

洋松茸의 單一擔孢子 分離에 依한 新系統 選拔에 관한 研究

卞明玉·柳昌鉉·金光布

農村振興廳 農業技術研究所

Improvement of Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus* by Means of Single Basidiospore Selections

Myung Ok Byun, Chang Hyun You and Gwang Po Kim

Institute of Agricultural Sciences, O.R.D. Suweon 170, Korea

Abstract: Germination of the single-basidiospore of *Agaricus bisporus*, mycelial characteristics of the single spore culture and its fruit body formation were studied. Germination of the single basidiospore was the best on water agar. Of 6372 spores isolated, 1622 spore were germinated and the germination rate was 26 percent. Cultures from single basidiospores showed two distinct mycelial types on the compost extract sucrose agar: one was the strandy type and the other was the fluffy. The strandy type culture produced more sporophores than the fluffy. Of 778 strandy isolates screened, nine cultures yielded 5 percent higher than the origine. No. 1567 and 1708 were selected for the commercial cultivation.

緒 論

양송이 生産量을 支配하는 여러가지 要因中에서 品種의 優養性은 가장 重要하며 이는 耐病 多收性이면서 品驗이 良好하고 加工收率이 높은 特性을 具備하여야 한다. 優良品種의 育成은 突然變異(Stoller 1953, Fritsche 1965) 菌絲融着(Moessner 1962, Kneebone 1972) 孢子發芽(Pelham 1965, Kneebone 1976) 組織分離(Fritsche 1966(b), 胡開仁 1969) 등에 依한 方法이 利用되고 있으며 그中 Sarazin(1952)과 鳳利公司(1968) 등은 孢子發芽에 依한 育成方法의 優越性을 報告하였다.

양송이는 1個의 擔子基에 1~7個의 擔孢子가 着生되고 그 數에 따라 核의 移動으로 因한 特性도 달라지며 各 擔子基에는 二核孢子가 形成되는 것이 大部分이나 1% 内外의 一核孢子가 存在하므로 半數體 交配에 依한 優良品種의 育成이 可能하다고 하였다(Pelham 1965, Elliott 1972, Miller 1972). 1個의 擔子基에서 2個의 擔孢子가 形成되는 2核孢子는 자기 다른 性質의 核을 갖게되며 各個의 擔孢子는 發芽後 收量, 品質 등 特性

이 다른 子實體를 形成하게 되므로 이들中 優良한 形質을 가진 菌株의 分離가 可能하다고 하였다(謝能 1969, Kneebone 1976). 擔孢子 發芽用 最適 培養基로는 Malt extract(Uzonyi 1965, Hayes 1978), Potato dextrose yeast agar(Kneebone 1965) 등이 좋으며 擔孢子發芽 促進을 爲하여 active mycelium이나 低級 脂肪酸을 處理하였다(Lösel 1964, 1967). 單一擔孢子 發芽 菌株의 菌叢 形態는 fluffy, strandy, appressed type 등 여러가지이나 이中 strandy type이 一般的으로 菌絲의 生長이나 收量性이 좋다고 하였으며 이들을 新系統 育成試驗의 1次選拔 對象으로 하고 있다(Fritsche 1968). 本試驗에서도 單一擔孢子 純系分離에 依해 양송이 新系統을 育成하기 爲하여 1976~'80년에 걸쳐 單一擔孢子의 分離 發芽試驗과 分離 菌株의 特性 調査에 依한 優秀 菌株을 選拔, 圃場에서의 反復的인 生産力 檢定 등 一聯의 試驗을 遂行한 바 그 結果를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 擔孢子 發芽用 最適培地 選拔

單一孢子 分離 發芽用 最適地를 選定하기 爲하여 供

試培地로 water agar(2% agar), 2% malt extract agar와 양송이 子實體, 양송이 밀種菌, 감자를 각각 200g씩 30분간 끓인 後 抽出液 1000ml를 만들어 phosphate buffer로 pH 6.2~6.6으로 短正後 agar 2%를 加하여 만든 固體培地를 使用하였다. 供試 系統은 505 號로 開裂하기 直前의 健全한 子實體를 殺菌된 petri dish內의 유산지상에 놓아 擔胞子를 採取하고 5°C에 保管하면서 使用하였다. 擔胞子分離는 petri dish의 中央 部分에 直徑 1cm의 圓形 空間이 생기도록 殺菌된 供試 培地를 1.5mm 두께로 分注하여 凝固시킨後 擔胞子를 中央 空間에 移植하고 顯微鏡下에서 microneedle 로 分離된 單一擔胞子를 培地上에 10個씩 環狀으로 配置하였다. 擔胞子 分離는 各 培養基別로 8反復으로 하였으며 發芽 促進을 爲하여 양송이 菌株 切片을 中央에 移植하고 水分 및 菌絲 生長時 發生된 低級 脂肪酸의 揮發을 막기 爲해 透明 接着 테이프로 密封하여 25±1°C에서 6~12日間 培養시키며 培地 種類別로 擔胞子 發芽數를 調査하였다.

2. 特性 檢定

가. 菌叢 形態 및 菌絲 生長量: 菌叢形態를 調査하기 爲한 培養基는 양송이 栽培用 堆肥 40g을 15分間 끓인 抽出液 1000ml에 malt extract 5g, 설탕 10g, agar 18g을 加한 培地를 殺菌하여 petri dish에 30ml씩 分注하고 289個의 單一擔胞子 發芽 菌絲를 中央에 移植한 다음 25±1°C에서 14日間 培養하며 菌叢의 形態를 調査하였다. 菌叢 形態의 區分 方法은 菌絲가 굵고 形態가 뚜렷하게 正常으로 生長하는 것을 strandy type, 솜模樣의 空中 菌絲가 過密하게 生長하는 것을 fluffy type, 菌絲가 活力이 없이 粉狀이며 培地에 密着하여 生長이 不振한 것을 appressed type으로 하였다. 菌叢 形態別 菌絲 生長量을 調査하고자 strandy와 fluffy type別로 20個 菌株씩 標本으로 抽出하여 菌叢 形態 調査와 同一한 方法으로 接種 培養하며 22日까지 4日 間隔으로 菌絲 生長 長이를 測定하고 培養이 完了된 後 90°C의 熱湯 處理를 하여 agar를 除去시킨 다음 菌絲를 80°C에서 乾燥시켜 무게를 秤量하였다.

나. 菌叢 形態別 收量 檢定: 供試 菌株는 strandy type과 fluffy type으로서 菌叢 形態別로 1次 試驗은 40 菌株씩, 2次 試驗은 1次 試驗에서 收量이 많았던 20 菌株씩을 任意로 選定하여 菌株別로 穀粒種菌을 製造하였으며 農業技術研究所 標準栽培法에 準하여 製造된 堆肥를 0.239m² 箱子當 20kg씩 넣으며 菌株別로 培養된 種菌을 200g씩 栽植한 後 亂塊法 4反復으로 配置하였다. 堆肥의 菌絲 生長 溫度는 23~25°C로 維持하고

種菌栽植 14日後에 堆壤土 80+土炭 20%를 配合하여 覆土를 하였다. 覆土後의 溫度는 21~25°C로 維持하였고 發芽를 誘導하기 爲하여 灌水和 同時 15°C로 낮추어 官理하며 子實體 收量을 調査하였다.

3. 單一擔胞子 分離 菌株의 生産力 檢定

1次 生産力 檢定用 供試 菌株는 1976~'80까지 505 號로부터 分離 發芽한 1622個의 菌株中 菌叢 形態에 依하여 選別된 778個의 strandy type으로서 農業技術 研究所 標準栽培法에 準하여 製造된 堆肥 20kg(水分 68%)을 0.239m² 箱子에 넣으며 菌株別 200g 種菌을 層別栽植한 後 菌叢 形態別 收量 檢定과 同一한 方法으로 管理하여 子實體를 誘起시켰다. 收穫 期間은 試驗 時期에 따라 다르나 30~40日 이었으며 子實體 收量은 뿌리 部分을 切斷한 생버섯 무게로 하였고 開傘率은 收穫時 갓과 줄기부분이 떨어진 버섯數를 全體 버섯數에 對한 比率로 하였다. 栽培 環境의 變化에 依하여 發現되는 오피베일은 버섯의 生育 初期부터 開裂되고 gill의 發育이 不振하며 肉質이 단단한 버섯으로 全體 버섯數에 對한 比率로 比較하였으며 初發芽 所要日은 種菌 栽植日로부터 覆土 表面에 어린 버섯이 最初로 發生할 때까지의 期間으로 하였다. 生産力檢定에 依한 2次 選拔 試驗은 1次 選拔試驗에서 母菌株(對照區)보다 收量이 높은 89個 菌株, 3次 選拔 試驗은 2次 選拔 試驗에서 다시 優秀한 19個 菌株를 對象으로 1次 選拔 試驗과 同一한 方法으로 反復 試驗을 實施하였다.

結果 및 考察

1. 擔胞子 發芽用 最適 培地 選拔

本 試驗에 供試된 malt extract 外 4種의 培地中에서 擔胞子 發芽率이 가장 높은 培地는 Table I에서와 같이 water agar의 26%였으며 P.D.A.가 10%로 가장 낮았다. 胞子發芽 最適 培地에 對하여 Kneebone(1965)은 P.D.Y.A(potato, dextrose, yeast, agar) 培地가, Uzonyi(1965)는 malt extract培地, Hayes(1978)는 malt extract, P.D.A(potato dextrose agar), 堆肥 培地 등이 알맞다고 하여 本 試驗 結果와는 差異가 있었다. 이러한 原因은 malt extract, 밀種菌, 감자한천培地는 單一擔胞子 分離時 培地에 汚染된 雜菌으로 因하여 發芽率이 낮았으나 water agar는 培地의 營養分이 없어 汚染된 雜菌의 生長이 抑制되어 發芽率이 높은 것으로 생각되며 특히 water agar는 培養基製造가 簡便하고 無色 透明하여 擔胞子의 分離作業이 便利한 長點을 가지고 있었다.

Table I. Effect of various media on the single basidiospore of *Agaricus bisporus*.

Media tested	Basidiospore germination(%)
Water agar	26
Malt extract	17
Mushroom extract	17
Grain spawn extract	15
Potato dextrose agar	10

2. 特性 檢定

가. 菌叢 形態 및 菌絲 生長量

289個 單一擔孢子 發芽 菌株에 對한 堆肥抽出培養基에서 菌叢 形態를 調査한 結果 strandy type이 152, fluffy type이 129, appressed type이 8個 菌株였으며 appressed type은 生長이 不振하였고 virus感染率이 높은 研究 報告(Fritsche 1978)에 따라 廢棄處分하였다. strandy type과 fluffy type의 菌絲 生長 速度를 比較해 보던 fig 1와 같이 strandy type이 fluffy type보다 약간씩 빠른 傾向을 보였으며 培養이 完了된 後의 菌絲 乾物重은 fluffy type이 91.0mg, strandy type이 86.8mg으로 fluffy type의 菌絲量이 더 많았다. 이것은 fluffy type의 菌絲가 슴같이 過密하게 生長하며 培養基 表面의 空氣中으로 浮上하기 때문에 菌絲量은 많아도 菌絲束과 같은 strand가 形成되지 않아 生長 速度가 遲延되는 것으로 생각된다.

나. 菌叢 形態別 收量 檢定

菌叢 形態와 收量 사이의 相關性을 찾기 爲하여 總

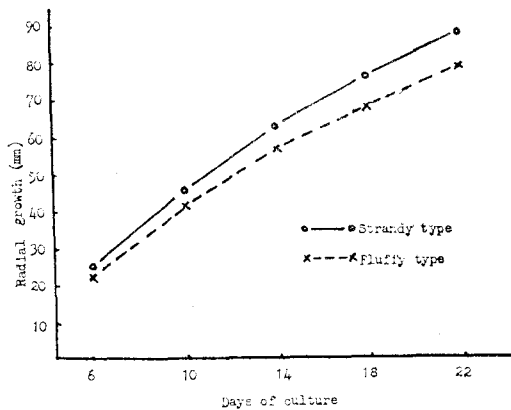


Fig. 1. Radial growth of *Agaricus bisporus* derived from single basidiospores on the compost extract agar.

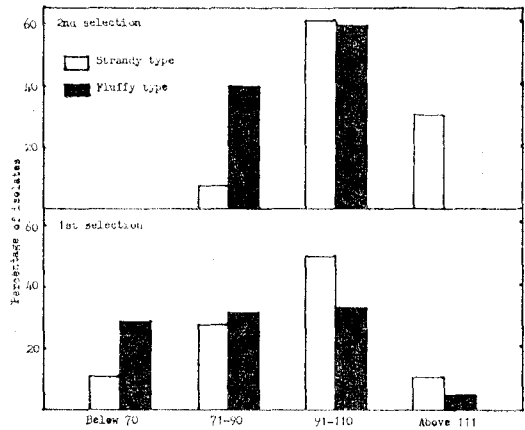


Fig. 2. Comparisons of yield indices of *Agaricus bisporus* between strandy type and fluffy type. Yield index 100 refers to the average figure obtained from strain 505 of IAS by "standard cultivation method."

80個 菌株에 對한 收量, 檢定 試驗을 實施한 結果 收量 指數別로 菌叢 形態의 分布比를 보던 收量 指數가 90 以下에서는 fluffy type이 많은 反面 91 以上에서는 fluffy type에 比해 strandy type이 많았다. 收量性이 높은 40個 菌株에 對한 2次 選抜 試驗에서도 같은 傾向이나 菌叢 形態에 關係없이 收量 指數가 70 以下는 없었고 特히 收量 指數가 111 以上에서는 strandy type 뿐이었다(Fig. 2). 이와 같이 strandy type이 fluffy type보다 收量性이 높은 結果는 Fritsche(1968)의 報告와도 一致하였다.

3. 單一擔孢子 分離菌株의 生産力檢定

供試 菌株는 '76년부터 '80년까지 5年동안 分離한 6,372個의 單一擔孢子에서 發芽된 1,622個 菌株(發芽率 25.5%)를 compost agar培地에 移植하여 菌叢 形態를 調査하고 strandy type中 菌絲 生長이 不振한 菌株를 除外한 778個의 菌株를 1次 生産力 檢定 試驗 對象으로 하였다. 室內에서 選拔된 778個 菌株의 1次 生産力檢定 試驗 結果 Fig. 3와 같이 大部分의 菌株는 收量 指數가 71~100이었으며 收量 指數가 60以下인 菌株도 있는 反面 100以上인 것도 있어 菌株間에 收量의 差異가 심하였다. 이 중 '79까지의 收量 指數가 100以上인 89個 菌株의 收量性을 確認하기 爲하여 2次 選抜 試驗을 實施한 結果 指數 分布圖은 1次 選抜과 대체로 비슷한 傾向을 나타냈으나 收量이 極히 낮은 菌株數가 적어졌으며 계속 母菌株보다 收量이 높은 菌株도 選抜할 수 있었다. '80년까지 段階的으로 3次의 生産力 檢

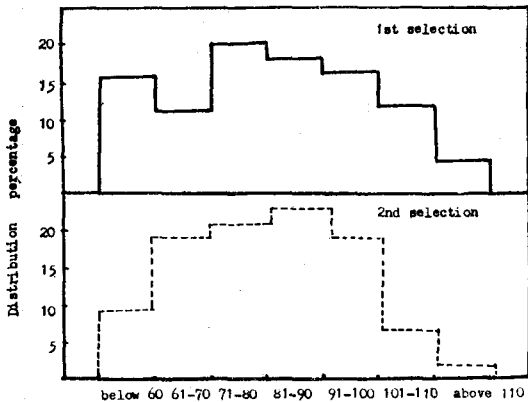


Fig. 3. Distribution percentages of yield index of *Agaricus bisporus* derived from single basidiospore isolates compared with the average yield of strain 505 of IAS by "standard cultivation method".

Table II. Comparisons of yield and other characteristics of single basidiospore isolates in *Agaricus bisporus* with those of the standard strain "505".

Strain No.	Yield (kg/3.3m ²)	Yield index	Individual weight (g)	Percentage		Period for pinheading(days)
				open cap	open veil	
645	57.1	107	8.6	1.5	0.8	31
967	56.6	106	8.3	1.0	0.9	31
1493	56.1	105	9.5	0.7	2.8	33
1960	56.1	105	10.0	0.3	0.2	33
1567	59.3	111	10.9	0.3	1.8	34
1651	56.1	105	9.7	1.0	0.7	33
1708	58.7	110	10.9	0.3	0	31
1754	57.7	108	11.1	2.0	1.4	33
1763	56.6	106	10.2	1.3	0.8	32
Check(505)	53.4	100	9.7	0.8	1.4	32

오픈베일률 등品質은 菌株間에 差異가 있으며 菌株別로는 No. 645, 967이 對照보다 個體重이 작고 開傘率 이 높아 品質이 不良한 편이었으나 No. 1567, 1708은 收量도 높고 品質도 良好한 優秀한 特性을 나타내어 優良 系統으로 選拔되었다. 以上の 試驗 結果에서 본 바와 같이 양송이 育種 方法의 하나인 單一擔孢子 純系分離에 依해서 新品種의 育成이 可能하였다.

摘 要

양송이 單一擔孢子的 發芽에 가장 알맞은 培地는

定 試驗이 可能하였던 678個 菌株中 母菌株에 對한 收量 指數로 볼때 100 以上인 菌株의 選拔 比率는 1次에서 13.1, 2次에서 2.8, 3次 選拔 試驗에서는 1.3%로 減少되었으며 菌株數로는 89, 19, 9個 菌株였다. 그러나 1次選拔이나 2次選拔 試驗에서 收量이 높았던 菌株의 大部分이 다음 檢定 試驗에서 收量이 떨어졌으며 이들 菌株의 收量 變化 原因은 分離 菌株를 5°C 低溫에서 短期間 保存할때에 退化의 可能性이 極히 적은 것으로 보아(Fritsche 1966(a)) 一種의 彷徨變異로 생각되며 小數의 多收性 菌株는 擔孢子 生成時 十方向으로 遺傳的인 形質變異가 일어날 可能性이 있었던 것으로 推理 된다.

위와 같은 3次的 段階的인 選拔 試驗 結果 Table II에서 보는 바와 같이 '76년부터 '79년까지 分離된 菌株中 No. 645, 967, 1493, 1560, 1567, 1651, 1708, 1754, 1763의 9個 菌株가 母菌株인 505號보다 5% 以上 增收되었다. 이들 多收性 菌株의 個體重, 開傘率,

water agar였고 이때 發芽率은 26%였다. 單一擔孢子 6,372個를 分離하여 1,622個를 發芽시켰으며 이들은 菌叢形態에 따라 strandy type과 fluffy type으로 區分할 수 있었으며 이중 前者는 菌絲生長 速度가 빨랐고 收量도 높았다.

發芽된 單一擔孢子中 堆肥抽出培地上에서 strandy type 778個를 選拔하여 生産力을 檢定한 結果 1次에서 供試 菌株의 89個, 2次에서 19個, 3次에서 9個 菌株를 優秀 系統으로 選芽할 수 있었다. 이들중 No. 645 外 8菌株는 收量이 5%以上 增收되었으며 그중 No. 1567, 1708 두 菌株는 收量이 10% 以上 增收되었고 品質도

良好하여 優良系統으로 選拔할 수 있었다. 따라서 單一擔孢子의 純系分離에 依해 양송이 新系統 育成이 可能할 것으로 보인다.

References

- Elliott, T.J. (1972): Sex and single spore. *Mushroom Science* 8:11~18.
- Fritsche, G. (1965): Beitrag zur Mutationsforschung bei *Agaricus bisporus*. *Mushroom Science* 6:27~47.
- Fritsche, G. (1966): Versuche zur Frage der Erhaltungszuechtung beim Kulturchampignon I. *Vermehrung durch Teilung des Mycels*. *Zuechter* 36:66~79.
- Fritsche, G. (1966): Versuche zur Frage der Erhaltungszuechtung beim Kulturchampignon. II. *Vermehrung durch Gewebekultur*. *Zuechter* 36:224~233.
- Fritsche, G. (1968): Experiments on the influence of the culture medium on various mycelium forms of the cultivated mushroom. *Mushroom Science* 7:515~527.
- Fritsche, G., (1978): Breeding work. *The biology and cultivation of edible mushrooms*: 239~249.
- Hayes, W.A. (1978): Biological nature. *The biology and cultivation of edible mushrooms*: 191~215.
- Kneebone, L.R. (1965): Spawn research at the Pennsylvania state university. *Mushroom Science*. 6: 265~281.
- Kneebone, L.R. (1968): Strain selection, development and maintenance. *Mushroom Science* 7:531~541.
- Kneebone, L.R., P.G. Shultz and T.G. Patton. (1972): Strain selection and development by means of mycelial anastomosis. *Mushroom Science* 8:19~25.
- Kneebone, L.R., T.G. Patton and P.G. Shultz. (1976): Improvement of the brown variety of *Agaricus bisporus* by single spore selections. *Mushroom Science* 9:237~243.
- Lösel, D.M. (1964): The stimulation of spore germination in *Agaricus bisporus* by living myelium. *Annals of Botany* 28:541~554.
- Lösel, D.M. (1967): The stimulation of spore germination in *Agaricus bisporus* by organic acids. *Annals of Botany* 31:417~425.
- Miller, R.E. and D.L. Kannanen. (1972): Bipolar sexuality in the mushroom. *Mushroom Science* 8: 713~718.
- Moessner, E.J. (1962): Preliminary studies of the possibility of obtaining improved cultures through mycelial fusion (anastomoses). *Mushroom Science* 5:197~203.
- Pelham, J. (1995): Techniques for mushroom genetics. *Mushroom Science* 6:49~64.
- Sarazin, A. (1952): The cultivated mushroom 5. Germination of spores and development of mycelium. *M.G.A. Bull.* 33:281~285.
- Stoller, B.B. and J.F. Stauffer. (1953): Studies on naturally occurring and ultraviolet radiation induced strains of the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. *Mushroom Science* 2:51~65.
- Uzonyi, A.L. (1965): Investigations into some conditions for spore germination and data on the establishment of growing conditions for *Agaricus macrosporus*. *Mushroom Science* 6:65~75.
- 鳳梨公司. (1969): 臺灣鳳梨公司洋菇試驗研究(二). 臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計劃報告. 第二集: 274.
- 謝能, 陳山田, 何銘樞. (1969): 洋菇品種之改良. 臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計劃報告. 第二集: 182-185.
- 胡開仁, 宋細福. (1961): 洋菇孢子與組織繁殖之比較. 臺灣區洋菇試驗研究及生產改進計劃報告. 第二集: 274~275.

<Received June 30, 1981>