

베타글루칸 함량이 높은 큰느타리버섯 선발을 위한 SCAR marker 개발

김수철 · 김혜수 · 조용운 · 류재산¹ · 조수정*

경남과학기술대학교 제약공학과, ¹경상남도농업기술원 친환경연구과

Development of strain-specific SCAR marker for selection of *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan

Su Cheol Kim, Hye Soo Kim, Yong Un Cho, Jae-San Ryu¹ and Soo Jeong Cho*

Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology, 33 Dongjin-ro, Jinju 660-758, Korea

¹Eco-friendliness Research Department, Gyeongnam-do Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-360, Korea

ABSTRACT: In this study, SCAR marker that differentiates *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan from control strain was developed. Genomic DNAs of 9 control strains of *Pleurotus eryngii* and 9 *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan were analyzed by bulked segregant analysis (BSA) using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). One-hundred twenty RAPD primers were screened on bulked DNA samples and a unique DNA fragment with the size of 91 bp was yielded by OP-R03 primer from the *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan. A sequence characterized amplified region (SCAR) marker, designated as OP-R03-1-F and OP-R03-1-R, was designed on the basis of the determined sequence. The PCR analysis with the OP-R03-1 primer showed that this SCAR marker can clearly distinguish the *Pleurotus eryngii* strains with higher β -glucan from the control strains.

KEYWORDS: Higher β -glucan, OP-R03-1 primer, *Pleurotus eryngii*, SCAR marker

서론

큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*)은 1995년 일본의 사이신(サイシン)종균개발연구소를 통해 “에린기(エリソギ)”라는 이름으로 우리나라에 처음 소개되었으며 분류학적으로 담자균아문(Basidiomycotina), 주름버섯목(Agaricales),

느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하고 육질이 치밀하고 느타리버섯에 비해 대가 굵고 길며 저장성이 좋다는 장점이 있다(Rajaratnam and Bano, 1987).

유럽이 원산지인 큰느타리버섯은 주로 유럽 남부, 중앙아시아, 북아프리카, 지중해 연안 등 아열대 지방의 건조성 초원지대에 자생하고 있으며(Zadrazil, 1974) 아직까지 국내에서 자생하는 큰느타리버섯에 관한 보고는 없으며 현재 재배되고 있는 품종은 외국도입 품종이거나 외국 도입 품종을 국내에서 육종한 품종이다. 최근에는 세계 각국이 종자전쟁에 대비한 유전자원 주권 강화 추세를 보이고 있으며 2002년 우리나라도 1998년도에 발효된 종자보호에 관한 국제협약(International Union for the Protection of New Varieties of plants, UPOV) 가입함에 따라 전 농산물 품종보호 대상 지정으로 국내 유통 품종의 로열티 문제가 심각하게 대두되고 있다. 따라서 국내에서 재배되고 있는 큰느타리버섯 품종을 수집하여 유전자원을 확보하고 우리 고유의 품종을 육종하는 것이 중요하다. 버섯

J. Mushrooms 2015 March, 13(1):79-83
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2015.13.1.79>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
 E-mail : sjcho@gntech.ac.kr
 Tel : +82-55-751-3397, Fax : +82-55-751-3399

Received March 9, 2015
 Revised March 30, 2015
 Accepted March 30, 2015

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.

은 공급과잉에 따른 가격 변동이 심하고 경제사정 악화에 따른 수요 감소가 민감한 품목이므로 버섯의 품종육종은 생산성 향상보다는 버섯의 기능성을 강화하는 품종육종으로의 전환이 필요하다고 생각된다. 버섯이 함유하고 있는 생리활성 물질 중에서 베타글루칸은 다당류의 일종으로서 인간의 정상적인 세포조직의 면역기능을 활성화시켜 암세포의 증식과 재발을 억제하고 면역세포의 기능을 활발하게 하는 인터루킨(interleukin), 인터페론(interferon)의 생성을 촉진시키는 역할을 하며 약용버섯에 많이 함유되어 있다. 활성 베타글루칸은 암세포가 있는 체내로 들어가 사이토카인(Cytokine)을 생산시킴으로써 면역세포인 T세포와 B세포의 활동을 지원하여 세포조직의 면역기능을 활성화 시켜주는 역할을 한다. 최근 보고에 의하면 큰느타리버섯에도 베타글루칸이 함유되어 있어서 혈당 및 혈중 콜레스테롤 감소(Kang *et al.*, 2001), 대장암세포 증식 억제 및 사멸(Hwang *et al.*, 2003), 항산화 활성(Hui *et al.*, 2002) 등의 효과가 있다. 만약 식용버섯인 큰느타리버섯의 베타글루칸 함량을 버섯 중 베타글루칸 함량이 가장 높은 꽃송이버섯만큼 향상시킨 새로운 품종을 육종할 수 있다면 맛과 기능성을 동시에 가진 버섯으로써 버섯 소비 촉진을 유도할 수 있을 것으로 기대된다. 그러나 전통적인 교배육종은 시간과 노력이 많이 필요할 뿐만 아니라 육종된 품종을 판별하는데도 많은 시간이 필요하므로 육종된 품종을 신속하게 판별할 수 있는 분자마커를 개발한다면 보다 효율적으로 베타글루칸 고함유 버섯 품종을 육종할 수 있을 것이다.

버섯의 종 내 분류나 품종 분류는 배양적, 형태적 특성에 의존하고 있으나 습도, 온도, 광 등 환경조건에 따라 변이가 발생할 가능성이 크기 때문에 미세한 차이의 품종 간 특성을 구분하기는 어렵다. 품종 분류를 위한 객관적 판별 기준으로써 random primer를 이용한 random amplified polymorphic DNA(RAPD)가 가장 많이 사용되어왔으나 RAPD는 여러 요소에 의해 밴드패턴이 달라지기 때문에 다른 마커에 비해 재현성이 떨어진다는 단점이 있다(Panner *et al.*, 1993). 이러한 RAPD의 단점을 보완하기 위한 방법으로 RAPD 밴드의 염기서열을 기반으로 하는 SCAR(Sequence characterized amplified region) 마커 개발에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Panner *et al.*, 1993; Song *et al.*, 1996; Bang *et al.*, 2004; Koveza and Gostimsky, 2005; Lee *et al.*, 2006; Qin *et al.*, 2006). SCAR 마커는 RAPD 밴드의 염기서열을 분석하여 보다 정확한 primer를 제작하기 때문에 다른 분자 마커에 비해 재현성이 높다는 장점이 있다. Paran and Michelmore (1993)은 처음으로 상추에서 RAPD primer를 SCAR 마커로 전환한 downy mildew 병 저항성 마커를 보고하였으며 Hongyan *et al.*(2008)은 중국에서 약용버섯으로 많이 판매되고 있는 영지버섯(*Ganoderma lucidum*)의 품종을 구별할 수 있는 SCAR 마커를 개발하였다고 보고하였

다. 또한 Seo *et al.*(2011)은 RAPD 분석에서 생성된 특이 DNA 밴드들을 대상으로 새로운 SCAR primer를 제작하여 느타리버섯 수한 품종의 특이 DNA 마커로 개발하였다고 보고하였고 Kim *et al.*(2013)은 RAPD 분석에서 생성된 특이 DNA 밴드의 염기서열 말단을 기반으로 specific primer를 제작하여 저온적응성 큰느타리버섯 품종을 판별할 수 있는 SCAR 마커로 사용하였다고 보고하였다.

본 연구는 경남농업기술원의 유전자원인 대립 계통 KNR2510와 베타글루칸 고함유 계통 KNR2521을 교배한 품종을 대상으로 RAPD를 이용한 BSA(Bulked segregant analysis)를 실시하여 큰느타리버섯의 베타글루칸 고함유 형질을 판별할 수 있는 SCAR 마커를 개발하고자 수행되었다.

대립 계통과 베타글루칸 함량이 높은 계통의 선별

베타글루칸 고함유 계통과 관련된 마커의 개발을 위해 경남농업기술원의 유전자원인 대립 계통 KNR2521(25.96%)와 베타글루칸 고함유 계통 KNR2510(34.08%)를 교배한 다음 큰느타리버섯 표준재배법(Ryu *et al.*, 2007)에 준하여 표준온도(15°C)에서 생육시켜 수확한 후 자실체의 베타글루칸 함량을 megazyme kit(Megazyme, Ireland)로 분석하였다. 베타글루칸 함량에 따른 교배개체수를 분석한 결과 정규분포의 특성을 보이고 있었으며 이 분포도를

Table 1. β -glucan content (%) of breeding lines to select of *Pleurotus eryngii* strain with higher β -glucan

Strain	Contents (%)		
	Total glucan	α -glucan	β -glucan
KNR2510	42.44	8.36	34.08
KNR2521	36.15	10.19	25.96

Table 2. β -glucan content (%) of *Pleurotus eryngii* strain selected to development of SCAR marker

Strain	Control			Strain with higher β -glucan			
	Contents (%)			Contents (%)			
	Total glucan	α -glucan	β -glucan	Strain	Total glucan	α -glucan	β -glucan
5-4	37.05	7.12	29.93	1-11	44.85	7.82	37.03
5-9	36.69	8.15	28.54	6-8	44.73	9.19	35.54
9-2	43.42	13.38	30.04	12-9	45.65	10.03	35.62
9-7	38.12	13.22	24.90	16-18	39.26	3.52	35.74
11-13	33.97	7.14	26.83	17-11	41.99	4.76	37.23
15-8	35.06	7.19	27.87	17-12	41.29	5.02	36.27
17-13	36.87	7.66	29.21	18-20	42.40	5.04	37.36
21-5	41.74	12.33	29.41	24-12	44.36	7.45	36.91
21-10	41.10	12.17	28.93	25-2	45.92	5.83	40.09

Table 3. List of primers used in this study

No.	Name	Seq.	No.	Name	Seq.	No.	Name	Seq.
1	OP A-01	CAGGCCCTTC	41	OP L-01	GGCATGACCT	81	OP R-01	TGCGGGTCCT
2	OP A-02	TGCCGAGCTG	42	OP L-02	TGGGCGTCAA	82	OP R-02	CACAGCTGCC
3	OP A-03	AGTCAGCCAC	43	OP L-03	CCAGCAGCTT	83	OP R-03	ACACAGAGGG
4	OP A-04	AATCGGGCTG	44	OP L-04	GACTGCACAC	84	OP R-04	CCCGTAGCAC
5	OP A-05	AGGGGTCTTG	45	OP L-05	ACGCAGGCAC	85	OP R-05	GACCTAGTGG
6	OP A-06	GGTCCCTGAC	46	OP L-06	GAGGGAAGAG	86	OP R-06	GTCTACGGCA
7	OP A-07	GAAACGGGTG	47	OP L-07	AGGCGGGAAC	87	OP R-07	ACTGGCCTGA
8	OP A-08	GTGACGTAGG	48	OP L-08	AGCAGGTGGA	88	OP R-08	CCCGTTGCCT
9	OP A-09	GGGTAACGCC	49	OP L-09	TGCGAGAGTC	89	OP R-09	TGAGCACGAG
10	OP A-10	GTGATCGCAG	50	OP L-10	TGGGAGATGG	90	OP R-10	CCATTCCCCA
11	OP A-11	CAATCGCCGT	51	OP L-11	ACGATGAGCC	91	OP R-11	GTAGCCGTCT
12	OP A-12	TCGGCGATAG	52	OP L-12	GGGCGGTA CT	92	OP R-12	ACAGGTGCGT
13	OP A-13	CAGCACCCAC	53	OP L-13	ACCGCCTGCT	93	OP R-13	GGACGACAAG
14	OP A-14	TCTGTGCTGG	54	OP L-14	GTGACAGGCT	94	OP R-14	CAGGATTCCC
15	OP A-15	TTCCGAACCC	55	OP L-15	AAGAGAGGGG	95	OP R-15	GGACAACGAG
16	OP A-16	AGCCAGCGAA	56	OP L-16	AGGTTGCAGG	96	OP R-16	CTCTGCGCGT
17	OP A-17	GACCGCTTGT	57	OP L-17	AGCCTGAGCC	97	OP R-17	CCGTACGTAG
18	OP A-18	AGGTGACCGT	58	OP L-18	ACCACCCACC	98	OP R-18	GGCTTTGCCA
19	OP A-19	CAAACGTCCG	59	OP L-19	GAGTGGTGAC	99	OP R-19	CCTCCTCATC
20	OP A-20	GTTGCGATCC	60	OP L-20	TGGTGGACCA	100	OP R-20	ACGGCAAGGA
21	OP B-01	GTTTCGCTCC	61	OP P-01	GTAGCACTCC	101	OP S-01	CTACTGCGCT
22	OP B-02	TGATCCCTGG	62	OP P-02	TCGGCACGCA	102	OP S-02	CCTCTGACTG
23	OP B-03	CATCCCCCTG	63	OP P-03	CTGATACGCC	103	OP S-03	CAGAGGTCCC
24	OP B-04	GGACTGGAGT	64	OP P-04	GTGTCTCAGG	104	OP S-04	CACCCCTTGT
25	OP B-05	TGCGCCCTTC	65	OP P-05	CCCCGGTAAC	105	OP S-05	TTTGGGGCCT
26	OP B-06	TGCTCTGCCC	66	OP P-06	GTGGGCTGAC	106	OP S-06	GATACCTCGG
27	OP B-07	GGTGACGCAG	67	OP P-07	GTCCATGCCA	107	OP S-07	TCCGATGCTG
28	OP B-08	GTCCACACGG	68	OP P-08	ACATCGCCCA	108	OP S-08	TTCAGGGTGG
29	OP B-09	TGGGGGACTC	69	OP P-09	GTGGTCCGCA	109	OP S-09	TCCTGGTCCC
30	OP B-10	CTGCTGGGAC	70	OP P-10	TCCCGCCTAC	110	OP S-10	ACCGTTCCAG
31	OP B-11	GTAGACCCGT	71	OP P-11	AACGCGTCGG	111	OP S-11	AGTCGGGTGG
32	OP B-12	CCTTGACGCA	72	OP P-12	AAGGGCGAGT	112	OP S-12	CTGGGTGAGT
33	OP B-13	TTCCCCCGCT	73	OP P-13	GGAGTGCTC	113	OP S-13	GTCGTTCTCTG
34	OP B-14	TCCGCTCTGG	74	OP P-14	CCAGCCGAAC	114	OP S-14	AAAGGGGTCC
35	OP B-15	GGAGGGTGTT	75	OP P-15	GGAAGCCAAC	115	OP S-15	CAGTTCACGG
36	OP B-16	TTTGCCCGGA	76	OP P-16	CCAAGCTGCC	116	OP S-16	AGGGGGTTCC
37	OP B-17	AGGGAACGAG	77	OP P-17	TGACCCGCT	117	OP S-17	TGGGGACCAC
38	OP B-18	CCACAGCAGT	78	OP P-18	GGCTTGGCCT	118	OP S-18	CTGGCGAACT
39	OP B-19	ACCCCGAAG	79	OP P-19	GGGAAGGACA	119	OP S-19	GAGTCAGCAG
40	OP B-20	GGACCCTTAC	80	OP P-20	GACCCTAGTC	120	OP S-20	TCTGGACGGA

기준으로 양말단에서 각각 9균주를 선발하여 대립 계통(베타글루칸 함량 30% 이하)과 베타글루칸 고함유 계통(베타글루칸 함량 35% 이상)의 공시시료로 사용하였다. 교배된 품종 중 SCAR marker 개발을 위해 선발된 계통의 베타글루칸 함량은 Table 2에 나타내었다.

RAPD를 이용한 BSA

BSA를 위해 선발된 대립 계통과 베타글루칸 고함유 계통의 genomic DNA를 동일한 농도로 희석한 다음 각각 혼합하여 총 DNA 농도가 30 ug/ml이 되도록 하였다 (Paran and Michelmore, 1991). RAPD를 위한 primer(10

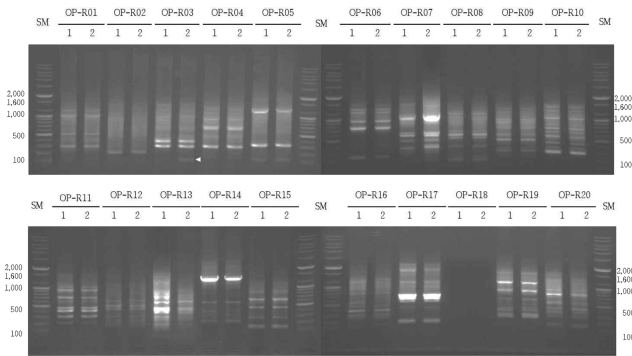


Fig. 1. RAPD analysis of *Pleurotus eryngii* using OPR primers. Standard Molecular weight marker (SM) are 100 bp plus DNA ladder (Bioneer). Arrows indicate specific-bands of strains with higher β -glucan. Lanes 1, bulked DNA of control; Lanes 2, bulked DNA of strains with higher β -glucan.

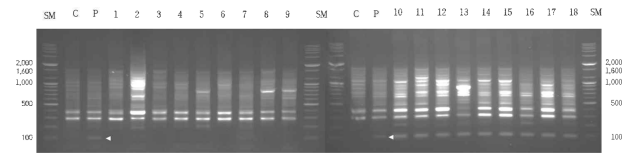


Fig. 2. RAPD analysis of *Pleurotus eryngii* using OP-R03 primers. Standard Molecular weight marker (SM) are 100 bp and 100 bp plus DNA ladder (Bioneer). Arrows indicate specific-bands of the strains with higher β -glucan. Lanes C, bulked DNA of control; Lanes P, bulked DNA of strains with higher β -glucan; Lanes 1-9, control; Lanes 10-18, strains with higher β -glucan.

mer)는 operon 사의 OPA(20개), OPB(20개), OPL(20개), OPP(20개), OPR(20개), OPS(20개) 등 총 120개를 사용하였다(Table 3). PCR은 bioneer premix kit(Bioneer, Korea)에 각 RAPD primer(20 pmole) 3 ul에 계통별 (대립 계통 9종, 베타글루칸 고함유 계통 9종) bulked genomic DNA 2 ul와 증류수 15 ul를 첨가하여 다음과 같은 조건으로 수행하였다. PCR 반응은 94°C에서 4분간 변성시킨 뒤 94°C에서 1분, 37°C에서 1분, 72°C에서 1분 30초의 조건으로 40 cycle을 반복한 다음 마지막으로 72°C에서 2분 동안 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel(iNtRON, Korea)에 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 UV light로 확인하였다. 대립 계통과 베타글루칸 고함유 계통에서 polymorphic한 밴드를 보이는 primer만을 선발하여 RAPD를 반복한 후 각 계통별로 BSA와 동일한 조건으로 PCR을 수행하여 품종 간의 polymorphism을 확인하였다. 그 결과 OPR primer들로부터 대립 계통과 베타글루칸 고함유 계통을 구별할 수 있는 마커들이 검색되었으며(Fig. 1) 그 중에서도 OP-R03 primer에서 대립 계통과 가장 뚜렷한 차이를 나타내고 반복성이 있는 우수한 RAPD 밴드(91 bp)를 찾을 수 있었다(Fig. 2).

1 ACACAGAGGG GGGCACATTG GCITTTGGTGA TGTTCTGTGC AGTGGTGCAT TCACAGTTTG
61 TGGTTTGTGG TTTGTTTCAGT GCCCTCTGTG T

Fig. 3. Nucleotide sequence of OP-R03 fragment used by RAPD analysis. Sequences of SCAR marker OP-R03-1F and OP-R03-1R are underlined.

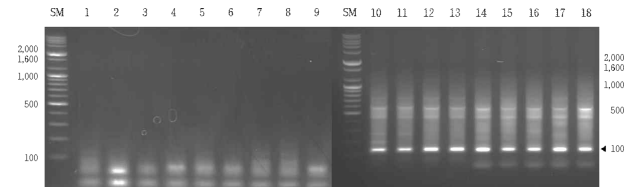


Fig. 4. SCAR-PCR analysis of *Pleurotus eryngii* using OP-R03-1-F and OP-R03-1-R primers. Standard Molecular weight marker (SM) are 100 bp plus DNA ladder (Bioneer). Arrows indicate specific-bands of strains with higher β -glucan. Lanes 1-9, control; Lanes 10-18, strains with higher β -glucan.

SCAR 마커 디자인

OP-R03 primer를 이용한 RAPD 결과, 약 91 bp 부근에서 대립 계통에서는 증폭되지 않고 베타글루칸 고함유 계통에서만 증폭되는 특이적인 RAPD 밴드가 관찰되었으며 이 밴드를 베타글루칸 고함유 계통 큰느타리버섯 선발에 유용한 RAPD 마커로 간주하고 단일 PCR 밴드를 증폭시킬 수 있는 SCAR 마커로 전환하였다. SCAR 마커로 전환하기 위해 RAPD 밴드의 DNA는 gel extraction kit (Bioneer, Korea)를 이용하여 agarose gel로부터 추출한 다음 T-blunt PCR cloning kit(SolGent, Korea)를 이용하여 cloning하였다. cloning 여부는 액체배양한 clone의 plasmid를 plasmid isolation kit(iNtRON, Korea)를 이용하여 분리한 다음 제한효소인 *EcoRI*(Promega, USA)을 처리하여 확인하였고 선발된 clone은 Macrogen(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다(Fig. 3). 그 결과 얻어진 염기서열 발단을 근거로 SCAR 마커로 사용할 specific primer인 OP-R03-1-F(5'-ACA CAG AGG GGG GCA CAT TG-3')와 OP-R03-1-R(5'-ACA CAG AGG GCA CTG AAC AAA C-3')를 디자인하였다. SCAR marker OP-R03-1-F/R의 PCR 반응은 94°C에서 5분간 변성시킨 뒤 94°C에서 1분, 62°C에서 1분, 72°C에서 2분의 조건으로 30 cycle을 반복한 다음 마지막으로 72°C에서 10분 동안 수행하였으며 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에 전기 영동한 다음 대립 계통과 구별되는 DNA 밴드를 베타글루칸 고함유 계통에서 확인하였다. SCAR 마커인 OP-R03-1-F/-R primer를 이용한 PCR 결과 얻은 91 bp의 DNA 밴드는 베타글루칸 고함유 계통에서만 확인할 수 있었으며 random primer인 OP-R03 primer를 이용하여 PCR을 수행했을 때보다 재현성이 높고 진한 DNA 밴드임을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 따라서

OP-R03-1-F/-1-R primer는 대립 계통과 베타글루칸 고함유 계통의 큰느타리버섯을 신속히 구분할 수 있는 SCAR 마커로써 이용될 수 있으며 베타글루칸 고함유 계통의 큰느타리버섯 육종에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

본 연구는 큰느타리버섯의 베타글루칸 고함유 형질에 관련된 SCAR marker를 개발하기 위해 수행되었다. operon 사의 OPA(20개), OPB(20개), OPL(20개), OPP(20개), OPR(20개), OPS(20개) 등 총 120개 primer를 random primer(10 mer)로 사용하여 대립 계통 9종과 베타글루칸 고함유 계통 9 종을 대상으로 RAPD를 이용한 bulked segregant analysis를 실시하여 OP-R03 primer로부터 대립 계통에는 나타나지 않고 베타글루칸 고함유 계통에만 나타나는 특이적인 RAPD 밴드를 얻었다. OP-R03 primer를 이용한 RAPD 결과, 약 91 bp 부근에서 베타글루칸 고함유 계통에 특이적인 DNA 밴드가 관찰되었으며 이 DNA 밴드의 염기서열 말단을 근거로 SCAR 마커로 사용할 specific primer인 OP-R03-1-F와 OP-R03-1-R를 디자인하였다. SCAR 마커 OP-R03-1-F/-1-R primer를 이용하여 PCR을 수행한 결과에서도 91 bp 부근에서 대립 계통과 구별되는 DNA 밴드가 베타글루칸 고함유 계통에서 확인되었으며 random primer인 OP-R03 primer를 이용하여 PCR을 수행했을 때보다 재현성이 높고 진한 DNA 밴드임을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농수산물기술기획평가원(IPET)의 생명산업과제(과제번호 111077-03-SB010)와 2013년 경남과학기술대학교 기성회연구비 지원사업에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

References

Bang KH, Sung JS, Park CH, Jin DC, Park CG, Yu HS, Park HW, Seong NS. 2004. Discrimination of atractylodes rhizome white using anatomical characteristics and SCAR Markers. *Kor J Medicinal Crop Science*. 7:53-59.

Hongyan S, Lei W, Yihe G, Ermei F, Jie S, Linde L. 2008. Development of strain-specific SCAR markers for authentication of *Ganoderma lucidum*. *World J Microbiol Biotechnol*. 24:1223-1226.

Hui YF, Den ES, Chi TH. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *J Food*

Lipids. 9:35-46.

Hwang YJ, Nam HK, Chang MJ, Noh GW, Kim SH. 2003. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* Extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 32:217-222.

Kang TS, Kang MS, Sung JM, Kang AS, Shon HR, Lee SY. 2001. Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Kor J Mycol*. 29:86-90.

Kim SC, Hwang HS, Cho YJ, Kim HS, Ryu JS, Cho SJ. 2013. Development of a psychrophilic-SCAR marker for *Pleurotus eryngii*. *J Mushroom Sci Prod*. 11:171-176.(in Korean)

Koveza OV, Gostimsky SA. 2005. Development and study of SCAR marker in pea (*Pisum sativum* L.). *Russian. J of Genetics*. 15:34-35.

Lee MY, Doh EJ, Park CH, Kim YH, Kim ES, Ko BS, Oh SE. 2006. Development of SCAR marker discrimination of *Artemisia princeps* and *Artemisia argyi* from other *Artemisia* Herbs. *Biol Pharm Bull*. 29:629-633.

Panner GA, Bush A, Wise R, Kim W, Domier L, Kasha K, Laroche A, Scoles G, Molnar SJ, Fedak G. 1993. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA(RAPD) analysis among laboratories. *Genome Res*. 2:341-345.

Paran I, Michelmore RW. 1991. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 88:9828-9832.

Paran I, Michelmore RW. 1993. Development of reliable PCR-based, markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor Appl Genet*. 85:985-993.

Qin LH, Tan QI, Chen MJ, Pan YJ. 2006. Use of intersimple sequence repeats markers to develop strain-specific SCAR markers for *Lentinula edodes*. *FEMS Microbiol Lett*. 257:112-116.

Rajaratnam R, Bano Z. 1987. *Pleurotus* mushrooms. Part 1A. Morphology, Lifecycle, Taxonomy. Breeding and cultivation. *CRC Critical in Food Science and Nutrition*. 26:157-222.

Ryu JS, Kim MK, Kwon JH, Cho SH, Kim NK, Rho CW, Lee CH, Ro HS, Lee HS. 2007. The growth characteristics of *Pleurotus eryngii*. *Kor J Mycol*. 35:47-53.

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.

Song YJ, Jeong MJ, Kim BG, Rho YD, Ryu JC, Yoo YB. 1996. Genetic variability of *Pleurotus ostreatus* monospore isolates by random amplified polymorphic DNA analysis. *Kor J Mycol*. 24:186-205.

Zadrazil F. 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus folioides*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*. *Mush Sci*. IX (Part 1):21-652.