

가든식물 수호초(*Pachysandra terminalis*)로부터 *Paraconiothyrium brasiliense*의 분리 및 동정

최민아 · 박승준 · 안금란 · 김성환*

단국대학교 미생물학과

Identification and Characterization of *Paraconiothyrium brasiliense* from Garden Plant *Pachysandra terminalis*

Min Ah Choi, Seung Jun Park, Geum Ran Ahn and Seong Hwan Kim*

Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

ABSTRACT : A fungal isolate DUCC5000 from a garden plant *Pachysandra terminalis* was identified as *Paraconiothyrium brasiliense* based on the results of morphological and molecular studies. The fungus formed brown to black conidiomata of (0.2-0.7)-2(-3.5) mm singly or as a group on PDA. Conidia measured 2-5×1.8-3 μm in size, hyaline, ellipsoid to short-cylindrical, and rounded at both ends. The internal transcribed spacer (ITS) DNA of the isolate shared 100% nucleotide sequence homology with those of known *P. brasiliense* isolates. Phylogenetic tree inferred from the ITS sequence analysis showed that the DUCC5000 isolate formed a clade with known isolates of *P. brasiliense*. The fungal mycelia grew better on oatmeal agar than on MEA and PDA. On PDA media under various pH conditions, fungal mycelial growth was observed at pH 9. Colony morphology of the fungus tended to alter depending on the kinds of nutrient media and pH condition. On chromagenic media, the fungus demonstrated its ability to produce extracellular enzymes including amyase, avicelase, β-glucosidase, protease, and xylanase. However, in pathogenicity testing, no disease symptoms were observed on the leaves of *P. terminalis*. This strain is the first report on *P. terminalis* in Korea.

KEYWORDS : Endophyte, *Pachysandra terminalis*, *Paraconiothyrium brasiliense*

서론

최근 환경에 대한 관심이 증가함에 따라 조경식물에 대한 수요가 늘고 있다[1]. 특히 현대화된 도시의 생태를 위해서 거주지역의 주택 및 도로 환경은 자연미와 쾌적한 느낌을 위해 조경식물의 식재를 더 필요로 하고 있다. 우리나라

라의 주택 환경에서 널리 심어지고 있는 정원식물인 수호초는 분류학상 회양목과(Buxaceae)에 속하는 식물로서 영명은 Japanese spurge이고 학명은 *Pachysandra terminalis*이다[2]. 이 식물의 원산지는 일본이며, 자생 분포지역은 한국, 일본, 사할린섬, 중국 등으로 알려져 있다. 개화기가 4~5월인 이 식물의 꽃은 이삭모양의 흰색이며 수술이 큰 특징을 지니고 있는데 열매는 핵과로서 달걀 모양을 하고 있다. 빛에 대한 특성은 내음성으로 음지 혹은 반음지에서 잘 자라며 넓게 깔리며 자라기 때문에 피복식물로 잘 알려져 있다. 수호초는 재배하기 편리하여 상자나 용기에 담아 키우기도 하며 화단에 피복시켜 녹색 환경을 조성하는데 많이 이용하고 있다. 따라서 주로 식재되는 위치는 도로변 화단, 공원, 아파트 단지 및 건물 주변, 신규 도로 조성지의 절개지이며, 녹지대 조성과 법면 식재용으로도 쓰이고 있다. 또한 더위나 추위에 잘 견디고 사시사철 푸른 특성으로 인하여 환경적응성이 강하고 번식력이 좋은 식물로 각광을 받고 있다. 수호초는 이러한 유용한 특성에 따라 최근 영국 왕립원예협회에서 수상을 받은 ‘바리에가가(Variegata)’ 품

Kor. J. Mycol. 2014 December, 42(4): 262-268
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.4.262>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: piceae@naver.com

Received September 23, 2014
 Revised November 4, 2014
 Accepted November 13, 2014

©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.

종을 비롯 현재 여러 가지 품종이 있는 것으로 알려져 있다.

최근 나고야 의정서 발효시점을 앞두고 자생식물의 이용이 무엇보다 절실한 시점에서 자생식물인 수호초는 비록 화려하진 않지만 정원적인 정취와 자연미 형성을 위해 그 가치가 증가하고 있고 이용도도 증가되고 있다. 이에 따라 수호초에 대한 국내의 연구도 점차 증가하고 있는데 환경예측 측면에서는 생장에 영향을 미치는 환경적 요인에 관한 연구 보고[3]와 도심중심 지역의 지붕에 적합한 피복식물로서 그 활용 가치가 보고되었다[4,5]. 균학적 측면에서는 잎마름병을 일으키는 *Pseudonectria pachysandricola* 균에 대한 국내의 보고[6]와 잎마름병 (*Volutella blight*)을 일으키는 *Volutella pachysandricola* 균에 대한 국외 보고가 있다[7]. 본 연구에서는 수호초 잎으로부터 분리된 국내 미기록 종인 *Paraconiothyrium brasiliense*에 대한 동정과 특성에 대해 보고하고자 한다.

재료 및 방법

DUCC5000 균주의 순수분리

본 연구에 사용된 수호초 잎은 충청남도 천안시 신부동에 위치한 아파트 단지 근처화단에서 마르고 갈변하는 병징 같은 것이 생긴 수호초 잎을 발견하여 채취하고 실험실로 가져와 균분리를 시도하였다(Fig. 1). 채집한 수호초 잎에 병징으로 추정되는 부위를 대상으로 멸균시킨 메스를 이용하여 약 1 cm × 1 cm 크기로 절취하여 절편시료를 준비하였다. 절편시료는 5% 락스 용액에 담가 30초간 표면 소독하고 나서 멸균수를 이용하여 1분간 세척 후 100% ethanol로 30초간 다시 표면소독을 하였다. 재소독한 절편시료는 멸균수를 이용하여 다시 1분간 세척하였다. 세척한 절편시료는 생물안전캐비닛에서 표면의 물기가 증발하도록 자연건조시킨 다음 Potato Dextrose Agar (Difco, Detroit, MI, USA) 배지 위에 치상하였다. 절편 잎을 치상한 배지는 25°C 배양기에서 2일간 배양시켰고 잎 시료 절편에서 배지로 자라난 균사는 살균 needle을 이용하여 분리 후 새로운 PDA배지에 접종하고 25°C에서 배양하면서 자

라난 균을 순수분리하였다. 순수분리된 균주는 2 mL tube에 10% glycerol과 함께 넣어준 후 -80°C 냉동기에 보관시키면서 본 실험에 사용하였다.

형태학적 및 분자적 동정

분리 균주들은 PDA에서 동일한 균총 형태를 가지고 있어서 한 가지 종으로 판단되어 1개 균주를 DUCC5000로 균주 번호를 부여하고 24°C에서 배양하면서 주기적으로 형태적 특성을 관찰하였다. 미세구조 관찰은 해부현미경(SZ 61, Olympus, USA)과 광학현미경(Axioskop40, Carl Zeiss, Jena, Germany)을 이용하여 관찰하였고 초미세구조는 주사전자현미경(scanning electron microscope, SEM, Hitachi S-4300; Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 Tang *et al.*[8]의 연구에 기술된 방법으로 시료를 처리하고 관찰하였다. 관찰 시료의 건조는 Hitachi critical point drier로 하였고 Hitachi E-1030 ion sputter를 이용하여 platinum palladium으로 50초 간 코팅 후 15.0 kV 전압으로 관찰하였다.

분자생물학적 동정을 위해서는 분리 균주를 셀로판을 간 PDA배지에 접종하고 24°C에서 14일간 배양 후 자라난 균사를 수확하여 Kim *et al.*[9]의 drilling 방법에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 추출한 genomic DNA를 template로 하고 ITS1과 ITS4 primer를 이용하여 polymer chain reaction(PCR) 수행하여 internal transcribed spacer region (ITS) DNA를 증폭하였다[10]. 증폭조건은 Tang *et al.*[8]의 연구에 사용된 조건과 같으며 증폭된 PCR 산물은 0.7% agarose gel 전기영동을 통해 확인하였고 NAVIGen™ PCR Purification Kit를 사용해 DNA를 정제하고 MACROGEN (Seoul, Korea)사에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 분석된 염기서열을 미국 National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 웹 기반 프로그램인 BLAST 프로그램을 활용하여 기존에 알려진 진균의 유사 염기서열과 homology를 탐색 비교하였다.

계통분석학적 분석

계통분석을 위해서는 homology를 보이는 유사 균류의 ITS 염기서열을 reference 서열로 하고 서열은 NCBI의 GenBank에서 내려 받아 사용하였다. DUCC5000 균주의 염기서열과 reference 서열은 Cluster X program[11]을 이용 다중 염기서열 alignment를 진행하였고 MEGA 5 Program[12]으로 phylogenetic tree를 작성해 계통 간의 유연관계를 분석하였다. Tree 제조는 ITS region 염기서열 기준으로 neighbor joining법[13]을 이용하고 tree의 clade 신뢰도를 위해서는 1000번의 bootstrapping 분석을 수행하였다.

DUCC5000 생장 특성 조사

균사의 생장 특성을 조사하기 위해서는 서로 다른 pH 조건과 영양배지에서 균사 생장을 조사 비교하였다. 적합한 pH 조건을 파악하기 위해서는 PDA배지를 기본배지로 하

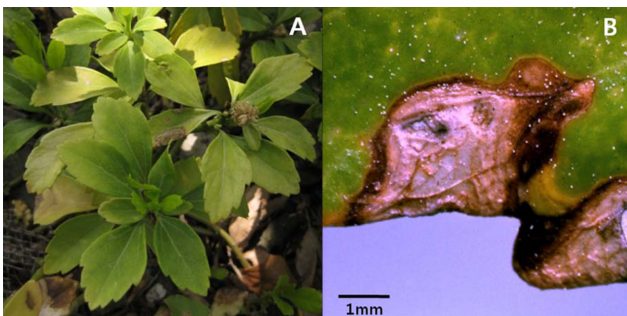


Fig. 1. Photograph of *Pachysandra terminalis* plants sampled for this study (A). A sampled leaf with brown and discolored parts (B).

고 pH 4에서 pH 9로 조절하여 배지를 만들어 사용하였다. 영양배지 시험을 위해서는 PDA, oatmeal agar, 1% malt extract agar (MEA) 배지를 각각 사용하였다. 접종된 균은 24°C에서 10일간 배양한 후 균사의 길이를 측정해 생장을 비교하였다. 실험은 5반복으로 수행하였다.

세포외효소(extracellular enzyme) 분비 능력 검정

세포가 가지고 있는 특성 검정으로서 세포외효소 분비 검정은 chroma 반응배지에 접종하여 자라면서 효소반응의 결과로 형성되는 clear zone의 크기를 측정하여 분석하였다. 검정하고자 하는 세포외효소는 amylase, avicellase, β-glucosidase, CM cellulase, pectinase, xylanase, proteinase 등 7가지를 대상으로 조사하였다. Chroma 반응배지의 조성은 proteinase를 제외하고서는 공통적으로 질소원으로서 0.1% yeast nitrogen base (Difco, USA)와 유일 탄소원으로 0.5%의 starch from potato (Sigma, USA), Avicel PH-101 (Fluka, Switzerland), D-cellobiose (Sigma, USA), CM-cellulose (Sigma, USA), Polygalacturonic acid (MP Bio-medical, France), Xylan oat spelts (Sigma, USA)를 각각 첨가하고 1.5% agar를 사용하여 고형화하였다. 발색반응을 위해서는 0.5% Congo Red dye를 첨가하여 구성하였다. Proteinase 검정을 위해서는 skim milk (Sigma, USA)를 사용하였으며, 다른 효소배지와 다르게 질소원 및 탄소원, 0.5% Congo Red dye를 넣어주지 않으며 2% agar 조성으로 배지를 만들어 사용하였다[14]. 발색반응은 각 Chroma 반응배지에 균을 접종하고 24°C에서 10일간 배양시킨 다음 변화된 환의 길이와 자란 균사의 길이를 측정해 비교하였다.

병원성 테스트

병원성 테스트용 수호초는 대립원에 회사에서 무병의 수호초를 포트상태로 분양 받아 온실에서 2주일간 키운 다음 접종에 사용하였다. 진균 접종원으로는 DUCC5000 균주를 24°C PDA에서 35일 키운 후 살균 증류수를 이용하여 포자 현탁액(최종농도 1×10⁶ spores/ml)을 조제하였고, 포자현탁액에 전착제로서 Tween20 (Sigma, Co., Germany)을 0.01%가 되도록 첨가하였다. 수호초 잎은 살균된 바늘로 여섯 군데 상처를 낸 후 포자현탁액 10 μL 접종하였고[15], 이를 간격으로 총 14일간 병 발생 여부를 관찰하였다. 대조 처리 구에서는 멸균수 10 μL를 동일하게 접종하였다.

결과 및 고찰

형태학적 동정

PDA에 배양된 DUCC5000 균주를 2주 후 관찰하였을 때 균층은 균사가 균일하게 자라나는 모양으로서 pale yellow에 가까운 색을 연하게 나타내면서 솜 구조처럼 자랐다 (Fig. 2A-B). 균사는 가늘고 흰색이며 느리게 성장하였다.

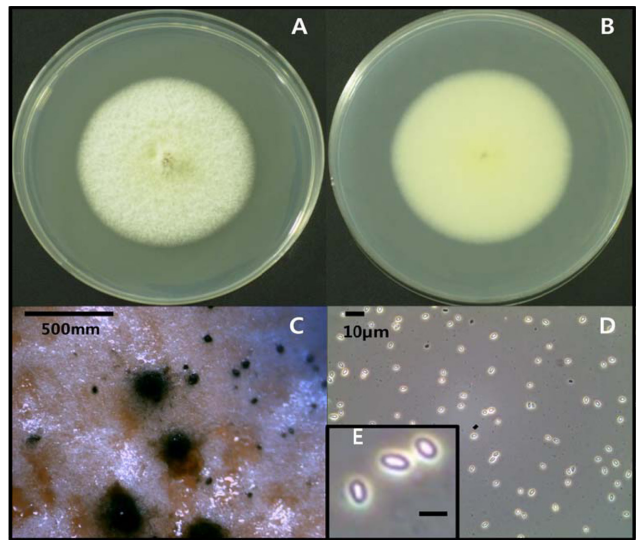


Fig. 2. Colony and microstructure shapes of DUCC5000 isolate from *Pachysadra terminalis*. A, B: Top and back side of culture plate after the growth on PDA for 14 days. C: Conidiomata formed on the surface of PDA after the growth for 35 days. D, E: Conidia. Bar in photo E is 3 μm.

광학현미경으로 관찰 시 균사체 외에 다른 특이적 구조는 보이지 않았다. 4주 째 되어서 검은 덩어리 모양의 구조가 배지 위에 형성되었고 배지상에서 형성되는 위치와 그 크기 그리고 모양이 불규칙하게 나타났다 (Fig. 2C). 검은 덩어리로부터 시료를 떼서 광학현미경으로 관찰한 결과 타원형의 둥근 포자가 보였고 포자주변에는 점액 물질로 인한 환이 존재하였다 (Fig. 2). 포자는 단세포 구조로 크기는 약 5-6 × 1.2-2 μm였다. 초미세구조 관찰을 위해 주사전자현미경으로 관찰한 결과, DUCC5000은 2주 배양된 균사의 경우 약 2.5-3 μm의 굵기를 가지고 있었다 (Fig. 3). 분생포자 (Conidia)가 생겨난 검은 덩어리는 조직이 도출되는 구조와 돌출된 구조의 상단 부분에 구멍이 존재하였다 (Fig. 3B). 구멍은 매끈하였고 강도 같은 구조는 존재하지 않았다. 그러나 검은 덩어리는 균사가 치밀하게 형성된 조직이었으나

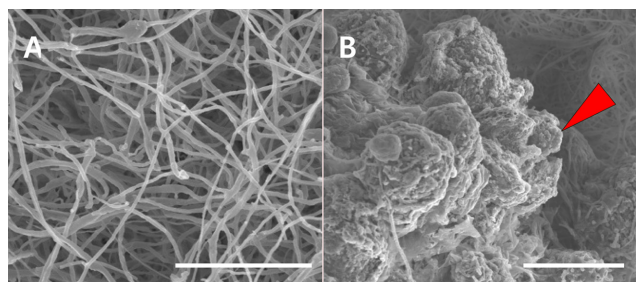


Fig. 3. SEM images of DUCC5000. A: Mycelia 14 days after the growth on PDA. Bar: 100 μm. B: Conidiomata observed 35 days after the growth on PDA. Bar: 200 μm. Arrow indicates an opened hole.

Table 1. Morphological comparison of conidiomata and conidia between DUCC5000 and of *P. brasiliense* CBS100299

Isolate	DUCC5000	CBS100299[16]	
Conidiomata	color	dark brown to black	dark brown to black
	shape	unregulated, with a single cavity	unregulated, with a single cavity
	diam size	(0.2-)0.7-2(-3.5) mm	(0.2-)0.5-2(-3) mm
Conidia	color	hyaline	hyaline
	size	2-5 × 1.8-3 μm	2.8-4.5 × 1.8-3 μm
	shape	ellipsoid to short-cylindrical, rounded at both ends	ellipsoid to short-cylindrical, rounded at both

자낭을 담고 있지 않았다. 이에 따라 앞서 관찰된 포자는 분생포자로 사료되었다. 그 결과 분생포자가 돌출된 조직이 터지면서 구멍이 생기고 그 구멍으로 분생포자가 나오는 것으로 보여진다. 이러한 성상은 blist-like 구조를 지닌 자실체를 형성하는 Coelomycete 특징을 보이고 있다. 따라서 검은 덩어리는 Conidiomata로 추정되었다. Conidiomata는 생성 시기에 따라 짙은 갈색에서 흑색을 띠었고 배지 표면에 평평하게 형성되거나 배지를 약간 파고들면서 형성되어 상단으로 돌출하거나 특성을 보였다. 한 개 또는 여러 개가 뭉쳐서 나타나기도 하는데 구멍으로 포자가 나오는 것으로 볼 때 내부에 분생포자를 만드는 구조가 존재할 것으로 추정된다. 그러나 내부가 보이지 않아 확인하지 못하였다. 향

후 병자가 같은 구조 존재에 대해서 투과전자현미경 등을 이용한 해부학적 연구가 좀더 필요하다. 이러한 표면적인 형태학적인 특징은 Verkley *et al.*[16]이 보고한 *Paraconiothyrium brasiliense*의 형태적 특성과 유사하였다(Table 1).

분자생물학적 동정

DUCC5000 균주를 좀 더 정확히 동정하고자 ITS region 염기서열을 이용하여 분자생물학적 동정을 수행한 결과 GenBank DNA database 상에서 *Paraconiothyrium brasiliense*의 ITS region 염기서열과 100% 상동성을 보였다. 분리된 균주의 계통유전학적 위치를 *P. brasiliense*, *P. variabile*, *P. africanum*, *P. cyclothyriodes*, *P. estuarinum*, *P. hawaiiense*,

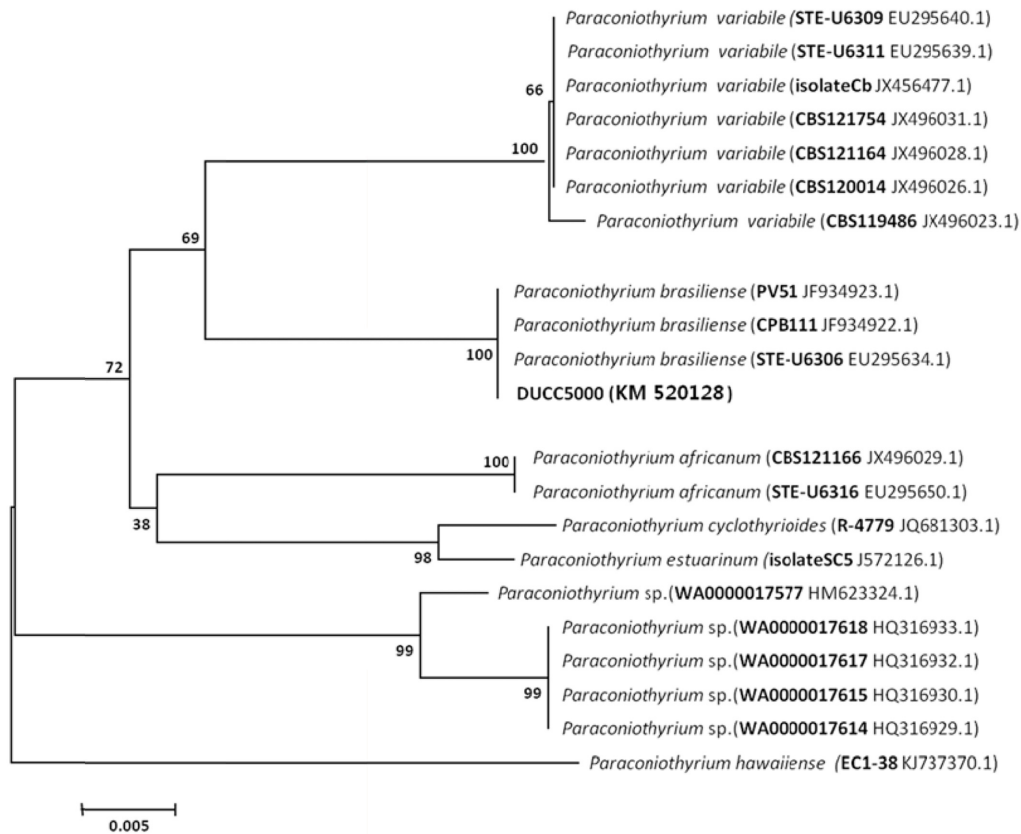


Fig. 4. Phylogenetic tree of *Paraconiothyrium* inferred by neighbor joining analysis based on ITS rDNA sequence data. Bootstrap value is given under the node. Species clades are indicated by vertical bars.

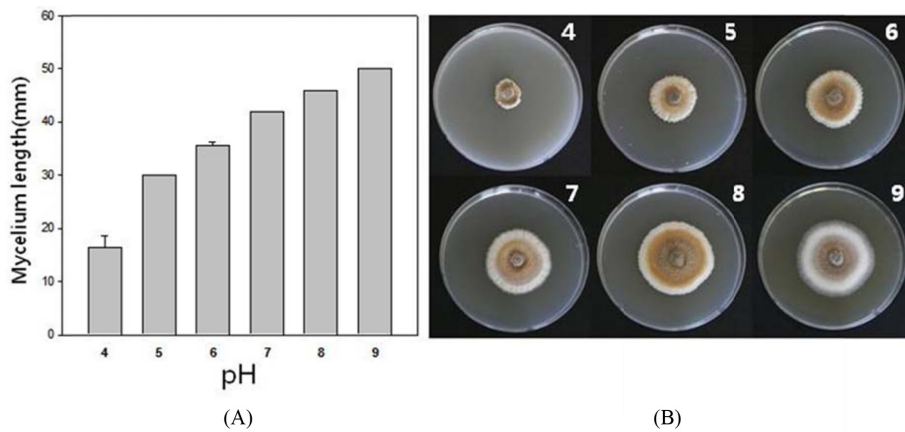


Fig. 5. Mycelial growth (A) and colony morphology (B) of DUCC5000 at different pH conditions on PDA at 24°C for 10 days.

Paraconiothyrium sp. 등과 같이 MEGA5 program을 이용해 분석한 결과, DUCC5000 균주는 *P. brasiliense*와 한 clade를 형성하였다(Fig. 4). 이러한 형태적, 분자생물학적 분석 결과를 바탕으로 DUCC5000 균주는 *P. brasiliense*로 동정하였다. 그리하여 DUCC5000 균주의 ITS 염기서열을 GenBank에 KM520128 번호로 등록하였다. 균주는 국립생물자원관에 기탁하였다(기탁번호 NIBREGC00130103).

DUCC5000 생육 특성조사

동정이 이루어진 후 pH 조건별 DUCC5000 균주의 PDA 배지에서의 특성 실험결과, 특이적이게도 알칼리 영역에서 균의 생장이 빨랐다. 산성인 pH 4, 약산성인 pH 5 조건에서 DUCC5000은 균사의 생장이 저하되었고 배지를 파고들어가려는 현상을 보였으며 반면에 pH8-9에서 생장이 가장 좋고 균사들의 끝으로 뻗고 있는 균사체가 많이 있음을 관찰해 볼 수 있었다(Fig. 5). 한 가지 주목할 사항은 pH 조건별 실험에 나타난 균총의 형태이다. 초기 분리되었을 때와 다르게 중심부위로 갈수록 어두운 갈색, 가장자리로 갈수록 하얀 균사체를 내는 것을 확인하였다. 이는 Fig. 2의 PDA 상에서의 생육 형태와 다른 모습이었다. 이는 pH 조건 실험에 사용한 DUCC5000 균주를 -80°C 저장하였다가 사용하면서 나타났기 때문에 본 균은 pleomorphic한 특성을 지니고 있는 것으로 판단된다.

MEA, oatmeal agar, PDA배지에서 생육을 비교한 결과 oatmeal agar 배지에서 가장 빠르게 생장을 나타내었고 MEA 배지에서 생장이 가장 늦었다(Fig. 6). Verkley *et al.* [16]은 *P. brasiliense*는 oatmeal agar배지에서 생장이 빠르고 균사체가 원형으로 퍼져가며 자라고 중심부위가 담갈색에서 어두운 암갈색을 띠고 가장자리로 갈수록 균사체가 하얀색을 띠는 생장을 보인다고 했는데 본 연구에서도 oatmeal agar배지에서 유사한 특성이 나타남을 수 있었다(Fig. 6). 이러한 결과는 Fig. 2와 Fig. 5에서 보여준 PDA 상에서의 생육 형태와 다르게 자라는 결과와 더불어 볼 때

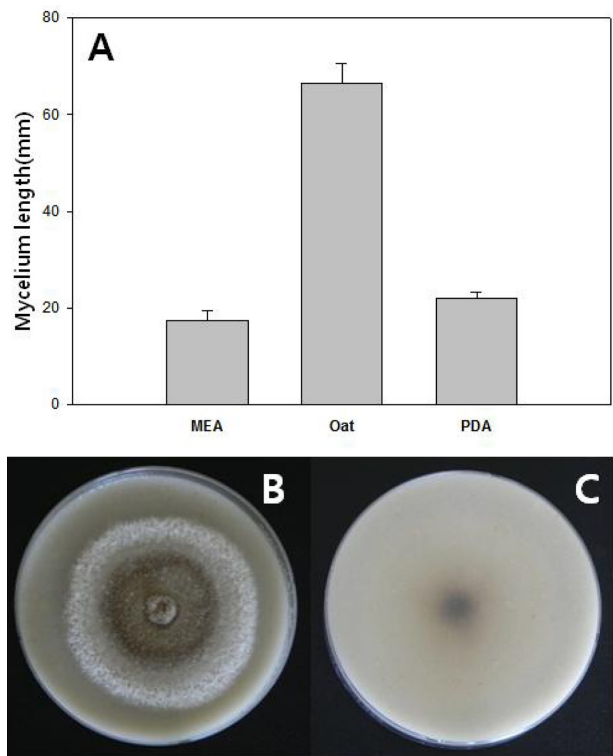


Fig. 6. Mycelial growth (A) of DUCC5000 on MEA, oatmeal agar, and PDA at 24°C for 10 days. B, C: Photos of the DUCC 5000 culture grown on oatmeal agar.

이 균은 배지에 따라, 그리고 저장 조건에 따라 균총 특성이 다르게 나타나는 독특한 특성이 있음을 알 수 있었다.

세포외 효소 분비능력 검증

추가 특성조사로서 7가지 종류의 효소의 기질을 각각 첨가한 chroma 반응배지에서 *P. brasiliense* DUCC5000 균주의 균사 생장을 조사한 결과 조사된 모든 배지에서 생육이 가능하였다(Fig. 7). 그러나 세포외효소 분비로 형성되

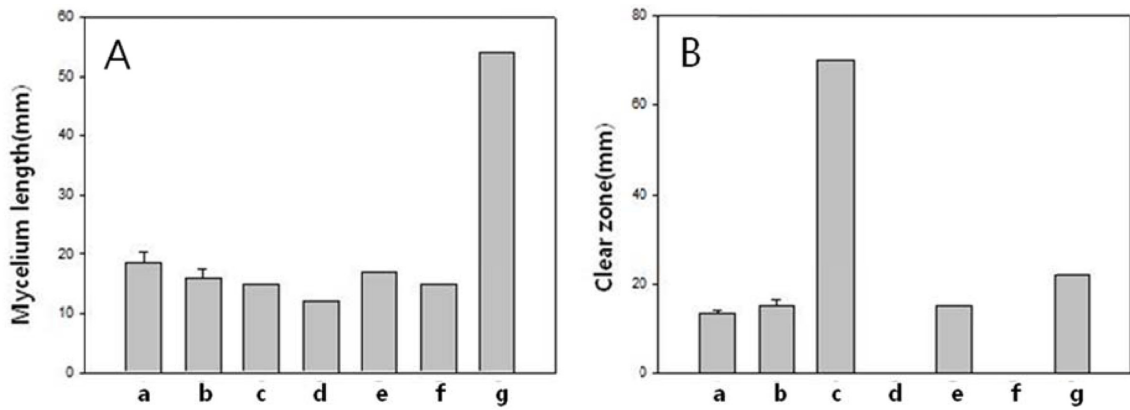


Fig. 7. The mycelia growth (A) of DUCC5000 on chromagenic media used for the assay of extracellular enzyme production. Clear zone (B) is formed on chromagenic media by the growth DUCC5000 that was measured to evaluate for the fungus' ability of producing extracellular enzymes. Chromagenic media contained the substrates of extracellular enzymes: starch (a), avicel (b), cellobiose (c), CM-cellulose (d), xylan (e), pectin (f), and skim milk (g).

는 clear zone 형성은 avicelase, β -glucosidase, xylanase, pectinase, protenase 등의 기질을 첨가한 배지에서 뚜렷하였다. 이중에 특히 β -glucosidase 기질인 D-cellobiose를 첨가한 배지에서 clear zone 형성이 가장 크게 나타났다. 식물 세포벽 분해 효소인 CM-cellulase와 pectinase 등의 기질을 첨가한 배지에서 clear zone 형성은 나타나지 않았지만 배지에서는 생육하는 것으로 보아 균사로부터 이들 세포외 효소의 분비는 소량이지만 일어나는 것으로 판단되며 분비와 동시에 균사 생장이 일어나 clear zone이 따로 눈에 관찰될 만큼 형성되지 않은 것으로 사료된다. 아직까지 *P. brasiliense* 부터 세포외효소의 형성에 대한 연구보고는 없는 실정이기 때문에 본 연구에서 조사한 세포외효소 활성에 대한 자료는 향후 이 균류의 특성을 이해하는데 유용할 것이다.

병원성 테스트 결과

대조군과 실험군을 비교했을 때 잎의 갈변 증상 같은 병징은 유발되지 않았다. 이것으로 볼 때 DUCC5000이 강력한 병원성을 가지고 있지는 않은 것으로 사료된다. 다른 연구자에 의한 보고를 살펴보면 *P. brasiliense*는 브라질에서 커피나무, 남아프리카에서 복숭아 등 핵과류 나무에서 병원균으로 분리되었다[16,17]. 그러나 직접적인 분리 보고는 아니지만 GenBank에 등록된 유전자를 탐색하였을 때 *P. brasiliense*와 동일한 유전자 서열을 지니는 미동정 균류가 캐나다에서는 은행나무(DQ094168), 만주곰솔나무(*Pinus tabulaeformis*, AY546076), 코니카가문비나무(*Picea glauca*, AY561200, AY566890) 등에서 내생균으로 분리되었다[17]. 그 외에도 미국에서는 마늘냉이(*Alliaria petiolata*, EF432267), 중국에서는 바다물고기인 *Pennahia argentata*(AJ619957), 일본에서는 습지표면(AB 303550) 그리고 이태리 로마에서는 변색된 단풍버즘나무(*Platanus × acerifolia*) 분리

된 미동정 균류가 내생균으로 분리되었다[17]. 국내에서는 생강나무에서 *P. brasiliense*가 내생균으로 존재하는 것으로 최근 보고되었다[18]. 그러나 균주의 특성과 형태적 보고는 없는 실정이다. 본 연구에서 분리한 *P. brasiliense* DUCC 5000는 지금 현재로서는 수호초에서는 국제적으로 처음 분리된 균이며 동시에 생화학적 특성을 처음 보고하는 바이다. 현재 *P. brasiliense* DUCC 5000는 병원균인지 내생균인지 확정하기 어려운 상황이다. 그렇지만 식물구성 성분인 starch, xylan, cellulose, protein등을 분해할 능력을 가지고 있는 것으로 보아 어떠한 역할 할 것으로 사료된다. 내생균의 경우 환경적 스트레스를 받게 되거나 상처가 나면 식물의 면역이 떨어짐에 따라 병원균으로 또는 부생균으로서 역할을 하는 경우가 자주 있기 때문에 향후 좀 더 생태적 연구가 진행되어야 본 균이 수호초에서 가지는 생태적 역할을 찾을 수 있을 것이다.

적 요

수호초로부터 분리된 DUCC5000 균주를 형태적, 분자생물학적 분류를 통해 *Paraconiothyrium brasiliense*로 동정하였다. 본 균은 기존에 알려진 *P. brasiliense* 균주의 ITS 염기서열과 100%의 상동성을 보였다. 계통유전학적 분석 결과 *P. brasiliense* 균주와 같은 clade를 형성하였다. 서로 다른 영양 배지와 pH 조건 하에서 균사생육 특성을 조사한 결과 oatmeal agar 배지와 pH 9에서 최적의 성장을 보였다. 배지 종류에 따라 그리고 pH 조건에 따라 균총 형태가 달라지는 특성을 지니고 있었다. Chroma 반응배지를 이용하여 7가지 세포외 효소의 분비 능력을 조사한 결과 β -glucosidase 활성이 가장 활발하였고 CM-cellulase와 xylanase에서는 활성이 미약하였다. 인공 접종하였으나 수호초에 대한 병원성은 나타내지 않았다. 본 균은 수호초에서는 국제적

으로 처음 보고되는 균이다.

감사의 글

본 논문은 환경부 재원으로 국립생물자원관의 지원을 받아 수행된 연구(NIBR No 2013-02-001) 결과의 일부로 연구비 지원에 감사 드립니다.

REFERENCES

1. Kim DH, Sung HC. A study on changes of apartment landscapes. J Kor Env Res Tech 2010;13:75-90.
2. Le SY, Kim WT, Ju JH, Yon YH. Effect of calcium chloride concentration on roadside ground cover plant growth. J Korean Inst Landsc Archit 2013;41:17-23.
3. Yoon PS, Lee JH, Ryu BY. Study on the plants adaptation of rooftop garden. J Kor Soc People Plants Environ 2007;10: 1-7.
4. Jeong MI, Han SW, Kim JS, Song JS. Selection of native herbal plants capable to survive year-round in roof garden adopting extensive green roof system in the central district of Korea. Flower Res J 2013;21:172-81.
5. Jeong SL, Sun JJ, Heo JA, Kang HJ, Hwang SY, Kim YK. Light intensity levels and growth inhibitors on growth of shade tolerant Japanese spurge (*Pachysandra terminalis*). Kor J Hort Sci Technol 2002;43:137-42.
6. Han KS, Park JH, Cho SE, Shin HD. First report of leaf blight and stem canker of *Pachysandra terminalis* caused by *Pseudonectria pachysandricola* in Korea. Plant Dis 2012;96:287.
7. Bai Q, Xie Y, Dong R, Gao J, Li Y. First Report of *Volutella* blight on *Pachysandra* caused by *Volutella pachysandricola* in China. Plant Dis 2012;96:584.
8. Tang LQ, Hyun MW, Yun YH, Sun DY, Kim SH, Sung GH. New record of *Mariannaea elegans* var. *elegans* in Korea. Kor J Mycol 2012;40:14-9.
9. 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.
10. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White Tj, editors. PCR protocol: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press; 1990. p. 315-22.
11. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res 1997;25:4876-82.
12. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 2011;28:2731-39.
13. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987;4:406-25.
14. Yoon JH, Park JE, Suh DY, Hong SB, Ko SJ and Kim SH. Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. Kor J Mycol 2007;35:21-4.
15. Mould MJR, Boland GJ, Robb J. Ultra structure of the *Colletotrichum trifolii-Medicago sativa* pathosystem I, pre-penetration events. Physiol Mol Plant Path 1991;38:179-94.
16. Verkley GJM, Silva Md, Wicklow DT, Crous PW. *Paraconiothyrium*, a new genus to accommodate the mycoparasite *Coniothyrium minitans*, anamorphs of *Paraphaeosphaeria*, and four new species. Stud Mycol 2004;50:323-35.
17. Damm U, Verkley GJM, Crous PW, Fourie PH, Haegi A, Riccioni L. Novel *Paraconiothyrium* species on stone fruit trees and other woody hosts. Persoonia 2008;20:9-17.
18. Kim CK, Eo JK, Eom AH. Diversity of foliar endophytic fungi isolated from *Lindera obtusiloba* in Korea. Kor J Mycol 2012;40:136-40.