

영지버섯 백색변이주의 광 및 온도에 의한 생리적 반응

조수목 · 서건식 · 유익동^{1*} · 신관철

충남대학교 농과대학 농생물학과, ¹한국과학기술연구원 유전공학연구소

Physiological Response of a White Mutant of *Ganoderma lucidum* Induced by Light and Temperature

Cho, Soo-Muk, Geon-Sik Seo, Ick-Dong Yoo^{1*} and Gwan-Chull Shin

Dept. of Agricultural Biology, College of Agriculture, Chungnam National University,
Taejon 305-764, Korea

¹Genetic Engineering Research Institute, KIST, Taejon 305-606, Korea

Abstract — White mutant of *Ganoderma lucidum*(G4142) induced the non-basidiocarpous basidiospores(NBB) from the aerial mycelia on agar media by the light illumination. Light was found to be necessary for NBB formation, but it also inhibited the growth of mycelium. The best sporulation was obtained at the periodic exposure of 16 hour light and 8 hour dark. Blue and yellow light were the most effective on sporulation, however, near UV and red light did not induce any spores. Effective light intensity for NBB bearing was about 1,000 lux as white light. Even after 16 days of culture, this strain did not form the pinhead nor chlamydo-spore. Optimum temperature for the mycelial growth and NBB formation were 30°C. *Ganoderma lucidum* G4142 exhibited the formation of stroma after five days of incubation at 30°C.

담자균류는 일반적으로 이핵상의 영양균사가 온도나 광등의 외부적 환경 조건의 자극을 받아 자실체 원기(pinhead)를 형성하고 이 원기가 영양균사나 배지중의 영양분을 이용하여 성숙한 자실체를 형성한다(1-3). 그러나 이와는 달리 영지버섯을 한천배지 또는 액체배지에서 정지배양할 경우 기중균사에서 자실체가 없이 담자포자가 만들어지는 비자실체성 담자포자(non-basidiocarpous basidiospore)를 형성한다는 사실이 신 등(1)에 의해서 보고되었다. 이와같이 자실체가 없이 basidial stroma에서 형성된 비자실체성 담자포자는 정상 담자포자보다 크기가 약간 작고 포자 표면의 hollow 수가 적은 특징이 있으나 정상 포자와 매우 유사한 형태를 갖추고 있어 영지버섯의 인공재배에 매우 유용하게 활용될 것이다.

한편 담자균류의 영양균사의 생장 및 자실체 형성은 광, 온도등의 물리적 조건(4-7), 양분, pH, 생리활성 물질 등의 화학적 조건(4) 및 균근의 형성 유무 등의 생물적 조건(8)에 의해서 생장이 촉진되거나 억제되는데 그 중에서는 광이나 온도의 영향이 제일 크다고

하겠다(4). 특히 균사 생장이나 자실체 형성과 관련하여 필자들(9)에 의해서 분리한 영지버섯 백색변이주는 정상 영지버섯과는 그 형태나 색상에서 매우 상이하러 온도나 광 등에 의한 생리적 반응, 특히 균사생장이나 비자실체성 담자포자의 형성이 정상적인 영지버섯과는 매우 상이하리라 예상된다. 따라서 본보에서는 전보(9)에서 보고한 영지버섯 백색변이주의 광 및 온도에 의한 생리적 반응을 검토하였기에 보고한다.

재료 및 방법

공시균주

전보(9)에서 영지버섯 백색변이주로 그 특성이 밝혀진 *Ganoderma lucidum* G4142 균주와 정상자실체를 형성하는 표준균주 *Ganoderma lucidum* G4086 균주를 본 실험에 사용하였다.

광이 균사생장에 미치는 영향

영지버섯 백색변이주의 균사생장에 미치는 광의 영향을 조사하기 위하여 영지버섯 균사생육 최적 온도인 29±1°C, 백색형광등 1200 lux(Photometer Q

Key words: *Ganoderma lucidum*, a white mutant, non-basidiocarpous basidiospore, light, temperature
*Corresponding author

101, England) 광량하에서 dark-light 조건이 24-0, 20-4, 16-8, 12-12, 8-16, 4-20, 0-24 시간이 되도록 주기적으로 9일간 배양하며 균사생육 정도를 조사하였다. 균사생육 정도는 petri-dish에서 성장하는 균총의 직경을 측정하여 생육 정도를 판정하였다.

광이 비자실체성 담자포자에 미치는 영향

Potato dextrose agar(PDA) 배지에 공시균주를 접종한 후 균사생육 최적온도인 29±1°C 에서 5일간 암상태로 배양한 다음 백색형광등 1200 lux 광량하에서 dark-light 조건이 24-0, 20-4, 16-8, 12-12, 8-16, 4-20, 0-24 시간이 되도록 주기적으로 조사하였다. 주기적인 광 처리 20일 후 Carl Zeiss Jenalumar 광학 현미경(×400)으로 비자실체성 담자포자의 형성 정도를 조사하였다. 또한 광질에 따른 영향을 조사하기 위하여 백색광, 적색광, 황색광, 청색광 및 near UV광을 light 16시간-dark 8시간 주기로 25일간 조사하였다. 광도는 각각 500, 1000, 2000, 4000 lux로 조절하면서 25일간 배양하여 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 영향을 조사하였다. 비자실체성 담자포자의 형성 정도는 일정 밀도 안에 형성된 포자형성 정도를 복합현미경으로 관찰하였다.

온도가 균사생장 및 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 영향

온도가 영지버섯 백색변이주의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 5°C 로부터 40°C 까지 5°C 간격으로 처리하여 6일간 배양한 후 균사생장 정도를 조사하였다. 또한 온도를 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C 로 조절된 배양기에 1200 lux의 백색광을 light 16시간, dark 8시간 주기로 20일간 조사하면서 비자실체성 담자포자 형성 정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

광이 균사생장에 미치는 영향

영지버섯 백색변이주인 *Ganoderma lucidum* G4142

Table 1. Effect of light on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum*

Strain	Dark-Light combination(hours)						
	24~0	20~4	16~8	12~12	8~16	4~20	0~24
¹ G4086	87.0*	34.0	25.0	29.7	8.0	21.7	18.0
² G4142	88.3	14.0	21.0	14.7	4.3	17.7	16.0

* Diameter of colony(mm), ¹*Ganoderma lucidum* wild type strain, ²*Ganoderma lucidum* white-mutant strain.

및 표준균주인 *Ganoderma lucidum* G4086 균주에 1일 4시간, 8시간, 12시간, 16시간, 20시간, 24시간씩 1200 lux의 백색광을 조사하면서 백색광이 영지버섯의 균사 생장에 미치는 영향을 조사하였다(Table 1). 그 결과 백색광의 조사로 두 균주 모두 균사생장이 심히 억제되었으며, 그 정도는 백색변이주인 G4142 균주가 표준균주인 G4086 균주보다 심한 경향이였다. 또 각 처리별로 보면 light 16시간-dark 8시간 처리 조건에서 배양하였을 경우가 제일 심하였다. 그러나 광 조사시간을 16시간보다 증가시키면 오히려 균사생육억제가 약간 해제되는 경향이 있었는데, 이는 공시 균주의 광 주기성에 따른 생리적 변화로 영양생장기에 적당한 광 처리시기에 따라 생식생장기로의 전환이 쉽게 유도됨을 알 수가 있었다. 이와 같은 결과는 Raudaskoski 등(4)에 의해서도 밝혀졌는데, 그들은 *Schizophyllum commune*를 이용한 실험에서 광 조건하에서 보다 암조건하에서 배양하는 것이 균사생장에 효과적이라는 보고와 함께 광에 의해 균사생장이 억제됨을 강력히 시사하였다. 또한 신 등(1,2)은 영지버섯의 경우 광에 의해 생식생장이 유도된다고 보고하면서 영양생장기에 광을 조사하면 영양생장기에서 생식생장기로의 전환이 이루어져 결과적으로 균사의 생육이 저하된다고 하였다. 이상의 결과들로 미루어 본 영지버섯 백색변이주도 다른 담자균류 균주와 마찬가지로 광조사에 의해 균사생육이 현저하게 저하되는 것으로 판단되었다.

광이 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 영향

광을 주기적으로 조사하면서 비자실체성 담자포자 형성 정도를 관찰한 결과(Table 2), 정상주인 G4086 균주와 백색변이주 G4142 균주 모두 light 16시간-dark 8시간 처리구에서 비자실체성 담자포자 형성이 가장 많았고 반면 24시간 dark 상태로 처리한 경우 두 균주 모두 비자실체성 담자포자는 형성하지 않았다. 그러나 24시간 light 조건으로 처리한 경우에는 정상주인 G4086 균주의 경우에는 비자실체성 담자

Table 2. Effect of dark/light periodic exposures on the formation of non-basidiocarpous basidiospores of *Ganoderma lucidum*

Strain	Dark-Light combination(hours)			
	24~0	16~8	8~16	0~24
G4086	-	+	+++	-
G4142	-	+	+++	-

* -; Not formed, +; Poorly, ++; Moderately, +++; Abundantly.

Table 3. Effect of light quality on the formation of non-basidiocarpous basidiospores of *Ganoderma lucidum*

Strain	Light quality					
	Near UV	Blue	Yellow	Red	White	Dark
G4086	-	-	-	-	+	-
G4142	-	+++	+++	-	++	-

Table 4. Effect of light intensity on the formation of non-basidiocarpous basidiospores of *Ganoderma lucidum*

Strain	Light intensity(Lux)			
	500	1,000	2,000	4,000
G4086	++	+++	+	+
G4142	++	+++	+	+

포자를 형성치 못한 반면 백색변이주인 G4142 균주는 풍부하지는 못하지만 약간의 비자실체성 담자포자를 형성하였다. 이들 결과로부터 백색변이주인 G4142 균주는 정상 영지균주인 G4086 균주에 비하여 광에 대한 민감성이 더 예민한 것으로 판단되었다.

비자실체성 담자포자 형성에 미치는 광질(light quality) 및 광도(light intensity)의 영향을 Table 3 및 Table 4에 나타내었다. 광질에 있어서는 영지버섯 표준균주인 G4086 균주는 백색광에서만 약간의 담자포자를 형성하는데 비하여 백색변이주인 G4142의 경우 청색광, 황색광, 백색광에서 풍부한 담자포자의 형성이 유도되었다. 이는 백색변이주의 경우 생식생장기 과정중 450~620 nm의 파장을 지닌 광에 민감한 반응을 보임을 나타낸다고 하겠다. 또한 광도의 경우에는 Table 4와 같이 G4142와 G4086 균주 모두 1000 lux 부근에서 비자실체성 담자포자의 형성이 양호하였다.

한편, 광 처리일수에 따른 비자실체성 담자포자 형성 정도를 Fig. 1에 나타냈다. 즉 1200 lux 백색광을 처리일수별로 조사한 결과 백색변이주인 G4142 균주의 경우에는 처리시기에 관계없이 2일 이상 광처리를 계속하면 모든 처리에서 비자실체성 담자포자가 형성되었으나 모균주인 G4086 균주는 먼저 암상태에서 2~8일간 균사를 생장시킨 다음 광처리한 구에서만 비자실체성 담자포자가 형성되었다. 이 결과는 G4142가 영양생장에서 생식생장으로 전환될 때 광 처리의 시기에 관계없이 일시적인 광 처리에 의해서 쉽게 전환되나 정상적인 자실체를 형성하는 G4086 균주는 먼저 2~8일간의 dark 상태의 영양생장기를 거쳐야만

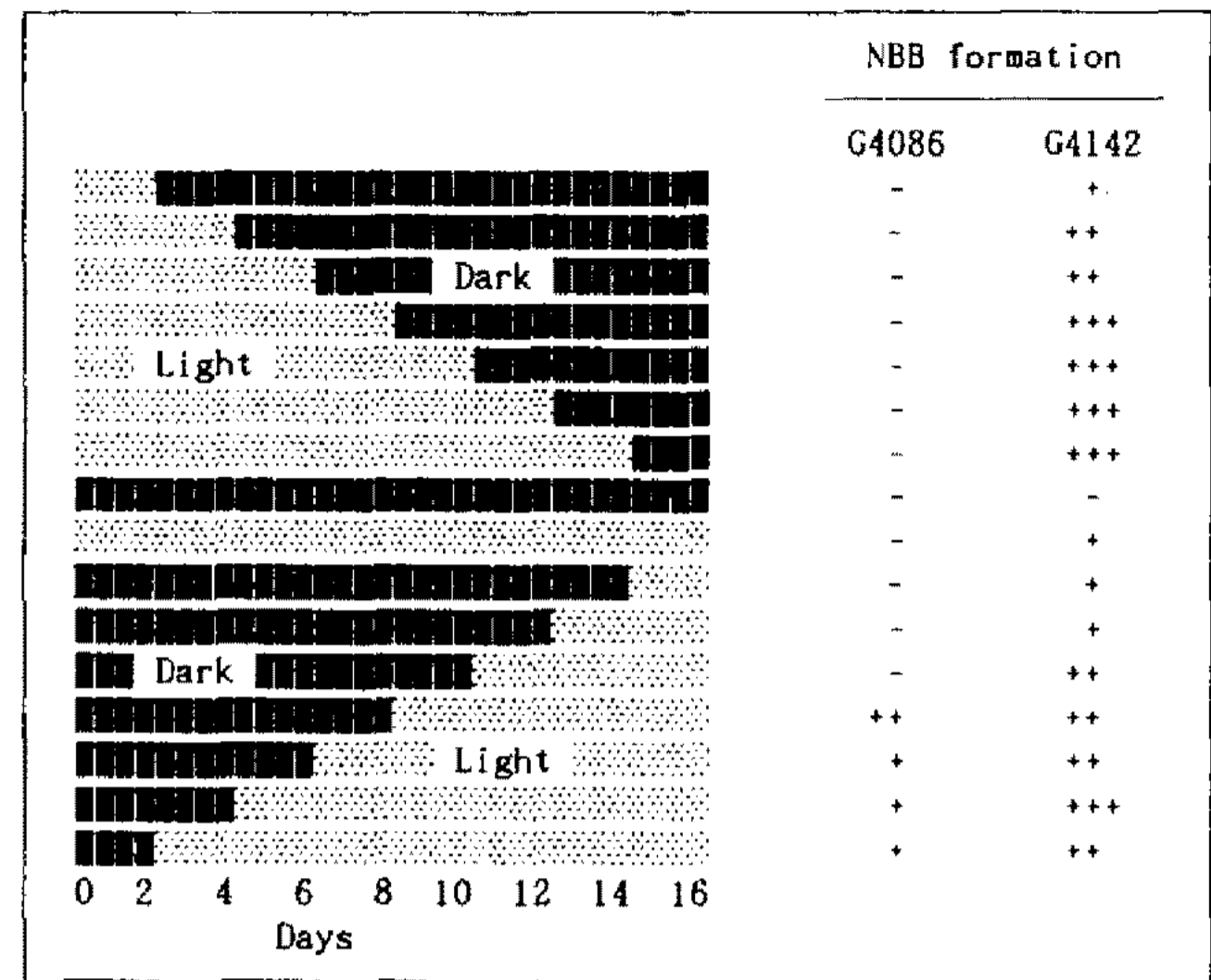


Fig. 1. Effect of light illumination period on the formation of non-basidiocarpous basidiospores of *G. lucidum*.
* -: Not formed, +: Poorly, ++: Intermediately, +++: Abundantly.

생식생장으로 전환된다는 것을 시사한다고 하겠다. 또한 백색변이주인 G4142 균주는 배양 8일 후부터 14일까지 광 처리된 것이 가장 많은 비자실체성 담자포자의 형성을 보였고, 일단 생식생장으로 전환된 균사는 일부 암상태가 되어도 어느 정도까지는 생식생장을 계속하는 것으로 추측되었다.

또 Table 5에서 나타낸 바와 같이 1일중 16 시간의 광을 조사하였을 때 G4086 균주는 8일째부터 비자실체성 담자포자, 후막포자(chlamyospore), 자실체 원기(pinhead)를 형성하였으나 G4142 균주는 비자실체성 담자포자만을 형성하였다. 한편 완전 암처리구에서는 두 균주 모두 어느 것도 형성되지 않았다. 이는 광 처리가 일반적으로 영지버섯 균사의 비자실체성 담자포자, 자실체 원기, 후막포자 등의 형성 유도에 필수적인 요인임을 나타낸다고 하겠다. 또한 변이주인 G4142 균주는 G4086 균주에 비해 비자실체성 담자포자만을 형성하고 있는데 이는 양 균주간의 광 반응에 차이가 있음을 의미한다고 하겠다. Kitamoto등(10)은 *Favolus arcularius*의 자실체 원기(pinhead)를 형성시킬 때 30분의 광조사로도 원기가 유도되는데 24시간 후 재차 광을 조사하면 원기의 형성은 더욱 가속되며 이와 같은 원기 형성 촉진을 위한 적당한 광 조사는 24시간의 주기성이 있다고 보고하였다. 또한 먹물버섯과에 속하는 *Coprinus congregatue*도 광유도에 2단계의 광 의존과정이 있어 복수의 광반응 과정을 거치면 많은 버섯류들이 자실체 형성이 촉진되는 것으로 보고되었다(11). 그러나 백색영지변이주인 G4142 균주는 16시간동안 광 조사를 하여도 비

Table 5. Effect of light on the formation of non-basidiocarpous basidiospores, pinheads and chlamydospore of *G. lucidum* (Light was illuminated for 16 hrs. per day)

Culture days	Dark	G4086			G4142		
		NBB	Pinhead	Chlamydospore	NBB	Pinhead	Chlamydospore
2	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	-	-	-
8	-	+	-	+	+	-	-
10	-	+	+	+	+	-	-
12	-	+	+	+	+	-	-
14	-	+	+	+	+	-	-
16	-	+	+	+	+	-	-

* NBB: Non-basidiocarpous basidiospore, ** +: Formed, -: Not formed.

Table 6. Effect of temperature on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum*

Strain	Temperature (°C)							
	5	10	15	20	25	30	35	40
G4086	0	5.8	17.6	23.8	44.6	79.2	45.0	0
G4142	0	3.2	13.0	17.0	25.8	29.8	12.6	0

*Diameter of colony (mm)

자실체성 담자포자만 형성할 뿐 후막포자나 자실체 원기는 형성치 못하였다. 따라서 본 균주는 광조사에 의해 발현되는 자실체 형성 유전자에 유전적 변이가 일어난 변이주일 것으로 추측된다.

온도가 균사생장에 미치는 영향

배양 온도가 균사생장에 미치는 영향은 Table 6과 같이 두 균주간에 약간의 차이는 있었으나 30°C 에서 균사생장이 가장 좋았고 5°C 와 40°C 에서는 두 균주 모두 전혀 성장하지 못하였다. Table 6의 결과로부터 G4086 균주의 균사생육적온은 25°C ~35°C, G4142 균주는 25°C ~30°C 로 판단되었다. 이는 신 등(12)이 보고한 것과 최적 온도에서 일치함을 알 수 있었다.

온도가 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 영향

배양온도가 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 영향을 Table 7에 나타냈다. 비자실체성 담자포자는 두 균주 모두 20~30°C 에서 형성되었으나 30°C 에서 가장 많은 포자가 형성되었다. 이들 비자실체성 담자포자는 기중균사가 분화된 stroma상의 자실층에서 형성되는데 그 형성시기도 30°C 에서 G4086 균주는 10일, G4142 균주는 5일만에 가장 빠르게 형성되었다. 이들 결과는 상기의 균사생장온도와도 밀접한 관계를

Table 7. Effect of temperature on the formation of non-basidiocarpous basidiospores of *G. lucidum*

Temperature(°C)	Days of stroma formation*		Formation of NBB	
			G4086	G4142
	G4086	G4142		
15	-	-	-	-
20	17	10	+	++
25	12	7	++	+++
30	10	5	+++	+++
35	-	-	-	-

*: First days occurred stroma after inoculation, **: -: Not formed, +: Poorly, ++: Intermediately, +++: Abundantly.

보여 균사생장이 저조한 15°C 와 35°C 에서는 stroma나 비자실체성 담자포자도 형성되지 않았다. 일반적으로 담자균류의 자실체 발생, 즉 생식생장기로의 전환은 저온처리(shift down)에 의해서 유도되는데(13, 14) 영지균주의 경우에는 균사생육 최적온도와 같은 온도 범위내에서 이루어지고 있어 이는 추후 재배 실험등으로 규명되어야 할 과제라고 하겠다.

요 약

영지버섯 백색변이주인 *Ganoderma lucidum* G4142 균주의 균사생장 및 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 광 및 온도의 영향을 밝히기 위하여 광도(light intensity), 광질(light quality), 광 조사시간 및 온도의 영향을 조사하였다. *Ganoderma lucidum* G4142 균주는 광 조사에 의해 균사생장이 현저하게 억제되었으나, 반면 비자실체성 담자포자의 생성은 오히려 풍부하게 형성되었다. 영지버섯 백색변이주의 비자실

체성 담자포자 형성은 주기적인 light 16시간, dark 8시간의 광조사 조건하에서 1000 lux의 백색광을 조사하였을 때 가장 양호하였고, 450~620 nm의 청색광과 황색광은 백색광 조사보다 많은 비자실체성 담자포자를 형성하였다. 그러나 16일동안 배양하여도 자실체 원기(pinhead) 및 후막포자(chlamyospore)는 형성되지 않았다. 한편 생육최적온도는 30°C 이었으며, stroma의 형성시기는 *Ganoderma lucidum* G4142 균주는 배양 5일 후, 정상주인 *Ganoderma lucidum* G4086 균주는 배양 10일 후부터 stroma가 형성되었다.

참고문헌

1. 신관철, 서건식. 1988. *Ganoderma lucidum*의 비자실체성 담자포자 형성. 한국균학회지 **16**: 230-234.
2. 신관철, 서건식. 1989. 영지의 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 광의 영향. 한국균학회지 **17**: 189-193.
3. 신관철, 서건식. 1989. 영지의 비자실체성 담자포자 형성에 미치는 온도 및 환기의 영향. 한국균학회지 **17**: 194-196.
4. Raudaskoski, M. and Viitanen, H. 1982. Effect of aeration and light on fruit body induction in *Schizophyllum commune*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **78**: 89-96.
5. Ballou, L.R. and R.W. Holton. 1985. Synchronous initiation and sporulation of fruit bodies by *Coprinus cinereus* on a defined medium. *Mycologia* **7**: 103-108.
6. Esser, K. and F. Meinhardt. 1977. A common genetic control of dikaryotic and monokaryotic fruiting in basidiomycetes *Agrocybe aserita*. *Mycologia* **62**: 136-142.
7. Manachere, G. 1970. Recherches physiologiques sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bul. ex Fr: action de la lumiere; Rhythm de production de carpophores. *Ann. Sci. Nat. Bot.(Paris) 12 eserie*: **11**: 1-96.
8. 古川久産. 1992.きのこ學. 共立出版.
9. 조수목, 서건식, 유승헌, 유익동, 신관철. 1993. 영지 버섯 백색변이주의 형태적 특성 및 최적배양조건. 한국산업미생물학회지 **21**: 520-526.
10. Kitamoto, Y., A. Suzuki, T. Matsumoto, and Y. Ichikawa. 1987. The role of light on fruit-body initiation in *Favolus arcularius*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **27**: 451.
11. Ross, I.K. 1985. Determination of the initial steps in differentiation in *Coprinus congregatus*, Pp. 353. In D. Moore, L.A. Casselton, D.A. Wood, and J.C. Frankland (eds.), *Developmental Biology of Higher Fungi*, Cambridge Univ. Press, London.
12. 신관철, 서건식, 박종성. 1988. *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst의 배양적 특성에 관한 연구. *Res. Rep. Agri. Sci. Chungnam Nat'l Univ.* **15**: 27-35.
13. Takao, T., M. Kono, and S. Murao. 1977. Effect of pepsine-inhibitor (S-Pl) from *Streptomyces naniwaensis* on the fruit-body formation of *Favolus arcularius*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **18**: 129.
14. Takao, T., M. Kono, and S. Murao. 1980. Promoting effect S-Pl on fruiting of *Lentinus edodes*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **21**: 137.

(Received January 26, 1994)