

Paecilomyces japonica 인공 자실체 형성

최인영* · 최정식 · 이왕휴¹

전라북도 농업기술원, ¹전북대학교 농생물학과

The Production of Artificial Fruiting Body of *Paecilomyces japonica*

In-Young Choi*, Joung-Sik Choi and Wang-Hyu Lee¹

Chonbuk-do ARES, Iksan 570-140, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to investigate the morphological characteristics and cultural conditions for artificial fruiting body(synnemata) production of *Paecilomyces japonica*. In the morphological characteristics of *P. japonica*, the size of its conidia was ranged from 5.0~1.5 to 7.9~2.4 μm . The artificial fruiting body showed yellow in color, shape was confirmed ellipsoidal or obovoid type, and the length was 50.6~104.5 mm. The mycelial growth on the PDA medium treated with pH7, at 25°C was superior to that of other treatments. The formation period of an artificial fruiting body of *P. japonica* treated with polypropylene and glass bottle culture was 30 days and 50 days, respectively. The length and number of fruiting body was longer and higher in the polypropylene bottle culture than those of the glass bottle culture. As the results, the artificial fruiting body production in the polypropylene bottle increased 1.2g per bottle compared to that of the glass bottle. It also increased in 100~400 lx illumination, whereas the elongation of synnemata, pinheading and fruiting body growth were inhibited by continuous use of 900 lx illumination. The results of these experiment indicated that fruiting body formation seemed to be lower as the light intensity increased. The fruiting body formation was also dependent on the light color. There was a higher incidence in red color light and fluorescent light treatment than that of incandescent and blue color light. The fruiting body of the naked barley medium had so much better growth compared to other media that it would be able to use for its production. The growth of fruiting body was affected by CO₂ concentration. It increased after putting the lid on the bottle.

KEYWORDS: *Paecilomyces japonica*, Artificial fruiting body

곤충의 애벌레, 번데기, 성충에 침입하여 곤충의 몸을 기주로 자실체를 형성하는 곤충기생균의 일종인 동충하초는 접합균강의 Entomophthorales목, 자낭균강의 Clavicipitales목, Laboulbeniales목, 불완전균강의 Moniliales목에 포함되며, 전세계적으로 800여종이 알려져 있고, 우리나라의 경우 70여종이 채집되어 보고된 바 있다(성 등, 1998; Sung et al., 1993; Sung et al., 1995; Sung et al., 1998). 본래 동충하초는 박쥐나방의 유충에서 나온 *Cordyceps sinensis*를 지칭하는 것이나 지금은 곤충뿐만 아니라 거미, 균류 등에서 나온 자실체를 총칭하는 말로 서양에서는 “Vegetable Wasps and Plant Worms” 또는 *Cordyceps*로 표기하며, 우리나라와 일본의 경우는 “동충하초(冬蟲夏草)”, 티벳지방에서는 “아사군바(Yaartsa Gunbu)”로 네팔지방에서는 “가다비라”로 불리지고 있다(김, 1998).

중국의 경우 동충하초속균은 예로부터 불로장생, 강정 강장비약으로 사용되어 왔으며(Sung et al., 1995), 신장과 폐 질환 치료에 효과가 있는 것으로 본초종신에 기록되어 있을 뿐만 아니라, 본초강목에는 허약체질을 튼튼히 하고 면

역력을 높이는 효과가 있다고 하였다. 중국대사전에도 동충하초는 달고 온화하여 폐를 튼튼히 하여 호흡기 질환에 좋다고 기록되어 있다(조 등, 1998; 김 등 1998).

최근에 Kinjo 등(1996)은 *Cordyceps militaris*의 배양균사로부터 추출한 물질이 생리활성작용을 하며, *Cordyceps* sp., *C. cicadae*, *C. ophioglossoides*로부터 추출한 polysaccharides에서 항종양 치료효과 있다고 보고했다. *Cordyceps* 속균의 인공자실체 형성에 대해서 Pen(1995)은 쌀이나, 옥수수를 이용하여 *C. militaris*의 인공자실체를 형성했다고 보고했으며, Harada 등(1995)은 Lepidoptera의 애벌레로 부터 분리한 *C. militaris*의 균주를 *Mamestra brassicae*의 번데기에 접종하여 자낭, 자낭포자 및 자낭각이 있는 자실체를 유도하였으며, 자실체에 형성된 자낭포자는 해충방제용으로 사용이 가능하리라고 보고했다.

본 실험에 사용한 *Paecilomyces japonica*는 야생에서 채집시 인시목의 유충이나 번데기에서 발생되고, 자실체는 2~8분 정도의 나뭇가지 모양으로 끝 부분은 산호모양이며, 흰색의 분생포자가 무수히 날린다. 그 크기는 2.0~12.8 mm이며, 1~수십 개로 끝에서 분지 한다. 분생포자를 벙쳐 주는 병은 5.2~50.0 × 0.5~2.8 mm 내외로 황색을 띠며, 기

*Corresponding author

주를 판별할 수 없는 다양한 곤충의 유충, 번데기, 성충 등에 부착되어 있다(Sung et al., 1993; Sung et al., 1995).

눈꽃동충하초 인공배양에 관하여 Yamanaka 등(1988)은 곡물과 누에 번데기를 조합하여 인공자실체를 형성시켰으며, 인공자실체 형성에 영향을 미치는 CO_2 농도, 광량 등에 관하여 보고했다. 또한 Ban 등(1998)은 눈꽃동충하초 자실체 유도를 위한 배양조건으로 누에 번데기를 균현탁액과 gelatin을 혼합한 용액을 접종원으로 사용하면 자실체 생육이 우수하다고 보고했다. 본 연구에서는 눈꽃동충하초(*P. japonica*)의 인공자실체를 형성하는 방법에 관하여 몇 가지 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시균의 특징

눈꽃동충하초 인공재배를 위해 사용한 균주는 *Paecilomyces japonica*(KEFC-C660)로 1998년 봄에 강원대학교 동충하초은행으로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 균의 형태적 특징은 PDA배지에서 분양균주의 균총을 접종한 8일후 균총의 형태적 특징을 현미경하에서 관찰하였으며, 인공자실체는 발이된 자실체를 SEM(Scanning Electronic Microscope)으로 관찰하였다. SEM의 관찰을 위해서는 2% glutaraldehyde, 2% osmium tetroxide에 각각 2시간씩 전·후 고정한 다음 phosphate로 수세하였다. 탈수는 ethanol 과정에 20분씩 처리하였고, 탈수된 시료는 isoamyl acetate에 overnight하였으며, critical point dryer로 건조시키고, gold coating 후 SEM(JSM-5410LV)으로 관찰하였다. 균의 배양적 특징으로는 배양온도에 따른 균사생육정도를 알아보기로 *P. japonica*를 PDA배지에 접종한 후 5~35°C 범위에서 5°C 간격으로 균사생장 길이를 측정하였다. 배양 pH에 따른 균사생육 측정방법으로는 PDA 배지를 조제한 후 121°C, 1.2 kg/cm²로 30분간 멸균한 다음 60°C로 식었을 때, HCl, NaOH로 pH를 4~9로 조절한 후 균총을 접종하고, 8일째에 균사생육 진전도를 측정하였다. *P. japonica* 균사배양을 위한 종균제조 방법으로는 삼각플라스크에 PDB(Potato Dextrose Broth)를 200 ml씩 제조한 후, PDA에서 배양된 균사의 선단부 균총을 접종하였다. 균총은 cork-borer No.2로 편침하여 각각 3개씩 접종하였으며, 25±1°C, 150 rpm으로 조절된 진탕 배양기에서 5일간 배양한 후 접종원으로 사용하였다.

자실체 발이 및 생육

*P. japonica*의 인공자실체를 형성하고자 배양병에 배지를 넣고 121°C, 1.5 kg/cm²에서 20분간 멸균한 다음 PDB배지에서 5일 배양된 액체종균을 10 ml씩 접종한 후 25°C 배양실에서 균사배양 하였으며, 각 처리에 따른 배양일수와 생육일수를 조사하였다. 자실체 생육상황으로는 수확 직후 대길이, 대직경, 발이된 자실체수, 자실체 수량 및 전체수량을

측정하였으며, 전체수량은 자실체를 포함한 배지무게로 계산하였다.

배양병 종류에 따른 생육

*P. japonica*의 인공자실체 발이 및 생육을 위한 적정 재배용기를 선발하고자 배양병 바닥면적이 동일한 용기로써 900 ml 사각 유리배양병과 900 ml PP(polypropylene) 배양병을 사용하였으며, 또한 상자재배 방법과도 비교하였다. 재배법으로는 각각의 배양용기 안에 냉동된 누에 번데기를 40g씩 넣고 수분을 70%로 조절하여 멸균한 다음 제조된 종균을 접종하였으며, 25°C에서 암배양한 후 배양일수를 조사하였다. 발이 및 생육조건은 19±1°C, 100 lx 생육실에서 90±5% 상대습도를 유지시켜 주며, 각 처리별 생육일수와 수량 및 자실체 생육을 조사하였다.

조명도에 따른 생육

*P. japonica*의 인공자실체 발이 및 생육에 적합한 적정 조명도를 설정하고, 빛의 밝기가 인공자실체 생육에 미치는 영향을 알아보기로, 900 ml 유리배양병에 누에 번데기를 입병하고 종균을 접종하였으며, 배양완성직후 발이실로 옮겨 0, 100, 400, 700, 900, 2500 lx 빛을 조사하였다. 빛의 밝기는 형광등을 사용하였으며, 유리배양병 표면에 조사되는 빛의 양을 조도계(model: Topcon IM-2D)로 측정하였다. 생육상황은 발이후 35일째에 조사하였으며, 조명도 차이에 따라 자실체 끝부분이 갈라지기 때문에, 자실체 분화율은 자실체 끝부분이 수지형으로 갈라지며, 분생포자를 형성하는 자실체수를 전체 자실체수의 비율로 계산하였다.

광종류에 따른 생육

광종류가 *P. japonica*의 인공자실체 생육 및 상품성에 미치는 영향을 조사하기 위한 방법으로 유리배양병에 누에 번데기를 입병한 후 종균접종하고 배양 완성되면 광종류별로 처리된 생육실에서 자실체의 발이 및 생육을 유도하였다. 광종류로는 형광등, 백열등, 적색등, 청색등을 사용하였으며, 조명도는 100 lx가 되도록 하였다.

배지종류에 따른 생육

P. japonica 생육에 적합한 누에 번데기 대체배지로 곡물배지를 선발하고자 현미, 쌀보리, 옥수수 등의 배지를 이용하여 PP배양병에서 생육하였으며, 재배법은 배양병 종류에 따른 생육에 준하였다.

CO_2 농도에 따른 생육

CO_2 농도가 *P. japonica* 인공자실체의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 PP배양병과 누에 번데기를 이용하였으며, CO_2 농도 차이는 배양병 마개의 개폐유무로 조절하였고, 생육중의 CO_2 농도차이를 CO_2 meter(model: TOA CGP-1)로 측정하였다. 배양병 마개 개폐시기는 배양완성 후 자실체 발이때 부터 각각 처리하였다. 생육조건은 상기

방법에 준하였다.

결과 및 고찰

*P. japonica*의 균학적 특징

*P. japonica*의 외부 형태적 모양을 현미경으로 관찰한 결과 PDA에서 배양한 *P. japonica* 균주와 인공자실체에 형성된 포자의 모양은 모두 ellipsoidal, obovoid이며, 길이는 각각 $5.0\sim7.9\times1.5\sim2.4\text{ }\mu\text{m}$ 와 $3.5\sim6.0\times1.5\sim2.5\text{ }\mu\text{m}$ 이었고, 균사는 직경이 $2\sim4\text{ }\mu\text{m}$ 로 수지형이었다. 또한 인공자실체의 길이는 $50.6\sim104.5\text{ mm}$ 이며, 직경은 $0.73\sim1.06\text{ mm}$ 로 황색을 띠었다(Table 1, Fig. 1). *P. japonica*의 배양적 특징으로는 PDA배지에 *P. japonica*의 균총을 접종하였을 때, 불규칙한 비로이드형의 흰색 균총을 형성하며, $8.0\text{ mm}/8\text{ 일}$ 균사생장길이를 나타냈다. 또한 배양온도와 pH별로 균사생육 진전도를 8일 후에 조사하였을 때, 5°C 와 35°C 에서는 균사가 생육되지 않았으나 $20\sim30^{\circ}\text{C}$ 범위에서는 양호한 균사생육을 보였으며, 25°C 에서 가장 균사생육이 왕성하였다(Fig. 2). pH에 따라서는 pH 6~8범위에서 양호한 균사생육을 보였으며, pH 7에서 최고의 균사생육을 나타냈다(Fig. 3). Yamanaka 등(1998)은 *Isaria japonica*의 생육온도는 $18\sim28^{\circ}\text{C}$, 최적온도는 24°C 로 27°C 이상에서는 균사생육이 현저히 억제된다고 보고했으며, 균사생육 pH는 7.0으로 6.0이 하에서는 균사생육이 억제된다고 보고한 내용과 같은 경향

Table 1. Comparison of morphological characteristics of *P. japonica* at artificial culture of its fruiting body^a

Morphological characteristics	<i>P. japonica</i>
Artificial fruiting body	
Size	$50.6\sim114.5\text{ mm}$
Width	$0.7\sim1.1\text{ mm}$
Size of conidia part	$5.0\sim30.0\text{ mm}$
Size of synnemata	$50.6\sim104.5\text{ mm}$
Color	yellow
Anamorph	Artificial fruiting body
Conidia	Culture of <i>P. japonica</i> (KEFC-C660)
Shape	ellipsoidal, obovoid
Color	white, clearness
Size	$3.5\sim6.0\times1.5\sim2.5\text{ }\mu\text{m}$
Form	solo or chain 1~10
L : W ^b	5 : 2
Hyphae	tree branches
Shape	
Width	$2\sim4\text{ }\mu\text{m}$

^aThe isolates were incubated at 25°C .

^bL; length, W; width.

을 보였다. 또한 Ban 등(1998)도 *I. japonica*는 $23\sim27^{\circ}\text{C}$ 범위에서 좋은 생장을 나타냈으며, 최적온도는 25°C , pH는 7.0으로 보고하였다.

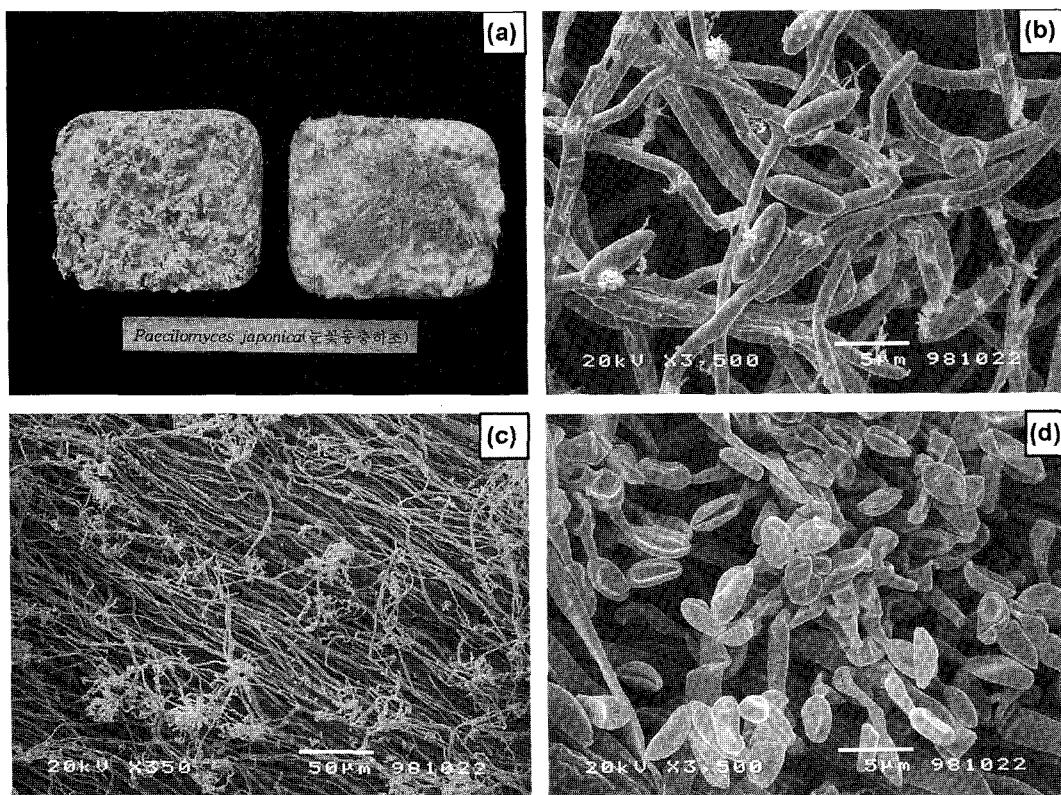


Fig. 1. A. Artificial fruiting body of *P. japonica*, B. Scanning electron microscope of *P. japonica* on PDA medium, C and D. Scanning electron microscope of *P. japonica* on artificial fruiting body.

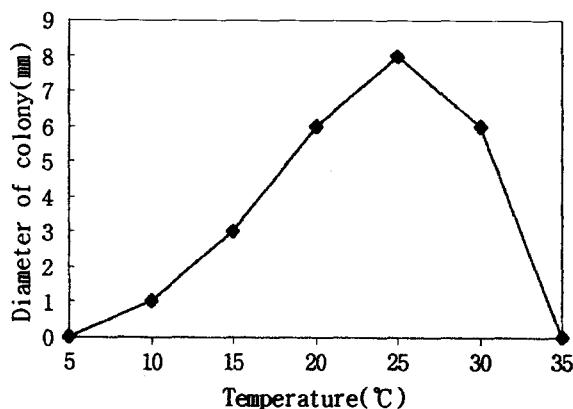


Fig. 2. Influence of temperature on mycelial growth of *P. japonica*. Diameter of colony was investigated on PDA medium after 8 days incubation.

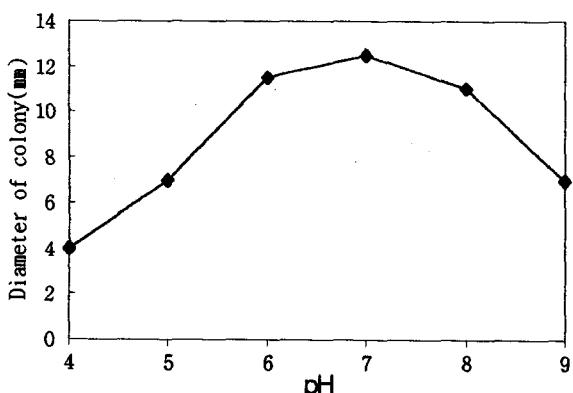


Fig. 3. Influence of pH on PDA medium on mycelial growth of *P. japonica*. Diameter of colony was investigated on PDA after 8 days incubation.

배양병 종류에 따른 생육

*P. japonica*의 생육단축 및 인공자실체 형성에 적합한 적정용기를 선발하고자 유리병과 PP배양병 및 상자를 사용하여 인공재배하였을 때, 배양완성일수는 유리배양병과 PP배양병에서 모두 9일이 소요되었으며, 초발이일수 및 생육일수는 유리배양병 보다 PP배양병에서 더 빠른 생육을 보였다. 종균 접종시부터 수확시까지 총재배일수는 유리배양병은 50일이 소요된 반면, PP배양병은 30일이 소요되어 20일의 생육단축 효과를 가져왔다(Table 2). 이는 *P. japonica*의 자실체 생육일수가 배양용기안에 투과되는 빛의 조명도 및 광종류에 영향을 받은 것으로 유리배양병은 밝은 빛이 적적 투과되지만 PP배양병은 빛이 불투명으로 투과되었기 때문인 것으로 생각된다. 눈꽃동충하초 생육일수를 기초로 각각의 용기별로 재배시설내에서 년간회전수를 계산하면, 유리배양병은 36일로 년간 10회 회전이 가능하며, PP배양병은 19일로 년간 19회가 가능하여 유리배양병 대비 PP배양병은 47.0%의 생산비 절감효과를 가져올 수 있다. 용기 가격에서도 900 ml 유리배양병은 600원이지만, 900 ml PP배양병은 150원으로 75.0% 용기 가격 절감효과가 있다.

재배용기별 자실체 생육상황을 보면 유리배양병은 자실체 수량이 17.3g/병으로 전체수량의 32.9%를 차지하지만, PP배양병은 18.5g/병으로 전체수량의 33.5%에 해당하였다. 또한 대길이도 PP배양병에서 4.2 mm길었으며, 자실체 발이갯수도 45개/병 많아 눈꽃동충하초 재배를 위해서는 PP배양병이 적정용기라고 생각된다(Table 3). 상자재배는 총재배일수가 25일로 용기재배에 비해 생육일수가 가장 짧았으나 생육상황이 용기재배에 비해 저조할 뿐만 아니라 외부에 노출되어 있기 때문에 접균에 쉽게 오염되어(오염률

Table 2. Comparison of growing days in different culture bottle of *P. japonica*

Culture bottle	Culture days (days)	Pinheading days (days)	Growing days (days)	Total culture day (days)
Glass bottle (900 ml)	9	5	36	50
Polypropylene bottle (900 ml)	9	2	19	30
Polypropylene box (40×40×20 cm)	8	2	15	25

Table 3. The effects of different culture bottle on the fruiting body of *P. japonica*

Culture bottle	Synnemata length (mm)	Synnemata diameter (mm)	Fruiting body number (no.)	Fruiting body yield(g/btl.)(A)	Total yield (g/btl.)(B)	A/B(%)	Fruiting body formation ^c
Glass bottle	80.0	0.81	584.4	17.3 a	52.8	32.9	++
Polypropylene bottle	84.2	0.73	629.5	18.5 a ^d	55.2	33.5	+++
Polypropylene box	30.4	0.84	784.5	9.7 ^e	53.4	18.2	+

P-value —————

0.4751

*Mycelial growth of *P. japonica* was at 25±1°C, fruiting body formation was at 19±1°C, light intensity was 100 lx.

^aMedium of fruiting body formation was silkworm pupa.

^b+, slightly fruiting body formation, ++; moderately fruiting body formation, +++; greatly fruiting body formation.

^cValues followed by the same letter do not significantly differ at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

^dFruiting body yield of polypropylene box was g/63.6 cm², inside area of polypropylene bottle.

5~30%) 생육에 피해를 받기 때문에 재배방법으로는 적절치 못하다고 생각된다(Table 2, 3).

조명도에 따른 생육

눈꽃동충하초에 대한 적정 조명도의 기준설정이 요구되며, 조명도가 *P. japonica*의 자실체 발이와 생육에 미치는 영향을 구명하고자 유리배양병을 이용하여 누에 번데기 배지에 종균을 접종한 후 배양이 완성되면 각처리별로 빛을 조사하였다. 0 lx와 700 lx, 900 lx, 2500 lx 이상에서 발이 및 생육을 유도하였을 경우, 자실체 발이 개수가 500개/병 이하이며, 전체수량 대비 자실체 수량도 14.02~26.44% 수준이나 100과 400 lx에서는 29.9% 이상으로 자실체 생육상황이 우수하였으며, 대길이 및 대직경도 양호하여 상품성이 우수하였다(Table 4). 빛의 조명도에 따른 자실체 분화율은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 암 상태에서 생육시 3.1%에 불과하였으나, 2500 lx에서는 60.5%로 빛의 조명도가 밝을수록 높아졌다. 이는 Yamanaka 등(1998)이 낮은 조명도는 자실체의 직경을 줍게 하며, 분화수를 적게 만드는 반면, 높은 조명도는 자실체 직경을 가늘게 하면서 끝이 분화되는 것을 조장한다는 내용과 같은 경향을 보였다.

광종류에 따른 생육

광종류에 따른 *P. japonica*의 인공 자실체 생육상황 조사를 위해서 유리배양병에 형광등외 3종의 광을 조사한 결과

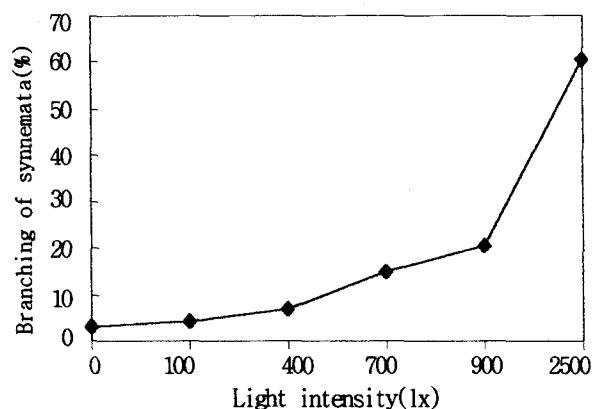


Fig. 4. The influence of light intensity on corally branched on the head of synnemata of *P. japonica*.

적색등>형광등>백열등>청색등 순으로 자실체 수량이 높았으며, 전체수량 대비 자실체 수량은 형광등이 백열등에 비해 12.3% 높았다. 따라서 눈꽃동충하초 생육을 위한 광의 종류로는 형광등과 적색등이 적당하다고 생각되며, 형광등과 백열등을 비교해 볼 때, 눈꽃동충하초의 생육을 위해서는 백열등처럼 직접 광이 조사되는 것보다 형광등과 같이 반투명으로 광이 조사될 때, 생육상황이 우수했다. 이는 배양병 종류에 따른 생육상황에서 투명한 유리배양병 보다 불투명한 PP배양병에서의 생육이 우수한 것과 일치하는 경향이었다(Table 5).

Table 4. The effects of different growing light intensity on the fruiting body of *P. japonica*

Light intensity(lx) ^c	Synnemata length (mm)	Synnemata diameter (mm)	Fruiting body number (no.)	Fruiting body yield (g/btl.)(A)	Total yield (g/btl.)(B)	A/B(%)	Fruiting body formation ^d
0	14.47	1.06	206.4	7.27 d ^e	51.84	14.02	-
100	80.03	0.91	584.4	17.34 a	52.76	32.87	++
400	66.01	0.90	637.2	18.10 a	60.51	29.91	++
700	74.84	0.87	383.8	13.12 b	49.63	26.44	++
900	50.60	0.80	429.0	10.60 c	55.60	19.00	+
2500	44.70	0.90	199.8	10.42 c	53.10	19.62	+

P-value _____

0.0001

*Mycelial growth of *P. japonica* was at 25±1°C, fruiting body formation was at 19±1°C, culture bottle was glass bottle (900 ml).

*Medium of fruiting body formation was silkworm pupa.

^cThe light intensity of surface in culture bottle.

^d++; slightly fruiting body formation, ++; moderately fruiting body formation, +++; greatly fruiting body formation.

^eValues followed by the same letter do not significantly differ at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

Table 5. The effects of different growing illumination on the fruiting body of *P. japonica*

Illumination	Synnemata length (mm)	Synnemata diameter (mm)	Fruiting body number (no.)	Fruiting body yield (g/btl.)(A)	Total yield (g/btl.)(B)	A/B(%)
Fluorescent light	80.0	0.81	584.8	17.3 a ^c	52.8	32.9
Incandescent light	50.0	0.65	715.4	13.0 b	63.0	20.6
Red color light	97.4	0.71	806.8	17.4 a	61.8	28.2
Blue color light	65.5	0.55	1107.6	12.6 b	59.9	21.0

P-value _____

0.0016

*Mycelial growth of *P. japonica* was at 25±1°C, fruiting body formation was at 19±1°C, light intensity was 100 lx, culture bottle was glass bottle (900 ml).

*Medium of fruiting body formation was silkworm pupa.

^cValues followed by the same letter do not significantly differ at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

배지 종류에 따른 생육

*P. japonica*의 자실체 형성 및 생육에 적합한 배지를 선별하고자 누에 번데기와 3종류의 곡물배지를 사용하여 생육일수 및 생육상황을 조사한 결과, 총재배일수는 누에 번데기 배지가 30일로 가장 짧았으며, 전체수량 대비 자실체 수량도 28.4%로 가장 높았다. 그러나 곡물배지의 경우 누에 번데기 배지에 비해 배양일수 및 생육일수가 2~3일 길었다 (Table 6). 이는 누에 번데기 보다 곡물배지가 공극이 조밀하여 *P. japonica*의 군사생육에 불리한 조건이라 생각된다. 그러나 현미, 쌀보리배지의 경우는 배양이 완성되기도 전에 자실체가 발이되어 나오므로써 초발이일수가 가장 짧아 *P. japonica*의 자실체 발이를 유도하기 위해서는 현미나 쌀보리와 같은 탄소원 성분이 필요한 것으로 생각된다. 배지종류에 따른 자실체 수량은 쌀보리 배지에서 누에 번데기 배지에 비해 2.7g/병 더 높은 수량을 나타냈다(Table 7). 또한 쌀보리 배지의 경우 배지 안에 수분을 생육후기 까지 함유하고 있기 때문에 상품성 면에서도 아주 우수하였다. 따라서 누에 번데기 대체배지로서 저가인 쌀보리나 현미 등도 눈꽃동충하초 재배를 위해서는 많이 이용되리라 생각되며,

Yamanaka 등(1998)^a 보릿가루와 누에 번데기 가루를 혼합한 배지에서 가장 수량이 높았다고 보고한 내용과 같은 결과를 얻었다. 또한 Sung 등(1993)도 *Cordyceps militaris*의 인공배양을 위한 배지재료로 누에 번데기, 쌀가루, 밀가루 등을 사용하면 군사배양이 좋으며, 자실체가 형성된다고 보고했다.

CO₂에 따른 생육

생육중의 CO₂ 농도가 *P. japonica*의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위해 유리배양병에서 *P. japonica*의 군사배양 하여 발이된 후 배양병 마개를 열고 생육시켰을 때와 닫고 생육을 유도하였을 때의 생육상황을 조사한 결과 Table 8과 같다. 배양병 마개는 닫았을 때는 열었을 때 보다 대길이가 0.9배 길어졌으며, 자실체 수량도 5.1g/병 증가하여 전체수량 대비 자실체 수량이 5.8% 높았다. 또한 자실체 분화율은 열었을 때는 47.2%으로 닫았을 때 보다 30.0% 높았는데, 이는 CO₂ 농도가 높을수록 자실체의 길이가 길어지며, 자실체의 끝이 좀처럼 갈라지지 않는다고 Yamanaka 등(1998)이 보고한 내용과 같은 결과이다.

Table 6. Comparison of growing days in different culture medium of *P. japonica*

Medium	Culture days (days)	Pinheading days (days)	Growing days (days)	Total culture days (days)
Silkworm pupa	9	2	19	30
Naked barley	13	before 1	21	33
Hulled rice	13	before 2	21	32
Corn	11	7	26	44

Table 7. The effects of different culture medium on the fruiting body of *P. japonica*

Medium	Synnemata length (mm)	Synnemata diameter (mm)	Fruiting body number (no.)	Fruiting body yield (g/btl.)(A)	Total yield (g/btl.)(B)	A/B(%)	Fruiting body formation ^c
Silkworm pupa	84.2	0.73	629.5	18.5 b ^d	65.2	28.4	++
Naked barley	70.5	0.87	569.0	21.3 a	90.9	23.4	+++
Hulled rice	78.8	1.06	400.9	11.7 c	69.1	21.0	++
Corn	51.7	0.79	262.0	3.4 d	43.6	7.9	-

P-value _____

0.0001

*Mycelial growth of *P. japonica* was at 25±1°C, fruiting body formation was at 19±1°C, light intensity was 100 lx, culture bottle was polypropylene bottle (900 ml).

^c +; slightly fruiting body formation, ++; moderately fruiting body formation, +++; greatly fruiting body formation.

^d Values followed by the same letter do not significantly differ at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

Table 8. The effects of different CO₂ concentration on the fruiting body of *P. japonica*

CO ₂ Concentration (%)	Synnemata length (mm)	Synnemata diameter (mm)	Fruiting body number (no.)	Fruiting body yield (g/btl.)(A)	Total yield (g/btl.)(B)	A/B(%)	Branching of synnemata(%)
Open (0.1 <)	34.2	0.77	505.2	6.1 b ^c	39.7	15.3	47.2
Closed (> 1.0)	66.0	0.73	610.2	11.2 a	53.2	21.1	17.2

P-value _____

0.0013

*Mycelial growth of *P. japonica* was at 25±1°C, fruiting body formation was at 19±1°C, light intensity was 100 lx, culture bottle was glass bottle (900 ml).

^c Medium of fruiting body formation was silkworm pupa.

^d Values followed by the same letter do not significantly differ at p=0.05 according to Duncan's multiple range test.

요 약

*Paecilomyces japonica*의 형태적 특징과 인공자실체 형성 방법에 관하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 형태적 특징으로 포자크기는 $5.0\sim7.9 \times 1.5\sim2.4 \mu\text{m}$ 이며, 모양은 ellipsoidal, obovoid를 나타냈고, 인공자실체는 황색, 크기는 50.6~104.5 mm이었다. 균사생육은 pH7, 25°C 조건의 PDA 배양이 가장 양호하였다. 배양병 종류에 따른 *P. japonica*의 배양 및 생육일수는 유리배양병이 50일이 소요되었으나, PP배양병은 30일이었으며, 자실체 생육은 PP배양병에서 자실체 길이가 길어지고, 발이 개수도 많아 1.2g/병 증수 효과가 있었다. 조명도에 따른 결과로는 100~400 lx에서 자실체 생육이 우수하였으며, 특히 100 lx에서 전체수량 대비 자실체 수량이 가장 높은 32.87%로 0 lx에 비해 18.9% 높았다. 또한 빛의 강도가 높을수록 자실체의 분화율이 높았으며, 2500 lx에서는 60.5%의 자실체 분화율을 나타냈다. 광종류에 따른 자실체 생육은 적색등>형광등>백열등>청색 등 순이었으며, 자실체 생육을 위한 적정 배지로는 누에 번데기와 곡물배지를 비교한 바 곡물배지 중 우수하였다. CO₂ 농도가 자실체 생육에 미치는 영향은 배양병마개를 닫고 생육하였을 때, 자실체 수량이 5.1g/병이 증수되었으며, 전체수량 대비 자실체 수량도 5.8% 증가되었다.

참고문헌

- 김강권. 1998. 버섯 재배기술(표준영농교본-92). 농촌진흥청.
pp 205-222.
성재모, 유영복, 차동렬. 1998. 버섯학. 교학사. pp 556-588.
조덕현, 임웅규, 이재일. 1998. 암에 도전하는 동충하초. 진솔.

- pp19-133.
Ban, K. W., Park, D. K., Shim J. O., Lee, Y. S., Park, C. H., Lee, J. Y., Lee, T. S., Lee, S. S., and Lee, M. W. 1988. Cultural characteristics for inducing fruiting-body of *Isaria japonica*. *Kor. J. Mycol.* **26**(3): 380-386.
Harada, Y., Akiyama, N., Yamamoto, K., and Shirota, Y. 1995. Production of *Cordyceps militaris* fruit body on artificially inoculated pupae of *Mamestra brassicae* in the laboratory. *Trans. Mycol. Soc. Japan* **36**: 67-72.
Kinjo, N., Kaizu, Y., Taketomo, N., and Tsunoo, A. 1996. Physiological activities of the extracts from cultured mycelial of *Cordyceps militaris*(Vuill.). *Fr. Bull. Gen. Educ. Tokyo Med. Dent. Univ.* **26**: 7-14.
Pen, X. 1995. The cultivation of *Cordyceps militaris* fruitbody on artificial media and the determination of SOD activity. *Acta Edulis Fungi* **2**: 25-28. (In Chinese)
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**(2): 94-105.
Sung, J. M., Lee, H. K., and Yoo, K. J. 1995. Classification of *Cordyceps* spp. by morphological characteristic and protein banding pattern. *Kor. J. Mycol.* **23**(1): 92-104.
Sung, J. M., Lee, H. K., Choi, Y. S., Kim, Y. Y., Kim, S. H., and Sung, G. H. 1997. Distribution and taxonomy of entomopathogenic fungal species form Korea. *Kor. J. Mycol.* **25**(4): 239-252.
Sung, J. M., Lee, H. K., Yoo, Y. J., Choi, Y. S., Kim, S. H., Kim, Y. O., and Sung, G. H. 1998. Classification of *Cordyceps* species based on protein banding pattern. *Kor. J. Mycol.* **26**(1): 1-7.
Yamanaka, K., Inatomi, S., and Hanaoka, M. 1998. Cultivation characteristics of *Isaria japonica*. *Mycoscience* **39**: 43-48.