

최 종  
연구보고서

GOVP1200134249

635.8  
L2932

19

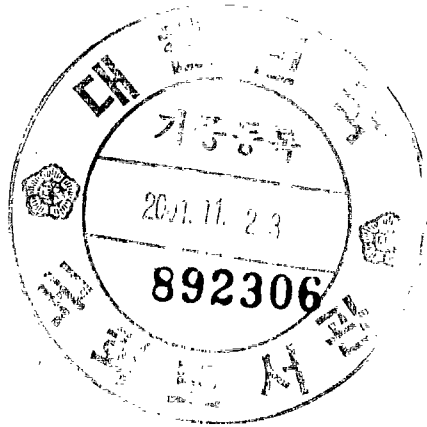
# 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병의 종합방제법 개발에 관한 연구

Integrated Control of Oyster Mushroom Green Mould

연구 기관

충남대학교  
농업생명과학대학

농 립 부



# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병의 종합방제  
법 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001 년 10 월 일

주관연구기관명 : 충남대학교

총괄연구책임자 : 유 승 현

연 구 원 : 서 건 식

연 구 원 : 김 병 련

연 구 원 : 박 명 수

연 구 원 : 오 소 영

연 구 원 : 조 혜 선

연 구 원 : 심 진 엽

연 구 원 : 김 선 철

# 요 약 문

## I. 제 목

느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병의 종합 방제법 개발에 관한 연구

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

### 1. 연구개발의 배경 및 필요성

#### 1) 기술적 측면

- 느타리버섯은 볏짚 및 폐송을 이용한 균상(菌床)재배기술이 개발·보급되면서 주년생산이 가능하게 되어 재배면적이 급속도로 증가하고 있으나 재배기술의 축적이 미흡하기 때문에 매년 각종 병해의 피해가 심하여 재배에 실패하는 농가가 많음.
- 특히 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병은 느타리버섯 재배에서 가장 피해가 큰 병해로서 우리 나라 전역에 걸쳐 발생하고 있으며 이로 인해 재배에 실패하는 농가가 많아 느타리버섯 재배의 가장 큰 애로사항이 되고 있음. 최근에는 신종 푸른곰팡이병균 및 *Trichoderma*의 완전세대인 *Hypocrea*의 피해가 증가하고 있어 방제대책이 시급함.
- 균상 배지의 재료(볏짚, 폐송)에 따라 발생하는 푸른곰팡이병균의 종류가

다를 것으로 생각되나 전혀 연구가 되어 있지 않음. 특히 폐솜은 외국(동남아, 중국)에서 수입한 것을 주로 사용하는데 신종의 곰팡이가 폐솜을 통하여 외국에서 도입될 가능성이 있으나 이에 대한 연구도 전혀 없음. 따라서 정확한 진단과 방제를 위해서 배지의 재료별(볏짚, 폐솜)로 발생하는 균류의 동정과 우점종 조사 등에 관한 연구가 필요하여 이 균들의 발생 생리·생태에 관한 기초연구도 필요함.

- 최근 벼섯 재배농가에서 푸른곰팡이병 발생초기에 방제 약제를 충분히 살포하여도 방제 효과가 낮아 재배에 실패하는 농가가 많은데 이것이 약제저항성균(내성균)의 출현 때문으로 생각되나 이에 관한 연구가 전혀 없음. 방제효과가 없는 약제의 남용을 막기 위해서 약제저항성균의 출현과 분포상황을 조사할 필요가 있음.
- 무분별한 농약사용을 막기 위하여 푸른곰팡이병균 종류별로 효과적인 살균제의 선발, 적정사용농도 및 처리방법을 구명하고, 생물학적 방제법을 개발함으로써 농약사용을 최소화하면서 방제 효과를 올릴 수 있는 방제법의 개발이 필요함.
- 식품의 안정성 및 환경문제를 야기하지 않는 무(저)공해 소독제를 이용한 방제, 배지의 종류별로 효과적인 살균법의 구명 및 저항성 품종의 이용과 같은 안전한 병해 방제법의 개발이 필요함.
- 벼섯 재배 시 발생하는 병해의 방제를 위하여 농약의 사용은 가능한 한 피해야 하지만, 현실적으로 농가에서는 각종 농약을 사용하여 방제하기 때문에 약제 처리 시 야기될 수 있는 약해와 벼섯에 잔류하는 약제 성분과 양을 구명해야 할 필요가 있음.

## 2) 경제·산업적 측면

- 느타리버섯은 단위당 소득이 가장 높은 고소득 작목으로 알려져 있어 재배면적이 점차 증가하고 있으나(1995년도 재배면적 179만평, 재배 농가 수

8,216호) 푸른곰팡이병의 만연으로 인한 재배 실패, 버섯 생산량 감소, 품질저하 등으로 농민의 경제적 피해가 매우 크므로 효과적인 병해 방제법의 확립이 필요함.

- 버섯 소비량이 빠른 속도로 증가하고 있으나(연평균 21%씩 증가) 재배 기술의 축적과 재배관리가 미흡하기 때문에 매년 푸른곰팡이병을 비롯한 각종 병해의 피해가 심하여 그 생산량은 국민적 소비욕구를 충족시키지 못하고 있음.
- 느타리버섯의 생산성 향상으로 국내버섯산업을 보호하며 경쟁력을 강화시킬 필요가 있음.

### 3) 사회·문화적 측면

- 소비자들의 소득 수준 향상 및 건강식품 선호 등으로 버섯의 소비량은 계속 증가할 것으로 예상되므로 생산성 향상을 위한 효과적인 병해 방제법의 확립이 필요함.
- 고품질 버섯의 수요증가, 청정 농산물에 대한 관심고조 등으로 무공해 소독제 및 저 농약 방제법의 확립이 필요함.

## 2. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

### 1) 국내 기술 현황과 문제점

- 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병균으로는 *Trichoderma*, *Hypocrea*, *Gliocladium*, *Penicillium* 등이, 기타 유해균류로는 붉은빵곰팡이병균(*Monilia* sp.), 흑회색응단곰팡이병균(*Trichurus*) 등이 보고되어 있으나(차동열 등 1997), 균상 재료별로 발생하는 병원균의 정확한 동정, 발생 생리 및 생태, 균류별 분포비율, 방제법 등에 관한 정보가 매우 부족함.
- 특히 외국에서 수입한 폐송과 국내산 폐송 및 벗짚에 발생하는 균류의 종류 및 우점종에 관한 연구가 전혀 없음.

- 경기도내의 느타리버섯 재배농가의 병해발생조사에서 푸른곰팡이병 발병률이 갈반병과의 혼합발생을 포함하여 68%에 달하였으며 재배사의 재배년 수(연작)가 증가할수록 푸른곰팡이병의 발생률은 증가하였으므로(조성산 등 1994), 방제법이 확립되지 않으면 이 병의 피해는 계속 증가할 것으로 예상됨.
- 벤레이트, 판마시 수화제가 푸른곰팡이병 방제 약제로 사용되고 있으나(조성산 등 1994, 차동열 등 1997), 최근 방제약제의 약효 저하를 호소하는 농민들이 많음. 특히 신종 푸른곰팡이병, *Hypocrea*의 방제가 매우 어려운 실정임.
- 목초액의 푸른곰팡이병균 억제효과에 관한 단편적인 보고가 있으나(장현유 외 1995), PDA 배지 상에서의 억제효과만 조사하였을 뿐 균상 및 버섯재배배지에서의 시험을 수행하지 않았으므로 실제 재배에 적용할 수 있는 자료가 되지 못함.
- 이상의 연구는 주로 농촌진흥청 응용미생물과와 도농업기술원에서 수행되어 왔으며 대학에서는 이에 관한 연구가 전무한 실정임.
- 푸른곰팡이병의 생물학적 방제와 화학방제 시의 약해, 잔류성분 및 잔류량에 관한 연구는 전무함.

## 2) 국외 기술 현황

- 외국에서는 주로 양송이 퇴비에 발생하는 푸른곰팡이병에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 느타리에 발생하는 푸른곰팡이병 방제에 관한 보고는 찾기 어려움.
- 양송이 퇴비에 발생하는 푸른곰팡이병균으로 *Trichoderma harzianum*을 비롯한 5종의 *Trichoderma*와 *Trichoderma*의 완전세대인 *Hypocrea*가 보고되어 있으며(Morris *et al.* 1995), 그 중에서 *T. harzianum*의 피해가 가장 심함.
- 양송이 푸른곰팡이병 방제약제로 benomyl, carbendazim의 효과가 보고

되어 있고 이들 약제에 대한 저항성균(내성균)의 발생이 알려져 있음 (Fletcher *et al.* 1989).

- 양송이 퇴비에 발생하는 *Trichoderma*의 집중농도별 버섯 수량감소 정도와 균주별 퇴비 정착력 및 병원성에 관한 보고가 있음 (Grogan and Gaze 1995).
- 목초액을 이용한 표고버섯 푸른곰팡이병 방제효과에 관한 보고가 있음 (Sadatishi *et al.* 1992).
- 푸른곰팡이병균(*Trichoderma*)에 대한 표고버섯 품종의 병 저항성검정방법에 관한 보고가 있음(Ohmasa *et al.* 1995). 그러나 느타리버섯의 병 저항성품종에 관한 보고는 없음.
- 독일에서는 느타리버섯 균상 배지(밀짚)에 발생하는 *Trichoderma* 푸른곰팡이병 방제약제인 benomyl, carbendazim, prochloraz manganese complex를 살균전 배지의 수분 조절용 물(관수용 물)에 타서 뿌렸으며 이 경우 버섯의 수량 및 품질에는 아무런 해가 없었음(Lelly and Niehrenheim 1991).

### 3. 앞으로 전망

- 버섯 소비량은 계속 증가할 것으로 예상되며 특히 고품질 버섯의 수요 증가가 전망되므로 안전한 병해방제법의 확립으로 버섯 생산성 향상을 도모하면 농가 소득 증대에 크게 기여할 것임.
- 약제저항성 균의 분포상태가 조사되고 식품의 안정성 및 환경문제를 야기하지 않는 효과적인 약제 방제법이 확립되면 버섯의 생산성 향상은 물론 상품가치가 높은 우량버섯의 생산이 가능하게 되어 농가 소득증대에 기여할 것임.



### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 연구개발 목표와 내용

본 연구의 목표는 느타리버섯 재배(균상 및 상자 재배)에서 가장 피해가 큰 병해인 푸른곰팡이병의 정확한 진단과 효과적인 방제 체계를 확립하여 버섯 재배농가의 소득증대와 버섯산업의 경쟁력을 확립하는데 있으며 구체적인 연구목표와 내용은 다음과 같다.

- 균상배지(벗짚 및 폐쇄)별로 발생하는 푸른곰팡이병균을 동정하고 우점종을 밝히며 그들의 병원성 및 생리적 성질을 구명한다.
- 무분별한 농약사용을 막기 위하여 푸른곰팡이병 억제저항성균의 출현과 지역별 분포비율을 조사하고 효과적인 방제약제와 적정 사용기준을 구명한다.
- 환경문제를 야기하지 않는 식초, 목초액과 같은 무(저)공해 소독제의 병 방제 효과를 구명한다.
- 환경조절(배지의 살균조건, 배지의 수분함량 및 pH, 온도 등)에 의한 푸른곰팡이병 억제 효과를 구명한다.
- 느타리품종의 푸른곰팡이병 저항성 검정 법을 확립하여 농가에서 재배되고 있는 장려품종의 푸른곰팡이병균에 대한 병 저항성 검정을 실시한다.
- 느타리 푸른곰팡이병 생물학적 방제를 위한 길항균을 선발하고 느타리 재배 균상에서 효과 검증을 실시하여 방제 가능성을 검토한다.
- 화학방제를 실시한 균상에 발생한 버섯에 농약성분이 잔류하는지 여부를 확인하여 안전성을 검토한다.

## 2. 연차별 연구개발 목표와 내용

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1차년도 (1998)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 폐습 및 벚짚 균상에 발생하는 푸른곰팡이병균의 동정과 발생생리 구명</li> <li>2. 푸른곰팡이병 약제저항성균의 출현과 분포율 조사</li> <li>3. 무(저)공해 소독제의 탐색과 항균활성 검정</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 배지(벚짚, 폐습)별, 지역별로 균주 분리.</li> <li>· 분리균주의 형태적, 배양적 특징조사, 동정 및 진단</li> <li>· 배지별 균류의 상대적 출현빈도</li> <li>· 분리균주의 약제(benomyl, thiabendazole) 저항성 검정</li> <li>· 약제저항성 균주의 생물학적 성질 조사</li> <li>· 약제저항성 균주의 지역별 분포율조사</li> <li>· 목초액, 식초의 항균활성 및 느타리 생육에 미치는 영향 조사</li> </ul>
2차년도 (1999)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 푸른곰팡이병균의 병원성 및 발생생태 구명</li> <li>2. 푸른곰팡이병 약제저항성균 및 감수성균의 방제법 확립(약제방제법 확립)</li> <li>3. 환경조절에 의한 병 억제효과 구명</li> <li>4. 무(저)공해 소독제의 방제효과 구명</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 균류별 균상배지에서의 정착력 및 느타리균과의 경합력 조사</li> <li>· 푸른곰팡이병균의 감염경로 및 발병과정 구명(농가재배사 monitoring)</li> <li>· 푸른곰팡이병균의 감염시기별 피해정도 구명</li> <li>· 약제저항성균 및 감수성균에 효과적인 약제선발(<i>in vitro</i>)</li> <li>· 선발약제의 처리시기 및 처리방법 구명(예방 및 치료효과) 조사(재배사 실험)</li> <li>· 배지 살균조건(푸른곰팡이병균의 살균온도 및 시간) 구명</li> <li>· 배지의 수분함량 및 pH 조절에 의한 푸른곰팡이병 억제 효과</li> <li>· 배지 및 재배사 내부의 온도조절에 의한 푸른곰팡이병 억제효과</li> <li>· 목초액, 식초의 병억제효과 검정(재배사 실험)</li> </ul>

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
3 차 년 도 (20 00)	1. 푸른곰팡이병 방제법의 실용성 검정 및 농가 실증 실험	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 재배사 실험을 통한 약제방제법, 무공해소독제 및 환경조절의 실용성 검정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 약제저항성 균에 효과적인 약제로 선발된 스포르곤 및 판마시의 처리 시기에 따른 병 예방 및 방제 효과 실증 시험</li> <li>- 목초액, 계면 활성제 등 무공해 소독제의 병 방제효과 실증 시험</li> <li>- 약해 여부 조사</li> <li>- 유공비닐 멀칭 재배의 병 억제효과 정밀 검정</li> <li>- 환경 조절(배양 및 재배 온도)에 의한 병 억제 효과 실증 실험</li> </ul> </li> <li>· 상기 병방제법의 농가 실증 실험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 공시 느타리 품종: 수한, 춘추</li> <li>- 겨울, 봄 재배별 실증 시험</li> </ul> </li> </ul>
	2. 농가에서 재배되는 느타리 장려 품종과 수집된 병원균간의 병저항성 검정	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 푸른곰팡이병 저항성 검정법 확립 및 느타리 장려품종과 수집된 병원균간의 병저항성 검정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>in vitro</i> 또는 압축배지를 이용한 대치 배양: 우점, 정착력, 길항력 등을 기준으로 한 검정법 확립</li> <li>- 국내외에서 수집한 품종의 병저항성 검정 (국내재배 품종 10, 국외 수입 품종 5 품종)</li> </ul> </li> </ul>
	3. 생물학적 방제법 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 길항균 선발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 재배사의 균상, 재배사 주변의 토양에서 푸른곰팡이 병균에 길항력을 보이고 느타리의 생장에 무해한 균을 선발</li> </ul> </li> <li>· 균상에서의 효과 검정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 선발된 길항균의 처리시기 및 농도, 처리 방법 등을 조사</li> </ul> </li> </ul>
	4. 약제 처리시 잔류성분 조사	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 약제 처리 시 버섯에 함유된 잔존 약제 성분량 검증               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 약제 처리구에서 발생한 버섯에 잔류하는 농약 성분 및 잔류량을 분석</li> </ul> </li> </ul>

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1) 연구개발 결과

느타리버섯 균상에 발생하여 막대한 피해를 주는 *Trichoderma*와 *Hypocrea*속 균에 의한 푸른곰팡이병의 종합 방제법을 개발하기 위하여 푸른곰팡이병균의 분리·동정 및 발생 생태를 구명하였고, 병원성, 균상에서의 경합력, 느타리버섯 균의 저항력을 조사하여 이들 결과를 토대로 가장 효과적인 방제법을 개발하기 위하여 화학적 방제, 경종적 방제 그리고 생물학적 방제를 시도하였으며 이들 결과는 농가 실증재배에서 그 효과를 확인하였다. 또 푸른곰팡이병 예방 및 방제 약제로 선발된 procholraz manganese complex 등의 살균제를 균상 혹은 배지에 처리했을 경우 버섯에 잔류되는 농약 성분을 분석하여 농약 사용의 안전성 여부를 검토하였다.

1. 푸른곰팡이병이 발생한 느타리버섯 균상에서 총 110균주의 *Trichoderma*속 균과 19균주의 *Hypocrea*속 균을 분리하였다. 분리된 *Trichoderma*는 *Trichoderma* sp., *T. viride*, *T. koningii*, 그리고 *T. harzianum*로 동정되었다. 이들 중 *Trichoderma* sp.는 형태적으로 *T. virens*와 유사하나 molecular marker를 이용한 phylogeny 분석에서는 *T. harzianum* group에 속하는 균으로 정확한 종의 동정을 위하여 형태적 분류 뿐 아니라 분자생물학적 분류에 관한 연구가 추가로 수행되어야 할 것이다.

2. *Trichoderma*속 균은 폐쇄, 벗짚, 톱밥 등 모든 버섯 배지에서 분리되었고, 지역과 배지 재료에 따라 분리 빈도는 약간의 차이를 보였으나 우점종은 *Trichoderma* sp.였다.

3. 푸른곰팡이병균은 재배기간 중 살균 및 후발효 후의 재배사 내부에서만 검출되지 않았을 뿐 전 재배기간 중에 재배사 내, 외부에서 검출되었고, 버섯 유도기 이후 재배사 내부 공기 중의 푸른곰팡이병균의 밀도와 균상의 오염과의 상관 관계는 낮았다. 또 재배기간 중 종균 접종 시에 푸른곰팡이병에 오염될 확률이 가장 높고 피해도 가장 심하였다.

4. *Hypocrea*속 균은 stroma가 갈색형인 것(*Hypocrea* sp. 1)과 백색형인 것(*Hypocrea* sp. 2) 2종이 느타리버섯 균상에 발생하였으며 *Hypocrea* sp. 1은 균상에서 불완전세대(*Trichoderma*)로 오염되며 방제 약제를 처리하면 완전세대인 stroma가 형성되었다. 한편 *Hypocrea* sp. 2는 완전세대로 균상에 오염되며 균상표면에서 stroma가 발견되었을 경우에는 균상 내부까지 모두 오염되어 있기 때문에 방제가 불가능한 경우가 많았다.

5. 분리된 푸른곰팡이병균의 한천배지 혹은 폐쇄 배지에서의 느타리 균에 대한 병원성은 *Trichoderma* sp.가 가장 강하였고, 배양온도와 밀접한 관계가 있어 28℃에서 모든 *Trichoderma*속 균이 느타리 균을 우점하였다. 느타리버섯 균사는 *Trichoderma*속 균의 균사에 의해 생장이 정지되었고 coiling과 용균 현상에 의해 피해를 받는 것으로 밝혀졌다.

6. 느타리 품종의 푸른곰팡이병 저항성 검정을 실시하였던 바 *P. sajor-caju* 품종인 삼복과 여름느타리에서는 *Hypocrea*의 stroma가 발생하지 않아 저항성을 보였으나 *P. ostreatus*에 속하는 품종은 모두 *Hypocrea*의 stroma와 *Trichoderma*가 발생하여 저항성이 없는 것으로 밝혀졌다.

7. 느타리버섯 재배사에서 분리한 푸른곰팡이병균 중 약제 저항성균의 출현율을 조사하였던 바 분리 균 중 32.6%의 균주가 benomyl 저항성, 9.7%의 균주가 prochloraz manganes complex (이하 prochloraz로 칭함) 저항성 그리고 21.5%가 thiabendazole 저항성 균주로 밝혀졌다. 충북 지역에서 분리된 균주 중 benomyl과 prochloraz 저항성 균이 각각 60%와 45.4%가 분리되어 가장 높은 비율을 보였다. 또, 폐쇄에서 분리한 균주의 benomyl 저항성 균주 분리빈도(46.5%)가 벚짚(11.7%)과 톱밥(22.2%)에서 보다 높았고, thiabendazole 저항성 균주도 27.2%로 가장 높았다. *Trichoderma* sp. 58개 균주 중 24개 균주(41.3%)가 benomyl 저항성균 이었고, 36개 균주 중 12개 균주(33.3%)가 thiabendazole 저항성균 이었으나 prochloraz 저항성균은 검출되지 않았다.

8. 푸른곰팡이병 방제 약제를 선별하기 위하여 *Trichoderma*속 균의 균사생장과 포자발아 억제 효과를 조사한 결과 prochloraz가 시판 약제 중 푸른곰팡이병균의 균사생장을 가장 효과적으로 억제하였다.

9. 선별된 살균제는 베지살균전 처리 혹은 살균제로 배지의 수분 조절을 한 경우가 *Trichoderma*와 *Hypocrea*의 예방 및 방제효과가 가장 좋았다. 푸른곰팡이병균이 오염된 균상에서도 prochloraz 처리구는 푸른곰팡이를 완전히 억제하였으나 thiabendazole 및 benomyl 처리구는 억제 효과가 낮았다. 그러나 종균 접종 직후의 살균제 처리는 약한 약해가 나타났다. 느타리 균사 활착 후 푸른곰팡이병이 발생한 균상에서 prochloraz와 thiabendazole은 각각 78.5%와 70.9%의 병 억제 효과를 보였으나 benomyl은 억제 효과가 매우 낮았다.

10. 무(저)공해 소독제 중에서 목초액과 식초는 푸른곰팡이병균의 균사생장 억제 효과가 매우 미약하였으며, 계면활성제는 푸른곰팡이병 균의 포자발아 억제효과가 높았으나 공시한 무(저)공해 소독제는 재배실험에서 방제효과의 재현성이 결여되어 방제약제로의 적용은 효과가 없는 것으로 판단된다.

11. 배지 살균 전 약제처리 (살균제 용액으로 배지의 수분을 조절)가 버섯 생육에 미치는 영향을 조사하였던 바 prochloraz 250ppm 처리구에서 초발이 일수가 6일 단축되었고 버섯의 수량도 약 10% 이상 증가하였다. Prochloraz 처리구에서는 무살균 배지에서도 푸른곰팡이병의 피해 없이 정상적으로 버섯이 발생하였으나 thiabendazole과 benomyl 처리구에서는 무살균 배지의 경우 푸른곰팡이병이 극심하여 버섯이 발생하지 않았다. 그러나 이들 약제를 자실체에 직접 분무하면 모든 처리 구에서 약해가 발생하였으므로 자실체 발생 이후에는 약제 방제를 피해야 한다.

12. 살균제 처리의 푸른곰팡이병 예방 및 방제 효과를 확인하기 위한 농가 실증 시험을 2001년 7월부터 9월까지 실시하였다. 배지 조제시(살균전)의 살균제 처리 효과를 조사하기 위하여 약제 처리 후 푸른곰팡이 오염 증균을 접종하였던 바 prochloraz (500, 250 ppm) 처리구는 푸른곰팡이의 발생이 극히 적었고 무처리구의 균상 표면에 발생한 푸른곰팡이도 prochloraz 처리로 완전 방제가 가능하였다. 그러나 thiabendazole과 benomyl 처리구는 푸른곰팡이의 발생이 많았고 균상 표면에 발생한 푸른곰팡이에 대한 방제 효과도 매우 낮았다.

13. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 온도는 25~30℃이었으며, 재배기간 중 재배사의 균상 온도 20℃ 이상에서는 *Trichoderma*가 발생하여 균상에

피해를 주었으나 15℃에서는 발생하지 않았다. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 pH는 pH 4~5였으며 최적 성장 수분 조건은 -0.2~-0.7MPa이었다.

14. 농가 관행재배에서 살균과정 중 배지의 수분 함량은 균상의 상단으로 갈수록 높아졌으며 푸른곰팡이에 의한 오염도 심하였다. 또, 비닐 멀칭 재배는 푸른곰팡이병 발생 억제효과가 있었으나 수량에는 큰 차이가 없었다.

15. 길항 세균 CNU 44-1은 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea* sp.의 균사생장을 효과적으로 억제하였고, 배지조제 시 길항세균 CNU 44-1을 처리한 경우 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea*의 stroma는 발생하지 않았으나 노트리버섯의 균사생장이 약 10% 억제되었다. 푸른곰팡이가 발생한 균상에서 CNU 44-1의 방제효과는 미약하였으나 자실체의 수량과 품질에 영향을 미치지 않았으며 70℃에서도 내열성을 보여 푸른곰팡이병 예방제로 활용 가능성을 보여 주었다.

16. 살균제 처리구(배지 제조시 또는 균상)에서 수확한 버섯의 살균제 잔류량을 분석한 결과 prochloraz 처리구에서 수확한 버섯에서는 prochloraz가 검출되지 않았으며(검출한계 0.095 ppm), thiabendazole과 benomyl 처리구에서 수확한 버섯에서는 공식 약제가 극미량 검출되었으나 모두 버섯의 살균제 잔류허용기준 이하의 농도로서 식품으로의 안전성이 확인되었다.

## 2) 활용방안 및 활용에 대한 건의

본 연구에 의해 노트리 푸른곰팡이병균의 생물학적·생태학적 특징이 밝혀졌으며 실증재배를 통하여 약제방제, 경종적 방제 및 생물학적 방제 법을 제시하였다. 이들 결과에 대해서는 다음과 같이 활용할 수 있을 것이다.



- 본 연구에서 얻어진 결과는 버섯연구회, 각 대학의 경영자 과정 등에서 농민과 종균 생산업자를 대상으로 교육자료로 활용하고, 한국균학회·한국식물병리학회 등에서 적극적으로 발표·투고할 예정이다.
- 개발된 예방 및 방제기술은 느타리버섯 재배농가의 기술지도사업에 반영하며 실용적으로 농가에서 활용할 수 있다.
- 개발된 예방 및 방제기술을 양송이 및 표고버섯의 푸른곰팡이병 방제에도 활용할 수 있다.
- 현재 농가에서 선호하고 있는 느타리버섯 품종은 푸른곰팡이병균에 저항성을 갖는 품종이 없는 것으로 밝혀졌기 때문에 저항성품종의 개발이 시급한 과제이다.
- 푸른곰팡이병균에 활성을 보이는 길항세균 CNU 44-1은 방제 방법과 시기에 따라 방제 효과의 변이 폭이 심해 추가 실험을 통하여 가장 효과적인 처리방법 및 시기를 밝히고, 활성물질 등에 관한 연구도 필요할 것으로 사료된다.

## SUMMARY

(영문 요약문)

### Integrated Control of Oyster Mushroom Green Mould

Green mould disease, which is one of the most severe and epidemic diseases of oyster mushroom, is caused by *Trichoderma* spp., and *Hypocrea* spp., and gives most severe damage to mushroom farms in Korea. In spite of its severe damage, etiology, inoculum sources and control measures of the disease have been studied with rare. To elucidate the effective integrated control system of green mould disease associated with oyster mushroom, isolation and identification with the morphological characteristics, occurrence ecology of green moulds including the interactions between the green moulds and the *Pleurotus ostreatus*, occurrence of the fungicides resistance green moulds, and chemical, cultural, and biological control methods of the disease in mushroom houses were investigated. Besides, quantitative analysis of fungicides residue in the fruit bodies were carried out. The results obtained were follow:

1. One hundred and ten isolates of *Trichoderma* spp. were isolated from

oyster mushroom substrates in Korea during 1998-1999 and identified by their cultural and morphological characteristics. Of total 110 isolates of *Trichoderma*, 72 isolates (65.5%) were identified as *Trichoderma* sp., 15 isolates (13.6%) as *T. viride*, 6 isolates (5.5%) as *T. koningii*, and 9 isolates (8.2%) as *T. harzianum*. *Trichoderma* sp., the predominant species, was isolated more frequently from waste cotton substrate (80.0%) than from rice straw substrate (57.1%).

2. Two species of *Hypocrea* with brown stroma (*Hypocrea* sp. 1) and white stroma (*Hypocrea* sp. 2) were found on oyster mushroom bed. Species of brown colored stroma produced anamorph of *Gliocladium* type on the mushroom bed. The species of white colored stroma do not readily form anamorph stage on the mushroom bed, but it produced conidia readily on the PDA. Stroma, perithecium and ascus of the white stroma species is larger than those of the brown stroma species and have size range of 6.0~13.0 × 3.0~11.0mm, 270~280×250~260 $\mu$ m and 108~124 $\mu$ m, respectively.
3. Occurrence frequency of green moulds was no significant different between inside and outside of mushroom houses. However, population of green moulds inside the mushroom houses became higher as the cultivation times increased. Although the contamination of green moulds at pre-sterilization of compost and after-spawn running has no significant effect on the mushroom cultivation, the contamination at the spawn inoculation caused severe damage on the mushroom

bed.

4. *In vitro* and *in situ* interactions between *P. ostreatus* and green moulds showed differences on the colonization ability and index of dominance (ID) value of the green moulds according to the incubation temperatures and green moulds isolates, although all isolates of the green moulds were dominant against *P. ostreatus* on both PDA medium and mushroom bed.
5. Mycelial growth of *P. ostreatus* was inhibited by the green moulds at the contact zone on MEA on slide. Some coiling of *P. ostreatus* hyphae by *T. harzianum* and *Trichoderma* sp. was observed and some hyphal lysis of *P. ostreatus* by *T. harzianum* and *T. koningii* appeared to occur.
6. Although two cultivars of *P. sajor-caju* Sambok and Yeoreum shown resistance to *Hypocrea* sp., all cultivars of *P. ostreatus* was susceptible to *Trichoderma* and *Hypocrea* sp.
7. Out of 113 isolates of the green moulds collected from oyster mushroom farms, 32.6%, 9.7% and 21.5% of the isolates were resistant against benomyl, prochloraz manganese complex (abbreviate to prochloraz) and thiabendazole, respectively. Occurrence of benomyl and prochloraz-resistant isolates from Chungbuk province were higher and 60% and 45%, respectively. The frequency of benomyl-resistant

isolates from the waste cotton compost (46.5%) was higher than that of rice straw (11.7%) and sawdust (22.2%) substrates. Thiabendazole-resistant isolates were also isolated frequently from the waste cotton compost. Out of 58 isolates of *Trichoderma* sp., 41.3% and 33.3% of the isolates were resistant against the benomyl and thiabendazole, respectively. However, no prochloraz-resistant isolates occurred among the species.

8. Prochloraz was the most effective fungicide for inhibition of the mycelial growth of the green moulds. Prochloraz, benomyl and probineb were effective for inhibition of the spore germination of benomyl-susceptible isolates, while chlorothalonil was effective for that of benomyl-resistant isolates. Low toxic chemicals such as wood vinegar and vinegar had no effect on inhibition of the mycelial growth of the green moulds, but surface activator inhibited spore germination of the green moulds.
  
9. Most effective chemical treatment for prevention and control of green moulds was the treatment of the substrate (waste cotton) during the water adjustment. By the pre-treatment of fungicides before substrate sterilization, infection of *Hypocrea* sp. was perfectly prevented during the whole cultivation process of oyster mushroom. However, fungicides treatment after spawn inoculation was worried on the chemical toxicity. Control value of prochloraz and thiabendazole on the mushroom bed which was contaminated by the green moulds was

78.5% and 70.9%, respectively. However, benomyl treatment had no effect on the control of the green moulds. Although prochloraz showed harmful effect on the mycelial growth and fruit body development of *Pleurotus* sp. in high concentrations, it was selected as the most effective fungicide for control of green mould disease on the mushroom bed. Treatment of prochloraz in waste cotton substrate has lead to shorten the time for fruit body initiation and increase the yields.

10. Antifungal bacteria CNU *Al*-1 selected as biological control agent inhibited the mycelial growth of *Trichoderma* spp. and *Hypocrea* sp. Treatment of CNU *Al*-1 in pre-sterile substrate was effective for prevent of occurrence of *Trichoderma* spp. and *Hypocrea* sp. on mushroom bed. However, treatment on the green moulds colonized mushroom bed had no effect on the control.

11. Fungicide residues in the fruit bodies of oyster mushroom harvested from chemical treated substrates and mushroom bed were analyzed. Prochloraz, thiabendazole and benomyl residues in the fruit bodies were below 0.095, 0.431~0.495 and 0.33~0.58 ppm, respectively. They were much lower than tolerance for fungicide residue in the mushroom.

# CONTENTS

## (영 문 목 차)

Chapter I . General Introduction.....	28
Chapter II . Biological characteristics of green moulds associated with oyster mushroom.....	32
1. Introduction.....	32
2. Material and methods.....	36
3. Results and discussion.....	41
1) Isolation and identification of green moulds.....	41
(1) Morphological and cultural characteristics of green moulds.....	41
(2) Morphological characteristics of <i>Hypocrea</i> spp.....	50
2) Occurrence ecology of green moulds.....	53
(1) Distribution of green moulds according to different culture substrate and area.....	53
(2) Disease cycle of green moulds.....	56
(3) Damages by infection time.....	57
(4) Occurrence ecology of <i>Hypocrea</i> spp.....	62
3) Pathogenicity of green moulds and cultivar resistance of <i>Pleurotus</i> spp.....	65
(1) Pathogenicity of green moulds.....	65
(2) Mycelial growth of <i>Pleurotus</i> spp. and <i>Hypocrea</i> sp. 2.....	73
(3) Cultivar resistance of <i>Pleurotus</i> spp. against green moulds on the waste cotton mushroom bed.....	76

4) Occurrence and biological characteristics of fungicide resistant green moulds	79
(1) Benomyl, prochloraz manganese complex and thiabendazole resistance of green moulds	79
(2) Distribution of fungicide resistant green moulds on the regional difference	82
(3) Distribution of fungicide resistant green moulds on the different culture substrate	84
(4) Distribution of fungicide resistant green moulds on the different species	85
(5) Biological characteristics of benomyl resistant isolate	87
4. Abstract	88
Chapter III. Prevention and control of green mould disease	91
1. Introduction	91
2. Material and methods	93
3. Results and discussion	96
1) Chemical control using fungicides	96
(1) Selection of effective fungicide for control of green mould disease	96
(2) Prevention and control of green mould disease by different fungicide treatment methods	98
(3) Prevention of green mould disease by fungicide treatment on the substrate (waste cotton)	103
(4) Effect of fungicide treatment on the mycelial growth	



and fruit body of <i>Pleurotus</i> spp. ....	114
2) Chemical control using low toxicity chemicals ....	116
(1) Effect of low toxicity chemicals on the mycelial growth, spore germination of green moulds and <i>Pleurotus</i> spp. ....	116
(2) Prevention and control of <i>Hypocrea</i> spp. by low toxicity chemicals ....	119
3) Cultural control of green mould ....	120
(1) Effect of substrates-sterilization on the occurrence of green moulds ....	120
(2) Effect of water content of culture substrate on the occurrence of green moulds ....	122
(3) Effect of temperature on the occurrence of green moulds ....	127
(4) Prevention effect of green mould disease by control of cultivation condition ....	130
4) Biological control of green mould disease ....	131
(1) Selection of antagonistic microorganism for control of green mould disease ....	131
4. Abstract ....	134
Chapter IV. Analysis of fungicides residues in the fruit bodies of oyster mushroom ....	137
1. Introduction ....	137
2. Material and methods ....	139

3. Results and discussion.....	142
1) Withdrawal rate of chemicals by analysis method in this experiment.....	142
2) Fungicides residues in the fruit bodies of oyster mushroom harvested from chemical treated substrates and mushroom beds.....	143
4. Abstract.....	145
Chapter V. Conclusion.....	146
Chapter VI. Reference.....	151

# 목 차

제 1 장	서론	28
제 2 장	느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병균의 생물학적 특징	32
제 1 절	서언	32
제 2 절	재료 및 방법	36
제 3 절	결과 및 고찰	41
1.	푸른곰팡이병균의 분리 및 동정	41
가.	푸른곰팡이병균의 형태 및 배양적 특징	41
나.	<i>Hypocrea</i> 속 균의 형태학적 특징	50
2.	푸른곰팡이병균의 발생생태	53
가.	지역 및 느타리 배지별 푸른곰팡이병의 발생 분포	53
나.	푸른곰팡이병의 감염 경로 및 발병과정	56
다.	푸른곰팡이병균의 감염시기별 피해정도	57
라.	<i>Hypocrea</i> 속 균의 발생생태	62
3.	푸른곰팡이병균의 병원성 및 느타리 품종 저항성	65
가.	분리된 푸른곰팡이병균의 병원성	65
나.	<i>Hypocrea</i> sp. 2와 느타리 재배품종의 균사 성장	73
다.	폐쇄배지에서 푸른곰팡이병균에 대한 느타리 품종의 저항성	76
4.	약제저항성 푸른곰팡이병균의 발생과 특징	79
가.	Benomyl, prochloraz manganes complex 및 thiabendazole 저항성	79
나.	약제 저항성 균의 지역별 분리 빈도	82
다.	배지재료별 약제 저항성 균의 분리빈도	84

라. 푸른곰팡이병균 종별 약제 저항성 균의 분리빈도·····	85
마. Benomyl 저항성 균의 생물학적 특성·····	87
제 4 절    적요·····	88
제 3 장    푸른곰팡이병의 예방 및 방제·····	91
제 1 절    서언·····	91
제 2 절    재료 및 방법·····	93
제 3 절    결과 및 고찰·····	96
1. 살균제를 이용한 화학적 방제·····	96
가. 푸른곰팡이병 방제를 위한 약제 선발·····	96
나. 선발 약제의 처리 시기 및 처리 방법에 따른 푸른곰팡이병의 예방 및 방제·····	98
다. 배지조제시 살균제와 길항세균 AI-1 처리에 의한 푸른곰팡이병 예방·····	103
라. 살균제 처리가 느타리버섯 균사 성장과 자실체에 미치는 영향·····	114
2. 저공해 소독제를 이용한 방제·····	116
가. 저공해 소독제가 느타리 및 푸른곰팡이병균의 균사생장과 포자 발아에 미치는 영향과 방제효과·····	116
나. 저공해 소독제에 의한 <i>Hypocrea</i> 의 방제·····	119
3. 경종적 방제·····	120
가. 배지의 살균 조건이 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향·····	120
나. 배지의 수분함량이 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향·····	122
다. 배양 및 재배 온도가 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향·····	127
라. 재배환경 조절에 의한 푸른곰팡이병 억제 효과·····	130

4. 생물학적 방제.....	131
가. 길항세균 선발 및 방제 효과.....	131
제 4 절    적요.....	134
제 4 장    화학적 방제 시 처리한 농약의 버섯 잔류 분석.....	137
제 1 절    서언.....	137
제 2 절    재료 및 방법.....	139
제 3 절    결과 및 고찰.....	142
1. 공시 분석 조건에서 약제 성분의 회수율.....	142
2. 약제처리 구에서 발생한 버섯의 잔류농도 분석.....	143
제 4 절    적요.....	145
제 5 장    결론.....	146
제 6 장    인용문헌.....	151

## 제 1 장 서론

우리 나라에서 느타리버섯의 재배는 1970년대 초부터 미루나무 등과 같은 활엽수에 원목재배를 하면서 시작되었다. 이 당시의 재배는 몇몇 버섯 애호가들에 의하여 취미로 재배하여 수확하는 정도로 그 수확량이 아주 적었고, 배양기간이 지나치게 길어 시장형성도 이루어지지 않았었다. 본격적인 느타리 재배 역사는 농촌진흥청 균이과(현 응용미생물과)의 연구자들에 의하여 우리 나라 농가에서 손쉽게 구할 수 있는 벗짚을 이용한 재배 방법이 개발 보급되면서 시작되었고 현재는 전 세계에서 가장 훌륭한 환경 친화적 저비용 다수확 재배법 개발사례로 손꼽히고 있다. 벗짚을 이용한 재배 방법이 확립된 이래 우리 나라의 버섯 산업이 비약적으로 발전하였고 집약화와 대량생산이 가능하게 되어 생산량으로는 일약 느타리버섯 재배 선진국으로 도약할 수 있었다.

그러나 1980년대 중반으로 들어서면서 농촌의 인구가 감소하고 노동인구의 고령화로 인한 벼농사의 기계화가 일반화되어 벗짚의 확보가 어려워져 대체 배지 재료의 개발이 시급한 연구 과제중의 하나로 부상하게되었다. 이 때 국내의 연구진은 벗짚 발효 재배법 개발의 경험이 있었기 때문에 이 경험을 토대로 기존의 재배사에서 그대로 사용할 수 있는 폐쇄 배지를 이용한 재배법을 개발하게 되었다. 배지재료를 대부분 외국에서 수입해야하는 어려움은 있지만 비교적 저 비용으로 재배기간이 단축되고 자금회전이 빠른 특징 때문에 1990년대 초부터 본격적으로 보급되기 시작하였고 현재는 느타리 재배농가의 70% 이상이 폐쇄 배지를 이용하여 재배하고 있는 것으로 추정된다.

1990년대에는 소비자의 생활 수준 향상으로 기호가 다양하게 변화하였고, 국가경제의 호황으로 농가에 대한 정부의 지원이 증가하여 일부 자금력이

있는 농가를 중심으로 하여 일본 등지에서 병재배 버섯의 대표라고 할 수 있는 팽이버섯의 재배 기술과 재배 시설을 도입하였으나 국내 소비자의 외면과 막대하게 투자한 시설비의 회수가 미진하여 많은 팽이 재배자가 성공을 거두지 못하였다. 현재는 이들 병재배 시설을 역시 일본에서 도입한 애느타리와 큰느타리 또는 버들송이 등의 병재배로 전환하는 농가가 증가하고 있는 실정이다.

우리 나라에서 재배 생산되어 통계 자료를 확인할 수 있는 버섯류는 느타리, 양송이, 표고, 팽이, 영지 등이다. 이 중에서 생산량과 생산농가가 가장 많은 것은 느타리로 전체 버섯 재배 농가 중 약 48.6%를 차지하고 있다(버섯 영농과 삶 1999. 12월호).

농촌진흥청 농업경영관실에서 발행한 98년 농업경영 개선을 위한 농축산물 소득자료집(농업경영보고 제 61호)에 따르면 전국 느타리 재배 농가는 9,259호이며, 면적은 2,118,431평으로 한 농가당 228.8평의 균상 면적에서 재배를 실시하고 있으며, 총 생산량은 75,684,000 kg으로 평당 35.7 kg을 수확하고 있다. 연간 총 생산비는 평당 127,300으로 이중 재료가비가 53.9%를 차지하고 있다. 연 평균 느타리버섯 가격은 kg당 3,100원으로 농가 당 연간 평균 소득은 28,119,520원이다. 연 평균 재배 횟수는 1.9회로 1회 재배에 약 14,700,000원의 소득을 올리는 것으로 조사되어 있다.

국내 대부분 느타리 재배 농가의 재배 시설은 버섯재배에서 가장 중요한 온·습도, 환기, 광 등의 재배 환경을 조절할 수 있는 자동 시설이 없는 보온·덮개식 간이시설 혹은 조립식 패널을 이용한 재배시설이 대부분이다. 재배시설은 정확한 통계는 없으나 재래식 보온덮개 간이 시설이 약 60% 이상 차지하는 것으로 추정되고 있으며, 최근에 극히 일부 농가에서 많은 돈을 투자하여 조립식 패널 재배사에 냉각 장치를 설치한다든지, 풍차식 자동 재배사를 설치하여 재배하고 있는 농가도 있다. 또 버섯 재배에서 빼놓을 수

없는 중요한 항목 중의 하나가 배지 재료와 재배 형태라고 할 수 있는데 거의 모든 농가가 폐쇄를 사용하여 균상 재배를 실시하며, 일부에서 벧짚을 이용한다든지 혹은 봉지재배를 실시하고 있다.

그러나 이렇게 다양한 재배 형태를 가진 모든 농가에서 앞에서 제시한 수준의 소득을 올리는 농가는 그다지 많지 않은 것으로 추정된다. 본 연구진이 국내에서 경험하고 많은 연구 기관에서 제시하고 있는 자료에 의하면 느타리 재배 실패 또는 소득 감소의 원인으로 ① 생산비에서 재료비와 시설 투자비의 비중이 과도하게 높고 ② 가격 변동이 심하고 불안정하며 ③ 재배사 구조, 배지재료, 재배시기, 재배품종 등이 일률적이다. 또 ④ 신품종의 개발이 미진하며 외국 도입 품종의 특성을 제대로 파악하지 못한 채 재배하는 경우가 많고 ⑤ 재배사 구조가 병해충에 직접 노출되어 있으며 병해충 피해에 효과적으로 대응하고 있지 못하고 있고 이에 관한 연구 개발도 부진한 점을 들 수 있다.

이외에도 느타리 재배에서 소득을 감소시키는 요인은 여러 가지가 있을 것으로 생각되나 이중에서도 현재와 같은 재배 환경에서 가장 문제가 되는 것은 병해충에 의한 피해라고 할 수 있다.

느타리의 발생과 생육 그리고 품질에 피해를 주는 대표적인 병해충으로는 글리오클라디움(*Gliocladium*)과 트라이코더마(*Trichoderma*)속 균에 의한 푸른곰팡이병, 슈도모나스(*Pseudomonas*)속에 의한 세균성 갈변병, 버섯파리 등을 들 수 있다. 이들 병해충의 예방과 방제를 위하여 국내외의 많은 연구자들이 다양한 연구를 수행하고 있으나 느타리는 생육 특성상 다습한 조건에서 재배가 이루어지고, 재배사의 구조가 개방형인 경우가 많으며 개인에 따라 관행재배법이 다르고, 버섯균이 병원균과 같은 진균이기 때문에 선택성 약제가 적고, 버섯이 발생한 후의 약제방제는 약해를 입기 쉬우며, 농약의 잔류독성 문제가 심각하기 때문에 약제방제가 거의 불가능하다. 따라서



병해충 방제에 관한 연구 성과도 현장에서는 실효를 거두지 못하는 경우가 많다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 발생하고 있는 느타리 푸른곰팡이병의 효과적인 방제를 위한 기초 자료를 제공하기 위하여 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병균의 형태학적 특징 및 분류학적 위치와 발생생태 및 생리학적 특징을 밝히고 효과적인 예방 및 방제법을 개발하기 위하여 농가 및 충남대학교 농업생명과학대학 소유의 재배사에서 각종 살균제와 저공해 소독제를 이용한 화학적방제, 배지의 살균 온도 및 시간, 배지의 수분함량, 배양 및 재배온도 등 재배과정 중의 환경 조절에 의한 경종적 방제, 또 길항 미생물을 이용한 생물학적 방제를 시도하여 종합적인 방제법을 도출하였다. 또한 푸른곰팡이병의 방제에 효과를 보였던 살균제의 잔류여부를 확인하여 느타리버섯 재배시 살균제 처리의 안전성을 검토하였다.

## 제 2 장 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이 이병균의 생물학적 특징

### 제 1 절 서언

우리 나라에서 느타리버섯(*Pleurotus* spp.)은 단위 면적당 소득이 가장 높은 작목으로 벚짚 및 폐송을 이용한 균상 재배 기술이 개발 보급되면서 재배면적이 증가하고 있으나 재배기술의 축적이 미흡하여 매년 각종 병해의 피해가 급증하고 있다. 특히 느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병은 느타리버섯 재배 농가에 경제적으로 가장 큰 손실을 주고 있는 대표적인 병해이다.

느타리버섯에 푸른곰팡이병을 발생시키는 *Trichoderma*속 균은 균사 색깔이 투명한 백색으로 균사생장이 빠르며 종에 따라 진한 녹색 또는 푸른빛을 띤 녹색 포자를 형성하는 것이 특징이다. 국내에서는 느타리버섯에 발생하는 푸른곰팡이병균으로 김(1985)이 *T. hamatum*, *T. viride*, *T. koningii* 등 3종을 분리·동정하였고 그 균들이 생산하는 항생물질이 느타리버섯 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 신(1987)은 느타리버섯 벚짚배지에서 12종류의 진균을 분리하였고 그 중 *Trichoderma*속 균, *Aspergillus*속 균, *Rizopus*속 균 등이 발생빈도가 높고 발생량도 많았다고 보고한 바 있다.

최근에는 느타리버섯 재배시 신종 푸른곰팡이병균이라고 불리는 *Trichoderma*속 균과 그의 완전세대인 *Hypocrea*속 균류의 피해가 증가하고 있으나 이들의 동정 및 발생생태에 관한 연구가 거의 없는 실정이다.

*Trichoderma*속 균은 미생물에 기생력을 가지고 있기 때문에 국내에서 뿐 만 아니라 외국에서도 버섯생산에 심각한 손실을 주고 있다. 일본에서는 *Trichoderma*속 균과 *Hypocrea*속 균류에 의한 표고버섯재배의 피해가 보고되었으며(Komatsu, 1976; Tokimoto, 1982), 벨기에에서도 느타리버섯 재배시에 발생하는 *Trichoderma*속 균에 의한 푸른곰팡이병균이 보고되었다(Lelley, 1987 와 Poppe 등, 1985). 한편 *Trichoderma*속 균은 양송이버섯에도 막대한 피해를 주는데 1980년대 중반 영국의 아일랜드지방에서 푸른곰팡이병이 대 발생하였고, 북미에서도 1990년대 초반에 영국의 경우와 유사한 푸른곰팡이병이 대 발생하여 3000만 달러 이상의 손실을 초래한바 있다.

*Trichoderma*속 균은 분류학적으로 불완전균(Deuteromycota), 총생균강(Hyphomycetes)에 속하는 사상균으로 Persoon(1794)에 의해 처음 보고되었다. 그 후 Tulasne과 Tulasne(1865)은 *Trichoderma*의 완전세대가 *Hypocrea*와 관련이 있는 것으로 보고하였고, Bisby(1939)는 *Trichoderma*속 균이 *T. viride*의 형태적 변이에 의한 것으로 생각하기도 했다. 그러나 *Trichoderma*속 균의 확실한 분류체계를 확립한 것은 Rifai(1969)로 그는 *Trichoderma*속 균의 형태적 특징을 기초로 9종의 집합(aggregate)으로 분류한 바 있으며, Bissett(1984, 1991a-c, 1992)은 이러한 Rifai의 분류체계 대신 section *Hypocreanum*, section *Longibrachiatum*, section *Saturnisporum*, section *Pachybasium*, section *Trichoderma*등 5 section으로 분류하였다. 이후 Gams와 Bissett(1998)은 section *Saturnisporum*을 section *Longibrachiatum*에 포함시켰다.

*Trichoderma*속 균의 형태적 분류에 의한 동정은 균의 형태학적 특징, 즉 분생포자의 크기와 형태, 경자(phialide)의 모양, 분생자경의 분지양상, 한천배지에서 균사 성장률과 포자형성 형태 등으로 이루어져 왔다. 그러나 이러한 형태적 특징만으로는 정확한 균의 동정이 어려운 경우가 많다. *Trichoderma*속

균이 생성하는 이차 대사산물을 지표로 이용하여 형태학적 분류를 보완하기도 하였다(Okuda 등, 1982). Sammuel 등(1994)은 동위효소 패턴(isoenzyme profile)을 이용하여 분류하였으며, 최근에는 많은 진균류에서 시도되고 있는 바와 같이 분자생물학적기법을 이용한 *Trichoderma*속 균의 분류가 활발히 진행되고 있다. 특히, internal transcribed spacer (ITS) 영역의 염기서열과 fingerprinting technique, random amplified polymorphic DNA (RAPD) 분석, restriction fragment length polymorphism (RFLP) 분석을 이용한 분자분류가 많은 연구자들에 의하여 이루어지고 있다(Fujimori와 Okuda, 1994; Meyer 등, 1992; Muthumeenakshi 등, 1994; Zimand 등, 1994).

한편, 느타리버섯 푸른곰팡이병의 효과적인 예방 및 방제를 위해서는 오염균의 정확한 분류·동정과 감염경로, 전염원 등 병리학적 원인 구명이 절대적으로 필요하다. 버섯 균상에서의 미생물 다양성과 균류의 군락 구조(microbial community structure)는 버섯 재배 환경요인에 크게 영향을 받을 것으로 추측되는데 본 연구에서는 푸른곰팡이병의 발생 생태를 밝히기 위하여 재배환경이 다른 지역에서 푸른곰팡이균의 발생빈도를 조사하고 정확한 감염경로 및 원인을 밝히기 위하여 재배기간 중 재배사의 내 외부, 배지 및 종균의 푸른곰팡이병균의 오염여부와 밀도를 조사하였다.

일반적으로 미생물의 군락구조는 미생물이 이용하는 용질(영양성분) 이용능력 및 환경요인에 좌우되는 것으로 알려져 있다(Cook과 Rayner, 1984). 균류의 균사생장, 포자발아, 영양원 이용성과 정착(colonization) 및 균간 상호작용(interaction)에 미치는 환경 요인은 수분포텐셜, 온도, 대기상태, pH 및 기질성분 등이 중요한 것으로 알려져 있으며(Panasenko, 1967; Griffin, 1981, Boddy, 1986), 이 중에서 버섯 재배시에 가장 밀접하게 관련되는 환경 요인은 수분조건과 온도라고 할 수 있다.

한편, 푸른곰팡이병의 방제 약제로는 대부분의 불완전균류에 탁월한 살균효과가 있으나 담자균류와 조균류에 대해서는 살균 효과가 미약하거나 선택독성을 보이는 benzimidazole계 살균제인 benomyl이 일반적으로 사용되고 있고(Edgington 등, 1971), 국내에서도 버섯류의 병해방제에 대한 효과가 인정되면서(김 등, 1979) 버섯 재배농가에 널리 사용되어 왔다. 그러나 benzimidazole계 살균제는 약제저항성이 쉽게 유도되는 것으로 알려져 있고, 약제의 살포농도 및 회수를 증가시켜도 살균 효과가 없는 경우가 빈번히 발생하고 때에 따라서는 약해를 발생시키는 등의 문제점을 야기하고 있다. 우리나라에서도 최근 느타리 재배농가에서 푸른곰팡이병 발생 초기에 방제약제를 충분히 살포하여도 방제 효과가 없어 재배에 실패하는 농가가 많이 발생하고 있으나 약제 저항성균의 발생과 방제에 관한 연구는 전무한 실정이다.

또, 국내의 느타리버섯 품종은 농촌진흥청 농업과학연구소 응용미생물과의 연구진이 개발·보급한 품종과 최근에 일본, 중국 등지에서 종균업자, 재배자들이 도입한 약 30여 품종이 농가에서 재배되고 있다. 이들 품종들은 배양 및 재배를 위한 최적 온도 범위 등 재배조건과 자실체의 형태가 다른 것이 특징이다. 느타리 푸른곰팡이병의 발생은 균상에서 병원균과 느타리균의 경합능력에 따라 다를 것으로 추정되고, 동일한 조건에서 푸른곰팡이병균의 생장을 억제할 수 있는 품종을 개발하면 푸른곰팡이병의 예방 및 방제에 크게 공헌할 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구는 푸른곰팡이병의 예방과 방제의 기초자료를 확보하기 위하여 ① 병원균의 형태 및 배양적 특성을 조사하여 푸른곰팡이병균의 분류학적 위치를 밝히고 ② 느타리 재배사에서 푸른곰팡이병균의 생태학적 특성을 밝히기 위하여 감염경로 및 발병과정 등 발생생태를 조사하였다. 또 ③ 병원성을 조사하기 위하여 느타리 재배용 압축배지에서 푸른곰팡이병균의 정착력을 조사하였으며, *in vitro*와 *in situ* 조건에서 대치배양법으로 푸른곰팡

이병균에 대한 저항성품종을 조사하였다. 마지막으로 ④ 약제저항성균의 출현과 그로 인해 발생하는 피해를 조사하고 방제 대책을 수립하기 위하여 푸른곰팡이병균의 대한 약제저항성 검정을 실시하여 저항성균과 감수성균의 분포 및 발생 빈도를 밝혔고, 약제저항성균과 감수성균의 균사생장과 포자발아 등 생물학적 특성을 조사하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 푸른곰팡이병균의 수집 및 분리

#### 가. 시료채집

노타리비섯 푸른곰팡이병균을 분리하기 위하여 본 연구기간 중 경기, 강원, 충남·북, 전남·북, 경남도 등 전국 7개도 23개 시, 군의 버섯푸른곰팡이병 피해 재배사에서 이병 벗짚 및 폐쇄 버섯균상을 시료로 채취하였다(표 1).

#### 나. 균분리

*Trichoderma*속 균의 분리를 위한 기본배지는 potato dextrose agar (PDA, Difco, Bacto<sup>®</sup>)배지를 이용하였다. 세균의 성장을 억제하기 위하여 공시배지에 항생제 chloramphenicol을 소량(30ppm) 첨가하였으며, 분리방법은 버섯배지시료 1g씩을 임의로 취하여 이를 9ml의 멸균수가 들어있는 시험관에 넣고 30초간 vortexing한 후 희석평판배양법으로 25℃ 항온기에서 2~3일간 배양한 후 형성된 단일 콜로니를 순수 분리하였다.

## 2. 푸른곰팡이병균의 형태적 특징 및 동정

느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병균의 형태학적 특징을 밝히고 분류학적 위치를 구명하기 위하여 분리된 *Trichoderma*속 균주는 PDA배지와 균 동정용 배지인 malt extract agar (MEA, Difco)배지에 접종하여 배양하였다. 2% MEA배지 상에서 형성된 균총에서 분생포자(phialospore), 분생자경(conidiophore), 경자(phialide) 등의 형태학적 특징을 복합현미경( $\times 400$ ,  $\times 1000$ )하에서 관찰하여 Gams와 Bissett(1998)의 분류 기준에 따라 동정하였다. 분생포자의 형태적 특징은 시료 당 50~100개의 포자를 취하여 크기와 모양의 특징을 조사하였다.

*Trichoderma*속 균의 균사생장은 PDA배지 상에 전 배양하여 형성된 공시균주의 분생포자를 2% MEA배지에 점접종(point inoculation)한 후 20℃에서 암 상태에서 4일간 배양 후 균총의 직경을 측정하였다.

균총의 모양과 색깔은 공시 균주를 PDA배지에 접종하여 3일간 배양 후 2% MEA배지에 접종하였다. 이를 20℃에서 암 상태로 2일간 배양 후 실험실조건(약 21℃)에서 배양하면서 조사하였다.

## 3. 푸른곰팡이병균의 발생생태

푸른곰팡이병균의 발생생태를 밝히기 위하여 지역별, 배지별로 푸른곰팡이병균의 발생빈도를 조사하였고, 감염 경로 및 시기를 구명하기 위하여 충남 연기군 및 태안군 소재 농가 재배사와 충남대학교 농과대학의 느타리 재배사에서 재배 과정별(배지 야외발효, 배지살균, 종균집종, 균사생장, 버섯발생기 등)로 공기, 배지 중의 푸른곰팡이 병균의 밀도와 배지의 오염정도 및 균상의 푸른곰팡이병 발병정도를 조사하였다. 공기 중의 푸른곰팡이병균의 밀도조사는 PDA와 *Trichoderma*속 균 선택배지(TSM; Elad 등, 1981)를 담은 petri dish의 뚜껑을 열은 상태에서 재배사 내·외부 바닥에 30분간 정치한 후 이들을 25℃ 배양기에서 7일간 배양하여 colony 수를 조사하였다.

한편 느타리 균상에서 푸른곰팡이병균의 감염시기별 피해정도를 밝히기 위하여 배수 배지에 느타리를 인공 재배하면서 배지 살균 전, 종균 접종 시, 균사 활착 후, 자실체 유도기에 각각 푸른곰팡이병균을 접종하여 균상 오염 상태와 피해정도를 조사하였다. 배지 살균 전 오염에 의한 피해 조사는 배지의 수분을 약 65%로 조절한 후 공시 균을 분무 접종하고, 65℃에서 약 15시간 살균하여 55℃에서 약 72시간 후 발효를 실시한 후 종균을 표면 접종하고 배양 중에 발생하는 푸른곰팡이병을 조사하였다.

#### 4. 푸른곰팡이병균의 병원성 및 느타리 품종 저항성

느타리버섯균(*P. ostreatus*)과 푸른곰팡이병균간의 상호작용은 PDA배지 (*in vitro*)와 버섯재배용 압축배지(*in situ*)에 공시 균을 대치 배양하면서 상호작용패턴을 조사하였다. PDA 배지 상에서의 대치배양은 느타리버섯균을 25℃에서 6일간 전 배양한 후, PDA 배지에서 암 상태로 3일간 배양한 *Trichoderma*속 균의 균사선단을 7mm cork borer로 떼어내어 느타리버섯균과 일정한 간격을 두고(접종거리: 5cm 거리) 접종하였다. 접종된 petri dish는 15, 20, 28℃로 조절된 항온기에서 배양하였으며 Magan과 Lacey (1984)이 제안한 균간 상호 작용에 대한 기준을 변형하여 두 균간의 경합 형태에 따라 병원균이 우점하는 형태를 “1” 그리고 느타리 버섯균이 우점하는 형태를 “2”로 점수(numerical score)화 하여 우점지수를 표시하였다.

한편, *in situ* 배지상에서의 느타리버섯균과 푸른곰팡이병균간의 상호작용의 패턴을 조사하기 위하여 봉지 및 상자재배를 수행하였다. 살균한 배지에 느타리 종균을 접종하고 종균 위에 *Trichoderma*속 균의 포자현탁액( $1 \times 10^3$  spores/ml와  $1 \times 10^5$  spores/ml)을 10ml씩 분무 접종하였다. 접종된 배지는 25~27℃에서 21일 동안 배양하며 7일 간격으로 조사하였다. 처리구는 포자현탁액의 농도에 따라 각각 4반복으로 하였으며 대조구로 무처리를 4반복



하였다.

느타리 버섯균과 푸른곰팡이병균의 *in vitro* 상호작용 패턴은 대치배양 7일 후 조사하였고, *in situ* 상호작용 패턴은 7일 간격으로 3주까지 조사하였다. *Trichoderma*의 느타리 버섯균에 대한 병원성을 기준으로 우점화 수준(0: no effect, 1: 1~20, 2: 21~50, 3: 51~70 및 4: >71%)으로 표시하였다.

한편 푸른곰팡이병균의 병원성을 조사하기 위하여 느타리 버섯균과 푸른곰팡이병균을 0.2%와 2% MEA배지에 대치 배양하여 균사접촉(hypal contacts)과 꼬임(coiling)현상을 광학현미경으로 관찰하였으며, 1주일 후에 *Trichoderma*속 균에 의한 느타리 균사의 용균 현상을 관찰하였다.

푸른곰팡이병균에 대한 느타리 품종 저항성을 조사하기 위하여 농가에서 재배하고 있는 원형 등 느타리 16 품종을 각각 폐쇄 배지에 동일 조건하에서 재배하면서 병의 발생을 조사하였고 이들 품종과 푸른곰팡이병균의 균사생장력, 정착력 등을 기준으로 푸른곰팡이병균에 저항성을 보이는 품종을 조사하였다.

## 5. 약제저항성 푸른곰팡이병균의 발생과 특징

### 가. 공시약제

느타리 재배 균상에서 분리한 푸른곰팡이병균의 약제저항성 유무를 조사하기 위하여 benzimidazole계 공시살균제로 benomyl [methyl-1-(butyl carbamoyl)-2-benzimidazole carbamate], thiabendazole [2-(4'-thiazoly)-benzimidazole]과, 이미다졸계인 prochloraz manganese complex (이하 prochloraz로 칭함) [N-propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl) imidazole-1-carboxamide]를 공시하였다.

### 나. 약제저항성 검정법

공시 균주들의 약제저항성을 검정하기 위해 PDA 배지에 시판중인 benomyl을 비롯한 공시약제의 농도를 각각 10, 100, 1,000ppm 첨가하여 배지를 제조한 후 공시 균주를 접종하여 3일간 25℃에서 암 상태로 배양한 다음 균사 직경을 측정하여 저항성 여부를 판정하였고, 각 살균제에 저항성을 갖는 것으로 판명된 균주는 원제를 사용하여 저항성 여부를 재확인하였다.

#### 다. Benomyl 저항성균의 생물학적 특성

약제 저항성 균의 생물학적 특징을 조사하기 위하여 benomyl 저항성 균과 감수성 균의 균사생장과 포자발아를 조사하였다.

##### 1) 균사생장

Benomyl 저항성 균주와 감수성 균주를 각각 4균주씩 선발하여 PDA 배지에 3반복으로 접종하여 25±1℃에서 3일간 배양한 후 균사생장을 측정하였다.

##### 2) 포자발아율

Benomyl 저항성 균주와 감수성 균주의 포자발아율은 PDA 배지에 공시 균주를 접종한 후 25±1℃에서 7일간 배양한 다음 선단부터 접종부위까지 cork borer로 5개의 disc를 떼어 내어 이들을 각각 10ml 살균수에 넣고 10초간 vortex한 후 포자농도를 hemocytometer를 이용하여 10<sup>6</sup> spore/ml로 조절한 후 PDA배지에 도말하여 25±1℃에 배양하여 포자발아율을 측정하였다.

## 제 3 절 결과 및 고찰

### 1. 푸른곰팡이병균의 분리 및 동정

#### 가. 푸른곰팡이병 균의 형태 및 배양적 특징

푸른곰팡이병이 발생한 벼싹 재배사에서 110균주의 *Trichoderma*속 균주를 분리하였다(표 1). 분리한 *Trichoderma*속 균은 배양적, 형태적 특징에 따라 크게 4종류로 분류되었으며 이들은 Gams와 Bissett(1998)의 기술에 따라 *Trichoderma* sp., *T. viride*, *T. koningii* 및 *T. harzianum*으로 동정하였다(표 2와 표 3, 그림 1, 그림 2 및 그림 3). 이들의 형태 및 분류학적 특징을 기술하면 다음과 같다.

*Trichoderma* sp.: 균사생장(76-77mm)이 빠르며 균사 생장 시 기중 균사의 발달이 거의 없다. 균사는 투명하고 포자는 고르게 퍼져 형성된다. 포자 형성 시에 생성되는 환은 배양 조건에 따라 조금씩 변하는 현상이 나타났는데 이것은 광에 의한 영향이라고 생각된다.

균총은 포자형성 초기에 녹색이지만 배양기간이 길어지면 푸른빛을 띤 녹색으로 변화한다(표 2, 그림 1A). 경자(phialide)는 길쭉한 곤방형(lageniform)과 플라스크(ampulliform) 형태이며 분생자경 끝에 2개 이상(보통 3개) 모여있는 것을 관찰할 수 있다(표 3, 그림 2A). phialospore는 broadly ellipsoidal(L/W: 1.15-1.3)에서 obovoid 형태이다(표 3, 그림 3A). *T. virens*는 PDA 배지에서 배양 시 때때로 배지이면이 희미한 노란색으로 변하는 경우도 있었지만 대부분의 경우 배지이면의 색이 변하지 않는다. 이 균은 대부분의 균학적 특징이 Gams와 Bissett(1998)의 *T. virens*와 유사하였으나 분생포자의 크기가 약간 작고 RAPD, RFLP 등으로 DNA band pattetm을 기초로

polymorphism을 분석한 결과(데이터 미제시, 2000년 한국균학회 추계학술대회 포스터 발표; Molecular classification of *Trichoderma* isolates from oyster mushroom farm) *T. harzianum* group에 속하지만 지금까지 보고된 *T. harzianum*과는 독립된 cluster를 형성하기 때문에 *Trichoderma* sp.로 하였고 추후 형태 및 배양적 특징과 분자생물학적 기법을 이용한 분자분류 데이터를 종합하여 정확한 종의 동정이 수행되어야 할 것이다.

*T. viride*: 균사생장(82-85.5mm)이 빠르며 기중 균사의 발달이 미약하다. 균사는 처음에 투명하지만 시간이 지날수록 하얀빛으로 보이며 포자는 petri-dish 가장자리부터 조그만 균사덩어리가 형성되면서 생성된다. 포자생성 초기에는 균총이 푸른빛을 띤 녹색이었으나 시간이 지날수록 색깔이 진하게 변한다.

PDA배지 이면의 색깔 변화는 없었으며 배지에서 coconut향이 난다(표 2, 그림 1B). Phialide는 대부분 lageniform이고 분생자경 끝에 모이지만 *T. virens*와는 달리 떨어져 있으며 구부러진 모양도 관찰된다(표 3, 그림 2B). phialospore는 대부분 globose(L/W: 1.0-1.05) 또는 subglobose(L/W: 1.05-1.15) 형태이며 간혹 broadly ellipsoidal형태도 관찰된다(표 3, 그림 3B).

*T. koningii*: 균사생장(87-88mm)이 빠르고 기중 균사의 발달이 미약하지만 균사생장 초기에는 기중 균사가 발달하였다가 포자형성이 되면서 기중 균사가 소멸하였다. 균사는 처음에는 투명했으나 하얀 빛깔로 변한다. 점중원을 중심으로 균사덩어리가 형성되고 그 위에 포자가 형성되고 연속하여 생긴 균사덩어리가 형성된다. 균사덩어리는 점중원을 중심으로 하나의 큰 덩어리를 형성한다(표 2, 그림 1C). phialide는 lageniform이었고 구부러져 있는 것도 관찰된다(표 3, 그림 2C). phialospore는 대부분 subcylindrical과 ellipsoidal형태이다(표 3, 그림 3C)

Table 1. Isolates of *Trichoderma* spp. used in this study

Isolate No.	Collected site	Subst-rate <sup>1)</sup>	Year	Isolate No.	Collected site	Subst-rate <sup>1)</sup>	Year
CNU501	Chuncheon, Kangwon	WC	1998	CNU530	Danyang, Chungbuk	RS	1998
CNU502	Chuncheon, Kangwon	WC	1998	CNU531	Danyang, Chungbuk	RS	1998
CNU503	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU532	Danyang, Chungbuk	RS	1998
CNU504	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU533	Chongwon, Chungbuk	WC	1998
CNU505	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU534	Chongwon, Chungbuk	WC	1998
CNU506	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU535	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU507	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU536	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU508	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU537	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU509	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU538	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU510	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU539	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU511	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU540	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU512	Yeosu, Chonnam	RS	1998	CNU541	Jincheon, Chungbuk	WC	1998
CNU514	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU542	Chongwon, Chungbuk	WC	1998
CNU515	Inje, Kangwon	WC	1998	CNU543	Chongwon, Chungbuk	WC	1998
CNU516	Tae An, Chungnam	WC	1998	CNU544	Sanchong, Kyeongnam	WC	1998
CNU517	Tae An, Chungnam	RS	1998	CNU545	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU518	Tae An, Chungnam	RS	1998	CNU546	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU519	Okchun, Chungbuk	WC	1998	CNU547	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU520	Okchun, Chungbuk	WC	1998	CNU548	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU521	Okchun, Chungbuk	WC	1998	CNU549	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU522	Boeun, Chungbuk	WC	1998	CNU550	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU523	Boeun, Chungbuk	WC	1998	CNU551	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU524	Koisan, Chungbuk	WC	1998	CNU552	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU525	Koisan, Chungbuk	WC	1998	CNU553	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU526	Koisan, Chungbuk	WC	1998	CNU554	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU527	Koisan, Chungbuk	WC	1998	CNU555	Namwon, Chonbuk	RS	1998
CNU528	Koisan, Chungbuk	WC	1998	CNU556	Yongi, Chungnam	WC	1998
CNU529	Jecheon, Chungbuk	WC	1998	CNU557	Yongi, Chungnam	WC	1998

Continued

Isolate No.	Collected site	Subst-rate <sup>1)</sup>	Year	Isolate No.	Collected site	Subst-rate <sup>1)</sup>	Year
CNU558	Juchon, Chonbuk	WC	1998	CNU594	Pyongtaek, Kyonggi	S	1999
CNU559	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU595	Pyongtaek, Kyonggi	RS	1999
CNU560	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU596	Yangju, Kyonggi	WC	1999
CNU561	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU597	Yangju, Kyonggi	S	1999
CNU562	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU598	Yangju, Kyonggi	WC	1999
CNU563	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU599	Yangju, Kyonggi	WC	1999
CNU564	Yongi, Chungnam	RS	1999	CNU600	Yangju, Kyonggi	WC	1999
CNU565	Yongi, Chungnam	WC	1999	CNU601	Paju, Kyonggi	S	1999
CNU571	Inje, Kangwon	RS	1999	CNU602	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU572	Inje, Kangwon	RS	1999	CNU603	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU577	Inje, Kangwon	RS	1999	CNU604	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU578	Inje, Kangwon	RS	1999	CNU605	Paju, Kyonggi	MW	1999
CNU579	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU606	Paju, Kyonggi	S	1999
CNU580	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU607	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU581	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU608	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU582	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU609	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU583	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU610	Yuju, Kyonggi	RS	1999
CNU584	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU611	Yuju, Kyonggi	RS	1999
CNU585	Seosan, Chungnam	S	1999	CNU612	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU586	Kunja, Kangwon	WC	1999	CNU613	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU587	Kunja, Kangwon	WC	1999	CNU614	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU588	Kwangpan, Kangwon	WC	1999	CNU615	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU589	Kwangpan, Kangwon	WC	1999	CNU616	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU590	Kunja, Kangwon	WC	1999	CNU617	Yuju, Kyonggi	WC	1999
CNU591	Pyongtaek, Kyonggi	MW	1999	CNU618	Paju, Kyonggi	S	1999
CNU592	Pyongtaek, Kyonggi	WC	1999	CNU619	Paju, Kyonggi	WC	1999
CNU593	Pyongtaek, Kyonggi	WC	1999	CNU620	Paju, Kyonggi	MW	1999

<sup>1)</sup> WC: waste cotton, RS: rice straw, S: sawdust, MW: material wood

Table 2. Macroscopic and cultural characteristics of *Trichoderma* spp. isolated from oyster mushroom substrates

Species	Colony		Growth (mm) 20°C, 5days	Remark (odour)
	Color	Shape		
<i>T. virens</i> <sup>1)</sup>	Dark bluish-green	Effuse or flat pustules	60~70	Indistinct
<i>Trichoderma</i> sp. CNU 501	Dark bluish-green	Effuse or flat pustules	76~77 (77.6)	Indistinct
<i>T. viride</i> <sup>1)</sup>	Glaucous to dark bluish-green	Compact tuft or more effuse	50~90	Coconut
CNU 503	Dark bluish-green	Compact tuft	82~85.5 (84.3)	Coconut
<i>T. koningi</i> <sup>1)</sup>	Dull green to bluish-green	Compact tuft, continuous crust	70~90	
CNU 518	Bluish-green	Compact tuft, continuous crust	87~88 (87.6)	
<i>T. harzianum</i> <sup>1)</sup>	Yellowish-green to dark green	Predominantly effuse, tuft or pustule	70~90	Indistinct or faintly earthy
CNU 530	Dark green	Tuft or pustule	87.5~88 (87.6)	Indistinct or faintly earthy

<sup>1)</sup> Reference: W. Gams and J. Bissett (1998).

Table 3. Morphological characteristics of *Trichoderma* spp. isolated from oyster mushroom substrates

Species	Phialide	Phialospore	
		Shape	Size( $\mu\text{m}$ )
<i>T. virens</i> <sup>1)</sup>	Lageniform to ampulliform	Broadly ellipsoid to obovoid, smooth-walled	3.5-6.0×2.8-4.1
<i>Trichoderma</i> sp. CNU 501	Lageniform to ampulliform	Ellipsoidal or broadly ellipsoidal to obovoid, smooth-walled	2.6-5.2×1.9-3.3 (3.7×2.4)
<i>T. viride</i> <sup>1)</sup>	Narrowly lageniform	Globose to ellipsoidal, warty	4.0-4.8×3.5-4.0
CNU 503	Narrowly lageniform to lageniform	Globose to broadly ellipsoidal	3.3-4.4×2.9-3.4 (3.5×3.2)
<i>T. koningi</i> <sup>1)</sup>	Lageniform or more or less ampulliform	Subcylindrical to narrow ellipsoid	3.0-5.5×1.9-3.2
CNU 518	Lageniform	Subcylindrical to narrow ellipsoid	3.1-4.9×2.3-3.1 (3.9×2.5)
<i>T. harzianum</i> <sup>1)</sup>	Ampulliform to lageniform	Subglobose to obovoid, smooth-walled	(2.5-)2.7-3.5×2.1-2.6(-3.0)
CNU 530	Ampulliform to lageniform	Globose to broadly ellipsoidal, smooth-walled	2.8-3.1×2.2-2.8 (2.5×2.4)

<sup>1)</sup> Reference: W. Gams and J. Bissett(1998).



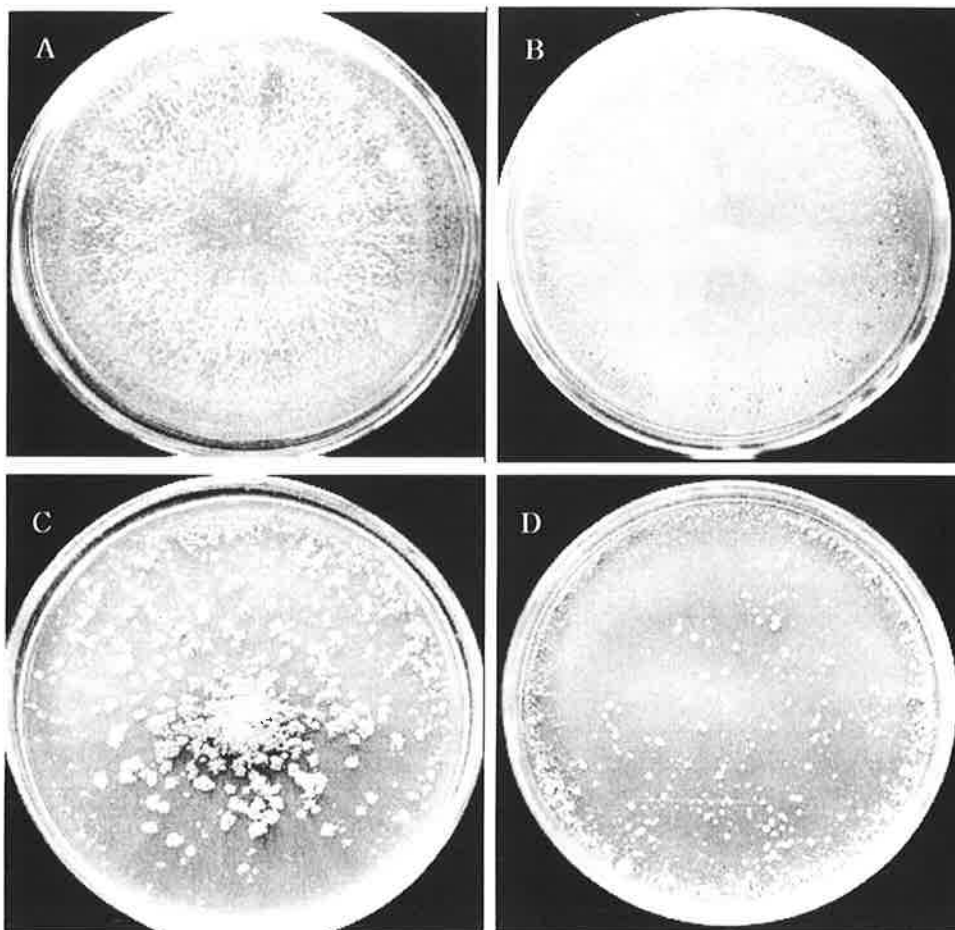


Fig. 1. Colony characteristics of *Trichoderma* spp. (A : *Trichoderma* sp., B : *T. viride*, C : *T. koningii*, and D : *T. harzianum*) isolated from green mould disease of oyster mushroom substrates at 20°C on MEA.

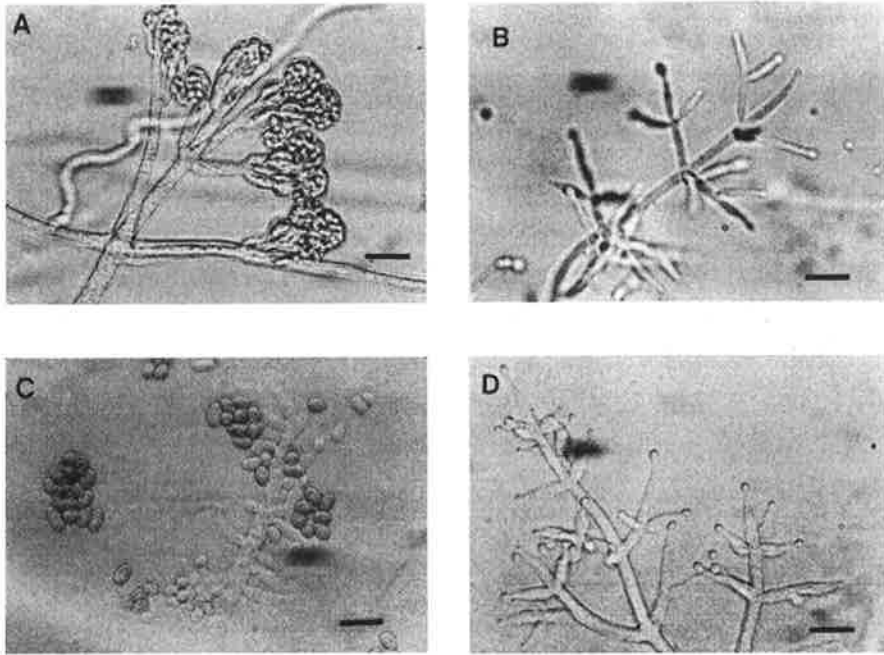


Fig. 2. Conidiophores of *Trichoderma* spp. (A : *Trichoderma* sp., B : *T. viride*, C : *T. koningii*, and D : *T. harzianum*) isolated from green mould disease of oyster mushroom substrates (scale bar = 10  $\mu$ m).

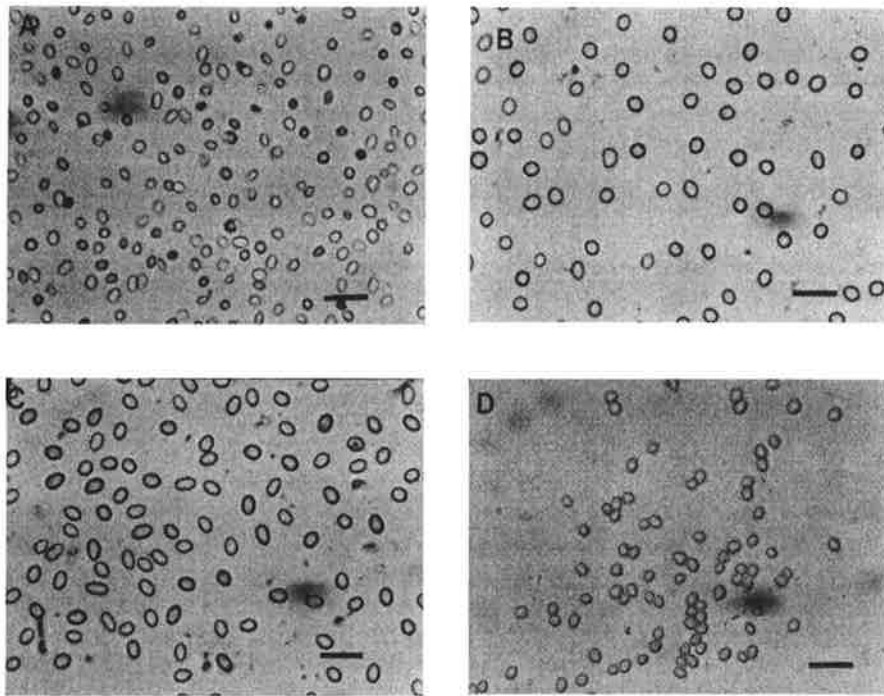


Fig. 3. Conidia of *Trichoderma* spp. (A : *Trichoderma* sp., B : *T. viride*, C : *T. koningii*, and D : *T. harzianum*) isolates from green mould disease of oyster mushroom substrates (scale bar = 10  $\mu$ m).

*T. harzianum*: 균사생장(87.5-88mm)이 빠르고 기중 균사의 발달이 거의 없다. 균사는 투명하였고 포자는 균사덩어리가 균총에 형성된 뒤 생성된다. 포자형성 초기에 균총은 녹색이지만 성숙되면 짙고 어두운 녹색으로 변한다. 포자형성 시 생기는 균사덩어리는 크고 작은 것들이 혼재하여 나타나며 작은 것들은 하얀 가루같이 보인다. PDA배지에서 배양하면 배지이 면이 점차 흑갈색으로 변하고 배양 시 때때로 약간의 흙 냄새가 난다(표 2, 그림 1D). Phialide는 ampulliform과 lageniform형태로 분생자경 끝에서는 운생체로 배열한다(표 3, 그림 2D). Phialospore는 대부분 globose와 subglobose 형태이다(표 3, 그림 3D).

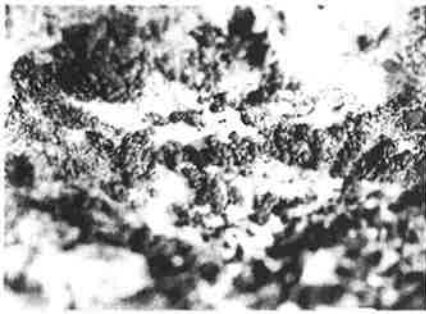
#### 나. *Hypocrea*속 균의 형태학적 특징

*Hypocrea* spp.는 *Trichoderma*속 균의 완전세대로 일본에서는 표고버섯의 골목을 가해하는 대표적인 균으로 수 많은 종이 보고 되어 있으나 (Komatsu, 1976; Tokimoto, 1982) 느타리버섯의 재배에 피해를 주는 *Hypocrea* spp.의 분류 동정 및 발생생태에 관한 연구는 보고된 바 없다.

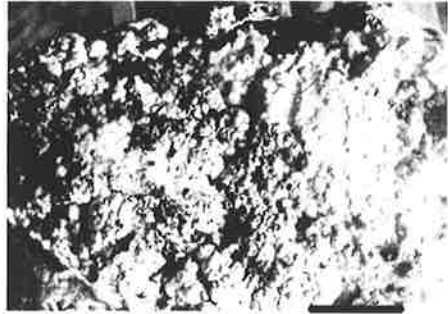
국내에서 느타리버섯 균상에 발생하는 *Hypocrea*는 2 종류, 즉, 백색 stroma를 형성하는 것과 갈색 stroma를 형성하는 균이 발생하고 있으며, 이들의 형태적 특성은 표 4, 그림 4, 5와 같다.

Table 4. Morphological characteristics of *Hypocrea* spp. generated on oyster mushroom bed

		<i>Hypocrea</i> sp. 1.	<i>Hypocrea</i> sp. 2.
Stroma	Color	Brown	White
	Size	1.0~2.0 × 1.0~2.0 mm	6.0~13.0 × 3.0~11.0 mm (Ave. 7.7×5.9)
Perithecium	Morphology	Subglobose or slightly vertically elongated	Subglobose or slightly vertically elongated
	Size	196~256×116~248 $\mu$ m (Ave. 217.3×174.7)	270~280×250~260 $\mu$ m (Ave. 275.3×255.6)
Ascus	Number of ascospore	16 part spores in a ascus	16 part spores in a ascus
	Size	90~96 $\mu$ m (Ave. 92)	108~124 $\mu$ m (Ave. 116)
Ascospore	Morphology	Subglobose to ellipsoide, hyaline, smooth	Ovovate with truncate base, warded
	Size	4~6×3~5 $\mu$ m (Ave. 4.8×3.6)	5.4~6.9×3.9~4.6 $\mu$ m (Ave. 6.0×4.5)

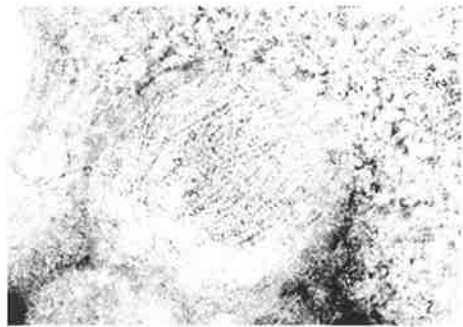
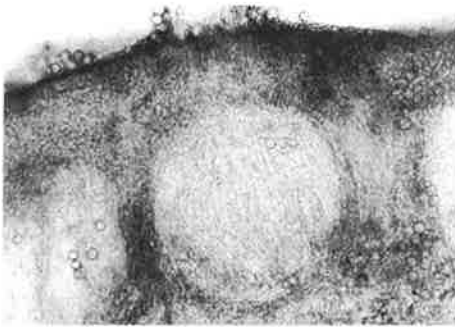


*Hypocrea* sp. 1 (scale bar : 1cm)

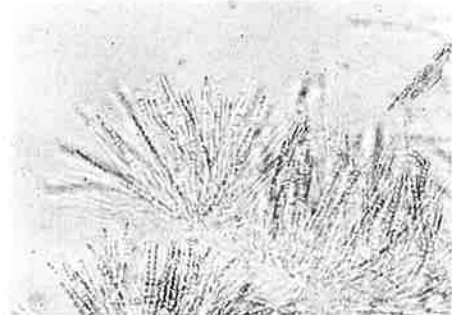
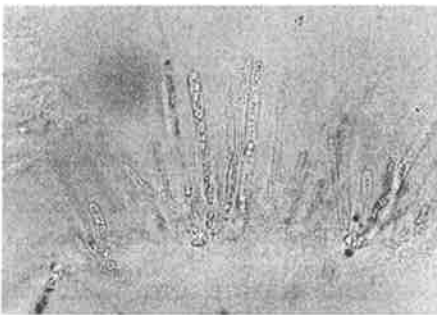


*Hypocrea* sp. 2 (scale bar : 5cm)

Fig. 4. Stroma of *Hypocrea* spp. generated on oyster mushroom bed.



Perithecium of *Hypocrea* sp. 1 (left) and *Hypocrea* sp. 2 (right) ( $\times 100$ )



Asci of *Hypocrea* sp. 1 (left,  $\times 400$ ) and *Hypocrea* sp. 2 (right,  $\times 100$ )

Fig. 5. Stroma, perithecium and asci of *Hypocrea* sp. 1 and *Hypocrea* sp. 2.

Stroma의 크기는 백색형이 갈색형보다 5-6배 크며, 자낭각, 자낭, 자낭포자도 정도의 차이는 있으나 백색형이 크다. 이 두 그룹의 미성숙 stroma의 외부 형태는 육안으로는 구별하기 어려우며, 특히 갈색형균의 stroma가 성숙하지 않았을 때에는 흰색에서 아이보리색을 띄기 때문에 백색형균과 구별이 어렵다. 자낭안에 형성된 자낭포자는 두 종류 모두 16개이나, 형태는 갈색형이 약간 길쭉한 타원형에서 타원형이고 투명한 반면, 백색형은 기부가 잘린 계란형이고, 표면이 거칠고 돌기가 있다. 분리된 *Hypocrea*속 균의 종은 형태학적 특징으로는 현재까지의 연구 결과 미기록종으로 추정되고 있으며 정확한 동정을 위해 type culture와 분리균 간의 형태학적인 특징과 DNA 수준에서의 분자생물학적인 분류가 필요할 것으로 사료된다.

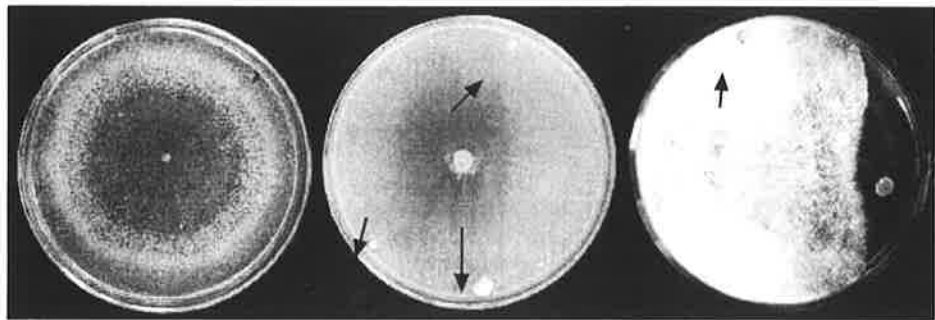
#### 1) *Hypocrea* sp. 1. (Brown colored stroma)

미성숙한 stroma는 회백색~아이보리색이며 성숙도가 진전됨에 따라 진한 갈색으로 변한다. 영양생장(자낭각이 형성되기 전까지)이 완전히 끝난후, 착색되며 착색되기 시작하면 stroma의 크기는 거의 변하지 않는다. 불완전세대는 농가에서 신종 푸른곰팡이로 불리는 *Trichoderma* sp.이며, 보통은 *Trichoderma*가 만연된 느타리버섯 균상을 방치하면 *Trichoderma*군집 사이 혹은 주변에 발생한다(그림 8). Stroma를 순수 조직 분리하면 쉽게 *Trichoderma*균사가 발생하며, *in vitro*에서는 stroma를 잘 형성하지 않는다.

#### 2) *Hypocrea* sp. 2. (White colored stroma)

Stroma는 흰색이며 완전히 성숙되어 포자가 방출되면 옅은 노란색에서 연갈색을 띤다(사진). 느타리버섯 재배 초기에 대 발생하여 재배 자체를 불가능하게 하는 경우가 많다. 균사가 순백색이고 균상에서는 불완전세대(*Trichoderma* sp.)의 분생포자를 잘 형성하지 않기 때문에 느타리 균사와 혼재하고 있는 경우에도 발견이 어렵다. *Trichoderma*의 군집이 형성되어 있지 않은 균상에서도 버섯 발이를 유도하기 위하여 하온을 실시하면

*Hypocrea*의 stroma가 발생하는데, stroma의 원기가 느타리버섯 자실체 원기와 아주 유사하기 때문에 진단이 어려우며, 초기 방제에 실패하는 경우가 많다. Stroma를 순수 조직 분리하거나 자낭포자를 받아서 얻은 균사체는 PDA에서 균사 생장이 1일 10mm이하로 매우 느리며 투명하고, 약 3주일 이상 배양하면 불완전세대인 *Trichoderma* sp.의 분생포자를 형성한다. *In vitro*에서 stroma가 형성되며(그림 6), 형성된 stroma도 자낭각과 자낭포자를 형성한다.



imperfect stage

perfect stage

Fig. 6. *In vitro* stroma formation (arrowheads) of *Hypocrea* sp. 2 on PDA.

## 2. 푸른곰팡이병균의 발생생태

### 가. 지역 및 느타리 배지별 푸른곰팡이병의 발생 분포

느타리버섯 푸른곰팡이병이 발생한 버섯 균상에서 분리, 동정된 *Trichoderma*속 110균주의 지역별 발생분포와 배지별 발생분포는 표 5, 6과 같다. 그 중 *Trichoderma* sp.가 72균주로 가장 많았고 *T. viride*(15균주), *T. harzianum*(8균주), *T. koningii*(6균주) 순으로 분포하였다(표 5).

Table 5. Distribution of *Trichoderma* spp. causing green mould of oyster mushroom

Site	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>T. viride</i>	<i>T. koningii</i>	<i>T. harzianum</i>	unidentified
Chuncheon, Kangwon	501, 502	-	-	-	-
Inje, Kangwon	504, 505, 506, 514, 515	503, 578, 572	577	571	-
Kunja, Kangwon	586, 587	-	-	-	590
Kwangpan, Kangwon	588, 589	-	-	-	-
Okchun, Chungbuk	519, 520, 521	-	-	-	-
Boeun, Chungbuk	522, 523	-	-	-	-
Koisan, Chungbuk	524, 525, 526, 527, 528	-	-	-	-
Danyang, Chungbuk	531, 532	-	-	530	-
Chongwon, Chungbuk	533, 543	534	-	542	-
Jincheon, Chungbuk	535, 536, 537, 538, 540, 541	-	-	-	539
Jecheon, Chungbuk	-	-	-	529	-
Yongi, Chungnam	556, 557	559, 560, 561	-	-	562, 563, 564, 565
Tae An, Chungnam	516, 517	-	518	-	-
Seosan, Chungnam	585	579, 580, 581, 582	-	-	583, 584
Namwon, Chonbuk	545, 546, 547, 548, 549, 550, 552, 553	555	-	551, 554	-
Juchon, Chonbuk	558	-	-	-	-
Yeosu, Chonnam	508, 509, 510	507, 511, 512	-	-	-
Sanchong, Kyeongnam	544	-	-	-	-
Pyongtaek, Kyonggi	591, 593, 594, 595	-	592	-	598
Yangju, Kyonggi	596, 597, 599, 600	-	-	-	-
Paju, Kyonggi	602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 619, 620	-	-	601, 618	-
Yoju, Kyonggi	609, 610, 611, 612, 614, 616	-	613, 615	617	-
Total	72	15	5	9	9

\* Numbers show isolates number and abbreviated CNU.



지역별로 강원도, 충청북도, 경기도, 전라북도 지역의 버섯재배시설에서 *Trichoderma* sp.가 우점하였으나 충청남도과 전라남도는 *T. viride*가 우점종이었다. 이와 같이 국내의 느타리버섯 재배시설에는 *Trichoderma* sp.가 지역에 관계없이 많이 분포하고 느타리 재배에 심각한 피해를 주는 것으로 밝혀졌다.

배지별 *Trichoderma*속 균의 발생은 폐쇄에서 분리된 110균주 중 *Trichoderma* sp.가 49균주로 약 74%를 차지하였고 벚짚에서 분리한 30균주 가운데 *Trichoderma* sp.가 16균주로 약 58%를 차지하였다(표 7).

*Trichoderma* sp.는 지역별 느타리버섯 푸른곰팡이병 조사에서 뿐 만 아니라 느타리버섯 재배 배지로 사용되는 폐쇄과 벚짚에서 모두 우점하고 있었다. 따라서 *Trichoderma* sp.가 느타리버섯에 대한 병원성 또는 균상 배지정착 능력이 강한 것으로 사료되며, 각 *Trichoderma*종의 병원성과 피해정도를 정확히 파악하기 위해서 느타리버섯 균상에서 발생한 *Trichoderma*속 균과 느타리버섯균의 *in vitro*와 *in situ* 상호작용 패턴과 검정이 요구된다.

Table 6. Occurrence of *Trichoderma* spp. on different culture substrates of oyster mushroom farms in Korea

Culture substrate	<i>T. virens</i> type	<i>T. viride</i>	<i>T. koningii</i>	<i>T. harzianum</i>	unidentified	Total
Waste cotton	49	5	3	2	6	65
Rice straw	16	6	2	5	1	30
Saw dust	4	4	0	2	2	12
Material wood	3	0	0	0	0	3
Total	72	15	5	9	9	110

이와 같은 결과는 외국에서 양송이버섯 재배에서 문제가 되고 있는 푸른곰팡이병균은 *T. harzianum*의 생태형 Th2와 Th4가 우점하고 있으나 우리나라에서는 느타리버섯 재배 중 발생하는 푸른곰팡이병균의 우점종이 *Trichoderma* sp.로 외국의 *T. harzianum*과는 다른 생태형을 보이는 것으로 사료된다.

#### 나. 푸른곰팡이병의 감염 경로 및 발병과정

푸른곰팡이병의 전염경로와 발병과정을 구명하기 위하여 재배 과정 초기부터 폐상까지의 전 재배기간에 걸쳐 공기 중 푸른곰팡이병균 밀도와 균상의 푸른곰팡이병 오염 정도를 조사하였다(표 7).

Table 7. Distribution of green moulds in oyster mushroom farms during the cultivation

Period	Chungnam Univ.	Chungnam I (Yeongi )	Chungnam II (Yeongi )	Chungnam III (Taeon)
Around mushroom house	+ <sup>1)</sup>	++	+	++
Pre-sterilization	++	+++	++	++
Composting phase 2	-	+	+	-
After Composting	-	-	-	-
After spawn inoculation	+	+	+	+
Spawn rining	+++	-	-	++
Fruitbody induction	++	+	+	+
After first flush	++	++	++	++
From second flush	++	++	++	++

<sup>1)</sup> -; no colonization, +; below 1 colony, ++; 1 to 4 colonies, +++; 5 to 9 colonies/dish.

모든 조사 대상 재배사에서 살균과정 이외의 시기에는 재배사 외부와 동

등하거나 높은 푸른곰팡이병균의 발생을 보이고 있었고, 충남대학교 재배사를 제외한 농가의 재배사에서 모두 1~2주기 중에 푸른곰팡이병균이 균상에 발생하여 막대한 피해를 초래하였다. 충남대학교의 재배사와 연기군의 I, II 재배사는 강제 송풍식 환기 시설을 갖춘 조립식 펜널 재배사이고 태안군의 III 재배사는 자연 환기식의 보온 덮개 재배사로 재배사의 구조와 푸른곰팡이병균의 밀도는 관계가 없었으나, 균상의 오염 정도는 III 재배사에서 가장 낮아 이는 환기 시설과 밀접한 관계가 있을 것으로 추정된다. 또 충남대학교의 재배사와 III 재배사에서는 느타리 균을 상자에 혹은 비닐을 균상에 밀착시켜 배양하였기 때문에 균사 배양 중에 재배사 내의 푸른곰팡이병균의 밀도가 높았음에도 불구하고 균상의 피해는 적었고, 터널을 설치하여 균사배양을 실시한 I, II 재배사는 터널 안쪽을 푸른곰팡이병균의 밀도 조사의 대상으로 하였기 때문에 푸른곰팡이병균의 균은 검출되지 않았다. 모든 재배사에서 후발효가 끝난 직후에는 푸른곰팡이병균이 검출되지 않았고, 종균 접종시 부터 검출되었기 때문에 종균 접종시의 오염을 배제할 수 없었다. 발이 유도기에는 상대적으로 낮은 빈도로 균이 검출되었는데 이는 발이 유도시의 하온(13~15℃)과 관계가 있을 것으로 추정되고, 재배 주기가 증가함에 따라 공기 중에서 검출되는 균의 밀도가 높아지는 경향을 보였으나 균상의 오염과는 관계가 없었다. III 재배사의 경우는 공기 중의 푸른곰팡이병균의 밀도가 다른 재배사와 거의 동등하였으나 3주기까지 균상의 오염은 거의 없었다.

#### 다. 푸른곰팡이병균의 감염시기별 피해정도

느타리버섯 재배시 발생하여 막대한 피해를 주고 있는 *Trichoderma*속 균의 전염경로와 발병과정을 구명하고 방제 대책을 수립하기 위하여, 재배사 건축 년한이 1년으로 비교적 재배환경이 양호한 충남 연기군의 느타리 재배

농가를 선택하여 농민이 관행 방식대로 재배사 관리를 하도록 하면서 재배 과정 초기부터 폐상까지의 전 기간에 걸쳐 *Trichoderma*속균의 공기중 밀도와 배지 재료의 오염 정도 및 균상의 푸른곰팡이병 발병정도를 조사하였다.

#### 1) 재배시설 및 개요

- ① 실험 장소 : 충남 연기군 서면 국촌리 느타리버섯 재배 농가
- ② 재배사 구조 및 면적 : 1998년 4월 건축, 패널 조립식 구조 2동 (60평/동)
- ③ 재배 및 실험 시기 : 1999년 4월 - 1999년 8월
- ④ 재배 품종 및 재배 형식 : 춘추 2호, 폐쇄 균상 재배

#### 2) 배지 재료와 재배과정 중에 혼입 혹은 비산하는 균류의 조사

느타리버섯 재배사에 *Trichoderma*속 균과 기타 부생성 균류는 재배과정 전과정에 걸쳐 분리되었으며, 특히 종균 접종 직전의 살균이 완료된 배지에서도  $2.0 \times 10^2$  /100g개의 *Trichoderma*속 균이 검출되었다 (표 8). 재배사 내에서 비산하고 있는 균류는 살균 직후에 비교적 낮은 수준을 유지하고 있었으나, 재배단계가 경과함에 따라 증가하였고, 버섯발생을 유도하기 위하여 온도를 내려주는 시기에는 일시적으로 균류의 비산이 감소하는 경향을 보였다(표 9).

본 재배에서는 *Trichoderma*속 균이 1주기 버섯 발생중에 이미 균상 표면에 발생하고 있었으며 A재배사는 1주기 수확후 benomyl 수화제 1,000배액을 분무 처리 하였고, B재배사는 약제처리를 실시하지 않았다. 그 결과 예상외로 2주기 발생기부터 benomyl을 살포한 A재배사는 *Trichoderma*속 균의 발생이 급격히 증가하여 2주기의 수확이 불가능하였고, 약제처리를하지 않은 B재배사는 부분적으로 버섯의 수확이 가능하였다. A재배사의 피해가 증가한 원인으로서는 감염균(*Trichoderma* sp.)이 benomyl 저항성균이고, 분무기에 의한 약제 처리로 포자 비산이 촉진되고 균상 표면이 지나치게 과습하

여 결과적으로는 피해 면적이 급격히 증가한 것으로 추정된다.

한편, 1 주기에서 공기 중에 비산하는 *Trichoderma*속 균의 밀도가 낮음에도 불구하고 균상 표면에 푸른곰팡이 병이 발생하였는데 그 원인으로서는 재배사 내에 있는 목조 합판으로 만든 이동 작업대가 이전의 재배 과정중에서 이미 *Trichoderma*속 균에 의해 오염되어 있었고(그림 7), 살균 과정 중에 완전히 제거되지 않아 이 작업대가 오염원의 하나로 작용한 것으로 추정된다.

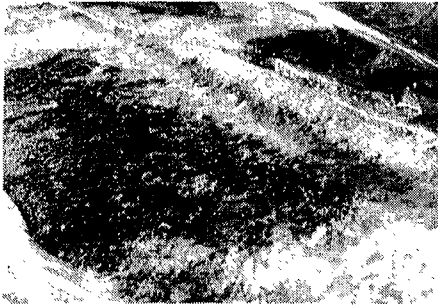
Table 8. Number of *Trichoderma* spp. and other fungi in the waste cotton for oyster mushroom cultivation

Sample	Number of <sup>1)</sup> / 100g of waste cotton	
	<i>Trichoderma</i>	other fungi
Pre-sterilization	$1.2 \times 10^5$	$2.6 \times 10^5$
After sterilization and composting	$2.0 \times 10^2$	$2.6 \times 10^2$

<sup>1)</sup> Number of isolate was detected by dilution plate method

Table 9. Distribution of green moulds in oyster mushroom farm during the cultivation

Periods	Number of fungi	
	<i>Trichoderma</i>	Other fungi
Sterilization	0	17.5
After composting	0	5.0
Spawn running	0	19.5
First flush	0	12.5
After first flush	1.6	32.2
Second flush	1.2	28.3



Mushroom bed



Working rail

Fig. 7. Contaminated mushroom bed and working rail by *Trichoderma* spp.

노타리버섯 준주 2호는 버섯 수확량이 약 1,000-1,200Kg/60평(3주기수확 기준)을 수확 할 수 있는 품종이나, 본 재배에서는 조기에 발생한 *Trichoderma*속 균을 효과적으로 방제하지 못하여 약 70% 이상의 수량감소를 초래하였다(표 10).

Table 10. Relationships between mushroom yields and occurrence of green moulds on the mushroom bed

	A house <sup>1)</sup>		B house	
	Area of <i>Trichoderma</i> occur (%)	Yields of mushroom (kg)	Area of <i>Trichoderma</i> occur (%)	Yields of mushroom (kg)
After spawn running	0	-	0	-
First flush	< 1	-	< 1	-
After first flush	< 2	124	< 2	380
Second flush	25	-	< 5	-
After second flush	65	0	< 15	120

<sup>1)</sup> Benomyl (1,000 ×) was treated after first flush

한편 푸른곰팡이병균의 감염시기에 따른 피해를 조사하기 위하여 재배 단계별(배지살균전, 종균접종기, 균사생장기, 버섯발생기)로 *Trichoderma*속 균의 포자현탁액을 느타리 재배용 압축매지 혹은 균상에 각각 접종하여 이들 균의 발생과 피해 정도를 조사하였다(표 11).

살균 전에 접종한 *Trichoderma*속 균은 종균 배양기간을 포함한 전 재배기간에 걸쳐 발생하지 않아 관행의 살균 과정으로 완전히 살균된 것으로 생각되어진다.

Table 11. Relationships between contamination periods of green mould and disease development on the oyster mushroom bed

Contaminated at	<i>Trichoderma</i> isolate	
	CNU 597	CNU 669
Pre-sterilization of substrates	0% (0/20) <sup>1)</sup>	0% (0/20)
Spawn inoculation	100% <sup>2)</sup> (20/20)	100% (20/20)
Fruitbody induction	10% (2/20)	10% (2/20)

<sup>1)</sup> No. of box detected green mould / No. of box examined.

종균 접종시에 푸른곰팡이병균을 오염시킨 경우는 모든 처리구가 *Trichoderma*속 균에 의해 오염되었고, 특히 배양 2주 후에는 상자의 전면을 완전히 오염시켜 정상적인 재배가 불가능하였다. 또 느타리의 종균이 완전히 활착되어 느타리 균의 활력이 왕성한 1주기의 자실체 발생 유도기에 공시균을 분무 접종하여 오염을 유도한 결과 공시한 모든 푸른곰팡이병균의 활착이 매우 약하였으며 활착이 된 경우도 심하게 진전되는 경우는 없었다.

본 연구의 결과 *Trichoderma*속 균의 피해는 종균 접종시의 오염이 느타리 재배에 가장 큰 피해를 주었으며 살균 과정을 완벽하게 수행하고, 또

느타리 균사의 세력이 좋은 균상이면 배양 후의 오염은 그다지 문제되지 않는 것으로 밝혀졌다.

#### 라. *Hypocrea*속 균의 발생생태

현재 국내의 느타리 재배 농가에서 발생하는 *Hypocrea*는 2종이며, 이들의 형태학적 특징은 표 4, 그림 4, 5와 같다. 이들 중 갈색형 stroma를 형성하는 *Hypocrea* sp. 1의 불완전세대는 농가에서 신종 푸른곰팡이로 부르고 있는 *Trichoderma* sp.이며, 일반적으로 푸른곰팡이가 만연된 느타리버섯 균상을 방지하면 푸른곰팡이 균집 사이 혹은 주변에 stroma가 발생하나, 푸른곰팡이를 방제하기 위하여 benomyl 등을 처리한 부위에 발생하는 경우도 관찰되었다(그림 8). 그림 8은 푸른곰팡이에 의해 오염된 균상을 benomyl로 적신 신문으로 덮어 포자의 비산을 막고, 1~2일 후 신문 위에 benomyl을 분부하였는데도 불구하고 발생한 *Hypocrea*(원안쪽)의 stroma이며, benomyl로 적신 신문에도 푸른곰팡이가 만연하여(화살표) 이균이 benomyl 저항성 균임을 알 수 있었다. 이 균의 불완전세대는 고도의 benomyl 저항성을 가지는 것으로 판명되어 균상에 한번 발생하면 농민들이 많이 사용하는 기존의 푸른곰팡이병 방제 약제(benomyl)를 이용한 방제가 불가능하다.

한편 *Hypocrea* sp. 2의 stroma는 *Trichoderma*의 균집이 형성되어 있지 않은 균상에서도 버섯 발이를 유도하기 위하여 하운을 실시하면 *Hypocrea*의 stroma가 발생하는데, stroma의 원기가 느타리버섯 자실체 원기와 아주 유사하기 때문에 조기 진단이 어려우며, 초기 방제에 실패하는 경우가 많다. 또 *Hypocrea* sp. 1과는 달리 stroma가 균상 전체로 빠르게 진행되며 거의 대부분의 균상 표면에 stroma를 형성하기 때문에 버섯의 발생을 완전히 저해하여 피해를 준다(그림 9). 따라서 *Hypocrea*균이 균상의 내부까지 감염되어 있는지 혹은 표면에만 감염되어 있는지를 확인하는 것이 방제 방법을 결정



하는데 중요한 단서가 되지만 육안으로는 균상의 내부까지 균이 감염되어 있는지의 여부를 확인할 수 없기 때문에 그림 10와 같이 *Hypocrea*의 stroma가 발생한 부분의 균상 내부에서 *Hypocrea*균의 검출을 조사하였던 바 그 결과는 표 12와 같다.

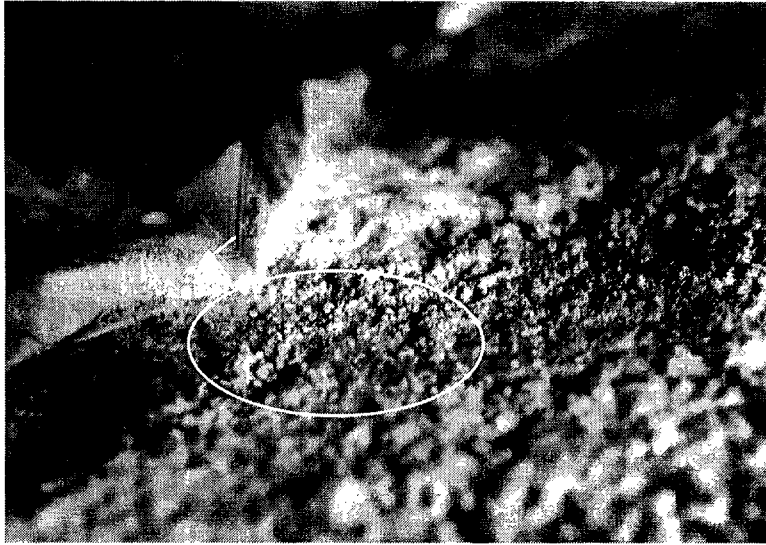
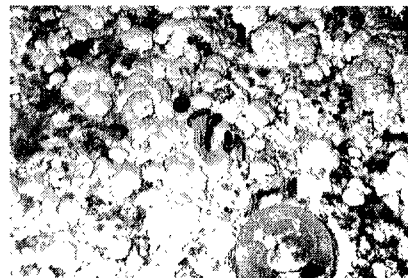


Fig. 8. Stroma of *Hypocrea* sp. 1 formed after benomyl treatment on the *Trichoderma* colony (inside of the white circle).



Bed cultivation



Box cultivation

Fig. 9. Stroma of *Hypocrea* sp. 2 formed on the mushroom bed.

그림 10과 같이 *Hypocrea*의 stroma가 발생한 균상의 표면과 내부에서 *Hypocrea*를 검출한 결과 표본을 채취한 모든 부분에서 *Hypocrea* 균이 분리되어 균상 속까지 완전히 감염되어 있음이 확인되었다. 따라서 균상 표면에 stroma가 발생한 경우에는 이미 균상의 내부까지 병원균이 침입하여 있는 상태이기 때문에 방제가 어려울 것으로 사료된다.

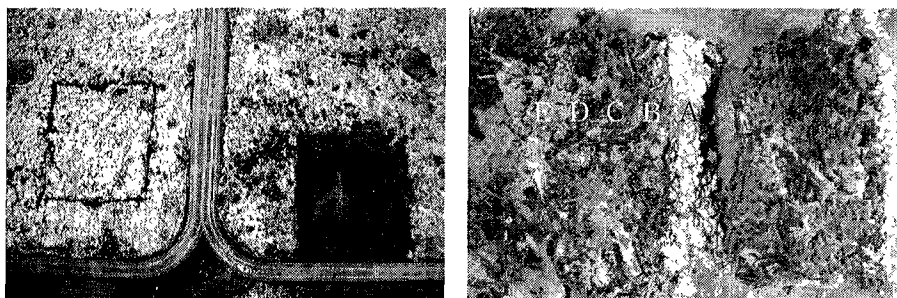


Fig. 10. Contamination of inner substrates of the mushroom bed by *Hypocrea* sp. 2.

Table 12. Contamination of mushroom bed by *Hypocrea* sp.

Site of sample	Observation by naked eye	Contamination by <i>Hypocrea</i>
Surface of mushroom bed (A)	Possible	Contaminated
About 1 cm from surface of mushroom bed (B)	Impossible	Contaminated
About 5 cm from surface of mushroom bed (C)	Impossible	Contaminated
About 10 cm from surface of mushroom bed (D)	Impossible	Contaminated
About 12 cm from surface of mushroom bed (E)	Impossible	Contaminated

### 3. 푸른곰팡이병균의 병원성 및 느타리 품종 저항성

#### 가. 푸른곰팡이병균의 병원성

느타리 균상에서 분리한 *Trichoderma*속 균의 병원성을 검토하기 위하여 분리균 중 *Trichoderma* sp. (CNU501, 517), *T. viride* (CNU507, 561), *T. harzianum* (CNU530, CNU554), *T. koningii* (CNU518, 577)을 선발하여 PDA 배지에서 느타리(원형)균과 대치 접종하여 15, 20 및 28°C에서 배양하면서 푸른곰팡이병균의 정착력 및 경합력 등 상호 작용을 비교하였다. 경합형태는 수치화(numerical score)하여 병원성 혹은 정착력 평가의 기준으로 표시하였다(표 13).

느타리균과 *Trichoderma*속 균의 상호작용 패턴을 조사한 결과 표 13과 같이 온도에 따라 균주간에 정착력과 우점도에 차이를 보였지만 공시한 모든 균주가 느타리균을 우점하였다. 우점도는 배양 온도에 따라 차이를 보였는데 15°C와 20°C에서 푸른곰팡이병균의 우점도가 28°C에서 배양하였을 경우보다 약간 낮은 경향을 보였다. *Trichoderma* sp. CNU501 균주와 CNU517 균주, *T. harzianum*으로 동정된 CNU530 균주는 느타리균과 접촉시의 균사생장 속도가 단독 배양했을 때 보다 약간 저하되었으나 느타리 균의 생장을 심하게 저해하면서 우점하였다. 반면에 *T. koningii*로 동정된 CNU518 균주와 CNU577 균주는 15°C와 20°C에서 느타리균과 접촉하였을 때 균사생장이 억제되어 느타리균과 서로 상호저해(mutual inhibition) 현상을 보였고, 15°C에서 20일 이상 배양하였을 경우에는 느타리균이 우점하는 경우도 있었으나 28°C에서 배양하면 CNU501 균주 및 CNU517 균주와 같은 경향을 나타냈다.

한편, *T. viride*로 동정된 CNU507 균주 및 CNU561 균주는 15°C에서는 느타리균에 의해 균사생장이 억제되었고 *T. koningii*와 마찬가지로 느타리균이 우

점하는 경우도 있었지만 20℃ 이상에서는 거의 영향을 받지 않았다.

이와 같은 결과는 배양온도가 느타리균과 푸른곰팡이병균의 간의 상호작용에 영향을 주고, 간간 우점화에 영향을 미치는 것으로 밝혀져 푸른곰팡이병의 발생은 균상의 온도와 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

Table 13. Interactions between green moulds and *P. ostreatus* on the PDA media

Green moulds		<i>P. ostreatus</i>		
Species	Isolate	15℃	20℃	28℃
<i>Trichoderma</i> sp.	CNU 501	1 <sup>1)</sup>	1	1
	CNU 517	1	1	1
<i>T. viride</i>	CNU 507	2	1	1
	CNU 561	2	1	1
<i>T. koningii</i>	CNU 518	2	2	1
	CNU 577	2	2	1
<i>T. harzianum</i>	CNU 530	1	1	1
	CNU 554	2	2	1

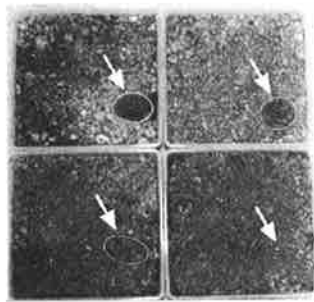
<sup>1)</sup> 1: dominance pathogen, 2: mutual antagonism.

농가관행 살균법(70±5℃, 10시간, 55℃, 72시간 후발효)으로 살균한 압축배지에 느타리 균사를 표본 접종한 후 푸른곰팡이병균을 접종하여 정착력을 조사한 결과는 그림 11, 표 14와 같다.

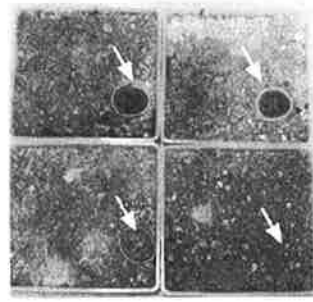
*Trichoderma* sp. (CNU501)와 *T. harzianum* CNU530 균주의 포자현탁액을 접종한 경우 배양 1주일째에 71% 이상의 균상 면적에 푸른곰팡이병균이 정착하였고 느타리 균사가 거의 활착하지 못하였으나 *T. koningii* CNU518 균주는 균사 생육이 비교적 저조하여 낮은 정착력(40~50%)을 보였고

*Trichoderma*가 정착하지 못한 부분에는 느타리 균사가 활착되었다.

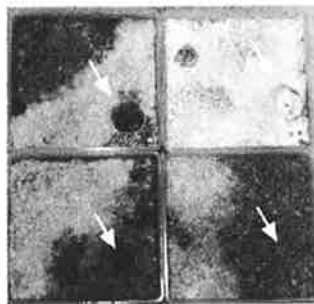
본 연구에서 공시한 분리 균주 중 *Trichoderma* sp.가 느타리 재배시 가장 문제가 되고 있는 우점종으로 밝혀졌는데 이는 *Trichoderma* sp.의 배지 정착력과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.



*Trichoderma* sp. (CNU501)



*T. harzianum* (CNU530)



*T. koningii* (CNU518)



Control

Fig. 11. Interactions between green moulds and *P. ostreatus* on the waste cotton substrates. Arrow heads indicate inoculation area of green moulds.

느타리 버섯균과 푸른곰팡이병균간의 폐شم배지에서의 *in situ* 상호작용 패턴을 조사한 결과는 표 14와 같다. *Trichoderma* sp.인 CNU501균주와 *T. harzianum*으로 동정된 CNU530균주의 포자 접종 농도를  $1 \times 10^5$  spores/

ml로 처리한 1주째의 경우 71%이상의 우점화수준을 나타냈으나 나머지 *T. viride*인 CNU503균주와 *T. koningii*로 동정된 CNU518균주를 접종한 처리구에서는 균사 생육이 매우 저조하여 낮은 우점화 수준을 보였다. 한편, 포자 농도를  $1 \times 10^3$  spores/ml로 처리한 경우 CNU501균주와 CNU530균주를 접종한 처리구는 71%이상의 우점화수준을 나타냈으나 CNU503균주와 CNU518균주를 접종한 처리구는 약 50%정도의 우점화수준을 나타냈다(표 14). 이와 같은 결과는 나타리버섯 균사에서 *Trichoderma* sp.의 높은 정착 능력이 배지상에서의 용질(영양원) 이용능력과 관계가 있음을 시사하고 있는 것이어서 영양원(용질)을 달리한 배지에 따른 우점화경향을 조사할 필요가 있는 것으로 사료된다.

Table 14. *In situ* interaction between *Pleurotus sajor-caju* and *Trichoderma* spp. on mushroom substrate at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  for 3 weeks

Culture period (week)	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Trichoderma</i> scores for individual plastic box									
		A <sup>1)</sup>					B <sup>1)</sup>				
		1	2	3	4	Ave.	1	2	3	4	Ave.
1	<i>Trichoderma</i> sp.	4 <sup>2)</sup>	0	0	0	1	4	4	4	4	4
	<i>T. viride</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	<i>T. koningii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	<i>T. harzianum</i>	0	0	0	0	0	4	4	4	4	
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	<i>Trichoderma</i> sp.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	<i>T. viride</i>	1	3	1	2	7	3	3	4	2	
	<i>T. koningii</i>	1	4	3	1	2.3	2	2	1	4	
	<i>T. harzianum</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	<i>Trichoderma</i> sp.	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	<i>T. viride</i>	4	2	0	2	2	4	4	4	4	
	<i>T. koningii</i>	4	4	4	4	4	2	4	1	3	
	<i>T. harzianum</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

1) Concentration of spore sprayed on the compost(A:  $1 \times 10^3$  spores/ml, B:  $1 \times 10^5$  spores/ml).

2) 0, no effect; 1, 1~20%; 2, 21~50%; 3, 51~70%; 4, >71%.

균류의 생장은 균간 상호작용에 의해 그리고 수분이용성과 온도 등 환경요인에 의해 영향을 받으며 환경요인이 균간의 상호작용 패턴에도 커다란 영향을 미치는 것으로 보고되어 있는데(Magan과 Lacey, 1984, 1985; Lacey 등, 1991; Marin 등, 1998) *Trichoderma*속 균도 온도의 변화에 따라 상호작용 패턴 및 우점지수가 변할 수 있는 것을 시사하였다.

한편, *Trichoderma*속 균은 균류의 세포벽을 용해할 수 있는 chitinases,  $\beta$ -glucanases와 cellulases와 같은 가수분해 효소와 항생물질을 생성하는 특징(Weindling, 1934) 때문에 식물병원균의 생물학적 방제제로도 사용되고 있다(O'Neil 등, 1996).

*Trichoderma* spp.와 양송이 균과의 상호작용에 관한 연구로는 대치배양시 ① *Trichoderma*속 균에 의한 양송이 균의 용균현상, ② 꼬불꼬불한 나선형태로 버섯 균사를 둘러싸는 coiling현상, ③ 양송이 균사로의 침입 그리고 ④ 형태적인 변화가 없는 경우 등이 보고되어 있다(Goltapch 와 Danesh, 2000). 이러한 상호작용은 배양온도와 배지의 종류, *Trichoderma* 종간에 차이를 보여 이러한 요인들이 *Trichoderma* 균의 기생성과 관계가 있는 것으로 사료된다.

느타리균과 푸른곰팡이병균의 상호작용 및 병원성을 좀 더 정확히 밝히기 위하여 PDA와 압축배지에서 정착력이 다른 것으로 밝혀진 균을 공시하여 slide dual culture법으로 상호작용을 조사한 결과는 다음과 같다(표 15, 그림 12).

푸른곰팡이병균과 상호 대치배양시 느타리 균사는 푸른곰팡이병균의

종과 배지의 종류에 따라 느타리 균사의 형태적 변화가 관찰되었는데 *Trichoderma* sp.는 0.2와 2% MEA배지에서 모두 균사 접촉과 coiling이 관찰되었지만 용균 현상은 관찰되지 않았다(그림 12, A, B). *T. harzianum*은 0.2%와 2% MEA배지에서 모두 coiling현상만 관찰되었고(그림 12, C), 0.2% MEA배지에서는 coiling 현상과 용균 현상(그림 12, D)이 동시에 관찰되었다. *T. koningii*는 0.2% MEA배지에서 용균 현상이 관찰되었지만 coiling은 관찰되지 않았다(그림 12, F). 한편, *T. viride*는 0.2와 2% MEA 배지에서 모두 균사 접촉만 관찰되었을 뿐 coiling이나 용균현상은 보이지 않았다(그림 12, E).

Table 15. Interactions between green moulds and *P. ostreatus* on the MEA

	<i>Trichoderma</i> sp. (CNU 520)		<i>T. harzianum</i> (CNU 529)		<i>T. koningii</i> (CNU 518)		<i>T. viride</i> (CNU 534)	
	0.2%	2%	0.2%	2%	0.2%	2%	0.2%	2%
Coiling	+ <sup>1)</sup>	+	+	+	-	-	-	-
Hyphal lysis	-	-	+	-	-	+	-	-

<sup>1)</sup> +: Formation of hyphal coiling and lysis of *P. ostreatus* by green moulds.

-: No changes of *P. ostreatus* mycelium.

느타리균의 균사생장은 *Trichoderma* spp.의 균사와 접촉한 면에서 균사생장이 정지되었고, *Trichoderma* sp.는 느타리 균총 안으로 침입하여 계속 성장하였다. 균류 기생성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 coiling 현상은 양송이와 느타리 재배시 심각한 수량 손실을 주는 *T. harzianum*과



*Trichoderma* sp.에서만 관찰되었고 용균현상은 *T. harzianum*과 *T. koningii*에서 관찰되었으며 *T. viride*는 coiling, 용균현상 모두 관찰되지 않았다. 이 결과로 느타리에 막대한 피해를 주는 *Trichoderma* sp.는 느타리 균사를 직접 가해하는 힘이 용균현상을 일으키는 *T. harziaum*과 *T. koningii* 보다는 약하나 베지에서의 정착력이 뛰어나기 때문에 쉽게 우점하여 느타리균의 생장을 방해하고 억제하는 것으로 생각할 수 있고, *T. harzianum*과 *T. koningii*는 직접 느타리 균사를 용해하는 효소를 분비하여 피해를 주는 것으로 사료된다.

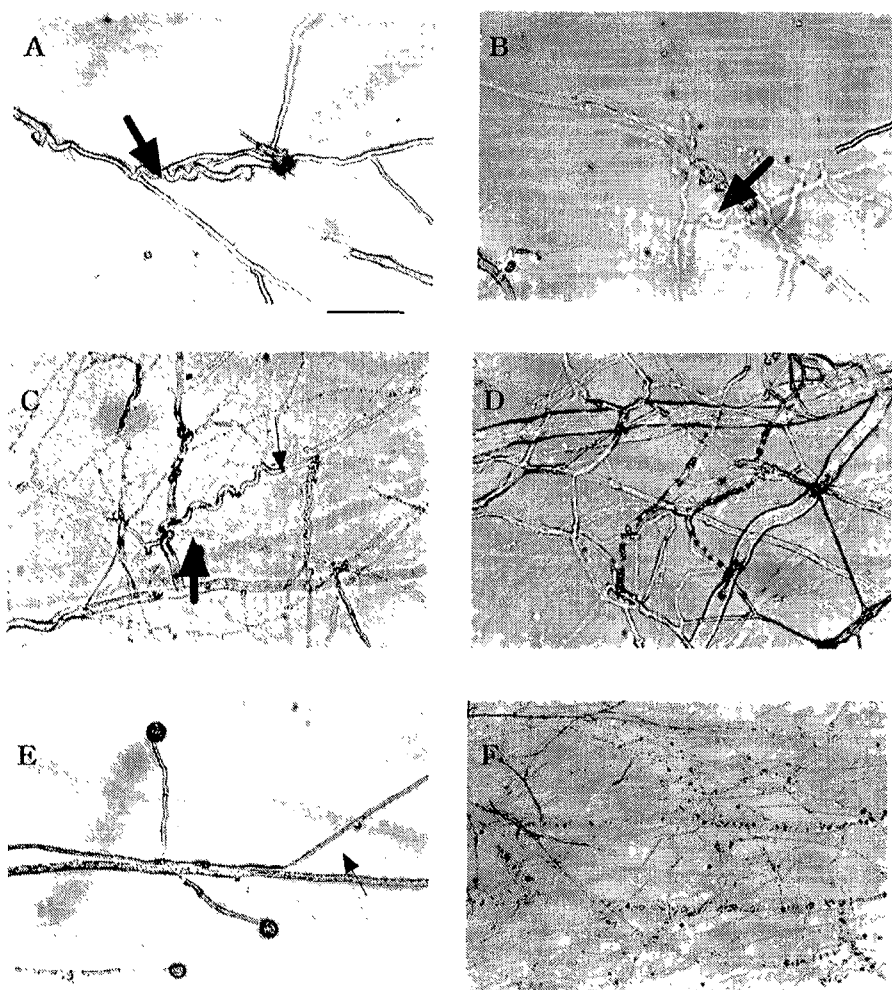


Fig. 12. Interactions between *P. ostreatus* and green mould mycelium on the 0.2% MEA (A, C, D, E, F) and 2% MEA (B). A, B: *Trichoderma* sp. (CNU 520), C, D: *T. harzianum* (CNU 529), E: *T. viride*(CNU 534), F: *T. koningii*(CNU 518). Large and small arrowheads indicate hyphal coiling by green mould and clamp connection of *P. ostreatus*, respectively. Scale bar indicate 50 $\mu$ m.

## 나. *Hypocrea* sp. 2와 느타리 재배 품종의 균사 성장

푸른곰팡이병 저항성 검정법 확립 및 느타리 장려품종과 수집된 병원균간의 병저항성 검정을 위하여 국내 재배품종 및 외국 도입균주를 표 16과 같이 36 균주를 수집하였으며, 수집 균주의 배양적 특성과 병저항성을 조사하기 위하여 느타리 균주와 *Hypocrea* 균주를 각각 PDA배지에 접종하여 5~35℃ 범위에서 혹은  $25\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 균사 성장을 측정하였다(표 17, 18). 농가에서 가장 일반적으로 재배하는 품종인 원형은 30℃에서 균사 성장이 가장 좋았고 *Hypocrea* CNU 803 균주는 30℃에서는 균사 성장이 비교적 저조하였으나 일반적으로 농가에서 느타리를 배양하는 온도인 25℃에서 균사 성장이 가장 좋고, 느타리 균의 균사성장보다 빨라 균상 배양 중에 오염되면 치명적인 피해를 줄 수 있는 것으로 판단되었다.

한편 느타리 유해균은 오염 시기에 따라 피해 정도가 달라지고, 느타리 균이 잘 배양된 균상에서는 푸른곰팡이 병균이 오염되어도 병의 발생이 없거나 병의 확산이 일어나지 않기 때문에 유해 병원균 보다 균사 성장이 빠른 품종을 재배하여 푸른 곰팡이의 피해를 최소화 할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 병 저항성 품종의 기초자료로 활용하고자 국내에서 재배되고 있는 품종과 수집된 *Hypocrea* 균주의 균사생장을 비교하였다. 국내 느타리 재배사에서 수집 분리한 *Hypocrea* 균주는 1일 평균 15mm의 균사 성장을 보였고 재배되고 있는 느타리 품종은 12.3mm의 균사 성장을 보여 *Hypocrea* 균주 보다 매우 저조한 균사 성장을 보였다. 특히 현재 농가에서 그다지 선호하고 있지 않는 품종인 흑진주에느타리, 삼복느타리, 여름느타리 2호를 제외하고는 모두 *Hypocrea* 균의 균사 성장보다 저조하였고, 원형 느타리의 경우도 *Hypocrea* 균의 균사 성장보다 저조하거나 비슷한 균사 성장을 보여(표 18) 균사 배양중에 오염되었을 경우 심각한 피해를 초래하는 것으로 판단된다.

Table 16. Cultivars of oyster mushroom used in this study

Isolate (CNU)	Cultivar	ASI No.	KCTC No.	Species	Year	육성 및 보급기관
PFL-001	SaCheol No. 1	2016	16866	<i>P. florida</i>	1979	농업과학 기술원
PFL-002	SaCheol No. 2	2181	16872	<i>P. florida</i>	1995	농업과학 기술원
PFL-003	MUCL 31686 (Europe)		26133	<i>P. florida</i>	2001. 03	
POS-001	Japan			<i>P. ostreatus</i>	1997. 01.	
POS-002	Japan			<i>P. ostreatus</i>	1997. 01.	
POS-003	ATCC32783			<i>P. ostreatus</i>	2000. 11.	
POS-004	NongGi 2-1	2001	16865	<i>P. ostreatus</i>	1975	농업과학 기술원
POS-005	NongGi 201	2018	16867	<i>P. ostreatus</i>	1980	농업과학 기술원
POS-006	NongGi 202	2072	16869	<i>P. ostreatus</i>	1983	농업과학 기술원
POS-007	AeNeutari No. 1	2194	16874	<i>P. ostreatus</i>	1993	농업과학 기술원
POS-008	WeonIyeung No. 1	2180	16871	<i>P. ostreatus</i>	1990	농업과학 기술원
POS-009	WeonIyeung No. 2	2183	16873	<i>P. ostreatus</i>	1994	농업과학 기술원
POS-010	WeonIyeung No. 3	2240	16876	<i>P. ostreatus</i>	1997	농업과학 기술원
POS-011	ChunChu No. 1	2228	16875	<i>P. ostreatus</i>	1998	농업과학 기술원
POS-012	ChunChu No. 2	2344	16879	<i>P. ostreatus</i>	1998	농업과학 기술원
POS-013	KyunIyeup No. 1					한국종난생산협회
POS-014	KimJe No. 8					김제농업개발연구소
POS-015	KimJe No. 9					김제농업개발연구소
POS-016	KimJe No. 10					김제농업개발연구소
POS-017	MyeungWeol				2000	충남농업기술원
POS-018	CheongPyung				2000	충남농업기술원
POS-019	SuHan No. 1				1999	수원미생물
POS-020	SuHan No. 2				2000	수원미생물
POS-021	SuHan No. 3				2000	수원미생물
POS-022	ShinNong				2000	신농버섯 (연기)
POS-023	OkNong				2000	충주미생물연구소
POS-024	JangAn PK				2000	한국원근
POS-025	HeukJinJu					
POS-026	Heukpyeung				1998	한국종난생산협회
POS-027	JangAn No. 1				2001	한국원근
POS-028	CBS 145.22		26067	<i>P. ostreatus</i>	2001. 03	
POS-029	CBS 596.96		26068	<i>P. ostreatus</i>	2001. 03	
POS-030	2-3					삼구농원
PSC-001	YeoReum No. 1	2070	16868	<i>P. sajor-caju</i>	1985	농업과학 기술원
PSC-002	YeoReum No. 2	2333	16878	<i>P. sajor-caju</i>	1997	농업과학 기술원
PSC-003	SamBok	2479	16880	<i>P. sajor-caju</i>	2000	농업과학 기술원

Table 17. Effect of temperature on mycelial growth of *Pleurotus* sp. and *Hypocrea* sp.<sup>1)</sup>

	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
WeonHyeung	2.7±0.5	5.3±0.5	13.0±0.8	22.0±7.1	36.0±6.7	43.7±10.1	11.5±4.5
<i>Hypocrea</i> CNU 803	0.0±0.0	0.0±0.0	6.0±2.8	51.3±14.6	63.7±5.7	18.7±1.2	0.0±0.0

<sup>1)</sup> Isolate of *P. ostreatus* and *Hypocrea* sp. grown on PDA for 10 days and 5 days, respectively.

Table 18. Mycelial growth of *Pleurotus* spp. and *Hypocrea* sp. on PDA<sup>1)</sup>

Cultivar	Growth rate (mm)/day	Mycelial growth (mm) for 7days	Isolate	Growth rate (mm)/day	Mycelial growth (mm) for 5days
Jeonbok No. 1	4.1±1.76	16.8±0.4	I1670	14.1±2.8	48.7±0.9
KunNutari No. 1	7.1±3.44	30.3±0.8	I1671	14.1±1.7	51.3±2.8
Heukpyeung	7.1±4.52	48.5±1.5	I1723	14.8±2.9	53.0±2.9
Aenutari No. 1	7.6±3.84	29.0±1.0	I1724	14.8±2.6	55.0±3.6
Kimje No. 8	8.3±5.60	32.5±12.0	H725	10.7±2.1	35.7±5.9
ATCC32783	9.9±5.09	44.0±6.5	I1800	13.6±1.4	51.3±4.7
Cheongpyung	10.9±4.98	46.5±3.6	I1801	14.4±2.3	57.0±6.4
Nonggi2-1	11.1±4.02	57.5±2.6	I1802	13.6±2.8	43.7±3.1
Myeungweol	11.1±4.26	49.3±6.8	I1803	15.0±1.3	55.0±2.9
Sacheol No. 1.	11.5±4.12	50.3±2.8	I1804	15.1±3.2	49.0±2.9
Yeoreum No. 1	11.7±5.13	45.3±4.8	I1805	16.0±2.8	60.0±1.4
Nonggi 202	11.9±4.09	50.0±2.1	I1806	14.6±2.4	55.7±6.2
Kyunhyeup No. 1	12.4±5.35	52.3±1.8	I1807	16.2±2.7	59.3±1.9
ChunChu No. 1	12.7±4.76	56.8±1.8	I1808	15.7±2.1	64.0±0.0
Jangan PK	13.1±4.74	49.0±3.2	I1809	16.4±1.6	66.0±1.6
Suhan No. 2	13.2±5.38	55.5±4.0	I1810	17.3±1.7	72.0±0.8
Weonghyung No. 3	13.3±3.82	60.3±1.8	I1811	15.9±4.5	64.7±4.8
Sacheol No. 2	13.4±4.77	54.5±1.8	I1812	15.9±1.9	68.0±7.5
Chunchu No. 2	14.2±5.16	59.0±2.1	I1813	16.6±1.9	68.5±1.1
Chunchu No. 2	14.7±4.95	64.0±4.5	Average	14.99	56.73
Oknong	14.7±4.96	59.3±2.8			
Nonggi 201	14.9±3.45	68.5±1.1			
Weonghyung No. 2	15.1±4.57	54.8±1.9			
Weonghyung No. 1	15.7±6.03	65.0±0.7			
Heukjinju	16.3±5.78	62.8±2.3			
Sambok	16.3±4.08	69.8±0.8			
Yeoreum No. 2	19.2±3.87	71.5±1.7			

<sup>1)</sup> Isolate of *Pleurotus* spp. and *Hypocrea* sp. grown on PDA 25±1°C.

다. 폐쇄배지에서 푸른곰팡이병에 대한 느타리품종 저항성

푸른곰팡이병에 저항성을 보이는 느타리 품종을 선발하기 위하여 버섯 재배용 상자에 폐쇄를 이용하여 상자 재배를 실시하였다 배지를 농가 관행법으로 살균한 후 수한 등 국내 재배품종 및 외국 도입품종 16품종을 각각 표본집중하고 병위성이 강한 *Trichoderma* 742 균주와 *Hypocrea* 803 균주의 포자를 분무 접종하여 25±1℃에서 20일간 배양한 후 푸른곰팡이병과 *Hypocrea stroma*의 발생을 조사하여 저항성 유무를 판별한 결과는 표 19 및 그림 13과 같다.

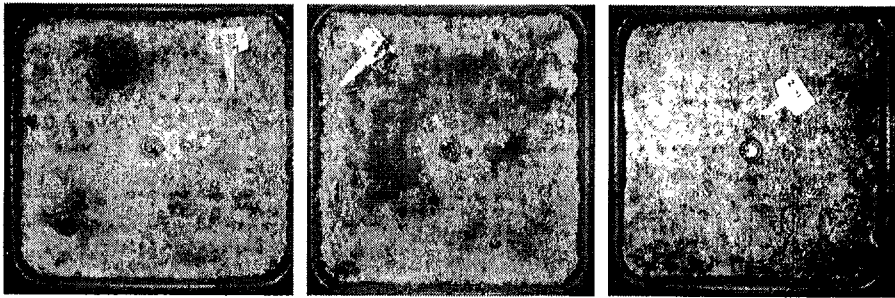
Table 19. Cultivar resistance of oyster mushroom against *Trichoderma* sp. and *Hypocrea* sp.

Cultivar	Occurrence of		Cultivar	Occurrence of	
	<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocrea</i>		<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocrea</i>
Sambok	0	-	Cheongpyung	4	+
Yeoreum	0	-	Weonghyung	5	+
2-1	1	+	Heukpyeung	5	+
Gimje No. 9	1	+	Chunchu No. 2	5	+
J8 Jungdo	1	+	Kyunhyup	5	+
Oknong	1	+	Bansan	5	+
Myeongwool	2	+	China CCEF89	5	+
Suhan	3	+	China No. 5	5	+

Index : 0, no occurrence; 1, below 20%; 2, 21~40%; 3, 41~60%; 4, 61~80%; 5, 81~100%. -, no form; +, formed

수집된 느타리 품종 중 폐쇄배지에서 균사배양 중 혹은 자실체 생육 기간에 *Trichoderma* sp.와 *Hypocrea* sp. 2 균에 저항성을 보이는 품종은 *P. sajor-caju*인 여름과 삼복뿐이었고, *P. ostreatus*에 속하는 품종은 모두 *Trichoderma* sp.와 *Hypocrea* sp. 2의 stroma가 발생하여 저항성이 없는 것으로 사료된다. 그러나 품종간에 병원균의 오염정도가 달라 2-1, 김제 9호, 중도 J8, 옥농 등은 비교적 적은 면적에 푸른곰팡이가 발생하였으나 원형, 흑평, 군협, 춘추 2호 등은 균상 80% 이상의 면적에 푸른곰팡이가 발생하였

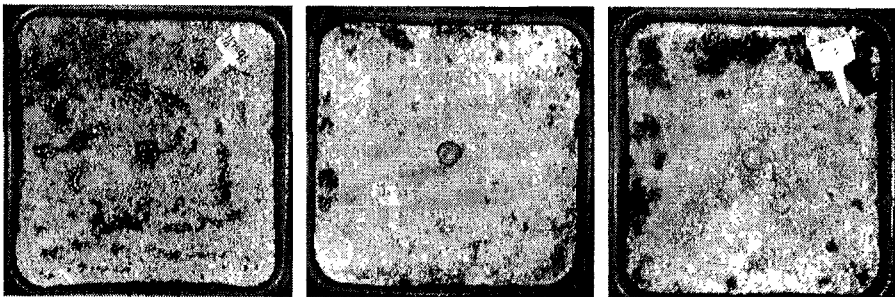
다. 품종에 따라 푸른곰팡이병의 발생 정도가 다른 원인에 대해서는 느타리균의 활착력의 강약, 느타리균과 *Trichoderma* 균과의 영양분 이용 능력의 차이, 최적 배양 온도의 차이 등 환경 요인, 종간의 상태, 느타리 균이 보유하고 있는 유전적 요인 등을 생각할 수 있으나 정확한 원인에 대해서는 추후 자세히 검토되어야 할 것으로 사료된다.



Sambok

Yeoreum

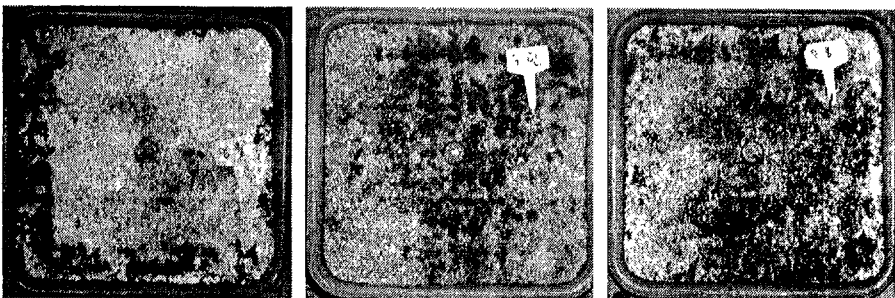
Nonggi 2-1



Gimje No. 9

J8 Jungdo

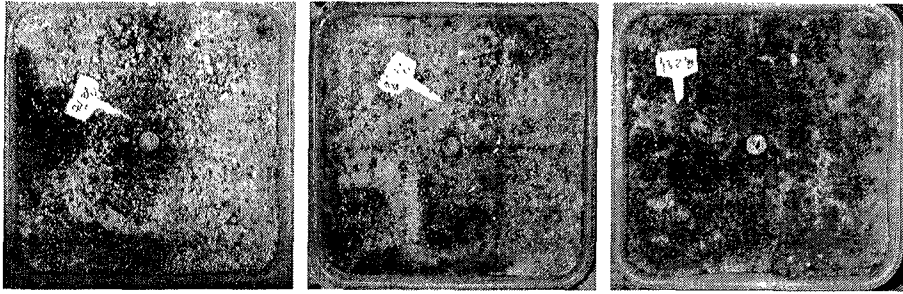
Oknong



Myeongweol

Suhan

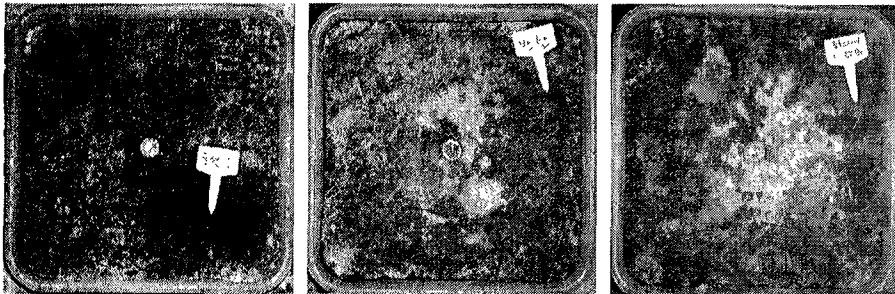
Cheongpyung



Weonhyung

Heukpyeung

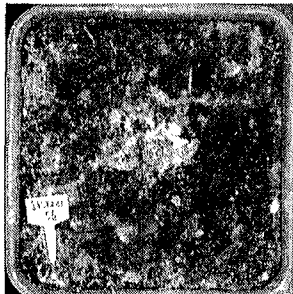
Chunchu No. 2



Kyunhyeup

Bansan

China CCEF89



China No. 5

Fig. 13. Cultivar resistance of oyster mushroom against *Trichoderma* sp. on the waste cotton medium



#### 4. 약제저항성 푸른곰팡이병균의 발생과 특징

##### 가. Benomyl, prochloraz manganese complex 및 thiabendazole 저항성

느타리 재배시 발생하는 푸른곰팡이 병의 방제 약제로 오래 전부터 사용되어 온 benomyl은 느타리 균사 성장과 자실체에는 큰 피해를 주지 않고 푸른곰팡이병균의 성장을 저해하는 선택성을 가지고 있는 방제 약제로 알려져 왔으나(Edgington 등, 1971), 최근에 느타리 재배사에 발생하는 푸른곰팡이병균에 대해서는 benomyl의 약효 저하현상이 두드러지게 나타나고 있어 benomyl 저항성 푸른곰팡이병균이 출현한 것으로 추정된다. 따라서 약제 저항성 검정을 통하여 benomyl 저항성 균의 실체를 밝히고, 이를 방제할 수 있는 새로운 방제 약제의 개발이 시급한 실정이다.

느타리 재배 균상에서 분리한 *Trichoderma*속 균의 약제 저항성 유무를 조사하기 위하여 113개 균주(표 20)를 공시하여 benomyl, prochloraz manganese complex (이하 prochloraz로 칭함) 및 thiabendazole이 각각 10, 100, 1000 ppm씩 함유된 PDA배지에 3일간 배양하여 균사생장을 조사하였다. 전국 8개도 23개 지역에서 분리한 푸른곰팡이병균 중 benomyl 함유 배지에서 균사 생장이 인정되어 저항성 균주로 판명된 균주는 조사한 101개 균주 중 33개 균주(32.6%), prochloraz 저항성 균주는 조사한 113개 균주 중 11개 균주(9.7%), 그리고 thiabendazole 저항성 균주는 조사한 65개 균주 중 14개 균주(21.5%)였다. 그러나 prochloraz와 thiabendazole 저항성 균주는 대부분 26.5~11mm의 균사생장을 보였고, 낮은 저항성 반응을 나타내었다.

한편, benomyl 저항성 *Trichoderma* sp. 균주는 균주에 따라 저항성 반응에 차이를 보였는데(그림 14) 공시균주 중 CNU 504와 CNU 510은 benomyl 저항성 균주로 CNU504는 100ppm의 benomyl이 첨가된 배지에서도 무처리구의 70%이상 균사생장을 보였고, CNU510은 benomyl 10ppm 첨

가 배지에서는 균사생장이 왕성하였으나 50ppm 이상 첨가 배지에서 전혀 생장하지 못하였다. CNU 514는 감수성 균주로 benomyl 10ppm 첨가 배지에서 전혀 생장하지 못하였다.

Table 20. Chemical resistant isolates of green moulds and their origin

Collecting site	Benomyl			Prochloraz		Thiabendazole	
	Resistant	Susceptible		Resistant	Susceptible	Resistant	Susceptible
Kangwon	504, 586	501, 502, 503, 505, 506, 514, 515, 590, <i>571</i> , <i>572</i> , <i>577</i> , <i>578</i>	503, <i>572</i> <sup>1)</sup>	501, 502, 503, 504, 505, 506, 514, 515, <i>571</i> , <i>577</i> , <i>578</i> , 586, 590	586	503, 505, 514, <i>571</i> , <i>572</i> , <i>577</i> , 578, 590	
Chungbuk	519, 520, 521, 524, 525, 526, 527, 528, <i>531</i> , <i>532</i> , 536, 538, 541, 542, 543	522, 523, 529, 530, 533, 534, 535, 537, 539, 540	-	519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, <i>531</i> , 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543	520, 524, 529, 532, 537	525, <i>530</i> , 533, 534, 536, 539	
Chungnam	556, 585	516, <i>517</i> , <i>518</i> , 557, 559, 560, 561, 562, 563, <i>564</i> , 580, 581, 582, 583, 584	561, 582, 583, 584, 662, 663	516, <i>517</i> , <i>518</i> , 556, 557, 559, 560, 562, 563, <i>564</i> , 580, 581, 585, 628, 630, 633, 640, 659, 661, 669, 678, 680, 682	585	517, <i>518</i> , 556, 559, 560, 561, 562, 563, <i>564</i> , 565, 580, 581, 582, 583, 584	
Chonbuk	<i>546</i> , <i>548</i>	<i>545</i> , <i>547</i> , <i>549</i> , <i>550</i> , <i>551</i> , <i>552</i> , <i>553</i> , <i>554</i> , <i>555</i> , 558	<i>551</i>	<i>545</i> , <i>546</i> , <i>548</i> , <i>547</i> , <i>549</i> , <i>550</i> , <i>552</i> , <i>553</i> , <i>554</i> , <i>555</i> , 558	<i>546</i> , <i>548</i>	<i>545</i> , <i>547</i> , <i>550</i> , <i>551</i> , <i>554</i>	
Chonnam		<i>507</i> , <i>508</i> , <i>509</i> , <i>510</i> , <i>511</i> , <i>512</i> , <i>703</i> , <i>705</i> , <i>706</i> , <i>708</i> , <i>710</i>	<i>507</i> , <i>512</i> , <i>703</i>	<i>508</i> , <i>509</i> , <i>510</i> , <i>511</i> , <i>705</i> , <i>706</i> , <i>708</i> , <i>710</i>	-	<i>507</i> , <i>508</i> , <i>509</i> , <i>510</i> , <i>511</i> , <i>512</i>	
Kyeongbuk	714, 716, 717, 719	718	-	714, 716, 717, 718, 719	N.T. <sup>2)</sup>	N.T.	
Kyeongnam	544	-	-	544	544	-	
Kyonggi	592, 593, 597, 612, 613, 614, 615	594, 595, 596, 601, 607, 608, 610, 617, 618	-	592, 593, 594, 595, 596, 597, 601, 607, 608, 610, 612, 613, 614, 615, 617, 618	597, 612, 614, 617	592, 593, 594, 595, 596, 607, 608, 610, 613, 615, 618	
Total	33	67	11	102	14	51	
		101		113		65	

<sup>1)</sup> Plane, italic and bold characters indicate isolates from waste cotton, rice straw and sawdust substrates respectively.

<sup>2)</sup> N.T.: Not tested.

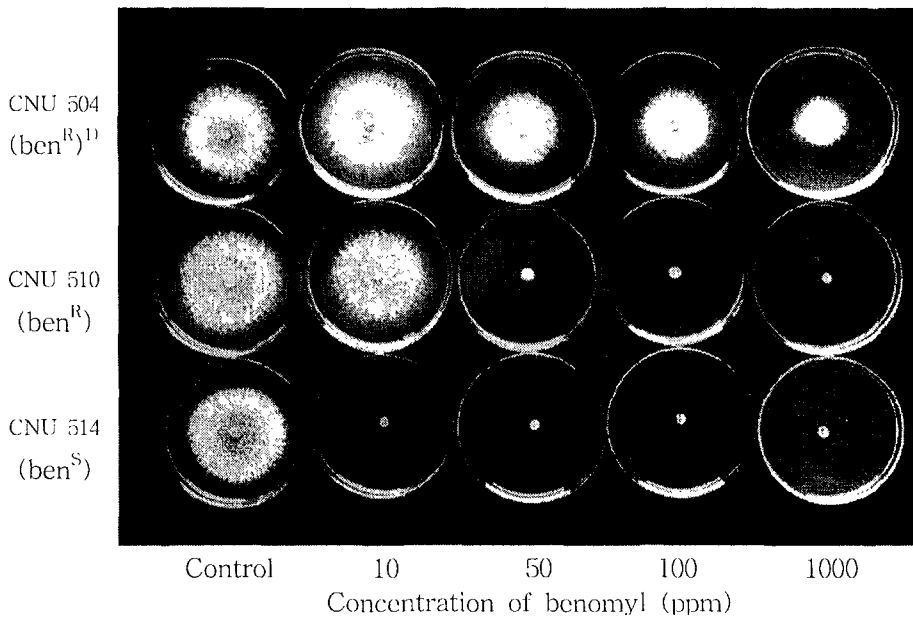


Fig. 14. Mycelial growth of *Trichoderma* sp. on PDA supplemented with different concentrations of benomyl at 25°C for 3 days. (ben<sup>R</sup> ; benomyl resistant, ben<sup>S</sup> ; benomyl susceptible)

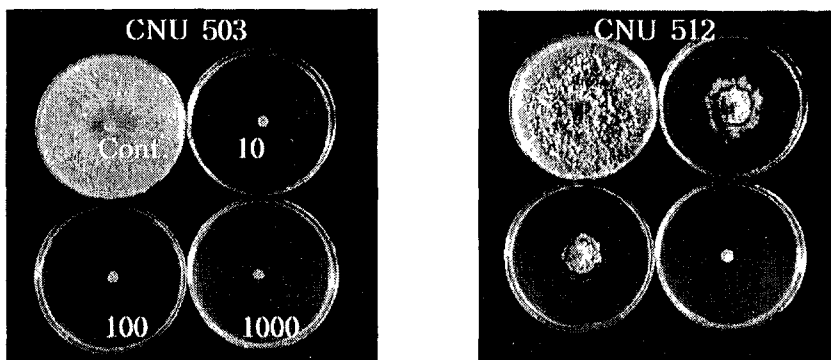


Fig. 15. Mycelial growth of *T. viride* on PDA supplemented with different concentrations of prochloraz managanese complex at 25°C for 3 days.

한편, prochloraz 함유 배지에서 benomyl 감수성인 *T. viride* CNU503, CNU512 균주의 균사생장은 CNU512 균주가 prochloraz가 100ppm 첨가된 배지에서 부처리구의 약 50% 이하로 성장하여 약한 저항성을 보였으나 CNU503은 전혀 성장하지 못하였다(그림 15). 따라서 CNU 512 균주는 benomyl 감수성 균주이나 prochloraz 저항성균주로 판명되었다.

Benomyl의 살균작용은 진균류의 세포분열시  $\beta$ -tubulin의 합성저해 때문인 것으로 *Botrytis*를 비롯한 많은 식물병원 진균에서 밝혀졌고 benomyl 저항성 발현기구는  $\beta$ -tubulin 합성 유전자의 point mutation에 의한 것으로 알려져 있다(Gareth 등, 1998). 따라서 느타리 푸른곰팡이병균의 benomyl 저항성이 다른 진균류에서와 같은 기작으로 저항성을 발현하는 것이라는 것을 밝히기 위하여 증량제, 전착제 등이 첨가되지 않은 benomyl 원제를 사용하여 저항성 유무를 밝힐 필요가 있다. 본 실험에서 사용한 시판중인 benomyl에 감수성과 저항성을 보인 *Trichoderma* sp. 각 4균주를 선발하여 원제에 대한 저항성검정을 실시하였다(표 21). 그 결과 *Trichoderma*는 균주간에 뚜렷한 저항성 반응을 보여 감수성 균주는 1ppm에서도 균사 생장이 불가능하였던 반면, 저항성 균주는 1,000ppm이 함유된 배지에서도 균사 생장이 가능하여 이들 균도 point mutation에 의한 저항성 획득으로 추정된다.

#### 나. 약제저항성균의 지역별 분리 빈도

전국 8개도 23개 지역 느타리 재배사에서 분리한 113개 균주 중 저항성균주의 지역별 분포를 조사한 결과는 표 22와 같다. 101개 균주 중 33개 균주(32.6%)가 benomyl 저항성을 나타내었으며, 113개 균주 중 11개 균주(9.7%)가 prochloraz 저항성으로 판정되었고, 65개 균주 중 14개 균주(21.5%)가 저항성을 나타냈다. 충북 지역에서 분리된 균주는 benomyl과 thiabendazole

저항성 균주의 발생빈도가 각각 60.0%와 45.4%로 다른 지역보다 월등히 높았다. prochloraz 저항성 균주의 발생빈도는 전남지역이 27.7%로 가장 높았다.

Table 21. Mycelial growth of *Trichoderma* sp. on PDA containing different concentrations of benomyl at 25°C for 3 days

S/R <sup>1)</sup>	Isolate	Concentration (ppm)					
		control	1	10	100	500	1000
S	CNU 501	>85 <sup>2)</sup>	- <sup>3)</sup>	-	-	-	-
	CNU 515	>85	-	-	-	-	-
	CNU 523	>85	-	-	-	-	-
	CNU 540	>85	-	-	-	-	-
R	CNU 520	>85	26±1.63	37.6±1.24	39±2.16	43±0.81	49.6±2.05
	CNU 525	>85	28.5±0.4	32.5±0	29.1±0.84	27±1.63	25±0.7
	CNU 532	>85	46±0.7	41.8±0.62	31.8±2.01	32±2.94	30.6±1.69
	CNU 541	83.6±1.4	28±0.4	31±2.16	28.3±0.47	23.6±0.47	25.1±0.23

<sup>1)</sup>S/R : susceptible(S) or resistance(R) against benomyl.

<sup>2)</sup> mycelial growth(mm).

<sup>3)</sup>- : not growth.

그러나 충북, 강원, 충남, 경기 지역을 제외한 지역에서는 조사 대상 재배사의 수도 적고 분리된 균주도 적기 때문에 약제저항성 느타리 푸른곰팡이병균의 분포를 정확히 밝히기 위해서는 좀 더 많은 지역에서 좀 더 많은 균주를 분리하고, 분리지역 혹은 재배사의 약제사용력, 재배년수, 분리재배사 주변의 저항성균의 분포 등과 같은 역학 조사를 해야 할 것으로 사료된다.

Table 22. Distribution of fungicide resistant isolates of green moulds from the oyster mushroom farms in Korea

Survey site	Benomyl resistant		prochloraz resistant		Thiabendazole resistant	
	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)
Kangwon (2)	2(14) <sup>1)</sup>	14.2	1(14)	7.1	1(9)	11.1
Chungbuk (7)	15(25)	60.0	0(25)	0	5(11)	45.4
Chungnam (4)	2(17)	11.7	6(29)	20.6	1(16)	6.2
Chonbuk (2)	2(12)	16.6	1(12)	8.3	2(7)	28.5
Chonnam (2)	0(11)	0	3(11)	27.2	0(6)	0
Kyeongbuk (1)	4(5)	80.0	0(5)	0	- <sup>2)</sup>	-
Kyeongnam (1)	1(1)	100	0(1)	0	1(1)	100
Kyonggii (4)	7(16)	43.7	0(16)	0	4(15)	26.6
Total (23)	33(101)	32.6	11(113)	9.7	14(65)	21.5

<sup>1)</sup> Numerical characters in parenthesis indicates number of oyster mushroom house investigated.

<sup>2)</sup> -: Not tested.

#### 다. 배지재료별 약제저항성균의 분리빈도

국내의 느타리 재배는 폐송 재배와 벗짚 재배가 주축을 이루고 있으며, 톱밥을 이용한 병재배는 애느타리버섯, 팽이버섯 등에서 이루어지고 있다. 공시한 113개의 균주 중 배지 재료별 약제저항성 균주의 발생빈도는 표 23과 같다.

폐송에서 분리된 푸른곰팡이병균 58개 균주 중 benomyl 저항성균주는 27개 균주로 46.5%의 발생빈도를 보여, 벗짚(11.7%)과 톱밥(22.2%)에서 분리된 저항성균주의 분리 빈도보다 월등히 높았고, thiabendazole 저항성 균주도 27.2%로 가장 높았다. 이는 현재 느타리 균상재배의 약 70%이상이 폐송을

재료로 사용하고 있는 점을 고려할 때 심각한 문제를 야기할 수 있는 것으로 사료된다.

Table 23. Distribution of fungicide resistant isolates of green moulds on the different culture substrates of the oyster mushroom

Compost	Benomyl resistant		prochloraz resistant		Thiabendazole resistant	
	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)
Waste cotton	27(58) <sup>1)</sup>	46.5	3(67)	4.4	9(33)	27.2
Rice straw	4(34)	11.7	5(34)	14.7	3(24)	12.5
Sawdust	2(9)	22.2	3(12)	25.0	2(8)	25.0
Total	33(101)	32.6	11(113)	9.7	14(65)	21.5

<sup>1)</sup> Numerical characters in parenthesis indicates number of oyster mushroom house investigated.

한편, 톱밥에서 분리된 푸른곰팡이병 균주 중 benomyl 저항성 균주가 22.2%, prochloraz 및 thiabendazole 저항성균주가 각각 25.0%였다. 폐송에서 분리된 균주는 benomyl과 thiabendazole 저항성 균주, 톱밥에서 분리된 균주는 prochloraz 저항성 균주의 분리 비율이 높아, 배지 재료에 따라 특정 약제에 대한 저항성 균주가 특이적으로 우점하는 것을 발견할 수 있었다. 이와 같이 배지 재료에 따라 우점하는 저항성 균주의 차이는 재배 환경의 차이로 인하여 공기 중 혹은 배지 중에 혼입되어 있는 균종의 차이와 배지 재료의 영향으로 추정된다.

#### 라. 푸른곰팡이병균 종별 약제저항성균의 분리빈도

느타리 균상 재배시 발생하는 4종의 푸른곰팡이병균중 *T. viride*는

benomyl과 thiabendazole 저항성 균주가 발견되지 않았으나, prochloraz 저항성 균주가 23.0% 검출되었다. *T. harzianum*과 *T. koningii*는 본 실험에 양시한 검정 균주가 적어 확실한 데이터를 제공하지 못하였지만, *T. harzianum*은 1개 균주(11.1%)만이 benomyl 저항성을 보였고, 3개 균주(23.0%)가 prochloraz 저항성, 2개 균주(28.5%)가 thiabendazole 에 저항성을 보였다.

Table 24. Fungicide resistant isolates of green moulds from the oyster mushroom farms in Korea

Green moulds	Benomyl resistant		prochloraz resistant		Thiabendazole resistant	
	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)	Number	Rate(%)
<i>Trichoderma</i> sp.	24(58) <sup>1)</sup>	41.3	0(66)	0	12(36)	33.3
<i>T. viride</i>	0(13)	0	3(13)	23.0	0(11)	0
<i>T. harzianum</i>	1(9)	11.1	3(13)	23.0	2(7)	28.5
<i>T. koningii</i>	4(7)	57.1	1(7)	14.2	0(7)	0
Unidentified	4(14)	28.5	4(14)	28.5	0(4)	0
Total	33(101)	32.6	11(113)	9.7	14(65)	21.5

<sup>1)</sup> Numerical characters in parenthesis indicates number of oyster mushroom house investigated.

*T. koningii*는 thiabendazole 저항성 균주는 발견되지 않았고, 4개 균주(28.5%)가 benomyl과 prochloraz에 저항성을 보였다. 그러나 느타리 재배사에서 가장 높은 빈도로 분리된 *Trichoderma* sp.는 총 58개 공시균주 중 41.3%인 24개 균주가 benomyl 저항성을 보였고, 36개 균주 중 33.3%인 12개 균주가 thiabendazole에 저항성을 보였다(표 25).



### 마. Benomyl 저항성균의 생물학적 특성

Benomyl 저항성균과 감수성균의 생물학적 특성을 비교하기 위하여 균사생장과 포자발아능력을 조사하였다(그림 16, 17). PDA 배지에서의 균사생장은 공시한 benomyl 저항성 및 감수성 균주간에 큰 차이를 보이지 않았고, benomyl 고도저항성균(CNU520, 507, 532, 592)과 감수성균주(CNU501, 515, 540, 547)간에도 큰 차이가 없었다.

포자발아율 역시 benomyl 저항성 균주군과 감수성 균주군과의 차이는 없었으나 benomyl 감수성균주인 CNU 547 균주의 포자발아율이 공시한 균주 중 가장 높았다. 포자발아율과 균사생장이 이들 두 집단간에 큰 차이를 보이지 않는 것으로 보아 균상에서의 정착력과 느타리 버섯에 대한 피해도 큰 차이가 없을 것으로 사료된다.

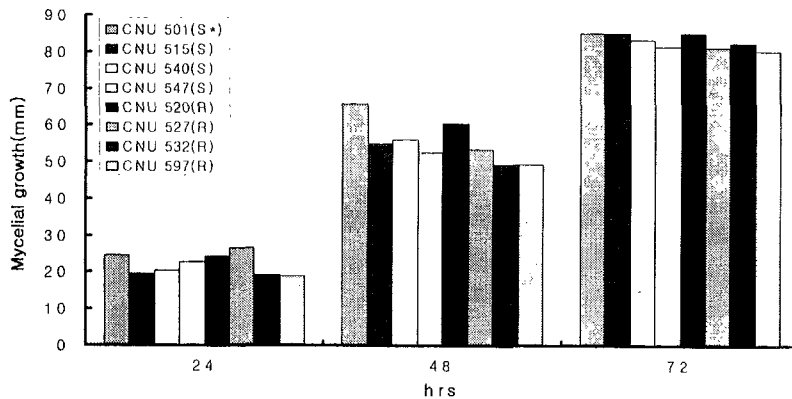


Fig. 16. Mycelial growth of benomyl-susceptible and resistant isolates of *Trichoderma* sp. on PDA at 25°C for 3 days.

(\* S: benomyl susceptible, R: benomyl resistant)

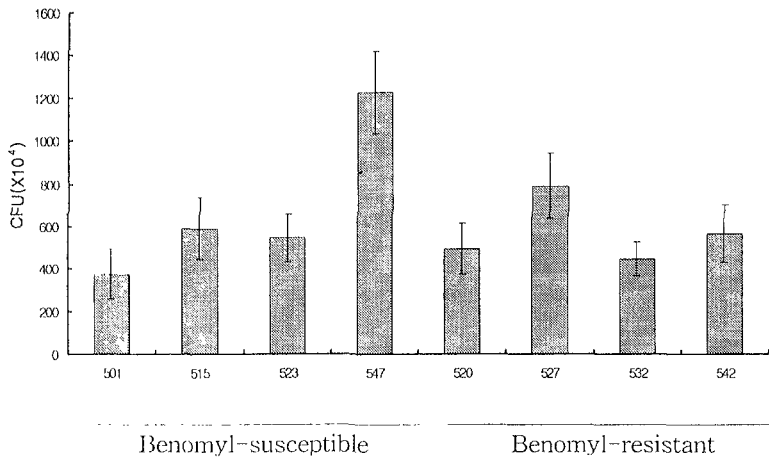


Fig. 17. Spore germination of benomyl-susceptible and resistant isolates of *Trichoderma* sp. on PDA at 25°C for 7 days.

## 제 4 절 적 요

느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병의 종합방제법을 개발하기 위하여 푸른곰팡이병이 발생한 느타리버섯 균상에서 푸른곰팡이병균을 분리하였고, 이들의 형태학적 특징과 배양적 특징을 기준으로 동정하였다. 또 푸른곰팡이병의 예방 및 방제의 기초 자료를 얻기 위하여 푸른곰팡이병균의 발생생태와 병원성, 약제저항성 균의 발생분포와 그 생물학적 특징, 그리고 푸른곰팡이에 대한 느타리 품종의 저항성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 푸른곰팡이병이 발생한 느타리버섯 균상에서 총 110균주의 *Trichoderma*속 균을 분리하였으며, 형태학적 특징과 배양적 특징을 기준으로 4종으로 분류하였다. 이들은 *Trichoderma* sp.(72균주), *T.*

*viride*(15균주), *T. koningii*(6균주), 그리고 *T. harzianum*(9균주)이 동정되었다. 한편 분리된 19균주의 *Hypocrea*속 균은 발생생태 및 형태학적 특징을 기준으로 2종으로 분류되었다.

2. 느타리 푸른곰팡이병의 원인이 되는 *Trichoderma*속 균은 조사 대상 7개도 22개 시군의 모든 느타리 재배사에서 분리되었고, 버섯 재배용 배지로 사용되고 있는 폐습, 벗짚, 톱밥 등에서 분리되었다. 지역과 배지 재료에 따라 분리 빈도는 약간의 차이를 보였으나 우점종은 *Trichoderma* sp.이었다.

3. 푸른곰팡이병균은 재배기간 중 살균 및 후발효 후의 재배사 내부에서만 검출되지 않았을 뿐 전 재배기간 중에 재배사 내외부에서 검출되었고, 버섯 유도기 이후 재배사 내부 공기 중의 푸른곰팡이병균의 밀도와 균상의 오염과의 상관 관계는 낮았다. 또 재배 기간 중 종균접종시에 푸른곰팡이병에 오염될 확률이 가장 높고 피해도 가장 심하였다.

4. *Hypocrea*속 균은 갈색형(*Hypocrea* sp. 1)과 백색형(*Hypocrea* sp. 2) 2종이 느타리버섯 균상에 발생하였으며 갈색형은 균상에서 불완전세대로 오염되며 방제 약제를 처리하면 완전세대인 stroma가 형성된다. 한편 백색형은 완전세대로 균상에 오염되며 균상표면에서 stroma가 발견되었을 경우에는 균상 내부까지 모두 오염되어 있기 때문에 방제가 어렵다.

5. 분리된 푸른곰팡이병균의 한천배지 혹은 폐습배지에서의 병원성은 *Trichoderma* sp.가 가장 강하였고, 배양온도와 밀접한 관계가 있어 28℃에서 모든 *Trichoderma*속 균이 느타리균을 우점하였다. 느타리 버섯 균사는

*Trichoderma*속 균의 균사에 의해 생장이 정지되었고 coiling과 용균현상에 의해 피해를 받는 것으로 밝혀졌다.

6. *P. sajor-caju*인 삼복과 여름느타리는 폐솥과 한천배지에서 모두 *Hypocrea*속 균의 stroma 발생을 억제하여 저항성을 보였으나 *P. ostreatus*에 속하는 품종은 *Trichoderma*와 *Hypocrea*의 stroma가 모두 발생하여 저항성이 없거나 약한 것으로 밝혀졌다.

7. 느타리 재배사에서 분리한 푸른곰팡이병균 중 약제저항성균은 분리균 중 32.6%가 benomyl 저항성, 9.7%의 균주가 prochloraz 저항성 그리고 21.5%가 thiabendazole 저항성 균주로 밝혀졌다. 충북지역에서 분리된 균주 중 benomyl과 prochloraz 저항성균이 각각 60%와 45.4%가 분리되어 가장 높은 비율을 보였다. 또, 폐솥에서 분리한 균주의 benomyl 저항성 균주 분리빈도(46.5%)가 냇길(11.7%)과 톱밥(22.2%)에서 보다 높았고, thiabendazole 저항성균주도 27.2%로 가장 높았다. *Trichoderma* sp. 58개 균주 중 24개 균주(41.3%)가 benomyl 저항성균 이었고, 36개 균주 중 12개 균주(33.3%)가 thiabendazole 저항성균 이었으나 prochloraz 저항성균은 검출되지 않았다.

## 제 3 장 푸른곰팡이병의 예방 및 방제

### 제 1 절 서언

느타리(*Pleurotus ostreatus*)는 맛과 향기가 한국인의 기호에 알맞고 영양가치가 높으며, 적은 비용으로 쉽게 재배가 가능하기 때문에 농가에서 널리 재배되고 있고 재배농가와 수요가 매년 증가하고 있다. 느타리는 원래 버드나무, 포푸라나무, 뽕나무 등 재질이 연한 활엽수의 원목을 이용하여 재배하여 왔으나 벗짚을 이용한 재배 방법이 개발됨으로서(박 등, 1975) 집약관리에 의한 대량 생산이 가능하게 되었고, 1990년대 초반부터 배추 배지를 이용한 재배법이 보급되면서 우리나라 버섯 산업이 비약적으로 발전하였다. 그러나 배지 재료의 개발 성과에 비해 재배관리의 미숙으로 재배 과정 중 각종 병해의 피해로 재배에 실패하는 농가가 적지 않게 발생하고 있다. 특히 *Trichoderma*속 균에 의해 발생하는 푸른곰팡이병은 재배사의 구조, 재배형태, 재배시기, 재배과정, 재배품종을 가리지 않고 발생하여 느타리 재배농가에 경제적으로 가장 큰 손실을 주고 있다.

국내에서 느타리 재배시 발생하는 푸른곰팡이병균에 대한 연구는 분류·동정에 관한 연구가 대부분이고(김, 1985; 정, 1986; 신, 1987) 방제에 관한 연구는 그다지 많지 않다. 전(1990)은 푸른곰팡이병의 방제약제로 thiabendazole의 효과를 보고하였으나 푸른곰팡이병균의 발생생태와 이와 관련된 종합적인 방제에 관한 연구는 매우 미흡하다. 최근에는 느타리 재배시 신종 푸른곰팡이병균이라고 불리는 *Trichoderma* sp.와 그의 완전세대인 *Hypocrea*속 균류에 의한 피해가 증가하고 있으나 이들의 동정 및 발생생태 더 나아가 효과적인 예방 및 방제에 관한 연구가 전무한 실정이다.

푸른곰팡이병의 방제 약제로는 대부분의 불완전균류에 탁월한 살균효과가

있으나 담자균류와 조균류에 대해서는 살균 효과가 미약하거나 선택독성을 보이는 benzimidazole계 살균제인 benomyl이 일반적으로 사용되고 있고 (Edgington 등, 1971), 국내에서도 버섯류의 병해방제에 대한 효과가 인정되면서(김 등, 1979) 버섯 재배농가에 널리 사용되어 왔다. 그러나 benzimidazole계 살균제는 약제저항성이 쉽게 유도되는 것으로 알려져 있고, 약제의 살포농도 및 회수를 증가시켜도 살균 효과가 떨어지고 때에 따라서는 약해를 발생시키는 문제점을 야기하고 있다. 우리나라에서도 최근 느타리 재배농가에서 푸른곰팡이병 발생 초기에 방제약제를 충분히 살포하여도 방제 효과가 없이 재배에 실패하는 농가가 많이 발생하고 있으나 약제저항성균의 발생과 방제에 관한 연구는 전무한 실정이다.

느타리뿐만 아니라 재배버섯의 진균병 방제 약제로 개발·보급된 살균제는 병원균과 버섯균에 미치는 영향이 비슷하고 선택성이 적은 경우가 많아 버섯에 약해 등의 문제를 일으키는 경우가 많다. 또 푸른곰팡이병은 버섯균과의 경합 관계에 의해 병의 진전과 피해가 결정되는 경우가 많기 때문에 병에 의한 피해를 최소화하고 효과적인 방제를 위해서는 살균제를 이용한 화학적 방제보다 재배법 개선에 의한 병 발생의 억제, 저공해 소독제를 이용한 방제 그리고 길항균을 이용한 생물학적 방제 등 환경 친화적인 방제 및 예방법의 개발이 절실하다.

본 연구에서는 푸른곰팡이병의 예방과 방제의 기초자료를 확보하기 위하여 ① 기존의 살균제와 식초, 목초액 등과 같은 저공해 소독제 중에서 푸른곰팡이병균의 균사생장과 포자발아 억제 효과가 있는 약제를 선발하고 이들 약제의 처리 시기에 따른 병의 억제와 예방효과를 검토하였고, ② 배지의 살균 조건과 배지의 수분조건, 그리고 배양 및 재배 온도의 조절이 푸른곰팡이병균의 생존에 미치는 영향을 조사하여 재배법 개선에 의한 경종적 방제 및 예방의 가능성을 검토하였다. ③ 마지막으로 생물학적 방제를 위하

여 재배사 및 토양에서 푸른곰팡이병균에 길항효과를 보이는 길항균을 선발하였고 이들 길항균이 느타리의 근사생육에 미치는 영향과 근상에서의 예방 및 방제 효과를 검토하였다.

## 제 2 절 재 료 및 방 법

### 1. 살균제를 이용한 화학적 방제

#### 가. 공시약제

느타리 재배시 발생하는 푸른곰팡이병균의 방제에 효과적인 약제를 선발하기 위하여 benzimidazole계 살균제인 benomyl, thiabendazole, 이미다졸계인 prochloraz manganese complex (이하 prochloraz로 칭함), 카마메이트계인 carbendazim [methyl-benzimidazole-2-yl-carbamate], 유기염소계인 chlorothalonil [tetrachlorois phthalonitrile], 디카복시미드계인 iprodione [3-(3,5-dichlorophenyl)-N-isopropyl-2,4-dioximidazolidine-1-yl-carboxamide], 스트로빌루딘계인 azoxystrobin, 유기유황계인 propineb [polymeric zinc propylenebis (dithiocarbamate)], 항생제 polyoxin B와 헤테로환식 질소화합물인 captan [N-(trichloromethylthio)cyclhex-4-ene-1,2-dicarboximide]과 folpet [N-(trichloromethylthio)phthalimide]을 공시하였다. 또, 저공해 소독제로는 목초액(유기농협회), 식초(현미식초, 오뚜기), 계면활성제(Doctor-Q, 안홍합성) 및 트리코프리(고려바이오연구소)를 공시하였다.

#### 나. 방제약제 선발

느타리 재배시 발생하는 푸른곰팡이 병균의 방제 약제를 선발하기 위하여

12종의 살균제를 PDA배지에 10, 100, 1000 ppm 농도로 첨가한 후 benomyl 저항성균 및 감수성균을 접종,  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 배양하여 균사 성장 및 포자발아 억제 농도를 조사하였고, 선발 약제의 약해 여부를 조사하기 위하여 느타리 균에 미치는 영향도 같은 방법으로 조사하였다.

#### 다. 선발약제의 처리시기 및 방법

푸른곰팡이병균의 균사성장 억제 효과가 있는 것으로 밝혀진 benomyl(베노밀), prochloraz(스포르곤) 및 thiabendazole(판마시)을 배지 살균 전, 종균 접종 후 그리고 푸른곰팡이병균 이 발생한 초기에 배지 및 균상에 처리하여 예방 효과 및 방제 효과를 검토하였다.

## 2. 경종적 방제

배지의 살균조건과 수분함량이 느타리 푸른곰팡이병균의 생존에 미치는 영향을 조사하기 위해 *Trichoderma* sp. 2균주(CNU 515, CNU 520)와 *T. harzianum* (CNU660), *T. koningii* (CNU518)의 포자현탁액( $10^6$  spore/ml)으로 폐쇄 배지의 수분을 50%, 70%로 조절한 다음 시험관에 약 10g씩 넣고 살균온도를 50, 60,  $70^{\circ}\text{C}$ 로 조절한 water bath에서 5, 10, 15 시간으로 살균한 후  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 8일간 배양하였다. 배양 후 폐쇄 배지를 *Trichoderma*속 균 선택배지에 올려놓고 배양하여 푸른곰팡이병균의 발생 여부를 조사하였다. 배지의 수분함량 및 pH가 푸른곰팡이병균의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH를 4.0, 5.0 그리고 6.0으로 조절한 한천 배지에 삼투분압(osmotic water potential)을 조절하여 푸른곰팡이병균과 느타리 균주를 접종하여 제한된 수분 조건하에서 공시균의 균사생장을 조사하였다. 또 폐쇄배지의 수분함량과 pH가 푸른곰팡이병의 발생과 균사생장에 미치는 영향은 수분함량을 50에서 80%까지 조절하고 pH를 4.0에서 7.0까지 조절하여 시험관에 약 15g씩 넣은 후 느타리 균과 *Trichoderma*균을 접종하여 12일간



배양하여 조사하였다. 또 배양 및 재배 온도가 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 15℃에서 42℃까지 조절된 항온기에 *Trichoderma*속 균을 접종하여 균사생장을 조사하였으며 재배 온도가 느타리 균사 생장과 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 재배사의 온도를 15에서 30℃까지 조절하여 인공재배를 실시하면서 푸른곰팡이병의 발생을 조사하였다.

한편 재배환경 조절에 의한 푸른 곰팡이병의 발생억제 효과를 밝히기 위하여 충남 연기군의 농가 재배사에서 비닐멀칭재배를 실시하면서 푸른곰팡이병의 발생과 수확량을 조사하였다.

### 3. 생물학적 방제

푸른곰팡이병 방제를 위한 길항균은 느타리버섯 균상과 토양등에서 희석 평판법으로 세균을 분리하여 푸른곰팡이병균과 PDA배지상에서 대치배양을 통하여 길항효과를 검정하여 선발하였다. 길항균이 느타리 균사생육에 미치는 영향을 세균과 느타리버섯균과 대치배양하여 느타리균을 억제하지 않는 균을 최종적으로 선발하여 길항균에 의한 푸른 곰팡이병의 예방 및 방제 실험에 공시하였다.

## 제 3 절 결과 및 고찰

### 1. 살균제를 이용한 화학적 방제

#### 가. 푸른곰팡이병 방제를 위한 약제 선발

##### 1) 시판 살균제가 푸른곰팡이병균의 균사생장과 포자발아에 미치는 영향

노타리 재배시에 발생하는 약제저항성 및 감수성 푸른곰팡이병균의 방제에 효과적인 약제를 선발하기 위하여 12종의 시판 살균제를 공시하여 푸른곰팡이병의 균사 생장 억제 효과와 포자 발아 억제 효과를 조사하였다(표 25, 26).

이들 시판 약제가 *Trichoderma* sp.의 균사 생장에 미치는 영향을 조사한 결과(표 25), prochloraz가 공시한 모든 푸른곰팡이병균의 균사 생장을 강하게 억제하였고 노타리 균사의 생장도 저 농도에서는 비교적 양호하여 가장 적절한 방제 약제로 사료되었다.

Thiabendazole과 cabendazim은 benomyl과 같은 benzimidazole계 살균제로 benomyl 감수성균의 균사생장 억제 효과는 비교적 좋았으나 저항성균은 전혀 균사생장을 억제하지 못하여 방제 약제로는 부적절하였다. 한편 공시한 시판 살균제 중 captan 등 7종류는 푸른곰팡이병균 *Trichoderma* sp.의 균사생장 억제 효과가 매우 낮고 노타리 균의 생장도 강하게 억제하여 이들 약제는 방제 약제로 사용이 불가능 할 것으로 사료된다.

또, 공시 약제의 포자발아 억제효과는 benomyl, prochloraz, probineb이 benomyl 감수성 균주인 CNU 523의 포자발아 억제 효과가 높았고, chlorothalonil은 benomyl 저항성 균주인 CNU 585의 포자발아 억제 효과가 높았다. 또 prochloraz은 benomyl 저항성 균주 및 감수성 균주 모두에서 비교적 높은 포자발아 억제 효과를 보였다(표 26).

Table 25. Effect of fungicide on mycelial growth of *Trichoderma* sp. and *P. ostreatus*

Chemical	<i>Trichoderma</i> sp.												<i>Pleurotus ostreatus</i>		
	CNU 501(S) <sup>1)</sup>			CNU 527(S)			CNU 523(R)			CNU 585(R)					
	10 <sup>2)</sup>	100	1000	10	100	1000	10	100	1000	10	100	1000	10	100	1000
Prochloraz	0 <sup>3)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	10.5	0	0	78	65	0
Benomyl	18	0	0	27	13	11	11	0	0	33	14	11	52	33	12
Thiabendazole	0	0	0	15	11	0	0	0	0	32	13	11	72	36	18
Carbendazim	0	0	0	56	51	32	0	0	0	85	85	65	75	73	51
Captan	42	16	12	48	15	12	85	22	20	85	27	25	31	15	0
Polyoxin B	42	14	10	54	14	0	53	16	0	85	22	0	0	0	0
Chlorothalonil	18	12	11	21	15	13	27	24	21	36	22	13	35	11	0
Iprodione	15	14	15	16	14	15	35	35	24	43	33	36	40	15	0
Probineb	76	31	13	85	76	32	73	73	45	85	78	36	21	0	0
Azoxystrobin	38	42	25	47	33	13	55	55	30	65	42	29	22	0	0
Folpet	37	14	14	36	15	14	44	44	18	85	34	26	75	33	15
Control	>85			>85			>85			>85			>85		

<sup>1)</sup> S: benomyl susceptible, R: benomyl resistant.

<sup>2)</sup> concentrations in ppm. <sup>3)</sup> mycelial growth(mm).

Table 26. Effect of fungicide on spore germination of *Trichoderma* sp. on PDA

Fungicide	<i>Trichoderma</i> sp.					
	CNU 523(S) <sup>1)</sup>			CNU 585(R)		
	10 <sup>2)</sup>	100	1000	10	100	1000
Prochloraz	++ <sup>3)</sup>	-	-	+	+	-
Procymidone	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Benomyl	+	-	-	+++	+++	+++
Thiabendazole	++	+	+	+++	+++	++
Carbendazim	++	++	-	+++	+++	+
Captan	+++	++	-	+++	+++	++
Polyoxin B	+++	+++	++	+++	++	++
Chlorothalonil	++	++	+	+	-	..
Iprodione	+++	+++	++	+++	++	++
Probineb	++	-	-	+++	++	-
Azoxystrobin	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Folpet	+++	+++	++	+++	++	++
Control	+++	+++	+++	+++	+++	+++

<sup>1)</sup> S: benomyl susceptible, R: benomyl resistant. <sup>2)</sup> Concentrations in ppm.

<sup>3)</sup> -: non-germination, ++: 50 to 90% germination, +: under 50% germination, +++ : over 90% germination.

본 연구에 공시한 약제에 따라 각 균주의 균사생장과 포자 발아에 미치는 영향이 달라 공시약제의 작용점이 다른 것을 확인 할 수 있었고, 균상에 오염된 균의 특성이 정확히 파악된다면 이를 이용하여 정확한 약제방제가 가능할 것으로 사료된다.

#### 나. 선발 약제의 처리 시기 및 처리 방법에 따른 푸른곰팡이병의 예방 및 방제

##### 1) 배지 살균전 약제 처리 효과

현재 많은 느타리버섯 재배 농가에서 푸른곰팡이병 방제 약제로 일반적으로 사용하고 있는 benomyl을 비롯하여 prochloraz, thiabendazole의 배지 살균전 처리 효과를 조사하기 위하여 살균제로 배지의 수분을 약 65%로 조절한 후 *Hypocrea*와 *Trichoderma*속 균을 접종하여 배지를 오염시킨 후 관행의 방법(65℃ 15시간 살균, 55℃ 48시간 후발효)으로 살균하고 느타리 종균(원형 2호)을 접종하여 유해균의 발생 여부와 느타리버섯의 수량성을 조사하였다(표 27).

한편, *Hypocrea* sp. 2를 접종한 경우 접종구는 무처리에서 1주기와 2주기 사이에 stroma가 발생하였으나 버섯의 수량은 약제처리구와 무처리간에 큰 차이를 보이지 않았다. 본 실험 결과는 *Hypocrea*는 약제 처리에 의해 예방이 가능하였으나 농가 관행 살균법으로는 완전히 살균되지 않음이 밝혀졌다. 따라서 *Hypocrea*속 균의 살균 조건과 이미 오염된 재배사의 살균 혹은 소독 방법을 재검토해야할 것으로 사료된다. 한편 *Trichoderma* 접종구에서는 전체 처리구에서 *Trichoderma*의 발생이 없었는데 이는 약제 처리 여부와 관계없이 접종한 *Trichoderma* 균들이 살균과정에서 제거되었음을 나타내는 것이다. 버섯 수량은 처리구에 따라 약간의 차이가 있고 thiabendazole 처리구에서 수량이 높았으나 이것이 약제 처리에 의한 효과인지 확실치 않다. 본 실험에서 배지 살균전의 배지 약제 처리로 인한 푸른곰팡이병 예방

효과는 약제 처리 후의 살균과정으로 인하여 정확한 판단이 어려웠으나 약제의 사전 처리가 느타리 성장 및 수량에 영향을 주지 않았다.

Table 27. Effect of substrate treatment by fungicides on yield of mushroom and occurrence of green mould disease

Isolate	Fungicide	Occurrence of green mould	Yield (g/box)*				
			1st flush	2nd flush	3rd flush	4th flush	Total
<i>Hypocrea</i> (CNU 670)	Benomyl	-	378.6 ± 241.7	325.0 ± 168	628.3 ± 129.7	473.3 ± 46.4	1,805.3 ± 157.1
	Prochloraz	-	628.3 ± 24.6	246.7 ± 59.5	646.7 ± 131.0	600.0 ± 131.1	2,175.0 ± 215.7
	Thiabendazole	-	443.0 ± 121	338.0 ± 94	496.7 ± 41.1	543.3 ± 168.6	1,821.6 ± 279.8
	Control	+	398.0 ± 38.8	306.7 ± 158	646.7 ± 151.7	601.7 ± 134.8	1,953.3 ± 425.2
<i>Trichoderma</i> (CNU 597)	Benomyl	-	493.3 ± 142.7	380.0 ± 81.95	626.7 ± 309.4	522.5 ± 37.5	1,848.3 ± 353.3
	Prochloraz	-	598.3 ± 2.35	316.7 ± 44.8	423.3 ± 51.9	395.0 ± 212.2	1,733.3 ± 281.6
	Thiabendazole	-	710.0 ± 17.8	455.0 ± 152.5	610.0 ± 21.2	641.7 ± 55.4	2,416.6 ± 115.5
	Control	-	535.0 ± 228	603.0 ± 168.8	510.0 ± 51.0	437.5 ± 92.5	1,940.0 ± 368.9
<i>Trichoderma</i> (CNU 669)	Benomyl	-	401.7 ± 90.85	357.5 ± 157.5	582.0 ± 370	530.0 ± 140	1,575.0 ± 36.2
	Prochloraz	-	830.0 ± 145	570.0 ± 195	718.3 ± 263.2	455.0 ± 0	2,270.0 ± 262.8
	Thiabendazole	-	547.0 ± 59.8	526.7 ± 24.9	455.0 ± 41.3	620.0 ± 57.2	2,148.3 ± 48.7
	Control	-	391.0 ± 53.28	375.0 ± 89.53	480.0 ± 234	520.0 ± 20.0	1,766.6 ± 262.3
Control		-	431.0 ± 163	569.0 ± 231	520.0 ± 199	537.0 ± 179	2,010.0 ± 39.1

\* 4 kg waste cotton substrates/1 box

## 2) 종균 접종시의 약제 처리 효과

한편, 푸른 곰팡이병균의 오염 시기가 느타리 재배 과정 중 병의 진전에 매우 큰 영향을 미치고 있고, 특히 종균 접종시 또는 종균 접종전의 오염은 막대한 피해를 초래하는 것으로 밝혀졌다. 따라서 이 시기에 적절한 방제 약제를 탐색하기 위하여 *Trichoderma*속 균의 포자 및 균사현탁액을 분부 접종하여 오염시킨 종균을 폐습매지에 표면 접종한 후 prochloraz, benomyl 및 thiabendazole을 각각 1000 ppm 농도로 희석하여 살포한 후 배양하였다

(그림 18). 곰시 약제 중 prochloraz의 방제효과가 가장 좋았으며 배양 10일 후 prochloraz 처리구 이외에서 모두 *Trichoderma*가 정착하였고, 20일 후에는 prochloraz을 처리구 이외의 모든 처리구가 *Trichoderma*로 심하게 오염되어 재배가 불가능하였다. prochloraz을 처리한 경우에도 느타리의 균사활착이 부처리에 비해 억제되는 경향을 보여 이 약제를 종균 접종과 동시에 처리 할 경우에는 농도에 주의하지 않으면 느타리의 생장 억제 가능성이 있을 것으로 사료된다.

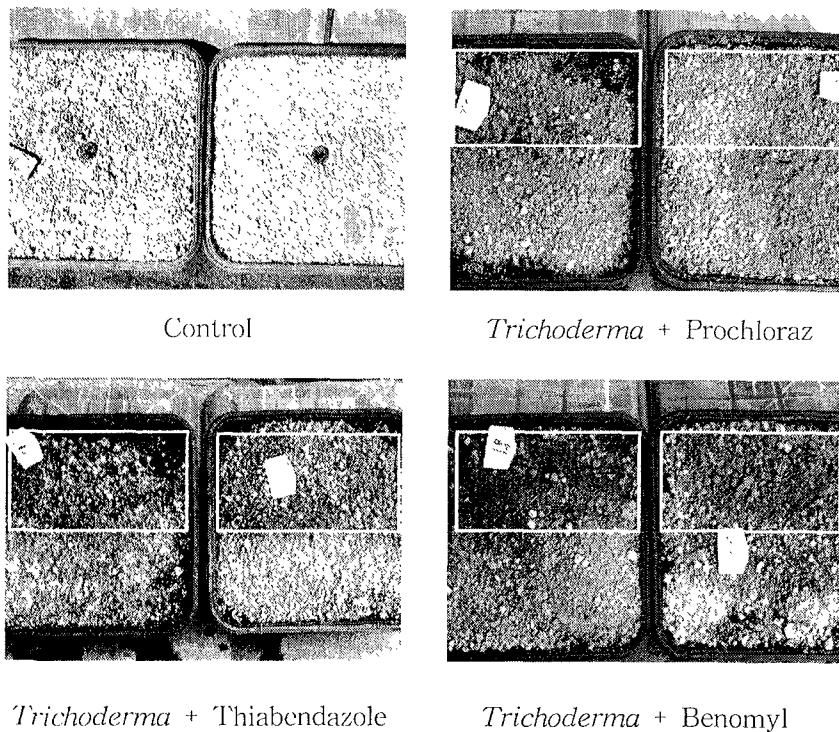


Fig. 18. Effect of fungicide treatment on control of green moulds in contaminated mushroom bed.

3) 종균 활착 후 약제 처리 효과 <농가실증시험>

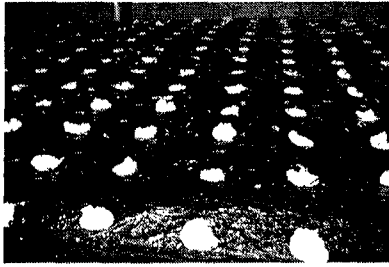
느타리 푸른곰팡이 병은 재배 주기가 증가함에 따라 병 발생 면적도 증가하고 그 피해도 확산되는데, 이는 무균 상태에서 균사 생장을 완료하여도 재배기간 중에는 무균 상태로 재배하는 것이 불가능하기 때문에 온도, 수분, 환기 등의 재배관리 여하에 따라서 푸른곰팡이병균의 오염에 의한 피해 가능성이 많다. 따라서 재배기간 중에 발생하는 푸른곰팡이 병을 예방하고 느타리 균에 가장 적합한 환경을 조절해 주는 것이 매우 중요하다. 그러나 한번 발생한 푸른곰팡이 병은 적절한 방제를 하지 않으면 병의 급속한 확산에 의하여 느타리를 전혀 수확할 수 없게 되기 때문에 조기에 발견, 방제하는 것이 중요하다.

Table 28. Effect of chemical treatment on the green mould development in the oyster mushroom bed

Chemical	No. of surveyed hole	Time of survey	No. of green mould development(%)			Reduced rate (%)
			Server	Week	Total	
Prochloraz	853	Pre-treat	125 (14.7)	186 (21.7)	311 (36.4)	
		After-treat	24 (2.8)	43 (5.0)	67 (14.1)	78.5
Thiabendazole	840	Pre-treat	128 (15.2)	226 (26.9)	354 (43.6)	
		After-treat	43 (5.1)	60 (7.1)	103 (12.3)	70.9
Benomyl	853	Pre-treat	93 (10.9)	129 (15.1)	222 (26.0)	
		After-treat	162 (19.0)	132 (15.5)	294 (34.5)	-32.4
Control	840	Pre-treat	113 (13.5)	161 (19.2)	274 (32.6)	
		After-treat	143 (17.0)	181 (21.6)	324 (38.6)	-18.2

본 연구에서는 benomyl 저항성 푸른곰팡이병균이 발생하는 재배사에서 시

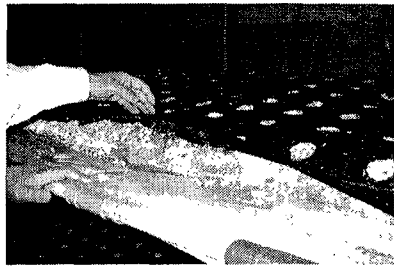
관 약제 중 *Trichoderma*속 균의 균사 성장 억제에 효과가 있는 것으로 밝혀진 prochloraz과 thiabendazole 그리고 benomyl을 사용하여 재배 중 종균 활착 후에 발생한 푸른곰팡이 병의 방제 효과를 검토하였다(표 28과 그림 19).



Spawn running



Mushroom development



Contaminated by *Trichoderma* sp.

Fig. 19. Green mould development on the vinyl covered cultivation.

노타리 균상에 발생한 푸른곰팡이병의 방제를 위하여 유공 비닐 멀칭 재배를 실시(그림 19)하였고 공식 약제 당 840 혹은 853개의 구멍을 처리하였다. 약제 처리 전 오염율은 26~44%로 약 220~350여개의 구멍에 푸른곰팡이병이 발생하였으며, 이를 균상 구멍에 *Trichoderma*가 완전히 정착한 심오염과 완전히 정착하지는 않았으나 푸른곰팡이가 발생한 약오염으로 나누어



방제 효과를 조사하였다. prochloraz과 thiabendazole은 병 감소율이 78.5~70.9%로 방제 효과가 훌륭하였으나 benomyl을 처리한 경우에는 약제처리에 관계없이 무처리와 마찬가지로 병이 증가하였다. 또 benomyl 처리구의 병진전율이 무처리구 보다 높은 것은 약효가 없는 약제를 처리하여 균상에 과도한 수분이 남게 되어, 상대적으로 느타리보다 푸른곰팡이 병균의 생육에 좋은 환경이 조성되었기 때문으로 생각된다.

#### 다. 배지조제시 살균제와 길항세균 CNU 44-1 처리에 의한 푸른곰팡이병 예방

##### 1) 살균제 처리 배지에서 느타리 균사 생장 <시험관실험>

농가에서 느타리버섯 재배시 가장 많이 사용하고 있는 배지재료인 폐송에 느타리버섯 푸른곰팡이병 방제 약제로 선발된 살균제와 생물학적 방제제로 선발된 세균 CNU 44-1 배양액으로 수분조절을 하여 농가 관행법으로 재배를 실시하면서 푸른곰팡이 및 *Hypocrea* 발생 예방 및 방제효과를 검토하였다.

배지 제조시 수분조절은 약 70%(W/W)로 조절하였으며 느타리버섯 종균 접종과 균사배양, 그리고 재배는 살균과정을 거친 후 종균을 접종한 처리구와 살균 없이 종균을 접종한 처리구로 나누어 실시하였다. 수분조절을 위한 살균제는 사용 권장 농도인 1,000액 (benomyl, prochloraz 500 ppm, thiabendazole 200 ppm; 이하유효성분 농도)과 이를 각각 1/2 (benomyl, prochloraz 250 ppm, thiabendazole 100 ppm), 1/3 (benomyl, prochloraz 166 ppm, thiabendazole 50 ppm)농도로 희석하여 사용하였다.

각 살균제와 세균 CNU 44-1 배양액으로 수분 조절한 배지를 26 × 190 mm의 시험관에 넣고 종균 접종한 후 25℃에서 14일간 배양하여 균사생장을 조사한 결과는 표 29과 같다

Table. 29. Mycelial growth of *P. ostreatus* cultivar Suhan on the waste-cotton substrates treated by fungicides and antifungal bacteria CNU *Al*-1

Fungicide	Sterilized substrate <sup>1)</sup>			Non-Sterilize substrate		
	Concentration in ppm			Concentration in ppm		
	500 (200) <sup>2)</sup>	250 (100)	166 (50)	500 (200)	250 (100)	166 (50)
Prochloraz	57.7±17.4 <sup>3)</sup>	92.3±22.3	83.0±21.3	46.3±18.6	63.3±14.8	82.3±9.5
Thiabendazole	69.7±10.3	53.3±4.9	53.3±28.8	18.7±5.9	18.0±2.9	30.3±1.2
Benomyl	52.3±14.8	59.0±6.7	47.0±10.2	31.3±9.8	20.3±6.2	16.7±1.2
CNU <i>Al</i> -1		87.3±20.4			39.3±5.4	
Control		91.3±27.4			53.3±13.2	

<sup>1)</sup> Sterilization of substrates was conducted at 65°C for 24 h, and then maintain 55°C for 72 h for composting

<sup>2)</sup> Concentration of thiabendazole

<sup>3)</sup> Mycelial growth show in mm and standard deviation

농가 관행법으로 살균한 후 종균접종을 한 처리구에서는 살균제로 수분 조절한 처리구가 무처리에 비해 최대 48.5%의 균사생장 억제를 보였으나 세균 CNU *Al*-1과 prochloraz (상표명: 스포르곤)를 처리한 배지에서는 비교적 균사 생장 억제 효과가 낮아 무처리와 비슷한 수준의 균사생장을 보였다. 한편 살균제로 수분 조절한 후 살균과정 없이 종균을 접종하여 배양한 경우는 무처리에서도 살균한 배지에서의 균사생장보다 약 41.6% 억제를 보였다. 이는 살균과정이 생략 했기 때문에 배지의 물리성이 적합하지 않거나 배지에 오염되어 있는 균과의 경합으로 느타리 균의 생장이 억제를 받은 것으로 사료된다. 약제 및 생물학적 방제제 처리구도 심한 균사 생장 억제를 보였으나 prochloraz 처리구에서는 오히려 균사생장이 촉진되었다. 이는 prochloraz의 느타리버섯 균사생장 촉진효과보다는 배지에 오염되어 있는 미생물이 prochloraz에 의해 사멸 혹은 억제되어 느타리균이 경합 없이 생

장할 수 있었던 것으로 사료된다.

살균 처리구와 무살균 처리구 모두 thiabendazole과 benomyl을 처리한 경우보다 prochloraz을 처리한 경우가 느타리 균사생장 억제 효과가 낮아 배지에 처리할 경우에는 prochloraz 1/2 농도가 가장 효과적인 것으로 밝혀졌다.

## 2) 살균제 처리 배지에서 느타리 자실체 발생과 수량 <상자재배실험>

각 살균제와 세균 CNU 4L-1 배양액으로 수분 조절한 배지에 *Trichoderma* 742와 *Hypocrea* 803균주의 포자현탁액을 접종한 후 40×40×11 cm의 버섯 재배용 플라스틱 박스에 약 6kg씩 넣고 살균 후 혹은 살균과정 없이 종균을 표면 접종하여 25±1℃에서 18일간 균사배양 후 온도를 15℃로 내려 자실체를 유도시켰다. 자실체 생육 기간중의 재배사의 상대습도는 90%,온도는 17~18℃를 유지하였다.

종균 접종부터 자실체 발생까지의 기간(표 30)은 배지를 농가 관행법으로 살균한 경우 무처리가 27.3일이었으나 prochloraz 250ppm과 prochloraz, benomyl 166 ppm, thiabendazole 50ppm 처리구에서는 21일에서 23일로 초발이 일수가 4일에서 6일 정도 빠르게 유도되었고 세균 CNU 4L-1과 살균제 처리구는 모두 무처리보다 빠르거나 비슷한 시기에 자실체가 유도되었다.

그러나 약제 처리 후 살균과정 없이 종균을 접종하여 배양한 경우에는 prochloraz을 제외한 모든 처리구에서 푸른곰팡이병이 발생하여 폐상하였으나 prochloraz 처리구에서는 모든 농도에서 28일째 자실체가 유도되었다.

한편 이들 살균제 혹은 세균 처리배지에서 버섯의 수확은 3주기까지 수확하였으며 각 처리구의 수확량은 표 31과 같다. Prochloraz 250 ppm과 benomyl 166 ppm 그리고 thiabendazole 100 ppm 처리구에서의 수확량은 무처리보다 많았고, prochloraz 500과 166 ppm, thiabendazole 200과 50 ppm 그리고 benomyl 250 ppm 처리구는 무처리와 비슷한 수준의 수확량을 보였

으나 benomyl 500 ppm과 세균 CNU 44-1 처리구는 무처리보다 수확량이 적었다 (표 31). 또 배지를 살균하지 않은 처리구는 prochloraz을 제외한 모든 처리구에서 푸른곰팡이에 의해 오염되었고 thiabendazole을 처리한 배지에서는 딱물버섯이 발생하여 느타리 버섯을 수확하지 못하였다(그림 21).

Table. 30. Requiring period for first flush of *P. ostreatus* cultivar Suhan on the waste-cotton substrates treated by fungicide and antifungal bacteria CNU 44-1

Fungicide	Sterilized substrate <sup>1)</sup>			Non-Sterilized substrate		
	Concentration in ppm			Concentration in ppm		
	500 (200) <sup>2)</sup>	250 (100)	166 (50)	500 (200)	250 (100)	166 (50)
Prochloraz	25.0±2.2 <sup>3)</sup>	21.0±1.2	23.3±0.4	28.3±0.4	28.5±0.9	28.0±0.0
Thiabendazole	27.8±1.3	27.8±2.8	23.8±1.3	-	-	-
Benomyl	26.3±2.9	24.5±2.6	23.0±1.2	-	-	-
CNU 44-1		26.0±2.5			-	
Control		27.3±1.9			-	

<sup>1)</sup> Sterilization of substrates was conducted at 65°C for 24 h, and then maintain 55°C for 72 h for composting

<sup>2)</sup> Concentration of thiabendazole

<sup>3)</sup> Requiring period for first flush from inoculation of spawn

약제 처리구에서 발생한 버섯의 품질은 그림 20에서 보는바와 같이 특별한 약해 증상은 보이지 않았다.

균사생장과 푸른곰팡이병의 발생 억제 효과 그리고 자실체 발생 및 수량성을 종합적으로 고찰하면 prochloraz 250 ppm 농도로 배지 제조시 처리하는 것이 가장 효과적인 예방 및 방제법으로 밝혀졌다.

Table 31. Yields of mushroom on the waste-cotton substrates treated by fungicides and antifungal bacteria CNU *Al-1*

		Sterilized substrate <sup>1)</sup>			Non-Sterilized substrate		
		500 (200) <sup>2)</sup>	250 (100)	166 (50)	500 (200)	250 (100)	166 (50)
Prochloraz	1 st	640.0 ± 318.2 <sup>3)</sup>	885.0 ± 236.1	545.0 ± 69.5	752.5 ± 156.6	895.0 ± 63.4	857.5 ± 80.4
	2 nd	857.5 ± 100.6	817.5 ± 124.6	910.0 ± 76.8	675.0 ± 120.0	507.5 ± 71.9	487.5 ± 66.5
	3 rd	370.0 ± 94.1	397.5 ± 44.4	420.0 ± 130.9	227.5 ± 36.9	245.0 ± 35.0	227.5 ± 52.1
	Total	7470	8400	7500	6740	6590	6290
Thiabendazole	1 st	812.5 ± 164.9	967.5 ± 165.9	392.5 ± 254.4	0	0	0
	2 nd	725.0 ± 139.7	667.5 ± 98.3	1060 ± 318.9	0	0	0
	3 rd	360.0 ± 57.4	397.5 ± 163.5	495.0 ± 97.1	0	0	0
	Total	7590	8130	7790	0	0	0
Benomyl	1 st	632.5 ± 271.5	655.0 ± 134.6	855.0 ± 107.4	0	0	0
	2 nd	735.0 ± 260.0	847.5 ± 148.4	680.0 ± 73.8	0	0	0
	3 rd	310.0 ± 134.4	330.0 ± 139.1	297.5 ± 94.2	0	0	0
	Total	6710	7330	8130	0	0	0
CNU <i>Al-1</i>	1 st		837.5 ± 37.7			0	
	2 nd		617.5 ± 148.9			0	
	3 rd		287.5 ± 147.3			0	
	Total		6970			0	
Control	1 st		925.0 ± 115.4			0	
	2 nd		685.0 ± 48.2			0	
	3 rd		275.0 ± 70.2			0	
	Total		7540			0	

<sup>1)</sup> Sterilization of substrates was conducted at 65°C for 24 h, and then maintain 55°C for 72 h for composting

<sup>2)</sup> Fungicide concentration in parenthesis indicate for thiabendazole

<sup>3)</sup> Yields were calculate as mean and standard deviation from 4 replicate. Total yield obtain from 4 mushroom cultivation box

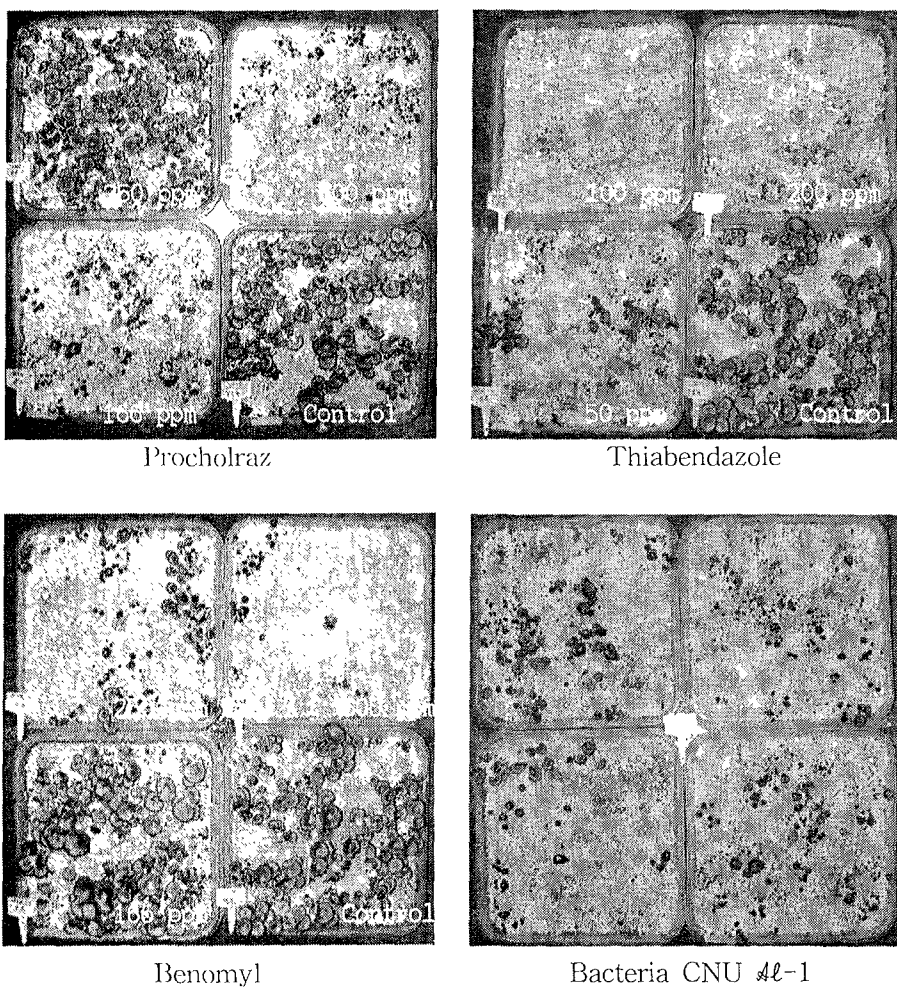


Fig. 20. Formation of fruit bodies on the sterilized waste cotton substrates treated by fungicides and antifungal bacteria CNU 41-1.

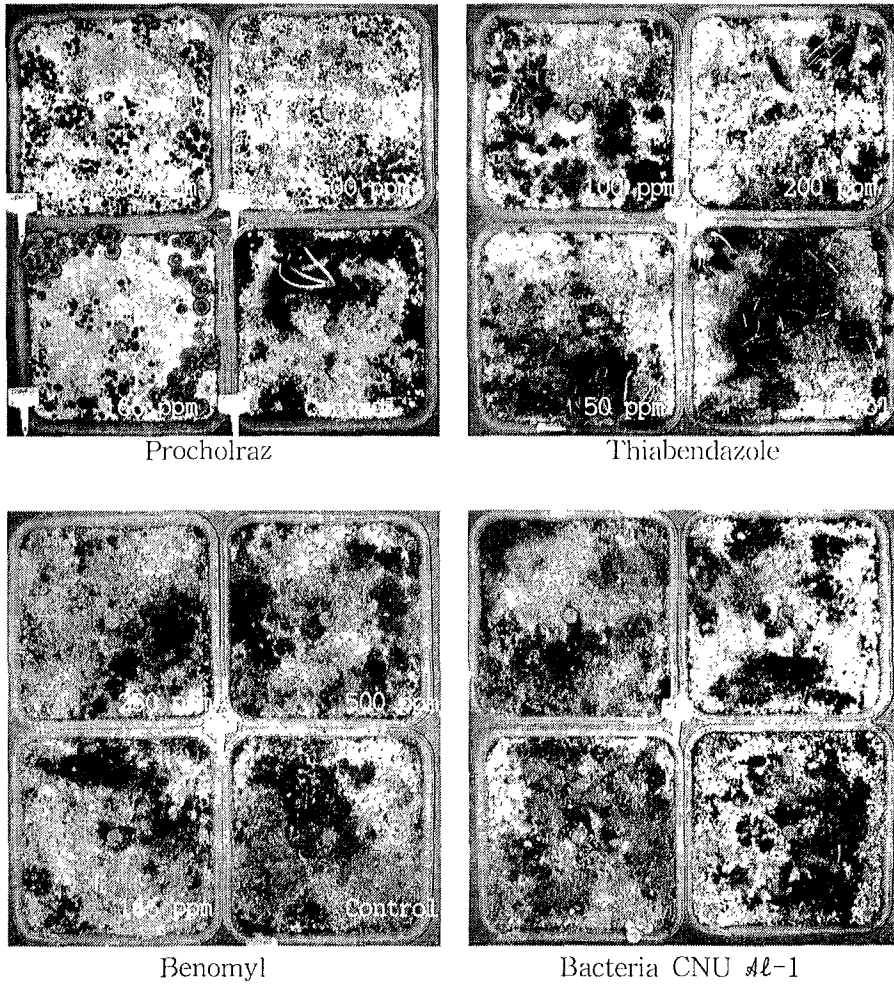


Fig. 21. Formation of fruit bodies on the non-sterilized waste cotton substrates treated by fungicide and antifungal bacteria CNU *Al-1*.

3) 배지의 살균전 살균제 처리가 푸른곰팡이병 발생 및 느타리버섯 수량에 미치는 영향 <농가실증시험>

살균제의 처리효과를 검증하기 위하여 충남 연기군 서면 곡촌리의 유찬식 님 재배사에서 2001년 7월부터 9월까지 농가실증 재배를 실시하였으며 재배사의 개요는 제 2 장에 기술하였다.

현재 국내의 느타리 재배 농가는 90% 이상이 폐습을 이용한 균상 재배를

실시하고 있는데 배지 수분 조절 후 야외발효, 입상, 살균, 종균접종 순으로 이루어지고 있고, 수분조절과 야외발효를 야외에서 실시하는 것이 대부분이다. 수분조절은 배지의 양에 비례하여 실시하지 않고 폐습 털기를 실시하면서 물을 계속 뿌리고 잉여 수분을 흘려보내 야외발효과정 중에 배지의 수분 함량이 65에서 70%가 되게 조절하고 있다. 따라서 배지의 수분 함량을 조절하기 위해 살균제를 계속 뿌리는 일은 경비와 살균제의 낭비가 심해 불가능할 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 배지에 살균제를 첨가하기 위하여 야외발효 후에 수분함량을 측정하고 농축된 살균제를 분무기로 분무하여 살균제 처리 농도를 조절하였고 배지의 수분을 70%로 조절하고 뒤집기 및 습털기를 한 후 균상에 입상하였다. 각 살균제의 농도는 상용농도와 1/2 상용농도로 조절하였으며 각 살균제당 1.3평을 시험 구로 설정하였다. 농가 관행법에 의해 살균을 실시하였고 종균은 각 처리구당 15병을 표면 접종한 후 실내온도를 25±2℃로 조절한 후 18일간 배양하였다. 재배 품종은 수한 1호를 사용하였으나 일부 미숙종균 혹은 오염된 종균의 사용으로 배양시작 5일 후부터 살균제 부처리 균상에는 푸른곰팡이가 재배사 전체 균상의 약 40%에서 발생하였다(표 32, 그림 22, 좌).



Fig. 22. Occurrence of green mould disease and its control during the spawn running period.



그러나 폐습 배지에 살균제를 처리한 시험구(표 32, 그림 22 우)는 국부적으로 푸른곰팡이가 발생하여 예방효과를 확인할 수 있었다. Prochloraz 처리구는 500과 250 ppm을 처리한 시험구 모두 푸른곰팡이가 발생하지 않았고 thiabendazole과 benomyl을 처리한 시험구는 상용농도 처리구(200과 500 ppm)에서는 10% 이하의 면적에 푸른곰팡이가 발생하였으나 상용의 1/2 농도를 처리한 시험구에는 무처리와 비슷한 수준인 40~50%의 면적에 푸른곰팡이가 발생하였다. 이들 균상에 배지에 공시한 약제와 동일한 약제를 1회 분무하였으나 방제 효과가 미약하여 5일 후 prochloraz 500 ppm을 처리하여 방제효과를 확인하였다. Prochloraz를 처리하여 방제한 시험구에서는 2주기부터 일부 버섯을 수확할 수 있었다(그림 22 우). 한편, 길항세균 CNU 41-1도 살균제와 동일한 방법으로 처리한 시험구는 푸른곰팡이가 10%이하의 면적에 발생하여 발생 억제효과를 보았으나 방제 효과는 아주 미약하였다.

Table 32. Effect of substrate treatment by fungicides and antifungal bacteria on control of oyster mushroom green moulds

Treatment	Concentration (ppm)	Occurrence area of green moulds (%)
Prochloraz	500	0
	250	0
Thiabendazole	200	below 10
	100	about 50
Benomyl	500	below 10
	250	about 40
Bacteria (CNU 41-1)		below 10
Control		about 60

Table 33. Effect of substrate treatment by fungicides and antifungal bacteria on mushroom yields

	Prochloraz		Thiabendazole		Benomyl		CNU	Control
	500 <sup>1)</sup>	250	200	100	500	250	4l-1	
1st flush	6330 <sup>2)</sup>	8210	5320	7650	8200	7120	8640	7460
2nd flush	11220	10650	6490	8200	8840	7870	7390	8230
3rd flush	7320	6460	4200	5860	5620	4580	6670	5620
계	24,870	25,320	16,010	21,710	22,660	19,570	22,700	21,310

<sup>1)</sup> Concentration (ppm) of fungicide in waste cotton substrates

<sup>2)</sup> Yields show gram (g)

배지 살균제 살균제와 길항미생물 CNU 4l-1 처리구에서의 수확량은 thiabendazole 200 ppm을 처리한 시험구를 제외하고는 모두 무처리와 동등한 수준이거나 10~20%의 증수효과를 보였으며(표 33), 특히 prochloraz 처리구에서는 농도에 관계없이 초발이일이 5일 정도 빠른 경향을 보였다. Prochloraz의 발이 촉진효과에 대해서는 균사생장이 다른 처리구보다 빠르기 때문인지(표 29) 혹은 prochloraz가 발이 촉진에 효과가 있는 물질을 함유하고 있는지에 대해서는 추후 좀더 자세히 검토해야 할 것으로 사료된다. 또 본 시험 재배사에 오염된 푸른곰팡이병은 prochloraz 처리에 의해 80% 이상의 예방 및 방제 효과가 있었다.

한편 살균제 처리구에서 발생한 버섯의 형태는 정상적(그림 23)이었으며 이들 시험을 통하여 얻어진 자실체를 약제잔류 시험에 공시하였다.



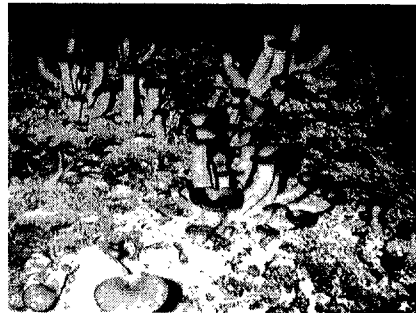
Prochloraz



Thiabendazole



Benomyl



CNU 48-1



Control



Tested mushroom bed

Fig. 23. Morphological features of oyster mushroom produced on fungicide treated mushroom bed.

## 라. 살균제 처리가 느타리 균사생장과 자실체에 미치는 영향

느타리 재배시 약제의 사용이 느타리버섯에 미치는 영향을 조사하기 위하여 benomyl, prochloraz 및 thiabendazole이 느타리 균사 생장에 미치는 영향을 느타리 8품종을 공시하여 실시하였고(그림 24), 인공 재배시 발생한 자실체에 공시 살균제 처리에 의한 약해 여부를 조사하였다. 느타리균은 benomyl 과 prochloraz이 100ppm 첨가된 배지에서 균사 생장에 영향을 받아 생장이 저조하였으나 thiabendazole 처리시는 100ppm에서 원형과 흑평을 제외하고 부처리군과 비교할 때 큰 차이가 없어 약해가 가장 적을 것으로 사료된다. 그러나 상용 살포 농도인 1,000ppm을 첨가한 배지에서는 느타리 균주 모두 50%이상의 균사생장 억제를 보였다. 한편, 생육중인 자실체에 이들 약제를 1,000ppm 처리하였을 때 갓 직경 1cm 이하의 자실체는 생장이 정지되고 모두 사멸하였으며(그림 25, 원 안쪽), 1cm 이상의 자실체는 계속 성장하나 갓의 주연부 색이 청색빛을 띠고 얇아지며 갓의 형태가 깔대기 형으로 변형되어 약해를 받을 수 있음이 확연히 밝혀졌다 (그림 25). 따라서 푸른곰팡이병균의 방제시 느타리 자실체가 발이 한 후에 약제처리는 피해야 할 것으로 생각된다.

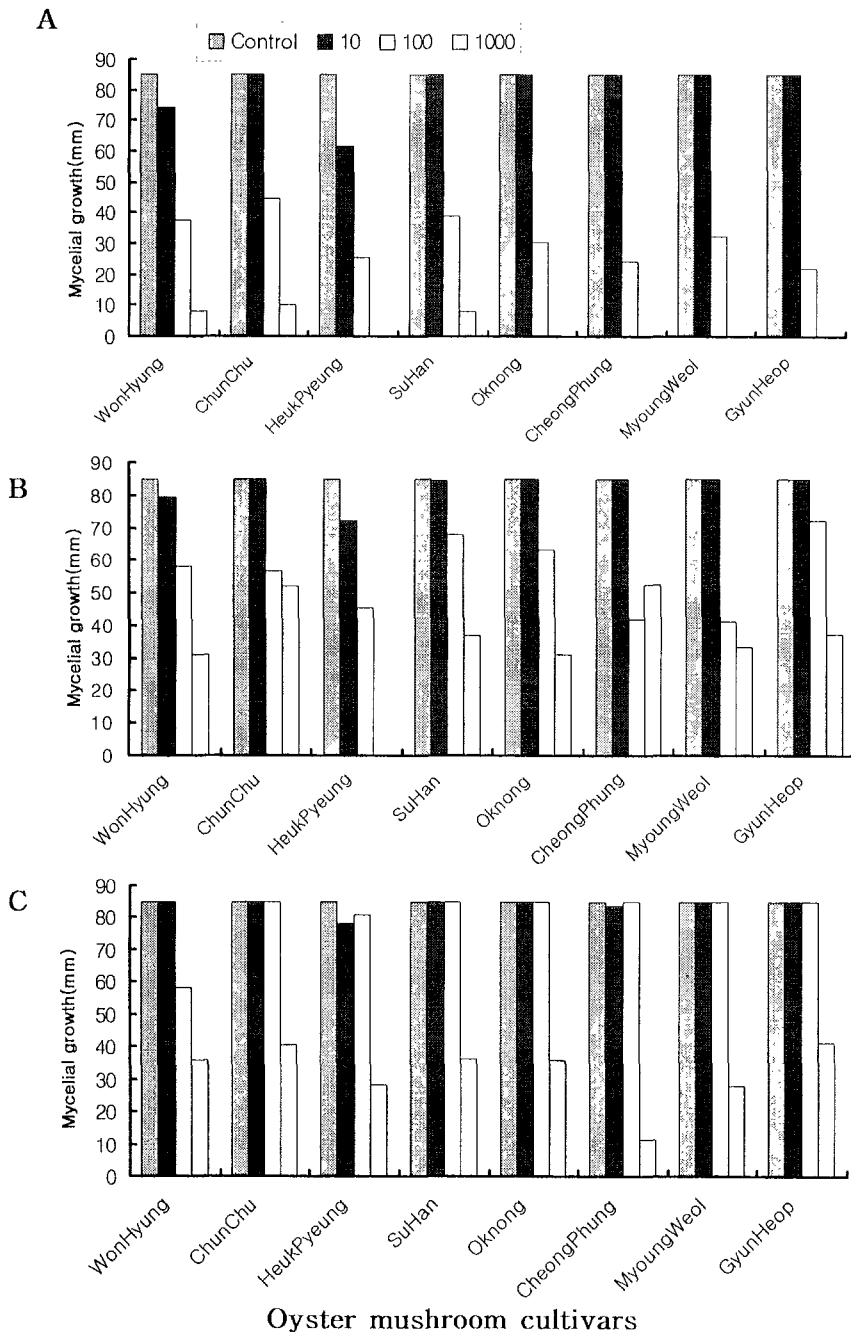
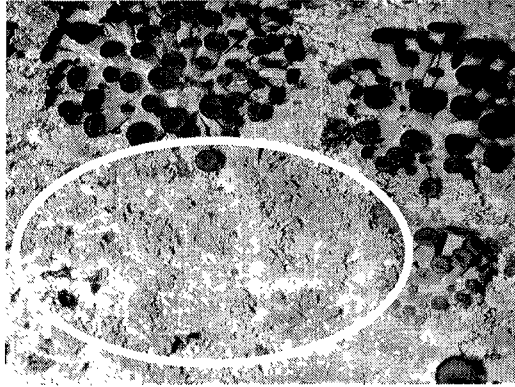
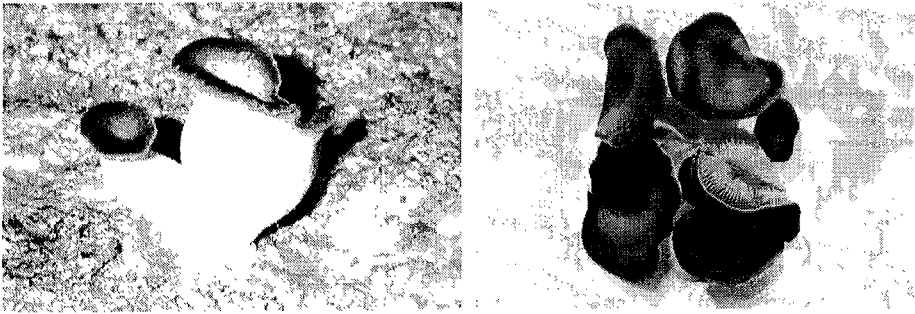


Fig. 24. Effect of benomyl(A), prochloraz(B) and thiabendazole(C) on mycelial growth of different cultivars of oyster mushroom on PDA supplemented with different concentrations at 25°C for 8 days.



Prochloraz treatment (1,000 ppm) on young fruit body



Benomyl and prochloraz treatment (1,000 ppm) on mature fruit body

Fig. 25. Phytotoxicity of oyster mushroom by fungicide treatment

## 2. 저공해 소독제를 이용한 방제

가. 저공해 소독제가 푸른곰팡이병균의 균사생장과 포자발아에 미치는 영향

저공해 소독제로 알려진 목초액, 식초, 계면활성제 및 시중에서 푸른곰팡이병 방제제로 알려진 트리코프리를 이용한 방제 가능성을 검토하기 위하

여 이들 저공해 소독제가 푸른곰팡이병균과 느타리균의 균사생장과 포자발아에 미치는 영향을 조사하였다(표 34, 35)

공시한 저공해 소독제 중에서 목초액과 식초는 푸른곰팡이병균의 균사생장 억제 효과가 매우 미약하였고 목초액은 제품에 따라 활성에 차이가 있었다. 계면활성제는 공시한 푸른곰팡이병균의 균사 생장을 강하게 억제하였으나 느타리의 균사 성장도 억제하였고, 트리코프리는 benomyl 감수성인 *Trichoderma* 균주(CNU 528)의 균사 생장은 강하게 억제하였으나 benomyl 저항성 균주인 CNU29 균주에 대해서는 억제 효과가 매우 낮았다.

Table 34. Effect of low toxic chemicals on mycelial growth of *Trichoderma* sp.

Low toxic chemical	Mycelial growth (mm)					
	× 100 <sup>1)</sup>		× 200		× 400	
	CNU523	CNU527	CNU523	CNU527	CNU523	CNU527
Wood vinegar 1	0	0	85	85	85	85
Wood vinegar 2	52	77	70	71	71	85
Vingar	71	78	80	85	85	82
surface active	0	0	17	14	14	16
Trico-free	0	30	0	22	22	56
Control	>85		>85		>85	

<sup>1)</sup> Dilution ratio.

저공해 소독제가 푸른곰팡이병균의 포자 발아에 미치는 영향을 조사한 결과 목초액 및 식초는 *Trichoderma*의 포자발아 억제 효과가 전혀 없었고, 계면활성제는 포자 발아 억제 효과가 높았으며 트리코프리는 benomyl 약제 감수성 균인 CNU 523 균주에만 효과가 있었다 (표 35).

Table 35. Effect of low toxic chemicals on spore germination of *Trichoderma* sp.

Isolate	Low toxic chemical	Spore germination			
		× 50 <sup>1)</sup>	× 100	× 200	× 400
CNU 523	Wood vinegar 2	NT <sup>2)</sup>	+++ <sup>3)</sup>	+++	+++
	Vinegar	NT	+++	+++	+++
	Surface active	NT	-	-	++
	Trico-free	-	-	-	NT
	Control			+++	
CNU 527	Wood vinegar 2	NT	+++	+++	+++
	Vinegar	NT	+++	+++	+++
	Surface active	NT	-	-	-
	Trico-free	-	++	+++	NT
	Control			+++	

<sup>1)</sup> Dilution ratio, <sup>2)</sup> NT: Not tested.

<sup>3)</sup> -: non-germination, +: below 50% germination, ++: 51 to 89% germination, +++: over 90% germination.

트리코프리를 첨가한 배지에서의 benomyl 저항성과 감수성 균주의 균사 성장 및 포자 발아 억제 반응은 benomyl을 첨가한 배지에서의 반응과 동일한 경향을 보여 트리코프리는 benomyl 성분이 첨가된 제품으로 사료되며, benomyl 저항성 균주가 분포하는 재배사에서는 방제 효과가 없음으로 사용을 유보해야 할 것이다.

목초액 및 식초를 느타리버섯 재배시 저공해 소독제로 사용하였을 시 안전성 유무를 조사하기 위하여 식초와 목초액이 첨가된 PDA배지에서 느타리 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 36과 같다. 식초는 0.25% 이상 농도에서 느타리 균사생장을 억제하였으나 목초액은 종류에 따라 다른 반응을 보였다. 즉 일본에서 수입한 목초액(목초액 C)은 0.1~1%의 공시한 모든 처리구에서 균사 생장이 촉진되었으나 유기농협회에서 구입한 목초액



(목초액 A, B)은 0.1~0.25%처리에서만 느타리 균사생장이 촉진되었고 1% 처리에서는 균사생장을 심하게 억제하였다.

Table 36. Mycelial growth of *P. ostreatus* on the PDA containing wood vinegar or vinegar

Chemical	Colony diameter (mm)				
	0.1 <sup>1)</sup>	0.25	0.5	1	Control
Wood vinegar A <sup>2)</sup>	83.9	77.4	61.9	42.6	58.5
Wood vinegar B <sup>3)</sup>	78.7	73.5	56.8	0	"
Wood vinegar C <sup>4)</sup>	75.7	70.5	67.9	64.5	"
Vinegar	57.6	52.5	46.4	35.3	"

<sup>1)</sup> Concentration(%)

<sup>2), 3)</sup> Wood vinegar from Korea

<sup>4)</sup> Wood vinegar from Japan

#### 나. 저공해 소독제에 의한 *Hypocrea*의 방제

*Hypocrea*가 발생한 재배사의 균상에 저공해 소독제를 처리한 후 방제효과와 느타리 수량에 미치는 영향을 조사하였던 바 소독제를 처리하여도 재배과정 중 다시 stroma를 형성하여 방제제로서의 기능은 없는 것으로 사료되었다 (표 37). 그러나 시판 살균제 처리구와 무처리구는 거의 버섯을 수확하지 못한 반면 저공해 소독제 처리구에서는 매우 낮은 수준이기는 하나 느타리버섯을 수확할 수 있었다.

Table 37. Effect of low toxic chemical on the formation of fruit body

Chemical	Concentration	<i>Hypocrea</i> stroma	Yields of mushroom
Surface activator	1%	+	230*
Surface activator	0.5%	+(T)	150
Wood vinegar	1%	+	65
Wood vinegar	2%	+	110
Vinegar	1%	+	165
Vinegar	2%	+	0
Benomyl	500 ppm	+	0
Control		+	0

\* Yields (g) / 4 kg of waste cotton

### 3. 경종적 방제

#### 가. 배지의 살균 조건이 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향

배지의 살균 조건과 수분 함량이 느타리 푸른곰팡이병균의 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배지의 수분을 50%와 70%로 조절하고 *Trichoderma*와 *Hypocrea* sp.의 포자현탁액을 접종한 다음 살균 온도를 50, 60 그리고 70°C로 조절한 후 5, 10, 15시간 각각 살균한 후 푸른곰팡이병균의 생존 여부를 조사하였다(표 39).

푸른곰팡이병균은 50°C에서 살균하였을 경우 살균 시간, 수분 함량 그리고 푸른곰팡이병균의 종류에 관계없이 거의 모두 푸른곰팡이병균이 발생하여 50°C에서 사멸하지 않는 것으로 밝혀졌다. 그러나 CNU520과 CNU518은 50°C에서 배지의 수분함량이 낮은(50%) 경우에는 모두 발생한 반면 70°C에서는 CNU520은 15시간, CNU518은 10~15시간 살균한 경우에 푸른곰팡이병균이 발생하지 않았다. CNU660을 제외한 공시 균주는 수분함량에 관계

없이 60℃ 이상으로 살균하면 살균 시간에 관계없이 푸른곰팡이병이 전혀 발생하지 않았다. 한편, *Hypocrea*는 stroma와 포자현탁액을 접종하여 살균한 결과 재배기간 중 *Hypocrea*의 stroma가 발생하지 않아 50℃에서 5시간 살균으로 모두 사멸한 것으로 추정되었다. 이 결과로 푸른곰팡이병균은 온도에 대한 반응이 배지의 수분함량과 오염균의 종류에 따라 다른 것이 밝혀졌다.

Table 38. Effect of sterilization temperature and water content of waste-cotton substrates on the survival of green moulds

Isolates	Water content (%)	Control	50±1℃			60±1℃			70±1℃		
			5 <sup>1)</sup>	10	15	5	10	15	5	10	15
<i>Trichoderma</i> sp. CNU 515	50	+ <sup>2)</sup>	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	70	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp. CNU 520	50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	70	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. koningii</i> CNU 518	50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	70	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. harzianum</i> CNU 660	50	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	70	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Hypocrea</i> sp. 2 CNU 670	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup> Hours for sterilization.

<sup>2)</sup> Green moulds colonized (+) or not (-) on PDA media.

Morris(2000)는 양송이 푸른곰팡이병원균인 *T. harzianum*(Th1)과 *T.*

*longibrachiatum*이 60℃ 24시간 열처리해도 생존하는 온도에 강한 내성을 가지고 있다고 보고하였고, 심(2000)은 *T. koningii*가 온도에 강한 내성을 보였다고 보고한 바 있으나 본 실험의 결과 느타리 푸른곰팡이병균들은 60℃에서 10시간 이상 살균하면 모두 사멸하여 앞의 두 결과와는 다른 결과를 보였다. 이상의 결과로 살균 전에 배지에 오염된 푸른곰팡이균은 65℃ 15시간 이상의 살균으로 충분히 살균이 가능한 것으로 사료되나 연료비 절감과 시간의 절약을 위하여 정열을 65℃ 10시간 전후로 수행하는 농가에서는 배지의 수분함량이 낮을 경우 주의하지 않으면 안될 것으로 생각된다. 또 폐쇄 또는 압축배지에서의 열투과율을 배지의 양, 수분함량 등을 고려하여 살균시간을 정해야 할 것으로 사료된다.

#### 나. 배지의 수분함량과 pH가 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향

##### 1) 배지의 수분함량이 느타리 및 푸른곰팡이병균의 균사생장에 미치는 영향

균류의 생장은 배지의 수분함량, pH, 온도, 광, 영양원의 종류 등 환경요인에 의해 영향을 받으며 환경요인이 균간의 상호작용 패턴에도 커다란 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Magan과 Lacey, 1984, 1985; Lacey 등, 1991; Marin 등, 1998). 본 연구에서는 배지의 수분함량과 pH가 푸른곰팡이병균의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH를 4.0, 5.0 그리고 6.0으로 조절된 배지에 삼투분압(osmotic water potential)을 조절하여 푸른곰팡이병균과 느타리 균주를 접종하여 제한된 수분환경하에서 공시균의 균사생장을 조사하였다.

*Trichoderma*속 균의 균사 성장률은 삼투수분압이 -0.7MPa에서 -8.4MPa로 낮아짐에 따라 공시균들의 균사 성장률도 현저히 낮아졌다(표 27). 특히, 삼투수분압이 약간 낮은 조건(-0.7MPa)에서 CNU530균주와 CNU518균주는 높은 균사 성장률을 보인 반면 수분조건이 대체로 낮은 조건(-4.2MPa)하에서는 CNU530균주의 경우 균사 성장률이 매우 낮아져

CNU503균주나 CNU554균주보다 더 낮은 균사 생장률을 나타냈다. 한편 매우 낮은 수분조건(-8.4MPa)하에서는 거의 모든 균의 균사생장이 거의 정지하는 것으로 나타났다. 그러나 CNU518균주는 다른 균주에 비해 삼투수분압이 -4.2MPa과 -8.4MPa 범위에서 수분스트레스에 가장 강한 저항성 균주이었기 때문에 배지의 수분 함량에 관계없이 쉽게 정착할 수 있는 균주로 판단된다.

한편, pH의 변화에 따른 균주간 균사 생장은 CNU501균주의 경우 -0.7MPa에서 pH 4나 pH 5에서보다 pH 6에서 생장률이 더 높았으나 -4.2MPa에서는 pH 6에서 생장률이 더 낮게 나타났다. 반면에 CNU503균주와 CNU554균주는 -0.7MPa조건에서 pH가 낮아질수록 생장률이 높았으나 -4.2MPa의 조건에서는 이와는 반대의 현상이 일어났다. CNU518균주와 CNU530균주는 -0.7MPa에서 균사 생장률이 pH의 영향을 거의 받지 않았으나 CNU518균주는 삼투수분압이 낮은 조건에서 pH 6에서, CNU530균주는 pH 5에서 균사 생장률이 가장 높았다(그림 26). 일반적으로 pH는 균이 생장하는데 필요한 영양분(예를 들어 당과 아미노산)을 흡수하는데 영향을 미치므로 매우 중요한 환경요인중 하나이다. *Trichoderma*속 균의 생장은 대체적으로 pH 4에서 6.5사이에서 최적을 나타낸다고 하였는데(Klein과 Eveleigh, 1998) 본 실험결과 *Trichoderma*속 균이 삼투수분압의 변화에 따라 균사생장을 위한 최적 pH가 변하는 것으로 나타났다. 따라서 푸른곰팡이병균이 쉽게 발생할 수 있는 배지의 pH는 배지의 수분 조건에 따라 변하는 것으로 추정할 수 있다.

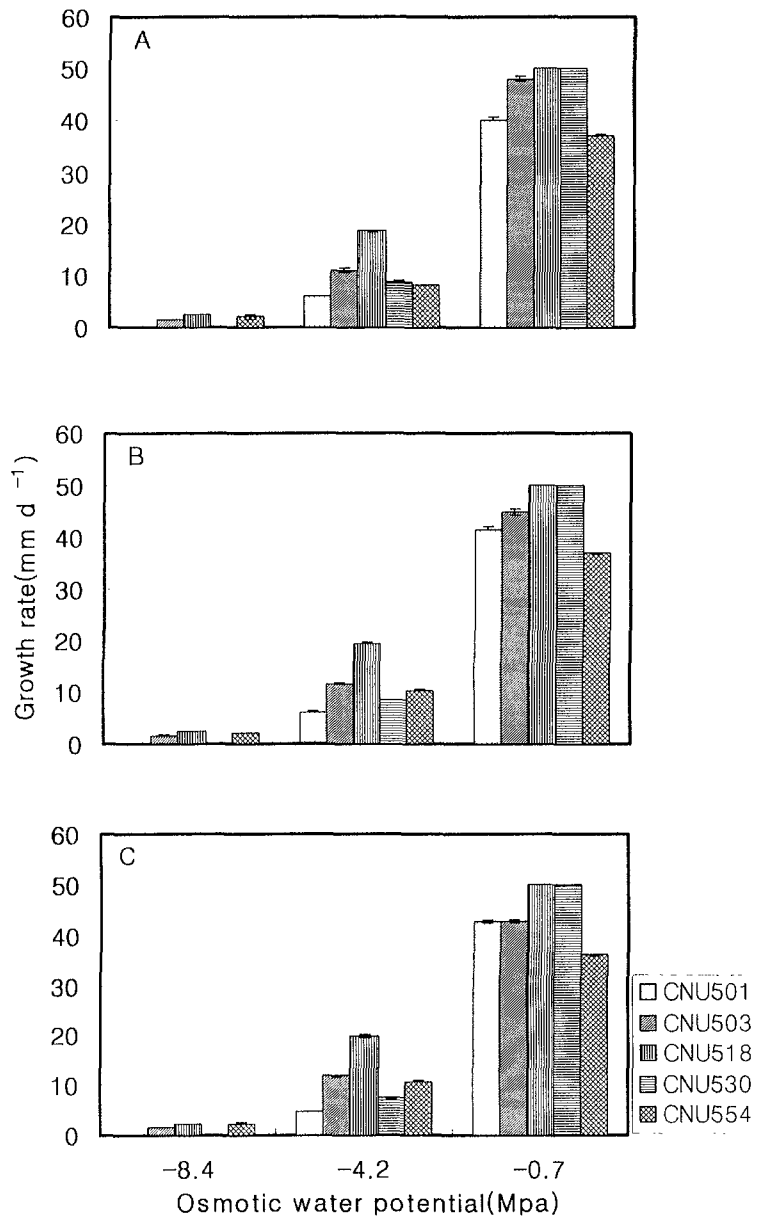


Fig. 26. Effect of osmotic water potential adjusted with KCl and pH(A: pH 4, B: pH 5 and C: pH 6) on growth rate at 25°C of *Trichoderma* spp. on MEA.

2) 폐솜 배지의 수분함량이 푸른곰팡이병균의 발생에 미치는 영향

느타리의 재배 성공 여부는 느타리 균의 활력이 강한 균상을 만드는 일, 즉 균사의 생장 상태에 달려 있다는 것은 널리 알려진 일반적인 사실이다. 균사의 생장을 양호하게 하기 위해서는 온도 관리 못지 않게 중요한 것이 배지의 상태라고 할 수 있다. 느타리 재배용 배지는 대량으로 준비하기 때문에 균일한 수분의 조절이 매우 힘들어 실제로 한 농가에서 동시에 제조한 배지도 균상에 따라 함수율이 10% 이상 차이나는 경우가 많고 심한 경우에는 20% 이상 차이나는 경우도 있었다(표 39).

Table 39. Moisture content (%) of waste-cotton substrates according to mushroom bed site after low-temperature sterilization and composting in oyster mushroom house

Bed site from upper bed	Moisture content (%)					
	The first house			The second house		
	min.	ave.	max.	min.	ave.	max.
1	62.6	70.8±5.8	74.5	67	70±2.1	72
2	72.5	73.7±1.0	74.9	70	71±0.5	71
3	74.6	75.3±0.7	76.2	70	72±1.3	73
4	77.8	79.6±2.0	82.6	72	74±2.1	76
Ave.		75.0±4.0			71.8±2.5	

충남 연기군 A 농가의 재배사에서 조사한 바에 의하면 제 1 및 2 재배사 모두 수분함량이 약간 높은 경향을 보였으나 제 2 재배사의 경우 최소 67%에서 최대 76%로 오차 10% 이내의 함수율을 보여 비교적 균일하였다. 그러나 제 1 재배사의 경우 평균 함수율도 높고 최소치와 최대치의 오차도 20% 이상으로 매우 높았다. 제 1 재배사의 4단의 경우 82.6%의 함수율인

관상 부위는 느타리 균사 생장이 매우 불량하여 다른 부위의 느타리 균이 모두 활착 된 15일 후에도 느타리 균사가 활착되지 않았고(그림 27의 좌), 자실체 유도기에는 이미 푸른곰팡이 병에 감염되어(그림 27의 우) 자실체를 전혀 발생시킬 수 없었다. 즉 배지의 수분 함량이 높으면 공극율이 나빠지고 산소의 공급이 원활하지 못하여 결과적으로는 느타리의 균사생장이 나빠지고 푸른곰팡이 병균의 감염 원인을 제공할 수 있다.

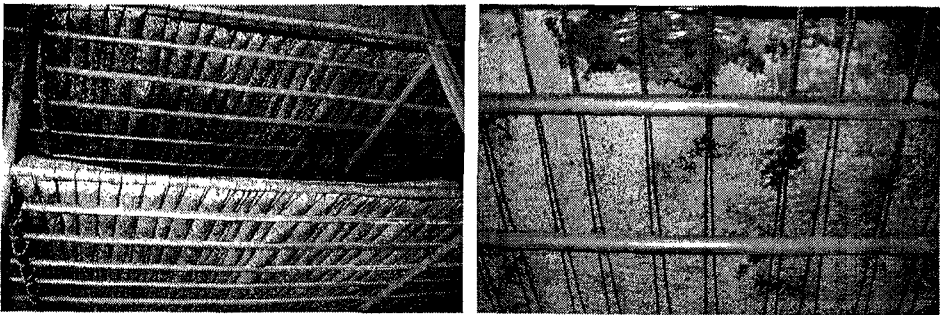


Fig. 27. Mycelial growth of *P. ostreatus* cultivar Weonhyung on the waste cotton substrates containing excessive water content (Left : mycelial growth of upper mushroom bed was bad; mycelial growth of below mushroom bed was good, right : contaminated with *Trichoderma* sp.)

느타리 균의 균사 생장과 푸른곰팡이병 균의 발생에 미치는 배지의 수분 함량과 pH의 영향을 조사하기 위하여 폐쇄 배지의 수분함량을 50에서 80% 까지 조절하고 pH를 4.0에서 7.0까지 조절하여 시험관에 약 15g씩 넣은 후 느타리 균과 *Trichoderma* 균을 접종하여 12일간 배양하였으며 균사생장과 푸른곰팡이 병균의 발생을 조사한 결과는 표 40과 같다.

느타리 균의 균사생장은 pH 5.0에서 6.0, 그리고 수분함량 60에서 70%의 배지에서 가장 양호하였고 함수율 80%의 배지에서는 pH에 관계없이 균사



생장이 매우 저조하였다. 배지의 수분함량이 60%일때 균사 생장이 가장 양호하였으나 균사 성장 후의 재배 과정에서 균상의 건조를 고려하면 재배사에서는 70%가 바람직 한 것으로 사료된다. 그러나 수분함량이 80%가 되면 극도로 균사생장이 저조해지기 때문에 주의해야 한다. 한편 본 실험에 공시한 *Trichoderma* sp.의 푸른곰팡이병 균은 정도의 차이는 있으나 모든 pH와 수분 범위에서 발생하였고 특히 배지의 수분함량이 높은 경우에는 발생이 심하였다.

Table 40. Effect of moisture content (%) and pH on mycelial growth of *P. ostreatus* and occurrence of *Trichoderma* spp.

Moisture content (%)	pH 4.0		pH 5.0		pH 6.0		pH 7.0	
	MG <sup>1)</sup>	OT <sup>1)</sup>	MG	OT	MG	OT	MG	OT
50	22.7±5.2	+	62.7±7.2	+	65.3±7.2	+	38.7±7.3	+
60	23.3±4.6	+	95.6±3.6	+	93.4±5.6	+	44.6±5.9	+
70	17.5±4.6	+	90.2±6.6	+	88.6±9.7	+	42.7±7.6	+
80	12.6±2.3	++	43.3±4.3	++	38.3±8.6	++	35.3±5.3	+

<sup>1)</sup> MG : Mycelial growth in mm, Occurrence of *Trichoderma*: +; weakly, ++; severe

#### 다. 배양 및 재배 온도가 푸른곰팡이병의 발생에 미치는 영향

1) 배양온도가 푸른곰팡이병균의 균사생장에 미치는 영향

배양 온도가 푸른곰팡이병의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 15℃에서 42℃까지 조절된 항온기에 *Trichoderma*속 균을 접종하여 균사생장을 조사한 결과는 그림 28과 같다. 공시균주 중 CNU518균주는 모든 온

도조건에서 균사생장이 가장 좋았으며 37℃에서도 28℃와 같은 높은 균사생장을 나타냈다. 그러나 CNU518균주의 배양 온도를 42℃로 상승시키면 균사생장이 정지되었다. CNU503균주는 15~25℃까지 균사 생장이 일정하게 증가하였으나 25℃이상에서는 균사생장이 저하되는 경향을 나타냈다. CNU530균주는 15~20℃사이에서는 다른 공시균주에 비하여 완만한 생장을 나타냈으나 20~25℃사이에서 균사생장이 급격히 증가하였다. 공시균주들은 모두 25~28℃에서 가장 좋았으며 CNU518균주는 모든 온도 조건에서 균사생장이 다른 공시균주와 비교해 양호하였으며 그 중 CNU501균주의 생장이 가장 미약하였다 (그림 28).

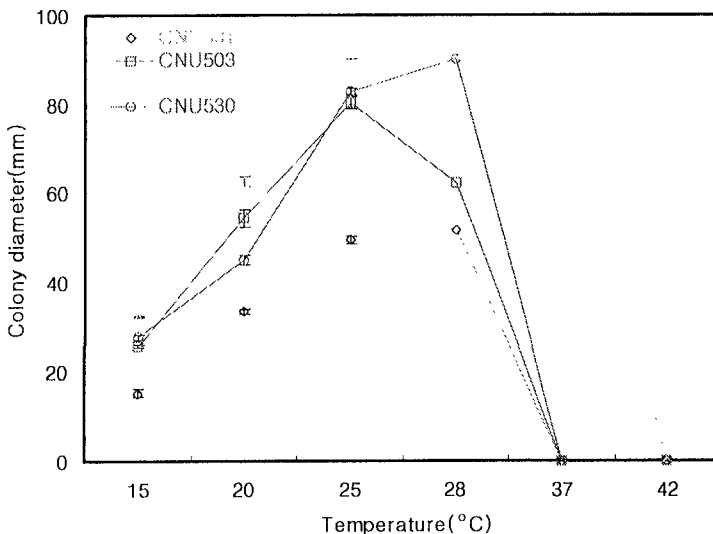


Fig. 28. Mycelial growth of *Trichoderma* spp. at different temperatures after 2 days culture on PDA.

2) 배지 및 제배사 내부의 온도조절에 의한 푸른곰팡이병 발생 억제

1:타리 제배사 제배사 및 배지의 최적 온도는 통상 품종에 따라 약간 다

르나 일반적으로 균사 배양시에는 25℃ 전후, 자실체 유도기에는 13에서 15℃의 낮은 온도에서 하온 처리를 하고, 자실체 생육은 18℃ 전후에서 수행한다. 균사 배양시에는 균사의 호흡열로 인하여 균상의 온도가 30℃이상으로 상승하는 경우가 있는데 이러한 경우 느타리 균사의 성장 저해는 물론 푸른곰팡이 병의 발생을 유도하여 재배에 실패하는 경우가 많다. 본 연구에서는 배지의 온도가 느타리 균의 성장과 *Trichoderma*속 균의 발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배지의 온도를 15에서 30℃까지 조절한 배지에 느타리 균을 접종하여 균사 성장을 조사하였고 재배사의 온도를 15, 20, 25, 30℃로 조절하여 각각 10일씩 자실체 유도 혹은 생육을 시키면서 푸른곰팡이 병의 발생을 조사하였다(표 41). 폐쇄 배지에서의 느타리 균의 균사 생장은 25℃에서 가장 좋은 성장을 보였고 15℃에서는 매우 저조하였다. 그러나 푸른곰팡이 병은 15℃에서는 10일간 전혀 발생하지 않았고, 온도가 높아짐에 따라 발생 시기가 빨라지고 발생량도 증가하였다. 따라서 푸른곰팡이 병의 발생을 최대한 억제하기 위해서는 재배기간 중 재배사의 온도를 가능한 낮게 유지해야만 한다.

Table 41. Effect of temperature on mycelial growth of *P. ostreatus* and occurrence of *Trichoderma* spp.

Temperature (°C)	Mycelial growth of <i>P. ostreatus</i>	Occurrence of <i>Trichoderma</i>
15	36.5±12.3	- <sup>1)</sup>
20	52.8±6.5	+
25	103.7±9.7	++
30	98.3±7.6	+++

<sup>1)</sup> - : non, + : weakly, ++: moderate, +++ : severe

#### 라. 재배환경조건에 의한 푸른곰팡이병 억제효과 검증

현재 국내에서 실시하고 있는 느타리 재배 방법은 재배사의 구조, 배지의 종류, 재배 품종의 차이만 약간 있을 뿐 거의 모든 재배가 획일적인 방법으로 이루어지고 있어 병의 확산도 빠르고 그 피해도 심각한 것으로 추정된다. 본 연구에서는 농촌진흥청 응용미생물과 연구팀에 의해 개발된 느타리 유공 비닐 멀칭 재배법을 응용하여 느타리 균상재배를 실시하면서 푸른곰팡이병 발생 억제효과와 병 발생시 방제법을 검토하기 위하여 멀칭 재배법과 관행 균상재배를 하나의 재배사에서 실시하였다(그림 29). 멀칭 재배의 경우 병 발생 시 병의 확산이 멀칭 하지 않은 경우보다 매우 느리게 진행되어 병의 확산을 효과적으로 억제할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 자실체도 2~3일 빠르게 유도되었고, 배지의 함수율도 재배 말기까지 안정되게 유지되었다. 전체적인 자실체의 수량성과 품질은 일반적인 균상 재배와 멀칭 재배간의 큰 차이가 없었으나 멀칭재배의 경우 1주기에서 4주기까지 비교적 일정한 양이 생산되었다(표 42).



Fig. 29. Comparison between vinyl-covered and non-covered mushroom bed on yield and occurrence of green mould disease.

Table 42. Effect of vinyl covered cultivation on occurrence of green mould disease and yields of oyster mushroom

		Vinyl covered	Non-covered
Area of green mould disease (%)		2.3	17.0
Yield (Kg/3.3m <sup>2</sup> )	First flush	13	16
	Second flush	15	8
	Third flush	12	6
	Fourth flush	8	3
Total		48	33

#### 4. 생물학적 방제

##### 가. 길항세균 선발 및 방제 효과

본 연구에서는 환경 친화적 생물학적 방제를 시도하기 위하여 재배사의 균상, 토양 등에서 50여 균주의 세균을 분리하여 *in vitro*에서 *Trichoderma* 속 균과 *Hypocrea* 속 균의 포자발아와 균사생장을 억제하는 항균활성을 보이는 CNU 44-1 등 세균 5균주를 분리하였다. 길항세균의 분리는 토양과 재배사 등지에서 채집한 시료를 희석평판법으로 PDA배지에 도말하여 풍건시킨 후 *Trichoderma*의 포자현탁액을 도말하여 25±1℃에서 3일간 배양한 후 저지환이 형성(그림 30)되는 세균을 분리하였다.

희석평판법에 의해 분리된 세균은 푸른곰팡이병의 원인이 되는 4종의 *Trichoderma* 균과 대치배양하여 길항효과를 검정하여 *Trichoderma* 속 균을 효과적으로 억제하고(그림 31 A), 느타리 균사생장에 영향을 주지 않는(그림 31 B) 길항세균 CNU 44-1을 분리하였다. CNU 44-1은 농가의 배지 살균 온도 이상인 70℃에서도 사멸하지 않아 *Bacillus* 속 세균으로 추정되며

배지 살균 전에 배지에 처리하면 푸른곰팡이병의 예방효과가 있을 것으로 사  
료된다.

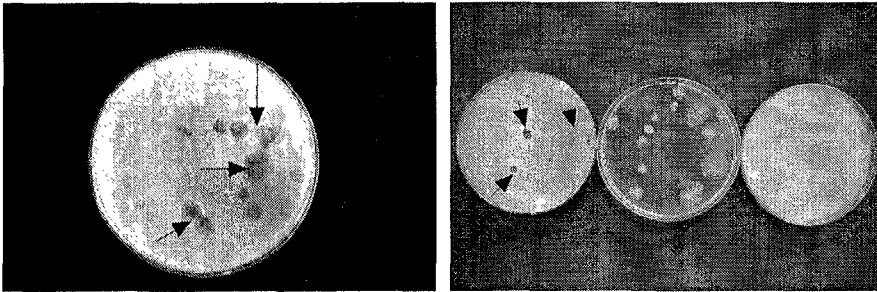


Fig. 30. Dilution plate method for isolation of antagonistic bacteria against to *Trichoderma* spp. Arrowheads show inhibition zone by anti-Trichodermal bacteria.

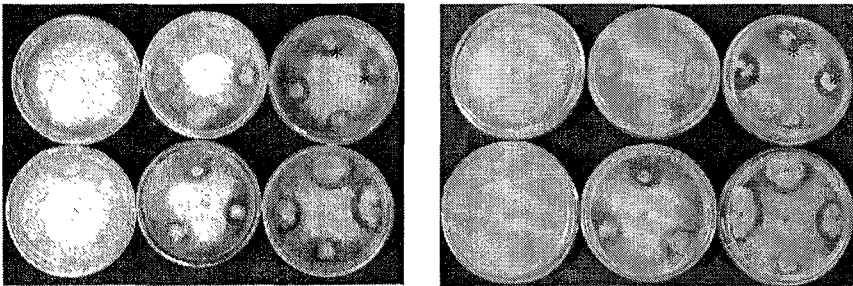


Fig. 31. Test of anti-Trichoderma activities on the PDA media (Marked bacteria show CNU 4l-1).

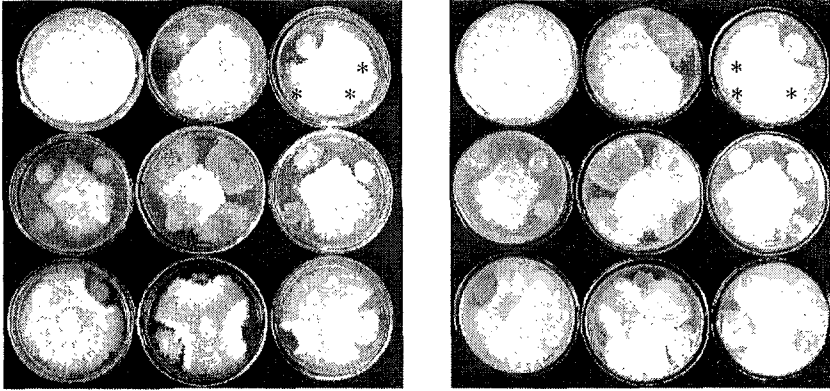


Fig. 32. Effect of anti-Trichoderma bacteria on the mycelial growth of *P. ostreatus* cultivar Weonhyeung (Marked bacteria show CNU 44-1).

본 연구에서 분리된 세균 CNU 44-1은 고사리 균사에는 항균활성을 보이지 않고 선택적으로 *Trichoderma*속 균과 *Hypocrea*속 균의 균사 성장과 포자 발아를 억제하는 특성을 가지고 있고, 특히 *Hypocrea*속 균의 균사 성장 억제 효과가 탁월해(그림 32) 배지 살균전 처리에 의해 *Hypocrea*의 예방제로 효과적으로 사용할 수 있을 것으로 기대 되고, 본 연구에서는 농가 실증 실험을 통하여 그 효과를 확인하였다. (103~113쪽 참조)

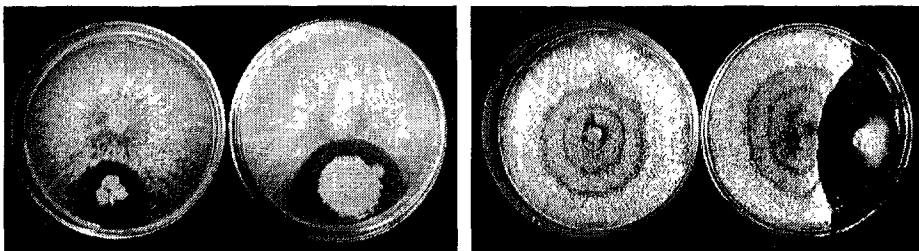


Fig. 33. Anti-Trichoderma (left photo) and -Hypocreal (right photo) activities of CNU 44-1.

## 제 4 절 적요

노타리비섯 균상에 발생하여 막대한 피해를 주는 *Trichoderma*와 *Hypocrea*속 균에 의한 푸른곰팡이병의 효과적인 방제법은 개발하기 위하여 살균제 및 저공해 소독제를 이용한 화학적 방제, 배양 온도, 배지의 수분조절, 재배법 개선에 의한 경종적 방제 그리고 길항세균을 이용한 생물학적 방제를 검토하였으며 농가 실증재배를 통하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 푸른곰팡이병 방제 약제를 선별하기 위하여 *Trichoderma*속 균의 균사생장과 포자발아 억제 효과를 조사한 결과 prochloraz, thiabendazole, 그리고 benomyl을 푸른곰팡이병의 방제 약제로 선별하였다. Prochloraz은 시판 약제 중 푸른곰팡이병균의 균사생장을 가장 효과적으로 억제하였고, prochloraz, benomyl, probineb은 benomyl 감수성균, chlorothalonil은 benomyl 저항성균의 포자발아 억제 효과가 높았다. 무(저)공해 소독제 중에서 목초액과 식초는 푸른곰팡이병균의 균사생장 억제 효과가 매우 미약하였으며, 개변활성제는 포자발아 억제효과가 높았다.

2. 선별된 살균제는 배지살균전 처리 혹은 살균제로 수분 조절을 한 경우가 예방 및 방제효과가 가장 좋았고 재배기간 중 *Hypocrea*의 stroma가 발생하지 않았다. 종균접종 직후 살균제 처리는 약해가 우려되었고 이미 푸른곰팡이병균이 오염된 경우에는 prochloraz이외의 살균제는 효과가 없었다. 또 노타리 균사 활착 후 푸른곰팡이병이 발생한 균상에서 prochloraz와 thiabendazole은 각각 78.5%와 70.9%의 병 억제 효과를 보였으나 benomyl



은 억제 효과가 없었다.

3. 배지 조제시 살균제로 배지의 수분을 70%로 조절한 배지에 느타리균을 배양한 결과 prochloraz는 250 ppm에서는 균사생장 억제가 미약하였으나 500 ppm과 thiabendazole, benomyl을 처리한 경우는 균사생장을 40% 이상 억제하였다. 배지에 prochloraz을 250ppm 첨가하면 초발이 일수가 6일 단축되었고 버섯의 수량도 약 10% 이상 증가하였으며 자실체의 형태도 정상적이었다. Thiabendazole과 benomyl을 처리한 경우에도 수량 감소는 없었다. Prochloraz를 처리한 배지에서는 무살균으로도 버섯이 정상적으로 발생하였으나 thiabendazole과 benomyl을 처리한 경우에는 모든 처리구에서 *Trichoderma*가 발생하여 예방 효과는 없었다.

4. 공시한 각 살균제의 사용권장 농도인 prochloraz 500 ppm, thiabendazole 200 ppm 그리고 benomyl 500 ppm을 자실체에 처리하면 심각한 약해를 보였다.

5. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 온도는 25~30℃였으며, 재배기간 중 재배사의 균상 온도 20℃ 이상에서는 *Trichoderma*가 발생하였으나 15℃에서는 발생하지 않았다.

6. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 pH는 pH 4~5였으며 최적 성장 수분 조건은 -0.2~-0.7MPa이었다. 재배사에서 농가관행 살균법으로 살균하면 배지의 수분 함량이 균상의 상단으로 갈수록 높아졌으며 느타리 균의 생장이 심하게 저해 당하였고 푸른곰팡이에 의한 오염도 심하였다.

7. 비닐 멀칭재배는 푸른곰팡이병 발생 억제효과가 있었으나 버섯의 수량에는 큰 차이가 없었다.

8. 분리된 세균 CNU 44-1은 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea* sp.의 균사생장을 효과적으로 억제하였고, 배지 살균전 길항세균 CNU 44-1 처리한 경우 약 10%의 노트리 버섯 균사생장 억제를 보였으나 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea*의 stroma는 발생하지 않았다. 푸른곰팡이가 발생한 균상에서 CNU 44-1의 방제효과는 미약하였으나 자실체의 수량과 품질에 영향을 미치지 않았으며 70℃에서도 내열성을 보여 푸른곰팡이병 예방제로 적용이 가능할 것으로 사료된다.

## 제 4 장 화학적 방제시 처리한 농약의 버섯 잔류 분석

### 제 1 절 서언

버섯은 저공해·건강식품으로 오래 전부터 알려져 있었고 최근에는 버섯에서 분리한 천연물질이 각종 성인병 등에 효과가 있는 것으로 알려져 일반인의 관심이 높아지고 있고 그 소비가 급격히 증가하고 있다. 일부 버섯에서 추출한 천연물질은 드링크제, 항암제, 감염치료제 등으로 개발되어 시판되고 있고 일부 버섯은 항암치료 효과가 있는 것으로 알려져 매우 높은 가격에 판매되고 있다. 이와 같이 약용으로 사용하는 버섯의 일부는 자연산을 이용하고 있으나 공급량이 그 수요에 미치지 못하기 때문에 버섯류의 많은 량을 인공재배에 의해서 충당하고 있다. 버섯은 식품으로서의 가치도 매우 높고 농가의 고소득 작목으로 인식되면서 매년 소비량과 생산량이 급증하고 있고, 인공재배되고 있는 버섯의 종류도 매년 증가하고 있다.

인공재배되고 있는 버섯의 생활형은 거의 모두가 부생형(양송이, 신령 등)이거나 목재부후균(영지, 느타리, 표고 등)과 같은 기생형으로 인공재배를 위한 배지 재료도 볏짚, 폐송, 미강과 같은 농산부산물과 톱밥 등과 같은 입산부산물을 이용하고 있다. 버섯의 인공재배에 사용되는 기질은 버섯이 생활하는데 훌륭한 영양원으로 작용을 하는데 이들은 또 버섯류에 병을 일으키는 진균의 영양원이 될 수 있다. 또 *Trichoderma*속 균과 같은 진균기생형 병원균은 버섯과 버섯 균상을 구성하는 균사를 직접 가해하여 영양원을 섭취하기 때문에 거의 모든 버섯에서 재배시 *Trichoderma*속 균에 의한 피해

가 매우 심각하다.

이렇게 버섯 재배시 많은 피해를 주고 있는 *Trichoderma*속 균의 방제를 위하여 국내외에서 버섯균사에는 피해가 미약하나 병원진균을 효과적으로 방제할 수 있는 살균제가 개발되어 보급되고 있다. 현재 국내에서 버섯의 진균병 방제 및 예방에 사용이 허용된 살균제는 benomyl, thiabendazole, prochloraz이 등록되어 있고, 본 연구 결과에 의하면 이들 약제가 느타리버섯 푸른곰팡이병의 예방 및 방제에 효과적으로 사용될 수 있는 약제로 선발되었으며, 일부 약제는 농가에서 오래 전부터 사용하고 있다.

농산물 생산에서 농약의 사용은 환경 오염, 잔류 독성, 약해 등 많은 문제를 야기하고 있기 때문에 최근에는 생물농약의 사용, 재배법 조절에 의한 경종적 방제, 병저항성 품종의 육성 등을 통하여 가급적 화학농약의 사용을 피하고 있고, 또 최근에 정부기관에서는 식품 및 의약품재료의 안정성을 확보하기 위하여 생산된 농산물의 잔류 농약을 철저히 감시·규제하고 있다.

인공 재배되고 있는 대부분의 버섯이 식품위생법상 식품으로 분류되어 있기 때문에 재배시 사용하는 농약의 잔류여부는 심각한 결과를 초래할 수 있다. 식용으로 생산되는 버섯은 거의 대부분이 특별한 2차 가공 공정이 없고, 버섯의 특성상 매우 빠르게 유통되고 있기 때문에 화학농약의 사용과 잔류는 소비자의 건강을 심각하게 훼손할 우려가 있다.

따라서 본 연구에 공시하여 푸른곰팡이병의 예방 및 방제에 효과가 있는 것으로 밝혀진 benomyl, thiabendazole, prochloraz과 같은 화학 농약의 버섯 잔류 여부는 이들 약제의 사용여부를 결정할 수 있을 정도로 매우 중요한 문제이기 때문에 약제를 처리한 균사에서 발생한 자실체의 약제 잔류여부를 약제 처리시기별, 농도별로 조사하여 약제의 안전성 여부를 검토하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

느타리버섯 균상에 발생하는 푸른곰팡이병을 예방 혹은 방제하기 위하여 본 연구에서는 prochloraz, thiabendazole 그리고 benomyl 수화제를 공시하여 배지 살균전 혹은 균사생장 후 자실체 유도기에 공시 약제를 상용농도 혹은 상용농도의 2배 희석액으로 처리하여 재배를 실시하였으며 각 처리구에서 발생한 자실체를 잔류분석 재료로 사용하였다.

### 1. 분석시료의 제조

#### 가. 판마시(thiabendazole) 처리구에서 발생한 자실체

공시시료(버섯) 10g에 ethylacetate 100ml를 가하여 homogenizer로 마쇄한 후 감압 여과하여 5N-NaOH 10ml를 가하여 분배한 후 감압 농축하여 10ml의 methanol에 재용하여 HPLC로 분석하였다.

#### 나. 베노밀(Benomyl) 처리구에서 발생한 자실체

공시시료(버섯) 10g에 ethylacetate 250ml를 가하여 homogenizer로 마쇄한 후 감압 여과하여 0.1N-HCl 10ml를 가하여 진탕 후 0.1N-NaOH와 1N-NaOH로 pH 6~7로 중화한 후 분배한 뒤 감압 농축하여 10ml의 methanol에 재용하여 HPLC로 분석하였다.

#### 다. 스포르곤(prochloraz manganes complex) 처리구에서 발생한 자실체

공시시료(버섯) 10g에 ethylacetate 150ml를 가하여 homogenizer로 마쇄한 후 2% ethylenglycol/acetone 용액 1ml를 첨가하고 6시간 동안 연속 추출한다. 피리미딘염산염 5ml를 넣고 1시간 가열 환류하고 감압 여과하여 dichloromethane으로 분배한 후 감압 농축하여 10ml의 n-hexane에 재용하여 GLC/ECD로 분석하였다.

## 2. 분석조건

### 가. 판마시(thiabendazole)

Column : C<sub>18</sub> 25cm

Flow rate : 0.01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:methanol(4:6), 1ml/min

Injection volume : 20 $\mu$ l

Detector : Flourence Detector(형광 310nm, 검출 350nm)

\* 위 조건에서의 thiabendazole의 retention time은 약 7.6~7.7분이었음

### 나. 베노밀(Carbendazim) : Benomyl은 식물체내 대사 및 분석과정에서 전 량 carbendazim으로 전환됨

Column : C<sub>18</sub>

Flow rate : 0.01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:methanol(4:6), 1ml/min

Injection volume : 20 $\mu$ l

Detector : Flourence Detector(형광 285nm, 검출 315nm)

\* 위 조건에서의 carbendazim의 retention time은 약 5.1분이었음

### 다. 스포르콘(2,4,6-trichlorophenol) : Prochloraz manganes complex (이 하 prochloraz로 칭함)를 추출과정에서 2,4,6-tri -chlorophenol로 전환시킴

Column : DB-1 30m  $\times$  0.25mm  $\times$  1.2 $\mu$ m

Temp. : Injector - 260 $^{\circ}$ C

Detector : 310 $^{\circ}$ C

Oven - Initial 180 $^{\circ}$ C (1min)

Ramp. 3 $^{\circ}$ C/min

Final 220 $^{\circ}$ C (10min)

Gas flow rate : 1.0ml/min(N<sub>2</sub> Gas)

Injection volume : 1 $\mu$ l

\* 위 조건에서의 2,4,6-trichlorophenol의 retention time은 약 8분이었음

### 3. 검량선 작성 및 회수율

#### 가. 판마시(thiabendazole)

Thiabendazole 0.1020g을 100ml methanol에 용해시켜 1,000ppm의 stock solution을 만든 후 이를 희석하여 1, 2, 10, 20, 30, 40ng의 농도로 working solution을 만든 후 HPLC에 주입하여 chromatogram에 나타난 peak의 높이를 기준으로 표준 검량선을 작성하였다.

#### 나. 베노밀(Benomyl)

Carbendazim 0.0100g을 100ml methanol에 용해시켜 100ppm의 stock solution을 만든 후 이를 희석하여 1, 2, 10, 20, 30, 40ng의 농도로 working solution을 만든 후 HPLC에 주입하여 chromatogram에 나타난 peak의 높이를 기준으로 표준 검량선을 작성하였다.

#### 다. 스포르곤(prochloraz)

2,4,6-trichlorophenol 0.1020g을 100ml n-hexane에 용해시켜 1,000ppm의 stock solution을 만든 후 이를 희석하여 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2ng의 농도로 working solution을 만든 후 GLC/ECD에 주입하여 chromatogram에 나타난 peak의 높이를 기준으로 표준 검량선을 작성하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 공시분석 조건에서 약제성분의 회수율

신뢰성 있는 분석조건을 결정하기 위하여 공시 약제를 0.5~2.5ppm 농도로 희석한 시료를 상기 재료 및 방법과 같이 HPLC 및 GLC/ECD로 분석하여 각 약제의 회수율을 조사한 결과(표 43) HPLC로 분석한 thiabendazole 0.5ppm과 2.5ppm은 각각 65.78%와 84.74%의 회수율을 보였고, benomyl은 각각 97.23과 80.84%의 회수율을 보였다. 또 GLC/ECD로 분석한 prochloraz는 1.0과 2.5ppm을 공시하였을 때 98.10와 100.07%의 회수율을 보여 이들 방법으로 버섯 중에 잔류하고 있는 약제의 검출이 충분히 가능한 것으로 판단되어 같은 방법으로 버섯 중에 잔류하고 있는 약제를 검량하였다.

Table 43. Withdrawal rate of chemicals by HPLC and GLC/ECD analysis

Chemical	Concentration (ppm)	Withdrawal rate (%)	Limited concentration of detectable (ppm)	Amount of minimum detection (ng)
Thiabendazole	0.5	65.78	0.05	0.1
	2.5	84.74		
Benomyl	0.5	97.23	0.05	0.1
	2.5	80.84		
Prochloraz	1.0	98.12	0.05	0.05
	2.5	100.07		



## 2. 약제처리 구에서 발생한 버섯의 잔류농도 분석

Procholraz, thiabendazole, benomyl 등을 처리한 균상에서 발생한 버섯에 함유되어 있는 약제의 잔류 농도를 조사하기 위하여 느타리버섯 푸른곰팡이병의 예방 및 방제법으로 본 연구(제 3장)에서 제시한 바와 같이 배지 제조 시 선발 약제로 수분 함량 65%(w/w)로 조절한 후, 배지를 살균 혹은 살균 과정을 거치지 않고 종균을 접종하여 균사 배양을 완료한 후 자실체를 유도하였다. 이렇게 약제로 수분 조절한 균상에서 발생한 자실체를 수확하여 약제의 잔류농도 조사 시료로 사용하였으며, 또 자실체 생육기간 중에 균상에 오염된 푸른곰팡이병을 방제하기 위하여 각 약제를 처리한 경우에는 약해가 나타나지 않은 자실체를 분석 재료로 이용하였다.

각 처리구에서 발생한 자실체를 분석한 결과(표 44) procholraz을 처리한 균상에서 발생한 자실체는 살균 유효성분 procholraz는 공시 시료 모두에서 검출 한계 농도인 0.095ppm 이하로 검출되었다. 또 thiabendazole와 benomyl을 처리한 균상에서 발생한 자실체에서는 균상에 처리한 경우보다 배지에 처리한 경우가 잔류 농도가 높았으나 이들 약제는 모두 식품의약품 안전청의 허용 기준보다 1/10 이상의 아주 적은 농도만 검출이 되었다(표 44와 45).

따라서 본 실험에 공시하여 푸른곰팡이병의 방제 약제로 제시한 3종의 약제는 농가 상용 농도인 200ppm(thiabendazole)과 500ppm(procholraz, benomyl)으로 처리하였을 경우에 약제 잔류에 의한 문제는 없는 것으로 판단된다.

Table 44. Fungicide residue in the fruit bodies of oyster mushroom harvested from the chemical treated mushroom bed

Chemicals	Concentration of treatment	Treatment period	Sterilization	Treated on	Residue (ppm)
Triabendazole	200 ppm	SP	no	Substrate	0.431~0.495
		IFB	-	MB	0.076~0.092
Benomyl	500 ppm	SP	no	Substrate	0.33~0.58
		IFB	sterilized	MB	0.12~0.19
Prochloraz	500 ppm	SP	no	Substrate	<0.095
	500 ppm	SP	sterilized	Substrate	<0.095
	250 ppm	SP	no	Substrate	<0.095
	250 ppm	SP	sterilized	Substrate	<0.095
	500 ppm	IFB	-	MB	<0.095

\* Detection amount of prochloraz = Residual concentration of 2,4,6-trichlorophenol ( $<0.05$ )  $\times$  1.906

\*\* SP : substrates preparation, IFB : inducing fruit body MB : mycelial bed

Table 45. Tolerance for fungicide residue in the mushroom

Chemicals	Tolerance (ppm)
Triabendazole	40.0
Benomyl	1.0
Prochloraz	2.0

\*식품의약품안전청 식품공전 (2000년), 595 쪽

## 제 4 절 적 요

느타리 푸른곰팡이병 예방 및 방제 약제로 선발된 prochloraz manganes complex, thiabendazole, benomyl의 잔류농도를 조사하기 위하여 공시약제로 수분 조절한 균상에서 재배하여 얻은 자실체와 자실체 생육기간 중에 살균제를 처리한 후 얻은 자실체의 살균제 잔류농도를 조사한 결과는 다음과 같다.

1. GLC/ECD로 분석한 prochloraz는 65.78에서 84.74% 회수율을 보였고, 버섯배지에 첨가하여 발생시킨 자실체와 자실체 생육기에 균상에 처리하여 얻은 자실체가 모두 검출 한계 농도 (0.095 ppm) 이하의 잔류 농도를 보였다.

2. HPLC로 분석한 thiabendazole과 benomyl은 80.84에서 100.07%의 높은 회수율을 보였고, thiabendazole 200 ppm을 배지에 첨가하여 얻은 자실체는 0.431~0.495 ppm, 자실체 생육기에 균상에 처리하여 얻은 자실체는 0.076~0.092 ppm이 잔류되었다. Benomyl도 thiabendazole과 비슷한 결과를 보였으며 500 ppm을 배지에 첨가하여 얻은 자실체는 0.33~0.58 ppm, 자실체 생육기에 균상에 처리하여 얻은 자실체는 0.12~0.19 ppm이 잔류되었다.

3. 버섯의 살균제 잔류 농도를 조사한 결과 본 연구에서 제시한 약제 처리방법과 농도로 재배하여 얻은 자실체의 살균제 잔류는 식품의약품안전청에서 제시한 잔류허용 기준 이하로 식품으로서의 안전성이 확인되었다.

## 제 5 장      결론

노타리버섯 균상에 발생하여 막대한 피해를 주는 *Trichoderma*와 *Hypocrea*속 균에 의한 푸른곰팡이병의 종합방제법을 개발하기 위하여 푸른곰팡이병이 발생한 노타리버섯 균상에서 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea* spp.를 분리하였고, 이들의 형태학적 특징과 배양적 특징을 기준으로 동정하였다. 또 푸른곰팡이병의 예방 및 방제의 기초 자료를 얻기 위하여 푸른곰팡이병균의 발생생태와 병원성, 약제저항성 균의 발생과 그 생물학적 특징, 그리고 푸른곰팡이에 대한 노타리 품종의 저항성을 조사하였으며, 가장 효과적인 방제법을 개발하기 위하여 살균제 및 저장해 소독제를 이용한 화학적 방제, 배양 온도, 배지의 수분조절, 제배법 개선에 의한 경종적 방제 그리고 길항세균을 이용한 생물학적 방제를 검토하였으며 이들 결과를 토대로 농가 실증재배를 실시하였다. 또 노타리 푸른곰팡이병 예방 및 방제 약제로 선발된 prochloraz manganese complex (이하 prochloraz로 칭함), thiabendazole, benomyl을 균상 혹은 배지에 처리했을 경우 버섯에 잔류되는 농약 성분을 분석한 결과는 다음과 같다.

1. 푸른곰팡이병이 발생한 노타리버섯 균상에서 총 110균주의 *Trichoderma*속 균과 19균주의 *Hypocrea*속 균을 분리하였다. 분리된 *Trichoderma*속 균은 *Trichoderma* sp., *T. viride*, *T. koningii*, 그리고 *T. harzianum*로 동정되었다. 이들 중 *Trichoderma* sp.는 형태적으로 *T. virens*와 유사하나 molecular marker를 이용한 phylogeny 분석에서는 *T. harzianum* group에 속하는 균으로 정확한 종의 동정을 위하여 형태적 분류 뿐 아니라 분자생물학적 분류에 관한 연구가 추가로 수행되어야 할 것이다.

2. 느타리 푸른곰팡이병의 원인이 되는 *Trichoderma*속 균은 조사 대상 7개도 22개 시군의 모든 느타리 재배사에서 분리되었고, 버섯 재배용 배지로 사용되고 있는 폐솜, 벗짚, 톱밥 등 모든 배지 재료에서 분리되었다. 지역과 배지 재료에 따라 분리 빈도는 약간의 차이를 보였으나 우점종은 *Trichoderma* sp.이었다.

3. 푸른곰팡이병균은 재배기간 중 살균 및 후발효 후의 재배사 내부에서만 검출되지 않았을 뿐 전 재배기간 중에 재배사 내외부에서 검출되었고, 버섯 유도기 이후 재배사 내부 공기 중의 푸른곰팡이병균의 밀도와 균상의 오염과의 상관 관계는 낮았다. 또 재배 기간 중 종균접종시에 푸른곰팡이병에 오염될 확률이 가장 높고 피해도 가장 심하였다.

4. *Hypocrea*속 균은 갈색형 stroma를 형성하는 *Hypocrea* sp. 1과 백색형 stroma를 형성하는 *Hypocrea* sp. 2, 2종이 느타리버섯 균상에 발생하였으며 *Hypocrea* sp. 1은 균상에서 불완전세대로 오염되며 방제 약제를 처리하면 완전세대인 stroma가 형성된다. 한편 *Hypocrea* sp. 2는 완전세대로 균상에 오염되며 균상표면에서 stroma가 발견되었을 경우에는 균상 내부까지 모두 오염되어 있기 때문에 방제가 불가능한 경우가 많았다.

5. 분리된 푸른곰팡이병균의 한천배지 혹은 폐솜배지에서의 느타리 균에 대한 병원성은 *Trichoderma* sp.가 가장 강하였고, 배양온도와 밀접한 관계가 있어 28℃에서 모든 *Trichoderma*속 균이 느타리 균을 우점하였다. 느타리버섯 균사는 *Trichoderma*속 균의 균사에 의해 생장이 정지되었고 coiling과 용균현상에 의해 피해를 받는 것으로 밝혀졌다.

6. 느타리 품종의 푸른곰팡이병 저항성 검정을 실시하였던 바 *P. sajor-caju* 품종인 삼복과 여름느타리에서는 *Hypocrea*의 stroma가 발생하지 않아 저항성을 보였으나 *P. ostreatus*에 속하는 품종은 모두 *Hypocrea*의 stroma와 *Trichoderma*가 발생하여 저항성이 없는 것으로 밝혀졌다.

7. 느타리버섯 재배사에서 분리한 푸른곰팡이병균 중 약제 저항성균의 출현율을 조사하였던 바 분리 균 중 32.6%의 균주가 benomyl 저항성, 9.7%의 균주가 prochloraz manganes complex (이하 prochloraz로 칭함) 저항성 그리고 21.5%가 thiabendazole 저항성 균주로 밝혀졌다. 충북 지역에서 분리된 균주 중 benomyl과 prochloraz 저항성 균이 각각 60%와 45.4%가 분리되어 가장 높은 비율을 보였다. 또, 폐쇄에서 분리한 균주의 benomyl 저항성 균주 분리빈도(46.5%)가 벗짚(11.7%)과 톱밥(22.2%)에서 보다 높았고, thiabendazole 저항성 균주도 27.2%로 가장 높았다. *Trichoderma* sp. 58개 균주 중 24개 균주(41.3%)가 benomyl 저항성균 이었고, 36개 균주 중 12개 균주(33.3%)가 thiabendazole 저항성균 이었으나 prochloraz 저항성균은 검출되지 않았다.

8. 푸른곰팡이병 방제 약제를 선별하기 위하여 *Trichoderma*속 균의 균사생장과 포자발아 억제 효과를 조사한 결과 prochloraz가 시판 약제 중 푸른곰팡이병균의 균사생장을 가장 효과적으로 억제하였다.

9. 선별된 살균제는 배지살균전 처리 혹은 살균제로 배지의 수분 조절을 한 경우가 *Trichoderma*와 *Hypocrea*의 예방 및 방제효과가 가장 좋았다. 푸른곰팡이병균이 오염된 균상에서도 prochloraz 처리구는 푸른곰팡이를 완전히 억제하였으나 thiabendazole 및 benomyl 처리구는 억제 효과가 낮았다.

그러나 종균 접종 직후의 살균제 처리는 약한 약해가 나타났다. 느타리 균사 활착 후 푸른곰팡이병이 발생한 균상에서 prochloraz와 thiabendazole은 각각 78.5%와 70.9%의 병 억제 효과를 보였으나 benomyl은 억제 효과가 매우 낮았다.

10. 무(저)공해 소독제 중에서 목초액과 식초는 푸른곰팡이병균의 균사생장 억제 효과가 매우 미약하였으며, 계면활성제는 푸른곰팡이병 균의 포자발아 억제효과가 높았으나 공시한 무(저)공해 소독제는 재배실험에서 방제효과의 재현성이 결여되어 방제약제로의 적용은 효과가 없는 것으로 판단된다.

11. 배지 살균 전 약제처리 (살균제 용액으로 배지의 수분을 조절)가 버섯 생육에 미치는 영향을 조사하였던 바 prochloraz 250ppm 처리구에서 초발이 일수가 6일 단축되었고 버섯의 수량도 약 10% 이상 증가하였다. Prochloraz 처리구에서는 무살균 배지에서도 푸른곰팡이병의 피해 없이 정상적으로 버섯이 발생하였으나 thiabendazole과 benomyl 처리구에서는 무살균 배지의 경우 푸른곰팡이병이 극심하여 버섯이 발생하지 않았다. 그러나 이들 약제를 자실체에 직접 분무하면 모든 처리 구에서 약해가 발생하였으므로 자실체 발생 이후에는 약제 방제를 피해야 한다.

12. 살균제 처리의 푸른곰팡이병 예방 및 방제 효과를 확인하기 위한 농가 실증 시험을 2001년 7월부터 9월까지 실시하였다. 배지 조제시(살균전)의 살균제 처리 효과를 조사하기 위하여 약제 처리 후 푸른곰팡이 오염 종균을 접종하였던 바 prochloraz (500, 250 ppm) 처리구는 푸른곰팡이의 발생이 극히 적었고 무처리구의 균상 표면에 발생한 푸른곰팡이도 prochloraz 처리로 완전 방제가 가능하였다. 그러나 thiabendazole과 benomyl 처리구는 푸른곰

팡이의 발생이 많았고 균상 표면에 발생한 푸른곰팡이에 대한 방제 효과도 매우 낮았다.

13. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 온도는 25~30℃이었으며, 재배기간 중 재배사의 균상 온도 20℃ 이상에서는 *Trichoderma*가 발생하여 균상에 피해를 주었으나 15℃에서는 발생하지 않았다. 푸른곰팡이병의 균사생장 최적 pH는 pH 4~5였으며 최적 성장 수분 조건은 -0.2~-0.7MPa이었다.

14. 농가 관행재배에서 살균과정 중 배지의 수분 함량은 균상의 상단으로 갈수록 높아졌으며 푸른곰팡이에 의한 오염도 심하였다. 또, 비닐 멀칭 재배는 푸른곰팡이병 발생 억제효과가 있었으나 수량에는 큰 차이가 없었다.

15. 길항 세균 CNU 41-1은 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea* sp.의 균사생장을 효과적으로 억제하였고, 배지조제 시 길항세균 CNU 41-1을 처리한 경우 *Trichoderma* spp.와 *Hypocrea*의 stroma는 발생하지 않았으나 느타리버섯의 균사생장이 약 10% 억제되었다. 푸른곰팡이가 발생한 균상에서 CNU 41-1의 방제효과는 미약하였으나 자실체의 수량과 품질에 영향을 미치지 않았으며 70℃에서도 내열성을 보여 푸른곰팡이병 예방제로 활용 가능성을 보여 주었다.

16. 살균제 처리구(배지 제조시 또는 균상)에서 수확한 버섯의 살균제 잔류량을 분석한 결과 prochloraz 처리구에서 수확한 버섯에서는 prochloraz가 검출되지 않았으며(검출한계 0.095 ppm), thiabendazole과 benomyl 처리구에서 수확한 버섯에서는 공시 약제가 극미량 검출되었으나 모두 버섯의 살균제 잔류허용기준 이하의 농도로서 식품으로의 안전성이 확인되었다.



## 제 6 장 인용문헌

- 김광포, 신관철, 박용환. 1979. 살균제 benomyl에 의한 양송이 마이코곤균 (*Mycogone pernicioso* Magn.)의 내성발현에 관한 연구. 농시보고 21: 33-38.
- 김명곤. 1985. *Trichoderma*속이 생산하는 항생물질이 느타리버섯균에 미치는 영향. 한국균학회지. 13(2): 105-109.
- 박용환, 고승주, 김동수. 1975. 벚짚을 이용한 느타리버섯 재배에 관한연구. 제1보. 배지재료에 관한 시험. 농시보고 17: 103-107.
- 신관철. 1987. 느타리버섯 벚짚 재배에 발생하는 유해균류. 한국균학회지. 15(2): 92-98.
- 심진엽. 2000. 느타리버섯 푸른곰팡이병균의 동정 및 생리·생태적 특징. 충남대학교 농과대학 석사학위 논문. 50pp.
- 이향범, Naresh Magan, 유승헌. 1999. *Aspergillus ochraceus*와 다른 저장균 간의 *in vitro* 상호작용 및 Niche Overlap에 미치는 환경요인의 영향. 한국균학회지. 27(4):283-288.
- 전창성, 유창현, 차동열, 김광포. 1990. 느타리버섯 푸른곰팡이병에 대한 thiabendazole의 방제효과. 한국균학회지 18(2): 89-95.

- 정환옥. 1986. 노트리버섯 벗짚 재배에서 발생하는 유해균류에 관한 연구.  
충남대학교 교육대학원 석사학위논문. 33pp.
- Bisby, G. R. 1939. *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. and notes on  
*Hypocrea*. Trans. Br. Mycol. Soc. 23:149-168.
- Bissett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section  
*Longibrachiatum*, new section. Can. J. Bot. 62: 924-931.
- Bissett, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric  
classification. Can. J. Bot 69: 2357-2372.
- Bissett, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section  
*Pachybasium*. Can. J. Bot. 69: 2373-2417.
- Bissett, J. 1991c. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional  
notes on section *Longibrachiatum*. Can. J. Bot. 69: 2418-2420.
- Bissett, J. 1992. *Trichoderma atroviride*. Can, J. Bot. 70: 639-641.
- Boddy, L. 1986. The role of water in decomposition processes. *In water,  
Fungi and Plants*, eds. Ayres, P. G. & Boddy, L., pp. 375-398.  
Cambridge: Cambridge Univ. press.
- Cooke, R. & Rayner, A. D. 1984. Ecology of Saprotrophic Fungi.

Longman Inc.: New York.

Edgington, L. V., Khew, K. L. and Barron, G. L. 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology* 61: 42-44.

Elad, Y., Chef, I. and Henis, Y. 1981. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytopathologica* 9(1): 59-67.

Fujimori, F. and Okuda, T. 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. I. *Fungi. J. Antibiot.(Tokyo)* 47: 173-182.

Gams, J., and Bissett, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. Pages 3-34 in: *Trichoderma and Gliocladium* Vol. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor and Francis, London.

Gareth, J. M., Damian, E., Morris, E. and Averil, E. B. 1998. Identification of benzimidazole resistance in *Cladobotryum dendroides* using a PCR-based method. *Mycol. Res.* 102(6): 671-676.

Goltapeh. E. M. and Danesh. Y. R. 2000. Studies on interaction between *Trichoderma* species and *Agaricus bisporus* mycelium. In:

"Science and cultivation on Edible Fungi"(ed. by Van Griensven).  
Balkema, Rotterdam. 661-666.

Griffin, D. M. 1981. Water and Microbial stress. *In Advances in Microbial Ecology*, ed. Alexander, M., vol. 5, 91-136. New York: Plenum Publishing Co.

Klein, D., and Eveleigh, D. E. 1998. Ecology of *Trichoderma*. Pages 57-74 in: *Trichoderma and Gliocladium* Vol. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor and Francis, London.

Komatsu, M. 1976. Studies on *Hypocrea*, *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to shiitake, *Lentinus edodes*. Rep. Torroni. Mycol. Inst. 13: 1-113.

Lacey, J., Ramakrishna, N., Hamer, A., Magan, N. and Marfleet, I. C. 1991. Grain fungi. In *Handbook of Applied Mycology: Foods and Feeds* (ed. D. K. Arora, K. G. Mukaj and E. H. Marth), pp 121-177. Marcel Dekker INC.

Lelley, J. 1987. Disinfection mushroom farming-possibilites and limits. *Mushroom J.* 174: 181-187.

Magan, N. and Lacey, J. 1984. Effect of water activity, temperature and

substrate on interactions between field and storage fungi, Trans. Brit. Mycol. Soc. 82: 83-92.

Magan, N. and Lacey, J. 1985. Interactions between field and storage fungi on wheat grain. Trans. Brit. Mycol. Soc. 85: 29-37.

Marin, S., Sanchis, V., Ramos, A. J., Vinas, I. and Magan, N. 1998. Environmental factors, *in vitro* interspecific interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species isolated from maize grain. Mycol. Res. 102: 831-837.

Meyer, W., Morawetz, R., Borner, T., and Kubicek, C. P. 1992. The use of DNA-fingerprint analysis in the classification of some species of the *Trichoderma* aggregate. Curr. Genet. 21: 31-36.

Morris, E., Harrington, O. and Doyle, O. P. E. 2000. Green mould disease- The study of survival and dispersal characteristics of the weed mould *Trichoderma*, in the Irish mushroom industry. In: "Science and Cltiavtion of Eible Fungi"(ed. Van Griensven). Balkema, Rotterdam. 645-651.

Muthumeenakshi, S., Mills, P. R., Brown, A. E., and Seaby, D. A. 1994. Intraspecific molecular variation among *Trichoderma harzianum* isolates colonizing mushroom compost in the British Isles.

Microbiology 140: 767-777.

O'Neil, T. M., Elad, Y., Shtienberg, D. and Cohen, A. 1996. Control of grapevine grey mould with *Trichoderma harzianum* T39. *Biocontrol Science and Technology*. 6. 139-146.

Okuda, T., Fujiwara, A., and Fujiwara, M. 1982. Correlation between species of *Trichoderma* and production patterns of isonitrile antibiotics. *Agric. Biol. Chem.* 46: 1811-1822.

Panasenko, V. T. 1967. Ecology of microfungi. *Biological Reviews* 33, 189-215.

Persoon, C. H. 1794. *Dispositio methodica fungorum*. *Pomer's neus Magazm Botanische* 1: 81-128.

Poppe, J., Welvaert, W., and De Both, G. 1985. Disease and their control-possibilities after ten years of *Pleurotus* culture in Belgium. *Medelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*. 50: 1097-1108.

Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycol. Pap.* 116:1-56.

Samuels, G. J., Petrini, O., and Manguin, S. 1994. Morphological and

macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. Mycologia 86: 421-435.

Tokimoto, K. 1982. Lysis of the mycelium of *Lentinus edodes* by mycolytic enzymes of *Trichoderma harzianum* when the two fungi were in antagonistic state. Trans. Mycol. Japan 23:13-20

Tulasne, L. R. and Tulasne, C. 1865. Selecta fungorum carpologia. Tomus Tertius. Nectrei.-Phacidiei.-Pezizei. 221pp. Paris.

Weindling, R. 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology. 24:1153-1179.

Zimmand, G., Valinsky, L., Eland, Y., Chet, I., and Manulis, S. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. Mycol. Res. 98: 531-534.