

Paecilomyces tenuipes 생산을 위한 나용교잡종 누에 사육 및 균 접종 조건

최지영 · 김삼은 · 김종길 · 남성희 · 윤형주 · 최영철
농업과학기술원 농업생물부

Rearing and Inoculation Condition of *Nd* hybrid Silkworms for *Paecilomyces tenuipes* Production

Ji-young Choi, Sam-eun Kim, Jong-gill Kim, Sung-hee Nam, Hyung-joo Yoon and Young-cheol Choi

Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science and Technology, R.D.A. Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

To shorten the labor cost for the production of the fungus, *Paecilomyces tenuipes*, uncocooning mutant hybrid silkworms as a host was used. The yield of *P. tenuipes* was reduced when *Nd* (uncocooning mutant) was used as a host because *Nd* was smaller than the hybrid Baegokjam that has been used as a typical host. To increase the host weight, *Nd* was crossed with Jam123 or Jam124, and resulted in not only greater weighter but also higher yield of *P. tenuipes*. The optimum temperature for rearing *Nd* hybrid silkworms was 3°C higher than standard temperature of rearing silkworms to increase the naked pupation rate. The optimum time for the infection of *P. tenuipes* was 12 h at 28.5°C and 95% R.H., when 1×10^7 spores/ml of *P. tenuipes* were sprayed on the surface of the silkworm. The conditions were applicable to both spring-rearing and autumn-rearing.

Key word : Silkworm, *Paecilomyces tenuipes*, *Nd* hybrid, Synnemata production

서 론

*Cordyceps sinensis*는 예로부터, 결핵 · 황달의 치료제 또는 아편중독의 해독제로서 이용이 되어 왔고(Gee, 1918; Kobayasi, 1977), 최근에는 항암효과가 있는 것으로 보고 되고 있다(Yamaguchi *et al.*, 1990). 그러나 자연산 동충하초는 분포밀도가 극히 낮아 산야에서 채집하기 어렵기 때문에 대량사육이 용이한 누에를 기주곤충으로 이용하여 *Paecilomyces japonica* 및 *Paecilomyces* sp. J 300을 인공 재배하는 방법이 개발되어 특허가 획득된 바 있다(조 등, 1996). 이 방법은 동충하초균을 접종한 누에를 싼에 올려 고치를 짓게 하고, 일정시간이 지난 후 다시 고치를 절개 하여 번데기를 꺼내어 동충하초균 감염여부를 확인하는 작업과정을 거치게 되어있다. 누에를 싼에 올리고(상죽작업), 고치를 다 지은 후 싼에서 따내어 수확하는 작업(수견작업)은 고치를 생산해야 하는 종래의 양잠농가로서는 필수적으로 거쳐야하는 작업과정이지만 동충하초를 생산하기 위하여 누에를 기주곤충으로 이용하는 입장에서 보

면 고치는 번데기의 동충하초균 감염여부를 확인하는데 방해가 될 뿐 아니라 감염 번데기에서 분생자병속이 성장하는 데도 지장을 주는 불필요한 존재이다.

한편, 누에 중에는 유전적으로 후부견사선이 퇴화되어 정상적으로 고치를 지을 수 없는 나용이라는 돌연변이 계통이 있다. 이 누에는 돌연변이 유전자의 작용으로 종류에 따라 극히 얇은 고치를 짓거나 또는 전혀 고치를 짓지 못하고 나용이 되는 특징이 있다(Iijima, 1972). 이 점에 착안하여 일반적으로 동충하초의 기주곤충으로 사용되는 누에품종인 백옥잠 대신에 나용 1대 교잡종 누에를 사용하여 동충하초를 손쉽게 재배할 수 있는 방법을 검토하여 기존의 백옥잠 대비 1.5배 동충하초 생산량이 향상되는 결과를 얻었다(최 등, 2001). 그러나, 기존의 동충하초 접종조건 및 사육조건은 백옥잠을 대상으로 하여 설정된 것으로서 나용 교잡종에는 적합하지 않았다. 또한, 나용 1대 교잡종은 하기에는 대부분 나용이 되지만 추기에는 약 20~30% 정도 고치를 짓는 등 사육온도에 따라 나용화율이 달라짐이 확인되었다.

*Corresponding author. E-mail: choijy@rda.go.kr

따라서 본 실험에서는 나용 교잡종 누에의 나용화율은 높일 수 있는 적정 사육 온도 조건과 나용교잡종 누에에 적합한 동충하초균 접종조건을 구명함으로써, 나용교잡종 누에를 동충하초 생산에 이용하는 방법을 확립코자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

동충하초균은 농업과학기술원 농업생물부에서 계대하고 있는 눈꽃동충하초(*Paecilomyces tenuipes*)를 공시하였다. 누에는 *Nd* 1대 교잡종(*Nd* × 잠123, 잠123 × *Nd*, *Nd* × 잠124, 잠124 × *Nd*)을 공시하였고, 온·습도 등 사육조건은 森(1990)의 방법에 따랐다.

2. *Nd* 1대 교잡종 사육온도

공시누에의 형질조사에는 누에 계통별로 5령 1일째에 150두씩 공시하였다. 나용비율은 용화두수에 대한 나용두수의 비율로 나타내었다. *Nd* 교잡종의 최적 사육온도 조사에는 누에 계통별로 5령 1일째 300두씩 공시하였다. 고온조건은 표준사육법 기준으로 3°C 높게, 적온조건은 표준사육법 기준으로, 저온조건은 표준사육법 기준으로 2°C 낮게 사육하였다.

3. 동충하초균 접종조건 및 분생자병속 재배환경

1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 포자/ml의 농도로 희석한 동충하초균 포자를 5령 1일째 유충표피에 분무 접종하여 28.5°C, 95% R.H. 조건에서 12시간 또는 24시간 보호한 후 숙잠이 될 때까지 뿔잎으로 사육하였다. 감염상태는 상죽 후 8~10일째 조사하였다. 이때 충체 내에 균사가 만연하여 딱딱하게 굳어진 개체는 감염된 것으로, 물렁물렁한 개체는 비감염 개체로 판정하였다. 감염이 확인된 개체는 21°C 또는 25°C, 95% R.H.의 환경 하에서 20~40일 정도 보호하여 분생자병속을 형성시켰다.

결과 및 고찰

1. 동충하초 생산성을 높이는 *Nd* 교잡종 누에의 사육 온도

나용 돌연변이누에는 1997년부터 2년간에 걸쳐 5종(*Nd*, *Nd^{fl}*, *p³Nd*, *Nd-s*, *Nd-t*)을 국외로부터 도입하였는데 그 중 4종은 얇은 고치를 짓는 것이었고 전혀 고치실을 토하지 않는 것은 1종(*Nd*) 뿐이었다. 그러나 나용누에를 이용하여 동충하초를 생산하였을 때 동충하초 총생산량이 줄어들었는데, 이는 나용누에는 특정 돌연변이 형질을 보유하고 있는 원종으로서 충체가 작기 때문 이었다(崔 등, 2001).

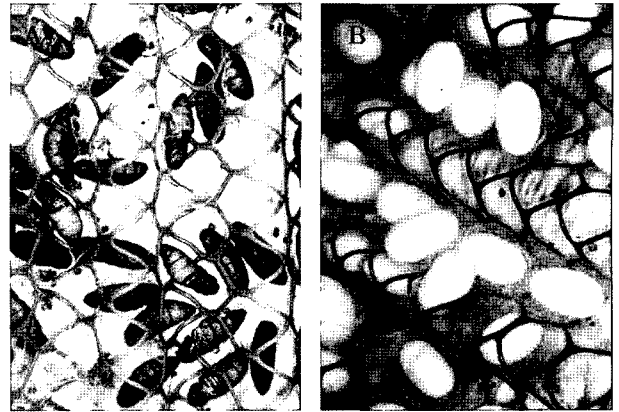


Fig. 1. Post-pupational scene of *Nd* hybrid(A) and Baegokjam(B).

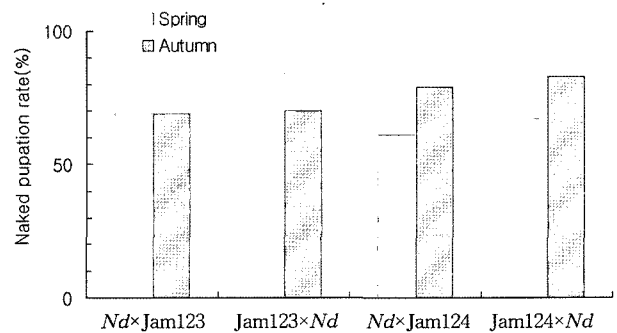


Fig. 2. Comparison of naked pupation rate between spring-reared and autumn-reared *Nd* hybrids.

* Number of tested were 100 individuals in each strain

* The silkworms were reared from May 13, 1999 in spring and August 30, 1999 in autumn

* Naked pupation rate : (Naked pupae/Total pupae) × 100

이에, 나용의 특성을 유지하면서 크기가 큰 누에를 얻기 위하여 나용누에를 백옥잠의 모체인 잠123 및 잠124와 교잡시켜 나용 1대 교잡종(*Nd* × 잠123, 잠123 × *Nd*, *Nd* × 잠124, 잠124 × *Nd*)을 만들었다(Fig. 1). 나용화율은 70~80% 정도의 수준이었고, 나머지 20~30%의 개체가 고치를 지었는데, 이 고치도 대부분 견충이 얇아 손으로 당기면 종이처럼 쉽게 찢어지는 것이었다. 그러나 이러한 고치 생산도 최소화 하고자 나용화율을 높일 수 있는 사육온도를 조사해 보았다.

우선, *Nd* 1대 교잡종을 일반농가 수준인 일반잠실에서 춘기와 추기에 사육해 보았다. 춘기에는 평균 70%, 추기에는 평균 75%가 나용으로서, 일반농가 수준인 일반잠실인 경우 계통에 따라 16~39%가 고치를 짓는 것이 확인되었다(Fig. 2). 용화율은 누에의 강건도를 나타내는 지표로서, 공시 유충두수에 대한 용화두수의 비율로 나타내었는데, *Nd* 1대 교잡종의 경우 춘기는 73~85%이고, 추기는 84~91%로 추기가 조금 높은 값을 나타내었다(Table 1). 이는 가을 사육시기가 봄 사육시기보다 평균온도가 높았

Table 1. Duration of feeding period, pupation rate and pupal weight of *Nd* hybrids reared at natural silkworm rearing house

Strains ^a	Duration of feeding period(day)		Pupation rate(%)		Pupal weight(g, mean ± SD)			
	Spring	Autumn	Spring	Autumn	Spring		Autumn	
					Naked	Cocooned	Naked	Cocooned
<i>Nd</i> × Jam123	25	23	76	91	2.3 ± 0.24	2.2 ± 0.33	2.2 ± 0.35	2.1 ± 0.32
Jam123 × <i>Nd</i>	25	23	73	86	2.3 ± 0.48	2.1 ± 0.19	2.2 ± 0.33	2.1 ± 0.32
<i>Nd</i> × Jam124	25	23	78	85	2.2 ± 0.35	2.2 ± 0.27	2.2 ± 0.34	2.2 ± 0.26
Jam124 × <i>Nd</i>	25	23	85	84	2.3 ± 0.29	2.2 ± 0.12	2.2 ± 0.35	2.2 ± 0.25
<i>Nd</i>	25	24	89	91	1.3 ± 0.88	– ^b	1.2 ± 0.20	–
Baegokjam	26	23	98	99	–	1.7 ± 0.29	–	1.8 ± 0.27

^a Number of tested were 100 individuals in each strain. The silkworms were reared from May 13, 1999 in spring and August 30, 1999 in autumn

^b Not tested

Table 2. Pupation rate and pupal weight of *Nd* hybrids at three different temperatures

Strain ^a	Rearing temperature ^b	Pupation rate(%)	Pupal weight(g, mean±SD)	
			Naked	Cocooned
<i>Nd</i> × Jam123	high	94	2.2 ± 0.13	2.2 ± 0.31
	standard	93	2.1 ± 0.44	2.0 ± 0.14
	low	99	1.8 ± 0.29	1.8 ± 0.25
Jam123 × <i>Nd</i>	high	94	2.1 ± 0.14	2.1 ± 0.28
	standard	99	2.0 ± 0.33	2.0 ± 0.16
	low	97	1.8 ± 0.36	1.9 ± 0.16
<i>Nd</i> × Jam124	high	91	2.2 ± 0.29	2.2 ± 0.21
	standard	93	2.0 ± 0.28	2.0 ± 0.15
	low	73	2.0 ± 0.26	2.0 ± 0.22
Jam124 × <i>Nd</i>	high	93	2.2 ± 0.33	2.2 ± 0.35
	standard	93	2.1 ± 0.33	2.1 ± 0.14
	low	82	2.0 ± 0.14	2.0 ± 0.34
<i>Nd</i>	high	90	1.3 ± 0.19	– ^c
	standard	94	1.2 ± 0.21	– ^c
	low	99	1.2 ± 0.21	– ^c
Baegokjim	high	99	– ^c	1.7 ± 0.24
	standard	97	– ^c	1.7 ± 0.27
	low	99	– ^c	1.7 ± 0.30

^a Number of tested were 300 individuals for each strain, ^b For details, see Fig. 3, ^c Not tested

었는데, *Nd* 1대 교잡종은 높은 온도에서 나용화율이 높아지는 것으로 생각할 수 있다. 나용 1대 교잡종은 백옥 잠보다 평균 1.24배 더 무거웠는데, 이는 교잡 효과가 있었음은 물론 고치실 생산에 소요될 누에의 단백질이 번데기의 몸체를 형성하는 영양분으로 전용되었기 때문이라고 생각된다.

Nd 교잡종 누에의 나용화를 높이기 위한 적정 사육온도를 알아보기 위하여, 표준사육온도(적온)를 기준으로 고온(+3°C)과 저온(-2°C)으로 사육하여 나용화율을 조사해 보았다(Fig. 3). 나용화율은 표준사육온도보다 고온 사육

한 경우가 약 90%로 가장 높았고, 저온 사육한 경우는 약 40%로 나용화율이 가장 낮았다. 그러나 고온 사육한 경우가 나용화율만 높고 용화율이나 용체중이 적은 사육한 경우보다 떨어진다면 동충하초 생산성 측면에서 본다면 큰 이익이 되지 못하므로 각 사육온도에 따른 용화율 및 용체중도 조사하였다(Table 2). 용화율 및 용체중은 고온과 저온 간에는 큰 차이가 없었으나, 저온사육에서는 다소 낮아지는 경향이였다. 소잠에서 상족까지의 유충경과 일수는 고온 사육한 경우가 저온 사육한 경우에 비해 3.3일 단축되었고, 저온 사육한 경우는 5.7일 연장되었다

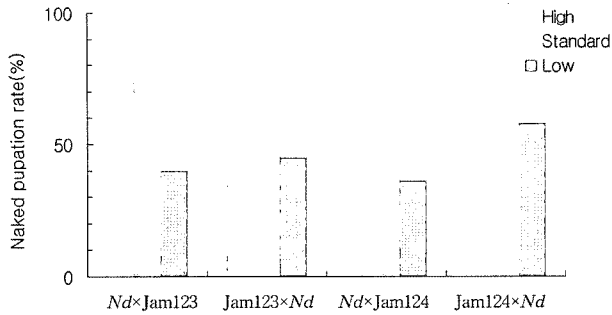


Fig. 3. Comparison of naked pupation rate of *Nd* hybrids by reared at three different temperatures.

- * Number of tested were 300 individuals for each strain
- * Standard temperature : the temperature for standard silkworm rearing
- High temperature : 3°C higher than standard temperature
- Low temperature : 2°C lower than standard temperature

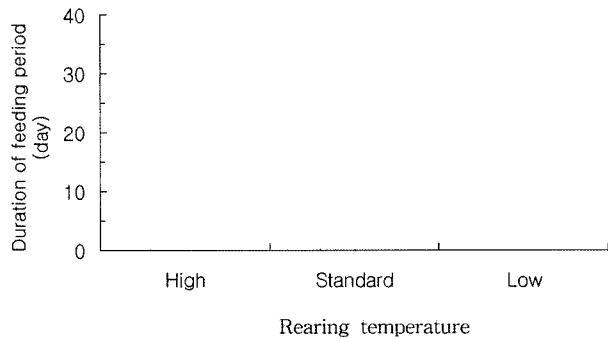


Fig. 4. Comparison of the duration of feeding period of *Nd* hybrids at three different temperatures.

- * Three numerical value shows mean of *Nd* × Jam123, Jam123 × *Nd*, *Nd* × Jam124 and Jam124 × *Nd*
- * For detail, see Fig. 2

(Fig. 3). 따라서 나용화육의 향상, 용체중의 유지, 유충경과일수 단축 등 *Nd* 1대 교잡종을 이용하여 동충하초 생산성을 높일 수 있는 가장 유리한 사육온도는 표준 사육 온도보다 3°C 높은 것으로 확인되었다.

2. 나용 교잡종에 대한 동충하초균의 최적 접종 조건

Nd 1대 교잡종을 동충하초 기주곤충으로 연중 사용하기 위해서는 계절에 따른 적정 접종조건의 확인이 필요하다. *P. japonica*에 대한 *Nd* 1대 교잡종의 춘추별 접종조건을 조사하였다. 접종조건은 접종농도와 접종시간을 달리하여 감염률 및 분생자병속 형성률을 조사하였다. 감염률은 춘·추기 모두 1×10^7 포자/ml로 희석 접종한 경우가 가장 높았고, 5×10^7 포자/ml, 1×10^8 포자/ml 순으로 접종농도가 높아질수록 낮아졌다(Fig. 5). 접종시간은 춘·추기 모두 12시간에 감염률이 높았다. 분생자병속 형성률은 또한 접종농도는 1×10^7 포자/ml로 희석한 경우가 가장 높았고, 5×10^7 포자/ml, 1×10^8 포자/ml 순으로 접종농도가

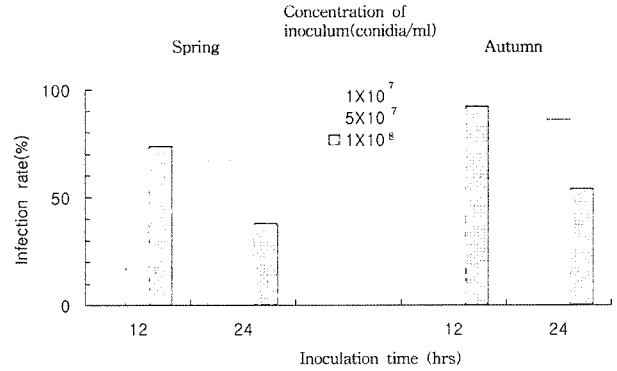


Fig. 5. Infection rate of *Paecilomyces tenuipes* to *Nd* hybrids.

- * Number of tested were 100 individuals in each strain
- * The silkworms were reared from May 13, 1999 in spring and August 30, 1999 in autumn
- * Condition of inoculation : after being sprayed with 10^7 , 5×10^8 , 10^8 conidia/ml diluent, the worms were kept at 28.5°C, 95% R.H. for 12 hrs or 24 hrs
- * Infection rate shows mean of *Nd*, *Nd* × Jam123, Jam123 × *Nd*, *Nd* × Jam124 and Jam124 × *Nd*

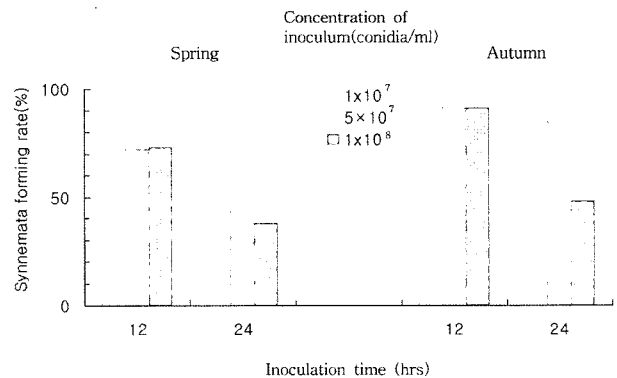


Fig. 6. Synnemata forming rate of *Paecilomyces tenuipes* to *Nd* hybrids.

- * Environmental condition for synnemata formation was 25°C and 95% R. H.
- * For detail, see Fig. 5

높아질수록 낮아졌으며, 접종시간 또한 춘추 모두 12시간 고온 다습처리 때 높았다(Fig. 6).

따라서, 기존의 백옥잠을 대상으로 한 균 접종조건을 1×10^8 포자/ml 농도로 희석 접종하여 24시간동안 고온다습처리를 하는 조건이었는데 반해 *Nd* 1대 교잡종을 대상으로 할 때 균 접종조건은 1×10^7 포자/ml 농도로 희석 접종하여 12시간동안 고온다습처리를 하는 것이 양호함이 확인되었다.

적 요

동충하초 재배 농가는 누에가 고치를 짓게 한 후 동충하초균 감염 개체를 식별하기 위하여 그 고치를 절개하

는 작업 노력이 수반되나, 고치를 짓지 않는 나용 1대 교잡종을 이용함으로써 고치를 절개하는 노력을 줄일 수 있다. 나용 교잡종을 이용할 때에는 사육온도와 균 접종조건을 기존의 방법과는 달리해야 한다는 것이 다음과 같이 확인되었다.

- (1) 동충하초 생산성을 높이는 나용 교잡종 사육 온도
 - (가) 나용화율 : 표준 사육온도(°C)보다 3°C 고온사육 때 나용화율이 약 90%로 가장 높았고, -2°C 저온사육 때 약 40%로 가장 낮았다.
 - (나) 용화율 및 용체중 : 고온과 적온사육 간에는 큰 차이가 없었으나 저온 사육에서는 다소 낮아지는 경향이였다.
 - (다) 누에 소잡에서 상족까지 소요일수 : 표준사육 온도에 비해 고온사육에서 3.3일 단축되고 저온사육에서 5.7일 연장되었다.
- (2) 나용 교잡종에 대한 동충하초균의 최적 접종 조건
 - (가) 균 접종 농도 : 1×10^7 spores/ml에서 감염율 및 분생자병속 형성율이 가장 높았고, 5×10^7 spores/ml, 1×10^8 spores/ml 순으로 접종농도가 높아질수록 감염률 및 분생자병속 형성율이 낮아졌다.

- (나) 접종시간 : 춘추 모두 12시간 고온 다습처리 때 감염율 및 분생자병속 형성률이 높았다.

인용문헌

- 조세연, 지상덕, 임수호 (1996) 가잠을 이용한 동충하초 인공재배 방법. 특허등록번호: 187897.
- 崔智英, 金三銀, 呂奏洪, 南聖姬, 金鍾吉, 林秀浩 (2001) 카이코의 繭なし突然變異形質を利用した *Paecilomyces tenuipes* の省力的生産. *日應動昆*. **45**: 111~116.
- Gee, N. G. (1918) Notes on *Cordyceps sinensis*. *Mycol. Notes* **54**: 767~768.
- Iijima, T. (1972) Ultrastructure of the posterior silk gland of the "naked pupa" silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* **18**: 2055~2063.
- Kobayasi, Y. (1977) Miscellaneous notes on the genus *Cordyceps* and its allies. *J. Jpn. Bot.* **52**: 269~272.
- 森 精 (1990) 카이코による新生物實驗. 三省堂, 東京. pp. 476.
- Yamaguchi N., J. Yoshida, L. J. Ren, H. Chen, Y. Miyazawa, Y. Fujii, Y. X. Huang, S. Takamura, S. Suziki, S. koshimura and F. D. Zeng (1990) Augmentation of various immune reactivities of tumor-bearing hosts with an extract of *Cordyceps sinensis*. *Biotherapy* **2**: 199~205.