

RESEARCH NOTE

말뚝버섯속의 국내 미기록종(*Phallus hadriani*) 보고조종원¹, 심정교², 심주석³, 광영남¹, 김형소¹, 박상영¹, 한상국⁴, 한재규⁵, 오승환¹, 김창선^{1*}¹국립수목원 산림생물다양성연구과, ²동해시청 녹지과, ³강원도청 산림소득과, ⁴국립수목원 연구기획팀, ⁵농촌진흥청 국립원예특작과학원A Newly Identified *Phallus* (Phallaceae, Basidiomycota) Species, *P. hadriani*, in South KoreaJong Won Jo¹, Joungkyo Sim², Joo Suk Sim³, Young-Nam Kwag¹, Hyung So Kim¹, Sang Young Park¹, Sang-Kuk Han⁴, Jae-Gu Han⁵, Seung Hwan Oh¹, Chang Sun Kim^{1*}¹Forest Biodiversity Division, Korea National Arboretum, Pocheon 11186, Korea²Division of Green Area, Donghae City Hall, Donghae 25755, Korea³Department of Forest income, Gangwon City Hall, Chuncheon 24266, Korea⁴Research Planning and Coordination, Korea National Arboretum, Pocheon 11186, Korea⁵Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Eumseong 27709, Korea

*Corresponding author: changsun84@korea.kr

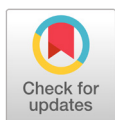
ABSTRACT

As part of the mushroom surveys in the unexplored areas of Korea in 2019 and 2020, a phalloid fungus was found in a saline sand beach. The specimen was mainly characterized by its reticulate pileus and violet volva with well-developed rhizomorphs. Based on ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequencing and morphological characteristics, the specimen was identified as *Phallus hadriani*. Additionally, a morphological comparison of closely related species was performed. This study describes for the first time the presence of *P. hadriani* in Korea.

Keywords: Morphology, Phallaceae, Phylogeny, Stinkhorn, Taxonomy

서론

말뚝버섯목(Phallales) 말뚝버섯과(Phallaceae)에 속하는 말뚝버섯속(*Phallus*)은 포자가 형성되는 자실체의 갓 부분에서 발생하는 악취로 곤충을 유인하여 포자를 전파하며, 영문 일반명으로는 stinkhorn으로 불린다. 말뚝버섯속은 전세계적으로 분포하며[1] 113종이 기록되어 있고(Index Fungorum, <http://www.indexfungorum.org>) 최근까지도 꾸준히 신종이 보고되고 있다[2-5]. 국내에서도 버섯분포상 및 분류 연구를 통해 다양한 속의 신종이나 미기록종 버섯이 꾸준히 보고되고 있



OPEN ACCESS

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249Kor. J. Mycol. 2020 September, 48(3): 345-353
<https://doi.org/10.4489/KJM.20200034>

Received: September 07, 2020

Revised: September 09, 2020

Accepted: September 16, 2020

© 2020 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.

으나[6-9] 말뚝버섯속의 경우 노란말뚝버섯(*P. costatus*), 노랑망태버섯(*P. luteus*), 말뚝버섯(*P. impudicus*), 망태말뚝버섯(*P. indusiatus*) 그리고 붉은말뚝버섯(*P. rugulosus*) 단 5종만이 기록되어 있어 이 속에 대한 연구가 부족한 실정이다[10].

국내의 버섯상 연구는 주로 산림지역을 중심으로 이루어지고 있는 반면에 해안 지역에 발생하는 버섯에 대한 연구는 미비하다[11-13]. 최근 국내 해안 모래사장에서 신종 버섯이 발견되었고[14], 본 연구조사 중에도 여러 버섯종들이 해안에서 서식하고 있는 것을 확인할 수 있었다. 여기에서는 국내의 동해와 서해 지역 모래사장에서 발견된 말뚝버섯속 버섯에 대하여 분자 및 형태 연구를 진행한 바, 국내 미기록종으로 확인되어 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

표본 수집 및 형태 관찰

2019년 동해의 망상 해변과 2020년 서해의 기지포 해변 모래사장을 중심으로 버섯상 조사를 수행하였다. 버섯을 채집하기 전 생태 사진을 촬영하였고 채집장소, 서식처의 정보 등을 기록하였으며 DNA 추출을 위한 자실체의 조직 절편을 수집 후 40°C에서 72시간 동안 열풍 건조하였다. 미세구조의 관찰은 광학현미경(Olympus BX53, Tokyo, Japan)을 이용하였으며 ProgRes CapturePro v.2.8.8 (Jenoptik Co., Jena, Germany) 프로그램을 이용하여 길이를 측정하였다. 채집된 모든 표본은 관리번호를 부여하여 국립수목원 산림생물표본관(Herbarium of the Korea National Arboretum; KH, Pocheon, Korea)에 보관하였다.

DNA 추출, PCR 증폭 및 염기서열 분석

CTAB 방법[15]으로 자실체의 조직으로부터 DNA를 추출하였고 ITS5/ITS4 primer [16]를 사용하여 ITS rDNA의 염기서열을 분석하였다. PCR 조성 및 반응 조건은 조 등[17]의 방법을 따랐으며 PCR 산물은 Macrogen (Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 결정하였다. 채집된 버섯의 분자 계통학적 위치를 알아보기 위해 GenBank database에 등록된 말뚝버섯속 각 종의 염기서열을 분석에 사용하였고(Table 1) ClustalX v. 1.81[18]를 이용하여 선택된 염기서열들을 정렬 후 PHYDIT v. 3.2[19] 프로그램으로 편집하였다. 계통수 분석은 MrBayes v. 3.1.2을 이용한 Bayesian inference (BI) [20]와 PAUP* v. 4.0 b10[21]을 이용한 Maximum parsimony (MP) bootstrap analysis를 수행하였다. BI 분석에는 jModeltest[22]를 수행하여 선정된 GTR+I+G 치환모델을 사용하였으며 선행연구에 근거하여 뱀버섯속(*Mutinus*)의 2종(*M. albotruncatus*, *M. verrucosus*)을 outgroup으로 선정하였다[3,23]. 본 연구를 통해 채집된 모든 표본의 ITS 영역 염기서열은 GenBank에 등록하였다(Table 1).

Table 1. Information of ITS sequences used in this study.

Species	Voucher	Locality	GenBank accession No.
<i>Mutinus albotruncatus</i>	UFRN2025	Brazil	KT202281 ^a
<i>Mutinus verrucosus</i>	UFRN Fungos	Brazil	NR_160483 ^a
<i>Phallus atrovolutus</i>	MEL:2382871	Australia	KP012745
<i>Phallus atrovolutus</i>	MEL:2382962	Australia	KP012823
<i>Phallus cinnabarinus</i>	INPA:255835	Brazil	KJ764821
<i>Phallus denigricans</i>	INPA272383	Brazil	MG678486 ^a
<i>Phallus denigricans</i>	UFRN-Fungos 2805	Brazil	MG678485
<i>Phallus echinovolutus</i>	GDGM 79013	China	MN613536
<i>Phallus fuscoechinovolutus</i>	GDGM 43465	China	MF039580
<i>Phallus fuscoechinovolutus</i>	GDGM 48589	China	MF039581 ^a
<i>Phallus hadriani</i>	AFTOL-ID 683	N/A	DQ404385
<i>Phallus hadriani</i>	AH39161	Pakistan	KF481956
<i>Phallus hadriani</i>	TNS-F-70036	Japan	KU516100
<i>Phallus hadriani</i>	TNS Kasuya B2045	Japan	KP222542
<i>Phallus hadriani</i>	RE180	N/A	MG678525
<i>Phallus hadriani</i>	KA19-1233	South Korea	MT947223
<i>Phallus hadriani</i>	KA19-1234	South Korea	MT947224
<i>Phallus hadriani</i>	KA19-1235	South Korea	MT947225
<i>Phallus hadriani</i>	KA20-0085	South Korea	MT947226
<i>Phallus haitangensis</i>	HKAS 88193	China	NR_155668 ^a
<i>Phallus haitangensis</i>	HKAS 88199	China	KU705384
<i>Phallus impudicus</i>	PD12	China	MH424914
<i>Phallus impudicus</i>	TNS-F-70032	Japan	KU516098
<i>Phallus indusiatus</i>	INPA264930	Brazil	MG678499
<i>Phallus indusiatus</i>	INPA264931	Brazil	MG678500 ^a
<i>Phallus luteus</i>	N/A	China	HQ414538
<i>Phallus mengsongensis</i>	HKAS 78343	China	NR_158805 ^a
<i>Phallus mengsongensis</i>	HKAS 78345	China	KF052625
<i>Phallus purpurascens</i>	SINOP28	Brazil	MG678495
<i>Phallus purpurascens</i>	UFRN-Fungos 2808	Brazil	MG678487 ^a
<i>Phallus rubrovolutus</i>	MHHNU 7680	China	MK172818
<i>Phallus rubrovolutus</i>	YZS046	China	KF939506
<i>Phallus rugulosus</i>	TNS-F-46049	Taiwan	MF372142
<i>Phallus rugulosus</i>	MHHNU 31016	China	MK182315
<i>Phallus serrata</i>	HKAS 78340	China	KF052622 ^a
<i>Phallus serrata</i>	HKAS 78341	China	KF052623
<i>Phallus ultraduplicatus</i>	YuR 3374	Russia	MK965097

Newly generated sequences are shown in bold.

^a Type specimen. N/A = no information/sequence available.

결과

Taxonomy

망상모래말뚝버섯(신칭) *Phallus hadriani* Vent. Mém. Inst. nat. Sci. Arts 1: 517 (1798) (Fig. 1)

유균 상태인 알의 크기는 4.5×3.4 cm로 유구형에서 난형이다. 연한 보라색을 띠는 막질로 쌓여 있으며 안쪽은 젤라틴질로 되어있다. 자실체의 아래쪽으로 잘 발달된 근상균사속이 있으며 표면은 보라색을 띤다. 성숙한 개체의 높이는 10-13 cm이다. 갓은 흰색을 띠며 종형이고 표면은 망목상이며 암록색의 기본체로 덮여 있다. 크기는 $3.4 \times 2.5-3.5$ cm이다. 대는 원통형으로 크기는 $6-8 \times 1.5-2.0$ cm, 흰색에서 옅은 노란색이고 스폰지상으로 작은 구멍이 나 있으며 속은 비어 있다. 균망은 없다.

담자포자는 장타원형 또는 원통형이며 크기는 [$n=50$] (3.30-)3.60-4.50(-5.16) $\times$ (1.77-)1.88-2.30(-2.51) μm , 평균 길이 4.08 μm , 평균 너비 2.06 μm 이다. 투명하며 표면은 매끄럽다. 대주머니의 균사는 분지하며 꺾쇠연결이 있다.

Habitat. 해변의 모래사장에서 홀로 또는 2-3 개체가 모여서 발생하였으며 주변에 갯그렁(*Elymus mollis* Trin.), 갯씀바귀(*Ixeris repens* (L.) A. Gray), 쯔보리사초(*Carex pumila* Thunb.) 그리고 통보리사초(*Carex kobomugi* Ohwi)가 서식하고 있었다.

Specimen examined. 대한민국. 강원도, 동해시 망상해변, 13 Nov. 2019 (KA19-1233, KA19-1234, KA19-1235), N 37°35'49.99" E 129°05'06.99"; 충청남도, 태안군 기지포해변, 16 Jun. 2020 (KA20-0085), N 36°33'22.34" E 126°19'40.79".

Remark. *Phallus hadriani*는 균망이 없고 특히 보라색을 띠는 대주머니가 다른 말뚝버섯종들과 구분되는 중요한 형태학적 특징이다. 또한, 산림지역이 아닌 해변가의 모래사장에서 발생하는 서식처의 특성이 있다. 외부형태적으로 가장 유사한 종은 국내에도 기록되어 있는 말뚝버섯(*P. impudicus*)이지만 대주머니의 색과 서식처의 차이로 비교적 쉽게 구분할 수 있다[23,24]. 국내에서 처음으로 발견한 지역이 동해에 위치한 망상해변으로 이 버섯의 국명은 발견한 곳의 지명을 참고하여 명명하였다.

37개의 taxa를 포함한 ITS dataset에 대한 BI 및 MP 분석 결과는 Fig. 2에 표기하였다. 동해와 서해에서 발견된 버섯은 *P. hadriani* 염기서열들(DQ404385, KF481956, KP222542, KU516100, MG678525)과 하나의 그룹을 형성하였고(maximum parsimony bootstrap value [MPBS]=100, posterior probability [PP]=1.0) 형태적으로 가장 유사한 *P. impudicus* (KU516098, MH424914)와 명확히 구분되었다(Fig. 1). 위의 형태 특징 및 분자생물학적 분석을 바탕으로 본 연구를 통해 해안에서 발견된 버섯을 국내미기록종인 *P. hadriani*로 동정하였다.



Fig. 1. Morphological characters of *Phallus hadriani*. A-C: KA19-1233. D, E: KA19-1234. F, G: Hyphae of volva in 1% Congo Red, clamp connections indicated with white arrow. H: Basidiospore in 3% KOH. I: Cells of stipe in 1% Congo Red. Scales bars: A-E=5 cm, F, I=40 μ m, G, H=10 μ m.

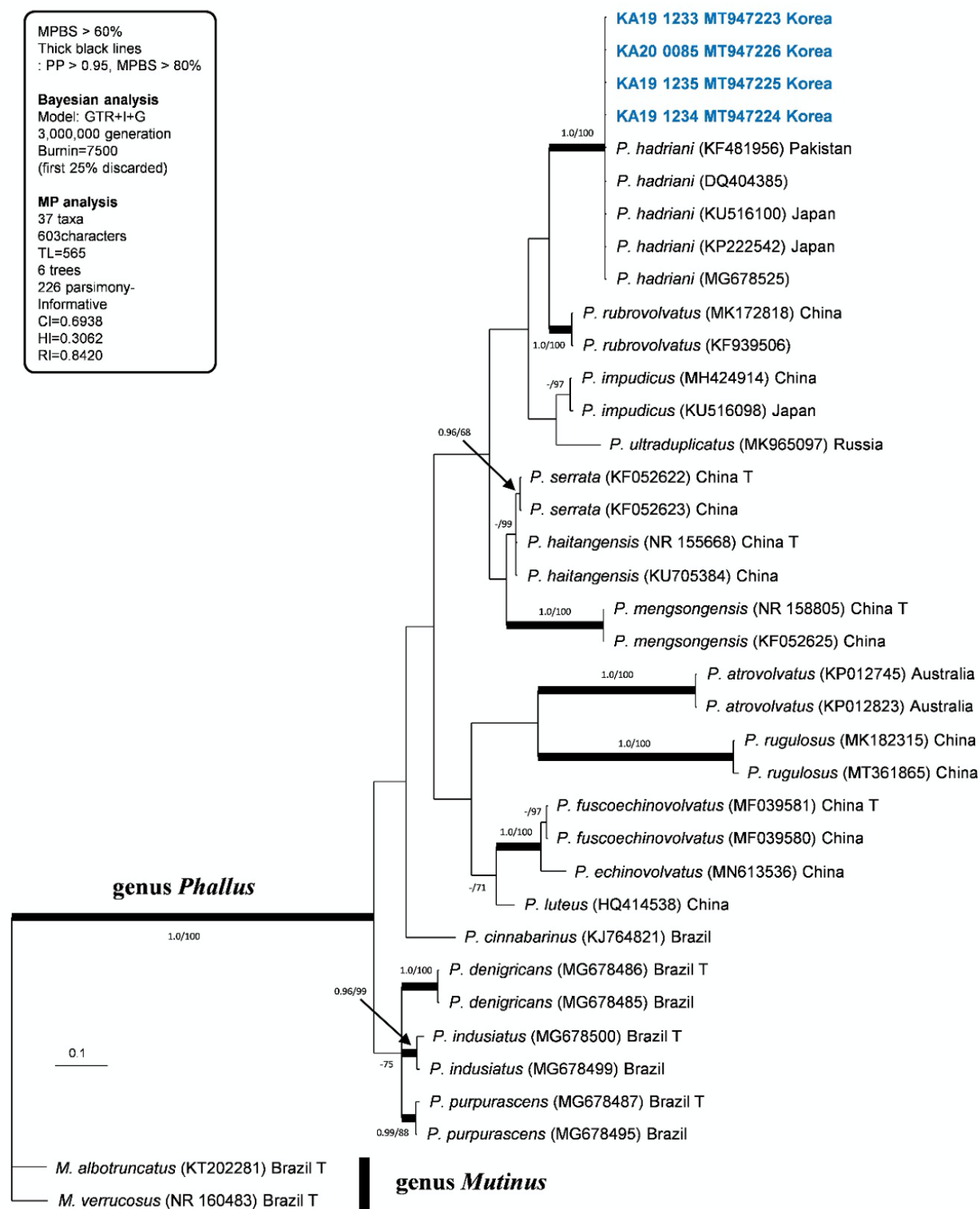


Fig. 2. Bayesian 50% majority-rule consensus topology based on internal transcribed spacer (ITS) sequence data. Bayesian posterior probabilities (PP) and 1,000 bootstrap replicates in MP analysis (MPBS) are indicated as PP/MPBS above or below branches. Broad black branches indicate PP>0.95 and MPBS>80%. Sequences generated for this study are highlighted in blue. The symbol 'T' indicated the type materials. CI, consistency index; HI, homoplasy index; RI, retention index.

고찰

본 연구를 통해 발굴된 망상모래말뚝버섯(*P. hadriani*)은 해변의 모래사장에 서식하는 특성과 보라색을 띠는 대주머니를 가지고 있어 다른 말뚝버섯종들과 비교적 구분이 용이하다. 인접국가인 일본[25]과 중국[26]에서 이 종이 보고되어 있음에도 불구하고 국내에 기록되지 않은 것은 해안지역에 발생하는 버섯에 대한 연구가 매우 미비하기 때문으로 판단된다. 또한 국내의 도서지역에 대한 버섯상 연구는 울릉도나 제주도와 같이 큰 섬들을 중심으로 진행되었으며[27-29], 주로 산림이 형성된 지역을 대상으로 조사하였기 때문에 바다와 인접한 환경인 해변지역은 조사대상지에서 제외되어 왔다. 그러나, 최근 김 등[14]이 국내의 해변에서 서식하고 있는 해변콩꼬투리버섯(*Xylaria ripicola*)을 신종으로 보고하여 버섯상 조사지에 대한 범위를 넓힐 필요가 대두되었다.

나아가, 국내의 버섯 종다양성을 확보하고 다양한 생태적 환경에서의 버섯의 역할을 구명하기 위해서라도 해안지역과 같은 미조사지역에 대한 연구가 지속적으로 필요할 것으로 생각된다. 본 연구에 포함되지는 않았지만 망상모래말뚝버섯 외에도 선녀버섯속(*Marasmiellus*), 말뚝버섯속(*Panaeolus*), 눈물버섯속(*Psathyrella*) 그리고 주발버섯속(*Peziza*)으로 보이는 종들이 함께 발견되었다. 추후 이 종들에 대한 정확한 동정을 통해 추가적인 미기록종이나 신종이 발굴될 수 있을 것으로 기대하고 있다. 버섯의 경우 다양한 식물들과 관계를 이루고 살아가기에, 이러한 연구는 해안가에 서식하는 여러 식물들과 균류와의 상호관계를 이해하는 데에도 도움을 줄 것으로 보인다.

적요

2019년과 2020년, 국내의 미조사지역에 대한 버섯상 조사를 통해 해변의 모래사장에서 발생한 말뚝버섯속의 버섯을 채집하였다. 이 버섯은 망목상의 갓과 잘 발달된 근상균사속 그리고 보라색을 띠는 대주머니를 가지고 있었다. 주요 형태적 특징과 rDNA의 ITS 영역 염기서열 분석을 통하여 근연종들과 비교한 결과, 채집된 버섯을 *Phallus hadriani*로 동정하였으며 국내 미기록종 버섯으로 보고하고자 한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by research grants of the Korea National Arboretum (project no. KNA 1-3-2, 19-5).

REFERENCES

1. Kreisel H. A preliminary survey of the genus *Phallus* sensu lato. Czech Mycol 1996;48:273-81.
2. Li H, Mortimer PE, Karunarathna SC, Xu J, Hyde KD. New species of *Phallus* from a subtropical forest in Xishuangbanna, China. Phytotaxa 2014;163:91-103.
3. Li H, Ma X, Mortimer PE, Karunarathna SC, Xu J, Hyde KD. *Phallus haitangensis*, a new species of stinkhorn from Yunnan Province, China. Phytotaxa 2016;280:116-28.
4. Song B, Li T, Li T, Huang Q, Deng W. *Phallus fuscoechinovolvatus* (Phallaceae, Basidiomycota), a new species with a dark spinose volva from Southern China. Phytotaxa 2018;334:19-27.

5. Li T, Li T, Deng W, Song B, Deng C, Yang ZL. *Phallus dongsun* and *P. lutescens*, two new species of Phallaceae (Basidiomycota) from China. *Phytotaxa* 2020;443:19-37.
6. Lee H, Park MS, Jung PE, Fong JJ, Oh SY, Verbeke A, Lim YW. *Lactarius cucurbitoides* (Russulales, Basidiomycota), a new species from South Korea supported by molecular and morphological data. *Phytotaxa* 2015;205:168-76.
7. Kim CS, Jo JW, Kwag YN, Sung GH, Han JG, Shrestha B, Oh SO, Kim SY, Shin CH, Han SK. Two new *Lycoperdon* species collected from Korea: *L. albiperidium* and *L. subperlatum* spp. nov. *Phytotaxa* 2016;260:101-15.
8. Cho HJ, Lee H, Park MS, Kim C, Wisitrassameewong K, Lupala A, Park KH, Kim MJ, Fong JJ, Lim YW. *Macrolepiota* in Korea: New records and a new species. *Mycobiology* 2019;47:368-77.
9. Jo JW, Kwag YN, Kim HS, Lee H, Han SK, Han JG, Oh SH, Kim CS. A new species and two new records of *Amanita* (Amanitaceae; Basidiomycota) from South Korea. *Phytotaxa* 2020;451:21-33.
10. Seok SJ, Lim YW, Kim CM, Ka KH, Lee JS, Han SK, Kim SO, Hur JS, Hyun IH, Hong SG, et al. List of mushrooms in Korea. Seoul: Korea Society of Mycology; 2013.
11. Kim CS, Jo JW, Kwag YN, Kim JH, Shrestha B, Sung GH, Han SK. Taxonomic study of *Amanita* subgenus *Lepidella* and three unrecorded *Amanita* species in Korea. *Mycobiology* 2013;41:183-90.
12. Jang SK. Distribution of higher fungi in Wolchulsan National Park. *Kor J Mycol* 2014;42:9-20.
13. Kwon SL, Jang S, Kim C, Lim YW, Kim JJ. Note of five unrecorded mushrooms including three rare species on mount Juwang in Korea. *Mycobiology* 2020;48:157-68.
14. Kim CS, Jo JW, Kwag YN, Oh SO, Lee SG, Sung GH, Han JG, Oh J, Shrestha B, Kim SY, Shin CH. New records of *Xylaria* species in Korea: *X. ripicola* sp. nov. and *X. tentaculata*. *Mycobiology* 2016;44:21-8.
15. Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 1987;19:11-5.
16. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: A guide to methods and application. In: Innis DH, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
17. Jo JW, Kwag YN, Cho SE, Han SK, Han JG, Lim YW, Sung GH, Oh SH, Kim CS. First report of *Buchwaldoboletus lignicola* (Boletaceae), a potentially endangered basidiomycete species, in South Korea. *Mycobiology* 2019;47:521-6.
18. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 1997;25:4876-82.
19. Chun J. Computer-assisted classification and identification of Actinomycetes [dissertation]. Newcastle upon Tyne: University of Newcastle; 1995.
20. Ronquist F, Huelsenbeck JP. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 2003;19:1572-4.
21. Swofford DL. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0 b10. Sunderland: Sinauer Associates; 2003.
22. Posada D. jModeltest: Phylogenetic model averaging. *Mol Bio Evol* 2008;25:1253-6.
23. Moreno G, Khalid AN, Alvarado P, Kreisel H. *Phallus hadriani* and *P. roseus* from Pakistan. *Mycotaxon* 2013;125:45-51.

24. Kour H, Yangdol R, Kumar S, Sharma YP. Three species of *Phallus* (Basidiomycota: Agaricomycetes: Phallaceae) from Jammu & Kashmir, India. *J Threat Taxa* 2016;8:8403-9.
25. Kasuya T. Three species of the genus *Phallus* rediscovered from Japan. *Nippon Kingakukai Kaiho* 2007;48:44-56. (in Japanese)
26. Wang JR, Bau T. Notes on Basidiomycetes of Jilin Province (VI). *J Fungal Res* 2004;2:40-3. (in Chinese)
27. Ko PY, Seok SJ, Lee, HB, Ko HS, Jeun YC. Species diversity of spontaneous mushrooms on Jeju Island. *Kor J Mycol* 2014;42:104-32.
28. Kim CS, Jo JW, Kwag YN, Sung GH, Lee SG, Kim SY, Shin CH, Han SK. Mushroom flora of Ulleung-gun and a newly recorded *Bovista* species in the Republic of Korea. *Mycobiology* 2015;43:239-57.
29. Park KH, Kim C, Kim M, Kim NK, Park JY, Eimes JA, Cho HJ, Han SK, Lim YW. Three new recorded species of the Physalacriaceae on Ulleung Island, Korea. *Mycobiology* 2017;45:9-14.