

제주도에 서식하는 목본 식물의 잎에서 분리한 미기록 내생균

이봉형¹ · 김동여¹ · 박혁¹ · 어주경² · 이항범³ · 엄안흠^{1*}

¹한국교원대학교 생물교육과, ²국립생태원 생태연구본부 생태기반연구실, ³전남대학교 응용생명공학부

Identification of Unrecorded Endophytic Fungi Isolated from Leaves of Woody Plants in Jeju, Korea

Bong-Hyung Lee¹, Dong-Yeo Kim¹, Hyeok Park¹, Ju-Kyeong Eo², Hyang Burm Lee³ and Ahn-Heum Eom^{1*}

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 28173, Korea

²Bureau of Basic Ecological Research, National Institute of Ecology, Seoecheon 33657, Korea

³Division of Food Technology, Biotechnology & Agrochemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

ABSTRACT : In this study, endophytic fungi were isolated from the leaves of five species of woody plants in Jeju, Korea, namely *Chamaecyparis obtusa*, *Cryptomeria japonica*, *Torreya nucifera*, *Ilex crenata*, and *Camellia japonica*. The isolated fungal endophytes were identified based on their morphological and molecular characteristics including a sequence analysis of the internal transcribed spacer and 26S regions of rDNA and β -tubulin genes. Ten species of fungal endophytes have not been previously reported in Korea, namely *Mycosphaerella aleuritidis*, *Neofusicoccum eucalyptorum*, *Neofusicoccum parvum*, *Phyllosticta citrichinensis*, *Phyllosticta cryptomeriae*, *Phomopsis cotoneastri*, *Sphaerulina rhododendricola*, *Guignardia mangiferae*, *Lophodermium jiangnanense*, and *Lophodermium minus*.

KEYWORDS : Foliar endophytes, Jeju, Phylogenetic analysis, Unrecorded species

제주도는 전북식물구계(Haloartic floristic kingdom)에 속하며, 난대, 온대, 아고산대에 이르는 다양한 기후조건으로 인하여 풍부한 식물상을 가지고 있는 식물지리학적으로 매우 중요한 섬이다[1]. 제주도에 서식하는 식물 종의 분포 등에 관한 연구[2, 3]와 더불어 오늘날에는 기후변화로 인한 지구 온난화의 영향에 취약한 고산, 아고산 등의 일부 생태계에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다[4]. 그러나 거

시적 관점에서의 식물 종에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나, 식물과 공진화 과정을 통해 공생관계를 형성해온 다양한 내생균류에 관한 연구는 거의 미미한 실정이다[5]. 내생균은 식물의 건강한 조직에 서식하고 있는 균류로, 일반적으로 조직 내에서 병증을 나타내지 않는 균류를 말하며[6], alkaloids, steroids, terpenoids, flavonoids 등과 같은 다양한 생리활성물질의 합성이 가능하다고 보고되고 있다[7]. 따라서, 생물 다양성을 확보하기 위한 생물자원으로서 식물에 공생하는 내생균을 발굴하는 것은 시급한 실정이다. 이에 본 연구에서는 제주도에 서식하는 목본식물에서 다양한 내생균을 분리하여 형태적·분자적 동정을 통해 확인된 10종의 미기록 내생균을 보고하고자 한다.

제주도 사려니숲(N 33° 25' 23", E 126° 37' 36")에서 편백나무(*Chamaecyparis obtusa* (Siebold et Zucc.) Endl.), 삼나무(*Cryptomeria japonica* D. Don), 비자나무(*Torreya nucifera* Siebold et Zucc.), 팽팽나무(*Ilex crenata* Thunb.)를, 동백동산(N 33° 30' 52", E 126° 43' 07")에서 동백나무(*Camellia japonica* L.)의 잎을 채집하였다. 병증이 없는 잎을 무작위적으로 선별하여 24시간 내에 Richardson 등[8]의

Kor. J. Mycol. 2016 December, 44(4): 252-258
https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.252
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
E-mail: eomah@knue.ac.kr

Received November 25, 2016
Revised December 2, 2016
Accepted December 10, 2016

©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.

방법을 이용하여 균을 분리하였다. 표면 살균을 위해 무균 실험대에서 70% 에탄올과 3% 차아염소산나트륨(NaClO) 용액을 차례로 처리하고, 멸균수로 세척한 후 멸균된 거름 종이로 물기를 제거하였다. 이후 얇은 멸균된 가위를 이용하여 1 mm 크기로 자른 후 potato dextrose agar (PDA) 배지에 치상하였으며, 25°C 암소에서 배양하면서 발생한 균주를 계대배양하였다. 순수 분리된 균주는 25°C 암소에서 7일간 배양하며, 균총의 성장속도, 색, 모양, 고도 등의 형태학적 특징을 관찰하였으며, 이후 슬라이드 배양법을 통해 균사와 포자를 관찰하였다. 분자생물학적 동정을 위하여 DNeasy Plant mini kit (Qiagen, Germantown, MD, USA)을 사용하여 균주의 Genomic DNA를 추출하였으며, 이를 주형으로 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. Primer ITS1F와 ITS4를 이용하여 internal transcribed spacer (ITS) 영역[9]을, primer LR0R과 LR16을 이용하여 ribosomal DNA의 large subunit (LSU) 영역[10]을, 그리고 primer Bt2a과 Bt2b를 이용하여 β -tublin 영역[11]을 증폭하였다. PCR 조건 중 annealing 온도는 ITS 영역은

58°C, LSU 영역은 54°C, β -tublin 영역은 54°C로 설정하여 수행하였다. LSU 영역과 β -tublin 영역은 NCBI에 등록된 염기 서열이 있는 종에 한해서 분석을 실시하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 20분간 전기영동하였으며, 예상되는 크기의 band를 추출하여 정제한 후 염기서열 분석을 의뢰하였다(SolGent, Daejeon, Korea). 분석된 염기서열은 NCBI상에서 BLAST를 이용하여 유사도를 확인한 후 각 종들 간의 계통관계 분석을 위해 MEGA6 [12]를 이용하여 neighbor-joining 방법으로 계통수를 완성하였다(Figs. 1~3).

***Mycosphaerella aleuritidis* (I. Miyake) S. H. Ou, Sinensia, Shanghai 11: 183 (1940)**

Malt extract agar (MEA) 배지에서 7일간 배양 시 직경 19~22 mm이고(Fig. 4A), PDA 배지에서 배양 시 직경 20~23 mm 크기로 자랐다(Fig. 4B). PDA에서 자란 균총의 표면부는 처음에 갈색을 띠고 있었으나, 시간이 지날수록 검은색으로 변하여, 많은 양의 삼출물이 나타났다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *M. aleuritidis* KC281

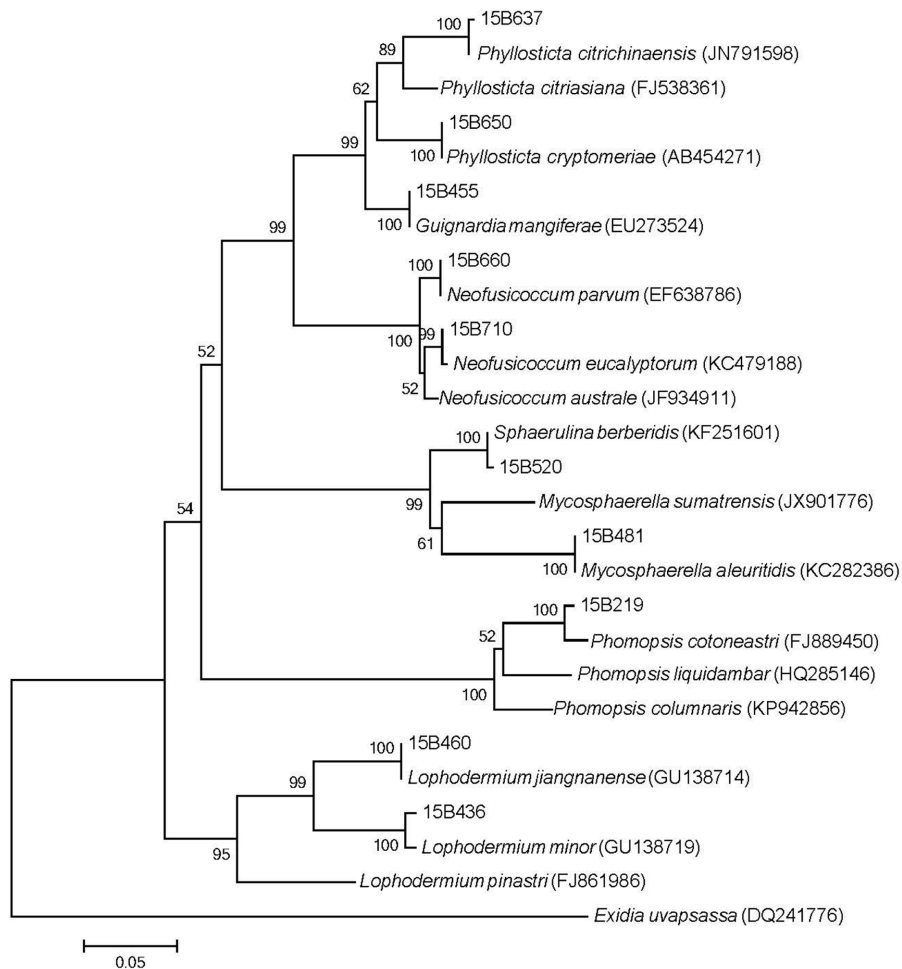


Fig. 1. Neighbor-joining tree of endophytic fungal strains isolated from leaves of woody plants in Jeju. Internal transcribed spacer region were used for sequence analysis. *Exidia uvapsassa* was used as an outgroup.

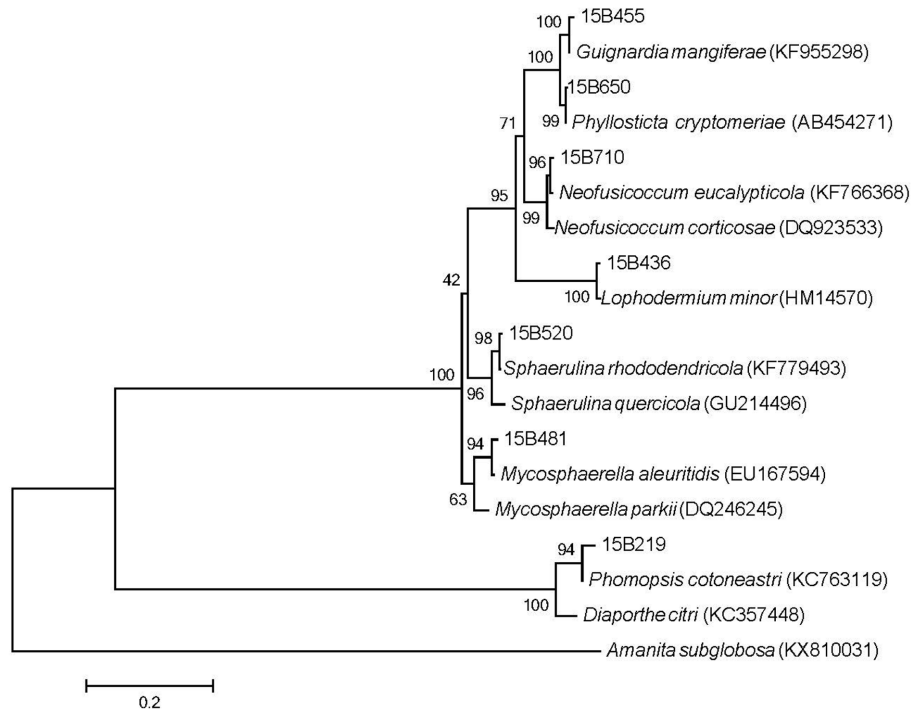


Fig. 2. Neighbor-joining tree of endophytic fungal strains isolated from leaves of woody plants in Jeju. Large subunit region was used for sequence analysis. *Amanita subglobosa* was used as an outgroup.

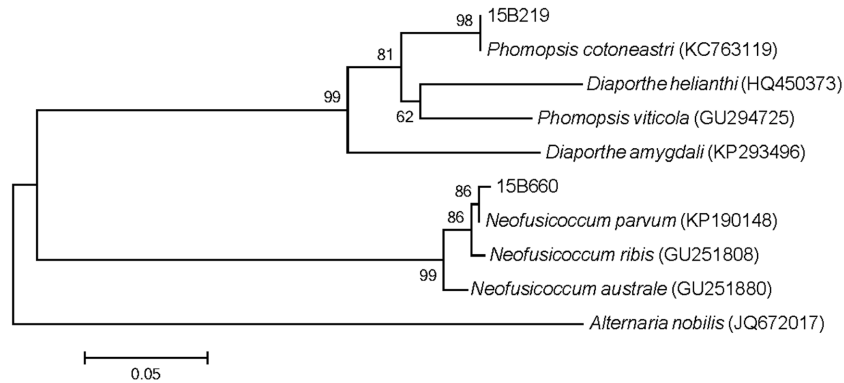


Fig. 3. Neighbor-joining tree of endophytic fungal strains isolated from leaves of woody plants in Jeju. β -tubulin region was used for sequence analysis. *Alternaria nobilis* was used as an outgroup.

386과 99% 상동성을 보였으며, LSU 영역에 대한 염기서열을 분석한 결과 *M. aleuritidis* EU167594와 98% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 편백나무(*Chamaecyparis obtuse* (Siebold et Zucc.) Endl.)의 침엽, 15B481(NIBRFG0000194889)

***Neofusicoccum eucalyptorum* (Crous, H. Sm. ter & M. J. Wingf.) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips 2006**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 43~45 mm이고(Fig.

4C), PDA 배지에서 배양 시 직경 59~65 mm 크기로 자랐다(Fig. 4D). 균총의 중심에는 균사가 밀집되어 있으며, 중심에서 가장자리로 갈수록 균사가 성기게 형성되어 있고, 공중균사가 발달해있다. 이 균주의 ITS 지역의 염기서열을 분석한 결과 *N. eucalyptorum* KC479188과 99% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 편백나무(*Chamaecyparis obtuse* (Siebold et Zucc.) Endl.)의 침엽, 15B710(NIBRFG0000194901)

***Neofusicoccum parvum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A. J. L. Phillips 2006**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 63~65 mm이고(Fig. 4E), PDA 배지에서 배양 시 직경 65~66 mm 크기로 자랐다(Fig. 4F). 흰색의 균사가 조밀하게 모여있는 것이 특징이며, 공중균사가 발달했고, 삼출물은 없다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *N. parvum* EF638786과 99% 상동성을 보였으며, LSU 영역에 대해서는 *N. parvum* KT 189496과 94% 상동성을 보였고, β -tubulin 영역에 대해서는 *N. parvum* KR260807과 98% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 삼나무(*Cryptomeria japonica* D. Don)의 침엽, 15B660(NIBRFG0000194899)

***Phyllosticta citrichinensis* X. H. Wang, Chen, Huang, Zhang, K. D. Hyde & H. Y. Li, Fungal Diversity Res. Ser. 52(1): 215 (2012)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 23~25 mm이고(Fig. 4G), PDA 배지에서 배양 시 직경 24~29 mm 크기로 자랐다(Fig. 4H). 균총의 모양은 불규칙하며, 가장자리에 환대를 가지고 있고, 균총 사이에 깊은 홈이 발달해 있다. 현미경으로 관찰한 결과 점액성 보호막을 가지고 있는 포자가 관찰되었으며, 그 크기는 $8\sim 12 \times 6\sim 7 \mu\text{m}$ 정도이다(Fig. 5A). *Phyllosticta citrichinensis*는 다른 *Phyllosticta*속의 균주보다 긴 장축을 가지고 있는 것이 특징이며[13], 본 연구에서도 $12 \mu\text{m}$ 정도의 장축을 가진 포자가 많이 관찰되었다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *P. citrichinensis* JN791598과 98% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 삼나무(*Cryptomeria japonica* D. Don)의 침엽, 15B637(NIBRFG0000194895)

***Phyllosticta cryptomeriae* Kawam., Bull. Govt Forest Exp. Stn Meguro 10: 97 (1913)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 22~26 mm이고(Fig. 4I), PDA 배지에서 배양 시 직경 17~20 mm 크기로 자랐다(Fig. 4J). 균총이 처음 형성될 때에는 연한 노란색을 띠고 있었으나, 시간이 지남에 따라 짙은 회색의 균사로 변하며, 균총이 불규칙한 형태를 띠고 있다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *P. cryptomeriae* AB454271과 99% 상동성을 보였으며, β -tubulin 영역에 대해서는 *P. cryptomeriae* AB704257과 92% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 삼나무(*Cryptomeria japonica* D. Don)의 침엽, 15B650(NIBRFG0000194896)

***Phomopsis cotoneastri* Punith., Trans. Br. mycol. Soc. 60(1): 157 (1973)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 71~72 mm이고(Fig. 4K), PDA 배지에서 배양 시 직경 61~62 mm 크기로 자랐다(Fig. 4L). 균총의 성장속도가 매우 빠르며, 흰색의 균사체가 물결모양을 형성하고 있고 변연부는 불규칙한 형태를 띠고 있다. *Phomopsis*속은 α 형 포자와 β 형 포자를 만드는 원통형의 경자(phialide)가 들어 있는 검은색의 분생자과(conidiomata)를 가지고 있는 것이 특징[14]이며, 본 연구에서도 현미경으로 포자를 관찰한 결과, 크기 $1\sim 1.5 \times 3\sim 4 \mu\text{m}$ 정도의 α 형 분생포자(conidiophore)가 관찰되었고, 크기 $1 \times 24\sim 28 \mu\text{m}$ 의 β 형 포자도 관찰되었다(Fig. 5B). 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *P. cotoneastri* FJ889450과 99% 상동성을 보였으며, β -tubulin 영역에 대해서는 *P. cotoneastri* KC763119와 99% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 비자나무(*Torreya nucifera* Siebold et Zucc.)의 침엽, 15B219(NIBRFG0000194880)

***Sphaerulina rhododendricola* Crous & Cheew., in Crous et al., Persoonia 31: 243 (2013)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 11~12 mm이고(Fig. 4M), PDA 배지에서 배양 시 직경 11~13 mm 크기로 자랐다(Fig. 4N). 균총의 성장속도가 매우 느리며, 중심부가 시간이 지남에 따라 짙은 회색의 균사체를 형성한다. 포자를 현미경으로 관찰한 결과 중앙에 한 개의 격벽을 가진 자낭포자(ascospore)가 높은 밀도로 관찰되었으며, 크기는 $1\sim 1.5 \times 6\sim 9 \mu\text{m}$ 정도이다(Fig. 5C).

이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 *S. rhododendricola* KF777187과 99% 상동성을 보였으며, LSU 영역에 대해서는 *S. rhododendricola* KF779483과 99% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 사려니숲, N 33°25'23", E 126°37'36", 2015년 7월 1일, 팽팽나무(*Ilex crenata* Thunb.)의 잎, 15B520(NIBRFG0000194890)

***Guignardia mangiferae* A. J. Roy, Indian Phytopath. 20 (4): 348 (1968)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 32~35 mm이고(Fig. 4O), PDA 배지에서 배양 시 직경 45~47 mm 크기로 자랐다(Fig. 4P). MEA 배지에서 자란 균총의 중심부는 균청색을 띠고 있으며, 변연부는 흰색의 띠를 형성하고 있다. 또한 균총의 가장자리에는 원형의 깊은 홈이 형성되어 있다. PDA에서 자란 균총은 동심원의 띠를 형성하며, 뚜렷한 층을 형성한다. 현미경으로 포자를 관찰한 결과 $8\sim 9 \times 9\sim 10 \mu\text{m}$ 크기의 포자가 관찰되었으며, 포자 표면에 여러 갈래의 불규칙한 홈이 형성되어 있다(Fig. 5D). 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *G. mangiferae* EU273524와 99% 상동성을 보였으며, LSU 영역에 대해서는 *G. mangi-*

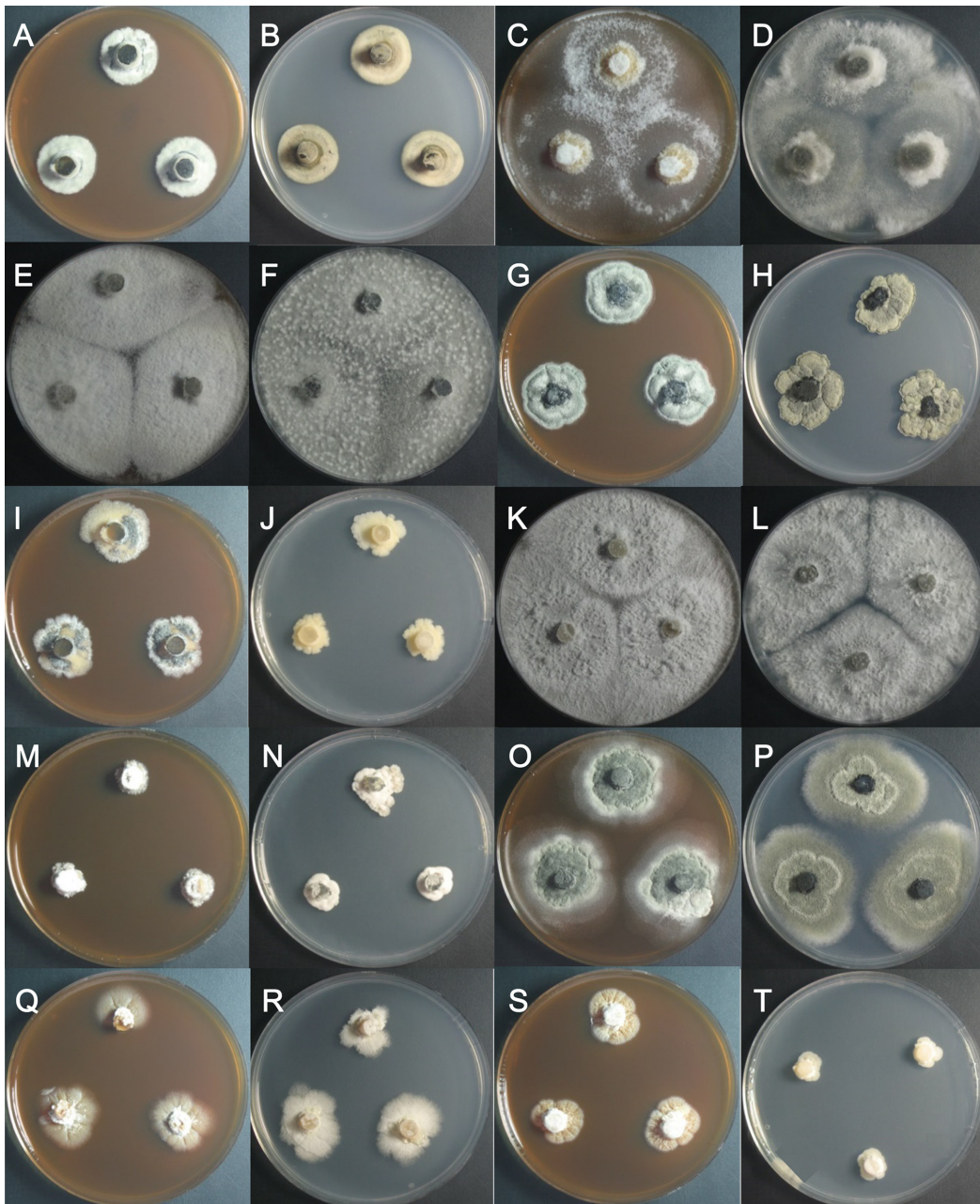


Fig. 4. Colony of strain 15B481 (*Mycosphaerella aleuritidis*) grown on MEA (A) and PDA (B) for 7 days at 25°C; Colony of strain 15B710 (*Neofusicoccum eucalyptorum*) grown on MEA (C) and PDA (D) for same conditions; Colony of strain 15B660 (*Neofusicoccum parvum*) grown on MEA (E) and PDA (F) for same conditions; Colony of strain 15B637 (*Phyllosticta citrichinaensis*) grown on MEA (G) and PDA (H) for same conditions; Colony of strain 15B650 (*Phyllosticta cryptomeriae*) grown on MEA (I) and PDA (J) for same conditions; Colony of strain 15B219 (*Phomopsis cotoneastri*) grown on MEA (K) and PDA (L) for same conditions; Colony of strain 15B520 (*Sphaerulina rhododendricola*) grown on MEA (M) and PDA (N) for same conditions; Colony of strain 15B455 (*Guignardia mangiferae*) grown on MEA (O) and PDA (P) for same conditions; Colony of strain 15B460 (*Lophodermium jiangnanense*) grown on MEA (Q) and PDA (R) for same conditions; Colony of strain 15B436 (*Lophodermium minor*) grown on MEA (S) and PDA (T) for same conditions. MEA, malt extract agar; PDA, potato dextrose agar.

ferae KF955298과 98% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 동백동산, N 33°30'52", E 126°43'07", 2015년 7월 1일, 동백나무(*Camellia japonica* L.)의 잎, 15B 455(NIBRFG0000194886)

***Lophodermium jiangnanense* Y. R. Lin & S. J. Wang, in Lin, Xu, Yie & Wang, *Mycosystema* 23(1): 15 (2004)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 16~20 mm이고(Fig. 4Q), PDA 배지에서 배양 시 직경 15~32 mm 크기로 자랐

다(Fig. 4P). 균총은 불규칙한 형태를 띠고 있으며, 방사형의 홈이 깊게 형성된다. MEA에서 자란 균총의 중심부에는 흰색의 균사체가 형성된다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *L. jiangnanense* GU138714와 99% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 동백동산, N 33°30'52", E 126°43'07", 2015년 7월 1일, 동백나무(*Camellia japonica* L.)의 잎, 15B460(NIBRFG0000194887)

***Ophodermium minor* (Tehon) P. R. Johnst., Sydowia 41: 174 (1989)**

MEA 배지에서 7일간 배양 시 직경 12~18 mm이고(Fig.

4S), PDA 배지에서 배양 시 직경 11~12 mm 크기로 자랐다(Fig. 4T). 연한 노란색의 균총이 불규칙하게 형성되며, 공중균사가 발달해 있고, PDA 배지에서 배양한 균총은 생장속도가 느리다. 이 균주의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과 *L. minor* GU138719와 99% 상동성을 보였으며, LSU 영역에 대해서는 *L. minor* HM140570과 98% 상동성을 보였다.

관찰표본: 제주도 동백동산, N 33°30'52", E 126°43'07", 2015년 7월 1일, 동백나무(*Camellia japonica* L.)의 잎, 15B436(NIBRFG0000194885)

현재 내생 균류의 숙주 특이성에 관한 연구가 활발히 진

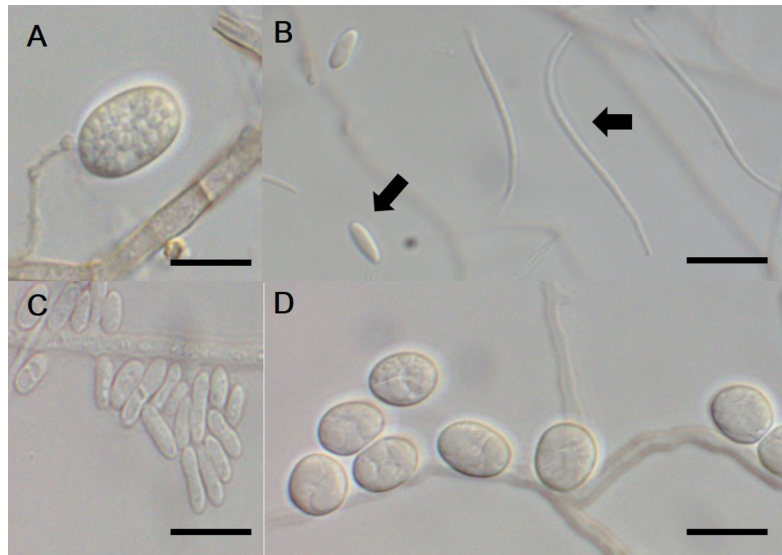


Fig. 5. Conidiophore and conidia (A) of strain 15B637 (*Phyllosticta citrichinaensis*); α-conidia (arrow) and β-conidia (arrow) (B) of strain 15B219 (*Phomopsis cotoneastri*); ascospore (C) of strain 15B520 (*Sphaerulina rhododendricola*); conidia (D) of strain 15B455 (*Guignardia mangiferae*) (scale bars = 10 μm).

Table 1. Endophytic fungi isolated from leaves at five species of woody plants in Jeju

Fungal Isolates	Specimen Number of NIBR	Closest taxon	ITS	LSU	β-tublin
15B481	NIBRGR0000194889	<i>Mycosphaerella aleuritidis</i>	KC282386	EU167594	
15B710	NIBRGR0000194901	<i>Neofusicoccum eucalyptorum</i>	KC479188	KF766368	
15B660	NIBRGR0000194899	<i>Neofusicoccum parvum</i>	EF638786		KR260807
15B637	NIBRGR0000194895	<i>Phyllosticta citrichinaensis</i>	JN791598		
15B650	NIBRGR0000194896	<i>Phyllosticta cryptomeriae</i>	AB454271	AB454271	
15B219	NIBRGR0000194880	<i>Phomopsis cotoneastri</i>	FJ889450	KC763119	KC763119
15B520	NIBRGR0000194890	<i>Sphaerulina rhododendricola</i>	KF777187	KF779493	
15B455	NIBRGR0000194886	<i>Guignardia mangiferae</i>	EU273524	KF955298	
15B460	NIBRGR0000194887	<i>Lophodermium jiangnanense</i>	GU138714		
15B436	NIBRGR0000194885	<i>Lophodermium minor</i>	GU138719	HM140570	

NIBR, National Institute of Biological Resources; ITS, internal transcribed spacer; LSU, large subunit.

행되고 있으며, 이를 통해 숙주가 내생균류의 군집구조에 큰 영향을 미친다는 사실은 오래 전부터 밝혀졌다[15]. 그러나 현재 우리나라에서는 숙주에 따른 내생균의 군집 구조와 특이성에 관한 연구가 부족한 실정이다[16, 17]. 따라서 내생균의 군집구조에 관한 연구뿐만 아니라, 생물자원으로서 내생균류의 종 다양성을 확보하기 위한 측면에서도 내생균의 분리 및 동정에 관한 지속적인 연구가 필요할 것이다.

적 요

본 연구는 제주도 사려니숲과 동백동산에서 편백나무 (*Chamaecyparis obtusa*), 삼나무 (*Cryptomeria japonica*), 비자나무 (*Torreya nucifera*), 팽팽나무 (*Ilex crenata*), 동백나무 (*Camellia japonica*) 등 5종의 목본 식물의 잎에서 내생균을 분리하고, 형태 및 분자생물학적 특징 통해 동정하였다. 이를 위해 primer인 ITS1F와 ITS4를 이용하여 internal transcribed spacer (ITS) rDNA 영역과 primer LR0R과 LR16을 이용하여 large subunit rDNA 영역을 그리고 primer Bt2a 과 Bt2b를 이용하여 β -tubulin 영역의 염기서열을 동시에 분석하였다. 그 결과 *Mycosphaerella aleuritidis*, *Neofusicoccum eucalyptorum*, *Neofusicoccum parvum*, *Phyllosticta citrichinensis*, *Phyllosticta cryptomeriae*, *Phomopsis cotoneastri*, *Sphaerulina rhododendricola*, *Guignardia mangiferae*, *Lophodermium jiangnanense*, *Lophodermium minus* 등 10종의 미기록 내생균을 동정하였고, 이를 보고하고자 한다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the National Institute of Biological Resources (NIBR), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea.

REFERENCES

1. Im HT. Plant geographical study for the plant of Cheju. Korean J Plant Taxon 1992;22:219-34.
2. Kwak JI, Lee KJ, Han BH, Song JH, Jang JS. A study on the vegetation structure of evergreen broad-leaved forest Dongbaekdongsan (Mt.) in Jeju-do, Korea. Korean J Environ Ecol 2013;27:241-52.
3. Lee SC, Choi SH, Kang HM, Cho HS, Cho JW. The change and structure of altitudinal vegetation on the east side of Hallasan National Park. Korean J Environ Ecol 2010;24:26-36.
4. Lee DK, Kim JU. Vulnerability assessment of sub-alpine vegetations by climate change in Korea. J Korea Soc Environ Resor Technol 2007;10:110-9.
5. Eo JK, Lee BH, Eom AH. Diversity of endophytes isolated from *Thuja koraiensis* Nakai in the Korean Peninsula. Kor J Mycol 2016;44:113-7.
6. Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. Ecology 1988;69:2-9.
7. Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. Nat Prod Rep 2006;23:753-71.
8. Richardson KA, Currah RS, Hambleton S. Basidiomycetous endophytes from the roots of neotropical epiphytic Orchidaceae. Lindleyana 1993;8:127-37.
9. Gardes M, Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Mol Ecol 1993;2:113-8.
10. Vilgalys R, Hester M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. J Bacteriol 1990;172:4238-46.
11. Bischoff JE, Rehner SA, Humber RA. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. Mycologia 2009;101: 512-30.
12. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol 2013;30:2725-9.
13. Wang X, Chen G, Huang F, Zhang J, Hyde KD, Li H. Phyllosticta species associated with citrus diseases in China. Fungal Divers 2012;52:209-24.
14. Uecker FA. World list of Phomopsis names with notes on nomenclature, morphology and biology. Berlin: J. Cramer; 1988.
15. Higgins KL, Arnold AE, Miadlikowska J, Sarvate SD, Lutzoni F. Phylogenetic relationships, host affinity, and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. Mol Phylogenet Evol 2007;42:543-55.
16. Kim CK, Eo JK, Eom AH. Molecular identification of endophytic fungi isolated from needle leaves of *Pinus thunbergii*. Kor J Mycol 2012;40:183-6.
17. 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.