

동충하초속균의 분포 및 *Cordyceps militaris*와 *C. nutans*의 이용에 관한 연구

成載模* · 金千煥 · 楊權周 · 李賢卿 · 金養燮¹

강원대학교 농과대학 농생물학과, 농업유전공학연구소

Studies on Distribution and Utilization of *Cordyceps militaris* and *C. nutans*

Jae-Mo Sung*, Chun-Hwan Kim, Kun-Joo Yang,
Hyun-Kyung Lee and Yang-Sup Kim¹

Department of Agricultural Biology, Kangweon National University, Chuncheon,
Korea and Agricultural Biotechnology Institute¹, RDA, Suweon, Korea

ABSTRACT: The genus *Cordyceps* known as an insect parasite forms a sclerotium in insect bodies and then produces perithecia on the single or multiple stromata produced from sclerotium. Collected *Cordyceps* were identified into 5 species: *Cordyceps militaris*, *C. nutans*, *Cordyceps sphecocephala*, *Isaria japonica*, and *Torrubiella* sp. The fruit bodies of *Cordyceps* in petri-dish cover were fixed by tape and put the lid on water agar plates to isolate these collected *Cordyceps*. The germinated spores were transferred from water agar to Potato dextrose agar(PDA) after six hours. Mycelial growth of *C. nutans* and *C. militaris* was the most successful on Hamada media and was also good on Complete media and PDA. Mannose as a carbon source was good for two species and Glutamic acid as a nitrogen source was satisfactory to *C. militaris* and Asparagine gave a good result to *C. nutans*. *C. militaris* and *C. nutans* showed similar mycelial growth rate on the media that contained thiamine-HCl, biotine or nicotinic acid as a vitamine. When conidia of *C. nutans* were inoculated to insects, mortality was high in *Artogeia napi* L, Hemiptera, *Plutella xylostella* and 50% in Orthoptera, 12% in *Acantholyda posticalise* M, but not *Agelastica coerulea* B. in Aphididae, *C. nutans* was collected from only Hemiptera in nature, but killing effect on other insects was proved. Mycelial growth and fruit-body formation were good on the media that consist of rice powder 5 g, wheat flour 5 g, water 100 ml, but formed fruit-body was not complete stromata but a mass of conidia according to results of observing microscope.

KEYWORDS: *Cordyceps militaris*, *C. nutans*, *Cordyceps sphecocephala*, *Isaria japonica*, *Torrubiella* sp. Hamada media, Mannose, Glutamic acid, Asparagine, Thiamine-HCl, Biotine, Nicotinic acid, *Artogeia napi* L, Hemiptera, *Plutella xylostella*, *Acantholyda posticalise* M.

序 論

*Cordyceps*속균의 자실체는 동충하초로써 겨울철에는 곤충내에 있고 여름에는 충체를 기주로 자실체를 형성하는 버섯으로 자낭균류의 Clavicipitaceae(동충하초)에 속하는 속으로 대부분의 자낭포자는

실과 같은 나선형이다(Alexopoulos와 Mims, 1979; Breitenbach and Kranzlin, 1984; Kobayash, 1941, 1983; Renyolds, 1981; 清水, 1981). 본 속균이 기생하는 곤충에는 나비목, 딱정벌레목, 노린재목, 메뚜기목등 여러 종의 유충, 번데기 및 성충을 침입하여 죽게 한 후에 자실체인 동충하초를 형성시키는데(Coppel와 Mertins, 1977; Mathiexon, 1949; Mains 1985; Petch, 1936A) 전 세계적으로 300여종

*Corresponding author

정도가 보고되어 있다(Breitenbach and Kranzlin, 1984; Kobayash, 1941, 1983; Renyolds, 1981; 清水, 1981). 본 속균의 자실체는 불로장수의 비약으로 결핵, 황달, 아편중독의 해독제, 강장제로 이용되고 또한 높은 항암효과가 있다는 것이 임상연구에서 실증되기도 하였으며 자실체의 추출물인 cordycepin은 연쇄상구균, 포도상구균, 피부진균등의 성장을 억제한다는 보고도 있다(Jagger 등, 1961; Klenow 등, 1964; Overgaard-Hansen, 1964; Rottman와 Guatino, 1964; 神戸中醫學研究會, 1983; 辻徒(倭) 등, 1986). 근래 마약중독치료에 동충하초가 효과가 있어 스위스에서는 임상실험결과 마약중독 중독자도 2주일 정도 복용하면 마약의 심각한 부작용을 말끔이 씻어 줄 뿐만 아니라 유혹을 떨쳐 버리게 해 완전히 정상적인 사람으로 되돌려 줄 수 있다는 보고도 있다(李, 1990).

本 속균에 대한 연구를 보면 800년대 동충하초가 Fungus-born wasp로 기록된 후(清水, 1981) 학술적인 면에서 동충하초속이 최초로 발표된 것은 1727년 이었다(小林, 1941, 1983; 清水, 1981), Seaver (1911)가 Cordycipiteae에 *Cordyceps* 등 3속군들이 있고 *Cordyceps* 속의 분류체계를 확립하여 18종을 보고하였으며, 일본에서도 여러 종류의 *Cordyceps* 속이 보고되어 있다(小林, 1941, 1983; 清水, 1981). 자실체를 인공적으로 형성시키는 연구는 미국(Basith와 Madelin, 1968; Bigelow, 1960)에서 성공한 보고가 있으며 특별히 중국에서는 인공적으로 자실체를 형성시켜 한약제로 사용하는 연구가 활발하게 진행되어 실용단계에 있으나(神戸中醫學研究會, 1983; 辻徒(倭) 등, 1986) 한국에서는 *Cordyceps*의 몇 종이 보고되었을 뿐(장파 홍, 1986; 박, 1991; 李와 洪, 1985) 동충하초속균을 분리하여 균사의 배양적 성질이나 자실체 형성에 대한 실내 시험은 미흡한 편이므로 본 논문에서는 야외에서 동충하초의 분포를 조사하고 그 형태를 관찰하였으며, 균의 배양적 특성을 알아 내었다. 그리고 실내에서 배양된 포자를 곤충에 접종시켜 해충의 생물학적 방제와 동충하초 자실체의 인공배양에 대한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

Cordyceps 속균의 채집과 분리: *Cordyceps* 속균의

자실체를 1990년부터 1992년에 걸쳐 5월부터-10월 말까지 춘천군을 중심으로 한 강원도의 산에서 채집하였으며 채집하고 난 후 동충하초는 채집장소, 채집시기, 채집장소의 삼림분포, 곤충의 종류와 상태등을 기록하였으며, 채집된 동충하초의 형태적 특징과 미세구조를 현미경으로 관찰하여 분류 동정하였으며 그 외의 채집된 동충하초는 건조시킨 후 150 mm×20 mm 시험관에 넣고 입구를 naphthalene으로 막아 실험실에 보관하였다. *Cordyceps* 속균의 분리를 위하여 균사가 나타난 이병된 곤충에서 균사를 떼어내어 water agar에 이식하고 water agar에서 자란 균사조직을 PDA에 이식하여 분리하였으며 이병된 곤충에 나타난 자실체를 water agar가 있는 사래의 뚜껑에 동충하초의 조직을 tape로 고정시킨 후 사래의 뚜껑을 덮고 난 3시간 후 water agar위에 떨어진 자낭포자를 현미경으로 관찰함과 동시에 자낭포자가 발아한 것을 PDA에 이식하여 분리하였다.

분리된 *Cordyceps* 속균의 배양 시험: *Cordyceps* 속균의 생장이 양호한 합성배지의 선발을 위하여 Table 1과 같이 조성되어진 합성배지를 autoclave에 15분간(1.5 psi) 멸균시킨 후 100 ml 삼각플라스크에 20 ml씩 분주하여 사용하였으며, 탄소원은 기본배지(MgSO₄, 7H₂O 0.05 g, KH₂PO₄ 0.46 g, K₂HPO₄ 1.00 g, Thiamine-HCl 120 µg, Distilled water 1,000 ml)에 당류를 2% 가하여 멸균시킨 후 100 ml 삼각플라스크에 20 ml씩 분주하였다. 질소원은 기본배지에 탄소원으로 glucose 2%를 가하고 질소원을 질소량이 0.2%되게 가하여 조제하였다. Vitamine은 기본배지의 Thiamine-HCl 대신 Nicotinic acid와 Biotin을 처리하였으며, 이때 탄소원으로 glucose 2%, 질소원으로 DL-Asparagine 0.2%를 가하여 배양액을 조제하였다. 배양방법은 petri-dish에 분주된 PDA 배지에서 균주를 15일간 배양한 후 균사를 직경 5 mm cork borer로 떼어내어 합성배지가 들어있는 삼각플라스크에 옮겨 25°C에서 10일간 배양한 후 배양액으로부터 균사를 여과하여 80°C에서 건조시킨 후 균사의 무게를 측정하였다.

배양기를 이용한 *Cordyceps* 속균의 자실체 형성: 쌀, 옥수수, 감자등 농산물과 잡엽 부산물인 번데기와 한천을 이용하여 만든 배지를 1000 ml 링겔병에 넣고 멸균시킨 후 PDA상에서 배양되어진

Table 1. Composition of synthetic medium.

Media Component	PDA	PD	MM	MCM	MMN	MPD	HM	ES
Sugar	20	20			10			20
Malt ext.			20		3			
Potatoes	200							
Yeast ext.				2			3	
Peptone				2		5		
MgSO ₄ ·7H ₂ O				0.5	0.15	0.5		
KH ₂ PO ₄				0.46	0.15	1		
K ₂ HPO ₄				1				
Dextrose				20		10	20	
CaCl ₂					0.05			
NaCl ₂					0.0025			
FeCl ₃ (1%)					1.2 ml			
Thiamine-HCl					100 µg			
Ebiose							5	5
Hyponex							3	
Agar	20							
Water	1l	1l	1l	1l	1l	1l	1l	1l

- 1. PDA : Potato dextrose agar.
- 2. PD : Potato dextrose medium.
- 3. MM : Malt extract medium.
- 4. MCM : Mushroom Complete medium.
- 5. MMN : Modified meliuanork
- 6. MPD : Peptone dextrose medium.
- 7. HM : Hamada medium.
- 8. ES : Ebiose medium.

*Cordyceps*속균을 접종하여 균사의 생장과 동충하초의 형성유무를 조사하였으며 곤충에 접종하여 동충하초의 형성유무도 조사하였다.

Cordyceps 속균을 이용한 곤충의 살충력 검정 :
 균주는 배지상에서 포자를 잘 형성시키는 *C. nutans*를 이용하였으며 공시충으로는 배추흰나비, 배추좀나방, 멸강나방의 유충, 메뚜기, 오리나무잎벌레, 진딧물, 노린재, 잣나무넓적잎벌을 이용하였다. 배추흰나비, 배추좀나방, 멸강나방의 유충과 메뚜기, 오리나무잎벌레, 진딧물등은 *C. nutans*의 분생포자가 뿌려진 기주식물의 잎을 섭식하게 하였으며 채집된 노린재는 포자가 배양된 링겔병에 넣어 포자가 노린재에 묻게 한 후 구기자나무로 사육하였다. 잣나무넓적잎벌은 토양에 포자를 혼합하여 어항에 넣고 채집된 잣나무넓적잎벌을 토양속에 넣었다. 위와 같이 처리된 곤충은 시기별로 살충률을 조사하였으며 죽은 후 동충하초의 형성유무를 조사하였다.

結 果

분리된 *Cordyceps* 종류와 분포

이제까지 채집된 *Cordyceps* 속균의 자실체인 동충하초는 *C. militaris* 등 5종이었는데, 동충하초의 채집장소와 채집수는 Table 2와 같다. 그 중 양양군 서면 갈촌리에서 채집된 *C. militaris*는 크기가 4 cm×2 cm인 번데기에서 자실체가 22개가 형성된 동충하초였으며(사진 1) 홍천군 북방면 소재 강원대연습림에서 채집된 번데기는 양양군에서 채집된 번데기보다 적고 동충하초의 수도 적었다. 그 외에 풍태이에 형성된 동충하초와 기주를 알 수 없는 번데기에서 형성된 동충하초도 채집되었다. 채집장소는 주로 활엽수가 있고 습기가 많은 곳에서 채집되었다.

*C. nutans*는 채집장소에 관계없이 다른 동충하초에 비하여 쉽게 채집할 수 있었다. 채집된 동충

Table 2. Kind of fruiting bodies by *Cordyceps* spp. collected from different places.

Species	Collection place	No. of fruiting body
<i>Cordyceps militaris</i>	Hongchun Bugbang KNU Forest Experiment	2
	Wonju Socho Chiak Mountain	3
	Yangpyung Yongmum Yongmum Mountain	2
	Chunseong Obong Mountain	3
	Yangyang Seomyun Galchon	7
<i>Cordyceps nutans</i>	Hongchun Bugbang KNU Forest Experiment	15
	Wonju Socho Chiak Mountain	75
	Yangpyung Yongmum Yongmum Mountain	7
	Chunseong Obong Mountain	5
	Yangyang Seomyun Galchon	30
<i>Cordyceps sphecocephala</i>	Yangpyung Yongmum Yongmum Mountain	1
	Yangyang Seomyun Galchon	3
<i>Isaria japonica</i>	Hongchun Bugbang KNU Forest Experiment	4
	Wonju Socho Chiak Mountain	4
	Yangpyung Yongmum Yongmum Mountain	7
	Yangyang Seomyun Galchon	23
<i>Torrubiella</i> sp.	Yangyang Seomyun Galchon	1

하초 중에는 제 2차로 감염된 버섯이 발견되었다 (사진 2). 채집장소의 환경을 보면 홍천군 북방면 소재 강원대연습림에서는 산 주위가 전부 활엽수로 둘러 쌓여 있는 계곡의 일부에서 자라는 은수원사 시나무 밑에서 많이 채집되었고 치악산에서는 활엽수중에 15년생 잣나무 밑에 자라는 작은 활엽수가 군생하는 습기가 있는 장소에서 많이 채집되었으며 양양군 서면 갈촌리에서도 물이 흐르는 골짜기 주위에서 채집되었다.

용문산과 강원대 연습림에서는 황말벌에 형성된 동충하초(사진 3)인 *C. sphecocephala*가 채집되었고 그 외에 동정이 안된 벌에서 2개의 동충하초가 채집되었고 방아벌레유충에서 형성된 동충하초와 번데기에서 형성된 동충하초가 채집되었는데 이들은 채집하기가 매우 어렵고 다른 문헌에서도 이와 비슷한 동충하초는 찾아 볼 수가 없었다.

*Isaria japonica*에 의하여 유충에서 형성된 동충하초가 치악산에서 채집되었는데 하나는 흰색의 분생포자퇴(사진 4)를 가진 반면 다른 하나는 갈색의 분생포자퇴를 가졌으며 양양군 서면 갈촌리에서는

기주를 알 수 없는 다른 동충하초가 채집되었으며 강원대 연습림에서는 매미 약충에 형성된 *Isaria sinclairii*의 동충하초도 채집되었다. 다른 지역과 마찬가지로 활엽수가 있는 물이 흐르는 계곡과 같은 습기가 많은 지역에서 채집되었다. *Torrubiella* sp.는 양양군 서면 갈촌리에서 채집되었으며 나무잎 뒷면에 형성된 것이었다. 많이 채집된 *C. nutans*를 가지고 무게, 길이, 자실체수를 관찰한 결과는 Table 3과 같으며, 주로 노린재에 하나의 자실체를 형성하나 2개 내지 3개를 형성하는 것도 있었다. 무게는 주로 노린재의 무게를 합하여 0.06-0.08 g인 것이 가장 많았고 무거운 것은 0.27-0.29 g인 것도 있었다. 노린재 동충하초의 길이는 3 cm에서 14 cm까지 되는 것이 많았으나 주로 5 cm에서 8 cm내의 범위에 속하였다. 길이는 이병된 노린재가 낙엽속에 깊이 있으면 길고 검은 대를 형성한 뒤에 밖으로 자실체를 형성하나 낙엽밑에 바로 있으면 대가 짧고 그 위에 바로 자실체를 형성하였다.

채집된 *Cordyceps* 속군의 자실체의 특징



Photo. 1. 22 stromata on pupae(4 cm×2 cm) caused by *C. militaris*.

Photo. 2. Different fruiting bodies formed on stroma of *C. nutans*.

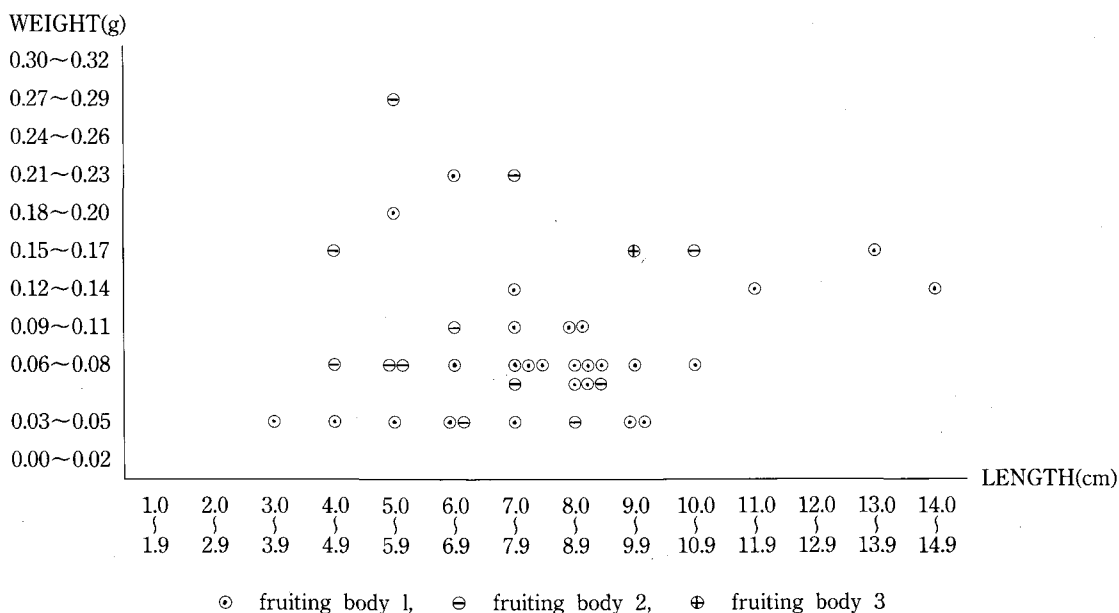
Photo. 3. 1 stroma on *Vespula lewisi* caused by *Cordyceps sphecocephala*.

Photo. 4. Tree-branches like whitish stromata on larva caused by *Isaria japonica*.

Photo. 5. Perithecia projected from stroma of *C. militaris*.

Photo. 6. Perithecia projected from stroma of *C. nutans*.

Table 3. Relationship between weight and length of *Cordyceps nutans* collected from different places.



***Cordyceps militaris*(Vuill) Fr** : Stroma는 기주체인 곤충 번데기의 머리 부분으로 부터 2본, 또는 3본이 나오나 드물게는 수본(사진 1)이 총생하는 것도 있다. 자실체는 머리 부분과 자루의 2부분으로 나누어졌는데 머리 부분은 곤봉형 또는 원주형으로 길이는 1.5-2.0 cm이고 자루는 원주형으로 길이는 1.5-5 cm이며 등황색이다. 머리 부분의 표면에 자낭각은 알맹이형(사진 5)이고 머리 부분 종단면의 중앙이 약간 갈라져 있고 크기는 400-420×3-4 μ이다. 자낭포자는 가늘고 긴 사상이며 명료한 격막을 가진 eucordyceps형으로 자낭포자를 샬레에 떨어뜨려 배양하면 4시간 후부터 2차 포자로 갈라지고 12시간 후부터는 발아하여 그 위에서 다시 2차 포자를 형성하거나 균사로 자라게 된다. 야외에서 채집된 *C. militaris*의 자실체는 인시목의 용에서 형성된 것이 대부분이었다.

***Cordyceps nutans* Pat** : Stroma는 노린재의 가슴으로부터 1본 또는 2본이 나오나 드물게는 수본이 형성된 것도 있다. 자실체는 머리 부분과 stroma를 지탱해 주는 가는 흑색자루의 2부분으로 나누어졌다. 머리 부분은 면봉형으로 등황색이고 길이는 0.5-1.0 cm이며 자루는 질긴 섬유육질로 길이는 5-10 cm이다. 머리 부분의 표면에 자낭각은 내생형(사진

6)이고 달걀형으로 크기는 530-1000×300-570 μ이다. 자낭은 방추형이고 머리 부분의 종단면의 중앙이 약간 갈라져 있고 크기는 330-460×7-8 μ이다. 자낭포자는 가늘고 긴 사상이며 명료한 격막을 가진 eucordyceps형으로 자낭포자를 샬레에 떨어뜨려 배양하면 4시간 후부터 64개의 2차 포자로 갈라져 12시간 후부터는 발아하여 그 위에서 다시 2차 포자를 형성하든지 균사로 자라게 된다. 이들 자실체가 형성되는 노린재로는 *Lelia decempunctata* Motschulsky, *Molipteryx fuliginosa* Uhler, *Palomena angulose* Motschulsky 등 3종이 채집되었다.

***Cordyceps sphecocephala*(Klotz) Mass** : Stroma는 벌의 턱부분으로부터 1본이 형성된다(사진 3). 자실체는 머리 부분과 자루의 2부분으로 나누어졌는데 경계가 명확하지 않다. 머리 부분은 끝부분 바로 위가 약간 통통한 형이며 자루는 질긴 섬유육질로 밝은 오렌지색이며 전체의 길이는 11 cm이다. 머리 부분의 표면에 자낭각은 알맹이 내생형이고 달걀형으로 크기는 530-1000×300-570 μ이다. 자낭은 방추형이고 머리 부분과 종단면의 중앙이 약간 갈라져 있고 크기는 330-460×7-8 μ이다. 자낭포자는 fusiform이며 격막이 없다. 이들 동충하초는 *Vespa santhoptera*와 *Vespula lewisi* 2종의 벌에서 자실체가

Table 4. Effect of modified media on the mycelial growth(g/20 ml).

Media	<i>C. militaris</i>	<i>C. nutans</i>
HM	0.560 a*	0.342 a
MCM	0.262 b	0.262 b
PDA	0.196 bc	0.198 cd
MPD	0.164 cd	0.172 d
ES	0.120 cd	0.230 c
MM	0.134 cd	0.128 e
MMN	0.092 d	0.102 e

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

형성된 것을 채집할 수 있었다.

***Isaria japonica* Yasuda** : 인시목의 유충이나 번데기에 발생한다. 자실체는 1-20개 정도의 나뭇가지 또는 빗자루형으로 머리 부분은 부풀어 있고 그것을 받쳐 주는 대는 노란색을 띠며 지상부의 높이는 8-40 mm이다. 채집된 동충하초는 유충에서는 흰색(사진 4)과 갈색의 분생 포자가 있고 기주의 상태도 알 수 없는 조직위에서 흰색의 동충하초가 채집되었다. 이 동충하초는 자실체가 분생포자로 형성되어 있기 때문에 건드리면 쉽게 분생포자가 비산하여 육안으로도 쉽게 볼 수 있다.

***Torribiella* sp.** : 거미의 표면에 하얀 솜모양의 균사체가 덮혀 있으며 그 위에 돌기모양의 자낭각을 수십개 형성하고 있다. 양양군 서면 갈천리에서 1개가 채집되었을 뿐 그 이외의 지역에서는 채집을 하지 못하였다. 채집이 어려운 이유는 크기가 직경 5 mm내외로 매우 작으며 더욱이 앞의 뒷면에 붙어 있기 때문이다.

동충하초로부터 균의 분리

채집된 동충하초는 곤충에 대한 병원성과 자실체 형성시험을 위하여 분리하는 것이 필요한데 동충하초의 조직을 water agar에 떼어 놓고 분리하면 다른 잡균이 생기어 분리하기가 곤란하였다. 동충하초의 자실체부분을 샬레 뚜껑에 tape로 고정시킨 후 water agar가 들은 샬레에 짝을 맞추어 놓으면 자낭포자가 떨어지며 *Isaria japonica*는 분생포자가 떨어

Table 5. Effect of carbon source on the mycelial growth(g/20 ml).

Source	<i>C. militaris</i>	<i>C. nutans</i>
Mannose	0.10 a*	0.15 a
Glucose	0.07 b	0.11 b
Fructose	0.07 b	0.11 b
Sucrose	0.08 b	0.12 b
Xylose	0.04 c	0.06 c

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

Table 6. Effect of nitrogen source on the mycelial growth(g/20 ml).

Source	<i>C. militaris</i>	<i>C. nutans</i>
Glutamic acid	0.214 a*	0.178 a
Asparagine	0.166 b	0.220 a
Arginine	0.178 b	0.202 a
Alanine	0.160 b	0.248 a
Serine	0.160 b	0.220 a

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

어서서 6시간 이후부터 발아하게 되는데 그것을 PDA에 이식하여 분리하였다. *C. nutans*는 포자가 많이 생겨 샬레에서 균데 균데 자라며 *C. militaris*나 *I. japonica* 등은 균사생장이 빠르나 *Cordyceps* sp.는 균사생장이 느린 것도 특징이다.

동충하초속균의 배양적 특성

채집빈도가 높은 *C. nutans*와 *C. militaris*의 배양적 특성을 알기 위하여 분리된 균주를 가지고 실험한 결과 합성배지중 균사생장이 가장 우수한 배지는 Table 4와 같이 Hamada media이며 Complete media와 Potato dextrose media에서도 균사생장이 좋은 것으로 나타났다. 탄소원으로 균사생장이 양호한 것은 *C. militaris*와 *C. nutans* 두 균주에 모두 Mannose이었으며(Table 5), 질소원으로 균사생장이 양호한 것은 *C. militaris*는 Glutamic acid이었으며 *C. nutans*는 Asparagine이었다(Table 6).

Table 7. Effect of vitamins on the mycelial growth(g/20 ml).

Vitamins	<i>C. militaris</i>	<i>C. nutans</i>
Thiamine-HCl	0.142 a*	0.126 a
Biotin	0.142 a	0.136 a
Nicotinic acid	0.114 b	0.142 a

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

Table 8. Mycelial growth and fruiting body formation of *Cordyceps nutans* on different grains.

Composition	Mycelial growth	Fruiting formation
Rice 5 g+ water 60 ml	+	+++
Potato 5 g+ water 60 ml	++	+++
Corn 5 g+ water 60 ml	+++	++
Rice 5 g+ corn 5 g+ water 60 ml	+++	+++

+ : slightly growth and fruitbody formation.
 ++ : moderately growth and fruitbody formation.
 +++ : greatly growth and fruitbody formation.

vitamine은 실험에 사용된 Thiamine-HCl, Biotine, Nicotinic acid 모두 *C. militaris*와 *C. nutans*의 균사생장에 비슷한 효과를 보여 주고 있다(Table 7). 이러한 결과를 종합하여 볼 때 *Cordyceps* sp.의 균주배양은 Hamada media에서 이루어져야 하며 *Cordyceps* sp.의 인공재배시의 배지로는 Glucose와 Mannose가 함유된 배지에서 재배되어야 할 것이다.

버섯의 인공재배에 관한 연구는 담자균류인 양송이, 표고와 느타리 등에서 많이 이루어져 있으나 자낭균류인 *C. militaris*와 *C. nutans*의 경우 앞으로 결핵을 예방하거나 마약중독 해독제로 사용한다는 보고가 있으나 이에 관한 연구가 거의 되어 있지 않은 실정이므로 이 실험의 결과가 동충하초의 인공재배를 위한 기초자료로 이용될 수 있으리라 본다.

***Cordyceps* 속균의 인공배양에 의한 자실체 형성**

C. militaris 균주에는 시험관의 감자한천배지에서도 자실체가 형성되는 것도 있었다. 쌀가루 5g,

Table 9. Fruiting body formation of *Cordyceps nutans* on silkworm pupa.

Composition	Mycelial growth	formation of fruiting body
silkworm pupa+ steilized water 100 cc	+++	-
silkworm pupa 20 g	++	++
silkworm pupa 20 g+ water agar 20 cc	+++	+++

+ : slightly growth and fruitbody formation.
 ++ : moderately growth and fruitbody formation.
 +++ : greatly growth and fruitbody formation.

밀가루 5g에 물을 100 ml을 넣고 배양한 것이 균사생장과 자실체 형성은 잘 되었다(Table 8). 자실체는 25일 후에 형성되며 형성된지 25일 후에는 더 이상 형성되지 않았다. 형성된 자실체는 완전한 동충하초가 아니고 분생포자의 덩어리라는 것이 현미경에 의해 관찰되었다. 누에번데기에 water agar를 첨가한 것이 균사의 생장도 빠르고 자실체의 형성도 좋았으며(Table 9) 누에번데기에 물을 가한 것에서도 균사생장도 좋았고 자실체도 형성되었다.

***Cordyceps* 속균의 해충에 대한 살충률**

*C. nutans*의 분생포자를 접종하였을 때 배추흰나비 유충, 노린재, 멸강나방, 배추좀나방은 살충력이 높았고, 메뚜기는 50%, 잣나무넓적잎벌은 12%의 살충력이 있으나 진딧물과 오리나무잎벌에서는 살충력이 없었다(Table 10). *C. nutans*는 노린재에서만 채집되나 다른 곤충에서도 살충효과가 인정되었다. 그중 배추흰나비 유충에는 살충력이 있어 죽지만 죽지 않고 번데기가 되어 나비가 되었을 때는 대부분 기형이었다. 노린재에 균이 들어가면 살아 있는 중에 노린재가 죽어 균사가 기주체에서 나왔으며 그 노린재를 습기가 있는 야외에 놓고 자실체형성을 관찰하였으나 노린재가 부패하여 부서지고 자실체는 형성되지 않았다. 그러나 잣나무 넓적잎벌 유충에 감염되면 죽은 후 그곳에서 자실체가 형성되며 성충이 되어도 죽어서 균사가 나오는 것을 관찰하였다.

Table 10. Mortality of insect inoculated with conidia of *Cordyceps nutans*.

Species	No. of insect tested	No. of insect killed	Mortality (%)
<i>Pieris rapae</i> (배추흰나비유충)	50	40	80
<i>Plutella xylostella</i> (배추좀나방)	50	40	80
Pentatomidae (노린재)	50	32	64
<i>Pseudaletia separata</i> (멸강나방)	50	19	38
Acrididae (메뚜기)	50	10	20
<i>Acantholyda posticalis</i> (갓나무넓적벌레)	50	6	12
<i>Agelastica coerulea</i> (오동나무잎벌레)	50	0	0
Aphididae (진딧물)	50	0	0

考 察

동충하초속균(*Cordyceps*)은 곤충에 기생하는 곤충 기생균으로(Alexopolos와 Mims, 1979; Breitenbach and Kranzlin, 1984; 小林, 1941, 1983; Mains 1985; Renyolds, 1981; 清水, 1981). 중체내에 내생균핵을 형성하며 단일 또는 총생의 stroma에 자낭각을 형성하는 동충하초과에 속하는 자낭균(Alexopolos와 Mims, 1979; Breitenbach and Kranzlin, 1984; Dennis, 1981; Kobayash, 1941, 1983; Renyolds, 1981; 清水, 1981)으로 전 세계적으로 300여종 정도가 보고되어 있다. 동충하초의 자실체는 불로장수의 비약으로 결핵, 황달, 아편중독의 해독제, 강장제로 이용되고 있는 균이다(Jagger 등, 1961; Klenow 등, 1964; Overgaard-Hansen, 1964; Rottman와 Gua-

tino, 1964; 神戸中醫學研究會, 1983; 社徒俶 등, 1986).

본 연구를 통하여 *C. nutans* 등 5종이 채집되었는데 그 중 *C. nutans*, *C. militaris*, *C. soborolifera*와 *C. sphecocephala*의 동충하초는 이미 보고되었으나(李와 洪, 1985) 보고된 동충하초가 Breitenbach (1984), Miller(1978), 金關(1989), 上田(1985)의 도감에서 발취한 것으로 조사되었으며 張(1986)에 의하여 *Cordyceps* 11종이 보고되었는데 사진에 나타난 동충하초의 형태를 뚜렷하게 볼 수 없었다. 그러므로 여기에서 보고하는 *C. nutans*, *C. militaris*와 *Isaria* 속균은 朴(1991)에 의하여 보고되었으나 동충하초가 형성된 기주가 다르고 형태적으로 차이가 있으며, 벌에서 나온 동충하초는 한국에서는 처음으로 보고되는 종으로 시험관에 넣어 표본실에 보관하고 있다.

동충하초는 약용과 마약 중독 해독제로 사용되기 때문에 자원의 확보 차원에서 채집된 균주를 분리하여 보존하는 것이 필요하므로 채집된 *C. nutans* 등을 조직에서 분리하면 잡균이 많이 생기므로 자낭포자를 이용하여 분리하였다. *C. militaris*는 배양기상에서 군사상태로 자라나 *C. nutans*는 자라는 부분이 전부 포자덩어리로 자라는 습성으로 보아 *C. militaris*보다 *C. nutans*가 자연상태에서 밀도가 높아 노린재가 존재하는 지역에서는 자실체를 쉽게 발견할 수 있었다. 이러한 결과 곤충기생 *Cordyceps* 속균은 soil inhabitants균으로(Gillman, 1957) 자연상태에서 자유롭게 살 수 있으며 생활사는 분생포자, 자낭포자, 혹은 균사의 형태로 larvae(유충)와 pupae(번데기)를 침입하나(Basith와 Madelin, 1968) 주로 불완전세대(Brown와 Smith, 1957)로 곤충을 침입한 후 영양생장기는 자연조건하에서 부생적으로 생존하다가 자실체를 형성하려면 곤충이 필요하다고 보고되었다(Lilly와 Barnett, 1951). 그러한 조건이 받아지지 않을지라도 *C. aphodii*의 자낭은 발아하여 딱정벌레 유충이 나중에 부화(hatch)할 때까지 토양에서 부생적으로 성장한다는 보고를 뒷받침하고 있다. 채집된 *C. nutans*의 자실체가 전부 노린재에서 형성되는 것으로 노린재에 대하여 기주특이성이 있는 것으로 간주되나 살충력 실험에서 배추흰나비유충 등 여러 곤충에 살충력을 갖고 있음이 구명되었으므로 토양속에서 분생포자를 분리할 수도 없으

나 배양에 의한 분생포자는 쉽게 얻을 수 있으므로 이들 포자를 가지고 곤충에 대한 살충효과와 곤충을 이용한 자실체 연구를 수행하면 앞으로 많은 발전이 있으리라 기대된다.

*C. militaris*나 *C. nutans* 모두 기본배지에 탄소원은 Mannose를 첨가하면 생장이 양호하나 질소원으로써 *C. militaris*는 Glutamic acid를 *C. nutans*는 Alanine를 넣은 배지에서 생장이 양호하다. 배지는 HM배지에서 생육이 양호하며 비타민 종류에는 생장에 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 자실체형성은 *C. militaris*나 *C. nutans* 모두 번데기에 agar를 첨가한데서 형성되나 *C. militaris*보다 *C. nutans*가 잘 되었고 자연상태에서와 같이 완전한 stroma는 아니었다. 자실체에 대한 Müller-Kögler (22)의 연구보고를 보면 *C. militaris*의 stromata는 주로 자연상태에 있는 인시목 곤충의 larvae와 pupae에서만 발생한다고 보고하였다. *C. militaris*의 자실체 형성은 최소한의 영양상태를 요구하나 쌀가루에서 잘 형성되는 것은 본 연구의 결과와 일치한다 (Basith와 Madelin, 1986 ; Pettit, 1985).

배양에서 stromata와 형성은 Vegetatively colony에서는 노란빛으로 변하지만 이 과정에서 빛을 가하면 붉은 색을 띠며 자실체가 형성되고 보통 *C. militaris*의 stromata 형성은 22°C 이하에서 형성되나 *C. norverica*의 자실체는 5~8°C 에서 최적이라는 보고도 있다(Sopp, 1911). 그러나 균사자람은 stromata production이 되지 않은 곳에서 잘 자라므로 균사를 완전히 키운 다음 stromata production이 좋은 조건으로 배양하면 자실체를 형성시킬 수 있으리라 본다. 본 실험실에서 형성된 *C. nutans*의 자실체도 stroma의 모양을 하나 실제적으로 stromata가 아니고 분생포자가 집합으로 모여 있는 것으로 현미경하에서 관찰되었다. 이러한 결과는 Mathiexon(1949)가 *C. aphodii*를 가지고 쌀가루에 접종하고 24°C 에서 배양하여 동충하초의 모양을 가진 자실체는 형성되었으나 분생포자 집단이라는 결과와 같았다.

곤충에 대한 병원성 시험으로 배지상태에서 포자가 잘 형성되는 *C. nutans*를 사용하여 배추잎벌레 등 10개의 곤충에 접종한 결과는 배추잎벌레 등 모든 곤충에서 병원성이 인정되었으며 배추잎벌레는 감염되면 바로 죽고 덜 감염될지라도 용이 되어 나비가

될 때는 기형으로 되었다. *C. nutans*를 곤충에 접종하면 유충에서 균사체는 형성되나 자실체는 형성되지 않았고 잣나무넓적잎벌의 유충을 채집하여 어항속에 *C. nutans*의 포자와 흙을 혼합하여 넣고 유충을 넣었더니 그중 2마리에서 자실체가 형성되었다. 그러나 노린재를 채집하여 포자현탁액으로 접종시켜 노린재 몸체에서 균사가 형성되었을 때 자연상태에 놓으면 노린재가 부서지고 자실체가 생기지 않은 것으로 보아 자실체가 형성하려면 동충하초균이 곤충체내에 밀집하게 차 있어야 된다는 결과를 얻었다. 그러나 잣나무넓적잎벌에 인공적으로 *C. nutans*를 접종하여 동충하초를 형성시킨 것은 잣나무 조림지에서 이 곤충에 의한 피해가 증가하는 추세이므로 이 속균을 이용하여 잣나무넓적잎벌의 방제에 이용됨은 물론 한약재로 수요가 증가하면 대량으로 형성시킬 수 있는 가능성을 제시하고 있어 앞으로 본 연구의 결과를 이용할 수 있으리라 본다.

이 연구는 강원도 홍천 강원대연습림, 치악산, 양양, 경기도 용문산 등에서 동충하초를 채집하여 자실체 형성의 환경조건 및 채집된 자실체의 종류와 크기 등을 비교하였으며 분리는 자낭포자를 이용하여 분리하였고 현미경으로 *C. militaris*와 *C. nutans*에서 각각 자낭포자의 발아상태와 2차 포자형성을 관찰하였으며 배양적 실험과 아울러 자실체를 인공적으로 형성시키는데 성공하였다.

*Cordyceps*에 대한 연구는 세계적으로 분류에만 관심을 가졌을 뿐 동충하초를 분리동정하여 자실체형성에 대한 연구가 되었으나(Basith와 Madelin, 1986 ; Biglow, 1960 ; Lilly와 Barnett, 1951 ; 社徒 佞 등, 1986) 한국에서는 동충하초를 채집하여 보고된 논문도 없을 뿐만 아니라 이에 대한 연구를 하고 있는 연구자도 적은 실정이다. 본 속균의 자실체는 불로장수의 비약으로 결핵, 황달, 아편중독의 해독제로 이용되고 있으므로 이 연구의 결과를 잘 이용하면 해충에 대한 미생물 농약개발은 물론 묘사 날로 증가하여 사회적으로 문제가 되고 있는 마약중독의 퇴치를 위한 사업의 기초자료로서 본 연구가 일익을 담당하리라 생각된다.

摘 要

동충하초속균은 곤충기생균으로 충체내에 균핵을

형성하며 단일 또는 총생의 stroma에 자낭각을 형성하는 균이다. 채집된 동충하초균은 *Cordyceps militaris*, *C. nutans*, *C. sphaecocephala*, *Isaria japonica*와 *Torrubiella* sp. 등 5종이었다. 채집된 동충하초의 분리를 위하여 동충하초의 자실체를 샐레 뚜껑에 tape로 고정시킨 후 water agar가 들은 샐레에 짝을 맞추어 놓으면 자낭포자가 떨어지며 3시간 후 발아한 포자를 PDA에 이식하여 분리하였다. *C. nutans*와 *C. militaris*의 균사생장이 가장 우수한 배지는 Hamada media이며 complete media와 감자한천배지에서도 균사생장이 좋은 것으로 나타났다. 탄소원으로는 Mannose와 *C. militaris*와 *C. nutans*가 균사생장이 양호하였고 질소원으로는 glutamic acid에서 *C. militaris*가 asparagine에서는 *C. nutans*가 균사생장이 양호하였다. Vitamine은 Thiamine-HCl, Biotine, Nicotinic acid 모두 *C. militaris*와 *C. nutans*의 균사생장에 비슷하였다. *C. nutans*의 분생포자를 접종하였을 때 배추흰나비 유충, 노린재, 멸강나방, 배추좀나방은 살충력이 높았고, 메뚜기는 50%, 잣나무넓적잎벌은 12%의 살충력이 있으나 진딧물과 오리나무잎벌에서는 살충력이 없었다. *C. nutans*는 노린재에서만 채집되나 다른 곤충에도 살충효과가 인정되었다. 쌀가루 5g, 밀가루 5g에 물을 100 ml을 넣고 배양한 것이 균사생장과 자실체 형성은 잘 되었으나 형성된 자실체는 완전한 동충하초가 아니고 분생포자의 덩어리라는 것이 현미경에 의해 관찰되었다.

謝 辭

본 연구는 1991년부터 1993년 한국과학재단의 핵심연구과제 911-1503-057-2의 지원을 받아 수행되었음.

參考文獻

Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. Introductory Mycology. 3Ed. pp 342, John Wily and Sons Inc.
Basith, M. and Madelin, M. F. 1968. Studies on the production of perithecial stromata by *Cordyceps militaris* in artificial culture. *Can. J. Bot. Vol. 46:* 473-480.

Bigelow, H. E. 1960. Unusual fruiting of *Cordyceps militaris*, *Mycologia* 52:958.
Breitenbach, J and Kranzlin, F. 1984. Fungi in Switzerland, Volume 1 Ascomycetes. pp 310, Mykologia luzern.
Brown, A. H. S. and Smith, G. 1957. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage.
Brown, A. H. S. and Smith, G. 1957. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Bassochlumys* Westling. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 40: 17-89.
Coppel, H. C. and Mertins, J. W. 1977. Biological control Insect pest suppression. 17-18. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.
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.* 51: 2290-2300.
Dennis, R. W. G. 1981. British Ascomycetes. *J. Cramer.* Kew pp 585.
Gilman, J. C. 1957. A manual of soil fungi. 2nd ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
Jagger, 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, Y. S. and Hong, S. W. 1986. Note in unrecorded fleshy fungi of *Cordyceps* in Korea. *Kor. J. Mycol.* 14(1): 85-88.
Jenkins, W. A., The Development of *Cordyceps agarioformia*. *Ann. J. Mycol.* 26: 220-243.
Klenow, H. and Overgaard-Hansen, K. 1964. Effect of cordycepin triphosphate on the incorporation of (¹⁴C) adenine and (³²P) orthophosphatic into the acid-soluble ribotides of Ehrlich ascites tumour cells. *Biochem. Biophys. Acta.* 80: 500-504.
Kobayashi, Y. 1941. The genus *Cordyceps* and its allies. *Sci. Rept. Tokyo Bunr. Daig., Sect. B.* 5: 53-260.
Lagerberg, T. 1922. *Cordyceps militaris*(L.) Link : Sverge. *Svensk Botan. Tidskr.* 16: 285-290.
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. 1985. North American entomogenous *Cordyceps*. *Mycologia.* 50: 169-222.
Mathiexon, J. 1049. *Cordyceps aphodii*, a new species, on pasture cockchater grubs. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 32: 113-136.
Miller, O. K. 1978. Mushrooms of North America.

- A Dutton Paperback, pp368.
- Müller-Kögler, E. 1965. *Cordyceps militaris*(Fr.) Link. Beobachtungen und Versuche anlässlich eines Fundes auf *Tipula paludosa* Meig.(dipt., Tipul.). *Z. Angew. Entomo.* **55**: 409-418.
- Overgaard-Hansen, K. 1964. The inhibition of 5-phosphoribosyl-1-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.
- Pettit, R. H. 1895. Studies in artificial cultures of entomogenous fungi. *Cornell Agric. Exp. Sta. Bull.* **97**: 339-378.
- Renyolds, D. R. 1981. *Ascomycete Systematics*. Springer-Verlag New York Inc. 116-117.
- Rottman, F. and Guatino, A. 1964. The inhibition of purine biosynthesis de novo in *Bacillus subtilis* by cordycepin, *Biochem. Biophys. Acta* **80**: 640-647.
- Shanor, L. 1936. The production of mature perithecia of *Cordyceps militaris*(Linn.) Link in laboratory culture. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* **52**: 99-105.
- Sopp, O. J. O. 1911. Untersuchungen über insecten-Vertilgende Pilze bei den letzten Kieferspinnerepidemien in norwegwn. *Vid. Selsk. Skr. I. Math.-Nat. Kl.* **1911**: 1-56.
- 박완희, 1991. 한국의 버섯. pp504 교학사.
- 이병호, 1990. 마약퇴치길 열린다. 일간스포츠 7월 16일.
- 이지열, 홍순우, 한국동식물도감 고등균류편(버섯류), 제 28권: 194-199. 국정교과서주식회사. 서울.
- 神戸中醫學研究會, 1983. 漢藥 臨床 應用, **58**: 326-327. 醫齒漢出版株式會社, 東京, 昭和 社徒 4 1986, 冬蟲夏草及 人工培養蟲草菌絲菌體抗中癌作用的研究, 中藥通, **11**(7): 51-54, 四川省 藥研究所藥理室.
- 예운운, 1985. 冬蟲夏草及 人工蟲草菌絲研究概況, 中藥通, **10**(2): 51-54. 海運醫學研究所.
- 金關六也, 大谷吉雄, 本郷次雄, 1989. 日本のきのこ, pp 623, 山と 溪谷社.
- 有賀久雄, 1979. 昆蟲病理凡論, pp487, 養賢堂, 東京.
- 林義雄, 清水大典, 1983. 冬蟲夏草圖鑑, pp280. 保育社.
- 清水大典, 1981. 冬蟲夏草, 東京.
- 上田俊穂, 1985. きのこ圖鑑, 223pp. 保育社.