

RESEARCH NOTE

목본식물의 잎에서 분리된 5종의 미기록 내생균

박혁, 심재성, 김지수, 최항석, 엄안흠*

한국교원대학교 생물교육과

Five Previously Unreported Endophytic Fungi Isolated from the Leaves of Woody Plants in Korea

Hyeok Park, Jae-Sung Shim, Ji-Su Kim, Hang-Seok Choi, Ahn-Heum Eom*

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

*Corresponding author: eomah@knue.ac.kr

Abstract

The leaves of two woody plant species, *Pinus densiflora* and *Aronia melanocarpa*, were collected in Korea, and endophytic fungi were isolated from these surface-sterilized leaves. The fungal isolates were identified based on their morphological characteristics and the results of the phylogenetic analysis involving nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region (ITS), including 5.8S rDNA, D1/D2 regions of 28S rDNA, and β -tubulin genes. *Pestalotia lawsoniae* and *Zasmidium fructicola* were isolated from *Pinus densiflora*, and three species, *Pestalotiopsis chamaeropsis*, *Pestalotiopsis jesteri*, and *Stagonosporopsis cucurbitacearum* were isolated from *Aronia melanocarpa*. To the best of our knowledge, these species have not been previously reported in Korea.

Keywords: Endophytic fungi, *Pestalotia lawsoniae*, *Pestalotiopsis chamaeropsis*, *Pestalotiopsis jesteri*, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*, *Zasmidium fructicola*

OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2017 December, 45(4): 345-354
<https://doi.org/10.4489/KJM.20170040>

pISSN : 0253-651X
 eISSN : 2383-5249

Received: 17 November, 2017

Revised: 23 November, 2017

Accepted: 23 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.

내생균(endophytic fungi)은 살아 있는 식물의 식물체에서 병증을 유발하지 않으며 공생하는 균류를 의미하는데[1], 식물체의 잎과 뿌리, 줄기 등 모든 조직 내에 서식하고 있다. 특히 식물의 잎에 서식하는 내생균은 병원체로 작용하는 미생물의 잎 조직으로의 침투를 제한하는 역할을 하기도 하고[2], 식물의 포식자에게 독소가 될 수 있는 alkaloid 형태의 2차 대사산물을 분비하기도 한다[3]. 최근에는 내생균들이 잎 조직 내에서 분비하는 이러한 물질들이 다른 미생물 병원체에 대한 항생 효과 또한 낼 수 있다는 사례들이 연구되면서[4, 5], 식물의 잎에서 분리된 내생균에 대한 연구와 균주 확보의 중요성이 점차 높아지고 있다. 본 연구에서는 우리나라의 다양한 식물의 잎에서 내생균을 분리하여 다양성을 조사하는 연구를 진행하던 과정에서 충북 단양의 아로니아(*Aronia melanocarpa*)와 전북 부안의 소나무(*Pinus densiflora*)의 잎에서 5종의 국내 미기록 내생균을 분리하여 그 균의 형태적 특징과 계통 분석 결과를 보고하고자 한다.

아로니아는 충청북도 단양군 적성면 현곡리의 아로니아 재배 농경지(N36°57'05.5", E128°18'01.3")에서 채집되었고, 소나무는 전북 부안군 주산리 사산면의 산림(N35°39'23.3", E126°40'59.2")에서 채집되었다. 채집된 시료는 지퍼백에 담아 24시간 내에 실험실로 운반하여 외관상 병증이 없는 잎 시료를 선별하여 증류수로 세척 후 30% H₂O₂로 30초~1분 간 처리하여 표면을 살균하였다. 표면 살균 시간은 잎의 면적에 따라 다르게 수행하였다. 표면살균 후 잎을 potato dextrose agar (PDA) 배지에 4조각씩 치상하였고 25°C 암소에서 배양한 후 균사가 뻗어 나오면 새로운 PDA 배지에 계대배양하였다. 순수 분리된 균주는 PDA 배지와 malt extract agar (MEA) 배지에서 7일간 배양하여 형태학적 특징을 관찰하였다(Fig. 1).

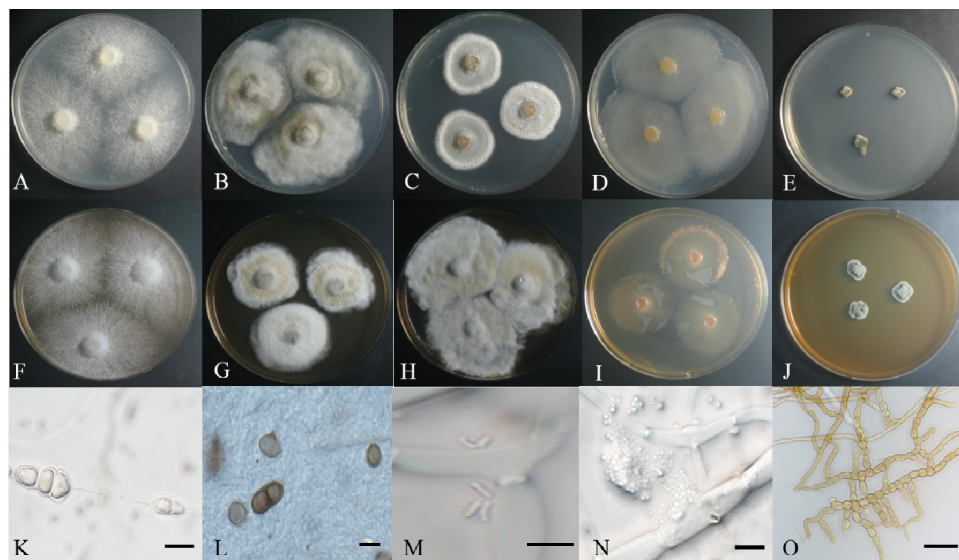


Fig. 1. Colonies of strain 16B102 (*Pestalotia lawsoniae*) grown on PDA (A) and MEA (F); Colonies of strain 16C083 (*Pestalotiopsis chamaeropsis*) grown on PDA (B) and MEA (G), conidia (K); Colonies of strain 16C094 (*Pestalotiopsis jesteri*) grown on PDA (C) and MEA (H), conidia (L); Colonies of strain 16C067 (*Stagonosporopsis cucurbitacearum*) grown on PDA (D) and MEA (I), conidia (M, type 1; N, type 2); Colonies of strain 16B021 (*Zasmidium fructicola*) grown on PDA (E) and MEA (J), conidia (O); PDA, potato dextrose agar; MEA, malt extract agar (scale bars = 10 μ m).

DNeasy Plant mini kit (Qiagen, Germantown, MD, USA)을 사용하여 Genomic DNA를 추출하였으며, 이 DNA를 주형으로 하여 PCR 반응을 수행하였다. 모든 균주의 DNA는 균 특이적 primer인 ITS1F와 ITS4를 이용하여 internal transcribed spacer (ITS) 지역을 증폭하였고[6], primer LR0R과 LR16을 이용하여 ribosomal DNA의 large subunit (LSU) 지역을[7], 그리고 primer Bt2a과 Bt2b를 이용하여 β -tubulin (TUB) 영역을 증폭하였다[8]. PCR 조건 중 annealing 온도는 ITS 지역은 50°C, LSU rDNA 지역은 44°C, β -tubulin 영역은 58°C로 설정하여 수행하였으며, PCR 최종 산물은 1.5% agarose gel에서 20분 간 전기영동을 실시하였고, 예상되는 크기의 DNA band를 확인한 후 염기서열 분석을 의뢰하였다(SolGent, Daejeon, Korea). 분석된 염기서열은 NCBI상에서 BLAST를 이용하여 유사도를 확인한 후 각 종들 간의 계통 분석을 통한 유연 관계를 확인하기 위해 MEGA6를 이용하여[9], neighbor-

joining 계통수를 작성하였다(Table 1, Figs. 2~5). 분리된 균주는 국립생물자원관(NIBR)에 기탁하였으며, 염기서열은 GenBank에 제출하였다(Table 2).

Table 1. Fungal strains used in phylogenetic analysis, including outgroups

Species	Strain no.	GenBank no.		
		ITS	LSU	TUB
<i>Allophoma piperis</i>	CBS 268.93	GU237816	GU238129	GU237644
<i>Passalora loranthei</i>	ZJUM 66	KP896022	KP895892	KP896118
<i>Pestalotia bicolor</i>	PSHI2004Endo144	DQ789381		DQ657889
<i>Pestalotia cinchonae</i>	PSHI2004Endo165	DQ789385		DQ657893
<i>Pestalotia lambertiae</i>	PSHI2004Endo86	DQ813422		DQ657901
<i>Pestalotia lawsoniae</i>	PSH2000I-057	AY687871		DQ333577
<i>Pestalotia lawsoniae</i>	PSHI2003Endo1018	AY687872		DQ333577
<i>Pestalotia subcuticularis</i>	PSHI2002Endo882	AY687878		DQ333584
<i>Pestalotia vaccinii</i>	PSHI2004Endo424	DQ813434		DQ787844
<i>Pestalotiopsis arceuthobii</i>	CBS 434.65	KM199341	KM116243	KM199427
<i>Pestalotiopsis arengae</i>	CBS 331.92	KM199340	KM116207	KM199426
<i>Pestalotiopsis biciliata</i>	CBS 790.68	KM199305	KM116235	KM199400
<i>Pestalotiopsis camelliae</i>	CBS 443.62	KM199336	KM116225	KM199424
<i>Pestalotiopsis chamaeropsis</i>	CBS 237.38	KM199324	KM116217	KM199392
<i>Pestalotiopsis chamaeropsis</i>	CBS 113607	KM199325	KM116211	KM199390
<i>Pestalotiopsis colombiensis</i>	CBS 118553	KM199307	KM116222	KM199421
<i>Pestalotiopsis hawaiiensis</i>	CBS 114491	KM199339	KM116239	KM199428
<i>Pestalotiopsis hollandica</i>	CBS 265.33	KM199328	KM116228	KM199388
<i>Pestalotiopsis humus</i>	CBS 336.97	KM199317	KM116230	KM199420
<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	WPF-54	KT000164	KM116281	KM199468
<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	MFLUCC12-020279	JX399012	KM116281	JX399043
<i>Pestalotiopsis knightiae</i>	CBS 114138	KM199310	KM116227	KM199408
<i>Pestalotiopsis novae-hollandiae</i>	CBS 130973	KM199337	KM116232	KM199511
<i>Pestalotiopsis papuana</i>	CBS 887.96	KM199318	KM116231	KM199415
<i>Pestalotiopsis spathulata</i>	CBS 356.86	KM199338	KM116236	KM199423
<i>Pestalotiopsis telopeae</i>	CBS 114137	KM199301	KM116219	KM199469
<i>Stagonosporopsis actaeae</i>	CBS 105.96	GU237733	GU238165	GU237670
<i>Stagonosporopsis andigena</i>	CBS 101.80	GU237714	GU238169	GU237674
<i>Stagonosporopsis astragali</i>	CBS 178.25	GU237792	GU238172	GU237677
<i>Stagonosporopsis caricae</i>	CBS 248.90	GU237807	GU238175	GU237680
<i>Stagonosporopsis crystalliniformis</i>	CBS 713.85	GU237903	GU238178	GU237683

ITS, internal transcribed spacer; LSU, large subunit; TUB, β -tubulin.

Table 1. (Continued)

Species	Strain no.	GenBank no.		
		ITS	LSU	TUB
<i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i>	CBS 133.96	GU237780	GU238181	GU237686
<i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i>	PD 91/310	GU237922	GU238180	GU237685
<i>Stagonosporopsis dennisii</i>	CBS 135.96	GU237782	GU238183	GU237688
<i>Stagonosporopsis hortensis</i>	CBS 104.42	GU237730	GU238198	GU237703
<i>Stagonosporopsis loticola</i>	CBS 562.81	GU237890	GU238192	GU237697
<i>Stagonosporopsis oculi-hominis</i>	CBS 634.92	GU237901	GU238196	GU237701
<i>Stagonosporopsis trachelii</i>	CBS 379.91	GU237850	GU238173	GU237678
<i>Stagonosporopsis valerianellae</i>	CBS 273.92	GU237819	GU238200	GU237705
<i>Xylaria hypoxylon</i>	CBS 122620	KY610407	KY610495	KX271279
<i>Zasmidium anthuriicola</i>	CBS 118742	FJ839626	FJ839662	KF252763
<i>Zasmidium citri-griseum</i>	ZJUM 103	KP896039	KP895909	KP896134
<i>Zasmidium fruticola</i>	ZJUM 9	KP896043	KP895913	KP896138
<i>Zasmidium fruticola</i>	ZJUM 68	KP896048	KP895918	KP896142
<i>Zasmidium fructigenum</i>	ZJUM 100	KP896061	KP895931	KP896154
<i>Zasmidium lonicericola</i>	CBS 125008	KF251283	KF251787	KF252765
<i>Zasmidium nocoxi</i>	CBS 125009	KF251284	KF251788	KF252766
<i>Zasmidium podocarpi</i>	CBS 142529	KY979766	KY979821	KY979930
<i>Zasmidium pseudoparkii</i>	CBS 111049	DQ303025	KF901976	KF902976
<i>Zasmidium scaevolicola</i>	CBS 127009	KF251285	KF251789	KF252767
<i>Zasmidium xenoparkii</i>	CBS 111185	DQ303028	JF700966	KF902978

ITS, internal transcribed spacer; LSU, large subunit; TUB, β -tubulin.

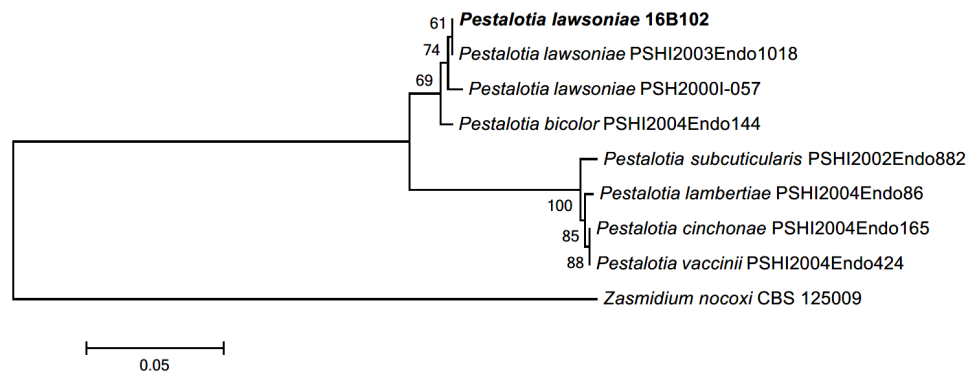


Fig. 2. Neighbor-joining phylogenetic tree based on a combined alignment of both internal transcribed spacer (ITS) and β -tubulin (TUB) sequences. *Zasmidium nocoxi* was used as an outgroup. Numbers on branches indicate bootstrap values (1,000 replicates). Fungal strain isolated in this study are in bold.

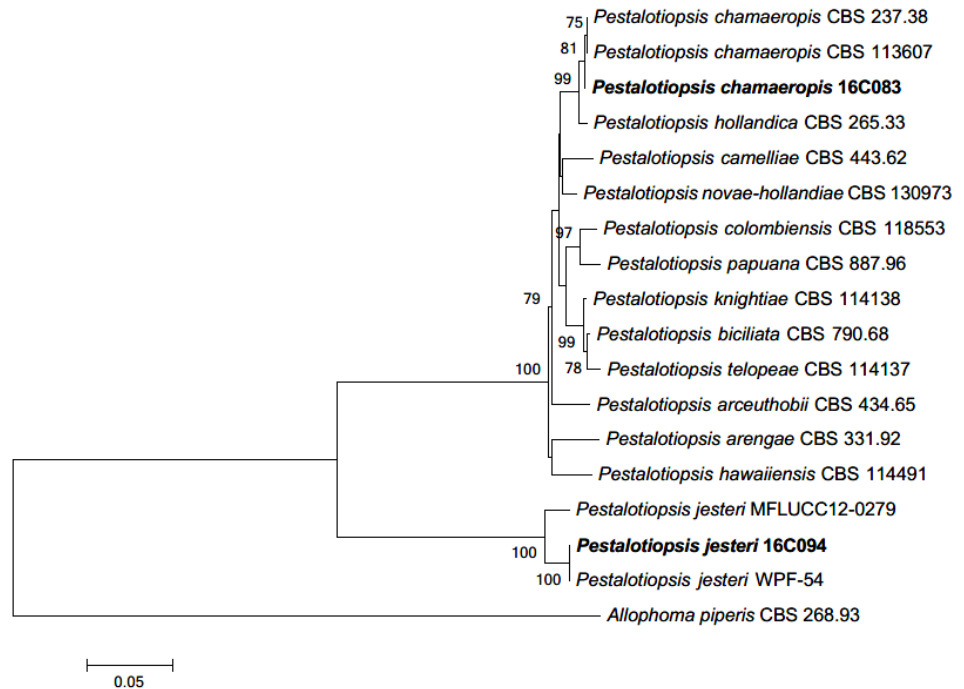


Fig. 3. Neighbor-joining phylogenetic tree based on a combined alignment of both internal transcribed spacer (ITS), large subunit (LSU) and β -tubulin (TUB) sequences. *Xylaria longipes* was used as an outgroup. Numbers on branches indicate bootstrap values (1,000 replicates). Fungal strain isolated in this study are in bold.

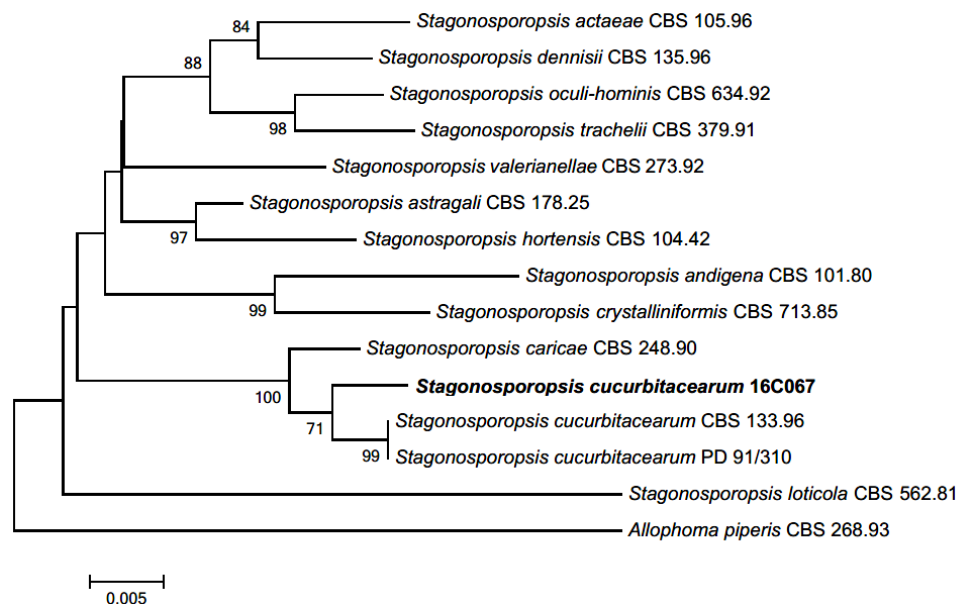


Fig. 4. Neighbor-joining phylogenetic tree based on a combined alignment of both internal transcribed spacer (ITS), large subunit (LSU) and β -tubulin (TUB) sequences. *Allohoma piperis* was used as an outgroup. Numbers on branches indicate bootstrap values (1,000 replicates). Fungal strain isolated in this study are in bold.

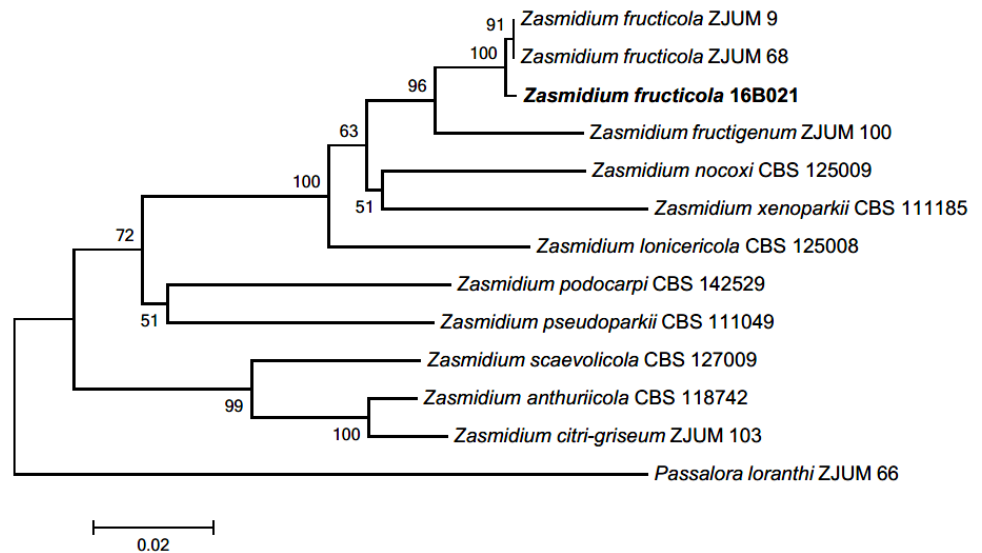


Fig. 5. Neighbor-joining phylogenetic tree based on a combined alignment of both internal transcribed spacer (ITS), large subunit (LSU) and β -tubulin (TUB) sequences. *Passalora loranthe* was used as an outgroup. Numbers on branches indicate bootstrap values (1,000 replicates). Fungal strain isolated in this study are in bold.

Table 2. GenBank accession numbers and NIBR numbers for fungal strains isolated from this study

Isolates	NIBR specimen no.	GenBank no.	Closest taxon	Host plants
16B102	NIBRFG0000499923	MG436878,	<i>Pestalotia lawsoniae</i>	<i>Pinus densiflora</i>
16C083	NIBRFG0000499919	MG436879	<i>Pestalotiopsis chamaeropsis</i>	<i>Aronia melanocarpa</i>
16C094	NIBRFG0000499921	MG436876	<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	<i>Aronia melanocarpa</i>
16C067	NIBRFG0000499920	MG462717	<i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i>	<i>Aronia melanocarpa</i>
16B021	NIBRFG0000499920	MG462717	<i>Zasmidium fructicola</i>	<i>Pinus densiflora</i>

Pestalotia lawsoniae Mundk. & Khesw. Mycologia 34: 315 (1942)

PDA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 42~45 mm 정도로 매우 빠르게 자라며, 균총의 색은 앞뒷면 모두 전체적으로 흰색이다. 고도는 중앙부에서 볼록 융기되어 있고 중앙부에서 부터 가장자리로 공중균사가 형성되어 방사형으로 뻗어 나간다(Fig. 1A). MEA 배지에서 배양된 균총의 직경은 44~45 mm 정도이고 형태적 특성은 PDA 배지에서 배양된 균주와 대부분 일치하나 색이 전체적으로 연한 갈색을 띤다(Fig. 1F). NCBI 상에서 ITS 지역의 분석결과 *P. lawsoniae* AY687872와 100.0%의 일치도를 확인하였고, LSU 지역의 분석결과 HM535714와 98.0%의 유사도를, TUB 지역의 분석결과 DQ333577과 97.0%의 유사도를 확인하였다. *Pestalotia*속은 1841년 De Notaris에 의해 명명되었으며[10], *Pestalotiopsis*와 같이 *Amphisphaeriaceae*에 속한다. *Pestalotiopsis*속과 비슷한 형태적 특성을 공유하고 실제로 후속 연구에 의해 *Pestalotiopsis*속으로 수정된 종들이 존재한다[11]. 이 종은 *Lawsonia*속에 속하는 목본식물인 *Lawsonia alba*의 잎에서 분리된 것에서 최초 유래되었으며, 원 기재문

에서는 숙주식물의 잎에 반점(leaf spot)을 발생시키는 병원성 균류로 기록되었다[12]. 본 연구에서는 소나무 잎에서 분리한 내생균이며, *Pinus*속의 침엽수 잎에서 내생균으로 분리된 기록도 존재한다[13].

***Pestalotiopsis chamaeropsis* Maharachch., K. D. Hyde & Crous, Stud Mycol 79: 158 (2014)**

PDA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 42~45 mm 정도이고, 앞면은 중앙부는 올리브색이고 주변부는 흰색의 공중 균사로 덮여 있다. 뒷면의 색은 중앙부는 베이지색이고 주변부는 흰색이며, 균총의 고도는 융기되어 있으며, 가장자리는 불규칙한 형태이다(Fig. 1B). MEA 배지에서 7일간 배양한 균총의 직경은 42~45 mm 정도이고, PDA 배지에서 배양한 균주와 형태적 특성이 일치하나 뒷면 균총의 중앙부에서 방사형으로 주름이 있다(Fig. 1G). 분지된 균사 끝에서 분생자를 형성하는데, 분생자는 격벽이 있으며 검은색의 세포층으로 나뉘어 있고, 바깥층은 투명한 무색의 유리질 막이 감싸고 있다. 분생자의 크기는 $13.9\sim23.2 \times 9.0\sim10.9 \mu\text{m}$ 이다(Fig. 1K). ITS 지역의 염기서열은 KR259104와 99.0%, LSU 지역은 KM116217과 99.0%, 그리고 TUB 지역은 KR259103과 98.0%의 유사도를 나타냈다. *Pestalotiopsis*속은 1949년 Steyaert [11]에 의해 최초로 명명된 속으로, 검은 색의 분생포자층(acervulus)이 불규칙하게 혹은 균열이 있는 상태로 종방향으로 길게 뻗어 나가며, 유리질의 격막으로 분리된 갈색의 분생자를 형성하는 것이 특징이다. 본 연구에서 이 균주는 아로니아의 잎에서 분리되었으며, 이탈리아에서는 야자나무과(Arecaceae)에 속하는 식물인 *Chamaerops humilis*의 잎에서 분리된 내생균으로 보고되었다[14, 15].

***Pestalotiopsis jesteri* Strobel, J.Yi Li, E. J. Ford & W. M. Hess. Mycotaxon 76: 260 (2000)**

PDA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 31~33 mm 이며, 균총의 앞뒷면은 중앙부는 청록색을 띠는 흰색이며 가장자리에 흰색의 띠가 생긴다. 가장자리의 띠는 7일 이상 배양하면 파도형으로 여러 층을 형성하여 점차 나이트와 같은 형태로 자란다. 균사는 중앙부에서 성기고 가장자리로 갈수록 조밀해져 전체적으로 방사형을 이룬다. 균총의 고도는 배지에 납작 붙어 있는 형태이다(Fig. 1C). MEA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 35~40 mm 정도로 PDA 배지에 배양할 때보다는 약간 크게 자라고, 균총의 앞면 중앙부는 아이보리색이며 가장자리는 흰색을 띤다. 뒷면은 중앙부에서 연한 갈색을 띠며 가장자리는 흰색이다. 가장자리에는 방사형의 공중균사가 발달하고, 고도는 볼록 융기된 형태이다(Fig. 1H). 분생자는 3중의 격벽에 의해 2개의 세포로 분리된 방추형 혹은 타원형이고, 색깔은 진한 갈색이며 크기는 $11.8\sim14.4 \times 5.5\sim6.7 \mu\text{m}$ 정도이다(Fig. 1L). ITS 지역의 염기서열은 KM199380과 98.0%, LSU 지역은 KM116281과 99.0%, TUB 지역은 KM199468과 98.0%의 유사도를 나타냈다. 이 종은 파푸아뉴기니의 용담과(Gentianaceae) 식물의 줄기에서 처음으로 분리되었다[14]. *Pestalotiopsis*에 속하는 내생균들 중 일부는 항생 작용을 하는 alkaloid를 분비하는 것으로 알려져 있는데, *Pestalotiopsis microspora*와 *Pestalotiopsis guepinii*의 경우 *Taxus*와 *Wollemia*속의 침엽수 잎에서 항암성분인 taxol을 생산하는 것으로 보고되어 있으며[16, 17],

이 종 역시 침엽수의 잎에서 항진균성 물질인 jesterone을 분비하는 것으로 보고되었다[18].

***Stagonosporopsis cucurbitacearum* (Fr.) Aveskamp, Gruyter & Verkley, Stud Mycol 65: 45.**

PDA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 44~45 mm 정도로 매우 빠르게 자라며, 앞뒷면이 전체적으로 무색에 가까운 흰색을 띠며 가장자리는 undulate 형태이다. 균총의 표면에는 전체적으로 작은 점 형태의 사마귀(wart)들이 밀집해 있으며, 균총의 고도는 배지에 납작하게 붙은 형태이다(Fig. 1D). MEA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 31~35 mm 정도로 PDA 배지에서 보다 느리게 자라며, 대부분의 형태적 특성은 PDA배지에서 배양된 균총과 일치하나 균총의 앞뒷면 색깔이 베이지색에 가깝고 군사가 가장자리로 가면서 방사형으로 뻗어 나가는 점이 다르다(Fig. 1I). 첫 번째 형태의 분생자(type 1)는 원통형 혹은 타원형으로 길쭉한 형태이며 크기는 $10.0\sim10.1 \times 2.7\sim4.2 \mu\text{m}$ 정도이고(Fig. 1M), 두 번째 형태의 분생자(type 2)는 구형에 가까운 모양으로 직경은 $4.2\sim5.4 \mu\text{m}$ 정도였다(Fig. 1N). ITS 지역의 염기서열은 KM489071과 98.0%, LSU 지역은 EU167563과 100%, TUB 지역은 KY930337과 97.0%의 일치도를 확인하였다. 본 균주는 아로니아의 잎에서 분리되었으며, 원 기재문 내에 *Stagonosporopsis*에 해당하는 종들이 타원형 혹은 구형의 두 가지 형태의 분생자를 형성한다고 기록되어 있는데[19], 본 연구에서도 두 가지 형태의 분생자를 확인할 수 있었다. 인간에게 급성 칸디다증을 유발하는 원인균인 *Candida albicans*에 대해 항생 효과를 보이는 pyridone 계열의 alkaloid 물질을 분비하는 것으로 연구된 바 있다[20]. *Stagonosporopsis*속은 1912년 Diedicke에 의해 최초로 명명된 속으로[21], *Stagonospora*속과 비슷하게 multi-septate형의 분생자를 생성하는 것이 특징이고[21], *Stagonosporopsis oculihominis*는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 식물인 *Dendrobium huoshanense*의 줄기에서 내생균으로 작용하며, alkaloid를 분비하여 병원성 균류에 대한 내성을 제공하는 것으로 알려져 있다[22].

***Zasmidium fruticola* Crous, F. Huang & Hong Y. Li, Mycologia 107: 1165 (2015)**

PDA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 13~15 mm로 중앙부에 군사가 밀집하여 느리게 자라고, 앞면은 중앙부는 회색빛이며 가장자리에 약간의 어두운 녹색(dark green)을 띤다. 뒷면은 전체적으로 검은색이며, 균총의 고도는 낮아, 납작하게 붙어있으며 배지 속으로 들어가는 형태이다(Fig. 1E). MEA 배지에서 7일간 배양된 균총의 직경은 15~20 mm 정도로 PDA에서보다 크게 자란다. 형태적 특성은 PDA 배지에서 배양된 균주와 일치한다(Fig. 1J). 분생자의 형태는 장타원형 혹은 원통형의 분생자경(conidiophore) 끝에서 분지되어 형성되는 것을 관찰할 수 있다[23]. 분생자의 색은 연하거나 진한 갈색이며, 크기는 $22.6\sim27.9 \times 12.4\sim15.8 \mu\text{m}$ 이다(Fig. 1O). ITS 지역의 염기서열은 KP896053와 99.0%, LSU 지역은 KP895915와 99.0%, TUB 지역은 KP896138과 99.0%의 일치도를 확인하였다. *Zasmidium*속은 Mycosphaerellaceae에 속하는 균류로, conidium은 격벽이 구분되지 않으며 표면에 치아 형태의 중심축이 자리잡고 있는 것이 특징이다[24]. 원 기재문에서는 감귤류에 속하는 과실수의 잎 혹은 열매에서 갈색무늬병의 병증이 있는 조직에서 분리되었으나[23] 본 연구에서는 소나무의 병증이 없는 침엽에서 분리되었다. 최근 *Zasmidium*속에 속하는 종이 알래스카

에 서식하는 침엽수 잎에서 내생균으로 분리된 결과가 있다[25].

적 요

본 연구에서는 소나무(*Pinus densiflora*)와 아로니아(*Aronia melanocarpa*)의 잎을 채취하여 표면살균한 후 내생균을 분리하였다. 분리한 균주는 형태적 특징과 internal transcribed spacer (ITS) rDNA 지역과 28S rDNA 지역 그리고 β -tubulin 유전자의 염기서열을 이용하여 계통분석을 통해 동정하였다. 소나무에서 분리한 두 종의 균주인 *Pestalotia lawsoniae*와 *Zasmidium fructicola*, 그리고 아로니아에서 분리한 세 종의 균주인 *Pestalotiopsis chamaeropsis*, *Pestalotiopsis jesteri*, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*는 국내 미기록 진균으로 보고하고자 한다.

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. Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 1988;69:2-9.
2. Arnold AE, Mejía LC, Kylo D, Rojas EI, Maynard Z, Robbins N, Herre EA. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:15649-54.
3. Bush LP, Wilkinson HH, Schardl CL. Bioprotective alkaloids of grass-fungal endophyte symbioses. *Plant Physiol* 1997;114:1-7.
4. 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.
5. Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. *Nat Prod Rep* 2006;23:753-71.
6. 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.
7. Vilgalys R, Hester M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* 1990;172: 4238-46.
8. Koenraadt H, Somerville SC, Jones AL. Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 1992;82:1348-54.
9. 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.
10. De Notaris G. Micromycetes Italici novi vel minus cogniti. Taurini: Ex Officina regia;

- 1839.
11. Steyaert RL. Contribution à l'étude monographique de *Pestalotia* de Not. et *Monochaetia* Sacc. (*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). Bull Bot Gard State Bruss 1949; 19:285-354.
12. Mundkur BB, Kheswalla KF. Indian and Burman species of the genera *Pestalotia* and *Monochaetia*. Mycologia 1942;34:308-17.
13. Wei JG, Xu T, Guo LD, Liu AR, Zhang Y, Pan XH. Endophytic *Pestalotiopsis* species associated with plants of Podocarpaceae, Theaceae and Taxaceae in southern China. Fungal Divers 2007;24:55-74.
14. Maharachchikumbura SS, Hyde KD, Groenewald JZ, Xu J, Crous PW. *Pestalotiopsis* revisited. Stud Mycol 2014;79:121-86.
15. Moslemi A, Taylor PW. *Pestalotiopsis chamaeropsis* causing leaf spot disease of round leaf mint-bush (*Prostanthera rotundifolia*) in Australia. Australas Plant Dis Notes 2015; 10:29.
16. Strobel G, Yang X, Sears J, Kramer R, Sidhu RS, Hess WM. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana*. Microbiology 1996;142:435-40.
17. Strobel GA, Hess WM, Li JY, Ford E, Sears J, Sidhu RS, Summerell B. *Pestalotiopsis guepinii*, a taxol-producing endophyte of the wollemi pine, *Wollemia nobilis*. Aust J bot 1997;45:1073-82.
18. Li JY, Strobel GA. Jesterone and hydroxy-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jesteri*. Phytochemistry 2001;57:261-5.
19. Aveskamp M, De Gruyter J, Woudenberg J, Verkley G, Crous PW. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. Stud Mycol 2010;65:1-60.
20. Haga A, Tamoto H, Ishino M, Kimura E, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Shiro M, Koyama K. Pyridone alkaloids from a marine-derived fungus, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*, and their activities against azole-resistant *Candida albicans*. J Nat Prod 2013;76:750-4.
21. Diedicke H. Die Abteilung Hyalodidymae der Spaerioideen. Ann Myc 1912;10:135-152.
22. Yu Y, Ma BJ, Liu JS, Yue JY, Chen HP, Liang YM, Zhou ZY, Wang GK, Wang G. Two new alkaloid metabolites produced by endophytic fungus *Stagonosporopsis oculihominis* isolated from *Dendrobium huoshanense*. Phytochem Lett 2017;19:266-70.
23. Huang F, Groenewald JZ, Zhu L, Crous PW, Li H. Cercosporoid diseases of *Citrus*. Mycologia 2015;107:1151-71.
24. Fries EM. Summa vegetabilium Scandinaviae. Upsaliae: e Typographia Academica; 1849.
25. Eusemann P, Schnittler M, Nilsson RH, Jumpponen A, Dahl MB, Würth DG, Buras A, Wilmking M, Unterseher M. Habitat conditions and phenological tree traits overrule the influence of tree genotype in the needle mycobiome-*Picea glauca* system at an arctic treeline ecotone. New Phytol 2016;211:1221-31.