

茯苓(*Poria cocos*)의 培養學的 特性에 관한 研究

洪仁杓* · 李敏雄

동국대학교 응용생물학과, 농업생물학과

Studies on the Cultural Characteristics of *Poria cocos*

In Pyo Hong* and Min Wong Lee

*Department of Applied-biology, Dongguk University, and
Department of Agrobiolgy, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

ABSTRACT: The cultural characteristics and some factors such as nutrient sources and supplements effecting on mycelial growth and density were investigated to study the possibility of an artificial cultivation of *P. cocos*. The optimum pH for *P. cocos* was 4.0-4.5. The optimal growth temperature ranged from 25°C to 29°C. Mycelial growth of *P. cocos* was better in SPD than PD media. Adding the nutrient sources such as dextrose, yeast and potato infusion to pine extract media practically stimulated the mycelial growth and density of *P. cocos* comparing to pine extract media alone. When *P. cocos* was cultured on sawdust media added 3 different supplements composed of corn meal, rice bran and wheat bran, corn meal was the best and its percentage was 30 (w/w) for mycelial growth. On culturing in sawdust media added by varying the mixture ratio of them, the media mixed corn meal and wheat bran (3:1, w/w) supported more vigours for mycelial growth. In inoculation test to pine stem, the fungal growth was good in under or inside pine bark and xylem, but the sclerotium was not observed in the stem. Mycelial growth was also observed in central part of pine stem by cross section.

KEYWORDS: *Poria cocos*, Pine sawdust media, Pine extract media, Supplements.

茯苓 [*Poria cocos* (Fr.) Wolf]은 漢方에서 쓰는 生藥 中の 하나로 茯苓이라고 하며 (申, 1973) 形態, 색깔 등에 따라 분류되고 있으며 오늘날 약용으로서의 가치는 특정약효가 있다는 보고가 있다 (廣西壯族自治區醫葯研究所, 中國, 1978).

茯苓의 重要 成分으로는 炭水化物, 水分, 粗纖維質 (crude cellulose), 蛋白質, 脂肪 등의 順이며 (Brown, 1871; Storer, 1875), Schrenk (1884)와 Braconnet (1824)는 성분 內容物의 대부분은 Pectose로 되어 있다고 보고하였으며 특히 炭水化物 中 茯苓糖 [Pachyman (CHO)_n]이 76-79%로 가장 많으며, 이 茯苓糖이 茯苓多糖 (Pachymaran)으로 변할 때는 糖을 비롯한 180

여종에 抑制作用이 있다고 하였으며 (廣西壯族自治區醫葯研究所, 中國, 1978; Saito *et al.*, 1968; Chihara *et al.*, 1970), Kanayma 等 (1983, 1984)과 Narui & Shibata (1980) 等도 抗癌效果가 있음을 입증하였다. 또한 李 (1982) 等은 Gram 陽性菌에 대하여 抗菌力을 나타낸다고 보고 하였다.

부령에 관한 연구로서 茯苓의 形態學的 觀察 및 特徵, 採集期, 栽培方法 등에 관한 研究가 있고 (張, 1975), 胡 (1957)는 茯苓菌을 湯姆에 接種하여 人工生産에 成功하였다고 하였으나 미흡하고 또한 國內에서는 茯苓菌의 培養學的 基礎研究 (朴 等, 1980)가 있으나 실제 人工生産에는 미흡한 실

이 연구는 문교부 학술연구조성비에 의해 이루어졌음.

Table I. Composition of pine bark and xylem-extract media supplemented various nutrient sources.

Media Ingredients	SA	SDA	SYA	SPA	SDYA	SPDA	SPYA	SPDYA
Pine stock solution (S)	50 ml	50 ml	50 ml	25 ml	50 ml	25 ml	25 ml	25 ml
Potato infusion (P)	-	-	-	25 ml	-	25 ml	25 ml	25 ml
Dextrose (D)	-	1.5%	-	-	1.5%	1.5%	-	1.5%
Yeast extract (Y)	-	-	7.5%	-	7.5%	-	7.5%	7.5%
Agar (A)	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%

정이어서 아직까지도 茯苓의 需要를 天然採集에 依存하는 실정이므로 人工적으로 茯苓을 大量 生産하기 위한 시도로서 國內에서 採集分離한 茯苓菌의 최적 生育조건 및 培養學的 특성에 대한 실험을 하였다.

材料 및 方法

菌 株

본 실험에 사용된 균주는 야외에서 採集한 茯苓(*Poria cocos*)을 재료로 배양한 뒤 分離하여 保存 중인 菌株 중 生育이 가장 왕성한 PDH-301 균주를 PDA 培地에 增殖시켜 사용하였다.

接種源

15 ml의 PDA 培地를 페트리 접시(직경 9 cm)에 일정하게 分注한 平板培地에 保存菌을 接種하여 7日間 培養한 다음 內徑이 6 mm인 Cork borer로 떼어낸 배양된 절편을 接種源으로 사용하였다.

균사생장에 미치는 pH와 온도의 영향

pH와 菌絲生長

감자즙(PD) 培地를 金(1969) 등이 사용한 方法에 의하여 pH를 3.0-8.0 범위로 하고 Phosphate buffer를 사용하여 배지의 pH를 0.5 단위씩 조절하여 살균한 뒤 여기에 接種源을 接種하여 27±1°C 恒溫器에서 20日間 培養한 다음 배양액을 濾過紙(whatman No.2)에 여과한 뒤 乾燥器(105°C, 2 hr) 내에서 건조하여 菌體量을 측정하였다.

溫도와 菌絲生長

本 菌의 生育과 溫度와의 關係를 조사하기 위하여 19~31°C까지 2°C간격으로 溫度範圍를 정하고

液體培地인 감자즙배지(PD)와 고구마즙배지(SPD)를 200 ml 삼각 flask에 50 ml씩 注入하여 121°C에서 15분간 加壓滅菌하고 接種源을 接種하여 20일간 培養한 다음 각 溫度에 따른 菌體量을 乾燥秤量하였다.

소나무 抽出液 調製方法

15년생 소나무를 잘라 4개월간 건조시킨 원목을 수피와 목질부로 분리하여 500g씩을 蒸溜水 10l와 각각 混合하여 121°C에서 30分間 加壓滅菌하고 濾過하여 소나무수피抽出液 및 소나무목질추출액을 만들고, 이 액을 hot plate에서 加熱하여 500 ml로 농축하여 원액(stock solution)으로 사용하였다. 소나무수피와 목질혼합추출액은 소나무수피추출액 원액과 소나무목질추출액 원액을 동량(1:1, v/v)으로 혼합하였다. 소나무추출액배지는 Table I과 같이 소나무추출액에 탄소원 및 질소원을 첨가하여 조제하였으며 각각의 배지에 접종원을 接種하여 27±1°C 恒溫器 내에서 배양하여 균사생육상태 및 균사밀도를 조사하였다.

添加材料의 影響

茯苓재배에 이용할 적합한 添加材料를 선별하고자 유기태영양원으로서 소나무톱밥에 옥수수가루, 米糖, 밀기울 등을 각각 10, 20, 30% (w/w)의 비율과 이들 添加材料의 비율을 각기 달리 배합한 뒤 水分이 65-70%되게 인위적으로 조절하여 시험관(φ2.5×30.0 cm)에 培地를 50g씩 일정하게 충전하고 121°C에서 15分間 加壓滅菌한 다음 接種源을 接種하였다. 接種된 培地는 27±1°C로 調節된 恒溫器內에서 培養하면서 자로 제어 菌絲生育 狀態 및 菌絲密度를 조사하였다.

원목에 接種실험

직경 10-20 cm의 소나무를 벌목하여 4개월간

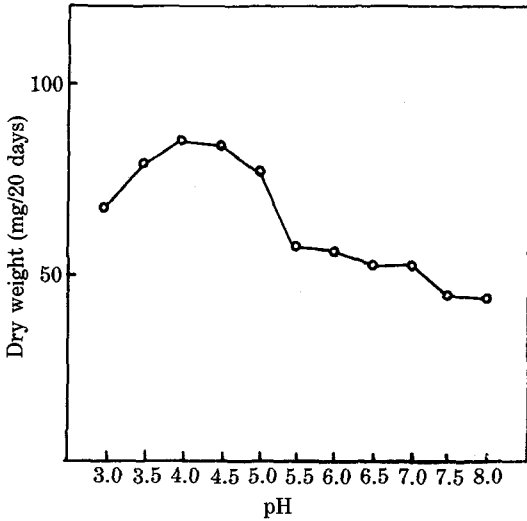


Fig. 1. Growth of *P. cocos* at various pH ranges.

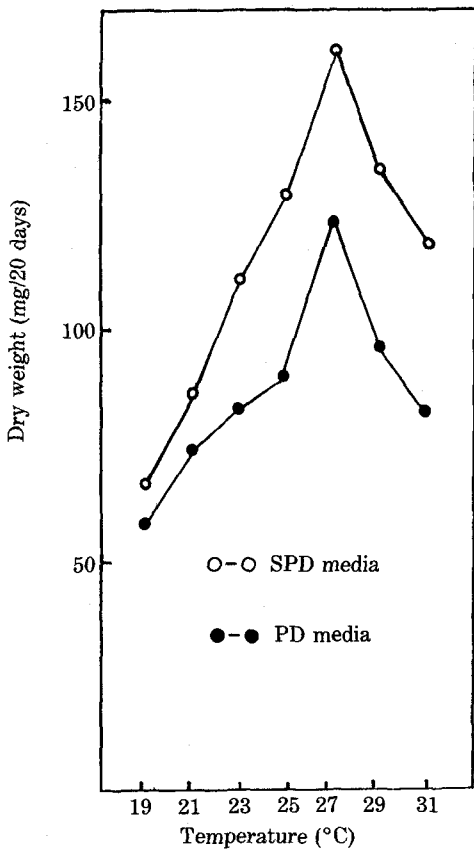


Fig. 2. Growth of *P. cocos* at various temperature ranges.

Table II. Effect of added nutrient sources to pine bark-extract (Pb) media on mycelial growth of *P. cocos* in 3 days incubation.

Media	Radial growth (mm)	Mycelial density*
Pb+D**	55.0 ^{b***}	+
Pb+Y	55.6 ^b	+++
Pb+P	29.0 ^a	++
Pb+P+D	71.6 ^c	++
Pb+P+D	48.3 ^b	++++
Pb+P+D+Y	58.3 ^b	++++
Control (Pb)	50.0 ^b	+

*Mycelial density (7days): +; thin, ++; thick, +++; compact, ++++; quite compact.

**D; dextrose, Y; yeast, P; potato infusion.

***The different letters in column differ significantly (p=0.01) according to Duncan's new multiple range test.

건조시켜 80 cm 길이로 자른 다음 drill로 구멍(1.5×1.5 cm)을 뚫고 여기에 톱밥배지에서 자란 접종원을 접종하고 구멍크기를 덮을 수 있을 정도의 준비된 나무껍질 마개로 막고 땅속 30 cm의 깊이에 묻었다. 접종원의 성장상태를 알고자 1년이 경과한 뒤 파내어 균사발달 상태 및 균핵형성 여부를 조사하였다.

結果 및 考察

pH가 菌絲生育에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH 3.0-8.0까지 범위로 정하고 이를 0.5단위씩 더 세분하여 조제한 배지에서의 균사生育을 측정 한 결과는 Fig.1에서와 같이 pH 3.5-5.0 범위에서 균사가 良好하게 生育하였으며, pH 5.5 이상에서는 균사발육이 극히 저조하였다. 특히 pH 4.0-4.5 범위의 산성배지에서 건조 균체량이 84-85 mg/20일로 가장 잘 자랐다. 이러한 결과는 Jennison (1949) 등이 담자균류인 *Polyporus* spp.를 대상으로 pH의 영향을 실험한 결과 pH 4 부근에서 生育이 良好하다는 研究結果와 一致하고 있다. 한편, 菌絲生育이 旺盛한 培地에서는 最終 pH가 2.3(2.34-2.38)으로 변하는데 이는 菌絲生育 중에

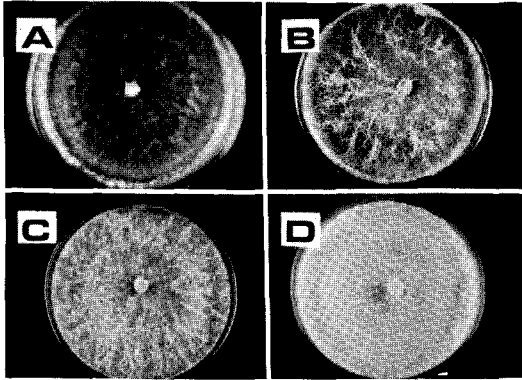


Plate 1. Effects of added various nutrients sources to pine bark extract.

A; Mycelia cultured on pine bark-extract media alone, B; Mycelia cultured on pine bark-extract media added potato infusion as nutrient source, C; Mycelia cultured on pine bark-extract media added yeast as nutrient source, D; Mycelia cultured on pine bark-extract media added potato infusion, dextrose and yeast.

형성되는 乳酸菌에 의해 pH가 낮아지는 것으로 생각된다(Shimazomo, 1955).

培養溫度에 따른 菌絲密度를 조사하기 위하여 pH 4.5에서 20일간 液體培養한 결과는 Fig. 2에서와 같이 PD배지와 SPD배지 모두 25-29°C 범위에서 균사생육이 良好하였으나, 23°C 이하와 29°C 이상에서는 매우 저조하였다. 27°C에서 배양한 건조 균체량이 PD 배지에서 124 mg/20日, SPD 배지에서 160 mg/20日로 조사되어 菌의 生育은 27°C에서 가장 활발하였다. 또한 PD 배지보다 SPD 배지에서의 菌絲生育이 전반적으로 양호하였다. 이러한 결과는 Kanayama 등(1984)이 복령균을 대상으로 온도 영향을 조사한 25°C가 最適溫度라고 한 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

소나무수피抽出液培地에 炭素源 및 窒素源을 添加하여 菌絲生育을 調査한 結果는 Table II와 같다. 菌絲生育은 抽出液에 포도당과 감자汁液을 첨가한 培地에서 71.6 mm/3日, 90 mm/4日로 가장 왕성하였으며, 抽出液에 감자汁液을 첨가한 培地에서 29 mm/3日, 51.6 mm/4日로 가장 저조한데 이는 감자즙액 첨가가 균사생육보다는 균사밀도를 촉진시킨 결과로 생각된다. 菌絲密度는 抽出液에 포도당, 효모 및 감자汁液을 첨가한 培地에

Table III. Effect of added nutrient sources to pine xylem-extract (Px) media on mycelial growth of *P. cocos* in 3 days incubation.

Media	Radial growth (mm)	Mycelial density*
Px + D**	29.3ab***	+
Px + Y	23.0a	+
Px + P	23.3a	+
Px + P + D	40.0bc	+++
Px + P + Y	38.6bc	++
Px + P + D + Y	47.0c	++++
Control (Px)	22.6a	+

*Mycelial density (7 days): +; thin, ++; thick, +++; compact, ++++; quite compact.

**D; dextrose, Y; yeast, P; potato infusion.

***The different letters in column differ significantly (p=0.01) according to Duncan's a new multiple range test.

Table IV. Effect of added nutrient sources to pine bark and xylem-extract (Pbx) media by 1:1 ratio on mycelial growth of *P. cocos* in 3 days incubation.

Media	Mycelial growth	Mycelial density*
Pbx + D**	43.0b***	+++
Pbx + Y	23.0a	++
Pbx + P	42.6b	+++
Pbx + P + D	48.3b	++++
Pbx + P + Y	48.6b	+++
Pbx + P + D + Y	53.0b	++++
Control (Pbx)	41.3b	+

*Mycelial density (7 days): +; thin, ++; thick, +++; compact, ++++; quite compact.

**D; dextrose, Y; yeast, P; potato infusion.

***The different letters in column differ significantly (p=0.01) according to Duncan's new multiple range test.

서 가장 좋았으며, 炭素源인 포도당의 첨가는 공중균사의 발육을 촉진시켰다. 菌絲生育은 전반적으로 소나무수피抽出液培地가 다른 培地에 비하여 양호하였으며, pH도 3.99로 生長하기에 적합하였다(Plate 1).

소나무木質抽出液培地에서의 菌絲生長은 Table III에서와 같이 추출액에 포도당과 감자즙액 및 효

Table V. Effect of added various supplements to pine sawdust media on mycelial growth in glass tube of *P. cocos* in 10 days incubation.

Supplements ratios (%)	Height (mm)	Mycelial density*
10	160 ^{c**}	+++
corn meal 20	179 ^e	++++
30	198 ^f	++++
10	154 ^c	++
rice bran 20	139 ^b	+++
30	121 ^a	+++
10	170 ^d	+
wheat bran 20	140 ^b	++
30	119 ^a	+++
Control (pine sawdust)	147 ^{bc}	+

*Mycelial density: +; thin, ++; thick, +++; compact, +++++; quite compact.

**The different letters in column differ significantly (p=0.01) according to Duncan's new multiple range test.

Table VI. Effect of the mixture ratios of various supplements to pine sawdust on mycelial growth in glass tube of *P. cocos* in 10 days incubation.

Supplements	Ratios	Height (mm)	Mycelial density*
corn meal	3:1	74 ^{a**}	+
+rice bran	2:2	84 ^b	++
	1:3	82 ^{ab}	++
corn meal +	3:1	125 ^d	++++
wheat bran	2:2	97 ^c	+++
	1:3	95 ^c	+++
Control (corn meal)		203 ^e	++++

*Mycelial density: +; thin, ++; thick, +++; compact, +++++; quite compact.

**The different letters in column differ significantly (p=0.01) according to Duncan's new multiple range test.

모를 첨가한 배지에서의 균사생육이 47.0mm/3日, 90.0mm/5日로 양호하였으나 다른 추출액培地에 비하여 전반적으로 불량하였다. 또한 菌絲가 不連續的으로 성장하기 때문에 菌絲密度 또한 저조한데, 이는 抽出液培地의 pH가 6.36으로 菌絲

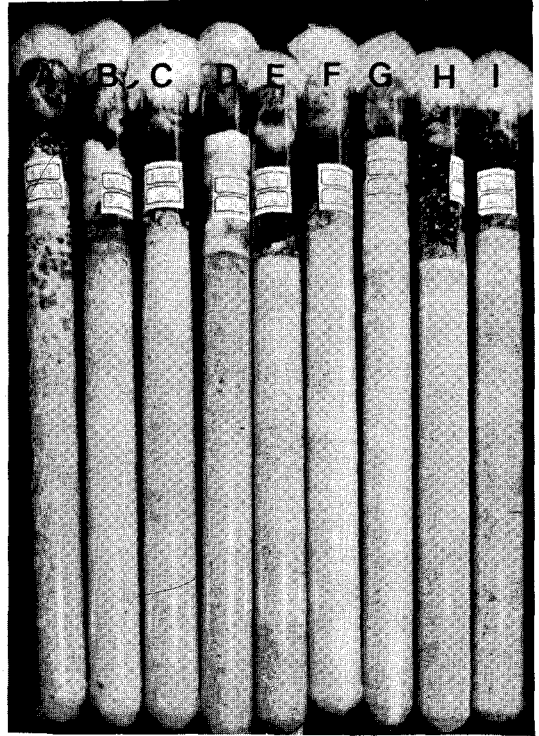


Plate 2. Effects of added various supplements to pine sawdust.

A; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal (10%), B; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal (20%), C; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal (30%), D; Mycelia cultured on sawdust media added rice bran (10%), E; Mycelia cultured on sawdust media added rice bran (20%), F; Mycelia cultured on sawdust media added rice bran (30%), G; Mycelia cultured on sawdust media added wheat bran (10%), H; Mycelia cultured on sawdust media added wheat bran (20%), I; Mycelia cultured on sawdust media added wheat bran (30%).

生長에 부적합한 결과로 생각된다. 한편, 抽出液에 포도당, 효모 및 감자汁液을 添加한 培地에서 菌絲生育 및 菌絲密度가 양호한 것은 培養培地에 適當한 營養源의 첨가는 菌絲發育을 촉진시킨다는 Badcock (1941)의 연구결과에 부합된다.

소나무수피추출액과 木質抽出液을 同量(v/v)으로 配合한 소나무수피·木質抽出液混合培地에서의 菌絲生育은 추출액에 효모를 첨가한 배지를 제외하면 균등한 균사발달을 보였다 (Table IV). 菌絲

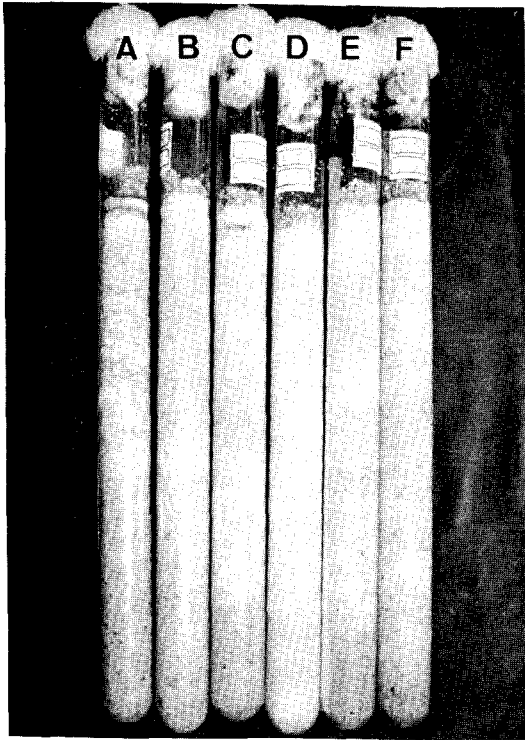


Plate 3. Effects of added supplements ratio to pine sawdust.

A; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and rice bran (3:1), B; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and rice bran (1:1), C; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and rice bran (1:3), D; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and wheat bran (3:1), E; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and wheat bran (1:1), F; Mycelia cultured on sawdust media added corn meal and wheat bran (1:3).

密度도 다른 培地보다도 전반적으로 좋았으며 특히 추출액에 포도당을 첨가한 培地에서의 菌絲生育은 매우 왕성하였다. 그러나 소나무木質抽出液 培地에서처럼 窒素源을 첨가한 培地에서의 菌絲發達을 극히 저조하였다.

전반적으로 抽出液에 營養源을 첨가하지 않은 培地에 비하여 炭素源인 포도당과 窒素源인 효모 등을 첨가한 배지에서의 菌絲生育 및 菌絲密度가 월등히 높게 나타났는데 이는 Backock (1941)의 연구결과와 유사하다.

添加材料의 종류와 첨가재료의 수준이 菌絲生長

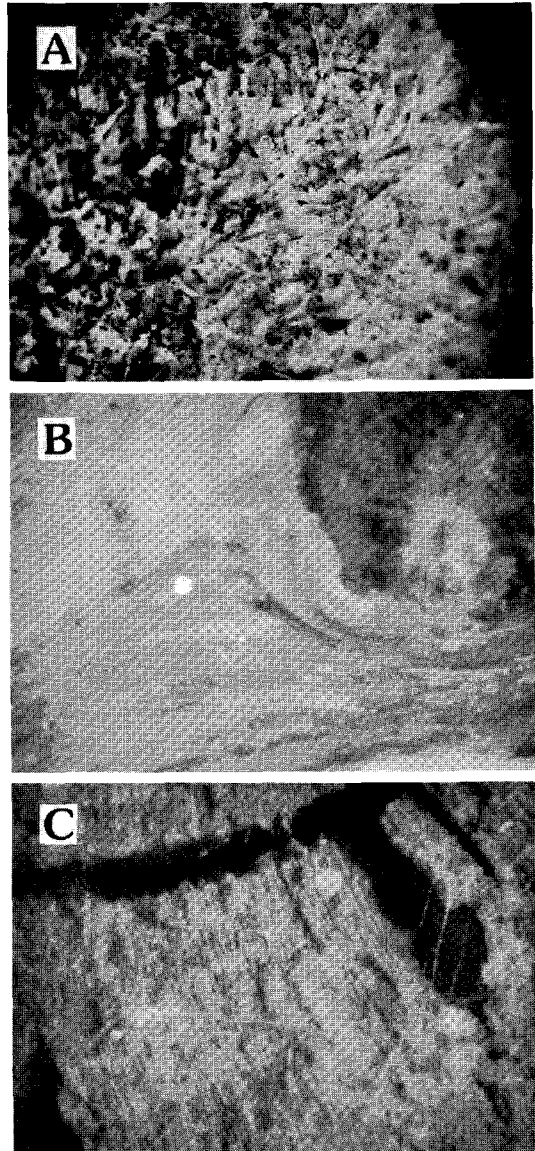


Plate 4. Growth of *P. cocos* on pine stem.

A; Mycelial growth under pine bark, B; Mycelial growth around pine stem, C; Mycelial growth of *P. cocos* in pine stem (cross section).

에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table V에서와 같이 소나무톱밥培地의 添加材料로서는 옥수수가루가 가장 좋았고 다음이 米糠, 밀기울 등의 순이었으며, 첨가재료를 수준별로 비교해 보면 옥수수가루 30%에서 198 mm/10 日로 가장 왕성하였으며, 밀기울 30%에서 119 mm/10 日 가장 저조하

였다(Plate 2). 또한 옥수수가루는 첨가재료의 수준이 증가할수록 菌絲生長이 양호하였으나 米糖과 밀기울은 첨가재료의 수준이 증가할수록 菌絲生長이 저조하였다. 한편, 첨가재료를 각기 달리 혼합하여 菌絲生育을 조사한 결과는 Table VI에서처럼 소나무 톱밥에 옥수수가루와 밀기울을 3:1의比率로 혼합한 培地에서 125 mm/10 日로 가장 좋았으며 또한 菌絲密度도 양호하였다(Plate 3).

소나무원목에 종균을 접종하여 땅속에 매설하여 12개월이 경과한 후에 나무의 수피를 베끼면서 확대경으로 균사의 발달 정도와 균핵형성 유무를 조사한 결과 직경 15 cm의 단면 중심부까지 복령균 균사가 발달하였으며 특히 소나무의 수피부와 목질부 사이에 균사가 만연된 것을 관찰할 수 있었으나 균핵형성이나 결령(結苓)은 확인되지 않았다. 한편, 오리나무에서는 균사발육이 상당히 저조하여 육안으로는 수피부와 목질부 사이에서 균사가 관찰되었으나 현미경하에서는 직경 2 cm 범위내에서만 복령균사가 확인되었다(Plate 4).

본 실험에서는 茯苓菌의 生育에 필요한 温度, pH, 營養關係 및 영양조건 등은 조사하였으나 結苓조건은 아직 충분한 결과를 얻지 못하였으므로 현재도 원목에 접종하여 복령조건을 실험 중이며 앞으로는 原木과 톱밥을 利用한 실질적인 茯苓의 人工栽培도 실험해야 할 것으로 생각된다.

摘 要

茯苓의 人工栽培를 위해 茯苓菌의 培養學의 特性과 톱밥培地 製造時 營養源 및 添加劑의 種類와 水準 등을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 茯苓菌의 最適 pH는 4.0-4.5이며 그 이하와 이상에서는 菌絲生長이 불량하였다.

2. 茯苓菌의 最適温度는 25-29°C이며, 감자즙(PD)배지와 고구마즙(SPD)培地에서의 菌絲生長은 PD 배지보다 SPD培地에서 양호하였다.

3. 소나무抽出液培地에 포도당과 같은 炭素源과 窒素源인 효모 등의 營養源添加는 菌絲生長 및 菌絲密度를 증가시켰다.

4. 소나무톱밥을 利用한 人工栽培時 添加材料의 種類 및 混合比率에 따른 菌絲生長은 옥수수가루

30% 첨가時 198 mm/day로 다른 添加區보다 가장 良好하였으며, 添加材料의 混合培地에서는 옥수수가루와 밀기울은 3:1 比率로 配合한 區에서 125 mm/day로 가장 왕성하였다.

5. 소나무 접종 1년 후 수피와 목질부 등에서 균사의 발달은 좋았으나 균핵형성은 관찰되지 않았고, 횡단한 나무줄기에서는 나무 중심부까지 균사가 발달하였다.

參考文獻

- Badock, E.C. (1941): Newcomb new-method for cultivation of wood-rot fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 25: 200-205.
- Braconnet, (1824): Henri Recherches sur un nouvel acide universellement repandu dans tous les begetaus. *Ann. de. Chemie.* 25: 358-373.
- Brown, R.T. (1871): Report of the chemist Rep. U.S. *Comm. Agr.* 89-101.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y. and Fukumoto, F. (1970): Antitumour polysaccharide derived chemically from natural glucan (Pachyman). *Nature* 225: 943-944.
- Jennison, M.W. and Richard, H. (1949): Some aspects of the physiology of wood-rotting fungi. *Symp. on Wood. Nat. Res. Council and Off. Naval Res.* 336-347.
- Kanayama, H., Adachi, N. and Togami, M. (1983): A new antitumour polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem. Pharm. Bull.* 31: 1115-1118.
- Kanayama, H., Fukai, Y. and Adachi, N. (1984): On the submerged culture of mycelia of *Poria cocos* *Trans. Mycol. Soc. Japan* 25: 101-107.
- Narui, T. and Shibata, S. (1980): A polysaccharide produced by laboratory cultivation of *Poria cococ*. Wolf. *Carbohydrate Research* 89: 161-163.
- Saito, H., Misaki, A. and Harada, T. (1968): A comparison of the structure of curdcan and pachyman. *Agr. Biol. Chem.* 32: 1261-1269.
- Schrenck, J. (1984): Note on the tuckhoe. *Bul. Torrey Club.* 11: 15.
- Shimazomo, H. (1955): Oxalic acid decarboxylase. A new enzyme the mycelium of wood destroying fungi. *J. Biochem.* 42: 321-340.
- Storer, F.H. (1875): On the fodder value of appl-

es. *Bul. Bussey Inst.* 1: 362-372.

- 張云龍(1957)：云南茯苓的人工方法，中藥通報 第3卷1期，中國。
- 戴芳瀾：中國植物學雜誌，第1卷：200-214，科學出版社，北京。
- 胡天放(1957)：安徽茯苓的增殖法，中藥通報 第3卷6期 256-258。
- 金宗熙，李敏雄，李榮俊(1969)：人參赤腐敗菌의 營養生理學的研究，東國大 農林科學論文集，3：143

-155.

- 李國盛，李敏雄，李址烈(1982)：茯苓의 抗菌力에 관한 研究，韓國菌學會誌，10：27-31。
- 朴鍾珍，咸炯培，李敏雄(1980)：복령의 人工培養에 관한 研究，韓國菌學會誌，8：133-142。
- 申佑求(1973)：申氏本草學，高文社，韓國 서울。
- Anonymous* (1978)：茯苓，廣西壯族自治區醫葯研究所，人民衛生出版社出版。

Accepted for Publication 10 April 1990