

눈꽃동충하초 및 번데기동충하초균의 적정 병원력 유지조건 구명

정이연* · 남성희 · 홍인표 · 유승헌¹
농업과학기술원 잠사곤충부, ¹충남대학 농과대학

Study of optimal pathogenicity condition on cordyceps

I-Yeon Jung, Sung-Hee Nam, In-Pyo Hong and Seung-Hun Yu¹

Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agriculture and Technology, Suwon 441-100, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Yuseong 305-764, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to investigate pathogenicity of liquid spawns on dongchunghacho growing using silkworm, optimum infective condition for mass production and infection rate on various conservation periods and temperatures. We compared with the infection rates after conservation the liquid spawns (*Paecilomyces tenuipes*) at 4°C and 25°C for 10 days and 20 days. In these results, infection rate of conserved liquid spawns at 4°C was 88.0 percent in the tenth day, and then again it was 5.3 percent at 25°C. Infection rates at 4°C were on the whole excellent out of long-term preservation methods.

Key words : Dongchunghacho, silkworm, Cordyceps

서 론

지구상에 분포하고 있는 곤충병원성 곰팡이는 약 5000여종으로 추정되고 있으나, 지금까지 불과 800여종만이 문헌에 기록이 되어 있을 정도로 다른 부류의 곰팡이보다 연구가 상당히 미흡한 곰팡이 균이다. 하지만 곤충병원성 곰팡이는 중국, 한국, 일본 등에서 예로부터 훌륭한 한방재로 이용되고 있으며, 최근에는 이러한 곰팡이로부터 기능성 유용물질을 개발하기 위한 연구가 많이 이루어지고 있다(조 등, 1999). 또한 곤충병원성 곰팡이는 균체 또는 그 물질을 이용하여 농업분야(Steinhaus, 1949)의 작물에 큰 피해를 주는 병해충의 환경친화적인 생물적방제(Tanada *et al.* 1992)에도 이용되고 있다.

따라서 국내에서도 곤충병원성 곰팡이에 대한 연구활성과 산업군 창출을 위하여 동충하초를 포함하는 여러 가지 곤충병원성 곰팡이에 관하여 많은 연구가 수행중에 있다. 이러한 균들은 보존방법에 따라 변이 또는 활성에 차이가 있는데(清水大典, 1994), 미생물 보존의 목적은 한 균주를 오염되지 않게, 변화나 변이없이 가능한한 원래의 분리된 그 상태를 순수하게 그대로 유지하는 것이다. 보존법은 생세포의 대사활동을 중단시키고 세포의 노화를 방지하는데 역점을 두고 있다. 일반적인 계대배양 보존법

에 있어서 배양기 및 온도조건은 중요하다. 1950년대부터는 paraffin봉입법, 토양보존법(土壤保存法)에 덧붙여 진공동결건조법 등이 일반화되어 있다. 본 연구는 눈꽃동충하초속균과 번데기동충하초균에 대하여 보존방법과 인공 및 야생균에 따른 병원력 유지 조건을 구명코자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 균분리 및 배양

본 시험에 공시한 눈꽃동충하초균(*Paecilomyces tenuipes*)은 농촌진흥청 잠사곤충부 병해충연구실 보존주로서 '95년 9월 광교산에서 솔나방 번데기에 감염된균을 채집하여 누에유충에 접종하여 인공재배한 것이며, 번데기동충하초균(*Cordyceps militaris*)은 '00년 8월에 용문산에서 채집한 야생균으로 2~3% Sodium hypochloride로 소독한 자실체를 페트리디쉬 뚜껑에 멸균 테이프를 고정후 water agar상에 떨어진 포자를 이용하여 PDA(PD 24 g, 한천 15 g, 증류수 1000 ml)배지에 접종하여 25°C로 10일간 정치 배양하여 분리하였다.

2. 종균 조제 및 누에접종

접종원으로 사용한 분생포자를 현미배지(250 ml 삼각

*Corresponding author. E-mail: iyjung@rda.go.kr

플라스크)에 재접종하여 24°C항온기에서 20일간 배양된 분생포자를 Tween20(Polyoxyethylene Sorbitan Monolaurate, 0.1 g/500 ml)으로 용해시킨 증류수로 희석하여 원심(3000 rpm, 5 min) 추출하였으며, 얻어진 희석액을 혈구계수기(Hemocytometer)로 접종농도(1.0×10^8 conidia/ml)로 조정하여 백옥잡 누에의 5령기에 각 100두 3반복으로 처리구당 30 ml을 살포하고 표준누에 사육법으로 사육하면서 감염누에 및 자실체 형성을 육안 및 현미경으로 확인하였다.

3. 동충하초균 보존

2~3% Sodium hypochloride로 소독한 자실체를 페트리 더쉬 뚜껑에 멸균 테이프로 고정후 Water agar상에 떨어진 포자를 이용하여 PDA(PD 24 g, 한천 15 g, 증류수 1000 ml)배지 및 현미(150 g/250 ml 플라스크, 증류수 60 ml 첨가)를 121°C, 20분에 멸균하여 25°C로 14일간 정치 배양된 균을 4°C, -20°C, -70°C에 3, 6, 9, 12개월 보존후 접종원으로 사용하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 동충하초속균의 적정 보관온도 및 모균주 보존기간에 따른 동충하초속균의 활성을 검정하기 위해 수행하였다. 보급종균(*Paecilomyces tenuipes*)의 희석 종균액을 4°C와 25°C(실온방치)에 10일과 20일간 보관후 누에 감염율 및 자실체 형성율을 시험한 결과(Table 1, 2) 4°C 보관에서는 10일간 보관구에서 대조구(조제즉시 접

Table 3. Infection rates by various preservation methods (*Paecilomyces tenuipes*) (Medium : PDA)

Preservation method	Period (month)	Infection rate (%)	Formation rate (%) of fruiting bodies
Cold preservation (4°C)	3	91(87*)	94(92*)
	6	91(85*)	95(93*)
	9	90(85*)	94(96*)
	12	88(83*)	93(93*)
Deep freezing (-20°C)	3	62	93
	6	56	92
	9	60	89
	12	48	90
Deep freezing (-70°C)	3	59	90
	6	47	87
	9	46	79
	12	44	81
Vacuum freeze-drying	3	48	92
	6	51	89
	9	49	89
	12	47	88
Control	-	92	95

*Hulled rice (preservation medium)

종)와 비슷하게 각각 88.0%, 96.2%로 높은 활성을 나타냈으나, 25°C에서는 누에 감염율이 5% 이하였다. 또 번데기동충하초균(*Cordyceps militaris*)도 유사한 경향치를 나타냈다. 또한 모균주 보존기간별 눈꽃동충하초균(*Paecilomyces tenuipes*) 시험에 있어서 4°C 보존구(Table 3)가 누에감염율이 88% 이상으로 냉동보존(-20°C, -70°C) 및 동결건조

Table 1. Infection rate by preservation periods of liquid spawn after culture (Fungi : artificial culture)

Division		Preservation periods				Control
		4°C		25°C		
		20 days	10 days	20 days	10 days	
<i>Paecilomyces tenuipes</i>	A	79.9	88.0	3.5	5.3	87.6
	B	94.7	96.2	-	-	96.5
<i>Cordyceps militaris</i>	A	38.1	40.4	4.4	8.1	49.9
	B	87.3	88.6	-	-	98.1

※A : Infection rate(%), B : Formation rate(%) of fruiting bodies

Table 2. Infection rate by preservation periods of liquid spawn after culture (Fungi : wild collection)

Division		Preservation periods				Control
		4°C		25°C		
		20 days	10 days	20 days	10 days	
<i>Paecilomyces tenuipes</i>	A	83.2	86.4	3.9	4.3	89.3
	B	93.7	96.4	-	-	96.6
<i>Cordyceps militaris</i>	A	36.7	41.9	4.2	6.7	51.3
	B	85.9	89.1	-	-	90.7

※ A : Infection rate(%), B : Formation rate(%) of fruiting bodies

Table 4. Infection rates by various preservation methods (*Cordyceps militaris*) (Medium : PDA)

Preservation method	Period (month)	Infection rate (%)	Formation rate (%) of fruiting bodies
Cold preservation (4°C)	3	48(51*)	87(91*)
	6	45(49*)	88(93*)
	9	46(47*)	85(89*)
	12	46(43*)	84(87*)
Deep freezing (-20°C)	3	22	88
	6	20	84
	9	21	82
	12	18	84
Deep freezing (-70°C)	3	17	69
	6	19	71
	9	17	65
	12	15	66
Vacuum freeze-drying	3	21	72
	6	23	71
	9	19	69
	12	20	70
Control	-	51	89

*Hulled rice(Preservation medium)

보존법에 비하여 감염율이 높았으나 감염된 경우에는 4°C, 냉동보존(-20°C, -70°C) 및 동결건조보존법 모두 90% 내외의 높은 자실체 형성율을 나타내었다. 번데기동충하초균(*Cordyceps militaris*) 보존기간별 시험에서도 4°C 보존구(Table 4)가 누에감염율이 40% 이상으로 비교적 높은 감염율을 나타내었지만 냉동보존(-20°C, -70°C) 및 동결건조보존법에 있어서는 20% 내외로 낮았다. 현미에 집중하여 보존한 경에도 비슷한 경향치를 나타내었으며 4°C에 있어서 모든 시험구는 대조구와 비교시 유의성이 없었다.

적 요

본 연구는 눈꽃동충하초속균과 번데기동충하초균의 적정 보관온도 및 모균주 보존기간에 따른 동충하초속균의 활성을 검정하기 위해 수행하였다.

보급종균(액체종균)의 보관온도 및 보관일수별 활성 검정에서 4°C에서 10일간 보관시 누에 감염율 및 자실체 형성율이 각각 88.0%, 96.2%로 대조구와 비슷한 높은 활성을 나타냈으나, 25°C 보관시에는 감염율이 급격히 저하(5% 이하)하였다. 또한 모균주 보존기간별 조사에서 4°C 보존구가 냉동보존(-20°C, -70°C) 및 동결건조보존법에 비하여 우수하였고 대조구와 비교시에도 유의성이 없었으며 12개월 보존시에도 감염율 90% 이상이였다. 따라서 본 시험 결과로 볼 때 눈꽃동충하초(*Paecilomyces tenuipes*) 및 번데기동충하초균(*Cordyceps militaris*)을 냉장보존(4°C)이 가장 적당하다고 생각된다.

인용문헌

島根孝典 · 河上 清(1993) 곤충병원사상균 *Beauveria brongniartii*의 蠶およびマウに對する安全性について. *J. Seri. Sci. Jpn.* **62**(1): 30-37.

Barnett, H. L. and Barry B. Hunter (1986) Illustrated genera of imperfect fungi. Publishing company, New York. and Collier macmillan publishers, London 100-101.

Roberts, D. W. (1989) World picture of biological control of fungi. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 84 (Supl. III): 89-100.

Samson, R. A., H. C. Erans and J. P. Latge (1988) "Atlas of Entomopathogenic Fungi." Springer-Verlags, Berlin.

Steinhaus, E. A. (1949) "Principles of Insect Pathology." McGraw-Hill Book, New York.

조세연, 신국현, 송성규, 성재모 등(1999) 누에동충하초 생산 및 유용물질 개발. 농촌진흥청, pp. 42-64.

清水大典(1994) 原色冬蟲夏草圖鑑. 誠文堂新光社, 1-381.

Tanada Y. and H. Kaya. (1992) Insect pathology. Academic press. 357-359.

Ferron, P. (1967) Etude en laboratoire des conditions ecologiques favorisant le development de lamycose a *Beauveria. tenella* du ver Blanc. *Entomophaga*, **12**(3): 257-293.

A : 4°C

B : 25°C

Fig. 1. Conidia shapes of *paecilomyces tenuipes* (13 days culture).