

발간등록번호

11-1543000-001678-01

수입대체형 양송이 품종 개발

(Development of new variety to substitute the imported one
in button mushroom (*Agaricus bisporus*))

국립원예특작과학원

농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청

제 출 문

농림축산식품부장관 . 해양수산부장관 . 농촌진흥청장 . 산림청장 귀하

이 보고서를 “수입대체형 양송이 품종개발” 프로젝트(세부프로젝트 “수입대체형 양송이 품종개발”)의 보고서로 제출합니다.

2017 년 2 월 14 일

프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

프로젝트 책임자 : 공 원 식

세부프로젝트 연구기관명 : 국립원예특작과학원

세부프로젝트 책임자 : 공 원 식

제2위탁프로젝트 연구기관명 : 단국대학교

세부프로젝트 책임자 : 김 성 환

제3위탁프로젝트 연구기관명 : 월간버섯사

세부프로젝트 책임자 : 전 창 성

보고서 요약서

과제고유번호	213003-04-4 -CGJ00	해 당 단 계 연 구 기 간	42개월	단 계 구 분	1/1
연구사업명	단 위 사 업 명	* 원예(양송이) : 농식품기술개발			
	세부 사업명	Golden Seed 프로젝트			
연구과제명	프로젝트명	수입대체형 양송이 품종개발			
	세부 프로젝트명 (주관 연구기관 /연구책임자)	수입대체형 양송이 품종개발(국립원예특작과학원/공원식)			
연구책임자	공원식	해당단계 참 여 연구원 수	총: 89명 내부: 81명 외부: 8명	해당단계 연 구 개 발 비	정부: 2,156,000천원 민간: 천원 계: 2,156,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 89명 내부: 81명 외부: 8명	총 연구개발비	정부: 2,156,000천원 민간: 천원 계: 2,156,000천원
연구기관명 및 소속부서명	국립원예특작과학원 버섯과			참여기업명	
위탁연구	연구기관명: 단국대학교			연구책임자: 김성환	
위탁연구	연구기관명: 월간버섯사			연구책임자: 전창성	
요약				보고서 면수	
1. 정량적 성과					
(1) 성과 목표					
품종 및 특허출원 및 등록 2건, SCI논문 3건, 비SCI 7건, 분자 마커 3건, 유전자원 12건, 학술발표 12건 국산화율 34%, 국내매 출액 15백만원, 종자수출액 7만불					
(2) 실적					
품종출원 2건, 품종등록 1건, SCI 2건, 비SCI건, 유전자원 등록					

67건, 학술발표 11건, 국산화율 40% 달성

*추가 실적: 기술이전 4건, 품평회 2건, 매체홍보 65건, 자료발간 1건, 품종설명 리플릿발간 1건, 인력양성 1명

2. 정성적 성과

(1) 제1세부

- 국내외 자원 총 67점을 수집
- 200여점의 수집자원을 자실체·재배적 특성평가
- ASI 1007, 1225, 1246 3점을 우수자원 선발
- ASI 1225와 ASI 1246의 교잡주 74점을 육성
- 1·2차 생산력 검정 후 최종 Ab2-2016-16, 25, 44 선발
- 백색양송이 '새연', 갈색양송이 '호감', 여름양송이 '하이' 3품종 개발
- 현장실증 및 현장평가회로 국내육성보급률이 40% 증대

(2) 제1위탁

- ISSR마커로 종간 및 종내 또한 품종의 유전적 다양성 확인
- 동핵균주 구분하는 SSR마커 탐색

(3) 제2위탁

- 육종을 위한 54개 선별 균주의 기반 정보 창출
- 동핵체, 이핵체 균주의 생육 우수배지를 확인
- 동핵균주/이핵균주 분리하는 생화학적 방법 개발
- 균주내 7가지 세포외 분해효소 특성 파악
- 동핵체, 이핵체 균주의 유전형 비교 정보
- 국내/국외균주간의 유전적 유연관계 도출
- 갈색/백색품종의 유전자군의 차이와 scaffold 상 존재 위치 파악
- 갈색/백색품종간 세포외효소별 활성차이 및 포자간 표면 물질 확인
- 갈색/백색품종간 자실체 발생 단계에 따른 색 형질 확인
- 색 형질 관련 선별된 유전자군과 단백질의 발현 정보 구축 (4)

제3위탁

- 2016 부여농가 품종간의 생산성의 차이는 확인
→ 가장 높은 생산성 품종 '새연'
- 갈색종이 가장 개체중이 높음
- 갈색양송이의 품종별 깃색은 채도(a)의 수치에 의해 차이 확인 가능

SUMMARY

The project, 'Development of new variety to substitute the imported one in button mushroom' was composed of one project and 3 sub-projects to develop and distribute new cultivars for 4 years.

First of all, 67 domestic and foreign genetic resources were collected in the 'Development of new variety to substitute the imported one in button mushroom' project. Three superior genetic resources(ASI 1007, 1225, 1246) were selected through twice cultivation for estimation of morphological and cultural trait. Over 100 single spore isolates(SSIs) were collected from the selected genetics resources. And 74 crossed lines were made of selected homokaryons that is selected from SSIs. 3 superior lines(Ab2-2016-16, 25, 44) of them were finally selected by twice cultivation. Also, 3 new cultivars which is 'Saehan' of white button mushroom, 'Hogam' of brown button mushroom, 'Hai' of button mushroom for cultivation in high temperature. Especially 'Hogam' was made with marker of mating type genes. These cultivars were distributed up to 40% in Korea in virtue of field experiment and field evaluation meeting.

The first sub-project is 'Development of marker for breeding and testing of cultivars in button mushroom'. The collected genetic resources and cultivars were confirmed genetic polymorphism with ISSSR markers and SSR markers were develop to select homokaryons from heterokaryons. But the sub-project could be conduct for two years, so effective markers weren't registered the patent.

In second sub-project 'Analysis of characteristics for button mushroom breeding', 42 monokaryons and 37 dikaryons of domestic and foreign cultivars were investigated and analyzed for optimal media and extracellular enzyme activities to get basic information on the collected strains of button mushroom which could be used for breeding. All tested strains grew better on oatmeal agar than on MEA or PDA. The highest activity was shown in β -glucosidase among the 7 kinds of tested extracellular enzymes (β -glucosidase, avicelase, CM-cellulase, amylase, pectinase, xylanase, and protease). There was difference in the ability of producing each extracellular enzyme both among 42 monokaryons and among 37 dikaryons.

Sequence information of intergenic spacer (IGS) rDNA region in all the strains of monokaryons and dikaryons was produced. Strain differentiation could be possible by comparing nucleotide difference and length of the IGS region sequences. Genetic variation exists not only among the domestic strains but also between the domestic strains and foreign strains. Crossing of two different haploid strains of *A. bisporus* seems to generate genetic variation in the IGS1 region in their off-spring haploid strains. Phylogenetic analysis based on IGS1 sequence revealed all *A. bisporus* strains could be differentiated from *A. silvaticus* and *A. bitorquis* strains. Five genetic groups were resolved among *A. bisporus* strains. Saejung and

Saeyeon cultivars formed a separate genetic group.

A simple test method for differentiating monokaryons and dikaryons was developed by growing the strains on potato dextrose broth with guaiacol. The differentiating was possible by measuring difference in absorbance using a UV/VIS spectrophotometer.

There was variation in extracellular enzyme activity and spore extract profile between white and brown button mushroom cultivars. Consequently, genes involved in pigmentation were investigated through RNA-sequencing (RNA-seq) using fruit body samples that were prepared at different developmental stages. There were 11 transcripts including lectin and polyphenol oxidase (PPO) that were expressed over 3 folds on brown cultivar compared to white cultivar. Expression levels of PPO 2 and PPO 4 genes were higher in brown cultivar than white cultivar. To assay differently expressed gene by cultivar, phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL) was investigated. PAL 1 and PAL 2 nucleotide sequences were obtained through PCR cloning. The highest PAL gene expression was found on cap skin at early stage of brown cultivar. The highest PAL activity was also found on cap skin at early stage of brown cultivar. 2-D gel and peptide sequencing conformed the RNA seq results.

The third sub-project 'Distribution and field experiment of cultivar of button mushroom' started third year. In the project, we knew that Korean farmers want to cultivate cultivar of high yield and good quality on poor cultural environment. As the results of the project, domestic cultivars 'Sayeon' highly produced at 'Buyeo' farms in 2016. One mushroom were differentially weighted each farm, but that of each cultivars weren't. Brown button mushroom had the biggest weigh of one mushroom. Each cultivar weren't confirmed different hardness of mushroom. And morphological trait had influence on cultural environment. brown button mushroom cultivars were classified in pileus color of mushroom.

In this project, we accomplish over 100% with development of new cultivars, registration of genetic resources and distribution of domestic cultivars. And additional products were four transfers of technique, two field evaluation meeting, sixty-five public relations, two publication of material and manpower training

CONTENTS

Chapter 1. The outline and goals of the project

1. The purpose and necessity of the project
2. The performances compared to the purpose of the project

Chapter 2. The Status of domestic and overseas technology development

1. The domestic technology level and market condition
- 2 The overseas technology level and market condition

Chapter 3. The contents and results of the research

1. Development of new variety to substitute the imported one in button mushroom
2. Analysis of characteristics for button mushroom breeding
3. Distribution and field experiment of cultivar of button mushroom

Chapter 4. The achievement of the goal and contribution to related field

Chapter 5. R & D performance and performance utilization plan

1. R & D performance
2. performance utilization plan

Chapter 6. Overseas science and technology information in the project

Chapter 7. References

<Attachment> Analysis report of patents, Articles and Market

목 차

제 1 장	프로젝트(세부프로젝트 포함)의 개요 및 성과목표-----	9
제 1절	연구개발의 목적 및 필요성 -----	9
제 2절	연구성과 목표 대비 실적 -----	10
제 2 장	국내외 기술개발 현황-----	12
제 1절	국내 기술 수준 및 시장 현황 -----	12
제 2절	국외 기술 수준 및 시장 현황 -----	12
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과-----	13
제 1절	수입대체형 양송이 품종 개발 -----	13
제 2절	양송이 육종을 위한 균주의 형질분석 및 특성 평가 기반 연구-----	48
제 3절	양송이버섯 신품종 보급 및 현장 적응성 시험 -----	92
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도-----	127
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획-----	128
제 1절	연구개발 성과 -----	128
제 2절	성과활용 계획 -----	128
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보-----	129
제 7 장	참고문헌-----	131
<첨부>	특허, 논문 및 시장분석 보고서-----	137

제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

제 1절 연구개발의 목적 및 필요성

수출을 목적으로 시작된 우리나라의 양송이재배는 1968년 농촌진흥청 균이과에서 시작하여 버섯 재배의 기초를 확립되기 시작, 1971~1972년에는 재배기술과 수출이 크게 신장되었다. 이에 따라 1976~1978년에는 양송이 산업의 발달에 따라 산업의 황금기에 접어들게 되었다. 최고조에 달하여 1978년에는 단일품목으로 5천만불(US \$) 이상을 수출하여 그 당시에는 가장 부가가치가 높은 소득작물로서 각광 받았고 현재 버섯산업 발전의 기초가 되었다(농림부, 1997. 양송이 편람). 하지만 중동지역의 에너지 파동과 중국산 양송이의 덤핑수출, 인건비 상승, 인력 구득난으로 어려운 처지에 놓이게 되었고(농촌진흥청, 1993, 농촌진흥 30년사), 사양화되어 재배면적이 급속히 감소되었다(농업과학기술원, 1968~2002, 농사시험연구보고서; 농촌진흥청, 1972~2001, 농촌지도사업 활용자료). 그 이후 국내 경기 활황에 따라 국내소비가 증가되면서 재배면적 증가와 양송이 재배용 퇴비의 수요 증가로(농림축산식품부, 특용작물 생산실적, 1984~2006). 퇴비생산의 생력화 방안으로 포클레인을 활용한 퇴비만 전문적으로 생산하는 농가가 생겨나는 등 많은 변화가 있었다(전등 2010; 강등, 2015). 이와 같은 변화과정에서 단위면적당 수확량은 '89년도 19.8kg/m²에서 '05년도 10.9kg/m²으로 감소되어 지금 현재에도 회복하지 못하여 수익성이 떨어지는 경향을 보이고 있다. 이와 같은 생산량의 감소 원인으로 그 중 1985년 이후 양송이 품종 육성의 부재에 따른 품종퇴화의 원인이 크게 작용한다고 판단하여 농촌진흥청 균이과를 중심으로 2010년 이후부터 국내 자생 양송이 계통과 외국 품종 간 단포자 교잡하여 '새아'를 시작으로 선발된 우수계통과 단포자를 교배한 '새정' (장등, 2012년)을 개발하였다. 그러나 Sylvan, Amycel 등 외국의 글로벌 종균회사로부터 개발된 A15 등이 국내종균시장을 대부분 차지하여 농가들에게 로열티가 부담이 되었으며, 시발품종(initial variety)의 품종 특이 마커와 60% 이상이 동일시 기본유래품종(EDV, Essentially Derived Varieties)에 의해 보호되어 국내육성 품종에 대한 외국품종과의 비교 분석이 요구되는 추세이므로 야생균주를 중심으로 새로운 국내 고유품종 육성이 절실한 상황이다.

이러한 고유품종 육성의 필요성이 있는 가운데, 양송이의 육종은 다른버섯에 비해 어려운 점이 많다. 우선 성양식을 보면 Secondary homothalism으로 포자내에 이미 두 개의 화합성 핵을 가지고 있으며, 육종의 모본이 될 수 있는 동핵균주는 약 5~10%로 적은 양을 확보할 수 있다. 또한, 다른 버섯과 달리 이핵균주에 클램프가 없어 이핵균주와 동핵균주를 분리하여 육종모본을 선발하는데 마커가 필수적으로 필요하다. 이에 양송이의 표현형은 단순하여 제한적인 형질로 품종을 개발하는 어려움이 있다.

따라서 본 과제를 통해 국내외 자원을 수집하여 특성평가 후 우수 모본을 선발하고, 2013년부터 2014까지(2년간) 동핵/이핵균주 분리마커를 개발하여 육종효율을 증진하고자 하였으며, 양송이의 유용형질을 개발하여 우수한 품종을 육성하고자 하였다. 품종육성 뿐만 아니라 국내 육성 신품종 안정적인 보급 증대를 위하여 농가실증 시험을 수행하면서 육성품종 보급률 향상에 효과적인 추진을 위하여 새로운 육성품종에 대하여 품질에 관련된 형태적 특성, 경도, 색깔 등과 생산성에 관련하여 개체중 및 생산성, 재배적 특성 등에 대한 기초자료 작성 및 업그레이드에 필요한 기본자료를 얻고자 2015년부터 2016년까지(2년간) 농가현장 시험을 수행하였다.

제 2절 연구성과 목표 대비 실적

본 과제는 1단계 4개년, 2단계 5개년으로 9개년동안 양송이의 육종효율증대를 통한 수입대체형 국산품종을 개발하고 품종보급을 통한 국산품종 보급률 50% 이상 달성 및 종균 수출액 20만 달러 수출을 목적으로 진행하였다. 현재까지 프로젝트는 1단계를 완료하였으며, 이에 세부과제별 목표와 그 실적을 알아보려고 한다.

우선 세부과제에서 보면 양송이 국내외 자원수집하고 그 자원을 특성평가한 뒤 우수한 균주를 선발하고 그 균주의 동핵균주를 모본으로 선발하여 교잡하여 계통을 육성하고자 하였다. 또한 주름버섯속 성양식 구명하고 우수선발계통의 생산력 검정 및 현장실증으로 최종적으로 우량계통을 선발하는 목표를 세웠다. 이에 1단계에서는 국내외 자원 총 67점을 수집하였고, 200여점의 보유자원 및 수집자원을 1·2차년도에 걸쳐 특성평가를 진행하였다. 이에 ASI 1007, 1225, 1246 3점을 우수자원으로 선발하고, 단포자를 100여점 이상 분리하여 각 균주의 동핵균주를 확보하여 ASI 1225와 ASI 1246의 동핵균주를 교잡한 교잡주 74점을 육성하였다. 이를 벗짚발효퇴비배지로 1·2차 생산력 검정을 하여 최종적으로 우량계통 3점을 선발하였다. 또한 백색양송이 ‘새한’, 성양식 관련 교배형유전자를 이용하여 갈색양송이 ‘호감’, 여름양송이 ‘하이’ 3품종을 개발하였다. 이는 현장실증 및 현장평가회를 통해 2개년부터 보급되어 국내육성보급률이 40%까지 증대되었다.

제 1위탁과제에서는 양송이 종간, 종내 및 품종의 유전자원확보 및 DNA 마커탐색하고, 양송이유전자원의 유전적 다양성 검출할 수 있는 DNA 마커 개발하고자 하였다. 이에 ISSR마커를 이용하여 종간 및 종내 또한 품종의 유전적 다양성을 확인 할 수 있었고, 동핵균주를 구분하는 SSR마커를 탐색하여 동핵균주 분리를 효율적으로 할 수 있는 기반을 마련하였다. 그러나 제 1위탁과제가 3개년 부터 프로젝트내에서 중단되어 실질적인 마커를 출원하고 등록할 수 없었다.

제 2위탁과제 1차년도에서는 육종기반 표준 균주의 선별하고 특성형질의 대변 특성을 파악하고자 하였다. 이에 육종을 위한 54개 선별 균주의 기반 정보를 창출하고 동핵체, 이핵체 균주의 생육 우수배지를 확인하였으며, 생화학적 방법으로 동핵균주와 이핵균주를 분리하는 방법을 개발하였다. 또한 균주내 7가지 세포외 분해효소 특성을 파악하였다. 2차년도에서는 선별균주 대상으로 염색체의 특성을 파악하고자 하였으며, 이에 동핵체, 이핵체 균주의 유전형 비교 정보를 획득하고 국내균주와 국외균주간의 유전적 유연관계 도출하였다. 또한 갈색품종과 백색품종의 유전체 발현 조사를 통해 유전자군의 차이와 scaffold 상 존재 위치를 파악하였다. 3차년도에서는 양송이 육종을 위한 형질분석 및 특성 평가를 진행하고자, 갈색품종과 백색품종간 세포외 효소별 활성차이 및 포자간 표면물질 차이를 확인하였으며, 갈색품종과 백색품종간 자실체 발생 단계에 따른 색 형질을 확인하였다. 4차년도에서는 3차년 결과에 기반한 염색체 및 발현체 정보를 바탕으로 색 형질 관련 가능성 유전자군을 선별하였고, 선별된 유전자군의 발현정도 와 유전자군의 산물인 단백질 발현정도에 대한 정보를 구축하였다.

3차년도부터 시작된 제 3위탁과제에서는 양송이의 신품종 보급을 위한 현장 적응성을 검토하기 위하여 수행한 시험으로 계획상으로는 국내 육성품종의 재배시범포를 3지역 운영하도록 계획하였으나 주산지역인 경주, 부여, 보령과 재배면적이 증가하고 있는 달성군 하빈지역과 용인, 아산지역에 재배시범포를 해년마다 5개 농가를 선정하여 계획보다는 2개 농가를 추가하여 시험을 수행하였다. 시험용 공시품종은 국내 육성품종 3~5품종과 대조품종으로 외국수입품종을 대조로하여 시험을 수행하였다. 주요조사내용으로는 재배 및 자실체 특성을 조사하여 지역별

및 수확주기별 특성을 평가하여 현장적응성 시험조성 및 지역 재배방법별 적합 품종 적용 효과
과를 검토하여 육성품종 농가적용시 우수성을 인정받을 수 있도록 지원하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내 기술 수준 및 시장 현황

양송이 품종개발과 보급은 1968년 처음으로 도입 품종 ‘양송이304호’를 육성하여 이듬해 보급하였으며, 이 품종은 미국 펜실베이니아주립대학 양송이연구소에서 분양 받아 재배시험을 거쳐 선발된 품종으로 양송이 생산을 안정화 시켰다. 1970년대에는 백색 품종 ‘양송이501호’ ‘양송이505호’, 갈색 품종 ‘양송이703호’가 육성되었고, 1980년대에는 마이코콘병에 강한 ‘양송이705호’ ‘양송이707호’가 육성되었다. 그러나 수입종균이 2-3배 비싼 가격으로 수입되어 농가부담이 커지면서, 2010년부터 국내 자생 양송이 계통과 외국품종간 교잡을 통하여 ‘새아’ 품종을 시작으로 ‘새정’, ‘새연’, ‘새도’, ‘설강’, ‘설원’, ‘다향’, 7품종과 GSP 1단계 과제로 백색양송이 ‘새한’ 뿐만 아니라 첫 갈색 교잡주 품종 ‘호감’, 여름양송이 첫 교잡주 품종 ‘하이’ 품종까지 3품종이 추가되어 현재까지 10품종이 개발되어 있다. 또한 국내육성품종을 확대하기 위하여 양송이 재배거점지역 충남 부여, 보령, 경북 대구·경주를 중심으로 농가실증사업 및 지역적응성시험을 진행하여 21.6% 국내보급률을 40%까지 증대시키는 효과를 가졌다. 2010년도에 4%의 보급률을 7년 만에 40%까지 끌어올리는 성과를 달성하여 국내품종시장에서 국내육성품종이 수입품종과 대등한 위치가 될 수 있는 기반을 만들었다.

품종개발과 함께 양송이 품종육성효율을 증진시키는 기술은 아직 RAPD로 동핵균주를 분리하는 수준에 지나지 않을 정도로 미흡하였으나, GSP 1단계를 통해 SSR마커 및 모세관전기영동법을 이용하여 동핵균주를 분리할 수 있게 되었다. 또한 유전체를 이용하여 갓색 등과 같은 양송이 형질을 특성평가하고 기반을 구축할 수 있는 연구가 진행되었다.

제 2절 국외 기술 수준 및 시장 현황

양송이 육종은 세계종균시장의 글로벌기업인 ‘Sylvan’ 회사가 선두적으로 진행하고 있으며, 유전분야연구는 네덜란드 와게닝겐대학에서 주로 이루어지고 있다. ‘Sylvan’ 회사는 현재 품종보호를 위한 유전체를 기반으로 마커개발에 중점적인 연구를 진행하고 있으며, 다양한 신품종(RWK1913, J10165, J9277)을 개발하고 특허 출원하였다. 국가적으로는 네덜란드에서는 고수량이며 저장성이 우수한 품종을 개발하기 위해 계통육성과 함께 집단 유전학 연구를 진행하고 있고, 미국에서는 형질전환을 이용한 분자육종방식으로 육성한 갈변저항성을 가진 형질전환 버섯이 미국 농무부에서 판매가 허가된 상태이다. 이에 우리나라는 2010년부터 시작하여 6년차로 양송이육종연구를 진행하고 있어, 아직 육종방법과 우량계통 육성이 미흡한 실정이다. 형질마커로 보면 차세대 유전체 해독기술(NGS)이 개발됨에 따라 독일에서는 양송이 Genome Sequencing이 완성되어 형질이 뛰어난 품종을 개발하기 위한 원천 정보를 획득하였고, 이에 프랑스에서는 QTL(Quantitative Trait Locus)를 지도화하여 양송이 갓색에 영향을 미치는 유전 요인들을 연구하고 있다. 전 세계의 양송이를 포함한 버섯연구에서 기본적으로 형질을 구분하기 위해 AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR(Simple Sequence Repeat), CAPS(Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) 등 마커들이 쓰이고 있으며, 국내에서는 유전체에서 갓색 형질마커를 개발하고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 수입대체형 양송이 품종 개발

1. 1·2차년도 연구개발 성과

1) 국내외 양송이 자원 수집

국내 고유 품종을 육성하기 위해 자원을 확보하기 위해 인천대 및 농업과학원에서 국내외에서 수집한 양송이균주를 1차년에는 43점, 2차년에는 12점 분양받았고, 등록하였다. 각 수집한 자원은 CDA(compost dextrose agar)에서 24℃, 3주 동안 배양하고, 벗짚발효퇴비배지로 16℃, 85% 에서 상자 재배한 결과 균사배양과 재배가 가능한 균주는 55점 중 13점으로 확인하였다 (표 1).

표 1. 1·2차년도 신규 등록한 수집 균주의 리스트 및 특성 조사

NO	ASI	분양시 종속명	ITS 분석 후 종속명	갓색	인편유무	다발성 유무	품종명	주요특성	년도	수집국	재배유무
1	ASI1354	Agaricus bisporu	Grifola frondosa					인천대 1123	2014	Korea	무
2	ASI1355	Agaricus bisporu						인천대 1379	2014	China	무(균사배양 안됨)
3	ASI1356	Agaricus bisporu						인천대 3784	2014	Germany	무(균사배양 안됨)
4	ASI1357	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					인천대 4688	2014	Belgium	무
5	ASI1358	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	진갈색	유	무		인천대 4689	2014	Belgium	유
6	ASI1359	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	유	무		인천대 4721	2014	China	유
7	ASI1360	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	크림	무	무		인천대 4729	2014	China	유
8	ASI1361	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	유	유		인천대 5187	2014	Cambodia	유
9	ASI1362	Agaricus sp.	Agaricus sp.					NAAS 02207	2014	Korea	무
10	ASI1363	Agaricus sp.						NAAS 02351	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
11	ASI1364	Agaricus sp.						NAAS 02998	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
12	ASI1365	Agaricus sp.						NAAS 03063	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
13	ASI1366	Agaricus bisporu						NAAS 03225	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
14	ASI1367	Agaricus sp.						NAAS 03337	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
15	ASI1368	Agaricus sp.						NAAS 03575	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
16	ASI1369	Agaricus sp.						NAAS 03629	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
17	ASI1370	Agaricus sp.	Agaricus sp.					NAAS 03727	2014	Korea	무
18	ASI1371	Agaricus sp.	Agaricus sp.					NAAS 03757	2014	Korea	무
19	ASI1373	Agaricus bisporu	Simplicillium lamellicola					NAAS 03846	2014	Korea	무
20	ASI1374	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					NAAS 03848	2014	Korea	무
21	ASI1375	Agaricus bisporu						NAAS 03849	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
22	ASI1376	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					NAAS 03850	2014	Korea	무
23	ASI1377	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	무	유		NAAS 03852	2014	Korea	유
24	ASI1378	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					NAAS 03853	2014	Korea	무
25	ASI1379	Agaricus bisporu						NAAS 03854	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
26	ASI1380	Agaricus bitorqui	Agaricus bitorquis					NAAS 03855	2014	Korea	무
27	ASI1381	Agaricus sp.						NAAS 03873	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
28	ASI1382	Agaricus sp.						NAAS 03874	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
29	ASI1383	Agaricus sp.	Agaricus bisporus					NAAS 03875	2014	Korea	무
30	ASI1384	Agaricus sp.						NAAS 05183	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
31	ASI1385	Agaricus sp.						NAAS 05311	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
32	ASI1386	Agaricus sp.						NAAS 05346	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
33	ASI1387	Agaricus sp.	Paecilomyces sp.					NAAS 05656	2014	Korea	무
34	ASI1388	Agaricus sp.						NAAS 06146	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
35	ASI1389	Agaricus campestris						NAAS 06175	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
36	ASI1390	Agaricus bisporu						NAAS 06202	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
37	ASI1391	Agaricus sp.	Schizophyllum commune					NAAS 06206	2014	Korea	무
38	ASI1392	Agaricus sp.						NAAS 06278	2014	Korea	무(균사배양 안됨)
39	ASI1393	Agaricus sp.	Isaria fumosoroides					NAAS 06499	2014	Korea	무
40	ASI1394	Agaricus sp.	Agaricus campestris					NAAS 06537	2014	Korea	무
41	ASI1395	Agaricus bisporu	Agaricus cf. tenuivolvatus					NAAS 06664	2014	Korea	무
42	ASI1396	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	갈색	무	무	다할		2013	Korea	유
43	ASI1397	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	크림색	유	유		IUM1442, 갓	2014	China(Beiji)	유
44	ASI1398	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					IUM4399	2014	Bangladesh	무
45	ASI1399	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	유	유		IUM4984, 대	2014	China(Beiji)	유
46	ASI1400	Isaria farinosa	Isaria farinosa					IUM4986	2014	Japan	무
47	ASI1401	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	무	무		KACC41278	2014		유
48	ASI1402	Agaricus bisporu	Ganoderma mirabile					KACC41281	2014		무
49	ASI1403	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					KACC42741	2014	Korea	무
50	ASI1404	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색/갈색	무	무		KACC42742	2014	Korea	유
51	ASI1405	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					KACC42743	2014	Korea	무
52	ASI1406	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	무	무		KACC51337	2014	Korea	유
53	ASI1407	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	무	유		KACC51338	2014	Korea	유
54	ASI1408	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus	백색	유	무		KACC51338	2014	Korea	유
55	ASI1409	Agaricus bisporu	Agaricus bisporus					KACC52905	2014	Korea	무(균사배양 안됨)

2) 수집균주와 보유균주의 특성 평가

(1) ITS 계통분석을 이용한 수집균주의 분자생물학적 분류

양송이를 포함한 주름버섯의 분자생물학적 분류를 위해 SSU(small subunit)과 LSU (large subunit) rDNA의 ITS 부분을 분석하였다. 각 233점의 균사체를 확보하고 추출된 DNA는 ITS 1-2 부분을 증폭하기 위해 ITS 1과 ITS 4(primer ITS 1: 5' -TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3' , ITS 4: 5' -TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 두 프라이머를 이용하여 유전자증폭기(The PerkinElmer Corp, USA/9600)로 PCR 하였다. PCR로 증폭된 밴드의 염기서열은 분석되었다. PCR 증폭 조건은 94°C 5분, 94°C 1분, 54°C 1분, 72°C 2분, 72°C 10분 후 4°C 휴지 조건으로 35cycle을 수행하였다. 증폭여부를 확인하기 위해 100 V에서 40분 동안 전기영동을 하였다(agarose gel 2%, saft gel stran(Inclone™) 5μl첨가, TAE buffer 1X, Marker: 1Kbp). 전기영동 후 밴드확인을 위해 미리 첨가한 염색약이 반응할 수 있는 UV조건 하에서 영상장치(SeouLin Bioscience, SL-6)를 이용했다. 밴드 확인 후 PCR 산물을 마크로젠에 의뢰하여 염기서열 분석 서비스를 이용하여 데이터를 획득 하였다. 각 염기서열은 NCBI blast 프로그램으로 분석하고, 계통수를 그리기 위해 Bio edit 프로그램의 ClustalW Multiple alignment로 정렬하여 Mega6 프로그램으로 Neighbor-Joining tree을 그렸다. 그 결과로 233점 중 38점의 종명이 다르게 나타났다. 종명이 미확인된 16점은 14점은 *A. bisporus*, 2점은 *A. campestris*로 확인되었다. *A. silvicola*는 *A. bitorquis*로 *A. bisporus*는 *A. bitorquis*, *A. californicus*, *A.campestris*, *A.sp*로 확인되었다. 또한 *A. sp*에서 9점이 *A. bisporus*로 나타났다(Table 2). 분석된 주름버섯의 염기서열로 계통수를 살펴본 결과 전체적으로 4개의 그룹으로 나누어지며, 양송이(*A. bisporus*)와 여름양송이(*A. bitorquis*)가 group A에서 가까운 유연관계를 보였고, 주름버섯(*A. campestris*)는 group C에서 가까운 유연관계를 보였다. 양송이 중 내에도 차이를 보이는 것이 있었으며, 특히 ASI 1045, 1050, 1403은 먼 유연관계를 보였고, 수집된 국가별 및 양송이내 갓 색에 따른 유연관계를 살펴본 결과, 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 또한, 품종 내에서는 국내 육성품종 ‘새아’, ‘새정’ 등과 외래품종 모두 A그룹에 속하였다(오 등., 2015, 그림 1).

표 2. ITS 분석 후 다른 종으로 분류된 균주 리스트

ASI 번호	분석 전 증명	분석 후 증명
ASI1007	<i>A. bisporus</i>	<i>A.campestris</i>
ASI1014	<i>A. bisporus</i>	<i>A. sp</i>
ASI1035	<i>A. bisporus</i>	<i>A. sp</i>
ASI1107	<i>A. bisporus</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1172	<i>A. campestris</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1193	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1194	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1226	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1227	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1228	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1246	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1247	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1248	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1249	<i>A. sp.</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1319	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1321	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1322	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1323	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1324	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1326	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1327	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1328	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1329	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1330	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1331	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1336	<i>Agaricus</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1349	<i>A. bitorquis</i>	<i>A. bisporus</i>
ASI1109	<i>A. edulis</i>	<i>A. sp.</i>
ASI1231	<i>A. bisporus</i>	<i>A. californicus</i>
ASI1241	<i>A. rodmanii</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1250	<i>A. blazei</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1258	<i>A. luteomaculatus</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1263	<i>A. silvicola</i>	<i>A. bitorquis</i>
ASI1332	<i>Agaricus</i>	<i>A. biporus</i>
ASI1340	<i>Agaricus</i>	<i>A. cf. tenuivolvatusmpestris</i>
ASI1341	<i>Agaricus</i>	<i>A. biporus</i>
ASI1342	<i>Agaricus</i>	<i>A. cf tenuivolvatusmpestris</i>
ASI1395	<i>A. bisporus</i>	<i>A. cf tenuivolvatusmpestris</i>

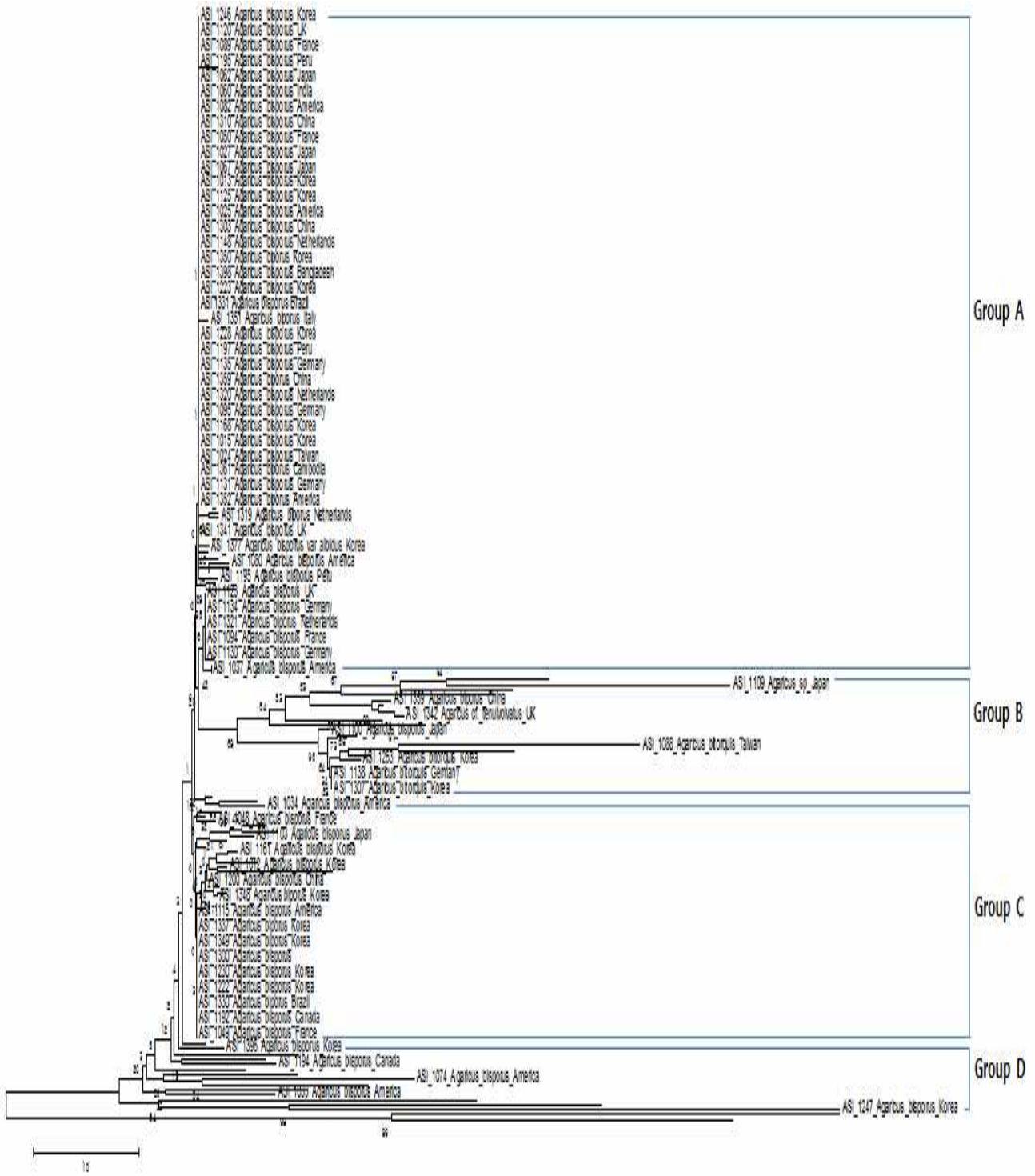


그림 1. 양송이를 포함한 233점 주름버섯류의 ITS 염기서열을 기초로 한 계통수(간략도)

(2) 양송이 유전체 염기서열로 부터 ISSR marker개발 및 종속간의 유전적 다양성 검출

본 시험에서 사용된 양송이 균주는 Table 1과 같이 국내외에서 수집한 *A. bisporus* 계통 45 균주와 *Agaricus* 속의 *A. abruptibulbus*, *A. arvensis*, *A. augustus*, *A. bisporus* var *avellaneus*, *A. bitorquis*, *A. fiardii*, *A. marginell*, *A. placomyces*, *A. potobella*, *A. rodmanii*, *A. silvicola*, *A. subperonatus*, *A. subrutilescens* 등 총 64균주를 사용하였다(표 3).

표 3. 사용된 양송이균주 45점을 포함한 주름버섯균주 리스트

NO	Strains	Characteristics	Date of entry	Origin
<i>Agaricus bisporus</i> cultivars				
1	ASI1038	Brown	1968	USA
2	ASI1164	Brown	1994	Germany
3	ASI1337	Cultivar, Saea	2010	Korea
4	ASI1338	Cultivar, Saejeong	2011	Korea
5	ASI1346	737	2009	Korea
6	ASI1347	Cultivar, Saeyeon(B429)	2012	Korea
7	ASI1348	Cultivar, Saedo(B397)	2012	Korea
8	ASI1001	White	1966	Korea
9	ASI1018	White	1966	Korea
10	ASI1019	White	1966	Korea
11	ASI1021	White	1966	Korea
12	ASI1022	White	1966	Korea
13	ASI1031	White, 304	1967	USA
14	ASI1032	Cream	1967	USA
15	ASI1035	White	1968	USA
16	ASI1037	White	1968	USA
17	ASI1040	Brown	1968	USA
18	ASI1041	Brown	1968	USA
19	ASI1043	White	1969	Taiwan
20	ASI1045	White	1969	Japan
21	ASI1047	White	1969	Japan
22	ASI1048	White	1969	France
23	ASI1049	White	1969	France
24	ASI1054	White	1969	France
25	ASI1060	White	1973	India
26	ASI1064	White	1973	Japan
27	ASI1072	White	1978	Denmark
28	ASI1074	Cream, 705	1978	USA
29	ASI1085	White	1979	Canada
30	ASI1091	White	1979	Netherland
31	ASI1092	White	1979	British
32	ASI1096	White	1979	Swiss
33	ASI1115	White	1963	USA
34	ASI1118	Unkown	1984	British
35	ASI1119	Unkown	1984	British
36	ASI1124	Unkown	1985	Korea
37	ASI1133	Unkown	1988	Germany
38	ASI1147	Dark Brown	1988	Korea
39	ASI1179	Unkown	1996	China
40	ASI1195	Unkown	1999	Peru
41	ASI1198	Unkown	2000	China
42	ASI1199	Unkown	2000	China
43	ASI1216	Unkown	2002	Korea
44	ASI1229	Unkown	2004	Korea, KACC41274
45	ASI1230	Unkown	2004	Korea, KACC41275
46	ASI1237	<i>A. bisporus</i> var. <i>avellaneus</i>	2004	Korea, KACC 41282
47	ASI34006	<i>A. placomyces</i>	1986	USA
48	ASI1272	<i>A. silvicola</i>	1986	USA
49	ASI34015	<i>A. adrupatubus</i>	1988	USA
50	ASI34016	<i>A. arvensis</i>	1986	USA
51	ASI34002	<i>A. augustus</i>	1986	USA
52	ASI1151	<i>A. bitorquis</i> , White	1989	Korea
53	ASI1138	<i>A. bitorquis</i> , White	1988	Germany
54	ASI1256	<i>A. bardsii</i>	2005	Korea, KACC41796
55	ASI34017	<i>A. marginell</i>	1986	USA
56	ASI1175	<i>A. potobella</i>	1996	USA
57	ASI1241	<i>A. rodmanii</i>	2004	Korea
58	ASI1193	<i>Agaricus</i> sp.	1994	Canada
59	ASI1247	<i>Agaricus</i> sp. Agro 100	2005	Korea
60	ASI1248	<i>Agaricus</i> sp. Agro 103	2005	Korea
61	ASI1264	<i>A. sutperonatus</i>	2005	Korea, KACC41805
62	ASI1277	<i>A. sutperonatus</i>	1986	USA
63	ASI1281	<i>A. sutperonatus</i>	1988	Korea
64	ASI34014	<i>A. subrutilescens</i>	1990	Korea

■ *Agaricus bisporus*

■ *Agaricus* spp.

양송이 퇴비 추출 배지에서 15일 배양한 *A. bisporus* 종내의 형태적 특징을 비교하여 *A. bisporus*은 유사한 배양적 특성을 보여 균사체의 형태적 관찰에 의한 양송이 종간 구분은 한계가 있는 것으로 나타났으며 DNA 마커에 의한 양송이 종내의 유전적 다양성을 수행하는 것이 유효한 것으로 사료되었다(그림 2).

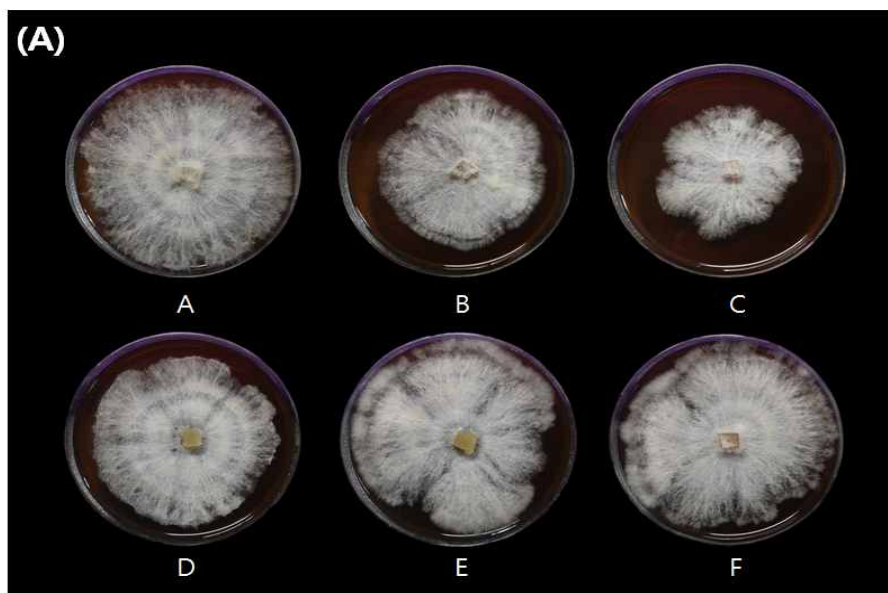


그림 2. 양송이 균주의 형태적인 특징. A: ASI 1038 (USA), B: ASI 1164 (German), C: ASI 1337 (Korea, Saea), D: ASI 1338 (Korea, Saejeong), E: ASI 1346 (Korea), F: ASI 1347 (Korea, Saeyeon).

DNA다형성검출을 위해 양송이 유전체 염기서열로부터 고안 제작한 ISSR primer 중에서 (GA)₈T, (AG)₈YC, (GA)₈C,(CTC)₆의 염기서열을 구성하는 ISSR primer를 사용하였다(Nazrul and Yin-Bing., 2010). *A. bisporus* 45점으로부터 genomic DNA를 추출하고 Inter-simple sequence repeat(ISSR) primer를 사용하여 PCR 다형성 분석을 실시하였다. 7종류의 ISSR primer를 양송이 균주를 분석한 결과, 4종류의 HKNP3, HKNP22, HKNP30, HKNP38 primer는 *A. bisporus*의 종 내에서 5개에서 10개의 PCR 다형성 밴드가 관찰되었고, HKNP22 primer는 polymorphism 55%로 매우 유용한 primer로 사료되었다(표 4).

표 4. 사용된 ISSR 마커 종류 및 염기서열 정보

Primers	Sequence (5'-3')	Polymorphism at interspecies level
HKNP3	(GA) ₈ T	Yes
HKNP8	(CT) ₈ AGA	NO
HKNP22	(AG) ₈ YC	Yes
HKNP30	(GA) ₈ C	Yes
HKNP31	(CT) ₈ RG	NO
HKNP38	(CTC) ₆	Yes
HKNP39	(CAAGG) ₃	NO

45균주의 *A. bisporus* 균주는 국내에서 2010년에서 2012년 사이에 개발된 ‘새아(ASII337)’, ‘새정(ASII338)’, ‘새연(ASII347)’, ‘새도(ASII348)’를 포함한 13품종, 미국, 일본, 중국 유럽 지역으로부터 수집된 자원을 포함하고 있다. HKNP22 primer는 양송이 종간 가장 다양한 다형성 밴드를 생산하였다. HKNP22-PCR 결과에서 최근에 개발된 국내 품종인 ‘새아’, ‘새정’, ‘새연’, ‘새도’는 유사한 PCR 다형성을 보였으나 다른 양송이 균주와는 구분되는 PCR 특성을 보였다 (그림. 3). 그 외의 국내 품종 ASII1018, ASII1019, ASII1021는 다른 미국, 유럽으로 도입된 품종 ASII1032, ASII1043, ASII1049, ASII1054, ASII1074, ASII1085 과 유사한 PCR 다형성 양상을 보여 1960년 중 후반부터 미국 유럽지역으로 양송이 균주가 도입되었던 시점과 일치하여 균주 간 유사성에 의하여 나타난 결과로 추정된다. 그 다른 *Agaricus* 종과 *A. bisporus* 계통 간에 PCR 다형성 비교에서 *A. avellaneus*와 *Agaricus* sp. Agro 100, Agro 103인 국내 균주 ASII237, ASII247, ASII248은 *A. bisporus*와 유사한 PCR 다형성이 관찰되었으나 다른 *Agaricus* 종과는 뚜렷한 차이를 보였다. 특히, *A. abruptibulbus*와 *A. augustus*는 모든 ISSR primer에서 같은 PCR 다형성이 관찰되어 동일한 종으로 사료 되었다.

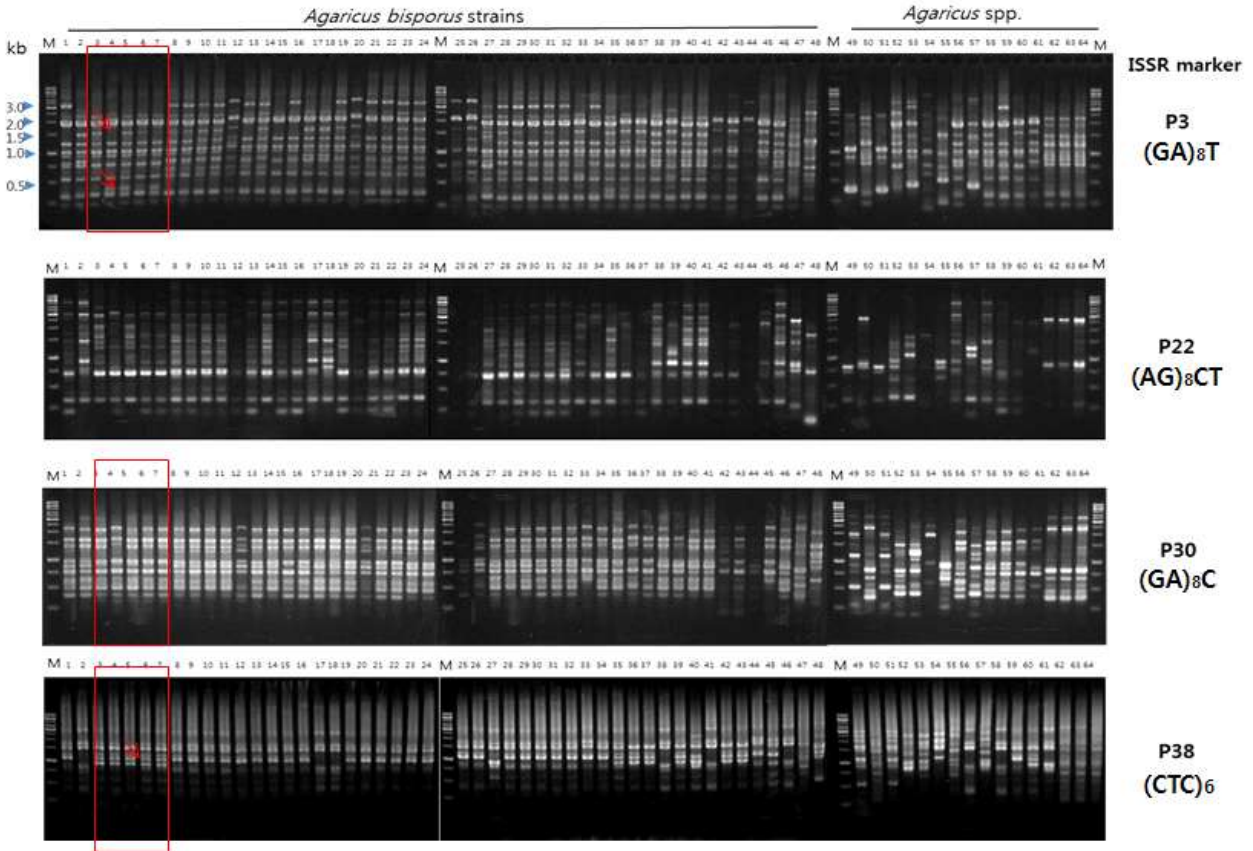


그림 3. ISSR 마커로 증폭된 45개 양송이와 19개 주름버섯 균주

46균주의 *A. bisporus* 계통의 ISSR-PCR 다형성 밴드를 근거로 밴드 유무에 따라 NTSYS-pc의 UPGMA program으로 dendrogram을 작성하였다 (그림. 4). 그 결과 양송이 종내는 6개 그룹으로 분류할 수 있었으며 국내에서 2010년에서 2012년 사이에 개발된 ‘새아(ASI1337)’, ‘새정(ASI1338)’, ‘새연(ASI1347)’, ‘새도(ASI1348)’ 등 국내에서 개발된 품종은 그룹 E에 포함하고 있어 유전적으로 매우 근연관계에 있는 것으로 나타났다.

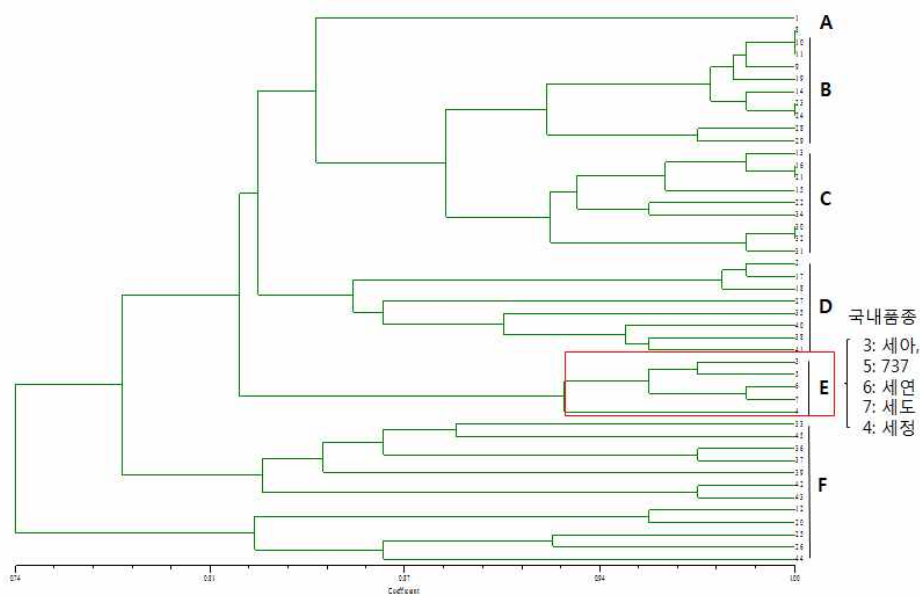


그림 4. 45점의 양송이균주의 ISSR-PCR 다형성을 기반으로 한 유연관계

(3) 양송이 균사체 및 자실체 형태적 특성 조사

우선 수집균주 233점을 CDA배지에 2주 동안 24℃ 배양하여 균사체의 형태적 특성과 균사 생장조사를 진행하였다. 그 결과 형태는 그림 2와 같이 다양한 균총을 보였으나, 앞에서 이야기 한 것처럼 종 내 특성을 구분하기 어려웠고, 균사 생장은 ASI1045, 1173, 1336이 특이적으로 생장이 빠른 것을 볼 수 있었다(그림 5). 수집된 주름버섯류의 233점의 자실체 특성을 보기 위해 퇴비배지에 2차례 재배를 하였다. 1차 재배는 (1-2월 종균제조, 3월 수확), 2차 재배는 (5-6월 종균제조, 7월 수확)를 진행하였다. 1차 재배는 146균주가 재배되었고, 2차 재배는 167균주가 재배되었다. 총 233점 중 185점이 재배되었으며 이중 백색양송이는 131점, 갈색양송이는 38점, 그 밖의 비백색양송이 9점이고, 여름양송이는 5점, 주름버섯은 1점이었다.

수확량 면에서 보면, 버섯 종류별로 1차 재배시 기타 주름버섯류(*A. sp*)가 대체적으로 1323.13(g/상자)로 수확량이 많았고, 2차 재배시 주름버섯의 수확량이 2018.91(g/상자)로 많았다. 양송이에서는 1차 재배에는 비백색양송이가 많이 수확되었고, 2차 재배에는 백색양송이가 많았다. 개체중은 두 재배 모두 여름양송이가 가장 컸다(1차 재배 85.34(g/fruiting body); 2차재배 36.80(g/fruiting body)). 형태적으로는 자실체의 갓의 크기는 차이가 없었으며, 갓의 길이는 여름양송이가 다른 주름버섯보다 1차 재배에는 평균보다 1.47mm 길었으며, 2차 재배에는 짧았다. 양송이의 갓의 길이는 1차에는 갈색양송이가 길고, 2차 재배에는 비백색이 평균보다 0.84mm 길었다. 대의 길이는 1차에 여름양송이가 평균보다 3.42mm 길었고, 2차 재배에는 양송이가 길었다. 경도는 주름버섯이 5.33(갓), 6.18(대)로 단단하였고, 양송이에서는 1차는 비백색양송이, 2차에는 갈색양송이가 5.34(갓), 5.06(대)로 단단하였다. 색도에 대해서 알아보면, 1차에는 주름버섯이 2차 재배에는 백색양송이가 가장 백색을 띄었다. 갈색양송이는 1차에는 노란빛을 2차 재배에는 적색을 더 많이 띄었다. 초발이 소요일수는 전체적으로 16.04일로 1차 재배보다 9.36일 빨랐으며, 1차에는 여름양송이가 느렸고, 2차 재배에는 여름양송이가 빨랐다(표 5. 6.). 이 결과로 주름버섯류 수집균주의 재배의 유무를 알 수 있었고, 버섯 종류와 시기에 따른 수확량 및 자실체의 특성을 비교를 통해 주름버섯이 2차 재배시 수확량 및 경도에서 우수한 특성을 보이며, 양송이 중에는 비백색양송이가 단단하다는 것을 알 수 있었다. 또한, 여름양송이의 초발이 소요일수와 갈색양송이의 갓 색의 결과로 외부환경에 따라 발이와 색이 영향을 받는다는 것을 보여주었다(오 등., 2015).

또한, 1·2차 재배 시 재배가 안되었던 균주들을 추가하여 3차로 재배를 진행하였다. 재배가 가능한 균주 리스트는 표 7과 같다.

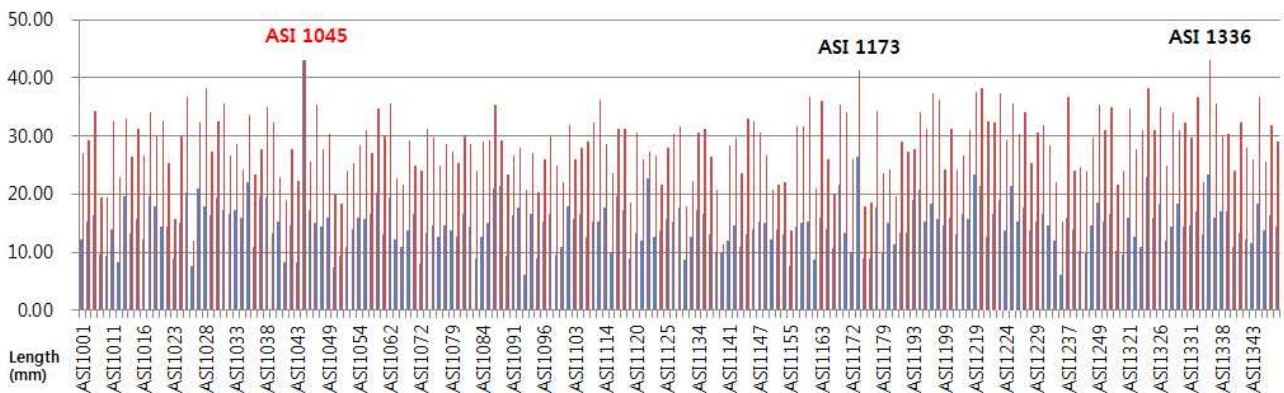


그림5. 수집균주 233점의 균사 생장 조사

표 5. 계절에 따른 주름버섯류의 형태적 특징(A: 1-3월재배, B: 5-7월)

(A)

Species	NF	YE	M W	DP	TP	SS	LS	HP	HS	LP	aP	bP	LS	aS	bS	E
<i>Agaricus bisporus</i>	38. 35	985 .22	26. 93	46. 66	25. 94	18. 79	32. 69	1.7 5	3.9 3	83. 33	-2. 03	24. 85	84. 24	-4. 94	14. 12	25. 41
<i>Agaricus bitorquis</i>	31. 5	885 .64	85. 34	48. 14	28. 5	18. 268	36. 18	1.4 3	1.6 6	85. 03	-2. 19	15. 66	83. 95	-3. 76	14. 33	26. 5
<i>Agaricus campestris</i>	9	410 .17	45. 57	-	-	19. 22	34. 50	-	-	93. 04	-5. 68	11. 42	85. 32	-4. 72	12. 54	24
<i>Agaricus sp.</i>	45	132 3.1 3	29. 40	46. 97	25. 75	15. 84	34. 21	1.4 4	1.0 3	90. 03	-4. 59	14. 23	85. 47	-4. 98	14. 61	24
Mean	38	982 .23	27. 88	46. 67	25. 96	18. 76	32. 76	1.7 4	3.8 9	83. 46	-2. 08	24. 60	84. 25	-4. 93	14. 11	25. 40

(B)

Species	NF	YE	M W	DP	TP	SS	LS	HP	HS	LP	aP	bP	LS	aS	bS	E
<i>Agaricus bisporus</i>	62. 96	129 7.3 2	21. 24	45. 43	24. 27	17. 27	28. 51	5.0 8	4.4 2	84. 12	0.6 0	13. 15	79. 17	2.7 4	15. 92	16. 05
<i>Agaricus bitorquis</i>	12. 20	439 .20	36. 80	45. 25	22. 50	22. 25	22. 25	5.0 0	5.2 5	88. 25	-1. 00	12. 25	81. 50	1.0 0	14. 50	15. 00
<i>Agaricus campestris</i>	87	201 8.9 1	23. 21	46. 89	22. 75	17. 89	26. 33	5.3 3	6.1 8	87. 55	-0. 36	12. 93	82. 47	0.7 9	14. 50	15
<i>Agaricus sp.</i>	63	133 6	21. 21	44	22	14	27	5	4	89	-1	12	78	1	15	16
Mean	61. 59	127 6.1 9	21. 70	45. 38	24. 06	17. 39	28. 13	5.0 6	4.4 2	84. 34	0.5 4	13. 10	79. 26	2.6 6	15. 82	16. 04

표 6. 갓 색에 따른 양송이의 형태적 특징(A: 1-3월재배, B: 5-7월)

(A)

color	NF	YE	MW	DP	TP	SS	LS	HP	HS	LP	aP	bP	LS	aS	bS	E
white	37.8 4	966. 37	26.5 0	46.5 6	26.0 7	18.7 5	32.8 1	1.74	4.59	85.1 1	-2.6 6	15.9 3	84.3 5	-5.3 0	14.0 7	25.9 6
brown	37.7 3	102 0.43	29.1 4	47.1 5	25.5 1	18.7 7	32.4 0	1.70	1.97	77.7 1	-0.0 7	55.3 4	84.0 1	-3.9 3	14.2 2	23.6 7
off-white	56.7 5	123 0.10	22.0 0	45.1 6	25.8 8	20.0 7	31.3 2	2.21	2.46	79.7 8	-0.4 7	18.4 9	82.8 1	-3.1 3	14.7 6	23.5 0

(B)

color	NF	YE	MW	DP	TP	SS	LS	HP	HS	LP	aP	bP	LS	aS	bS	E
white	63.3 5	131 0.49	21.3 5	45.4 2	24.6 0	16.2 1	29.7 4	4.92	4.22	89.8 1	-1.3 7	10.7 9	79.0 4	1.24	16.0 9	16.5 3
Brown	61.8 3	125 2.77	20.4 8	45.2 8	22.9 4	20.9 5	25.9 0	5.34	5.06	64.9 1	7.15	20.7 9	79.7 5	8.02	15.4 4	13.5 5
off-white	61.3 3	126 2.28	22.1 4	46.2 5	25.3 3	16.4 1	22.1 7	6.28	4.98	86.0 9	0.38	14.1 5	78.4 0	1.17	15.4 1	18.2 5

* 표의 code 부가 설명(Foulongne-Oriol., 2012)

Trait	Unit	Definition	Code
Number of fruiting bodies		Number of mushroom per surface unit – cumulative data for all cropping period	NF
Yield	g/box	cumulative data for the all cropping period	YE
Mushroom Weight	g	Average weight of mushroom(g/mushroom)	MW
Diameter of Pileus	mm	ref. fig 1	DP
Thick of Pileus	mm	ref. fig 1	TP
Thick of Stipe	mm	ref. fig 1	SS
Length of Stipe	mm	ref. fig 1	LS
Hardness of Pileus	(kg/∅5mm)	investigated from Texture Analyser	HP
Hardness of Stipe	(kg/∅5mm)	investigated from Texture Analyser	HS
		<i>L</i> * coordinate from the Hunter color system	
Lightness		- average of cumulative data for the all cropping period in pileus of mushroom	LP
		- average of cumulative data for the all cropping period in stipe of mushroom	LS
		<i>a</i> * coordinate from the Hunter color system	
Green-red chromaticity component		- average of cumulative data for the all cropping period in pileus of mushroom	aP
		- average of cumulative data for the all cropping period in stipe of mushroom	aS
		<i>b</i> * coordinate from the Hunter color system	
Blue-yellow chromaticity component		- average of cumulative data for the all cropping period in pileus of mushroom	bP
		- average of cumulative data for the all cropping period in stipe of mushroom	bS
Earliness	day	Time (in days) from casing until harvest of the frist fruiting bodies	E

표 7. 1·2·3차 재배를 통해 재배 가능한 균주

Scientific name	color of cap	Geographical origins	Strain no. (ASI)	
Agaricus bisporus	white	America	1025, 1029, 1030, 1031, 1032, 1033, 1036, 1037, 1038, 1074, 1076, 1079, 1081, 1082, 1083, 1084, 1097, 1113, 1114, 1115, 1116, 1183, 1352	
		Australia	1324	
		Brazil	1329	
		Cambodia	1361	
		Canada	1085, 1149, 1150	
		China	1179, 1199, 1200, 1359, 1399	
		France	1048, 1054, 1089, 1094	
		Germany	1095, 1030, 1099, 1129, 1131, 1133, 1134, 1135, 1136, 1139, 1142, 1143	
		India	1060, 1158	
		Italy	1351	
		Japan	1027, 1046, 1062, 1064, 1071, 1102, 1104, 1155, 1156, 1163, 1176	
		Korea	1001, 1003, 1004, 1011, 1012, 1013, 1015, 1016, 1018, 1019, 1021, 1022, 1057, 1124, 1125, 1161, 1168, 1169, 1190, 1216, 1219, 1220, 1221, 1222, 1224, 1225, 1226, 1232, 1235, 1246, 1247, 1248, 1249, 1306, 1337, 1338, 1345, 1346, 1347, 1348, 1350, 1353, 1377, 1406, 1407, 1408	
			Netherlands	1091, 1148, 1173, 1319, 1321
			New Zealand	1326, 1327
			Peru	1197
			Slovenia	1313
			Switzerland	1096
			Taiwan	1024, 1028, 1043, 1055, 1056, 1087
			UK	1042, 1092, 1118, 1119, 1120, 1121, 1222, 1223
			-	1298, 1300, 1302, 1401
			America	1034, 1078
		off-white	China	1310, 1360, 1397
			France	1049
			Japan	1047, 1067
			Vietnam	1339
			America	1039, 1040, 1041, 1175
			Belgium	1358
Brazil	1330, 1331, 1336			
Canada	1086, 1159, 1191, 1192, 1193, 1194			
China	1198			
France	1051, 1052, 1053			
brown	Germany	1128, 1141, 1144, 1164		
	Japan	1103, 1167, 1177		
	Korea	1147, 1153, 1217, 1218, 1223, 1227, 1228		
	Netherlands	1320, 1322		
	New Zealand	1323, 1328		
	Peru	1195		
	-	1404		
	France	1107		
	Germany	1138		
	Korea	1151, 1308,		
Netherlands	1105			
Agaricus bitorquis	white			
Agaricus campestris	white	Korea	1007	
Agaricus sp.	white	America	1035	

3) Simple sequence repeat (SSR)마커를 이용한 국내 자원의 육종 모본 선발

(1) 국내 우수자원의 단포자 분리

양송이 수집균주 194점의 균사체 배양과 170점의 1·2차 벗짚발효배지 상자재배를 진행한 후 그 중에서 균사 생장과 수확량 그리고 자실체의 형태를 조사하여 우수한 국내수집균주 ASI 1007, 1225, 1246 3점을 선발하였다(표 8, 그림 6). 선발된 3점의 균주에서 포자를 수집하고 CDA배지에 도말하고 2주간 배양하여 단포자수를 ASI 1007은 112점, ASI 1225는 120점, ASI 1246은 120점 분리하였다.

표 8. 선발된 우수 균주의 자실체 특성

재배시기	균주번호	개체수 (EA)	무게(g)	개체중	갓		대		경도		색도			수확기간	수집국			
					직경	두께	두께	길이	갓	대	a	b	c					
1차재배 (3월)	1007	9	410.17	45.57							93.04	-5.68	11.42	85.32	-4.72	12.54	24	한국
	1225	30	1270.73	42.36	48.02	31.50	19.96	29.80	1.47	1.20	60.51	6.41	25.87	86.59	-4.30	13.75	25	한국
	1246	17	620.33	36.49	57.74	30.00	17.37	32.50	1.29	2.00							25	한국
2차재배 (7월)	1007	87	2019	23	47	23	18	26	5	6	88	0	13	82	1	15	21	한국
	1225	69	1585	23	47	25	17	25	5	5	92	-1	9	83	0	14	21	한국
	1246	51	1185	23	47	27	16	26	4	4	92	-1	11	83	0	16	23	한국



ASI 1007



ASI 1225



ASI 1246

그림 6. 선발된 우수 균주의 자실체 모습

(2) Simple sequence repeat (SSR)마커를 이용한 동핵 및 이핵균주 간의 분리 마커 개발

미국품종 (ASI1038)과 농촌진흥청에서 개발된 양송이 품종 새아(A1337) 모균주(동핵균주 S1038-297, S737-26)와 새정(A1338)의 모균주 (단핵균주 S737-110)를 사용하였다(그림 7).

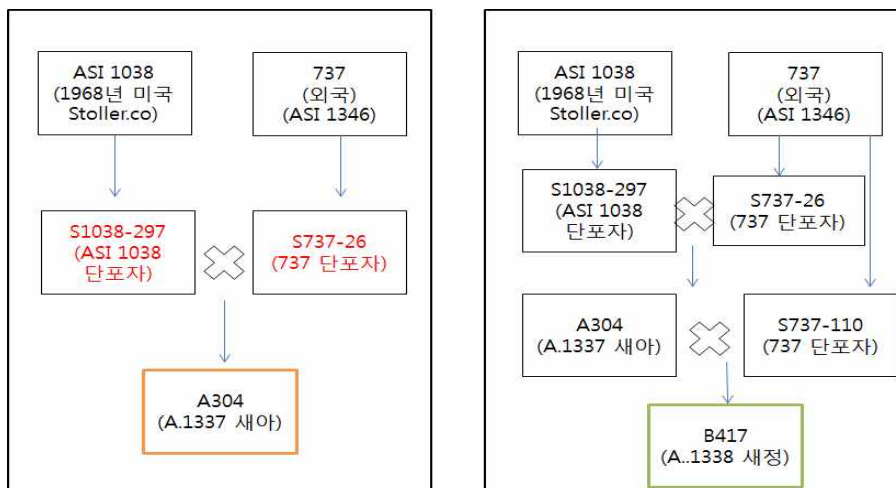


그림 7. 양송이 품종 육성 계통도

본 연구에 25종류의 SSR 마커 (표 9)가 양송이 교배조합간의 유전형 판별 탐색에 이용 되었다 (Foulongne-Oriol., 2009).

표 9. 이 연구에서 사용된 SSR 마커 염기서열

	Locus	SSR motif	Primer sequence (5'-3')
1	AbSSR02		F-CGGATCTGTTGAGAAAGACG
			R-CGACAACGACACCAACAATA
2	AbSSR03	(TG)5	F-TCATTTGGTACTGGGCATGT
			R-CAACAAAAAGCGAAAGCAGT
3	AbSSR04	(ACA)7	F-ACAACAACCGCCACCACCAT
			R-CAGGCGTATATCGCTGTTGCTG
4	AbSSR05	(GCT)5	F-ATCAACGACTTGATTGCTGAAG
			R-TGCGCCCACTACTAACTTACAA
5	AbSSR06	(GCT)8	F-ACCACATTCTGGAAAACGAA
			R-TTAATGCTCTTGCTTCGAC
6	AbSSR09	(TGC)5	F-ACAAGAAGGGGAGGATTGAG
			R-ATAGTCGCGTAACCCCTCTT
7	AbSSR10	(TC)5	F-TCTACCAGGCACATCCTCTC
			R-GACGTTGTTCCGTCGTTTAC
8	AbSSR12	(AGC)6	F-GACAGCGATGATGAGGAGTT
			R-CCGTTGCTGTAAGAGTGGTT
9	AbSSR13	(AGG)9	F-CGGAAGACAGCGATAATATG
			R-CCAGAGGACTTACCACCTTT
10	AbSSR14	(GAG)5A(GAG)	F-CGTCAAGGAGAACAAGGAGA
			R-CCCGTCCAATCACATTAAC
11	AbSSR19	(CT)5	F-TTTAGTTCTGGACAGACCGTTT
			R-CAAACGTATATCAACGACAGG
12	AbSSR23	(TG)5	F-TTTGGGATGTGACCAGACTT
			R-AACGTTGGTTCAATGAAAA
13	AbSSR31	(ACT)5	F-CGCGTTATCGATTAAGCAAA
			R-GTTCGAGGTGGAAGAAGGAG
14	AbSSR32	(GTT)8	F-TTCCTAGTCGAGGTCTCTGT
			R-ATTGCTGGTCGAGTGTGAG
15	AbSSR33	(AT)5	F-TCGGTAGAAGTTGTGGAAGC
			R-GGCGTTGGACTAGAAAGTCAT
16	AbSSR36	(GAAG)4(GAAAG)(GAAG)	F-CGTTGATGGAGTTGACTGAG
			R-ACAACAAAATCGTCGTGAGG
17	AbSSR39	(GA)14	F-GAGGCCAAAACCGGAAATAC
			R-CGTTCAAGCTTCCCAATTCT
18	AbSSR42	(AG)6AA(AG)5	F-CGCCTGCTTCTTCGACTAAC
			R-TGCTATGGGGAGAGGACATC
19	AbSSR43	(CAG)5	F-TCGCATCAACATCAACATCA
			R-AGGCGGGAAGGTTACAGATT
20	AbSSR45	(CT)10	F-CACCTTACACGCCATTGAT
			R-AAAATCTCGGGCATTTCCTT
21	AbSSR49	(CA)9	F-ACCCTGGCTTGTACTGCAA
			R-CATGGCGGTGTAATGAGTG
22	AbSSR50	(TG)6	F-GAGGGATTAACGGACTGTTT
			R-GCTGCTGTCAGGAACATAAA
23	AbSSR53	(TA)5	F-TGATAAACAGAGGACCGAAA
			R-CACATCTCTACCCCTCTCG
24	AbSSR54	(GA)9CG(GA)4	F-TGACCAAAGCTCAAACAGCA
			R-GTCACGGATCATCGGTTTCT
25	AbSSR56	(AG)8	F-CACCACTAGCAGCGTCAGAG
			R-CATCGCAATAGGGGCATAAC

SSR마커를 탐색한 결과 SR04, SSR 06, SSR 36, SSR 43, SSR 45, SSR 57, SSR 58, SSR 65가 양송이 계통간 PCR 다형성을 검출 할 수 있었다. SSR marker를 이용한 PCR산물을 Agarose gel에 전기영동 하여 양송이 계통간 PCR밴드 패턴을 관찰한 결과는 그림 8과 같다. 동핵균주는 선발시에 SSR마커는 이핵균주와 단핵균주를 검출할 수 있는 특징이 있었으며 향후 동핵균주 선발에 유용하게 이용 될 수 있을 것으로 사료되었다. 또한 그림 8에서 보는 것과 같이 동핵균주는 이핵균주에 비하여 균사생장이 매우 느리게 성장하는 것으로 사료되었다.

SSR PCR밴드간의 차이는 반복배열 염기의 결여 및 삽입에 의한 다형성을 검출하며 Acrylamide gel Agarose gel상에서 미세한 염기배열 차이를 검출 할 수 있다. 또한 최근 개발된 1-2 bp차이의 고감도 SSR 밴드를 검출 할 수 있는 모세관 전기영동기구를 이용하여 SSR PCR 산물의 DNA다형성 분석을 수행 한 바 Agarose gel상에서 검출 할 수 없었던 양송이 계통간 DNA 다형성을 검출 할 수 있었다(그림 9). 그림 10은 SSR PCR 다형성밴드를 분자 peak로 표시한 것으로 밴드 유형을 분자크기별로 확인 할 수 있었다.

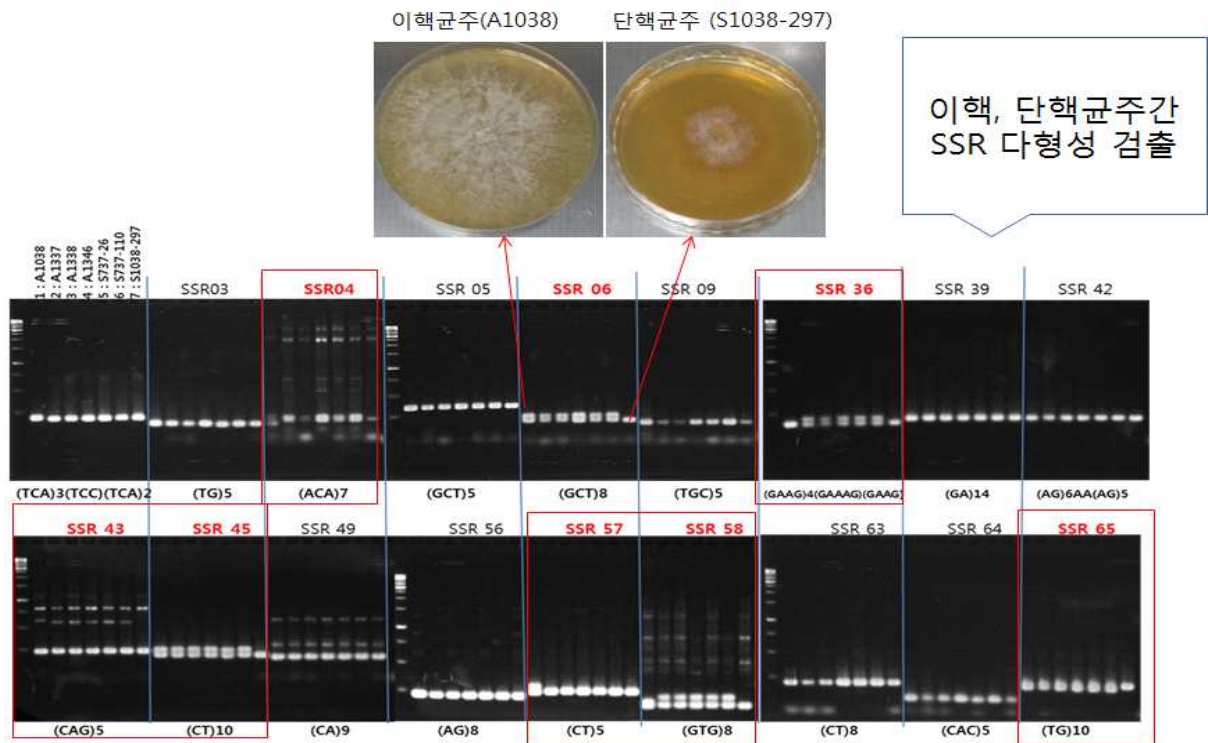


그림 8. SSR 마커를 이용한 양송이의 단핵균주와 교잡주 확인

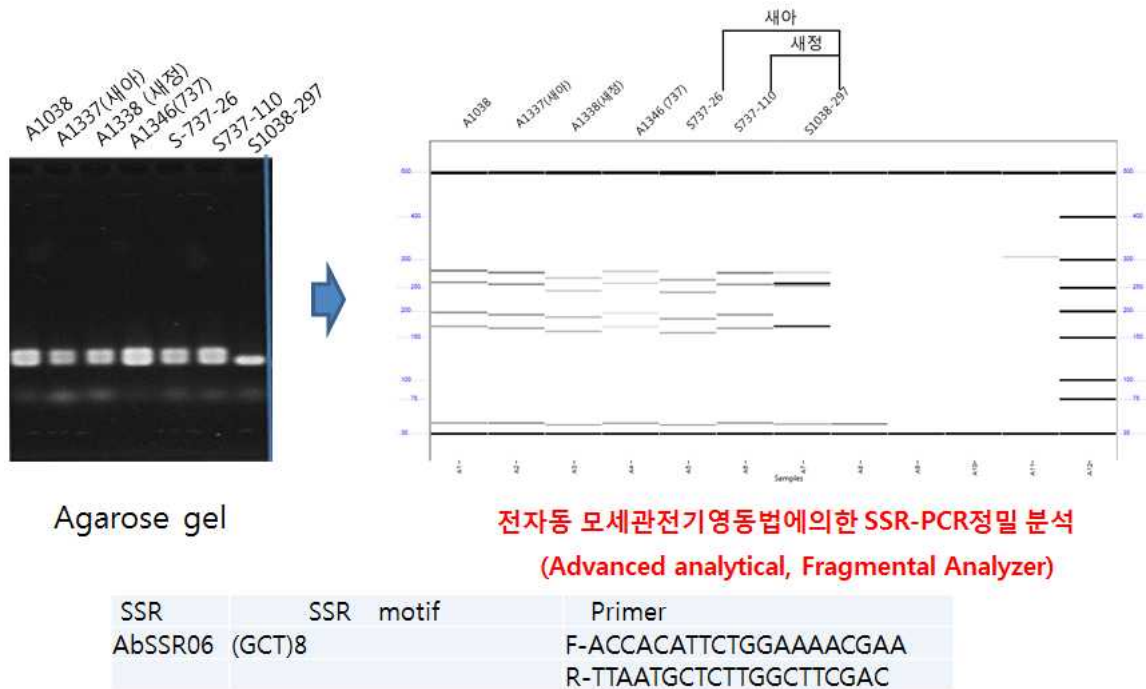


그림 9. capillary electrophoresis에 의해 확인된 SSR PCR profile

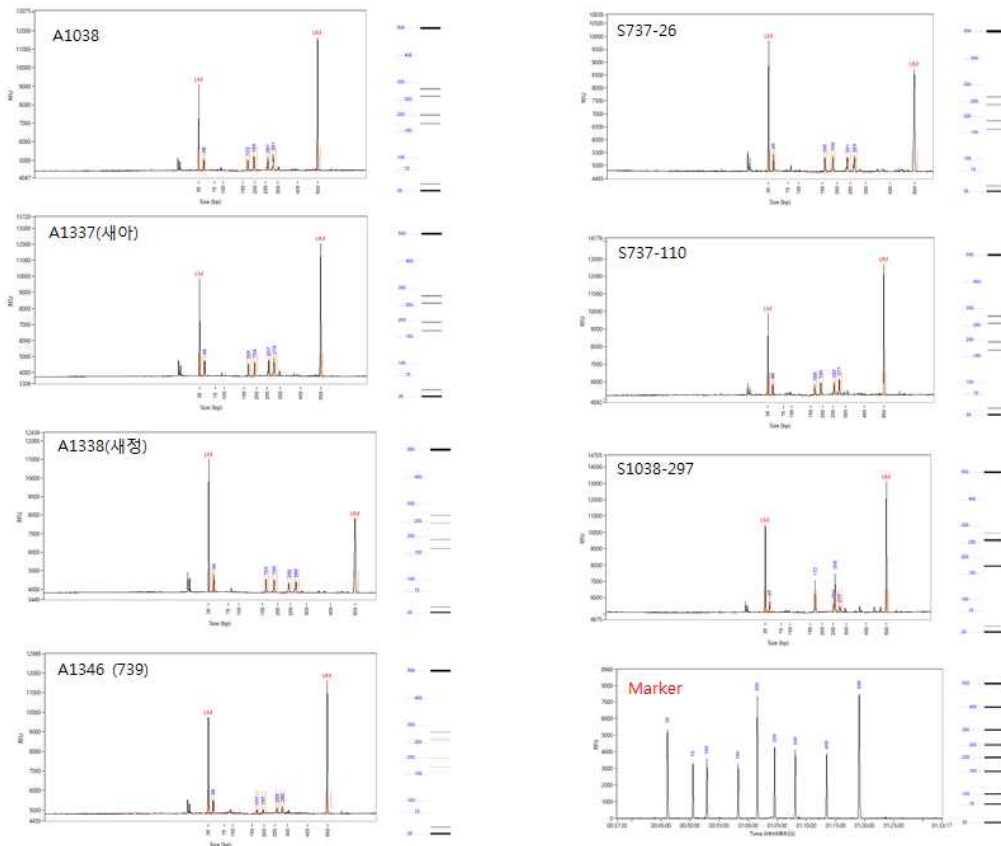


그림 10. 양송이 균주의 peak molecules에 대한 SSR-PCR profile

(3) Simple sequence repeat (SSR)마커를 이용한 동핵균주 선발

개발된 25개 SSR마커 중 ASI1226, 1246 균주의 단포자 DNA에 적용되는 AbSSR45 마커 선발 하였다.

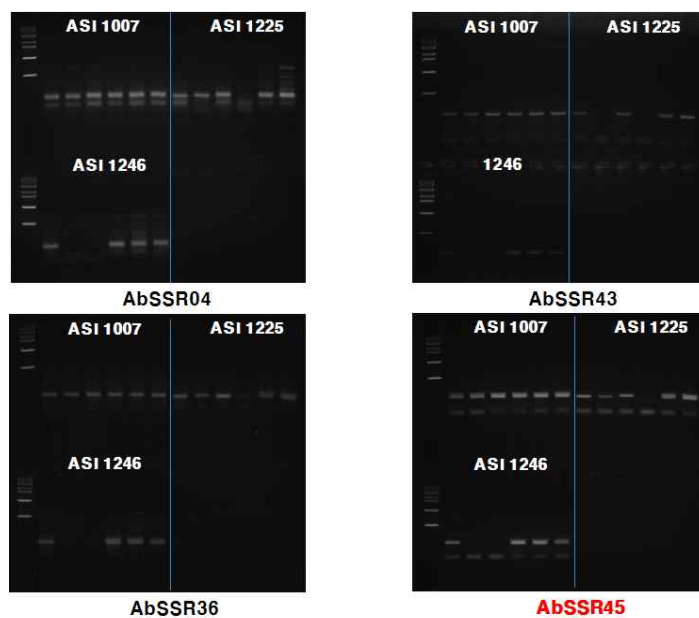


그림 11. 단핵균주 선발마커 AbSSR45 마커 선발

선발된 SSR마커 AbSSR45를 이용하여 PCR후 2% gel에 100V, 100min 전기영동 실시한 결과 ASI 1225 단포자 120점 중 동핵균주 25점 선발하였고, ASI 1246 단포자 120점 중 동핵균주 6점 선발하였다(그림 12, 13, 14). ASI 1007 단포자 112점은 단핵균주 선발마커 선발 후 동핵균주 선발예정이다.

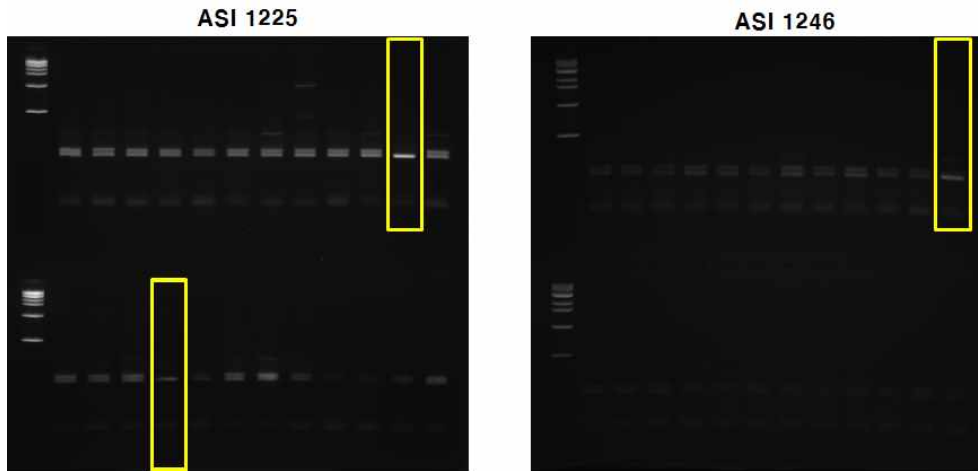


그림 12. AbSSR45 마커를 이용한 동핵균주 선발

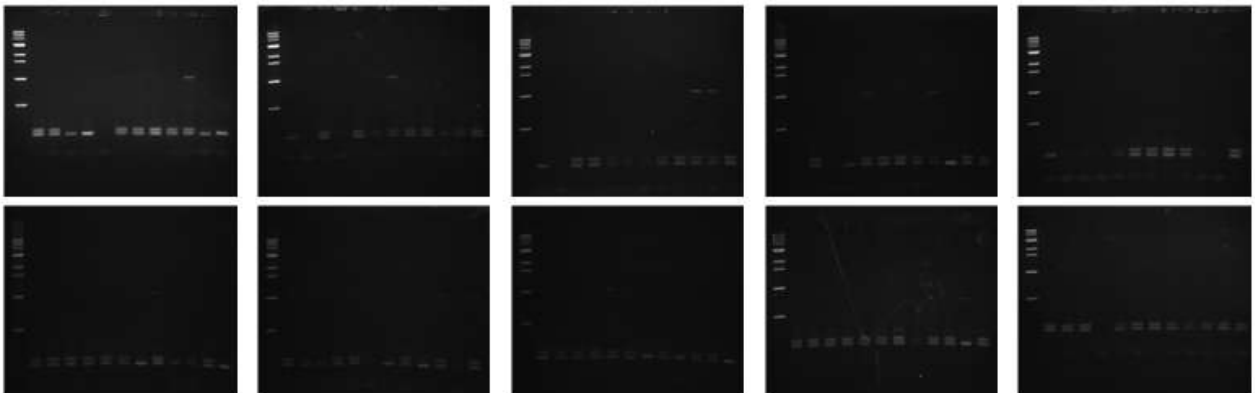


그림 13. ASI 1225 균주 120점 단포자 중 AbSSR45 마커를 이용한 동핵균주 선발

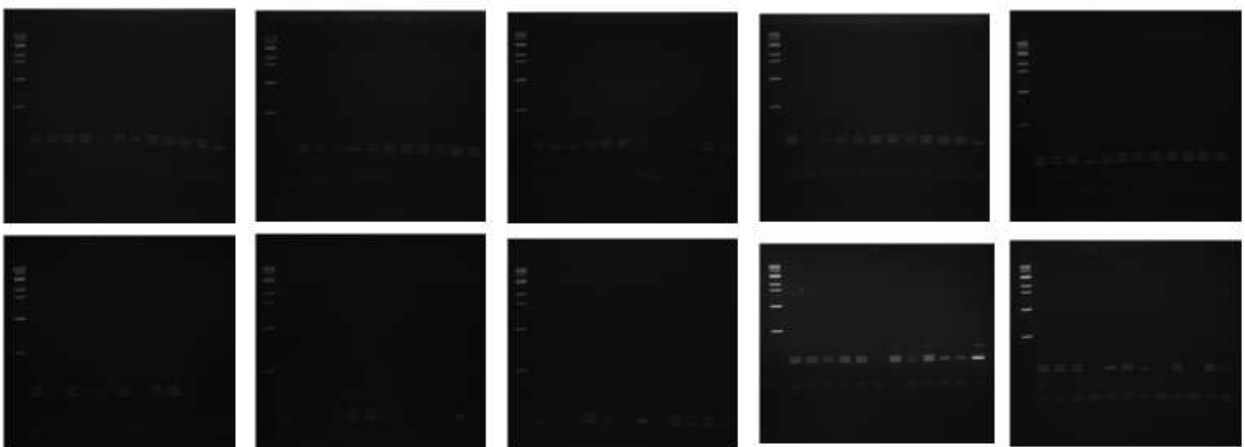


그림 14. ASI 1246 균주 120점 단포자 중 AbSSR45 마커를 이용한 동핵균주 선발

4) 신품종 양송이 ‘새한’, ‘호감’ 품종 개발

(1) ‘새한(B365계통)’의 품종 특성

새아(A304)와 단포자 S737-17를 Di-mono교잡을 통해 육성된 계통으로 균사배양 최적온도는 23-25℃, 버섯발생온도는 13-15℃, 자실체 생육온도는 13-20℃로 중고온성 품종이다. 자실체 발생형태는 균일하게 발이되었으며, 자실체는 백색으로 갓이 크고 대도 굵으며, 갓과 대의 경도가 단단하여 고품질 품종으로 개발하였다. 또한, 재배시 대조구 ‘새연’보다 수분관리가 편한 것으로 나타났다(그림 15).



계통	형태적 특성 (mm)				경도(σ/mm)		자실체 수량(g/상자)		
	갓직경	갓두께	대길이	대굵기	갓	대	1차	2차	평균
B364	47.9±5.3	13.4±1.3	31.1±5.1	19.6±3.4	5.1±1.2	7.3±1.5	640±17.5 ^a	1023±290 ^a	831.5±153.8 ^a
새연	44.8±4.3	12.9±2.3	28.6±4.6	19.1±2.3	5±0.4	6±1	681.5±126.6 ^b	884.3±94.7 ^b	782.9±110.7 ^b

그림 15. 신품종 ‘새한’(좌) 및 대조군 ‘새연’(우)

(2) Mono-mono 갈색 교잡주 ‘호감(C34)’ 품종 육성

① Mono-mono 갈색교잡주 중 C34 우수 계통 선발

ASI1164와 ASI1175균주의 각 동핵균주를 Mono-mono로 교잡한 44점 모두를 대상으로 재배 시험을 수행한 결과 모두 자실체가 형성된다는 사실을 확인하였다. 이 중 수확량, 개체중 및 형태순으로 우수한 특성을 보이는 7점의 교잡주를 선발하였다(표 10, 그림 16). 선발된 7점의 교잡주의 교잡유무는 양송이 유전체 정보를 활용하여 교배형 유전자의 염기서열을 활용하여 HD1 (homeodomain transcription factor A mating type protein) 유전자에서 a1-1-L3(5’ - GTG AAC GAC GTG ATG GTG AC - 3’), a1-1-R3(5’ - TTC ACT CAT GGC TGA TCT CG - 3’)의 특이유전자 마커를 개발하였다(그림 17). 이를 이용하여 교잡이 안 된 C13 교잡주를 제외하고 표 10과 같이 6점을 선발하였고, 또한 C34의 동핵균주의 교잡유무도 확인하여(그림 18) 이 선발된 균주에서 최종적으로 동핵균주 ASI1164-37과 ASI1175-66의 교잡주인 C34을 수확량 및 형태적으로 우수한 계통으로 육성하고, 품종명으로 ‘감색을 띄는 버섯이 좋다(好)’는 의미로 ‘호감’이라 명명하였다.

표 10. Mono-mono 갈색 계통의 형태적 및 재배적 특성

균주번호	개체수(EA) /상자	무게(g)		갓(mm)		대(mm)		경도		색도-갓			색도-대			수확일	품질
		총무게/상자	개체중	직경	두께	굵기	길이	갓 경도	대 경도	L	a	b	L2	a2	b2		
1337(새아)	93.3	1932.9	20.7	44.8	26.3	16.1	27.0	5.6	5.4	91.1	-1.2	10.4	80.7	1.3	14.8	20	
C11	77.7	1246.8	17.9	43.1	20.1	21.9	27.1	4.6	5.2	60.3	9.0	23.2	78.4	2.8	16.1	20	미흡
C13	99.7	1581.9	16.4	42.9	22.2	20.9	22.5	6.2	5.3	59.6	8.8	22.2	77.4	2.9	16.7	20	미흡
C24	58.3	1571.8	26.5	44.6	22.4	24.5	25.6	4.9	4.5	67.0	7.5	23.5	83.0	0.6	13.1	20	보통
C27	70	1655.6	32.457	45.89	23.05	21.767	23.2	5.5	5.3	65.4	8.9	24.3	85.1	1.3	13.0	22	보통
C34	67.3	1610.2	24.5	45.5	22.3	22.3	24.1	5.5	4.9	59.2	9.0	22.8	80.5	2.2	15.6	17	우수
C39	67.7	1570.9	23.6	44.9	22.1	22.7	22.5	5.7	5.0	62.0	8.1	22.0	80.4	1.9	14.8	20	우수
C9	64.7	1248.8	21.4	44.4	22.9	28.3	22.2	5.2	5.3	63.1	7.9	21.8	83.1	1.1	14.0	20	보통
1164	49.0	1175.9	23.7	45.0	22.1	24.1	23.6	5.8	4.5	67.1	6.9	21.2	80.4	1.7	14.8	22	
1175	62.0	1307.0	21.1	46.3	21.9	20.1	27.4	4.5	6.5	63.6	8.2	22.5	78.8	2.1	16.4	17	



1164(모균주1)



1175(모균주2)



C34(교잡주)



C39(교잡주)

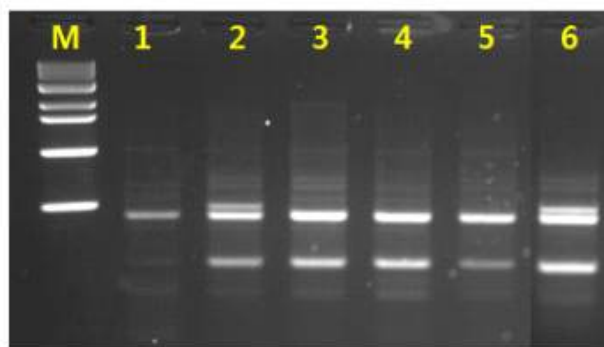
그림 16. Mono-mono 갈색 계통의 재배 모습(모균주 1164, 1175 포함)

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases
<input type="checkbox"/> b1-1 ID: 18828603	HD1 type of homeodomain transcription factor A mating type protein [Agaricus bisporus var. burnetii JB137-S8]		AGABI1DRAFT_144356
<input type="checkbox"/> b2-1 ID: 18826148	HD2 type of homeodomain transcription factor A mating type protein [Agaricus bisporus var. burnetii JB137-S8]		AGABI1DRAFT_124456
<input type="checkbox"/> a1-2 ID: 18826146	HD1 homeodomain transcription factor A mating type protein [Agaricus bisporus var. burnetii JB137-S8]		AGABI1DRAFT_124448
<input type="checkbox"/> a1-1 ID: 18076380	HD1 homeodomain transcription factor A mating type protein [Agaricus bisporus var. bisporus H97]		AGABI2DRAFT_113833



>gj|570665431:900063-902101 Agaricus bisporus var. bisporus H97 unplaced genomic scaffold AGABI2scaffold_1, whole genome shotgun
sequenceATGACTGTCTCGTCGATACGAAAGCGTCTACTTCAGGCTGAAGAATCATTTCTCGCCGCTTCAAATGAGCGTTTATGGAGGGAC
TTCCGAGCAAACTTGGAAACACATTGGCAGTCGACATTGTGAAAGCGACCAAGTGCCAAACCAATGTCGCCGGAAGATAAA TCCTTGGCTGA
TATTGTCTCGTCGCGCATCACTTCTCTGTGCAAGACTTTTA TCGATCTTACCTACCCCTTGGACGATATTAGTTTATCTCCGAGCAAGAACT
TGAAAAGAACTTCGAAAGAGCAGAGTCTGGGAACCACGGTTCTCAATCTCGTTCA TCCGAAAGAGACGCTCCACCCCGCCCCGGCTCTGTA
TATCAAGCAGGCGTATTCTTGGCTGATG CAGAACTTTCCAAATCCC TATCCCC AAAGGAAGTC AGGGAGGCTATTGCGCGAAAGGCTGG
TAGCGACCCAAAGCAGCTTGAGAAATGGTTTGGGATGTACGAAAGCGGATGGGTTGGAAATGGCATACGCAAGCGTCATTTTTCCAA
AACGTCACCTAACTGTGCGCCGCTGCCACAGCGTTTTTTGGTGGCCAGTCCCTCGGAGCTCCTCACTGATCTAGTGAGGCAAGA TTTCCGCGC
TATGTCAGCCGACGCAGAAGACATGTACTCCAAGAAAATTTA TGGAGAGCAAACTTGCTCGACACA TCGCCGCGTCAACAGGATCTCCAA
GAAAAAAACCGAGTCAATCAGCTTCAGTTGAAAACGA AACTTCTTCC TCATACAA TCACCCCTCTTCCACCCCTCCCTTCC TCATACACA
TGCAATGCTCGAAAACGCTTCAGGTCCTTAGATTCAACTGATGA AGTCTCTGGATA TAAACAA TTTTCAGAA ACGGCCCCGGTGGCTCCAT
AATTTGGGTAACACATCTCTTCCCCTCATGCAA TCTTCAGGTTTCAGTTACTCGGGCGATAGCTCCCCCGCGCATCGCACTCAGCGCTACC
TTCCACATCGCCCCAGTCTCCTGTCCCTCATGCTATTCCTGCGACTTTTCAGATGAACCGTCAAACATCTGAATTCGAAAGATC ATCTTCCAC
CCAGTCATCCTTCGGCAGACTCTCGATCCG TGAGTCTACAAGCGTATTGGAACTT AACAGA ACCTCTTGTA TCCAAGCCCTTCTCTCTCT
ACACTGCCATCCGATGTATCGGACGAAACCCATCACTTCTCAATATA TTCCCAATG AAGCTACAA AGAGGAGTGATTGCGTCAAGTA TGGCA
TCCTTTCACCAATCTCCACACTCCATTCC TCGGCTCTATCGCTTCTTCATAATACCC TGCCGTCGTCGTTGCTATC AAGGAAGGAAAACAC
TCAGTTCCCTACCGAATTTCAAGCGCCCGTTACCTACTCCGAGCCCGTGGTCAACACAAGGATTTGCTT TAGCACCGCTCTGCTTCGGACATC
ACACATGACACTCTTTTCTCAGGGTCAACCGCCAATGACCGTTGTA AGGTTTCTC ATAC TTTACCTTCAA ATTTCGGTTGACGAGTTCC TTT
TCAGTCTTAGCTATCAGTTCCCTCGACTTTTGGCGCTCGAGACCTATCTTCAGCGCAGGATGTCAATGCTACTTCC TGGCCTGCTACAA TTGC
TAATACCCAGACCGATGGCCAATTTTTGGCTATCTTGACCC TTTGCTTACCGAGACCACTTT ACAGCGCAAGTAGA TGCATTACCTGACT
TCGCTGATGTCGACCTTACTTTTTGAAAATTTTGA TCTCGACGCAAGCGCCG CATTCCCGCCA TCCGATCCAGA TTTCCGACACTA TACTC
CCGCGAAACAGAGCCGAAAATTTGGCCACCAATGATCTATTACTTTGACCCCTGCTGTAGAAAAGCTCTGTGTCCAAATTCC TTCAATTAG
AGCAGCTCAAAAAGCAGAAATCGGATTCAAGAATA TATTAATACACTGTATGCA TCTCAGACTAA TTTCAATTTCGTTGGACTTACGCTGT
AACTGTAGTGAATCCAGATTGCAACAACGCTCGCTGCTTGA

그림 17. 교잡주 확인 가능한 HD1 유전자 염기서열



M : Marker,
1 : 새아, 2 : 1164(모균주1) 3 : 1164-37,
4 : 1175(모균주-2), 5 : 1175-66, 6 : C34
Primer #a1-1-L3, a1-1-R3

그림 18. HD1 유전자를 이용한 마커(a1-1-L3, a1-1-R3)로 C34계통 교잡 확인

② ‘호감(C34)’ 품종의 특성

단포자 1164-37과 1175-66을 Mono-mono교잡을 통해 육성되었으며, 군사배양 최적온도는 23-25℃, 버섯발생온도는 13-15℃, 자실체 생육온도는 13-18℃로 중온성 갈색 품종이다. 자실체 발생형태는 균일하게 발이되며, 대조구 ‘다향’ 보다 대 굵기가 두꺼워 자실체 형태가 우수하고, 대조구 ‘다향’ 보다 개체중이 증수되었으며, 갯색은 시장선호에 맞는 밝은 갈색이다(오 등., 2015, 그림 19).



‘호감’ 품종(C34)

‘다향’ 품종

그림 19. 갈색양송이 신품종 ‘호감’ 및 ‘다향(대조구)’의 자실체 모습

5) 양송이 육성 품종 현장실증 및 평가회

(1) 국내육성품종과 외래품종의 비교재배 실증

경주시 건천읍 방내리 60평 재배사에서 ‘새정’ 품종과 외래품종을 18℃에서 재배를 하였다. 1주기의 농가 의견은 외래품종과 비교해서 자실체 발생도 많고, 자실체 형태도 우수하다고 평가하였다. 경주시 송선리 80평 재배사에서 ‘새도’ 품종과 외래품종을 16℃에서 같은 1주기 재배를 한 결과 외래품종이 ‘새도’ 보다 더 단단하고 버섯 품질이 우수하다는 의견을 알 수 있었다. 각 현장실증 시료의 특성조사 결과는 표 11과 같다. 개체중 및 자실체 특성은 ‘새도’가 갯색은 ‘새정’이 우수하였으며, 경도는 외래B품종이 단단한 것으로 나타났다. 국내육성품종과 외래품종의 자실체 모습은 그림 20과 같다. 90여 농가에 이와 같은 비교재배로 현장실증을 실시하여 경주지역 농가의 50%에 국산품종(새도, 새한)이 보급되었다.

표 11. 국내육성품종과 외래품종의 1주기 재배 후 특성평가 비교

품종	개체중	갯		대		경도		명도	
		직경	두께	굵기	길이	갯	대	갯	대
외래A	20.2	42.0	23.8	15.7	40.0	4.2	3.8	90.9	72.8
새도	31.6	48.5	27.3	19.7	41.7	4.3	4.1	89.9	78.5
외래B	26.5	42.4	24.2	25.0	29.8	5.9	4.4	86.1	83.0
새정	24.7	42.6	22.6	24.1	35.5	5.8	4.0	91.3	83.2



그림 20. 국내육성품종과 외래품종의 1주기 재배 모습

(2) 국내육성품종의 현장평가회

① ‘새도’ 현장 평가회(충남부여)

‘설강’ 보다 균사 활력이 좋고, 자실체 형태가 우수하지만, 자실체발생이 다발 형으로 발생되어 수확하기 어렵다는 평가를 얻었으며, 전반적으로 품종을 재배하겠다는 의사가 71%로 나타났다(그림 21).

<버섯현장평가설문 조사>	
1. 품종의 종합적인 형태 우수	47%, 양호 29%
- 버섯의 대 크기 우수	65%, 갓의 크기 및 형태 우수 47%
2. 갓의 색깔 우수	41%
3. 소비자의 기호도 우수	53%
4. 본 품종을 재배할 의향 하겠다	71%, 생각해 보겠다 35%
5. 내년에도 버섯 국내육성 품종의 시범재배 필요여부	
꼭 필요하다	71%, 필요하다 24%

그림 21. ‘새도’ 현장 평가회 개최 후 설문조사 결과

② 양송이 국내육성 현장평가회

경주지역 양송이 재배농가 50여명, 유통업체 및 기술센터 직원 등이 참여하여 국내육성품종 특성 및 현장평가 목적을 설명하고, ‘새도’ 품종은 외래품종만큼 단단하고, 갓 형태가 우수하며, ‘새정’ 품종은 외래품종보다 발이하기 쉬운 다수확 품종으로 ‘새한’ 품종은 외래품종보다 갓 색이 우수하며, 품질이 좋은 품종으로 실증사례를 발표하였다. 현장평가회 개최 후 설문조사 결과 참석한 양송이재배농가 모두 재배할 의향이 있는 것으로 나타났다(그림 22). 현장평가회 결과는 KBS 경북 등 TV 홍보 2건, 뉴스포털 등 신문 홍보 22건에 보도되었다(그림 23).

< 버섯 현장평가 설문 조사 >

1. 외래품종과 비교하여 국내육성품종의 갓 형태 우수 27% 양호 70%
2. 국내육성품종 중 가장 형태가 우수한 품종은 새정 52%
2. 외래품종과 비교하여 갓의 색 우수 18%, 양호 64%
3. 국내육성품종 중 갓색이 우수한 품종은 새정 39%, 새도 33%, 새한 29%
4. 국내육성품종 중 맛이 우수한 품종은 새정 42%, 새도 26%
5. **앞으로 국내육성품종 재배의향 100%**

* 현재까지 경주지역 대부분이 외래품종을 재배하였음

그림 22. 양송이 국내육성 현장평가회 개최 후 설문조사 결과



KBS 경북 방송



헬로티비 신라방송

그림 23. 양송이 국내육성 현장평가회 방송매체 홍보

2. 3차년도 연구개발 성과

1) 국내 우수 수집자원을 이용한 교잡주 육성

2차년도에 선발되지 못했던 ASI 1007균주의 112점 단포자내에서 AbSSR06의 SSR마커를 이용하여 4점 동형핵균주 선발하였다. 동핵균주는 세포질내 같은 종류의 핵이 존재하는 것으로 일반적으로 자실체를 형성하지 못한다. 따라서 SSR마커를 이용한 동핵균주 분리의 효율성을 알아보기 위하여 동형핵균주내에 자실체 발생을 조사하였다. 그 결과 ASI 1225의 동형핵균주 25점에서 11점, 약 44%가 자실체를 발생하였고, ASI 1246의 동형핵균주 6점에서 3점, 약 50%가 자실체가 발생하였다(표 12). 이는 M. Halt Umar와 Leo J. L. D. Van Griens(1999)에 의해 교배형 유전자좌에 의해 버섯발달 조절 유전자발현이 완벽하게 조절되지 못하여 약 10~22%까지 동형핵 균주에서 버섯이 발생한다고 보고되었다.

표 12. 동형핵균주의 상자재배를 통한 자실체발생조사

NO	Strains	SSI	Fruiting bodies formation
1	presumably homokaryotic strains	1225-3	Contamination
2		1225-4	Contamination
3		1225-11	X
4		1225-12	O
5		1225-13	O
6		1225-14	Contamination
7		1225-16	X
8		1225-22	Contamination
9		1225-25	O
10		1225-40	O
11		1225-46	X
12		1225-58	Contamination
13		1225-67	X
14		1225-69	Contamination
15		1225-72	Contamination
16		1225-74	Contamination
17		1225-75	O
18		1225-78	Contamination
19		1225-79	Contamination
20		1225-81	O
21		1225-83	O
22		1225-91	O
23		1225-93	O
24		1225-96	O
25		1225-107	O
26		1246-12	O
27		1246-26	X
28		1246-27	Contamination
29		1246-48	O
30		1246-52	O
31	1246-91	X	
32	strains	1225	
33		1246	

선발된 동핵균주를 각각 Mono-mono로 CDA배지에서 교잡하고, 교잡주의 균사체를 확보하여 DNA 분리 후 SSR마커로 PCR후 모세관전기영동으로 교잡여부를 확인하였고(그림 24). 대부분의 교잡주는 200bp에서 3개의 peak를 보였다(그림 25). 이에 교잡주 150점 중 74점이 교잡을 확인하였으며, 교잡율은 약 50%(=74/150)으로 나타났다(표 13). 1225-11, 25, 40, 78, 83, 91, 93, 1246-12, 26, 91의 교잡이 잘 되는 동핵균주 중 자실체발생을 안하는 1225-11, 78, 1246-26, 91 4균주를 선발하였고, 1225-78*1246-26은 서로 버섯이 발생되지 않은 동핵균주끼리 교잡되었다

는 것을 확인하였다(표 14).

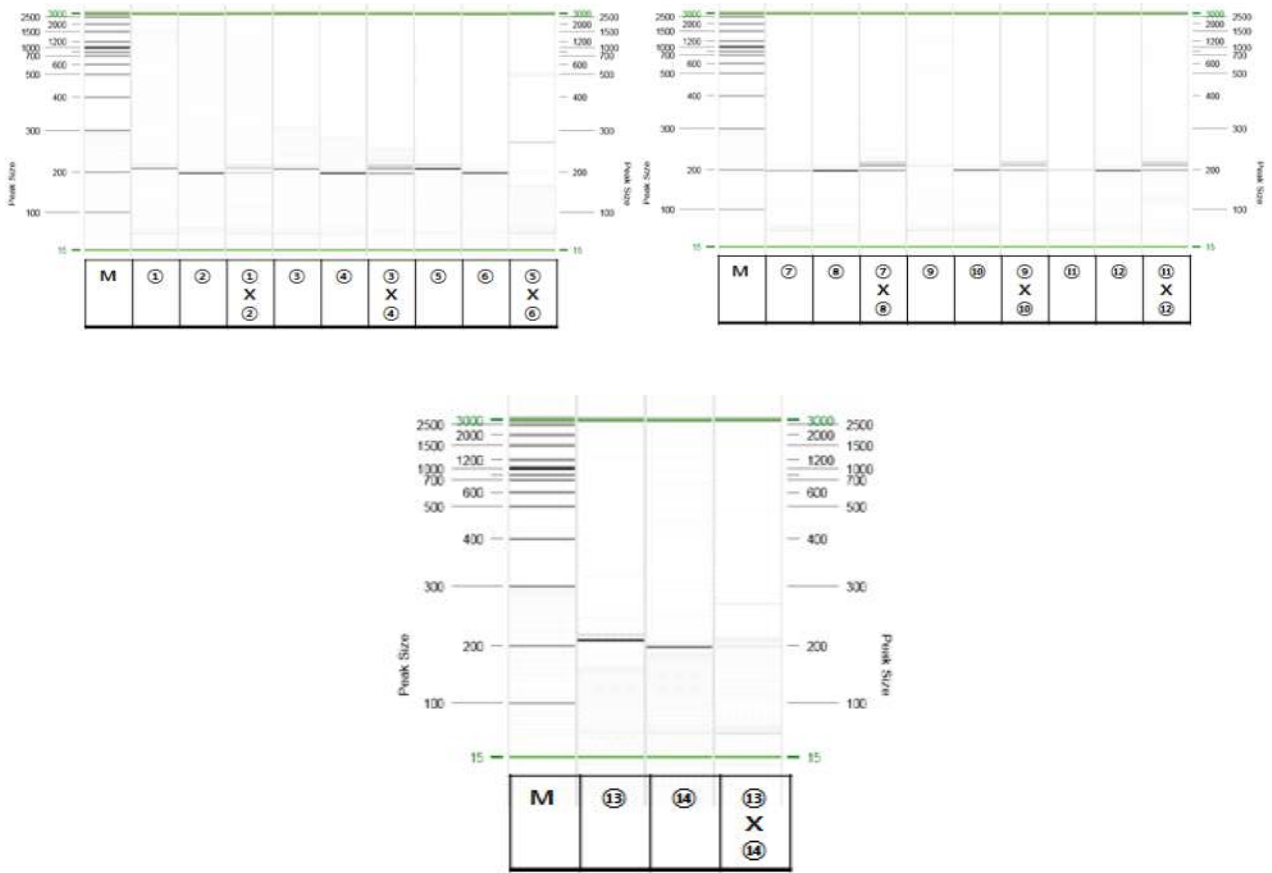


그림 24. SSR마커를 이용하여 PCR검정 후 모세관전기영동 결과

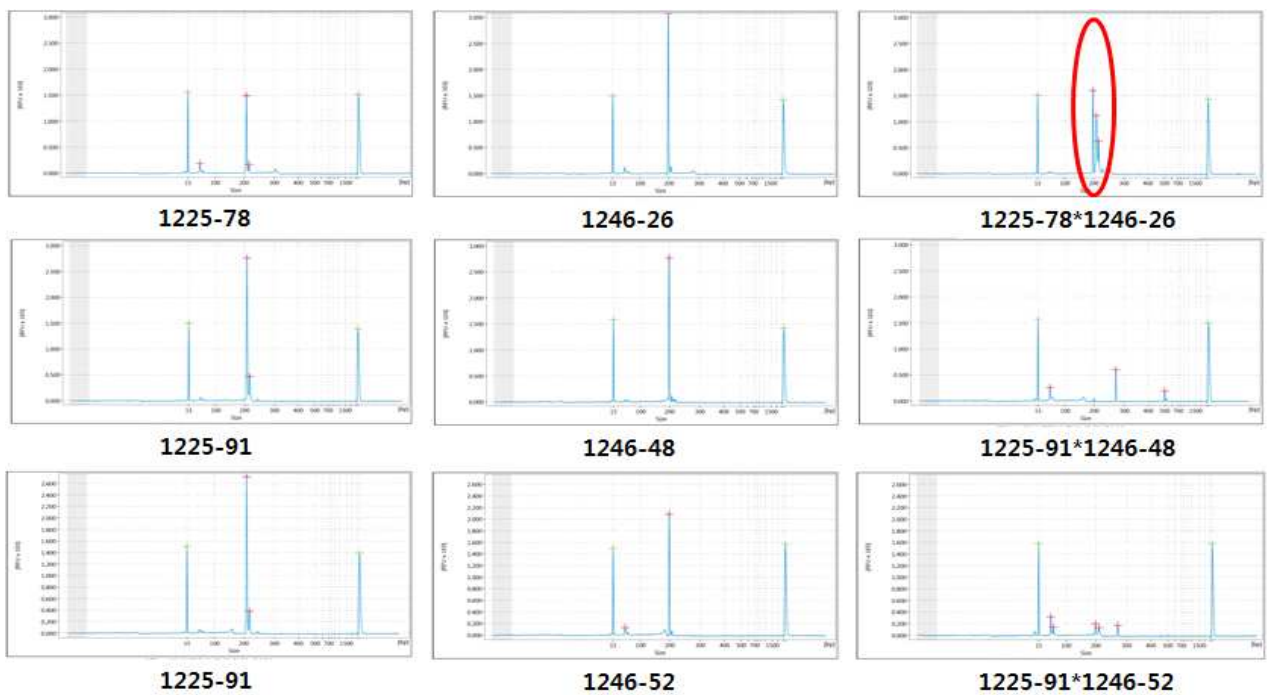


그림 25. SSR마커를 이용하여 PCR검정 후 모세관전기영동 피크 모습

표 13. 동형핵균주의 PCR검정으로 교잡여부 확인

NO.	presumably homokaryotic strain *		presumably homokaryotic strain	Crossing in mycelium	PCR confirmation
1	1225-3	*	1246-12	X	
2	1225-3	*	1246-26	O	
3	1225-3	*	1246-27	O	
4	1225-3	*	1246-48	X	
5	1225-3	*	1246-52	O	
6	1225-3	*	1246-91	X	
...
13	1225-11		1246-12	O	O
14	1225-11		1246-26	X	
15	1225-11		1246-27	X	
16	1225-11		1246-48	X	
17	1225-11		1246-52	X	
18	1225-11		1246-91	X	
...
43	1225-22	*	1246-12	X	
44	1225-22	*	1246-26	O	O
45	1225-22	*	1246-27	X	
46	1225-22	*	1246-48	X	
47	1225-22	*	1246-52	X	
48	1225-22	*	1246-91	X	
...
55	1225-40	*	1246-12	O	O
56	1225-40	*	1246-26	O	
57	1225-40	*	1246-27	X	
58	1225-40	*	1246-48	X	
59	1225-40	*	1246-52	X	
60	1225-40	*	1246-91	X	
...
103	1225-78	*	1246-12	O	O
104	1225-78	*	1246-26	O	O
105	1225-78	*	1246-27	X	
106	1225-78	*	1246-48	X	
107	1225-78	*	1246-52	X	
108	1225-78	*	1246-91	X	
...
127	1225-91	*	1246-12	O	
128	1225-91	*	1246-26	O	
129	1225-91	*	1246-27	O	
130	1225-91	*	1246-48	O	O
131	1225-91	*	1246-52	O	O
132	1225-91	*	1246-91	O	
...
139	1225-96	*	1246-12	X	
140	1225-96	*	1246-26	O	
141	1225-96	*	1246-27	O	
142	1225-96	*	1246-48	X	
143	1225-96	*	1246-52	O	
144	1225-96	*	1246-91	X	
145	1225-107	*	1246-12	X	
146	1225-107	*	1246-26	O	
147	1225-107	*	1246-27	O	
148	1225-107	*	1246-48	X	
149	1225-107	*	1246-52	O	
150	1225-107	*	1246-91	X	

표 14. 동형핵균주의 자실체 발생여부와 교잡여부 확인

NO	Strains	SSI	Fruiting bodies formation
1		1225-3	Contamination
2		1225-4	Contamination
3		1225-11	X
4		1225-12	O
5		1225-13	O
6		1225-14	Contamination
7		1225-16	X
8		1225-22	Contamination
9		1225-25	O
10		1225-40	O
11		1225-46	X
12		1225-58	Contamination
13		1225-67	X
14		1225-69	Contamination
15		1225-72	Contamination
16	presumably homokaryotic strains	1225-74	Contamination
17		1225-75	O
18		1225-78	Contamination
19		1225-79	Contamination
20		1225-81	O
21		1225-83	O
22		1225-91	O
23		1225-93	O
24		1225-96	O
25		1225-107	O
26		1246-12	O
27		1246-26	X
28		1246-27	Contamination
29		1246-48	O
30		1246-52	O
31		1246-91	X
32	strains	1225	
33		1246	

2) 양송이 육성품종보급을 위한 현장 실증

작년 경주지역 90여 농가 현장실증을 확대하기 위해 우선 전국적으로 국내육성품종을 알리고자 ‘순회 품종 설명회’를 양송이 재배 거점지역인 보령과 대구 하빈지역에서 두 차례 실시하였다(그림 26, 27). 모두 국내육성품종에 대한 재배 의향을 100%으로 보여주었으며, 이에 3차년도에는 보령 50농가, 경주 50농가, 대구 13농가에서 전국적으로 113농가에 ‘새도’, ‘새한’, ‘호감’ 현장실증을 실시하였다. 현장실증 결과, ‘새도’ 품종은 농가실증을 통해 균사생장 및 부상이 좋아 재배기간이 단축 가능한 품종으로 평가되었으며, ‘새한’ 품종은 농가실증을 통해 형태적으로 단단하며 갯색이 우수하다고 평가를 받았다(그림 28). 또한, ‘새한’ 품종은 통상실시 3건이 체결되었으며, 전국적으로 국내육성품종 보급률이 26.1(’14)에서 37%(’15)로 약 10%로 증대되었다.

〈버섯 현장평가 설문 조사〉

1. 국내육성품종 재배 경험 92%
2. 외국품종은 Amycel(미국)품종을 가장 많이 재배
3. 국내육성품종 중 '새아', '새도'품종을 많이 재배
3. 외국품종은 형태 및 갓색이 국산품종에 비해 우수하다고 평가
4. 국내육성품종은 전반적으로 우수한 평가를 받지 못하고 있음
5. 갓색이 갈바하지 않는 품종을 선호하고 있음
6. 국내육성품종은 100%가 재배할 의향을 비춤



그림 26. 충남 보령 순회 품종 설명회개최 설문조사 및 사진

〈버섯 현장평가 설문 조사〉

1. 국내육성품종 재배 경험 92%
2. 외국품종은 Amycel(미국)품종을 가장 많이 재배
3. 국내육성품종 중 '새아', '새도'품종을 많이 재배
3. 외국품종은 형태 및 갓색이 국산품종에 비해 우수하다고 평가
4. 국내육성품종은 전반적으로 우수한 평가를 받지 못하고 있음
5. 갓색이 갈바하지 않는 품종을 선호하고 있음
6. 국내육성품종은 100%가 재배할 의향을 비춤



그림 27. 대구 하빈 순회 품종 설명회개최 설문조사 및 사진

새도 품종	균사생장과 부상이 좋아, 재배기간 단축가능, 현재 국내육성품종 중 55%차지	
<ul style="list-style-type: none"> ◦ A지역 농가의견: 외래품종과 비교해서 자실체 발생도 많고, 형태도 우수함 ◦ B지역 농가의견: 국내 육성품종이 외국품종보다 평균 활착면에서 매우 우수하고, 복토 후 부상이 좋아 8일 만에 배양된다고 평가함 ◦ C지역 농가의견: 균사 활력이 좋고, 자실체 형태가 우수함 		
		
<A지역>	<B지역>	<C지역>

새한 품종	형태적으로 단단하며, 갓색이 우수함	
<ul style="list-style-type: none"> ◦ A지역 농가의견: 외부온도 편차에 민감하지만, '새도'보다 더 단단하다고 평가함 ◦ C지역 농가의견: '새도'품종보다 단단하고, 색이 좋으나 '새도'보다 재배가 까다로움 		
		
<A지역>	<C지역>	

그림28. 국내육성품종 ‘새도’ · ‘새한’ 품종 농가실증 결과

3. 4차년도 연구개발 성과

1) Abs2-2016 교잡주의 특성 평가

3차년도에 교잡이 확인된 74점의 교잡주를 Ab2-2016 계통번호를 부여하고(표 15), 이 균주들을 벗짚발효퇴비배지를 이용하여 16℃, 85% 조건으로 1반복으로 재배하여 특성평가를 수행하였다. 1·2주기 수확한 버섯의 특성평가는 표 16와 같다. Ab2-2016계통에서 우수한 특성을 지닌 11 계통은 표 17과 같이 1차 선발되었다(그림 29). 1차로 선발된 11계통은 2차로 벗짚발효퇴비배지를 이용하여 16℃, 85% 조건으로 3반복으로 재배하여 특성평가를 수행하였다(표 18). 1·2주기 수확한 버섯의 특성평가는 표 18과 같다. 두 차례의 특성평가로 3계통(Ab2-2016-16, 25, 44)을 최종 선발하였다(표 19, 그림 30). 또한 서로 버섯이 발생되지 않은 동핵균주(1225-78*1246-26)끼리 교잡되었던 Abs2-50 균주는 자실체가 발생되지 않았다.

표 15. ASI 1225, ASI 1246 교잡주의 Abs2-2016 계통번호

NO.	교잡 현황			NO.	교잡 현황		
Abs2-1	1225-3	*	1246-12	Abs2-43	1225-69	*	1246-91
Abs2-2	1225-4	*	1246-12	Abs2-44	1225-72	*	1246-12
Abs2-3	1225-11	*	1246-12	Abs2-45	1225-74	*	1246-12
Abs2-4	1225-11	*	1246-27	Abs2-46	1225-74	*	1246-26
Abs2-5	1225-11	*	1246-48	Abs2-47	1225-75	*	1246-12
Abs2-6	1225-11	*	1246-52	Abs2-48	1225-75	*	1246-91
Abs2-7	1225-11	*	1246-91	Abs2-49	1225-78	*	1246-12
Abs2-8	1225-12	*	1246-91	Abs2-50	1225-78	*	1246-26
Abs2-9	1225-13	*	1246-12	Abs2-51	1225-78	*	1246-27
Abs2-10	1225-13	*	1246-48	Abs2-52	1225-78	*	1246-48
Abs2-11	1225-13	*	1246-52	Abs2-53	1225-78	*	1246-52
Abs2-12	1225-14	*	1246-12	Abs2-54	1225-79	*	1246-12
Abs2-13	1225-14	*	1246-91	Abs2-55	1225-79	*	1246-48
Abs2-14	1225-16	*	1246-12	Abs2-56	1225-79	*	1246-91
Abs2-15	1225-16	*	1246-27	Abs2-57	1225-81	*	1246-12
Abs2-16	1225-16	*	1246-48	Abs2-58	1225-83	*	1246-12
Abs2-17	1225-16	*	1246-52	Abs2-59	1225-83	*	1246-26
Abs2-18	1225-16	*	1246-91	Abs2-60	1225-83	*	1246-27
Abs2-19	1225-22	*	1246-12	Abs2-61	1225-83	*	1246-48
Abs2-20	1225-22	*	1246-26	Abs2-62	1225-83	*	1246-91
Abs2-21	1225-22	*	1246-91	Abs2-63	1225-91	*	1246-12
Abs2-22	1225-25	*	1246-12	Abs2-64	1225-91	*	1246-26
Abs2-23	1225-25	*	1246-26	Abs2-65	1225-91	*	1246-27
Abs2-24	1225-25	*	1246-27	Abs2-66	1225-91	*	1246-48
Abs2-25	1225-25	*	1246-48	Abs2-67	1225-91	*	1246-52
Abs2-26	1225-25	*	1246-52	Abs2-68	1225-91	*	1246-91
Abs2-27	1225-25	*	1246-91	Abs2-69	1225-93	*	1246-12
Abs2-28	1225-40	*	1246-12	Abs2-70	1225-93	*	1246-27
Abs2-29	1225-40	*	1246-26	Abs2-71	1225-93	*	1246-48
Abs2-30	1225-40	*	1246-27	Abs2-72	1225-93	*	1246-52
Abs2-31	1225-40	*	1246-48	Abs2-73	1225-96	*	1246-12
Abs2-32	1225-40	*	1246-52	Abs2-74	1225-107	*	1246-12
Abs2-33	1225-40	*	1246-91				
Abs2-34	1225-46	*	1246-12				
Abs2-35	1225-46	*	1246-26				
Abs2-36	1225-46	*	1246-91				
Abs2-37	1225-58	*	1246-12				
Abs2-38	1225-58	*	1246-91				
Abs2-39	1225-67	*	1246-12				
Abs2-40	1225-69	*	1246-12				
Abs2-41	1225-69	*	1246-26				
Abs2-42	1225-69	*	1246-48				

표 16. Ab2-2016의 74계통 자실체 특성평가

계통번호	개체 수(EA)	수확량(g)	개체 중(g)	갓직경(m)	갓두께(m)	대굵기(m)	대길이(m)	갓명도(L)	갓 WI	대명도(L)	대 WI	갓경도(N)	대경도(N)
1225 (모균주)	56.3±29	1279.4±503.6	24.6±5.8	45.3±1.2	25.3±1.3	18.1±2.4	28.4±4.5	93.1±0.4	67.2±1.7	81.2±3.3	44.2±6.8	4.4±0.3	4.8±0.8
1246 (모균주)	54±18.5	1349.8±223.2	26.2±5.3	46.4±1.2	25.3±1	20±0.3	31±4.3	92.1±0.5	63.7±3	79.8±3.3	44.5±3.1	4.5±0.8	5±0.5
Abs2-1	38±11.8	1188.8±194.8	32.5±5.8	46±1.5	25.8±0.2	23.2±2	29.4±1.6	86.7±9.9	60.2±8.9	84.5±3.1	51.6±6.2	4.6±0.7	4.8±0.5
Abs2-2	39.7±9.1	1074.7±172.3	27.5±3.5	46±1.4	25.5±1.7	20.1±0.9	28.7±0.7	93±0.3	67±1.5	82.4±1	49.7±2.9	4.4±0.5	4.9±0.8
Abs2-3	44.3±10.5	1296.3±164.1	29.8±3.4	47.9±0.8	26.8±2	20.9±1.1	27.9±2	91.9±2.1	64.6±2.1	80.5±0.6	43.6±2.2	3.8±0	5±0.2
Abs2-7	3.3±1.5	113.6±34.2	35.8±5.5	48.6±1.2	26.2±2.2	18.6±2.8	32.2±6.7	90.9±1.7	57.1±4.5	79.8±1.6	32.9±4.5	3.8±0	7.1±1.8
Abs2-9	43±1	1138.4±51.5	26.5±0.8	46.8±1.1	24.6±0.7	23.3±4	30.9±2.5	93.8±0.6	69.4±1.6	82.7±3.8	49.2±5.8	4.6±0.7	5.1±0.5
Abs2-12	47.3±3.5	1207.3±141.3	25.5±1.3	44.8±1.3	25.3±2	21.1±2.4	30.9±1.9	93.9±0.6	70.7±2.1	82±2.8	46.1±3.3	4.1±0.1	4.4±0.3
Abs2-14	38.3±2.3	1035.4±152.9	26.9±2.3	45.3±2.1	24.9±0.3	20.3±1.1	27±0.9	93.5±0.7	69.4±3.9	84.2±0.9	50±2	4.4±0.7	4.8±0.6
Abs2-15	19±4	593.4±65.8	31.8±4.3	47.4±0.7	25±1.8	25.5±4.6	27.9±4.1	91.2±1	64.5±1.2	84.8±2.7	52.1±5.7	4.7±0.5	4.6±0.4
Abs2-16	53.7±1.5	1459.7±28.4	27.2±1.1	47.5±1.7	25.1±0.4	20.2±1.9	33.5±2.1	93.4±0.9	66.8±3.6	81.6±0.8	45.9±4	4.3±0.4	4.6±0
Abs2-17	39.7±14.3	999.1±278	25.8±2.7	46.7±1.2	24.1±1.5	23.6±2.2	26.8±1.7	92.7±0.4	67.7±1	84.4±5.3	50.7±12	4.6±0.5	4.7±0.4
Abs2-18	29.3±15.9	881.9±434.6	31.1±3	46.7±1.3	26±1.5	21.9±2.4	25.8±5.1	92.2±0.5	63.7±2.1	86.3±3.6	55.4±6.1	4.5±0.3	4.5±0.5
Abs2-19	37±19.3	1071.1±447	30.9±5.5	46.3±1.1	24.7±2	24.1±4.7	26.9±3.5	92.7±2.7	67±5.8	84.8±2.8	52.4±5.4	4.2±1.1	4.9±0.7
Abs2-20	13.3±10.4	391.8±291.1	29.7±1.8	45.9±0.2	25.5±1.7	21.1±3	25.6±3.7	91.8±1.7	63.4±6	80.7±4.4	41.5±7	4.7±0.4	5.2±0.7
Abs2-22	39.7±11.7	1110.2±108.3	29±5.1	46.3±1.4	24.5±0.9	19.1±2.3	30.8±2.1	93.5±0.8	69.9±1.1	82.6±0.9	46.9±4.5	3.9±0.6	4.2±0.9
Abs2-24	20±2.6	684.2±141.2	34.2±4.6	47.3±2.3	26.4±1	22.8±1.6	25.2±2.3	90.3±0.1	61.2±1.3	83.5±2	49.9±4.7	4.8±0.4	5.3±1.2
Abs2-25	39±6.1	1112.9±130.6	28.6±1.1	45.9±0.8	26.8±0.9	21.2±1.2	29.3±2.2	92.2±1.1	63.8±4.9	83.7±1.6	52.1±4	3.9±0.4	4.3±1.2
Abs2-26	22±14.1	686.6±404.5	33.5±6.5	47.4±1.6	26.4±1.9	18.5±1	27.7±6.7	93.1±0.4	66.9±1.7	85±2.9	50.4±5	4.6±0.9	5.3±0.5
Abs2-28	35.3±14	900.2±224.9	26.6±4.4	46±0.8	24.4±0.6	19±1.3	34.7±6.2	93.3±1.5	67.7±4.9	79.2±3.3	43.4±3.5	4.4±0.8	4.5±0.5
Abs2-29	38.7±11.6	992.6±177.3	26.2±2.9	45.4±2.2	25±2.3	19.5±1.1	30.5±1.4	93.8±0.4	69.3±2.2	83.5±2.2	48.4±7	4.4±0.4	4±0.5
Abs2-30	49.5±20.5	1233.7±395.4	25.5±2.6	46.6±1.7	24.6±1.1	17.9±0.4	32.6±3.8	94±0.5	70.1±3.5	79.9±0.6	43±0	3.8±0	4.3±0.9
Abs2-31	49.7±17.5	1165.6±289.7	24.1±3.4	47.2±1.3	25.8±1.7	19.6±0.7	29.2±1.8	93.2±1	68.8±3.8	83.1±1.4	48.2±3.3	4.5±0.7	4.5±0.5
Abs2-32	39±15.1	1097.1±422.9	28.1±0.9	46.5±2.4	23.7±1	23.9±1.8	28±2.9	92.8±1.4	68.8±3.1	81.7±5.1	44.6±11.1	4.6±0.5	4.9±0.7
Abs2-33	36.7±9.5	1061.1±125.4	29.8±4.9	46.7±0.9	24.8±1.9	23.3±0.8	25±2.8	91.3±2	63±7.1	86.9±0.2	55.3±0.3	4.6±0.8	4.3±0.3
Abs2-34	45.7±15.5	1265.8±315.1	28.5±3.8	46.4±2.1	25.1±1	21.2±1.7	29.9±2.1	92.4±1	64.7±3	85.4±1.4	51.9±2	4.5±1.1	4.7±0.4
Abs2-37	53±3	1521.2±118.2	28.7±1.3	47.8±0.9	25.4±0.6	23±1.9	30.8±3.7	92.7±1.3	65.2±4.6	81.6±1.3	44.5±3.7	4.4±0.3	4.5±0.4
Abs2-39	27.7±11.1	899.2±184.3	34.7±8.4	46.4±1.4	25.8±1.4	27.9±5.5	27±5.1	91.6±0.8	65.8±3.6	83.8±3	49.7±2.3	4.6±1.2	4.6±0.5
Abs2-40	52.3±15	1283.9±246.3	25.1±3.7	48.9±0.9	24.8±0.2	21.8±2.1	27.7±4.3	93.1±0.7	66.8±1.2	82.3±1.2	46.2±1.8	4.5±1.1	4.5±0.4
Abs2-42	10±11.3	219.3±241.1	23±2	45.3±1.2	26.3±0.7	17.4±0.2	32.9±0.2	91.95	61.40	81.93	46.99	6.205	5.311
Abs2-44	40±18.2	1057±377.9	27.2±4.2	46.3±1.9	25.7±1.5	22.3±1.8	26.1±1.4	93.7±2.1	69.9±5.9	83.9±2.6	49.2±6.2	4.1±0.9	4.6±0.4

Abs2-45	47.5±4.9	1264.9±124.7	26.9±5.4	45.1±1.3	25.8±1	20.5±0.5	32.6±1.7	93.8±0.6	69.8±2	80.7±1.3	47.2±2.4	4±0	3.7±0
Abs2-47	44.3±13.7	1231.2±231.2	28.6±4.5	46.3±1.3	24.4±1.8	20.8±6.8	23.3±2.6	81.5±19.4	59.4±14.6	82.9±6.5	47.6±12.5	3.9±1.6	4.6±0.7
Abs2-49	40±7.8	1119.3±135.7	28.4±4.8	45.7±0.8	24.8±0.8	19±1.4	24.8±2.4	92±0.8	64.2±3.9	81±2	45.6±3.7	4.1±0.5	4.8±0.9
Abs2-54	49±6	1171.1±90.4	24.2±3.7	46.1±1.5	24.3±1.5	21.2±2	30.7±3.2	94±0.4	71±2	82.8±3.1	48±7.2	4.2±0.6	4.3±0.5
Abs2-57	28.3±4.7	946.5±179.4	33.5±3.6	46.4±1.8	24.4±2.7	23±4.4	24.8±3.5	92.1±2	66.8±3.7	86.1±3	54.4±4.9	4.7±0.7	4.4±0.7
Abs2-58	38±1.3	1027±269.2	27.9±4.3	47±0.9	26.1±1.3	19.9±1.3	31.9±0.9	92.4±2.1	65.4±5.5	81.5±1.9	46.4±5.6	4.5±0.2	5.3±0.5
Abs2-69	26.7±17.2	767.1±323.2	33.2±12.6	48.2±2.2	26.2±1.8	19.9±1.4	27.4±4.7	92.2±0.9	64.5±3.2	84±1.8	47.3±3.7	4.9±0.6	5.7±1.5
Abs2-73	33.3±7.5	1055.2±98.1	32.4±4.9	46.6±4.5	26.5±1	20.3±2.9	28.2±2.7	91.5±1.6	61.7±4.1	82.3±3.6	45.6±6.8	4.7±0.7	4.7±0.5
Abs2-74	48±1.3	1242.6±217.5	28.3±9.1	46.3±0.9	26±1.3	22.2±1.3	25.6±3.8	92.5±1.5	65.6±4	85.3±1.1	50.9±4.7	4.5±0.1	5.2±0.1
백제	64.3±7.5	1438.5±179	22.4±1.7	46.2±2.4	25.7±0.7	19.7±4	40.6±4.7	94.4±0.8	68.9±3.3	83.2±4.1	45.9±7	3.8±0.3	4.5±0.1
새도	47.7±21.1	1173.2±337.8	25.8±4.1	46.7±1.7	24.1±0.8	21.6±2.2	29.6±3.2	92.5±0.9	66.3±2.1	83.8±2.4	47.7±5.8	4.9±0.5	5.4±0.6
새아	40±8.9	1119.6±100	28.6±4.2	47.6±1.8	25.9±1.5	22.2±2.4	25±2.5	91.8±0.9	63.5±1.6	86.4±2.9	55.1±6.6	5±0.8	5.3±0.4
새연	38.3±11.8	1216.5±265.4	32.6±7	49.7±2.6	25±1.6	19.5±2	28.3±5.8	91.5±0.6	59.8±1	83.9±3.2	48.7±3.7	4.6±1.5	4.4±0.9
새정	35.3±12.1	1058.5±182	31.2±5.4	47.9±0.7	25.1±0.2	17.5±0.7	31.8±0.4	91.7±1.6	63.5±1.7	81.3±1	46.8±3.8	5.9±2	5.7±0.9
새한	47±1.3	1317±211.7	28.4±3.5	48.2±2.5	25.7±1	19.4±1.8	27.5±3.6	93.3±2.7	68.7±7.1	83.9±1.5	45.9±0.8	4.5±0.6	4.5±0.6
호감	27.3±9.1	830.6±361.2	29.5±4.8	45.7±0.6	22.7±0.9	27.3±2.1	22±0.7	58.3±1	8.4±1	83.3±1.1	48.2±2.1	4.6±0.7	4.8±0.6

표 17. 1차 선발된 우량 계통 11점의 자실체 특성평가

군주 번호	개체수 (EA)	수량(g)	개체중(g)	갓직경 (mm)	갓두께 (mm)	대굵기 (mm)	대길이 (mm)	갓명도 (L)	갓 WI	대명도 (L)	대 WI	갓경도 (N)	대경도 (N)	초발이일수 (days)
1225(모균주)	56.3±29	1279.4±503.6	24.6±5.8	45.3±1.2	25.3±1.3	18.1±2.4	28.4±4.5	93.1±0.4	67.2±1.7	81.2±3.3	44.2±6.8	4.4±0.3	4.8±0.8	36±1.7
1246(모균주)	54±18.5	1349.8±223.2	26.2±5.3	46.4±1.2	25.3±1	20±0.3	31±4.3	92.1±0.5	63.7±3	79.8±3.3	44.5±3.1	4.5±0.8	5±0.5	38±0
Abs2-3	44.3±10.5	1296.3±164.1	29.8±3.4	47.9±0.8	26.8±2	20.9±1.1	27.9±2	91.9±2.1	64.6±2.1	80.5±0.6	43.6±2.2	3.8±0	5±0.2	36.5±2.1
Abs2-9	43±1	1138.4±51.5	26.5±0.8	46.8±1.1	24.6±0.7	23.3±4	30.9±2.5	93.8±0.6	69.4±1.6	82.7±3.8	49.2±5.8	4.6±0.7	5.1±0.5	37±0
Abs2-12	47.3±3.5	1207.3±141.3	25.5±1.3	44.8±1.3	25.3±2	21.1±2.4	30.9±1.9	93.9±0.6	70.7±2.1	82±2.8	46.1±3.3	4.1±0.1	4.4±0.3	36±1.7
Abs2-16	53.7±1.5	1459.7±28.4	27.2±1.1	47.5±1.7	25.1±0.4	20.2±1.9	33.5±2.1	93.4±0.9	66.8±3.6	81.6±0.8	45.9±4	4.3±0.4	4.6±0	36±1.4
Abs2-25	39±6.1	1112.9±130.6	28.6±1.1	45.9±0.8	26.8±0.9	21.2±1.2	29.3±2.2	92.2±1.1	63.8±4.9	83.7±1.6	52.1±4	3.9±0.4	4.3±1.2	36±1.4
Abs2-34	45.7±15.5	1265.8±315.1	28.5±3.8	46.4±2.1	25.1±1	21.2±1.7	29.9±2.1	92.4±1	64.7±3	85.4±1.4	51.9±2	4.5±1.1	4.7±0.4	35.5±0.7
Abs2-37	53±3	1521.2±118.2	28.7±1.3	47.8±0.9	25.4±0.6	23±1.9	30.8±3.7	92.7±1.3	65.2±4.6	81.6±1.3	44.5±3.7	4.4±0.3	4.5±0.4	38±0
Abs2-40	52.3±15	1283.9±246.3	25.1±3.7	48.9±0.9	24.8±0.2	21.8±2.1	27.7±4.3	93.1±0.7	66.8±1.2	82.3±1.2	46.2±1.8	4.5±1.1	4.5±0.4	37±1.7
Abs2-44	40±18.2	1057±377.9	27.2±4.2	46.3±1.9	25.7±1.5	22.3±1.8	26.1±1.4	93.7±2.1	69.9±5.9	83.9±2.6	49.2±6.2	4.1±0.9	4.6±0.4	37±2
Abs2-45	47.5±4.9	1264.9±124.7	26.9±5.4	45.1±1.3	25.8±1	20.5±0.5	32.6±1.7	93.8±0.6	69.8±2	80.7±1.3	47.2±2.4	4±0	3.7±0	35±0
Abs2-74	48±19.3	1242.6±217.5	28.3±9.1	46.3±0.9	26±1.3	22.2±1.3	25.6±3.8	92.5±1.5	65.6±4	85.3±1.1	50.9±4.7	4.5±0.1	5.2±0.1	36±1.7
새도	47.7±21.1	1173.2±337.8	25.8±4.1	46.7±1.7	24.1±0.8	21.6±2.2	29.6±3.2	92.5±0.9	66.3±2.1	83.8±2.4	47.7±5.8	4.9±0.5	5.4±0.6	36.7±1.5
새한	47±11.3	1317±211.7	28.4±3.5	48.2±2.5	25.7±1	19.4±1.8	27.5±3.6	93.3±2.7	68.7±7.1	83.9±1.5	45.9±0.8	4.5±0.6	4.5±0.6	37.7±1.2



그림 29. 1차 선발된 우량 계통의 자실체 모습

표 18. Ab2-2016(ASI 1225X ASI 1246) 11계통의 자실체 특성평가

균주번호	개체수(EA)	수확량(g)	개체중(g)	갓(mm)				대(mm)				경도		색도-갓			색도-대			초발이일수
				직경	비율	두께	비율	굵기	비율	길이1	비율	갓 경도	대 경도	L	A	b	L2	A2	b2	
1038	122.00	1631.87	13.38	51.69	1.01	18.00	0.98	16.47	1.02	46.25	0.95	3.02	3.06	86.35	3.87	13.48	79.51	3.25	10.47	21.67
1346	36.00	944.31	26.18	47.26	0.99	24.92	0.97	20.11	0.99	28.58	1.01	4.06	4.37	89.07	3.35	8.56	82.65	3.07	9.39	22.00
1225	66.00	1599.10	24.61	47.60	1.00	27.46	0.96	18.07	1.01	33.75	1.00	3.47	4.34	88.60	-0.44	9.43	81.05	2.97	10.71	19.60
1246	55.80	1251.25	22.61	47.60	1.00	24.47	0.98	17.42	1.00	31.49	0.99	3.84	4.57	88.69	3.47	9.63	82.75	2.78	9.00	18.40
Abs2-3	35.50	896.87	24.85	48.19	0.98	24.15	0.96	18.23	1.02	32.38	1.00	3.41	4.10	88.66	3.39	7.86	78.64	3.00	8.73	22.00
Abs2-9	39.11	4034.10	99.81	46.31	0.99	24.00	0.96	16.83	1.00	32.59	0.96	3.21	4.02	87.97	3.80	9.79	77.38	3.45	9.73	22.00
Abs2-12	57.20	1346.94	24.89	47.15	0.99	23.14	0.96	17.28	0.99	32.92	1.00	3.59	4.34	89.05	3.27	16.47	80.64	2.96	9.62	20.70
Abs2-16	53.89	1296.58	24.75	47.25	1.00	24.55	0.98	17.64	1.00	32.84	1.00	4.09	4.43	87.97	3.49	9.66	143.16	2.94	8.82	19.22
Abs2-25	38.00	868.20	23.26	45.26	1.00	25.92	0.95	16.84	1.02	31.61	1.00	3.37	3.94	88.99	3.58	8.07	80.16	3.47	9.69	22.50
Abs2-34	62.00	1492.37	24.03	47.46	0.99	24.13	0.95	16.39	1.00	33.30	1.02	3.45	4.27	88.98	3.62	9.50	81.00	2.85	9.23	20.20
Abs2-37	68.25	1257.28	20.39	46.85	0.99	23.18	1.00	18.07	0.98	32.77	1.01	3.65	4.03	88.05	3.40	52.35	81.53	3.05	9.55	21.25
Abs2-40	67.25	1303.26	19.35	47.06	1.01	23.67	0.97	16.35	1.02	34.46	1.01	3.01	4.05	88.37	3.55	40.96	78.98	3.10	9.40	21.75
Abs2-44	64.50	1411.85	22.12	47.63	0.99	23.51	0.99	16.78	1.03	35.24	0.96	3.33	4.18	89.28	3.09	9.20	77.51	3.16	9.22	21.25
Abs2-45	57.95	1385.07	24.12	47.02	0.99	23.13	0.98	17.02	1.02	33.89	0.99	3.44	4.23	88.02	3.32	9.20	78.61	3.09	9.20	21.02
Abs2-74	49.80	1270.16	26.46	47.33	0.99	23.47	1.00	17.99	0.98	33.87	1.00	3.51	4.32	88.75	3.62	9.47	81.75	3.21	8.91	20.60
새도	56.67	1350.80	24.09	47.35	0.99	24.03	1.00	18.35	0.99	30.87	1.05	4.09	4.45	88.84	3.74	8.56	80.49	3.47	8.92	19.67
새아	38.00	778.81	20.32	47.57	1.00	26.53	0.99	18.52	0.97	32.37	1.80	3.95	4.43	88.01	3.25	10.30	133.26	2.77	10.08	17.67
새연	79.33	1493.22	18.79	47.67	0.99	24.87	1.01	17.37	0.99	33.46	0.98	3.84	4.32	89.91	3.38	9.03	80.96	3.26	9.35	19.33
새정	47.67	1138.01	23.71	46.55	0.99	24.95	0.98	16.53	1.03	32.88	1.02	3.74	4.48	88.23	3.78	10.17	78.83	2.93	9.42	21.33
새한	66.67	1648.93	24.69	56.35	1.49	24.33	1.00	18.01	1.01	31.84	1.23	3.62	3.91	88.75	3.33	9.66	80.92	2.79	8.40	17.67
후감	53.00	1241.50	23.87	46.53	0.98	21.94	1.01	56.21	4.66	28.46	1.03	3.87	4.66	55.05	10.73	15.95	81.04	4.15	10.07	21.33

표 19. 최종 선발된 우량 계통 3점의 자실체 특성평가

균주번호	개체수(EA)	수확량(g)	개체중(g)	갓(mm)				대(mm)				경도		색도-갓			색도-대			초발이일수
				직경	비율	두께	비율	굵기	비율	길이1	비율	갓 경도	대 경도	L	A	b	L2	A2	b2	
1225	66.00	1599.10	24.61	47.60	1.00	27.46	0.96	18.07	1.01	33.75	1.00	3.47	4.34	88.60	-0.44	9.43	81.05	2.97	10.71	19.60
1246	55.80	1251.25	22.61	47.60	1.00	24.47	0.98	17.42	1.00	31.49	0.99	3.84	4.57	88.69	3.47	9.63	82.75	2.78	9.00	18.40
Abs2-16	53.89	1296.58	24.75	47.25	1.00	24.55	0.98	17.64	1.00	32.84	1.00	4.09	4.43	87.97	3.49	9.66	143.16	2.94	8.82	19.22
Abs2-25	38.00	868.20	23.26	45.26	1.00	25.92	0.95	16.84	1.02	31.61	1.00	3.37	3.94	88.99	3.58	8.07	80.16	3.47	9.69	22.50
Abs2-44	64.50	1411.85	22.12	47.63	0.99	23.51	0.99	16.78	1.03	35.24	0.96	3.33	4.18	89.28	3.09	9.20	77.51	3.16	9.22	21.25
새도	56.67	1350.80	24.09	47.35	0.99	24.03	1.00	18.35	0.99	30.87	1.05	4.09	4.45	88.84	3.74	8.56	80.49	3.47	8.92	19.67

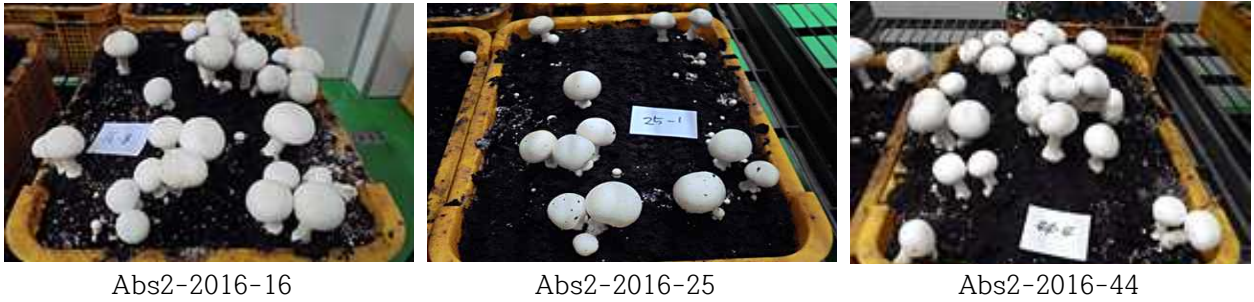


그림 30. 최종 선발된 우량 계통의 자실체 모습

2) 여름양송이(*Agaricus bitorquis*) ‘D34’ 육성

(1) 품종육성을 위한 현장실증 평가

기육성한 여름양송이 ‘D34’ 계통의 현장실증을 위해 부여 1농가와 경주 2농가에서 평가를 진행하였다. 60평 규모의 부여 농가에서는 22℃에서 3주기 수확을 하였으며 평균 수확량은 39.5kg/평으로 나왔다. 농가의견으로는 대조군 ‘여름양송이 1호’에 비해 버섯형태가 우수하고 개체중도 높아 우량 계통으로 평가를 하였으며, 또한 대조군에 비해 병에 대한 저항성도 높다는 평가를 받았다. 하지만 같은 저항성이 약하여 수분을 공급할 때 적은 양을 여러번 공급해야 한다는 의견도 제시하였다. 각 재배지에서 수집한 시료의 자실체 특성과 병해를 평가하였고, 특성평가 결과는 표 20와 같다. 병해는 ‘D34’ 12.5%, ‘여름양송이 1호’ 81.25%로 나와 약 6.5배 정도 높은 것으로 나왔다(그림 31). 경주 지역은 재배문제로 현장실증 결과를 얻지 못하였다.

표 20. ‘D34’ 계통과 ‘여름양송이 1호(대조군)’의 현장실증 자실체 특성 평가

군주 번호	개체중 (g)	갓직경 (mm)	갓두께 (mm)	대굵기 (mm)	대길이 (mm)	갓명도 (L)	갓 WI	대명도 (L)	대 WI
D34	23.6±4.9	46.1±2.8	19.8±2.1	23.1±2.1	26.9±5.5	90.6±1.9	61.4±7.4	86.5±2.8	52.4±6.1
대조군	22.6±5.6	44.5±4.7	20.3±2.4	26.4±3.8	24.7±4.5	90.4±1.7	61.8±2.1	80.7±7.2	43.6±14



그림 31. ‘D34’ 계통과 ‘여름양송이 1호(대조군)’의 현장실증과 자실체 병징 모습

(2) 여름양송이 신품종 ‘하이(D34)’의 특성

단포자 ASI 1151-121과 ASI1349-73을 Mono-mono교잡을 통해 육성되었으며, 균사배양 최적온도는 25-30℃, 버섯발생온도와 버섯 생육온도는 20-25℃로 고온성 백색버섯이다(오 등, 2015). 자실체는 균일하게 대조구 ‘여름양송이1호’보다 동절기에 11일 먼저 발생하고, 대조구 ‘여름양송이1호’보다 갓 직경과 대 길이가 길어 자실체 형태가 우수하며, 대조구 ‘여름양송이1호’보다 수확량이 376.1±69.9(g/상자)으로 34% 증수되었다(그림 32).



그림 32. 여름양송이 신품종 ‘하이’ 및 ‘여름양송이 1호(대조군)’의 자실체 모습

3) 소비자와 함께하는 현장평가회 개최

국내육성품종의 소비촉진을 위해 양송이의 주 판로인 학교급식을 책임지는 영양사들을 중심으로 경주 농가에서 재배하고 있는 국산 품종 ‘새도’, ‘새한’ 2품종과 갈색양송이의 품질과 식미 평가를 농업인과 영양사 50여명을 대상으로 진행하였다. 식미평가에서는 학교급식으로 버섯 품종 중 ‘새도’가 육질이 부드럽고 맛이 좋아 좋은 식재료라고 평가하였고, 특히, 갈색양송이는 고 연령층에게 선호를 받았다. 이에 젊은 연령층은 부드러운 식미와 약한 버섯향을 선호하였으며, 고 연령층은 아삭하게 씹히는 식미감과 강한 버섯향을 선호하는 것으로 사료되었다.

<p>1. 양송이 신품종 현장평가회 설문 조사(농가, 학교영양사 50명 대상)</p> <p>1) 가장 우수한 버섯 형태를 가진 품종은 새도(93%)</p> <p>2) 가장 색이 우수한 품종은 새도(96%)</p> <p>3) 가장 맛이 우수한 품종은 새도(92%), 새한, 외국종(4%)</p> <p>4) 앞으로 국내육성품종 재배의향 100%</p> <p>5) 갈색양송이를 구매 또는 재배할 의향 100%*</p> <p>2. 국산 품종 보급확대를 위한 설문조사(농가 대상)</p> <p>1) 국산품종 재배경험농가에서 국산품종 재 구매율은 78%임</p> <p>2) 국산품종보급을 위해 실증사업은 100% 도움이 된다고 함</p> <p>3) 국산품종의 미흡점은 스트로마 발생, 형태나 경도가 다소 미흡함</p>

그림 33. 소비자와 함께하는 현장평가회 개최 설문조사



그림 33. 소비자와 함께하는 현장평가회 개최 모습과 전국으로 배포된 양송이품종소개 책자

제 2절 양송이 육종을 위한 균주의 형질분석 및 특성 평가 기반 연구

1. 1차년도 연구개발 성과

1) 균주의 기본특성 조사

양송이 단핵균주와 이핵균주를 농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 버섯과에서 분양 받아 실험을 수행하였다. 시험에 사용된 균주 목록은 표 1-2와 같다. 단핵균주는 모균주 ASI1038 균주와 20개 단핵균주 그리고 모균주 1346 균주와 20개 단핵균주를 포함한 총 42개 균주를 이용하여 실험을 진행하였다. 실험에 사용된 이핵균주는 표1과 같다. 8개의 한국 균주를 포함한 각국에서 수집된 37개 균주를 사용하였으며 숲주름버섯인 ASI34010의 경우에는 대조균으로 사용하였다.

표 1. 시험에 사용된 단핵균주 목록

Name	Characteristics	Name	Characteristics
ASI1038	모균주 (이핵균주)	ASI 1346	모균주 (이핵균주)
ASI1038-32		ASI 1346-1	
ASI1038-61		ASI 1346-2	
ASI1038-68		ASI 1346-3	
ASI1038-74		ASI 1346-5	
ASI1038-86		ASI 1346-9	
ASI1038-89		ASI 1346-10	
ASI1038-97		ASI 1346-11	
ASI1038-128		ASI 1346-22	
ASI1038-129		ASI 1346-23	
ASI1038-177		ASI 1346-29	
ASI1038-179	단핵균주	ASI 1346-31	단핵균주
ASI1038-181		ASI 1346-32	
ASI1038-182		ASI 1346-33	
ASI1038-240		ASI 1346-34	
ASI1038-241		ASI 1346-37	
ASI1038-263		ASI 1346-38	
ASI1038-266		ASI 1346-60	
ASI1038-344		ASI 1346-75	
ASI1038-347		ASI 1346-83	
ASI1038-348		ASI 1346-85	

표 2. 시험에 사용된 이핵균주 목록

No	ASI No	Cultivar name	Color	Origin
1	ASI1151		흰색	
2	ASI1337	세아	흰색	
3	ASI1338	세정	흰색	
4	ASI1347	세연	흰색	
5	ASI1348	세도	흰색	한국
6	ASI1246			
7	ASI1146		갈색	
8	ASI1153		크림색	
9	ASI1038		갈색	
10	ASI1031		흰색	미국
11	ASI1032		크림색	
12	ASI1072		흰색	덴마크
13	ASI1024		흰색	대만
14	ASI1047		흰색	
15	ASI1177		크림색	일본
16	ASI1050		갈색	
17	ASI1054		흰색	프랑스
18	ASI1060		흰색	인도
19	ASI1085		흰색	
20	ASI1086		갈색	캐나다
21	ASI1164		갈색	
22	ASI1095		흰색	독일
23	ASI1138		흰색	
24	ASI1096		흰색	스위스
25	ASI1118			영국
26	ASI1195			페루
27	ASI1320		갈색	
28	ASI1322			네델란드
29	ASI1324		흰색	호주
30	ASI1323		갈색	
31	ASI1326		흰색	뉴질랜드
32	ASI1328			
33	ASI1329			
34	ASI1330			브라질
35	ASI1336		갈색	
36	ASI1339			베트남
37	ASI34010	숲주름버섯		미국

(1) 균주별 최적 기질 검정

① ASI1038 라인 단핵균주

실험균주 중에서 ASI1038-278은 모든 기질에서 빠른 성장을 보였다. 또한 실험균주 모두 PDA 나 MEA에 비하여 oatmeal agar에서 빠른 성장을 보였다 (그림 1). 모든 실험균주는 MEA를 두 번째로 선호하는 것으로 나타났으며, PDA에서의 성장이 가장 느린 것으로 조사되었다. ASI1038-239의 경우에는 oatmeal agar에 비하여 MEA에서의 성장이 조금 더 빠른 것으로 나타났으며, 모든 실험균주 중에서 성장정도가 모든 배지에서 가장 더딘 것으로 나타났다.

② 이핵균주

실험조건 중에서 다른 영양배지 조건에 비하여 oatmeal agar에서 가장 빠른 성장을 보였으며, ASI1024 · ASI1032 · ASI1113 · ASI1328의 성장이 가장 빠른 것으로 나타났다 (그림 2). MEA와 PDA에서의 성장 정도는 유사하였으며 PDA에서 ASI1096과 ASI1330는 시험기간 동안 성장하지 못하였다.

③ ASI1346 라인 단핵균주

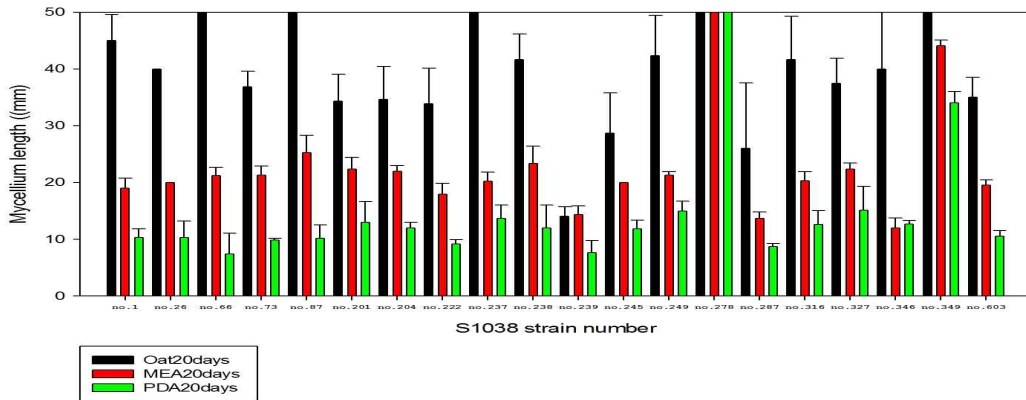


그림 1. ASI1038 라인 단핵균주의 최적기질 검정

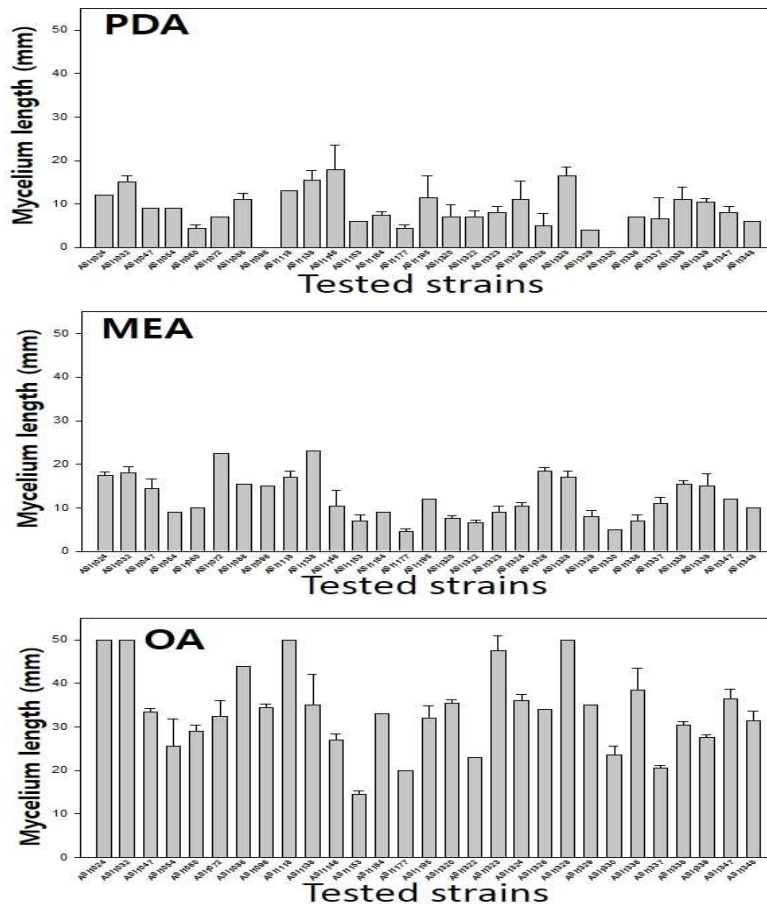


그림 2. 이핵균주의 최적기질 검정

(2) 균주별 세포외효소활성검정

① 양송이 strain S737 no.05 세포외효소 활성 검정

세포외효소활성을 통하여 균주간의 특성을 구분할 수 있는지 여부를 평가하기 위해서 양송이 strain S737 no.05를 이용하여 실험을 진행하였다. 평가 효소로는 β -glucosidase, avicelase, CM-cellulase, amylase, pectinase, xylanase, protease를 사용하였다. 그림3과 같이 세포외 효소 활성정도를 통하여 균주간의 특성을 구분할 수 있음을 알 수 있었다.

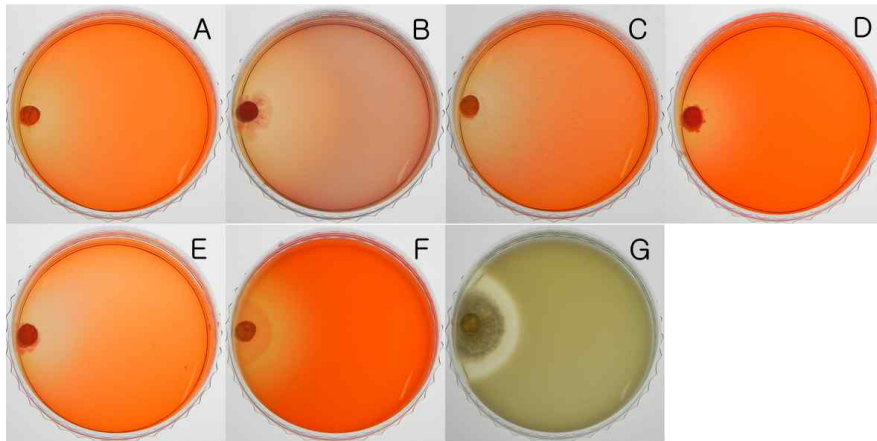


그림 3. 양송이 strain S737 NO.05 세포외효소 활성 검정. A: β -glucosidase, B: avicelase, C: CM-cellulase, D: amylase, E: pectinase, F: xylanase, G: protease.

② strain별 세포외효소 활성 검정.

- ASI1038 라인 단핵균주의 세포외효소 활성 검정

총 20개의 ASI1038 라인 단핵균주와 대조군으로서 ASI1038 균주를 사용하여 세포외효소 활성을 검정하였다. 검정한 일곱 개의 세포외효소 활성 중에서 β -glucosidase의 활성이 가장 강하게 나타났다. 20개 실험균주 중에서 15개 균주가 β -glucosidase의 활성을 보였으며 10개 균주가 모균주에 비하여 강한 β -glucosidase활성을 보였다. Avicelase의 경우에는 총 12개의 균주가 효소활성을 보였으며 모균주인 ASI1038은 avicelase의 활성이 보이지 않았다. CM-cellulase의 경우에는 3개 균주만이 효소활성을 보였으며 모균주의 CM-cellulase의 활성은 검출되지 않았다. 실험균주 중에서 17개 단핵균주가 amylase 활성을 보였으며 2균주가 모균주에 비하여 강한 amylase 활성을 보이는 것을 알 수 있었다. Pectinase의 경우에는 검정한 20개의 단핵균주 중에서 16개의 균주가 효소활성을 보였으며, 2개의 균주가 모균주의 효소활성에 비하여 강한 효소 활성을 보이는 것을 알 수 있었다. Xylanase의 경우에는 총 16개의 단핵균주가 효소활성을 보였으며 3개의 단핵균주가 모균주에 비하여 강한 효소활성을 보였다. Protease의 경우에는 15개의 단핵균주가 효소활성을 보이는 것을 알 수 있었으며, 모균주의 경우에는 protease 활성을 보이지 않았다.

- ASI1346 라인 단핵균주의 세포외효소 활성 검정

총 20개의 ASI1346 라인 단핵균주와 대조군으로서 ASI1346 균주를 사용하여 세포외효소 활성을 검정하였다. 검정한 일곱 개의 세포외효소 활성 중에서 β -glucosidase의 활성이 가장 강하게 나타났다. β -glucosidase의 경우 검정한 20개 단핵균주 모두 효소활성을 보였으며 12개 균

주는 대조군으로 사용된 모균주에 비하여 강한 효소활성을 보였다. Avicelase의 경우에는 20개의 단핵균주 중에서 18개 균주가 효소활성을 보였으며, 모균주는 avicelase 활성을 보이지 않았다. CM-cellulase의 경우에는 20개의 단핵균주 중에서 18개 균주가 효소활성을 보였으며, 모균주보다 CM-cellulase 활성이 강한 균주는 없었다. Amylase의 경우에는 20개의 단핵균주 중에서 19개 균주가 효소활성을 보였으며 그 활성정도는 모균주와 유사하거나 약한 것으로 나타났다. Pectinase의 경우에는 20개 균주 중에서 19개 균주가 효소활성을 보였으며, 4개 균주가 모균주에 비하여 강한 효소활성을 보였다. 20개 단핵균주 모두 xylanase 활성을 보였으며, 그 활성정도는 모균주와 유사하거나 약한 것을 알 수 있었다. Protease의 경우에는 20개 단핵균주 중에서 19개 균주가 효소활성을 보였으며, 4개의 균주가 모균주보다 강한 활성을 보였다.

- 이핵균주의 세포외효소 활성 검정

검증한 일곱 개의 세포외효소 중에서 protease와 xylanase는 2개의 균주를 제외한 모든 균주에서 활성을 보였으며 β -glucosidase의 경우에는 5개를 제외한 모든 균주에서 효소활성을 보였으며 대조군인 ASI34010, ASI1146, ASI1336에서는 다른 균주에 비하여 매우 강한 β -glucosidase 활성을 보였다 (그림 4-6). 총 15개 균주가 avicelase 활성을 보였으며, 시험균주 중에서 ASI1146가 가장 강한 avicelase 활성을 보였다. 총 21개 균주가 CM-cellulase 활성을 보였으며 ASI1024가 가장 강한 CM-cellulase 활성을 보였다. 총 20개 균주가 amylase와 활성을 보였으며, ASI1146이 강한 amylase 활성을 보였다. Pectinase의 경우에는 20개의 균주의 활성이 거의 비슷하였다. Xylanase의 경우에는 35개의 균주가 효소활성을 보였으며, ASI1024가 가장 강한 xylanase 활성을 보였다. Protease의 경우에는 총 35개의 균주가 효소활성을 보였으며, 대조군으로 사용된 숲주름버섯인 ASI34010과 ASI1337이 가장 강한 효소활성을 보였다

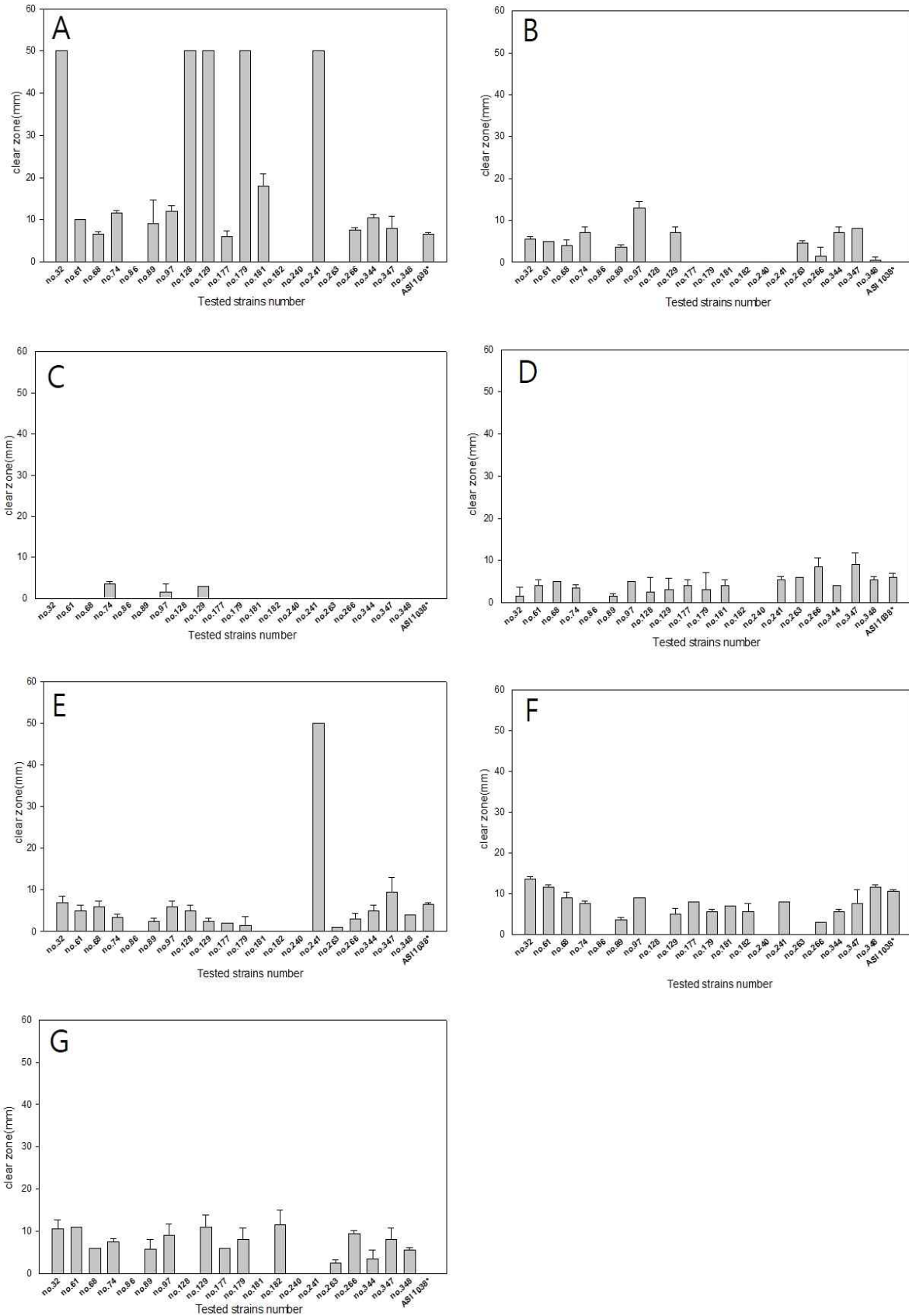


그림 4. ASI036 라인 단핵균주의 세포외효소 활성 검정. A: β -glucosidase, B: avicelase, C: CM-cellulase, D: amylase, E: pectinase, F: xylanase, G: protease, *: control (모균주).

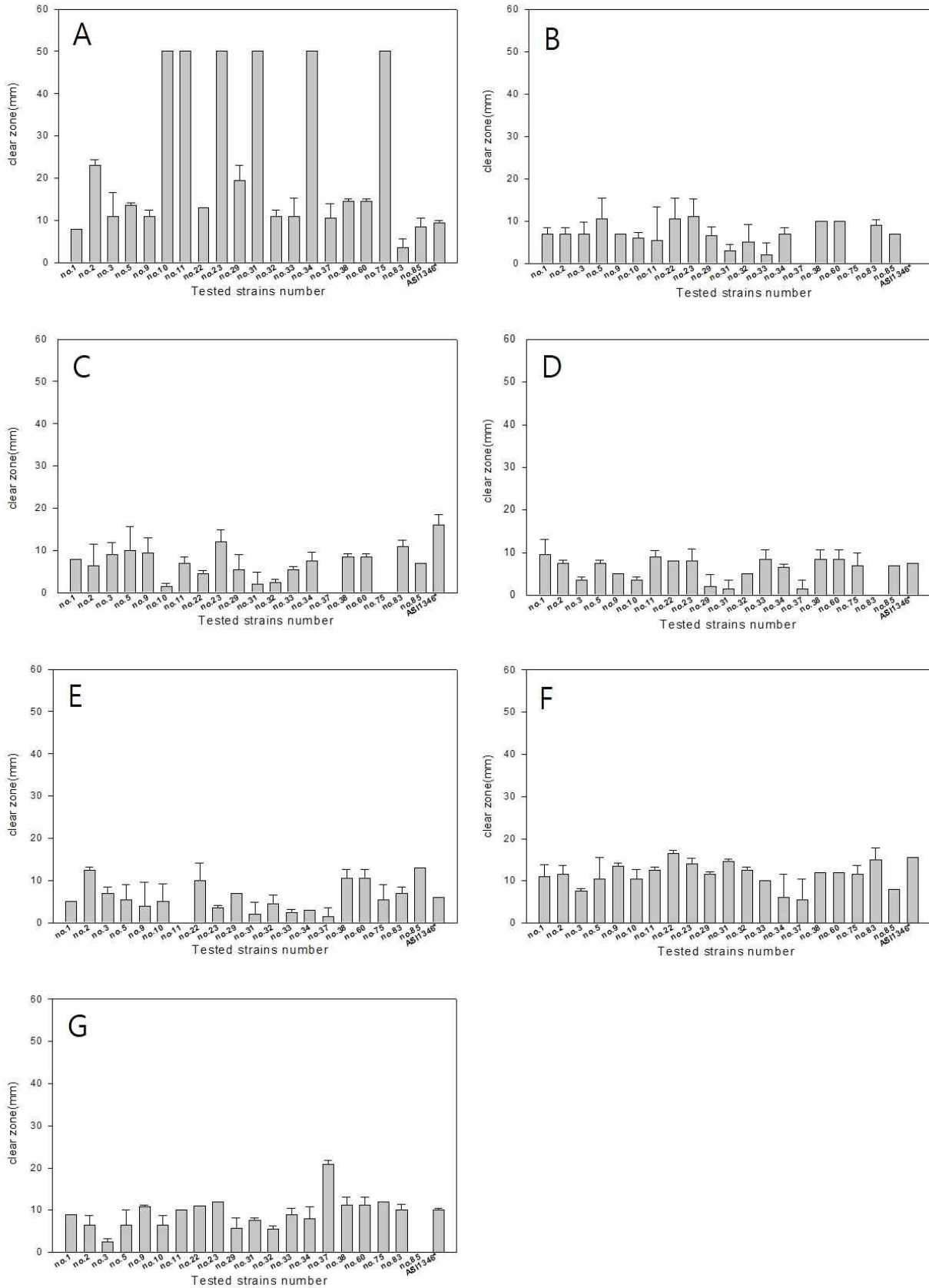


그림 5. ASI1346 라인 단핵균주의 세포효소 활성 검정. A: β -glucosidase, B: avicelase, C: CM-cellulase, D: amylase, E: pectinase, F: xylanase, G: protease, *: control (모균주).

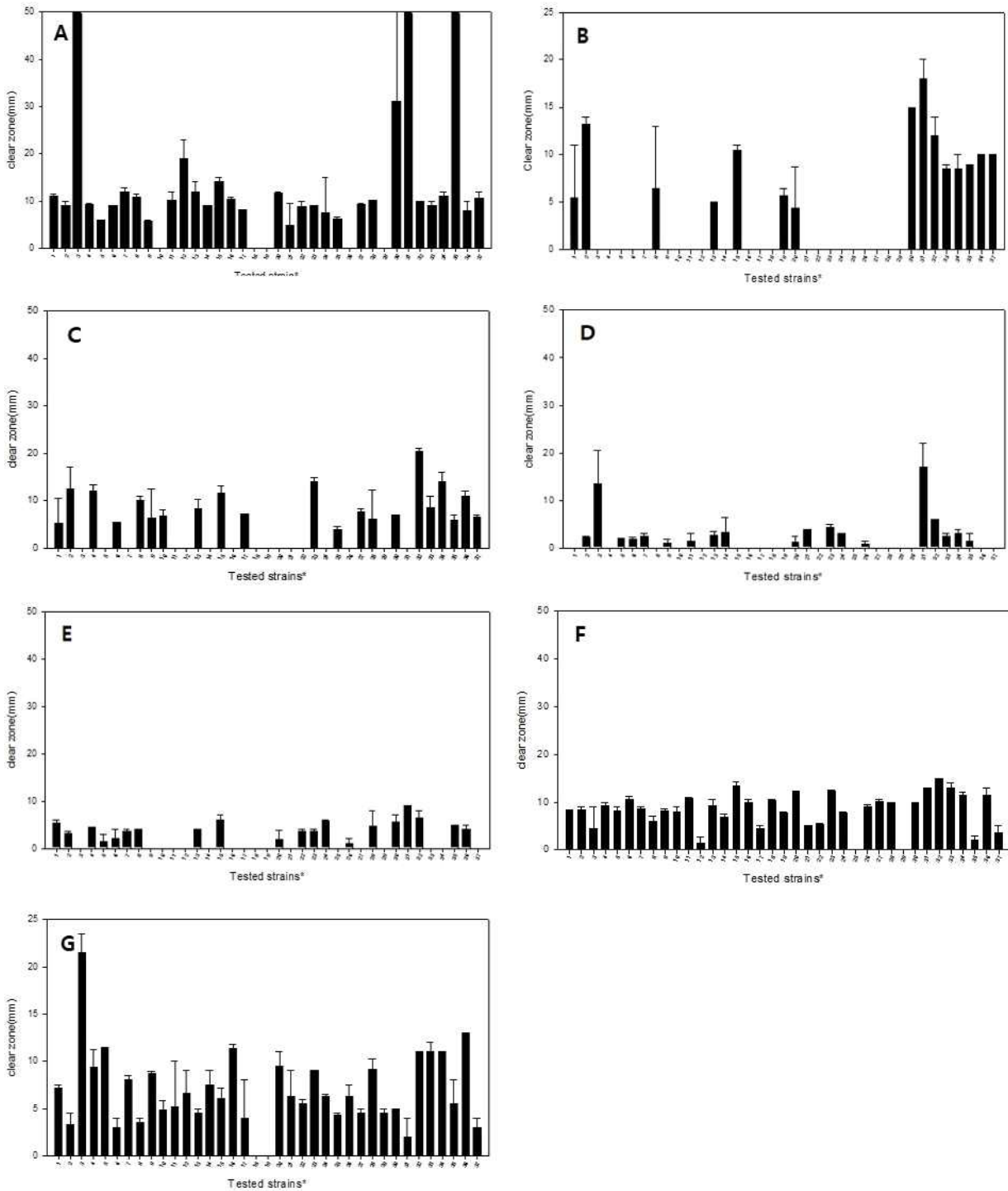


그림 6. 이핵균주의 세포외효소 활성 검정. A: β -glucosidase, B: avicelase, C: CM-cellulase, D: amylase, E: pectinase, F: xylanase, G: protease. *: 1 (ASI1096), 2 (ASI1153), 3 (ASI34010), 4 (ASI1054), 5 (ASI1329), 6 (ASI1095), 7 (ASII047), 8 (ASI1320), 9 (ASII038), 10 (ASI1339), 11 (ASI1060), 12 (ASI1072), 13 (ASI1326), 14 (ASI1032), 15 (ASI1086), 16 (ASII338), 17 (ASI1195), 18 (ASI1347), 19 (ASI1138), 20 (ASI1118), 21 (ASI1031), 22 (ASII330), 23 (ASI1348), 24 (ASI1050), 25 (ASI1322), 26 (ASI1164), 27 (ASI1328), 28 (ASI1085), 29 (ASI1151), 30 (ASI1323), 31 (ASI1146), 32 (ASI1024), 33 (ASI1246), 34 (ASI1324), 35 (ASI1336), 36 (ASII337), 37 (ASI1177).

(3) 품종별 자실체 특성정도 파악

① 자실체 특성 파악을 위한 성장정도에 따른 단계 구분

충남 부여에 소재한 농가에서 규격 재배로 배양된 백색 자실체를 이용하여 자실체 발생과정 중 형태적 단계를 구분하였다. 크기와 구조에 따라 그림 6과 같이 총 8단계로 구분하였다. 1단계는 자실체 발달 초기단계로서 대의 크기가 갓의 크기보다 크며 자실체의 길이가 약 250mm 정도이다. 2단계는 1단계에 비하여 갓의 크기가 약 2배가량 커지며 대와 갓의 크기가 거의 유사하게 된다. 자실체의 길이는 약 300mm 정도였다. 3단계는 턱받이가 생성되기 시작하며 갓의 크기가 이전단계에 비하여 약 1.5배가량 성장하였다. 전체 자실체의 크기는 약 380mm 정도였다. 4단계는 자실체의 크기가 옆으로 성장하였으며 이전단계에 비하여 갓이 약 1.5배가량 성장하였다. 5단계에서는 이전단계에 비하여 대의 길이가 약 1.5배가량 성장하였다. 6단계에서는 이전단계에 비하여 갓의 크기가 약 1.5배 이상 성장하였으며, 대의 윗부분이 잘록한 형태를 보였다. 7단계에서는 이전단계에 비하여 턱받이의 길이가 성장하였다. 마지막 단계에서는 7단계에 비해서 턱받이의 길이가 성장하였으며, 대의 윗부분이 이전단계에 비해서 굽어졌다. 본 8 단계 구분은 자실체 발달 단계에 따른 유전자 발현분석을 수행하는 기초 자료가 되는 동시에 품종 육성에 있어서 형태적 비교를 단계적으로 수행 할 수 있는 비교 파라미터로 활용할 수 있을 것이다.



그림 6. 형태적 특징에 따른 양송이 자실체 발달 8단계 구분 모습.

2) Intergenic spacer region sequence를 이용한 유전형 분석

(1) 선행연구결과

① Intergenic spacer region sequence를 이용한 유전형 분석 가능성 검토

- 시험균주의 intergenic spacer region sequence alignment

Sequence alignment를 통하여 2개의 일본 품종 (You, 927)와 국내 균주간의 intergenic spacer region sequence간에 차이가 존재하는 것을 알 수 있었다.

```

927      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 866
G44      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 868
08-128  ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 893
08-152  ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 893
You      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 867
108      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 869
S30      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 868
G48      ATAACAGTCCAGTCAGTCA-GTAT---AAGTTAATAACAGTCAGTCAGTATAAGTTAATA 868
291      ATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTTAGTCAGTACAAGTTAATA 873
S12      ATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTTAGTCAGTACAAGTTAATA 862
101      ATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTTAGTCAGTACAAGTTAATA 873
G33      ATAACAGTCCAGTCAGTAAAGTGTGTTAAGTTAATAACAGTTAGTCAGTACAAGTTAATA 873
***** * * * *

927      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 918
G44      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 920
08-128  ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 945
08-152  ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 945
You      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 919
108      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 921
S30      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 920
G48      ACAGTTCAGTCAGTAAAGTGT--GTTAAGTTAATAACAGTCC----AGTCAGTAA--GTGT 920
291      ACAGT-CAGTCAGTAAATAACAGTTCAGTCAGTAA-AGTGTGTTAAGTTAATAACAGTTA 931
S12      ACAGT-CAGTCAGTAAATAACAGTTCAGTCAGTAA-AGTA-----AAGT-----GT-- 906
101      ACAGT-CAGTCAGT--ATAA-----GTTAATAA-CA-----GTCA 904
G33      ACAGT-CAGTCAGT--ATAA-----GTTAATAA-CA-----GTCA 904
**** * * * *

927      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 970
G44      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 972
08-128  GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 997
08-152  GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 997
You      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 971
108      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 973
S30      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 972
G48      GTTA-----AATTA-TAACAGT-TAGTCAGTAAACTGTGTTAAGTTA-CAACAGTTTGGT 972
291      GTCAGTACAAGTTAATAACAGT-CAGTCAGTAGG-TGTGTTAAGTTAATAACAGTTCAGT 989
S12      GTTA-----AGTTAATAACAGA-CAGTCAGT-----TAATAACAGTTCAGT 946
101      GTCA-----GTTAATAACAGTTCAGTCAGTAAAG-TGTGTTAAGTTAATAACAGTTCAGT 957
G33      GTCA-----GTTAATAACAGTTCAGTCAGTAAAG-TGTGTTAAGTTAATAACAGTTCAGT 957
** * * * *

```

그림 7. 시험균주의 intergenic spacer region sequence alignment.

② 시험균주 intergenic spacer region sequence의 phylogenetic analysis

MEGA5.05를 이용하여 시험균주의 IGS region sequence를 이용하여 phylogenetic analysis를 수행하였다 (그림8). 그 결과에 따르면, 각 균주들의 IGS region sequence 차이에 따라 시험균주간의 구분이 가능하며, 따라서 버섯류의 IGS region sequence를 이용한 구분이 가능하다는 것을 알 수 있었다.

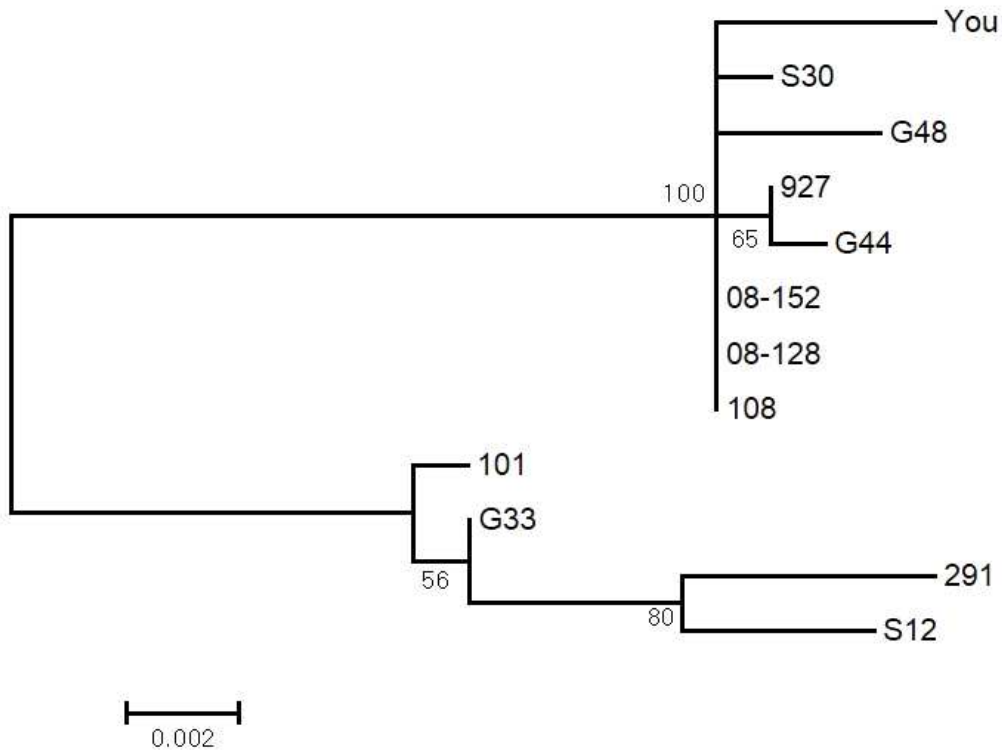


그림 8. 시험균주의 intergenic spacer region sequence를 이용한 phylogenetic analysis.

(2) 본연구 결과

본 실험에서는 단핵균주와 이핵균주를 구분하여 실험을 진행하였다.

① ASI1038 라인의 단핵균주

ASI1038 라인 단핵균주의 IGS region sequence는 길이별로 크게 1.3Kb, 1Kb, 700bp로 구분이 되었으며, phylogenetic analysis를 통하여 그림 9와 같이 grouping이 되는 것을 알 수 있었다.

② ASI1346 라인의 단핵균주

ASI1038 라인의 단핵균주와는 다르게 ASI1346 라인의 단핵균주의 IGS region sequence는 모두 1.3Kb의 크기를 지니고 있었으며, phylogenetic analysis를 통하여 그림 10과 같이 grouping이 되는 것을 알 수 있었다.

③ 이핵균주

이핵균주의 IGS region sequence는 대부분의 균주가 1.3Kb의 크기를 지니고 있었으며, 미국에서 수집된 ASI1038균주와 control로 사용된 숲주름버섯 ASI34010은 700bp의 크기를 지니는 것을 알 수 있었다. Phylogenetic analysis를 통하여 그림 11과 같이 IGS region sequence 크기별로는 grouping이 되지만 선택 및 수집국 별로는 grouping이 되지 않았다.

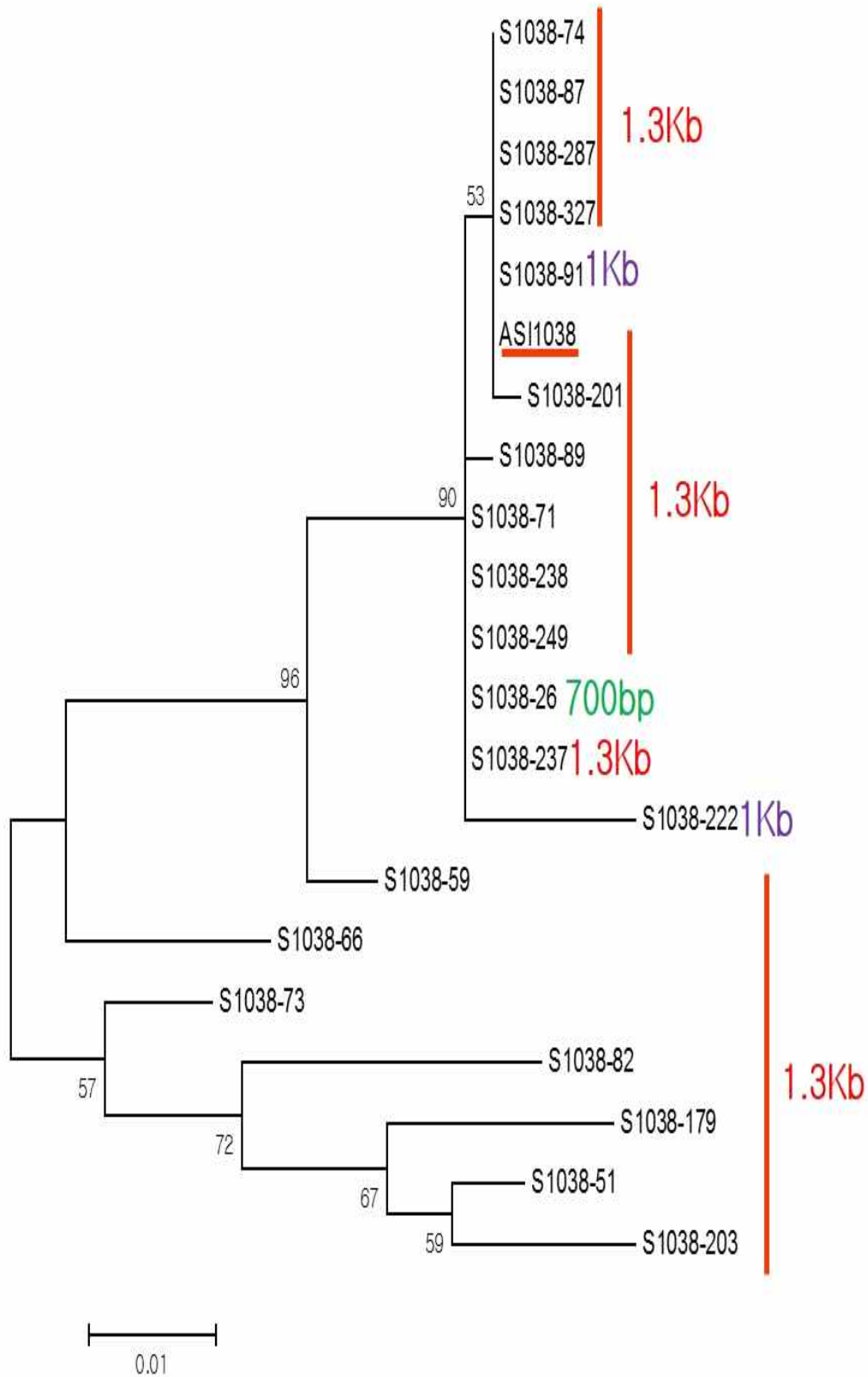


그림 9. ASI1038라인 단핵균주의 intergenic spacer region sequence를 이용한 phylogenetic analysis.

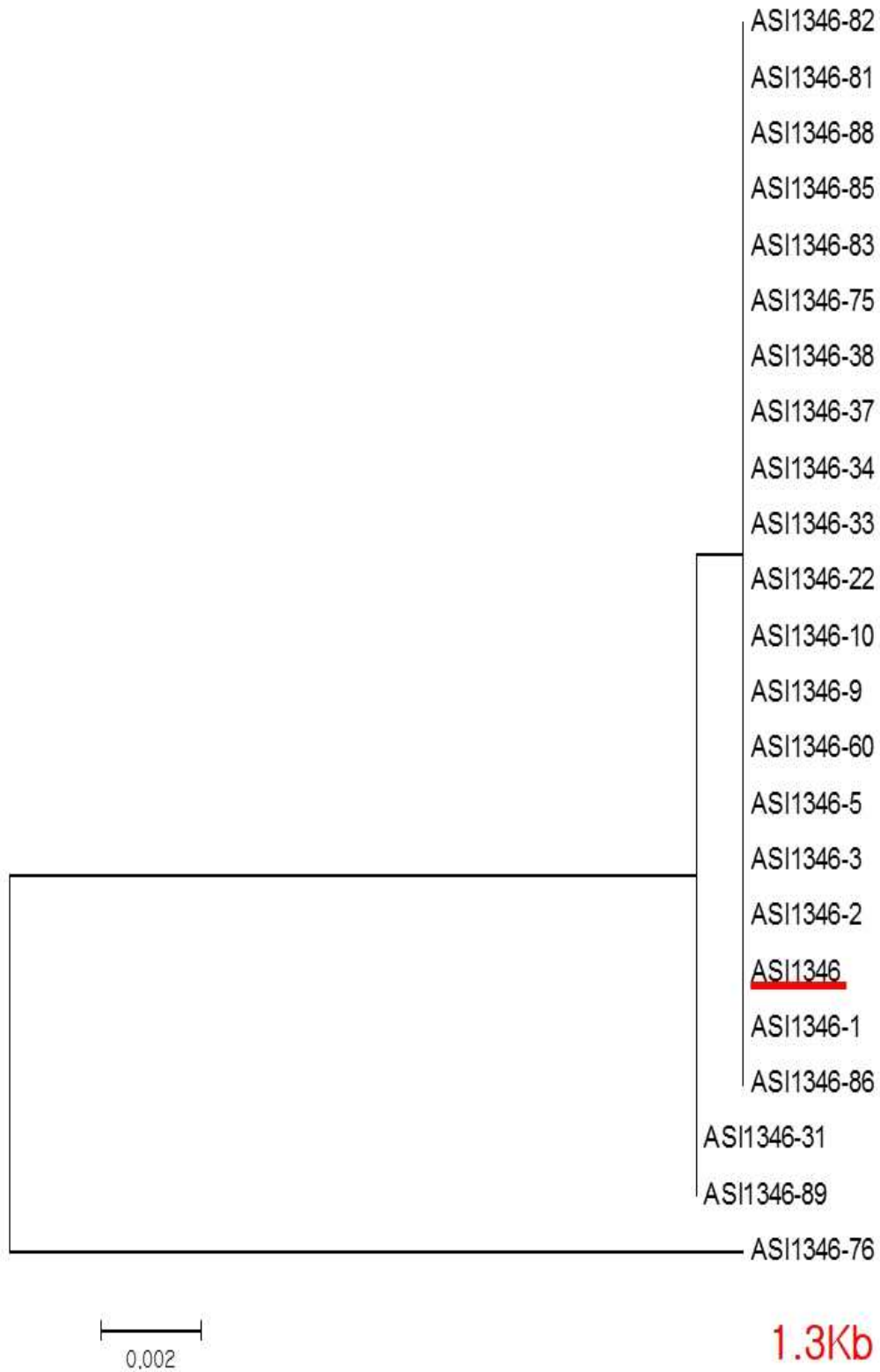


그림 10. ASI1346라인 단핵균주의 intergenic spacer region sequence를 이용한 phylogenetic analysis.

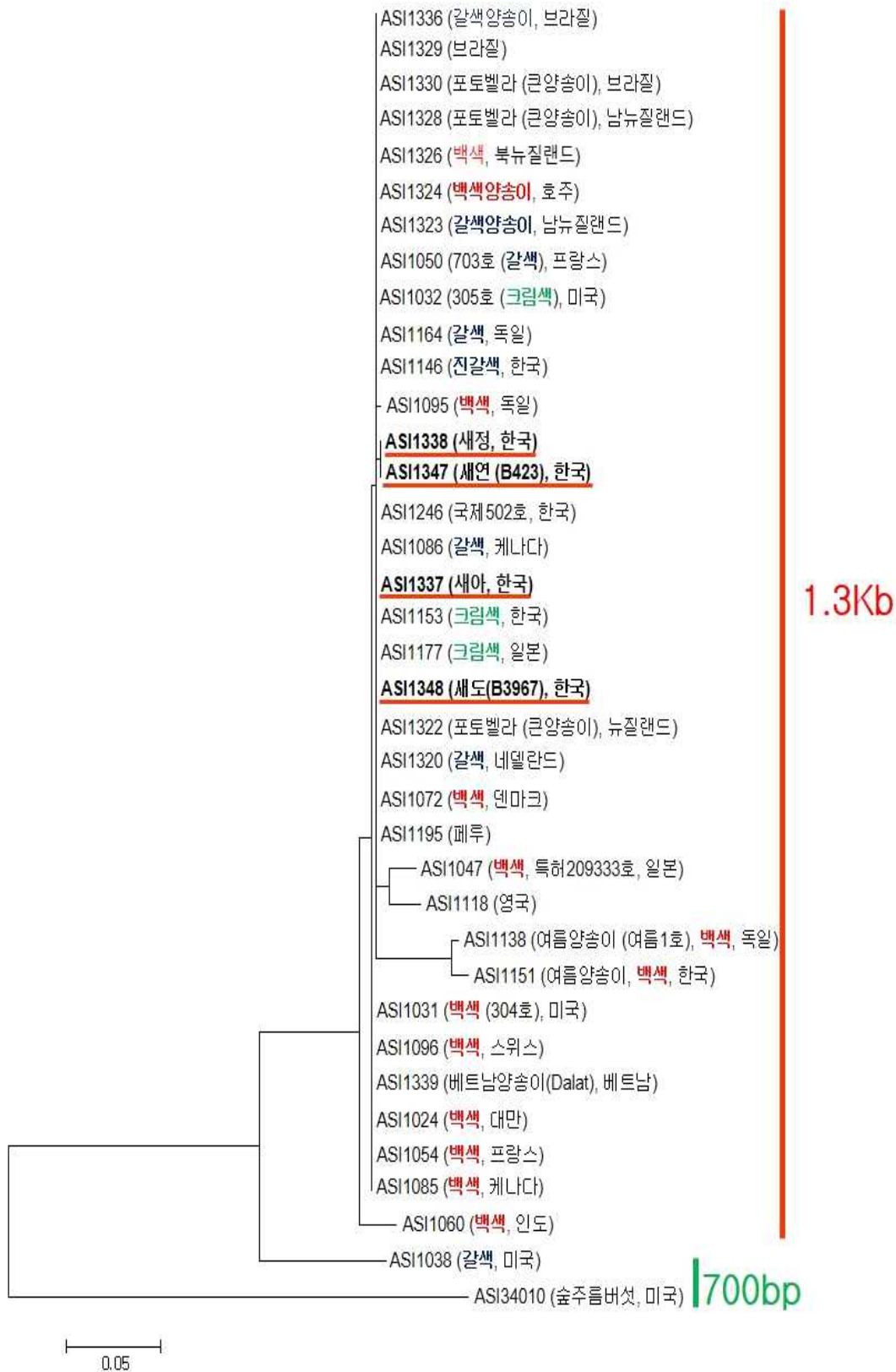


그림 11. 이핵균주의 intergenic spacer region sequence를 이용한 phylogenetic analysis.

3) 극한 대조특성 보유균주 대상 유전자발현 전사체 비교 분석

(1) RNA prep

갈색(B) 양송이와 백색(W) 양송이 간의 발현단계별 유전자 발현 전사체를 비교하기 위하여 RNA seq을 진행하였다. 아래 그림 12.과 같이 갖의 색이 발현되는 시기에 따라 발현전, 발현시작, 발현후기로 구분된다. 발현전은 그림과 같이 갖과 대의 구분이 모호한 단계로 BYA로 기술하였고, 발현시작은 갖의 색이 갈색으로 바뀌고 갖과 대 구분이 가능한 단계로 갖은 BYC, 대는 BYS로 기술하고 각각 RNA prep을 해주었다, 발현후기는 갖의 색이 완전히 갈색이 된 상태로 갖은 BOC 대는 BOS로 각각 RNA prep을 진행해주었다. 백색 자실체는 백색이기 때문에 색 발현과 관련하여 갈색 자실체와 유사한 크기의 성장을 보일 때 단계를 나눠 발현전단계의 RNA prep 시료를 WYA, 발현시작단계의 갖과 대를 각각 WYC, WYS로 기술, 발현후기 갖과 대를 각각 WOC, WOS로 기술해 대조군으로 사용하였다.

RNA prep은 Trizol agent를 이용 하였다. 추출된 RNA를 gel electrophoresis를 통해 가시적으로 확인하였다. RNA prep의 결과는 밴드가 깨지지 않고 겔상에서 28S와 18S가 약 2:1로 이상적인 밴드간의 강도차이를 보였다(그림 13.). 확인된 RNA는 테라젠이텍스사에 의뢰하여 정확한 순도와 양을 파악하고 RNA seq을 진행하였다.



그림 12. 극한 대조특성 보유균주 대상 유전자발현 전사체 비교분석용 자실체 모습.

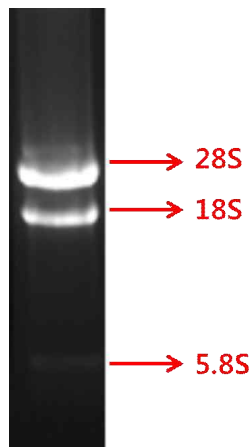


그림 13. Gel electrophoresis를 통한 양송이 자실체로부터 분리한 RNA 순도 확인.

2. 2차년도 연구개발 성과

1) RNA seq 진행

(1) Alignment

NGS의 경우, RNA를 cDNA로 합성 후 작은 가닥(read)으로 잘게 잘라 준 후 양쪽부분에 adaptor를 달아 증폭시켜 실험에 적용한다. Alignment로 각 조건의 read를 기존의 reference genome과 염기서열이 일치하는 부위에 나란히 놓아주어 reference genome과의 일치도를 보았다. 갈색양송이와 흰색양송이의 각각의 발달단계별 5조건의 alignment를 분석한 결과, 왼쪽 축은 각조건별 alignment에 적용한 read의 총 수를 보여 주게 된다. 거의 대부분 mapped와 uniquely mapped의 비율이 각 조건에서 약 70%이상 공통적으로 많이 차지하고 있는 것을 확인할 수 있다. uniquely mapping은 read가 1개의 genome에 일치하는 것을 보여주는 수치로, 전체 mapping된 read의 비율에서 uniquely mapping이 많은 비율로 나타난 것으로 보아 조건별 read가 reference genome에 mapping 되어 있음을 확인 할 수 있었다.

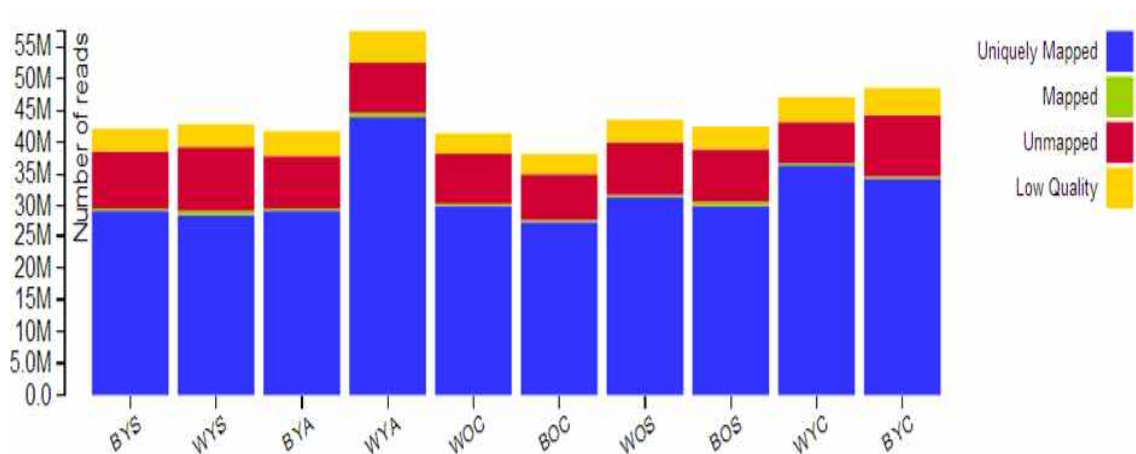


그림 14. 각 조건별 Alignment 결과. BYS:갈색자실체 발현시작단계의 대, WYS:흰색자실체 발현시작단계의 대 BYA:갈색자실체 발현전단계 전체, WYA:흰색자실체 발현전단계 전체, WOC:흰색자실체 발현후기의 것, BOC:갈색자실체 발현후기단계의 것, WOS:흰색자실체 발현후기단계의 대, BOS:갈색자실체 발현후기의 대, WYC:흰색자실체 발현시작단계의 것, BYC:갈색자실체 발현시작단계의 것.

(2) 갈색자실체 특이적 발현 유전자

표 4의 분석결과를 통해 전사체 발현단계에서 갈색자실체에서만 발현되었던 11개 전사체를 추출하였다. 추출된 전사체는 상단의 Origin은 *Agaricus bisporus*로 분석업체를 통한 결과이고 하단은 다른 origin에서 blast search 작업으로 얻은 결과이다. 이중 name 001122, 001335, 008150은 단백질 서열의 상동성이 30% 이상으로 나오는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 갈색자실체에서만 발현된 11개 contig는 색과 관련되었을 것이라 사료되어, 색관련 특이 marker 작업을 진행할 후보로 지정하였다. 추가로 RNA seq 결과의 정확성 검증을 위해

real time PCR을 진행해 주었다. XYOC001554, XLOC004348, XLOC003248, XLOC008150 contig의 경우 갈색 자실체에서의 발현이 높게 나타나 RNA seq 결과와 동일한 양상을 보였지만 XYLOC001334, XYLOC001335, XLYOC001122, XLOC000574, XLOC000715 contig의 경우에는 백색 자실체에서 발현이 상대적으로 높게 나타나 RNA seq 결과와 반대의 결과를 보였다. 또한 XLOC008392 contig의 경우에는 발현 양상이 백색과 갈색 자실체에서 유사하게 나타났다.

위의 결과를 통해 XYOC001554, XLOC004348, XLOC003248, XLOC008150 4개 contig의 발현 정도가 다른 contig에 비해 정확하게 측정되었다고 판단되어 우선적으로 앞의 4개의 contig로 marker를 디자인하고 있다.

표 4. 갈색자실체에서만 발현된 11개의 전사체

No	Name	Characteristics (Origin)	Length (bp)
1	009137		243
2	000751	ras GEF (Yeast)	570
3	000574	Lactate dehydrogenase, DNA methylase (<i>Mycobacterium colombiense</i>)	302
4	001122	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) DNA-binding protein (<i>Clostridium</i> sp.)	239
5	001335	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) Funk protein kinase (<i>Coprinopsisiscinerea</i>)	987
6	001334	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) Funk protein kinase (<i>Coprinopsisiscinerea</i>)	779
7	001534	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) Transmembrane protein (<i>Rhizoctoniasolani</i>)	2,550
8	004348	hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) Leucine-rich repeat and fibronectin type-3 domain-containing protein 5-like (<i>Amphimedonqueenslandica</i>)	278
9	003248	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) Chromosome sequeation protein SMC (<i>Streptomyces</i> sp.)	909
10	008150	Endoglucanase (<i>Micromonosporua</i> sp.)	653
11	008392	Hypothetical protein (<i>Agaricusbisporus</i>) 5-hydroxymethyluracil DNA glycosylase (<i>Cellvibrio japonicas</i>)	369

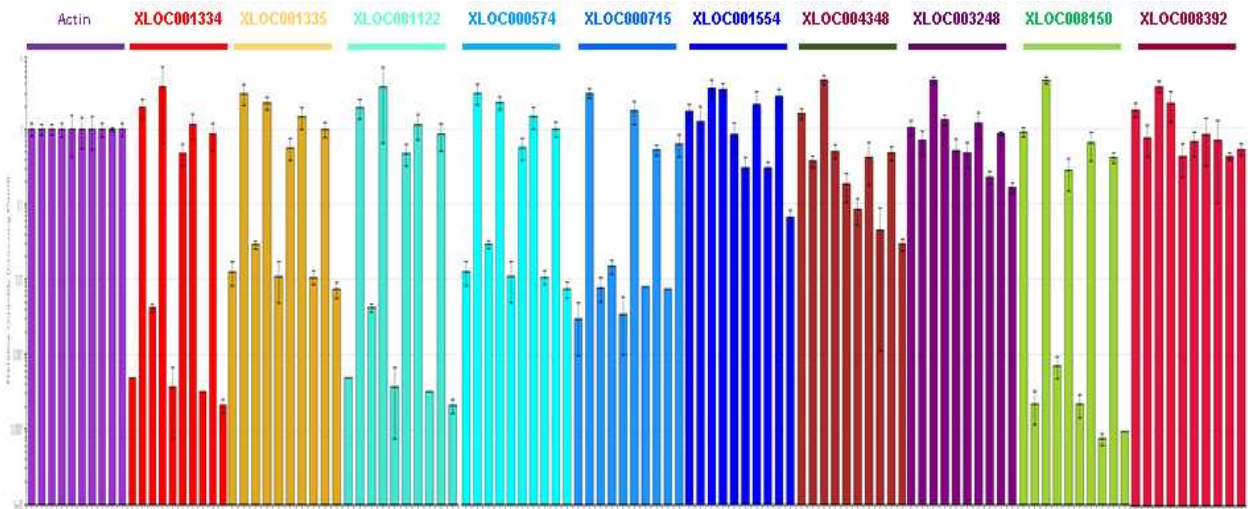


그림 15. Real time PCR 결과(각 primer별 sample 순서 BYA, WAY, BYC, WYC, BOC, WOC, BYS, WYS, BOS, WOS)

2) 자실체 색 발현 정도에 따른 전사체 발현 비교

이전 RNA seq의 경우 갓부분 전체를 시료로 사용하여 RNA분석 결과를 도출해 냈다. 하지만 자실체의 색이 표면에 집중되기 때문에 이전 실험의 경우 갓 내부의 영향도 있을 것이라 사료되어 색 발현을 통한 특이적 분자마커의 집중도를 높이기 위하여, 갓 표면만 따로 수확하여 실험을 진행하였다. 갈색 자실체와 흰색 자실체의 갓 표면 RNA prep 시료를 only BYA와 only WYA라고 기술하였다.

백색체 색 발현초기 시료의 total RNA 농도가 4.50ug으로 다소 낮으나 반응을 진행할 수 있는 농도라 RNA seq 진행하였다(표 5). 먼저 Short read의 양쪽 끝에서 bed quality의 base를 잘라서 양질의 short read로 만드는 작업인 trimming을 통해서 최종적으로 분석에 사용할 reads를 만들었다. 그리고 final trimming을 통하여 좋지 않은 contig를 제외하고 data분석하였다.

표 5. BYC와 WYC의 RNA 순도와 농도

No	Sample	RIN value	28S/18S	Total RNA (ug)
1	only BYC	8.7	1.5	28.5
2	only WYC	9	1.7	4.50

(1) DEGs (Differentially Expressed Genes)

샘플 사이에서 유전자 발현의 차이가 나타나는 유전자를 분석하기 위하여 백색 자실체를 control로 갈색 자실체를 비교하였다. 갈색 자실체에서 발현이 상대적으로 감소한 유전자는 328개, 증가한 유전자는 241개였다.

표 6 갈색 양송이에서 3배 이상의 차이가 있는 contig 모음

No	Name	Characteristics
1	58707	Putative uncharacterized protein
2	74845	Polyprotein
3	69363	Polyprotein
4	74352	Polyprotein
5	123162	
6	213197	RNA polymerase II, large subunit
7	138343	Mismatched base pair and cruciform DNA recognition protein (Fragment)
8	77432	Cytochrome P450 (Fragment)
9	209340	Other/FunK1 protein kinase
10	192939	Putative uncharacterized protein
11	75698	Agaricus bisporus lectin
12	181777	
13	194894	Agaricus bisporus lectin
14	194888	Agaricus bisporus lectin
15	228119	HHE domain-containing protein
16	117551	Putative uncharacterized protein
17	177137	Kynurenine 3-monooxygenase and related flavoprotein monooxygenases
18	194160	Putative uncharacterized protein (Fragment)
19	178110	Putative uncharacterized protein
20	191521	Predicted protein
21	192263	Putative uncharacterized protein
22	192227	Putative uncharacterized protein
23	63176	Predicted protein
24	135027	Polyphenol oxidase 3
25	190160	
26	195900	Peptide/h ⁺ symporter protein
27	138906	
28	193661	Putative uncharacterized protein
29	210618	Putative uncharacterized protein
30	192961	Putative uncharacterized protein

3) 균주간 염색체비교 분석

(1) IGS 1 region과 균주간 염색체의 상관관계

갈색, 백색 양송이 균주간의 염색체 비교 분석을 위해, IGS 1 region의 상관관계를 비교하였을 때, 백색체와 갈색체가 따로 grouping 되어있는 것이 아니라 섞여있는 것을 알 수 있었다(그림 18). IGS 1 region은 색 관련 유전자 발현 정도 또는 색 유전자 유무와 상관이 없었다.

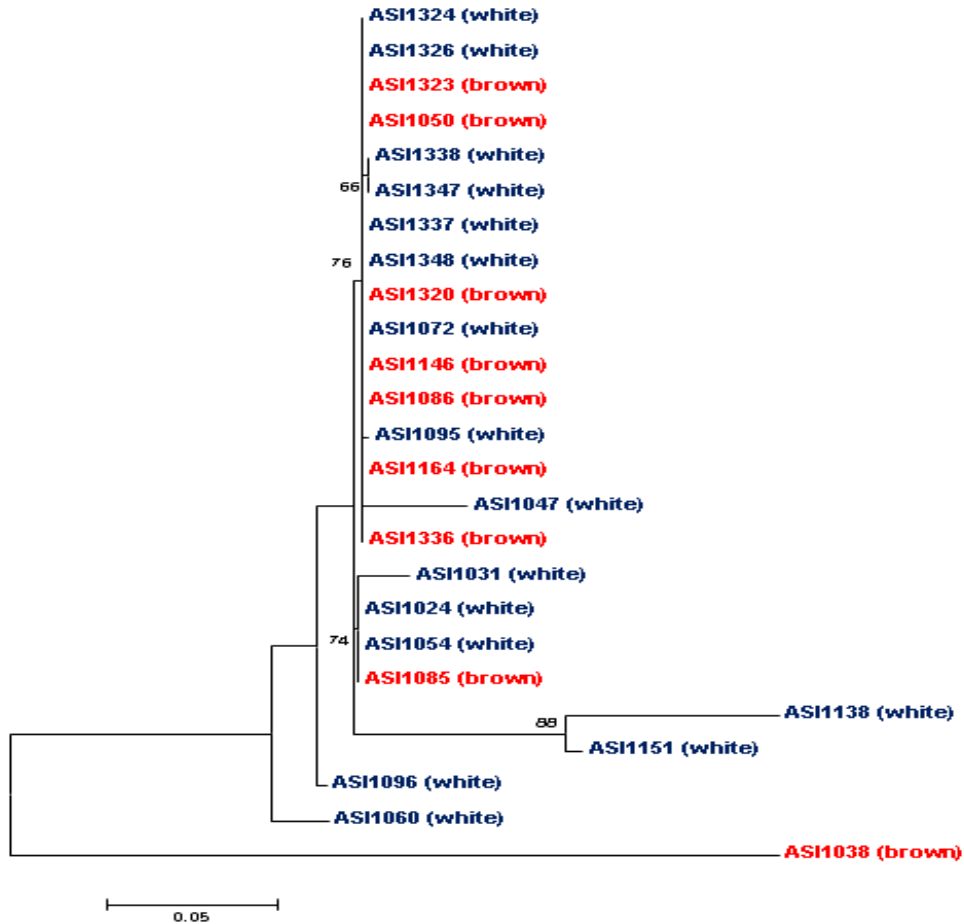


그림 18. 갈색, 백색 양송이 균주의 IGS region의 계통학적 tree.

(2) 균주 간 염색체 비교분석을 위한 염색체 추출 시도

Protoplast, chromosome prep, gel electrophoresis 단계 중 Protoplast 실험과정까지 진행하였다. 균사가 늦게 자라는 양송이 특성을 고려하여 이전 배지별 실험결과에서 상대적 성장속도가 빠르던 Malt extract media를 사용하였고, 균사를 잘게 잘라 실험을 진행하였다. buffer1과 buffer2의 경우, 5mM EDTA(pH8.0), 25mM b-mercaptoethanol와 sorbitol, sodium citrate 조성으로 각각 사용해주었고, lysing enzyme은 (200mg/ml)을 사용하여 진행하였다. 실험을 진행하였을 때, Lysing enzyme의 농도를 높여가며 실험을 진행하여도 protoplast 형성이 잘되지 않았다(그림 19.) 양송이 균사체를 파쇄하여 cell wall lysing enzyme을 처리하여 시도가 필요할 것 같다.



그림 19. protoplast enzyme 처리 후 경과 (*bar,10um).

4) 비교 균주간 대조특성 파악

비교 균주간 대조특성 파악을 위해 분양받은 갈색·백색 양송이 균주 중 각 7균주를 선발하여 실험을 진행한 결과 갈색 양송이 균주에서 백색 양송이 균주보다 해당기질을 분해하여 성장하는 균주 수가 더 많음을 확인할 수 있었다(표 7).

각각의 균주의 enzyme activity clear zone 비교 결과는 각 균주별 평균값을 보았을 때, 그림과 같다. Amylase, avicelase에서는 백색보다 갈색의 세포외효소 활성이 좋았고, 그 외 glucosidase, cellulase, pectinase, proteinase의 경우 갈색보다 백색에서 세포외 효소 활성이 좋았다.

표 7 백색·갈색 양송이 각 7개 균주의 extracellular enzyme 기질 분해능 test

Extracellular enzyme	백색	갈색
Amylase	3/7	4/7
Avicelase	2/7	4/7
β -glucosidase	5/7	6/7
CM-cellulose	2/7	3/7
Xylanase	6/7	7/7
Pectinase	4/7	5/7
Protease	7/7	7/7

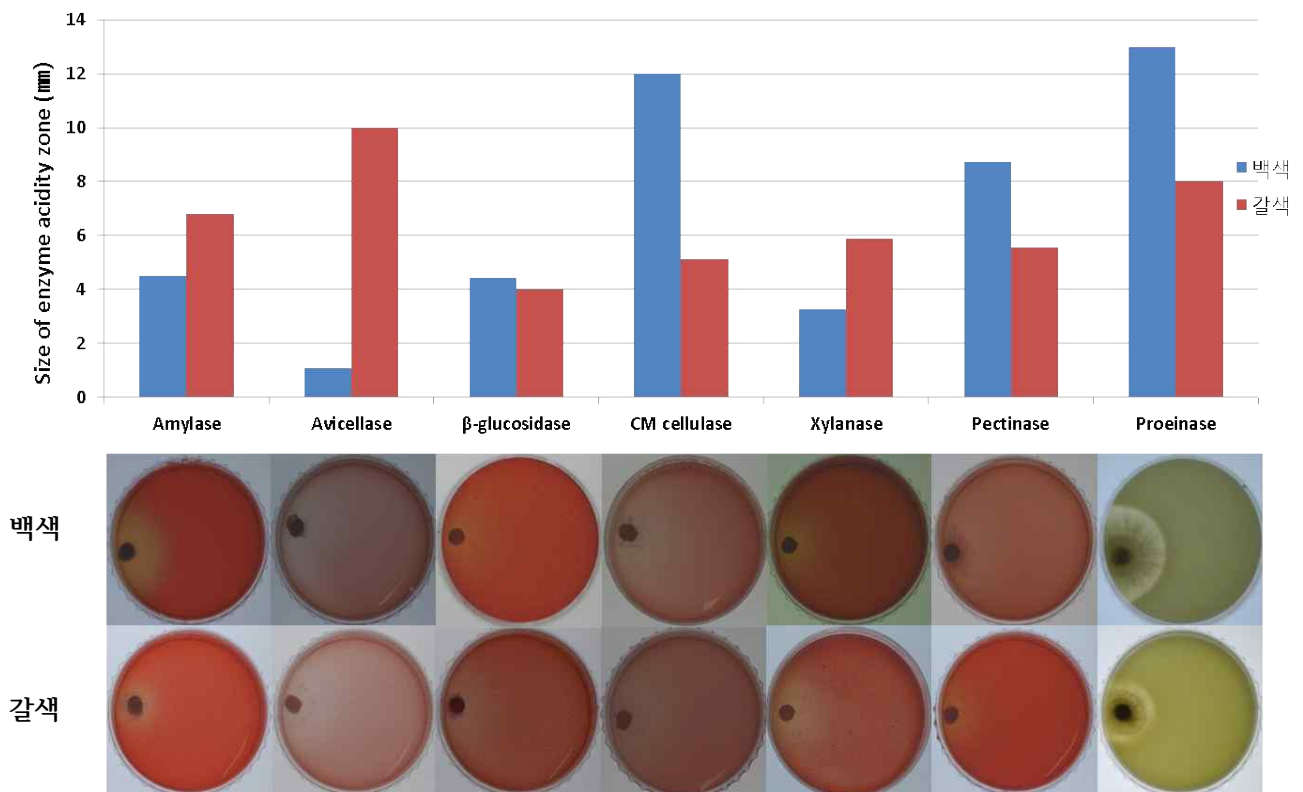


그림 20. 백색양송이 갈색양송이 enzyme test결과.

5) 발현유전자군 차이 다수 존재 염색체 파악

발현 유전자군 차이가 다수 존재 염색체를 파악하기 위하여 chromosome추출과 Southern blotting 검출법을 수행하여 결과를 도출할 예정이었으나 chromosome 추출과 southern blotting 을 이용하는 기존 방법이 상당한 시약과 시간이 소요되는 작업이기 때문에 발현 유전자의 sequence를 JGI가 제공 genome database에서 어디에 위치하는지 도식화 하는 방법으로 수정하여 진행하였다. JGI에서 공개되어 있는 scaffold 33개 중에서 1차, 2차 RNA seq 결과를 통하여 얻어진 특이 발현 유전자군이 위치하는 부위를 색 막대 (가로 방향으로 표시)로 표시하였다. 붉은색 세로 막대는 갈색, 회색 막대는 백색을 띠는 자실체 scaffold를 의미한다. 각 색깔 막대에서 처음 세로 라인에 표시 되어있는 가로 막대는 1차 RNA seq에서 분리된 contig이며, 흰 세로선으로 구분하여 나누어진 그 다음 세로 막대에 표시되어있는 가로 막대는 2차 RNA seq에서 분리된 contig를 표시한 것이다(그림 22).

그 결과 색에 관련되어 특이적으로 발현된 contig들은 크기가 100Kb이하의 scaffold인 22~33번 scaffold를 제외한 나머지 19개 scaffold에 고르게 분포하는 것을 알 수 있었다. 이 결과를 통해 색을 조절하는 유전자는 한 개의 유전자에 의해서 단독으로 조절되는 것이 아니라, 여러 단계에서 여러 유전자에 의해 조절된다는 것을 알 수 있었다.

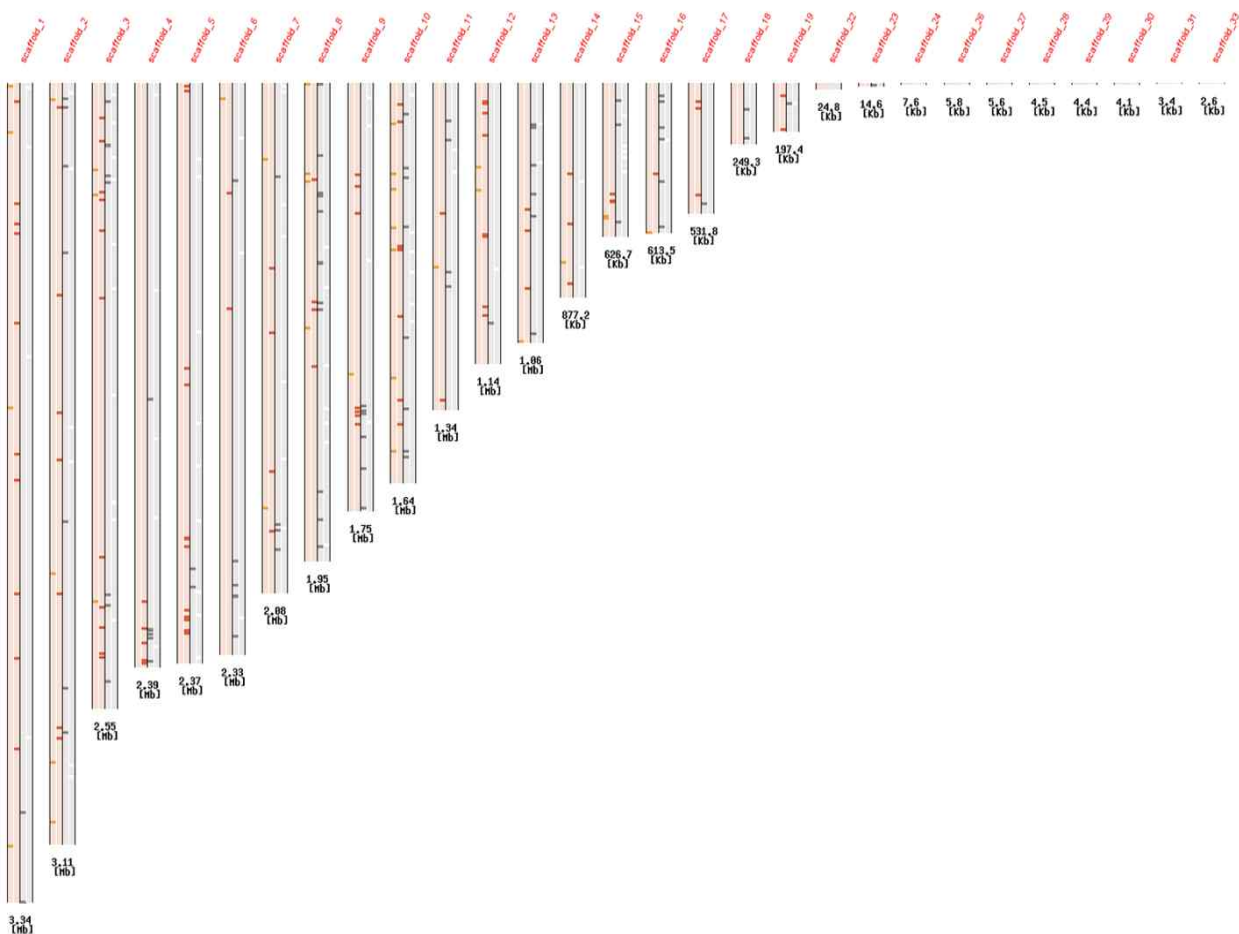


그림 22. 33개의 scaffold 상에서 갈색·백색 양송이의 발현 유전자 위치 확인. 붉은색 세로 막대 : 갈색자실체 scaffold, 회색 막대: 백색자실체 scaffold, 세로 라인에 표시되어있는 가로 막대는 1차 RNA seq에서 분리된 contig, 흰 세로선구분선 다음 세로 막대에 표시되어있는 가로 막대 : 2차 RNA seq에서 분리된 contig.

3. 3차년도 연구개발 성과

가. 비교 균주를 대상으로 자실체와 균사체간의 특성 비교

1) 단핵균주와 이핵균주간의 laccase 활성 검정

(1) 분석시료

단핵균주 3 개와 이핵균주 2 개를 이용하여 버섯발달 분화 관련 효소로 알려진 laccase의 활성 비교를 위한 간이검정을 실시하였다.

(2) 분석 방법

complete media (CM) broth, potato dextrose (PD) broth, malt extract (ME) broth에서 각각의 균주를 배양하였고 laccase와 반응하여 발색하는 시약인 Guaiacol (Sigma Co.)과 RBBR (Remazol Brilliant Blue R, Sigma Co.)를 사용해 실험을 진행하였다. UV/VIS spectrophotometer를 이용해 각 시료의 흡광도를 측정하였으며 이러한 과정을 3번 반복하여 그 결과를 분석하였다.

(3) 분석 결과

그림 23을 통해 알 수 있듯이, 단핵균주와 이핵균주의 laccase 활성을 비교하였을 때 PD broth+ Guaiacol 을 이용한 방법에서 이핵균주의 laccase 활성이 단핵균주의 laccase 활성에 비하여 뛰어난 것을 구분할 수 있었다. CM broth+Guaiacol, ME broth+Guaiacol, PD broth+RBBR, ME broth+RBBR의 경우, 단핵균주와 이핵균주간의 laccase 활성에 차이를 보이지 않았으며 CM broth+Guaiacol의 경우, 이핵균주간의 laccase 활성이 다르게 나타났다.

(4) 결론

이러한 laccase 활성 검정을 통한 활성정도 차이를 통하여 양송이 균사의 핵상을 간이적으로 판별할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 또한 단핵균주 간에도 laccase 활성이 있는 것을 알 수 있었으며, 이런 특성이 교배를 통하여 유지될 수 있는지 여부는 추가 검정이 필요하다.

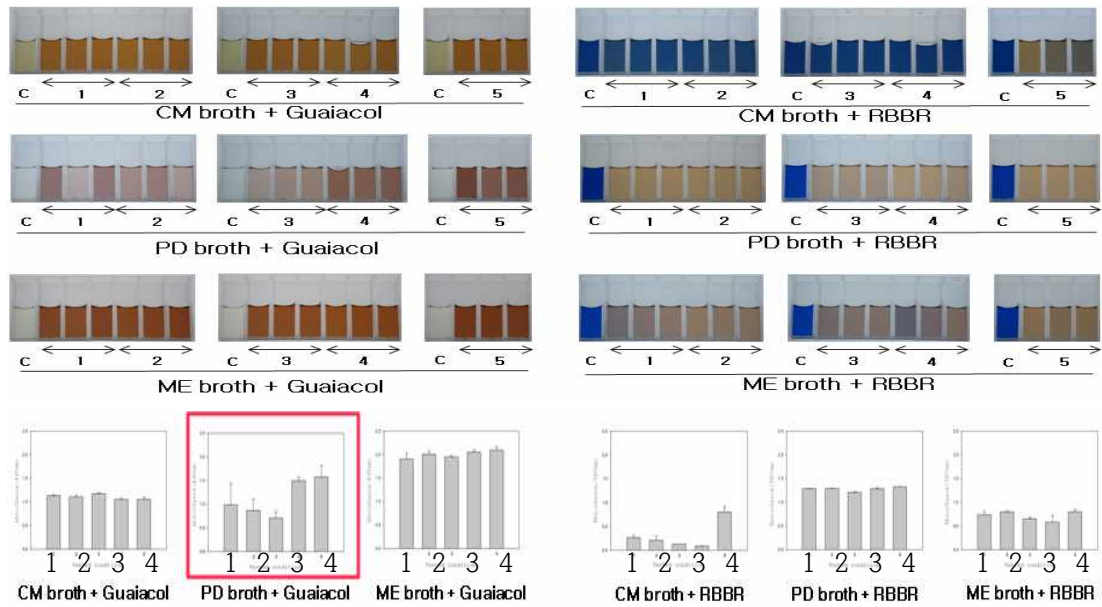


그림 23. 흡광도 측정을 통한 단핵균주와 이핵균주의 Laccase 활성 비교. C : control, 1~3 : monokaryons, 4~5 : dikaryons.

2) Raman spectroscopy를 이용한 백색 자실체와 갈색 자실체의 생리생화학적 차이 분석

(1) 분석 시료

갓의 표면이 갈색인 갈색 양송이 자실체와 갓의 표면이 백색인 백색 양송이 자실체를 이용하여 Raman spectroscopy 분석을 하였다.

(2) 분석 방법

① Raman spectroscopy의 원리

단색광을 물질에 조사하여주면 빛의 일부가 본래의 진행 방향과 달리 산란하게 되는데 이를 라만 산란이라 하며 Raman spectrometer를 이용하여 산란하는 빛을 측정하고 그 결과를 분석한다. 물질마다 스펙트럼 상에서 고유의 peak를 가지기 때문에 물질을 동정하는 방법으로 사용된다.

② Raman spectroscopy를 이용한 분석 방법

백색 자실체와 갈색 자실체에서 포자를 분리하고 Raman spectrometer를 사용해 라만 산란을 측정하였다.

(3) 분석 결과

각각의 자실체들로부터 포자를 분리하여 Raman spectroscopy를 이용한 백색 및 갈색 자실체의 생리생화학적 차이를 비교하였다. 전체적으로 스펙트럼 상의 큰 차이가 없이 유사한 형태를 나타냈지만 백색 자실체의 포자가 갈색 자실체의 포자에 비해 peak의 강도가 높게 나타났다 (그림 24).

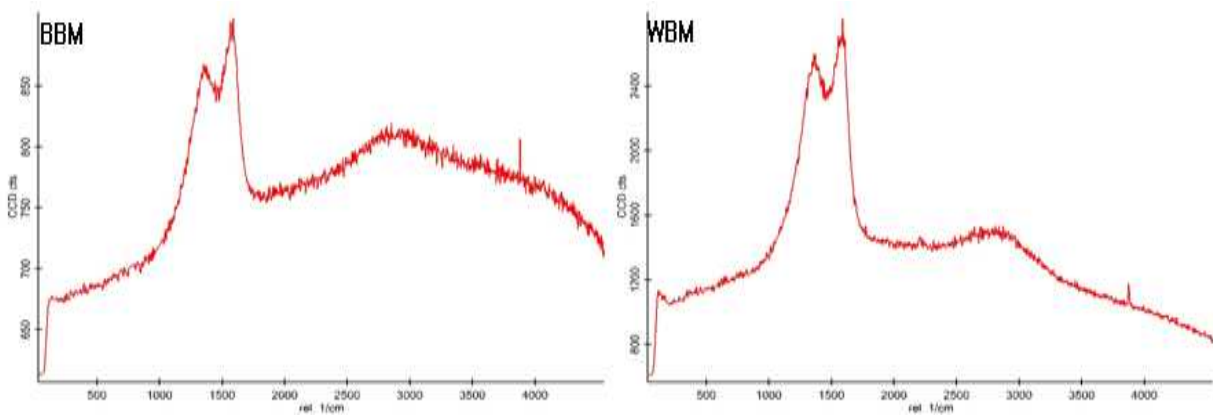


그림 24. 백색 자실체와 갈색 자실체의 포자에 대한 Raman spectroscopy 결과. BBM : brown button mushroom (갈색 자실체), WBM : white button mushroom (백색 자실체).

(4) 결론

peak의 위치는 같지만 peak의 강도에 차이가 있는 것으로 보아 서로 다른 물질을 가지고 있는 것이 아니라 물질의 함량이 다를 것으로 사료된다. 이를 통하여 자실체 색에 따라서 포자가 포함하는 물질의 함량에 차이가 있는 것을 알 수 있었다. 이에 따라 향 후 추가적으로 자실체 갓 표면 물질 추출을 통해 추출물간의 라만 특성 비교를 수행하고 포자의 흡광패턴과 비교를 수행하면 물질에 대한 특성을 좀 더 자세히 알 수 있을 것으로 사료된다.

3) 백색 자실체와 갈색 자실체 간의 melanin 합성에 관련된 유전자 발현 비교

양송이 갓의 색을 나타내는 물질은 DOPA melanin으로 알려져 있으며 백색 자실체와 갈색 자실체 간에 DOPA melanin 합성에 관여하는 유전자 발현에 있어서 차이를 보일 것으로 생각하였다. 표 1과 같이 총 16개의 유전자가 DOPA melanin 합성에 관여하는 것으로 보고되어 있고 RNA seq 결과를 통해 붉은색 박스로 표시된 유전자만이 발현되는 것을 확인하였다. 또한 붉은색 박스로 표시된 유전자만이 GenBank에 등록되어 있기 때문에 이 유전자들을 대상으로 실험을 실시하였다.

나. 자실체 특성 표현에 차이가 나는 단계에서 발현 유전자 pool 분석 비교

1) 갈색 자실체와 백색 자실체의 색 발현에 관여할 것이라 사료되는 유전자 선정

(1) 유전자 선정

- 문헌조사를 통하여 표8과 같이 양송이에서 melanin 합성에 관여하는 유전자를 조사하였다.
- Polyphenol oxidase와 prephenate dehydrogenase가 양송이의 주요 melanin인 DOPA-melanin 합성에 관여하는 것으로 보고가 되었기 때문에 (그림 25), 두 효소를 암호화하는 유전자를 조사대상 유전자로 선정하였다.

표 8. 양송이의 melanin 합성에 관여하는 유전자

Number	Gene function	Gene abbreviation	Protein ID
I	Chorismate mutase	CM	193694
II	4-Aminobenzoate synthase	4ABS_1	189405
II	4-Aminobenzoate synthase	4ABS_2	192907
III	4-Aminobenzoate hydroxylase	4ABH_1	195454
III	4-Aminobenzoate hydroxylase	4ABH_2	239564
III	4-Aminobenzoate hydroxylase	4ABH_3	239563
III	4-Aminobenzoate hydroxylase	4ABH_4	195451
III	4-Aminobenzoate hydroxylase	4ABH_5	211127
IV	γ -Glutamyltransferase	GGT_1	239353
IV	γ -Glutamyltransferase	GGT_2	239362
V	Prephenate dehydratase	PDHtase	182401
VI	Prephenate dehydrogenase	PDH	226049
VII/VIII	(4-hydroxy)phenylpyruvate aminotransferase	AT_1	191838
VII/VIII	(4-hydroxy)phenylpyruvate aminotransferase	AT_2	201971
VII/VIII	(4-hydroxy)phenylpyruvate aminotransferase	AT_3	191531
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_1	194055
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_2	191532
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_3	239416
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_4	191507
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_5	239415
IX	Polyphenoloxidase (tyrosinase)	PPO_6	239414
IX	Polyphenoloxidase cofactor	L-chain	239342
X	Phenylalanine ammonia-lyase	PAL_1	192690
X	Phenylalanine ammonia-lyase	PAL_2	192776
XI	Trans-cinnamate-4-monooxygenase	C4H_1	239453
XI	Trans-cinnamate-4-monooxygenase	C4H_2	213259
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_1	192760
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_2	72962
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_3	239433
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_4	119772
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_5	186749
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_6	194515
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_7	239428
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_8	177762
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_9	239435
XII	4-Coumarate CoA ligase	4CL_10	212169
	Catalase	Cat_1	115586
	Catalase	Cat_2	200291
	Catalase	Cat_3	239410
	Chloroperoxidase	CPO	239311
	Manganese peroxidase	MNP	221245
	Photoregulator B	PHRB	190401

Weijn et al. 2013

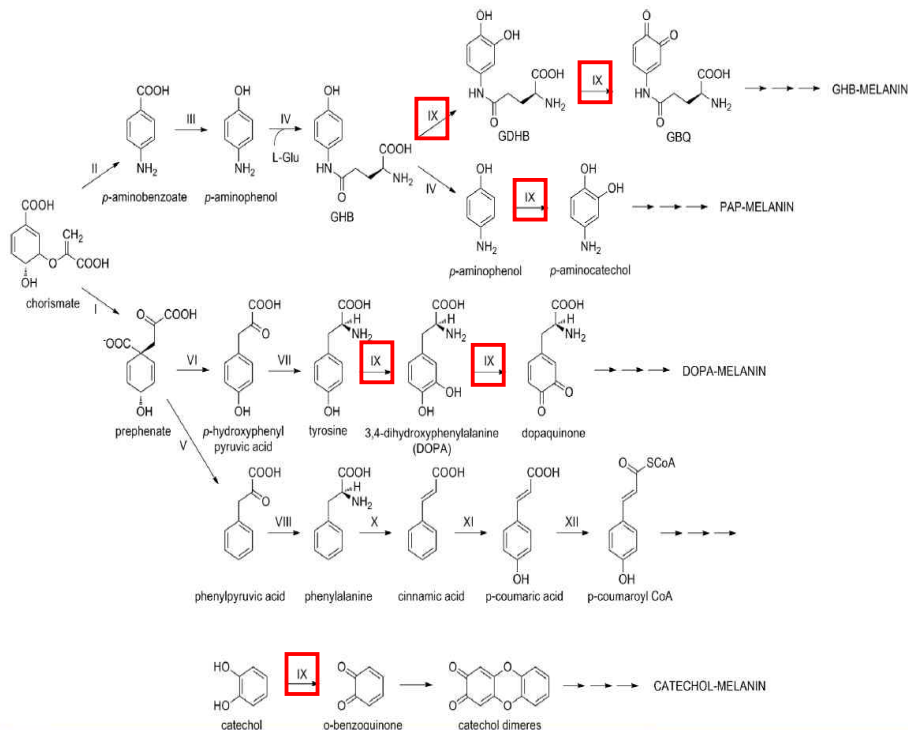


그림 25. Melanin 합성 경로. Polyphenol oxidase가 관여하는 부분을 빨간색 박스로 표시.

(2) Polyphenol oxidase coding gene 검정

① 분석 방법

- RNA seq

mRNA를 이용해 해당 유전자의 발현을 알아보는 RNA seq 방법을 이용하였고 각 자실체는 발달 단계별로 실험을 진행하였다. 발달 단계별로, 잣과 대의 구분이 모호한 단계 (YA), 자실체의 잣과 대의 구분이 명확해지는 단계 (YC), 잣과 대의 분리가 이루어지는 단계 (OC)의 총 3 단계로 나누었다.

- Real-time RT PCR

RNA seq에 사용된 mRNA를 reverse transcriptase PCR을 통해 cDNA를 합성하였으며 polyphenol oxidase gene에 결합하는 primer를 제작하였다 (그림 26). 또한 양송이 gDNA를 이용해 PCR을 함으로써 primer가 제대로 붙는지 확인하였다 (그림 27). 백색 자실체와 갈색 자실체의 각 발달 단계별 cDNA를 이용해 real-time PCR을 실시하여 해당 유전자의 발현량을 비교하였다.

```
>Agaricus bisporus polyphenol oxidase (PPO1) X85113.1
CCGGCAGGCTTGTTCCTTCAGAGTTCCATCCGCTCTGTCTCCGACTCTTGACCAATFCCACTCTTTTTTCTTTTGAT
TTAGATGTCTCATCTGCTGTTTCTCCTCTGGAGGAGGGCTTCAACCTCGTCTTGAATAAATAATTTGTAAAGAATGACC
GTCAATTCTCTCTTTACGTTCAAGCTCTCGACCGGATGTACGCCACCCCTCAGAATGAAACTGCGCTCCTACTTTCAAGTAGC
GGAGTGCATGGATACCCACTCATCCCTTTTCGATGATGACAGTCCGTCACCGAGTTCAGTCCTTTTGACCAATGGACTGGGTA
TTGCACTACGGCTCAACTCTTTTCCAACTGGCATCGTCTTATGTTTTGATTCTCGAACAAATTTGAGTGGACACGCTC
AACAAATCGCCGACTACTACACTGTCAATAAATCCGAGTGGAAAAGGGCGGCAACCGAATTCGCTCATCGTATGGGATTGG
GCATCTAATAGCGTTCCTCCTCGGAAGTCACTCCCTACCCAAAGTCACTATCACGACTCCGAATGGCCAAAAGACGAGCGT
CGCCAAACCCACTGATGAGGTACTTTCAACTCTGTCAACGACGGCGGTTCTATGGGCGTATAATCAGTGGGATACTACTT
TGAGACAACCCGACTCGACGGGTGTGAACSCAAAGGATAACGTTAATAGGCTTAAAAGTGTTTGAAAATGCTCAAGCCAGT
CTTACACGGGCTACTTACGACATGTTCAACCGGTCAAGCTTGGCCTCATTTCAGCAGCCATACTCCTGCTGGAGGAAG
TACCAGTAAATAGTATCGAGGCAATTCATGACAATATCCATGTCTCGTGGTGAACGGCCACATGAGTGATCCTCTCTGCG
CCCCCTTTGATCCTATCTTCTTCTGTCATCATGCGAACGTTGATCGACTGATTGCTTTATGGTCGGCTATTTCGTTACGATGTG
TGGACTTCCCCGGGCGACGCTCAATTTGGTACATATACTTTGAGATATAAGCAGAGTGTGACGAGTCGACCGACCTTGCTCC
GTGGTGGAAAGACTCAAAATGAATACTGGAAATCCAATGAAGTGAAGGACACCGAGTGTGGGATACACTTACCCCGAGTTG
TTGGTTTGGATATGTACAACAAGACGGGTAAACAAGACCAATTTCCGAAAAGGTAGCACAGCTTTATGGACCACAAAGAGG
AGGGCAAAGGTGCTCGTAGAGGATTTATCAAACTCCCATGCTCGTGTAGTCAACGCCCTGCGAAGCGCTCCCCCTTGGTC
AACTCTTGAAGGGTATTCTCGGATTTGCTGCTCAAAATCAAATCAACCGCCATGAAGTGGCCAGAGCTTCTCGGTTTGT
CTTTTCTGGCAATGTTCTTGAAGACCCGAGGGAGTGGTTGTTAGCCCAACTTGGTTGCGCTCGTATGCGGTTCTGTCG
TTGCGTCAAGACCGACCATGTAGCCGAGGAATAGGTTTCAATCCGATTAACAGTGGATTGCCGAGCACACGGGTTTACCTT
CGTTTGCAGTAGACCTTGTAAAACCACTCTGGCCACAAGGTTTACAGTGGCGCTGCTCTTGGCGGATGGAACCCCTGAG
CTCGATTCACTGGAAGTACTATATTGGAGTCCATCCGAGCTGACCGACGATGAGCCTAATCCCGCTCCAGGCGCCGAC
GTACCACAAGGATATTACACACGGAAAGCGTGGTGGTTGCCGCGAGGCTTATAGGTTGTTATTCAATGGACATTTGATG
GCTA G A A G T A T A G A T A A A G T T A G C G T A C A T G G T T T A A T T G A T T T A C C T T G T
TGAGAAAAAATAAATAATGNTANNAAAAAA
```

Primer set 1	Primer set 2	Primer set 3
>AbPPO1 1F	>AbPPO1 2F	>AbPPO1 3F
GGTAGCACAGCTTTATGGAC	GGTAGCACAGCTTTATGGAC	GTAGCACAGCTTTATGGACC
>AbPPO1 1R	>AbPPO1 2R	>AbPPO1 3R
CTTTCAAGAGTTGACCAAGG	CCTTTCAAGAGTTGACCAAG	CCTTTCAAGAGTTGACCAAG

```
>Agaricus bisporus polyphenol oxidase (PPO2) X89382.1
CGGCACGAGGGCGGCGAGGATTTACGCCAGCCCTACTGGGTTGGGGTTTTCGAAGTATGCTCTCTGATGAGGTTATCAAGA
ACGAAGAGGTTCAACATTACGAACCTACGATGGAAAGAGATTTCCGTCAGAACCCTATCCTCCGCTATCACTTCCATCCGATC
GATCCTTCTTTCAAGCCATACGGGGACTTTGCAACCTGGCGAACACAGTCCGAAACCCGATCGTAATAGGCGAGAGGATAT
CCCTGGTCTAATCAAAAAATGAGACTTGAGGAAGGTCAGATTTCGTGAGAGACCTACAATATGTTGAAGTTCAACGATGCTT
GGGAGAGATTCAAGTACCACGGCATATCTGATGATCAGCATGCTAACAGCTTGGAGTCTGTTACAGATGACATTATGTTATG
GTTGGATACGGCAAAATCGAAGGACATATGGACCACCTTTCTTTGCTGCTTCGACCCGATTTTCTGGTTACATCATACCAA
CGTCCGCTACTACTCCCTTTGGAAAGCAATCAACCCGATGTGTGGGTTACGTGGGACGTAACCGGGATGTTACCATGG
GCATCGACCCCAACGCTCAGATCAACAGCGAGACCCCTCTTGAGCCATCTACCAATCTGGGGATAAAGTGGGACCTCGGCC
TCTCTCGTGACTGCTCGGCTCGGCTACTCTACCCCGATTTGACAAAGTGGTTGGAGGAACAAAGGAGTGTGATTCGCGA
CGCTATCGACGACTCATCGATGAGCGGTATGGAAGCAACCTTCGAGTGGGCTCGCAATACTGCCTTTGATCTCCTCGCCG
ATTTCAAGGGCATTACAAAGAGCACAAGGAGGATCTCAAAATGTACGACTGGACCATCCATGTTGCCCTCAAGAAGTTCGAG
TTGAAAGAGAGTTTCACTTCTCTACTTTGCGAGTGTGGGCGATTATGATCAGGAGAATGCTTTGTTGGATCAATT
AACGCCTTCCGTGGGACTGCTCCGAACTTGCAGCACTGCCAAGATAACGAGAACTGATTCAAGAAGGCTTTATCACTT
GAATCATTATCTTGTCTGACCTTGAATCTTTTCAGCCGCGAGGACGTGCACAAAGTCTTAAAGGAAAAAGGACTGTCATACA
AACCTTACAGCAAGGAGGATAAACCTTTGACATCGTTGTCAGTTAAGATTGAAGGACGTCCTTCTATCTACCGCCCGGAGAG
CATCGTCCGAAAGTACGATCACACTCAGGCTCCGAGTGTGATTAATAAAGGAGGAGTGTATTCTCTAATAAAGCCAAAAA
```

Primer set 1	Primer set 2	Primer set 3
>AbPPO2 1F	>AbPPO2 2F	>AbPPO2 3F
ACGAACCTACGATGAAAGAA	TCTACAGCAGGGGAGATAAA	ATCAAGAACGAAGAGGTCAA
>AbPPO2 1R	>AbPPO2 2R	>AbPPO2 3R
ATCAGATATGCCGTGGTTAC	ATCATCAACACTACTCGGG	ATCAGATATGCCGTGGTTAC

그림 26. Polyphenol oxidase coding gene을 증폭하기 위한 real-time RT PCR용 primer 제작.

>Agaricus bisporus polyphenol oxidase (PPO3) GQ354801.1
 GAAAAGATTCCAAGCCCTTCTCTAACGATGTCTGACAAAAAATCTCTTATGCCCTCGTTGGGATTCCCGGCGAGATCAAAA
 TCGCCTCAACATCCTTGTATTTGTGAAGAATGATAAATTTTCACTCTCTACGTTCTCGCCCTCCAGGTCCTCAAGCTCGCG
 ATCAATCGGACTTCTTCTTCTCCAGCTCGGTGGTATTCAGGATTCGCCATACCGAGTGGGCAAGGACAGCCGAC
 CTCCACCTCTACAAGCCAATTACTGCACCCATGGAACCTGTCTTCCCTACCTGGCATCGGCGATACGAGTGCACCTGGGA
 CCAAACTCTCTGGGAGGCCCGGGTACGGTTGCGCAGAGATTACCCAGTCCGATCAGGCGGAATGGATCCAGGCGGCAAAAG
 ATTTGCGTCAAGCCTTTGGGACTGGGGTTACTGGCTAATGATCCTGACTTTATCGCCCTCCGGACCAAGTATCAGGGAC
 AAACAGGTCGAAATCACCAGCTACAATGGGACGAAAAATTGAAGTCGAGAATCCTATACCTCACTACAAGTCCATCCCATCG
 AACCTACGTTTGAAGGTGATTTCCGCCAATGCGAGACCACAATGCGATACCCCGATGTTGAGAAGCAGGAAACATTTGAGGGA
 ATGATTGCAGGAATCAAAGCGGACGCCAGGGTTCCGTGAATGGACTTTCAACATGTTGACGAAGAATTATACCTGGGAACT
 TTTCAGTAAATCAGGTCAGTGTGCGGGGCGCACGCCAACAGCTTAGAGATGGTGACAACACTGCCACTTTTTGATTGGGA
 GAGACCGAGCTTGGATCCTCTGGTCCCTGGCCATATGGGCTCCGTTCCCTCACGCTCGGTTGATCCCATATTTGGATGAT
 CACTGCAACGTTGATCGTCTCTTGCCTTTGGCAGACTATGAACTACGATGATATGTCAGTGAAGGTATGAACAGGGAGGC
 CACTATGGGCTTATTCCTGGCAAGTATTGACGGAGGATTCACCCCTTGAGCCATTACACTAAGAATCAGGATCCCTGGC
 AATCGGATGATCGAGGATGGGAGACTCGGATTTCTTATCCTGATTTGACCCCGTTAAAGGGAAGTCAAAGAGGAG
 AAAAGTGTATACATCAATGACTGGGTCCACAGCATTATGGGTTGTCACCCACTCAAACGGAAAAATCCCGCTCCGCTCTT
 GTCTCTTTTCAACCGCGAAGAGTGCACGAGACTCAATATGCCTTGTATGACTGGGTCATCCACGCTACCTTCAGATTT
 ACGAAGCTTAACAACAGCTTCTCAATCTCTCTATTTGATGAGGTTGAAGTTGACGCTGGAGTCTATCATTGGAACCTGC
 GATGCTTCCGTGGAACATACATCCGAGAATGTGCCAATGTGCCCGACGCCAAGACCTGATCGAGAAGGTTCTGCTCATT
 GAACTACTACATTGGCTGGCATATCGGTCAGATGCGGATCACGAAGATGACGCTGTTCCGCTTATGAGCCACCAGAGTCA
 AAGAATCTTGAAGAAGAGGAAGATCGGCTGCAAGTTGTATCGGCTGAAGGAGAACTCACGCTCTTGTCTCGAAATTAAG
 GGAGCGCCTTATATCTCCCTGTTGGAGAGGCTGCTCAAGCTTGACCACGAGAAAGCCAAATTTGATTCTTGCAGATATCAT
 T C A T C G T G T C A A T T A A T A T C T A G T A T T T T T T T T G A A G G A T G A A A
 CTGGGACAGACTCTACACCATGAATCAATATGACGTTTGTGCCCGAAAAA

Primer set 1	Primer set 2	Primer set 3
>AbPPO3 1F	>AbPPO3 2F	>AbPPO3 3F
ATATGCCTTGTATGACTGGG	ACGAGCTTAACAACAGCTTC	GAGTGACCACGAGACTCAAT
>AbPPO3 1R	>AbPPO3 2R	>AbPPO3 3R
ATCGACGCCAATGTAGTAGT	ATCGACGCCAATGTAGTAGT	ATCGACGCCAATGTAGTAGT

>Agaricus bisporus polyphenol oxidase (PPO4) GQ354802.1
 GAAAAGTTTCAATCCTCCCTCTACACTATTGCGAATTGAAATGTCTCTGCTCGCTACTGTGGTCCACTGGTGGTGTCAAGAA
 CCGCCTTGACATCGTGCAGCTTCGTCGAGACGAAAAAGTTCTTCACTCTCTATGTCGGTGCCTCCAGGCTATACAAGATAAGG
 ATCAAGCTGACTACAGCTCTTTTTTCCAACCTTCTGGTATTACAGGTTTGCCTTCACTCCCTGGGTAACCTAAGGATACC
 CGAAGTGTCCCATACGAATCTGGATACTGTACCCACAGCCAAAGTTCTTTCGACTTGGCACAGGGTTATGTCTCTATCTA
 CGAACAGTCTTACGAAAGTGCAGAAAGGATTTGCTAAGAAAGTTTACCGTCCATAAAAAGGAATGGGTTCAAGCGGCGGAG
 GATTTGGGTGAGCCATACTGGGACACAGGTTTCCGCTTGTCCCTGACGAGATAAACAAGTTGGAACAAGTCAAATCAC
 CAATACGATGGAACCAAGATCACTGTTAGGAACCCGATCCTCGATACAGTTTCCATCCCATCGATCCCTCTTTAGCGGAT
 ACCCTAATCTTTGACACCTGGAGGACGACTGTGAGGAAACCCGACGCGGATAAGAAGGAAAAAATCTCTGCATTGATCGGTA
 ACTTGACCTCGAGGACAGTTCTACTCGAGAGAAGAGCTACAAATATGTTGAAGTTTAAACGCAACTGGGAGGCTTTCAGCAATC
 ACGGAGAATTTGACGATACTCATGCGAATAGTTTGGAACTGCTCATGATGACATTACAGGTTTTGTTGGACGTGGCGCAATC
 CGCGGACATATGACTCATGCTTATTTGCCCTTTGACCCCATCTTCTGGTTGCATCACTCAAACGTCGACCGCTATTGTC
 TCTTGGCAAGCACTTATCCCGGTTTGGGTGACTCAAGGACGAGGCGGAAGGTTCTATGGGTTTCGCACTGGTACCG
 AGCTCAACAAAGATTTGCTCTTGGGCTTCTACGAGACTGAGGATAAACCTGGACTTCCGTTCTCTGACTGACACAGCT
 CTCTCAATTACTCTTACCCGACTTCGATAAAGTCAAAGGAGGAAACCCGACCTCTGTCGCGACTACATCAACGACACAT
 CGACAGAGCTA CCGTATCAAGAAGTCTGAGGTTGAAAGAAACCCCTGCCCTCGACTCTCTGACTTCAAGGGTGTACGC
 ATGACCACAACGAGGATCTCAAGATGTTGACTGGACTATCCAAGCTTCTTGAAGAAGTTGAATTGGACGATAGTTTGGCT
 ATCATCTTTACTTTGCTGCTGACGAGTACCAACGTTTACCAAGAGAACTACATTTGGTCTA TCAATATCTTCCGTTGGTAC
 CACTCCGACGAATTCGCTAATTGACAGGACCGAGGATAACC TTGTTCAAGAAGGTTTCGTTCACTCTCGATCGCTCATTGCTC
 GTGACCTCGATCTTTCGACCTCAAGCTGTTTCATGTTACTTGAAGGAAAAGAAATTTGCTTCAAAGTCTGTCGCGATGAC
 CATACCGTCACTTTGAAATCTCTCAGAATCCGAGTCCAAGGTCGCTTTCATCTTCCCTGGTGTAAAGTCTCCCTAGGCT
 TGACAAGAAATTTCCATCGTCAACTTCGAGATGCTCTGATCTGTTGACTGGTGTAGTCAACATTTGGTCTCACTGCGATGAG
 GTGCTACTGCGGTTGCGCATCGGAGTCTGGTGTCTACTGCTGGCACCAGCAATGGAGTTGCTGGTGGCGCTACTGAGCT
 GTGACCAATTTGCCAAGGTTGCTTGGTGTCTTGGGAGTATCTTTAAATTTGCTATTCTTCTGCTCTCAAAATTTTGT
 C T C T G T G C A T C A T G A T G C G A T G T T G A T T G A T G A T T A T G A A G C G A T G G C T G T C T C C G T A G
 TACATGATGATGATGAGCTCAACGTTCAATGGTCAAATACGTATAGAGTTGACGCGTAAAAA

Primer set 1	Primer set 2	Primer set 3
>AbPPO4 1F	>AbPPO4 2F	>AbPPO4 3F
GATGGAACGAAGATCACTGT	CGGTATCAAGAAGTCTGAGG	TTGTTCAAGAAGGTTTCGTT
>AbPPO4 1R	>AbPPO4 2R	>AbPPO4 3R
TGGACAGCTTCCAACTATT	GGTACCACGGAAGATATTGA	GAGAGATTTCAAAGTGACGC

그림 26. 계속.

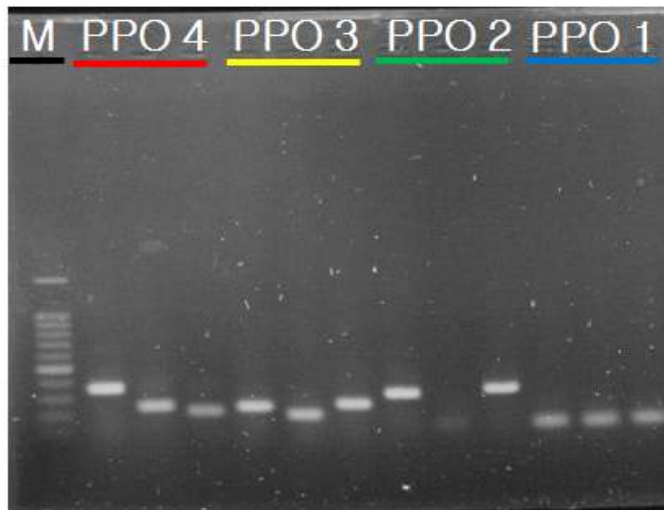


그림 27. Polyphenol oxidase coding gene target primer의 작동여부 확인. M : 100 bp marker. PPO : polyphenol oxidase

② 분석 결과

- RNA seq

총 6개의 polyphenol oxidase가 보고되어 있으며 RNA seq을 통해 그 중 PPO 1, PPO 2, PPO 3, PPO 4 총 4개의 유전자를 확인하였다. GenBank 상에도 실험을 통해 확인한 4개의 sequence가 보고되어 있었다. primodia (YA) 단계에서는 갈색 자실체에서 PPO 1 유전자의 발현이 높았으며, 자실체 갓 색이 발현되기 시작하는 단계에서는 (YC) 갈색 자실체의 갓에서 PPO 3 유전자의 발현이 백색 자실체의 갓에 비해 높았다. 자실체 갓 색이 완전히 다 발현된 단계에서는 (OC) 갈색 자실체의 갓에서 PPO 1, PPO 2, PPO 3의 발현이 백색 자실체에 비해 높았다(표 9).

표 9. Polyphenol oxidase에 대한 백색 및 갈색 자실체의 RNA seq 결과

Symbol	Description	UP_DOWN	EXP(FPKM):Brown	EXP(FPKM):White	Condition
PPO1	Polyphenol oxidase 1	UP	267.57	228.16	YA
PPO2	Polyphenol oxidase 2	DOWN	248.73	603.67	
PPO3	Polyphenol oxidase 3	DOWN	406.66	3845.27	
PPO4	Polyphenol oxidase 4	DOWN	2644.85	3290.73	
PPO1	Polyphenol oxidase 1	DOWN	322.41	349.86	YC
PPO2	Polyphenol oxidase 2	DOWN	436.9	455.41	
PPO3	Polyphenol oxidase 3	UP	1079.5	789.16	
PPO4	Polyphenol oxidase 4	DOWN	880.3	3453.39	
PPO1	Polyphenol oxidase 1	UP	296.55	123.94	OC
PPO2	Polyphenol oxidase 2	UP	375.28	122.82	
PPO3	Polyphenol oxidase 3	UP	1965.48	550.64	
PPO4	Polyphenol oxidase 4	DOWN	606.41	10714	

- Real-time PCR

PPO 1의 경우, gDNA를 대상으로 PCR 했을 때는 primer가 잘 붙었으나 cDNA를 real-time PCR 했을 때는 잘 붙지 않았다. PPO 2의 경우(그림 28A), 모든 자실체 발달 단계에 있어서 갈색 자실체의 PPO 2 발현량이 백색 자실체의 발현량에 비해 높았으며 백색과 갈색 자실체 모두 YA에서 YC로 가면서 발현량이 증가하였다가 YC에서 OC로 가면서 발현량이 감소하였다. PPO 3의 경우(그림 28B), 전체적인 발현량을 보았을 때 백색 자실체에서 발현량이 높았다. 하지만 백색 자실체와 갈색 자실체의 발달 단계별 발현 양상은 서로 달랐다. 백색 자실체는 YA에서 YC로 가면서 발현량이 감소하였으며 YC에서 OC로 가면서 발현량이 증가하였지만 초기에 비해 낮은 발현량을 보이고 있다. 반면 갈색 자실체는 YA에서 YC로 가면서 발현이 증가되었고 YC에서 OC로 가면서 발현이 감소하였지만 초기에 비해 높은 PPO 3 발현량을 보이고 있다. PPO 4의 경우(그림 28C), 갈색 자실체에서의 발현량이 모든 발달 단계에 걸쳐 백색 자실체보다 높은 것을 확인할 수 있었으며 백색 자실체에서는 발달 단계를 거치면서 발현량이 감소함에 비해 갈색 자실체에서는 전 발달 단계에서 비교적 높은 수치로 발현량이 유지되었다.

③ 결론

RNA seq 결과를 보면, PPO 1은 YA와 YC 단계에서는 백색과 갈색 자실체 간에 큰 차이를 보이지 않는 반면 OC 단계에서 두 배가 넘는 발현량의 차이를 보였기 때문에 갓의 색이 발현되는 후반부에 관여할 것으로 생각된다. PPO 2는 OC 단계에서만 갈색 자실체에서의 발현이

높았으며 이를 통해 PPO2 역시 갖의 색이 발현되는 후반부에 관여할 것으로 생각된다. PPO 3의 경우, YC와 OC 단계에서 갈색 자실체의 발현량이 높아진 것으로 보아 갖 색이 발현되는 초기부터 관여하는 것으로 판단된다. PPO 4는 모든 발달 단계에 있어서 백색 자실체에서의 발현량이 갈색 자실체에 비해 높았기 때문에 어느 과정에서 갖의 색을 발현하는데 관여하는지 예측할 수 없었다. 반면 real-time PCR의 결과를 보면, PPO 2의 경우, 전 발달 단계에 걸쳐서 갈색 자실체에서의 발현량이 백색 자실체에서의 발현량에 비해 높은 것으로 나타났으며 이를 통해 PPO 2가 모든 발달 단계에서 관여할 것으로 생각된다. PPO 3은 YC 단계에서만 갈색 자실체의 발현량이 백색 자실체보다 높은 것으로 보아 갖의 색이 발현되는 초기에만 관여할 것으로 보인다. PPO 4의 발현량은 발달 단계 전반에 걸쳐 갈색 자실체에서 더 높았고 백색 자실체에서는 자실체가 발달함에 따라 PPO 4의 발현이 감소하기 때문에 PPO 4는 모든 발달 단계에서 관여할 것으로 판단된다.

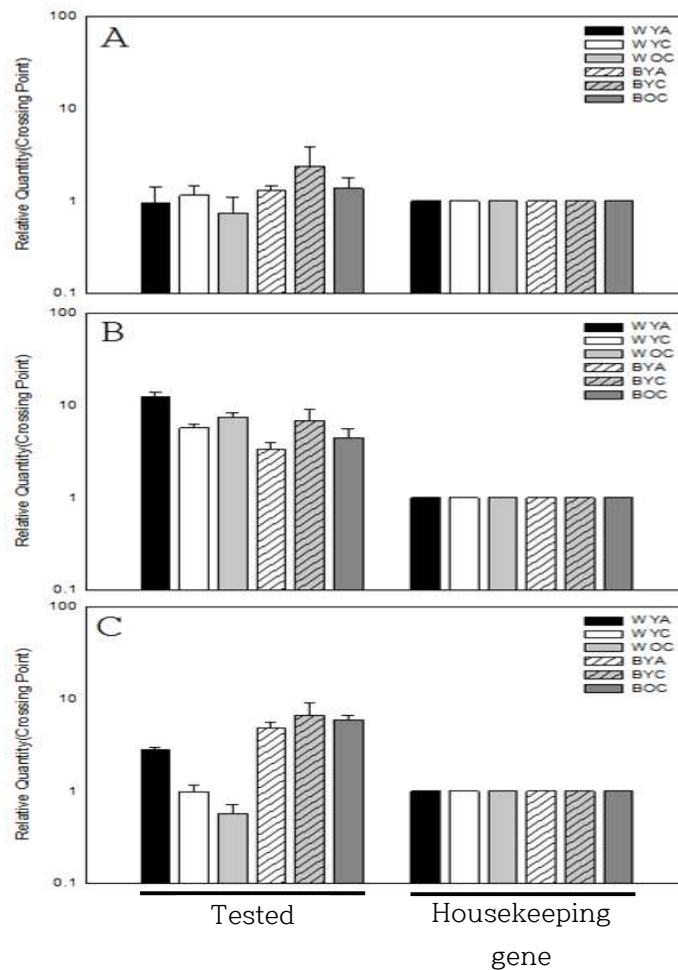


그림 28. Actin의 발현량 대비 polyphenol oxidase의 상대적 발현량. A : actin 대비 PPO 2의 상대적 발현량, B : actin 대비 PPO 3의 상대적 발현량, C : actin 대비 PPO 4의 상대적 발현량, WYA : white young all, WYC : white young cap, WOC : white old cap, BYA : brown young all, BYC : brown young cap, BOC : brown old cap.

(3) Tyrosinase coding gene 검정

① 분석 시료

Tyrosinase 역시 DOPA melanin 합성에 관여하는 것으로 알려져 있으며 polyphenol oxidase를 이용한 분석과 동일한 시료를 사용하여 실험을 진행하였다.

② 분석 방법

mRNA를 reverse transcriptase PCR을 통해 cDNA를 합성하였으며 tyrosinase gene에 결합하는 primer를 제작하였다 (그림 29). 또한 양송이 gDNA를 이용해 PCR을 함으로써 primer의 작동 여부를 확인하였다 (그림 30). 백색 자실체와 갈색 자실체의 각 발달 단계별 cDNA를 이용해 real-time PCR을 실시하여 tyrosinase 유전자의 발현량을 비교하였다.



그림 29. Tyrosinase coding gene을 증폭하기 위한 real-time RT PCR용 primer 제작.



그림 30. Tyrosinase coding gene target primer의 작동여부 확인. M : 100 bp marker. AbT : tyrosinase.

③ 분석 결과

백색 자실체에 비해 동일 발달 단계의 갈색 자실체에서 tyrosinase의 발현량이 높았으며 두 자실체 모두 YA에서 YC로 가면서 발현량이 증가하며 YC에서 OC로 가면서 발현량이 감소하는 것을 볼 수 있었다 (그림 31).

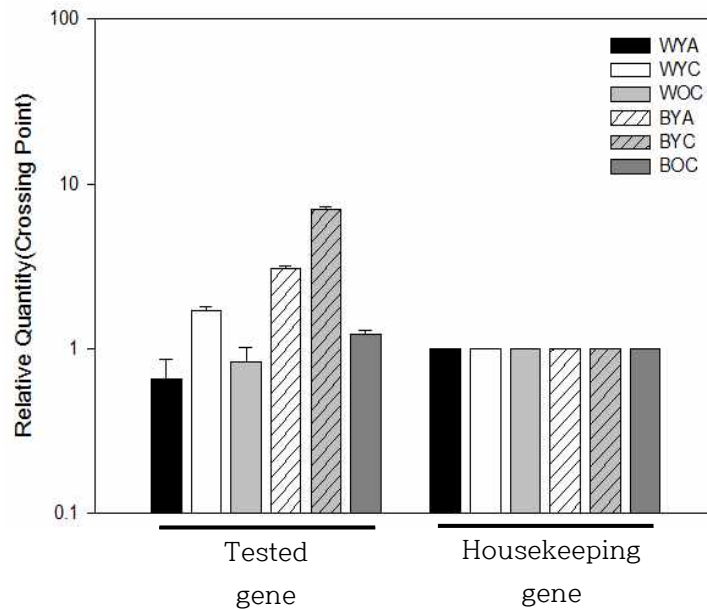


그림 31. Actin의 발현량 대비 tyrosinase coding gene의 상대적 발현량. AbT : tyrosinase, WYA : white young all, WYC : white young cap, WOC : white old cap, BYA : brown young all, BYC : brown young cap, BOC : brown old cap.

④ 결론

위 결과를 통해 tyrosinase는 양송이 발달 초기, DOPA melanin 합성에 영향을 미칠 것으로 추측해 볼 수 있다.

(4) Prephenate dehydrogenase coding gene 검정

① 분석 시료

Prephenate dehydrogenase는 DOPA melanin 합성 초기에 관여하는 효소로 알려져 있기 때문에 갈색 자실체와 백색 자실체 사이에 발현량이 다를 것으로 판단되어 분석을 하였다.

② 분석 방법

- RNA seq. Polyphenol oxidase와 마찬가지로 RNA seq 방법을 이용해 mRNA상에서 prephenate dehydrogenase 유전자의 발현량을 알아보았다.

- Real-time PCR

RNA seq에 사용된 mRNA를 reverse transcriptase PCR을 통해 cDNA를 합성하였으며 prephenate dehydrogenase gene에 결합하는 primer를 제작하였다 (그림 32). 또한 양송이 gDNA를 이용해 PCR을 함으로써 primer의 작동여부를 확인하였다 (그림 33).


```

>Agaricus bisporus var. bisporus H97 hypothetical protein (AGABI2DRAFT_226049), mRNA
XM_006463965.1
CTTAGCGGAGATAAATTAGCTGAGCCCTGTTCATAGTCTTCAGAGGGGGCGGCTCGCAGTTTGTGGCCCAACACGCCACCATGGAACCTAC
CCATCAACGTAGATCCCAACGTACCCCAAATGCCCTGAACAGCATCAGCCAACTATTGGGCTCATCGGTATGGGGCCATGGGCTGTATGTA
CGCTAAATATTAGCCAGGCGGTGGGAAGAATTTAGCTGTGTGATCTACAGAAAAGTATGAAAGGCTAAAAGGGAGATGCTAGTGGG
CCTTTTATTGGGATCAGGCCAAATGGATACCCGATCTAGTTCGGCAGACTATATCGTATATTCAGTGAAGCGGAATATATCGATCGCGTGG
TTGCACAGTATGGTCCTTCTAOCAAAGTGAATGGATGTCGCTGGTCAAACCTTCTGTCAAAAGCCCTGAAAAGAGCTGCATTGAAAAGACATCT
TCCGTCAGATGTACATATTTCTTCTTGTCACTCGCTACATGGACCTACAGTCACTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTCAGTTC
AGCAAGGATGCTTAACACTAGTTCGAAAACATCCTCGTTCATTCGGCTCTCGCTTCGTTTATCTCTCTAGGAAGGACGACGACTCAGTCACTG
CCAATACCCCAAGCAGTAACACACGCGCCCTTCTCAGTATGGGCACAGCATGGGCATCAGCCGAATCCTATCCATGGGAACAGGCTCTTACGT
CGGTGGAAATAGAAACAGCAAAAGTCAACTGGCACTTCGGATTTACTCTAATGCGTGGCATGTTTATGCTGGCCCTGCAATTTCAAACCCAAAT
GCTCGCACTCAAATCCATCAATACGCTAAAAGCGCTCAGAGTTATTTAACTCATGTTAAGTGGTGGTAGCGGCTCTTTAGAAAGATCGCACCA
AATTCAAAGAACCGTGGAAATGGGCTCGAAAACCGTGTTCGGAATGGGGAACGCAACGAGATATTCGAAGAGGACGATAACCATATGCC
GCAAAATTCAGTCCACTTTCTGTCGAGACACCGCTCTCTAGAACAGAAAACCAATCTTACTCTCGGCTTCAATTTAGATAAATTTAGTATG
GGAATGGCACAACCTTCAACACAAAACGCTGATACCAGCATCTCCTACCGATCCTTCACTCTTCAAAGCTCTCTCGCACCCACCCAAATCATC
GTCOCAATTCATCTCTCTCATCGCATGTTGATTTGTTGGGCCACCTCGGTATAAACCCCTTACACCCACTTCAACTCGCCGCAACACC
CATATTCGACTATTCCTCGGTGATGCGGAACATCTATTTCAATCATCGACTTTATTTGAAAAGTGCATCCATTCCGCGAATTTACGATCATTTG
CATAGGCTCTGATGATTTGGAAATTTGTTGTTGCTGCGAGAGGTTGGAGTCACTGTTAGTTCGGAAGTTTGGAGTTTATAGGAAGAGGTTTG
AGGAGACGAGAGGTTTTTTGAGTCAAGTTTGAGGAGGCTGGAAAATTTGGGAGTGCAGATGATTAAGGCGGTGATGGAGAGTGGAGTATAGGAG
GGAGAGGAGGAGGAGGATGCGTAAGATGGCGGTATGATTGGCGGTATGATTGATT

```

Primer set 1 Primer set 2 Primer set 3
>AbPD1F >AbPD2F >AbPD3F
GCTAGTGCCTTTTATTGC CCACCATGGAACCTACCCATC CCACCATGGAACCTACCCATC
>AbPD1R >AbPD2R >AbPD3R
CAGAAGTTTGACCAGCGACA GCGCACTAGCATACTCTC GCAATAAAGGCGCACTAGC

그림 32. Prephenate dehydrogenase coding gene 을 증폭하기 위한 real-time RT PCR용 primer 제작.



그림 33. prephenate dehydrogenase coding gene target primer의 작동여부 확인. M : 100 bp marker. AgPD : prephenate dehydrogenase.

③ 분석 결과
- RNA seq

자실체의 갓 전체에서 추출한 mRNA의 RNA seq 결과에서는 백색 자실체의 prephenate dehydrogenase 발현량이 더 많은 것으로 나타났으나 갓의 발색된 표피 부분만을 수확하여 RNA seq을 진행한 결과, 백색 자실체에 비해 갈색 자실체에서 prephenate dehydrogenase의 발현량이 높은 것을 확인할 수 있었다 (표 10).

표 10. Prephenate dehydrogenase에 대한 백색 및 갈색 자실체의 RNA seq 결과

Description	EXP(FPKM) :WYA	EXP(FPKM) :BYA	EXP(FPKM) :WYC	EXP(FPKM) :BYC	EXP(FPKM) :WOC	EXP(FPKM) :BOC	EXP(FPKM) :WYC (only outside)	EXP(FPKM) :BYC (only outside)
Probable prephenate dehydrogenase [NADP(+)]	8.93244	7.03726	8.53177	8.57801	17.2012	6.11561	405	633

WYA : white young all, WYC : white young cap, WOC : white old cap, BYA : brown young all, BYC : brown young cap, BOC : brown old cap.

4. 4차년도 연구개발 성과

1) 3차년도 결과에 기반한 염색체 및 발현체 정보를 바탕으로 형질관련 가능성 후보유전자군 선별

(1) Phenylalanine ammonia-lyase 유전자 선정

Phenylalanine ammonia-lyase(PAL)는 L-phenylalanine을 *trans*-cinnamic acid와 ammonia로 분해하는 효소로 식물인 보리에서 최초로 발견되었다. PAL은 식물에서 조직의 분화와 발달에 영향을 주며 색을 발현하는 물질인 phenylpropanoid 생합성경로에도 관여하는 것으로 알려져 있다. (그림 34) 버섯을 포함한 진균류에도 PAL 유전자가 존재하는 것으로 밝혀져 있으나 그 연구가 미비한 실정이다. 따라서 양송이 PAL 유전자의 발현과 역할에 대하여 연구하고자 하였다.

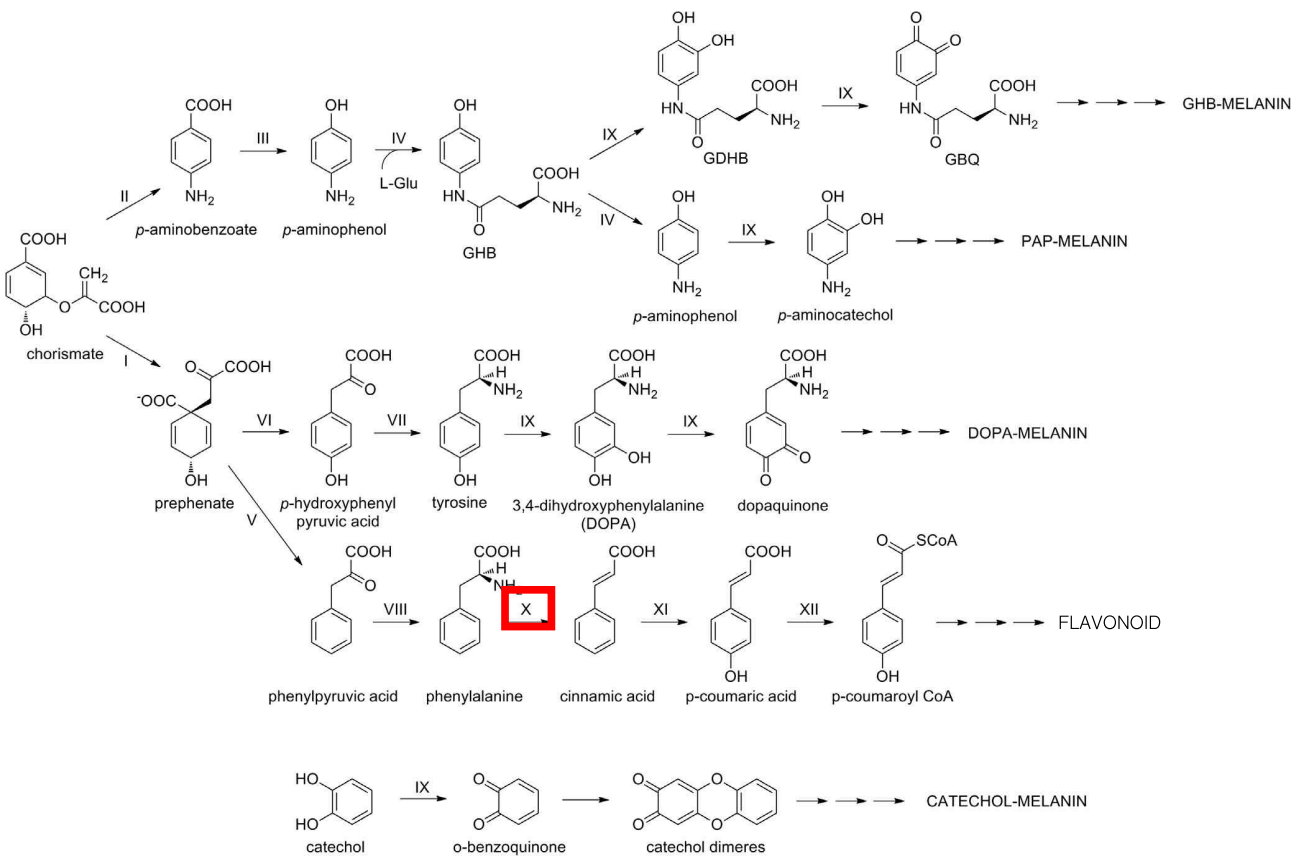


그림34. Flavonoid 생합성에 관여하는 PAL 유전자. PAL 유전자가 관여하는 부분을 빨간색 박스로 표시하였다.

(2) 국산품종의 양송이 PAL 유전자 확보

① 프라이머 제작

유전체 염기서열 분석이 완료된 양송이 H97 균주의 DNA 서열을 National center for biotechnology information (NCBI) 로부터 다운로드하였다. 이 DNA 서열에서 PAL 유전자를 검색한 결과, 양송이에는 2개의 PAL 유전자가 존재하였다. 두 PAL 유전자 염기서열로부터 클로닝을 위한 프라이머를 제작하였다 (표 11). 두 PAL 유전자 모두 길이가 2kb 이상이였기 때문에

정확한 염기서열 확보를 위해 중간부분에 프라이머를 추가로 제작하였다.

표 11. 클로닝을 위한 프라이머의 염기서열 및 Tm값

Primer name	Sequence	Tm
PAL1F	5' - CTCCTACTTTCTACTCTAATTCCG - 3'	57°C
PAL1R	5' - TGATAAAAGATTGTGCAGTGAGAAT - 3'	56.3°C
PAL1F_extra	5' - GTGGCAGCAAGTGATGGT - 3'	57°C
PAL1R_extra	5' - CCTGGTCAAGTAAGGCCTAT - 3'	55.3°C
PAL2F	5' - CGCCGCTCTCTGGTATATC - 3'	56.4°C
PAL2R	5' - TTGATTGTTTCCGTGTAGTCTCTAT - 3'	57.1°C
PAL2F_extra	5' - GATTGATCTTTCGCAACCAGA - 3'	55.7°C
PAL2R_extra	5' - TCTCAGCGGATTGAATGTGA - 3'	56°C

② 클로닝

국산 품종의 양송이인 호감(KMCC00944)과 새한(KMCC00866) 품종 균사체로부터 genomic DNA를 추출하였다. 이를 주형으로 PCR하였다. PCR 산물을 pGEM[®]-T Easy Vector에 ligation하고 *E. coli* competent cell 인 HIT[™]-DH5 α 에 transformation하였다. Transformant를 selection하여 37°C에서 18시간동안 배양하였다. 다시 재조합 DNA (plasmid)를 추출하여 염기서열 분석을 실시하였다 (그림35-38).

ATGTCGAACCATCGTCAACTTCAGAATGACTCTGCCTCCCACTCTCTTCAATACACAACATCTAAAACATCCC
 TGCTCGACGCATTCGTCCATTCATTCAAGGAGCTTGAATCTTACAAGTCAGCTGTTTGTTCGCTCAATCTT
CCCTCATTGACCGTTCGCGTAGAAATGGAAAGTCGGTGTGTGTAGACGGCCAGAATTTATCCATTGCTGCTGT
 GACAGCTGCCGCGAGGTACAACGCACCGGTTGCACATGACAAGTCGCCCAGCATCAGAGACAGAATGGATGCC
 AGTCGTCAAGTGATATCGAACAAGGTAGACCTAGGGATGAGTGTGTATGGTGTCTCGACTGGCTTTGGTGGCA
 GCGCCAACACTCGCACCGACGAGCCCATCTTACTCGGAAACGCCCTCCTTCAACATCAGCATTCCGGTGTCTCT
 GCCGTTCATCGCAAGAGCCTCTTAGTGTCTTCCCTCAGTGATCCTTTCAACCTCTCCATGCCCGAGTCATGG
 GTACGCGGTGCAATCTTAATCAGGATGAACTCTCTCATTTCGTGGTCACTCCGGTGTCCGCTGGGAACTCGTGG
 AAAAGATGAATGAGCTTCTCCGAGCCAATATCACACCCCTTGTTCCTTGC GCGGTAGCATCTCAGCCTCGGG
AGGTACGGTCAAATAAAAAATATTGTTCTTGATCTCATCAATCTTTTTGTCTCCAGATCTATCACCTCTGT
 CTTACATCGCTGGTACTTTGATTGGCAACCCCTCCATTCGCTGTTTTGATGGGCTCTGGCTTTCGGCAGTCG
 TAAGATTGTATCGTCCCATGAAGCGCTTTGTAGTCATCACATTGAACCCCTTCCCTTGCCTCCAAAGAACAT
 CTCGGTATACTTAATGGCACTGCCTTTTCCGCTCCGTTGCAGCTCTTGCCTTGAACGACGCAGTTCACATGG
 CTTTGCTCACCCAAGTGTGCACAGCAATGGGTACCGAGGCCCTCACCGGAACGCGTGGCTCATTGATCCATT
 CATTACGATGTCTGCCGTCCCCATCCTGGTCAAGTAAGGCCTATTTCGACTTTCATATTATGATTATCTGAC
GGTCTGTGTTCTAGATTGAAGCTGCCAAGAACATTTGGGACCTCCTTGACGGAAGCAACTTTGCTCAAACCTCA
 TGAGGCCGAGGTCACTATTGACCAAGACGAGGGAACCTCTCCGTCAAGATCGCTACGCCTTGCACAGCCCCT
 CAATTCATCGGTCTCAGATTGAGGATTTGTTGGAGTCTTTGAAGACGATCACTACTGAATGCAACTCGAGTA
GGTCTTTTTCAACTTTTTATCACTAAATTCTTGCTAAACGATTCCAGCTACGGACAATCCTTTGGTTGATGGC
 TCAACGGGTGTCGTTTATAATGGTGGGAATTTCCAAGCGATGGCAGTCACAAACGTTATGGAGAAAACCTAGAC
 TCAGTCTGCACCACATGGGCAAAATTTCTTTGCCAGTGTGCCGAGTTGATTGATCCTTCGATGAACCGTGG
 TTTACCACCATCACTTGCTGCCACAGACCCGTCCCTCAATTACCACTGCAAGGGGATTGACATCGGCACAGCT
 GCTTACGTCGCAGAGCTCGGTTATCTAGCGAATCCTGTTTTCGACTCATATCCAGTCGGCGGAAAATGCACAATC
 AAGCAGTCAAGTAAGTTTTTGTGGGCGTGTATCGAGCTGTAGCTTATTTGTTTCGTAGTTCCCTGGCTTTG
 ATCTCAGGCCGACAAACGATCGCCGCCCTCGAAACCTGTCCATCCTTACTTCGTCATATCTATATGCTCTTT
 GCCAAGCACTCGACTTGCAGCAATGCAGTCAGAATTCCTCGTGGGCCTGTATAAATGTGTGTCGGAAGAAAT
 GGATAAGACATTTTCTTCCATCTGCAGGACGAAGAAAGAGCCACTCTTACTCGCCAGGTCTTCGACGCCATG
 CGTCAAGCTCATGACAACACAAGTAGCATGGATGCTCAAGAGCGTATGCGAGCGATTGCTGCGGCGAGCACTA
 CCGCTCTTCTTGATTTTATCACTGGCCCTGCGTTCCAAAATTTCCAAGCTGTTGGCTCTGCTCTCAGCAGTAT
 TCCTACCTTCCGCTCCCGCTTGTGCTCAAGCCACTGTCTCTTAGACTCTCTCCGCCGCGAGTATCTCTCC
 GGTGGCCGTGGTGTGCTGCGCCAGCCAGCAAATACTTGAACCGCACCAAGGCTGTGTATGAATTTGTGAGGTTGG
 AGCTCGGTATCAGGATGCATGGCTCTGAAAATTATAGTCGATTTGCGAATGGCCTTGGTATTGACGATGTTAC
 TGTGGCCAGAACGTTTCTTAATTCACGAAGCCATTCCGGACGGGAAGATGCAATATATCATTGCTAATCTT
 TTTGCGTAATCCGCTTTGTCATACCTTCTGCTTGCAGTTCACCTCTCCGTTTAACTGGGCATTTTGTTTA
 ATTATTTATTCTTCGACATTTCTTCAATTTCTTCGTAAGTGCAGAATAGAAATATAGTATTAATCTACTTAGATTC
 GCTTGTACCATACACACGACTAAAATTAGATTCTCACTGCACAATCTTTTCAA

그림 35. KMCC 00944 균주의 PAL 1 염기서열. Intron의 염기서열은 이탤릭체와 밑줄을 그어 표시
 하였다.

ATGTCGAACCATCGTCAACTTCAGAATGACTCTGCCTCCCACTCTCTTCAGTACACAACATCTAAAACATTAT
 TGCTCGACGCATTCGTCCATTCATTCAAGGAGCTTGAATCTTACAAAGTCAGTTGTTTGTTCGCTCAATCTT
CCCCATTGACCGTTCGCGTAGAAATGGAAAGTCGGTGTGTGTAGACGGCCAGAATTTATCCATTGCTGCTGT
 GACGGCTGCCGCGAGGTACAACGCACCGGTTGCACTTGACAAGTCGCCAGCATCAGAGACAGAATGGATGCC
 AGCCGTCAAGTGATATCGAACAAGGTAGACCTAGGGATGAGTGTGTATGGTGTCTCGACTGGCTTTGGTGGCA
 GCGCCAACACTCGCACCGACGAGCCCATCTTACTCGGAAACGCCCTCCTTCAACATCAGCATTCCGGTGTCT
 GCCGTTCATCGCAAGAGCCTCTTAGTGTCTTCCCTCAGCGATCCTTTCAACCTCTCCATGCCCGAGTCATGG
 GTTCGCGGTGCAATCTTAATTAGGATGAACTCTCTCATTTCGTGGTCACTCCGGTGTCCGTTGGGAGCTCGTGG
 AAAAGATGAATGAGCTTCTCCGAGCCAACATCACACCCCTTGTTCCTTGC GCGGTAGCATCTCAGCCTCGGG
AGGTACGGTCAAATAAAAAATATTCTTTCTTGATCTCATCAATCTTTTGTCTTCCAGATCTATCACCTCTGT
 CTTACATCGCTGGTACTTTGATTGGCAACCCCTCCATTCGCTGTTTTGATGGGCTCTGGCTTTCGGCAGTCG
 TAAGATTGTATCGTCCCATGAAGCGCTTTGTAGCCATCACATTGAACCCCTTCCCTTGCCTCCAAAGAACAT
 CTCGGTATACTTAATGGCACTGCCTTTTCCGCTCCGTTGCAGCTCTTGCCTTGAACGACGCAGTTCACATGG
 CTTTGTCCACCAAGTGTGCACAGCAGTGGGTACCGAGGCTCTCACCGGAACGCGTGGCTCATTGATCCATT
 CATTACGATGTCTGCCGTCCCCATCCTGGTCAAGTAAGGCCTATTTCGACTTTCATATTATGATTATCTGAC
GGTCTGTGTTCTAGATTGAAGCTGCCAAGAACATTTGGGACCTCCTTGACGGAAGCAACTTTGCTCAAACCTCA
 TGAGGCCGAGGTGACTATTGACCAAGACGAGGGAACCTCCTCGTCAAGATCGCTACGCCTTGCACAGCCCCT
 CAATTCATCGGTCCCTCAGATTGAGGATTTGTTGGAGTCTTTGAAGACGATCACTACTGAATGCAACTCGAGTA
GGTCTTTTTCAACTTTTTATCACTAAACTCTTGCTAAACGATTCAAGCTACGGACAATCCTTTGGTTGATGGC
 TCAACGGGTGTCGTTTATAATGGTGGGAATTTCCAAGCGATGGCAGTCACAAACGTTATGGAGAAAACCTAGAC
 TCAGTCTGCACCACATGGGCAAAATTTCTTTGCCAGTGTGCCGAGTTGATTGATCCTTCGATGAACCGTGG
 TTTACCACCATCACTTGCTGCCACAGACCCGTCCCTCAATTACCACTGCAAGGGGATTGACATCGGCACAGCT
 GCTTACGTCGCAGAGCTCGGTTATTTAGCGAATCCTGTTTCGACTCATATCCAGTCGGCGGAAAATGCACAATC
 AAGCAGTCAAGTAAGTTTTTGTGGGCGTGTATCGAGCTGTAGCTTATTTGTTTCGTAGTTCCCTGGCTTTG
 ACCTCAGGCCGACAAACGATCGCCGCCCTCGAAACCTGTCCATCCTTACTTCGTCATATCTATATGCTCTTT
 GCCAAGCACTCGACTTGCGAGCAATGCAGTCAGAATTCCTCGCGGGCCTATATAAATGTGTGTGCGAAGAAAT
 GGATAAGACATTTTTTTTCCATCTGCAGGACGAAGAAAGAGCCACTCTTACTCGCCAGGTCTTCGACGCCATG
 CGTCAAGCTCATGACAACACAAGTAGCATGGATGCTCAAGAGCGTATGCGAGCGATTGCTGCGGCGAGCACTA
 CCGTTCTTCTTGATTTTATCACTGGCCCTGCGTTCCAAAATTTCCAAGCTGTTGGCTCTGCTCTCAGCAGTAT
 TCCTACCTTCCGCTCCCGGTTGCTGCTCAAGCCACTGTCTCTTAGACTCTCTCCGCCGCGAGTATCTCTCC
 GGTGGGCGTGGTGTGCTGCGCCAGCTAGCAAATACTTGAACCGCACCAAGGCTGTGTATGAATTCGTGAGGTTGG
 AGCTCGGTATCAGAATGCATGGCTCTGAAAATTATAGTCGATTTGCGAATGGCCTTGGTATTGACGATGTTAC
 TGTGGCCAGAAGCTTTCCTTAATTCACGAAGCCATTCCGGACGGGAAGATGCAATATATCATTGCTAATCTT
 TTTGCATAATCCGCTTTGTCATACTTCCCTGCTTGCAGTTCCTTCTCCGTTTAACTGGGCATTTTGTTTA
 ATAATTTATTGTTTCGACATTCCTTCAATTTCTTCGTAAGTGCAGAATAGAAATATAGTATTAATCTACTTAGATTC
 GCTTGTACCATACGCACGACTAAAATTAGATTCTCACTGCACAATCTTTTATCA

그림 36. KMCC 00866 균주의 PAL 1 염기서열. Intron의 염기서열은 이탤릭체와 밑줄을 그어 표시
 하였다.

ATGACTCTCAACGAAAACAACATTCAACTCAACGGGGATTCACTGTCTTACAGTGCCGACGTTTCAATCGCCC
 CAAAGGACGCTTTAGACACGCAGGCAGCTCGTCGCCACCACCAACGCTCTTGTGAGAATTTCTGAAATCGCA
TAAGGAACTTCAGAGTTATAGGTAAATTTGTCCTCTCTGACTCGCTCTCCCATCGAATATCCTACTGAATGACC
TGTATTAGAGACGGTGCTCCTGTTTCGAGTTGACGGTCAGACTCTCAGCCTCGCAGGTGTGGTCGCCGTCGCTC
 GCTATGGAGCCTATGTGCACTTGACGATTCTCCTCTCATCATGAATGCTCTCCAAAAGAGCCGAAACGTGAT
 CGAGAACAAGGTCAACAGTGGTACCAGTGTCTACGGGTTGTGCACTGGCTTTGGTGGCAGCGGTGCGGTAGAC
TGATAATGAGGCTACTTGGTTTTCGTTTTAATTTTAAATTTGTAGCTGACACCAGAACCGACCAACCGATTCTTC
 TGGGACACGCTTTGATTCAACATCAGCACATCGGAGTGTCCCAACGTCTGAAGACCCTCCGAAAATATTACC
 ACTTCTTGATGCGAGTACTGCGACCACCATGCCTGAGTCTTGGGTCCGGTGCGTGTACCATTTGTTGTTACTTC
GAAAAAGTCAAACTTCATGTTGAAACATTTTCAGTGGCGCCATGATCGTTCGCATGAACTCCCTCATCCGTGG
 ACATTCCGGAGTCCGGTCCGTTTTCCCTTCATCATGTACGTGATGCTCCGTGCTAACATATTACATCGGGTGGG
 ATGTCATTGAAAAATCAACGAGGTTCTTAGGGCCGACCTGGTTCGCGAGTCCCTCTCCGTGGAAGCATATC
 AGCTTCTGGAGGTGTGCATCAATCGCGCTATAATTAAGTATTCCAAGTATTGATCTTTTCGCAACCAGATTT
 ATCCCCCTTGTGATGTGCGCCGGCACTATTGGTCTGTTTTGCCGTCTTATGAGGCTGGGCACACCTGATTAA
TTCCCTCTGCAGCGGGTTCCCTTCGGTTCGGGTGTTTTACGGCTCAAATCAATTTGGCTCCCGTCAAGTTTTCT
 CGTGCATCAGAGGTTCTTCCACAGCATGGTATCAAGCCTCTCGCACTGGCCTCTAAGGAGCATCTTGGTATCC
 TGAATGGGACAGCGTTCTCAGCTTCGGTTGGAACCCTTGCAGTTCATGAGGCGGTTTATCTGTGCTTCTTGC
 TCAAATCTGCACGGCTATGGGCACAGAAGCACTTTTAGGATCGCGAAGCTCTTTCGATTTCATTCATCCATGCT
 ACTGCACGTCGCATCCTGGTCAAGCAAGTTGAATATATTTTACACCATCTATATGGTCTGACACAAAGAAGG
 TTGAATGCGCTAAGAATATTTGGGACCTCCTGGAAGGTAGTCAATTAGCTTGTGGCCACGAGGAGGAAGTAC
 TCTGAAAGACGACCAGTATACTCTTCGCCAAGATAGATACCATTGCGCACTGCCCTCAATTTCTCGGACCT
 CAAATTGAAGATCTTTTTGCTGCGCTGACTTCTTAACCCAAGAATGCAACTCTAGTAGGTTTCATGTTTTTAG
GGTGTACTCACCTAATATTCAATCATTCTATACAGCTACGGATAACCCTCTCATTGACGGCGAAACTGGGCGT
 ATCCATCACGGAGGAAATTTCCAAGCCATGGCTGTACCAATGCTATGGAGAAAACCCGCCTTGCCTCCATC
 ATATCGGCAAGATTATTTTCGCGCAGAGCACTGAACTTATCAACCCTGCAACAAATCGAGGCCTTCTCCGTC
 TTTAGCTGCCAGCGATCCATCTTTGAATTACCACGTCAAAGGTGTTGATATCGCCACCGCAGCTTATGCCGCT
 GAACTCGGCTACTTGGCGAGTCCCGTTTTCTACTCACATTCATCCGCTGAGATGCAAATCAAGCCGTCAAGTA
GGAACATCTTTTATCATTGTTTTTATCTGGAACATAATTCGTTTTGGTAGTTCATGGCACTTGTCTTCTGCACG
 AGCAACTATTAATTCTATTGACGTCTTGTCAATGCTGGTGGCGACTTACCTATACAACTTATGCCAAGGTATG
TGTATGATATCGGCCATACACAGAGACCTGACGTCCACCAGCCCTTGATCTTCGTGCGCTGCAGGCAGAGTTT
 GTGTGCGCTCTCCCGACCTTGTTCGAAGATGCACTTCGAATTCATTTTCGGACTTGCTATTCCCTCCAAAGAAG
 AAGAACTCTTGTGAAGTCCCTTGTCCGTGTCATGCGTGAACCCCTCGACAGGTCAACTATAATGGACAACGA
 GGACTGCATGTTAGCGGTGGCCAACTCTACTACTTCTACTCTCGTCAAGTCTTTGTCAGAGTCAGGTAATTGT
 GATTTGAAGAGCCTAAACGAATTCTGTTCTCGGGTGGCCTCTCACTCCGCTGGTGTTCAGATGAACTCAGGA
 AAGACTATTTGACTGGTTTGAAGGGTTCACACCCCGCTTCGTCACTTGGAGCAAAACAAGAGTTGTATATGA
 ATATATACGAGAAACGCTGGGTGTCAAGATGCATGGCCTGGAAAATTACAGTGGCTTCGTGAACGGACTTGGC
 GTCGATGCTGTTTCCATCGGAGAGAATATTTGATAATTTATGAGGTCTGTGACTTATCGACTTTCATGGTGA
AGTCTCCAGTGTGATTATTCGTTGTAGGCTATCCGTGACGGAGATATGCATCATGTAGTCGCTTCTTATTT
 AACTAGTCATTGTGCAAGTGCCTTGTGTATTCTTTGTTCCAGAATTTTTGTTAGACGAGTTGTAGGATTATA
 ACCCTCCATCGGAAAACCTTGATAGAGACTACACGGAAACAATCAAA

그림 37. KMCC 00944 균주의 PAL 2 염기서열. Intron의 염기서열은 이탤릭체와 밑줄을 그어 표시
 하였다.

ATGACTCTCAACGAAAACAACATTCAACTCAACGGGGATTCACTGTCTTACAGTGCCGACGTTTCAATCGCCC
CAAAGGACGCTTTAGACACGCAGGCAGCTCGTCGCCACCACCAACGCTCTTGTGCGAATTTCTGAAATCGCA
TAAGGAACTTCAGAGTTATAGGTAAATGTCTCTCTGACTCGCTCTCTCATCGAATATCCTACTGAATGACC
TGTATTAGAGACGGTGTCTCTGTTTCGAGTTGACGGTCAGACTCTCAGCCTCGCGGGTGTGATCGCCGTCGCTC
GCTATGGAGCCTATGTGCACTTGACGATTCTCCTCTCATCATGAATGCTCTCCAAAAGAGCCGAAACGTGAC
CGAGAACAAGGTCAACAGTGGTACCAGTGTCTACGGGTTGTGCGACTGGCTTTGGTGGCAGCGGTGCGGTAGAC
TGATAATGAGGCTACTTGGTTTTCGCTTAATCTTAAGTTGTAGCTGACACCAGAACCAGCAACCGATTCTTCT
GGGACACGCTTTGATTCAACACCAGCACATCGGAGTGCTCCCAACGTCTGAAGACCCTCCGAAAATATTACCA
CTTCTTGATGCGAGTACTGCGACCACCATGCCTGAGTCTTGGGTCCGGTGCGTTACCATTTGTTGACTTCCG
AAAAAGTCAAACTTCATGTTGAAACATTTAGAGGCGCCATGATCGTTCGCATGAACTCCCTCATCCGTGGA
CATTCGGGAGTCCGGTCCGTTTTCCCTTCATCATGTACGTGATGCTCCGTGCTAACATATTACATCCAGGGTGG
GATGTCAATTGAAAAAATCAACGAGGTTCTTAGGGCCGACCTGGTTCCGCGAGTCCCTCTCCGTGGAAGCATAT
CAGCTTCTGGAGATCTATCGCGCTATAATTAAGTATTCCAAGTATTGATCTTTTCGCAACCCAGATCTTTTC
CCCCTTGTGCTAGTCGCCGGCACTATTGGTCTGTTTGGCGTCTTATGAGGCTGGGCACACCTGATTAATTCC
TCTGCAGCGGGTTCCCTTCGGTTCGGGTGTTTTCACGGCTCAAACCAATTTGGCTCCCGTCAAGTTTCTCGTG
CATCAGAGGTTCTTCCACAGCATGGTATCAAGCCTCTCGCACTGGCCTCTAAGGAGCATCTTGGTATCCTGAA
TGGGACAGCGTTCTCAGCTTCGGTTGGAACCCTTGCAAGTTCATGAGGCGGTTTCATCTGTGCTTCTTGTCAA
ATCTGCACGGCTATGGGCACAGAAGCACTTTTAGGATCGCGAAGCTCTTTCGATTCATTCATCCATGCTACTG
CACGTCCGCACCCTGGTCAGGAAGTTGAATATATTTTACACCATCTATATGGTCTGACACAAAGAAGGTTGA
ATGCGCTAAGAATATTTGGGACCTCCTGGAAGGTAGTCAATTAGCTTGTGGCCACGAGGAGGAAGTCACTCTG
AAAGACGACCAGTATACTCTTCGCCAAGATAGATAACCATTGCGCACTGCCCTCAATTTCTCGGACCTCAAA
TTGAAGATCTTTTTGCTGCGCTGACTTCCTTAACCCAAGAATGCAACTCTAGTAGGTTCATGATTTTTAGGGT
GTACTCACCTAATATTCAATCATTCTATACAGCTACGGATAACCCTCTCATTGACGGCGAAACTGGGCGTATC
CATCACGGAGGAAATTTCCAAGCCATGGCTGTCACCAATGCTATGGAGAAAACCCGCTTGCCTCCATCATA
TCGGCAAGATTATTTTCGCGCAGAGCACTGAACTTATCAACCCTGCAACAAATCGAGGCCCTTCTCCGTCTTT
AGCAGCCAGCGATCCATCTTTGAATTACACGTTCAAAGGTGTTGATATCGCCACCGCAGCTTATGCCGCTGAA
CTCGGCTACTTGGCGAGTCCCGTTTTCTACTCACATTCATCCGCTGAGATGCACAATCAAGCCCCTCAAGTAG
GAACATCTTTTATCCATTGTTTTTATCTGGAACATAATTCGTTTTGGTAGTTCATGGCACTTGTCTGACG
AGCAACTATTAATTCTATTGACGTCTTGCCAATGCTGGTGGCGACTTACCTATACAACTTATGCCAAGGTATG
TGTATGATATCGGCCATACACAGAGACCTGACGTCCACCAGCCCTTGATCTTCGTGCGCTGCAGGCAGAGTTT
GTGTGCGCTCTTCCCGACCTTGTTCAAGATGCACTTCGAATTCATTTTCGGACTTGCTATTCCCTCCAAAGAAG
AAGAACTCTTGTGAAGTCCCTTGTCCGTGTCATGCGTGAAACCCTCGACAGGTCAACTATAATGGACAACGA
GGACTGCATGTTAGCGGTGGCCAACTCTACTACTTCTACTCTCGTCAAGTCTTTGCGAGAGTCAGGTAATTGT
GATTTGAAGAGCCTAAACGAATTCTGTTCTCGGGTGGCCTCTCACTCCGCTGGTGTTCAGATGAACTCAGGA
AAGATTATTTGACTGGTTTGAAGGGTTCACACCCCGCTTCGTCACTTGGAGCAAAACAGGAGTTGTATATGA
ATATATACGAGAAACGCTGGGTGTCAAGATGCATGGCCTGGAAAATTACAGTGGCTTCGTAAACGGACTTGGC
GTCGATGCTGTTTCCATCGGAGAGAATATTTGATAATTTATGAGGCTGTGACTTATCGACTTTCATGGTGA
AGTCTCCAGTGCTGATTATTCGTTGTAGGCTATCCGTGACGGAGATATGCATCATGTAGTCGCATCCTTATTT
AATTAGTCATTGTGCAAGTGCCTTGTGTATTCTTTATTTCCAGAATGTTTGTAGACGAGTTGTAGGATTATA
ACCCTCCATCGGAAACCCTAGATAGAGACTACACGGAAACAATCAAA

그림 38. KMCC 00866 균주의 PAL 2 염기서열. Intron의 염기서열은 이탤릭체와 밑줄을 그어 표시하였다.

2) 선정된 유전자군의 발현정도와 유전자군의 산물인 단백질 또는 물질의 비교분석

(1) PAL 유전자의 발현

갈색의 KMCC00944 와 백색의 KMCC00866 균주 자실체를 발달 단계 및 부위별로 나누어 PAL 유전자 발현을 확인하였다 (그림 39). 자실체는 발달 단계에 따라 원기 (primordium, P), 초기 (early stage, E), 중기 (middle stage, M) 로 나누었으며 부위별로 갓 전체, 갓 표피, 대로 나누었다.



그림 39. 발달 단계에 따른 자실체 분류. A. KMCC 00944 균주, B. KMCC 00866 균주.

PAL 유전자의 발현은 real-time RT-PCR을 통하여 확인하였으며 Duncan의 다중검정을 통하여 각 발달 단계 사이의 유의한 차이를 검정하였다. KMCC 00944 균주의 PAL 1 유전자 발현은 자실체 발달 단계에 따라 감소하는 양상을 보였다. KMCC 00866 균주의 PAL 1 유전자 발현은 원기 단계에서 가장 높았고 그 다음 자실체 발달 중기, 초기 단계 순으로 높았다. 두 균주의 갓 전체, 갓 표피, 대 등 자실체 부위별 PAL 1 유전자 발현은 모두 갓 표피에서 가장 높게 나타났다. PAL 2 유전자 발현은 KMCC 00944 균주의 경우 자실체 발달 단계에 따라 감소하는 양상을 보였다. 반면에 KMCC 00866 균주에서는 P 단계에 가장 높았고 그 다음은 M 단계, E 단계 순이었다. 자실체 부위별 PAL 2 유전자 발현은 KMCC 00944 균주의 경우 PAL 1 유전자처럼 갓 표피에서 가장 높게 나타났다. 그러나 KMCC 00866 균주의 경우는 갓 표피나 대 보다 갓 전체에서 가장 높게 나타났다. KMCC 00944 균주의 PAL 1과 PAL 2 유전자는 자실체 발달 단계별로 볼 때 발현량과 부위별 발현양상이 모두 유사하였다. KMCC 00866 균주의 PAL 1과 PAL 2 유전자는 조사된 자실체 발달 단계에서 유사한 수준의 발현량을 보였다. 그러나 부위별 발현 양상은 갓 표피에서는 PAL 1 유전자가 PAL 2 유전자 보다 발현이 높았고 갓 전체에서는 PAL 2 유전자가 PAL 1 유전자 보다 발현이 높은 차이를 나타내었다 (그림 40, 41).

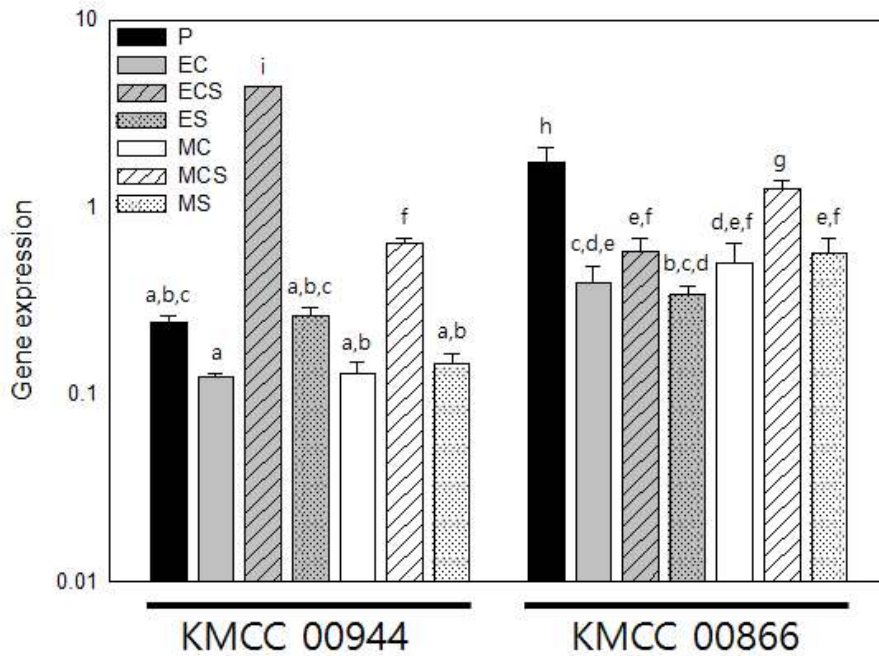


그림 40. Real-time RT-PCR을 통한 KMCC 00944 와 KMCC 00866 균주의 PAL 1 유전자 발현 결과.

P : Primordium, EC : Cap at early stage, ECS : Cap skin at early stage, ES : Stipe at early stage, MC : Cap at middle stage, MCS : Cap skin at middle stage, MS : Stipe at middle stage.

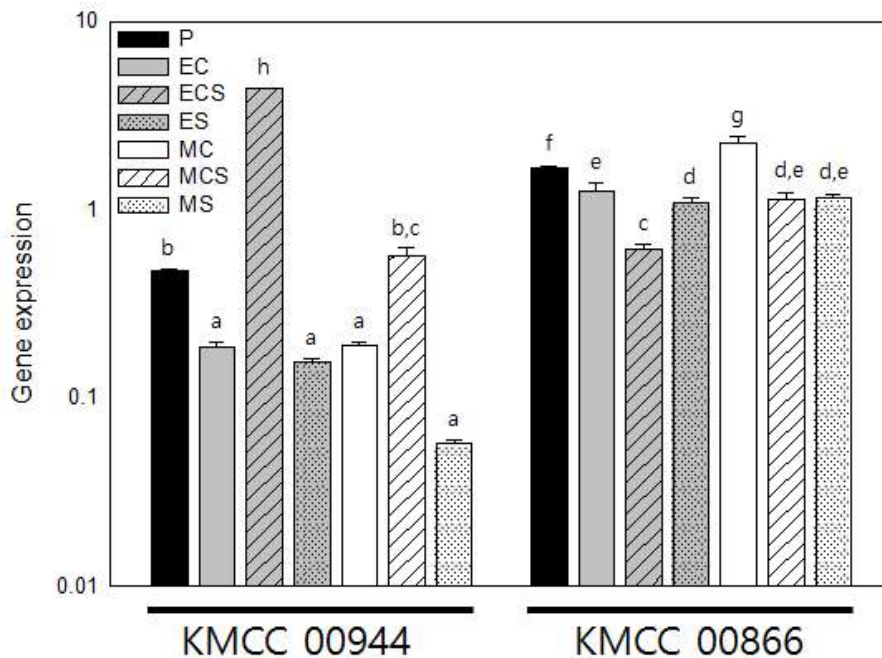


그림 41. Real-time RT-PCR을 통한 KMCC 00944 와 KMCC 00866 균주의 PAL 2 유전자 발현 결과.

P : Primordium, EC : Cap at early stage, ECS : Cap skin at early stage, ES : Stipe at early stage, MC : Cap at middle stage, MCS : Cap skin at middle stage, MS : Stipe at middle stage.

(2) PAL 효소 활성

mRNA 수준에서 PAL 유전자의 발현을 확인하였으며 PAL 유전자 발현과 실제 발현 산물인 단백질 (효소)의 활성과의 연계성을 알아보기 위하여 PAL 효소 활성을 검정하였다. BSA를 사용하여 Bradford법으로 표준곡선을 그렸고 (그림 42) PAL assay kit를 사용하여 PAL 효소의 활성을 측정하였다. 측정된 PAL 효소의 활성값은 해당 발달 단계 및 부위의 총 단백질량으로 나누어 표기하였으며 단위는 unit / mg 이다. 두 균주 모두 E 단계의 갓 표피에서 효소 활성이 가장 높았고 M 단계에서는 갓에서 높은 것으로 나타났다. 또한 PAL 유전자의 발현과는 달리, 조사된 모든 자실체 부위와 발달 단계에서 PAL 효소 활성은 백색 품종 보다 갈색 품종인 KMCC 00944에서 더 높게 나타났다 (그림 43). 이런 결과는 PAL 효소가 색 변화와 연계성이 있을 가능성을 제시한다.

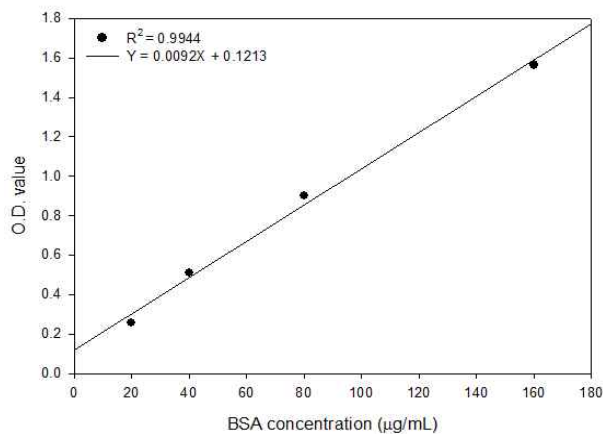


그림 42. 본 실험을 통해 작성된 표준곡선.

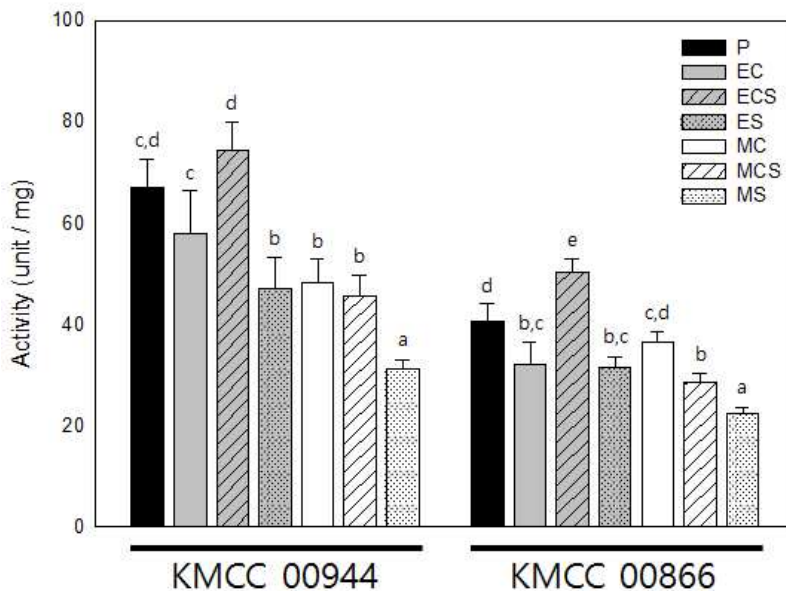


그림 43. KMCC 00944 와 KMCC 00866 균주 자실체의 PAL 효소 활성 검정 결과. P : Primordium, EC : Cap at early stage, ECS : Cap skin at early stage, ES : Stipe at early stage, MC : Cap at middle stage, MCS : Cap skin at middle stage, MS : Stipe at middle stage.

제 3절 양송이버섯 신품종 보급 및 현장 적응성 시험

2015년(1년차) 시험에 사용한 공시품종은 ‘새도’, ‘새정’, ‘새한’, 외국종을 사용하였으며, 경주와 용인과 같이 5단으로 구성되어 있는 재배사는 ‘새아’를 추가하여 시험을 수행하였다. 시험에서 각각의 품종은 2반복으로 하여 시험구를 처리하였으며, 종균은 공시품종을 생산하고 있는 부여 소재의 종균배양소에 종균 제조 표준방법으로 생산하도록 주문하여 생산된 것을 사용하였다.

시험을 수행한 농가는 용인, 경주, 달성, 부여, 보령지역의 농가에서 시험을 수행하였으며, 재배면적은 199㎡ 이었다.

2016년(2년차)에는 경주, 달성, 부여, 아산 지역의 농가에서는 백색계통의 품종인 ‘새한’, ‘새연’, ‘새도’, 외국종으로 시험을 수행하였으며, 보령지역 농가에서는 갈색계통인 호감, 다향과 외국종을 대조로해서 재배시험을 수행하였다. 종균은 공시품종을 생산하고 있고 종균 제조 표준방법으로 종균을 생산하는 부여 소재의 2곳의 종균배양소에서 주문하여 생산된 것을 사용하였다.

개체중은 시험농가 포장에서 2반복으로 품종별로 접종된 균상에서 각각의 20개 내외의 샘플을 채취하여 그 중에서 표준에 해당하는 5개의 샘플을 각각 선택하여 평량하여 얻은 값을 평균한 것으로 하였다. 그리고 샘플의 채취는 농가상황에 따라 2~3주기별로 수행하였다

자실체 형태적 특성은 갓의 직경과 두께, 대의 굵기와 길이를 측정하였다. 갓 직경은 갓 지름에서 긴 쪽을 측정하였으며, 갓두께는 자실체 갓중심부를 갓 위에서 아래로 절개하여 대를 제외한 부분의 길이를 측정하였고, 대의 굵기는 대의 중심부의 캘리퍼스로 굵기를 측정하였으며, 대길이는 자실체 전체길이에서 갓두께에 해당하는 부분을 제외한 부분을 측정하였다. 조사한 샘플은 개체중을 조사한 것을 샘플에 대해 형태적 특성을 조사하였다.

양송이 갓 및 대의 표면색은 표준백판(L=93.80, a=0.31, b=0.31)으로 보정된 Chromameter (CR-400, Minolta Co, Japan)를 사용하여 L, a 및 b값을 측정하였다. 색의 측정은 시료의 갓 표면 및 대의 중심부 표면 부위를 샘플한 5개의 시료를 2반복으로 측정하여 평균으로 하였다

자실체 경도는 양송이 자실체를 갓과 대를 분리하여 갓정단부와 대의 중심부를 과일경도계를 이용하여 측정하였으며, Hardness (N), Work To Limit (kgf.mm)의 단위로 측정하였다. 2반복의 포장에서 채취한 샘플에서 각각 5개씩 선택하여 갓과 대를 분리하고 10개에 대해 경도를 측정하였다.

1년차에는 농가별 버섯생산량은 농가별로 생산된 전체량을 조사하였고 2년차에는 정확도를 높이기 위하여 부여농가에서 현지 버섯수확인력을 고용하여 품종별 주기별 수확량을 조사하였다. 실제 농가에서 처리구별 생산량을 조사하는 것은 거의 불가능한 일이나 버섯수확인력을 지원하고 수확량의 조사는 출하용 스티로폼 박스에 품종별 색상을 정하여 각각의 품종을 구별하여 주기별로 수확 포장하여 각각의 품종 및 주기별 생산량을 조사하였고 품질은 정품과 등외품으로만 구분하여 수확하였다.

1. 1차년도 연구개발 성과

표1. 신품종 보급 현장시험 농가별 재배환경 및 생산성 조사결과

지역농가	재배사 형태	재배온도 (°C)	생산량 (kg/3.3m ²)	단위면적당 생산성(kg/3.3m ²)	비고
용인	판넬	16	4,200/80	52	- 3주기 수확
부여	판넬	18	2,400/60	40	- 3주기 수확
보령	간이	16	1600/60	27	- 3주기 수확,세균병
달성	간이	14	1,200/60	20	- 2주기 수확
경주	판넬	16	4,400/60	73	- 3주기 수확

신품종 보급 현장시험 농가별 재배환경은 달성군 농가가 14°C로 가장 낮았고 부여 농가가 18°C로 가장 높았다. 버섯생육시에 온도는 적정온도라고 보는 18°C를 유지하는 농가는 부여 농가뿐이었다. 낮은 온도에서 버섯을 생육을 시키는 것은 낮은 온도에서 생육하는 것이 품질이 좋으며, 생육속도가 느려서 농가 자체 인력만으로 버섯을 수확 가능한 것으로 생각해서 에너지 비용이 많이 소요됨에도 온도를 낮추고 있는 추세이다. 하지만 전등(2014)에 의하면 적정온도인 19°C에서 자실체에 가장 아미노산등의 함량이 높으며, 저온에서는 함량이 떨어진다고 하였다. 재배자실체의 생육온도는 형태적 특성 및 재배에 많은 영향을 준다고 하였다(전등, 2010).

생산성 조사에서는 농가 별로 각기 다르며, 각 재배농가의 의견을 종합해보면 품종별로 생산성과 재배적 특성은 크게 다르지 않았다. 농가별 시험동에서 수확한 전체 수확량은 경주시 농가가 가장 높았으며, 거의 유럽수준에 동등한 수준이었으며, 가장 낮은 농가는 달성농가로 20kg/3.3m² 수준이며, 3주기에는 전혀 버섯을 수확하지 못하였다. 그리고 자실체의 형태적 특성 및 색깔 등은 품종에 의한 특성의 차이를 확인할 수 없었고, 농가가 선호하는 품종의 기준은 불량재배환경에서도 생산성이 높고 품질이 좋은 것이며, 출하시의 갓표면의 순백색의 색깔을 갖은 것을 선호하였다.



그림1 신품종 보급 현장시범 농가별 재배현황

신품종 보급 현장시범 농가별 재배현황을 평가한 결과 지역에 따라 수량, 품질, 버섯발생량 등이 각기 다르며, 달성과 보령 농가들은 친환경 무농약, 수확량은 적으나 품질위주 재배로 수량 저조하였으며, 버섯을 선호하는 주안점이 각각 다르다. 위사진의 A농가와 B농가를 비교해보면 A농가가 색택이 순백색이며, B 농가는 사진은 물론 육안으로 평가하였을 때에도 유백색의 색을 띠고 있었다. 종균의 사용에서는 대형농가에서는 외국종을 주로 사용하고 있으며, 중, 소형농가에서는 국내종을 주로 사용하고 있다.

표2. 시험지역 및 품종별 자실체의 개체중 비교 (1주기)

재배지역	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	38.9	41.6	-	39.6	36.8	-	39.2
경주	26.5	25.2	19.5	21.2	25.2	-	23.5
용인	23.5	20.3	20.3	19.0	24.5	-	21.5
보령	33.9	32.5	-	29.9	34.0	-	32.6
부여	21.1	23.3	36.1	27.2	28.9	25.1	26.9
평균	28.8	28.6	25.3	27.3	29.9	25.1	

지역 농가별 자실체의 개체중은 달성군 재배농가가 가장 높았으며, 가장 낮은 개체중을 보인 것은 경주시의 농가이었다. 품종에 관계없이 수확량과 비교해보면 달성군 농가가 가장 낮은 수확량을 보였으며, 경주는 가장 높은 수확량을 보이고 있어 품종적인 특성보다는 발생 개체수 많아 수확량 증가되었고 개체는 작았던 것으로 추정된다.

품종에 있어서 평균 개체중을 보면 ‘외국종’이 29.9g으로 가장 높았으며, 그 다음으로는 ‘새정’이었으며, 가장 낮은 것은 ‘새아’와 ‘갈색품종’이었다. 이 결과를 보면 품종간의 약간의 차이를 보이고는 있으나 지역농가에 따른 차이보다는 크지 않은 것으로 생각되고. 농가별 재배환경이 더 큰 영향을 주는 것으로 추정된다. 즉 농가별 재배환경이 너무 차이가 존재하여 품종의 특성 보다 재배환경에 의해 표현이 되지 않은 것으로 보인다.

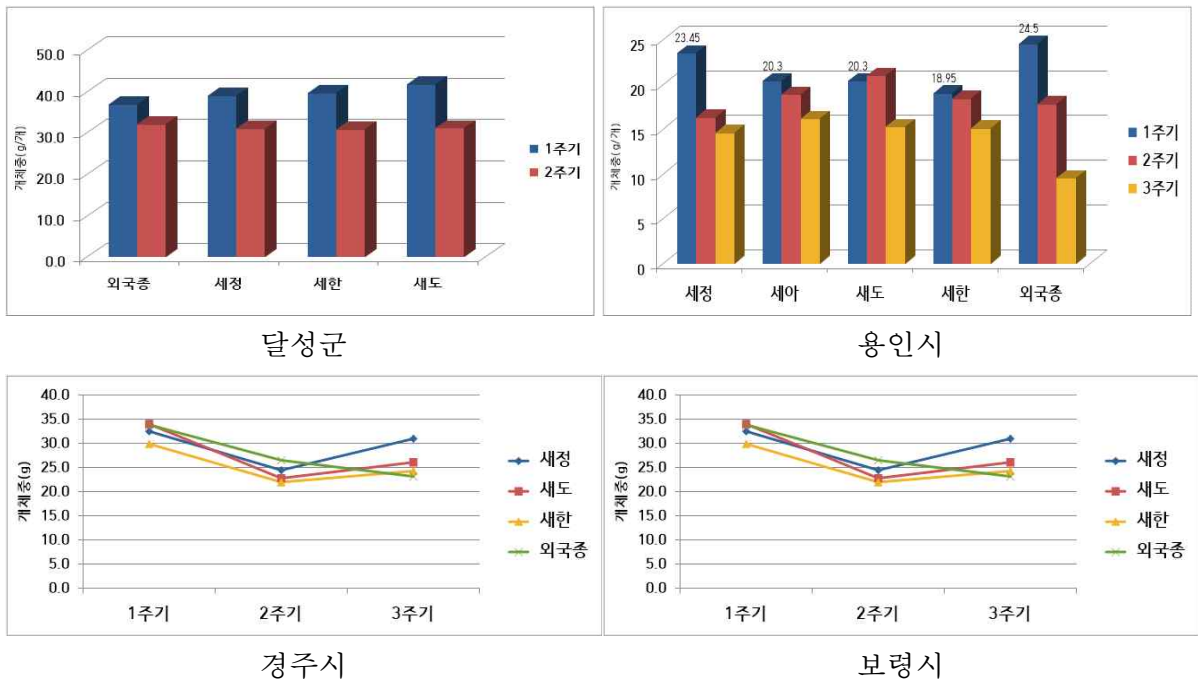


그림3. 시험지역 및 품종별 자실체의 주기별 개체중 비교

지역 농가별 및 주기별 자실체의 개체중 조사에서는 대부분의 품종과 지역농가에서 주기가 진행되면서 개체중이 감소하는 경향이다. 용인시 농가의 대조품종인 외국종의 개체중은 1주기

버섯의 개체중은 가장 높았으나 주기가 진행되면서 급속도로 감소하여 3주기에서는 가장 낮은 개체중을 보이며, ‘새정’은 주기에 따라 감소하지만 감소폭이 외국종 보다는 크지 않았다.

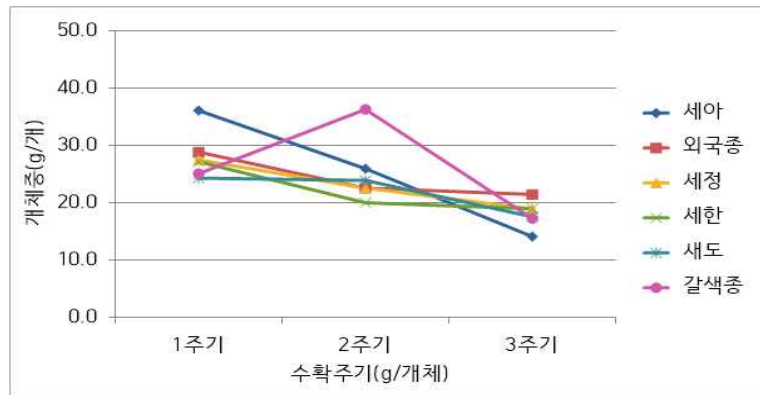


그림2. 수확주기에 따른 양송이 품종별 개체중의 변화(부여)

부여지역의 지역 농가의 자실체의 개체중은 주기별로 정리해보면 갈색종 1품종을 제외한 모든 품종이 주기가 진전됨에 따라 개체중 감소한다.

표 3. 재배 품종 및 농가별 양송이 자실체 경도의 비교 (갓)

지역농가	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	7.36	6.04	-	6.34	5.44	-	6.29
경주	4.32	4.48	4.23	4.53	4.77	-	4.47
용인	5.14	5.46	5.12	4.66	6.59	-	5.39
보령	4.90	5.03	-	6.40	5.79	-	5.53
부여	5.48	5.47	5.36	5.19	6.58	4.47	5.42
평균	5.44	5.30	4.91	5.42	5.83	4.47	

1주기에 수확한 자실체의 지역 농가별 및 주기별 자실체의 갓경도 비교에서는 농가별로는 달성군 경도의 평균값이 가장 높았으며, 경주농가의 버섯이 4.91로 가장 낮았다. 품종별 비교에서는 외국종 가장 높았고 다음으로는 새정, 새한, 새도 순이었다. 품종별 평균값을 보면 그 중에서 가장 낮은 경도를 보인 것은 갈색종 품종이었으며, 백색계통의 품종에서는 ‘새아’ 품종이 가장 낮았다. 이 결과를 보면 품종별 경도(갓) 평균값은 품종간의 차이를 보이고는 있으나 지역농가에 따른 차이보다는 크지 않은 것으로 보아 종합해보면 품종간의 차이는 인정되지만 버섯생산에 있어서 절대적인 영향을 주는 것은 아닌 것으로 사료되며, 농가별 재배환경이 자실체의 경도에 더 큰 영향을 주는 것으로 추정된다.

표 4. 재배 품종 및 농가별 양송이 자실체 경도의 비교 (대)

지역농가	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	6.84	7.44	-	5.95	7.70	-	6.98
경주	4.29	3.32	3.81	3.57	3.61	-	3.72
용인	4.31	6.38	5.12	5.04	6.59	-	5.49
보령	4.90	5.03	-	6.40	5.79	-	5.53
부여	4.47	4.17	3.89	5.05	5.18	5.39	4.69
평균	4.96	5.27	4.27	5.20	5.77	5.39	

1주기에 수확한 자실체의 지역 농가별 및 주기별 자실체의 대경도 비교에서는 농가별로는 갓 경도와 같이 달성군 경도의 평균값이 가장 높았으며, 경주농가의 버섯이 3.72로 가장 낮았다. 품종별 비교에서는 외국종 가장 높았고 다음으로는 ‘갈색종’, ‘새도’, ‘새한’, ‘새정’ ‘새아’ 순이었다. 품종별 평균값을 보면 그 중에서 가장 낮은 경도를 보인 것은 ‘새아’ 품종이었다. 백색계통의 품종에서는 ‘새아’ 품종이 가장 낮았다. 갓 경도의 경우와 같이 평균값에서 보면 품종간의 차이를 인정할 수 있는 정도이었으나 지역농가별 차이보다는 크지 않은 것으로 보아 품종간의 차이는 인정되지만 버섯생산에 있어서 절대적인 영향을 주는 것은 아닌 것으로 사료되며, 농가별 재배환경이 더 큰 영향을 주는 것으로 추정된다. 일반적인 버섯들은 대가 갓보다 경도가 높은 경향이었으나 양송이에서는 대가 갓보다 경도가 낮은 것이 특징적이다.

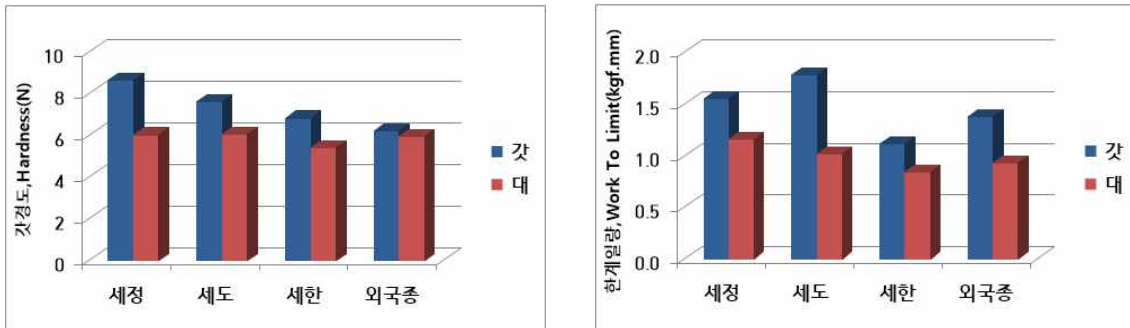


그림4. 양송이 자실체 갓과 대의 경도 비교 (달성군)

그림4에서 경도가 가장 높은 달성군 재배농가의 갓과 대의 경도를 비교해보면 품종과 지역농가에 차이에 따라 큰 차이 없이 양송이에서는 대가 갓보다 경도가 낮은 것이 특징적이다.

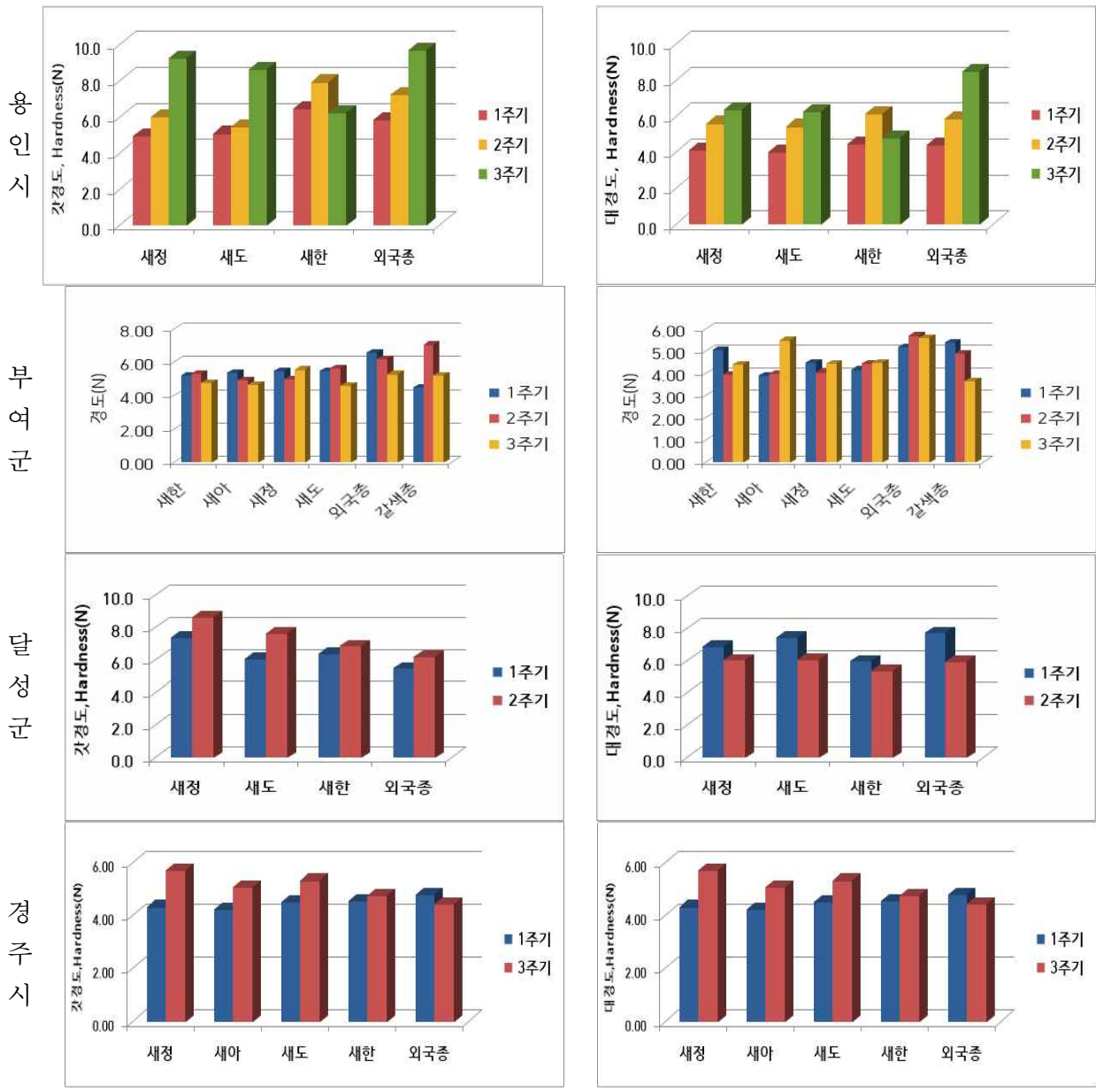


그림 5. 양송이 재배 품종 및 주기별 자실체 경도의 변화

조사한 지역별 및 품종별 갓경도와 대경도를 조사한 결과 용인농가는 ‘새한’ 품종을 제외하고는 주기가 진행되면서 증가하는 경향이었으며, 1주기의 갓경도는 ‘새한’ 품종이 높았으며, 대경도에서는 ‘새한’ ‘외국종이 높았으나 다른 품종과 큰 차이가 있는 것은 아니었다.

부여농가는 주기가 진행되면서 감소하거나 증가하였다가 감소하는 등 일정하지 않았으며, 대경도는 갓경도보다 더 일정하지 않았다. 달성군 농가는 1주기 보다 2주기의 갓경도가 증가하는 경향이나 대경도는 감소하였다. 하지만 경주시 농가에서는 동일하게 갓경도는 증가하였으며, 대경도도 증가하여 부여군과는 다른 경향을 보였다. 이 결과를 종합적으로 분석해보면 경도는 품종에 따라 결정되기 보다는 재배환경에 따라 변화될 가능성이 높은 것으로 생각된다.

표5. 양송이 재배 품종 및 농가별 갓직경 비교 분석(1주기, 단위mm)

	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	50.5	51.4	-	51.7	51.6	-	51.3
경주	46.3	38.8	47.8	44.2	40.8	-	43.6
용인	45.4	43.0	45.3	42.2	45.8	-	44.3
보령	48.9	48.9	-	46.7	50.6	-	48.8
부여	43.0	46.70	48.0	47.1	45.5	50.0	46.1
평균	46.8	45.8	47.0	46.4	46.9	50.0	

양송이 재배 품종 및 농가별 갓두께 조사결과를 1주기 자실체 기준으로 정리해서 재배지역별로 정리해보면 갓직경은 가장 큰 것은 달성군 농가의 것이었으며, 품종별 비교에서는 ‘새아’ ‘갈색종’ 품종이 가장 컸으나 품종 간에 큰 차이는 없었다.

표6. 양송이 재배 품종 및 농가별 갓두께 비교 분석 (1주기, 단위mm)

	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	13.6	14.8	-	13.5	15.1	-	14.3
경주	10.0	13.5	11.2	12.5	14.2	-	12.3
용인	14.2	12.2	14.1	13.6	14.7	-	13.8
보령	12.8	14.5	-	13.1	13.9	-	13.6
부여	12.4	13.30	14.5	12.7	11.1	14.2	12.8
평균	12.6	13.7	13.3	13.1	13.8	14.2	

양송이 재배 품종 및 농가별 갓두께 조사결과를 1주기 자실체 기준으로 정리해서 재배지역별로 정리해보면 갓두께가 가장 두꺼운 것은 달성군 농가의 것이었으며, 품종별 비교에서는 ‘외국종’ 과 ‘갈색종’ 품종이 가장 두꺼웠으나 품종 간에 차이는 있을 것으로 예상되었다.

표7. 양송이 재배 품종 및 농가별 대꺾기 비교 분석 (1주기, 단위mm)

	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	19.7	20.8	-	24.1	22.1	-	21.7
경주	23.8	19.1	26.7	23.5	19.2	-	22.5
용인	22.2	18.0	14.4	13.9	20.5	-	17.8
보령	18.9	19.4	-	20.9	18.1	-	19.3
부여	17.4	19.2	23.2	17.6	18.9	23.8	19.3
평균	20.4	19.3	21.4	20.0	19.8	23.8	

양송이 재배 품종 및 농가별 갓두께 조사결과를 1주기 자실체 기준으로 정리해서 재배지역별로 정리해보면 대꺾기가 가장 굵은 것은 경주농가의 것이었으며, 가장 가는 것은 17.8mm인 용인 농가의 것이었다. 품종별 비교에서는 ‘갈색종’ 이 가장 굵었고 백색종에서는 ‘새아’ 품종이었으며, 갓 색깔의 품종별 비교에서는 품종 간에 큰 차이가 있는 것은 아니었다.

표8. 양송이 재배 품종 및 농가별 대꺾기 비교 분석 (1주기, 단위mm)

	새정	새도	새아	새한	외국종	갈색종	평균
달성	35.7	33.9	-	36.4	28.5	-	33.6
경주	21.5	27.9	25.4	23.0	25.6	-	24.7
용인	22.2	18.0	14.4	13.9	20.5	-	17.8
보령	27.7	25.2	-	27.2	31.8	-	28.0
부여	25.9	33.2	29.1	36.1	28.2	27.6	30.5
평균	26.6	27.6	23.0	27.3	26.9	27.6	

양송이 재배 품종 및 농가별 갓두께 조사결과를 1주기 자실체 기준으로 정리해서 재배지역별로 정리해보면 대꺾기가 가장 긴 것은 달성농가 것이었으며, 가장 짧은 것은 용인 농가의 것이었다. 품종별 비교에서는 ‘새도’ 와 ‘갈색종’ 이 가장 길었으며, ‘새아’ 가 짧았으나 이 품종을 재배한 모든 농가에서 대꺾기가 짧은 것이 아니어서 품종특성에 의한 것으로 판단하기는 곤란 하였다, 전체적으로 보면 품종간 차이보다는 농가간의 차이가 심하였다

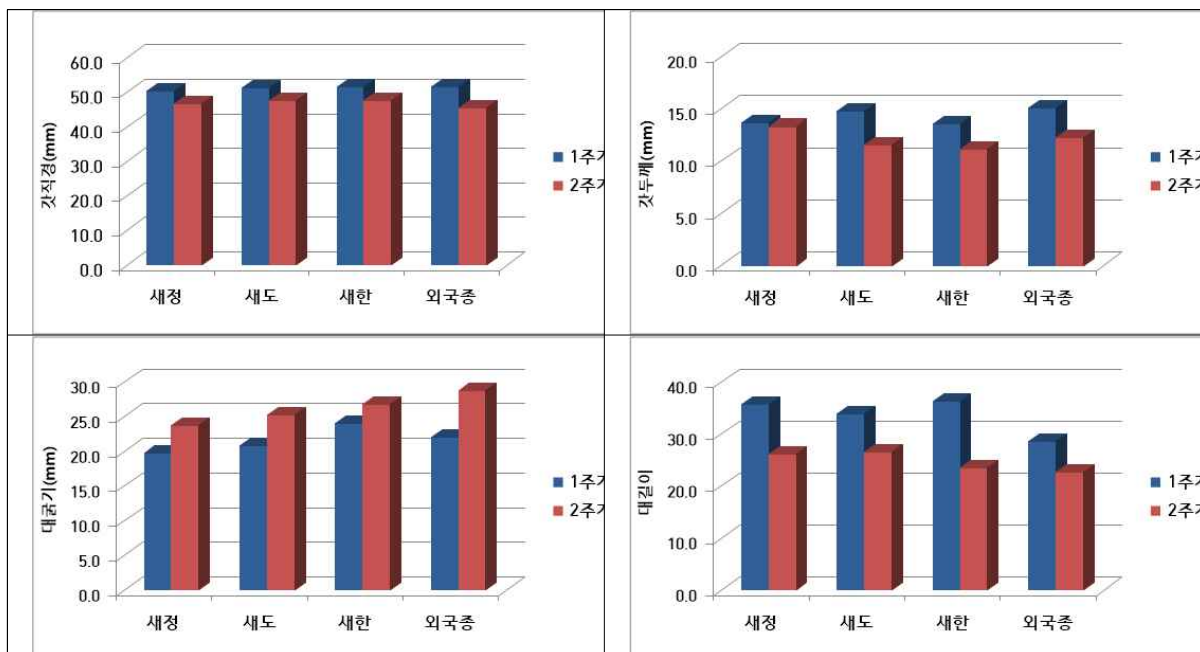


그림6. 양송이 재배 주기 및 품종에 따른 형태적 특성 비교 분석(달성군 농가)

달성군 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 형태적인 변화를 확인해보면 품종에 관계없이 주기별로 갓직경은 감소하는 경향이었으며, 갓두께도 감소하는 추세이었다. 하지만 대굵기는 증가하는 경향이었고 대길이는 감소하는 경향이였다. 이런 현상은 다른 지역 농가에서도 일률적인 것은 아니지만 이런 현상이 보이는 것으로 품종적 특성보다는 생리·생태적인 변화에 의한 것으로 추정된다.

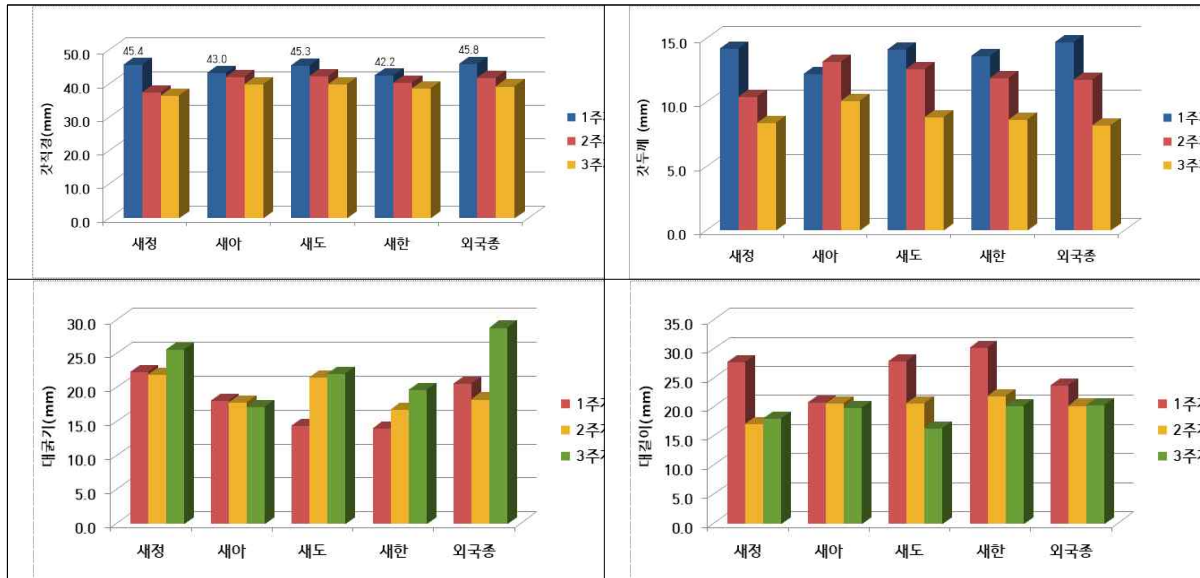


그림7. 양송이 재배 주기 및 품종에 따른 형태적 특성 비교 분석(용인 농가)

용인시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 형태적인 변화를 확인해보면 품종에 관계없이 주기별로 갓직경과 갓두께는 달성군 농가의 버섯과 같이 감소하는 경향으로 동일한 경향을 보였다. 하지만 대굵기에서는 ‘새도’와 ‘새한’은 증가하는 경향 ‘새정’과 ‘외국종’은 감소하였다가 증가되는 경향을 ‘새아’는 조금씩 감소하는 경향을 보여 일정한 경향은 없었다. 대길이는 감소하는 경향이였다. 이런 현상은 품종적 특성보다는 생리 생태적인 변화에 의한 것으로 추정된다.

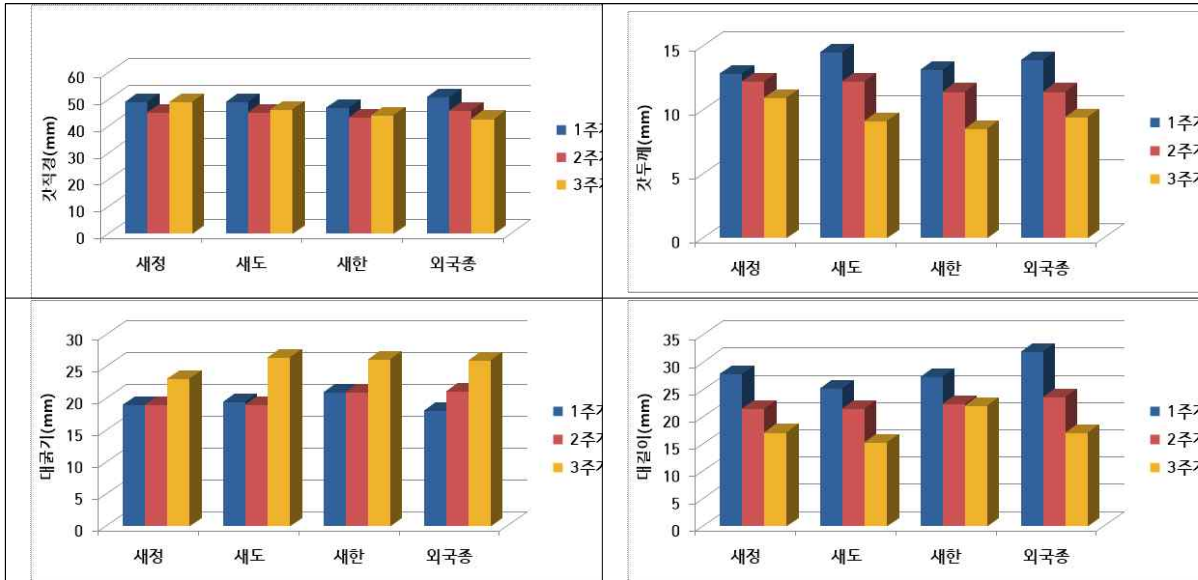


그림8. 양송이 재배 주기 및 품종에 따른 형태적 특성 비교 분석(보령시 농가)

보령시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 형태적인 변화를 확인해보면 주기별로 갓직경은 일정한 경향을 보이지 않았으나 갓두께는 달성군 농가의 버섯과 같이 주기에 따라 감소하는 경향으로 동일한 경향을 보였다. 하지만 대군기에서는 ‘새도’를 제외하고는 증가하는 경향이었고 대길이는 품종과 관계없이 전체적으로 감소하는 경향이였다. 이런 현상은 품종적 특성보다는 생리 생태적인 변화에 의한 것으로 추정된다.

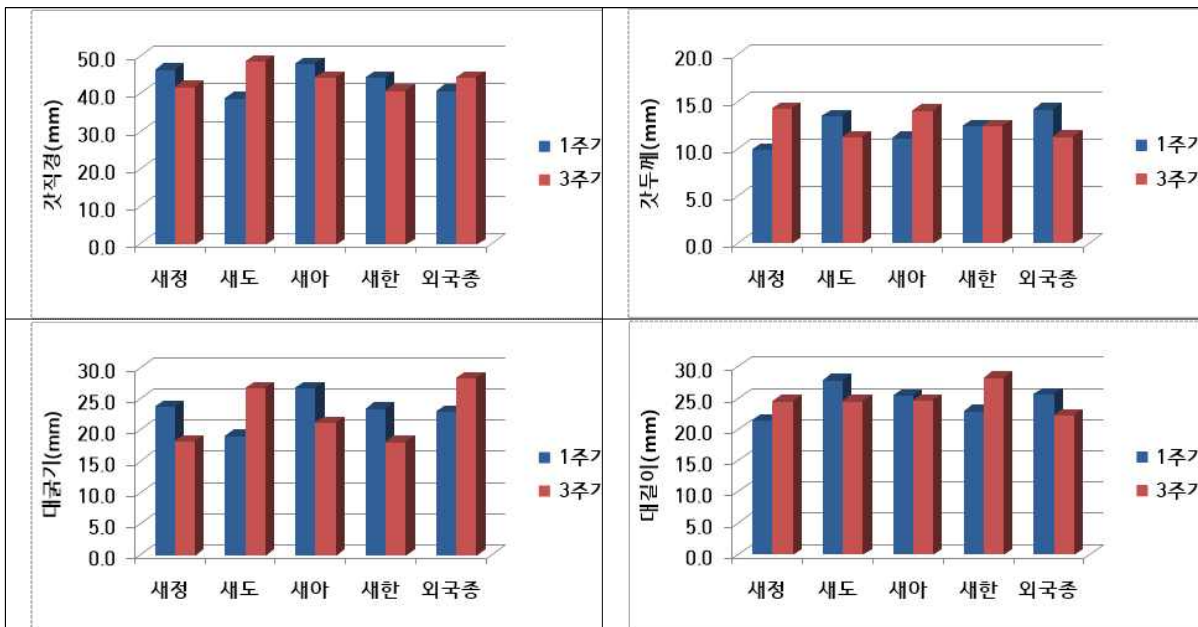


그림9. 양송이 재배 주기 및 품종에 따른 형태적 특성 비교 분석(경주시 농가)

경주시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 형태적인 변화를 확인해보면 갓직경, 갓두께, 대군기, 대길이에서 품종과 주기에 관계없이 다른 현상을 보이고 있으며, 이런 현상은 품종적 특성보다는 생리 생태적인 변화에 의한 것으로 추정된다.

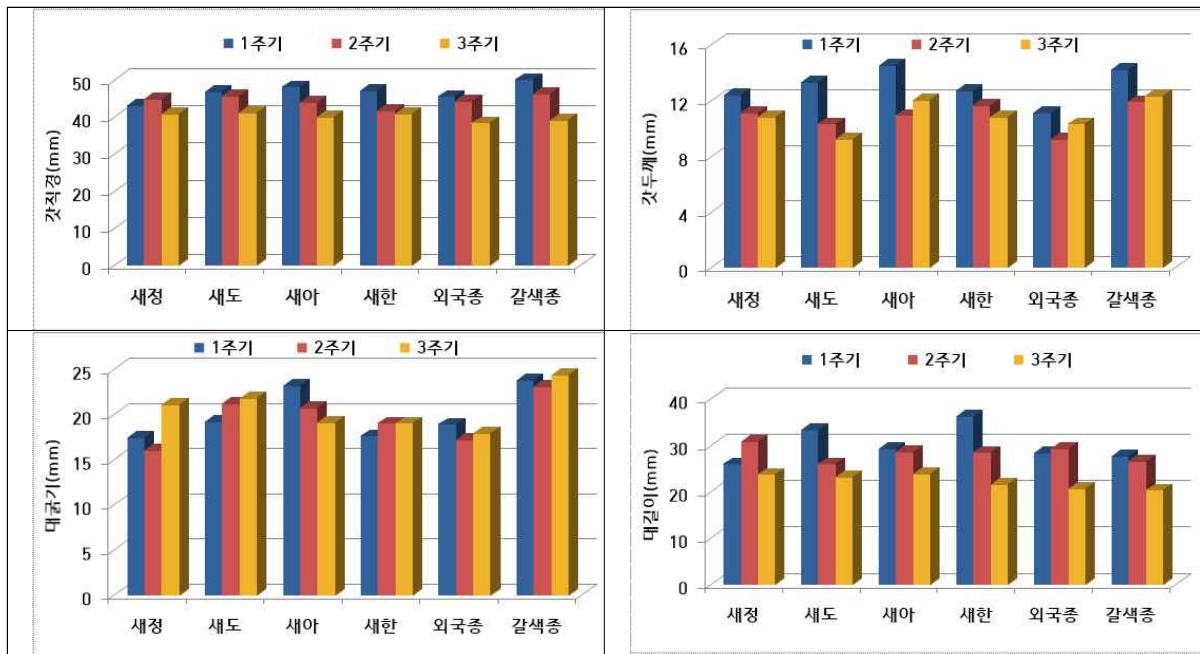
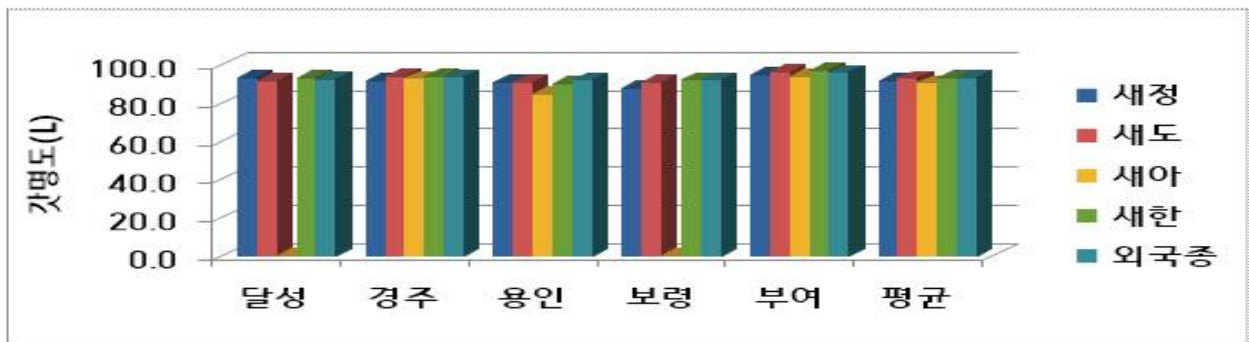


그림10. 양송이 재배 주기 및 품종에 따른 형태적 특성 비교 분석(부여군 농가)

보령시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 형태적인 변화를 확인해보면 갓직경은 “새정“에 서는 증가 후 감소하였으며, 나머지 품종은 감소하였다. 갓두께는 ‘새아’ ‘외국종’ ‘갈색종’ 를 제외하고는 전반적으로 감소하는 경향이였다. 하지만 대군기에서는 주기별 증감이 일정한 경향도 없었으며, 품종에 따라 일정하지 않았다. 대길이에서는 ‘새정’ 을 제외하고는 감소하 는 경향이였다. 지역별 형태적 변화에 대한 특성을 종합해보면 아주 일정한 경향은 아니지만 갓부분의 해당하는 직경과, 갓두께는 주기에 따라 감소하는 경향이며, 대군기는 증가하는 경향 이며, 대길이는 주기가 진전되면서 감소하는 것으로 말할 수 있다. 품종과 지역별로 재배한 버 섯의 형태적 특성이 어떤 일정한 경향을 보이지 않는 것은 재배환경, 배지의 상태, 수확시기 버섯발생량 등에 따라 다양한 형태적 변화를 보이는 것으로 추정된다.



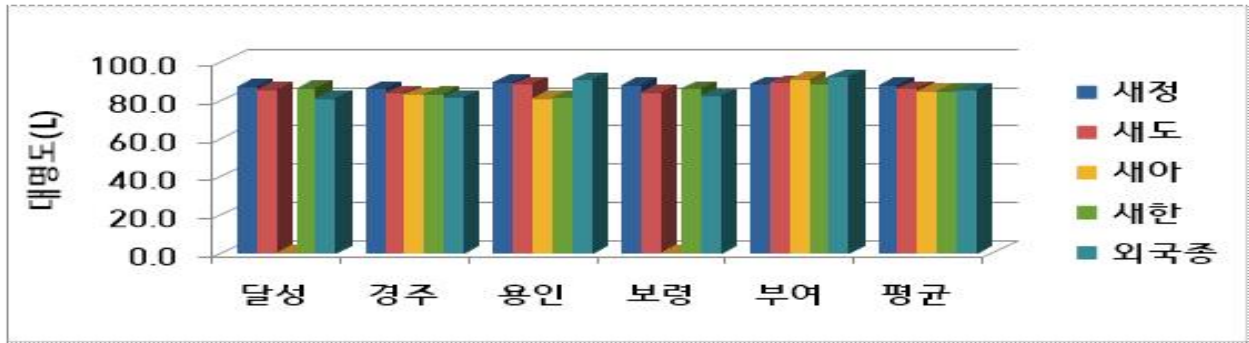


그림11. 양송이 재배 품종 및 지역에 따른 자실체 색깔 비교 분석(명도, L)

재배지역 및 품종별 갓과 대의 명도(L)을 비교해보면 용인과 보령 농가에서 갓명도가 낮은 편이나 큰 차이가 없는 것 같으며, 대명도도 비슷한 경향을 보이고 있으나 품종에 따라서는 낮은 편이었다.

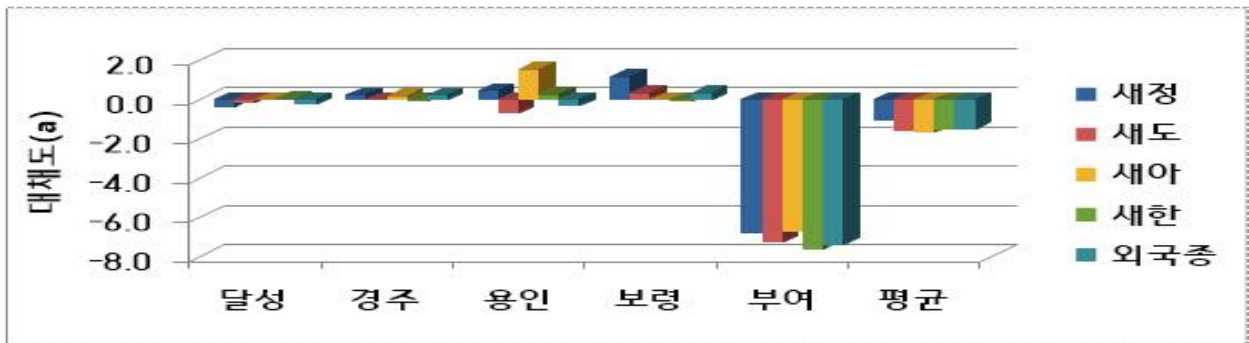
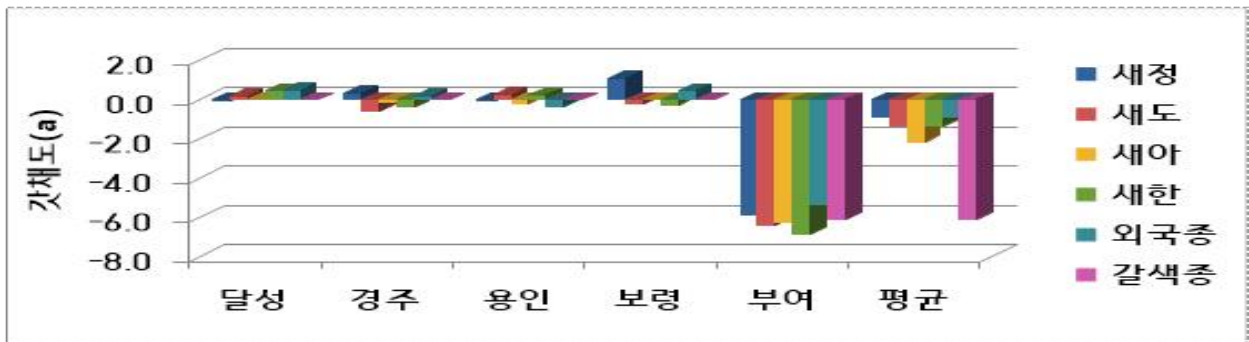


그림12. 양송이 재배 품종 및 지역에 따른 자실체 색깔 비교 분석(채도, a*)

재배지역 및 품종별 갓과 대의 채도(a)를 비교해보면 부여군 농가를 제외하고는 재배 품종 및 지역에 따른 차이를 확인할 수 없었으며, 큰 차이를 보이지도 않았다.

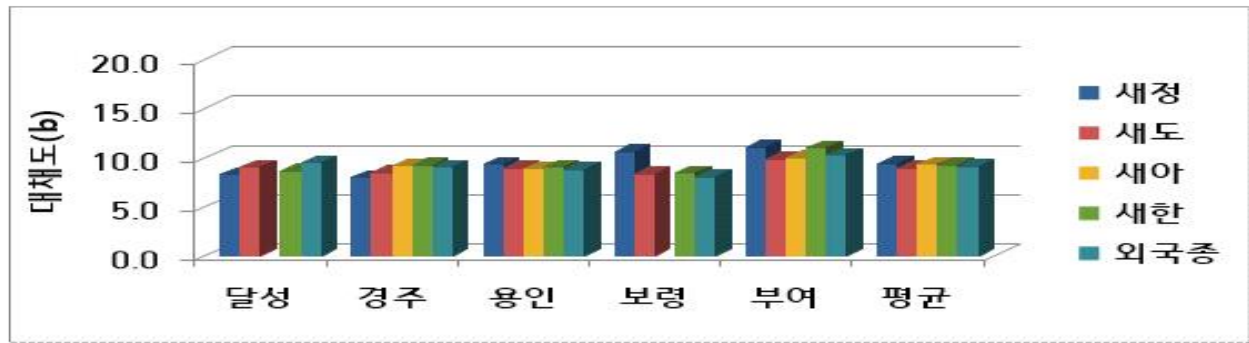
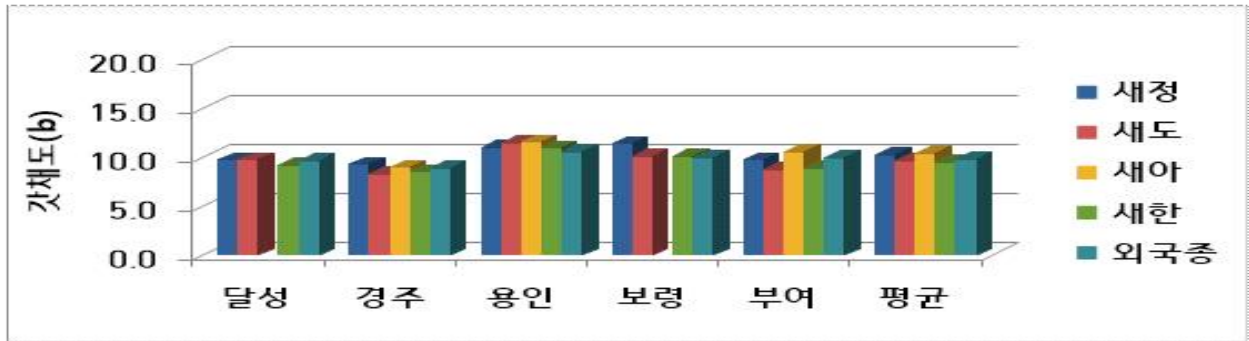


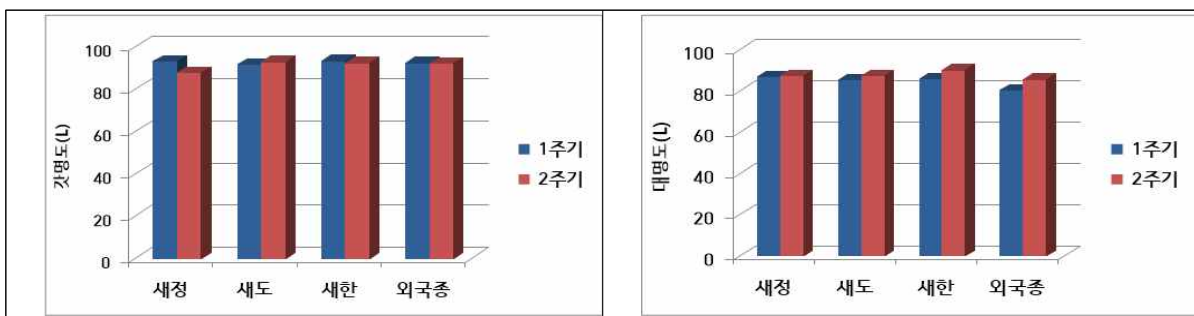
그림13. 양송이 재배 품종 및 지역에 따른 자실체 색깔(채도 b*) 비교 분석

재배지역 및 품종별 갓과 대의 채도(b)를 비교해보면 갓채도의 경우에는 용인시과 보령이 평균값에 대비하여 높은 편이며, 달성 경주 등의 값은 상대적으로 약간 낮은 경향을 보이고 있다.

대채도에 있어서는 부여가 평균값에 대비하여 높은 경향이였다. 이 경향을 보면 색의 정도를 확인하기 쉬운 것은 갓과 대의 채도(b)의 정도에 따라 결정할 수 있을 것으로 판단된다.

공시된 버섯품종내의 갓색깔을 결정하는 요인은 품종적인 것보다는 재배사의 환경요인과 재배관리 요령 등의 의한 결정되는 것으로 추정되며, 별도의 시험이 필요할 것으로 보인다.

이 시험에서 보이는 갓색깔의 명도(L)값을 결정하는 하는 것은 채도(b)값에 의해 결정되는 것으로 보입니다. 즉 채도(b)값이 높으면 명도(L)값은 낮아지는 데에 관여된다.



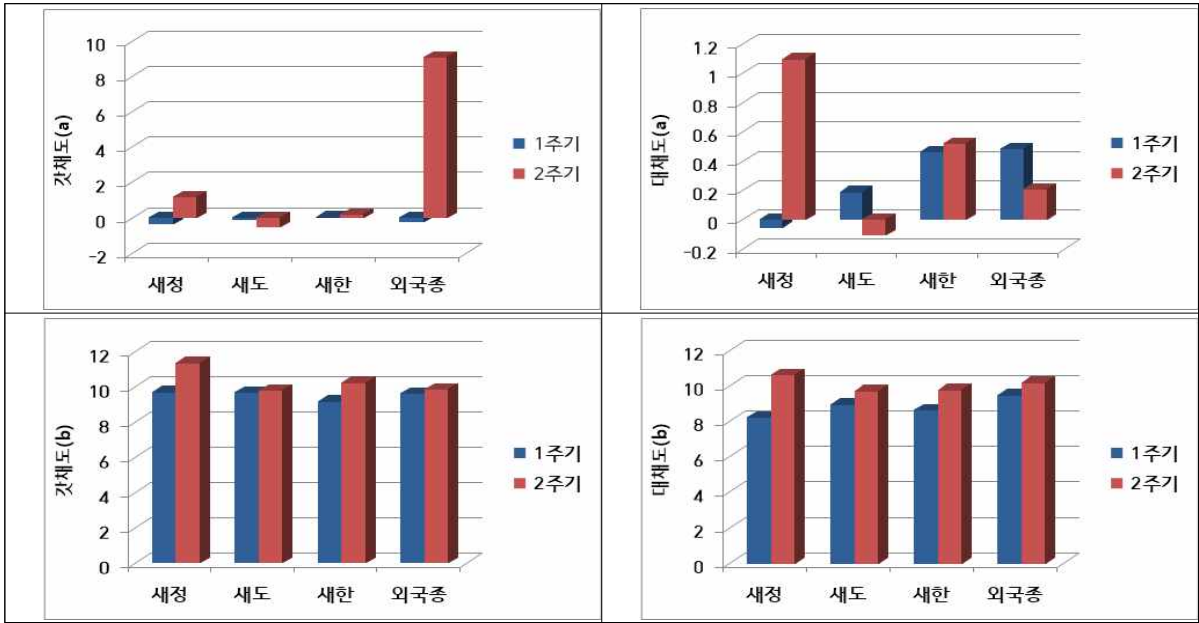
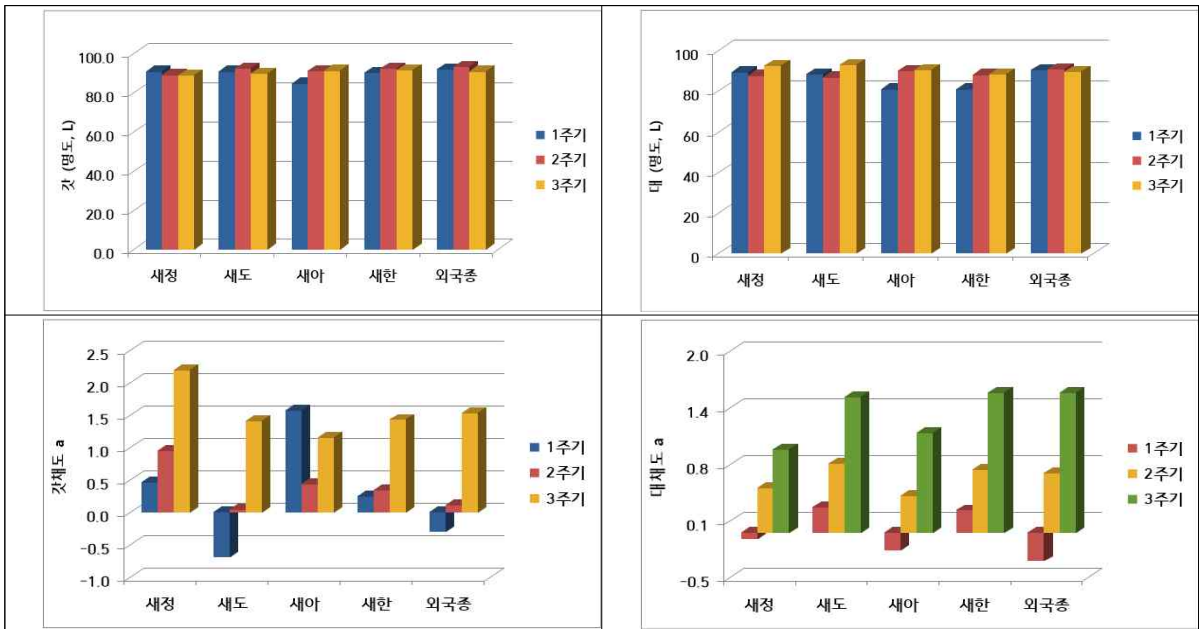


그림14. 양송이 품종 및 재배주기별 자실체의 색깔 비교분석(달성군)

달성군 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 갓과 대의 명도(L) 주기별로 증감을 확인 해본 결과 갓과 대의 명도(L)는 큰 증감이 없으며, 대는 전반적으로 증가하는 추세이었다. 채도 a값(적색)은 재배주기에 따라 증감이 일정하지 않으나 채도 b(노랑색)는 증가 추세이었다.



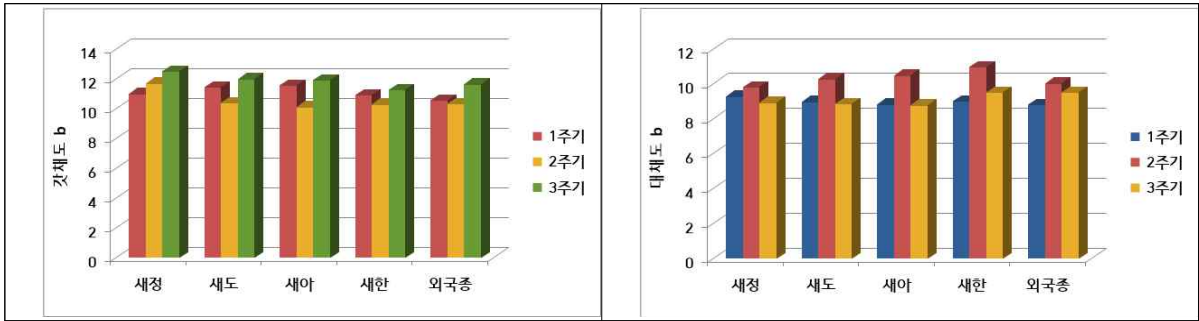


그림15. 양송이 품종 및 재배주기별 자실체의 색깔 비교분석(용인시)

용인시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 갓과 대의 명도(L)를 주기별로 증감을 확인 해본 결과 갓과 대의 명도(L)는 큰 증감이 없으나, 대는 전반적으로 증가하는 추세이었다. 채도 a(적색)는 재배주기에 따라 증가하였고, 채도 b(노랑색)는 증가 추세이나 큰 차이를 보이지 않았다

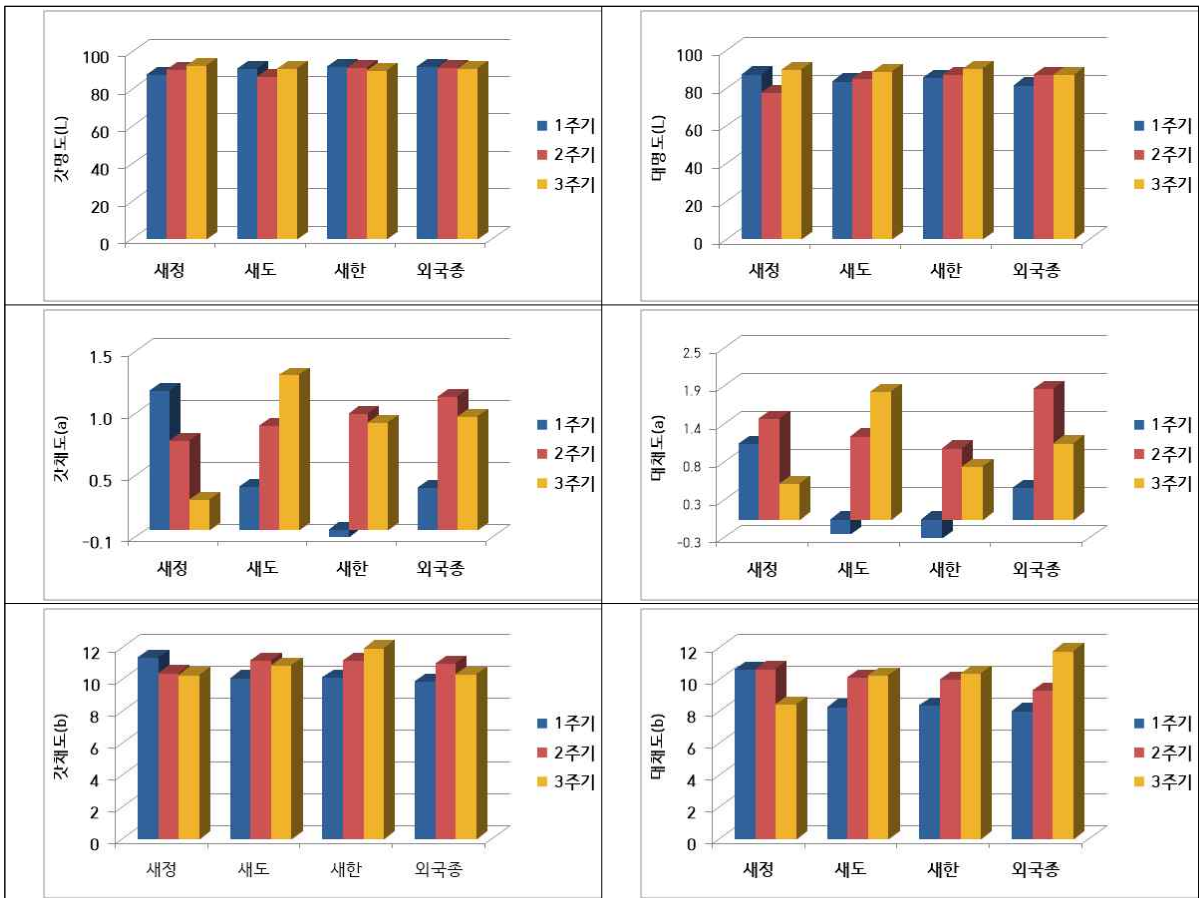


그림16. 양송이 품종 및 재배주기별 자실체의 색깔 비교분석(보령시)

보령시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 갓과 대의 명도(L)값을 주기별로 증감을 확인 해본 결과 갓과 대의 명도(L)는 큰 증감이 없으며, 대는 전반적으로 증가하는 추세이었다. 채도 a(적색)는 재배주기 진행에 따른 증감이 품종별로 일정하지 않았으나 대개의 처리에서는 값이 증가하는 경향이였다, 채도 b(노랑색)는 “새정”을 제외하고는 증가 추세이었다.

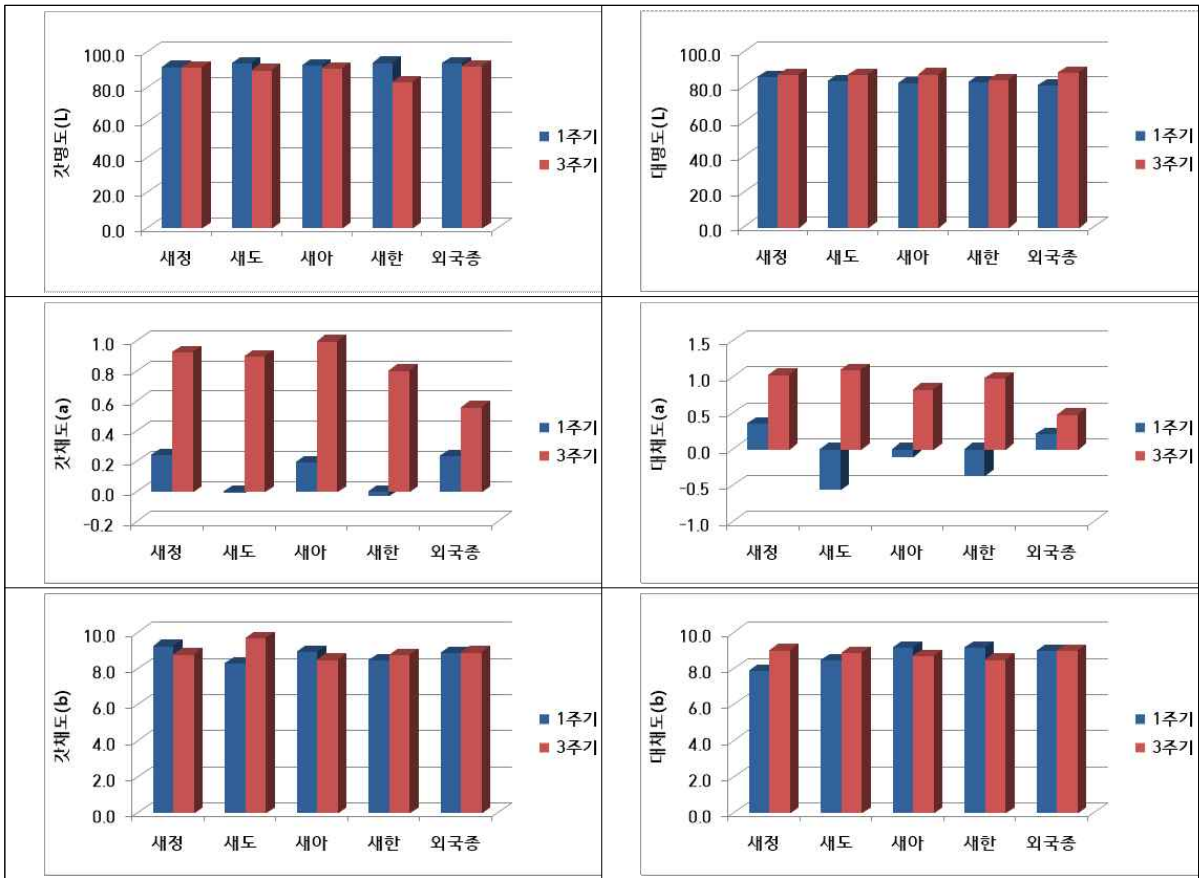


그림17. 양송이 품종 및 재배주기별 자실체의 색깔 비교분석(경주시)

경주시 농가의 자실체를 대상으로 주기별로 갯명도는 약간의 감소, 대의 명도(L)는 증가하는 경향이었으나 그 값의 차이는 크지 않았다. 채도 a(적색)값은 재배주기가 진행됨에 따라 증가하였으나 채도 b(노랑색)는 품종에 따라 전혀 다른 경향을 보이고 있다.

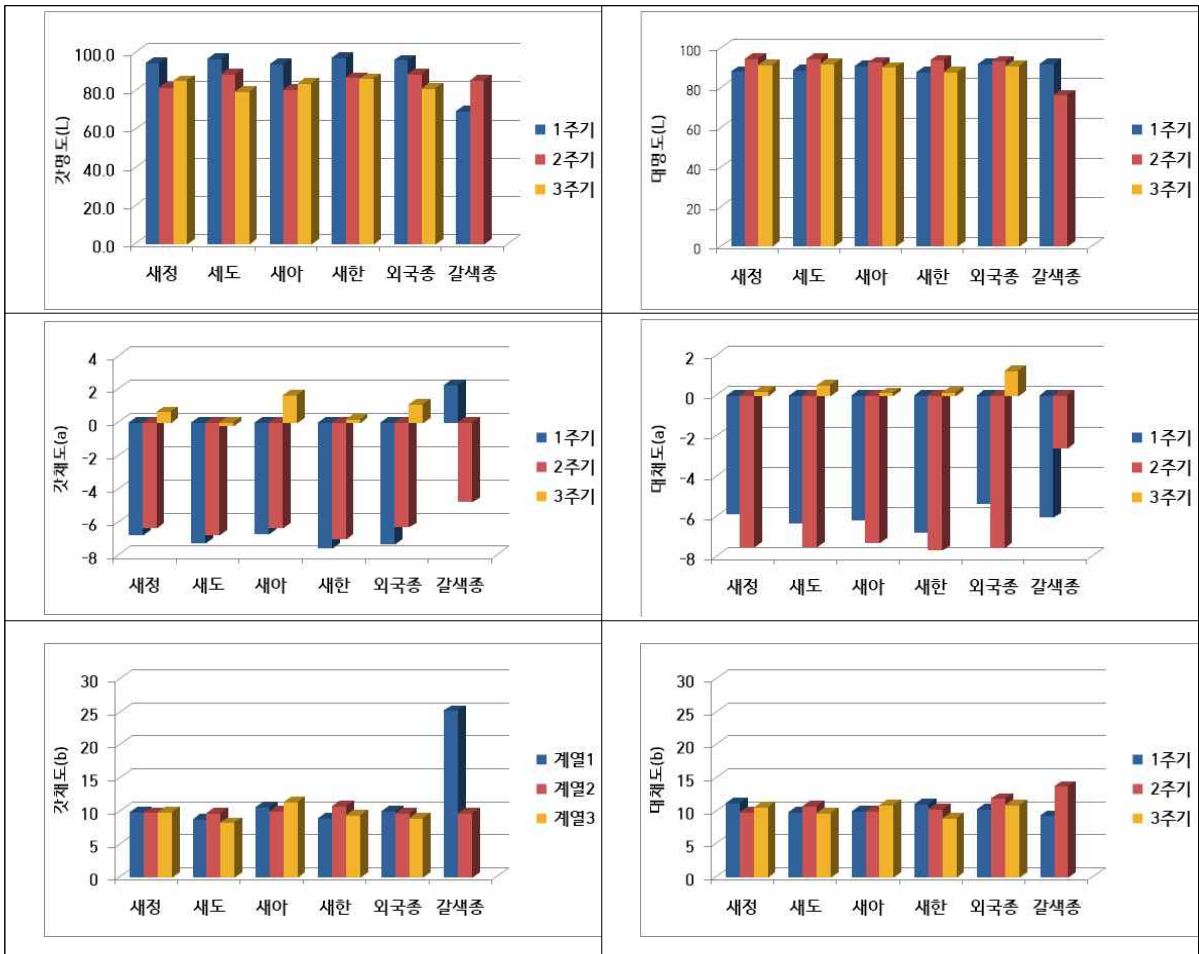


그림18. 양송이 품종 및 재배주기별 자실체의 색깔 비교분석(부여군)

부여군의 재배농가의 자실체를 대상으로 주기별로 갓명도는 약간의 감소, 대의 명도(L)는 대는 증가하였다가 감소하였다. 채도 a(적색)값은 재배주기가 진행됨에 따라 증가하였으나 채도 b(노랑색)는 품종에 따라 전혀 다른 경향을 보이고 큰 차이가 없었다.

2015년 연구결과 요약

1. 생산성 및 재배적 특성

- 생산성은 농가 별로 각기 다르고, 품종별 수량 및 재배적 특성은 큰 차이 없음
- 균사생장 및 버섯발생에 관련 부분은 시험농가 모두 비슷한 특성을 보였음
- 일부농가에서 “새도“가 강한 편이며, “새한“이 약하다고 평가, 시험농가에서는 차이를 확인할 수 없었음
- 농가선호 품종기준은 불량재배환경에서도 생산성이 높고 품질이 좋은 것

2. 자실체 개체중 특성

- 갈색종 1품종을 제외한 모든 품종이 주기가 진전됨에 따라 개체중 감소
- 농가별로 개체중의 차이가 매우 크며, 다수확하지 못한 재배농가에서 높게 나타났다.

- 개체중은 품종특성 보다는 퇴비의 영양 성분함량 및 발생량이 관여함
- 품종의 특성상으로 보면 갈색종이 가장 개체중이 높고, 백색종은 품종간 차이가 크지 않았다

3. 자실체 경도 특성

- 자실체의 경도는 품종 등에 따라 일정한 변화 확인 불가
- 5개 농가 품종별 평균값에서 “외국종“이 경도가 가장 높았고 다음으로는 ‘새정’ ‘새한’ ‘새도’ 순이었다
- 대경도에서는 외국종이 높았고 일부 지역에서는 갓보다 대가 높았다.
- 수확주기가 진행되면 경도는 감소 또는 2주기 증가하였다가 그 이후에는 감소
- 거의 대부분 자실체의 경도는 갓이 대보다 높은 편임
- 농가별로는 달성군 농가가 경도가 가장 높았다

4. 자실체의 형태적 특성 : 자실체의 형태적 특성조사는 1주기 자실체 기준으로 작성되었다.

- 갓직경 및 갓두께는 가장 높은 것은 달성군 농가의 것임
- 대굵기는 경주시 농가, 대길이는 달성군 가장 길고, 용인이 가장 짧았다.
- 갓직경은 “새아“ 품종이 가장 컸으나 품종 간에 큰 차이는 없었음,
- 갓두께는 “외국종“이 가장 두꺼웠음
- 대길이는 “새아“ 품종이 짧으며, 가장 긴 것이 “새도“로 큰 차이가 없었음
- 종합적으로 분석해보면 분시험에서는 품종간 차이보다는 농가간의 차이 즉 재배환경에 의해 결정되는 것으로 추정되며, 품종적 특성 확인하기 위해서는 동일재배조건 내에서 여러번 반복에 의한 실험이 필요할 것으로 보임

5. 자실체의 색 특성

- 갓이 대보다 명도가 높음.
- 채도 값은 적색보다는 황색에 의해 좌우되며, 갓과 대가 유사하였다.
- 자실체의 색은 재배 품종 및 지역에 따른 차이를 확인 불가능. 경향치를 보인다고 하여도 큰 차이는 없어 포장에서 육안으로 차이 판단 불가능

2. 2차년도 연구개발 성과

표1 . 양송이 품종별 생산성 조사결과 (부여군, 3주기, 단위 : 2kg 박스)

품종명	1주기		2주기		3주기		합계
	정품	등외품	정상품	등외품	정상품	등외품	
새연	163	-	92	-	60	-	315
새한	118	-	97	-	63	-	278
새도	150	-	84	-	62	-	296
외국종	114	-	85	-	59	-	258
합계	545	88	358	70	244	30	1147/188

현장에서 버섯생산성을 평가하는 경우 품종별 버섯을 수확하는 것이 그리 쉬운 일은 아니었다. 버섯을 수확하면서 평량하고 포장하는 작업이 인력이 평상이 보다 2배 이상 소요되므로 이것을 최소화하기 위하여 수확용 스티로폼박스에 버섯품종별로 색상이 다른 스티커를 부착하여 직접 수확 포장하여 혼동이 되지 않고 수확일자별로 총수확량을 품종별로 평량 할 수 있도록 하였다. 그 결과 버섯의 품종별 생산성은 “새연“이 가장 높으며, 외국종이 낮았고, 육안 품질은 “새도“가 가장 우수하였으며, 품질 균일성은 “새연“이 우수하였다.



그림1 . 버섯재배 농가별 1주기 버섯발생 및 수확

농가별 버섯재배에서 버섯발생 및 성장속도 등은 전반적으로 균일하게 버섯이 발생하였으며, 품종간의 재배적 특성 및 형태적 특성 등에서 차이점이 확연하게 드러나는 것은 없었다.

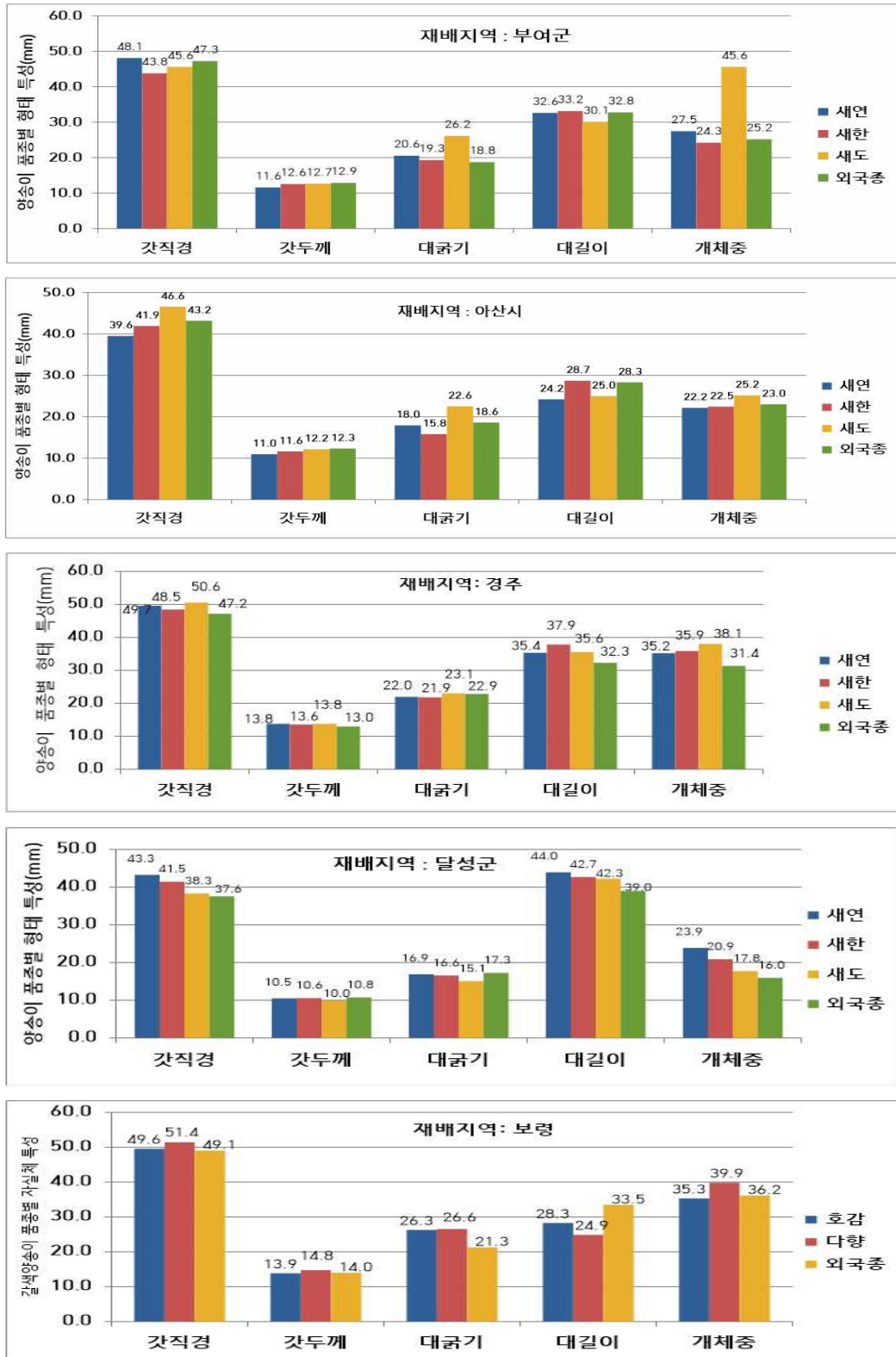


그림2. 양송이 품종 및 지역 농가별 자실체이 형태적 특성 비교 (1주기 자실체 기준)

2016년 양송이 신품종 보급 및 현장 적응성 시험을 부여군을 비롯한 전국 5장소에서 시험한 결과 1주기버섯에 대한 형태적 특성과 개체중에 대해 품종별로 비교 검토하였다. 형태적 특성에서 갓직경, 갓두께, 대굵기, 대길이 등과 자실체 대한 백색품종 새

연, 새한, 새도, 대조구로 외국종 품종에 대한 5개 지역에 대한 생산된 자실체의 형태적 특성 비교에서 육종적으로 확연하게 우수성을 보이는 것을 확인할 수 없었다.

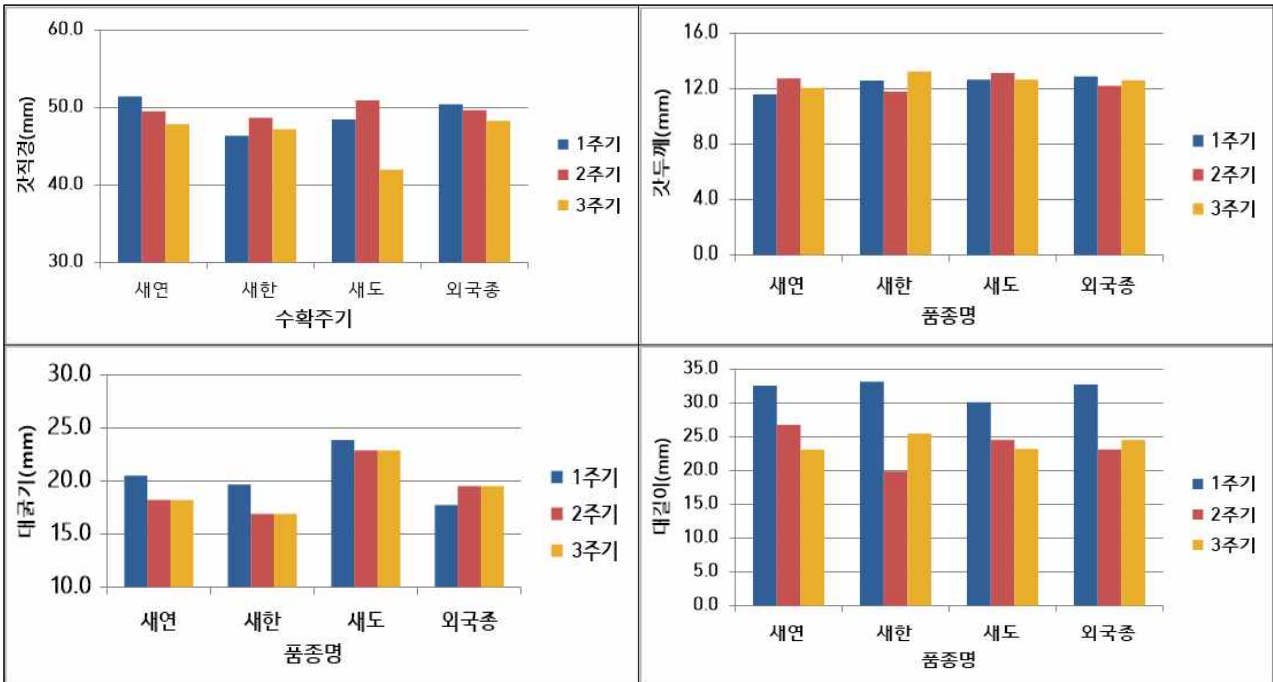


그림3. 부여 재배농가의 수확주기별 자실체의 형태적 특성변화

부여 재배농가의 수확주기별 자실체의 형태적 특성 변화를 검토한 결과 갓직경에서는 ‘새연’ 과 ‘외국종’에서는 주기가 진행되면서 서서히 감소하였으며, ‘새한’ ‘새도’는 2주기에 증가하였으나 3주기에 감소하였다. 갓두께는 2주기에 증가하였으나 3주기에 감소하거나, 2주기에 감소하였다가 3주기에 다시 증가하는 등 일정한 경향을 보이지 않았다. 대꺾기에서는 국내 육성품종은 주기에 따라 감소하는 경향을 보이지만 외국종에서는 증가하는 경향을 보인다. 대길이는 1주기는 다른 주기에 비해 대가 매우 긴 경향이나 주기가 진전되면서 대길이가 감소하는 경향을 보인다.

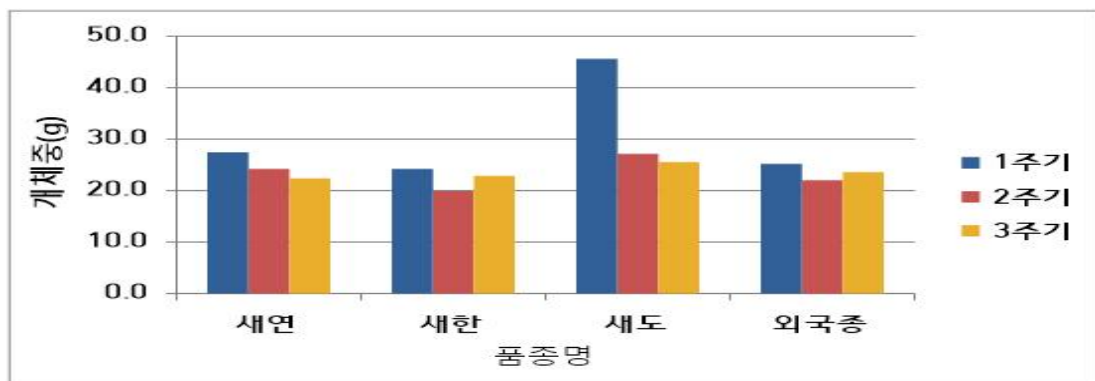


그림4. 부여 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화

부여 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화를 보면 1주기 버섯의 자실체의 개체중이 가장 높고 주기가 진행되면서 감소하는 경향을 보인다. 이런 경향은 2015년 결과에서도 동일한 경

향을 보여 품종이나 재배적 기술의 개발로 주기에 관계없이 개체중과 버섯품질이 균일하도록 하는 방법을 개발을 할 필요가 있다고 사료된다.

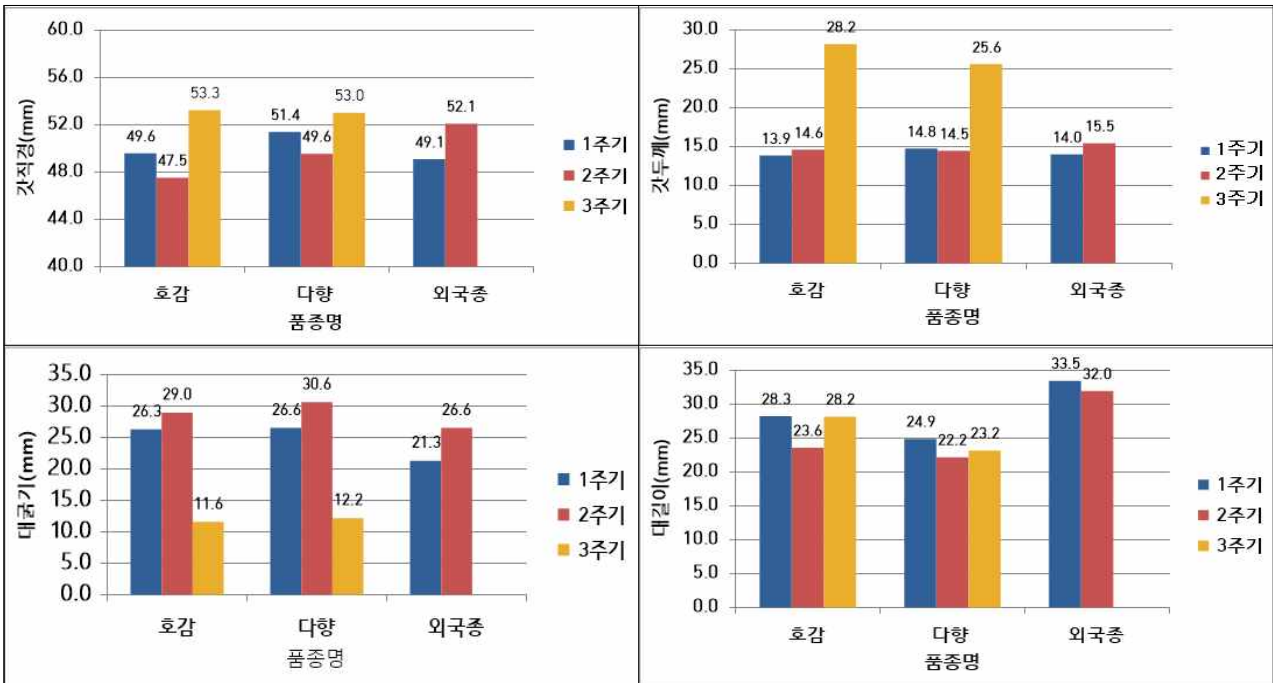


그림5. 보령 재배농가의 수확주기별 갈색 양송이 자실체의 형태적 특성변화

보령 재배농가의 자실체의 수확주기는 국내 육성품종인 ‘호감’ 과 ‘다향’ 품종에서는 3주기까지 버섯을 수확하였으나 외국종은 2주기까지 버섯을 수확하였다. 자실체의 형태적 특성 변화를 검토한 결과 국내 육성품종의 주기별 갓직경은 1주기에 대비하여 2주기에는 감소하였다가 3주기에는 증가하였으며, 외국종은 1주기보다 2주기가 갓직경이 증가하였다. 갓두께에서는 국내 육성품종들은 주기가 진행되면서 증가하였으며, 외국종도 증가하였다. 대군기에서는 국내 육성품종들은 2주기에는 증가하였다가 3주기에는 감소하였다. 수확주기별 대군이의 변화에서는 재배품종 모두가 2주기에는 감소하였다가 3주기에는 대군이가 증가하였으나 1주기보다는 짧았고 품종별 대군이에서는 외국종이 가장 길었다.

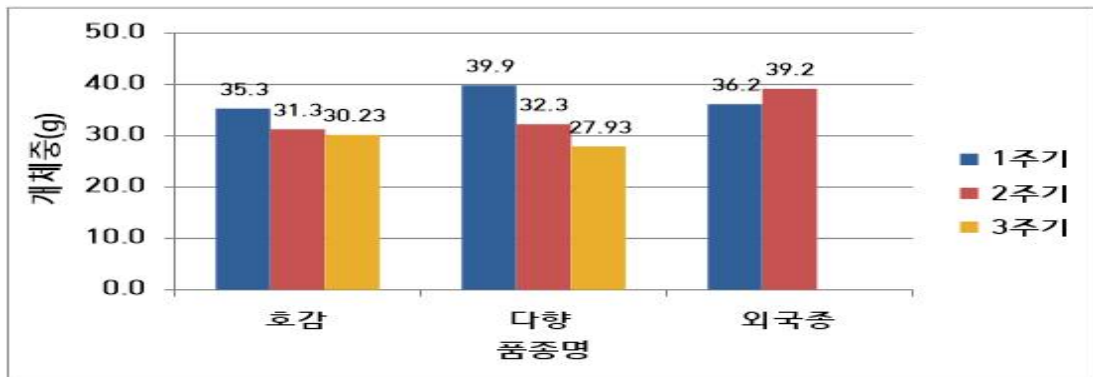


그림6. 보령 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화

보령 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화를 보면 국내 육성품종은 1주기 버섯의 자실체의 개체중이 가장 높고 주기가 진행되면서 감소하는 경향을 보인다. 하지만 외국종에서는 2주기에서도 개체중이 높은 국내 육성품종과는 다른 경향을 보였다.

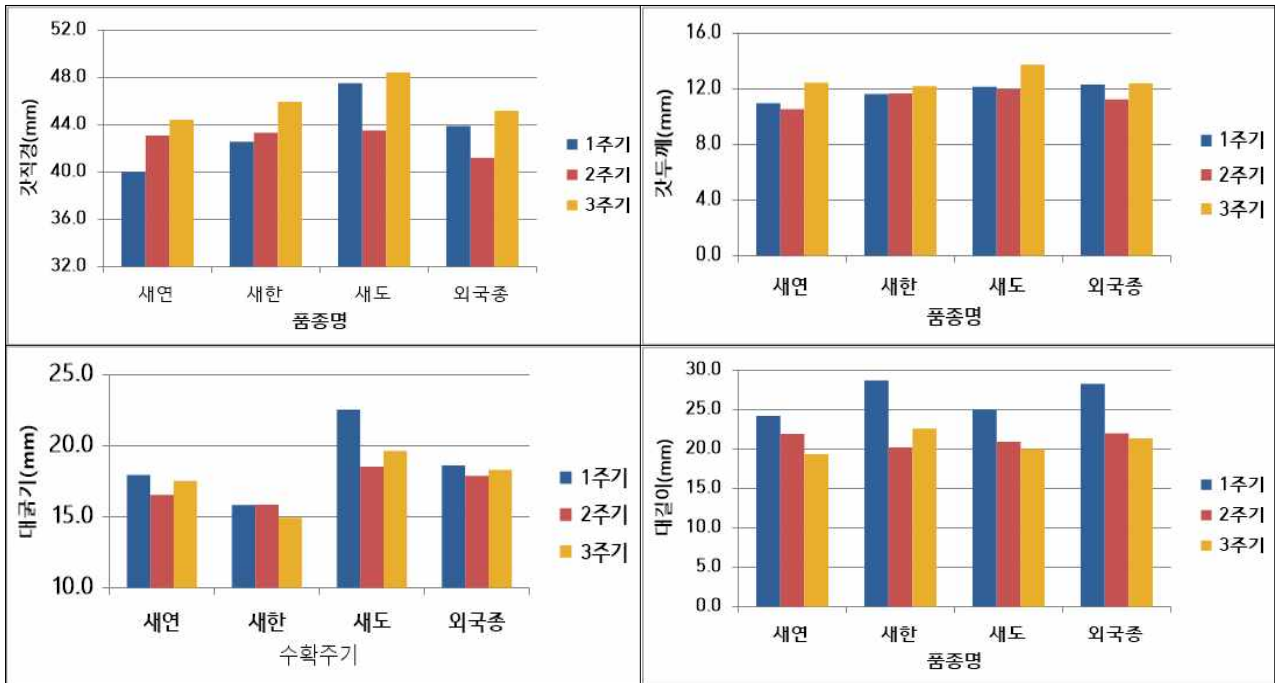


그림7. 아산 재배농가의 수확주기별 자실체의 형태적 특성변화

아산시 재배농가의 수확주기별 자실체의 갓직경의 변화를 보면 국내 육성품종인 ‘새연’ 과 ‘새한’ 은 주기가 진행되면서 점진적으로 증가하는 추세이나, ‘새도’ 와 ‘외국종’ 은 2주기에 는 감소하였다가 3주기에는 증가하였다. 갓두께와 대굵기는 주기별로 큰 차이를 확인할 수 없었 으며, 일정한 경향도 확인할 수 없었다. 대길이에서는 전반적으로 주기가 진행되면서 감소하는 경 향이었으며, 새한 품종은 2주기에 감소하였다가 다시 증가하였으나 1주기보다는 짧았다.

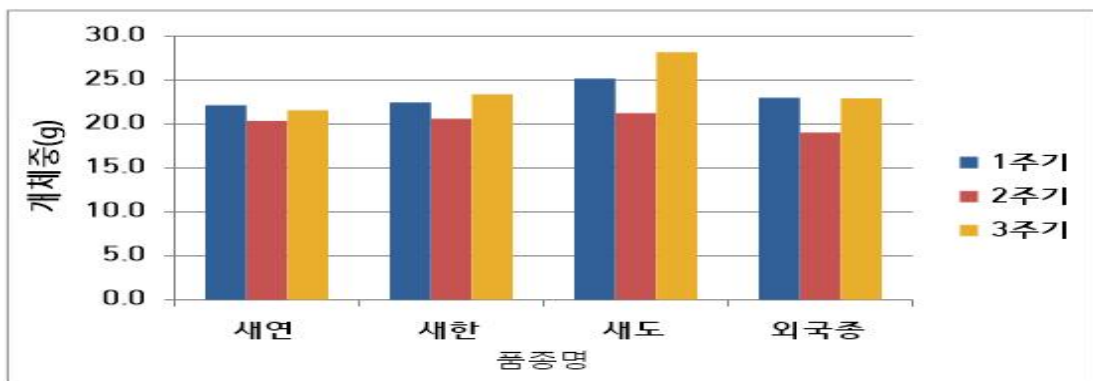


그림8. 아산시 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화

아산시 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화를 보면 시험한 모든 품종이 1주기 버섯 보다 2주기는 감소되었다가 3주기에는 증가하는 경향을 보였으며, 1주기보다 3주기가 개체중이 비 슷하거나 높은 경향을 보였다.

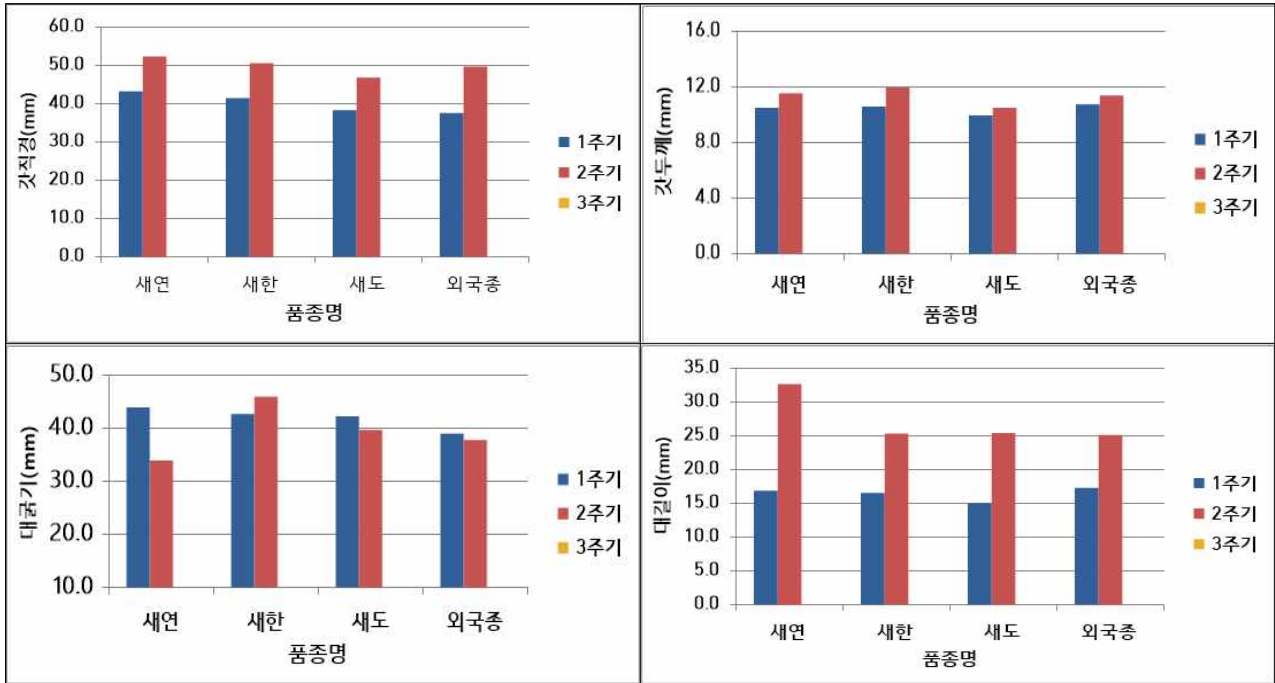


그림9. 달성군 재배농가의 수확주기별 자실체의 형태적 특성변화

달성군 재배농가의 수확주기별 자실체는 응애의 발생으로 2주기까지만 벼를 수확할 수 있었으며, 3주기에 응애를 방지하기 위하여 배지를 60℃ 4시간동안 살균하여 배지를 폐상하였다.

2주기까지 조사한 자실체의 특성을 보면 갯직경, 갯두께, 대길이는 1주기 보다 2주기가 품종에 관계없이 증가하였다. 그러나 대굵기에서는 ‘새연’ ‘새도’ ‘외국종’ 은 1주기 보다 2주기가 감소하였으나, ‘새한’ 품종에서는 증가하는 다른 특성을 보였다.

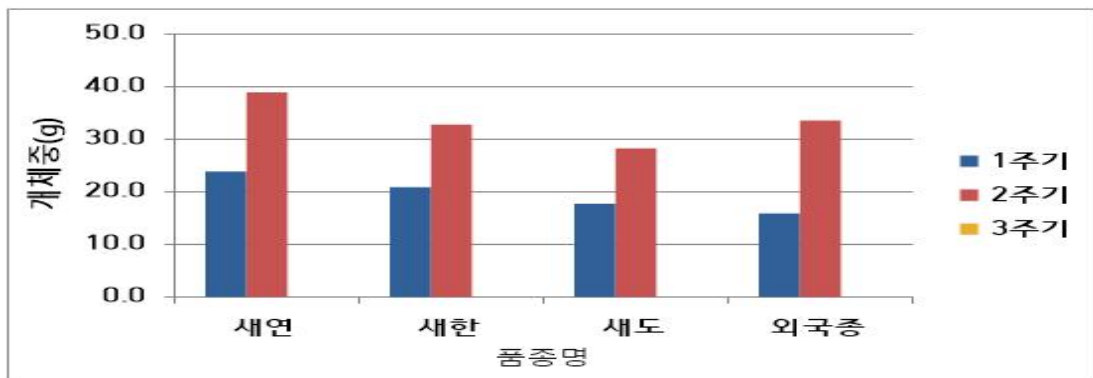


그림10. 달성군 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화

달성군 재배농가에서 수확한 자실체의 개체중은 첫주기의 벼보다 개체중이 높았으며, 대조구 외국종 벼보다 국내육성품종들이 개체중이 높았으며, 특히 새연 품종이 가장 높았다. 특히 대구 지역은 자실체가 큰 것을 선호하여 품종에 대한 선호도가 높을것으로 예상된다.

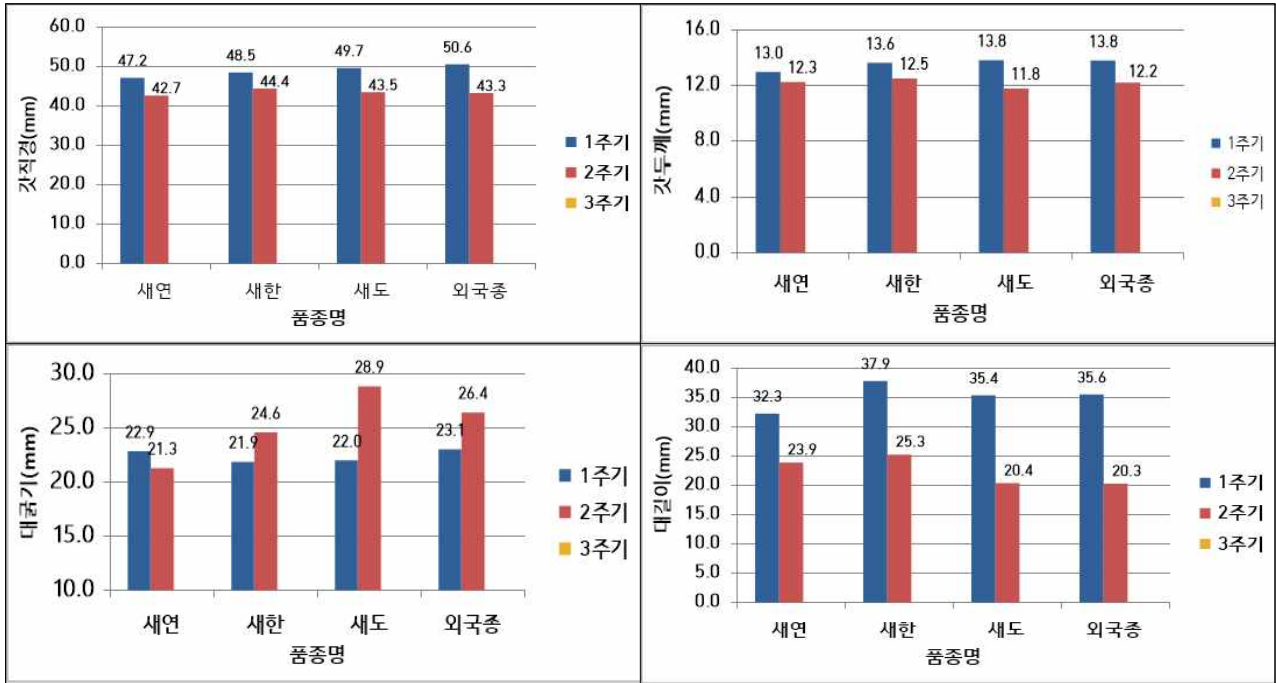


그림11. 경주시 재배농가의 수확주기별 자실체의 형태적 특성변화

경주시 재배농가는 3주기에 벼섯균상에 푸른곰팡이병원균의 발생이 심하여 폐상하여 자실체 특성을 평가하기 위한 자실체는 2주기까지만 수확하였다. 2주기까지 조사한 자실체의 특성을 보면 갓직경, 갓두께, 대길이는 1주기 보다 2주기가 품종에 관계없이 감소하였다. 그러나 대굵기에서는 ‘새한’ ‘새도’ ‘외국종’ 은 1주기 보다 2주기가 증가하였으며, 새연 감소하였으며, ‘새연’ 품종에서는 감소하는 다른 특성을 보였다.

전체적으로 첫주기에 발생한 벼섯 형태적 특성이 품종에 따라 큰 차이 없이 균일한 경향이었으나 2주기에서는 갓크기 및 갓두께에서는 1주기에 비하여 감소하였으나 품종간에는 특성변화가 큰 변화가 없다. 하지만 대굵기 및 대길이에서는 변화가 크게 나타났다.

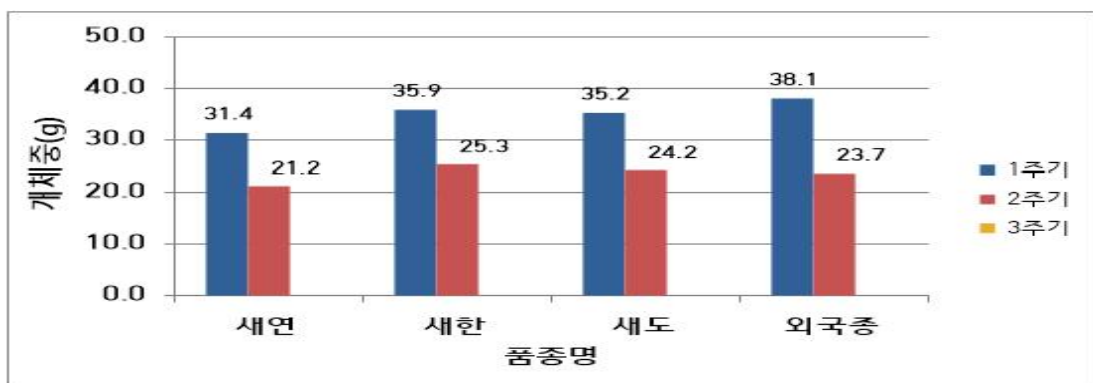


그림12. 경주시 재배농가의 수확주기별 자실체의 개체중의 변화

경주시 재배농가에서 수확한 자실체의 개체중은 첫주기의 벼섯보다 개체중이 공시품종 모두 감소하였으며, 달성군과는 다르게 첫주기 품종중에서 외국종이 38.1g로 가장 높았으며, 대조구 외국종 벼섯보다 ‘새연’ 은 7g 정도 작았으며, 국내육성 품종중에는 ‘새한’ 품종이 가장 높았다.

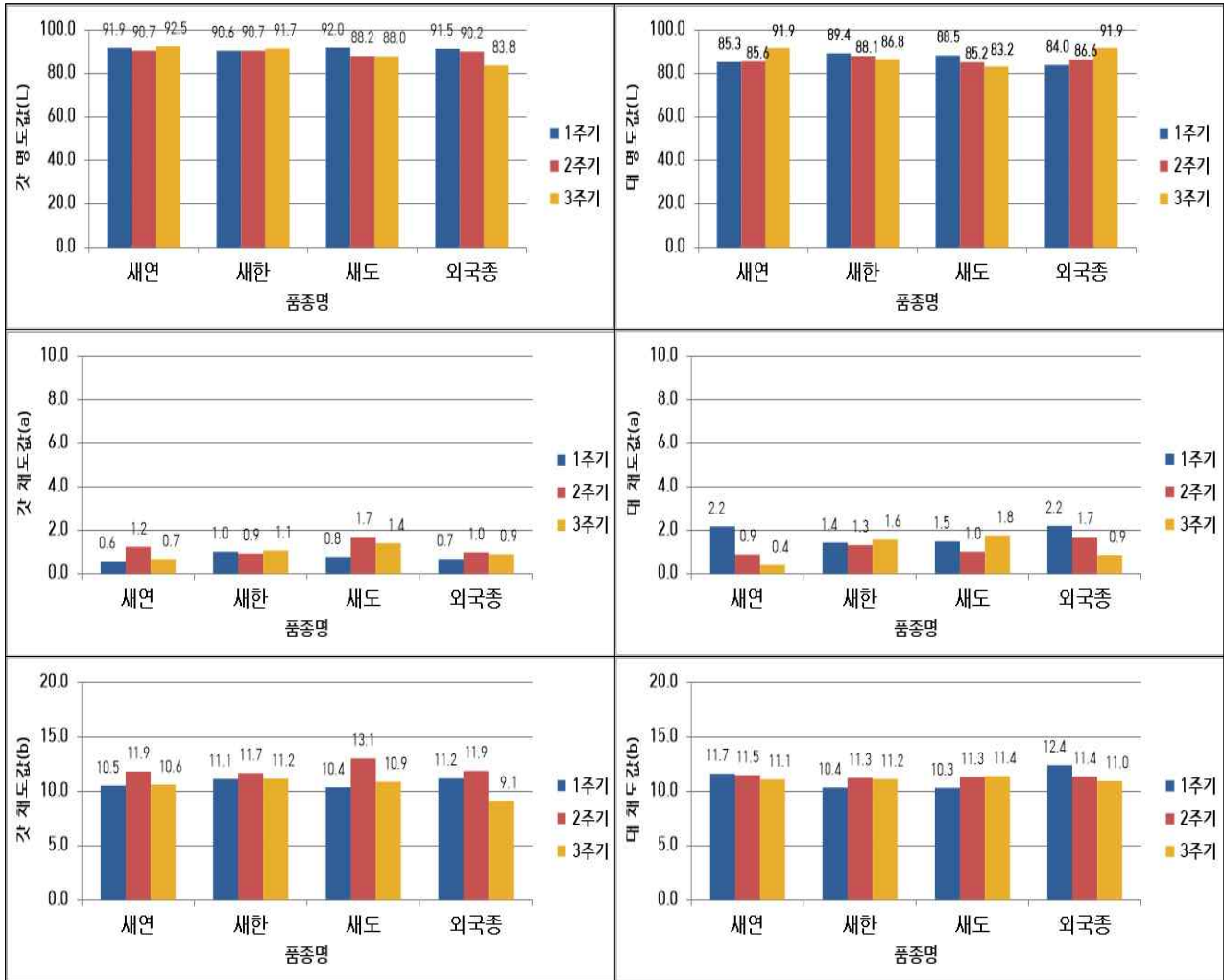


그림13. 아산시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화

아산시 재배농가는 버섯을 재배하여 수확한 자실체의 색깔과 관련한 자료를 조사 결과 갓과 대의 명도에서는 품종 간에 큰 차이는 없었으며, 주기가 진전되어도 갓과의 대의 명도값이 큰 변화가 없었고, 품종간의 특별한 차이의 확인이 불가능하였다. 갓과 대의 채도(a)값은 적색을 기반으로 하는 값으로 수치가 증가하면 적색도가 높아진다. 갓의 채도 품종에 상관없이 값이 2 이내로 대는 대체적으로 갓보다 높게 나타냈다. 주기별 채도값은 품종 및 주기별로 어떤 일정한 증감을 나타내지 않았다. 채도(b)값은 노랑색을 기반으로 하는 것으로 채도(a)값을 대비하여 대개 10~13 내외의 수치를 보이지만 주기별 채도(a)값은 품종 및 주기별로 어떤 일정한 증감을 나타내지 않았다.

표2 . 아산시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값 변화

측정부위	품종명	Hardness (N)			Work To Limit (kgf.mm)		
		1주기	2주기	3주기	1주기	2주기	3주기
갓	새연	4.97	4.67	4.96	0.93	0.77	0.99
	새한	4.80	4.55	4.56	0.93	0.68	0.73
	새도	4.77	4.83	5.35	0.85	0.73	0.80
	외국종	4.92	4.43	4.36	0.76	0.79	0.75
대	새연	3.53	4.19	5.16	0.44	0.26	0.41
	새한	4.45	4.87	5.43	0.38	0.46	0.67
	새도	3.96	4.20	5.67	0.60	0.58	0.81
	외국종	4.60	4.38	4.98	0.42	0.47	0.37

아산시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값 변화를 조사한 결과 갓보다는 대의 경도가 낮았으며, 첫주기의 경도는 품종 간에 큰 차이가 없었고, 주기가 진전되면서 모든 품종이 동일한 경도의 증감을 보이는 경향을 확인할 수 없었다. 인장응력(Work To Limit, kgf.mm)은 경도 Hardness (N)와는 비슷한 경향을 보이고 있다.

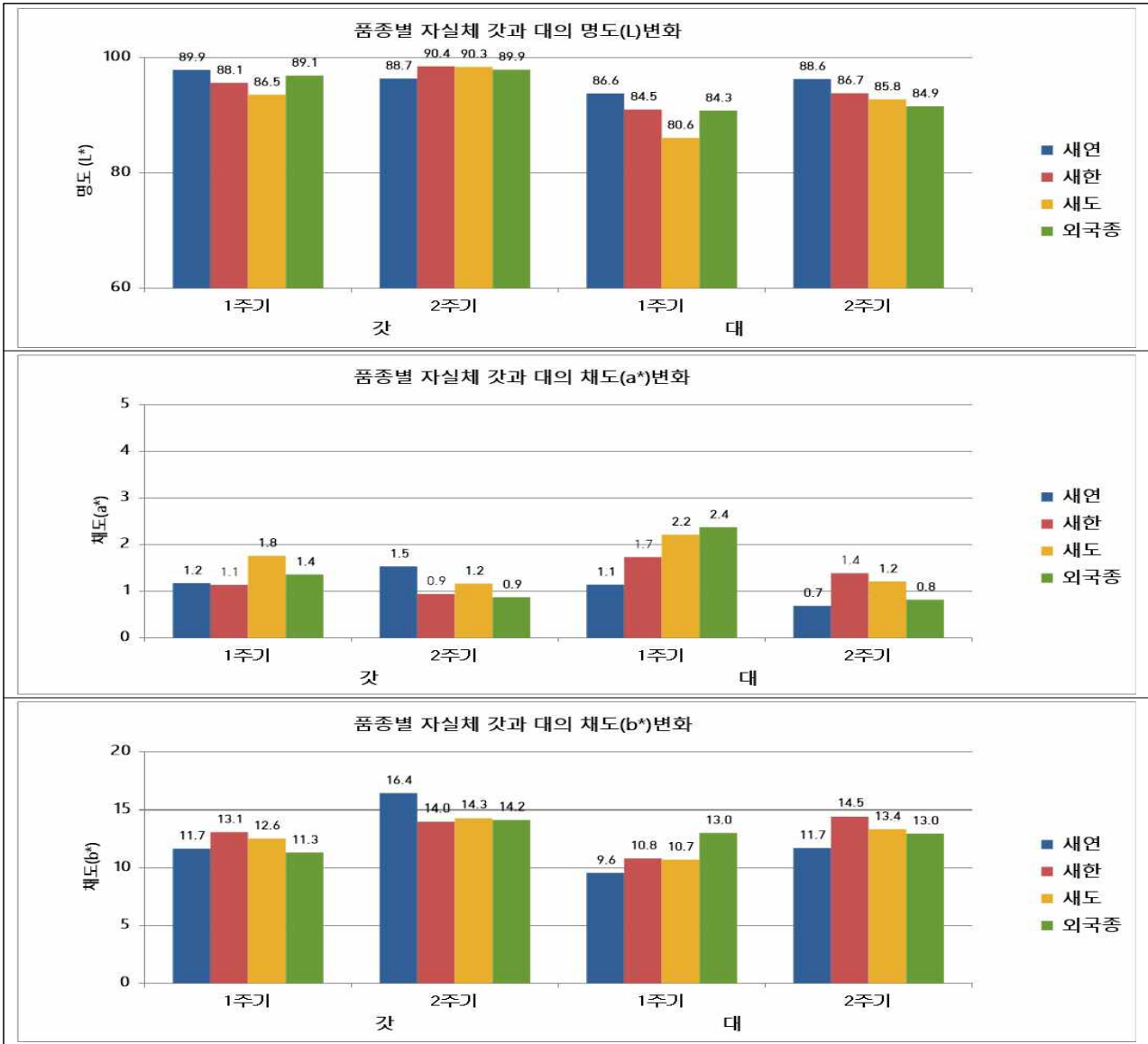


그림14. 달성군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화

달성군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화를 확인한 결과 대체적으로 1주기 보다는 2주기가 명도값이 갓과 대의 구분 없이 증가하는 경향이였다. 1주기의 품종들 중에서 '새연' 과 '외국종' 의 명도값은 다른 품종과 대비하여 아주 약간 높은 경향이였다. 채도(a)값에서는 갓과 대, 주기별로 일정한 경향을 확인할 수 없었다. 하지만 채도(b)값에서는 갓보다는 대가 높은 경향이며, 1주기보다는 2주기가 데이터 값이 약간 높은 경향이였으나 품종간의 차이는 확인할 수 없었다.

표3. 달성군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도 값의 변화

	경도, Hardness (N)				인장응력, Work To Limit (kgf.mm)			
	갓		대		갓		대	
	1주기	2주기	1주기	2주기	1주기	2주기	1주기	2주기
새연	4.73	6.11	4.53	3.82	0.95	1.11	0.51	0.75
새한	4.12	4.42	3.97	3.17	0.84	1.00	0.30	0.46
새도	3.59	4.81	3.95	3.24	0.66	1.08	0.58	0.63
외국종	4.48	5.55	4.63	4.28	0.95	1.18	0.45	0.37

달성군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값 변화를 확인할 결과 대체적으로 1주기보다는 2주기가 경도값(Hardness, N)이 높았으나 대의 경도값은 낮아지는 경향이였다. 1주기에서 품종별 갓의 경도값은 ‘새연’ 과 ‘외국종’ 이 다른 품종과 대비하여 아주 약간 높은 편이었으며, ‘새도’가 가장 낮았다. 대의 경도값은 ‘외국종’ 과 ‘새연’ 이 다른 품종과 대비하여 약간 높은 편이었으며, 새도가 가장 낮았다. 인장응력(Work To Limit, kgf.mm)값은 갓에서는 비슷한 경향이였으나 대에서는 아주 다른 경향을 보이고 있어 신선도 유지와 관련된 상호관계를 확인해 볼 필요가 있다.

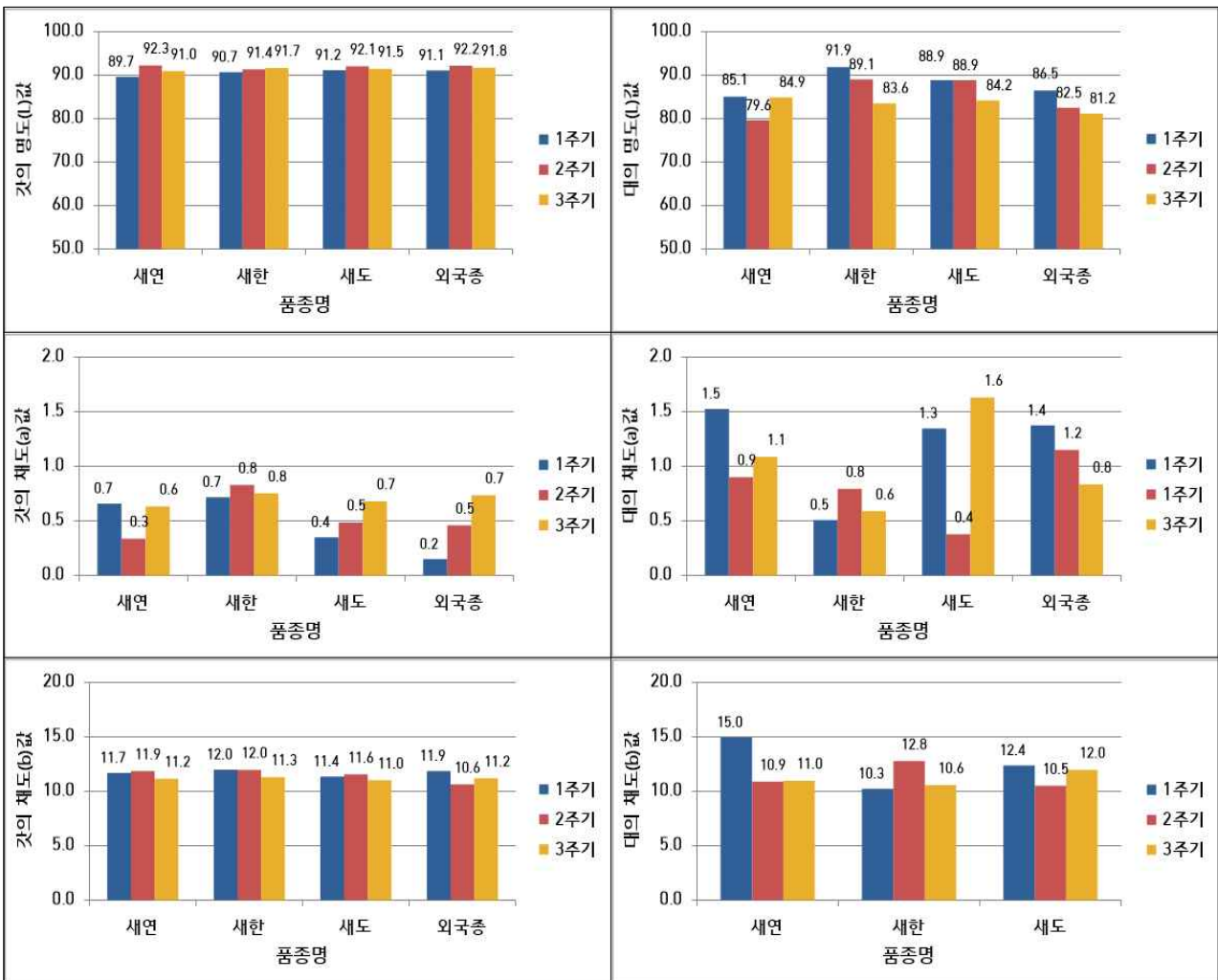


그림15. 부여 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화

부여 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화를 조사한 결과 갓의 명도(L)값이 제일 낮은 것이 ‘새연’의 1주기 버섯으로 89.7, 제일 높은 것은 92.3인 ‘새연’의 2주기버섯으로 품종과 주기 사이에 큰 차이를 보이고 있지 않다. 대의 명도(L)값은 ‘새연’을 제외한 품종에서 주기가 진행되면서 감소하는 경향을 보이고 있다.

갓의 채도(a)값은 전체적으로 1.0 이내이지만 대의 채도(a)값에서는 1.6 정도로 갓에 비하여 약간 높은 경향이였다. 노랑색으로 기반으로 하는 채도(b)값은 갓에서는 10에서 12내외의 값을 보이며, 대에서는 10에서 15내외의 값을 보여 비슷한 수준이다.

표4. 부여군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도 값의 변화

측정부위	품종명	Hardness (N)			Work To Limit (kgf.mm)		
		1주기	2주기	3주기	1주기	2주기	3주기
갓	새연	4.33	3.72	4.18	0.85	0.63	0.76
	새한	5.11	3.71	4.43	1.00	0.73	0.83
	새도	4.89	3.54	4.67	1.15	0.57	0.66
	외국종	4.63	3.33	5.16	0.95	0.74	0.78
대	새연	4.27	4.30	5.55	0.56	0.49	0.51
	새한	3.83	4.20	5.49	0.43	0.56	0.45
	새도	3.64	3.54	5.11	0.52	0.53	0.59
	외국종	4.37	4.30	5.60	0.47	0.49	0.42

부여군 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값 변화를 확인할 결과 대체적으로 1주기보다는 2주기가 경도값(Hardness, N)이 낮았으며, 대의 경도값은 비슷한 수준을 유지하는 경향이였다. 1주기에서 품종별 갓의 경도값은 ‘새한’과 ‘새도’가 다른 품종과 대비하여 아주 약간 높은 편이었으며, ‘새연’이 가장 낮았다. 대의 경도값은 ‘외국종’과 ‘새연’이 다른 품종과 대비하여 약간 높은 편이었으며, 새도가 가장 낮았다. 인장응력(Work To Limit, kgf.mm)값은 갓과 대에서 전혀 다른 경향을 보였으며, 주기 진행에 따른 증감의 경우는 갓에서는 일치되는 경향이지만 대에서는 약간 다른 경향을 보이고 있다.

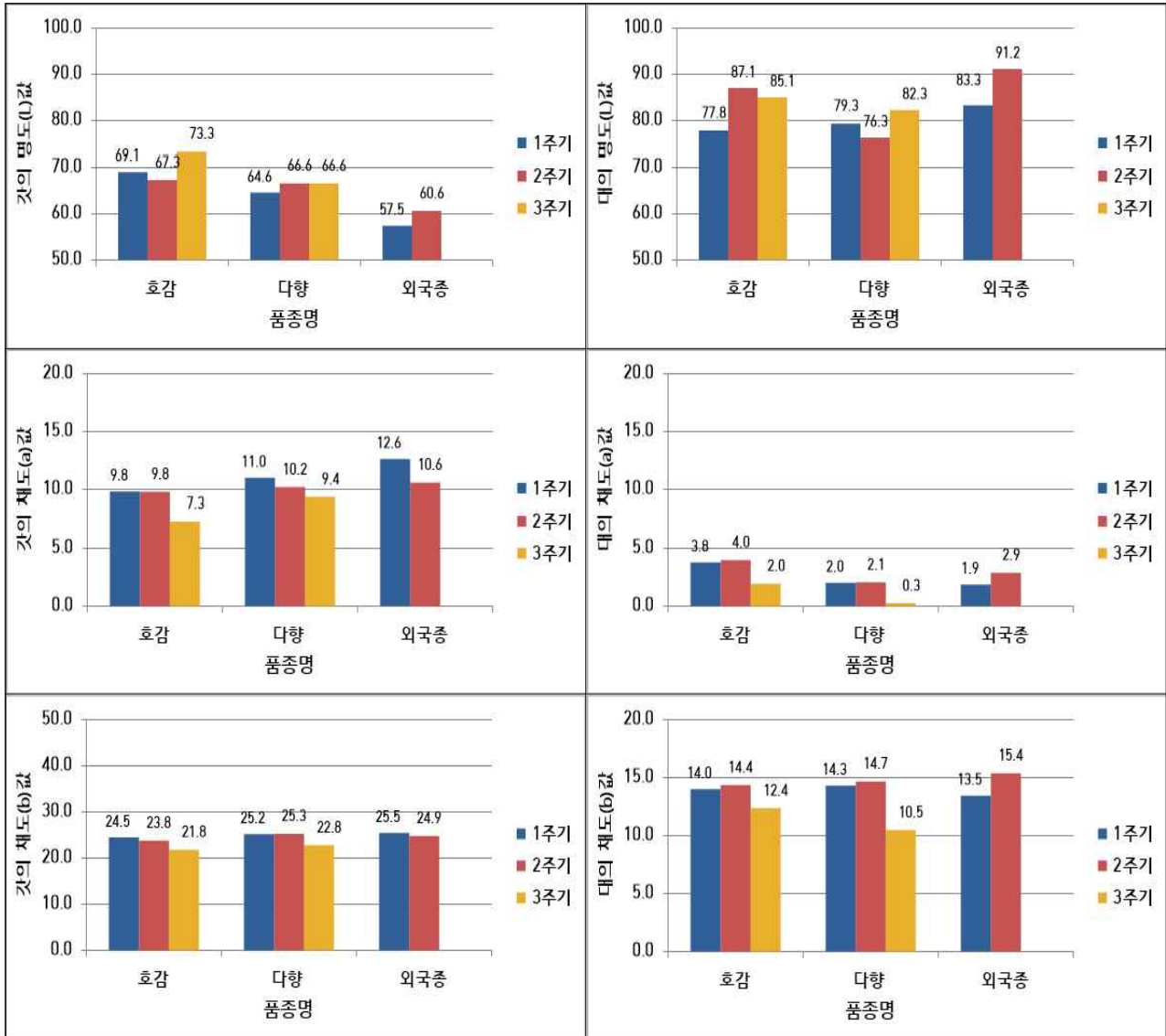


그림16. 보령 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화

보령 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화를 조사한 결과 갓의 명도(L)값은 외국종이 57.9로 가장 낮아 갈색이 가장 진하였으며, 다향은 64.6으로 중간정도이며, 호감은 69.1으로 가장 진하였다. 이런 현상은 2,3주기에서도 계속 발생하는 것으로 보아 품종별 색깔의 차이가 확실한 것으로 판단된다. 대의 명도는 1주기에는 갓의 명도와 반대로 외국종이 가장 높으며, 다향, 호감의 순이었으나 2주기부터는 다른 경향을 보이고 있다.

갓의 채도(a)값은 백색계통의 벼에서는 전반적으로 1.0 이내이지만 갈색계통의 벼들은 7.3에서 12.6 내외로 적색값인 채도(a)값이 높았으며, 대의 채도(a)에서도 백색계통보다 높게 나타났다. 노랑색으로 기반으로 하는 채도(b)값은 갓에서는 20에서 26내외의 값을 보이며, 품종에 상관없이 비슷한 수준의 값을 보이고 있다. 대의 채도(b)값도 백색계통과 유사한 정도의 값을 보이고 있다. 이는 갈색계통의 벼들은 색깔의 차이를 보이는 것은 채도(b)값 보다는 채도(a)값에 의해서 결정되는 것으로 보인다.

표5. 보령시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도 값의 변화

측정부위	품종명	Hardness (N)			Work To Limit (kgf.mm)		
		1주기	2주기	3주기	1주기	2주기	3주기
갓	호감	5.36	5.69	4.11	1.15	1.27	0.89
	다향	6.05	5.70	5.05	1.19	1.27	1.14
	외국종	5.15	5.02	-	0.88	0.85	-
대	호감	5.93	5.74	7.09	0.76	1.08	1.17
	다향	5.97	5.41	6.94	1.00	0.84	0.96
	외국종	3.76	3.55	-	0.63	0.40	-

보령시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값 변화를 확인할 결과 백색계통의 품종들은 주기진행에 따른 경도의 증감이 농가별로 비슷하였으나 갈색품종에서는 호감은 주기가 진행되면서 갓 경도가 증가하였으나, 다향은 감소하였고, 외국종은 아주 적은 정도로 감소하는 등 품종별로 큰 차이를 보이고 있다. 품종별 대 경도는 외국종이 3.76으로 가장 낮았으며, 호감과 다향은 비슷한 수준이었고 주기에 따른 증감도 비슷하였다. 인장응력(Work To Limit, kgf.mm)값은 경도의 변화와 일치되는 경향이였다,

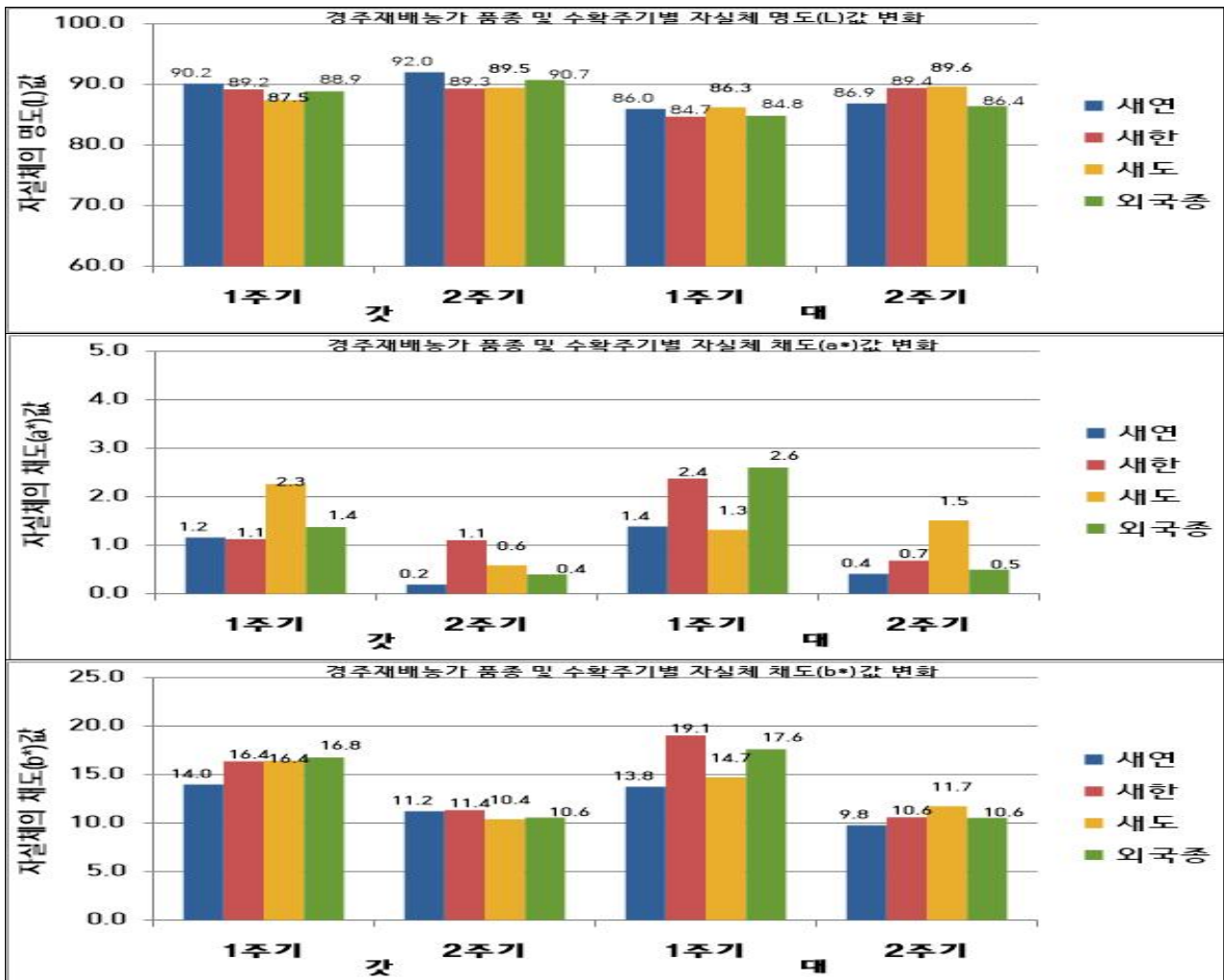


그림17. 경주시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화

경주시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 색차값의 변화를 조사한 결과 갓의 명도(L)값이 제일 낮은 것이 ‘새도’의 1주기 버섯으로 87.5g, 제일 높은 것은 92.0인 ‘새연’의 2주기버섯으로 품종과 주기 사이에 명도(L)값이 큰 차이를 보이고 있지 않았다. 대의 명도(L)값은 모든 품종이 1주기보다 2주기의 버섯이 명도값이 높은 것은 재배환경에 의한 것으로 추정된다.

채도(a)값도 1주기 값이 2주기에 비하여 약간 높은 경향을 보이고 있으며, 이는 갓과 대가 동일한 경향을 보이고 있다. 채도(b)값은 갓과 대에서 모두 다른 지역의 시험재배사와는 다르게 높은 값을 보이고 있으며, 2주기에는 1주기 값보다는 감소하여 다른 지역의 시험농가와 비슷한 수준이었다. 일반적으로 버섯 색을 평가하는 경우 L,a,b 값을 종합해서 평가하고 있으나 별도로 분산해서 평가해 보는 것이 필요하다고 생각한다. 명도와 채도값이 어떤 조건에서 어떻게 변화되는지에 대한 별도의 평가가 필요할 것으로 생각된다.

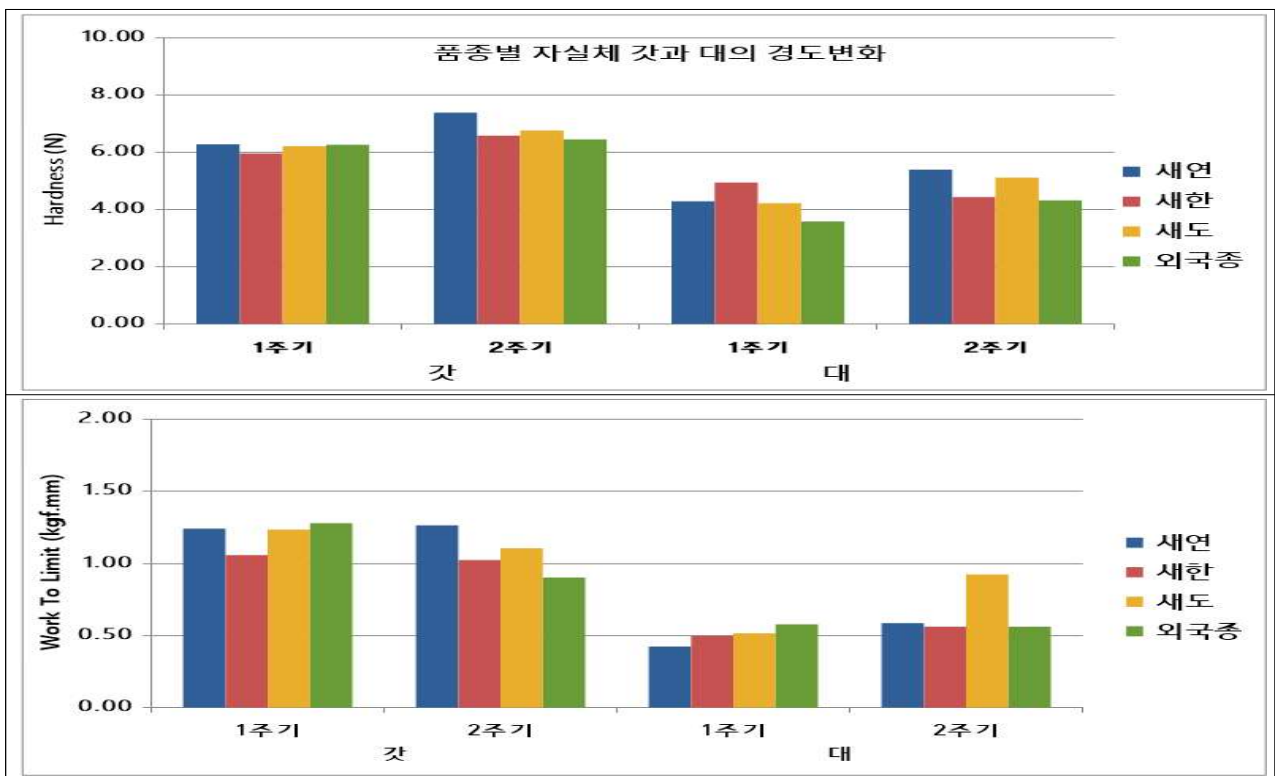


그림18. 경주시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값의 변화

경주시 재배농가의 품종 및 수확주기별 자실체의 경도값의 변화를 조사한 결과 갓의 Hardness (N)값은 1주기는 품종간의 차이가 거의 없었으나 2주기는 1주기의 경도값에 대비하면 품종 전반적으로 약간 증가하는 경향을 보였다. 역시 대에서도 1주기 대비 2주기가 약간 높은 경향이였다. 인장응력(Work To Limit, kgf.mm)값에서는 Hardness (N)값과는 다르게 2주기에는 약간 감소하는 경향으로 다른 경향을 보였으나 대의 경우에는 증가하는 경향을 보였다. 전반적인 검토가 필요하다고 생각된다.

2016년 연구결과 요약

1. 생산성 및 재배적 특성

- 생산성은 농가 별로 각기 다르고, 부여 농가에서 시험한 품종별 생산성조사에서는 ‘새연’이 가장 높은 생산성을 보였다.
- 군사생장 및 버섯발생에 관련 부분은 시험농가 모두 비슷한 특성을 보였음
- 많은 농가에서 “새도“가 강한 편이고 “새한“이 약하다고 하였으나 시험농가에서는 품종간 차이를 확인할 수 없었다

2. 자실체 개체중 특성

- 심범농가에 따라 약간의 차이가 있으나 대다수의 품종이 주기가 진전됨에 따라 개체중 감소
- 농가별로 개체중의 차이가 매우 크며, 다수확하지 못한 재배농가에서 높게 나타났다.
- 품종의 특성상으로 보면 갈색종이 가장 개체중이 높다.

3. 자실체 경도 특성

- 자실체의 경도는 품종 등에 따라 일정한 변화 확인 불가

4. 자실체의 형태적 특성

- 시험농가별 자실체체의 형태적 특성은 품종 등에 따라 일정한 변화 확인 불가
- 형태적 특성은 품종간 차이보다는 농가간의 차이 즉 재배환경에 의해 결정되는 것으로 추정되며, 품종적 특성 확인하기 위해서는 동일재배조건 내에서 여러번 반복에 의한 실험 필요

5. 자실체의 색 특성

- 갓이 대보다 명도가 높은 경향이었으며,
- 채도 값은 적색보다는 황색에 의해 좌우되며, 갈색양송이의 품종별 갓색은 채도(a)의 수치에 의해 차이가 확인 가능하였다.
- 자실체의 색은 재배 품종 및 지역에 따른 차이를 확인 불가능.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

본 과제의 1단계에서는 양송이의 육종효율증대를 통한 수입대체형 국산품종을 개발하고 품종보급을 통한 국산품종 보급률 34% 이상 달성 및 종균 수출액 7만 달러 수출을 목적으로 진행하였다.

세부과제에서는 국내외 자원 총 67점을 수집하여서, 1단계 수집균주 자원 확보 20점 목표를 300프로 달성하였고, 200여점의 보유자원 및 수집자원을 1·2차년도에 걸쳐 특성평가를 진행하여 이에 ASI 1007, 1225, 1246 3점을 우수자원으로 선발하고, 단포자를 100여점 이상 분리하여 각 균주의 동핵균주를 확보하여 ASI 1225와 ASI 1246의 동핵균주를 교잡한 교잡주 74점을 육성하였다. 이를 벧짚발효퇴비배지로 1·2차 생산력 검정을 하여 최종적으로 우량계통 3점을 선발하여 2단계에서 품종개발의 기반을 마련하였다. 또한 백색양송이 ‘새한’, 성양식 관련 교배형유전자를 이용하여 갈색양송이 ‘호감’, 여름양송이 ‘하이’ 3품종을 개발하여 1단계 목표인 품종 출원 2건을 모두 달성하였다. 하지만 품종등록은 ‘새한’ 품종만 등록이 되었다. ‘호감’ 품종은 앞으로 재배시험 결과를 보충하여 품종등록을 할 예정이다. 국내육성품종보급률은 현재 국내육성보급률이 40%로서 1단계 목표 34%보다 높게 달성하였다. GSP 과제를 통해 수입대체형 3개의 품종을 개발하였으며, 현장실증 및 현장평가회로 국내육성품종을 알리고 국내육성품종이 국내종균시장에 중요한 위치로 차지하게 하였다.

제 1위탁과제에서는 ISSR마커를 이용하여 중간 및 종내 또한 품종의 유전적 다양성을 확인 할 수 있었고, 동핵균주를 구분하는 SSR마커를 탐색하여 동핵균주 분리를 효율적으로 할 수 있는 기반을 마련하였다. 그러나 제 1위탁과제가 3개년부터 프로젝트내에서 중단되어 실질적인 마커를 출원하고 등록할 수 없었다.

제 2위탁과제 1차년도에서는 육종을 위한 54개 선별 균주의 기반 정보를 창출하고 동핵체, 이핵체 균주의 생육 우수배지를 확인하였으며, 생화학적 방법으로 동핵균주와 이핵균주를 분리하는 방법을 개발하였다. 또한 균주내 7가지 세포외 분해효소 특성을 파악하였다. 2차년도에서는 동핵체, 이핵체 균주의 유전형 비교 정보를 획득하고 국내균주와 국외균주간의 유전적 유연관계 도출하였다. 또한 갈색품종과 백색품종의 유전체 발현 조사를 통해 유전자군의 차이와 scaffold 상 존재 위치를 파악하였다. 3차년도에서는 갈색품종과 백색품종간 세포외 효소별 활성차이 및 포자간 표면물질 차이를 확인하였으며, 갈색품종과 백색품종간 자실체 발생 단계에 따른 색 형질을 확인하였다. 4차년도에서는 3차년 결과에 기반한 염색체 및 발현체 정보를 바탕으로 색 형질 관련 가능성 유전자군을 선별하였고, 선별된 유전자군의 발현정도와 유전자군의 산물인 단백질 발현정도에 대한 정보를 구축하였다. 이 과제를 통해 양송이의 동핵균주와 이핵균주의 생화학적특성을 파악할 수 있었고, 대표적인 표현형인 갓색형질 관련 세포외 효소별 활성과 포자간 표면물질 차이 그리고 관련 유전자군을 확인 할 수 있어 양송이 육종연구의 기반이 되는 결과를 얻을 수 있었다.

제 3위탁과제에서는 국내 육성품종을 주산단지의 재배농가에 5농가에 재배시범포 운영하여 우리나라에서 육성한 품종이 우수성에 대해 인식할 수 있도록 하여 꾸준하게 국내 육성품종의 재배면적의 증가에 기여하였다. 재배시범포 운영을 통한 재배기술지원으로 농가의 안정적인 수량성 확보가 가능토록 기술전파하였고, 재배시범포 운영을 통한 재배농가의 다양한 요구를 육종에 반영하도록 노력하였다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1절 연구개발 성과

1단계 프로젝트 연구개발 성과는 표 1에 정리하였다. 기타 성과로는 기술이전 4건, 품평회 2건, 매체홍보 65건, 자료발간 1건, 품종설명 리플릿발간 1건, 인력양성 1명과 같은 성과도 이루었다. 전체적으로 품종개발과 유전자원 등록, 국산화율을 성과를 100%로 이상 달성하였으나, 논문게재와 학술발표는 3차년도부터 제1위탁과제가 중단되고 현장적응성 시험으로 제3위탁과제가 진행되면서 목표성과를 이루지 못하였다. 특히 분자마커개발 및 특허는 마커개발과제인 제 1위탁과제가 중단되면서 성과를 달성할 수 없었다. 국내매출액과 종자수출액은 참여기업의 부재로 성과를 달성하지 못하였다.

표 1. 1단계 연구 개발 성과

성과목표	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자원		기타(학술 발표)	국산화 율(%)	국내 매출 액	종자 수출액	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
2013	목표	1				2			3	3	20			
	실적	1				2			42	2	25			1
2014	목표	1		1		1	2	1	3	3	25			
	실적	1				1	2		13	3	26.1			
2015	목표		1	1	1	1	2	1	3	3	30	12	5	
	실적						1		4	2	37			
2016	목표		1	1	1	1	1	1	3	3	34	15	7	
	실적		1			1	1		8	3	40			
계	목표	2	2	3	2	3	7	3	12	12	34	15	7	
	실적	2	1			2	6		67	11	40			
달성율(%)		100	50	-	-	67	86	-	558	92	118	-	-	

제 2절 성과활용 계획

1단계 세부 프로젝트 연구개발 성과 중 품종출원한 ‘새한’ 품종은 국제미생물 등 3개 업체에 814천원으로, ‘호감’ 품종은 한마음영농조합법인 1개 업체에서 550천원으로 통상 실시되었다. 앞으로 갈색양송이 ‘호감’ 품종의 소비촉진을 위한 홍보를 진행하여 보급을 확대하며, ‘17년도에 출원할 여름양송이 ‘하이’ 품종과 함께 기술실시 할 것이다. 또한 1단계를 통해 개발된 Ab2-2016 우량계통 3점은 앞으로 2단계에서 품종 출원과 등록할 예정이다. 제2위탁과제에서는 대표적인 표현형인 갯색형질 관련 세포의 효소별 활성과 포자간 표면물질 차이 그리고 관련 유전자군을 확인한 결과를 논문게재 할 예정이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보를 공유하기 위해 본 과제를 수행하는 동안 다녀온 학회에서의 국제적인 학술동향에 대해서 소개한다.

우선 3년차에 다녀온 브라질버섯학회와 약용버섯학회에서는 브라질에서 가장 유명한 버섯인 신령버섯에 대한 연구가 꾸준히 진행되고 있으며 모든 연구에서 신령버섯이 *Agaricus blazei*와 *Agaricus brasiliensis*로 다른 종으로 분류되어 연구되고 있었다. 또한, ‘*Agaricus sylvaticus*’ 라는 신령버섯(*Agaricus blazei*)과 비슷한 버섯으로 ‘태양의 버섯’으로 불리는 버섯의 항산화 관련 연구가 진행되고 있었다.

약용버섯 학회에서는 약용버섯의 시장가치는 현재 240억 달러로 1991년부터 지속적으로 증가하고 있으며, 이중 영지버섯과 동충하초의 가치는 약 100억을 차지하고 있다는 것을 알 수 있었다. 약용버섯학회에 알맞게 기능성연구가 큰 주제로 이야기되었으며, 이 중 새로운 항암제로서 BRM이라고 불리는 약이 개발되고 있으며, 영지버섯에서 발견되는 다당류의 효과가 입증되었고, 이와 더불어 영지의 기능성성분인 ‘라노스타노이드’에 관한 연구가 진행되고 있었다. 약용버섯 육종에서는 ‘플라즈마’라는 물질의 물리적 자극으로 고수량의 영지버섯 품종을 개발하는 방법이 독일에서 연구되었다(그림 1). 버섯 ‘향’에 대해서도 연구를 진행하고 있었으며 지금까지 1-octen-3-ol과 C8복합체가 ‘향’에 영향을 준다고 보고되었다.

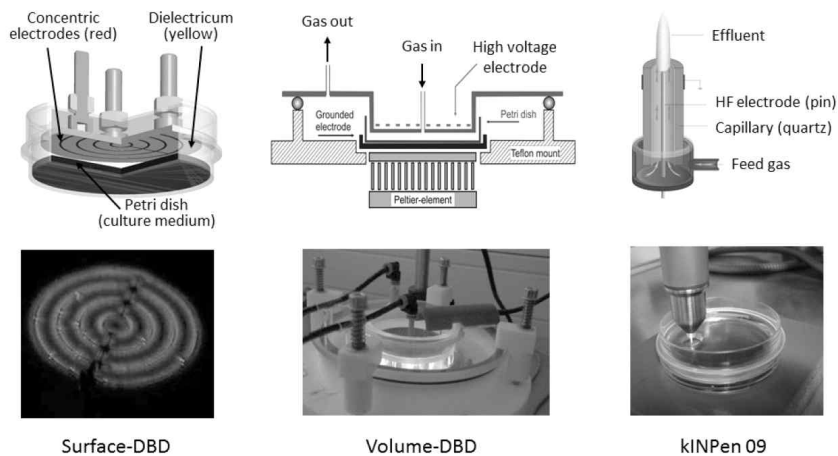


그림 1. 균주에 플라즈마 처리방법

4년차에서는 네덜란드에서 진행되는 국제버섯학회를 다녀왔다. 유럽에서 열리는 만큼 주로 식용하는 버섯인 양송이에 대한 연구가 가장 활발하게 이루어지고 있었다. 학회에서 주요 연구분야를 살펴보면, 육종, 배지 개발, 자동화공정, 병해충관리로 나눌 수 있으며, 이외에 기능성 연구에 대한 연구도 활발하게 진행 중이었다.

우선 육종분야를 보면, 전 세계 품종의 근본이 되는 품종(시초 품종)을 만든 네덜란드 와게닝겐대학 버섯연구팀과 세계적 버섯종균회사인 ‘실반’ 회사가 좌우하고 있다고 해도 과언이 아니었다. 특히 네덜란드에서는 수량이 아주 높고, 오래 저장할 수 있는 품종을 개발하기 위해 우수 형질을 선발하는 마커 개발과 집단유전학연구를 활발히 진행하고 있었다. 최근에는 가장 중점적으로, 자신들의 만든 품종을 보호하고 로열티를 주장하기 위하여, 현재 품종과 시초품종

과의 유전적 차이를 연구하고 이 결과를 지속적으로 발표하고 있으며, 기존에 개발된 품종의 보호를 위한 마커개발도 진행 중이었다.

외국의 양송이재배는 국내의 팽이버섯처럼 공장화되고 있었다. 버섯농장에서 사전 주문하면 배지회사에서 약속된 날짜에 종균이 배양된 배지가 배달되고, 입상과 동시에 복토가 완성되었다. 우리나라 농장에서는 복토까지 약 20일정도가 소요되지만, 외국은 하루에 모든 것이 끝나는 것이다. 그 이후의 버섯발생과 수확만 농장에서 이루어지기 때문에 버섯 재배는 균일한 품질과 안정된 생산성을 유지할 수 있었다. 이에 따라 연구는 배지품질을 향상시키는 쪽으로 진행되고 있었다.

또한, 누구나 버섯을 재배하기 쉽도록 버섯 관리과정이 점차 자동공정으로 변하고 있었다. 배지 내 수분 공급방법을 기존 스프레이 방식이 아닌 점적관수형으로 일정하게 배지에 수분을 공급하는 방법을 연구하고, 농장에서 바로 배지상태를 측정할 수 있는 방법, 빅데이터를 이용하여 고품질버섯을 자동 선별하는 감지기를 개발하는 등 점차 시스템화하려는 노력이 보였다.

병해충 분야는 배지 생산이 대형화가 되면서 병을 신속하게 진단하고 친환경적인 방법으로 예방할 수 있는 연구들이 진행을 되고 있으며, 특히 가장 문제가 되는 버섯의 갈변과 기형화를 일으키는 바이러스 X에 대한 연구가 많이 진행되고 있었다.

기능성연구에서는 버섯 소비촉진을 위해 소비자들이 원하는 기능성 성분을 연구하고 있었다. 그 예로 상대적으로 일사량이 적은 유럽에서는 비타민 D를 따로 섭취를 해야 한다. 따라서 양송이가 지니고 있는 비타민 D에 대한 연구를 진행하고 있으며, 현재는 기능성 연구를 넘어 비타민 D를 증가할 수 있는 가공법 개발을 진행하고 있었다.

제 7 장 참고문헌

1. 오연이, 유영복, 신평균, 공원식, 최인걸. 2015. ITS 계통분석을 이용한 주름버섯류 수집 균주의 특성평가. 한국버섯학회지, 12(4) pp.244-250.
2. Mahmudul Islam Nazrul & Bian Yin-Bing. 2010. ISSR as New Markers for Identification of Homokaryotic Protoplasts of *Agaricus bisporus*. Curr Microbiol, 60:92-98.
3. Marie Foulongne-Oriol, Anne Rodier, Thierry Rousseau and Jean-Michel Savoie. 2012. Quantitative Trait Locus Mapping of Yield-Related Components and Oligogenic Control of the Cap Color of the Button Mushroom, *Agaricus bisporus*. Appl. Environ. Microbiol, (78):2422-2434.
4. Marie Foulongne-Oriol, Cathy Spataro and Jean-Michel Savoie. 2009. Novel microsatellite markers suitable for genetic studies in the white button mushroom *Agaricus bisporus*. Appl Microbiol Biotechnol, 84:1125-1135.
5. 오연이, 장갑열, 공원식, 신평균, 김은선, 오민지, 최인걸. 2015. 갈색 양송이 신품종 ‘호감’ 육성. 한국버섯학회지, 13(3) pp.237-242
6. M. Halt Umar and Leo J. L. D. Van Griens. 1999. Studies on the morphogenesis of *Agaricus bisporus* : the dilemma of normal versus abnormal fruit body development. Mycol. Res, 103 (10) : 1235-1244.
7. 오연이, 장갑열, 공원식, 신평균, 김은선, 오민지, 최인걸. 2015. RAPD분석을 통한 여름 양송이(*Agaricus bitorquis*)의 교잡주 선발. 한국버섯학회지, 13(3):243-249.
8. Chedekel MR, Ahene AB, Zeise L. Melanin standard method: empirical formula 2. Pigm Cell Res 1992;5:240-6.
9. Vidal-Cros A, Viviani F, Labesse G, Boccara M, Gaudry M. Polyhydroxynaphthalene reductase involved in melanin biosynthesis in *Magnaporthe grisea*. Eur J Biochem 1994;219:985-92.
10. Wheeler MH, Bell AA. Melanins and their importance in pathogenic fungi. Curr Top Med Mycol 1988;2:338-87
11. Bell AA, Wheeler MH. Biosynthesis and functions of fungal melanins. Ann Rev Phytopathol 1986;24:411-51.
12. Eisenman HC, Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. Appl Microbiol Biochemical 2012;93:931-40.
13. Weijn A, Bastiaan-Net S, Wichers HJ, Mes JJ. Melanin biosynthesis pathway in

- Agaricus bisporus* mushrooms. Fungal Genet Biol 2012;55:42-53.
14. Dewick PM. The biosynthesis of shikimate metabolites. Nat Prod Rep 1998;15:17-58.
 15. Jolivet S, Arpin N, Wicher HJ, Pellon G. *Agaricus bisporus* browning: a review. Mycol Res 1998;102:1459-83.
 16. Cabanes J, Garc í Ba-Ca ´ novas F, Lozano JA, Garc í Ba-Carmona FA. kinetic study of the melanization pathway between L-tyrosine and dopochrome. Biochim Biophys Acta 1987;923:187-95.
 17. Sanchez-Ferrer A, Rodriguez-Lopez JN, Garcia-Canovas F, Garcia-Carmona F. Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. Biochim Biophys Acta 1995;1247: 1-11.
 18. Nakamura T, Sho S, Ogura Y. On the purification and properties of mushroom tyrosinase. J Biochem 1966;59:481-6.
 19. Lind T, Siegbahn PEF, Crebtree RH. A quantum chemical study of the mechanism of tyrosinase. 1999;103:1193-1202.
 20. Robb DA, Gutteridge S. The polypeptide composition of two fungal tyrosinases. Phytochem 1981;20:1481-5.
 21. Wichers HJ, Gerritsen YAM, Chapelon CGJ. Tyrosinase isoforms from the fruitbodies of *Agaricus bisporus*. Phytochem 1996;43:333-7.
 22. Novaes-Ledieu M, Garcia Mendoza C. The cell walls of *Agaricus bisporus* and *Agaricus campestris* fruiting body hyphae. Can J Mycobiol 1981;27(8):779-87.
 23. Paranjpe MS, Chen PK. Morphogenesis of *Agaricus bisporus*: change in proteins and enzyme activity. 1979;71(3):469-78.
 24. Zeitlmayr, L. (1976) Wild Mushrooms : An Illustrated Handbook. Garden City Press, Hertfordshire. pp. 82-83.
 25. Carluccio, A. (2003) The Complete Mushroom Book. Quadrille. pp. 21-22.
 26. Callac, P., Billette, C., Imbernon, M., and Kerrigan, R. W. (1993) Morphological, Genetic, and Interfertility Analyses Reveal a Novel, Tetrasporic Variety of *Agaricus bisporus* from the Sonoran Desert of California. Mycologia, 85(5): 835-851.
 27. Callac, P., Imbernon, M., Guinberteau, J., Pirobe, L., Granit, S., Olivier, J. M., and Theochari, I. (2000) Discovery of a Wild Mediterranean Population of *Agaricus bisporus*, and Its Usefulness for Breeding Work. Mushroom Science, 15: 245-252.

28. Spencer, D. M. (1985) The Mushroom—its History and Importance. In Flegg, P. B., Spencer, D. M., and Wood, D. A. *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*. John Wiley and Sons. pp. 1–8.
29. Cappelli, A. (1984) *Fungi Europaei : Agaricus* (in Italian). Saronno, Italy. pp. 123–125.
30. Kurtzman, R. H. (1997) Nutrition from Mushrooms, Understanding and Reconciling Available Data. *Mycoscience*, 38: 247–253.
31. Manzi, P., Aguzzi, A., and Pizzoferrato, L. (2001) Nutritional Value of Mushrooms Widely Consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73: 321–325.
32. Mattila, P., Könkö, K., Eurola, M., Pihlava, J. M., Astola, J., Vahteristo, L., Hietaniemi, V., Kumpulainen, J., Valtonen, M., and Piironen, V. (2001) Contents of Vitamins, Mineral Elements, and Some Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2343–2348.
33. Yildiz, A., Karakaplan, M., and Aydin, F. (1998) Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. et Maubl.: Cultivation, Proximate Composition, Organic and Mineral Composition of Carpophores. *Food Chemistry*, 61: 127–130.
34. Jeong, S. C., Jeong, Y. T., Yang, B. K., Islam, R., Koyyalamudi, S. R., Pang, G., and Song, C. H. (2010) White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Lowers Blood Glucose and Cholesterol Levels in Diabetic and Hypercholesterolemic Rats. *Nutrition Research*, 30(1): 49–56.
35. Jagadish, L. K., Krishnan, V. V., Shenbhagaraman, R., and Kaviyarasan, V. (2009) Comparative Study on the Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Property of *Agaricus bisporus* (JE Lange) Imbach before and after Boiling. *African Journal of Biotechnology*, 8(4): 654–661.
36. Öztürk, M., Duru, M. E., Kivrak, Ş., Mercan-Doğan, N., Türkoglu, A., and Özler, M. A. (2011) In vitro Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Activity Studies on Three *Agaricus* Species with Fatty Acid Compositions and Iron Contents: a Comparative Study on the Three Most Edible Mushrooms. *Food and Chemical Toxicology*, 49(6): 1353–1360.
37. Koukol, J., and Conn, E. E. (1961) The Metabolism of Aromatic Compounds in Higher Plants. IV. Purification and Properties of the Phenylalanine Deaminase of *Hordeum vulgare*. *Journal of Biological Chemistry* 236: 2692–2698.
38. Jones, D. H. (1984) Phenylalanine Ammonia-Lyase: Regulation of Its Induction and Its Role in Plant Development. *Phytochemistry*, 23: 1349–1359.

39. Fritz, R. R., Hodgins, D. S., and Abell, C. W. (1976) "Phenylalanine Ammonia-Lyase. Induction and Purification from Yeast and Clearance in Mammals" . The Journal of Biological Chemistry. 251(15): 4646-4650.
40. Tanaka, Y., Matsuoka, M., Yamamoto, N., Ohashi, Y., Kano-Murakami, Y., and Ozeki, Y. (1989) "Structure and Characterization of a cDNA Clone for Phenylalanine Ammonia-Lyase from Cut-Injured Roots of Sweet Potato" . Plant Physiology, 90(4): 1403-1407.
41. Schomburg, D., and Salzmann, M. (1990) Class 4: Lyases, Phenylalanine Ammonia-Lyase in Enzyme Handbook 1, Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg.
42. Benoit, M. A., D'Aprano, G., and Lacroix, M. (2000) Effect of γ -Irradiation on Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity, Total Phenolic Content, and Respiration of Mushrooms (*Agaricus bisporus*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(12): 6312-6316.
43. Beaulieu, M., D' Aprano, G., and Lacroix, M. (2002) Effect of Dose Rate of Gamma Irradiation on Biochemical Quality and Browning of Mushrooms *Agaricus bisporus*. Radiation Physics and Chemistry, 63(3): 311-315.
44. Pfaffl, M. W. (2001) A New Mathematical Model for Relative Quantification in Real-Time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 29(9): e45.
45. Kim, S. H., Uzunovic, A., and Breuil, C. (1999) Rapid Detection of *Ophiostoma piceae* and *O. quercus* in Stained Wood by PCR. Applied and Environmental Microbiology, 65(1): 287-290.
46. Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Molecular Biology and Evolution, 33: 1870-1874.
47. Saitou, N., and Nei, M. (1987) The Neighbor-Joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.
48. Felsenstein, J. (1985) Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using The Bootstrap. Evolution, 39: 783-791.
49. Zuckerkandl, E., and Pauling, L. (1965). Evolutionary divergence and convergence in proteins. Academic Press, New York. pp. 97-166.
50. Gilbert, H. J., Clarke, I. N., Gibson, R. K., Stephenson, J. R., and Tully, M. J. (1985) Molecular Cloning of the Phenylalanine Ammonia-Lyase Gene from *Rhodospiridium toruloides* in *Escherichia coli* K-12. Journal of Bacteriology, 161: 314-320.

51. Kim, S. H., Virmani, D., Wake, K., Kim, M. D., Kronstad, J. W., and Ellis, B. E. (2001) Cloning and Disruption of a Phenylalanine Ammonia-Lyase Gene from *Ustilago maydis*. *Phytochemistry*, 58: 849-857.
52. Tasaki, Y., and Miyakawa, H. (2015) Structure and Expression of Two Phenylalanine Ammonia-Lyase Genes of the Basidiomycete Mushroom *Tricholoma matsutake*. *Mycoscience*, 56(5): 503-511.
53. Koo, J. S. (2013) 팽이버섯에서 Phenylalanine Ammonia-Lyase 유전자의 클로닝 및 발현. 석사학위논문, 단국대학교, 천안.
54. Hyun, M. W., Yun, Y. H., Kim, J. Y., and Kim, S. H. (2011) Fungal and Plant Phenylalanine Ammonia-Lyase. *Mycobiology*, 39(4): 257-265.
55. Hao, Z., Charles, D. J., Yu, L., and Simon, J. E. (1996) Purification and Characterization of a Phenylalanine Ammonia-Lyase from *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43: 735-739.
56. Emes, A. V., and Vining, L. C. (1970) Partial Purification and Properties of L-phenylalanine Ammonia-Lyase from *Streptomyces verticillatus*. *Canadian Journal of Biochemistry*, 48: 613-622.
57. Jorrín, J., López-Valbuena, R., and Tena, M. (1988) Purification and Properties of Phenylalanine Ammonia-Lyase from Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Hypocotyls. *Biochimica et Biophysica Acta*, 964: 73-82.
58. Given, N. K., Venis, M. A., and Grierson, D. (1988) Purification and Properties of Phenylalanine Ammonia-Lyase from Strawberry Fruit and Its Synthesis during Ripening. *Journal of Plant Physiology*, 133: 31-37.
59. Kim, S. H., Kronstad, J. W., and Ellis B. E. (1996) Purification and Characterization of Phenylalanine Ammonia-Lyase from *Ustilago maydis*. *Phytochemistry*, 43: 351-357.
60. Neumann, G., and Schwemmler, B. (1993) Flavonoids from *Oenothera* Seedlings: Identification and Extranuclear Control of Their Biosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 142: 135-143.
61. 강민구, 조우식, 김우현, 이숙희. 2015. 경북지역 양송이버섯(*Agaricus bisporus*) 생산 감소 원인 연구. *한국버섯학회* 13(3) pp.157-162
62. 김홍규, 함인기, 이가순, 이병주, 김용균, 양의석, 유영복, 김홍기. 2011 갈색 양송이 신품종 ‘다향’의 형태적 특성. *한국버섯학회* 9(1) pp.17-21
63. 농림부, 1997, 양송이 편람, 한국의 양송이 재배역사

64. 농림수산부, 1984~2006, 특용작물 생산실적, 버섯류 생산 실적
65. 농업과학기술원, 1968~2002, 농사시험연구보고서, 식용버섯자원개발연구
66. 농촌진흥청, 1970~2001, 농촌진흥시험연구사업연보, 균이편
67. 농촌진흥청, 1993, 농촌진흥 30년사(상록사), 버섯편
68. 농촌진흥청, 농촌지도사업 활용자료, 1972~2001, 버섯편
69. 오연이, 장갑열, 전창성, 공원식, 유영복, 신평균, 서장선 2013. 양송이버섯 품종별 저장기간 및 온도에 따른 품질변화. 한국버섯학회 11(3) pp.137-144
70. 장갑열, 공원식, 유영복, 신평균, 오연이 2012. 양송이(Agaricus bisporus) 신품종 ‘새정’의 형태 및 재배적 특성. 한국버섯학회 16(1) 통권 25호 pp.75-76
71. 전창성, 박혜성, 공원식, 이찬중, 이강호, 조재한. 2014 재배온도에 따른 양송이 자실체의 아미노산 함량변화. 한국버섯학회 12(4) pp.293-298
72. 전창성, 장갑열, 정종천, 이찬중, 공원식, 유영복. 2010. 양송이 안정생산을 위한 생산기술 현장연구. 한국버섯학회 8(3) pp.122-130
73. 전창성, 정종천, 윤형식, 임훈태, 장갑열. 2010. 생육온도와 양송이 재배적 특성변화. 한국버섯학회 8(2) pp.72-73
74. 차동열 유창현 김광포, 1998. 최신버섯재배기술(상록사), 버섯재배역사 1-9

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

1. 국내외 시장 분석

1) 국내 양송이 시장동향

- 국내 양송이 생산량은 2015년에 9,732톤, 생산액은 630억원으로 표고, 느타리, 큰느타리 팽이에 이어 5번째로 많이 생산되고 있음¹⁾
- 단위 당 상품가격이 2015년에 2kg상자 기준으로 약 13,000원으로 다른 버섯보다 높아, 생산액으로 비교해보면 팽이버섯과 추월하였음
 - 느타리버섯은 2kg상자 기준으로 약 4,000원, 큰느타리버섯은 약 5,000원이고, 팽이버섯은 5kg 약 7,000원임
- 국내의 양송이 재배농가는 2010년 전체 버섯농가의 18%로 608호임

표 1. 양송이 농가수 추이

(단위 :호수)

	2000년	2005년	2010년	2015년
양송이	970	700	560	608

자료 : 2015 특용작물생산실적

- 국내 생산농가에서는 양송이의 갓 색깔에 따라 가격 및 품질이 평가됨에 따라 농민들이 수량보다는 갓색에 치중하여 버섯을 생산하고 있음
- 2015년 국내에 수입된 버섯은 표고, 양송이, 송이, 건조목이, 기타버섯(종균) 등임
 - 양송이는 주로 조제 저장 처리된 형태로 수입됨

표 2. 양송이 수입액

(단위 : 천 달러)

	2011년	2012년	2013년	2014년	2015년
전체	13,162	10,512	8,070	8,772	8,614

자료 : 2016 한국산업버섯연감

- 양송이는 균상재배를 하며 종균회사에서 종균 보급 혹은 수입 종균
 - 자급률은 40%이고, 수입산 종균이 60%임

1) 한국농수산식품유통공사, 해외시장동향

- 2011년 한국종균생산협회 3개의 회원사가 106만병의 종균을 보급함
- 2011년 미국, 호주, 이탈리아에서 60.3톤의 양송이 종균이 수입됨
 - Sylvan 등 다국적 종균 기업은 양송이 종균을 국내보다 2~3배 비싼 가격에 판매하여 종균 시장 독점이 우려되고 있음
- 종균에서 유래한 병원균의 검사가 전무한 실정이라 새로운 버섯 병원균 전파 가능성이 높음

2) 중국 시장동향

- 양송이 역시 전통적으로 소비량이 많은 버섯 중의 하나로 2011년 소비량이 약 200만 톤에 달함
 - 전통적인 자연계절 생산방식에 의존하고 있으며 노동량 투입이 많은 품종인 관계로 가격 변동이 비교적 심함
- 중국의 양송이 생산량은 꾸준히 증가하고 있고, 2010년에 220만 톤이 생산되었음

3) 일본 시장동향

- 일본의 양송이 생산은 1960년대부터 시작하였고, 주로 통조림으로 가공시켜 유럽의 여러 나라에 수출함
- 일본산 양송이는 여러 나라에 수출할 정도로 시장이 호황을 이룬 적이 있었으나, 상대적으로 비용이 저렴한 대만, 한국, 중국산에 밀려 경쟁력을 잃고 있음
 - 최근에는 생버섯에 의한 개인수요의 성장과 함께 생버섯 시장이 번창하고 있어 생산 확대가 예상됨

표 3. 일본의 양송이 생산 동향

(단위 : 톤 / 억원)

	2002년	2004년	2006년	2008년
생산량	2,573	3,162	2,976	3,968
생산액	233	265	273	375

자료 : 국립산림과학원 "일본의 버섯 현황과 관련제도 및 정책"

- 주름버섯속(양송이와 신령버섯)의 수입은 건조버섯과 생버섯 형태로 수입됨
 - 양송이는 건조 형태로 중국에서 수입함

표 4. 일본의 주름버섯속(양송이와 신령버섯) 건조버섯 수입

(단위 : 톤 / 만원)

	2006년	2007년	2008년	2009년	2010년
수입량	21.8	30.7	12.6	6.7	5.5
수입액	35,886	58,364	41,064	18,019	16,872

자료 : 국립산림과학원 "일본의 버섯 현황과 관련제도 및 정책"

군사 형태로 수입되는 버섯류는 크게 표고 군사와 표고 이외의 기타 버섯 군사로 나뉘

○ 기타 군사는 일본 내에서 종균을 제조할 목적으로 수입하는 양송이의 종균이나 완숙배지를 의미함

표 5. 일본의 버섯군사 수입현황

(단위 : 톤 / 만원)

	2006년	2007년	2008년	2009년	2010년
수입량	4,885	4,608	5,457	7,515	9,450
수입액	313,773	302,011	366,655	416,228	504,193

자료 : 국립산림과학원 "일본의 버섯 현황과 관련제도 및 정책"

4) 유럽 시장동향

양송이 생산에 있어 공장화 생산률이 100%에 가깝게 이루어지고 있음

○ 다국적 기업에서 종균 및 배지, 복토를 일괄생산 공급하는 시스템이 갖추어져 있음

유럽에서 양송이 생산은 네덜란드와 폴란드에 의해 주도되고 있음²⁾

○ 네덜란드의 버섯 일년 평균생산량은 약 25만 톤이고, 생산량 기준으로 전 세계 생산량의 10%, 유럽생산량의 24%를 차지

○ 양송이 생산 제 1위 국가인 네덜란드는 최근 들어 저렴한 폴란드산의 공세로 인해 생산이 감소추세에 있음

○ 폴란드는 최근 버섯재배 규모 확대와 전문화를 통해 버섯 혁신을 이루어 네덜란드에 이어 양송이 재배 2위 국가로 2002~2004년 사이 수출이 2배 이상으로 늘어났음

영국은 주로 양송이와 포토벨라(큰 양송이)가 판매되고 있으며 표고, 큰느타리

2) 한국농수산식품유통공사, 해외시장동향

등이 소량 판매되고 있음

- 유럽에서 가장 많이 소비되는 버섯은 흰 양송이이며, 유럽에서는 최근 몇 년 사이 밤양송이(갈색양송이)의 인기 역시 증가하는 추세임
- 양송이 생산형태는 신선버섯, 냉동버섯, 건조버섯이며 저장용 가공버섯으로서 최근에는 야생버섯 등 고급버섯의 수요가 증가함
 - 다양한 요리법이 개발되고 있으며, 샐러드, 파이, 수프 등 다양한 요리에서 사용중

5) 미국 시장동향

- 미국의 버섯 생산은 중국 다음으로 많으며 전 세계 생산량의 약 16%를 차지³⁾
 - 양송이의 생산량이 가장 많으며, 미국 전체 생산량의 약 95%를 차지

2. 국내의 기술동향

1) 국내 기술동향

- 국내기업은 시장개척 노력으로 품종개발, 생산, 유통기술 면에서 연구하고 있으나 아직 초보단계이며, 최근에 확률이 낮은 다포자 임의교배법을 뛰어넘는 RAPD, SSR로 동핵균주를 선발하고 교잡기술을 확보함
 - 네덜란드 등 유럽 국가나 호주, 미국 등에 비해 양송이 재배기술면에서 기계화 도입이 되지 않고 있으며 우리나라 기후환경에 적합한 품종 개발이 아직 미흡함
- 품종보호 등록이 된 국산 양송이 품종은 새아('10), 새정('11), 새연, 새도('14), 새한('16)이 있음
- 농촌진흥청에서 주름버섯류 계통선발 기준 확립에 의한 육종 효율 증대 연구를 진행함
- 연구자들이 개별적으로 종균소 및 시중의 종균 검사를 하여 병원균 오염에 관한 보고를 하고 있음

3) 2011 한국버섯산업연감

- 연구 결과들을 체계적으로 정리하지 못하고 있으며, 이들 결과물을 이용한 대책수립은 현재까지 없음
- 농촌진흥청에서 품종개발 연구를 수행하고, 경기도 농업기술원에서 재배방법에 대해 연구중

표 6. 양송이 관련 정부 R&D 과제 현황

과제명	연구기관	시작 년도	기술
주름버섯류 계통선발 기준 확립에 의한 육종 효율 증대 연구	농촌진흥청	2014	품종개발
갈색양송이 품종육성에 의한 지역보급체계 구축	경북도기술원	2014	품종개발
GAP 느타리, 양송이버섯 생산 시스템 개발	농촌진흥청	2015	재배환경
양송이 배지 최적 생산 기술 개발	농촌진흥청	2017	재배환경
양송이 배지 교반 기술 개발	농촌진흥청	2017	농기계

2) 국외 기술동향

- 차세대 유전체 해독기술(NGS)이 개발됨에 따라 독일에서는 양송이 Genome Sequencing이 완성되어 형질이 뛰어난 품종을 개발하기 위한 원천 정보를 획득하고 있음
- 프랑스에서는 QTL(Quantitative Trait Locus)를 지도화하여 양송이 맛색에 영향을 미치는 유전 요인들을 연구하고 있음
- 영국에서는 항암물질 등 특정 유용물질생산을 목적으로 양송이의 형질전환 연구를 진행함
- 미국에서는 갈변저항성을 가진 형질전환 양송이가 판매허가를 받았음
- 전 세계의 양송이를 포함한 버섯연구에서 기본적으로 형질 및 품종을 구분하기 위해 AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR(Simple Sequence Repeat), CAPS(Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) 등 마커들이 쓰임

- Sylvan이 다양한 신품목(RWK1913, J10165, J9277)을 개발하고 특허 출원함
- 중국의 양송이는 국제 수준의 선도 기업들의 영양 첨가제 투여 등의 방법을 이용하여 1평방미터 당 30-35kg 수준을 생산해 내고 있음
- 종균관리에 있어서 외국의 경우 종균업체들의 대형화, 기업화되어 병원균 오염을 철저히 배제하고 있음

3. 특허 동향 분석

1) 국가별 출원비중

- 출원된 특허는 총 2073건으로 각 국가별 출원 비중을 보면 일본에서 594건으로 전체의 29%, 중국은 554건으로 전체의 27%, 한국은 551건으로 전체의 26%를 차지하고 있음

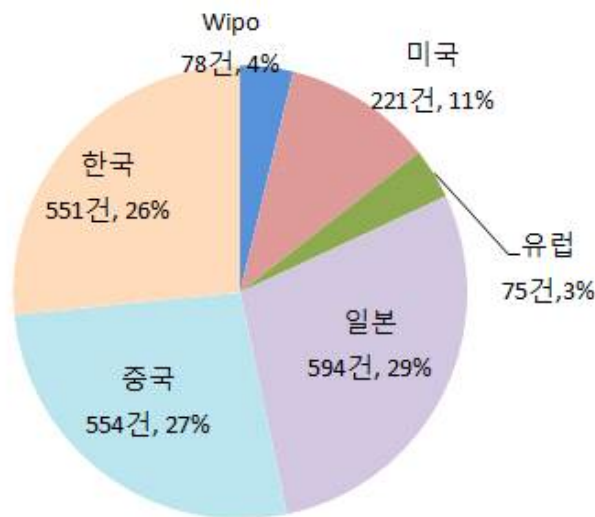


그림 1. 국가별 출원건수 비중

- 양송이의 전체 출원건수는 262건으로 국가별 출원 비중을 보면 중국에서 76건으로 전체의 33%, 미국은 59건으로 전체의 26%, 유럽은 27건으로 전체의 12%임



그림 2. 양송이 국가별 출원 비중

2) 연도별 출원추이

- 연도별 출원 추이를 보면 1992 ~ 2001년까지는 증가 추세였다가, 2001 ~ 2005년까지 감소추세임. 다시 2006년부터 증가추세로 바뀜

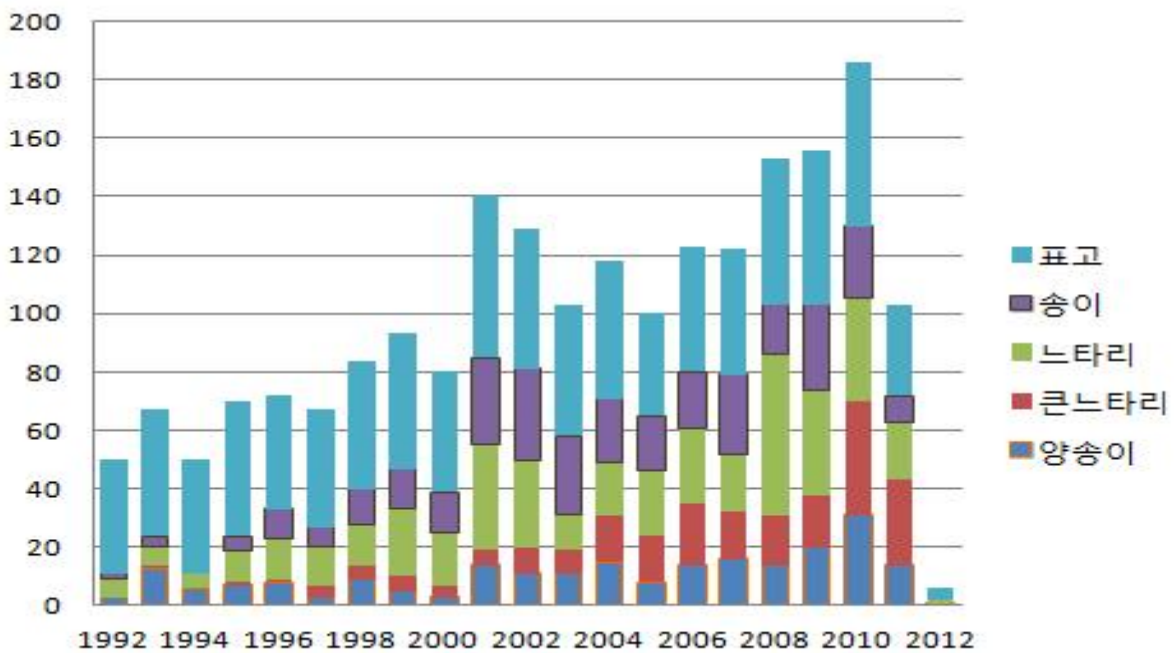


그림 3. 연도별 출원추이(1992 ~ 2012)

3) 세부기술별 출원비중

- 세부 기술별 출원 비중을 보면 가공 및 기능성 관련 특허가 1264건으로 전체의 61%로 가장 많으며, 품종개발 관련 특허 출원은 전체의 4%에 불과함

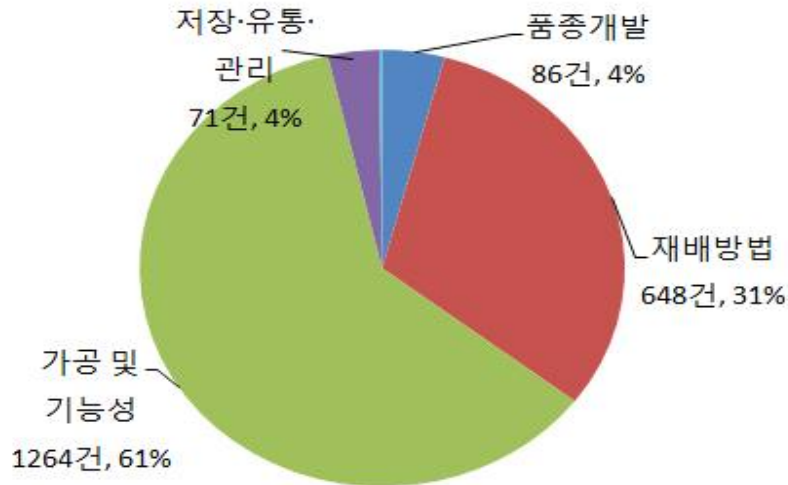


그림 4. 세부기술별 출원 비중

- 양송이 특허 중 가공 및 기능성 연구가 102건 45%로 가장 많으며, 품종개발 관련 특허도 33건으로 15%를 차지

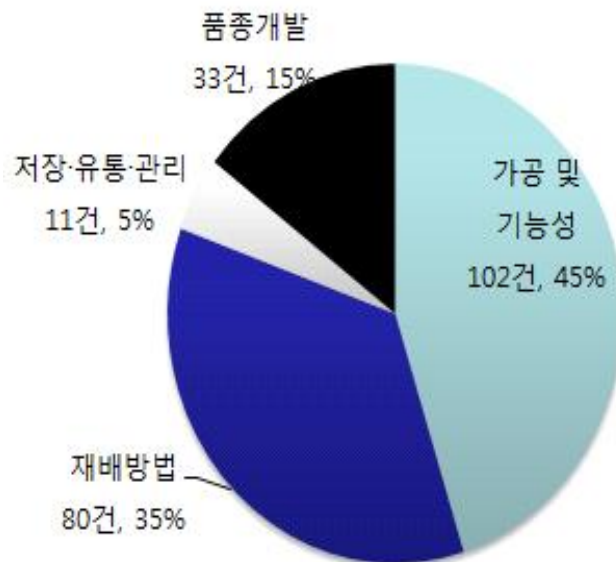


그림 5. 양송이 세부 기술별 출원 비중

4) 주요 출원인

- 주요 출원인을 보면 Kobayashi Pharmaceutical사가 표고버섯을 활용하여 면역강화 관련 특허를 다수 출원함

표 7. 주요 특허 출원인/기관

출원인/기관	출원건수	주요출원버섯	주요 기술 내용
Kobayashi Pharmaceutica	30	표고	버섯 추출물을 이용한 간장병 치료/면역강화제
Kureha Chemical Industry	26	송이	추출물을 활용한 면역강화 제품 개발
Zhao Wei	14	느타리	대와 화분을 이용한 버섯 재배방법
장흥군버섯산업연구원	14	표고	표고버섯을 함유하는 화장료 및 기타 조성물
Ajinomoto Co., Inc.	11	표고	면역강화제
Beijing Yujiaming Tri-State Ion Research Institute	11	느타리	유기질이 풍부한 향암 느타리버섯 재배방법
Sylvan America, Inc.	7	양송이	신품종개발(RWK1913, J10165, J9277 등)
C.T.C. Centre Technique du Champignon et Institut	6	양송이	새로운 잡종의 품종개발
Life Science Laboratories Co., Ltd.	4	송이	추출물을 활용한 제약

- 양송이버섯의 주요 출원기관으로는 Sylvan America Inc.가 있으며, 신품종개발

연구를 진행하였음

표 8. 양송이버섯 주요 출원인/기관

기술	출원인/기관	출원 건수	주요내용
품종개발	Sylvan America, Inc.	7	신품종개발(RWK1913, J10165, J9277 등)
	C.T.C. Centre Technique du Champignon et Institut	6	새로운 잡종의 품종개발
재배방법	CJ Cheiljedang Corp	4	버섯과 균사체 재배방법
	AMYCEL, INC.	4	갈색버섯 생산방법
저장·유통 ·관리	Zhejiang Academy of Agricultural Science	2	신선하게 유지 및 저장방법
	AMYCEL, INC.	1	저장 시스템
가공 및 기능성	British Technology Group Limited	5	추출물을 활용한 피부병 치료제
	Ricom Corporation	4	추출물을 활용한 방취제

5) 특허로드맵

□ 특허로드맵을 분석해보면 산화베이스, 라카아제 등 기능성 관련 특허들이 집중 출원되었으며, 의약 관련 연구들도 진행되었음

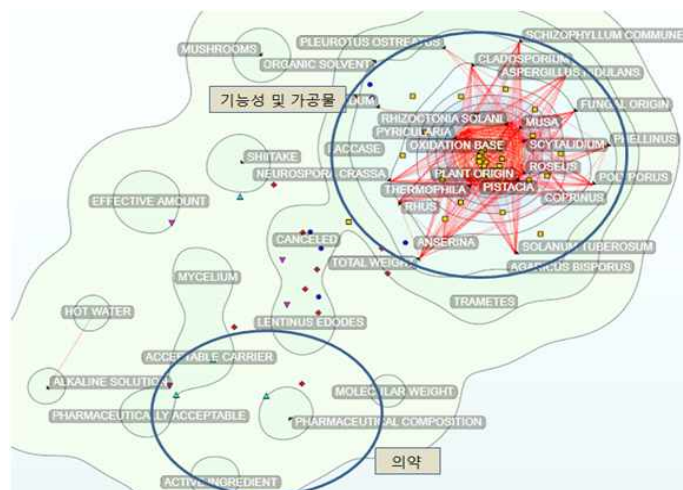


그림 6. 버섯 특허로드맵

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부.해양수산부.농촌진흥청.산림청에서 시행한 골드씨드프로젝트 원예종자사업의 수입대체형 양송이 품종개발의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부.해양수산부.농촌진흥청.산림청에서 시행한 골드씨드프로젝트 원예종자사업의 수입대체형 양송이 품종개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.