

야생동충하초로부터 우량균주선발(Ⅱ)

방극소, 홍경환¹⁾, 조덕현

우석대학교 생명과학부 생물학과, ¹⁾원광대학교 식물자원과학부 농학과

Excellent Strains Selection from Wild *Cordyceps* spp.(Ⅱ)

Keuk-So Pang, Kyung-Hwan Hong¹⁾ and Duck-Hyun Cho

Department of Biology, School of Technology of Life, College of Science and Technology,
Woosuk University, Chonju 565-701, Korea

¹⁾Department of Agronomy, Division of Plant Resource Science, Wonkwang University,
Iksan 565-749, Korea

ABSTRACT

Many *Cordyceps* spp. were collected for excellent strains selection at near Wanju-kun from May to October, 2000. They were identified. As the resulting They were 2 genera and 4 species. 6 strains were got through 4 species culture. 6 strains are *Cordyceps militaris* f. *albino*, *C. gracilaides*, *C. militaris* and *Isaria japoica*. Among them, 4 species used for induction of artificial fruiting body. 3 strains of them were selected for excellent strains. excellent strains are *Cordyceps militaris* and *Isaria japoica*.

Key words : *Cordyceps militaris* f. *albino*, *C. militaris*, *C. gracilaides*, *Isaria japoica*

서언

동충하초는 전 세계에 100속 600~800여 종이며 (Arora et., 1991), 한국에서는 59종이 보고 되었고 이 중 불완전균이 13종이 포함되어 있다(이와 이, 2000). 동충하초는 *Cordyceps militaris*가 기본종이며 재배의 다수를 차지하고 있는 눈꽃동충하초는 유성생식을 알 수 없는 불완전균으로 벼섯으로는 볼수 없다 (조, 2001). 동충하초의 재배에 관한 연구(조, 2000; 최 등ab, 1999; 이 등, 1999; 방과 조, 2000; 성 등ab, 1999)는 현재까지 다양하게 진행되어 왔다. 그럼에

도 불구하고 균주의 계속적인 계대배양에 의한 균주의 활력저하 그리고 유전적인 변이 그리고 각 균주의 재배방법상에 어려움이 많다. 따라서 동충하초의 우량균주는 이러한 문제를 해결할 수 있는 선결적인 과제라 하겠고 더 나아가서는 식품이나 의약품등 산업적인 이용에도 크나큰 도움을 줄 것이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 공시균주

Corresponding author: 방극소, 우 565-701 전북 완주군 삼례읍 후정리 490 우석대학교 생물학과
Email : Chodh@core. wosuk. ac. kr homepage: http://info.kodic.re.kr:8080/~mushroom

야생에서 채집한 공시균주중 자실체 유도에는 흰동충하초[*Cordyceps militaris* f.(CHO-6715)], 가는유충동충하초[*C. gracilioides*(CHO-6716, CHO-6717)], 동충하초[*C. militaris* (CHO-7410)], 눈꽃동충하초 [*Isaria japoica* (CHO-6713, CHO-7413)]를 공시균주로 이용하였다.

2) 공시 균주의 분리 방법 : 각 균주를 PDA(Potato Dextrose Agar)평판배지상에 포자를 취하여 균주를 얻는 포자분리 방법을 이용하였고 계속적인 계대배양에 의한 순수분리방법을 병행하였다.(배양온도 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

2. 방법

1) 각 균주의 고체배지상의 특징시험 : PDA평판배지 중앙에 10mm cork borer 절취한 균총 한 절편을 접종한후 균사생장을 관찰하였다.(배양온도 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

2) 각 균주의 액체종균상의 특징시험: 1l 용내열성 플라스틱 종균배양병에 각각 500ml 씩의 PDB(Potato Dextrose Broth)배지를 분주한후 여기에 PDA배지상에서 각각 1주일 배양한 균주를 10mm cork borer를 이용하여 동심원상의 가장 바깥쪽 균총 절편 3절편을 절취하여 접종한 후 이들의 특징을 관찰하였다.(배양온도 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

3) 자실체 형성에 있어서의 각 균주의 특징: 인공자실체 형성유도를 위하여 냉동상태의 누에번데기를 배지로 이용하였으며 용기는 800ml내열성 플라스틱병을 이용하였다. 배양병에는 각각 100g씩을 염으며 이를 121°C , 15psi의 고압멸균기에서 20분간 멸균하였다. 접종한 균주들은 25°C 의 항온기에서 1주일간 암배양하였으며 자실체유도를 온도를 $18 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 광은 형광빛 약 200Lux, 수분은 90%이상을 유지하였다.

결과

1. 각 균주의 고체배지상의 특징 시험

1) 흰동충하초[*Cordyceps militaris* f. *albino* (CHO-6715)]

균사는 동심원을 그리면서 생장을 하였고 약간의

공중균사를 제외하고는 배지에 붙은 형태이다. 색은 노란빛을 띤 우유빛에 가깝고 하루단위의 균사생장량은 3일째까지는 7.5mm, 3일에서 4일은 6.5mm, 4일에서 5일은 2.5mm, 5일에서 6일은 2.5mm 생장하여 총 19.0mm 생장하였다. 배지에 빠른 적응을 하였다.

2) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6716)]

균사생장은 동심원을 그리면서 생장하였고 기중균사 없이 생장하였고 색은 우유빛을 나타내었다. 하루단위의 균사생장량 변화는 3일까지는 3.5mm, 3일에서 4일은 1.5mm, 4일에서 5일은 1.5mm, 5일에서 6일은 1.5mm 생장하여 총 8.0mm 생장하였다.

3) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6717)]

균사생장은 동심원을 그리면서 생장하였고 기중균사 없이 활착되었다. 색은 우유빛을 나타내었고 하루 단위의 균사생장량 변화는 3일째까지는 3.0mm, 3일에서 4일은 3.5mm, 4일에서 5일은 2.5mm, 5일에서 6일은 1.5mm 생장하였고 총 10.5mm 생장하였다.

4) 동충하초[*C. militaris* (CHO-7410)]

균사생장은 동심원을 그리면서 생장하였고 균사생장의 형태는 기중 균사 없이 배지에 달라 붙은 형태, 색은 노란빛을 띠는 흰색이고 성장이 더디게 진행되었다. 하루 단위의 균사생장량 변화는 3일까지는 3.5mm, 3일에서 4일은 1.5mm, 4일에서 5일은 1.5mm, 5일에서 6일은 1.5mm 생장하였고 총 8.0mm 생장하였다.

5) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-7413)]

균사생장은 동심원을 그리면서 생장하였고 균사생장의 형태는 바닥에 붙은 형태이고 약간의 기중균사가 보인다. 색은 우유빛이고 생장이 더디게 진행되었다. 하루 단위의 균사생장량 변화는 3일째까지는 0.8mm, 3일에서 4일은 1.8mm, 4일에서 5일은 0.8mm, 5일에서 6일은 1.4mm 생장하였고 총 4.8mm 생장하였다.

6) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-6713)]

균사생장은 동심원을 그리면서 생장하였고 균사생장의 형태는 배지에 붙은 형태이고 약간의 기중균사가 보인다. 색은 우유빛이며 약간 어두운 색이다. 하루 단위로 측정한 균사생장량은 3일째까지는 2.0mm, 3일에서 4일은 0.5mm, 4일에서 5일은 0.3mm, 5일에

서 6일은 0.7mm 생장하여 총 3.5mm 매우 더디게 생장하였다.

Table 1. Mycelium growth of genus *Cordyceps*

(unit:mm)

Growth days Strains	1~3	3~4	4~5	5~6	1~6
CHO-6715	7.5	6.5	2.5	2.5	19.0
CHO-6716	3.5	1.5	1.5	1.5	8.0
CHO-6717	3.0	3.5	2.5	1.5	10.5
CHO-7410	3.5	1.5	1.5	1.5	8.0

Table 2. Mycelium growth of *Isaria japonica* (unit:mm)

Growth days Strains	1~3	3~4	4~5	5~6	1~6
CHO-6713	2.0	0.5	0.3	0.7	3.5
CHO-7413	0.8	1.8	0.8	1.4	4.8

2. 각 균주의 액체종균상의 특징 시험

1) 흰동충하초[*Cordyceps militaris* f. *albino* (CHO-6715)]

진탕기의 회전속도는 약 150rpm이며 색은 보라빛을 띠고 3일째부터 균사 생장의 징후가 발견되어 7일째 완성된다. 입자는 보라빛을 띠고 있다. 입자의 크기는 미세한 크기에서 약 1cm정도이다.

2) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6716)]

진탕기의 회전속도는 150rpm 정도이며 3일째부터 균사생장의 기미가 보이기 시작하여 7일째 완성되었다. 색은 감자색이며 입자는 등근형인데 여기에 가시처럼 돌기가 있고 크기는 1~3cm정도이다.

3) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6717)]

진탕기의 회전속도는 150rpm 정도이며 3일째부터 균사생장의 기미가 보이기 시작하여 7일째 완성되었다. 색은 연한 감자색이며 입자는 등근형인데 여기에 가시처럼 돌기가 있고 크기는 1~2cm정도이다.

4) 동충하초[*C. militaris* (CHO-7410)]

진탕기의 회전속도는 150rpm 정도이며 색은 연한 감자색으로 3일째부터 징후가 나타나 이때는 아주 작은 먼지 모양이다가 점점 커져서 약 1cm정도의 등근형을 이룬다. 7일째 균사 생장이 완성된다.

5) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-7413)]

진탕기의 회전속도는 150rpm 정도이며 색은 연한

감자색이며 3일째부터 균사생장의 징후가 나타나며 7일째 완성된다. 입자의 크기는 1~3cm정도이며 모양은 등근형이다.

6) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-6713)]

진탕기의 회전속도는 150rpm 정도이며 3일째부터 균사생장의 징후가 나타나며 5일째부터는 확연하게 드러났다. 그리고 7일째 완성되었다. 색은 연한 감자색을 띠며 입자의 크기는 1~3cm정도이며 모양은 등근형이며 그면은 부드럽다.

3. 자실체 형성에 있어서의 각 균주들의 특징

1) 흰동충하초[*Cordyceps militaris* f. *albino* (CHO-6715)]

균사 배양 완성시까지는 7일이 걸렸으며 균사모양은 표면이 불균일한 흰색이다. 냄새는 나프탈렌 냄새가 난다. 균사배양후 생식생장시에는 온도를 20℃로 하온하고 가습은 90%이상, 광은 200Lux정도로 하였다. 하지만 자실체 유도에는 실패하였다.

2) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6716)]

균사 배양 완성시까지는 7일이 걸렸으며 모양은 3일째가 되어서야 기미가 보이다가 4일째에는 거미줄과 같은 것이 군데 군데 나타나는 형상이며 색은 회색이다. 7일째까지 균사배양을 실시 하였고 이후 온도를 20℃로 하온하고 가습은 90%이상, 광은 200Lux정도로 하였다. 하지만 자실체 유도에는 실패하였다.

3) 가는유충동충하초[*C. gracilioides* (CHO-6717)]

균사 배양완성까지는 7일이 소요되었으며 균사의 형태는 기중균사가 약간 낀 형태이며 색은 회색빛을 띠었다. 생식생장에 들어가자 기중균사가 잣아들었으나 이러한 상태가 12일까지 지속되다가 그 이후 썩기 시작하였다. 그래서 자실체 유도에는 실패하였다.

4) 동충하초[*C. militaris* (CHO-7410)]

균사 배양이 더디게 나타났으며 3일째부터 징후가 나타나며 색은 흰색에서 약간의 노란빛이 5일째부터 돌기 시작하였다. 하지만 흰색에 가깝다. 10일째되어서야 균사배양이 완성되었으며 생식생장에 들어가 온도를 20℃로 하온하고 가습은 90%이상,

Table 3. Stroma of genus *Cordyceps* incubated on silkworm pupae

Section	Weight of stroma (g)	Length of stroma (mm)	Diameter of stroma (mm)	Number of stroma	Age at nutrition growth days(mm)	Age at stoma initiation days	Age at total growthdays	Weight of smedia(g) Strain
CHO-6715	100
CHO-6716	100
CHO-6717	100
CHO-7410	26.29	98	3.05	211	10	3	58	100

Table 4 . Stroma of genus *Isaria japonica* Yasuda incubated on silkworm pupae

Section	Weight of stroma (g)	Length of stroma (mm)	Diameter of stroma (mm)	Number of stroma	Age at nutrition growth days(mm)	Age at stoma initiation days	Age at total growthdays	Weight of smedia(g) Strain
CHO-6713	27.14	11.2	1.1	406	7	3	31	100
CHO-7413	26.73	10.5	1.03	313	7	3	32	100

광은 200Lux로 하였다. 생식생장후 3일째부터 군데 군데 원기형성이 이루어지고 5일째부터 자실체가 발생하기 시작하였다. 이후 45일후에는 두부가 거칠어지기 시작하여 58일째 거의 다 생장이 끝났다. 자실체 발생에 있어서 마개를 열었을 때 자실체의 발생이 골로루 이루어졌고 반면 마개를 막은 상태에 있어서는 자실체가 생장하면서 기형화가 이루어졌다. 광조건은 초기 자실체가 3~4cm까지는 200Lux보다 약간 높게 조사하고 이후에는 200Lux를 유지하였다.

5) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-7413)]

균사 배양은 3일째부터 징후가 나타나 7일간 배양하였으며 이후 생식생장에 들어가 온도를 20℃로 하온하고 가습은 90%이상, 광은 200Lux로 하였다. 원기형성은 이후 3일후에 나타났으며 형태는 노란빛이 군데 군데 벌집모양을 이루었다. 이후 6일째부터 자실체의 발생이 이루어졌으며 원기가 형성한 형태대로 무리를 지어 나타났다. 광조건은 초기 자실체가 3~4cm까지는 200Lux보다 약간 높게 조사하고 이후에는 200Lux를 유지하였다.

6) 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-6713)]

영양생장은 7일이 소요되었으며 생식생장에 들어간지 2일이 지나면서 원기가 형성되었으며 원기의 형태는 노란색이 벌집보양을 형성하였으며 노란색의 원기의 형태대로 자실체가 발생하였다. 광조건은 초기 자실체가 3~4cm까지는 200Lux보다 약간

높게 조사하고 이후에는 200Lux를 유지하였다.

고찰

본 연구에서 고체배지상의 균사성장 실험과 자실체형성실험과의 상관관계는 자실체에 있어서의 자실체의 중량, 길이 직경, 자실체의 수등을 고려하여 우량균주로 판단된 CHO-7410, CHO-6713, CHO-7413를 예로들어서 볼 때 고체배지상에서의 균사의 생장이 다른 균주에 비해 느리게 나타났지만 자실체형성에 있어서 모두 자실체를 유도 하였으며 그 외부형태에 있어서도 상업적이나 성분분석을 통한 각 산업적인 이용에도 좋은 자실체를 형성하였다.

요약

2000년 5월 중순부터 10월까지 채집하였다. 이 중 2속 4종을 확인하였고 6균주를 분리하여 모두를 자실체 유도실험에 이용하였다. 그 결과 동충하초[*Corcyceps militaris*(CHO-7410)] 1균주, 눈꽃동충하초[*Isaria japoica* (CHO-6713, CHO-7413)] 2균주를 상업적이나 의약품개발에 있어서의 시료등 각 산업에 있어서 전반적으로 이용가치가 충분히 있다고 사료되어 우량균주로 선발하였다.

감사의 말씀

이 논문은 2001년도 농림부 특정연구과제(현장애로기술사업)의 학술연구조성비로 이루어 진것으로 연구비를 지원하여 준 농림부에 심심한 감사의 말씀드립니다.

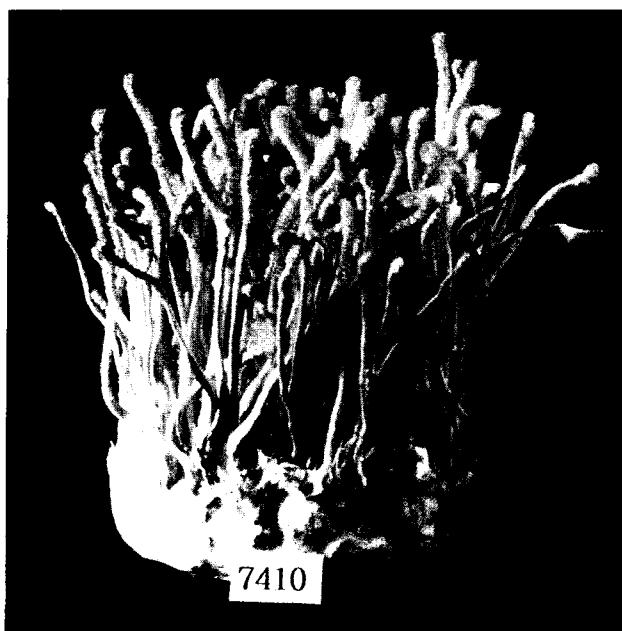
인용문현

- 방극소,조덕현. 2000. 야생동충하초로부터 우량균주 선발(Ⅰ), 한국자원식물학회지 13(3):155~160.
- 이태수,이지열. 2000. 한국 기록종 버섯 재정리 목록. 임업연구원, P 75.
- 이희덕,김용균,김홍규,이가순, 1999. 눈꽃동충하초 배지별 인공 재배법과 성분분석에 관한연구. 한국 자원식물학회지.12(2):102~106.
- 성재모.1999a. 현미를 이용한 동충하초 생산, 버섯 영농과 삶, 2:96~100.
- 성재모,최영상,이현경,김상희,김용욱,성기호. 1999b. 분리된 동충하초균주를 이용한 자실체 생산. 한국

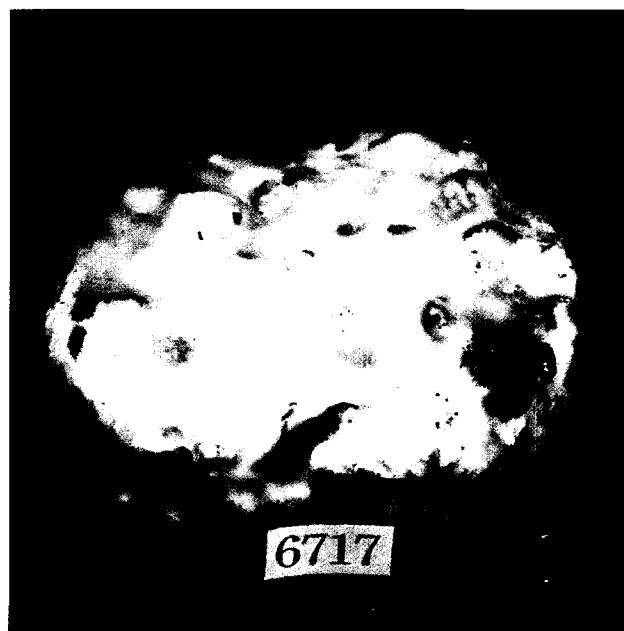
- 균학회지 27(1): 15~19.
- 조덕현. 2000 . 버섯(자연사박물관), 지성사. 인쇄중.
- 조세현. 2000 . 건강장수 누에 동충하초, 도서출판 신 일상사. PP. 76~102.
- 최인영, 최정식, 이왕휴. 1999a, *Paecilomyces japonica*의 인공 자실체 생산. 한국균학회지 27(2): 87~93
- 최인영, 최정식, 이왕휴, 유영진, 정기태, 주인옥, 최영근. 1999b. *Cordyceps militaris*의 인공 자실체 형성 조건. 한국균학회지 27(4): 243~248.
- Arora, D. K., Ajello, L. and Mukerji, K. G. Handbook of applied mycology. Marcel Deckker, Inc. 2: 547~663.

(접수일 2001.3.29)

(수리일 2001.4.27)



A



B



C



D

Fig.1 Artificial Fruit body of genus *Cordycept japonica*

A:*Cordycept militaris* (Vuill.) Fr.(CHO-7410)

B:*C.gracilaides* Kobayasi(CHO-6717)

C:*Isaria Japoica* Yasuda(CHO-6713)

D:*I.Japoica* Yasuda(CHO-7413)