

느티만가닥버섯의 재래종과 감마선 돌연변이체들의 유전적 변이

김종봉* · 유동원

대구가톨릭대학교 의생명과학과

Genetic variation of local varieties and mutants groups induced by gamma ray in *Hypsizygus marmoreus*

Jong-Bong Kim* and Dong-Won Yu

Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea

ABSTRACT: This research was carried out to analyze the genetic variation of 18 wild strain, 2 breed varieties and 20 mutants of *Hypsizygus marmoreus* by random amplification of polymorphic DNA(RAPD). Also, 3 strains of *Lyophyllum decartes* and 1 strain of *Lyophyllum shimeji* were used. These mushrooms were collected from Korea, China, Taiwan and Japan. Spores of *H. marmoreus* JV-2 strain were irradiated by gamma ray for mutagenesis. 40 kind of primers were used for this research. Number of reaction primer were 31. Electrophoretic patterns of RAPD showed genetic variation. In phylogenetic tree, they were divided into seven group. Discriminative differences were observed between wild strain and mutants in *H. marmoreus*. These results might suggest that these primers and gamma ray irradiation of spores were useful tools for developing new strain for mushroom.

KEYWORDS: Gamma ray, Genetic variation, *Hypsizygus marmoreus*, RAPD

서론

우리나라는 2002년 국제 식물 신품종 보호조약(International Union Protein of New Varieties of plants, UPOV)에 가입하여 2008년부터 식용버섯의 대부분이 품종 보호 대상에 해당 있다. 신품종 개발이 절실하다(Chang, 2008; Chang *et al.*, 2010; Knowledgeworks co., 2012). 육종 및 신품종등록에서 중요한 기준이 안정된 형

질의 특수성이다. 그러나 버섯의 경우, 재배조건의 여러 요인에 따라 형태적, 생리적 변이가 심하기 때문에 신품종으로 평가 받을 수 있는 분자 유전적 특성의 규명이 중요한 요건이 되어 가고 있다. 이에 따라 재래종과 개발품종들 분자 유전적 차별성과 분자지표를 밝히고자 RAPD(Random Amplified Polymorphism of DNA), ribosome의 ITS(Internal Transcribed Spacer)등의 DNA분석방법들이 많이 이용되고 있다(Kim and Jung, 2013).

느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)은 담자균류의 주름버섯목, 송이과에 속하는 식용버섯으로 가을철 너도밤나무 등 활엽수의 고사목과 생목에 발생하며, 한국, 일본, 중국, 북유럽 등 주로 북반구 지역에 분포한다(Lim *et al.*, 2010).

느티만가닥버섯은 저지방 고단백 식품으로 구성아미노산중에 글루탐산이 많이 함유되어 있으며 항암효과와 항동맥경화 효과가 있는 것으로 보고된 바 있고(Matsuzawa, 1998; Mori, 2008), 최근에는 혈전증, 뇌졸중, 동맥경화와 같은 심혈관계 질환과 항고혈압성에 탁월한 효과가 있는 것으로 보고되었다(Park *et al.*, 2001, Zanabaatar *et al.*, 2012). 또한 느티만가닥버섯의 Hypsin은 항진균활성과 항종양효과(Laim *et al.*, 2001)을 가지며, HM23(collagen

J. Mushrooms 2014 June, 12(3):181-186
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2014.12.3.181>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
 E-mail : jbkim@cu.ac.kr
 Tel : +82-53-850-3775, Fax : +82-53-850-3727

Received July 17, 2014
 Revised August 12, 2014
 Accepted August 12, 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.

binding protein)(Tsuchida *et al.*, 1995), hypsiziprenol A9 (Chang *et al.*, 2004)와 다당체들(Ikekawa *et al.*, 1992)은 항암효과를 보이는 것으로 보고되어 있다.

느티만가닥버섯의 인공재배기술이 2002년에 우리나라에 도입되었고 현재 시설재배농장 등에서 재배하고 있고 급속하게 생산량이 증가하고 있다. 그러나 재배되고 있는 느티만가닥버섯의 품종은 대부분 일본에서 도입한 것으로 우리나라 공식적으로 자체 개발된 품종은 해미 등에 불과하다.

느티만가닥버섯에 관한 분자유전학적 연구와 품종개발에 관한 연구로 2010년 느티만가닥버섯의 품종 특이적 마커 개발을 위한 연구(Lim *et al.*, 2010)와 원형질체에 감마선을 조사하여 유발한 돌연변이 육종에 관한 연구(Kim *et al.*, 2011)등이 있다. 그러나 분자마커 개발을 위한 RAPD 분석에서 사용한 primer가 3가지로는 RAPD가 가지고 있는 변이성 문제, 그리고 느티만가닥버섯의 서식지에 따른 다양한 재배종들의 분자유전적 차이를 반영하기에 어려운 점이 있을 수 있다. 또한 원형질체에 대한 감마선 조사에 의한 돌연변이 유발에서 원형질체나출과 돌연변이 형질의 고정 등의 어려움 및 돌연변이체들과 대조군 사이에 분자유전 차이점이 발견되지 않았다 등의 문제들이 있다.

이와 같은 점들과 관련하여 본 연구에서는 20종류의 느티만가닥버섯, 잣빛만가닥버섯(*Lyophyllum decastes*) 1종, 땅지만가닥버섯 (*Lysophyllum shimeji*) 3종 등 24품종의 재래종과 단포자에 감마선을 조사하여 유발한 돌연변이체 20종류 등에 대하여 40종류의 primer를 사용한 유전변이를 분석하여 마커개발과 돌연변이 육종의 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

재래종

느티만가닥버섯의 경우 야생재래종 18품종과 육종된 것 2품종, 야생잣빛만가닥버섯 3품종, 야생 땅지만가닥버섯 1종 모두 3종 24품종이었다(Table 1). 야생종은 한국산 5품종, 일본산 3품종, 중국산 11품종, 대만 3품종, 일본 3품종이었다. 육종된 느티만가닥버섯 2품종은 일본에서 개발한 것이다(Table 1).

돌연변이 균주

돌연변이는 일본산 느티만가닥 개량종(JV-2)의 단핵포자에 감마선을 조사한 후 단핵균사를 교배하여 만든 것들이다. 일본산 느티만가닥버섯(JV-2)의 포자를 희석, PDA 배지에 도말하여 정읍 방사선 연구소에 의뢰 저준위(50~500Gy)와 고준위(1000~2000Gy)의 감마선을 조사하였다. 감마선을 조사한 포자를 받아 시킨 단핵균주의 밀도, 생장속도, 색 등을 분석하여 돌연변이 단핵균주를 선

Table 1. The source and locality of strains

No.	Strain No.	기탁번호	Origin	Species	Type
01	CW-1	IUM 2461	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
02	CW-2	IUM 3868	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
03	CW-3	IUM 3891	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
04	CW-4	IUM 3903	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
05	CW-5	IUM 1414	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
06	CW-6	IUM 3835	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
07	CW-7	IUM 3750	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
08	CW-8	IUM 3888	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
09	CW-9	IUM 3900	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
10	CW-10	IUM 1621	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
11	CW-11	IUM 2232	China	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
12	TW-1	IUM 2127	Taiwan	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
13	TW-2	IUM 1515	Taiwan	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
14	TW-3	IUM 4145	Taiwan	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
15	JW-1	IUM 4706	Japan	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
16	KW-1	IUM 3880	Korea	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
17	KW-2	IUM 1879	Korea	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
18	KW-3	(주)Green peace	Korea	<i>H. marmoreus</i>	Wild type
19	JV-1	(주)Green peace	Japan	<i>H. marmoreus</i>	Variety breeding
20	JV-2*	(주)Green peace	Japan	<i>H. marmoreus</i>	Variety breeding
21	JW-2	IUM 1057	Japan	<i>L. descartes</i>	Wild type
22	KW-4	IUM 0946	Korea	<i>L. descartes</i>	Wild type
23	KW-5	IUM 4745	Korea	<i>L. descartes</i>	Wild type
24	JW-3	IUM 4725	Japan	<i>L. shimeji</i>	Wild type

* Spores of this strains were irradiated by gamma ray.

발하였다. 돌연변이 단핵균주를 교배 균주로 하여 돌연변이 단핵균주 간, 돌연변이 단핵균주와 정상 단핵균주를 교배시켜 돌연변이 이핵균주로 하였다. clamp connection 관찰에 의해 이핵균주를 확인하였고 3대를 계대하여 최종 돌연변이 균주로 하였다(Table 2).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 분석

Genomic DNA 추출

Genomic DNA의 추출을 위해 PDA 배지에서 20일에서 23일간 배양한 균사를 사용하였으며, DNA 추출법은 (Lee *et al.*, 1988)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 배양한 균사를 0.2-1 g 채취하여 mortar에 넣고 liquid nitrogen으로 급냉시켜 냉동상태에서 미세하게 마쇄한 다음 lysis buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.2), 50 mM EDTA (pH 8.0), 3% SDS, 1% 2-Mercaptoethanol] 500 μ l를 넣

Table 2. Mating group of mutant monokaryon mycelia.

No.	Strain no.	species	교배형(Gy)	No.	Strain no.	species	교배형
1	RRB-1	<i>H. marmoreus</i>	R2(50)×R9(50)	11	RCB-11	<i>H. marmoreus</i>	C×R12(50)
2	RRB-2	<i>H. marmoreus</i>	R2(50)×R85(200)	12	RCB-12	<i>H. marmoreus</i>	C×R47(100)
3	RRB-3	<i>H. marmoreus</i>	R3(50)×R47(100)	13	RCB-13	<i>H. marmoreus</i>	C×R56(100)
4	RRB-4	<i>H. marmoreus</i>	R9(50)×R47(100)	14	RCB-14	<i>H. marmoreus</i>	C×R62(100)
5	RRB-5	<i>H. marmoreus</i>	R9(50)×R85(200)	15	RCB-15	<i>H. marmoreus</i>	C×R77(200)
6	RRB-6	<i>H. marmoreus</i>	R9(50)×R110(200)	16	RCB-16	<i>H. marmoreus</i>	C×R101(200)
7	RRB-7	<i>H. marmoreus</i>	R12(50)×R47(100)	17	RCB-17	<i>H. marmoreus</i>	C×R126(400)
8	RRB-8	<i>H. marmoreus</i>	R12(50)×R127(400)	18	RCB-18	<i>H. marmoreus</i>	C×R127(400)
9	RRB-9	<i>H. marmoreus</i>	R47(100)×R110(200)	19	RCB-19	<i>H. marmoreus</i>	C×R144(500)
10	RRB-10	<i>H. marmoreus</i>	R57(100)×R90(200)	20	RCB-20	<i>H. marmoreus</i>	C×R174(1000)

R: Red monokaryon mycelia which are mutants
 G: total dose treated with gamma ray
 C: Control monokaryon mycelia

어 잘 섞고, 65°C water-bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 12,000 rpm (Effendorf 5415 centrifuge, German) 4°C에서 15분간 원심분리 후 상등액만 취하였다. 여기에 동량의 phenol: chloroform: isoamylalcohol (25:24:1) 용액을 첨가하고 15,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 새로운 tube에 상등액만 취하였다. DNA가 녹아있는 상등액에 2배의 absolute ethanol을 넣고 20-30분 간 DNA를 침전시켜 15,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. DNA함량을 측정하기 위해 DNA를 100배 희석하여 spectrophotometer (ShimadzuUV-VIS1201, Japan)로 260 nm와 280 nm에서 흡광도(OD)를 측정하여 농도를 계산하고, PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

RAPD primer와 PCR

본 연구의 PCR 실험 시 RAPD를 위해 사용한 primer 는 식물과 버섯들에 대한 유전적 다양성 및 유연관계 분석에 활용되는 상업용 kit primer (OPC 01~20, OPM 01~20) (OperonTechnologies, USA)를 사용하였다. Code name과 sequence (5' to 3')는 Table 3에 나타내었으며, G+C의 함량은 60~70%이었다. PCR을 위한 reaction mixture 의 조성은 EmeraldAmpGT PCR Master mix (TaKaRa, Japan)를 사용하였다. Master mix에 genomic DNA 1.0 µl, primer 1.0 µl를 넣고, 전체 반응 용액이 20 µl가 되도록 3차 증류수를 첨가하였다. 본 실험의 RAPD 증폭 반응은 MJ Reserch PTC 150 minicycler에서 thermal cycle의 program은 (Park et al, 2011)의 방법에 따라 수행하였다. Template DNA 변형을 위해 94°C에서 3분간 predenaturation 한 다음, 94°C 30초간 denaturation, 40°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 elongation을 5분씩 처리 하여 DNA를 증폭시키는 것을 1 Cycle로 하였으며, 이 실험에서는 45 cycle로 수행하였다. DNA 증폭이 끝난 후

Table 3. The list of primers used for RAPD

No. primer	Sequence (5' - 3')	No. primer	Sequence (5' - 3')
*OPC - 01	TTC GAG CCA G	*OPM - 01	GTT GGT GGC T
*OPC - 02	GTG AGG CGT C	*OPM - 02	ACA ACG CCT C
OPC - 03	GGG GGT CTT T	*OPM - 03	GGG GGA TGA G
*OPC - 04	CCG CAT CTA C	OPM - 04	GGC GGT TGT C
*OPC - 05	GAT GAC CGC C	*OPM - 05	GGG AAC GTG T
*OPC - 06	GAA CGG ACT C	*OPM - 06	CTG GGC AAC T
*OPC - 07	GTC CCG ACG A	*OPM - 07	CCG TGA CTC A
*OPC - 08	TGG ACC GGT G	*OPM - 08	TCT GTT CCC C
*OPC - 09	CTC ACC GTC C	*OPM - 09	GTC TTG CGG A
*OPC - 10	TGT CTG GGT G	*OPM - 10	TCT GGC GCA C
*OPC - 11	AAA GCT GCG G	OPM - 11	GTC CAC TGT G
*OPC - 12	TGT CAT CCC C	*OPM - 12	GGG ACG TTG G
*OPC - 13	AAG CCT CGT C	*OPM - 13	GGT GGT CAA G
*OPC - 14	TGC GTG CTT G	*OPM - 14	AGG GTC GTT C
*OPC - 15	GAC GGA TCA G	OPM - 15	GAC CTA CCA C
*OPC - 16	CAC ACT CCA G	*OPM - 16	GTA ACC AGC C
*OPC - 17	TTC CCC CCA G	OPM - 17	TCA GTC CGG G
OPC - 18	TGA GTG GGT G	*OPM - 18	CAC CAT CCG T
*OPC - 19	GTT GCC AGC C	OPM - 19	CCT TCA GGC A
OPC - 20	ACT TCG CCA C	*OPM - 20	AGG TCT TGG G

* : Reaction primer

최종적인 합성을 위해 72°C에서 5분간 안정화한 다음, 4°C에서 보관 사용하였다(Fig. 1). 이때 각각의 primer에 대한 상기의 PCR 과정을 통한 screening을 실시하여, 선택된 primer 별로 3회 이상의 반복실험을 수행하여 재현

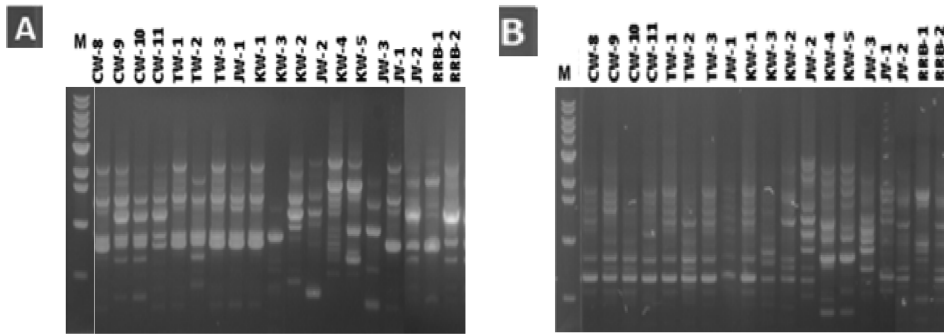


Fig. 1. Electrophoretic patterns of RAPD using primer OPC-09(A), and OPC-13(B) in different strains of *H. marmoreus*, *L. descartes* and *L. shimeji*, and mutant strains of *H. marmoreus*. M:1kb ladder marker.

성이 뚜렷한 것만을 유용한 primer로 결정하였다. RAPD를 수행한 PCR product는 5 ng/100 ml의 농도로 ethidium bromide를 첨가한 1.2% agarose gel (SIGMA, USA)에서 1 X TAE buffer에서 50 mV로 전기영동 하였으며, UV상에서 나타나는 DNA band를 확인하였다.

Data 분석

RAPD 결과, 반응이 나타난 32개의 primer에서 다형성이 인정되는 3,030개의 band를 발견하였다. 먼저 각 band를 하나의 형질로 취급하여 코드화하였으며(Smith *et al*, 1986; White *et al*, 1990), 전체 코드화한 자료를 바탕으로 자료행렬을 작성하였다. 분지도는 UPGMA (unweighted pair-group method, arithmetic average method) 방법을 사용하였고, phylogenetic analysis에서 PAUP 4.02b version (Sneath와 Sokal, 1973)을 사용하여 parsimony analysis를 실시하였으며, 분석방법으로는 Heuristic search를 이용하였다. 이에 따른 option으로 ACCTRAN, MULPARS 및 TBR을 이용하였다. 또한 Nei (Nei., 1972)의 유전적 거리 지수를 다소 변형한 Nei-Li의 거리지수를 이용하여 상사도 행렬을 도출하였다. 도출된 자료행렬에 따라 산출된 유전적 유사도를 기초로 하여 NJ (neighbour joining tree)를 작성하였다(Smith *et al*, 1986). 그리고 종간의 유전적 유사도 계수(similarity coefficient)는 Sneath와 Sokal의 방법(Sneath와 Sokal, 1973)에 따라 구하였다. 또한 각 분계도의 지지정도는 jack-knifing (Farris *et al*, 1996)과 bootstrap (Felsenstein *et al*, 1985)을 이용하여 분석하였다. 이러한 분석방법은 1,000회 반복 실시하였다.

결과 및 고찰

재래종의 종내, 종간의 유전적 변이

40개의 random primer인 (OPC, OPM) RAPD 분석결과 OPC-3, 18, 20과 OPM-4, 11, 15, 17, 19를 제외한 나머지 OPC primer 17개, OPM primer 15개에 대해 모든 품종에서 모든 균주들에 대한 반응들이 나타났고, 3번의 반복실

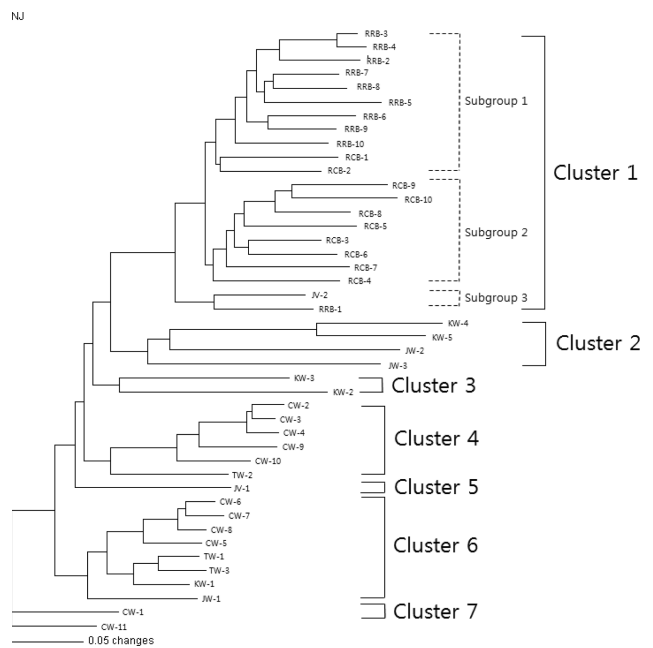


Fig. 2. The phylogenetic tree of 24 different strains of *H. marmoreus*, *L. descartes* and *L. shimeji*, and mutant strains of *H. marmoreus*. This tree was constructed by NJ (neighbor-joining) method. This tree showed 7 clusters.

험을 통하여 재현성이 확인된 것은 전체 40개 중 32종류의 primer였다. 그 중 특히 polymeric band의 빈도가 높아 유전적 다양성을 잘 나타낸 primer들은 OPC-5, 7, 9, 13, 19와 OPM-1, 2, 10, 12, 13, 18, 20으로 나타났다.

본 실험에서 18종의 야생 느티만가닥버섯의 종내 분석에서 PCR에 의하여 증폭된 band들은 200 bp~3000 bp 사이의 구간에 분포하고 있는 것으로 나타났고 band의 수는 품종에 따라 1~7개였다. (Fig. 1). 32개의 random primer로부터 자료분석을 위한 scrabble RAPD 밴드들을 marker로 하여 Nei-Li's의 방법을 이용한 비유사도 지수 행렬을 조사한 결과 야생 느티만가닥버섯의 국가별 종내 유전적 가장 낮은 변이를 보인 중국 느티만가닥버섯 CW-2, CW-3 사이가 3.8%였으며, 종내 가장 높은 변이를 보

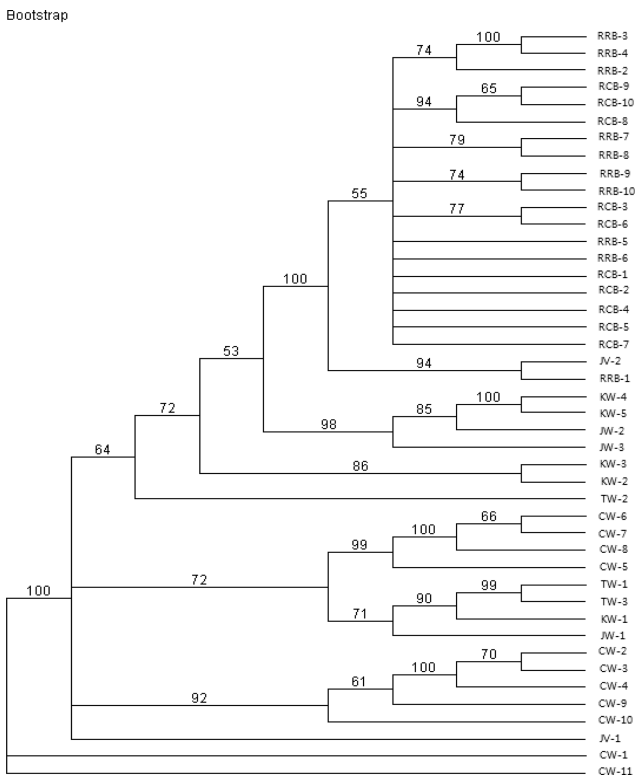


Fig. 3. Dendrogram constructed based on the RAPD in wild type strains, varieties and mutant strain of *H. marmoreus*, and out species.

인것은 중국 CW-7과 한국 느티만가닥버섯 KW-3 사이가 32%로 나타났다. 특히 한국 야생 느티만가닥버섯인 KW-2, 3과 중국(CW), 일본(JW), 대만(TW) 야생 느티만가닥버섯과의 유전적 비유사도를 비교한 결과, 각각 24~32%, 24~29%, 27~29%로 타국과 비교하여 높은 변이율을 보였다. 야생 느티만가닥버섯과(총 18품종) 중 외 종인 잣빛느티만가닥버섯, 땅지느티만가닥버섯(총 3종)과 유전적 비유사도에서는 32%~41%의 높은 유전적 비유사도가 나타났다.

RAPD분석에서 band의 변이에 기초한 neighbor-joining tree (NJ)분석의 결과 총 7개의 cluster로 형성되었다(Fig. 2). Cluster 4, 6, 7의 경우 각각 중국, 대만, 일본 야생느티만가닥 품종이 국가별 구분이 미미하게 cluster를 형성하였으며, 특히 KW-2, 3이 cluster 3에 86/86 jackknife/bootstrap 지지도를 나타내(Fig. 3). 독자적인 무리를 형성하였다. 또한 outgroup인 중 외 잣빛만가닥버섯, 땅지만가닥버섯이 cluster 2의 무리를 98/98 지지도를 나타내며 형성되었다(Fig. 3). 이러한 결과는 한국 야생 느티만가닥버섯종인 KW-2, 3이 중국, 일본, 대만과 비교하여 독자적인 무리를 형성함으로써 향후 느티만가닥버섯 육종시 다른 국가와 차별화될 수 있는 가능성이 높을 것으로 판단된다. 이상의 결과들을 RAPD에 의한 느티만가닥버섯 분자 유전적 분석에서 2개의 cluster를 형성 했으며 한국 야생

품종들이 독자적 group을 나타내지 않았다는 보고(Lim *et al.*, 2010)과 차이가 있으며 이는 사용한 primer 종류 수와 품종의 차이에 따른 것으로 생각된다. 또한 느티만가닥, 잣빛만가닥, 땅지만가닥버섯의 출현시기와 형태적 특성의 분류학적 차이는 RAPD 분석에 의한 계통유전학적 차이와 일치함을 볼 수 있었다.

국가간 품종들의 유전적 변이에서 야생 중국, 일본, 대만, 한국 느티만가닥과 비교하여 종내 유전적 비유사도가 각각 18~27%, 22~26%, 19~26%, 19~29%로 나타났다. 이는 일본산 육종 느티만가닥버섯이 어느 정도 야생느티만가닥버섯과 유전적 차이를 보였으며, NJ tree에 의한 분석에서 JW-1, JW-2 모두 cluster 1, cluster 2로 야생느티만가닥버섯과 다른 독자적인 cluster를 형성하였다(Fig. 2). 이는 일본의 버섯 육종기술에 의한 육종느티만가닥버섯이 독자적으로 가치가 있는 것으로 판단되며, 향후 중국, 일본, 한국의 육종느티만가닥버섯의 계통유전학적 비교 분석을 통해 새로운 교배 육종 시 기초 자료로써 의미 있는 것으로 사료된다.

감마선 돌연변이 균주의 유전적 변이

본 실험에서는 β감마선 조사 품종으로 JW-2를 사용하였다. 또한 돌연변이 단핵균주균사의 색, 밀도, 성장속도에 따른 특이 형질을 선발하여 총 20개의 교배형을 얻었다. 20종의 돌연변이 품종 내에서의RAPD에 의한 유전적 비유사도가 3.5~26%였다. 또한 감마선 조사 대상 균주인 JW-2와 돌연변이 느티만가닥버섯 종과의 유전적 비유사도는 13~23%로 나타났다. NJ tree에서 돌연변이 느티만가닥버섯품종이 JW-2와 함께 cluster 1로 독자적인 무리를 형성하였다(Fig. 2). 그러나 대부분의 방사선 돌연변이 품종들은 cluster 1의 subgroup으로서 group1과 group2로 나누어지고 JW-2가 독자적으로 94/95 jackknife/bootstrap 지지를 얻으며, group 1에서 돌연변이 품종들과 다르게 grouping 되었다(55/57 jackknife/bootstrap). 이는 원형질체 돌연변이 품종과 (Kim *et al.*, 2011)는 다른 이상을 나타내었다.

돌연변이 느티만가닥버섯종과 일반 한국, 일본, 중국, 대만 야생종과의 유전적 비유사도에서 27~36%로 비교적 높은 유전적 변이도를 보였다. NJ tree에서도 야생재래종들은cluster 2, 3, 4, 5, 6이 무리 지어졌으며, 방사선 돌연변이 종인 cluster 1이 독자적으로 무리 지어졌다. 이는 방사선 돌연변이에 의해 계통유전학적 유전자 변이가 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과들로 보아 야생재래종과 방사선 돌연변이체들에 유전적변이가 확인됨으로써, 앞으로의 버섯 품종개발에 방사선 육종방법이 적용 가능할 것으로 판단된다. 또한 단포자를 이용한 감마선 육종에서의 적정 선량인 저준위 50~400Gy로서 느티만가닥버섯 뿐만 아니라, 다른 종의 버섯 감마선 돌연변이 육종에 적용 가능할 것으로 사

료된다. 추가적으로 KW-2, 3이 다른 야생느티만가닥버섯과 독자적인 NJ tree에서 cluster를 형성하고 높은 유전적 변이도는 앞으로 감마선 육종, 또는 교배 육종시 유용한 자원이 될 것으로 사료되며, OPC와 OPM primer를 이용한 느티만가닥버섯의 계통유전학적 변이도를 밝히는 marker로서 활용 가능할 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 느티만가닥버섯 20품종 버섯, 갯빛만가닥 3품종 버섯, 땅지만가닥 1품종 및 돌연변이 느티만가닥버섯 20종류의 유전적 변이를 RAPD 방법에 의해 분석하고자 수행하였다. 이들은 한국, 중국, 일본, 대만 등에서 유래한 것들이다. 느티만가닥버섯에 감마선을 조사하여 돌연변이체를 만들었다.

본 연구에 이용한 primer들은 40종류였고 이 중 31종류의 primer들이 반응을 나타내었다. RAPD 결과들을 분석한 결과 이들 품종으로는 7개의 cluster로 나뉘어 졌다. 돌연변이체들은 유전적으로 유의적 차이가 있는 subgroup으로 나눌 수 있었다. 이상의 결과들은 본 실험에 사용한 primer들과 포자의 감마선 조사 등을 버섯의 신품종 개발에 유용한 도구가 될 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 대구가톨릭대학교 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

- Chang HY. 2008. SWOT analysis for direction of Korean mushroom industry. *Korean J mushroom Sci.* 6: 63-67.
- Chang HY, Goo CD, Park YS, Ko IS, Kim YS. 2010. Approach on the multifunctionality of mushroom. *Korean J mushroom Sci.* 8: 1-5.
- Chang JS, Son JK, Gao L, Oh E. 2004. Inhibition of cell cycle progression on HepG2 cells by hypsiziprenol A9, isolated from *Hypsizygus marmoreus*. *Cancer Lett.* 212: 7-14.
- Farris JS, Albert VA, Kallersj O, Lipscomb D, Felsen J. 1985. Confidence limit on phylogenesis. An approach using bootstrap. *J Evolution* 39: 783-791.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *J Evolution* 39: 783-791.
- Ikewa T, Saito H, Feng W, Zhang H, Li L, Matsuzawa T. 1992. Antitumor activity of *Hypsizygus marmoreus*. I. Antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Chem. Pharm. Bull.* 40: 1954-1957.
- Jung YS, Kim JB. 2013. A study of microphological characteristics and hybridization on *Lepista nuda*. *Korean J mushroom Sci.* 11: 1-8.
- Kim JB, Jeong JI. 2013. Genetic variation in *Flammulina velutipes*. *J Life Science.* 21: 1434-1442.
- Kim JK, Moon DH, Seo GS, Kang HW. 2011. Mutagenesis of *Hypsizygus marmoreus* by gamma ray irradiation. *Korean J Mycol.* 39: 231-234.
- Kluge AG. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistic*, 12: 99-124.
- Knowledgeworks Co. 2012. Strategic plan for the 'Golden Seed Project' through analysis of the seed industry. IPET. Final report.
- Lam SK, Ng TB. 2001. Hypsin, a novel thermostable ribosome inactivating protein with antifungal and antiproliferative activities from fruiting bodies of edible mushroom *Hypsizygus marmoreus*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 285: 1071-1075.
- Lim YJ, Lee CY, Park JE, Kim SW, Lee HY, Ro HS. 2010. Molecular genetic classification of *Hypsizygus marmoreus* and development of strain-specific DNA markers. *Korean J Mycol.* 38: 34-39.
- Matsuzawa T, Saitoh H, Sano M, Tomita L, Ohkwa M, Ikekawa T. 1998. Studies on antioxidant effects of *Hypsizygus marmoreus*. II. Effects of *Hypsizygus marmoreus* for antioxidant activities of tumor bearing mice. *Yakugaku Zasshi* 118: 476-481.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Naturalist* 106: 283-292.
- Smith LM, Sanders JZ, Kaiser RJ, Hughes P, Dodd C, Connell CR, Heiner C, Kent SBH, Hood LE. 1986. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* 321: 674-679.
- Sneath PHA, Sokal RR. 1973. Numerical taxonomy. pp. 573. W. H. Freeman, San Francisco.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. Academic Press Inc. Sandiego, California.
- Zanabaatar B, kang MG, Seo GS, Lee YW, Lee JS. 2012. Analysis of nutritional characteristics and physiological functionality of *Hypsizygus marmoreus* (Brown cultivar). *Korean J Mycol.* 40(2): 104-108.