

세면대 실리콘에 발생한 곰팡이의 동정

홍승범* · 김대호

국립농업과학원 농업미생물과

Identification of Fungi Occurred on Silicon of Washbasin

Seung-Beom Hong* and Dae-Ho Kim

Korean Agricultural Culture Collection, Agricultural Microbiology Div. National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea.

ABSTRACT : Black molds were occurred on silicon of washbasin in a bathroom in apartment. Blocks of silicon where the fungi grew, were placed on MEA, DG18, DRBC, PDA+PS media, and 18 strains of fungi were isolated. They were identified as *Phoma herbarum*, *Peyronellaea calorpreferens*, *Cladosporium halotolerans* based on morphological and molecular methods. *Ph. herbarum* and *Pe. calorpreferens* were isolated with high frequency, but *C. halotolerans* was isolated with low frequency. The fungal strains were deposited in Korean Agricultural Culture Collection (KACC), and they shall be used for further related researches.

KEYWORDS : *Cladosporium halotolerans*, *Peyronellaea calorpreferens*, *Phoma herbarum*, Silicon, Washbasin

주택의 욕실은 물을 많이 사용하기 때문에 곰팡이가 자라기 좋은 조건이다. 일본에서 욕실 내의 곰팡이 상에 대한 연구가 있었는데 벽면과 바닥 등의 욕실의 표면에서는 *Cladosporium* = *Phoma* > *Penicillium* > *Alternaria* > *Arthrinium* 순으로, 욕실 내부의 공기에서는 *Cladosporium* = *Penicillium* > *Aspergillus* 순으로 곰팡이가 분리되었다[1]. 욕실 벽의 타일에서는 *Cladosporium* > *Exophiala* > *Phoma* 등의 곰팡이가, 욕실 바닥의 타일에서는 *Exophiala* > *Phoma* > *Scolecobasidium* > *Cladophialophora* > *Phialophora* > *Cladosporium* 등의 곰팡이가 보고되었고[2], 욕실바닥의 타일을 연결시키는 실리콘에서는 *Exophiala* > *Phoma* > *Cladosporium* > *Scolecobasidium* 등의 곰팡이가 보고되었다[2,3]. 그러나 실제 욕실에서 곰팡이가 가장 눈에 띄는 부분은 세

면대와 벽면을 연결한 실리콘 부위인데 국내에서는 이에 대한 연구가 진행된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 세면대와 벽면을 연결한 실리콘에 자란 곰팡이를 동정하고 그 결과를 보고하고자 한다.

저자의 아파트(경기도 수원시 소재) 욕실의 세면대와 벽을 연결하는 실리콘에서 그림과 같은 검은 곰팡이가 발생하였다(Fig. 1A). 곰팡이가 발생한 부위의 실리콘을 면도날을 이용하여 도려내고 이를 실체현미경으로 관찰하였는데, 곰팡이는 실리콘의 표면에서만 자라는 것이 아니라 0.2 mm 정도 실리콘 내로 침투한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B 화살표 부분). 실리콘을 가로×세로×높이 각각 2 mm 크기로 자른 후에 절반은 0.5% 차아염소산나트륨에 90초간 처리한 후에 멸균수로 씻고 말렸다. PDA + P.S. [potato dextrose agar with penicilin-G (50 ppm) and streptomycin (50 ppm)], MEA (malt extract agar), DG18 (dichloran 18% glycerol agar), DRBC (dichloran rose bengal chloramphenicol agar)[4] 배지가 든 9 cm의 페트리 접시에 차아염소산나트륨 무처리 실리콘 3블록과 차아염소산나트륨 처리 실리콘 3블록을 각각 올려놓고 25°C에서 1주일간 배양하였다. 실리콘으로부터 자라나온 곰팡이 중에서 생장 모양이 서로 다르다고 생각되는 18균주를(Fig. 1. C-H; 일부만 그림에서 보여줌) MEA, DG18의 새로운 페트리 접시로 옮긴 후에 이를 배양하고 형태를 서로 비교하였다. 그 결과 이들은 그림 1의 1, 5, 12, 16번 균주 그룹(대표 균주 KACC 47610), 2, 4, 11, 13, 15, 17, 18번 균주 그룹(대표균

Kor. J. Mycol. 2014 March, 42(1): 69-73

http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.1.69

pISSN 0253-651X

© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: funguy@korea.kr

Received March 15, 2014

Revised March 16, 2014

Accepted March 17, 2014

©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.



Fig. 1. Occurrence of black molds on silicon of washbasin and isolation of the fungi. A, Occurrence of black molds on silicon; B, Stereomicroscope examination of silicon blocks. White arrow indicates the fungi that grow into silicon. C-H, Isolation of fungi on various media. We isolated fungi from holes besides of numbers on plates. C, Sodium-hypochlorite untreated silicon on PDA+PS; D, Sodium-hypochlorite treated silicon on PDA+PS; E, Sodium-hypochlorite untreated silicon on DG18; F, Sodium-hypochlorite treated silicon on DG18; G, Sodium-hypochlorite untreated silicon on DRBC; H, Sodium-hypochlorite treated silicon on DRBC.

주 KACC 47611), 3, 8 균주 그룹(대표균주 KACC 47612)과 14번 균주(KACC 47613)로 나누어 졌으며 각 그룹별 대표균주를 선발하였다. 대표균주로 선발된 균주에 한하여 단포자 분리 실험을 실시하고 이를 사면배지에 접종, 배양한 후에 4°C에 보존하면서 동정실험에 이용하였다.

곰팡이의 동정은 형태적 방법과 분자적 방법을 모두 사용하였다. 분자적 동정을 위하여 선발된 대표균주의 rDNA ITS 영역의 염기서열을 해독하였으며 미국생물정보학센터(NCBI)에서 BLAST 조사를 실시하였다. rDNA ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 KACC 47610, 47611, 47612 균주는 *Phoma*속(*Peyronellaea*속 포함)으로 KACC 47613은 *Cladosporium*속으로 판단되었다. 이들의 종 수준에서의 정

확한 동정을 위하여 *Phoma*속은 β -tubulin 유전자 일부를 [5], *Cladosporium*은 actin 유전자 일부의 염기서열을 [6] 해독하였다. 확보된 염기서열을 *Phoma* 속은 [NCBI GenBank Accession no. KJ510536(KACC 47610), KJ510537(KACC 47611), KJ510538(KACC 47612)] Aveskamp 등 [7]의 논문 에 나오는 근연종의 염기서열과, *Cladosporium* 속은 [NCBI GenBank Accession no. KJ510539(KACC 47613)] Bensch 등 [8]의 논문 에 나오는 근연종의 염기서열과 함께 MEGA 5.2.2 [9] 프로그램을 이용하여 Neighbor-joining 유연관계도를 작성하였다(Fig. 2). 그 결과 KACC 47610 균주는 *Phoma herbarum* CBS 615.75, 502.91과 하나의 그룹을 형성하였고(Fig. 2A) KACC 47611과 47612는 *Peyronellaea*

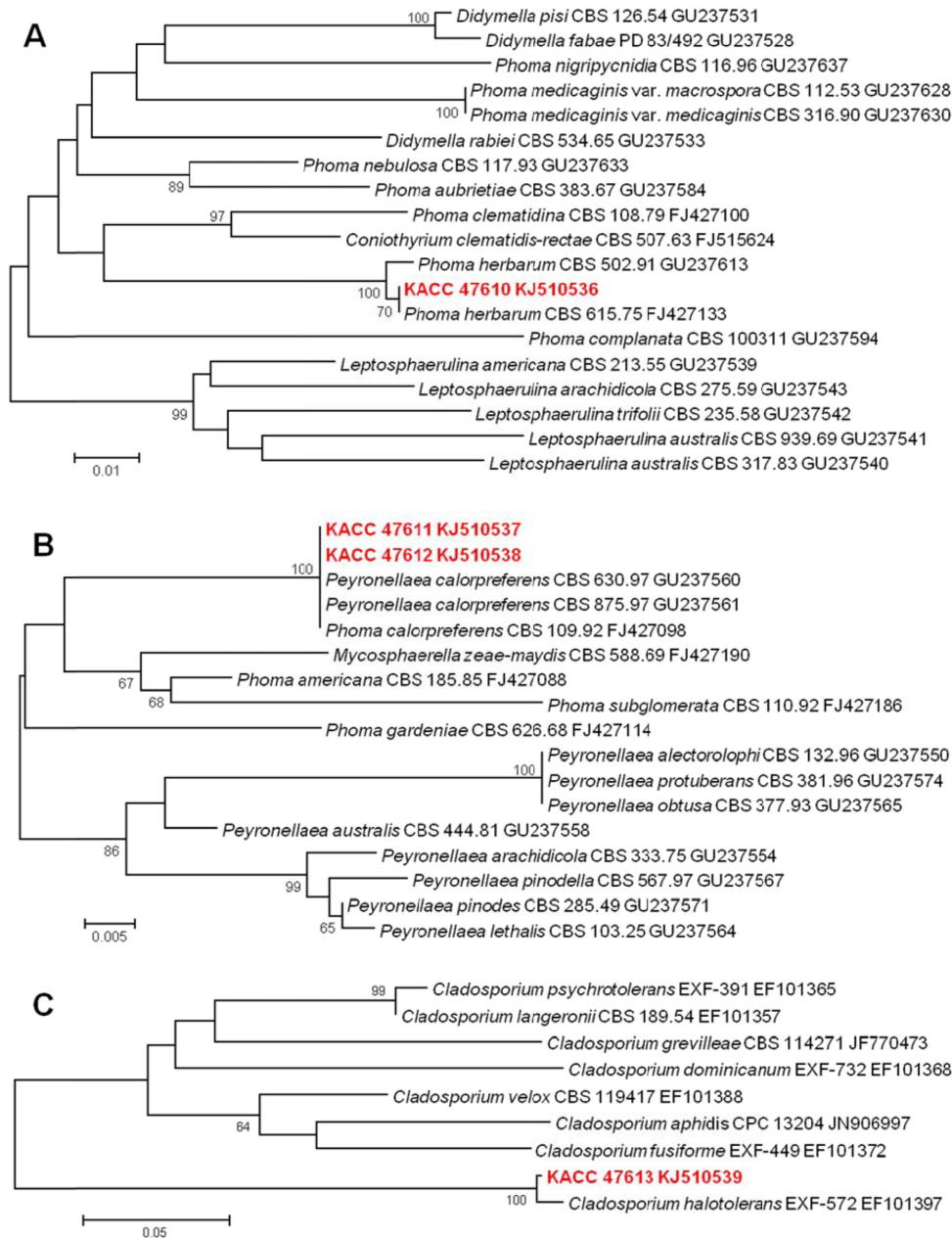


Fig. 2. Phylogenetic position of fungi occurred on silicon on the basis of DNA sequences of partial β -tubulin (A and B) and actin (C) genes. The sequences were analyzed using Tamura-Nei parameter distance calculation model, and then used to construct the Neighbor-Joining (NJ) tree with MEGA version 5.2.2. Bootstrap analysis was performed with 1,000 replications.

calorpreferens CBS 630.97, 875.97와 *Phoma calorpreferens* CBS 109.92와 하나의 그룹을 형성하였으며 인접한 다른 종과는 먼 유연관계를 보였다(Fig. 2B). 또한 KACC 47612 균주는 *Cladosporium halotolerans* 균주와 함께 다른 종과는 독립된 하나의 그룹을 형성하였다(Fig. 2C). 형태적인 동정을 위하여 4균주의 곰팡이를 MEA, DG18 배지에 배양하여 생장특성을 관찰하였으며 MEA 배지에서 자란 곰팡이 일부를 취하여 광학현미경을 이용하여 분생포자과(병자각), 분생포자경, 분생포자 등의 미세구조를 관찰하였다(Fig. 3).

형태적 특징은 분자적 동정결과와 잘 일치하였으며 따라서 KACC 47610 균주는 *Phoma herbarum* Westend으로 KACC 47611과 47612는 *Peyronellaea calorpreferens* (Boerema, Gruyter & Noordel.) Aveskamp, Gruyter & Verkley로 그리고 KACC 47612 균주는 *Cladosporium halotolerans* Zalar, de Hoog & Gundecimerman로 최종 동정되었다.

Phoma herbarum Westend는 *Phoma*속의 표준 종이며 지구상에 널리 퍼져있다. 이 종은 다양한 식물에 병을 일으키거나 부생하며 연어와 같은 동물에도 병을 일으키는 것으

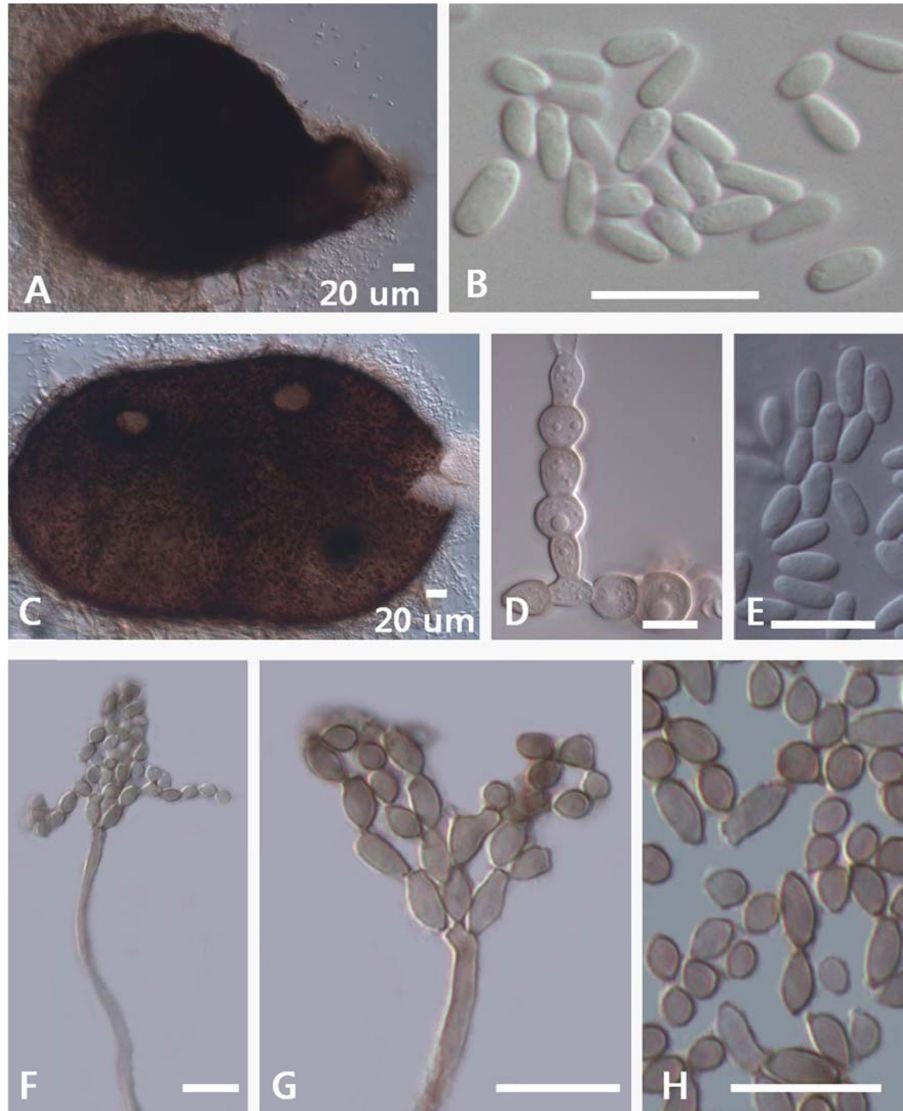


Fig. 3. Morphological characteristics of silicon fungi. Pycnidium (A) and conidia (B) of *Phoma herbarum* KACC 47610, Pycnidium (C), chlamydospores (D) and conidia (E) of *Peyronellaea calorpreferens* KACC 47612, and Conidiophores (F, G) and conidia of *Cladosporium halotolerans* KACC 47613. Scale bars = 10 µm.

로 알려져 있으나 사람에게 일반적으로 병을 일으키지 않는 것으로 알려져 있다[10]. 이 종은 남극의 바위[11], 시멘트[12]와 같은 일반 곰팡이들이 잘 분리되지 않는 환경에서도 자라는 것으로 보고되어 있다. *Peyronellaea calorpreferens* (Boerema, Gruyter & Noordel.) Aveskamp, Gruyter & Verkley는 1993년에 *Phoma pomorum* var. *calorpreferens* Boerema, Gruyter & Noordel.로 처음 보고되었으나 이 후 2009년에 *Phoma calorpreferens* Aveskamp, Gruyter & Verkley로 승격되었으며 2010년에 *Peyronellaea*속으로 새로이 명명되었다[7]. 이 종 역시 세계적으로 널리 퍼져 있으며 주로 토양에서 분리되나 곡물의 씨앗, 식품 등에서도 분리가 되었다[13]. *Cladosporium halotolerans* Zalar, de Hoog & Gundecimerman은 비교적 최근에 보고된 종이나 지구상에 널리 분포할 것으로 여겨진다. 고염수, 실내공기, 남극

얼음, 바위, 창틀 등의 다양한 매질로부터 이 종의 분리가 보고되었으나 이 종의 역할에 대하여는 아직 자세하게 보고되지 않았다[13].

Fig. 1의 실리콘으로부터 곰팡이 분리빈도와 Fig. 2-4의 곰팡이 동정 결과를 종합할 때에 시료를 채취한 아파트 욕실 세면대 실리콘에는 *Phoma herbarum*과 *Peyronellaea calorpreferens*이 우점하였고 *Cladosporium halotolerans*도 함께 존재하였다. 또한 이들은 차아염소산 처리 시와 무처리 시 모두에서 분리되었고 실리콘 절단면을 관찰한 결과 실리콘의 외부뿐만이 아니라 내부까지도 침투하는 것이 확인되었다. 본 실험에서 세면대 실리콘에 존재하는 곰팡이들 *Phoma herbarum*, *Peyronellaea calorpreferens*, *Cladosporium halotolerans*은 인체에 직접적인 피해를 줄 가능성은 크지 않을 것으로 판단된다. 하지만 이들은 제거하지 않

을 경우에 계속 성장하여 불결한 느낌을 준다. 일반적으로 가정에서는 실리콘에 발생한 곰팡이 제거를 위하여 차아염소산나트륨이 들어있는 락스와 같은 세정제를 사용하나 *Phoma* 등의 위의 곰팡이들은 실리콘의 외부뿐만이 아니라 내부까지 침투하여 자라기 때문에 겉면의 곰팡이는 사멸될 수 있으나 내부의 곰팡이는 죽지 않아 시간이 지나면 다시 자라 나온다. Ihara 등[3]은 *Phoma* 속 균이 다른 속의 곰팡이와 달리 실리콘 내에서 병자각을 형성하므로 차아염소산나트륨에 의하여 잘 제거되지 않는다고 보고한 바도 있다.

본 연구는 욕실의 세면대에 발생한 곰팡이의 동정에 대한 국내 첫 보고이며 세계적으로도 기존에 속 수준까지 동정이 되었으나 본 연구에서 종 수준까지 동정하였다는 데에 의의가 있다. 또한 본 실험에서 분리된 3종 4균주의 곰팡이들은 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection, <http://www.genbank.go.kr>)에 장기보존되어 일반인들에게 제공되므로 향후 욕실 실리콘 오염 곰팡이 제거를 위한 실험 시에 연구 소재로 사용될 수 있다.

적 요

아파트 욕실 세면대의 실리콘에 검은색의 곰팡이가 발생하였다. 곰팡이가 발생한 부위의 실리콘을 MEA, DG18, DRBC, PDA+PS 배지에 치상하여 18균주의 곰팡이를 분리하고, 형태적 그리고 분자생물학적인 방법으로 동정하였다. 이들은 *Phoma herbarum*, *Peyronellaea calorpreferens*, *Cladosporium halotolerans*로 동정되었으며 이 중에서 *Ph. herbarum*, *Pe. calorpreferens*는 높은 빈도로 분리되었으나 *C. halotolerans*는 분리 빈도가 높지 않았다. 이들은 농업미생물은행(KACC)에 장기 보존되었으며 앞으로 관련 연구에 제공된다.

감사의 글

세면대 실리콘으로부터 곰팡이의 분리와 동정을 도와준 동수원중학교 홍산아 학생에게 감사를 드립니다. 본 연구는 국립농업과학원 과제(no. PJ00866601)의 지원에 의하여 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Moriyama Y, Nawata N, Tsuda T, Nitta M. Occurrence of moulds in Japanese bathrooms. *Int Biodeter Biodegr* 1992;30: 47-55.
2. Hamada N. Effect of materials on mold contamination in bathrooms. *J Antibact Antifung Agents* 2008;12:829-835.
3. Ihara N, Ishiki S, Hamada N. Effect of hypochlorite in the fungal contamination in the silicone in bathrooms. *J Antibact Antifung Agents* 2009;37:91-97.
4. Hong SB, Kim DH, Lee M, Baek SY, Kwon SW, Samson RA. Taxonomy of *Eurotium* species isolated from *Meju*. *J Microbiol* 2011;49:669-674.
5. Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *App Environ Microbiol* 1995;61:1323-1330.
6. Bensch K, Groenewald JZ, Dijksterhuis J, Starink-Willemse M, Andersen B, Summerell BA, Shin HD, Dugan FM, Schroers HJ, Braun U, Crous PW. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). *Stud Mycol* 2010;67:1-94.
7. Aveskamp MM, Gruyter J, Murace MA, Perello A, Woudenberg JHC, Groenewald JZ, Crous PW. DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section *Peyronellaea* and multiple taxonomic novelties. *Mycologia* 2009;101:363-382.
8. Bensch K, Braun U, Groenewald JG, Crous PW. The genus *Cladosporium*. *Stud Mycol* 2012;72:1-401.
9. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011;28:2731-2739.
10. Web site of Alaska Department of Fish and Game [Internet]. [Cited 24 Feb. 2014]. Available from: http://www.adfg.alaska.gov/static/species/disease/pdfs/fishdiseases/phoma_herbarum.pdf
11. Selbmann L, Onofri S, Fenice M, Federici F, Petruccioli M. Production and structural characterization of the exopolysaccharide of the Antarctic fungus *Phoma herbarum* CCFEE 5080. *Research Microbiol* 2002;153:585-592.
12. Boerema GH, Gruyter J, Noordeloos ME, Hamers MEC. *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI publishing; Wallingford, U.K.; 2004.
13. Aveskamp MM, Gruyter J, Woudenberg JHC, Verkley GJM, Crous PW. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterize *Phoma* and related pleosporalean genera. *Stud Mycol* 2010;65:1-60.