

모과나무 잔가지에서 분리한 국내 미기록 점균류 *Chaenomeles sinensis* 보고

안금란¹ · 김보영¹ · 윤여홍¹ · 손승렬¹ · 김성환^{1,2*}

¹단국대학교 미생물학과, ²단국대학교 생물다양성연구소

A Report of an Unrecorded Slime Mold Isolated from a Twig of *Chaenomeles sinensis* in Korea

Geum Ran Ahn¹, Bo Young Kim¹, Yeo Hong Yun¹, Seung Yeol Son¹ and Seong Hwan Kim^{1,2*}

¹Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

²Institute of Biodiversity, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

ABSTRACT : *Chaenomeles sinensis*, called as Chinese quince, belongs to the family Rosaceae and is widely distributed in Korea, China, and Japan. A microorganism was isolated from part of a twig of *C. sinensis* that showed an abnormal appearance. The microorganism was identified as the slime mold *Stemonaria longa* of the division Myxomycota, which was previously unrecorded in Korea. The present study reports the morphological characteristics of the isolated fungus and a phylogenetic relationship based on the β -tubulin gene sequences.

KEYWORDS : *Chaenomeles sinensis*, Chinese quince, Slime mold, *Stemonaria longa*

장미과인 모과나무(*Chaenomeles sinensis*)는 중국이 원산지로 우리나라에 도입되어 추위에 약해 중부 이남의 마을 주변에 심고 있는 낙엽 활엽의 큰키나무이다. 해변가나 대기오염이 심한 도시에서도 잘 서식하며 과일은 직접 섭취할 수 없으며 향기가 좋아 방향제 및 차나 술로 활용한다 [1]. 뿐만 아니라 약으로의 효능이 알려져 있는데 간경, 비경, 폐경에 효과가 있고 탄닌이 많이 함유되어 거담, 진통에 효과적이다 [2].

2015년 여름 천안의 모과나무 잔가지에 생겨난 병충처럼 보이는 검은색의 상처 부위에서 시료를 채집하였다(Fig.

1A). 시료의 상처 부위를 해부현미경(SZ61 stereo microscope; Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰(Fig. 1B) 후 부위의 일부를 생물안전작업대에서 멸균된 수술용 칼을 이용하여 1 × 1 cm로 잘랐다. 자른 절편시료를 2% 차아염소산나트륨 용액에 1분, 100% 에탄올에 1분, 멸균된 증류수에 1분씩 처리하였다가 물기를 제거하고 나서 potato dextrose agar (PDA)에 접종하였다. 시료가 접종된 PDA 배지는 25°C 배양기에 3일간 배양하였고 배지에 자라나온 균을 순수분리하였다 [3]. 순수 분리된 균의 미세구조는 광학현미경(Axioskop40; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 관찰하였으며, 분자적 특징을 알아보기 위해 drilling 방법에 따라 genomic DNA를 추출하고 [4], BT12 (5'-GTTGTCAATGCAGAAGGTCTC-3')/T10 (5'-ACGATAGTTCACTCCAGAC-3') [5] 프라이머를 이용하여 β -tubulin gene sequence를 polymerase chain reaction (PCR) 방법으로 증폭하였다. PCR 증폭은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, denaturation 94°C 30초, annealing 56°C 30초, elongation 72°C 30초 조건에서 총 30 cycle 진행하고 마지막으로 72°C에서 10분간 final extension하여 수행하였다. PCR 증폭된 DNA 산물은 1% (w/v) 아가로스겔 전기영동을 수행하여 확인한 후 High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Basel, Swiss)를 사용하여 정제하고 마크로젠사

Kor. J. Mycol. 2016 December, 44(4): 342-345
<https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.342>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail: piceae@dankook.ac.kr

Received October 24, 2016

Revised November 8, 2016

Accepted November 14, 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.

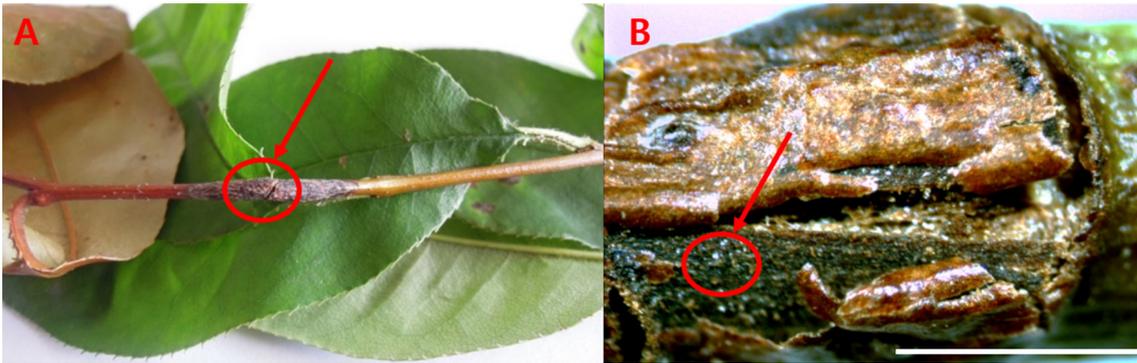


Fig. 1. Photo of a twig of *Chaenomeles sinensis* with a discolored and slightly protruded region (A) and stereoscopic microscopic image of the region (40×) (B). Arrow indicates sampling point for microorganism isolation (scale bar = 10 μm).

(Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다. 분석 균주와 관련된 taxon의 염기서열은 NCBI의 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)에서 다운받아 사용하였고 MEGA 6 프로그램을 이용하여 염기서열의 유사도 및 phylogenetic analysis를 수행하였다. 계통도는 neighbor-joining 방법 [6]으로 분석하였고 계통도 가지의 clade 신뢰도는 1,000번의 bootstrap resampling을 수행하여 평가하였다. 동정된 균주 DK10-18는 국립생물자원관에 기탁하여 NIBR FGC000146299으로 기탁번호를 받았다.

***Stemonaria longa* DK10-18 (NIBRFGC000146299)**

2015년 여름 충남 천안의 모과나무 잔가지에서 분리되었다. 분리된 균주 DK10-8을 PDA 배지에 25°C 10일간 배양한 결과 균층의 직경은 약 85 mm이고 밀도는 조밀하였으며 표면은 미색 또는 회색이다(Fig. 2A). 포자낭(sporangia)은 $11.6 \pm 0.1 \times 10.8 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 크기의 타원형의 모양이었다(Fig. 2B). DK10-18 균주는 *Stemonaria longa*의 β -tubulin gene sequence (JX681140)와 100% 유사도를 보였다. 국제적으로 아직 점균류에 대한 계통분석학적 연구는 매우 미

비한 실정이므로 GenBank database를 통한 유사도 검색에서 가깝게 나타난 균류들과의 관계를 참고하기 위해 phylogenetic analysis 통해 유연 관계를 본 결과는 Fig. 3에 제시하였다. *Stemonaria longa* (NIBRFGC000146299)와 일치한 균인 *Stemonaria longa* Nann. -Bremek., Y. Yam. & R. Sharma는 원생동물계(kingdom: Protozoa), 점균문(phylum: Myxomycota), 점균강(class: Myxomycetes), 스테모니티스목(order: Stemonitales), 스테모니티스과(family: Stemonitidaceae)에 속하는 점균류(slime mold) 또는 변형균류(myxomycota)이다[7].

변형균류는 엽록소가 없어 종속 영양생활을 하며 주로 고목, 낙엽, 풀잎, 살아있는 나무껍질 등에서 서식하며 포자로 번식하는 점에서는 균류에 가깝다. 환경이 좋지 않을 때 균핵을 만들고 환경이 좋아지면 발아하여 생활하며 점액물질이 존재하여 점균류라고도 한다[8]. 국내에서 *Stemonaria* 속에 속하는 종이 지금까지 2종이 고목에서 분리 보고되었고, 자주색슬점균 *S. flavogenita* (전북 진안군 운장산)와 *S. fusca* (충북 영동군 민주지산)이다[7]. 본 연구에서 추가로 *S. longa*를 보고함으로써 이제 우리나라에서 총 3종의 *St-*

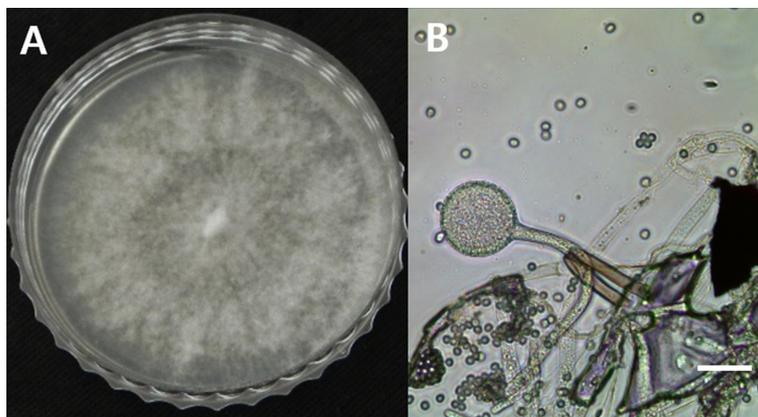


Fig. 2. Colony morphology on potato dextrose agar plate (A) and a light microscopic image (B) of sporangia and sporangiospores of *Stemonaria longa* isolated from *Chaenomeles sinensis* (scale bar = 10 μm).

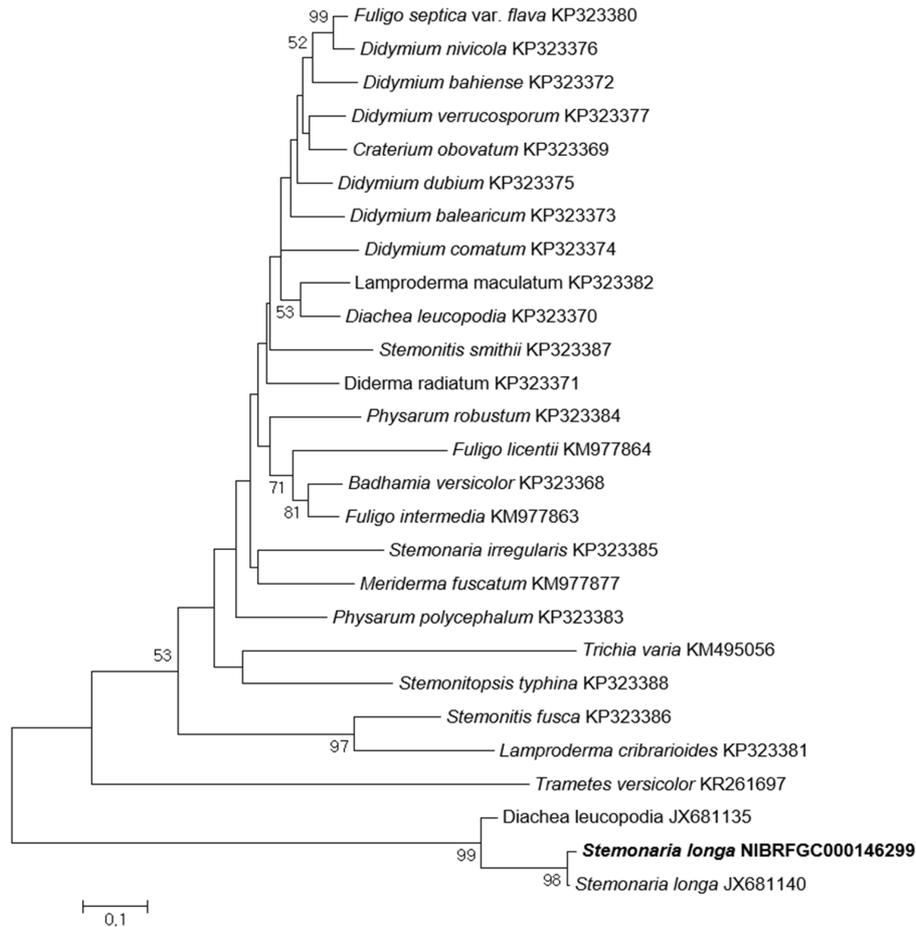


Fig. 3. Phylogenetic relationships of slime molds by the neighbor joining analysis based on the β -tubulin gene sequence data. Bootstrap value is given above/below the node. The Korean isolate is in bold.

*monaria*가 존재함을 알 수 있다.

본 변형균류가 분리된 부위가 가지의 오목하게 가리얏은 이상 증상이 있는 부위였는데 분리 당시 본 변형균류가 생성하는 특징인 갈색이나 암갈색의 자실체는 존재하지 않았다. 또한 가리얏은 부위에서 다른 균은 검출되지 않았다. 따라서 살아 있는 가지에서 분리되었기에 추가적으로 병원성 검증은 진행 예정이다. 더불어 비록 변형균류에 대한 종 보고는 많이 있으나 실험실에서 배양하여 볼 수 있는 균주는 국내는 물론 국외에서도 매우 드문 실정이다. 따라서 앞으로 본 배양이 가능한 균주를 이용하여 다양한 환경과 기질에서 변형하면서 분화하는 형태를 관찰할 수 있을 것으로 기대된다. 이는 아직도 생태적, 생리적, 생화학적, 유전학적 정보가 매우 부족한 *Stemonaria*속 균류의 연구에 매우 귀중한 유전자원으로 활용될 것으로 전망된다.

적 요

모과나무 가지의 일부에서 이상 증상이 있는 부위로부터 균을 순수분리하여 균류에 대한 형태적 특성과 더불어 β -

tubulin 유전자 염기서열에 기반한 계통학적 분석을 수행하였다. 동정된 균은 점균류에 속하는 *Stemonaria longa*로 확인되었으며 국내 미기록 종임을 확인하였다.

Acknowledgements

This work was supported by the Project on Survey and Discovery of Indigenous Species of Korea funded by NIBR of the Ministry of Environment (MOE), Republic of Korea.

REFERENCES

1. Choi MS. *Chaenomeles sinensis*. Landscaping tree 2006;92:19-20.
2. Cho TD. Encyclopedia of Korean herbs. Seoul: Daewonsa; 2006.
3. Hollowell JE, Shew BB, Isleib TG. Evaluating isolate aggressiveness and host resistance from peanut leaflet inoculations with *Sclerotinia minor*. Plant Dis 2003;87:402-6.
4. Kim SH, Uzunovic A, Breuil C. Rapid detection of *Ophiostoma*

- piceae* and *O. quercus* in stained wood by PCR. Appl Environ Microbiol 1999;65:287-90.
5. Kim JJ, Kim SH, Lee S, Breuil C. Distinguishing *Ophiostoma ips* and *Ophiostoma montium*, two bark beetle associated sap-stain fungi. FEMS Microbiol Lett 2003;222:187-92.
 6. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987;4: 406-25.
 7. Nannenga-Bremekamp NE, Yamamoto Y, Sharma R. *Stemonaria*, a new genus in the Stemonitaceae and two new species of *Stemonitis* (Myxomycetes). Proc Kon Ned Akad Wetensch C 1985;87:449-69.
 8. Cho DH. Biodiversity of Korean Myxomycetes (II). Korean J Plant Resour 2003;16:245-50.