

우리나라 벼와 옥수수로부터 분리한 *Gibberella fujikuroi* 종복합체와 *Fusarium commune* 소속 균주의 푸모니신 생성능

이수형^{1†} · 김지혜[†] · 손승완¹ · 이데레사¹ · 윤성환^{*}

순천향대학교 의료생명공학과, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물팀

Fumonisin Production by Field Isolates of the *Gibberella fujikuroi* Species Complex and *Fusarium commune* Obtained from Rice and Corn in Korea

Soo-Hyung Lee^{1†}, Ji-Hye Kim[†], Seung-Wan Son¹, Theresa Lee¹ and Sung-Hwan Yun^{*}

Department of Medical Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

¹Microbial Safety Team, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

(Received on November 2, 2012; Revised on November 30, 2012; Accepted on December 5, 2012)

Gibberella fujikuroi species (*Gf*) complex comprises at least 15 species, most of which not only causes serious plant diseases, but also produces mycotoxins including fumonisins. Here, we focused on the abilities of the field isolates belonging to the *Gf* complex associated with rice and corn, respectively in Korea to produce fumonisin, all of which were confirmed to carry *FUM1*, the polyketide synthase gene essential for fumonisin biosynthesis. A total of 88 *Gf* complex isolates (55 *F. fujikuroi*, 10 *F. verticillioides*, 20 *F. proliferatum*, 2 *F. subglutinans*, and 1 *F. concentricum*), and 4 isolates of *F. commune*, which is a non-member of *Gf* complex, were grown on rice substrate and determined for their production levels of fumonisins by a HPLC method. Most isolates of *F. verticillioides* and *F. proliferatum*, regardless of host origins, produced fumonisin B₁ and B₂ at diverse ranges of levels (0.5–2,686.4 µg/g, and 0.7–1,497.6 µg/g, respectively). In contrast, all the isolates of *F. fujikuroi* and other *Fusarium* species examined produced no fumonisins or only trace amounts (<10 µg/g) of fumonisins. Interestingly, the frequencies of relatively high fumonisin-producers among the *F. proliferatum* and *F. fujikuroi* isolates derived from corn were higher than those among the fungal isolates from rice. In addition, it is a first report demonstrating the ability of the *FUM1*-carrying *F. commune* isolates from rice to produce fumonisins.

Keywords : *Gibberella fujikuroi* species complex, *Fusarium commune*, Fumonisin production

푸모니신(fumonisin)은 *Gibberella fujikuroi* 종복합체 (species complex) 소속 곰팡이가 이병 또는 오염 식물 내 생성하는 대표적인 polyketide 계통의 곰팡이독소로서, 사람과 가축의 다양한 질환과 연관있는 것으로 밝혀졌다 (Marasas, 2001; Marasas 등, 1988; Munkvold와 Desjardins, 1997; Nelson 등, 1993). 대표적인 증상으로 말의 뇌백질 연화증(Leukoencephalomalacia), 어린 돼지의 폐 부종 (Pulmonary edema syndrome), 쥐의 간암, 신장암 등이 보

고 되었다(Ross 등, 1990). 특히 최근 남아프리카 공화국과 중국에서 푸모니신 오염 곡물의 섭취와 사람의 식도암 발생 사이의 역학적 연관관계가 제기되면서 발암후보 물질로 주목받고 있다(Marasas, 2001; Yoshizawa 등, 1994). 푸모니신은 전 세계적으로 옥수수, 조, 수수, 기장, 벼 등의 곡류에서 흔히 자연발생하며 이들의 가공식품에서도 검출되었다(Sydenham 등, 1991). 푸모니신 생성 곰팡이는 예전에 *Fusarium moniliforme*라는 단일 종으로 동정되었으나 형태적 유사성에도 불구하고 종 내 기주 식물에 대한 감염 특이성, 상호 유성교배 능력 등에 차이를 보이는 야생형 균주가 존재하여 현재는 *G. fujikuroi* (*Gf*) 종복합체로 명명된 그룹 내 여러 종으로 동정된다.

[†]equally contributed

^{*}Corresponding author

Phone) +82-41-530-1288, Fax) +82-41-530-3085

Email) sy14@sch.ac.kr

Gf 중 복합체는 *Fusarium*속을 불완전세대로 갖는 사상성 자낭균 곰팡이 집단으로서 각종 곡물에 광범위하게 오염되어 주요 병해를 일으키는 식물병원균이다(Leslie 등, 1990; Leslie와 Summerell, 2006). 이 집단 내 종의 구분은 균주 사이의 교배 여부에 따라 mating population(MP)으로 묶는 방식으로 유지되어 왔으나(Leslie 등, 2007; Leslie와 Summerell, 2006) 무성세대만 존재하는 종들의 구분은 여전히 명확하지 않았다. 이를 극복하기 위하여 특정 유전자 DNA 염기서열의 상동성에 기초한 계통발생학 분류를 시도하였다. 이를 통해 동정된 *Gf* 중복합체 내 계통발생학적 종(phylogenetic species)은 기존 MP 수준의 생물학적 종(biological species)과 일치하였으며, 지금까지 무성생식 세대 종을 포함하여 집단 내 최소 40여 종 이상의 종이 동정되었다(O'Donnell 등, 1998). *Gf* 중복합체 내 푸모니신 생성 종으로는 *F. verticillioides*(유성세대: *G. moniliformis*, MP A), *F. proliferatum*(*G. intermedia*, MP D), *F. fujikuroi*(*G. fujikuroi*, MP C), *F. suglutinans*, *F. nygamai*, *F. globosum* 등이 보고되었다. 한편 *Gf* 중복합체 균주에 의한 푸모니신 생합성이 polyketide synthase와 그 밖의 효소에 의해 이루어짐이 밝혀진 이후 곰팡이 유전체 내 *FUM1* 유전자의 존재 유무로 푸모니신의 생성 여부를 검정할 수 있다. 이와 같은 방법으로 현재까지 최소 15종의 *Fusarium* spp.가 푸모니신 생성능을 가지고 있는 것으로 확인되었다(Proctor 등, 1999). *Gf* 중복합체 외 *Fusarium* 종으로는 *F. oxysporum*이 유일하게 푸모니신을 생성하는 것으로 알려졌다(Proctor 등, 2004; Rheeder 등, 2002). 이들 푸모니신 생성 종 중 특히 *F. verticillioides*와 *F. proliferatum* 균주들은 독소생성 최적 환경에서 상대적으로 높은 농도의 푸모니신을 생성하는 것으로 알려졌다.

*F. verticillioides*는 전 세계적으로 분포하며 주로 옥수수의 줄기, 이삭, 뿌리 등에 썩음병을 일으킬 뿐 아니라, 뚜렷한 병징없이도 이들 기관에 빈번히 오염된다(Jurjevic 등, 2005). 이에 비해 *F. proliferatum*은 옥수수뿐 아니라 벼, 밀, 보리, 소나무, 아스파라거스, 야자수, 난 등의 다양한 식물에서 검출되며 때때로 black point 병징을 일으킨다. *F. proliferatum*은 기주 범위를 제외하고 균학적 특성, 곰팡이독소 생성능 등에서 *F. verticillioides*와 매우 비슷하지만 *F. verticillioides*에 비해 기초적인 연구가 매우 부족한 실정이다. 한편 푸모니신 저생산 또는 미생산 균주인 *F. fujikuroi*는 주로 벼에 오염되어 gibberellin을 생성함으로써 벼 키다리병을 일으키지만 벼 외 옥수수에서도 빈번히 검출된다. 푸모니신 오염과 *Gf* 중복합체에 의한 식물 병 발생의 심각성으로 이와 관련된 연구는 전세계적으로 오래 전부터 진행되고 있으나, 지금까지 우리

나라에서는 벼와 옥수수 내 *Gf* 중복합체 균주 집단의 분포와 푸모니신 자연발생에 관한 제한적 연구만 진행되었다(Choi 등, 2009; Chung과 Kim, 1995; Kim 등, 1998; Park 등, 2001; Seo와 Lee, 1999). 특히 우리나라 곡물 내 발생하는 푸모니신 생성 가능 *Gf* 중복합체 소속 균주들의 푸모니신 생성능에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 2009–2010년 동안 우리나라 벼와 옥수수에서 검출된 푸모니신 생성 가능 *Fusarium* 속 균주들의 쌀 배양체로부터 푸모니신 생성량을 측정하여 이들 균주의 푸모니신 생성능을 분석하고자 하였다.

공시균주 및 배양. 본 연구에서는 2009–2010년 동안 우리나라 옥수수와 벼로부터 분리한 *Fusarium* 추정 곰팡이 중 푸모니신 생성 *FUM1* 유전자의 존재 여부 확인 후 eukaryotic translation elongation factor 1-alpha (*EF1A*)와 RNA polymerase II second largest subunit (*RPB2*) 유전자 염기서열을 이용한 계통발생학 분석으로 동정된 균주들을 공시균주로 사용하였다(Kim 등, 2012)(Table 1). 각 균주의 푸모니신 생성능은 쌀 배지 배양체로부터 검정하였다. 이를 위해 250 ml flask에 쌀 30 g과 15 ml의 증류수를 넣고 상온에서 1시간 동안 방치한 후 30분동안 autoclave 한 다음, 감자한천배지에서 3일 동안 암상태, 25°C 조건으로 배양한 각 균주의 agar block을 접종하였다. 쌀 배지를 매일 1회 이상 흔들어서 25°C에서 3주일 동안 배양하였다. 이후 독소분석을 위해 쌀 배양체를 회수한 후 fume hood 내, 상온에서 5일 동안 건조하였다.

푸모니신 추출 및 분석. 푸모니신 분석을 위한 시료의 전처리하는 식품공전법에 따라 아래와 같이 수행하였다. 쌀 배양체 시료를 분쇄하여 균질화 된 시료 5 g에 메탄올:아세트니트릴:물(25:25:50, v/v/v) 혼합용액 20 ml를 넣어 1시간 동안 진탕한 후 이를 여과지[Whatman No.1(18.0 cm)]를 통해 여과하였다. 여과액 5 ml를 50 ml 코니칼 튜브에 취하고 PBS[(Phosphate Buffered Saline) (Dulbecco A, OXOI, England) 1정을 증류수 100 ml에 녹여서 사용]용액 20 ml로 희석시켰다. 희석액 10 ml을 면역친화성칼럼(Immunoaffinity column) (Vicam, USA)에 주입하여 초당 1–2방울의 속도로 통과시켰다. 이어서 PBS 용액 10 ml을 같은 유속으로 유출하여 버린 후 메탄올:물(80:20, v/v) 혼합용액 4 ml로 용출시켰다. 용출액을 시험관에 넣고 농축시킨 뒤 1 ml의 아세트니트릴:물(5:5, v/v) 혼합용액으로 용해한 후 0.2 µm 주사기 필터(Pall Corporation, Ann Arbor, MI, USA)로 거른 후 액체크로마토그래프 질량분석기(LC-MS, Agilent 1100, USA)를 이용하여 다음의 조건으로 분석을 실시하였다. 컬럼: ACE 5 C18 150 × 4.6 mm (Advanced Chromatography Technologies, Scotland), 이동상 용매:

Table 1. Fumonisin production by *Fusarium* isolated from rice and corn in Korea

Species	Isolate	Host	Year	FB ₁ (µg/g)	FB ₂ (µg/g)
<i>F. verticillioides</i>	c1-v41	corn	2009	2686.4	1525.1
	c1-v20	corn	2009	2681.2	1497.6
	OS67	corn	2010	490.2	193.2
	OS40	corn	2010	2315.7	894.2
	OS68	corn	2010	1265.3	415.3
	OS42	corn	2010	1195.3	313.2
	OS24	corn	2010	69.2	5.6
	V98	rice	2009	ND ^a	ND
	V96	rice	2009	1707.8	821.5
	B1	rice	2010	852.9	220.2
	<i>F. proliferatum</i>	c7B-v13	corn	2009	974.0
c2-v20		corn	2009	920.4	230.2
c7B-v18		corn	2009	10.5	4.0
OS18		corn	2010	472.7	238.2
OS66		corn	2010	467.3	149.6
OS30		corn	2010	470.3	101.4
OS65		corn	2010	6.5	3.2
V116		rice	2009	820.4	163.9
V66		rice	2009	ND	ND
V90		rice	2009	312.7	68.9
V30		rice	2009	ND	ND
V33		rice	2009	0.5	ND
V71		rice	2009	ND	ND
V83		rice	2009	1.4	0.7
V112		rice	2009	ND	ND
V45		rice	2009	5.6	1.2
V13		rice	2009	ND	ND
V73		rice	2009	ND	ND
V115		rice	2009	ND	ND
B43		rice	2010	273.5	26.3
<i>F. fujikuroi</i>	c7B-v15	corn	2009	3.0	3.6
	c6-v3	corn	2009	6.5	6.5
	c7a-v4	corn	2009	1.5	2.7
	c6-v4	corn	2009	11.7	9.2
	c10e-v20	corn	2009	0.5	0.5
	c7a-v3	corn	2009	6.6	4.7
	c7a-v17	corn	2009	12.9	10.9
	OS37	corn	2010	6.1	1.9
	OS5	corn	2010	5.0	1.8
	OS51	corn	2010	3.0	4.0
	OS39	corn	2010	3.7	3.7
	V82	rice	2009	ND	ND
	V35	rice	2009	1.1	0.6
	V58	rice	2009	ND	ND
	V34	rice	2009	ND	ND
	V9	rice	2009	ND	ND
	V84	rice	2009	ND	ND

Table 1. Continued

Species	Isolate	Host	Year	FB ₁ (µg/g)	FB ₂ (µg/g)
<i>F. fujikuroi</i>	V62	rice	2009	ND	ND
	V4	rice	2009	ND	ND
	V91	rice	2009	0.6	ND
	V113	rice	2009	ND	ND
	V61	rice	2009	ND	ND
	V31	rice	2009	ND	ND
	V40	rice	2009	0.5	ND
	V93	rice	2009	ND	ND
	V25	rice	2009	ND	ND
	V8	rice	2009	ND	ND
	V23	rice	2009	ND	ND
	V12	rice	2009	ND	ND
	V76	rice	2009	ND	ND
	V108	rice	2009	0.5	ND
	V74	rice	2009	7.4	2.7
	V72	rice	2009	6.0	2.1
	V76	rice	2009	7.5	1.4
	V63	rice	2009	1.3	1.7
	V60	rice	2009	1.0	0.5
	V69	rice	2009	0.6	0.5
	V57	rice	2009	1.9	0.5
	V80	rice	2009	9.0	3.7
	V50	rice	2009	7.1	5.2
	V27	rice	2009	0.7	0.5
	V21	rice	2009	4.1	3.1
	V22	rice	2009	1.0	0.7
	V34	rice	2009	ND	0.5
V42	rice	2009	0.6	0.5	
V38	rice	2009	4.8	1.6	
V77	rice	2009	0.5	0.5	
B15	rice	2010	3.1	2.8	
B20	rice	2010	1.2	2.7	
B10	rice	2010	2.9	1.9	
B6	rice	2010	1.1	2.3	
B39-1	rice	2010	2.6	2.3	
B39-2	rice	2010	4.5	3.1	
B65-1	rice	2010	9.7	5.7	
B65-2	rice	2010	4.3	2.8	
<i>F. concentricum</i>	OS115	corn	2010	ND	ND
<i>F. commune</i>	OS4	corn	2010	ND	ND
	B40	rice	2010	ND	ND
	B25	rice	2010	0.9	2.3
	B61	rice	2010	0.5	0.5
<i>F. subglutinans</i>	OS22	corn	2010	2.3	5.3
	OS15	corn	2010	0.6	0.5

^aND: not detected (<0.5 µg/g).

0.5% formic acid가 첨가된 HPLC급 아세트니트릴과 0.5% formic acid가 첨가된 HPLC급 물, 유속: 0.7 ml/min, 컬럼 온도: 40°C, 이동상 조건(총 분석시간 30분): 0분 35% 아세트니트릴, 10분 35% 아세트니트릴, 20분 100% 아세트니트릴, 24분 100% 아세트니트릴, 25분 35% 아세트니트릴, 30분 35% 아세트니트릴, 주입량: 5 µl, MS 조건은 ion source: ESI, Ion mode: Positive, Drying gas flow: 10 l/min, Drying gas temp: 350°C, SIM ions: 0분, 334.4, 352.4, 370.4, 722.5, 16분, 336.4, 354.4, 706.5, Step size: 0.1, Peak width: 0.15 min, Time filter: On, Fragmentor: Variable 230 V (334.5, 352.4, 370.4) 100 V (706.5, 722.5). 회수율 시험은 Biopure사 (USA)의 matrix reference material (Fumonisin B₁+B₂ in maize flour; FB₁=2406±630 ppb, FB₂=630±116 ppb)를 3농도 수준 3반복으로 수행하였으며, FB₁과 FB₂의 회수율은 각각 92.7±2.7%와 84.5±7.5%이었다. 푸모니신 혼합표준원액은 Biopure 사의 mycotoxin mix 3(푸모니신을 아세트니트릴:물(50:50) 용액에 녹인 것 (FB₁: 50.2 µg/ml, FB₂: 50.1 µg/ml)을 사용하였다.

푸모니신 생성능 분석. *F. verticillioides*는 총 10균주의 분석대상 중 벼에서 유래한 1균주(V98)를 제외하고 모두 푸모니신 생성능을 보였다. 특히 생성 균주 9균주 중 1균주(OS24)를 제외한 모든 분석 균주(80%)가 푸모니신 B₁과 B₂ 총합이 600 µg/g 이상인 상대적으로 높은 농도의 생성량(683.2~4,211.4 µg/g)을 보였다(Table 1). 이들 균주의 FB₁ 생성농도 범위는 490.2~2686.4 µg/g, FB₂는 68.9~1525.1 µg/g이었다. 이는 1996~1997년 우리나라 수수에서 분리한 *F. verticillioides*(총 5균주 분석)의 FB₁ 생성량 (105~746 µg/g) (Lim 등, 2001)과 비교하여 6배 정도 높은 수준이다. 하지만 우리나라 옥수수 유래 *F. verticillioides* 균주의 경우, 푸모니신 생성능에 관한 기존 국내 분석결과가 없어 본 결과와 직접 비교하기는 어렵다. 지금까지 세계 각 지역에서 분리된 *F. verticillioides* 균주 대부분은 푸모니신 생성능을 가지고 있는 것으로 알려졌으며, FB₁의 최대 생성치는 남아프리카공화국 분리 균주에 의한 17,900 µg/g 수준까지 보고되었다(Alberts 등, 1990). 중국과 네팔과 같은 아시아 지역 국가에서도 6,000~10,000 µg/g 범위의 최대 생성수준을 보이는 균주가 확인되었다(Desjardins 등, 2000; Ghiasian 등, 2005; Rheeder 등, 2002; Yoshizawa 등, 1994). 본 연구결과에서 밝혀진 우리나라 옥수수 유래 *F. verticillioides* 균주의 푸모니신 최대 생성농도는 이러한 해외 균주의 최대 생성능에 비하면 1.5~4배 정도 낮은 수준이나, 최근 해외 옥수수 유래 균주의 생성농도 범위(이란: 233~9,661 µg/g, 멕시코: 0.1~4,047 µg/g, 스페인: 5.4~3,001 µg/g)와 비교할 경우, 큰 차이를 보이지 않았다

(Ghiasian 등, 2005; Hinojo 등, 2006; Sanchez-Rangel 등, 2005). 특히 60%에 해당하는 분석대상 6균주가 1,000 µg/g 이상 수준의 FB₁ 생성능을 보임으로써 우리나라 옥수수 유래 *F. verticillioides* 균주의 상당수는 독소 생성조건에서 상대적으로 고농도의 푸모니신을 생성하는 것으로 판단할 수 있다. 하지만 이를 뒷받침하기 위하여 좀 더 많은 수의 옥수수 유래 야생형 균주의 분석이 시급하다. 한편 분석대상 *F. verticillioides* 균주 중 2균주(V98, B1)가 벼에서 유래한 균주이며, 이 중 1균주(B1)만이 852.9 µg/g의 FB₁ 생성능을 보였다. 벼에서 발생하는 *Gf* 종복합체 중 *F. verticillioides* 균주의 분포 비율은 매우 미미(1% 이하)하기 때문에(Kim 등, 2012) 벼 유래 *F. verticillioides* 균주의 추가 확보가 어려운 실정이지만, 이러한 결과를 통해 고농도 푸모니신 생성능을 갖춘 *F. verticillioides* 균주에 의한 벼의 감염 또는 오염의 가능성을 배제할 수는 없다.

*F. proliferatum*의 경우, 총 20균주의 분석 대상 중 옥수수 유래 균주 집단에서 벼 유래 집단에 비해 상대적으로 고농도 푸모니신 생성 균주의 비율이 높았다. 옥수수 유래 7균주의 FB₁ 생성농도 범위는 6.5~974.0 µg/g이었으며, 이 중 2균주(OS65, c7b-v18)를 제외한 5균주(71%)의 FB₁ 생성 범위는 상대적으로 고농도인 467.3~974.0 µg/g이었다. 하지만 벼 유래 13균주의 경우, 5균주(38%)만 1.4~820.4 µg/g 범위의 FB₁을 생성하였으며, 이 중 300 µg/g 이상의 고농도 생산 균주는 3균주(23%)에 불과하였다. 나머지 8균주(62%)의 FB₁ 생성농도는 0.5 µg/g 이하 또는 검출한계치 이하였다. 기주 식물에 관계없이 이들 푸모니신 생성 *F. proliferatum* 균주의 독소 농도 수준은 해외 *F. proliferatum* 균주의 최대 FB₁ 생성 수준(31,000 µg/g) (Castella 등, 1999)과 비교하면 30배 이상 낮은 편이나, 최근 해외 균주와 비교할 경우, (일본의 Welsh onion 유래 균주: 16.1~882.9 µg/g, 스페인 옥수수 유래 균주: 23.8~198.9 µg/g) 큰 차이가 없었다(Dissanayake 등, 2009; Jurado 등, 2010). 한편, 네팔의 벼 유래 *F. proliferatum* 균주의 경우, 분석대상 총 16균주 모두 푸모니신(FB₁)을 9~2,980 µg/g의 농도 범위로 쌀 배지에서 생성하였으며, 이 중 9균주(56%)는 500 µg/g 이상의 높은 생성량을 보였다(Desjardins 등, 2000). 이와 같은 비교를 통해 같은 아시아 지역이지만 네팔의 균주에 비해 우리나라 벼 유래 *F. proliferatum* 균주는 푸모니신 생성능이 최소 2배 이상 떨어지는 것으로 추정할 수 있다.

총 55균주의 분석 대상 *F. fujikuroi*의 경우, 옥수수 유래 2균주(c6-v4, c7a-v17)를 제외하고 모든 균주가 검출한계 수준에서는 푸모니신을 생성하지 않거나, 10 µg/g 이

하의 미량 만을 생성하였다. 이와 같은 우리나라 *F. fujikuroi* 균주의 푸모니신 저생산 능력은 지금까지 해외 연구 결과와 일치한다(Desjardins 등, 2000; Wulff 등, 2010). 하지만 우리나라 *F. fujikuroi* 균주의 푸모니신 생성능은 앞서 기술한 푸모니신 고생산 종인 *F. verticillioides*, *F. proliferatum*에 비해 매우 낮지만, 기주 식물에 따라 푸모니신 생성능에 차이가 있음을 알 수 있다. 총 42균주의 벼 유래 *F. fujikuroi* 균주 중 15균주(36%)의 푸모니신 생성량은 검출한계 이하 수준이며, 나머지 27균주(64%)는 0.5–9.7 µg/g의 범위에서 푸모니신 FB₁을 생성하였다. 이 중 6균주(총 벼 유래 균주 중 14%, 총 푸모니신 생성 벼 유래 균주 중 22%)만이 5–10 µg/g 수준의 푸모니신을 생성하였다. 이에 반해, 총 12균주의 옥수수 유래 *F. fujikuroi*는 모두 0.5–30.3 µg/g 수준의 푸모니신을 생성하였을 뿐 아니라 이 중 6균주(50%)는 상대적으로 벼 유래 균주 보다 높은 수준(5–12.9 µg/g)의 푸모니신을 생성하였다. 이와 같은 벼와 옥수수에서 유래한 *F. proliferatum* 균주 집단 사이의 푸모니신 생성능 차이의 존재 가능성은 본 연구를 통해 처음 제안되었으며, 분석 균주의 규모(55균주)는 이러한 추정의 타당성을 뒷받침 하기에 충분하다고 판단된다. 한편, 이 외 *Gf* 소속 종인 *F. subglutinans*(2균주), *F. concentricum*(1균주)는 분석 균주의 규모가 매우 작은 편이나 모두 매우 낮은 농도(0.5–2.3 µg/g) 또는 검출한계 이하 수준의 푸모니신 FB₁을 생성하였다. 이와 같은 결과는 *F. subglutinans*와 *F. concentricum*이 각각 푸모니신 저생산 균주 또는 미생산 균주라는 기존 결과와 일치한다(Fotso 등, 2002; Rheeder 등, 2002). 한편 *Gf* 중복합체 소속 종은 아니지만 이와 계통발생학적으로 가까운 *F. commune* 소속 4균주는 모두 벼에서 유래하였으며, *FUMI* 유전자의 PCR 증폭 결과(Kim 등, 2012)에 따라 본 연구에 포함되었다. 이들 중 2균주(B40, B82)는 검출한계 수준까지 푸모니신을 생성하지 못하였으나, 나머지 2균주(B25, B61)는 FB₁과 FB₂를 각각 0.5–0.9 µg/g, 0.5–2.3 µg/g 수준으로 생성하였다. 비록 이와 같은 푸모니신 생성 수준은 매우 낮은 편이지만 *F. commune*에 의한 푸모니신 FB₁과 FB₂의 생성은 본 연구를 통해 처음 보고되는 것이다.

본 연구 결과는 우리나라의 두 가지 주요 곡물인 벼와 옥수수에 오염 또는 감염되어 있는 *Gf* 종 복합체 소속 *Fusarium* 균주의 푸모니신 생성능을 처음으로 보고한 것으로서 우리나라의 푸모니신 오염 피해 저감화를 위한 방제 대책 수립에 중요한 기초 자료로 유용하게 활용될 것으로 기대된다. 특히 본 연구결과와 Kim 등(2012)의 *Gf* 중복합체 균주 집단의 분포 결과 등을 종합적으로 분석

하면, 우리나라에서 푸모니신 곰팡이 독소의 오염과 관련하여 벼와 옥수수의 안전성에는 분명한 차이가 있음을 확인할 수 있다. 먼저 옥수수 유래 *Gf* 종 복합체 균주 집단의 경우, 푸모니신 고생산 균주인 *F. verticillioides*와 *F. proliferatum* 균주가 우점종을 차지하고 있을 뿐 아니라(Kim 등, 2012) 푸모니신 생성능도 해외 균주와 비교하여 큰 차이없이 상대적으로 높은 편이었다. 이에 비해 벼 유래 *Gf* 중복합체 균주 집단에서는 푸모니신 미생산 또는 저생산 종인 *F. fujikuroi*가 우점종을 차지하고 있을 뿐 아니라, 두 번째 빈도(15–20%)로 발생하는 *F. proliferatum* 균주 중에서도(Kim 등, 2012) 옥수수 유래 푸모니신 고생산 *F. proliferatum* 균주와 비슷한 수준의 푸모니신을 생산하는 균주는 14%에 불과하였다. 또한 옥수수의 우점종인 *F. verticillioides*는 벼에서 거의 검출되지 않았다. 더욱이 벼는 옥수수와 달리 도정을 하기 때문에 범씨 표면에 오염될 수 있는 푸모니신의 대부분은 소비 단계 전 제거될 수 있을 것으로 추정한다. 이와 같은 비교를 통해 푸모니신 오염의 피해와 관련하여 벼가 상대적으로 옥수수에 비해 안전하다고 추정할 수 있다. 하지만 벼에서도 여전히 푸모니신 고생산 종인 *F. proliferatum*이 항상 일정 비율 이상 검출되기 때문에 기후 변화 등에 따른 벼의 *Fusarium* spp. 오염 빈도가 증가할 경우, 푸모니신 오염에 의한 피해의 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 특히 범씨 도정과정 중 생기는 부산물에서는 *F. graminearum*에 의한 trichothecene 곰팡이독소(Son 등, 2011)와 함께 푸모니신 독소의 오염 가능성을 충분히 추정할 수 있다. 따라서 우리나라에서 생산, 유통되는 옥수수 뿐 아니라 벼에서도 정기적인 푸모니신 생성 *Gf* 중복합체 소속 *Fusarium* spp.의 오염 여부와 빈도를 조사해야 할 것이다. 이를 위해 특이 primer를 이용한 PCR 증폭 방법이 유용할 것이다(Kang 등, 2011). 한편, 본 연구에 사용된 모든 공시 균주는 푸모니신 생성에 필수적인 *FUMI* 유전자를 함유하는 것으로 확인되었기 때문에(Kim 등, 2012), 일부 균주의 푸모니신 미생산(또는 검출한계 이내 불검출)은 *FUMI*의 발현 또는 기능 변이를 비롯한 *FUMI* 유전자군(gene cluster) 내 다른 *FUM* 유전자의 보존 여부와 발현/기능의 변이에 의한 것으로 추정할 수 있다. 또한 푸모니신 저생산 균주(모든 *F. fujikuroi*, *F. subglutinans*, *F. commune* 균주)의 경우, 고생산 균주(*F. verticillioides*, *F. proliferatum*)에 비해 *FUMI* 유전자군의 발현 수준이 낮을 것으로 추정할 수 있다. 이를 뒷받침하기 위해서는 두 균주 집단 사이의 광범위한 *FUM* 유전자 기능 관련 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

Gibberella fujikuroi (Gf) 종복합체는 최소 15개의 종으로 구성되어 있으며, 대부분 식물에 병을 일으킬 뿐 아니라 푸모니신과 같은 곰팡이독소를 생성한다. 본 연구에서는 우리나라 벼와 옥수수로부터 분리한 Gf 종복합체 소속 야생형 균주의 푸모니신 생성능을 검정하였다. 이들 분석대상 균주는 모두 푸모니신 생합성에 필수적인 polyketide synthase 유전자 *FUMI*를 가지고 있는 것으로 확인되었다. 총 88주의 Gf 종복합체 소속 균주(55 *F. fujikuroi*, 10 *F. verticillioides*, 20 *F. proliferatum*, 2 *F. subglutinans*, 1 *F. concentricum*)와 Gf 종복합체의 근연종인 4주의 *F. commune*를 쌀 배지에 배양한 후 각 균주의 푸모니신 생성 농도를 HPLC 방법으로 측정하였다. 대부분의 *F. verticillioides*과 *F. proliferatum* 균주는 기주 식물에 관계 없이 푸모니신 B₁(0.5–2,686.4 µg/g)과 B₂(0.7–1,497.6 µg/g)를 다양한 범위 내에서 생성하였다. 반면 모든 *F. fujikuroi*을 비롯한 다른 *Fusarium* spp.의 균주로부터는 푸모니신이 검출되지 않았거나 10 µg/g 이하 수준의 미량만 검출되었다. 흥미롭게도 *F. proliferatum*과 *F. fujikuroi*의 경우, 옥수수 유래 균주 집단에서 벼 유래 균주 집단에 비해 상대적으로 고농도 푸모니신 생성 균주의 비율이 높았다. 한편, *FUMI* 유전자를 함유하고 있는 *F. commune*의 푸모니신 생성능은 본 연구를 통해 처음 보고된다.

Acknowledgements

This study was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ007340)”, Rural Development Administration, Republic of Korea, and a grant from the Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (No. 309015-04).

References

- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C., Thiel, P. G., Marasas, W. F., Van Schalkwyk, D. J. and Behrend, Y. 1990. Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B₁ by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1729–1733.
- Castella, G., Bragulat, M. R. and Cabanes, F. J. 1999. Fumonisin production by *Fusarium* species isolated from cereals and feeds in Spain. *J. Food Prot.* 62: 811–813.
- Choi, H. W., Kim, J. M., Hong, S. K., Kim, W. G., Chun, S. C. and Yu, S. H. 2009. Mating types and optimum culture conditions for sexual state formation of *Fusarium fujikuroi* isolates. *Mycobiology* 37: 247–250.
- Chung, S. H. and Kim, Y. B. 1995. Natural occurrence of fumonisin B₁ in Korean corn and rough rice. *Food Sci. Biotechnol.* 4: 212–216.
- Desjardins, A. E., Manandhar, H. K., Plattner, R. D., Manandhar, G. G., Poling, S. M. and Maragos, C. M. 2000. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1020–1025.
- Dissanayake, M. L., Tanaka, S. and Ito, S. 2009. Fumonisin B₁ production by *Fusarium proliferatum* strains isolated from *Allium fistulosum* plants and seeds in Japan. *Lett. Appl. Microbiol.* 48: 598–604.
- Fotso, J., Leslie, J. F. and Smith, J. S. 2002. Production of beauvericin, moniliformin, fusaproliferin, and fumonisins B₁, B₂, and B₃ by fifteen ex-type strains of *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5195–5197.
- Ghianian, S. A., Rezayat, S. M., Kord-Bacheh, P., Maghsood, A. H., Yazdanpanah, H., Shephard, G. S., van der Westhuizen, L., Vismer, H. F. and Marasas, W. F. 2005. Fumonisin production by *Fusarium* species isolated from freshly harvested corn in Iran. *Mycopathologia* 159: 31–40.
- Hinojo, M. J., Medina, A., Valle-Algarra, F. M., Gimeno-Adelantado, J. V., Jimenez, M. and Mateo, R. 2006. Fumonisin production in rice cultures of *Fusarium verticillioides* under different incubation conditions using an optimized analytical method. *Food Microbiol.* 23: 119–127.
- Jurado, M., Marin, P., Callejas, C., Moretti, A., Vazquez, C. and Gonzalez-Jaen, M. T. 2010. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum*. *Food Microbiol.* 27: 50–57.
- Jurjevic, Z., Wilson, D. M., Wilson, J. P., Geiser, D. M., Juba, J. H., Mubatanhema, W., Widstrom, N. W. and Rains, G. C. 2005. *Fusarium* species of the *Gibberella fujikuroi* complex and fumonisin contamination of pearl millet and corn in Georgia, USA. *Mycopathologia* 159: 401–406.
- Kang, M. R., Kim, J. H., Lee, S. H., Ryu, J. G., Lee, T. and Yun, S. H. 2011. Detection of *Fusarium verticillioides* contaminated in corn using a new species-specific primer. *Res. Plant Dis.* 17: 369–375. (In Korean)
- Kim, E. K., Kim, Y. B., Shon, D. H., Ryu, D. and Chung, S. H. 1998. Natural occurrence of fumonisin B₁ in Korean rice and its processed foods by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Sci. Biotechnol.* 7: 221–224.
- Kim, J. H., Kang, M. R., Kim, H. K., Lee, S. H., Lee, T. and Yun, S. H. 2012. Population structure of the *Gibberella fujikuroi* species complex associated with rice and corn in Korea. *Plant Pathology J.* 28: 357–363.
- Leslie, J. F., Anderson, L. L., Bowden, R. L. and Lee, Y. W. 2007. Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*. *Int. J.*

- Food Microbiol.* 119: 25–32.
- Leslie, J. F., Pearson, C. A. S., Nelson, P. E. and Toussoun, T. A. 1990. *Fusarium* spp. from corn, sorghum, and soybean fields in the central and eastern United States. *Phytopathology* 80: 343–350.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium lab manual*. Blackwell, Ames, IA, USA.
- Lim, S. H., Yun, S. H. and Lee, Y. W. 2001. Mating behavior, mycotoxin production, and vegetative compatibility of *Gibberella fujikuroi* species complex from sorghum in Korea. *Plant Pathology J.* 17: 276–280.
- Marasas, W. F. 2001. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environ. Health Perspect.* 109 Suppl 2: 239–243.
- Marasas, W. F., Kellerman, T. S., Gelderblom, W. C., Coetzer, J. A., Thiel, P. G. and van der Lugt, J. J. 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 55: 197–203.
- Munkvold, G. P. and Desjardins, A. E. 1997. Fumonisins in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Dis.* 81: 556–565.
- Nelson, P. E., Desjardins, A. E. and Plattner, R. D. 1993. Fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium* species: biology, chemistry, and significance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31: 233–252.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E. and Nirenberg, H. I. 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90: 465–493.
- Park, S. Y., Seo, J. A., Lee, Y. W. and Lee, Y. H. 2001. Population genetic analyses of *Gibberella fujikuroi* isolates from maize in Korea. *Plant Pathology J.* 17: 281–289.
- Proctor, R. H., Desjardins, A. E., Plattner, R. D. and Hohn, T. M. 1999. A polyketide synthase gene required for biosynthesis of fumonisin mycotoxins in *Gibberella fujikuroi* mating population A. *Fungal Genet. Biol.* 27: 100–112.
- Proctor, R. H., Plattner, R. D., Brown, D. W., Seo, J. A. and Lee, Y. W. 2004. Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycol. Res.* 108: 815–822.
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F. and Vismer, H. F. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2101–2105.
- Ross, P. F., Nelson, P. E., Richard, J. L., Osweiler, G. D., Rice, L. G., Plattner, R. D. and Wilson, T. M. 1990. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3225–3226.
- Sanchez-Rangel, D., SanJuan-Badillo, A. and Plasencia, J. 2005. Fumonisin production by *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Mexico and development of a polymerase chain reaction to detect potential toxigenic strains in grains. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8565–8571.
- Seo, J. A. and Lee, Y. W. 1999. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1331–1334.
- Son, S. W., Nam, Y. J., Lee, S. H., Lee, S. M., Lee, S., Kim, M., Lee, T., Yun, J. C. and Ryu, J. G. 2011. Toxigenic fungal contaminants in the 2009-harvested rice and its milling-byproducts samples collected from rice processing complexes in Korea. *Res. Plant Dis.* 17: 280–287. (In Korean)
- Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O. and Stockenstrom, S. 1991. Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1900–1903.
- Wulff, E. G., Sørensen, J. L., Lübeck, M., Nielsen, K. F., Thrane, U. and Torp, J. 2010. *Fusarium* spp. associated with rice bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environ. Microbiol.* 12: 649–657.
- Yoshizawa, T., Yamashita, A. and Luo, Y. 1994. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1626–1629.