에 대해서 온도별 균사생장을 조사한 결과 25℃에서 배양된 균사신장 길이가 33.1~37.2mm의 범위에 전체 균주의 40%가 포함되어 가장 양호한 것으로 나타났으며, 28℃에서는 29.1-33.0mm 범위에 33%의 균주가 포함되었고, 20℃에서는 25.1~29.0mm 범위에 46%의 균주가 포함되어 제일 균사생장이 불량한 것으로 나타났다.

63균주에 대해 리그닌 분해력을 조사한 결과 발생한 발육폭은 최고 높은 경우 43.8mm²까지 나타났으며, 대부분의 균주가 25mm²전후의 리그닌 분해력을 보였다.

톱밥배지상에서의 균사발육을 조사한 결과 평균 균사 발육이 6그룹으로 신장치가 나누어졌고 3.12 ~ 3.33mm범위에는 22개 균주로 가장 많은 수가 포함되었고, 균주간 발육 신장치 폭이 평균 1.06mm로 나타났다.

톱밥배지에서의 발이특성을 조사한 결과 10±5℃의 변온 처리에서 용기현상과

시원체 형성이 대체적으로 낮은 빈도수를 보여 주었으며, $15\pm 5^{\circ}\text{C}$ 의 경우, 용기현상 및 시원체, 자실체 형성이 두드러지는 경향을 볼 수 있었다. 이를 통해 $10\pm 5^{\circ}\text{C}$ 에서 용기 및 자실체가 형성되는 균주들은 저온성 품종이라 생각되며, $15\pm 5^{\circ}\text{C}$ 에서의 자실체발이는 중온성 품종, $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 의 변온처리시 자실체 발이는 고온성 품종으로 사료된다. 대조균주 중 Co5, Co8, Co9, Co14는 대부분 저온성 품종의 버섯이므로 $10\pm 5^{\circ}\text{C}$ 의 변온처리시 시원체 형성을 위한 자극을 주어 발이가 유도되었다. 하지만 시험균주는 대부분 중온성 품종과 고온성 품종의 비율이 높았다. 또한 배지의 갈변현상과 자실체의 발이 및 발생량과의 상관관계는 알 수 없었다.

지역별 온도분포를 조사한 결과 남부지방의 온도가 중부지방에 비하여 겨울 최저온도가 2°C 정도 높고, 반대로 여름 최고기온의 경우 중부지방이 2°C 정도 낮은 것으로 조사되었는데, 이것은 앞에서도 언급한 바 대로 그 지역에 적합한 품종을 선택하는 데 가장 중요한 지표가 된다.

또 지역별 재배품종을 조사한 결과 중부지방에서는 전체 재배량의 60%정도가 고온성 품종이었으며, 그 밖에 저온성, 중온성의 순으로 재배량이 많은 것으로 조사되었다. 반면에 남부지방에서는 저온성 품종이 평균 50%정도 재배되어 저온성 품종을 가장 많이 재배하는 것으로 조사되었으며, 지역에 따라 차이는 있지만 고온성과 중온성은 비슷한 비율로 각각 25%정도 재배되고 있는 것으로 나타났다.

실내시험을 거쳐 선발된 품종에 대해 지역적용 품종을 선발하기 위하여 지역실연시험을 실시하고자 재배실연지를 선정하였다. 재배실연지는 제주도를 제외한 전국 8도에서 한 곳씩 비교적 버섯재배가 많이 행해지고 있는 곳을 선택하였으며, 제주도와 온도가 가장 비슷하다고 생각되는 전남에서 두 곳을 선정하였다. 선정된 지역 중 경남울산, 전북완주, 전남장흥, 전남곡성 등 네 곳은 연평균기온이 13°C 내외였다. 연평균기온이 낮은 곳으로는 경기여주, 강원홍천 등 두 곳이었으며 연평균기온이 10°C 내외였다. 그 밖에 충북영동, 충남공주, 경북상주 등 세 곳은 연평균기온이 중간정도의 기온을 보이며 대체로 11°C 에서 12°C 의 범위내에 있었다.

원목재배 실연시험을 위한 품종은 기후조건을 먼저 고려하여 연평균기온이 높고 연중 최저기온이 비교적 높은 곳에는 저온성품종과 중온성품종을 위주로 접종하였고, 연평균기온이 낮고 연중 최고기온이 비교적 낮은 지역에는 주로 고온성 품종을 접종하는 등 기후조건에 맞는 품종을 선별하여 접종하였다. 공시목으로는 표고재배 자목으로 농가에서 선호하는 나무에 따라 참나무류 중에서 선별하여 사

용하였으며, 접종기간은 1997. 3. 28 ~ 4: 30일 동안 참나무 8,000본을 시험접종하였다. 시험균주수는 18개 균주로 고온성 8 품종, 중온성 4 품종, 저온성 6 품종의 성형종균을 실연재배자의 관행적 방법으로 접종하였다.

균사활착율을 조사한 결과 모두 97%이상의 양호한 활착율을 나타내었으며, 지역별, 품종별 활착율의 차이는 보이지 않았다.

각 지역별 접종 3개월 후의 표면 만연율을 조사한 결과 지역별로는 큰 차이가 없는 것으로 나타났지만 경기여주의 저온성과 중온성의 표면만연율은 남부지방에 비하여 상대적으로 낮았으며, 품종별로는 남부지방에서 접종한 중온성의 만연율이 37.7%로 가장 우수한 것으로 나타났다.

접종 6개월 후의 균사속도를 조사한 결과 표면만연율이 우수한 중온성 품종이 속도를 또한 우수한 것으로 나타났으며, 고온성 품종의 속도는 표면만연율에 비해 높은 것으로 나타났다.

지역별 재배실연시험 결과 버섯생산량은 품종의 온도형별로는 고온성이 310.9g으로 가장 많은 생산량을 보였으며, 중온성이 297.9g, 저온성이 263.8g 생산되어 품종별로 생산량의 차이가 있음을 보였다. 지역별로도 생산량의 차이가 있어서 고온성 품종의 경우 충남공주지역이 329.1g으로 가장 많은 생산량을 보였고 경기여주의 경우에는 304.0g으로 가장 적은 생산량을 보였다. 저온성 품종 버섯발생량은 경기여주에서는 243.7g인데 반해 전남장흥은 277.2g의 버섯이 생산되어 약 34%정도의 버섯이 더 생산되는 것으로 나타났다.

균주별 생산량을 살펴보면 고온성 품종 가운데 가장 생산량이 많은 균주는 본당 347.7g의 버섯이 생산된 H4 균주이었으며 대조균주인 H8 균주보다 우수한 것으로 나타나 앞으로 지속적인 조사 결과를 종합하여 신품종으로 등록할 수 있을 것으로 사료된다.

중온성 품종 중에는 대조균주인 M4 균주가 315.4g의 버섯이 생산되어 가장 우수한 것으로 나타났으며, 시험 균주인 M1 균주의 경우에는 305.8g의 버섯이 생산되었다. 저온성 품종의 경우에도 대조균주인 L5 균주가 290.8g이 생산되어 가장 우수하였으며, 시험균주 중에는 L2 균주가 275.8g으로 우수하였다.

제 3 장 교배 육종

제 1 절 서 론

벼섯의 육종에는 품종을 조절된 환경에 순화시키는 법, 균주 수집에 의한 선발 육종법, 균주간의 교배에 의한 교잡육종법, 조직배양 및 원형질체 융합 등 생물공학적인 육종법, 방사선 및 약제처리를 통한 돌연변이육종법 등 다양한 기술이 연구되고 있다. 본 연구에서는 표고 신품종 육성을 위해 주로 선발육종을 실시하였고, 새로운 육종기술을 정립시키기 위하여 교잡육종을 시도하였다.

교잡육종은 균의 생리적 특징을 이용하여 기존에 쓰이고 있는 표고 품종 중 서로 보완적인 성질을 갖고 있는 두개의 품종으로부터 좋은 형질만을 나타내는 새로운 품종을 제조하는 것이다. 즉 수확량은 많지만 품질이 떨어지는 균주와 품질은 우수하지만 수확량이 적은 두 균주를 교배하여 수확량과 품질이 모두 우수한 우량종균을 만든다면 매우 이상적일 것이다. 그러나 이 방법에는 어려운 점이 많이 내재되어 있다. 그것은 교배가 되더라도 원하는 형질을 갖춘 교잡균주가 나올 확률이 상당히 낮으며, 더욱이 두 균주간에 친화력이 없으면 교배가 성립되지 않는다는 것이다. 이러한 이유로 해서 아직까지 교잡육종에 의해 새로운 품종이 육성된 예는 극히 드물고, 그에 따라 보다 좋은 성과를 올리기 위해서는 많은 노력과 고도로 숙련된 기술의 개발이 필요하다.

제 2 절 교잡육종에 의한 우량품종 육성

1. 균주 수집

전국 각지 및 임산미생물사업소에서 '96-'97년도에 종균을 접종하여 재배실연 중에 있는 벼섯나무에서 발생된 벼섯에서 품종육성 목적에 적합한 유전형질이 발현된 자실체 및 단포자를 수집하여 시험재료로 사용하였다.

가. 자실체 조직 분리

수집된 자실체 중에서 어리고 신선한 것을 골라 자실체에 부착된 이물질을 제거하고 클린벤취내에서 갖을 반으로 절단 후 절단면 표면을 화염멸균시킨 후 갖

과 대의 단면에서 조직을 떼어내어 접종하여 시험관에 접종한 후 2-3회 재이식하여 순수한 균사만 분리하였다.

나. 단포자 분리

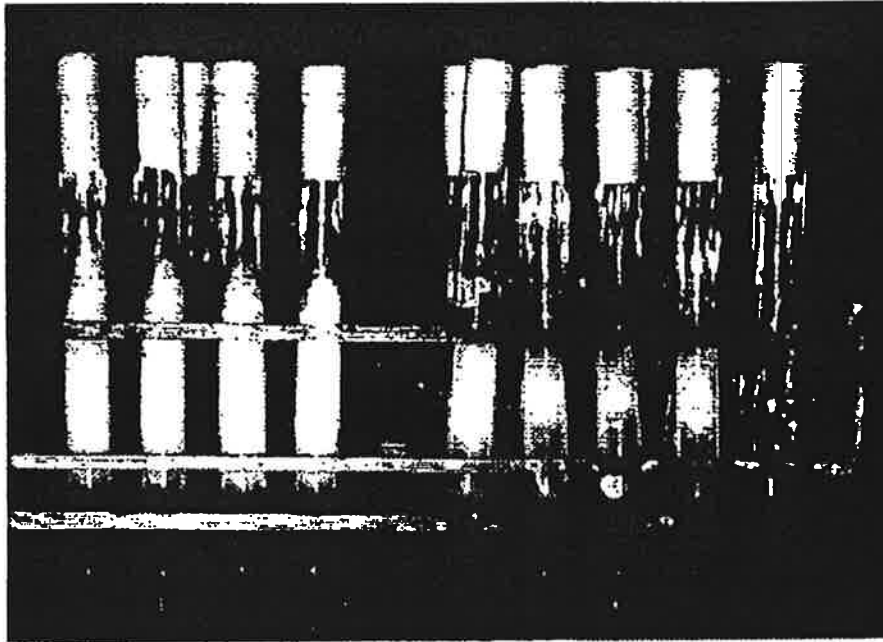
자실체의 절취하여 멸균수가 들어있는 플라스크에 달아맨 후 포자를 낙하시켜 포자현탁액을 만든후 다른 살균수로 여러 번 희석하여 시험관에서 받아시킨 후 실체현미경을 사용 균사의 분지가 2-3개정도 형성되면 새로운 배지로 이식시킨 후 분리한 균사체의 콜로니 크기가 2-3mm 정도 자라면 현미경으로 관찰하여 1핵 균사인 것만을 선별하여 시험관으로 재이식하여 시험에 활용하였다.

다. 일핵균주 및 자실체의 선발

수집된 단포자 및 자실체 조직분리 균주중 활력이 우수한 단포자 및 조직분리 균주만을 교배에 사용하고자 균사 성장량 및 목재의 부후활성 시험을 거쳐 활력이 우수한 균주만을 선발하였다. 인공배지에서의 균사성장측정 감자한천배지를 라이안 시험관에 조제하여 선별된 단포자 균사를 배양하여 균사생장을 측정하였고 톱밥배지에서의 균사성장측정은 톱밥배지를 시험관에 조제하여 단포자 균사를 배양하여 균사성장량을 측정하고 톱밥배지의 변색정도를 관찰함으로써 목재의 부후활성을 육안으로 측정하였다. <그림 3-1>에서는 선별된 2핵균사 및 1핵균사를 보여주고 있다.

<표 3-1> 시료수집 및 일핵 균주 선발내역

구 분	수집자실체수	단포자분리수	우량일핵균주수
고온성계통	25	750	40
중온성계통	16	480	32
저온성계통	18	540	38
계	59	1,770	110



<그림 3-1> 교배육종을 위해 선발된 2핵 균주(좌) 및 1핵 균주(우)

2. 균사 교배

가. 교배계

벼의 교배계에는 자웅동주(雌雄同株)와 자웅이주(雌雄異株)의 두 종류가 있다. 자웅동주는 단포자에서 나온 1핵균사끼리 융합하여 생식이 일어나지만, 자웅이주는 이성(異性)의 균사가 만날 때에만 유성생식을 전개한다.

한편 자웅이주는 다시 2극성과 4극성으로 나누어지는데, 2극성 자웅이주는 한 종류의 불화합성인자가 교배의 가부를 지배하는 것으로 나메꼬(나도팽나무벼)가 대표적이다. 또한 4극성 자웅이주는 두 종류의 불화합성인자가 교배의 성공여부를 결정하는데 표고와 팽이 등이 여기에 속한다.

<표 3-2>는 4극성인 경우 서로 다른 1핵균사가 융합하여 새로운 2핵균사를 만들 수 있는 교배조합을 보여주고 있는데, 불화합성인자는 A_1 과 A_2 및 B_1 과 B_2 조합만이 교배가 가능함을 알 수 있다.

<표 3-2> 4극성의 교배조합

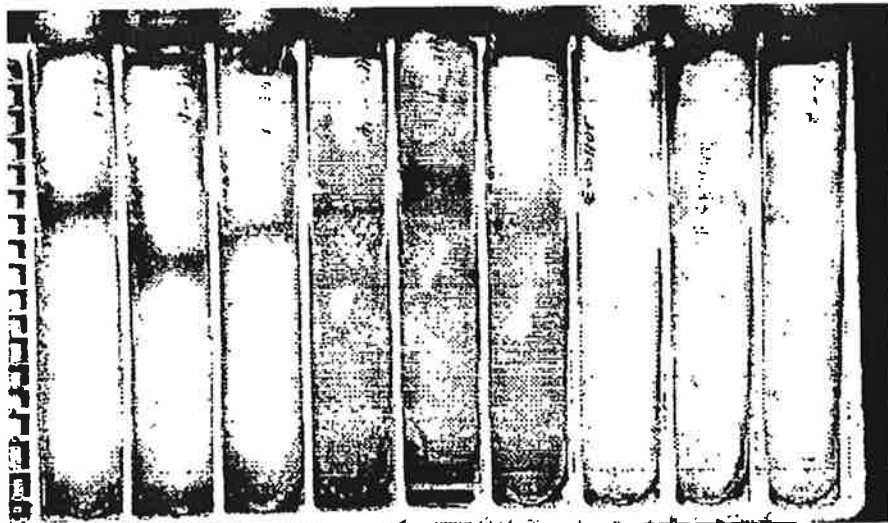
	Λ_1B_1	A_2B_2	A_1B_2	A_2B_1
Λ_1B_1	-	+	-	-
Λ_2B_2	+	-	-	-
A_1B_2	-	-	-	+
Λ_2B_1	-	-	+	-

+ : 화합성조합, - : 불화합성조합 (Takemaru)

나. 일핵 군사간의 교배

군사생리 시험을 거쳐 선발된 우량일핵군사 간에 교배를 실시하여 새로운 신품종을 육성하고자 <그림 3-2>에서 보는 바와 같이 한천배지가 들어있는 시험관에 각각의 일핵군사를 5-10mm정도 넣어뜨려 접종하여 3-4일간 배양하여 두 개의 균이 접촉된 부위 일부를 채취하여 현미경으로 관찰 클램프 형성여부를 관찰하여 교배된 것을 확인후 새로운 배지에 이식하여 시험에 사용하였다.

단포자 분리를 통해 얻어진 110개의 1핵 군사간의 교배시험을 통해 1핵 군사간의 교배계를 검정하고 교배를 실시한 결과 27개(M01~M27)의 새로운 교잡군주를 얻을 수 있었다.



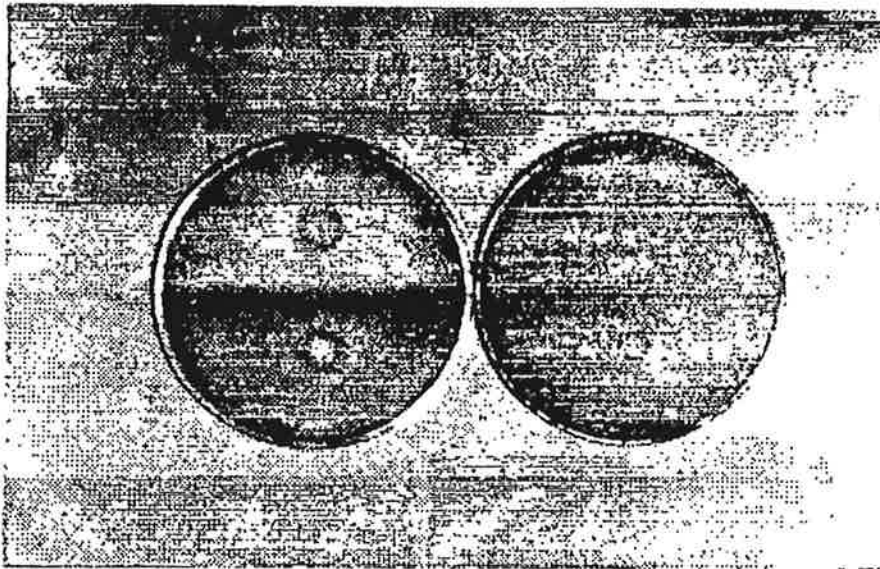
<그림 3-2> 1핵 군사간의 교배시험

다. 다이몬(Di-mon)교배

1핵 군사와 자실체 조직에서 분리된 2핵 군사체와 상호교배를 실시하는 방법으로 한천배지에 1핵군사를 먼저 접종하여 2mm정도 성장시킨 후, 그 상단에 2핵 군사체를 접종하여 성장시킨 후 하단의 군사체를 검정하여 이핵군사체가 확인되면 새로운 배지에 이식하여 시험에 이용하였다.

이러한 다이몬 교배법의 기작은 2핵 군사의 한 핵이 친화인자의 조절에 의해 1핵 군사에게로 이동할 수 있는 것이다. 다이몬 교배법을 이용하여 육종을 할 경우 재배균주의 특성을 개량하고 육종기간을 단축시키는 등의 장점을 갖고 있다.

다이몬 교배를 하여 얻어진 신생 2핵 군사는 모균주와의 차이를 확인하기 위하여 <그림 3-3>에서 보는 바와 같이 한천배지상에서 모균주와 대치배양을 통해 검정을 하였다. 이 때 군사간의 대치선이 생기면 서로가 독립균주이고, 대치선이 없이 군사가 서로 섞이면 모균주와 같은 것으로 판정된다. 이 때 새로운 신생 2핵 군사가 두 모균주와 다른 것이 확인되면, 이 균주는 두 모균주의 특성을 모두 지니게 된다. 본 실험에서는 다이몬 교배법을 이용하여 2핵 군사와 1핵 군사간의 교배를 실시하고 모균주와의 대치배양을 통해 18개(D01~D18)의 새로운 교잡균주를 얻을 수 있었다.



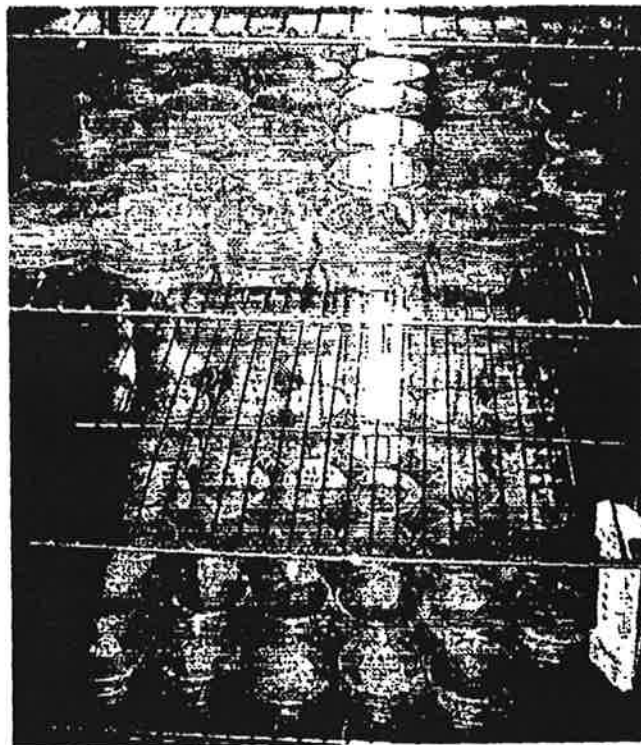
<그림 3-3> 모균주와 신생균주간의 대치배양

제 3 절 균사 생리 시험

1핵 균사간의 교배에서 선발된 27개 균주와 다이몬 교배에 의해 만들어진 18개 동 총 45개의 교배 육성된 균주들에 대한 실연재배를 하기 위한 기초실내실험으로 감자한천배지 상에서의 배양온도별 균사생장 및 균사밀도를 측정하는 등 기초적인 생리시험을 수행하였다.

감자한천배지상에서의 균사생장 및 균사밀도를 조사하기 위해서 배지조성은 potato (dried) 4g, Dextrose 20g, Agar 15g의 혼합 조제품 39g을 D.W1000ml에 용해시켜 만든 배지로서 Petri-dish (직경90mm)에 배지용량 20ml씩을 분주한 후 1.2kg/cm²에서 15분간 고압살균 하였다. 무균하에서 배지 중앙에 공시균주를 1점씩 각각 접종 한 후 Incubator에서 배양온도 20℃, 25℃, 28℃구분하여 균사의 신장치, 형태적 특성을 조사하였다(그림 3-4).

실험 결과는 <표 3-3>에 나타낸 바와 같다. 배양온도별로 균사의 성장속도를 보면 25℃에서 균사의 생장이 가장 양호한 것으로 나타났다.



<그림 3-4> 온도별 균사배양

<표 3-3> P.D.A 배지에서 배양온도별 균사생장속도 비교

균 사 신장치(mm)	20℃		25℃		28℃		비 고
	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)	균주수	비율(%)	
9.0 이하	1	2	-	-	3	7	
9.1 ~ 13.0	1	2	1	2	3	7	
13.1 ~ 17.0	3	7	4	9	5	11	
17.1 ~ 21.0	14	31	4	9	15	33	
21.1 ~ 25.0	19	42	11	24	17	38	
25.1 ~ 29.0	5	12	20	45	1	2	
29.1 ~ 33.0	2	4	4	9	1	2	
33.1 이상	-	-	1	2	-	-	
계	45	100	45	100	45	100	

온도 25℃에서 배양된 균사신장 길이가 25.1~29.0mm인 균주가 20균주로 45%를 차지하고 있으며, 28℃배양은 21.1~25.0mm에서 38%, 20℃배양은 21.1~25.0mm 42%를 보여 25℃에서의 배양이 균사 발육 신장에 제일 양호하게 나타났다.

균사 발육특성은 균사 색택(백색)에서 짙은색이 12개 균주, 보통이 15개 균주, 옅은색 18개를 얻고 치밀도는 치밀이 7개 균주, 보통이 25개 균주, 영성한 균주는 13개 균주, 균사환문은 형성 16개 균주, 무형성 29개 균주로 나타났다.

균사의 색택, 치밀도, 환문형의 차이와 균사의 신장치에는 별다른 상관관계가 없는 것으로 조사되었지만 실연시험을 위한 우량균주의 선발에 있어서는 균사의 생장속도뿐만 아니라 치밀도 등의 생장특성을 고려하여 선발하였다. 균사의 신장이 우수하면서 비교적 균사의 색택이 진하고, 균사의 치밀도가 높은 균주로는 1핵 균사간의 교배에서 선발된 M04, M21 등 2균주와 다이몬 교배에 의하여 만들어진 D01, D03, D11, D18 등이 우수한 것으로 판단되어 톱밥재배실연시험을 실시하였다.

제 4 절 톱밥 재배 실연

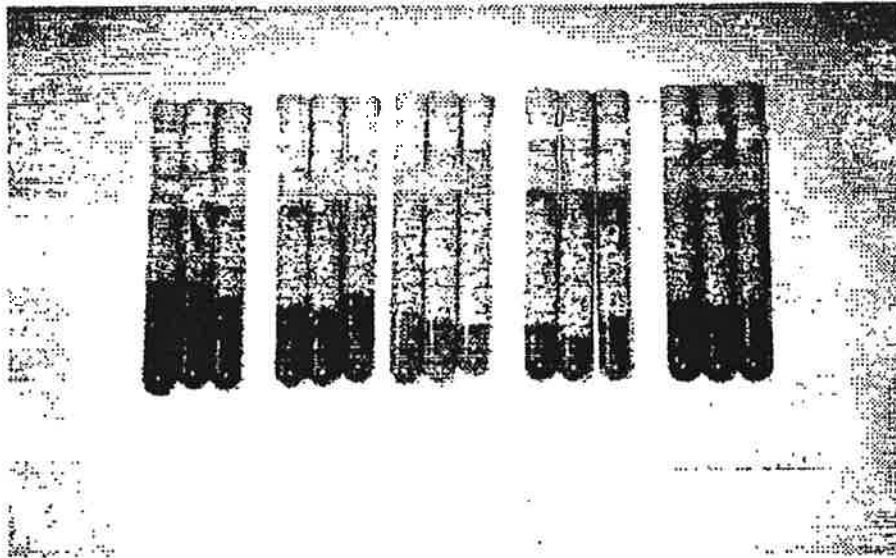
1. 톱밥 배지 배양

참나무 톱밥배지를 함유한 시험판에서 균사배양 25℃로 27일간 배양시키면서 균사의 신장치와 발육특성을 조사하였다. 균사 신장치는 1일 평균 균사 발육을

토대로 품종을 나누었다. 기존 등록품종과의 근사 신장치의 차이를 비교하기 위해서 등록품종을 3군주 포함하여 실험하였다. <표 3-4>에서 보는 바와 같이 대조구(C 1)의 평균 근사 발육이 가장 우수하였지만 교잡육종된 군주 중에서도 M04와 D03 등은 근사신장이 우수한 것으로 나타났으며, 다른 교잡군주들도 D18을 제외한 나머지 군주들의 근사신장은 비교적 우수한 것으로 나타났다.

<표 3-4> 교잡군주의 톱밥배지에서의 군주별 근사신장

군주 NO.	C 1	C 2	C 3	M04	M21	D01	D03	D11	D18	비고
근사신장치 (mm/일)	3.47	3.24	2.98	3.01	2.61	2.37	2.88	2.54	1.56	



<그림 3-5> 교잡군주의 톱밥배지에서의 군주별 근사신장

2. 실내 지실체 발이

버섯 발생을 톱밥배지를 이용하여 실내 재배로 진행하였다. 2개월전에 교배 육성된우량 군주를 톱밥배지 형태로 종균을 제조하였으며 이를 접종원으로 준비하

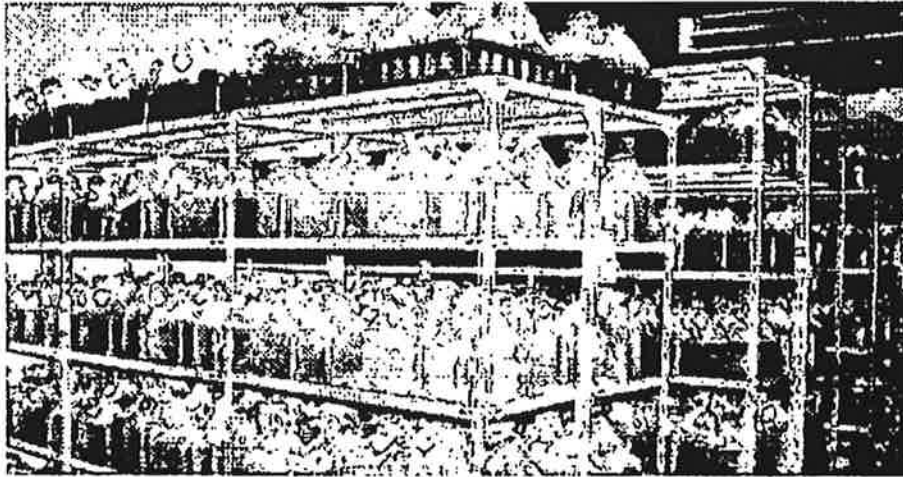
였고 2.5kg의 톱밥배지를 조제, 살균, 냉각후 무균실에서 종균을 접종하여 90일동안 암상대(그림 3-6)에서 배양한 후 다시 30일간 명배양(그림 3-7)한 배지를 발생처리하였다. 발생처리한 배지에서 1차 버섯을 수확하고 약 15일간의 휴양기간을 가진 후 2차 발생처리를 하는 방법으로 4회 발생작업을 실시하였으며, 4차 수확까지의 버섯 생산량을 누적합산한 후 배지갯수로 나누어 배지당 수확량을 계산하였다(그림 3-8).

톱밥재배 실연 결과 대조품종인 C 1 균주가 15℃(10-20℃)에서 발생처리 했을 때 662g이 생산되어 가장 많은 생산량을 보였고, 교배육종에 의해 선발된 균주 중에서는 M04 균주가 525g의 버섯이 생산되어 가장 양호한 것으로 나타났다. 온도별로 발생처리를 하여 품종간의 발생량차이를 조사한 결과 대체로 15℃에서 발생처리 하였을 때 가장 많은 버섯이 생산되는 것으로 나타났지만 대조품종의 C 2 균주는 10℃(5-15℃)에서 가장 많은 버섯이 생산되었다(표 3-5).

<표 3-5> 톱밥배지상 발육특성 및 버섯 생산량

구분 균주No.	균사만연 누계일수 (일)	갈변 현상	온도별 버섯 생산량(g/2.5kg배지)					
			10℃(5~15)		15℃(10~20)		20℃(15~25)	
			생산량	개체 중량	생산량	개체 중량	생산량	개체 중량
C 1	42	+++ ¹⁾	582	15.8	662	16.2	436	14.8
C 2	45	++	552	12.1	536	12.4	512	11.5
C 3	48	++	436	11.8	465	12.1	453	12.8
M04	45	++	411	12.4	525	12.6	5.6	12.3
M21	52	+	205	10.5	245	9.8	177	10.5
D01	48	+	128	11.2	136	10.5	102	10.6
D03	47	++	315	10.9	337	9.5	242	10.3
D11	54	-	89	8.0	65	9.1	66	8.8
D18	62	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾ +++ : 많음, ++ : 중간, + : 적음



<그림 3-6> 암배양 과정



<그림 3-7> 명배양 과정



<그림 3-8> 톱밥배지에서 버섯발생

제 5 절 요약

전국 각지 및 입산미생물사업소에서 '97년도에 종균을 접종하여 재배실연 중에 있는 버섯나무에서 발생한 버섯에서 품종육성 목적에 적합한 유전형질이 발현된 자실체 및 단포자를 수집하여 시험재료로 사용하였다.

교배육종을 위하여 수집된 자실체는 고온성 25개를 비롯하여 중온성 계통이 16개, 저온성이 18개 였고, 각각의 자실체에서 50개 정도의 단포자를 분리하여 배양실험을 한 결과 활력이 우수한 110개의 1핵 군사 균주를 선발할 수 있었다.

군사생장 및 배양특성을 조사하여 선발된 1핵 군사간에 실시하여 새로운 신품종을 육성하고자 단포자 분리를 통해 얻어진 110개의 1핵 군사간의 교배실험을 통해 1핵 군사간의 교배계를 검정하고 교배를 실시한 결과 27개(M01-M27)의 새로운 교잡균주를 얻을 수 있었다.

또한 1핵 군사와 자실체조직에서 분리된 2핵군사체와 상호교배를 실시하는 다이몬(Di-mon) 교배법을 이용하여 2핵 군사와 1핵 군사간의 교배를 실시하고 모균주와의 대치배양을 통해 18개(D01-D18)의 새로운 교잡균주를 얻을 수 있었다.

1핵 균사간의 교배와 다이몬교배법을 이용하여, 새롭게 교배 육성된 45균주의 배양온도별 균사의 성장속도를 보면 25℃에서 균사의 생장이 가장 양호한 것으로 나타났다. 균사의 발육특성을 조사한 결과 색택은 짙은 백색에서 옅은 백색으로 다양하게 나타났으며, 균사의 치밀도를 보면 밀도가 높은 것이 7균주, 보통이 25, 낮은 것이 13개로 나타났다.

균사배양실험 결과 균사의 신장이 우수하면서 비교적 균사의 색택이 진하고, 균사의 치밀도가 높은 균주로는 1핵균사간의 교배에서 선발된 M04, M21 등 2균주와 다이몬 교배에 의하여 만들어진 D01, D03, D11, D18 등 6균주가 우수한 것으로 나타났다.

톱밥재배실연시험을 실시하기 전에 시험관에서 톱밥을 충전한 후 전배양한 결과 M04, D03 등은 대조구의 등록품종과 균사신장이 비슷한 것으로 나타났고, 다른 4균주 중에서 D18을 제외한 나머지 균주들의 균사신장도 비교적 우수한 것으로 나타났다.

교잡육종에 의해 선발된 균주에 대한 톱밥재배 실연 결과 대조품종인 C 1 균주가 15℃(10-20℃)에서 발생처리 했을 때 662g이 생산되어 가장 많은 생산량을 보였고, 교배육종에 의해 선발된 균주 중에서는 M04 균주가 525g의 버섯이 생산되어 가장 양호한 것으로 나타났다. 온도별로 발생처리를 하여 품종간의 발생량 차이를 조사한 결과 대체로 15℃에서 발생처리 하였을 때 가장 많은 버섯이 생산되는 것으로 나타났지만 대조품종의 C 2 균주는 10℃(5-15℃)에서 가장 많은 버섯이 생산되었다.

제 4 장 종균 배양

제 1 절 서 론

종균 조제 및 배양의 일련과정은 다음과 같다. 믹서기에서 톱밥과 영양제(밀기울, 쌀겨)을 적당한 비율로 완전히 혼합시킨 후 물을 넣어서 함수율이 65%정도가 되도록 조절하고 혼합이 완료된 배지를 표고톱밥배양에 쓰이는 용기인 내열성의 P.P용기에 700g이 되도록 넣는다. 배지충진이 끝난 배지는 배지에 접종구멍을 뚫은 후 마개를 한 다음 배지를 살균가마에 넣고 증기를 서서히 넣어주어 압력을 높여서 압력을 1.2kg/cm² 도달하면 90분간 살균을 실시한다. 살균이 끝난 배지는 배지내부의 온도가 접종에 적합한 온도가 되도록 냉방기를 사용하여 단시간에 강제 냉각시킨 후, 무균실에서 미리 배양하여 준비해 둔 종균으로 톱밥배지표면에 골고루 톱밥종균이 분산 되도록 접종한다. 접종이 끝난 배지는 온도조절이 가능한 공조설비를 갖춘 배양실에서 배양온도를 20℃, 습도는 70%정도가 되도록 공조하여 40일 전후로 배양하면 종균이 완성된다.

아무리 숙련되고 전문적인 재배기술을 가졌다 하더라도 우수한 품종이 없이는 버섯재배에 있어서 좋은 성과를 올릴 수 없다. 우수한 품종의 개발과 병행하여 활력이 뛰어나고 잡균에 의해 오염이 되지 않은 종균을 사용하는 것이 재배의 성패와 밀접한 관계가 있다. 버섯의 재배에 있어서 씨앗의 역할을 하는 종균이 불량하다면 불량한 종자를 심어 놓고 열매가 열리기를 기대하는 것과 같은 것이다.

본 실험에서는 버섯재배에서 씨앗의 역할을 하는 종균의 배양법을 개선하기 위하여 종균배양에 필요한 재배기질의 개선을 위한 시험과 영양원을 첨가하여 균사의 활력을 높이기 위한 시험을 실시하였다.

제 2 절 종균 배양

1. 종균 제조

가. 배지조제

배지혼합기에 톱밥과 영양제(밀기울, 쌀겨 등)를 적당한 비율로 넣고 완전히 혼합시킨 후 물을 넣어서 함수율이 65%정도 되게 조절하였다. 톱밥은 버섯의 종류에 따라 다른 데 표고의 경우에는 참나무류의 톱밥을 이용한다. 톱밥의 수종별

배양특성이나 톱밥입자 크기별 배양특성에 대한 연구는 국내에서는 아직 미진한 실정이며, 본 연구에서는 본 사업소에서 종균을 제조하는 방식으로 그대로 따르기 위해 사용하는 수종이나 입자크기에 대한 변수는 무시하고 현행대로 참나무류의 혼합톱밥을 사용하였고, 톱밥입자에 대한 선별도 하지 않았다. 배지의 수분함량은 관행대로 손으로 짚 쥐어 손가락사이로 물기가 비치는 정도를 65%로 보았으며, 배지제조 후 톱밥배지 수분측정기를 이용하여 수분을 측정하여 모자라는 만큼 약간의 수분을 더 보충하였다.

나. 배지채우기

혼합이 완료된 배지는 표고 종균배양에 쓰이는 내열성의 폴리프로필렌용기 (1200cc)에 넣은 후 가볍게 다져준 다음 접종구멍을 뚫고 접종구멍이 무너지지 않도록 알맞게 다져준 후 병마개를 하였다.

다. 배지살균

배지를 살균가마에 넣고 문을 단단히 잠근 후 증기를 서서히 넣어주어 살균가마내의 압력이 0.7kg/cm²정도 되었을 때 배기밸브를 열어 살균가마와 배지내의 공기를 제거하고 배기밸브를 닫고 압력을 높여서 압력을 1.2kg/cm² 도달하면 60분간 살균을 실시하였다.

라. 배지냉각

살균이 끝난배지를 배지내부의 온도가 접종에 적합한 온도가 되도록 냉동기를 사용하여 단시간에 강제 냉각시켰다.

마. 종균접종

무균상태의 무균실에서 준비된 종균으로 톱밥배지표면에 끌고루 종균이 분산 되도록 접종하였다.

바. 배양

접종이 끝난 배지를 온도조절이 가능한 공조설비를 갖춘 배양실에서 배양온도 20℃ 습도70%로 배양하였다.

제 3 절 영양원 선별

표고균사 성장하기 위해서는 기본 생리적 골격을 이루며 영양원으로 탄소원이 필요하며 질소원은 단백질 합성과 핵산의 주요 구성성분으로 필수적인 영양원의, 질소원과 대사과정중 미량원소의 무기염류등이 필요하다. 따라서 이들 영양원 및 미량원소가 표고균사에 미치는 영향을 알아보기 위한 실험이 진행되었다.

1. 탄소원

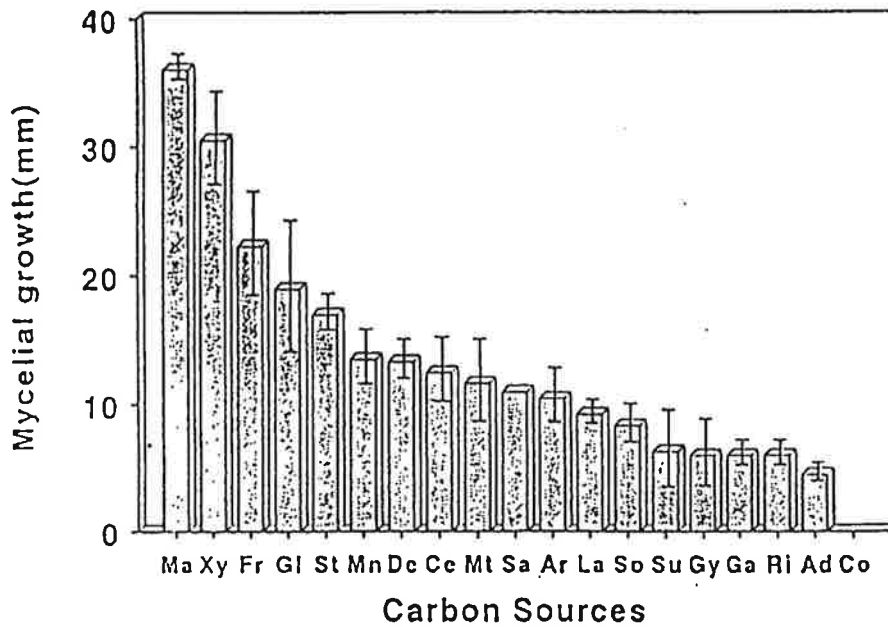
기본배지는 <표 4-1>의 Park배지를 이용하였다. 질소원을 ammonium nitrate로 하고, starch를 제거 후 탄소원을 salicin, lactose, glycerol, D-ribose, D-mannose, arabinose, cellobiose, D-maltose, D-xylose, adonitol, D-fructose, D-galactose, D-glucose, mannitol, sucrose, D-sorbitol, dextrin, starch의 18종을 각각 100mM씩 첨가하였고 산도는 phosphate buffer를 이용하여 pH 4.5로 조정하였으며 20일간 배양 후 균사생장 및 균사밀도를 측정하였다.

<표 4-1> Park배지의 배지조성

배지시약명	성분함량(g)
Starch	15.0
CaCO ₃	0.314
Arginine	3.484
Ammonium tartrate	3.06
KH ₂ PO ₄	8.766
K ₂ HPO ₄	1.584
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.5
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.02
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.03
MnSO ₄ · 7H ₂ O	0.02
Agar	20.0
Water	1 liter

총 18종의 탄소원을 기본배지에 100mM씩 첨가한후 균사생장 및 균사밀도를 측정한 결과는 <그림 4-1>에서 보는 바와 같이 Maltose, Xylose, Fructose, Glucose 첨가시 우수하였으며 그 중 Maltose가 가장 우수한 균사생장 및 균사밀

도표 보여 주었다.

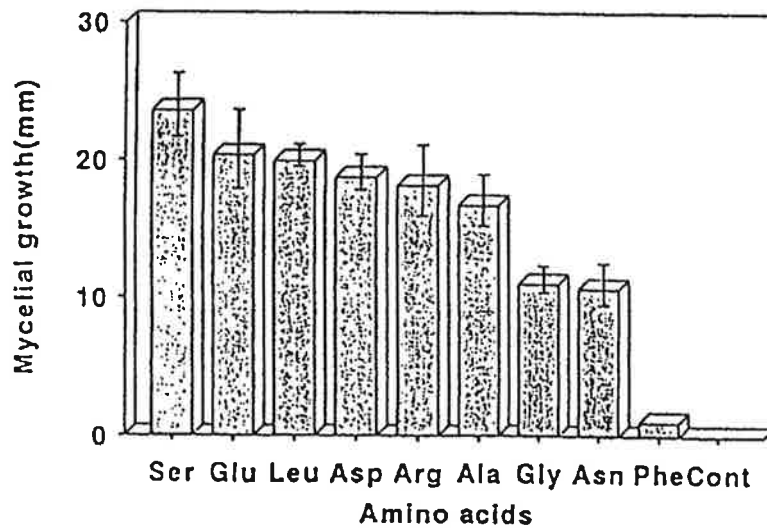


<그림 4-1> 탄소원 첨가효과

Ma:Maltose, Xy:Xylose, Fr:Fructose, Gl:Glucose, St:Starch,
 Mn:Mannose, De:Dextrine, Ce:Cellobiose, Mt:Mannitol,
 Sa:Salicin, Ar:Arabinose, La:Lactose, Su:Sucrose,
 Gy:Glycerol Ga:Galactose, Ri:Ribose, Ad:Adonitol,
 Co:Control

2. 유기 질소원

12종의 유기질소원을 20mM씩 첨가한 결과 Serine, Glutamic acid, Leucine에서 균사생장 및 균사밀도가 양호 하였으며 그중 Serine에서 가장 우수한 균사생장 및 균사밀도를 나타내었다(그림 4-2).

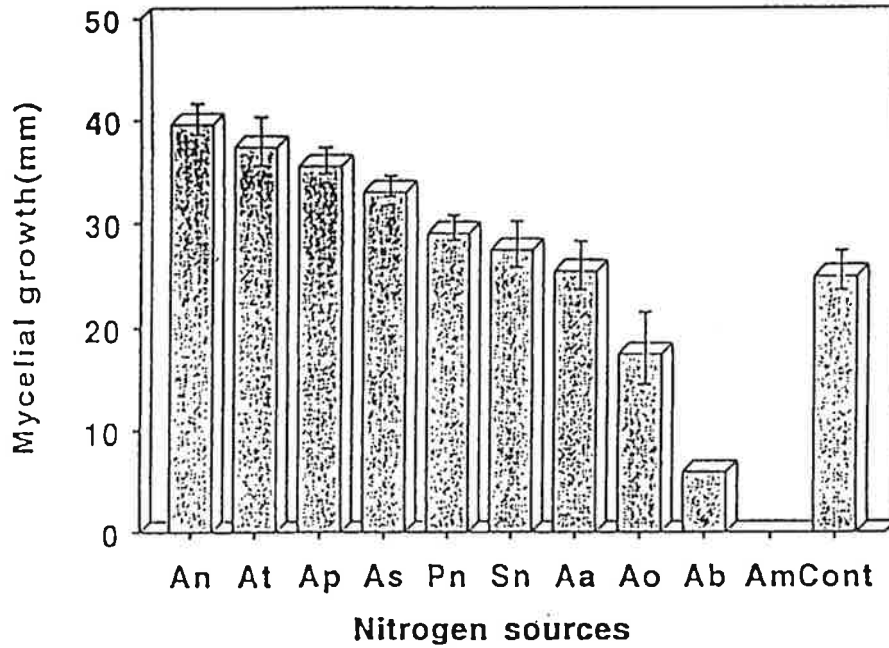


<그림 4-2> 유기질소원 첨가효과

3. 무기 질소원

기본배지에 탄소원을 glucose로 하고 arginine과 ammonium tartrate를 제거 후 질소원을 ammonium acetate, ammonium oxalate, ammonium phosphate, ammonium molybdate, ammonium bicarbonate, ammonium nitrate, ammonium sulfate, ammonium tartrate, sodium nitrate, potassium nitrate, urea의 11종의 무기태질소원을 각각 20mM 첨가하였고 산도는 phosphate buffer를 이용하여 pH 4.5로 조정하였다. 10일간 배양 후 균사생장 및 균사밀도를 측정하였다.

10종의 무기질소원을 각각 20mM 첨가한 결과 Ammonium nitrate, Ammonium tartrate, Ammonium phosphate에서 양호한 균사생장을 보였으며 Ammonium nitrate에서 가장 우수한 균사 생장을 보였다(그림 4-3).



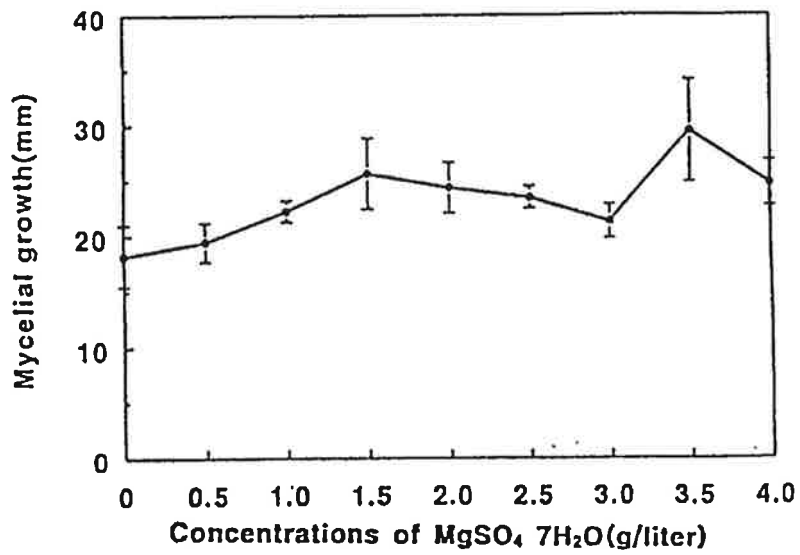
<그림 4-3> 무기질소원 첨가효과

An:Ammonium nitrate, At:Ammonium tartrate,
 Ap:Ammonium phosphate, As:Ammonium sulfate,
 Pn:Potassium nitrate, Sn:Sodium nitrate,
 Aa:Ammonium acetate, Ao:Ammonium oxylate,
 Ab:Ammonium bicarbonate, Am:Ammonium
 molybdate, Cont:Control

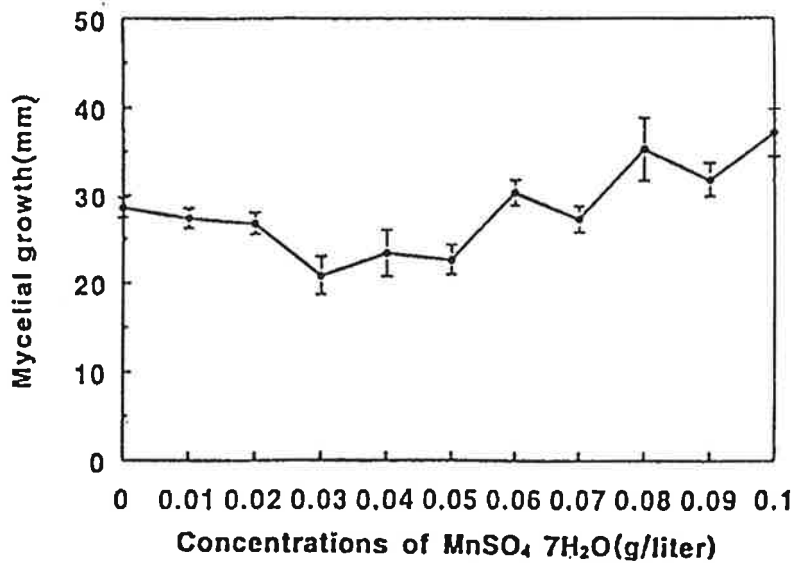
4. 무기염류

기본배지에 $MgSO_4$ 0-4.0g/l 의 농도로 $MnSO_4$, $ZnSO_4$, $FeSO_4$ 0-0.1g/l 의 농도로 첨가하여 균사생장을 비교하여 보았다.

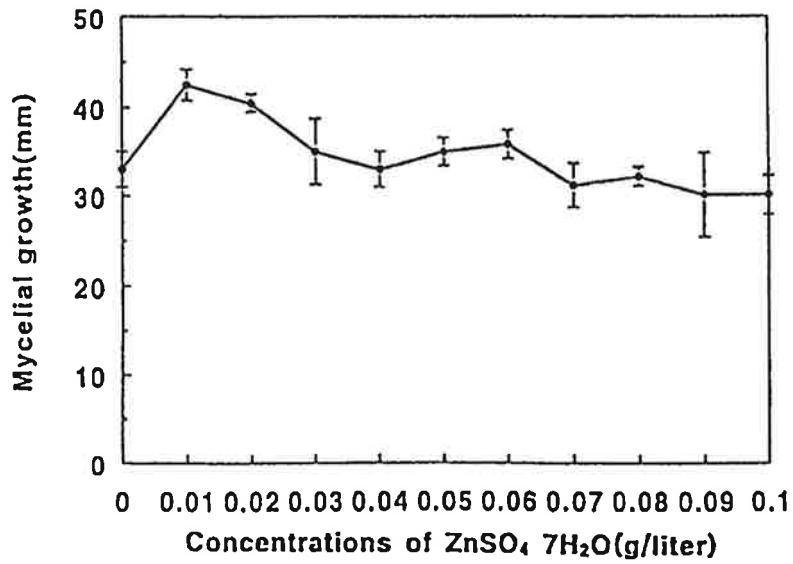
균사생장을 비교한 결과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 3.5g/l 에서 균사생장이 최대치를 나타내었다가 감소하였고, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.02g/l 에서 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.01g/l 에서 $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 0.08g/l 에서 균사 생장이 최대치를 보였다(그림 4-4, 4-5, 4-6, 4-7).



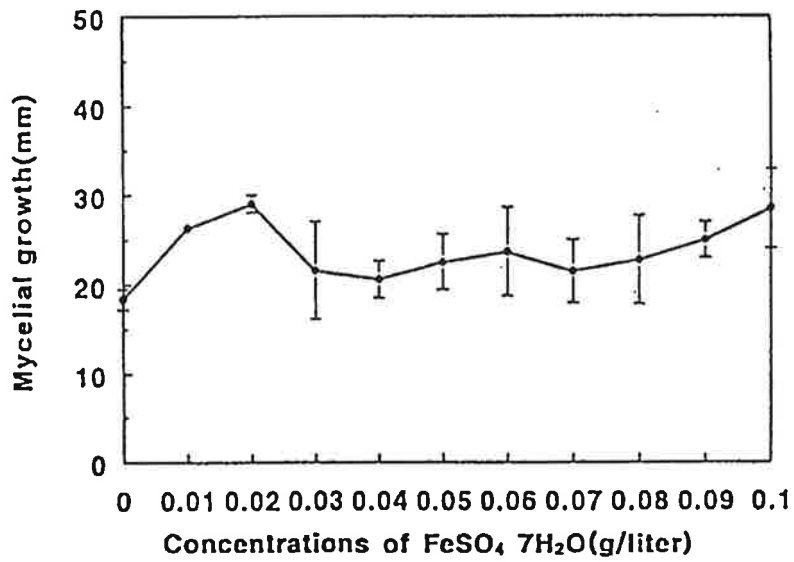
<그림 4-4> $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 첨가효과



<그림 4-5> $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 첨가효과



<그림 4-6> ZnSO₄ 7H₂O 첨가효과

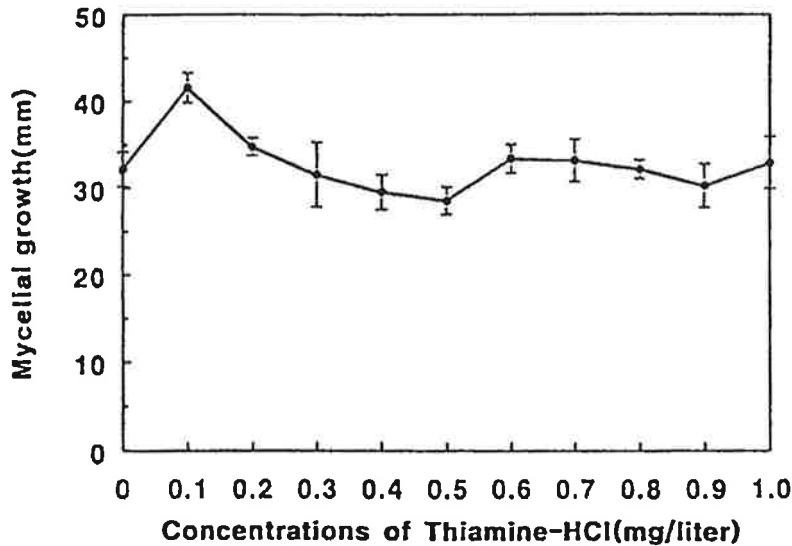


<그림 4-7> FeSO₄ 7H₂O 첨가효과

5. Thiamine HCl

Thiamine HCl 농도를 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000 $\mu\text{g}/\ell$ 로 조제한 후 기본 배지에 첨가하여 균사 생장을 비교하였다.

균사 생장을 비교한 결과 100 $\mu\text{g}/\ell$ 의 농도에서 균사 생장이 최대를 보였다.

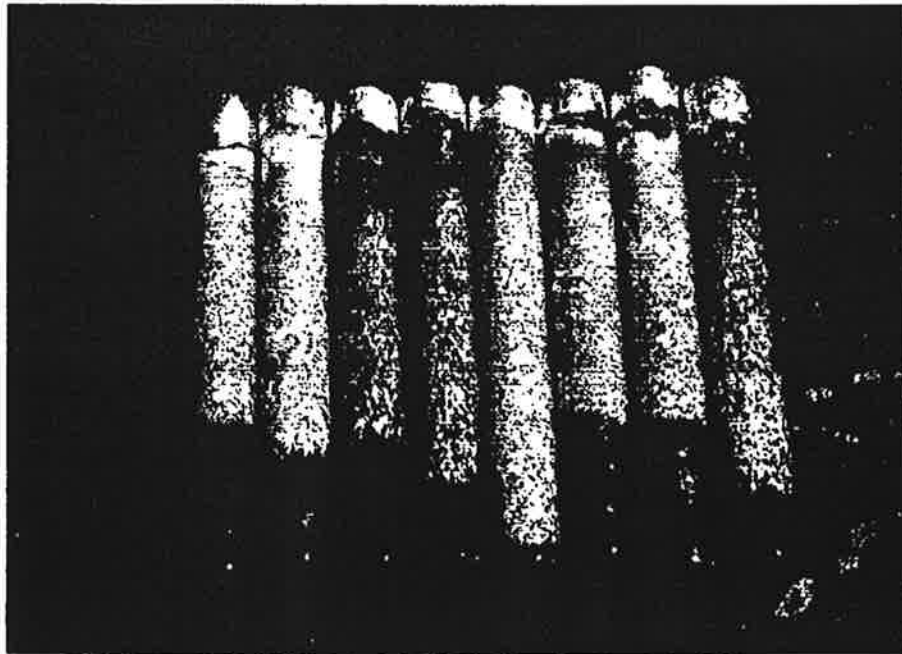


<그림 4-8> Thiamine HCl 첨가효과

제 4 절 첨가제 선발

1. 첨가기질 시험

참나무톱밥 100%, 참나무톱밥 80%+생미강20%, 참나무톱밥 80%+탈지강20%, 참나무톱밥+설탕1%, 참나무톱밥+설탕5%, 참나무톱밥80%+밀기울20%, 참나무톱밥 80%+생미강20%+설탕1%, 참나무톱밥80%+탈지강20%+설탕1% 등 8가지의 처리로 혼합한 후, 수분함량을 65%로 조절하였다. 각각의 기질을 시험관(24×250mm)에 고른 공극율을 지니도록 충전하였고, 이들 배지의 살균은 121℃, 30분간 고압살균하였다. 배지를 충분히 식힌 후(18℃내외), 평판배지에서 사전에 접종하여 15일간 성장시킨 표고균사의 절편을 cork borer(Ø8mm)로 2개씩 접종하였다. 그리고 23℃의 항온기에서 배양하면서 2일마다 일정한 시간대에 균사생장 및 균사밀도를 측정하였고, 종균 후속도, 시원체의 형성정도도 기록하였다(그림 4-9).



<그림 4-9> 첨가기질에 따른 표고 근사생장

<표 4-2> 첨가기질에 따른 표고 근사생장 비교

조사항목 처리내용	근사 생장		근사 밀도	종근후속도		시원제 형성	평가 순위
	길이 (mm)	순위		양호	불량		
뜸밥100%	87.0	3	+		○	×	7
뜸밥+생미강20%	69.4	5	+++	○		○	2
뜸밥+탈지강20%	65.2	7	+++	○		○	4
뜸밥+밀기울20%	95.8	1	+++	○		○	1
뜸밥+설탕1%	89.4	2	+		○	×	6
뜸밥+설탕5%	73.8	4	+		○	×	8
뜸밥+생미강20%+ 설탕1%	67.8	6	+++	○		○	3
뜸밥+탈지강20%+ 설탕1%	63.5	8	+++	○		○	5

첨가기질에 따른 표고균의 군사생장을 조사한 결과 표고종균의 주재료인 참나무 톱밥, 첨가기질인 밀기울, 생미강, 탈지강, 설탕의 배합비율 및 첨가기질의 적정 비율에 따른 표고균사의 생장을 상호비교하였다. 참나무 톱밥80%+밀기울20%에서 군사생장이 95.8mm 로 가장 군사생장이 우수하였으며 다음은 참나무 톱밥+설탕1% 이 98.4mm, 참나무 톱밥100%은 87.0mm였고, 군사밀도면에서는 생미강, 탈지강, 밀기울을 넣은 처리구가 매우 우수하였다. 종균후속도와 시원체 형성에서는 참나무 톱밥과 설탕을 가한 처리구에서 매우 낮게 평가되었다. 따라서 종합적인 평가에서 참나무 톱밥80%+밀기울20%이 가장 우수하게 평가되었고 참나무 톱밥80%+생미강 20%도 높게 평가되었다.(표 4-2)

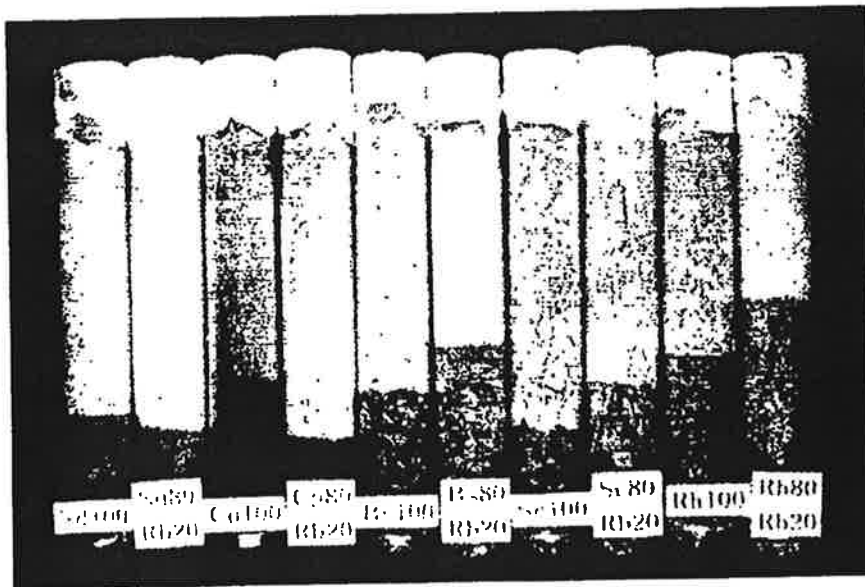
2. 배지 재료 선별

농가 부산물인 미강, 왕겨, 율무박, 사탕수수박, 코코넛박을 이용한 종균배양의 가능성을 알아보려고 하였다. 각각의 기질을 혼합하였는데 참나무 톱밥100%, 참나무 톱밥80% + 미강20%, 왕겨100%, 왕겨80% + 미강20%, 사탕수수100%, 사탕수수80%+미강20%, 코코넛박100%, 코코넛박80% + 미강20%, 율무박100%, 율무박 80% + 미강20%의 기질을 혼합한 후, 물을 첨가하여 수분함량이 65%가 되도록 하였다. 시험관(길이 200mm, 내경 25mm)에 각각 70g을 충전한 후 알루미늄 호일로 마개를 만들어 고압살균기로 121℃, 60분간 살균하였다. 각 처리별 배지에 전배양된 표고버섯 균사체 절편(직경4mm)을 2개씩 접종 후 23℃ 항온기에서 배양하여 20 일간 군사생장 및 군사밀도를 측정하였다.

종균배양 기질별 표고균의 군사생장을 조사한 결과는 <표 4-3>에서 보는 바와 같이 사탕수수 100%에서 군사생장 및 밀도가 우수한 성적을 보였고, 코코넛박 80% + 미강 20%에서 기존 참나무 톱밥보다 우수하였다. 이는 종균 제조시 참나무 톱밥보다 나올 수 있다는 가능성을 제시하여 주었다. <그림 4-10>에서는 종균 배양 기질별 표고균의 군사생장 특성을 보여주고 있다.

<표 4-3> 종균배양 기질별 표고균의 균사 생장

기 질 별	균사생장 및 편차(mm)	균사 치밀도	순위
톱 밥	105.8 ± 2.8	++	4
톱밥+미강	107.3 ± 0.9	+++	3
왕 겨	84.2 ± 1.3	++	8
왕겨+미강	65.8 ± 2.9	+++	10
사탕 수수	123.0 ± 1.8	+++	1
사탕수수+미강	102.8 ± 3.5	+++	5
코 코 낫	92.8 ± 5.8	+	7
코코낫+미강	113.5 ± 2.6	+++	2
울 무 박	101.8 ± 5.0	++	6
울무박+미강	76.8 ± 2.5	+++	9



<그림 4-10> 종균배양 기질별 표고균의 균사 생장

제 5 절 요약

본 연구에서는 벼재배에서 씨앗의 역할을 하는 종균의 질을 높이기 위하여 종균배양에 필요한 재배기질의 개선을 위한 시험과 영양원을 첨가하여 균사의 활력을 높이기 위한 시험을 실시하였다.

총 18종의 탄소원 중 균사생장 및 밀도를 측정한 결과 Maltose가 가장 우수한 균사생장 및 균사밀도를 보여 주었다. 유기질소원 중에서는 Serine이 가장 우수하였고, 10종의 무기질소원 중에서는 Ammonium nitrate에서 가장 우수한 균사생장을 보였다. 무기염류에서 균사생장을 비교한 결과 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 $3.5g/l$ 에서 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 $0.02/l$ 에서 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 $0.01g/l$ 에서 $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 는 $0.08g/l$ 에서 균사생장이 최대치를 보였다. Thiamine HCl 결과 $100\mu g/l$ 의 농도에서 균사생장이 최대를 보였다.

종균배양의 재배기질을 개선하기 위한 시험에서는 참나무톱밥 80%+밀기울 20%에서 균사생장이 95.8mm로 가장 균사생장이 우수하였으며, 균사밀도면에서는 생미강, 탈지강, 밀기울을 넣은 처리구가 매우 우수하였다. 종균 후속도와 시원체 형성에서는 참나무톱밥 80%+밀기울 20%이 가장 우수하게 평가되었고 참나무톱밥 80%+생미강20%도 높게 평가되었다.

농가 부산물인 미강, 왕겨, 울무박, 사탕수수박, 코코넛박을 이용한 종균배양 시험 결과 사탕수수 100%에서 균사생장 및 균사밀도에서 우수한 성적을 보였고, 코코넛박 80% + 미강 20%에서 기존 참나무 톱밥보다 우수하였다. 이는 종균 제조시 다른 재료를 이용할 수 있다는 가능성을 제시하여 주었다.

제 5 장 참고문헌

- 박노조, 천경숙, 1988. 표고교배계통 육성시험. 임협시험결과보고서 :157-253
- 박노조, 천경숙, 1989. 표고우량계통 육성시험. 임협시험결과보고서 :139-155
- 박원목, 송치현, 현재욱, 1992. 표고버섯의 영양생리 및 기질개발. 한국균학회지 20:77-82
- 박원목, 이용세, 김성희, 박용환, 1986. 전기영동에 의한 영지버섯 계통의 특성. 한국균학회지 14:93-99
- 박원목, 송치현, 현재욱, 1992. 표고버섯의 영양생리 및 기질개발. 한국균학회지 20:77-82
- 유창현, 김형득, 고승주, 1991. 표고버섯 우량계통육성시험. 농업기술연구소 시험연보:410-418
- 윤갑희, 1986. 표고의 각 계통별 생산량과 균사생장 및 자실체의 형태적 특징에 관한 연구. 경희대학교 석사학위논문집 : 15-28
- 이원규, 이은영, 윤갑희, 홍순우, 1987. 동위효소의 전기영동법을 이용한 표고균주의 계통 결정. 임연연보 :115-122
- 이원규, 이은영, 박원철, 이창근, 1993. 표고 신품종육성(I). 임연연보 47:121-128
- 이용래, 이준산, 황계성, 1980. 표고의 각 계통별 발생량과 생태적 및 형태적 특징에 관한연구. 한국균학회지 8:33-43
- 홍기성, 박원철, 이은영, 윤갑희, 이원규, 이창근, 1994. 우리나라의 표고의 생산,부후특성 및 톱밥배양에 관한연구. 한국임학회지 83:12-19
- 大政正武 等, 1992.きのこの増殖と育種. 農業圖書株式會社
- 武丸恒雄 等, 1991.きのこの基礎科學と最新技術. 農村文化社
- 日本きのこセンタ, 1988. シイタケ栽培技術と經營. 家の光協會
- 日本きのこ研究所, 1992. 最新シイタケのつくり方. 農山村文化協會
- 安藤正武, 溫水竹則, 日高忠利, 久保田暢子, 1969. シイタケ各系統の生態および形態的特性. 林試研報. 224 :1-38

- 温水竹則, 安藤正武, 堂園安生. 1959. シイタケ子實體發生時期, 發生量および形態. 林試 研報 116 :27-57
- 衣川堅二郎. 1990.きのこの遺傳と育種. 築地書館
- Ando, M. 1974. Fruit-body formation on *Lentinus edodes* on the artificial media. *Mushroom Sci.* IX(Part 1) : 415-422
- Bowden, C. G., Royse, D. J. and May, B. 1991. Linkage relationships of allozyme encoding loci in *Lentinula edodes*. *Genome* 34:652-657
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein. *Analyt. Biochem.* 72:248
- Chang, S. T. 1992. The world production of cultivated edible mushroom in 1991. *Mushroom J. Tropics* 7:117-120
- Chang, S. T. and P. G. Miles. 1989. *Edible mushrooms and Their Cultivation.* CRC Press, Inc.
- Chin, M. S., Kim, S. H. and Park, W. M. 1993. Virulence and isozyme patterns of *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* isolates from different geographic areas. *RDA J. Agri. Science* 35(1):324-331
- Crisan, ELI V. and Sands, A. 1978. Nutritional value. in. "The biology and cultivation of edible mushroom", Eds. S. T. Chang and W. A. Hayes. Academic Press. N. Y., Sanfrancisco, London. pp. 137-168
- Damaj, M., Jabaji-Hare, S. H. and Charesst, P. M. 1993. Isozyme variaton and genetic relatedness in binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology.* 83:864-871
- Folkertsma, R. T., Rouppe van der Voort, J. N. A. M., van Gent-Pelzer, M. P. E., de Groot, K. E., van den Bos, W. J., Schots, A., Bakker, J. and Gommers, F. J. 1994. Inter- and intraspecific variation between population of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* revealed by random amplified polymorphic DNA. *Phytopathology* 84:807-811

- Fukuda, M. and Tokimoto, K. 1991. Variation of isozyme patterns in the natural population of *Lentinus edodes*. Proc. Jpn. Acad. 67:43-47
- Glynn, A. N. and Reid, J. 1969. Electrophoretic pattern of soluble fungal proteins and their possible use as taxonomic criteria in genus *Fusarium*. Can. J. Bot. 47:1823-1831
- Grajai-Martin, M. J., Simon, C. J. and Muehlbauer, F. J. 1993. Use of random amplified polymorphic DNA(RAPD) to characterize race 2 of *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*. Phytopathology 83:807-811
- Guthrie, P. A. I., Magill, C. W., Frederikson, R. A. and Odvody, G. N. 1992. Random amplified polymorphic DNA markers: A system for identifying and differentiating isolates of *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 82:832-835
- Hanson, L. C. and Wells, K. 1991. Characterization of three *Tremella* species by isozyme analysis. Mycologia 83(4):446-454
- Huff, D. R., Bunting, T. E. and Plumley, K. A. 1994. Use of random amplified polymorphic DNA markers for the detection of genetic variation in *Magnaporthe poae*. Phytopathology 84:1312-1316
- Hyun, J. W., Park, W. M. 1996a. Vegetative compatibility, isozyme polymorphism and pathogenicity of isolates of *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae*. Kor. J. Plant Pathol. 12(1):33-40
- Hyun, J. W., Park, W. M. 1996b. Differentiation of *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae* isolates by random amplified polymorphic DNA(RAPD) analysis. Kor. J. Plant Pathol. 12(1):41-46
- Ikuo Ohira, Ikuo Furukawa and Tomoyasu Sakuno. 1992. Hyphal Behavior of *Lentinus edodes* bed-logs during fruiting body development. Trans. Mycol. Soc. Japan 33:325-335
- Ito, T. 1978. Cultivation of *Lentinus edodes*. in "The biology of cultivation of edible mushrooms" Eds. S. T. Chang and W. A. Hayes. Academic Press. N. Y., San Francisco, London. PP. 461-473

- Keisuke Tokimoto and Mitsuo Komatsu. 1982. Influence of temperature on mycelium growth and primodium formation in *Lentinus edodes* Trans. Mycol. Soc. Japan 33:325-335
- Lee, Y. B., Park, W. M. and Paik, S. B. 1988. A comparative study on the protein and some isoenzyme patterns between races of the soybean cyst nematode(*Heterodera glycines* Ichinohe). Kor. J. Plant Pathol. 4(1):49-53
- Manulis, S., Kogan, N., Reuven, M. and Ben-Yephet, Y. 1994. Use of RAPD technique for identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi from carnation. Phytopathology 84:98-101
- May, B. and Royse, D. J. 1988. Interspecific allozyme variation within the fungal genus *Pleurotus*. Trans. Br. Mycol. Soc. 90:29-36
- Miles, P. G. and Chang, S. T. 1985. *Lentinus* and future. Mushroom news letter for the Tropics. 6(2): 2-3
- Ohmasa, M. and Furukawa, H. 1986 Analysis of esterase and malate dehydrogenase isozymes of *Lentinus edodes* by isoelectric focusing for the identification and discrimination of stocks. Trans. Mycol. Soc. Jpn. 27:79-90
- Ouellet, t. and Seifert, K. A. 1993. Genetic characterization of *Fusarium graminearum* strains using RAPD and PCR amplification. Phytopathology 83:1003-1007
- Park, S. H., Park, W. M., Kim, S. H. and Lee, J. E. 1987. Esterase isozyme of mycelium of *Pyricularia oryzae* under various cultural conditions. Kor. J. Plant Pathol. 3(3):168-173
- Park, W. M. and Stegemann, H. 1979. Rice protein patterns. Comparison by various PAGE technique in slabs. J. Agronomy & Crop Science 148:446-454
- Park, W. M., Lee, Y. S., Wolf, G. and Heitefuss, R. 1986a. Differentiation of physiologic races of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav. by PAGE-electrophoresis. J. Phytopathol. 117:113-121

- Park, W. M., Lee, Y. S., Kim, S. H. and Park, Y. H. 1986b. Characterization of isolates of *Ganoderma lucidum* by electrophoretic patterns of enzymes. 1986. Kor. J. Mycology 14(2) 93-99
- Park, W. M., Park, S. H. Lee, Y. S., Ko, Y. H. and Cho, E. K. 1987. Differentiation of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on *Capsicum annum* L. by electrophoretic method. Kor. J. Plant Pathol. 3(2) 85-92
- Pegler, D. J. 1990. Aclassification of the genus *Lentinus* Fr. Kavaka. 35:36-41
- Rohlf, F. H. 1990. NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system. State Univ. of New York, Stony Brook.
- Royse, D. J. and May, B. 1987. Identification of shitake genotypes by multilocus enzyme electrophoresis: catalog of lines. Biochem. Genet. 25:705-716
- Royse, D. J., Spear, M. C. and Mays, B. 1983a. Single and joint segregation of marker loci in the shitake mushroom, *Lentinus edodes*. J. Gen. App. Microbiol. 29:217-222
- Royse, D. J., Spear, M. C. and Mays, B. 1983b. Cell line authentication and genetic relatedness of lines of shitake mushroom, *Lentinus edodes*. J. Gen. App. Microbiol. 29:205-216
- Stasz, T. E., Weeden, N. F. and Harman, G. E. 1988. Methods of isozyme electrophoresis for *Trichoderma* and *Gliocladium* species. Mycologia 80(6):870-874
- Schafer, C. and Wostemeyer, J. 1992. Random primer dependent PCR differentiates aggressive from nonaggressive isolates of the oliseed rape pathogen *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans*). J. Phytopathol. 136:124-136
- Suzuki, S. and Ashima, S. 1976. Influence of Shitake (*Lentinus edodes*) on human serum cholesterol. Mushroom Science 9(1):463-467
- Tokimoto, K. and M. Fukuda. 1981. Relation between mycelium quantity and fruit-body yield in *Lentinus edodes* bed-log. Taiwan Mushrooms 5(1): 1-5

- Tokimoto, K., M. Tsuboi, E. Ozaki and M. Komatsu. 1980. Relation between rotted degree of bed-log and fruit body formation in *Lentinus edodes*. Rept. Tottori Mycol. Inst. 18 :189-196
- Teruyuki Matsumoto and Yutaka Kitamoto. 1987. Induction of frutibody formation by water-flooding treatment in sawdust cultures of *Lentinus edodes* Trans. Mycol. Soc. Japan 33:325-335
- T. Toyomasu and A. Zennyozu. 1981. On the application of isozyme electrophoresis to identification of strains in *Lentinus edodes* Mushroom Sci. XI : 415-422
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic makers, Nucleic Acid Res. 19:6531-6535
- Yoon, C. S., Glawe, D. A. and Show, P. D. 1991. A method for rapid small-scale preparation of fungal DNA. Mycologia 83:835-838
- Zervakis, G., Sourdis, J. and Balis, C. 1992. Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus* species based on isozyme analysis. Mycol. Res. 98:329-341