

# rDNA의 ITS 부위 염기서열 분석에 의한 *Armillaria* 속 수집 균주의 유전적인 유연관계 분석

오진아<sup>1\*</sup>, 이찬중<sup>2</sup>, 정종천<sup>2</sup>, 유영복<sup>2</sup>

<sup>1</sup>국립농업과학원 화학물질안전과, <sup>2</sup>국립원예특작과학원 버섯과

## Phylogenetic relationships of *Armillaria* spp. on the basis of ITS region sequences

Jin-a Oh<sup>1\*</sup>, Chan-jung Lee<sup>2</sup>, Jong-chun Cheong<sup>2</sup> and Young-bok Yoo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Division of Chemical Safety, National Academy of Agricultural Science, RDA, 441-707

<sup>2</sup>Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA  
Chungbuk Eumseong 369-873, Korea

(Received september 3, 2012, Revised september 20, 2012, Accepted september 21, 2012)

**ABSTRACT:** *Armillaria* spp are well known as a symbiotic fungus with *Gastrodia elata*. This study was carried out to identify and analyze the genetic relationships among 83 strains of *Armillaria* spp.. The amplified internal transcribed spacer(ITS) region of the rDNA was about 500~750 bp long and identified by 9 strains; *A. mellea*, *A. tabescens*, *A. ostoyae*, *A. gallica*, *A. novae-zealandia*, *A. cepistipes*, *A. nabsnona*, *A. gemina*, *A. sinapina*. Sequence analysis showed that 52% of strains were different with original identification. *A. gallica*, *A. cepistipes* and *A. gemina* were so close phylogenetic relationship, that was difficult to classify using ITS region. In *A. gallica*, 12 strains including ASI10104 were showed a close phylogenetic relationship with *A. gallica*, *A. cepistipes* and *A. gemina*. ASI10017 and ASI10114 were classified as the *A. sinapina* group, ASI10045 was the *A. borealis* group, ASI10002 and ASI10025 were the *A. ostoyae* group. So more studies need for more accurate identification and determine the phylogenetic relationships of *Armillaria* spp.

**KEYWORDS :** *Armillaria* spp, *Gastrodia elata*, ITS region sequences

천마(*Gastrodia elata*)는 난과에 속하는 다년생 고등식물이지만 엽록소가 없어서 탄소 동화능력이 없는 퇴화된 식물의 일종이다(이 등, 2007). 따라서 성장하려면 반드시 뽕나무버섯균과 공생하여야 한다. 천마는 땅속에 형성되는 덩이줄기(tuber)를 이용하는데 항고혈압 작용(김 등, 2003; 황 등, 2004) 및 신경세포 보호효능(김 등, 2003; 정 등, 2007) 등이 있어 예로부터 귀중한 한약재로 이용되어 오고 있다.

*Armillaria* 속균은 수목을 침입하여 병을 일으키는 주요한 식물병원균 중 하나이지만(Day et al., 1937) 천마와 공생관계를 가지는 종도 있으므로 천마 재배를 위하여 적합한 공생균을 찾는 것이 중요하다. *Armillaria* 속은 *A. mellea*, *A. gallica*, *A. tabescens*, *A. ostoyae* 등의 종이 있으나, 종간의 배양 특성 및 천마와의 공생능에 차이가 있으며 그 중 *A. gallica* 종의 천마 생산력이 높은 것으로 알려져(성 등, 1995) 천마재배에 사용되고 있다. 천마를 인공재배하려면 참나무에 뽕나무버섯 균사가 잘 배양되어야 하고 이 배양된 균사를 천마가 이용할 수 있어야 한다. 최근 들어 천마재배 농가들의 생산량이 감

소하는 문제가 대두되고 있는데 이러한 감소 원인에는 뽕나무버섯 균사의 활력저하, 연작장해 등 여러 가지 요인이 작용할 것이다. 지금까지 국내에서 육성·보급된 천마균으로는 1995년 농촌진흥청이 보급한 천마균1호와 1997년에 보급된 산림과학원의 홍릉천마균이 있지만 보급 된지 오래되었고 농가 수에 비해 제한된 품종으로 생산량 증가를 위하여 새로운 품종 육성 보급이 시급하다.

따라서 천마 재배에 적합한 우수 뽕나무버섯균의 품종육성을 위하여 국내외의 *Armillaria* 속균을 수집하여 균주들의 염기서열 분석을 통한 종 동정 및 종간의 유연관계를 조사한 결과를 보고하고자 한다.

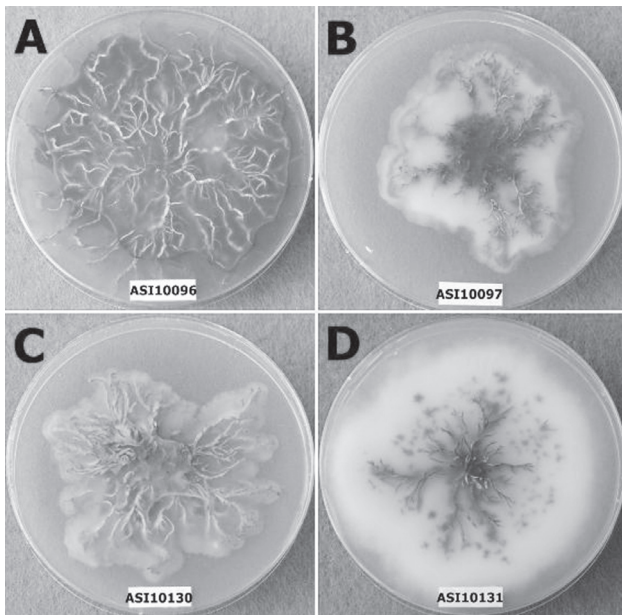
### 수집균주의 배양 및 동정.

뽕나무버섯속(*Armillariaceae*) 균주는 국립원예특작과학원 버섯과에 보존하고 있는 29계통, 국립농업과학원 농업유전자원정보센터에서 분양받은 42계통, 인천대학교 생명과학부의 “버섯균주 및 DNA은행”에서 분양받은 12계통 등 총 83계통을 사용하였다. 수집 당시 균주목록상의 학명은 *A. mellea* 45, *A. tabescens* 16, *A. gallica* 5, *A. ostoyae* 5, 기타 12균

\* Corresponding author <ja5074@korea.kr>

Table 1. *Armillaria* spp. used in this study

| strain no. | scientific name      | source           | strain no. | scientific name          | source           |
|------------|----------------------|------------------|------------|--------------------------|------------------|
| ASI10002   | <i>A. mellea</i>     | Japan            | ASI10083   | <i>A. nabsnona</i>       | British columbia |
| ASI10003   | <i>A. mellea</i>     | Japan            | ASI10084   | <i>A. nabsnona</i>       | Alaska           |
| ASI10006   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10085   | <i>A. ostoyae</i>        | Idaho            |
| ASI10009   | <i>A. sp</i>         | Korea            | ASI10086   | <i>A. ostoyae</i>        | New hampshire    |
| ASI10011   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10087   | <i>A. ostoyae</i>        | Washington       |
| ASI10012   | <i>A. mellea</i>     | Papua new guinea | ASI10091   | <i>A. mellea</i>         | Wisconsin        |
| ASI10013   | <i>A. mellea</i>     | Papua new guinea | ASI10092   | <i>A. mellea</i>         | Virginia         |
| ASI10014   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10093   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10015   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10094   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10016   | <i>A. mellea</i>     | USA              | ASI10095   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10017   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10096   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10018   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10097   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10019   | <i>A. tabescens</i>  | Korea            | ASI10098   | <i>A. mellea</i>         | Korea            |
| ASI10020   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10100   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10021   | <i>A. gallica</i>    | Korea            | ASI10101   | <i>A. mellea</i>         | Korea            |
| ASI10023   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10102   | <i>A. mellea</i>         | Chungnam         |
| ASI10024   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10104   | <i>A. mellea</i>         | Korea            |
| ASI10025   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10106   | <i>A. mellea</i>         | Gangwon          |
| ASI10026   | <i>A. mellea</i>     | USA              | ASI10108   | <i>A. mellea</i>         | Gangwon          |
| ASI10028   | <i>A. mellea</i>     | USA              | ASI10109   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10029   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10111   | <i>A. mellea</i>         | Gangwon          |
| ASI10033   | <i>A. mellea</i>     | Korea            | ASI10112   | <i>A. mellea</i>         | Jeonnam          |
| ASI10036   | <i>A. mellea</i>     | China            | ASI10113   | <i>A. mellea</i>         | Jeju             |
| ASI10038   | <i>A. mellea</i>     | China            | ASI10114   | <i>A. mellea</i>         | Gyeonggi         |
| ASI10040   | <i>A. sp</i>         | China            | ASI10115   | <i>A. mellea</i>         | Jeju             |
| ASI10041   | <i>A. sp</i>         | Korea            | ASI10116   | <i>A. mellea</i>         | Gangwon          |
| ASI10044   | <i>A. mellea</i>     | –                | ASI10118   | <i>A. gallica</i>        | New hampshir     |
| ASI10045   | <i>A. sp</i>         | –                | ASI10119   | <i>A. gallica</i>        | Michigan         |
| ASI10048   | <i>A. tabescens</i>  | Incheon          | ASI10120   | <i>A. gallica</i>        | Wisconsin        |
| ASI10054   | <i>A. tabescens</i>  | Gyeonggi         | ASI10121   | <i>A. tabescens</i>      | Georgia          |
| ASI10055   | <i>A. tabescens</i>  | Gangwon          | ASI10123   | <i>A. tabescens</i>      | Gyeonggi         |
| ASI10057   | <i>A. tabescens</i>  | Gyeonggi         | ASI10124   | <i>A. tabescens</i>      | –                |
| ASI10059   | <i>A. tabescens</i>  | Incheon          | ASI10125   | <i>A. tabescens</i>      | Jeonnam          |
| ASI10060   | <i>A. tabescens</i>  | Incheon          | ASI10127   | <i>A. tabescens</i>      | Gyeonggi         |
| ASI10063   | <i>A. tabescens</i>  | Gyeonggi         | ASI10130   | <i>A. tabescens</i>      | Gyeonggi         |
| ASI10064   | <i>A. tabescens</i>  | Gangwon          | ASI10131   | <i>A. tabescens</i>      | Jeju             |
| ASI10065   | <i>A. mellea</i>     | Gyeonggi         | AB510859   | <i>A. ostoyae</i>        | Japan            |
| ASI10066   | <i>A. mellea</i>     | Seoul            | AB510885   | <i>A. cepistipes</i>     | Japan            |
| ASI10069   | <i>A. ostoyae</i>    | Gangwon          | AB510887   | <i>A. tabescens</i>      | Japan            |
| ASI10070   | <i>A. ostoyae</i>    | Gangwon          | AY213556   | <i>A. gemina</i>         | New york         |
| ASI10071   | <i>A. gallica</i>    | Korea            | AY213572   | <i>A. nabsnona</i>       | Idaho            |
| ASI10074   | <i>A. calvescens</i> | Michigan         | AY213585   | <i>A. mellea</i>         | Virginia         |
| ASI10077   | <i>A. cepistipes</i> | British columbia | FJ652043   | <i>A. sinapina</i>       | USA              |
| ASI10078   | <i>A. cepistipes</i> | South carolina   | FJ664584   | <i>A. gallica</i>        | France           |
| ASI10079   | <i>A. cepistipes</i> | British columbia | FJ664600   | <i>A. novae-zelandia</i> | Papua new guinea |
| ASI10080   | <i>A. gemina</i>     | New york         | HQ232287   | <i>A. borealis</i>       | Finland          |
| ASI10082   | <i>A. gemina</i>     | West virginia    |            |                          |                  |



**Fig. 1.** Cultural and morphological differences within the same species of *Armillaria* spp. Original identification (Molecular identification): A: *A. mellea*(*A. tabescens*), B: *A. mellea*(*A. tabescens*), C: *A. tabescens*(*A. tabescens*), D: *A. tabescens*(*A. tabescens*).

주로 기록되어 있었다(Table 1).

수집균주를 25°C의 항온기에서 30일간 배양한 균사체 및 균사속을 동결건조한 후 염색체 DNA 추출을 위해 사용하였고, rDNA의 ITS(Internal Transcribed Spacers) 영역을 증폭하기 위하여 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3')과 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATATGC-3')의 primer를 사용하였다(White 등, 1990). 그 결과 500~750 bp 정도의 증폭 산물을 얻었으며 이들의 염기서열을 바탕으로 GenBank에 상동성을 조사하였다. 조사 결과 *A. gallica* 18균주, *A. tabescens* 21균주, *A. ostoyae* 12균주, *A. mellea* 9균주, *A. cepistipes* 7균주, *A. sinapina* 5균주, *A. nabsnona* 4균주, *A. novae-zelandia* 4균주 등으로 동정되었으며, 균주목록의 종과 다르게 동정된 균주가 43균주(52%)였다(Table 2). 또한 염기서열분석 결과 같은 종으로 분류된 균주들 간에도 균사 및 균사체의 모양과 색 등 배양적 특성에는 많은 차이를 보였으며, 균주의 배양 및 형태적 특성만으로 종을 분류하는 것은 어렵다고 생각된다(Fig. 1).

#### 수집 균주의 유연관계 분석.

유연관계 분석을 위하여 Jukes와 Cantor(1969) 방법을 이용하여 evolutionary distance matrix를 작성하고 염기서열 분석은 ClustalW 프로그램(Thompson 등, 1994)을 사용하였다. MEGA4(molecular evolutionary genetics analysis)의 Neighbor-joining 방법으로 계통수를 작성하였으며 계통

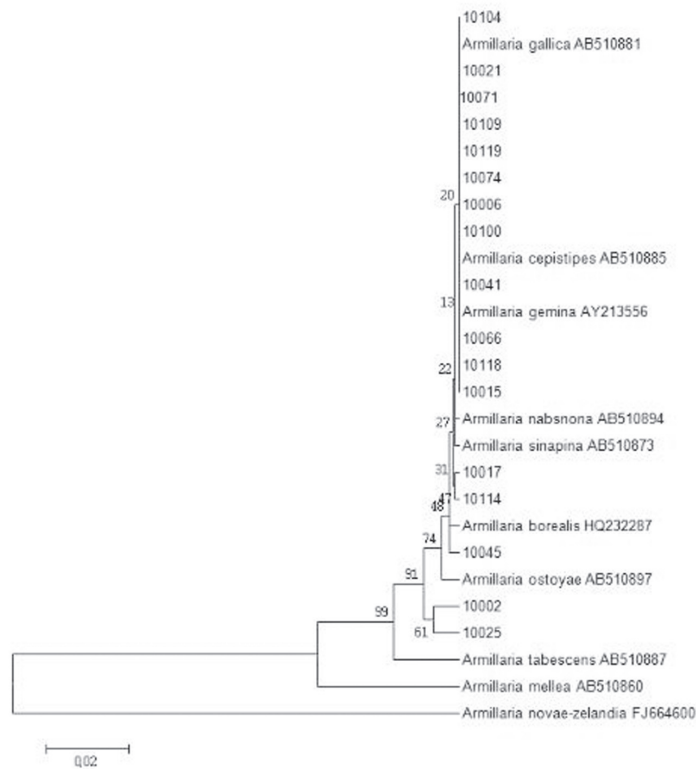
수의 안정성은 1,000반복의 bootstrap으로 분석하였다. 수집 균주들의 유연관계 분석결과 *A. novae-zelandia*, *A. mellea*, *A. tabescens*, *A. ostoyae* 및 *A. gallica* 그룹으로 분류되었으며, *A. gallica*와 *A. sinapina*, *A. cepistipes*, *A. nabsnona* 균주들은 매우 가까운 유연관계를 보여 계통수로는 정확한 분류가 어려웠다(자료생략). Sung 등(1997)이 한국의 뽕나무버섯속은 *A. mellea*, *A. ostoyae*, *A. tabescens*, *A. gallica* 및 미기록종의 5종으로 구분할 수 있었다는 보고와 일치하였다. 일반적으로 천마재배에 사용하고 있는 균주는 *A. gallica*로 알려져 있으며, 염기서열 분석을 통해 *A. gallica*로 동정된 균주들간의 유연관계를 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. ASI10104 등 12균주는 *A. gallica*, *A. cepistipes*, *A. gemina*와 매우 가까운 유연관계를 보였으며, ITS 유전자의 유연관계 분석을 통해서 이들 종간의 다양성을 구분하기는 힘들었다. ASI10017과 ASI10114는 *A. sinapina*, ASI10045는 *A. borealis*, ASI10002와 ASI10025는 *A. ostoyae*와 같은 그룹으로 분류되었다. 이상의 결과와 같이 *A. gallica*로 동정된 균주들은 다양한 종들과 같은 그룹을 형성하였고, 이들 균주에 대한 정확한 종 동정을 위해서는 보다 많은 종류의 유전적 분석이 필요할 것으로 판단된다. *A. gallica*로 동정된 균주들간의 ITS부위 유전자수준에서의 상동성 분석(Fig. 3)과 유사도 및 evolutionary distance 분석(Table 3) 결과 유전적인 유연관계 분석과 비슷한 결과를 얻었다. Kim 등(2006)은 *A. calvescens*와 *A. gallica*가 DNA 염기서열 분석결과 유연관계가 매우 가까운 종이라고 하였고, M. Chillali 등(1998)은 *A. borealis*와 *A. ostoyae*는 88%의 유사성을 보이고, *A. gallica*와 *A. cepistipes*는 90%가 유사하다는 보고와 일치하였다.

#### 적 요

수집한 83개의 뽕나무버섯속 균주의 rDNA의 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 분석한 결과수집한 균주목록과종이 다르게 동정된 균주가 52%였으며, 같은 종으로 분류한 균주들 간에도 균사 및 균사체의 배양 특성에 많은 차이를 보였다. 수집 균주간의 유전적인 유연관계 분석 결과 *A. tabescens*, *A. mellea*, *A. novae-zelandia*, *A. gallica*, *A. ostoyae* 등으로 분류되었고, *A. gallica*, *A. cepistipes*, *A. gemina*는 매우 가까운 유연관계를 보여 ITS 유전자 수준에서 종을 동정하기는 어려웠다. ASI10104 등 12균주는 *A. gallica*, *A. cepistipes*, *A. gemina*와 매우 가까운 유연관계를 보였으며, ASI10017과 ASI10114는 *A. sinapina*, ASI10045는 *A. borealis*, ASI10002와 ASI10025는 *A. ostoyae*와 같은 그룹으로 분류되었다. 따라서 뽕나무버섯속 균주에 대한 보다 정확한 동정을 위해서는 보다 많은 종류의 유전적 분석이 필요할 것으로 판단된다.

**Table 2.** Taxonomic affiliation based on ITS region sequence of *Armillaria* spp.

| Isolates no. | Original identification | Molecular identification | Similarity | Isolates no. | Original identification | Molecular identification | Similarity |
|--------------|-------------------------|--------------------------|------------|--------------|-------------------------|--------------------------|------------|
| ASI10002     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 98         | ASI10077     | <i>A. cepistipes</i>    | <i>A. mellea</i>         | 99         |
| ASI10003     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. cepistipes</i>     | 99         | ASI10078     | <i>A. cepistipes</i>    | <i>A. cepistipes</i>     | 99         |
| ASI10006     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10079     | <i>A. cepistipes</i>    | <i>A. cepistipes</i>     | 99         |
| ASI10009     | <i>A. sp</i>            | <i>A. novae-zelandia</i> | 99         | ASI10080     | <i>A. gemina</i>        | <i>A. gemina</i>         | 99         |
| ASI10011     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 100        | ASI10082     | <i>A. gemina</i>        | <i>A. gemina</i>         | 99         |
| ASI10012     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10083     | <i>A. nabsnona</i>      | <i>A. nabsnona</i>       | 99         |
| ASI10013     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. novae-zelandia</i> | 99         | ASI10084     | <i>A. nabsnona</i>      | <i>A. nabsnona</i>       | 99         |
| ASI10014     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 100        | ASI10085     | <i>A. ostoyae</i>       | <i>A. ostoyae</i>        | 99         |
| ASI10015     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10086     | <i>A. ostoyae</i>       | <i>A. ostoyae</i>        | 100        |
| ASI10016     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. ostoyae</i>        | 100        | ASI10087     | <i>A. ostoyae</i>       | <i>A. ostoyae</i>        | 100        |
| ASI10017     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10091     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 99         |
| ASI10018     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. cepistipes</i>     | 99         | ASI10092     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 99         |
| ASI10019     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. ostoyae</i>        | 99         | ASI10093     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. sinapina</i>       | 96         |
| ASI10020     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. cepistipes</i>     | 99         | ASI10094     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. ostoyae</i>        | 99         |
| ASI10021     | <i>A. gallica</i>       | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10095     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 99         |
| ASI10023     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 96         | ASI10096     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10024     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 98         | ASI10097     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10025     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 97         | ASI10098     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10026     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 96         | ASI10100     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10028     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. novae-zelandia</i> | 99         | ASI10101     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. novae-zelandia</i> | 99         |
| ASI10029     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 97         | ASI10102     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. sinapina</i>       | 99         |
| ASI10033     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 98         | ASI10104     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10036     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 99         | ASI10106     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gemina</i>         | 99         |
| ASI10038     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. tabescens</i>      | 98         | ASI10108     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. mellea</i>         | 99         |
| ASI10040     | <i>A. sp</i>            | <i>A. ostoyae</i>        | 98         | ASI10109     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. sinapina</i>       | 99         |
| ASI10041     | <i>A. sp</i>            | <i>A. gallica</i>        | 100        | ASI10111     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. sinapina</i>       | 99         |
| ASI10044     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. ostoyae</i>        | 99         | ASI10112     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. cepistipes</i>     | 95         |
| ASI10045     | <i>A. sp</i>            | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10113     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. nabsnona</i>       | 99         |
| ASI10048     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10114     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10054     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10115     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. nabsnona</i>       | 99         |
| ASI10055     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10116     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. ostoyae</i>        | 99         |
| ASI10057     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10118     | <i>A. gallica</i>       | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10059     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10119     | <i>A. gallica</i>       | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10060     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10120     | <i>A. gallica</i>       | <i>A. gallica</i>        | 99         |
| ASI10063     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10121     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10064     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         | ASI10123     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10065     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. ostoyae</i>        | 99         | ASI10124     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. ostoyae</i>        | 99         |
| ASI10066     | <i>A. mellea</i>        | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10125     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. sinapina</i>       | 100        |
| ASI10069     | <i>A. ostoyae</i>       | <i>A. cepistipes</i>     | 99         | ASI10127     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10070     | <i>A. ostoyae</i>       | <i>A. ostoyae</i>        | 99         | ASI10130     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10071     | <i>A. gallica</i>       | <i>A. gallica</i>        | 99         | ASI10131     | <i>A. tabescens</i>     | <i>A. tabescens</i>      | 99         |
| ASI10074     | <i>A. calvescens</i>    | <i>A. gallica</i>        | 99         |              |                         |                          |            |



**Fig. 2.** Phylogenetic relationships of *A. gallica* 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.

**Table 3.** Similarities%(upper right) and evolutionary distances(lower left) between rDNA ITS region sequences of *A. gallica*

|    | 1   | 2   | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   | 14   | 15   | 16   | 17   | 18   |
|----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1  |     | 98  | 98.1 | 97.8 | 97.2 | 97.2 | 97.3 | 97.6 | 97.8 | 97.8 | 97.5 | 97.3 | 97.3 | 97.5 | 97.5 | 97.8 | 97.3 | 97.6 |
| 2  | 2.1 |     | 98.3 | 98.3 | 97.5 | 98.3 | 97.6 | 98.4 | 98.1 | 98.1 | 98   | 97.8 | 97.8 | 98   | 98   | 98.3 | 97.8 | 98.1 |
| 3  | 1.9 | 1.7 |      | 99.6 | 99.2 | 99.4 | 99.2 | 99.6 | 99.6 | 99.6 | 99.8 | 100  | 100  | 100  | 100  | 99.8 | 99.8 | 99.8 |
| 4  | 2.2 | 1.8 | 0.4  |      | 98.4 | 98.7 | 98.7 | 98.9 | 98.9 | 98.9 | 99.1 | 99.5 | 99.5 | 99.4 | 99.4 | 99.1 | 98.9 | 99.2 |
| 5  | 2.1 | 1.8 | 0.2  | 0.8  |      | 98.7 | 99.2 | 99.1 | 99.1 | 99.1 | 99.1 | 98.9 | 98.9 | 99.1 | 99.1 | 99.2 | 98.9 | 99.2 |
| 6  | 2.9 | 1.8 | 0.6  | 1.3  | 0.5  |      | 99.1 | 99.5 | 99.2 | 99.2 | 99.4 | 99.2 | 99.2 | 99.4 | 99.4 | 99.4 | 99.2 | 99.5 |
| 7  | 2.6 | 2.2 | 0.6  | 1.1  | 0.2  | 0.8  |      | 99.2 | 99.5 | 99.5 | 99.4 | 99.2 | 99.2 | 99.4 | 99.4 | 99.4 | 99.2 | 99.5 |
| 8  | 2.4 | 1.6 | 0.4  | 1.1  | 0.2  | 0.5  | 0.6  |      | 99.7 | 99.7 | 99.5 | 99.4 | 99.4 | 99.5 | 99.5 | 99.8 | 99.4 | 99.7 |
| 9  | 2.2 | 1.9 | 0.4  | 1.1  | 0.2  | 0.8  | 0.3  | 0.3  |      | 100  | 99.5 | 99.4 | 99.4 | 99.5 | 99.5 | 99.8 | 99.4 | 99.7 |
| 10 | 2.2 | 1.9 | 0.4  | 1.1  | 0.2  | 0.8  | 0.3  | 0.3  | 0    |      | 99.5 | 99.4 | 99.4 | 99.5 | 99.5 | 99.8 | 99.4 | 99.7 |
| 11 | 2.6 | 2.1 | 0.2  | 1    | 0.2  | 0.6  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.5  |      | 99.5 | 99.5 | 99.7 | 99.7 | 99.7 | 99.5 | 99.8 |
| 12 | 2.7 | 2.2 | 0    | 0.5  | 0.3  | 0.8  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.5  |      | 100  | 99.8 | 99.8 | 99.5 | 99.4 | 99.7 |
| 13 | 2.7 | 2.2 | 0    | 0.5  | 0.3  | 0.8  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.5  | 0    |      | 99.8 | 99.8 | 99.5 | 99.4 | 99.7 |
| 14 | 2.6 | 2.1 | 0    | 0.6  | 0.2  | 0.6  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.3  | 0.2  | 0.2  |      | 100  | 99.7 | 99.5 | 99.8 |
| 15 | 2.6 | 2.1 | 0    | 0.6  | 0.2  | 0.6  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.5  | 0.3  | 0.2  | 0.2  | 0    |      | 99.7 | 99.5 | 99.8 |
| 16 | 2.2 | 1.8 | 0.2  | 1    | 0    | 0.6  | 0.5  | 0.2  | 0.2  | 0.2  | 0.3  | 0.5  | 0.5  | 0.3  | 0.3  |      | 99.5 | 99.8 |
| 17 | 2.7 | 2.2 | 0.2  | 1.1  | 0.3  | 0.8  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.6  | 0.5  | 0.6  | 0.6  | 0.5  | 0.5  | 0.5  |      | 99.7 |
| 18 | 2.4 | 1.9 | 0.2  | 0.8  | 0    | 0.5  | 0.3  | 0.3  | 0.3  | 0.3  | 0.2  | 0.3  | 0.3  | 0.2  | 0.2  | 0.2  | 0.3  |      |

1, ASI10025, 2, ASI10002, 3, ASI10041, 4, ASI10045, 5, ASI10015, 6, ASI10114, 7, ASI10100, 8, ASI10017, 9, ASI10006, 10, ASI10104, 11, ASI10109, 12, ASI10071, 13, ASI10021, 14, ASI10119, 15, ASI10074, 16, ASI10066, 17, *A. gallica* FJ664584, 18, ASI10118

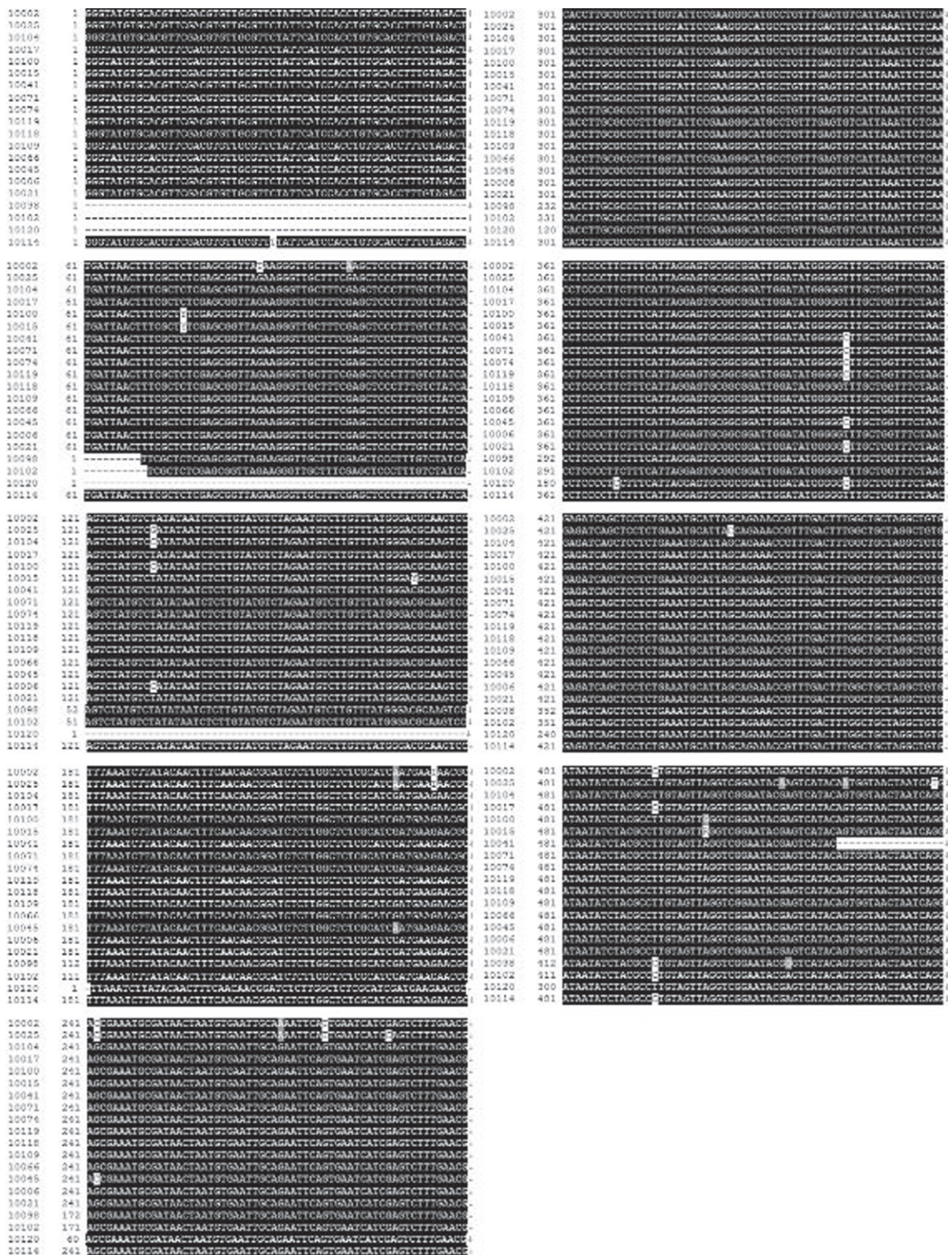


Fig. 3. Comparison of rDNA ITS region sequences from *A. gallica*. (ASI10002, ASI10025, ASI10104, ASI10107, ASI10100, ASI10015, ASI10041, ASI10071, ASI10074, ASI10119, ASI10118, ASI10109, ASI10066, ASI10045, ASI10006, ASI10021, ASI10098, ASI10102, ASI10120, ASI10114)

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ 907021032 012)의 지원에 의해 이루어진 결과이며, 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 성재모, 양근주, 김수호, T. Harrinton. 1997. 생물학적 특성과 DNA 분석을 이용한 한국내 *Armillaria* 속균의 분류. 한국균학회지 25 : 46-67.
- 성재모, 정범식, 양근주, 이현경, T. Harrinton. 1995. *Armillaria* 속균을 이용한 천마의 생산. 한국균학회지 23 : 61-70.
- 이민웅. 2007. 중요 약용재 특성과 재배 신기술. 동국대학교 출판부. p32.
- Day, W. R. 1937. The parasitism of *Armillaria mellea* in relation to conifers. Quart. J For. 21 : 9-12.
- Huang, N. K., Lin, Y. L., Cheng, J. J. and Lai, W. L. 2004. *Gastrodia elata* prevents rat pheochromocytoma cells from serum-deprived apoptosis: the role of the MAPK family. Life Sci 75(13) : 1649-1657.
- Jukes, T. H. and Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules. In: H. N. Munro (ed.), Mammalian Protein Metabolism. Academic Press, N. Y. p21-132.
- Jung, T. Y., Suh, S. I., Lee, H., Kim, I. S., Kim, H. J., Yoo, H. S. and Lee, S. R. 2007. Protective effects of several components of *Gastrodia elata* on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. Phytother Res 21(10) : 960-964.
- Kim, H. J., Lee, S. R. and Moon, K. D. 2003. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia elata*, medicinal herb protects against neuronal cell damage after transient global ischemia in gerbils. Phytother Res 17(8) : 909-912.
- Kim, H. J., Moon, K. D., Lee, D. S. and Lee, S. H. 2003. Ethyl ether fraction of *Gastrodia elata* Blume Protects amyloid beta peptide-induced cell death. Ethnopharmacol 84(1) : 95-98.
- Kim, M. S., Klopfenstein, N. B. and Hanna, J. W. 2006. Characterization of North American *Armillaria* species: genetic relationships determined by ribosomal DNA sequences and AFLP markers. Forest Pathology 36 : 145-164.
- Chillali, M., Botton, B. and Idder-ighili, H. 1998. Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of European *Armillaria*. Mycol. Res. 102(5) : 533-540.
- 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.
- 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.