



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년11월03일
(11) 등록번호 10-1455702
(24) 등록일자 2014년10월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/14 (2006.01) A01G 1/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0033915
(22) 출원일자 2013년03월28일
심사청구일자 2013년03월28일
(65) 공개번호 10-2014-0118291
(43) 공개일자 2014년10월08일
(56) 선행기술조사문헌
KR100954964 B1
KR1020120131064 A
KR100403411 B1
KR1020110058634 A

(73) 특허권자
권경열
충청남도 천안시 동남구 풍세면 금호1길 100
(72) 발명자
권경열
충청남도 천안시 동남구 풍세면 금호1길 100
이성진
충청남도 천안시 동남구 일봉로 20, 206동 1404
호(신방동, 성지새마을아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인아이엠

전체 청구항 수 : 총 10 항

심사관 : 조현경

(54) 발명의 명칭 아위느타리버섯 신균주 P49AB64

(57) 요약

본 발명은 아위느타리버섯에 대한 것으로, 보다 구체적으로는 종래 알려진 아위느타리버섯 균주들을 선발한 후 선발된 균주와 아위느타리버섯 균주 DDL01(기탁번호 : KACC93085P)를 교배 육종하여 얻어진 DDL01(KACC93085P)의 계통을 이은 아위느타리버섯 신균주 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체에 관한 것이다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

정육진

충청남도 천안시 서북구 월봉4로 120-16, 506동
601호(쌍용동, 월봉일성아파트)

박기문

경기도 안양시 동안구 동안로 283, 17동 1302호(비
산동, 뉴타운삼호아파트)

특허청구의 범위

청구항 1

신균주 아위느타리버섯 P49AB64(기탁번호 : KACC93173P).

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 신균주는 아위느타리버섯 균주 DDL01(기탁번호 : KACC93085P)의 자실체에서 분리한 단포자와 아위느타리버섯 균주 DDL01을 제외한 다른 아위느타리버섯 균주의 자실체에서 분리한 단포자를 교배하여 얻어진 것을 특징으로 하는 신균주 아위느타리버섯 P49AB64.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 신균주를 일정 간격을 두고 배지 상에 각각 접종하여 대치배양하면 대치선이 형성되지 않는 것을 특징으로 하는 신균주 아위느타리버섯 P49AB64.

청구항 4

제 1 항의 신균주로 형성된 아위느타리버섯 자실체.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 자실체는 대의 굵기가 아위느타리버섯 DDL01의 자실체의 대보다 2배 내지 5배 굵고 갓으로부터 대의 일정 부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 것을 특징으로 하는 아위느타리버섯 자실체.

청구항 6

제 4 항의 아위느타리버섯 자실체로부터 얻어지는 포자.

청구항 7

제 6 항의 포자간에 이루어지는 단포자 교배 또는 제 6 항의 포자와 제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자모간 다이-모노 교배로 얻어진 것을 특징으로 하는 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 신균주 아위느타리버섯 P49AB64와 일정 간격을 두고 배지 상에 각각 접종하여 대치배양 하였을 때 대치선이 형성되지 않는 것을 특징으로 하는 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주.

청구항 9

제 7 항의 균주로 형성된 아위느타리버섯 자실체.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 자실체는 갓으로부터 대의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 것을 특징으로 하는 아위느타리버섯 자실체.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 아위느타리버섯에 대한 것으로, 보다 구체적으로는 종래 알려진 아위느타리버섯 균주들을 선발한 후 선발된 균주와 아위느타리버섯 균주 DDL01(기탁번호 : KACC93085P)를 교배 육종하여 얻어진 DDL01(KACC93085P)의 계통을 이은 아위느타리버섯 신품종 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 아위느타리버섯은 큰느타리버섯의 변종(Pleurotus eryngii var. ferulae) 또는 담자균류의 느타리버섯과(pleurotaceae) 느타리버섯속(pleurotus)의 독립된 종(Pleurotus ferulae)으로 분류 체계상 논란이 되고 있는 종으로서, 건조지대인 중국 신장지방의 아위나무에서 야생되기 때문에 아위느타리라고 불리게 되었다.

[0003] 아위느타리버섯은 1958년부터 인도, 프랑스, 독일 등에서 인공재배에 대한 연구가 시작되었고, 1958년 Kalmer가 처음으로 인공재배에 성공하였으며, 1983년 중국에서 톱밥, 면실피, 밀기울을 섞어 인공재배에 성공하였으며 1990년에는 단포자 교잡으로 우수한 균주를 확보하여 복건성, 신강성, 등지에서 광범위하게 사용되고 있으며(이동희, 2005), 세계적으로 연간 1,000톤 정도로 소량 생산되고 있는 버섯이다(홍기형, 2004).

[0004] 아위느타리버섯 자실체의 형태적 특성을 살펴보면, 갓은 크기가 15-100mm, 최적은 20-50mm이며 초기에는 반구형이고, 갓 끝은 안쪽으로 굽어 있으며, 성장하면 반반구형, 중고편평형 또는 편평하게 퍼진다. 최적은 반구형이다. 표면은 평활하다. 어린 시기에는 갈회색(5D2, brownish grey, Methuen Handbook of Color)을 띠고, 성장하면 회황색(5B3, greyish orange)을 띤다. 습할 때 흡습성이나 건조하면 건변색현상이 일어난다. 조직은 부드럽고 탄력성이 있는 육질형이며, 유백색이다. 맛은 달며, 사탕수수의 향과 유사한 향이 있다. 특히 씹을 때 아삭거리는 감촉이 매우 좋다. 주름살은 대에 내린주름살이고, 15-35× 1-3mm이며, 4-가지형이고, 다소 뾰뾰하다. 초기에는 유백색이나 성장하면 황백색(4A2, yellowish white)을 띤다. 주름살날은 평활하다. 대는 크기가 50-150 × 15-35mm로 최적은 15-40 × 70-90mm의 원통형이고, 기부쪽이 다소 굽거나 팽대해있다. 표면은 유백색을 띠며, 표면은 평활하다. 대 속은 차 있다. 대의 중방향으로는 매우 견고하고, 횡방향으로는 얇게 찢어진다. 포자의 색은 흰색이다. 포자는 크기가 5-6 X 7-9μm로 원통형이다. 담자기는 크기가 24-39× 5-7μm로 긴 곤봉형이며, 대부분 4-포자형이며, 기부에 클램프가 있다. 날시스티디아 크기가 25-35× 5-8μm로 곤봉형, 방추형, 곤봉상방추형이며, 일반적으로 정단부에 1-3개의 뾰족한 돌기가 있고, 세포벽은 얇으며, 무색이다. 측시스티디아는 없다. 자실층조직은 평행균사형-혼선형으로 제1균사조직형이며 균사의 격막에 클램프가 있다

[0005] 이러한 형태적 특성을 가진 아위느타리버섯은 다른 버섯에 비하여 형태가 우수하고 향미가 풍부하여 식용가치가 높으면서, 항종양, 혈당강화 작용을 하는 것으로 알려져 있다(홍 등 2004). 또한 위와 신장 장애 및 기침을 멎게 하고 염증을 제거하여 산부인과 종류의 병을 방제하는 의약적 효능이 알려져 있으며(김대식, 2002), 이외에도식이섬유, 아미노산 및 기타 비타민 등을 다량함유하고 있어 건강식품 및 기능성 약용버섯으로서의 가치가 높다. 최근에 일본에서는 식용버섯으로 인기가 높아 생산이 급속히 증가되고 있으며, 우리나라에서는 2001년부터 꾸준히 연구되어 왔으나 상업화되지 못하다가 본 출원인에 의해 2009년 말에 개발된 아위느타리버섯 DDL01

(기탁번호 : KACC93085P)이 현재 상업화 되어 판매되고 있는 상황이다.

[0006] 아위느타리버섯 DDL01(기탁번호 : KACC93085P)은 재배기간이 짧고, 맛과 형태가 우수하여 상품성이 높으며 병재 배가 가능하여 상품화된 후 국내뿐만 아니라 일본, 미국 등에 수출하고 있는 상황이다.

[0007] 그런데, 미국수요자들이 자실체의 갓 표면 색깔이 백색에 가까울수록 호감을 보이고 있어, 세계 최대의 소비자인 미국에서 아위느타리버섯 DDL01 보다 더 높은 부가가치를 창출하기 위해서는 갓의 색택이나 다른 형태적 특징 등에서 새롭게 개량된 균주가 개발될 필요가 있었다. 또한 도 1에 도시된 바와 같이 상업화된 아위느타리버섯(*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) DDL01(KACC93085P) 균주가 재배된 자실체 사진에서 알 수 있듯이 아위느타리버섯 DDL01은 형태적으로 대가 굵지 않아 적어도 4개 내지 5개 정도를 발이 시킬 수 있다. 이와 같이 아위느타리버섯 DDL01은 대가 굵지 않으므로 구이용으로 적합하지 않게 되어 버섯의 조리법 중 구워서 먹는데 사용되기 어려운 문제점이 있었다.

[0008] 따라서, 아위느타리버섯 DDL01 보다 더 높은 부가가치를 창출하기 위해서 자실체의 갓 표면 색깔이 백색에 가까울 뿐만 아니라 구이용으로 적합하도록 형태적 특징 등에서 새롭게 개량된 균주가 개발될 필요가 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 이러한 문제점을 해결하기 위하여 연구 노력한 결과 자실체의 갓 표면 색깔이 백색에 가까울 뿐만 아니라 구이용으로 적합한 DDL01(KACC93085P) 균주의 계통을 이은 아위느타리버섯 균주의 육종에 성공함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 버섯 자루 즉 대가 아위느타리버섯 DDL01 보다 2배 이상 굵어 구이용으로 적합하고 자실체 갓 표면 색택이 보다 미백색이며 갓에서 자루의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 형태적 특성을 가진 DDL01(KACC93085P) 균주의 계통을 이은 아위느타리버섯 신균주 P49AB64(기탁번호 : KACC93173P) 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 신균주 P49AB64의 자간 단포자 교배를 통해 얻어져 상기 신균주 P49AB64와 일정간격을 두고 배지 상에서 대치배양 하였을 때 대치선이 형성되지 않는 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 목적들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상술된 본 발명의 목적을 달성하기 위해, 먼저, 본 발명은 신균주 아위느타리버섯 P49AB64(기탁번호 : KACC93173P)를 제공한다. 상기 균주는 2013년 3월 26일자로 한국미생물보존센터에기탁되었다(수탁번호 : KACC93173P).

[0014] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 신균주는 아위느타리버섯 균주 DDL01(기탁번호 : KACC93085P)의 자실체에서 분리한 단포자와 아위느타리버섯 균주 DDL01을 제외한 다른 아위느타리버섯 균주의 자실체에서 분리한 단포자를 교배하여 얻어진 다.

[0015] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 신균주를 일정 간격을 두고 배지 상에 각각 접종하여 대치배양하면 대치선이 형성되지 않는다.

[0016] 바람직한 실시예에 있어서, 상술된 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 군사 배양물 또는 이로부터 발육된 균주의 체세포 계대배양물의 단일-포자배양법 또는 다중-포자배양법에 의한 증식 또는 체세포 선별에 의해 생산된다.

[0017] 또한, 본 발명은 상술된 어느 하나의 균주로 형성된 아위느타리버섯 자실체를 제공한다.

[0018] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 자실체는 대의 굵기가 아위느타리버섯 DDL01의 자실체의 대보다 2배 내지 5배 굵고 갓으로부터 대의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성된다.

- [0019] 또한, 본 발명은 상술된 아위느타리버섯 자실체로부터 얻어지는 포자를 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 상술된 포자간에 이루어지는 단포자 교배 또는 상술된 포자와 상술된 어느 하나의 신규주 아위느타리버섯 P49AB64의 자모간 다이-모노 교배로 얻어진 것을 특징으로 하는 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주를 제공한다.
- [0021] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 신규주 아위느타리버섯 P49AB64와 일정 간격을 두고 배지 상에 각각 접종하여 대치배양 하였을 때 대치선이 형성되지 않는다.
- [0022] 또한, 본 발명은 상술된 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주로 형성된 아위느타리버섯 자실체를 제공한다.
- [0023] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 자실체는 갓으로부터 대의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성된다.
- [0024]

발명의 효과

- [0025] 본 발명은 다음과 같은 우수한 효과를 갖는다.
- [0026] 즉, 본 발명에 의하면 상업화된 DDL01(KACC93085P) 균주보다 수요자들의 호감을 이끌어낼 수 있는 형태적 특성을 가진 DDL01(KACC93085P) 균주의 계통을 이은 아위느타리버섯 신규주 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체를 제공할 수 있다.
- [0027] 또한, 본 발명의 아위느타리버섯 신규주 및 자실체는 버섯 자루 즉 대가 아위느타리버섯 DDL01 보다 2배 이상 굵어 구이용으로 적합하고 자실체 갓 표면 색택이 보다 미백색이며 갓에서 자루의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 형태적 특성을 가지므로 품질 및 상품성이 우수하다.
- [0028] 또한, 본 발명은 신규주 P49AB64의 자간 단포자 교배를 통해 얻어져 상기 신규주 P49AB64와 일정간격을 두고 배지 상에서 대치배양 하였을 때 대치선이 형성되지 않는 P49AB64계열의 아위느타리버섯 균주 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1은 상업화된 아위느타리버섯(*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) DDL01(KACC93085P) 균주가 재배된 자실체 사진이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 아위느타리버섯 신규주 P49AB64(수탁번호 : KACC93173P)가 재배된 자실체 사진이다.
- 도 3은 본 발명에 따른 아위느타리버섯 신규주 P49AB64(수탁번호 : KACC93173P)의 계통관계를 UPGMA 방법으로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 본 발명에서 사용되는 용어는 가능한 현재 널리 사용되는 일반적인 용어를 선택하였으나, 특정한 경우는 출원인이 임의로 선정한 용어도 있는데 이 경우에는 단순한 용어의 명칭이 아닌 발명의 상세한 설명 부분에 기재되거나 사용된 의미를 고려하여 그 의미가 파악되어야 할 것이다.
- [0031] 이하, 첨부한 도면 및 바람직한 실시예들을 참조하여 본 발명의 기술적 구성을 상세하게 설명한다.
- [0032] 그러나, 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화 될 수도 있다. 명세서 전체에 걸쳐 본 발명을 설명하기 위해 사용되는 동일한 참조번호는 동일한 구성요소를 나타낸다.
- [0033] 본 발명의 기술적 특징은 상업화된 아위느타리버섯 DDL01과 비교하여 자실체의 갓 표면 색깔이 백색에 가까울 뿐만 아니라 대의 굵기 또한 아위느타리버섯DDL01보다 두껍게 형성되도록 하여 구이용으로 적합한 형태적 특성을 갖도록 교배 육종된 DDL01 (KACC93085P) 균주의 계통을 이은 아위느타리버섯 신규주 및 그 균주의 재배를 통해 얻어지는 자실체에 있다.
- [0034] 그 결과, 본 발명에 의한 아위느타리버섯 신규주로부터 형성된 자실체는 상업화된 아위느타리버섯 DDL01과 비교하여 2배 이상 많게는 5배까지 대의 굵기가 굵고 버섯 갓의 색택이 보다 미백색이며 특히 갓으로부터 대의 일정

부분까지 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 형태적 특성을 가지게 된다.

[0035] 본 발명에 따른 아위느타리버섯 신규주는 종래 알려진 아위느타리버섯 균주들 중에서도 농업회사법인주식회사 뜰아채 부설연구소의 보존균주 중 DDL01 (KACC93085P)의 단포자 P7330W과 시험재배를 통해 DAC7421를 선발하였고, 이하의 실험에서 교배육종의 모본 균주로 사용하였다.

[0036] 실시예 1. 아위느타리버섯 신규주 P49AB64의 육종

[0037] 본 발명을 위해 농업회사법인주식회사 뜰아채 부설연구소의 보존균주 중 DDL01(KACC93085P)의 단포자 P7330W와 DAC7421를 모균주로 사용했다.

[0038] (1) 단포자의 분리

[0039] 낙하법에 의해 아위느타리버섯 균주 DDL01, DAC7421의 버섯 자루 부위가 제거된 갓 부위를 버섯의 주름살이 밀으므로 향하게 하여 페트리접시에 올려놓고 24시간 경과된 후에 갓을 제거하고 페트리접시 위에 떨어진 버섯의 포자들을 멸균수를 통해 적당한 농도로 희석하여 감자 한천배지에 도말하여 25℃에서 배양하였다. 배양 7일 이후부터 발아하는 1차 균사를 이쑤시개를 통해 순수분리하고 각각의 1차 균사는 다시 감자 한천배지에 접종하였다. 접종된 감자 한천배지는 25℃에서 14일간 배양한 뒤 각각의 균사를 일부 떼어내어 현미경을 통해 클램프의 유무를 확인하고 클램프가 보이지 않는 균사만을 10% 글리세롤 용액에 넣고 냉장보관하며 시험에 사용하였다.

[0040] (2) 교배

[0041] 순수 분리되어 냉장보관중인 서로 다른 각각의 아위느타리버섯 균주의 단포자(일핵)균사와 단포자(일핵)균사의 교배와 단포자(일핵)균사와 모균의 균사(이핵)의 교배방법을 수행하였다. 각각 감자한천배지에 접종하고 25℃에서 14일간 배양한 뒤 생육이 좋고 균사체량이 많은 것만을 선발하여 교배 육종에 사용하였다. 감자한천 배지에 자란 균사체를 1cm 원형의 크기로 잘라 떼어낸 균사체 블록을 각각 1개씩 새로운 감자한천배지 페트리접시에 3cm 간격을 두고 대치하여 교배 육종을 수행하였다. 접종된 감자한천배지 페트리접시를 25℃ 항온기에서 21~28일간 배양한 뒤 균사를 떼어내어 현미경으로 관찰해 단핵의 균사체 블록쪽에서 클램프가 형성된 균주만을 선발하였다.

[0042] (3) 교배주의 재배시험

[0043] 콘콕 : 밀기울을 8:2의 비율로 혼합해 수분을 65%로 조정하여 850cc 버섯재배용 병에 580g씩 입병한 후 2cm의 봉으로 가운데 위에 밀부분까지 타공하여 121℃에서 60분간 멸균하였다. 멸균한 후 20℃ 까지 냉각한 후 상기 선발된 균주를 접종하고 24℃에서 30일간 암흑상태에서 배양하였다. 배양 완료 후 균긋기 작업을 행한 후 14~18℃, 습도 80~95%, 조도 100~200룩스에서 발이 및 생육 등의 재배시험을 실시하였다.

[0044] (4) 신규 교배주인 아위느타리버섯 신규주 P49AB64의 선발

[0045] 단포자 교배를 통해 얻어진 교배주들을 시험재배하고, 스크리닝하여 자실체 갓의 색택을 미백색으로 유도하는 특징을 지닌 DDL01(KACC93085P)의 단포자 P7330W를 DAC7421균주의 단포자들과 교배하여 균사 생장 및 재배에서 우수한 교배주를 선발하여 P49AB64로 명명하여, 2013년 3월 26일자로 한국미생물보존센터에 기탁하였다.(수탁번호 : KACC93173P).

[0046] 실험예 1. 신규 교배주 P49AB64의 균학적 특성

[0047] 실시예에서 얻어진 신규 교배 균 P49AB64주의 균학적 특성을 다음과 같이 조사하였다.

[0048] 1) 포테이토 텍스트로스 한천(PDA)배지에서의 생육 상태 (25℃):7일째의 콜로니 직경은 42.0mm. 균사는 흰색으로 뽁뽁하며, 기중 균사의 양은 보통, 직선적으로 자란다.

[0049] 2) 머쉬룸 콤플레트 한천(MCM)배지에서의 생육 상태 (25℃):7일째의 콜로니 직경은 45.2mm. 균사는 흰색으로

뽁뽁하며, 기중 균사의 양은 보통, 직선적으로 자란다.

- [0050] 3) 마이크로지결한천(MA)배지에서의 생육 상태 (25℃):7일째의 콜로니 직경은43.0mm 균사는 흰색으로 뽁뽁하며, 기중 균사의 양은 보통, 직선적으로 자란다.
- [0051] 4) 콘밀한천(CMA)배지에서의 생육 상태 (25℃):7일째의 콜로니 직경은 37.5mm균사는 흰색으로 매우 희박하고, 기중 균사의 양은 매우 적음, 직선적으로 자란다.
- [0052] 5) 사브로우드 텍스트로스 한천(SDA)배지에서의 생육 상태 (25℃):7일째의 콜로니 직경은 35.5mm. 균사는 흰색으로 뽁뽁하며, 후기에 균사체의 색택이 부분적으로 붉은노랑을 띄며, 기중 균사의 양은 보통, 직선적으로 자란다.
- [0053] 6) 균사생육최적온도:PDA 배지상에 직경 5mm의 종균을 접종해, 각 온도대에서 각각 배양 짓고, 7일 뒤에 각 콜로니 경을 측정했더니, 균사신장의 최적온도는 26℃ 부근이었다.
- [0054] 7) 균사생육최적 pH:글루코스-펩톤-이스트 익스트랙트 액체 배지 25ml씩을 멸균 후, 각 pH에 조정해, 종균을 접종 후, 25℃으로12일간(에) 정치배양 한 뒤, 건조균체중량을 측정했더니, 균사생육최적 pH은 6.0 ~ 6.5 부근이었다.

[0055] 실험예 2. 신규 교배주 P49AB64의 유전적 특성

[0056] 실시예에서 얻어진 균주의 유전적 특성을 조사하기 위해 양 균사가 갖고 있는 성인자가 다르면, 그 균사는 서로 다른 균사다라고 하는 균류 분류학적 사실에 입각해, 양친주 및 근연종과의 한천배지상에서의 대치배양에 의해 성인자의 동이판정을 수행하였다. 포테이토 텍스트로스 한천배지상에 3센치의 간격을 두고 서로 대치하여 각각 균주를 접종해 25℃로 14~21일간 배양한 뒤 양 콜로니 경계부에 대선이 생길지 아닐지를 판정했고(대선형성은 +, 형성하지 않는 것은 -로 표시), 그 결과를 표 1에 나타내었다.

[0057] 여기서, P49AB64를 모균으로 하는 자균1 및 자균2(자균1 및 자균2)는 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자실체로부터 얻어진 포자간에 이루어지는 단포자 교배로 얻어진 균주들이고, P49AB64를 모균으로 하는 자균3(자균3)은 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자실체로부터 얻어진 포자와 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자모간 대이-모노 교배로 얻어진 균주이다.

표 1

Strains	P49AB64	자균1	자균2	자균3
P.nebrodensis(중국)	+	+	+	+
P.nebrodensis(황후버섯)	+	+	+	+
P.ferulae var.fuscus(KCTC 26065)	+	+	+	+
P.eryngii(재배종)	+	+	+	+
P.ferulae(중국)	+	+	+	+
P.eryngii var.ferulae(DAC 7322)	+	+	+	+
P.eryngii var.ferulae(DAC 7421)	+	+	+	+
P.eryngii var.ferulae(DDL01)	+	+	+	+
P48-24s	+	+	+	+
P49AB64	-	-	-	-
P49AB64를 모균으로 하는 자균1	-	-	-	-
P49AB64를 모균으로 하는 자균2	-	-	-	-
P49AB64를 모균으로 하는 자균3	-	-	-	-

[0059] 실험예 3. 신규 교배주인 P49AB64의 분자생물학적 동정

[0060] (1) ITS지역(region)의 염기서열 결정

[0061] 배양체로부터 비드 비팅(bead beating) 방법을 이용하여 DNA를 추출하였고 내부 전사되는 ITS(Internal transcribed spacer)를 PCR(polymerase chain reaction)증폭하기 위하여 ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG; 서열번호 1) / ITS4 (TCCTCCGTTATTGATATGC; 서열번호 2)의 프라이머 세트를 각각 이용하여 증폭한 후 정제를 통해 (주)MacroGen에 시퀀싱을 의뢰하여 염기서열을 결정하였다(서열번호 3).

- [0062] >49AB64
- [0063] TGGGAAGGATCATTAATGAATTCACATATGGAGTTGTTGCTGGCCTCTAGGGGCATGTGCACGCTTCACTAGTCTTTCAACCACTTGTGAACCTTTTGATAGATCTGTGAAGTCGTCTCTCAAGTCGTTAGACTTGGTTTCTGGGATGTAACGCTCTCGGTGTGACTACGCAGTCTATTTACTTATAACACCCCAATGTATGCTACGAATGTCAATTTAAAGGGCCTTGTGCCTATAAACATAATAACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGTGTCATTAAATCTCAAACCTCACTCTGGTTTTCCAATTGTGATGTTGGATTGTTGGGGCTGCTGGCCTTGACAGGTCGGCTCCTCTAAATGCATTAGCAGGACTTCTCATTGCCCTCTGCGCATGATGTGATAATTATCACTCATCAATAGCACGCATGAATAGAGTCTGGCTCTCTAACCGTCCGAAGGACAATTTGACAATTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCGCTGAACCTTAAG
- [0064] (2) 유전적 특성 분석
- [0065] 염기서열이 결정된 두 유전자 부분을 수정을 거쳐 유전자은행의 BLAST 서치를 통해 가장 유사한 균주의 염기서열들을 얻은 후, 좀 더 정확한 유전적 분석을 시도하였다.
- [0066] ClustalW2(Multiple Sequence Alignment)를 이용하여 모든 염기서열을 정렬하였고, 이를 토대로 MrBayes version 3.1 program을 이용하여 Bayesian MCMC run으로 진화학적 거리를 계산하고, maximum likelihood 방법으로 분자진화학적 관계를 도 3에 나타내었다. 이때 boot-strapping 값은 1000으로 사용하였다. 이를 토대로 이들의 유사성 및 최종 동정을 하였다. 그 결과 느타리버섯속의 프레오로투스 에링기 버라이어티 페룰라에 (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) 버섯으로 동정되었다.
- [0067] 실험예 4. 신규 교배주인 P49AB64의 재배
- [0068] 1. 배지조제
- [0069] 배지재료는, 콘콕 : 밀기울 = 8 : 2(용적비, 40-50g/850cc 병이 표준)으로 혼합해 사용하였다. 교반 혼합하여 최종 배지 함수율이 68~70%가 되도록 조정하였다.
- [0070] 2. 충전
- [0071] 배지의 충전량은 850cc 빈병에 480-520g(내용량)이 되도록 충전하였다.
- [0072] 3. 살균
- [0073] 고압살균은 배지내 온도가 120℃에 달하고 나서 60분간(유효살균시간) 실시하며, 살균술 온도를 표준으로 할 경우에는, 90분간 (850cc 병) 실시한다.
- [0074] 4. 방냉
- [0075] 청결한 환경 하에서 배지온도가 20℃ 이하가 될 때까지 냉각하였다.
- [0076] 5. 접종
- [0077] 종균의 접종량은 1병당 15cc 정도를 표준으로 접종하였다.
- [0078] 6. 배양관리
- [0079] 온도는 18℃으로 25일간 관리하고, 이에 계속하여 23℃으로 8~10일간의 배양숙성 관리하였다. 습도는 전기배양은 60~70%, 후기배양은 70~80%으로 관리하였으며, 이산화탄소 농도는 3,000ppm 이하로 관리하였다. 조도는 암흑 배양으로 관리하고, 기간은 30일간 배양한다.
- [0080] 7. 균긋기
- [0081] 발아 수를 억제하는 목적으로 15~20mm 균긋기를 실시하였다.
- [0082] 8. 발이관리
- [0083] 온도는 14-15℃으로 관리하고, 전기발이의 습도는 90-95%으로 3-5일간, 후기발이는 70~80%으로 3-5일간 관리하였다. 이산화탄소 농도는 1,000ppm 이하로 관리하며, 조도는 낮에만 전등관리로 하였다. 5-8일 간, 물구나무서기상태로 관리하였다. 후기발이에서 15mm 정도의 어린버섯의 원기가 형성되면 바로 물구나무서기상태에서 정립상태로 뒤집어 생육관리를 하였다.

- [0084] 9. 생육관리
- [0085] 재배병 입구 표면에 형성된 어린버섯들의 크기를 동조화하기 위해서 온도는 13-14℃으로 관리해 16℃ 이상으로 는 올라가지 않도록 하였다. 최초의 3일간을 15℃으로 관리하였다. 습도는 70-95%으로 관리해 건 /습의 습도교 차를 크게 벌여 관리하였다. 발아 확인 후에 정립상태로 되돌려 5-8일간 관리하였다. 정립에 되돌린 직후는 생 육 초기에 저온관리로 제습에 의한 습도조건에 주의하여 관리한다.
- [0086] 10. 수확
- [0087] 버섯 갓이 둥그스름한 모양이 남아있는 상품의 상태에서 수확하였다.
- [0088] 실시예에서 얻어진 아위느타리버섯 신균주 P49AB64를 상술된 바와 같이 재배하여 수확한 결과, 도 2에 도시된 사진과 같이 아위느타리버섯 DDL01(KACC93085P)의 계통을 유지하지만 아위느타리버섯 DDL01과 비교하여 2배 이 상 대의 굽기가 굽고 버섯 갓의 색택이 보다 미백색이며 특히 갓으로부터 대의 일정부분까지 물결모양의 유선형 주름살이 형성되는 형태적 특성을 갖는 것을 알 수 있다.
- [0089] 또한, 체세포 및 조직 배양 선별, 담자 포자 선별 및 *Pleurotus eryngii* var. *eryngii*, *Pleurotus eryngii* var. *ferulae*, *Pleurotus eryngii* var. *nebrodensis*와의 혼성화를 포함하는 다양한 수단에 의해, P49AB64로부 터 다양한 균주들이 개발될 수 있으며, 제조된 하이브리드 균주들은 시장에서 요구되는 상업적인 특성에 대해 스크리닝될 수 있다.
- [0090] 예를 들어, 다양한 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주가 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 군사 배양물 또는 이로부터 발육된 균주의 체세포 계대배양물의 단일-포자배양법 또는 다중-포자배양법에 의한 증식 또는 체세포 선별에 의해 생산될 수 있다.
- [0091] 특히, 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자실체로부터 얻어진 포자간에 이루어지는 단포자 교배 또는 상기 포자 와 신균주 아위느타리버섯 P49AB64의 자모간 다이-모노 교배로 얻어진 P49AB64 계열의 아위느타리버섯 균주는 실험예 2에서 알 수 있듯이 신균주 아위느타리버섯 P49AB64과 유전적 특성이 유사하며, 자실체의 형태적 특성 또한 갓으로부터 대의 일정부분까지 물결모양의 유선형주름살이 많거나 적은 차이 및/또는 길거나 짧은 차이는 있으나 물결모양의 유선형주름살이 형성되는 점에서 유사하다.
- [0092] 본 발명은 이상에서 살펴본 바와 같이 바람직한 실시 예를 들어 도시하고 설명하였으나, 상기한 실시 예에 한정 되지 아니하며 본 발명의 정신을 벗어나지 않는 범위 내에서 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 변경과 수정이 가능할 것이다.

수탁번호

[0093]

기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC93173

수탁일자 : 20130326

도면

도면1



도면2



도면3

