

# 표고 신품종 풍년고의 배양 특성

박영애<sup>1</sup> · 박원철<sup>1\*</sup> · 구창덕<sup>2</sup> · 이봉훈<sup>3</sup>

<sup>1</sup>국립산림과학원 화학미생물과, <sup>2</sup>충북대학교 산림과학부, <sup>3</sup>곡수표고

## Cultural Characteristics of New Cultivar of *Lentinula edodes*, *Poongnyunko*

Young-Ae Park<sup>1</sup>, Won-Chull Bak<sup>1\*</sup>, Chang-Duck Koo<sup>2</sup> and Bong-Hun Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Division of Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

<sup>2</sup>Department of Forest Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

<sup>3</sup>Gocsupyogo, Jipyeong-myeon, Yangpyeong-gun 476-871, Korea

**ABSTRACT :** In this study, a new cultivar of *Lentinula edodes* was bred from dikaryotic KFRI 490 and monokaryotic KFRI 536 by Di-mon method. The new breed was named “Poongnyunko” and physiological characteristics was investigated. Its optimal growing temperature was 25°C, and it had thin density. Its colony was colorless and did not form any epithelium. On the 7<sup>th</sup> day of mycelial growth, “Poongnyunko” was 56.6 mm, and showed higher cellulase activity compared with “Sanlim 4-ho”(52.9 mm). On the 5<sup>th</sup> day of mycelial growth, “Poongnyunko” was 58.0 mm, and showed higher laccase activity compared with “Sanlim 4-ho” (55.6 mm). Its pH at a substrate was 6.0. Before cultivation, the pH of sawdust substrate was 4.7-5.5 went down to 3.7-3.9 after 120-day cultivation. After 60 days of cultivation, the change of CO<sub>2</sub> was the greatest. During the cultivation, CO<sub>2</sub> concentration in a growing bag was 4.67% to 3.90%.

**KEYWORDS :** Di-mon method, *Lentinula edodes*, New cultivar, Poongnyunko

### 서론

우리나라의 표고 품종 육종에 대한 연구는 1980년에 시작되었으며, 30여 년이 지난 2014년 8월 현재 약 50여개의 품종이 개발되어 출원 및 등록되었다. 국립산림과학원에서 육종 개발된 19개 품종, 산림버섯연구센터에서 육종 개발된 23개 품종, 농촌진흥청에서 개발된 1개 품종 그 외 민간인이 육종한 품종이 10개이다[1].

버섯의 육종은 기본적으로 야생버섯의 자실체 조직을 분

리하여 육종의 재료로 사용한다. 육종 방법으로는 조절된 환경에서 재배 시험을 거쳐 순화시키는 법, 우수한 형질의 자실체를 선발하는 선발 육종법, 교배에 의한 교잡 육종법, 조직 배양 및 원형질체 융합 등을 이용한 생물공학적인 육종법, 방사선 및 약품처리를 통하여 변이체를 만드는 돌연변이 육종법 등 다양한 기술을 통하여 품종을 개발한다[2]. 이 중에서 모균주의 생산성, 버섯 형질, 온도 특성, 발생 형태 등 유전적 특징을 이미 알고 진행하는 교잡에 의한 품종 개량이 주로 육종에 이용된다.

버섯의 교배계는 자웅이주와 자웅동주가 있는데 표고는 4극성의 자웅이주 교배계로 우량한 형질을 가지고 있는 모균주의 유전 형질의 특성을 고려한 표고 육종 방법으로 Di-mon 교잡 방법과 Mono-mono 교잡 방법이 있다. Di-mon 교잡은 이핵 균사의 핵이 이동하여 일핵 균사체의 핵과 만나 교잡이 이루어지는 방법으로 [2, 3], potato dextrose agar (PDA) 배지 위에 서로 다른 균주의 이핵 균사와 일핵 균사를 접종하면 이핵 균사가 일핵 균사를 둘러싸고 자라면서 교배가 진행되어 새로운 이핵 균사가 만들어지는 방법이다. Mono-mono 교잡 방법은 Di-mon 교잡과 방식은 같으나 모균주가 서로 다른 일핵 균사와 일핵 균사의 교잡 방법이다 [4]. 개발된 균주를 최종적으로 재배 시험을 거쳐 검정 후

Kor. J. Mycol. 2015 March, 43(1): 26-32  
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.1.26>  
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249  
 © The Korean Society of Mycology

\*Corresponding author  
 E-mail: wcbak@forest.go.kr

Received March 5, 2015  
 Revised March 10, 2015  
 Accepted March 19, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

자실체의 품질, 다수확, 좋은 맛 등 목적하는 바의 균주를 선발한다[2].

국내에서 재배되고 있는 품종은 일본, 대만과 중국을 포함하여 불과 10여 개 내외의 품종이며 또한 같은 품종인데도 불구하고 다른 품종인 것처럼 유통되고 있는 것이 현실이다. 표고 산업 선진국인 일본의 경우도 등록 품종은 180여 개 이상이지만 실제로 재배되고 있는 품종은 1/10수준에 불과하다[5]. 일본에서 유입되는 품종은 원목 재배용 품종이 많고 중국이나 대만에서 일본으로부터 유입되는 대부분은 톱밥 재배용 품종이다. 표고 품종은 추운 시기에 발생하는 저온성, 주로 봄 가을에 발생하는 중온성, 더운 시기에 발생하는 고온성 품종으로 나눈다. 이러한 특성을 이용하여 재배자의 재배 전략에 따라 적합한 품종을 선택하여 재배하여야 한다. 일반적으로 남부지역은 저온성 품종을, 중부 이남지역은 중온성 품종을, 경기북부지역은 고온성 품종을 선호하는 경향을 보인다. 버섯 발생 온도에 따라 표고버섯은 5~15°C(저온성), 10~20°C(중온성), 15~25°C(고온성)으로 구분한다[6]. 한편 Chang 등[7]에 의하면 저온성을 10°C 이하, 중온성을 10~20°C, 고온성을 20°C 이상으로 구분하기도 한다.

일본이나 중국 등에 비해 우리나라는 품종의 다양성이 많이 뒤진 상태이므로 계속적인 품종 개발이 요구되며, 육종의 목표를 생산성, 품질 및 온도형 등에만 국한시킬 것이 아니라 원목과 톱밥 이외의 내충성 내병성 품종 등 여러 방법을 이용하여 다양한 특성의 품종 개발이 전개되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 밀려 들어오는 외국계 품종에 대응하고 경쟁력을 갖추기 위한 일환으로서 Di-mon 교배에 의해 새롭게 만들어진 균주에 대하여 생리적 특성 검정을 통하여 우수한 품종 선발 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 육종 및 육성 균주의 생리적 특성

본 교잡에 사용된 KFRI 490 균주는 톱밥 재배용으로 봄, 가을에 주로 발생하는 중온성이고, KFRI 536은 원목 재배와 톱밥 재배 겸용으로 개발되었던 산림5호의 단포자로부터 분리된 균주이다. 산림5호는 11~22°C의 고온성 균주로 2 kg 톱밥배지에서 650 g이 생산되는 균주이다[8, 9]. 배지 조성별 pH와 CO<sub>2</sub> 농도를 비교하기 위하여 풍년고, 산림4호, 백화향, 천백고 균주를 공시균주로 사용하였다. 표고의 이핵 균사 KFRI 490과 일핵 균사 KFRI 536을 Di-mon 교배법으로 교잡하였다[10, 11]. 약 3~4주 정도 배양 후 균사의 선단에 형성된 부분을 취하여 이핵 균사의 특이적 특징인 꺾쇠 연결(clamp-connection)을 광학현미경으로 확인하였다. 새로 만들어진 교잡균주와 모균주를 PDA 평판배지에 서로 마주보게 접종해서 1~2개월 배양하여 대치선이 형성되면 교잡이 성공적으로 이루어진 것이라고 판단하였다.

새로 교잡된 균주 풍년고와 모균주인 KFRI 490과 KFRI

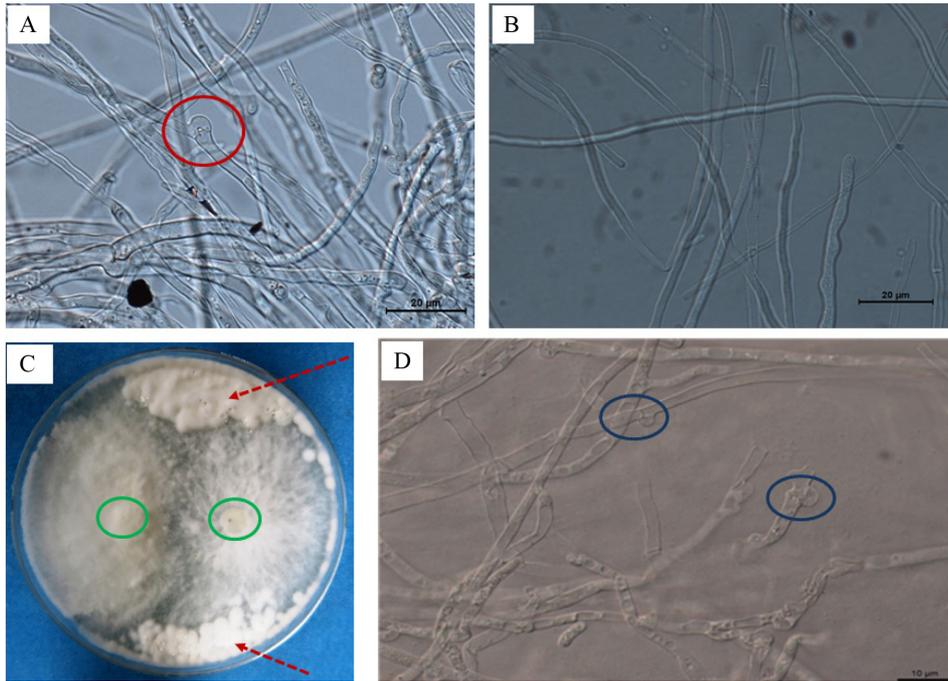
536 균사의 특성을 산림청 '신품종심사를 위한 표고버섯 특성조사요령'으로 조사하였다[12].

풍년고와 대조 품종인 산림4호의 부후적 특성을 알기 위해 목질 분해 효소인 cellulase와 laccase의 활성을 측정하였다. 셀룰로오스 분해 효소의 활성을 조사하기 위해 Jeon과 Ka[13]가 제시한 방법에 따라 carboxymethylcellulose (CMC)를 기질로 하는 효소 검색용 배지 CMC agar plate (NaNO<sub>3</sub> 2.0 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g, MgSO<sub>4</sub> 0.5 g, KCl 0.5 g, carboxymethylcellulose sodium salt 2.0 g, peptone 0.2 g, agar 15.0 g, DW 1L, pH 6.0)를 제조하였다. CMC agar plate (직경 85 mm) 한 개당 배지의 양은 20 mL로 하였으며, 배지의 중앙에 직경 7 mm 크기의 시험 균주(풍년고와 산림4호)를 각각 접종한 후, 25°C에서 7일간 배양하였다. 염색 시약인 Gram's iodine solution (KI 2.0 g, I<sub>2</sub> 1.0 g, 증류수 300.0 mL)을 배지 중앙에 3.0~4.0 mL씩 떨어뜨려 고르게 분산시킨 후, 차광한 상태에서 2시간 동안 상온에 방치하였다. 배지 내의 cellulase 활성 영역 즉, 접종원을 포함한 투명환의 직경을 mm 단위로 측정하였다.

풍년고와 산림4호 균주의 리그닌 분해력을 조사하기 위해 리그닌 분해 효소 중의 하나인 laccase의 활성을 측정하였다. 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)는 laccase와 반응 시 청록색의 발색대를 형성하는 특성이 있으므로 Jeon과 Ka[13]의 방법을 변형하여 다음과 같이 ABTS 효소검색용 배지인 ABTS agar plate를 제조하였다. 배지 1 L에는 무기물 혼합 농축액 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0 g, KCl 2.0 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 2.0 g, D.W. 1 L, pH 6.0) 50.0 mL와 ABTS 0.5487 g, Bacto (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) agar 15.0 g이 포함되도록 하였다. ABTS agar plate(직경 85 mm) 한 개 당 배지의 양은 20.0 mL로 하였으며 시험 균주(풍년고와 산림4호)의 접종원(직경 7 mm)을 배지 중앙에 한 개씩 접종한 후, 25°C에서 3일 또는 5일간 암배양하였다. 접종원을 중심으로 청록색의 원형 발색대가 형성된 경우 laccase 활성이 있는 것으로 간주하였으며, 접종원을 포함한 발색대의 크기를 mm 단위로 측정하였다.

### 톱밥 배지 배양 특성

배지의 조성은 참나무 톱밥과 영양원을 8:2 비율로 혼합하였고 탄산칼슘은 0.5%로 하여 미강, 미강+칼슘, 보리가루, 보리+칼슘, 콩비지, 콩비지+칼슘, 홍삼박, 홍삼박+칼슘 등 총 여덟 개 처리구로 제작하였고, 함수율을 60 ± 5%로 조정하였다. 다음은 사각의 PP 봉지에 2 kg씩 넣고 121°C, 90분 고압 살균하는 방법으로 제작되었다. 살균 과정과 배양 중의 통기를 위하여 봉지의 입구에 필터를 끼운 다음 플라스틱 캡을 부착하였다. 배지에 풍년고, 산림4호, 백화향, 천백고의 균주를 접종한 후 120일간 배양하였으며, 30일 간격으로 배지 내의 pH 변화를 조사하였다. 측정 방법은 농촌진흥청(2000)의 분석기준 방법[14]을 변형하여 톱밥과 증류수를 1:5의 비율로 섞어 pH를 측정하였다.



**Fig. 1.** Photomicrographs of Di-mon method to make new hybrid strain Poongnyunko (D) from dikaryon of strain KFRI 490 (A) and monokaryon of strain KFRI 536 (B). (A), Shows presence of clamp connection (KFRI 490). (B), Shows absence of clamp connection (KFRI 536). (C), Di-mon method to make new hybrid (arrow). (D), Hybrid mycelium made by mating of dikaryotic mycelium of KFRI 490 and monokaryotic mycelium of KFRI 536 (circle).

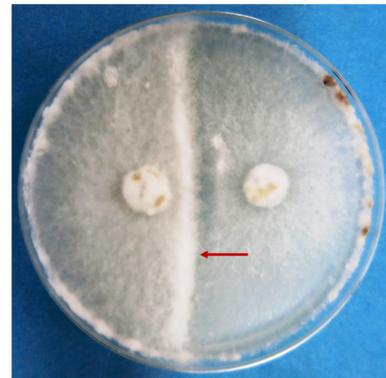
CO<sub>2</sub> 농도 실험은 위의 pH 측정과 같은 방법으로 배지를 조성하여 풍년고와 대조 균주 산림4호, 중저온성 품종인 백화향과 그의 대조 균주 천백고를 접종하였으며, 60일간 배양한 후 측정하였다. CO<sub>2</sub> 측정기기는 GV-100S (GASTEC, Kanagawa, Japan)를 통해 이루어졌다. 검지관은 NO. 2H Carbon Dioxide Detector Tube (GASTEC), CO<sub>2</sub> 0.5~20% (measurement range)를 사용하였으며 방법은 측정용 검지관을 봉지의 내부로 찢어 넣어 CO<sub>2</sub>를 측정하는 다음 구멍을 테이프로 밀봉하였다.

### 결과 및 고찰

#### 풍년고의 육종 및 생리적 특성 비교

공시균주인 KFRI 490의 이핵 균사(Fig. 1A)와 KFRI 536의 일핵 균사(Fig. 1B)의 교잡으로 새로운 교잡균주인 풍년고가 만들어졌다(Fig. 1D). 교잡이 이루어지는 부위가 일핵 균사를 지나 뒤편에서 이루어지거나 한쪽 옆으로 치우치는 등 여러 가지 유형이 있으나 풍년고는 이핵 균사가 일핵 균사를 지나 양옆으로 날개형의 모습으로 교잡이 이루어짐을 확인할 수 있었다(Fig. 1C). 풍년고를 모균주 KFRI 490과 대치 배양한 결과 명백한 대치선을 형성하여 독립성을(Fig. 2) 확인하였다.

산림청 ‘신품종심사를 위한 표고버섯 특성조사요령’[12]에 의하여 풍년고와 같은 온도형인 산림 4호를 대조 품종



**Fig. 2.** Confrontation culture between hybrid strain Poongnyunko (left) and its parent strain KFRI 490 (right). Arrow indicates the zone-line formation showing that the hybrid strain Poongnyunko was different from the parent strain KFRI 490 and this line was also confirmed at the other parent strain KFRI 536 (Sanlim 5-ho).

으로 30일 대치 배양한 결과 대치선이 형성되었고, 균사 성장 속도에서 풍년고는 10.4 mm/day, 대조 품종인 산림 4호는 6.3 mm/day, 모균주인 KFRI 490은 9.7 mm/day로 풍년고가 월등히 빨랐으며 최적 균사 성장 온도는 풍년고와 KFRI 490은 25°C이고 산림 4호가 27°C이었다. 풍년고 균주의 균사 성장량은 25°C 배양에서 49.2 mm로 가장 높은 균

사 성장을 하였다. KFRI 490 균주의 균사 생장은 25°C에서 66.6 mm로 가장 높은 성장량을 보였고, 산림5호 균주는 27°C에서는 37.8 mm로 가장 높은 균사 성장을 보였다. 풍년고의 최적 균사 성장 온도는 모균주 중 KFRI 490과 같이 25°C로 KFRI 490의 특성이 더 많이 유전된 것으로 나타났다. 표고의 균사는 일반적으로 5°C에서 자라기 시작하여 35°C에서 사멸한다[6]. 품종에 따라 약간 차이는 있으나 표고균의 가장 적합한 온도범위는 23~27°C 정도로 PDA 배지에 표고균을 접종하여 23°C에서 배양 후 약 2주 정도 지나면 대부분 85 mm petri-dish를 다 채우며 빠른 균주는 약 10일이면 채우기도 한다. 따라서 균의 성장 속도는 1일에 6~8 mm 정도 자란다는 의미이다. 풍년고 균주의 경우 10일간 배양했을 때 23°C에서 약 82.3 mm로 1일당 8 mm정도 자라 이와 유사한 경향을 보였다. 역으로 29°C에

선 20.7 mm의 성장을 보여 23°C 균사 생장의 75%를 보였고 1°C 상승할 때마다 약 4% 정도의 감소를 보였다(Fig. 3). 이처럼 표고는 저온보다는 고온에 취약하다. 5일간 균사 성장속도를 측정된 결과 25°C에서 최대값을 보였다. 균사 생장이 빠르다는 것은 종균을 원목에 접종하여 균사가 만연되기까지의 경과가 빠르다는 의미로써 해균이나 해충에 유리한 위치를 우점할 수 있다. 고온성과 저온성의 균사 생장은 온도에 따라 차이가 나므로 이를 고려한 세심한 선발이 필요하다. 또한 우량 품종을 선발하고자 할 때 균사 생장이 느린 균주보다는 빠른 균주를 선택하는 것이 실패율을 줄일 수 있다. 균사 성장 최적 온도인 25°C에서 배양하여 14일 경과 후 균사 밀도는 성김, 보통, 조밀 중에서 성김으로 판단되었고(Fig. 4A) 21일 경과하여 균총 색깔을 조사한 결과 색깔 유(有), 무(無) 중 색깔 무(無)로 조사되었다

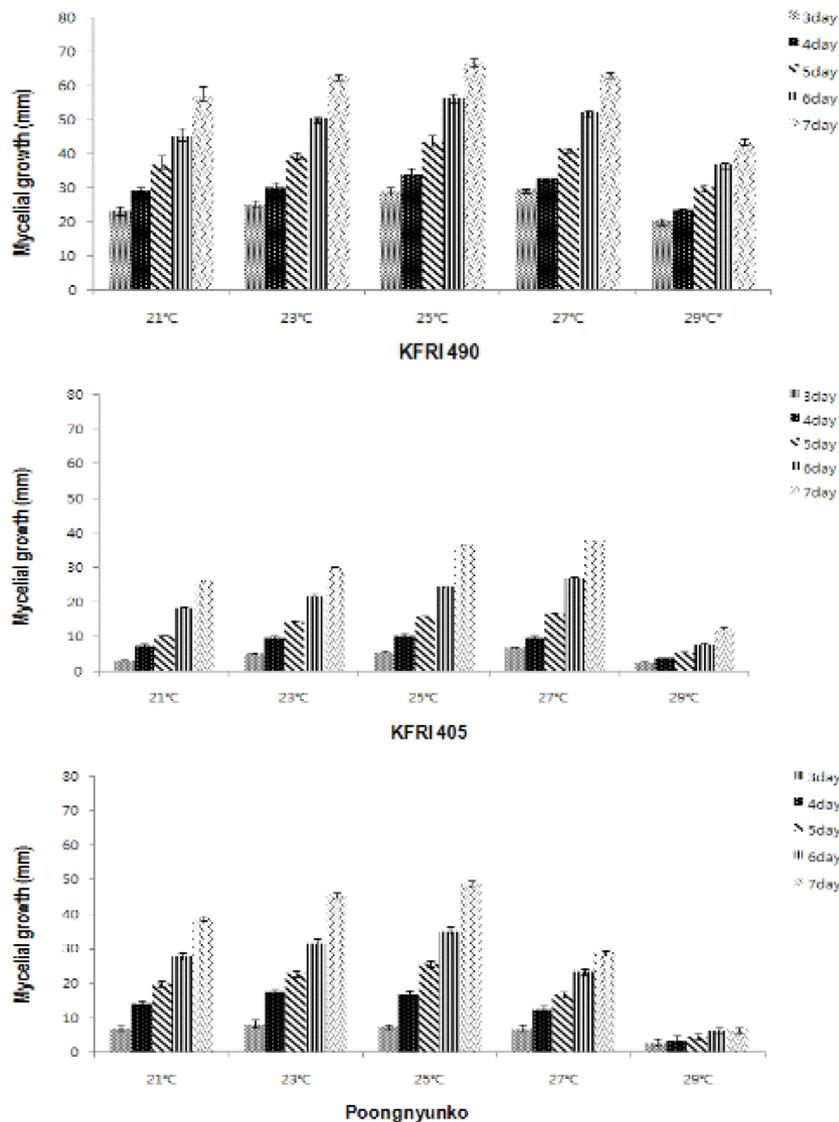
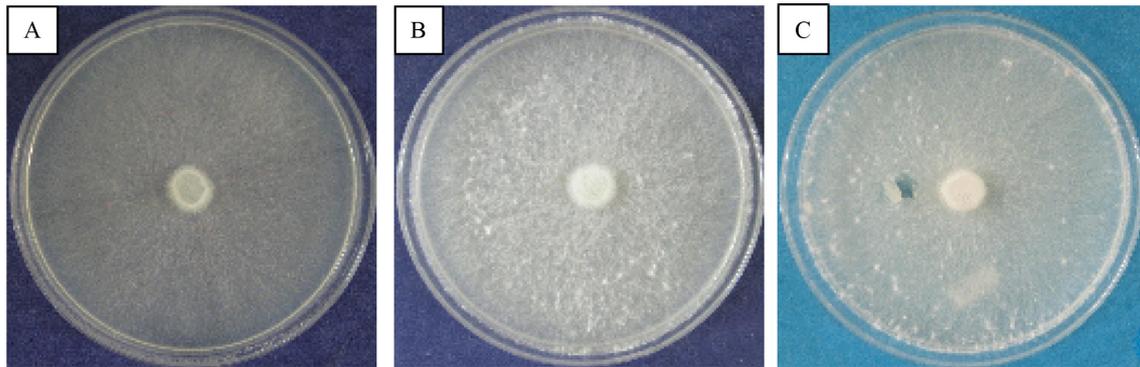


Fig. 3. Mycelial growths of three strains (KFRI 490, Sanlim 5-ho, Poongnyunko) of *Lentinula edodes* at different temperatures and times.



**Fig. 4.** Mycelial characteristics of Poongnyunko according to culture periods on potato dextrose agar plate. (A), 14 days culture; (B), 21 days culture; (C), 30 days culture.

(Fig. 4B). 30일 배양하여 균총의 피막 형성 여부를 확인한 결과는 피막이 형성되지 않았다(Fig. 4C). 대조 품종인 산림4호의 결과도 풍년고와 같으며 조사는 육안으로 판단하였다. 균주에 따라 균총의 형태, 밀도, 색깔 등이 약간씩 차이가 있으며, 같은 균주라도 온도, 습도, 광 등의 조건을 다르게 하고 배양하면 균총의 형태가 약간 다를 수 있으나 그 정도는 크지 않았다.

**목질 분해 효소 활성**

톱밥 재배에서는 균이 톱밥을 분해하여 성장할 수 있도록 부후력이 우수한 균주를 개발하는 것이 중요하다. 페놀 산화효소인 laccase는 표고 균사나 원기, 미성숙 자실체에서 활성이 증가하나 성숙한 자실체에서는 laccase 활성이 감소한다는 보고가 있다[15]. 최근에는 산업적인 면에서 리그닌-셀룰로오스 분해 효소의 이용에 대한 관심이 높아지면서, 이들 효소의 대량생산을 위한 생물반응기 개발이나 유전공학적 접근 등이 시도되고 있다[16].

CMC agar plate(pH 6.0)상에서 7일간 배양 후, 출원 균주인 풍년고와 대조 품종인 산림4호의 목질 분해 효소 (cellulase, laccase) 활성을 조사한 결과 산림4호에 비해 풍년고의 cellulase 활성이 높은 것으로 나타났다(Table 1). 풍년고와 산림4호의 cellulase 활성대는 각각 56.6 mm와 52.9 mm로 측정되었다. 이는 풍년고가 산림4호에 비해

cellulose를 분해하는 능력이 상대적으로 강하다는 것으로 해석할 수 있다. CMC agar plate 상에서 cellulase 활성이 균사 성장과 상관 관계가 있는지 살펴본 결과, 풍년고나 산림4호 모두 각각의 효소 활성과 균사 성장 사이에는 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 균사가 성장함에 따라 cellulase 활성도 증가하여 균총의 크기와 유사하게 효소 활성대가 형성되었다는 것을 의미한다. 또한 산림4호에 비해 풍년고의 균사 성장대와 효소 활성대가 모두 크다는 것은 cellulase를 배지 내로 방출하여 고분자인 CMC를 분해하고, 분해된 저분자 물질들을 그들의 균사 성장에 사용할 수 있는 능력이 산림4호에 비해 풍년고가 높다는 것으로 해석할 수도 있다.

Cellulase는 섬유소를 당으로 가수 분해하는 반응을 촉매하는 효소(EC 3.2.1.4)[17]로, 주류 제조, 제지 산업, 동물 사료 생산 등 다양한 산업 분야에 많이 사용되고 있다. 표고와 같이 목재 부후균에 속하는 버섯류는 참나무류에 주로 발생한다. 그러나 이와 같은 목재의 주성분은 셀룰로오스, 리그닌, 전분, 단백질 등 불용성 고분자 물질들로 구성되어 있기 때문에 그 자체로는 균류가 이용할 수 없다. 균

**Table 1.** Cellulase activity of *Lentinula edodes* cultivars (Poongnyunko and Sanlim 4-ho) on CMC agar plates

Cultivar	Cellulase activity (mm) <sup>b</sup>	
	Mycelial growth (mm) <sup>a</sup>	Cellulase activity (mm) <sup>b</sup>
Poongnyunko	57.4 ± 0.7	53.2 ± 1.7
Sanlim 4-ho	56.6 ± 1.2	52.9 ± 1.4

All values were mean ± SD of 7 replicates. CMC, carboxymethyl-cellulose.

<sup>a</sup>The size of mycelial growth includes the size of inoculant (7 mm).  
<sup>b</sup>Cellulase activity was determined by the size of brown zone including the diameter (7 mm) of inoculant.

**Table 2.** Laccase activity of *Lentinula edodes* cultivars (Poongnyunko and Sanlim 4-ho) on ABTS plate after 3 or 5 day of incubation

Cultivar	Mycelial growth (mm) <sup>a</sup>		Laccase activity (mm) <sup>b</sup>	
	3 day	5 day	3 day	5 day
Poongnyunko	9.0 ± 0.3	10.0 ± 0.3	7.9 ± 0.3	9.4 ± 0.2
Sanlim 4-ho	44.6 ± 1.6	58.0 ± 0.8	41.0 ± 0.6	55.6 ± 1.3

The test strains were incubated on 2,2'-azino-bis(3-ethyl benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) agar plates (pH 6.0) at 25 for 3 or 5 days. All values were mean ± SD of 7 replicates. The bottom size of ABTS agar plate was 85 mm in diameter.

<sup>a</sup>The size of mycelial growth includes the size of inoculant (7 mm).

<sup>b</sup>Laccase activity was determined by the size of blue-green zone including the diameter (7 mm) of inoculant.

류는 세포막을 투과하여서 호흡하는 경우와 같이 각종 효소를 배지로 분비하여 불용성 고분자 물질을 수용성의 저분자 물질로 변환하고 흡수하여 성장한다. 표고는 대표적인 백색 부후균이기는 하지만 우수한 품종의 표고 균주를 육성하기 위해서는 cellulase 활성 등 목질 분해력이 높아야 한다. 본 연구 결과를 통해 풍년고는 산림4호에 비해 cellulase 활성이 상대적으로 높다는 것을 알 수 있었다.

ABTS agar plate (pH 6.0)에서 5일간 배양 후, 풍년고와 대조 품종인 산림4호의 laccase 활성을 조사한 결과, laccase의 활성은 산림4호(55.6 mm)에 비해 풍년고(58.0 mm)가 유의하게 높았다(Table 2). 배양 기간이 증가할수록 laccase 활성은 풍년고나 산림4호 모두 증가하였다. 그러나 균사 성장대의 크기는 배양 기간이 증가하여도 유의하게 증가하지 않았다. 배양 5일 후, ABTS agar plate에서 풍년고의 균사 생장은 약 10 mm 정도였으나, laccase 활성대는 약 58 mm로 나타났다. 이는 앞선 cellulase 실험 결과와는 다른 특성으로 균사 성장력이 약해도 효소 활성대는 6배 정도 더 큰 것을 알 수 있었다. 산림4호 역시 풍년고와 유사한 특성을 보여주었다. 이상의 결과로 풍년고는 산림4호에 비해 laccase 활성이 상대적으로 높다는 것을 알 수 있었다.

**배지 조성에 따른 배지 내의 pH 변화**

처음 배지를 살균하여 측정하였을 때 미강 첨가 배지는 pH 5.2, 미강+칼슘 첨가 배지는 pH 5.5, 보리가루 첨가 배지는 pH 5.1, 보리+칼슘 첨가 배지는 pH 4.7, 콩비지 첨가 배지는 pH 4.8, 콩비지+칼슘 첨가 배지는 pH 5.3 홍삼박 첨가 배지는 pH 5.0, 홍삼박+칼슘 첨가 배지는 pH 4.7로 산도를 나타냈다(Fig. 5). 배양 120일째 배지에서는 미강은 pH 3.8~4.1, 보리가루 첨가 배지는 pH 4.4~3.7, 콩비지 첨가 배지는 pH 3.7~3.9, 홍삼 첨가 배지는 pH 3.9~3.8로 나타나, 배지 재료별 pH는 배양 전 pH 4.7~5.5였고, 120일 배양 후 pH 3.7~3.9로 낮아졌으며 배지 종류별, 품종별 차이는 유의하지 않았고, 배양 기간이 오래 될수록 pH는 낮아지는 경향이였다. 접종 전 pH 5.6 이었던 것이 발생 시점에서는 pH가 4.0으로 떨어졌다는 Ohga[18]의 보고와 유사

한 결과이다.

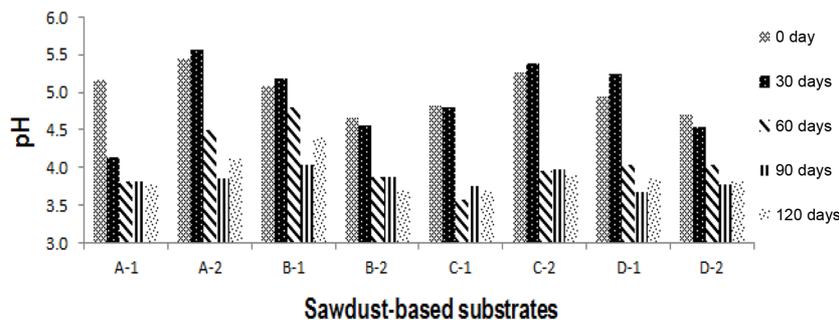
**배지 내의 CO<sub>2</sub> 변화**

배양실 온도 22°C에서 60일 배양 후 CO<sub>2</sub>를 측정하였다. CO<sub>2</sub>의 농도는 여덟 가지의 배지 조성에서 변이가 컸으나 배지 조성에 따른 경향성을 볼 수 없었다. 고온성 품종인 풍년고와 산림4호에서 대체적으로 CO<sub>2</sub> 농도가 높았으며, 중저온성과 중온성인 백화향과 천백고는 위의 두 품종보다 CO<sub>2</sub> 농도가 낮았다(Fig. 6). 이는 균사 생장이 왕성하여 호흡량이 많았던 것으로 생각되었다. 이는 고온성 품종이 중저온성 품종에 비해 균사의 활동이 왕성해 배지의 분해도 많았을 것으로 보이는데, 배지의 영양원과도 관련이 있었을 것으로 보이나 통계적으로 유의하지 않아 경향을 볼 수 없었으며 차후 추가 실험으로 좀 더 세밀한 결과를 보고자 한다.

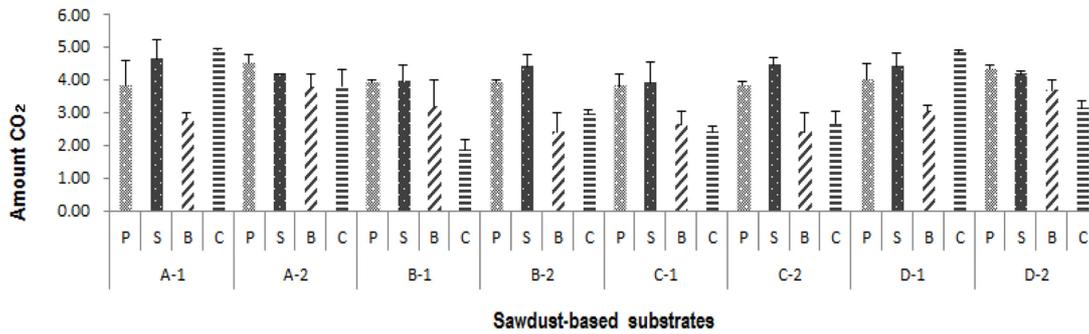
표고 톱밥 재배에서 배양 중 환기는 중요하다. 배양 중 균의 생장이 왕성할수록 호흡량도 더불어 늘어나기 때문에 환기가 불량할 경우 균 생장이 방해된다. 배양 중인 봉지 안의 배지 CO<sub>2</sub> 농도는 3.90~4.67%이었고, 봉지 밖의 배양실 CO<sub>2</sub>는 2,000 ppm 이하였다. 느타리 균사 성장에는 15% 이하의 CO<sub>2</sub> 농도가 좋다[19]. 그러나 표고는 봉지 안과 봉지 밖 배양실에서의 차이는 물론이고 또한 느타리보다 낮은 CO<sub>2</sub> 농도가 필요하기 때문에 배양실의 환기 시스템을 반드시 설치하여 정확한 관리가 필요하며, 배양실의 CO<sub>2</sub> 농도가 2,000 ppm을 넘지 않도록 조절이 필요하다[6].

**적 요**

본 연구에서는 KFRI 490의 이핵 균사와 KFRI 536의 일핵 균사를 Di-mon 교잡을 시도하여 새로운 품종을 개발하였다. 품종명을 풍년고라 명명하였고, 생리적 특성을 파악하고자 하였다. 풍년고의 최적 균사 성장 온도는 25°C이었고, 균사 밀도는 성김이었으며, 균총 색깔은 무색이고 피막은 형성되지 않았다. 배양 7일째 풍년고가 56.6 mm로 산림4의 52.9 mm보다 cellulase 활성이 높았고, 배양 5일



**Fig. 5.** pH of sawdust-based substrates of *Lentinula edodes* cultivar, “Poongnyunko”, at different cultivation periods. A-1, rice bran; A-2, rice bran + CaCl<sub>2</sub>; B-1, barley flour; B-2, barley flour + CaCl<sub>2</sub>; C-1, bean curd refuse; C-2, bean curd refuse + CaCl<sub>2</sub>; D-1, red ginseng refuse; D-2, red ginseng refuse + CaCl<sub>2</sub>.



**Fig. 6.** CO<sub>2</sub> contents of *Lentinula edodes* cultivars according to supplement substrates. P, Poongnyunko; S, Sanlim 4-ho; B, Baekwhahyang; C, Chunbaegko; A-1, rice bran; A-2, rice bran + CaCl<sub>2</sub>; B-1, barley flour; B-2, barley flour + CaCl<sub>2</sub>; C-1, bean curd refuse; C-2, bean curd refuse + CaCl<sub>2</sub>; D-1, red ginseng refuse; D-2, red ginseng refuse + CaCl<sub>2</sub>.

재 laccase 활성 또한 풍년고 58.0 mm로 산림4호의 55.6 mm보다 높았다. 톱밥배지의 배양 전 pH는 4.7~5.5였고, 120일 배양이 완료되고 발생 직전의 pH는 3.7~3.9로 낮아졌다. 톱밥 배지의 CO<sub>2</sub> 변화는 60일 배양에서 가장 컸으며, 봉지 안의 배지 CO<sub>2</sub> 농도는 3.90~4.67%이었다.

### Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Golden Seed Project of 'Breeding of new strains of shiitake for cultivar protection and substitution of import (213003-04-1-SBH-10), Korea Forest Service, Republic of Korea.

### REFERENCES

1. Korea Seed & Variety Service. [Internet]. Kimcheon: Korea Seed & Variety Service; 2015 [cited 2014 Aug 20]. Available from: <http://www.seed.go.kr>.
2. Kitamoto Y. Current progress in breeding of edible and pharmaceutical mushrooms. *Mokuzai Gakkaishi* 2006;52:1-7
3. Leonard TJ, Dick S, Gaber RF. Internuclear genetic transfer in vegetative dikaryons of *Schizophyllum commune*: I. Di-mon mating analysis. *Genetics* 1978;88:13-26.
4. Bak WC, Yoon KH, Park JD, Lee JY, Lee JG. Studies on development of new substrates and improvement of productivity for Shiitake cultivation. Gwacheon: Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs; 2003.
5. Terashima K, Matsumoto T, Hasebe K, Fukumasa-Nakai Y. Genetic diversity and strain-typing in cultivated strains of *Lentinula edodes* (the shiitake mushroom) in Japan by AFLP analysis. *Mycol Res* 2002;106:34-9.
6. Bonghun90. With shiitake mushrooms [Internet]. Seoul: Naver Blog; 2009 [cited 2014 Mar 15]. Available from: <http://blog.naver.com/bonghun90>.
7. Chang ST, Buswell JA, Miles PG. Genetics and breeding of edible mushrooms. In: Proceeding of UNESCO regional workshop; 1991 Jul 14-20; Hong Kong: The Chinese University of Hong Kong; 1991.
8. Ryu SR, Bak WC, Koo CD, Lee BH. Studies on breeding and cultivation characteristics of *Lentinula edodes* strains for sawdust cultivation. *Kor J Mycol* 2009;37:65-72.
9. Bak WC, Yoon KH, Ka KH, Kim MK, Ryu SH, Park H, Lee BH, Ryu SR, Park Y-A, Lee HJ, et al. Development of excellent strains and cultivation techniques of forest mushrooms. Seoul: Korea Forest Research Institute; 2011.
10. Bak WC, Lee TS, Lee WK, Byun BH, Yi CK. Selective breeding and hybridization of *Lentinus edodes* strains for bed-log cultivation. *Korran J For Soc* 1996;85:309-15.
11. Chang ST, Miles PG. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2004.
12. Yoon KH, Kim YY. Test guideline for Shiitake. Daejeon: Korea Forest Service; 2008.
13. Jeon SM, Ka KH. Nitrogen source requirement and preference of ectomycorrhizal fungi in pure culture. *Kor J Mycol* 2013;41:149-59.
14. Kim SD, Na, SY, Kim JG, Ryu JG, Han GS, Kim SJ. Agricultural science and Technology, research analysis criteria. Wanju: Rural Development Administration; 2003.
15. Chiu SW, Wang ZM, Chiu WT, Lin, FC, Moore D. An integrated study of individualism in *Lentinula edodes* in nature and its implication for cultivation strategy. *Mycol Res* 1999; 103:651-60.
16. Leonowicz A, Cho NS, Luterek L, Wilkolazka A, Wojtas-Wasilewska M, Matuszewska A, Hofrichter M, Wesenberg D, Rogalski J. Fungal laccase: properties and activity on lignin. *J Basic Microbiol* 2001;41:185-227.
17. Ha HC. Screening and production of lignocellulolytic enzymes secreted by the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *J Mushroom Sci Prod* 2012;10:74-82.
18. Ohga S. Adaptability of *Lentinula edodes* strains to a sawdust-based cultivating procedure. *Mokuzai Cakkaishi* 1992;38:301-9.
19. Sung JM, Yoo YB, Cha DY. Mushroom science. Seoul: Kyohaksa; 1998.