

RESEARCH NOTE

강원도 춘천시의 소나무(*Pinus densiflora*)에서 분리한 내생균류의 다양성

김대호¹, 용주현¹, 이종규^{1,2,*}¹강원대학교 산림과학부 수목병리학 및 균학실험실²국립산림과학원 국립나무병원

Diversity of Endophytic Fungi Isolated from *Pinus densiflora* in Chuncheon city, Gangwon province, Korea

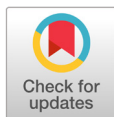
Dae Ho Kim¹, Ju Hyun Yong¹, and Jong Kyu Lee^{1,2*}¹Tree Pathology and Mycology Laboratory, Gangwon National University, Chuncheon 24341, Korea²National Tree Hospital, National Institute of Forest Science, Seoul 02455, Korea

*Corresponding author: jongklee@kangwon.ac.kr

ABSTRACT

Red pine (*Pinus densiflora*) is a dominant tree species in Korean forests. The diversity of endophytic fungi was investigated by isolating fungi from different parts of a red pine tree during the fall and spring seasons. One hundred and fifty-two strains of endophytic fungi were isolated and classified into 42 species belonging to 29 genera. Among these, 74 (49%), 47 (31%) and 31 strains (20%) were isolated from branches, leaves, and stems, respectively. The most frequently isolated species were *Daldinia childiae* and *Biscogniauxia maritima* (28.9% and 9.8%, respectively). *D. childiae* was the dominant endophytic fungus on branches (20 strains) and leaves (19 strains). *B. maritima* was most frequently isolated from branches. The isolation frequencies on stems of *B. maritima* (6 strains) and *D. childiae* (5 strains) were also high. Fifty-seven isolates belonging to 19 species and 17 genera were isolated in the spring, and 95 strains belonging to 35 species and 24 genera were isolated in the fall. *D. childiae* was the most frequently isolated fungus in both spring and fall (21 and 23 strains, respectively). *B. maritima* was also frequently isolated in both spring (7 strains) and fall (8 strains).

Keywords: *Biscogniauxia maritima*, *Daldinia childiae*, Diversity, Endophytic fungi, *Pinus densiflora*



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2023 December, 51(4): 511-519
<https://doi.org/10.4489/kjm.20230051>

Received: December 05, 2023

Revised: December 27, 2023

Accepted: December 27, 2023

© 2023 THE KOREAN SOCIETY OF MYCOLOGY.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

우리나라 산림에서 가장 넓은 면적에 분포하고 있는 소나무(*Pinus densiflora* Siebold & Zucc.)는 침엽수를 대표하는 수종으로서 총 산림 면적의 23.5%인 150만 ha를 차지하며 전국에 걸쳐 분포하고 있어 산림생태계를 유지하는 주요 수종이다[1,2]. 소나무는 척박한 토양에서도 잘 성장하고 생태 적응범위도 매우 넓어, 오랜 세월 동안 목재, 연료, 식용 등 다양한 방면으로 활용되어 왔다[2,3]. 내생균류는 오랜 기간동안 숙주식물과 특이적으로 친화적인 관계를 형성하여 상호보완적

인 작용을 해 왔다[4]. 일반적으로 내생균류는 식물의 분포상에 따라 다르게 나타나며, 한 종의 기주 식물에서 다양한 종류의 내생균이 분리될 수 있다[5,6]. 내생균은 기주에 따라 지역, 환경, 계절, 부위별로 다양성이 다르게 나타나며[7], 백 만종 이상이 존재하는 것으로 추정하고 있다[8]. 산림에 존재하는 내생균은 숙주식물 내에서 2차대사산물을 분비하여 식물 성장을 촉진시키고, 비생물적 환경스트레스에 대한 저항성을 증가시킨다[9]. 내생균은 외부에서 침입하는 선충, 식물 병원균 등 성장을 저해하는 요소들로부터 숙주 식물을 보호하는 역할을 한다[10]. 내생균과 숙주 식물 사이의 특이적인 관계에 대해서는 아직까지 명확하게 밝혀지지는 않았으나[5], 건강한 식물의 경우 병징 발현을 저해하여 식물을 보호하고 식물의 종자 발아에 도움을 주며[11], 병원체에 대하여 기주 식물이 저항성을 갖게 하기도 한다[12]. 최근 목본식물의 잎 조직에서 공생하는 내생균이 다른 병원미생물에 대하여 항생 효과를 나타낸다는 연구들이 보고되면서[13,14], 식물 종 자체에 대한 연구뿐만 아니라 식물 내에 존재하는 내생균에 대한 연구의 필요성이 제기된 바 있다[4]. 국외 연구의 경우 Hate 등은 침엽수에 존재하는 내생균의 분포와 계절별 다양성을 연구하였고, Hoff 등은 침엽수의 뿌리에 공생하는 내생균을 분리하여 다양성을 보고하였으며, Wang 등은 만주 곰솔의 잎에서 다양한 내생균을 분리하는 연구를 보고하였다[15-17]. Wang 등은 *Pinus tabulaeformis*의 수피에서 분리한 내생균의 다양성을 분석하는 연구를 보고하였으며, Sousa 등은 내생균 *Diaporthe* sp.의 항균 활성에 대한 연구를 보고하는 등 전 세계적으로 침엽수에서 분리한 내생균의 다양성 연구와, 분리 내생균의 활용 가능성에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다[18,19]. 국내의 경우 Park 등은 전나무(*Abies holophylla*)에서 분리한 내생균류에서 추출한 물질이 식물병원균에 미치는 영향을 연구하였으며, Seo 등은 한국의 잣나무(*Pinus koraiensis*)에서 113 균주의 내생균을 분리하였고, Kim 등은 민주지산에 서식하는 침엽수의 잎에서 분리한 내생균 39균주를 22종으로 보고하였다[20-23].

국내에서도 내생균의 다양성 연구는 활발하게 이루어지고 있으나 주요 수종인 소나무 내생균의 다양성 관련 연구는 보은 지역의 소나무에서 분리한 내생균의 동정 및 다양성 연구와[24], 충남 오서산에 분포하는 소나무와 일본 잎갈나무에서 분리한 내생균의 다양성에 대한 연구[25] 등 매우 제한적이다. 이처럼 국내에서는 잣나무, 소나무의 일부 부위에서 분리한 내생균의 다양성 연구에 국한되어 있으며 소나무 내생균의 부위별, 시기별 다양성 분석에 대한 연구는 현재까지 보고되지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 다양한 균주의 확보와 균주의 다양성을 확인하여 내생균을 활용할 수 있는 방안의 기초자료를 제공하고자 국내 우점 수종인 소나무에서 내생균을 분리하여 부위별, 시기별 다양성을 파악하고자 하였다.

2017년 가을과 2018년 봄에 강원도 춘천시에 위치하고 있는 강원대학교 구내림(수정산, 37.869444 N, 127.744472 E)과 애막골 야산(37.867364 N, 127.761542 E)에 분포하는 소나무(*Pinus densiflora*) 8본으로부터 침엽, 가지, 줄기를 채집하였다. 채집한 소나무의 침엽, 줄기, 가지시료는 병해나 해충 피해가 없는 건전 시료를 사용하였으며 침엽은 4×4 mm 크기로, 가지와 줄기는 2×8 mm의 크기로 절단하였다. 채집한 시료는 24시간 이내에 표면살균을 실시하였고 시료 각 부위별로 9개 조각을 0.5% 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite)과 0.05% Triton X-100 용액에 3분씩, 70% 에탄올에서 1분간 표면살균한 후 멸균수(sterilized water)에 15초간 3회 반복하여 세척하

였다. 표면살균한 시료는 건조시킨 뒤 streptomycin과 chloramphenicol을 각각 0.1 g씩 첨가한 potato dextrose agar (PDA, Difco, Franklin Lakes, USA) 평판 배지에 각각 3개의 절편을 치상하여 25°C 항온기에서 2주 간 암배양하고 생장해 나온 균사를 새로운 PDA배지에 이식하여 순수분리하였다 [26].

순수분리한 내생균을 potato dextrose broth (PDB, Difco, Franklin Lakes, USA) 배지에 접종하고 25°C에서 150 rpm으로 1-3주간 진탕 배양하여 균사를 수확하고 동결건조 후 마쇄하여 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN DNA extraction kit, QIAGEN, Hilden, Germany)의 공시 방법에 따라 DNA를 추출하였다. 내생균을 동정하기 위하여 모든 내생균을 대상으로 rDNA의 internal transcribed spacer (ITS) 영역을 분석하였고, 필요한 경우 rDNA의 large subunit (LSU), RNA polymerase II gene (*RPB2*), elongation factor-1 α (*TEF*) 또는 beta-tubulin (*TUB*) 영역도 추가로 분석하였다. Ribosomal DNA의 ITS영역 증폭을 위해 ITS1과 ITS4 프라이머를 사용하였고 LSU는 LROR과 LR7 프라이머를 *RPB2*는 fRPB2-5F와 fRPB2-7cR 프라이머를 *TEF*는 EF1-728F과 EF1-986R 프라이머를 *TUB*는 bt2a와 bt2b 프라이머를 사용하였다[27-29]. 모든 영역의 annealing 온도는 58°C로 설정하여 PCR을 수행하였고 증폭산물은 Macrogen Inc. (<https://dna.macrogen.com>)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열 편집에는 SeqMan Program version 7.2.1 (DNA Star Lasergene 7)을 이용하였고 편집한 염기서열은 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)를 사용하여 가장 유사한 염기서열 종을 확인하였다. 동정결과는 Shannon-Wiener index를 이용하여 다양도 지수를 산출하였다[30]. 계통수 분석에는 MEGA 11 프로그램[31]을 이용하여 Neighbor-Joining 방식으로 계통도를 작성하였고, bootstrap replications은 1,000회로 반복하여 신뢰도를 분석하였으며 Model은 Tamura-Nei model로 설정하였다.

소나무에서 분리한 152 균주의 내생균은 PDA배지에서의 배양적 특징을 확인하여 동일 종으로 생각되는 균주들은 대표균주를 선발하여 분자적 특징을 조사하였다. 선발된 대표균주들은 대부분 rDNA-ITS영역의 분석을 통해 동정하였고(Fig. 1), rDNA-ITS영역만으로 동정이 어려운 종들은 rDNA-LSU (*Scleromitrella shiraiana*), *RPB2* (*Alternaria alternata*), *TEF* (*Cladosporium rectoides*, *Diaporthe* spp., *Diplodia sapinea*, *Fusarium* sp.) 또는 *TUB* (*Rosellinia corticium*, *Diaporthe* spp.) 영역을 분석하여 동정하였다. 동정결과 분리균들은 2문 5강 13목 22과 29속 42종으로 동정하였다 (Table 1). 대부분의(145/152균주, 95.4%) 균주는 자낭균문으로 동정되었고, 7균주는 담자균문(1강 2목 3과 3속 3종)으로 동정되었다. 자낭균문에 속한 균주들은 대부분 Sordariomycetes (122/145, 85.1%)강 Xylariales (콩꼬투리버섯목, 101/145 69.7%) Hypoxylaceae (55/145, 37.9%)에 속하는 것으로 나타났다. *Daldinia*속이 44균주(28.9%)로 가장 높은 비율로 분리되었으며 *Biscogniauxia*속이 15균주(9.8%), *Pestalotiopsis*속이 14균주(9.2%), *Nigrospora*속이 12균주(7.9%) 분리되었다. 가장 많이 분리된 우점종은 44균주(28.9%)가 분리된 *Daldinia childiae*, 다음은 15균주(9.8%)가 분리된 *Biscogniauxia maritime*이었다. Gil 등과 Eo 등의 소나무(*Pinus densiflora*)에서 분리한 내생균의 다양성 연구에서 *Lophodermium*속이 우점한다는 결과와 본 연구의 결과와는 다르게 나타났다[24,25]. 이는 충청도와 강원도라는 지리적 차이에 의한 것으로 추측된다.

Table 1. Endophytic fungi isolated from *Pinus densiflora* in Chuncheon city, Gangwon Province.

Scientific name	Part of <i>Pinus densiflora</i> (isolates)			Total isolates (fall/spring)	
	Branch	Leaf	Stem		
<i>Daldinia childiae</i>	20	19	5	44	(23/21)
<i>Biscogniauxia maritima</i>	7	2	6	15	(8/7)
<i>Pestalotiopsis lushanensis</i>	4	4		8	(6/2)
<i>Nigrospora pyriformis</i>	2	2	2	6	(6/-)
<i>Nigrospora oryzae</i>	1	4		5	(3/2)
<i>Pestalotiopsis maculans</i>	2	1	2	5	(5/-)
<i>Annulohyphoxylon annulatum</i>	2	2		4	(3/1)
<i>Chaetomium grande</i>	3		1	4	(-/4)
<i>Hypoxylon perforatum</i>	2	1	1	4	(2/2)
<i>Paraconiothyrium brasiliense</i>	1	2	1	4	(4/-)
<i>Paraconiothyrium verruculosa</i>	1		3	4	(-/4)
<i>Stereum hirsutum</i>	3	1		4	(-/4)
<i>Chaetomium globosum</i>	2	1		3	(2/1)
<i>Diaporthe amygdali</i>	1		2	3	(3/-)
<i>Diplodia pinea</i>	1	2		3	(2/1)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2			2	(2/-)
<i>Cladosporium rectoides</i>	2			2	(2/-)
<i>Colletotrichum acutatum</i>	1		1	2	(1/1)
<i>Diaporthe caulivora</i>	1		1	2	(2/-)
<i>Fusarium</i> sp.	2			2	(2/-)
<i>Hypoxylon fragiforme</i>		1	1	2	(1/1)
<i>Irpex lacteus</i>	2			2	(1/1)
<i>Penicillium raistrickii</i>		1	1	2	(2/-)
<i>Rosellinia corticium</i>	2			2	(1/1)
<i>Alternaria alternata</i>	1			1	(1/-)
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	1			1	(-/1)
<i>Cladosporium halotolerans</i>	1			1	(1/-)
<i>Coniochaeta velutina</i>	1			1	(-/1)
<i>Diaporthe eres</i>			1	1	(1/-)
<i>Hypoxylon rubiginosum</i>	1			1	(1/-)
<i>Monochaetia kansensis</i>		1		1	(1/-)
<i>Nectria balsamea</i>	1			1	(1/-)
<i>Nigrospora sphaerica</i>		1		1	(1/-)
<i>Nodulisporium</i> sp.	1			1	(1/-)
<i>Penicillium glabrum</i>	1			1	(1/-)
<i>Peniophora incarnata</i>			1	1	(1/-)
<i>Pestalotiopsis cocculi</i>		1		1	(1/-)
<i>Scleromitrella shiraiana</i>			1	1	(-/1)
<i>Sordaria macrospora</i>		1		1	(1/-)
<i>Talaromyces rugulosus</i>	1			1	(1/-)
<i>Valsa mali</i>			1	1	(-/1)
<i>Xylaria primorskensis</i>	1			1	(1/-)
Total	74	47	31	152	(95/57)

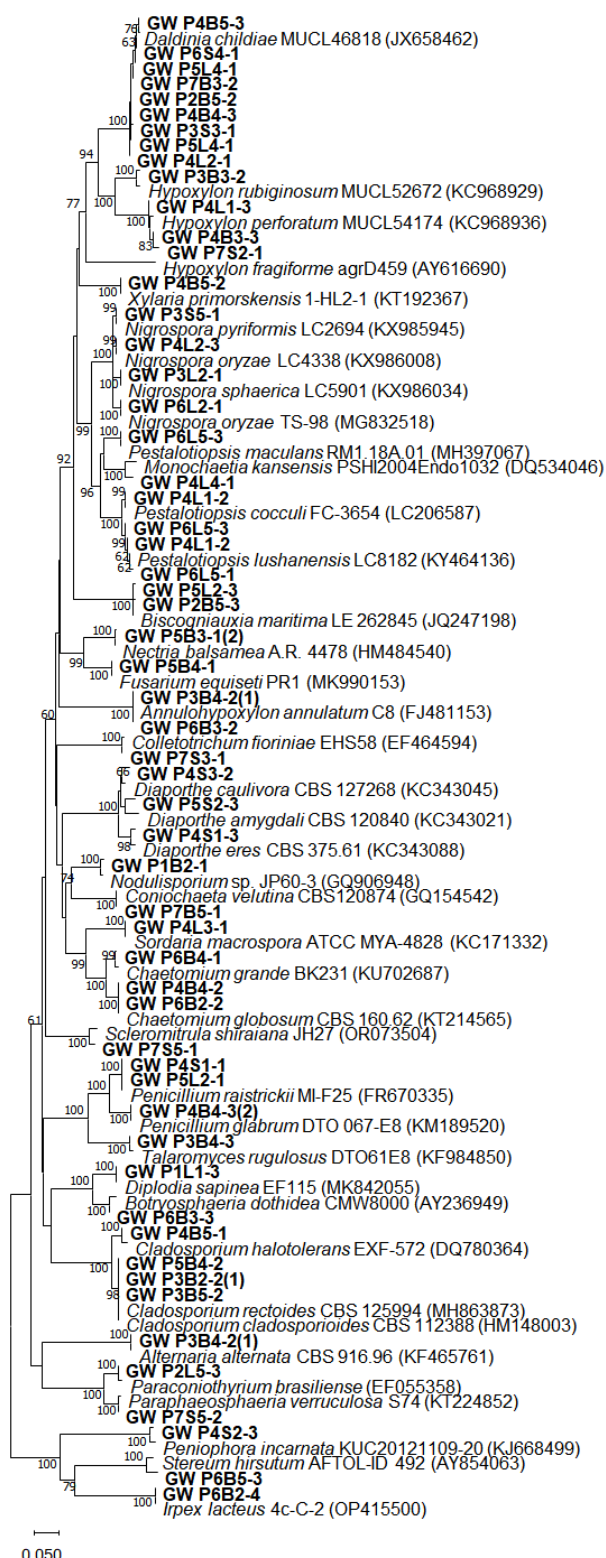


Fig. 1. Phylogenetic position of endophytic fungi isolated from *Pinus densiflora* based on rDNA-ITS. Sequences of the isolates were compared with those of closely related species from NCBI Genbank site. The combined data were analyzed using Tamura-Nei parameter distance calculation model, and then used to construct the Neighbor-Joining (NJ) tree with MEGA ver. 11 [31]. Bootstrap analysis was performed with 1,000 replications. Strains isolated in this study are indicated in bold text.

본 연구에서 우점종인 *Daldinia childiae*는 주로 식물의 잎, 줄기, 뿌리에서 분리되는 내생균으로 항균, 항산화 작용을 하는 균으로 보고된 바 있다[32,33]. 국내에서도 인삼 잎에서 분리된 내생균의 다양성과 탄저병 내성 연구[34], 침엽수의 잎에 공생하는 내생균의 다양성과 계절적 변이 연구[22], 한국 자생 난초과 식물의 뿌리에서 분리한 내생균의 다양성 연구[35] 등에서도 *D. childiae*가 내생균으로 보고되었다. 또한 Oh 등의 지의류 내생균 다양성 조사에서도 *D. childiae*가 가장 많이 분리된 종으로 보고되었으며 지의류가 척박한 환경에도 잘 성장할 수 있는 이유 중 하나로 추측하였다[36]. 소나무도 지의류와 유사하게 척박한 환경에서도 잘 자라는 특징을 가지고 있는데 이는 *D. childiae*와 같은 내생균들에 의한 결과로 예상된다[37]. 이처럼 목본류를 포함한 다양한 식물뿐만 아니라 지의류에서도 내생균으로 자주 분리되는 *D. childiae*는 활용 가능성이 높은 것으로 보이므로 향후 추가적인 연구의 필요성이 있다.

소나무 부위별 내생균 분리 결과, 가지에서 74균주(49%), 잎에서 47균주(31%), 줄기에서 31균주(20%)가 분리되었다. 가지와 잎에서는 *Daldinia*속이 각각 20균주와 19균주로 분리빈도가 높았고, 가지에서는 *Biscogniauxia*속(7균주), *Pestalotiopsis*속(6균주)이, 잎에서는 *Nigrospora*속(7균주), *Pestalotiopsis*속(6균주)이 높은 빈도로 분리되었다. 줄기에서는 *Biscogniauxia*속이 6균주로 분리빈도가 가장 높았으며, *Daldinia*속이 5균주, *Paraconiothyrium*속이 4균주 분리되었다. 소나무 부위별 우점종은 가지와 잎에서는 *D. childiae* (각각 20균주, 19균주)이었고 가지에서는 *Biscogniauxia maritima* (7균주)도 높은 빈도로 분리되었다. 잎에서는 *B. maritima*가 6균주, *D. childiae*가 5균주 분리되었다.

소나무의 잎, 가지, 줄기 등 모든 부위에서 공통적으로 분리된 내생균은 *D. childiae*, *B. maritima* 뿐만 아니라 *Hypoxyton perforatum*, *Nigrospora pyriformis*, *Paraconiothyrium brasiliense*, *Pestalotiopsis maculans*이었다. 반면, *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe eres*, *Peniophora incarnata*, *Scleromitrella shiraiana*, *Valsa mali*는 줄기에서만 분리되었고, *Monochaetia kansensis*, *Pestalotiopsis cocculi*, *Sordaria macrospora*는 잎에서만 분리되었다. Fisher 등은 식물의 부위에 따라 내생균의 군집과 다양성이 다르게 나타난다고 보고하였는데[38], 본 연구의 소나무 부위별 분리된 내생균의 동정결과 잎과 줄기는 비교적 다른 내생균 종들이 분리되었다. 가지의 경우 일부 잎과 줄기 두 부위에서 분리된 내생균 종들이 분리되었는데 이는 가지는 잎과 줄기 사이에 위치하고 있기 때문이라고 추측할 수 있지만 본 실험에 사용된 소나무 시료가 다양하지 않아 보다 자세한 결과를 얻기 위하여 보다 많은 시료를 이용한 다양성 분석이 필요한 것으로 생각된다.

채집시기에 따른 소나무 내생균의 다양성 분석 결과, 봄철에는 57균주가 분리되어 17속 19종으로 동정되었고 가을철에는 95균주가 분리되어 24속 35종으로 동정되었다. 분리빈도가 높은 종은 *D. childiae*로 봄철과 가을철 모두 공통적(각각 21균주, 23균주)으로 가장 많이 분리되었고 *Biscogniauxia maritima* (7균주, 8균주)도 높은 빈도로 분리되었다. 봄철과 가을철에 모두 가장 많이 분리된 2종은 본 연구에서 분리된 모든 분리균 중에서도 우점종이며 계절에 상관없이 우점하는 것으로 나타났다. 가을철에는 *Nigrospora pyriformis* (6균주), *Pestalotiopsis lushanensis* (6균주), *Pestalotiopsis maculans* (5균주)도 높은 빈도로 분리되었는데 *P. lushanensis*만 봄철과 가을철 모두 분리되었고 다른 2종은 가을철에만 분리되었다. 선행연구에 의하면 내생균의 분리빈도는 계절

적인 영향을 받아 계절이 경과될수록 종 다양성과 종 풍부도가 증가하여 내생균의 다양성에 영향을 미친다고 보고하였다[15]. 봄에서 여름, 여름에서 가을, 가을에서 겨울로 시간이 경과될수록 주변 환경과 외부요인에 의해 성숙되는 내생균으로 인하여 다양성 또한 높게 나타난다고 할 수 있다[39]. 본 연구에서도 봄과 가을에 채취한 시료에서 내생균을 분리한 결과, 봄철에 비하여 가을철에 보다 다양한 내생균이 분리되었다. 또한 Shannon-Wiener 다양성 지수 분석결과에서도 봄철은 2.318 가을철은 3.029로 가을철이 보다 높은 다양성 지수를 보였다.

적요

우리나라 산림에 가장 많이 서식하고 있는 수종인 소나무(*Pinus densiflora*)의 내생균 다양성을 분석할 목적으로 강원도 춘천에 서식하고 있는 소나무 시료를 봄철과 가을철에 침엽, 가지, 줄기 등 부위별로 구분하여 채집하였다. 채집 시료에서 내생균 152 균주를 분리하여 29속 42종으로 동정하였다. *Daldinia chlidiae*가 44균주(28.9%)로 가장 많이 분리된 우점종이었고, *Biscogniauxia maritima*가 15균주(9.8%)로 분리빈도가 높았다. 부위별로는 가지에서 74균주(49%), 잎에서 47균주(31%), 줄기에서 31균주(20%)로 가지에서 가장 많은 내생균이 분리되었다. 부위별 우점종은 가지와 잎에서는 *D. chlidiae* (각각 20균주, 19균주)이었고 가지에서는 *B. maritima* (7균주)도 자주 분리가 되었다. 잎에서는 *B. maritima*가 6균주, *D. chlidiae*가 5균주로 자주 분리되었다. 채집시기에 따른 소나무 내생균의 다양성은 봄철에는 57균주가 분리되어 17속 19종으로 동정되었고 가을철에는 95균주가 분리되어 24속 35종으로 동정되었다. 자주 분리된 종으로는 봄철과 가을철 모두 공통적으로 *D. chlidiae* (각각 21균주, 23균주)의 분리빈도가 가장 높았고 *Biscogniauxia maritima* (7균주, 8균주)도 자주 분리되었다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest is reported by the authors.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (2017R1D1A1B03034531)

REFERENCES

1. Shin SC, Han HR. Current status on research and management of pine wilt disease in Korea. Seoul: In Proceedings of the International Symposium on Current Status on Research and Management of Pine Wilt Disease; 2006. p. 31-40.
2. Kim JB, Kim ES, Lim JH. Topographic and meteorological characteristics of *Pinus densiflora* dieback areas in Sogwang-Ri, Uljin. Korean J Agric For Meteorol 2017;19:11-2.
3. Lee CY, Jo BH. Pine, pine forest. Seoul: National Institute of Forest Science; 1999. p. 102-3.

4. Esteban L, De Palacios P, Aguado LRL. *Abies pinsapo* forests in Spain and Morocco threats and conservation. *Oryx* 2010;44:276-84.
5. Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 1988;69:2-9.
6. Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Nat Toxins* 1993;1:185-96.
7. Arnold AE. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi progress, challenges, and frontiers. *Fungal Biol Rev* 2007;21:51-66.
8. Dreyfuss MM, Chapela IH. "Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals" in *The discovery of natural products with therapeutic potential*. London: Butterworth Heinemann; 1994. p. 49-80.
9. Bouton J, Gates R, Belesky D, Owsley M. Yield and persistence of tall fescue in the southeastern coastal plain after removal of its endophyte. *Agron J* 1993;85:52-5.
10. Huang WY, Cai Y, Surveswaran S, Hyde KD, Corke H, Sun M. Molecular phylogenetic identification of endophytic fungi isolated from three *Artemisia* species. *Fungal Divers* 2009;2009:69-88.
11. Clay K. Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea* *Oecologia* 1987;73:358-62.
12. Eo JK, Kim CK, Eom AH. Fungal endophytes isolated from needle leaves of three coniferous species on Mt. Seodae of Korea. *Kor J Mycol* 2015;43:133-6.
13. Liu JY, Song YC, Zhang Z, Wang L, Guo ZJ, Zou WX, Tan RX. *Aspergillus fumigatus* CY018, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon* as a versatile producer of new and bioactive metabolites. *J Biotechnol* 2004;114:279-87.
14. Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. *Nat Prod Rep* 2006;23:753-71.
15. Hata K, Futai K, Tsuda M. Seasonal and needle age-dependent changes of the endophytic mycobiota in *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora* needles. *Canad J Bot* 1998;76:245-50.
16. Hoff JA, Klopfenstein NB, McDonald GI, Tonn JR, Kim MS, Zambino PJ, Hessburg PF, Rogers JD, Peever TL, Carris LM. Fungal endophytes in woody roots of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). *For Pathol* 2004;34:255-71.
17. Wang Y, Guo LD, Hyde KD. Taxonomic placement of sterile morphotypes of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in northeast China based on rDNA sequences. *Fungal Divers* 2005;20:235-60.
18. Wang Y, Guo LD. A comparative study of endophytic fungi in needles, bark, and xylem of *Pinus tabulaeformis*. *Canad J Bot* 2007;85:911-7.
19. Sousa JPB, Aguilar-Perez MM, Arnold AE, Rios N, Coley PD, Kursar TA, Cubilla-Rios L. Chemical constituents and their antibacterial activity from the tropical endophytic fungus *Diaporthe* sp. F2934. *J Appl Microbiol* 2016;120:1501-8.
20. Park JH, Gyung JC, Hyang BL, Kyoung MK, Hack SJ, Seon WL, Kyoung SJ, Kwang YC, Jin CK. Griseofulvin from *Xylaria* sp. strain F0010, an endophytic fungus of *Abies holophylla* and its antifungal activity against plant pathogenic fungi. *J Microbiol Biotechnol* 2005;15:112-7.
21. Seo ST, Kim KH, Kim MJ, Hong JS, Park JH, Shin SC. Diversity of fungal endophytes from *Pinus koraiensis* leaves in Korea. *Kor J Mycol* 2009;37:108-10.
22. Kim CK. Biodiversity and seasonal variation of foliar endophytic fungi in conifers. Cheongju: Korea National University of Education; 2013. p. 57-60.

23. Kim CK, Eo JK, Eom AH. Diversity of endophytic fungi isolated from leaves of coniferous trees on Mt. Minjuji, Korea. *Kor J Mycol* 2014;42:174-7.
24. Gil YJ, Eo JK, Eom AH. Molecular identification and diversity of endophytic fungi isolated from *Pinus densiflora* in Boeun, Korea. *Kor J Mycol* 2009;37:130-3.
25. Eo JK, Kim CK, Lee HB, Eom AH. Diversity of endophytic fungi isolated from *Pinus densiflora* and *Larix kaempferi* in Mt. Oser, Korea. *Kor J Mycol* 2013;41:137-41.
26. Greenfield M, Pareja R, Ortiza V, Gómez-Jiménez MI, Vega FE, Parsa S. A novel method to scale up fungal endophyte isolations. *Biocontrol Sci Technol* 2015;25:1208-12.
27. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics in PCR protocols: a guide to methods and applications. New York: Academic Press Inc.; 1990. p. 315-322.
28. Voglmayr H, Friebe G, Gardiennet A, Jaklitsch WM. *Barrmaelia* and *Entosordaria* in *Barrmaeliaceae* (fam. nov., Xylariales) and critical notes on *Anthostomella*-like genera based on multigene phylogenies. *Mycol Prog* 2018;17:155-77.
29. Parkin EJ, Butlin RK. Within-and between-individual sequence variation among ITS1 copies in the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus* indicates frequent intrachromosomal gene conversion. *Mol Biol Evol* 2004;21:1595-601.
30. Keylock C. Simpson diversity and the Shannon-Wiener index as special cases of a generalized entropy. *Oikos* 2005;109:203-7.
31. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol* 2021;38:3022-7.
32. Rivera-Orduña FN, Suarez-Sanchez RA, Flores-Bustamante ZR, Gracida-Rodriguez JN, Flores-Cotera LB. Diversity of endophytic fungi of *Taxus globosa* (Mexican yew). *Fungal Divers* 2011;47:65-74.
33. Zhao ZZ, Chen HP, Huang Y, Zhang SB, Li ZH, Feng T, Liu JK. Bioactive polyketides and 8, 14-seco-ergosterol from fruiting bodies of the ascomycete *Daldinia childiae*. *Phytochemistry* 2017;142:68-75.
34. Choi MS. Diversity and anthrax tolerance of foliar endophytic fungi isolated from ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mey.) in Korea. Cheongju: Korea National University of Education; 2012.
35. Lee BH. Biodiversity of endophytic fungi isolated from roots of native orchid in Korea. Cheongju: Korea National University of Education; 2016.
36. Oh SY, Yang JH, Woo JJ, Oh SO, Hur JS. Diversity and distribution patterns of endolichenic fungi in Jeju Island, South Korea. *Sustainability* 2022;12:3769.
37. Lim JH, Kim JH, Bae SW. Natural regeneration pattern of pine seedlings on the burned forest site in Gosung, Korea. *Korean J Agric For Meteorol* 2012;14:222-8.
38. Fisher PJ, Petrini O, Scott HML. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytol* 1992;122:299-305.
39. Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences. *New Phytol* 2000;147:617-30.