

한국의 산과 섬 지역에서 채집한 곤충기생 진균의 분리 및 동정

김완규^{1*} · 석순자² · 원항연² · 이강효³ · 이찬중⁴ · 김양섭⁵

¹국립농업과학원 작물보호과, ²국립농업과학원 농업미생물팀, ³국립원예특작과학원 기획조정과,
⁴국립원예특작과학원 버섯과, ⁵세종데이터해석연구원

Isolation and Identification of Entomopathogenic Fungi Collected from Mountains and Islands in Korea

Wan Gyu Kim^{1*}, Soon Ja Seok², Hang Yun Weon², Kang Hyo Lee³, Chan Jung Lee⁴ and Yang Sup Kim⁵

¹Crop Protection Division, National Academy of Agricultural Science (NAAS), Rural Development Administration (RDA), Suwon 441-707, Korea

²Agricultural Microbiology Team, NAAS, RDA, Suwon 441-707, Korea

³Planning and Coordination Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science (NIHHS), RDA, Suwon 441-707, Korea

⁴Mushroom Research Division, NIHHS, RDA, Suwon 441-707, Korea

⁵Sejong Institute of Data Analysis, Suwon 443-766, Korea

(Received December 10, 2010. Accepted December 23, 2010)

ABSTRACT: Dead insects infected with fungi were collected from mountains and islands in several locations in Korea from 2003 to 2007. Morphological characteristics of the fungal fruiting bodies produced on the insect samples were examined. A total of 542 entomopathogenic fungal isolates were obtained from the insect samples and identified based on their morphological and cultural characteristics. Three species of *Beauveria*, eight species of *Cordyceps* and four species of *Isaria* were mainly isolated from the insect samples. The other entomopathogenic fungi isolated from the insect samples were *Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces* sp. and *Verticillium* sp.

KEYWORDS : *Beauveria*, *Cordyceps*, Entomopathogenic fungi, *Isaria*

식물과 동물 및 미생물을 포함하는 생물자원 중에서 미생물은 그 크기에 있어서 미세한 특성과 분류 동정의 어려움으로 인해 자연생태계에 존재하는 유용미생물에 대한 전반적인 수집 및 확보가 매우 어려운 것으로 알려져 있다. 소위 동충하초로 일컬어지는 곤충기생 진균을 비롯한 많은 종류의 유용 균류에 대한 수집 및 분류 동정에 관한 연구는 세계적으로 많이 수행되었으며(Humber, 2005; 小林和清水, 1983; 清水, 1994), 국내에서도 일부 연구자들에 의해 이에 대한 연구가 수행되어 왔다(김 등, 2002; 성, 1996). 그러나 국내의 자연생태계 내 균류 자원의 종 다양성에 대한 종합적이고 체계적인 연구는 아직 미흡한 실정이며, 특히 약용 및 기능성 식품소재로서의 이용은 물론 해충에 대한 생물적 방제의 생물자원으로 활용할 수 있는 곤충기생 진균에 대한 전반적인 수집 및 분류 동정에 대한 연구는 국가적 생물자원 확보를 위하여 매우 필요한 실정이다.

자연생태계에 존재하는 미생물 중에서 곤충에 기생하는 진균은 약 300여종이고, 이들 중 여러 종이 약용 및 기능성

식품소재로서 이용되고 있으며, 일부 종은 작물의 해충 방제를 위한 생물자원으로 이용되고 있다(Fravel, 2005; Humber, 2005; Suzui 등, 2000; Warrior 등, 2002). 따라서 곤충기생 진균에 대한 전반적인 수집 및 분류 동정에 대한 연구는 우리나라의 생물자원 확보를 위하여 매우 중요하다. 이에 본 연구에서는 국내의 산과 섬 지역에 분포되어 있는 곤충기생 진균을 수집하고, 분리 동정을 수행하여 이들 진균을 생물자원으로 활용하는데 도움이 되고자 하였다.

재료 및 방법

진균 감염 곤충시료 채집 및 진균 분리

2003년부터 2007년까지 국내 여러 지역의 산과 섬 지역을 조사하여 진균에 감염된 곤충시료를 채집하였다. 채집한 시료에 형성된 진균의 자실체 형태를 조사하고, 자실체로부터 조직을 떼어내어 1% 차아염소산나트륨(NaClO) 용액에 1~2 분간 침지하여 표면을 살균한 다음, 9 cm 펠트리접시 내 감자설탕배지(PDA)에 이식하거나 단포자를 분리하여 배양하는 방법으로 진균을 순수분리 하였다. 분리한 진균은 시험

*Corresponding author <E-mail: kimwg5121@korea.kr>

관 내 PDA에 이식하여 배양한 다음, 10°C의 저온고에 보존하면서 동정을 위한 실험에 사용하였다.

분리균주의 동정

분리하여 선별된 진균의 균주는 형태적 및 배양적 특성을 조사하고, 각 균주별 특성을 정리하여 전연구자들이 기술한 분류키에 따라(Humber, 2003; 小林와 清水, 1983; 清水, 1994) 검색을 실시하여 동정하였다.

결과 및 고찰

곤충기생 진균의 분리 및 동정

국내 여러 지역의 산과 섬 지역에서 채집한 곤충시료에서 총 542균주를 분리하였다(Table 1). 분리한 균주의 형

태적 및 배양적 특성을 조사하여 동정한 결과, 분리빈도가 많은 곤충기생 진균은 *Beauveria*속이 3종, *Cordyceps*속이 8종, *Isaria*속이 4종이었다. 이외에 분리된 곤충기생 진균은 *Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces* sp., *Verticillium* sp.였다. 분리된 곤충기생 진균 중에서 *Cordyceps*속, *Isaria*속, *Paecilomyces*속의 많은 종은 약용 및 기능성 식품의 소재로 이용되고 있으며(小林와 清水, 1983; 清水, 1994), *Beauveria*속, *Metarhizium*속, *Nomuraea*속은 해충의 생물적 방제를 위한 미생물농약 개발의 소재로 연구되고 있다(Humber, 2005; Suzui 등, 2000). 본 연구에서 동정된 균주들은 각 분류군별 적합한 저장방법에 의해 처리되어 당연구소에 장기적으로 보존되고 있으며, 이후 다른 연구자들에 의해 유용하게 이용될 것으로 생각한다.

Table 1. Collection of insect samples infected with fungi from mountains and islands in several locations in Korea and isolation of fungal resources from the samples

Fungus identified	Location collected	Insect sample collected	No. of isolates
<i>Beauveria bassiana</i>	Jeju, Inje, Wonju, Muju, Pyeongchang, Cheongyang, Sancheong, Youngju	Coleoptera, Diptera, Homoptera, Hemiptera, Mantodea, Orthoptera	59
<i>B. brongniartii</i>	Goseong, Jeju	Coleoptera	12
<i>Beauveria</i> sp.	Pyeongchang, Hongcheon, Yangpyeong, Wonju, Jeju, Hoengseong, Gageodo	Orthoptera, Mantodea, Hymenoptera, Coleoptera	51
<i>Cordyceps gracilioides</i>	Cheongyang, Yangpyeong	Larva	15
<i>C. gracilis</i>	Cheongyang	Larva	2
<i>C. longissima</i>	Jeju	Homoptera	2
<i>C. militaris</i>	Inje, Suwon, Seongnam	Larva, pupa	9
<i>C. nutans</i>	Wonju, Yanggu, Jeju, Guri, Cheongyang, Muju, Inje, Gongju, Pyeongchang	Hemiptera	38
<i>C. oxycephala</i>	Cheongyang	Hymenoptera	2
<i>C. sphecocephala</i>	Cheongyang, Gongju, Muju, Guri	Hymenoptera	18
<i>Cordyceps</i> sp.	Jeju, Wonju, Seoul, Guri, Yangpyeong, Suwon, Seongnam	Diptera, Hymenoptera, Coleoptera, larva, pupa	31
<i>Entomophaga</i> sp.	Seongnam, Guri	Diptera	^a
<i>Isaria japonica</i>	Wonju, Pyeongchang, Hongcheon, Seoul, Gongju, Inje, Yesan, Heuksando	Larva, pupa	60
<i>I. farinosa</i>	Cheongyang, Hongcheon	Coleoptera, larva	5
<i>I. sinclairii</i>	Ulreungdo	Homoptera(larva)	42
<i>Isaria</i> sp.	Cheongyang, Suwon, Yeosu, Yangpyeong, Inje, Jeju, Pyeongchang, Hoengseong, Wonju, Gongju, Gageodo	Larva, pupa	51
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Hoengseong	Phasmida	30
<i>Nomuraea rileyi</i>	Jeongeub	Larva	12
<i>Paecilomyces</i> sp.	Inje, Pyeongchang, Hongcheon, Yanggu, Gurye, Pyeongchang, Pocheon, Ulreungdo Dokdo	Coleoptera, Homoptera, larva, pupa	50
<i>Verticillium</i> sp.	Sancheong, Pocheon	Coleoptera	17
Unidentified	Gurye, Wonju, Yangpyeong	Coleoptera, larva, Orthoptera, pupa	36

^a : not isolated.

채집한 곤충기생 진균의 분포, 형태적 및 배양적 특성

1. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (Fig. 1A and C)

수집지역: 제주, 인제, 원주, 무주, 평창, 청양, 산청, 연주.

분리원: 딱정벌레목, 파리목, 매미목, 노린재목, 사마귀목, 메뚜기목.

주요특성: 분생자경은 분지가 되고, 구형 내지 플라스크 모양이며, 관절상의 굴곡진 대에 분생포자형성세포를 다발로 형성한다. 한편 크기는 3.0-8.0 × 3.0-5.0 μm. 분생포자는 출아형, 무색, 구형 내지 약간 타원형이며, 크기는 1.5-3.5 × 1.5-3.0 μm. 균총은 초기에 백색 우단모양 혹은 분상이고, 후에 담황색 내지 담적색으로 변한다. 균사의 생육온도 범위는 6-32°C이고, 적온은 22-26°C이다.

2. *B. brongniartii* (Sacc.) Petch (Fig. 1B and D)

수집지역: 고성, 제주.

분리원: 딱정벌레목.

주요특성: 분생포자형성세포는 아구형 내지 플라스크 모양이고, 관절상의 대에 소치(denticle)를 가지고 단독 혹은 그룹으로 형성되며, 크기는 3.0-15 × 2.0-4.0 μm. 분생포자는 출아형, 무색, 타원형이며, 크기는 2.0-5.0 × 2.0-3.0 μm. 균총은 초기에 백색 우단모양 혹은 분상이고, 후에 담황색 내지 담분홍색으로 변한다.

3. *Cordyceps gracilioides* Kobayasi (Fig. 2A)

수집지역: 청양, 양평.

분리원: 애벌레.

주요특성: 자실체 높이 28-62 mm, 자실체 대의 두께 1.5-2.5 mm, 자실체의 결실부는 구형 내지 타원형, 담황색 내지 담갈색, 직경 4.2-6.2 mm. 자낭과는 완전매생형, 자낭 직경

6.0-6.5 μm, 자낭 두부 6.5-7.0 × 6.0-6.5 μm, 2차포자 6.3-8.5 × 1.2-1.5 μm.

4. *Cordyceps gracilis* (Grev.) Durieu & Mont. (Fig. 2B)

수집지역: 청양.

분리원: 애벌레.

주요특성: 자실체 높이 22-32 mm, 자실체 대의 두께 1.0-1.3 mm, 자실체의 결실부는 타원형, 갈색 내지 암갈색, 직경 2.7-3.4 mm, 자낭과는 완전매생형, 자낭 직경 4.0-5.5 μm, 자낭 두부 3.0-4.5 × 7.0-7.5 μm, 2차포자 6.0-12.0 × 1.0-1.5 μm.

5. *Cordyceps longissima* Kobayasi (Fig. 2C)

수집지역: 제주.

분리원: 매미목.

주요특성: 자실체 높이 40-70 mm, 자실체의 결실부는 원통형 혹은 방추형, 담황색, 크기 25-35 × 4.0-5.5 mm, 자낭과는 매생형, 자낭 직경 5-6 μm, 자낭 두부 2.5-4.5 × 4.5-5.5 μm, 2차포자 10-16 × 1.0-1.5 μm.

6. *Cordyceps militaris* (L.) Link (Fig. 2D)

수집지역: 인제, 수원, 성남.

분리원: 애벌레, 번데기.

주요특성: 자실체 높이 23-50 mm, 자실체의 결실부는 곤봉형 내지 장타원형, 황색 내지 주황색, 크기 11-35 × 2.0-5.5 mm, 자낭과는 반나생형, 자낭 직경 3-4 μm, 자낭 두부의 크기 2.0-2.5 × 3.0-3.5 μm, 2차포자 2-4 × 0.8-1.0 μm.

7. *Cordyceps nutans* Pat. (Fig. 2E)

수집지역: 원주, 양구, 제주, 구리, 청양, 무주, 인제, 공

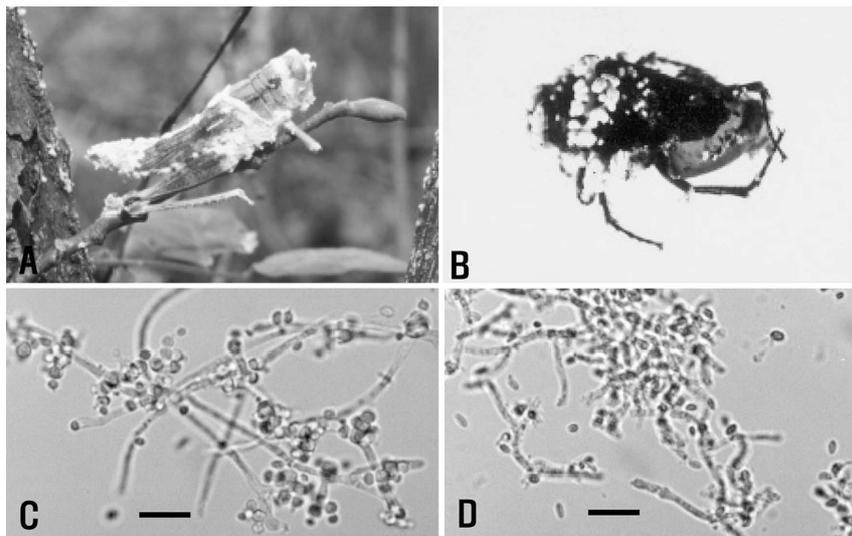


Fig. 1. Fruiting bodies of *Beauveria* spp. produced on the host insects and morphological features of the fungi. A, fruiting bodies of *B. bassiana* on *Ognevia sergii*; B, fruiting bodies of *B. brongniartii* on a sort of Coleoptera; C, hyphae, conidiophores and conidia of *B. bassiana* (scale bar = 10 μm); D, hyphae, conidiophores and conidia of *B. brongniartii* (scale bar = 10 μm).

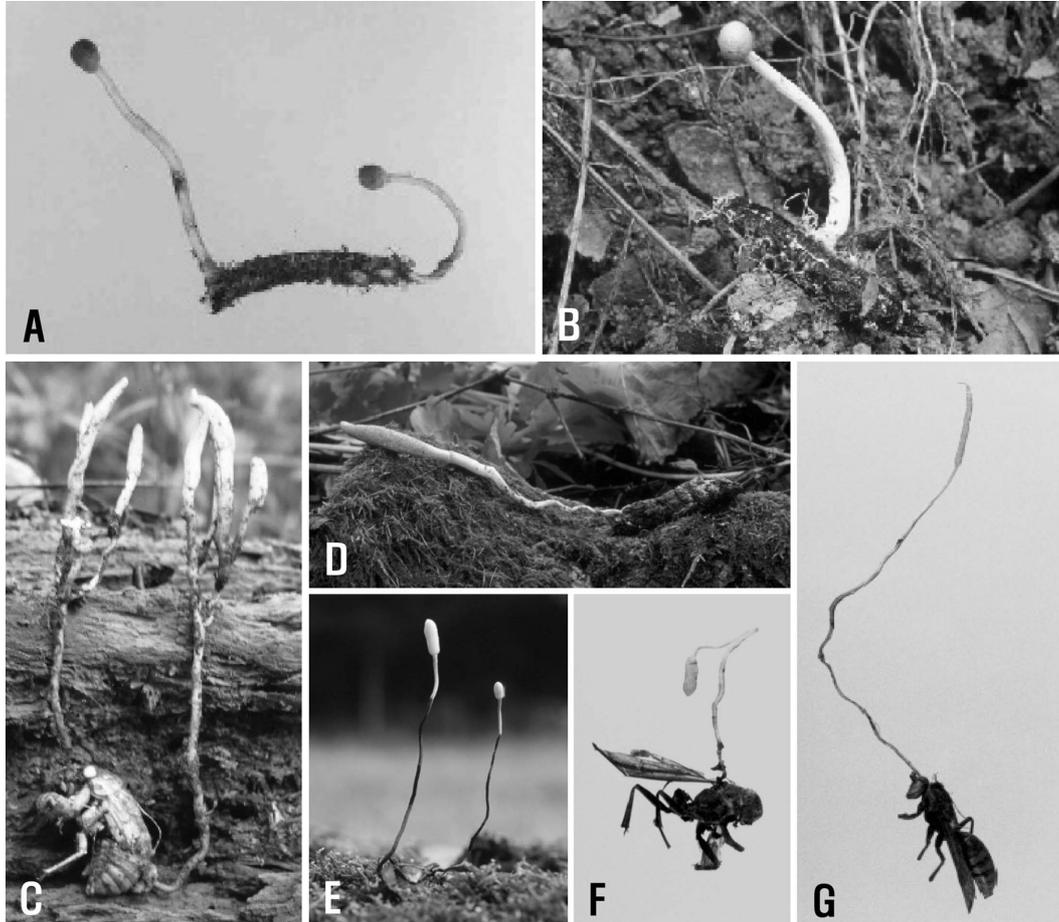


Fig. 2. Fruiting bodies of *Cordyceps* spp. produced on the host insects and morphological features of the fungi. A, fruiting bodies of *C. gracilioides* on a larva; B, a fruiting body of *C. gracilis* on a larva; C, fruiting bodies of *C. longissima* on a sort of Homoptera; D, fruiting body of *C. militaris* on a pupa; E, fruiting bodies of *C. nutans* on a sort of Hemiptera; F, a fruiting body of *C. sphecocephala* on a sort of Hymenoptera; G, a fruiting body of *C. oxycephala* on a sort of Hemiptera.

주, 평창.

분리원: 노린재목.

주요특성: 자실체 높이 40-110 mm, 자실체의 결실부는 타원형 내지 원통형, 담황색 내지 황색, 크기 3-8 × 0.8-3.0 mm, 자낭과는 완전매생형, 자낭 직경 6-10 μm, 자낭 두부의 직경 5-6 μm, 2차포자 6-11 × 1.5-1.8 μm.

8. *Cordyceps oxycephala* Penz. & Sacc. (Fig. 2G)

수집지역: 청양.

분리원: 벌목.

주요특성: 자실체 높이 30-50 mm, 자실체의 결실부는 원통형, 담황색 내지 황색, 크기 6-10 × 1.5-2.5 mm, 자낭과는 매생형, 자낭 직경 4.5-6.5 μm, 자낭 두부의 크기 6.5-8.5 × 6-9 μm, 2차포자 7.5-12.5 × 1.5-2.0 μm.

9. *Cordyceps sphecocephala* (Klotzsch ex Berk.) Berk. & M.A. Curtis (Fig. 2F)

수집지역: 청양, 공주, 무주, 구리.

분리원: 벌목.

주요특성: 자실체 높이 30-62 mm, 자실체의 결실부는 원통형, 담황색 내지 황색, 크기 7-12 × 1.5-2.5 mm, 자낭과는 매생형, 자낭 직경 6.5-10.0 μm, 자낭 두부의 크기 5-15 × 5-10 μm, 2차포자 9-13 × 1.5-2.0 μm.

10. *Isaria japonica* Yasuda (Fig. 3A and B)

수집지역: 원주, 평창, 홍천, 서울, 공주, 인제, 예산, 흑산도.

분리원: 애벌레, 번데기.

주요특성: 기주에 나뭇가지 모양의 백색 자실체를 형성한다. 자실체는 불규칙하게 분지하며, 높이는 15-50 mm, 대는 원주형, 담황색, 표면에 가루모양의 분생포자를 많이 형성한다. 분생포자는 단세포로서 약간 굽은 장타원형이고, 크기는 3-6 × 1-2 μm.

11. *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. (Fig. 3C)

수집지역: 청양, 홍천.

분리원: 딱정벌레목, 애벌레.

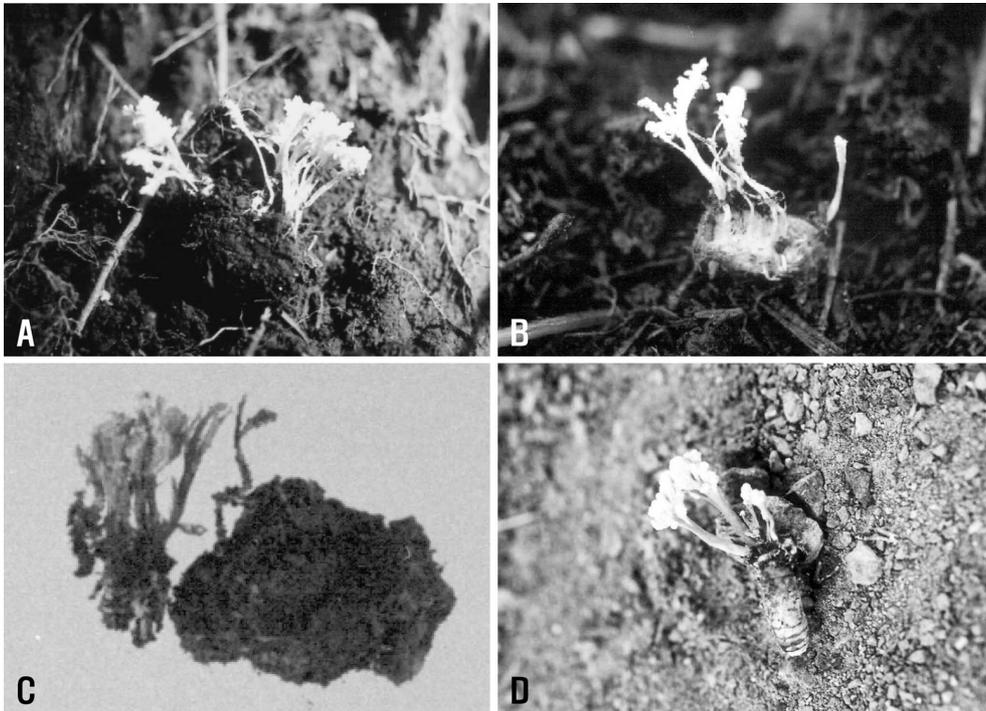


Fig. 3. Fruiting bodies of *Isaria* spp. produced on the host insects and morphological features of the fungi. A and B, fruiting bodies of *I. japonica* on pupae; C, fruiting bodies of *I. farinosa* on a sort of Coleoptera; D, fruiting bodies of *I. sinclairii* on a sort of Homoptera.

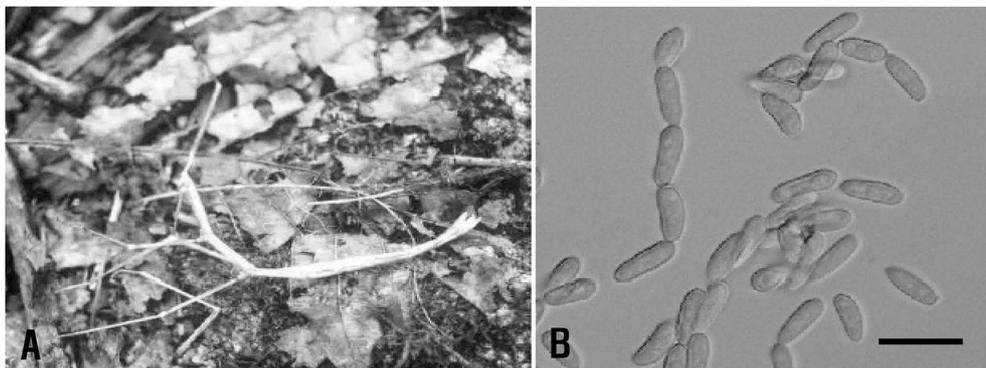


Fig. 4. Fruiting bodies (A) of *Metarhizium anisopliae* produced on a sort of Phasmida and conidia (B) of the fungus (scale bar = 10 µm).

주요특성: 기주에 나뭇가지 모양의 백색 자실체를 형성한다. 자실체는 불규칙하게 분지하며, 높이는 12-35 mm, 대는 불규칙한 원주형, 담적색 내지 담갈색, 표면에 가루모양의 분생포자를 많이 형성한다. 분생포자는 무색, 단세포로서 타원형이고, 크기는 2-3 × 1-2 µm.

12. *Isaria sinclairii* (Berk.) Lloyd (Fig. 3D)

수집지역: 울릉도.

분리원: 매미목(애벌레).

주요특성: 매미목 유충의 두부에 나뭇가지 모양의 백색 자실체를 형성한다. 자실체는 불규칙하게 분지하며, 높이는 6-30 mm, 대는 불규칙한 원주형, 갈색을 띤 담황색, 기부는 백색, 표면에 가루모양의 분생포자를 많이 형성한다. 분생포자는 무색, 단세포로서 장타원형 내지 약간 혹은 장타원형

이고, 크기는 5-10 × 2-3 µm.

13. *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (Fig. 4)

수집지역: 황성.

분리원: 대벌레목.

주요특성: 분생자경은 불규칙하게 2-3개로 분지되고, 크기는 4-14 × 1.5- 2.5 µm. 분생포자는 무색 내지 황적색, 단세포로서 경자(phialide) 위에 연쇄상으로 형성되며, 양끝이 좁은 관상형이고, 크기는 5-8 × 1.5-3.5 µm. 균총은 담황색 내지 황록색을 띤 백색.

14. *Nomuraea rileyi* (Farl.) Samson (Fig. 5)

수집지역: 정읍.

분리원: 애벌레.

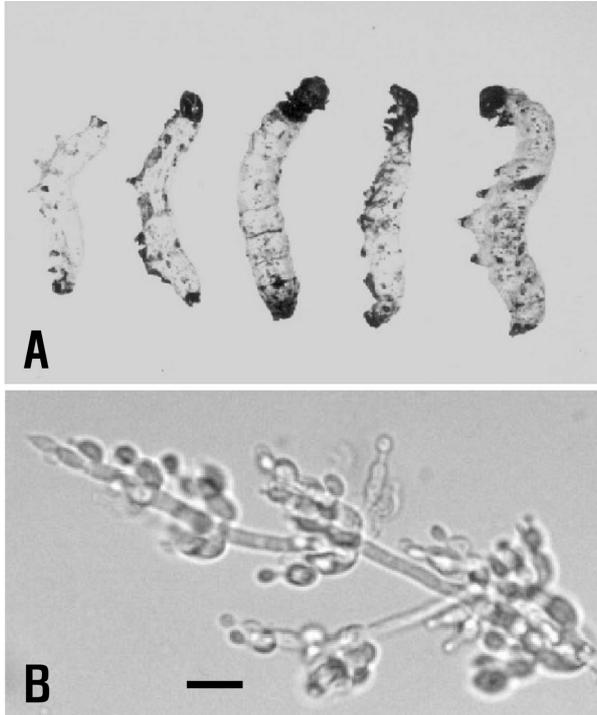


Fig. 5. Fruiting bodies (A) of *Nomuraea rileyi* produced on a larva and conidiophores, conidiogenous whorls and conidia (B) of the fungus (scale bar = 10 µm).

주요특성: 분생자경은 길게 곧바로 형성되고, 그 상부에 일정한 간격으로 분지가 운생체로 형성된다. 분지는 짧고, 부풀 모양이며, 그 위에 분지된 경자(phialide)가 다발로 형성된다. 경자는 관상형 내지 구형으로 아래쪽이 부풀고 위쪽은 좁으며, 크기는 $4-6 \times 2.5-3.5 \mu\text{m}$. 분생포자는 무색, 단세포로서 경자 위에 연쇄상으로 형성되며, 타원형 내지 관상형이고, 크기는 $2.5-5.0 \times 1.5-3.0 \mu\text{m}$. 균사는 배양기에서 매우 느리게 성장한다.

적요

2003년부터 2007년까지 국내 여러 지역의 산과 섬 지역을 조사하여 진균에 감염된 죽은 곤충시료를 채집하였다. 채집한 곤충시료에 형성된 진균의 자실체 형태를 조사하고, 채집한 곤충시료에서 총 542균주의 진균을 분리하였다. 분리한 균주의 형태적 및 배양적 특성을 조사하여 동정한 결과, 분리빈도가 많은 곤충기생 진균은 *Beauveria*속이 3종, *Cordyceps*속이 8종, *Isaria*속이 4종이었다. 이외에 분리된 곤충기생 진균은 *Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces* sp., *Verticillium* sp.였다.

참고문헌

- 김양섭, 석순자, 원항연, 이강효, 김원규, 박정식. 2002. 한국의 버섯. 동방미디어.
- 성재모. 1996. 한국의 동충하초. 교학사.
- 小林義雄, 清水大典. 1983. 冬虫夏草菌圖譜. 保育社. 日本.
- 清水大典. 1994. 原色 冬虫夏草圖鑑. 誠文堂新光社. 日本.
- Fravel, D. R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43:337-359.
- Humber, R. A. 2003. Identification and Preservation of Entomopathogenic Fungi. ARS Workshop, November 3-7, NIAST, Suwon, Korea.
- Humber, R. A. 2005. Fungi associated with insects or used for applied biocontrol. *Mycol. Res.* 109:258.
- Suzui, T., M. Okada, Y. Kunimi, T. Makino, M. Saito and K. Miyashita. 2000. Microorganism Resources: Its Characteristics and Utilization. Soft Science, Inc. Tokyo.
- Warrior, P., K. Kondura and P. Vasudevan. 2002. Formulation of biological control agents for pest and disease management: in *Biological Control of Crop Diseases*. ed. by Gnanamanickam, S. S., Marcel Dekker, Inc., New York-Basel.