사료용 볏짚 곤포사일리지의 곰팡이 및 Mycotoxin 오염 연구

성하균¹ · 이종경² · 서 성³Studies on Fungal Contamination and Mycotoxins of Rice
Straw Round Bale SilageHa Guyn Sung¹, Joung Kyong Lee² and Sung Seo³

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate fungi and mycotoxin contamination of the rice straw bale silage in Korean. It was tested the 33 samples of rice straw round bale silage with various condition which fed cattle in the farm. The level of fungal contamination was 2.1×10^6 cfu g⁻¹ in the average and 9.2×10^8 cfu g⁻¹ in the maximum. The fungal contamination was detected in the all of normal samples which good condition of rice straw bale silage. When the fungi was isolate and identify, it was found 28 species and mycotoxin producing fungi were 8 species as following as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium carneum*, *Penicillium paneum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium viridicatum*. Specially, *Penicillium paneum* was found 42% of samples and *Aspergillus* sp. (*A. flavus*, *A. fumigatus*) are 21% of samples. In case of mycotoxin contamination, the 42% of samples are detected more than one kind of mycotoxin. Some samples are contaminated three kinds of mycotoxin. This study was not found aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂) and fumonisin (B₁, B₂), but were detected the contamination of ochratoxin A (1.0~5.8 ug/kg), deoxynivalenol (DON, 156.0~776.7 ug/kg) and zearalenone (ZON, 38.0~750.0 ug/kg). Therefore, the above results show that rice straw round bale silage expose on hazard factors as mycotoxigenic fungi and mycotoxin contamination, and than need more research about mycotoxin in animal feed to protect animal and human healthy.

(Key words : Fungi, Mycotoxin, Rice straw, Bale silage, Forage)

I. 서 론

사료용 볏짚은 대부분 곤포사일리지 형태로 제조 및 저장되어 가축에게 급여되며, 저장기간 동안 수확한 볏짚, 환경과 미생물 사이의 복잡한 관계 속에 품질에 영향을 미친다. 그리고 저장기간 동안 영상온도에서 공기와 수분이 존재하는 자연생태환경은 조사료에 *Aspergillus*

sp.를 비롯한 여러 종류의 곰팡이 오염과 성장을 일으킨다(성 등, 2010; Smith와 Lynch, 1973; Cole 등, 1977; Sebungwa와 Yourtee, 1990; Nelson, 1993).

곰팡이에 오염된 볏짚 사일리지 같은 조사료는 기호성이 떨어지고 섭취량도 감소되며, 심한 오염은 영양적으로도 큰 손실이 발생한다. 따라서 축우는 영양소 섭취량 감소로 증체량

¹(주)에드바이오텍 (ADBIOTECH Co. LTD, #857-4, Toegye-dong, Chuncheon, Gangwon-do, 200-944, Korea)

²농업기술실용화재단 (The Foundation of AG, Tech. Commercialization and Transfer, Seodun-dong, Suwon, 441-857, Korea)

³농촌진흥청 국립축산과학원 (National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-801, Korea)

Corresponding author : Sung Seo, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-801, Korea. Tel. +82-41-580-6750, Fax +82-41-580-6779, E-mail: seos9657@korea.kr

및 산유량 저하가 수반되며, mycotoxin (곰팡이 독소)이 발견되지 않는 상태에서도 곰팡이가 오염된 사료급여는 5~10%의 생산성 저하를 일으킨다 (Schatzmayr, 2005). 이외에도 곰팡이 오염사료의 급여는 유산, 발육부진 및 호흡성 질환을 증가시킨다.

곰팡이는 자연환경 속에서 자신들의 생존 경쟁력을 증가시키기 위해 다양한 이차대사산물을 분비하고, 이들 중 많은 대사산물이 항곰팡이성 및 항균성 활성을 갖는다. 특히, mycotoxin은 곰팡이가 성장하면서 생성한 2차 대사산물로 극소량만으로도 동물, 사람뿐만 아니라 식물에게도 독성을 나타내는 물질이다 (Undi와 Wittenberg, 1996; Santin, 2005). 수종의 곰팡이가 작물이 성장, 수확 및 저장기간 동안 수천 가지 곰팡이 독소를 생성하지만 400여종의 mycotoxin만이 화학적으로 확인되었으며, 생물학적 및 수의학적 영향은 단지 수종에 한하여 밝혀졌다 (Kore, 1996). 반추동물을 비롯한 단위 가축에게 영양 및 생리대사적 악영향으로 생산성 저감을 일으키는 대표적 mycotoxin으로는 aflatoxins, zearalenone, deoxynivalenol, T-2, fumonisins, ochratoxin, patulin 등이 있으며, 이들 mycotoxin을 생성하는 주요 곰팡이로는 *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. 등이 있다 (Coulombe, 1993; D'mello와 Macdonald, 1997; Scudamore와 Livesey, 1998; Santi 등, 2009).

이제 우리 한육우 및 낙농업도 양질의 조사료 공급을 위해 곰팡이 발생 및 mycotoxin 오염으로 인한 심각한 피해를 인식하여야 한다. 그러나 주요 조사료인 국내 사료용 곤포사일리지의 오염된 곰팡이와 mycotoxin에 관한 연구는 성 등 (2009)이 국내 사료용 벼짚에 오염된 곰팡이의 유전적 분석을 통해 분리한 수종의 곰팡이 중에 *Fusarium* sp.와 *Pencillium* sp.과 같은 mycotoxin을 분비하는 유해성 곰팡이의 발견관련 보고가 있고, 또한 이른 봄에 수집한 정상적 벼짚에서는 mycotoxin이 발견되지 않았

지만 4.6×10^6 cfu/g 이상 곰팡이가 오염되어 있었고, *Penicillium roqueforti* 및 *Fusarium culmorum*과 같은 mycotoxin 생성 곰팡이가 오염되어 있음을 보고한 것에 (Sung 등, 2009) 불과하다.

따라서 본 연구는 국내 조사료의 오염 곰팡이 및 곰팡이 독소에 대한 실태를 파악하고 기초 연구 자료를 제공하고자 하였으며, 국내 생산되어 농가에서 실제로 급여되고 있는 사료용 벼짚 곤포사일리지의 곰팡이 오염도 및 곰팡이 종류를 조사하고 mycotoxin 노출 유해성을 구명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 벼짚 곤포사일리지의 시료채취 및 준비

벼짚 곤포사일리지의 곰팡이 및 mycotoxin 오염을 조사하기 위하여 중부지방 소재 농가에서 시료를 채취하였다. 시료채취는 벼짚 곤포사일리지를 급여 또는 사용하기 위하여 펼쳐놓은 상태에서 곰팡이 발생이 육안 식별이 안 되는 것부터 오염이 심한 것까지 다양한 상태의 33개 벼짚 곤포사일리지로부터 시료를 수거 사용하였다. 그리고 각 목적에 맞게 분석하기 위하여 멸균된 커터기를 이용 1cm 길이로 세절하고 4℃에 냉장 보관하여 사용하였다.

2. 곰팡이 오염도 분석

벼짚 곤포사일리지의 곰팡이 오염도 분석을 위하여 세절된 시료를 190 ml의 0.85% 식염수가 들어 있는 500 ml 삼각플라스크에 10 g을 넣고 250 rpm에서 10분간 흔들어 곰팡이 포자들이 식염수에 부유하도록 하였다. 그리고 삼각플라스크 상등액을 채취하여 $10^2 \sim 10^6$ 이 되도록 멸균 식염수에 희석하고 곰팡이 선별배지 (MEA와 PDA)로 만든 agar plate에 도말하여 25℃에서 2~5일 동안 배양하며 매일 형성된 단일 콜로니를 관찰 및 계수하여 기록하였다.

그리고 곰팡이 오염도는 계수가 가능한 최대 단일 콜로니가 형성된 시기의 측정치로 평가하였다.

3. 오염 곰팡이 분리 및 동정

벼짚 곤포사일리지의 오염 곰팡이 종류는 곰팡이 오염도 측정을 위해 배양 중인 agar plate를 매일 관찰하는 중에 morphology가 상이한 콜로니를 분리하여 단독 배양을 실시하였다. 그리고 순수 배양을 위하여 3번 이상 계대배양을 실시하여 순수한 single colony를 분리하였다.

순수 배양된 single colony는 분자생물학적 특성에 의해 동정되었다. 즉, 순수배양된 콜로니로부터 DNA를 추출하여 primer ITS1F (5'-CCTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')과 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')을 이용하여 18S rRNA 부위를 Brookman 등 (2000)이 서술한 PCR 방법에 의하여 genomic DNA로부터 증폭하고, 증폭된 DNA 단편은 pGEM®-T Easy vector system (Promega, USA)에 클로닝 하였으며, inset DNA를 dideoxy chain termination method (Sanger 등, 1977)에 의하여 염기서열을 결정하고 얻어진 염기서열은 NCBI BLAST search를 이용하여 18S rRNA 염기서열의 특성에 의거하여 동정하였다.

4. Mycotoxin 오염분석

벼짚 곤포 사일리지의 mycotoxin 오염조사는 냉장보관 시료를 HPLC를 이용하여 9종의 mycotoxin 즉, aflatoxins (B₁, B₂, G₁, G₂), zearalenone, deoxynivalenol, fumonisin (B₁, B₂), ochratoxins A 등을 분석하여 곰팡이 독소의 오염실태를 조사하였다.

분쇄된 시료 10 g을 20 ml의 acetonitrile을 사용하여 30분간 진탕 추출한 후 5분간 원심분리한 뒤 상층액 10 ml을 취해 Oasis® HLB SPE

cartridge (200 mg, 6cc)를 사용하여 추출액을 정제하고, 증류수로 세척한 후 시료를 6 ml의 100% methanol을 사용하여 용출시켰다. 용출된 시료를 50℃에서 N₂ gas를 사용하여 건조하고 1ml의 methanol/ammonium acetate (10 mmol/L) (1:1, v/v)의 혼합용매로 재용해시킨 후 분석에 사용하였다. 시료의 aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, fumonisin 분석은 HPLC를 이용한 선행연구 (Hammond 등, 2004; Akiyama 등, 2001; Caloni 등, 2000; Li 등, 1997; Xiao 등, 1996; Lerch와 Muller, 1990; Vicam, 1988; Visconti와 Pascale, 1998)에서 사용한 방법을 기초로 fluorescence detector를 사용하여 측정하였다. DON은 Mateo 등 (2001), Visconti와 Battalico (1983)이 사용한 HPLC 방법을 기초로 UV detector를 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 벼짚 곤포사일리지의 곰팡이 오염도

국내 조사료 확보를 위한 정부의 노력이 지속되는 가운데 가을 추수한 논에서 벼짚 원형 곤포 사일리지가 있는 광경을 보는 것은 그리 어려운 일이 아니며, 이들 사일리지는 농장으로 운송 보관되어 동절기 동안 급여되거나 논에 야적되어 있다가 이듬해 봄에 운송되어 가축에게 연중 급여되기도 한다. 겨울이 지나 따뜻해진 봄에 이들을 가축에게 급여하기 위해 풀어 헤쳤을 때 곰팡이에 오염되어 있는 것을 종종 발견할 수 있으며 다소의 오염된 벼짚 곤포는 그대로 급여하기도 한다.

곰팡이 발생이 육안 식별이 안 되는 것부터 오염이 심한 것까지 다양한 상태의 33점의 시료를 수거하여 조사한 결과, 벼짚 곤포사일리지의 곰팡이 오염은 Fig. 1에서와 같이 흰색, 채색, 푸른색 및 검은 갈색 계열의 다양한 형태의 곰팡이가 오염된 것을 발견할 수 있었다.

Fig. 1과 2에서 보는바와 같이 곰팡이 오염

Counted 2.9×10^4 cfu g ⁻¹ and isolated 2 strains from white colors of fungal developed rice straw	
Counted 9.2×10^8 cfu g ⁻¹ and isolated 3 strains from gray colors of fungal developed rice straw	
Counted 5.4×10^6 cfu g ⁻¹ and isolated 4 strains from blue colors of fungal developed rice straw	
Counted 8.0×10^7 cfu g ⁻¹ and isolated 3 strains from dock brown colors of fungal developed rice straw	

Fig. 1. The photo of rice straw sample and fungal culture on MEA (left plate) and PDA (right plate) from rice straw silage developed fungi.

Fig. 2. The photo of rice straw sample and fungal culture on MEA(left plate) and PDA(right plate) from normal rice straw silage.

도는 평균 2.1×10^6 cfu g⁻¹이었다. 그리고 가장 높은 오염도는 9.2×10^8 cfu g⁻¹으로 나타났으며 (Fig. 1), 가장 낮은 오염도는 2.0×10^2 cfu g⁻¹으로 외관상 곰팡이 오염 식별이 안 되는 정상적인 볏짚 곤포사일리지의 모든 시료에서도 곰팡이 오염이 발견되었다 (Fig. 2). Sung 등 (2009)은 초봄에 수집한 정상적 볏짚에서 곰팡이가 4.6×10^6 cfu g⁻¹ 이상 오염되어 있음을 보고하였고, 여름철의 따뜻한 온도와 다습한 환경은 이들 곰팡이독소 분비 곰팡이의 성장을 유도할

수 있음을 보고하였다. 그리고 Mamun 등 (2002)도 방글라데시의 볏짚에 곰팡이 오염과 영양가치 저하의 심각성에 대하여 보고한바 있다. 또한 Auerbach 등(1998)도 목초 및 옥수수 사일리지의 곰팡이 오염도를 조사하였을 때 곰팡이가 육안으로 관찰이 안 되는 정상적인 사일리지에서 4.0×10^4 cfu g⁻¹ 수준이었고, 곰팡이가 육안으로 관찰될 정도로 오염된 사일리지는 1.0×10^8 cfu g⁻¹으로 오염은 심각하다고 하였다.

서로 다른 모양의 콜로니를 분리 배양하여 오염된 곰팡이의 다양성을 관찰하였을 때 주로 3~5개 종류의 다른 모양의 콜로니가 오염되었으며 (Fig. 1과 2), 최고 다양한 것은 13종류의 다른 모양의 콜로니가 발견되었다 (Fig. 2). 특이한 것은 외관상 곰팡이 오염이 심한 시료보다는 곰팡이 오염 관찰이 어려운 벚짚 곤포사일리지에서 더 다양한 콜로니의 곰팡이가 오염된 경향이었다. 이는 곰팡이 오염이 육안으로 관찰이 안 되는 정상적 사일리지에서 곰팡이 오염을 보고한 Sung 등 (2009)과 Auerbach 등 (1998)의 연구결과에서와 같이 벚짚 사일리지는 다양한 종류의 곰팡이에 항상 노출 및 오염되어 있으며, 성 등 (2010)의 곰팡이의 성장 환경관련 보고에서와 같이 곰팡이는 산소가 존재하고 이용할 수 있는 물과 영양소가 제공되면 적정 온도에 따라 발생과 성장이 왕성해지기 때문에 곤포사일리지의 보관상태 불량으로 산소가 유입되어 곰팡이가 성장하게 되면 그 조건에서 성장이 우세한 곰팡이가 우점을 하여 오염도를 높이는 반면 곰팡이의 종류는 적어지는 것으로 사료된다.

2. 벚짚 곤포사일리지의 오염 곰팡이 종류와 유해성

사료용 벚짚 곤포사일리지를 오염시키는 곰팡이의 종류를 조사하고 이들 곰팡이들의 유해성을 구명하기 위하여 서로 다른 모양의 콜로니를 순수 배양하여 18SrRNA 염기서열을 이용 균주를 동정하였을 때 본 연구에 사용된 벚짚 곤포사일리지에서 발견된 곰팡이의 종류만도 28가지로 매우 다양하였다.

이들 발견된 곰팡이 중 독소를 분비하는 곰팡이는 Table 1에서와 같이 8종이 발견되었다. 가장 많이 분리된 곰팡이는 *Penicillium* sp.로 이중에서도 *P. paneum*이 시료의 42%에서 발견되었으며, 다음으로 *Aspergillus* sp. (*A. flavus*, *A. fumigatus*)가 시료의 21%에서 검출되었다.

본 연구에서 주로 발견된 곰팡이 중 *Penicillium* sp.와 *Aspergillus* sp.은 따뜻한 기후에서 잘 번성하는 곰팡이로 (Nelson, 1993), 다른 벚짚 연구 (Phillips 등, 1996; Phillips와 Wareing, 1993)에서도 보고된 바 있다. 이들은 벚짚에 쉽게 발생할 수 있는 곰팡이 중 독소 분비 곰팡이로

Table 1. Mycotoxygenic fungus founded from rice straw silage

Mycotoxygenic fungus	Samples contamination (%)	Mycotoxin
<i>Aspergillus flavus</i>	6	Aflatoxins, Kojic acid, Cyclopiazimic acid
<i>Aspergillus fumigatus</i>	15	Fumitremorgens, Verruculogen, Fumigaclavines, Gliotoxin
<i>Fusarium culmorum</i>	6	Zearalenone, Deoxynivalenol
<i>Fusarium verticillioides</i>	3	Fumonisin
<i>Penicillium carneum</i>	3	
<i>Penicillium paneum</i>	42	PR toxin, Patulin
<i>Penicillium roqueforti</i>	12	
<i>Penicillium viridicatum</i>	6	Ochratoxin A, Citrinin

Aspergillus sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Stachybotrys* sp., *Cladosporium* sp. 등이 발견됨을 보고하였다. 또한 *A. fumigatus* 는 건초 시료 중에서 75% 시료에서 발견되었고 (Lacey, 1975), Kaspersson 등 (1984)도 스웨덴의 건초에서 *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp. 등이 자주 발견됨을 보고한 바 있다.

특히, Table 1에서와 같이 반추가축에서 잘 알려진 곰팡이 독소 중 젖소의 생산성 감소를 일으킬 뿐만 아니라 우유에 전이되어 인체에도 영향을 줄 수 있는 aflatoxins을 분비하는 *Aspergillus flavus* (Jones와 Coker, 1994; Bhuiyan 등, 2003; Jouany와 Diaz, 2005)와 가축의 신장 기능에 악영향을 주는 독소로 잘 알려진 ochratoxin을 분비하는 *Penicillium viridicatum* (Bragulat 등, 2008)이 본 연구에 사용된 볏짚 곤포사일리지 시료에서 발견되었다. 이외에 *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium carneum*, *Penicillium paneum*, *Penicillium roqueforti*와 같은 곰팡이 독소를 분비하는 곰팡이 종들이 오염되어 있었다. 이들은 단일 독소가 아닌 두 가지 또는 그 이상의 다른 독소를 분비하는 것으로 보고되고 있다 (D'mello와 Macdonald, 1997; Auerbach, 2003; Fink-Gremmels, 2005; Jouany와 Diaz, 2005; Bragulat 등, 2008).

조사료의 곰팡이 오염은 곰팡이의 종류에 상관없이 기호성이 떨어지고 영양적 손실을 초래할 뿐만 아니라 축우의 영양소 섭취량 감소로 증체량 및 산유량 저하가 수반된다. Schatzmayr (2005)는 곰팡이 독소가 발견되지 않는 상황에서도 곰팡이가 오염된 사료 급여는 일반적으로 5~10%의 생산성 저하를 일으킨다고 보고한바 있다. 이러한 곰팡이 오염 자체의 부정적 영향에 더하여 일부 곰팡이들이 분비하는 곰팡이 독소는 축우에 대하여 다양한 생물학적 위해작용으로 기형 발생성, 유전자 독성, 간 독성, 신

장 독성, 혈 독성을 유발하여 면역 저하, 번식 저하, 신경성 증상 및 돌연변이를 일으킨다 (Riley 등, 1998; Steyn, 1998; Auerbach, 2003; Santin, 2005).

따라서 단순히 볏짚 곤포사일리지에 곰팡이 발생정도의 외형적 상태로만 유해성을 판단하는 것은 부적절하며, 곰팡이 오염이 의심되는 시료는 mycotoxin 분석을 통하여 유해성 유무를 정확히 판별하여야 할 것이다.

3. 볏짚 곤포사일리지 시료의 mycotoxin 오염수준과 유해성

볶짚 곤포사일리지의 곰팡이 독소오염 수준 및 유해성 조사를 위하여 축우농가에서 급여하고 있는 곰팡이에 오염된 볏짚 곤포사일리지 및 오염 곰팡이가 육안으로 관찰이 안 되는 볏짚 곤포사일리지 등 다양한 상태의 시료를 9가지 mycotoxin 즉, aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂), zearalenone, deoxynivalenol, fumonisin (B₁, B₂), ochratoxin A를 분석하였다.

Table 2에서 보는 바와 같이 조사된 33점의 볏짚 곤포사일리지 시료의 42%가 mycotoxin에 오염되어 있었고, 2개 이상의 mycotoxin에 오염된 것은 12%, 그리고 3개 이상 mycotoxin에 오염된 것은 3%였다. 이들은 조사된 9가지 mycotoxin 중 aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂)과 fumonisin (B₁, B₂)은 발견되지 않았지만, ochratoxin A는 5점의 시료, deoxynivalenol (DON)은 3점의 시료, 그리고 zearalenone (ZON)은 11점의 시료에서 발견되었다 (Table 3).

Mycotoxin의 오염수준은 Table 3에서와 같이 ochratoxin A는 평균 3.1 ug/kg으로 최저수준이 1.0 ug/kg이었고, 최고수준이 5.8 ug/kg으로 오염 정도는 심각하였다. DON의 오염수준은 평균 776.7 ug/kg으로 최저 156.0 ug/kg, 최고 1914.0 ug/kg이었으며, ZON의 오염수준은 평균 342.2

Table 2. The ratio of rice straw silage contaminated by mycotoxin

Items	Contamination ratio (%)	Contaminated toxins
More than one toxin	42	Ochratoxin, DON, or ZON
More than two toxins	12	Ochratoxin and DON Ochratoxin and ZON DON and ZON
More than three toxins	3	Ochratoxin, DON and ZON

Table 3. Analysis of mycotoxin contamination on rice straw silage

Mycotoxin	Contaminated samples/Total No.	Average (ug/kg)	Median (ug/kg)	Contamination levels (ug/kg)	
				Min.	Max.
Aflatoxin B ₁	0/33	<1.0	—	—	—
Aflatoxin B ₂	0/33	<1.0	—	—	—
Aflatoxin G ₁	0/33	<1.0	—	—	—
Aflatoxin G ₂	0/33	<1.0	—	—	—
Ochratoxin A	5/33	3.1	2.0	1.0	5.8
Fumonisin B ₁	0/33	<100.0	—	—	—
Fumonisin B ₂	0/33	<100.0	—	—	—
Deoxynivalenol	3/33	776.7	260.0	156.0	1914.0
Zearalenone	11/33	342.2	349.0	38.0	750.0

ug/kg으로 최저 38.0 ug/kg, 최고 750.0 ug/kg으로 오염정도는 심각하였다.

상기 연구결과에서와 같이 벧짚 곤포사일리지에서 발견된 mycotoxin은 ochratoxin A, DON과 ZON으로 가축의 영양 및 생리대사적 악영향을 일으켜 생산성 감소를 초래하는 대표적 mycotoxin에 속하는 독소들이다 (Coulombe, 1993; D'mello와 Macdonald, 1997; Scudamore와 Livesey, 1998; Santi 등, 2009). Ochratoxin A는 주로 *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., 곰팡이에 의해 생성되며 (Jouany와 Diaz, 2005), 반추위에서 다른 독소들에 비하여 비교적 효율적으로 분해되기 때문에 단위동물에 유해성이 더 큰 것으로

알려져 있지만, 여전히 미분해 된 독소는 잔류하며 반추가축에도 영향을 주는 것으로 보고되고 있다 (Sreemannarayana 등, 1988; Vough와 Glick, 1993). Ochratoxin A는 일반적으로 신장 독소로 알려져 있으며, 산유량 감소, 뇨독증, 간장 질환, 위궤양, 지방 변성, 간의 면역작용 저하 기형 등을 유발하며 특히 신장과 간에 치명적인 손상을 주는 것으로 알려져 있다 (Jouany와 Diaz, 2005).

ZON은 *Fusarium* sp. 곰팡이에 의해 생성되는 독소로 estrogen과 비슷한 성질을 가지고 있어 발정독소로 알려져 있으며, 비규칙적 고열, 난소난종, 임신저하, 공태일수 증가, 태아사산

등을 일으킨다 (Kallela와 Ettala, 1984; Coppock 등, 1990; Jouany와 Diaz, 2005). DON은 *Fusarium* sp. 곰팡이에 의해 생성되는 세포 독소로 알려져 있으며, 면역 억제, 발굽이상 (laminitis), 사료섭취량 감소, 사료효율 저하, 유량감소, 유방염 발생, 이등유 증가 등 증세를 나타나게 하여 생산성을 저하시킨다 (Whitlow와 Hagler, 1987; Windels 등, 1995; Jouany와 Diaz, 2005).

우리나라는 aflatoxin과 ochratoxin A에 대하여 사료 관리법상 규제하고 있으나 상기 연구 결과를 고려할 때 다른 mycotoxin에 대한 폭넓은 조사와 함께 mycotoxin으로 인한 가축의 피해를 줄여주기 위한 좀 더 적극적이고 다각적 노력이 필요하였다.

IV. 요약

본 연구는 국내 생산 사료용 볏짚 곤포사일리지의 수확 후 저장기간 동안 생성된 곰팡이 오염도 및 곰팡이 종류를 조사하고 mycotoxin 노출 유해성을 구명하고자 실시하였다. 곰팡이 및 mycotoxin 오염을 조사하기 위하여 곰팡이 발생이 육안 식별이 안 되는 정상적인 것부터 오염이 심한 것까지 다양한 상태의 농가에서 급여하고 있는 33점의 볏짚 곤포사일리지 시료를 수거하여 조사하였다. 오염된 곰팡이는 흰색, 회색, 푸른색 및 검은 갈색 등 다양한 색의 콜로니가 오염된 것을 발견할 수 있었다. 곰팡이 오염도는 평균 2.1×10^6 cfu g⁻¹으로 가장 높은 오염도는 9.2×10^8 cfu g⁻¹까지 발견되었으며, 외관상 곰팡이 오염 식별이 안 되는 정상적인 볏짚 곤포사일리지의 모든 시료에서도 곰팡이 오염이 발견되었다. 본 연구에 사용된 볏짚 곤포사일리지에서 발견된 곰팡이의 종류만도 28가지로 매우 다양하였고, 이들 중 유해 독소를 분비하는 8종의 곰팡이 즉, *Aspergillus*

flavus, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium carneum*, *Penicillium paneum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium viridicatum*이 발견되었다. 특히, 가장 많이 분리된 곰팡이는 *Penicillium* sp.로 이중에서도 *P. paneum*이 시료의 42%에서, 다음으로 *Aspergillus* sp. (*A. flavus*, *A. fumigatus*)는 시료의 21%에서 발견되었다. 볏짚 곤포사일리지 시료의 42%가 mycotoxin에 오염되어 있었고, 2개 이상의 mycotoxin에 오염된 것은 12%, 그리고 3개 이상 mycotoxin에 오염된 것은 3%였다. Mycotoxin 중 aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂)과 fumonisin (B₁, B₂)은 발견되지 않았지만, ochratoxin A (1.0~5.8 ug/kg), deoxynivalenol (DON, 156.0~776.7 ug/kg) 및 zearalenone (ZON, 38.0~750.0 ug/kg)이 오염되어 있었다. 따라서 본 연구결과는 볏짚 곤포사일리지가 곰팡이 및 mycotoxin의 유해성에 노출되어 있음을 시사하는 바 앞으로 폭넓은 연구와 함께 mycotoxin으로 인한 가축의 피해를 줄여주기 위한 다각적인 노력이 필요하였다.

V. 사 사

본 연구는 2009년도 15대 어젠다 연구개발사업 (농업현장 대응), “사료비 절감을 위한 조사료 생산기술 개발”의 “국내외 부존 사료자원 탐색 및 조사료 가공이용 연구”내 협동연구과제인 “사료용 볏짚의 발생 곰팡이 종류와 유해성 구명”이란 연구과제 수행을 위하여 농촌진흥청의 지원사업에 의해 이루어진 것이며, 이의 지원에 감사드립니다.

VI. 인용 문헌

1. 성하균, 김성국, 이종경, 강준석. 2009. 사료용 볏짚에 오염 곰팡이의 유전적 분석을 통한 위해성

- 연구. 한국동물자원과학회 학술발표회. Proceeding Vol. II. 145.
2. 성하균, 이종경, 서 성, 임동철, 김종덕. 2010. 조사료의 곰팡이 발생과 곰팡이 독소오염. 초지 조사료지. 30(1):77-88.
3. Akiyama, H., Y. Goda, T. Tanaka and M. Toyoda. 2001. Determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in spices using a multifunctional column clean-up. J. Chromatogr. 932:153-157.
4. Auerbach, H., Oldenburg E. and Weissbach F. 1998. Incidence of *Penicillium roquiforti* and *Roquefortine C* in silages. J. Sci food Agric. 76:565-572.
5. Auerbach, H. 2003. Mould growth and mycotoxin contamination of silage: sources, types and solution. In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries (T.P. Lyons and K.A. Jacques). Nottingham Univ. Press, United Kingdom. pp.247-265.
6. Bhuiyan, A., M.A. Akbar and M.E. Hossain. 2003. Nutritive value of damp rice straw and its feeding effect on aflatoxin transmission into cows milk. Pakistan J. Nutrition. 2:153-158.
7. Bragulat, M.R., E. Martinez, G. Castella and F.J. cabanes. 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *penicillium* from feedstuffs. Int'l J. Food Microbiology. 126:43-48.
8. Brookman, J.L., G. Mennim, A.P.J. Trinci, M.K. Theodorou and D.S. Tuckwell. 2000. Identification and characterization of anaerobic gut fungi using molecular methodologies based on ribosomal ITS1 and 18SrRNA. Microbiol. 145:393-403.
9. Caloni, F., M. Spotti, H. Auerbach, H. Op den camp, J. Fonk gremmels and G. Pompa. 2000. *In vitro* metabolism of fumonisin B1 by ruminal microflora. Vet. Res. Communications. 24:379-387.
10. Coppock, R.W., M.S. Mostrom, C.G. Sparling, B. Jacobsen and S.C. Ross. 1990. apparent zearalenne intoxication in a dairy herd from feeding spoiled acid-treated corn. Vet. Hum. Toxicol. 32:246-248.
11. Cole, R.J., J.W. Kirksey, J.W. Dorner, D.M. Wilson, J.C. Johnson, A.N. Johnson, D.M. Bedell, J.P. Springer, K.K. Chexal, J.C. Clardy and R.H. Cox. 1977. Mycotoxins produced by *Aspergillus* species isolated from moulded silage. J. Agric Food Chem. 25:826-830.
12. Coulombe, Jr. A.C. 1993. Symposium: Biological action of mycotoxins. J. Dairy Sci. 79:880-891.
13. D'mello, J.P.F. and A.M.C Macdonald. 1997. Mycotoxins. Anim. Feed Sci. Technol. 69:155-166.
14. Fink-Gremmels, J. 2005. Mycotoxin in forages. In: The Mycotoxin Blue Book. (D.E. Diaz). Nottingham Univ. Press, United Kingdom. pp. 249-268.
15. Hammond, B.G., K.W. Campbell, C.D. Pilcher, T. A. DeGooyer, A.E. Robinson, B. I. McMillen, S. M. Spangler, S.G. Riordan, L.G. Rice and J.L. Richard. 2004. Lowerfumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the Unite State in 2000-2002. J. of Agricultural and Food Chemistry. 52:1390-1397.
16. Jones, B.D. and R.D. Coker. 1994. The effect of mycotoxins in animals with particular reference to the "carry-over" of mycotoxins from naturally contaminated feed to food products. A review submitted to MAFF under contract.
17. Jouany, J.P. and D.E. Diaz. 2005. Effects of mycotoxins in ruminants. Page 295-321 In: The Mycotoxin Blue Book. D.E. Diaz. Nottingham Univ. Press, United Kingdom.
18. Kallela, K. and E. Ettala. 1984. The oestrogenic *Fusarium* toxin (zearalenone) in hay as a cause of early abortions in cow. Nord. Vet. Med. 36: 305-309.
19. Kapersson, A., R. Hlodversson, U. Palmgren, and S. Lindgren. 1984. Microbial and biochemical changes occurring durring deterioration of hay and preservative effect of urea. Swed. J. Agric. Res. 14:127-133.
20. Kore, A.N. 1996. Mycotoxin in Animal Feeds.

- Current Issue and Concerns. WI Vet. Medical Assn. Proceedings. 81:207-214.
21. Lacey, J. 1975. Colonisation of damp organic substrates and spontaneous heating. In: Microbial Growth and Survival in Extremes of Environment, Ed. Gould G. W. & Corry J. Academic Press, London, UK, pp 53-70.
22. Lerch C.M. and H-M Muller. 1990. Analysis of ochratoxins from buffered rumen fluid by reverse-phase high performance fluid chromatograph (HPLC). *Chromatographia*. 30:424-427.
23. Li, S.R.R, Marquardt, A.A. Frohlich, T.G. Vitti and G. Crow 1997. Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Appl. Pharmacol.* 145:82-90.
24. Mamun, M.A., M. Md. Ali Akbar and Md Shahjalal. 2002. Rice straw, It's quality and quantity as affected by storage system in Bangladesh. *Pakistan J. Nutrition*. 1:153-155.
25. Mateo, J.J., A. Liorens, R. Mateo and M. Jimenez. 2001. Critical study of and improvements in chromatographic methods for the analysis of type B trichothecenes. *J. of Chromatography*. 918:99-112.
26. Nelson, C.E. 1993. Strategies of mold control in dairy feeds. *J. Dairy Sci.* 76:898-902.
27. Riley, R.T., K.A. Voss, W.P. Norred, R.P. Sharma, E. Wang and A.H. Merrill, Jr. 1998. Fumonisin: mechanism of mycotoxicity. *Rev. Med. vet.* 149:617-626.
28. Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74:5463-5464.
29. Santi, D.U., H.G. Sung, CH. Lee, S.Y. Lee, S.W. Kim, K.J. Cho and J.K. Ha. 2009. Comparative study on the aflatoxin B1 degradation ability of rumen fluid from Holstein steers and Korean native goats. *L. Vet. Sci.* 10:29-34.
30. Santin, E. 2005. Mould growth and mycotoxin production. In: *The Mycotoxin Blue Book* (D.E. Diaz ed.). Nottingham Univ. Press, United Kingdom. pp.225-234.
31. Schatzmayr, G. 2005. Effective solution to control mycotoxins. *Hoard's West*. February(25):W42-W43.
32. Scudamore, K.A. and C.T. Livesey. 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage; a review. *J. Sci. Food Agric.* 77:1-17.
33. Sebunya, T.K. and D.M. Yourtee. 1990. Aflatoxicogenic aspergilli in foods and feeds in Uganda. *J. Food Qual.* 13:97-101.
34. Smith, D.F. and P.L. Lynch. 1973. *Aspergillus fumigatus* in sample of moldy silage. *J. of Dairy Sci.* 56:828-829.
35. Sreemannarayana, A.A., T.G. Vitti, R.R. Marquart and A.M. Abramson. 1988. Studies of the tolerance and disposition of ochratoxin A in young calves. *J. Animal Sci.* 66:1703-1710.
36. Sung, H.G., S.G. Kim and J.K. Lee. 2009. The Presence of Mycotoxigenic Fungi in Rice Straw during the Earlier Spring of Korea. *New Paradigm for Forage Production in the East Asian Region. Proceeding of the 3rd Korea-China-Japan Joint Symposium on Grassland Agriculture and Livestock Production*. 48-49.
37. Steyn, P.S. 1998. The biosynthesis of mycotoxins. *Rev. Med. Vet.* 149:469-478.
38. Phillips, S. and P. Wareing. 1993. Mycological analysis of rice straw samples collected in bangladesh. File Note ProjectAO317. Natural Resources Institute, Chatham Marham Maritime, UK.
39. Phillips, S.I., P.W. wareing, A. Dutta, S. Panigrahi, and V. Mediock. 1996. The mycoflora and incidence of mycotoxin, Zearalenone and Sterigmatocystin in dairy feed and forage samples from Eastern India and Bangladesh. *Mycopathologia*. 5:1-7.
40. Undi, M. and M. Wittenberg. 1996. Intake, rumen

- fermentation characteristics, and feedstuff *in situ* digestion kinetics as influenced by fungal biomass in alfalfa hay fed to cattle. *Animal Feed Sci. Technology*. 61:291-303.
41. Vicam L. P. 1998. VICAM zearalatest intruction mannual. Vicam, Watertown, MA, USA.
  42. Visconti, A. and A. Battalico. 1983. Detection if *Fusarium trichothecens* (nivalenol, deoxynivalenol, fusarenone and 3-actyldeoxynivalenol) by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*. 17:97-100.
  43. Visconti, A. and M. Pascale. 1998. determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluroscence detection. *J. of Chromatography*. 815:133-140.
  44. Vough, L.R. and I. Glick. 1993. Round bale silage. Silage production from seed to animal. Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Ithaca. pp.17-25.
  45. Whitlow, L.W. and W.M. Hagler, Jr. 1987. The association of productivity in dairy cows with deoxynivalenol. In: *Recent Developments in the Study of Mycotoxins*. pp.3-13.
  46. Windels, H.F., A. DiCostanzo and R.D. Goodrich. 1995. Effects of deoxynivalenol from barley on performance and health of large frame crossbred steers. B-417, Minnesota Cattle Feeder Rep. St. Paul, MN, USA.
  47. Xiao, H., R. R. Marquardt, D. Abramson, and A. A. Frohlich. 1996. Metabolites of ochratoxins in rat urine and a culture of *Aspergillus ochraceus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:648-655.
- (접수일: 2011년 8월 23일, 수정일 1차: 2011년 9월 15일, 수정일 2차: 2011년 9월 28일, 게재확정일: 2011년 11월 24일)