Suppression of green mold disease on oak mushroom cultivation by antifungal peptides

Hyoun-Jin Lee¹ · Yeong-Bae Yun¹ · Jeong-Hoon Huh¹ · Young-Kee Kim¹

항진균성 펩티드에 의한 표고버섯 푸른곰팡이병의 억제

이형진¹ · 윤영배¹ · 허정훈¹ · 김영기¹

Received: 6 May 2017 / Accepted: 16 May 2017 / Published Online: 30 June 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract Contamination and growth of *Trichoderma*, a green mold, on the oak log and wooden chip or sawdust media can severely inhibit the growth of oak mushroom. Chemicals including pesticides and antibiotics are generally not allowed for the control of green mold disease during mushroom cultivation. In this study, bacterial pathogens causing blotch disease on the oyster mushrooms were isolated and their peptide toxins were purified for the control of green mold disease. Strains of *Pseudomonas tolaasii* secrete various peptide toxins, tolaasin and its structural analogues, having antifungal activities. These peptides have shown no effects on the growth of oak mushrooms. When the peptide toxins were applied to the green mold, *Trichoderma harzianum* H1, they inhibited the growth of green molds. Among the 20 strains of peptide-forming *P. tolaasii*, strong, moderate, and weak antifungal activities were measured from 8, 5, and 7 strains, respectively. During oak mushroom cultivation, bacterial culture supernatants containing the peptide toxins were sprayed on the aerial mycelia of green molds grown on the surface of sawdust media. The culture supernatants were able to suppress the fungal growth of green molds while no effect was observed on the mushroom growth and production. They changed the color of molds from

white aerial mycelium into yellowish dried scab, representing the powerful anti-fungal and sterilization activities of peptide toxins.

Keywords Antifungal peptide toxins · Green mold disease · Oak mushroom · *Pseudomonas tolaasii* · Tolaasin · *Trichoderma harzianum*

서론

식용 버섯은 혈중 콜레스테롤 저하 및 항암 효과 등을 갖고 있어 유효성분 등에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 그 중 담자균강 주름버섯목 느타리과 갯버섯속에 속하는 표고버섯 (*Lentinus edodes*)은 맛이 좋은 3대 버섯의 하나로 널리 알려져 있으며, 또한 면역강화 등 건강에 이로운 여러 효능이 알려져 우수한 식재료로 이용되고 있다(Yamamoto 등, 1997). 대표적으로 표고버섯으로부터 분리한 *lentinan*은 항암보조제로 시판되고 있으며(Sullivan 등, 2006), 그 외에도 당뇨병의 개선 등 성인병에 효과가 크고(Hikino 등, 1985), 섬유질과 비타민이 풍부하여 혈중 콜레스테롤과 체중감소에 효과적인(Kweon 등, 2002) 다기능 신선종합식품으로 밝혀져 선호도가 매우 높은 버섯이다(Bae 등, 2007).

다양한 장점에도 불구하고 국내 표고버섯의 생산량은 꾸준히 감소하고 있으며, 여러 이유가 있으나 푸른곰팡이병의 빈번한 발생도 재배기피의 중요한 원인중의 하나이다(Bak과 Kwon 2005; Miyazaki 등, 2009). 푸른곰팡이병은 인공재배를 하는 양송이버섯, 느타리버섯, 표고버섯 등 모든 버섯에서 발생하는 병해이다. 균사 생장기에는 백색이지만 포자가 형성되면서 푸른색을 띠기 때문에 푸른곰팡이병으로 불린다. 푸른곰팡이는 목재성분을 분해시키고, 표고균사에 직접 기생하여 균사를 사멸시키

Young-Kee Kim (✉)
E-mail: ykkim10@cbnu.ac.kr

¹Department of Environmental and Biological Chemistry, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Republic of Korea

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.

며, 독소(gliotoxin)를 분비하여 균사생장 및 버섯의 발생을 억제한다(Seaby 1998; Ait-Lahsen 등, 2001). 푸른곰팡이의 생장을 위한 적정온도는 25-30 °C이며, 습도는 80% 이상으로 관수 시설을 사용하는 재배사의 특성상 연중 발생하며, 주로 여름 장마철에 빈번하게 발병한다. 푸른곰팡이병을 유발하는 균류는 30여 종이 있으나, 국내에서 표고버섯 재배시 피해를 주는 주된 푸른곰팡이는 *Trichoderma* 속으로 *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. longibrachiatum*, *T. konigii*, *T. polysporum* 등이 알려져 있다(Kim 등, 2012).

푸른곰팡이 *Trichoderma*에 의한 피해는 국내뿐만 아니라 외국에서도 자주 나타나, 표고생산량이 많은 일본이나 중국은 물론 유럽, 이란, 캐나다, 미국 등에서 푸른곰팡이에 의한 피해가 보고되었다(Hatvani 등, 2012; Wang 등, 2016). 그러나 표고버섯은 우수한 신선식품이기에 푸른곰팡이의 방제를 위하여 화학약품이나 농약 등의 약제를 쉽게 사용할 수 없는 실정이다. 현재는 푸른곰팡이의 방제를 위하여 benomyl 등의 농약류를 살포하기도 하나 예방하는 것이 최선으로 생각되고 있다(Jhune 등, 1990). 농약 등 화학약품에 의한 방제는 약제에 대한 내성균의 발생, 비표적생물에 대한 독성, 환경문제 등을 일으킬 수 있고(Lee 등, 2009), 잔류로 인해 축적되기 때문에(Lee 등, 2008), 표고버섯 재배특성상 원목이나 톱밥 배지에 사용이 어려운 실정이다.

본 연구에서는 항진균 활성을 가지고 있는 펩티드를 이용하여 표고버섯 재배에서 자주 나타나는 푸른곰팡이병을 방제하고자 하였다. 톨라신을 포함한 펩티드류는 표고버섯을 제외한 재배버섯 대부분에 갈반병을 유발하나 표고버섯에서는 갈반병을 발생시키지 않아 표고버섯 재배에 해가 없음이 잘 밝혀져 있다(Cho 등, 2007). 이에 따라 항진균 펩티드를 생성하는 다양한 *P. tolaasii* 균주를 선별하여 푸른곰팡이에 대한 억제 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

항진균 펩티드 생산균주의 분리

항진균 펩티드 생산균주는 갈반병에 감염된 버섯으로부터 Cho 등(2000)의 방법에 따라 분리하였다. 갈반이 형성된 느타리버섯 조직 약 1 cm²를 멸균한 칼로 잘라내어 10 mL 멸균수에 넣고 분쇄한 후에 멸균수로 희석하였다. 희석액 200 µL를 *Pseudomonas* Agar F (PAF; Bacto-peptone 10 g, Bacto-tryptone 10 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄ 1.5 g, glycerol 10 mL, agar 15 g/l L 증류수) 평판배지 위에 도말하고, 25 °C에서 48시간 배양하여 자외선등 아래에서 형광성을 확인하고 선별한 세균들은 버섯조직함몰검정법(pitting test)을 이용하여 병원성을 평가하였다(Kim 등, 1994). 분리한 균은 glycerol 20%를 함유한 PAF 저장배지 1.5 mL에 저장하여 초저온냉동고(-70 °C)에 보관하였다.

푸른곰팡이의 분리

표고버섯에 피해를 주는 푸른곰팡이는 버섯 종균 생산농가 또는 재배농가에서 병이 발생한 톱밥배지를 수집하여 푸른곰팡이가 발생한 부분 약 1 cm²를 멸균한 칼로 잘라내어 멸균수 40 mL에 넣고 분쇄한 후에 면직포를 이용하여 톱밥배지 및 불순

물을 제거하였다. 이 혼합액을 멸균수로 희석하고, Potato dextrose agar (PDA) 평판배지 위에 도말하여 27 °C에서 48-60시간 배양한 후, colony 형성을 확인하여 분리하였다. 분리한 균주는 다시 PDA 평판배지 위에 접종하여 48-72시간 동안 배양하여 균주가 충분히 자란 후, 배지를 멸균수 30 mL에 넣어 현탁하고, 면직포에 여과하여 포자현탁액을 얻었다. 포자는 20% glycerol 수용액에 현탁하여 초저온냉동고(-70 °C)에 저장하였다.

항진균 활성 측정 방법

항진균 활성을 측정하기 위하여 PDA 고체배지에 *Trichoderma harzianum* H1 균주 배양액을 배지의 우측에 30 µL 접종하고 2-3 cm 떨어진 좌측에 균주 배양액을 원심분리하여 균주는 침전시키고 항진균 펩티드를 포함하는 상정액만 취하여 원액 50 µL를 점적한 펠터디스크를 위치한 다음 배양하였다. 푸른곰팡이는 모든 방향으로 성장하나 항진균 펩티드를 함유한 디스크 부위에는 성장하지 못하여, 균사의 비대칭 성장을 보였다. 이때 곰팡이 성장이 저해된 부분인 비대칭 부위의 면적을 측정하였으며, 곰팡이 생육억제 면적이 클수록 푸른곰팡이에 대한 펩티드의 항진균 활성이 우수한 것으로 평가하였다. 억제면적은 Adobe photoshop CS 프로그램을 이용하여 측정하였다.

톱밥배지에서 푸른곰팡이 발생면적 측정

톱밥배지에서의 항진균 펩티드의 항진균 활성을 측정하기 위하여 곰팡이가 발생한 톱밥배지의 표면이 컷도록 항진균 펩티드를 1회 처리하였다. 곰팡이 억제 효과를 측정하기 위해서는 표고버섯을 재배하는 중에 톱밥배지에서 푸른곰팡이의 발생면적을 평가하여야 하며, 평가방법을 개발하여 '색상선택법'으로 명명하였다. 톱밥배지 전체를 사진으로 찍은 후 사진의 색상을 컴퓨터로 분석하면 RGB (red, green, blue) 세 가지 색상으로 분석이 되며, 이는 각각 0-255 사이의 값을 가지게 된다. 이 세 가지 색상의 조합으로 모든 색상이 표현되는데 본 실험에서 사용한 푸른곰팡이의 색상 범위는 R: 100-140, G: 110-150, B: 110-150이며, 이는 사진을 찍을 때의 날씨 또는 시간에 따라 차이가 있기 때문에 약간의 변화를 주며 면적을 측정하였다. Adobe photoshop CS 프로그램을 이용하여 위의 색상범위를 선택하고 푸른 색상범위의 색을 가지고 있는 면적이 표현이 되면, 이의 픽셀수를 계산하여 곰팡이의 발생면적의 변화를 측정하였다.

결과 및 고찰

푸른곰팡이 염기서열 분석에 의한 동정

표고버섯에 피해를 입히는 다양한 푸른곰팡이는 버섯 종균 생산농가나 표고버섯 재배농가에서 병이 발생하여 폐기된 톱밥배지를 수거하여 분리하였다. 대상지는 본 연구를 수행한 충북 청주시 문의면 품곡리 버섯재배사(MY), 문의면 두모리 버섯재배사(D), 남일면 이원농산 재배사(H), 보은의 속리산농원 재배사(BE), 충남 청양의 대박농산 재배사(CY) 등이다. 푸른곰팡이병에 걸린 톱밥배지로부터 얻은 시료 중 총 15개의 시료에서 푸른곰팡이를 확인하였다.

곰팡이의 동정은 Internal transcribed spacer 염기서열 분석을 통하여 이루어졌으며(Miyazaki와 Tsunoda 2003; Watanabe 등,

Fig. 1 Phylogenetic analysis of the isolated green mold strains of *Trichoderma harzianum*

2005), 이를 통하여 15개의 시료는 *Trichoderma harzianum* 9종, *Trichoderma atroviride* 3종, *Penicillium brevicompactum* 3종으로 동정되었고, 이들 중 *T. harzianum*에 속하는 변종은 phylogenetic 분석결과에 따라 분류되었다(Fig. 1). 각각의 동정은 eztaxon (ezbiocloud.net/eztaxon)을 이용하였으며, 모두 98% 이상의 염기 상동성을 보였다. 특히, *T. harzianum* 푸른곰팡이 균주는 수집한 병원성 균주의 절반 이상을 차지하였고 발견 지역도 다양하였다. 이를 통해 *T. harzianum*이 충북지역의 표고버섯 재배농가에 널리 분포되어 많은 피해를 주는 원인균임을 확인하였다. *T. harzianum*에 의한 피해사례는 양송이, 느타리, 표고버섯 모두에 걸친 여러 연구에서 보고되었다(Hatvani 등, 2007).

푸른곰팡이 생육 억제 효과

항진균 펩티드에 의한 항진균 활성은 앞서 동정한 다른 곰팡이에서도 나타났지만, 가장 빈번하게 발생하는 *T. harzianum*을 이용하여 실험을 수행하였다. 농도를 0.2-0.5배로 희석한 PDA 배지에서 푸른곰팡이 *T. harzianum* H1을 배양하며, 항진균성 펩티드를 생산하는 20 균주의 항곰팡이 효과를 측정하였다. 항진균성 펩티드를 생산하여 갈반병을 유발하는 *Pseudomonas tolaasii* 균주는 유전자 분석과 병리학 및 생화학적 특성에 따라 P1α, P1β, P1γ 그룹으로 분류하였고, P1α 그룹은 6264 균주를 포함하여 6 균주, P1β 그룹과 P1γ 그룹은 각각 13 균주와 1 균주를 포함한다(Yun 등, 2013). P1α 그룹에 속하는 *P. tolaasii* 6264, HK2, HK4 균주의 배양액을 분리·농축하여 PDA 배지상에서 푸른곰팡이 *T. harzianum* H1 균주와 대치 배양하였을 때, 처리한 배양 농축액 주위에는 곰팡이의 균사 성장이 완전히 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 2). *P. tolaasii* 6264 균주를 포함한 HK1부터 HK23 균주들을 *T. harzianum* H1 균주와 대치 배양하며 푸른곰팡이 H1 균주의 생육 억제 효과를 측정하여 Table 1에 정리하였다.

총 20종의 *Pseudomonas tolaasii* 균주 모두 푸른곰팡이를 억제하는 효과를 보였지만, 그 중 가장 강력한 항진균 활성은 *P. tolaasii* 6264, HK2, HK4 등 주로 P1α 그룹의 균주에서 얻어졌다. 일부 P1β 그룹 균주에서도 좋은 활성을 보였으나, P1β 그룹 균주들은 적혈구를 이용한 용혈활성을 보이지 않아(Yun 등, 2013), 세포독성 측정에 어려움이 많으므로 실제 사용은 제한적이었다. 대치 배양 실험에서 항진균 효과가 우수한 균주는 6264, HK2, HK3, HK4, HK5, HK11, HK12, HK16 균주들로 8 균주가 확인되었다. 항진균 효과가 비교적 좋은 균으로 HK14 등 5 균주, 항진균 효과가 약한 균주로는 HK1 등 7 균주가 확인되었다.

Fig. 2 Antifungal effects of the culture supernatants of *P. tolaasii* strains. Growth inhibitions of *T. harzianum* H1 strain were measured in the presence of culture supernatants of *P. tolaasii* 6264, HK2, and HK4. Culture supernatants were applied on the filter paper disc

Table 1 Antifungal activities of various strains of *Pseudomonas tolaasii*

Fungal strain	Bacterial strain	P1α						P1β			
		6264	HK					7	9	11	12
<i>T. harzianum</i> H1		+++	+	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
Fungal strain	Bacterial strain	P1β									
		HK									
<i>T. harzianum</i> H1		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
<i>T. harzianum</i> H1		++	++	+++	+	+	++	+	+	++	++

Antifungal activity; +++, strong; ++, moderate; +, weak

Fig. 3 Sterilization of *T. harzianum* by the antifungal peptide toxins. The culture supernatant of *P. tolaasii* 6264 was sprayed on the green mold mycelia grown on the surface of sawdust media at day 0

톱밥배지에서의 항진균 효과

표고버섯 톱밥배지를 이용하여 표고버섯 재배 중에 항진균성 펩티드의 항곰팡이 효과를 측정하였다. 1주기 버섯 생산 후 톱밥배지에 푸른곰팡이 포자를 접종하고 건조과정을 거쳐 2주기 생산을 시작하였을 때, 표고버섯이 발이하기 전에 푸른곰팡이가 모든 톱밥배지에서 발생하였다. 이것은 1주기 수확 후, 표고버섯 종균의 세력이 약해진 2주기에 들어 접종한 푸른곰팡이의 포자가 전체 재배사에서 발아한 것으로, 대량 발생한 곰팡이와 접종한 푸른곰팡이 H1 균주의 유전자 비교로 동일한 푸른곰팡이임을 확인하였다.

발생한 푸른곰팡이를 방제하기 위하여 우수한 항진균 활성을 보이는 P1 α 그룹의 6264와 HK2 균주, P1 β 그룹의 HK11 균주, P1 γ 그룹의 HK23 균주의 효과를 측정하였다. 먼저, 항진균 펩티드를 포함하는 각각의 균주배양액을 분무하여 톱밥배지 전반에 처리하고, 2일차와 6일차에 사진을 촬영하여 푸른곰팡이 발생면적의 감소 여부를 측정하였다. 대조구에는 PAF 배지액만을 처리하였다. 대조구의 경우 푸른곰팡이의 생육은 2일째에 처음과 큰 차이가 없었으나, 시간이 경과함에 따라 6일째는 푸른곰팡이의 생육이 증가하여 흰색의 균사가 톱밥배지 표면에 전체적으로 퍼졌고, 균사 발생 면적은 약 50% 증가하였다. 반면, *P. tolaasii* 6264 배양액 처리구는 처리 당일에 푸른곰팡이 균사가 대조구보다 더 넓었으나, 2일차에 푸른곰팡이의 면적은 현저히 줄어 처음 곰팡이 면적의 50% 이하로 감소하였고, 푸른곰팡이가 말라붙어 딱지와 같은 부위가 형성되었다. 6일차에 푸른곰팡이의 생육은 완전히 억제되었고, 원래 푸른색으로 나타났던 곰팡이 부위는 딱지 등의 형성으로 쇠퇴하였다(Fig. 3). 이때, 표고버섯 자실체는 정상적으로 발이되고 성장하여, 표고버섯의 수확이 가능하였다.

대조구에서 푸른곰팡이의 증식과 비교하여 항진균 펩티드 처리구에서 푸른곰팡이의 발생면적이 크게 감소한 결과는 항진균 펩티드가 푸른곰팡이의 생육 억제에 큰 효과가 있음을 보이는 결과이다. 이 기간 중에 표고버섯은 대조구와 처리구 모두에서 발이되고 성장하여 수확까지 가능하였으나, 이후 대조구에서는 푸른곰팡이의 발생이 증가하여 버섯의 발이와 생장이 크게 저해되었고 더 이상의 버섯 생산이 불가능하였다. 푸른곰팡이의 발생은 2주기에서 3주기로 수확이 진행될수록 증가하여 전체적

Fig. 4 Suppressions of green molds by the peptide toxins. Culture supernatants of the indicated *P. tolaasii* strains were sprayed on the mycelia of *T. harzianum* H1 at day 0. Data are mean $\pm$ SE (bars) percentage of the results from three replicates. The same letters are not statistically significant at $p < 0.05$ (Tukey's Test)

으로 수확량을 크게 감소시키는 것으로 알려져 있다. 따라서, 생산주기를 더할수록 성공적인 표고버섯 생산을 위해서는 푸른곰팡이의 발생을 억제하는 것이 중요하고, 톨라신을 포함한 항진균성 펩티드 사용은 친환경적으로 이러한 목적을 이룰 수 있을 것으로 판단된다.

P. tolaasii HK2, HK11, HK23 균주 배양액을 처리한 시험구에서도 *P. tolaasii* 6264 균주 배양액을 처리한 시험구와 유사한 결과를 얻었다(Fig. 4). HK2 균주 배양액 처리구에서 시간의 경과에 따라 푸른곰팡이 발생면적이 현저하게 감소하는 것이 관측되었다. 톱밥배지에서 푸른곰팡이의 균사는 항진균 펩티드의 처리로 딱지같은 잔재로 남아 푸르게 나타났고, 시간 경과에 따라 푸른곰팡이는 거의 사라지는 것을 확인하였다. HK11 균주와 HK23 균주는 각각 P1 β 와 P1 γ 그룹 대표균주로 재배실험에 사용되었고, 특히 두 균주 모두 PDA 배지상에서와 같이 톱밥배지 재배실험에서도 푸른곰팡이 억제 효과가 우수하게 나타났다. 항진균 펩티드를 처리한 후 푸른곰팡이의 발생 면적을 색상선택법을 이용하여 평가하였을 때, 처리한 첫 날의 곰팡이 양을 100%로 하여 2일과 6일차에 푸른곰팡이 잔존 면적을 표기하면, 6일째에는 20% 전후까지 줄어드는 것을 확인하였다. 이 때 남아있는 곰팡이 균사도 딱지를 형성하여 완전히 사멸된 것으로 판단되었다. 반면, 대조구의 경우는 푸른곰팡이의 생육 면적이 계속 증가하였다. 항진균 펩티드를 처리하였을 경우에는 모든 실험에서 푸른곰팡이의 생육 면적이 급격하게 감소하여, 톱밥배지를 이용한 표고버섯 재배에서 펩티드의 항진균 활성이 크게 나타남을 확인하였다.

이러한 결과는 *P. tolaasii* 균주들이 생산하는 톨라신을 포함하는 펩티드류가 표고버섯 생산에 영향을 주지 않고 푸른곰팡이의 균사 생육을 선택적으로 억제함을 보이는 것이다. 따라서, 톨라신류 펩티드의 특성을 밝히고 항진균 펩티드의 효과를 높이는 처리방법을 개발한다면, 표고버섯 재배시 나타나는 푸른곰팡이의 피해를 크게 줄일 수 있을 것이다.

초 록

원목과 톱밥배지에서 푸른곰팡이의 오염과 성장은 표고버섯의 생장을 심하게 저해할 수 있다. 표고버섯 재배에서 푸른곰팡이 병의 방제를 위하여 농약과 항생제와 같은 화학 약품의 사용은 일반적으로 허용되지 않는다. 본 연구에서는 푸른곰팡이병의 방제를 위하여 느타리버섯에서 갈반병을 일으키는 세균성 병원균을 분리하고 이들의 펩티드 독소를 분리하였다. *Pseudomonas tolaasii* 균주들은 항진균 활성을 갖는 톨라신 및 이와 구조적 유사체인 다양한 펩티드 독소를 분비한다. 이러한 펩티드들은 표고버섯의 생장에는 영향을 주지 않는다는 것이 알려져 있다. 펩티드 독소들을 *Trichoderma harzianum* H1 푸른곰팡이에 처리하였을 때, 푸른곰팡이의 생장을 저해하였다. 펩티드를 분비하는 20 종의 *P. tolaasii* 균주 중에서 강, 중, 약의 항진균 활성을 가진 균주의 수는 각각 8, 5, 7 종으로 나타났다. 표고버섯을 재배하는 동안에, 펩티드 독소를 함유한 세균 배양액에서 세균을 제거한 배양원액을 톱밥배지 표면에 자란 푸른곰팡이 균사에 분무하였다. 배양원액은 푸른곰팡이의 생장은 억제할 수 있는 반면, 표고버섯 생장과 생산에는 영향을 주지 않았다. 펩티드 독소를 함유하는 배양원액은 곰팡이의 흰색 균사체를 노란색의 마른 딱지로 변화시켰고, 이것은 펩티드 독소가 강력한 항진균 활성과 살균 활성을 갖고 있음을 보여준다.

Keywords 슈도모나스 톨라시 · 톨라신 · 표고버섯 · 푸른곰팡이병 · 항진균성 펩티드 독소 · *Trichoderma harzianum*

감사의 글 본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원 농생명산업기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(114064-3).

References

- Ait-Lahsen H, Soler A, Rey M, de La Cruz J, Monte E, Llobell A (2001) An antifungal exo- α -1,3-glucanase (AGN 13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Appl Environ Microbiol 67: 5833–5839
- Bae MJ, Kim KJ, Kim SJ, Ye EJ (2007) Effect of mycelia extracts from *Lentinus edodes* mushroom-cultured *Astragalus membranaceus* Bunge on anti-cancer and anti-allergy activities. J Kor Soc Food Sci Nutr 36: 8–13
- Bak WC, Kwon HJ (2005) Biology and control of pests and diseases in shiitake log cultivation. Mushroom Grower's Handbook, 2nd edn. MushWorld, Seoul, pp 152–161
- Cho KH, Park KS, Kim YK (2000) Hemolytic properties of tolaasin causing the brown blotch disease on oyster mushroom. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 43: 190–195
- Cho KH, Shin DS, Kim YK (2007) Effects of mushroom extracts on the growth and pathogenicity of *Pseudomonas tolaasii*, a pathogenic bacterium of brown blotch disease. J Agr Sci Chungbuk Nat'l Univ 23: 133–142
- Hatvani L, Antal Z, Manczinger L, Szekeres A, Druzhinina IS, Kubicek CP, Nagy A, Nagy A, Vágvolgyi C, Kredics L (2007) Green mold diseases of *Agaricus* and *Pleurotus* spp. are caused by related but phylogenetically different *Trichoderma* species. Phytopathology 97: 532–537
- Hatvani L, Sabolic P, Kocsube S, Kredics L, Czifra D, Vágvolgyi C, Kaliterna J, Ivic D, Dermic E, Kosalec I (2012) The first report on mushroom green mould disease in Croatia. Arh Hig Rada Toksikol 63: 481–487
- Hikino H, Konno C, Mirin Y, Hayashi T (1985) Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. Planta Med 51: 339–340
- Jhune C, You CH, Cha DY, Kim GP (1990) Effects of thiabendazole on green mold, *Trichoderma* spp. during cultivation of oyster mushroom, *Pleurotus* spp. Kor J Mycol 18: 89–96
- Kim JW, Kim KH, Kang HJ (1994) Studies on the pathogenic *Pseudomonas* causing bacterial disease of cultivated mushroom in Korea: 1. On the causal organisms of the rots of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. Kor J Plant Pathol 10: 197–210
- Kim JY, Kwon HW, Tang L, Kim SH (2012) Identification and characterization of *Trichoderma citrinoviride* isolated from mushroom fly-infested oak log beds used for shiitake cultivation. Plant Pathol J 28: 219
- Kweon MH, Kwon ST, Kwon SH, Ma MS, Park YI (2002) Lowering effects in plasma cholesterol and body weight by mycelial extracts of two mushrooms: *Agaricus blazei* and *Lentinus edodes*. Kor J Microbiol Biotechnol 30: 402–409
- Lee YS, Kim J, Lee SG, Oh E, Shin SC, Park IK (2009) Effects of plant essential oils and components from Oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) on growth and morphogenesis of three phytopathogenic fungi. Pestic Biochem Phys 93: 138–143
- Lee YS, Kim J, Shin SC, Lee SG, Park IK (2008) Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. Flavour Fragr J 23: 23–28
- Miyazaki K, Tsunoda M (2003) Application of DNA marker to research on *Trichoderma* in mushroom facilities of Japan (1): RAPD, SSCP marker. Mushroom Sci Biotechnol 11: 65–70
- Miyazaki K, Tsuchiya Y, Okuda T (2009) Specific PCR assays for the detection of *Trichoderma harzianum* causing green mold disease during mushroom cultivation. Mycoscience 50: 94–99
- Seaby D (1998) *Trichoderma* as a weed mould or pathogen in mushroom cultivation. Trichoderma and Gliocladium CRC Press, London
- Sullivan R, Smith JE, Rowan NJ (2006) Medicinal mushrooms and cancer therapy: translating a traditional practice into Western medicine. Perspect Bio Med 49: 159–170
- Wang G, Cao X, Ma X, Guo M, Liu C, Yan L, Bian Y (2016) Diversity and effect of *Trichoderma* spp. associated with green mold disease on *Lentinus edodes* in China. Microbiologyopen 5: 709–718
- Watanabe S, Kumakura K, Kato H, Iyozumi H, Togawa M, Nagayama K (2005) Identification of *Trichoderma* SKT-1, a biological control agent against seedborne pathogens of rice. J Gen Plant Pathol 71: 351–356
- Yamamoto Y, Shirono H, Kono K, Ohashi Y (1997) Immunopotentiating activity of the water-soluble lignin rich fraction prepared from LEM-the extract of the solid culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. Biosci Biotechnol Biochem 61: 1909–1912
- Yun YB, Park SW, Cha JS, Kim YK (2013) Biological characterization of various strains of *Pseudomonas tolaasii* that causes brown blotch disease. J Korean Soc Appl Biol Chem 56: 41–45