# 버섯의 안정적 생산을 위한 최적배지의 개발

갈상완 · 이상원*

진주산업대학교 미생물공학과

(2002년 1월 21일 접수, 2002년 2월 25일 수리)

**세균성 갈색무늬병과 푸른곰팡이 병에 길항력을 갖는 느타리버섯배지를 개발하기 위해서 자연계로부터 항균 미생물을 순수분리하였다. 분리균주가 생산하는 섬유성분해 효소 및 전분분해 효소의 활성을 검토한 결과 SD-1, 10, 11 및 16균주는 carboxy methyl cellulase(CMCase) 활성이 높았고, SD-4, 10, 14 및 15균주는 glucoamylase 활성이 높은 것으로 나타났다. 그리고 이들 분리 균주는 carboxy methyl cellulose(CMC) 및 전분 함유 평판배지에서 뚜렷한 clear zone을 형성하였다. 병원성균에 대한 항균력을 검토한 결과 SD-10과 SD-11은 *Pseudomonas tolaasii* ATCC-14340 및 *P. tolaasii* ATCC-51312의 병원균에 강한 길항작용을 나타내었고, SD-1, SD-10 및 SD-11은 푸른곰팡이 병을 유발하는 *Trichoderma virence*와 *T. harzianum*에 강한 길항작용을 나타내었다. 분리균과 버섯 균사체와의 생육관계를 검토한 결과 SD-1은 *Pleurotus ostreatus* ASI-2042에, SD-15는 *Pleurotus ostreatus* ASI-2180에 약간의 생육저해를 일으킬 뿐 다른 분리균주들은 전혀 버섯균사체의 생육에 영향을 미치지 못하였다. 분리균주의 최적생육온도는 30~35°C이었고, 생육가능온도 범위는 15°C~55°C로 매우 넓었다. 분리균 중에서 SD-1, 10 및 11균주를 느타리버섯 재배현장에 적용시켰을 때 대조구에 비하여 분리균을 접종한 시험구에서는 느타리버섯의 균사 및 자실체의 성장이 매우 균일하고 버섯의 품질이 우수하였다. 그리고 분리균 중에서 SD-10과 11을 균체지방산 조성을 검토한 결과 *Bacillus* sp.과 아주 유사하였다.**

**Key words:** 항균미생물, *Pseudomonas sp.*, *Trichoderma sp.*, *Pleurotus ostreatus*

## 서 론

버섯은 맛과 향기가 좋고 옛날부터 불로 장수의 약으로 귀하게 여겨지고 있으며, 혈액 중의 cholesterol 저하작용과 항암작용이 우수하여 성인병에도 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다.[1,2] 또한 저칼로리 식품으로서 단백질, 무기질 및 비타민 $B_1$ 등을 다량 함유하고[3,4] 있어 건강식품으로서 주목을 받으면서 버섯에 관한 연구가 활발히 진행되어지고 있으나 버섯을 재배하는 생산농가에서는 버섯질병에 대한 문제점으로 많은 어려움을 겪고 있는 실정이다.[5,6]

버섯의 질병은 세균성갈색무늬병과 푸른곰팡이 병이 주축을 이루고 있는데, 전자는 버섯의 갓 부분을 갈색으로 변화시켜 버섯의 양적 · 질적인 저하를 초래함과 동시에 상품의 가치를 떨어뜨려 버섯재배 농가에 막대한 경제적 피해를 주고있는 질병으로 주로 *Pseudomonas tolaasii*가 분비하는 tolaasin이라고 하는 toxin에 의해서 발병한다.[7-11] 후자인 푸른곰팡이 병은 균상배지에서 병원균의 균사가 자란 다음 포자가 형성되어 푸른색을 띄는 경우 모두 푸른곰팡이 병이라 부르고 있는데 국내의 느타리버섯 균상에 피해를 주는 푸른곰팡이 병원성 균은 *Gliocladium* sp., *Trichoderma virence*, *T. harzianum* 및 *T. koningii* 등 4종이고, 그 중에서 *Gliocladium* sp.에 의한 피해가 가장 큰 것으로 알려져 있다.[12] 이러한 버섯의 질병은 배지의 수분과다 및 부족, 고온, 배지불량 등 버섯재배환경에 의해서 발생되지만, 본 연구자들은 버섯이 잘 생육할 수 있는 버섯의 항균성 배지가 확립된다면 버섯재배 기술상에 약간의 오류가 발생하여도 튼튼한 버섯을 잘 생육시킬 수 있을 것으로 판단되기 때문에 어느 정도 질병의 퇴치뿐만 아니라 병원성 잡균의 번식이 억제되어 버섯의 생산증가에 크게 기여하게 되어 버섯농가의 피해를 줄일 수 있을 것으로 사료된다. 그렇기 때문에 본 연구에서는 버섯의 푸른곰팡이 병 및 세균성 갈색무늬병을 유발하는 병원성 곰팡이 및 세균의 생육을 억제할 목적으로 자연계로부터 항균성 미생물을 순수분리하여 그 미생물의 생육특성 등을 검토하여 동정한 다음, 분리된 미생물을 직접 버섯재배 현장에 적용시켜 버섯의 생육상태를 관찰하였다.

*연락저자
Phone: 82-55-751-3394; Fax: 82-55-755-2553
E-mail: swlee@cjcc.chinju.ac.kr

## 재료 및 방법

**공시균주.** 본 실험에서 사용하는 버섯은 느타리버섯 (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer), 새송이, 애느타리버섯을 경남 농업진흥원으로부터 구입하여 사용하였으며, 느타리버섯에 세균성 갈색무늬병을 일으키는 병원성 미생물은 *Pseudomonas tolaasii* ATCC-33618외 10종류를 농촌진흥청 응용미생물과에서 분양 받아 사용하였고, 버섯에 푸른곰팡이 병을 일으키는 병원성 곰팡이는 실험실에 보관 중인 *Trichoderma virence*와 *Trichoderma harzianium*를 사용하였다. 그리고 항균력 미생물은 직접 순수분리하여 사용하였다.

**사용배지 및 배양.** 느타리버섯의 세균성 갈색무늬병균의 생육을 위해서는 Nutrient agar(NA) 배지, 버섯 및 *Trichoderma* sp. 병원성 푸른곰팡이의 생육을 위해서는 Potato dextrose agar (PDA) 배지를 사용하여 25°C, 상대습도 80%의 growth

chamber에서 배양하였다. 항균력이 있는 미생물의 순수분리를 위해서는 carboxymethyl cellulose(CMC) 1%, NaCl 0.3%, $KH_2PO_4$ 0.2%, Yeast extract 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002%, $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001%, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.04%의 구성성분으로 조성된 배지를 사용하여 37°C에서 배양하였다.

**항균성 미생물의 분리.** 버섯재배농가의 폐면배지로부터 시료를 채취한 균원시료 1 g을 멸균 생리식염수 10 m*l*에 첨가하여 현탁시켜 10분 동안 방치한 다음, 그 상징액 0.1 m*l*를 1% carboxy methyl cellulose(CMC)가 함유된 고체평판배지에 도말하여 30°C, 2 일간 배양하여 나타난 colony 중에서 halo zone의 크기가 크고, 명확하며 성장속도가 빠른 단일 colony만을 1차 선별하였다. 1차 분리균을 동일 배지에서 2 일간 진탕 배양한 후, 각 분리균에 대한 glucoamylase 및 carboxy methyl cellulase(CMCase)의 효소활성을 측정한 다음, 효소활성이 비교적 높은 균주를 2차 선별하고, 세균성 갈색무늬병 및 푸른곰팡이 병원균에 강한 항균력을 나타내면서 버섯의 생육에는 아무런 영향을 미치지 않는 미생물을 최종 선정하였다.

**분리균의 배양 및 효소활성.** 삼각플라스크(300 m*l*)에 LB배지 100 m*l*를 넣고 분리균주의 전배양액 5 m*l*를 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 다음, 배양액을 8,000×g에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상징액을 조효소액으로 하였다.

CMCase활성은 조효소액 0.25 m*l*와 0.75 m*l*의 1% CMC용액을 혼합하여 50°C에서 10분간 반응시킨 후 3,5-dinitrosalysilic acid(DNS)법[13]에 따라 DNS 1 m*l*를 첨가하여 5분간 끓인 다음, 냉각하여 510 nm에서 환원당을 정량하였고, 효소활성의 단위는 μg D-glucose/m*l*/min으로 표시하였다.

Glucoamylase의 활성측정은 1% 수용성 전분을 함유한 0.05 M acetate buffer(pH 4.8) 5 m*l*에 동일의 완충액 2 m*l*를 가하고 30°C에서 수분간 보온하였다. 여기에 조효소액 1 m*l*를 가하고 30분간 반응시킨 후, 그 액 1 m*l*를 취하여 DNS법[13]에 따라 반응 전후 액 중 환원당의 양을 측정하고 양자의 차이로부터 효소반응에서 생성된 환원당의 양을 산출하였다. Glucoamylase의 1 unit은 1분간에 1 μM의 glucose를 생성하는 효소의 양으로 하였다.

**분리균주의 항균력 검토.** 세균성 갈색무늬병균에 대한 분리균주의 항균력 검토는 *Pseudomonas tolaasii*를 0.7% soft agar 배지에 잘 혼합하여 NA평판배지에 중층시킨 후, 분리 미생물을 획선으로 접종하여 25°C에서 배양하면서 항균력의 정도를 투명환의 크기로 관찰하였다. 또한 푸른곰팡이 병원균인 *Trichoderma* sp.에 대한 항균력은 PDA평판배지 중앙에 코르크볼 No. 3(직경 5 mm)를 이용하여 병원성 곰팡이를 접종한 다음, 25°C에서 배양하면서 곰팡이의 균사성장 억제정도를 조사하였다.

**분리균과 버섯과의 생육관계.** 각 버섯을 PDA 평판배지의 중앙에 코르크볼 No. 3(직경 5 mm)로 접종하고 25°C의 항온배양기에서 3일간 배양한 후, 항균력이 있는 분리균주를 획선으로 접종하여 배양하면서 분리균주가 버섯의 생육에 미치는 영향을 검토하였다.

**분리균주의 현장적용.** 경상남도 산청군 소재의 느타리버섯 작목반의 버섯재배 농장에서 다음과 같이 실시하였다. 분리한 미생물을 느타리버섯의 재배현장에 직접 적용시키기 위해서 5 *l*의 삼각플라스크에 CMC함유 액체배지 3 *l*를 넣고 멸균한 후, 동일 배지에서 전배양한 항균미생물 배양액 30 m*l*씩을 각각 접종하여 37°C, 48시간 배양한 다음, 그 배양액을 5배의 자연수에 희석하여 폐면배지의 전발효 시에 분무하여 잘 혼합한 후, 50~55°C의 발효실에서 5일 동안 발효를 행하였다. 그리고 전발효한 폐면배지를 65°C에서 12시간 살균한 다음, 배지를 후발효할 때 다시 분리한 항균미생물을 전발효 시와 동일하게 접종하여 50°C에서 42시간 후발효를 행하고 버섯종균을 접종하였다. 버섯종균은 시판톱밥종균을 버섯종균회사로부터 구입하여 사용하였다.

**분리균주의 균체지방산 분석.** 미생물 균체지방산의 분석[14]을 위하여, Trypticase Soy Agar(petri dish)에서 배양한 colony를 30°C에서 24시간 배양 후, 회수한 균체를 saponification, methylation하여, methyl-화된 균체지방산(fatty acid methyl esters; FAMEs)을 분석하였다. FAMEs는 Hewlett Packard HP 6890 Gas Chromatography를 사용하여, Microbial Identification System(Microbial ID, Inc., Newark, Del.)으로 동정하였다.

## 결과 및 고찰

**미생물의 분리 및 효소활성.** 버섯배지의 주성분은 섬유성물질로 구성되어 있으며 부 재료로 첨가하는 미강 등은 전분의 성분도 다량 함유되어 있기 때문에 CMCase 및 amylase의 효소활성에 중점을 두어 항균 미생물의 분리를 행하였다. 느타리버섯 재배농가에서 후발효가 끝난 폐면배지로부터 분리한 50종 이상의 분리균 중에서 CMCase 및 glucoamylase효소활성이 높고, CMC함유 평판배지 상에서 halo zone의 크기가 크고 뚜렷하게 나타나면서 성장속도가 빠른 7종류의 미생물을 최종 분리하여 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 SD-1, SD-10, SD-11 및 SD-16의 균주는 CMCase활성이 비교적 높은 것으로 나타났고 SD-4, SD-10, SD-14 및 SD-15의 균주는 glucoamylase효소활성이 높은 것으로 나타났다. 그리고 CMC 및 전분함유배지 상에 나타난 halo zone은 모든 분리균에서 뚜렷하고 큰 clear zone을 형성하였다(Fig. 1).

**분리균주의 항균력.** 섬유성물질 및 전분분해효소의 생산성이 우수한 7종류의 분리균주가 느타리버섯의 갈색무늬병원성

**Table 1. General properties of microbes isolated from cotton waste media**

| Strains | Growth rate[1)] | CMCase | Amylase | Halo zone[2)] |
|---|---|---|---|---|
| SD-1 | ++ | 2.7 | 12.6 | +++ |
| SD-4 | +++ | 1.3 | 14.5 | ++ |
| SD-10 | ++ | 2.4 | 16.8 | +++ |
| SD-11 | +++ | 2.9 | 11.3 | +++ |
| SD-14 | +++ | 1.5 | 18.4 | +++ |
| SD-15 | +++ | 2.3 | 13.7 | +++ |
| SD-16 | +++ | 2.5 | 10.9 | +++ |

[1)]Growth rate: + slow, ++ medium, +++ fast.
[2)]Halo zone size by CMCase: + low, ++ medium, +++ high.

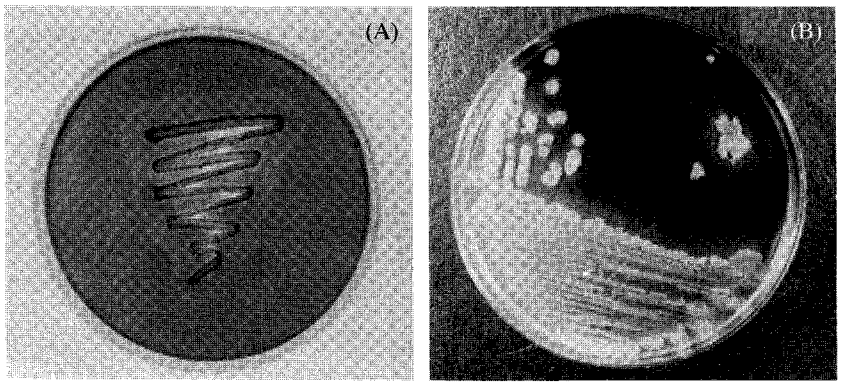


**Fig. 1. CMCase and amylase activity of the isolated microbe on the solid media containing CMC and starch media.** A; CMCase activity of SD-1, B; Amylase activity of SD-1.

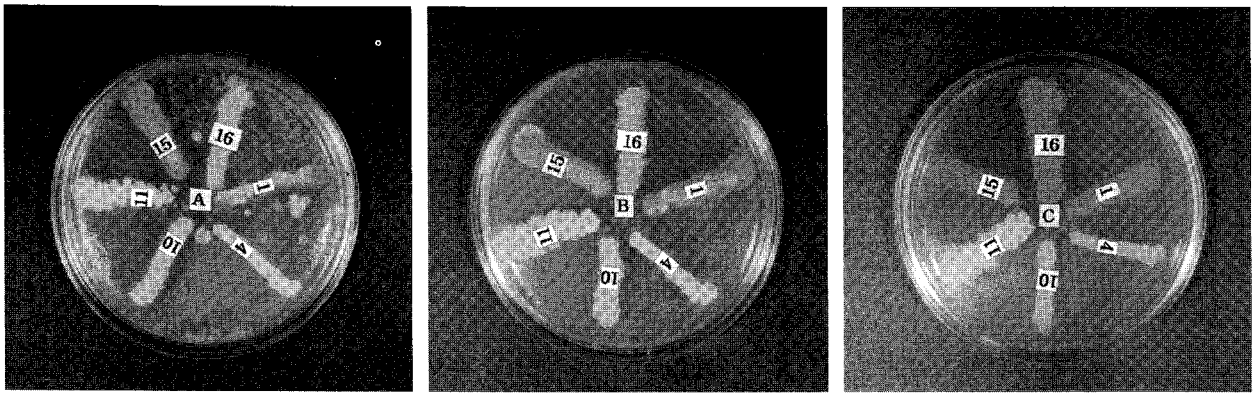


**Fig. 2. Antibacterial activities of the isolated microbes against mushroom pathogenic bateria, *Pseudomonas* sp.** A; *P. tolaasii* ATCC-14340, B; *P. tolaasii* ATCC-51312, C; *P. tolaasii* sp., #1, 4, 10, 11, 15, 16; isolated bacteria from the fermaented mushroom media.

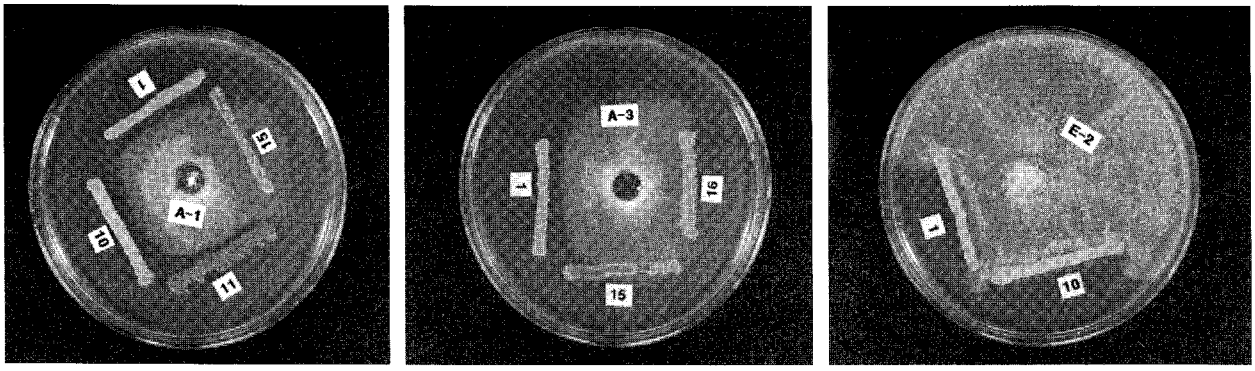


**Fig. 3. Antifungal activities of the isolated microbes against mushroom pathogenic mold, *Trichoderma* sp.** A-1; *T. virence*, A-3; *T. harzianum*, E-2; *Trichoderma* sp., #1, 10, 11, 15, 16; isolated bacterial from the fermented mushroom media.

균의 생육에 미치는 영향을 검토하기 위해서 *P. tolaasii*에 대한 항균력을 검토하여 Fig. 2에 나타내었다. *P. tolaasii*를 액체배양하여 멸균수에 희석한 후, NA평판배지에 도말한 다음 분리한 균주를 획선으로 접종하여 두 균주 사이의 생육상태를 검토한 결과 SD-10 및 SD-11균은 *P. tolaasii* ATCC-14340, *P. tolaasii* ATCC-51312 및 *P. tolaasii*의 병원균에 대하여 강한 길항작용을 나타내었다(Fig. 2-A, B, C).

Fig. 3은 버섯의 푸른곰팡이 병을 유발하는 *Trichoderma* sp.에 대한 분리균주의 항균력 결과를 나타낸 것이다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 본 실험에서 분리한 미생물 중에서 SD-15 및 SD-16은 푸른곰팡이의 생육을 억제하지 못하였지만, SD-1, SD-10 및 SD-11은 버섯의 푸른곰팡이 병을 유발하는 *T. virence*, *T. harzianium* 및 다른 *Trichoderma* sp.의 생육을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 CMCase 및 amylase의 효소활성이 높고 halo zone의 크기가 크고 뚜렷하여도 병원성세균 및 푸른곰팡이 병원성균에 대한 항균력에는 많은 차이를 나타내고 있음이 확인되었고, 분리균 중에서 SD-1은 푸른곰팡이 병원균에만 항균력을 나타내지만 SD-10과 SD-

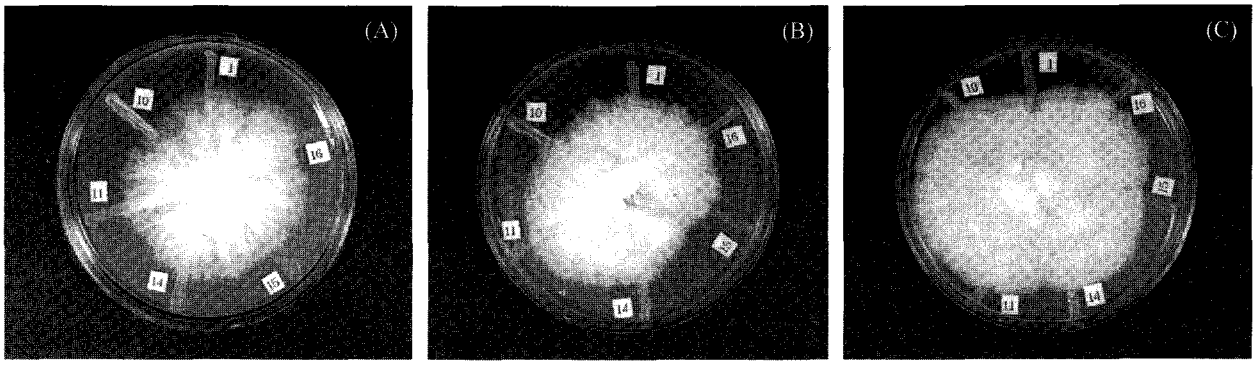


**Fig. 4. Growth regulation of the isolated microbes with several mushrooms.** A; *Eryngii* ASI-2302, B; *Pleurotus ostreatus* ASI-2180, C; *Pleurotus ostreatus* ASI-2042, #1, 10, 11, 15, 16; isolated bacterial from the fermented mushroom media.

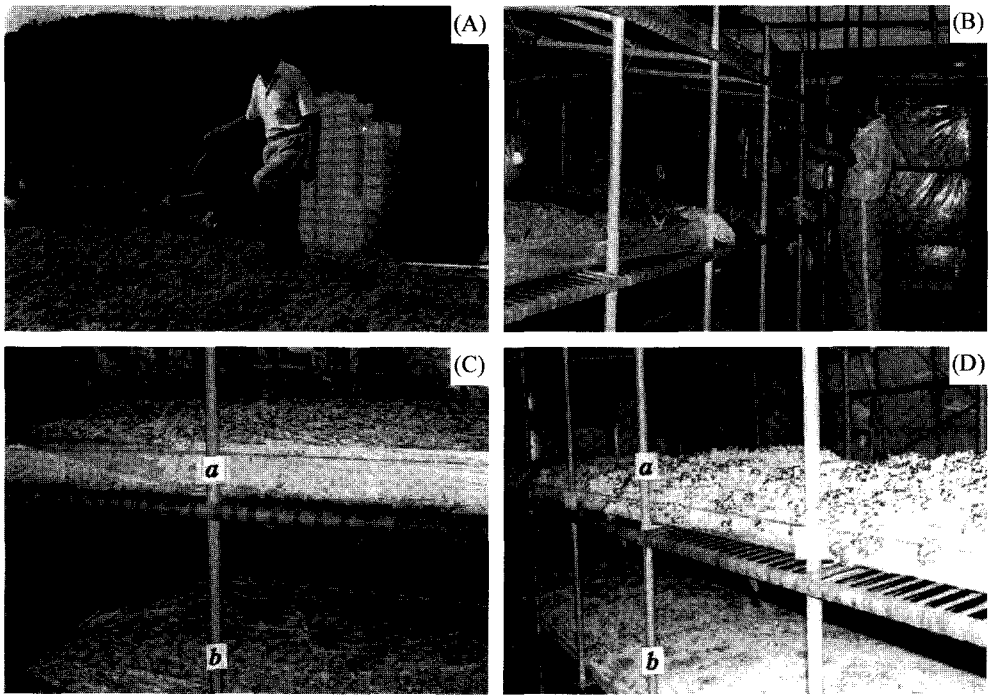


**Fig. 5. Field application of the isolated bacterial strains.** A; Application of the bacterial strains at the outside mushroom media for pre-fermentation. B; Supply of the bacterial strains at the inside mushroom media for post-fermentation. C and D; Growths of mycelia and fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. a; with treatment of anti-pathogenic bacteria. b; without anti-pathogenic bacteria.

11은 세균성 갈색무늬병과 푸른곰팡병을 유발하는 병원균의 생육억제에도 효과적으로 활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Pathogen과 길항세균 사이에 영양분의 경합이 이루어져 사멸하거나 또는 길항세균이 생성한 효소에 의해서 *P. tolaasii*가 생성한 독성물질이 분해된다는 보고가 있다.[15]

**분리균과 버섯과의 생육관계.** 지금까지의 연구 결과에서 폐면배지로부터 순수분리된 미생물이 섬유성물질 및 전분 분해 효소활성이 높고 세균성 갈색무늬병 및 푸른곰팡이 병원균에 강한 항균력을 나타내는 것으로 밝혀졌기 때문에 이 분리균주가 버섯 균사의 생육에는 어떤 영향을 미치는지를 PDA배지 상에서 검토하여 Fig. 4에 나타내었다. 그 결과 SD-15균주는 *Pleurotus ostreatus* ASI-2180의 생육에(Fig. 4-B), SD-1은 *P. ostreatus* ASI-2042의 생육에(Fig. 4-C) 아주 미약하게 영향을 미치는 것으로 나타났으나, 그 외의 모든 분리균주는 버섯의 생육에 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 본 실험에서 분리한 미생물을 액체 배양하여 버섯의 폐면배지의 발효 미생물로 이용한다면 폐면을 효율적으로 발효시킴과 동시에 버섯의 세균 및 곰팡이 질병예방에도 도움이 될 것으로 추측된다. 그리고 결과는 나타내지 않았지만, 본 연구에서 분리한 항균미생물의 생육특성을 검토한 결과 생육최적온도는 30~35℃로 중온균이었으나 생육가능 온도범위는 15~55℃로 매우 넓은 생육온도범위를 갖고있었다.

**분리균주의 현장적용.** 본 연구자들이 분리한 항균 미생물 중에서 SD-1, SD-10 및 SD-11 균주는 느타리버섯의 세균성 갈색무늬병 및 푸른곰팡이 병원균에 대하여 강한 길항작용을 나타내고 있으면서 버섯균사의 생육에는 그다지 영향을 미치지 않는 것으로 나타났기 때문에 분리한 항균 미생물을 느타리버섯 재배현장에 적용시켰을 때 버섯 자실체의 형성에는 어떤 영

**Table 2. Cellular fatty acid profiles of isolates**

| Fatty acid | SD-10 | SD-11 |
|---|---|---|
| Saturated fatty acids: | | |
| $C_{14:0}$ | 0.34 | 0.47 |
| $C_{16:0}$ | 2.98 | 3.70 |
| $C_{18:0}$ | 0.20 | |
| *iso*-$C_{13:0}$ | 0.22 | |
| *iso*-$C_{14:0}$ | 1.49 | 0.58 |
| *iso*-$C_{15:0}$ | 26.79 | 40.77 |
| *iso*-$C_{16:0}$ | 4.67 | 2.49 |
| *iso*-$C_{17:0}$ | 12.36 | 10.60 |
| *anteiso*-$C_{13:0}$ | 0.21 | |
| *anteiso*-$C_{15:0}$ | 37.69 | 30.63 |
| *anteiso*-$C_{17:0}$ | 10.41 | 9.71 |
| *anteiso*-$C_{13:0}$ | 0.17 | |
| Unsaturated fatty acids: | | |
| $C_{16:1}$ w7c | 0.29 | |
| $C_{16:1}$ w11c | 0.48 | |
| *iso*-$C_{17:1}$ w10c | 1.00 | 0.32 |
| Hydroxy fatty acid: | | |
| *iso*-$C_{15:0}$ 3-OH | | 0.47 |
| *iso*-$C_{17:0}$ 3-OH | 0.20 | |
| $C_{15:0}$ 2-OH | | 0.26 |
| *Summed feature 4: | 0.49 | |

*Summed feature represents groups of two or three fatty acids that could not be separated by GLC with the MIDI system: summed feature 4 contained one or more of iso-C17:1 I /anteiso-C17:1 B.

향을 미치는지를 검토하여 Fig. 5에 나타내었다. 5 *l* 삼각플라스크에 3 *l*의 CMC함유 액체배지를 넣고 3균주의 분리균을 각각 접종한 후, 30℃에서 48시간 배양한 배양액을 느타리버섯 폐면배지의 전발효 시와 후발효 시에 접종한 결과를 Fig. 5-A, B, C, D에 나타내었다. Fig. 5-A는 야외에서 폐면배지에 분리균을 접종하는 것을 나타낸 것이고, Fig. 5-B는 후발효 직전의 폐면배지에 분리균을 접종하는 사진이다. 그리고 Fig. 5-C와 D는 분리균을 접종한 후 느타리버섯 균사 및 자실체의 생육상태를 나타낸 것인데, 분리균을 접종하지 않은 대조구(Fig. 5-C, D의 b)는 느타리버섯 균사의 생육이 균일하지 못하면서(Fig. 5-C의 b) 자실체의 성장도 불량하였으나(Fig. 5-D의 b) 본 연구에서 분리한 항균미생물을 접종한 Fig. 5-C, D의 a층은 균사의 생육이 균일하고 자실체의 성장도 아주 양호하였다. Nari 등[15]은 *P. fluorescens*가 *P. tolaasii*에 대하여 길항성을 가지는 것으로 보고하였으나 병원균에 대하여 80배의 많은 세포수가 있어야 효과가 있어 실용성이 떨어진다고 보고하였다. 그리고 Wong 등[16]은 sodium hypochlorite가 세균성 갈색무늬병에 효과가 있다고 보고하였으나 완벽한 효과를 나타내지 않았으며, 버섯에 생리적 부작용을 일으켜 버섯의 상품성이 떨어지는 문제를 지적하였다.

이상의 결과로 본 연구에서 분리한 항균 미생물은 느타리버섯의 갈색무늬병 및 푸른곰팡이 병에 강한 항균 작용을 나타내면서 버섯의 생육에는 아무 영향을 미치지 않는 유용 미생물로 밝혀졌으며, 이후는 이 항균 미생물을 이용하여 버섯 생산량 증가를 위한 느타리버섯 최적배지 조성에 관한 연구가 필요한 것으로 생각된다.

**분리균주의 동정.** CMCase 및 amylase의 활성이 우수하며, 버섯 병원성균에 대하여 길항력이 뛰어난 SD-10 및 SD-11의 분리균을 균체지방산 조성[14]에 의한 동정결과를 Table 2에 나타내었다. 분리균 SD-10의 경우는 *iso*-$C_{15:0}$(26.79%), *iso*-$C_{17:0}$(12.36%), *anteiso*-$C_{15:0}$(37.69%), *anteiso*-$C_{17:0}$(10.41%)가 주요 성분으로 존재하였고, SD-11의 경우는 *iso*-$C_{15:0}$(40.77%), *iso*-$C_{17:0}$(10.60%), *anteiso*-$C_{15:0}$(30.63%)가 주요 성분으로 존재하였다. 이상의 결과로 두 분리균주는 *Bacillus* sp.과 아주 유사하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2000년 우수산업대학 연구개발사업 및 2000년 농림특정연구사업으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 감사 드립니다.

## 참고문헌

1. Kawade, M., Sumiya, T., Shimura, K. and Ito, H. (1984) Activation of the reticulo-endothelial system by antitumor polysaccharide from *Agaricus blazei* iwade. *Medicine and Biology* **109**, 299-302.
2. Lee, B. W., Im, G. H., Kim, D. W., Park, K. M., Son, S. H. and Shon, T. H. (1993) Cultural characteristics and pilot scale fermentation for the submerged mycelial culture of *Lentinus edodes*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 609-614.
3. Hong, J. S. (1980) Nutrition value and medicine efficacy of mushroom. *Food Industry* **53**, 79-84.
4. Kwon, J. H., Byun, M. W., Cho, H. O., Kim, Y. J. and Kim, J. G. (1987) Effect of chemical fumigant and γ-rays on the physicochemical properties of dried oak mushroom. *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**, 273-278.
5. Wells, J. M., Sapers, G. M. Felt, W. F., Butterfield, J. E., Jones, B., Bouzar, H. and Miller, F. C. (1996) Postharvest discoloration of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* caused by *Pseudomonas tolaasii*, *P. reactans* and *P. gingeri*. *Phytopathology* **86**, 1098-1104.
6. Healey K. W. and Harvey, J. M. (1989) A biological control agent for the mushroom industry. Proceedings Eighth Aust. Biotechnol. Conference 322-324.
7. Nutkins, C. J., Mortishire-Smith, J. R., Packman, C. L., Brodey, L. C. and Rainey, B. P. (1991) Structure determination of tolaasin, an extracellular lipodepsipeptide produced by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii* paine. *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 2621-2627.
8. Paine, S. G. (1919) Studies in bacteriosis II. A brown blotch disease of cultivated mushroom. *Ann. Appl. Biol.* **5**, 206-219.
9. Tolaas, A. G. (1915) A bacterial disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology* **5**, 51-54.
10. Kim, J. W., Kim, K. H. and Kang, H. J. (1994) Studies on the pathogenic *Pseudomonas* causing bacterial disease of cultivated mushrooms in Korea. 1. On the causal organisms of the rots of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. *Korean J. Plant Pathol.* **10**, 197-210.

11. Kim, J. W., Kwon, S. I. and Kang, H. J. (1995) Studies on the pathogenic Pseudomonas causing bacterial disease of cultivated mushrooms in Korea. 2. Bacteriological characteristics of P. tolaasi causing mushroom brown blotch and white line reacting organisms. *Korean J. Plant Pathol.* **11**, 353-360.
12. Seo, G. S. (2001) Mushroom pathogen and its protection. *Mushroom* **5**, 17-38.
13. Miller, G. L., Blum, R., Gkennon, M. E. and Burton, A. L. (1960) Measurement of carboxymethyl cellulase activity. *Anal. Biochem.* **2**, 127-132.
14. Lee, J. S., Shin, Y. K., Yoon, J. H., Takeuchi, M., Pyun, Y. R. and Park Y. H. (2001) *Sphingomonas aquatilis* sp. nov., *Sphingomonas koreensis* sp. nov. and *Sphingomonas taejonensis* sp. nov. yellow-pigmented bacteria isolated from natural mineral water. *International J. of Systematic and Evolutionary Microbiology* **51**, 1491-1498.
15. Nari, N. G. and Fahy, D. C. (1972) Bacteria antagonistic to *Pseudomonas tolaasii* and control of brown blotch of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus. J. Appl. Bact.* **35**, 439-442.
16. Wong, W. C. and Preece T. F. (1985) *Pseudomonas tolaasii* in mushroom (*Agaricus bisporus*) crops: activity of formulation of 2-bromo-2-nitropane-1,3-diol (bronopol) against the bacterium and the use of this compound to control blotch disease. *J. Appl. Bacteriol.* **58**, 275-281.

**Development of Optimal Culture Media for the Stable Production of Mushroom**

Sang Wan Gal and Sang Won Lee* (*Dept. of microbiological engineering, Chinju national University 660-758*)

**Abstract:** Several antagonistic bacteria, SD-1, 4, 10, 11, 14, 15, and 16, which have strong CMCase and amylase activities, were isolated from the fermented mushroom media. Among them, SD-1, 10, 11, and 15 have strong antibacterial activities against the mushroom pathogenic bacteria, *Pseudomonas* sp., and SD-1, 10, 11, 14, and 16 have strong antifungal activities against the mushroom pathogenic fungi, *Trichoderma* sp. SD-14, 15, and 16 did not inhibit the growth of mushroom *Pleurotus eryngii* ASI-2302, and *Pleurotus ostreatus* ASI-2042 and ASI-2180. When the culture broth mixture of the seven bacterial strains was applied to the mushroom media, the growths of pathogens, *Pseudomonas* sp. and *Trichoderma* sp., were inhibited.

Key words: antagonist, *Pseudomonas* sp., *Trichoderma* sp., *Pleurotus* sp.
*Corresponding author