

Multiplex SSR마커를 이용한 느타리(*Pleurotus ostreatus*) 품종 판별

최종인¹ · 정화진² · 나경숙² · 오민지³ · 김민근⁴ · 류재산^{2*}

¹경기도농업기술원 버섯연구소, ²한국농수산대학 버섯학과, ³농촌진흥청 버섯과, ⁴경남농업기술원

Identification of *Pleurotus ostreatus* cultivars with the application of multiplex-simple sequence repeat markers

Jong In Choi¹, Hwa Jin Jung², Kyeong sook Na², Min-Ji Oh³, Min-Keun Kim⁴, and Jae-San Ryu^{2*}

¹Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services, 283-33, Byeongjeomjungang-ro, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, Korea

²Department of mushroom science, Korea National college of Agriculture and fisheries, Jeonju 54874 Korea.

³Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Chungbuk Eumseong 27709, Korea

⁴Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-360, Korea

ABSTRACT: To develop a method for the differentiation of *Pleurotus ostratus* cultivars, the multiplex-simple sequence repeat (SSR) primer set based on the SSRs obtained from whole genomic DNA sequence analysis was designed with two polymerase chain reaction (PCR) primer sets. These SSR primer sets were employed to distinguish 10 cultivars and strains. Twenty polymorphic markers were selected based on the genotyping results. PCR with each primer produced 1–4 distinct bands ranging in size from 150 to 350 bp, which was within the expected range. However, since a sole SSR marker was unable to detect polymorphisms in every cultivar, multiplex PCRs with composite PCR primer sets were employed. The multiplex primer, “166+115,” completely discriminated 12 cultivars and strains with 40 loci, which were 12 more than the simple arithmetic addition of each locus of the primers 115 and 166. These results might be useful to provide an efficient method for the differentiation of *P. ostreatus* cultivars with separate PCRs for the quality control of spawn and protection of breeders' rights.

KEYWORDS: Cultivar, Microsatellite, Molecular marker, *Pleurotus ostreatus*, Simple sequence repeat (SSR)

느타리는 주름버섯목 느타리과에 속하는 백색부후균으로 전세계 온대지역과 아열대지역에 걸쳐 자생한다(Chang

et al., 1989). 영양학적으로 높은 단백질 함량(Sharma and Madan 1993), 뛰어난 맛과 향기(Mandeel *et al.*, 2005)를 보이고 고혈압, 고혈당, 고지혈증 예방과 항암효과 등의 기능성(Patel and Goyal 2012) 효과가 보고되었다. 재배가 쉽고 기질의 범위가 넓어 전세계적으로 재배되고 있어, 양송이 다음으로 생산량이 많고(Sánchez 2010), 국내 생산량도 48,327톤으로 생산량 1위를 기록하였다(2019 특용작물생산실적, 농림축산식품부 <https://kass.mafra.go.kr/>).

소비자의 관심과 생산량 증가로 해마다 새로운 느타리 품종이 육종되어, 품종보호권이 설정된 품종이 46개에 이르고 있고(2020, 국립종자원 <http://www.seed.go.kr/>), 춘추2호, 김제9호, 수한1호처럼 널리 재배됨에도 품종보호권이 만료되거나 등록되지 않을 상태로 유통되는 품종도 있다. 품종에 따라 버섯의 외형이 차이 나는 경우가 있는 반면, 일부 품종은 재배특성이 다름에도 표현형적인 차이가 적어서 품종구분이 어려운 경우도 있다(Park *et al.*,

J. Mushrooms 2021 March, 19(1):76-80
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2021.19.1.76>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

Jong In Choi(Researcher), Hwa Jin Jung(Researcher), Kyeong sook Na(Researcher), Min-Ji Oh(Researcher), Min-Keun Kim(Researcher), Jae-San Ryu(Professor)

*Corresponding author

E-mail : coolmush88@gmail.com

Tel : +82-55-254-1353

Received February 26, 2021

Revised March 18, 2021

Accepted March 26, 2021

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2019). 수한1호, 화성2호, 화성2호, 김제9호, 흑타리, 곤지7호, 춘추2호 등이 주요 느타리 품종으로 알려져 있는데 (Choi *et al.*, 2015), 이들 품종을 간이적으로 판별하는 방법으로 세포불화합성을 이용한 대치배양법이 있지만 근연종간에는 정밀한 판별은 제한된다(Worrall 1997). 특히, 화성2호, 김제9호, 수한1호는 맛색, 조직감, 백색의 대에 의해 소비자들에게 인기가 높으나 형태가 비슷하여 구분이 쉽지 않다(Park *et al.*, 2019). 이들의 본질적인 표현형적 특징과 환경과 생육시기에 따른 차이가 많지 않을 수 있어서 신뢰성 있는 품종판별 방법이 필요하다. 품종마다 재배법상 최적의 환경이 따로 있으므로 종균의 혼종으로 인한 환경의 부조화는 심각한 경제적 손실로 이어질 수 있다. 이는 균사상태에서 차이가 없음으로 인한 관리의 부주의에 의해 야기될 수 있다(Park *et al.*, 2019).

정밀한 품종판별은 품종보호권의 보호 측면에서도 중요하다. 이러한 이유로 인해 쉽고, 빠르고, 경제적인 느타리 품종의 판별이 요구된다. Random amplified polymorphic DNA(RAPD)나 미토콘드리아 유전체 분석에 의한 품종특이적인 마커, 버섯품종의 유전체 비교나 internal transcribed spacer (ITS) 서열 분석에 의한 계통학적 분석이 품종판별에 이용되어 왔다(Choi *et al.*, 2007; Gonzalez and Labarere 2000; Seo *et al.*, 2008; Seo *et al.*, 2011). 그러나 이러한 방법은 품종별 특이마커를 정보를 제공한다기 보다 품종의 대략적인 그룹화나 부모친의 동정에 활용되는 수준이었다. 느타리 품종별 판별 마커는, 품종 9개(곤지7호, 고솔, 수한1호, 원형1호, 춘추2호, 한라2호, 흑타리, 김제9호, 화성2호)에 적용할 수 있는 분자마커가 보고되었는데 (Park *et al.*, 2019), 근래 육종된 품종은 기존의 육성계통과 배우자를 공유하거나 감수분열 일핵균사를 활용하는 경우가 많아(Choi *et al.*, 2013; Choi *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2018; Oh *et al.*, 2017) 기존에 개발된 분자마커로 판

별이 어려운 경우가 있다.

Simple sequence repeat(SSR)은 초위성체(microsatellite)라고도 불리며 버섯을 포함한 진핵생물의 유전체내 고르고 풍부하게 분포하며 계통간 다형화 정도도 높다. SSR에 기반한 분자마커는 빠르고, 경제적이며 정확하다는 장점으로 인하여 많은 주목을 받고 있다(Smith and Devey, 1994).

본 연구에서는 느타리 주요품종의 어버이 일핵균사로부터 유래한 SSR서열을 기반으로 하여 최근 육종한 새로운 느타리 품종판별이 가능한 분자마커를 개발하고자 하였다.

최근 국내에서 육성하거나 유통되고 있는 느타리 품종 12종을 경기도농업기술원과 경남농업기술원에서 분양받아 사용하였다(Table 1). 배양은 MCM(mushroom complete medium; 0.2% peptone, 0.2% yeast extract, 2.0% glucose, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.05% K₂HPO₄, and 0.046% KH₂PO₄) 배지에 접종하여 25°C에서 증식시켰고, 필요 시 4°C에 저장하였다. 장기보존을 위하여 균사가 만연한 MCM 배지를 0.5 × 0.5 cm로 잘라서 살균한 mineral oil(Sigma, USA)에 넣어 4°C에 보관하였다. 균사매트를 얻기 위하여 각 품종의 균사가 만연된 MCM 배지를 1 × 1 cm의 크기의 절편으로 자른 5개의 조각을 250 ml 삼각플라스크에 담겨 있는 100 ml의 MCM 배지에 접종하여 25°C에서 120 rpm으로 약 10일 간 배양하였다. 살균한 Whatman No41 여과지를 통해 균사를 거른 후 살균 증류수로 2-3회 세척하여 동결하였다. 균사매트를 동결건조기(Ilshin, Korea)에서 3일간 건조시킨 후 막자사발에서 분쇄하고 5°C 보관 하면서 사용하였다.

PCR용 gDNA는 GenEx plant plus! (GeneAll, Korea)를 이용하여 제공된 manual에 따라 분리하고 최종적으로 ddH₂O에 녹여서 Denovix DS-11 spectrophotometer (Denovix Inc., USA)로 정량 후 5 ng/ul로 희석하여 다음

Table 1. List of *Pleurotus* strains used in this study

Cultivar	Source ¹⁾	Parents(combination)	Reference
수한1호	KNCAF_PO9		Yoo <i>et al.</i> , 2009
흑타리	CAF PO60	MT07156-97 × P11056	Choi <i>et al.</i> , 2015
곤지7호	KNCAF_PO6	MT07156-97 × NO-8	Choi <i>et al.</i> , 2013
곤지1호	CAF PO151		
화성2호	CAF PO66	수한1호, 화성1호	Lee <i>et al.</i> , 2011
화성6호	CAF PO131	화성1호, 곤지7호	
화성7호	CAF PO132	화성6호, 흑타리	
춘추2호	KNCAF_PO4		Yoo <i>et al.</i> , 2009
치약3호	CAF PO50		Yoo <i>et al.</i> , 2009
농민59호	CAF PO124	수한1호, 흑백느타리	
원형1호	KNCAF_PO2		
화성5호	CAF PO66	화성1호, PSC109	Lee <i>et al.</i> , 2013

¹⁾CAF(KNCAF) : (Korea National) College of Agriculture and Fisheries fungi collection.

Table 2. SSR markers used in this study

Name	Primer sequence (5' - 3') ¹⁾	Repeat motif	No. of PCR bands	Locus size range (bp)	Expected size (bp)
115(5-22F)	TAGCACCCTAACAGCACAAAAC	(TCGCG)9	5	ca. 200-350	309
115(5-22R)	CCAGTGTTCGGGATAAAGAATA				
166(7-29F)	AGTAGCTCTAGTCGCATAACGCTCT	(GAATATC)5	35	ca. 200-320	339
166(7-29R)	ATATACCGAGCTGTGGCTT				

¹⁾Sequences have been registered as a Korean Patent # 10-2019-0111737.

실험에 사용하였다. 유전체 해독용 gDNA는 Solg™ Genomic DNA Prep Kit(Solgent, Korea)을 이용하여 제조사 매뉴얼에 맞추어 분리하였다.

느타리 주요품종 곤지7호와 흑타리의 어버이 일핵 군사종의 하나인 MT07156-97(Choi *et al.*, 2013; Choi *et al.*, 2015)의 gNDA 서열의 해독은 이전의 보고서(Park *et al.*, 2016)과 동일한 방법으로 수행하였고, de novo assembly는 Platanus V 1.2.4 (<http://platanus.bio.titech.ac.jp/>)을 사용하였다. 서열에서 SSR의 추출은 Phyzen(<http://phyzen.com/kr/main.jsp>)의 In-house pipe line을 이용하였는데, 조건은 P1, ≥20; P2, ≥10; P3, ≥7; P4, ≥5; P5, ≥4; P6, ≥4; P7, ≥4; P8, ≥3; P9, ≥3; P10, ≥3; interruptions (max_difference_between_2_SSRs), 20이다. 이후 SSR 서열과 이들을 증폭할 프라이머 서열도 앞서 보고(Park *et al.*, 2016)와 같이 수행하여 확보하였다. 총 확보한 SSR의 갯수는 1,108개 였는데, 이 중 *in silico* 분석을 통하여 단일한 예측한 밴드가 나오는 271개를 선발하였다. 먼저 주요품종 3개(수한1호, 흑타리, 곤지7호)를 대상으로 PCR을 수행하여 다형화를 보인 프라이머만 선발 후 10개 품종에 확대 적용하였고, 이후 12개 품종에 특이적인 마커를 보이는 프라이머 multi-plex조합을 선발하였다.

PCR 반응은, 15 ng template genomic DNA, 0.2 mM

dNTPs, 0.25 U *e-Taq* DNA polymerase (SolGent, Daejeon, Korea), 1× buffer(2.5 mM Tris-HCl (pH 8.2), 1.5 mM MgCl₂), 0.25 pmol (each primer) / 10 μL(혹은 20 μL) 혼합액으로 수행하였고, ASTEC E02(ASTEC, Japan)를 사용하여 핵산증폭하였다. 초기 melting을 위하여 95°C에서 3분간 두고 95°C에서 30초간 denaturation, 52°C에서 40초간 annealing, 72°C에서 30초간의 extension의 과정을 35회 반복한 후, 5분 동안 최종 extension을 수행 하였다. 증폭된 DNA 밴드는 Safe Red stain(iNtRON Biotechnology, Korea)이 첨가된 3.0% agarose gel 상에서 150V, 1.5 h 전기영동 후 관찰 하였다. Multiplex PCR의 경우 각 프라이머의 농도는 그대로 유지하고 최종 볼륨에 맞게 살균증류를 줄였다.

증폭된 DNA 밴드를 agarose gel에 있는 상태로 잘라내어 Sanger 방법으로 Direct sequencing(Macrogen, Korea)을 하였다. 서열분석용 프라이머는 115FR, 166FR(Table 2)을 사용하였다.

느타리 3개 품종(수한1호, 흑타리, 곤지7호)을 이용한 1차 탐색에서 총 프라이머 251개 중 20개(8.0%)에서 다형화가 관찰되었다. 다형화 locus는 품종별로 1-2개 정도였으며, 일부는 비특이적 증폭도 관찰되었다(Partly shown in Fig. 1). 선발된 20개 프라이머를 느타리 10품종(수한1

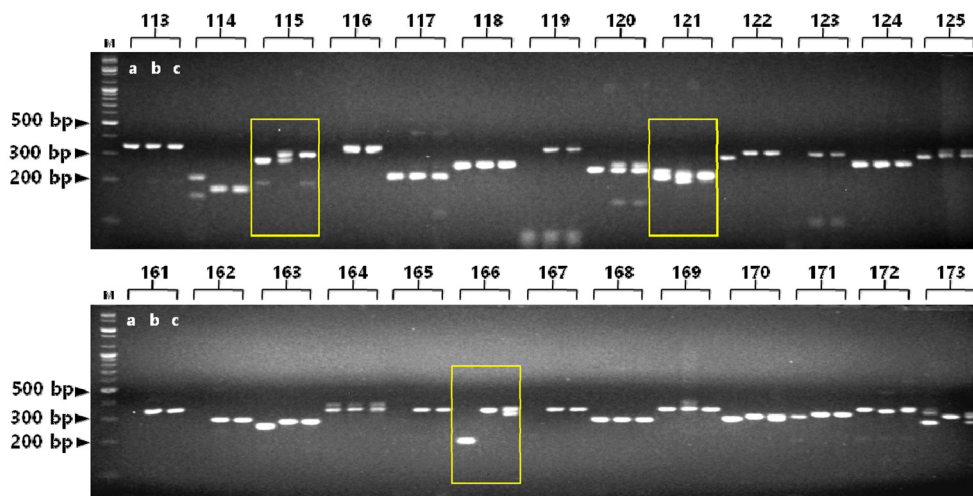


Fig. 1. PCR polymorphisms of 3 major *P. ostreatus* cultivars (a, Suhan1ho; b, Heuktari; c, Gonji7ho) by 251 SSR primer sets (only meaningful results are shown). M: size marker (100 bp plus, Bioneer, Korea). Upside numerals are primer number.

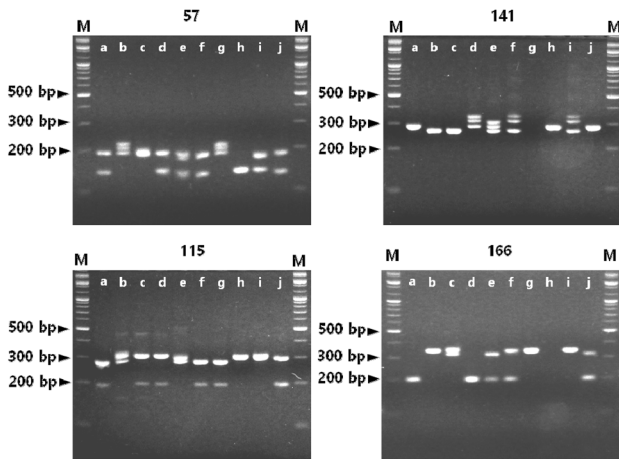


Fig. 2. PCR polymorphisms of 10 *P. ostreatus* cultivars by SSR primers, 57, 141, 115 and 166. Lane: a, Suhan1ho; b, Heuktari; c, Gonji7ho; d, Goji1ho; e, Whaseong2ho; f, Whaseong6ho; g, Whaseong7ho; h, Chunchu2ho; i, Chiak3ho; j, Nongmin59ho. M: size marker (100bp plus, Bioneer, Korea). Upside numerals are primer number.

호, 흑타리, 곤지7호, 곤지1호, 화성2, 화성6호, 화성7호, 춘추2호, 치악3호, 농민59호)에 적용한 결과 150~350 bp 범위에서 다형화 locus(ci)가 품종당 1-2개씩 증폭되었는데, 1차 선발에 사용한 3품종에는 모두 다형화를 보였으나, 이들 품종과 유연관계가 가까운 품종들에는 동일한 locus가 관찰되었다(Partly shown in Fig. 2). 증폭된 DNA 크기는 SSR 프라이머를 분리한 곤지7호와 흑타리에서는 비교적 정확하였지만, 몇몇 품종에서는 예상 크기보다 크거나 작은 여러 개의 밴드가 동시에 발견 되는 것을 관찰되었다. 품종간의 대립유전자 개수와 사이즈의 차이는 분석에 사용된 품종의 유전적 다양성 정도가 달라서 프라이머의 결합부위가 다양하기 때문인 것으로 사료된다. 프라이머 57, 115, 121, 141, 166, 207에서 모든 품종에서 PCR 증폭이 이루어지고 다형성의 정도가 높은 것으로 관찰되었다. 이 중 프라이머 115 (Table 2)는 수한1호, 화성6호, 화성7호와 춘추2호, 치악3호에서 동일한 패턴이 나타났고, 프라이머 166 (Table 2)은 수한1호, 곤지1호와 흑타리, 치악3호, 화성7호와 화성2호, 농민59호 품종에서 동일한 패턴을 나타냈다. 프라이머 57은 100-200 bp 사이에 밴드가 나타나고 프라이머 121은 200-300bp 사이에 밴드가 있어 조합이 가능할 것으로 판단되었다. 다른 프라이머의 경우는 모든 품종에서 동일한 밴드가 나오거나 밴드의 수가 많고 패턴이 촘촘하여 multiplex 조합에서 제외하였다.

선발한 단일의 프라이머로는 모든 품종을 모두 판별할 수 있는 다형화를 보이지 않아, 2개 이상의 프라이머를 조합하여 모든 품종에서 다형화 분자마커가 나타나도록 하였다. 품종 간 식별이 가능한 최소 마커 조합을 결정하

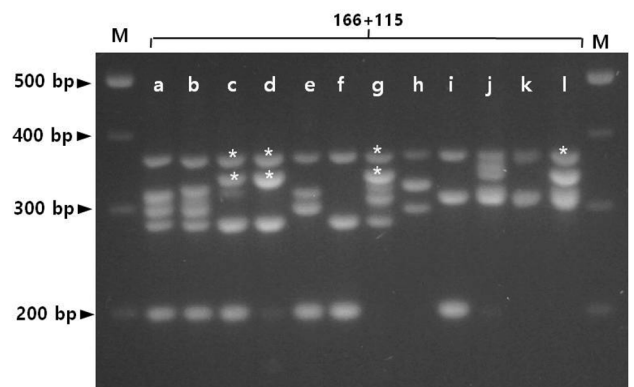


Fig. 3. Specificity of the multiplex SSR marker sets(166+115) for the major *Pleurotus ostreatus* cultivars. PCR amplification was done using the "166+115" primers with the gDNA from 12 *P. ostreatus* cultivars, and the unique band profile for each cultivar is shown. Lane: a, Whaseong2ho; b, Whaseong5ho; c, Gonji6ho; d, Gonji7ho; e, Nongmin59ho; f, Suhan1ho; g, Heuktari; h, Wonhyeong1ho; i, Goji1ho; j, Goji7ho; k, Chunchu2ho; l, Chiak3ho. M: size marker(100bp plus, Bioneer, Korea). Upside numerals are primer number. Asterisk on band means SSR motif(GAATATC) containing DNA.

기 위하여 SSR 마커를 다양한 경우의 수로 PCR반응과 gel 밴드 분석을 한 결과, 밴드가 뭉치거나 끌리지 않고 10개의 품종이 육안으로 모두 식별되는 "166+115" 조합을 선발하였고 이후 최종적으로 화성2호와 원형1호를 더하여 12개 품종이 판별되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). "57+122" 조합은 2번째로 다형화를 많이 보였으나 10개 품종 모두를 구분하지는 못하였다(data not shown). 공통조상을 가진 화성2호, 화성5호(Lee *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2013), 화성6호, 화성7호는 판별이 쉽지 않은 품종들이라 미토콘드리아 기반 품종판별 분자마커(Park *et al.*, 2010)와 SSR기반 느타리 판별마커(Park *et al.*, 2019) 의 해서도 판별이 불가능하였다(data not shown). 두 프라이머 조합으로 나타난 마커는 총 43개로 평균 3.6개이고 품종별로는 2-5개의 loci이었다. 이는 프라이머 115와 166에서 관찰된 locus의 산술적합인 31개보다 12개 많았는데, 이는 프라이머 115 FR나 116 FR 내의 조합외에 프라이머 간의 새로운 조합으로도 PCR 증폭이 된 것으로 추측 가능하다. 실제로 증폭된 밴드의 서열을 분석한 결과, 일부의 밴드가 115와 166 프라이머 조합으로 증폭되었음을 알 수 있었다(data not shown). SSR서열에서 유래한 프라이머로 증폭된 DNA 서열에는 일반적으로 SSR motif가 존재하는데 반해(Park *et al.*, 2019), multiplex "166+115" 유래 43개 분자마커 서열내에서 7군데에서만 166 프라이머의 SSR motif인 (GAATATC)가 5.9반복(copy no.)으로 존재하였다(Fig 3). 이러한 결과는 증폭된 DNA가 SSR motif를 포함하지 않는 비특이적 증폭에 의해 생성되었거

나 서열 해독이 완전치 않는 결과로 추정할 수 있다.

개발된 "166+115" 분자마커는 현재 국내에서 가장 많이 재배되는 춘추2호, 수한1호, 흑타리, 곤지 7호 등을 판별 할 수 있고 근연관계에 있어 판별이 어려운 화성2, 5, 6, 7호도 구분이 가능하였고, 여러번의 반복적인 PCR 반응에 의해서도 동일한 증폭패턴을 보였다. 이번 연구를 통하여 개발한 느타리 품종 판별분자마커는 미지시료의 품종판별, 종균의 품질관리나 신품종의 권리보호에 활용될 것으로 사료한다.

적 요

느타리 품종구분을 위한 마커의 개발을 위하여 곤지7호의 어버이 일핵 균사중의 하나인 MT07156-97의 전체 유전자 염기서열을 바탕으로 제작한 251개의 SSR 프라이머를 제작하였다. 우선적으로 수한1호, 곤지7호, 흑타리 품종에 다형성 여부를 관찰하여 20개의 SSR을 선발하고, 이를 10개 품종에 적용하였다. 단일의 프라이머로는 일부 품종이 구분되지 않았으므로, 선발된 프라이머 간의 다양한 조합(multiplex 방식)을 적용한 결과 모든 품종을 판별할 수 있는 분자마커 다형성을 보인 프라이머 "166+115" 조합을 선발하였다. 별도로 프라이머 115와 166가 만들어진 산술적인 유전자좌(loci) 31개보다 12개 많은 40개의 유전자좌가 증폭되어 다양한 품종에 특이적인 분자마커를 제공할 수 있었다. 개발된 분자마커는 종균의 품질관리, 품종의 판별, 신품종 보호에 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 본 연구는 농림축산식품부 Golden Seed project 사업(원예종자사업단, 과제번호: 213007-05-5-SBI30)에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다. 본 연구에 도움을 준 이송희박사 감사를 전합니다.

REFERENCES

Chang ST, Miles PG. 1989. Edible Mushroom and Their Cultivation. CRC Press, Boca Raton, Florida.
 Choi DB, Ding JL, Cha W-S. 2007. Homology search of genus *Pleurotus* using an internal transcribed spacer region. *Kor J Chem Eng* 24: 408-412.
 Choi JI, Ha TM, Jeon DH, Ju YC, Cheong JC. 2013. Characteristics and breeding of a long-term storable oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) variety [Gonji-7ho]. *J Mushroom* 11: 149-153.
 Choi JI, Lee YH, Ha TM, Jeon DH, Chi JH, Shin PG. 2015.

Characteristics of new mid-high temperature adaptable oyster mushroom variety [Heuktari] for bottle culture. *J Mushroom* 13: 74-78.
 Gonzalez P, Labarere J. 2000. Phylogenetic relationships of *Pleurotus* species according to the sequence and secondary structure of the mitochondrial small-subunit rRNA V4, V6 and V9 domains. *Microbiology* 146: 209-221. <http://10.0.4.75/00221287-146-1-209>.
 Lee JW, Han YS, Han CH, Jeong CC. 2011. Characteristics of a new cultivar *Pleurotus ostreatus*, Hwaseong# 2. *J Mushroom* 9: 96-100.
 Lee JW, Han YS, Cheong JC. 2013. Characteristics of a new cultivar 'Hwaseong 5ho' in *Pleurotus ostreatus*. *J Mushroom* 11: 244-248.
 Lee KW, Kim MJ, Jeon JO, Kim IJ. 2018. Characteristics and breeding of a new variety 'Sootari' in *Pleurotus ostreatus*. *J Mushroom* 16: 180-185.
 Mandel QA, Al-Laith AA, Mohamed SA. 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World J Microb Biot* 21: 601-607.
 Oh MJ, Im JH, Shin PG, Oh YL, Jang KY, Kon WS. 2017. Characterization and breeding of a new cultivar *Pleurotus ostreatus* 'Heuksol'. *J Mushroom* 15: 129-133.
 Park B, Ha BS, Kim MK, Ryu JS. 2016. Characterization of simple sequence repeats in the *Pleurotus ostreatus* cultivars, "Heuktari" and "Miso". *J Mushrooms* 14: 174-178.
 Park B, Ha BS, Lee SH, Kim MK, Choi JI, Ryu JS. 2019. Variable-number tandem repeat loci-discriminating *Pleurotus ostreatus* cultivars. *Mycoscience* 60: 132-135.
 Park SS, Woo SM, Park YJ, Jang KY, Kong WS, Yoo YB, Shin PG. 2010. Molecular characterization of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ferulae* using RAPD and mitochondrial microsatellite genes. *J Mushrooms* 8: 185-185.
 Patel S, Goyal A. 2012. Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review. *3 Biotech*, 2: 1-15. <https://doi.org/10.1007/s13205-011-0036-2>.
 Sánchez C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol* 85: 1321-1337.
 Seo KI, Jang KY, Yoo YB, Park SY, Kim KH, Kong WS. 2011. Development of Suhan Strain-specific SCAR marker in *Pleurotus ostreatus*. *Kor J Mycol* 39: 31-38.
 Seo KI, Jang K-Y, Yoo YB, Park S-Y, Kim K-H, Kong W-S. 2008. Differentiation among commercial strains of *Pleurotus* spp. based on DNA fingerprinting using universal rice primer (URP). *Kor J Mycol* 36: 130-137.
 Sharma S, Madan M. 1993. Microbial protein from leguminous and non-leguminous substrates. *Acta Biotechnol* 13: 131-139.
 Smith D, Devey ME. 1994. Occurrence and inheritance of microsatellites in *Pinus radiata*. *Genome* 37: 977-983.
 Worrall JJ. 1997. Somatic incompatibility in basidiomycetes. *Mycologia* 89: 24-36.
 Yoo YB, Seo KI, Kong WS, Jang KY, Shin PG, Park YJ. 2009. Culture characteristics of *Pleurotus* commercial strains at different temperature. *J Mushroom Sci Prod* 7: 122-130.