

표고버섯 신품종 ‘참존’ 육성 및 특성

임지훈* · 오연이 · 오민지 · 김민식 · 장갑열

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과

Breeding of a new cultivar of *Lentinula edodes* ‘Charmjon’

Ji-Hoon Im*, Youn-Lee Oh, Minji Oh, Minseek Kim, and Kab-Yeul Jang

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Chungbuk Eumseong 27709, Korea

ABSTRACT: We aimed to develop outstanding domestic varieties suitable for both columnar and cylindrical-shape substrates, aiming to replace foreign varieties, and bred a high-quality new strain named ‘Charmjon’, using genetic resources collected from Japan and China. The optimal cultivation temperature for Charmjon’s mycelial growth was found to be 25°C, and its mycelial growth at 15°C and 25°C was superior to the control variety. In terms of mycelial growth characteristics based on the substrate, Charmjon exhibited excellent mycelial strength on PDA medium compared to the control variety. Through columnar and cylindrical-shape substrates cultivation, we assessed the quantity and morphological characteristics of the fruiting bodies. The results confirmed that Charmjon can be produced stably using both cultivation methods, and it showed higher yields and individual weights than the control variety. In addition, the color of the pileus was notably darker, and the shape of the pileus varied depending on the cultivation method. The test of genetic diversity revealed that Charmjon has distinct genetic characteristics compared to the control varieties.

KEYWORDS: Bag cultivation, Breeding, Charmjon, *Lentinula edodes*

표고는 분류학적으로 담자균강(*Agaricomycetes*), 주름버섯목(*Agaricales*), 낙엽버섯과(*Marasmiaceae*), 표고속(*Lentinula*)에 속하며(Lee *et al.*, 2018), 주요 생산국은 한국, 일본, 중국 등 동북아시아 지역이며 식감과 감칠맛이 우수해 전세계적으로 소비되고 있는 대표적인 버섯이다. 국내 표고 생산액은 2022년 기준 약 1921억원으로 국내 버섯 산업에서 가장 큰 비중을 차지하고 있을 정도로 인

기 있는 버섯으로 이용되고 있다. 표고는 여러 가지 기능성 물질을 함유하고 있는데, 대표적으로 혈관의 콜레스테롤 수치를 낮춰 고혈압, 성인병을 예방해주는 에리타데닌(eriadenin)을 포함하고(Park *et al.*, 2011) 비타민 D의 전구체인 에르고스테롤을 함유해 골다공증 예방에 도움을 주며(Park *et al.*, 2020), 그 외 항암(Fang *et al.*, 2006), 면역조절(Tanaka *et al.*, 2011) 등 다양한 효능이 밝혀졌다.

표고는 원목재배와 톱밥재배 두 가지 방법으로 생산되고 있는데, 점차 톱밥재배의 비중이 증가하고 있다. 톱밥재배는 재배과정의 기계화로 원목재배에 비해 노동력이 절감되고, 재배기간이 총 6개월로 짧고, 버섯 수량도 2~3배 높아 농가소득에도 매우 큰 장점이 있다(Noh *et al.*, 2020). 톱밥 봉지재배에도 규격 및 재배방법에 따라 원기동형의 상면발생, 봉형의 전면발생, 사각블럭의 전면발생의 형태로 나뉘는데, 최근 봉형 형태의 중국산 배지의 수입 증가와 봉형배지의 빠른 회전율로 봉형 전면발생의 재배형태가 늘어나고 있다. 이에 톱밥 봉지재배에 적합한 국산품종 개발을 위해 국내 여러 기관에서 표고 육종연구를 진행하고 있다. 원기동형 배지의 대표품종으로는 산림조합에서 개발한 ‘산조701호’, ‘참아람’(Noh *et al.*, 2015, Ko *et al.*, 2015) 등이 있고 봉형 배지는 ‘화담’, ‘자담’(Kim *et al.*, 2020, 2022), 사각블럭 배지는 ‘산백향’, ‘밤빛

J. Mushrooms 2023 December, 21(4):261-265
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2023.21.4.261>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

Ji-Hoon Im(Researcher), Youn-Lee Oh(Senior researcher), Minji Oh (Researcher), Minseek Kim(Postdoctoral researcher), Kab-Yeul Jang (Senior researcher)

*Corresponding author

E-mail : jihooni24@korea.kr

Tel : +82-43-873-5714, Fax : +82-43-873-5702

Received December 5, 2023

Revised December 16, 2023

Accepted December 22, 2023

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.

Table 1. Inherent characteristics of a new strain 'Charmjon'

Cultivar	Optimum temp. for incubation(°C)	Fruiting temp.(°C)	Shape of pileus	Color of pileus
Charmjon	21~22	15?18°C	Hemi-spherical	Dark Brown
Sanjo 701ho	20~23	18?20°C	Hemi-spherical	Brown

Table 2. Mycelial growth of 'Charmjon' at the different temperatures

Cultivar	Mycelial growth(mm, 7days, PDA media)				
	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
Charmjon	10.0±0.0*	22.7±1.2*	38±0.0	61.0±2.7**	40.7±1.2**
Sanjo 701ho	8.3±0.6	20.7±1.2	37.0±1.0	50.3±2.1	45.3±0.6

* : p<0.05, ** : p<0.01

Table 3. Mycelial colony growth of 'Charmjon' on the different media

Cultivar	Mycelial growth(mm/ 7 days, 25°C)			
	MCM	MEA	PDA	YM
Charmjon	46.0±0.0**	54.7±0.6*	55.7±0.6**	51.0±1.7**
Sanjo 701ho	38.7±0.6	51.7±0.6	41.7±1.5	39.7±0.6

* : p<0.05, ** : p<0.01

향', '태향고' 등이 있다(Jang *et al.*, 2017).

현재까지 표고 품종이 국내에서도 많이 개발되었지만, 봉형배지 수입의 급증으로 외국품종이 국내로 자연스럽게 유입되고 있고 국산품종 사용율이 2021년 기준으로 약 27%로 추정하고 있다. 따라서 본 연구는 외국품종을 대체 하고 원기동형과 봉형배지에 모두에 적합한 우수한 순수 국산 품종육성을 목표로 진행되었으며 재배호환이 가능한 고품질 신품종 '참존'을 육성하였다.

교잡 모본 및 균사배양

표고 신품종 '참존'의 교잡 모본은 중국에서 수집한 ASI 3269과 일본에서 수집한 SML2이며 대조품종으로는 농가에서 가장 많이 재배하는 국산품종 산조701호와 L808을 이용하였다. ASI 3269는 배양이 빠르고 생산성이 우수하나 맛이 빨리 전개되는 단점이 있으며, SML2은 평 반구형에 갓 개열이 늦고 품질이 우수한 장점이 있다.

균 배양, 단핵균주 확보, 포자 발아에 사용된 배지는 감자 한천배지(PDA, Potato Dextrose Agar)이다. 두 모본을 PDA 배지에 접종하여 온도 25°C, 습도 65%로 설정한 항온항습기에서 배양하였다. 균사생장에 적합한 온도와 배지를 확인 하고 신품종과 대조품종의 균사력을 비교하고자 배양한 균주를 PDA배지에 접종하여 10, 15, 20, 25, 30°C로 조절된 항온기에서 7일간 배양하여 균총의 직경을 조사하였다(Table 2). 또한, 4가지 배지(MCM: Mushroom Complete Media, MEA: Malt Extract Agar, PDA, YM: Yeast Malt Agar)를 제조한 후 이를 고압 멸균(121°C, 20분)하여 무균 상에서 분주하여 냉각한 후 배양된 균주를 각 배지에 접종 하여 배양 7일차에 균총의 직경을 조사하였다(Table 3).

모본 포자 분리 및 단핵균주 확보

두 모본의 포자수집을 위해 자실체의 갓 부분만 분리하여 자실층이 아래를 향하도록 이쑤시개를 이용해 페트리 디쉬에 거치한 후 24시간 동안 포자 낙하를 유도하였다. 수집된 담자포자를 멸균수를 이용하여 1.0×10^{-6} cfu/ml 농도로 희석하고, 이 희석액을 100 µl씩 PDA 배지에 삼각 플라스틱봉을 이용하여 10 반복씩 도말하여 광이 차단된 25°C 항온기에서 7일간 배양하였다. 독립적으로 발아한 포자를 멸균된 이쑤시개로 떼어내어 새로운 PDA 배지에 옮긴 뒤 다시 25°C 항온기에서 7~10일간 배양하였다. 배양된 균사체의 꺾쇠 연결체(clamp connection) 유무를 현미경(Ni-U, Nikon, Japan)으로 200~400배 크기로 관찰하여 꺾쇠 연결체가 없는 단핵균주만을 선발하여 교잡에 사용하였다.

교잡 및 교잡계통 자실체 특성 검정

교잡은 PDA배지에 ASI 3269와 SML2의 단핵균주를 1-2 cm 간격으로 대치배양한 후 두 모본이 접합된 부위를 계대배양하여 자란 균주를 현미경으로 꺾쇠 연결체 형성 여부를 관찰하여 꺾쇠 연결체가 형성된 것을 교잡계통으로 선발하여 특성 검정에 사용하였다. 교잡계통의 자실체 특성 검정을 위한 톱밥배지 조성은 참나무톱밥과 미강을 80:20(volume/volume) 수준으로 혼합하고 배지수분을 60~65%로 조정된 뒤 원기동형의 봉지에는 배지를 1.5kg, 봉형의 봉지에는 배지를 3.5kg 입봉한 후 121°C에서 90 분간 고압멸균 하였다. 멸균이 완료된 배지는 냉장실에서 20°C까지 배지를 식힌 후 클린벤치 내에서 PDA배지에 자란 교잡계통의 균사체를 약 1×2 cm 정도로 잘라 접종

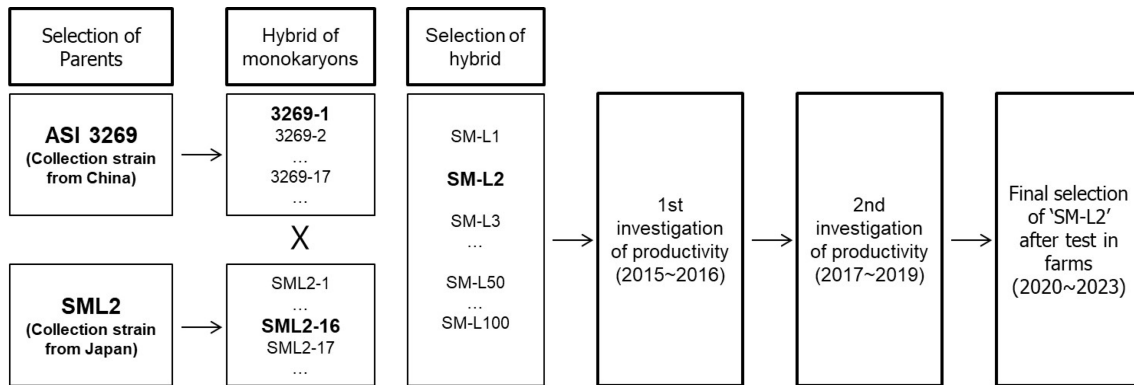


Fig. 1. The breeding process of a new cultivar 'Charmjon' in *L. edodes*.

하였다. 배양온도 22~23°C, 습도 65%, 암실 조건에서 40일간 암배양 후 배양이 완료되면, 200lux 이상의 광조건에서 갈변을 유도하여 전체적으로 배지 표면이 갈변될 때까지 90일간 배양한다. 완료된 배지를 생육실로 이동하여 실내온도 18°C, 상대습도 95%에서 발이를 유도하였다. 발이 후에는 실내온도 15~16°C, 습도 70~80%로 낮추고, CO₂는 환기를 통해 700 ppm 이하로 유지하였다. 개봉 후 하우스비닐재배사로 옮겨 10~14일간 생육후 수확하여 봉지당 무게를 측정하였으며 자실체의 형태적 특성은 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령에 의거하여 조사하였다. 원기동형의 봉지를 이용한 상면재배의 재배기간은 4~9월이며, 봉형의 봉지를 이용한 전면재배의 시기는 5~10월이었다.

유전적 다형성 분석

신품종의 유전적 다형성 분석을 위해 '참존'을 포함하여 '산조 701호', '농진고'까지 총 3점을 페트리디쉬 내 PDA 배지에 셀로판필름을 깔고 5×5 mm 균사절편을 가운데에 접종하여 10~15일 정도 배양하였다. 셀로판필름 위에 형성된 균사체를 cell scraper로 긁어 1.5 ml microtube에 넣고 액체질소로 급속냉각시킨 후 막자사발로 균사체를 곱게 갈아 주었다. 균사체 적당량을 1.5 ml microtube에 옮기고 5 min Mushroom DNA Extraction Kit(NEX Diagnostics)를 이용하여 DNA를 추출하였다. DNA 다형성 분석을 위해 사용된 RAPD 마커는 UPF primer kit(JK Biotech. Ltd.)를 사용하였으며, Genet Bio의 Prime Taq Premix (2×)에 genomic DNA(30 ng/μl) 1 μl, primer (20 pmole/μl) 1 μl, 멸균수 8 μl를 첨가하였다. PCR 증폭은 T100 Thermal Cycler(Bio-Rad)을 이용하여 94°C에서 4분간 DNA를 변성시킨 후 94°C에서 1분 간 DNA의 결합을 끊어 단일 가닥으로 분리시킨 후, 55°C에서 1분 간 DNA에 primer가 결합하며, 72°C에서 2분 간 DNA를 합성시키는 과정을 총 35 cycles 실시하였으며 최종 DNA합성은 72°C에서 5분으로 하였다. 증폭된 PCR 산물은 QIAxcel Advanced System(Qiagen)을 이용하여 전기영동을 통해

밴드패턴을 분석하였다.

신품종 '참존'의 육성경위

국립원예특작과학원 버섯과에서 보존하고 있는 균주 ASI 3269와 SM-L2의 갓으로부터 수집한 포자에서 단핵균주를 확보하고 두 균주의 단핵균주를 각각 30점씩 선발하고 이들을 교잡하여 교잡체 900점에서 현미경으로 꺾쇠 연결체(clamp connection) 형성 여부를 관찰하여 재배 시험 할 교잡체 300점을 선발하였다. 2015년부터 3년에 걸쳐 교잡주의 재배실험을 통해 자실체 특성을 검정하였고 생육이 빠르고 버섯 발생이 안정적이고 갓 품질이 우수한 계통인 'SM-L2'를 선발하였다. 2018년 농작물 직무육성 신품종 선정심의회에 통과하였고 2020년부터 3년간 선발계통을 재배유형별 농가실증 재배를 통해 생산력 검정을 거쳐 최종 특성발현을 확인하였다(Fig. 1).

고유특성

참존의 톱밥 봉지배지 배양 최적온도는 21~22°C로 대조품종과 거의 유사하며 자실체 발생 적정 온도는 15~18°C로 다소 낮으며, 갓 색깔은 대조품종보다 진한 갈색계열이다. (Table 1).

균사배양 특성

참존 품종의 균사배양 특성을 검정하기 위해 온도와 배지종류에 따라 균사생장 속도를 조사하였다. 25°C에서 두 품종 모두 균사생장이 가장 좋았으며 15, 25°C에서 참존의 균사생장이 대조품종보다 우수하였다(Table 2). 균사생장을 위한 최적 배지 선발하기 위해 4가지 배지에 접종하여 25°C에서 7일간 배양하여 균사생장을 조사한 결과 (Table 3), 참존은 PDA 배지에서 가장 생장이 좋았으며, 모든 배지에서 참존의 균사생장이 우수하였다.

자실체 수량 및 형태적 특성

수량과 형태적 특성은 두 가지 배지(원기동형, 봉형)에서 각각 조사하였다. 원기동형 상면재배에서는 참존의 자

Table 4. Yield and morphological characteristics of fruiting body in ‘Charmjon’ cultivated in columnar shape substrate(1.3 kg)

Cultivar	Yield(g)	Individual weight(g/ea)	Pileus		Stipe		Cap lightness (L)
			Diameter (mm)	Thickness (mm)	Length (mm)	Diameter (mm)	
Charmjon	78.4±10.3	21.8±1.8*	54.5±6.1	9.6±1.1*	39.3±5.1	13.0±2.2*	25.4±2.5
Sanjo 701ho	52.5±29.0	15.9±4.4	48.9±6.0	15.6±0.9	31.4±4.9	11.1±1.1	29.4±3.4

* : p<0.05, ** : p<0.01



Fig. 2. Morphology of fruiting body of ‘Charmjon’(left) and ‘Sanjo 701ho’(right) cultivated in columnar shape substrate.

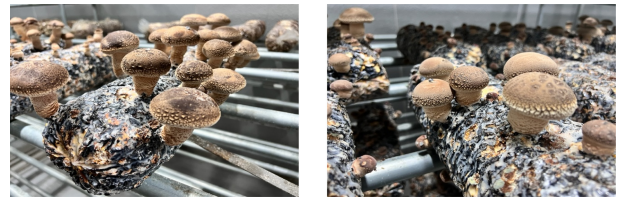


Fig. 3. Morphology of fruiting body of ‘Charmjon’(left) and ‘L808’(right) cultivated in cylindrical shape substrate.

실체 1주기 수량은 1.5 kg 봉지당 78.4 g, 개체중은 21.8 g 으로 대조품중에 비해 높았다. 참존의 갓 정단부의 색깔이 대조보다 더 진했으며, 갓 두께는 얇고 대 굵기는 더 두꺼웠다(Table 4, Fig. 2). 봉형 전면재배에서 참존의 자실체 1주기 수량은 3.5 kg 봉지당 326.2.2 g, 개체중은 23.2 g으로 생산성은 매우 우수했으며, 갓크기가 대조보다 컸으며 갓 정단부의 색깔도 원기동형 재배와 마찬가지로 진한 특성을 보였다(Table 5, Fig. 3). 두 재배방법 모두에

서 갓 정단부 색이 참존이 진하였으므로 재배환경의 영향보다는 유전적 차이에 의한 영향으로 보여진다. 재배 유형간의 1주기 수량을 비교해보면, 배지무게의 차이에 비해 수량의 차이가 훨씬 더 많이 나는 것을 확인할 수 있는데, 이는 봉형배지가 원기동형 배지에 비해 발생면적이 넓고 모든 면의 발생을 유도하기 때문에 한번에 많은 양의 수확이 가능하기 때문이다. 대신 봉형 전면재배의 수확 주기는 2~3회로 원기동형에 비해 적을 수 밖에 없다.

Table 5. Yield and morphological characteristics of fruiting body in ‘Charmjon’ cultivated in cylindrical shape substrate(3.5 kg)

Cultivar	Yield(g)	Individual weight(g/ea)	Pileus		Stipe		Cap lightness (L)
			Diameter (mm)	Thickness (mm)	Length (mm)	Diameter (mm)	
Charmjon	326.2±10.3*	23.2±2.2*	53.2±3.7*	15.4±1.3	44.7±4.8	15.7±1.7	38.3±4.3
L808	201.7±40.3	16.0±2.6	46.3±2.3	18.2±3.7	42.0±3.3	16.0±1.8	42.5±7.3

* : p<0.05, ** : p<0.01

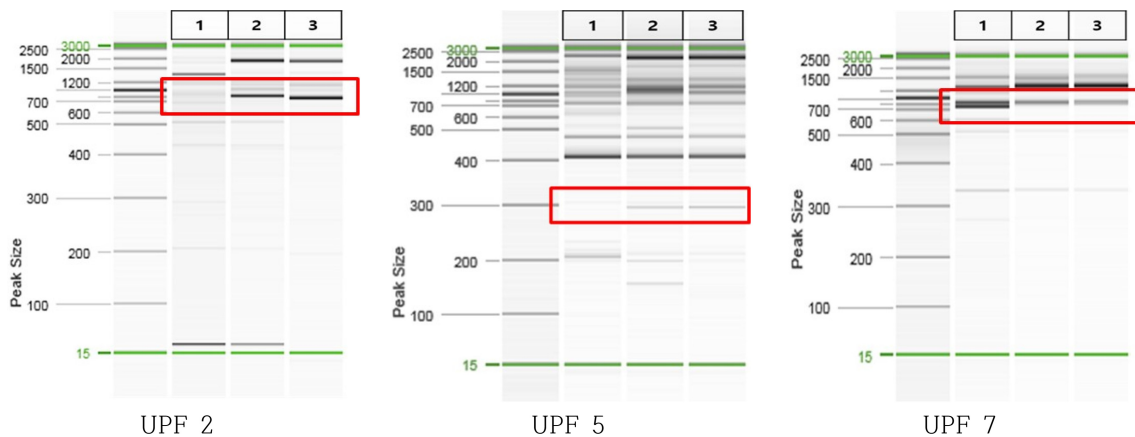


Fig. 4. PCR amplicon profiles from genomic DNA of *L. edodes* generated by using UPF primer. M; 100bp DNA ladder, 1; Charmjon, 2; Sanjo 701ho, 3; Nongjinggo.

유전적 다형성 검정

RAPD마커(UPF primer)를 이용한 유전적 다형성 검정 결과, UPF 2 primer의 1 kbp 위치와 UPF5 primer의 300 bp 위치에서 참존에만 밴드가 없었다. 또한 UPF 7 primer의 700 bp 위치에서 참존에서만 2개의 밴드가 확인이 되었다. 이 결과, 신품종 참존은 대조품종들과 유전적으로 다른 계통임을 확인하였다(Fig. 4).

적 요

외국품종을 대체하고 원형과 봉형배지에 모두에 적합한 우수한 순수 국산 품종육성을 목표로 진행되었으며 외국 수집균주를 모본으로 재배회환이 가능한 고품질 신품종 ‘참존’을 육성하였다. 온도에 따른 균사배양 특성에서 25°C가 최적 배양온도로 조사되었다. 배지에 따른 균사배양 특성에서는 참존은 PDA 배지에서 균사생장이 가장 우수하였으며, 전반적으로 대조품종 보다 균사생장이 우수하였다. 원기동형 상면재배와 봉형 전면재배를 통해 자실체 수량과 형태적 특성을 파악한 결과, 두 재배법 모두에서 참존이 안정적으로 생산이 가능하다는 것을 확인하였으며, 참존의 수량과 개체중이 대조품종보다 높았다. 또한 갓 정단부의 색깔은 더 진한 것이 특징적이었으며 갓 모양은 재배방법에 따라 차이가 있었다. 유전적 다형성 검정 결과에서 참존이 대조품종들과 유전적으로 구별되는 것을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립원예특작과학원 기본과제(PJ01419603)에서 수행한 연구 결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

Fang N, Li Q, Yu S, Zhang J, He L, Martin J.J. Ronis, Thomas

- MB. 2006. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by an ethyl acetate fraction from shiitake mushrooms. *J Alterna Complemen Med* 12: 125-132.
- Jang Y, Ryoo R, You SW, Park YA, Jung YS, Wang Y, Ka KH. 2017. Handbook of shiitake breeding. *NIFoS Research Reviews* 738: 105-110.
- Kim JH, Kang YJ, Baek IS, Shin BE, Choi JI, Lee YS, Lee YH, Jeoung YK, Lee YS, Chi JH, Jung GH. 2020. Characteristics of Newly Bred *Lentinula Edodes* Cultivar 'Hwadam' for Sawdust Cultivation. *Kor J Mycol* 48(2): 125-133
- Kim JH, Baek IS, Choi JI, Shin BE, Kang YJ, Ha TM, Jung GH, Kim YJ, Choi JY. 2022. Characteristics of Newly Bred *Lentinula edodes* Cultivar 'Jadam' for Sawdust Cultivation. *Kor J Mycol* 50(2): 93-102.
- Ko HG, Choi SG, Kim SC, Park YH, Kim KJ, Lee WH, Noh JH, Lee BS, Kim IY, Lee HK. 2015. Oak mushroom cultivation technique, *Forest Mushroom Research Center*: 372.
- Korea Forest Service. Statistical yearbook of forestry. Daejeon: Korea Forest Service; 2022.
- Lee KW, Jeon JO, Kim MJ, Kim IJ, Jang MJ, Park HS. 2018. Effects of difference in medium composition on the growth of *Lentinula edodes*. *J Mushrooms* 16(4): 267-271.
- Noh JH, Ko HG, Park HS, Koo CD. 2015. Selection of parental strain on the sawdust cultivation and mycelial growth and cultural characteristics of *Lentinula edodes* hybrid strains. *J Mushrooms* 18(3): 179-188.
- Noh JH, Kim KJ, Lee BS, Kim SC, Kim IY, Choi SG, Kwon HW, Lee WH, Jong EY, Chung NH, Ko HG. 2020. Cultivation status and breed development of *Lentinula edodes* cultivar Sanjo 701ho in the sawdust cultivation *J. Mushrooms* 13(3): 203-206.
- Park YA, Lee KT, Bak WC, Kim MK, Ka KH, Koo CD. 2011. Eritadenin contents analysis in various strains of *Lentinula edodes* using LC-MS/MS. *Korean J Mycol* 39: 239-242.
- Park YJ, Cho YK, Kim CY, Jang MJ. 2020. Changes in the levels of ergosterol and methionine as indicators of *Lentinula edodes* quality according to the relative humidity during the storage period. *J Env Sci Int* 29: 1199-1204.
- Tanaka K, Ishikawa S, Matsui Y, Tamesada M, Harashima N, Harada M. 2011. Oral ingestion of *Lentinula edodes* mycelia extract inhibits B16 melanoma growth via mitigation of regulatory T cell-mediated immunosuppression. *Cancer Sci* 102: 516-521.