

<特 1> APPLICATION OF RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISMS TO IDENTIFY CULTURES OF *GANODERMA* SPECIES

Ruey-Shyang Hseu

Applied Microbiology Laboratory, Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.

In China, Korea and Japan, the fruiting body of *Ganoderma lucidum* has been greatly valued in traditional medicine. Recent research has been revealed that some compounds have antitumor activities in the metabolites. World wide *Ganoderma lucidum* is classified as a wood decaying fungi causing white rots of a wide variety of trees and timber, thus described as a phytopathogenic fungi. A wide variety of research is being conducted in connection with these properties of *Ganoderma lucidum*. It is therefore important to establish an accurate identification system for *G. lucidum*.

For the last 100 years, the taxonomy system for *Ganoderma* has been based on the morphology of the fruiting body. With the new parameters used in my past 6 years of research I was able to show that the previous identification system led to incorrect identification and confusion between *G. lucidum* and *G. tsugae*. These parameters were :

- (1) macroscopic characteristics of the colony and fruiting body.
- (2) microscopical characteristics of the hyphae and basidiospores.
- (3) growth rate and optimum temperature.
- (4) extracellular hydrolytic enzymes assay by API-ZYM kits.
- (5) electrophoretic patterns of extracellular laccase isozymes.
- (6) di-mon mating and incompatibility test.

Using the above parameters, the following species found in Taiwan were identified : *G. applanatum* (Pers.) pat., *G. formosanum* Chang & Chen, *G.*

fornicatum (Fr.) Pat , *G. lucidum* (W. Curt. : Fr.) Karst., *G. microspor-um* Hseu, *G. neo-japonicum* Imaz., *G. tropicum* (Jungh.) Bres., *G. tsugae* Murr..

Recently our research has gone to the molecular level, as only such research can clearly identify the relationship between isolates of the same species, or different species where the morphology is very similar. In this study the restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) used for identification were as follows :

- (1) Restriction enzyme EcoRI and BamHI digested, *G. lucidum* RZ whole cell DNA, was used to obtain fragments. The range used as random probe sets was 0.6-0.9 Kb.
- (2) The random probe sets were used in Southern hybridization with HindIII digested whole cell DNA from various *Ganoderma* species.
- (3) The random probe set GLH-2 was used to label RFLPs. From the result we could separate the different species *G. lucidum*, *G. neo-japonicum*, *G. tsugae*, different varieties of *G. lucidum*, and distinguish the monokaryon and the dikaryon of *G. lucidum*.

The results of RFLPs enabled us to obtain more detailed and stable evidence than the other previously mentioned parameters.

It is clear that in the future the RFLPs will become the most important parameter in culture identification of edible mushroom.

<特 1> 영지버섯의 제한효소 DNA 절편의 길이에 따른 분류

허 서 상

국립대만대학 농화학과

영지버섯 *Ganoderma lucidum*은 옛부터 중국, 한국, 일본 등지에서 전통약으로 중요시 되어왔다. 최근의 연구결과 영지의 대사산물중 항암작용을 나타내는 성분이 존재한다는 것이 밝혀졌다. 영지버섯은 세계적으로 분포하는 백부형진균으로, 나무의 뿌리나 줄기를 부패하게 하므로 식물병원성 진균으로 불려지기도한다. 영지버섯의 이러한 성질들과 관련된 여러가지 연구가 수행되고 있다. 따라서 *G. lucidum*의 정확한 분류동정체계를 확립하는 것은 매우 중요하다.

지난 100년동안, 영지속 계통분류에서 자실체의 형태를 판단의 주요한 기준으로 삼았다. 영지는 지난 6년동안 새로운 분류기준들을 이용하여 연구한 결과, 이전의 분류체계는 부적당한 것으로써, *G. lucidum*과 *G. tsugae*를 혼동하였음을 알게되었다. 이러한 분류기준들은 다음과 같다.

- (1) 집락과 자실체의 외부 특징
- (2) 균사체와 담자포자의 현미경적 특징
- (3) 생장속도와 최적온도
- (4) API-ZYM kit를 이용한 세포의 가수분해 효소의 분석
- (5) 세포의 laccase동위효소의 전기영동 pattern
- (6) 단-쌍핵 균주간의 교배현상과 배척성 시험

위의 기준들을 사용하여, 대만에서 자라나는 다음과 같은 종류들을 분류할 수 있었다. 즉 *G. applanatum* (Pers.) Pat., *G. formosanum* Chang & Chen, *G. fornicatum* (Fr.) Pat., *G. lucidum* (W. Curt: Fr.) Karst., *G. microsporum* Hseu, *G. neo-japonicum* Imaz., *G. tropicum* (Jungh.) Bres., *G. tsugae* Murr.이다.

최근 우리의 연구는 분자수준까지 진행되었는 바, 이러한 연구에 의해서만이 동종 균주간의 관계나 형태가 매우 유사한 종간의 관계를 밝힐 수 있다. 본 실험에서 분류에 사용된 제한효소 절편길이 다형태성(RELPs)은 다음과 같다.

- (1) *G. lucidum* RZ whole cell DNA를 제한효소 EcoRI과 BamHI으로 처리하여 절편을 얻었다. random probe sets로 사용된 범위는 0.6-0.9 kb였다.
- (2) 여러 *Ganoderma* 종류의 whole cell DNA를 HindIII로 처리하여, random probe sets와 Southern hybridization 시켰다.
- (3) random probe set GLH-2로 RFLPs를 표지하였다. 그 결과, 이중인 *G. lucidum*, *G. neo-japonicum*, *G. tsugae*와 *G. lucidum*의 변종들을 구별할 수 있었고, *G. lucidum*의 단핵체와 쌍핵체를 구별할 수 있었다. RFLPs를 이용한 결과, 이전의 분류기준에 근거한 방법보다 더 정확한 분류가 가능하였고, 앞으로는 식용버섯의 분류에도 RFLPs가 가장 중요시 될 것이 확실하다.