

원형느타리버섯 백색돌연변체의 특성

이강호* · 김규현¹ · 김범기² · 유영복 · 성재모³

농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과, ¹천안연암대학 원예과,
²농업생명공학원 분자생리과, ³강원대학교 농업생명과학대 생물환경학부

Characteristics of fruiting bodies color mutants in *Pleurotus ostreatus*.

Kang-Hyo Lee*, Gyu-hyun Kim¹, Beom-Gi Kim², Young-Bok Yoo and Jae-Mo Sung³

Applied Microbiology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon.

¹Department of Horticultural Bio-Industry, Cheonan Yonam College, Chungnam, 330-709.

²Department of Molecular Physiology and Biochemistry, National Institute of Agricultural Biotechnology, RDA, Suwon.

³Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon.

ABSTRACT : The white-colored and the dark gray-colored mutants were frequently happened in cultivated areas of *Pleurotus ostreatus* (Wonhyeong-neutari). These caused conflicts between farmers and spawn companies. Our studies were conducted to elucidate the mechanism of mutagenesis. The results from the studies would provide valuable informations that could be used to prevent the color-related mutation, and also will be applied in breeding programs of *P. ostreatus*. Oyster mushroom variety, Wonhyeong-neutari, is somatic hybrid of *Pleurotus* and has genetic makers for arginine, ornithine, proline, riboflavine. Genetic markers analysis of monospore isolates derived from color mutants show identical tendency with that of Wonhyeong-neutari, these results indicate that color mutants were derived from Wonhyeong-neutari. Twenty-one and four homokaryons were selected from the white-colored mutant MGL 2205 and gray-colored ASI 2029. All 34 F₁ hybrids derived from the white-colored mutant MGL 2205 produce white-color fruiting bodies, indicating that the white color trait is heritable. In the first generation hybrids between the white-colored MGL 2205 and the gray-colored ASI 2029, all 16 hybrids produced pigmented fruiting bodies. Homokaryons isolated from the hybrid MGL 2205 X ASI 2029 were mated with homokaryon tester strains derived from MGL 2205. By these result, we could assumed that white color trait is a heritable character which is controlled by more than one recessive gene.

KEYWORDS : Color Mutants, *Pleurotus ostreatus*, Genetic markers, hybrids

버섯은 농림부산물을 주재료로 이용하여 기술, 자본, 노동 집약적으로 재배되며, 시설재배로 연중 생산이 가능하다. 버섯은 식용으로서의 소비가 점차 증가되고 있을 뿐만 아니라, 버섯이 함유하고 있는 기능성 물질을 활용하여 건강식품이나 의약품 개발에 이용되고 있다. 버섯의 생산성을 제고하기 위해서는 우수한 형질을 가진 품종의 육종과 품종별 특성에 알맞은 재배기술을 지속적으로 개발하는 동시에, 온·습도, 환기 등과 같은 재배환경과 병해충 관리 등을 통해 안정적으로 버섯을 재배할 수 있도록 해야 한다. 자실체색이 진한 품종의 육성, 기형자실체의 발생을 억제하기 위한 재배조건 설정 및 관리방법 개발, 병해충의 종합 관리 등은 버섯산업의 발전을 위해 시급히 해결해야 될 당면 문제로 대두되고 있다. 1990년 품종으로 등록된 원형느타리 1호의 재배농가에서 자실체색이 백색 또는 흑회색인 색소돌연변이체와 자실체가 기형인 버섯이 발생하여

농가의 소득을 감소시키고 있을 뿐만 아니라 농가와 종균을 공급한 배양소간의 문제가 되고 있다. 따라서 원형느타리 재배농가에서 발생된 자실체색 돌연변이의 유래와 유전양상을 분석함으로써 자실체색이 진한 품종의 육성을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

공시균주 및 배양특성 비교

느타리버섯 자실체색 변이체(MGL 2205)의 유래와 자실체색 유전양상을 분석하기 위해 변이체의 모균주로 추정되는 원형느타리1호(ASI 2180)과 흑회색 변이체(MGL 2308), 그리고 야생수집종인 느타리버섯 균주(ASI 2029)를 대조균주로 사용하였다. 원형느타리 1호(ASI2180)과 색소변이체 수집균주를 MCM과 PDA배지에 접종한 후 25°C의 배양기 내에서 11일간 배양한 후 특성을 비교하였다. 첨가배지에서의 균총생장 측정은 PDA

*Corresponding author: <khlee66@rda.go.kr>

에 각각 0, 2, 4, 6, 8, 10 mM 첨가된 배지에 균주를 접종하여 25°C에서 7일간 배양한 후 균총직경과 특성을 조사하였다.

색소변이체 유래분석

원형느타리1호(ASI2180)의 단포자는 Arginine, Riboflavine, Proline, Ornithine 등에 대한 유전표지인자를 가지고 있다. 따라서 색소변이체의 유래를 분석하기 위해 원형느타리 1호와 백색변이체 MGL 2205, 흑회색 변이체 MGL 2308로부터 단포자를 분리한 후, 한천배지에 각각 Arginine, Riboflavine, Proline, Ornithine 등 50µg/ml 씩 첨가된 4종류의 배지에서 배양하였다. 영양요구성분석은 배지별로 접종하고 25°C 배양기에서 7일간 배양한 후 균총의 직경을 측정하였다. 한천배지와 4종의 영양분이 첨가된 배지에서의 균총직경을 비교하여 한천배지에서도 더 잘 자라던 각각의 영양분에 대한 영양요구성이 있는 것으로 판단하였다.

자실체색의 유전 분석

원형느타리 1호(ASI2180)와 백색변이체 MGL 2205, 흑회색변이체 MGL 2308의 단포자를 분리하여 교배한 후, 교배주(F₁)의 자실체색을 육안으로 관찰하였다. 단포자 교배는 2개의 단포자 균사체를 하나의 페트리디쉬에서 대치배양하여 수행하였으며, 양측의 단포자 균사가 서로 접한 부분을 잘라내어 계대배양하였다. 교배주의 균사체를 광학현미경을 이용하여 균사체의 클램프가 관찰되면

교배된 것으로 결정하였다. 교배주는 톱밥병에 균접종 후 30일 정도 25°C 배양실에서 배양후 버섯재배사에서 자실체를 형성하였다.

자실체색의 우열성 검정

백색변이체인 MGL2205 단포자와 야생주인 ASI 2029의 단포자와 교배하여 자실체색의 우열성을 검정하였다. 백색변이체 MGL 2205와 회색인 야생주 ASI2029의 단포자교배주로부터 분리한 단포자를 백색변이체 MGL2205 단포자와 여교배하였으며, 교배조합 중 클램프를 형성하는 교배된 균주를 선발하여 자실체색의 분리비를 분석하였다. 단포자 교배와 자실체색 관찰은 자실체색 후대유전 분석과 동일한 방법으로 수행하였다.

결과 및 고찰

색소변이체의 배양적 특성

자실체색 변이체와 이들 변이체의 모균주로 추정되는 원형느타리1호(ASI 2180)의 배양적 특성을 비교한 결과, 색소변이체들은 대체적으로 원형느타리1호(ASI2180)에 비해 균사생장이 느렸으며(Table 1), 균총은 다소 불규칙한 성장양상을 보였다(Fig 1). Mn이 첨가된 배지에서 배양한 결과, 색소물질 합성이 저해되었을 것으로 추정되는 백색변이체는 Mn이 첨가된 배지에서의 균총생장이 억제되지 않았으며, 배지내에 갈색의 색소물질이 형성되었다(Fig 1).

Table 1. Mycelial growth of color mutants and ASI2180.

Strains	Color of fruiting-bodies	Mycelial growth*	
		MCM	PDA
ASI2180	Pale gray	84.0	84.0
MGL 2205	white	82.8	68.7
MGL 2308	dark gray	84.0	57.5

*. mm/11day.

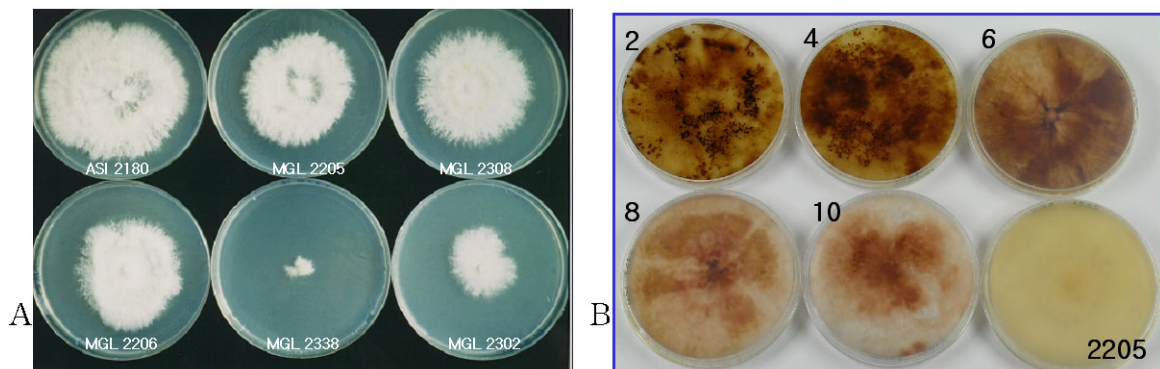


Fig. 1. Mycelial morphology of color mutants and Wonhyeong-neutari 1.

멜라닌은 버섯의 자실체색을 나타내는 색소물질로 알려져 있으며, 세포벽에 집적되거나 세포밖으로 배출되어 존재한다. 균사체나 포자의 세포벽에 멜라닌이 집적되면 자실체나 포자의 색이 진하게 되며, 또한 세포밖으로 분비되는 멜라닌 물질에 의해 배양중인 배지의 색이 형성되는 것으로 알려져 있다. 멜라닌은 tyrosine, catechol, DOPA, DHN, GHB 등과 목재의 lignin이 분해되면서 형성된 phenolic compound로부터 합성되며, tyrosinase, laccase, peroxidase, phenol oxidase 등의 효소가 멜라닌 합성에 관여한다(Alois et. al. 1986). 따라서 백색변이체의 원인이 멜라닌 합성저해에 의한 것이라고 단정할 수 없을 것으로 사료된다.

색소변이체 유래 분석

느타리버섯 품종 원형느타리는 *Pleurotus*속 체세포 잡종으로 arginine, ornithine, proline, riboflavine 등에 대한 유전표지인자를 갖고 있다(유영복 1993). 따라서 원형느타리와 색소변이체에서 분리한 단포자의 유전표지인자를 분석함으로써 색소변이체가 원형느타리에서 유래되었는지 확인할 수 있다. 원형느타리와 색소변이체로부터 분리된 단포자를 한천배지와 한천배지에 arginine, ornithine, proline, riboflavine 등을 각각 첨가한 배지에서 균사를 배양한 후, 한천배지에서의 균사생장과 arginine, ornithine, proline, riboflavine이 첨가된 배지에서의 균사생장과 비

교하여 각 단포자들의 genotype을 조사하였다. 각 단포자들의 genotype별 분포는 Table 2와 같다. 원형느타리에서 분리한 단포자들의 genotype 분포와 색소변이체에서 분리한 단포자들의 genotype 분석결과, 색소변이체는 원형느타리로부터 유래된 것임을 알 수 있다.

색소변이체 단포자 교배주의 자실체색 분석

수집된 백색변이체 MGL 2205와 흑회색변이체 MGL 2308을 톱밥병에 재배하여 자실체를 형성시켜본 결과 이들 색소변이는 일시적인 현상이 아니고 고정된 것으로 확인되었다. 원형느타리 1호(ASI 2180)와 백색변이체 MGL 2205, 흑회색변이체 MGL 2308를 재배하여 성숙한 자실체로부터 단포자를 분리하였다. 분리된 단포자들 중 균종 배양특성에 따라서 20여개 정도의 단포자들을 선발하였으며, 선발된 단포자를 상호교배를 하였으며, 교배조합별로 균사의 클램프를 광학현미경으로 관찰하여 교배형을 결정하였다.

원형느타리 1호인 ASI 2180에서 분리한 단포자 중 선발된 19개 균주를 상호교배한 결과, 55조합에서 클램프가 관찰되었으며, 교배된 단포자들의 교배형별 균주수는 각각 6(A₁B₁), 1(A₁B₂), 3(A₂B₁), 9(A₂B₂) 균주이었다. 백색변이체 MGL 2205에서 분리한 단포자 중 선발된 20개 단포자균주를 상호교배한 결과, 48개 조합에서 클램프가 관찰되었으며, 교배형별 균주수는 각각 5(A₁B₁), 5(A₁B₂),

Table 2. Frequency distribution of monospore isolates genotype

Genotype*				No. of Individual ^a				
				MGL2205	MGL2206	MGL2308	P49	P72
+	+	+	+	162	176	172	96	75
Arg	Rib	+	+	1	0	7	2	1
+	+	Pro	Orn	4	1	1	0	0
Arg	+	+	+	27	22	34	92	100
+	Rib	+	+	1	1	3	0	0
+	+	Pro	+	3	3	3	0	1
+	+	+	Orn	6	0	23	0	0
Arg	+	Pro	+	3	7	6	2	4
Arg	+	+	Orn	2	1	1	2	8
+	Rib	Pro	+	1	2	0	0	0
+	Rib	+	Orn	0	1	2	0	0
Arg	Rib	Pro	+	8	5	13	0	1
Arg	Rib	+	Orn	0	0	0	2	1
Arg	+	Pro	Orn	1	0	0	6	8
+	Rib	Pro	Orn	1	0	2	2	0
Arg	Rib	Pro	Orn	15	0	0	24	29
Total				235	219	267	228	228

a. white mutants : MGL2205, MGL2206, dark gray mutant : MGL2308,

Pleurotus florida-ostreatus hybrid P5-M43-arg ribo × *P. ostreatus* ASI 2-13-pro orn crosses(P49, P72)

Table 3. Analysis of fruiting-bodies color in F1 derived from color mutants and its parent.

Parents	Fruiting body color of parents	Total No. of strain mated	Color of F ₁			No. of fruiting bodies (%)
			White	PG	DG	
ASI2180	Pale Gary	55		9		9(16.4%)
MGL2205	White	48	18			18(37.5%)
MGL2308	Dark gray	38		3	11	14(36.8%)
Sum		141	18	12	11	41(29.1%)

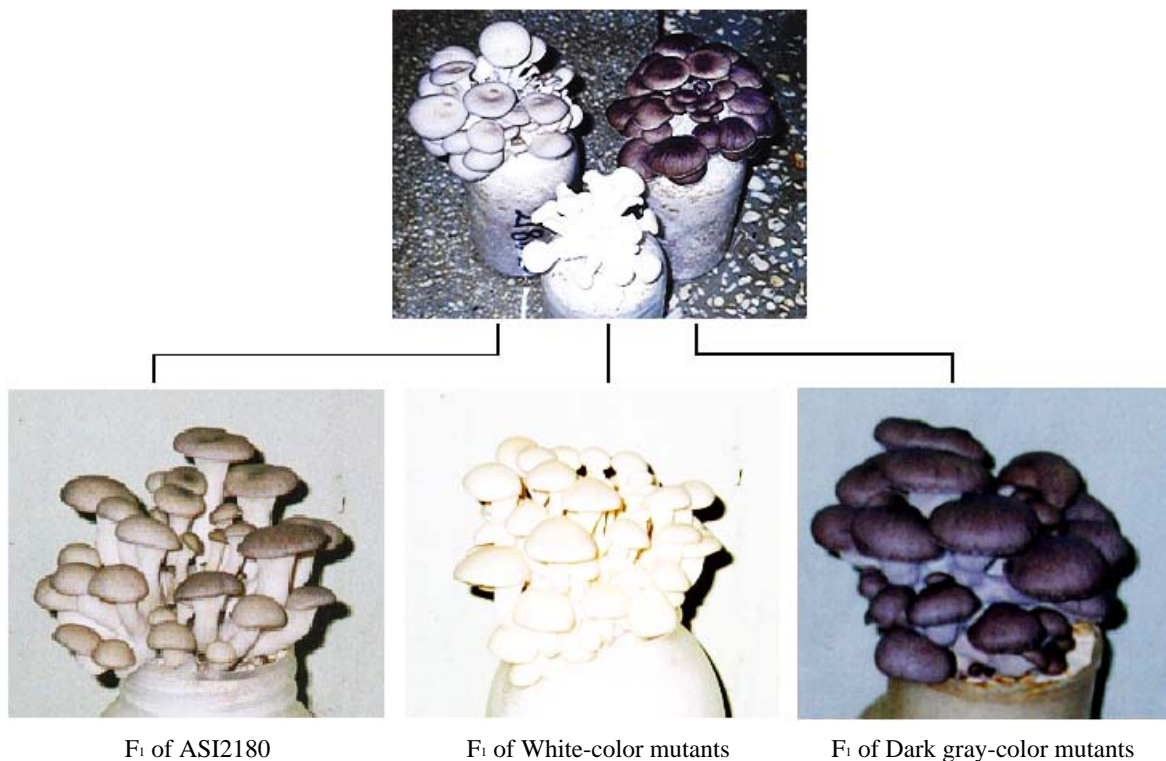


Fig. 2. Fruiting bodies color of F1 differentiated from color-related mutants and their parent, Wonhyeong-neutari.

1(A₂B₁), 9(A₂B₂) 균주이었다. 흑회색변이체 MGL 2308에서 분리한 단포자 중 선발된 20개 단포자균주를 상호교배한 결과, 38개 조합에서 클램프가 관찰되었으며, 교배된 단포자들의 교배형별 균주수는 각각 6(A₁B₁), 2(A₁B₂), 3(A₂B₁), 4(A₂B₂) 균주이었다.

원형느타리 1호(ASI 2180)과 백색변이체 MGL 2205, 흑회색변이체 MGL 2308로부터 단포자를 분리한 후, 선발된 단포자들끼리 교배하고 이들 교배조합들 중 클램프를 형성한 교배주들을 톱밥병에 재배하여 자실체색을 육안으로 관찰하였다(Table 3). 원형느타리 1호(ASI 2180)의 단포자교배주 55개 균주 중 9개 균주(16.4%)에서 자실체가 형성되었으며, 자실체색은 9 균주 모두 모균주의 자실체인 연회색이었다. 백색변이체 MGL 2205는 단포자교배주 48개 균주를 재배하여 자실체를 발생시킨 결과, 자실체가 형성된 18개 균주(37.7%) 모두 모균주와 동일한 자실체색인 백색이었다. 흑회색변이체 MGL 2308

의 단포자교배주 38개 균주 중 14균주(36.8%)가 자실체를 형성하였으며, 이중 11균주는 모균주의 자실체색인 흑회색이었으며, 3균주는 다소 연한 회색이었다. 원형느타리 1호와 색소변이체들의 F1 개체들은 대부분 모균주 동일한 자실체색을 보였으며, 색소변이체의 자실체색은 후대(F1)로 유전되는 것이 확인되었다(Fig 2).

자실체색의 우열성 검정

자실체색의 유전양상을 분석하기 위해 백색변이체 MGL2205의 단포자 21균주와 ASI2029의 교배형 표준균주 4균주를 교배하였다. 84개 교배조합 중 62개 조합에서 균사체 클램프가 확인되었으며, 이들 교배주들은 재배한 결과 16균주가 자실체를 형성되었다. 자실체형성 균주들은 모두 회색계통의 유색이고 돌연변이체로 나타난 백색은 열성인 것으로 확인되었으며, 이는 기존의 연구결과들과 동일한 경향이었다(Callic P. et al. 1998, Murakami et

Table 4. Fruiting bodies color of hybrids between white-color mutant and Gray-color wild type

White \ Gray	White		A ₁ B ₁					A ₁ B ₂					A ₂ B ₁					A ₂ B ₂				
	22	32	81	108	111	27	42	49	65	73	75	115	26	30	39	47	59	61	67	89	116	
237												+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
284	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	
41	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
239	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	

* W : White PG : Pale Gray, DG : Dark Gray

al. 1990, Ikuo Arita, 1974, Mitsuo Komatsu et al. 1977). 자실체형성주들은 대부분 모균주 ASI2029의 회색(2균주)과 같거나 이보다 연한 연회색(10균주)을 나타내었다. 이외에 모균주보다 진한 진회색(3균주)을 보이거나 모균주와는 다른 갈색(1균주) 자실체도 형성되었다 (Table 4).

적 요

원형느타리 재배농가에서 발생한 백색과 흑회색 변이체는 원형느타리1호에 비해 균사생장속도가 느리고 균총의 모양도 불규칙하였다. 색소변이체로부터 분리한 단포자의 유전표지인자를 분석한 결과 원형느타리1호의 단포자와 유사한 결과를 보여 색소변이체는 원형느타리1호의 변이체임이 확인되었다. 백색변이체균주를 Mn이 첨가된 배지에서 배양한 결과 배지색소가 형성되었다.

색소변이체로부터 단포자를 분리하여 F₁을 육성하여 자실체색의 후대유전양상을 분석한 결과, 백색변이체의 F₁은 모두 백색이었으며, 흑회색 변이체의 F₁은 대부분 모균주와 같은 흑회색의 자실체를 형성하는 것으로 보아 색소변이는 후대(F₁)로 유전되는 것으로 추정할 수 있다. 자실체색은 유색계통이 백색에 대해 우성인 것으로 보고되어 있으며, 백색변이체와 회색의 야생종과의 교배에 의해서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

자실체색은 버섯의 상품성을 좌우하는 중요한 형질 중 하나이며, 또한 버섯균의 유기물 분해력과 병이나 불량환경에 대한 저항성에 관련된 것으로 알려져 있다. 따라서 자실체색이 진한 품종을 육성하는 연구는 버섯연구에 있어서 중요한 과제 중 하나이다. 자실체색 돌연변이체는 이러한 육종연구에 중요한 자료가 될 수 있을 것이다.

참고문헌

Alois A. Bell and Michael H. Wheeler, 1986. Biosynthesis and Functions of Fungal melanins. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:411-451.

Arita Ikuo, 1974. Genetic study on white fruit-bodies of *Pleurotus ostreatus* (Fr.) KUMMER, Rept. Tottoti Mycol. Inst. 11:58-68.

Betty Ratcliffe, William H. Flurkey, Jill Kuglin, and Futhellen Dawley. 1994. Tyrosinase, Laccase, and Peroxidase in Mushroom(Agaricus, Crimini, Oyster, and Shiitake). *J. of Food Sci.* 59(4):824-827.

Callic, P., F. Moquet, M. Imbernon, M.R. Guedes-Lagargue, M.Mamoun, and J.M. Oliver, 1998. Evidence for PPC1, a Determinant of the Pilei-Pellis Color of *Agaricus bisporus* Fruitbodies. *Fungal Genet. And Biol.* 23:181-188.

Garcia Mendoza C., Leal J.A., and Novaes-Ledieu M., 1979. Studies of the spore walls of *Agaricus bisporus* and *Agaricus campestris*. *Can.J.Microbiol.*25:32-39.

Liang Pingyan, Liu Hongdi and Chen Kaiying. 1990. Intracellular appearance, morphological features and properties of oyster mushroom virus. *Mycol. Res.* 94(4): 529-537.

Mitsuo Komatsu, 1977. Fruit-bodies with pilei of *Auricularia polytricha* (Mont.) SACCRept. Tottoti Mycol. Inst. 15:55-64.

Murakami S. and T. Takemaru. 1990. Genetic studies of *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. Rept. Tottoti Mycol. Inst. 28: 199-204.

Seung-Joo Go, Dong-Yeul Cha and Gwan-Chull Shin, 1992. Virus-like Particles from Abnormal Growing Oyster Mushroom, *Pleurotus florida* and *P. ostreatus*. *Korean J. Mycology* 20(2):149-153.

Young-Bok Yoo, Chang-Hyun You and Dong-Yeul Cha, 1993. Strain Improvement of the Genus *Pleurotus* by Protoplast Fusion. *Korean J. Mycology* 21(3):200-211.