

곰뱅이(*Allomyrina dichotoma* Linnaeus)에서의 번데기동충하초 (*Cordyceps militaris*) 자실체 유도

조덕현* · 조윤만 · 이종일¹⁾

우석대학교 생물학과 · ¹⁾순천대학교 한약 자원학과

Fruitbody Formation of *Cordyceps militaris* in *Allomyrina dichotoma* Linnaeus

Duck-Hyun Cho*, Yun-Man Cho, Jong-Il Lee¹⁾

Department of biology, division of Life and Technology, College of Science and
Technology, Woosuk University, Cheonju 565-800, Korea

¹⁾Dept. of Oriental Medicine Resources, College of Natural Science,
Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

ABSTRACT

Three strains(CHO-7208, CHO-7845, CHO-7846) of the *Cordyceps* were used for mass production by artificial cultivation with *Allomyrina dichotoma* larva. The mycelium length of *Cordyceps militaris* on PDA was grown to $25 \pm 2\text{mm}$ (CHO-7208) and $26 \pm 2\text{mm}$ (CHO-7845) and $16 \pm 2\text{mm}$ (CHO-7846) for 13days cultivation. The larva of *Allomyrina dichotoma* reared with starch, wheat flour and rice. The best rear material were starch. The formation of fruitbody on media were possible with CHO-7208 and CHO-7846. The fruitbody length of CHO-7208 on *A.dichotoma* media were $51 \pm 5\text{mm}$ for 27 days culture. And then fruitbody length of CHO-7846 on same media were $56 \pm 5\text{mm}$ for 27 days culture. The larva of *A.dichotoma* media was excellent fruitbody formation of *C. militaris*.

Key word : *Allomyrina dichotoma*, *Cordyceps militaris*. fruitbody formation. rear material, starch,

서언

자연의 분해자 및 환원자로 역할을 하는 균류는 예로부터 식용으로 뿐만 아니라 약용으로서의 이용 가치도 다양하였다. 동충하초는 포자가 곤충의 유충이나 성충 등에 침입하여 기주의 단백질을 균사 생

육에 필요한 영양원으로 이용한다. 동충하초의 종류는 전세계적으로 학자에 따라 다르지만 100속 600~800여종으로 보고되어 있고(Arpra et al., 1991) 한국에서는 59종이 보고되어 있으며, 이중 불완전균이 3종 포함되어 있다.(이 와 이, 2000). 자실체의 발생에 관한 측면에서의 재배 환경이나 조건(Baithet

*교신저자 : E-mail : chodh@core. woosuk.ac.kr

al., ; 최등, 1999 ; 최등, 1999 ; 이등, 1999 ; 방과 조, 2000 ; 성등, 1999 ; 성등, 1999)이 있고 누에 번데기를 첨가한 배지에서 자연 상태와 비슷한 자실체를 생산해 내었다(성등, 1999). 곤충을 이용한 배지 선발 실험에서는 자연 발생적인 동충하초 기주의 원형에 접근하기 위해서 지네, 굼벵이, 누에가루, 누에 번데기, 번데기와 PDA를 혼합 사용하여 지네 처리구, 굼벵이 처리구는 각각 살아 있는 지네와 굼벵이를 사용하여 눈꽃 동충하초 자실체 생산을 유도하였으나 누에 번데기와 PDA 혼합 배지, 번데기 배지에서는 균사 생장이 양호하였으며 두 배지에서 저 비용 배지에 의한 대량 재배로 자실체 생산도 가능하였다. 그러나 살아 있는 지네와 굼벵이의 배지와 건조 누에의 가루를 배지로 사용하였을 때 균사배양만 가능하고 자실체 생산은 기대할 수 없어 물리성과 통기성 및 배지성분에 대한 요구가 검토되어야 한다고 보고하였다(이 등, 1999). 이렇게 여러 가지 연구가 진행되어 왔음에도 불구하고 배지의 다양성 및 배지의 재료에 따른 특정 배지를 이용한 재배법은 미비한 편이다.

흙 속에 사는 퐁뎅이류의 유충들을 일반적으로 굼벵이라 불리며 이들 유충을 뜨거운 물에 데쳐서 햇볕에 말린 것을 한방에서는 제조라 하는 약재로 알려져 있다. 최근 이들의 대량 사육에 대한 관심이 커지고 있어 산업화를 서두르고 있을뿐만 아니라 약리적 작용 및 기능에 대한 연구도 병행되고 있다. 동충하초를 재배함에 있어서 누에번데기를 이용하여 대량생산을 하고 있지만 재배기술이 보편화되어 수익이 감소되고 있는 실정이며, 가공 과정에서는 균사의 생장이 이루어진 배지와 자실체가 함께 이용되고 있어서 배지의 특성도 고려되어야 한다. 그러므로 이를 개선하기 위해서는 보다 많은 특정 배지를 이용한 재배법의 개발과 이에 적합한 균주의 확보와 우량 균주의 선발이 선행되어야 한다.

본 연구는 특정배지의 선발과 여기에 적합한 균주를 확보하여 동충하초 재배농가 뿐만 아니라 식품이나 의약품개발 등 다른 산업 분야에 응용되도록 하기 위한 것이다.

재료 및 방법

1. 재료

CHO-7208, CHO-7845, CHO-7846을 우석대학교 균류유전자원 교실로부터 분양 받았다. 굼벵이 (*Allomyrina dichotoma*)는 표고버섯 재배 농장에서 채집하여 25℃의 60~65% 수분을 함유한 참나무 톱밥 속에서 사육하여 성충으로 유도 하여 동정에 명확성을 기하였다.

2. 방법

PDA평판 배지에서는 방과 조(2000, 2001)의 방법에 따라 접종 후 3일후 부터 2일 간격으로 13일간 균사의 특징을 관찰하였다. 채집한 굼벵이는 체내의 흙과 목재 등의 물질을 제거하기 위해서 쌀, 밀가루, 전분을 이용하여 24℃의 70% 습도 상태에서 약10일간 사육을 실시하여 생존율을 조사하고 적절한 사육 먹이를 선정하였다. 선정된 먹이로 사육된 굼벵이를 700ml 폴리에틸렌 재배용기에 54~57g(10마리)씩 넣고서 121℃ 에서 30분간 살균하였다. 공시 균주를 PDB배지에서 7일간 배양한 액체 균주를 각각 5ml씩을 접종하여 23±1℃에서 균사배양을 하였다. 자실체 유도를 위해 온도를 18±2℃를 유지하고 1,000Lux 이상의 형광 빛을 조사하였으며 70%의 대기 습상태를 유지하였다(최 등, 1999).

결과

1. PDA 배지에서의 공시 균주의 특성

각 의 생장은 성장량과 성장 곡선의 차이가 나타났다. CHO-7208과 CHO-7845의 균사 생장은 13일간 배양 하였을 때 약 25mm의 성장량을 나타냈으며 CHO-7846은 약 16mm성장하여서 9mm의 차이를 나타냈다. CHO-7208은 배양 5일에서 7일 사이에 나타났으며 CHO-7846의 정체 구간은 배양 9일에서 11일 사이에 나타났다. 이때의 균사는 8mm-9mm 성장하였다. CHO-7845 균사 생장이 배양 7일 까지는 약 3.5mm-4.0mm의 일정한 속도로 성장하였으며 9일부

Table 1. Mycelium growth on PDA media of *Cordyceps militaris*.

(Unit : mm)

Day	Strains	CHO-7208	CHO-7845	CHO-7846
1		0±2	0±2	0±2
3		4±2	3±2	2±2
5		8±2	7±2	5±2
7		10±2	11±2	9±2
9		15±2	14±2	10±2
11		20±2	20±2	14±2
13		25±2	26±2	16±2

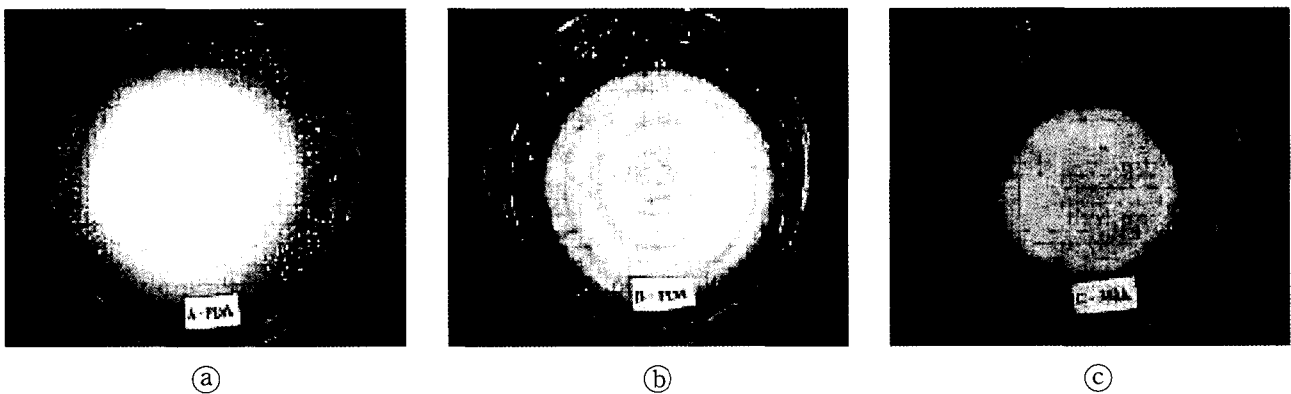


Fig. 1. Mycelium growth on PDA of *Cordyceps militaris*.

Ⓐ : CHO-7208, Ⓑ : CHO-7845 Ⓒ : CHO-7846.

터 13일까지는 5.0mm-6.0mm 성장하였다. 균사의 성장세가 가장 빠른 구간은 배양 9일에서 11일까지 세 균주 모두 동일하게 나타났으며 생장이 둔화된 후 균사의 생장이 빨라졌다.

CHO-7208의 균사 색상은 전반적으로 흰색을 띄고 있었으며 기중균사의 성장은 활발하였으며 배지 표면에는 약 3mm 가량 성장하여 솜털 모양을 형성하였다. 기중균사는 초기에 발생이 적게 나타났으나 후반으로 갈수록 발생량이 증가하였다. 생장이 빠르게 이루어지는 배양 3일에서 5일 사이와 7일에서 13일 사이에 기중 균사의 생장이 뚜렷하게 나타났다. 동심원상의 형성은 크게 두 형태로 구분되었다. 배양 5일에서 6일 부근과 7일과 9일 부근에서 크게 형성된 동심원을 형성하였다

CHO-7845는 기중균사는 나타나지 않았으며 배

지 평면에 얇게 균사를 형성시켰다. 균사의 색은 배양기간이 지속되면서 옅은 황색으로 변화하였다. 크게 7개의 동심원을 형성하였으며 3번째와 4번째, 5번째와 6번째 동심원은 희미하였다. CHO-7846에서 기중균사의 형성은 균사 생장이 빠르게 이루어지는 배양 3일부터 7일까지, 9일부터 13일까지 배지 표면에 2mm 가량 성장하였다. 균사의 색은 흰색으로 나타났으며 배양이 지속되면서 진한 황색으로 변화하였다. (Table.1, Fig. 1)

2. 곰팡이에서의 자실체 발생

곰팡이 사육 결과 : 곰팡이를 쌀, 전분, 밀가루를 이용하여 생육에 알맞은 부엽토의 습도와 동일하게 70%의 수분 상태와 양호한 성장 온도인 23℃의 실내 온도를 유지하면서 사육을 실시하였다. 쌀을 이

용하여 사육한 실험구는 3일까지는 생육이 양호하였으나 3일 후에는 수분이 증가하고 곰팡이의 배설물이 혼합되어 쌀의 온도가 40℃ 이상으로 급격하게 상승하여 표면으로 집중되는 결과가 나타났다. 5일 이후부터는 쌀에서 곰팡이가 발생하였으며 사육종료 시점에 생존율은 50%를 넘지 못하였다. 전분을 이용하여 사육한 실험구는 양호한 성장상태를 나타내었다. 사육기간 내내 사료의 온도를 23℃의 온도를 유지 할 수 있었으며 70%의 수분 상태를 유지 할 수 있었다. 또한 수분과 결합하여 점성이 증가하지 않았으며 95% 이상의 생존율을 나타냈다. 밀가루 처리를 한 실험구는 3일 까지는 전분과 같은 효과가 나타났으나 3일 후부터는 곰팡이 절지운동에 의해서 점성이 증가되었다. 점성이 증가된 밀가루는 곰팡이의 몸체 고착되어서 먹이 섭취 및 기타 활동에 대한 운동을 저해시켜 결과적으로는 곰팡이를 죽게 하였다. 또한 점성이 증가되면서 밀가루의 온도가 40℃까지 상승하였으며 역한 냄새와 더불어서 곰팡이가 발생하였다. 밀가루의 온도가 상승되면서 쌀에서와 같이 표면으로 집중되는 현상을 나타냈으며 최종 생존율은 60%를 넘지 못하였다.

자실체 유도 실험 : CHO-7028은 접종 후 3일 후부터 균사가 활착 되었고 백색이며 5일에는 배지표면에 솜털모양의 균사를 형성하였으며 배지 표면을 완전히 점유하는 시기는 접종 후 9일에 완전하게 이루어졌다. 균사는 표면의 배지를 점유 한 상태로서 기중균사는 뚜렷하게 형성되지 않았다. 1,000 Lux 이상의 광과 70% 이상의 공기 중의 습도 조건에서 균사의 색은 2일 후부터 진한 주황색으로 변하였으며, 균사의 변화는 빛의 조사량이 증가할수록 붉은 색에 가까워졌다. 자실체 발생은 1000Lux 광을 조사하면서 배양하였을 때 유도되었다. 초기에는 작은 돌기 모양을 형성하면서 바늘 모양을 형성 한 후 광을 조사하여 발이 유도를 한 후 5일부터 정상적인 모습을 나타냈다. 자실체의 생장은 배양 16일 6±5mm로 생장을 하였으며 19일까지는 25±5mm이었다. 21일째는 33±5mm였고 24일째는 35±5mm 였다. 배양 27일에는 51±5mm 이었다. 자실체의 끝이 둥근 형태를

나타내고 있으며 자낭각이 표면에 반쯤 묻혀있는 상태였으며 빛의 세기가 강할수록 자실체의 색상이 붉은 주황색에 가깝게 나타났다. CHO-7845는 액체종균을 접종한 후 3일 제부터 균사의 생장이 시작되어 흰색의 균사체가 배지에 점점히 나타나는 시점은 접종 후 5일부터였다. 균사의 색상은 흰색을 나타냈다. 배지 표면에 완전한 균사의 점유는 배양 12일째 완성되었으며 기중 균사는 형성되지 않았고 표면의 균사는 얇게 형성되었다. 접종 12일째에 1,000 Lux의 광을 조사하였을 때 균사표면의 색은 약하게 주황색으로 변하였다. 빛의 조사후 3일 후부터는 원기가 나타났으나 배양 기간이 증가하여도 자실체로의 생장은 이루어지지 않았다. 배양 기간이 20일 이 경과되면서 균사의 색은 흰색으로 퇴색되어 갔으며 점차적으로 사멸되어 갔다.

CHO-7846는 액체종균을 접종한 후 배양 3일부터 균사의 성장 상태가 관찰되었다. 균사의 생장은 빠르게 이루어져 접종 5일 제에는 배지 표면을 전체적으로 점유하였다. 7일 이후부터는 표면의 균사 색깔이 황색을 나타내기 시작하였으며 균막의 형성이 이루어지기 시작하였다. 접종 10일 제 균사의 표면이 완전히 균사에 의해 덮인 다음 1,000 Lux의 광을 조사하여 자실체 발생 유도를 한지 2일 후부터는 자실체의 발생 징후가 나타났으며 색깔은 진한 주황색을 나타내면서 점차 붉은 색에 가깝게 나타났다. 자실체의 발생은 배양일로부터 13일째에 나타났다. 모양은 붉은 색에 가까운 진한 주황색을 나타내었으며 빛이 강해질수록 자실체 및 균사의 색이 진해지는 경향이 있었다. 자실체의 발생되는 모양은 초기에는 굵게 발생되어 성장하다가 정단 부분에서 여러 갈래로 세분화되어 그 끝이 자실체로 유도되었다. 자실체의 생장은 배양 16일째에는 10±5mm 성장하였으며 19일에는 25±5mm까지 성장하였다. 이후 배양 21일에는 빠른 생장을 하여서 35±5mm의 성장치를 나타내었다. 배양 24일 일에는 성장량은 39±5mm 였다. 배양 27일에는 성장 최종 56±5mm까지 성장하였다. 자실체의 생장은 초기 4일간은 자실체 생장이 빠르게 진행되고 2일간 생장이 감소하였으며 후기에는 성장 속도가 증가하였다.(Table.2, Fig. 2)

Table 2. Fruitbody length on *Allomyrina dichotoma* larva media of *Cordyceps militaris*. (Unit : mm)

Day	Strains		
	CHO-7208	CHO-7845	CHO-7846
16	6 ± 5	0 ± 5	10 ± 5
19	25 ± 5	0 ± 5	25 ± 5
21	32 ± 5	0 ± 5	35 ± 5
24	35 ± 5	0 ± 5	39 ± 5
27	51 ± 5	0 ± 5	56 ± 5

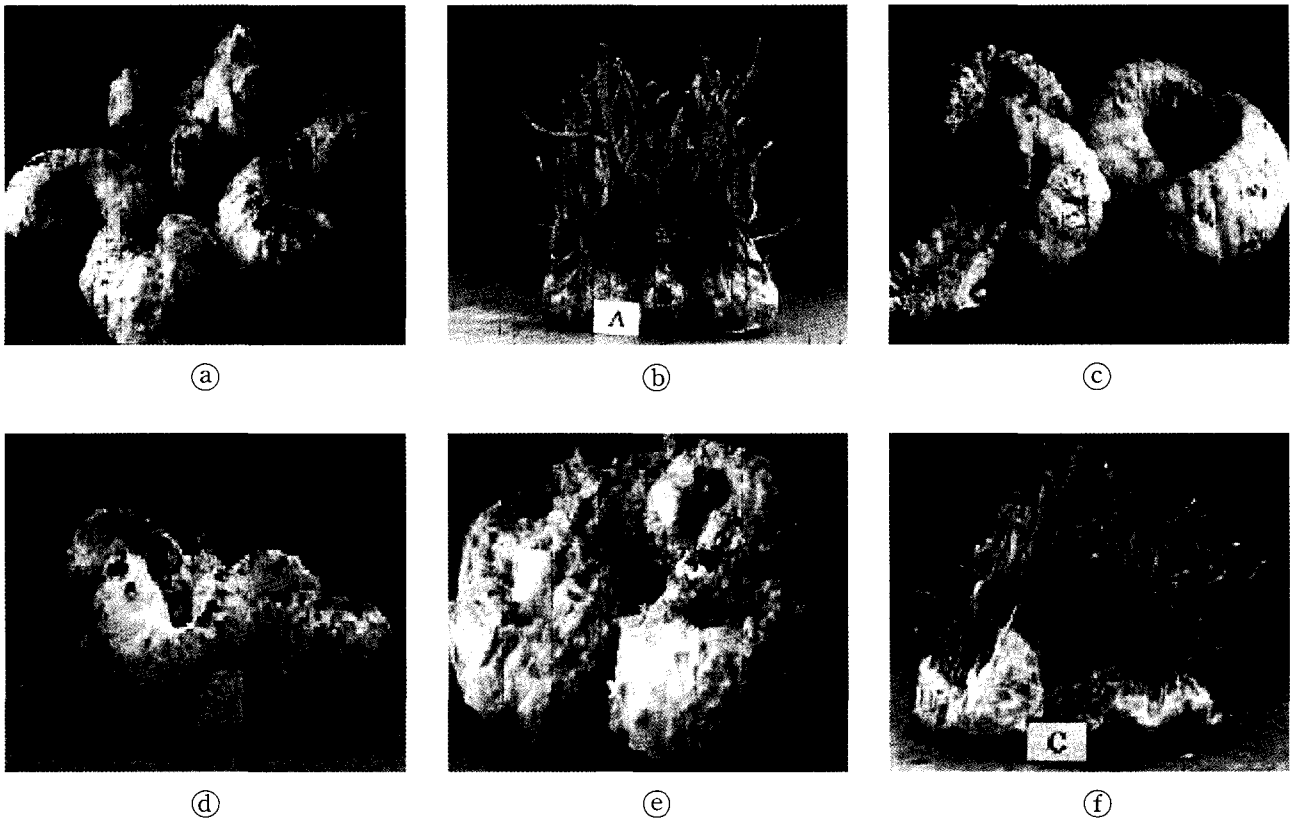


Fig. 2. The fruitbody on *Allomyrina dichotoma* larva of *Cordyceps militaris*

(a)(b) : CHO-7208 (c)(d) : CHO-7845 (e)(f) : CHO-7846.

고찰

동충하초의 재배에 있어서 새로운 배지의 개발을 위해 곰팡이를 이용하여 재배실험을 실시하였다. PDA배지에서 균사생장 실험을 한 결과 CHO-7208의 생장은 일정한 환을 형성하였으며 배양 5일에서 7일 사이에 생장이 둔화되는 기간이 나타났다. 이는

CHO-7846의 균에서도 배양 7일과 9일 사이에 관찰되었다. CHO-7845는 일정한 성장 상태를 유지하면서 직선에 가까운 성장곡선을 나타냈다. 균사의 색은 CHO-7208과 CHO-7845는 흰색을 나타냈으며 배양이 지속되면서 균사의 색이 연한 황색으로 변하였다. CHO-7846은 진한 황색을 나타내면서 비교 균주 중 가장 작은 동심원을 형성하였지만 기중 균사의

형성은 뚜렷하였다. 13일간 균사 배양시 CHO-7208은 25±2mm 성장하였으며 CHO-7845는 26±2mm, CHO-7846은 16±2mm 성장하였다.

살아있는 곰팡이를 인공배지로 사용 시 균사배양만 가능하고 자실체 생산은 기대할 수 없다(이등, 1999)고 보고되었다. 따라서 본 실험은 쌀, 밀가루, 전분을 투여해서 10일간 사육하여 영양원을 제공해주는 효과를 얻었다. 전분을 이용하여 사육하였을 경우에는 곰팡이의 생존율이 90% 이상이였으며 밀가루를 이용하였을 경우에는 60%의 생존율, 쌀에서는 50%의 생존율을 나타냈다. 이는 사육먹이의 발효열에 의해서 곰팡이의 생리적 적정환경이 저해되기 때문이라고 사료된다.

사육된 곰팡이의 재배실험에 있어서 균사의 성장 및 자실체의 유도 실험에서 CHO-7846과 CHO-7208에서 자실체 발생을 유도 할 수 있었으며 CHO-7845에서는 균사의 생장은 나타났으나 자실체의 발생은 유도되진 않았다. 이는 PDA배지에서 기중균사의 형성이 미비하고 배지 표면으로만 성장하는 균사의 특징 때문이라고 사료되며, CHO-7208의 경우는 균사 성장 및 자실체 발생에 있어서도 우수하였다. 자실체의 생장은 배양 21일과 24일 사이에 생장이 둔화되어 이 기간 동안 약 2mm 성장하였다. 이후에는 빠른 성장을 하여서 배양 27일 쯤에는 51±5mm 까지 성장하였다. CHO-7846은 배양 21일과 24일 사이에 생장이 둔화되어 이 기간 동안 약 5mm 가량 성장하였으며 27일 간 배양 결과 자실체의 길이는 56±5mm까지 성장하였다.

적요

본 연구는 곰팡이를 이용하여 동충하초의 자실체를 유도하기 위하여 3종의 동충하초(*Cordyceps militaris*) CHO-7208, CHO-7845, CHO-7846를 사용하여 배양조건을 조사하였다. PDA배지에서 13일간 배양 결과 CHO-7208는 25±2mm, CHO-7845는 26±2mm와 CHO-7846은 16±2mm 성장하였으며 곰팡이를 배지로서 이용하기 위해서는 전분이나 밀가루,

쌀을 이용하여 사육을 했을 때 전분의 생존율이 높았다. 곰팡이 배지에서는 CHO-7298과 CHO-7846에서 자실체가 발생하였으며 27일간 성장량은 각각 51±5mm와 51±5mm로 성장하였다. 또한 곰팡이에서의 자실체 발생은 기중균사 형성이 왕성한 것이 균주로서 적합하였으며 곰팡이 배지에 동충하초를 배양하여도 자실체의 발생은 양호하였다.

사사

이 논문은 2000년도 농림부 특정연구(현장애로기술행업)의 학술조성연구비로 이루어진 것으로 연구비를 지원하여 준 농림부에 심심한 감사의 말씀을 드립니다.

인용문헌

Arora, D.K., Ajello, L. and Mukerji, K.G. Handbook of applied mycology. Marcel Dekker, Inc. 2 : 547~993.

Baith, 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.

방극소, 조덕현. 2000. 야생 동충하초로부터 우량균주 선발 (I) 한국자원식물학회지 13권 제 3호. 155~167.

이태수, 이지열. 2000. 한국 기록종 버섯 재 정리 목록. 임업연구원. 72~75.

이희덕, 김용균, 김홍규, 이가순. 1999. 눈꽃 동충하초 배지별 인공재배법과 성분분석에 관한 연구. 자원식물학회지 12권 제2호. 102~106.

성재모, 이현경, 최영상, 김용욱, 김상희, 성기호. 1997. 한국에서 채집된 동충하초의 분포와 분류. 한국균학회지. 25(4). 15~19.

성재모, 최영상, 이현경, 김상희, 기용욱, 성기호. 1999. 분리된 동충하초 균주를 이용한 자실체 생산. 한국 균학회지 27(1). 15~19.

최인영, 최정식, 이왕휴. 1999, *Paceilomyces japonica*의 인공 자실체 생산. 한국균학회지. 27(2). 87~93.
최인영, 최정식, 이왕휴, 유영진, 정기태, 주인옥, 최영근. 1999, *Cordyceps militaris*의 인공자실체 형성

조건. 한국균학회지 27(4). 243~248.

(접수일 2002. 12. 30)

(수락일 2003. 2. 5)