

형태적 특성에 의한 벼과작물 종자전염 *Penicillium* spp.의 동정

김민경 · 현익화¹ · 김진원*

서울시립대학교 환경원에학과, ¹국립식물검역소 중부격리재배관리소

Identification of Seed-borne *Penicillium* spp. on Gramineae Crops Based on Morphological Characteristics

Min-Kyung Kim, Ik-Hwa Hyun¹ and Jin-Won Kim*

Department of Environmental Horticulture, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

¹Central Post-entry Quarantine Station, National Plant Quarantine Service, Suwon 443-400, Korea

(Received May 10, 2005)

ABSTRACT: A total of 81 isolates of *Penicillium* were isolated from postharvest seeds of barely, Job's-tears, maize, sorghum and rice from 1997 to 2003. Based on the morphological characteristics, they were identified as *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. oxalicum*, *P. polonicum*, *P. purpurogenum* and *P. viridicatum*. *P. chrysogenum* was detected from Job's-tears, rice and sorghum seeds, *P. citrinum* from maize seeds, *P. cyclopium* from sorghum seeds, *P. oxalicum* from barely, maize, sorghum and rice seeds, *P. purpurogenum* from maize, rice, sorghum seeds, *P. viridicatum* from Job's-tears, maize and rice seeds, *P. polonicum* from Job's-tears, maize, rice and sorghum seeds. Among these species, *P. cyclopium*, *P. polonicum* and *P. purpurogenum* were first reported in Korea. Especially, about 50% of the *Penicillium* isolates detected from the seeds were *P. polonicum*. Identification of the *Penicillium* species using morphological characteristics was difficult especially for the species belonging to the subgenus *Penicillium* such as *P. polonicum*.

KEYWORDS: Gramineae, Identification, *Penicillium* spp.

Penicillium spp.에 의한 병은 작물 생육기간 중 발생하기보다는 저장, 수송, 유통과정에서 공기 중의 포자가 식물체의 상처와 조직을 통하여 침입하여 발생하게 된다. 저장고 내에서 발병한 식물체로부터 형성된 포자가 살아남아 다음 저장 철에 다시 병을 일으키게 된다(한국식물병리학회, 1997). 특히, 수확 후 저장중인 곡류에서 *Penicillium*속균은 종자부패에 관여할 뿐만 아니라 독소를 생성하여 인축에 중독증상을 일으키기도 하는데, 이 대표적인 피해로 1940년에 발생한 황변미사건을 들 수 있다(Comerio *et al.*, 1998).

*Penicillium*균은 변이가 다양하여 배양적 특징이나 형태적인 특징만으로는 종간의 구분이 힘든 경우가 많다. 최근에는 DNA, RNA 및 제한효소 등을 이용하여 분자생물학적 측면에서의 접근을 시도하고 있다(Mullaney and Klich, 1990).

우리나라의 경우 최근 저장병원균에 관심이 높아지면서 *Penicillium*속균에 대한 연구의 필요성이 증가하고 있다. 저장기간이 긴 과실 등에 발생하는 *Penicillium*속의 연구는 활성화되고 있으나(오 등, 1999; 권·박, 2003), 곡류에 발생하는 *Penicillium*속균에 대한 연구는 상대적으로 미

흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 곡류에서 발생하는 *Penicillium* spp.의 형태적 특성을 조사하여 동정하였다.

재료 및 방법

시료 수집

1997년부터 2003년에 걸쳐 우리나라에서 수확된 보리 6개 시료, 울무 20시료, 옥수수 34시료, 수수 19시료 그리고 벼 38시료를 수집하였다.

균주 분리 및 배양

종자에서 *Penicillium*균 분리를 위한 배양은 국제종자협회(International Seed Testing Association, 1996)에서 권장하고 있는 습지법(blotter method)을 이용하였다(Neergaard, 1988). 각 시료마다 100개의 종자를 3점의 습지가 깔린 유리 페트리디쉬에 25립씩 치상하여 항온기에서 4~7일간 배양하여 조사하였다. 이렇게 배양하여 얻은 *Penicillium*균을 CYA(Czapek extract agar) 배지, MEA(Malt extract agar) 배지, G25N(25% Glycerol nitrate agar) 배지 그리고 CREA(Creatine sucrose agar) 배지에

*Corresponding author <E-mail: jwkim@uos.ac.kr>

접종하여 25°C와 37°C의 항온기에서 7일간 암배양하였다.

배양적 특징 조사

Penicillium spp.의 배양적 특징을 조사하기 위하여 종자에서 분리하여 PDA에 배양한 균을 CYA, MEA, G25N, CREA 배지에 접종하여 25°C에서 7일간 배양하면서 균총의 성장과 배지상에서의 균총의 색, 삼출물, 색소 형성 및 주름을 관찰하였으며, 균사의 성장형태를 관찰하기 위해 해부현미경을 이용하여 균총의 표면을 관찰하였다.

형태적 특징 조사

Penicillium spp.의 형태적 특징을 관찰하기 위하여 MEA 배지에서 25°C, 7일간 배양하여 penicillus의 구조와 metulae, phialide, 포자의 크기와 형태 및 stipe의 표면상태를 관찰하였다.

결과 및 고찰

곡류에서 검출된 *Penicillium* spp.

수확 후 저장중인 곡류로부터 81균주의 *Penicillium* spp.를 분리하였다. 보리, 율무, 옥수수, 수수, 벼에서 *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. oxalicum*, *P. polonicum*, *P. purpurogenum*, *P. viridicatum*이 검출되었다 (Table 2). 옥수수, 벼, 수수에서 검출된 *P. chrysogenum*은 국내에서는 옥수수에서 검출된 기록이 있으며(Oh, 1998), 본 실험에서는 벼와 수수에서 검출되었다. *P. citrinum*은 일반적으로 곡류에서 검출되는 것으로 알려져 있지만, 토양 및 채소 등에서도 검출되는 종으로서 기주범위가 아주 넓은 종에 속한다. 국내에서는 밀에서 검출된 기록이 있으며(Oh, 1998), 본 실험에서 옥수수에서 7균주 모두 검출되었다. 주로 곡류에서 검출되는 것으로 알려져 있는(Samson, 2000), *P. cyclopium*은 수수에서 검출되었으며, 본 실험을 통하여 국내에서 처음보고 되었다. 기주 범위가 넓은 종에 속하는 *P. oxalicum*은 옥수수, 마, 온실에서 재배한 박과류에서 검출되는 것으로 알려져 있으며(Samson, 1998), 국내에서는 수박(강 등, 1997)과 멜론(권, 2000)에서 검출된 바 있다. 본 실험에서는 옥수수를 비롯하여 보리, 벼, 수수에서

Table 1. List of twenty-nine isolates of *Penicillium* spp.

<i>Penicillium</i> species	Host	Isolate no.	Harvested location	Harvested year
<i>P. citrinum</i>	maize	959	Pyeongchang	2000
	maize	844	Chuncheon	1999
	maize	839	Yeongwol	1999
<i>P. chrysogenum</i>	maize	973	Yiesung	2000
	maize	837	Yeongwol	1998
	maize	98-1	Kwangwondo	1997
<i>P. cyclopium</i>	sorghum	358	Yieryung	1997
<i>P. oxalicum</i>	barely	13	Kimhae	2002
	maize	843	Yeongwol	1999
	maize	837	Yeongwol	1999
<i>P. polonicum</i>	maize	166	Inje	1997
	maize	164	Inje	1997
	maize	98	Kwangwondo	1997
	maize	911	Osan	2000
	maize	98-2	Kwangwondo	1997
	sorghum	356-3	Susan	1997
	sorghum	358-2	Yieryung	1997
	sorghum	147	Sugu	1997
	sorghum	362	Yeoncheon	1997
	sorghum	356-1	Seoson	1997
	sorghum	363-1	Kwangju	1997
	sorghum	505	Pyeongchang	1998
	sorghum	439	Yeongwol	1998
	rice	151	Yeongwol	1997
	Job's-tears	934	Pyeongchang	2000
<i>P. purpurogenum</i>	Job's-tears	498	— ^a	2000
	rice	257	Suwon	1997
	sorghum	363	Kwangju	1997
<i>P. viridicatum</i>	Job's-tears	982	—	2000

^a - : Not identified.

고르게 검출되었다. *P. polonicum*은 주로 곡류와 육류에서 검출된다는 기록이 있으며(Samson, 2000), 본 실험에서는 율무, 옥수수, 수수, 벼에서 고르게 검출되었다. 본 실험에서 분리한 균주의 50%가 *P. polonicum*으로 동정되었고, 본 실험을 통하여 국내에서는 처음 보고되는 종이다. 국내에서는 아직 보고된 바 없는 *P. purpurogenum*은 주로 토양에서 분리되는 것으로 알려져 있으나(Pitt, 1979), 본 실험을 통하여 벼, 수수, 옥수수 등과 같은 곡류에서도 검출되는 것이 확인되었다. 일반적으로 곡류에 검출되는 *P.*

Table 2. Occurrence of *Penicillium* spp. on seeds of Graminaea crops

Species	No. of samples isolated					Total
	Barely	Job's-tears	Maize	Rice	Sorghum	
<i>P. chrysogenum</i>	—	—	4	2	2	8
<i>P. citrinum</i>	—	—	7	—	—	7
<i>P. cyclopium</i>	—	—	—	—	1	1
<i>P. oxalicum</i>	1	—	6	1	3	11
<i>P. polonicum</i>	—	3	10	11	24	48
<i>P. purpurogenum</i>	—	—	1	1	1	3
<i>P. viridicatum</i>	—	2	—	1	—	3
Total	1	5	28	16	31	81

*viridicatum*은 국내에서 밀에서 검출된 기록이 있으며(Oh, 1998), 본 실험에서는 울무, 벼에서 검출되었다.

배양 및 형태적 특성

25°C에서 7일간 배양 후 CYA, MEA, G25N, CREA 배

지상에서 균총의 크기와 색 및 삼출물 등의 특성을 조사하였고(Fig. 1, Table 3), 현미경 관찰을 통해 분생포자경의 구조와 포자의 형태, 크기 등의 특성을 조사하였다(Fig. 2, Table 4). MEA 배지에서는 배양적 특성이 유사하여 구분하기 어려운 종들도 있었으나 CYA 배지에서는

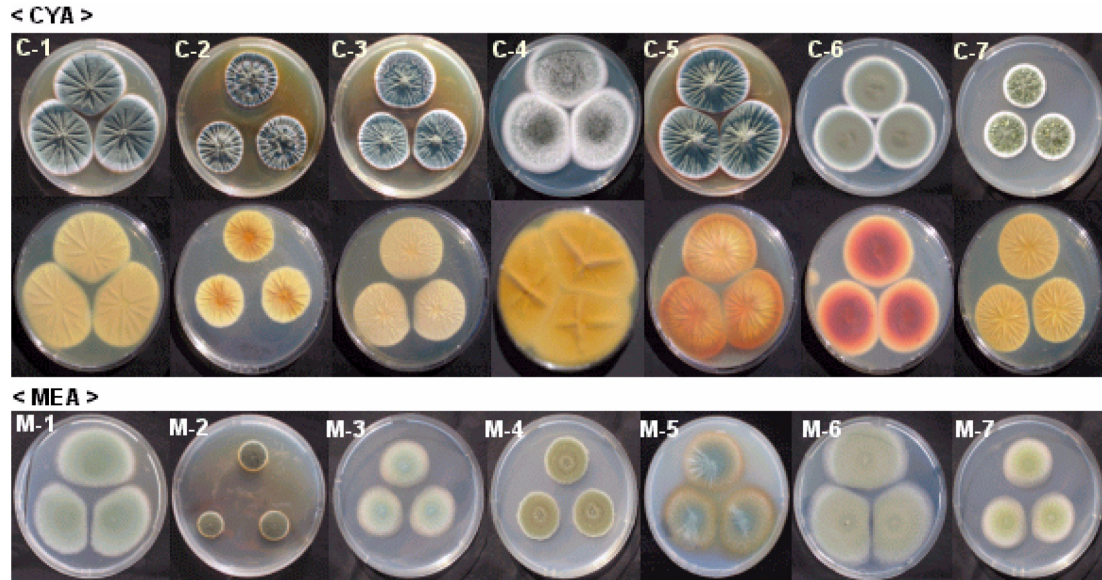


Fig. 1. Colony characteristics after 7 days on CYA (C) and MEA (M) : *Penicillium chrysogenum* (1), *P. citrinum* (2), *P. cyclopium* (3), *P. oxalicum* (4), *P. polonicum* (5), *P. purpurogenum* (6) and *P. viridicatum* (7).

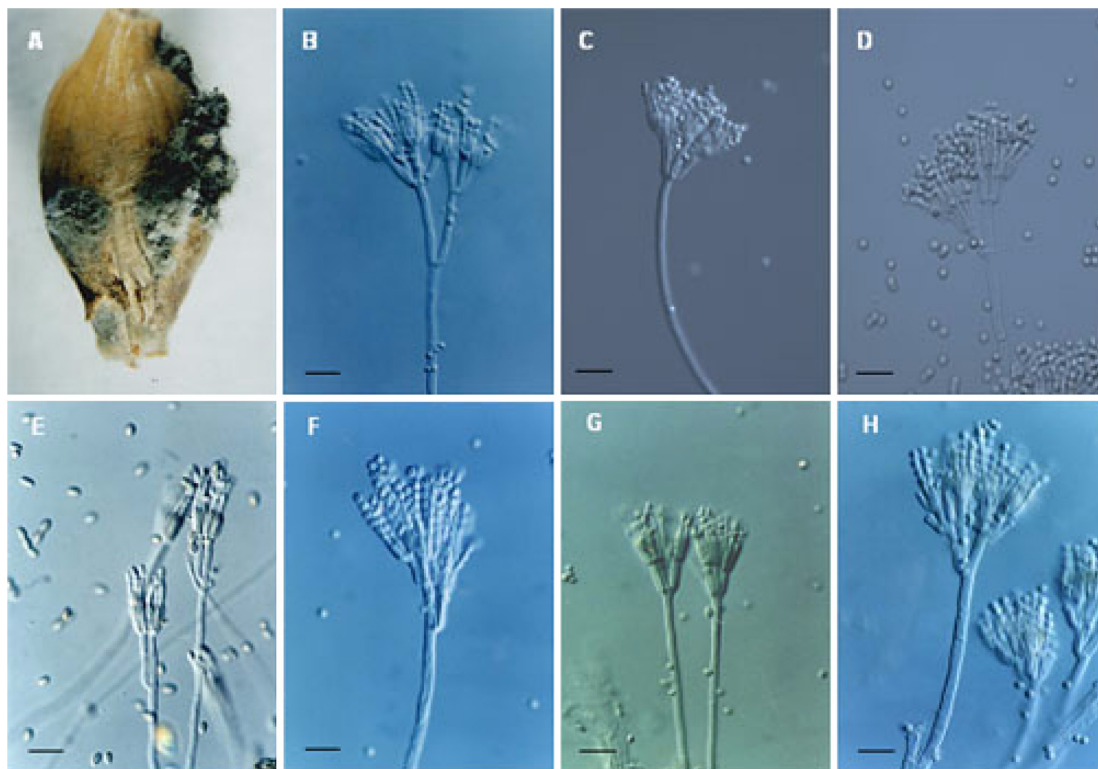


Fig. 2. Habitat characters and morphology of *Penicillium* spp. : Habitat characters of *P. polonicum* on Job's-tears seed (A), Penicillus types and conidia of *P. chrysogenum* (B), *P. citrinum* (C), *P. cyclopium* (D), *P. oxalicum* (E), *P. polonicum* (F), *P. purpurogenum* (G) and *P. viridicatum* (H). Scale bar = 15 μ m.

Table 3. Cultural characteristics of *Penicillium* spp. after incubation for 7 days at 25°C

<i>Penicillium</i> spp.	CYA			MEA		G25N
	Color	Diameter (mm)	Exudate	Color	Diameter (mm)	Diameter (mm)
<i>P. chrysogenum</i>	Blue green	35~40	clear	Dull green	25~35	13~15
<i>P. citrinum</i>	Dull green	25~31	yellow	Blue green	15~20	10~11
<i>P. cyclopium</i>	Grey green	28~35	clear	Blue green	25~35	15~20
<i>P. oxalicum</i>	Dark green	45~50	clear	Dark green	40~50	10~12
<i>P. polonicum</i>	Blue green	25~40	clear	Blue green	30~37	15~19
<i>P. purpurogenum</i>	Dark green	35~38	—	Dark green	32~35	4~6
<i>P. viridicatum</i>	Green	28~35	yellow	Green	27~30	14~16

Table 4. Morphological characteristics of *Penicillium* spp. after incubation for 7 days at 25°C

<i>Penicillium</i> spp.	Penicillus type	Stipe texture	Phialide		Conidia	
			type	size (μm)	shape	size (μm)
<i>P. chrysogenum</i>	terverticilliate	smooth	ampulliform	7~11	globose	2.5~3.5
<i>P. citrinum</i>	biverticilliate	smooth	ampulliform	6~13.6	globose	2.4~3
<i>P. cyclopium</i>	terverticilliate	rough	ampulliform	7~13	globose	3~3.5
<i>P. oxalicum</i>	biverticilliate	smooth	acerous	7~11	ellipsoidal	4~5 × 2~3
<i>P. polonicum</i>	terverticilliate	rough	ampulliform	6.25~11.25	globose	2.5~4.5
<i>P. purpurogenum</i>	biverticilliate	smooth	acerous	8~13.6	ellipsoidal	3.4~4 × 2.4~3
<i>P. viridicatum</i>	terverticilliate	rough	ampulliform	5~12.5	globose	3~5

종들간의 차이가 있었다.

*P. chrysogenum*은 25°C에서 7일간 배양하면 CYA배지에서 균총의 직경은 35~40 mm이며 방사형의 주름이 형성되었다. 표면은 벨벳형(velvety)이고 색은 푸른색을 띠는 녹색 또는 옅은 녹색을 띠다가 시간이 지나면서 짙은 녹색으로 변하였다. 삼출물(exudate)은 형성되는 경우와 형성되지 않는 경우 모두를 관찰할 수 있었다. 배지 뒷면은 아주 옅은 노란색 또는 옅은 크림색으로 나타났다. MEA 배지에서는 25~35 mm이며 색은 옅은 녹색을 띠었다. 삼출물과 색소는 생성되지 않았다. CREA 배지에서는 약하게 산을 생성하여 균총 주변이 노랗게 변하였다. 한 개의 metulae에서 3~7개의 앰플형(ampulliform) phialide가 형성되었고 크기는 7~11 μm 이다. Stripe 표면은 매끄러우며 포자는 구형이고 2.5~3.5 μm 정도이고 표면은 매끄러웠다.

*P. citrinum*은 CYA 배지에서 균총은 25~31 mm이며 방사형의 주름이 형성되며 회백색을 띠는 녹색이며 옅은 노란색의 삼출물이 생성되었다. 균총 표면의 가장자리는 벨벳형이고 균총의 중앙부위에는 양털형(floccose)으로 균사가 형성되었다. 색소가 생성되어 균총 주변은 밝은 갈색으로 색이 변하였고 뒷면은 노란색 또는 오렌지색을 띠었다. MEA 배지에서 균총의 직경은 15~20 mm이며 표면은 벨벳형이고 푸른색을 띠는 녹색이었다. 뒷면은 짙은 노란색으로 색소는 생성되지 않았다. CREA 배지에서는 산이 생성되지 않았다. Stipe는 매끄러우며 크기가 11~20 μm 인 metulae를 3~5개 가지고 있다. 한 개의 metulae에서 6~13.6 μm 정도 되는 앰플형 phialide가 3~7개 형성되었다. 포자는 2.4~3 μm 이며 표면은 매끄러웠다.

*P. cyclopium*은 CYA 배지에서 균총의 직경은 28~35

mm이고 방사형의 주름이 형성되었다. 색은 푸른빛을 띠는 녹색이나 시간이 지나면서 회백빛을 띠는 녹색으로 변하였다. 표면은 벨벳형으로 균총의 중앙에는 하얀실 못지 않은 균사가 형성되었다. 균총의 표면에는 투명한 삼출물이 생성되었으며 균총 주변에는 오렌지색 또는 옅은 갈색의 색소가 형성되었다. 배지 뒷면은 옅은 오렌지색을 띠었다. MEA 배지에서 균총은 25~35 mm이며 주름지지 않았다. 균총의 색은 CYA 배지상의 균총의 색보다는 옅은 푸른빛을 띠는 녹색이며 표면은 벨벳형이었다. 삼출물은 생성되지 않았고 균총 주변은 옅은 갈색의 색소가 생성되었다. 균총의 배지 뒷면은 옅은 오렌지색을 띠었다. CREA 배지에서는 강한 산을 생성하여 배지 전체가 노랗게 변하였다. stipe의 표면은 거칠고 metulae 크기는 9.6~17.6 μm 정도이다. 한 개의 metulae에서 3~6개의 앰플형 phialide가 형성되었다. 포자는 구형으로 크기가 3~3.5 μm 이다.

*P. oxalicum*은 CYA 배지에서 균총 직경은 45~50 μm 이며 표면은 평평하였다. 균총의 색은 짙은 녹색을 띠고 있으며 흰 균사를 형성하기도 하였다. 표면은 벨벳형이며 배지 뒷면은 노란색 혹은 오렌지색을 띠며 투명한 삼출물을 생성하였다. 색소는 생성되지 않았다. MEA 배지에서 20~30 μm 이며 표면은 벨벳형이다. 색은 짙은 녹색을 띠며 뒷면은 무색이고 삼출물과 색소는 생성되지 않았다. CREA 배지는 산이 생성되지 않았다. Stipe 표면은 매끄러운 것이 일반적으로 거친 stipe를 가진것도 있었으며 metulae의 크기는 16~35 μm 이며 phialide는 침상형(acerous)으로 한 개의 metulae에서 5~7개의 phialide가 생성되었다. 포자는 타원형으로 크기는 4~5 × 2~3 μm 이고 표면은 매끄러웠다.

*P. polonicum*은 CYA 배지에서 균총의 직경은 25~40 mm이며 방사형의 주름이 형성되었다. 색은 푸른빛을 띠는 녹색이며 표면은 벨벳형이고 균총의 중앙에는 하얀 실뭉치 같은 균사가 형성되었다. 삼출물은 대부분 생성되지 않았으나 투명한 삼출물을 생성하는 경우도 있었다. 균총 주변에는 갈색의 색소가 형성되었으며 배지 뒷면은 옅은 지색 또는 붉은 색을 띠는 갈색으로 나타났다. MEA 배지에서 균총 직경은 30~37 mm이며 평평하였다. 색은 푸른빛을 띠는 녹색이었으며 표면은 벨벳형이었다. 삼출물은 생성되지 않았고 균총 주변으로 옅은 오렌지색의 색소가 형성되었고 뒷면은 노란색을 띠었다. CREA 배지는 산이 생성되어 배지가 노랗게 변하였다. Stipe 표면은 거칠고 metulae 크기는 7.5~17.7 μm 정도이다. 한 개의 metulae에서 3~6개의 엽편형 phialide가 형성되었으며 크기는 6.25~11.25 μm 정도였다. 포자는 구형으로 2.5~4.5 μm 이다.

*P. purpurogenum*은 CYA 배지에서 직경이 35~38 mm이며 표면은 평평하나 균총의 중앙에는 불규칙한 흠이 형성되었다. 균총은 벨벳형이고 균총의 가장자리에는 옅은 노란색을 띠고 중앙에는 푸른빛을 띠는 녹색이거나 짙은 녹색을 띠었다. 삼출물과 색소는 형성되지 않았으며 뒷면의 색은 가장자리에는 크림색이며 중앙으로 갈수록 붉은 색을 띤다. MEA 배지에서 직경은 33~35 mm이고 짙은 녹색을 띠었으며 삼출물과 색소는 형성되지 않으며 배지 뒷면은 무색이었다. CREA 배지에서는 산이 약하게 생성되어 균총 주변만 노랗게 변하였다. Stipe 표면은 매끄러우며 metulae는 11~20 μm 이고 phialide는 침상형이며 크기는 8~13.6 μm 이다. 포자는 구형에서 타원형으로 3~4×2.4~3 mm이고 표면은 매끄러웠다.

*P. viridicatum*은 CYA 배지에서 균총의 직경은 28~35 μm 이고 방사형의 주름이 형성되었다. 균총은 벨벳형이며 순수한 녹색이며 가장자리에서는 흰색의 균사가 뚜렷하게 보였다. 노란색의 삼출물이 생성되었으며 색소는 생성되지 않았다. 배지 뒷면의 옅은 오렌지색을 띠었다. MEA 배지에서는 27~30 mm이며 평평하였다. 색은 녹색을 띠고 삼출물과 색소는 생성되지 않았다. 배지 뒷면은 옅은 노란색을 띠었다. CREA 배지에서는 산이 생성되어 노랗게 변하였다. Stipe의 표면은 거칠고 metulae 크기는 7~16.8 μm 이고 phialide는 엽편형으로 하나의 metulae에서 4~6개의 phialide가 형성되었으며 크기는 5~12.5 μm 이었고 포자는 구형으로 크기는 3~5 μm 이었다.

적 요

1997년부터 2003년에 걸쳐 우리나라에서 수확된 보리, 율무, 옥수수, 수수, 벼에서 총 81개의 *Penicillium*속균을 분리하였다. 분리된 *Penicillium*속균의 배양적·형태적 특징을

이용하여 종을 동정한 결과 *P. citrinum*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. oxalicum*, *P. polonicum*, *P. purpurogenum* 그리고 *P. viridicatum*으로 동정되었다. 이 중에서 *P. cyclopium*, *P. polonicum*, *P. purpurogenum*은 국내에서 처음 보고되는 미기록종들이다.

참고문헌

- 강수웅, 권진혁, 조동진, 신원교, 박창석. 1997. 시설재배수박의 성숙기 과일에서 푸른곰팡이병 발생. 한국식물병리학회지 13(5): 364-366.
- 권진혁, 강수웅, 김정수, 박창석. 2002. *Penicillium oxalicum*에 의한 멜론 푸른곰팡이병. 식물병연구 8(4): 220-223.
- 권진혁, 박창석. 2003. *Penicillium crustosum*에 의한 감푸른곰팡이병 발생. 식물병 연구 9(4): 217-220.
- 오소영, 정일민, 백수봉, 유승현. 1999. 수확 후 과실류에 발생하는 진균독소의 탐색 및 방제. 1. 사과, 배, 감귤, 포도에서 분리한 *Penicillium*이 생산하는 주요 진균독소. 식물병과 농업 5(2): 100-104.
- 한국식물병리학회. 1997. 사과·배의 병 진단과 방제. 한국식물병리학회. pp. 185.
- Comerio, R., Virginia, E., Pinto, F. and Vaamonde, G. 1998. Influence of water activity on *Penicillium citrinum* growth and kinetics of citrinin accumulation in wheat. *International Journal of Food Microbiology* 42: 219-223.
- Dupont, J., Magnin S., Martin, A. and Brousse, M. 1999. Molecular tools for identification of *Penicillium* starter cultures used in the food industry. *International Journal of Food Microbiology* 49: 109-118.
- International Seed Testing Association. 1996. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology* 24: 1-335.
- Mullaney, E. J. and Klich, M. A. 1990. A review of molecular biological techniques for systematic studies of *Aspergillus* and *Penicillium*. In: *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. ed. by Samson, R. A. and Pitt, J. I. pp. 301-307. Plenum Press, New York.
- Neergaard, P. 1988. *Seed Pathology I*. The Macmillan Press Ltd., Houndmills, Basingstoke, Hampshire and London. pp.739-743.
- Oh, S. Y., Chung, I. M., Paik, S. B., Yu, S. H. 1998. Survey and control of the occurrence of mycotoxins from postharvest cereals. 1. Mycotoxins produced by *Penicillium* isolates from corn and wheat. *Korean J. Plant Pathol.* 14: 700-704.
- Pitt, J. I. 1979. The genus *Penicillium* and Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press INC, London.
- Pitt, J. I. and Samson, R. A. 1990. Systematics of *Penicillium* and *Aspergillus*-past present and future. In: *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. ed. by Samson, R. A. and Pitt, J. I. pp. 3-13. Plenum Press, New York and London.
- Samson, R. A. and Van Reenen-Hoekstra, E. S. 1998. Introduction to Food-borne Fungi. 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelmicrocultures.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisad, J. C. and Filtenborg, O. 2000. Introduction to Food and Airborne Fungi 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelmicrocultures. pp. 174-243.