

식물기생성 선충 포식곰팡이의 형태 및 계통분류학적 특성

조천휘* · 강두선¹ · 전한기¹ · 손희성² · 황경숙²

충남대학교 생물환경화학전공, ¹KAFCO 생물화학연구소, ²목원대학교 미생물생태자원연구소

Morphological and Phylogenetic Characteristics of Nematophagous Fungi

Cheon-Whi Cho*, Doo-Sun Kang¹, Han-Ki Jeon¹, Hee-Seong Son² and Kyung-Sook Whang²

Department of Bio-Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

¹Korea Agriculture Fertilizer Corporation Biochemistry Research Institute, ChungBuk 373-831, Korea

²Institute of Microbial Ecology and Resources, Mokwon University, Daejeon 302-729, Korea

Received April 25, 2007; Accepted June 15, 2007

Twenty-two strains of nematophagous fungi were isolated from 100 soil samples. Nematophagous fungi were classified into three categories; 3-dimensional adhesive nets (A group), 2-dimensional adhesive nets (B group) and constricting ring (C group). Nine strains were selected and identified on the basis of morphological characteristics (hypha, conidiophore, form and size of conidia, number of conidia, node of conidophore, number and location of septa, size and color of chlamydospore) and ITS (internal transcribed spacer) region of rDNA sequences. As the results, the isolates were identified as belonging to the species of *Monacrosporium thaumasium* (Kan-2, Kan-4, Kan-11), *Arthrobotrys oligospora* (Kan-9, Kan-13, Kan-20, Kan-21), *A. musiformis* (Kan-12), and *A. dactyloides* (Kan-22).

Key words: *Arthrobotrys* spp., *Monacrosporium* spp., nematophagous fungi, phylogeny, predaceous organ

서론

선충포식곰팡이(Nematophagous fungi)는 선충과 천적관계를 유지하고 있는 곰팡이로 특수화된 구조를 이용하여 살아 있는 선충을 공격하는 선충포획곰팡이(Nematode trapping fungi)와 체내기생성곰팡이(Endoparasitic fungi), 그리고 균사의 정단으로 선충을 공격하는 알-씨스트 기생성곰팡이(Egg-Cyst-parasitic fungi)로 크게 세 그룹으로 분류된다.¹⁾

선충포식곰팡이는 살아 있는 선충(유충, 성충, 알)을 공격하여 영양원으로 이용하고 특수한 형태의 포획구조를 발달시킨다는 것을 1852년 독일의 Fresenius가 *Arthrobotrys oligospora*를 최초로 발표한 이후 현재까지 분류학적으로 200여종 이상 선충포식곰팡이가 보고 되어왔다.²⁾ 지금까지 보고된 대부분의 선충포식곰팡이들은 분생포자, 분생포자병, 포획구조 등의 형태학적 특성에 기초하여 작성된 Saccardo,^{3,4)} Cooke & Godfrey, Haard, Barron 및 Rifai & Cooke의 분류키⁵⁻⁸⁾를 기준으로 분류 동정이 이루어져 왔으나,^{9,12)} 중간 분류체계의 불명확점이 문제

점으로 제시되어 왔다. 최근 일부 선충포식곰팡이의 rDNA ITS 영역에 대한 염기서열 분석결과를 토대로 계통학적 위치를 검토한 결과 형태학적 분류와 일치하지 않는다는 것이 밝혀지면서 다양한 선충포식곰팡이에 대한 계통분류학적 특성 검토가 요구되고 있다.^{13,14)}

본 연구는 토착형 선충포식곰팡이의 유전자원을 탐색하고 자원화하기 위해 국내 시설하우스 토양, 과수원토양 및 산림토양 등으로부터 다양한 선충포식곰팡이를 수집하고 순수 분리된 이들 선충포식곰팡이의 분생포자, 분생포자병 및 포획구조 등의 형태학적 특징을 조사하고 이들 균주의 rDNA ITS 영역에 대한 염기서열을 분석하여 선충포식곰팡이의 계통분류학적 위치를 결정하고자 하였다.

재료 및 방법

토양시료 채취. 국내 시설하우스(토마토, 참외, 호박 등), 숲, 강둑 및 골프장 등을 대상으로 2005년 8월에 100점의 토양시료를 채취하였다. 먼저 표면의 건조한 흙을 걷어낸 다음 식물의 식생상태, 토양색의 차이 등을 고려하여 지름 2m 정도 안에서 5개의 채집 지점을 임의로 선정하였다. 다소 수분을 함유하는 깊이 10 cm 이내의 흙을 0.5~1kg 정도 채취하여 골고루

*Corresponding author

Phone: +82-43-732-0004; Fax: +82-43-733-6985

E-mail: 1002-cho@hanmail.net

혼합한 후 토양을 비닐봉지에 넣어 운반하였고, 실험 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다.

선충포식곰팡이의 분리. 선충포식곰팡이를 분리하기 위해 토양 시료를 채로 거른 후 걸러진 토양을 Soprunov의 방법¹⁵⁾을 따라 2% water agar(WA) 배지 위에 놓았다. 2% WA 배지에 Baermann 깔때기법¹⁶⁾을 이용하여 토양에서 분리한 뿌리혹선충(root-knot nematodes)을 추가로 넣어 주었다. 2% WA 배지를 25°C에서 배양하며 실체현미경을 이용하여 관찰하였다. 선충이 밀집된 곳을 관찰하여 포식구조(trap)가 발달하고 균사가 성장하여 분생포자병을 형성하고 분생포자가 형성된 곳으로부터 포자를 순수 분리하였다. 화염멸균한 칩 끝에 한천 배지를 묻혀 살짝 포자에 댔다가 준비된 CMA(Corn Meal Agar) 배지에 옮겼다. 이때 배지에 항생제(streptomycin, 100ppm)를 넣어주면 세균의 오염을 방지할 수 있다. 이 CMA 배지를 25°C에서 계대 배양하며 선충포식곰팡이를 순수 분리하였다.¹⁵⁾

형태관찰. 뿌리혹선충에 감염된 토마토 뿌리로부터 실체현미경을 이용해 난낭을 채취하여, 25°C로 3~4일 배양하여 부화시킨 뿌리혹선충의 유충(2령충)을 일주일간 배양한 선충포식곰팡이 배지에 투여하여 콜로니에 형성되는 선충포식곰팡이의 형태 변화를 광학현미경을 이용하여 관찰하였다. 균주의 형태관찰은 Saccardo system,^{3,4)} Cooke & Godfrey, Haard, Barron 및 Rifai & Cooke의 동정색인⁵⁻⁸⁾을 참고하였다. 관찰 기관은 포식구조의 형태, 분생포자병과 분생포자의 모양과 크기, 분생포자 격막의 수와 분생포자 형성 개수, 분생포자 격막의 위치, 분생포자 마디(node)의 형성, 휴면포자의 형성과 크기 및 색 등이다.

DNA의 추출 및 정제. Chromosomal DNA의 분리는 Kim 등¹⁷⁾의 방선균 DNA추출법을 변형하여 수행하였다. 균사체 배양은 PDB(potato dextrose broth, Difco) 배지에서 일주일간 정

치배양한 후 성장한 균사체를 -70°C에 급랭시킨 후 동결 건조하였다. 균체에 500 µl의 Saline-EDTA buffer(0.15 M NaCl, 10 mM EDTA, pH 8.0)를 넣어 washing한 후 산화알루미늄을 소량 첨가하고 mixer(Motor cordless, Kontes., Co, USA)를 사용하여 2분간 얼음위에서 갈아주었다. 50 µl의 10% sodium dodecyl sulfate(SDS)를 첨가한 후 60°C에서 5~10분간 반응시킨 후 원심분리하여 상층액을 새로운 tube로 옮기고 200 µl의 phenol을 첨가한 후 원심분리하였다. 상층액에 50 µl chloroform을 넣어 2회 원심분리하였으며 최종적으로 얻은 상층액에 800 µl 냉동보존된 99% ethanol을 첨가한 후 -20°C에서 한시간 이상 정치하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 4°C에서 15,000 rpm으로 15분간 원심분리한 다음 진공건조(Micro Vac MV-100, TOMMY)하였다. 최종적으로 50 µl의 멸균 증류수를 첨가하여 DNA를 추출하고 전기영동(Mupid-21, Cosmo bio)으로 확인하였다.

PCR rDNA 단편의 증폭. 18S rDNA와 28S rDNA 사이에 있는 ITS 영역을 증폭하기 위해 Susan 등¹⁸⁾이 제시한 ITS 1 (5'-TCA GCT TGA ATG CTA ATG TG-3')과 ITS 4(5'-CTA CCT CAT TTG AGA TCC TTT GA-3') primer를 사용하였다. PCR을 위한 각 반응의 온도조건은 다음과 같다. 94°C에서 2분간 반응한 다음 DNA의 denaturation을 위해 94°C에서 40초, primer의 annealing을 위해 56°C에서 50초, DNA strand의 합성을 위해 72°C에서 2분 과정을 35회 반복하고, 72°C에서 6분간 final extension을 실시하였다. Thermal cycler는 Perkin Elmer (GeneAmp PCR system 9700; Applied Biosystems)를 이용하였다. 생성물은 1% agarose gel, 0.5 × TBE buffer(0.045 M Tris-borate, 0.001 M EDTA)에서 100V, 25 mA로 30분 전기영동하여 EtBr(ethidium bromide)에 15분간 염색하여 UV하에서

Table 1. Morphological characteristics of nematophagous fungi isolated from soil samples

Organs	A group		A' group		B group		C group			
	Kan-2 ^{a)} , Kan-4 ^{b)} , Kan-11 ^{c)}		Kan-9 ^{d)} , Kan-13 ^{e)} , Kan-20 ^{f)} , Kan-21 ^{g)}		Kan-12 ^{h)}		Kan-22 ⁱ⁾			
Hypha	Diameter (µm)		4.3~10.9		2.2~10.9		2.2~8.9		4.3~6.5	
	Turf		wool-like		wool-like		wool-like		web-like	
	Color		whitish		whitish		whitish		whitish	
Conidiophore	Shape		branched		nodular		branched		upright	
	Length (µm)		141.1~388.1		185.2~493.9		335.2~643.9		289.1~468.2	
	Diameter (µm)	Base	4.3~6.5		5.4~10.9		6.5~10.9		4.8~6.2	
		Tip	2.2~4.3		2.2~6.5		2.2~4.3		2.0~3.8	
Sterigmata		blunt		swollen		coral				
Conidia	Shape		fusiform or spindle		obovate or pyriform		curved elongate-ellipsoid		curved elongate-ellipsoid	
	Size (µm) (width × length)		19.6 × 36.5		12.4 × 24.9		9.6 × 32.8		7.9 × 42.2	
	Septum		0~3, main 3		1		1		1	
	Septum location		5%, 12%, 85%		33%		50%		50%	
	Number		3~8		6~29		3~13		2~10	
Chlamyospore	Size (µm)		13.0~21.7		· ^{j)}		13.0~21.7		· ^{j)}	
Form of predaceous organ			3-dimensional adhesive nets		3-dimensional adhesive nets		2-dimensional adhesive nets		constricting ring	

a) *Monacrosporium thaumasium*, b) *M. thaumasium*, c) *M. thaumasium*, d) *Arthrobotrys oligospora*, e) *A. oligospora*, f) *A. oligospora*, g) *A. oligospora*, h) *A. musiformis*, i) *A. dactyloides*, j) No formation

확인하고, Qiagen PCR Purification Kit(Qiagen Inc.)로 정제하였다.

ITS 염기서열 분석 및 계통도 작성. 정제한 ITS를 주형으로 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(Applied Biosystems)를 사용하여 염기서열을 결정하였다. Sequencing PCR은 Big-Dye 1.3 μ l, 5 \times Sequencing buffer 3.4 μ l, 20 mM ITS 1(5'-TCA GCT TGA ATG CTA ATG TG-3') primer 1 μ l, ITS rDNA sample 1 μ l(90 ng)에 총량이 20 μ l가 되도록 멸균된 3차 증류수를 sequencing PCR tube에 넣고 잘 혼합한 후 다음 조건에 따라 cycle sequencing 반응을 실시하였다. 96°C에서 30초, 43°C에서 30초 그리고 60°C에서 4분 과정을 25회 반복하였다. PCR 산물에 냉동 보존된 100% ethanol 50 μ l와 3M sodium acetate(pH 5.2) 2 μ l를 첨가한 후 15,000 rpm에서 25분간 침전시켰다. 250 μ l의 70% ethanol로 세척하여 건조시킨 후 HiDi Formamide 20 μ l를 첨가하여 95°C에서 2분 동안 denaturation 한 후 얼음위에서 냉각시켰다. ABI PRISM 310 Genetic Analyser(Applied Biosystems)를 사용하여 결정된 ITS 부분 염기서열의 homology는 DDBJ/NCBI/GenBank database의 Blast program을 이용하여 비교하였다. 각 염기서열의 alignment는 Clustal X algorithm을 이용하여 병렬로 정렬하였고,¹⁹⁾ 근린 결합법에 의해 계통분류학적 위치를 결정하였다.²⁰⁾

결과 및 고찰

선충포식곰팡이의 선발. 토양시료로부터 분리한 뿌리혹선충(root-knot nematodes)에 대해 포식기관(trap)을 형성하는 선충포식곰팡이 22 균주를 1차 스크리닝하고, 이들 균주 중 뿌리혹선충포식능이 우수한 9 균주를 최종 선발하였다.

선충포식곰팡이의 형태학적 특성. 순수 분리된 선충포식곰팡이 9 균주에 대하여 포식기관의 형태, 분생포자병, 분생포자의 모양과 크기, 분생포자 형성 개수, 분생포자 마디(node), 분생포자 격막의 수와 격막의 위치, 휴면포자의 형성과 크기 및 색을 관찰한 결과를 Table 1에 정리하였다. 본 연구에서 선발된 선충포식곰팡이는 포식기관의 형태에 따라 3차원적 점착성 그물구조(3-dimensional adhesive nets)를 나타내는 A 그룹, 2차원적 점착성 그물구조(2-dimensional adhesive nets)를 나타내는 B 그룹과 수축성 고리구조(constricting ring)를 나타내는 C 그룹 등 3개의 형태그룹으로 분류되었다.

3차원적 점착성 그물구조(3-dimensional adhesive nets)를 나타내는 A 그룹의 3개 균주(Kan-2, Kan-4, Kan-11)는 배지에서 직립으로 분생포자병을 형성하고 그 길이는 141.1~388.1 μ m이었으며, 기저부의 직경은 4.3~6.5 μ m, 말단부의 직경은 2.2~4.3 μ m이었다. 말단부는 뭉툭(blunt)한 모양을 나타내었으며 측쇄를 형성하여 각 가지마다 하나의 분생포자를 형성하여

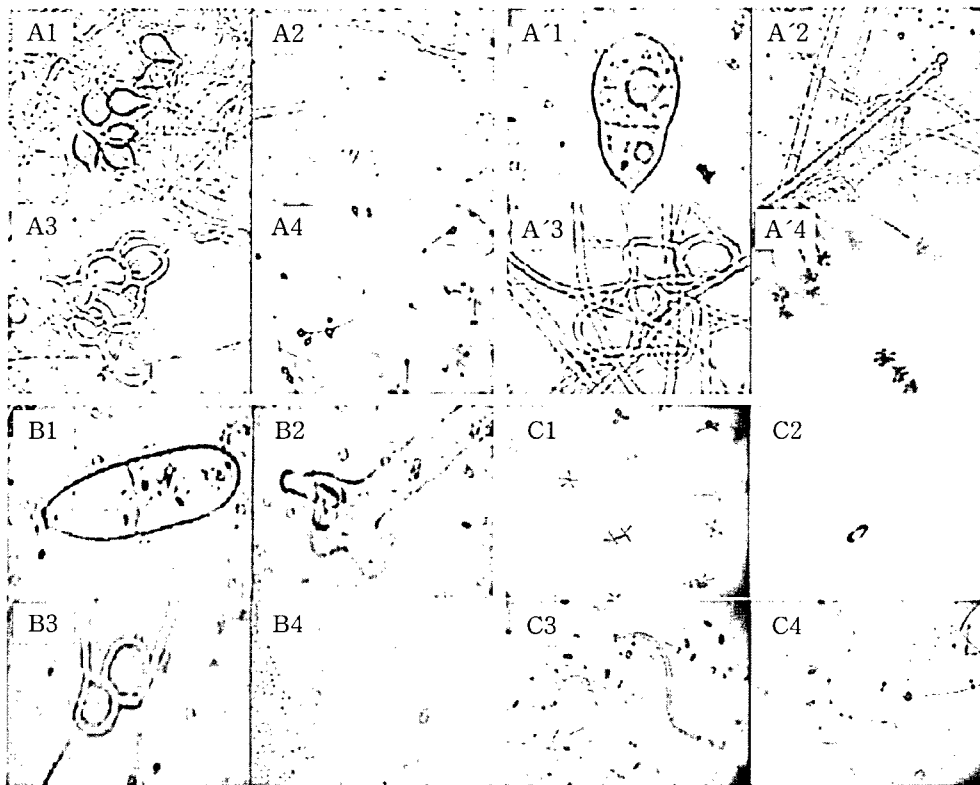


Fig. 1. Morphological characteristics of nematophagous fungi. A. Strain Kan-4 belonging in A group. A1: Conidia, A2: Conidiophore and conidia, A3: 3-dimensional adhesive nets, A4: Two branched conidiophore. A'. Strain Kan-13 belonging in A' group. A'1: Conidia, A'2: Conidiophore, A'3: 3-dimensional adhesive nets, A'4: Node of conidiophore. B. Strain Kan-12 belonging in B group. B1: Conidia, B2: Conidiophore, B3: 2-dimensional adhesive nets, B4: Two branched conidiophore. C. Strain Kan-22 belonging in C group. C1: Conidia, C2: Constricting ring, C3: Captured nematode by constricting ring, C4: Conidiophore.

Monacrosporium 속의 전형적인 분생포자병 특징을 나타내었다. 분생포자는 락비공(fusiform) 또는 방추형(spindle) 모양으로 크기가 19.6 × 36.5 μm이며 0~3개의 격막을 가지는데 주로 3개의 격막이 형성되며 기저부에 2개, 말단부에 1개의 격막을 형성하였다. 분생포자는 평균 3~8개 형성하였다(Fig. 1A). 이들 균주의 배양배지에 선충을 투여 하면 1~2일 안에 3차원적 점착성 그물의 trap이 형성되었다. 특히, V8 Juice Agar 배지에서 하루 평균 17.7~18.6 mm의 매우 빠른 성장속도를 나타내었고 많은 포자를 형성하였다. 또한 이 배지에서 휴면포자가 생성됨을 알 수 있었다.

한편 3차원적 점착성 그물구조(3-dimensional adhesive nets)를 형성하는 A' 그룹의 4개 균주(Kan-9, Kan-13, Kan-20, Kan-21)는 특히 성장속도가 빠르고 흰색의 균사로 양털모양을 형성하는 특징을 나타내었으며, 균사의 직경은 2.2~10.9 μm이었다. 분생포자병은 배지와 직각으로 형성되고 비축쇄형으로 6~29개의 많은 분생포자를 형성하는 특징을 나타내어 전형적인 *Arthrotrys* 속의 형태학적 특징을 나타내었다. 분생포자병의 길이는 185.2~493.9 μm이고 기저부의 직경이 5.4~10.9 μm, 말

단부의 직경이 2.2~6.5 μm이고 분생포자병의 말단은 팽창(swollen)되어 있다. 분생포자는 거꿀달걀꼴(obovate) 또는 서양배(pyriform) 모양이고 크기가 12.4 × 24.9 μm이며 하나의 격막을 가지는데 격막부위는 약간 함몰되어 *A. oligospora*의 형태와 매우 유사한 특징을 나타내었다(Fig. 1A').

2차원적 점착성 그물구조(2-dimensional adhesive nets)를 나타내는 균주(Kan-12)는 성장이 약간 느리며 흰색의 균사로 균사의 직경은 2.2~8.9 μm이었다. 분생포자병은 배지에서 직립으로 형성되었으며, 분생포자 마디는 형성하지 않았지만 분생포자병은 축쇄 형태를 나타냈다. 분생포자병의 길이는 335.2~643.9 μm이고 기저부 직경이 6.5~10.9 μm, 말단부 직경이 2.2~4.3 μm로 말단부가 산호형(coral)으로 분생포자와 연결되었다. 분생포자는 신장된 타원형(curved elongate-ellipsoid)으로 3~13개가 형성되어 *Arthrotrys* 속의 형태학적 특징을 나타내었다. 분생포자의 크기는 9.6 × 32.8 μm이었으며, 한 개의 격막을 가진 것으로 나타났다(Fig. 1B).

수축성 고리(constricting ring) 구조를 나타내는 균주(Kan-22)는 성장이 약간 느리며 흰색의 균사로 성장하고 균사의 직경은

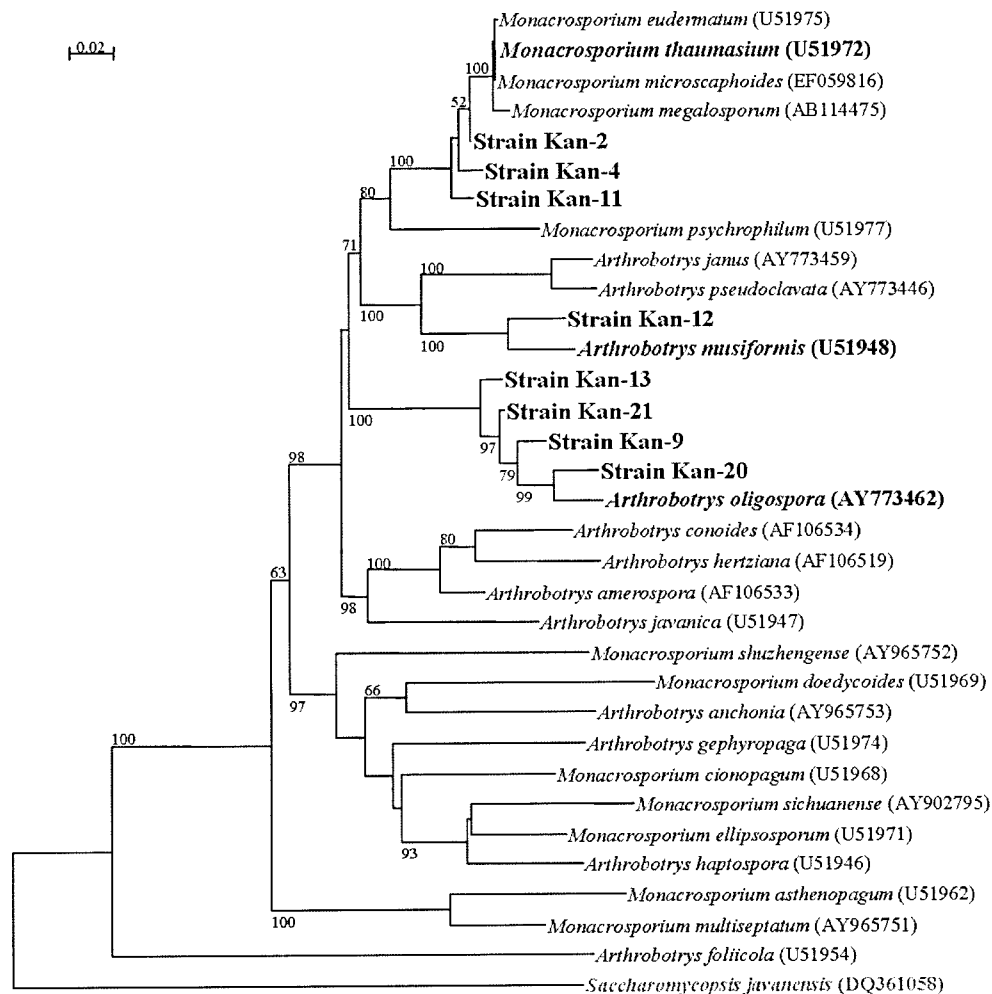


Fig. 2. Phylogenetic tree based on ITS sequences showing the position of strain Kan-2, Kan-4, Kan-11, Kan-9, Kan-12, Kan-13, Kan-20, Kan-21 and related fungal taxa. Numbers at branches are bootstrap values, derived only for the nodes supported by greater than 50%(1,000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per site.

4.3-6.5 μm 이었다. 분생포자병은 배지에서 직립으로 형성되었으며, 분생포자마디는 형성하지 않았다. Trap은 3개의 단일 세포로 구성되어 있었으며, 링 구조에 선충이 유인되면 링 고리가 빠르게 팽창되어 선충을 압박 포획하는 균주의 특징을 나타내었다. 이상의 결과로부터 Kan-22 균주는 *A. dactyloides*로 판단되었다. 또한 비늘이나 열과 같은 자극에도 순간적으로 팽창 반응이 일어나는데, 반응 후에는 처음 상태로 되돌아가지 않는 특성도 가지고 있음을 발견하였다(Fig. 1C).

선충포식곰팡이의 계통분류학적 특성. 상기 연구에서 선충포식곰팡이의 분류는 형태학적 특성에 기초한 것으로 이들 각 형태분류군의 계통분류학적 위치를 확인하기 위하여 분리된 선충포식곰팡이의 rDNA ITS 영역을 PCR로 증폭하여 염기서열을 분석하였다. 3차원적 접착성 그물구조를 갖고 *Monacrosporium* 속의 전형적인 분생포자병 및 분생포자 형태를 나타내었던 A 그룹에 속하는 균주(Kan-2, Kan-4, Kan-11)의 ITS 염기서열을 분석한 결과 이들 분리균주는 *Monacrosporium* 속에 속하는 *M. thaumasium*, *M. microscephoides*, *M. eudermatum* 및 *M. megalosporum*를 포함하는 *Monacrosporium* 속의 계통군에 속하였으며 이들 각 계통군은 98.6-99.08%의 높은 상동성을 나타내어 ITS 영역의 염기서열상 동정은 곤란하였다. 이들 분리균주는 Saccardo system,^{3,4)} Cooke & Godfrey, Haard, Barron 및 Rifai & Cooke의 동정색인⁵⁻⁸⁾에 따른 *M. thaumasium*의 분생포자의 크기 및 형태, trap의 형태 그리고 휴면포자의 크기와 비교하여 거의 일치하였다. 따라서 이들 균주를 *M. thaumasium*으로 동정하였다. 3차원적 접착성 그물구조를 형성하고 *A. oligospora*의 분생자 및 분생포자 형태를 나타내었던 A 그룹에 속하는 균주(Kan-9, Kan-13, Kan-20, Kan-21)의 ITS 염기서열을 분석한 결과 *A. oligospora*와 99.26-99.73%의 상동성을 나타내어 *A. oligospora*로 동정되었다. 또한 2차원적 접착성 그물구조를 나타내는 균주(Kan-12)는 *A. musiformis*와 99.53%의 상동성을 나타내어 *A. musiformis*로 동정되었다(Fig. 2).

선충포식곰팡이는 10속 약 150종이 알려져 있다.²¹⁾ *A. oligospora*는 다른 선충포식곰팡이보다 빠른 성장속도를 나타내며 균사의 성장과 포자 발아에 있어 저항을 덜 받아,⁷⁾ 국내뿐만 아니라 외국에서도 가장 흔히 발견되는 종이다.²²⁻²⁴⁾ 접착성 그물을 형성하는 선충포식곰팡이는 전 세계에 널리 분포하고 있으며 이는 접착성 그물조직이 토양 내에서 선충을 포획하는데 가장 효율적인 방법이라는 것을 시사한다.

이상 국내 다양한 토양으로부터 수집된 선충포식곰팡이의 형태학적 특성 및 계통분류학적 특성을 바탕으로 동정된 결과를 기초로 포식 메커니즘과 미소형태학적 발전주기에 대한 연구, 그리고 휴면포자의 생성과 선충포식곰팡이와 선충의 상호 유인 물질에 의한 포획과정의 구명에 관한 연구를 지속적으로 수행하여 선충 방제제 개발을 위한 기초정보를 구축할 계획이다.

초 록

국내 다양한 토양시료로부터 우수 선충포식곰팡이 9 균주를 선별하였다. 순수분리된 선충포식곰팡이는 포식기관의 형태에 따라 3차원적 접착성 그물구조(3-dimensional adhesive nets)를

나타내는 선충포식곰팡이(A 그룹), 2차원적 접착성 그물구조(2-dimensional adhesive nets)를 나타내는 선충포식곰팡이(B 그룹)와 수축성 고리구조(constricting ring)를 나타내는 선충포식곰팡이(C 그룹)로 크게 3개의 형태그룹으로 분류되었다. 이들 각 그룹에 속하는 선충포식곰팡이의 균사체, 분생포자병, 분생포자의 모양과 크기, 분생포자 형성 개수, 분생포자 마디(node), 분생포자 격막의 수와 격막의 위치, 휴면포자의 형성과 크기 및 색 등 형태학적 특징과 선충포식곰팡이의 rDNA ITS 영역을 PCR로 증폭하여 염기서열을 분석한 결과, 분리된 포식곰팡이는 *Monacrosporium thaumasium*(Kan-2, Kan-4, Kan-11), *Arthrobotrys oligospora*(Kan-9, Kan-13, Kan-20, Kan-21), *A. musiformis*(Kan-12), *A. dactyloides*(Kan-22)로 동정되었다.

Key words: 아스로보트리스 속, 모나크로스포르리움 속, 선충포식곰팡이, 계통분류, 포식기관

참고문헌

1. Nordbring-Hertz, B., Jansson, H. B. and Tunlid, A. (2002) Nematophagous Fungi. In *Encyclopedia of Life Sciences*, Macmillan Publishers, Basingstoke. 12, 681-690.
2. Park, Y. K. and Lee, Y. N. (1983) Isolation and Identification of Nematode-Trapping Fungi. *Korean. J. Microbiol.* 21, 127-134.
3. Saccardo, P. A. (1886) In *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum* (4th ed.) Privately published, Padova.
4. Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1972) In *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (3rd ed.) pp. 241. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota.
5. Cooke, R. C. and Godfrey, B. E. S. (1964) A key to the nematode-destroying fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47, 61-74.
6. Haard, K. (1968) Taxonomic studies on the genus *Arthrobotrys* Corda. *Mycologia.* 60, 1140-1159.
7. Barron, G. L. (1977) In *The nematode-trapping fungi*. pp. 140. Canadian Biological Publications, Guelph, Ontario, Canada.
8. Rifai, M. A. and Cooke, R. C. (1966) Studies on some didymosporous genera of nematode-trapping hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49, 147-168.
9. Park, H. C., Kim, S. M., Kim, Y. C., Lee, C. Y. and Choi, I. S. (1997) Isolation and Morphological Characteristics of Nematophagous fungi. *J. Agri. Tech. & Dev. Inst.* 1, 77-83.
10. Park, Y. K. and Lee, Y. N. (1983) Isolation and Identification of Nematode-Trapping Fungi. *Kor. J. Microbiol.* 21, 127-134.
11. Kim, D. G., Lee, J. K., Lee, Y. G., Choi, Y. C. and Kim, Y. K. (1997) Description of Five Species of *Arthrobotrys* (Corda) Schenk, Kendrick & Pramer in Korea and Their Key. *RDA. J. Crop Protec.* 39, 33-41.
12. Kim, D. G., Bae, S. G. and Shin, Y. S. (2001) Distribution of Nematophagous Fungi Under Different Habitats. *The Korea Journal of Mycology.* 29, 123-126.
13. Ahn D, Ursing BM and Tunlid, A. (1998) Phylogeny of nematode-trapping fungi based on 18S rDNA sequences. *FEMS Microbiology Letters.* 158, 179-184.
14. Liou, G. Y. and Tzean, S. S. (1997) Phylogeny of the genus

- Arthrobotrys* and allied nematode-trapping fungi based on rDNA sequences. *Mycologia*. **89**, 876-884.
15. Soprunov, F. F. (1958) Predacious Hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes. In *Academy of Science of the Turkmen SSR*. Ashkabad (translated in 1966 by the Israel Program for Scientific translation, Jerusalem). pp. 1-365.
16. Pramer, D. and Schmidt, E. L. (1964) In *Experimental soil microbiology*. pp. 20-21. Burgess. Minneapolis.
17. Kim, H. A., Bae, B. H, Chang, Y. Y. and Lee, I. S. (2002) A study on the heavy metal accumulation of plants at iron mines and a military shooting range. *Korean J. Ecol.* **25**, 7-14.
18. Susan, L. F. M., Carta, L. K. and Rehner, S. A. (2005) Morphological variability and molecular phylogeny of the nematophagous fungus *Monacrosporium drechsleri*. *Mycologia*. **97**, 405-415.
19. Thomson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. (1994) CLUSTAL W; improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* **22**, 4673-4680.
20. Saitou, N. and Nei, M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 281-295.
21. Kim, D. G. (1997) Nematodpagous Fungi. *KSM Newsletter*. **9**, 29-46.
22. Duddington, C. L. (1954) Nematode-destroying fungi in agricultural soils. *Nature*. **175**, 500-501.
23. Estey, R. H. and Olthof, Th. H. A. (1965) The occurrence of nematophagous fungi in Quebec. *Phytoprotection*. **46**, 14-17.