

I-SSR PCR을 이용한 한국의 11개 주요 산지에서 채집한 송이의 유전변이에 관한 연구

조덕현* · 이경준 · 한심희

서울대학교 농업생명과학대학 산림자원학과

A Study on the Genetic Variations of *Tricholoma matsutake* Collected from Eleven Sites of Korea Using I-SSR PCR

Duck-Hyun Cho*, Kyung-Joon Lee and Sim-Hee Han

Department of Forest Resources, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University

ABSTRACT: The objectives of this study was to identify genetic variations of *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. growing in different geographic ranges in South Korea. Mushrooms were collected during fruiting seasons from 1994 to 1997 from 11 major sites which included four sites (Bonghwa, Uljin, Goryoung, and Chungdo) in Kyongbuk Province, three sites (Changnyung, Hadong, and Hamyang) in Kyongnam Province, two sites (Yangyang and Inje) in Kangwon Province, one site (Goisan) in Choongbuk Province, and one site (Namwon) in Chonbuk Province. Two mushrooms each from three to eight shiros in each sites were collected. Genetic characteristics were analyzed by Inter-Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction (I-SSR PCR) method using six primers. With a total of 131 DNA bands identified, Nei's genetic distance and UPGMA tree were constructed. It was estimated that genetic variations between sites amounted to 12.9%, while 87.1% of total variation was explained by variations among individuals within sites. The cluster analysis indicated that the eleven major sites were clustered into four groups, group I (Yangyang, Hamyang, Inje, Hadong and Uljin), group II (Changnyung, Namwon and Chungdo), group III (Goryoung), and group IV (Bonghwa and Goisan). It is concluded that matsutake mushrooms in South Korea have a considerable degree of genetic variations between major sites.

KEYWORDS: *Tricholoma matsutake*, shiro, mushroom, I-SSR PCR, primer, genetic distance, UPGMA tree, Fst

송이(*Tricholoma matsutake*(S. Ito et Imai) Sing.)는 균근 버섯으로써 소나무과의 수목과 공생하면서 자실체가 발생하기 때문에 인공 재배가 불가능하다. 송이 자생지의 모양은 주로 화강암이나 화강편마암이다. 한국의 경우, 지리적으로 태백산맥과 소백산맥을 중심으로, 경상도와 강원도에 편중되어 있으며(이상선, 1991), 모래성분이 많은 땅에서 자란다. 송이의 세계적 분포는 만주지역, 한반도, 일본열도의 해발 약 0~2,000 m 지역이며, 소나무과 중에서 주로 *Pinus*속의 임간에 발생하고, *Tsuga*속, *Abies*속, *Picea*속 림에도 발생되나 *Larix*속 림에는 발생하지 않는다(Ogawa, 1976, 1977). 또한 일반적으로 20~90년생의 소나무림에 발생하며, 발생 최성기는 40~60년생이다(Ogawa, 1975).

송이에 관한 연구는 일본에서 처음 시작되었으며, 생리생태적 분야의 연구가 먼저 이루어졌다(Ogawa, 1978). 송이의 유전적 다양성에 관한 연구는 송이 균주의 동정이나 식별을 위하여 등위 효소를 이용하였는데, 밴드 수가 적어서 유용한 결과를 얻지 못하였다(Shinya와 Tsutomu, 1990). 국내에서는 강안석 등(1988)이 송이의 인공 재배법 개발을

위한 기초 자료를 얻고자 한국산과 일본산 송이를 대상으로 기내배양에서 얻어진 균사의 DNA 특성을 조사하였다. 그 밖에 송이산지에서 동일 지역 내와 지역간의 송이의 유전적 다양성과 그들의 연관 관계를 연구하고자 송이 DNA를 이용하여 RFLP를 수행한 결과, 모든 효소의 경우에서 거의 동일한 정도의 polymorphism을 나타내는 것이 확인되었으며, 송이의 유전적 다양성이 높았다고 보고하였다(허은지, 1995). 그 이외에 송이의 DNA 수준에서 이루어진 연구는 거의 없다.

본 연구는 국내 주요 송이산지에서 생산되는 송이의 개체간 그리고 지역간의 유전적 변이와 다양성을 구명하기 위하여 I-SSR PCR 기법을 사용하여 DNA의 특성을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료

송이(*Tricholoma matsutake*)는 70년대 전국의 약 60 여 곳의 산지에서 생산되었으나, 90년대에는 전국의 약 40개 지역에서 생산되고 있다(조덕현과 이경준, 1995). 그 중에

*Corresponding author

Table 1. A list of 11 major collection sites of *Tricholoma matsutake* and the number of fairy rings and of individual mushrooms sampled for DNA study

Location (Province)	Site Name	No of fairy rings selected	No of individual mushrooms sampled
Kyongsangbukdo	Bongwaha	8	15
	Uljin	5	10
	Goryung	3	6
	Chungdo	6	11
Kyongsangnamdo	Changnyung	4	8
	Hadong	3	6
	Hamyang	5	10
Kangwondo	Yangyang	5	
	Inje	4	
Choongchungbukdo	Goisan	3	6
Chunlabukdo	Namwon	4	7
Total		50	96

서 주요 송이생산지로 널리 알려진 지역을 임의로 선정하여 대상지로 정하였다. 경상북도의 봉화, 울진, 고령, 청도 등 4지역, 경상남도의 창녕, 하동, 함양의 3지역, 강원도의 양양, 인제의 2지역, 충청북도의 괴산, 전라북도의 남원 1지역을 포함하여, 총 11개 지역을 선정하였다.

한국에서 송이의 주 발생시기는 9월 초부터 10월 말까지이다(조덕현과 이경준, 1995). 본 실험에 사용된 송이는 1994년부터 1997년까지 매년 9월에서 10월말까지 4년간 채취하였다. 전국 11개 지역에서 각 지역마다 최고 8개의 균환을 선정하고, 각 균환에서 2개의 자실체를 채취하였다. 4년간 지역별로 6개에서 15개까지 개체를 확보하여 총 96개체를 DNA 분석에 이용하였다(Table 1). 채취된 송이 시료는 비닐팩을 사용하여 밀봉하고, 송이 저장용 얼음을 이용하여 4°C 이하에서 냉장 저장하여 운반한 후, -70°C 냉동고에 보관하였다.

DNA 분리

멸균된 막자사발에 집단별로 채집하여 냉동 보관된 송이 자실체를 개체별로 넣고, Edward 등(1992)과 Goodwin과 Lee(1993)의 방법을 이용하여 total genomic DNA를 분리하였다. 약 5g의 시료를 막자사발에 넣은 후, 소량의 연마제(alumina desiccant)와 액체 질소를 넣어 마쇄하였다. 시료 분말 약 700 μ l를 1.5 ml Eppendorf tube에 넣고 DNA extraction buffer(100 mM Tris-HCl, pH 7.5, 50 mM EDTA, 1% SDS, 10 mM mercaptoethanol, and 0.1% polyvinyl pyrrolidone(M.W360,000))와 5 mM KCl를 각각 500 μ l씩 첨가하여, 섞어준 후에 65°C에서 30분간 중탕한 후, 4°C의 수조에서 10분간 정치하였다. 15,000 g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 분리하고, 1.2배의 chloroform : isoamylalcohol (24 : 1 v/v)용액을 첨가하여 잘 섞어준 다음에 15,000 g에

서 15분간 원심분리하였다. 상등액을 새 튜브에 옮기고, 100 μ l의 10M ammonium acetate와 600 μ l의 cold isopropanol을 첨가하여 1시간 동안 냉동 정치하였다. 원심분리하여 DNA pellet을 얻은 후, 대기 중에서 건조시켰다. 1x TE buffer에 재 용해시켜 RNase를 처리하고, chloroform 추출과정과 isopropanol의 pelleting을 실시하였다. 최종적으로 100 μ l의 멸균수에 녹인 후 UV-spectrophotometer를 사용하여 260 nm/280 nm에서 흡광도 비율과 DNA sample 농도를 측정 한 후, 25 ng/ μ l 농도로 희석하여 PCR 실험에 이용하였다.

I-SSR PCR

I-SSR PCR에서는 일정한 실험조건의 유지가 재현성 있는 결과를 나타내며, 이러한 실험조건에는 주로 template DNA의 농도, MgCl₂ 농도 및 PCR cycle 조건이 크게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Tsumura 등, 1996). 본 연구에서 송이 자실체의 PCR 조건은 20 μ l의 반응용액에 1 Unit Taq DNA polymerase, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 40 ng의 primer, 0.5 ng template DNA, 0.005% BSA (bovine serum albumin), 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.8 온도 25°C)를 첨가하고 이를 MJ사 PTC-200 PCR 기계를 사용, 94°C/30초, 52°C/30초, 72°C/90초의 과정을 45회 반복 후 72°C/10분간 최종 extension시켜 DNA 증폭을 완료한 후, 2% agarose gel에서 전기영동을 하였다.

이 연구에서 사용한 primer는 University of British Columbia에서 개발한 Set 9이며, 염기 배열 순서는 Table 3에 나타내었다.

결과분석

0.5 μ l/ml ethidium bromide로 15분간 염색하고 증류수에서 20분간 염색액을 제거한 다음, UV transilluminator상에서 polaroid film 667을 이용하여 각각의 나타난 밴드들을 촬영하였다. 각각의 primer에서 나온 증폭된 DNA 밴드의 유무를 1과 0으로 코드화 하였다.

PHYLP(ver 3.5c : Felsenstein 1993) computer program을 이용하여 Neighbor-Joining Tree와 UPGMA(unweighted pair-group method using arithmetic average)로 계통도를 작성하였다.

$$D = -\log I$$

여기서 D는 Nei's genetic distance, I는 $J_{XY}/\sqrt{J_X J_Y}$ 이다. J_X 는 X 집단의 i번째 allele의 빈도(= $\sum x_i^2$), J_Y 는 Y 집단의 i번째 allele의 빈도(= $\sum y_i^2$), J_{XY} 는 $\sum x_i y_i$ 이다.

송이 천연집단의 유전변이 분석은 Excoffler 등(1992)과 Huff 등(1993)이 고안한 AMOVA(analysis of molecular variance)를 이용하여 실시하였다. AMOVA 분석은 Cockerham (1973)과 Barker 등(1986)이 제안한 '세 수준에서의 분산분석'을 응용한 것으로 진화적으로 동일한 과정을 겪은 유전자로 구성된 개체들이 유전적 분화를 보이기 위해서 지역

Table 2. General design for hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA)

Source of variance	d.f.	MSD	EMS
Among populations within regions	$\sum_{g=1}^G I_g - G$	MSD/(AP/WG)	$\sigma_c^2 + n\sigma_s^2$
Among individuals within populations	$N - \sum_{g=1}^G I_g$	MSD/(WP)	$\sigma 2c$
Total	N-1		

G : number of regions, I_g : number of populations at gth region, N : total number of individuals, AP: among populations, WG : within regions, WP: within populations.

적으로 뚜렷이 구분되는 몇 개의 집단을 합쳐 집단의 상위개념인 지역(region)을 선정하고, 동일한 지역내에 분포하는 집단간의 구성과 다른 지역에 분포하는 집단간의 구성은 다른 양상을 보일 것이라고 가정하였다. AMOVA는 이러한 가정에서 전체 개체간의 유전적 거리 행렬로 표현하고, 이 유전적 거리 값들을 개체, 집단과 지역으로 나누어 분산을 구한 지분분석법(Nested design)에 기초한 분석이다(Table 2).

집단간 pairwise distance는 RAPDistance Computer program (Armstrong 등, 1994)을 이용하여 집단간 평균 거리의 행렬을 구하였다.

$$E = (E_{xy}^2) = n \left[1 - \frac{2n_{xy}}{2n} \right]$$

여기서 n은 polymorphic 위치의 총 수이며, 개체간 밴드 차이의 합으로 계산된다.

결과 및 고찰

I-SSR PCR 분석

Fig. 1은 청도 지역에서 채집한 8개체의 자실체에서 primer 835를 사용하여 얻어진 DNA를 수록하였다. 시료의 DNA 밴드가 95% 이상 일률적으로 나타나는 mono 상태가 거의 없고, 95% 이하로 나타나는 poly 상태가 전반적인 경향을 보였다. 이것은 같은 지역 내에서 채취한 송이임에도 불구하고, DNA band의 특성이 틀리게 나타나 동일 지역 내에서도 개체간 다른 DNA band의 경향을 알 수 있다.

또한, 6개의 primer를 사용하여 I-SSR PCR분석을 수행한 결과, 전반적인 경향은 Table 3에서 알 수 있듯이 총 131개의 DNA band가 재현성 있게 나타나 이를 변이 분석에 사용하였으며, 그 결과 mono 상태가 4.2%~33.3%로 66.7%~95.8%의 poly 상태보다 훨씬 낮게 나타났다. Fig. 1은 청도의 DNA band로서 poly 8개와 mono 1개의 비율로 타 지역도 거의 유사하게 나타났다. 그리고 변이분석에 사용한 primer 별 DNA band의 개수 및 크기 등을 나타내면 다음과 같다.

Table 3. Primer sequences and number of bands identified by I-SSR PCR

primer	sequence	131bands			
		mono		poly	
		No of bands	%	No of bands	%
807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	1	4.2	23	95.8
808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	2	9.5	19	90.5
809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	5	33.3	15	66.7
834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	3	14.3	18	85.7
835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	2	9.5	19	90.5
836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	6	25	18	75

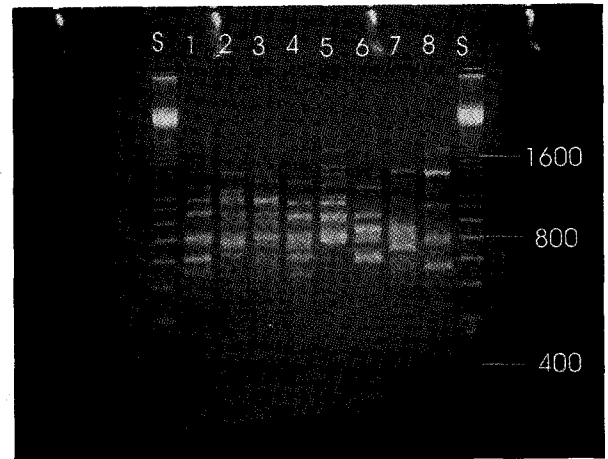


Fig. 1. I-SSR PCR band pattern of *Tricholoma matsutake* from Chungdo Area with primer 835. Lane S : size marker 100 base-pair ladder (Amersham Pharmacia Biotech.), Lane 1~8 : DNA bands of eight individual mushrooms of *T. matsutake* from Chungdo Area.

DNA marker를 기준으로 한 송이 집단의 유전적 유연 관계

송이의 산지간의 유연관계를 살펴보기 위하여 Nei(1978)의 유전적 거리(genetic distance)를 이용하여 UPGMA tree를 작성한 결과 Fig. 2과 같이 나타났으며, 11개 집단의 유전적 거리는 Nei 공식(Nei, 1978)에 따라 Neighbor-Joining/UPGMA method를 이용하여 구하고, 유집 분석(cluster analysis)을 수행하여 Table 4와 같이 나타났다. 11개 송이 산지는 크게 4개의 그룹으로 나눌 수 있었다. 제 I 그룹은 울진, 함양, 하동, 인제, 양양이고, 제 II 그룹은 남원, 청도, 창녕이며, 제 III 그룹은 고령이고, 제 IV 그룹은 봉화, 괴산이었다. 그러나 남원, 울진의 경우는 분리되어 나타났다.

Table 4에서 나타난 유전적 거리는 인제에서 고령까지의 유전적 거리가 0.2428로 멀었으며, 실제로 지리적 거리도 약 200 km 정도 떨어져 있는 것을 알 수 있다. 반면에 창녕과 청도는 유전적 거리도 0.0418로 가장 가까운 뿐만 아니라 실제의 지리적 거리도 매우 가까운 약 30 km 이내에 들어있는 것을 알 수 있다. 그러나 남원과 울진의 경우는 0.0731 정도의 가까운 유전적 거리를 보였지만, 실제의 거

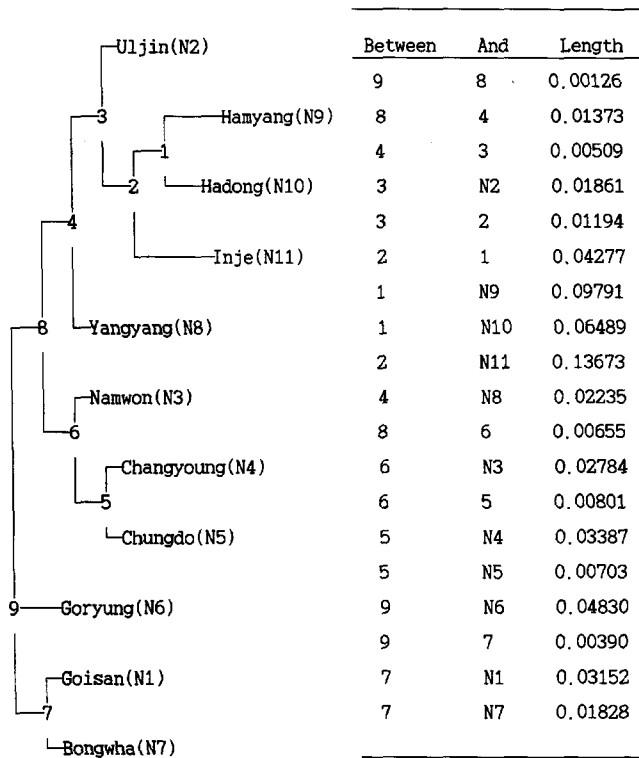


Fig. 2. UPGMA tree of *T. matsutake* populations.

리는 약 150 km 정도 떨어져 있고, 그 사이에는 태백산맥과 지리산이 가로막고 있는 것을 알 수 있다. 또한, 인제-함양이 0.3279로 유전적 거리가 가장 멀고 지리적 거리도 약 150 km 정도 떨어져 있다. 그러나, 0.2805의 먼 유전적 거리를 나타낸 창녕-함양의 경우는 반대로 지리적 거리는 50 km 내외로 가까운 거리를 보였다. 유전적 거리가 가장 가까운 집단은 남원-청도로서 0.0338이었지만 지리적 거리는 약 100 km 떨어져 있는 것을 알 수 있다. 이 결과로 보았을 때, 국내 11개 송이 산지간의 지리적 거리와 유전적 거리와는 일정한 양상을 보이지 않았다.

연구 결과를 종합해 보면 일반적으로 고등식물의 경우,

조사된 유전적 거리와 지리적 거리간의 상관관계는 다른 연구에서도 통계적으로 인정되지 않고 있다(손두식 등, 1989; 김진수와 이석우, 1992; 김진수 등, 1993). 일반적인 집단 유전학적 측면에서 집단간의 유전적 교류(gene flow)가 활발할 경우, 전체 유전자 급원(gene pool)내의 유전변이는 유전적 교류에 의해 일정한 양상, 즉 점진적인 유전변이 양상을 띠게 되므로, 유전적 거리와 지리적 거리간에는 높은 상관관계를 나타내는 것이 이제까지의 연구 결과이다. 그러나 이러한 자료는 동위효소 분석이나 기타 표현형적 자료에 의거한 것이고, 최근 DNA 분석 자료를 보면 유전적 거리와 지리적 거리간에는 전혀 관계가 없는 것으로 보고되고 있다. 집단유전학적 측면에서도 이러한 경향이 DNA marker 자체의 속성에 의해 기인된다고 보고 있는데, 즉 DNA marker는 selection에 대해 다른 genetic marker보다도 중립적이므로, 그 분석 결과는 지역적으로 점진적인 유전변이 분포 양상을 보이지 않는다는 것이다. 따라서 본 연구 결과에서 유전적 거리와 지역적 거리간에 일정한 양상이 없는 것으로 나온 이유는 이 같은 DNA marker의 속성을 대별한다고 볼 수 있겠다. 특히 송이 mating system과 생활사 등을 고려할 때 국내 지역간의 유전적 교류가 극히 제한되어 있어 지역적으로 거리가 멀수록 유전적 거리가 멀어야만 하는데도 불구하고 오히려 가깝게 나타나고 있는 것은 사용된 DNA marker 자체의 속성 때문이라고 할 수 있겠다.

송이의 유전적 다양성

송이의 각 산지별 유전변이를 조사한 결과, 지역 구분없이 분석했을 때, 집단간 차이에서 기인하는 변이량은 12.85%였으며, 집단 내 개체간 차이에 의해서 나타나는 변이량은 87.15%로 나타났다(Table 5). Fst 값은 집단간의 유전적 차이를 나타내는 수치인데, 일반적으로 집단유전학에서는 이 수치가 0.05 이하일 경우에는 집단간의 유전적 분화가 매우 작게 일어난 것으로 보고 있으며, 0.05~0.15의 범위에서는 “moderate differentiation” 그리고 0.15~0.25의 범위에서

Table 4. Distances between pairs of 11 populations of *Tricholoma matsutake* using Modified Coancestry coefficient ($-\ln[1 - \Phi_{ST}] = t/2N$) (Felsenstein, 1993)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A	0.0000										
B	0.0639	0.0000									
C	0.0873	0.0731	0.0000								
D	0.0772	0.0825	0.0826	0.0000							
E	0.0544	0.0508	0.0338	0.0418	0.0000						
F	0.0863	0.1208	0.0753	0.1131	0.0859	0.0000					
G	0.0511	0.0595	0.0556	0.0704	0.0539	0.0742	0.0000				
H	0.0820	0.0494	0.0794	0.0787	0.0585	0.0873	0.0572	0.0000			
I	0.2138	0.1931	0.2413	0.2805	0.2317	0.1968	0.2129	0.2029	0.0000		
J	0.1840	0.1675	0.2101	0.2057	0.1769	0.1655	0.1949	0.1496	0.1776	0.0000	
K	0.2307	0.1710	0.2155	0.2566	0.1978	0.2428	0.2309	0.1913	0.3279	0.2773	0.0000

*A: Goisan, B: Uljin, C: Namwon, D: Changyoung, E: Chungdo, F: Goryung, G: Bongwha H: Yangyang, I: Hamyang, J: Hadong, and K: Inje.

Table 5. Analysis of molecular variance for 131 individuals sampled from 11 populations of *Tricholoma matsutake* using 96 markers

Source of variation	d.f	SS	MS	Variance component	% total	p-value
Among populations	10	6.9888	0.699	0.045197366	12.85	<0.0099
Among individuals within populations	85	26.0458	0.306	0.306420871	87.15	

서는 “great differentiation”, 0.25 이상일 경우에는 지역 집단간의 유전자교류가 극히 제한되어 매우 높은 수준의 유전적 분화가 일어났음을 의미한다(Snyder 등, 1985). 그러나 이러한 자료는 동위효소 분석에서 얻어진 수치일 뿐 보다 변이량이 높게 보고되고 있는 DNA 분석에서는 적용이 어렵다고 할 수 있다. 소나무의 경우(김용률, 1995) RAPD 분석 결과를 보면, Fst 값이 0.13으로 보고된 바 있는데, 소나무가 화분 등에 의해 교배되어 비교적 집단간 유전적 교류가 높은 데도 불구하고 DNA 분석 결과에서는 높은 수준의 유전적 분화수치를 보이고 있는 것은 단순히 Fst 값만으로는 특히, Snyder 등(1985)이 제시한 기준으로는 DNA 분석에 의한 유전적 분화를 평가하는 것이 어렵다는 것을 의미한다. 따라서 송이의 유전적 분화를 Fst 측면에서 판단하기 위해서는 비슷한 생물종 특히 유전적으로 근연 관계에 있는 생물종을 대상으로 한 DNA 분석 결과를 기준으로 하여 판단하는 것이 바람직하며, Korpelainen(1995)의 *Pteridium aquilinum*의 0.37 수치나 Higberg의 *Fomitopsis pinicola*(Schwartz Fr.) Karst 자료를 비교하는 것이 옳다고 생각한다. 결국 이들 연구 결과를 비교할 때, 본 연구에서 얻어진 Fst 값은 0.13으로 11개 송이산지의 유전적 분화는 큰 것이 아니라고 생각된다. 이것은 진화적으로 볼 때 지역적 품종을 만들 만큼의 유전적 고립(genetic isolation)이나 Genetic drift 또는 지역 환경의 극심한 차이로 인한 natural selection이 가해지지 않아 11개 산지의 송이집단간의 DNA상에서의 극심한 변화가 없었다는 것을 의미한다. 따라서 본 연구에서 얻어진 송이의 모양 등 표현형적 관점에서의 차이는 오히려 환경적 요인을 더 많이 반영하고 있다고 할 수 있다. 물론 보다 정확한 해석을 위해 더욱 많은 marker를 사용하여 유전변이 분석을 수행하는 것이 필요하다.

적 요

본 연구는 국내 주요 송이 산지에서 생산되는 송이(*Tricholoma matsutake*(S. Ito et Imai) Sing)의 개체간, 그리고 지역간 유전적 다양성을 구명하기 위하여 실시하였다. 경상북도의 봉화, 울진, 고령, 청도의 4개 지역, 경상남도의 창녕, 하동, 함양의 3개 지역, 강원도의 양양, 인제의 2개 지역, 충청북도의 괴산, 전라북도의 남원을 포함하여 총 11개의 송이 산지를 대상으로 1994년부터 1997년까지 산지별로 3~8개의 균환에서, 그리고 각 균환마다 2개의 자실체를 채집하여 6개의 primer를 이용하여 Inter Simple Sequence Repeat Polymerase Chain Reaction(I-SSR PCR)법을 이용하여 자실체의 유전적 특성을 조사하였다. 그 결

과 총 131개의 DNA band가 재현성 있게 나타났다. 또한 산지간의 유연관계를 살펴보기 위하여 Nei의 genetic distance를 이용하여 UPGMA tree를 작성하였다.

I-SSR PCR법을 이용하여 DNA를 분석한 결과, 산지간의 유전적 변이는 12.9%에 불과한 반면 산지 내 개체간 변이가 87.1%로 나타났다. 유집 분석 결과는 11개 송이산지를 제 I 그룹(양양, 함양, 인제, 하동, 울진), 제 II 그룹(남원, 창녕, 청도), 제 III 그룹(고령), 제 IV 그룹(봉화, 괴산)의 4개 그룹으로 분류하였다. 송이의 유전적 다양성, 집단간의 유전적 차이를 나타내는 수치인 Fst 값이 0.13이므로 집단간의 유전적 변이를 어느 정도 나타낸다고 결론짓는다.

참고문헌

- 강안석, 김양섭, 차동렬. 1988. 송이 인공재배에 관한 연구. 농촌진흥청 시험연구보고. pp 623-628.
- 김용률. 1995. RAPD 분석에 의한 소나무 10개 천연집단의 유전 변이 연구. 서울대학교 농학박사 학위 논문. p 115.
- 김진수, 이석우. 1992. 강원, 경북지역 소나무 천연집단의 유전적 구조. 한국육종학회지 24(1): 48~60.
- 김진수, 이석우, 황재우, 권기원. 1993. 금강소나무-유전적으로 별개의 품종으로 인정될 수 있는가?-동위효소 분석결과에 의한 관찰. 한국임학회지 82: 166-175.
- 김창호, 정운수. 1977. 송이의 인공재배에 있어서 발생조건에 관한 연구. 동국대학교 논문집 16: 305-326.
- 손두식, 홍성천, 여진기. 1989. 경북지방 소나무 및 곰솔집단의 동위효소에 의한 유전변이. 한국임학회지 78: 345-359.
- 이상선. 1991. 경상도지역의 소나무 균락에서 발견된 송이의 생물학. 한국균학회지 19(3): 203-213.
- 조덕현, 이경준. 1995. 29개 지역의 10년간 송이 발생량의 기상 인자와 송이발생량의 상관관계. 한국임학회지 84: 277-285.
- 허은지. 1995. Genetic Variation in Ribosomal RNA Gene Cluster in *Tricholoma matsutake*. 경북대학교 석사학위논문. p 65.
- Armstrong, J. A., Gibbs, A., Peakall, R. and Weiller, G. 1994. The RAPDistance Package (ver. 1.04). Distributed by the author. Australian National Univ., Canberra, Australia.
- Baker, J., East, P. and Weir, B. 1986. Temporal and microgeographic variation in allozyme frequencies in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 112: 577-611.
- Cockerham, C. 1973. Analysis of gene frequencies. *Genetics* 74: 679-700.
- Edwards, A., Johnston, C. and Thompson, C. 1992. A simple and rapid method for preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acid Research* 19: 1349.
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among

- DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**: 479-491.
- Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Dept. of Genetics. Univ. Washington, Seattle.
- Goodwin and Lee. 1993. *Theoretical Applied Genetics* **86**: 927-934.
- Huff, D., Peakall, R. and Smouse, P. 1993. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.). *Theoretical Applied Genetics* **86**: 927-934.
- Korpelainen, H. 1995. Mating system and distribution of enzyme genetic variation in bracken (*Pteridium aquilinum*). *Can. J. Bot.* **73**(10): 1611-1617.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 593-590.
- Ogawa, M. 1975. Microbial ecology of mycorrhizal fungus, *T. matsutake* (Ito et Imai) Sing. in pine forest. II. Mycorrhiza formed by *T. matsutake*. *Bull. Gov. For. Exp. Sta.*, (Tokyo) **278**: 21-49.
- Ogawa, M. 1976. Microbial ecology of 'Shiro' in *Tricholoma matsutake* (Ito et Imai) Sing. and its allied species. III. *Tricholoma matsutake* in *Picea glehnii* and *Picea glehnii-Abies sachalinensis* forests. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **17**: 188-198.
- Ogawa, M. 1977. Microbial ecology of mycorrhizal fungus - *Tricholoma matsutake* (Ito et Imai) Sing. in pine forest III. Fungal flora in Shiro soil and on the mycorrhiza. *Bull. Gov. For. Exp. Sta.* **293**: 105-170.
- Ogawa, M. 1978. Biology of Matustake Mushroom. Tsukiji Shoken Pub. Co. Tokyo.
- Shinya, E. and Tsutomu, M. 1990. Analysis of isozymes of *Tricholoma matsutake* by polyacrylamide gel electrophoresis. 日本菌學會 第 35回 記念大會 講演要旨集 p 31
- Snyder, L. A., Freifelder, D. and Hartl, D. L. 1985. General Genetics. Jones and Bartlet Publishers, Inc. p 515.
- Tsumura, Y., Ohba, K. and Strauss, S. H. 1996. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). *Theor. Appl. Genet.* **92**: 40-45.
- Williams, J., Hanafey, M., Rafalski, J. and Tingey, S. 1992. Genetic analysis using RAPD markers. *Meth. Enzy.* **162**: 704-740.