

다발성 신품종 느타리 ‘다굴’의 육성 및 자실체 특성

신평균¹ · 김희정¹ · 최찬식¹ · 유영복¹ · 공원식¹ · 장갑열¹ · 오연이¹ · 정종천¹ · 서장선¹ · 오세종² · 이금희³

¹농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과, ²강화군농업기술센터, ³농림축산검역본부 식물검역부 위험관리과

Characteristics and breeding of a new multi-generation oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) variety ‘Dagul’

Pyung-Gyun Shin¹, Hee-Jung Kim¹, Chan-Sik Choi¹, Young-Bok Yoo¹, Won-Sik Kong¹, Kab-Yeul Jang¹, Youn-Lee Oh¹, Jong-Chun Cheong¹, Jang-Sun Suh¹, Se Jong Oh² and Keum-Hee Lee³

¹Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Korea

²Ganghwa Agricultural Technology Service Center, Ganghwa 417-833, Korea

³Department of Plant Quarantine, APQR, Anyang 430-757, Korea

(Received September 11, 2013 / Revised September 16, 2013 / Accepted September 27, 2013)

ABSTRACT – To develop a new variety of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), parental strains was selected by the method of Mon-Mon crossing between monokaryotic strains derived from ASI 2596(Suhan No.3) and ASI 2782(Black pileus mutant). The SB-73(ASI 2596-11 x 2782-8) was shown the best cultural characteristics, selected to be a new variety and named as ‘Dagul’. The ‘Dagul’ was formed incompatibility line distinctly in the confrontation growth of parental strains Suhan No.3 and ASI 2782. The optimum temperature for mycelial growth, fruiting body development and pH arrange were 25~30°C, 14~17°C and pH5~8, respectively. Fruiting body production per bottle was about 68.0±24.1 g which is almost 115% quantity compared to that of other variety Suhan No.3. And also the stipe is long and individual generation is multiple. Analysis of the genetic characteristics of the new variety ‘Dagul’ showed different DNA bands as that of the control strains, Suhan No.3 and ASI 2782, when RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) primers URP7 and Rcb1 were used. This new variety ‘Dagul’ of oyster mushroom is characterized by multiple of individual generation and the stipe is long. We therefore expect that this new strain will increase of the income by cultivation of field.

KEYWORDS – Characteristics of fruit body, Dagul, New variety, Oyster mushroom

서 론

느타리버섯류는 전세계적으로 자생하는 버섯으로 송이버섯과, 느타리버섯속에 해당되며 각종 활엽수의 고사목에 총생 또는 균생으로 발생하며 국내에서는 옛날부터 미루나무버섯 또는 버드나무버섯 등으로 불리어졌으며, 서구에서는 그 맛과 향기가 굴과 같다 하여 굴버섯(oyster mushroom)이라고 부르고 있다(Berry, 1998; Chang *et al.*, 1993; Chang and Quimo, 1982). 우리나라에서는 느타리, 사철느타리, 여름느타리, 큰느타리(새송이), 노랑느타리, 분홍느타리, 전복느타리 등을 주로 재배하고 있으며 버섯 전체 생산량의 50%를 차지하고 있다(유 등, 2005; 농림축산식품부, 2013).

느타리버섯은 초기 자연기후에 의존하는 원목재배

를 거쳐 균상, 병재배 등으로 다양하게 발전되어 왔으나 최근에는 재배시설의 자동화에 따라 인위적으로 환경을 조절 할 수 있게 되어 연중 안정생산이 가능한 병재배 또는 봉지재배 형태가 증가되고 있다(홍 등, 1992). 따라서 일일생산체제로 병재배되고 있는 버섯으로는 느타리, 팽이, 큰느타리버섯이 주를 이루고 있다. 우리나라 재배버섯의 주류를 이루고 있는 느타리버섯은 70여종이 품종으로 등록되어 있으나 재배되고 있는 다수의 품종이 도입종 내지는 선발된 품종으로서 UPOV 및 FTA에 의한 문제 소지도 예상된다. 병재배용으로는 춘추느타리2호를 비롯 4~5종에 불과하므로 다양한 품종육성이 시급히 요망되며, 앞으로는 우리 고유의 품종 육성에 심혈을 기울여야 할 것으로 선진국처럼 사기업체에서도 많은 품종육성과 보급이 이루어 져야 할 것으로 판단된다(유 등,

*Corresponding author: pgshin@korea.kr

2008, 2009, 2012; 이 등, 2010; 국립중자원, 2012).

1990년에 등록된 원형느타리는 원형질체 융합법으로 국내에서 육성된 최초의 품종으로 1989년에 보급되어 거의 10년 동안 느타리 품종 중에서 90% 이상 재배가 가능했던 품종으로 균상재배에 있어서 다발성은 타의 추종을 불허할 정도로 수량이 높았던 품종이다(유 등, 1993). 하지만 원형느타리 일부 재배농가에서 자실체색이 백색 또는 흑회색인 돌연변이체가 발생하였다. 이러한 변이체는 전국 다소 여러 농가에서 발생하였고 바이러스와 관련이 있을 수도 있다는 가능성으로 바이러스를 검정한 결과 바이러스가 검출되어 자실체색 돌연변이와 바이러스, 기형버섯 등의 연관성에 대한 연구를 수행하였으나 관련성을 명확하게 밝히지 못하였다(이강호, 2008). 특히 원형느타리에서 자실체색의 변이가 자주 발생하며 바이러스가 동정되고 다발성도 낮아 수량이 떨어짐으로서 재배농가에서는 다발성이 뛰어난 '춘추2호'와 수량성이 높은 '수한1호'를 선호하게 되었다. 따라서 느타리버섯의 품종육성의 목표는 흑색변이체에 바이러스가 없으면서 다발성을 나타내는 방향으로 품종육성이 요구되고 있다.

본 연구에서는 바이러스가 존재하는 수한3호(ASI 2596)와 원형느타리의 흑변이체 ASI 2782 균주에서 단포자를 분리한 후 바이러스 존재 유무를 검정한 후 바이러스가 없는 단핵균주를 선발하고 선발된 균주를 이용하여 단핵균주 간 교잡을 통하여 다발성이 강한 신품종 '다굴'을 육성하였기에 육성경위와 품종특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험균주 배양

품종육성을 위한 모본으로 사용된 균주는 *Pleurotus ostreatus* ASI 2596(수한3호) 및 ASI 2782(흑변이체)로 국립원예특작과학원 버섯과에서 수집보관 중인 균주 중에서 자실체색 돌연변이체와 바이러스를 가지고 있는 균주를 선발하여 RT-PCR에 의해 바이러스의 존재유무를 검정하고 바이러스가 동정된 균주를 시험균주로 사용하였다. 선발균주의 배양 및 증식을 위해 PDA배지를 사용하였다.

단포자 분리 및 교잡

단포자 분리는 멸균된 평판접시에 직경 2 mm의 이쑤시게 2개를 평판접시에 평행하게 놓고 자실체로부터 갖을 절단하여 이쑤시게 위에 올려 놓은 후, 낙하

된 포자에 멸균수를 부어 $10^3 \sim 10^5$ 정도로 희석하여 PDA배지에 배양하였다. 배양 약 3일 후 서로 붙지 않은 균사체 colony를 분리하고 clamp 유무를 현미경으로 검경하여 단포자를 분리하였다. 분리한 단포자의 균사체를 가지고 RT-PCR법으로 바이러스를 검정하고 바이러스없는 단핵균사체를 신 등(2006)의 방법으로 Mono×Mono 교배를 하여 clamp를 가진 교잡주를 선발하였다.

교잡계통 선발을 위한 자실체 특성 분석

교배계통에 대한 자실체 특성을 조사하기 위한 배지조성은 톱밥+비트펄프+면실박(50:30:20, V/V)의 비율로 혼합하였고, 수분함량을 65%로 조절 후 850cc PP병에 약 500 g정도를 입병하고 121°C에서 90분간 고압살균 후 미리 준비해 둔 교배계통의 종균을 접종하였다. 배양온도 23°C, 습도 65%의 조건에서 약 30여일간 배양 후, 자실체 발생유도를 위해 균긋기를 실시하였고 마개를 제거한 상태로 생육실에 이동하여 자실체를 유도하였다. 자실체 수량 및 특성은 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령(느타리버섯)에 의거 조사하였다(국립중자원, 2012).

DNA 다형성 분석

DNA 다형성 분석을 위해 국립원예특작과학원 버섯과에서 수집보존 중인 모균주와 교잡주를 가지고 Baldrain 등(1999)의 방법으로 genomic DNA를 분리하였다. PCR primers는 universal repetitive sequences를 이용한 URP uniprimer kit(Seolin Scientific Co.)를 사용하였으며, PCR 증폭은 PCR primix kit(Bioneer Co.)를 이용하여 94°C에서 5분간 DNA 변성시킨 후 94°C에서 1분, annealing은 59°C에서 1분, DNA 합성은 72°C에서 2분으로 하여 총 28 cycles 실시하였으며 최종 DNA 합성은 72°C에서 10분으로 하였다. 증폭된 PCR 산물은 아가로스 겔상에서 DNA 밴드를 확인하였다.

결과 및 고찰

육성경위

국립원예특작과학원 버섯과에 수집보존 중인 균주 중에서 자실체색 돌연변이체와 바이러스를 가지고 있는 균주를 선발하여 RT-PCR에 의해 바이러스의 존재유무를 검정하고 바이러스가 동정된 균주 *Pleurotus ostreatus* ASI 2596(수한3호) 및 ASI 2782(흑변이체)를 가지고 단포자를 분리한 후 균사체

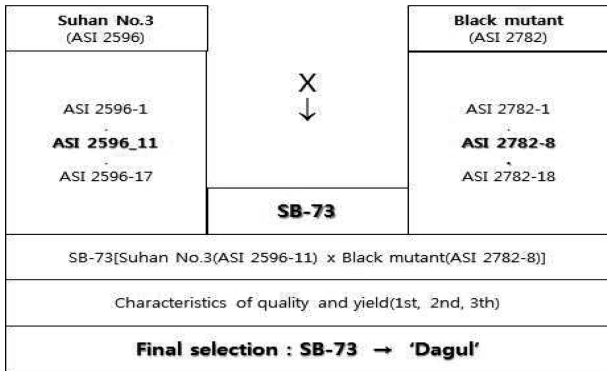


Fig. 1. The pedigree of new cultivar 'Dagul' in *Pleurotus ostreatus*.



Fig. 2. Fruit body of designed 'Dagul'(right) and Suhan No.3(left).

를 배양하여 RT-PCR로 바이러스없는 단핵균사체를 선발하여 Mon-Mon 교배를 통해 200여 계통을 선발하였다(Fig. 1). 이 중에서 수량이 높거나 다발성을 나타내는 38계통을 1차로 선발하였다. 1차 선발계통에 대한 생산력 검정과정을 통해 3계통을 선발하고, 최종적으로 다발성에 가장 우수한 특성을 나타내는 SB-73 계통을 선발하여 '다굴'이라 명명하였다(Fig. 2).

고유특성

'다굴'의 균사배양적 특성을 분석한 결과 Table 1과 같이 생육적온은 25°C에서 최적이나 30°C에서도 잘 자랐으며, pH 범위에서는 pH5~8까지도 생장이 우수하여 온도나 pH에 대해서 상당히 넓은 범위를 가졌다. 그리고 균사생장과 대선형성을 살펴보면 모본인 수한3호, ASI 2782(흑변이체)보다 생육이 느리고, 대선형성에 있어서는 서로 선을 뚜렷하게 형성하여 다른 균주임이 확인되었다(Fig. 3).

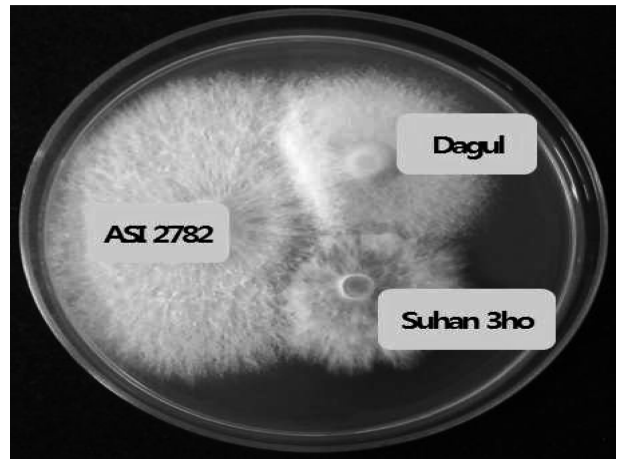


Fig. 3. Formation of incompatibility line in the new cultivar 'Dagul' on PDA medium. ASI 2782 : Black pileus mutant of wonhyung neutari.

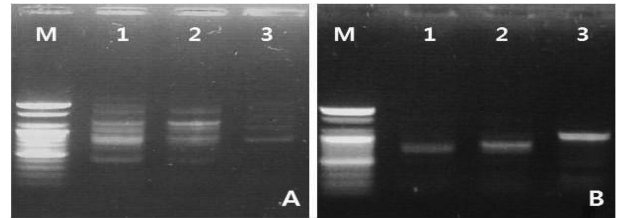


Fig. 4. PCR patterns of new cultivar 'Dagul' using primers URP7(A) and Rcb1(B). M : 100bp ladder marker, 1: ASI 2782, 2 : Dagul, 3: Suhan No.3.

신품종 '다굴'의 다른 품종과의 구별을 위해 DNA 다형성을 분석하였다. 균사체로부터 DNA를 분리후 URP7 및 Rcb1 primer를 이용하여 PCR를 시도한 결과 Fig. 4와 같이 기존품종 및 모균주 등과 DNA밴드 패턴이 구별되는 밴드양상을 보였다. 이러한 결과는 신품종 '다굴'은 현재 농가에서 재배되고 있는 품종간의 구별방법으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

가변특성

'다굴'의 자실체 특성은 배양기간 28일, 초발이소요일수 5일, 생육기간 4일로 전체 재배기간은 37일로 수한3호와 비슷하였다(Table 2). 대균기 9.9 mm, 대길이 64.9 mm, 갓직경 54.3 mm로 수한3호보다 대가 약간 가늘고 길었으며 개체발생수가 26.1개로 수한3

Table 1. Mycelial growth of new cultivar 'Dagul' on the different temperature and pH.

Cultivar	pH 5			pH 7			pH 8		
	20°C	25°C	30°C	20°C	25°C	30°C	20°C	25°C	30°C
Dagul	15.0±2.7	45.0±0.0	45.3±0.6	33.0±1.0	42.7±0.6	33.3±0.6	20.7±10.0	43.7±2.1	44.3±0.6
Suhan No.3	31.0±1.0	42.3±0.6	29.0±1.0	21.0±7.2	21.0±3.6	44.3±1.5	31.0±1.0	42.3±0.6	31.0±1.0

Table 2. Characteristics of fruit body and mycelial growth of new cultivar 'Dagul' cultivated by bottle cultivation

Cultivar	Spawn running period	Primordia formation period	Fruit body growth period	Stipe	
				Length	Diameter
Dagul	28±5	5	4	64.9±6.4	9.9±1.1
Suhan No.3	28±5	5	4	57.8±9.9	11.0±1.5
Cultivar	Pileus diameter	Pileus thickness	Yield (g/bottle)	Index of yield (%)	Individual generation No.
Dagul	54.3±9.6	4.3±0.8	68.0±24.1	115	26.1±7.5
Suhan No.3	60.5±10.1	4.4±0.9	59.4±20.2	100	10.5±2.6

호의 10.5개보다 2.5배 높은 다발성을 나타내었다. 그리고 수량은 68.0 g으로 수한3호에 비하여 15% 증수가 되었으나 통계적 유의차는 없었다. 이러한 결과는 재배농가 환경에 따라 차이는 있겠지만 높은 다발성을 나타내어 농가들로부터 거부감 없이 재배가 가능하리라 사료된다.

재배상 주의점

'다굴'의 균사배양은 22~24°C, 균굽기 후 발이온도 14~17°C, 습도 95% 수준, 초발이 후 온도 16°C, 습도 80~85%, CO₂ 농도는 1200 ppm 수준으로 관리하였다. 후기생육 시 CO₂ 농도가 낮을 시는 버섯이 대가 성장하지 못하거나 갓이 빨리 개산되는 경향을 나타내었다.

적 요

느타리(*Pleurotus ostreatus*)의 품종 육성은 ASI 2596(수한3호)와 ASI 2782(흑변이체)와 Mon-Mon 교잡을 통하여 3계통을 선발하였다. 선발된 우량계통 중에서 품질이 가장 우수한 SB-73을 '다굴'로 명명하였다. 주요 특성은 균사생장 적온이 25°C이나 30°C에서도 잘 자라며, pH의 범위가 pH5~8까지 넓게 형성되었고, 자실체 발생 최적온도는 14~17°C였다. 균사체 배양에서 대선형성유무는 모균주 수한3호와 흑변이체와는 뚜렷한 대선을 형성하였다. 자실체 갓의 색깔은 연회색을 나타내었고, 형태로는 대조품종인 수한3호와 같이 다발형이었다. 자실체 수량은 병당 68.0±24.1로 수한3호의 수량지수를 100으로 보았을 때 115를 나타내었다. 또한 대의 길이는 수한3호보다 길고 개체발생수가 26.1±7.5로 수한3호 10.5±2.6보다 많이 형성되어 다발성을 보여주었다. 2종류의 primer를 이용하여 새로운 품종 '다굴'에 대한 RAPD pattern를 분석한 결과 모균주 수한3호와 같은 pattern를 가지면서 다른 밴드가 존재하였다. 신품종

'다굴'은 개체발생수가 많고 대가 길어 재배방법이 확립되면 농가 소득증대에 기여할 것으로 기대된다.

참고문헌

- 국립종자원. 2012. 품종보호 출원등록 현황.
 국립종자원. 2012. 신품종 심사를 위한 작물별 특성조사요령 (느타리버섯). <http://www.seed.go.kr>.
 유영복, 공원식, 오세중, 정종천, 장갑열, 전창성. 2005. 버섯 과학과 버섯산업의 동향. 2005. 한국버섯학회지 **3** : 1-23.
 유영복, 유창현, 차동열. 1993. 원형질체 융합에 의한 느타리 버섯속의 품종개발. 한국균학회지. **21**(3) : 200-211.
 이강호. 2008. 느타리 자실체 색소변이체와 감염바이러스의 성상. 한국버섯학회지 **6**(2) : 53-56.
 홍범식, 김세진, 송치현, 황세영, 양한철. 1992. 느타리버섯 (*Pleurotus sajor-caju*) 재배를 위한 기질 및 재배방법의 개발. 한국균학회. **20** : 354-358.
 농림축산식품부. 2013. 2012년 특용작물 생산실적.
 Baldrian, P. Gabriel, J. and Pospisck, M. 1999. Improved isolated of nucleic acids from basidiomycetes fungi. Biotechniques. **27** : 458-460.
 Bano, Z. and Srivastava., H. C. 1962. Studies on the cultivation of *Pleurotus* species on paddy straw. Food Science. **11** : 363-365.
 Berry, D. R. 1988. Physiology of industrial fungi. Blackwell Scientific Publications, USA
 Chang, S. and Miles, P. 2004. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact, 2nd edition. CRC Press, USA.
 Chang, S. T., Buswell, J. A. and Chiu, S. W. 1993. Mushroom biology and mushroom products. Chinese University Press, Hong Kong.
 Chang, S. T. and Quimo, T. H. 1982. Tropical mushrooms. The Chinese Press, Hong Kong.
 Gharehaghaji, A. N., Goltapeh, E. M., Masiha, S. and Gordan, H. R. 2007. Hybrid production of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Kummer. Pakistan J. Biol. Sci. **10** : 2334-2340.
 Lee, B-J., Kim, Y-G., Kim, H-K., Yang, E-S. and Lim, Y-P. 2010. Studies on the development of mushroom media for bottle culture in new *Pleurotus ostreatus* 'Miso'. J. Mushroom Sci. Prod. **8**(1) : 37-40.
 Pathmashini, L., Arulnandhy, V. and Wijeratnam, W. 2008. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on

- sawdust. Cey. J. Sci. **37** : 177-182.
- Ramirez, L., Larraya, L. M. and Pisabarro, A. G. 2000. Molecular tools for breeding basidiomycetes. Internatl. Microbiol. **3** : 147-152.
- Shin, P. G., Oh, S. J. and Yoo, Y. B. 2006. Improvement of sporeless strain in oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. J. Mushroom Sci. and Prod. **4**(2) : 53-56.
- Sung, J. M., Moon, H. W. and Park, D. S. 1999. Growth condition of liquid culture by *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol. **27** : 1-9.
- Yoo, Y-B., Kim, E-J., Kong, W-S., Jang, K-Y. and Shin, P-G. 2012. Characterization of a new commercial strain 'Guseol' by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus ostreatus*. J. Mushroom Sci. Prod. **10**(3) : 109-114.
- Yoo, Y. B., Lee, S. C., Jung, W. S., Jang, K. Y., Kong, W. S., Cheong, J. C., Oh, S. J. and Jhune, C. S. 2008. Characterization of a new variety 'Chung' by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus ostreatus*. J. Mushroom Sci. Prod. **6**(2) : 47-51.
- Yoo, Y. B., Lee, S. C., Kim, E. J., Kong, W. S., Jang, K. Y. and Shin, P. G. 2009. Characterization of a new commercial strain 'Goni' by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus ostreatus*. J. Mushroom Sci. Prod. **7**(3) : 130-134.