

# 느티만가닥버섯(*Hypsizigus marmoreus*) 해송이의 균사생장이 우수한 균주선발

장현유<sup>1</sup>· 강동윤<sup>1</sup>· 서금희<sup>1</sup>· 이재춘<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국농수산대학 버섯학과

## Strain Selection with Superior Mycelial Growth of *Hypsizigus marmoreus* Haesongi

H. Y. Chang<sup>1</sup>, D. Y. Gang<sup>1</sup>, G. H. Seo<sup>1</sup> and J. C. Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Korea National College of Agriculture and Fisheries, 1515, Kongjwipatjwi-ro, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 54874, Korea

### Abstract

To select the superior strain of Haesongi, *Hypsizigus marmoreus*, strains were isolated by Di-Mono mating with isolates from different fruit bodies. Three strains were selected to superior isolates that are good mycelial growth on PDA medium for 10days. When cultured on PDA medium for 10 days, strain No. 3 and strain No. 7 showed mycelial growth of 62mm and 58mm, respectively. Mycelial growth was good in the order of strain No. 2, 10, and 9. The three selected strains, KNCAF-H-3, KNCAF-H-7 and KNCAF-H-2, were cultured in sawdust medium for 10 days and showed mycelial growth of 79mm, 76mm and 73mm respectively. The mycelial growth of the selected three cultivars was better than that of Greenpeace No 5, a control cultivar grown at 55mm.

**Key words** : *H. marmoreus*, Greenpeace No. 5, Mycelium growth, PDA, Sawdust medium,

\*교신저자 한국농수산대학 hychang@af.ac.kr

## I. 서론

만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)의 분류체계는 느티만가닥버섯속(*Hypsizygus*) 만가닥버섯과(*Lyophyllaceae*) 주름버섯목(*Agaricales*) 주름버섯강(*Agaricomycetes*) 담자균문(*Basidiomycota*)에 속한다(Mem. N. Y., 1976, 이. 2005, 한 등, 2013). 석 등(2013)에 의하면 한국어명은 만가닥 느티버섯, 영문명은 western *Hypsizygus*이며 품종명으론 곤지 6호, 그린피스 5호, 그린피스에이치 1호, 그린피스에이치 2호, 그린피스에이치 3호, 그린피스에이치 4호, 그린피스에이치 5호, 그린피스에이치 6호, 느티지एस 1호, 만가닥 1호, 만가닥 2호, 해미로 불리워진다고 하였다(석 외11명, 2013).

또한 본 연구에 사용한 만가닥버섯의 형태 분류학적 특징은 말라죽은 활엽수 그루터기에 속생하고 갓 지름 4~15cm, 표면은 흰색~갈색, 주름살이 있고 매끈하며 대(4~10×1~1.5cm)는 흰색~백갈색. 완전붙은형 주름살이 있고, 대의 밑부분의 방추형을 이루며 표면은 섬유상, 백색이고, 포자는 넓은 난형~유구형, 표면은 평활하고 포자문은 백색이다. 느티만가닥버섯은 자연산을 보기는 어렵지만 인공재배가 되어 상품명인 '백만송이'라는 버섯으로 식용 버섯이다. 한편으로 최근 해송이라고 불리워지는 버섯이다.

본 연구에서는 느티만가닥버섯의 우수한 균주를 선발하기 위하여 단포자분리와 교배를 통하여 유리컬럼시험을 실시하고 균사생장을 조사하였다. 각기 다른 해송이 자실체에서 균사 조직을 분리하여 총 30개의 모균을 획득한 균을 서로 Di-Mono교배를 시켜 코크보러 7mm를 이용하여 5mm 간격으로 2주일간 대치배양한 결과를 얻었다. 일반적으로 대부분의 야생종이나 재배에 이용되는 균주는 세포내에 핵을 2개 가진다. 이들을 이핵체라 하는데 이핵체와 단핵체를 교배하는 것을

말한다. 특수한 경우에 이 교잡법이 이용된다. 이러한 방법은 일찍이 캐나다의 A. H. R. Buller가 발견하여 Buller현상이라고 하며, di-mono접합이라고도 한다. 꺾쇠연결체를 가진 이핵체와 단핵체를 접합하면 단핵체가 꺾쇠연결체를 형성한다. 꺾쇠연결체를 형성한다는 것은 화합성인 2개의 핵이 하나의 세포에 존재하며 자실체를 형성할 수 있다는 것을 의미한다. 독일(Eger등, 1976)의 무포자느타리버섯 육성도 여기에 속한다. 이 무포자성은 느타리와 *Coprinus macrorrhizus*에서 di-mono 교배시에 우성으로 나타난다고 하였다(Eger등 1976, Takemaru & Kamadu, 1971). 버섯 자실체에서 포자를 채취하여 멸균한 페트리 접시에 신선한 상태 그대로 사용하거나 냉장고에 보관하면서 사용해야 발아율이 높다. 담자포자는 크기가 너무 작아서 육안으로 분리하기는 어려우므로 광학현미경을 이용하여 분리한다. 다른 방법으로는 광학현미경하에서 담자포자의 수를 헤아려 증류수나 완충용액에 아주 낮은 수로 현탁하여 한천배지 위에 고루 퍼지게 하여 발아시킨 후에 육안으로 또는 현미경을 이용하여 한 균주씩 분리한다. 이러한 것을 단핵균사체 분리라고 하며, 이와 달리 여러 개의 포자가 엉겨붙은 상태로 분리하여 발아한 균주를 얻는 것을 다포자 분리균이라고 한다. 이러한 방법은 주로 자가임성종에 많이 이용되는데, 우리나라의 양송이 707호와 거의 전 세계에 퍼져 있는 양송이 갈색 계통도 백색계통에서 이러한 방법으로 육성된 것이다. 양송이는 균사융합의 여부를 판단하는데 뚜렷한 표지가 없기 때문에 교잡종 육성이 어렵고, 한 세포에 여러 개의 핵을 지녀 교잡종이 얻어지더라도 세포 내에 핵의 수가 너무 많아서 목적하는 형질의 발현도 어렵다. 따라서 분자 분리법이 옛부터 이용되어 왔는데 그 실용성이 크고 간편하여 앞으로 계속 이용될 것이다. 다핵인 버섯육종에 이 방법이 유리한 것은 다핵으로 인하여 발현되지 못한 형질들을 발견할 수 있기 때문이다.

본 연구에서는 느티만가닥버섯의 우수한 균주를 선별하기 위하여 단핵균사체 분리를 통하여 균사생장을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 평판배지 제조

우리나라에서 흰만가닥버섯으로 유통되고 있는 그린피스5호의 자실체에서 단핵균사체 분리를 하기 위해 평판배지를 다음과 같은 순서로 제조하였다. 평판배지는 2가지 종류로 증류수 한천 배지와 PDA 항생제 배지를 이용하였다. 증류수 한천 배지는 한천(Agar) 분말을 20g/ℓ, PDA 항생제 배지는 클로람페니콜(Chloramphenicol)을 20~200mg/ℓ씩 첨가하여 고압살균기에 121°C에서 15분간 멸균 후 식혀서 9cm Petri-dish에 분주를 하였다.

### 2. 포자문 받기

갓과 대가 있는 자실체를 반듯하게 대를 제거한 후에 자실층이 아래로 향하게 하고 검은색 종이 위에 놓고 공기가 통하지 않게 뚜껑을 덮고 15~20°C에 5-16시간 포자를 낙하시켜 포자문을

형성하였다. 그 중 포자가 잘 받아진 30개중 2개를 선별하여 단핵균사체 분리를 하였다.

### 3. 해송이 균사 조직분리

각기 다른 품종 유래인 해송이 자실체에서 균사 조직을 분리 하여 총 30개의 모균을 획득한 균에서 서로 다른 배양 형상을 나타내는 10개의 모균을 선별하였다(Fig. 1).

### 4. 교배접종

획득한 모균 10개를 서로 DI-mono교배를 시켜 코크보러 7mm를 이용하여 5mm 간격으로 2주일 간 대치배양하였다. PDA 배지에 한 교배균주 당 3반복 처리를 하여 균사생장이 비교적 빠른 3균주를 선별하였다.

### 5. 단핵균사체 분리

미리 살균된 에펜도르프튜브(Eppendorf-Tube)를 6개를 준비하여 각 10-1~10-6까지 표기한 뒤 멸균수 1000, 900μℓ씩 넣었다. 1번 튜브에서 100 Micro Pipette을 이용하여 100μℓ를 뽑아서 미리 받아 포자가 있는 Petri-dish에 포자가 있는 부분에 뽑고 5-6회 펌핑을 해주어 그것을 다시 1번



Fig. 1. Haesongii fruiting body and mycelial growth appearance for tissue culture

튜브에 옮겨 준다. 1번 튜브에서 다시 5-6회 펌핑을 한 뒤 100 $\mu$ l씩 각 튜브로 옮겨 가면서 희석을 해준다.

## 6. 단핵균주 분리

희석 된  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ 의 튜브에서 100 $\mu$ l씩 뽑아서 준비한 증류수 한천 배지와 PDA 항생제 배지에 각각 도말하였다. 도말할 때 각 평판배지에 균이 고루 퍼질 수 있도록 꼼꼼히 작업을 하고 도말이 끝난 배지는 항온기 25°C에서 7일 배양하였다.

## 7. 단핵균주 선발

단핵균주를 분리 한 배지에 균이 자라는 것이 보이기 시작할 때 cork borer 7호를 이용하여 4.5cm Petri-dish에 계대배양을 시켰다. 다시 5-6일간 배양을 시킨 후 현미경으로 껍쇠연결체의 유무를 확인 하고 단핵균주와 2핵균주를 분리 하였다.

## 8. 유리 컬럼시험

PDA배지에서 균사생장이 빠른 3균주를 선발하여 톱밥배지 [참나무톱밥 : 미강=8:2(v/v), 수분함량 65%]에 접종하여 균사생장을 조사하였다. 톱밥배지는 200×20mm의 시험관에 50g씩 넣은 후 고압살균기로 121°C에서 30분간 살균하였다. 살균이 완료된 배지를 냉각실에서 식힌 다음 PDA 배지에 배양된 선발된 균주를 무균상에서 접종하여 25°C의 항온기에서 20일간 배양하면서 처리별 균사생장과 밀도를 조사하였다. 대조 품종으로는 그린피스 5호로 하였다.

# III. 결과 및 고찰

## 1. 해송이의 균사생장

PDA 배지에 교배균주 당 3반복 처리를 하여 균사생장이 비교적 빠른 3균주를 선발된 균주를 참나무톱밥에 미강을 첨가하여 부피비 8:2(v/v)로 처리한 결과(Fig. 2, 3) 대조구 그린피스5호 보다 균사생장이 우수한 3균주를 선발하였다.

3번 균주가 62mm/10일로 PDA상에서 균사생장이 가장 빠르고, 다음으로 7번 균주가 58mm/10일, 2번, 10번, 9번순이었다.

여기에서 3, 7, 2번 균주를 선발하여 대조구로 그린피스 5호로하여 톱밥배지상에서 처리한 결과, 대조구 55mm/10일 보다 KNCAF-H-3이 79mm/10일로서 30% 더 빨리 자라 가장 좋았고 KNCAF-H-1 76mm/10일, KNCAF-H-2 73mm/10일 순이었다(Fig. 3).

## 2. 해송이의 균사밀도

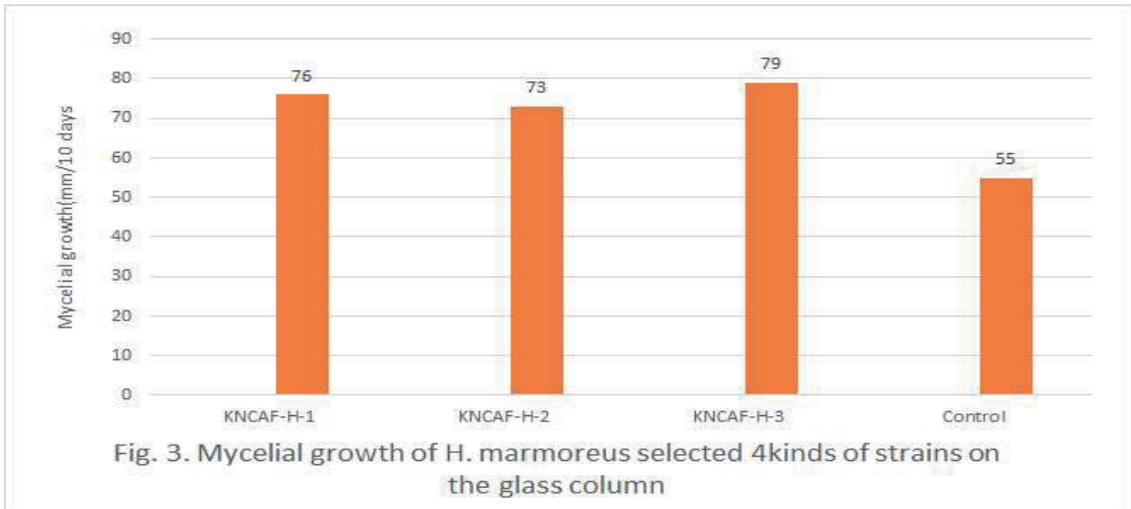
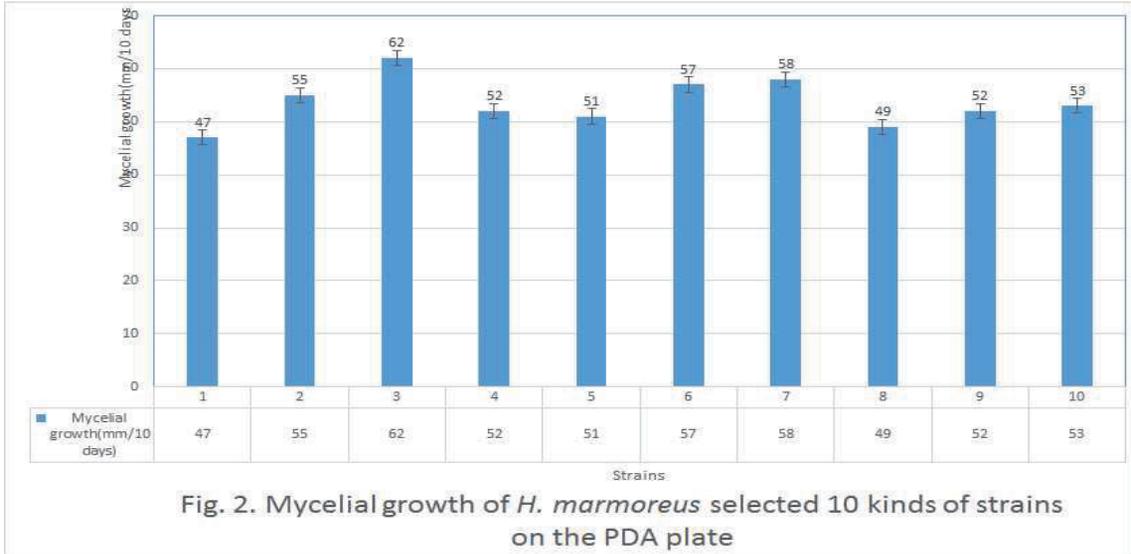
해송이의 균사생장이 우수한 균주의 균사밀도는 균주간 유의차가 없었다. 균사밀도는 배지의 영양원인 미강이나 밀기울의 함량이 높아지면 치밀해 지나 배지가 아닌 균사밀도가 유전적인 특성으로 치밀한 것을 선발하지 못했다(Fig. 3)..

# IV. 적요

느티만가닥버섯 해송이 품종의 우수 균주를 선발하기 위하여 각기 다른 자실체에서 분리한 균을 Di-mono 교배하여 균을 선발하였다. 교배한 균주를 PDA에서의 균사생장 조사를 통하여 균사생장이 좋은 3균주를 선발하였다. PDA배지

에서 10일간 배양했을 때 균사생장은 3번 균주가 62mm로 가장 빠르고, 7번 균주가 58mm, 그리고 2번, 10번, 9번순이었다. 선발된 3균주, 즉, KNCAF-H-3, KNCAF-H-7, KNCAF-H-2는

톱밥배지에서 10일간 배양한 결과 각각 79mm, 76mm, 73mm의 균사생장을 보여, 대조 품종인 그 린피스 5호의 55mm보다 균사생장이 좋았다.



#### IV. 참고문헌

1. 석순자 등, (2013). 한국의 버섯목록. 사단법인 한국균학회, p257.
2. 이지열. (2005). 한국 기록종 버섯 추가 목록 (2001-2004). 한국균학회지. 33(1): 54.
3. 한상국 등. (2012). 버섯생태도감. 지오북. 1-704
4. Eger, G., Gottwald, H. D and von Netzer, U. (1976). The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Sci. 9(1) : 575-83.
5. Mem. N. Y. Foreo Enriquebot. (1976). A revision of the American specie of resource subgenus Rourea Gdn 28: 15.
6. Takemaru, T and Kamadu, T. (1971). Gene control of basidiocarp development in *Corpinus macrorhizus*, Rept. Tottori Mycol. Inst.(Japan), 9, 21.