ГЕНЕТИКА, 2012, том 48, № 4, с. 465–472

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

УДК 582.287.238:575.174

ДНК-МАРКИРОВАНИЕ ЛОКУСОВ НЕКОТОРЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ СЪЕДОБНОГО КУЛЬТИВИРУЕМОГО ГРИБА *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm.

© 2012 г. А. Б. Сиволапова[1], А. В. Шнырева[1], А. Сонненберг[2], И. Баарс[2]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра микологии и альгологии, Москва 119991*
e-mail: asivolapova@yahoo.com
[2]*Университет Вагенингена, Вагенинген 6708 PB, Нидерланды*

Поступила в редакцию 08.09.2011 г.

Грибы рода *Pleurotus*, в частности вид *P. ostreatus* (вешенка обыкновенная), являются одними из самых широко культивируемых грибов во всем мире. В связи с интенсивными темпами развития этой отрасли необходимы эффективные селекционные программы, направленные на поиск новых штаммов *P. ostreatus*. Основными признаками, по которым отбираются штаммы, являются интенсивность плодоношения, для некоторых потребительских рынков – цвет плодовых тел, а также скорость обрастания субстрата мицелием. В связи с этим целью данной работы было исследование перечисленных выше количественных признаков и поиск молекулярных маркеров, которые можно было бы использовать при выполнении селекционных программ. В общей сложности нами были найдены 12 генных локусов, ответственных за скорость мицелиального роста вешенки, и шесть областей, отвечающих за интенсивность окраски шляпки плодовых тел. Была построена генетическая карта *P. ostreatus*, на которую были нанесены все найденные нами маркеры количественных признаков. Полученная карта может быть использована при выполнении селекционных программ, направленных на улучшение хозяйственно-полезных свойств вешенки обыкновенной.

Грибы съедобного культивируемого рода *Pleurotus*, или вешенки, давно привлекли к себе интерес со стороны производителей благодаря своим прекрасным вкусовым качествам и относительной простоте культивирования. Показано, что эти грибы, в частности вешенка обыкновенная *P. ostreatus*, довольно перспективны для использования в медицине и фармакологии. Они обладают противоопухолевой активностью, основанной на усилении иммунных ответов, а также гиполипидемической активностью, т.е. способностью снижать содержание холестерина в крови [1, 2].

Кроме того, в последнее время все чаще предлагается использовать грибы рода вешенка в процессах биологической переработки отходов бумажного и текстильного производств [3–6] в силу того, что эти грибы обладают комплексом лигнинолитических ферментов.

Для выращивания *P. ostreatus*, занимающего второе место после шампиньона по мировому объему производства, используются субстраты растительного происхождения: солома, лузга, хлопковый очес и др. В связи интенсивными темпами развития этой отрасли необходимы более эффективные селекционные программы, направленные на поиск новых штаммов *P. ostreatus*. Основными признаками, по которым отбираются штаммы, являются интенсивность плодоношения, для некоторых потребительских рынков – цвет плодовых тел, а также скорость зарастания субстрата мицелием. Последний признак является особенно важным, так как использование быстрорастущих штаммов, во-первых, сокращает сроки появления плодовых тел, а во-вторых, такие штаммы более конкурентоспособны в борьбе с другими микроорганизмами за субстрат. Поэтому целью данной работы было исследование перечисленных выше количественных признаков и поиск молекулярных маркеров, которые можно было бы использовать при выполнении селекционных программ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культуры и штаммы. В работе использовали несколько монокариотических (гаплоидных) штаммов вешенки – P001-15, EP-57 (тип спаривания A5B5), EP25 (тип спаривания A5B5), G24 (тип спаривания A9B9) и P24 (тип спаривания A4B4). Штаммы P001-15 и EP25 являются гаплоидными протоклонами, т.е. полученными из протопластов дикариотического (функционально диплоидного) мицелия коллекционного штамма ATCC58937 (American Type Culture Collection). Путем скрещивания штаммов P001-15 и EP-57 был получен дикариотический штамм BKK0, из спорового отпечатка которого путем проращивания гаплоидных базидиоспор было получено 200 моноспоровых гаплоидных культур BKK1–BKK200.

Культивирование дикариотических и монокариотических штаммов, скрещивания штаммов, а также проращивание базидиоспор проводили на чашках Петри при 25°С на питательной среде Эгер следующего состава: экстракт солода – 20 г/л, агар – 15 г/л.

Базидиомы (плодовые тела) получали из дикариотического мицелия путем скрещивания моноспоровых культур с гаплоидным штаммом EP25. Выгонку зрелых плодовых тел проводили в теплицах согласно стандартным коммерческим условиям культивирования вешенки. В качестве субстрата использовали пастеризованную солому пшеницы влажностью 70%. Зерновой инокулюм варили, обогащали солями ($CaCO_3$) и стерилизовали 30 мин при 1 атм. В пластиковые мешки с 1 кг субстрата добавляли зерновой инокулюм в соотношении 98 : 2, после чего мешки помещали в термостат и инкубировали в течение 2–3 нед в темноте при температуре 25°С. Далее мешки помещали в комнату для культивирования со следующими условиями: влажность 85%, температура 16–17°С, 12-часовой период освещенности, концентрация CO_2 – 700–1000 ppm.

Определение цвета шляпки. Определение цвета шляпки проводили для 123 дикариотических штаммов, полученных путем скрещивания гаплоидных изолятов ВКК-популяции и гаплоидного штамма EP25. Цвет шляпок культивируемых грибов определяли с помощью хромометра Minolta Chromameter (CM500) по трем параметрам (индексам): L – соотношение черного и белого цветов (варьируется от 0 – черный до 100 – белый), a – соотношение красного и зеленого цветов, b – соотношение синего и желтого цветов. В дальнейшей работе для сравнительной характеристики цвета использовали только первый параметр L. Для измерения была выбрана область между центром и краем шляпки. Цвет шляпок определяли для 10 плодовых тел каждого штамма. Измерения проводили сразу после срезания грибов.

Оценку интенсивности плодоношения (*урожайности*) проводили для 150 штаммов, полученных путем скрещивания гаплоидных изолятов ВКК-популяции и гаплоидного штамма EP25. Полученные от первой волны плодоношения базидиомы взвешивали, а также регистрировали момент появления плодовых тел.

Измерение скорости роста дикарионов проводили для 70 произвольно выбранных штаммов ВКК-популяции, каждый из которых был скрещен поочередно с тремя коммерческими тестерными штаммами – EP25, P24 и G24.

В качестве субстрата в опыте по измерению скорости мицелиального роста штаммов вешенки использовали измельченную ферментированную и стерилизованную солому пшеницы (влажность 70%); стерилизацию проводили в два этапа по 30 мин при 1 атм. Подготовленный субстрат помещали в стеклянные пробирки высотой 16 см и диаметром основания 16 мм. Зерновой инокулюм помещали поверх субстрата и закрывали пробирку бумажной пробкой. Каждый опыт был поставлен в трех повторениях. Кроме того, на каждую пробирку были нанесены по 4 измерительные линии, на которых каждые 2 дня отмечалась граница роста мицелия. Таким образом, для каждого дикариона опыт был поставлен в 12 повторениях.

Определение факторов половой (*гомогенной*) *несовместимости и отбор гаплоидных тестеров типов спаривания* осуществляли в соответствии со стандартными методиками [7]. Как правило, у базидиомицетов продуктом мейоза являются четыре гаплоидные базидиоспоры, созревающие в массе на базидиомах (плодовых телах). Так как *P. ostreatus* обладает тетраполярной системой гомогенной несовместимости, то для формирования дикариона необходимо слияние моноспоровых изолятов, различающихся (гетероаллельных) по обоим А- и В-факторам половой несовместимости с множественными аллелями (AxBx, AyBy) [8]. Наличие регулярных, хорошо заметных пряжек в районе клеточных септ является надежным критерием, подтверждающим миграцию ядер между сращиваемыми гомокариотическими мицелиями с последующим формированием дикариона (генетического диплоида). Появление пряжек на мицелии фактически указывает на фертильность (половую совместимость) партнеров и их принадлежность к одному и тому же виду.

Выделение моноспоровых тестеров, гетероаллельных по А- и В-факторам, проводили следующим образом: 15 моноспоровых ВКК-культур скрещивали во всех возможных комбинациях на агаризованной питательной среде (по две гаплоидные культуры помещали на расстоянии 1.5–2 см друг от друга на чашке Петри). Результаты фиксировали спустя 10–14 дней после начала инкубации, когда происходила миграция ядер и формировалась четко выраженная зона контакта противоположных мицелиев. В полностью совместимых комбинациях (A#B#) зона контакта была не дифференцирована, так же как и при несовместимых комбинациях (A=B=), но в последнем случае пряжки не формировались. Моноспоровые культуры, совместимые только по фактору А (A#B=), формировали четкую зону контакта в виде “барража” без пряжек, а совместимые только по фактору В (A=B#) – зону лизиса между взаимодействующими монокарионами.

Тип спаривания родительского штамма EP57 был известен – A5B5, тип спаривания родительского штамма P001-15 – A1B2 – был установлен серией скрещиваний с имеющимися в коллекции тестерными штаммами. Типы спаривания оставшихся штаммов ВКК-популяции были установ-

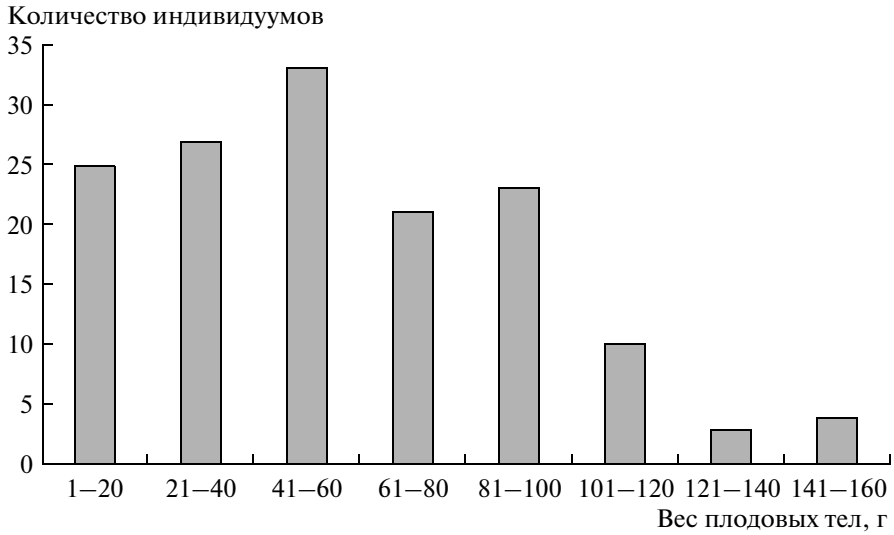

Рис. 1. Распределение штаммов *P. ostreatus* в зависимости от их продуктивности. По оси абсцисс отложен вес плодовых тел, полученных с одного мешка; по оси ординат – количество штаммов.

лены по тому же принципу путем скрещивания каждого из них с четырьмя найденными для ВКК-популяции тестерными штаммами.

Составление генетической карты Pleurotus ostreatus. Геномы штаммов EP57 и P001-15 были полностью секвенированы, а также были найдены около 1500 SNP-маркеров в пределах геномов этих двух штаммов (данные были получены при сотрудничестве с Объединенным Институтом Генома, Joint Genome Institute, Калифорния). Из них были выбраны и проанализированы 347 маркеров, на основании которых была построена генетическая карта *Pleurotus ostreatus* (программа JoinMap4.0, Kyazma [9]).

Статистическая обработка данных. Распределения каждого количественного признака (скорость мицелиального роста, урожайность, цвет шляпок плодовых тел) тестировали с помощью критерия нормальности Колмогорова–Смирнова, а затем степень влияния генотипа на проявление признаков оценивали с помощью однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Расчеты проводили при помощи пакета программ SPSS Statistics, IBM [10].

Для картирования количественных признаков использовали два типа анализа: интервальное картирование и непараметрический тест Крускал-Уоллиса. Для проведения тестов использовали программу MapQTL 6.0 [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка урожайности

Из 200 дикариотических штаммов, полученных в результате скрещивания ВКК-штаммов со штаммом EP-25 и инокулированных на растительный субстрат для плодоношения, только 150 образовали базидиомы. Общий вес плодовых тел, собранный с 1 мешка в первую волну плодоношения, варьировал от 2.2 до 159 грамм, со средним значением для всей популяции дикарионов – 58 г/мешок. Диаграмма распределения дикариотических штаммов в зависимости от их урожайности представлена на рис. 1. Как видно на диаграмме, распределение дикариотических штаммов по урожайности сдвинуто в сторону малопродуктивных штаммов, с минимумом в пределах 41–60 г (всего 33 штамма).

Определение цвета шляпки плодовых тел

Для оценки разнообразия штаммов вешенки по интенсивности цвета шляпки базидиом были проанализированы 124 дикариона: по 10 плодовых тел от каждого штамма. Дикариотические культуры были получены в результате скрещивания штаммов ВКК-популяции со штаммом EP-25. Полученные данные были усреднены для каждого штамма. Значения индекса *L* (интенсивность белого цвета) варьировали от 54.4 – для самых темных до 82.6 – для самых светлых грибов, со статистическим порогом значимости 3.64. Это позволило разделить все исследуемые штаммы на шесть классов в соответствии с интенсивностью цвета (рис. 2). Как показал анализ, распределение штаммов вешенки по цвету шляпки плодовых тел близко к нормальному, с незначительным сдвигом в сторону более светлоокрашенных грибов. Это позволило нам использовать полученные данные для картирования генетических областей, ответственных за цвет шляпки. Было обнаружено

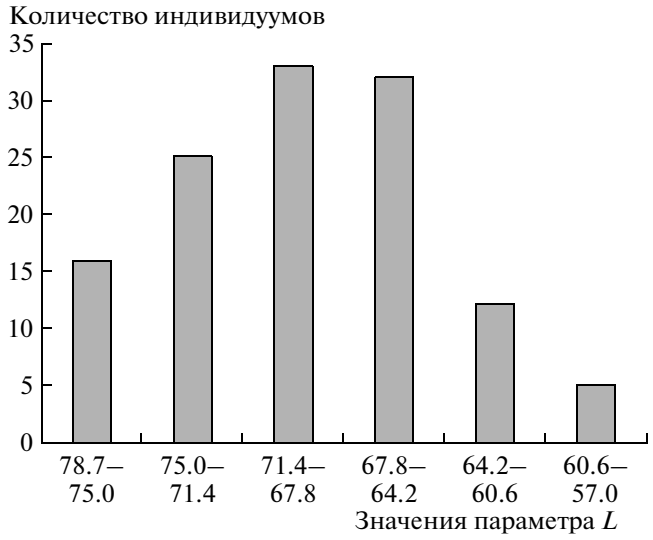

Рис. 2. Распределение штаммов *P. ostreatus* в зависимости от цвета шляпки базидиом. На оси абсцисс отмечены значения параметра L – одного из трех индексов цветности (см. "Результаты. Определение цвета шляпки плодовых тел"), по оси ординат – количество штаммов.

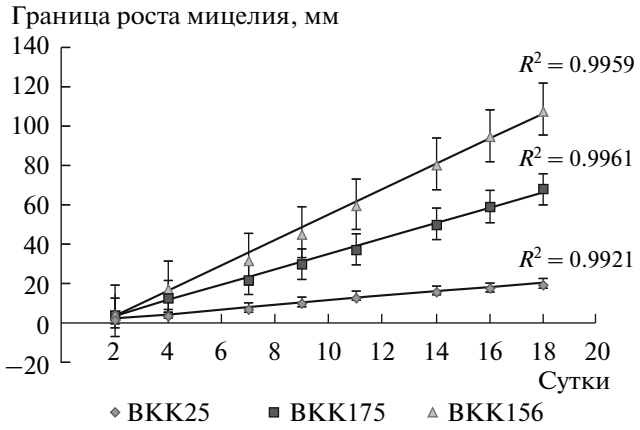

Рис. 3. Динамика мицелиального роста различных штаммов *P. ostreatus*. На оси абсцисс отмечены сутки роста мицелия, на оси ординат – расстояние, пройденное мицелием на субстрате (см. "Результаты. Определение скорости вегетативного роста").

6 QTL, принадлежащих шести различным группам сцепления в геноме вешенки (таблица).

Определение скорости вегетативного роста

Скорость вегетативного роста дикариотических штаммов определяли для 70 произвольно отобранных штаммов BKK-популяции, которые были скрещены поочередно с гаплоидными тестерными штаммами EP25, P24 и G24.

Усредненные данные по скорости роста дикариотических культур, полученные в ходе эксперимента, представлены на рис. 3. Полученные кривые роста могут быть достаточно точно описаны линейными функциями вида $y = ax + b$, что позволило нам использовать значения параметра a этих функций в качестве количественного признака при картировании областей, ответственных за скорость мицелиального роста вешенки.

Были обнаружены межштаммовые различия в скорости роста дикариотических культур. В скрещиваниях монокариотических штаммов BKK с гаплоидным тестером EP25 (I группа скрещивания) значения скорости роста дикариотических культур варьировали от 0.15 до 6.42 мм/сут, для группы скрещивания BKK-штаммов с гаплоидным тестером P24 (II группа скрещивания) – от 1.31 до 6.16 мм/сут, а для группы скрещивания штаммов BKK с гаплоидным тестером G24 (III группа скрещивания) – от 0.32 до 6.35 мм/сут. Таким образом, как видно из рис. 4, распределение штаммов в зависимости от величины a достаточно близко к нормальному, с некоторым смещением в сторону более быстрорастущих штаммов.

Однофакторный дисперсионный анализ (при использовании данных о генотипах исследуемых штаммов BKK-популяции в качестве независимой переменной) показал, что в нашем эксперименте генотип оказывал существенное и статистически достоверное влияние на скорость мицелиального роста дикариотических штаммов *P. ostreatus*. Однако коэффициенты вариации скорости роста были различны для трех тест-систем: 2.96 – для I группы скрещивания, 1.87 – для II группы скрещивания и 1.05 – для группы скрещивания III. Таким образом, грибы первой груп-

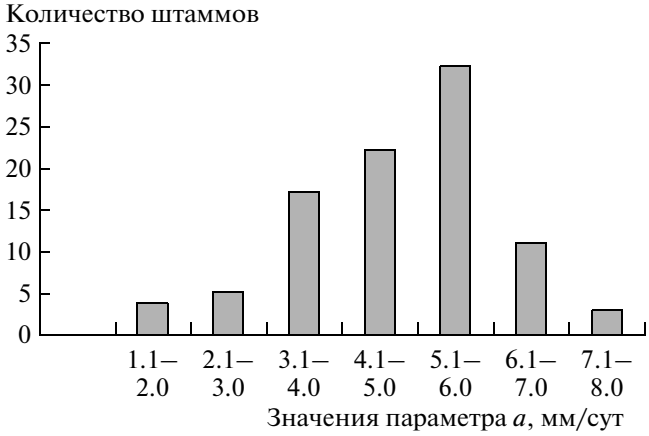

Рис. 4. Распределение штаммов *P. ostreatus* в зависимости от скорости мицелиального роста. На оси абсцисс отмечены значения параметра a (см. "Результаты. Определение скорости вегетативного роста"), на оси ординат – количество штаммов с данной скоростью роста.

Локусы количественных признаков, ответственные за скорость мицелиального роста и цвет шляпки базидиом *P. ostreatus*

Тестер	Группа сцепления	Локус	Вероятность случайной ошибки (Крускал-Уоллис)
Признак – скорость мицелиального роста			
EP25	I	*124226–325965[1]	0.005
P24	III	*2644222–2738759 (*matA*)	0.05
	VIII	*1351225–1647713	0.01
		*753270–950087	0.01
		*1051105–1451125	0.05
P24/A1	VIII	*1351225–1647713	0.01
		950087–1051105	0.05
		*1751146	0.05
		1951041–2249929	0.05
P24/A5	V	**2548223–3500674	0.05
	III	2644222–2738759 (*matA*)	0.05
	IX	**550250–749592	0.05
G24	II	*550124–976908	0.01
	IV	*150853–349913	0.01
		*450487–551695	0.01
	VI	48907–552424	0.05
	VIII	*1647713–2249929	0.05
		250390–648298	0.05
	XI	1365970	0.05
Признак – цвет шляпок базидиом			
EP25	I	*920617	0.01
	VII	951269–1648882	0.05
	VIII	1051105–950087	0.05
	IX	1649953–1750001	0.05
	X	1552308	0.05
	XI	1454375	0.05

[1] Цифры указывают позицию в пн (пар нуклеотидов) группы сцепления на генетической карте; *matA*-локус находится в III группе сцепления.

* Данные QTL были подтверждены с помощью метода интервального картирования.

** Данные QTL были обнаружены только после разделения BKK-популяции по типам спаривания.

пы скрещивания оказались наиболее вариабельными по скорости мицелиального роста по сравнению с другими группами скрещивания.

Для двухфакторного дисперсионного анализа использовали данные о генотипах исследуемых штаммов BKK-популяции в качестве первой независимой переменной и данные о генотипах тестерных штаммов EP25, G24 или P24 в качестве второй независимой переменной. Анализ доказал влияние генотипа гаплоидных тестерных штаммов (EP25, G24 или P24) на скорость мицелиального роста дикарионов, а также показал, что штаммы во II группе скрещивания характеризовались более быстрым мицелилальным ростом по сравнению с двумя другими группами скрещивания I и III.

При помощи методов интервального картирования и непараметрического теста Крускал-Уоллиса было обнаружено девять локусов (QTL), контролирующих скорость вегетативного роста *P. ostreatus* (таблица). Один из них оказался сцеплен с одним из локусов спаривания вешенки – *matA*, вследствие чего было принято решение разделить исследуемую популяцию на две группы по типам спаривания – A_1 и A_5 – с целью обнаружения других QTL, возможно “замаскированных”

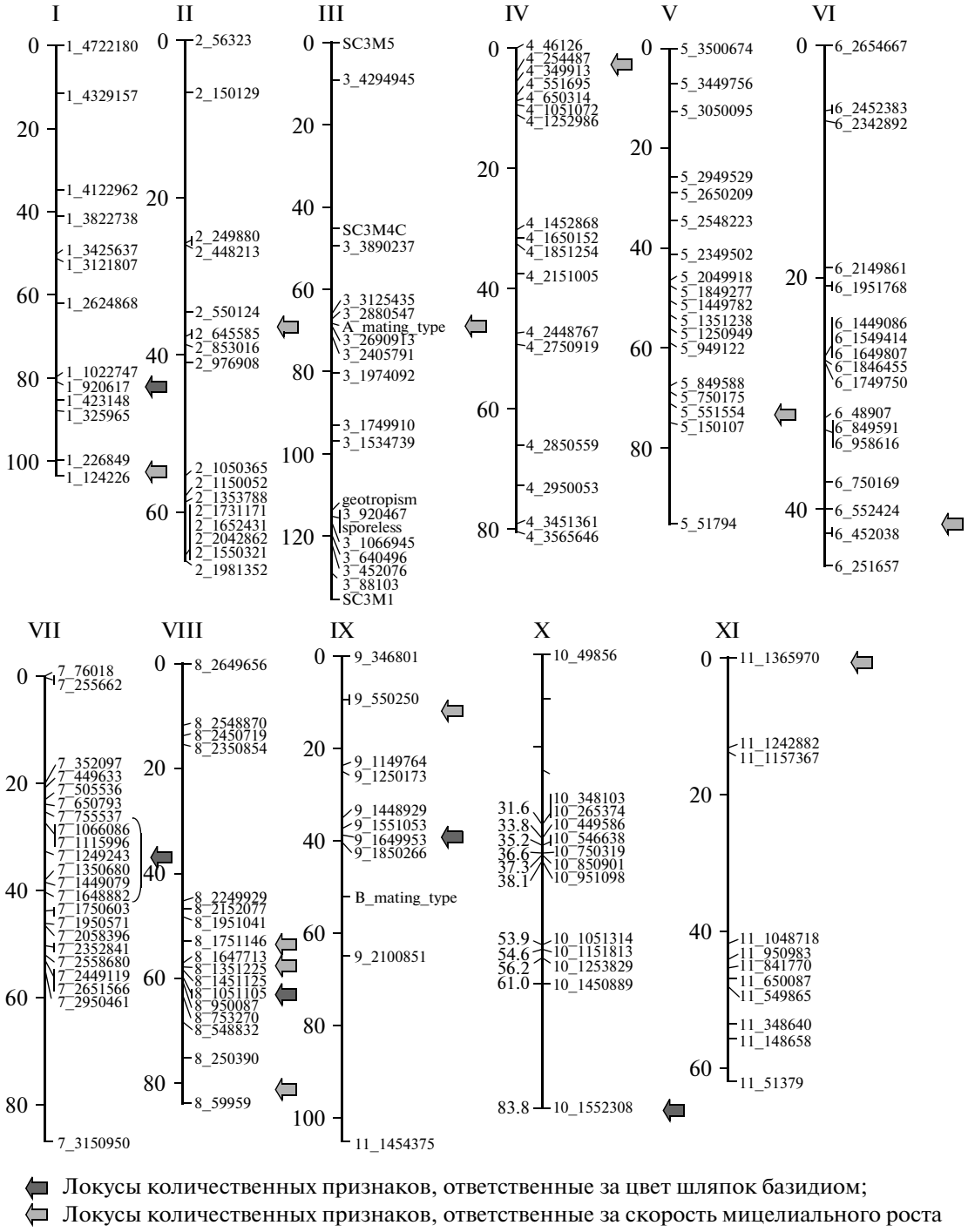

Рис. 5. Генетическая карта *P. ostreatus* и QTL, ответственные за коммерчески важные признаки вешенки: скорость мицелиального роста и цвет шляпки плодовых тел.

влиянием *matA*-локуса. Благодаря выбранной стратегии было обнаружено еще два локуса QTL (таблица), оказывающих влияние на скорость мицелиального роста вешенки. Все найденные локусы QTL представлены в таблице, а также на рис. 5.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что грибы рода *Pleurotus* обязаны своим цветом в основном таким пигментам, как меланины [12]. Однако до сих пор не ясно, какие гены обеспечивают более насыщенную или, наоборот, более светлую окраску плодовых тел ве-

шенки. В то же время в разных странах покупатели отдают предпочтение либо светлым, либо темным грибам. Так, на европейских и американских рынках более востребованы темноокрашенные грибы, тогда как, например, в Индонезии большим спросом пользуются светлые (даже почти белые) вешенки. Исходя из вышесказанного, обнаружение хорошего генетического маркера этого признака было бы крайне полезным для производителей.

Полученные в ходе экспериментов данные о цвете шляпок плодовых тел *P. ostreatus* позволили нам локализовать несколько областей генома вешенки, оказывающих влияние на пигментацию плодовых тел (таблица). Наиболее статистически достоверным оказался маркер на I хромосоме, в позиции 920617 пн (пар нуклеотидов). Проверка распределений каждого аллеля этого локуса окраски шляпок плодовых тел показала, что смещение в распределении штаммов по окраске плодовых тел вносит аллель *b* этого локуса, происходящий от родительского штамма P001-15, тогда как аллель *a*, полученный от штамма EP57, напротив, характеризуется более светлыми плодовыми телами (рис. 6).

Данные, полученные в ходе эксперимента по определению скорости мицелиального роста дикариотических штаммов *P. ostreatus*, также демонстрируют близкие к нормальному распределения, слегка сдвинутые в сторону более быстрорастущих штаммов. Это можно объяснить, на наш взгляд, двумя причинами. Во-первых, в силу того, что полученные распределения сдвинуты в сторону "родительских распределений", то, вероятно, гаплоидные тестерные штаммы P24 (тип спаривания A4B4) и G24 (тип спаривания A9B9) несут в себе большее количество влияющих на скорость вегетативного роста генов, чем тестерный штамм EP25 (тип спаривания A5B5). И в этом случае имеет смысл строить селекционные программы на основе первых двух гаплоидных штаммов-тестеров. Во-вторых, может иметь место человеческий фактор: еще на стадии изоляции моноспоровых гаплоидных культур на чашках Петри в первую очередь всегда отбираются первые появившиеся моноспоровые колонии (штаммы). И поэтому, несмотря на случайную выборку гаплоидных штаммов в ходе дальнейшего эксперимента, в нее, так или иначе, попадает большее количество быстрорастущих культур.

В пользу первой гипотезы говорит тот факт, что скорость роста дикарионов I группы скрещивания существенно отличалась от дикарионов II и III групп. Кроме того, был проведен сравнительный анализ распределений штаммов, несущих разные аллели генов на участке 226114–230263 пн хромосомы I, который показал, что присутствие в данном участке генома аллеля *c* (от штамма EP57)

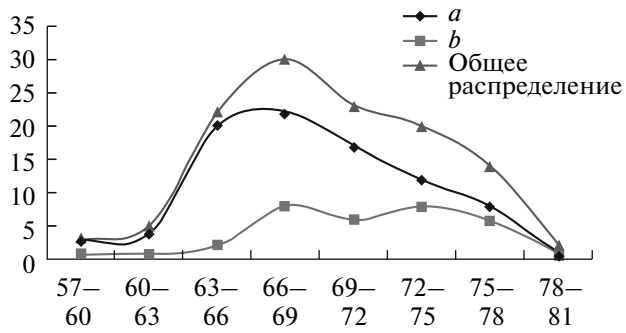

Рис. 6. Распределение штаммов с разными аллелями *a* (аллель родительского штамма EP-57) и *b* (аллель родительского штамма P001-15) по цвету шляпок базидиом. На оси абсцисс отмечены значения параметра *L* (одного из трех индексов цветности, см. "Материалы и методы. Определение цвета шляпки"), на оси ординат – количество штаммов. Кривые *a* и *b* представляют собой графики распределения штаммов по цвету шляпки плодовых тел, построенные отдельно для штаммов – носителей аллелей *a* и *b* соответственно.

статистически достоверно оказывает положительное влияние на скорость вегетативного роста грибов. В соответствии с аннотированным сиквенсом исследуемых нами штаммов, который был составлен при сотрудничестве с Объединенным Институтом Генома (Joint Genome Institute), данный участок, находящийся на I хромосоме, кодирует белки, относящиеся к суперсемейству гликозидаз (six-hairpin glycosidases) [13]. Для этих белков показана каталитическая активность по отношению к целлюлозе и гемицеллюлозе, что доказывает их участие в процессе зарастания (колонизации) грибным мицелием вешенки растительных субстратов, используемых при культивировании, а следовательно, и возможность использования данного вида *P. ostreartus* в процессах переработки (биодеградации) отходов сельскохозяйственного производства [14].

Кроме того, нами был проанализирован целиком участок 124226–325965 пн хромосомы I. Этот достаточно протяженный участок кодирует около 30 известных белков, среди которых встречаются белки электронно-транспортной цепи (цитохромы), факторы транскрипции грибов, белки цинковых пальцев, белки цитоскелета и внутриклеточного транспорта (миозин, клатрины и др.), а также белки, участвующие в биосинтезе грибного хитина. Все эти гены, несомненно, оказывают влияние на скорость мицелилального роста, однако на данный момент еще не собрано достаточного материала для более точного маркирования этих признаков и объяснения механизмов их наследования и проявления.

Как уже было отмечено выше, один из QTL оказался сцепленным с одним из двух локусов

спаривания (половой совместимости) базидиомицетов – *matA*-локусом. На самом деле, для некоторых видов базидиомицетов прежде уже было показано, что более быстрый вегетативный мицелиальный рост штаммов ассоциирован с конкретным типом спаривания [15, 16]. Однако только теперь это было подтверждено для дикариотических культур вешенки с использованием молекулярно-генетических методов исследования. Таким образом, тип спаривания может служить простым и удобным маркером для проведения селекционных программ, направленных на выведение быстрорастущих штаммов *P. ostreatus*.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории микологии Университета Вагенингена, Нидерланды (Wageningen University, Plant Research International, Mushroom Breeding Group) за оказанную помощь в проведении некоторых экспериментов, а также Европейской программе академической мобильности Erasmus Mundus External Cooperation Window, при поддержке которой была выполнена данная работа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wasser S.P., Weis A.L.* Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives (Review) // Intern. J. Med. Mushrooms. 1999. V. 1. P. 31–62.
2. *Краснопольская Л.М.* Грибы класса Basidiomycetes – источники лекарственных веществ // Сб. трудов междунар. конф., посвященной 80-летию каф. микологии и альгологии МГУ и 90-летию со дня рождения М.В. Горленко “Современные проблемы микологии, альгологии и фитопатологии”. 1998. С. 230–232.
3. *Ragunathan R., Swaminathan K.* Biological treatment of a pulp and paper industry effluent by *Pleurotus* spp. // World J. Microbiol. Biotechnol. 2004. V. 20. № 4. P. 389–393.
4. *Kalmi E., Sargin S.* Cultivation of two *Pleurotus species* on wheat straw substrates containing olive mill waste water // Internat. Biodeterioration & Biodegradation. 2004. V. 53(1). P. 43–47.
5. *Dellamatrice P.M., Monteiro R.T.R., Kamida H.M. et al.* Decolourization of municipal effluent and sludge by *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus ostreatus* // World J. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 21. № 8–9. P. 1363–1369.
6. *Pant D., Reddy U., Adholeya A.* Cultivation of oyster mushrooms on wheat straw and bagasse substrate amended with distillery effluent // World J. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 22. № 3. P. 267–275.
7. *Eger G.* Biology and breeding of *Pleurotus* // The biology and cultivation of edible mushrooms / Eds Chang S.T., Hayes W.A. N.Y.: Acad. Press, 1978. P. 497–519.
8. *Raper J.R.* Genetics of Sexuality in Higher Fungi. N.Y.: Ronald Press, 1966. 283 p.
9. JoinMap® 3.0, Kyazma, 2006; http: // www.kyazma.nl/
10. SPSS Statistics Standard, IBM, 2009; http: // spss.ru/
11. MapQTL® 6.0, Kyazma, 2009; http: // www.kyazma.nl/
12. *Selvakumar P., Rajasekar S., Periasamy K., Raaman N.* Isolation and characterization of melanin pigment from *Pleurotus cystidiosus* (teleomorph of *Antromycopsismacrocarpa*) // World J. Microbiol. Biotechnol. 2008. V. 24. № 10. P. 2125–2131.
13. DOE Joint Genome Institute, www.jgi.doe.gov.
14. http: // supfam.org/SUPERFAMILY/index.html
15. *Larraya L.M., Perez G., Ritter E. et al.* Genetic linkage map of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus* // Appl. Environment. Microbiol. 2000. V. 66. № 12. P. 5290–5300.
16. *Simchen G.* Monokaryotic variation and haploid selection in *Schizophyllum commune* // Heredity. 1966. V. 21. P. 241–263.

DNA Marking of Some Quantitative Trait Loci in the Cultivated Edible Mushroom *Pleurotus ostratus* (Fr.) Kumm.

A. B. Sivolapova[a], A. V. Shnyreva[a], A. Sonnenberg[b], and I. Baars[b]

[a] *Department of Mycology and Algology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*
e-mail: asivolapova@yahoo.com

[b] *Wageningen University, Wageningen 6708 PB, Netherlands*

Fungi of the genus *Pleurotus*, in particular, species *Pleurotus ostreatus* (common oyster mushroom) are among most cultivated fungi in the world. Due to intense rates of development of studies in this field, efficient breeding programs are highly required in the search for new *P. ostreatus* strains. The principal traits used worldwide for selecting strains are intensity of fruitbearing, fruit body cap color (for some consumptive markets), and mycelium growth rate. In this connection, the objective of this work was to study these quantitative traits and to find molecular markers, which could be employed to accomplish breeding programs. In general, we found 12 genomic loci (quantitative trait loci, QTLs) controlling mycelium growth rate of oyster and six QTLs responsible for the fruit body cap color. The genetic map of *P. ostreatus* was constructed, and all markers of quantitative traits found by us were located on this genetic map. The obtained linkage map can be a useful tool for the accomplishment of breeding programs to improve economically important traits of oyster mushroom.