

흰색느타리버섯 ‘미소’의 균사배양 및 자실체 생육 특성

김홍규^{1*} · 김용균¹ · 이병주¹ · 이가순¹ · 양의석¹ · 박명수² · 유영복³ · 김홍기²

¹충남농업기술원 생물환경과, ²충남대학교 응용생물학과, ³농업과학기술원 응용미생물과

Characteristics of Mycelial Growth and Fruit Body Development of White *Pleurotus ostreatus* ‘Miso’

Hong Kyu Kim^{1*}, Yong Gyun Kim¹, Byung Joo Lee¹, Ka Soon Lee¹, Eyu Seog Yang¹,
Myung Soo Park², Young Bok Yoo³ and Hong Gi Kim²

¹Chungnam Agricultural Research & Extension Services, Yesan 340-8612, Korea

²Department of Applied Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

³National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received June 9, 2008. Accepted June 20, 2008)

ABSTRACT: ‘Miso’, a new variety of oyster mushroom was developed for the bottle culture at the Chungnam Agricultural Research & Extension Services. Its mycelium grew rapidly with 8.4–8.6 mm/day at 25–28°C on PDA medium. The optimum pH of the mycelial growth was pH 5.0. It took 24 days for the primitive primordium formation after inoculation on pine sawdust media mixed with 20% wheat bran. Fruiting body color was white, and the shape of pileus was convex-umbonate. In the bottle culture, the yield was 115.7 g per 850 ml bottle. Stipe length was about 54 mm, the number of stipe per bottle was 18.1, the size of pileus was 28 mm, and gill was crowded. The moisture content of ‘Miso’ was lower than that of Jangan No. 5 and Wonhyeong No. 1, and contents of protein, ash and sugar of ‘Miso’ were higher than those of other varieties, and tannin acid content of ‘Miso’ was lower than that of others. On the basis of AFLP analysis, the ‘Miso’ was distinct not only from Wonhyeong No. 1, but also from their closest relative, oyster mushrooms.

KEYWORDS : AFLP, Cultivation, Fruiting body, Mycelial growth, *Pleurotus ostreatus*, Sawdust

느타리버섯은 분류학상 담자균류, 송이버섯과, 느타리버섯속에 해당되며, 느타리버섯은 국내에서는 물론 세계 각국에서도 잘 알려져 있는 버섯으로 각종 활엽수의 고사목에 충생 또는 군생으로 발생하며 국내에서는 옛날부터 미루나무버섯 또는 버드나무버섯 등으로 불리어졌으며, 일본에서는 그 모양이 평평하며 부채꼴을 하고 있어 평이라고 부르고, 구미에서는 그 맛과 모양이 굴과 같다하여 굴버섯이라 부르고 있다. 2006년 전국의 느타리버섯 생산량은 4,120호 농가에서 45,782톤을 생산하였으며, 충남은 743호의 농가에서 10,238톤을 생산하여 전국의 22%를 차지하고 있다(농림부, 2007). 현재까지 보급된 느타리버섯은 107품종에 이르고 그중 미소 등 25품종이 보호권이 등록되었는데(한국종자연구회, 2008), 대다수의 품종은 *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. florida*에 속하고, 이들 품종은 종간이나 종내의 원형질 융합 및 교잡 육종에 의해 육성되었다. 느타리버섯 생산량은 지난 10년(‘95~‘04)동안 연평균 3.3%씩 줄어왔고, 생산농가의 수도 5년 동안(‘00~

‘04) 연평균 6.0%씩 감소했다. 또한 국내 경기 침체로 버섯 가격은 2000년 4,406원/kg에서 2006년에는 2,558원/kg으로 하락 추세이고, 느타리버섯 감소에 따른 대체 품목으로 팽이, 큰느타리버섯 등이 증가되고 있는 실정이다. 이에 느타리버섯 재배 농가의 새로운 소득원을 개발하고 소비자의 다양한 요구에 부응하기 위해 충남농업기술원에서 2005년 병재배에 적합한 신품종 느타리버섯을 개발하였기에 주요 특성을 소개하고자 한다.

재료 및 방법

시험균주

본 시험에 사용한 미소느타리버섯(CM 000123) 균주는 2001년도에 충남 부여군 홍산면의 원형 1호 느타리버섯 재배균상에서 변이 자실체를 채취 하였으며, 균배양적 특성 조사결과 기존의 원형느타리버섯과 비교하여 미소느타리버섯(CM 000123) 균주가 우수한 특성을 나타내어 2002년부터 2005년까지 균배양적특성, 재배적 특성, 균상 재배의 생산력을 시험하여 선발 되었다. 2005년 12월 농

*Corresponding author <E-mail : kimhongkyu@cnnongup.net>

춘진홍청 ‘05농작물 직무육성 신품종 선정 위원회 심의결과 신품종으로 선정되어 “미백”으로 명명되었으나 품종등록시 품종명칭이 “미소(Miso)”로 명명 되었다. 시험 균주는 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에 계대 배양하여 4°C의 항온기에 보존한 후 PDA에 접종하여 25°C의 항온기에 6일간 배양하여 사용하였다.

배지별 균사생장 조사

배지별 균사 생장을 측정하기 위하여 PDA(Potato Dextrose Agar), MCM(Mushroom Complete Medium, MEA(Malt Extrat Agar), YMA(Yeast Malt Agar) 배지를 사용하였다. 이 배지를 고압 살균기로 121°C에서 20분간 살균하여 무균상에서 petri dish(직경 9 cm)에 30 ml씩 분주하여 접종원을 접종하였으며, 25°C로 조절된 항온기에서 3, 6, 10일간 배양 후 균층의 직경을 측정하였다.

적정 배양 온도 선발

균사배양 최적 온도를 조사하기 위하여 직경 9 cm petri dish에 PDA 배지를 30 ml씩 분주한 후 직경 0.5 cm cork borer를 이용하여 균층의 가장자리에서 균주 절편을 떼어 접종한 후 20, 25, 28°C로 각각 온도를 달리한 항온기에서 3, 6, 10일간 배양 후 균층 직경을 측정하였다.

적정 배지 pH 선발

시험 균주의 적정 pH를 조사하기 위하여 PDB(Potato Dextrose Broth) 배지에 0.1 N HCl과 NaOH를 사용하여, 배지의 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0으로 조절 후 250 ml 삼각플라스크에 50씩 분주, 살균하고 균을 접종하여 25°C에서 15일간 배양 후 whatman No.2 여과지로 여과시킨 후 균체량을 건조평량(Sartorius Electronic Balances 1712 MP8)하여 균사의 건물중을 조사하였다.

자실체 생육 관리

재배에 사용한 배지는 소나무 톱밥과 첨가제인 밀기울과 8:2의 부피비로 각각 혼합하고, 수분함량을 65%로 조절한 후 850 polypropylene 병에 넣어 살균, 접종하고 21°C 배양실에서 20일간 배양 후 온도는 13~17°C, 상대습도(RH)는 85~95%로 조절한 생육실에서 발이 후, 생육 특성 및 수량을 조사 하였으며 조사 방법은 농사시험 연구조사 기준(농촌진흥청, 1995)에 준하였으며 그 외 관리는 관행에 준하였다.

성분분석

원료콩, 균사체를 증식시킨 콩 및 두부의 일반성분은 A.O.A.C.법(1995)에 따라 수분은 105°C 상압건조법, 회분은 550°C에서 직접회화법, 조단백은 Kjeldahl법으로 그 함량을 측정하였으며 무기이온 분석은 습식법으로 전처리하여 분석하였다. 즉 건조시료 1 g을 질산, 과염소산과 질

산액의 혼합액 및 염산을 순차적으로 이용하여 분해시킨 후 일정량으로 희석, 여과한 후 ICP analyzer(GBC integra XMP, Australia)를 사용하여 원자흡광광도법으로 정량하였다.

분자생물학적 특징

미소느타리버섯 균주(CM000123) 및 유사 느타리버섯 균주들을 PDA 배지에 전접종하여 25°C에서 3~4일간 배양 후 PDB에 접종, 25°C에서 3~4일간 진탕배양을 한 균사체를 genomic DNA 추출용 시료로 사용하였다. 균사체는 동결건조 후 소량을 1.5 ml microtube에 넣고 마쇄한 뒤 400 µl의 STES buffer[500 mM NaCl, 200 mM Tris-HCl(pH 7.6), 10 mM EDTA, 1% SDS]와 glass beads를 첨가하여 TOMY micro tube mixer(TOMY, Seiko, Japan)를 이용하여 20분간 vortex mix한 후 동량의 phenol:chloroform:isoamyl alcohol(25:24:1, v/v)으로 추출하고 원심분리하여 얻은 상등액에 0.7 volume의 isopropanol을 첨가하여 DNA를 얻었다. DNA pellet을 TE buffer 50 µl에 용해하여 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

AFLP 분석은 Vos 등(1995)의 방법에 준하여 실시하였다. Genomic DNA 1 µg을 각각 제한효소 *EcoRI*와 *MseI*로 절단하고, T4 DNA ligase와 *EcoRI*와 *MseI* adapter를 첨가한 후 16°C에서 12시간 ligation시켰다.

Pre-amplification은 0.5 pmol의 E00과 M00 primer, 250 mM dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, *Taq*-DNA polymerase(Bioneer, Korea) 2 unit, adapter가 붙어있는 DNA 4 µl에 H₂O를 첨가하여 최종 volume을 50 µl로 하였다. pre-heating을 94°C 5분하고, 94°C 30초, 56°C 1분, 72°C 1분을 한 주기로 20회 반복하고 72°C에서 7분간 final extension을 실시하였다. 2차 선택증폭은 0.5 pmol E134/M13와 E13/M03 primer set(Table 9), 250 mM dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, *Taq*-DNA polymerase(Bioneer, Korea) 2 unit, 1차 Pre-amplification된 산물은 1:10으로 희석된 DNA 1 µl에 H₂O를 첨가하여 최종 volume을 250 µl로 하였다. pre-heating을 94°C 5분하고 94°C에서 30초, 67°C에서 30초, 72°C에서 1분간 반응시킨 후 annealing 온도를 0.7°C씩 감소시키면서 11주기를 반복한 뒤, 마지막으로 94°C에서 30초, 57°C에서 20초, 72°C에서 1분간을 23회 반복하고 72°C에서 7분간 final extension을 실시하였다. PCR 산물을 6% long ranger gel에 1800 V 80 W에서 3시간 loading한 다음 silver staining하고 GelCompar Version 2.5 Pattern analysis software(Applied-Maths, Belgium)을 사용하여 Pearson correlation으로 유사도를 구하고, UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic average)에 의한 집괴분석을 실시하였다.

Table 1. Comparison of mycelial growth of three varieties under different media

Variety	Media											
	PDA			MCM			MEA			YMA		
	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Miso	15	45	83	23	55	86	16	26	38	22	68	86
Wonhyeong No. 1	20	53	83	25	61	86	23	64	86	26	71	86
Cheongpung	27	53	86	20	30	82	23	39	80	26	45	86

PDA (potato 200 g, sugar 20 g, agar 20 g), MCM (sugar 20 g, yeast extract 2 g, KH_2PO_4 0.4 g, K_2HPO_4 0.4 g, MgSO_4 0.5 g, agar 20 g), MEA (malt extract 20 g, peptone 5 g, agar 20 g), YMA (yeast extract 2 g, malt extract 3 g, peptone 5 g, sugar 10 g, agar 20 g)

Table 2. Comparison of mycelial growth of three varieties under different temperatures

Variety	Temperature (°C)								
	20			25			28		
	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Miso	7	35	69	15	45	83	15	58	86
Wonhyeong No. 1	14	37	71	29	53	84	25	74	86
Cheongpung	12	29	67	14	42	83	17	30	86

결과 및 고찰

균사배양 특성

시험 균주의 배지별 균사생장을 측정하기 위하여 4종의 배지를 공시하여 균사 생육을 조사한 결과 신품종 느타리버섯 ‘미소’의 균사생장은 버섯완전배지(MCM)와 YMA 배지에서 균사생장이 가장 양호하였고, 감자추출배지(PDA)에서도 양호하였으나, MEA배지에서는 균사생장이 불량하였다(Table 1). 자실체가 백색인 변이체의 모균주로 추정되는 원형 1호의 배양적 특성을 비교한 결과 백색 변이체들은 대체적으로 느리고, 균충은 다소 불규칙하였다고 보고하였는데 ‘미소’도 비슷한 경향이었던(이 등, 2007). ‘미소’의 균사배양 최적온도를 조사하기 위하여 배양 온도를 달리하여 균사 생육을 조사한 결과 25~28°C에서 균사 생육이 빠르고 균사 밀도가 높았고, 20°C에서는 균사 생육이 느렸고(Table 2), 본 시험에서도 원형 1호의 균사생장은 성 등(1999)이 기 보고한 바와 같이 최적 균사 생육 적온은 25~28°C이었고 28°C에서 균사의 생육이 가장 양호하였지만, 청풍은 25°C에서 균사생장이 양호하였다(유 등, 1993; 이 등 2000).

균사 생육에 적합한 최적 pH를 구명하기 위하여 배지의 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0으로 달리하여 PD broth에서 균사 생장을 조사한 결과 pH 5.0에서 237 mg/50 ml/15일로 가장 잘 자랐으며 pH 6.0 이상이나 pH 5.0 이하

Table 3. Comparison of mycelial growth of three varieties under different pH (unit : mg/50 ml/15 days)

Variety	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
Miso	183	237	176	171	142
Wonhyeong No. 1	113	132	173	150	123
Cheongpung	161	199	125	143	166

에서는 균사 생육이 다소 억제되는 경향이었던(Table 3). 성 등(1999)은 균사체 생육에 미치는 초기 pH의 영향을 조사한 결과, 원형 1호는 pH 6.5에서 균사 생장이 가장 우수하였다고 보고한 내용과 거의 일치 하였다.

자실체 생육 특성

신품종 느타리버섯 ‘미소’의 톱밥 병재배시 재배적 특성을 구명하기 위하여 균사배양일수, 초발이소요일수 및 생육일수는 Table 4와 같다. ‘미소’의 균배양일수는 18일로 원형 1호에 비해 2일 빨랐고, 장안 5호에 비해 1일정도 늦은 경향 이었다. 초발이소요일수는 6일로 원형 1호에 비해 3일정도 빨랐고, 장안 5호보다 1일 늦었다. 자실체 생육일수는 5일로 원형 1호 보다 2일 빨랐고, 장안 5호와 비슷하였다(김 등, 2006).

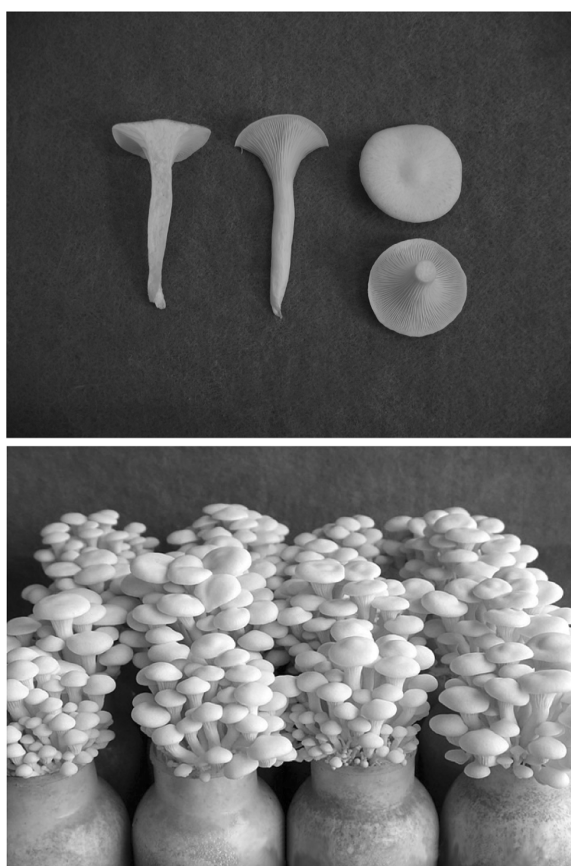
신품종 느타리버섯 ‘미소’의 갓의 모양·색깔·직경, 대의 길이·두께·수, 수량은 Table 5 및 Fig. 1과 같다. 갓의 모양은 반반구형~편평형이었고, 원형 1호와 장안 5호는

Table 4. Cultural periods of three varieties on pine sawdust media

Variety	Incubation period (days)	Initial pinheading period (days)	Fruiting bodies growth period (days)	Total
Miso	18	6	5	29
Wonhyeong No. 1	20	9	7	36
Jangan No. 5	17	5	5	27

Table 5. Morphological characteristics and yield of three varieties on pine sawdust media

Variety	Shape of pileus	Color of pileus	Size of pileus (mm)	Length of stipe (mm)	Diameter of stipe (mm)	Available stipes No. (No./bottle)	Yield (g/850 ml)
Miso	Convex-umbonate	White	28	54	9	18.1	115.7
Wonhyeong No. 1	Semispherical	Gray	29	52	11	12.3	96.4
Jangan No. 5	Semispherical	Gray	31	48	12	11.2	82.4


Fig. 1. Morphological characteristics of fruiting bodies of new variety 'Miso'.

갈대기형이었다. 갓의 색은 미백색이었으며, 톱밥 병에 여러번 재배하여 자실체를 형성시켜본 결과 이들 색소는 일

Table 6. Comparison of primordia induction period and yield between Miso and Wonhyeong No. 1

Variety	Initial pinheading period (days)	(kg/3.3 m ²)
Miso	47	45.6
Wonhyeong No. 1	50	36.1

시적인 현상이 아니고 고정된 것으로 확인되었다(이 등, 2007). '미소' 갓의 직경은 28 mm로 원형 1호(29 mm)과 비슷하였지만, 장안 5호(31 mm)에 비해 작았다. 대의 길이는 54 mm로 원형 1호(52 mm)과 비슷하였지만, 장안 5호(48 mm)에 비해 길었다. 대의 굵기는 9로 원형 1호(11 mm)와 장안 5호(12 mm)에 비해 가늘었다. 병당 유효경수는 18.1개로 원형 1호 (12.3개)와 장안 5호(11.2개)보다 많았고 병당 수량은 115.7 g으로 원형 1호(96.4 g)보다 20% 높았고, 장안 5호(82.4 g)보다 40% 높았다.

자실체의 화학성분 분석

'미소'의 화학성분을 분석한 결과 대조 느타리버섯인 장안 5호와 원형 1호보다 수분함량이 낮았으며 단백질, 당 및 회분함량이 높게 나타났고, 버섯의 아린맛을 띄는 주된 물질인 Tannin산을 분석한 결과 '미소'는 1.54%로 원형 1호 1.72%와 장안 5호 1.64%보다 그 함량이 낮게 나타났다(Table 7). 또한 무기이온의 함량에 있어 다량원소인 K는 '미소'가 원형 1호와 장안 5호 보다 낮았으며 미량원소인 Ca, Fe 등은 다소 높게 나타났다(Table 8).

분자생물학적 특징

AFLP 분석 방법은 중간, 종내 변이를 분석하기 위한

Table 7. Comparison of composition of fruit body in three varieties

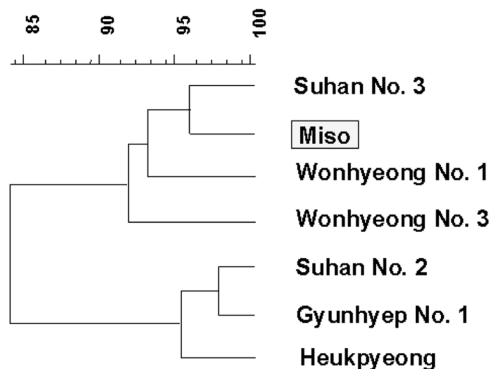
Variety	Tannin	Moisture	Ash	Protein (%)	Lipid (%)	Carbohydrate (%)
Miso	1.54	88.40	0.82	4.88	0.15	5.67
Wonhyeong No. 1	1.72	90.14	0.75	3.51	0.10	5.50
Jangan No. 5	1.64	90.33	0.76	3.28	0.09	5.53

Table 8. Analysis of mineral elements of fruit body in three varieties

Variety	K	P	Mg	Na	Ca	Fe	Zn	Cu	Al
Miso	202.9	120.4	16.2	10.2	1.83	1.2	1.3	0.17	0.15
Wonhyeong No. 1	247.1	123.2	15.9	7.8	1.50	0.7	0.8	0.07	0.09
Jangan No. 5	235.3	125.4	16.9	7.8	1.73	0.7	0.7	0.05	0.28

Table 9. AFLP adapters and primers used in this study

Adapter	<i>MseI</i>	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'
	<i>EcoRI</i>	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5'
Primer	M00	5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3'
	M03	5'-GATGAGTCCTGAGTAAAG-3'
	M13	5'-GATGAGTCCTGAGTAAAG-3'
	E00	5'-GACTGCGTACCAATTC-3'
	E13	5'-GACTGCGTACCAATTCAG-3'
	E134	5'-GACTGCGTACCAATTCAGT-3'

**Fig. 2.** Dendrogram showing relationships among 7 cultivars oyster mushroom using 2 AFLP primer sets based on pierson correlation and UPGMA. The clusters were delineated at above % similarity.

가장 민감한 방법 중의 하나로 세균이나 균류를 포함한 많은 생물체의 유전적 다양성 및 분류를 위한 연구에 널리 이용되고 있다(Majer *et al.*, 1996; Gonzalez *et al.*, 1998; Purwantara *et al.*, 2000). ‘미소’의 분자 생물학적 특징을 조사하기 위하여 E134와 M13, E13와 M03의 2개의 primer set을 이용하여 AFLP를 실시하여 UPGMA 분석을 하였다. ‘미소’와 원형 1호·3호, 수한 2호·3호, 균협 1호, 흑평은 84%의 유사도 수준에서 2개의 그룹으로 나누어졌다. 그룹 1은 ‘미소’, 수한 3호, 원형 1호, 및 원형 3호를 포함하며 91%의 유사도를 나타내었고, ‘미소’는 수한 3호, 원형 1호, 및 원형 3호와 구별되어 진다. 그룹 2는 수한 2호, 균협 1호, 및 흑평을 포함하며 94.5%의 높은 유사도를 나타내었다(Fig. 2).

적 요

신품종 느타리버섯 ‘미소’는 충남농업기술원에서 육성한 품종으로 국립종자원에 품종 등록되었고(품종보호권 등록, 제 1688호, 2006. 11. 17), 제 3호 대한민국 우수품종상을 수상한 품종이다(2007. 12. 7). ‘미소’의 균사는 25~28°C 온도의 감자배지에서 배양시 일일 8.4~8.6 mm

로 균사생장이 양호하며, 균사배양에 적합한 배지 pH는 5.0이다. 초발이소요일수는 6일로 원형 1호의 9일에 비해 3일 정도 빨랐다. ‘미소’의 병당 개체수는 18.1개로 원형 1호의 12.3개 보다 많았고, 대의 직경 및 갓의 크기가 원형 1호에 비해 작은 반면 대의 길이는 길었다. ‘미소’ 갓 모양은 반반구형~편평형이며, 갓의 색은 미백색이다. ‘미소’의 병당 개체중은 적었지만 개체수가 많아 원형 1호나 장안 5호에 비해 병당 수량은 115.7 g으로 원형 1호(96.4 g)보다 20% 높았고, 장안 5호(82.4 g)보다 40% 높았다. 버섯의 아린맛을 띄는 주된 물질인 Tannin산 함량이 ‘미소’ 1.54%로 원형 1호 1.72%와 장안5호 1.64%보다 그 함량이 낮아 아린 맛이 적었다. AFLP분석한 결과 ‘미소’는 원형 1호 및 다른 느타리버섯과 구별되었다.

참고문헌

- 김홍규, 김용균, 김흥기. 2006. 미소느타리버섯 육성에 관한 연구. 한국균학회소식 18:69.
- 농림부. 2007. 특용작물 생산실적. pp. 70-73.
- 농촌진흥청. 1995. 농사시험연구조사기준. pp. 52-58.
- 한국종자연구회. 2008. 버섯품종 육성과 산업화. pp. 14-15.
- A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis, 16th, Association of official analytical chemists. Washington, D.C.
- Gonzalez, M., Rodriguez, M. E. Z., Jacabo, J. L., Hernandez, F., Acosta, J., Martinez, O. and Simpson, J. 1998. Characterization of mexican isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using differential cultivals and molecular markers. *Phytopathology* 88:292-299.
- Lee, H. D., Kim, H. K., Kim, Y. K. and Han, K. H. 2000. Development of neutaribeosut varieties (*Pleurotus ostreatus*) Chong-pung, Myongwol. *The Plant Resources Society of Korea* 3:105-109.
- Lee, K. H., Kim, G. H., Kim, B. G., Yoo, Y. B. and Sung, J. M. 2007. Characteristics of fruiting bodies color mutants in *Pleurotus ostreatus*. *J. of Mushroom Science and Production*. 5:34-38.
- Majer, D., Mithen, R., Lewis, B. G., Vos, P. and Oliver, R. P. 1996. The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. *Mycological Research* 100:1107-1111.
- Purwantara, A., Barrins, J. M., Cozijnsen, A. J., Ades, P. K. and Howlett, B. J. 2000. Genetic diversity of isolates of the *Lep-tosphaeria maculans* species complex from Australia, Europe, and North America using amplified fragment length polymorphism analysis. *Mycological Research* 104:772-781.
- Sung, J. M., Moon, H. W. and Park, D. S. 1999. Growth condition of liquid culture by *Pleurotus ostreatus*. *Kor. J. Mycol.* 27: 1-9.
- Yoo, Y. B., You, C. H. and Cha, D. Y. 1993. Strain improvement of the genus *Pleurotus* by protoplast fusion. *Kor. J. Mycol.* 21: 200-211.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23:4407-4414.