

PCR 다형성에 의한 양송이(*Agaricus bisporus*) 계통의 유전적 다양성 분석

민경진^{1,2} · 김종근² · 곽아민¹ · 공원식³ · 오연희³ · 강희완^{1,2*}

¹한경대학교 미래융합기술대학원, ²(주)제이케이바이오테크, ³농촌진흥청 국립특작과학원 버섯과

Genetic Diversity of *Agaricus bisporus* Strains by PCR Polymorphism

Kyong-Jin Min^{1,2}, Jong-Kun Kim², A-Min Kwak¹, Won-Sik Kong³, Youn-Hee Oh³ and Hee-Wan Kang^{1,2*}

¹Graduate School of Future Convergence Technology, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea

²JK BioTech. Co. Ltd., Ansong 456-749, Korea

³Mushroom Science Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, RDA, Eumseong 369-873, Korea

ABSTRACT : Twelve Universal fungal PCR fingerprint (UFPF) primers that were modified from Universal rice primer (URP) were used to assess genetic diversity of 64 *Agaricus* strains including 45 *A. bisporus* strains and other 19 strains of other *Agaricus* spp. Eight primers, UFPF1, UFPF2, UFPF3, UFPF7, UFPF9, UFPF10, UFPF11, and UFPF12 produced PCR polymorphic bands within and between the *Agaricus* species. Primer UFPF7 produced specific PCR polymorphic bands that are distinct Korean strain from different strains. Ninety five PCR polymorphic bands were inputted for UPGMA cluster analysis. Forty five strains of *A. bisporus* are genetically clustered into 8 groups, showing coefficient similarity from 0.75 to 0.9 among them. The varieties, Saea, Saedo, Saejeong and Saeyeon that have recently been developed in Korea were involved in the same group with close genetic relationship of coefficient similarity over 0.96, whereas, other Korean strains were genetically related to *A. bisporus* strains that were introduced from USA, Europe and Chinese.

KEYWORDS : *Agaricus bisporus* strains, Genetic diversity, PCR polymorphism

서 론

양송이(*Agaricus bisporus*)은 세계적으로 가장 많이 재배되는 식용버섯 중 하나이며 분류학상 Basidiomycota문, Agaricales목, Agaricaceae과, *Agaricus*속에 속하며 식용버섯과 독버섯을 포함하여 300여종이 분포한다[1]. *Agari-*

*cus*속에서 가장 중요한 종은 흰색 양송이로 세계적으로 가장 많이 재배되고 있으며 전 세계적으로 생산량이 약 40억 톤에 이르며 47억달러의 경제적 가치가 있는 것으로 알려져 있다[2]. 양송이버섯은 1개의 담자기에 1~7개의 담자포자가 착생되고 그 수에 따라 핵의 이동으로 인한 특성도 달라지며 각 담자기에는 2핵포자가 95%이상 형성되는 유전양식을 가지고 있다. 따라서 5% 내외의 단핵포자형성은 반수체(Haploid)교배에 의한 품종육성을 위한 육종프로그램에 걸림돌이 되고 있다[2]. 1981년에 최초로 양송이 교잡 품종 Horst U1이 개발된 이후 동 품종에서 조직분리에 의한 품종육성이 성행하여 재배품종간 유전적 다양성이 느타리버섯 등에 비하여 월등히 떨어진다[3]. 우리나라에서 재배되고 있는 양송이 계통은 미국, 유럽 등 여러 국가에서 상당부분의 종균이 수입되어 국내농가에서 재배하고 있는 실정이다. 최근 국내에서 반수체 포자교배에 의한 양송이 품종이 개발되어 농가에 보급되기 시작하고 있으며 국내 품종 점유율이 4%에서 27%까지 국내 양송이 품종으로 대체되어 국내고유 양송이품종의 자급화에 박차를 가하고 있

Kor. J. Mycol. 2014 March, 42(1): 1-8
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.1.1>
pISSN 0253-651X
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: kanghw2@hknu.ac.kr

Received March 4, 2014

Revised March 8, 2014

Accepted March 15, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

다[4].

버섯품종계통 간의 유전적 유연관계와 품종 특이적인 DNA마커는 버섯유전자원을 표지검정할 수 있기 때문에 육종 효율을 증진시킬 수 있다[2]. 최근 국제식물신품종보호동맹(UPOV)이 발동되어 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 기초자료로 이용하기 위하여 정확한 품종구분법이 요구되고 있다. 양송이버섯계통 또는 품종의 유전적 다양성을 구분하기 위하여 inter-single sequence repeat (ISSR), simple sequence repeat (SSR), sequence-related amplified polymorphism (SRAP), random amplified polymorphic DNA (RAPD), sequence characterized amplified regions (SCAR) 등 다양한 PCR기법이 적용되어 왔다[1,2,5-9]. 야생종과 재배종 간의 유전적 다양성을 검출에는 위의 DNA마커가 유용하나 재배 품종간의 유전적 특성을 검출에는 한계가 있다.

Universal rice primer (URP) primer는 벼의 반복배열 염기서열로부터 고안되었으며 동물, 식물, 미생물 등 다양한 생물 종에 적용할 수 있는 다범위 primer의 특징을 가지고 있다[10]. URP primer의 특징은 20 mer로 구성되어 PCR 반응시 ISSR과 같이 55°C 이상에서 annealing을 할 수 있

어 RAPD분석에 비교적 재현성이 높으며 종 또는 종내 특이 PCR 다형성 검출할 수 있다[10]. URP primer는 국내외의 많은 연구에서 효모에서 담자균에 이르기까지 33속, 142종, 1,489의 다양한 진핵균류에 적용되어 그 유용성이 평가되어 왔다[12]. URP-PCR은 국내 느타리버섯, 동충하초, *Phellinus* spp.을 비롯한 다양한 버섯류의 종내 계통 또는 품종의 유전적 특징을 구분에 매우 유용한 것으로 보고된 바 있다[11,12]. 최근에는 다양한 균류에 적용할 수 있는 universal fungal PCR fingerprint(UFPF) primer가 URP primer를 보완하였다(www.JKbiotech.co.kr).

본 연구는 국내외에서 수집한 *A. bisporus* 계통 45균주와 *Agaricus*속 균 19균주를 포함한 총 64균주를 대상으로 UFPF primer로 PCR다형성 분석을 실시하였으며 계통간 유전적 다양성검출 DNA마커를 개발하여 양송이 육종효율증진을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

공시품종 및 배양

본 시험에 사용된 양송이 균주는 Table 1과 같이 국내에서 수집한 *A. bisporus* 계통 45균주와 *Agaricus*속의 *A. abruptibulbus*, *A. arvensis*, *A. augustus*, *A. bisporus* var.

Table 1. List of *Agaricus* strains used in this study and their PCR polymorphic groups

NO	Strain	Characteristics	Date of entry	Origin	PCR polymorphic group
<i>Agaricus bisporus</i> strains					
1	*ASI 1038	Brown	1968	USA	A
2	ASI 1164	Brown	1994	Germany	G
3	ASI 1337	Cultivar, Saea	2010	Korea	I
4	ASI 1338	Cultivar, Saejeong	2011	Korea	I
5	ASI 1346	737	2009	Korea	F
6	ASI 1347	Cultivar, Saeyeon (B429)	2012	Korea	I
7	ASI 1348	Cultivar, Saedo (B397)	2012	Korea	I
8	ASI 1001	White	1966	Korea	E
9	ASI 1018	White	1966	Korea	E
10	ASI 1019	White	1966	Korea	E
11	ASI 1021	White	1966	Korea	E
12	ASI 1022	White	1966	Korea	C
13	ASI 1031	White, 304	1967	USA	B
14	ASI 1032	Cream	1967	USA	B
15	ASI 1035	White	1968	USA	B
16	ASI 1037	White	1968	USA	B
17	ASI 1040	Brown	1968	USA	G
18	ASI 1041	Brown	1968	USA	G
19	ASI 1043	White	1969	Taiwan	B

*ASI: Agricultural Science Institute. Acronym for mushroom strains used in Mushroom Science Div. in RDA.

Table 1. Continued

20	ASI 1045	White	1969	Japan	C
21	ASI 1047	White	1969	Japan	C
22	ASI 1048	White	1969	France	C
23	ASI 1049	White	1969	France	C
24	ASI 1054	White	1969	France	C
25	ASI 1060	White	1973	India	A
26	ASI 1064	White	1973	Japan	D
27	ASI 1072	White	1978	Denmark	I
28	ASI 1074	Cream, 705	1978	USA	B
29	ASI 1085	White	1979	Canada	B
30	ASI 1091	White	1979	Netherland	B
31	ASI 1092	White	1979	British	B
32	ASI 1096	White	1979	Swiss	B
33	ASI 1115	White	1983	USA	C
34	ASI 1118	Unkown	1984	British	B
35	ASI 1119	Unknown	1984	British	I
36	ASI 1124	Unkown	1985	Korea	F
37	ASI 1133	Unkown	1988	Germany	G
38	ASI 1147	Dark Brown	1988	Korea	F
39	ASI 1179	Unkown	1996	China	F
40	ASI 1195	Unkown	1999	Peru	F
41	ASI 1198	Unkown	2000	China	G
42	ASI 1199	Unkown	2000	China	F
43	ASI 1216	Unkown	2002	Korea	F
44	ASI 1229	Unkown	2004	Korea,	F
45	ASI 1230	Unkown	2004	Korea,	F
46	ASI 1237	<i>A. bisporus</i> var. <i>avellaneus</i>	2004	Korea	ND
47	ASI 34008	<i>A. placomyces</i>	1986	USA	ND
48	ASI 1272	<i>A. silvicola</i>	1986	USA	ND
49	ASI 34015	<i>A. abruptibulbus</i>	1988	USA	ND
50	ASI 34016	<i>A. arvensis</i>	1986	USA	ND
51	ASI 34002	<i>A. augustus</i>	1986	USA	ND
52	ASI 1151	<i>A. bitorquis</i> , White	1989	Korea	ND
53	ASI 1138	<i>A. bitorquis</i> , White	1988	Germany	ND
54	ASI 1256	<i>A. fiardii</i>	2005	Korea	ND
55	ASI 34017	<i>A. marginell</i>	1986	USA	ND
56	ASI 1175	<i>A. potobella</i>	1996	USA	ND
57	ASI 1241	<i>A. rodmanii</i>	2004	Korea	ND
58	ASI 1193	<i>Agaricus</i> . sp	1994	Canada	ND
59	ASI 1247	<i>Agaricus</i> . sp. Agro 100	2005	Korea,	ND
60	ASI 1248	<i>Agaricus</i> sp. Agro 103	2005	Korea	ND
61	ASI 1264	<i>A. subperonatus</i>	2005	Korea	ND
62	ASI 1277	<i>A. subperonatus</i>	1986	USA	ND
63	ASI 1281	<i>A. subperonatus</i>	1988	Korea	ND
64	ASI 34014	<i>A. subrutilescens</i>	1990	Korea	ND

avellaneus, *A. bitorquis*, *A. fiardii*, *A. marginell*, *A. placomyces*, *A. potobella*, *A. rodmanii*, *A. silvicola*, *A. subperonatus*, *A. subrutilescens* 등 총 64균주를 농촌진흥청 원예특작과학원 인삼특작부 버섯과로부터 분양 받아 공시하였다. 양송이버섯은 퇴비추출물(양송이퇴비 40 g/L)에 PDA (potato dextrose agar)를 첨가하여 사용하였으며 25°C에서 15일간 배양하였다.

Genomic DNA추출

Genomic DNA를 분리하기 위하여 Petri dish내 퇴비추출물배지에 셀로판필름을 깔고 직경 5 mm 균사절편을 중간에 접종하여 배양 25일 후에 셀로판필름 위에 형성된 균사체를 수집하여 동결 건조한 균사체를 이쑤시개로 곱게 마쇄하였다. 200 µg의 균사체를 1.5 ml의 에펜도르프 튜브에 옮기고 완충액(200 mM Tris-HCl, pH 8.0; 200 mM NaCl; 25 mM EDTA; 0.5% SDS) 400 µl와 Proteinase K (20 mg/ml)를 첨가하여 유리봉으로 buffer상에서 잘 섞어준 다음 37°C에서 1시간 동안 유지하였다. 이 혼합액에 2 X 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 원심분리하여 DNA를 침전하였다. 70%의 ethanol로 DNA침전물을 세척하여 진공 건조한 후 TE buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA) 100 µl에 용해하였다. 10 mg/ml RNase 2 µl를 넣어 37°C에서 30분 처리하여 용액 속에 함유된 RNA를 제거하였다. DNA함량을 측정하기 위하여 DNA를 100배로 희석하여 spectrophotometer의 260 nm의 파장에서 실시하였다.

PCR 다형성분석

PCR 다형성 분석을 위하여 URP primer를 곱팡이중 분

석에 적용하기 위하여 변형한 12종류의 universal fungal fingerprinting PCR (UFFP) primer (JK Biotech. Co. Ltd)를 사용하였다(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 µm dNTP(dCTP, dTTP, dATP, dGTP) 및 2.5 unit *Taq* polymerase (JK Biotech Ltd.)를 넣고 전체 반응용액이 50 µl가 되게 하였다. PCR기기(Takara)를 이용하여 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 PCR산물은 1.8%의 garose gel에서 전기영동한 후 Ethidium bromide 용액에 염색하여 UV lamp 하에서 PCR 다형성밴드를 관찰하였다.

유전적유연관계 분석

양송이(*A. bisporus*) 계통에서 검출된 PCR 다형성밴드를 유무로 하여 database한 후 유사도(similarity coefficient)를 산출하고, Dendrogram은 위의 유사도의 값을 근거로 UPGA (unweighted paired group methods with arithmetic average)법을 이용하여 작성하였다. 유연관계분석을 위한 program은 NTSYS (numerical taxonomy system using multivariate statistical programs Ver. 2.2)를 이용하였다.

결과 및 고찰

양송이계통을 포함한 *Agaricus* spp.의 PCR 다형성 분석

본 연구에서는 국내외에서 수집한 *A. bisporus* 45계통과 *Agaricus* spp. 19균주를 포함한 총 64 균주의 genomic DNA를 추출하고 UFPF primer (JK Biotech., Ltd.)를 사용하여 PCR 다형성 분석을 실시하였다. 12종류의 UFPF primer를 사용하여 양송이 균주를 분석한 결과, UFPF1,

Table 2. PCR primers used in this study

Primer	Sequences (5-3)	GC content (%)	Polymorphic bands
UFPF1	ATCCAAGGTCCGAGACAACC	50	5
UFPF2	GTGTGCGATCAGTTGCTGGG	50	7
UFPF3	CCCAGCAACTGATCGCACAC	50	9
UFPF4	AGGACTCGATAACAGGCTCC	50	ND
UFPF5	GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC	50	ND
UFPF6	ATGTGTGCGATCAGTTGCTG	50	ND
UFPF7	AATGTGGGCAAGCTGGTGGT	50	8
UFPF8	GATGTGTTCTTGGAGCCTGT	50	ND
UFPF9	AAGAGGCATTCTACCACCAC	50	7
UFPF10	CCATATTTTGGCCGGCTACC	55	2
UFPF11	AGAAGACGGGAAGAGCGTAC	50	6
UFPF12	CCAGTTGCTATAAGAGGCAT	45	4

ND: Not detected.

UFPF2, UFPF3, UFPF7, UFPF9, UFPF10, UFPF11, UFPF12가 2개에서 9개의 PCR 다형성 밴드가 증폭되어 양송이 계통 간의 PCR 다형성 검출에 적용할 수 있는 것으로 판단되었다(Table 2). UFPF primer중에서 UFPF1과 UFPF3, UFPF7, UFPF11 primer는 *A. bisporus*의 종내 계통간 다양한 PCR다형성밴드를 검출하여 매우 유용한 primer로 사료되었다. UFPF1, UFPF2, UFPF3, UFPF7, UFPF11에

의하여 검출된 양송이 종내 종간 64균주의 PCR 다형성밴드를 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. *A. bisporus*계통 45균주에는 국내에서 2010년에서 2012년 사이에 개발된 새아(ASI1337), 새정(ASI1338), 새연(ASI1347), 새도(ASI1348)를 포함한 13품종, 미국, 일본, 중국 유럽지역으로부터 수집된 계통을 포함하고 있다. UFPF7 primer는 양송이 계통간 가장 다양한 다형성 밴드를 생산하였다. UFPF7-PCR

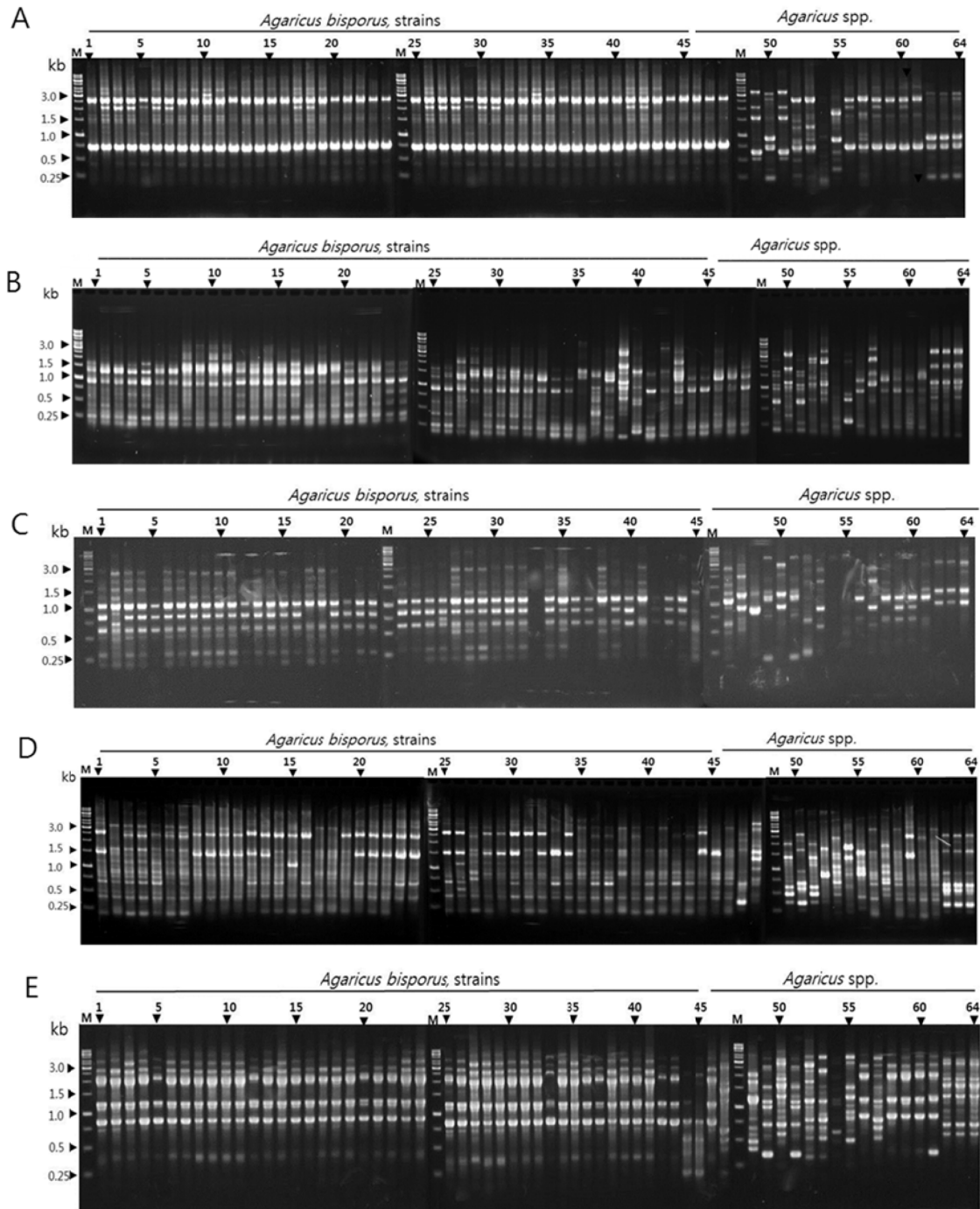


Fig. 1 PCR polymorphisms of 45 *Agaricus bisporus* strains and 19 strains of other *Agaricus* spp. amplified by primers UFPF1(A) UFPF2(B), UFPF3(C), UFPF7(D) and UFPF11(E). Each number on lanes is identical to that of Table 1.

결과에서 최근에 개발된 국내품종인 새아, 새정, 새연, 새도는 유사한 PCR다형성을 보였으나 다른 양송이 계통과는 구분되는 PCR특성을 보였다(Fig. 1). 그 외의 국내품종 ASI1001 ASI1018 ASI1019 ASI1021 ASI1022 ASI1124, ASI1216, ASI1229는 다른 미국, 유럽으로 도입된 품종과 유사한 PCR다형성양상을 보여 1960년 중 후반부터 미국 유럽지역으로 양송이 균주가 도입되었던 시점과 일치하여 균주간 유사성에 의하여 나타난 결과로 추정된다.

다른 *Agaricus* 종과 *A. bisporus* 계통 간에 PCR다형성비교에서 *A. marginell*, *A. potobella*, *A. rodmanii*와 *Agaricus* sp. 인 국내균주 ASI1193, ASI1247, ASI1248는 *A. bisporus*와 유사한 PCR다형성이 관찰 되었으나 다른 *Agaricus* 종과는 뚜렷한 차이를 보였다. 특히, *A. abruptus*와 *A. augustus*는 모든 UFPF primer에서 같은 PCR다형성이 관찰되어 동일한 종으로 사료되었다. 결론적으로 본 연구의 UFPF-PCR 다형성 분석은 양송이 종내 계통의 유전적 특성과 종간 유전자원의 탐색 등에 유용하게 적용할 수 있을 것으로 사료되었다.

A. bisporus 계통의 PCR다형성 분석에 RAPD, SSR, ISSR 등이 적용되었다[1,5,7,13,14]. 양송이 microsatellite 염기서열로부터 33종류의 SSR마커를 개발하여 28 양송이 계통의 PCR다형성분석에 적용한 결과 야생주 양송이계통은 성공적으로 이용할 수 있었으나 재배품종간의 유전적 다양성검

출에는 한계가 있었다[5]. SRAP와 ISSR 분석으로 재배품종과 야생주를 포함하는 305개의 양송이 수집균주를 대상으로 DNA다형성을 조사한 결과 120계통의 DNA profile을 확인할 수 있었다고 하였다[14]. Yadav 등[10]은 양송이버섯 22품종의 특성을 구분하고자 RAPD와 rDNA 염기서열의 Single nucleotide polymorphism(SNP)분석을 수행하여 2개 cluster로 구분한 바 있다. 본 연구의 UFPF-PCR와 위의 기존 연구와 비교할 때 상용 또는 보다 높은 DNA다형성을 검출할 수 있을 것으로 사료되었다.

RAPD primer의 경우는 통상적으로 10 mer의 primer가 적용되고 있으며 수십 또는 수백 종류의 primer를 탐색하여 유용 primer를 선발하여야 하며 PCR반응시에 35에서 36의 낮은 annealing온도에서 주형 DNA와 primer를 부착하기 때문에 비 특이적인 밴드가 다수 증폭될 수 있어 재현성이 문제점으로 지적되었다[5,10]. Microsatellite로부터 유래된 ISSR, SSR marker는 선제적으로 염기서열 구조가 요구되어 종이나 다를 경우 사용에 한계점이 있다. URP primer는 20 mer의 염기로 구성되어 있으며 55°C 이상의 annealing온도에서 PCR 반응을 수행할 수 있어 높은 재현성으로 PCR 다형성에 이용할 수 있으며[10], *A. bisporus* 외에 다양한 *Agaricus* 종에서도 적용할 수 있어 종간의 상호 연관분석이 가능하다. URP primer를 이용하여 다양한 *Pellinus* 종의 유연관계를 조사한 바 있으며 *P. linteus* 종 특이 URP-

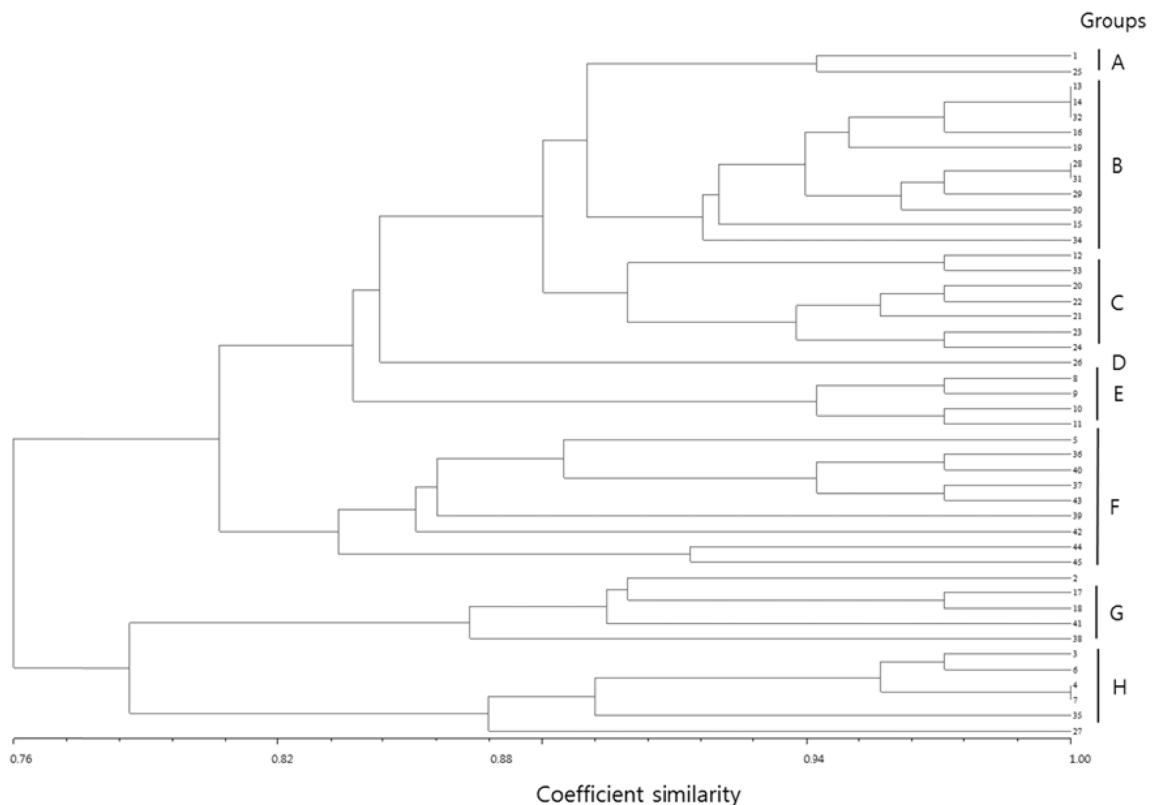


Fig. 2. Genetic relationship among 45 *Agaricus bisporus* strains. The numbers are same to those of *Agaricus* strains listed in Table 1.

PCR다형성 밴드를 이용하여 *P. linteus* 검출특이 SCAR primer를 재구성해 개발한 바 있다[15]. 따라서 계통 또는 종간 특이 UFPF-PCR산물은 교배조합의 기내 선발마커 등 육종효율을 증대시키는 데 유용하게 적용 가능할 수 있을 것으로 기대된다.

양송이 계통간 유전적 유연관계분석

본 연구에 공시한 *A. bisporus* 계통 45균주의 유전적 유사도를 분석하기 위하여 UFPF primer에 의하여 증폭된 95 PCR 다형성밴드를 이용하여 band유무에 따라 NTSYS-pc의 UPGMA program으로 dendrogram을 작성하였다(Fig. 2). 그 결과 3 cluster로 내에 8개의 세부 group으로 분류되었으며 group 간에는 유사성 함수가 0.75에서 0.90의 유연관계를 보였다. 한국에서 최근 개발된 새아, 새정, 새연, 새도는 Group H에 포함되었으며 0.96에서 1.0의 유사성함수로 밀접한 근연관계에 있었으며 영국 도입균주 ASI1119와는 0.9의 유사성함수를 나타내었다. 그밖에 대부분 국내 양송이계통은 group E와 F에 속하였으며 group F는 중국 도입균 ASI1199과 ASI1179과 0.83의 유사성 함수를 보였다. 미국균주는 ASI1115를 제외하고 Group B와 Group G에 포함되고 있으며 네덜란드 양송이 계통(ASI1091)은 Group B에 포함하고 있으면서 미국계통ASI1074과 1.0의 유사성함수를 보여 같은 계통으로 추정할 수 있었다. 일본균주(ASI1045, ASI1047)는 프랑스균주(ASI1048, ASI1049, ASI1054)와 0.95에서 0.97까지의 높은 유사성함수를 보였다.

국내에서의 양송이 재배는 1966년에 일본으로부터 기술을 도입하기 시작하여 1967년에 유럽식 양송이재배법이 도입되면서 농가에서는 96% 이상이 국외도입 종균을 사용되어 왔다. 최근 국내에서 교배품종으로 다향, 새아, 새정, 새연, 새도 등 국내고유 품종이 개발되어 27%가 국내품종으로 대체되고 있다[4,16]. 유럽에서는 최초 교배종인 Horst

U1 개발된 이래로 동 품종으로부터 조직분리에 의한 복제 계통이 신규품종으로 개발되어 유전적 배경이 매우 유사하여 형태적으로 구분하는데 한계가 있다[2]. 최근 연구에 따르면 교배된 간의 상동성 염색체의 recombination없이 교배종이 발생할 수 있으며 이핵포자는 염색체의 재분배로 인하여 표현형이 다를 수 있는 것으로 보고되고 있어 이핵포자의 특성을 조사하여 독특한 표현형의 양송이를 선발 품종화하는 경우도 있다[2]. Fig. 3은 양송이 퇴비추출배지에서 15일간 배양한 *A. bisporus*와 다양한 *Agaricus* 종의 균사체의 형태적 특징을 비교한 것으로 *A. bisporus*는 유사한 배양적 특성을 보였으나 다른 종과는 균사 성장율과 균사체 특성이 다르게 나타났다. 따라서 형태적 관찰에 의한 양송이 계통간 구분은 한계가 있으며 DNA 마커에 의한 양송이 계통간 DNA profile이 유용하다는 것을 반증하고 있다.

본 연구는 UFPF primer로 양송이 계통간 또는 종간 PCR 다형성을 조사하였으며 양송이 종간 종내 유전적 다양성을 확인하였다. 향후 결과산물은 품종 또는 종 특이 DNA마커 개발을 위하여 적용할 수 있으며 궁극적으로는 MAS 또는 교배조합간 분자지도 연관마커 등에 이용하여 양송이버섯의 분자육종효율을 증진할 수 있는 유용한 자료로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

본 연구에서는 국내외에서 수집한 *A. bisporus* 45계통과 *Agaricus* spp. 19균주를 포함한 64균주로부터 genomic DNA를 추출하고 12종류의 UFPF primer (JK Biotech., Ltd.)를 사용하여 PCR 다형성 분석을 실시한 바 양송이 계통간 PCR다양성이 관찰되었다. 7종류의 UFPF primer에 의해 생성된 *A. bisporus*계통의 95 PCR다형성 밴드가 유전적 유사도 산출에 이용되어 UPGMA cluster분석을 적용 dendrogram을 작성한 결과 *A. bisporus*의 계통군은 3 clu-

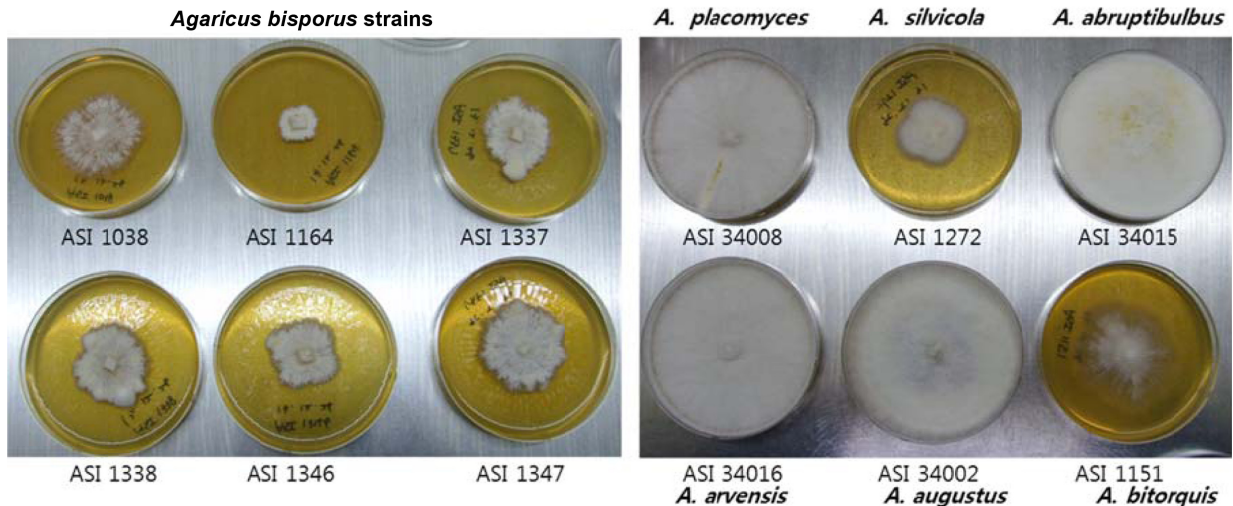


Fig. 3. Mycelial characteristics of *Agaricus bisporus* strains and different *Agaricus* spp. on compost extract media.

ster 내에 8개의 세부 group으로 분류되었으며 유사성 합수가 0.75에서 0.90의 유연관계를 보였다. 한국에서 최근 개발된 새아, 새정, 새연, 새도는 같은 group에 포함되었으며 0.96%에서 1.0%의 밀접한 근연관계에 있었으며 그밖에 한국품종은 미국 유럽의 양송이 품종과 유전적 유연관계를 보였다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청 · 산림청 Golden Seed 프로젝트 사업(원예종자사업단, 과제번호 : 213-003-04-1-SBJ10)에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Malekzadeh K, Banafsheh JMS, Ehsan M. Use of ISSR markers for strain identification in the button mushroom, *Agaricus bisporus*. In: Savoie JM, Foulongne-Oriol M, Largeteau M, Barroso G, editors, Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Arcachon, France; 2011. p. 3-34
- Sonnenberg ASM, Johan JPB, Patrick MH, Brian L, Wei G, Amrah W, Jurriaan JM. Breeding and strain protection in the button mushroom *Agaricus bisporus*. In: Savoie JM, Foulongne-Oriol M, Largeteau M., Barroso G, editors, Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Arcachon, France; 2011. p. 7-15.
- Fritsche G. Breeding *Agaricus bisporus* at the mushroom experimental station. *Horst Mushroom J* 1983;157:4-17
- Oh YL, Jang KY, Jhune CS, Kong WS, Yoo YB, Shin PG, Seo JS. Quality changes in *Agaricus bisporus* varieties due to period and temperature during their storage. *J Mushroom Sci Prod* 2013;11:137-144
- Foulongne-Oriol M., Spataro C, Savoie JM. Microsatellite markers isolated in the white button mushroom *Agaricus bisporus* are suitable for genetic studies. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009;84:1125-1135
- Loftus M, Bouchti-King L, Robles C. Use of SCAR marker for cap color in *Agaricus bisporus* breeding programs. *Mush Sci* 2000;5:201-205.
- Khush RS, Becker E, Wach M. DNA amplification polymorphisms of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Appl Environ Microbiol* 1992;58:2971-2977.
- Yadav MC, Mahfooz S, Singh SK, Upadhyay RC. RAPD markers assisted selection of genetically diverse parents for hybridization in *Agaricus bisporus*. *Mushroom Res* 2003;12: 19-26.
- Yadav MC, Challen MP, Singh SK, Elliott TJ. DNA analysis reveals genomic homogeneity and single nucleotide polymorphism in 5.8S ribosomal RNA gene spacer region among commercial cultivars of the button mushroom *Agaricus bisporus* in India. *Curr Science* 2007;93:1383-1391.
- Kang HW, Park DS, Go SJ, Eun MY. Fingerprinting of diverse genomes using PCR with universal rice primers generated from repetitive sequence of Korean weedy rice. *Mol Cells* 2002;13:281-287.
- Kang HW. Genetic diversity analysis of fungal species by universal rice primer (URP)-PCR. *Kor J Mycol*. 2012;40:78-85.
- Kang HW, Park DS, Park YJ, You CH, Lee BM, Go SJ. Genomic differentiation among oyster mushroom cultivars released in Korea by URP-PCR fingerprinting. *Mycobiology* 2001; 29:85-89.
- Foulongne-Oriol M, Spataro C, Cathalot V, Monllor S, Savoie JM. An expanded genetic linkage map of an intervarietal *Agaricus bisporus* var. *bisporus* x *A. bisporus* var. *burnettii* hybrid based on AFLP, SSR and CAPS markers sheds light on the recombination behaviour of the species. *Fung Genet Biol* 2010;47:226-236.
- Wang ZS, Chen MY, Cai ZX, Liao JH, Li HR, Guo ZJ, Lu ZH. DNA fingerprinting of genetic diversity of *Agaricus bisporus*. In: Savoie JM, Foulongne-Oriol M, Largeteau M., Barroso G, editors, Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Arcachon, France; 2011. p. 1-8.
- Kang HW, Park DS, Park YJ, Lee BM, Cho SM, Kim KT, Seo KS, Go SJ. PCR based detection of *Phellinus linteus* using specific primers Generated from Universal Rice Primer (URP) derived PCR polymorphic band. *Mycobiology* 2002;30:202-207.
- Kim HK, Ham IG, Lee KS, Lee BJ, Kim YG, Yang ES, Yoo YB, Kim HG. Characteristics of a new button mushroom variety Dahyang. *J Mushroom Sci Prod* 2011;9:17-21.