

## *Aspergillus ochraceus*와 다른 저장균간의 *in vitro* 상호작용 및 Niche Overlap에 미치는 환경요인의 영향

이항범\* · Naresh Magan<sup>1</sup> · 유승헌

충남대학교 농과대학 응용생물화학부

<sup>1</sup>Applied Mycology Group, Biotechnology Centre, Cranfield University,  
Cranfield, Bedfordshire, MK43 0AL, U.K.

## Impact of Environmental Factors on *in vitro* Interactions and Niche Overlap between *Aspergillus ochraceus* and other Storage Fungi

Hyang Burm Lee\*, Naresh Magan<sup>1</sup> and Seung Hun Yu

Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture,  
Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea,

<sup>1</sup>Applied Mycology Group, Biotechnology Centre, Cranfield University,  
Cranfield, Bedfordshire, MK43 0AL, U.K.

**ABSTRACT:** The effect of water activity ( $a_w$ , 0.9~0.995) and temperature (18~30°C) on *in vitro* growth and interactions between ochratoxin-producing *Aspergillus ochraceus* and six other fungi (*Alternaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Eurotium amstelodami*, *E. rubrum*) isolated from maize grain were investigated. *A. ochraceus* and each six other species were paired and their interactions given a numerical score to obtain an index of dominance ( $I_D$ ) for each species. Generally *A. ochraceus* was very competitive and dominant against other fungi. It was, however, dominated by *Alternaria alternata* and *A. niger* at high  $a_w$  (0.995  $a_w$ ), and mutually antagonistic when paired with *E. amstelodami* and *E. rubrum* at low  $a_w$  (0.9  $a_w$ ). The growth rates of each species were also calculated under the same range of environmental conditions. They were markedly influenced by  $a_w$  and temperature. At high temperature (30°C), *A. ochraceus* grew most rapidly under slightly drier conditions (0.95  $a_w$ ), while *A. alternata*, *A. flavus* and *A. niger* did at high water availability level (0.995  $a_w$ ). At 18°C and 25°C, and high  $a_w$  level (0.995  $a_w$ ), *A. alternata* grew fastest, while *A. candidus*, *E. amstelodami* and *E. rubrum* grew very slowly. Using Biolog plates the effect of  $a_w$  and temperature on utilization patterns of carbon sources in maize was evaluated. The niche overlap index (NOI) relative to *A. ochraceus* was determined and compared with that of each interacting species. Under high water available condition (0.995  $a_w$ ) the NOI of *A. ochraceus* was often >0.9, indicative of the coexistence with other interacting species. However, against *E. amstelodami* and *E. rubrum* at 18°C, the species had NOI <0.8, indicative of occupation of different niches. At low  $a_w$  (0.95  $a_w$ ), NOI for *A. ochraceus* was <0.8 when paired with *A. alternata* and *A. niger* also suggested the occupation of different niches.

**KEYWORDS:** *Aspergillus ochraceus*, Index of dominance, Interaction, Niche overlap index

밀, 보리, 옥수수과 같은 곡류는 포장에서 성숙되는 과정과 수확 후 건조 과정에서 다양한 종류의 균류에 오염 또는 감염 될 수 있다. 특히 수확 후 건조 과정이 비효율적일 경우 *Aspergillus*, *Penicillium* 및 *Fusarium*속 균 등에 의한 곡류의 손상과 품질저하가 생기고 유해한 진균독소의 생성을 초래할 수 있다. 이렇게 수확된 곡류에는 다양한 종류의 균류의 균사나 포자가 함유되어 있으며 이들은 필연적으로 서로 접촉하게 된다. 만일 환경조건이 적당하면 이 균류들은 급격히 성장하여 곡류내에서 경쟁이 일어나며 그 결과 종간의 상호작용에 의하여 어떤 종이 우점종이 되기도 하고 또는 다른 종에 의해 저해되기도 한다. 이 때 균류의 생

장과 상호 작용에 영향을 주는 가장 큰 요인은 수분 이용성(water availability) 즉 수분활성도(water activity;  $a_w$ )와 온도로 알려져 있다(Lacey 등, 1991). 밀, 보리 곡류에 발생하는 균류사이에 일어나는 상호작용과  $a_w$  및 온도의 영향에 관하여는 많은 보고가 있으며(Magan과 Lacey, 1985, 1988; Lacey와 Magan, 1991; Ramakrishna 등, 1993), 최근에는 옥수수 곡류에서 분리한 *Fusarium* spp.의 성장, 상호작용 및 진균독소 생성에 미치는  $a_w$ 와 온도의 영향에 관하여 많은 연구가 수행되었다(Alberts 등, 1990; Le Bars 등, 1994; Cahagnier 등, 1995; Marin 등, 1995a, b). Wicklow 등(1980, 1988)은 옥수수 곡류에 분포하는 균류사이의 연관성과 *Aspergillus flavus*에 의한 aflatoxin 생성에 미치는 영향에 관하여 조사하였으나 환경요인과의 관계는 조사하지 않았다.

\*Corresponding author

Magan과 Lacey(1984, 1985)는 균류사이에 일어나는 상호작용을 상호 혼재, 상호 억제로부터 한 종의 다른 종에 대한 우점에 이르기까지 5가지 다른 형으로 구분하였고 이러한 상호작용의 형에 1부터 5까지의 점수를 주어 균류간의 우점능력을 비교 하였다. 또한 다른 여러 종과의 상호작용을 비교한 수리 점수를 합산하여 각종의 우점지수(index of dominance,  $I_b$ )를 구하였고 이 우점지수를 이용하여 균류간의 상호작용이  $a_w$ 와 온도 및 기질에 의하여 큰 영향을 받는다는 것을 밝혔다(Magan과 Lacey 1984). 종간의 상호작용은 곡립 내의 진균독소 생성에도 영향을 준다(Wicklow 등 1980; Cuero 등, 1987). 그러나 ochratoxin을 생성하는 *Aspergillus*와 다른 종의 *Aspergillus* 사이에 일어날 수 있는 종간 상호작용에 관한 정보는 거의 없다. 환경 요인들은 선택압(selective pressure)을 발휘하여 균류의 군락구조 및 개별종들간의 우점화에 영향을 미친다. 미생물들의 공존, 특히 식물체 표면에서의 공존은 영양원의 분할을 통하여 조정될 수 있다(Wilson과 Lindow, 1994a).

Niche 중첩지수(niche overlap index, NOI)와 생태적 유사도(ecological similarity)의 수준을 결정하는데 *in vitro*에서의 탄소원 이용능력이 이용되는데 NOI 값이 >0.9이면 생태적 niche에서 종간의 공존을 의미하며, <0.9이면 별도 niche의 점유를 의미한다(Wilson과 Lindow, 1994b). *Aspergillus ochraceus*는 다양한 농작물에서 분리되며 특히 저장 곡류에 발생하는 주요 저장균류로서(Christensen, 1951, 1962), 이 그룹에 속하는 많은 계통들은 ochratoxin을 생성한다. 이 독소는 동물의 신장괴저(tubular necrosis of kidney), 간변(degeneration of kidney) 및 태아기형을 일으키며 특히 인간의 Balkan endemic nephropathy가 이 독소와 관련된 것으로 보고되어 있다(Krogh 등, 1978). 밀, 보리, 옥수수 오염균들의 미생물 생태와 관련하여 균류사이의 종간 상호작용에 관한 연구가 *in vitro*에서 다양하게 수행되었으나(Wicklow 등, 1980; Magan과 Lacey, 1984; Marin 등, 1995) ochratoxin 생성균인 *A. ochraceus*와 관련 오염균들간의 상호작용 및 생장에 미치는 환경요인에 관한 연구는 수행된 바 없다.

본 연구의 목적은 ochratoxin 생성균인 *Aspergillus ochraceus*와 수확 후 저장과정에서 옥수수 시료에 자주 발생하는 *Alternaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Eurotium amstelodami* 및 *E. rubrum* 균류간의 *in vitro*에서의 종간 상호작용 및 균 생장에 미치는 water activity와 온도의 영향을 조사하는데 있다. 또한 *A. ochraceus*와 다른 공시균들과의 *in vitro* 탄소원 이용 패턴과 NOI에 미치는 환경요인의 영향도 조사 하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

본 연구에 사용한 *Alternaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Eurotium amstelodami* 및 *E. rubrum*은 옥수수 종자에서 직접 분리하였으며 ochratoxin

생성균인 *Aspergillus ochraceus*는 Cranfield Univ.에 보관중인 NRRL 3174균주를 사용하였다.

### 배지

균 분리 및 배양을 위한 기본배지는 2% MMEA(maize meal extract agar, pH 5.5)를 사용하였다. 기본배지의 수분활성도( $a_w$ )는 0.995였으며 여기에 glycerol를 첨가하여 0.9 및 0.95  $a_w$  배지를 조제하였다. 조제된 배지의  $a_w$ 는 Novasina IC II(Novasina AG, Zurich, Switzerland)로 측정하여 확인하였다.

### 접종, 균 생장을 및 상호작용 조사

공시균들은 미리 MMEA 배지에서 배양한 후 분생포자를 모아 살균된 MES(0.25 M NaCl morpholine-ethanosulfonic acid) 완충용액에 현탁시켜 분생포자 현탁액(포자농도  $1 \times 10^7$ /ml)을 만들어 이를 접종원으로 사용하였다. 균 생장을 조사하기 위하여는 공시균들의 포자현탁액을  $a_w$ 가 0.9, 0.95, 0.995로 조정된 MMEA 배지 중앙에 hook를 이용하여 한 방울씩 접종하였다. 접종 후에는 동일한  $a_w$ 의 처리구별로 polyethylene bag으로 밀봉하여 18, 25, 30°C에서 배양하면서 균 생장을 조사하였다.

한편 *A. ochraceus*와 다른 균간의 상호작용을 조사하기 위하여 각기 다른  $a_w$ 로 조정된 MMEA 배지에 2종의 균을 4.4 cm 간격을 두고 접종하여 대치 배양하였다. 접종 후에는 앞에서 설명한 균 생장을 조사에서와 마찬가지로 polyethylene bag으로 밀봉한 후 온도별로 배양하면서 주기적으로 균 생장을 조사하였다. 균 생장은 균총의 반경을 4방향에서 측정하여 평균값으로 하였으며 모든 실험은 3반복으로 실시하였다.

### 균간 상호작용의 분류

공시균의 우점능력을 측정하기 위하여 공시균과 상대균을 8주간 대치 배양한 후 균간의 상호작용 형태를 육안으로 조사하였고, 각 형태별로 다음과 같은 점수(numerical score)를 주었다.

- Score 1: 균간 상호 혼재(mutual intermingling)
- Score 2: 균간 접촉하면서 상호 저해(mutual inhibition on contact)
- Score 3: 균간 거리를 두고 상호 저해(mutual inhibition at a distance)
- Score 4: 균간 접촉하면서 우점(dominance on contact)
- Score 5: 균간 거리를 두고 우점(dominance at a distance)

또한 공시균이 다른 균들과의 상호작용에서 나타난 이들 점수를 모두 합하여 그 균의 전체적인 우점지수(index of dominance,  $I_b$ )를 구하였다. 우점지수는 특정한 환경하에 어떤 균의 우점능력을 측정하기 위하여 개발된 것으로서(Magan & Lacey, 1984), 이 수치는 다양한 환경영역에서 다른 균들에 대한 개별적인 경쟁능력(competitiveness)의 상대적인 비교값으로 표시된다.

**Niche중복지수(Niche overlap index, NOI)**

본 실험은 Biolog plates(GN MicroPlates, BIOLOG, Inc. CA)를 이용하여 공기균들이 이용하는 탄소원(C-sources)을 조사하였다. 각 Biolog plates에는 carbohydrates, carboxylic acid, amino acid, amines, amide, 기타 탄소화합물 등을 비롯한 95개의 기질이 함유되어 있으나 여기서는 옥수수에 존재하는 탄소원인 dextrin, D-galactose, D-fructose,  $\alpha$ -D-glucose, D-melobiose, D-raffinose, sucrose, D-alanine, L-alanine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-histidin, L-leucine, L-phenylalanine, L-proline, D-serine, L-serine 및 L-threonine 등 18개 탄소원만을 대상으로 조사하였다. MMEA 배지에서 배양하여 얻은 각 균의 분생포자를 살균수에 현탁하여 원심분리하는 과정을 3번 반복한 후 MES완충액(Sigma Chemical Co.)으로 씻고 다시 원심분리하였다. MES 용액에 NaCl의 양을 달리하여 0.9~0.995  $a_w$ 의 용액을 만든 후 이 용액으로 포자 현탁액(포자 농도  $10^7$ 포자/ml)을 만들어 각 well에 100  $\mu$ l씩 떨어 뜨렸다. 처리된 Biolog plates는 18°C와 30°C의 배양기에서 15일 이상 배양한 후 탄소원의 이용유무를 입체현미경으로 조사하였다. Niche중복지수(NOI)는 다음과 같은 방법(Wilson과 Lindow, 1994)으로 산출하였다.

즉 target fungus인 *A. ochraceus*가 이용하는 탄소원 중에서 다른 상대균도 같이 이용하는 탄소원 수의 비율 *A. ochraceus*의 NOI로, 또한 *A. ochraceus*와 비교하는 상대균이 이용하는 탄소원중에서 *A. ochraceus*도 동시에 이용하는 탄소원 수의 비율 strain의 NOI로 하였다. NOI의 값이 >0.9인 경우는 한 생태적 niche 내에서 두 균간의 공존과 경합을 나타내며 생태적 유사성(ecological similarity)을 갖는 것으로 해석되며, NOI값이 <0.9인 경우는 생태적 유사성이 낮고 별도의 niche를 이용하는 것으로 해석하고 있다(Wilson과 Lindow, 1994b)

**결과 및 고찰**

**균간의 상호작용 및 우점지수( $I_b$ )에 미치는 수분활성도( $a_w$ ) 및 온도의 영향**

*A. ochraceus*와 다른 종의 균들간의 수리적인 상호작용 점수(numerical interaction scores)와 우점지수( $I_b$ )는 Table 1과 같다. 전체적으로 *A. ochraceus*는 넓은 온도 범위(18°C~30°C)와 넓은  $a_w$ (0.9~0.995)에서 다른 균들에 대해 수리 점수 4를 나타내어 매우 경쟁력이 강함을 나타내었다. 그러나 높은  $a_w$ (0.995  $a_w$ )에서는 저온(18°C)에서 고온(30°C)에 걸쳐 *A. ochraceus*가 *A. niger*와 *A. alternata*에 완전히 우점당하였으며, 낮은  $a_w$ (0.9  $a_w$ )에서는 *A. ochraceus*와 *Eurotium* spp. 사이에 상호 길항작용 현상이 나타났다. *A. alternata*는 낮은  $a_w$ (0.9  $a_w$ )에서는 거의 생장을 하지 못하여 수리점수를 비교할 수 없었다.

*A. ochraceus*의 다른 상호작용 균주(interacting fungi)에 대한 우점지수는 이 균의 *in vitro*에서의 우점화를 반영하고

**Table 1.** Effect of water activity ( $a_w$ ) and temperature on numerical *in vitro* interaction scores and index of dominance ( $I_b$ ) for *Aspergillus ochraceus* and paired

$a_w$	Fungi <sup>a</sup>	18°C	25°C	30°C	$I_b$ <sup>b</sup>
0.90	<i>Alt. alternata</i>	NE <sup>c</sup>	NE	NE	NE
	<i>Asp. candidus</i>	4/0	4/0	5/0	13/0
	<i>Asp. flavus</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Asp. niger</i>	4/0	4/0	0/4	8/4
	<i>Eur. amstelodami</i>	2/2	2/2	4/0	8/4
	<i>Eur. rubrum</i>	2/2	2/2	4/0	8/4
	$I_b$	16/4	16/4	17/4	49/12
0.95	<i>Alt. alternata</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Asp. candidus</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Asp. flavus</i>	4/0	4/0	2/2	10/2
	<i>Asp. niger</i>	4/0	2/2	2/2	8/4
	<i>Eur. amstelodami</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Eur. rubrum</i>	2/2	4/0	4/0	10/2
	$I_b$	22/2	22/2	20/4	64/8
0.995	<i>Alt. alternata</i>	0/4	0/4	0/4	0/12
	<i>Asp. candidus</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Asp. flavus</i>	4/0	2/2	2/2	8/4
	<i>Asp. niger</i>	0/4	0/4	0/4	0/12
	<i>Eur. amstelodami</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	<i>Eur. rubrum</i>	4/0	4/0	4/0	12/0
	$I_b$	16/8	14/10	14/10	44/28
Total	$I_b$	54/14	52/16	51/18	157/48

<sup>a</sup>Alt; Alternaria, Asp; Aspergillus, Eur; Eurotium.

<sup>b</sup>*A. ochraceus* score *in vitro* interaction/other species score.

<sup>c</sup>NE; not examined.

있다. 즉 *A. ochraceus*는 단지 높은  $a_w$ (0.995  $a_w$ )에서 *A. niger*와 *A. alternata*에 우점당하는 것을 제외하고는 넓은 온도 범위와  $a_w$ 에서 매우 경쟁력이 강한 균임을 나타내고 있다. 균류의 생장은 균간 상호작용에 의해 그리고  $a_w$ 와 온도 등 환경요인에 의해 영향을 받으며 환경요인이 균간 상호작용 패턴에도 커다란 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 (Magan과 Lacey, 1984, 1985; Lacey 등, 1991; Marin 등, 1998) 본 연구에서도  $a_w$  및 온도가 균간의 상호작용 및  $I_b$ 에 큰 영향을 주었으며 대체적으로 균 생장율이 높은 환경조건에서 균의 우점지수도 높게 나타났다. 균간 상호작용은 또한 균생장에 영향을 줄 뿐만 아니라 진균독소와 같은 이차 대사산물 생성에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 이와 관련하여 Marin 등(1995, 1998)은 fumonisin 생성균인 *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*과 관련 *Penicillium* 및 *Aspergillus*속 균류간 상호작용이 상호작용균류의 균생장을 및 진균독소생성량에 영향을 주며 이러한 영향은 상호작용균류의 종류에 따라 그 차이가 다양할 뿐만 아니라  $a_w$  및 온도와 같은 환경요인에 의해 상호작용 패턴이 변한다고 하였다. 특히 ochratoxin 생성균인 *A. ochraceus*가 *Fusaria* 균류에 비해 우점능력이 더 높으며 경쟁력이 있다는 것은 ochratoxin 생성과 같은 이차 대사산물인 진균독소 물질이 균생장은 물론 균류간 우점화 등 상호작용 패턴에

도 영향을 미칠수 있음을 시사하는 것이어서 niche 내에서 그 역할이 주목되고 있다.

### A. ochraceus와 6개 다른 균들의 생장율에 미치는 수분활성도( $a_w$ ) 및 온도의 영향

균 생장율에 미치는  $a_w$ 와 온도의 영향은 Fig. 1에서와 같다. 전반적으로 균 생장율은  $a_w$ 와 온도에 따라서 많은 차이가 있었다. *A. ochraceus*는 30°C, 0.95  $a_w$ 에서 생장이 제일 좋았으며 0.995  $a_w$ 에서는 생장율이 조금 낮아지는 경향을 보였다. 반면에 *A. alternata*와 *A. flavus* 및 *A. niger*는 0.995  $a_w$ 의 높은  $a_w$ 에서 균 생장율이 가장 좋았다. *A. candidus*, *E. amstelodami* 및 *E. rubrum*은 0.95  $a_w$ 에서 생장율이 가장 높았으나 다른 균에 비해 균생장율이 대체로 낮았다. 25°C에서는 *A. alternata*가 높은  $a_w$ 인 0.995  $a_w$ 에서 균생장율이 가

장 높았으며 다음으로 *A. flavus*, *A. niger*의 순이었다. 저온(18°C)에서는 대부분 균의 생장율이 현저히 떨어지는 경향을 보였으나 *A. alternata*는  $a_w$ 가 높을 경우(0.995  $a_w$ ) 높은 균 생장율을 보였다. 균생장은 수분활성 수준이 최대인 조건에서 항상 최대치를 나타내지는 않으며 환경요인이 균류의 수분이용성에 영향을 미친다. 저장균류인 *Aspergillus*, *Penicillium* 등의 균생장을 위한 최소  $a_w$ 는 각각 0.72 및 0.82  $a_w$ 이지만 포자균류는 저장균류에 비해 이보다 더 높은 0.90  $a_w$ 이다. Hocking과 Pitt(1979)는 한 *Penicillium* 균의 균사생장이 1.00  $a_w$ 의 높은 수분조건에서 보다는 이보다 낮은 0.98  $a_w$ 에서 균생장이 최대치를 나타낸다고 하였다. Magan과 Lacey(1984)는 본 실험에 사용한 공시균주와 동일 속균인 *Eurotium repens*, *Aspergillus vesicolor* 등이 0.90-0.95  $a_w$ 에서 최대생장율을 나타낸다고 하였는데 본 연구 결과와 매우 유사하였다. 일반적으로 균생장은 포자생성 및 대사물질 생성을 위해 요구되는 수분활성수준 보다는 대체로 더 낮은 수분활성조건에서도 잘 이루어지는 것으로 알려져 있다. 균류의 생장은 첨가된 용질의 종류에 따라 다른데 동일한 수분활성조건에서도 호건성(xerophilic) 균류는  $a_w$ 의 조정을 염대신에 설탕을 사용할 경우 낮은 수분활성(수분스트레스 조건)에 대한 반응에서 더 저항성을 갖는다고 한다 (Beuchat, 1981). 본 연구는 수분활성을 glycerol 용질로 조정된 agar 배지를 이용하여 *in vitro* 균사생장율 및 상호작용 패턴을 조사한 것으로 배지 및 용질의 종류를 달리할 경우 그 결과는 이와는 다를 수 있을 것으로 생각된다.

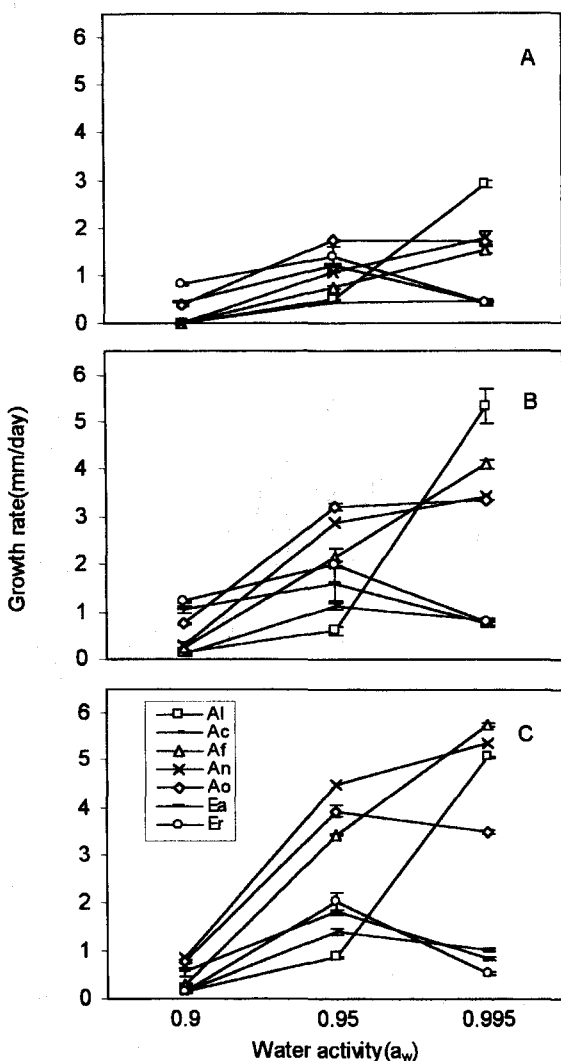


Fig. 1. *In vitro* growth rates of seven fungi (Al; *Alternaria alternata*, Ac; *Aspergillus candidus*, Af; *A. flavus*, An; *A. niger*, Ao; *A. ochraceus*, Ea; *E. amstelodami* and Er; *E. rubrum*) isolated from maize grain on milled maize extract agar at different  $a_w$  and temperatures (A; 18°C, B; 25°C, C; 30°C).

### 탄소원 이용 패턴과 niche 중복지수(niche overlap index, NOI)에 미치는 수분활성도( $a_w$ ) 및 온도의 영향

*A. ochraceus* 및 6종의 균들이 이용할 수 있는 탄소원수(niche size, NS)는  $a_w$ 와 온도에 따라 많은 차이가 있었다 (Table 2). *A. flavus*와 *A. niger*는 낮은  $a_w$ (0.9  $a_w$ )와 저온(18°C)에서는 옥수수 유래 18개 탄소원을 하나도 이용하지 못하였다. 대부분의 균들은  $a_w$ 가 0.9에서 0.995로 증가함에 따라, 또한 온도가 18°C에서 30°C로 증가함에 따라 NS가 증가하였다. 특이한 사항으로는 18°C에서  $a_w$ 가 높을 경우(0.995  $a_w$ ), *E. amstelodami*의 NS가 3으로 가장 낮았다.

*A. ochraceus*와 다른 균들과의 NOI는  $a_w$ 와 온도에 따라 매우 다양하였다(Table 2). 일반적으로 높은  $a_w$ (0.995  $a_w$ )에서는 *A. ochraceus*의 NOI가 대부분 >0.9로서 다른 종의 균들과 같은 niche를 공유하면서 공존하고 있으며 따라서 같은 탄소원을 놓고 경쟁하고 있음을 나타낸다. 단지 18°C에서 *E. amstelodami*와 *E. rubrum*과 비교할 때는 *A. ochraceus*의 NOI가 <0.8로서 이는 서로 다른 niche의 점유를 나타내는 것이다. 그러나  $a_w$ 가 낮아질 경우(0.95  $a_w$ ), *A. ochraceus*는 *A. alternata* 및 *A. niger*에 비하여 낮은 NOI 값(<0.8)을 나타냈는데 이는 *A. ochraceus*가 후자들에 비하여 경쟁에서 잇점이 있음을 의미하는 것이다. 왜냐하면 *A. ochraceus*는 *A. alternata* 및 *A. niger*와 동일 niche를 점유할 수 있으며 그밖에 후자균들이 이용할 수 없는 더 많은 niche를 이용할

**Table 2.** Niche overlap index (NOI) for cereal fungi paired with *Aspergillus ochraceus* derived from 18 key carbon source utilization data at different water activities and temperature levels

Fungi <sup>a</sup>	Temp.	Water activity (a <sub>w</sub> )					
		0.90		0.95		0.995	
	18°C	NS <sup>b</sup>	NOI och/NOI str <sup>c</sup>	NS	NOI och/NOI str	NS	NOI och/NOI
<i>Asp. ochraceus</i>		11		14		15	
<i>Alt. alternata</i>		NE <sup>d</sup>	NE	9	0.64/1.00	17	1.00/0.94
<i>Asp. candidus</i>		7	0.64/1.00	14	0.93/0.93	15	0.93/0.93
<i>Asp. flavus</i>		0	0.00/0.00	16	0.93/0.81	17	1.00/0.88
<i>Asp. niger</i>		0	0.00/0.00	10	0.71/1.00	14	0.87/0.93
<i>Eur. amstelodami</i>		10	0.82/0.90	14	0.86/0.86	3	0.20/1.00
<i>Eur. rubrum</i>		15	1.00/0.79	13	0.86/0.92	12	0.80/1.00
30°C							
<i>Asp. ochraceus</i>		15		17		18	
<i>Alt. alternata</i>		NE	NE	11	0.59/0.91	17	0.94/1.00
<i>Asp. candidus</i>		15	0.93/0.93	17	0.94/0.94	17	0.94/1.00
<i>Asp. flavus</i>		14	0.93/1.00	18	1.00/0.94	17	0.94/1.00
<i>Asp. niger</i>		10	0.67/1.00	13	0.76/1.00	18	1.00/1.00
<i>Eur. amstelodami</i>		12	0.80/1.00	16	0.88/0.94	17	0.94/1.00
<i>Eur. rubrum</i>		14	0.93/1.00	15	0.88/1.00	16	0.89/1.00

<sup>a</sup>*Asp*; *Aspergillus*, *Alt*; *Alternaria*, *Eur*; *Eurotium*.

<sup>b</sup>NS; niche size of fungi.

<sup>c</sup>NOI och represents the proportion of 18 key carbon compounds utilized by *A. ochraceus* that were also utilized by the strain that also utilized by *A. ochraceus*.

<sup>d</sup>NE; not examined.

수 있기 때문이다. *A. ochraceus*를 *A. candidus*와 비교하면 18°C의 0.9 a<sub>w</sub>를 제외하고는 모든 처리구에서 두 균이 동일한 niche에서 공존하는 것으로 나타났다. 한편, *A. flavus*와 비교할 때는 30°C에서는 0.9~0.995 a<sub>w</sub>에서 모두 두 균간의 NOI 값이 유사하며 높은 값을 나타내었으나 18°C에서는 *A. ochraceus*가 높은 값을 나타낸 반면에 *A. flavus*는 낮은 값을 보임으로써 저온에서는 *A. flavus*가 경쟁에서 유리함을 나타내었다.

이 연구에서는 일반적으로 *A. ochraceus*가 다른 균류에 비하여 경쟁력이 강하며 특히 a<sub>w</sub>가 낮은 경우 더욱 경쟁력이 강한 균임을 알 수 있었으나, I<sub>b</sub> 점수, 성장율 과 NOI 사이에는 일반적인 상관관계가 없었다. 균류간의 경쟁력은 성장율, 대사물질, niche overlap 및 상호작용 등을 포함하는 여러 요인들의 조합으로 나타날 것으로 생각되기 때문에 어떤 한 요인만으로는 전체적인 상호작용 및 경쟁을 설명할 수 없을 것이다. 그러나 이 연구에서 확실히 알 수 있었던 것은 균류간의 상호작용과 관련된 I<sub>b</sub>, 성장율 및 탄소원 이용범위가 온도 및 a<sub>w</sub> 수준에 따라 변할 뿐 아니라 거기에 크게 의존하고 있다는 것이다. 이런 정보는 특정한 환경조건하에서의 이들 균류의 경쟁력과 niche overlap의 가능성 및 균 발생의 사전 제거 가능성을 이해하는데 매우 중요한 정보라고 생각된다.

### 적 요

옥수수에서 분리한 ochratoxin 생성균인 *Aspergillus*

*ochraceus*와 다른 균류 6종과의 in vitro 생장 및 상호작용에 미치는 수분활성도(water activity; a<sub>w</sub>)와 온도의 영향을 조사하였다. *A. ochraceus*를 6종의 균류와 각각 대치 배양한 후 그들의 상호작용에 수리점수(numerical score)를 주어 각 종의 우점지수(I<sub>b</sub>)를 구하였다. 일반적으로 *A. ochraceus*는 다른 종에 대하여 매우 경쟁력이 있는 우점종이었다. 그러나 높은 a<sub>w</sub>(0.995 a<sub>w</sub>)에서는 *Alternaria alternata*와 *A. niger*에게 우점당하였으며, 낮은 a<sub>w</sub>(0.9 a<sub>w</sub>)에서는 *Eurotium amstelodami*와 *E. rubrum*과 상호 길항 관계를 보였다. 공시 균들의 성장율에 미치는 a<sub>w</sub>와 온도의 영향을 조사하였던 바 a<sub>w</sub>와 온도에 따라 성장율은 많은 차이가 있었다. 높은 온도(30°C)에서 *A. ochraceus*는 0.95 a<sub>w</sub>에서 가장 생장이 빠른 반면에 *A. flavus*, *A. niger* 및 *A. alternata*는 0.995 a<sub>w</sub>에서 가장 빠른 성장을 보였다. 낮은 온도(18~25°C)와 높은 a<sub>w</sub>(0.995 a<sub>w</sub>)에서는 *A. alternata*가 가장 생장이 빨랐으며 *A. candidus*, *E. amstelodami* 및 *E. rubrum*은 생장이 매우 느렸다. Biolog plates를 이용하여 옥수수 유래의 탄소원 이용 패턴에 미치는 a<sub>w</sub>와 온도의 영향을 조사하였다. *A. ochraceus*의 niche 중복지수(NOI)를 구하였고 각각의 상호작용 균들의 NOI와 비교하였다. 높은 a<sub>w</sub>(0.995 a<sub>w</sub>)에서는 *A. ochraceus*의 NOI 값이 보통 0.9 이상으로서 다른 종들과의 공존을 나타내었다. 그러나 18°C에서 *E. amstelodami*와 *E. rubrum*과 비교할 때는 *A. ochraceus*의 NOI 값이 0.8 이하로서 별도의 niche를 점유하고 있는 것으로 타내었다. 또한 낮은 a<sub>w</sub>(0.95 a<sub>w</sub>)에서 *A. alternata* 및 *A. niger*와 비교할

경우 *A. ochraceus*의 NOI 값이 0.8 이하로서 역시 서로 다른 niche를 점유하고 있는 것으로 나타났다.

### 감사의 글

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 박사후 연수과정 연수비지원에 의하여 연구되었음.

### 참고문헌

- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., van Schalkwyk, D. J. and Behrend, Y. 1990. Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B<sub>1</sub> by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 1729-1733.
- Beuchat, L. R. 1981. Microbial stability as affected by water activity. *Cereal Foods World* **26**: 345-349.
- Cahagnier, B., Melcion, D. and Ricgard-Molard, D. 1995. Growth of *Fusarium moniliforme* and its biosynthesis of fumonisin B<sub>1</sub> on maize grain as a function of different water activities. *Lett. Appl. Microbiol.* **20**: 247-251.
- Christensen, C. M. 1951. Fungi on and in wheat seed. *Cereal Chem.* **28**: 408-415.
- Christensen, C. M. 1962. Invasion of stored wheat by *Aspergillus ochraceus*. *Cereal Chem.* **39**: 100-106.
- Cuero, R., Smith, J. E. and Lacey, J. 1987. Stimulation by *Hypophychia burtoruii* and *Bacillus amyloliquefaciens* of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in irradiated maize and rice grain. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 1142-1146.
- Hocking, A. D. and J. I. Pitt. 1979. Water relations of some *Penicillium* spp. at 25°C. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **73**: 141-145.
- Krogh, P. 1978. Causal associations of mycotoxic nephropathy. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scan. Sect. A. Suppl.* **269**: 1-28.
- Lacey, J. and Magan, N. 1991. Fungi in cereal grains: their occurrence and water and temperature relationships. In: *Cereal Grain. Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage* (ed. J. Chelkowski), pp. 77-118. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Lacey, J., Ramakrishna, N., Hamer, A., Magan, N. and Marfleet, I. C. 1991. Grain fungi. In *Handbook of Applied Mycology: Foods and Feeds* (ed. D. K. Arora, K. G. Mukaj and E. H. Marth), pp 121-177. Marcel Dekker INC.
- Le Bars, J., Le Bars, P., Dupuy, J., Boudra, H. and Cassini, R. 1994. Biotic and abiotic factors in fumonisin B<sub>1</sub> production and stability. *J. AOAC Intern.* **77**: 571-521.
- Magan, N. and Lacey, J. 1984. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **82**: 83-93.
- Magan, N. and Lacey, J. 1985. Interactions between field and storage fungi on wheat grain. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **85**: 29-37.
- Magan, N. and Lacey, J. 1988. Ecological determinants of mould growth in stored grain. *Intern. J. Food Microbiol.* **7**: 245-256.
- Marin, S., Sanchis, V. and Magan, N. 1995a. Water activity, temperature and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Can. J. Food Microbiol.* **41**: 1063-1070.
- Marin, S., Sanchis, V., Ramos, A. J., Vinas, I. and Magan, N. 1998. Environmental factors, in vitro interspecific interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species isolated from maize grain. *Mycol. Res.* **102**: 831-837.
- Marin, S., Sanchis, V., Teixido, A. Saenz, R., Ramos, A. J., Vinas, I. and Magan, N. 1996. Water and temperature relations and microconidial germination of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* from maize. *Can. J. Microbiol.* **42**: 1045-1050.
- Marin, S., Sanchis, V., Vinas, I., Canela, R. and Magan, N. 1995b. Effect of water activity and temperature on fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> production on maize grain. *Lett. Appl. Microbiol.* **21**: 298-301.
- Ramakrishna, N., Lacey, J. and Smith, E. 1993. Effects of water activity and temperature on the growth of fungi interacting on barley grain. *Mycol. Res.* **97**: 1393-1402.
- Wheeler, K. A. and Hocking, A. D. 1993. Interactions among xerophilic fungi associated with dried salted fish. *J. Appl. Bacteriol.* **74**: 164-169.
- Whipps, J. M. and Magan, N. 1987. Effect of nutrient status and water potential of media on fungal growth and antagonist-pathogen interactions. *EPPO Bulletin* **17**: 581-591.
- Wicklow, D. T., Hesseltine, C. W., Shotwell, O. L. and Adams, G. L. 1980. Interference competition and aflatoxin levels in corn. *Phytopathology* **70**: 761-764.
- Wicklow, D. T., Horn, B. W., Shorwell, O. L., Hesseltine, C. W. and Caldwell, R. W. 1988. Fungal interference with *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of maize grown in a controlled environment. *Phytopathology* **78**: 68-74.
- Wilson, M. and Lindow, S. E. 1994a. Coexistence among epiphytic bacterial populations mediated through nutritional resource partitioning. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 4468-4474.
- Wilson, M. and Lindow, S. E. 1994b. Ecological similarity and coexistence of epiphytic ice-nucleating (Ice<sup>-</sup>) *Pseudomonas syringae* strains and a non-ice-nucleating (Ice<sup>+</sup>) biological control agent. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 3128-3137.