

# 느타리버섯 유해균 *Hypocrea*속 균의 발생 생태 및 방제법 개발

유승헌\* · 서건식\* · 김홍규\*\*

(\*충남대학교 농업생명과학대학 농생물학과 · \*\*충남농업기술연구원)

## Occurrence ecology and control of the weed mould *Hypocrea* in oyster mushroom production

Yu, Seung-Hun\* · Seo, Geon-Sik\* · Kim, Hong-Kyu\*\*

\*Chungnam National University

\*\*Chungnam Agricultural Research and Extension Services

### 적 요

느타리버섯 유해균 *Hypocrea*속 균을 형태적 특징 및 분자 생물학적 기법을 이용하여 분류, 동정하며, 배양적 특징 및 발생 생태를 구명하고, 화학방제, 경종적 방제 및 생물학적 방제를 통한 종합적인 방제 대책을 확립하기 위하여 전국 7개 시, 군의 42개 재배농가에서 *Hypocrea*속 균의 발생을 조사하였으며 이들 농가에서 *Hypocrea* 25 균주, *Trichoderma* 30여 균주를 분리 확보하였다. 분리된 *Hypocrea*는 형태적 특징에 따라 2종류로 구분되었으며, 이들이 형성하는 stroma, 자낭각, 자낭, 자낭포자의 형태적 특징과 RAPD, RFLP 기법을 이용하여 *Hypocrea* 균주간의 유연관계를 조사한 결과 2종의 *Hypocrea*는 유전적으로 다른 종임이 확인되었고, 종내의 변이는 없는 것으로 밝혀졌다. *Hypocrea*속 균의 균사생장 최적 온도는 25°C이고 stroma는 15~25°C 범위에서 발생하는 것으로 밝혀졌다. *Hypocrea* 방제약제를 선발하기 위하여 16종의 시판 살균제와 소독제를 공시하였던 바 *Hypocrea* 방제약제로 가벤다, 판마쉬 및 스포르곤의 방제효과가 우수하였다. 환경 친화적 예방 및 방제법을 개발하기 위하여 *Hypocrea* 균에 길항력을 가지는 세균 CNU AL-1을 확보하였고, 비닐 멀칭 재배법이 유해균의 예방에 효과적임을 제시하였다.

### I. 서론

느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*)은 재배방법이 비교적 잘 알려져 있고 재배를 위한 시설 투자도 다른 버섯류의 재배에 비해 저렴하기 때문에 농가에서 널리 재배되고 있고 재배농가와 수요가 매년 증가하고 있다. 느타리버섯은 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 폐쇄 배지를 이용한 재배법이 보급되면서 우리나라 버섯 산업이 비약적으로 발전하였다. 그러나 재배관리의 미숙으로 인하여 재배과정 중 각종 병해가 발생하여 재배에 실패하는 농가가 적지 않게 발생하고 있다. 특히 *Trichoderma*속 균에 의해 발생하는 푸른곰팡이병은 재배사의 구조, 재배형태, 재배시기, 재배과정, 재배품종을 가리지 않고 발생하고, 최근에는 일부 *Trichoderma*속과 *Gliocladium*속 균의 완전세대로 알려진 *Hypocrea*속 균

에 의한 피해도 심각하여 느타리 재배농가에 경제적  
으로 큰 손실을 주고 있다.

느타리 재배시 발생하는 푸른곰팡이병균에 대한  
연구는 국내에서 김(1985)이 *T. hamatum*, *T. viride*,  
*T. koningii* 등 3종을 분리하여 이들이 내는 항생물질  
이 느타리, 표고, 팽이, 목이의 생육에 미치는 영향을  
조사한 바 있고, 정(1986)과 신(1987)은 느타리 벗짚  
재배시에 발생하는 푸른곰팡이병균의 종류를 조사한  
바 있다. 특히, 신(1987)은 조사한 모든 재배사에서  
*Trichoderma*속 균이 발생하여 피해를 주었고, 이들을  
*T. viride*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum*,  
*T. aureoviride*, *T. longibrachiatum*, *T. piluliferum* 등으  
로 동정하였으며, *Trichoderma*속 균 외에 *Rhizopus*와  
*Aspergillus*도 각각 27.7%와 16.6%의 비율로 발생하였  
음을 보고한 바 있다.

푸른곰팡이의 주원인인 *Trichoderma*속 균에 관한  
연구는 형태학적 특징과 분자생물학적 기법을 이용한  
분류연구 그리고 식물병의 생물학적 방제에 관한 연  
구가 대부분이고(Borneman과 Hartin, 2000; Lieckfeldt  
등, 1999; Chen 등, 1999; Hermosa 등, 2000; Bidochka  
등, 1999; Kindermann 등, 1998) 푸른곰팡이병균의 발  
생생태와 이와 관련된 종합적인 방제에 관한 연구는  
매우 미흡하다. 국내에서 전(1990)은 푸른곰팡이병의  
방제약제로 thiabendazole이 효과가 있음을 보고하였  
으나 최근에는 느타리버섯 재배시 신종 푸른곰팡이  
병균이라고 불리는 *Trichoderma* sp.와 그의 완전세대  
인 *Hypocrea*속 균류에 의한 피해가 증가하고 있어 이  
들의 동정 및 발생생태 더 나아가 효과적인 예방 및  
방제에 관한 연구가 절실하다.

*Trichoderma*속 균은 미생물에 대해 기생력을 가지  
고 있고 다양한 항생물질을 생성하는 특성 때문에  
식물병의 생물학적 방제에 많이 이용되고 있지만, 이  
러한 특성은 버섯 재배시에 심각한 병원균으로 작용  
하는 원인이 되고 있다. Komatsu(1976)와 Tokimoto  
(1982)는 일본의 대표적인 재배버섯인 표고에 피해를  
주는 *Trichoderma*속 균과 *Hypocrea*속 균에 의한 표고  
골목의 피해와 분류학적 연구를 체계적으로 연구한  
바 있다. 또 대표적인 식용버섯의 하나인 양송이도  
*Trichoderma*속 균에 의한 피해가 보고되어 있는데,

1986년 영국의 아일랜드 지방에서 Th2 biotype(Seaby,  
1987과 1989)과 1990년대 초반에 북미에서 Th4  
biotype의 *T. harzianum*이 대발생하여 막대한 손실을  
초래한 것으로 보고되어 있다(Morris and Doyle,  
1995). 한편 푸른곰팡이에 의한 느타리의 피해에 관  
한 보고는 표고와 양송이에 비해서 적은 편이나 벨  
기에에서 느타리 재배시에 발생하는 *Trichoderma*속  
균에 의한 푸른곰팡이병이 보고된 바 있다(Lelley,  
1987; Poppe 등, 1985).

이와 같이 버섯 재배시 심각한 경제적 손실을 주  
고 있는 푸른곰팡이병의 방제 약제로는 대부분의 불  
완전균류에 탁월한 살균효과가 있으나 담자균류에  
대해서는 살균 효과가 미약하거나 선택독성을 보이  
는 benzimidazole계 살균제인 benomyl이 일반적으로  
사용되고 있고(Edgington 등, 1971), 국내에서도 버섯  
류의 병해방제에 대한 효과가 인정되면서(김 등,  
1979) 버섯 재배농가에 널리 사용되어 왔다. 그러나  
benzimidazole계 살균제는 연용하면 약제저항성균이  
쉽게 출현하는 것으로 알려져 있고, 약제의 살포농도  
및 회수를 증가시켜도 살균 효과가 떨어지고 때에  
따라서는 약해를 발생시키는 문제점을 야기하고 있  
다. 우리나라에서도 최근 느타리 재배농가에서 푸른  
곰팡이병 발생 초기에 방제약제를 충분히 살포하여  
도 방제 효과가 없어 재배에 실패하는 농가가 많이  
발생하고 있으나 약제저항성균의 발생과 방제에 관  
한 연구는 전무한 실정이다. 한편 최근 국내에서 느  
타리 재배시에 대 발생하여 큰 피해를 주고 있는  
*Hypocrea*속 균의 분류와 발생생태 및 방제에 관한 연  
구는 아직 미비한 실정이다.

본 연구는 *Hypocrea*속 균에 의한 병의 예방과 방제  
법을 확립하기 위하여 ① 느타리 재배사에서 *Hypocrea*  
속 균에 의한 피해와 발생생태를 조사하였고, ② 전  
국적으로 균주를 수집하여 형태학적 특징과 분자생  
물학적 기법을 이용한 분류를 시도하였으며, ③ 국내  
에서 수집된 균주의 배양적 특성과 병원성을 조사하  
였다. ④ 마지막으로 효과적인 방제법을 개발하기 위  
하여 방제약제의 탐색 및 길항미생물을 이용한 생물  
학적 방제 가능성을 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

1. *Hypocrea*속 균에 의한 피해 조사 및 균주의 분리  
 느타리 재배시 발생하는 *Hypocrea*속 균에 의한 피해를 조사하고 균주를 수집하기 위하여 2000년 3월부터 2001년 1월까지 전국 7개 시, 군의 42개 재배사를 방문하여 피해를 조사하였으며 *Hypocrea*의 stroma를 수집하여 chloramphenicol을 첨가(0.5g/1,000ml 배지)한 PDA에서 조직분리법으로 균을 순수 분리하였다. 발생생태를 구명하기 위하여 재배사의 형태, 배지의 종류, 재배품종, 재배시기 등에 따른 *Hypocrea*의 발생 여부를 조사하였다.

### 2. *Hypocrea*속 균의 분류, 동정

가. 형태적 특징에 의한 분류, 동정 : *Hypocrea*속 균을 분류, 동정하기 위하여 채집된 *Hypocrea*속 균의 자낭, 자낭포자, 그리고 불완전세대의 분생자경, 분생포자 등을 광학현미경으로 관찰하였고, 형태학적 특징을 기준으로 Doi(1972)와 Komatsu(1976) 등의 분류 체계에 따라 동정하였다.

나. RAPD, RFLP법을 이용한 분류, 동정 : 공시 균주를 PD broth에 진탕 배양하여 얻은 균사체를 동결 건조 후 액체질소로 급냉, 마쇄한 뒤 extraction buffer(LiCl 100 $\mu$ M, EDTA 10 $\mu$ M, Tris-HCl(pH 7.4) 10 $\mu$ M, 0.05% SDS)에 현탁하고, 이 현탁액을 phenol : chloroform(1 : 1)으로 추출하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA를 10-mer 및 20-mer의 random primer를 사용하여 PCR로 증폭하고, 이를 전기영동으로 분석하여 증폭산물의 다형성을 비교 분석하는 방법으로 중간 혹은 균주간의 유연관계를 분석하였고, rDNA의 ITS 영역을 PCR로 증폭하고 5종의 제한 효소를 사용하여 RFLP 분석을 실시하였다.

3. *Hypocrea*속 균의 배양적 특성 및 발생생태 구명  
 분리된 *Hypocrea*속 균을 PDA배지에 접종하여 5, 10, 15, 20, 25, 30 그리고 35°C에 배양하여 균사생장 및 자작의 형성 여부를 조사하였다. 또 발생생태 및 병원성을 조사하기 위하여 버섯재배용 폐면 배지 혹은 PDA에 공시병원균과 느타리 균을 혼합 접종하여

정착력 및 경합력 등을 조사하였다.

### 4. 방제약제의 탐색 및 방제법 개발

가. 방제약제의 탐색 : 효과적인 방제약제 선발을 위하여 베노밀, 판마시, 스포르곤, 홀팻, 타코닐 등의 살균제와 목초액, 트리코프리 등 저공해 소독제 등을 공시하여 *in vitro*에서 각 약제의 기준 농도에서의 *Hypocrea*속 균에 대한 항균 효과와 느타리 균에 대한 안전성을 검토하여 항균력이 인정된 약제를 재배사에서 처리 농도, 시기 및 방법 등을 달리하여 최적 방제 방법을 조사하였다.

나. 생물학적 방제를 위한 길항미생물의 분리 및 적용 시험 : 느타리버섯 재배 균상에서 느타리버섯과 공존하는 각종 미생물을 분리하여 이들 미생물 중 *in vitro*에서 *Hypocrea*균에 길항 작용을 나타내는 세균을 선발하였고, 선발된 균주를 PDA배지 상에서 길항 효과와 느타리 균에 미치는 영향을 조사하였다.

다. 재배방법 개선에 의한 방제법 개발 : *Hypocrea*속 균의 오염을 예방하고 방제를 효과적으로 실시할 수 있는 재배법을 개발하기 위하여 비닐멀칭재배법을 응용하여 병발생과 병억제 효과 및 버섯의 수량성을 검토하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 느타리 재배시 *Hypocrea*속 균에 의한 피해

느타리버섯 재배시 발생하여 피해를 주는 *Hypocrea*속 균에 의한 피해 조사 및 균주의 분리 수집을 위하여 2000년 3월부터 2001년 1월까지 충남 연기군을 비롯하여 전국 7개 시, 군의 42개 재배 농가에서 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생 및 피해 정도를 조사한 결과는 표 1, 2 그리고 3과 같다.

전체 조사 농가 중 *Hypocrea*의 불완전 세대인 *Trichoderma* 발생 농가는 35 농가로 약 83.3%의 농가에서 푸른곰팡이 병이 발생하였으며, 이들 농가 중 백색형 *Hypocrea*가 17농가, 갈색형 *Hypocrea*가 3 농가에서 발생하였다(표 1). 이중 갈색형 *Hypocrea*는 재배 환경에 따라 발생 여부가 결정되는 것으로 추정

(발생생태 참고)되기 때문에 조사시기에 따라서 *Trichoderma*속 균이 발생한 재배사는 갈색형 *Hypocrea*가 발생 할 가능성이 매우 높다.

국내의 느타리버섯 재배에 이용되는 배지 재료로는

표 1. 느타리버섯 재배사에서 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생

지역	조사 농가수	<i>Trichoderma</i> 발생 농가수	<i>Hypocrea</i> 발생농가 수	
			백색형	갈색형
충남 연기군	13	12	2	3
충남 공주시	3	2	1	0
충남 서산시	3	3	2	0
전남 함평군	7	7	1	0
경남 경주시	4	2	0	0
충남 논산시	2	2	1	0
전남 여수시	10	7	10	0
계	42	35	17	3

표 2. 배지 재료별로 분리된 *Hypocrea*의 종류

배지재료	백색형 <i>Hypocrea</i>	갈색형 <i>Hypocrea</i>	계
폐송	14	3	17
벗짚	3	0	3
압축	2	0	2
툽밥	0	0	0
계	19	3	22

표 3. *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생 시기와 느타리버섯 수확량

재배사	배지의 종류	<i>Hypocrea</i> 의 종류	<i>Hypocrea</i> 발생시기	<i>Hypocrea</i> 와 <i>Trichoderma</i> 의 발생면적(%)	느타리버섯 수확량 (kg/60평)
충남 연기군 A	폐송	갈색형	1 주기후	65	124
충남 연기군 B	폐송	백색형	3 주기후	30	450
충남 연기군 C	벗짚	백색형	4 주기후	10	620
충남 공주시 D	폐송	백색형	1 주기후	30	180
전남 함평군 E	벗짚	<i>Trichoderma</i>	균사배양기	70	0
경북 경주시 F	폐송	-	-	< 3	720
전남 여수시 G	폐송	백색형	1 주기중	70	20

폐송, 벗짚, 툽밥 등이 있는데 이 중 폐송을 사용하는 농가가 80% 이상으로 추정되고 있다. *Hypocrea*의 발생은 툽밥을 이용한 병 재배에서는 발견되지 않았고 폐송과 벗짚을 사용한 균상 재배 시에만 발생하였다(표 2). 이는 배지 재료의 종류에 따른 것이 아니고 재배 형태에 따른 것으로 추정되며, 툽밥을 이용한 병 재배 시에도 *Hypocrea*의 불완전 세대인 *Trichoderma*에 의한 피해가 막심하다. 그러나 병 재배 시에는 *Trichoderma*에 감염된 병을 재배사에서 조기에 격리하여 처분하기 때문에 완전세대인 *Hypocrea*를 형성할 확률이 매우 낮은 것으로 생각된다.

*Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생에 의한 느타리버섯의 피해는 주로 균상에 감염되어 자실체의 발생을 저지하기 때문에 감염된 *Hypocrea*의 종류와 *Hypocrea* 발생시기에 따라서 그 피해 정도가 다르다. 본 연구의 조사에서 전남 함평군의 농가의 경우 균사 배양 중에 *Trichoderma*가 오염되어 재배를 포기하였기 때문에 전혀 버섯을 수확할 수 없었고, 전남 여수시의 G재배사의 경우 1주기 중에 발생하여 빠르게 균상 전체로 감염되었기 때문에 매우 낮은 수확량을 보였다. 한편, 1, 2 주기에 비교적 정상적으로 재배 관리가 가능하였던 충남 연기군의 B, C 재배사의 수확량은 3주기까지의 *Trichoderma*의 발생면적이 3% 이하로 비교적 양호한 재배 관리가 이루어진 경북 경주시 F 재배사 수확량의 약 60~85%의 수확량을 보였다(표 3). 따라서 재배사내 환경 조절 등으로 *Trichoderma* 및 *Hypocrea*속 균의 발생을 최대한 억제하고 발생 초기

에 방제를 하여 가능한 발생 시기를 지연시키는 방법으로 방제가 가능한 것으로 사료된다.

본 연구 수행 기간 중 농가에서 재배한 품종은 원형, 춘추, 흑평, 수한, 삼복 느타리 등이었고 봄, 가을 재배와 여름재배 그리고 겨울재배간에 *Trichoderma*속 균의 발생은 재배시기별로 많은 차이가 있었으나 *Hypocrea*속 균의 발생은 시기에 관계없이 발생하는 경향을 보였다(표 4).

국내에서 가장 일반적으로 재배하고 있는 품종인 원형과 춘추는 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*의 발생이 심하여 70%이상의 농가에서 발생하였고, 2~3년 전부터 외국에서 도입하여 재배하고 있는 품종인 흑평과 수한은 50~70%의 농가에서 *Trichoderma*가 발생하였으나 *Hypocrea* 발생은 11농가 중 1농가만 발생하여 매우 낮은 발생율을 보였다. 한편 여름재배품종인 삼복의 경우도 조사 한 3농가 중 2농가에서 *Trichoderma*

에 의한 피해가 있었으나 *Hypocrea*가 발생한 농가는 없었다. 삼복을 제외하고는 모두 중저온성 혹은 중온성으로 25~30°C에서 최적의 군사 생장을 보이고, 10~20°C 범위에서 자실체가 발생하는 특성을 가지고 있어 큰 차이는 없으나 흑평과 수한은 외국 도입 품종으로 흑평은 군사생장이 매우 느리고 수한은 1주기 수확 후 버섯이 잘 발생하지 않는 등 그 특성이 아직 밝혀지지 않아 재배에 실패하는 경우가 많다. 따라서 흑평과 수한 품종이 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*에 저항성을 가지고 있는지 아니면 재배 주기가 상대적으로 짧아 *Hypocrea*의 발생 전에 재배가 끝나기 때문에 피해가 없는지에 대해서는 좀더 연구해서 구명할 필요가 있다. 삼복의 경우는 고온성품종으로 군사생장적온이 25~30°C, 자실체 발생온도가 23~28°C로 *Hypocrea*의 발생 온도보다 높기 때문에 피해가 없었던 것으로 추정된다.

한편 본 연구를 수행하면서 갈색형 *Hypocrea* 3 균주, 백색형 *Hypocrea* 19 균주를 수집, 분리하였으며 갈색형 *Hypocrea*의 불완전 세대로 추정되는 *Trichoderma*속 균을 30여 균주 확보하였다. 이들 균주는 형태적 특징 및 분자 표식에 의한 분류 동정과 병원성 검정에 사용하였다.

표 4. 재배시기와 품종이 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생에 미치는 영향

재배품종	재배시기	유해균 발생 농가수/조사농가 수	
		<i>Hypocrea</i>	<i>Trichoderma</i>
원형	봄, 가을, 겨울	7/10	8/10
춘추	봄, 가을, 겨울	4/4	4/4
흑평	봄, 가을, 겨울	1/4	2/4
수한	봄, 가을	0/7	5/7
삼복	여름	0/3	2/3
계		12/28	21/28

## 2. *Hypocrea*속 균의 발생생태

### 가. 갈색형 (Brown colored stroma)

미성숙한 stroma는 회백색~아이보리색이며 성숙도가 진전됨에 따라 진한 갈색으로 변한다. 영양생장

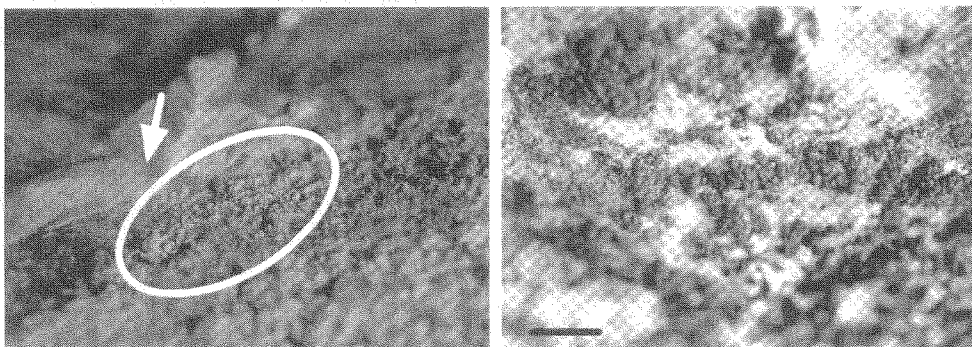


그림 1. *Trichoderma*속 균이 만연한 균상에 발생한 갈색형 *Hypocrea*의 stroma(scale bar : 1cm)

(자낭각이 형성되기 전까지)이 완전히 끝난 후, 착색되며 착색되기 시작하면 stroma의 크기는 거의 변하지 않는다. Stroma를 순수 조직 분리하면 쉽게 *Trichoderma*형 균사가 발생하며, *in vitro*에서는 stroma를 잘 형성하지 않는다. 불완전세대는 농가에서 신종 푸른곰팡이로 불리워지고 있는 *Trichoderma* sp.이며, 보통은 *Trichoderma*가 만연된 느타리버섯 균상을 방지하면 *Trichoderma*균집 사이 혹은 주변에 발생한다(그림 1). 또 *Trichoderma*를 방제하기 위하여 베노밀 등을 처리한 부위에 쉽게 발생하는 경우도 관찰되었다(그림 1의 왼쪽). 그림 1은 *Trichoderma*에 의해 오염된 균상을 베노밀로 적신 신문으로 덮어 포자의 비산을 막고, 1~2일 후 신문 위에 베노밀을 분무하였는데도 불구하고 발생한 *Hypocrea*(원안쪽)의 Stroma이며, 베노밀로 적신 신문에도 *Trichoderma*가 만연하여(화살표) 이 균은 베노밀 저항성 균임을 알 수 있었다. 이 균의 불완전세대는 고도의 베노밀 저항성을 가지는 것으로 판명되어 균상에 한번 발생하면 기존의 푸른곰팡이병 방제 약제를 이용한 방제가 거의 불가능하였다(표 8, 9, 10).

나. 백색형 (White colored stroma)

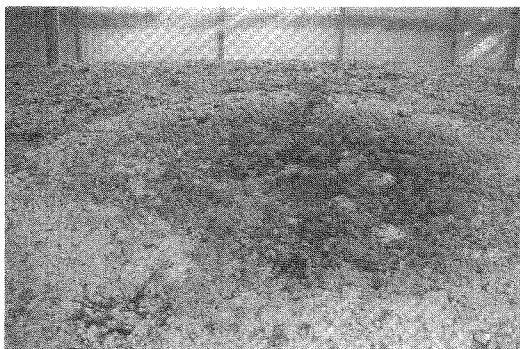
미성숙한 stroma는 흰색이며 완전히 성숙되어도 흰색이거나 붉은 빛을 띤 갈색이다(그림 2). 느타리버섯 재배 초기에 대 발생하여 재배 자체를 불가능하게 하는 경우가 많다. 균사가 순백색이고 균상에

서 불완전세대의 분생 포자를 잘 형성하지 않기 때문에 느타리 균사와 혼재하고 있는 경우에도 발견이 어렵다. *Trichoderma*의 균집이 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.

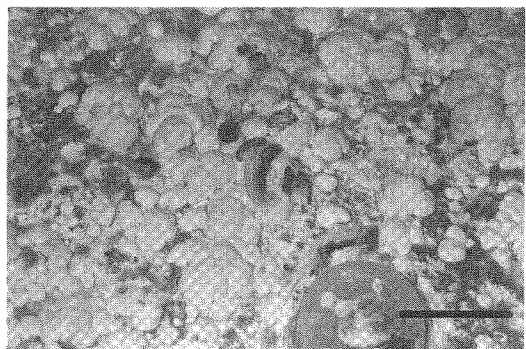
Stroma를 순수 조직 분리하거나 자낭포자를 발아시켜 얻은 균사체는 생장이 1일 10mm이하로 매우 느리며 투명하고, PDA배지에서 약 3주일 이상 배양하면 불완전세대인 *Trichoderma*형의 분생포자를 형성한다. *In vitro*에서 광을 조사하면서 배양하면 stroma가 형성되며(그림 3), 형성된 stroma도 자낭각과 자낭포자를 형성한다. 느타리버섯 균과 대치배양을 하면 *Hypocrea*균은 느타리버섯 균총 안으로 침입하여 성장하나 육안으로 구별하기가 매우 어렵고 약 2주 후에 stroma가 느타리버섯 균총 안에서 형성된다(그림 3의 우측). 따라서 균상에 감염되었을 경우에도 육안으로 감염 여부를 판정하는 것이 쉽지 않고 stroma가 형성된 후에 감염이 확인되는 경우가 많다.

다. *Hypocrea*가 발생한 균상의 오염정도

*Hypocrea*는 거의 대부분 균상의 표면에 stroma를 형성하기 때문에 버섯의 발생을 저해하여 피해를 준



표면균상재배



압축배지상자재배

그림 2. 느타리 인공재배시 발생한 백색형 *Hypocrea*.(scale bar : 3cm)

다. 따라서 *Hypocrea*균이 균상의 내부까지 감염되었는지 혹은 표면에만 감염하고 있는지는 방제 방법을 결정하는데 중요한 단서가 되지만 육안으로는 균상의 내부까지 균이 감염되어 있는지의 여부를 확인할 수 없기 때문에 균상 표면에 *Hypocrea*의 stroma가 발생한 부분의 균상 내부에서 *Hypocrea*균을 검출하여 균상내부의 오염여부를 확인한 결과는 표 5와 같다.

즉 *Hypocrea*의 stroma가 발생한 균상의 표면과 내부에서 *Hypocrea*를 검출한 결과 표본을 채취한 모든 부분에서 *Hypocrea* 균이 분리되어 균상 내부까지 전체적으로 감염되어 있음이 확인되었다. 따라서 균상 표면에 stroma가 발생한 경우에는 이미 균상의 내부까지 병원균이 침입하여 있는 상태이기 때문에 방제에 어려움이 있을 것으로 사료된다.

표 5. 균상 표면에 *Hypocrea*의 stroma가 발생한 균상 내부의 오염여부

장 소	육안으로 감염 확인여부	<i>Hypocrea</i> 균의 분리 여부
균상 표면	가능	분리
균상 표면에서 약 1 cm	불가	분리
균상 표면에서 약 5 cm	불가	분리
균상 표면에서 약 10 cm	불가	분리
균상 표면에서 약 12 cm	불가	분리

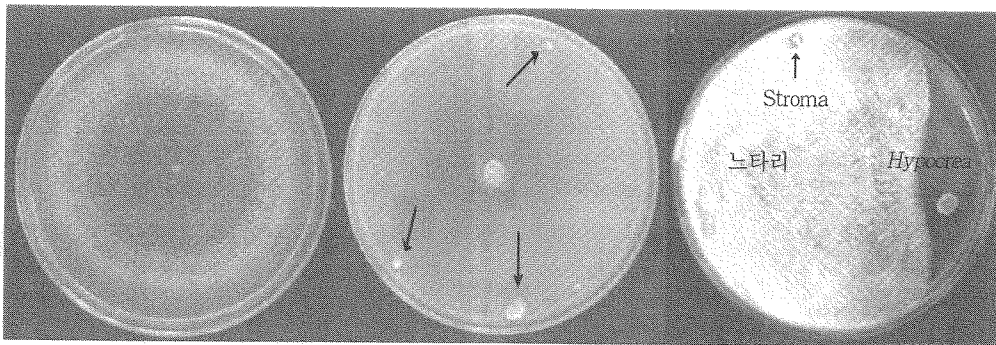
### 3. *Hypocrea*속 균의 분류, 동정

*Hypocrea* spp.는 *Trichoderma*속 균의 완전세대로서 일본에서는 표고버섯의 골목을 가해하는 대표적인 균으로 많은 종이 보고되어 있으나 국내에서는 아직 보고된 바 없고, 특히 느타리버섯의 재배에 피해를 주는 *Hypocrea* spp.의 분류 동정 및 발생 생태에 관한 보고는 아직 없다.

#### 가. 형태적 특징

국내의 느타리버섯 균상에 발생하는 *Hypocrea*는 2 종류, 즉, 백색 stroma를 형성하는 것과 갈색 stroma를 형성하는 균이 발생하고 있으며 이들의 형태적 특징은 표 6 그리고 그림 1, 2, 4, 5와 같다.

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 갈색형 균의 stroma가 성숙하지 않았을 때에는 흰색에서 아이보리색을 띠기 때문에 백색형 균과 구별이 어렵다. 자낭안에 형성된 자낭포자는 두 종류 모두 16개이나, 형태는 갈색형이 약간 길쭉한 타원형~타원형이고 투명한 반면, 백색형은 기부가 잘린 계란형이고, 표면이 거칠고 돌기가 있다. 분리된 *Hypocrea*속 균의 종의 동정은 현재 진행중이다.



불완전세대

stroma 형성(arrowheads)

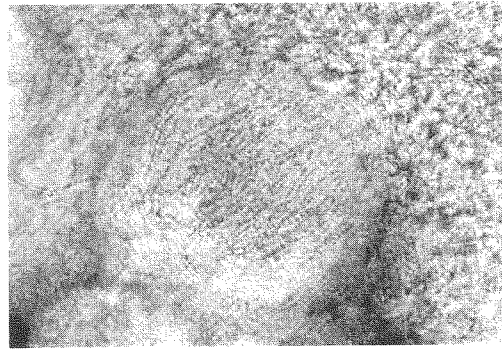
그림 3. 백색형 stroma를 형성하는 *Hypocrea*의 *in vitro*에서의 stroma 형성

표 6. 느타리버섯 균상에 발생하는 2 종의 *Hypocrea*의 형태적 특징

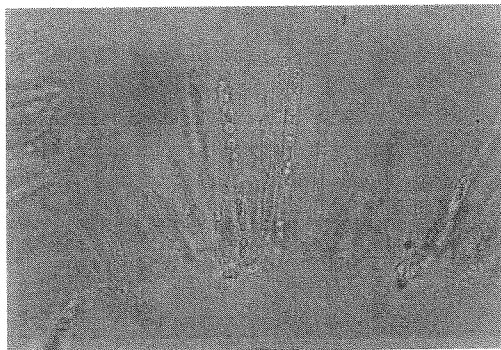
구분	특징	<i>Hypocrea</i> sp. 1.	<i>Hypocrea</i> sp. 2.
Stroma	Color	Brown	White
	Size	1.0~2.0×1.0~2.0mm	6.0~13.0×3.0~11.0mm (Ave. 7.7×5.9)
Perithecium	Morphology	Subglobose or slightly vertically elongated	Subglobose or slightly vertically elongated
	Size	196~256×116~248 $\mu$ m (Ave. 217.3×174.7)	270~280×250~260 $\mu$ 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, warty
	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)



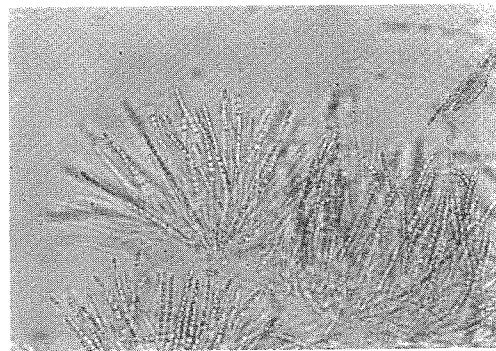
갈색형 stroma의 자낭각(×100)



백색형 stroma의 자낭각(×100)



갈색형 stroma의 자낭(×400)



백색형 stroma의 자낭(×100)

그림 4. 갈색형과 백색형의 stroma를 형성하는 *Hypocrea*와 자낭각, 자낭, 자낭포자



한편 갈색형의 stroma를 형성하는 *Hypocrea*의 불완전세대는 분생자경과 phialide의 분지형태가 *Gliocladium*속과 비슷한 형태로 penicillate로 형성되고, phialide가 굵은 형태로 형성되는 것이 특징이다. 그러나 백색형의 stroma를 형성하는 *Hypocrea*의 불완전세대는 분생자경과 phialide의 분지형태가 비교적 규칙적이고 phialide가 가늘고 긴 형태로 갈색형 stroma를 형성하는 균주와 다른 형태를 보인다(그림 5).

나. RAPD, RFLP법을 이용한 *Hypocrea*속 균의 분류

*Hypocrea*속 균의 불완전 세대인 *Trichoderma*속 균은 형태학적으로 매우 유사하고, 형태 분류의 기준이 되는 분생 포자의 모양이나 크기가 매우 작고 유사하며, 배양 조건에 따른 변이도 심하기 때문에 형태학적 특징만으로 분류하기에는 한계가 있다. 따라서

본 연구에서는 이러한 문제점을 극복하기 위하여 DNA marker을 이용한 분자 분류를 시도하였다. PCR반응을 위한 primer는 GTO2, OPA13, OPA18 (10-mer), URP-01과 URP-04 (20-mer)을 사용하였으며, PCR 반응 생성물을 agarose gel에 전기 영동 한 결과는 그림 6, 7과 같다.

각 균주의 genomic DNA를 추출하고 10-mer primer GTO2, OPA13 그리고 OPA18로 증폭하여 얻은 RAPD pattern은 갈색형 stroma를 형성하는 균주 (*Hypocrea* sp. 1) 그룹(lane ②, ③, ④, ⑤, ⑥, ⑧)과 백색형 stroma를 형성하는 균주(lane ⑨, ⑩, ⑪) 그룹 간에 뚜렷한 차이를 보였고 대조 균주로 공시한 *T. harzianum*(lane ①)과 *T. viride*(lane ⑦)와도 뚜렷한 차이를 보여 백색형과 갈색형 stroma를 형성하는 *Hypocrea* 균은 유전적 기원이 서로 다른 종일 것으로

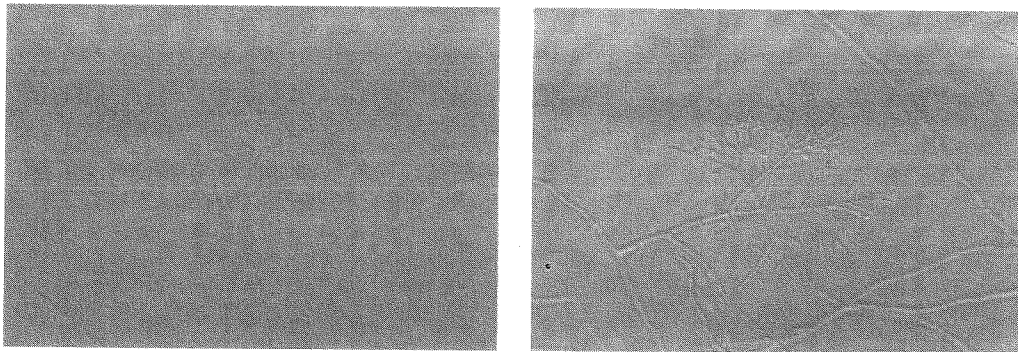


그림 5. 갈색형(왼쪽)과 백색형(오른쪽)의 *Hypocrea*의 불완전세대(×400)

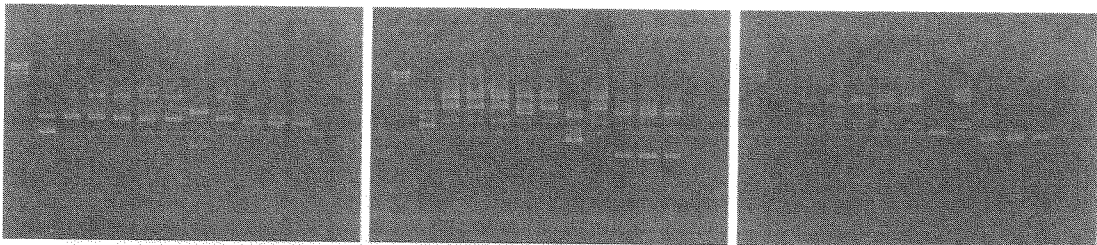


그림 6. *Trichoderma*속 균과 *Hypocrea* sp.의 RAPD 분석 (좌로부터 primer GTO2, OPA13 그리고 OPA18)

Lane ①, marker; Lane ②, *T. harzianum* 518; Lane ③, *Hypocrea* sp. 1, CNU 604; Lane ④, *Hypocrea* sp. 1, CNU 620; Lane ⑤, *Hypocrea* sp. 1, CNU 575; Lane ⑥, *Hypocrea* sp. 1, CNU 619; Lane ⑦, *Hypocrea* sp. 1, CNU 605; Lane ⑧, *T. viride*, 512; Lane ⑨, *Hypocrea* sp. 1, CNU 596; Lane ⑩, *Hypocrea* sp. 2, CNU 670; Lane ⑪ *Hypocrea* sp. 2, CNU 671; Lane ⑫ *Hypocrea* sp. 2, CNU 723

사료된다.

한편 수집한 *Hypocrea*속 균의 유전적 기원을 조사하고 분류, 동정의 기초자료로 활용하기 위하여 전국에서 16개소에서 수집한 백색형 stroma를 형성하는 균주(표 7)를 공시하여 RAPD분석과 ITS-1 region의 RFLP 분석을 실시한 결과는 그림 8과 같다. RAPD primer로 10-mer보다 균주간의 변이를 좀더 정확하게 검출해 낼 수 있는 20-mer primer인 URP-01, -03, -04, -06, -08, -10 primer을 사용하였으며, RFLP 분석을 위한 제한효소는 *Ava* I, *Hae*III, *Mbo* I, *Msp* I, *Rsa* I 을 사용하였다.

RAPD 및 ITS-RFLP분석 결과 백색형 stroma를

형성하는 균주는 채집 지역과 채집 시기에 관계없이 모두 동일한 밴드패턴을 보여 유전적으로 동일한 기원을 가지는 균임이 확인되었다. 이들 *Hypocrea*를 형성하는 균주의 DNA 분석 결과는 본 연구실에서 보관하고 있는 *Trichoderma*속 균(*T. koningii*, *T. hazianum*, *T. viride*, *T. pseudokoningii*, *T. hamatum*, *T. longibrachiatum*, *T. aureoviride*)과는 일치하는 것이 없어 국내 미기록 종 혹은 신종일 가능성이 있어 세계적인 균주 보존 기관인 ATCC, CBS, IMI등에서 도입한 표준 균주와 비교 분석을 실시하고 있는 중이다.

표 7. RAPD 및 ITS-RFLP분석을 위해 공시한 백색형 *Hypocrea* 균주

Lane	균주명	수집년월	분리장소	느타리재배특성
2	H670	2000. 05.	충남 태안	폐쇄
3	H671	2000. 05.	충남 연기 용암	폐쇄 춘추 5주기
4	H723	2000. 11.	충남 연기 국촌 A	폐쇄 춘추 2주기
5	H724	2000. 11.	충남 연기 국촌 B	폐쇄 흑평 약제(스포르곤)처리 전
6	H725	2000. 11.	충남 연기 국촌 C	폐쇄 흑평 약제(스포르곤)처리 후
7	H800	2001. 01.	충남 연기 쌍전 A	벗짚 A형 원형 4주기 녹은곳
8	H803	2001. 02.	충남 서산 음암 도암	벗짚 원형 3주기
9	H804	2001. 02.	충남 서천 비인 선도	벗짚 원형 2주기
10	H806	2001. 02.	충남 보령 주포 마강	벗짚 A형균상 원형 7주기
11	H807	2001. 02.	충남 양촌 채광	압축 수한 2주기
12	H808	2001. 02.	전남 여수 소라 관기 A	벗짚 원형 3주기
13	H809	2001. 02.	전남 여수 소라 관기 B	벗짚 원형 3주기
14	H810	2001. 02.	전남 여수 소라 관기 C	벗짚 원형 3주기
15	H811	2001. 02.	전남 여수 소라 관기 D	벗짚 원형 3주기
16	H812	2001. 02.	전남 함평 기각리 A	벗짚 원형 3~4주기 후 폐상 준비
17	H813	2001. 02.	전남 함평 기각리 B	벗짚 원형 3~4주기 후 폐상 준비

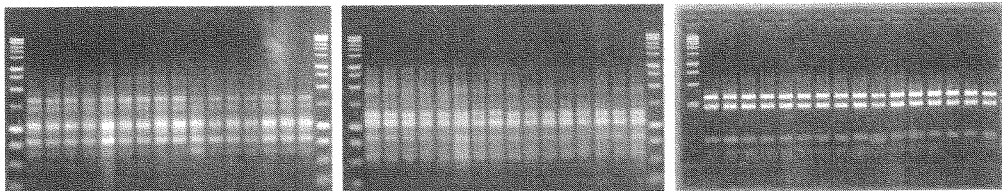


그림 7. 백색형 *Hypocrea* 균주 (*Hypocrea* sp. 2)의 RAPD (좌 : URP-01 primer, 중 : URP-04 primer) 및 ITS-RFLP (우 : *Mbo* I) 분석

3. *Hypocrea*속 균의 배양적 특성 및 병원성

가. 느타리버섯 배지에서 분리된 *Hypocrea* spp.와 *Trichoderma* spp.의 배양적 특성

느타리버섯 균상에서 분리한 *Hypocrea* spp.와 *Trichoderma* 균주를 PDA, corn meal, malt extract agar 배지에 배양하여 배양적 특징 및 균총의 형태, 군사생장을 조사한 결과는 표 5와 같다.

백색형 *Hypocrea*를 형성하는 균(CNU 670)은 기중 균사가 거의 발달하지 않으며, 군사 성장도 다른 *Trichoderma*속 균에 비하여 매우 느렸고 한천 배지 상에서 불완전세대로의 전환이 매우 느려 1개월 정도 배양하면 연노란 빛을 띤 균총을 형성하고 분생 포자도 형성한다. 또 배양중 광을 조사하면 백색의 stroma를 형성한다(그림 3). 그러나 갈색형 *Hypocrea*를 형성하는 균(CNU 501)은 기중 군사도 잘 발달하고 군사 성장도 공시한 *Trichoderma*속 균과 동등한 정도의 성장을 보였다.

한편 환경요인 중 온도와 pH의 변화가 *Hypocrea*와 *Trichoderma*속 균의 군사 성장에 미치는 영향을 조사하여 방제를 위한 기초자료를 제공하고자 군사생장에 미치는 온도와 pH의 영향 조사하였다(그림 8, 9, 표 9).

푸른곰팡이병균의 군사 성장에 미치는 온도의 영향을 조사하기 위하여 *Hypocrea* sp. 1 CNU 501(갈색 stroma형성 균주)을 비롯한 CNU 503(*T. viride*),

CNU518(*T. koningii*), CNU530(*T. harzianum*) 및 CNU 554(*T. harzianum*) 등 5 균주를 사용하여 PDA 배지에 접종한 후 15, 20, 25, 28, 37°C에서 48시간 배양한 균총의 직경을 측정하였다(그림 9). 공시한 5 균주 중 CNU 503(*T. viride*)을 제외한 모든 균주가 28°C에서 군사 생장이 가장 양호했으며 CNU 503은 25°C에서 가장 양호하였다. 이제까지 보고된 *Trichoderma*속 균의 성장적온은 25-30°C로 이번 실험에 공시한 느타리버섯 균상에서 분리된 *Trichoderma*속 균도 설정한 온도 범위 중 25~28°C에서 가장 왕성한 성장을 보였다. 한편, 한천 배지 상에서 37°C의 배양조건으로 7일간 배양한 결과, 군사가 전혀 성장하지 못하였다.

한편 백색형 *Hypocrea*를 형성하는 균주와 원형 느타리 균주를 5°C에서 35°C까지 조절하여 PDA 배지에 배양한 결과 군사성장 최적 온도는 25°C, stroma 발생 최적온도는 20°C로 판명되었다(표 9). *Hypocrea* 균주는 10°C이하와 35°C에서는 군사생장을 하지 않았으나 원형느타리의 자실체 유도와 생육 또는 군사성장 온도 범위인 15°C에서 30°C까지는 군사생장이 가능하였다. Stroma의 발생 최적온도는 군사성장 최적 온도 보다 낮은 20°C이기 때문에 이는 농가에서 25°C 전후로 느타리 군사생장을 시키고 버섯을 발생시키기 위하여 하온을 하면 *Hypocrea*의 stroma가 발생하는 원인으로 추정할 수 있다.

푸른곰팡이병균의 군사생장에 미치는 배지 pH의 영향을 CNU 501 균주를 비롯한 5 균주를 공시하여

표 8. 느타리버섯 배지에서 분리된 *Hypocrea* spp.와 *Trichoderma* spp.의 균총 형태 및 군사생장

Species	Colony			Remarks
	Color	Shape	Growth(mm/2days)	
CNU 501 ( <i>Hypocrea</i> sp. 1)	Dark bluish-green	Effuse or flat pustules	77.6	Brown stroma
CNU 503( <i>T. viride</i> )	Dark bluish-green	Compact tuft	84.3	
CNU 518 ( <i>T. koningii</i> )	Bluish-green	Compact tuft, continous crust	87.6	
CNU 530 ( <i>T. harzianum</i> )	Dark green	Tuft or pustule	87.6	
CNU 670 ( <i>Hypocrea</i> sp. 2)	White to pale yellow	no aerial mycelium	20.8	White stroma

균사생장을 조사한 결과는 그림 10과 같다. 공시한 5 균주 모두 pH 5에서 균사생장이 가장 양호하였으며 CNU 503 균주를 제외하고는 pH 6에서도 양호하였다. 한편 CNU 554 균주는 실험에 공시한 pH범위(4~5)에서는 균사 생장에 큰 차이를 보이지 않았다.

나. *Hypocrea* spp., *Trichoderma* spp.와 느타리버섯 균간의 상호작용

분리균 중 *Hypocrea* sp. 1 (갈색형), *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum* 및 *Hypocrea* sp. 2 (백색형) 균주를 *in vitro* (PDA배지)조건에서 느타리버섯균(원형)과 대치 접종하여 15, 20 및 28°C에서 배양한 후 경합력 등 상호작용을 수치화(numerical score)하여 비교하였다(표 10).

느타리 균(*P. ostreatus*)과 유해균의 *in vitro* 상호작용 패턴을 조사한 결과 표 10과 같이 온도에 따라 균

표 10. *In vitro*에서 느타리 버섯균과 유해균간의 상호작용

Species	Isolate	Pleurotus ostreatus		
		15°C	20°C	28°C
<i>Hypocrea</i> sp. 1	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
<i>Hypocrea</i> sp. 2	CNU 670	3	3	3
	CNU 623	3	3	3

1) Score 1: 병원균 우세, Score 2: 상호 저해, Score 3: 상호 혼재, Score 4: 느타리균 우세

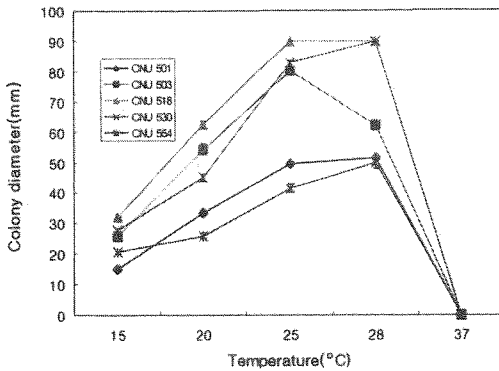


그림 8. *Hypocrea* 및 *Trichoderma*의 균사 생장에 미치는 온도의 영향(PDA배지에서 48시간 배양)

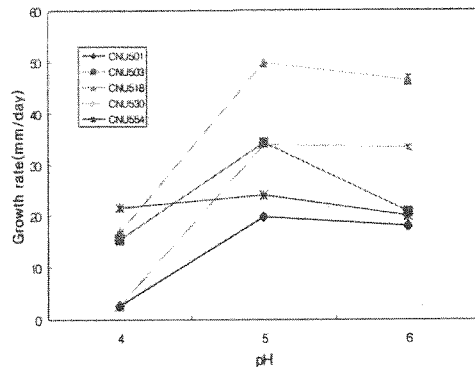


그림 9. *Hypocrea* 및 *Trichoderma*의 균사 생장에 미치는 pH의 영향(PDA배지에서 25°C, 48시간 배양)

표 9. 배양온도가 원형 느타리와 *Hypocrea*의 균사생장과 stroma형성에 미치는 영향

균사생장 및 stroma 형성a)	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
원형느타리	2.7±0.5	5.3±0.5	13.0±0.8	22.0±7.1	36.0±6.7	43.7±8.1	11.5±4.5
백색형 <i>Hypocrea</i> CNU 803	0.0±0.0	0.0±0.0	6.0±2.8	51.3±9.6	63.7±5.7	18.7±1.2	0.0±0.0
Stroma 형성	-b)	-	+	+	+	-	-

a) 원형느타리 균주와 *Hypocrea* CNU 803 균주를 PDA배지에 접종하여 각 설정 온도에서 각각 10일간 혹은 5일간 배양함.

b) - : stroma를 형성하지 않음, + : stroma를 형성함

주간에 차이를 보였지만 공시한 모든 유해균 균주가 느타리 균을 우점하였다. 우점도는 배양 온도에 따라 차이를 보였는데 15°C와 20°C에서 느타리 균의 우점도가 28°C에서 배양하였을 경우보다 약간 높은 경향을 보였다. *Hypocrea* sp. 1 CNU501 균주와 CNU517 균주, *T. harzianum*으로 동정된 CNU530 균주는 느타리 균과 접촉시의 균사생장 속도가 단독 배양했을 때 보다 약간 저하되었으나 느타리 균의 생장을 저해하면서 우점하였다. 반면에 *T. koningii*로 동정된 CNU518 균주와 CNU577 균주는 15~20°C에서 느타리 균과 접촉시 균사생장이 억제되어 느타리 균과 서로 상호저해(mutual inhibition)를 보였으나 28°C에서 배양하면 CNU501 균주 및 CNU517 균주와 같은 경향을 나타냈다. *T. viride*로 동정된 CNU507 균주 및 CNU561 균주는 15°C에서는 느타리 균에 의해 균사생장이 억제되었지만 20°C 이상에서는 거의 영향받지 않았다. 한편 백색형 *Hypocrea*를 형성하는 균주(CNU 670, 623)의 경우 배양초기에는 상호 영향이 거의 없었으나 2~3주 배양하면 느타리버섯 균총 위에도 stroma를 형성하여 상호 혼재하는 것으로 밝혀졌다(그림 3).

이와 같은 결과는 배양온도가 느타리 균과 유해균 간의 상호작용 및 균간 우점화에 영향을 미치는 것으로 나타나 느타리버섯 재배 온도와 푸른곰팡이병의 발생이 밀접한 관계가 있음이 증명되었다.

#### 4. *Hypocrea*속 균의 방제

##### 가. 화학적 방제

느타리버섯 재배시에 발생하는 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 방제에 효과적인 약제선발을 위하여 16종의 시판 살균제 및 저공해 소독제를 공시하여 유해균의 포자 발아 억제 효과와 균사 생장 억제 효과를 조사하였다(표 11, 12, 13). 공시 약제 중 스포르곤, 안트라콜 그리고 트리코프리는 베노밀 감수성 균주인 CNU 523(갈색형 stroma 형성 균주)의 포자 발아 억제 효과가 높았고, 다코닐은 베노밀 저항성 균주인 CNU 585의 포자 발아 억제 효과가 높았다. 또 스포르곤, 안트라콜, 계면활성제는 이들 두 균주 모두

비교적 높은 포자 발아 억제 효과를 보였다. 다코닐은 모든 처리농도에서 백색형 *Hypocrea*의 포자 발아를 100% 억제하였고, 베노밀 저항성 균주에도 효과가 좋아 *Hypocrea*의 예방 약제 및 베노밀 저항성 *Trichoderma*속 균의 예방 약제로의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

한편 이들 시판 약제가 *Hypocrea*속 균의 균사 생장에 미치는 영향을 조사한 결과 스포르곤이 공시한 모든 유해 균의 균사 생장 억제율이 비교적 높았고 저 농도에서는 느타리 균사의 생장도 비교적 양호하여 가장 적절한 방제 약제로 사료되었다. 판마시와 가벤다는 베노밀 감수성과 저항성 균주간에 뚜렷한 차이를 보였으나, 백색형 *Hypocrea* 균(CNU 670)의 균사 생장도 억제하여 이들 약제도 베노밀 감수성 균주와 *Hypocrea*속 균의 방제에 이용 가능할 것으로 사료된다. *Hypocrea* sp. 2의 균사생장은 공시한 약제의 처리농도에 따라 약간의 차이는 있었으나 대체로 심하게 억제하여 아직은 약제 저항성을 보이지 않았기 때문에 약제 방제시기, 약제 처리 방법 등을 조절하면 예방이 가능할 수 있다고 사료되었다. 한편 공시한 저공해 소독제 중 식초와 계면활성제는 모든 균주에서 균사생장을 심하게 억제하였으나 느타리버섯균사의 생장도 심하게 억제하였다. 목초액은 *Hypocrea*의 포자 발아 억제 효과는 좋았으나 균사생장 억제 효과는 미비하였고 공시한 제품의 종류에 따라 *Hypocrea*와 느타리의 균사생장에 미치는 영향이 다르게 나타나는 등 그 효과에 대한 재현성이 없었다. 따라서 본 연구에 공시하였던 저공해 소독제는 느타리 푸른 곰팡이병균의 방제 약제로의 사용은 부적합한 것으로 사료되었다.

*In vitro*에서 각종 살균제와 저공해 소독제가 푸른곰팡이병균과 *Hypocrea*속 균의 균사생장에 미치는 영향을 조사한 결과 스포르곤, 판마시, 가벤다, 베노밀 등이 병원균의 균사 생장을 효과적으로 억제하였고 느타리 균사 생장에 미치는 영향도 비교적 적어 방제 약제로 선발하였고 이를 *Hypocrea*에 오염된 균상에 처리하여 방제 효과를 검증한 결과는 표 14와 같다.

*Hypocrea*가 발생한 느타리 균상에 공시약제를 표면 혹은 심부에 처리한 후 방제효과와 느타리 수량에 미치는 영향을 조사하였던 바 가벤다와 베노밀은 처리하여도 재배과정 중 다시 stroma를 형성하고, 균상 전체로 빠르게 확산되어 느타리버섯을 수확할 수 없었기 때문에 방제제로서의 기능은 없는 것으로 사료되었다. 그러나 스포르곤과 판마시를 균상의 내부까지 충분히 처리한 경우에는 stroma의 발생 면적이 약제 처리 전과 동일한 수준으로 폐상기까지 유지되었고 새로운 stroma는 형성되지 않았다. 그러나 표면 처리 한 경우에는 stroma의 발생 면적의 증가가 무처리에 비하여 늦추어지기는 하였으나 새로운 stroma를 계속 형성하였다. 이는 *Hypocrea* 균이 균상 내부까지 오염되어 있기 때문으로 사료된다(표 5). 스포르곤과

판마시를 *Hypocrea* 방제제로 사용한 경우 느타리 수확량이 80% 이상 감소하였으나 균상에 *Hypocrea*가 국부적으로 발생한 초기에는 병의 진전을 억제함으로써 해서 초기방제가 가능할 것으로 판단된다.

나. 재배방법 개선에 의한 *Hypocrea* spp.와 *Trichoderma* spp.의 발생 억제와 방제

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 실시하

표 11. 시판 살균제 및 저공해 소독제의 *Hypocrea* spp. 포자 발아 억제 효과

처 리	<i>Hypocrea</i> sp. 1						<i>Hypocrea</i> sp. 2 (CNU 670)		
	CNU 523			CNU 585			10	100	1000
	10 <sup>a)</sup>	100	1000	10	100	1000			
스포로곤	++ <sup>b)</sup>	-	-	+	+	-	+++	++	++
스미렉스	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
베노밀	+	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
판마쉬	++	+	+	+++	+++	++	+++	+++	++
가벤다	++	++	-	+++	+++	+	+++	+++	++
캡탄	+++	++	-	+++	+++	++	+++	+++	-
포리옥신	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	++
다코닐	++	++	+	+	-	-	-	-	-
로브랄	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+	-
안트라콜	++	-	-	+++	++	-	++	-	-
아미스타	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
홀팻	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	-
	400 <sup>c)</sup>	200	100	400	200	100	400	200	100
계면활성제	++	-	-	-	-	-	++	+	-
목초액	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
식초	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
트리코프리	200	100	50 <sup>***)</sup>	200	100	50	200	100	50
	-	-	-	+++	++	-	+++	+++	+
무처리	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

A) Concentrations in ppm, b) - : not germination, +++ : 100% germination, ++ : 50~100% germination, + : below 50% germination, c) Concentrations in dilution number

면서 푸른곰팡이병 발생 억제효과와 병 발생시 방제법을 검토하기 위하여 멀칭 재배법과 관행 균상재배를 하나의 재배사에서 실시하였다(그림 10). 멀칭 재

배의 경우 병 발생시 병의 확산이 멀칭하지 않은 경우보다 매우 느리게 진행되어 병의 확산을 효과적으로 억제할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 자실체도

표 12. 시판 살균제가 *Hypocrea* spp.의 군사생장에 미치는 영향

약 제	<i>Hypocrea</i> sp. 1												<i>Hypocrea</i> sp. 2 (CNU670)			<i>Pleurotus</i> sp.		
	CNU501			CNU523			CNU527			CNU585			10	100	1000	10	100	1000
	10 <sup>a</sup>	100	1000	10	100	1000	10	100	1000	10	100	1000						
스포로곤	0 <sup>b)</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	10.5	10	0	0	0	0	78	65	0
베노밀	18	12	0	11	0	0	27	13	0	33	14	0	12	0	0	52	33	12
판마쉬	0	0	0	0	0	0	15	11	0	32	13	11	0	0	0	72	36	18
가벤다	0	0	0	0	0	0	56	51	32	85	85	65	0	0	0	75	73	51
캡탄	42	16	12	85	22	20	48	15	12	85	27	25	41	11	0	31	15	0
포리옥신	42	14	10	53	16	0	54	14	0	85	22	0	0	0	0	0	0	0
다코닐	18	12	11	27	24	21	21	15	13	36	22	13	12	11	11	35	11	0
로브랄	15	14	15	35	35	24	16	14	15	43	33	36	0	0	0	40	15	0
안트라콜	76	31	13	73	73	45	85	76	32	85	78	36	25	28	0	21	0	0
아미스타	38	42	25	55	55	30	47	33	13	65	42	29	0	0	0	22	0	0
홀펫	37	14	14	44	44	18	36	15	14	85	34	26	17	15	0	75	33	15
무처리	>85			>85			>85			>85			>85			83		

a) Concentrations in ppm, b) Numerical data shows mycelial growth in mm for 7 days

표 13. 시판 저공해 소독제가 *Hypocrea* sp.와 *Trichoderma* spp.의 군사생장에 미치는 영향

소독제	농도	느타리(원형)	<i>Hypocrea</i> sp. 1		<i>T. harzianum</i>	<i>Hypocrea</i> sp.2
			CNU501	CNU527	CNU530	CNU670
목초액 <sup>a)</sup>	0.1	8.0±0 <sup>b)</sup>	62.6±1.4	75.1±0.6	50.8±20.0	19.5±1.0
	0.25	8.0±0	62.5±1.8	69.6±2.9	63.8±1.5	0
	0.5	0	51.2±0.8	62.2±8.6	50.8±2.7	0
	1	0	42.5±0.7	45.3±1.7	31.0±3.5	0
식초	0.1	0	26.3±0.5	36.2±0.2	29.7±5.3	0
	0.25	0	0	8.5±4.9	0	0
	0.5	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0
계면활성제	100배	0	11	12	13	0
	200배	0	0	11	11	0
	400배	0	0	0	0	0
무처리		7.7±0	66.5±0.8	82.2±4.0	72.8±1.2	19.0±0

a) Concentrations in ppm

b) Numerical data shows mycelial growth in mm for 3 days

2~3일 빠르게 유도되었고, 배지의 함수율도 재배 말기까지 안정되게 유지되었다. 전체적인 자실체의 수

표 14. *Hypocrea*에 오염된 균상에서 공시약제의 *Hypocrea* 방제효과

공시약제	농도	약제처리방법	<i>Hypocrea</i> stroma의 발생	느타리 수량 (g/box)
스포르곤	1,000	표면처리	+	40
		심부처리	-	70
판마시	1,000	표면처리	+	30
		심부처리	-	50
가벤다	1,000	표면처리	++	0
		심부처리	++	0
베노밀	1,000	표면처리	+++	0
		심부처리	+++	0
대조구		무처리	+++	0
건전균상		무처리	-	330

- : stroma의 확산 없음, +~+++ : stroma의 확산 속도를 무처리와 비교한 상대치

표 15. 비닐멀칭 재배에 의한 *Hypocrea*발생 억제 효과

	비닐멀칭구	무처리구
<i>Hypocrea</i> 발생 면적(%)	2.3	17.0
버섯 수확량 (kg/평)	1주기	13
	2주기	15
	3주기	12
	4주기	8
계	48	33

량성과 품질은 일반적인 균상 재배와 멀칭 재배간의 큰 차이가 없었으나 멀칭재배의 경우 1주기에서 4주기까지 비교적 일정한 양이 생산되었다.

다. 생물학적 방제

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-AL-1등 세균 5균주를 분리하였다(그림 11). 본 연구에서 분리된 세균 CNU-AL-1은 느타리 균사에는 항균활성을 보이지 않고 선택적으로 *Trichoderma*속 균과 *Hypocrea*속 균의 균사 생장과 포자 발아를 억제하는 특성을 가지고 있어 생물학적 방제제로의 개발이 기대되고 현재 균상에서 세균배양액, 배양여액, 균체 등을 적용하여 종합적으로 검정하고 있다.



그림 10. 비닐 멀칭 재배법과 관행 균상재배법에 의한 느타리 재배

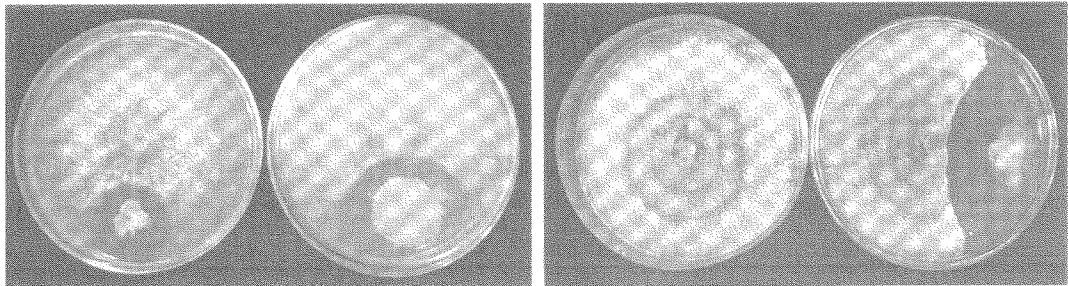


그림 11. 분리 세균 CNU-AL-1에 의한 *Trichoderma* sp.(우)와 *Hypocrea* sp.(좌)의 균사생장 억제효과



#### IV. 결론

본 연구의 목적은 느타리버섯 재배시 막대한 피해를 주고 있는 *Hypocrea*속 균을 형태적 특징 및 분자생물학적 기법을 이용하여 분류, 동정하며, 생리적 특징 및 발생 생태를 구명하고, 약제 방제법, 경종적 방제법 개발 및 길항 미생물의 선발, 이용을 통하여 종합적인 방제 대책을 확립하여 궁극적으로 버섯 재배 농가의 소득 증대와 버섯 산업의 경쟁력을 확립하는데 있으며, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 충남 연기군을 비롯한 전국 7개 시,군의 42개 재배농가에서 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*속 균의 발생 및 피해정도를 조사한 결과 조사 농가의 80%이상이 배지재료등의 재배형태에 관계없이 이들 유해균에 피해를 입는 것으로 밝혀졌고, 이들 농가에서 *Hypocrea* 25 균주, *Trichoderma* 30여 균주를 분리 확보하였다.

2. 백색형 *Hypocrea*가 발생한 균상은 내부까지 오염되어 있으나 stroma가 형성되기 전까지는 감염 여부를 육안으로 확인할 수 없고 균상에서는 불완전세대를 형성하지 않는 것으로 밝혀졌다. 또 갈색형 *Hypocrea*는 균상에서 쉽게 불완전 세대를 형성하나 완전세대는 약제처리 등 부적당한 환경 조건하에서 형성하는 것으로 확인 되었다.

3. 느타리버섯 균상에 발생하는 2종류의 *Hypocrea*를 분리하여 이들이 형성하는 stroma, 자낭각, 자낭, 자낭포자의 형태적 특징을 조사하였고 RAPD, RFLP 기법을 이용하여 *Hypocrea* 균주간의 유연관계를 조사한 결과 백색형 stroma를 형성하는 균주와 갈색형 stroma를 형성하는 균주는 유전적으로 다른 균 종임이 확인되었고, 종내의 변이는 없는 것으로 밝혀졌다.

4. *Hypocrea* 균주들을 각종 배지에 배양하여 균총의 색과 형태, 균총의 성장 속도 등의 배양적 특징 그리고 배지 정착력, 느타리 균사와의 경합력을 조사를 조사한 결과, *Hypocrea*속 균의 균사생장 최적 온도는 25°C이고 stroma는 15에서 25°C 범위에서 발생하며 stroma 발생 최적 온도는 20°C로 밝혀졌다. 또 *Hypocrea*속 균과 느타리 균을 대치 배양하면 *Hypocrea* sp. 1은 쉽게 우점하여 균사생장을 억제시키는 피해를 주고, *Hypocrea* sp. 2 균주는 느타리 균

과 혼재하면서 균사생장과 자실체 발생에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다.

5. 방제 약제 탐색을 위하여 16종의 시판 살균제와 소독제를 공시하여 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*균의 포자 발아 및 균사 생육 억제 효과를 조사하여 가বেন다, 판마쉬 및 스포르곤이 방제 약제로 효과적으로 사용될 수 있음을 제시하였고 재배사 실험을 통하여 방제효과를 확인하였다.

6. 환경 친화적 방제 및 예방법을 개발하기 위하여 *Hypocrea* 및 *Trichoderma*균에 길항력을 가지는 길항 미생물을 분리하여 CNU AL-1을 확보하였고, 비닐 멀칭 재배법이 유해균의 예방에 효과적임을 제시하였다.

#### 참고 문헌

1. 김광포, 신관철, 박용환(1979), 살균제 benomyl에 의한 양송이 마이코곤균(*Mycogone perniciosa* Magn)의 내성발현에 관한 연구, 농시보고 21: 33-38.
2. 김명곤(1985), *Trichoderma*속이 생산하는 항생 물질이 느타리버섯균에 미치는 영향, 한국균학회지. 13(2): 105-109.
3. 박용환, 고승주, 김동수(1975), 벧짚을 이용한 느타리버섯 재배에 관한연구, 제1보. 배지재료에 관한 시험, 농시보고 17: 103-107.
3. 신관철(1987), 느타리버섯 벧짚 재배에 발생하는 유해균류, 한국균학회지. 15(2): 92-98.
4. 전창성, 유창현, 차동열, 김광포(1990), 느타리버섯 푸른곰팡이병에 대한 thiabendazole의 방제효과, 한국균학회지 18(2): 89-95.
5. 정환옥(1986), 느타리버섯 벧짚 재배에서 발생하는 유해균류에 관한 연구, 충남대학교 교육대학원 석사학위논문. 33pp.
6. Bidochka, M. J., St Leger, R. J., Stuart, A., and Gowanlock, K.(1999), Nuclear rDNA phylogeny in the fungal genus *Verticillium* and its relationship to insect and plant virulence, extracellular proteases and carbohydrases, *Microbiology* 145:

- 955~963.
7. Borneman, J., and Hartin, R. J.(2000), PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples, *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4356~4360.
  8. Chen, X., Romaine, C. P., Tan, Q., Schlagnhauser, B., Ospina-Giraldo, M. D., Royse, D. J., and Huff, D. R.(1999), PCR-based genotyping of epidemic and preepidemic *Trichoderma* isolates associated with green mold of *Agaricus bisporus*, *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2674~2678.
  9. Doi, Y.(1972), Revision of the Hypocreales with cultural observations IV, The genus *Hypocrea* and its allies in Japan (2) Enumeration of the Species, *Bull. Natn. Sci. Mus. Tokyo*, 15(4): 649~750.
  10. Edgington, L. V., Khew, K. L. and Barron, G. L.(1971), Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds, *Phytopathology* 61: 42-44.
  11. Hermosa, M. R., Grondona, I., Iturriaga, E. A., Diaz-Minguez, J. M., Castro, C., Monte, E., and Garcia-Acha, I.(2000), Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1890~1898.
  12. Kindermann, J., El-Ayouti, Y., Samuels, G. J., and Kubicek, C. P.(1998), Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the internal transcribed spacer region I of the rDNA cluster, *Fungal Genetics and Biology* 24: 298~309.
  13. Komatsu, M.(1976), Studies on *Hypocrea*, *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to shiitake, *Lentinus edodes*. Rep. Torori. Mycol. Inst. 13: 1-113.
  14. Komatsu, M.(1976), Studies on *Hypocrea*, *Trichoderma* and allied fungi antagonistic to shiitake, *Lentinus edodes*. Rep. Tottori. Mycol. Inst. 13: 1-113.
  15. Lelley, J.(1987), Disinfection in mushroom farming-possibilities and limits, *Mushroom J.* 174: 181-187.
  16. Lieckfeldt, E., Samuels, G. J., Nirenberg, H. I., and Petrini, O.(1999), A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride*: Is it one or two species? *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2418~2428
  17. 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.
  18. Poppe, J., Welvaert, W. and De Both, G.(1985), Disease and their control-possibilities after ten years of *Pleurotus* culture in Belgium, *Medelinger van de Faculteit Landbouwweter schappen Rijksuniversiteit Gent*, 50: 1097-1108.
  19. Seaby, D. A.(1987), Infection of mushroom compost by *Trichoderma* species, *Mushroom J.* 97: 355-361.
  20. Seaby, D. A.(1989), Further observations on *Trichoderma*, *Mushroom J.* 197: 147-151.
  21. 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