

한국산 느타리버섯 (*Pleurotus* spp.)의 전기영동 Isozyme Band Pattern 비교 - II. 등전점 전기영동 -

박용환·변명옥·藤井博*

농촌진흥청 농업기술연구소·*일본 동경농업대학 농학과

Comparison of Electrophoretic Isozyme Band Pattern of *Pleurotus* spp. in Korea

-II. Isoelectric Focusing -

Yong-Hwan Park, Myung-Ok Byun and Fujii Hiroshi*

Applied Mycology and Mushroom Division, Agricultural Sciences Institute, R.D.A. Suweon 440-707, Korea and *Department of Agronomy, Tokyo University of Agriculture, Japan

ABSTRACT: Isozyme band patterns were investigated by isoelectric focusing of Esterase and Leucine amino peptidase of *Pleurotus* spp. in Korea. Esterase patterns of mycelia and fruitbody were distinguished. However, those of primordia, cap and stem were similar. Interspecies differences of *Pleurotus ostreatus*, *P. cornucopiae* and *P. florida* of Esterase zymogram were found. Species identification by electrophoretic zymogram may be a role as an additional taxonomic tool.

KEYWORDS: *Pleurotus* spp. Isoelectric focusing, Esterase, zymogram

버섯류에서 전기영동에 의한 isozyme 밴드 비교로 種의 分類나 遺傳的 變異들을 추적하기 위하여 많은 시도를 해왔다(Prillinger; 1979).

일반 전기영동이 단백질의 전기장과 크기에 의해 분리되는데 비해 등전점 전기영동(Isoelectric focusing)은 단백질의 등전점에 의해 분리된다. 따라서 본 연구는 한국에 자생하고 있는 느타리 버섯 균의 전기영동에 의한 isozyme band 패턴 비교에 이어 느타리버섯 균주간 비교가 용이하였던 Esterase와 Leucine amino Peptidase의 등전점 전기영동에 의한 밴드 패턴을 비교하였다.

材料 및 方法

균주

한국에 자생하는 느타리버섯 균주를 Table I 과 같이 수집 사용하였다.

균사체 및 자실체 시료 추출

Park 등(1988)의 방법에 의거하여 수행하였다.

전기영동법

Isoelectric focusing을 위한 기기는 LKB multiphor 25 수평형 slab gel 전기영동 장치를 사용하였고 Gel band PAG film에 7×25×0.07 cm polyacrylamide slab을 준비하였다. Gel 조성은 acrylamide와 bisacrylamide의 농도를 T 6%, C 2.7%로 조절하고 ammonium persulfate, TEMED, ampholyte를 첨가하여 gel을 틀에 넣어 굳힌 후 사용하였다. gel의 중간에 IEF strip을 수평으로 나란히 놓아 이곳에 시료를 20 μl씩 첨가하였고 음극에 알칼리성 buffer로 saturated Ca(OH)₂와 methyl Red를 혼합 filter paper strip에 처리하고 양극에는 산성 buffer로 0.1% phosphoric acid를 filter paper strip에 처리하여 5°C에서 전기영동하였다. 전기영동은 전압을 조정하여 100V 16 mA로 30분 실시후 시료처리 strip을 제거하고 200V 9.5mA로 1시간, 300V 3.0mA로 2시간 전기영동 후 염색법에 따라 발색시켰다.

Table I. Speices and isolates of *Pleurotus* spp. used in the experiment

Species with isolates No.	Collection area	Habitat	Cap		Spore print color
			color	shape	
<i>P. ostreatus</i>					
K-101	Injai, Gangweon Prov.	<i>Populus tremuloides</i>	pale yellow	kidney	white-ivory
K-104	Mooju, Chungbuk Prov.	<i>Fraxinus rhynche phylla</i>	light grey	kidney	"
K-105	Weonju, Gangweon Prov.	<i>Morus alba</i>	"	"	white
K-106	Seoul City	<i>Populus deltoide</i>	"	funnel	"
K-107	Suweon, Gyeonggi Prov.	"	grey	umbilicate	"
K-110	Goisan, Chungbuk Prov.	"	light grey	kidney	pink to ivory
K-112	Gongju Chungnam Prov.	"	"	funnel	light pink
K-118	Pusan City	"	"	button	white
<i>P. cornucopiae</i>					
C-201	Chuncheon Gangweon Prov.	<i>Morus alba</i>	pale yellow	funnel	ivory
<i>P. florida</i>					
F-301	Institute fur Bodenbiegie		white	kidney	"

結果 및 考察

Esterase

느타리버섯의 菌絲와 子實體를 等電點 電氣泳動에 의한 pH 3-10에서 Esterase band pattern을 比較한 결과 菌絲體와 갓 사이에서 band pattern에 커다란 차이가 있었다. *Pleurotus cornucopiae* (isolate C 201) 菌絲體 부분은 4개 밴드가 나타났는데 비해 子實體에서는 8개의 밴드가 위치가 다른 곳에 형성되었으며, 갓과 줄기 부분은 매우 유사한 패턴을 나타냈다(Fig. 1). *P. florida* (isolate F 301)은 자실체에 비해 균사에서 알카리성 부분에 밴드를 추가 형성하고 *P. ostreatus* (isolates K 101-K 118)도 균사와 자실체의 밴드 패턴에 많은 차이가 있었다. K 101에서 균사에는 없으나 갓과 줄기 부분에서 3번 밴드가 형성되고 또한 K 106을 제외한 K 101, K 104, K 105, K 107, K 110, K 112, K 118 균주에서 11번 밴드가 균사에는 없으나 갓과 줄기 부분에서 나타났다.

갓과 줄기 부분의 비교(Fig. 1)와 Primordia와 줄기 부분의 비교(Fig. 2)는 효소 농도의 차이로 활력이 약한 밴드가 보이지 않는 경우는 있었지만 특정 밴드의 커다란 변화는 없어 자실체는 일정 농도 전기영동에서와 같이 유사한 밴드 패턴을 나타냈다.

균주간 비교를 보면 *P. cornucopiae* (C 201), *P. florida* (F 301), *P. ostreatus* (K 101-K 118)는 균

사, Primordia, 갓, 줄기에서 모두 밴드 패턴이 크게 차이가 있었다. 또한 *P. ostreatus* 내에서 K 105는 균사에서 11번, 갓과 줄기 부분에서 12번 밴드가 추가 형성되어 다른 균주와 차이가 있었다.

Leucine Amino Peptidase

Leucine amino peptidase는 알카리성 부분에 밴드를 형성하였는데 균사와 자실체를 비교하면 자실체에서 미세 밴드가 더 나타났고, 균주별 비교는 K 104 균주가 균사와 자실체에서 주밴드가 2개 밴드로 분리되었다(Fig. 3).

Esterase는 homogeneous gel 전기영동에서도 *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida*와 같이 종이 다른 균주간에 밴드 패턴의 차이가 크게 나타났으나 등전점 전기영동 결과 밴드 패턴에서 더 많은 차이를 나타냈다. 그러나 *P. ostreatus* 내에서는 밴드수가 많아 균주간 주요 밴드 구별은 가능하나 미세 밴드 구별은 좀 더 세심한 주의를 기울여야 할 것이다. *P. ostreatus* 내에서 주요 밴드가 다른 특성을 보인 균주는 자실체가 연황색을 나타낸 K 101과 기주가 특이했던 K 105로 IEF에 의해 Esterase 밴드가 다른 균주들과 구별되었다. 따라서 한국내 자생하고 있는 느타리버섯 중에서 기주가 다르고 수집 지역이 다르며 자실체 형태도 차이가 있는 균은 등전점 전기영동 밴드 패턴도 차이가 있었다.

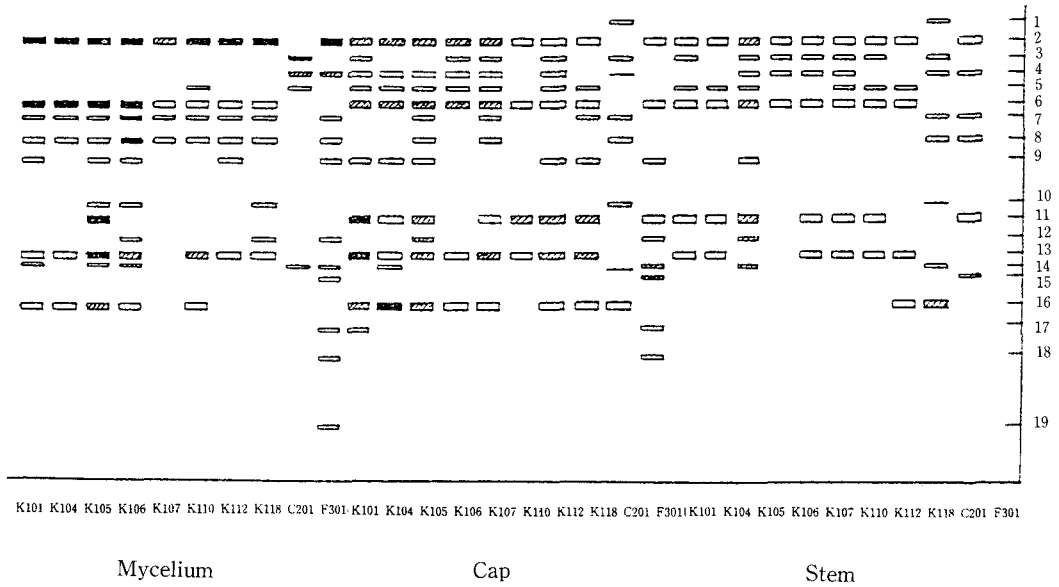
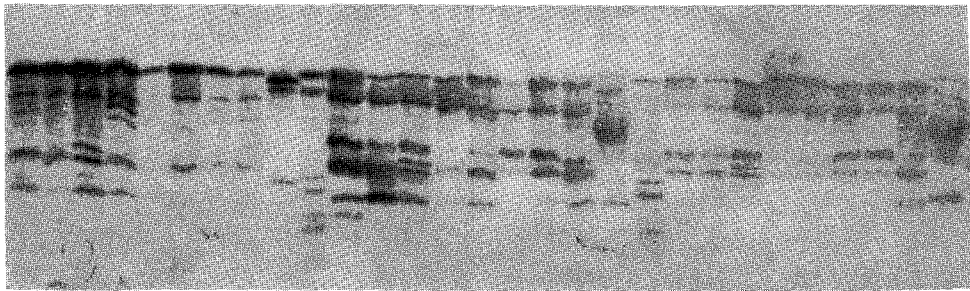


Fig.1. Isozyme Patterns of Esterase in the Mycelium, Cap, Stem of the *Pleurotus* spp. on Isoelectric Focusing(pH 3-10).
Mycelium Cap Stem

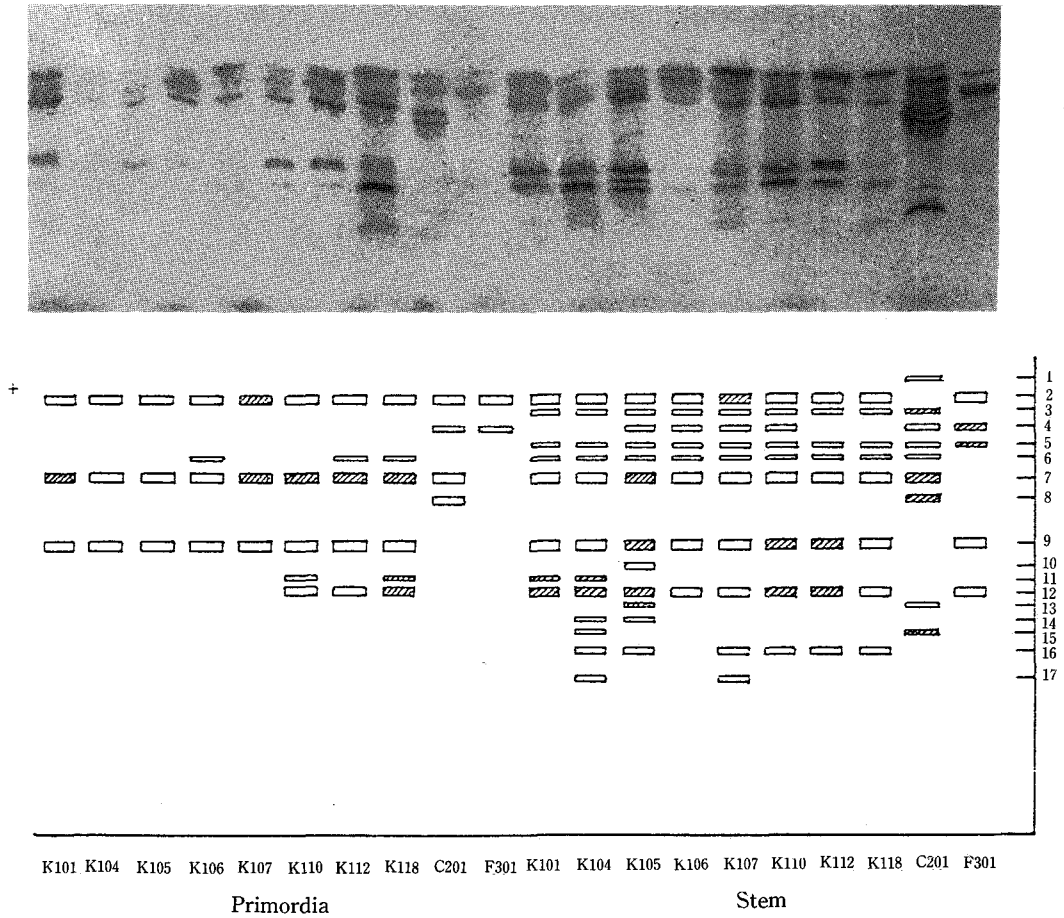


Fig.2. Isozyme Patterns of Esterase in the Primordia and Stem of the *Pleurotus* spp. on Isoelectric Focusing(pH 3-10).
Primordia Stem

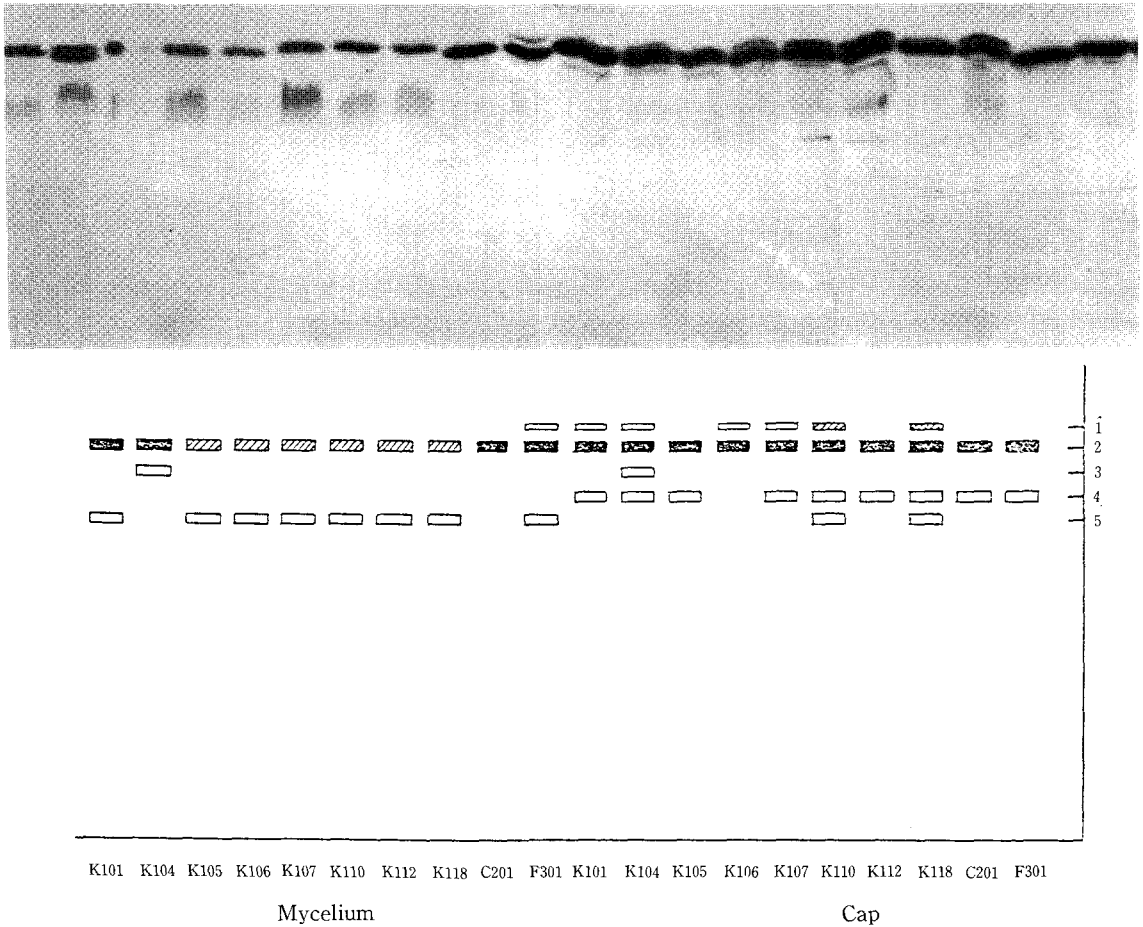


Fig.3. Isozyme Patterns of Leucine Amino Peptidase in the Mycelium and Cap of *Pleurotus* spp. on Isoelectric Focusing(pH 3-10).
Mycelium Cap

摘 要

한국에 자생하는 느타리버섯 균주중 지역별로 기주가 다른 균주들을 수집하여 Esterase 동위효소와 Leucine amino peptidase 동위효소를 등전점 전기영동으로 균사와 자실체 부위별로 비교하였다. *Pleurotus ostreatus*의 Esterase 밴드 패턴은 균사와 자실체가 많은 차이가 있었으나 자실체중 Primordia, 갓, 줄기 등의 isozyme 패턴은 유사하였다. *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida*의 Esterase 밴드 패턴에 많은 차이가 있어 중간 균주

구별이 가능하였다.

Leucine Amino Peptidase 밴드는 *P. ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. florida* 간에 뚜렷이 구별지을 수 없었으며, 균사와 자실체 간에는 약간의 밴드 패턴의 차이가 있었다.

參考文獻

Osterman, I.A. (1984): Methods of Protein and Nucleic Acid Research I: Electrophoresis, Isoelectric focusing Ultracentrifugation, Springer, Verlag :

153-187.

Park, Y.H., Byun, M.O. and Hiroshi, J. (1988): Comparison of Electrophoretic Isozyme Band Pattern of *Pleurotus* spp. in Korea -I. Homogeneous gel-**16**(2): in press.

Prillinger, H. and Molitoris, H.P. (1979): Genetic

Analysis in Wood Decaying fungi, I. Genetic variation and evidence for allopatric speciation in *Pleurotus ostreatus* using phenoloxidase zymograms and morphological criteria. *Physiologia plantarum* **46**:265-277.

Accepted for Publication 20 June