

## Di-mono 교잡에 의한 잎새버섯 품종 “함박”의 특성 및 재배

공원식\* · 유영복 · 전창성 · 유창현<sup>1</sup> · 조용현<sup>2</sup> · 박영학<sup>3</sup> · 김광호<sup>4</sup>  
농업과학기술원 응용미생물과, <sup>1</sup>산림버섯연구소, <sup>2</sup>강화군 농업기술센터,  
<sup>3</sup>강원도농업기술원 농산물이용시험장, <sup>4</sup>건국대학교 농학과

### Cultivation and characterization of commercial strain “Hambak” derived by di-mono crossing in *Grifola frondosa*

Won-Sik Kong\*, Young-Bok Yoo, Chang-Sung Jhune, Chang-Hyun You<sup>1</sup>, Yong-Hyun Cho<sup>2</sup>,  
Young-Hak Park<sup>3</sup> and Kwang-Ho Kim<sup>4</sup>

Applied Microbiology Division, National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-707.

<sup>1</sup>Forest Mushroom Research Center, Yeosu 469-803.

<sup>2</sup>Ganghwa Agricultural R&D Center, Ganghwa Agricultural Technology Service Center, Incheon 417-833.

<sup>3</sup>Agricultural Products Utilization Experimental Station, Kangwondo Agricultural Research and Extension Services, Chuncheon 200-150.

<sup>4</sup>Crop Science, Life Environment Science, Konkuk Univ. Seoul 143-701, Korea.

**ABSTRACT :** A new commercial strain "Hambak" of *Grifola frondosa* was developed by di-mono crossing between dikaryon of ASI 9031 and monokaryotic strain derived from ASI 9021. It can be cultivated in plastic bottle and bag filled with oak and poplar sawdust substrate which supplemented with 15% rice bran or 10% corn bran. Improvement of cultivation methods was required for shortage of mycelium incubation period and management of humidity in growing room. The optimum temperature of mycelial growth was 25°C and that of fruiting body development was 15~18°C. The color of pileus surface was brown and fine pores, whitish to cream-colored, were underside. Primordia formation of Hambak was two days faster than that of Yipsae 1. The yield was 97g/ 850ml bottle, a bunch of fruiting body was bigger and the quality was better than Yipsae 1.

**KEYWORDS :** Commercial strain, "Hambak", di-mono crossing, bottle cultivation, *Grifola frondosa*

잎새버섯 (*Grifola frondosa*)은 분류학적으로 민주름버섯목 (Aphylophorales), 구멍장이버섯과 (Polyporaceae), 잎새버섯속 (*Grifola*)에 해당하는 버섯으로 식용 및 약용 버섯으로 이용되고 있는데 맛과 형태가 뛰어나다. 잎새버섯은 사물기생균으로 물참나무, 밤나무, 너도밤나무 등의 활엽수의 고사목, 절주에서 늦가을에 자연발생하는 버섯이나 근래에 일본에서는 인공재배 되고 있는 버섯중 가장 고가의 버섯이다. 또한 국내에서는 1985-1986년도 다수확 재배법이 개발되었고 수량이 우수한 "잎새1호"가 육성 보급되어 앞으로 전망이 좋은 버섯이라고 생각된다. 자연생의 잎새버섯과 같이 자실체는 하나의 대에서 몇개의 가지를 이루고 그 선단에 수십개-수백개의 갓이 부착되어 전체의 크기가 10-30cm가 되고 벌려진 솔방울과 같은 복잡한 대형버섯이다. 갓은 부채꼴로 2-5cm이고, 두께는 2-4mm이며 표면은 초기에 흑색, 차차 커감에 따라서 흑갈색-회색으로 되며, 육질은 백색으로 유연하며, 섬유상

의 무늬를 갖고 있다. 포자는 무색으로 계란형 타원형이다. 잎새버섯이 기능성버섯으로서의 효능에 관해 보고된 것으로는 Misuno 등 (1995)에 의하여 잎새버섯의 약리효과가 정리된 이래로, 항고혈압성 ACE 저해능 (유 외, 2004), 잎새버섯 추출물의 혈당강하효과와 지질대사 개선효과 (김 외, 2004) 및 치유력 (Mayell, 2001), 잎새버섯 배양 여액의 항균력 (정 등, 1991), 잎새버섯 다당류의 항암성 (Li 등, 2003)에 대한 보고가 있다. 또한 잎새버섯이 생산하는 세포의 다당체가 피부에 우수한 보습효과를 유지하면서도 외부자극물질에 의한 피부손상에 대하여 자극완화 소재 (이 등, 2005) 및 UV에 의한 광노화방지소재 (심 등, 2005)로 적용될 수 있어 화장품첨가제로서의 활용도 기대되고 있다. 농업과학기술원에서는 농림기술개발과제로 2001년부터 2004년에 걸쳐 건국대, 배재대, 영남대, 전남대 연구팀과 (주)한국신약이 참여하여 버섯의 기능성을 연구하여 (유 외, 2004) 우수한 기능성을 보이는 잎새버섯의 병재배에 적합한 새로운 품종을 개발하였기에 이를 소개하고자 한다.

\*Corresponding author: <wskong@rda.go.kr>

## 재료 및 방법

### 균주 및 배양

품종육성 모본으로는 농업과학기술원에서 수집 보관중인 잎새버섯 ASI 9001 등 35개 균주에 대하여 계통분류학적 유연관계를 확인하여 사용하였다 (유 외, 2004). 신품종 함박의 교배모본은 ASI 9021과 9031이었으며, 대조구로는 잎새1호 (ASI 9006)를 사용하였다. 균주 배양, 담자포자 발아 등에 사용된 배지는 버섯완전배지 (MCM, mushroom complete medium; Raper 등, 1972)로 그 구성 성분은 Dextrose 20g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.46g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0g, Yeast extract 2g, Peptone 2g, Agar 20g, 증류수 1000ml이다. 균주의 배양은 버섯완전배지에 접종하여 25℃에서 하였다.

### 단핵균주 및 교잡균주 육성

담포자 발아 분리는 Vaughans-Ward와 Isikhuemhen (2006)의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. 잎새버섯 포자는 발아가 잘 되지 않아서 자실체를 수확하지 않고 그 밑에 멸균 샤레를 놓아 담자포자를 채취하였으며, 채취 후 즉시 멸균수에 현탁하여 버섯완전배지에서 pH7, 30℃에서 발아시켰다. 발아된 담포자분리주를 1개씩 샤레에 옮겨 현미경으로 격쇠연결체(clamp connection) 유무를 확인하여 없는 것만 선발하여 사용하였다. Mono-mono 교배는 버섯완전배지에 두 단핵체를 약 1cm 간격으로 접종하였으며, di-mono 교배는 단핵체를 먼저 중앙에 접종한 뒤 2~3일 뒤 이핵균주를 약 1cm 간격으로 접종하여 1주일간 배양하였다. 이 후 2 균주가 접합된 부위를 현미경으로 관찰하여 격쇠연결체 형성 유무를 확인하여 격쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다.

### 교잡체 (hybrid) 선발 및 자실체 특성 검정

자실체 특성 검정은 농업과학기술원과 강원도원에서 수행하였으며, 850ml 플라스틱 병에 참나무 톱밥 75 + 포플라톱밥 25에 영양원으로는 미강 15%를 수분 65%로 혼합하여 제조 후 121℃에서 90분 멸균하여 균사체 접종 배양

하여 40일 배양 후 균규모를 실시하였다. 마개는 다시 덮은 상태로 생육실에 이동하여 온도 16~20도, 습도 95%, 500Lux 이상의 광을 조사하면서 자실체를 유도하였다. 약 7~10일 후 재생된 균사표면에서 색이 검게 되면 발이되는 것으로 판단하여 마개를 제거하고 계속 빛을 조사하면서 습도는 90%이상을 유지하면서 자실체를 생육시켰다. 제일 아랫부분의 자실체가 갈색으로 변하기 시작하면 성숙된 것으로 보고 자실체 특성을 조사하였다. 봉지재배는 1Kg, 2Kg 두가지로 제조하여 수행하였으며 23℃에서 30일간 배양 후 광을 조사하면서 10일간 후배양 후 재배사로 옮겨 병재배에서와 동일한 조건으로 버섯발생을 유도한 뒤 배지색이 변했을 때 마개와 봉지 상단부를 제거하여 버섯을 생육시켰다(유 외, 2004).

### 육성경위

잎새버섯 함박은 2001년 농과원에서 잎새버섯 수집균주의 특성을 검정하여 육종모본을 선발하고, 2002년 선발된 모균주에서 단핵균주를 분리하여 이들 간에 이핵단핵교배와 단핵간 교배를 통하여 이핵균주를 육성하고, 2003년 육성된 교배균주의 특성검정으로 우수균주를 선발하였다. 2004년 선발균주의 생산성 검정을 통하여 품종심의회를 거쳐 '함박'으로 명명하였다 (Fig. 1).

## 결과 및 고찰

### 신품종 “함박”의 주요특성

#### 고유특성

잎새버섯 함박은 균사생장적온이 25℃이고, 버섯발생적온은 15~16℃, 생육적온은 잎새1호보다 다소 낮은 15~18℃가 적합하며, 갓색깔은 갈색으로 이면에는 장타원형의 관공이 있다.

#### 가변특성

잎새버섯 함박 균주에 대하여 배지종류별 균사생장을 조사한 결과 MEA 배지에서 가장 좋았으며 MCM배지에서 가장 생장이 낮았다. 균의 보존에 사용되고 있는 천연배지

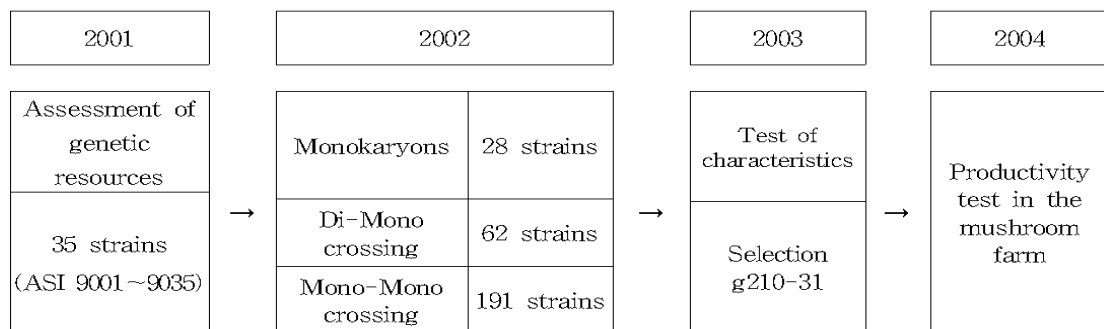


Fig. 1. The pedigree of new commercial strain “Hambak” in *Grifola frondosa*.

\* Cross combination of Hambak (g210-31) : 9021-10 ASI 9031

**Table 1.** Inherent characteristics of Hambak

Variety	Optimal temperature of mycelial growth(°C)	Primordia formation temperature (°C)	Growth temperature (°C)	Color of pileus	Shape of pores
Hambak	25	15 ~ 16	15 ~ 18	Brown	Elliptical
Yipsae 1	25	16 ~ 20	18 ~ 22	Greyish brown	Elliptical

**Table 2.** Mycelial colony growth on the different media

Variety	Mycelial growth (mm/7 days, 25°C)			
	PDA	YM	MEA	MCM
Hambak	39	22	48	9
Yipsae 1	41	30	48	19

**Table 3.** Mycelial colony growth on the different temperature

Variety	Mycelial growth (mm/7 days, PDA), °C					
	10	15	20	25	30	35
Hambak	13	22	27	39	32	9
Yipsae 1	11	18	24	41	32	7

인 PDA 배지에서 온도별 균사생장을 조사한 결과 잎새버섯 함박의 균사생장적온은 25°C였다.

#### 병해충저항성

잎새버섯 함박 재배시 푸른곰팡이병과 세균병에 대한 저항성은 보통 정도를 나타내었다. 그러나 발이시 과습으로 균상 표면에 물이 고이게 되면 버섯재배사의 환경에 따라 버섯파리가 유인되기 쉬운 조건이 되므로 주의가 필요하다.

#### 자실체 수량성

잎새버섯 함박을 농과원과 강원도원에서 생산력을 검정한 결과 균배양기간은 40일, 초발이일수는 8일이었으며, 수량은 1,000ml병에서 97g으로 잎새1호에 비해 23% 증수되었다.

#### 자실체 형태적특성

잎새버섯 함박버섯의 자실체는 다발을 이룬 형태로 잎새1호보다 송이가 크며, 자실체는 갈색으로 윤문이 있고, 개체의 분지는 중간정도였다.

**Table 4.** Productivity of Hambak in the bottle cultivation

Variety	Incubation period (days)	Primordia formation period (days)	Yield (g/1,000ml bottle)*		Average yield (g/1,000ml bottle)	Yield index
			NIAST	Kangwon Ext.		
Hambak	40	8	94	100	97	123
Yipsae 1	40	10	80	77	79	100

\* NIAST : National Institute of Agricultural Science & Technology, Kangwon Ext. : Kangwon Agricultural Research and Extension Services.

**Table 5.** Morphological characteristics of fruit-body of Jinbudlsongyi in the bottle culture

Variety	Size of a bunch of fruiting body (mm)		Color of pilei	Ring on the surface of fruiting body	Shape of pores	Branching	Quality
	Width	Length					
Hambak	120	100	Brown	1	Elliptical	medium	Good
Yipsae 1	113	82	Greyish brown	1	Elliptical	medium	Good



Fig. 2. Bottle cultivation of commercial new strain "Hambak".

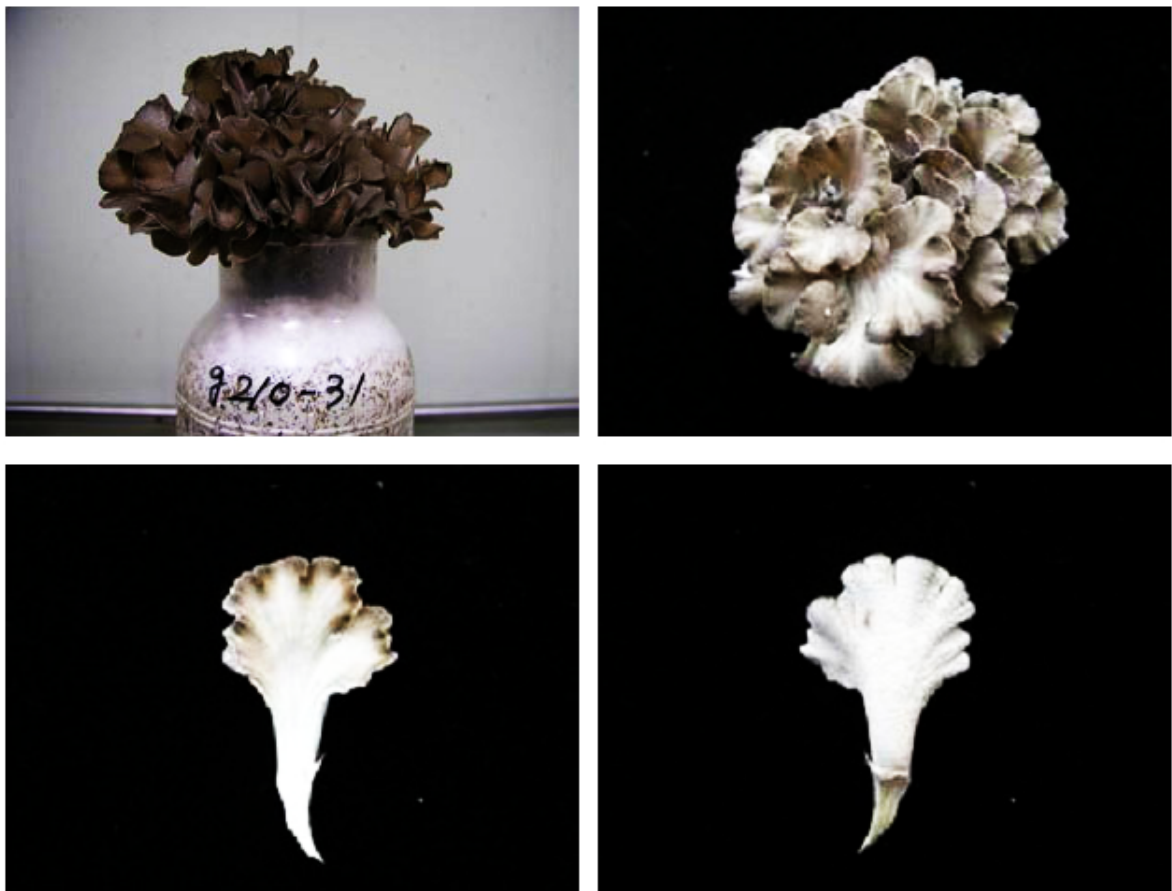


Fig. 3. Morphology of fruiting body of commercial new strain "Hambak".

#### 재배상 유의점

잎새버섯 함박의 재배시 배지재료 배합은 참나무 톱밥 75% + 포플라톱밥 25%에 영양원으로는 미강 15% 또는 옥수수피 10%를 혼합사용할 때 가장 좋았으며, 대량 균배양시 고온 피해 예방을 위하여 배양실 실내온도는 22~23℃를 유지하며, 균 굽기는 40일간 배양한 다음 실시하여야

발이가 균일하며 이보다 빠르면 초발이일수가 늦어지는 경향이 있다. 버섯 발생시 온도는 15~16℃, 초기습도는 93~95%를 유지하되 생육후기에는 충분한 환기가 요구된다. 재배시 과습이 되면 병내 수분이 고이게 되어 버섯과리 및 세균병 발생의 원인이 되므로 초기 발이가 충실하여 톱밥면이 덮히도록 관리함과 동시에 버섯과리 방제가 필



요하다. 자실체 원기가 전개되기 시작하면 환기를 충분히 시키는 것이 중요하며, 고품질 버섯의 생산을 위하여 발이 후 18일 경 먼저 전개된 아래쪽 버섯의 색이 얼어지기 시작하면 수확한다. 병재배에서는 얇은 균균기를 하고 신문을 덮는 것이 균일한 발생을 가져오며, 봉지재배시에는 발생처리로 마개를 열기 전 약 10일 정도 온도를 2~3℃ 낮추고 불을 켜서 봉지내에 미리 원기를 형성시킨 후 발생시켜야 안정생산이 가능하다.

**DNA다형성 분석**

DNA 다형성 검정에서 URP프라이머를 사용하여 PCR로 증폭하고, 이를 전기영동으로 분석하여 증폭산물의 다형성을 비교 분석하였다. URP4, URP9, URP10 프라이머를 이용하여 DNA를 분석하였을 때 모두 대조품종인 잎새1호와 교배모본인 단핵균주 9021-10 및 이핵균주 ASI 9031과도 차이를 보여 교잡에 의하여 육성된 균주임을 알 수 있었다.

**적 요**

우수한 약리기능성을 보이는 잎새버섯의 병재배에 적합

한 새로운 품종 "함박"을 이핵단핵 (di-mono) 교잡육종 방법으로 육성하였다. "함박" 잎새버섯의 재배는 참나무 톱밥 75% + 포플라톱밥 25%에 영양원으로는 미강 15% 또는 옥수수피 10%를 혼합사용할 때 가장 좋았으며, 병재배와 봉지재배가 모두 가능하다. 그러나 재배농가에서 현재 재배되는 버섯을 대체하기에는 배양기간이 길고, 재배시 습도관리가 까다로워 재배법을 더 개선할 필요가 있다. 무엇보다 시장을 형성하기 위해서는 잎새버섯의 약리 기능성에 관한 연구와 이를 바탕으로 한 지속적인 홍보가 필요하다. 함박 잎새버섯의 특성은 다음과 같다. 균사배양 최적 온도는 25℃, 자실체발생온도는 15~16℃, 생육온도는 15~18℃로 기존품종에 비하여 다소 낮은 중온성이다. 함박 자실체의 색깔은 갈색이며 갓 이면에는 장타원형의 관공으로 되어 있다. 병재배시 초발이소요일수가 잎새1호보다 2일 빠르고 수량은 병당 97g으로 높으며, 자실체 송이의 크기가 크며 색택이 진하여 품질이 좋다.

**감사의 글**

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.



Fig. 4. Plastic bag cultivation (1Kg, 2Kg) of commercial new strain "Hambak".

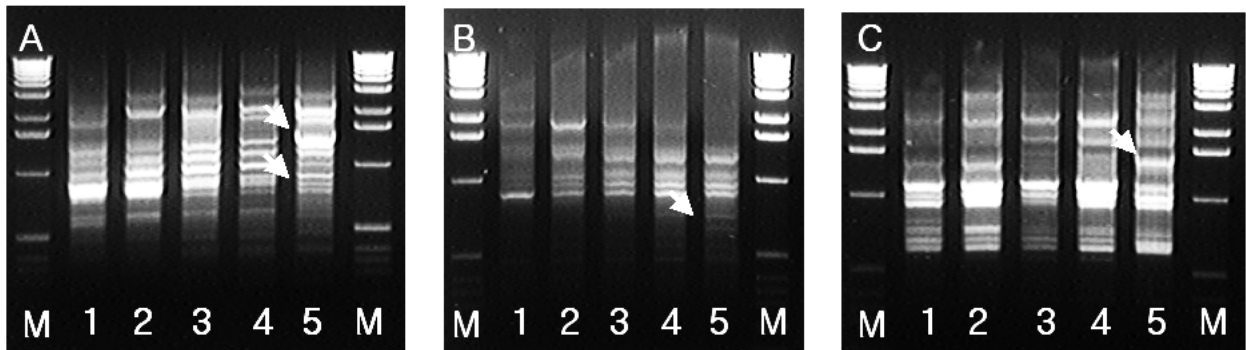


Fig. 5. PCR fingerprinting of new commercial strain 'Hambak' using Primer URP4, URP9, and URP10. Lane M; Marker, 1. Yipsae 1, 2. ASI 9021, 3. 9021-10, 4. ASI 9031, 5. "Hambak"

## 참고문헌

- 김현수 외. 2004. 잎새버섯 및 흰목이를 이용한 당노조절용 기능성식품개발. 건강기능제품개발사업 최종보고서. 보건복지부
- 심관섭, 배준태, 이동환, 김진화, 이범천, 최태부, 표형배. 2005. 잎새버섯이 생산하는 세포외 다당체의 사람 섬유아세포에서 Matrix Metalloproteinase-1 발현저해 효과. 대한화장품학회지 31(2):161-167
- 유영복, 김인엽, 공원식, 장갑열, 오세중, 전창성. 2006. 느타리 단핵 임성체를 이용한 균주개발. 한국버섯학회지 4(2): 48-52.
- 유창현 외. 2004. 고부가가치 창출을 위한 기능성버섯의 개발 및 이용연구. 농림기술개발사업 최종보고서. 농림부.
- 이범천, 김진화, 배준태, 이동환, 심관섭, 표형배, 최태부. 2005. 잎새버섯이 생산하는 다당체의 보습력과 자극완화 효과. 대한화장품학회지 31(1):35-41
- 정건섭, 구영조, 유진영, 최신양, 신동화. 1991. 유청을 이용한 영지버섯과 잎새버섯의 균사체 배양. 한국균학회지 19(1): 61-65
- 정환채. 주현규. 1989. 잎새버섯 우량계통 육성과 인공재배법 개발. 농시논문집 31(2) : 43-56.
- 차동열. 유창현. 김광포 : 최신버섯 재배기술. 상록사. 1989.
- Li, X., Rong, J., Wu, M., Zeng, X. 2003 Anti-tumor effect of polysaccharide from *Grifola frondosa* and its influence on immunological function, *Zhong Yao Cai*, 26(1): 31-2.
- Mayell, M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential. *Altern. Med. Rev.* 6(1): 48-60
- Misuno, T., Zhuang, C., Maitake, C. 1995. *Grifora frondosa*: Pharmacological effects. *Food Rev. Int.* 11: 135-149
- Nanba, H., Kodama, N., Schar, D. and Turner, D. 2000. Effects of maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience* 41: 293-295
- Raper, C. A., Raper, J. R., Miller, R. E. 1972. Genetic analysis of the life cycle of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 64 : 1088-1117.
- Vaughans-Ward, K., Isikhuemhen, O. S. 2004. Spore germination in *Grifola frondosa* (Maitake). New challenges in mushroom science. Proceedings of the 3rd meeting of far east collaboration on edible fungi research p21