

## 단핵균주간 교잡에 의한 큰느타리버섯 신품종 “단비”의 특성

김민근<sup>1\*</sup> · 류재산<sup>1</sup> · 유영복<sup>2</sup>

<sup>1</sup>경상남도농업기술원 친환경연구과, <sup>2</sup>농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

### Characterization of a New Cultivar “Dan Bi” by Mono-mono Hybridization in *Pleurotus eryngii*

Min-Keun Kim<sup>1\*</sup>, Jae-San Ryu<sup>1</sup> and Young-Bok Yoo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Environment-friendly Research Division, Gyeong sang nam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-360, Korea

<sup>2</sup>Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received 10, September 2010., Accepted 10, December 2010)

**ABSTRACT** : A new cultivar "Dan Bi" of *Pleurotus eryngii* was developed by the method of mono-mono crossing between monokaryotic strains derived from KNR2312 and KNR2596. The parental strains, KNR2312 and KNR2596, are characterized by the property of high quality and a small number of primordia formation, respectively. The optimum temperature of mycelial growth was 25 and that of fruiting body development was 15~16°C. The period of harvesting including primordia formation was 0.7~1.3 days later than that of control strain Knneutari No. 3 in the culling cultivation. The color of pileus and stipe surface was neutral-brown and pure white, respectively. The shape of pileus was dome and has a scale like as cobweb. The yield was 93±9.7 g per 850 cc of plastic bottle. Analysis of the genetic characteristics of the new commercial variety “Dan Bi” showed a different profile as that of the control strain, Knneutari No. 3, when RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) primer #8005 was used. This new variety “Dan Bi” of *Pleurotus eryngii* is characterized by a small number of primordia formation after scratching.

**KEYWORDS** : Dan Bi, Mushroom, New cultivar, *Pleurotus eryngii*

## 서 론

큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*)은 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina), 주름버섯목(Agaricales), 느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 사물기생균(Zadrazil, 1974)으로 주로 아열대 지방이나 수목이 없는 초원지대, 남유럽, 중앙아시아 및 북아프리카 등에 널리 분포하며 “King oyster mushroom” 이라고도 불린다. 우리나라에서는 “새송이버섯”으로 불리며 버섯자체의 우수한 맛과 조직감으로 그 소비는 지속적으로 증가되어 왔다. Rajarathnam과 Bano(1987)에 의하면 큰느타리버섯 인공재배에 관한 연구는 1958년 Kalmar에 의해 최초로 시도된 것으로 보고되어 있으며 국내의 경우 1997년부터 보고되기 시작 하였다(김 등, 1997a, 1997b). 큰느타리버섯의 재배는 다양한 배지재료의 혼합, 고압 또는 상압살균, 냉각, 종균 접종, 균사 배양, 균긋기, 발이유도, 자실체 생육, 그리고 수확과정으로 이루어지며 전체 재배기간은 53~55일 정도 소요된다. 재배과정에서는 버섯의 품질 향상을 위해 자연적으로 발

생된 개체를 제거하는 솜을 작업을 필수적으로 거치게 된다. 이러한 솜을 작업은 집중적인 노동력을 많이 필요로 하고 있어 개선되어야 할 부분으로 고려되고 있다. 1990년대 후반 국내에 처음 도입되어 시험재배를 통해 버섯농가에 보급된 후 경남, 경북, 전남지역을 중심으로 그 재배면적과 생산량은 급격히 증가 되었으며, 2008년의 경우 전체버섯 생산량의 28.9%를 차지할 정도로 대중적인 식용버섯으로 자리를 잡았다(농림수산식품부, 2009). 많은 연구자들에 의해 보고된 큰느타리버섯의 혈당 및 혈중 콜레스테롤 저하기능(강 등, 2001), 대장암 세포 증식 억제 및 세포 사멸효과(황 등, 2003), angiotensin converting enzyme 저해 활성 효과(강 등, 2003) 및 항산화 활성(Hui *et al.*, 2002) 등은 큰느타리버섯이 빠르게 활성화 되는데 커다란 기여를 하였다. 그러나 국내 식용버섯 소비에 있어 아주 중요한 위치에 자리하고 있음에도 불구하고 교잡 육종을 통해 현재까지 육성된 품종은 경상남도농업기술원에서 육성 등록한 새송이1호, 애린이, 애린이3 등 3품종에 불과하다. 새송이 1호의 경우 생육기간이 짧으며 대가 굵은 특성이 있고(국립종자관리소, 2004, 2005), 애린이는 육질이 단단하여 유통기간이 길며 주름이 짧아 갖의 파손이 적은 특성을 지니고 있다(국립종자관리소, 2006,

\*Corresponding author <E-mail : goguma99@korea.kr>

2007b). 애린이3의 경우 생육기간이 짧고 관행적으로 재배되고 있는 품종에 비해 수량이 약 15% 정도 증수 되는 것으로 알려져 있다(국립종자관리소, 2007a, 2007b). 이러한 큰느타리버섯 품종 수는 28여종 이상이 등록되어 있는 느타리버섯에 비하면 많이 부족하며 품종 다양성 측면에 있어서도 보다 많은 형질의 큰느타리버섯 신품종육성 및 등록이 필요한 실정이다(국립종자원, 2010). 본 연구에서는 품질이 우수하고 발이개체수가 적어 재배과정에서 숙음 작업을 최소화 할 수 있는 큰느타리버섯 신품종 “단비” 육성과정 및 주요특성에 관한 내용을 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시험균주 및 배양

품종 육성을 위한 모본으로 사용된 균주는 KNR2312 및 KNR2539로 경상남도농업기술원 버섯연구실에 수집 보관 중인 균주를 이용 하였으며, 대조품종으로는 큰느타리버섯 3호를 사용하였다. 균주배양, 포자 분리, 계대 및 단포자간 교잡은 Rape 등(1972)에 의해 사용된 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium; Dextrose 20 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.46 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0 g, Yeast extract 2 g, Peptone 2 g, Agar 18 g/L)를 이용 하여 25°C에서 배양 하였다.

### 단핵균주 분리 및 교잡계통 육성

담자포자 분리는 자실체 갓 부위를 멸균 사레에 12~14시간 정도 거치하여 채취하였다. 낙하된 포자는 멸균수를 이용하여 회수 한 뒤 -70°C의 defreezer에 저장하고 필요시 순차적 희석법을 통해 버섯 완전배지(MCM)에서 도말하여 25°C에서 배양하였다. 3~5일 후 발아된 포자는 버섯완전배지에 하나씩 분리하여 25°C에서 약 7일정도 배양시킨 다음 현미경을 이용하여 껍쇠연결체가 형성되지 않은 것만을 선발하여 교잡균주 육성을 위한 단핵균주로 사용하였다. 단핵균주 간 교잡은 버섯완전배지에 약 10~15 mm 간격을 두고 접종한 뒤 25°C에서 약 7일정도 배양 하였다. 단핵균주 간 접합이 확인 되면 광학현미경을 이용하여 껍쇠연결체 형성유무를 확인을 통해 껍쇠연결체가 형성된 것만을 교잡계통으로 선발하여 품종육성을 위한 특성검증에 이용하였다.

### DNA 다형성 분석

큰느타리버섯 선발 교잡계통에 대한 모본과의 구별성 확인을 위해 Raeder과Broda(1985)가 사용한 곰팡이로부터의 genome DNA 추출방법을 이용하여 교잡계통의 genome DNA를 추출 하였다. 모본 및 교잡계통에 대한 RAPD(Random Amplification of Polymorphic DNA)는 #8005 (5'-GAAACGGGTG-3') primer (Bioneer)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR 반응조건은 95°C 5분간 반응 시킨 뒤 94°C 1분, 37°C 1분, 72°C 2분간 45cycle 반응 시키고 72°C 10분간

연장반응 후 완료하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.2% agarose gel에 전기영동 한 후 EtBr 용액으로 염색하여 UV transilluminator에서 DNA 증폭 밴드를 확인 하였다.

### 교잡계통 선발 및 자실체 특성 분석

교잡계통의 배양 및 생육특성 검증을 위한 배지는 포플러나무톱밥, 밀기울, 미강 및 건비지를 61:20:16:3(% w/w) 수준으로 혼합하고 배지수분을 65% 내외로 조정된 뒤 121°C에서 90분간 고압 살균하였다. 살균이 완료된 것은 냉장실에서 상온까지 냉각시킨 뒤 배양이 완료된 MCM 평판배지 균사체를 약 1.0 cm 크기로 잘라 접종하여 24°C 내외에서 35일간 배양하였다. 배양이 완료된 배지는 균굽기 후 발이실로 옮겨 실내온도 15±1°C, 상대습도 95-98%, 이산화탄소농도 1,500±100 ppm의 조건에서 버섯 발이를 유도 하였으며, 발이 이후에는 적정 생육조건인 실내온도 15±1°C, 상대습도 80-90%, 이산화탄소농도 1,500±100 ppm에서 수확기까지 관리 하였다. 균굽기 뒤 원기형성 이후 어린 갓이 형성된 기간을 발이 소요일수로 하였으며, 균굽기 이후 자실체 수확이 될 때까지의 기간을 생육소요 일수로 나타내었다. 한편, 자실체 특성으로 발이개체수를 기준으로 원기형성 이후 발이수준을 초발이도, 숙음 작업이전까지의 발이수준을 후발이도로 나타내었다. 버섯의 발이도는 버섯의 발이개체 수에 따라 발이 수준을 수치화 하였으며 850 cc (Ø60 mm) 플라스틱 병 기준으로 전체 발이 개체수가 0~25개 인 것을 1, 25~50개인 것을 2, 50~75개 인 것을 3, 75~100개 이상인 것을 4로 표시하였다. 품질의 경우 대길이, 대두께, 갓직경, 개체무게 및 형태를 기준으로 9점법으로 측정하였으며 품질이 우수할수록 높은 숫자로 표기하였다. 그 외에 자실체 수량 및 특성은 농촌진흥청 표준조사법에 준하여 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 육성과정

경상남도농업기술원에 보관중인 큰느타리버섯 균주 약 100여 계통에 대해 자실체 특성검증을 실시하였다. 이들 계통에서 발이개체수가 적고 품질이 우수한 품종 육성을 위해 KNR2579, KNR2594, KNR2601, KNR2312등 품질이 우수한 4계통과 KNR2522, KNR2543, KNR2596등 발이개체수가 적은 3계통을 선발하였다. 선발계통으로부터 단핵균주를 분리하였으며 이들 중 20개씩을 대상으로 서로 교잡하여 껍쇠연결체가 형성된 약 1,500여 계통을 확보하였다. 교잡계통에 대한 특성검증은 앞서 언급된 방법으로 이루어 졌으며 품질이 우수하면서 저발이 특성을 보이는 74계통을 1차적으로 선발하였다. 1차 선발 계통에 대한 재시험 과정을 통해 품종으로서 가치가 있는 14계통을 확보하고 최종적으로 농가 실증시험을 통해 가장 우수한 특성을 나타내는 KNR2312-1×KNR2596-3 교잡계통을 고품질 저발이형 우수계통으로 선발하여 “단비”라 명명하였다(Fig. 1).

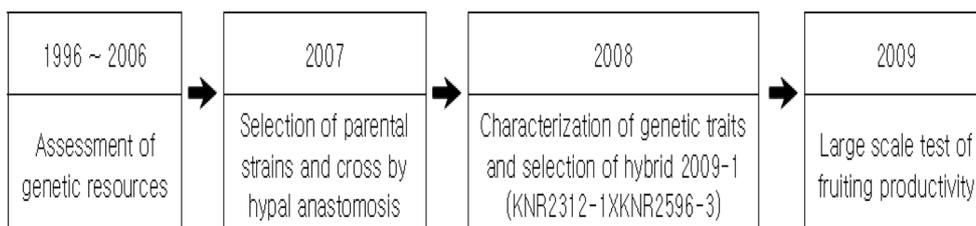


Fig. 1. The pedigree of new cultivar “Dan-Bi” in *Pelurotus eryngii*.

“단비”의 DNA 다형성 분석

유전적 차별성을 확인하고자 #8005 primer를 이용하여 새로이 육성된 신품종 “단비”와 대조품종간의 DNA 다양성을 확인한 결과 뚜렷하게 구별되는 밴드양상을 보였다 (Fig. 2). 이러한 결과는 신품종 “단비”와 현재 농가에서 재배되고 있는 품종간의 구별 방법으로 활용될 수 있을 것으로 기대되며 품종 혼입 및 불법 사용에 따른 피해를 예방할 수 있는 방법으로서 가치가 있을 것으로 기대된다.

“단비”의 균사배양 및 자실체 특성

큰느타리버섯 “단비”의 생육적온은 25°C 내외이며 버섯의 원기형성 및 생육 적정 온도는 15~16°C 내외로 대조품종과 큰 차이가 없었다. 버섯의 발생은 개체형으로 형성되었으며 갓 색은 중간수준의 갈색을 보였다. 버섯완전배지(MCM)

에서 각각 다른 온도별로 균사를 배양한 결과 25°C에서 생장이 가장 우수하였으며 전체적으로 단비의 균사생장 속도가 대조품종에 비해 약간 빠른 특성을 나타내었다(Table 1). 대조품종과의 대치배양결과 뚜렷하게 구분되는 대치선이 형성되는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 3). 버섯 배지에 접종한 후 24°C에서 35일간 배양과정에서 배양소요일수를 확인한 결과 숙음재배에서 대조품종의 경우 28.7±1.4일에 비해 신품종 “단비”의 경우 31.0±1.8일로 약 1.9~2.7일정도 늦게 완료되는 것을 확인 할 수 있었다. 발이소요일수를 포함한 수확소요일수 또한 숙음기준으로 대조품종의 경우 16.2~17.2일 비해 신품종 “단비”의 경우 16.9~18.5일로 약 0.7~1.3일정도 늦어지는 특성을 보였다(Table 2). 그러나 자실체 특성에 있어 대조품종의 경우 발이개체수가 50개체 이상의 형성을

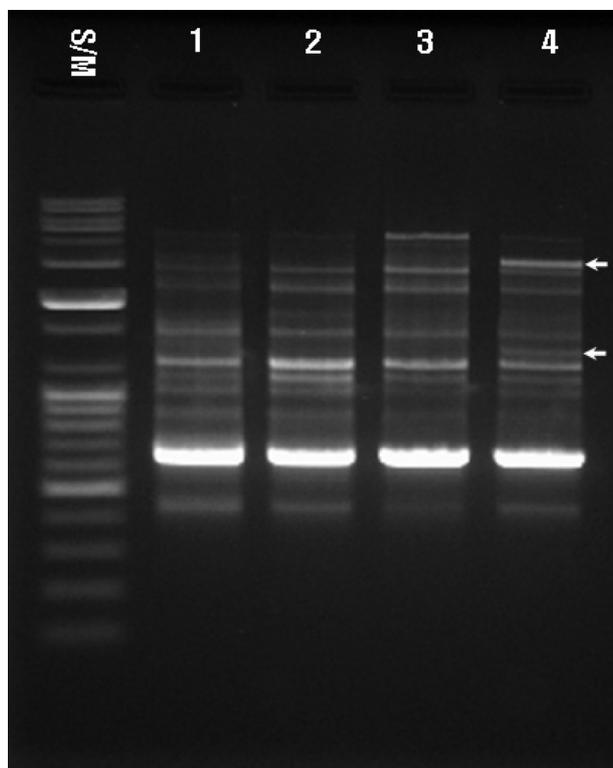


Fig. 2. PCR fingerprinting of new cultivar “Dan Bi” using primer #8005. Arrows indicate a different amplification bands. (SM, 100 bp plus ladder; 1, KNR2312-1; 2, KNR2596-3; 3, Dan Bi; 4, Kneutari No.3).

Table 1. Mycelial growth of new cultivar “Dan Bi” on the different temperature (unit : mm/7days)

Cultivar	Temperature (°C)			
	15	20	25	30
Dan Bi	21.3±0.6 <sup>a</sup>	37.7±0.6	55.7±2.1	49.3±1.2
Kneutari No.3	12.2±0.3	20.3±2.5	49.3±1.2	45.7±4.0

<sup>a</sup>Value represent mean ±S.D of three experinets.

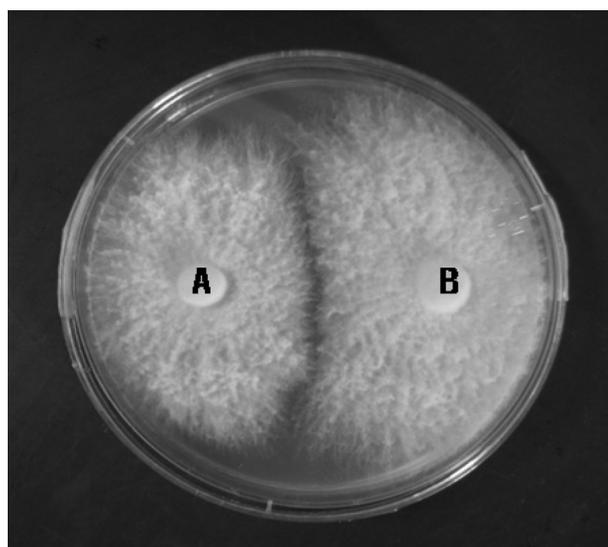


Fig. 3. Mycelial colony morphology of confrontation growth of new cultivar “Dan Bi”(A) and Kneutari No.3(B) on mushroom complete medium (MCM).

**Table 2.** Requiring period for mycelial growth and fruit body development of “Dan Bi” in the bottle cultivation (unit : days)

Treatment <sup>a</sup>	Cultivar	Mycelial growth	Primordia formation	Fruit body harvest
C.C	Dan Bi	31.0±1.8 <sup>b</sup>	9.2±0.8	17.7±0.8
	Knneutari No.3	28.7±1.4	8.2±0.4	16.7±0.5
F.C	Dan Bi	31.0±1.8	9.2±0.8	17.2±0.4
	Knneutari No.3	28.7±0.5	8.5±0.8	16.8±1.0

<sup>a</sup>C.C, Culling Cultivation; F.C, Free Cultivation.

<sup>b</sup>Value represent mean ±S.D of three experinets.

의미하는 2.0 이상인 것에 비해 신품종 “단비”의 경우 25개체 이하의 형성을 의미하는 1.0 수준으로 현저히 감소되는 특성을 보였다. 이러한 특성은 새로이 육성된 품종의 가장 큰 장점으로 큰느타리버섯의 품질 향상을 위한 필수 작업과정이라 할 수 있는 숙음작업과정에 이로인한 점으로 작용 할 수 있을 것으로 기대되었다. 자실체 특성조사 결과 숙음 작업을 거친 경우 대조품종과 외형적 특성에서 큰 차이는 보이지 않았으며 품질에 있어서도 비슷한 경향을 보였으나, 방임형태의 생육에서는 대조품종에 비해 외형뿐만 아니라 품질에 있어

우수한 특성을 나타내었다(Table 3, Fig. 4). 이러한 특성은 발이개체수의 감소가 자실체 생육에 있어 유리한 환경을 제공함으로써 나타난 결과로 생각되었으며 기존품종의 대체 과정에서 농가들로부터 커다란 거부감 없이 보급 될 수 있는 장점으로 생각 되었다. 3차례 이상의 반복시험에서 발이개체수의 경우 균류기 후 제공되는 습도 조건에 따라 조금씩 달라지는 경향을 보였지만 현재 재배되고 있는 대조품종에 비해 줄어드는 경향이 지속적으로 확인되었으며 안정적인 재배가 가능 하였다(자료생략). 또한 신품종 “단비”의 경우 균류기 후 초기 생육이 다소 늦은 특성이 있지만 후기 생육이 우수한 만큼 안정적 생산이 가능하였다.

### 적요

큰느타리버섯 품종 육성을 위해 품질이 우수한 특성을 지니는 큰느타리버섯 KNR2312와 발이개체수가 적은 특성을 지니는 큰느타리버섯 KNR2539 모본으로부터 단핵균주를 분리 한 뒤 단포자간 교잡을 통해 발이개체수가 적은 고품질의 신품종 “단비”를 육성하였다. 신품종의 균사 생육 적정온도는 25°C이며 자실체 발생 적정 온도는 15~16°C였다. 숙음 재배에서 발이소요일수를 포함한 수확소요일수는 대조품종인

**Table 3.** Characteristics of fruit body of new cultivar “Dan Bi” cultivated by bottle cultivation

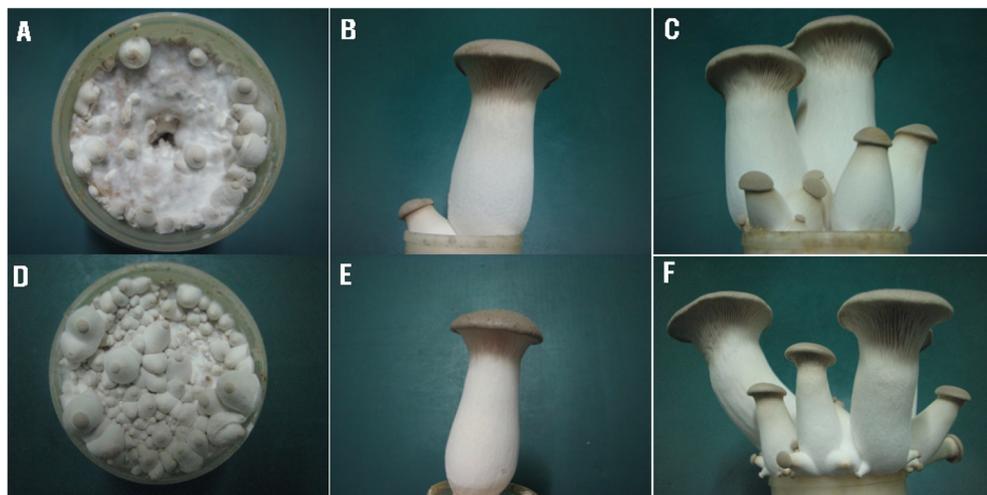
<sup>a</sup> Treatment	Cultivar	<sup>b</sup> Primordia formation level (0-4)	Stipe length (mm)	Stipe diameter (mm)	Pileus diameter (mm)	Individual weight (g)	<sup>c</sup> Quality (1-9)
C.C	Dan Bi	1.0±0.5 <sup>d</sup>	113.7±6.4	36.7±3.3	58.0±3.6	93.0±9.7	7.1±0.4
	Knneutari No.3	2.1±0.3	118.6±5.8	37.3±2.1	54.3±4.3	94.9±9.8	7.1±0.4
F.C	Dan Bi	1.1±0.4	88.4±21.4	31.0±7.4	40.4±12.8	47.0±30.3	3.9±2.3
	Knneutari No.3	2.6±0.4	94.0±17.5	26.1±5.1	38.6±9.7	40.1±26.0	2.3±1.0

<sup>a</sup>C.C , Culling cultivation; F.C, Free cultivation.

<sup>b</sup>1, 0~25; 2, 25~50; 3, 50~75; 4, 75~100.

<sup>c</sup>High quality 9 ← ~ → 1 low quality.

<sup>d</sup>Value represent means ±S.D of three experiments.



**Fig. 4.** Morphology of primordia formation (A & D) and fruiting body using culling cultivation(B & E) and free cultivation (C & F) of new cultivar “Dan Bi”(upper) and Knneutari No. 3(lower).

큰느타리버섯 3호에 비해 0.7~1.3일 정도 늦었다. 갓 색깔은 중간수준의 갈색이며 대 색깔은 흰색을 나타내었다. 갓모양은 우산형으로 갓 표면은 거미줄처럼 인피가 존재하며 850 cc 플라스틱 병재배에서 한 병당 수량은 93±9.7g이었다. #8005 프라이머를 이용한 신품종 “단비”와 대조품종간의 RAPD 분석결과 서로 다른 DNA 밴드양상을 보여 주었다. 큰느타리버섯 신품종 “단비”의 경우 균급기 후 발이개체수가 대조품종인 큰느타리버섯 3호에 비해 적은 특성이 있어 버섯 재배농가의 수확 작업과정에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업 연구지원에 의해서 이루어진 것이며 연구비지원에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 강태수, 강미선, 성재모, 강안석, 손형락, 이신영. 2001. 큰느타리버섯이 당뇨쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향. 한국균학회지 29:86-90.
- 강태수, 정현상, 이명렬, 박희정, 조택상, 지성택, 신명근. 2003. 천연물을 이용한 큰느타리 균사배양 및 angiotensin converting enzyme 저해활성. 한국균학회지 31:175-180.
- 국립종자관리소. 2004. 품종보호공보 제67호. pp. 71.
- 국립종자관리소. 2005. 품종보호공보 제78호. pp. 89.
- 국립종자관리소. 2006. 품종보호공보 제101호. pp. 83.
- 국립종자관리소. 2007a. 품종보호공보 제104호. pp. 30.
- 국립종자관리소. 2007b. 품종보호공보 제112호. pp. 66.
- 국립종자원. 2010. 품종보호공보 제145호. pp. 260.
- 김한경, 정종천, 석순자, 김광포, 차동렬, 문병주. 1997a. *Pleurotus eryngii* 균의 인공재배 (I). 한국균학회지 25:305-310.
- 김한경, 정종천, 석순자, 김광포, 차동렬, 문병주. 1997b. *Pleurotus eryngii* 균의 인공재배 (II). 한국균학회지 25:311-319.
- 농림수산식품부. 2009. 2008 특용작물 생산실적. pp. 40-43.
- 황용주, 남혜경, 장문정, 노건웅, 김선희. 2003. 표고와 새송이버섯이 대장암 세포증식 및 세포사멸에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 32:217-222.
- Hui, Y. F., Den, E. S. and Chi, T. H. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *J. Food Lipids* 9:35-46.
- Raeder, U. and Broda, P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Lett. Appl. Microbiol.* 1:17-20.
- Rajaratnam, S. and Bano, Z. 1987. *Pleurotus* mushrooms. Part 1 A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding, and cultivation. *CRC Critical in Food Science and Nutrition* 26:157-222.
- Rape, C. A., Raper, J. R. and Miller, R. E. 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 64:1088-1117.
- Zadrazil, F. 1974. The Ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus folrida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. *Mush. Sci.* IX (Part 1):21-652.