

느타리버섯 균상재배 중 배지에서 분리한 미생물의 특성

이찬중* · 전창성 · 정종천 · 오진아 · 한혜수 · 엄나나

농촌진흥청 국립원예특작과학원 버섯과

Characteristics of microorganism isolated from Cotton Waste Media for the Oyster Mushroom Cultivation

Chan-Jung Lee*, Chang-Sung Jhune, Jong-Chun Cheong, Jin-A Oh, Hye-Su Han and Na-Na Um

Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

(Received August 19, 2010. Accepted December 1, 2010)

ABSTRACT: This study was carried out to investigate interaction between mushroom mycelium and microorganisms in cotton waste media for the shelf cultivation of oyster mushroom. Two oyster mushroom farms was selected for this experiment. One was good mushroom farm (farmhouse I) and the other failed mushroom farm (farmhouse II). In farmhouse I, the inhibition microorganisms were higher toward the end of growth stage than the early stage, but the result of farmhouse II was opposite. Effects of the mycelium growth on plate culture showed same results on mushrooms as the earlier one. And the mycelium growth was influenced by secretory materials of microorganisms. Among of the isolates, Only few microorganism had inhibitory effects on either *P. tolaasii* or *T. harzianum* causing the disease of oyster mushrooms. But more microorganisms had inhibition effects on *P. agarici*.

KEYWORDS: Cotton waste media, Microorganism, Mushroom farm, Mycelium growth, *Pleurotus ostreatus*

서 론

국내 버섯은 국민소득 증가와 함께 생산량과 소비량이 꾸준히 증가하고 있으며, 총 생산액은 약 7,800억원으로 농림업의 2.1%를 차지한다. 우리나라 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)의 생산량은 2004년 56천톤에서 2008년에는 40천톤으로 조금씩 감소하고 있으며(MFAFF, 2009), 연작장해에 의한 병해충의 발생으로 생산성이 불안정하고, 국내 가격 하락에 의한 농가수익 감소로 재배기피 현상이 발생하고 있는 실정이다. 느타리버섯 균상재배는 배지의 발효, 균사배양, 버섯의 발생 및 수확 등 여러 과정을 거쳐 생산되고 있으며, 균사의 생육을 촉진하는 고품질의 기질을 생산하는 배지의 발효 과정은 배지에 유용한 미생물상을 형성하기 위한 가장 중요한 단계이며, 수분, 온도 및 산소 농도의 제어를 통하여 고품질의 버섯을 생산하게 된다. 기질은 발효과정을 통해 형성된 미생물이 분비하는 다양한 생리활성 물질에 의해 물리·화학적 변화를 거치게 되고, 버섯생육에 적합한 기질로 전환하게 된다(Randle and Flegg, 1978; Miller *et al.*, 1988). 정상적인 고온 발효과정을 거친 배지는 잡균이 쉽게 이용할 수 있는 가용성 양분이 분해되면, 영양적인 면과 미생물적인 측면에서 버섯 생육에 적합한 형태로 전환된다(Stölzer and Grabbe, 1991). 그리고

60°C이상의 고온 발효와 항미생물제에 의해서 유해 잡균이 사멸될 수 있는 것으로 알려져 있다(Ross and Harris, 1983).

따라서 본 시험은 정상적으로 버섯재배를 한 농가와 버섯재배에 실패한 농가를 선정하여 균상배지내 미생물을 분리하여 이들 미생물과 버섯균과의 상호작용 및 병원균과의 연관관계를 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

시험재료는 균상 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)을 재배하는 농가 중 버섯을 정상적으로 재배한 농가(농가)와 버섯재배에 실패한 농가(농가)로부터 버섯생육시기별 균상내 배지를 채취하여 실험에 이용하였다.

미생물의 분리

미생물의 분리는 R2A배지 (Kim and Whang, 2002)에 단계별로 희석 배양하여 50~60개의 colony를 형성한 plate로부터 독립적으로 분리하였다 (Lee *et al.*, 2009). 순수 분리한 미생물은 R2A배지에서 2일 동안 배양한 후 균체를 모아서 20%(v/v) 글리세롤 용액에 넣어 -70°C에 보존하면서 검정용 시료로 사용하였다.

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

분리미생물과 버섯균과의 상호작용

농가별로 분리한 다양한 미생물이 느타리버섯균에 미치는 영향을 조사하기 위해 합성배지와 톱밥배지를 사용하였다. 느타리버섯균은 농가에서 가장 많이 재배하고 있는 춘추 1호를 potato dextrose agar(PDA, Difco)에 5일간 배양 후 사용하였다. 합성배지는 PDA 배지를 사용하였고, 톱밥배지는 미송톱밥 80%와 미강 20%(v/v)를 수분함량 65%로 혼합하여 직경 30 mm의 시험관에 넣은 후 121°C에서 40분간 멸균 후 실험에 사용하였다. 합성배지에서 버섯균사의 분리세균에 대한 생육억제정도를 조사하기 위해 두 가지 방법을 사용하였다. 첫째는 배지 중앙에 느타리버섯균사를 치상(접종)한 후 분리세균 4균주를 사선으로 접종하여 균사의 생육정도를 조사하였고, 둘째는 멸균수로 현탁(5×10^6)한 분리세균 100 μ l를 합성배지에 도말한 후 배지 중앙에 버섯균사를 치상(접종)한 후 생육정도를 조사하였다. 톱밥배지에서 버섯균사의 분리세균에 대한 생육정도는 멸균수로 현탁(5×10^6)한 분리세균 3 ml를 톱밥배지에 접종한 후 28°C의 항온기에서 2일간 배양한 다음 버섯균사(직경 1 cm) 3개를 접종하여 25°C의 항온기에서 7일간 배양하면서 버섯균의 생육정도를 조사하였다.

분비성 물질과 버섯균의 생육

분리세균이 분비하는 분비성 물질이 버섯균에 미치는 영향을 조사하기 위해서 멸균수로 현탁(5×10^6)한 분리세균 100 μ l를 합성배지에 도말하고 28°C의 항온기에서 2일간 배양한 후 배지를 완전히 뒤집어 배지의 중앙에 버섯균을 접종하여 25°C의 항온기에서 7일간 배양하면서 버섯균사의 생육정도를 조사하였다.

분리 미생물의 병원균에 대한 길항력 검정

버섯 병원균에 대한 길항성을 알아보기 위해 버섯을 정상적으로 재배한 농가(농가)의 균상배지로부터 순수 분리한 미생물을 paper disk법을 이용하여 실험하였다. 대량의 분리균주를 효과적으로 검정하기 위하여 1개의 petridish에 분리세균 4균주를 동일한 간격으로 접종하여 실험하였다. 푸른곰팡이병원균(*Trichoderma harzianum*)에 대한 길항력은 PDA배지에 5일간 배양한 병원균의 균사절편(직경 1 cm)과 분리세균을 접종하여 25°C의 항온기에서 7일간 대치 배양한 다음 두 균 사이에 형성되는 생육저지대를 측정하였고, 세균성병원균(*Pseudomonas tolaasii*, *Pseudomonas agarici*)은 R2A배지에 48시간 배양한 후 멸균수로 현탁(5×10^6)하여 petridish에 도말한 후 분리 미생물을 paper disk에 50 μ l씩 접종하여 생육저지대의 정도에 따라 각 균주에 대한 길항능력을 평가하였다(Piddock, 1990).

결과 및 고찰

분리미생물과 버섯균의 상호작용 느타리버섯 균상재배는 배지발효, 재배환경 등 다양한 문제로 농가마다 수량에 많은

차이를 보이고 있다. 따라서 본시험에서는 재배과정 중 균상배지에서 분리한 미생물들의 특성을 조사하여 이들 미생물과 버섯균의 생육 및 병원균과의 연관관계를 밝히고자 하였다. 균상 분리세균이 합성배지(PDA)에서 버섯균사의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 배지 중앙에 느타리버섯 균사를 접종한 후 분리 세균 4균주를 사선으로 접종하여 균사의 생육저해 정도를 조사하였다. 농가의 경우 버섯 생육 초기에 분리한 세균일수록 버섯균주에 대한 저해정도는 약하였으나, 버섯의 생육이 진행될수록 저해균의 수가 증가하였다. 그러나 농가는 농가와 반대로 생육초기에 버섯균주에 대한 저해정도가 증가하였고, 오히려 생육후기로 갈수록 저해균의 수는 감소하는 경향을 보였다(Fig. 1, 2). 또한 합성배지에 분리세균을 도말한 후 느타리버섯 균사를 배지 중앙에 놓고 균사의 생육을 조사한 결과 위와 마찬가지로 농가의 경우 버섯 생육초기 보다 생육이 진행될수록 저해균의 수가 증가하였지만, 농가는 오히려 반대의 경향을 보였으며(Fig. 3, 4), 이러한 결과는 정상적인 발효가 되지 않아 살균 후 내열성 미생물의 증식, 유해미생물의 사멸 및 억제제가 제대로 되지 않아 버섯 균사의 생육에 많은 영향을 주었기 때문으로 판단된다. Stanek(1972)는 양송이 퇴비배지 발효 후 존재하는 고온성 세균 및 방선균은 유해균의 성장을 억제하고 버섯균의

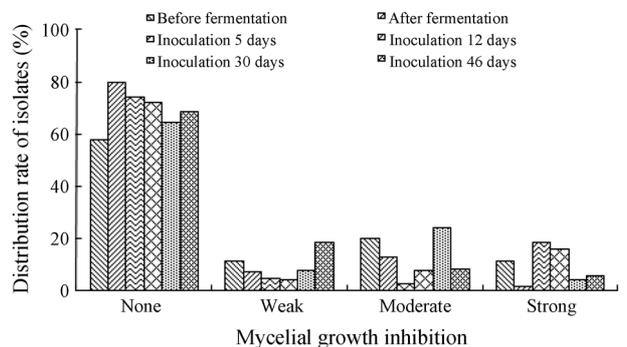


Fig. 1. Inhibition of mushroom mycelium by bacteria isolated from cotton waste media (farmhouse I). none, 0 mm; weak, 1-10 mm; moderate, 11-20 mm; strong inhibition >20 mm.

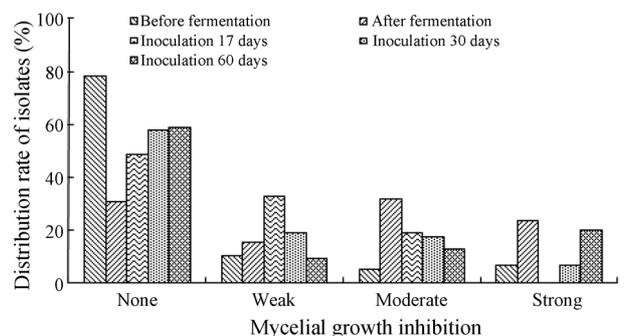


Fig. 2. Inhibition of mushroom mycelium by bacteria isolated from cotton waste media (farmhouse). none, 0 mm; weak, 1-10 mm; moderate, 11-20 mm; strong inhibition >20 mm.

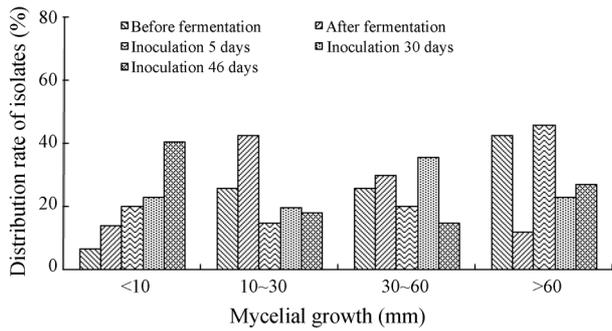


Fig. 3. Mycelial growth of oyster mushroom isolate on plate culture of bacteria isolated from cotton waste media (farmhouse I).

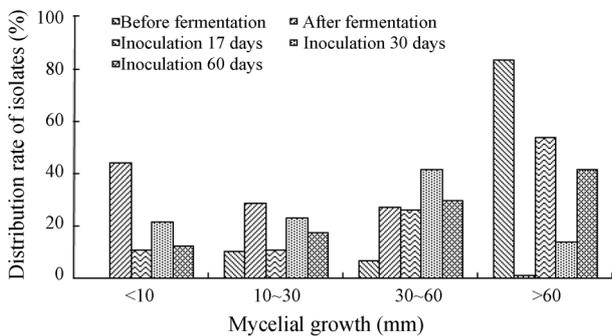


Fig. 4. Growth of mushroom mycelium on plate culture of bacteria isolated from cotton waste media (farmhouse II).

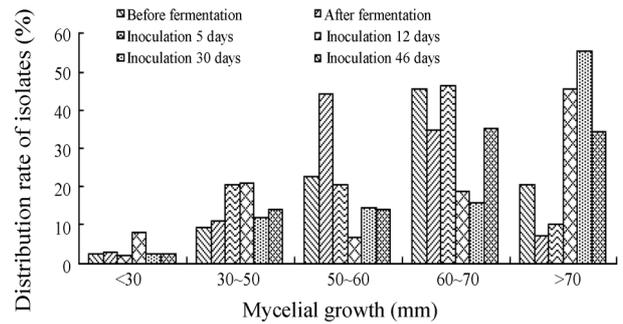


Fig. 5. Growth of mushroom mycelium at the sawdust media inoculated by bacteria (farmhouse I).

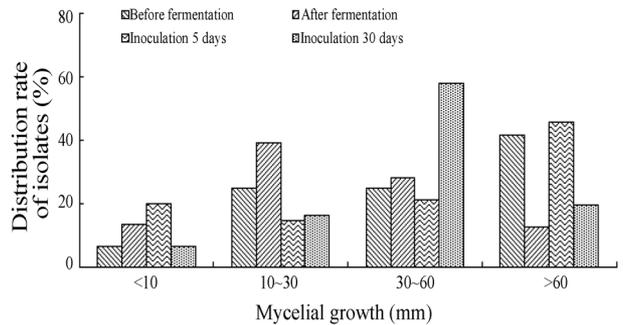


Fig. 6. Growth of mushroom mycelium by secretory materials of bacteria isolated from cotton waste media (farmhouse I).

생장은 촉진시킨다고 보고 하였다. 또한 Lee 등(2009)은 정상적인 버섯수확농가의 경우 살균후 내열성 세균 및 고온성 방선균의 수는 증가하였고, 사상균은 거의 분리되지 않았고, 정상적인 버섯 재배농가의 배지에서는 재배과정 동안 *Bacillus*속과 *Pseudomonas*속이 우점하면서 서로 교차하는 양상을 보인 반면, 실패한 농가의 경우 *Pseudomonas*속은 거의 없었고, 대부분 *Bacillus*속이 우점하였다고 보고하였다.

툽밥배지에서 분리세균과 버섯균과의 상호작용을 분석한 결과 버섯균 접종 초기에 분리한 세균보다는 후기로 갈수록 분리 세균에 의한 영향을 적게 받는 경향을 보였다(Fig. 5). 이러한 결과는 화학배지의 경우 세균이 생육할 수 있는 영양원과 환경조건이 툽밥배지에서 보다 훨씬 좋아 미생물의 원활한 대사작용에 의한 2차대사산물의 생성이 용이하므로 균사생육에 더 큰 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

분비성 물질에 대한 버섯균의 생육

분리세균을 합성배지에 도말하고 항온기에서 2일간 배양한 후 배지를 완전히 뒤집어 배지의 뒷면 중앙에 버섯균사를 접종하여 균사 생육을 조사한 결과(Fig. 6)와 합성배지에 분리 세균을 도말한 후 버섯균을 접종하여 균사 생육을 조사한 결과(Fig. 2)를 비교 분석한 결과 균상배지에서 분리한 세균은 분비성 물질을 통해서 버섯균의 생육과 증식에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다(Fig 2, 6). Stamets와 Chilton (1983)은 양송이 종균 배양시 *Bacillus subtilis* var. *mucooides*의

밀도가 높을 경우 이 균에 의해 종균이 파괴되어 기능을 잃게 된다고 보고하였다. 또한 Lee 등(2009)은 정상적인 재배농가의 경우 배지내 우점하는 세균의 분포가 *Bacillus*속과 *Pseudomonas*속이 서로 교차하는 양상을 보였지만 실패한 농가의 경우 전체적으로 *Bacillus*속이 우점하였다고 보고 한 바 있어 버섯재배과정에서 특정 미생물의 밀도가 비정상적으로 높을 경우 이들 미생물이 분비하는 특정 물질에 의해서 버섯균의 생육이 영향을 받는 것으로 생각된다. 또한 정상적인 발효가 이루어지지 않을 경우 유해 미생물이 분비하는 물질이 버섯균의 생육을 억제함으로써 버섯의 발생과 생육에 많은 영향을 미치는 것으로 판단된다.

분리미생물의 버섯병원균에 대한 길항성

느타리버섯에는 여러 병원균에 의해 다양한 증상의 병이 발생하고 있으며, 특히 가장 문제가 되는 병이 세균성갈반병과 푸른곰팡이병이다. 이들 병원균을 배지내에 존재하는 다양한 미생물들을 통해서 억제가 가능한지를 알아보기 위해서 대치배양법을 이용하여 조사하였다. 분리 미생물 중 세균성갈반병의 원인균인 *P. tolaasii*을 강하게 억제하는 미생물은 거의 없었으며 소수의 균주에서 약한 길항력을 보였다(Fig. 7). 그러나 세균성갈색무늬병을 일으키는 *P. agarici*에 대해서는 강한 억제력을 보이는 균주가 많이 존재했으며(Fig. 8), 이들 길항 미생물을 이용한 미생물제제의 개발 가능성도 기대된다. 현재까지 느타리세균성갈반 증상으로부터

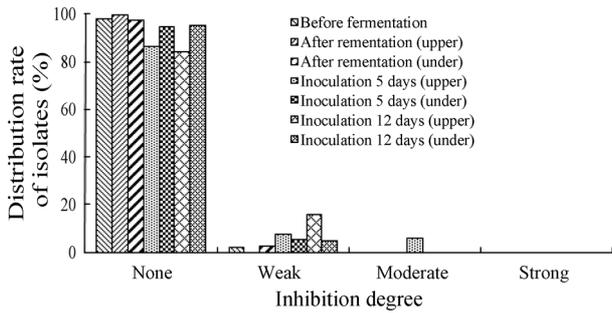


Fig. 7. Antibacterial effects on *P. tolaasii* of bacteria isolated from cotton waste media. none, 0 mm; weak, 1-10 mm; moderate, 11-20 mm; strong inhibition >20 mm.

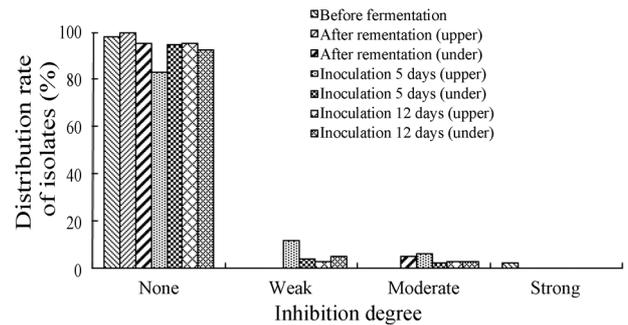


Fig. 9. Antifungal effects on *T. harzianum* of bacteria isolated from cotton waste media. none, 0 mm; weak, 1-10 mm; moderate, 11-20 mm; strong inhibition >20 mm.

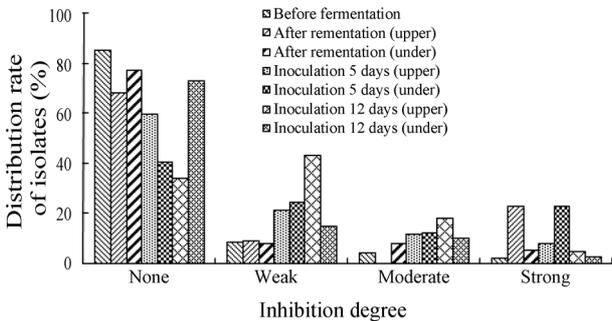


Fig. 8. Antibacterial effects on *P. agarici* of bacteria isolated from cotton waste media. none, 0 mm; weak, 1-10 mm; moderate, 11-20 mm; strong inhibition >20 mm.

많은 세균을 분리하였지만 대부분 *P. tolaasii* 균주가 분리 되었고, *P. agarici* 균주는 거의 분리 되지 않았다(자료생략). 이와 같은 결과는 느타리버섯 재배시 정상적인 발효과정에서 배지 내에 존재하는 많은 미생물은 세균성갈색무늬병을 일으키는 *P. agarici* 균은 자체적으로 어느 정도 억제가 가능하지만 가장 문제가 되는 세균성갈색반병의 원인균인 *P. tolaasii* 균은 억제하기가 매우 어려울 것으로 판단된다. 그리고 배지의 발효가 정상적으로 이루어지지 않았을 경우 많이 발생하는 푸른곰팡이병의 원인균인 *Trichoderma harzianum*을 강하게 억제하는 미생물도 배지내에 거의 존재하지 않았다(Fig. 9). 따라서 Lee 등(2009)이 정상적인 발효과정이 진행되었을 경우 배양초기까지 사상균이 거의 분리 되지 않았다는 보고한 바와 같이 이러한 푸른곰팡이병을 방제하기 위해서는 배지의 살균과 발효과정에 세심한 주의를 기울여 정상적인 발효에 의해 이러한 유해곰팡이가 사멸되도록 하는 것이 가장 중요하다고 판단된다.

적요

본 시험은 재배과정 중 균상배지에서 분리한 세균들의 특성을 조사하여 버섯균의 생육 및 병원균과의 연관관계를 밝히고자 하였다. 정상적으로 버섯을 수확한 농가의 경우 버섯 생육초기에 분리한 세균일수록 버섯균주에 대해 저해정도가

감소하였으나, 생육이 진행될수록 저해균의 수가 증가하였으나, 버섯 수확에 실패한 농가의 경우 반대의 경향을 보였다. 또한 합성배지에 분리세균을 도말한 후 느타리버섯 균의 생육을 조사한 결과 정상적 농가의 경우 살균 직후 보다 생육이 진행될수록 저해균의 수가 증가하였지만, 실패한 농가는 오히려 반대의 경향을 보였다. 그러나 톱밥배지에서는 버섯 생육초기보다 후기에 분리한 세균이 저해하는 정도가 오히려 낮았다. 또한 이들 분리 세균은 분비성 물질을 통해서 버섯균의 생육과 증식에 영향을 미쳤다.

분리 미생물 중 세균성갈색반병의 원인균인 *Pseudomonas tolaasii*을 강하게 억제하는 미생물은 거의 없었으며 소수의 균주에서 약한 길항력을 보였다. 그러나 세균성갈색무늬병을 일으키는 *P. agarici*에 대해서는 강한 억제력을 보이는 균주가 많이 존재하였으며, 푸른곰팡이병의 원인균인 *Trichoderma harzianum*을 강하게 억제하는 미생물도 배지내에 거의 존재하지 않았다. 이와 같이 배지내에는 다양한 미생물이 존재하고 이들 다양한 미생물과 버섯균의 상호작용에 대한 면밀한 연구가 이루어진다면 느타리버섯 재배과정 중 발생하는 다양한 문제점을 해결할 수 있는 좋은 방법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

Kim, I. G and Whang, K. S. 2002. The observation and a quantitative evaluation of viable but non-culturable bacteria in potable groundwater using epifluorescence microscopy. *The Korean Journal of Microbiology*. 38:180-185.
 Lee, C. J., Yun, H. S., Jhune, C. S., Cheong, J. C. and Han, H. S. 2009. Changes and distributional pattern of microorganism in cotton waste media for Oyster mushroom cultivation. *The Korean Journal of Mycology*. 37:150-154.
 Miller, F. C. and Macauley, B. J. 1988. Odours arising from mushroom composting: *Areview. Aust. J. Exp. Agric.* 28:553-560.
 MFAFF, 2009. Actual yield of industrial product.
 Piddock, L. J. V. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 68:307-318.
 Randle, P. and Flegg, P. B. 1978. Oxygen measurements in a

- mushroom compost stack. *Sci. Hortic.* 19: 315-323.
- Ross, P. C. and Harris, P. J. 1983. An investigation into the selective nature of mushroom compost. *Sci. Hortic.* 17:61-70.
- Stamets, P. and Chilton, J. C. 1983. The mushroom cultivator, a practical guide to growing mushrooms at home. Agarikon Press. 248-251.
- Stanek, M. 1972. Micro-organisms inhabiting mushroom compost during fermentation. *Mushroom Sci.* 8:797-811.
- Stölzer, S. and Grabbe, K. 1991. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. pp. 141-146. In: Maher, M. J. E. Science and Cultivation of edible fungi. Ashgate Pub. Co., Netherlands.