pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 5, pp. 407~417 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.5.407

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

새싹삼의 곰팡이 발생과 독소생성능

최장남 · 김소수 · 최정혜 · 백슬기 · 박진주 · 장자영 · 현정은 · 김세리 · 김점순 · 이데레사*
농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물과

Occurrence of Fungal Contamination in Ginseng Sprout and Mycotoxigenic Potential

Jang Nam Choi, So soo Kim, Jung-Hye Choi, Seul Gi Baek, Jin Ju Park, Ja Yeong Jang, Jeong-Eun Hyun, Se-Ri Kim, Jeom-Soon Kim, Theresa Lee*
Microbial Safety Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju, Korea

(Received August 20, 2021/Revised September 24, 2021/Accepted October 8, 2021)

ABSTRACT - In order to investigate frequency of fungal contamination in ginseng sprout, we collected 18 types of retail ginseng sprouts and analyzed them. Overall frequency of fungal contamination ranged from 113.3 to 174.1% with the highest occurrence of *Penicillium* spp. Fungal detection rate was significantly higher in moss than in stem, leaf and root of ginseng sprout. *Penicillium* spp. occurred in leaf and stem with the highest incidence and *Fusarium* spp., in root. Among *Penicillium* spp. and *Fusarium* spp., *P. olsonii* and *F. oxysporum* were dominant, respectively. Nine *Fusarium* species, *Aspergillus westerdijkiae*, *Aspergillus flavus*, and 11 *Penicillium* species were identified by phylogenetic analysis. PCR screening of mycotoxigenic potential revealed that 19 out of 25 isolates tested were positive for respective mycotoxin biosynthetic gene. Two 2 *A. flavus* and 11 *A. westerdijkiae* isolates produced varying amount of aflatoxin or ochratoxin A in czapek yeast extract brothsome of which showed high levels of mycotoxin production. These results suggests a need for continuous monitoring and management program to control fungal contamination in the ginseng sprout production chain.

Key words: Ginseng sprout, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, Mycotoxin

두릅나무과 인삼 속 식물로 알려진 인삼(*Panax ginseng* C. A. Mayer)은 약 2,000 여 년 전부터 동아시아 지역에 대표적인 약용작물로써 사용되어 왔으며[1] 사포닌 성분을 통해 항산화, 항노화, 항피로, 항당뇨를 비롯 심혈관계 질병예방 등 다양한 약리적 효능을 나타내는 우리나라의 대표적인 특용작물이다[2-4]. 그러나 인삼 재배는 다른 작물에 비해 4-6년이라는 비교적 장기간의 재배시간과 노력이 소요되고 다양한 병충해에 노출되는 등의 어려움이 있다[3,5]. 이러한 점을 보완 및 대체하고자 개발된 새싹삼은 1년 정도 인삼묘포에서 재배한 묘삼을 전용 상토 또는 수경재배시설에서 최소 7일부터 최대 2개월까지 단기간 재배하여 수확한다[5]. 새싹삼은 연중 재배가 가능하고 잎부터 뿌리까지 모든 부위를 식용할 수 있을 뿐만 아니라 잎에도 다양한 사포닌을 포함한 유효성분이 함유되어 있어 신선채소로써 소비가 증가하는 추세이다[2,5,6].

그동안 인삼에 대해 농약과 중금속 안전관리 기술들은 지속적으로 개발되었으나 생물학적 위해요소에 관한 연구는 Shim 등[7]의 연구를 제외하면 현재까지 미흡한 실정이다. Shim 등[7]은 시중에 유통중인 인삼 및 인삼 제품들을 대상으로 미생물 오염도를 조사했는데 수삼에서 일반세균 및 대장균군 오염도가 3.19-7.02 log CFU/g, 곰팡이 오염도는 0.72-5.54 log CFU/g로 조사되어 백삼, 홍삼, 홍삼음료 보다 미생물 오염도가 가장 높은 것으로 보고하였다. 새싹삼에서는 Chang 등[6]이 신선채소 형태로의 새싹삼 유통 시 포장용기 및 청이끼 사용에 따른 곰팡이 및 이취 발생 등의 품질저하를 개선하기 위해 적정 포장용 필름 및 가스 사용에 관한 연구를 보고 하였다.

*Correspondence to: Theresa Lee, Microbial Safety Division, Department of Agro-Food Safety & Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3401, Fax: 82-63-238-3840
E.mail: tessyl1@korea.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

안전한 농산물에 대한 소비자의 인식은 농산물의 생산 및 유통과정 중 농약의 위험성보다 생물학적 오염을 더 염려하고 있는 것으로 보고되었다[7]. 이러한 점에서 새싹삼은 주로 생식으로 소비되고 있지만 현재까지 국내 새싹삼 생산 환경에 맞는 위생관리기준이 충분히 마련되어 있지 않기 때문에 무엇보다 미생물학적 위생관리가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 향후 새싹삼의 안전 위생 관리 기술 개발을 위한 기초자료로 활용하기 위해 국내 유통중인 새싹삼의 곰팡이 오염 현황을 조사하였다.

Materials and Methods

Table 1. List of ginseng sprout samples tested in this study

No.	Sample name	Cultivation method
1	GS-02	Microbial farming
2	GS-03	Pesticide-free
3	GS-04	-
4	GS-05	Hydrosponics system, Pesticide-free
5	GS-06	Hydrosponics system
6	GS-07	Pesticide-free
7	GS-08	Pesticide-free
8	GS-09	Pesticide-free
9	GS-11	Pesticide-free
10	GS-12	Hydrosponics system
11	GS-13	Pesticide-free
12	GS-14	Smart farming
13	GS-15	Hydrosponics system
14	GS-16	Chemical fertilizer-free
15	GS-17	Pesticide-free
16	GS-18	Pesticide-free, Chemical fertilizer-free
17	GS-19	Pesticide-free
18	GS-20	Hydrosponics system, Pesticide-free, Chemical fertilizer-free

시료 수집

본 연구에 사용된 새싹삼은 국내 재배 농가 18곳에서 2021년 4월에 구입하였다(Table 1). 각 새싹삼 시료는 1년생 묘삼으로 재배한 새싹삼 30뿌리 이상의 포장 제품이었으며 받은 즉시 실험에 사용하였다.

곰팡이 발생 조사

새싹삼의 곰팡이 조사를 위해 새싹삼을 각각 잎, 줄4기, 뿌리로 구분하여 각각 5×5 mm^2 크기로 절단하였다. 흙이 묻어 있는 뿌리는 흐르는 물에 1분 간 세척한 후 페이퍼타월로 물기를 제거하고 절단하였다. 절단된 각 부위 별 시료들은 감자한천배지(Potato Dextrose agar, PDA)에 무작위로 30 조각씩 치상하였고 이를 25°C에서 5일간 배양한 뒤 각 조각에서 확인된 곰팡이 균총을 계수하였다. 곰팡이발생빈도는 다음과 같이 백분율로 나타내었다 : 곰팡이발생빈도(%) = (발생 곰팡이 균총 수/30 조각) × 100(Fig. 1). 추가적으로 새싹삼 유통 시 관상 및 수분 공급 목적으로 사용되는 이끼는 무작위로 5 시료를 선정하여 새싹삼과 같은 방법으로 치상하고 발생 곰팡이를 조사하였다.

주요 곰팡이 속 균 동정과 계통발생학적 분석

곰팡이의 동정을 위해 균총 색, 형태, 포자의 특징을 실체현미경(DMC2900, Leica Microsystems Co., Wetzlar, Germany)으로 관찰하였으며, *TEF-1α* (Translation elongation fator-1 alpha), *ITS* (Internal Transcribed Spacer)과 *BT* (*β*-tublin) 영역을 증폭하여(C1000 Thermal cycler, Bio-Rad, CA, USA)[8] 마크로젠(Macrogen, Seoul, Korea)에 각 PCR product의 염기서열 분석을 의뢰하였고 NCBI (National center for biotechnology information) BLAST search를 통해 일차 동정하였다.

새싹삼에 발생한 균총 중 주요 독성 곰팡이 그룹의 계통발생학적 분석을 위해 *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. 속의 배양적 특징이 보이는 균주와 독성종 균주를 분리한 후 각 시료와 부위별로 무작위 1점씩

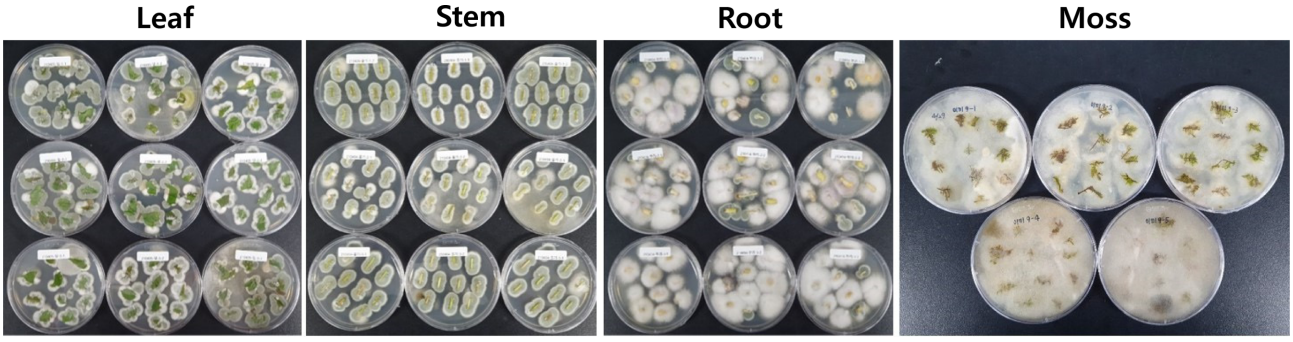

Fig. 1. Fungal colonies grown from the ginseng sprout in PDA plates after cultivation for 5 days at 25°C.

을 각각 대표 균주로 선발하였다. *Fusarium* spp. 균주는 *TEF-1α* (634 bp)와 *RPB2* (RNA polymerase II) (860bp), *Pencillim* spp.과 *Aspergillus* spp.은 *BT* (590 bp)와 *ITS* (700 bp) 두 유전자를 조합하여 유연관계를 분석하고 최종 동정하였다[9,10]. 각 염기서열은 Seqman Pro 15 program (DNASTAR, Inc., Madison, WI, USA)을 이용하여 분석하였고 CLUSTAL W[11]로 정렬하였으며 MEGA v10.0 program[12]을 이용하였다. Bootstrap 분석은 1,000반복으로 수행하였다.

분리 곰팡이의 독소형 확인과 독소 생성능 분석

새싹삼에서 분리한 주요 독성 곰팡이 종을 대상으로 기존에 보고된 방법으로 생성가능 독소형을 조사하였다. Aflatoxin 생성에 관여하는 *norB-cypA* 유전자 증폭을 위해 AP1729/AP3551 primer를 사용하였으며[13], ohcratoxin과 citrinin은 *polyketide* 유전자를 AoLC35-12L/R primer를 사용하여 증폭하였다[14]. Patulin 생성 관여 유전자인 *idh* 유전자는 pexp IDH-F/R primer를 사용하였으며[15] fumonisin 생성의 필수인 *FUM1* 유전자는 rp32/33 primer를 사용하여 확인하였다[16].

독소 생성능 분석은 Aflatoxin과 ochratoxin A 독소형이 확인된 *A. flavus*와 *A. westerdijkiae* 분리균주를 대상으로 하였으며 각 독소 분석을 위한 전처리는 식품공전 시험법[17]을 기준으로 수행하였다. *A. flavus* 균주는 Czapek yeast extract broth (CYB)에 25℃에서 14일 간 진탕배양하였으며 이를 여과한 시료 1 mL에 70% MeOH 12 mL을 넣고 10분 동안 초음파 추출(WUC-D10H, Daihan Scientific. Co., Ltd., Wonju, Korea)하여 3600 rpm으로 10 분간 원심분리(1580MGR, Gyrozen Co., Ltd., Seoul, Korea)하였다. 이 상층액 8 mL에 1% Tween 20 용액을 혼합하여 Aflatoxin 전용 면역친화성컬럼(AflaTest, Vicam, Co., Watertown, MA, USA)에 정제하였다. 이후 물로 세척하고 칼럼 내 용액을 감압펌프로 제거한 후 acetonitrile (ACN) 2 mL로 용출하여 질소로 건조시켰다. 건조 후 잔류물에 trifluoroacetic acid 0.2 mL를 넣고 15 분간 암실 방치 후, 20% ACN 0.8 mL을 넣고 0.2 μm syringe filter (PTFE 13 mm, RDtech. Inc., Quebec, Canada)로 여과한 후 분석에 사용하였다. Ochratoxin A 분석을 위해서는 *A. westerdijkiae* 분리균주의 CYB 배양액 1 mL에 10 mL 추출용매(MeOH : 3% $NaHCO_3$=50 : 50)을 혼합하여 위에 기술한 aflatoxin과 동일하게 10 분간 초음파 추출한 뒤 3600 rpm으로 10 분간 원심분리한 여액 3 mL과 3% $NaHCO_3$ 9 mL을 혼합하였다. 페닐실란 고상추출컬럼(Phenyl silane solid phase extract column) (J.T. Baker Co., Philipsburg, NJ, USA)에 MeOH 10 mL과 3% $NaHCO_3$ 5 mL 주입하여 활성화한 뒤, 정제추출액 10 mL을 주입하고 3% $NaHCO_3$ 10 mL로 컬럼을 세척한 후, 7% MeOH로 용출하였다. 이 용출액에 phosphate buffered salined (PBS) 5 mL을 넣고 ochratoxin A 전용 면역친화성컬럼(OchraTest, Vicam, Co., Watertown, MA, USA)에 주입한 뒤, 0.01% tween 20이 함유된 PBS 5 mL과 증류수를 차례로 주입하여 컬럼 세척 후 여액을 제거하였다. 이후, MeOH 2 mL로 용출한 용액을 질소로 건조시킨 뒤 잔류물에 ACN : 1% acetic acid (50 : 50, v/v) 혼합용액 1 mL을 가하여 녹인 후, 0.2 μm syringe filter로 여과한 용액을 분석에 사용하였다. 분석장비는 ultra performance liquid chromatography (UPLC) (Acquity, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였으며 Table 2의 조건으로 분석을 수행하였다.

Table 2. UPLC analysis conditions used in this study

Parameters		Analysis conditions
Instrument		WATERS ACQUITY UPLC® H Class
Column		WATERS ACQUTIY UPLC® BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm)
Column temperature		40°C
Flow rate		0.2 mL/min
Run time		10 min
Injection volume		10 μL
Mobile phase	(Aflatoxin)	Water : Acetonitrile : MeOH = 65 : 15 : 20
	(Ochratoxin A)	Acetonitrile : 1% Acetic acid in water = 50 : 50
Fluorescence detector	(Aflatoxin)	Ex 360 nm, Em 440 nm
	(Ochratoxin A)	Ex 330 nm, Em 460 nm

통계 분석

모든 실험은 3반복으로 수행하였으며 실험 결과는 SAS (ver. 9.0, SAS Institute INC., Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하여 5% 유의수준에서 Duncan's multiple range test로 비교 분석을 실시하였다.

Results and Discussion

새싹삼의 곰팡이 발생

새싹삼 전체 시료에서 곰팡이는 평균 113.3-174.1%로 100% 이상의 높은 빈도로 발생하였다(Table 3). 우점 곰팡이속은 *Penicillium* spp. > *Fusarium* spp. > *Cladosporium* spp. > *Alternaeria* spp. > *Aspergillus* spp. 순이었으며 18개의 시료 중 16개에서 *Penicillium* spp.의 발생빈도가 가장 높았다. 총균수나 *Penicillium* spp.의 발생 빈도는 각

Table 3. Fungal frequency in ginseng sprout sample

Sample	Fungal frequency (%)[1)]					
	Total fungi	*Alternaria* spp.	*Cladosporium* spp.	*Fusarium* spp.	*Penicillium* spp.	*Aspergillus* spp.
GS-02	174.1±25.4[a]	0	5.2±7.7[e]	1.5±2.8[f]	85.6±11.1[a]	0
GS-03	125.6±29.7[e]	0	1.1±3.3[g]	12.6±16.1[d]	63.7±5.2[c]	4.4±8.8[a]
GS-04	128.9±18.3[e]	0	0	13.7±5.3[d]	81.1±7.8[a]	2.6±5.5[b]
GS-05	170.7±30.0[a]	0.4±1.1[e]	0.7±2.2[h]	2.6±3.2[f]	62.2±12.2[c]	0.4±1.1[a]
GS-06	148.5±21.9[c]	1.5±2.4[d]	3.0±4.3[f]	15.9±13.1[c]	73.0±10.1[b]	2.2±2.4[bc]
GS-07	132.2±21.5[de]	0	3.3±5.4[f]	17.4±8.5[c]	29.3±22.2[f]	2.6±6.1[b]
GS-08	152.6±19.5[c]	8.9±9.3[a]	35.2±10.5[b]	12.2±7.4[d]	10.4±10.4[g]	0.7±2.2[d]
GS-09	113.3±15.7[f]	1.1±2.4[d]	0.4±1.1[h]	6.7±5.3[e]	22.2±16.2[f]	0
GS-11	135.6±26.3[d]	0	1.1±3.3[g]	2.6±5.6[f]	62.6±14.0[c]	0
GS-12	171.5±29.6[a]	1.9±3.9[c]	20.7±9.4[c]	6.3±8.8[e]	25.6±11.1[f]	0.4±1.1[d]
GS-13	160.7±28.0[b]	6.7±7.9[b]	22.2±14.6[c]	7.4±7.6[e]	51.5±8.4[d]	0
GS-14	125.9±17.0[e]	0	5.9±6.4[e]	24.4±10.1[b]	75.9±15.3[b]	0
GS-15	140.0±32.7[d]	0.7±1.5[e]	21.1±10.7[c]	24.1±17.7[b]	41.1±13.1[e]	0
GS-16	126.7±17.6[e]	0.7±1.5[e]	3.0±4.8[f]	33.0±13.7[a]	71.5±6.9[b]	1.9±3.8[c]
GS-17	126.3±27.8[e]	0	5.6±8.1[e]	6.3±9.1[e]	18.1±23.4[g]	0
GS-18	134.4±23.9[d]	0	2.6±5.6[f]	23.3±14.9[b]	61.5±6.4[c]	0.7±2.2[d]
GS-19	122.8±24.2[e]	2.2±5.7[c]	48.3±7.3[a]	14.4±12.6[cd]	1.9±3.8[h]	0
GS-20	161.5±31.7[b]	1.5±3.7[d]	15.2±8.5[d]	12.2±11.0[d]	49.7±17.0[de]	0
Mean±SD	141.7±24.5	1.4±2.2	10.8±6.3	13.1±9.60	49.7±11.94	0.9±1.85

[1)]Fungal frequency (mean±standard deviation) was presented as a sum of respective fungal colonies from part of ginseng sprout including leaf, stem and root. Each sample held 30 random cuts of ginseng sprout part. The numbers followed with same letter in a column did not significantly differ according to Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

Table 4. Fungal frequency in different parts of ginseng sprout and moss

Part	Fungal frequency (%)[1)]					
	Total fungi	*Alternaria* spp.	*Cladosporium* spp.	*Fusarium* spp.	*Penicillium* spp.	*Aspergillus* spp.
Leaf	143.8±10.3[b]	1.2±3.4[c]	20.7±7.1[a]	2.9±3.4[d]	72.9±13.6[a]	1.2±3.6[b]
Stem	149.3±10.1[b]	2.5±5.4[a]	10.9±5.2[b']	6.2±5.3[c]	61.7±8.2[ab]	0.7±3.3[c]
Root	132.1±7.5[c]	0.6±2.5[d]	0.9±2.3[c]	30.3±9.0[a]	14.6±9.1[c]	0.7±3.7[c]
Moss	187.3±5.8[a]	2.0±4.0[b]	0	20.0±7.5[b]	34.7±9.2[b]	25.3±8.8[a]

[1)]Fungal frequency (mean±standard deviation) was presented as mean of respective fungal colonies of each sample. The numbers followed with same letter in a column did not significantly differ according to Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

시료의 지역 또는 재배방법과 연관성을 보이지 않았다.

새싹삼을 부위 별로 구분하였을 때 총곰팡이 균수는 줄기 > 잎 > 뿌리 순으로 높게 나타났다(Table 4). 잎과 줄기에서는 *Penicillium* spp. 발생빈도가 각각 평균 72.9%, 61.7%로 다른 곰팡이 그룹(<20.7%)에 비해 월등히 높았다. 반면, 뿌리에서는 *Fusarium* spp.이 30.3%로 가장 높았으며 *Penicillium* spp.의 발생빈도는 14.6%로 잎과 줄기와는 다른 양상을 보였다. 이끼에서는 총균수가 잎과 줄기, 뿌리의 총곰팡이 균수보다 유의하게 높았고 *Penicillium* spp. (34.7%) > *Aspergillus* spp. (25.3%) > *Fusarium* spp. (20.0%)의 순으로 발생하였으며 *Aspergillus* spp.은 새싹삼보다 높은 발생빈도를 보였다. 잎, 줄기, 이끼에서는 *Penicillium olsonii*가 각각 30.0%, 28.3%, 20.0% 비율로 우점했으며 뿌리에서는 *F. oxysporum* (61.5%)이, 이끼에서는 *A. aculeatus* (26.7%)가 가장 많이 발생하였다(Fig. 2). *A. aculeatus*는 포도의 초기 성숙단계에서 분리된 균주가 ochratoxin A를 생성하였음이 보고되었다[18)].

Penicillium spp.의 경우, 일반적으로 토양, 공기, 각종

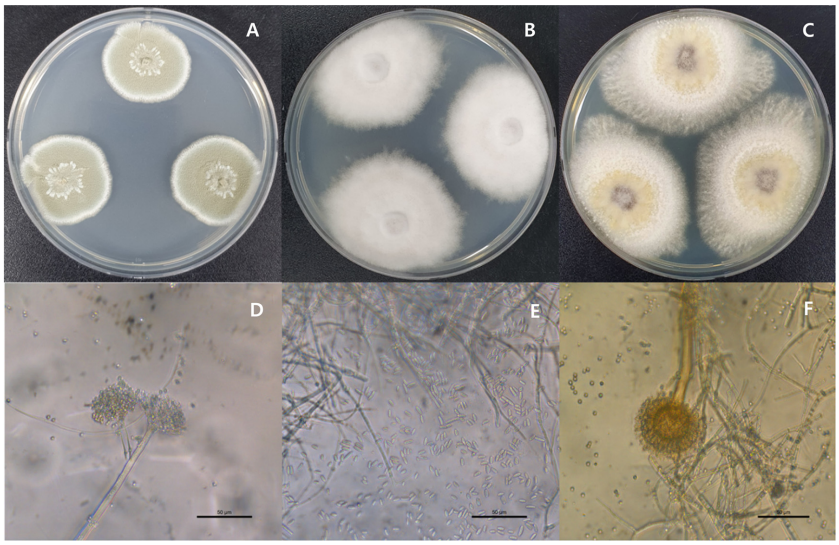

Fig. 2. Cultural (upper) and microscopic (lower) features of major fungal species isolated from the ginseng sprout after cultivation at 25°C for 7 days on PDA. A and D: *Penicillium olsonii*, branched conidiophores. B and E: *Fusarium oxysporum*, microconidia, C and F: *Aspergillus aculeatus*, conidial head (Magnification 400× by Leica DFC450C microscope and scale bar = 50 μm).

유기물 속에 다양하게 존재하는데[19] 새싹삼의 잎과 줄기에 주요 우점 곰팡이로 확인된 *P. olsonii*의 경우, 국내에서는 토양에서 분리된 보고가 있었고[20], 국외에서는 토마토 과실썩음병의 원인균으로 보고되기도 하였다[21,22]. 이 곰팡이는 다수의 포자를 생성하는 곰팡이의 특성 상 온실 재배 시 공기중으로 전파가 용이한 것으로 알려져 있다[23]. 따라서, 연중 재배되는 새싹삼에서 이 곰팡이가 만연될 시 새싹삼 지상부에 다수 오염 가능성이 있다고 보여지므로 추가적인 오염 경로를 규명할 필요가 있을 것으로 사료된다. 새싹삼 유통에 주로 사용되는 이끼에서의 곰팡이 총곰팡이 균수가 새싹삼보다 높았는데 이는 이끼의 위생관리가 필요함을 보여준다. 또한, 새싹삼의 우점종인 *P. olsonii*가 이끼에서 유래하는 것인지도 추가 연구가 필요하다.

한편, 새싹삼의 뿌리에서 우점 곰팡이로 확인된 *F. oxysporum*은 대표적인 토양 전염성 곰팡이 중 하나로 시설재배 시 관리 소홀 및 불량 환경 조건, 연작재배 등 발생 원인이 다양하고 기주범위가 매우 넓은 것으로 알려져 있다[23,24]. 또한, 인삼의 묘삼 생산 시에도 모잘록병, 뿌리썩음 등이 보고되었는데[25] 외부로부터 묘삼 수급을 통한 새싹삼의 재배 환경을 고려해볼 때 묘삼의 수급 과정에서 위생관리 검토가 필요한 것으로 보인다.

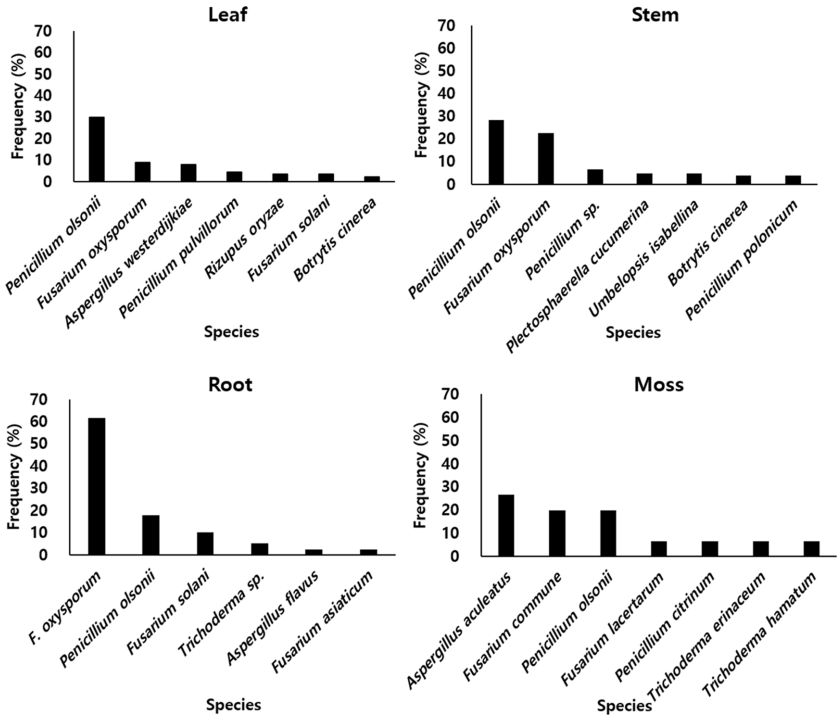

Fig. 3. Frequency of fungal species contamination in leaf, stem, root of ginseng sprout and moss.

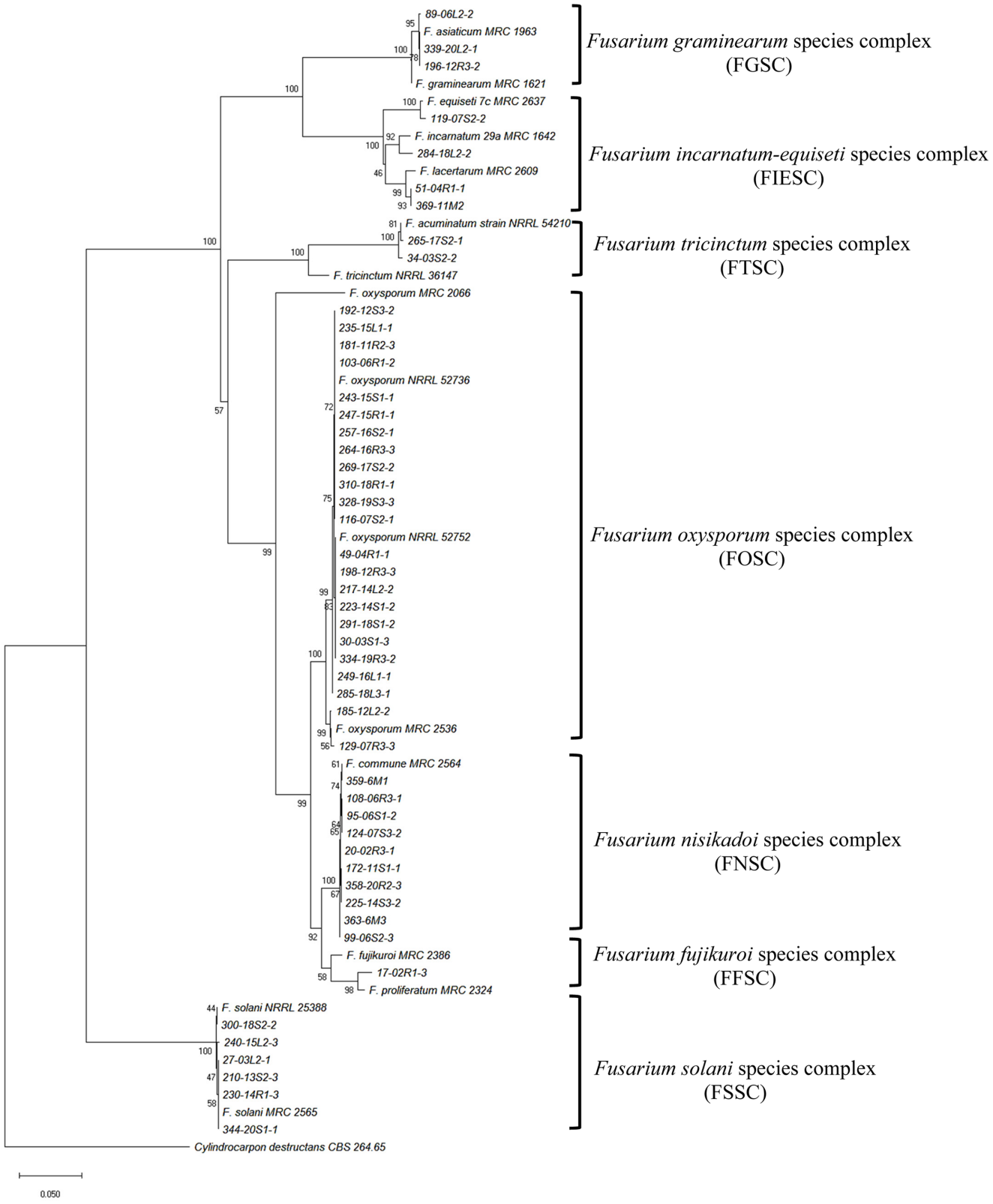

Fig. 4. Neighbor joinging tree of *Fusarium* isolates from ginseng sprout. It was constructed by using combined sequences of TEF-1α and RPB2 gene (1360 bp) and the bootstrap values based on 1,000 replications. *Cylindrocarpon destructans* CBS 264.65 was used as an outgroup.

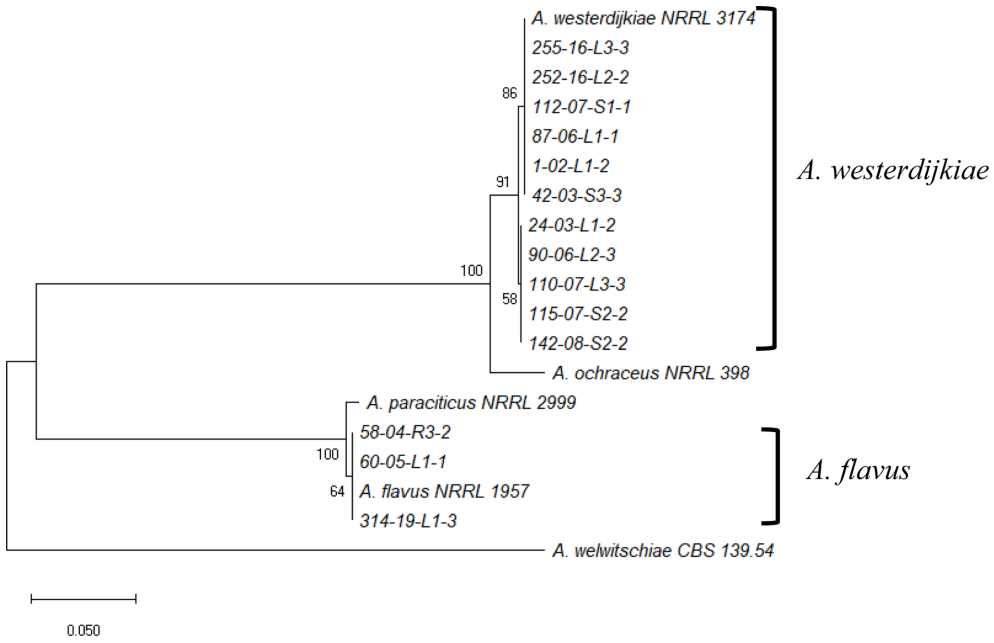

Fig. 5. Neighbor joinging tree of *Aspergillus* isolates from ginseng sprout. It was constructed by using combined sequences of β-tublin and ITS gene (560 bp) and the bootstrap values based on 1,000 replications. *A. welwitschiae* CBS 139.54 was used an outgroup.

주요 우점 곰팡이의 계통발생학적 분석

새싹삼 시료에서 분리한 총 345개 곰팡이 균주 중 대표적인 독성 곰팡이 속(genus)에 속하는 *Fusarium* spp. 49 균주, *Penicillium* spp. 39 균주, *Aspergillus* spp. 14 균주를 대표 균주로 선발하여 각 그룹 내 유연관계를 분석하였다. 7개의 *Fusarium* 종 복합체에 속하는 *Fusarium* 균주들은 모두 9개, *Aspergillus*는 2개, *Pencillium*은 11개 종이 동정 되었다. 이 중, 우점종인 *F. oxysporum*, *A. westerdijkiae*, *P. olsonii* 균주들은 종 내에서 대부분 각각 2개의 subgroup으로 구분되었으나 각 subgroup은 새싹삼의 부위, 수집 지역, 농가 별 재배 방법에 따른 연관성은 보이지 않았다(Fig. 4-6).

분리 곰팡이의 독소형과 독소생성능

새싹삼에서 분리된 균주 중 곰팡이독소를 생성하는 것으로 알려진 종(*A. flavus, A. niger, A. westerdijkiae, F. asiaticum, P. chrysogenum, P. citrinum, P. expansum*)에 속하는 균주는 총 25점이었으며 이들 균주를 대상으로 aflatoxin, ohcratoxin A, citrinin, patulin, nivalenol, fumonisin 독소의 생성가능성을 조사하였다(Table 5). *A. flavus*의 경우, 분리한 3점 균주 모두 aflatoxin 독소형으로, *A. westerdijkiae*는 총 11점 균주 모두 ochratoxin A 독소형으로 확인되었다. *F. asiaticum*은 4점 모두 nivalenol 독소형으로 확인되었고 *P. expansum*은 2 균주 중 1점이 patulin 독소형인 것으로 확인되었다. *A. niger*, *P.*

Table 5. Mycotoxigenic potential of fungal isolates from ginseng sprout

Species	Number of isolate	Mycotoxin					Fumonisin
		Aflatoxin	OchratoxinA	Citrinin	Patulin	Nivalenol	
Aspergillus flavus	3	3/3[1)]	-	-	-	-	-
A. niger	1	-	0/1	-	-	-	0/1
A. westerdijkiae	11	-	11/11	-	-	-	-
Fusarium asiaticum	4	-	-	-	-	4/4	
Penicillium chrysogenum	2	-	-	0/2	-	-	-
P. citrinum	1	-	0/1	0/1	-	-	-
P. expansum	2	-	-	0/2	1/2	-	-
Total	25						

[1)]Number of positive/tested isolate.

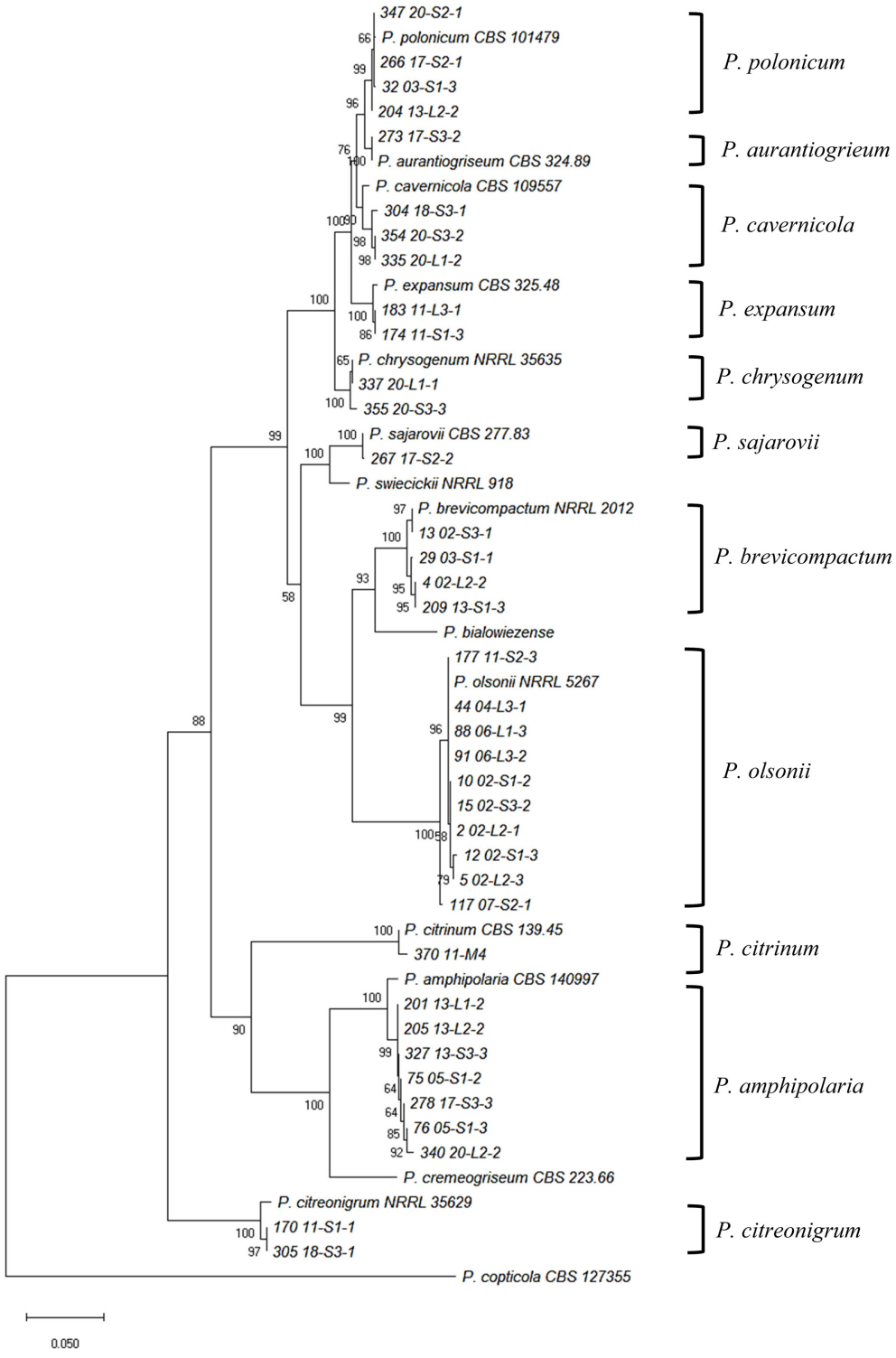

Fig. 6. Neighbor joinging tree of *Penicillium* isolates from ginseng sprout. It was constructed by using combined sequences of β-tublin and ITS gene (900 bp) and the bootstrap values based on 1,000 replications. *P. copticola* CBS 127355 was used as an outgroup.

*chrysogenum*과 *P. citrium*은 모두 독소 유전자가 검출되지 않았다. 독성곰팡이의 독소형이 확인된 균주는 총 25균주 중 19 균주로 이는 새싹삼에서 분리한 전체 분리균주의 약 5.5%가 곰팡이독소 생성능이 있음을 보여준다. 이들 균주들은 주로 잎과 줄기에서 분리되었다.

한편, *A. flavus* 균주 3점의 aflatoxin 독소생성능을 분

Table 6. Aflatoxin and ochratoxin A production by *Aspergillus flavus* and *A. westerdikijae* isolates from ginseng sprout

Species	Isolate	Mycotoxin (μg/kg)[1)]		
		AFB1	AFB2	OTA
A. flavus	GS-05-L1-1	9,105.7±1240.4[2)]	33.7±8.66	-
	GS-19-L1-3	2.9±0.9	ND	-
A. westerdijkiae	GS-01-L1-2	-	-	890.0±1,532.2
	GS-03-L1-2	-	-	436.9±715.9
	GS-03-S3-3	-	-	354.1±425.1
	GS-06-L1-1	-	-	2,080.7±1,626.2
	GS-06-L2-3	-	-	1.8±3.1
	GS-07-L3-3	-	-	53.4±65.3
	GS-07-S1-1	-	-	25.3±27.5
	GS-07-S2-1	-	-	352.2±287.2
	GS-08-S2-2	-	-	1.8±1.7
	GS-16-L2-2	-	-	2,500.1±1,729.5
	GS-19-L3-3	-	-	54.2±23.2

[1)]AFB1, aflatoxin B_1; AFB2, aflatoxin B_2; OTA, Ochratoxin A; -, not tested; ND, not detected.
[2)]Each isolate was cultivated in czapek yeast extract broth medium for 14 days. The amount of mycotoxin was averaged from 3 replicates.

석한 결과, 3점 중 2점이 aflatoxin B_1 (AFB1)과 aflatoxin B_2 (AFB2)를 생성하였으며 aflatoxin G_1 (AFG1)과 aflatoxin G_2 (AFG2)는 검출되지 않았다. 이 중 GS-05-L1-1 균주는 9,105.7 μg/kg의 AFB1을 생성하였다. *A. westerdijkiae*는 11점 균주 모두 1.8-2,500.1 μg/kg 범위의 ochratoxin A를 생성하였으며 특히, GS-06-6L-1과 GS-16-L2-2 균주는 2,000 μg/kg 이상을 생성하였다(Table 6). Wang 등[28)]은 *A. flavus* 균주의 총 aflatoxin 생성량이 12-5,120,000 μg/kg이었음을 보고하였고 Okoth 등[29)]도 16-80,664 μg/kg 범위의 다양한 aflatoxin 독소 생성을 보고하였다. Abarca 등[30)]은 식품에서 분리한 ochratoxin A 생성 곰팡이의 배지 별 독소 생성능 연구에서 *A. westerdijkiae*가 CYB에서 0.4-12.9 *μ*g/kg 범위의 ochratoxin A를 생성하였음을 보고하였다. 이들의 연구와 비교했을 때, 새싹삼에서 분리된 일부 균주가 높은 수준의 aflatoxin또는 ochratoxin A 독소생성능을 보유하고 있음을 알 수 있다. 곰팡이독소는 매우 적은 양으로도 인축에 큰 피해를 주며 특히, 농산물에서 문제가 되고 있는 곰팡이독소들은 *Fusarium*, *Aspergillus, Penicillium* spp.의 곰팡이들이 주로 분비한다[26,27)]. 본 연구는 이들 독성 균주들이 새싹삼에도 존재하며 환경에 따라 독소생성능이 다를 수 있음을 최초로 규명하였다. 향후, 새싹삼 생산에 있어 곰팡이 발생과 곰팡이독소 오염에 대한 지속적인 모니터링과 관리 방안이 마련되어야 할 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 2021년 농촌진흥청 국립농업과학원 전문연구원 과정 지원사업(과제번호: PJ01579003)에 의해 이루어진 것임.

국문요약

새싹삼의 곰팡이 발생을 조사하기 위해 18점의 유통중인 새싹삼을 수집하여 곰팡이 발생빈도를 분석하였다. 전체 시료의 총 곰팡이 발생빈도는 평균 113.3-174.1%였고 *Penicillium* spp.의 발생빈도가 가장 높았다. 곰팡이 발생빈도는 이끼가 잎, 줄기, 뿌리보다 유의하게 높았다. 잎과 줄기에서는 *Penicillium* spp.이, 뿌리에서는 *Fusarium* spp.의 발생이 높았으며 각각의 우점종은 *P. olsonii*와 *F. oxysporum*으로 동정되었다. 계통발생학적 분석을 통해 *Fusarium* spp.은 총 9개 종, *Aspergillus* spp.은 *A. westerdijkiae*와 *A. favus*, *Penicillium* spp.은 총 11개 종이 동정되었다. 곰팡이독소 생성 종으로 알려진 25균주의 독소형을 PCR로 검정한 결과 19점의 균주에서 각 독소형이 확인되었다. 이 중 *A. flavus* 2점과 *A. westerdijkiae* 11점이 aflatoxin과 ochratoxin A을 각각 생성하였고 일부 균주는 높은 독소생성능을 보였다. 이 결과는 새싹삼 생산에 있어 곰팡이 발생에 대한 지속적인 모니터링 및 관리방안이 필요함을 시사하였다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jang Nam Choi	https://orcid.org/0000000277192720
So Soo Kim	https://orcid.org/0000000203287831
Jung-Hye Choi	https://orcid.org/0000000180628436
Seul Gi Baek	https://orcid.org/0000000235103881
Jin Ju Park	https://orcid.org/0000000255614902
Ja Yeong Jang	https://orcid.org/0000000217196535
Jeong-Eun Hyun	https://orcid.org/0000000168578317
Se-Ri Kim	https://orcid.org/0000000187592333
Jeom-Soon Kim	https://orcid.org/0000000180628436
Theresa Lee	https://orcid.org/000000028230650X

References

1. Jang, I.B., Yu, J., Suh, S.J., Jang, I.B., Kwon, K.B., Growth and ginsenoside content in different parts of ginseng sprouts depending on harvest time. *Korean J. Medicinal Crop Sci*., **26**, 205-213 (2018).
2. Pyo, M.J., Cho, A.R., Kang, M. J., Kim, G.W., Shin, J.H., Physicochemical characteristics and ginsenoside content of Korean traditional wine produced by fermentation of *Panax ginseng* sprouts. *Korean J. Food Preserv*., **25**, 659-667 (2018).
3. Cho, A.R., Pyo, M.J., Kang, M.J., Shin, J.H., Evaluation of phytochemical contents and physiological activity in *Panax ginseng* sprout during low-temperature aging. *Korean J. Food Preserv.* **26**, 38-48 (2019).
4. Seong, B.J., Kim, S.I., Jee, M.G., Lee, H.C., Kwon, A.R., Kim, H.H., Won, J.Y., Lee, K.S., Changes in growth, active ingredients, and rheological properties of greenhouse-cultivated ginseng sprout during its growth period. *Korean J. Medicinal Crop Sci*., **27**, 126-135 (2019).
5. Lee, D.U., Ku, H.B., Lee, Y.J., Kim, G.N., Lee, S.C., Antioxidant and antimelanogenic activities of *Panax ginseng* sprout extract. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr*., **48**, 699-703 (2019).
6. Chang, E.H., Lee, J.H., Choi, J.W., Shin, I.S., Hong, Y.P., Effects of film packaging and gas composition on the distribution and quality of ginseng sprouts. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **28**, 152-166 (2020).
7. Shim, W.B., Kim, J.S., Kim, S.R., Park, K.H., Chung, D.H., Microbial contamination levels of ginseng and ginseng products distributed in Korean markets. *J. Food Hyg. Saf*. **28**, 319-323 (2013).
8. Lee, T., Kim, S.S., Busman, M., Proctor, R.H., Ham, H.H., Lee, S.H., Hong, S.K., Ryu, J.G., Rapid detection method for fusaric acid-producing species of *Fusarium* by PCR. *Res. Plant Dis.,* **21**, 326-329 (2015).
9. White, T.J., Bruns, T., Lee S., Taylor, J., Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, *Academic Press*, 315-322 (1990).
10. Glass, N.L., Donaldson, G.C., Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.,* **61**, 1323-1330 (1995).
11. Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., The CLUSTAL X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*., **25**, 4876-4882 (1997).
12. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol*., **35**, 1547–1549 (2018).
13. Ehrlich, K.C., Chang, P.K., Yu, J., Cotty, P.J., Aflatoxin biosynthesis cluster gene *cypA* is required for G aflatoxin formation. *Appl. Environ. Microbiol*., **70**, 6518–6524 (2004).
14. Dao, H.P., Mathieu, F., Lebrihi, A., Two primer pairs to detect OTA producers by PCR method. *Int. J. Food Microbiol*., **104**, 61–67 (2005).
15. Dombrink-Kurtzman, M.A., McGovern, A.E., Species-specific identification of *Penicillium* linked to patulin contamination. *J. Food Prot*., **70**, 2646–2650 (2007).
16. Proctor, R.H., Plattner, R.D., Brown, D.W., Seo, J.A., Lee, Y.W., Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the *Gibberella fujikur*oi species complex. *Mycol. Res*., **108**, 815-822 (2004).
17. Ministry of Food and Drug Safty, 2019, Korea food code (Test methods). Korea, pp. 1748-1767.
18. Serra, R., Mendonca, C., Venancio, A., Ochratoxin A occurrence and formation in Portuguese wine grapes at various stages of maturation. *Int. J. Food Mycobiol.,* **111**, S35-S39 (2006).
19. Kwon, J.H., Kang, S.W., Kim, J.S., Park, C.S., Blue mold on melon (*Cucumis melo*) caused by *Penicillium oxalicum*. *Res. Plant Dis*., **8**, 220-223 (2002).
20. Kang, H.J., Park, T.W., Lim, Y.T., Biodegradable aliphatic polyester (II): Evaluation of biodegradability of copolyesterethylene. *Polymer*, **20**, 960-970 (1996).
21. Anjum, N., Shahid, A.A., Iftikhar, S., Nawas, K., Haider, M.S., First report of postharvest fruit rot of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) caused by *Pencillium olsonii* in Pakistan. *Plant Dis*., **102**, 451 (2018).
22. Chartterton, S., Yylie, A.C., Punja, Z.K., Fruit infection and postharvest decay of greenhouse tomatoes caused by *Penicillium* species in British Columbia. *Can. J. Plant Pathol.,* **34**, 524-535 (2012).
23. Kim, H.H., Jeon, H.Y., Yang, C.Y., Kang T.J., Han, Y.K., Transmission of *Fusarium oxysporum* by the fungus gnat, *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae). *Res. Plant Dis*., **15**, 262-265 (2009).
24. Park, M.J., Back, C.G., Seo, Y.H., Park, J.H., First report of *Fusarium oxysporum* causing damping-off on paprika in Korea. *Res. Plant dis*., **25**, 94-97 (2019).
25. Park, H.W., Song, J.H., Kwon, K.B., Lee, U.H., Son, H.J., Growth characteristics of ginseng seedling transplanting by self soil nusery, nursery or hydroponic culture on main field. *Korean J. Medicinal Crop Sci*., **25**, 238-243 (2017).

26. Ham, H.H., Baek, J.S., Lee, M.J., Lee, T., Hong, S.K., Lee, S.D., Change of fungi and mycotoxin in hulled barley under different conditions and period. *Korean J. Food Preserv.*, **24**, 857-864 (2017).
27. Yang, Y.S., Lee, H.H., Kim, A.G., Ryu, K.Y., Choi, S.Y., Seo, D.R., Seo, K.W., Cho, B.S., Survey of mycotoxin contamination in grains and grain products. *J. Food Hyg. Saf.*, **34**, 205-211 (2019).
28. Wang, Z.G., Tong, Z., Cheng, S.Y., Cong, L.M., Study on pectinase and sclerotium producing abilities of two kinds of *Aspergillus flavus* isolates from Zhejiang. *Mycopathologia*, **121**, 163-168 (1993).
29. Okoth, S.A., Nyongesa, B., Joutsjoki, V., Korhonen, H., Ayugi, V., Kang'ethe, E.K., Sclerotia formation and toxin production in large sclerotial *Aspergillus flavus* isolates from Kenya. *Adv. Mycrobiol.*, **6**, 47-56 (2016).
30. Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Cabanes, F.J., A new in vitro method to detect growth and ochratoxin A-producing ability of multiple fungal species commonly found in food commodities. *Food Microbiol.*, **44**, 243-248 (2014).