

민자주방망이버섯(*Lepista nuda*)의 형태적 특성 및 교배에 관한 연구

정원순, 김종봉*

대구가톨릭대학교 대학원 생물학과

A study of morphological characteristics and hybridization on *Lepista nuda*

Won soon Jung and Jong Bong Kim*

Department of Biology, the Graduate School, Catholic University of Daegu

ABSTRACT : In this study, twelve of *Lepista nuda* were collected from various localities in Korea. Also thirteen exotic *L. nuda* species were collected from Japan, France, Switzerland and Portugal. Spores were isolated under optical microscope. These spores were placed on the surface of YM medium for inducing to germination. Eleven mating-groups were selected by morphological characters of fruit body such as size, color and stipe patterns. Intra-isolate crosses were made between two single-spore isolates derived from mating-groups. Also, dikaryotic crossing using the isolates from *L. nuda* were carried out to evaluated tetra-karyon formation. Cross-mating compatibility tests also verified its dikaryotic state by microscopic or molecular genetic observation of clamp connection and Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) band pattern. To analyze the growth rate of hybrids and parents mycelium in dikaryons obtained from compatible mating groups were placed on PDA medium.

Intra-isolate crosses determined eleven mating-groups within *L. nuda*. The typical clamp connection were mostly observed in mating-groups of Korean *L. nuda* in K1xK2, K1xK3, K1xK4, K1xK6, K1xK5, K2xK4, K2xK3, K2xK6, K3xK4, K4xK5 and K4xK6. Korean *L. nuda* type of dikaryon, shown to cross-incompatibility with *L. sordida*, it seemed that mating induce more rapidly than wild types in a view of growth rate. In conclusion, it would be useful to improve mass production with better morphological characteristics through a special mating of *L. nuda*.

KEYWORDS : Hybridization, *Lepista nuda*, Mushroom, RAPD

서 론

민자주방망이버섯(*Lepista nuda*)은 분류학적으로 담자균문(Basidiomycota), 진정담자균강(Eubasidiomycetes), 주름버섯목(Agaricales), 송이과(Tricholomataceae), 자주방망이속(*Leista*)에 속하며 우리나라에 자생하고 있는 자주방망이속 버섯은 민자주방망이버섯(*Lepista nuda*), 광릉자주방망이버섯(*Lepista irina*) 자주방망이버섯아제비(*Lepista sordida*)의 3종이 자생하고 있다. 또한 민자주방망이버섯은 저온 서식성 버섯으로 참나무과(Fagaceae)의 낙엽관목, 소나무과(Penaceae)의 침엽관목(coniferous bush)이 혼재하는 혼합림의 습한 음지에서 단생 또는 군생하는 낙엽 분해성 버섯으로(박과 이, 1998), 지역적으로는 한국, 일본, 중국 등 북반구 일대와 오스트레일리아에 분포

하고 있으며(Modess, 1941), 특히 맛과 향이 뛰어나 미국과 유럽에서 선호도가 높은 식용버섯 중 하나이다.

민자주방망이버섯의 구성 성분 관한 연구에서는 28종의 유리아미노산, 미량금속원소 7종, ergosterol, manitol, 다량의 비타민 B 등이 함유되어 있으며(박, 1993), 특히 지방산과 방향물질의 관계에 대한 연구에서 갓 주름에 분비되는 1-Octen-3-일이 주성분임을 밝힌바 있다(Chen and Wu, 1984). 또한 민자주방망이버섯의 면역 생리활성 및 다양한 약리효과 측면의 연구에서 생쥐 복수암 억제율이 100%에 이르며, 항암성, 항균성, 당대사조절기능, 신경전도 촉진, 각기병 치료에 효과가 있는 것으로 나타났다(박, 1993; 이 등, 2005; Noelsuberville *et al.*, 1996; 박과 이, 1999; 김 등, 1998; 심, 2003).

민자주방망이버섯의 독특한 맛과 향 때문에 서구인들에게

* Corresponding author. E-mail : jbkim@cu.ac.kr

선호도가 매우 높은 버섯이고 이로 인하여 인공재배와 품종을 개량하고자하는 다양한 연구들이 이루어져 왔다(Guinberteau *et al.*, 1991). Stamets and Chilton, (1983)에 의하면 민자주방망이버섯이 인공재배가 이루어 질 수 있음을 보고 하였다. 반면 Guinberteau *et al.*, 1989 은 이러한 인공재배가 대량재배보다 실험실 수준의 재배임을 보고하였다. 대체적으로 민자주방망이버섯이 재배조건이 양송이와 비슷하나 생육환경조절 등 재배법이 확립되어 있지 않아 양송이보다 훨씬 긴 재배기간이 소요되고 공기, 온도 등에서 까다로운 조건이 요구되어 현재 상업적으로 대량 재배되지 못하고 주로 반인공재배 즉 가정이나 야외에 인위적으로 균사를 접종시킨 인공배합배지 고compost를 이용하여 재배한다(Guinberteau *et al.*, 1995). 따라서 이러한 문제점을 해결하기 위하여 품종을 개량하고자 하는 연구들이 이루어졌는데, 특히 프랑스에서는 상업용 재배를 위한 "Ferland" 라는 품종이 개발된 바 있었으나, 민자주방망이버섯은 세계적으로 분포하고 있고, 이에 따라 생태학적 배경과 유전적 차이가 비교적 커 같은 종이라도 교배가 이루어지지 않거나 재배조건이 다르므로 품종 개발의 어려움으로 아직 남아있다(Guinberteau *et al.*, 1991).

민자주방망이버섯의 연구는 계통유전학적 분석(김, 2003), 균사의 배양에 따른 유전적 특성(권, 2002), 자주방망이버섯속의 종간 및 종내 유전적 변이에 대하여 연구된 바 있으며(이, 2004), 민자주방망이버섯의 유용유전자 탐색을 위한 cDNA 연구가 되었다(이, 2005).

그러나 국내 민자주방망이버섯의 유용자원 탐색과 품종개발을 위하여 바탕이 되는 각 자생지의 균주, 버섯간의 형태적 종특성과 교배양식에 관한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서 국내 여러 자생 지역 및 외국의 민자주방망이버섯 균주를 채집, 분양받아 구입하여 형태적 특성 조사와 단포자를 분리 배양한 단핵균주간의 교배, 2핵균사의 교배를 시도 하였다. 교배된 균주는 Clamp connection 및 RAPD 분석에 의한 DNA 밴드 패턴을 통하여 교배를 확인하였으며 교배가 확인된 균주는 배양적 특성, 균사생장속도측정 및 균총의 색을 조사하여 육종 지표로 사용하고자 하였으며, 이를 바탕으로 향후 식용 및 의학적인 가치가 높은 민자주방망이버섯의 우수한 품종 육종과 인공재배, 대량생산을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 균주

실험에 사용한 균주는 크게 국내 자생지와 국외 일본, 프랑스, 포르투갈, 스위스 등에서 채집 및 분양을 받아 사용하였다. 국내 민자주방망이버섯 채집은 2003-2005년, 10월부터 12월에 걸쳐 강화도, 경기도 용인, 전라도 덕유산, 경상북

도 직지사, 동화사 등지에서 채집하였고, 국외 유럽 민자주방망이버섯은 Institute National de la Recherche Agronomique (Champignons)에서 분양받았다. 일본산 민자주방망이버섯은 NITE Biological Resource Center Department of Biotechnology National Institute of Technology and Evaluation 으로부터 2개의 품종을 구입하여 사용하였다(Table 1).

Table 1. Strains of *Lepista nuda* used in this study

No.	Strains No.	Species	Origin
01	K1	<i>L. nuda</i>	Korea
02	K2	<i>L. nuda</i>	Korea
03	K3	<i>L. nuda</i>	Korea
04	K4	<i>L. nuda</i>	Korea
05	K5	<i>L. nuda</i>	Korea
06	K6	<i>L. nuda</i>	Korea
07	K7	<i>L. nuda</i>	Korea
08	K8	<i>L. nuda</i>	Korea
09	K9	<i>L. nuda</i>	Korea
10	K10	<i>L. nuda</i>	Korea
11	K11	<i>L. nuda</i>	Korea
12	K12	<i>L. sordida</i>	Korea
13	KD1	<i>L. nuda</i>	Korea
14	KD2	<i>L. nuda</i>	Korea
15	KD3	<i>L. nuda</i>	Korea
16	KD4	<i>L. nuda</i>	Korea
17	KD5	<i>L. nuda</i>	Korea
18	KD6	<i>L. sordida</i>	Korea
19	KD7	<i>L. sordida</i>	Korea
20	KD8	<i>L. irina</i>	Korea
21	(J1)-ACM30484	<i>L. nuda</i>	Japan
22	(J2)-ACM8326	<i>L. nuda</i>	Japan
23	(J3)-ACM30878	<i>L. nuda</i>	Japan
24	(J4)-ACM8236	<i>L. nuda</i>	Japan
25	(J5)-ACM8104	<i>L. nuda</i>	Japan
26	(J6)-ACM30139	<i>L. nuda</i>	Japan
27	(J7)-NBRC30878	<i>L. nuda</i>	Japan
28	(J8)-NBRC8104	<i>L. nuda</i>	Japan
29	(J9)-NBRC30484	<i>L. nuda</i>	Japan
30	(J10)-NBRC8230	<i>L. nuda</i>	Japan
31	E1	<i>L. nuda</i>	France
32	E2	<i>L. nuda</i>	Swiss
33	E3	<i>L. nuda</i>	Portugal

형태적 특성분석 및 교배그룹선정

민자주방망이버섯의 교배그룹의 선별은 국내 지역별로 채집된 민자주방망이버섯 자실체의 맛, 색, 직경, 대의 색, 직경 및 길이 등을 조사하고 조직 분리한 균사와 단포자를 분리하여 배양한 단핵균사의 색깔과 생장속도를 측정 하였다. 또한 포자를 채취하여 광학현미경하에서 포자의 색과 형태를 관찰하고 이들의 특성을 바탕으로 단핵균사의 경우 생장속도가 빠른 균주인 K3, K4와 색깔이 진한 K1, K2, K5, K6을 교배하였고, 2핵 균사와 단핵균사와 교배, 2핵 균사와 2핵 균사 사이의 교배 또한 시도하였다.

교배 및 clamp connection 확인

민자주방망이버섯의 포자는 유전적 차이가 있는 것으로 판명된 국내지역에서 채집한 버섯들로부터 포자를 분리하였다. 각각의 버섯에서 24시간 동안 포자를 받은 후 10-4배 까지 희석시켜 10-4배 희석액을 YM(Difco, USA) 고체배지에 도말하였다. 발아된 나온 포자는 PDA배지로 계대배양 하여 단핵균사를 분리한 후 이들 단핵균사를 PDA 배지에 대치배양하여 교배하였다. 교배 된 균사를 다시 새로운 PDA(Difco, USA) 배지에 이식하여 배양하였다. 교배가 된 것을 확인하기 위한 Clamp connection 확인은 24℃에서 20 ± 5일간 배양한 균사를 슬라이드 글라스 위에 도말하여 methylen blue(Sigma, USA) 염색하여 X400배 광학현미경으로 확인하였다.

RAPD analysis 를 통한 교배확인

교배확인을 위한 DNA 밴드 패턴 확인은 genomic DNA를 추출하여 random primer를 사용하여 PCR 하였고, PCR Product를 전기영동하여 교배 유무를 확인하고 단핵균사 교배에 의한 2핵 균사의 RAPD에 의한 DNA 밴드 양상을 비교 하여 교배 여부를 판정하였다.

시료 준비는 배양한 균사를 0.2g-1.0g 채취하여 mortar에 넣고 liquid nitrogen으로 급냉시켜 냉동상태에서 미세하게 마쇄한 다음 500 μ l lysis buffer(1% 2-mercaptoethanol, 3% SDS, 50mM EDTA in 50mM Tris-HCl(pH7.2))를 넣고 65℃에서 1시간 반응시킨 후, 12,000rpm 4℃에서 15분간 원심분리한 후 상등액만 취하였다.

동량의 phenol:chloroform:isoamylalcohol(25:24:1)용액을 첨가, 15,000rpm에서 5분간 원심분리 하여 새로운 tube에 상등액을 취하였다. DNA가 녹아있는 상등액에 2배의 absolute ethanol을 넣고 -20℃에서 30분간 DNA를 침전시켜 15,000rpm에서 5분간 원심분리 하였다. Pellet을 확인한 후, 70% ethanol을 넣고 15,000rpm에서 3분간 원심분리 하여 상등액을 제거하고 실온에서 완전히 건조시켜 100 μ l의 3차 멸균수에 녹였다. DNA함량과 순도를 측정하기 위해 DNA를 100배 희석하여 spectrophotometer(Shimadzu UV-VIS1201, Japan) 260nm와 280nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

RAPD 분석을 위한 PCR에서는 40가지 종류의 random primer는 식물들과 버섯들에 대한 유전적 다양성 및 유연관계 분석에 활용되는 상업용 kit primer (OPA 01~20, OPB 01~20) (Operon Technologies, USA)을 사용하였으며, 이들 중 각 단핵균사 DNA 및 2핵 균사 DNA모두에 반응하는 primer들을 선별하여 실시하였다. PCR을 위한 reaction mixture는 Bioneer PCR kit를 사용하였고 그 조성은 PreMix kit에 genomic DNA 1.0 μ l를 넣고 전체 반응용액이 20 μ l가 되도록 3차 멸균수를 첨가하였다. PCR 산물은 5ng/100ml의 농도로 ethidium bromide를 첨가한 1.2% agarose gel(Sigma, USA)에서 1X TAE buffer에서 50mV로 electrophoresis 하였으며, UV illuminator 상에서 나타나는 DNA band를 확인하였다.



Fig 1. shape of *Lepista nuda* and *Lepista irina*. (A) was collected in palgong Mt. Daegu (K9), (B) Jeju island (K10) and (C) Yongin-si, Gyeonggi (KD9)

Table 2. Morphologic characteristics of fruiting body of *Lepista nuda*

Strain No.	Stipe length (mm)	Stipe diameter (mm)	Pileus diameter (mm)	Pileus shape	Color
K1	50~100	7~10	50~70	round and ride up into inner part up headed as it grows	very pale purple
K3	50~90	10~20	50~100	round and flat the edge is getting up as it grows the edge is roundish and turned brown from the middle	blueish purple and turned pink as time goes by.
K4	40~50	3~6	30~50	round and flat in the edge up headed as it grows	redish pale purple
K6	50~70	7~10	40~70	round and flat	pale purple and darker purple in the stipe than in the cap
K9	50~90	10~15	50~70	round and low cone shaped. waves shaped in the edge	pale purple young fruit body is pale brown
KD4	40~70	7~15	30~100	round and ride up into inner part	blueish purple
KD5	40~60	5~7	30~50	round and ride up into inner part	blueish pale purple
KD8	30~50	10~20	50~150	wide round and concave in the middle. wave shaped in the edge and up headed as grows	pale ivory and grey in the middle
K10	30~70	3~6	50~80	round and flat in the edge un geaded as it grows	very pale pinkish purple and greyish in the edge.

Table 3. Spore characters of *Lepista nuda* and *Lepista irina*

Number	Species	shape	Color
K1	<i>L. nuda</i>	oval shaped near to round	just red in the middle
K3	<i>L. nuda</i>	oval shaped	violet
K6	<i>L. nuda</i>	polka dots	violet
K9	<i>L. nuda</i>	oval shaped	violet
K10	<i>L. nuda</i>	oval shaped	violet
KD9	<i>L. irina</i>	oval shaped	Yellow

Table 4. Growth rate of *Lepista nuda* colleted from various countries

Days	Strains Growth	Strains																				
		KD1	KD2	KD3	KD4	KD5	KD6	KD7	KD8	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	E1	E2	E3
3	F.L	10	5	7	9	6	6	6	7	17	12	20	19	17	25	18	20	17	20	7	3	6
4	F.L	30	22	20	34	28	25	25	15	40	34	35	35	35	F	F	F	F	F	15	11	15
10	F.L	35	30	28	35	22	34	30	22	F	F	F	F	F						17	15	17
14	F.L	F	35	35	F	35	F	F	27											25	20	25
20	F.L		F	F		F			32											34	23	29
25	F.L								F											F	25	32

F.L : Full length (mm); F : Petri-dish is overgrown state with mycelium

Table 5. Growth rate of single spore isolates of *Lepista nuda* in Korea

Days	Growth	Strains							
		K2	K7	K7	K8(1)	K8(2)	K8(3)	K11	K12
3	F.L	5	2	4	10	1	2	2	7
7	F.L	20	15	12	15	2	5	12	22
10	F.L	22	17	19	22	5	12	15	30
14	F.L	25	20	22	27	8	15	20	F
20	F.L	28	22	25	30	12	20	23	
25	F.L	F	25	30	F	14	25	F	

F.L : Full length (mm); F : Petri-dish is overgrown state with mycelium

Table 6. Growth rate comparition of single isolations mycellium and cross mated mycellium

Days	Growth	Strains																
		K1	K2	H1	K1	K3	H2	K1	K4	H3	K1	K6	H4	K1	K5	H5	K2	K4
3	F.L	9	7	12	9	7	11	9	5	10	9	9	7	9	5	10	7	5
4	F.L	16	13	18	16	15	21	16	12	20	16	16	16	16	9	22	13	12
10	F.L	22	21	35	22	35	33	22	22	33	22	20	37	22	20	36	21	22
14	F.L	30	27	F	30	38	40	30	30	37	30	27	F	30	25	F	27	30
20	F.L	32	29		32	39	40	32	36	38	32	28		32	29		29	36
25	F.L	38	32		38	40	F	38	F	F	38	32		38	32		32	F
30	F.L	39	38		39	F		39			39			39	35		38	

Days	Growth	Strains															
		H6	K2	K3	H7	K2	K6	H8	K4	K3	H9	K4	K6	H10	K4	K5	H11
3	F.L	9	7	7	11	7	9	11	5	7	7	5	9	9	5	5	12
4	F.L	16	13	15	18	13	16	16	12	15	16	12	16	20	12	9	23
10	F.L	28	21	35	27	21	20	33	22	35	29	22	20	33	22	20	33
14	F.L	37	27	38	38	27	27	36	30	38	35	30	27	40	30	25	F
20	F.L	38	29	39	40	29	28	38	36	39	36	36	28	41	36	29	
25	F.L	F	32	40	F	32	32	40	F	40	39	F	32	F	F	32	
30	F.L		38	F		38	38	F		F	F		38			35	

F.L : Full length (mm); F : Petri-dish is overgrown state with mycelium

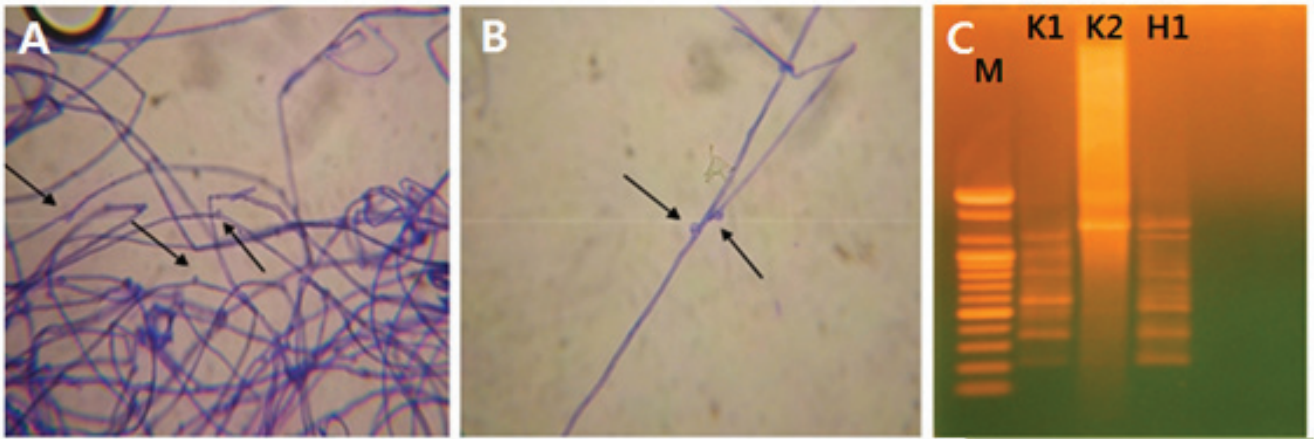


Fig 2. Cross-mating compatibility tests was verified dikaryotic state by (A,B) microscopic clamp connection and molecular genetic observation using (C) Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) band pattern. (A,B)closed arrows(black) were indicated clamp connections in hybridization states. (C) H1 ; K1 X K2 mated, M; 100bp DNA ladder, Reaction primer : OPA-8

결과 및 고찰

자실체 형태적 특성

민자주방망이버섯의 특징은 미성숙자실체의 경우 색이 진하고 대가 굵으며 길고 성숙한 자실체의 경우 어린 자실체에 비해서 색이 연하며 갓이 큰 것일수록 대가 짧고 굵었다. 채집 지역별 자실체 특징은 다음과 같다(Table 2). 대구 팔공산에서 채집한 민자주방망이버섯과(K9), 제주도에서 채집한 민자주방망이버섯(K10)은 수집된 민자주방망이버섯과 형태적인 차이가 있었다. 특히 팔공산에서 채집한 민자주방망이버섯(K9)은 다른 민자주방망이버섯에 비해 색이 연하고 갓의 형태가 아래로 더 내려온 원추형이었으며(Fig. 1 A), 제주도 민자주방망이버섯(K10)은 갓 직경 크기는 50~80 mm로 비교적 작고, 색이 연하였으며, 갓의 모양이 평활하였다(Fig. 1 B). 광릉자주방망이버섯(KD8) 갓의 직경 크기는 50~150 mm로 비교적 크며 아이보리 색으로 전형적인 민자주방망이버섯과는 큰 차이가 있다(Fig. 1 C). 또한 채집된 민자주방망이버섯의 포자 형태를 관찰한 결과 대부분의 포자는 타원형이며 푸른색이거나 붉은색을 띄었으며 민자주방망이버섯 종간의 형태적 차이는 거의 없었으나 용인에서 채집된 민자주방망이버섯은 물방울형이었다(K6). 광릉자주방망이버섯(KD9)은 민자주방망이버섯과 같이 타원형이었고 포자색은 노란색을 띄었다(Table 3).

균총의 형태적 특성

우리나라에서 채집된 민자주방망이버섯의 조직을 PDA배지 상에 이식하여 형성되는 2핵균사의 균총은 대체적으로 균사간 성긴 상태로 밀도는 낮은 편이었다. 금산에서 채집된 민자주방망이버섯의(KD5) 균사의 경우 푸른색에 가까운 자줏빛이고 밀

도는 낮았다. 덕유산에서 채집된 민자주방망이버섯(K8) 균총은 밀도가 높고 낮음의 차이가 불규칙적으로 자라고 가장자리가 푸른색에 가까운 자주색이다. 또한 인천에서 채집된 민자주방망이버섯(KD1) 균총은 진한 푸른색이며, 경산에서 채집된 민자주방망이버섯(K4) 균총은 연한 자주색으로 균총 가장자리보다 가운데 색이 더 진하였다. 제주도에서 채집된 민자주방망이버섯(K10) 균총은 색은 연한 푸른색을 띤다. 균사 밀도는 중간 정도이다. 경북 영남대에서 채집된 민자주방망이버섯(K1) 균총은 색이 진한 자주색이며 균사가 자랄 때 균총모양이 나이트와 비슷한 무늬가 생긴다.

광릉자주방망이버섯(KD9) 균총의 밀도는 보통이며 연한 노란색을 띤다. 경산시에서 채집된 자주방망이아제비버섯(K12) 균총은 진한 푸른색으로 밀도가 높다.

일본 민자주방망이버섯 균총의 특성은 크게 두 가지 유형으로 나뉘었다. 균총 전체 수분을 많이 함유하고 있으며 균사 조직이 치밀하며 밀도가 비교적 높고 균총의 색이 아이보리색을 띠는 것과 다른 하나는 균총이 마치 눈이 내리는 것처럼 공중균사가 만연하였고, 균총의 색은 흰색을 띄었다.

유럽 민자주방망이버섯 균사는 비교적 균사밀도가 높고 색은 노란색에 가깝다. 스위스 민자주방망이버섯(E2) 연한 노란색이며 배지에 밀착하여 자란다. 프랑스 민자주방망이버섯(E1) 균사와 포르투갈 민자주방망이버섯(E3) 균사는 연한 노란색이며 밀도는 보통이다.

조직 접촉한 2핵균사의 균총 성장속도를 비교해보면 Petri dish가 가득차는데 걸린 시간은 보통 일본 민자주방망이버섯(J1~J10)가 약7~10일로 성장속도가 가장 빨랐으며, 한국 민자주방망이버섯 균사는 일반적인 균총의 성장속도는 약 20일 전후였으며 KD1, KD2, KD4가 약 14~15일로 비교적 빠른 성장속도

를 보였다. 유럽 민자주방망이버섯의 경우 프랑스가(E1) 25일로 가장 빠르게 자랐으며 스위스(E2)가 가장 느리게 자라는 것으로 나타났다(Table 4). 채집된 한국의 민자주방망이버섯 단포자의 단핵균종의 경우 구리시 K2, 금산 K7, 덕유산의 K8의 균사 성장속도가 비교적 빠른 편이며, K2가 가장 진하였다(Table 5).

교배 특성

민자주방망이버섯의 단핵균사를 교배하여 clamp connection과 random primer를 이용한 RAPD 분석을 통해 교배 전 DNA 밴드 패턴과 교배 후 DNA 패턴을 분석하였다(Fig 2). 또한 교배된 균사의 성장속도를 측정하여 단핵균사의 성장속도와 특징을 비교하였다. 그 결과 제주도(K10)와 대구팔공산(K9)을 제외한 국내 민자주방망이버섯끼리 교배가 가능하였으며, 민자주방망이버섯의 종내 단핵균사끼리의 교배한 결과 모두 11개의 교배형(K1xK2, K1xK3, K1xK4, K1xK6, K1xK5, K2xK4, K2xK3, K2xK6, K3xK4, K4xK5, K4xK6)이 만들어졌다. 자주방망이아제미버섯과 광릉자주방망이버섯의 종간교배 또한 시도하였으나, 종간의 교배는 이루어지지 않았으며, 민자주방망이버섯 2핵균사 사이에 교배 또한 이루어지지 않았다.

교배가 확인된 균사 성장속도를 단핵균사의 성장속도와 비교한 결과 대부분 각각의 단핵균사보다 교배된 균사의 성장속도가 빨랐으며(Table. 6) 균사생장 시 특징은 양쪽의 특징(색과 밀도)을 나타내는 경향을 나타내었다. 또한 유럽 민자주방망이버섯의 조직을 이식하여 배양한 2핵균사가 배지를 모두 채우는데 걸린 시간이 20~25일인데 비해 교배된 잡종 균주의 경우 10~15일 사이로 성장속도가 더 빠르게 나타났다. 그러나 일본 민자주방망이버섯의 균사의 경우 성장속도가 약 7일로 교배된 잡종 균주보다 매우 빠른 성장속도를 보였다. 이러한 결과로 볼 때 교배된 품종이 국내 2핵 균사나 유럽균사보다 성장속도 면에서 우수하므로 품종 개량 및 인공 재배를 통한 대량 생산에 유용할 것으로 사료된다. 특히 균사 생육특성을 고려한다면 자생종인 야생민자주방망이버섯과 성장속도가 빠른 일본균사(J1-J10) 등과 같은 외국 균사와 교배 육종 시 우량품종을 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서 한국에 자생하는 12종의 민자주방망이버섯과 13종의 프랑스, 스위스, 포르투갈, 일본 등지에서 버섯을 수집하였다. 이들 한국, 외국 품종의 민자주방망이버섯은 단핵균사를 얻기 위해 이들 버섯으로부터 단포자를 얻어 YB배지에 배양하였다. 또한 민자주방망이버섯 육종을 위하여 자실체의 형태적 특성과 단핵균주의 특성 등을 고려하여 교배 단핵균주를 선별하였다. 그 결과 선별된 11개의 교배계통(K1xK2, K1xK3,

K1xK4, K1xK6, K1xK5, K2xK4, K2xK3, K2xK6, K3xK4, K4xK5, K4xK6)에서 clamp connection을 관찰하였으며, 또한 RAPD 패턴 분석을 통해 교배 여부를 판단하였다. 교배된 2핵균주를 다시 PDA 배지에 배양하여 교배균주의 양상을 관찰한 결과 선별된 11개의 국내 야생 민자주방망이버섯으로 이루어진 교배계통은 야생품종 2핵 균사 또는 외국 민자주방망이버섯 품종 보다 성장속도가 빠른 것을 확인 하였다. 이는 앞으로 민자주방망이버섯의 한국 고유 품종개발 시 우수 교배형 선택에 있어, 기초자료로서 유용할 것으로 판단된다.

참고문헌

- 박완희, 이호득. 1998. 한국약용버섯도감. 교학사. 186-187
- 이양수. 2004. 민자주방망이버섯의 유전적 특성과 성분에 관한 연구. 대구가톨릭대학교 박사학위논문
- 이지선. 2005. 민자주방망이버섯의 생태학적 특성과 cDNA에 관한 연구. 대구가톨릭대학교 석사학위논문
- Chen, C. C and Wu, C. M. 1984. Studies on the enzymic reduction of 1-Octen-3-one in mushroom *Agaricus bisporus*. J. Agric Food Chem. 32 : 1342-1344
- Guinbertau, J., Olivier, J.M. and Tanne, M. N. 1991. Improvement of *Lepista* species cultivation; technical factors and selection of strains, In Mushroom Science Xm. proceedings of the 13th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. Dublin, Irish Republic. 1-6 September, Eds, M.J. Maher. A. A. Balke, a, Rotterdam, Netherlands. 2: 615-621
- Guinbertau, J., Olivier, J. M. and Bordaberry, M, R. 1989. 'Dommees recentes sur la culture des "pieds bleus" ("*Lepista*" sp). PHM Revue Horticole. Juin-Juillet. 298 : 17-22.
- Guinbertau, J., Olivier, J. M., Suberville, C., Cruz, C., and Montury, M. 1995. A new hybrid of Blewit (*Lepista nuda*): Cultural investigations and flavour analysis. In Mushroom Science XIV. Proceedings of the 14th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. Oxford. 17-22.
- Kim, J. H., Yoo, K. H., Kim, Y. S., Seok, S. J., Kim, Y. S., 1998. The screening of fibrinolytic activities of extracts from mushrooms in mt. Chiak. Korea. J. Mycol., 26: 589-593.
- Kim, S. H. 2003. Phylogenetic relationship of *Lepista nuda* by RAPD, Catholic Univ. Daegu. Ph. M. Thesis
- Kwon, H. K. 2002. A study on the cultural characteristics and genetic variations in *Tricholomataceae*. M. S. Thesis. Catholic Univ. Daegu. Korea.

- Lee, Y. S., Han, J. Y., Joo, E. Y., Kim, N. W. 2005. Study on the Anti-tumor Effects of Extracts from *Lepista nuda* mushroom. J Kor. Soc. Food Sci. Nutr, 34: 317-322
- Modess, O. 1941, Zur kenntnis dermykorrhizabildug von kiefer- und fichts. Symb. Bot. leps, 1: 1-147
- Noelsuberville, C., Crua, C., Guinberteau, J and M. Montury, 1996. Correlation between fatty acid content and aromatic compound release in fresh Blewit(*Lepista nuda*). J. Agric. Food Chem., 44: 1180-1183.
- Park, W. H. 1993. Studies on inorganic components of Korean wild edible mushrooms-Trace mineral elements of *Armillariella mella*, *Hygrophorous russula*, *Armillariella tabescens*, *Lepista nuda*, *Lepista sordida*, *Hygrocybe corxica*—Korea J. My col., 21:273-278.
- Park W. H. and Lee H. D. 1999. Illustrated book of korean medicinal mushrooms. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul. korea. p186
- Shim S. M. 2003. Studies on immuno-modulatory and antitumor effects of crude polysaccharides extracted from korean wild medicinal mushrooms. M. S. Thesis. Inchon Univ. Inchon, Korea
- Stamets, P. and Chilton, J. S. 1983. Mushroom Cultivator : Apractical Guide to Growing Mushrooms at Home, Agarikon Press, Washington. p415.