

<特 4>

韓國產 靈芝버섯의 分類同定, 栽培法 開發 및 優良品種 育成

車 東 烈

農 業 技 術 研 究 員

1. 韓國產 靈芝버섯類의 分類同定

韓國에 自生하는 불로초屬(*Ganoderma*)을 調査하기 위하여 京畿道 抱川郡 光陵, 忠南 公州郡 鷄龍山 甲寺, 江原道 平昌郡 五臺山, 全北 南原郡 知異山 等地에서 採集한 結果, 불로초(靈芝) *Ganoderma lucidum* (Leyss : Fr.) Karst., 자흑색불로초 *Ganoderma neo-japonicum* Imazeki, 앓은뱅이불로초(新稱) *Ganoderma bonunens* Pat., 잔나비겉상버섯 *Elfvigia applanata* (Pers.) Karst. [*Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.] 등 불로초屬 3種과 잔나비겉상버섯屬 1種을 分類同定하였으며, 韓國 未記錄 1種에 대한 韓國名을 新稱하였다.

불로초와 잔나비겉상버섯은 4個 調査地域에서 發生되었고, 자흑색불로초와 앓은뱅이 불로초는 경기도 포천군 광릉에서 針葉樹인 전나무 그루터기 위에서 發生하였다.

2. 栽培法 開發

韓國產 靈芝버섯의 菌絲生長에 알맞은 培地는 MES, MHS培地, 溫度는 25-30°C, pH 4.2-5.4이었으며 톱밥培地の 水分含量은 75%, 粒子的 크기는 2.4-1.7mm, 假比重 0.12g/cc일때 菌絲生長이 良好하였으며, 그 중 ASI 7060 菌株는 初發茸 所要日數가 빠르고, 發茸率이 높고, 個體重이 무거우며 子實體數量이 가장 높았다.

靈芝버섯의 人工栽培法을 開發한 結果 톱밥과 原木으로 栽培할 수 있었으며, 톱밥으로 栽培할때에는 培地材料 配合時 참나무톱밥의 添加量이 增加함에 따라서 初發茸 所要日數가 빠르고 子實體 收量이 높았으며 米糖의 添加率이 增加할 때 收量이 높았으며, 培地 埋沒 깊이는 2cm, 거리는 15cm일 때 收量이 높았다. 또한 버섯을 栽培할 때 栽培舍內的 溫度는 28-30°C, 發茸時 濕度 70-80%, 갓 形成時 90-95%, 乾固時 50-60%로 維持할때 子實體 收量이 높았다. 그러나 톱밥 栽培는

일정한 菌培養 施設이 具備되어 있어야 하고 生産費가 많이 所要되어 農家에서 손쉽게 栽培할 수 있는 原木栽培法을 開發하였다. 靈芝버섯을 栽培할 수 있는 樹種을 開發하였는데 아카시아, 버드나무, 밤나무 등에서는 收量이 顯著히 낮고 品質이 不良한 反面, 참나무에서는 收量이 높고 品質이 優秀하였다.

蒐集한 菌株을 참나무 原木에 栽培한 結果 톱밥 培地에서와 같이 ASI 7060 菌株은 個體重이 높고 子實體 收量이 높았다. 原木으로 栽培할 때 種菌接種后 20日間은 菌絲培養 溫度를 10C로 維持할 때 活着率이 높았고 그 이후 管理를 容易하게 하기 위하여 接種할 때 原木을 3列씩 配列 하는것이 活着率이 높았다.

菌絲培養時 敵情溫度를 維持하기 위하여 原木위에 新聞紙를 덮고 그 위에 거적이 나 비닐을 덮은 다음 保溫 처리한 區에서 活着率이 높았다. 菌絲培養 溫度別 子實體 收量은 15°C로 維持할 때 가장 높았으나 2回 發生時에는 收量이 낮은 缺點이 있었다.

3. 優良菌株 育成

靈芝버섯屬 (*Ganoderma*)의 *G. lucidum*과 *G. tsugae*는 tetrapolar heterothal-
lism(사극성 자웅이주성)으로서 homokaryotic strain(單核株)간의 種間 菌絲接合은 不化合性으로 인하여 이루어 지지 않는다. 유전양식을 究明하기 위하여는 單核菌株가 필수적이며 이는 單孢子分離發芽로 얻을 수 있으나 靈芝의 發芽가 극히 어려워 原形質體 再生으로 異核菌株에서 단핵주를 11.46%를 얻을 수 있었으므로 芝屬에 관한 不化合性, 生活週期等の 해석이 가능할 것으로 본다.

靈芝버섯의 育種目標은 藥效成分含量的 增加, 빠른 菌絲體生長, 子實體 生産性等으로 전통적 育種方法인 菌絲接合과 原形質體를 利用한 遺傳子 傳移로 그 可能性을 檢討하였다. *G. applanatum*(잔나비겉상버섯)과 *G. lucidum*간의 異種間 原形質體 融合을 營養要求株로한 結果 0.0051-2.03%로 heterokaryon을 얻을 수 있었으며, 融合株는 연한 黃色의 melanin 색소를 形成하는 경우가 많았으며 融合株 細胞內的 핵의 수나 형태의 불일치 등으로 균총분리가 나타나는 경우가 많았다.

核傳移株는 버섯 最小培地에서 初期에 菌絲生長이 느리며 黃色을 나타내었으며 계대배양 될 수록 完全培地에서 菌絲生長이 빨라졌는데 *G. lucicum*의 genome이 다소 상실되어 *G. applanatum*을 닮아갔다.

染色體 轉移에서는 宿主 原形質體의 back mutation으로 인하여 microtrans-genome type선발은 어려웠으며 macrotransgenome type을 얻었는데 이 菌株은 이 배체와 같이 菌絲生長이 빠른것이 특징이었으며, 電氣永動으로 esterase를 分析한 결과 兩親과 뚜렷하게 구분되는 型態과 位置를 나타내었다.

靈芝屬의 遺傳子를 食用버섯에 전이하기 위하여 *G.applanatum*과 *Pleurotus ostreatus*의 異目間 原形質體 融合, *G. applanatum*의 原形質體와 *Lyophyllum ulmarium*의 oidia와의 融合결과, 융합주들은 *G. applanatum*의 genome이 많이 상실되었으나 유전물질이 서로 상호작용함을 확인하였다.

靈芝버섯 DNA를 이용한 Genomic library를 제조하기 위하여 靈芝버섯 菌絲體에서 DNA를 分離하여 EtBr-CsCl 밀도 구배 초원심 분리로 65,000 rpm에서 4시간 원심분리 하므로서 DNA를 순수분리하였다. DNA를 Sau 3A 제한효소로 처리하여 3-7kb 크기로 부분절단 하였다. 절단된 DNA를 Lambda Gem 11(promega) Bam H 1에 결합시킨 후 in vitro packaging하여 재조합된 Bacteriophage plaque을 얻었다. KW251에 비해 LE392를 host로 사용하였을 때 효과적이어서 592개 plaque을 얻었다.