Journal of Mushrooms 한국버섯학회지 Research Article

잎새버섯 신품종 '백연' 균사배양 및 자실체 생육 특성

김정한 · 최준영 · 신복음 · 최종인 · 하태문 · 김연진*

경기도농업기술원

Mycelial growth and fruit body cultural characteristics of a new *Grifola frondosa* variety, 'Bakyeon'

Jeong-Han Kim, Jun-Yeong Choi, Bok-Eum Shin, Jong-In Choi, Tai-Moon Ha, Gu-Hyun Jeong, and Yeon-Jin Kim*

Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services, Hwaseong-si 18388, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to reduce the phenomenon of the biased cultivation of certain mushroom varieties and to develop a competitive variety of *Grifola frondosa*. We developed the first Korean white commercial mushroom strain, 'Bakyeon', by crossing monokaryons derived from brown strains. We have collected and tested the characteristics of mushrooms from domestic and international genetic resources since 2018. We bred the unique domestic variety, 'Bakyeon', which has the following characteristics. The optimal temperature for mycelial growth was 25~28°C and the optimal temperature for fruit body growth was 16~18°C. The new variety was similar to the control variety (Daebak) in terms of the pileus, which formed a pine cone shape, and the number of days of cultivation. The yield was 94.1 g/bottle, which was 23% lower than the 108.5 g/bottle yield of the control variety. When incubating the parent and control varieties, the replacement line was clear. Moreover, polymerase chain reaction analysis of mycelial DNA resulted in different band patterns between the parent and control varieties, confirming the hybrid species.

KEYWORDS: Bakyeon, crossing, *Grifola frondosa*, monokaryon, new variety

서 론

잎새버섯(*Grifola frondosa*)은 민주름버섯목 구멍장이버섯과 잎새버섯속에 해당하는 버섯으로 늦가을에 활엽수의 고사목이나 절주에서 자연발생한다(Kong et al, 2007). 작은 버섯갓이 수백개 모여 솔방울과 같은 모양을 하고 있다. 갓은 폭 2~5 mm, 두께 2~4 mm이며 반원 또는 부채모양이다.

잎새버섯은 기능성버섯으로서의 약리효능에 관해 보고(Mizuno et al, 1995)된 이후로, 항고혈압성 ACE 저해능(You et al, 2004), 잎새버섯 추출물의 혈당강하효과와 지질대사 개선효과 (Kim et al, 2004) 및 치유력 (Mayell, 2001), 잎새버섯 배양여액의 항균력 (Chung et al, 1991) 등 다양한 효능에 대해 보고 되었다. 또한 잎새버섯이 생산하는 세포외 다당체가 피부에 우수한 보습효과를 유지하면서도 외부자극물질에 의한 피부손상에 대하여 자극완화소재 (Lee et al, 2005) 및 UV에 의한 광노화방지소재 (Sim et al, 2005)로 적용될 수 있어 화장품 첨가제로서의 활용도 기대되고 있다.

본 연구는 느타리, 표고 등 일부 버섯품목의 편중재배를 해소하고 다양한 버섯품목의 보급과 확산을 위하여 발이가 안정적이고 자실체가 백색인 잎새버섯 신품종 '백연'을 육성하고 그 특성을 보고하고자 한다.

J. Mushrooms 2022 June, 20(2):50-54
http://dx.doi.org/10.14480/JM.2022.20.2.50
Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
© The Korean Society of Mushroom Science

Jeong-Han Kim(Researcher), Jun-Yeong Choi(Researcher), Bok-Eum Shin (Researcher), Jong-In Choi(Researcher), Tai-Moon Ha(Senior researcher), Gu-Hyun Jeong(Researcher), and Yeon-Jin Kim(Researcher)
*Corresponding author
E-mail : boong0323@gg.go.kr
Tel : +82-31-8008-9485, Tel : +82-31-8008-9509

Received May 30, 2022
Revised June 13, 2022
Accepted June 21, 2022

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.

재료 및 방법

종균제조 및 자실체 생육 특성 분석

육종모본은 경기도농업기술원 친환경미생물연구소 보유

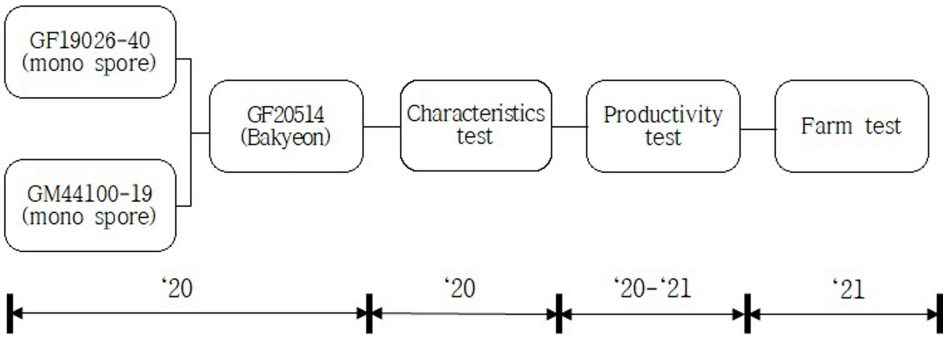


Fig. 1. Breeding schematic on new variety `Bakyeon` of *Grifola frondosa.*

균주 'GF19026'과 'GM44100'이며, PDA(potato dextrose agar)배지에서 계대배양하고 저온(4°C)에 보존하였다.

교잡계통 특성 및 수량 조사를 위하여, 접종원은 PDA (Potato Dextrose Agar) 배지에서 원균을 배양하여 사용하였다. 종균은 시험규모에 따라 톱밥종균과 액체종균을 사용하였다. 톱밥종균 제조시 참나무톱밥+미강(80:20, 부피비)을 혼합하여 수분함량을 60% 정도로 조절하였다. 액체종균은 대두박 배지(증류수 1 L 당 대두박 3 g, 설탕 30 g, KH_2PO_4 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g)를 사용하였다.

생육배지는 참나무발효톱밥+밀기울+건비지를 부피비 85:10:5로 혼합하고 수분함량을 60%내외로 조절하였다. 1,100 ml병에 700~730 g(병뚜껑을 제외한 병무게 포함)을 입병한 후 121°C에서 90분간 고압살균을 실시하였다. 살균 후 냉각실에서 배지를 15°C까지 냉각 후 자동접종기를 이용하여 종균을 병당 15~20 g씩 접종하였다.

접종된 배지는 온도 22±1°C, CO_2농도 2,500 ppm 이하, 상대습도 65% 내외로 조절하여 암실상태로 35~45일 동안 암배양하였다. 배양이 완료된 병은 균긁기하여 뒤집어서 입상하였고 발이 후 뒤집기하여 자실체를 생육하였다. 봉지는 입상 후 3일째 봉지 중간부위를 5 cm 길이로 칼집을 내어 발이를 유도하였다. 발이유도기간은 온도 18±1°C, CO_2농도 1,500 ppm, 상대습도 97% 이상으로 설정하였고, 발이 이후에 갓 개산을 위해 CO_2농도를 500 ppm까지 서서히 낮췄다.

배양일수는 균사배양이 완료될 때까지 기간, 초발이 소요일수는 균긁기 이후 원기가 형성될 때까지 기간, 생육일수는 원기형성 이후 수확 완료일까지 기간으로 산출하였으며, 재배일수는 배양일수, 초발이소요일수, 생육일수를 합산한 기간으로 산출하였다. 발이율은 전체 투입된 병 또는 봉지수에 대하여 원기가 형성되어 발이가 된 병 또는 봉지수를 백분율로 표기하였다. 자실체 형태적 특성은 국립종자원의 신품종 심사를 위한 잎새버섯 특성조사요령에 준하여 조사하였다. 시험구배치는 완전임의배치 3반복으로 하였다.

자실체 색도는 Spectrophotometer(CM-3600d, Konika minolta)를 이용하여 측정하였고, 물리성은 Rheometer (COMPAC-100, Sun scientific co.)를 사용하여 자실체 갓 중심부위를 측정하였다.

유전적 다형성 분석

육종한 품종의 분자생물학적 검증을 위해 Universal Fungal PCR fingerprinting Kit (JK Biotech Ltd., Anseong. Korea)내의 12종류의 primer를 사용하였다. PCR반응 용액은 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl2, 0.01% gelatin, 100ng prime, 50 ng template DNA, 200 dNTP(dCTP, dTTP, dATP, dGTP), 및 2.5 unit Taq polymerase (Promega)를 넣고 전체 반응용액은 50 ml가 되게 하고 PCR기기를 이용하여 처음 DNA변성을 위하여 94°C에서 5분간, 그 후 cycle에서 DNA변성은 94°C에서 1분, annealing은 55°C에서 1분 및 DNA합성은 72°C에서 2분으로 총 35 cycle을 실시하였으며, 최종 DNA합성은 7분으로 하였다. 증폭된 PCR산물은 1.5%의 Agarose gel에서 전기영동 한 후 Ethidium bromide용액에 염색하여 UV lamp하에서 PCR 다형성밴드를 관찰하였다.

결과 및 고찰

육성경위

잎새버섯 신품종 육성을 위해 2018년부터 10여종의 수집균주를 재배하여 자실체 품질이 우수한 균주를 모본으로 선발하였다. 선발한 'GF19026'의 40번 단포자와 'GM44100'의 19번 단포자를 교배하여 자실체가 백색이고 발이가 안정적인 'GF20154'계통을 선발하였다.

'GF20154'는 2020년 특성검정, 2021년 생산력검정과 농가실증 시험을 순차적으로 진행하여, 2022년 '백연'으로 명명하여 품종보호출원 하였다(Fig. 1).

특성검정

PDA 배지에서 온도별로 15일간 배양하였을 때의 균사생장속도는 Table 1과 같다. '백연'의 균사생장은 28°C에서 79.3~73.3 mm로 우수한 반면, 대조품종(대박)은 25°C에서는 73.0~82.4 mm로 우수하여 균사배양 적온이 '백연'이 '대박'보다 다소 높은 것으로 나타났다(Table 2).

Table 1. Mycelial growth of new variety at different temperature

Variety	Mycelial growth(mm/15days)				
	19°C	22°C	25°C	28°C	31°C
Bakyeon	68.1±1.5	72.0±2.2	78.6±3.8	80.9±1.6	52.6±3.5
Daebak (control)	59.2±6.8	69.8±6.9	78.0±4.4	66.9±5.7	37.4±2.0

Table 2. Inherent characteristics of 'Bakyeon'

Variety	Optimum temperature (°C)		Shape
	Mycelial growth	Pinheading and growth	
Bakyeon	25~28	16~18	fan shape
Daebak(control)	25	16~18	fan shape

PDA배지에 '백연'과 대조품종 '대박'의 균사를 대치배양 했을 때, 두 품종 간 대치선을 형성하였다. '백연'의 모본 'GF19026'과 'GM44100'와의 대치배양에서도 대치선을 형성하였다(Fig 2). UFP Primer를 이용한 PCR 증폭을 실시한 결과 UFP-2, UFP-3, UFP-7, UFP-11에서 균주 간에 서로 다른 밴드패턴을 보여 유전적으로 다름을 확인하였다(Fig 3).

'백연'의 재배기간은 병재배는 '대박'과 차이가 없었으나, 봉지재배는 6일 길었는데, 이는 자실체 생육기간이 4일 더 소요된 것에 기인한 것이며, 재배방법이나 배지량에 영향이 있는 것으로 추정된다(Table 3).

'백연'의 자실체 형태는 병재배와 봉지재배 모두 '대박'보다 갓크기, 다발크기는 다소 작았으며, 봉지재배는 '백연'이 '대박'보다 다발높이는 다소 높아 재배방법에 따라 양상이 다르게 나타났다(Table 4).

'백연'의 자실체 색도와 물리성은 Table 5와 같다. 물리성은 '백연'이 '대박'보다 낮게 나타났으며, 재배방법에 따른 양상의 차이는 없었다. 이에, 병재배와 봉지재배의

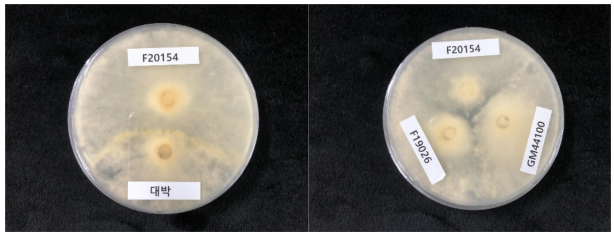
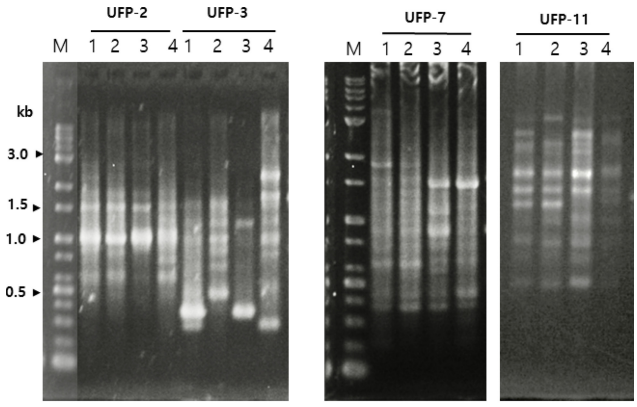


Fig. 2. Mycelial dual incubation of 'Bakyeon' and control variety(left) and 'Bakyeon' and parental strain(right).



M: maker1: Bakyeon, 2: F19026-40 3: GM44100-19, 4: Daebak(control), 5: GM44100 6: F19026

Fig. 3. RAPD DNA band pattern of 'Bakyeon' and parental strains.

Table 3. Cultural period of 'Bakyeon' according to cultivation types (unit: days)

Cultivation type and variety		Incubation	Pinheading	Growth of fruitbody	Total
bottle	Bakyeon	44.6	16.6	16.0	77.2
	Daebak(control)	44.6	15.2	19.0	78.8
bag	Bakyeon	44.7	16.3	19.0	80.0
	Daebak(control)	44.7	14.3	15.2	74.2

※Growth condition: Temperature 18±1°C, CO_2 concentration below 1,500 ppm, relative humidity 97%

Table 4. Fruit body shape of 'Bakyeon' according to cultivation types

Culture type and Variety		Pilus(mm)			Fruit bodies cluster(mm)			
		Width	Thickness	Height	Long diameter	Short diameter	Diameter	Height
bottle	Bakyeon	15.0	1.2	45.4	119	97	108	69
	Daebak(control)	16.6	1.4	46.5	118	101	110	65
bag	Bakyeon	14.4	1.4	48.5	114	95	105	71
	Daebak(control)	16.7	1.5	57.7	128	111	119	65

※bottle: 1100cc/∅75 mm, bag: 1.1 kg
※Growth condition: Temperature 18±1°C, CO_2 concentration below 1,500 ppm, relative humidity 97%
※Diameter= (Long diameter+Short diameter) / 2

Table 5. Chromaticity and physicality of 'Bakyeon' according to cultivation types

Culture type and variety		Chromaticity			Physicality		
		L	a	b	Strength (gf/cm^2)	Hardness (gf/cm^2)	Adhesiveness (gf)
bottle	Bakyeon	89.7	-1.0	11.9	1,698	1,504	-22.4
	Daebak(control)	63.9	4.1	19.8	2,075	1,679	-19.7
bag	Bakyeon	85.5	-1.5	12.5	1,521	899	-31.5
	Daebak(control)	57.1	5.4	22.0	2,132	1,565	-21.1

※Chromaticity: Spectrophotometer(CM-3600d, Konika minolta): L-lightness, a-red(+)/green(-), b-yellow(+)/blue(-)
※Physicality: Rheometer(COMPAC-100, Sun scientific co.)

Table 6. Productivity of 'Bakyeon'according to cultivation type

Culture type and Variety		1^{st} (g)	2^{nd} (g)	3^{rd} (g)	C.V(%)	Average♩	Index of weight (%)
bottle	Bakyeon	98.4	84.8	100.6	12.8	94.1^{b}	87
	Daebak(control)	133.4	89.4	111.9	24.5	108.5^{a}	100
bag	Bakyeon	142.4	123.8	114.4	25.7	120.5^{b}	68
	Daebak(control)	99.9	247.8	174.6	65.2	176.7^{a}	100

※bottle: 1,100 cc/∅75 mm, bag: 1.1 kg
♩Average: DMRT at 5% level.

배지량 차이가 자실체 크기 및 형태에는 영향을 다소 미치나, 색도 및 물리성에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 추정되며, 배지량에 따른 자실체 품질에 미치는 영향에 대한 추가 연구가 필요하다.

'백연'의 수량은 병재배와 봉지재배 모두 대조품종 '대박' 보다 낮았고, 변이계수는 낮아 반복간의 편차가 적었다(Table 6).

농가실증

신품종 '백연'의 재배 안정성 평가를 위해 농가실증시험을 경기도 여주 소재 봉지재배 농가에서 수행하였다. Table 7에서 보는 바와 같이, '백연'과 대조품종인 '대박'의 재배기간은 차이가 없었다. 자실체 형태적 특성은 '백연'이 '대박'보다 갓넓이가 좁고, 갓길이가 길었으며, 다발형태는 직경과 높이가 작아 전체적으로 '대박'보다 작은 형태로 생산력 검정 결과와 일치하였다(Table 8, Fig 4). 또한 갓 모양은 '백연'은 결각이 있는 것에 반해 대조품종은 결각이 없는 특징을 보였다(Fig 5).

Table 7. Cultural characteristics of 'Bakyeon' in farm bag cultivation

Variety	Incubation period (days)	Pinheading period (days)	Growth period (days)	Cultivation period (days)
Bakyeon	45	16	13	74
Daebak(control)	45	14	14	73

※Weight of substrate: 1.1 kg

국내 최초로 백색 잎새버섯 품종을 육성하였고, 앞으로 농가보급과 시장진출을 위해서는 낮은 수량성을 극복할 수 있는 품질향상, 기능성 탐색 등을 개발하고, 이 품종을 육종모본으로 활용하여 수량을 높이는 품종 육성 등 지속적인 연구가 필요하다.

적 요

국내 버섯품목의 편중재배를 해소하고 새로운 소득원

Table 8. Fruit body characteristics and yield of 'Bakyeon' in farm bag cultivation

Variety	Pilus(mm)			Fruit bodies cluster(mm)				Weight♩ (g)
	Width	Thickness	Height	Long diameter	Short diameter	Diameter	Height	
Bakyeon	11.7	1.9	44.3	104	83	93	62	66.7^{b}
Daebak(control)	16.0	2.0	57.6	130	118	124	77	180.2^{a}

※Weight of substrate: 1.2 kg
※Growth condition: Temperature 18±1°C, CO_2 concentration below 1,500 ppm, relative humidity 97%
♩Weight: DMRT at 5% level.

Fig. 4. Difference of color between Bakyeon and control variety(Daebak).

Fig. 5. Difference of Pilus shape between Bakyeon and control variety(Daebak).

개발을 위해 발이가 안정적인 백색 잎새버섯 품종을 육성하고자 하였다. 국내 최초로 육성한 백색 잎새버섯 '백연'의 주요 특성은 다음과 같다.

균사생장적온은 25~28°C, 발이 및 생육온도는 16~18°C, 재배일수는 77.2일(병재배), 80.0일(봉지재배)로 대조품종(대박)과 유사하였다. 자실체 갓은 대조품종 '대박' 비해 갓 크기가 작고 두께가 얇았다. 자실체 직경과 높이는 대조품종에 비해 직경이 작고 높이가 길었다. 병당 수량은 94 g으로 '대박' 109 g 보다 23% 적었고, 봉지당 수량은 121 g으로 '대박' 177 g 보다 32% 적어 수량성이 낮았다. 낮은 수량을 해결하기 위해서는 품종에 적합한 배지개발 등 재배기술과 육종모본으로 활용하여 수량이 높은 백색 품종개발에 대한 연구가 필요하다.

REFERENCES

Chi JH, Kim JH, Joo YC, Seo GS, Kang HW. 2009. Effects of elevated carbon dioxide on the fruiting initiation and development of *Grifola frondosa*. *Kor J Mycol* 37(1): 60-64.

Chung KS, Koo YJ, Yoo JY, Choi SY, Shin DH. 1991. Mycelial growth of *Ganoderma lucidum* and *Grifola frondosa* in milk whey. *Kor J Mycol* 19: 61-65.

Jeon DH, Kim JH, Lee YH, Choi JI, Chi JH, Hong HJ. 2015. Cultural characteristics according to different rates of substrate composition in bottle cultivation of *Grifola frondosa*. *J Mushroom*s 13: 301-304.

Jeon DH, Lee YH, Chi JH, Gwon HM, Chi JH, Jang KY. 2018. Characteristics of a new *Grifola frondosa* cultivar "Daebak" with stable pinheading and high yield. *J Mushroom*s 16: 203-207.

Kim HS, Byeon YR, Heon HH. 2004. Development of diabetic control functional food using *Grifola frondosa* and *Tremella fuciformis*. Health and Medical Technology R&D Project Final Report.

Kong WS, Yoo YB, Jhune CS, You CH, Cho YH, Park YH, Kim KH. 2007. Cultivation and characterization of commercial strain "Hambak" derived by di-mono crossing in *Grifola frondosa*. *J Mushroom*s 5(1): 1-6.

Kim JH, Jeon DH, Kang YJ, Jeoung YK, Lee YH, Chi JH. 2016. Effects of fruiting productivity of *Grifola frondosa* using bottle cultivation according to different substrate composition. *Kor J Mycol* 44(3): 150-154.

Kim JH, Kang YJ, Jeon DH, Jang MJ, Chi JH. 2018. Fruiting body productivity of *Grifola frondosa* by various primordium formation methods. *J Mushroom*s 16(2): 86–89.

Lee BC, Kim JH, Bae JT, Lee DH, Sim GS, Pyo HB, Choi TB. 2005. Anti-irritation and moisturizing effects of exopolysaccharide produced by *Grifola frondosa*. *J Soc Cosmet Sci Korea* 31: 35-41.

Mayell, M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential-a review. *Altern Med Rev* 6: 48-60.

Mizuno T and C Zhuang. 1995. Maitake, *Grifola frondosa*: pharmacological effects. *Fd Rev Internat* 11: 135-149.

Sim GS, Bae JT, Lee DH, Kim JH, Lee BC, Choi TB, Pyo HB. 2005. Effect on inhibition of matrix metalloproteinase-1 in human dermal fibroblasts by production of exopolysaccharide from mycelial culture of *Grifola frondosa*. *J Soc Cosmet Sci Korea* 31: 161-167.

You CH, Park JS, Yoo YB, Jeon CS, Kong WS, Jeong JC, Jang KY, Cho YH, Seok SJ. 2004. Development and utilization functional mushrooms for the high value-added. National Institute of Agricultural Science and Technology Final Report.