

Sodium Hypochlorite(NaOCl) 처리가 느타리버섯의 세균성 갈반병에 미치는 효과

신관철 · 조수목* · 전낙범 · 구자형¹

충남대학교 농과대학 농생물학과

¹충남대학교 농과대학 원예학과

Effect of Sodium Hypochlorite(NaOCl) Treatment On Bacterial Yellow Blotch in Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*

Gwan-Chull Shin, Soo-Muk Cho, Nak-Beom Jeon and Ja-Hyeong Ku*

Department of Agricultural Biology, Chungnam Nat'l University, Taejon 305-764, Korea

*Department of Horticulure, Chungnam Nat'l University, Taejon 305-764, Korea

ABSTRACT: Studies were conducted to determine the potential of sodium hypochlorite(SHC) on the control of bacterial yellow blotch in cultivated oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. SHC at the concentration of 80 ppm was effective on the control of *Pseudomonas agarici* causing yellow blotch in oyster mushroom except number 916 isolate. *In vitro* the mycelial growth was slightly inhibited at the concentration higher than 100 ppm of sodium hypochlorite, but retardation of the mycelial growth was soon recovered. Spray of SHC solution at the concentration of 40-50 ppm per day significantly reduced the incidence of the yellow blotch without impairing the growth of oyster mushroom in field culture. However, the higher concentration of SHC(67 ppm) induced yellow brown or dark gray in color and deformed cap and elongated stripe in morphology of fruiting body. Results indicate that periodical spray of sodium hypochlorite seems to be the recommendable method for protection against bacterial yellow blotch disease in oyster mushroom without reducing food quality.

KEYWORDS: Yellow bacterial blotch, *Pseudomonas agarici*, oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, sodium hypochlorite(NaOCl)

서 론

느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*(Fr.) Kümmer)의 인공배양은 포플라등의 원목을 이용한 재배 방법에서 벗짚배지를 이용한 방법이 연구개발되면서(Park *et. al.* 1975, 1977) 대량생산이 가능하게 되어 재배 면적이 계속 확대되고 생산량도 크게 증가하여 왔다. 그러나 벗짚으로 배지를 조제하여 사용할 경우에는 *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Verticillium*등을 포함한 다수의 유해균류가 발생하여 느타리버섯 균사의 생장을 저해시키는 일이 많다(Van Zaayen 1978, 신

1987).

최근에 들어와서는 병원세균에 의한 세균성 갈반병(bacterial yellow blotch)의 피해가 아주 심각한 것으로 밝혀지고 있어, 1988년의 경우 70%의 느타리버섯 재배농가에서 39%의 수량감소를 보고하였다(전과 차 1988).

느타리버섯의 세균성 갈반병은 *Pseudomonas agarici*에 의해 발생하는데(Bessette *et. al.* 1985), 이 병원균에 감염된 버섯은 발병 초기에는 버섯 표면에 황갈색의 반점이 나타나고 나중에 불규칙한 큰 병반으로 확대되면서 부패하여 조직이 연해지고 대는 기저부위에서 구부러지며 위축되고 버섯 전체에 수

*Corresponding author

적 증상과 위조 증상을 보인다. 버섯 발생 초기 상태인 핀헤드에 감염되면 뚜렷한 갈색 반점이 나타나고 어린 자실체는 전체가 갈변 부패한다(Paine 1919, 신과 전 1991). 양송이의 세균병으로는 *Pseudomonas agarici*에 의한 drippy gill에 발생하는 병(O'Riordain 1976, Young 1970)과 *Pseudomonas tolaasii* Paine에 의한 세균성 갈반병(Paine 1919, Tolaas 1915, Young 1970)이 있는데 세균성 갈반병균은 느타리버섯을 비롯한 몇종의 식용버섯에도 병원성이 확인되고 있다.

양송이 세균성 갈반병의 방제에는 sodium hypochlorite의 처리가 효과적이며(Axers 1955, Royse & Wuest 1980, Wong & Preece 1985), 비병원성 *Pseudomonas*에 의한 생물학적 방제가 시도된 바도 있으나(Nair *et al.* 1972, 1976, Nair 1974) 농가재배에서 실용화되지는 않았다. 느타리버섯 세균성 갈반병의 경우 유효한 방제 방법이 개발되지 않았다. 신등(1991)은 생물학적 방제를 위한 병원균의 분류 동정 및 길항균 선발등을 통한 방제에 필요한 일련의 기초 실험을 실시하였으나 실용화되지는 못하였다. 느타리버섯 세균성 갈반병의 방제법으로서는 재배 환경의 개선과 몇가지 항생제의 처리가 권장되고 있으나 효과적인 방제에는 이르지 못하고 있으며 약제처리는 사실상 권장할 수 없는 실정이다.

따라서 본 시험에서는 느타리버섯의 세균성 갈반병균이 양송이 세균성 갈반병균과 발생생태에 유사점이 많다는 점에 착안하여(Royse & Wuest, 1980; Wong & Preece, 1985) 양송이 세균성 갈반병 방제에 효과가 있을 뿐만 아니라 살균 및 표백제로서 광범위하게 사용되는 동시에 식품오염이 크게 문제되지 않는 sodium hypochlorite를 이용하여 느타리버섯의 세균성 갈반병 방제효과를 구명코자 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 공시약제

병원균은 느타리버섯 재배사에서 병든 자실체와 벗짚을 채취하여 King's B medium(Peptone 20 g, Glycerol 15 ml, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 2.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 6 g, Agar 15 g, D.W. 1 L)에 희석평판 배양법으로

순수분리하여 fluorescent pigment 생성 여부, Benzinate 반응등의 세균 동정 실험을 하여 Allan과 Young(1970)의 분류체계와 비교하여 동정하고(Shin & Jeon, 1991) 느타리버섯 자실체에 침 접촉하여 병원성을 강하게 나타내는 균을 얻어 병원세균으로 사용하였다. 느타리버섯은 충남대학교 농생물학과에 보존중인 2001을 비롯한 4균주를 실내검정에 사용하였다. 또한, 포장실험은 병재배용 원형느타리 버섯균을 원기 형성 및 자실체 형성 시기를 구분하여 사용하였고 감염된 느타리버섯 벗짚 재배상을 선정하여 균상 표면에서 병원균의 오염 정도를 조사하였다. 약제는 10%의 SHC를 10, 40, 80, 100, 160, 320 ppm 농도로 희석하여 실내검정에 사용하였고 포장실험에서는 시중에서 시판되는 4% SHC(유한락스)를 구입하여 병재배용은 600(67 ppm), 800(50 ppm), 1,000(40 ppm)배로 희석하여 관수하였고 벗짚배지 재배상에는 1,000배로 희석하여 매일 관수하여 주었다.

실내검정방법

병원세균은 500 ml 삼각 플라스크에 250 ml의 YPD 액체배지(Yeast extract 3 g, Peptone 0.6 g, Dextrose 3 g, D.W. 1 L)를 분주한 다음 접종하고, 29 °C에서 130 strokes/min으로 reciprocal shaker에 2일간 배양하여 10^8 cells/ml로 희석한 다음 5 ml의 YPDA 배지와 잘 섞은 후 미리 분주해 둔 등 배지 20 ml에 증충하여 검정균으로 사용하였고, 느타리버섯은 직경 6 mm의 cork borer로 찍은 균총을 중앙에 접종하여 27°C 항온기에 3일 배양한 후 공시균으로 사용하였다. 억제 정도는 sodium hypochlorite를 각 농도별로 희석하고 paper disc(φ 8 mm)로 흡습시켜 병원세균이 희석평판된 배지 위에 올려놓은 다음 27°C 항온기에 1~2일 배양한 후 저지원을 조사하여 측정하였다.

포장실험조사

48시간 배양된 병원세균을 10^8 cells/ml 농도로 희석하여 2일 2회 처리한 것과 처리하지 않은 병재배용 느타리버섯에 시판되는 4% SHC(유한락스)를 각 농도별로 4일간 4회 처리하여 세균성 갈반병에

Table 1. Effect of sodium hypochlorite concentration on inhibition of *Pseudomonas agarici* causing yellow blotch disease of *Pleurotus ostreatus*

NaOCl concn. (ppm)	Inhibition zone(mm) of isolates			
	543	544	545	916
40	—	1.0	—	—
80	1.0	1.0	2.4	—
160	3.7	4.1	4.3	3.1
320	6.4	6.8	5.2	4.2

*Values represented the mean of triplicate inhibition zone.

Table 2. Effect of sodium hypochlorite on inhibition of the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*

NaOCl concn. (ppm)	Number of tested oyster mushroom isolate				
	2002	2004	2007	2014	2016
1	—*	—	—	—	—
40	—	—	—	—	±
100	±	—	±	±	+

*Degree of inhibition; —: none, +: slight. Signs represented evaluation of triplicate test.

대한 방제효과와 느타리버섯의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 벗짚매지 재배상에는 시판용 유한락스를 1,000배(40 ppm)로 희석하여 세균성 갈반병에 감염된 부위에 매일 관수하여 준 다음 수확 후 균상 표면의 이병 상태를 관찰하였다.

결 과

SHC의 갈반 병원균에 대한 Minimal Inhibitory Concentration(MIC) 조사

느타리버섯 세균성 갈반병을 일으키는 병원세균에 대한 SHC의 최소저지농도(MIC)를 조사한 결과는 Table 1과 같다.

병원세균에 대한 SHC의 최소억제농도를 조사한 결과 160 ppm 이상의 농도에서 병원세균 모두 강한

억제 효과를 보였으며, 80 ppm에서는 916 균주를 제외한 전 균주에서 억제효과를 나타내었다. 따라서, 544 균주를 제외한 공시된 전 병원세균에 대한 최소 저지농도는 80 ppm으로 볼 수가 있었다.

느타리버섯의 균사생육에 미치는 SHC의 영향을 조사하기 위하여 3-4일간 배양한 느타리버섯 균사에 인접되게 paper disc를 올려 놓고, 24시간 주기로 40 µ의 SHC를 각 농도별로 주입하여 조사한 결과를 Table 2와 같다.

느타리버섯의 생육은 100 ppm 이상에서 2016 균주만 미약한 영향을 받았고, 100 ppm에서는 2004 균주를 제외한 2002, 2007, 2014 균주에서 균사의 선단에 SHC의 영향이 약간 나타났으나 즉시 회복되어 실제로 피해는 없었다.

SHC의 느타리버섯 세균성 갈반병에 대한 방제 효과

SHC를 각 농도별로 처리하여 느타리버섯 세균성 갈반병의 방제효과를 병재배용 원형느타리버섯을 사용하여 포장실험한 결과는 Table 3, 4와 같다.

SHC 1,000배액(40 ppm)과 물을 관수하여 조사한 결과 병원균과 물, 병원균과 SHC 처리구 모두 병징의 초기증상인 반점은 보였으나 SHC의 처리시에는 부패현상이 나타나지 않았다(Table 3). SHC를 농도별로 처리하여 세균성 갈반병의 방제효과를 조사한 결과 1, 2주기 모두 SHC의 농도가 높을수록 이병율이 모두 감소하였고, 건전 자실체의 수량은 증가하였다(Table 4).

Table 3. Effect of sodium hypochlorite on symptoms of yellow blotch disease of *Pleurotus ostreatus* in bottle cultivation

Treatment	Before pinheading		After pinheading	
	Spot	Rot	Spot	Rot
H ₂ O-Pathogenic bacteria	+	+	+	+
NaOCl-Pathogenic bacteria	+	—	+	—
H ₂ O	—	—	—	—
NaOCl(40 ppm)	—	—	—	—

*Signs represented evaluation of duplicate test.

Table 4. Effect of sodium hypochlorite on the incidence of yellow blotch and growth of *Pleurotus ostreatus* in bottle cultivation

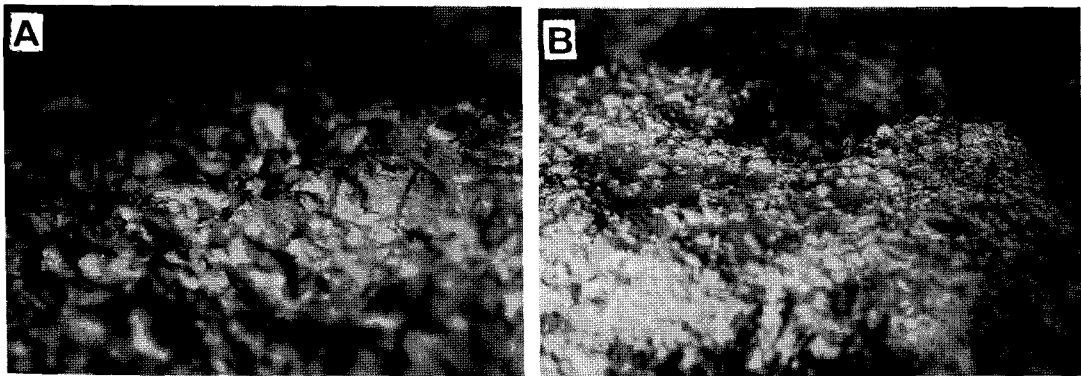
NaOCl concn.(ppm)	1st flush			2nd flush		
	Diseased* (%)	Healthy ² (g)	Pinheading ¹ (%)	Diseased (%)	Healthy (g)	Pinheading (%)
Control	37.4	65	100	55.3	69	56
40	24.5	65	81	22.2	73	47
50	17.6	67	69	23.7	91	47
67	19.3	71	78	7.2	88	56

*Diseased rate(%) = $\Sigma(A/B) \times 100/C$

A: number of fruitbody, B: number of total fruitbody, C: number of replicate

¹Values are expressed as a percentage of the pinheadidg and represent the mean of sixteen replicate.

²Wet weight of healthy fruitbody is measured and averaged.

**Plate 1.** Effect of sodium hypochlorite on bacterial yellow blotch disease of the cultivated oyster mushrooms at the stage after 1st harvest.

A: Non-treated mushrooms showing tanned brown color.

B: NaOCl treated mushrooms showing whitish brown color.

느타리버섯 벗겨내지 균상에 시판용 유한락스를 1,000배(40 ppm) 희석하여 매일 관수하여 본 결과 수확 균상 표면에 세균성 갈반병의 병든 부위라고 생각되는 세균성 점액의 형성량이 감소되고 느타리버섯의 생육이 양호한 상태로 지속되고 있음을 볼 수가 있었으며(plate 1) 버섯 수확량도 SHC를 처리하지 않은 병든 부위보다 현저한 차이를 보였다.

느타리버섯 생육에 미치는 SHC의 영향

느타리버섯의 병재배시 SHC의 영향을 조사하기 위하여 포장실험을 한 결과는 Table 5, 6과 같다.

SHC를 농도별로 처리한 결과 희석배수가 낮을 수록 느타리버섯의 수량은 감소하였고 육질의 경도

는 차이가 없었으나, 2주기 재배시에는 활력이 떨어져 자실체 발아율은 감소하였으나 처리간에 큰 차이는 없었고, 수량 역시 처리간에 차이가 없었다. 그러나, 육질의 경도에 있어서 1주기에 비하여 SHC 처리구가 약화되었다. 또한, 1주기 재배시에는 대조구에 비하여 SHC 처리구에서 수량이 증가하였으나 2주기시에는 차이가 거의 없었다(Table 5).

느타리버섯 자실체 형성은 SHC 1,000(40 ppm)배액과 무처리 대조구간에 차이는 없었으나 자실체의 색택에 있어서는 600배(67 ppm)의 경우 연한 갈색을 띄고 갓은 약간 굴곡이 졌으며 대가 길게 신장하였다. 800배액(50 ppm)의 경우 갓 전체가 미약한 굴곡을 이루며 변형되었으나 다른 차이는 볼 수가

Table 5. Effect of sodium hypochlorite on the yield and quality of *Pleurotus ostreatus*

NaOCl concn.(ppm)	1st flush			2nd flush		
	Yield(g) ²	Flesh*	Pinheading(%) ¹	Yield(g)	Flesh	Pinheading(%)
Control	54	+++	100	68	+++	94
40	65	+++	100	65	++	84
50	64	+++	100	64	+	91
67	58	+++	100	64	+	88

*+; soft flesh, ++; a little soft flesh, +++; hard flesh(normal type)

¹Values are expressed as a percentage of the pinheadidg and represent the mean of sixteen replicate.

²Wet weight of fruitbody is measured and averaged.

Table 6. Effect of sodium hypochlorite on the fruiting body growth of *Pleurotus ostreatus*

NaOCl concn (ppm)	Color of fruiting body	Morphology of cap	Morphology of stripe
Control	Gray, mustard	Normal	Normal
40	Gray, mustard	Normal	Normal
50	Gray, mustard	Slightly deformed	Normal
67	Yellow-brown, dark gray	Slightly deformed	Elongated

없었다(Table 6).

고 찰

최근 느타리버섯 재배에서 큰 문제로 대두되고 있는 세균성 갈반병은 40-70%의 수량 감소를 초래하는 것으로 알려져 있는데(전과 차, 1988), 아직까지 효과적인 방제방법이 확립되지 못하였다. 농용항생제인 아그렐토마이신이나 브라마이신이 추천되고 있으나 방제 효과가 완벽하지 않으며 약제의 잔류가 문제되고 있다.

그러나 sodium hypochlorite(NaOCl)를 물에 희석하여 살포하면 차아염소산(HClO)이 발생하고 차아염소산은 다시 H⁺와 ClO⁻로 분해되어 강력한 살균력을 가지며 식품오염으로 인한 공해문제는 크게 유발되지 않고 인체에도 무해한 것으로 알려지고 있다.

양송이 세균성 갈반병의 경우 지속적으로 SHC를 150 mg/L FAC(free available chlorine) 농도로 재배상에 살포하여 5.2-7.7%의 병 발생율을 감소시킬 수 있었으며 양송이의 발생에는 피해를 주지 않았다는 Wong과 Preece(1985)의 보고와 같이, 본 연

구에서도 SHC의 처리는 느타리버섯 세균성 갈반병을 수량을 감소시키는 큰 부작용이 없이 효과적으로 방제할 수 있었다. 아울러 농약처리를 대신함으로써 농약의 잔류에 의한 식품오염을 방지할 수 있는 가능성을 보였다. 느타리버섯 세균성 갈반병의 방제를 위한 SHC 용액의 적정농도는 40-50 ppm으로 판단되며, 이 농도로 처리시 재배상 뿐만 아니라 실내 실험에서 느타리버섯 균사와 자실체의 생장에 거의 영향을 주지 않고 병원세균의 생육을 억제하여 밀도를 저하시킬 수 있었다. 그러나 농도가 40 ppm보다 높아지면 2주기 재배부터는 자실체의 경도가 다소 떨어지고 자실체의 형태에 약간 변형을 초래하기 때문에, 세균성 갈반병을 SHC로 방제하기 위해서는 실제 재배사의 환경변화에 따른 적절한 살포농도, 횟수등을 세밀하게 밝혀야 할 것으로 판단된다.

적 요

느타리버섯의 재배에서 크게 문제되는 세균성 갈반병(병원균: *Pseudomonas agarici*)의 방제를 위하여 살균 및 표백제로 사용되면서 식품오염이 비교적

문제시되지 않는 SHC 용액을 버섯에 직접 살포할 수 있는 방안을 검토하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *P. agarici*에 대한 SHC의 최소저지 농도는 80 ppm이었으며 매일 100 ppm 미만의 용액 살포는 버섯균사의 성장을 저해하였으나 곧 바로 회복되어 가시적인 피해는 나타나지 않았다.

2. 포장시험결과 40-50 ppm의 SHC 처리는 세균성 갈반병을 효과적으로 방지하고 버섯의 생육에 거의 지장을 초래하지 않아 건전자실체 수를 증가시킬 수 있었다.

3. SHC의 농도가 67 ppm으로 살포되었을 경우에는 수량이 감소하고 2주기 재배시에 육질의 경도가 떨어졌으며, 자실체의 색깔이 연한 갈색이나 짙은 회색으로 변하고 갓의 모양이 약간 굴곡지고 대가 신장하는 경향을 보였다.

4. 본 실험 결과 주기적인 SHC 살포는 느타리 버섯의 품질을 저하시키지 않고 느타리버섯의 세균성 갈반병의 방제를 하는데 있어서 권장할 만한 방법으로 사료된다.

謝 辭

본 논문은 1991년도 산학협동재단의 학술연구비 지원에 의해 수행된 고 신관철 교수의 연구결과중의 일부임.

參考文獻

Axers, T. T. and E. B. Lambert. 1955. Controlling mushroom disease with chlorinated water. *Plan. dis. Rep.* **39**: 829-836.

Bessette, A. E., R. W. Kerrigan, and D. C. Jordan. 1985. Yellow blotch of *Plerotus ostreatus*. *Appl. & Environ. Microb.* **50**(6): 1535-1537.

전창선, 차동열. 1988. 느타리버섯 병해 발생조사. 농업기술연구소 시험연구보고서, 생물부편 pp. 794-800.

Nair, N. G. 1974. Methods of control for bacterial blotch disease of the cultivated mushroom with

special reference to biological control. *Mushroom J.* **16**: 140.

Nair, N. G., and P. C. Fahy. 1972. Bacterial antagonistic to *Pseudomonas tolaasii* and their control of brown blotch of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *J. Appl. Bact.* **35**: 439.

Nair, N. G. and P. C. Fahy. 1976. Commercial application of biological control of mushroom bacterial blotch. *Aust. J. Agric. Res.* **27**: 415-422.

O'Riordain, F. 1976. A disease of cultivated mushrooms caused by *Pseudomonas agarici* Young. *Ir. J. Agric. Res.* **2**: 250.

Paine, S. G. 1919. Studies in bacteriosis 2. A brown blotch disease of cultivated mushrooms. *Ann. Appl. Biol.* **5**: 206-219.

박용환, 고승주, 김동수. 1975. 벗짚을 이용한 느타리 버섯 재배에 관한 연구, 제 1보. 재배재료에 관한 시험, 농사시험연구보고 **19**: 93-97.

박용환, 고승주, 김동수. 1977. 벗짚을 이용한 느타리 버섯 재배에 관한 연구, 제 2보. 배지열 처리에 관한 시험, 농사시험연구보고 **19**: 93-97.

Royse, D. J. and P. J. Wuest. 1980. Mushroom brown blotch: Effects of chlorinated water on disease intensity and bacterial populations in casing soil and on pilei. *Phytopathology* **70**: 902-905.

신관철. 1987. 느타리버섯 벗짚 배지에 발생하는 유해균류. *한국균학회지* **15**(2): 92-98.

신관철, 전낙범. 1991. 느타리버섯 세균성 갈반병의 병원균 분리동정 및 생물학적 방제. 농사시험연구보고 (농업산학협동편) **34**: 1-10.

Tolaas, A. G. 1915. A bacterial disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* **5**: 51-54.

Van Zaayen, A. 1978. New possibilities for control of dry bubble caused by *Verticillium Fungicola*. *Mushroom J.* **67**: 210-211.

Wong, W. C. and T. F. Preece 1985. *Pseudomonas tolaasii* in cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: effects of sodium hypochlorite on the bacterium and on blotch disease severity. *Journal of Applied Bacteriology* **58**: 259-267.

Young, J. M. 1970. Drippy gill-a bacterial disease of cultivated mushrooms caused by *Pseudomonas agarici* n. sp. N. *J. Agric. Res.* **13**: 977-990.