



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

劉英福 博士指導
博士學位請求論文

DNA 다형성 분석에 의한
느타리버섯 계통간 교잡주의 특성

Characterization of Intra-specific Hybrids in
Pleurotus ostreatus based on DNA Polymorphism

2014

誠信女子大學教 大學院

食品營養學科

金銀貞

DNA 다형성 분석에 의한
느타리버섯 계통간 교잡주의 특성

Characterization of Intra-specific Hybrids in
Pleurotus ostreatus based on DNA Polymorphism

劉英福 博士指導

이 論文을 博士學位請求論文으로 제출함

2013年 11月

誠信女子大學教 大學院

食品營養學科

金銀貞

認准書

金銀貞의 博士學位請求 論文으로 認准함

審査委員 한영숙 韓

審査委員 원현근 元

審査委員 이항수 李

審査委員 고성희 高

審査委員 유영복 柳

誠信女子大學教 大學院

감사의 글

먼저 모든 것이 주님의 은혜임을 고백하며 영광을 돌립니다.

십여 년의 세월동안 학부시절부터 석사과정, 박사과정을 마치기까지
변함없는 깊은 애정으로 지도해주시고 품어주신 평생의 은사이신
한영숙 교수님께 감사를 드립니다.

그리고 학위논문을 지도해주신 유영복 박사님, 논문심사를 위해 애써주신
이창수 교수님, 고성의 교수님, 윤현근 교수님께 감사드립니다.

또한 한영숙 교수님의 지도를 받으며 오래 전부터 함께 학업했던 오지
영 선배님, 박주연 선배님, 이아영 선배님, 성기옥 선배님께도 감사를 드
립니다.

무엇보다 가장 소중하고 든든한 지원자 되어주신 부모님과 오빠에게
깊은 감사와 기쁨을 돌립니다. 또한 오랫동안 특별한 벗으로 늘 함께 있
어준 친구 연주와 에릭선생님과도 이 기쁨을 함께하고 싶습니다.

앞으로도 감사한 많은 분들에게 빛을 발하는 삶이 되도록 묵묵히 저의
자리에서 열심과 성실을 다하고자 합니다.

논문개요

느타리버섯류(*Pleurotus* spp.) 우량 품종개발에 많이 이용되는 교잡육종법 중에서 이핵-단핵간(di-mono), 단핵-단핵간(mono-mono) 교잡에 관한 특성을 구명하기 위하여 느타리 6계통 및 사철느타리 1계통으로 이핵-단핵간 14조합 56개 교잡주와 단핵-단핵간 7조합 85개 교잡주를 얻어 교잡율, 핵 및 미토콘리아 DNA 패턴 양상, 자실체의 갓 색깔과 수량성을 분석한 결과는 다음과 같다.

이핵-단핵간 교잡에서 느타리와 사철느타리간, 느타리와 느타리간 교잡은 모두 교잡율 100%로 나타났으며, 이핵체의 핵과 미토콘드리아가 수용체로 전이되었다. 사철느타리와 느타리간 이핵-단핵 교잡은 교잡주 모두 공여체(donor) 사철느타리 핵과 유사하거나 동일한 패턴으로 나타났다. 느타리와 느타리 교잡주는 공여체 이핵체와 유사한 패턴이 60.7%, 수용체(recipient) 단핵체와 유사한 패턴이 8.9%, 양친의 중간 패턴이 1.8%로 나타났다. 교잡주 미토콘드리아 DNA 패턴은 이핵체 공여체가 75%, 단핵체 수용체가 25%로 나타났다.

사철느타리와 느타리간의 이핵-단핵간 교잡주 자실체 갓 색은 이핵체 사철느타리와 유사한 것이 50%, 양친의 중간 갓 색이 50%로 나타났다. 이때 중간색인 경우도 다소 사철느타리에 좀 더 가까운 갓 색깔을 나타내 전반적으로 사철느타리 갓 색이 우성으로 나타나는 경향이었다. 이핵-단핵간 교잡주의 자실체 수량은 양친과 유사한 것이 50%, 양친보다 높은 것이 5%, 양친보다 낮은 것이 45%였다.

단핵-단핵간 교잡율은 50~93.75%로 나타났으며, 단핵간 85 교잡주의 핵

DNA 양상을 분석한 결과 양친주의 핵을 공유하고 있어 DNA 패턴은 양친의 중간이지만 유전유사도는 어느 한쪽 친주와 조금 더 가까운 양상을 나타냈다. 사철느타리와 느타리간 교잡주는 유사도가 사철느타리에 가까운 것으로 나타났으며, 느타리간의 교잡주는 한 쪽 모균주에 치우치거나, 양친주의 중간 패턴으로 나타냈다. 교잡주의 미토콘드리아 DNA 패턴은 양친주 중 어느 한 쪽 친주의 유전양상을 나타내는 교잡주가 82.4%, 양친주가 공존하는 형태의 유전양상을 나타내는 교잡주가 3조합에서만 나타났고 전체의 17.6%였다.

단핵-단핵간 교잡에서 자실체 갯 색은 사철느타리와 느타리간 교잡주는 대부분 양친주의 중간정도의 색을 나타냈으나 양친주 중 어느 한 쪽 친주에 좀 더 가까운 갯 색을 띄는 경향을 나타냈다. 자실체 수량성은 느타리간의 교잡주는 양친과 유사한 것이 82 %, 양친보다 높은 것이 0%, 양친보다 낮은 것이 18%였다.

전반적으로 교잡주의 초발이 소요일 수, 수량 등 자실체 특성은 이핵-단핵간 교잡주가 단핵-단핵간 교잡주보다 우수하며 모균주보다 우수한 자실체 특성을 나타내는 교잡주가 많았다.

본 연구는 느타리 계통간 교잡주의 핵 및 미토콘드리아 DNA 양상과 자실체 특성을 구명하고 우수한 교잡주를 선발하여 제시하였다. 이핵-단핵간 교잡법의 장점을 충분히 활용하여 단핵-단핵간 교잡법과 함께 앞으로 육종방법으로서 느타리버섯류의 우량 품종을 개발하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

목 차

논문개요

List of Tables

List of Figures

I. 서론

II. 재료 및 방법

1. 균주 및 배양
2. 단포자 분리 및 교배형 검정
3. 이핵-단핵(di-mono)간 및 단핵-단핵(mono-mono)간 교잡
4. 온도별 균사생장
5. 교잡주의 핵 및 미토콘드리아 DNA 다형성 분석
 - 5.1. DNA 분리
 - 5.2. 핵 DNA 다형성 분석
 - 5.3. 미토콘드리아 다형성 분석에 사용한 primer 제작
 - 5.4. 미토콘드리아 DNA 다형성 분석
6. 교잡주의 자실체 특성 분석

III. 결과 및 고찰

2. 이핵-단핵 계통간 교잡
 - 1.1 계통간 교잡 및 교잡주 선발
 - 1.2 핵 DNA 다형성 분석

1.3 미토콘드리아 DNA 다형성 분석

1.4 자실체 특성

2. 단핵-단핵 계통간 교잡

2.1 계통간 교잡 및 교잡주 선발

2.2 핵 DNA 다형성 분석

2.3 미토콘드리아 DNA 다형성 분석

2.4 자실체 특성

IV. 결론

참고문헌

ABSTRACT

LIST OF TABLES

Table 1. List of strains used in this study	15
Table 2. List of URP primers used in nucleus RAPD-PCR in <i>P. ostreatus</i>	16
Table 3. MtPO1F/MtPO1R primers used in mitochondria DNA PCR in <i>P. ostreatus</i>	17
Table 4. Fertility of hybrids by di-mono cross in <i>P. osterotus</i>	19
Table 5. Di-mono cross combination in <i>P. osterotus</i>	20
Table 6. Nuclear DNA pattern of hybrids by di-mono cross in <i>P. osterotus</i>	24
Table 7. Mitochondrial DNA pattern of hybrids by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	41
Table 8. Characteristics of fruiting bodies of hybrids by di-mono cross in <i>P. osterotus</i>	52
Table 9. Fertility of hybrids by mono-mono cross in <i>P. osterotus</i>	60

Table 10. Nuclear DNA pattern of hybrids by mono-mono cross in <i>P. osterotus</i>	62
Table 11. Mitochondrial DNA pattern of hybrids by mono-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	75
Table 12. Characteristics of fruiting bodies of hybrids by mono-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	87

LIST OF FIGURES

- Fig. 1. Diagram of MtPO1F/MtPO1R primer12
- Fig. 2. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2504 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.25
- Fig. 3. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2504 by di-mono cross in *P. ostreatus*.26
- Fig. 4. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.27
- Fig. 5. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2181 by di-mono cross in *P. ostreatus*.28
- Fig. 6. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2504 by di-mono cross in *P. ostreatus*.29
- Fig. 7. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2504 and 2181 by di-mono cross in *P. ostreatus*.30
- Fig. 8. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.31

Fig. 9. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2487 by di-mono cross in *P. ostreatus*.32

Fig. 10. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2183 by di-mono cross in *P. ostreatus*.33

Fig. 11. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2183 and 2487 by di-mono cross in *P. ostreatus*.34

Fig. 12. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 04-154 by di-mono cross in *P. ostreatus*.
.....35

Fig. 13. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 04-154 and 2487 by di-mono cross in *P. ostreatus*.
.....36

Fig. 14. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 05-834 by di-mono cross in *P. ostreatus*.
.....37

Fig. 15. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 05-834 and 2487 by di-mono cross in *P. ostreatus*.
.....38

Fig. 16. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2504 and 2344 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	42
Fig. 17. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2344 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	43
Fig. 18. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2504 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	44
Fig. 19. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2344 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	45
Fig. 20. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2183 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	46
Fig. 21. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 04-154 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	47
Fig. 22. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 05-834 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	48
Fig. 23. Fruiting bodies of hybrids by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	56

Fig. 24. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2504 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....66

Fig. 25. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2344 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....67

Fig. 26. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2504 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....68

Fig. 27. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2344 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....69

Fig. 28. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2183 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....70

Fig. 29. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 04-154 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.
.....71

Fig. 30. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 05-834 by mono-mono cross in *P.*

<i>ostreatus</i>	72
Fig. 31. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2344 and 2504 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	78
Fig. 32. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2344 and 2504 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	79
Fig 33. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2181 and 2504 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	80
Fig. 34. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2487 and 2344 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	81
Fig. 35. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2487 and 2183 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	82
Fig. 36. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2487 and 04-154 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	83
Fig. 37. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between 2487 and 05-834 by di-mono cross in <i>P. ostreatus</i>	84

I. 서론

세계적으로 버섯은 독특한 맛과 신비스러운 발생환경 때문에 역사적으로 오랫동안 식용 뿐 아니라 약용으로 사용되며(Noh 등, 2011) 인류 생활과는 밀접한 관계를 맺고 있고 한국에서는 신라 시대부터 채취·이용되었다(장 등, 2008).

인구가 증가함에 따라 환경파괴, 에너지고갈, 식량부족 등이 중요한 문제로 대두되고 있는 시대에(Lee 등 2005) 버섯은 다원적 기능을 갖는다.

다원적 기능에 관한 개념분석의 분류에 공통적으로 포함되는 항목은 환경보존적 기능(environmental outpute), 농촌경관 및 문화적 전통의 유지기능(agricultural landscape and cultural heritage), 농촌 활력 제공기능(rural viability), 동물후생과 관련된 기능(animal welfare), 식품안전도의 유지기능(food safety), 과학기술 및 교육적 기능(scientific and educational value)등이 있다. 정량화된 버섯의 다원적 기능을 경제적 가치로 환산하면 112조 922억원이며 정량화하지 못한 부분까지 합하면 이의 2배 이상 될 것으로 추정한다. 이렇게 추정할 경우 쌀의 다원적 기능 약 100조원의 경제적 가치에 비해 버섯은 거의 비슷한 가치가 있다고 볼 수 있다(Chang 등, 2010).

버섯류는 전 세계적으로 약 15,000여 종이 알려져 있으며 그 중 식용으로 개발 가능한 것은 약 2,000여 종이다. 그 중에서도 *Pleurotus* 속은 주름버섯목 중에서 가장 대표적인 속종의 하나로 전 세계에 광범위하게 분포되어있으며 Singer(1962)에 의해 분류되었다(장 등, 2008).

버섯은 식품과 동일한 분류체계를 가진다. 분류의 기본 단위인 종

(species)은 대체로 유사한 유전형질을 나타내는 개체군의 포괄집단이다. 종을 학명으로 표시할 때에는 Linne(1707-1778)가 제창한 이명법(binomial nomenclature)을 사용한다. 이것은 속명(generic name) 및 종명과 명명자명을 병기하는 방법이다. 따라서 학명은 세계적으로 공통이며, 예를 들어 느타리는 *Pleurotus ostreatus* (Kummer)로 표기한다.

Jordan(1851-1931)은 종 중에서 더욱 작은 단위로 분류 될 수 있음을 인정하고 종을 다시 몇 갈래로 나누었는데 이것을 아종(subspecies) 또는 변종(variety)이라 한다. 종이나 변종 안에서도 유전형질을 달리하는 개체들이 많다. 농학상으로는 이 중에서 재배적 견지에서 유전형질이 균일하고 영속적인 개체들의 집단을 품종(cultivar)이라한다. 품종을 영어로 variety로 표기하기도 하는데 종자번식을 하는 고등식물에서는 별 문제가 없다. 하지만 영양체 번식을 하는 버섯에서는 주로 commercial strain이라는 용어를 사용하는 경향이 있다. 계통(line, strain)은 품종으로 되지 않은 상태의 버섯균주를 말한다. 버섯은 영양체인 균사체로 번식하기 때문에 언제든지 보유하고 있는 균주가 품종으로 될 수 있다.

버섯의 분류법에는 형태학적인 분류, 생화학적인 분류, 분자생물학적인 분류 등 여러 가지 방법들이 있다(황 등, 1996).

생물학적 견지에서 우리가 알고 있는 버섯은 분류학적으로 크게 균류에 속한다. 균류는 유사균류(pseudo fungi)와 진균류(true fungi)로 나눌 수 있으며 진균류는 다시 병꼴균류, 접합균류, 자낭균류, 담자균류 그리고 불완전 균류의 5가지로 세분된다. 버섯은 대부분 담자균류에 속하나 일부는 자낭균류에 속한다. 형태학적 혹은 생화학적인 분류 등은 주관적인 판단에 의할 수 있고, 환경적인 요인에 의해 같은 종이더라도 다르게 발현하는 경우가 있어 학명 정리와 체계에 많은 혼란을 야기한다. 형태적 특징과 화합성 관계로에 의한 *Pleurotus* 속의 분류는 논란을 일으키는 중

이 많다(이, 1994). 근래에는 유전학적 및 생화학적 특징에 근거를 둔 새로운 분류방법이 이루어지고 있으며(Hibbett 등, 1991) 이후 starch gel을 사용한 전기영동법을 이용하여 *Pleurotus*의 분류에서 종간의 동위효소 다양성을 살펴보고 (Bernie와 Daniel, 1988)는 을 살펴보고, *Pleurotus* 속에서 19 allozyme encoding 유전자 좌의 연관관계를 분석했다 (Berie 등, 1988) 그리고 등전점 폴리아크릴아마이드 겔을 사용한 전기영동 방법으로 느타리속 9개 종 23균주가 분류됐다(Gergios 와 Zentmeyer 1978). 동위효소 중 esterase (EST: E.C 3.1.1.1)는 밴드 수가 다양하여 분류에 많이 이용되는데, 비교적 특이성이 낮은 효소로서 많은 수의 서로 다른 ester결합을 가수분해하여, 하나의 조직에 여러 형태로 존재한다. 여러 개의 유전자 좌(loci)를 가진 monomer 또는 dimer로 *Pleurotus* 속의 종간 및 속간 융합의 maker로도 사용되었다(Toyomasu 등, 1987). Perberdy 등 (1993)은 염색체 크기로 *Pleurotus* spp. 를 분류했고, 이후 수용성 단백질 양상, 여러 효소의 활성도, 혈청학적 특성, 동위효소 분석과 같은 생화학적 방법이 도입이 되었고, 현재에는 DNA에서 restriction endonuclease sites의 유무에 의해 개체간 유연관계를 밝히는 RFLPs (restriction length polymorphism의 기술과 특정 DNA sequence를 증폭시켜 DNA를 합성하는 PCR (polymerase chain reaction) 기술이 계통 연구, 분류의 연구에 아주 유용하다(이, 1994). 특히 비특정 primer를 사용하여 DNA에서 다형성을 밝히는 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 방법이 RFLP 방법보다 빠르고 경제적이므로 계통 분류학 연구에 많이 이용되고 있다(Guthrie 등, 1992; Leung 등, 1991). 이러한 분자생물학적인 방법은 발현되기 전의 DNA자체를 분석하는 것으로 훨씬 객관적인 판단 기준을 제시한다. 그러므로 최근 분자생물학적인 계통분류방법들이 다양하게 개발되어 활용되고 있다(황 등, 1996).

느타리속에 속하는 버섯은 전 세계적으로 약 30 여종이 보고되어 있

으며, 약 10여종이 재배되고 있다(Cho 등, 2010) 우리나라 버섯산업에서 가장 큰 비중을 차지하는 느타리는 2008년말 기준으로 114개의 품종이 등록되어 있으나(Yoo 등, 2012) 병 재배용으로는 춘추느타리2호를 비롯 4~5종에 불과하며(Chi 등, 2005), 병 재배용 재배되고 있는 느타리버섯은 우리나라 총 생산량 및 재배면적의 50%이상을 차지하고 있어 이제는 생산자와 소비자 모두가 새로운 버섯의 상품화에 관심을 가지게 되었고, 다양한 품종을 요구하고 있다(장 등, 2008).

느타리(*Pleurotus ostreatus*)는 균계(kingdom), 담자균문(phylum Basidio mycota), 동담자균강(class Homobasidiomycetes), 주름버섯목(Order Agaricals), 느타리과(Family Pleurotaceae), 느타리속(Genus *Pleurotus*) 이다.

진균류의 대부분이 자가임성의 생식형태이지만, 버섯류는 자가임성과 자가불임성으로 나눌 수 있으며 자기불임성이 90% 정도인데 이 중 25%는 2극성이며, 65%는 4극성이다. 유전양식은 자식성인 2극성과 타식성인 4극성에 따라 차이가 있다. 대부분 담자균류의 성은 자웅이주를 나타낸다(Whitehouse, 1949). 유전적으로 서로 다른 균주 간에 교배되어야 임성을 가지는 자웅이주성(heterothallism)에 속하는 느타리는 균사접합으로 한 세포내에 두 균주간의 핵이 공존하게 된다. 화합성 균주 간 교배가 가능하며 원형질 융합이 이루어지면 이질 핵이 동시에 공존하게 되는 이형이 핵균사로 된다. 각 균사의 격벽에는 흑과 같은 껍쇠연결체(clamp connection)가 형성되고, 버섯자실체를 형성할 수 있는 임성균사로 된다.

충분한 영양분을 지닌 균사는 알맞은 온도 및 광에 의해 원기가 유도되며 발이 된다. 자실체가 성숙됨에 따라 자실체내의 담자기가 성숙되는데 이 담자기에는 생식기관으로서 유성포자인 담자포자가 형성된다. 이 담자기가 성숙되면서 담자기 내에서 염색체 교차가 일어난다. 이후 핵은

유전적으로 양친핵과 동일한 두 가지 형태와 양친 핵 내의 유전자가 재조합된 새로운 형태의 유전자를 가진 핵으로 나누어지고, 반수체의 낭핵이 담자 뿔을 지나 담자포자에 이동된다. 이때 자웅이주성 버섯은 1개의 핵이 하나의 포자로 이동되는 것이 일반적이다. 자실체가 성숙되어 담자포자도 완숙되면 방출된다. 이러한 과정을 거쳐 버섯의 생활주기는 다시 반복된다.

4극성 교배계로 알려져 있는 느타리는 4종류의 뚜렷한 교배 종류에 따라 특성이 구별된다. 화합성인 경우 교배되어 격쇠연결체를 완전히 형성하고 자실체로 분화하여 발달된다. 성질이 다른 두 균주를 대치배양하면 균사접합(hyphal anastomosis, hyphal fusion)이 이루어지는데 자웅이주성 버섯에서 동일한 균주에서의 담자포자는 4개의 교배형이 있으므로 이들을 교배하면 25%만 교배되어 임성을 가지게 된다. 그러나 동일한 종에서 다른 균주 간 교배하면 거의 대부분 교배가 되어 임성을 가지게 되어 자실체를 형성한다.

4극성 교배형의 불화합성 인자는 A, B 둘로서 4개의 교배형을 가진다. 교배에 있어서 일반적으로 다양한 대립유전자들의 광범위한 일련의 교배 요인에 의해 조절된다(Kniep, 1920: Raper, 1978). 4극성의 균류에서 이러한 체계는 그 요인들에 의해 교배가 제한된다.

버섯육종방법은 도입육종법을 비롯하여 순계분리, 영양균사체, 교잡, 유전공학, 돌연변이 육종법등이 있으며 보편적으로 사용되는 육종법은 단핵균주를 이용한 교잡방법이다. 교잡육종법은 2계통의 각기 가지고 있는 형질을 교잡하여 새로운 변이를 만들어 선발에 의해 새로운 계통을 육성하는 육종법이다. 교잡에는 2계통 간 1회 교잡 하는 경우와 교잡하여 얻어진 F1에 다시 1~수회 양친의 한쪽을 계속 교잡하는 방법과 양친과 관계가 없는 다른 품종을 다원적으로 교잡하는 방법이 있다(Jin, 2011).

느타리버섯에서 교배는 교배형이 다른 1핵 군사 간의 융합이 있으며, 1핵 군사가 2핵 군사에 접촉하여 1핵 군사가 2핵화 되는 buller현상도 있는데 (Lee 등, 2011) 담자균에서 단핵 군사체사이에서 군사용합이 양자의 교배형을 상관하지 않고 일어난다는 것은 이미 밝혀져 있다. 여기에 군사용합은 복핵 군사체사이 뿐 아니라 양송이에서 이핵의 군사체에 의한 단핵의 군사체의 이핵화는 Buller(1930, 1931)에 의해 처음 입증됐다. 군사체의 이핵화는 Buller에 의해 처음 입증됐다(1930, 1931). 그리고 Quintanilha(1937)에 의해 Buller 현상 또는 Papazian(1950)에 의해 Dikaryon-monokaryon mating을 축약하여 di-mon mating이라 명명되었다. Hseu와 Wang(1987, 1989)은 일명 buller 현상이라고 하는 di-mon 교배에 의해서 영지의 종간 구별이 가능하고, 분류동정에서도 단핵균주의 교배와 더불어 가장 효과적인 방법이라고 하였다. 이것은 1핵 군사체가 2핵 군사체와 접촉할 때 1핵 군사체의 2핵화가 일어나는 현상으로, di-mon라고 불리고 있다. 1핵 군사체의 2핵화가 일어나는 것은 다음의 3가지 경우가 있다. 첫째, 화합조합: 1핵 군사체의 교배형 인자가 2핵 군사체의 2개의 핵의 교배형인자와 다른 교배화합성일 경우, 둘째, 반화합성 : 1핵 군사체의 교배형 인자가 2핵 군사체의 2핵 중 어느 한쪽과 화합성인 경우, 셋째, 불화합성 : 1핵 군사체의 교배형 인자가 2핵 군사체의 양쪽 핵과도 불화합성일 경우이다(Buller, 1930: Papazian, 1951)

buller의 소녀먹물버섯의 단핵체 분리는 이핵체 분리의 기폭제가 되었고, 이핵체의 핵은 단핵체로 이동되고 단핵균사는 이핵균사로 발달됨을 보고했다(buller, 1930). 이핵체는 오직 다른 mating type의 단핵의 군사들 간에 성립된다(Eiji 등. 1994). 공(1997)은 팽이버섯의 분열자에서 얻은 단핵균주로 이핵-단핵 교배를 실시하여 효율적인 육종을 위한 교배형을 결정하는데 이용하기도 하였고, Kim(2004)은 국내외에서 수집된 영지 유전자원을 대상으로 이핵-단핵 교잡에 의한 화합성 검정으로 종을

확인하고자 하였고, Kim과 심 등(2002)은 이핵-단핵 교잡을 통한 영지 버섯속의 중간 분류로 지리적인 기원에 따른 영지버섯의 특성을 비교하였다.

이러한 이핵화에서는 이핵체의 단핵체로의 핵 이동을 통하여 새로운 조합의 핵이 형성된다. 완벽하게 화합적인 이핵-단핵 교잡에서는 두 종류의 이핵체들이 같은 빈도로 생성되어야한다. $A1B1+(A2B2+A3B3) \rightarrow A1B1+A2B2$ and $A1B1+A3B3$. 그러나 이 교잡에 대한 연구들에서 완벽하게 화합적인 이핵-단핵 교잡에서 이핵체의 핵들이 빈번하게 일핵체의 균사들의 핵과 무작위로 결합하지 않는 것이 밝혀졌다(Eiji 등, 1994). 불화합적인 이핵-단핵 교잡조합에서 이핵화는 doner 이핵의 균사체의 핵간의 결합이나 이핵체의 한 쌍의 핵의 치환(Papazian, 1950)에서 유전적인 재조합의 발생된다(Papazian, 1950: Crowe, 1960: Ellingboe, 1963, 1964: Ellingboe and Raper, 1962a). 결과적으로 이핵-단핵 교잡에서 교배 요인들의 모든 조합을 통해 fertile 이핵체가 형성될 수 있다. 이들 현상은 *Schizophyllum commune* 나 *Coprinus* 종들의 형태학적, 생화학적 돌연변이들을 사용함으로 드러났다(Raper and Miles, 1958) 그러나 몇몇의 연구들에서는 재배된 식용의 basidiomyces 를 사용했다. 이핵-단핵 교잡에서 높은 교잡율은 fungal 표본의 분류학적인 동정(Kinugawa 등, 1994)과 버섯의 육종에서 교잡주 생산에 효과적이다(Eger, 1978: Kinugawa 등, 1994).

Raper (1972)의 *A. bisporus*의 생활환의 유전적인 연구에서 *A. bisporus*에서 Buller 현상은 일어나지만 중간에 핵 이동의 증거가 없었다. 따라서 Eiji 등(1994)은 느타리 버섯의 이핵-단핵 교잡에서 esterase isozyme 을 Marker로 사용해 핵이동을 추적하여 핵의 선택과 치환을 연구하였다.

이 이핵-단핵 교배는 교배조합의 한쪽 어버이의 1핵 균사체가 얻어지

고 있지 않을 때에도 잡종을 만들 수가 있고, 단포자 분리의 수고가 줄어들어서 편리하다. 이 방법으로 육성되어 신품종으로 등록된 표고의 품종도 있다.

본 연구에서는 느타리버섯류(*Pleurotus* spp.) 우량 품종개발을 위하여 우수한 느타리 7종(ASI 2504, ASI 2344, ASI 2181, ASI 2487, ASI 2183, 04-154, 05-834)을 선발하여 mono-mono 교잡 총 7조합 85주의 교잡주와 이핵-단핵 교잡 총 14조합 56 교잡주를 얻어 RAPD-PCR을 통해 핵 DNA 양상을 살펴본 후, 미토콘드리아 DNA 양상과 비교하였다. 또한 병채배를 통해 이핵-단핵, 단핵-단핵 교잡주와 각조합의 이핵체와 단핵체 두 모균주의 수량, 초발이 소요일수, 자실체 형태 등의 자실체 특성을 조사하여 핵 DNA와 미토콘드리아 DNA양상과 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 균주 및 배양

실험에 사용된 균주는 느타리균주로 Table 1과 같다. 균주 배양, 담자포자 발아 등에 사용된 배지는 버섯완전배지 (MCM mushroom complete medium; Raper et al., 1972)로 그 구성 성분은 Dextrose 20g, MgSO₄ 0.5g, KH₂PO₄ 0.46g, K₂HPO₄ 1.0g, Yeast extract 2g, Peptone 2g, Agar 20g, 증류수 1000ml이다. 균주의 배양은 버섯완전배지에 접종하여 25℃에서 하였다.

2. 단포자 분리 및 교배형 검정

단포자 발아 분리는 유 등(2012)의 방법에 따라 사용하였다. 균주의 자실체로부터 멸균 Petri-dish에 담자포자를 채취하였다. 멸균수를 이용하여 수집된 담자포자를 여러 농도로 희석하고, 버섯완전배지에 spreader를 이용하여 도말하였다. 독립적으로 발아한 포자를 살균된 백금으로 떼어내어 새로운 배지에 옮겨 배양하였고, 배양된 균사를 현미경으로 꺾쇠연결체(clamp connection)를 확인한 후 꺾쇠연결체가 없는 단핵균주만 선발하였다(유 등, 2008). 선발된 단핵체로 임의 교배하여 교배형 4가지 종류를 정하였다(Table 1).

3. 이핵-단핵(di-mono)계통 및 단핵-단핵(mono-mono) 계통간 교잡

느타리 우수균주 7종의 이핵체과 각 선발된 단핵 체의 교배형 4가지를 조합하여 버섯완전배지에서 1-2cm 간격으로 대치 배양하여 두 균주가 접합된 부위의 균사체를 현미경으로 관찰하여 꺾쇠연결체(clamp connections)가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다(Eger 등, 1976)

4. 온도별 균사생장

Di-mono 교잡균주의 배지종류에 따른 온도별 균사생장 상태를 조사하기 위해 PDA와 MCM 배지에서 20℃, 25℃, 30℃ 온도별로 실험하였다. PDA(potato dextrose agar)를 분주한 Petri-dish에 가로, 세로 (0.5cm × 0.5cm) 크기의 배양된 균사체 절편을 Petri-dish 중심부에 올려두고 6일간 배양 후 균사체의 직경을 측정하였다(Lee 등, 2011)

5. 핵 및 미토콘드리아 DNA 다형성 분석

5. 1. 핵 및 미토콘드리아 DNA분리

DNA을 분리하기 위하여 *Pleurotus* 품종들을 PDA (Difco사 제품) 고체배지에서 10일 배양하여 이 배지에 형성한 균총을 긁어모아 액체질소에 동결건조한 다음 동결건조기를 이용하여 건조하였다. 동결 건조한 균사체를 이쑤시게로 곱게 마쇄한 다음 100 μ g정도를 1.5ml의 test tube에 옮기고 추출용 완충액(200 mM Tris-HCl, pH 8.0; 200 mM NaCl;

25mM EDTA; 0.5% SDS) 400 μ l와 Proteinase K (20mg/ml)를 첨가하여 유리봉으로 buffer상에서 잘 섞어 준 다음 37 $^{\circ}$ C 에서 1시간 동안 항온 하였다.

이 혼합액에 2X CTAB buffer를 동량첨가 하여 65 $^{\circ}$ C에서 15분간 방치 하고 chloroform : isoamylalcohol(24 : 1)을 넣고 철저히 혼합 한 후 12,000 rpm에서 원심분리 하였다. 상등 액을 새로운 튜브에 옮기고 0.7 volume의 isopropanol을 첨가하고 실온에서 10분간 방치 후 12,000 rpm 에서 5분간 원심분리하여 DNA를 침전하였다. 70%의 ethanol로 DNA 침전물을 세척 하여 진공 건조한 후 TE buffer(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA) 100 μ l에 용해하였다. 10mg/ml RNase 2 μ l를 넣어 37 $^{\circ}$ C에서 30분 처리하여 RNA를 제거 하였다. 분리된 DNA는 Agarose gel (1.0%)에 전기영동 하여 정량된 DNA와 비교함으로써 양을 결정하였다 (Baldrian 등, 1999).

5. 2. 핵 DNA 다형성 분석

교잡주(hybrid)로부터 DNA를 분리하여 PCR 증폭을 위해 dNTPs (dATP, dGTP, dTTP, dCTP), MgCl₂, 10X buffer, Taq Polymerase가 함유된 Premix kit(Bioneer)를 이용하여 genomic DNA 50 ng 2 μ l, Table 2의 primer 100 ng 1 μ l, DDW 7 μ l를 첨가하였다. PCR 증폭반응은 ABI PCR SYSTEM 9700을 이용하여 처음 DNA의 열 변성을 위하여 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 1cycle, 그리고 94 $^{\circ}$ C에서 1분, 55 $^{\circ}$ C에서 1분, 72 $^{\circ}$ C에서 2분간으로 총 35 cycle 실시하였으며, 최종 DNA의 합성은 72 $^{\circ}$ C에서 10분으로 하였다. 증폭된 PCR 산물은 1 \times TAE (40 mM Tris 8.0, 20 mM acetic acid, 1mM EDTA)완충용액에서 1.5%의 agarose gel로 전기영동한 후 1 μ g/ml ethidium bromide 용액으로 염색하여 UV transilluminator상에서

나타나는 DNA band를 확인하였다(Williams 등, 1990).

5. 3. 미토콘드리아 다형성 분석에 사용한 primer 제작

느타리버섯류의 품종을 구분하기 위해서는 기존에 알려진 계놈의 RAPD 다형성보다는 재현성이 높으면서 모계유전을 담당하고 있는 미토콘드리아의 유전자의 보존성을 이용하기 위해 Genbank에 등록되어 있는 느타리버섯의 유전정보(Accession no. EF204913)를 분석하여 그림 1과 같이 atp9 유전자와 nad1 유전자 사이에 존재하는 microsatellite 부위 영역을 포함하는 primer를 디자인하였다. primer 디자인에서 고려할 사항으로는 GC함량과 primer간에 복합체 형성이라든가 녹는점 등을 고려한 "primer3" 소프트웨어 프로그램(NCBI)을 이용하여 제작된 primer의 염기서열 및 산물의 크기는 Table 3 , Fig 1 과 같다(신, 2009).

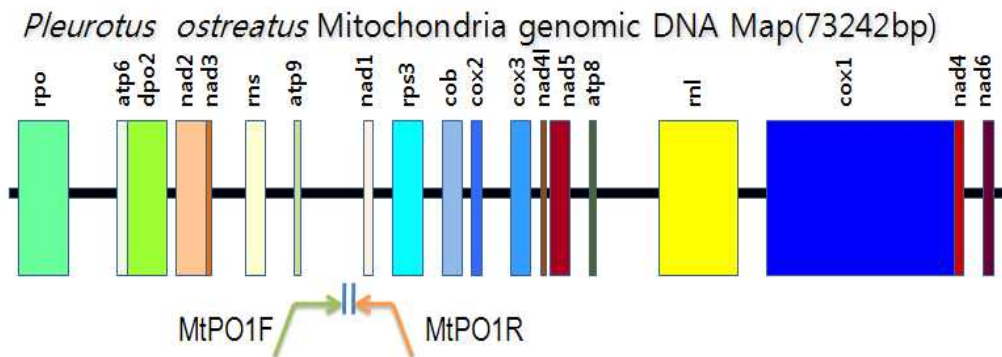


Fig. 1. Diagram of MtPO1F/MtPO1R primer

5. 4. 미토콘드리아 DNA 다형성 분석

PCR반응을 위한 반응액은 총량이 $20\mu\text{l}$ 이고, 각각의 버섯샘플로부터 분리한 DNA 50ng와 4종류의 dNTP (각 2.5 mM), Taq polymerase (2.5 unit, Promega 사 제품), 20 pmol primer 및 완충액 (10mM Tris-HCl (pH 8.0), 50mM KCl, 1.5mM MgCl_2 , 0.01% gelatin)을 함유하게 하였다.

MtPO1F 및 MtPO1R primer를 이용한 PCR 증폭반응은 핵 DNA 다형성 분석의 방법과 같다.

5. 5. 유전유사도 분석

유사도 분석은 pe-NTSYS(nemerial taxonomy system) software (version 1.70)를 이용하여 RAPD 실험결과를 특정위치에 밴드가 있으면 1, 없으면 0으로 구분하여 SIMQUAL의 계수를 계산하였고, 이 계수를 이용하여 SHAN clustering의 UPGMA (unweighted paired-group method with Arithmetic average)법을 이용하여 군(cluster)분석을 하여 TREE에서 dendrogram을 작성하였다(Sneath 와 Sokal, 1973).

6. 교잡주의 자실체 특성분석

버섯완전배지에 이핵체와 단핵체를 같은 Petri-dish에 1~2cm 간격으로 접종 배양하여 2균주가 접합된 부위를 현미경으로 꺾쇠연결체 형성 유무를 확인하여 꺾쇠연결체가 형성된 것을 교잡체로 선발하였다. 자실체 특성검정은 850ml PET병에 톱밥배지(포플라 톱밥 80% + 미강 20%, v/v)를 충전한 후 121°C 에서 90분 멸균하여 미리 배양된 균사체를 접종

하여 25℃ 정온실에서 30여일 배양하였다. 균사배양이 완료된 후 균굽기를 실시하였으며 마개를 제거한 상태로 생육실에 옮겨 10~15℃에서 빛을 조사하면서 자실체를 생육시켜 성숙되었을 때 자실체 특성을 조사하였다 (유 등, 2007).

Table 1. List of strains used in this study

Species	Strain	Mating type	Nucleus*	
<i>P. ostreatus</i>	ASI 2344		D	
	2344-11	I	M	
	2344-8	II	M	
	2344-2	III	M	
	2344-107	IV	M	
	ASI 2504		D	
	2504-2	I	M	
	2504-11	II	M	
	2504-25	III	M	
	2504-1	IV	M	
	ASI 2487		D	
	2487-1	I	M	
	2487-9	II	M	
	2487-2	III	M	
	2487-30	IV	M	
	ASI 2183		D	
	2183-12	I	M	
	2183-4	II	M	
	2183-32	III	M	
	2183-13	IV	M	
	04-154 (2018x 2504)		D	
	04-154-17	I	M	
	04-154-6	II	M	
	04-154-2	III	M	
	04-154-1	IV	M	
	05-834 (2194 x 2344)		D	
	05-834-14	I	M	
	05-834-8	II	M	
	05-834-16	III	M	
	05-834-19	IV	M	
	<i>P. florida</i>	ASI 2181		D
		2181-15	I	M
2181-2		II	M	
2181-5		III	M	
2181-21		IV	M	

* D : dikaryon , M : monokaryon

Table 2. List of URP primers used in nucleus RAPD-PCR in *P. ostreatus*

No.	Products	Sequences
1	URP01	5'-ATCCAAGGTCCGAGACAACC-3'
2	URP02	5'-CCCAGCAACTGATCGCACAC-3'
3	URP03	5'-GTGTGCGATCAGTTGCTGGG-3'
4	URP04	5'-AGGACTCGATAACAGGCTCC-3'
5	URP05	5'-GGCAAGCTGGTGGGAGGTAC-3'
6	URP06	5'-ATGTGTGCGATCAGTTGCTG-3'
7	URP07	5'-GGTGAACAGTGAGATGAACC-3'
8	URP08	5'-TACATCGCAAGTGACACAGG-3'
9	URP09	5'-AATGTGTGGCAAGCTGGTGG-3'
10	URP10	5'-GATGTGTTCTTGGAGCCTGT-3'
11	URP11	5'-GCACAAGAAGAGGATGTGGA-3'
12	URP12	5'-GGCATTCTACCACCACAAGT-3'

Table 3. MtPO1F/MtPO1R primers used in mitochondria DNA PCR in *P. ostreatus*

Primer	Sequence	Product size (bp)
MtPO1F	5'-CCGGCCCTACCTTAATTATTTT-3'	120~400
MtPO1R	5'-GTTTACCCCGCCTTTAGGTC-3'	

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 이핵-단핵 계통간 교잡

1. 1. 계통간 교잡 및 교잡주 선발

Di-mono 교잡은 7계통 (ASI 2504, ASI 2344, ASI 2181, ASI 2487, ASI 2183, 04-154, 05-834) 14조합으로 이핵체 와 단핵체를 교잡하여 꺾쇠연결체(Clamp connection)의 형성이 확인된 56개의 교잡주 (Table 5)를 얻었다. Ryu 등(2008)의 새송이 버섯 수출형 신품종 육성연구에서 큰느타리 di-mono 교배결과 임성률이 70~93%로 기존의 단핵-단핵 교잡율에 비해 높은 경향을 나타낸 것과 비교해 본 연구에서의 이핵-단핵 교잡율은 보다 월등히 높은 100%의 교잡율을 보였다(Table 4).

Table 4. Fertility of hybrids by di-mono cross in *P. osterotus*

Cross di-mono	No. of hybrid	% Fertility
ASI 2504 X ASI 2344	4	100%
ASI 2344 X ASI 2504	4	100%
ASI 2181 X ASI 2344	4	100%
ASI 2344 X ASI 2181	4	100%
ASI 2181 X ASI 2504	4	100%
ASI 2504 X ASI 2181	4	100%
ASI 2487 X ASI 2344	4	100%
ASI 2344 X ASI 2487	4	100%
ASI 2487 X ASI 2183	4	100%
ASI 2183 X ASI 2487	4	100%
ASI 2487 X 04-154	4	100%
04-154 X ASI 2487	4	100%
ASI 2487 X 05-834	4	100%
05-834 X ASI 2487	4	100%

04-154 : hybrid (ASI 2018 x ASI 2504)

05-834 : hybrid (ASI 2194 x ASI 2344)

Table 5. Di-mono cross combination in *P. osterotus*

Cross di-mono	Monokaryon	No. of hybrid
ASI 2504 X ASI 2344	2344-11 (I)	08-119
	2344-8 (II)	08-120
	2344-2 (III)	08-121
	2344-107 (IV)	08-122
ASI 2344 X ASI 2504	2504-2 (I)	08-123
	2504-11 (II)	08-124
	2504-25 (III)	08-125
	2504-1 (IV)	08-126
ASI 2181 X ASI 2344	2344-11 (I)	08-127
	2344-8 (II)	08-128
	2344-2 (III)	08-129
	2344-107 (IV)	08-130
ASI 2344 X ASI 2181	2181-15 (I)	08-151
	2181-2 (II)	08-152
	2181-5 (III)	08-153
	2181-21 (IV)	08-154
ASI 2181 X ASI 2504	2504-2 (I)	08-131
	2504-11 (II)	08-132
	2504-25 (III)	08-133
	2504-1 (IV)	08-134
ASI 2504 X ASI 2181	2181-15 (I)	08-155
	2181-2 (II)	08-156
	2181-9 (III)	08-157
	2181-21 (IV)	08-158
ASI 2487 X ASI 2344	2344-11 (I)	08-135
	2344-8 (II)	08-136
	2344-2 (III)	08-137
	2344-107 (IV)	08-138

Table 5. Continued

Cross di-mono	Monokaryon	No. of hybrid
ASI 2344 X ASI 2487	2487-1 (I)	08-266
	2487-9 (II)	08-267
	2487-2 (III)	08-268
	2487-30 (IV)	08-269
ASI 2487 X ASI 2183	2183-12 (I)	08-139
	2183-4 (II)	08-140
	2183-32 (III)	08-141
	2183-13 (IV)	08-142
ASI 2183 X ASI 2487	2487-1 (I)	08-270
	2487-9 (II)	08-271
	2487-2 (III)	08-272
	2487-30 (IV)	08-273
ASI 2487 X 04-154	04-154-17 (I)	08-143
	04-154-6 (II)	08-144
	04-154-2 (III)	08-145
	04-154-1 (IV)	08-146
04-154 X ASI 2487	2487-1 (I)	08-274
	2487-9 (II)	08-275
	2344-2 (III)	08-276
	2344-30 (IV)	08-277
ASI 2487 X 05-834	05-834-14 (I)	08-147
	05-834-8 (II)	08-148
	05-834-16 (III)	08-149
	05-834-19 (IV)	08-150
05-834 X ASI 2487	2487-1 (I)	08-278
	2487-9 (II)	08-279
	2487-2 (III)	08-280
	2487-30 (IV)	08-281

2. 핵 DNA 다형성

느타리 균주 7계통의 이핵-단핵 교잡으로 총 14조합 56개의 교잡주를 얻었다(Table 5). 이들 교잡주를 RAPD-PCR을 통해 핵DNA-profile을 분석한 결과 이핵체과 거의 100%에 가까운 유연관계를 나타낸 경우, 이핵체과 단핵체으로 양분되는 경우, 이핵체과 단핵체의 중간 형태를 보이는 경우의 3가지 양상을 나타냈다. 이 결과는 Lee 등(2011)의 신품종 느타리 버섯 '화성'2호의 특성에서 이핵-단핵 교잡하여 얻은 교잡체의 RAPD-PCR을 통한 핵 DNA 다형성을 분석한 결과 DNA profile에서 양친주의 밴드를 가지며, 모균주와 다른 교잡균주 간에 유전적 차이를 가지고 있다고 하였던 것과 유사했다.

이핵체와 가까운 유연관계를 보인 경우에는 총 56개의 교잡주 40개(71.4%)의 교잡주가 이핵체와 거의 100% 닮은 유연관계를 나타냈다(Table 6, Fig. 3-9, 11, 13, 15). 단핵체와 가까운 유연관계를 나타낸 교잡주는 5개(8.9%), 중간형태는 나타낸 교잡주가 1개(17%)였다.

사철느타리과 느타리의 이핵-단핵 교잡주와 느타리간 이핵-단핵 교잡주의 핵DNA 유전양상을 비교하면 사철느타리과 느타리의 이핵-단핵교잡주 16개는 전부 이핵체의 유전양상을 나타낸 반면, 느타리간 이핵-단핵교잡주 40개는 이핵체 : 단핵체 : 중간형태 (34 : 5 : 1)의 3 가지 유전양상을 나타냈다(Table 6, Fig. 2-15)

느타리간 이핵-단핵 조합별로는 ASI 2344(이핵) × ASI 2504(단핵), ASI 2487(이핵) × ASI 2344(단핵), ASI 2344(이핵) × ASI 2487(단핵),

ASI 2183(이핵) × ASI 2487(단핵), 04-154(이핵) × ASI 2487(단핵), 05-834(이핵) × ASI 2487(단핵) 6조합 24개 교잡주가 이핵체의 유전양상을 나타냈고(Table 6, Fig. 3, 8, 9, 11, 13, 14, 15), 이핵체와 단핵체로 양분되거나 중간양상을 나타내는 ASI 2504 x ASI 2344, ASI 2487 x ASI 2183, ASI 2487 x ASI 04-154(Table 6, Fig. 2, 10, 12) 4조합 16개 교잡주가 이핵체 : 단핵체 : 중간형태 (7 : 5 : 1)로 나타났다.

이핵체와 단핵체로 양분되거나 중간양상을 나타내는 4개 조합의 양친주의 유전비율을 보면 ASI 2504 x ASI 2344 조합은 Fig. 2 에서와 같이 3개의 교잡주는 ASI 2504와 83~88%의 유연관계를 나타냈고, 1개의 교잡주는 ASI 2344와 64% 정도의 유연관계를 타나냈다. ASI 2487 x ASI 2183 조합은 Fig. 10과 같이 2개의 교잡주가 ASI 2487과 80% 이상, 2개의 교잡주가 ASI 2183과 85% 이상의 유연관계를 보였다. ASI 2487 x ASI 04-154 조합은 Fig. 12과 같이 ASI 2487과 가까운 유연관계를 보인 2개의 교잡주는 98% 이상의 높은 유연관계를 보였고, 2개의 교잡주는 88% 이상 04-154에 가까운 유연관계를 나타냈다. 이처럼 양친에 대한 교잡주의 유연관계가 양분되는 경우, 대체로 어느 한 쪽 친주에 80% 이상 뚜렷한 유연관계를 나타냈다.

ASI 2487 x 05-834 조합의 경우에는 Fig. 14과 같이 3개의 교잡주는 이핵체 ASI 2487과 98% 이상의 유연관계를 1개의 교잡주는 이핵체 ASI 2487과는 81%, 단핵체 05-834와는 75% 정도로 양친주의 중간형태의 DNA 양상을 나타냈다.

Table 6. Nuclear DNA pattern of hybrids by di-mono cross in *P. osterotus*

Cross di-mono	No. of hybrid	DNA pattern*	Cross di-mono	No. of hybrid	DNA pattern
	08-119	D		08-266	D
ASI 2504 ×	08-120	D	ASI 2344 ×	08-267	D
ASI 2344	08-121	M	ASI 2487	08-268	D
	08-122	D		08-269	D
	08-123	D		08-139	D
ASI 2344 ×	08-124	D	ASI 2487 ×	08-140	M
ASI 2504	08-125	D	ASI 2183	08-141	D
	08-126	D		08-142	M
	08-127	D		08-270	D
ASI 2181 ×	08-128	D	ASI 2183 ×	08-271	D
ASI 2344	08-129	D	ASI 2487	08-272	D
	08-130	D		08-273	D
	08-151	D		08-143	D
ASI 2344 ×	08-152	D	ASI 2487 ×	08-144	M
ASI 2181	08-153	D	04-154	08-145	M
	08-154	D		08-146	D
	08-131	D		08-274	D
ASI 2181 ×	08-132	D	04-154 ×	08-275	D
ASI 2504	08-133	D	ASI 2487	08-276	D
	08-134	D		08-277	D
	08-155	D		08-147	D
ASI 2504 ×	08-156	D	ASI 2487 ×	08-148	D
ASI 2181	08-157	D	05-834	08-149	D
	08-158	D		08-150	I
	08-135	D		08-278	D
ASI 2478 ×	08-136	D	05-834 ×	08-279	D
ASI 2344	08-137	D	ASI 2487	08-280	D
	08-138	D		08-281	D

* D: Dikaryon, M: Monokaryon, I: Intermediate

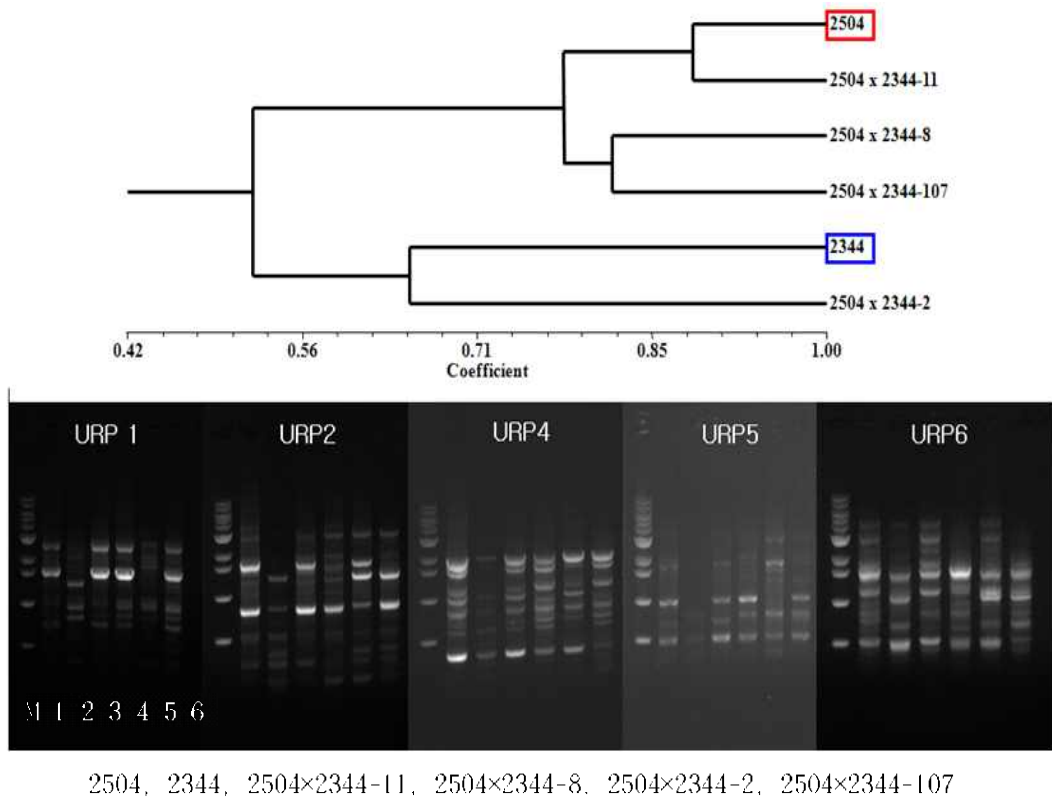


Fig. 2. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2504 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

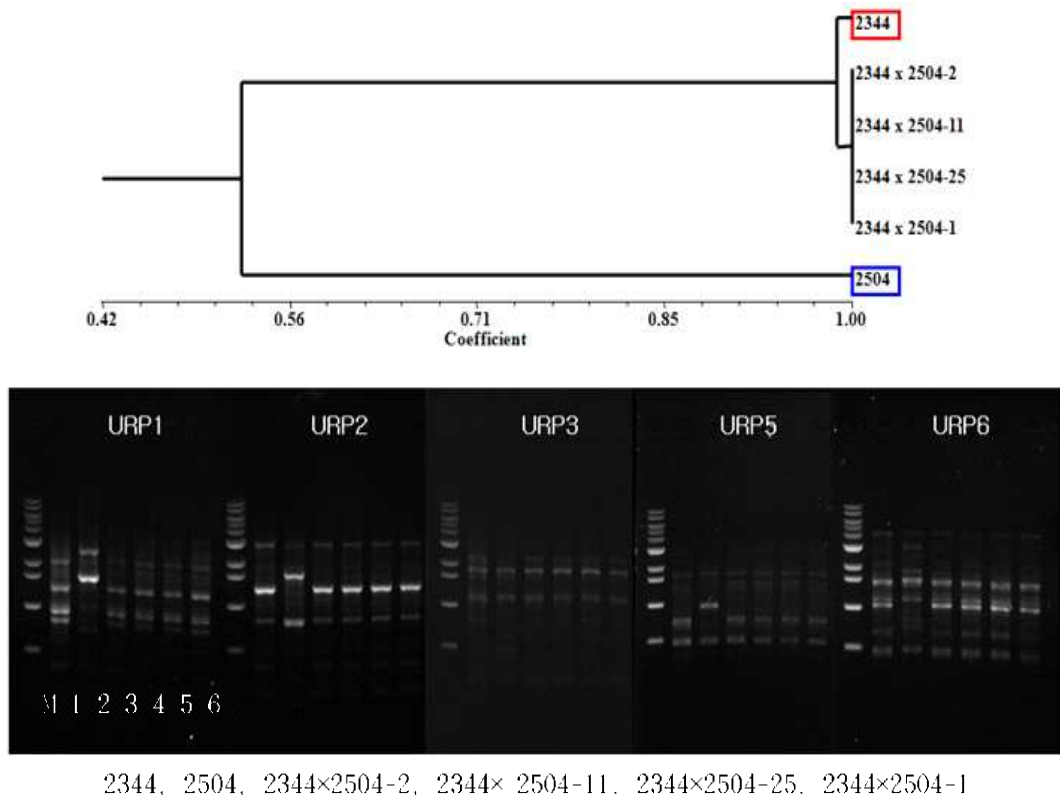
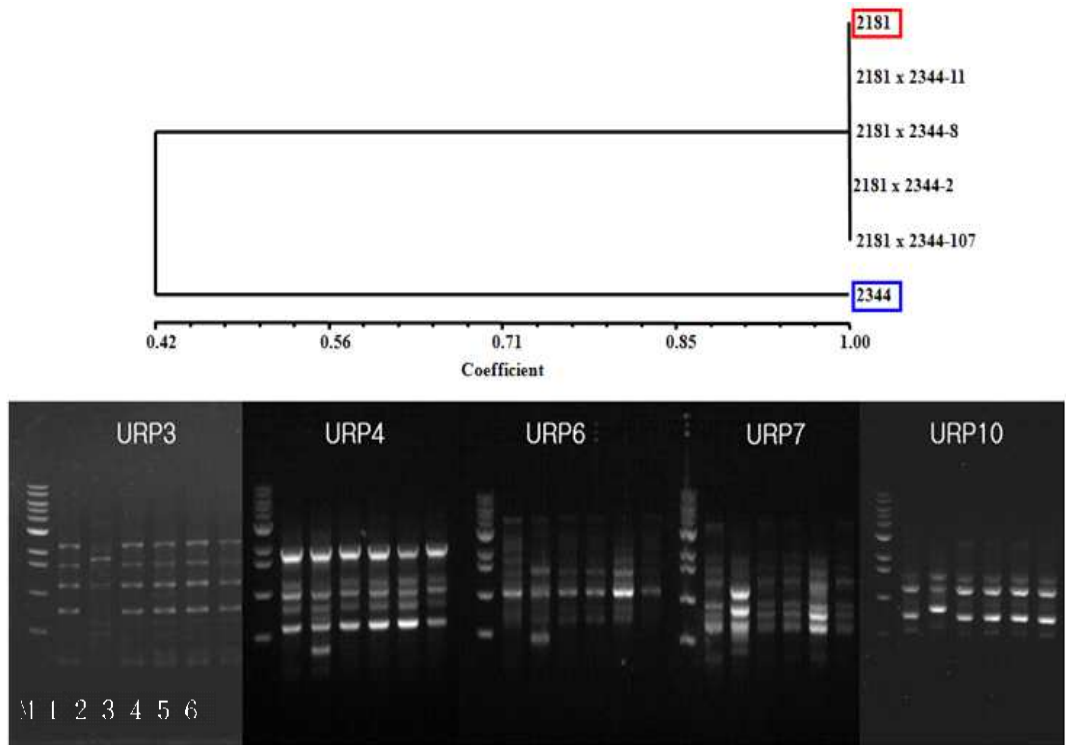


Fig. 3. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2504 by di-mono cross in *P. ostreatus*.



2181, 2344, 2181×2344-2, 2181×2344-8, 2181×2344-11, 2181×2344-107

Fig. 4. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

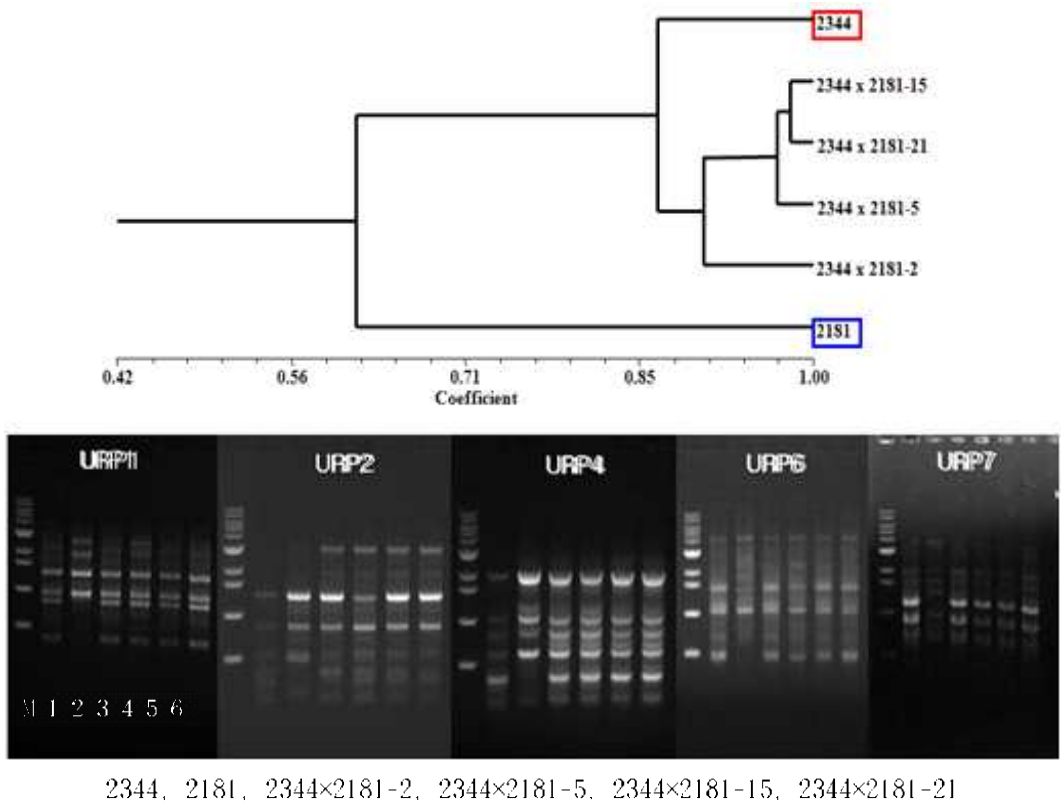


Fig. 5. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2181 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

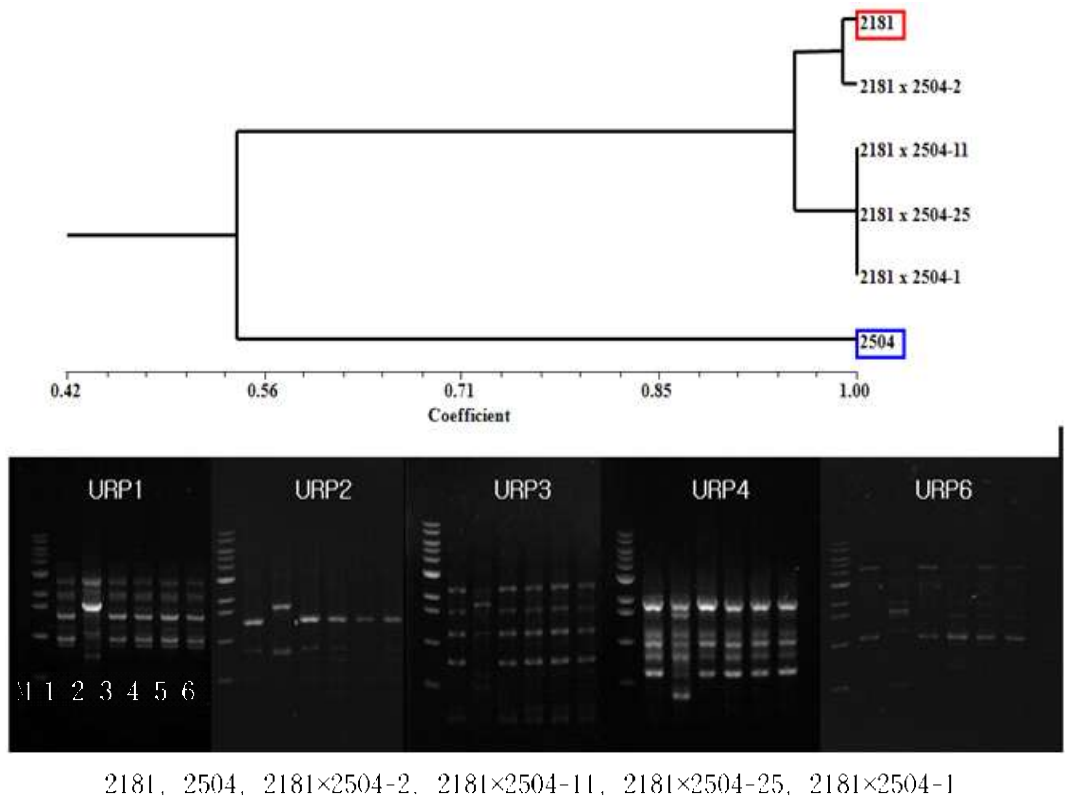


Fig. 6. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2504 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

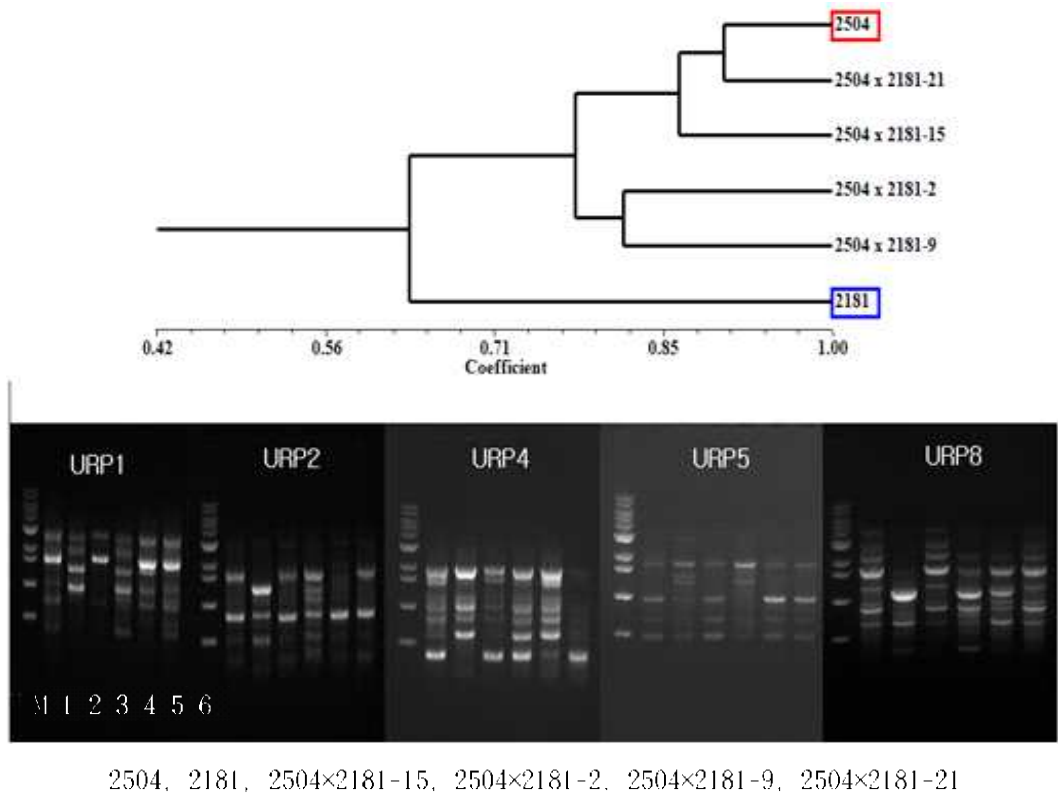
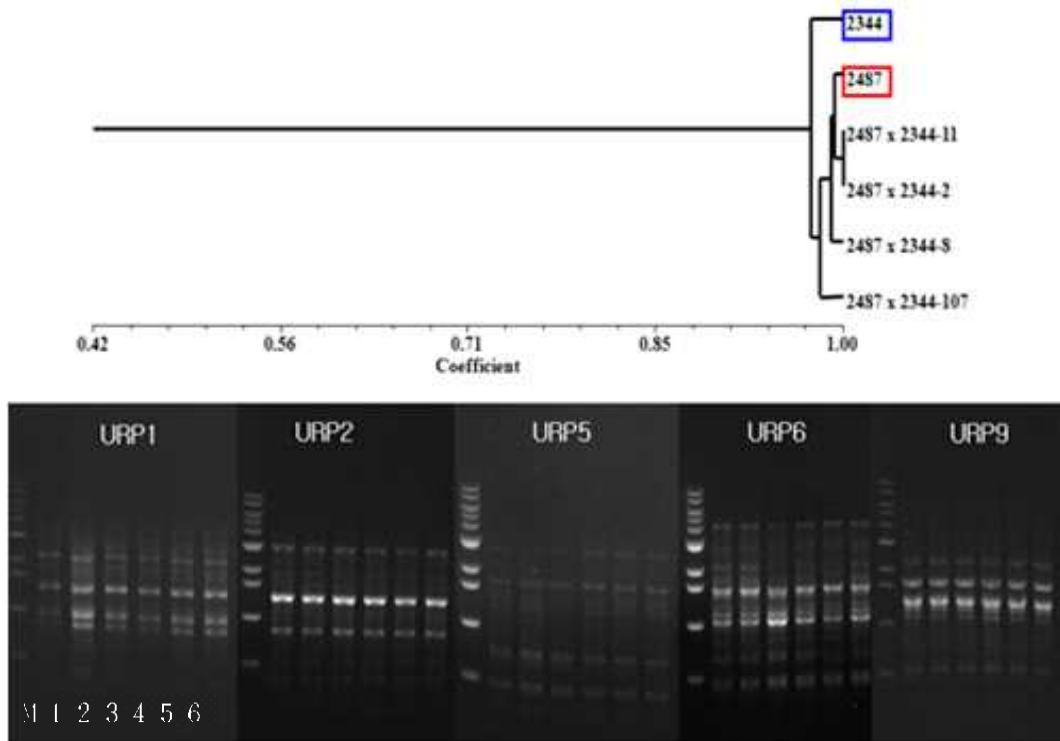


Fig. 7. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2504 and 2181 by di-mono cross in *P. ostrestus*.



2487, 2344, 2487x2344-11, 2487x2344-8, 2487x2344-2, 2487x2344-107

Fig. 8. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2344 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

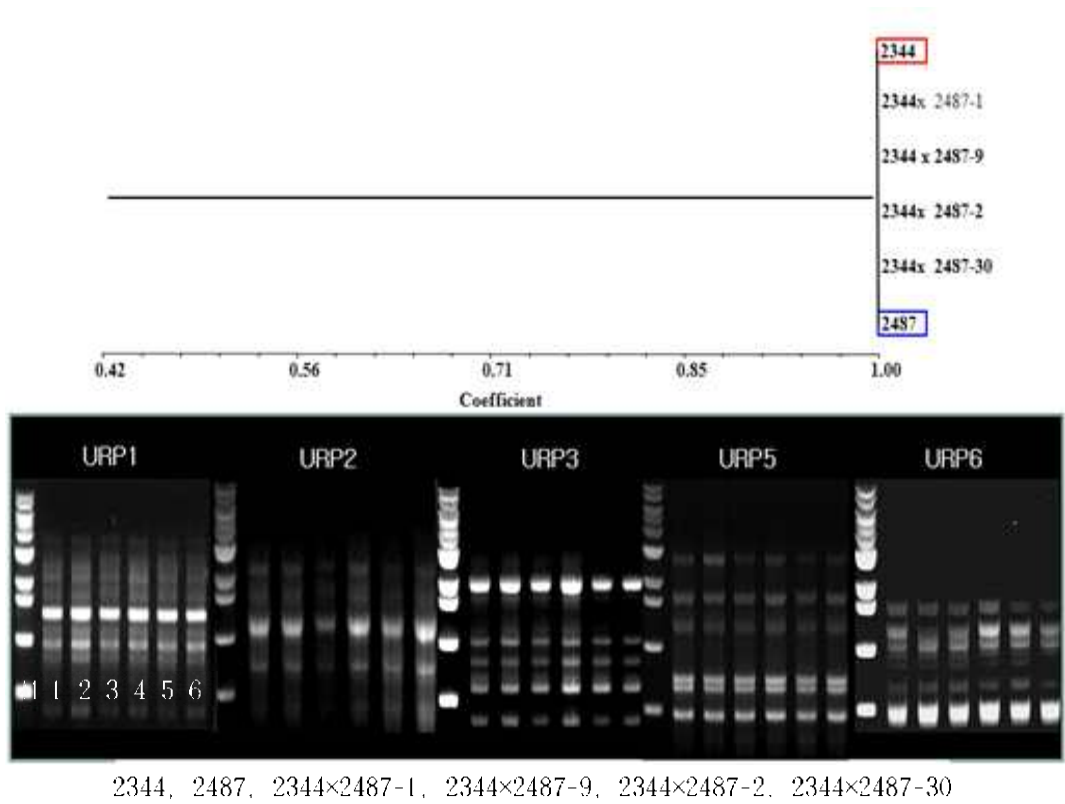
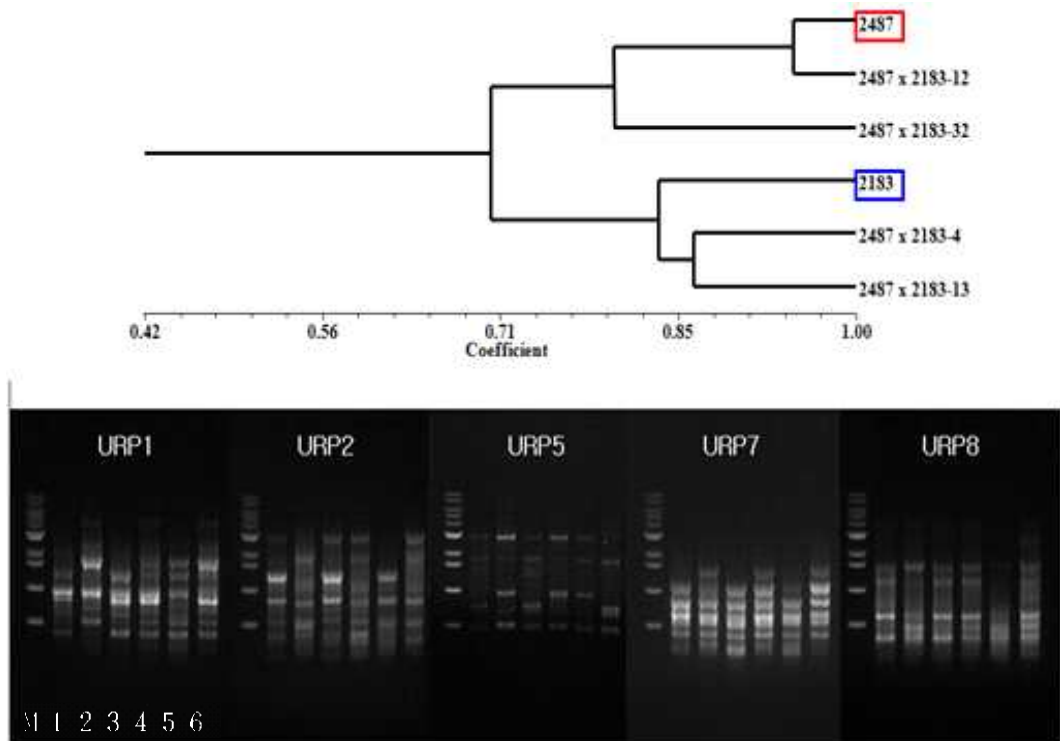


Fig. 9. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2344 and 2487 by di-mono cross in *P. ostrestus*.



2487, 2183, 2487×2183-12, 2487×2183-4, 2487×2183-32, 2487×2183-13

Fig. 10. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2183 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

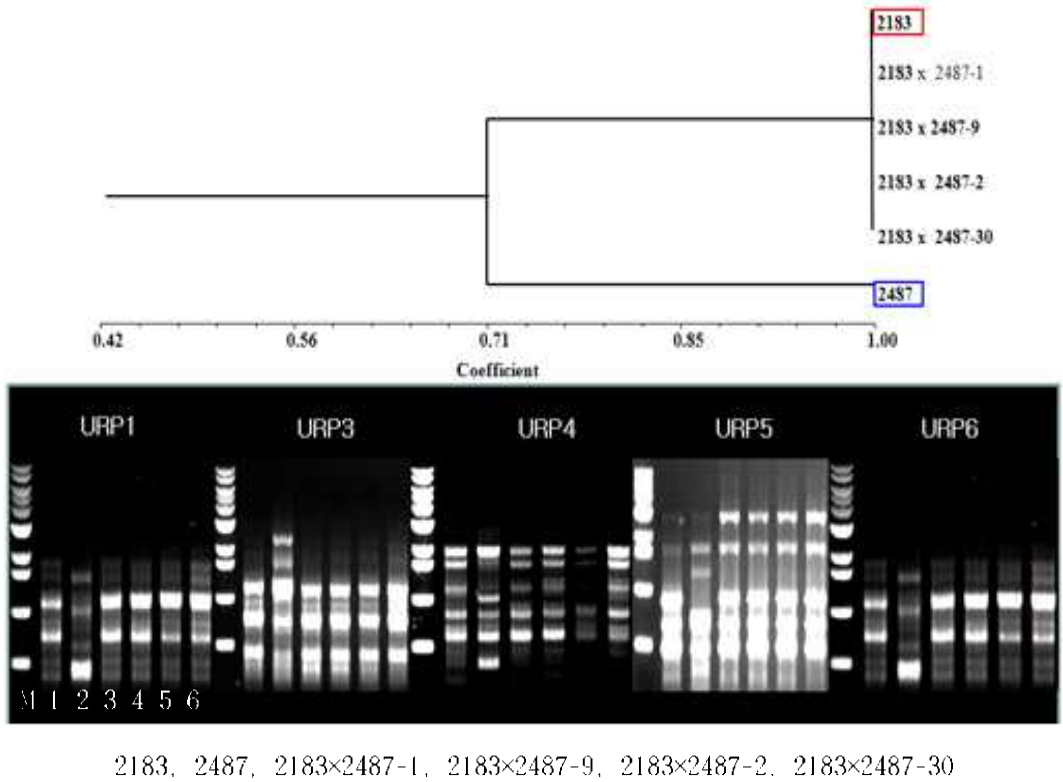


Fig. 11. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2183 and 2487 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

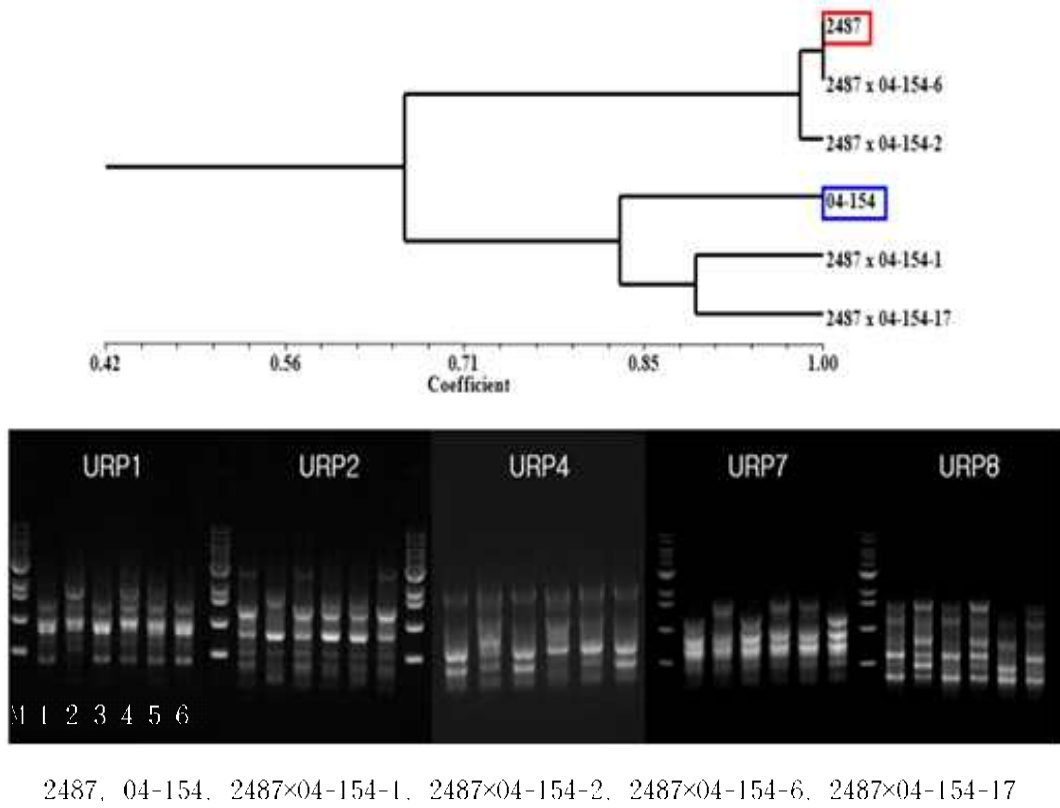


Fig. 12. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 04-154 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

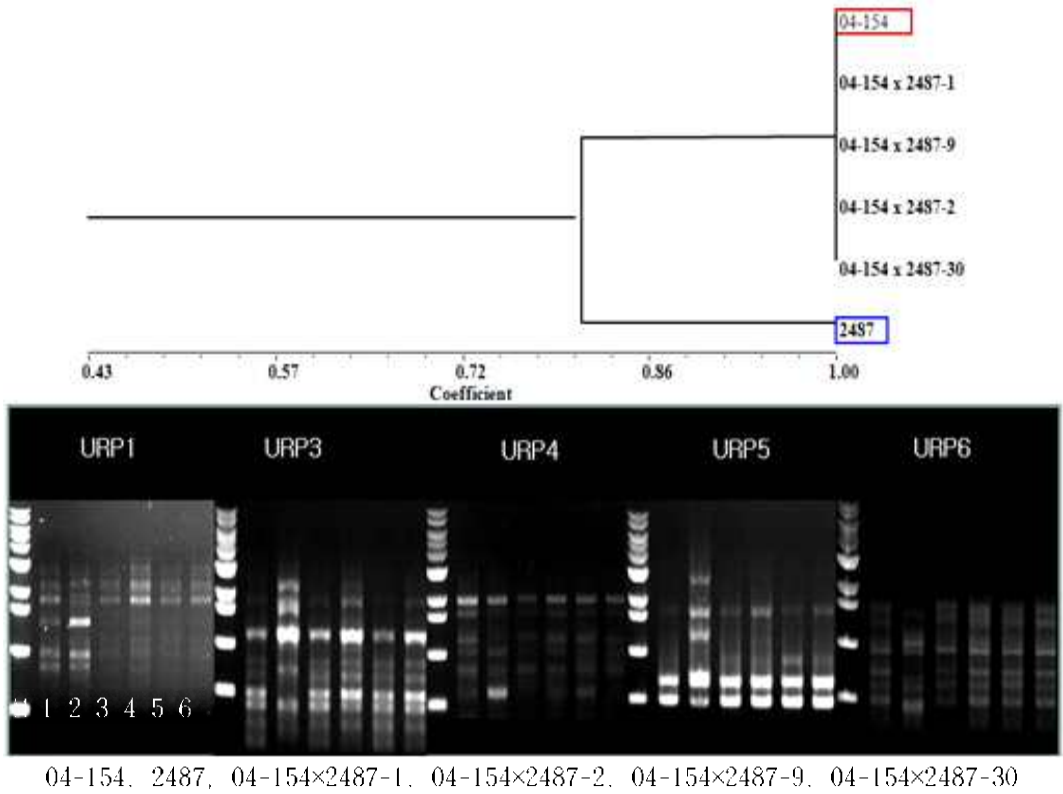
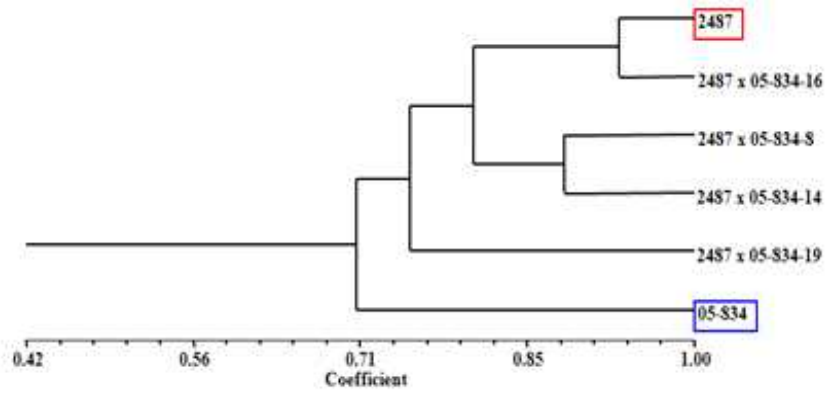


Fig. 13. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 04-154 and 2487 by di-mono cross in *P. ostrestus*.



2487, 05-834, 2487×05-834-8, 2487×05-834-16, 2487×05-834-14, 2487×05-834-19

Fig. 14. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 05-834 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

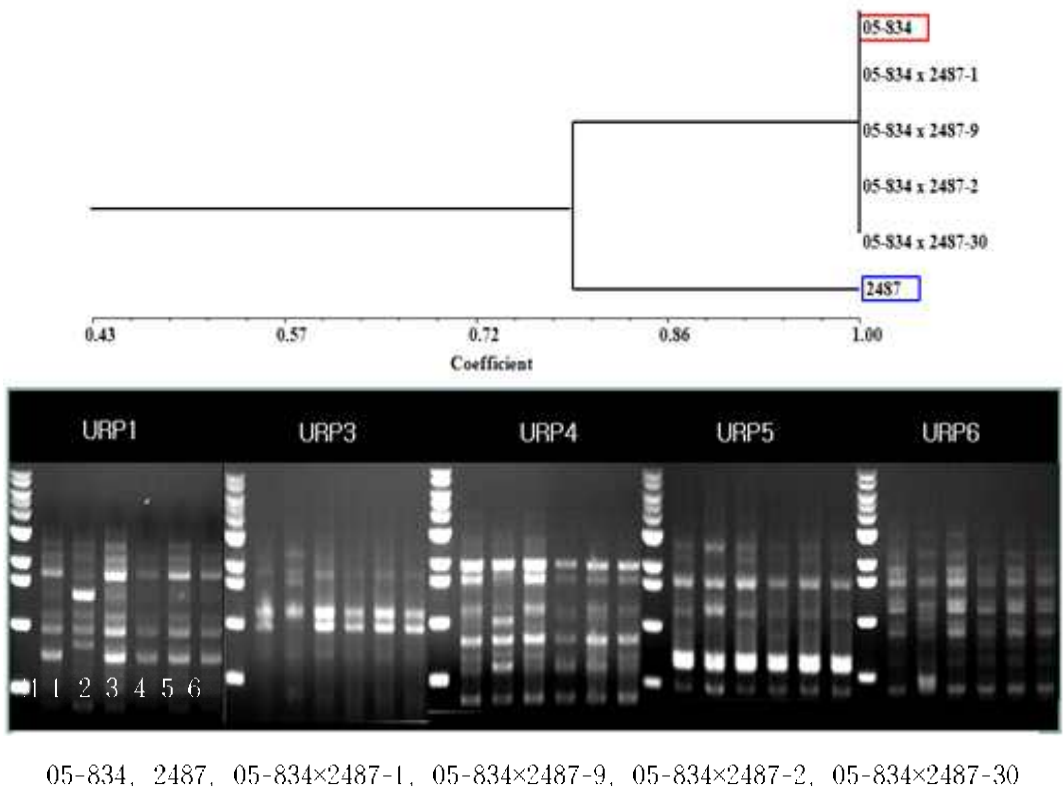


Fig. 15. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 05-834 and 2487 by di-mono cross in *P. ostrestus*.

3. 미토콘드리아 DNA 다형성

이핵-단핵 교잡한 총 14 조합 56개 교잡주의 핵 DNA 양상을 살펴본 후, 미토콘드리아 DNA Profile을 분석하여 비교하였다.

미토콘드리아 DNA 양상은 전체적으로 이핵체의 pattern을 보이는 경우와 단핵체의 양상을 보이는 경우로 양분되었다. 즉, 교잡주가 어느 한 쪽 친주로 치우치는 양상을 나타냈다. Baptista-Ferreira 등(1989)은 담자 균류 먹물버섯에서 담자포자나 이핵체의 형성은 미토콘드리아의 화합적인 변화 없이 핵의 이주와 교체가 이루어진다고 하였다. 군사가 교차되면서 미토콘드리아는 한쪽 친주로만 유전 된다고 하였던 것과 같았다.

총 56개의 교잡주 중 42개(75%)의 교잡주가 이핵체과 닮은 DNA profile을 보였다(Table 7, Fig 16-22). 단핵체과 가까운 유연관계를 나타낸 교잡주는 14개(25%)였다.

사철느타리과 느타리의 이핵-단핵 교잡주와 느타리간 di-mono 교잡주의 미토콘드리아 DNA 유전양상을 비교해보면 사철느타리과 느타리의 이핵-단핵 교잡주 16개는 이핵체 : 단핵체 (13 : 3), 느타리 종(*P. ostreatus*)간 이핵-단핵 교잡주 40개는 이핵체 : 단핵체 (29 : 11)로 나타났다.

조합별로는 사철느타리과 느타리의 이핵-단핵 교잡조합에서 사철느타리가 이핵체인 조합 ASI 2181(이핵) x ASI 2344(단핵)(Fig. 17), ASI 2181(이핵) x ASI 2504(단핵)(Fig. 18)은 8개의 교잡주 전부 이핵체의 미토콘드리아 DNA 유전양상을 나타냈고, 사철느타리가 단핵체인 조합ASI

2344(이핵) x ASI 2181(단핵)(Fig. 17), ASI 2504(이핵) x ASI 2181(단핵)(Fig. 18), 의 교잡주 8개는 는 이핵체 : 단핵체 (5 : 3)으로 나타났다.

느타리간 이핵-단핵 교잡조합에서는 ASI 2344(이핵) × ASI 2504(단핵), ASI 2487(이핵) × ASI 2344(단핵), ASI 2344(이핵) × ASI 2487(단핵), ASI 2183(이핵) × ASI 2487(단핵), 04-154(이핵) × ASI 2487(단핵), 05-834(이핵) × ASI 2487(단핵) 6조합 24개 교잡주가 이핵체의 유전양상을 나타냈고(Fig. 16, 19, 20, 22), 이핵체와 단핵체로 양분되는 ASI 2504 x ASI 2344, ASI 2487 x ASI 2183, ASI 2487 x ASI 04-154(Fig. 16, 20, 21) 4조합 16개 교잡주가 이핵체 : 단핵체 (5 : 11)로 나타났다. 이것은 DNA 유전양상에서의 결과와 같다.

즉, 느타리간 이핵-단핵 교잡조합별 핵 또는 미토콘드리아 DNA가 전부 이핵체의 양상을 나타내는 조합과 dikaryon 또는 monokaryon으로 나뉘는 조합이 같았다. 따라서 느타리간 이핵-단핵 교잡조합별 핵과 미토콘드리아 DNA 유전양상이 같은 것을 알 수 있었다.

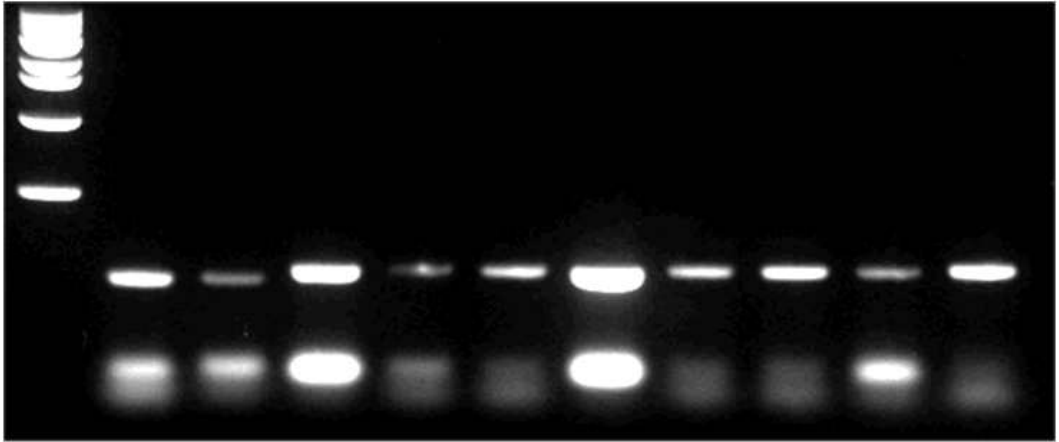
결과적으로 이핵-단핵 교잡한 총 14 조합의 56개 교잡주의 핵과 미토콘드리아 DNA Profile을 분석한 결과 이핵체와 가까운 유연관계를 보인 경우 약 75%, monokaryon과 가까운 유연관계를 나타낸 경우 25%로 이핵체의 유전율이 높았고, 이 같은 핵 또는 미토콘드리아 DNA 유전양상이 같았다.

그러나, 사철느타리과 느타리의 이핵-단핵 교잡주는 핵 DNA에서는 100% 이핵체의 유전양상을 나타내나, 미토콘드리아 DNA 유전에서는 사철느타리가 이핵체인 경우에만 교잡주가 이핵체의 유전양상을 나타내고, 사철느타리가 단핵체인 이핵-단핵 교잡주는 이핵체 또는 이핵체 과 단핵체로 유전양상이 양분되는 것을 알 수 있었다.

Table 7. Mitochondrial DNA pattern of hybrids by di-mono cross in *P. ostreatus*

Cross di-mono	No. of hybrid	Mt DNA pattern*	Cross di-mono	No. of hybrid	Mt DNA pattern
ASI 2504 × ASI 2344	08-119	D ¹	ASI 2344 × ASI 2487	08-266	D
	08-120	M ²		08-267	D
	08-121	M		08-268	D
	08-122	M		08-269	D
ASI 2344 × ASI 2504	08-123	D	ASI 2487 × ASI 2183	08-139	D
	08-124	D		08-140	M
	08-125	D		08-141	M
	08-126	D		08-142	M
ASI 2181 × ASI 2344	08-127	D	ASI 2183 × ASI 2487	08-270	D
	08-128	D		08-271	D
	08-129	D		08-272	D
	08-130	D		08-273	D
ASI 2344 × ASI 2181	08-151	D	ASI 2487 × 04-154	08-143	D
	08-152	M		08-144	M
	08-153	D		08-145	M
	08-154	D		08-146	D
ASI 2181 × ASI 2504	08-131	D	04-154 × ASI 2487	08-274	D
	08-132	D		08-275	D
	08-133	D		08-276	D
	08-134	D		08-277	D
ASI 2504 × ASI 2181	08-155	D	ASI 2487 × 05-834	08-147	D
	08-156	M		08-148	M
	08-157	M		08-149	M
	08-158	D		08-150	M
ASI 2478 × ASI 2344	08-135	D	05-834 × ASI 2487	08-278	D
	08-136	D		08-279	D
	08-137	D		08-280	D
	08-138	D		08-281	D

* D : dikaryon, M: monokaryon, I : intermediate

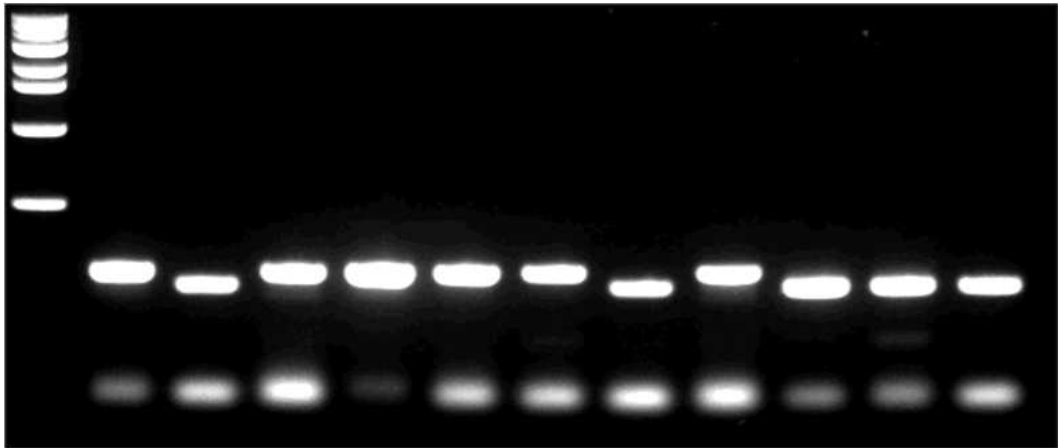


2504, 08 119, 08 120, 08 121, 08 122, 08 123, 08 124, 08 125, 08 126, 2344

Fig. 16. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2504 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2504 x mono 2344 : 08-119-122

di 2344 x mono 2504 : 08-123-126



2181, 2344, 08 127.08 128.08 129.08 130.08 151.08 152.08 153.08 154, 2344

Fig. 17. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2181 x mono 2344 : 08-127-130

di 2344 x mono 2181 : 08-151-154

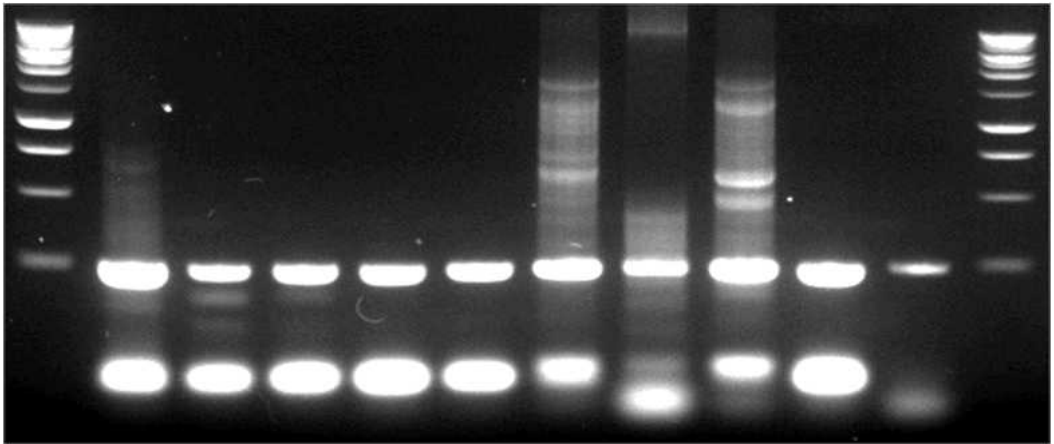


2181. 2504. 08-131. 08-132. 08-133. 08-134. 08-155. 08-156. 08-157. 08-158. 2504

Fig. 18. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2504 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2181 x mono 2504 : 08-131-134

di 2504 x mono 2181 : 08-155-158

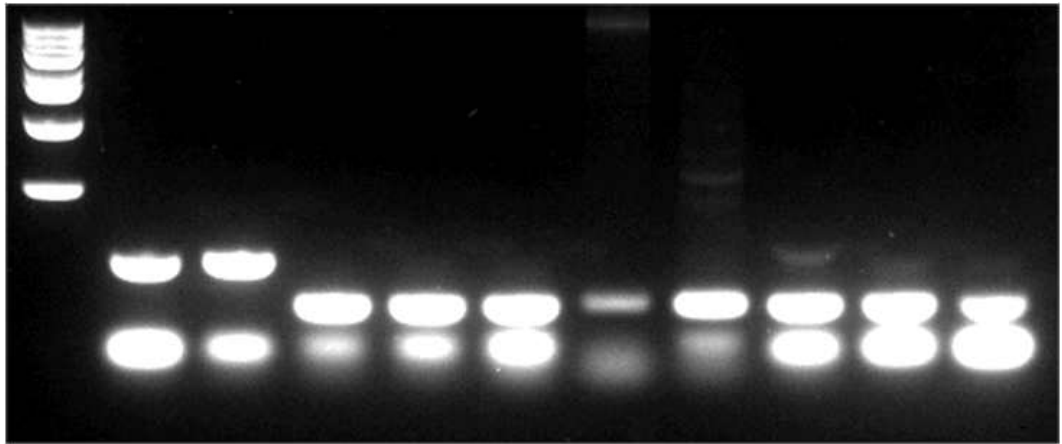


2487. 08-135.08-136.08-137.08-138.08-266.08-267.08-268.08-269.2344

Fig. 19. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2344 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2487 x mono 2344 : 08-135-138

di 2344 x mono 2487 : 08-266-269

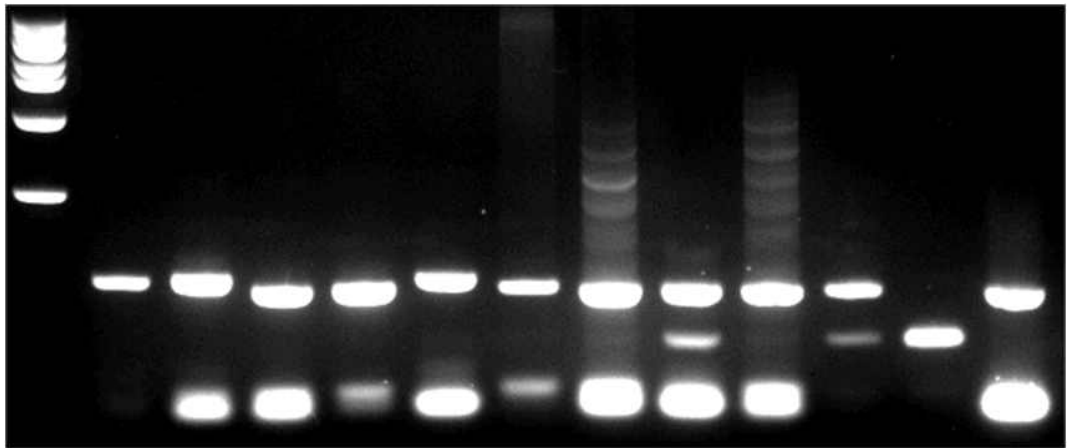


2487, 08-139, 08-140, 08-141, 08-142, 08-270, 08-271, 08-272, 08-273, 2183

Fig. 20. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2183 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2487 x mono 2183 : 08-139-142

di 2183 x mono 2487 : 08-270-273



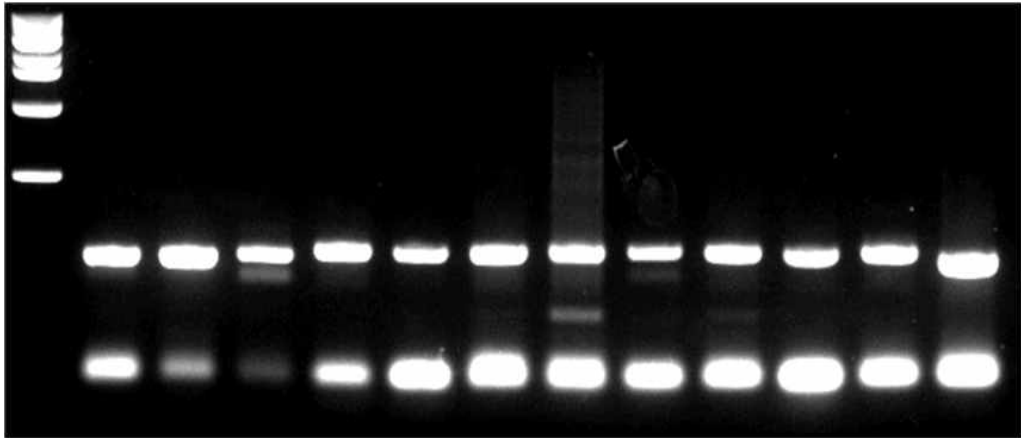
2487,08 143,08 144,08 145,08 146,08 274,08 275,08 276,08 277,04 154,2018¹,2504²

Fig. 21. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 04-154 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2487 x mono 04-154 : 08-143-146

di 04-154 x mono 2487 : 08-274-277

^{1,2} : parent of 04-154



2487, 08-147, 08-148, 08-149, 08-150, 08-284, 08-279, 08-280, 08-281, 05-834, 2194, 2344

Fig. 22. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 05-834 by di-mono cross in *P. ostreatus*.

di 2487 x mono 05-834 : 08-147-150

di 05-834 x mono 2487 : 08-278-281

5. 자실체 특성

이핵-단핵 교잡한 총 14 조합 56개의 교잡주 자실체의 갓 색과 수량을 조사하고 이핵체 또는 단핵체와 유전 유사도를 분석한 결과는 다음과 같다(Table 8, Fig. 23).

느타리와는 달리 사철느타리는 황백색으로 다른 느타리와 색깔이 확연히 달라 갓 색을 기준으로 모균주와 닮은 정도를 구분이 가능하므로 사철느타리와 느타리간 16개 이핵-단핵 교잡주의 모균주 이핵체 또는 단핵체와 유전 유사도를 비교해 본 결과 이핵체쪽 8개(50%), 중간형태 8개(50%)로 나타났다. 이때 중간형태의 경우에도 이핵체에 좀 더 가까운 갓 색깔을 나타내 전체적으로 사철느타리와 느타리간 이핵-단핵 교잡주의 갓 색은 이핵체의 유전유사도가 높은 것으로 나타났다.

조합별로는 ASI 2181(이핵) × ASI 2344(단핵)조합은 교잡주 4개(100%) 모두 이핵체를 닮았고, ASI 2344(이핵) × ASI 2181(단핵)조합은 교잡주 4개(100%) 모두 중간형태이나 이핵체의 색과 더 닮은 것으로 나타났다. 또한 ASI 2181(이핵) × ASI 2504(단핵)조합의 경우도 교잡주 4(100%)개 모두 dikaryon을 닮았고, ASI 2504(이핵) × ASI 2181(단핵)조합은 교잡주 4(100%)개 모두 중간형태이나 이핵체의 색과 더 닮은 것으로 나타났다.

이핵-단핵 56개 교잡주 중 갓 색이 가장 우수했던 교잡주는 08-141, 08-147, 08-149으로 흑색을 나타냈다.

이핵-단핵 교잡주의 수량을 조사한 결과, 56개 교잡주 중 병당 90g 이상의 수량의 경우 시장에서 상품이상의 가치기준에 양호하다(Ryu et al. 2008)고 봤을 때 전체 56개 중 27(48.2%)개 교잡주가 우수한 수량성을 나타냈다. 또한 수량 100g 이상은 19개(33.9%)로 나타났다.

이핵-단핵 교잡주의 수량성이 우수한 27개 교잡주는 사철느타리와 느타리의 이핵-단핵 교잡주 9개(33.3%)와 느타리간 수량이 우수한 이핵-단핵 교잡주 18개(66.6%)로 나타났다.

이핵-단핵 교잡주의 모균주와의 수량을 비교했을 때, 모균주보다 수량이 낮은 교잡주가 전체 20개 교잡주 중 9개(45%), 모균주 보다 수량이 많은 교잡주가 1개(5%), 모균주와 같거나 비슷한 교잡주가 10개(50%)로 나타났다.

사철느타리와 느타리의 이핵-단핵 교잡주는 16개 중 9개(56.2%)가 수량성이 우수한 교잡주로 사철느타리가 이핵체인 교잡주가 3개(18.75%), 사철느타리가 단핵체인 교잡주 6(37.5%)개로 이핵-단핵 교잡에서 사철느타리가 단핵체인 교잡주의 수량성이 높았다.

느타리간 이핵-단핵 교잡주 40개 중 18개(45%)의 조합별 비율은 ASI 2504(이핵) × ASI 2344(mono), ASI 2344(이핵) × ASI 2504 (단핵), ASI 2344(이핵) × ASI 2487(단핵), ASI 2487(이핵) × ASI 2183(단핵), ASI 2487(이핵) × 04-154 (단핵), 04-154(이핵) × ASI 2487(단핵), ASI 2487(이핵) × 05-834(단핵), 05-834(이핵) × ASI 2487(단핵)조합 각각 2 : 4 : 4 : 2 : 1 : 2 : 1 : 3 로 ASI 2344가 이핵체인 교잡주가 8개(44.4%)였다. 따라서 이핵-단핵 교잡에서 ASI 2344가 이핵체 경우의 교잡주의

병당 수량성이 우수한 것으로 나타났다.

느타리간의 이핵-단핵 교잡에서 수량성이 우수한 ASI 2344(이핵) × ASI 2504 (단핵), ASI 2344(이핵) × ASI 2487(단핵)조합 교잡주의 수량지수는 각각 161.7~172.9, 91.8~130로 ASI 2344(이핵) × ASI 2504 (단핵)조합의 교잡주의 수량성이 높았다.

전체적으로는 ASI 2487(이핵) × 04-154(단핵) 조합의 08-145, ASI 2487(이핵) × ASI 2183(단핵) 조합의 08-141, ASI 2504(이핵) × ASI 2344(단핵) 조합의 08-121 교잡주가 각각 수량 147.3g, 143g, 139.9g , 수량지수는 각각 160.9, 156.3, 193.5로 수량성이 가장 우수한 것으로 나타났다(Table 13, Fig. 23-g).

이핵-단핵 교잡을 하면 공여체(doner)의 핵, 미토콘드리아가 수용체(recipient)로 이동되어 수용체의 핵, 미토콘드리아와 혼합되어 최종적으로 핵은 공존하지만 미토콘드리아는 1개만 남는다. 미토콘드리아가 남는 쪽의 친의 핵이 두 개가 남는 것이 일반적이다. 즉, 이핵체쪽의 핵 2개와 미토콘드리아가 우성적으로 남는다. 자실체는 우성핵 쪽으로 답는다.

결론적으로 갓 색을 기준으로 사철느타리와 느타리간 이핵-단핵 교잡주의 모균주 이핵체 또는 단핵체와 유전 유사도를 비교해 본 결과 이핵체쪽 (50%), 중간형태 8개(50%)로 나타났다. 이때 중간형태의 경우에도 이핵체에 좀 더 가까운 갓 색깔을 나타냈고, 이핵-단핵 교잡주의 수량성이 우수한 27개 교잡주는 사철느타리와 느타리의 이핵-단핵 교잡주 (33.3%)와 느타리간 수량이 우수한 교잡주 (66.6%)로 나타났다. 특히 사철느타리와 느타리의 이핵-단핵 교잡에서 느 사철느타리가 단핵체인 교잡주의 수량성이 높았다.

Table 8. Characteristics of fruiting bodies of hybrids by di-mono cross in *P. osterotus*

Cross Di-mono	No. of hybrid	Days to primordia	Weight of carpophore (g)	Color of pileus	Shape of pileus
	ASI 2504	9.4±1.1	72.3±18.3	black	deep-funnel
	ASI 2344	6.0±0.0	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
ASI 2504 X	08-119	5.8±1.0	90.0±0.0	grayish-blue	deep-funnel
ASI 2344	08-120	4.6±1.8	32.3±5.4	light grayish-blue	deep-funnel
	08-121	4.0±0.0	139.9±16.3	grayish-brown	deep-funnel
	08-122	5.4±1.5	60.3±31.5	light grayish-brown	deep-funnel
	ASI 2344	6.0±0.0	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
	ASI 2504	9.4±1.1	72.3±18.3	black	deep-funnel
ASI 2344 X	08-123	4.0±0.0	119.3±9.6	dark-gray	deep-funnel
ASI 2504	08-124	4.0±0.0	116.9±20.9	dark-gray	deep-funnel
	08-125	4.9±1.8	125.0±18.3	dark-gray	deep-funnel
	08-126	5.1±1.8	117.5±28.2	dark-gray	deep-funnel
	ASI 2181			whity yello	shallow-funnel
	ASI 2344	6.0±0.0	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
ASI 2181 X	08-127	7.7±1.0	73.3±10.9	whity yellow	shallow-funnel
ASI 2344	08-127	7.0±0.9	83.9±23.0	whity yellow	shallow-funnel
	08-129	5.8±1.2	104.6±10.6	whity yellow	shallow-funnel
	08-130	6.6±1.8	94.3±11.6	whity yellow	shallow-funnel
	ASI 2344	6.0±0.0	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
	ASI 2181			whity yello	shallow-funnel
ASI 2344 X	08-151	6.9±0.3	124.0±0.0	light-brown	shallow-funnel
ASI 2181	08-152	6.0±0.0	60.0±0.0	gray	shallow-funnel
	08-153	6.6±0.5	114.0±0.0	grsyish-brown	shallow-funnel
	08-154	9.6±1.3	86.7±10.4	dark-brown	shallow-funnel

Table 8. Continued

Cross Di-mono	No. of hybrid	Days to primordia	Weight of carpophore (g)	Color of pileus
	ASI 2181	ND ¹	whity yello	shallow-funnel
	ASI 2504	72.3±18.3	black	deep-funnel
ASI 2181 X ASI 2504	08-131	66.0±24.0	whity yellow	shallow-funnel
	08-132	83.3±17.1	whity yellow	shallow-funnel
	08-133	78.3±32.9	whity yellow	shallow-funnel
	08-134	100.8±19.7	whity yellow	shallow-funnel
	ASI 2504	72.3±18.3	black	deep-funnel
	ASI 2181		whity yello	shallow-funnel
ASI 2504 X ASI 2181	08-155	100.7±6.9	dark-gray blue	shallow-funnel
	08-156	100.0±0.0	dark-gray blue	shallow-funnel
	08-157	116.0±0.0	brown	deep-funnel
	08-158	105.0±0.0	brown	deep-funnel
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
	ASI 2344	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
ASI 2487 X ASI 2344	08-135	76.8±15.1	grayish-blue	shallow-funnel
	08-136	70.3±14.5	grayish-blue	shallow-funnel
	08-137	75.1±13.9	grayish-blue	shallow-funnel
	08-138	48.6±21.3	grayish-blue	shallow-funnel
	ASI 2344	139.0±11.4	dark-gray	deep-funnel
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
ASI 2344 X ASI 2487	08-266	102.0±0.0	dark-brown	shallow-funnel
	08-267	108.8±15.0	dark-brown	flat
	08-268	110.2±12.6	dark-brown	shallow-funnel
	08-269	84.0±0.0	dark-brown	shallow-funnel

ND¹ : not data

Table 8. Continued

Cross Di-mono	No. of hybrid	Days to primordia	Weight of carpophore (g)	Color of pileus
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
	ASI 2183	145.0±9.0	gray	flat
ASI 2487 X ASI 2183	08-139	76.4±19.1	grayish-blue	shallow-funnel
	08-140	100.1±23.7	dark grayish-blue	flat
	08-141	143.0±9.0	blackish gray	flat
	08-142	56.6±7.2	light grayish blue	shallow-funnel
	04-154		dark-gray	hemispheric
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
04-154 X ASI 2487	08-270	73.3±18.4	light gray	hemispheric
	08-271	58.0±2.8	gray	hemispheric
	08-272	95.0±0.0	grayish white	hemispheric
	08-273	70.0±0.0	gray	hemispheric
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
	04-154		dark-gray	hemispheric
ASI 2487 X 04-154	08-143	77.7±11.4	grayish blue	shallow-funnel
	08-144	68.3±6.4	grayish blue	shallow-funnel
	08-145	147.3±16.0	grayish blue	shallow-funnel
	08-146	78.0±15.3	grayish blue	shallow-funnel
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
	04-154		dark-gray	hemispheric
04-154 X ASI 2487	08-274	92.5±6.3	dark-gray	shallow-funnel
	08-275	92.8±9.7	grayish-blue	shallow-funnel
	08-276	80.3±9.3	dark-gray	shallow-funnel
	08-277	80.0±11.8	dark-gray	shallow-funnel

ND¹ : not data

Table 8. Continued

Cross Di-mono	No. of hybrid	Days to primordia	Weight of carpophore (g)	Color of pileus
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
	05-834	ND ¹	grayish-brown	flat
ASI 2487 X 05-834	08-147	81.3±19.3	blackish gray	deep-funnel
	08-148	79.7±9.4	grayish blue	shallow-funnel
	08-149	96.8±12.1	blackish gray	deep-funnel
	08-150	75±0.0	grayish brown	deep-funnel
	05-834		grayish-brown	flat
	ASI 2487	91.5±18.1	grayish-blue	shallow-funnel
05-834 X ASI 2487	08-278	86.4±6.7	brown	flat
	08-279	96.7±9.7	brown	shallow-funnel
	08-280	97.2±11.4	dark brown	flat
	08-281	92.2±9.6	brown	flat

ND¹ : not data



Fig. 23. Fruiting bodies of hybrids by di-mono cross in *P. ostreatus*.

: a. 2504 × 2344, b. 2181 X 2344, c. 2181 X 2504, d. 2487 X 2183



e



f



g

Fig. 23. Continued

: e. 2344 X 2181, f. 2487 X 05-834, g. 2344 X 2487



h



i



j

Fig. 23. Continued

: h. 2183 X 2487, i. 04-154 X 2487, j. 05-834 X 2487

2. 단핵-단핵 계통간 교잡

2. 1. 계통간 교잡 및 교잡주 선발

단핵-단핵 교잡은 느타리 7종(ASI 2504, ASI 2344, ASI 2181, ASI 2487, ASI 2183, 04-154, 05-834)을 선발하여 버섯자실체에서 포자를 채취하여 단포자를 분리 후 교배형 4종류를 결정하였고 7개 교배조합을 하여 격쇠연결체(Clamp)를 확인한 85주의 교잡주를 얻었다(Table 10).

단핵-단핵 교잡율은 50~93.75%로 평균 75.89%을 나타냈다(Table 8). 이 것은 Ryu 등, (2008)의 큰 느타리의 이핵-단핵, 단핵-단핵 교잡결과 평균 단핵-단핵 교잡율 70~93%와 유사했다.

사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 교잡, 느타리간 단핵-단핵 교잡조합별 교잡율을 비교해보면 각각 81.25%, 75%로 사철느타리와 느타리 단핵-단핵 교잡율이 7.25% 높았다.

특히, 사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 교잡 ASI 2181(단핵1) × ASI 2504(단핵2), ASI 2487(단핵1) × 04-154(단핵2) 조합의 경우는 교잡율 93.75%로 교배형 4 종류 16개 교잡으로 14개 교잡주를 얻어 가장 높은 교잡율을 나타냈다. 한편, ASI 2487(단핵1) × ASI 2183(단핵2) 조합은 교잡율이 50%로 가장 낮았다.

Table 9. Fertility of hybrids by mono-mono cross in *P. osterotus*

Cross mono-mono	No. of hybrid	% Fertility
ASI 2344 X ASI 2504	11	68.75%
ASI 2181 X ASI 2344	11	68.75%
ASI 2181 X ASI 2504	14	93.75%
ASI 2487 X ASI 2344	8	75.00%
ASI 2487 X ASI 2183	15	50.00%
ASI 2487 X 04-154	14	93.75%
ASI 2487 X 05-834	12	87.50%

2. 2. 핵 DNA 다형성

느타리 균주 7종의 단핵-단핵 85 교잡주의 핵 DNA 양상을 분석하였다. (Table 10, Fig. 24-30).

전체적으로 양친주와의 유연관계는 중간이며 동시에 어느 한쪽 친주와 조금 더 가까운 유전양상을 나타냈다.

사철느타리종과 느타리의 단핵-단핵 교잡주 25개 중 16개(64%)가 사철느타리종과 나머지 9개(36%)는 느타리 모균주와 좀 더 가까운 유연관계를 나타냈다. 느타리간 단핵-단핵 교잡주 60개 중 ASI 2344(단핵) × ASI 2504(단핵), ASI 2487(단핵) × 04-154(단핵) 조합의 33개(55%) 교잡주는 전부 한쪽 모균주와 더 가까운 유연관계를 나타냈고, ASI 2487(단핵) × 05-834(단핵), ASI 2487(단핵) × ASI 2183(단핵)조합의 교잡주 27개(55%)는 각각 (5 : 7), (7 : 8)개로 대략 반반씩 나뉘어 양친주와 좀 더 높은 유연관계를 나타냈다.

따라서, 단핵-단핵 교잡의 경우 사철느타리가 느타리에 비해 핵 DNA 유전율이 높았고, 느타리간의 단핵-단핵 교잡주의 한 쪽 모균주에 치우치거나 양모균주의 핵 DNA 양상이 거의 비슷하게 유전되는 것을 알 수 있었다.

한편, ASI 2487 x ASI 2344 조합의 경우에 Fig. 27의 Dendrogram을 보면 양친의 유연관계가 약 95%의 유연관계를 보여 같은 계통임을 확인할 수 있었다.

Table 10. Nuclear DNA pattern of hybrids by mono-mono cross in *P. osterotus*

Parental strain	Cross	No. of hybrid	DNA pattern*	
	Mono x mono			
ASI 2344 x ASI 2504	2344-11 (I) X 2504-2 (II)	08-113	I	
	2344-11 (I) X 2504-11(II)	08-159	I	
	2344-11 (I) X 2504-25 (III)	08-160	I	
	2344-11 (I) X 2504-1 (IV)	08-161	I	
	2344-8 (II) X 2504-25 (IV)	08-117	I	
	2344-8 (II) X 2504-1 (IV)	08-164	I	
	2344-2(III) X 2504-2 (I)	08-165	I	
	2344-2(III) X 2504-11 (I)	08-118	I	
	2344-2(III) X 2504-25 (I)	08-114	I	
	2344-2(III) X 2504-1 (IV)	08-166	I	
	2344-107 (IV) X 2504-1 (III)	08-115	I	
	ASI 2181 x ASI 2344	2181-15 (I) X 2344-11 (I)	08-170	I
		2181-15 (I) X 2344-8 (II)	08-171	I
2181-15 (I) X 2344-2 (III)		08-172	I	
2181-15 (I) X 2344-107 (IV)		08-173	I	
2181-2 (II) X 2344-11 (I)		08-174	I	
2181-2 (II) X 2344-8 (II)		08-175	I	
2181-2 (II) X 2344-2 (III)		08-176	I	
2181-5 (III) X 2344-11 (I)		08-178	I	
2181-5 (III) X 2344-8 (II)		08-179	I	
2181-5 (III) X 2344-2 (III)		08-180	I	
2181-21 (IV) X 2344-11 (I)	08-182	I		

* : I, II, III, IV : mating type, I : intermediate

Table 10. Continued

Parental strain	Cross Mono x mono	No. of hybrid	DNA pattern*
ASI 2487 X ASI 2344	2487-1 (I) X 2344-107 (IV)	08-205	I
	2487-9 (II) X 2344-2 (III)	08-208	I
	2487- 2 (III) X 2344-8 (II)	08-211	I
	2487- 2 (III) X 2344-107(IV)	08-213	I
	2487-30 (IV) X 2344-11 (I)	08-214	I
	2487-30 (IV) X 2344-8 (II)	08-215	I
	2487-30 (IV) X 2344-2 (III)	08-216	I
	2487-30 (IV) X 2344-107 (IV)	08-217	I
ASI 2487 x ASI 2183	2487-1 (I) X 2183-12 (I)	08-218	I
	2487-1 (I) X 2183-4 (II)	08-219	I
	2487-1 (I) X 2183-13 (IV)	08-221	I
	2487-9 (II) X 2183-12 (I)	08-222	I
	2487-9 (II) X 2183-4 (II)	08-223	I
	2487-9 (II) X 2183-32 (III)	08-224	I
	2487-9 (II) X 2183-13 (IV)	08-225	I
	2487- 2 (III) X 2183-12 (I)	08-226	I
	2487- 2 (III) X 2183-4 (II)	08-227	I
	2487- 2 (III) X 2183-32 (III)	08-228	I
	2487- 2 (III) X 2183-13 (IV)	08-229	I
	2487-30 (IV) X 2183-12 (I)	08-230	I
	2487-30 (IV) X 2183-4 (II)	08-231	I
	2487-30 (IV) X 2183-32 (III)	08-232	I
2487-30 (IV) X 2183-13 (IV)	08-233	I	

* : I, II, III, IV : mating type, I : intermediate

Table 10. Continued

Parental strain	Cross	No. of hybrid	DNA pattern*
	Mono x mono		
ASI 2487 X 04-154	2487-1 (I) X 04-154-2 (III)	08-236	I
	2487-1 (I) X 04-154-1 (IV)	08-237	I
	2487-9 (II) X 04-154-17 (I)	08-238	I
	2487-9 (II) X 04-154-6 (II)	08-239	I
	2487-9 (II) X 04-154-2 (III)	08-240	I
	2487-9 (II) X 04-154-1 (IV)	08-241	I
	2487-2 (III) X 04-154-17 (I)	08-242	I
	2487-2 (III) X 04-154-6 (II)	08-243	I
	2487-2 (III) X 04-154-2 (III)	08-244	I
	2487-2 (III) X 04-154-1 (IV)	08-245	I
	2487-30 (IV) X 04-154-17 (I)	08-246	I
	2487-30 (IV) X 04-154-6 (II)	08-247	I
	2487-30 (IV) X 04-154-2 (III)	08-248	I
	2487-30 (IV) X 04-154-1 (IV)	08-249	I
	ASI 2487 x 05-834	2487-1 (I) X 05-834-14 (I)	08-250
2487-1 (I) X 05-834-16 (III)		08-252	I
2487-1 (I) X 05-834-19 (IV)		08-253	I
2487-9 (II) X 05-834-16 (III)		08-256	I
2487-9 (II) X 05-834-19 (IV)		08-257	I
2487-2 (III) X 05-834-8 (II)		08-259	I
2487-2 (III) X 05-834-16(III)		08-260	I
2487-2 (III) X 05-834-19 (IV)		08-261	I
2487-30 (IV) X 05-834-14 (I)		08-262	I
2487-30 (IV) X 05-834-8 (II)		08-263	I
2487-30 (IV) X 05-834-16(III)		08-264	I
2487-30 (IV) X 05-834-19 (IV)		08-265	I

* : I, II, III, IV : mating type, I : intermediate

Table 10. Continued

Parental strain	Cross		No. of hybrid	DNA pattern*
	Mono x mono			
	2181-15 (I)	X 2504-2 (I)	08-186	I
	2181-15 (I)	X 2504-11 (II)	08-187	I
	2181-15 (I)	X 2504-25 (III)	08-188	I
	2181-15 (I)	X 2504-1 (IV)	08-189	I
	2181-2 (II)	X 2504-2 (I)	08-190	I
	2181-2 (II)	X 2504-11 (II)	08-191	I
ASI 2181 x	2181-2 (II)	X 2504-25 (III)	08-192	I
ASI 2504	2181-2 (II)	X 2504-1 (IV)	08-193	I
	2181-5 (III)	X 2504-2 (I)	08-194	I
	2181-5 (III)	X 2504-11 (II)	08-195	I
	2181-5 (III)	X 2504-25 (III)	08-196	I
	2181-5 (III)	X 2504-1 (IV)	08-197	I
	2181-21 (IV)	X 2504-25 (III)	08-200	I
	2181-21 (IV)	X 2504-1 (IV)	08-201	I

* : I, II, III, IV : mating type, I : intermediate

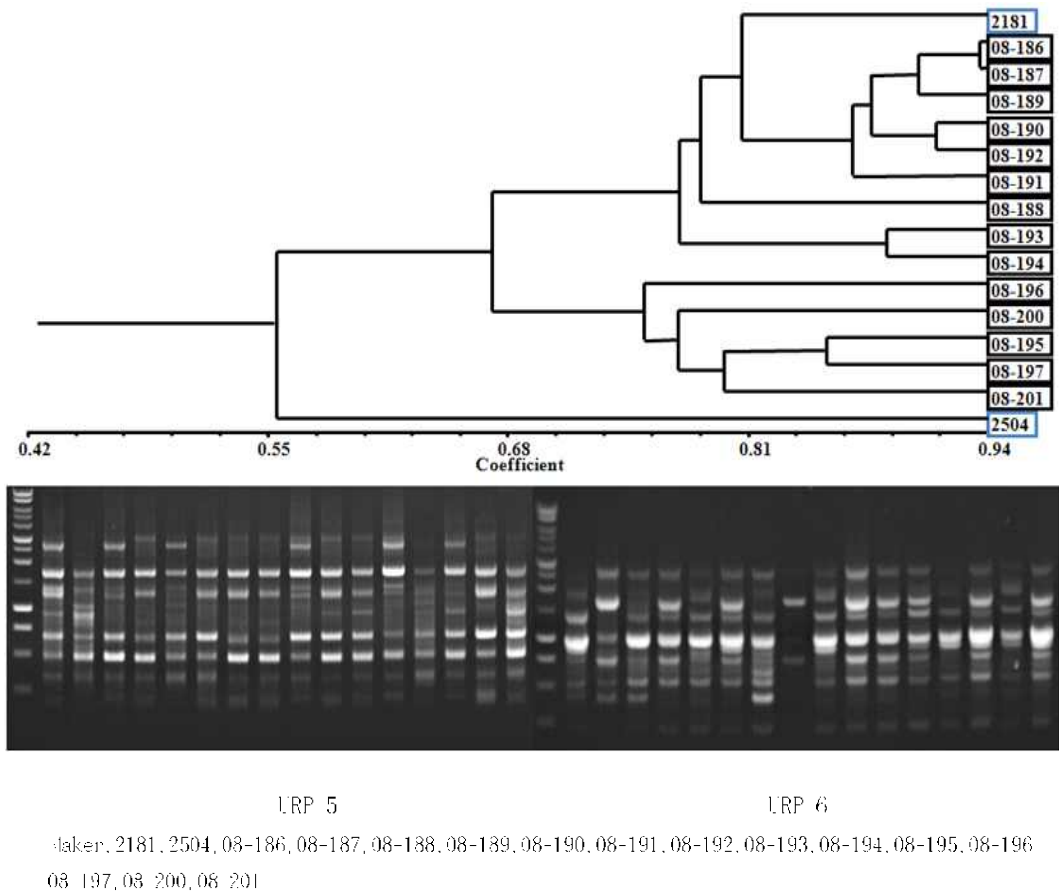


Fig. 26. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2181 and 2504 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

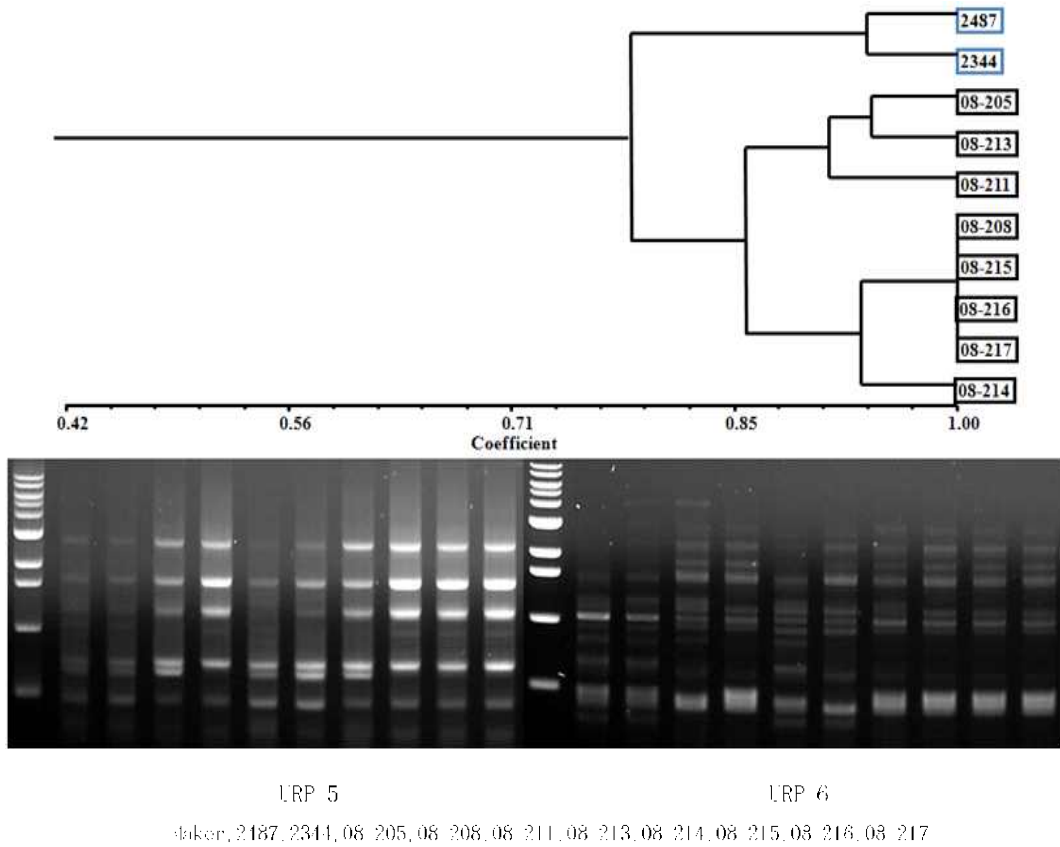


Fig. 27. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2344 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

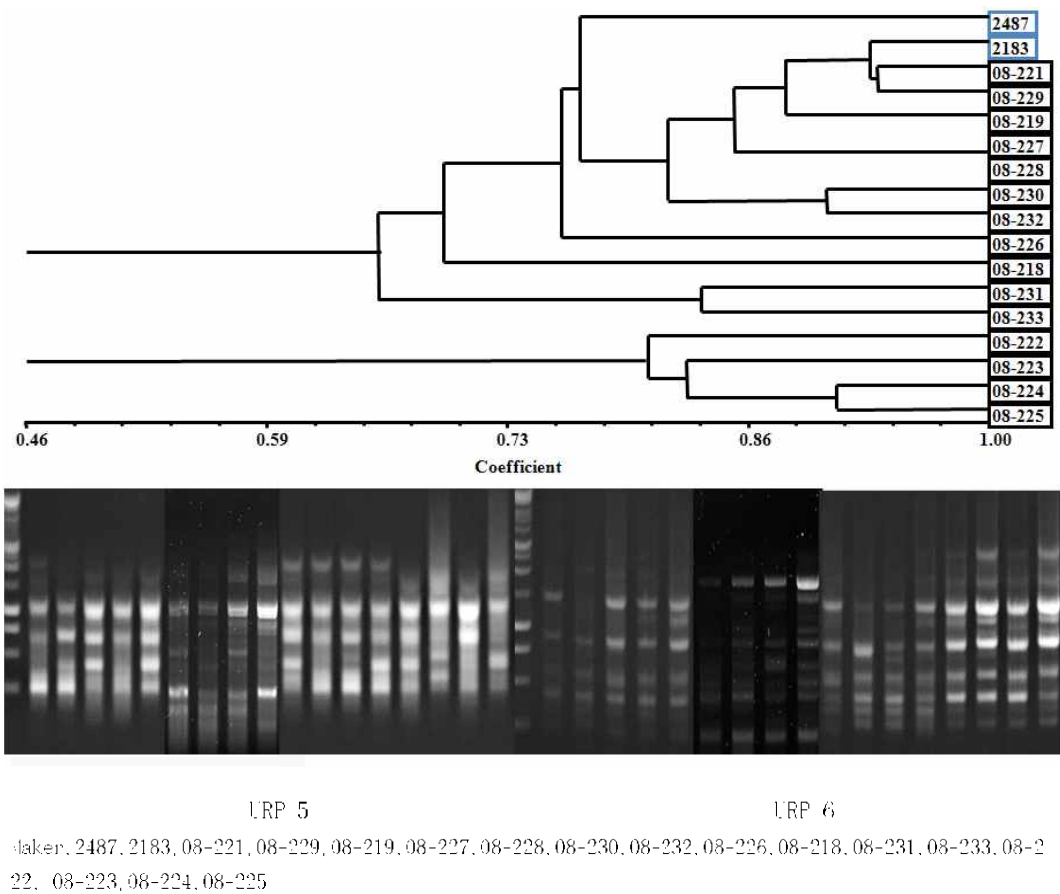


Fig. 28. UPGMA dendrogram based on URP-PCR analysis of hybrids between strain 2487 and 2183 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

3. 미토콘드리아 DNA 다형성

3. 2. 미토콘드리아 DNA 다형성

단핵-단핵 교잡주의 미토콘드리아 DNA 양상을 분석한 결과는 다음과 같다(Table 11, Fig 31-37).

단핵-단핵 85개 교잡주의 미토콘드리아 DNA profile을 분석한 결과 양친주중 어느 한 쪽 친주의 유전양상을 나타내는 교잡주가 73개(85.9%), 양 친주의 중간형태의 유전양상을 나타내는 교잡주가 12(14.1%)로 주로 양친주 중 한 쪽 친주로 치우치는 미토콘드리아 유전양상을 나타냈다.

사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 교잡주 25개 중 10개(40%)가 사철느타리 15개(60%)교잡주가 느타리 종(*P. ostreatus*)의 미토콘드리아 DNA 유전양상을 나타냈다. 핵 DNA 유전양상과 비교해 사철느타리의 미토콘드리아 유전율은 24% 정도 낮고, 느타리의 유전율은 24% 높다. 또한 느타리간의 단핵-단핵 교잡주 60개는 양친주 어느 한쪽으로 치우친 유전양상을 보이는 교잡주가 73개(85.9%), 양친주의 중간형태의 유전양상을 보이는 교잡주가 12개(14.1%)로 느타리간의 단핵-단핵 교잡주의 핵 DNA 유전양상과 비교해 한 쪽 친주로 치우치는 유전양상은 30% 정도 높고, 양친주의 중간형태의 유전양상을 보이는 경우는 약 41% 정도 낮았다.

따라서, 사철느타리와 느타리, 느타리간 교잡에서 사철느타리는 핵 DNA 유전율이 높고, 느타리 종(*P. ostreatus*)은 미토콘드리아 DNA 유전율이 높았다.

사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 조합별로는 ASI 2181(단핵1) × ASI 2344(단핵2)(Fig. 32), ASI 2181(단핵1) × ASI 2504(단핵2)(Fig. 33) 조합은 각각 단핵1 : 단핵2 (7 : 4), 단핵1 : 단핵2 (3 : 11)였다.

느타리간의 단핵-단핵 조합별로는 ASI 2344(단핵1) × ASI 2504(단핵2)(Fig. 31), ASI 2487(단핵1) × ASI 2344(단핵2)(Fig. 34), ASI 2487(단핵1) × ASI 2183(단핵2)(Fig. 35), ASI 2487(단핵1) × 04-154(단핵2)(Fig. 36), ASI 2487(단핵1) × 05-834(단핵2)(Fig. 37) 조합이 각각 단핵1 : 단핵2 (3 : 8), 단핵1 : 단핵2 (8 : 0), 단핵1 : 단핵2 : intermediate (0 : 3 : 10), 단핵1 : 단핵2 (14 : 0), 단핵1 : 단핵2 : intermediate (0 : 3 : 10)였다.

특히, ASI 2487(단핵1) × ASI 2183(단핵2), ASI 2487(단핵1) × 05-834(단핵2) 의 느타리간 단핵-단핵 29개 교잡주 중 양친주의 중간형태의 미토콘드리아 DNA 유전양상을 나타내는 교잡주가 12개(41%)로 핵 DNA 유전양상에서 대부분 한 쪽 친주로 치우친 유전양상을 나타낸 교잡주에 비해 유전양상이 양친주로 양분되는 유전율이 55% 정도였던 교잡주이다. 따라서 이 2개 조합의 교잡주들은 핵 DNA에서는 양친주로 양분되는 유전양상을 보였고, 미토콘드리아 DNA 유전양상이 중간형태로 나타났다.

결과적으로 단핵-단핵 교잡주의 미토콘드리아 DNA 유전양상은 대부분 양친주 중 어느 한 쪽 친주의 유전양상을 나타내고 핵 DNA 유전이 양친주의 중간형태이지만 어느 한 쪽 친주와 조금 더 가까운 유연관계를 나타냈던 양상과 같다.

Table 11. Mitochondrial DNA pattern of hybrids by mono-mono cross in *P. ostreatus*

Parental strain	Cross mono1 x mono2*	No. of hybrid	Mitochondria I DNA pattern**
ASI 2344 x ASI 2504	2344-11 (I) X 2504-2 (II)	08-113	M2
	2344-11 (I) X 2504-11(II)	08-159	M1
	2344-11 (I) X 2504-25 (III)	08-160	M1
	2344-11 (I) X 2504-1 (IV)	08-161	M1
	2344-8 (II) X 2504-25 (IV)	08-117	M2
	2344-8 (II) X 2504-1 (IV)	08-164	M1
	2344-2(III) X 2504-2 (I)	08-165	M1
	2344-2(III) X 2504-11 (I)	08-118	M2
	2344-2(III) X 2504-25 (I)	08-114	M1
	2344-2(III) X 2504-1 (IV)	08-166	M1
2344-107 (IV) X 2504-1 (III)	08-115	M1	
ASI 2181 x ASI 2344	2181-15 (I) X 2344-11 (I)	08-170	M1
	2181-15 (I) X 2344-8 (II)	08-171	M1
	2181-15 (I) X 2344-2 (III)	08-172	M1
	2181-15 (I) X 2344-107 (IV)	08-173	M2
	2181-2 (II) X 2344-11 (I)	08-174	M1
	2181-2 (II) X 2344-8 (II)	08-175	M1
	2181-2 (II) X 2344-2 (III)	08-176	M1
	2181-5 (III) X 2344-11 (I)	08-178	M1
	2181-5 (III) X 2344-8 (II)	08-179	M2
	2181-5 (III) X 2344-2 (III)	08-180	M2
2181-21 (IV) X 2344-11 (I)	08-182	M2	

*: I, II, III, IV : mating type,

** : M1 : mono 1, M2 : mono2, I : intermediate

Table 11. Continued

Parental strain	Cross mono1 x mono2*	No. of hybrid	Mitochondria DNA pattern**
ASI 2487 X ASI 2344	2487-1 (I) X 2344-107 (IV)	08-205	M1
	2487-9 (II) X 2344-2 (III)	08-208	M1
	2487- 2 (III) X 2344-8 (II)	08-211	M1
	2487- 2 (III) X 2344-107(IV)	08-213	M1
	2487-30 (IV) X 2344-11 (I)	08-214	M1
	2487-30 (IV) X 2344-8 (II)	08-215	M1
	2487-30 (IV) X 2344-2 (III)	08-216	M1
	2487-30 (IV) X 2344-107 (IV)	08-217	M1
ASI 2487 x ASI 2183	2487-1 (I) X 2183-12 (I)	08-218	I
	2487-1 (I) X 2183-4 (II)	08-219	I
	2487-1 (I) X 2183-13 (IV)	08-221	M2
	2487-9 (II) X 2183-12 (I)	08-222	I
	2487-9 (II) X 2183-4 (II)	08-223	I
	2487-9 (II) X 2183-32 (III)	08-224	I
	2487-9 (II) X 2183-13 (IV)	08-225	M2
	2487- 2 (III) X 2183-12 (I)	08-226	I
	2487- 2 (III) X 2183-4 (II)	08-227	M2
	2487- 2 (III) X 2183-32 (III)	08-228	M2
	2487- 2 (III) X 2183-13 (IV)	08-229	I
	2487-30 (IV) X 2183-12 (I)	08-230	I
	2487-30 (IV) X 2183-4 (II)	08-231	I
	2487-30 (IV) X 2183-32 (III)	08-232	I
	2487-30 (IV) X 2183-13 (IV)	08-233	M2

*: I, II, III, IV : mating type,

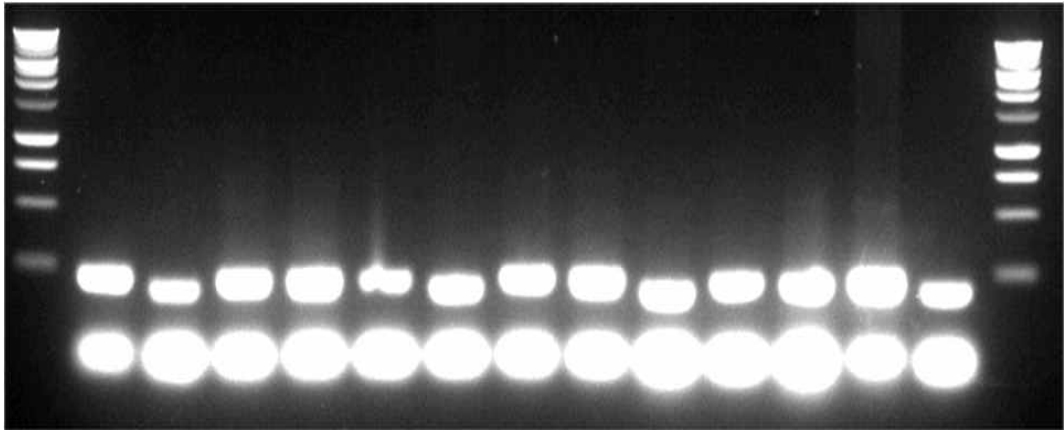
** : M1 : mono 1, M2 : mono2, I : intermediate

Table 11. Continued

Parental strain	Cross mono1 x mono2*	No. of hybrid	Mitochondri a DNA pattern**
	2181-15 (I) X 2504-2 (I)	08-186	M2
	2181-15 (I) X 2504-11 (II)	08-187	M2
	2181-15 (I) X 2504-25 (III)	08-188	M2
	2181-15 (I) X 2504-1 (IV)	08-189	M1
	2181-2 (II) X 2504-2 (I)	08-190	M2
	2181-2 (II) X 2504-11 (II)	08-191	M2
ASI 2181 x	2181-2 (II) X 2504-25 (III)	08-192	I
ASI 2504	2181-2 (II) X 2504-1 (IV)	08-193	I
	2181-5 (III) X 2504-2 (I)	08-194	I
	2181-5 (III) X 2504-11 (II)	08-195	M2
	2181-5 (III) X 2504-25 (III)	08-196	M1
	2181-5 (III) X 2504-1 (IV)	08-197	M1
	2181-21 (IV) X 2504-25 (III)	08-200	M2
	2181-21 (IV) X 2504-1 (IV)	08-201	M2

*: I, II, III, IV : mating type,

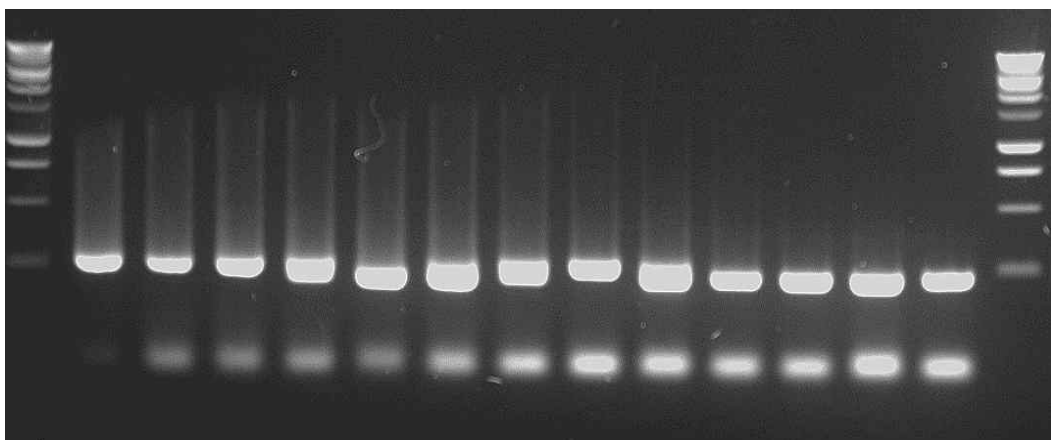
** : M1 : mono 1, M2 : mono2, I : intermediate



Marker, 2344, 08 113, 08 159, 08 160, 08 161, 08 117, 08 164, 08 165, 08 118, 08 114, 08 166, 08 115
 . 2504, Marker

Fig. 31. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2344 and 2504 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

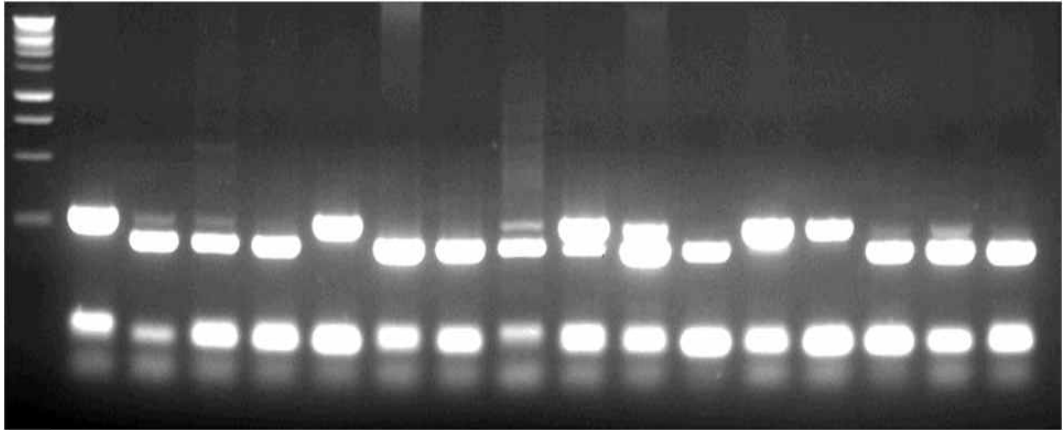
: mono 2344 x mono 2504



Marker, 2181, 08 170, 08 171, 08 172, 08 173, 08 174, 08 175, 08 176, 08 178, 08 179, 08 180, 08 182
 . 2344, Marker

Fig. 32. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2344 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

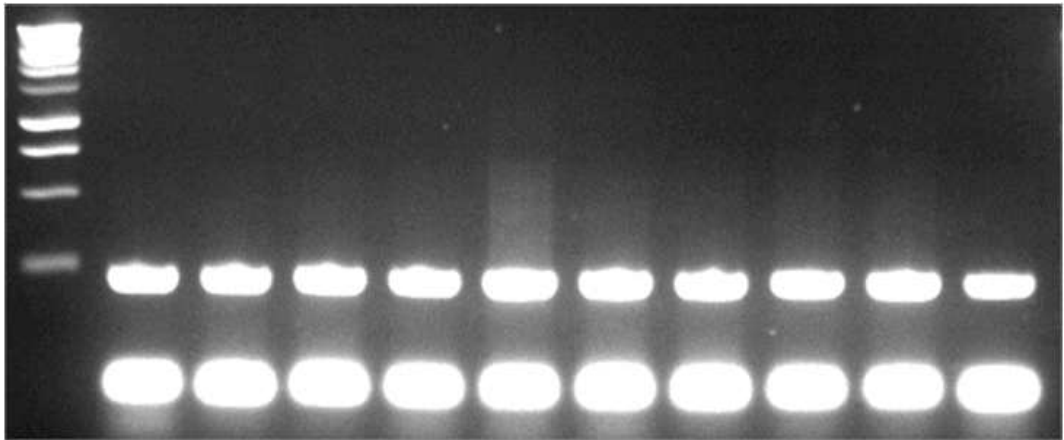
: mono 2181 x mono 2344



Marker, 2181.08 186.08 187.08 188.08 189.08 190.08 191.08 192.08 193.08 194.08 195.08 196
08-197.08-200.08-201.2504

Fig 33. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2181 and 2504 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

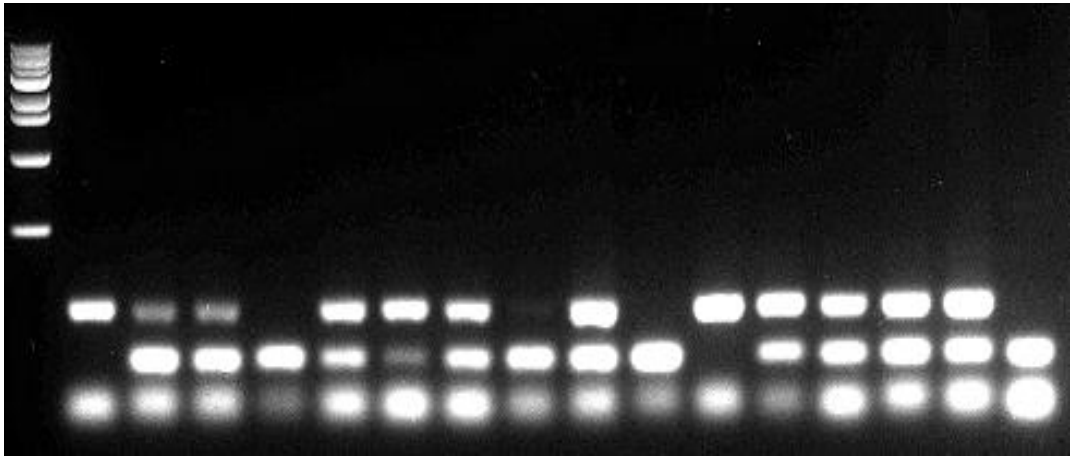
: mono 2181 x mono 2504



Marker, 2487, 08 205, 08 208, 08 211, 08 213, 08 214, 08 215, 08 216, 08 217, 2344

Fig. 34. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2344 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

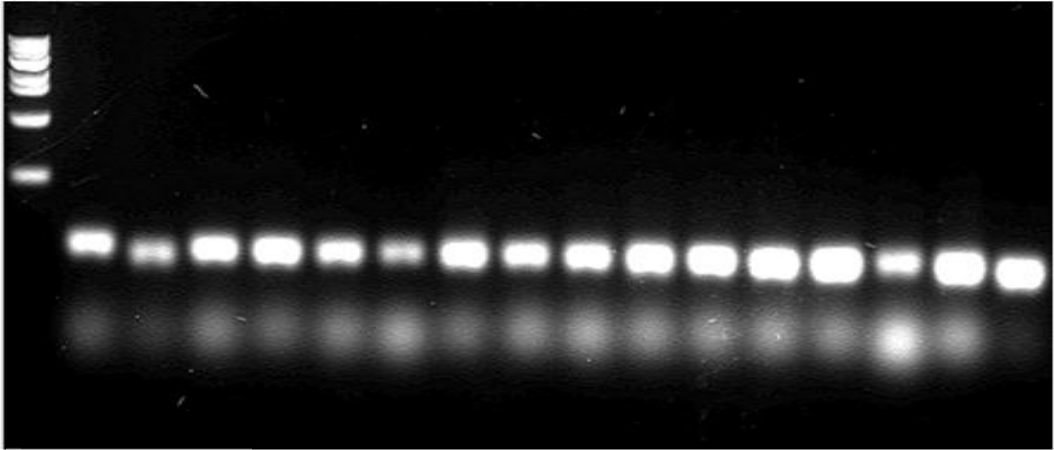
: mono 2487 x mono 2344



Marker, 2487, 08-218, 08-219, 08-221, 08-222, 08-223, 08-224, 08-225, 08-266, 08-227, 08-228,
 08-229, 08-230, 08-231, 08-232, 08-233, 2183

Fig. 35. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 2183 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

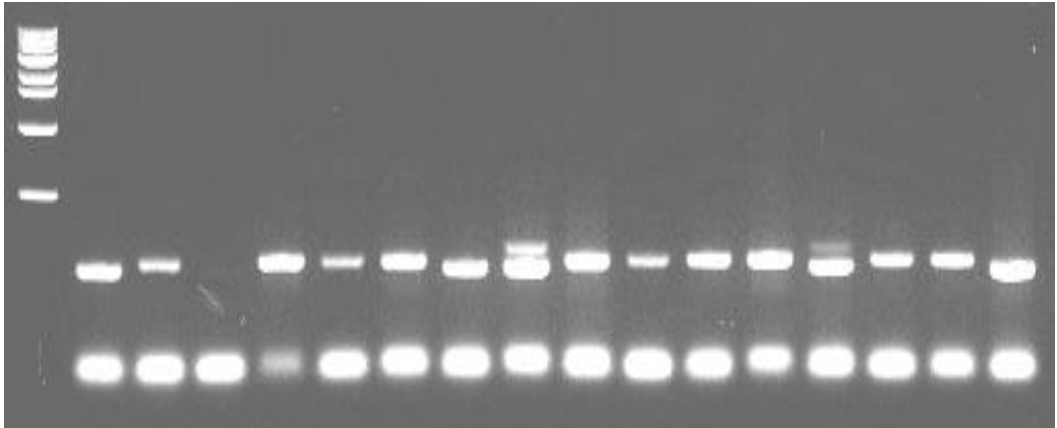
: mono 2487 x mono 2183



Marker, 2487,08 236,08 237,08 238,08 239,08 240,08 241,08 242,08 243,08 244,08 245,
08 246,08 247,08 248,08 249,04 154

Fig. 36. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 04-154 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

: mono 2487 x mono 04-154



Marker, 2487.08 250.08 252.08 253.08 256.08 257.08 259.08 260.08 261.08 262.08 263.08 264.08 265.05 834, 2194^o, 2344^o

Fig. 37. Mitochondrial DNA pattern of hybrids between strain 2487 and 05-834 by mono-mono cross in *P. ostreatus*.

: mono 2487 x mono 05-834, * ** : parents of 05-834

5. 자실체 특성

단핵-단핵 85개 중 47개 교잡주의 자실체 특성을 검정한 결과는 다음과 같다(Table 12).

갯 색을 기준으로 사철느타리와 느타리의 6개의 단핵-단핵 교잡주가 모균주 단핵체1 또는 단핵체2와 유전 유사도를 비교해 본 결과 ASI 2181(단핵1) × ASI 2504(단핵2)조합의 단핵-단핵 6개 교잡주는 양친주의 중간정도의 색을 나타냈으나 사철느타리 ASI 2181(단핵1)친주 쪽4개(66.6%), ASI 2504(단핵2)친주 쪽 2개(33.3%)로 어느 한 쪽 친주에 좀 더 가까운 갯 색을 띠는 경향을 나타냈다.

단핵-단핵 교잡주 중 갯 색이 흑색으로 가장 높은 품질을 나타낸 교잡주는 2344-2 (단핵1) × 2504-25(단핵2)였다.

ASI 2344(단핵1) × ASI 2504(단핵2), ASI 2181(단핵1) × ASI 2504(단핵2), ASI 2487(단핵1) × ASI 2183(단핵2) 3조합의 자실체 특성을 비교했을 때는 갯 색과 수량 특성은 ASI 2344(단핵1) × ASI 2504(단핵2) 조합의 단핵-단핵 교잡주의 품질이 우수했다(Table 12).

수량은 전체적으로 90g 이상을 나타낸 것이 16개(69.6%) 교잡주로 그 중 10개(43.5%) 교잡주가 100g 이상의 수량을 나타냈다.

단핵-단핵 교잡주의 수량성을 조사한 결과, 23개 교잡주 중 병당 90g

이상 16개(69.6%) 교잡주가 우수한 수량성을 나타냈다. 또한 수량 100g 이상은 10개(43.4%)로 나타났다.

단핵-단핵 교잡주의 수량성이 우수한 16개 교잡주는 사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 교잡주 3개(18.8%)와 느타리간 단핵-단핵 교잡주 13개(81.2%)였다.

사철느타리와 느타리의 단핵-단핵 교잡주는 6개 중 3개(50%)가 수량성이 높았다.

느타리간의 단핵-단핵 교잡주 17개 중 수량성이 높은 교잡주 13개(76.5%)였다. 전체적으로는 모균주보다 수량이 낮은 교잡주가 3개(17.6%), 모균주보다 수량이 많은 교잡주는 없었고, 모균주와 수량이 같거나 비슷한 교잡주가 14개(82.4%)로 나타났다.

결론적으로 단핵-단핵 교잡의 경우 사철느타리와 느타리 교잡주는 사철느타리와 느타리 교잡주의 경우, 66.6%의 교잡주가 사철느타리의 맛색을 나타냈고, 단핵-단핵 교잡주의 대부분 (82.4%)이 모균주와 수량이 같거나 비슷하고 모균주보다 수량이 많은 교잡주는 나타나지 않았고 전반적으로 단핵-단핵 교잡주의 맛 색 및 수량 특성에 비해 이핵-단핵 교잡주의 자실체 품질이 전반적으로 우수하며 모균주보다 우수했다.

Table 12. Characteristics of fruiting bodies of hybrids by mono-mono cross in *P. ostreatus*

Cross combination mono - mono	No. of hybrid	Weight of carpophore (g)	Shape of pileus	Color of pileus
ASI 2344 x ASI 2504	ASI 2344	139.0±11.4	deep-funnel	dark-gray
	ASI 2504	72.3±18.3	deep-funnel	black
2344-11(I) x 2504-2(II)	08-113	125.3±24.7	deep-funnel	bluish gray
2344-11(I) x 2504-25(III)	08-160	65.7±14.0	deep-funnel	blackish blue
2344-8(II) x 2504-25(III)	08-117	104.8±16.1	flat	blue
2344-8(II) x 2504-1(IV)	08-164	93.8±2.9	deep-funnel	dark-brown
2344-2(III) x 2504-2(I)	08-165	91.9±9.3	deep-funnel	brown
2344-2(III) x 2504-11(II)	08-118	110.2±13.6	deep-funnel	blackish brown
2344-2(III) x 2504-25(III)	08-114	107.3±11.9	shallow-funnel	black
2344-2(III) x 2504-1(IV)	08-166	127.3±22.2	deep-funnel	dark-gray
2344-107(IV) x 2504-1(III)	08-115	97.8±22.0	shallow-funnel	brown

Table 12. Continued

Cross combination mono - mono	Number of hybrid	Weight of carpophore (g)	Shape of pileus	Color of pileus
ASI 2181 x ASI 2504	ASI 2181 ASI 2504	ND 72.3±18.3	shallow-funnel deep-funnel	whity yellow blackish gray
2181-15(I) x 2504-11(II)	08-187	103.3±14.2	flat	dark-gray
2181-15(I) x 2504-1(IV)	08-189	108.6±18.0	flat	grayish white
2181-2(II) x 2504-2(I)	08-190	69.4±21.4	shallow-funnel	brown
2181-2(II) x 2504-25(III)	08-192	64.3±13.1	shallow-funnel	grayish white
2181-5(III) x 2504-1(IV)	08-197	113.8±8.2	shallow-funnel	grayish white
2181-21(IV) x 2504-25(III)	08-200	82.1±7.9	shallow-funnel	grayish brown

ND¹ : not data

Table 12. Continued

Cross combination mono - mono	Number of hybrid	Weight of carpophore (g)	Shape of pileus	Color of pileus
ASI 2487 x ASI 2183	ASI 2487 ASI 2183	91.5±18.1 145.0±9.0	shallow-funnel flat	grayish blue gray
2487-15(I) x 2183-12(I)	08-218	71.6±5.8	hemisphere	dark-gray
2487-15(I) x 2183-13(IV)	08-221	91.2±14.2	flat	dark brown
2487-9(II) x 2183-32(III)	08-224	93.4±13.2	hemisphere	blue
2487-9(II) x 2183-13(IV)	08-225	95.9±12.0	flat	bluish gray
2487-2(III) x 2183-4(II)	08-227	63.9±10.8	shallow-funnel	light brown
2487-2(III) x 2183-32(III)	08-228	104.8±6.9	hemisphere	grayish brown
2487-2(IV) x 2183-13(IV)	08-229	67.5±5.7	hemisphere	gray
2487-30(IV) x 2183-4(II)	08-231	102.4±13.6	hemisphere	brown

ND¹ : not data

느타리의 계통간 이핵-단핵, 단핵-단핵 교잡으로 교잡주에 대한 핵 및 미토콘드리아 DNA 유전 양상을 분석하였다. 이핵-단핵 교잡주는 대부분 이핵쪽의 핵 DNA가 거의 모두 우성으로 나타났다. 단지 10.7% 교잡주는 수용체 단핵체의 핵과 공존하는 양상이었다. 이핵체의 핵이 우성으로 나타나도 단핵의 유전자도 함께 발현되었다. 특히 이러한 현상은 느타리 이핵체와 사철 단핵체의 교잡주에서 뚜렷하게 나타났다. 자실체 갓 색깔이 이핵체 느타리와 동일한 것이 없었고 모두 중간 색깔을 다양하게 나타내었다. 하지만 이핵체의 자실체 색깔, 형태 등 대부분의 유전형질을 가져왔다.

단핵-단핵 교잡주는 핵 DNA가 공존하지만 한쪽친의 유전자가 다소 우성으로 나타났다. 하지만 이핵-단핵체간 교잡주에 비하여 교잡주는 아주 다양한 양상이었으며 유전유사도가 양친 쪽으로 서로 각각 나누어지는 양상도 있었다. 이러한 현상은 교잡조합에 따라 다르게 나타났다.

미토콘드리아 DNA양상은 핵과는 다소 다른 양상이었다. 이핵-단핵간 교잡주의 미토콘드리아 DNA양상은 이핵체 공여체와 단핵체 수용체의 양상으로 양분되었다. 교잡주 이핵체 미토콘드리아가 75%로 대부분 우점하는 양상이었다. 결코 유전자 재조합이 된 중간 형태나 공존하는 경우는 없었다.

단핵-단핵 교잡주는 우성 핵 쪽의 미토콘드리아가 지배를 하지만 양친이 공존 또는 유전자 재조합하는 경우도 있었다. 이러한 것은 교잡 조합에 따라 공존하는 교잡주가 나타나는 양상이 크게 달랐다. 7조합 85개 교잡주 중에서 3개조합 15교잡주에서 양친의 미토콘드리아가 공존하거나 유전자 재조합되었다. 특히 2487 x 2183조합에서는 15교잡주 중에서 10교

잡주가 공존 또는 유전자 재조합되었다. 모균주에 따라서 이러한 현상이 좌우된다고 생각되는데 2183 균주는 원형질체 융합으로 육성된 ‘원형느타리2호’ 품종이다. 이러한 원형질체 융합주라서 미토콘드리아가 공존 또는 유전자 재조합하는 양상이 크게 나타났는지는 알 수 없다.

계통간 교잡주에 관한 핵 전이에 관한 연구는 다수 있지만 핵 DNA 패턴에 관한 구체적이고 폭 넓은 연구는 많지 않다. 단핵-단핵간 교잡주에서 핵 DNA 양상은 많은 계통간 교잡주에서 양친핵이 공존하여 나타나는 다른 연구자의 양상과 유사하였다(Yoo 등, 2006; Yoo 등, 2007; Kong 등, 2008a, 2008b). 이러한 방법으로 품종을 육성하는 데에는 크게 문제가 되지 않을 것으로 사료된다.

이핵-단핵간 교잡방법으로 이핵체의 유전형질이 우성으로 나타난 것은 다른 연구자들 것과 유사한 양상이었는데 무포자 채먹물버섯(Takemaru and Kamada, 1971), 느타리(Eger 등, 1976) 무포자 균주가 단핵체와 교잡시 무포자가 우성으로 나타났음이 보고되었고, 이핵체가 우성으로 나타나는 DNA 패턴도 기존 보고와 유사하였다(Kong 등, 2007).

이러한 현상은 공여체의 2개의 핵이 모두 수용체에 전이가 되어 우성으로 나타나는 것으로 사료된다. 단지 10.7% 교잡주에서는 수용체 핵과 공여체 핵이 공존하는 양상이었다. 이러한 이핵-단핵간 교잡방법으로 품종을 육성할 수 있는가의 문제는 몇 가지 문제가 해결되어야 한다. 품종의 구별성이다. 이핵체의 소유가 누구 것인가에 달려있다. 이핵체가 품종 육성자의 균주라면 이핵-단핵 교잡으로 품종을 육성하는데 아무런 문제가 없다. 하지만 이핵체가 다른 사람의 균주라면 이 방법으로 육성 된 품종을 육성자 것이라고 주장하기에는 너무나 이핵체와 유사하여 구별성을

나타내기에 충분하지 않을 가능성이 높다.

미토콘드리아 DNA 유전 양상은 핵과는 달랐다. 이핵-단핵 교잡주에서 미토콘드리아는 우성 핵 쪽의 미토콘드리아가 남는 것이 대부분이나 그렇지 않더라도 한쪽 친의 미토콘드리아 양상이었다. 이에 비해 단핵-단핵 간 교잡주의 일부인 17.6%에서는 양친이 공존하거나 유전자재조합이 일어나는 특이한 양상이었다. 이러한 현상은 생물에서 흔하지 않다. 사람은 모계유전을 하여 어머니의 미토콘드리아가 유전된다. 미토콘드리아의 유전자 재조합은 군사접합 시 접합부위에서만 일부 발생한다는 보고가 느타리(Matsumoto and Fukumasa-Nakai, 1996), 재먹물버섯 (Baptista - Ferreira 등, 1983)에서 보고되었다. 그러나 이와는 달리 재먹물버섯에서는 핵이 이동하여 교잡주가 형성되는 동안 미토콘드리아는 이동하지 않았으며 유전자재조합도 일어나지 않았다고 하였고(May and Taylor, 1988), 표고버섯에서는 군사접합에 의한 교잡주에서는 미토콘드리아 유전자 재조합이 일어나지 않았으나 원형질체 융합에 의한 융합주는 25융합주 중에서 20%가 양친과는 다른 양상이었다(Fukuda 등, 1995). 일찍이 원형질체 융합주에서 미토콘드리아 DNA 유전자재조합은 *Aspergillus* 속의 유연관계가 가까운 중간 원형질체 융합주에서 보고되었고(Earl 등, 1981), 느타리와 잔나비겉상버섯간의 이목간 원형질체 융합주에서도 융합주 4균주중 1융합주에서 양친과 다른 유전자재조합이 일어났다고 하였다(Yoo, 1994).

자실체의 맛 색깔, 형태 등의 유전 양상도 핵 DNA 패턴을 뒤받침하고 있었다. 이핵-단핵간 교잡에서 자실체는 이핵체와 거의 유사하였다. 이 방법으로 품종 육성 시에는 이핵체 균주가 육성자 것이 아닐 경우에는 교잡주가 이핵체와의 구별성이 뚜렷하지 않아 새로운 품종으로서의 인정

이 어려울 것으로 사료되었다. 단지 회색인 이핵 느타리와 황백색인 단핵 사철느타리인 경우에는 교잡주의 자실체 색깔이 느타리와 가까운 색깔도 있었지만 동일하지 않고 다소 중간색을 모두 나타내었다. DNA 패턴은 이핵체와 유사한데도 불구하고 교잡주의 자실체 색깔은 단핵 사철느타리의 갓 색깔이 뚜렷하게 발현되었다.

이 실험에 이용된 미토콘드리아 특이 primer 2종류는 미토콘드리아 DNA 유전을 연구하는데 아주 유용하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다. 이것은 Wang 등(2008)의 느타리 미토콘드리아 유전체 염기서열이 구명되어서 가능하였다. 여태껏 미토콘드리아 연구는 분리된 미토콘드리아 DNA에 제한효소를 처리하여 그 패턴을 분석하였다. 하지만 여기서의 연구는 특이 primer를 이용한 아주 편리한 PCR 방법으로 이루어졌다. 이러한 방법으로 이루어진 연구는 처음인 것으로 사료된다.

IV. 결론

본 연구에서는 느타리버섯류(*Pleurotus* spp.) 우량 품종개발을 위하여 우수한 느타리 7종으로 이핵-단핵간 14 교잡조합, 56개 교잡주와 단핵-단핵간 7교잡조합, 85교잡주를 얻어 교잡주의 핵 및 미토콘드리아 DNA 유전 양상과 자실체 특성을 비교분석하였다.

이핵-단핵간 교잡율은 100%로 단핵-단핵간 교잡율 50-93.75%에 비해 월등히 높게 나타났다. 단핵주간의 교잡은 유연관계가 너무 가깝거나 멀 경우에 불화합성으로 교잡이 이루어지지 않는다. 이러한 것을 이핵주는 핵이 2개이므로 수용체의 핵과 모두 화합성을 이루어 교잡에 장애가 없는 것으로 사료된다.

이핵-단핵간 56교잡주의 핵과 미토콘드리아 DNA 유전 양상을 분석한 결과 대부분 이핵체의 패턴으로 나타났으며, 이핵체의 핵과 미토콘드리아가 단핵체로 모두 전이되는 양상이었다. 단핵 수용체에 이핵의 유전 물질이 전이되면 처음에는 이핵체와 단핵체의 핵과 미토콘드리아가 공존하며, 세포분열이 이루어지면서 핵은 대부분 공존하는 양상이며 미토콘드리아는 이핵체 우성핵의 미토콘드리아가 남는 경향이나 단핵체의 미토콘드리아가 일부 남는 교잡주도 있는 것으로 나타났다. 교잡주는 초기에 핵이 모두 3종류인데 핵이 하나가 소실되더라도 유전자는 남기는 것으로 판단되며 공존하면서 3종류 핵의 유전자가 모두 발현되는 현상일 수도 있다고 사료된다.

단핵-단핵간 85교잡주의 핵 DNA 유전 양상은 양친 핵이 공존하지만 한 쪽친의 패턴이 다소 우성으로 나타났다. 하지만 이핵-단핵체간 교잡주에 비하여 교잡주는 아주 다양한 양상이었으며 유전유사도가 양친쪽으로 서

로 각각 나누어지는 양상도 있었다. 단핵-단핵 교잡주는 우성 핵 쪽의 미토콘드리아가 지배를 하지만 양친이 공존 또는 유전자 재조합하는 경우도 있었다. 이러한 것은 교잡 조합에 따라 공존하는 교잡주가 나타나는 양상이 크게 달랐다. 7조합 85개 교잡주에서 3개조합 15교잡주가 양친의 미토콘드리아가 공존하였다.

이핵-단핵간 교잡주의 자실체 특성은 거의 이핵주 특성을 나타내었다. 그러하면서도 수용체 단핵주의 형질도 발현되었다. 사철느타리와 느타리 교잡주는 갓 색깔이 달라 형질 발현을 뚜렷하게 알 수 있는데 황백색의 사철느타리가 이핵체인 경우에는 교잡주는 사철느타리 색으로 나타났으며, 사철느타리가 단핵체인 수용체일 경우에는 모두 중간색으로 다양한 색깔로 나타났다. 이러한 결과로 보아 이핵-단핵주간 교잡으로 유전형질을 개량할 수 있는 것으로 사료된다. 단지 단핵-단핵주간 교잡에 비해 유전자의 변이는 커지 않지만 우량형질 도입에 훌륭한 방법으로 이용될 것으로 사료된다. 이에 비해 단핵-단핵간 교잡주는 핵이 공존하여 자실체의 특성도 양친의 중간 양상을 뚜렷하게 나타내면서도 아주 다양한 형질을 나타내어 품종을 육성하는데 양친의 형질을 많이 변화시킨다.

이핵-단핵간, 단핵-단핵간 교잡법은 각기 다른 유전 특성을 가지고 있어서 그 장점을 살려 이용하면 느타리 등 버섯류의 균주 개량에도 크게 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Baldrian, PG. and Pospisek, M. 1999. Improved isolated of nucleic acids from basidiomycete fungi. *Biotechniques* 27: 258-460.
- Baptista-Ferreira, JLC., Economou, A., Casselton, LA. (1983) Mitochondrial genetics of *Coprinus*: recombination of mitochondrial genomes. *Current Genetics* 7: 405 - 407.
- Bernie, M. and Daniel, JR. 1988. Interspecific allozyme vaiation within the fungi genus *Pleurotus*. *Transactions of the British Mycological Society* 90:29-36.
- Bernie, M. Kathrine, JH., Christine, GF., and Daniel, JR. 1988. Linkage relationships of 19 allozyme encoding loci within the commercial mushroom genus *Pleurotus*. *Genome* 30: 888-895.
- Buller, AHR. 1930. The biological significance of conjugate nuclei in *Coprinus lagopus* and other Hymenomycetes. *Nature* 126: 686-689.
- Buller, AHR. 1931. *Researches on fungi IV*. Longman's, Green., London. pp329.
- Chi, JH., Choi, JI., Ju, YC. 2005. Characteristics of a new oyster mushroom variety 'Dajoa' for the bottle and poly prophyllene plastic bag culture. *Journal of Mushroom Science and Production* 3(2): 60-64.
- Earl, AJ, Turner, G., Croft, JH., Dales, RBG., Lazarus, CM., Lünsdorf, H., and Küntzel, H. 1981. High frequency transfer of species specific mitochondrial DNA sequences between members of the

- Aspergillaceae. *Current Genetics* 3, 221-228.
- Egar, G. 1978. Biology and breeding of *Pleurotus*. In: The biology and cultivation of edible mushrooms,(ed. by Chang, S. T. and Hayes, W. A.),Academic Press, New York. :497-502.
- Ellingboe, AH. 1963. legitimacy and specific factor transfer in *Schizophyllum commune*. *Proceedings of the National Academy of Science U. S. A.* 49:286-292.
- Ellingboe, AH. 1964. Somatic recombination in dikaryon K of *Schizophyllum commune*. *Genetics* 49: 247-251.
- Ellingboe, AH. and Raper, JR. 1962. Somatic recombination in *Schizophyllum commune*. *Genetics* 47:8 5-98.
- Fukuda, M, Harada, Y., Imahori, S., Fukumasa-Nakai, Y., and Hayashi, Y. 1995. Inheritance of mitochondrial DNA in sexual crosses and protoplast cell fusions in *Lentinula edodes*. *Current Genetics* 27: 550-554.
- Georgios, Z., and Zentmeyer, GA. 1978. Identification of *phytophthora* species by disc electrophoresis. *Phytopathology* 68: 163-167.
- Hibbet, DS. and Vilgalys, R. 1991. Evolutionary relationships of *Lentinus* to the polyporaceae: Evidence from restriction analysis of enzymatically amplified ribosomal DNA. *Mycologia* 83: 425-439.
- Hseu, RS. and Wang, HH. 1989. Characterization of *Ganoderma iucidum* di-mon mating. *Science and Cultivation of Edible Fungi XII(1):* 217-225.
- Hwang, SY, Lee, MK., Jeong, KS., Joo, NY. 1996. Identification of *Pleurotus* strain based on the restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Natural Science* 7(2): 47-55.

- Jang, KY., Jhune, CS, Kong, WS., Yoo, YB., Kim, KH, Sung, JM. 2008. The beginning and history of *P. streatus*. cultivation. Journal of Mushroom Science and Production 6(3 & 4): 103-110.
- Jin, YJ. 2011. Comparison of genetic, biochemical, and fruit body properties in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivars bred in Korea. Master of Science Thesis. Danguk University.
- Kinugawa, K., Phusawang, W., Chinbenjaphol, S., Fukada, S., Tanesake, E., Okada, M. and Tsutsui, H. 1994. Progress report(1991-1993) of the joint research program of Kinki and Chiang Mai Universities on the promotion of mushroom research. Members of the Faculty Agriculture of Kinki University 27: 93-113.
- Kniep, H. 1920. Ober morphologische and physiologische Geschlechts differenzierung (Untersuchungen an Bisidiomyzeten).Verh. phisik. - mediz. Ges. Wurezburg 46 :1-18.
- Kong, WS. 1997. Studies on the Genetic Relationships of Collected Strains and the Development of New Strains in *Flammulina velutipes*. Ph. D. Thesis of Konkuk University.
- Kong, WS., Seo, KI., Park, SY., Jang, KY., Yoo, YB., Jhune, CS., and Kim, KH. 2008a. Characterization of a new white variety "Baengno" developed by crossing with selected lines adaptable to elevated - temperature in *Flammulina velutipes*. Journal of Mushroom Science and Production 6:(3 & 4): 121-125.
- Kong, WS., Yoo, YB., Jhune, CS., Jang, WB., Choi, JS., and Kim, KH. 2008b. Characterization of a new brown commercial strain "Garlmoe" of *Flammulina velutipes* developed by crossing between wild collected strains. Journal of Mushroom Science and Production 6(3 &

4): 115–120.

- Kong, WS., Yoo, YB., Jhune, CS., You, CH., Cho, YH., Park, YH., and Kim, KH. 2007. Cultivation and characterization of commercial strain "Hambak" derived by di-mono crossing in *Grifola frondosa*. Journal of Mushroom Science and Production 5(1): 1–6.
- Lee, HK. 1994. Phylogenetic relationships of the genus *Pleurotus* by allozyme and RAPD analysis. Ph. D. Thesis. Sookmyung Women's University.
- Lee, JW., Han, YS., Jeong, CC. 2011. Characteristics of a new cultivar *Pleurotus ostreatus*, Hwaseong #2. Journal of Mushroom Science and Production 9(3): 96–100.
- Lee, YS. and Seo, GS. 2005. Problems and improvement scheme for mushroom-industry. Journal of Mushroom Science and Production 3(4): 159–171.
- May, G., and Taylor, JW. 1988. Patterns of mating and mitochondrial DNA inheritance in the agaric basidiomycete *Coprinus cinereus*. Genetics 118: 213–220.
- Matsumoto, T. and Fukumasa-Nakai, Y. 1996. Mitochondrial DNA inheritance in sexual crosses of *Pleurotus ostreatus*. Current Genetics 30: 549–552.
- Noh, HJ., Choi, SI., Lee, KH., Jang, KY., Cho, JH., Sung, GH., Kim, GS., Lee, SE. and Kim, ST.. 2011. Anti-inflammatory effects of mushroom extracts in Korea. Journal of Mushroom Science and Production 9(2): 84–86.
- Oberwinker, F, Bauer, R. 1972. Genetic variation in a subterranean mammal. *Spalax chrenbergi*. Biochem. Genet. 7: 235–241.

- Papazian, HP. 1950. Physiology of the incompatibility factors in *Schizophyllum commune*. Botanical Gazette 112: 143-163.
- Peberdy, JF. and Fox, HM 1993. Protoplast technology and edible mushroom. In Genetics and Breeding edible mushroom, pp. 125-155. Edited by S. T. Chang, J. A. Buswell and P. G. Miles. USA : Gordon and Breach Science Publishers.
- Quintanilha, A. 1937. Contribution a letude genetique du phenomene de Buller. Compt. Rend, Acad. Sci. Paris. 205: 745-747.
- Raper, CA. 1978. Control of development by the incompatibility system in basidiomycetes. in Genetics and morphogenesis in the basidiomycetes". (ed. by Scwalb, M. N. and Miles, P. G.), Academic Press, New York pp3-30.
- Raper, JR. and Miles, PG. 1958. The genetics of *Schizophyllum commune*. Genetics 43: 530-546.
- Raper, CA., Raper, JR., and Miller, RE. 1972. Genetic analysis of the life cycle of *A. bisporus*. Mycologia 64: 1088-1117.
- Ryu, JS., Kim, MK, Chung, SK., Lee, HS., Kim, KJ, and Park, SJ. 2008. Breeding of Exportable king oyster mushroom. Gyeongnam Agricultural Research and Extension Service LS0116.
- 신평균, 유영복, 장갑열, 공원식, 박윤정. 2009. 미토콘드리아 다형성 분석에 의한 느타리버섯류의 품종판별 특이 프라이머 및 이의 용도. 특허청 특허출원. 10-2009-0124311.
- Sneath, RR. and Sokal, RR 1973. Numerical Taxonomy Freeman San Francisco. pp573.
- Tanesaka, E., Yamamoto, K., Matsuyama, Y., and Kinugawa, K. 1994. Nuclear selection and nuclear substitution in full compatible di-mon

- matings in *Pleurotus ostreatus*. *Mycoscience* 35: 239–242.
- Thomas, J., Leonard, SD., and Richard, FG. 1978. Intranuclear genetic transfer in vegetative dikaryons of *schizophyllum commune*: I. di-mon mating analysis. *Genetics* 88: 13–26.
- Toyomasu, T. and Zennyozu, A. 1981. On the application of isoenzyme electrophoresis to identification strains in *Lentinus edodes* (shiitake). *Mushroom Science* 11: 675–685.
- Wang, Y., Zeng, F., Hon, CC., Zhang, Y., and Leung, FCC. 2008. The mitochondrial genome of the Basidiomycete fungus *Pleurotus ostreatus*(oyster mushroom). *FEMS Microbiology Letter* 280: 34–41.
- Whitehouse, H. 1960. The incompatibility factors in *Pleurotus ostreatus*. *Science Paper of General Education, University of Tokyo* 10: 65–71.
- Williams, JG., Kubelik, AR, Livak, K.J., Rafalski, JA. and Tingery, SV. 1990 DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531–6535.
- Yoo, YB. 1994. Interorder Hybridization between *Pleurotus ostreatus* and *Elvingia applanata* by Protoplast Fusion. *The Korean Journal of Mycology* 22(1): 107–116.
- Yoo, YB., Kong, WS., Jang, KY., Kim, IY., Oh, SJ., and Jhune, CS. 2006. Characterization of a new commercial strain 'Gumbit' in *Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*. *Journal of Mushroom Science and Production* 4(3): 83–87.
- Yoo, YB., Kong, WS., Jang, KY., Kim, IY., Oh, SJ., and Jhune, CS. 2007. Characterization of a new commercial strain "Noeul" by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus salmoneostramineus*.

- Journal of Mushroom Science and Production 5(1): 7-12.
- Yoo, YB., Lee, SC., Jang, KY., Kong, WS, Oh, SJ. and Jhune, C. S. 2008. Characterization of a new variety 'Chung' by Intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus ostreatus*. Journal of Mushroom Science and Production 6(2): 47-51.
- Yoo, YB., Kim, EK., Kong, WS, Jang, KY. and Shin, PG. 2012. Characterization of a new commercial strain 'Guseol' by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus ostreatus*. Journal of Mushroom Science and Production 10(3): 109-114.
- Yoo, YB., Kong, WS., Jang, KY., Kim, IY., Oh, SJ. and Jhune, CS. 2007. Characterization of a new commercial strain 'Noeul' by intra-specific hyphal anastomosis in *Pleurotus salmoneostramineus*. Journal of Mushroom Science and Production 5(1): 7-12.
- You, CH., Goo, CD., Park, YS., Ko, IS, Kim, YS. 2010. Approach on the multi-functionality of mushroom. Journal of Mushroom Science and Production 8(1) :1-5.

ABSTRACTS

Characterization of Intra-specific Hybrids in *Pleurotus ostreatus* based on DNA Polymorphism

Kim, Eun-Jeong

Department of Food and Nutrition

Graduate school

Sungshin Women's University

The primary objective of the present study is the characterization of the hybrids of dikaryon-monokaryon (di-mono) and monokaryon-monokaryon (mono-mono) crosses in mushroom breeding. We employed this technique for developing superior species from *Pleurotus spp.* varieties with 56 di-mono intraspecific hybrids of 14 combinations and 85 mono-mono intraspecific hybrids of 7 combinations between six *Pleurotus ostreatus* strains and one *Pleurotus florida* strain. In this study, the results of analysis on hybridization rate, nuclear and mitochondrial DNA patterns, and colors and yields of fruit-bodies, are presented as follows.

In di-mono crosses, hybrids between *P. ostreatus* and *P. florida* showed 100% of crossability as seen in those between *P. ostreatus*

and *P. ostreatus* indicating that nuclei and mitochondria of a dikaryon migrated to a recipient. In the di-mono cross between *P. ostreatus* and *P. florida*, the nuclei of the hybrid strain showed the same or similar patterns compared to the donor dikaryons. 60.7% of the hybrid strain between *P. ostreatus* and *P. ostreatus* were similar to the donor dikaryons; 8.9% had similar patterns compared to the recipient monokaryon, while 1.8% showed combined patterns of both parents. The mitochondrial DNA patterns of the hybrid strain were composed of 75% dikaryon donors and 25% monokaryon recipients.

50% of the hybrid strain between *P. florida* and *P. ostreatus* showed the fruiting body whose colors were similar to those of the dikaryon *P. florida*, while the remaining 50% had half-and-half combined colors of both parents. In case of a monokaryon *P. florida*, 100% showed half-and-half combined colors of both parents but are more similar to the dikaryon. Therefore, the fruiting body color of *P. florida* tends to be generally dominant. 50% of the hybrid strain between dikaryons and monokaryons had the same fruiting body yields as seen in both parents: 5% were higher and 45% were lower than both parents.

The crossability between mono-mono crossing ranges between 50 and 93.75%. The results of the analysis on the nuclear DNA patterns of 85 hybrid strains of mono-mono crosses share the nuclei of both parents, but their genetic similarities were predominated by either parent. The hybrid strain between *P. florida* and *P. ostreatus* showed patterns more similar to *P. florida*, while the hybrid strain between *P. ostreatus* and *P. ostreatus* either had patterns predominated by either

parent strain or indicated half-and-half combined patterns of both parents. 82.4% of the hybrid strain showed mitochondrial DNA patterns predominated by either parent, while the remaining 17.6% had half-and-half combined patterns of both parents.

The fruiting body colors of the mono-mono crosses mostly had combined colors of both parents but showed the tendency of being more similar to that of either parent. 82% of the hybrid strain indicated similar fruiting body yields compared to both parent strains, while 0% was higher and 18% were lower than both parents.

The fruiting body yields (g) of the strain between dikaryons and monokaryons are generally greater than those of mono-mono crosses, and many of them developed better fruiting bodies than their parent strains.

The present study was able to find out and suggest superior hybrid species by identifying the nuclear and mitochondrial DNA patterns of hybrids between *Pleurotus* species as well as the characteristics of their fruiting bodies. This study expects that the advantages of the di-mono crossing are needs to be fully utilized in mushroom breeding and it is better to develop superior species of *Pleurotus* spp. strains together with the mono-mono crossing.