

rDNA의 ITS 부위 염기서열 분석에 의한 겨울우산버섯 (*Polyporus*)속 균주의 유전적인 유연관계 분석

이찬중*, 전창성, 정종천, 공원식
농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

Phylogenetic relationships of genera *Polyporus* on the basis of ITS region sequences

Chan-Jung Lee*, Chang-Sung Jhune, Jong-Chun Cheong and Won-S Kong

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,
RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received March 2, 2012, Revised March 19, 2012, Accepted March 21, 2012)

ABSTRACT: This study was carried to identify a correct species and asses genetic diversity within the same species of *Polyporus* spp. preserved in Division of applied Microbiology. Contaminated isolates showed different growth rates, morphology and color of hyphae. We have reconstructed the phylogenetic tree of a select group of *Polyporus* 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 three strains were different species and four strains were identified completely different nomenclature. According to the analysis of ITS sequences, the genus *Polyporus* clustered into five distinct group, most of which correlated with species-groups identified by RAPD method. Four isolates included strain PM02 showed high similarity with *P. arcularius*, four isolates included strain PM03 high similarity with *P. alveolaris*, three isolates included strain PM01 high similarity with *P. tuberaster*, and PM 06 and PM04 high similarity with *P. brumalis* and *P. squamosus*. Isolates were collected in the United States(PM10, PM11) was identified as *P. alveolaris* and *P. arcularius*. RAPD analysis of genetic polymorphisms of genus *Polyporus* showed a very different band patterns. As the result of RAPD and ITS region sequences analysis for preserved isolates, it seems likely that 6 isolates of *Polyporus* spp. may be need to reclassify or eliminate from preserved catalogue.

KEYWORDS : Internal transcribed spacer region, Mushroom, Phylogenetic tree, RAPD analysis, *Polyporus* spp.

서 론

국내 버섯은 현재 992종이 분류(정, 1993) 되어 있으며, 그 중 식용 가능한 버섯이 100여종, 독버섯은 50여종이며, 맹독성을 가진 버섯이 20여종으로 확인되었고(Lee, 1990; 박, 1991), 약용으로 사용하는(許, 1981; 水野 등, 1992) 버섯은 35과 82속 162종으로 보고(Ahn, 1992)되어 있으나, 그 나머지 버섯은 아직 확인된 바가 없다. *Polyporus*속은 형태적으로 이종의 백색 목재부후균이면서 목본담자균이다. 이것은 긴대주발형의 자실체를 형성하고, 제2균사형의 균사형태 그리고 백색부후를 일으키는 것이 특징이다(Donk, 1964; Gilbertson와 Ryvarden, 1987). 대부분의 *Polyporus* 종은 죽은 나무에서 자라지만 몇몇의 종들은 풀이나 대나무와 같은 곳에서 발견되기도 한다(Ryvarden과 Gilbertson, 1994; Núñez와 Ryvarden, 1995; Sotome 등, 2007). 또한 어떤 *Polyporus* 종(*P. tuberaster*, *P. umellatus* 등)은 식용과

약용으로 알려져 있다(Imazeki와 Hongo, 1989; Park과 Lee, 1999). *Polyporus*라는 속명은 1729년 이후로 사용되어 오고 있으며(Micheli, 1729), 한국에서는 Lee 등(1959)과 같은 여러 균류학자에 의해 20세기 후반부터 보고되어져 오고 있다. *Polyporus umbellatus*는 부종, 황달, 설사 등을 치료할 수 있는 균핵을 가진 가장 광범위하고 귀중한 약용버섯 중의 하나이며(Huang와 Liu, 2007; Zhang 등 2010), 자연상태에서 균핵은 토양 아래에서 자라고 균핵에서 자란 자실체 또한 식용이 가능하다고 한다(Cheng 등, 2006). 균류의 분류는 형태적 특징과 유성번식체의 발달양식을 기초로 하여 수행되어 오고 있으며, 국제식물명명규약(International Code of Botanica Nomenclature)에 따르고 있다. 그러나 1990년 초반에 탄생한 균류분자계통분류학(fungal molecular systematics)은 핵산염기서열인 ribosome DNA의 염기서열과 같은 분자 수준에서 균류의 유연관계나 계통진화(phylogeny)를 설명하고 있으며, 이들을 바탕으로 분류체계의 재편은 매우 유용적이라고 할 수 있다. 농업과학기술원 응용미생물과에 보존되어 있는 균주는 외국에서 도입되었거나 국내에서 수집된

* Corresponding author (lchanj@korea.kr)

Table 1. Fungal isolates used in this study

Strain no.	Scientific name	Source	Strain no.	Scientific name	Source
G2134	<i>Polyporus arcularius</i>	Korea	ASIS11983	<i>Cerrena unicola</i>	Korea
A6889	<i>Polyporus alveolarius</i>	Korea	ASI51001	<i>Polyporus alveolarius</i>	Korea
A9501	<i>Polyporus squamosus</i>	Korea	ASI51002	<i>Polyporus alveolarius</i>	Korea
ASI51007	<i>Polyporus arcularius</i>	Japan	ASI51010	<i>DendroPolyporus umbellatus</i>	America
ASI100001	<i>Polyporus brumalis</i>	Korea	ASI87001	<i>Bjerkandera adusta</i>	America
A11036	<i>Polyporus squamosus</i>	Korea	A11585	<i>Rigidoporus zonalis</i>	Korea
ASIS11984	<i>Polyporus alveolarius</i>	Korea			

버섯에서 분리한 균주들로 수집 당시 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 겨울우산버섯(*Polyporus*)속의 rDNA ITS 영역의 염기서열을 분석하여 이들 균주들의 분류학적 위치와 계통분류학적인 유연관계를 분석하고 RAPD분석에 의한 유전적 다형성을 조사한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험균주 및 배양조건

본 시험에 사용한 균주는 2006년 농업과학기술원 응용미생물과에 보존하고 있는 *Polyporus*속으로 동정된 13균주를 사용하였다(Table 1, Table 2). 균주의 배양은 PDA(Potato Dextrose Agar, Difco)를 사용하였고, 25℃의 항온기에서 약 15일간 배양하였다. 시험균주 멸균증류수 튜브에 옮겨 상온에 보관하면서 실험에 사용하였다.

염색체 DNA 추출

*Polyporus*속 균주로부터 염색체 DNA 추출은 PDA배지(potato dextrose agar)에서 7일간 배양한 균사체를 수확하여 동결건조한 후 소량을 2ml 튜브에 넣고 마쇄한 뒤 1ml CTAB solution [2% CTAB(w/v), 100mM Tris-HCl(pH 8.0), 20mM EDTA(pH 8.0), 1.4 M NaCl, 1% PVP (polyvinylpyrrolidone)에 현탁한 후 60℃에서 40분 동안 반응시켰다. 반응 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하여 Rnase와 Proteinase K 50 μ g을 첨가 후 37℃에서 40분간 반응시켰다. 여기에 같은 양의 Phenol/CHCl₃/Isoamyl alcohol을 넣고 골고루 섞어주었다. 그리고 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하고 같은 양의 CHCl₃/Isoamyl alcohol을 첨가하여 골고루 섞어준 후 다시 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을

회수하였다. 여기에 1/10 량의 NaOAc(CH₃COONa, 3M, pH 5.2)을 첨가하고 총량의 2.5배량의 100% 에탄올을 첨가한 후 -70℃에서 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 μ l의 멸균한 3차 증류수에 DNA를 녹여 4℃에 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 μ m dNTP, 2.5 unit의 Taq DNA polymerase, 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂에 증류수를 첨가하여 최종 volume을 30 μ l로 하였다. DNA 증폭은 initial denaturation을 94℃에서 2분간 실시하고, denaturation 40초(94℃), annealing 1분(58℃), extension 1분(72℃)으로 30cycle을 반응시키고 마지막으로 72℃에서 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 사용하였다. 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 다

음, 94°C 1분간 denaturation, 55°C에서 40초간 annealing, 72°C에서 2분 동안 extension을 1cycle로 하여 총 40cycles를 반응시킨 후 4°C에서 유지하였다. PCR산물은 1.2% agarose gel에서 90 volt로 loading한 후 UV transilluminator lamp 상에서 밴드를 관찰하였다.

결과 및 고찰

보존중인 구멍장이버섯속에 대한 온도, pH, 배지종류 등에 따른 배양적 특성과 균사의 생육모양, 균층의 색깔 등을 조사하여 2가지 이상 균주가 섞여 오염된 균주는 실험에서 제외 시켰다(자료생략). 이들 실험 균주 중 *Polyporus*속으로 동정된 균주를 선발하여 배양적 및 형태적 특성을 조사하여 비슷한 균주별로 그룹화한 다음 rDNA의 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 결정하였다. 그 결과 보존당시 균주의 학명과 염기서열분석에 따른 학명과는 많은 차이를 보였으며, 균사의 모양 및 색깔에도 많은 차이를 보였다(Fig. 1). 따라서 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, 종간 뿐만 아니라 종내에서도 많은 변이를 갖는 것으로 알려져 있다(Mitchel 등, 1995). 이 부위의 염기서열 분석 자료는 mt-DNA등과 함께 최근 균류의 계통분류에 널리 사용되고 있다(박 등, 1999; Kim 등, 2000). 실험에 사용한 균주들의 계통분석을 위하여 ITS 1과 ITS 4 프라이머를 이용하여 rDNA의 ITS 영역을 증폭한 결과 600~700 bp 정도의 증폭 산물을 얻었다. 이들 염기서열을 바탕으로 GenBank에

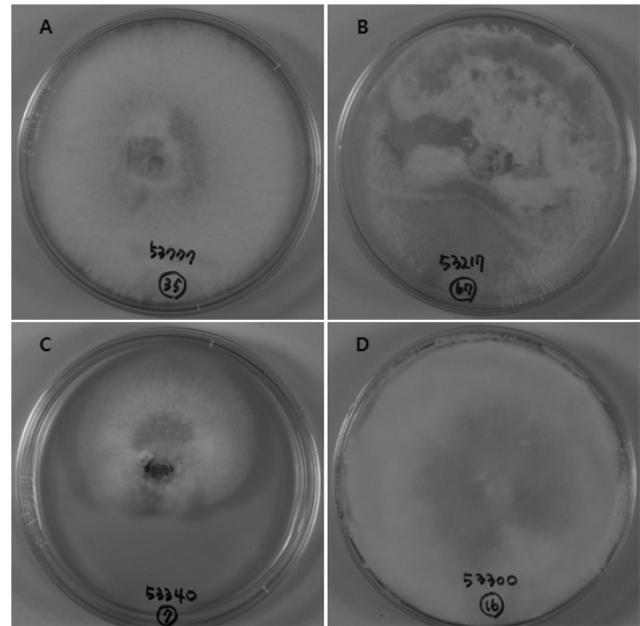


Fig. 1. Cultural and morphological characteristics of genus *Polyporus*. Original identification (Molecular identification): A: *Cerrena unicola*(*P. tuberaster*), B: *P. arcularius*(*P. arularius*), C: *P. squamosus*(*P. tuberaster*), D: *Bjerkandera adusta*(*P. arcularius*).

상동성을 조사하였다. 보존균주 목록과 염기서열 분석을 통한 동정결과에서 종이 다른 균주가 3균주, 학명이 완전히 다른 균주가 4균주로 전체의 53.8%를 차지하였다. 국내에서 수집한 *Polyporus*속은 *P. tuberaster*, *P. arcularius*, *P. squamosus*, *P. brumalis*, *P. alveolarius* 등 5개 종으로 동정되었고, 미국에서 수집한 2균주(PM10, PM11)는 *P. arcularius*와 *P. alveolarius*로 동정되었다(Table 2). 이와 같이 균주를 수집하여 보존할 때 정확한 동정이 이루어지

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

strain designation	Isolates no.	Original Identification	Molecular Identification	Similarity
PM01	ASIS11984	<i>P. alveolarius</i>	<i>P. tuberaster</i>	99
PM02	G2134	<i>P. arcularius</i>	<i>P. arcularius</i>	99
PM03	A6889	<i>P. alveolarius</i>	<i>P. alveolarius</i>	97
PM04	A9501	<i>P. squamosus</i>	<i>P. squamosus</i>	99
PM05	ASI51007	<i>P. arcularius</i>	<i>P. arcularius</i>	99
PM06	ASI100001	<i>P. brumalis</i>	<i>P. brumalis</i>	99
PM07	A11036	<i>P. squamosus</i>	<i>P. tuberaster</i>	99
PM08	ASI51001	<i>P. alveolarius</i>	<i>P. alveolarius</i>	99
PM09	ASI51002	<i>P. alveolarius</i>	<i>P. arcularius</i>	99
PM10	ASI51010	<i>DendroPolyporus umbellatus</i>	<i>P. alveolarius</i>	100
PM11	ASI87001	<i>Bjerkandera adusta</i>	<i>P. arcularius</i>	99
PM12	A11585	<i>Rigidoporus zonalis</i>	<i>P. alveolarius</i>	100
PM13	ASIS11983	<i>Cerrena unicola</i>	<i>P. tuberaster</i>	99

지 않았고, 수집자의 기록에만 의존하여 보존하였기 때문에 발생한 문제가 판단된다. 따라서 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.

*Polyporus*속으로 동정된 균주들에 대한 분류학적위치 및 유전학적인 유연관계 분석을 위하여 계통수를 그려 이들 사이의 유연관계를 확인해 보았다(Fig. 2). 분석결과 *P. alveolarius*, *P. brumalis*, *P. squamosus*, *P. tuberaster*, *P. arcularius* 등 5개의 분류군으로 이루어졌으며, PM02 등 4 균주(PM02, PM05, PM09, PM11)는 *P. arcularius*, PM06은 *P. brumalis*와 아주 가까운 유연관계를 보였다. 그리고 PM03 등 4균주(PM03, PM08, PM10, PM12)는 *P. alveolarius*, PM01 등 3균주(PM01, PM07, PM13)는 *P. tuberaster*와 같은 그룹에 속하며 유연관계도 가까웠으며, PM04 균주는 *P. squamosus*와 같은 그룹에 속하며 유연관계도 가까운 것으로 분석되었다. 또한 여러 *Polyporus* 종들간의 유사도와 evolutionary distance는 Table 2에서 나타내었으며, 결과는 유전적인 유연관계분석과 유사한 경향을 보였다. Núñez와 Ryvarden(1995)에 의한 종속지에는 32종의 *Polyporus* s. I. 을 포함하고 있으며, 순위에 관계없이 담자기형태와 일관성에 따라 6개의 하위그룹으로 나누어진

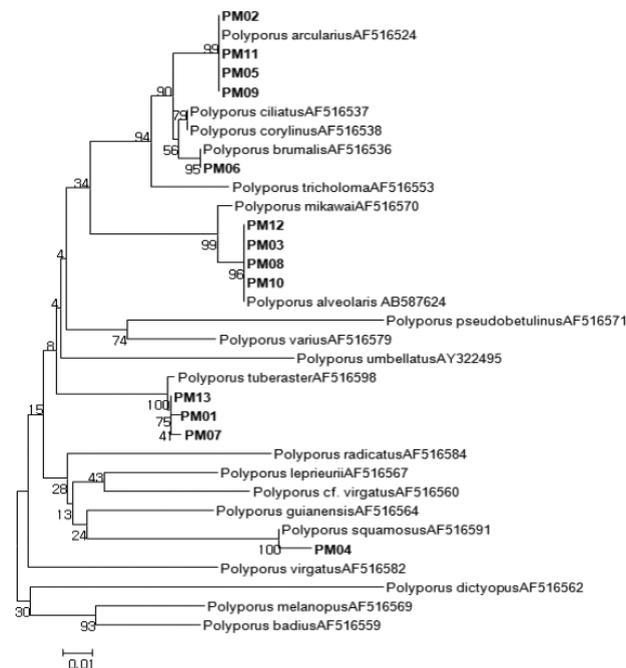


Fig. 2. Phylogenetic relationships of *Polyporus* spp. based on internal transcribed spacer(ITS) sequences. Numerical values on branches are the bootstrap values as percentage of bootstrap replication from 1000 replicate analysis. Bar = 0,01 genetic distance between samples.

다고 한다. Lee 등(2010)은 최근까지 Index Fungorum에는 1,740종의 *Polyporus* 종이 포함되어 있으며, 한국에는 13종의 *Polyporus* 종이 보고되어 있다고 한다. 그러나 보존중인 균주에 대한 분석에서는 *P. squamosus* 등 4종만이 동정되어 졌다. Krüger와 Gargas(2004)는 예전의 분자적인 유연관계 분석에서 *Polyporus*와 *Lentinus*는 아주 가깝게 연관되어 주름이 있는 자실체충탁에 의해 구별할 수 있다고 하였고, Singer (1986)는 *Lentinus* 종은 해부상의 특징과 자실체의 발달에 기초해서 polyporoid 조상으로부터 유래한다고 하였다. 따라서 국내에 자생하고 있는 *Polyporus* 종들간의 유전적인 유연관계 뿐 아니라 *Lentinus* 종과의 관련성에 대해서도 면밀한 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

Polyporus spp.의 RAPD 분석을 통한 유전적인 다형성을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 분석결과 *P. arcularius*, *P. brumalis* 그리고 *P. tuberaster* 균주들 간에는 아주 다른 밴드 패턴을 보였다. PM07과 PM13 균주는 보존목록에서는 *P. squamosus*와 *Cerrena unicola*로 분류되어 있으나, 염기서열에 의한 상동성 분석 결과 *P. tuberaster*로 밝혀졌으며, RAPD분석에서도 같은 밴드패턴을 보였다. 또한 한국에서 수집된 PM02균주와 일본에서 수집한 PM05균주는 염기서열에 의한 상동성 분석 결과 동일한 *P. arcularius*로 동정되었지만, RAPD분석에서는 서로 다른 밴드패턴을 보였다. 따라서 이들에 대해서는 보존균주의 오염여부와 자실체 유전자와의 상동성에 대한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

유전자 분석결과 *Polyporus*속으로 동정된 균주들간의 ITS부위 유전자수준에서 상동성을 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. *P. arcularius* 종들은 99~100%, *P. alveolarius* 종들은 97~100%, *P. tuberaster* 종들간에는 99%의 상동성을 보였다. *P. arcularius* 그룹은 *P. alveolarius* 그룹과는 86~88%의 상동성을 보였고, *P. tuberaster* 그룹과는 86~87%의 비교

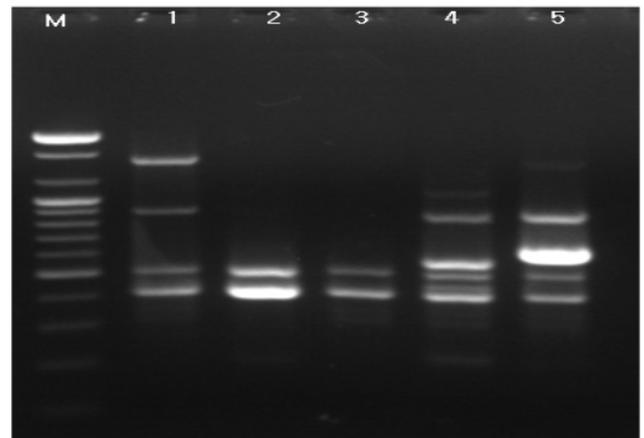


Fig. 3. Representative random amplified polymorphic DNA fingerprints using PELF primer of *Polyporus* spp. 1: PM02, 2: PM13, 3: PM07, 4: PM06, 5: PM05.

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

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	***	86.2	86.2	86.2	86.2	100	86.9	86.4	100	100	97.2	86.4	86.2	82.4	83.9	81.7	87.4	86.2
2	11	***	100	99.3	99.3	87.2	86.1	85.6	87.2	87.2	86.4	85.6	95.6	80.6	82.5	79.7	96.6	99
3	11	0	***	99.3	99.3	87.2	86.1	85.6	87.2	87.2	86.4	85.6	95.6	80.6	82.5	79.7	96.6	99
4	11.2	0.5	0.5	***	100	87.2	86.4	85.9	87.2	87.2	86.4	85.9	96.1	74.8	82.5	74.3	97.1	99.3
5	11.2	0.5	0.5	0	***	87.2	86.4	85.9	87.2	87.2	86.4	85.9	96.1	74.8	82.5	74.3	97.1	99.3
6	0	11	11	11.2	11.2	***	86.9	86.4	100	100	97.2	86.4	86.2	82.4	83.9	81.7	87.4	86.2
7	15.5	15.7	15.7	16	16	15.5	***	99.5	87.2	87.2	84.7	99.5	86.1	82.2	96	81.9	87.9	85.6
8	15.9	16.1	16.1	16.4	16.4	15.9	0.2	***	86.7	86.7	84.2	99	85.6	81.7	95.5	81.9	87.4	85.1
9	0	11	11	11.2	11.2	0	15.5	15.9	***	100	97.2	86.4	86.2	82.4	83.9	81.7	87.4	86.2
10	0	11	11	11.2	11.2	0	15.5	15.9	0	***	97.2	86.4	86.2	82.4	83.9	81.7	87.4	86.2
11	0	11	11	11.3	11.3	0	15.7	16.1	0	0	***	83.9	84.9	81.9	82.2	81.2	86.4	85.9
12	15.9	16.1	16.1	16.4	16.4	15.9	0.2	0.5	15.9	15.9	16.1	***	85.6	81.7	95.5	81.4	87.4	85.1
13	10.3	2.5	2.5	2.3	2.3	10.3	14.7	15	10.3	10.3	10.3	15	***	80	82.8	79.5	97.6	96.1
14	17.3	17.8	17.8	18.4	18.4	17.3	20	20.4	17.3	17.3	17.5	20.4	17.7	***	79.3	98.5	80.4	80.6
15	15.4	16	16	16	16	15.4	0.5	0.8	15.4	15.4	15.2	0.8	14.6	19.8	***	78.8	84.2	82.3
16	18.6	19.1	19.1	19.7	19.7	18.6	20.8	20.5	18.6	18.6	18.9	21.2	18.8	1.5	20.5	***	79.7	79.9
17	10.1	2.8	2.8	2.5	2.5	10.1	14.5	14.8	10.1	10.1	10.1	14.8	0.3	17.8	14.4	18.5	***	97.1
18	11.2	0.5	0.5	0.2	0.2	11.2	16	16.4	11.2	11.2	11.3	16.4	1.8	18.4	16	19.7	2	***

1. *P. alveolarius* AB587624 2. PM05, 3. PM09, 4. PM11, 5. PM02, 6. PM12, 7. PM13, 8. PM07, 9. PM08, 10. PM10, 11. PM03, 12. PM01, 13. *P. brumalis* AF516536, 14. *P. squamosus* AF516591, 15. *P. tuberaster* AF516598, 16. PM04, 17. PM06, 18. *P. arcularius* AF516524

적 낮은 상동성을 보였다. *P. squamosus* 그룹인 PM04균주는 *P. alveolarius* 그룹과는 84~86%의 상동성을 보였고, *P. tuberaster* 그룹과는 84~86%의 상동성을 보였지만 *P. arcularius* 그룹과는 81%의 아주 낮은 상동성을 보였다. 그리고 *P. brumalis* 그룹인 PM06균주는 *P. alveolarius* 그룹과는 86~88%의 상동성을 보였고, *P. tuberaster* 그룹과는 88%의 상동성을 보였으며, *P. arcularius* 그룹과는 96~97%의 비교적 높은 상동성을 보였다. 또한 *P. squamosus* 그룹인 PM04균주와 *P. brumalis* 그룹인 PM06균주는 아주 낮은 81%의 상동성을 보였다. 이와 같이 이들 종들간의 동정을 위해서는 보다 다양한 유전자 분석을 통한 보다 정확한 동정이 이루어져야 할 것으로 판단된다. 한편 미국(PM11), 일본(PM05), 한국(PM02, PM09)에서 수집된 *P. arcularius* 종들간에는 99~100%의 높은 상동성을 보였고, 미국에서 수집된 PM10균주는 전남에서 수집된 PM12균주와는 100%의 상동성을 보였지만 제주에서 수집된 PM03균주와는 97%의 상동성을 보였다. 따라서 서식지별 유전적인 다양성에서 약간의 차이를 발견할 수 있었으며, 이에 대해서는 보다 많

은 개체의 분석을 통한 면밀한 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

적 요

보존중인 *Polyporus*속 균주를 선별하여 배양 및 형태적 특성을 조사하여 비슷한 균주별로 그룹화하여 rDNA의 ITS 영역을 증폭하여 염기서열을 결정된 결과 보존시 균주의 학명과 많은 차이를 보였으며, 균사의 모양 및 색깔에도 많은 차이를 보였다. 보존 당시 동정한 결과와 rDNA의 ITS 영역의 염기서열 분석을 통한 결과를 비교한 결과 종이 다른 균주가 3균주와 학명이 다른 균주가 4균주로 전체의 53.8%를 차지하였다. 국내에서 수집한 *Polyporus*속은 경우 *P. alveolarius*, *P. brumalis*, *P. squamosus*, *P. tuberaster*, *P. arcularius* 등 5개 종으로 동정되었고, 미국에서 수집한 균주는 *P. alveolarius*와 *P. arcularius*로 동정되었다. 그리고 일본에서 수집한 균주는 *P. arcularius*로 동정되었다. RAPD

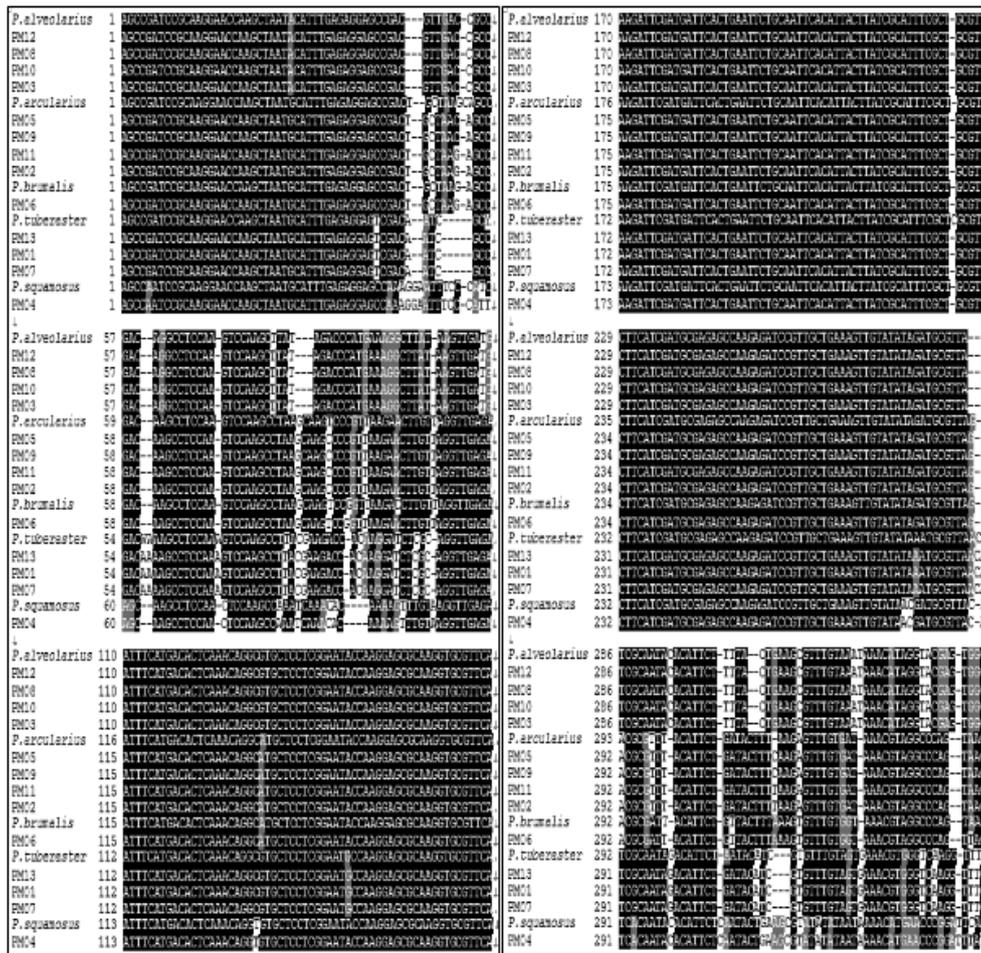


Fig. 4. Comparison of rDNA ITS region sequences from species of the genus *Polyporus*.

분석을 통한 유전적인 다형성 조사에서 *Polyporus*속간에는 완전히 다른 밴드 패턴을 보였지만 같은 종내에서는 비슷한 밴드 패턴을 보였다. 유전적인 유연관계 분석에서는 *P. alveolarius* 등 5개의 분류군으로 나누어졌으며, ITS부위 유전자수준의 상동성 분석에서도 비슷한 경향을 보였다. 따라서 기존 목록과 완전히 다른 속으로 동정된 균주들에 대해서는 계통분류학적인 유연관계 분석과 보존중인 자체 유전자와의 상동성을 비교하여 기존 목록의 학명을 재분류해야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

박동석, 고승주, 김양섭, 석순자, 송재경, 여윤수, 류진창, 생재모. 1999. 떡물버섯속(*Coprinus* spp.)의 ITS II 영역 염기서열에 의한 유연관계 분석. 한국균학회지 27 : 27-31.

박완희. 1991. 한국의 버섯. 교학사, 서울. p. 23.
 水野 卓, 川合正允. 1992.キノコの 化學 生化學, 學科出版 센타. p. 13-91.
 정학성. 1993. 한국산 고등균류 분류학 발표 목록. 균학회 소식. 5 : 29-36.
 許浚. 1981. 東醫寶鑑, 東醫寶鑑國譯委員會 編譯. 南山堂, 서울. p. 1178.
 Ahn, D. K. 1992. Medicinal Fungi in Korea. Kor. J. Mycol. 20 : 154-166.
 Cheng, X. H., Guo, S. X. and Wang, C. L. 2006. Factors influencing formation of sclerotia in *Grifola umbellata* (Pers.) Pilát under artificial conditions. J Integr Plant Biol 48 : 1312-1317.
 Donk, M. A. 1964. The generic names proposed for Polyporaceae. Persoonia 1 : 173-302.
 Gilbertson, R. L. and Ryvarden, L. 1987. North Ameri-

- can polypores, Vol. 2. Fungiflora, Oslo.
- Huang, H. C. and Liu, Y. C. 2007. Acceleration of mycelia growth by adding *Grifola umbellata* broth concentrate in solid-state and submerged cultures. *Biochem Eng J* 37 : 139–143.
- Imazeki, R. and T. Hongo. 1989. Colored illustrations of mushrooms of Japan. Vol. 2. Osaka, Japan: Hoi-kusha. p. 315.
- 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., Park, S. Y. and Jung, H. S. 2000. Phylogenetic classification of *Antrodia* and related genera based on ribosomal RNA internal transcribed spacer sequences. *J. Microbiol. Biotechnol.* 11 : 475–481.
- Krüger, D. and Gargas, A. 2004. The basidiomycete genus *Polyporus*—an emendation based on phylogeny and putative secondary structure of ribosomal RNA molecules. *Feddes Repert* 115 : 530–546.
- Lee, J. Y., Lee, Y. W. and Lim, J. H. 1959. Coloured illustration of fungi of Korea, Baemungak, Seoul, Korea.
- Lee, J. S., Woo, E. J., Oh, K. H., Kim, J. J. and Lim, Y. W. 2010. The first report of two species of *Polyporus* (Polyporaceae, Basidiomycota) from Souyth Korea. *The Journal of Microbiology.* 48 : 748–753.
- Lee, T. S. 1990. The Full List of Recorded Mushroom in Korea. *Kor. J. Mycol.* 18 : 233–259.
- Micheli, P. 1729. *Nova plantarum genera*. Richmond Publishing, Surrey, UK. Reprint 1976. p. 233.
- 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.
- Núñez, M. and Ryvarden, L. 1995. *Polyporus* (Basidiomycotina) and related genera. *Syn. Fung.* 10 : 1–85.
- Park, W. H. and Lee, H. D. 1999. *Illustrated book of Korean medicinal mushrooms*, p. 524–527. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea.
- Ryvarden, L. and Gilbertson, R. L. 1994. *European polypores*. Vol. 2. Fungiflora. Oslo.
- Singer, R. 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*, 4th ed. Germany: Koeltz Scientific Books. p. 981.
- Sotome, K., Hattori, T. and Kakishima, M. 2007. *Polyporus phyllostachydis* sp. Nov. with notes on other rhizophilic species of *Polyporus*. *Mycoscience* 48 : 42–46.
- 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. p. 315–322.
- 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.
- Zhang, G. W., Zeng, X., Han, L., Wei, J. A. and Huang, H. D. 2010. Diuretic activity and kidney medulla AQP1, AQP2, AQP3, V2R expression of the aqueous extract of sclerotia of *Polyporus umbellatus* fries in normal rats. *J Ethnopharmacol* 128 : 433–437.