

樹種, 接種量 및 接種方法이 茯苓 菌絲生長과 結苓에 미치는 영향

이희덕, 김용균, 김홍규

충청남도 농촌진흥원

Effects of Tree Species, Inoculation Amount and Inoculation Methods on Mycelium Growth and Sclerotia Formation of *Poria cocos* Wolf

He Duck Lee, Young Kyun Kim and Hong Kyu Kim
Chungnam Provincial ATA, Taejeon, 305-313 Korea

ABSTRACT

When medicinal mushroom, *Poria cocos*, is cultured, inoculation method of spawn is cross slice inoculation for which the both sides of pine tree were peeled and spawn of *P. cocos* was inoculated. However, this method requires lots of inoculation amount. This study was carried out to improve the culturing method of *P. cocos*. A good growth of *P. cocos* was observed in MCM(mushroom complete medium), showing proper mycelia growth and density. In inoculation amount, conventional method(cross slice inoculation) requires 20 bottles of spawn. In contrast, short log method required 8 bottles of spawn and drilling inoculation method 2~3 bottles, which could save by 60% and 85-90% respectively. In the selection of tree species, pine and larch had better condition for spawn culture and sclerotia formation condition. In terms of yield, pine was 33.7kg/3.3m². In the yield of pine, conventional method was 23.4kg /3.3m², drilling inoculation 29.4kg/3.3m², short log inoculation 31.7kg/3.3m², therefore drilling inoculation could increase by 25% and short log inoculation 35%. In addition, management cost was also saved.

Key words: *Poria cocos*, medical mushroom, mushroom, sclerotia formation

서 론

복령(茯苓, *Poria cocos*)은 분류학상 담자균강 다공균목 구멍장이버섯과 복령속에 속하는 별명으로 玉靈, 茯苓, 萬靈, 情外 등으로 불려지고 있으나 약물명 칭은 茯苓이며 약용부분은 菌核이다. 주요성분은 복령산(Pachymanic acid, C₃₃H₅₂O₅) 송령산(Pinolic acid C₃₀H₅₀O₅) 송령신산(3 β -Hydroxylanosta-7(9)-11, 24-Tirene-21-oic acid)과 Tumulosic acid, Ebrioic acid 등이 함유되어 있으며 양질의 복령에는 약효성분중 가장 중요한 pachyman 성분이 93% 함유되어 있다. 현재 한방에서 한약재의 보약제조시 필수약제로 사용되는 복령은 만성위염, 심신안정, 수분삼투작용, 이뇨증진, 복통완화, 불면증, 정신안정제 치료에 이용되며 수요

를 충족하기에는 자연발생하는 복령을 채집하는 것만으로 부족하다. 복령은 토양 속의 소나무뿌리에 寄生하는 不定形의 菌體로 진균주의 담자균류에 속하는 균류로서 경기도 중부이북에 많이 발생한다는 것(申, 1973)을 대만적송(*Pinus massoniana*), 흑송(*P. tumbergi*), 적송(*P. densiflora*), 테에다소나무(*P. taeda*), 리기다소나무(*P. rigida*), 전나무(*Abies sipo*), 떡갈나무(*Quercus phellos*),귤나무(*Citrus sinensis*) 등을 기주로 菌核上에 子實을 형성시켜 poria속으로 옮긴 것이 보고되었다(Wolf, 1992).

복령균의 인공재배에 관한 연구로 복령균에 대한 온도, 습도, pH, 각종 영양원, 최적상태를 구명하였고(홍 등, 1994), 복령인공재배법 I, II 개발(김 등, 1995)로 복령인공재배법이 개발되었으나 접종량과 인건비 과다소요의 경영상 불리한 점과 절편 접종후,

우기가 도래하거나 강우가 많을 때에는 종균배양에 실패하는 사례가 있어, 이러한 불합리한 점을 개선하기 위해서 충남농촌진흥원에서는 복령인공재배시 수종선발과 접종방법 등을 구명하여, 종균소요량 절감, 노동력 개선에 의한 경영비 절감효과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

복령인공접종 시험시 접종원으로 사용한 배지종류는 소나무톱밥+미강(8:2)을 혼합하여 수분 65-70%로 조정한 후 pp내열성 2,000cc에 입병하여 121℃(1.2 kg/cm²)에서 90분 고압살균 후 배지를 20℃ 냉각시킨 후 농업과학원에서 분양받은 ASI(13007) 복령1호를 PDA배지에서 7일간 배양한 후 내경 6mm Cork borer로 찍어낸 균종의 절편을 접종원으로 사용하였으며 배양실 온도 22℃, 습도 65%에서 40일 동안 배양한 접종원을 사용하였다.

수종선발과 접종방법을 구명하기 위해서는 96년 1월 충남공주 별목장에서 소나무(Pine), 낙엽송(Larch), 참나무(*Quercus serrata*) 수종을 운반하여 25cm, 60cm, 120cm 수종별로 절단처리하여 40일간 음건처리한 후 사용하였다.

복령균(ASI 13007)을 증식하는데 최적합배지를 선발하기 위해서 PDA배지 외 5처리를 사용하였고, 제조한 배지는 petri-dish(직경 90mm)에 무균적으로 15 ml씩 분주하여 접종원을 접종하여 25℃ 항온기에서 3일간 배양하였다.

관행(절편접종)방법은 소나무원목 양측면을 10mm 내외로 껍질을 벗긴 후 음건상태에서 건조, 관리하다가 껍질이 벗겨진 부분에 송진방울이 맺혀진 상태에서 원목과 원목사이에 2-3cm 복령균절편을 사이사이에 끼어넣어 5월상순 매몰하였다.

드릴접종(표고접종)방법은 3월중순, 40여일 음건한 상태의 소나무 원목 120cm장목에 지름은 12-13mm

에 접종깊이 25, 35, 45mm를 각각 처리하여 100cm²당 1구멍씩 복령균 1-2g을 접종한 후 스치로풀마개를 막고 야간온도 10℃ 이상 유지로 차광된 대형하우스에 균사배양에 적합한 온도 20-25℃, 습도 90%로 40일간 배양관리한 후 5월 상순에 관행방법과 동시에 매몰하였다.

단목접종방법은 소나무원목을 25cm로 절단한 후 절단면에 복령균을 1cm두께로 샌드위치식으로 덮은 후 원목을 4-5개 쌓아 넘어지지 않게 온도 20-25℃, 습도 90%로 40일간 배양하는 방법과 pp내열성 접종은, 25cm단목을 pp내열성 봉지에 넣어 고압멸균 후 접종하는 방법이다.

수종선발시험도 단목접종방법으로 소나무, 참나무, 낙엽송을 25cm로 절단한 후 수종별 30토막식을 복령종균을 1cm두께로 샌드위치식으로 덮은 후 20℃에서 40일간 균사배양관리 후 관행방법에 준하였으며 수종별, 분쇄후 각각 톱밥(3-5mm 입자 : 6mesh)에 미강 20%를 첨가한 후 균사생장을 조사하였다.

복령균 최적합 배지선발은, 5처리에 대한 균사생장 및 밀도를 측정하였고 수종별, 접종방법별, 종균소요량, 균사배양, 결령상태 및 수량을 조사하였다.

결과 및 고찰

복령균 최적배지 선발

복령1호(ASI 13007) 생장이 가장 우수한 배지를 선발하고자 버섯완전배지(Mushroom Complete Medium) 등 6종의 배지에서 균사생장 및 균사밀도를 조사한 결과는 표1과 같다

균사생장은 MCM, PDA배지에서 66.3mm/3days, 63.0mm/3days 각각 가장 양호하였고 Czapek배지에서 41.7mm/3days 가장 저조하였다.

균사밀도는 MCM배지와 YM배지에서 치밀하고 양호하였다.

Table 1. Comparison of culture media on the mycelium growth and density of *Poria cocos*.

Division	Czapek	Hamada	MCM	ME	PDA	YM	F-value
Mycelium growth (mm/3days)	41.7 ^{ab}	55.3 _{ab}	66.3 _a	59.0 _{ab}	63.0 _{ab}	51.7 _{bc}	13.1**
Mycelium density	+	++	+++	++	++	+++	-

1)Means within a column with different letters are significantly different at 5% level by the Duncan's Multiple Range Test.

* Mycelium Density : + Low, ++ medium, +++ high

Table 2. Comparison of sawdust materials on mycelium growth, density and color of *Poria cocos*.

Division	Pine sawdust + Rice bran (8:2)	Larch sawdust + Rice bran (8:2)	<i>Quercus serrata</i> sawdust+ Rice bran (8:2)	F-value
Mycelium growth (mm/7days)	59.0 ^a	63.0 ^a	51.7 ^b	19.2**
Mycelium density	+++	+++	++	-
Color	brown	brown	light brown	

1)Means within a column with different letters are significantly different at 5% level by the Duncan's Multiple Range Test.

* Mycelium Density : + Low, ++ medium, +++ high

수종별 시험

복령재배에 경제수종을 선발하기 위해서 소나무, 낙엽송, 참나무 3수종을 텁밥배지상에서 균사생장 속도를 조사한 결과 소나무톱밥배지에서 균사생장이 85mm/7days로 가장 양호하였고 참나무톱밥, 낙엽송톱밥 순이었(표 2).

균사밀도는 소나무톱밥, 낙엽송톱밥에서 양호하였고 참나무톱밥에서는 보통으로 나타났다.

수종별 종균활착 시험은 단목접종과 pp내열성접종으로 실시한 결과 pp내열성접종이 단목접종법보다 3수종 공히 종균활착 결령이 우수한 것으로 나타났으며 이러한 경향은 pp내열성 봉지에 25cm 단목을 살균하여 접균제거, 원목 물리성이 개선된 것으로 사료된다.

수종별로는 소나무가 종균활착, 결령상태가 가장 양호하였고 낙엽송, 참나무순이었다(표 3).

pp내열성 봉지에 접종한 수종별 결령상태 및 수량을 조사한 결과는 표4와 같으며 결령수는 소나무 212

개, 낙엽송 165개순으로 양호하였고 참나무는 58개로 저조하였다. 수량은 평당 소나무 33.7kg, 낙엽송 29.5kg 활엽수종인 참나무는 3.4kg으로 불량하였다.

복령의 균사생장조사중 오염정도는 pp내열성봉지에 접종한 처리구와 수종별로는 소나무에서 발병이 적었고 낙엽송은 조금 발병되고, 참나무에서 발병이 많았다.

복령균이 만연된 균사생장중 육안관찰시 푸른곰팡이(*Trichoderma*) 감염으로 분류했으나 복령균이 만연된 원목매몰 후 복령결령이 형성되는 결과로 복령균이 푸른곰팡이보다 강한 것으로 판단되었다.

관행(절편접종)재배시 결령형성에 불량한 환경에서의 복령재배법을 개선하기 위한 접종방법별 균사생장 및 결령수, 종균소요량을 표5에서 보면 균사생장은 단목접종에서 가장 양호하였고 절편접종과 드릴접종, 지름12mm, 깊이35mm, 45mm에서 보통이었으나 드릴깊이 45mm에서 균사생장이 저조한 편이었다.

결령수는 단목접종시 198개로 가장 많고 드릴접종 지름12mm, 깊이45mm드릴접종구에서 결령수 수량 모두가 저조하였다.

수량에 있어서는 단목접종에서 평당 31.71kg로 수량이 높았고 드릴접종 지름12mm, 깊이35mm, 지름12mm 깊이25mm에서 수량이 30.1kg, 28.71kg 각각 양호하였다.

Table 3. Comparison of Mycelium growth of *Poria cocos* at the tree species, and the inoculation methods

Inoculation method	Pine	Larch	<i>Quercus serrata</i>
Short log	++	+	+
PP. heat resisting	+++	++	+

* Mycelium Density : + Low, ++ medium, +++ high

Table 4. Comparison of Sclerotia formation of tree species based on PP. heat-resistant inoculation methods

Division	Pine	Larch	<i>Quercus serrata</i>	F-value
Sclerotia formation (number/3.3m ²)	212. ^a	165. ^b	58. ^c	88.7**
Yield(kg/3.3m ²)	33.7 ^a	29.5 ^a	3.4 ^b	120.2**

1)Means within a column with different letters are significantly different at 5% level by the Duncan's Multiple Range Test.

* Mycelium Density : + Low, ++ medium, +++ high

Table 5. Comparison of inoculation methods on mycelium growth and sclerotia formation in *Poria cocos*.

Division	Coss slice (conventional)	Size of drilling	Short log	F-value
		12 × 25mm	12 × 35mm	12 × 45mm
Mycelium growth	++	++	++	+
Sclerotia formation (number/3.3m ²)	105. ^a	152 ^b	135 ^b	20 ^a
Yield (kg/3.3m ²)	23.4 _{ab}	28.7 _a	30.1 _a	14.0 _b
Inoculation amount (1.000cc Bottle)	20	2	3	4
				8

1) Means within a column with different letters are significantly different at 5% level by the Duncan's Multiple Range Test.

* Mycelium Density : + Low, ++ medium, +++ high

Fig. 1. Sclerotia formation of *poria cocos* on Larch species

그림 1은 낙엽송 단목접종시 결령이 양호하였으며 결령 큰 것은 1개당 10kg이상으로 크게 형성되었고 결령이 양호한 것으로 나타나 복령재배시 낙엽송 수종이 각광을 받게 되었다.

종균접종 소요량에서는 절편접종(관행)재배시 평당 1.000cc 20병 대비시 드릴접종방법 2~4병으로 종균소요량 90~80% 절감할 수 있고 단목접종에서는 평당 8병의 종균이 소요되므로 관행(절편접종)대비 60% 종균소요량을 줄일 수 있어 경영비 절감에 희기적인 개선이 이루어졌다.

적 요

현재 복령의 인공재배는 소나무 원복의 양쪽껍질을 벗긴 후 종관절핀을 내어 접착하는 재배법으로 노동력, 종관접종량이 과다소요되므로 이를 개선하기 위한 복령재배 시험결과는 다음과 같다.

1. 복령균의 균사생장증식에 가장 적합한 배지는 MCM(mushroom complete medium)이었다.
2. 종관접종소요량은 관행(절편접종)은 20병(1000cc bottle)이 소요되고 단목접종은 8병, 드릴접종은 2~3병 소요로 관행대비 60%, 90~85% 종균을

각각 절감할 수 있다.

3. 수종선발에서 소나무, 낙엽송이 종균활착 및 결령상태가 양호하고 수량은 평당 소나무 33.7kg, 낙엽송 29.5kg, 참나무 3.4kg으로 소나무와 낙엽송이 적합하였다.
4. 소나무에서 복령 수량은 관행(절편접종)재배시 23.4kg, 드릴접종 29.4kg, 단목접종은 31.7kg으로 관행대비 드릴접종은 25%, 단목접종은 35%, 증수하였고 경영비도 절감되었다.

인 용 문 헌

- 박종진, 함형배, 이민웅 1980 茯苓의 인공배양에 관한 연구. 한국균학회지 제8원3호. pp 133-142.
- Badcock, E.C. 1941. Newcomb New-method for cultivation of word-rot fungi. ans. Brit. Mycol. soc. 25: 200~205.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y. and Kujumoto, F 1970. Antitumoure polysacchari dederived chemically from natural glucan (Pachyman). nature 225: 943~944.
- 차동열. 1998. 약용버섯 복령재배 최신기술 현대농업 49집. 농시논문집. pp 306~315.

홍인표, 장현유. 1994. 복령균의 인공재배에 관한 연구. 농시논문집. 36(1) pp 701-704.

Kanayama, H., Adachi , N and Togami, M 1983. A new antitumoure polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. Chem. pharm. Bull. 31: pp 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.

김광포. 1995. 복령의 인공재배기술 1. ॥ 최신원 예 12 : pp 33~37.

이지열, 홍순우. 1985. 한국동식물도감 고등균류편 (버섯류) 문교부 pp 318~323.

Narui, T. and shibata, S. 1980. A polysaccharide produced by laboratory Cultivation of *Poria cocos* wolt. Carbohydrate Research 89: 161~163.

Robbs W.H 1985. A survey of the growth requirement, of some Basidiomycetes. Mycoligia. 42 : 470~476.

유파. 1978. 茯苓 중국약용진균 신저성인민출판사. pp 119~126.

육창수. 1981. 한국분초학 계축문화사. pp 19~42.

육창수. 1982. 한약의 약리, 성분 임상응용 계축문화사. pp 453~457.