

# rDNA의 ITS 부위 염기서열 분석에 의한 구름버섯 균주의 유전적인 유연관계 분석

이찬중\*, 전창성, 정종천, 오진아, 한혜수, 엄나나  
농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

## Phylogenetic relationships of genera *Trametes* on the basis of ITS region sequences

Chan-Jung Lee\*, Chang-Sung Jhune, Jong-Chun Cheong, Jin-A Oh, Hye-Su Han and Na-Na Um  
Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received February 10, 2011, Revised February 23, 2011, Accepted February 26, 2011)

**ABSTRACT:** This study was carried to identify a correct species and assess genetic diversity within the same species of *Trametes* spp. preserved in Division of applied Microbiology. The morphological and cultural characteristics of preserved strains were observed through microscope and investigated on PDA, respectively. Contaminated isolates showed different growth rates, morphology and color of hyphae. We have reconstructed the phylogenetic tree of a select group of *Trametes* spp. using nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region(ITS) region. The phylogenetic tree was constructed by using the neighbor-joining method. PELF primers of 20-mer were used to assess genetic diversity of preserved isolates. Sequence analysis showed that five strains were different species and six strains were identified completely different nomenclature. According to the analysis of ITS sequences, the genus *Trametes* clustered into four distinct group, most of which correlated with species-groups identified by RAPD method. Seven isolates included TM 01 strain showed high similarity with *Trametes versicolor*, TM 07 and TM 10 high similarity with *Trametes gibbosa*, and TM 05 high similarity with *Trametes elegans*. But isolates collected in the United States was identified as *T. junipericola*. *T. gibbosa* and *T. versicolor* by RAPD analysis of genetic polymorphisms showed a very different band patterns and these strains showed different band patterns on areas. As the result of RAPD and ITS region sequences analysis for preserved isolates, it seems likely that 11 isolates of *Trametes* spp. may be need to reclassify or eliminate from preserved catalogue.

**KEYWORDS :** Internal transcribed spacer region, Mushroom, phylogenetic tree, RAPD analysis, *Trametes* spp.

## 서론

국내의 버섯은 현재 992종의 버섯이 분류(정, 1993) 되어 있으며, 그 중 식용 가능한 버섯이 100여종, 독버섯은 50여종이며 특히 맹독성을 가진 버섯이 20여종으로 확인(Lee, 1990; 박, 1991)되었고, 약용으로 사용하는 (許, 1981; 水野 등, 1992) 버섯은 35과 82속 162종으로 보고(Ahn, 1992)되어 있으나, 그 나머지 버섯은 아직 확인된 바가 없다.

구름버섯은 항암성분이 최초로 발견된 약용버섯으로 균사체로부터 단백당체를 추출하여 제약, 식품 등 다양한 산업에 이용하고 있으며(Tsukagoshi, 1974; 이 등, 1992), 목재의 섬유질과 리그닌을 분해하는 lignin peroxidase, laccase 및 manganese peroxidase 등 다양한 효소들을 가지고 있어 목재를 강하게 부후시키는 백색부후균류에 속한다(Vares and Hatakka, 1997; Collins 등, 1999; Tuomela 등, 1999).

*Trametes*속은 담자기모양, 2~3균사형태, 비텍스트리노

이드 포자, 자실층의 시스티디아 유무에 따라 구별할 수 있으며, *Trametes*의 많은 종은 비슷한 포자를 가지고 있으므로 종을 구별하기는 매우 어렵다(Gilbertson and Ryvarden, 1987). 구멍장이과는 균사형태에 따라 11개 그룹으로 나누어지고, 3균사형 및 백색부후성에 따라 16개의 속으로 분류된다(Ryvarden, 1991). Donk(1971)는 민주름버섯목을 세포분열 형태, 포자와 담자기의 미세구조, steril elements 등의 특징에 따라 23개과로 분류하였으며, 그의 분류체계는 현재까지 많은 담자균 분류학자들에게 인정받고 있다. *Trametes versicolor*L.) Lloyd(*Coriolus versicolor*(L.) Quel)는 담자균문(Basidiomycota), 담자균강(Basidiomycetes), 구멍장이버섯목(Polyporales), 구멍장이과(Polyporaceae)에 속하는 목재부후균으로 구름버섯 또는 운지버섯으로 잘 알려져 있다(정, 1994). 이 버섯은 종종 송편버섯(*Trametes*)과 구름버섯(*Coriolus*)으로 혼용되어 명명되고 있으며, 두 속간의 균종들이 버섯분류의 기준이 되는 형태적, 배양생리적, 생화학적 및 생태적특성이 유사하기 때문에 판단된다(Lee 등, 2005). 따라서 *Trametes*속과 *Coriolus*속이 포함된 구멍장

\*Corresponding author: <E-mail: lchanj@korea.kr>

**Table 1.** Fungal isolates used in this study

Strain no.	Scientific name	Source	Strain no.	Scientific name	Source
G0871	<i>T. versicolor</i>	Jeju	A11596	<i>T. palisotii</i>	Gyeonggi
G1875	<i>T. brevis</i>	Gangwon	ASI16001	<i>T. versicolor</i>	Gyeonggi
A6814	<i>T. gibbosa</i>	Gyeonggi	ASI16002	<i>T. pubescens</i>	Gyeonggi
A7377	<i>T. hirsutus</i>	Jeonnam	ASI16007	<i>T. brevis</i>	Gyeongnam
A7399	<i>T. gibbosa</i>	Gangwon	ASI16009	<i>T. hirsutus</i>	Gyeonggi
A6107	<i>T. brevis</i>	Korea	ASI16010	<i>T. hirsutus</i>	America
A7887	<i>T. gibbosa</i>	Gyeongnam	ASI56001	<i>T. hirsuta</i>	Gyeonggi
A8788	<i>T. versicolor</i>	Korea	ASI12507	<i>T. versicolor</i>	Korea
A9277	<i>T. versicolor</i>	Korea	ASI12521	<i>T. versicolor</i>	Korea

이 버섯과에 속하는 분류군들은 현재 재분류에 대한 작업들이 이루어지고 있으며(Ko and Jung, 1999), 최근 분자생물학적 방법을 이용한 새로운 분류학적 연구가 담자균의 분류에도 활발히 이루어지고 있다(Johnson, 1997, Kim and Jung, 2000).

2006년까지 농업과학기술원 응용미생물과에 보존되어 있는 균주는 4,500여 균주이며 이들 균주들은 외국에서 도입되었거나 국내에서 수집된 버섯에서 분리한 균주들이다. 이들 수집 균주들은 자실체의 형태적인 특징만으로 동정하여 보존하는 경우가 많았고, 외국에서 들어오는 균주, 또한 확인되거나 인증된 기관의 균주들이 아닌 출처가 명확하지 않은 균주가 많았다.

따라서 본 연구는 보존되어 있는 구름버섯균주들의 rDNA ITS 영역의 염기서열을 분석하여 이들 균주들의 분류학적 위치와 계통분류학적인 유연관계를 분석하고 RAPD분석에 의한 유전적 다형성을 조사한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시균주 및 배양조건

본 시험에 사용한 균주는 2006년 농업과학기술원 응용미생물과에 보존하고 있는 구름버섯속(*Trametes* spp.) 18균주를 사용하였다(Table 1). 본 균주의 배양은 PDA(Potato Dextrose Agar, Difco)를 사용하였고, 25°C의 항온기에서 약 15일간 배양하였다. 공시균주들은 멸균증류수 튜브에 옮겨 상온에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 염색체 DNA 추출

구름버섯속 균주로부터 염색체 DNA 추출은 PDA배지(potato dextrose agar)에서 7일간 배양한 균사체를 수확하여 동결건조한 후 소량을 2ml 튜브에 넣고 마쇄한 뒤 1ml CTABsolution [2%CTAB(w/v), 100mMTris-HCl(pH8.0),

20mM EDTA(pH 8.0), 1.4 M NaCl, 1% PVP(polyvinylpyrrolidone)에 현탁한 후 60°C에서 40분 동안 반응시켰다. 반응 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하여 Rnase와 Proteinase K 50 $\mu$ g을 첨가 후 37°C에서 40분간 반응시켰다. 여기에 같은 양의 Phenol/CHCl<sub>3</sub>/Isoamyl alcohol을 넣고 골고루 섞어주었다. 그리고 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하고 같은 양의 CHCl<sub>3</sub>/Isoamyl alcohol을 첨가하여 골고루 섞어 준 후 다시 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 여기에 1/10 량의 NaOAc(CH<sub>3</sub>COONa, 3M, pH 5.2)을 첨가하고 총량의 2.5배량의 100% 에탄올을 첨가한 후 -70°C에서 1시간 동안 두었다. 그리고 12,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 조심스럽게 버리고 70% 에탄올을 첨가한 후 다시 12,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 건조한 후 50 $\mu$ l의 멸균한 3차 증류수에 DNA를 녹여 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### rDNA의 ITS 영역 증폭과 유연관계 분석

각 균주로부터 추출한 염색체 DNA에서 rDNA의 ITS(internal transcribed spacers)영역을 증폭하기 위하여 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')의 universal primers를 사용하였다(White 등, 1990). PCR 증폭은 15ng의 genomic DNA, 각 0.5 pmol의 primer, 200 $\mu$  M dNTP, 2.5 unit의 Taq DNA polymerase, 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>에 증류수를 첨가하여 최종 volume을 30 $\mu$ l로 하였다. DNA 증폭은 initial denaturation을 94°C에서 2분간 실시하고, denaturation 40초(94°C), annealing 1분(58°C), extension 1분(72°C)으로 30cycle을 반응시키고 마지막으로 72°C에서 5분간 incubation 하였다. 증폭된 DNA는 1.5% agarose gel에서 전기영동을 하여 확인 후 sequencing을 수행하였다. 균주간 유연관계 분석을 위한 염기서열의 분석은 ClustralW 분석프로그램(Thompson 등, 1994)을 사용하

였다. Jukes와 Cantor(1969) 방법을 이용하여 evolutionary distance matrix를 작성하고, MEGA 4의 Neighbor-joining 방법을 이용하여 계통수를 작성하였으며, tree의 안정성은 1000 반복의 bootstrap 분석으로 조사하였다.

#### RAPD에 의한 다형성 분석

다형성 분석을 위하여 각각의 균주에서 추출한 염색체 DNA를 RAPD-PCR 방법을 이용하여 증폭하였다(Williams 등, 1990). Primer(20 mer)는 시제품으로 PELF을 구입하여 사용하였다. PCR은 94℃에서 4분간 pre-heating시킨 다음, 94℃ 1분간 denaturation, 55℃에서 40초간 annealing, 72℃에서 2분 동안 extension을 1cycle로 하여 총 40cycles를 반응시킨 후 4℃에서 유지하였다. PCR산물은 1.2% agarose gel에서 90 volt로 loading한 후 UV transilluminator lamp 상에서 밴드를 관찰하였다.

#### 결과 및 고찰

유관버섯속 등 31속 50종 97균주에 대해서 온도, pH, 배지종류 등에 따른 배양적 특성과 균사의 생육모양, 균층의 색깔 등을 조사하여 속별로 완전히 다른 특성을 가지는 균주에 대해서는 오염으로 간주하고 실험에서 제외 시켰다(자료생략). 이들 실험 균주 중 구름버섯속 균주를 선발하여 배양적 및 형태적 특성을 조사하여 비슷한 균주별로 그룹화한 다음 rDNA의 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 결정하고 결과 보존균주의 학명과 많은 차이를 보였으며, 균사의 모양 및 색깔에도 많은 차이를 보였다(Fig. 1). 이와 같이 수집 당시 정확한 동정을 통하여 균주를 분리하여 보존하지 않았을 경우 균주의 생육, 형태 및 색깔 등 통하여 같은 종으로 분류하는 것은 어렵다고 생각된다.

곰팡이류의 ITS 부위는 17S와 25S 사이에 존재하며, 이 부위의 염기서열 분석 자료는 mt-DNA등과 함께 최근 균류의 계통분류에 널리 사용되고 있으며(박 등, 1999; Kim 등, 2001), 현재까지의 보고로는 중간뿐만 아니라 종내에서도 많은 변이를 갖는 것으로 알려져 있다(Mitchel 등, 1995). 실험에 사용한 균주들의 계통분석을 하기 위하여 ITS 1과 ITS 4 프라이머를 이용하여 rDNA의 ITS 영역을 증폭한 결과 600~700 bp 정도의 증폭 산물을 얻었다. 이들 염기서열을 바탕으로 GenBank에 상동성을 조사하였고, 유전자의 염기서열은 GenBank Database에 등록하였다(Accession no. HQ901177~HQ901194). 보존균주 목록과 염기서열 분석을 통한 동정결과에서 종이 다른 균주가 5균주, 학명이 완전히 다른 균주가 6균주로 전체의 61%를 차지하였다. 국내에서 수집한 구름버섯의 경우 *T. versicolor*, *T. elegans*, *T.*

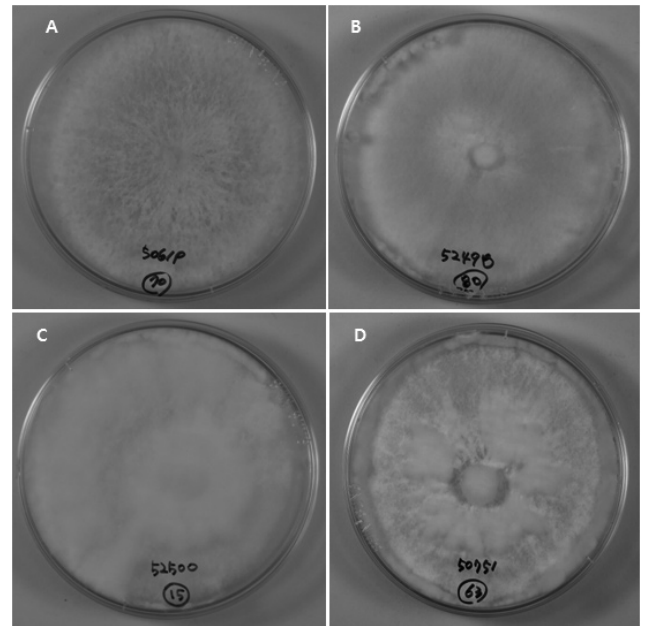


Fig. 1. Cultural and morphological characteristics of genus *Trametes*. Original identification (Molecular identification): A: *T. brevis* (*Coriolaceae* sp.), B: *T. brevis* (*T. versicolor*), C: *T. hirsutus* (*Grifola frondosa*), D: *T. gibbosa* (*T. gibbosa*).

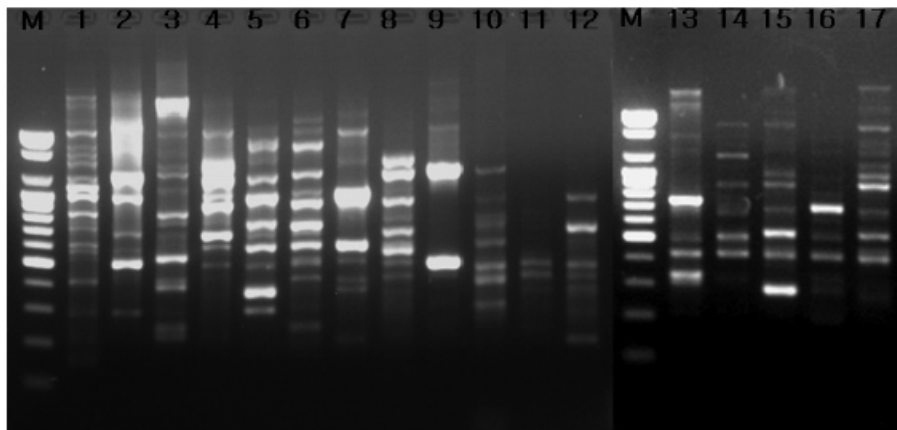
*gibbosa* 등 3개 속으로만 동정되었고, 미국에서 수집한 균주는 *T. junipericola*로 동정되었다(Table 2). 이와 같이 보존 목록과 완전히 다른 genus로 나타난 균주들에 대해서는 계통분류학적인 유연관계 분석과 보존중인 자실체 유전자와의 상동성을 비교하여 보존균의 오염 여부를 판단하여 기존 목록의 학명을 재분류해야 할 것으로 판단된다.

*Trametes* spp의 RAPD 분석을 통한 유전적인 다형성을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 분석결과 *T. versicolor*와 *T. gibbosa*는 아주 다른 밴드 패턴을 보였다. TM02 등 6균주는 보존목록에서는 *Trametes*로 분류되어 있으나, 염기서열에 의한 상동성 조사 결과 완전히 다른 genus로 밝혀졌으며, RAPD의 밴드 패턴도 *Trametes*와는 완전히 다른 양상을 보였다. 또한 같은 종내에서 분포지역에 따라 상이한 밴드 패턴을 보였다. 따라서 이들에 대해서는 보존균주의 오염여부와 자실체 유전자와의 상동성에 대한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

이들 균주들에 대한 분류학적위치 및 유전학적인 유연관계 분석을 위하여 계통수를 그려 이들 사이의 유연관계를 확인해 보았다(Fig. 3). 분석결과 *T. versicolor*, *T. junipericola*, *T. gibbosa*, *T. elegans* 등 4개의 분류군으로 이루어졌으며, TM01 등 6균주는 *T. versicolor*와 아주 가까운 유연관계를 보였지만, TM17은 이들 보다는 약간 먼 유연관계를 보였다. 그리고 TM07과 TM10 균주는 *T. gibbosa*, TM05 균주는 *T. elegans*와 매우 가까운 유연관계를 나타내었고, TM15 균주

**Table 2.** Taxonomic affiliation based on ITS region sequence for preserved strains

strain designation	Isolates no.	Original Identification	Molecular Identification	Similarity	Accession no.
TM01	G0871	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901177
TM02	G1875	<i>T. brevis</i>	<i>Cerrena sp.</i>	99	HQ901178
TM03	A6814	<i>T. gibbosa</i>	<i>Coprinus sp.</i>	97	HQ901179
TM04	A7377	<i>T. hirsutus</i>	<i>Fomitella fraxinea</i>	100	HQ901180
TM05	A7399	<i>T. gibbosa</i>	<i>T. elegans</i>	99	HQ901181
TM06	A6107	<i>T. brevis</i>	<i>Coriolaceae sp.</i>	96	HQ901182
TM07	A7887	<i>T. gibbosa</i>	<i>T. gibbosa</i>	99	HQ901183
TM08	A8788	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901184
TM09	A9277	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	98	HQ901185
TM10	A11596	<i>T. palisotii</i>	<i>T. gibbosa</i>	100	HQ901186
TM11	ASI16001	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901187
TM12	ASI16002	<i>T. pubescens</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901188
TM13	ASI16007	<i>T. brevis</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901189
TM14	ASI16009	<i>T. hirsutus</i>	<i>Grifola frondosa</i>	99	HQ901190
TM15	ASI16010	<i>T. hirsutus</i>	<i>T. junipericola</i>	99	HQ901191
TM16	ASI56001	<i>T. hirsuta</i>	<i>Tyromyces chioneus</i>	99	HQ901192
TM17	ASI12507	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	95	HQ901193
TM18	ASI12521	<i>T. versicolor</i>	<i>T. versicolor</i>	99	HQ901194

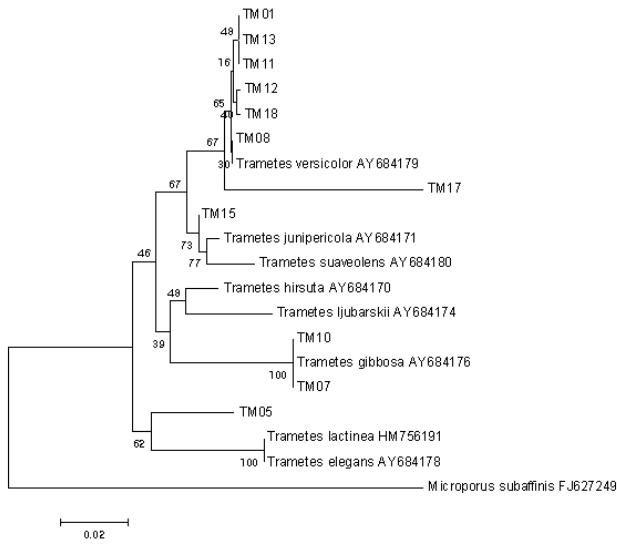


**Fig. 2.** Representative random amplified polymorphic DNA fingerprints using PELF primer of *Trametes* spp. 1: TM04, 2: TM14, 3: TM06, 4: TM11, 5: TM08, 6: TM01, 7: TM15, 8: TM13, 9: TM02, 10: TM17, 11: TM18, 12: TM09, 13: TM03, 14: TM05, 15: TM07, 16: TM16, 17: TM10.

는 *T. suaveolens*과 같은 그룹에 속하며 유연관계도 가까운 것으로 분석되었다. 또한 여러 *Trametes* 종들 간의 유사도와 evolutionary distance는 Table 3에서 나타내었으며, 결과는 유전적인 유연관계분석과 유사한 경향을 보였다. Prewitt 등(2007)은 목재부후균류에 관한 연구에서 유연관계 분석 결과 *Trametes*, *Phanerochaete* 그리고 *Gloeophyllum* 등 3개의 속으로 분류되었고, *Trametes*와 *Phanerochaete*속은 자매그룹, *Gloeophyllum*속은 *Trametes/Phanerochaete* 분지군과 자매그룹을 형성하였으며, *T. versicolor*의 9균주

중 8개 균주와 *T. hirsutu*의 10균주 중 9균주가 단진화군을 형성하였다고 보고하였다. 그리고 Ko와 Jung(1999)은 *Trametes* 그룹의 백색부후성인 3군사형균류는 대부분 하나의 분지군을 형성하며 공통의 조상으로부터 유래되었으며, *Trametes consors*는 아직 유전적인 위치가 확실하지 않으며 *Trametes trogi*는 *Coriolopsis gallica*와 같은 그룹에 속한다고 보고하였다.

유전자 분석결과 구름버섯속으로 동정된 균주들간의 ITS부위 유전자수준에서 상동성을 비교한 결과는 Fig. 4와



**Fig. 3.** Phylogenetic relationships of *Trametes* spp. based on internal transcribed spacer(ITS) sequences. Numerical values on branches are the bootstrap values as percentage of bootstrap replication from 1000 replicate analysis. Bar = 0.02 genetic distance between samples.

같다. *T. elegans* 그룹인 TM05는 *T. versicolor* 그룹인 TM01 등 6균주와는 93~94%의 상동성을 보였지만, TM17균주와는 90%의 낮은 상동성을 보였다. *T. gibbosa* 그룹인 TM07은 *T. versicolor* 그룹인 TM01 등 6균주와는 91~92%의 낮은 상동성을 보였고, TM17균주와도 87%의 낮은 상동성을 보였다. 또한 *T. elegans* 그룹의 TM15는 *T. versicolor* 그룹인 TM01 등 6균주와는 97~98%의 비교적 높은 상동성을 보였지만, TM17균주와는 92%의 낮은 상동성을 보였다. 따라서 TM17의 경우 *T. versicolor*와 같은 그룹에 포함되었지만, 같은 그룹에 속한 TM01 등 6균주와는 93%의 낮은 상동성을 보였으므로, *T. versicolor*로 동정하기 위해서는 다양한 유전자 분석을 통한 보다 정확한 동정이 이루어져야 할 것으로 판단된다. Lee 등(2005)은 강원도지역에서 채집하여 분리한 *T. versicolor* 균주간에는 염기차이가 0~6개로 매우 유사한 근연한 양상을 나타내었고, 이들 자실체간의 색깔이나 무늬는 ITS1과 ITS2의 염기서열과는 직접적인 유연관계가 없었다고 하였다. Tomsovsky 등(2006)은 *Trametes cervina*을 제외한 모든 *Trametes* 종은 분지군을 형성하지만, *Trametes cervina*는 *Ceriporiopsis aneirina*와 그룹을 형성한다고 보고하였다.

**Table 3.** Similarities(upper right) and evolutionary distances(lower left) between rDNA ITS region sequences of species of the genus *Trametes*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1		99.4	98.6	99	99.2	99.2	99	97.4	96.8	92.6	95.8	92.2	91.1	91.1	89.1	89.1	92	90.7	93.2	79.5
2	0.4		99	99.4	99.6	99.4	99.4	97.6	97	92.4	95.6	91.8	90.9	90.9	89.3	89.3	91.8	90.5	93	79.5
3	0.6	0.4		98.4	98.6	98.6	98.8	97.8	97.2	92.4	95.8	91.3	90.9	90.9	89.3	89.3	91.3	90.5	92.6	79.1
4	0.4	0.2	0.6		99.8	99.6	99.6	97	96.4	92.2	95.4	91.5	90.5	90.5	88.7	88.7	91.7	90.1	92.6	78.9
5	0.4	0.2	0.6	0		99.8	99.8	97.2	96.6	92.2	95.4	91.7	90.7	90.7	88.9	88.9	91.7	90.3	92.8	79.1
6	0.2	0.2	0.4	0	0		99.6	97.2	96.6	92.2	95.4	91.7	90.7	90.7	88.9	88.9	91.7	90.3	92.8	79.1
7	0.6	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2		97.4	96.8	92.4	95.6	91.5	90.7	90.7	89.1	89.1	91.5	90.3	92.6	78.9
8	2.2	2.2	1.7	2.4	2.4	2.2	2.2		99.4	94	98	90.3	92.4	92.4	90.7	90.7	92.4	92	93.6	80.1
9	2.8	2.8	2.4	3.1	3.1	2.8	2.8	0.6		93.8	97.8	89.7	92.6	92.6	90.5	90.5	92.2	92.2	93.4	79.9
10	5.1	5.6	4.9	5.4	5.6	5.4	5.4	3.8	4		93.2	86.9	94.6	94.6	90.5	90.5	95	94.2	91.7	79.1
11	4	4.4	4	4.2	4.4	4.2	4.2	2.2	2.4	4.7		88.9	91.3	91.3	89.1	89.1	91.7	91.1	92.4	78.5
12	6.1	6.8	6.8	6.8	6.8	6.6	7	8.2	9	9.8	10		86.1	86.1	83.5	83.5	86.1	86.1	88.1	77.1
13	7.2	7.6	7	7.7	7.7	7.4	7.7	5.8	5.5	4.8	7.2	11.9		100	89.3	89.3	90.9	99.6	89.7	79.1
14	7.2	7.6	7	7.7	7.7	7.4	7.7	5.8	5.5	4.8	7.2	11.9	0		89.3	89.3	90.9	99.6	89.7	79.1
15	7.4	7.4	6.7	7.7	7.7	7.4	7.4	5.8	6	7.5	7.7	12	9.1	9.1		99.8	89.9	88.9	90.9	81.3
16	7.7	7.6	7	7.9	7.9	7.7	7.6	6	6.2	7.8	7.9	12.2	9.4	9.4	0		90.1	88.9	90.9	81.3
17	6	6.5	6.5	6.3	6.5	6.3	6.7	5.8	6	5.2	6.7	11	9.4	9.4	8.4	8.4		90.5	90.7	79.1
18	7.2	7.7	7	7.7	7.7	7.5	7.7	5.8	5.6	4.8	7	12	0	0	9.2	9.4	9.4		89.3	78.7
19	5.8	6.3	6.1	6.3	6.3	6.1	6.5	5.6	5.8	5.8	7	9.7	8.4	8.4	5.8	6	7.2	8.4		79.9
20	16.4	16.1	16	16.5	16.4	16.2	16.7	15.4	15.6	19.4	17.6	18.7	18.5	18.5	18.1	18.3	19.1	18.6	15.9	

1. TM08, 2. *Trametes versicolor* AY684179, 3. TM12, 4. TM01, 5. TM11, 6. TM13, 7. TM18, 8. TM15, 9. *Trametes junipericola* AY684171, 10. *Trametes hirsuta* AY684170, 11. *Trametes suaveolens* AY684180, 12. TM17, 13. TM10, 14. *Trametes gibbosa* AY684176, 15. *Trametes lactinea* HM756191, 16. *Trametes elegans* AY684178, 17. *Trametes ljubarskii* AY684174, 18. TM07, 19. TM05, 20. *Microporus subaffinis* FJ627249.

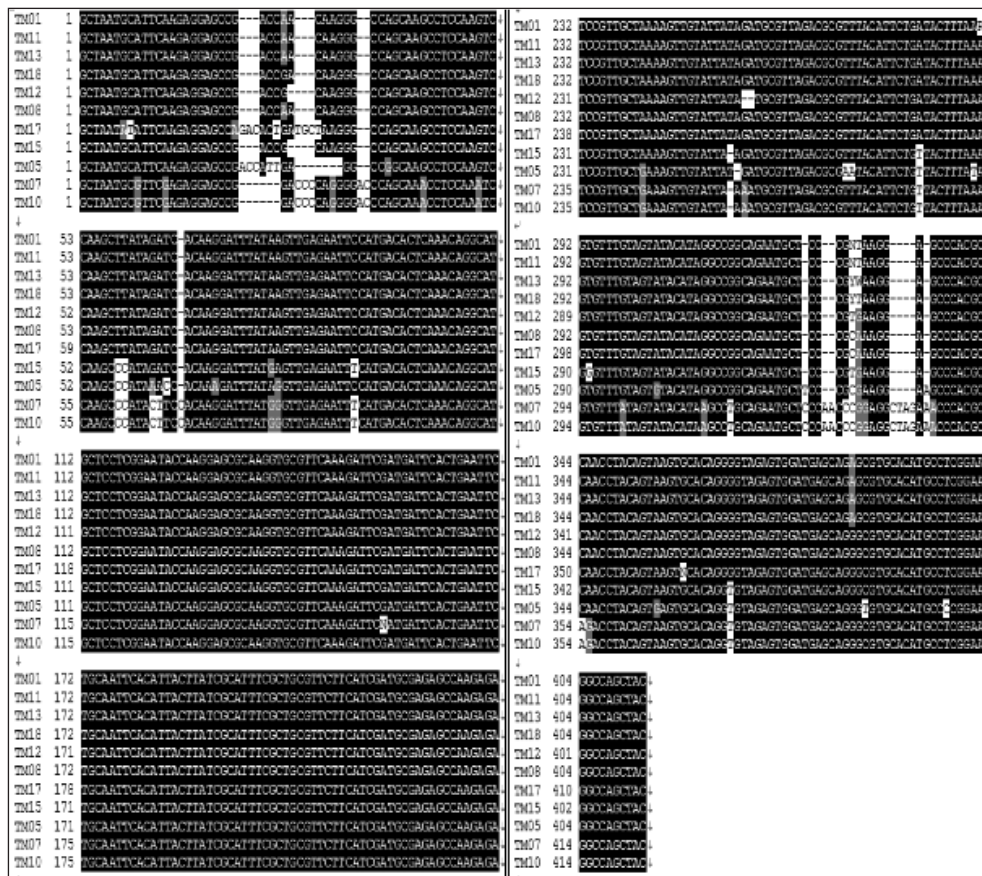


Fig. 4. Comparison of rDNA ITS region sequences from species of the genus *Trametes*. Gene Bank accession number: TM01: HQ901177, TM02: HQ901178, TM03: HQ901179, TM04: HQ901180, TM05: HQ901181, TM06: HQ901182, TM07: HQ901183, TM08: HQ901184, TM09: HQ901185, TM10: HQ901186, TM11: HQ901187, TM12: HQ901188, TM13: HQ901189, TM14: HQ901190, TM15: HQ901191, TM16: HQ901192, TM17: HQ901193, TM18: HQ901194.

적요

보존중인 구름버섯속 균주를 선발하여 배양 및 형태적 특성을 조사하여 비슷한 균주별로 그룹화하여 rDNA의 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 결정 한 결과 보존시 균주의 학명과 많은 차이를 보였으며, 균사의 모양 및 색깔에도 많은 차이를 보였다. rDNA의 ITS 영역의 염기서열을 바탕으로 보존 당시 동정된 결과와 염기서열 분석을 통한 결과를 비교한 결과 종이 다른 균주가 5균주와 학명이 다른 균주가 6균주로 전체의 61%를 차지하였다. 국내에서 수집한 구름버섯의 경우 *T. versicolor*, *T. elegans*, *T. gibbosa* 등 3개 속으로만 동정되었고, 미국에서 수집한 균주는 *T. junipericola*로 동정되었다. *Trametes* spp의 RAPD 분석을 통한 유전적인 다형성 조사에서 *T. versicolor*와 *T. gibbosa*는 아주 다른 밴드 패턴을 보였다. 또한 같은 종내에서서 분포지역에 따라 상이한 밴드 패턴을 보였다. 유전적인 유연관계 분석에서는 *T. versicolor* 등 4개의 분류군으로 나누어졌으며, ITS부위 유전

자수준의 상동성 비교에서도 비슷한 경향을 보였다. 따라서 기존 목록과 완전히 다른 속으로 동정된 균주들에 대해서는 계통분류학적인 유연관계 분석과 보존중인 자실체 유전자와의 상동성을 비교하여 보존진균의 오염 여부를 판단하여 기존 목록의 학명을 재분류해야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

박동석, 고승주, 김양섭, 석순자, 송재경, 여윤수, 류진창, 성재모. 1999. 먹물버섯속(*Coprinus* spp.)의 ITSII영역 염기서열에 의한 유연관계 분석. 한국균학회지 27 : 27-31.  
 박완희. 1991. 한국의 버섯. 교학사, 서울. 23pp.  
 이병우, 이명섭, 박기문, 김창한, 안평욱, 최춘연. 1992. 운지버섯 균사체 추출물의 항암효과에 관한 연구. 산업미생물학회지 20 : 311-315.  
 정학성. 1993. 한국산 고등균류 분류학 발표 목록. 균학회

- 소식. 5 : 29-36.
- 정학성. 1994. 한국산 목재부후균류의 분포상에 대한 연구 (II). 한국균학회지 22 : 62-99.
- 許浚. 1981. 東醫寶鑑, 東醫寶鑑國譯委員會 編譯. 南山堂, 서울. 1178pp
- 水野 卓, 川合正允. 1992.キノコの 化學 生化學, 學科出版 センタ. pp. 13-91.
- Ahn, D. K. 1992. Medicinal Fungi in Korea. Kor. J. Mycol. 20 : 154-166.
- Collins, P., O'Brien, M. M. and Dobson, A. D. 1999. Cloning and characterization of cDNA encoding a novel extracellular peroxidase from *Trametes versicolor*. Appl. Environ. Microbiol. 65 : 1343-1347.
- Donk, M. A. 1971. Progress in the study of classification of the higher Basidiomycetes, Pp3-25, In: R. H. Petersen Ed. Evolution in the higher Basidiomycetes. The University of Tennessee Press, Knoxville, Tennessee, USA.
- Gilbertson, R. L. and Ryvarden, L. 1987. North American polypores. Vol. 2. Megasporoporia- Wrightoporia. Fungiflora, Oslo.
- Johnson, J. 1997. Phylogenetics of the Basidiomycetes genus *Lepiota* sensu lato: a framework for studying the evolution of insect-cultivated fungi. Ph.D. Thesis, Duke University, Durham, North Carolina. p. 150.
- Jukes, T. H. and Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules, pp. 21-132. In: H. N. Munro (de.), Mammalian Protein Metabolism. Academic Press, N. Y.
- Kim, S. Y. and Jung, H. S. 2000. Phylogenetic relationships of the Aphyllophorales inferred from sequence analysis of nuclear small subunit ribosomal RNA. J. Microbiol. Kor. 38 : 122-131.
- Kim, S. Y., Park, S. Y. and Jung, H. S. 2000. Phylogenetic classification of *Antrrodia* and related genera based on ribosomal RNA internal transcribed spacer sequences. J. Microbiol. Biotechnol. 11 : 475-481.
- Ko, K. S. and Jung, H. S. 1999. Molecular phylogeny of *Trametes* and related genera. Antonie van Leeuwenhoek 75 : 191-199.
- Lee, M. J., Jun, S. C., Hwang, I. K., Choi, H. K. and Kim, K. J. 2005. Analysis of rDNA ITS region from *Trametes* spp. in Kangwon province, Korea. Kor. J. Mycol. 33 : 1-10.
- Lee, T. S. 1990. The Full List of Recorded Mushroom in Korea. Kor. J. Mycol. 18 : 233-259.
- Mitchel, J. I., Robert, P. J. and Moss, S. T. 1995. Sequence or structure/ A short review on the application of nucleic acid sequence information to fungal taxonomy. Mycologist 9 : 67-75.
- Prewitt, M. L., Diehl, S. V., McElroy, T. C. and Diehl, W. J. 2007. Comparison of general fungal and basidiomycete-specific ITS primers for identification of wood decay fungi. Forest Products Journal 58 : 66-71.
- Ryvarden, L. 1991. Genera of polypores: Nomenclature and taxonomy. Syn. Fung. 5 : 1-363.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic.
- Tomsovský, M., Kolarík, M., Paoutová, S. and Homolka, L. 2006. Molecular phylogeny of European *Trametes* (Basidiomycetes, Polyporales) species based on LSU and ITS (nrDNA) sequences. Nova Hedwigia 82 : 269-280.
- Tsukagoshi, S. and Ohashi, F. 1974. Protein bound polysaccharide preparation, ps-k, effective against mouse sarcoma-180 and rat ascites hepatoma AH-13 by oral use. Gann. 65 : 557-558.
- Tuomela, M., Lyytikäinen, M. and Hatakka, P. 1999. Mineralization and conversion of pentachlorophenol (PCP) in soil inoculated with the white-rot fungus *Trametes versicolor*. Soil Biol. Biochem. 31 : 65-74.
- Vares, T. and Hatakka, A. 1997. Lignin-degrading activity and ligninolytic enzymes of different white-rot fungi: effects of manganese and malonate. Can. J. Bot. 75 : 61-71.
- White, T. J., Burns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand D. M, Sninsky J. J, White T. J, eds. PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego, California: Academic Press. P315-322.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18 : 6531-6535.