한 국 균 학 회 지 The Korean Journal of Mycology Research Article

노루궁뎅이 수확 후 배지 추출한 시제품의 토마토 풋마름병 방제 효과

이상엽[1]* · 곽한솔[1] · 강희완[2] · 강대선[3] · 김정준[1] · 한지희[1]

[1]국립농업과학원 농업미생물과, [2]한경대학교 미래융합기술대학원, [3](주)케이글로벌

Control of Tomato Bacterial Wilt by the Prototypes Extracted from Spent Media Substrate of *Hericium erinaceus*

Sang Yeob Lee[1]*, Han Sol Kwak[1], Hee-Wan Kang[2], Dae Sun Kang[3], Jeong Jun Kim[1] and Ji Hee Han[1]

[1]*Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea*
[2]*Graduate School of Future Convergence Technology, Hankyong National University, Ansung 17579, Korea*
[3]*K-Gloval Corporation, Yongin 17015, Korea*

ABSTRACT : The prototypes, Rto-x+$Ca(NO_3)_2$, K-Ca, and Rto-xβ, which were extracted from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus*, strongly inhibited the growth of *Ralstonia solanacearum*. The control efficacies of tomato bacterial wilt by treatment with Rto-x+$Ca(NO_3)_2$, K-Ca, and Rto-xβ were 87.4~92.4%, 46.0~100%, and 65.0~91.9%, respectively. These results indicate that Rto-x+$Ca(NO_3)_2$, K-Ca, and Rto-xβ have a potential as eco-friendly antibacterial materials for the control of tomato bacterial wilt caused by *R. solanacearum*.

KEYWORDS : Bacterial wilt, Control, *Hericium erinaceus*, Spent mushroom substrate, Tomato

서 론

최근 소비자의 수요를 확충하기 위하여 유용한 생리활성 물질을 함유하는 기능성버섯의 인공재배 방법이 개발 보급하면서 노루궁뎅이 등이 병재배 또는 봉지재배 면적이 증가하고 있다. 이에 따라서 버섯을 수확 후 남은 배지가 국내 연간 200만톤 이상에 달하는 것으로 추정하였다[1]. 이 남은 배지는 유기비료, 퇴비, 가축사료, 연료 등 다양한 용도로 재사용되고 있다[2]. 버섯 수확 후 배지에서 최근 식용버섯 유래 배양여액에서 식물의 병원곰팡이와 세균의 생장 억제와 고추역병 방제 연구가 보고된 바 있으며[3], 버섯 수확 후 배지는 항균물질, 병 저항성, β-glucosidase, cellulase 등의 다양한 효소, 식물생육촉진 등과 관련한 이차대사산물이 포함되어 있는 것으로 알려져 있다[2-6]. 국내에서도 버섯 수확 후 배지 추출물의 토마토 풋마름병균 생육 억제 보고[7] 및 고추역병 방제 연구[1]가 보고된 바 있다.

토마토는 라이코펜, 베타카로틴 등의 항암이나 항산화물질이 다량 함유되어 있어 소비자에게 건강식품으로 인식되어 재배면적이 계속 증가하는 추세로서 시설재배에 따른 연작으로 인한 심각한 풋마름병 발생 피해를 겪고 있어[8] 안전한 토마토 생산을 위하여 효과적인 친환경 방제제 개발이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 식물병원균에 대하여 항균력을 가지고 있는 노루궁뎅이 수확 후 배지를 추출하여 만든 시제품을 활용하여 환경친화적 안전 농산물을 생산하기 위하여 토마토 풋마름병균에 대한 생육 억제 효과와 토마토 풋마름병에 대한 방제 효과 검정을 실시하였다.

Kor. J. Mycol. 2016 December, **44**(4): 318-322
https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.318
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

***Corresponding author**
E-mail: lsy2014@korea.kr

Received October 31, 2016
Revised December 1, 2016
Accepted December 6, 2016

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

시제품 종류

(주)케이글로벌(Yongin, Korea)에서 제조한 시제품인 노루궁뎅이를 재배한 후 수확한 배지 추출액 알토엑스와 알토엑스 + 질산칼슘, 알토엑스큐(알토엑스 + Cu), 알토엑스베타(알토엑스 + 탄산칼슘)와 케이칼슘(알토엑스 + 질산칼슘 + 영양분)을 실험에 사용하였다.

시험 토마토 풋마름병균 보관

국립농업과학원 농업미생물과에 보존되어 있는 토마토에 발생하는 토마토 풋마름병균 *Ralstonia solanacearum* 1401과 *R. solanacearum* 1402 균주는 -73°C 초저온냉동고에 보관하면서 사용하였다.

시제품의 토마토 풋마름병균에 대한 항균활성 검정

시제품인 알토엑스, 알토엑스큐, 알토엑스 + 질산칼슘과 케이칼슘을 토마토 풋마름병균(*R. solanacearum* 1401과 1402)에 대하여 원액, 2배와 5배로 희석하여 직경 8 mm 필터페이퍼에 280 μL씩 충분히 흡수시킨 후, 토마토 풋마름병균과 혼합하여 분주한 Luria Bertani (LB) agar 배지에 5반복으로 치상하여 28°C에서 배양 48시간 후 저지원의 크기를 측정하였다.

시제품의 토마토 재배시기별 풋마름병 방제 효과 검정

6월에 토마토 종자를 파종한 실험에서는 시제품 알토엑스 10배액, 케이칼슘 100배, 알토엑스 + 질산칼슘 100배액과 미생물제 200배액에 대한 토마토 풋마름병균에 대한 발생 억제효과를 검정하기 위하여 원예용 상토(Balokeo; Seoul Bio, Eumseong, Korea)가 담긴 포트에서 생육한 토마토(슈퍼도태랑)에 5주씩 4반복으로 시제품을 50 mL씩 2회 관주처리하고 뿌리에 상처를 주고, *R. solanacearum* 1401 균주는 nutrient agar (NA) 배지에 접종하여 28°C에서 2일간 배양하여 10^6 CFU/mL로 조절한 풋마름병균 현탁액 20 mL씩 접종하여 접종 7일 후에 풋마름병 발생을 발병지수로 조사하였다[9].

7월에 토마토 종자를 파종한 실험에서는 토마토 풋마름병균 *R. solanacearum* 1402 균주에 대한 시제품의 방제 효과 검정을 위하여 위와 같은 방법으로 하였으며, 시제품은 알토엑스 10배, 알토엑스 + 질산칼슘 100배, 케이칼슘 100배, 알토엑스큐 100배와 알토엑스베타 100배액을 구당 11주씩 3반복으로 각각 50 mL씩 3회 관주처리하고, 풋마름병균의 접종도 위와 같은 방법으로 주당 10 mL씩 접종한 후 7일에 풋마름병 발병지수를 조사하였다[9].

9월에 토마토 종자를 파종한 실험에서는 토마토 풋마름병균 *R. solanacearum* 1402 균주에 대한 시제품의 방제 효과 검정을 위하여 위와 같은 방법으로 하였으며, 시제품은 알토엑스 10배, 알토엑스 + 질산칼슘 50배, 케이칼슘 50배, 알토엑스큐 10배, 알토엑스베타 50배와 미생물제 200배를 구당 11주씩 3반복으로 50 mL씩 3회 관주처리하고, 풋마름병균의 접종도 위와 같은 방법으로 주당 30 mL씩 접종한 후 35일에 풋마름병 발생을 발병지수를 조사하였다[9].

토마토 풋마름병의 발병 조사는 0 = 정상, 1 = 1~25% 시들음, 2 = 26~50% 시들음, 3 = 51~75% 시들음, 4 = 76~100% 시들거나 고사로 구분하였으며, 발병도는 [(발병지수별 개체수 × 발병지수)/(조사개체수 × 4)] × 100%로 계산하였다.

결과 및 고찰

시제품의 토마토 풋마름병균에 대한 항균활성

노루궁뎅이 수확 후 배지 추출물을 함유한 시제품을 제조하여 알토엑스, 알토엑스큐, 알토엑스 + 질산칼슘과 케이칼슘에 대한 토마토 풋마름병균(*R. solanacearum* 1401, 1402)에 대하여 항균력 검정한 결과에서 시제품의 기본이 되는 알토엑스보다 다른 시제품들이 토마토 풋마름병에 대한 항균력이 1401균주의 경우에는 2.4~6배 정도 증가되었다(Table 1, Fig. 1). 버섯 수확 후 배지 추출물이 저분자량으로 열에 안정한 비단백질 대사물질로서 식물병원균의 생장을 억제한다고 보고하였다[4]. 알토엑스는 풋마름병균 2균주에 대하여 원액과 2배 희석액 처리에서 0.3~2.9 mm의 저지하였으며, 1402균주보다 1401균주를 보다 더 균 생육

Table 1. Antibacterial activity of prototypes of spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* on *Ralstonia solanacearum*

Pathogen strain no.	Dilution (time)	Inhibition zoon (mm)			
		Rto-x	Rto-x + Cu	K-Ca	Rto-x + Ca(No3)$_2$
1401	1	2.9	7.0	16.8	17.4
	2	0.5	3.2	14.0	15.2
	5	0	1.4	1.6	0
1402	1	1.8	3.6	13.4	15.0
	2	0.3	3.4	11.8	13.0
	5	0	1.2	2.2	3.8

Paper disk adding 280 μL of prototype of spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus*.

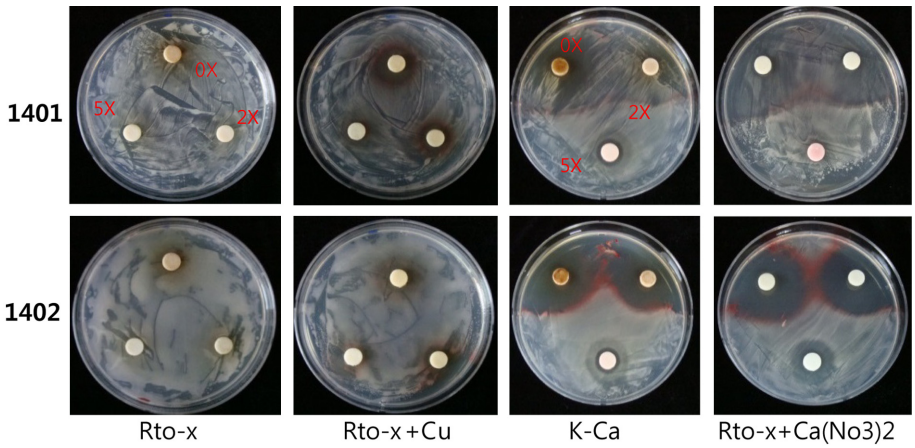

Fig. 1. Inhibition effect of growth of *Ralstonia solanacearum* (1401, 1402) by several prototypes from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus*.

이 억제되었다. 알토엑스큐는 알토엑스보다 훨씬 풋마름병균을 1.2~7.0 mm 억제하였으며, 5배 희석액 처리도 풋마름병균을 억제하였다. 케이칼슘은 1.6~16.8 mm 균 생육을 억제하였으며, 5배 희석액에서도 억제하였다. 알토엑스 + 질산칼슘은 3.8~17.4 mm 억제하였으며, 5배 희석액에서는 1402균주를 억제하였으나 1401균주를 억제하지 못하였다. 노루궁뎅이 수확 후 배지 추출물의 토마토 풋마름병균에 대한 항균활성은 3회 재배한 버섯 수확 후 배지의 추출물 경우에 300~500 μL 처리시에 토마토 풋마름병균의 생육을 0.7~1.8 mm 저지하였다고 기보고한 바 있다[7]. 알토엑스를 노루궁뎅이 수확 후 배지 추출물 300 μL 처리와 비교하면 0.5~0.7 mm 저지 효과를 나타내었지만, 알토엑스는 추출물보다 3.6~4.1배 정도의 높은 항균력을 보였다. 그럼에도 불구하고 항균력을 증진시키기 위하여 알토엑스에 구리와 질산칼슘을 첨가한 시제품들이 훨씬 높은 항균력을 나타내었으며, 생물검정에서도 토마토 풋마름병에 대한 방제 효과가 높을 것이라고 생각된다.

시제품의 토마토 재배시기별 풋마름병 방제 효과 검정

6월에 토마토 종자를 파종한 실험에서 시제품 알토엑스 10배 희석액, 케이칼슘 100배, 알토엑스 + 질산칼슘 100배 액과 미생물제 200배 희석액에 대한 토마토 풋마름병균에 대한 발생 억제효과를 검정한 결과에서 풋마름병균 1401균주에 대하여 알토엑스 10배 희석액은 28.3%, 알토엑스 + 질산칼슘 100배 희석액은 91.9%, 케이칼슘 100배 희석액은 46.0%, 미생물제 200배 희석액은 8.8% 토마토 풋마름병에 방제 효과를 나타내었다(Table 2, Fig. 2). 무처리의 발병도는 92.5%에 이를 정도로 매우 심하게 발병하였지만, 알토엑스에 질산칼슘을 첨가한 시제품들이 46.0~91.9%의 좋은 방제 효과를 나타내었다.

7월에 토마토 종자를 파종한 실험에서 시제품들의 토마토 풋마름병균에 대한 발생 억제효과를 검정한 결과에서 병원균 접종 3일부터 발병하기 시작하여 접종 7일후에 무처리의 발병도가 32.6%로 알토엑스는 55.8%, 알토엑스 + 질산칼슘 100배액은 100%, 케이칼슘 100배액은 97.9%, 알토엑스큐 100배 희석액은 32.5%, 알토엑스베타 100배 희석액은 65.0% 방제 효과를 나타내었다(Table 3).

9월에 토마토 종자를 파종한 실험에서 시제품들의 토마토 풋마름병균에 대한 발생 억제효과를 검정한 결과에서 병원균 접종 15일후에 발병하기 시작하여 접종 35일 후에 무처리가 35.6%의 발병도를 보였으며, 알토엑스 10배 희석액은 12.9%, 알토엑스큐 10배 희석액은 21.9%, 알토엑스 +

Table 2. Control effect of several prototypes from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* on tomato bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* 1401) in greenhouse in July

Treatment	Diluted time	Disease severity (%)	Control efficacy (%)
Rto-x	10	66.3 c[a)]	28.3
Rto-x + $Ca(No3)_2$	100	7.5 a	91.9
K-Ca	100	50.0 b	46.0
Microbial product	200	83.7 d	8.8
Water (control check)	-	92.5 d	-

-, The disease symptom was observed at 7 days after inoculation.
[a)]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

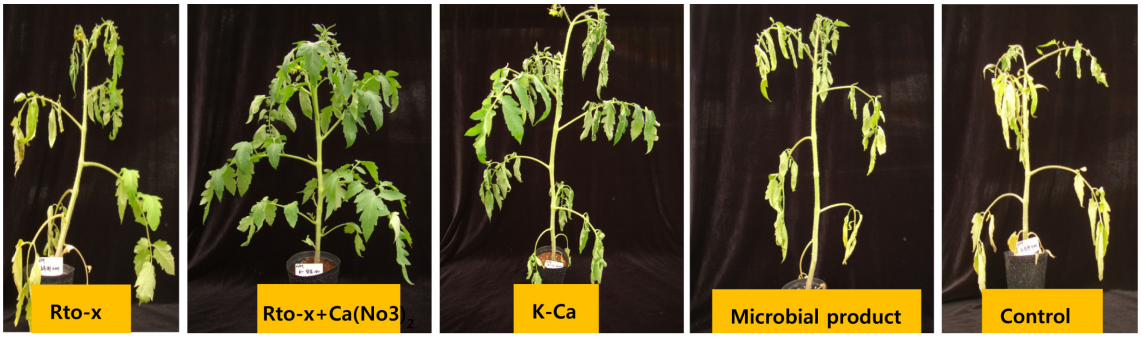

Fig. 2. Treatment effect by several prototypes extracted from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* on tomato bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* 1402).

Table 3. Control effect of several prototypes from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* on tomato bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* 1402) in greenhouse in August

Treatment	Diluted times	Disease severity (%)	Control efficacy (%)
Rto-x	10	14.4 b [a)]	55.8
Rto-x + $Ca(No3)_2$	100	0 a	100
K-Ca	100	0.7 a	97.9
Rto-x + Cu	100	22.0 c	32.5
Rto-x	100	10.6 b	67.5
Water (control check)	-	32.6 d	-

-, The disease symptom was observed at 3 days and investigated at 7 days after inoculation.
[a)]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 4. Control effect of several prototypes from spent mushroom substrate of *Hericium erinaceus* on tomato bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* 1402) in greenhouse in October

Treatment	Diluted times	Disease severity (%)	Control efficacy (%)
Rto-x	10	31.0 cd [a)]	12.9
Rto-x + $Ca(No3)_2$	50	4.5 ab	87.4
K-Ca	50	0 a	100
Rto-x + Cu	10	28.8 cd	21.9
Rto-x	50	3.0 a	91.6
Microbial product	200	19.0 bc	46.6
Water (control check)	-	35.6 d	-

-, The disease symptom was observed at 15 days and investigated at 35 days after inoculation.
[a)]In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

질산칼슘 50배 희석액은 87.4%, 케이칼슘 50배 희석액은 100%, 알토엑스베타 50배 희석액은 91.6%, 미생물제 200배 희석액은 46.6% 방제 효과를 나타내었다(Table 4).

토마토 풋마름병 발생이 토양 온도와 관련되어 26°C에서 4개 저항성 품종들이 큰 차이는 없었지만, 32°C에서는 5일이나 6일에 2개 품종이 감수성 품종과 유사한 50% 이상의 풋마름병이 발생하여 토양 온도가 풋마름병의 주요한 발병 요인으로 작용하고 있어[10], 재배시기의 온도가 발병에 영향을 주어 한 여름철에 가장 심하게 풋마름병이 발생하여 방제제의 방제효과가 저조하며 이른 봄이나 가을에 발병은 적어서 방제효과가 높아진다고 생각된다.

이상의 결과는 토마토 재배시기에 따라서 풋마름병의 발생정도가 달라서 시제품의 방제 효과도 상이하였지만 대조로 사용한 미생물제 처리에서 8.8~46.6% 방제 효과를 나타내어 병 발생이 심하여 방제효과가 저조하다고 생각되었다.

토마토 풋마름병에 대하여 노루궁뎅이 수확 후 배지의 물 추출액이 58.3~83.3%의 방제효과를 나타낸 바 있으며[7], 시제품 알토엑스의 10배 희석액은 12.9~55.8%, 알토엑

스 + 질산칼슘의 50배에서 100배액에서 87.4~100%, 케이칼슘은 50배에서 100배액이 46.0~100%, 알토엑스큐는 50배에서 100배액이 21.9~32.5%, 알토엑스베타 50배에서 100배액이 65.0~91.6% 방제효과를 나타내어 시제품 중에 알토엑스 + 질산칼슘, 케이칼슘과 알토엑스베타가 토마토 풋마름병 방제에 사용이 가능하다고 생각된다.

잿빛만가닥버섯(*Lyophyllum decastes*)의 수확 후 배지 추출물이 오이 탄저병에 대하여 병저항성 PR-1 유전자 발현이 증진시키는 것으로 알려져 있다[6]. 그리고 노루궁뎅이 수확 후 배지 추출물이 고추의 생육을 촉진하고 역병에도 75%의 방제효과를 보였다[1].

이상의 노루궁뎅이 수확 후 배지 추출물을 함유한 시제품은 추출물보다 강력하게 토마토 풋마름병균에 대하여 항균활성을 가지며, 토양병해이며 세균병해로서 방제가 어려운 토마토 풋마름병에 방제 효과가 있어서 토마토뿐만 아니라 가지과 작물에 발생하는 풋마름병에도 친환경 방제제로 사용이 가능할 것으로 생각된다.

적 요

노루궁뎅이(*Hericium erinaceus*) 수확 후 배지를 추출한 시제품 알토엑스 + 질산칼슘, 케이칼슘과 알토엑스베타는 토마토 풋마름병균에 대하여 강한 항균활성을 나타내었다. 토마토 풋마름병에 대하여 알토엑스 + 질산칼슘, 케이칼슘과 알토엑스베타가 87.4~100%, 46.0~100%, 65.0~91.6%의 방제효과를 각각 나타내었다. 이들 결과들은 알토엑스 + 질산칼슘, 케이칼슘과 알토엑스베타가 토마토 풋마름병 방제를 위한 유망한 친환경 세균제가 될 것으로 생각된다.

Acknowledgements

This study was supported by a grant (Project No. PJ00996902) from National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration (RDA), Republic of Korea.

REFERENCES

1. Kwak AM, Kang DS, Lee SY, Kang HW. Effect of spent mushroom substrates on *Phythopthora* blight disease and growth promotion of pepper. J Mushrooms 2015;13:16-20.
2. Suess A, Curtis J. Report: Value-added strategies for spent mushroom substrate in BC. Victoria: British Columbia Ministry of Agriculture; 2006.
3. Chen JT, Huang JW. Antimicrobial activity of edible mushroom culture filtrates on plant pathogens. Plant Pathol Bull 2010;19:261-70.
4. Hautzel R, Anke H. Screening of basidiomycetes and ascomycetes for plant growth regulating substances. Introduction of the gibberellic acid induced de-novo synthesis of hydrolytic enzymes in embryoless seeds of *Tritium aestivum* as test system. Z Naturforsch C 1990;45:1093-8.
5. Lim SH, Lee YH, Kang HW. Optimal extraction and characteristics of lignocellulytic enzymes from various spent mushroom composts. Kor J Mycol 2013;41:160-6.
6. Parada RY, Murakami S, Shimomura N, Otani H. Suppression of fungal and bacterial diseases of cucumber plants by using the spent mushroom substrate of *Lyophyllum decastes* and *Pleurotus eryngii*. J Phytopathol 2012;160:390-6.
7. Lee SY, Kang HW, Kim JJ, Han JH. Effect of spent mushroom substrates of *Hericium erinaceum* on plant pathogens of tomato. Kor J Mycol 2015;43:185-90.
8. Han YK, Min JS, Park JH, Han KS, Kim DH, Lee JS, Kim HH. Screening of tomato cultivars resistant to bacterial wilts. Res Plant Dis 2009;15:198-201.
9. Um HY, Kong HG, Lee HJ, Choi HK, Park EJ, Kim ST, Murugiyan S, Chung E, Kang KY, Lee SW. Altered gene expression and intracellular changes of the viable but nonculturable state in *Ralstonia solanacearum* by copper treatment. Plant Pathol J 2013;29:374-85.
10. Mew TW, Ho WC. Effect of soil temperature on resistance of tomato cultivars to bacterial wilt. Phytopathology 1977;67:909-11.