

## 야생동충하초로부터 우량균주선발 (I)

방극소, 조덕현  
우석대학교 이공대학 생명과학부 생물학과

## Excellent Strains Selection from Wild *Cordyceps* spp.( I )

Keuk-So Pang and Duck-Hyun Cho

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

### ABSTRACT

Many *Cordyceps* spp were collected for excellent strains selection at Mts. Moak, Younsuk and Daea-ree herbarium near Wanju-kun from mid May to October, 1999.

They were identified as the resulting 2 genera and 5 species, 10 strains were got through 5 species culture. Among them 4 species used for induction of artificial fruiting body and 6 strains of them were selected to excellent strains: *Cordyceps militaris* (99-0007), *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003), *Cordyceps soborifera* (99-0008), *Cordyceps kanzashiana*(99-0009).

**Key words** :*Isaria japonica*, *Cordyceps militaris*, *C. sp.*, *C. soborifera*, *C. kanzashiana*, strains

### 서 언

시대의 흐름속에서 균류는 일반적으로 알고있는 자연의 분해자로서의 역할뿐만 아니라 여러 가지 자원으로서 개발되고 있다. 그 중에서도 동충하초는 오래전부터 자실체의 발생면에서나 효능에 있어 신비로운 버섯으로 각광 받고 있다. 하지만 자연산은 극히 제한되어있고 채집에 어려움이 많다.

동충하초에 대해 과거에 채집과 이들의 분포, 분류적인 측면(Sung et al., 1997 ; Daisuku Shimizu,1994), 자실체의 유도에 관한 측면에서의 그 재배 환경이나 조건(Choi et al., 1999 ; Sung et al.,1999 ; Baith et

al.,1968 ;Lee et al., 1999), 그리고 이들의 산업적 이용에 관한 연구가 다양하게 전개되었었다. 하지만 아직도 대량재배의 개발에 있어 미진한 부분이 많아 그 이용에 상당한 어려움을 겪고 있는 것이 사실이다. 그 중에서도 가장 미진한 부분은 대량재배에 있어서의 균주의 불량과 우량균주의 부족이다. 따라서 이를 재배하고 있는 농가들은 고전을 면치 못하고 있다.

동충하초는 현재 우리 나라에만 약 78종이 보고되고 있으나 실제 개발된 동충하초는 소수에 지나지 않아서 식품이나 의약품등 신물질 개발에 있어서 현재의 소수의 동충하초를 가지고는 한계에 부딪히게

Corresponding author: 방 극 소, 우 565-701 전북 완주군 삼례읍 후정리 490 우석대학교 생물학과  
Email : Chodh@core. woosuk . ac. kr homepage:http//info.kordic.re.kr:8080/~mushroom

될 것이다. 따라서 동충하초의 다양한 개발은 시대적인 요청이라 할 수 있다. 본 연구는 우량균주의 선발에 의한 신물질 개발과 동충하초 재배 농가에 도움을 주고 나아가 다른 산업분야에 응용이 되도록 하기 위한 것이다.

동충하초의 우량균주를 선발하기 위하여 1999년 5월 중순부터 1999년 10월까지 전라북도 완주군 일대의 모악산, 대야리 수목원, 그리고 연석산 일대의 해발 약400m의 계곡부근의 습하고 그늘진 곳에서 20여종을 채집하였다. 그 가운데서 2속, 5종의 총 10 균주를 분리 동정하였으며 이중 자실체 유도에 9균주를 이용하였다

본 연구에서 자실체 유도에 쓰인 공시균주는 *Cordyceps militaris* (99-0007, 99-0004) 2균주, *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003) 3균주, *Cordyceps sp* (99-0006) 1균주, *C. soborifera* (99-0008) 1균주, *C. kanzashiana* (99-0009) 1균주를 이용하였다. 이 중 *C. militaris* (99-0007) 1균주, *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003) 3균주, *Cordyceps soborifera* (99-0008) 1균주, *C. kanzashiana* (99-0009) 1균주는 이용가치가 충분히 있다고 사료되어 우량균주로 선발하였다. 우량균주의 선발에 있어서의 기준은 균사배양에 있어서 활력과 우량한 자실체가 유도되었는가에 두었다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1)공시균주

야생에서 채집한 균주 중 자실체유도에는 *Cordyceps militaris* (99-0007, 99-0004) 2균주, *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003) 3균주, *Cordyceps sp* (99-0006) 1균주, *C. sobolifera*(99-0008) 1균주, *C. kanzashiana* (99-0009) 1균주를 공시균주로 이용하였다.

#### 2)공시균주의 분리방법

각 균주의 특성을 고려하여 99-0001, 99-0002, 99-0003, 99-0006 은 분생포자를 Petri-dish에 분주한 PDA(Potato Dextrose Agar)배지상에 떨어뜨렸고, 99-

0004, 99-0007, 99-0008, 99-0009는 자실체 자체를 PDA배지가 들어있는 Petri-dish의 뚜껑에 tape로 고정시켜서 배지상에 자낭포자가 떨어지도록 하거나 자실체의 일부조직을 분리하여 PDA배지상에 치상하여 이를 25±1℃의 항온기내에서 배양하였고, 이후 이들을 순수분리하여 균주로 보관하였다.

### 2. 방법

#### 1) 균주의 고체배지상의 특징시험

PDA(Ptato Dextrous Agar)평판배지 중앙에 10mm cork borer로 절취한 균총 한 절편을 접종한 후 균사생장을 Check 하였고 균사 활착서의 여러 특징들을 관찰하였다.

#### 2) 균주의 액체종균상의 특징시험

1 l 용 내열성 플라스틱 종균배양병에 각각 500ml 씩의 PDB(Potato Dextrous Brouth)배지를 분주한 후 여기에 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지상에서 각각 1주일 배양한 균주를 10mm cork borer를 이용하여 중심원상의 가장 바깥쪽 균총절편 3개씩을 절취하여 각각 PDB배지에 넣고서 1주일간 150 rpm으로 진탕 배양한 후 이의 특징을 살펴보았다(배양온도25±1℃).

#### 3) 자실체 형성의 균주의 특징

인공 자실체 형성유도를 목적으로 하는 이 시험에는 냉동상태의 누에번데기를 배지로 이용하였고 수분은 약 65%였다. 이를 담은 용기는 800ml 분리형 내열성 플라스틱 병을 이용하였다. 먼저 각각의 내열성 플라스틱 병에 번데기를 각각 100g씩 넣고 각각의 개체를 20개체씩을 만들었다. 이를 121℃, 15psi의 Auto Clave에서 20분간 멸균하였고, 여기에 만들어진 액체종균을 누에번데기배지에 각각 5 ml씩을 접종하였다. 접종한 개체들은 각각 암조건의 25±1℃ 항온기에서 1주일간 균사배양(영양생장)을 시킨 후 자실체 유도를 위해 온도는18±2℃, 빛은 형광빛 200Lux, 가습은 95%이상의 조건을 주었다. 생육이 완성된 자실체는 평균적인 자실체의 길이, 직경, 중량, 자실체의 전체적인 모양을 조사하여 우수 균주를 선발하였다.

## 결 과

### 1. 균주의 고체배지상의 특징 시험

#### 1) *Isaria japonica* (99-0001)

균사생장은 동심원을 그리면서 생장을 하였고, 대체적으로 약간의 기중균사를 제외하고는 배지바닥에 붙은 형태이다. 색은 흰색에 가깝다. 2일까지는 별다른 변화가 없다가 3일째부터서 균사생장의 특징이 보이기 시작하였다. 접종 후 3일째까지는 2.5mm, 3일~4일에는 2.0mm, 4일~5일에는 2.5mm, 5일~6일에는 2.5mm가 성장하였다. 그래서 총9.5mm가 성장하였다.

#### 2) *I. japonica*(99-0002)

균사생장의 형태가 99-0001과 유사하다. 균사생장은 접종 후 3일째까지 5.0mm, 3일~4일에는 1.5mm, 4일~5일에는 2mm, 5일~6일에는 2.5mm가 성장하였다. 그래서 총11mm가 성장하였다.

#### 3) *I. japonica*(99-0003)

균사생장의 형태가 99-0001, 99-0002와 유사하며 균사생장은 접종 후 3일째까지는 3mm, 3일~4일에는 1.5mm, 4-5일에는 2mm, 5-6일에는 2.5mm로 총 11mm가 성장하였다.

#### 4) *Cordyceps militaris*(99-0004)

초기에는 균사의 색이 흰색을 띠지만, 점점 동심

원상에 골이 생기며 여기에 옅은검은색의 거미줄과 같은 것이 중앙에 나타내었다. 접종 후 3일까지는 7.5BAE, 3일~4일에는 6.5mm, 4일~5일은 2.5mm, 5일~6일은 2.5mm가 성장하였다. 대체적으로 생장이 다른 균주보다는 현격히 빠른 것을 알 수 있었다.

#### 5) *C. sp*(99-0006)

초기에는 흰색을 띠다가 점점 분홍빛을 띠기 시작하여 6일째에는 진한선홍색을 나타내었다. 3일째까지는 3.5mm, 3일~4일은 1.5mm, 4일~5일은 1.5mm, 5일~6일은 1.5mm 성장하였고 총8mm 성장하였다.

#### 6) *C. militaris*(99-0007)

초기에는 흰색을 띠다가 점점 주황색을 띠다. 균사는 대체적으로 배지표면에 붙은 형태이다. 3일까지는 3.0mm, 3일~4일은 3.5mm, 4일~5일은 2.5mm, 5일~6일은 1.5mm 성장하였다. 그래서 총10.5mm 성장하였다.

#### 10) *C. sobolifera*(99-0008)

초기에는 흰색에서 3일 후부터 노란빛을 띠었다. 3일까지는 3.5mm, 3일~4일은 1.5mm, 4일~5일은 1.5mm, 5일~6일은 1.5mm 성장하였고 총8mm 성장하였다.

#### 11) *C. kanzashiana*(99-0009)

초기의 흰색에서 3일 후부터는 점점 살색을 나타내었다. 3일까지는 1.5mm, 3일~4일은 1.5mm, 4일~5일은 1mm, 5일~6일은 1mm가 성장하였고 총5mm 성장

**Table 1.** Mycelium growth of genus *Cordyceps*

(unit:mm)

Strains	Growth days				
	1 day~3 day	3 day~4 day	4 day~5 day	5 day~6 day	1 day~6 day
99-0004	7.5	6.5	2.5	2.5	19.0
99-0006	3.5	1.5	1.5	1.5	8.0
99-0007	3.0	3.5	2.5	1.5	10.5
99-0008	3.5	1.5	1.5	1.5	8.0
99-0009	1.5	1.5	1.0	1.0	5.0

**Table 2.** Mycelium growth of *Isaria japonica*

(unit:mm)

Strains	Growth days				
	1 day~3 day	3 day~4 day	4 day~5 day	5 day~6 day	1 day~6 day
99-0001	2.5	2.0	2.5	2.5	9.5
99-0002	5.0	1.5	2.0	2.5	11.0
99-0003	3.0	1.5	2.0	1.5	8.0

하였다.

## 2. 균주의 액체종균에서의 특성 시험

### 1) *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003)

2일까지는 아무런 변화가 없다가 3일째부터 균사가 성장하는 것이 육안으로 확인되었다. 점차 병속의 균사의 밀도가 많아지고, 7일이 지난 후에 비로소 배양완성이 된다. 균사의 색은 배지색내지 우유빛을 띄었다. pellet의 크기는 직경이 약 3mm 정도였다.

### 2) *Cordyceps militaris* (99-0004)

균사의 성장속도가 빨라서 2일째부터 균사의 생장의 모습이 육안으로 식별되었다. 균사는 점차 밀도가 높아지고 7일 후에는 점도가 있는 끈적끈적한 정도에 이른다. Pellet의 입자는 서로 뒤엉켜 있고 색깔은 어두운 감자색이다.

### 3) *C. sp.*(99-0006)

균사의 생장이 2일째부터 보이며, 3일 후에는 분홍빛이며 4일째에는 보라색 5일째에는 피색에 이르게 된다. pellet의 크기는 매우 작아 약 0.5mm 정도였다.

### 4) *C. militaris* (99-0007)

균사생장이 3일째에 이르러 비로소 먼지모양의 pellet이 생기기 시작하여 배양이 완성되는 7일째에는 서로 엉겨서 점성이 강한 균사를 만든다. 균사의 색은 배지색에서 점차 노란색을 띤다. 띤의 색은 노란빛을 나타내었다.

### 5) *C. sobolifera* (99-0008)

균사생장이 3일째에 이르러 비로소 나타나기 시작하여 7일째에 비로소 배양완성이 된다. 색은 진한 감자색깔이다.

### 6) *C. kanzashiana* (99-0009)

균사생장이 99-0008과 유사하게 나타났으며, 배양이 완성되었을 때에는 점도가 높았으며, 색은 99-0008과 유사하였다.

## 3. 자실체 형성의 균주들의 특성

### 1) *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003, Fig.1. A,B,C)

균사배양(영양생장)은 7일이 걸리고 생식생장에

들어가면서 광을 약 200lux를 조사하였고, 가습을 95%이상 주었고, 온도를  $20^{\circ}\text{C} \pm 1$ 로 하온하였다. 생식생장에 들어간지 2일이 지나면서 기중균사 사이로 원기가 형성되었다. 원기의 형태는 노란빛이 군데군데 원형을 이루었고 이것이 마치 벌집처럼 보였다. 이러한 노란빛에서 자실체 발생이 이루어졌고, 초기에는 커다란 크기의 변화가 없으나 중간크기 이후에 상당히 빠른 성장을 하게 된다. 99-0001과 99-0002는 완전한 자실체의 모양에 있어서 비슷하여 커다란 차이점은 발견하지 못했다. 이들 자실체의 질감은 약간 질긴 느낌을 주며 자실체 직경이 99-0001은 약 1.3mm이며 99-0002는 1.09mm 정도이다. 99-0003은 색깔면에서는 다른 두 균주보다는 더 노랗고 직경은 약 1.43mm로 약간 크며 자실체의 길이는 약간 작다. 자실체의 완성까지는 약 31~35일이 걸린다. 광을 600Lux이상 조사했을때는 빠른 노화를 가져왔다.

### 2) *Cordyceps militaris* (99-0004, Fig.1. D)

자실체 유도에 실패하였고 균사배양까지는 순조롭게 하얀 우유빛을 띄지만 생식생장에 들어가 가습은 95%이상, 광을 약 200Lux 조사, 온도를  $20^{\circ}\text{C} \pm 1$ 로 하온 후 검은색의 거미줄과 같은 것이 위를 덮고, 그 이후 노란물이 생기지만 이후 균사가 죽는다. 광을 600Lux이상 조사해도 별다른 차이점은 발견하지 못했다.

### 3) *C. sp* (99-0006, Fig.1. E)

균사배양중에는 균사가 배지가 보일 정도로 배양되지만 생식생장이후에 분홍색의 가루를 뿌리듯한 느낌을 준다. 원기형성은 생식생장시 온도를 약  $20^{\circ}\text{C} \pm 1$  정도로 낮추고 광을 600Lux 정도 조사하며 가습을 95% 가한 후 4일이 지나서 이루어졌다. 자실체는 11.5mm 자란 상태에서 더 이상자라지 않고 여기까지 자란 기간은 약 47일 정도이다. 광을 200Lux로 조사시에는 생장이 저조하였다.

### 4) *C. militaris* (99-0007, Fig.1. F)

접종 후 2일째부터 눈에 띄게 균사가 활착되는 것이 보여지고, 이후 꾸준한 균사활착이 이루어져 9일이 경과하면 균사배양이 완성되게 된다. 이후 생식생장에 들어가는데 가습을 95% 하고 광은 약 600

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

Section Strains	Weight of stroma(g)	Length of stroma (mm)	Diameter of stroma (mm)	Number of stroma	Age at nutrition growth days	Age at stoma initiation days	Age at total growth days	Weight of media(g)
99-0004	.	.	.	.	.	.	.	.
99-0006	0.35	11.5	0.67	42	7	9	47	100
99-0007	24.9	103	7.8	53	9	5	54	100
99-0008	12.1	97	1.67	92	8	7	58	100
99-0009	10.2	76	1.94	78	8	8	62	100

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

Section Strains	Weight of stroma(g)	Length of stroma (mm)	Diameter of stroma (mm)	Number of stroma	Age at nutrition growth days	Age at stoma initiation days	Age at total growth days	Weight of media(g)
99-0001	29.80	123	1.3	243	7	3	31	100
99-0002	26.73	115	1.09	341	7	4	32	100
99-0003	33.70	106	1.43	190	7	4	35	100

Lux이상을 조사하며 온도는 20℃±1정도로 하온한다. 균사배양이 모두 이루어진 상태의 균사의 색은 노란색<sup>∞</sup> 하얀색이 혼합되어있고 이후 생식생장이 2-3일 지난 후 점점 더 진한노란색이 되고 4-5일이 경과되면 원기가 형성된다. 이때의 균사색은 주황색을 띄고 1cm정도 길이생장만 하는데 약 5일정도가 소요된다. 이후 계속적으로 길이생장과 부피생장을 같이하게되어 접종 후 약 50-55일 후 자낭각을 형성한 자실체가 완성되게 된다. 자낭각은 야생형과는 약간 다르게 야생형이 반매생형인데 반해 이는 나출되어 있어서 이곳에서 다시 자실체가 발생하는 경우도 있었다. 광을 200Lux 조사시에는 원기형성이 늦고 성장 또한 느렸다. 하지만 초기에 원기형성시에 강한 빛을 주고 자실체가 첫 번째 나온 후에 조도를 낮추면 크게 영향을 미치지 않고 오히려 낮은 조도에서 더 나은 자실체가 유도되었다.

##### 5) *C. sobolifera* (99-0008, Fig.1. G)

균사배양을 7일간 하고 색은 노란빛과 하얀빛이 혼합되어있고 생식생장에 들어가 20℃±1로 하온하고 가습 95%이상 주고 광은 약 600Lux정도 조사하

면 균사가 기중균사가 없어지면서 배지에 달라붙은 형태가 되다가 고동색이 군데군데 생기면서 원기가 형성되고 생장이 원기형성 이후 매우 더디게 일어난다. 자실체의 형태는 통풍이 잘된 쪽은 침처럼 가늘게 나타나지만 통풍이 잘되지 않으면 납작한 주걱모양을 한다. 자실체의 발생은 생식생장 후 5일이 경과되면서 되었다. 자실체의 색은 주황색이 섞인 갈색이다. 광을 200Lux 조사시에는 원기형성이 늦고 자실체 발생 또한 늦고 기중균사가 더디게 없어진다.

##### 6) *C. kanzashiana* (99-0009, Fig.1. H)

이종은 99-0008과 같은 종과 비슷한 균사와 자실체가 형태를 띈다.

## 요 약

1999년 5월 중순부터 10월까지 완주군 일대의 연석산, 모악산, 대아리 수목원의 해발 약 400m의 그늘지고 습한곳에서 약 20여종의 동충하초를 채집하였다. 이 중 2속 5종을 확인하였고 이것들에서 10균주를 분리하여 9균주를 자실체유도 실험에 이용하

였다. 그결과 *Cordyceps militaris* (99-0007) 1균주, *Isaria japonica* (99-0001, 99-0002, 99-0003) 3균주, *Cordyceps soborifera* (99-0008) 1균주, *C.kanzashiana* (99-0009) 1균주는 이용가치가 충분히 있다고 사료 되어 우량균주로 선발하였다.

### 사사

이 논문은 2000년도 농림부 특정연구과제(현장애로 기술개발사업)의 학술연구조성비로 이루어진 것이다.

### 인 용 문 헌

Choi, I. Y., Choi, J. S and Lee, W. H. 1999. The Production of Artificial Fruiting Body of *Paecilomyces japonica*. *Kor. J. Mycol.* 27(2):87~93  
Choi, I. Y., Choi, J. S, Lee, W. H., Yu, Y. J, Joung,

G. T., Ju, I. O and Choi, Y. K. 1999. The Condition of Production of Artificial Fruiting Body of *Cordyceps militaris*. *Kor. J. Mycol.* 27(4):243~248  
Sung, J. M, Choi, Y. S., Lee, H. K., Kim, S. H., Kim, Y. O. and Sung, G. H. 1999. Production of Fruiting Body Using Culture of Entomopathogenic Fungal Species. *Kor. J. Mycol.* 27(1): 15~19.  
Basith, M. and Madelin, M. F. 1968. Studies on the Production of Perithecial Stroma by *Cordyceps militaris* in Artificial Culture. *Can. J. Bot.* 46: 473~480.  
清水大典.1994. 原色 冬蟲夏草 圖鑑. 誠文堂新光社  
이희덕, 김용균, 김홍규, 이가순.1999. 눈꽃 동충하초 배지별 인공 재배법과 성분분석에 관한 연구. 자원식물학회지 제12권 제2호 PP. 102~106.

(접수일 2000. 4. 25)

(수리일 2000. 8. 25)

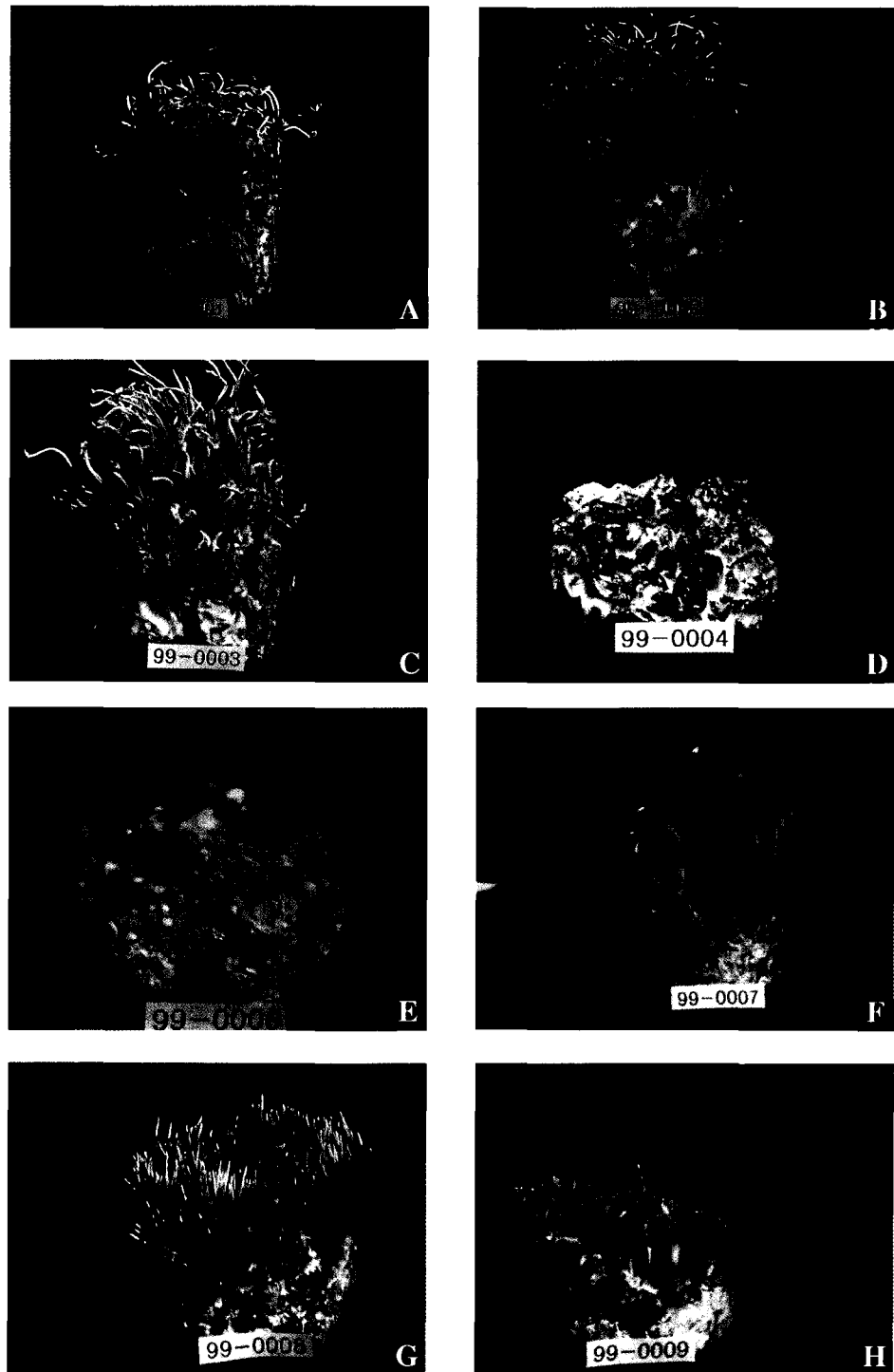


Fig.1. Explanation of fruiting body

- A. *Isaria japonica* (99-0001)
- C. *I. japonica*(99-0003)
- E. *C. sp*(99-0006)
- G. *C. soborifera*(99-0008)

- B. *I. japonica*(99-0002)
- D. *Cordyceps militaris*(99-0004)
- F. *C. militaris*(99-0000)
- H. *C. kanzashiana*(99-0009)