

수확기 벼 이삭에서 분리된 진균독소 생성 *Fusarium armeniacum*의 다양성

홍성기¹ · 이수형¹ · 이데레스¹ · 함현희¹ · 문혜연¹ · 최효원² · 손승원³ · 류재기^{1*}

¹국립농업과학원 유해생물팀, ²국립농업과학원 작물보호과, ³충남농업기술원 원예연구과

Diversity of Mycotoxigenic *Fusarium armeniacum* Isolated from Rice Grains at Harvest Time in Korea

Sung Kee Hong¹, Soohyung Lee¹, Theresa Lee¹, Hyeonheui Ham¹, Hye Yeon Mun¹, Hyo Won Choi², Seung-Wan Son³ and Jae-Gee Ryu^{1*}

¹Microbial Safety Team, National Academy of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

²Crop Protection Division, National Academy of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

³Horticultural Research Division, Chungcheongnam-do Agricultural Research and Extension Services, Yesan 32425, Korea

ABSTRACT : A total of 509 rice panicle samples were collected at harvest time from fields in 8 provinces from 2010 to 2014. One hundred five grains per sample were plated on potato dextrose agar and 6,658 *Fusarium* isolates were obtained; among them, 67 were identified as *Fusarium armeniacum* by sequencing the translation elongation factor 1 α (EF-1 α) and confirmed by their morphological and cultural characteristics. Considerable variation in conidial size, colony color and EF-1 α sequences was observed among the fungal isolates. The ability of 24 *F. armeniacum* isolates to produce T-2 and HT-2 toxin in potato sucrose agar was determined using liquid chromatography-mass spectrometry. Twenty one isolates produced T-2 and HT-2 toxin, resulting in varying toxin levels among the isolates. The results show that Korean isolates of *F. armeniacum* have diversity with respect to morphological, cultural, genetic, and toxigenic properties.

KEYWORDS : *Fusarium armeniacum*, Grain, Rice, Toxin

서 론

진균독소(mycotoxin)는 진균이 생산하는 인축독성을 갖는 이차대사산물로써 독소생성 진균이 생육할 수 있는 적당한 온·습도에서 농산물에 빈번하게 발생하여 사람과 가축에 다양하고 광범위한 피해를 초래할 수 있다. 독소는 화

학적으로 안정하여 한번 생성되면 저장, 가공 혹은 조리과정에서도 잘 분해되지 않으므로 농산물의 원료는 물론 가공 및 발효식품에서도 노출될 위험성이 높다. 또한, 진균독소 중 일부 종류는 급성독성을 일으키지만, 대부분은 적은 양으로 장기간 노출되었을 때 더 큰 피해를 나타낼 수 있다. 일반적으로 독소생성 진균은 2가지 범주 즉 *Fusarium* 속과 같이 수확 전 재배포장에서 발생하는 진균과 *Penicillium*속, *Aspergillus*속과 같이 저장 중에 발생하는 진균으로 구분하여 볼 수 있다.

우리나라에서 주곡작물로서 재배되고 있는 벼는 수확 전 포장과 수확 후 가공과정에서 독소생성 진균에 쉽게 오염될 수 있기 때문에 진균독소의 잠재적인 오염원으로써 각별한 관심이 요구된다. 수확기 벼와 미곡종합처리장의 벼에서 분리된 균류상을 보면 *Fusarium*속이 우점하였고, *Alternaria*, *Penicillium*, *Phoma*, *Myrothecium*, *Cladosporium* 등이 발견되었다[1, 2]. 국내산 벼에서 발생하는 *Fusarium*속 균에 의한 주요 진균독소로는 T-2, HT-2 독소를 포함하는 A형 trichothecene과 deoxynivalenol (DON), nivalenol

Kor. J. Mycol. 2015 September, 43(3): 158-164
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.3.158
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
E-mail: jgryu@rda.go.kr

Received August 5, 2015
Revised September 11, 2015
Accepted September 23, 2015

©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.

(NIV)을 포함하는 B형 trichothecene 및 zearalenone(ZEA) 등이 보고되어 있다[1-5]. 벼에서 B형 trichothecene 및 ZEA를 생성하는 진균으로서 *Fusarium graminearum* 종복합체가 보고되었지만[3], 강한 독성을 갖는 것으로 알려져 있는 T-2 독소 및 그 분해산물인 HT-2 독소[6]를 생성하는 진균에 대해서는 보고된 바 없다.

2010년부터 2014년까지 5년간 벼 수확기에 채집된 이삭에서 *Fusarium*속 발생을 조사하던 중 낮은 빈도지만 T-2, HT-2 독소를 생산하는 균으로 알려져 있는 *Fusarium armeniacum*의 발생이 확인되었다. 본 연구는 국내에서 분리된 *F. armeniacum*의 형태적, 배양적, 유전적 다양성 및 T-2, HT-2 독소생성 여부를 조사하고자 실시되었다.

재료 및 방법

벼 종자 채집 및 *Fusarium* 균 분리

2010년부터 2014년까지 5년간 벼 수확기에 8도 301지역 포장에서 509개 벼 이삭시료를 채집하였고, 각 시료 당 105개의 벼 종자를 1% sodium hypochlorite에 2분간 침지하여 표면 소독하였다. 소독된 종자들은 살균수로 2회 세척 후 멸균된 여과지로 물기를 제거한 다음 100개씩 streptomycin 600 µg/mL가 함유된 potato dextrose agar (PDA)에 치상하였다. 25°C 항온기에서 5일간 배양한 후 *Fusarium*으로 예상되는 균총을 선별하여 PDA에 옮기고 포자가 형성될 때까지 배양하였다. 포자현탁액을 물한천배지(water agar)에 도말한 다음 25°C 항온기에서 12시간 배양 후 단포자 분리를 실시하였다.

DNA 추출 및 염기서열 분석

분리된 *Fusarium* 균주를 대상으로 genomic DNA를 추출하기 위해서 각 균주를 potato dextrose broth (PDB) 배지에 접종하고, 25°C에서 5~7일간 정치 배양하였다. 배양된 균사체를 miracloth로 수거하고 동결건조하여 마쇄한 후 acetyltrimethylammonium bromide (CTAB)-phenol/chloroform 추출법[7]으로 genomic DNA를 추출하고, -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. Translation elongation factor 1- α (EF-1 α) 유전자의 염기서열 분석을 위하여 O'Donnell 등[8]의 방법에 따라, 5'-ATGGGTAAGGAA GACAA GAC-3' (EF-1)과 5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3' (EF-2) 프라이머를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 실시하였다. PCR 반응액은 100 ng/µL의 template DNA를 포함하여 1× Taq buffer, 2 mM dNTPs, 10 pmole의 양방향 primer쌍, 0.5 unit의 Taq DNA polymerase를 총량 50 µL로 제조하였다. PCR 증폭은 94°C에서 30초, 50°C에서 30초, 72°C에서 90초를 35회 반복하였고, 최종적으로 72°C에서 7분간 post extension을 실시하였다. 증폭산물은 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Germantown,

MD, USA)를 사용하여 정제한 후 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 GenBank (accession no. KT223045-223047 및 KT339744-KT339764)에 등록하였고, Genbank 및 FUSARIUM-ID (<http://isolate.fusariumdb.org/index.php>)에 보관된 염기서열과 상동성을 분석하였다. Clustal W 소프트웨어[9]를 이용하여 염기서열을 정렬하였고, 계통수는 MEGA 6.0 프로그램을 사용하여 neighbor-joining법으로 작성하였다.

균학적 특성조사

염기서열에 의해 동정된 *F. armeniacum*의 배양적 특성은 PDA에서 조사하였다. 먼저 균주를 직경 5 mm의 cork borer로 잘라 PDA 배지 중앙에 접종한 후, 7일간 25°C 암 조건에서 배양한 후 균사생장을 조사하였고, 균총의 모양과 색, 색소 형성의 유무 등을 14일 후 조사하였다. 형태적 특성은 Leslie와 Summerell [10]의 방법으로 조제된 carnation leaf agar (CLA) 배지에서 조사되었다. 준비된 배지에 5 mm cork borer로 자른 균총을 치상하고 near ultra violet (NUV)를 12시간/1일으로 조사되는 25°C 항온기에서 2주 배양한 후 대형분생포자의 모양과 크기, 소형분생포자의 형성 유무, 모양 및 크기, 후막포자의 형성 유무 등 형태적 특성을 조사하였다.

T-2 및 HT-2 독소의 정량분석

Potato sucrose agar(감자 200 g, sucrose 20 g, 증류수 1,000 mL) 배지에 공시 균주를 접종하고 20°C 암 상태에서 2주간 배양하였다. 250 mL 삼각플라스크에 배양 배지를 넣고 acetonitrile (ACN)을 g당 5 mL씩 첨가한 다음 1시간 동안 진탕 추출하고, 여과지(Whatman No. 1; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 여과하였다. 여과액은 1/5로 희석하여 immunoaffinity column (IAC)을 통과시킨 다음 3차 증류수 10 mL로 세척하고, ACN을 500 µL 씩 3회 총 1.5 mL를 통과시켜 용출시켰다. 여과액은 질소건조시킨 후 50% 메탄올 1 mL에 녹여 분석에 사용하였다. LC/MS를 이용한 독소의 분석을 위해서 Waters alliance e2695 separation module (Waters, Milford, MA, USA)과 Waters 3100 mass detector를 사용하였고, 컬럼은 Zorbax SB-Aq (3.0 × 150 mm, 5 µm)를 사용하였다. 컬럼의 온도는 40°C, 주입량은 5 µL, 이동상 유속은 0.3 mL/min, 용매조성은 5 mM ammonium acetate를 첨가한 증류수와 ACN을 70:30으로 4분 동안 둔 다음, 7분까지 ACN을 85%로 증가시켜 6분 동안 유지시켰고, 이어 초기상태의 용매조성으로 감소시킨 후 2.5분동안 유지시켰다. 질량분석기의 검출조건은 Table 1과 같다. capillary는 2,500 V, source 온도는 150°C, 탈용매화 온도는 450°C였고, 콘 가스 유량은 100 L/hr, 탈용매화 가스 유량은 600 L/hr이었다. LC/MS의 자료분석은 Mass Lynx 4.1 (Waters) 프로그램을 사용하였다.

Table 1. Parameter for the mass spectrometric detection of mycotoxins

Mycotoxins	Formula	Parent ion (m/z)	Cone (V)	Ion mode	Retention time (min)
T-2	C ₂₄ H ₃₄ O ₉	484.19	26	Electrospray ionization +	11.13
HT-2	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	469.37	22	Electrospray ionization -	8.80

Table 2. Occurrence of *Fusarium armeniacum* from rice grains collected at harvest time from 2010 to 2014 in Korea

Year	No. locality surveyed	No. sample collected	No. <i>Fusarium</i> isolated (A)	<i>Fusarium armeniacum</i>			
				Province (No. locality)	No. sample	No. isolate (B)	Frequency rate (B/A, %)
2010	57	131	2,016	Chungnam(3), Gangwon(1)	5	15	0.7
2011	59	109	429	-	0	0	0.0
2012	59	98	546	Gyeonggi(1), Jeonbuk(4), Jeonnam(2)	7	10	1.8
2013	70	115	2,751	Gyeonggi(1), Chungbuk(1), Chungnam(3), Jeonbuk(1), Jeonnam(2), Gyeongnam(3)	13	38	1.4
2014	56	56	916	Chungbuk(2), Chungnam(1), Jeonnam(1)	4	4	0.4
Total	301	509	6,658	7(26)	29	67	-

결과 및 고찰

균 분리 및 분자생물학적 *F. armeniacum* 동정

2010년부터 2014년까지 5년간 전국 8도의 301개 지역, 509개의 벼 이삭시료에서 총 6,658개의 *Fusarium*속 균주가 분리되었다. 분리된 균주에 대하여 EF-1 α 유전자의 염기서열을 분석한 결과, 경북을 제외한 전국 7도 26지역, 29시료로부터 67균주가 *F. armeniacum*으로 동정되었다 (Table 2). *F. armeniacum*의 분리빈도를 조사한 결과, 2010년 0.7%, 2011년에는 균이 분리되지 않았고, 2012년 1.8%, 2013년 1.4%, 2014년 0.4%로서 해마다 다소 차이가 있었으나 대개 1% 이하의 낮은 검출율을 나타냈다. 전 세계적으로 벼를 포함하여 보리, 밀 등 곡류에서 독소생성 *Fusarium*균으로는 붉은곰팡이병을 일으키는 *F. graminearum*중 복합체(FGSC)가 잘 알려져 있다[3]. FGSC는 식물병원균으로서 매년 빈번하게 발생하면서 수량과 품질을 저하시킬 뿐만 아니라, B형 trichothecene, ZEA 등과 같은 독소를 생산하는 주요한 생물적 위해 인자로 알려진 반면, *F. armeniacum*은 미국, 아프리카, 호주, 일본 등에서 매우 낮은 빈도로 발견되며, 호주에서는 수해를 입은 밀의 지체부와 낱알 및 토양, 남아프리카에서는 여섯줄보리와 귀리의 낱알 및 토양, 미국에서는 병징이 없는 옥수수 및 페스큐 건초, 일본에서는 금잔디에서 보고되었다[11, 12]. 또한, 미국에서는 콩뿌리썩음병[13], 중국의 도라지에서는 줄기 및 뿌리썩음병을 일으키는 식물병원균으로서 보고되었으나[14] 벼에서는 식물병원균이나 부생균으로도 보고된 바 없다. 그동안 *F. armeniacum*은 낮은 분리빈도 때문에 다른 진균독소생성 *Fusarium*중에 비해 크게 주목을 받지 못했으나 T-2

와 HT-2 독소를 생성하는 *Fusarium* 종 중 하나로서 습한 지역이나 주기적인 침수지역과 강우가 많은 해에는 토양에서 빈번하게 분리되는 것으로 알려져 왔다[11, 12]. 비록 심하게 오염되지는 않았지만 국내산 현미에서 이미 T-2와 HT-2 독소오염이 보고된 바 있고[5] 본 연구에서 *F. armeniacum*이 벼로부터 분리되었기 때문에 국내 벼 재배에서 *F. armeniacum*에 의한 T-2와 HT-2 독소오염은 가능한 시나리오로 생각된다. 다만, 이 균에 대한 이전의 연구로 볼 때 독소오염은 매년 빈번하게 발생하는 것이 아니라 수확기에 지속적인 강우로 다습한 조건이 형성되어 토양 내 균 밀도가 증가하고, 태풍 등에 의한 벼의 도복으로 토양에서 이삭으로 균이 오염되는 환경하에서 심하게 발생할 가능성이 높다.

*F. armeniacum*의 유전적 다양성

EF-1 α 유전자의 염기서열을 기초로 *F. armeniacum*으로 동정된 국내 24균주와 형태적으로 유사한 종으로 알려진 *Fusarium acuminatum* 및 염기서열의 상동성이 높은 *Fusarium* 종들과 함께 계통수를 작성하였다(Fig. 1). 국내 균주는 98% 이상의 높은 bootstrap값에 의해 3개의 group으로 구분되었다. Group 1은 *F. armeniacum*의 type strain (FRC R-9335), 미국 수수잎(H02-781L-5B), 일본 금잔디(MAFF 236716), 호주의 토양(NRRL31970)에서 분리된 균주가 포함되었고, 국내 24균주 중 충남 태안, 공주, 부여, 경남 함안, 밀양, 김해 및 강원 인제에서 분리된 총 16균주(67%)가 포함되어 가장 큰 group을 형성하였다. Group 2는 충남 태안 2균주(10Rhcnta5-15-W4, 10Rhcnta8-4-R6)와 공주 2균주(10Rhcnj1-W2, 10Rhcnj1-R5W) 및 경남 밀양에서 분

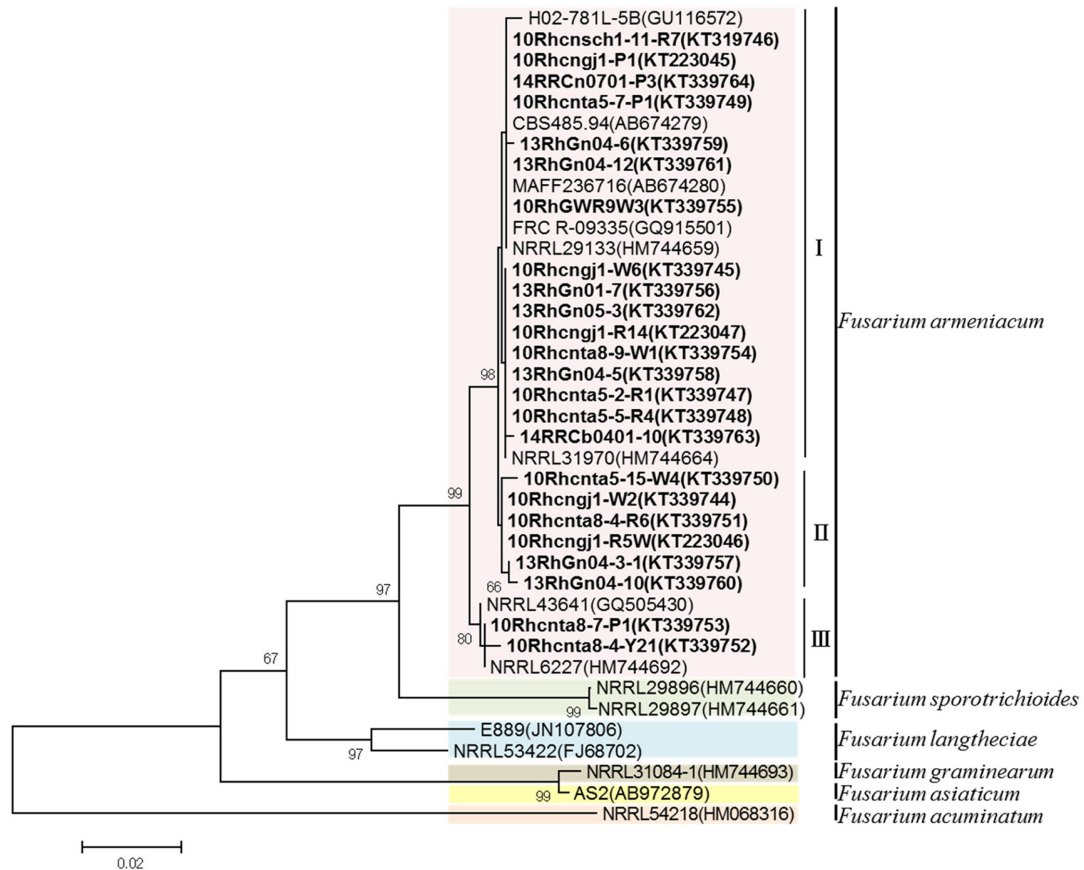


Fig. 1. A neighbor-joining tree derived from sequences of translation elongation factor 1 α region of *Fusarium armeniacum*. Numbers on nodes (> 60%) represent bootstrap values (%) from 1,000 replicates. A phylogenetic tree was conducted using MEGA 6.0 with neighbor-joining method. The letters in parentheses refer to isolate numbers. Bar represents 0.02 substitutions per site (scale bar = 0.02).

리된 2균주(13RhGn04-3-1, 13RhGn04-10)를 합하여 총 6 균주(25%)를 포함하였고, 외국 균주는 포함되지 않았다. Group 3은 동물병원균으로 미국 말의 눈에서 분리된 균주(NRRL 43641)와 미국 페스큐 건초에서 분리된 균주(NRRL 6227)가 포함되었고, 국내 균주로는 충남 태안에서 분리된 2균주(10Rhcnta8-7-P1, 10Rhcnta8-4-Y21; 8%)를 포함하였다.

*F. armeniacum*은 1983년 미국의 옥수수에서 *F. acuminatum*의 비전형적인 균주로서 처음 인식되었고, 1993년 분생 포자의 모양과 크기, 균총형태, 생장율을 기초로 *F. acuminatum*의 아종 중 하나인 *F. acuminatum* subsp. *armeniaceum*으로 기술되었으며, 2000년 독소생성, 핵형, isozyme 및 RAPD 분석을 이용한 유전적 관련성을 기초로 *F. acuminatum*과는 구분되는 종으로 확립되었다[11, 12, 15, 16]. 이와 같이 *F. armeniacum*과 *F. acuminatum*을 구분하기 위한 분류학적 비교 연구는 이전부터 이루어져 왔으나[11, 12, 15] *F. armeniacum*의 종내 개체군에 대한 유전적 다양성 연구는 이루어진 바 없다. 본 연구결과 *F. armeniacum*이 유전적으로 적어도 3개의 그룹으로 구분되며, 종내 다양

성이 존재한다는 것을 제시한다. 전 세계적으로 *F. armeniacum*의 종내 유전적 다양성 연구는 아직까지 매우 미흡한 실정이므로 많은 국내·외 균주를 대상으로 multilocus sequence typing (MLST)을 이용한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

형태적, 배양적 특성 및 독소생성

PDA 배지에서 *F. armeniacum*은 초기에는 백색의 풍부한 기중균사체가 형성되며, 배양시간이 경과하면서 대부분의 균주는 분홍색을 띤 백색을 나타내지만(Fig. 2A) 일부 균주는 노랑색을 띤 백색이나 연갈색이었고(Fig. 2C), 배지의 뒷면은 황적색(Fig. 2B)이나 황백색(Fig. 2D)을 나타냈다. 균총생육은 균주에 따라서 다소 달랐지만 대개 접종 7일 후 80 mm 이상으로 빠르게 성장하였다(Table 4). CLA 배지에서 대형분생포자는 살구색-연황색 분생포자퇴(sporodochia) (Fig. 2E)의 분지된 분생자경의 단경자(monophialide)에서 풍부하게 형성되었다(Fig. 2F). 대형분생포자는 길고, 낫 모양(falcate), 벽은 두껍고, 3~7개의 격벽이 있었다. 대개 3~5개의 격벽을 갖는 10Rhcnta8-4-Y21(Fig. 2G)

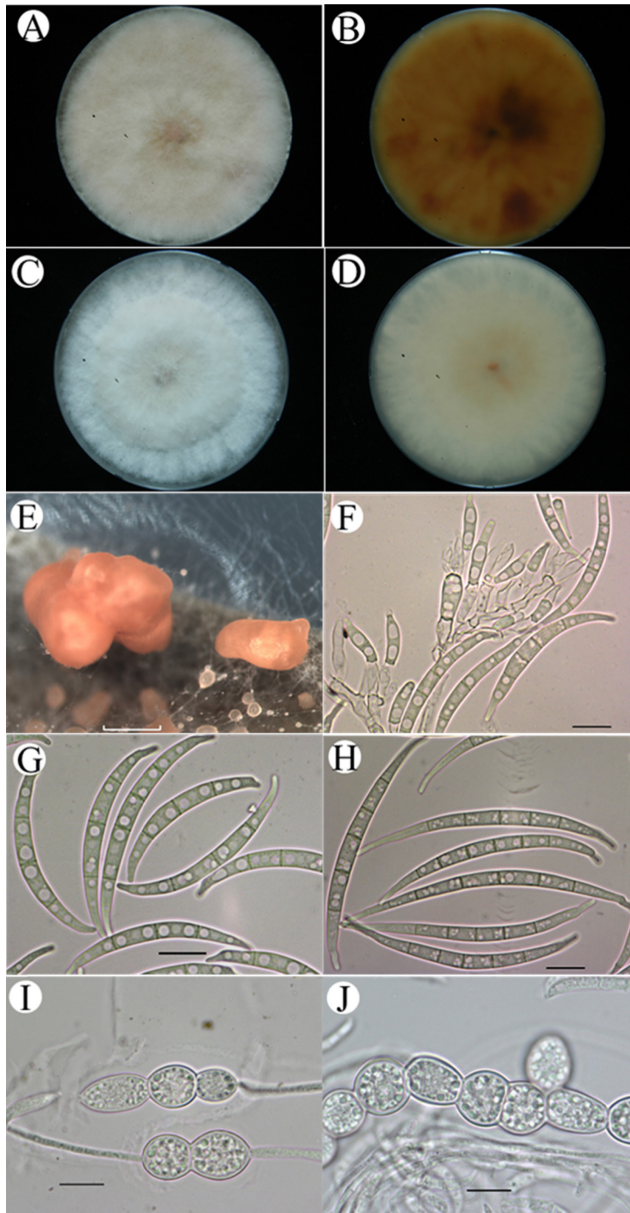


Fig. 2. Morphological features of *Fusarium armeniacum*. A~D, Front (A and C) and reverse (B and D) of colony on potato dextrose agar; E, Pale orange sporodochia on carnation leaf agar; F, Branched conidiophores with monophialides; G, H, Macroconidia produced in sporodochia; I, J, Chlamydospores. (scale bars: A~D = 10 μ m, E = 300 μ m, F~J = 10 μ m).

균주는 분생포자의 크기가 $3.0\sim4.5 \times 28.4\sim55.5 \mu\text{m}$ 로서 문헌상에서 기술된 *F. acuminatum*의 분생포자 크기($2.8\sim4.2 \times 30.0\sim55.7 \mu\text{m}$) [11]와 유사하였고, 5~6개 혹은 드물게 7개의 격벽을 갖는 14RRCn0701-P3균주(Fig. 2H)는 분생포자의 크기가 $3.6\sim4.8 \times 37.3\sim91.2 \mu\text{m}$ (평균 $4.1 \times 68.5 \mu\text{m}$)로서 격벽의 수와 분생포자의 크기는 상호연관성이 있었다. 정단세포는 길고, 굽어있고, 점차 가늘어지며, 기부세포는 뚜렷한 foot 모양이었다. 분생포자퇴에서 형성된 분생포자의 크기는 균주에 따라서 크게 다르지만 $2.9\sim4.9 \times 25.0\sim91.2 \mu\text{m}$ 의 범위 내에 있었고, 소형분생포자는 관찰되지 않았다(Table 3). 후막포자는 균사 내에서 초기에는 투명하나 점차 연갈색을 나타내며, 단독, 쌍, 사슬 혹은 덩어리로 풍부하게 형성되었다(Fig. 2I, 2J). 비록 일부 *F. armeniacum* 균주의 포자크기는 *F. acuminatum*의 포자크기와 유사하였지만 균주들의 다른 형태적, 배양적 특성은 Burgess 등 [11]에 의해 기술된 *F. armeniacum*과 비교적 잘 일치하였다(Table 3).

공시된 24균주에 대하여 T-2와 HT-2 독소생성을 조사하였던 바, 태안에서 분리된 2균주(10Rhcnta5-2-R1, 10Rhcnta8-7-P1)와 밀양에서 분리된 1균주(13RhGn04-3-1)를 제외하고 21균주에서 두 가지의 독소를 모두 형성하였고, 독소생성량은 균주에 따라서 다양하게 나타났다(Table 4). T-2 독소는 밀양 13RhGn04-5균주에서 최소 1 ppm부터 밀양 13RhGn04-6균주에서 최대 100.5 ppm까지 생산되었고, HT-2 독소는 태안 10Rhcnta8-9-W1균주에서 최소 6.0 ppm부터 인제 10RhGWR9W3균주에서 최대 229 ppm까지 생성되었다. 독소생성이 없는 3균주는 Fig. 2의 유전적으로 구분된 *F. armeniacum* 종내 group 1, 2, 3에 각각 분포하고 있어서 특정 유전적 group과 독소생성과의 연관성은 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터 수확기 벼 이삭에서 분리된 국내산 *F. armeniacum* 균주의 대부분이 potato sucrose agar (PSA) 배지에서 T-2와 HT-2 독소를 생성한다는 것을 확인하였다. 각종 곡류에서 *F. sporotrichioides*, *F. langtheciae*, *F. armeniacum* 등 다양한 *Fusarium* 종에 의한 T-2와 HT-2 독소 오염이 보고되었으나 [16, 17], 국내의 주곡작물인 벼에서 T-2와 HT-2 독소를 생성하는 *F. armeniacum*에 대한 보고는 처음이다. 앞으로 수확 전 벼 포장에서 강한 독성을 갖

Table 3. Comparison of morphological characteristics of *Fusarium armeniacum* isolated from rice grains

Structure		Present isolate	<i>Fusarium armeniacum</i> ^a	<i>Fusarium acuminatum</i> ^a
Macroconidia	Shape	Falcate	Falcate	Falcate
	Size (μm)	$2.9\sim4.9 \times 25.0\sim91.2$	$2.8\sim5.0 \times 22.9\sim89.2$	$2.8\sim4.2 \times 30.0\sim55.7$
	Septa	3~7	3~7	-
Microconidia	Formation	Absent	Present in some isolates	-
Chlamydospore	Formation	Present	Present	Present

^aBurgess et al. [11]

Table 4. *Fusarium armeniacum* isolates used in this study along with geographical origin, cultural characteristics and toxin production

Isolate	Geographical origin	Cultural characteristics			Toxin production (ppm)	
		Mycelial growth (mm)	Colony		T-2	HT-2
			Texture	Front/reverse color		
10Rhcnta5-5-R4	Taeon	86	Floccose	PW/YR,YW	55.7	19.3
10Rhcnta5-15-W4	Taeon	86	Floccose	PW/LB,YR,B	34.4	14.1
10Rhcnta5-7-P1	Taeon	86	High floccose	PW/LB,YR	47.8	101.2
10Rhcnta5-2-R1	Taeon	86	Floccose	LB,RP/BW,P	0.0	0.0
10Rhcnta8-4-R6	Taeon	86	Floccose	PW/RB,DY	38.0	8.4
10Rhcnta8-4-Y21	Taeon	83	Floccose	PW/LB,YW	24.6	6.2
10Rhcnta8-7-P1	Taeon	84	Floccose	YW,PP/PB,YW	0.0	0.0
10Rhcnta8-9-W1	Taeon	83	Floccose	YW,W/PP,YW	36.5	6.0
10Rhcnsc1-11-R7	Seochan	86	Floccose	PW/LB,YW	9.1	15.9
10Rhcnj1-R5W	Gongju	84	Floccose	PP,PY,YW/LB,YR,YW	56.3	13.4
10Rhcnj1-R14	Gongju	85	High floccose	PW/DO,LB	38.9	9.6
10Rhcnj1-W2	Gongju	81	Floccose	PW,PP,YW/LB,YR	10.2	36.7
10Rhcnj1-W6	Gongju	86	Floccose	PW,PP /LB,YW	4.2	20.1
10Rhcnj1-P1	Gongju	83	Floccose	PW/YR,YW	4.8	29.1
13RhGn01-7	Gimhae	83	High floccose	PW,PP/PY	9.4	37.3
13RhGn04-3-1	Miryang	75	Low floccose	PW/RB,YW	0.0	0.0
13RhGn04-5	Miryang	84	Floccose	PP,PW/YR,PY	1.7	25.8
13RhGn04-6	Miryang	85	Floccose	YW,PW/PY	100.5	144.5
13RhGn04-10	Miryang	81	Floccose	YR,PP/PY,YR	17.3	28.4
13RhGn04-12	Miryang	83	Floccose	PW,PP/RY,DO	6.1	53.2
13RhGn05-3	Haman	84	High floccose	PW/YR	7.4	38.5
10RhGWR9W3	Inje	85	Floccose	PW,PP/LB,DO	93.9	229.6
14RRCb0401-10	Yeongdong	85	Floccose	W,YW/YW	8.2	41.7
14RRCn0701-P3	Buyeo	81	Floccose	PW,PP /YR,YW	22.9	11.5

PW, pinkish white; YR, yellowish red; YW, yellowish white; LB, light brown; B, brown; RP, red pink; BW, brownish white; P, pink; RB, red brown; DY, dull yellow; PP, pale pink; PB, pale brown; W, white; PY, pale yellow; DO, dull orange; RY, reddish yellow.

는 T-2와 HT-2 독소저감을 위하여 *F. armeniacum*에 대한 발생환경, 감염시기, 감염경로, 병원성 등 생태학적, 병원학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

적 요

2010년부터 2015년까지 전국 8도에 있는 벼 포장에서 수확기에 총 509개의 이삭시료가 채집되었다. 시료당 105개의 벼 종실이 potato dextrose agar (PDA) 배지에 처리되었고 6,658개의 *Fusarium* 균주가 분리되었다. EF-1 α 유전자의 염기서열을 기초로, 분리된 *Fusarium* 중 67균주를 *Fusarium armeniacum*으로 동정하였고, 형태적, 배양적 특성을 확인하였다. *F. armeniacum*은 분생포자 크기, 균총 색, 및 EF-1 α 염기서열에서 균주간에 상당한 차이가 있었다.

액체크로마토그래피-질량분석기를 사용하여 potato sucrose agar (PSA) 배지에서 T-2와 HT-2 독소생성능력을 결정하였던 바 *F. armeniacum* 24균주 중 21균주가 T-2와 HT-2 독소를 모두 생성하였으며, 독소생성 수준은 균주간에 다양하였다. 이러한 결과는 한국산 *F. armeniacum* 균주들이 형태적, 배양적, 유전적 및 독소학적 성질에서 다양성을 갖는다는 것을 보여준다.

Acknowledgements

This study was carried out with the support of “Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ008635)”, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration,

Republic of Korea.

REFERENCES

1. Lee T, Lee S, Kim LH, Ryu JG. Occurrence of fungi and *Fusarium* mycotoxins in the rice samples from rice processing complexes. *Res Plant Dis* 2014;20:289-94.
2. Ok HE, Kim DM, Kim D, Chung SH, Chung MS, Park KH, Chun HS. Mycobiota and natural occurrence of aflatoxin, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in rice freshly harvested in South Korea. *Food Control* 2014;37:284-91.
3. Lee J, Chang IY, Kim H, Yun SH, Leslie JF, Lee YW. Genetic diversity and fitness of *Fusarium graminearum* populations from rice in Korea. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:3289-95.
4. Lee YW, Kim JG, Chung DH, Roh PU, Pestka JJ. Natural occurrence of zearalenone in rice and soybean produced in Korea. *Mycotoxin Res* 1991;7:69-72.
5. Ok HE, Kang YW, Kim M, Chun HS. T-2 and HT-2 toxins in cereals and cereal-based products in South Korea. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2013;6:103-9.
6. Lee S, Kim M, Oh S, Chun HS. Trends in researches of *Fusarium* mycotoxins, T-2 toxin and HT-2 toxin in domestic and foreign countries. *J Food Hyg Saf* 2012;27:1-17.
7. Proctor RH, Hohn TM, McCormick SP. Reduced virulence of *Gibberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. *Mol Plant Microbe Interact* 1995;8:593-601.
8. O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:2044-9.
9. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 1997;25:4876-82.
10. Leslie JF, Summerell BA. *The Fusarium laboratory manual*. Ames: Blackwell; 2006.
11. Burgess LW, Forbes GA, Windels C, Nelson PE, Marasas WF, Gott KP. Characterization and distribution of *Fusarium acuminatum* subsp. *Armeniacum* subsp. nov. *Mycologia* 1993;85: 119-24.
12. Burgess LW, Summerell A, Backhouse D, Benyon F, Levic J. Biodiversity and population studies in *Fusarium*. *Sydowia* 1996;48:1-11.
13. Ellis ML, Díaz Arias MM, Leandro LF, Munkvold GP. First Report of *Fusarium armeniacum* causing seed rot and root rot on soybean (*Glycine max*) in the United States. *Plant Dis* 2012;96:1693.2.
14. Wang Y, Lu BH, Yang LN, Gao J. First report of *Fusarium armeniacum* causing stem and root rot on *Platycodon grandiflorum* in Jilin province, China. *Plant Dis* 2015. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0108-PDN>.
15. Burgess LW, Summerell BA. Taxonomy of *Fusarium*: *Fusarium armeniacum* stat. & comb. nov. *Mycotaxon* 2000;75:347-8.
16. Rabie CJ, Sydenham EW, Thiel PG, Lübben A, Marasas WF. T-2 toxin production by *Fusarium acuminatum* isolated from oats and barley. *Appl Environ Microbiol* 1986;52:594-6.
17. Edwards SG, Imathiu SM, Ray RV, Back M, Hare MC. Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats. *Int J Food Microbiol* 2012;156:168-75.