韓 國 菌 學 會 誌 第 13 券 第 2 號
Kor. J. Mycol. Vol 13, No. 2, 105~109, 1985

*Trichoderma*屬이 生産하는 抗生物質이 느타리버섯菌에 미치는 影響

金 明 坤
全北大學校 農科大學 食品加工學科

Influences of Antibiotic Components Produced by *Trichoderma* spp. to Oyster Mushroom

Myoung Kon Kim
Department of Food Science and Technology, College of Agriculture
Chonbuk National University, Chonju 520, Korea

Abstract: Isolates of the different species groups of *Trichoderma* from the mushroom culture beds were identified according to Rifai's classification and influence of antibiotics produced by them against the oyster mushroom was examined. *Trichoderma* islolates were identified as *Trichoderma hamatum, Trichoderma viride* and *Trichoderma koningii.* Among the *Trichoderma* isolates, fungistatic action of *Trichoderma viride* was found to be most remarkable. *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* were the most susceptable of the edible mushrooms tested, followed by *Lentinus edodes, Flammulina velutipes* and *Auricularia auricula.* A needle-shaped crystal gained from the chloroform extract of the culture filtrate of *Trichoderma viride* repressed distinctively the mycelial growth of the oyster mushroom. The grade of repression of the crystal at 500ppm and 1/10 aequous solution of the chloroform extract against the oyster mushroom, seemed equal to that of cycloheximide at 100~200ppm.

Keywords: *Trichoderma* spp. *Trichoderma hamatum, T. viride, T. koningii,* Fungistatic action *Pleurotus ostreatus, P. sajor-caju, Lentinus edodes, Flammulina velutipes, Auriculariacula auricula.*

*Trichoderma*屬은 고목, 토양등에 널리 분포되 어있는 不完全菌類로써 Persoon에 의하여 학계에 발표된 이래 여러 학자들에 의하여 분류학적 체계가 확립이 되어 있다. (Abbott 1926, Rifai 1969) *Trichoderma*屬 곰팡이는 擔子菌이나 기타 여러 眞菌類에 寄生하여 피해를 주거나(Michael 1956, Weindling 1932, 1934) 抗生物質을 생산하여 이들 菌을 사멸시키는 것으로 밝혀져 있다.

Weindling(1934)은 *Trichoderma*屬이 생산하는 抗生物質을 분리하고 이 抗生物質이 *Rhizoctonia solani*의 생육에 拮抗作用을 한다고 보고하였으며, Weindling과 Emerson(1936)은 이들 抗生物質이 gliotoxin이라고 확인하여 보고한 바 있다. 또한 Brian과 McGowan (1945)은 *Trichoderma viride*로 부터 抗生物質인 viridin을 분리 동정한 바 있으며 Dennis와 Webster(1971)는 *Trichoderma*屬이 trichodermin과 peptide계 抗生物質을 생성한다고 밝히고 이들 抗生物質이 眞菌類의 생육을 저해한다고 보고한 바 있다. 그리고 Hashioka등 (1961)과 Komatsu와 Inada(1969)는 *Trichoderma*屬이 *Lentinus edodes*에 拮抗作用을 한다고 보고한 바 있다. 우리나라에서는 Kim(1979)등이 *Trichoderma*屬을 배양하여 섬유소 분해요소에 대하여 실험한 바 있고, Lee (1977)는 *Trichoderma*屬의 菌間寄生에 대하여 연구한 바 있으며, Lee (1980)등은 *Trichoderma*屬을 分離하여 同定한 바 있다.

이들 *Trichoderma*屬이 우리나라의 식용버섯 재배중에 번식하여 버섯 재배에 막대한 피해를 주고 있는 실정이다. 그러나 *Trichoderma*屬이 생산하는 抗生物質이 擔子菌에 미치는 영향에 관한 연구는 거의 연구된 바 없다. 그리하여 저자는 버섯 재배기간중 栽培床에

서 발생하는 *Trichoderma*屬을 分離 同定하고 이들이 생산하는 抗生物質이 느타리버섯 生育에 미치는 影響을 검토하였다.

材料 및 方法

使用菌株

버섯 栽培期間中 栽培床에서 발생한 *Trichoderma*屬 12菌株를 分離하여 抗生物質 生產菌으로, 擔子菌으로는 *Pleurotus ostreatus, Pleurotus sajor-caju, Lentinus edodes, Flammulina velutipes, Auricularia auricula*를 使用하였다.

培 地

균주 선별을 위한 고체배지로는 PDA를 사용하였고 抗生物質 生產을 위한 液體培地로는 Weindling's medium(1934)을 사용하였다.

Weindling's medium: glucose 25 g, bactopeptone 2 g, KH_2PO_4 2 g, $MgSO_4$ 1 g, $FeCl_3$ 0.01 g, 증류수 1000 ml, pH 6.5.

*Trichoderma*屬의 분리 및 동정

버섯 栽培期間中 栽培床에 번식한 *Trichoderma*屬의 포자群을 멸균된 백금이를 利用하여 10 ml의 멸균수에 현탁시켜 희석액을 PDA 평판배지에서 순수분리한 결과 12菌株를 分離하였다.

菌株의 同定은 Rifai (1969)의 檢索表를 사용하여 phialid, phialospore, colony의 형태를 중점적으로 관찰하고 이것을 토대로하여 無性世代를 同定하였다.

*Trichoderma*屬菌株의 선별

Gibbs (1967)의 agar platemethod를 使用하였다. 즉 20 ml의 PDA배지를 직경 11 cm의 페트리접시에 분주한 후 멸균된 cellophane막(직경 11 cm, 두께 50 μm)을 배지 표면에 덮은 후 cellophane막 중앙에 3일간 배양한 *Trichoderma*屬의 균사편(직경 6mm)을 접종하여 25°C에서 2일간 배양한 후 cellophane막을 제거하고 중앙에 7일간 배양한 직경 6 mm의 버섯 균사편을 접종하여 25°C에서 5일간 배양후 대조군와 비교하여 그 저해율을 측정하였다.

Trichoderma viride (No. 10)의 液體培養

pH 6.5로 조절된 Weindling의 배지 5*l* 를 500 ml用 삼각플라스크에 100 ml씩 분주하여 1.2kg/cm²에서 15分間 殺菌하고 여기에 3일간 배양한 선별한 균주의 균사편(직경 12 mm)을 절단하여 2개씩 접종하고 25°C의 진탕 배양기(150 rpm)에서 5일간 배양한 후 균사편을 제거하기 위하여 Whatman No. 1 여과지로 감압 여과하여 抗生物質의 추출시료로 사용하였다.

抗生物質의 추출

抗生物質의 추출은 Dennis와 Webster(1971)의 方法으로 추출하였다.

즉 배양액을 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator로 증발 농축시킨 후 여기에 chloroform 50 ml를 가하여 잘 교반한 다음 3000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 조심스럽게 500 ml用 분액여두에 딸아 chloroform 층을 분리한 다음 이 조작을 반복하여 분리된 chloroform 추출액으로 부터 백색의 침상 결정을 얻었으며 추출여액은 다시 감압 농축하며 시럽狀의 물질을 얻어 이들 두 물질을 抗菌力 실험에 사용하였다.

抗生物質의 抗菌力 검정

抗菌力 검정은 Hashioka등 (1961)의 方法에 準하였다. 즉 PDA배지 15 ml를 직경 9 cm 페트리접시에 분주하고 그 양쪽끝에 직경 6 mm의 버섯 균사편을 접종하고 25°C에서 5일간 배양하여 양쪽 균사 끝이 약 3 cm 정도까지 접근하였을 때 직경 0.6 mm의 멸균된 여과지에 각 농도로 희석한 상기 시럽狀의 물질과 백색 결정 용액을 0.1 ml씩 적셔서 PDA배지의 중앙에 놓고 상기 조건에서 7일간 배양시키면서 저지환의 크기를 측정하였다. 항생물질의 희석은 백색 결정에서는 10~1000 ppm으로, 시럽狀의 물질은 1/10~1/500로 희석하여 처리하였다.

結果 및 考察

*Trichoderma*屬의 同定

버섯 재배 과정중 발생한 *Trichoderma*屬 12菌株를 蒐集하여 Rifai (1969)의 檢索表에 따라 分離 同定한 결과 Rifai 檢索表에 합당한 3群을 Table I 과 같이 同定하였다.

버섯 栽培床에서 발생한 *Trichoderma*屬은 *Trichoderma hamatum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii*의 3種이 同定되었으며 이 중 *Trichoderma viride*가 가장 우세하게 분포되어 있었다.

抗生物質 生成菌株의 선발

Cellophane막을 이용한 agar plate method에 의한 *Trichoderma*屬이 生產하는 抗生物物質이 *Pleurotus ostreatus*와 *Pleurotus sajor-caju*의 生育에 미치는 저해율을 검토한 결과는 Table II와 같다.

Table II와 같이 느타리 버섯균의 생육저해율을 보면 *Trichoderma viride* (No. 10)가 양균주에 비해 저해율이 높았으며 이 중에서도 *Trichoderma viride*(No.

Table I. The characteristics of the *Trichoderma* spp.

Strains	Phialid		Phialospore		Colony
	Morphology	Size (μm)	Morphology	Size (μm)	
Trichoderma hamatum (1, 7, 8, 12)*	plump	5.0~7.0×2.0~3.0	ellipsoid	3.0~4.5×2.0~3.2	fluccose
Trichoderma viride (2, 3, 4, 6, 10, 11)		5.0~12.0×2.0~4.5	ellipsoid (rough walled)	3.0~4.0×2.0~3.0	fluccose
Trichoderma koningii (5, 9)	club	5.0~10.0×2.0~3.0	ellipsoid	3.0~4.4×2.0~3.0	fluccose

*Strain No.

Table II. Antifungal action of *Trichoderma* spp. against the oyster mushroom.

Strains		% inhibition*	
		Pleurotus ostreatus	*Pleurotus sajor-caju*
Trichoderma hamatum	(1)	32	28
	(7)	24	26
	(8)	20	20
	(12)	24	18
Trichoderma viride	(2)	40	40
	(3)	26	28
	(4)	36	36
	(6)	12	14
	(10)	44	42
	(11)	36	32
Trichoderma koningii	(5)	14	12
	(9)	0	0

*% inhibition = $100 - \left(\frac{\text{mycelial growth in tested fungi broth}}{\text{mycelial growth in control broth}}\right) \times 100$

10)이 가장 높았다. 그리고 *Trichoderma koningii*의 저해율이 가장 낮았으며 이 중에서도 *Trichoderma koningii*(No. 9)는 대조구와 거의 비슷하여 저해를 볼 수 없었다. 그러므로 다음의 모든 실험은 저해율이 가장 높은 *Trichoderma viride*(No. 10)을 사용하였다. 또한 느타리버섯 균주별로 살펴보면 *Pleurotus sajor-caju*보다 *Pleurotus ostreatus*가 저해율이 높았다.

Table III. Antifungal action of *Trichoderma viride* against the different edible mushrooms.

Strains	Temperature (°C)	% inhibition
Pleurotus ostreatus	25	44
Pleurotus sajor-caju	25	42
Auricularia auricula	25	22
Lentinus edodes	25	34
Flammulina velutipes	25	30

***Trichoderma viride* (No. 10)이 生產하는 抗生物質이 擔子菌의 生育에 미치는 影響**

Trichoderma viride (No. 10)가 生產하는 抗生物質이 擔子菌의 生育에 미치는 저해율을 검토한 결과는 Table Ⅲ과 같다.

Table Ⅲ과 같이 *Trichoderma viride*(No. 10)가 生產하는 抗生物質이 *Pleurotus ostreatus*와 *Pleurotus sajor-caju*를 가장 많이 저해하였고 그 다음으로는 *Lentinus edodes, Flammulina velutipes* 순이었으며 *Auricularia auricula*가 제일 저해율이 낮았다. 그러므

Table IV. Antifungal activity of the crystal extracted with chloroform from the culture liquid of *Trichoderma viride* (No. 10) against the oyster mushroom.

Strains	Inhibition zone diameter (mm)					
	Crude crystal				Cyclohexide	
	1000 ppm	500 ppm	100 ppm	10 ppm	100 ppm	200 ppm
Pleurortus ostreatus	20	12	6	0	10	12
Pleurotus sajor-caju	18	10	4	0	9	10

Table V. Antifungal activity of the chloroform extracted culture solution of *Trichoderma viride* (No. 10) against the oyster mushroom.

Strains	Inhibition zone diameter (mm)					
	Original	Dilution of the test substance				
		1/10	1/50	1/100	1/200	1/500
Pleurotus ostreatus	20	12	5	2	0	0
Pleurotus sajor-caju	18	10	4	2	0	0

로 다음 실험은 저해율이 가장 높은 *Pleurotus ostreatus*와 *Pleurotus sajor-caju*를 사용하였다.

抗生物質의 抗生力 검정

Trichoderma viride (No. 10)의 액체 배양물을 chloroform으로 추출한 백색 침상 결정과 추출여액의 농축시럽에 대한 抗菌力 검정의 결과는 Table Ⅳ, Ⅴ와 같다.

Table Ⅳ와 같이 chloroform으로 추출한 백색 침상 결정에 대한 느타리 버섯균의 저지환은 10 ppm의 농도에서는 저지환이 형성되지 않았으나 농도의 증가에 따라 점진적으로 저지환이 더 크게 나타났으며 500 ppm 농도에서는 cycloheximide 200 ppm농도에서와 같은 저지환을 나타냄을 알 수 있었다.

추출여액 농축시럽의 抗菌力은 Table Ⅴ와 같이 시럽액을 200배 이상 희석했을 때는 저지환이 나타나지 않았으나 100배 이하의 희석농도에서는 저지환이 나타나기 시작해서 희석농도가 낮으면 낮을수록 크게 형성됨을 알 수 있었으며 시럽원액의 저지환은 *Pleurotus ostreatus* 20 mm, *Pleurotus sajor-caju* 18mm로 *Pleurotus ostreatus*에서 저지환이 더 크게 나타났다.

Hashioka(1961)등의 *Trichoderma viride*의 *Lentinus edodes*에 대한 拮抗作用 실험에서 에텔로 추출한 결정과 추출여액 농축시럽의 抗菌力이 100배희석의 농도에서 cycloheximide 100~200 ppm의 抗菌力과 동등하다고한 보고와 본 실험 결과는 거의 같은 경향이었다.

이상의 결과로 볼때 *Trichoderma viride* (No.10)가 생산하는 抗生物質은 백색 침상 결정과 추출여액 농축시럽이 모두 抗菌力을 나타내는 것으로 미루어 보아 抗菌性 成分이 단일종이 아님을 암시하고 있으며 이들 성분에 대해서는 앞으로 더 많은 연구를 요하고 있다.

摘 要

버섯 栽培床에서 *Trichoderma*屬을 분리, 동정하고 아울러 *Trichoderma*屬이 생산하는 抗生物質이 느타리 버섯균의 생육에 미치는 영향을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 분리된 *Trichoderma*屬은 Rifai의 검색표에 따라 동정한 결과 *Trichoderma hamatum, Trichoderma viride, Trichoderma koningii*로 확인 되었다.

2) 분리 동정된 *Trichoderma*屬 중에서 *Trichoderma viride* (No. 10)이 느타리 버섯균 生育에 대한 저해율이 제일 높았다.

3) 각종 버섯균 중에서 *Trichoderma viride*(No. 10)에 의한 저해는 *Pleurotus ostreatus*와 *Pleurotus sajor-caju*가 제일 심했고 그 다음으로는 *Lentinus edodes, Flammulina velutipes, Auricularia auricula*순이었다.

4) 추출된 백색 침상 결정 抗菌力은 각각 1/10의 농도와 500 ppm의 농도에서 cycloheximide 100~200 ppm의 抗菌力에 해당하였다.

文 獻

Abbott, E.V. (1926): Taxonomic study on soil fungi. *Iowa St. Coll. J. Sci.* **1**: 15-36.

Alexander, H. (1981): *Basic life science*. Plenum Press, New York **18**:89-109.

Barnett, H. (1964): Mycoparastism. *Mycologia* **56**:1-19.

Brian, P.W. and McGowan, J.C. (1945): Viridin, a highly fungistatic substance produced by *Trichoderma viride*. *Nature* **156**:144-145.

Danielson, R.M. and Davey, C.B. (1973): Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biol. Biochem.* **5**: 505-515.

Dennis, C. and Webster, J. (1971): Anagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transact. Brit. Mycol. Soc.* **57**:25-39.

Gibbs, J.N. (1967): The role of host vigour in the

susceptibility of pines to *Formes annosus*. *Annals of Botany* **31**:803-815.

Hashioka, Y. Ishikawa, H., Komatsu, M. and Arita, I. (1961): *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood inhibiting Hymenomycetes. II. A metabolic product of *Trichoderma* fungistatic to the Hymenomycetes. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* (Japan) **1**: 9-18.

Komatsu, M. and Inada, S. (1999): *Trichoderma viride*, as an antagonist of the wood-inhibiting Hymenomycetes. Ⅸ. Antifungal action of *Trichoderma*, *Gliocladium* and other species of *Hypocrea* to *Lentinus edodes* (Berk) Sing. Rept. *Tottori Mycol. Inst.* (Japan) **7**:16-26.

Michael, G.B. (1956): Effect of soil temperature and green manure amendment of unsterilized soil on parasitism of *Rhizoctonia solani* by *Penicillium vermiculatum* and *Trichoderma* sp. *Phytopath.* **46**: 473-478.

Rifai, M. A. (1969): A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Paper*. **116**:1-56.

Weindling, R. (1932): *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopath.***22**: 837-845.

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

Weindling, R. (1941): Experimental consideration of the mold toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopath.* **31**: 991-1003.

Weindling, R. and Emerson, O.H. (1936): The isolation of toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopath.* **26**: 1068-1070.

김병홍, 배무(1979): 농산폐자원의 미생물학적 이용에 관한 연구(제 2 보) 산업미생물학회지 제 7 권 2호.

이배함(1977) : 진균류에 기생하는 진균에 관하여, 아카데미논총 제 5 집

이훈구, 이배함(1980) : 한국산 *Trichoderma*속의 분류 한국미생물학회지 제18권 2호.

〈Received April 1, 1985;
Accepted May 20, 1985〉