

冬蟲夏草(*Cordyceps*) 속군의 형태적인 특징과 단백질 Pattern에 의한 계통 분류

成載模* · 李賢卿 · 楊權周

강원대학교 농과대학 농생물학과

Classification of *Cordyceps* spp. by Morphological Characteristics and Protein Banding Pattern

Jae-Mo Sung*, Hyun-Kyung Lee and Keun-Joo Yang

Department of Agricultural Biology, College of Agriculture
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT: Ten species of *Cordyceps* species were collected throughout Kangwon province including Chuncheon Dongsanmyun KNU forest experiment from June to September, 1993. Collected *Cordyceps* species were identified as *Cordyceps militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*, *C. scarabaeicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. nutans*, *Paecilomyces tenuipes*, *C. sphecocephala*, *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp.. *C. militaris*, type species of *Cordyceps* species, was mainly formed on pupae of Lepidoptera and found after the rainy season around July. Fruiting body of *C. roseostromata* was morphologically similar to those of *C. militaris*, but relatively small in size and they were also found on larva or pupa of Lepidoptera. Fruiting body of *C. scarabaeicola* was found on adult Scarabaeidae specifically and collected fruiting bodies of *C. kyushuensis* were on larva of moth. *C. nutans* and *C. sphecocephala* had host specificity on Hemiptera and Hymenoptera, respectively. Each species formed elliptical fertile part attach to the slim and carneous stalk and they were collected the most in specimen number through whole season of the summer. Ascospore of *Phytocordyceps ninchukiospora* on seed was characterized by two viable, multiseptate, fusiform units linked end-to-end by a long, filiform connective. *Paecilomyces tenuipes*, imperfect stage of the genus *Cordyceps* is multi-infective fungi that attack all stages of all groups of insects. *Hymenostilbe odonatae* attacks only adult Odonata and *Torrubiella* sp. formed on spider was difficult to collect because it was found the back side of leaf. As results of cultural test PDA medium showed the best mycelial growth. In the experiment of effect of the acidity inside of the media, *C. militaris* was good on pH 5, *C. nutans* and *Phytocordyceps ninchukiospora* were good on pH 6 and *Paecilomyces tenuipes* was on pH 7 and *C. scarabaeicola* was on pH 9. All isolates tested showed the best mycelial growth at 20°C. Morphologically similar isolates were used to analyze protein banding pattern among and within species. As a result, *C. militaris*, *C. roseostromata* and *C. kyushuensis* were clustered into close species and *C. scarabaeicola* and *Phytocordyceps ninchukiospora* were relatively distant from those species.

KEYWORDS: *Cordyceps militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*, *C. scarabaeicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. nutans*, *Paecilomyces tenuipes*, *C. sphecocephala*, *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp., multi-infective fungi, Protein banding pattern

동충하초(*Cordyceps*) 속군은 모든 곤충군의 유충, 번데기, 성충등의 전시기에 걸쳐 침입하여 곤충을

죽게한 후 이를 기주로 자실체를 형성하거나 포자과를 형성하는 곤충기생균(Entomopathogenic fungi)의 일종으로 자낭균류의 맥각균과(Clavicipitaceae)에 속하며 전세계적으로 300여종 정도가 보고

*Corresponding author

되고 있다(Breitenbach 등, 1984; Dennis, 1981; 장과 홍, 1986; Kobayasi, 1941; Lilly 등, 1951; Petch, 1936, 1941; 박, 1991; 清水, 1981). 본 속군은 기주 특이성이 있는 종류와 없는 종류가 있으며 동일종의 곤충을 침입하더라도 곤충의 각 발육단계별로 침입하는 균이 다른 경우도 있어 분류에 어려움이 따른다. 동충하초의 어원은 본래 겨울철에 충체에 있다가 여름철에는 자실체가 풀과 같이 나온다는 말로 중국에서는 예로부터 동충하초가 불로장생의 비약으로 알려져 있으며 결핵, 황달의 치료와 강장제로서 이용되어 왔다. 또한 아편 중독 해독제로서의 효과가 인정되었으며 자실체의 주성분이기도 한 quinic acid의 이성체인 cordycepin이 항암작용이 있는 것으로 밝혀졌고(Cunningham 등, 1951; Jaggfer 등, 1961; Klenow 등, 1964; Rottman 등, 1964), 자실체는 중국의 궁중요리로도 중요시되고 있으며, 일본에서도 동충하초가 약용으로 사용된다는 기록이 있다(예운운, 1985). 본 균에 관한 연구사를 보면 AD 800년경 fungus-born wasp로 기록된 이래 학술적인 측면에서 최초로 발표된 것은 1727년이며, 1892년 Cooke에 의하여 昆蟲寄生性菌의 單行書인 Vegetable Wasps and Plant Worms가 출판되었고(小林義雄, 1983), 북미의 Seaver는 Cordycipiteae에 *Cordyceps*, *Spermoedia*, *Balansia* 등의 세 屬을 보고하였다(1911). Petch에 의하여 180여 종의 昆蟲寄生性菌이 보고되었으며(1936, 1941) Main 등도 북미에서 채집된 균주들에 관하여 技術하였고(1958) 일본의 Kobayasi에 의하여 *Cordyceps* 282종과 *Torrubiella* 59종에 관한 分類검색표가 발표되었다(1982). 현재 세계적으로 동충하초 속군에 관한 연구는 그 이용면에서 잠재적으로 경제적 가치가 인정되어 초창기 신종발표와 분류중심의 연구에서 본 균의 이용면에 초점을 둔 人工培養 및 成分分析, 殺蟲性 검증등이 활발히 진행되고 있다. 그러나, 국내에서의 본 균에 관한 연구는 채집의 어려움과 분류의 난점등으로 인하여 *Cordyceps* 屬의 몇종만이 보고되었을 뿐(장과 홍, 1986; 성등, 1993; 박, 1991) 이에 관한 연구자도 극히 부족한 실정이다. 그러므로 본 연구는 국내에 분포하는 동충하초균을 채집하여 분리해서 유용 유전자원을 확보하고, 분리된 균주들을 이용하여 향후 인공 자실체 생산을 위한 기초실험으로써 배양시험을 실시하며, 채집된 균주들의 형태적 특

징을 비교하고 분리된 각균주를 배양하여 전기영동을 실시한 결과 얻은 단백질 banding pattern의 차이를 바탕으로 하여(Bollag 등, 1991; Hills 등, 1990; Li 등, 1991)분류체계를 확립할 목적으로 실시하였다.

재료 및 방법

Cordyceps 屬菌의 採集 및 分類同定

***Cordyceps* 속군의 채집** 동충하초속군의 채집은 본 균의 자실체가 출현하는 시기인 6월부터 9월까지 강원대 연습림등을 포함하여 강원도 일대의 산지를 중심으로 이루어졌다. 채집지의 임상은 주로 계곡을 끼고 양옆으로 발달한 습지로 채집시에는 채집지, 채집년월일, 채집지의 임상, 기주의 종류, 발생상태 등을 기록하여분류동정의 기초자료로서 이용하였다. 특히 동충하초의 채집시에는 기주의 정확한 동정이 중요한데 기주곤충이 성충일 경우에는 곤충도감을 이용하여 정확한 동정을 하였으나 유충이나 번데기를 기주로한 경우에는 동정에 어려움이 많아 채집 당시 곤충의 생육단계만을 기술하였다.

***Cordyceps* 속군의 분리 및 형태적 특징 관찰** 채집된 균은 water agar가 들어 있는 샤아레의 뚜껑에 자실체를 tape로 고정하여 뚜껑을 덮은 후 자낭포자가 water agar 상에 떨어져서 발아한 자낭포자를 이용하여 분리하였으며 PDA 배지에 이식하여 25°C 항온기에서 계대배양하여 모균주로 활용하였다. 본 균의 채집시에는 채집 즉시 자실체의 형태적 특징들을 관찰하고 신선한 상태에서 사진을 찍어 두었으며 자실체로부터 몇개의 자낭각을 떼어내어 lactophenol로 염색시킨 슬라이드를 제작하여 광학 현미경하에서 자낭각의 모양 및 크기, 자낭포자 등의 미세구조적인 특징을 관찰하였다.

Cordyceps 속군의 대량생산을 위한 기초실험

분리된 *Cordyceps* 속군의 모든 공시균주는 향후 본 균의 이용면에서 대량생산을 위한 기초시험으로서 PDA 등 7종의 合成배지를 이용하여 배양한 후 菌絲의 乾重量을 측정하여 본 균의 생장에 적합한 배지를 선발하였다. 배양조건으로서의 환경시험은 pH를 밝히기 위한 방법으로 供試균주들을 PDA가 들어있는 petri-dish에 접종하여 약 15일간 배양한

후 菌絲의 가장자리를 5 mm cork borer로 떼어내어 pH를 4, 5, 6, 7, 8, 9로 맞춘 PDA 배지에 접종하여 20일간 배양 후 菌絲의 直徑을 측정하였다. 적정온도 범위를 구명하기 위한 시험으로는 무기염류로만 조성된 합성배지를 조제하여 250 ml 삼각 플라스크에 50 ml 씩 분주하여 供試균주들을 접종하고 각각 20, 24, 28°C 로 조정된 incubator 내에서 한달간 배양한 후 성장한 菌絲의 乾重量을 측정하였다.

Protein banding pattern의 비교검색을 통한 *Cordyceps* 속군의 系統分類 實驗

供試菌株는 채집된 冬蟲夏草 속군을 water agar 에서 分離한 후 PDA 등 선택배지에서 增殖培養시킨 것을 母菌株로 이용하였다. Protein banding pattern에 의한 각 균주간의 유연관계 구명을 위하여 시료로 사용한 균주로는 형태적으로 다소간의 차이가 보여지는 *C. militaris* 6균주, *C. militaris*와 형태적으로 유사한 *C. kyushuensis*, *C. roseostromata* 각 1균주, 풍뎡이 성충을 기주로 한 *C. scarabaeicola* 1균주, *Phytocordyceps ninchukiospora* 1균주를 사용하였다. PDA 배지에서 증식배양된 이들 균주를 PS 배지(감자 200 g, 설탕 18 g, 물 1000 ml)에 접종한 후 23°C 의 항온기에서 약 한달간 배양하였다. 液體培養器에서 培養시켜 얻어진 菌絲體는 滅菌水로 세척한 후 filter paper를 이용하여 상온에서 건조하여 액체질소로 마쇄한 후 공시시료로 사용하였다.

마쇄된 균사체 powder를 이용한 protein 추출은 균사체 powder 0.6 g을 1 ml의 추출용액(Tris 1.54 mg, ascorbic acid 1.76 mg, EDTA 2.93 mg, MgCl₂ 10.1 mg, PVP 50 mg, dH₂O 10 ml)에 넣어 33,000 g에서 30분간 원심분리한 후 얻어진 상등액에 동량의 cold acetone을 넣어 -20°C 에 1시간 동안 방치하였다. 이를 꺼내어 33,000 g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 버리고 pellet을 진공건조기에서 완전히 건조한 후 1/10로 희석한 추출용액에 용해시켜 원심분리하여 얻어진 상등액을 전기영동의 시료로 사용하였다. 전기영동은 discontinuous buffer system을 사용하였으며, 5~14% gradient polyacrylamide를 使用하여 gel을 調劑하고, running buffer는 Tris-glycine buffer를 使用하며, 30 µg의 protein과 sample buffer 30 µl를 混合 후 tracking dye 10 µl를 넣어 gel에 load 한 다음 stacking gel에서

15 mA로 separating gel에서는 24 mA로 약 5시간 동안 전기영동시켰다(Bollag 등, 1991).

전기영동 후의 染色은 Coomassie blue를 사용하였는데 gel을 Coomassie blue 염색액(0.1% Coomassie blue in 40% MeOH, 10% HOAc)에 30분간 염색 후 destaining buffer에서 overnight 시키며 발색하였다.

발색 후의 protein band pattern을 분석하여 각각의 종내 또는 종간 polymorphism을 구명하고자 전기영동상에서 확인된 band 별 binominal matrix code(0 또는 1)를 작성하고 이를 자료로 하여 Dices의 공식(Hills 등, 1951; Li 등, 1991)에 따라서 산출된 유사도 지수를 기준으로 종내 또는 종간 균주의 유사도를 구하였고 이를 UPGMA(unweighted pair-group method using arithmetic means) 방법을 이용하여 clustering 하고 phenogram을 작성하였다. 이때 사용된 computer program은 Rohlf (1982) 등의 NTSYS-pc 수리분류 분석용 IBM personal computer 프로그램(numerical taxonomy system using multi-variat statistical programs)을 이용하였다(Hills 등, 1990; Li 등, 1991).

결 과

채집된 *Cordyceps* 속군의 種類와 分布

1993년 6월부터 9월까지 강원대 연습림등 8개 지역에서 채집된 *Cordyceps* 속군의 자실체는 *C. militaris*를 포함하여 10종이었다(Table 1). *C. militaris* (번데기 동충하초)는 총 285개체가 채집되었는데 隣翅目の 유충, 번데기, 고치등을 寄主로 하여 형성된 것들이었으나 주로 나방류의 번데기를 기주로하여 형성된 冬蟲夏草였으며, 크기는 대를 포함하여 8.8 cm, 子實層의 크기는 4.5 cm였으며 번데기에서 3~4개 내지 7~8개의 子實體를 형성하고 무게는 2.71 g에서 9.9 g까지 되었다. *C. militaris*에 의한 冬蟲夏草는 6월에서 9월까지 채집되었는데 장마철이 끝나는 무렵인 7월 중순경부터 8월 하순경까지의 채집 개체수가 많았다. 가장 많이 채집된 것은 8월 27일 칠갑산으로 129개체가 채집되었다.

C. kyushuensis(애벌레 동충하초)는 참나무와 아카시나무가 식재된 곳에서 박각시유충을 기주로 한 1개체의 冬蟲夏草가 채집되었다. 박각시유충의

Table 1. Entomogenous species collected from different places in 1993.

Kind of <i>Cordyceps</i>	Collection Places	No. of fruiting body
<i>Cordyceps militaris</i>	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	16
	Wonju Socho Chiak Mountain	92
	Yangpyung Yongmun Yongmun Mountain	7
	Yangyang Seomyun Galchon	4
	Seolag Mountain	29
	Chungnam Chilgab Mountain	129
	Odae Mountain	8
<i>C. kyushuensis</i>	KNU	8
<i>C. scarabaeicola</i>	Yangyang Seomyun Galchon	12
<i>C. roseostromata</i>	Wonju Socho Chiak Mountain	9
<i>Phytocordyceps ninchukiospora</i>	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	2
	Wonju Socho Chiak Mountain	2
<i>C. sphecocephala</i>	Yangyang Seomyun Galchon	3
	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	134
<i>C. nutans</i>	Yangpyung Yongmun Yongmun Mountain	56
	Pungcheon	65
	Wonju Socho Chiak Mountain	34
	Seolag Mountain	1
	Odae Mountain	124
<i>C. nutans</i>	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	49
	Wonju Socho Chiak Mountain	44
	Yangpyung Yongmun Yongmun Mountain	56
	Pungcheon	4
<i>Paecilomyces tenuipes</i>	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	83
	Wonju Socho Chiak Mountain	6
	Pungcheon	4
	Yangpyung Yongmun Yongmun Mountain	7
<i>Hymenostilbe odonatae</i>	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	3
<i>Torrubiella</i> sp.	Chuncheon Dongsanmyun KNU Forest Experiment	1
	Yangpyung Yongmun Yongmun Mountain	2

크기는 8.0×1.5 cm이며 子實體의 크기는 대를 포함하여 7.3 cm이고 子實層의 크기는 3.5 cm로 유충의 몸으로부터 수분의 자실체가 발생하였으며 무게는 5.71 g 가량 되었다. *C. kyushuensis*의 동충하초는 7월 5일 강원대 구내에서 채집되었다.

C. scarabaeicola(풍뎅이 동충하초)는 풍뎅이의 성충을 기주로 하여 발견되었는데 子實體의 모양은 *C.*

*militaris*와 유사하나 한개체의 곤충당 형성되는 子實體 수가 1~2본 정도로 적으며 발달되어 있었다. 8월 20일 양양 갈촌에서 12개체가 채집되었다.

C. roseostromata(작은 번데기 동충하초)는 隣翅目の 유충이나 번데기를 기주로 하여 子實體를 형성한 것들이 채집되었는데 8월 14일에 치악산에서 9개체가 채집되었다. 형태적으로는 *C. militaris*와

유사하지만 子實體와 寄主昆蟲의 크기가 상대적으로 작았다.

Phytocordyceps ninchukiospora(종자 동충하초)는 쌍자엽 식물의 종자를 기주로 하여 子實體를 형성시키는데 총 7개체가 채집되었고 子實體 및 寄主가 상당히 작아서 채집이 극히 어려웠다. 가장 많이 채집된 시기는 8월 20일로 양양 갈촌에서 3개체가 채집되었고 6, 8, 9월에도 치악산, 강원대 연습림 등지에서 채집되었다.

강원대 연습림에서 채집된 벌을 기주로 한 冬蟲夏草는 *C. sphecocephala*(벌 동충하초)로 同定되었는데 길이는 2.5 cm에서 12.5 cm까지이며 평균 길이는 6.6 cm이고 무게는 평균 벌을 포함하여 0.026 g이었다. *C. sphecocephala*에 의한 冬蟲夏草는 총 414개체가 채집되었는데 6월에서 9월까지 전시기에 걸쳐 고루 채집되었고 벌목에 寄主 特異성을 보이고 있었다. 가장 많이 채집된 시기는 6월 25일로 강원대 연습림에서 134개체가 채집되었다. 이밖에도 치악산을 포함하여 오대산, 용문산, 풍천, 설악산 등지에서 채집되었다.

노린재를 기주로 한 *C. nutans*(노린재 동충하초)에 의한 冬蟲夏草는 총 143개체가 채집되었는데 *C. nutans*에 의한 冬蟲夏草는 전 채집지역에 고루 分布하고 있었으며 주로 6월에서부터 9월까지 채집되었다. 가장 많이 채집된 시기는 8월 14일로 치악산에서 노린재를 寄主로한 44개체의 동충하초가 채집되었다. *C. nutans*는 다른 冬蟲夏草屬菌과는 달리 노린재에서만 형성되며 다른 寄主에서는 채집되지 않았다. 대의 길이는 3 cm에서 14 cm까지 되는 것이 많았으나 주로 5 cm에서 8 cm 내의 範圍에 속하였다. 길이는 罹病 된 노린재가 落葉속에 깊이 있으면 길고 검은 대를 形成한 뒤에 밖에 子實體를 形成하나 落葉 밑에 바로 있으면 대가 짧고 그 위에 바로 子實體를 形成하였다. 가장 많이 채집된 시기는 8월 14일로 치악산에서 노린재를 寄主로한 44개체의 동충하초가 채집되었다.

Paecilomyces tenuipes(눈꽃 동충하초)에 의한 冬蟲夏草는 다른 冬蟲夏草와는 달리 불완전세대이기 때문에 分生胞자가 전드리기만 하여도 비산하며 다범성으로서 寄主와 관계없는 침입양상을 보여 주었다. *P. tenuipes*에 의한 冬蟲夏草는 이제까지 99개체가 채집되었는데 7월에서 9월까지 채집되었고 늦

게는 10월 21일까지도 채집되었다. 가장 많이 채집된 시기는 9월 4일로 강원대 연습림에서 83개체가 채집되었고 치악산, 용문산, 풍천등지에서도 채집하였다.

Hymenostilbe odonatae(잠자리 동충하초)에 의한 동충하초는 잠자리의 성충을 기주로 형성되는데 주로 흉부또는 복부마디에서 불규칙하게 작은 곤봉형의 자실체가 형성된다. 본 동충하초는 강원대 연습림에서 3개체가 채집되었다.

Torrubiella sp.(거미 동충하초)에 의한 동충하초는 거미를 기주로하여 거미의 표면에 하얀 돌기모양의 다수의 자실체를 형성시킨 것이 봉명리 강원대 연습림에서 1개체, 경기도 용문산에서 2개체가 채집되었는데 주로 앞의 뒷면에서 발생하고 크기가 작으므로 채집이 어려웠다.

採集된 *Cordyceps* 속군의 子實體의 特徵

Cordyceps militaris (Vuill) Fr. (번데기 동충하초)

주로 隣翅目の 유충, 번데기, 고치 등을 寄主로 하여 子實體를 형성하며 寄主의 머리부분으로부터 2분 또는 3분이 나오나 드물게는 수분이 叢生하는 것도 있다(Photo 1). 子實體는 頭部와 柄으로 나누어져 있는데 頭部는 곤봉형 또는 원주형으로 길이는 1.5~2 cm이고 柄은 원주형으로 길이는 1.5~5 cm이며 등황색이다. 頭部の 표면에 子囊殼은 달걀모양으로 半裸生하며 크기는 $450\sim670\times230\sim370\ \mu\text{m}$ 이다. 子囊은 원주상이고 머리 부분 종단면의 중앙이 약간 갈라져 있고 크기는 $400\sim420\times3\sim4\ \mu\text{m}$ 이다. 子囊胞子は 가늘고 긴 장방추형의 絲狀이며 명료한 격막을 가진 *Eucordyceps* 형으로 子囊胞子를 샬레에 떨어 뜨려 배양하면 4시간 후부터 2차 포자로 갈라지고 12시간 후부터는 發芽하여 그 위에서 다시 2차 포자를 형성하는데 菌絲로 자라게 된다. 야외에서 채집된 *C. militaris*의 자실체는 인시목의 번데기에서 주로 형성된 것이 대부분이었다.

Cordyceps kyushuensis Y. Kobayasi (애벌레 동충하초)

인시목의 천아과인 *Clanis bilineata*의 유충을 기주로 하여 자실체를 형성하며 기주에서 1분 내지 수분의 자실체가 발생한다(Photo 3). 자실체는 頭部와 柄部로 되어 있는데 柄(stem)의 하부는 가늘고 크기는 1~4 cm이고 직경은 1.5~3 mm이고 상부는 결실기에 커져 원주상으로 된다. 頭部와 柄

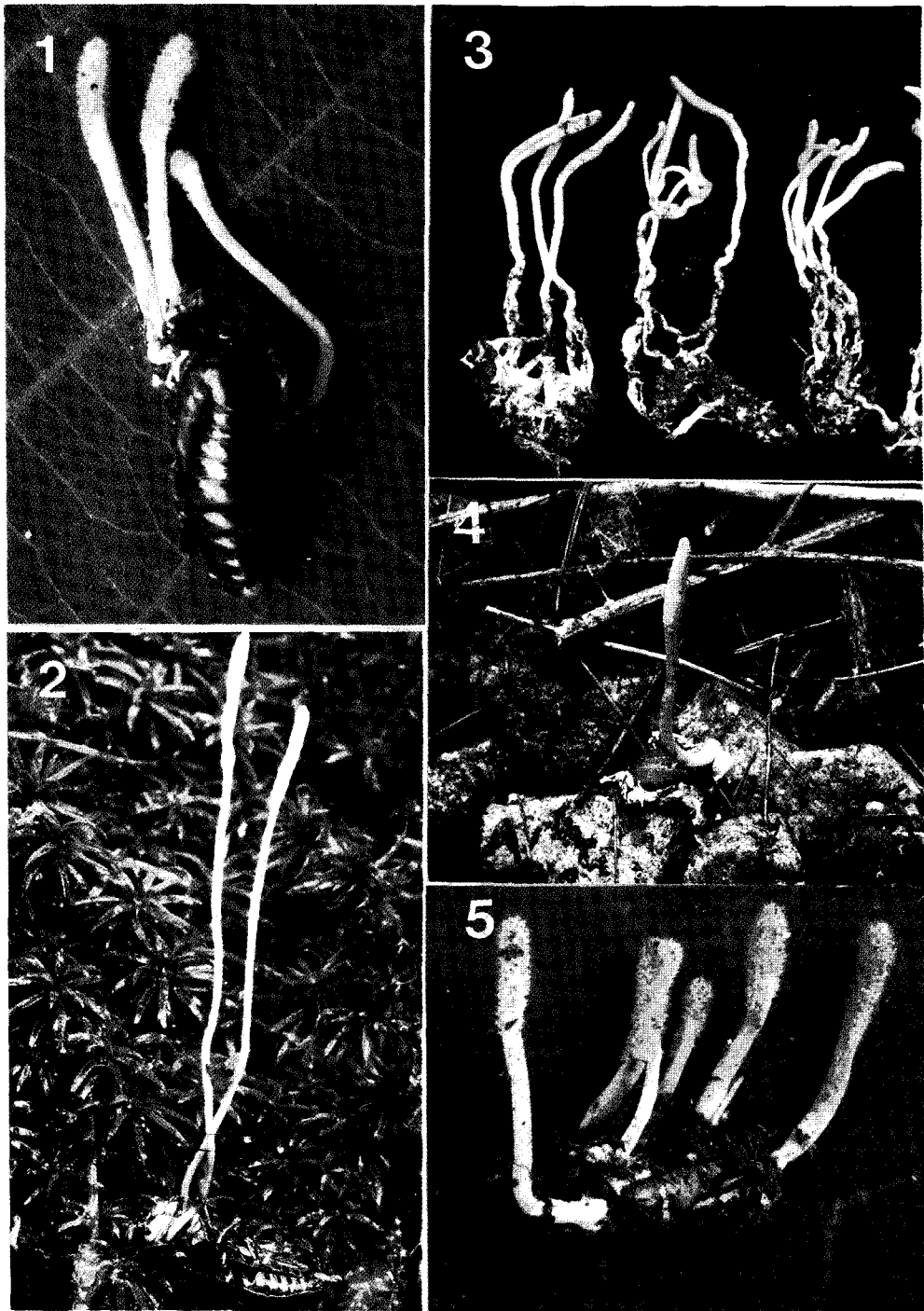


Photo 1. 3 stromata on pupae caused by *Cordyceps militaris*
Photo 2. 2 stromata on *Vespula lewisi* caused by *C. sphecocephala*
Photo 3. Several stromata on larva caused by *C. kyushuensis*
Photo 4. 1 stroma on Scarabaeidae caused by *C. scarabaeicola*
Photo 5. 6 stromata on pupae caused by *C. roseostromata*

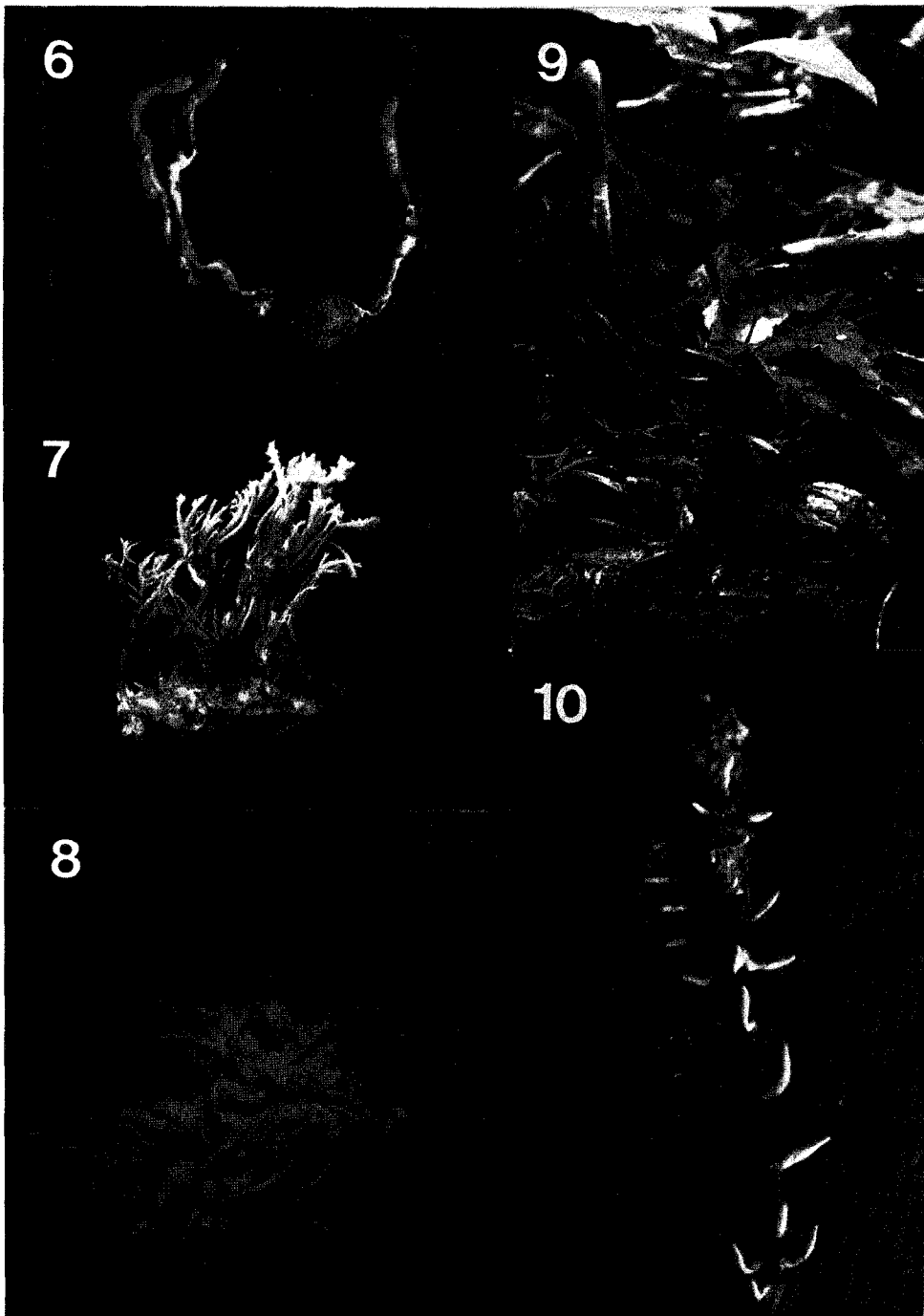


Photo 6. 4 stromata on seed caused by *Phytocordyceps ninchukiospora*

Photo 7. Many stromata on pupae caused by *Paecilomyces tenuipes*

Photo 8. Several stromata on adult spider caused by *Torrubiella* sp.

Photo 9. 1 stroma on Hemiptera caused by *C. nutans*

Photo 10. Many stromata on adult Odonatae caused by *Hymenostilbe odonatae*

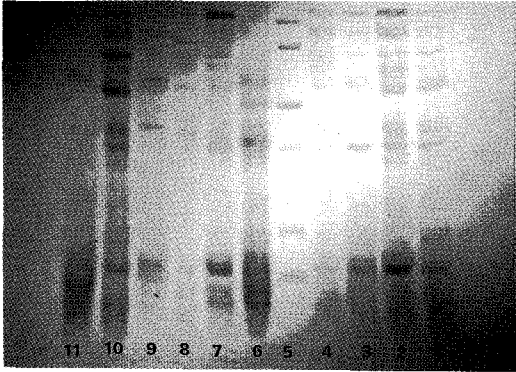


Photo 11. General protein banding patterns of *Cordyceps* species stained with Coomassie blue

Lane 1-4, 6: *C. militaris*, Lane 5: Standard marker, Lane 7: *C. kyushuensis*, Lane 8: *Phytocordyceps ninchukiospora*, Lane 9: *C. roseostromata*, Lane 10: *C. scarabaeicola*

부의 경계는 불분명하고 頭部에 광범위하게 자낭각(perithecium)이 조밀하게 분포되어 있다. 子囊殼은 半埋生형이고 結實期에는 표면에 원주상의 돌기가 생긴다. 子囊殼의 크기는 $450\sim 500\times 300\sim 350\ \mu\text{m}$ 이며 다수의 원주상으로 된 子囊을 가지고 각 子囊내에는 가는 실 모양의 무색의 8개 子囊胞子를 함유하며 성숙시 방출되면 격막이 생겨 분리되어 크기가 $5\sim 10\times 1.2\ \mu\text{m}$ 인 2차 포자가 된다. 지하부에서 나오며 8월과 9월에 발생하고 강원대 구내산에서 주로 채집되었다.

***Cordyceps scarabaeicola* Y. Kobayasi (풍뎅이 동충하초)** 인시목에 속하는 풍뎅이의 성충에 발생하고 곤봉형이다(Photo 4). 子實體는 寄主에서 1본 내지 2본이 형성되며 약간 부풀어 오른 원통형 또는 타원형의 頭部와 이것을 지탱해 주는 원주형의 柄으로 나누어지며 육질이다. 지상부의 높이는 $3\sim 4\times 2.5\sim 4\ \text{cm}$ 이고 백색 또는 담황색이고 柄의 크기는 $1.5\sim 2\ \text{cm}$ 이며 두부는 타원형의 봉형이다. 胞子果는 불규칙하게 나열되어 있고 半埋生하며 난형으로 $275\sim 350\times 200\sim 250\ \mu\text{m}$ 이며 子囊은 $135\sim 1150\times 4\sim 4.5\ \mu\text{m}$ 이고 子囊胞子는 가는 絲狀이며 방출 후 2차 포자가 생긴다. 땅속에서 나오며 7월과 8월에 양양에서 채집되었으며 삼림내의 임내지상에서 생기며 극히 발견하기가 어렵다.

***Cordyceps roseostromata* Y. Kobayasi et D. Shimizu (작은 번데기 동충하초)** 인시목의 유충이나 번데기를 기주로 하여 1본의 子實體를 형성한다(Photo 5). 子實體의 頭部는 다른 부위보다 크며 끝이 동그랗고 오렌지 색을 띠며 전체의 길이는 $15\sim 25\ \text{mm}$ 이다. 子囊胞子는 원주형의 絲狀이다. 子囊胞子를 샤페에 떨어뜨려 배양하면 16시간이 경과하면 發芽한다. 8월에 원주 치악산에서 채집하였다.

***Phytocordyceps ninchukiospora* Su & Wang (종자 동충하초)** 쌍자엽 식물의 종자를 기주로 하여 발생하며 子實體는 1본 내지 3~4본이 형성되고 약간 부풀어 오른 원통형 또는 타원형의 頭部와 이것을 지탱해 주는 원주형의 柄으로 이루어져 있으며 육질이다(Photo 6). 지상부의 높이는 $1\sim 2\ \text{cm}$ 이고 두부는 고기색깔의 홍색 또는 옅은 암홍색이며 柄도 거의 같은 색이고 표면의 胞子果는 半埋生 형이고 頭部に 뾰뾰하게 돌출되어 있다. 子囊殼의 크기는 $600\sim 700\times 300\sim 370\ \mu\text{m}$ 이다. 子囊胞子는 가는 絲狀이며 방출 후 격막으로 분열되어 양쪽으로 4개의 2차 포자가 생기며 그 사이는 실모양의 줄로 연결되어 있다. 땅속에서 나오며 7월과 8월에 봉명리 강원대 연습림과 양양에서 채집되었으며 삼림내의 임내지상에서 생기며 극히 발견하기가 어렵다.

***Cordyceps sphaecocephala* (Kl.) Sacc. (벌 동충하초)** 벌을 기주로 하여 벌의 턱부분으로부터 1본 내지 2본의 子實體를 형성한다(Photo 2). 子實體는 頭部와 柄의 2부분으로 나누어져 있다. 頭部는 끝부분 바로 위가 약간 동통하며 柄은 질긴 섬유육질로 밝은 오렌지색이며 전체의 길이는 $11\ \text{cm}$ 이다. 頭部の 표면에 子囊殼은 상부가 가는 방망이 모양으로 사생으로 埋生하며 크기는 $530\sim 1000\times 300\sim 570\ \mu\text{m}$ 이다. 子囊은 원주형이고 머리 부분 종단면의 중앙이 약간 갈라져 있고 크기는 $330\sim 460\times 7\sim 8\ \mu\text{m}$ 이다. 子囊胞子는 가늘고 긴 장방추형의 絲狀이며 명료한 격막을 가진 Neocordyceps 형으로 子囊胞子를 샤페에 떨어뜨려 배양하면 4시간 후부터 64개의 2차 포자로 갈라지고 12시간 후부터는 받아 하여 그 위에서 나시 2차 포자를 형성하는데 菌絲로 자라게 된다. *Vespa xanthoptera*와 *Vespa lewisi* 등 2종의 벌에서 冬蟲夏草가 채집되었다.

***Cordyceps nutans* Pat. (노린재 동충하초)** 子實體는 노린재를 寄主로 하여 노린재의 가슴으로부터

1본 또는 2본의 子實體를 형성한다(Photo 9). 子實體는 頭部와 그것을 바쳐주는 가는 黑色柄의 2部分으로 나누어져 있다. 頭部는 綿棒型으로 등황색이고 길이는 0.5~1.0 cm이며 柄은 질긴 纖維肉質로 길이는 5~10 cm이다. 두부의 表面에 자낭각은 埋生型이고 달걀형으로 크기는 530~1000×300~570 μm 이다. 子囊은 원주형이고 머리 부분의 縱斷面의 中央이 약간 갈라져 있고 크기는 330~460×7~8 μm 이다. 子囊胞子は 가늘고 긴 장방추형의 絲狀이며 明瞭한 隔膜을 가진 eucordyceps 型으로 子囊胞子를 紗래에 떨어뜨려 培養하면 4시간 후부터 64개의 2차 포자로 갈라지고 12시간 후부터는 發芽하여 그 위에서 다시 2차 포자를 形成하든지 菌絲로 자라게 된다. 이들 子實體가 形成되는 노린재로는 *Lelia decempunctata* Motschulsky, *Molipteryx fuliginosa* Uhler, *Palomena angulose* Motschulsky 등 3종이 채집되었다.

***Paecilomyces tenuipes* (눈꽃 동충하초)** 隣翅目の 유충이나 번데기에 발생한다(Photo 7). 子實體는 1~20본 정도의 나뭇가지 또는 빗자루형으로 머리 부분은 부풀어 있고 그것을 바쳐 주는 병은 노란색을 띠며 지상부의 높이는 8~40 mm이다. 채집된 冬蟲夏草는 기주를 판별할 수 없는 다양한 곤충의 유충, 번데기, 고치 등에 나무가지 모양의 柄 위에 分生胞子가 가득 덮혀 있는 것들이었다. 이 冬蟲夏草는 子實體가 分生胞子로 形成되어 있기 때문에 건드리면 쉽게 分生胞子가 비산하여 육안으로도 쉽게 볼 수 있다.

***Hymenostilbe odonatae* Kobayasi (잠자리 동충하초)** 잠자리 성충의 흉부 또는 복부 마디로부터 불규칙하게 발생하며 이사라리아 형이다(Photo 10). 자실체는 곤봉형과 약간 둥글게 팽대한 머리를 갖는 것도 있다. 높이는 2.5~5.5 mm이고 약간 딱딱한 육질이며 병은 원주형으로 담황색이고 두부는 담황색 또는 옅은 갈색을 띤다. 분생포자는 頭部에 생성되고 지상부 또는 나뭇가지 위에 죽은 잠자리에서 발견된다. 봉명리 강원대 연습림, 용문산에서 채집되었는데 채집이 어렵다.

***Torrubiella* sp. (거미 동충하초)** 거미의 表面에 하얀 솜모양의 菌絲體가 덮혀 있으며 그 위에 돌기모양의 子囊殼을 수십개 形成하고 있다(Photo 8). 양양군 서면 갈촌리에서 1개가 採集되었으며 7월

9일 용문산에서 2개체가 채집되었다. 採集이 어려운 까닭은 크기가 직경 5 mm 내외로 매우 작으며 더우기 잎의 뒷면에 붙어 발생하기 때문이다.

冬蟲夏草로부터 菌의 分離

採集된 冬蟲夏草는 유전자원의 확보를 위하여 분리하였는데 분리 방법은 紗래의 뚜껑에 tape로 자실체를 固定시킨 후 water agar가 들은 紗래에 짝을 맞추어 놓으면 子囊胞子가 떨어진다. *Paecilomyces tenuipes*의 경우는 分生胞子가 떨어져서 6時間 이후부터 發芽하게 되는데 그것을 PDA에 移植하여 分離하였다. 분리된 균주는 *Cordyceps militaris*, *Cordyceps nutans*, *Paecilomyces tenuipes*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. kyusyuensis*, *C. sphecocephala* 등이다. 상기한 종들은 water agar에 자낭포자가 떨어지면 쉽게 발아하여 분리가 쉬웠으나 다른 동충하초 속균인 *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp. 등은 포자가 발아되지 않아 분리할 수가 없었다.

Cordyceps 속균의 대량생산을 위한 기초실험

分離된 균주를 PDA 등 조성이 다른 7종의 배지에 接種하여 우수배지를 선발한 결과 *Cordyceps militaris*와 *C. scarabaeicola*는 PDA 배지에서 가장 우수한 菌絲生長率을 보여 주었으며 *Phytocordyceps ninchukiospora*는 Hamada 배지에서 가장 우수하였다(Fig. 1). 昆蟲寄生性 균주들의 성장적은으로서의 供試 균주 모두 공히 20°C에서 菌絲生長率이 가장 우수하였으나 적정 pH는 昆蟲寄生性菌들의 중간에

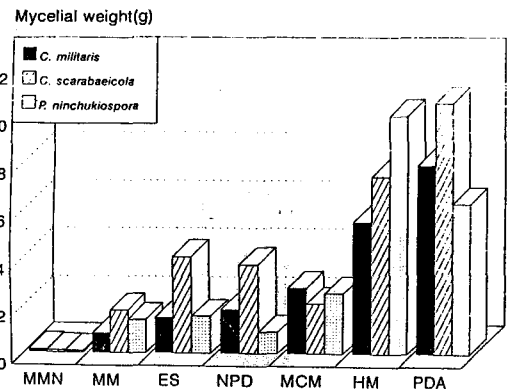


Fig. 1. Mycelial growth of *Cordyceps* isolates on different media.

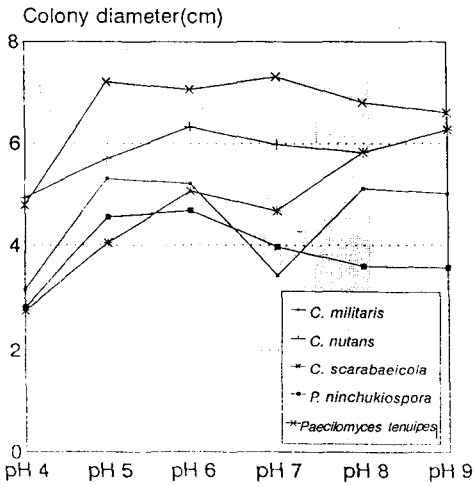


Fig. 2. Mycelial growth of *Cordyceps* isolates on different pH.

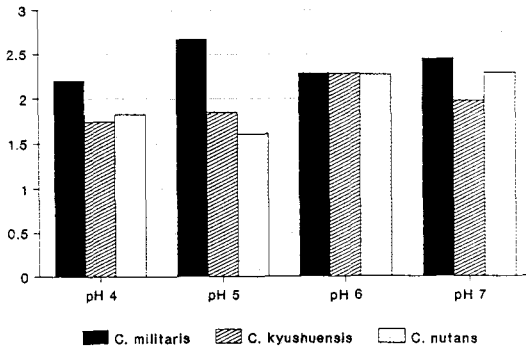


Fig. 3. Mycelial growth of *Cordyceps* species at 20°C.

차이를 보였다. *C. militaris*는 pH 5에서 *C. nutans*는 pH 6에서 *C. scarabaeicola*는 pH 9에서 *Phytocordyceps ninchukiospora*는 pH 6에서 *Paecilomyces tenuipes*는 pH 7에서 각각 우수한 菌絲生長率을 보여 주었다(Fig. 2). 온도시험에서는 전 공시균주에서 공히 20°C 에서 우수한 균사체 生長율을 보여 주었다(Fig. 3).

Protein banding pattern의 비교검색을 통한 *Cordyceps* 속군의 계통분류 시험

형태적으로 유사한 *C. militaris*, *C. kyushuensis*, *C. roseostromata*, *C. scarabaeicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora* 등 5균주를 증식배양하여 단백질을 추출하고 전기영동을 실시하여 얻어진 banding pattern(Photo 11)을 UPGMA 방법을 이용하여 Clustering 하고 Phenogram을 작성한 결과 Fig. 4와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 종내 유연관계의 구명을 위하여 사용한 *C. militaris* 6균주는 거의 유사한 band pattern을 보이며 같은 군으로 clustering 되었는데 *C. militaris*와 가장 형태적으로 유사한 異種인 *C. roseostromata*는 *C. militaris*와 같은 분류군으로 clustering 되었으며 형태적으로 미세구조적으로 *C. militaris*와 유사하나 인시목의 유충만을 특이적으로 기주로하는 *C. kyushuensis*는 *C. roseostromata* 다음으로 *C. militaris*와 가까운 유연관계를 보였다. 반면에 *Phytocordyceps ninchukiospora*와 *C. scarabaeicola*는 형태적으로도 다소의 차이를 보인다

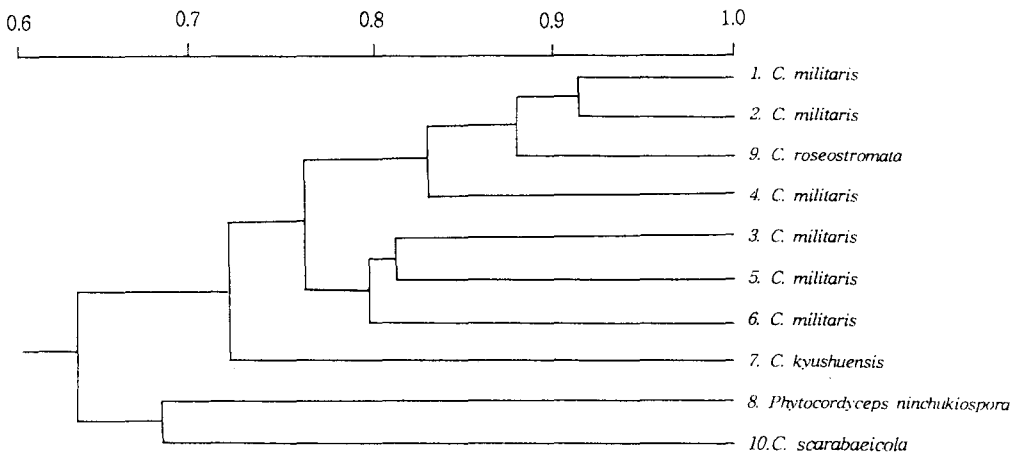


Fig. 4. Phenogram of *Cordyceps* species based on protein banding pattern.

바와 같이 다른 분류군으로 *clustering* 되었다.

고 찰

Cordyceps 속군은 모든 昆蟲群의 유충, 번데기, 성충등의 전 시기에 걸쳐 침입하며 곤충을 죽게 한 후 이를 寄主로 하여 子實體를 형성하거나 蟲體 전반에 걸쳐 分生胞子를 형성하는 冬蟲夏草로서 전 세계적으로 分布하며 300여종 정도가 報告 되고 있다(Breitenbach 등, 1984; Dennis, 1981; 장과 홍, 1986; Kobayasi, 1941; Lilly 등, 1951; Petch, 1936, 1941; 박, 1991; 清水, 1981). 특히, 本 菌의 子實體는 예로부터 중국에서 結核, 黃疸, 中風의 치료와 병후의 身體調節 및 補陽劑로서 이용되어 온 고가의 漢藥材이며 子實體의 추출성분인 Cordycepin은 抗 菌작용 및 항암작용이 있는 것으로 밝혀져 있는 중요한 균이다(Cunningham 등, 1951; Jaggfer 등, 1961; Klenow 등, 1964; Rottman 등, 1964). 그러나 국내의 本 菌에 관한 研究水準은 昆蟲寄生性菌의 일종인 *Cordyceps* 屬菌의 몇 種만을 보고하는 수준에 머물러 본 연구는 잠재적으로 경제적인 가치가 인정되는 本 菌을 採集하여 分離同定하고 培養의 特性을 밝혀 향후 대량생산을 위한 기초자료로서 이용하며 형태적 유사성으로 인한 분류의 난점을 극복하기 위한 방법으로 생화학적 수준에서의 유연관계 구명이 필요하므로 이에 초점을 두어 수행하였다. 本 研究를 통하여 채집되어 分類同定된 種은 *Cordyceps militaris*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. roseostromata*, *C. scarabaeicola*, *C. sphecocephala*, *C. kyushuensis*, *C. nutans*, *Paecilomyces tenuipes*, *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp. 등 10종이다. 이들 중 *Cordyceps militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*, *C. scarabaeicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora* 등은 발생시기에 있어 장마철이 시작되는 7월, 8월경에 집중적으로 발생하여 자실체의 발생이 다른 종에 비하여 특히 강우량에 많은 영향을 받음을 알 수 있었다. 비교적 많이 채집되는 *Paecilomyces tenuipes*, *C. nutans* 등은 6월에서 8월까지 자실체 발생 전 시기에 걸쳐 고루 채집되었으며 *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp. 등은 자실체의 크기가 작아 채집이 어려웠다. 本 菌은 주로 계곡을 끼고 양옆으로 발달한 습지에서 채집되었는데 채집

지의 林狀은 잡초가 비교적 적으며 활엽수림대로 외부환경의 교란이 없는 장소였다. 채집된 자실체로부터의 균분리에서 분리된 종은 *Cordyceps militaris*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. roseostromata*, *C. scarabaeicola*, *C. sphecocephala*, *C. kyushuensis*, *C. nutans*, *Paecilomyces tenuipes* 8종으로 이들은 Water agar 상에서 포자가 발아되어 비교적 용이하게 분리되었는데 *C. nutans*의 경우는 배지상에서 포자가 발아 하더라도 시간이 경과하면 쉽게 잡균에 의하여 오염이 되어 분리에 주의가 기울여야 한다. 이에 반하여 *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp. 등은 포자가 발아되지 않아 분리할 수 없었다. 현재 약용으로 사용되는 *Cordyceps* 속군의 자실체는 가격이 비싸 대중화 되지 못한 실정이다. 따라서 本 研究에서는 인공적으로 子實體를 배지상에서 형성하기 위한 기초실험으로서 培養試驗을 실시하였다. 서로 다른 7종의 배지를 조제하여 分離된 균주들을 接種하여 培養한 결과 PDA 배지가 昆蟲寄生性菌珠들의 배양을 위한 우수배지로 선발되었으며 菌絲의 생장에 적합한 적정 온도 범위는 18~21°C로 구명되었으며 pH는 5~7의 弱酸性 범위에서 菌絲의 생장이 왕성하였다. 이러한 배양시험 결과를 바탕으로 하여 子實體를 人工적으로 대량 생산할 수 있는 기술을 개발하여 농가에 보급할 수 있다면 수입에 의존하고 있는 고가 한약재의 수입의존도를 줄이고 약재의 대중화와 장기적으로 농가의 고소득원으로써 일익을 담당하리라 생각된다. 현재 세계적으로는 본 균에 관한 보고가 활발히 이루어지고 있으나 국내에서는 채집이 어렵고 채집을 하더라도 형태적으로 유사한 종의 동정과 본 균의 특성상 침입곤충의 종류에 따라 발생단계에 따라 형성되는 자실체가 다른 점 등이 본균의 계통분류를 어렵게 하여 본 연구에서는 채집되어 분리된 균주 가운데 형태적으로 유사하며 중간 유연관계의 구명이 요구되는 5종을 증식배양하여 단백질 banding pattern을 비교 분석한 결과 형태적으로 유사한 *C. militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*가 함께 clustering 되었으며 풍덩이 성충만을 기주로 한 *C. scarabaeicola*와 쌍자엽 식물의 종자를 기주로 한 *Phytocordyceps ninchukiospora*는 다른 균으로 clustering 되었다. 앞으로 본 균의 분류에 관한 연구는 형태적 특징 뿐만 아니라 단백질 및 DNA 수준에서의 분석 등이

바탕이 된다면 보다 정확한 계통 분류 자료를 제공할 수 있으리라 기대한다. 이 밖에도 동충하초속균은 여러 종류의 곤충을 침입하므로 주요 농작물 해충의 방제를 위한 생물농약으로서의 개발 가능성이 크므로 앞으로의 연구가 이러한 방향으로 이루어진다면 현재 화학농약의 남용으로 인한 殘留毒性 문제, 인축 피해 등의 부작용을 적극적으로 막는데 일익을 담당하리라 기대한다.

적 요

강원도 춘성군 강원대 연습림등 강원도일대의 산지에서 1993년 6월부터 9월까지 채집된 *Cordyceps* 속균의 子實體는 *Cordyceps militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*, *C. scarabaecicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora*, *C. nutans*, *Paecilomyces tenuipes*, *C. sphecocephala*, *Hymenostilbe odonatae*, *Torrubiella* sp. 등 10종이었다. 冬蟲夏草屬菌의 Type species이기도 한 *C. militaris*는 주로 隣翅目の 번데기를 寄主로 한 子實體가 채집되었는데 本種의 발생은 7월경의 장마철이 지나면서 다수 채집되었다. *C. roseostromata*는 형태적으로 *C. militaris*와 유사하나 크기가 작으며 역시 隣翅目の 유충, 번데기 등을 寄主로 한 子實體가 채집되었다. *C. scarabaecicola*는 풍뎅이 성충만을 침입하여 子實體를 형성하였으며 *C. kyushuensis*는 박각시 나방의 유충만을 寄主로 하여 子實體가 채집되었다. *C. nutans*와 *C. sphecocephala*는 각각 노린재와 벌만을 寄主로 하여 가늘고 길긴 침상의 柄에 타원형의 頭部를 着生한 子實體를 형성하는데 두종은 채집지역에 관계없이 昆蟲寄生性菌이 발생하는 6월부터 8월 사이 전 시기에 걸쳐 가장 많이 채집되었다. 식물의 종자를 寄主로 하여 子實體를 형성하는 *Phytocordyceps ninchukiospora*의 子囊胞子は 다른 *Cordyceps* 속균과는 달리 양옆 4개의 子囊胞子が 실모양의 구조로서 연결되어 있는 형태를 취하고 있었다. *Paecilomyces tenuipes*는 모든 곤충의 발달단계 전 시기에 걸쳐 침입하는 다범성 균으로서 分生胞子를 형성하는 동충하초속균의 불완전 세대균이다. 잡자리 성충을 기주로 하여 형성된 *Hymenostilbe odonatae*는 잡자리만을 특이적으로 침입하며 거미성충을 기주로 형성되는 *Torrubiella* sp.는 주로 잎의 뒷면에서 형성

되므로 채집이 어려웠다. 분리동정된 균주들을 이용하여 배양시험을 한 결과 PDA 배지가 가장 우수한 균사생장을 보여 주었으며 배지내 酸度 試驗에서 *C. militaris*는 pH 5에서 *C. nutans*와 *Phytocordyceps ninchukiospora*는 pH 6에서 *Paecilomyces tenuipes*는 pH 7에서 *C. scarabaecicola*는 pH 9에서 각각 菌絲生長이 왕성하였다. 환경조건으로서의 온도 시험에서는 시험균주에서 공히 20°C에서 우수한 균사생장을 보여 주었다. 분리동정된 균주들중 형태적으로 유사한 균주들의 종간 또는 종내 유연관계 구명을 위하여 Protein banding pattern을 분석한 결과 *C. militaris*, *C. roseostromata*, *C. kyushuensis*는 근연종으로 clustering 되었으며 *C. scarabaecicola*, *Phytocordyceps ninchukiospora*는 비교적 유연관계가 먼 것으로 나타났다.

사 사

본 연구는 1993년부터 1994년까지 한국 학술진흥재단의 연구비 지원을 받아 수행되었음.

參考文獻

- Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. 3Ed. John Wiley and Sons, Inc: 342 pp.
- Basith, M. and Madelin, M.F. 1968. Studies on the production of perithecial stromata by *Cordyceps militaris* in artificial culture. *Can. J. Bot.* **46**: 473-480.
- Bigelow, H.E. 1960. Unusual fruiting of *Cordyceps militaris*. *Mycologia.* **52**: 952-958.
- Bollag, D.M. and Edelman, S.J. 1991. Protein method. Wiley-Liss, Inc. New York. USA.
- Breitenbach, J. and Kranzlin, F. 1984. Fungi in Switzerland. Vol. 1 Ascomycetes. Mykologia luzern 310 pp.
- Coppel, H.C. and J.W. Mertins. Biological control Insect pest Suppression. 1977. Springer-verlag Berlin Heidelberg. New York: 17-18.
- Cunningham, K.G., Hutchinson, S.A., Manson, W., and Spring, F.S. 1951. Cordycepin, a metabolic product from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link Pt. 1. Isolation and characteristics. *J. Chem. Soc.* **1951**: 2290-2300.
- Dennis, R.W.G. 1981. British Ascomycetes. *J. Cramer. Kew* 254-257.
- Diehl, W.W. 1950. Balansia and the Balansiae in Ame-

- rica. U.S. Dept. Agri. Monogr. 4. 82 pp.
- Gilman, J.C. 1957. A manual of soil fungi. 2nd ed. Iowa State Uni. Press, Ames, Iowa.
- Hills, D.M. and C. Moritz. 1990. Molecular systematics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland. Massachusetts. USA.
- Jaggfer, D.V. Kredich, N.M., and Guarino. A.J. 1961. Inhibition of Ehrlich mouse ascites tumour growth by cordycepin. *Cancer Res.* **21**: 216-220.
- Jang, Yang-suk and Hong, Soon-Woo. 1986. Note in unrecorded Fleshy Fungi of *Cordyceps* in Korea. *Kor. J. Mycol.* **14**: 85-88.
- Klenow, H. and Overgaard-Hansen, K. 1964. Effect of cordycepin triphosphate on the incorporation of (^{14}C) adenine and (^{32}P) orthophosphate into the acid-soluble ribotides of Ehrlich ascites tumour cells. *Biochim. Biophys. Acta.* **80**: 500-504.
- Kobayasi, Y. 1941. The genus *Cordyceps* and its allies. Sei. Rept. Tokyo Buntika Daigaku, Sect. B. **5**: 53-260.
- Kobayasi, Y. 1982. Keys to the taxa of the genera *Cordyceps* and *Torrubiella*. *Trans. mycol. Soc. Japan* **23**: 329-364.
- Li, W.H. and D. Graur. 1991. Fundamentals of molecular evolution. Sinauer Associates, Inc. Sunderland. Massachusetts. USA.
- Lilly, V.G. and Barnett, H.L. 1951. Physiology of the fungi. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, Toronto and London.
- Mains, E.B. 1958. North American entomogenous species of *Cordyceps*. *Mycologia.* **50**: 169-222.
- Mathiexon, J. 1949. *Cordyceps aphodii*, a new species, on pasture cockchater grubs. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **32**: 113-136.
- Müller-Kögler, E. 1965. *Cordyceps militaris* (Fr.) Link. Beobachtungen und Versuche anlässlich eines Fundes auf *Tipula paludosa* Meig. (dipt., Tipul.). - *Z. Angew. Entomom.* **55**: 409-418.
- Overgaard-Hansen, K. 1964. The inhibition of-phosphoribosyl-l-pyrophosphate formation by cordycepin triphosphate in extracts of Ehrlich ascites tumour cells. *Biochim. Biophys. Acta.* **80**: 504-507.
- Petch, T. 1936. *Cordyceps militaris* and *Isaria farinosa*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **20**: 216-224.
- Petch, T. 1941. Studies on entomogenous fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 251-265.
- Reed, D.K. 1987. Microbial Control: Its Place in Korean Agriculture and Forestry. *Kor. J. Pl. Pathol.* **3**(1): 28-34.
- Renyolds, D.R. Ascomycete Systematics. 1981. Springer-Verlag New York Inc. 116-117.
- Rohlf, F.J. 1990. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system. State Univ. of New York, Stony Brook.
- Rottman, F. and Guatino, A. 1964. The inhibition of purine biosynthesis de novo in *Bacillus subtilis* by cordycepin. *Biochim and Biophys. Acta.* **80**: 640-647.
- Seaver, F.J. 1911. The Hypocreales of North America-IV. *Mycologia* **3**: 207-230.
- Sung, J.M., Kim, C.H., Yang, K.J., Lee, H.K. and Kim, Y.S. 1993. Studies on distribution and utilization of *Cordyceps militaris* and *C. nutans*. *Kor. J. Mycol.* **21**: 94-105.
- 박완희. 1991. 한국의 버섯. pp 504. 교학사.
- 이지열, 홍순우. 韓國動物植物圖鑑 高等균류편(버섯류). 국정교과서주식회사. 서울 **28**: 194-199.
- 神戸中醫學研究會. 1983. 漢藥 臨床 應用. 醫齒漢出版株式會社. 東京. 昭和. **58**: 326-327.
- 清水 大典. 1981. 冬蟲夏草. 東京. 昭和 56.
- 예운운. 1985. 冬蟲夏草及人工蟲草菌絲研究概況. 海軍醫學研究所. **10**(12): 51-54.
- 小林義雄. 清水 大典. 1983. 冬蟲夏草圖鑑. 保育社. 280 pp.
- 有賀久雄. 1979. 昆蟲病理凡論. 養賢堂. 東京 487 pp.