한 국 균 학 회 지 The Korean Journal of Mycology Research Note

Aspergillus flavus Y2H001의 식물생육촉진과 Gibberellin A3의 생산

유영현[1]* · 박종명[2] · 강상모[3] · 박종한[1] · 이인중[3] · 김종국[4]*

[1]농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예특작환경과, [2]롯데중앙연구소 안전센터 유통안전팀, [3]경북대학교 응용생명과학부, [4]경북대학교 생명과학부

Plant Growth Promotion and Gibberellin A3 Production by *Aspergillus flavus* Y2H001

Young-Hyun You[1]*, Jong Myong Park[2], Sang-Mo Kang[3], Jong-Han Park[1], In-Jung Lee[3] and Jong-Guk Kim[4]*

[1]*Horticultural & Herbal Crop Environment Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Wanju 55365, Korea*
[2]*Distribution Safety Team, Safety Center, Lotte R&D Center, Seoul 07209, Korea*
[3]*School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea*
[4]*School of Life Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea*

ABSTRACT : *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara was collected from farmland in Seongju-gun. Fifteen endophytic fungal strains with different colony morphologies were isolated from roots of *P. frutescens*. Waito-c rice seedlings were treated with the concentrated culture filtrates (CF) of endophytic fungi for observation of their plant growth-promoting activities. In the results, the CF of Y2H001 fungal strain promoted the growth of the waito-c rice seedlings. The phylogenetic tree of Y2H001 strain was analyzed by the combined sequences of the partial internal transcribed spacer region (ITS) and partial betatubulin gene. Molecular and morphological studies identified the Y2H001 strain as belonging to *Aspergillus flavus*. In gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the CF of Y2H001 strain, gibberellic acid (GA) was detected and quantified. Therefore, we describe Y2H001 strain as a new GA_3-producing *A. flavus* based on morphological, molecular characteristics and analysis of secondary metabolite.

KEYWORDS : ***Aspergillus flavus*, Endophytic fungi, Gibberellic acid, Plant growth promotion**

내생균류는 식물의 잎, 줄기, 뿌리 등 식물체의 다양한 부위에 분포하고 있다[1]. 특히, 이들은 식물의 정상적인 생육을 어렵게 하는 건조, 고온 및 염분 등의 생장저해조건들에 대해 저항성과 염내성 등의 특성을 부여하며[1-3] 생장촉진, 항균효과 및 면역활성에 영향을 미친다[1, 4, 5]. 이들 내생균류는 식물과 공생하면서 다양한 이차대사산물을 생산하며, 특히 식물생육발달에 관여하는 이차대사산물(secondary metablites)로써 식물호르몬으로 알려진 옥신(auxin; IAA)과 아브시스산(abscisic acid; ABA) 및 다양한 종류의 지베렐린(gibberellin; GA)을 생산한다고 보고되고 있다[3, 6, 7]. 지베렐린은 diterpenoid 복합체로서 종자발아, 줄기신장, 개화촉진, 과육성숙, 식물의 생장 등에 관여하며[8-10], 현재까지 136 종류의 지베렐린이 보고되고 있다. 대부분의 지베렐린은 생합성 과정의 중간 대사산물로 알려져 있고, 생리활성을 나타내는 지베렐린은 소수에 불과하며 GA_1, GA_3, GA_4 및 GA_7등이 보고되어 있다. 국내에서는 최근 들어 다양한 환경에 자생하는 식물-내생균류의 공생관계에 대한 연구가 조금씩 이루어지고 있으며, 식물생장에 관여하며 지베렐린을 생산하는 내생균류로는 *Arthrinium* [11], *Aspergillus* [12], *Cadophora* [13], *Cladosporium* [7], *Pae-*

Kor. J. Mycol. 2015 September, **43**(3): 200-205
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.3.200
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

***Corresponding author**
E-mail: rocer@hanmail.net / kimjg@knu.ac.kr

Received August 31, 2015
Revised September 8, 2015
Accepted September 16, 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.

cilomyces [14], *Penicillium* [6] 및 *Phoma* [15]속 등의 균주들이 보고되고 있다.

본 연구는 우리나라 농경지에 자생하는 들깨의 뿌리로부터 내생균류를 분리 동정하고 식물의 생장촉진 활성을 가지는 균류의 이차대사산물을 분석하여 내생균류의 특성을 확인하였다.

본 연구에서는 경상북도 성주군에 위치하고 있는 농경지에서 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara)를 채집하여 내생균류 분리를 위한 식물시료로 사용하였다. 식물시료는 뿌리를 세척하여 뿌리 주변부의 토양을 제거하고, 계면활성제(Tween 80), 표백제(perchloric acid 1%) 및 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite 1%)을 이용하여 표면을 세척살균 하였다[6, 13]. 멸균된 거즈로 수분을 제거한 뿌리시료를 2~4 cm 길이로 절단하여 실험재료로 사용하였다. 내생균류의 분리를 위하여 뿌리시료로부터의 세균증식을 선택적으로 억제하기 위한 방법으로 스트렙토마이신(streptomycin) 80 mg/L이 포함된 hagem minimal (HM) 한천배지를 사용하여 25°C에서 3~5일간 배양하였다[16-18]. 최종적으로 뿌리시료의 말단 단면에서 생장한 균사를 획선도말을 이용한 계대배양법을 통하여 형태학적으로 서로 상이한 총 15균주를 순수 분리하였다.

이들 내생균류들의 식물생장촉진활성을 조사하기 위하여, 내생균류를 25°C 암조건에서 180 rpm으로 Czapek broth medium (CBM)에 접종하여 7일간 진탕배양 하였다. 배양여과액(30 mL)을 동결건조한 후, 30배 농축액으로 제조하여 난장이벼(waito-c rice)에 처리할 시료로 준비하였다[6, 13]. 난장이벼의 종자는 24시간 동안 uniconazol (Sumitomo Chemical, Tokyo, Japan) 20 mg/L과 prochloraz 25% 용액(spotac)을 2,000배 희석액을 사용하여 살균처리하였고 발아한 종자를 멸균된 water agar (0.5%)에 파종하였다. 이엽기 엽액 부분에 농축된 내생균류의 배양여과액(10 μL)을 처리하여 7일간 유묘의 생장을 관찰하였다. 대조구로는 멸균증류수(sterile distilled water, SDW)와 농축된 CBM을 같은 조건으로 만들어 사용하였고, 난장이벼의 지상부길이(shoot length)와 식물체길이(plant length)를 측정하였으며 이를 총 3 반복하였다. 통계처리는 SPSS 프로그램(version 18.0; IBM Co., Armonk, NY, USA)을 사용하여 일원배치분산분석(ANOVA)으로 기술통계값을 확인하였고, 사후검정은 Duncan's multiple range test (DMRT)의 방법[13]을 사용하여 유의확률 $p<0.05$ 수준에서 분석을 하였다(Data not shown). 난장이벼의 생장촉진활성 결과를 보면 지상부 길이는 SDW 처리군에서 4.94 cm를, CBM 처리군에서는 5.48 cm를, 이와 대조적으로 Y2H001 균주의 culture filtrates (CF) 처리군에서는 9.74 cm의 생장촉진 결과를 나타내었다. 식물체 길이는 SDW 처리군에서 9.20 cm를, CBM 처리군에서는 10.26 cm를, 이와 대조적으로 Y2H001 균주의 CF 처리군에서는 17.90 cm의 생장촉진 결과를 나타내었다(Table 1). 모든 대조구와 처리구의 통계분석에서

Table 1. Growth promotion of waito-c rice seedlings by lyophilized culture filtrates of endophytic fungi isolated from *Perilla frutescens*

Fungal isolates	Shoot length	Plant length
SDW	4.940 ± 0.270fgh	9.200 ± 0.579h
CBM	5.480 ± 0.311cdefg	10.260 ± 0.365cdefg
Y2H001	9.740 ± 0.862a	17.900 ± 0.548a
Y2H002	5.340 ± 0.385cdefg	10.000 ± 0.524efgh
Y2H003	5.640 ± 0.329bcde	9.900 ± 0.490fgh
Y2H004	5.200 ± 0.381defg	9.780 ± 0.349gh
Y2H005	5.400 ± 0.500cdefg	10.860 ± 0.639cde
Y2H006	5.260 ± 0.451cdefg	10.920 ± 0.402cde
Y2H007	5.100 ± 0.361efgh	10.780 ± 0.396cdef
Y2H008	5.860 ± 0.261bcd	10.600 ± 0.524cdefg
Y2H009	4.540 ± 0.439h	10.100 ± 0.510defgh
Y2H010	5.300 ± 0.332cdefg	11.080 ± 0.701c
Y2H011	5.920 ± 0.466bc	12.020 ± 1.143b
Y2H012	5.620 ± 0.540bcdef	11.020 ± 0.449cd
Y2H013	5.500 ± 0.539cdef	10.840 ± 0.336cde
Y2H014	6.220 ± 0.705b	12.460 ± 1.474b
Y2H015	4.800 ± 0.212gh	9.240 ± 0.397h

Ten microliters of lyophilized fungal culture filtrates was treated to waito-c rice seedlings. The shoot and plant length of the waito-c rice seedlings were observed after a week of treatment. According to Duncan's multiple range test ($p < 0.05$), the different letters in a row indicate significant differences. Data are expressed as mean value ± standard deviation.
SDW, sterile distilled water; CBM, lyophilized Czapek broth medium.

최상위 a 그룹으로 분류되는 것을 확인하였고, 다른 14균주는 CBM 처리조건과 비슷하거나 크게 생장한 정도가 아님을 관찰할 수 있었다. 식물생장 촉진 활성을 보이는 Y2H001 균주의 분자계통학적 동정을 위해 다음과 같은 과정을 거쳤다. 균주를 potato dextrose broth (PDB) 배지에 접종하고 25°C의 암조건 하에서 7일간 120 rpm으로 진탕배양하여 수확된 균체를 동결건조 하였다. 동결건조된 시료는 DNeasy plant mini kit (QIAGEN, Germantown, MD, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였으며, internal transcribed spacer region (ITS) 영역의 염기서열 증폭을 위하여 ITS1과 ITS4 프라이머[19]를 사용하였고, β-tubulin 유전자의 증폭을 위한 프라이머로 Bt2a와 Bt2b [20]를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR) 반응을 진행하였다. 증폭된 PCR 산물은 purification kit (Accu Prep PCR & Gel Extraction Kit; Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 정제한 후 염기서열을 의뢰하여 해독하였다. ITS 염기서열과 β-tubulin 유전자 염기서열은 NCBI의 GenBank BLAST 검색을 통해 기존 데이터베이스와 상동성이 높은 근연종들과 문헌조사를 통하여 비교하였으며, *Aspergillus*

flavus 균주와의 유의성이 100% 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 계통학적인 분석은 MEGA 프로그램(Version 6.0)을 이용하여 ClustalW 방법으로 multiple alignment를 수행하였다. Phylogenetic tree의 도출은 maximum likelihood (ML) method를 이용하여 Kimura 2-parameter 상수모델 알고리즘을 적용했으며, branch의 신뢰도를 위하여 bootstrap value는 1,000번 반복하여 분석하였다[21].

NCBI GenBank로부터 accession no.를 부여받은 Y2H001 균주의 ITS영역 염기서열(KT462567)과 β-tubulin 유전자 염기서열(KT462568)을 결합하여 표준균주와 문헌자료를 통하여 계통분석을 수행하였다. 그 결과 당 균주는 분류학적으로 *Aspergillus*속의 section *Flavi*에 포함되었으며, 분자계통학적 분석결과 *A. flavus*로 동정되었다(Fig. 1).

형태학적 관찰은 malt extract agar (MEA), czapek yeast extract agar (CYA) 및 creatine sucrose agar (CREA) 배지상에서 배양한 Y2H001 균주를 기반으로 실시하였고, 배양조건은 공통적으로 25°C의 암조건에서 7일간 배양하였다. MEA 배지에서 생장한 균체는 광학현미경(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 사용하여 분생포자경과 분생포자를 관찰하였다.

A. flavus Y2H001 균주의 미세형태 관찰을 위해 MEA 배지에서 배양하였고 콜로니가 4.5 × 3.5 cm로 관찰되었으며, CYA 배지는 5.0 × 4.5 cm를, CREA는 2.5 × 2.5 cm의 크기를 나타내었다. Y2H001 균주의 분생포자경의 자루(stipe)는 800~1,500 × 8.0~12.5 μm 크기에 표면이 조금 거칠었고, 경자(phialides)는 15~30 × 3.5~5.5 μm 크기였으며, 소낭(vesicle)은 27~35 × 27~38 μm였다. 또한 분생포자는 3~3.5 × 3~3.5 μm 크기인 것을 관찰할 수 있었다. 분자계통학적 특징과 형태학적인 특징을 토대로 Y2H001균주는 *A. flavus*로 동정되었다[22] (Fig. 2).

A. flavus Y2H001 균주의 이차대사산물을 분석하기 위하여 배양여과액의 pH를 조정하고 내부표준물질로는 20 ng의 [17, 17-$^2H_2$] GAs를 추출하기 전에 배양여과액에 첨가하였으며, 배양여과액에 ethyl acetate (EtOAc)를 첨가하여 pH를 조정하였다. 시료는 C_{18} column (90~130 μm, 60 pore size, Altech)과 Celite/SiO_2 column (용매 formic acid로 포화된 ethyl acetate : hexane = 95 : 5)을 이용하여 농축된 시료로 준비하였다. Y2H001 균주가 생산하는 이차대사산물의 분석을 위하여 high-performance liquid chromatography (HPLC) column은 μ BondaPak C_{18} column (3.9 × 300 mm)을 사용하였고, 분획시료를 gas chromatography mass spectrometry (GC/MS)에 주입하였다[5, 6, 12]. 그리고 5973 Network Mass Selective Detector (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)가 설치된 GC/MS를 이용하여 hydrocarbon standard를 통해서 정량분석 및 KRI value를 나타냈다. 각 GA와 [$^2H_2$] GA internal standards

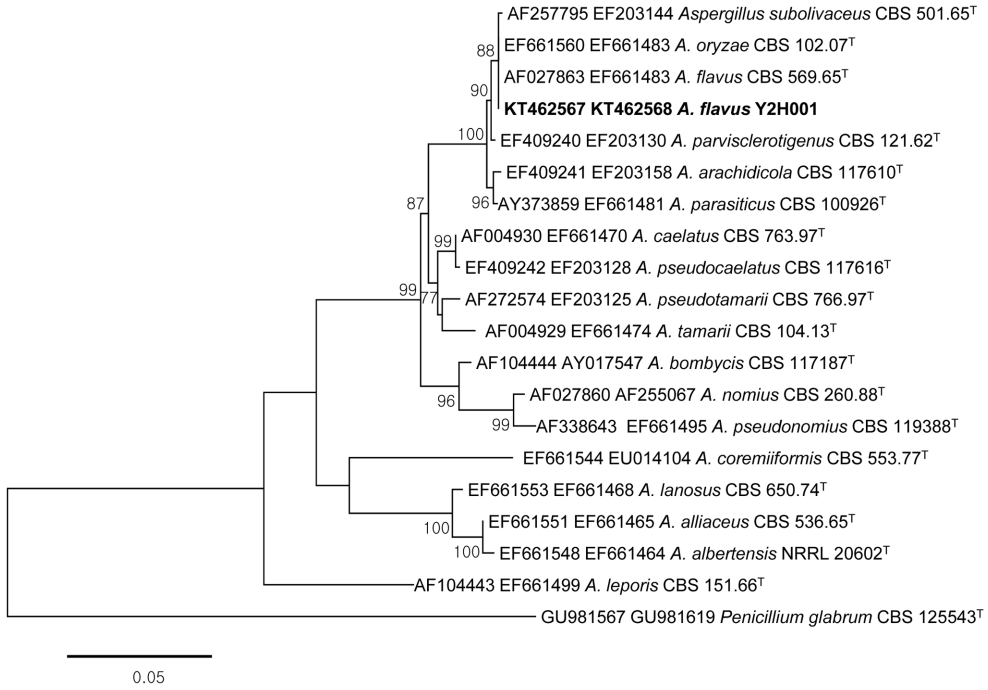

Fig. 1. Phylogenetic position of *Aspergillus flavus* Y2H001 based on sequences data of combined of partial internal transcribed spacer region and partial β-tubulin. DNA sequences of the *A. flavus* Y2H001 strain was compared with type strains belonging to *Aspergillus* section *Flavi* [22]. Dendrogram was constructed by the maximum likelihood method and Kimura 2-parameter algorithm (1,000 bootstrap replications) with MEGA 6 software. The "T" after the collection number indicates the type strains of the species. Bootstrap values (70%) are indicated at relevant nodes. (scale bar = 0.05)

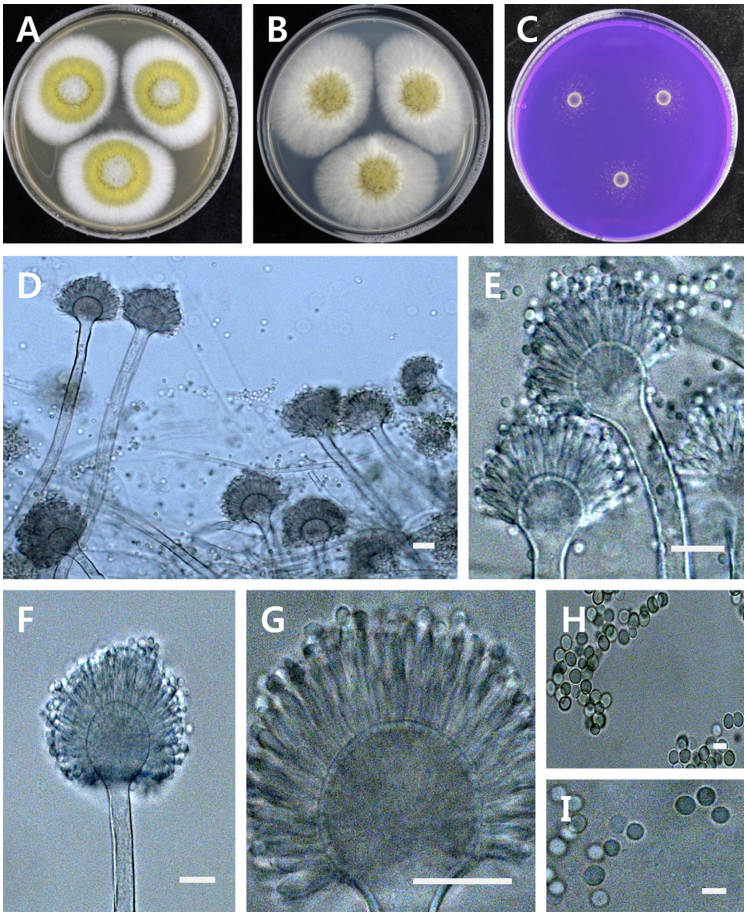

Fig. 2. *Aspergillus flavus* Y2H001. A, Colonies on malt extract agar; B, Colonies on Czapek yeast extract agar; C, Colonies on creatine sucrose agar; D~G, Conidiophores and conidia; H~I, Conidia (scale bars: D~G = 20 μm, H~I = 5 μm).

(Obtained from Prof. Lewis N. Mander, Australian National University, Canberra, Australia)의 3개의 ion mass를 비교하여 정량 분석하였다[6, 7]. 그 결과 *A. flavus* Y2H001 균주의 이차대사산물에서 GA_3 (1.954 ng/mL)가 확인되었다(Fig. 3).

본 연구는 들깨의 뿌리로부터 분리된 내생균류가 들깨 생육에 미치는 영향을 확인하기 위하여 난장이벼의 유묘를 대상으로 생장촉진활성을 검정하였다. 생장촉진활성을 나타낸 Y2H001균주의 분자계통분석과 형태학적 관찰을 통해 *A. flavus*로 동정하였으며 *A. flavus* Y2H001균주의 배양 여과액을 분석하여 GA_3를 생산하는 것이 확인되었다. 현재까지 알려진 GA는 136종류이지만 4종류 만이 식물생장활성에 관여한다고 보고되고 있으며, 특히 식물과 공생관계인 내생균류가 이차대사산물로써 생산한다고 보고되고 있다. 모든 내생균류가 GA를 생산하는 것은 아니고, 이들만의 특이적인 생합성 유전자와 관련되었다고 할 수 있다[23]. 최근에 들어서 다양한 환경에 자생하는 식물과 공생관계인 내생균류의 GA생산 연구가 발표되고 있지만[7, 12, 13], 특정한 균주가 GA를 생산한다는 보고는 없으며, 생태계에 따라서 내생균류만의 생리적인 진화가 이루어졌다고 할 수 있다. 최근 국외에서는 식물-내생균류의 연구가 점차적으로 보고되고 있으며, 내생균류의 다양한 이차대사산물 생산과 관련된 것으로 보여진다. 그리고 국내에서는 내생균류에 대한 보고가 많이 이루어지지 않아 확대된 연구가 필요할 것이며, 본 연구에서 보고하는 *A. flavus*는 곰팡이 독소인 aflatoxin [23]을 생산하는 균주로서 많이 알려져 있다. *A. flavus*와 다른 균주의 혼합배양을 통하여 aflatoxin을 생산에 대한 연구와 배양조건[24], 환경 또는 다른 물질첨가 등에 따라 aflatoxin의 생산과 생합성 유전자에 대한 연구들이 이루어지고 있다[25, 26]. 본 연구에서 분리된 *A. flavus*는 식품분야에서 곰팡이 독소와 관련하여 많이 연구되었지만, 환경분야에서는 보고가 잘 없는 상황이다. 그리고 추후에 GA를 생산하는 다양한 내생균류에 대하여 GA 생합성 비교분석 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 들깨의 뿌리에서 식물의 생육발달에 긍정적 영향을 미치는 *A. flavus*를 분리하여 GA를 생산하는 새로운 균주로서 보고한다. 그리고 농작물을 포함하는 다양한 생태계의 식물들과 내생균류에 대한 연구의 중요성과

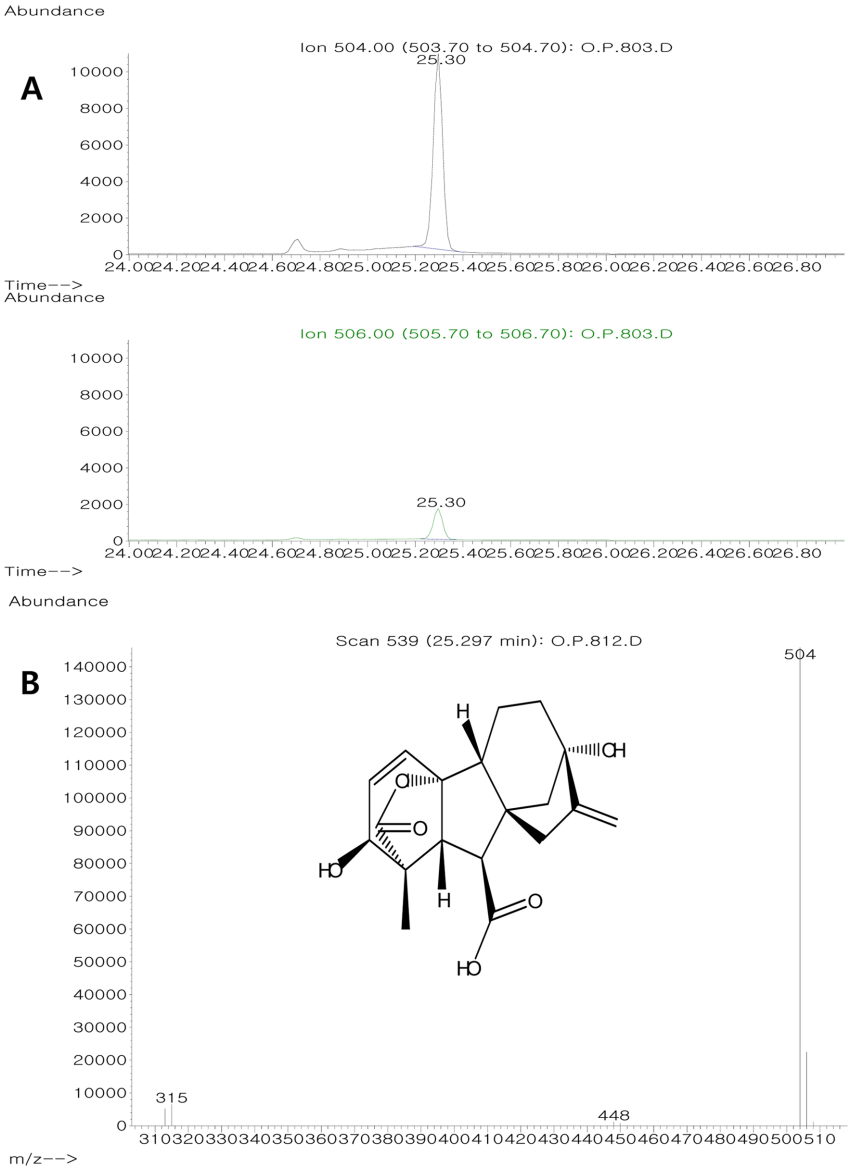

Fig. 3. On gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) selected ion monitoring (SIM) analysis extracted from culture filtrate of Y2H001 strain, a bioactive gibberellic acid (GA) was detected [12]. The GC-MS SIM spectra for GA_3 in culture filtrate of the *Aspergillus flavus* Y2H001. Arrow indicates the peak of fungal GA_3 that coincides with that of internal standard GA_3. A, GC-MS peak of culture filtrate, and GA_3 standard; B, Ion value of standard GA_3.

이들 내생균류가 생산하는 다양한 이차대사산물에 대한 연구가 필요할 것이다.

적 요

경상북도 성주군의 농경지에서 자생하는 들깨를 채집하여 이로부터 형태학적으로 상이한 15개의 내생진균을 순수분리하였다. 이들의 배양여과액을 이용하여 난장이벼의 유묘에 처리하여 식물생장촉진 활성을 조사한 결과, 이들 중 Y2H001균주가 식물생장활성이 가장 우수한 것으로 나타났다. Y2H001균주의 ITS영역 염기서열과 β-tubulin 유전자 염기서열을 사용하여 계통학적 유연관계를 확인하였으며, 이러한 분자계통학적 분석 및 형태학적 관찰을 통해 *Aspergillus flavus*로 동정되었다. 또한 *A. flavus* Y2H001균주의 배양여과액을 GC/MS를 통하여 분석하였고 식물생장을 촉진하는 원인물질로 GA_3 (1.954 ng/mL)를 생산하는 것을 확인하였다.

Acknowledgements

This work was carried out with the support of “Research Program for Agriculture Science & Technology De-

velopment (Project title: Diagnosis of horticultural and herbal crops diseases and insect pests, Project No. PJ011 36802)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

REFERENCES

1. Redman RS, Sheehan KB, Stout RG, Rodriguez RJ, Henson JM. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. Science 2002;298:1581.
2. Rodriguez RJ, Redman RS, Henson JM. The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. Mitigation Adapt Strateg Glob Chang 2004;9:261-72.
3. Rodriguez RJ, Henson J, Van Volkenburgh E, Hoy M, Wright L, Beckwith F, Kim YO, Redman RS. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. ISME J 2008;2:404-16.
4. Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Hückelhoven R, Neumann C, von Wettstein D, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc Natl Acad Sci USA 2005;102:13386-91.
5. You YH, Yoon H, Kang SM, Shin JH, Choo YS, Lee IJ, Lee JM, Kim JG. Fungal diversity and plant growth promotion of endophytic fungi from six halophytes in Suncheon Bay. J Microbiol Biotechnol 2012;22:1549-56.
6. Khan SA, Hamayun M, Yoon H, Kim HY, Suh SJ, Hwang SK, Kim JM, Lee IJ, Choo YS, Yoon UH, et al. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. BMC Microbiol 2008;8:231.
7. Hamayun M, Khan SA, Ahmad N, Tang DS, Kang SM, Na CI, Sohn EY, Hwang YH, Shin DH, Lee BH, et al. *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr. World J Microbiol Biotechnol 2009;25:627-32.
8. Hedden P, Phillips AL. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. Trends Plant Sci 2000;5:523-30.
9. Choi WY, Sin KS, Lee IJ, Rhee IK, Lee JH, Kim JG. Isolation of gibberellin-producing *Penicillium* spp. from the root of *Lindera obtusiloba* and *Vaccinium koreanum*. Kor J Mycol 2004; 32:16-22.
10. Rim SO, Lee JH, Choi WY, Hwang SK, Suh SJ, Lee IJ, Rhee IK, Kim JG. *Fusarium proliferatum* KGL0401 as a new gibberellin-producing fungus. J Microbiol Biotechnol 2005;15:809-14.
11. Khan SA, Hamayun M, Kim HY, Yoon HJ, Seo JC, Choo YS, Lee IJ, Kim SD, Rhee IK, Kim JG. A new strain of *Arthrinium phaeospermum* isolated from *Carex kobomugi Ohwi* is capable of gibberellin production. Biotechnol Lett 2009;31:283-7.
12. You YH, Kwak TW, Kang SM, Lee MC, Kim JG. *Aspergillus clavatus* Y2H0002 as a new endophytic fungal strain producing gibberellins isolated from *Nymphoides peltata* in fresh water. Mycobiology 2015;43:87-91.
13. You YH, Yoon H, Kang SM, Woo JR, Choo YS, Lee IJ, Shin JH, Kim JG. *Cadophora malorum* Cs-8-1 as a new fungal strain producing gibberellins isolated from *Calystegia soldanella*. J Basic Microbiol 2013;53:630-4.
14. Khan AL, Hamayun M, Kang SM, Kim YH, Jung HY, Lee JH, Lee IJ. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. BMC Microbiol 2012;12:3.
15. Hamayun M, Khan SA, Khan AL, Rehman G, Sohn EY, Shah AA, Kim SK, Joo GJ, Lee IJ. *Phoma herbarum* as a new gibberellin-producing and plant growth-promoting fungus. J Microbiol Biotechnol 2009;19:1244-9.
16. Hasan HA. Gibberellin and auxin production plant root fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. Rostl Vyroba 2002;48:101-6.
17. Yamada A, Ogura T, Degawa Y, Ohmasa M. Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. Mycoscience 2001;42:43-50.
18. You YH, Park JM, Han KS, Park JH, Kim JG. Comparative analysis of endophytic fungi isolated from dominant hydrophytes in Junam and Dongpan wetland. Kor J Mycol 2015;43: 92-8.
19. White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, editors. PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
20. Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Appl Environ Microbiol 1995;61: 1323-30.
21. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol 2013;30:2725-9.
22. Visagie CM, Hirooka Y, Tanney JB, Whitfield E, Mwange K, Meijer M, Amend AS, Seifert KA, Samson RA. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. Stud Mycol 2014;78:63-139.
23. Rim SO, You YH, Yoon H, Kim YE, Lee JH, Kang MS, Kim C, Seu YB, Kim JG. Characterization of gibberellin biosynthetic gene cluster from *Fusarium proliferatum*. J Microbiol Biotechnol 2013;23:623-9.
24. Kang SJ, Kang JS, Chung DH. The effects of mixed culture with *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Penicillium griseofulvum* on aflatoxin and patulin production. J Food Hyg Saf 2001;16:206-11.
25. Park ES, Bae IK, Kim HJ, Lee SE. Novel regulation of aflatoxin B1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by piperonal. Nat Prod Res 2015;14:1-4.
26. Yin HB, Chen CH, Kollanoor-Johny A, Darre MJ, Venkitanarayanan K. Controlling *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production in poultry feed using carvacrol and trans-cinnamaldehyde. Poult Sci 2015;94:2183-90.