

URP-PCR 다형성에 의한 국내 느타리버섯 품종의 유전적 특성 분석

김종균¹ · 임선화¹ · 이대성¹ · 지정현² · 서건식³ · 주영철² · 강희완^{1*}

¹한경대학교 생물환경 정보통신전문대학원, ²경기도농업기술원 버섯연구소, ³한국농업대학

Genetic Analysis of Cultivars in *Pleurotus* spp. of Korea by URP-PCR Polymorphism

Jongkun Kim¹, Seonhwa Lim¹, Daesung Lee¹, Jeonghyun Chi², Youngechol Ju²,
Geonsik Seo³ and Heewan Kang^{1*}

¹Graduate School of Biotechnology and Information Technology, Hankyong National University, Ansung 456-749, Korea

²Mushroom Research Institute, Gyonggi Province ARES, 464-870, Korea

³Korea National Agricultural College, Hwasung, Kyonggi 445-893, Korea

(Received July 23, 2007)

ABSTRACT: Twelve URP primers were used to assess genetic characteristics of oyster mushroom including 59 *Pleurotus ostreatus* cultivars, two of *P. florida* cultivars, one *P. sajor-caju* cultivars, one *P. abalonus* cultivar and two *P. eryngii* cultivars registered in Korea. Six URP primers produced PCR polymorphic bands within and between the *Pleurotus* species. Primer URP2F produced distinct cultivar specific PCR polymorphic bands that profiled to 15 cultivar types. PCR polymorphic bands amplified by URP2F, URP6R, URP4R and URP2R were used for UPGMA cluster analysis. Fifty nine cultivars of *Pleurotus ostreatus* are genetically clustered into 5 groups, showing genetic similarity over 70% among them and *P. abalonus*, *P. eryngii* and *P. sajor-caju*, were involved in outside groups.

KEYWORDS: Genetic similarity, *Pleurotus* cultivars, URP-PCR polymorphism

느타리버섯은 분류학상 Basidiomycetidae 아강, Agaricales 목, Tricholomataceae 과, *Pleurotus* 속에 속하며 30개 이상의 종이 분포하고 있다(Eger *et al.*, 1979). 느타리버섯은 맛과 향취가 뛰어나 한국인의 기호에 알맞은 식용버섯으로 국내 전체 버섯 생산량의 60% 이상을 차지하고 있다. 우리나라에서 국가기관이 주도하여 느타리버섯의 종, 속간의 교배, 원형질체융합 및 우수도입품종 선발 등으로 품종이 육성되어 느타리버섯(*P. ostreatus*) 10품종, 사철느타리(*P. florida*) 2품종, 여름느타리(*P. sajor-caju*) 2품종 등 형태적, 재배적 특성이 다른 13개 품종이 보급된 바 있다. 그러나 2000년도부터 품종등록제에서 품종신고제가 되면서 민간업체에서 자체 품종을 육성 보급할 수 있게 됨에 따라 급속히 등록품종이 증가되어 현재까지 77품종의 느타리버섯이 등록되었으며, 76%인 56품종이 민간업체에서 품종등록이 이루어지고 있다. 등록품종은 품종의 유전적 특성 등을 고려한 기초 자료가 없으며 실증검정의 data 제시가 미흡하여 품종의 정체성이 모호하고 동일 품종 내에서의 선발 방법, 외국 도입품종의 선발 등에 의한 품종육성이 예상되어 체계적인 느타리 품종의 특성 정립이 절실히 요구되고 있다. 특히, 국제식물신품종보호동맹

(UPOV)이 발동됨으로 외국에서는 품종의 지적 재산권 권리 수호를 위한 로열티 요구 등 제재가 예상되고 있어 국내 등록품종의 유전적 특성을 조사하여 이를 바탕으로 우리 고유 품종의 특성을 보호하고 품종 육성을 위한 기초 자료로 이용하기 위하여 정확한 품종구분법이 요구되고 있다.

느타리버섯은 습도, 온도, 광, 영양원 등의 환경조건에 따라 자실체의 모양, 색깔 등에 변이가 발생하기 쉬운 형태적 방법에 의한 품종 식별에 문제점이 있다. 따라서 지방산 및 동위효소 분석 등의 이화학적 분석방법이 검정 지표로 이용되었으나(이 등, 1998), 환경과 생육단계 등의 영향으로 변이가 발생하기 쉽고, 노력, 비용, 시간이 많이 소요되며 분석하고자 하는 표지의 한계성으로 인하여 세분화된 종내의 계통 또는 품종 검정에 문제점이 있다.

분자생물학적기법의 발달로 핵산지문법(DNA fingerprinting)이 개발되어 환경적 영향을 배제하고 genome 상에 나타나는 변이를 효율적으로 검출할 수 있어 미생물의 종 다양성 검정에 획기적인 전기를 마련하였다. 특히, 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)법은 적은 노력과 비용으로 다량의 샘플을 신속, 간단하게 분석할 수 있는 것이 특징이다(Caetano and Gresshoff, 1997). rDNA의 ITS 및 IGR영역을 이용한 DNA 다형성 분석이

*Corresponding author <E-mail: kanghw2@hknu.ac.kr>

진균류와 버섯류의 종내 계통 발생학적 유연관계에 널리 이용되고 있으나 종내의 품종분류에는 한계점이 있다 (Vilgalys and Sun, 1994). *Pleurotus*속의 유전적 특성이 rDNA의 ITS 및 IGR 영역분석과 RAPD법(random amplified polymorphic DNA; Welsh and McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990)이 적용되어 느타리 종간 또는 종내 계통/품종 간 특이적 DNA 다형성을 검출하는데 이용한 바 있으나 품종간의 특이 구분에는 문제점이 있는 것으로 나타났다(배 등, 1996; 김 등, 1998). 최근에는 다양한 생물종에 적용할 수 있는 URP primer가 버섯 반복배열로부터 개발되어(Kang *et al.*, 2002a), 국내 보급 13 느타리버섯 품종과 다양한 진균류에 종간, 종내 계통/품종간 유전적 특성구분에 유용하게 적용된 바 있다(Kang *et al.*, 2001, 2002b, 2003; Park *et al.*, 2003).

본 연구는 URP-PCR 방법을 이용하여 국내에서 등록된 65 느타리버섯 품종의 유전적 특성을 조사하여 느타리버섯 품종구분을 위한 표준지표 자료를 제공하고, 우리고유 버섯품종개발을 위한 육종의 기초 자료로 이용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시품종

본 시험에 사용된 균주는 경기도 버섯연구소에서 보존 중인 일반느타리(*P. ostreatus*) 59품종, 사철느타리(*P. florida*) 2품종, 전복느타리(*P. abalonus*) 1품종, 여름느타리(*P. sajor-caju*) 1품종, 큰 느타리 (*P. eryngii*) 2품종 등 총 65품종을 공시하였다(Table 1).

Genomic DNA 추출

Genomic DNA를 분리하기 위하여 7일간 PDA(potato dextrose agar)에서 배양한 다음 직경 5 mm의 균사체를 5 ml의 PD broth 배지에서 옮긴 후 진탕배양(120 rpm)으로 균주에 따라 20에서 30일간 배양하여 균사체를 여지에 걸러낸 다음 동결건조를 하였다. 동결건조한 균사체를 이쑤시게로 곱게 마쇄한 다음 1.5 ml의 test tube에 옮기고 추출용 완충액(200 mM Tris-HCl, pH 8.0; 200 mM NaCl; 25 mM EDTA; 0.5% SDS) 400 μ l와 proteinase K(20 mg/ml)를 첨가하여 유리병으로 buffer상에서 잘 섞어 준 다음 37°C에서 1시간 동안 유지하였다. 이 혼합액에 2× CTAB buffer를 동량으로 첨가하여 65°C에서 15분간 방치하고 chloroform : isoamylalcohol(24 : 1)을 넣고 철저히 혼합한 후 12,000 rpm에서 원심분리하였다. 상등액을 새로운 튜브에 옮기고 0.7 volume의 isopropanol을 첨가하고 실온에서 10분간 방치 후 12,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 DNA를 침전하였다. 70%의 ethanol로 DNA침전물을 세척하여 진공 건조한 후 TE buffer(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA) 100 μ l에 용해하였다. 10 mg/

ml RNase 2 μ l를 넣어 37°C에서 30분 처리하여 그 용액 속에 함유된 RNA를 제거하였다. DNA 함량을 측정하기 위하여 DNA를 100배로 희석하여 spectrophotometer의 260 nm의 파장에서 실시하였다.

URP-PCR 분석

URP-PCR 다형성 분석을 위하여 Kang *et al.*(2002)에 의하여 보고된 20 mer의 염기로 구성된 12개의 URP primer가 이용되었다(Table 2). PCR반응 용액은 10 mM Tris-HCl(pH 8.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.01% gelatin, 100 ng prime, 50 ng template DNA, 200 μ m dNTP, 및 2.5 unit *Taq* polymerase(Promega)를 넣고 전체 반응용액은 50 μ l가 되게 하였다. PTC-200(MJ. Reasearch 사)의 PCR기기를 이용하여 처음 DNA변성을 위하여 94°C에서 5분간, 그 후 cycle에서 DNA변성은 94°C에서 1분, annealing은 55°C에서 1분 및 DNA합성은 72°C에서 2분으로 총 36 cycle을 실시하였으며, 최종 DNA합성은 7분으로 하였다. 증폭된 PCR산물들은 1.5%의 agarose gel에서 전기영동 한 후 ethidium bromide 용액에 염색하여 UV lamp하에서 PCR 다형성밴드를 관찰하였다.

유전적유연관계분석

65개 느타리품종에서 검출된 동일한 크기의 URP-PCR 다형성밴드를 유무로 하여 database화 한 후 유사도(similarity coefficient)를 산출하고, dendrogram은 위의 유사도의 값을 근거로 UPGMA(unweighted paired group methods with arithmetic average)법을 이용하여 작성하였다. 유연관계분석을 위한 program은 NTSYS(numerical taxonomy system using multivariate statistical programs Ver. 1.60)를 이용하였다.

결과 및 고찰

느타리품종의 URP-PCR 다형성 분석

본 연구에서는 국내 등록된 느타리버섯 품종의 유전적 특성을 분석하고자 Table 1의 일반느타리(*P. ostreatus*) 59 품종, 사철느타리(*P. florida*) 2품종, 전복느타리(*P. abalonus*) 1품종, 여름느타리(*P. sajor-caju*) 1품종, 큰 느타리(*P. eryngii*) 2품종 등 총 65품종의 느타리버섯으로부터 추출된 genomic DNA를 이용하여 PCR 다형성 분석을 실시하였다. Kang *et al.*(2002a)에 의하여 개발된 12종류의 URP primer를 사용하여 그 적용성을 실험하였던 결과, URP2F, URP2R, URP4R, URP6R, URP9F, URP13R, URP17R, URP30가 6개에서 14개의 PCR 다형성 밴드를 증폭하면서 느타리버섯 품종 간의 PCR 다형성 검출에 적용할 수 있었다(Table 2). 특히, URP2F와 URP6R primer는 품종간의 유전적 특성을 구분할 수 있는 높은 PCR 다형성 밴드를 검출하여 매우 유용한 primer로 사료되었다.

Table 1. Lists and genetic groups of *Pleurotus* cultivars used in this study

No.	Cultivars	Species	Genetic groups	ASI No.
1	Nonggi 2-1	<i>Pleurotus ostreatus</i>	1	2001
2	Cheonbockneutari 1	<i>P. abalonus</i>	6	2079
3	Sacheol 1	<i>P. florida</i>	3	2016
4	Wonhyung neutari 3	<i>P. ostreatus</i>	3	2240
5	Nonggi 201	<i>P. ostreatus</i>	2	2018
6	Chunchu 1	<i>P. ostreatus</i>	4	2228
7	Nonggi 202	<i>P. ostreatus</i>	3	2072
8	Chunchu 2	<i>P. ostreatus</i>	4	2344
9	Wonhyung neutari 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2180
10	Keunneutari 1	<i>P. eryngii</i>	7	2302
11	Aeneutari 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2194
12	Heuckpyung	<i>P. ostreatus</i>	1	2706
13	Wonhyung neutari 2	<i>P. ostreatus</i>	1	2183
14	Byung neutari 1	<i>P. ostreatus</i>	2	2535
15	Sacheol neutari 2	<i>P. florida</i>	4	2181
16	Kyunhyup 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2506
17	Ocknong 1	<i>P. ostreatus</i>	4	2505
18	Suhan 3	<i>P. ostreatus</i>	1	2596
19	Sambock	<i>P. sajor-caju</i>	7	2479
20	Shinnong 46	<i>P. ostreatus</i>	5	2598
21	Heukjinjoo	<i>P. ostreatus</i>	1	2477
22	Ilseong 2	<i>P. ostreatus</i>	3	2594
23	Cheongpung	<i>P. ostreatus</i>	4	2487
24	Jangan PK	<i>P. ostreatus</i>	1	2593
25	Myungweol	<i>P. ostreatus</i>	4	2488
26	Kimjae 9	<i>P. ostreatus</i>	5	2702
27	Suhan	<i>P. ostreatus</i>	5	2504
28	Kimjae 10	<i>P. ostreatus</i>	4	2708
29	Shinnong 94	<i>P. ostreatus</i>	5	2549
30	Jangan 2	<i>P. ostreatus</i>	5	2709
31	Suhan 2	<i>P. ostreatus</i>	1	2595
32	Honglim 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2710
33	Jangan 3	<i>P. ostreatus</i>	4	2711
34	DH1012	<i>P. ostreatus</i>	1	2725
35	Keunneutari 3	<i>P. eryngii</i>	7	2394
36	Shinnong 11	<i>P. ostreatus</i>	1	2726
37	Nongmin 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2717
38	Shinnong 12	<i>P. ostreatus</i>	5	2727
39	Kimjae 7	<i>P. ostreatus</i>	5	2718
40	Shinnong 13	<i>P. ostreatus</i>	1	2728
41	Kimjae 8	<i>P. ostreatus</i>	4	2719
42	Cheongdo 21	<i>P. ostreatus</i>	1	2729
43	Backsongee	<i>P. ostreatus</i>	7	2720
44	Cheongdo 22	<i>P. ostreatus</i>	1	2730
45	Jangan 6	<i>P. ostreatus</i>	1	2722
46	Wangheockpyung	<i>P. ostreatus</i>	1	2731
47	Nongong 99	<i>P. ostreatus</i>	5	2724
48	Nongong 98	<i>P. ostreatus</i>	1	2732
49	Chiack 3	<i>P. ostreatus</i>	1	2733
50	Samkoo PJ	<i>P. ostreatus</i>	1	2790
51	Buyeongheukdan 4	<i>P. ostreatus</i>	4	2736
52	Samkoo 01	<i>P. ostreatus</i>	1	2791
53	Sodam	<i>P. ostreatus</i>	6	2737
54	Chiak 5	<i>P. ostreatus</i>	5	2794
55	Heuckback	<i>P. ostreatus</i>	1	2738
56	Chiak 7	<i>P. ostreatus</i>	5	2795
57	Buyeongsoyup 1	<i>P. ostreatus</i>	5	2785
59	Bupyeongbockhye	<i>P. ostreatus</i>	3	2786
60	Samkoo 8	<i>P. ostreatus</i>	5	2797
61	Jangan 7	<i>P. ostreatus</i>	5	2788
62	Youngnong 1	<i>P. ostreatus</i>	1	2787
63	Samkoohwanghack	<i>P. ostreatus</i>	5	2789
64	Halla 1	<i>P. ostreatus</i>	3	2792
65	Halla 2	<i>P. ostreatus</i>	1	2793

The genetic groups are same to those of Fig. 2.

Table 2. URP primers used in this study

Primers	Sequences (5'-3')	GC content (%)	URP-PCR polymorphic bands
URP2F	GTGTGCGATCAGTTGCTGGG	50	12
URP2R	CCCAGCAACTGATCGCACAC	50	14
URP4R	AGGACTCGATAACAGGCTCC	50	13
URP6R	GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC	60	14
URP9F	ATGTGTGCGATCAGTTGCTG	50	8
URP13R	TACATCGCAAGTGACACAGG	50	6
URP17R	AATGTGGGCAAGCTGGTGGT	55	12
URP30F	GGACAAGAAGAGGATGTGGA	50	12

^aPCR bands indicate average numbers of total PCR bands amplified by each URP primer.

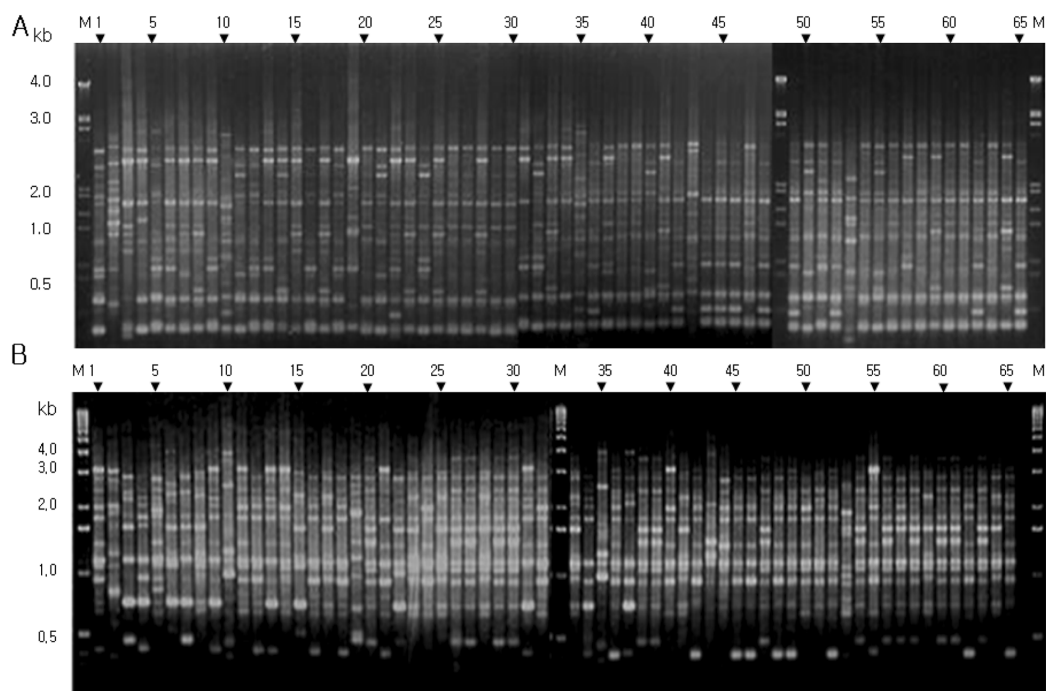


Fig. 1. PCR amplification of different cultivars in *Pleurotus* spp. by primers URP6R (A) and URP2F (B). Each number on lanes is identical to that of Table 1.

Fig. 1은 URP6R과 URP2F에 의하여 PCR증폭된 65개 느타리품종의 PCR 다형성 밴드를 보여 주고 있으며 URP2F primer는 품종간 15 type으로 품종간의 PCR 다형성을 생산하였다. 전복느타리, 여름느타리, 큰느타리는 일반느타리 59품종과 구별된 독특한 PCR 다형성 밴드를 형성하였으나, 사철느타리 2품종은 일반느타리 품종과 유사한 PCR 다형성 밴드를 형성하였다. URP2F와 URP6R의 PCR 다형성 밴드를 기준으로 일반느타리버섯 59품종 간에 PCR다형성을 비교 검토한 결과 농기1, 흑평, 경협, 수한3, 흑진주, 신농, 장안, 왕흑평, 농공, 신농13, 치악, 삼구01, 흑백, 영농, 한라 2품종이 매우 유사한 또는 같은 PCR 양상을 보였으며, 춘추, 옥농, 일성2, 청풍2, 명월, 김제10, 장안3, 김제8, 병소엽, 북평복게 간에 유사한 PCR 양상을 보였다. 일반느타리 품종 중 45%가 장려품종인 농기 춘추, 원형 품종과 유사한 품종형의 PCR 다형성을 나타내었다. 그 외에 신농46, 김제9, 수한, 신농94, 장안2,

신농12, 김제7, 농공99, 치악5, 치악7, 삼구5, 삼구88, 장안7, 삼구황약, 홍림1, 농민 1, 장간PK, 금느타리3, 백송이, 소담 등은 위의 장려품종군에 속한 일반 느타리와는 차별되는 독특한 PCR 다형성 밴드를 형성하였다. 결론적으로 국내 등록된 느타리품종은 기 개발된 장려품종과 매우 유사한 유전적 특징을 보이는 품종그룹과 수한품종과 유사한 PCR 다형성 그룹, 그리고 이 두 품종군에 포함되지 않는 PCR 다형성 그룹이 포함되어 부분적으로 품종간의 유전적 다양성을 보이고 있었다.

지금까지 *Pleurotus* spp.의 유전적 유연관계에 적용된 DNA 마커로서는 mitochondrial DNA(Toyomasu *et al.*, 1992), RAPD primer(김 등, 1998), rDNA(배 등, 1996; White *et al.*, 1990) 등이 사용되어 종간의 유전적 특성 구분에 적용되었다. 곰팡이 균류의 계통학적 유전적 유연관계분석에 많이 이용되는 DNA 영역은 rDNA 영역의 IGS와 ITS로서 매우 보존적인 부분으로 속간 또는 종간의 유

전적 계통분석에 주로 이용 되고 있으나 같은 종 내의 계통 또는 품종간 유전적 다형성 적용에 한계점이 있다. RAPD primer의 경우는 통상적으로 10 mer의 primer가 적용되고 있으며 수십 또는 수백종류의 primer를 탐색하여 유용 primer를 선별하여야 하며 PCR 반응 시에 35°C에서 36°C의 낮은 annealing 온도에서 주형 DNA와 primer를 부착하기 때문에 비 특이적인 밴드가 다수 증폭될 수 있어 재현성이 문제점으로 지적되어 왔다.

URP primer는 벼의 반복배열 염기서열로부터 개발된 primer로서 식물, 동물, 미생물종에 모두 적용할 수 있는 다범위 적용 primer이다(Kang *et al.*, 2002a). 특히, URP primer는 20 mer의 염기로 구성되어 있으며 55°C에서의 annealing 온도에서 PCR 반응을 수행할 수 있어 주형 DNA와 primer간의 특이적 부착을 유도할 수 있으므로 높은 재현성으로 PCR 다형성에 이용할 수 있다(Kang *et al.*, 2002a). 지금까지, URP primer를 이용하여 곰팡이, 세균을 포함한 다양한 미생물종의 종간 또는 종내 계통간의 유전적 다양성 분석에 적용되어 왔다(Kang *et al.*, 2001, 2003a, b; Park *et al.*, 2003). 또한, 종간 또는 종내 특이적인 URP-PCR다형성 밴드를 이용한 특이 primer 개발에 효율적으로 이용되어 왔다(Kang *et al.*, 2001, 2003a). 전 연구에서 URP primer를 이용하여 장려품종인 일반느타리 9품종, 사철느타리 2품종, 여름느타리 2품종을 포함하는 총 13품종을 대상으로 PCR다형성분석을 실시한 결과 원형느타리 1품종을 제외하고 느타리버섯의 품종간 독특한 PCR다형성을 검출하여 느타리 종간, 종내 품종 또는 계통간 유전적 특징구분에 매우 유용한 primer로 확인되었다(Kang *et al.*, 2001). 본 연구에서는 65개의 느타리 품종을 대상으로 URP primer의 적용성을 검증한 것으로서 URP2F와 URP6R primer는 향후 느타리 품종의 PCR profile 구축에 따른 품종간 유사성 검정에 효율적으로 이용 할 수 있을 것으로 사료되었다.

느타리품종간 유전적 유연관계분석

65개 느타리 품종간 유전적 유사도를 분석하기 위하여 URP2F, URP6R, URP4R, URP2R primer에 의하여 증폭된 PCR 다형성 밴드를 이용하여 품종간 band유무에 따라 NTSYS-pc의 UPGMA program으로 dendrogram을 작성하였다(Fig. 2). 그 결과 7개의 group으로 분류되었으며 group 간에는 60에서 90% 이상의 다양한 유연관계를 보였다. 일반느타리 품종군은 Group 1에서 Group 5까지를 포함하고 있었으며 그룹 간에 70% 이상의 유전적 유연관계를 보였다. Group 1은 가장 많은 25 느타리 품종이 포함된 그룹으로서 80% 이상의 근연적 유연관계를 이루고 있었다. 농기 2-1품종과 원형느타리 품종이 속한 품종군을 이루고 있었다. Groupe 2는 농기201, 병 느타리를 포함하며 78%의 원연그룹으로 나타났으며, Group 3은 사철 1, 농기 202, 일성 2, 부평복계, 한라 1호 등을 포함하

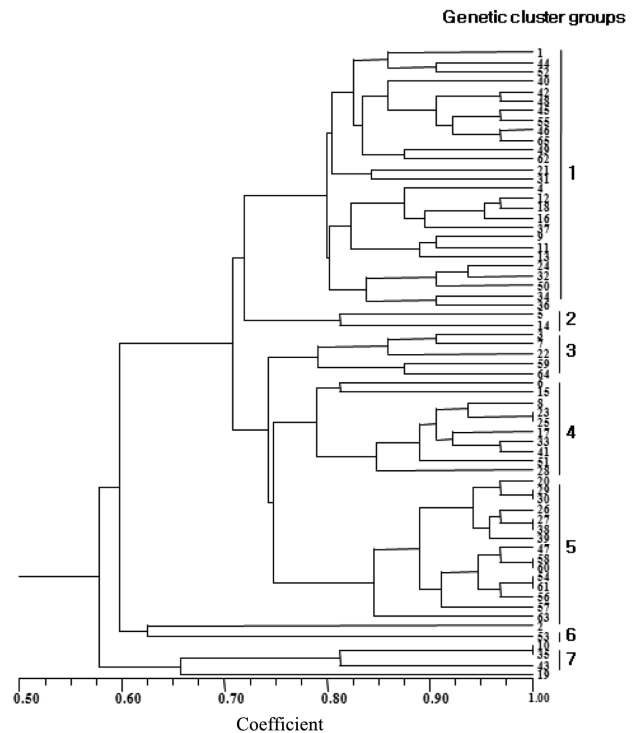


Fig. 2. Genetic relationship among different cultivars in *Pleurotus* spp. The numbers are same to those of *Pleurotus* cultivars listed in Table 1.

고 있어 유전적으로 80% 이하의 비교적 근연적인 관계로 구성되어 있었다. Group 4는 춘추계통이 속한 그룹으로 85% 이상의 품종간의 근연관계를 이루고 있었으며, 청풍과 명월 품종은 100%의 유전적 유사도를 보였다, Group 5는 수한을 포함하는 품종군으로 85%의 매우 근연적 유전적 유사도를 보이고 있었다. 특히, 신농46, 신농94, 장안2호, 김제9, 수한, 신농12호, 김제7호 등이 95%에서 100%의 매우 밀접한 유전적 특징을 보여 주었다. Group 6과 Group 7은 outside group으로서 일반 느타리 그룹과는 별도의 품종군으로 분류되었다. Group 6은 전북느타리가 속한 그룹이며, Group 7은 큰느타리 품종이 속한 것으로서 큰느타리와 백송이 품종은 80% 이상의 유전적 유사도를 보였으며, 여름느타리와 67%의 유전적 유사도를 보였다.

종합해 보면, 본 연구에 공시된 65개 느타리 품종은 종간에 뚜렷이 구분된 유전적 특성을 보였으며, 일반적으로 주로 농가에서 재배되고 있는 품종인 일반느타리 품종 내에서는 품종간의 높은 PCR다형성이 검출되었다. 일반느타리품종 모두를 각각 구별할 수 없었으나, 품종간의 유전적 유사성을 예측할 수 있는 자료 또는 일부 품종의 동질성 여부를 판별하는데 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료되었다. 특히, 전에 농촌진흥청 등에서 장려품종으로 육성된 13개 느타리품종과 최근에 등록된 품종을 비교 분석 함으로서 group 1에서 group 5까지 장려품종

과 높은 유전적 유사성을 보이는 것이 확인되었다. group 6의 경우는 수한 및 신농 품종군이 밀집한 유전적 유사도를 보여 특징적인 품종군을 이루고 있었다. 따라서 현재 국내 등록된 품종들은 농촌진흥청 등에서 개발된 품종과 유사한 품종군과 이들과 다른 별개의 품종군을 이루고 있는 것으로 나타났다. 그러나 일부 품종 간에는 매우 유사 또는 같은 유전적 특성을 보임으로서 품종이름과는 별도로 동일 품종에서 유래된 유전적 특성을 예상할 수 있었다.

느타리버섯의 품종개발은 품종 등록이 용이하게 되었으며 국가기관에서 민간업체 주도로 변화됨에 따라 품종이 급속도로 증가되고 있다. 또한 국제적 시장개방에 따른 다양한 품종 도입이 예상된다. 그러나 최근에 개발되고 있는 많은 품종은 정확한 육성배경이 베일에 싸여 있어 품종의 유전적 배경을 알 수 없다. 직접 재배하고 있는 농가에서는 품종명의 다양성으로 종균 구입 시 어려움을 겪고 있다. 농가에 따라선 불량 품종 구입으로 인한 병해와 수확량 감소를 호소하고 있다. 본 연구의 URP-PCR 다형성법으로 각각의 모든 품종간의 구별은 불가하였으나 품종의 유전적 특성 판별은 품종의 복제성, 특이성을 신속, 간단하게 적용할 수 있는 유용한 방법이 될 것으로 사료된다. 또한 품종 특이 DNA마커는 품종 육성을 위한 표지 인자로도 이용 가능하여 UPOV에 대비한 향후 우리나라 고유 느타리버섯 품종개발에도 유용한 분자마커로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

일반 느타리(*P. ostreatus*) 59품종, 사철느타리(*P. florida*) 2품종, 여름느타리(*P. sajor-caju*) 1품종, 전복느타리(*P. abalonus*) 1품종, 큰 느타리(*P. eryngii*) 2품종을 포함하는 국내 등록된 총 65 느타리버섯 품종이 URP-PCR다형성 분석에 적용되었다. 12종류의 URP primer 중 6종류의 URP primer가 품종간의 PCR 다형성 분석에 유효하였으며, URP2F primer는 높은 PCR 다형성 밴드를 형성하면서 품종간 PCR다형성을 15 type으로 분류할 수 있었다. URP2F, URP6R, URP4R, URP2R에 의해 생성된 느타리 품종의 PCR다형성 밴드가 유전적 유사도 산출에 이용되어 UPGMA cluster분석을 적용 dendrogram을 작성하였다. *P. ostreatus*의 품종군은 group 1에서 group 5까지를 포함하고 있었으며, 그룹간에 70% 이상의 유전적 유연관계를 보였으며 기 장려품종으로 보급된 원형느타리 1, 2, 3호와 춘추 1, 2호 농기2-1, 농기201, 농기202 등 8품종은 group 1에서 4에 포함되어 있었다. group 5는 수한 및 신농 품종군이 밀집한 유전적 유사도를 보여 특징적인 품종군을 이루고 있었다. outside group으로서는 전복느타리, 큰 느타리, 여름느타리, 백송이가 group 6과 group 7에 포함되었다.

감사의글

본 연구는 2004년에서 2006년간에 농촌진흥청 겸임연구관 사업으로 경기도버섯특화사업단에서 지원한 사업추진비로 수행한 것으로 이에 감사함을 전합니다.

참고문헌

- 배신철, 성기영, 이신우, 고승주, 은무영, 이인구. 1996. rDNA의 ITS와 IGR부위의 염기서열분석에 의한 느타리버섯 종간의 근연관계분석. 한국균학회지 **24**: 155-165.
- 강희완. 2003. 미생물 종 다양성분석을 위한 PCR검정법. 환경대학교 논문집 **33**: 283-292.
- 김동현, 공원식, 김경수, 김영호, 유창현. 1998. 느타리버섯류 (*Pleurotus* spp.)의 생화학적방법에 의한 품종구분. 한국균학회지 **26**: 173-178.
- 이희경, 유용복, 차동열, 민경희. 1998. 동위원소분석에 의한 느타리속의 종간유연관계. 한국균학회지 **26**: 163-172.
- Caetano, A. G. and Gresshoff, P. M. 1997. DNA markers: protocols, Applications, and overviews. Wiley-Vch, N.Y.
- Eger, G., Li, S. F. and Lara, H. L. 1979. Contribution to the discussion on the species concept in the *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia* **71**: 577-588.
- Kang, H. W., Kwon, S. W. and Go, S. J. 2003a. PCR based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathology* **52**: 127-133.
- Kang, H. W., Lee, B. M. and Yu, S. W. 2003b. Analysis of genetic relatedness in *Alternaria* species producing host specific toxins by PCR polymorphism. *Plant Pathol. J.* **19**: 221-226.
- Kang, H. W., Park, D. S., Go, S. J. and Eun, M. Y. 2002a. Fingerprinting of diverse genomes using PCR with universal rice primers generated from repetitive sequence of Korean weedy rice. *Mol. Cells* **13**: 281-287.
- Kang, H. W., Park, D. S., Park, Y. J., Lee, B. M., Cho, S. M., Kim, K. T., Seo, K. S. and Go, S. J. 2002b. PCR based detection of *Phellinus linteus* using specific primers generated from Universal Rice Primer (URP) derived PCR polymorphic band. *Mycobiology* **30**: 202-207.
- Kang, H. W., Park, D. S., Park, Y. J., You, C. H., Lee, B. M. and Go, S. J. 2001. Genomic differentiation among oyster mushroom cultivars released in Korea by URP-PCR fingerprinting. *Mycobiology* **29**: 85-89.
- Park, D. S., Kang, H. W., Lee, M. H., Park, Y. J., Lee, B. M., Han, J. H. and Go, S. J. 2003. DNA fingerprinting analysis of genus *Phytophthora* in Korea. *Mycobiology* **31**: 235-247.
- Toyomasu, T., Takazawa, H. and Zennoyji, A. 1992. Restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA from the basidiomycetes *Pleurotus* species. *Bioci. Biotechnol. Biochem.* **56**: 359-361.
- Vilgalys, R. J. and Sun, B. L. 1994. Ancient and recent patterns geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 4599-4603.
- Vakalounakis, D. J. and Fragkiadakis, G. A. 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: Differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility, and RAPD

- fingerprinting. *Phytopathology* **89**: 161-168.
- White, J. J., Bruns, J., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungus ribosomal RNA genes for phylogenics. Pp 315-322. *In*: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J. Eds. PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego.
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.* **18**: 7213-7218.
- Williams, J. G. K., Kubelic, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitray primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* **18**: 6531-6535.