

## Universal Rice Primer(URP)에 의한 DNA 핵산지문법을 이용한 느타리의 유통 품종간 구분

서경인 · 장갑열 · 유영복 · 박순영 · 김광호<sup>1</sup> · 공원식\*

농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과, <sup>1</sup>건국대학교 식량자원학과

### Differentiation Among Commercial Strains of *Pleurotus* spp. Based on DNA Fingerprinting Using Universal Rice Primer (URP)

Kyoung-In Seo, Kab-Yeul Jang, Young-Bok Yoo, Soon-Young Park, Kwang-Ho Kim<sup>1</sup> and Won-Sik Kong\*

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,

Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

<sup>1</sup>Department of Crop Science, KonKuk University, Seoul 143-701, Korea

(Received November 11, 2008. Accepted December 24, 2008)

**ABSTRACT:** To distinct the commercial strains in *Pleurotus* spp., 81 strains in eight *Pleurotus* species were used. DNA fingerprinting using URP-PCR was conducted to determine the phylogenetic relationships among *Pleurotus* strains. DNA profiles of *Pleurotus* species obtained by twelve URP primers were analyzed for genetic similarity by NTSYS program. We could divide strains into ten clusters, in which three of them belong to *P. ostreatus* and the others to the different species, respectively. At the 76% similarity level, 70 *P. ostreatus* strains were distinguished into three clusters. Cluster I contained 35 strains and some of them showed almost 100% similarity, one strain closely related to Weonhyeong and six strains closely related to Wangheukpyeong. In cluster II, twenty-one out of 23 strains showed 100% to Suhan. Cluster III contained twelve strains, including six strains closely related to Chun-chu-2. The results suggested that there are many same strains with different names in mushroom spawn market.

**KEYWORDS :** Commercial strains, DNA fingerprinting, Phylogenetic relationship, *Pleurotus ostreatus*

느타리속에는 30여종 이상이 보고되어 있으며 주요재배종으로는 *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* 등이 있다. *P. ostreatus*는 활엽수의 고사목에서 총생 또는 균생으로 발생하는 버섯으로 세계적으로 가장 많이 알려진 버섯이고 이들 느타리 종에는 수많은 계통이 자연 상태의 산야에 야생형으로 분포되어 있으며, 이들을 이용하여 현재 수백 개의 품종이 육성되어 전세계에 걸쳐 재배되고 있다 (Peberdy *et al.*, 1993). 우리나라에서는 과거 20여년간 느타리버섯 대량재배기술과 품종개발에 많은 발전을 이룩하였으며 국내 느타리버섯류(*Pleurotus* spp.와 *P. eryngii*) 생산량은 2007년 기준 연간 92,324톤이며, 전체 버섯 생산량의 49.5%를 차지하고 있다(유 등, 2008).

느타리버섯은 2000년부터 품종보호대상 작목으로 지정되었으나 2008년 현재 국립종자원에 품종보호등록된 품종수는 22개에 불과하고 아직 대다수의 품종은 생산판매 신고만으로 유통이 되고 있다. 이들 품종은 육성경위에 대한 기초자료도 없어 품종의 구별성이 모호한 실정이다. 현재의 품종보호등록과 생산수입판매신고의 이원화된 체

제에서는 소비자에게 인기 있는 품종을 중심으로 복제하여 다른 이름으로 유통될 수 있다. 하지만 사실체의 모양으로는 복제된 품종을 구분하기 어려운 실정이다.

DNA는 재배환경이나 발육단계, 조직에 따른 영향을 받지 않기 때문에 염기서열이나 핵산지문법을 이용한 품종 구분은 객관성을 유지할 수 있어서 더 많은 신뢰성을 줄 수 있다. 또한 이와 같은 분자생물학적 방법에 기초를 둔 해석은 중간 또는 종내 변이정도와 근연관계를 구명하는데 있어서 매우 중요한 방법인 동시에 유전육종관련 기초 연구에 효과적으로 활용될 수 있다. 종내 계통의 구분에 가장 일반적으로 사용되는 것은 RAPD 방법인데, 이 방법은 짧은 10 base의 oligonucleotide로 구성된 random primer를 이용하므로 재현성이 떨어지는 단점이 있다. 따라서 근래에는 이러한 RAPD의 재현성을 높이기 위하여 비교적 긴 약 20 base로 구성된 URP primer와 12~16 base로 구성된 ISSR primer가 품종구분을 하는데 많이 사용되고 있다. URP를 이용한 RAPD는 식물의 종간, 품종간 유전형 판별(Seo *et al.*, 2001) 뿐만 아니라 버섯의 유전적 차이(Kang *et al.*, 2001), 버섯 유태균의 분석(서 등, 2002) 등의 연구에 널리 사용되고 있다.

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

본 실험에 사용된 primer는 식물체로부터 유래된 repetitive sequence로부터 개발된 URP(Universal Rice Primer) primer이며 이 primer는 진핵생물 및 원핵생물을 포함하는 다양한 생물종의 PCR 핵산지문에 모두 이용 가능한 universal primer의 특징을 가지고 있다(Kang *et al.*, 2002). 특히, 20 mer로서 55°C 이상의 annealing 온도에서 PCR 반응을 수행할 수 있어 높은 재현성을 나타내며 생물종의 종간 및 종내의 특이적 동정을 할 수 있어 매우 유용하게 이용되고 있다. 또한 김 등(2007)의 보고에서는 이미 느타리 65개 품종에 대하여 8개 URP primer를 사용하여 품종의 유전적 특성을 보고한바 있으나 근래 급격히 새로운 품종이 늘어나고 있으며 이들 품종의 유사성이 농가 재배에 있어 당면한 문제가 되고 있고, 제한된 숫자의 primer만으로 분석하여 일부 보완이 필요하였다. 본 연구의 목적은 국내 생산 신고 유통되고 있는 느타리 품종을 대상으로 URP-PCR 방법으로 DNA 핵산지문법을 수행하여 느타리 품종들의 유전적 유연관계를 밝혀 품종을 구분하기 위하여 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 공시균주

URP-PCR에 사용한 균주들은 현재까지 생산판매 신고되어 유통되고 있는 *P. ostreatus* 70균주와 *P. florida* 2균

주, *P. sajor-caju* 3균주, *P. cystidiosus* 1균주, *P. eryngii* 2균주, *P. nebrodensis*, *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus*, *P. salmoneostramineus* 각각 1균주씩 총 81균주를 사용하였다(Table 1).

#### Genomic DNA 추출

Genomic DNA 추출을 위한 균사 배양은 PDA plate에 균사를 접종하여 26°C의 incubator에서 7일간 배양하였다. 그 후 MCM 액체배지에 PDA plate에서 자란 균사를 옮겨 접종하였고, 7일간 액체배지에 배양하여 균사를 동결 건조시킨 후 본 실험에 사용하였다. Genomic DNA는 Plant DNA purification kit(TOYOBO)를 이용하여 추출하였다. 동결 건조한 균사를 액체질소로 곱게 마쇄하여 균사 500 mg에 lysis buffer 600 µl를 넣고 65°C에서 10분 반응시킨 후, phenol : chloroform : isoamylalcohol(25 : 24 : 1)을 600 µl 첨가하고 vortexing한 후 13,000rpm에서 15분간 원심 분리하여 상등액만 취하였다. 여기에 흡착액 600 µl와 자성비드 40 µl를 넣은 후 trapper에 튜브를 끼워 자성비드에 DNA가 붙게 하였다. 자성비드를 세정액과 70% 에탄올로 2번씩 washing한 후 상온에서 10분간 건조시켜 100 µl의 3차 멸균수에 녹였다. trapper에 튜브를 끼워 자성비드와 DNA가 녹아있는 액을 분리한 후 DNA만 새 튜브에 옮겨 4°C에 보관, PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

Table 1. *Pleurotus* strains used in this study

Lane no.	ASI* no.	Commercial name	Species	Source	Year
1	2851	Nongmin59	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2006
2	2830	Baekdu1	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2005
3	2829	Jangpung	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC53972)	2005
4	2828	Samgu9	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2005
5	2827	Sinnong26	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2005
6	2826	Sinnong22	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC53909)	2005
7	2825	Sinnong14	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2005
8	2029	2029	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51372)	1978
9	2001	Nonggi2-1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52243)	1971
10	2018	Nonggi201	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51362)	1978
11	2072	Nonggi202	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51410)	1980
12	2180	Wonhyeong	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51493)	1990
13	2194	Aeneutari1	<i>P. ostreatus</i>	Japan (MKACC51506)	1979
14	2183	Wonhyeong2	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51496)	1990
15	2240	Wonhyeong3	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52342)	1994
16	2228	Chunchu1	<i>P. ostreatus</i>	China (MKACC51529)	1994
17	2344	Chunchu2	<i>P. ostreatus</i>	Netherland (MKACC51632)	1995
18	2706	Heukpyeong	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52328)	2001
19	2535	Byeongneutari1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51778)	2000
20	2506	Gyunhyeop1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC360)	2000
21	2505	Oknong1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (KACC359)	2000
22	2477	Heukjinju	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51724)	1999
23	2487	Cheongpung	<i>P. ostreatus</i>	Korea	1999
24	2488	Myeongweol	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51732)	1999
25	2504	Suhan	<i>P. ostreatus</i>	China (KACC358)	2000

Table 1. Continued

Lane no.	ASI* no.	Commercial name	Species	Source	Year
26	2549	Sinnong94	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52282)	2000
27	2595	Suhan2	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51818)	2001
28	2596	Suhan3	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52325)	2001
29	2598	Sinnong46	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51820)	2001
30	2594	Ilseong2	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51817)	2001
31	2597	Sinnong8	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC51819)	2001
32	2593	JanganPK	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52326)	2001
33	2707	Kimjae9	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52311)	2001
34	2708	Kimjae10	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52312)	2001
35	2709	Jangan2	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52313)	2001
36	2710	Heunggrim1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52314)	2001
37	2711	Jangan3	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52315)	2001
38	2717	Nongmin1	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52320)	2002
39	2718	Kimjae7	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52321)	2002
40	2719	Kimjae8	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52322)	2002
41	2721	Jangan5	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2002
42	2722	Jangan6	<i>P. ostreatus</i>	Korea (MKACC52324)	2002
43	2724	Nongong99	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
44	2725	DH1012	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
45	2726	Sinnong11	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
46	2727	Sinnong12	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
47	2728	Sinnong13	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
48	2729	Cheongdo21	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
49	2730	Cheongdo22	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
50	2731	Wangheukpyeong	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
51	2732	Nongong98	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
52	2733	Chiak3	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
53	2734	Chiak4	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
54	2735	Bupyeongkirin2	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
55	2736	Bupyeongheukdan4	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
56	2737	Sodam	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
57	2738	Heukbaek	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2003
58	2785	Bupyeongsoyeop1	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
59	2786	Bupyeongbokhoe	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
60	2788	Jangan7	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
61	2789	Samguhwanghak	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
62	2790	SamguPJ	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
63	2791	Samgu01	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
64	2794	Chiak5	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
65	2795	Chiak7	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
66	2796	Samgu5	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
67	2797	Samgu8	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
68	2787	Yeongnong1	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
69	2792	Hanra1	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
70	2793	Hanra2	<i>P. ostreatus</i>	Korea	2004
71	2016	Sacheol	<i>P. florida</i>	Germany (MKACC51361)	1976
72	2181	Sacheol2	<i>P. florida</i>	Thailand (MKACC51494)	1990
73	2070	Yeoreum	<i>P. sajor-caju</i>	India (MKACC52247)	1982
74	2333	Yeoreum2	<i>P. sajor-caju</i>	Korea (MKACC51621)	1995
75	2479	Sambok	<i>P. sajor-caju</i>	Korea (MKACC52343)	1999
76	2079	Jeonbok1	<i>P. abalonus</i>	Thailand (MKACC50312)	1982
77	2302	Keunneutari1	<i>P. eryngii</i>	Japan (MKACC51595)	1995
78	2394	Keunneutari3	<i>P. eryngii</i>	Japan (MKACC52327)	1997
79	2720	Baeksongi	<i>P. nebrodensis</i>	Korea (MKACC52323)	2002
80	2859	Noeul	<i>P. salmoneostramineus</i>	Korea	2007
81	2858	Geumbit	<i>P. cornucopiae</i> var. <i>citrinopileatus</i>	Korea	2007

\*ASI, Agricultural Sciences Institute, Suwon, Korea; KACC, Korea Agricultural Culture Collection; MKACC, Mushroom Korea Agricultural Culture Collection; Year, Collected year

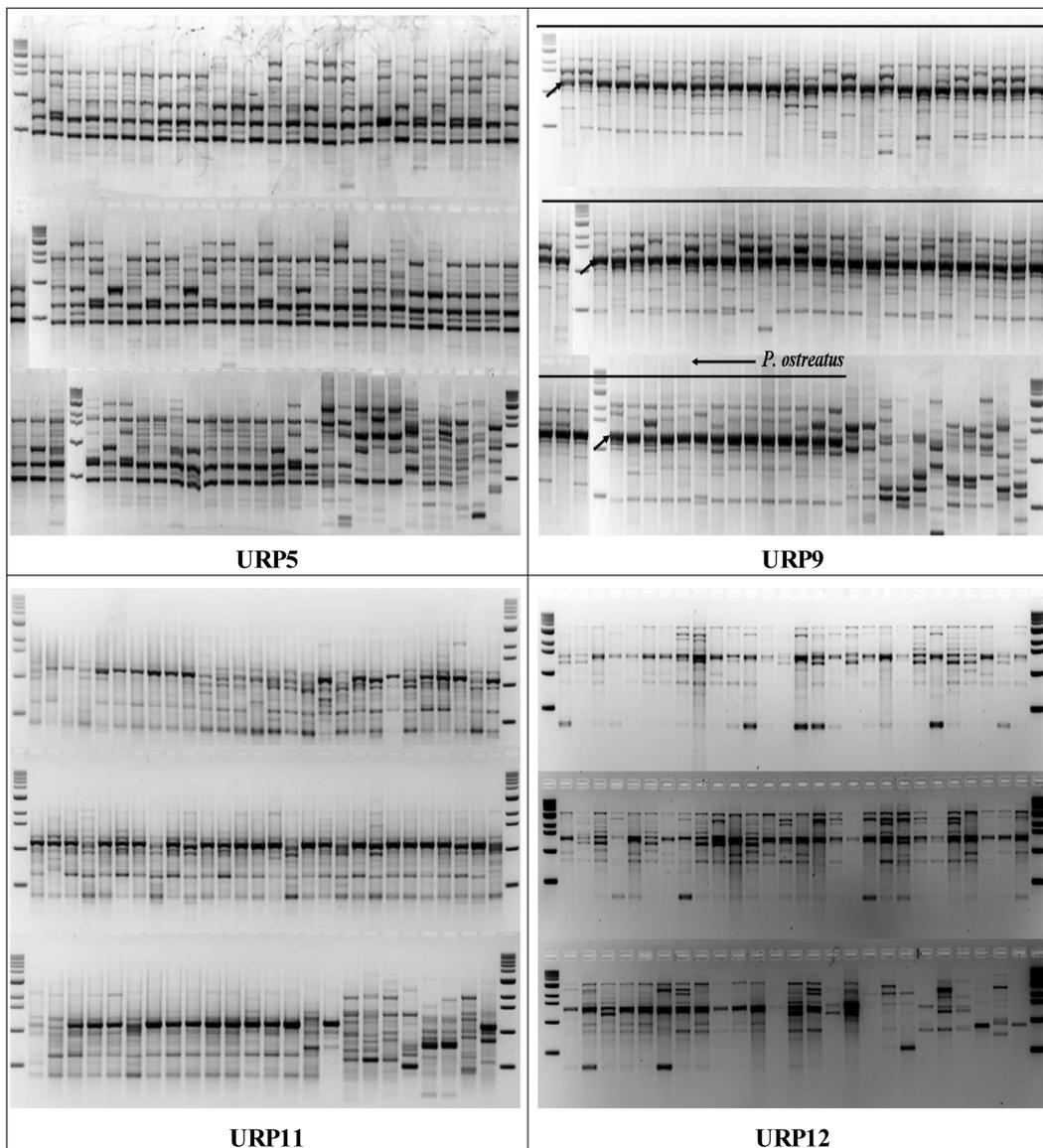
**URP-PCR 조건**

URP-PCR은 Bioneer PCR Premix kit를 이용하였고, premix kit에 genomic DNA 50 ng, primer 100 ng을 첨가하여 총 20  $\mu$ l의 반응액을 조성 하였다. PCR 증폭반응은 ABI PCR SYSTEM 9700을 이용하여 처음 DNA의 열변성을 위하여 94°C에서 5분간 1 cycle, 그리고 94°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 2분간으로 총 35 cycle 실시 하였으며, 최종 DNA의 합성은 72°C에서 10분으로 하였다. 증폭된 PCR 산물은 1  $\times$  TAE(40 mM Tris; pH 8.0, 20 mM acetic acid, 1 mM EDTA) 완충용액에서 1.5%의 agarose gel로 전기영동한 후 1  $\mu$ g/ml ethidium bromide 용액으로 염색하여 UV transilluminator상에서 나타나는

DNA band를 확인 하였다. Primer는 12종류의 URP Primer로 구성된 SRILS UniPrimer Kit(서린바이오사이언스)를 사용하였다.

**유전적 유연관계 분석**

12개의 URP primer를 이용한 PCR fingerprinting 결과에서 다형성을 보이는 band에 대해 각 band를 하나의 형질로 취급하여 band가 있으면 “1”, band가 없으면 “0”으로 코드화하였으며 전체에 대한 자료행렬을 작성하였다. 유연관계분석은 NTSYS(Numerica Taxonomy and Multivariate Analysis System; 2.02) computer program을 사용하였으며, 계통 상호간의 유사도 계수(Similarity coefficient)



**Fig. 1.** Representative DNA fingerprinting by four URP-PCR amplification of eighty-one commercial strains in *Pleurotus* spp. Lane number from left to right is same with Table 1. Solid line and arrows in URP9 indicate *P. ostreatus* strains and a common band for these strains, respectively.

를 Sokal and Sneath(1963)의 방법에 따라 구하였고, 이 유사도 계수를 기초로 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic average) 방법으로 집괴 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### URP-PCR 분석에 의한 느타리 품종의 유전적 다형성 분석

본 연구는 12개의 URP primer를 이용하여 국내 재배 품종인 느타리버섯류 81품종을 분류하였다. 12개 primer의 PCR 증폭 다형성 band는 100 bp에서 6000 bp 사이의 분자량으로 증폭산물이 검출되었다. Fig. 1은 URP5, URP9, URP11 URP12 primer에 의해 증폭된 81개 느타리 품종의 PCR 다형성 band를 보여주고 있다. URP9 primer에서는 약 1,100 bp 영역에서 *P. ostreatus*에서 공통적으로 나타나는 band가 있었다. 느타리속 8종 81균주의 DNA 다형성 band pattern은 대부분의 URP primer에서 중간 차이가 비교적 명확하게 나타났고, URP9는 다른 primer보다 band pattern의 변이가 심하지 않았다. 본 연구에 사용된 URP1~URP11 primer는 annealing 온도 55°C에서 증폭이 정상적으로 되었으나, URP12 primer는 매우 미약한 증폭반응을 나타내어 annealing 온도를 5°C 낮춘 50°C에서 반응을 실시하였다.

여름느타리(*P. sajor-caju*) 3품종, 전북느타리(*P. cystidiosus*) 1품종, 큰느타리(*P. eryngii*) 2품종, 백령고(*P. nebrodensis*), 분홍느타리(*P. salmoneostramineus*), 노랑느타리(*P. citrinopileatus*) 각각 1품종은 느타리(*P. ostreatus*) 70품종과는 구별되는 독특한 PCR 다형성 band를 형성하였으나 사철느타리(*P. florida*) 2품종은 *P. ostreatus*와 유사한 DNA band pattern을 보였다. 이 결과는 김 등(2007)의 보고와 일치한다. Polymorphic band는 사용한 12개 primer 모두에서 관찰되었다. 느타리버섯류 81균주를 대상으로 증폭된 PCR 산물에 의하여 12개의 primer에서 얻어진 band 수가 가장 많았던 primer는 URP7번으로 19개였으며, 가장 적었던 primer는 URP11번으로 8개였다. PCR로 얻어진 band 수는 모두 156개로 평균 13개를 얻을 수 있었다. 김 등(2007)은 65개 느타리 품종의 다형성 분석에서 6~14개의 PCR 다형성 band를 보였다고 하였는데, 본 연구 결과와 차이가 나는 것은 공시균주 수가 본 연구보다 적고, 사용한 *Taq* polymerase가 다르기 때문에 다형성 밴드 수에 차이가 나는 것으로 생각된다.

### 느타리의 품종간 유연관계 분석

PCR 결과 12개의 URP primer에서 나타난 다형성을 기초로 band 유무에 따른 data matrix를 작성하여 NTSYS-pc의 UPGMA program을 이용하여 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 2와 같다. 그 결과 품종별 URP-PCR 다형성

type으로 나누어 볼 때 10 group으로 나뉘는데, *P. ostreatus* 종에 속하는 품종들이 I형부터 III형까지 분포하였다. I형은 농민59호, 2029, 원형, 한라2호 등 총 35품종이 속하였으며, II형은 백두1호, 장풍, 수한, 장안7호 등 총 23품종, III형에는 춘추1호, 춘추2호, 명월, 신농8호 등 12품종이 속하였다. IV형은 *P. florida*, V형은 *P. abalonus*, VI형은 *P. sajor-caju*, VII형은 *P. eryngii*, VIII형은 *P. nebrodensis*, IX형은 *P. salmoneostramineus*, X형은 *P. citrinopileatus*로 구분되었다. IV형부터 X형까지는 중간 뚜렷이 구분됨을 보였다.

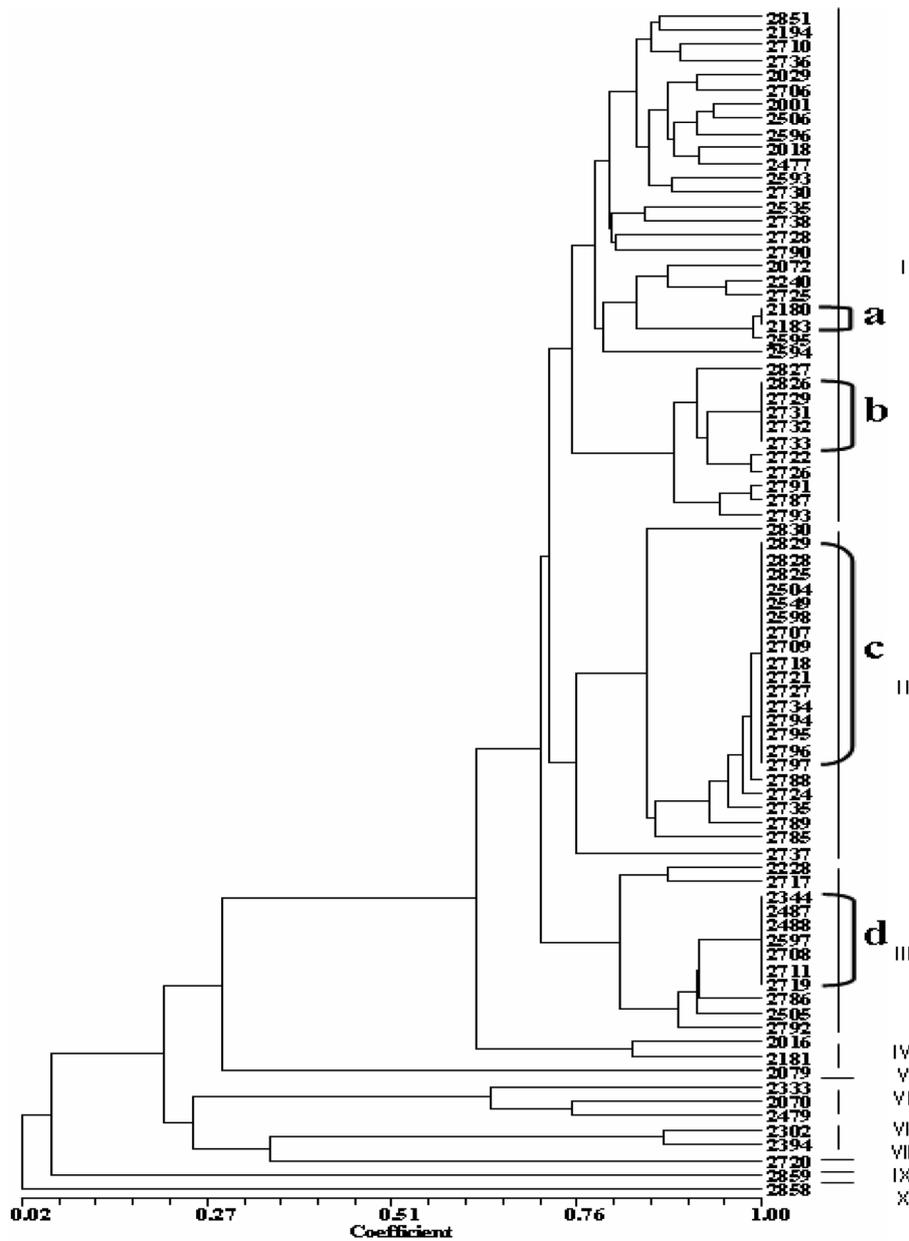
품종간에 차이를 보이지 않고 유전특성이 동일하게 나타난 균주로는 I형 group에서 a형 group의 원형과 원형느타리 2호가 있었으며, 왕흑평과 100% 유사도를 보인 품종으로 b형 group의 논공98호, 치약3호, 신농22호, 청도21호가 있었다. 이들 원형 품종군과 왕흑평 품종군들은 76% 이상의 유전적 유연관계를 보였다. II형 group에서는 c형 group의 장풍, 삼구9호, 신농14호, 수한, 신농94호, 신농46호, 김제9호, 장안2호, 김제7호, 장안5호, 신농12호, 치약4호, 치약5호, 치약7호, 삼구5호, 삼구8호가 동일한 유연관계를 보였으며, group내 품종들이 76%의 유연관계를 나타냈다. 이들 품종들은 김 등(2007)의 URP-PCR에 의한 국내 느타리버섯 품종의 유전특성 분석결과와 일치하였다.

III형 group에서는 d형 group의 춘추2호, 청풍, 명월, 신농8호, 김제10호, 장안3호, 김제8호가 100%의 매우 밀접한 유전적 특징을 보여 주었고 group내 품종들이 80% 이상의 매우 근연적인 관계를 이루고 있었다. 김 등(2007)은 국내 느타리버섯의 유연관계를 본 논문에서 청풍과 명월 품종이 100% 유사하다고 하여 본 실험과 같은 결과를 보였다. 청풍과 명월은 수집균주의 계통선별 시험으로 육성한 품종이다. 하지만 ASI 2736 품종인 부평흑단4호가 춘추2호와 같은 group이라고 한 것은 본 연구결과와 큰 차이를 보였으며 본 시험에서는 ASI 2736 품종이 I형 group에 속하였다. 또한 왕흑평 group에 속한다고 하였던 2717 품종도 본 연구에서는 춘추2호 group에 속하는 것으로 나타났다.

그밖에 VII형 group은 큰느타리 품종이 속한 group으로 백송이 품종인 VIII형 group과 34%의 유전적 유사도를 보였다. 분홍과 노랑느타리 품종은 다른 종들과 10% 미만의 아주 낮은 유전적 유사도를 보였다. 특히 노랑느타리 품종은 본 연구에 공시한 느타리속 균주 중 가장 먼 유연관계를 보였다.

공시균주로 사용된 원형질체 융합주인 원형(ASI 2180)과 원형2호(ASI 2183) 품종은 같은 유사도를 보였는데, 이는 이들이 모두 같은 모균주에서 육성된 형제관계이기 때문인 것으로 사료된다. 또한 2070과 2139의 교배균주인 2333은 2070과 65% 정도의 유사성을 보였다.

URP-PCR 결과 각각의 일반느타리 group내에서 매우

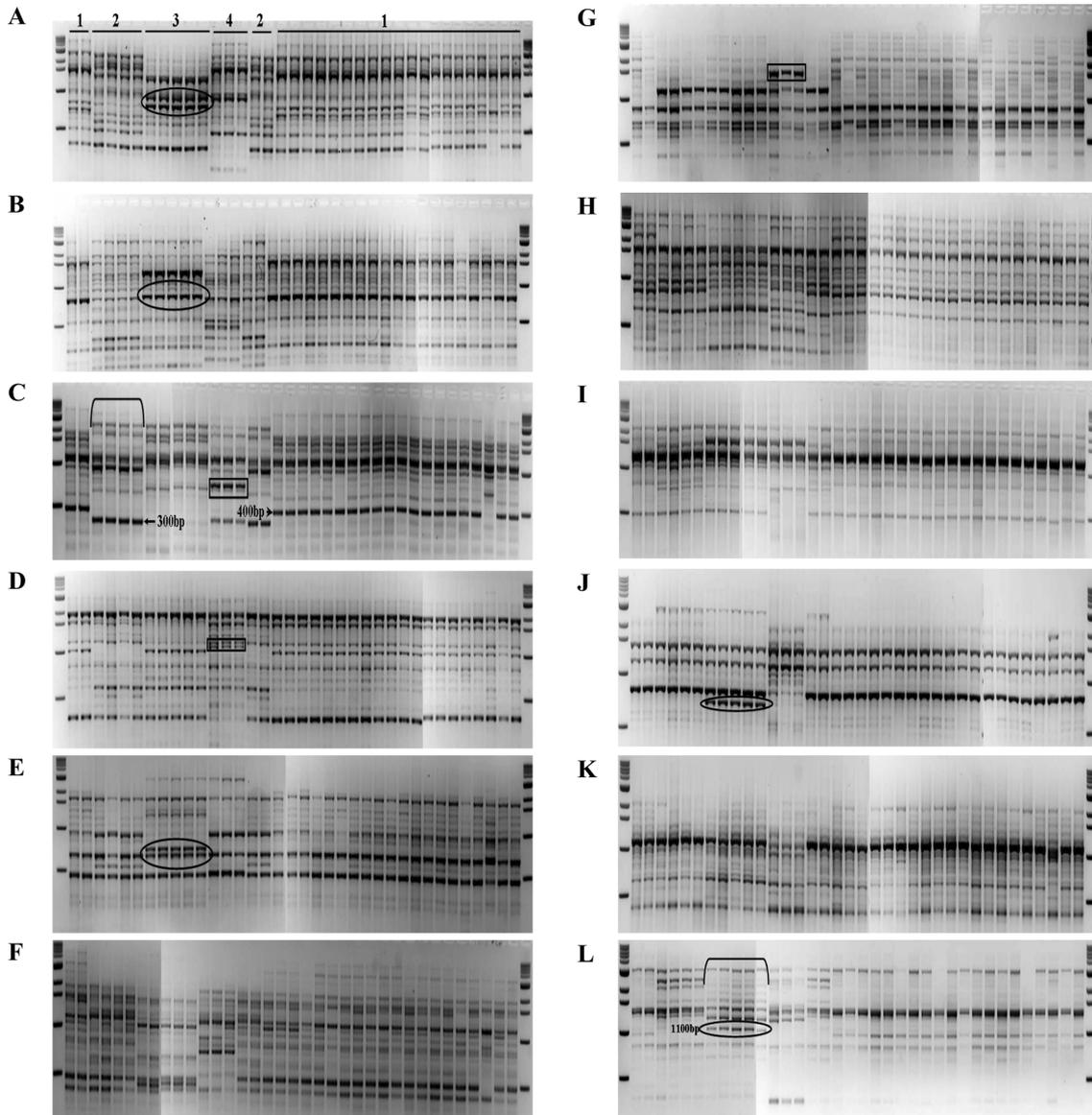


**Fig. 2.** Phylogenetic relationship among different strains of *Pleurotus* species based on DNA fingerprintings by URP-PCR analysis. I, II, III, *P. ostreatus*; IV, *P. florida*; V, *P. abalonus*; VI, *P. sajor-caju*; VII, *P. eryngii*; VIII, *P. nebrodensis*; IX, *P. salmoneostramineus*; X, *P. citrinopileatus*; a, Weonhyeong similar strains; b, Wangheukpyeong similar strains; c, Suhan similar strains; d, Chunchu-2 similar strains.

유사하거나 100% 똑같은 유전적 특성을 보인 품종들이 나타났는데, 이들이 하나의 품종에서 유래되어 조직분리에 의하여 복제되어 다른 품종명을 갖게 되었을 가능성이 예상되었다. 또한, 실제 품종수 만큼 다양한 형질이 나타나지는 않았는데, 대부분 수한계통과 춘추2호, 원형, 왕흑평 계통으로 분류가 되었다. 이 결과는 URP-PCR 다형성 검토 결과 국내 등록된 느타리 품종이 장려품종과 매우 유사한 유전적 특징을 보이는 품종 group이 있다는 김 등 (2007)의 연구와 일치하였다.

느타리버섯류 81품종에 대한 URP-PCR 분석결과에서

원형, 왕흑평, 수한, 춘추2호 품종과 유전적 유연관계가 거의 100%에 가깝게 나타난 품종 중 36개를 선정하여 URP band pattern을 비교함으로써 그 품종군에 특이적인 밴드를 확인하고자 하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 12개 primer 모두에서 원형 품종군(I형 group)에 속하는 2180, 2183이 같은 band를 보였는데, URP3 primer에서 약 700 bp, URP4 primer에서 약 1100 bp, URP7 primer 약 1400 bp 부분에서 원형 품종특이 band를 찾아볼 수 있었다. 왕흑평 품종군(I형 group)에 속하는 2826, 2729, 2731, 2732, 2733 품종은 URP3 primer 약 300 bp 부분에서 뚜렷이 진



**Fig. 3.** Comparison of URP-PCR fingerprinting patterns of *P. ostreatus* strains which showed very close relationship amplified by primers URP1 (A) to 12 (L). Molecular weight marker are 1 kb DNA ladder (Bioneer). Lanes 1~36, ASI 2794, 2795, 2826, 2729, 2731, 2732, 2344, 2708, 2487, 2711, 2719, 2180, 2183, 2595, 2732, 2733, 2828, 2504, 2829, 2825, 2721, 2724, 2734, 2796, 2797, 2549, 2795, 2598, 2709, 2707, 2788, 2789, 2794, 2737, 2727, 2718; 1, Suhan similar strains; 2, Wangheukpyeong similar strains; 3, Chunchu-2 similar strains; 4, Weonhyeong similar strains. Arrow head indicates specific bands to Suhan similar strains, arrow to Wangheukpyeong ones, circle to Chunchu-2 ones, and box to Weonhyeong ones.

한 단일 band가 나타나 이들 왕흑평 유사 품종들을 구분하는 유용한 marker가 될 수 있을 것으로 사료되었다. 춘추2호 품종군(III형 group)에 속하는 2344, 2487, 2708, 2711, 2719 품종은 URP1, URP2 primer에서 약 800 bp, URP5, URP10 primer에서 약 750 bp, URP12 primer에서는 약 1100 bp 부분에서 특이 band를 찾을 수 있었다. 또한 수한과 동일한 band pattern을 보인 품종은 2829, 2828, 2825, 2598, 2707, 2709, 2718, 2721, 2727, 2734, 2794, 2795, 2796, 2797로서 URP3 primer 약 400 bp 부

분에서 다른 품종들과 확실히 구분되는 뚜렷한 단일 band를 볼 수 있었다. 본 연구결과 같은 band pattern을 보인 품종들은 DNA 수준에서 상당한 공통점을 갖고 있는 것으로 볼 수 있으며, 이러한 품종들이 동일군주일 가능성도 있다고 판단되었다. 또한 본 연구에서와 같이 URP primer를 사용한 DNA 핵산지문법을 이용함으로써 느타리 유통품종을 구분할 수 있으며 이를 토대로 품종을 구분하는 유용한 marker를 개발할 수 있을 것으로 생각되었다.

느타리속은 전세계에 광범위하게 분포를 하며 경제성장과 소득수준의 향상에 의해 매년 수요도 증가하고 재배하는 농가도 증가하고 있다. 국내에서 재배되고 있는 느타리 품종은 생산판매 신고된 명칭으로 종균을 사용하고 있으며, 품종의 정체성과 특성이 명확하게 알려져 있지 않아 재배농가에 혼선을 가져오며, 동일품종이 다른 이름으로 재배되는 경우도 있어 문제점으로 지적되고 있다. 또한 국내의 육종여건 또는 종자산업법 운영상 유통품종의 상당부분이 유사하고 그만큼 유통체계 질서가 혼란스러운 경우가 있다. DNA 다형성 검정방법은 이러한 문제점을 보완하여 환경에 영향을 받지 않고, 품종자체의 고유성을 검정할 수 있는 기술로 인식되고 있으며, 품종 구별성 측면에서 표현형 특성을 대체 보완하는 것으로 활용도가 높다고 할 수 있다.

## 적 요

본 연구에 사용된 느타리버섯류는 느타리속 8종 81개 품종으로 형태적 분류가 어려운 점 외에도 출처가 불확실한 품종이 재배되는 경우가 많아 정확한 품종구분이 요구되고 있다. 이러한 문제점을 해결하고자 국내에서 재배·유통되고 있는 느타리버섯류 81개 품종을 DNA 핵산지문법을 이용하여 유연관계를 분석한 결과 10 그룹으로 나누어졌으며, 이 중 느타리속에 속하는 70품종은 3 그룹으로 나누어졌다. 또한 이 그룹내에서 국내 주요품종인 원형, 수한, 춘추2호, 왕후평과 동일하거나 유사한 것으로 나타난 품종이 많았다. I 그룹에 속하는 35개 품종 중 원형품종과 동일하거나 구별성이 인정되지 않는 품종은 4개 품종이었고, 왕후평과는 6개의 품종이 동일한 것으로 나타

났다. II 그룹의 23개 품종 중에는 21개의 품종이 수한과 구별성이 인정되지 않았다. 또한 II 그룹의 12개 품종 중 춘추2호와 유사한 품종들은 총 6개였다.

## 참고문헌

- 김종근, 임선화, 이대성, 지정현, 서건식, 주영철, 강희완. 2007. URP-PCR 다형성에 의한 국내느타리버섯 품종의 유전적 특성 분석. *Kor. J. Mycol.* 35:61-67.
- 서건식, 김병련, 박명수, 김민경, 유승현. 2002. 느타리버섯 유해균 *Hypocrea* sp.의 형태 및 URP-PCR 분석. *Kor. J. Mycol.* 30:86-94.
- 유영복, 공원식, 장갑렬, 정종천, 오세중, 전창성. 2008. 버섯산업의 현황과 발전방향. pp 488. In: 2008년 농업환경분야 학술대회. 농촌진흥청 농업과학기술원.
- Kang, H. W., Park, D. S., Go, S. J. and Eun, M. Y. 2002. Fingerprinting of diverse genomes using PCR with Universal rice primers generated from repetitive sequence of Korea weedy rice. *Korean Society for Molecular and Cellular Biology* 13: 281-287.
- Kang, H. W., Park, D. S., Park, Y. J., You, C. H., Lee, B. M., Eun, M. Y. and Go, S. J. 2001. Genomic differentiation among oyster mushroom cultivars released in Korea by URP-PCR fingerprinting. *Mycobiology* 29:85-89.
- Peberdy, J. F., Hanifah, A. M. and Jia, J. H. 1993. New perspectives on the genetics of *Pleurotus*. In: Mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press. Chang, S. T., Buswell, J. A. and Chiu, S. W. Eds. pp. 55-62.
- Seo, H. W., Yi, J. Y., Cho, H. M., Park, Y. E. and Oh, S. E. 2001. Discrimination of potato varieties by random amplified polymorphic DNA analysis. *Kor. J. Hort. Sci and Technol.* 19:29-33.
- Sokal, R. R. and Sneath, P. H. A. 1963. Principle of numerical taxonomy. Freeman, W. H. and Company, San Francisco (on disk). pp. 359.