

RESEARCH ARTICLE

국내에서 분리된 미기록 진균 18종 보고

안금란¹, 최민아¹, 김지은¹, 서은지¹, 김준영¹, 김성환^{1,2*}¹단국대학교 미생물학과, ²단국대학교 생물다양성연구소

A Report of Eighteen Unrecorded Fungal Species in Korea

Geum Ran Ahn¹, Min Ah Choi¹, Ji Eun Kim¹, Eun Ji Seo¹, Jun Young Kim¹, Seong Hwan Kim^{1,2*}¹Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 31116, Korea²Institute of Biodiversity, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

*Corresponding author: piceae@dankook.ac.kr

Abstract

During a survey of culturable fungi in Korea, 18 unrecorded fungal species were isolated and identified from the indoor air of mushroom cultivation houses, the materials used for preparation of mushroom cultivation media, wild plants, and funitures. This study reports the descriptions of the 18 unrecorded fungal species: *Aspergillus creber*, *Ceratocystis paradoxa*, *Colletotrichum spaethianum*, *Coniochaeta velutina*, *Coprinellus xanthothrix*, *Epicoccum sorghinum*, *Leptosphaeria rubefaciens*, *Myrothecium gramineum*, *Paraconiothyrium fuckelii*, *Penicillium erubescens*, *Penicillium melinii*, *Penicillium pulvillorum*, *Penicillium sabulosum*, *Penicillium turbatum*, *Pestalotiopsis portugalica*, *Pilidiella castaneicola*, *Rachicladosporium pini*, and *Umbelopsis nana*. For all the identified species, the morphological characteristics including the features of colony formed on media, images of light microscopy, and molecular phylogenetic relationships based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer ribosomal DNA (ITS rDNA), 18S rDNA, 28S rDNA, β -tubulin gene, calmodulin gene, and translation elongation factor gene were described.

Keywords: Culturable fungi, Unrecorded species in Korea

OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2017 December, 45(4): 292-303
<https://doi.org/10.4489/KJM.20170037>

pISSN : 0253-651X
 eISSN : 2383-5249

Received: 14 November, 2017**Revised:** 28 November, 2017**Accepted:** 28 November, 2017

© 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.

서론

생물분류상 제 5계에 속하는 진균의 생물다양성 조사를 위하여 국내외로 여러 환경 매체(식물, 공기, 토양, 동물 등)에서 진균이 분리·동정되었고 미기록 종들이 보고되어 왔다. 이에 대한 일환으로 최근 국내에서 진균을 분리·동정하여 보고한 미기록 종의 내용을 보면 그 출처는 흙, 식물의 뿌리, 버섯 배양배지의 재료, 버섯 재배사 내 실내공기, 버섯파리, 흙 등 다양한 대[1-5]. 이러한 다양한 환경에서 미기록종의 발견이 이루어짐에 따라 다양성 연구를 위한 국내의 미기록 진균 발굴 보고는 최근 꾸준히 증가하고 있는 추세이다.

본 연구팀은 2016년 버섯 재배사 내 실내공기, 버섯 배양배지용 재료, 식물병반, 오염된 가

구 등으로부터 미기록 진균 발굴 작업을 수행하였다. 그 결과로서 버섯 재배사 내 실내공기와 버섯 배양배지용 재료에서 분리·동정한 진균에 대하여 보고가 되었으며, 2017년 버섯 배양 배지용 재료에서는 *Penicillium simplicissimum*, *Eurotium amstelodami*, *Penicillium crustosum*, *Aspergillus niger* 등을 분리·동정하였다[6]. 또한, 버섯 재배사 내 실내공기에서는 2016년 보고된 논문에서 총 4개의 미기록 진균(*Mortierella rpvishpora*, *Doratomyces purpureofuscus*, *Periconia byssoides*, *Periconia pseudobyssoides*)이 존재하였다[7]. 동백나무(*Camellia japonica*)의 잎, 한국의 산에서 자생하는 식물인 줄딸기(*Rubus oldhamii*), 은방울꽃(*Convallaria keiskei*), 생강나무(*Lindera obtusiloba*)의 잎에서 식물병반을 채집하여 진균을 분리·동정하였다. 이에 대해 문헌 정보를 조사해 본 결과 동백나무에서는 *Glomerella cingulata*에 의한 탄저병[8]이 보고되었지만 다른 식물에 대한 보고는 아직 없는 상황이다. 뿐만 아니라, 오염된 가구에서 분리된 진균에 대한 보고도 미비한 실정이다.

이에 따라 본 연구에서는 버섯 재배사 내 실내공기, 버섯 배양배지용 재료, 식물병반(동백나무, 줄딸기, 은방울꽃, 생강나무)과 오염된 가구에서 분리하여 동정된 진균 중 국내 미기록 18종에 대한 정보를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료 채집 및 순수 분리

버섯 재배사 내 실내 공기

2015년 11월에 경상남도 거창군, 경기도 여주군, 전라남도 장흥군, 익산시, 충청남도 청양군에 위치한 표고 농장들의 실내공기를 포집한 후 분리하였다(Fig. 1B, 1C). 공기 채취는 ISO 16000-18에 기반한 충돌법[9]에 따라 Andersen sampler (Single Stage Ambient Viable Sampler Model 10-880; Tisch Environmental, Cleves, OH, USA)를 사용하여 28.3 L/min 유량으로 1분 간 포집하였다. 공기 채집은 표고버섯 재배사의 가운데 지점에서 진행하였고 높이는 1.3 m 높이에서 수평을 맞추어 수행하였다. 배양배지로서는 세균 증식 억제제를 위해

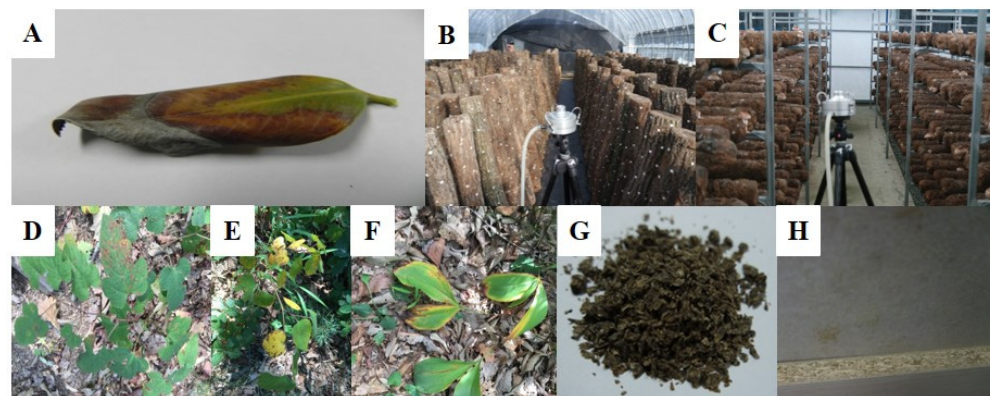


Fig. 1. Various sources used for the isolation of 18 unrecorded fungi in Korea. A, Leaf of *Camellia japonica*; B, Indoor air of log-based mushroom cultivation room; C, Indoor air of sawdust media-based mushroom cultivation room; D~F, Wild plants (D, *Rubus oldhamii*; E, *Lindera obtusiloba*; F, *Convallaria keiskei*); G, Supplemental materials of mushroom media; H, A part of built-in furniture.

ampi실린(ampicillin)을 100 µg/mL 농도로 첨가한 malt-extract agar (MEA; Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였다[7, 10, 11].

식물병반

2016년 3월 천안의 동백나무(*Camellia japonica*)의 잎에 생겨난 병증처럼 보이는 부위에서 시료를 채집하였다(Fig. 1A). 또한 2015년 9월 강원도 홍천에 있는 매화산에서 자생하는 식물인 줄딸기(*Rubus oldhamii*)(Fig. 1D), 은방울꽃(*Convallaria keiskei*)(Fig. 1F), 생강나무(*Lindera obtusiloba*)(Fig. 1E)의 잎의 병증부위를 채집하였다. 시료의 상처 부위를 해부현미경(SZ61 stereo microscope; Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰 후 부위의 일부를 생물안전 작업대에서 멸균된 수술용 칼을 이용하여 1 × 1 cm로 잘랐다. 자른 절편시료를 2% 차아염소 산나트륨 용액에 1분, 100% 에탄올에 1분, 멸균된 증류수에 1분씩 처리 하였다가 물기를 제거하고 나서 potato dextrose agar (PDA; Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하였다[12].

버섯 배양배지 재료

2015년 5월 충청남도 부여군에 위치한 버섯 재배 농장에서 사용하는 버섯 배양배지의 재료(Fig. 1G)에서 시료를 채집하였다. 멸균된 증류수 20 mL에 버섯 배양배지 재료 1 g을 넣고 20 분간 vortexing을 하여 고르게 섞어준 후 혼합된 시료액을 ampi실린이 첨가된 PDA에 100 µL씩 평판도말 후 25°C에서 3일간 배양하였다.

오염된 가구

2016년 10월 경상남도 고성에 위치한 신축 아파트의 붙박이 가구의 벽면에 발생한 진균을 멸균된 거즈에 증류수를 묻혀 진균 발생 부위를 문질러 시료를 채집하였다(Fig. 1H). 채집한 시료를 증류수 20 mL에 넣어 10 분간 vortexing한 후, PDA 배지에 100 µL씩 평판도말 후 25°C에서 3일간 배양하였다.

순수 분리

버섯 재배사 내 실내 공기에서 채집한 배지는 5일 동안 25°C 배양기에서 배양하였고, 자라난 진균은 단포자 분리를 통해 순수 분리하였다. 또한 식물병반에서 분리한 시료와 오염된 가구에서 분리한 시료가 접종된 PDA 배지는 25°C 배양기에 3일간 배양하였고 배지에 자라난 균을 순수 분리하였다.

형태학적 및 분자생물학적 동정

형태학적 동정을 위하여서는 순수 분리하여 고체 배지에 형성된 균사체의 균총 형태와 특성을 육안으로 관찰하였고, 미세구조는 광학현미경(Axioskop40; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 분생자경, 분생포자 등을 관찰하였다. 또한 분자적 특징을 알아보기 위해 drilling 방법에 따라 genomic DNA를 추출하고 1차 동정을 위하여 internal transcribed spacer (ITS) rDNA region을 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [13] 프라이머를 이용하여 중합효소연쇄반응(polymerase

chain reaction, PCR) 증폭하였다. ITS rDNA region을 1차적으로 동정 후 상동성이 낮은 균주는 논문 검색을 통하여 그 종이 속한 속을 동정할 때 사용하는 특이적 프라이머를 이용하여 증폭하였다. 이용한 특이적 프라이머는 28S rDNA를 증폭하는 프라이머 NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3')/NS8 (5'-TCCGCAGGTTACCTACGGA-3') [13], β -tubulin gene을 증폭하는 프라이머 BT12 (5'-GTTGTCAATGCAGAAGGTCTC-3') / T10 (5'-ACGATAGGTTACCTCCAGAC-3') [15], translation elongation factor (TEF) 1- α gene을 증폭하는 프라이머 TEF728 (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') / TEF1 (5'-GCCATCCTTGAGATAACCAGC-3') [14], Calmodulin gene을 증폭하는 프라이머 cmd5 (5'-CCGAGTACAAGGAGGCCTTC-3') / cmd6 (5'-CCGATAGAGGTCATA ACGTGG-3') [16]를 이용하였다. ITS rDNA region, β -tubulin gene, 18S rDNA는 94°C에서 5분간 predenaturation한 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. 28S rDNA는 94°C에서 5분간 predenaturation한 후, denaturation 94°C 30초, annealing 58°C 30초, elongation 72°C 30초 조건에서 총 30 cycle 진행하고 마지막으로 72°C에서 10분간 final extension하여 수행하였다. TEF gene과 calmodulin gene은 94°C에서 5분간 predenaturation한 후, denaturation 94°C 30초, annealing 52°C 30초, elongation 72°C 30초 조건에서 총 30 cycle 진행하고 마지막으로 72°C에서 10분간 final extension하여 수행하였다. PCR 증폭된 DNA 산물은 1% 아가로스겔에서 전기영동을 수행하여 확인한 후 High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Indianapolis, IN, USA)를 사용하여 정제하고 마크로젠사(Macrogen, Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다.

분석된 염기서열은 분자동정을 위해 우선 진균의 바코드로 사용되는 염기서열을 미국 National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 웹에 있는 BLAST 프로그램을 사용하여 DNA 데이터베이스에 등록되어 있는 진균들과 상동성을 비교하였다. 계통분석을 위해서는 분리 균주와 관련된 taxon 염기서열을 NCBI의 GenBank에서 다운받았고 MEGA 6 프로그램[17]을 이용하여 염기서열의 유사도 및 phylogenetic analysis를 수행하였다. 계통도는 neighbor-joining 방법[18]으로 분석하였고 계통도 가지의 clade 신뢰도는 1,000번의 bootstrap resampling을 수행하여 평가하였다.

결과 및 고찰

형태적 특징 관찰

다양한 시료에서 진균을 분리하였으며, 분리한 진균 중 균총을 형태적으로 구분하였을 때 버섯 재배사 내 실내공기에서 6균주, 식물병반에서 6균주, 버섯 배양배지 재료에서 5균주, 오염된 가구에서 1균주가 형태적으로 차이를 보였다. 버섯 재배사 내 실내공기에서 분리한 균주는 DK11-3, DK11-4, DK11-6, DK11-8, DK11-9, DK11-14, 식물병반에서 분리한 균주 DK11-1, DK11-2, DK11-5, DK11-10, DK11-11, DK11-13, 버섯 배양배지 재료에서 분리한 균주인 DK11-12, DK11-15, DK11-16, DK11-17, DK11-18, 오염된 가구에서 분리한 균주인 DK11-169를 선택하여 동정하였다. PDA에서 7일간 배양한 균총을 관찰하였을 때, 버섯 재배사 내 실내공기에서 분리한 DK11-3은 흰색 또는 아이보리색의 균사가 환을 이루며 생장

하며 가운데 부분이 부유하는 특성이 있으며(Fig. 2C), DK11-4는 아이보리 또는 흰색의 균사체가 빠르게 솟처럼 부유하며 성장하였다(Fig. 2D). 또한 DK11-6은 중앙의 핑크색의 균사에서 아이보리색으로 성장하며 옅은 핑크색의 pigment를 방출하였다(Fig. 2F). DK11-8은 성장 속도가 매우 느리며 올리브색에서 흰색으로 균사가 성장하고(Fig. 2G), DK11-9는 초기에는 노란색의 균사로 성장하며 중앙에 매우 짙은 회색의 균사가 집적되고 밖으로는 흰색으로 성장하였다(Fig. 2H). DK11-14는 옅은 노란색과 갈색의 균사로 성장하며 균사의 끝이 아이보리로 성장하고 조밀한 균사의 밀도로 성장하였다(Fig. 2M). 식물병반 시료에서 분리한 진균 중 동백나무 잎의 병반에서 분리한 DK11-1은 올리브색 또는 짙은 녹색이며, 불규칙한 모양을 나타냈고(Fig. 2A), DK11-2는 옅은 회색의 균사로 촘촘하게 성장하며 중앙에는 올리브색 또는 녹회색의 균사로 성장하였다(Fig. 2B). 국내 산에 자생하는 식물인 줄딸기에서 분리한 DK11-5는 아이보리색의 균사가 조밀하게 성장하며 가운데에 노란색의 환을 이루었다(Fig. 2E). DK11-11은 연한 핑크색의 균사로 성장하였으며 균사 끝부분에 환을 이루고 있고 색이 옅으며 균사 성장에 따라 미세한 균사로 성장하였다(Fig. 2J). 은방울꽃 잎의 병반에서 분리한 DK11-10은 녹색 또는 갈색과 회색의 균사로 성장하였다(Fig. 2I). 생강나무의 잎에서 분리한 DK11-13은 아이보리 색의 균사가 물결무늬로 성장하며 성장할수록 아이보리색의 균사가 갈색으로 변화하였다(Fig. 2L). 버섯 배양배지의 재료에서 분리한 DK11-12는 중앙에 녹색의 균사와 그 주위에 노란색의 균사로 성장하며 성장할수록 흰색의 균사로 성장하였다(Fig. 2K). DK11-15는 중앙의 녹회색의 균사에서 흰색의 균사로 성장하며 불규칙한 형태로 성장하고(Fig. 2N), DK11-16은 녹색의 균사로 성장하며 말단에 흰색의 균사로 성장하였다(Fig. 2O). DK11-17은 중앙에 올리브색 또는 짙은 녹회색의 균사에서 흰색의 균사로 성장하고, 노란색의 pigment와 삼출물을 방출하였다(Fig. 2P). DK11-18은 녹회색의 균사에서 흰색의 균사로 성장하였다(Fig. 2Q). 오염된 가구에서 분리된 진균인 DK11-169는 균사의 생장이 매우 느리며 밀도는 조밀하였고, 올리브색 또는 노란색에서 흰색으로 성장하였다(Fig. 2R).

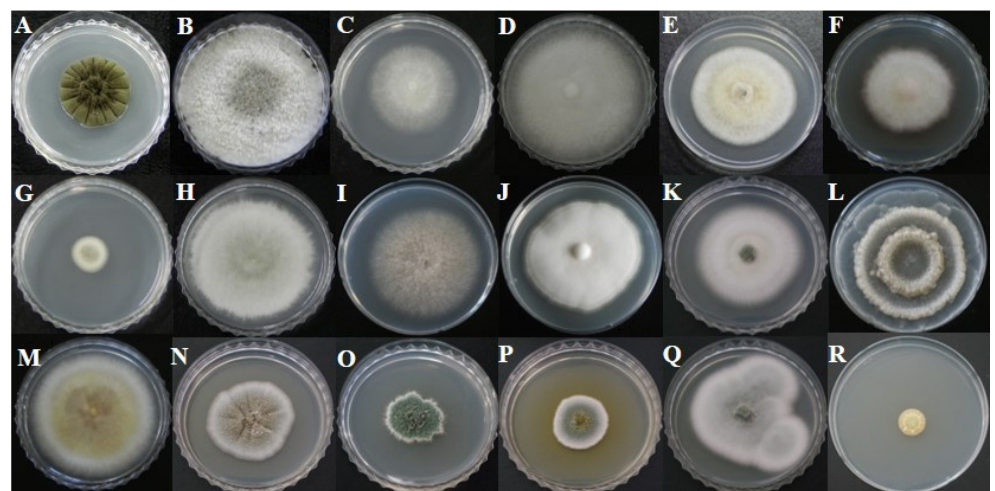


Fig. 2. Colony morphology of the 18 unrecorded fungal species isolated in this study from various sources in Korea. A, DK11-1; B, DK11-2; C, DK11-3; D, DK11-4; E, DK11-5; F, DK11-6; G, DK11-8; H, DK11-9; I, DK11-10; J, DK11-11; K, DK11-12; L, DK11-13; M, DK11-14; N, DK11-15; O, DK11-16; P, DK11-17; Q, DK11-18; R, DK11-169.

광학현미경으로 관찰하였을 때 버섯 재배사 내 실내공기에서 분리한 DK11-3은 군사가 대체로 굵고 세포질 부분이 상당히 잘 보이면서 군사 끝에 둥근 모양의 구조를 형성하였다(Fig. 3C). DK11-4는 투명한 군사 끝에 8~10 μm 길이의 분생자가 다량 존재하며, 그 위에 0.8~1.2 $\times$ 0.4~0.6 μm 분생포자가 한 개씩 존재하였다(Fig. 3D). DK11-6의 분생자경은 45~70 μm 으로 길게 분지하며, 둥그런 타원형의 분생포자를 형성하였고, 분생포자는 투명하거나 갈색을 띠었다. 분생포자 크기는 2.5~3.0 $\times$ 1.2~1.5 μm 이었다. 그러나 유성세대 구조인 long necked perithecium은 관찰되지 않았다(Fig. 3F). DK11-8의 포자는 격벽이 1~2개 존재하며, 타원형 또는 말단이 둥근 모양이며, 포자는 5.2~5.5 $\times$ 0.5~1.0 μm 의 크기를 가지고 있고 포자색은 light brown 또는 hyaline이었다. 포자 세포 내에는 lipid 덩어리인 guttulate가 존재하였다(Fig. 3G). DK11-9은 작은 one-cell의 hyaline색으로 ovoid 또는 turbinate한 1.8~2.5 $\times$ 1.3~1.5 μm 크기의 포자가 존재하였으며 점질성 물질에 묻쳐서 존재하였다(Fig. 3H). DK11-14는 구형의 포자 안에 작은 구형의 포자가 존재하며, 구형의 포자는 55~62 $\times$ 35~40 μm , 작은 구형의 포자는 5.0~5.2 $\times$ 4.3~4.5 μm 의 크기였다(Fig. 3M). 식물병반에서 분리한 진균인 DK11-1은 타원형의 포자가 체인 형태로 자라며 1.5~3 $\times$ 0.5~1 μm 의 크기였다(Fig. 3A). DK11-2는 7.2~7.8 $\times$ 1~1.5 μm 의 크기에 격벽이 존재하고 편모가 2개 이상 존재하였다(Fig. 3B). DK11-5의 포자는 투명하고 타원형이며, 끝이 뾰족하였고 5.5~6.0 $\times$ 3.2~3.5 μm 의 크기였다(Fig. 3E). DK11-10은 13.78~22.81 $\times$ 2.85~4.04 μm 크기의 투명하고, 무격막의 분생자에 한 개의 투명하고 짧은 원통형 또는 falcate의 2.5~3.0 $\times$ 0.2~0.4 μm 크기의 포자가 존재하였다(Fig. 3I). DK11-11은 10~35 μm 의 포자낭병을 가지고 있고 그 끝에 9.5~10.0 $\times$ 6.0~6.5 μm 크기의 one-spored sporangiola를 가지고 있다(Fig. 3J). DK11-13의 분생자는 가늘고 송곳 모양처럼 뾰족하며 위쪽으로 분지하고 묻쳐서 나타나며 분생포자는 타원형이며 갈색이고 3.2~3.5 $\times$ 0.3~0.5 μm 의 크기였다(Fig. 3L). 버섯 배양배지의 재료에서 분리한 진균인 DK11-12는 3개의 분생자경이 존재하며, 2.5~3.0 $\times$ 2.0~2.5 μm 크기의 구형의 분생포자가 2~3개 존재하였다(Fig. 3K). DK11-15는 0.8~1.0 $\times$ 0.5~0.8 μm 의 크기의 구형의 분생포자가 분생자경에 1~2개 존재하였고(Fig. 3N), DK11-16은 4개의 분생자경이 존재하며

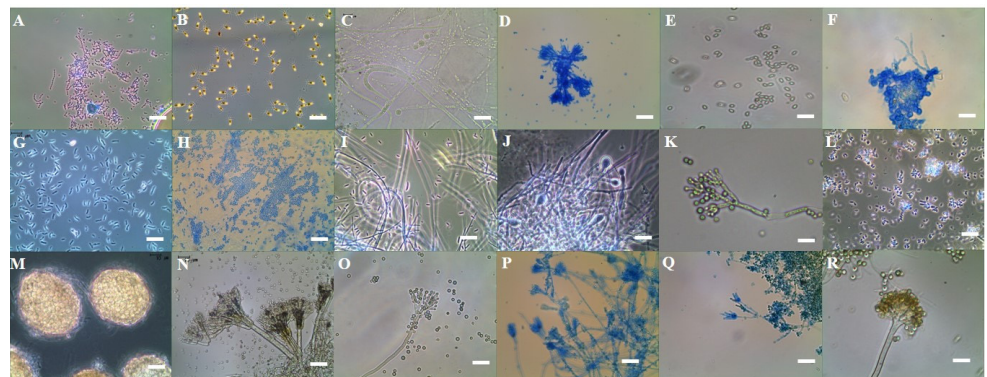


Fig. 3. Light microscopic images of the 18 unrecorded fungal species isolated in this study from various sources in Korea. A, DK11-1; B, DK11-2; C, DK11-3; D, DK11-4; E, DK11-5; F, DK11-6; G, DK11-8; H, DK11-9; I, DK11-14; J, DK11-10; K, DK11-11; L, DK11-13; M, DK11-12; N, DK11-15; O, DK11-16; P, DK11-17; Q, DK11-18; R, DK11-169 (scale bars = 10 μm , 400X).

1.4~1.6 × 1.3~1.4 μm의 구형 분생포자가 1~2개 존재하였다(Fig. 3O). DK11-17은 3개의 분생자경 위에 0.5~0.9 × 0.5~0.7 μm 크기의 구형 분생포자가 1~2개 존재하였으며(Fig. 3P), DK11-18은 5개의 분생자경 위에 0.8~1.0 × 0.6~0.8 μm 크기의 구형 분생포자가 7~8개 체인 형태로 존재하였다(Fig. 3Q). 오염된 가구에서 분리한 진균인 DK11-169의 포자는 450 ± 100 × 2.3 ± 0.4 μm 크기의 분생자경 상단 끝에 분생자두를 형성하였고 그 위에 5.2 ± 6.0 × 5.1 ± 5.8 μm의 구형 분생포자가 5~8개 체인 형태로 존재하였다(Fig. 3R).

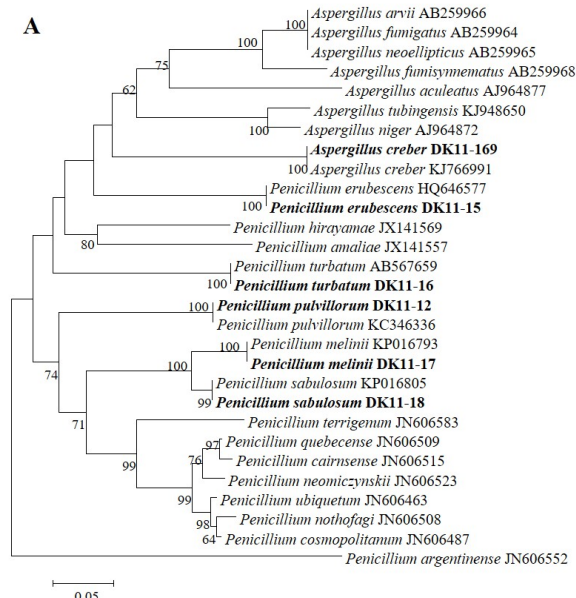
분자생물학적 동정 및 계통분석학적 위치분석

분리한 균주의 ITS rDNA, 18S rDNA, 28S rDNA 등 rRNA repeat 영역 및 calmodulin 유전자, TEF 유전자, β-tubulin 유전자 부위 등의 염기서열 분석 결과에 기반하여 GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)에 등록된 진균의 종에 대해 등록된 염기서열과의 유사도 비교를 수행하는 분자생물학적 방법으로 동정한 결과는 Table 1과 같다. 18균주의 분석된 염기서열을 각각의 염기서열에 따른 계통수는 Fig. 4에 나타났다. ITS rDNA 염기서열을 기반으로 동정한 결과 DK11-4는 *Myrothecium gramineum* HQ608010과 100% 상동하였으며, DK11-14는 *Epicoccum sorghinum* KU856638과 100% 상동하였다(Fig. 4B). Calmodulin 염기서열을 기반으로 동정한 결과, DK11-12는 *Penicillium pulvillum* KC346336, DK11-15는 *Penicillium erubescens* HQ646577, DK11-16는 *Penicillium turbatum* AB567659, DK11-17는 *Penicillium melinii* KP016793, DK11-18는 *Penicillium sabulosum* KP016805, DK11-169는 *Aspergillus creber* KJ766991과 100% 상동하였다(Fig. 4A). TEF 염기서열을 기반으로 동정한 결과 DK11-6은 *Ceratocystis paradoxa* JX518320과 100% 상동하였다(Fig. 4E). β-tubulin을 기반으로 동정한 결과 DK11-2는 *Pestalotiopsis portugalica* KM199422와 100% 상동하였으며(Fig. 4F), 18S rDNA 염기서열을 기반으로 동정한 결과 DK11-9는 *Coniochaeta velutina* KF971839와 100% 상동하였다(Fig. 4D). 28S rDNA 염기서열을 기반으로 동정한 결과 DK11-1는 *Rachicladosporium pini* JF951165, DK11-3은 *Coprinellus xanthothrix* AY207193, DK11-5는 *Paraconiothyrium fuckelii* GU237960, DK11-8은 *Leptosphaeria rubefaciens* JF740311, DK11-10은 *Colletotrichum spaethianum* JN940810, DK11-11은 *Umbelopsis nana* KM017699, DK11-13은 *Pilidiella castaneicola* AF408378과 100% 상동하였다(Fig. 4C). 분리된 균주들은 각각의 균주들이 동정된 균들과 같은 그룹을 형성하는 것을 계통수(Fig. 4)에서 확인하였으며 이에 따라 형태적(Figs. 2, 3)과 분자생물학적 분석 결과(Table 1, Fig. 4)를 종합하여 동정하였다. 동정된 진균들을 문헌 검색한 결과 국내에 미기록 종이였다. 이에 균주의 생체시료는 국립생물자원관에 기탁하여 DK11-1은 NIBRFG0000499201, DK11-2는 NIBRFG0000499202, DK11-3은 NIBRFG0000499203, DK11-4는 NIBRFG0000499204, DK11-5는 NIBRFG0000499205, DK11-6은 NIBRFG0000499206, DK11-8은 NIBRFG0000499208, DK11-9는 NIBRFG0000499330, DK11-10은 NIBRFG0000499209, DK11-11은 NIBRFG0000499210, DK11-12는 NIBRFG0000499211, DK11-13은 NIBRFG0000499212, DK11-14는 NIBRFG0000499213, DK11-15는 NIBRFG0000499214, DK11-16은 NIBRFG0000499215, DK11-17은 NIBRFG0000499216, DK11-18은 NIBRFG0000499217, DK11-

Table 1. Information of strains isolated in this study from various sources in Korea

Strain ID	NIBR ID	Analyzed DNA region	Most closely related species	Sequence similarity (%)	Isolation source
DK11-169	NIBRFG0000499331	Calmodulin gene	<i>Aspergillus creber</i> KJ766991	100.0	Built-in furniture
DK11-6	NIBRFG0000499206	TEF gene	<i>Ceratocystis paradoxa</i> JX518320	100.0	Indoor air
DK11-10	NIBRFG0000499209	28S rDNA	<i>Colletotrichum spaethianum</i> JN940810	100.0	Wild plants (<i>Convallaria keiskei</i>)
DK11-9	NIBRFG0000499330	18S rDNA	<i>Coniochaeta velutina</i> KF971839	100.0	Indoor air
DK11-3	NIBRFG0000499203	28S rDNA	<i>Coprinellus xanthothrix</i> AY207193	100.0	Indoor air
DK11-14	NIBRFG0000499213	ITS rDNA	<i>Epicoccum sorghinum</i> KU856638	100.0	Indoor air
DK11-8	NIBRFG0000499208	28S rDNA	<i>Leptosphaeria rubefaciens</i> JF740311	100.0	Indoor air
DK11-4	NIBRFG0000499204	ITS rDNA	<i>Myrothecium gramineum</i> HQ608010	100.0	Indoor air
DK11-5	NIBRFG0000499205	28S rDNA	<i>Paraconiothyrium fuckelii</i> GU237960	100.0	Wild plants (<i>Rubus oldhamii</i>)
DK11-15	NIBRFG0000499214	Calmodulin gene	<i>Penicillium erubescens</i> HQ646577	100.0	Mushroom media materials
DK11-17	NIBRFG0000499216	Calmodulin gene	<i>Penicillium melinii</i> KP016793	100.0	Mushroom media materials
DK11-12	NIBRFG0000499211	Calmodulin gene	<i>Penicillium pulvillorum</i> KC346336	100.0	Mushroom culture materials
DK11-18	NIBRFG0000499217	Calmodulin gene	<i>Penicillium sabulosum</i> KP016805	100.0	Mushroom media materials
DK11-16	NIBRFG0000499215	Calmodulin gene	<i>Penicillium turbatum</i> AB567659	100.0	Mushroom media materials
DK11-2	NIBRFG0000499202	β -tubulin gene	<i>Pestalotiopsis portugalica</i> KM199422	100.0	Leaf of <i>Camellia japonica</i>
DK11-13	NIBRFG0000499212	28S rDNA	<i>Pilidiella castaneicola</i> AF408378	100.0	Wild plants (<i>Lindera obtusiloba</i>)
DK11-1	NIBRFG0000499201	28S rDNA	<i>Rachicladosporium pini</i> JF951165	100.0	Leaf of <i>Camellia japonica</i>
DK11-11	NIBRFG0000499210	28S rDNA	<i>Umbelopsis nana</i> KM017699	98.0	Wild plants (<i>Rubus oldhamii</i>)

TEF, translation elongation factor; ITS, internal transcribed spacer.

**Fig. 4.** Phylogenetic relationships of unrecorded fungal species isolated in this study from various sources in Korea. Phylogenetic tree was built based on nucleotide sequences of calmodulin gene (A), ITS rDNA region (B), 28S rDNA (C), 18S rDNA (D), TEF gene (E), β -tubulin gene (F). Bootstrap = 1,000. ITS, internal transcribed spacer; TEF, translation elongation factor.

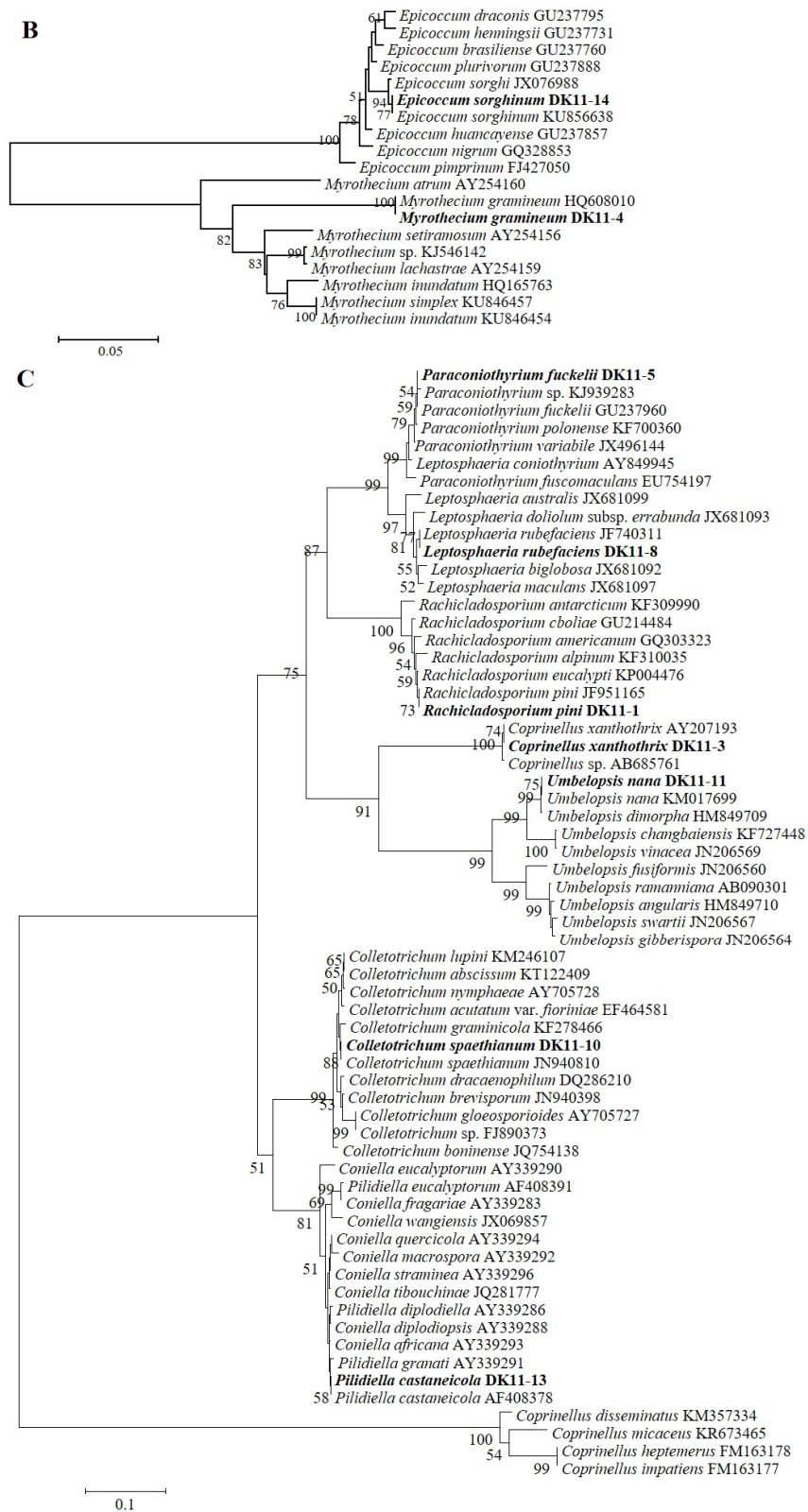


Fig. 4. (Continued)

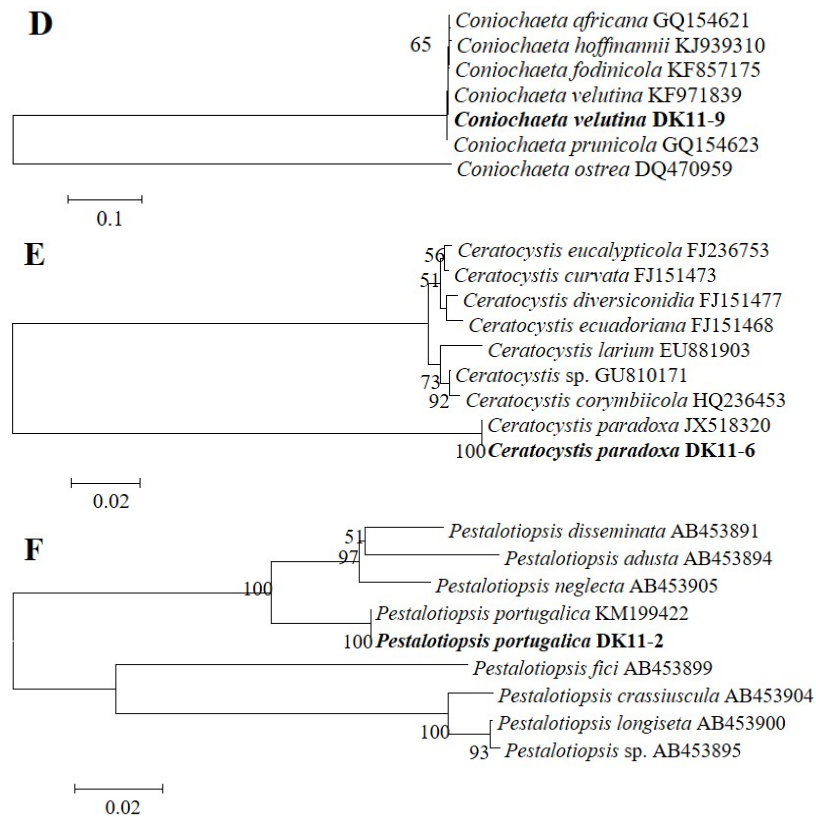


Fig. 4. (Continued)

169는 NIBRFG0000499331으로 기탁번호를 각각 부여 받았다.

본 연구에서 분리·동정된 진균에 대한 문헌 자료를 조사한 결과 각 종에 대한 정보는 균학적으로 분류 특성 이외에는 다른 특성 관련 과학적 사실이 잘 알려져 있지 않았다. 다만 몇 종의 경우 식물병 관련 정보가 존재하였다. 2014년에 발표된 논문에 의하면 *Ceratocystis paradoxa*는 파인애플에 검은 반점을 일으키는 식물병원성 균류로 보고되었다[19]. *Coniochaeta velutina*는 상처난 사탕단풍에서 분리된 것으로 1969년에 보고되었다[20]. 2007년 이란에서 발표된 논문에 의하면 dead pistachio twigs에서 새로운 *Coniochaeta*속을 분리하였고 *Coniochaeta ershadii*로 명명하였으며 *Coniochaeta*군의 분류표도 제안하였다[21]. *Colletotrichum spaethianum*의 경우는 브라질에서 파(*Allium fistulosum*)와 원추리(*Hemerocallis flava*)에 탄저병을 일으키는 진균으로 보고되었다[22-23]. 이 같은 문헌 보고에 따라 본 연구에서 분리된 균류 중 일부는 식물병원균으로 알려진 균류임을 시사하였다. 이 중 파와 원추리를 제외한 기주는 국내 분포가 없는 경우이다. 그리고 본 연구에서 분리된 균주는 해외 기주와 원천이 다르기 때문에 향후 이들 균류가 실제로 보고된 기주 식물 또는 다른 식물에도 병을 유발할 수 있는지에 관해서는 병원성 시험이 이루어져야 할 것이다.

적 요

2016년 버섯 재배사 내 실내공기, 식물병반(동백나무의 잎, 줄팔기, 은방울꽃, 생강나무), 버섯 배양배지 재료, 오염된 가구 등에서 진균을 분리·동정하였다. 동정된 진균 중 18종이 국내 미기록임을 확인하였다. 동정된 진균은 버섯 재배사 내 실내공기에서 6종, 식물병반에서 6종, 버섯 배양배지 재료에서 5종, 오염된 가구에서 1종이 각각 분리되었다 이들 동정된 균주에 대한 형태학적 특성과 ITS rDNA, 18S rDNA, 28S rDNA, calmodulin gene, translation elongation factor gene, β -tubulin gene 등의 염기서열에 기반한 분자계통학적 관계에 대하여 기술하였다.

Acknowledgements

This work was carried out with the support of National Institute of Biological Resource (NIBR), Dankook University ChemBio Specialization for Creative Korea -II, the National Research Foundation of Korea (NRF-2016M3A7B4909823) and Korea Ministry of Environment as “The Environmental Health Action Program” (2016001360009).

REFERENCES

1. Ahn GR, Kim BY, Lee GS, Hyun MW, Lee CJ, Kim SH. A report of five unrecorded fungal species of Korea. *Kor J Mycol* 2016;44:240-6.
2. Park S, Lee SY, Lee JJ, Lee HB, Ten L, Jung HY. First report of *Simplicillium cylindrosporum* isolated from soil in Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:139-44.
3. Adhikari M, Kim HS, Gurung SK, Bazie S, Lee HG, Lee HB, Lee YS. Two new records of ascomycetes from crop field soils in Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:167-74.
4. Park H, Eom AH. Two novel species of endophytic fungi isolated from roots of *Rhododendron schlippenbachii* in Korea. *Kor J Mycol* 2017;45:229-33.
5. Han SM, Lee SY, Lee HB, Lee JS. Isolation of wild yeasts from soils of reed fields in Seocheon-gun county, Chungcheongnam-do, South Korea, and characterization of unrecorded yeasts. *Kor J Mycol* 2017;45:234-40.
6. Lee GS, Kim JY, Kim BY, Hyun MW, Lee CJ, Kong WS, Kim SH. Detection of fungi in imported supplemental substrates for mushroom cultivation media. *J Odor Indoor Environ* 2016;15:337-44.
7. Ahn GR, Ahn HS, Kwon HW, Ko HG, Kim SH. Unrecorded fungi isolated from indoor air of cultivation houses used for field test of a newly bred domestic shiitake cultivar. *J Mushrooms* 2016;14:168-73.
8. Lee SG. Understanding tree anthrax. *J Tree Prot* 2016;20:57-64.
9. International Organization for Standardization (ISO). Indoor air--Part 18: Detection and enumeration of moulds -- Sampling by impaction. Geneva: ISO; 2011.
10. Ahn GR, Kim BY, Kim JE, Son BS, Park MK, Kim SY, Kwon MH, Kim SH. Study on sampling methods for mold from indoor air in domestic environment. *J Odor Indoor Environ* 2017;16:47-53.

11. Ahn GR, Kwon HW, Ko HK, Kim SH. Unrecorded fungal species isolated from greenhouses used for shiitake cultivation in Korea. *Kor J Mycol* 2016;44:8-15.
12. Choi MA, Park SJ, Ahn GR, Kim SH. Identification and Characterization of *Paraconiothyrium brasiliense* from Garden Plant *Pachysadra terminalis*. *Kor J Mycol* 2014;42:262-8.
13. White TJ, Bruns TD, Lee SB, Talyor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
14. Evidente A, Ricciardiello G, Andolfi A, Sabatini MA, Ganassi S, Altomare C, Favilla M, Melck D. Citrantifidiene and citrantifidiol: bioactive metabolites produced by *Trichoderma citrinoviride* with potential antifeedant activity toward aphids. *J Agric Food Chem* 2008;56:3569-73.
15. 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.
16. Hong SB, Cho HS, Shin HD, Frisvad JC, Samson RA. Novel *Neosartory* species isolated from soil in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56:477-86.
17. 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.
18. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406-25.
19. Hubert J, Fourrier C, Laplace D, Ioos R. First report of pineapple black rot caused by *Ceratocystis paradoxa* on *Ananas comosus* in French Guiana. *Plant Dis* 2014;98:1584.
20. Basham JT, Good HM, Taylor LD. The ecological status of *Coniochaeta velutina* in sugar maple wounds. *Can J Bot* 1969;47:1629-34.
21. Asgari B, Zare R, Gams W. *Coniochaeta ershadii*, a new species from Iran, and a key to well-documented *Coniochaeta* species. *Nova Hedwigia* 2007;84:175-87.
22. Santana KF, Garcia CB, Matos KS, Hanada RE, Silva GF, Sousa NR. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Allium fistulosum* in Brazil. *Plant Dis* 2016;100:224.
23. Vieira WA, Michereff SJ, Oliveira AC, Santos A, Câmara MP. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Hemerocallis flava* in Brazil. *Plant Dis* 2014;98:997.