

양송이 마이코곤병(*Mycogone perniciosa* Magn.)의 항균성 미생물에 관한 연구

전창성 · 차동열 · 유창현
농촌진흥청 농업기술연구소 균이과

The Antifungal Microorganisms to *Mycogone perniciosa* Magn. in Cultivated Mushroom, *Agaricus bisporus* (Lang) Sing

C.S. Jhune, D.Y. Cha and C.H. You

Applied Mycology and Mushrooms Divisions, Agricultural Sciences Institute, R.D.A.
Suweon 440-707, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to select the promising antifungal microorganisms for biological control of wet bubble, *Mycogone perniciosa*. Ninety one isolates of fungi, 342 isolates of bacteria, and 556 actinomycetes were isolated from mushroom composts and soils, were subjected to primary screening test on agar medium base for their antimicrobial spectra. Among them, 12 bacteria and 71 actinomycetes were selected. Among the antibiotic producing microorganisms, 5 cultures were selected on the basis their antibiotic activities on casing soil with Benlate non-tolerance *M. perniciosa*. Finally, AJ-117, AJ-136 and AK-139 were selected as microorganism with antifungal activity against two strains of *M. perniciosa*.

KEYWORDS: Antifungal microorganisms, *Mycogone perniciosa*

양송이 마이코곤병은 19세기 불란서에서 최초로 알려졌다으며, 우리나라에서는 1971년 충남 부여군 석성면 재배농가에서 발견된 이래 현재에 이르기까지 양송이 생산에 심각한 피해를 주는 병으로 불완전균류에 속하는 *M. perniciosa* Magn.에 의해 발병된다 (Atkins 등, 1971; Flegg 등, 1985).

본 병원균은 양송이 자실체에만 기생하는 균으로 균사에는 피해를 주지않는 특징이 있으며, 토양 중에 후막포자로 존재하다가 버섯발생시 양송이 자실체에 기생하여 버섯의 대와 갓의 구별이 없는 기형이 되고, 후기에는 이병버섯 표면에 물방울이 삼출되면서 부패하여 악취를 풍기며, 발병정도가 심한 경우 수량의 90%까지 감소되기도 한다.

이 병의 감염은 주로 복토에 의해 이루어지나 관수, 공기, 버섯파리 등에 의해서도 전파된다(Fletcher 등, 1968).

이 병의 방제법으로는 재배사의 소독과 복토재료를

살균에 의하여 가능하며, 복토살균 방법은 크로로피크린, 석회보르도액, 20% 포름알데하이드를 이용한 화학적 방법과 증기에 의한 물리적 방법 등이 사용되었으나 일정한 장소에서 계속적으로 재배하므로 재배사의 소독과 복토재료를 살균하여 사용하여도 병이 발생되어 방제효과를 나타내지 못하므로 복토 표면에 직접사용할 수 있는 선택적인 방제약제를 사용해야 한다. 약제사용 초기에는 병원균에 대해 선택적으로 작용되는 Dithiocarbamate계의 Zineb, Maneb and Mancozeb 등이 널리 사용되었으며(Fletcher 등, 1965; Gaze 등, 1975; Newman 등, 1969), 이후 약제에 대한 내성균의 발현으로 효과가 소실되면서 Benzimidazole 계통이 사용되었고, Benomyl은 양송이균에 대한 약해가 없으면서 마이코곤병과 부패병 등의 불완전균류에 대해 탁월한 효과가 있었으나(Wuest, 1973) 연용에 의해 Benomyl 내성균이 생성되었으며(김, 1983), 그 이후 내성균주에

사용 가능한 Basamid와 Vapam 등이 유용하다고 하였으나(김, 1978) 농가에서 수량이 감소되는 등의 약해가 발생되어 사용되지 않으며, 현재에는 적절한 방제약제가 없는 실정이다.

육종적인 측면에서 이용한 방제방법으로는 마이코곤병에 저항성인 크림색 계통의 703호를 1977년도부터 보급하여 효율적인 방제가 가능하였으나(유 등, 1978), 이 품종도 재배가 계속되는 동안에 병원성 및 생리적 특성이 다른 변이균주에 의해 이병화 되었고(김, 1983), 이후 현재 내병성 품종으로 사용하고 있는 크림색 계통의 705호는 저항성 품종으로 재배하고 있으나, 현재의 소비경향은 가공보다는 시판용이 우선으로 마이코곤병에 이병성 품종인 백색계통의 품종을 선호하고 있으므로 이 병에 대한 효과적인 방제방법의 개발이 요구되고 있다.

양송이 주요 병해에 대한 항균성 미생물에 대한 연구로는 Waksman 등(1937)에 의한 토양에서 분리한 방사선균이 배지상에서 *Mycogone*의 생육이 억제, Lin과 Chen 등(1974)은 양송이 퇴비 및 토양에서 분리한 *Streptomyces circulatus*를 후발효전 퇴비에 첨가하여 양송이 괴균병에 대한 방제효과, Nair 등(1972, 1976)은 양송이 세균성 갈반병(*Pseudomonas tolaasii*)에 대해 비병원성 *Pseudomonas*를 이용한 방제에 대한 보고들이 있다.

항균성 미생물을 이용한 식물병 방제에 대한 것은 Baker(1974), Broadbent(1974), Moore(1977), Mitchell 등(1965) 많은 사람에 의해 연구 보고되어 왔으며, 특히 토양병해에 대한 항균성 미생물에 대한 보고가 가장 많았다.

본 연구는 백색품종의 양송이 재배에 있어서 가장 문제시되고 있는 마이코곤병에 대한 생물학적 방제법에 이용할 수 있는 항균성 미생물을 분리, 선발하기 위하여 실험을 실시하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

材料 및 方法

공시재료

항균성 미생물을 분리하기 위한 퇴비재료는 전북(김제), 충남(석성), 경북(경주)의 양송이 재배농가에서 채취하였으며, 토양은 경기(수원), 충북(청주), 강원(오대산)에서 토양을 채취하였다.

항균성 미생물 분리배지 선발

항균성 미생물 분리에 유용한 배지를 선발하기 위하여 oatmeal agar(OMA), waksman agar(WaA), starch casein agar(SCA), water agar(WA), Arginine-glycerol agar(AGA), glucose-asparagine agar(GAA), jensen agar(JA), soybean meal agar(SMA), peptone-dextrose-rose bengal agar(PDRA)를 공시하여 사용하였다. 균분리는 양송이 퇴비 1g을 살균수 100 cc에 넣어 200 rpm의 진탕기에 2시간 진탕한 후 10^4 과 10^6 으로 희석하고, 희석액을 각각의 분리용 배지를 20 ml씩 분주한 petri dish에 0.02 ml씩 넣고 평판하여 45°C 에서 배양하였으며, 3일 후 petri dish에서 나타나는 균집락을 조사하였다.

배지상의 항균성 미생물 선발

미생물 분리용 배지의 표면에 나타난 균집락에서 특성이 상이한 균집락을 순수분리하여 오트밀배지 상에서 마이코곤병원균과 대치배양하여 억제정도가 사상균과 방사선균에서는 1.0 cm, 세균은 2 cm 이상의 것을 1차선발 하였다.

재배사에서의 항균성 미생물 선발

농촌진흥청 양송이 표준재배법에 준하여 퇴비 중 암모니아 함량이 200 ppm 이하가 되도록 퇴비를 제조하고, 양송이 곡립종균을 평당 5파운드 기준으로 종균재식하여 균사생장 시킨 후 식양토와 토탄 3:1으로 혼합된 복토재료에 1차선발에서 항균력이 인정되는 방사선균 균주는 양송이 밀곡립배지에 접종하여 35°C 에서 배양한 것을 50g/0.239 m²로 복토시 복토 중에 혼합하였으며, 세균은 Nutrient 액체배지에 2일간 배양한 액을 복토표면에 50 cc/0.239 m²씩 표면처리하였다. 병원균은 항균성 미생물을 처리한 후 즉시 복토표면에 처리하고, 신문지로 피복하여 습도를 유지하면서 퇴비온도를 25°C 조절 6일간 균사생장 시킨 후 하온하여 버섯발생을 유도하였다.

버섯의 수량은 주기별로 발생하는 자실체를 일정 크기에 도달한 것을 수확하여 합산하였으며, 이병률은 각 주기별로 발병되는 이병버섯수를 조사하여 이병율(%) = 이병개체수/정상개체수 + 이병개체수 × 100으로 하였다.

結果 및 考察

미생물 분리배지 선발시험

Table I. Composition of the media.

Media	Composition (/100 ml Distilled water)
O.M.A	Oatmeal 40g, Agar 17g
Wa A	Dextrose 1g, K ₂ HPO ₄ 0.5g, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.2g, Fe ₂ (SO ₄) ₃ trace, Egg albumin 0.25g
S.C.A	Starch 10g, Casein 0.3g, KNO ₃ 2g, K ₂ HPO ₄ 2g, NaCl 2g, CaCO ₃ 0.02g MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5g, Agar 18g
A.G.A	Arginine (mono) 1g, Glycerol 12.5g, K ₂ HPO ₄ 1g, NaCl 1g, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5g, CuSO ₄ ·5H ₂ O 1 mg, Fe ₂ (SO ₄) ₃ ·6H ₂ O 10 mg, ZnSO ₄ ·7H ₂ O 1 mg, MnSO ₄ ·H ₂ O 1 mg, Agar 15g
G.A.A	Glucose 10g, Sodium Propionate 4g, Asparagine 0.5g, K ₂ HPO ₄ 0.5g Agar 15g
J.A	Dextrose 2g, Casein 2g, K ₂ HPO ₄ 0.5g, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.2g, FeCl ₃ ·6H ₂ O trace, Agar 15g
S.M.A	Soybean meal 5g, Glucose 5g, CaCO ₃ 0.4g, Agar 17g
P.D.R.A	K ₂ HPO ₄ 1g, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5g, Peptone 5g, Dextrose 10g, Rose bengal (1%) 3.3 ml Streptomycin 30 mg, Agar 20g
W.A	Agar 15g

Table II. Effect of various media on formation of microorganism colony

(No. of microorganism colony)

Media	Dilution					
	10 ⁴			10 ⁶		
	Actinomycetes	Bacteria	Fungi	Actinomycetes	Bacteria	Fungi
O M A	* -	-	-	9.0	-	0.7
Wa A	-	-	-	15.0	250.5	0
S C A	-	-	-	11.7	225.0	0
A G A	-	-	-	9.7	145.0	0
G A A	2	133	0	0.2	3.5	0
J A	-	-	-	4.2	95.7	1.0
S M A	-	-	-	10.6	151.6	2.0
P D R A	0	375	6	0	0	0
W A	-	-	-	12.6	248.8	0

* uncountable.

다양한 항균성 미생물의 분리가 용이한 배지를 선별하기 위하여 Table I의 배지에 양송이 퇴비 1g을 희석법으로 10⁴, 10⁶으로 희석하여 0.02 ml씩 petri dish에 표면처리하고, 45°C에서 배양하여 미생물의 균집락을 조사한 바 균집락의 수는 Table II에서와 같이 WaA, WA, SCA, SA, AGA, OMA의 순으로 많았다.

그러나 종류가 다양한 미생물 균집락을 분리할 수 있는 배지는 표면에 나타나는 균집락의 형태, 배지의

착색 등의 특성이 빠르면서도 선명하게 나타나며, 다양한 종류의 미생물이 나타나야만 한다.

공시배지 중 이러한 조건에 부합되는 배지는 OMA, SCA, SMA 등으로 우수한 미생물의 분리가 가능할 것으로 생각되며, 균집락이 많은 WA, AGA배지는 균집락의 구별을 위한 균집락간 특성의 차이가 뚜렷하지 않았고 종류가 다양하지 못하였으며, Waksman 등에 의해 조제된 WaA 배지는 방사선균의 분리에는 우수하지만 특성의 발현이 늦고 종류가 다

양하지 못하며, 세균 등의 타미생물의 발현이 미흡하여 여러 가지 종류의 항균성 미생물을 동시에 분리하기에는 부적합 하였다.

미생물의 분리를 위한 희석농도는 10⁴배로 배양기 상에 나타나는 균집락이 과다하여 균집락을 Counting할 수 없으며, 순수분리가 어려운 상태였고, 10⁶에서도 균집락의 수가 약간 과다한 경향을 나타냈다.

본 실험의 미생물의 밀도는 박 등(1984)의 양송이 터널을 이용한 후발효 중의 퇴비 미생물상과 신 등(1974)의 염가의 퇴비재료 제조시험에서 후발효 후 퇴비 중의 미생물밀도와 약간의 차이가 있으나 이러한 차이는 양송이 퇴비의 제조과정에 주어진 환경조건에 따라 나타나는 것으로 생각된다.

마이코곤병원균에 대한 항균성 미생물 선발

분리배지 선발시험에서 우수한 것으로 판명된 Starch casein, Soybean meal, Oat meal 배양기 상에서 균집락의 특성이 다르게 나타나는 미생물 989 균주를 분리한 후 Waksman 등(1939)의 *Mycogone*에 대한 항균성 미생물의 연구에서 병원균을 저지시키는 *Bacterium fluorescens* 균이나, 한 등(1974)은 양송이 복토에서 분리된 미동정의 미생물에 의해서 병원균의 생장이 억제할 수 있는 것과 같은 항균성 미생물을 분리하기 위하여 1차 선발방법으로는 Oat meal 배지 상에서 마이코곤병원균과 대치배양 하여 항균 정도를 조사하였던 결과 사상균은 항균력을 갖고 있는 균주가 없으며, 세균은 저지정도가 2 cm 이상인 12 균주, 방사선균은 저지정도가 1 cm 이상을 기준하여 71균주를 선발하였다(Table III).

균을 분리하는 과정에서 양송이 퇴비에서 주로 분리되는 고온성사상균은 *Humicola*, *Mucor*, *Aspergillus* 등이었으나 항균력이 있는 균주는 발견되지 않았으며, 토양에서 분리된 저온성사상균은 항균력을

Table III. Microorganism isolated from soil and compost, and antifungal microorganism against *M. perniciosa* on oat meal agar.

Microorganism	Isolates	Antifungal microorganism
Fungi	91	0
Bacteria	342	12
Actinomycetes	556	71

갖는 것이 있었으나, 대부분의 경우 양송이에 대한 해균으로 이용 가능성이 없는 것으로 생각된다.

세균 중 항균력이 있는 균주는 방사선균에 비하여 저지정도가 우수하며, 뚜렷한 저지선을 형성하였으나 일부의 균주가 계대배양에서 항균력을 상실하는 경향을 보여 세균 중 유효한 균주를 선발, 대량배양을 할 경우 항균능력에 대한 안정성이 문제시될 것으로 추측되어 진다.

이와는 다르게 방사선균은 계대배양에 의해 쉽게 항균력을 상실하는 경우를 볼 수 없는 것으로 보아 비교적 안정성이 우수한 것으로 사료된다.

재배사에서의 항균성 미생물 선발

복토재료에 직접 항균성 미생물을 처리하여 실제적으로 포장상태에서 마이코곤병을 방제할 수 있는 항균성 미생물을 선발하기 위하여 배지상에서 대치배양하여 선발된 세균 12균주, 방사선균 72균주를 배양 증식하고, 병원균과 함께 복토에 혼합 또는 표면처리하여 버섯의 수량 및 마이코곤병의 발병 정도를 조사한 결과 AJ-18, AJ-117, AJ-130, AJ-136, AK-139의 5균주는 병원균을 처리하고 항균성 미생물을 처리

Table IV. Effect of treatment with antifungal microorganism on yield and infection rate of mushroom sporophore.

Isolate	Yield (g/0.239 m ²)	No. of mushroom sporophore		Infection rate (%)
		Health	Infection	
AJ-6	2146	813	249	23.5
AJ-8	2398	947	378	28.5
AJ-18	2864	1134	233	17.1
AJ-27	1760	767	419	35.3
AJ-104	1800	783	453	36.7
AJ-117	1998	744	69	8.6
AJ-126	1930	746	319	30.3
AJ-130	2468	998	192	16.1
AJ-136	2384	992	69	6.5
AK-139	2490	987	188	16.0
AK-251	1934	730	519	41.0
AK-327	1880	780	470	37.6
Non-treatment	1662	670	763	52.4
Control	2454	1026	0	0

Table V. Antifungal effect of selected microorganism on casing soil

Isolate	Non-Tolerant <i>Mycogone</i>		Tolerant <i>Mycogone</i>	
	Yield (g/0.239 m)	Infection rate	Yield (g/0.239 m)	Infection rate
AJ-18	2968	20.9	2473	7.3
AJ-117	2574	6.5	2366	9.8
AJ-130	3404	5.2	2304	18.1
AJ-136	2932	6.3	2648	5.5
AK-139	3290	3.2	2842	10.7
Non-treatment	2553	24.9	2358	30.4
Control	2832	0		

하지 않은 병처리구의 발병률이 52.4%일 때 17.1% 미만으로 67.4% 이상의 방제효과를 나타내고 있으며, 수량성에서는 항균성 미생물 및 병원균을 처리하지 않은 대조구보다는 AJ-117를 제외한 처리구에서는 많거나 비슷한 수준이었다(Table IV).

5개 균주는 수량성과 이병률에 있어서 활용가치가 인정되는 균주이나 포장상태에서의 발병정도는 매우 복잡한 환경조건에 의해 좌우될 수 있는 것이며, 서론에서 서술한 바와 같이 현재 농가에서 문제되고 있는 병원균은 벤레이트에 내성이 생긴 균이므로 마이코곤병에 벤레이트 비내성균과 내성균에 대한 항균정도를 재확인 하였다.

1차 포장선발시험에서 우수한 5균주에 대한 방제효과 확인시험으로 항균성 미생물을 처리한 복토표면에 벤레이트에 내성병원균과 비내성병원균을 처리한 후 발병률과 수량을 조사한 결과 Table V와 같이 AJ-117, AJ-136과 AK-139 균주는 병처리구 발병률이 비내성병원균의 경우는 24.9%, 내성병원균의 경우는 30.4%일 때 10% 미만의 발병률로 우수하나 일반적으로 벤레이트 등의 화학적 방제에서 나타나는 100%에 가까운 방제효과는 얻을 수 없으며, 이것이 농약과 같은 절대적인 효과를 얻을 수 없는 것은 한 등(1974)의 재배시험에서 복토 중에 마이코곤병원균의 포자현탁액을 국소점종하였을 경우 이병버섯은 집중된 부위에서만 발생되었고 이외의 부위에서는 발생되지 않았다는 결과와 같이 집중된 항균성 미생물이 존재하는 국부적인 곳에서만 병원균을 억제할 수 있는 것으로 항균성 미생물의 밀도가 매우 높아야만 효율적인 방제효과를 얻을 수 있을 것으로 추

측되며, 화학적방제와 같이 경제적이며 효율적인 방제는 어려운 것으로 추측된다.

수량성에서 AJ-18, AJ-136, AK-139가 대조에 비하여 높은 경향이였으며, AJ-117은 2차에 걸친 포장시험에서 공히 발병 억제효과는 우수하나 수량성이 낮은 것으로 보아 이균주는 양송이의 발생 및 생장에 피해가 있는 것으로 추측된다.

이와는 반대로 AJ-18은 이병률이 우수균주에 비하여 다소 높은 경향이나 수량성이 대조구와 비교하여 우수하며 특히 개재수가 많은 것으로 보아 AJ-18은 버섯의 발생에 관여하는 것으로 추측된다.

본 시험에서 분리선발된 항균균은 포장시험에서 대조구에 비하여 우수하지만 일반 살균제 농약에 비해 방제효과가 떨어지는 경향이므로 항균미생물의 역가의 개량, 대량배양법 개발과 처리방법, 처리시기 등의 개선에 의해서 실용적으로 사용 가능한 균주와 적용방법을 개발해야 될 것으로 생각된다.

摘 要

양송이 주요병해인 마이코곤병(*M. perniciosa*)의 생물적방제를 위한 항균성 미생물을 선발하기 위하여 실시한 시험결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 미생물의 분리는 Starch casein, Soybean meal, Oat meal 배지에서 균집락 형성과 균집락의 특성이 다른 배지 보다 빠르며, 다양한 미생물의 분리가 용이하였다.

2. 실내시험에서 사상균 91, 세균 342, 방사선균 556균주의 미생물을 분리 선발한 후 Oat meal 배지

에서 대치배양하여 항균력이 높은 세균 12, 방사선균 71균주를 선발하였다.

3. 실내에서 항균력이 있는 균주에 대해 실시한 1차 포장시험에서 5개 균주가 수량 및 항균력이 우수하였으며, 확인시험에서는 AJ-117, AJ-136, AK-139의 3균주가 뚜렷한 항균력이 있었다.

參考文獻

- Atkins, Peter and C. Fred. Atkins. (1971): Major diseases of the cultivated white mushroom. MGA Bulletin number 260: 361-381.
- Baker, K.F. and R.J. Cook. (1974): Biological control of plant pathogen. W.H. Freeman Co., San Francisco, 433pp.
- Broadbent, P., K.F. Baker, and Waterworth, Y (1971): Bateria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soil. *Aust. J. Biol. Sci.* 24: 925-944.
- Flegg, P.B., D.M. Spencer and D.A. Wood. (1985): The biology and technology of the cultivated mushroom. Bacteria and fungal diseases. John Wiley & Sons Ltd pp.262.
- Fekete, K. and J. Kuhn. (1965): Control of *Verticillium* and *Mycogone* disease of the mushroom. *Mush. Sci.* 6: 495-506.
- Fletcher, J.T. and G.W. Ganney. (1968): Experiments on the biology and control of *Mycogone perniciosa* Magn. *Mush. Sci.* 7: 221-237.
- Gaze, R.H. and J.T. Fletcher. (1975): ADAS survey of mushroom disease and fungicide usage. *Mushroom J.* 35: 370-375.
- Lin, C.Y. and D.W. Chen. (1974): Actinomycetes as biology control agents for Calves' brains fungus, *Diehliomyces microsporus*, in mushroom culture. *Mush. Sci.* 9: 125-143.
- Mitchell, R. and M. Alexander. (1965): Suppression of *Pythium debaryanum* by lytic rhizosphere bacteria. *Phytopathology* 55: 156-168.
- Moore, L.W. (1977): Prevention of crown gall on prune root by bacterial antagonists. *Phytopathology* 67: 139-144.
- Nair, N.G. and P.C. Fahy. (1972): Bacteria antagonistic to *Pseudomonas tolaasii* and their control of brown blotch of the cultivated mushroom. *J. Appl. Bact.* 35: 439-442.
- Nair, N.G. and P.C. Fahy. (1976): Commercial application of biological control of mushroom bacterial blotch. *Aust. J. Agric. Res.* 27: 415-422.
- Newman, R.H. and M. Savidge, B. Sc. (1969): Mancozeb dust: A breakthrough in mushroom disease control. MRA Bulletin number 232: 161-162.
- Waksman, S.A. and J.W. Foster, (1937): Associative and antagonistic effect of microorganism. II. Antagonistic effects of microorganisms grown on artificial substances. *Soil Sci.* 43: 69-76.
- Wuest, P.J. (1973): Benlate-Miracle drug of fraud. *Mushroom News* 21(8): 8-16.
- 한용식, 신관철, 신동수(1974) : 양송이에 마이코곤병을 유발하는 *Mycogone perniciosa*에 관한 생물학적 연구. 韓國菌學會誌, 1 : 7-14.
- 김광포, 석영선, 신관철, 박용환(1978) : 양송이 마이코곤병(*Mycogone perniciosa* Magn.) 방제에 관한 연구. 韓國菌學會誌, 6 : 9-14.
- 김광포(1983) : 양송이 마이코곤병원균(*M. perniciosa*)의 병원성의 변이 및 Benomyl 내성에 관한 연구. 동국대학교 박사학위 논문.
- 박정식, 김광포(1984) : 양송이 퇴비 단기발효법 개선에 관한 시험. 농촌진흥청 농업기술연구소 시험연구보고서(생물부편) 473-477.
- 신관철, 오병열(1974) : 염가의 퇴비재료 제조에 관한 시험. 농촌진흥청 농업기술연구소 시험연구보고서(양송이편) 98-101.
- 유창현, 신관철, 박용환(1978) : 양송이 신품종 703호의 선발 및 재배법 개선에 관한 연구. 농사시험연구보고 20집(농업기술집) : 119-128.

Accepted for Publication 20 July 1990