진균독산생 *Aspergillus*균종의 형태학적 특징

The Morophology of Mycotoxin Producing *Aspergillus* sp.

이헌준
Hunjun Lee

위생미생물연구센타
Hygiene and Microbiology Research Center

*Aspergillus*족은 자연계에 널리 분포되어있는 진균 중 하나로서, P. A. Micheli(1729년)가 이 진균의 포자형성부의 팽대부가 카톨릭의 성수에 사용되는 aspergillum과 비슷하다는 점에서 *Aspergillus*로 명명하였다. 현재까지 약 260여종 이상이 알려져 있고, 그 중에는 양조식품 제조 등에 유익하게 사용되고있는 종류가 있는가 하면, 천연물 중에 발암성이 가장 강한것으로 알려진 aflatoxin을 비롯한 각종 진균독을 산생하는 균종들도 있다. 식품의 안전관리를 위해서, 이들 진균독 산생균종들에 관하여는 각별한 주의가 필요한 것은 두말할 필요가 없고, 식품 가운데에도 외국, 특히 열대 혹은 아열대지역으로 부터 수입되는 농산물의 진균독오염은 국제적인 문제가 되고있다. 근년, 수입농산물양이 증가하고있고, 이들 농산물에 대한 진균독오염여부에 관한 감시체제 강화와 지속적인 감시가 요구되고있다.

여기에서는 진균의 기본형태, 배양 및 형태학적 동정법에 대한 기초지식을 소개하고 *Aspergillus*속의균학적특징, 그리고 진균독생성*Aspergillus*의 대표적인 균종인 *A. flavus*의 형태학적특징을 소개하여 금후 이들 균종을 감별하는데 도움을 주고자한다.

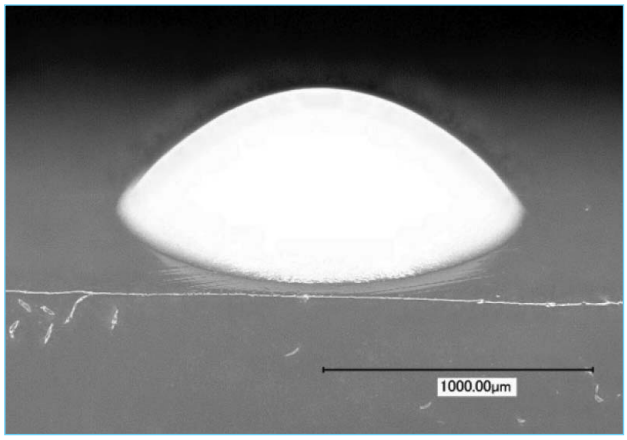
진균의 기본형태

진균은 넓은 의미로 곰팡이로 불리워지는 사상균, 효모 그리고 버섯류를 총칭하는 말이며, 좁은 의미로는 사상균을 말하며, 여기서도 편의상 진균으로 표현한다.

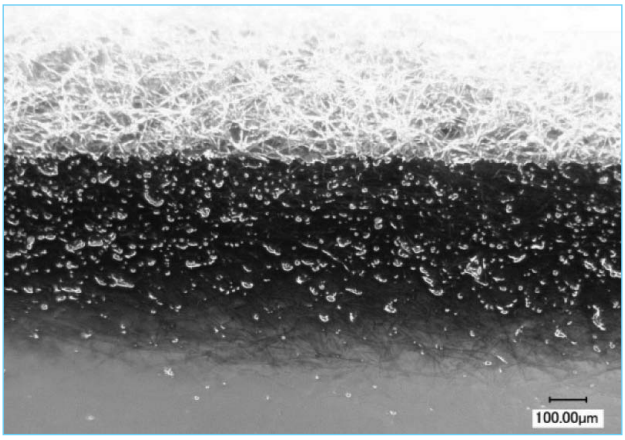
세균은 하나의 세포가 두개로 분열하는 2분열법으로 증식을 하며 효모는 모세포로 부터 새로운 세포가 형성되어 배출되는 출아법으로 증식을 하는 것에 비해, 진균은 식물의 씨와 같은 포자로부터 발아하여, 이 발아부가 신장과 분지를 거듭하여 커다란 집단을 이루게 된다. 신장한 세포의 모양이 실과 같다고하여 균사라고 하며, 이들 균사의 집단을 균사체라고한다. 식품에 진균이 발생하였을때, 희고 검은 작은반점처럼 보이게되는데, 이것이 바로균사체이다.

한편 균사의 신장은 세균과 효모와 같은 미생물의 경우,

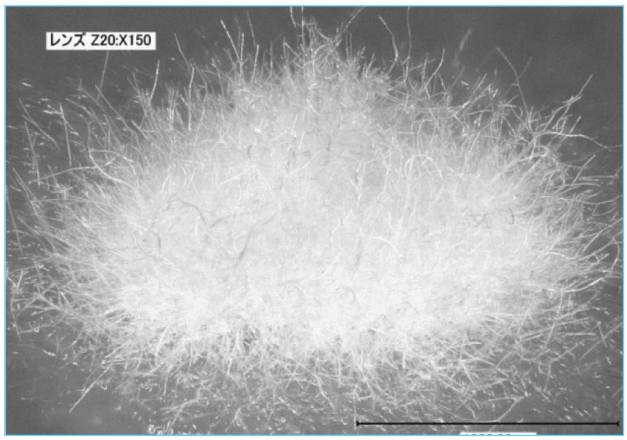
*Corresponding author: Hunjun Lee
Hygiene and Microbiology Research Center
21-6, 4-Chome, Aoto, Katsushika-Ku, Tokyo, 125-0062, Japan.
Tel: 03-5680-9831 Fax: 03-5680-9832 E-mail: eibiken@kabi.co.jp Url: http://www.kabi.co.jp/



<사진 1> 배지표면에 형성된 효모집락.



<사진 2> 배지내에 침입형성된 진균의 균사체



<사진 3> 기중균사

<사진 4> 기중균사와 그 선단에 생성된 포자집단

발생기질의 표면에만 증식을 하지만(사진 1), 진균의 경우, 발생부의 표면뿐만 아니라, 내부에도침입(기질내균사, 사진 2)하고, 한편으로는 공기 중으로도 신장하며(기중균사, 사진 3), 이 기중균사는 분화하여 포자를 형성하게된다. 식품으로 부터 분리되는 진균의 많은 종류가 이 기중균사로부터 포자를 형성하며, *Aspergillus* 속도 그 좋은 예 중 하나이다(사진 4).

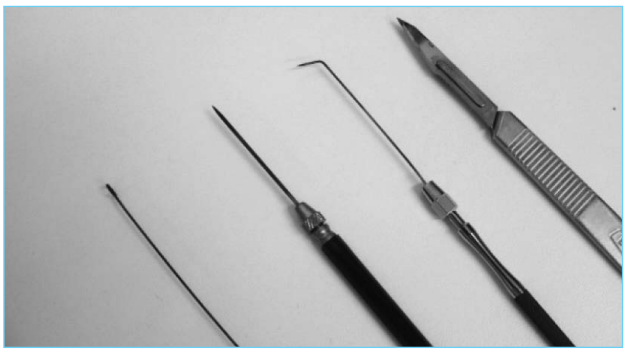
진균의 형태는 복잡하며형태학적 동정은 힘이 든다고 흔히들 말을 한다. 그리고, 진균의 포자는 균종에 따라서 크기, 형태, 색깔 등 다양하며, 포자를 형성하는 방식과 이에 관련하는 세포도 여러가지 종류가 있지만, 대별하면 포자와 균사라는 매우 단순한 두 형태라고도 할 수 있다.

진균의 배양

검사재료의 채취 및 접종

검체는 배지에 접종하기전에 반드시, 실체 현미경 혹은 광학현미경으로 검체에 발생한 진균의 형태를 관찰하고 기록한다.

검사 부위를 멸균한 백금이, 가위, 메스등을 이용하여 가능한한 검체에 발생한 균요소만을 배지에 접종한다. 이때 실체 현미경으로 검사부위를 관찰하면서 균요소를 채취하는 방법을 권장하고 싶다. 또한 진균 접종용 백금이는 세균용의 루-프형이 아니고 직선의 침 혹은 선단을 적당하게 굽힌것을 사용하여야 한다(사진 5).



<사진 5> 검체접종용도구

검체의 접종양은 검체의 종류와 진균의 발생도에 따라 다르지만, 분리용배지 한장 당 3~5개소로 적정한 거리를 두면서 접종한다. 이 때 다량의 포자가 형성되어있는 검체의 경우, 포자가 비산하지 않도록각별한 주의가 필요하고, 반드시 안전케비넷 내에서 작업을 하여야한다. 또한, 작업 전후에 작업대와 그 주변을 에타놀 분무소독을 실시하고, 에타놀로 적신 페이퍼 위에서 작업을 하면, 작업 중에 떨어트릴수 있는 포자의 비산을 방지할 수 있고, 작업 후에 처분하기도 편리하다.

배지

진균의 분리용배지로서는, potato dextrose agar(PDA), malt extract agar(MEA), Sabouraud dextrose agar(SDA)가 대표적인 배지이며, 이들 배지사이에 진균 분리율에는 별다른 차이는 없다. 또한, 분리용배지에 chloramphenicol과 같은 항생물질을 첨가해서 사용하면 세균의 오염을 방지할수 있고, 고염 혹은 고당 식품 그리고 건조식품처럼 수분활성이 낮은 검체의 경우, 반드시 호건성진균용배지를 병용하는 것이 바람직하다.

배양온도

식품 혹은 그 제조 환경에서 분리되는 대부분의 진균은 중온성이며, 검체를 접종한 배지는 20-25℃에서 배양을 한다.

배양기간

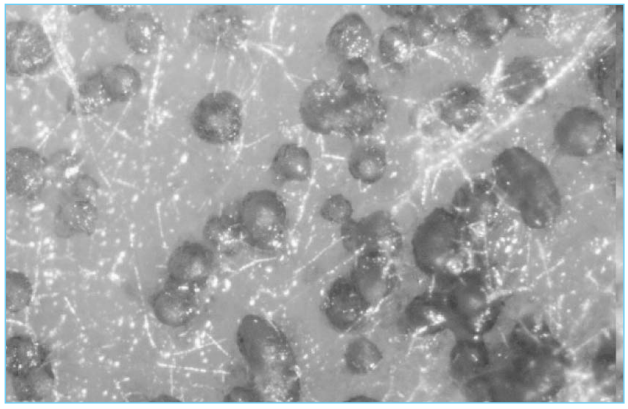
배양 중 2, 3일 간격으로 진균의 발육형태를 관찰하며, 대부분의 진균은 배양 5~10일에 성숙해지지만, 포자형성이 늦은 균종의 경우, 2주일 혹은 그 이상 배양기간을 연장할 필요가 있다.

순배양

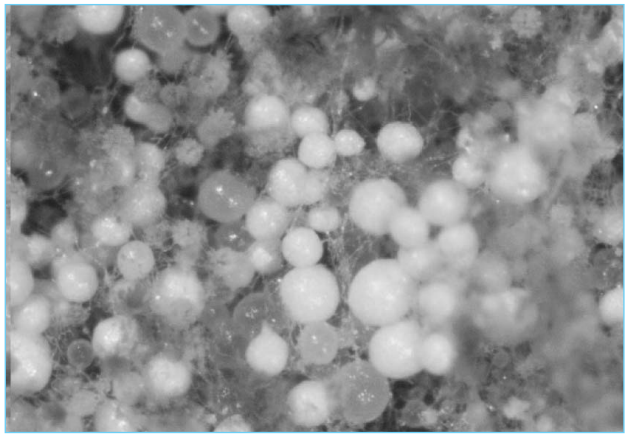
분리진균의 동정 혹은 보존을 위하여 순배양을 실시하며, 이 때에 인접한 다른 진균집락이 혼입되지 않도록, 주의하여야한다.

집락관찰법

동정을 목적으로 순배양한 진균을 20-25℃, 7일간 배양하는 것은 거대 배양이라고 하며, 거대배양된 집락의 특징을 관찰하는 것은 진균동정의 가장 소중한 첫 단계라고 할 수가 있다. 거대배양한 집락의 크기를 측정하고, 표면성상과 색깔, 삼



<사진 6> *Phomasp.*의 분생자과



<사진 7> *Eurotium sp.*의 자낭과

출액, 자낭과, 수용성색소, 취기 등의 형성유무를 관찰하며, 실체현미경을 병용하면 육안으로 관찰하기 힘들었던분생자과, 자낭과 등과 같은 균요소 관찰에 도움이 된다(사진 6,7).

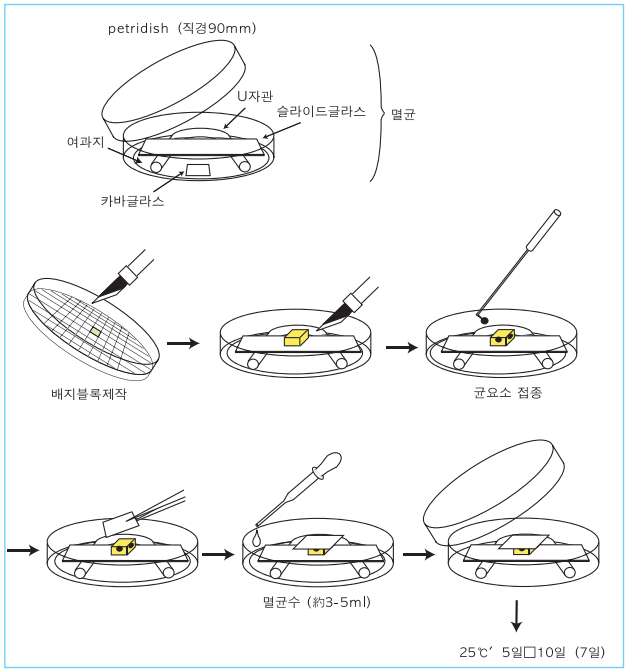
현미경관찰법

생물현미경을 사용하여 진균의 미세형태를 관찰하며, 100~400배의 배율에서 용이하게 관찰할 수가 있고, 포자형성기관 혹은 포자표면의 미세 구조 등을 관찰할 필요가 있을 때에는 1000배로 관찰한다. 또한, 노말스키미분간섭장치가 있으면 세포의 표면성상 관찰에 매우 유용하다.

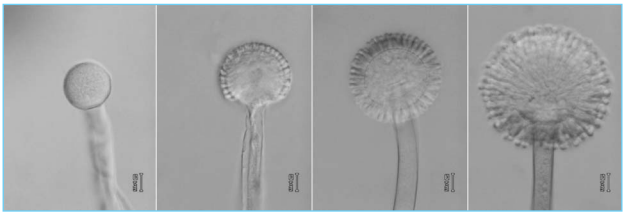
현미경표본제작법

현미경관찰용표본 제작은 직접표본법과 슬라이드배양법이 범용된다. 직접표본법은 침 혹은 메스 등을 사용하여 거대배양집락으로 부터 균요소를 채취하고 멸균슬라이드 글라스에 놓고 표본액을 떨어트린 후 카바글라스를 덮어서 표본을 제작한다.

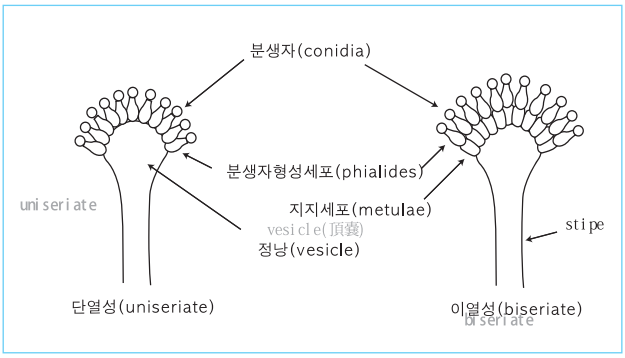
슬라이드배양법은, 멸균슬라이드 글라스위에 배지두께가 0.3~0.5cm되게 통상의 배지보다 얇게만든 PDA 혹은



<그림 1> 슬라이드 배양순서



<사진 8-11> 발생초기의 정낭 , metula, phialide와 포자형성을 시작한phialide

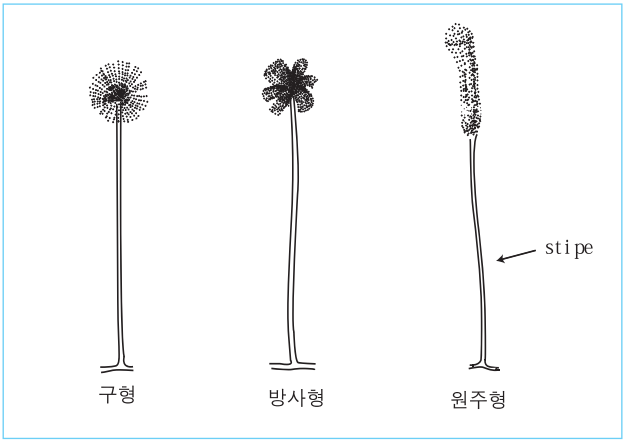


<그림 2> Aspergillus의 기본형태

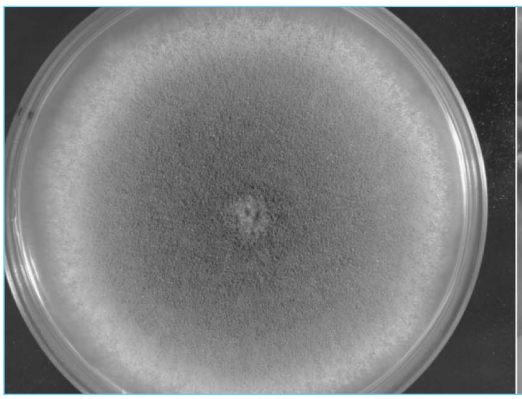
SDA 평판배지를 잘라서만든 블록(1×1cm)을 놓고, 그 블록의 상단 네변의 중앙에 진균을 접종하고 멸균 카바글라스를 그 위에놓은 후, 배양한다. 배양후, 진균이 부착 발육한 카바글라스를 미리 표본액을 떨어트려둔, 새로운 슬라이드 글라스에 놓은 후 현미경 관찰을 한다(그림 1).

Aspergillus속의 기본형태

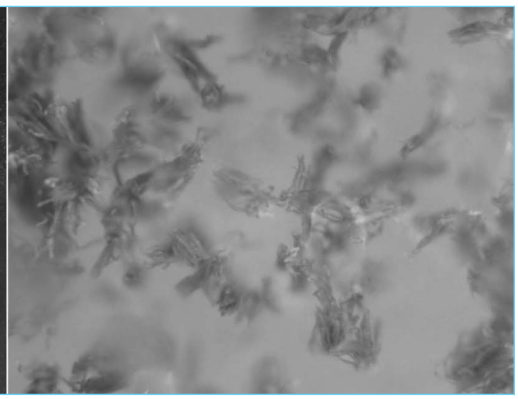
Aspergillus속은 무색의 유격벽균사로 증식하여 균사



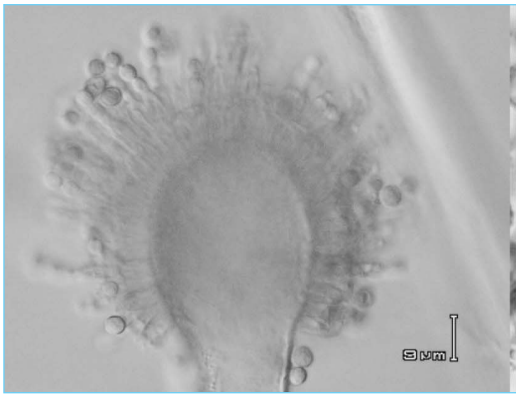
<그림 3> Aspergillus분생자두(conidial head)의 형태



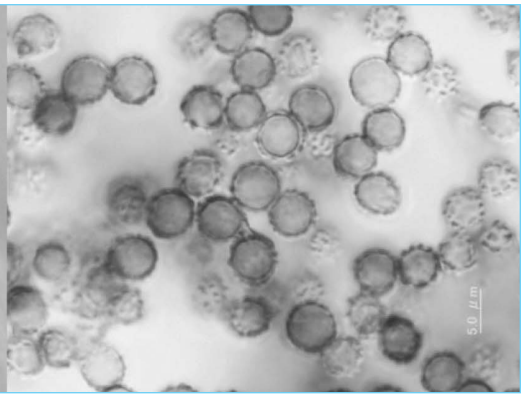
<사진 12> *A. flavus*의 집락



<사진 13> *A. flavus*의 분생자두



<사진 14> *A. flavus*의 aspergilli



<사진 15> *A. flavus*의 분생자

체를 이루면서 공기 중으로 직립하여 신장한 균사의 선단부가 팽대해지고 이 팽대부(정낭, 頂嚢, vesicle)의 표면으로 부터 무성포자 (분생자)를 형성하는 모세포 phialide가 생긴다. 이 모세포로 부터 분생자가 반복 산출되어 연쇄를 이루게 된다(단열성, 単列性, uniseriate). 또한 균종에 따라 정낭의 표면에지지세포(metula)가 생기고 그위에 phialide가 생기게 되며, 이를 이열성(二列性, biseriate)이라고 한다(사진 8-11, 그림 2). 기중균사의 선단부에 대량생성된 분생자의 집단을 분생자두(分生子頭, conidial head)라고 하며 그 형태는 균종 동정의 특징 중 하나가 된다(그림 3).

*A. flavus*의 형태학적특징

통상의 분리배지에서 발육이 양호하며 과립상 혹은 분말상의 평판한 집락을 형성한다. 올리브황색에서 암녹색을 나타낸다(사진 12).

분생자두는 원통형혹은 방사형이며, 올리브황색, 올리브녹색이다(사진 13).

정낭은 구형내지 아구형이며 주로 20~45㎛이다(사진 14).

단열성과 복열성이 혼합되어있고, 분생자는 연녹색의 구형내지 아구형이며, 표면은 미세조면내지 조면이며, 주로 3.0~6.0㎛이다(사진 15).

세계각지의 토양에 분포되어있고, 특히 열대 및 온대 지역, 특히 열대지역의 분포도가 높으며, 각종 곡류 및 가공품, 두류, nut류, 향신료, 생약제 등에서 분리된다. 특히 열대산의 옥수수, 땅콩등과 같은 농산물로 부터 분리율이 높으며, 분리균주의 10~40%가 aflatoxinB_1, B_2를 산생한다.

참고 문헌

1. Klich M. A.&Pitt J. I. 2000.A laboratory guide to Common *Aspergillus* species and their Teleomorphs. North Ryde :Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.

2. Raper K. B. & Fennell, D. I. 1965.The Genus *Aspergillus*. Baltimore : Williams & Wilkins.

3. Samson, R. A. & Gams, W. 1985.Typification of the species of *Aspergillusand* related teleomorphs.In Advances in *Penicilliumand Aspergillus*Systematics. New York : Plenum Press.