(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0066295
(43) 공개일자 2008년07월16일

(51) Int. Cl.
C12N 1/20 (2006.01) *C12N 1/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0003529
(22) 출원일자 2007년01월11일
심사청구일자 2007년01월12일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 가좌동 900
(72) 발명자
윤한대
경남 진주시 칠암동 284-2
김민근
경남 함안군 가야읍 묘사리 석산 219-5
조계만
경남 함양군 안의면 이전리 144
(74) 대리인
이덕록

전체 청구항 수 : 총 2 항

(54) 생육촉진 기능을 가지는 슈도모나스속 P7014 균주 및 이를 이용한 버섯 속성 재배방법

(57) 요 약

본 발명은 생육촉진 기능을 가지는 슈도모나스속 7014 균주 및 이를 이용한 버섯 속성 재배방법에 관한 것으로, 새송이버섯 재배지로부터 식용버섯의 생육을 촉진하는 균을 분리하고 분리된 미생물을 동정한 후 감자한천배지 상에서 균사 생육촉진검정, 컬럼 테스트를 통한 생육촉진검정, 현미경 관찰을 통한 버섯과 분리균주의 상호작용 검정 및 병 재배 테스트를 통한 생육촉진 검정을 통해 상기 분리 미생물의 생육촉진능을 검정한 다음 상기 균주를 이용하여 식용버섯을 속성 재배한 후 재배일수 및 수확일수 단축을 조사함으로써 버섯을 속성으로 재배할 수 있게 하는 신규한 버섯 생육촉진능을 가지는 슈도모나스속 균주 및 이를 이용한 버섯 속성재배방법을 제공할 수 있는 매우 뛰어난 효과가 있다.

대표도 - 도9



특허청구의 범위

청구항 1

병버섯 재배시 버섯 생육촉진 활성을 가지는 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014 (기탁번호: KACC 91277P) 균주.

청구항 2

미송:버드나무:밀기울:미강을 5~7:1~3:0.5~1.5:0.5~1.5의 부피비로 혼합한 다음 수돗물을 첨가하여 수분함량이 60~70%가 되도록 조정한 후 플라스틱병에 충진하고 기계 타공을 실시한 다음 살균하여 제조한 배지에 제 1항 기재의 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 균주를 접종하고 정치한 뒤 버섯 톱밥종균을 접종하여 배양함을 특징으로 하는 병버섯 속성 재배방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<13> 본 발명은 생육촉진 기능을 가지는 슈도모나스속 7014 균주 및 이를 이용한 버섯 속성 재배방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 새송이버섯 재배지로부터 식용버섯의 생육을 촉진하는 균을 분리하고 분리된 미생물을 동정한 후 상기 분리 미생물의 생육촉진능을 검정한 다음 상기 균주를 이용하여 식용버섯을 속성 재배한 후 재배일수 및 수확일수 단축을 조사함으로써 버섯을 속성으로 재배할 수 있게 하는 신규한 버섯 생육촉진능을 가지는 슈도모나스속 균주 및 이를 이용한 버섯 속성재배방법에 관한 것이다.

<14> 버섯은 건강식품으로서의 가치를 지니는 중요한 식품 재료이며 항균작용, 항바이러스작용, 강심작용, 항 혈전작용 등 다양한 유용물질을 다량 함유하고 있어 현대인들의 기호도에 적합한 대체의약 식품으로서의 기능을 가지고 있다고 할 수 있다. 국내의 식용 버섯의 연간 생산량은 소비자 판매가 기준 약 1조원으로 국내 농업 총생산액에 대한 그 비중이 지속적으로 증가되고 있다. 국내에서 주로 재배되는 것은 느타리버섯으로 전체 버섯 재배면적의 50.36%(622ha, 61,965톤, 2003년, 특용작물생산실적)를 차지하고 있으며, 양송이버섯이 12.7%(157ha, 19,790톤)로 제 2위를 차지하고 있다. 제 3위는 새송이버섯으로 전체 버섯 재배면적의 10.5%(131ha, 18,358톤)로 조립식 판넬을 이용한 시설재배가 처음 보급되었을 당시 많이 재배되었던 팽이버섯(113ha, 9.1%, 2003년 특용작물 생산실적) 보다 더 많은 면적을 차지하고 있다.

<15> 최근 생명공학의 급속한 발전으로 생명현상기전이 보다 구체적으로 해명되고 있다. 이러한 일련의 기술을 바탕으로 생물세포와 세포의 상호작용을 통한 새로운 생물소재개발에 대한 연구가 활발하게 수행되고 있다. 미생물은 특수한 환경에서 자신의 생존을 위하여 종간의 끊임없는 투쟁과 공생 등의 미묘한 화학 적용을 계속하고 있다. 미생물 생리활성물질로는 지벨린(Gibberellin, GA3)이 가장 대표적인데 이는 1920년대 Kurosawa에 의한 벼 키다리병 균(*Gibberellin fujikuroi*)의 연구로 시작되어 현재 생장조절제 중 가장 많은 양이 생산되고 있다(농약공협회 농약연보, 1997). 이 지벨린은 세포신장 촉진, 종자발아 촉진 및 생장과 신초 발생 및 과실발달 등을 촉진한다. 한편, 수직생장, 형성층의 세포분열 및 발근효소활력 촉진 등의 기능이 있는 옥신(Auxin)도 많은 원핵생물에서 생성이 된다고 보고되어져 있다.

<16> 본 발명은 상기와 같은 점들을 감안하여 안출한 것으로, 버섯의 생육을 촉진하는 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014로 명명된 신규 균주와 상기 세균을 이용한 병버섯의 생육촉진 방법을 제공하는 것이다.

<17> 본 발명의 다른 목적은 상기 버섯생육촉진세균을 이용한 병버섯의 속성재배방법을 제공하는 것이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<18> 본 발명의 상기 목적은 새송이버섯 재배지로부터 식용버섯의 생육을 촉진하는 균을 분리하고 분리된 미생물을 동정한 후 상기 분리 미생물의 생육촉진능을 검정한 다음 상기 균주를 이용하여 식용버섯을 속성 재배한

후 재배일수 및 수확일수 단축을 조사함으로써 달성하였다.

<19> 이하, 본 발명의 구성 및 작용을 설명한다.

발명의 구성 및 작용

<20> 본 발명은 화학적으로 합성된 생리활성물질이 아니라 진핵생물(버섯)과 원핵생물(세균)의 상호작용을 통하여 원핵생물이 분비하는 생육촉진물질이 진핵생물의 생육 및 분화를 촉진시킬 수 있다는 가능성을 통하여 새송이 버섯 재배지 및 토양 내에서 생물학적 버섯생리촉진 미생물을 분리하고 감자한천배지, 컬럼 테스트 및 병 재배 테스터 등을 통하여 생육촉진을 검정하고 이를 토대로 버섯 재배시 적절한 생리활성미생물 첨가로 발아시점 단축 혹은 세포성장을 촉진시켜 버섯수확기를 단축시키는 병버섯 속성재배방법의 제공함으로써 버섯재배 소요비용을 절감할 수 있는 효과가 기대된다.

<21> 본 발명은 새송이 버섯 재배지 및 토양으로부터 버섯 생육촉진 미생물 분리 단계; 상기 분리 균주의 동정 단계; 감자한천배지 상에서 분리균주 처리에 의한 버섯의 생육촉진 검정 단계; 컬럼 테스트를 통한 분리균주의 버섯 생육촉진 검정 단계; 현미경관찰을 통한 버섯과 분리균주의 상호작용 검정 단계; 병 테스트를 통한 분리균주의 버섯 생육촉진 단계; 분리균주의 처리를 통한 발이효율의 검정 단계; 병 재배를 통한 배양일수 단축 검정 단계; 및 분리균주를 이용한 속성재배기술로 버섯 자실체 생산 단계로 구성된다.

<22> 본 발명에서 수집된 시료로부터 10단 순차적 희석법을 이용하여 1/10 TSA 배지 및 영양 배지(Nutrient agar)에 도말하여 미생물을 분리한 후 플레이트 검정(plate assay)로 버섯생육 촉진능이 뛰어난 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014를 선발하였고 한국농업미생물자원센타(KACC)에 기탁하여 기탁번호 KACC 91277P를 부여받았다.

<23> 본 발명에서 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014의 확인은 그람 염색, 투과전자현미경 관찰, 생물학적 검정, API 키트(kit)를 이용한 생리학적 동정, 균주의 세포벽 지방산 분석 및 16S rDNA 염기서열을 통한 계통발생학적 유연관계 분석을 통하여 확인하였다.

<24> 본 발명에서 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014의 버섯 생육촉진 검정은 감자한천배지 상에서 균사 생육 정도의 검정, 컬럼 테스트를 통한 생육촉진능 검정 및 병 재배 테스트를 통한 생육촉진능 검정을 통해 수행한다.

<25> 본 발명에서 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014와 버섯의 상호작용 관찰은 주사현미경(VT1420, Carl Zeiss Inc. Germany)을 통하여 확인한다.

<26> 본 발명에서 상기 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014 균주를 이용한 병 버섯 속성 재배방법은 미송:버드나무:밀기울:미강을 5~7:1~3:0.5~1.5:0.5~1.5의 부피비로 혼합한 다음 수돗물을 첨가하여 수분함량이 60~70%가 되도록 조정한 후 플라스틱병에 충진하고 기계 타공을 실시한 다음 살균하여 제조한 배지에 상기 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 균주를 접종하고 정치한 뒤 버섯 톱밥종균을 접종하여 배양함을 특징으로 한다.

<27> 이하 본 발명의 구성을 하기 실시예를 들어 더욱 상세히 설명하지만 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니다.

<28> **실시예 1: 버섯생산 공정 및 버섯 생육촉진균 선발**

<29> 본 발명의 재료로 사용한 새송이 버섯의 병재배 공정은 균사접종, 균사성장, 균긁기와 자실체 형성, 자실체 성장 및 수확으로 이루어졌다. 병재배 공정의 단축을 위하여 새송이 버섯 재배 농가를 중심으로 인근 토양, 재배사 주변 야산 부엽토, 야생 버섯 및 버섯재배에 이용되는 미송톱밥, 콘코브, 밀기울, 미강을 100 g 채취하여 폴리에치렌 재질 펙에 담은 후 4℃ 아이스박스에서 저장하면서 실험실로 이동시킨 후 각각의 시료를 1 g 칭량하여 9 ml의 0.85% 생리식염수에 10단 순차적 희석법을 통해 적당비율로 희석한 뒤 1/10 TSA 및 영양배지(Nutrient agar)에 도말하여 28℃에서 24시간 동안 배양하였으며 배지에서 자라는 콜로니는 형태 및 색소에 기준하여 순수분리 하였다. 큰느타리 버섯(새송이 버섯) 2호에 대해 분리미생물을 이용한 균사 생육촉진 능력 검증을 위하여 먼저 감자한천배지(PDA) 상에 버섯 균사를 코르크 보러(cork borer, No. 4)를 이용하여 얻어진 버섯균사를 중앙에 접종하여 3일간 배양한 뒤 이쑤시개를 이용하여 분리미생물을 접종하여 균사 성장을 촉진하는 미생물을 선발하였다(도 1 내지 도 2).

<30> **실시예 2: 생육촉진 균주의 생육특성 및 동정**

<31> 상기 실시예 1에서 선별된 균주의 형태학적, 생리학적, 생화학적, 분자유전학적 특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 선별균주는 그람 음성균 있었고, 운동성을 가진 간균으로 세포벽 지방산 분석 결과 주된 지방산은 불포화

지방산 $C_{16:1}$ ω7c 혹은 $C_{16:1}$ ω6c(sum in feature 3)와 포화 지방산 $C_{16:0}$의 형태가 각각 36.05%, 28.64%로 구성되어 있었다. 카탈라제(catalase)와 옥시다제(oxidase)의 활성을 가지고 NO_2를 생성하였으며 구연산과 피브리산을 이용할 수 있었으나 젤라틴(gelatin), 우레아(urea) 분해능은 없었다. 또한, 라이신 디카르복실아제와 오르니틴 디가르복실아제 및 사이토크로모 시다아제 효소 활성을 가지고 있었다. 탄소원 발효능의 실험 결과 멜로비오스와 아라비노스 등의 당류를 이용하였다. 본 발명 균주의 생육특성 조사결과 생육적합 온도는 25℃로 확인되었고 생육적합 pH는 5.0-8.0 수준에서 잘 자랐다. 최종적으로 분자유전학적 방법으로 16S rRNA의 염기서열 분석을 수행하였는데 우선 본 발명의 균주로부터 게놈 DNA를 분리하고 원핵생물에서 이용되는 일반적인 프라이머(#877F; 5'-CGG AGT GGT G ATC TGG-3', #878R; 5'-TAC GGC TAC CTT GTT ACG AC-3')를 이용하여 중합효소연쇄반응을 통해 16S rDNA를 증폭한 뒤 pGEM-T vector(Promega, USA)에 클로닝하고 DNA 염기서열을 분석하였다. 확인된 염기서열에 대해서는 NCBI 및 RDP database를 이용하여 비교 분석한 결과 슈도모나스 코렌아시스(*Pseudomonas koreensis*) Ps 9-14T(AF468452)와 99.2%의 상동성을 나타냈었다. 이상의 형태학적, 생리학적, 분자유전학적특성 등을 종합하여 상기 선별 균주는 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.)으로 동정되어 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014이라 명명하고 기탁번호를 KACC 91277P로 하여 한국농업미생물자원센타(KACC)에 2006년 11월 6일자로 기탁하였다(표 1 내지 표 2, 도 3 내지 도 5).

표 1

<32> 버섯생육촉진균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014의 표현형적 특징

특징	결과	특징	결과
형태(Shape)	간균(bacilli)	Gelatin hydrolase (protease)	-
그람 염색(Gram stain)	-	Glucose assimilation	-
편모(Fragella)	+	Mannitol assimilation	-
크기(Size, ㎛)	0.6-0.8×2.0-2.3	Inositol assimilation	-
Catalase	+	Sorbitol assimilation	-
β-galactosidase	-	Rhamnose assimilation	-
Arginine dihyrdolase	-	Sucrose assimilation	-
Lysine dicarboxylase	+	Melibiose assimilation	+
Ornithine dicarboxylase	+	Amygdalin assimilation	-
Citrate utilization	+	Arabinose assimilation	+
H_2S production	-	Cytochrome oxidase	+
Urease	-	NO_2 production	+
Tryptophane deaminase	-	N_2 reduction	-
Indole production	-	Cytochrome dxidase	+
Acetoin production	+		
[주] -, 음성반응; +, 양성반응			

표 2

<33> 버섯생육촉진균주 슈도모나스(*Pseudomonas*) sp. 7014의 세포벽 지방산 분석결과

지방산	함량 (%)
$C_{10:0}$ 3OH	3.61
$C_{12:0}$	3.82
$C_{12:0}$ 2OH	2.71
$C_{12:0}$ 3OH	4.73
$C_{16:0}$	28.64
$C_{17:0}$ cyclo	1.60
$C_{18:0}$	0.78
Sum in feature 3	36.05

Sum in feature 8	18.07
[주] Summed features 3, $C_{16:1}\omega7c/C_{16:1}\omega6c$; Sum in feature 8, $C_{18:1}\omega7c$ or $C_{18:1}\omega6c$	

<34> **실시예 3: 감자한천배지 상에서 버섯 생육촉진능 검정**

<35> 본 발명의 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014의 생육촉진능을 검정하기 위하여 같은 슈도모나스속 균주 중 슈도모나스 푸티다(기탁번호: KCTC 8441P) 균주와 버섯에 대한 생육촉진능을 비교 평가하였다. 각 균주의 생육촉진능은 균주를 처리하지 않은 무처리구에 대해서 생육 정도를 조사하여 비교 평가함으로써 확인하였다.

<36> 먼저 각 균주를 PDA 배지에 도말한 후 코르크 보러(cork borer, No. 4)를 이용하여 얻어진 버섯 균사를 중앙에 접종하여 10일 후 버섯 균사의 생장 길이를 조사한 결과 감자한천배지(PDA) 상에서 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014를 처리한 것은 90㎜이상 성장하여 배지 상에서 모두 성장이 이루어졌으나 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*)를 처리한 경우에는 70㎜ 정도로 성장의 정도가 현저히 떨어졌으며, 무처리구인 경우에는 약 50㎜정도로 배지 상에서 절반 정도밖에 성장을 하지 못함을 확인할 수 있었다(도 6, 슈도모나스 푸티다 결과는 도 6에 미도시됨).

<37> **실시예 4: 컬럼 테스트를 이용한 버섯 생육촉진능 검정**

<38> 본 발명의 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014가 버섯 재배에 이용되는 배지 조건에서 생육촉진능력을 어느 정도 나타낼 수 있는지를 확인하기 위해 같은 슈도모나스속 균주 중 슈도모나스 푸티다(기탁번호: KCTC 8441P) 균주와 비교 평가하였다. 아울러, 균주를 처리하지 않은 무처리구에 대해서 생육 정도를 조사하여 비교 평가함으로써 확인하였다.

<39> 먼저 미송 :버드나무 :밀기울: 미강 (60:20:10:10, v/v)을 일정량 취하여 잘 혼합한 다음 수돗물을 이용하여 65% 수분이 되도록 조정한 뒤 시험관 (24 ㎜×150 ㎜)에 60 g씩 넣고 121℃에서 90분간 살균하였다. 제조된 배지에 대해 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014를 크린 벤치 내에서 2 ㎖씩 접종한 뒤 약 30분 정도 정치하고 큰느타리 버섯(새송이 버섯) 톱밥종균을 2 g 접종하였다. 이후 배양실(22-24℃)로 옮긴 뒤 약 21일간 배양과정 동안 7일 간격으로 균사 생장 길이를 조사하였다. 그 결과 무처리 경우와 배지만을 처리한 경우에는 균사성장이 약 1/2정도 이루어졌으나 균처리를 한 경우는 균사성장이 모두 이루어졌다. 배양기간 동안 균사성장 길이를 측정한 결과 배양 7일째 무처리인 경우에는 15.5㎜이고 슈도모나스 푸티다 균주를 처리한 경우에는 19.3㎜이었고 본 발명의 슈도모나스속 균주를 처리한 경우에는 23.3㎜이었다. 또한, 균사생장률은 무처리구 13.8%, 슈도모나스 푸티다 처리구 17.6%, 본 발명 균주 처리구 22.9%이었다. 그 이후 배양기간 20일째까지 무처리와 균처리 모두 대수적으로 성장하였으나 그 이후는 서서히 성장하여 21일째 무처리인 경우 균사성장 길이는 63.3㎜이었으며 균사생장률은 59.3%이었고 슈도모나스 푸티다 처리구의 경우 74.6㎜와 71.3%이었으며, 본 발명 균주 처리를 한 경우는 87.0㎜와 85.7%로 확인이 되었다. 상기 결과를 토대로 컬럼 상에서 배양완료 소요일수를 산출한 결과 무처리인 경우에는 약 36일 정도가 소요되었으며 슈도모나스 푸티다 처리구의 경우 33일 정도 소요되어 약 3일간 배양일수가 단축되고, 본 발명 균주 처리인 경우는 약 29일 정도 소요되어 약 7일간 배양일수가 단축된 것을 확인할 수 있었다(도 7, 슈도모나스 푸티다 결과는 도 7에 미도시됨).

<40> **실시예 5: 생육촉진 균주의 병버섯 배지 내 처리 효과**

<41> 본 발명의 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014를 실제 농가에 이용되고 있는 버섯재배 조건에서 적용가능성을 시험하였다. 먼저 850cc 플라스틱 병을 이용하여 컬럼 테스트에서 이용된 배지조건을 사용하여 65%로 수분을 조절한 뒤 배지를 850cc 플라스틱 병에 650 g 충진 후 기계 타공을 실시하였으며, 121℃에서 90분간 살균하여 배지를 제조하였다. 제조된 배지에 대해 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014를 크린 벤치 내에서 10 ㎖씩 접종한 뒤 약 30분 정도 정치하고 큰느타리 버섯(새송이 버섯) 톱밥종균을 10 g 접종하였다. 이후 배양실 (22-24℃)로 옮긴 뒤 약 21일간 배양과정 동안 균사 생장 길이를 조사하였다. 850cc 플라스틱 병에서 10일간 배양하였을 때 무처리인 경우에는 균사 상단부위에 약간 성장하였으며 슈도모나스 푸티다 균주 처리구의 경우 약 1/4 정도까지 균사가 성장하였으나 본 발명 슈도모나스속 균주 처리의 경우는 약 1/2 정도까지 균사가 성장하였다. 배양기간 동안 균사성장 길이를 측정한 결과 배양 10일째 무처리인 경우에는 44.3㎜이고 슈도모나스 푸티다 균주 처리의 경우 51.6㎜였으며 본 발명 균주 처리의 경우에는 59.7㎜이었다. 또한, 균사생장률은 각각 26.0%, 31.4% 및 36.2%이었고 배양기간 21일째 무처리인 경우 균사성장 길이는 165.7㎜이며 균사생장률은 95.2%이었으며 슈도모나스 푸티다 처리의 경우는 균사성장 길이가 167.1㎜로 균사생장률은

98.3%이었으나 본 발명 슈도모나스속 균주 처리의 경우는 170.0mm로 균사생장률이 100%에 도달하였으나 무처리인 경우 배양 30일째에 균사성장이 모두 이루어졌고 슈도모나스 푸티다 균주의 경우 27일째 균사성장이 모두 이루어졌다. 이 결과 배양완료 소요 일수의 경우 무처리구(약 22일)와 슈도모나스 푸티다 처리구(약 20일)에 비해 처리구(약 16일)가 약 4~6일 정도 단축된다는 사실을 확인할 수 있었다. 한편, 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014 처리에 의해 생산된 버섯 자실체도 아무런 문제가 없었다(도 8 내지 도 11, 슈도모나스 푸티다 결과는 도 8 내지 도 11에 미도시됨).

<42> **실시예 6: 버섯과 버섯 생육촉진균주의 상호작용 검정**

<43> 본 발명의 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014와 버섯균사체 간의 상호작용관계를 확인하기 위하여 주사 전자현미경(VT1420, Carl Zeiss Inc. Germany)을 관찰을 한 결과 처리된 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014들이 버섯배지는 물론 균사 표면에 상주하면서 그들의 생육에 있어 영향을 미치고 있음을 확인할 수 있었다(도 12).

발명의 효과

<44> 이상 상기 실시예를 통하여 설명한 바와 같이, 본 발명의 생육촉진 기능을 가지는 슈도모나스속 7014 균주 및 이를 이용한 버섯 속성 재배방법은 버섯 생육촉진 균주 슈도모나스속(*Pseudomonas* sp.) 7014가 버섯 배지 내로 적절히 처리될 경우 버섯균사의 생육촉진은 물론 발이촉진 및 생육 소요일수를 줄임으로써 새송이 버섯의 전체 재배 소요일수를 상당기간 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라 기름 등의 생산비 및 노동비을 상당히 절감할 수 있는 매우 뛰어난 효과가 있으므로 새송이 버섯 외에 다른 버섯과 원예 및 채소 재배 등의 농산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 새송이 버섯의 병 재배 단계를 나타낸 사진도이다. 여기에서 A는 균사 접종단계, B와 C는 균사성장단계(배양기간; 35±2일, 온도; 23±1℃, 습도; 65±5%), D는 균긁기 및 자실체 형성단계(배양기간; 7±1일, 온도; 15±1℃, 습도; 93±2%), E와 G는 방임에 의한 많은 자실체 발달단계, F와 H는 솎음에 의한 하나의 자실체 발달단계(배양기간; 13±1일, 온도; 16±1℃, 습도; 85±5%)를 나타낸 것이다.

<2> 도 2는 감자한천배지(Potato dextrose agar, PDA, Difco)상에 새송이 버섯 균사를 중앙에 접종한 후 3일간 배양하여 순수분리된 미생물들을 대치 배양하여 버섯 생육을 촉진하는 미생물을 선발한 결과이다.

<3> 도 3은 버섯생육촉진세균 슈도모나스(*Pseudomonas*) sp. 7014 균주의 주사전자현미경 사진을 나타낸 결과이다.

<4> 도 4는 버섯생육촉진세균 슈도모나스(*Pseudomonas*) sp. 7014 균주의 16S rDNA 염기서열을 나타낸 결과이다.

<5> 도 5는 버섯생육촉진세균 슈도모나스(*Pseudomonas*) sp. 7014 균주와 기존에 보고된 슈도모나스 속들과의 계통발생학적 유연관계를 나타낸 결과이다.

<6> 도 6은 버섯생육촉진세균을 감자한천배지에 도말한 후 8일간 배양한 후 무처리구와 비교하여 균사성장 정도를 나타낸 결과이다.

<7> 도 7은 버섯생육촉진세균을 컬럼에 처리한 후 21일간 배양한 후 무처리구와 비교하여 균사성장 정도를 나타낸 결과이다.

<8> 도 8은 버섯생육촉진세균을 병버섯 재배병에 처리한 21일간 배양한 후 무처리구와 비교하여 균사성장 길이를 측정한 결과이다.

<9> 도 9는 병재배 버섯의 공정 중 버섯생육촉진세균을 처리한 것과 무처리한 경우의 배양소요일수 및 수확일수를 나타낸 결과이다.

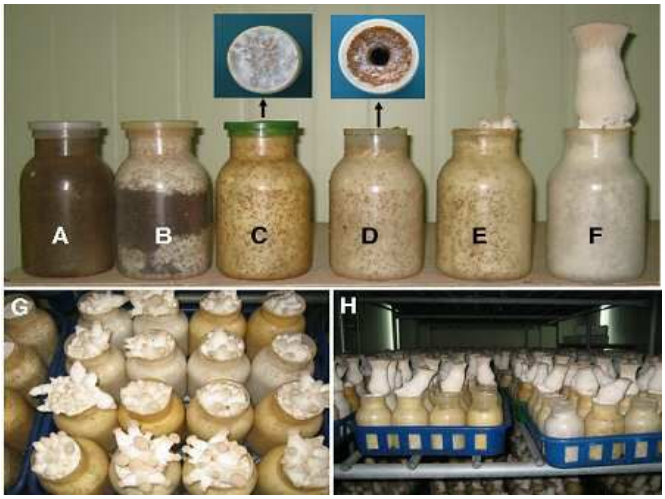
<10> 도 10은 버섯생육촉진세균을 처리 후 병버섯 재배과정 중 균긁기 실시에 따른 6일째 발이 모습을 나타낸 결과이다.

<11> 도 11은 버섯생육촉진세균을 병버섯 재배병에 처리한 후 수확된 새송이 버섯 자실체 모습을 나타낸 결과이다.

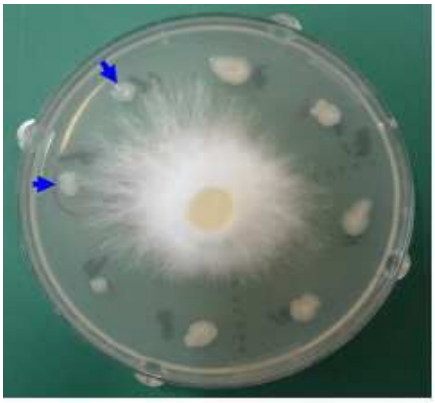
<12> 도 12는 배지 및 버섯의 균사 상에서 버섯생육촉진세균의 존재를 주사전자현미경 촬영으로 관찰한 결과이다.

도면

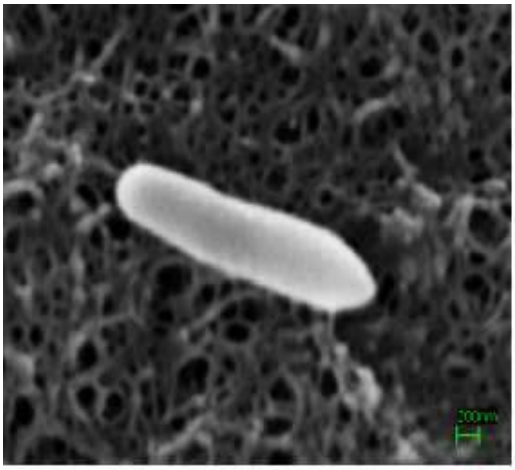
도면1



도면2



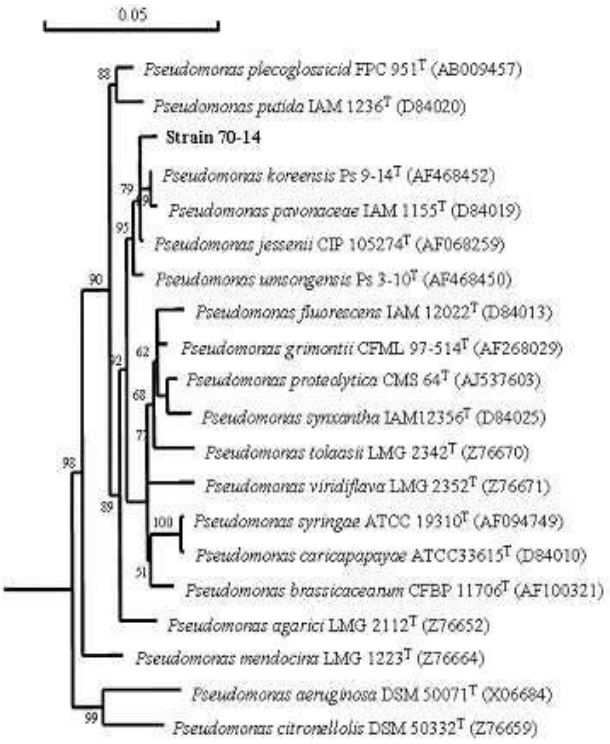
도면3



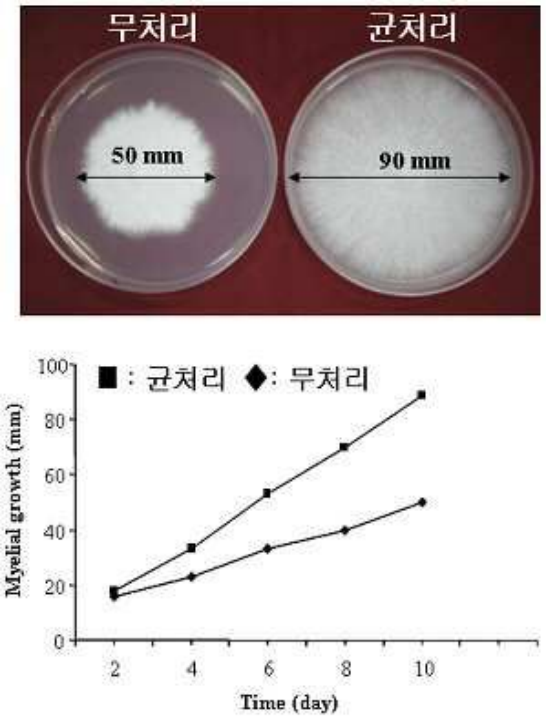
도면4

```
1    GGCTCAGATT GAACGCTGGC GGCAGGCCTA ACACATGCAA GTCGAGCGGA TGAAGAGAGC
61   TTGCTCTCTG ATTCAGCGGC GGACGGGTGA GTAATGCCTA GAAATCTGCC TGGTAGTGGG
121  GGACAACGTT TCGAAAGGAA CGCTAATACC GCATACGTCC TACGGGAGAA AGCAGGGGAC
181  CTTCGGGCCT TGCGCTATCA GATGAGCCTA GGTCGGATTA GCTAGTTGGT GAGGTAATGG
241  CTCACCAAGG CGACGATCCG TAACTGGTCT GAGAGGATGA TCAGTCACAC TGGAACTGAG
301  ACACGGTCCA GACTCCTACG GGAGGCAGCA GTGGGGAATA TTGGACAATG GGCGAAAGCC
361  TGATCCAGCC ATGCCGCGTG TGTGAAGAAG GTCTTCGGAT TGTAAAGCAC TTTAAGTTGG
421  GAGGAAGGGT TGTAGATTAA TACTCTGCAA TTTTGACGTT ACCGACAGAA TAAGCACCGG
481  CTAACTCTGT GCCAGCAGCC GCGGTAATAC AGAGGGTGCA AGCGTTAATC GGAATTACTG
541  GGCGTAAAGC GCGCGTAGGT GGTTTGTTAA GTTGGATGTG AAAGCCCCGG GCTCAACCTG
601  GGAACTGCAT TCAAAACTGA CAAGCTAGAG TATGGTAGAG GGTGGTGGAA TTTCCTGTGT
661  AGCGGTGAAA TGCGTAGATA TAGGAAGGAA CACCAGTGGC GAAGGCGACC ACCTGGACTG
721  ATACTGACAC TGAGGTGCGA AAGCGTGGGG AGCAAACAGG ATTAGATACC CTGGTAGTCC
781  ACGCCGTAAA CGATGTCAAC TAGCCGTTGG GAGCCTTGAG CTCTTAGTGG CGCAGCTAAC
841  GCATTAAGTT GACCGCCTGG GGAGTACGGC CGCAAGGTTA AAACTCAAAT GAATTGACGG
901  GGGCCCGCAC AAGCGGTGGA GCATGTGGTT TAATTCGAAG CAACGCGAAG AACCTTACCA
961  GGCCTTGACA TCCAATGAAC TTTCCAGAGA TGGATTGGTG CCTTCGGGAA CATTGAGACA
1021 GGTGCTGCAT GGCTGTCGTC AGCTCGTGTC GTGAGATGTT GGGTTAAGTC CCGTAACGAG
1081 CGCAACCCTT GTCCTTAGTT ACCAGCACGT CATGGTGGGC ACTCTAAGGA GACTGCCGGT
1141 GACAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT GGCCCTTACG GCCTGGGCTA
1201 CACACGTGCT ACAATGGTCG GTACAGAGGG TTGCCAAGCC GCGAGGTGGA GCTAATCCCA
1261 TAAAACCGAT CGTAGTCCGG ATCGCAGTCT GCAACTCGAC TGCGTGAAGT CGGAATCGCT
1321 AGTAATCGCG AATCAGAATG TCGCGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTAC ACACCGCCCG
1381 TCACACCATG GGAGTGGGTT GCACCAGAAG TAGCTAGTCT AACCTTCGGG GGGACGGTCA
1441 CCACGGTGTG ATTCATGACT GGGGTGAAGT CGTAACAAGG TAGCCGT
```

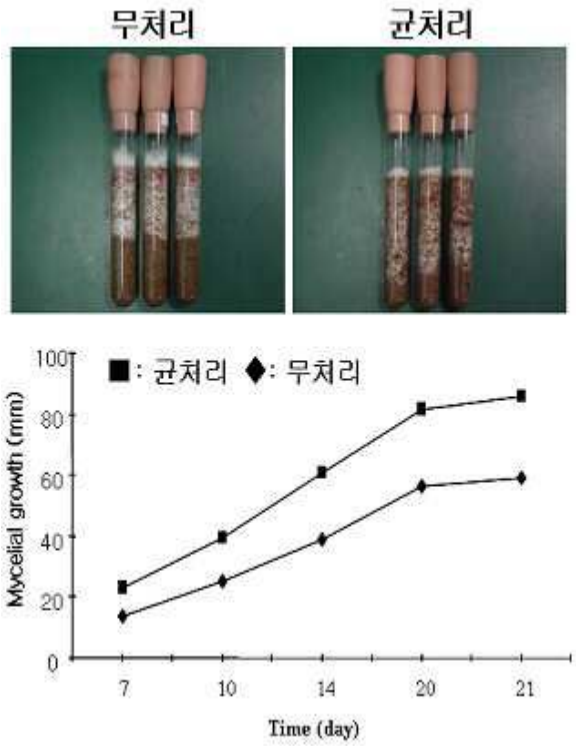
도면5



도면6


무처리
균처리
50 mm
90 mm
■ : 균처리 ◆: 무처리
Myelial growth (mm)
0
20
40
60
80
100
2
4
6
8
10
Time (day)

도면7


무처리
균처리
■ : 균처리 ◆: 무처리
Mycelial growth (mm)
0
20
40
60
80
100
7
10
14
20
21
Time (day)

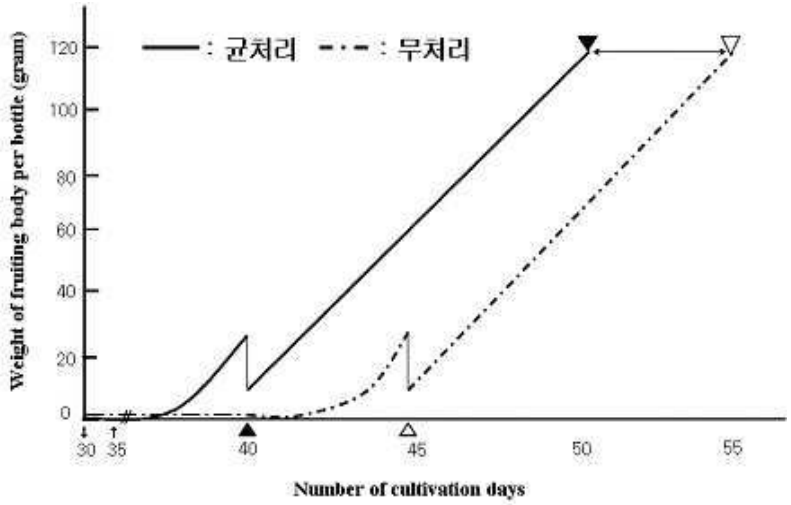
도면8


무처리
균처리
■ : 균처리 ◆: 무처리
Mycelial growth (mm)
200
160
120
80
40
0
7
10
14
20
21
Time (days)

도면9


무처리
균처리

도면10



도면11



도면12

