

영지(*Ganoderma*)의 포자 발아 및 Sexuality

김경수* · 유창현 · 차동열 · 고미석¹

*농촌진흥청 농업과학기술원 응용미생물과
¹경상대학교 농과대학 농학과

Spore germination and Sexuality of *Ganoderma*

Kyung-Soo Kim*, Chang-Hyun You, Dong-Yeul Cha and Mi-Suk Ko¹

*Department of Applied Microbiology, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707

¹Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Chinju 660-300, Korea

ABSTRACTS: A study was carried out to explore the method for the germination of the spore of *Ganoderma*. Three strains of *Ganoderma* were examined using 2 different media such as PDA and LBA at three different temperatures. As it has been known the germination rate was very low under all the conditions examined. *G. lucidum* ASI 7004 showed 0.02% germination on both media at 25°C and 30°C respectively. The germination rate of ASI 7091 was 0.05% on PDA medium at 30°C. The germination rate of *G. oregonense* ASI 7067 was 0.67% on PDA at 35°C. LBA medium was found to be inadequate for the germination of *Ganoderma* species in this study. In a consequent study, four mating types of *G. oregonense* such as A₁B₁, A₁B₂, A₂B₁ and A₂B₂ were identified.

KEYWORDS: *Ganoderma*, Mating type, Spore germination

영지속(*Ganoderma*)은 전 세계적으로 약 150~200여 종이 알려져 있으며(許, 1993), 그 중에서 *G. lucidum*을 보통 영지라고 부른다. 영지는 항암, 정혈작용 등 여러가지 질병의 예방과 치료에 효과가 있음이 보고되었고(Mizuno, 1989), 우리나라에서는 1980년대 초에 원목 및 톱밥을 이용한 인공재배법이 개발되어 농가에 보급된 이후 매년 재배 면적이 늘어나 1996년에는 1,500여 농가에서 2,606여 톤을 생산하였다. 현재 농가에 보급된 영지의 품종은 영지1호와 2호가 있으며 이들 품종은 모두 선발 육종에 의해 육성된 것이다.

일반적으로 버섯 포자는 수분, 산소, 온도, pH 등이 적당한 조건에서 발아하지만 어떤 종은 포자의 이중막 등 외형적 조건이나 휴면등의 내면적인 조건때문에 포자 발아가 어렵다고 한다(Chang 등, 1993).

영지속의 종간에는 포자의 발아율에 많은 차이가

있는데 *G. boninense*에서는 97.5%의 높은 발아율을 보인 경우도 있으나(Ho 등, 1986), *G. lucidum*은 1% 이하로 발아율이 매우 낮다고 하였다(Anjali, 1959; Hseu, 1990). 그리고 *G. fornicatum*, *G. microsporium*, *G. tsugae* 등의 포자발아율은 1% 이하라고 하였다(Hseu, 1990).

국내에서는 이러한 영지의 포자발아에 대한 많은 시험을 시도하였으나 포자가 잘 발아되지 않고 발아율도 매우 낮은 특성이 있기 때문에 교배 등 육종에 필요한 단핵균주의 충분한 확보가 어려운 실정이었다. 그러나 본 연구진들은 *G. lucidum*과 *G. oregonense*의 포자 발아에 성공하고, *G. oregonense*의 sexuality에 대한 결과를 얻었으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시균주

본 시험에 사용한 공시균주는 농업과학기술원 응

*Corresponding author

용미생물과에 보존되어 있는 *G. lucidum* 중에서 수량이 높은 ASI 7004(영지 1호)와 자실체의 형태가 말굽형인 ASI 7091, 그리고 *G. oregonense* ASI 7067이다.

포자발아 최적배지

영지의 포자발아 시험에 사용한 배지는 PDA (Difco) 39g 및 LBA(Lima Bean Agar; Difco) 23g을 각각 1 l 증류수에 녹여 제조하고 121°C에서 15분간 살균하여 사용하였다.

포자수집 및 발아 조건

영지의 포자는 참나무 원목과 병재배에서 성숙한 자실체를 수확하지 않은 상태에서 포자를 수집하는 방법과 수확 후 실내에서 포자를 받는 2가지 방법으로 채취되었다. 수집된 포자는 즉시 증류수에 적당한 농도로 희석한 다음 PDA 및 LBA 배지에 접종하여 25°C, 30°C, 35°C에 배양하면서 발아율을 조사하였다. 발아율은 발아된 균총수를 접종한 포자수로 나누어 백분율로 계산하였다.

단핵균주의 교배형

포자발아에 의하여 얻은 3개 공시균주의 단핵균주는 PDA를 넣은 동일 petri-dish 상에 균사 절편을 1 cm 정도 떨어지게 대치 접종하고 30°C에서 배양하면서 접촉부위 균사를 취하여 현미경 상에서 clamp connection 형성 여부에 따라 교배형을 결정하였다.

결과 및 고찰

영지 포자 발아

영지의 포자 채취는 톱밥을 이용한 병재배에서 자실체를 수확하여 포자를 채취하는 것보다 수확하지 않은 상태에서 포자를 채취하였을 때 포자량이 훨씬 많았다(Fig. 1). 따라서 영지를 병에서 수확하지 않고 포자를 채취한 다음날 발아 시험을 수행하였다.

영지의 포자발아에 알맞은 온도와 배지의 종류를 구명하고자 다양한 온도와 배지에서 발아율을 조사한 결과(Table 1, Fig. 2), *G. lucidum*에 속하는

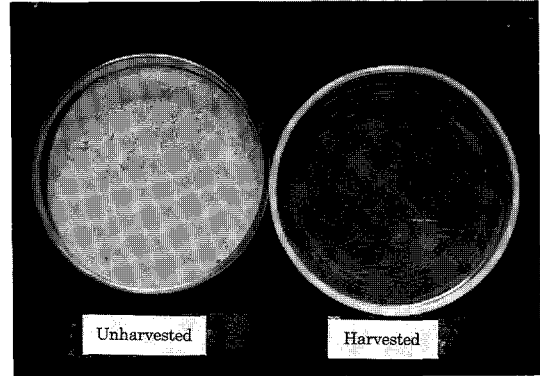


Fig. 1. The comparison of spores collected from unharvested and harvested fruit body of *G. lucidum*.

Table 1. Spore germination rate of *G. lucidum* and *G. oregonense* for 15 days

Strains	Media*	Gemination rate (%)		
		25°C	30°C	35°C
<i>G. lucidum</i>	ASI 7004 PDA	0.02	0.02	0
		LBA	0.02	0.02
	ASI 7091 PDA	0.04	0.05	0
		LBA	0.02	0.03
<i>G. oregonense</i>	ASI 7067 PDA	0.05	0.22	0.67
	LBA	0	0.02	0.33

*PDA: Potato Dextrose Agar (Difco)

LBA: Lima Bean Agar (Difco)

ASI 7004와 7091 균주는 25°C와 30°C에서 발아가 되었으며 온도간에 발아율의 차이는 없었고 35°C에서는 포자가 발아되지 않았다. 그리고 두 균주 모두 발아율은 0.02~0.05%로 매우 낮았으며, ASI 7091 균주의 발아율은 LBA에서는 0.02%로 낮았으나 PDA에서는 0.04%로 상대적으로 높고 특히 30°C에서 발아율이 다른 처리에 비해서 높은 편이었다.

그러나 *G. oregonense*는 35°C에서 발아율이 0.67%로 가장 높고 다음이 30°C로 *G. lucidum*과는 발아온도에 차이가 있었으며, 배지도 PDA가 LBA 배지보다 상대적으로 좋았다.

이상의 시험 결과에서와 같이 영지의 포자 발아는 다른 버섯에 비해서 매우 낮은 편이며, 국내에서

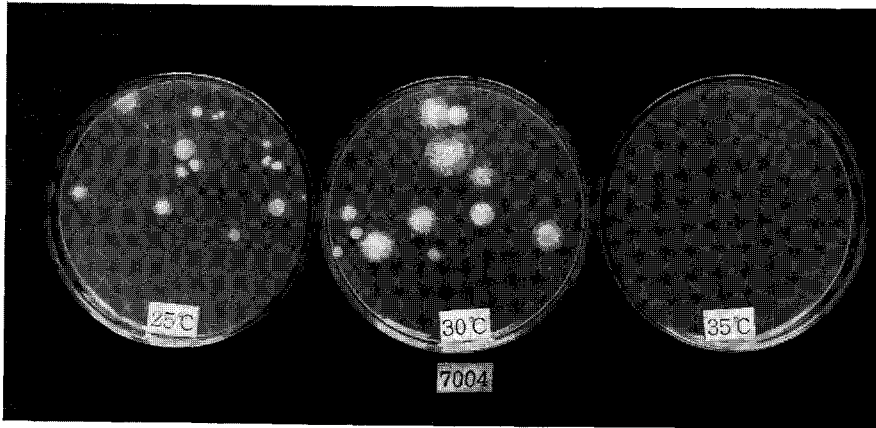


Fig. 2. Mycelial colonies of germinated *G. lucidum*.

는 아직 영지의 포자발아에 대한 보고가 없다. 영지의 포자 발아에 대한 보고는 1929년 Bose가 Malt-extract 배지에서 최초로 발아에 성공하였으며, Sengupta(1943), Sarkar(1959), Hseu(1990) 등은 영지의 포자 발아에 대한 보고를 하였으나 발아율이 매우 낮다고 하였으며 이는 본 시험의 결과와 같은 경향을 나타내었다. Ho 등(1986)은 *G. boninense*의 경우 LBA 배지에서 발아율이 97.5% 정도가 된다고 하였다. 그리고 유 등(1994)도 *G. oregonense*의 경우 LBA 배지에서 35°C로 배양한 결과 발아율이 1.47% 정도라고 하여 영지 속내에서도 종에 따라 발아율에 많은 차이가 있는 것으로 조사되었다.

단핵균주의 교배형

영지는 4극성으로 A₁B₁, A₁B₂, A₂B₁, A₂B₂의 교배형이 존재하며, 이들의 화합성 단핵균주간에 균사 융합이 일어나면 2핵 균사가 되어 clamp connection이 형성되고 A₁A₂B₁B₂ 형으로써 자실체가 형성된다. 버섯의 교배육종은 이와 같이 유전적 형질이 조금씩 다른 화합성 단핵균주간에 교배를 하고 육성된 균주들의 균사생장, 자실체 수량 등의 특성을 비교하여 우량한 균주를 선발하게 된다. 따라서 교배형을 찾는 것은 육종에서 기본소재를 얻는데 중요한 기초 자료가 되고 있다.

본 시험에서는 영지의 단포자를 발아시켜 얻은 단핵균주는 PDA배지를 분주한 petri-dish 상에

2균주씩 대치배양을 한 후 clamp connection 형성 여부를 조사하였다. *G. lucidum*의 경우 ASI 7004 및 ASI 7091 모두 clamp 연결체를 가진 조합을 얻지 못하여 교배형을 결정짓지 못하였다. 이러한 결과는 Hseu(1990)가 보고한 결과와는 상이하였는데 앞으로 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

그러나 *G. oregonense*는 Table 2와 같이 4개의

Table 2. Mating types of monokaryon of *G. oregonense* ASI 7067

Mating type	A ₁ B ₁		A ₁ B ₂		A ₂ B ₁		A ₂ B ₂						
	1	7	15	2	5	6	4	8	13	3	9	10	
1*	-	-	**	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
A ₁	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
B ₁	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
A ₁	2	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
B ₂	5	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
A ₂	6	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
B ₁	4	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A ₂	8	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
B ₁	13	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A ₂	3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B ₂	9	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A ₂	10	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*: Strain No. of monokaryon

**.: +; clamp formation, -; no clamp formation

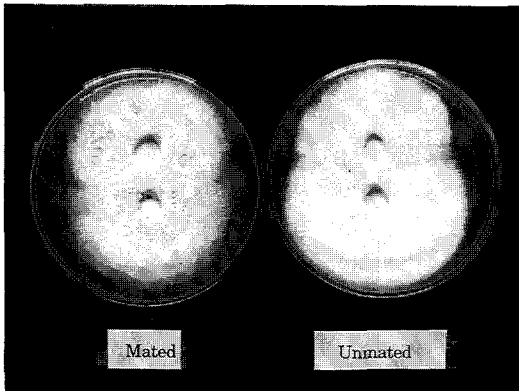


Fig. 3. Cultural morphology of mated and unmated monokaryons of *G. oregonense* ASI 7067.

교배형으로 구분되었다. 그리고 clamp 연결체가 형성된 모든 교배 조합에서는 Fig. 3과 같이 균사체에 갈색의 물방울이 맺혔다. 이러한 결과는 1핵 균사에 비해 2핵 균사가 되면서 대사작용이 활발하기 때문에 생긴 것으로 사료되었다.

적 요

영지의 육종에 필요한 단핵균주를 얻기 위하여 시험한 결과 포자채취는 자실체를 수확하지 않은 상태에서 채취하는 것이 양호하였다. 영지의 포자 발아는 *G. lucidum* ASI 7004균주는 PDA배지를 이용하여 25~30°C에서 발아시켰을 때 0.02%였으며 ASI 7091 균주는 30°C에서 0.05%였다. *G. oregonense* ASI 7067은 PDA 배지에서 35°C로 배양하였을 때 0.67%로 가장 높았다.

*G. lucidum*의 경우는 단핵균주의 교배형을 결정하지 못하였으나, *G. oregonense*은 A_1B_1 , A_1B_2 , A_2B_1 , A_2B_2 의 뚜렷한 4극성으로 나타났다.

감사의 글

이 연구는 과학기술처의 선도기술개발사업으로 수행된 체세포 융합에 의한 약용버섯 우량품종 육성 연구 과제에의 결과 일부입니다. 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 유창현, 김경수, 공원식, 변명옥, 정 훈, 1994. 영지버섯 우량품종 육성에 관한 연구. pp. 1103-1107. 농업과학기술원 시험연구보고서(응용미생물과편).
- 許瑞祥. 1993. 靈芝概論. 臺灣 萬年出版社. pp. 14-19.
- Anjali, S. 1959. Spore germination of *Ganoderma lucidum* (Leyss.) Karst. *Science and Culture*. 24(11): 524-525.
- Bose, S. R. 1929. Artificial culture of *Ganoderma lucidus* (Leyss.) from spore to spore. *Ibid.* 87: 665-667.
- Chang, S. T., J. A. Buswell and P. G. Miles. 1993. Genetics and breeding of edible mushrooms. Gordon and Breach Science Publishers. U. S. A. pp 297-324.
- Ho, Y. W. and A. Nawawi. 1986. Germination studies of *Ganoderma boninense* spores from oil palms in Malaysia. *Pertanika* 9(2): 151-154.
- Hseu, R. S. 1990. An identification system for cultures of *Ganoderma* species. Ph.D. Thesis. Nat'l. Taiwan University, Taiwan.
- Mizuno, T. 1989. Development and utilization of bioactive substances from medicinal and edible fungi(2). *Chemical Times*. 3: 50-60.
- Sarkar, A. 1959. Spore-germination of *Ganoderma lucidum* (Leyss.) Karst. *Science and culture* 24(11): 524-525.
- Sengupta, S. K. 1943. Spore germination of *Ganoderma lucidum* (Leyss.) Karst. *Curr. Sci.* 12: 59-60.