

RESEARCH NOTE

표고 단포자 교배에 따른 자실체 발생 특성

가강현* , 유림, 장영선, 박영애, 정연석, 강재준, 허금심, 전성민

국립산림과학원 산림소득자원연구과

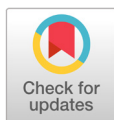
Characteristics of fruiting bodies formed upon monohybrid cross of *Lentinula edodes* strainsKang-Hyeon Ka* , Rhim Ryoo, Yeongseon Jang, Youngae Park, Yeun Sug Jeong, Jae Jun Kang, Guemsim Heo, Sung-Min Jeon

Special Forest Products Division, National Institute of Forest Science, Suwon 16631, Korea

*Corresponding author: kasybio@korea.kr

ABSTRACT

Sawdust cultivation of *Lentinula edodes* has been increasing in Korea. Fourteen strains were used to develop the best varieties of *L. edodes*, and hybridization was carried out by monohybrid cross. The number of hybridized strains was 1,638 among 3,100 combinations. They were cultivated on sawdust medium, and fruiting bodies were formed in 364 strains. Among them, 65 strains were selected as superior candidate strains based on the shape and size of the fruiting bodies. Forty strains formed fruiting bodies without lamellae structure. The shape of the stipe was cylindrical (255 strains), thick to lower part (15 strains), and thick to upper part (94 strains). By the combinations of 2462 n1-10 and 3420 n1-10, 2462 n1, 2462 n2, 2462 n10, and 3420 n3 were selected as excellent monokaryotic strains. These strains were considered to be superior monokaryotic strains that could be used for hybrid breeding.

Keywords: Fruiting body, *Lentinula edodes*, Monohybrid cross, Sawdust cultivation

OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2019 June, 47(2): 173-9
<https://doi.org/10.4489/KJM.20190021>Kang-Hyeon Ka
<https://orcid.org/0000-0002-9364-626X>**Received:** May 21, 2019**Revised:** June 19, 2019**Accepted:** June 21, 2019

© 2019 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

표고는 한국, 일본, 중국 등 동아시아 지역에서 주로 재배하여 소비되고 있다. 우리나라는 표고를 매년 3만 톤 이상 생산하고 있어, 산림 분야의 으뜸 버섯으로 인식하고 있다[1]. 표고의 재배 방법은 크게 원목재배와 톱밥재배가 있는데, 재배 유형에 따라 사용하는 품종도 다르다. 또한 표고는 자실체가 주로 발생하는 온도 범위에 따라 저온성, 중온성, 고온성 품종으로 구분하고 있다. 이로 인해, 표고 품종은 재배 방법과 자실체 발생 온도 범위에 따라 다양하게 개발되고 있다[2, 3]. 최근에는 표고 재배가 연중생산체제로 전환되는 과정에서 재배 기간이 짧은 것을 선호하는 경향이 있다.

버섯 품종 개발은 단포자 간 교잡과 단포자와 이핵균사 교잡을 통해 이루어진다[4]. 단포자 간 교잡은 단포자와 이핵균사 간의 교잡보다 교잡 확률이 빠르다. 본 연구는 단포자 간 교잡방법으로 만들어진 교잡계통을 100일 균사배양을 통해 자실체를 형성할 수 있는 균주 선발에 주안점을 두었다.

이 결과는 2018년도 표고 단포자 교잡 계통의 자실체 발생 특성을 조사하는 과정에서 얻어진 것을 보고하고자 한다.

단포자 분리 및 교잡계통 육성

우수 품종 개발을 위해 사용한 교잡 표고 균주는 총 14개로, 국립산림과학원 보관균주를 사용하였다. 보관균주를 톱밥재배 하여 발생시킨 버섯으로부터 단포자를 받아 멸균수로 희석한 후, 이를 PDA (potato dextrose agar) 배지에 도말하였다. 20°C 배양실에서 5-7일간 배양하면서 발아된 단포자는 50개씩 PDA 배지에 계대배양 하였다. 25°C 배양실에서 20일간 배양한 후, 군사 생장이 빠르거나 균총 모양이 대부분의 것과 다른(군사 밀도, 군사 가장자리 모양) 단포자 분리주를 10개 또는 20개씩 선택하였다. 선택한 단포자 균주는 현미경 검경(1000배)을 통해 군사체에 꺾쇠 연결체(clamp connection)가 없음을 확인한 후 교잡에 사용하였다.

PDA 배지에서 20일 정도 배양된 2개의 서로 다른 단포자 균주는 대치배양을 실시하였다(Fig. 1). 한 쌍의 모본균주 군사체를 0.5~0.7 cm 크기의 사각형 조각으로 절단한 후, PDA 배지 표면 위에 서로 맞닿게 하여 접종하였다. 22~23°C 배양실에서 20일간 군사체를 배양하면서 육안관찰과 현미경 검경을 통해 교잡이 이루어졌음을 확인하고, 교잡된 부위를 순수분리 및 계대배양 하여 톱밥배지 접종원으로 사용하였다[4].

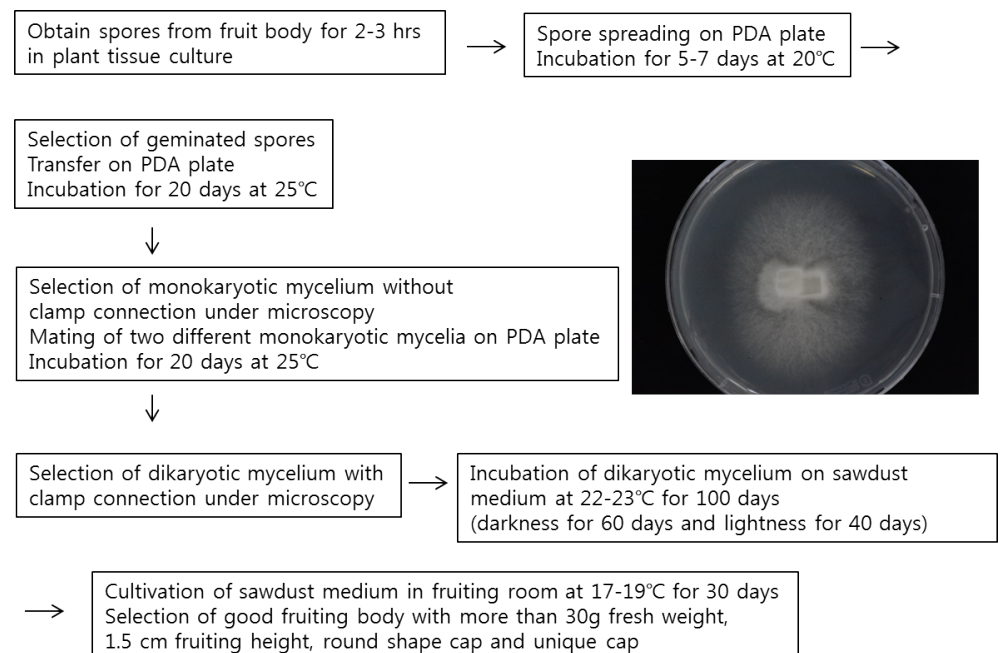


Fig. 1. Monohybrid cross process and selection of fruiting body of *Lentinula edodes* used in National Institute of Forest Science. Photo shows mating of monokaryotic mycelia on PDA plate.

자실체 발생 및 특성 조사

신갈나무 톱밥과 밀기울을 무게비로 80:20(w/w) 비율로 섞고, 수분 함량은 60% 내외로 조정하였다. 1,000 mL 부피의 종균병에 톱밥배지를 650~700 g씩 넣은 후, 121°C에서 90분간 멸균하였다. 균을 접종한 배지는 22~23°C 배양실에서 60일 암배양 한 후 40일 명배양 하여 총 100일 배양하였다. 배양이 완료된 배지는 플라스틱 용기를 벗겨낸 후 상대습도 90% 이상, 설정온도 17~18°C에서 자실체 발생을 유도하였다. 버섯 발생은 30일간 지속적으로 관찰하였고, 발생한 버섯은 무게, 크기, 모양 등을 조사하였다. 우량 계통은 정상인 버섯 모양, 갓 두께가 1.5 cm 이상, 생중량 30 g 이상, 모양이 독특한 것(예: 주름살이 없거나 대가 짧거나, 갓이 큰 것) 등의 품질 기준에 따라 선발하였다.

교잡계통 육성

교잡계통은 14개 균주(2444, 2462, 2471, 2694, 3404, 3420, 3447, 3461, 3909, 4241, 4242, 4243, 4244, 4245)를 임의로 조합하였고, 단포자를 각각 10개씩 선택하여 100개의 조합을 만들어 총 3,100개의 교잡체를 만들었다. 이중 재배시험용으로 선발한 계통은 1,638개로 총 교잡율은 53%로 나타났다.

버섯 발생 특성 및 우수 계통 선발

1,638개의 교잡을 확인한 계통중에서 버섯이 발생한 계통은 364개, 이들 중 버섯의 모양과 크기를 기준으로 65개 계통을 선발하였다(Table 1; Fig. 2). 일반적으로 표고는 색이 밝고, 갓이 둥글고, 갓이 크고, 탱탱한 것을 선호한다. 이러한 선호기준을 감안하여 버섯이 30 g 이상, 갓 두께가 1.5 cm 이상, 정상인 버섯모양을 갖는 것을 선발하였다. 교잡에 사용한 균주의 반복수가 1회부터 10회까지로 전체적으로 그 특성을 비교하기는 어려웠다. 단지, 10회 조합을 가진 2462 n1-n10과 3420 n1-n10을 기준으로 했을 때, 우량품종 후보 계통으로 선발된 65개 균주 중 5회 이상(임의 기준) 동일 단포자를 갖는 것은 2462n1 (5회), 2462 n2 (6회), 2462 n10 (5회), 3420 n3 (8회)으로 나타났다. 이들 단포자는 우량한 형질을 가진 육성 균주를 만들 확률이 높을 것으로 판단되었다.

Ha 등[5]은 이미 이핵균주 생성에 있어 일부는 단포자 균주의 영향이 높게 반영된다는 것과 몇몇 단포자 균주는 자실체의 발생과 생산량에 영향을 준다는 것을 보고하였다. 본 결과에서도 일부 단포자균주가 우량하다고 판단되는 균주에 반복적으로 포함된 것으로 볼 때 품질에 영향을 끼치는 것으로 추정할 수 있었다. 앞으로 이들 균주는 버섯의 모양 또는 생산량에 영향을 주는 유전자를 찾는 데 유용한 모균주로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구를 통해 나타난 표고 교잡계통 생성 성공률은 53%로, Ha 등[5]이 교배형을 고려한 타가교잡 성공률 51%와 비슷하였다. 버섯 발생률은 22%(총 1,638개 교잡계통 중 364개 균주)로 균사체에서 교잡을 확인하여도 자실체 발생이 되지 않음을 알 수 있었다. 교잡을 확인한 계통 중 품질이 우수한 계통으로 선발된 것은 18%(65개 균주)로 나타났다. 1차 재배시험으로 선발한 우량계통은 앞으로 생산력검정과 농가실증을 통해 생산성과 상업성을 검정하는 과정을 거쳐 품종등록으로 이어져야 한다.

버섯이 발생한 364개의 교잡계통의 형태를 조사한 결과, 갓에 주름이 없는 균주는 40개, 대 모양이 원통형인 균주는 255개, 대 아래쪽이 뭉툭한 균주는 15개, 대 위쪽이 뭉툭한 균주는 94개였다. 특히,

Table1. List of 65 superior candidate strains selected based on shape and size of the fruiting body of *Lentinula edodes*

NIFoS strain No	Parental strains		Shape and size of the fruiting body							Overall morphological characteristics
	Monokaryotic strain	Monokaryotic strain	Fresh weight (g)	Cap diameter (cm)	Cap height (cm)	Stipe length (cm)	Stipe shape*	Gill	Cap Firmness	
4277	3447 n-6	3420 n-1	48.3	6	3	5.5	A	Absent	Medium	Abnormal shape, gill absent
4505	3420 n-3	3461 n-2	35.7	5.5	1.7	4.5	A	Absent	Medium	Abnormal shape, gill absent
4320	3447 n-10	3420 n-8	34.9	5.2	1.5	4	A	Present	Medium	Good shape, dark brown color
4322	3420 n-13	2694 n-2	31.1	5.5	1.8	4	A	Present	Medium	Good shape
4341	3420 n-2	2462 n-10	25.1	5.5	1.5	3	A	Present	Medium	Abnormal shape
4465	2462 n-10	3461 n-7	21.3	4.5	1.5	3.5	A	Present	Medium	Good shape, five fruiting bodies
4470	3420 n-3	3461 n-10	40.3	5.5	1.5	3.5	A	Present	Medium	Thick stipe 2.7Cm, four fruiting bodies
4473	3420 n-3	4242 n-5	53.2	6.5	2.2	3.5	A	Present	Medium	Good shape, three fruiting bodies
4477	4241 n-7	4243 n-5	30.9	5.5	1.7	3	A	Present	Medium	Good shape, two fruiting bodies, white medium
4492	2462 n-1	3461 n-4	29.2	4.7	2	3	A	Present	Medium	Good shape
4502	4241 n-5	2778 n-6	36.1	5.3	2.3	3	A	Present	Medium	Some abnormal shape, fairly thick of pileus
4509	3420 n-3	4243 n-3	36.4	5.8	1.5	4	A	Present	Medium	Good shape
4512	2462 n-10	4242 n-2	40.6	5.5	1.8	4.5	A	Present	Medium	Good shape, two fruiting bodies
4522	2462 n-6	3461 n-6	35.3	5.8	2	2.5	A	Present	Medium	Good shape
4530	2462 n-10	4242 n-3	62.3	7.7	1.8	6.5	A	Present	Medium	Good shape
4535	4241 n-1	2778 n-2	44.2	7.3	1.7	3.8	A	Present	Medium	Good shape, two fruiting bodies, peripheral scale
4536	2462 n-10	4241 n-3	30.7	6	1.6	3.5	A	Present	Medium	Good shape
4537	2462 n-1	4242 n-5	73.3	9.2	2.5	5	A	Present	Medium	Good shape
4542	4241 n-6	2778 n-2	41.3	5.8	1.7	4.5	A	Present	Medium	Good shape, four fruiting bodies
4547	3420 n-4	3447 n-9	40.3	5.5	2	3	A	Present	Medium	Good shape, four fruiting bodies
4267	3404 n-1	2694 n-4	29	5.7	1.6	3	A	Present	Soft	Good shape, dark brown color
4306	3420 n-5	2694 n-4	44.8	9	2	4.5	A	Present	Soft	Good shape, contamination
4307	3447 n-7	3420 n-4	59.2	9.7	2.2	5	A	Present	Soft	Good shape, light color
4308	3447 n-5	3420 n-5	89.4	10.5	2.5	4.5	A	Present	Soft	Good shape
4309	3420 n-6	2694 n-1	35.9	6	1.5	3.5	A	Present	Soft	Some abnormal shape, light color
4312	3420 n-3	3909 n-4	55.8	8	1.7	4.5	A	Present	Soft	Good shape, dark brown color
4314	3404 n-9	3909 n-5	53.1	7.5	1.7	5	A	Present	Soft	Good shape
4318	3404 n-2	3909 n-4	79.5	8	1.7	4.5	A	Present	Soft	Good shape
4319	3420 n-3	2462 n-2	187.7	15	2.7	4.5	A	Present	Soft	Good shape, large fruiting body
4324	3420 n-17	2694 n-1	41.1	6.2	3.3	3	A	Present	Soft	Good shape, light color
4343	2462 n-2	3420 n-13	71.9	9.5	2	6	A	Present	Soft	Good shape, peripheral scale
4346	3404 n-9	3909 n-4	29.7	6.8	1.8	4	A	Present	Soft	Good shape
4391	2471 n-2	2778 n-5	71.2	8	2.5	3.5	A	Present	Soft	Good shape
4460	2462 n-2	4242 n-6	49.6	6	2.2	4	A	Present	Soft	Good shape and some abnormal shape
4483	2462 n-6	4245 n-8	39.3	6.5	1.5	4	A	Present	Soft	Abnormal shape, white medium
4490	2462 n-2	4242 n-1	37	8.3	2.5	3.5	A	Present	Soft	Thick cap
4491	3420 n-6	4243 n-7	77.7	7.5	2.7	5.5	A	Present	Soft	Good shape, convex
4503	3420 n-10	3447 n-9	43.7	5.7	2.2	3.5	A	Present	Soft	Good shape
4504	4241 n-8	2778 n-3	28.8	4.8	1.6	3	A	Present	Soft	Good shape
4518	3420 n-2	4243 n-9	25	5.1	1.5	3	A	Present	Soft	Some abnormal shape, five fruiting bodies
4529	3420 n-2	3447 n-10	39.9	6.2	2.5	3	A	Present	Soft	Good shape

주름살이 없는 40개 균주는 3461 n8, 3420 n3, 2462 n8이 각각 5회 포함되어 35%를 차지하고 있었다. 주름살이 없는 균주는 단포자 조합이 서로 함께 포함되기보다는 서로 다른 조합에서 나타나는 것이 많아 단포자 교잡 상호작용보다는 하나의 단포자가 주름살 유무를 결정하는데 더 크게 관여한다는 것을 알 수 있었다(Table 2). 이와 같은 결과는 추후 분자생물학적 분석으로 확인하는 연구가 필요하다.

Table1. continued

NIFoS strain No	Parental strains		Shape and size of the fruiting body							Overall morphological characteristics
	Monokaryotic strain	Monokaryotic strain	Fresh weight (g)	Cap diameter (cm)	Cap height (cm)	Stipe length (cm)	Stipe shape*	Gill	Cap Firmness	
4534	3420 n-4	4241 n-8	24.5	5.2	1.6	3	A	Present	Soft	Good shape, four fruiting bodies, peripheral scale
4544	3420 n-4	4241 n-4	33.6	5.7	1.7	4	A	Present	Soft	Good shape
4549	2462 n-1	4242 n-10	97.8	10.5	3	4	A	Present	Soft	Good shape, convex
4551	2778 n-4	2470 n-1	48.9	8.2	2	5	A	Present	Soft	Good shape, three fruiting bodies
4325	2471 n-4	3420 n-9	25.1	5.3	2.8	3.7	B	Absent	Medium	Abnormal shape, gill absent
4336	2471 n-2	3420 n-9	41.3	5	3	2.5	B	Absent	Medium	Abnormal shape, gill absent
4348	3420 n-5	2462 n-5	47.4	6.2	2.2	6	B	Absent	Medium	Good shape, fluff of stipe, gill absent
4345	2462 n-1	3420 n-20	54.6	7	3	5.5	B	Absent	Soft	Abnormal shape, gill absent
4243	3447 n-9	3404 n-8	29.3	6.5	1.7	2.5	B	Present	Medium	Good shape, short stipe, light color
4269	3404 n-3	2694 n-4	36.2	7.4	1.6	3	B	Present	Medium	Good shape
4286	2462 n-2	3420 n-18	72.3	10	2.4	5	B	Present	Medium	Good shape
4450	2462 n-10	4241 n-6	31.9	5.5	1.6	3	B	Present	Medium	Good shape
4511	4241 n-6	4243 n-5	50.5	6.2	1.5	4.5	B	Present	Medium	Good shape
4531	2462 n-2	4241 n-7	46.7	6.8	1.8	3.7	B	Present	Medium	Good shape
4552	2778 n-5	2471 n-10	58.9	7.5	2	3.5	B	Present	Medium	Good shape, white medium
4271	3404 n-5	2694 n-3	18.2	5	1.7	2	B	Present	Soft	Good shape
4282	3420 n-17	2694 n-7	61.2	8	1.7	5.5	B	Present	Soft	Thick stipe 2.1 cm, brown fluff
4294	3404 n-5	3909 n-6	37.3	6.5	2	3	B	Present	Soft	Good shape, some abnormal shape, fluff stipe
4489	3420 n-9	4242 n-1	24.3	4.3	2.5	3	B	Present	Soft	Good shape, some abnormal shape
4496	2462 n-1	4241 n-7	35.6	5.8	2.2	4	B	Present	Soft	Good shape, dark color, two fruiting bodies
4508	2462 n-2	4241 n-6	24.8	4.5	1.7	3	B	Present	Soft	Good shape, two fruiting bodies
4317	3420 n-5	3909 n-1	36.3	5	1.6	5	C	Present	Medium	Good shape, shrunk medium
4272	3404 n-5	2694 n-4	69.5	10	1.8	5	C	Present	Soft	Large fruiting body, thick stipe 2.2 cm
4498	3420 n-3	4242 n-7	48.5	6	1.8	4.5	C	Present	Soft	Good shape

NIFoS: National Institute of Forest Science

* Stipe shape: A, Cylindrical; B, Broader toward cap; C, Broader toward base.

Good shape means normal shape of fruiting body with rounded edge and cap shape has flat, round, or convex.

Superior candidate strain: normal shape or unique shape of fruiting body, cap height (more than 1.5 cm) or stipe diameter (more than 2 cm), fresh weight of fruiting body (more than 30 g).

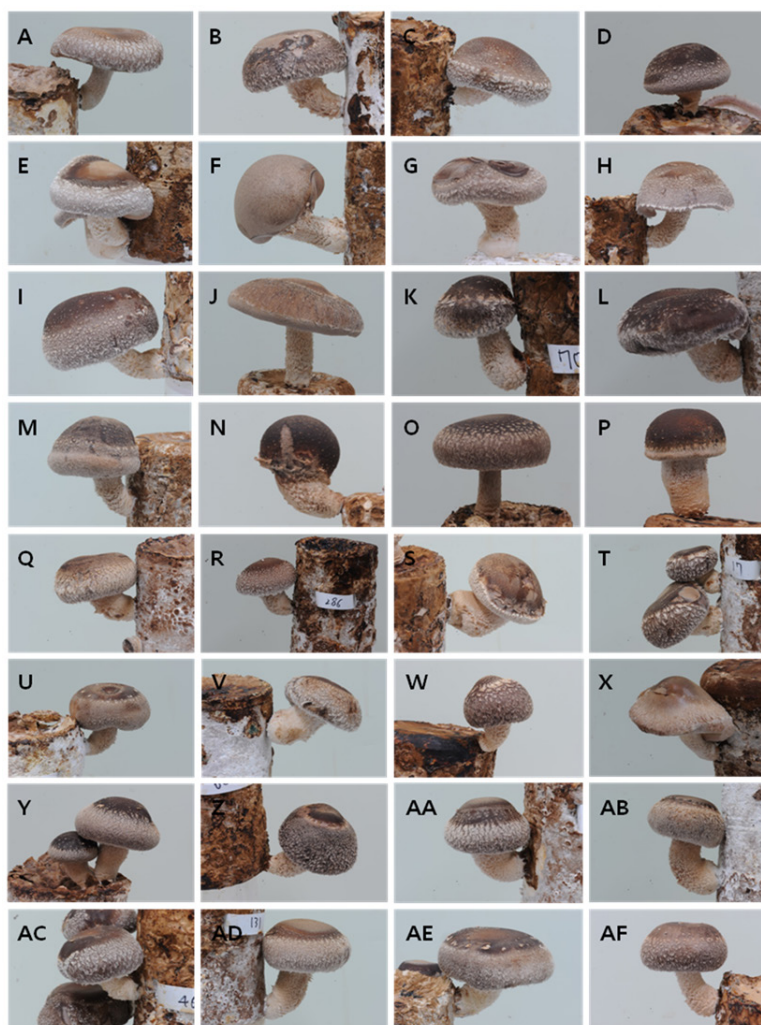


Fig. 2. Photographs of the fruiting bodies of *Lentinula edodes*. A, NIFoS strain No 4243; B, 4267; C, 4269; D, 4271; E, 4272; F, 4277; G, 4282; H, 4286; I, 4294; J, 4307; K, 4317; L, 4318; M, 4320; N, 4336; O, 4345; P, 4348; Q, 4450; R, 4460; S, 4470; T, 4473; U, 4477; V, 4483; W, 4489; X, 4490; Y, 4496; Z, 4503; AA, 4508; AB, 4512; AC, 4518; AD, 4530; AE, 4535; AF, 4544.

Table 2. List of monohybrid cross (A and B) of fruiting bodies without lamellar structure in *Lentinula edodes*

Monokaryotic A	Monokaryotic B	Monokaryotic A	Monokaryotic B	Monokaryotic A	Monokaryotic B	Monokaryotic A	Monokaryotic B
2462 n1	3420 n20	2462 n7	4245 n3	2778 n7	2462 n18	3420 n3c	2694 n4
2462 n10	3461 n8a	2462 n8b	3461 n7	3404 n6	2694 n8	3420 n3c	3461 n2
2462 n2	3420 n11	2462 n8b	4242 n4	3420 n1	3461 n8a	3420 n3c	3461 n8a
2462 n2	3420 n12	2462 n8b	4245 n3	3420 n1	4242 n8	3420 n3c	4242 n4
2462 n3	4245 n6	2462 n8b	4245 n4	3420 n10	3461 n10	3420 n5	2462 n5
2462 n5	3461 n4	2462 n8b	4245 n9	3420 n10	3461 n2	3420 n5	2462 n6
2462 n5	4245 n5	2462 n9	4245 n6	3420 n10	3909 n8	3420 n6	3461 n8a
2462 n6	4244 n4	2471 n1	3420 n4	3420 n17	2694 n3	3420 n6	3909 n4
2462 n6	4245 n6	2471 n2	3420 n9	3420 n19	2462 n15	3420 n7	3461 n8a
2462 n7	2444 n9	2471 n4	3420 n9	3420 n3c	2694 n10	3447 n6	3420 n1

Monokaryotic strains containing 5 times in combination a, 3416 n9; b, 2462 n8; c, 3420 n3

적요

표고는 동아시아 지역에서 매우 중요한 식용버섯이다. 표고 우량품종을 개발하기 위해 14개 균주를 사용하였고, 단포자교잡을 통해 3,100개의 조합으로부터 1,638개의 교잡계통을 육성하였다. 교잡계통의 톱밥재배 시험결과 364개 계통의 버섯이 발생하였으며, 버섯의 모양과 크기를 기준으로 65개의 우량 후보계통을 최종 선발하였다. 364개 계통 중 주름이 없는 균주는 40개, 대의 모양이 원통형인 균주는 255개, 대 아래쪽이 뭉툭한 형태는 15개, 대 위쪽이 뭉툭한 형태는 94개로 관찰되었다. 10번의 조합을 가진 2462 n1-n10과 3420 n1-n10을 기준으로 했을 때, 65개의 우량한 후보 계통 중 5회 이상 동일 단포자가 포함된 것은 2462 n1, 2462 n2, 2462 n10, 3420 n3 이었다. 이들 단포자 균주들은 표고의 교잡계통을 만드는데 우수한 균주로 판단된다.

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 (213007-05-3-SBH10)' National Institute of Forest Science, Republic of Korea.

REFERENCES

1. Korea Forest Service. Statistical yearbook of forestry. Daejeon: Korea Forest Service; 2016, 2017, 2018.
2. National Forest Seed Variety Center, Korea Forest Service. Searching application list of variety database [Internet]; 2019 [cited 2019 May 1]. Available from: <http://www.forest.go.kr/newkfsweb/mer/nvm/search/selectSearchApplicationList>.
3. Food Industry Affairs Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. Searching plant variety database [Internet]. Tokyo: Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries; 2019 [cited 2019 Mar 1]. Available from: <http://www.hinsyu.maff.go.jp/vips/cmm/apCMM110.aspx?MOSS=1>.
4. Jang Y, Ryoo R, You SW, Park YA, Jung YS, Wang Y, Ka KH. Handbook of Shiitake Breeding. NIFoS Research Reviews 738. Seoul: NIFoS; 2017.
5. Ha BS, Kim S, Ro HS. Isolation and characterization of monokaryotic strains of *Lentinula edodes* showing higher fruiting rate and better fruiting body production. Mycobiology 2015;43:24-3