

국내 미기록종 선충포식성 곰팡이 *Drechlerella brochopaga* Kan-23의 형태 및 계통분류

조천휘¹ · 강두선¹ · 김윤지² · 황경숙^{2*}

¹(주)카프코 생물화학연구소, ²목원대학교 미생물생태자원연구소

참의 경작지 토양으로부터 순수 분리된 선충포식성 곰팡이 Kan-23 균주는 배양 30일 이후에 분생포자가 형성되는 증식이 매우 더딘 특성을 나타내었다. 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 Kan-23 균주의 미세형태 구조를 관찰한 결과 분생포자병의 각 가지마다 5-10개의 분생포자를 형성하였으며, 분생포자는 3개의 격막을 형성하고 타원형을 나타내었고, 수축성 고리형태(constricting ring)의 포식 구조체를 형성하는 특징을 나타내었다. 다양한 배지를 이용하여 포식 구조체의 형태학적 특성을 비교 검토한 결과 GPA 배지에서 2배 이상 크기의 대형 수축성 고리 형태의 포식 구조체를 형성하는 특징을 나타내었다. Kan-23 균주의 rDNA의 ITS 영역의 염기서열을 분석한 결과, *Drechlerella* 속의 계통군에 속하였으며, 특히 *Drechlerella brochopaga* (U51950)와 99%의 높은 염기서열 유사도를 나타내어 *Drechlerella brochopaga*로 동정되어 국내 미기록종임이 확인되었다.

Key words □ *Drechlerella brochopaga*, giant constricting ring, GPA medium, nematophagous fungi, rDNA ITS

특수한 형태의 포획구조체를 발달시켜 살아있는 선충(유충, 성충, 알)을 영양원으로 이용하는 선충포식곰팡이는 1852년 독일의 Fresenius가 *Arthrobotrys oligospora*를 최초로 발표한 이후 현재까지 200여 종 이상의 다양한 선충포식곰팡이가 보고 되어왔다(5, 14). 지금까지 보고된 대부분의 선충포식곰팡이들은 분생포자, 분생포자병, 포획 구조체 등의 형태학적 특징에 기초하여 *Arthrobotrys* spp., *Monacrosporium* spp., *Dactylella* spp., *Nematoctonus* spp. 그리고 *Duddingtonia* spp.로 크게 대분류 되고 있다(2, 4, 6, 8, 9, 14, 15, 17, 18). 상기의 5개 속에 속하는 선충포식곰팡이의 대부분이 형태학적 특징만으로는 중간 분류체계가 불명확하다는 점이 거론되면서 형태분류학적 문제점이 제시되어 왔다(12). 최근 분자기법을 이용하여 곰팡이의 계통도를 재구성하는 많은 자료들이 보고되고 있다(9, 25). 특히 *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, 그리고 *Monacrosporium* 속에 속하는 각 형태학적 분류군에 대해 18S rDNA 염기서열을 해석한 결과 동일 계통군에 속하는 균주 중에는 형태학적으로 일치하지 않는 균종도 포함되었다(1). 이상의 연구 결과에서 보고된 바와 같이 염기서열 분석에 의한 선충포식곰팡이의 계통분류가 형태학적 분류와 일치하지 않는다는 것이 밝혀지면서 다양한 선충포식곰팡이에 대한 계통분류학적 특성 검토가 요구되고 있다(11).

최근 국내 다양한 토양으로부터 선충포식성 곰팡이를 분리하기 위하여 Soprunov (21)의 분리법에 따라 순수 분리한 결과 대부분의 선충포식성 곰팡이는 배양 일주일 후에 포식 구조체를 형성하는 특징을 나타내었다(7). 이들 증식속도가 빠른 선충포식

성 곰팡이에 대해 포식기관의 형태학적 특징 및 rDNA ITS 영역의 염기서열 해석 결과 대부분이 *Arthrobotrys*와 *Monacrosporium* 속에 속하는 균주임을 밝혔다(3). 지금까지 국내토양으로부터 분리 보고된 선충포식성 곰팡이의 경우 *Arthrobotrys*와 *Monacrosporium* 속에 속하는 균주가 대부분인 것으로 보고되고 있다(9, 15).

본 연구에서는 국내 참의 경작지 토양으로부터 선충포식곰팡이 유전자원 탐색과정 중 배양 30일 이상이 경과된 후에 포식기관 및 분생포자를 형성하는 생육이 매우 더디고 특징적인 포식 구조체를 형성하는 희귀 선충포식곰팡이를 분리하고 이들 분리 균주에 대해 주사전자현미경을 이용하여 선충포식곰팡이의 미세형태와 rDNA ITS 영역의 염기서열 해석을 통한 계통학적 위치를 결정하여 분류·동정하였다.

재료 및 방법

선충포식성 곰팡이의 분리 및 배양

경북 김천의 참의 경작지 토양으로부터 토양시료를 채취하였다. 선충포식성 곰팡이의 분리는 Soprunov (21)의 방법에 의거하여 수행하였다. 토양 시료 100 g을 2 mm 체로 거른 후 걸러진 토양 1g을 2% Water Agar (WA) 배지 중앙부위에 놓고 Baermann 깔때기법(16)을 이용하여 동일 토양에서 분리한 선충 50마리를 WA 배지에 첨가하고 25°C에서 배양하면서 실체현미경을 이용하여 포식구조(trap)의 발달을 관찰하였다. 선충이 밀집된 곳을 집중적으로 관찰하며 포식구조(trap)를 형성하는 균사체를 선충포식성 곰팡이로 간주하고 분생포자를 순수 분리하여 항생제(streptomycin, 100 ppm)가 첨가된 CMA (Corn Meal Agar)

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-42-829-7598, Fax: 82-42-829-7599
E-mail: kshwang@mokwon.ac.kr

배지에 계대배양 하였다(21).

순수 분리된 균주와 선충포식성 곰팡이 *Arthrotrichum*, *Monacrosporium* 속의 균주를 다양한 배지(CMGYP; Corn Meal Glucose Yeast Extract Peptone Agar, CMA; Corn Meal Agar, OA; Oatmeal Agar, MEA; Malt Extract Agar, V8A; V8 juice Agar, GPA; Glucose Peptone Agar)에 접종하고 25°C에서 배양하며 생육속도를 비교 관찰하였다. 또한 순수 분리된 균주를 CMA 배지와 CMA 배지를 1/100, 1/50, 그리고 1/10로 희석한 저영양 배지와 OA (Oatmeal Agar), MEA (Malt Extract Agar), GPA (Glucose Peptone Agar), V8A (V8 juice Agar) 등 다양한 배지를 이용하여 접종하고 선충을 투여하지 않은 배지와 투여한 배지에서 배양하며 선충포식 구조체 형태를 비교 검토하였다.

주사전자현미경(SEM)을 이용한 미세구조의 형태 관찰

CMA (Corn Meal Agar) 배지에서 일주일간 배양한 선충포식성 곰팡이 균사체 위에 선충을 첨가하여 25°C에서 배양하면서 포식구조체에 의해 선충이 포획되는 과정을 실체현미경(×40, Leica DMIL, Germany)으로 확인한 후, 선충이 포획된 지점과 분생포자가 형성된 지점을 중심으로 1 cm×1 cm 크기로 한천배지를 도려내었다. 시료를 2.5% glutaraldehyde에 넣어 4°C에서 15~24시간 동안 전고정한 후, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)로 10분씩 3회 세척한 다음 1% osmium tetroxide (OsO₄)에 넣어 4°C에서 2시간 동안 후고정 하였다. 고정된 시료를 50% EtOH에서 6시간, 70% EtOH에서 18시간, 80% EtOH에서 2시간, 90% EtOH에서 2시간, 99% EtOH에서 12시간 그리고 100% EtOH에서 12시간 처리하였다. 탈수된 시료는 50% isoamyl acetate (isoamyl acetate:alcohol = 1:1)로 10분간 처리하고, 100% isoamyl acetate로 5분 동안 침지시킨 다음 Critical Point Dryer (CPD 030)로 임계점에서 건조시켰다. 건조된 시료를 시료 고정대에 흡착시킨 후 Sputter Coater (SCK 005)를 이용하여 금으로 coating하고 주사전자현미경(Philips, SEM-EDX, XL30/ESEM TMP, FEI Company, Hillsboro, Oregon, USA)으로 관찰하였다.

DNA 추출

Zhu의 DNA추출법(28)을 변형하여 chromosomal DNA를 추출하였다. 균주의 배양은 PDB (Potato Dextrose Broth, Difco, USA) 배지에서 일주일간 정치배양한 후 균체를 모은 후 동결 건조하였다. 건조균체는 500 µl의 saline-EDTA buffer (0.15 M NaCl, 10 mM EDTA, pH 8.0)를 넣어 씻어낸 후 산화알루미늄을 소량 첨가하고 분쇄기(Motor cordless, Kontes., Co, USA)를 사용하여 2분간 얼음 위에서 분쇄하였다. 상기의 시료에 50 µl의 10% sodium dodecyl sulfate (SDS)를 첨가한 후 60°C에서 5~10분간 반응시키고 상층액에 200 µl의 phenol을 첨가한 후 원심 분리하였다. 상층액에 50 µl chloroform을 넣어 2회 원심 분리하였으며 최종적으로 얻은 상층액에 800 µl 냉동 보존된 99% ethanol을 첨가한 후 -20°C에서 한 시간 이상 처리하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 진공건조(Micro Vac MV-100, TOMMY)한 다음 최종적으로 50 µl의 멸균 증류수를 첨가하여

DNA를 녹인 후 전기영동(Mupid-21, Cosmo bio, Korea)으로 확인하였다.

ITS PCR 증폭 및 염기서열 결정

18S rDNA와 28S rDNA 사이에 있는 ITS 영역을 증폭하기 위해 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(22). ITS 영역의 PCR 증폭반응은 다음과 같이 수행하였다. 94°C에서 2분간 반응한 다음 DNA의 열변성을 위해 94°C에서 40초, primer의 재결합을 위해 56°C에서 50초, DNA 가닥의 합성을 위해 72°C에서 2분의 과정을 35회 반복하고, 72°C에서 6분간 최종신장을 실시하였다. Thermal cycler는 Perkin Elmer (GeneAmp PCR system 9700; Applied Biosystems, USA)를 이용하였다. 생성물은 1% agarose gel, 0.5× TBE buffer (0.045 M Tris-borate, 0.001 M EDTA)에서 100 V, 25 mA로 30분 전기 영동하여 EtBr (Ethidium Bromide)에 15분간 염색하여 UV하에서 확인하고, Qiagen PCR Purification Kit (QIAGEN, valencia, CA, USA)로 정제하였다.

계통수 작성

정제된 ITS 증폭산물을 주형으로 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열 결정을 위한 PCR은 Big-Dye 1.3 µl, 5× Sequencing buffer 3.4 µl, 20 mM ITS 1; 5'-TCA GCT TGA ATG CTA ATG TG-3' primer 1 µl, ITS rDNA 시료 1 µl (90 ng)에 총량이 20 µl가 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 4분의 과정을 25회 반복하였다. 냉동 보존된 100% EtOH 50 µl와 3 M sodium acetate (pH 5.2) 2 µl를 PCR 증폭산물에 첨가한 후 15,000 rpm에서 25분간 침전시켰다. EtOH 침전법에 의해 처리된 PCR 증폭산물은 70% ethanol로 세척하여 건조시킨 후 HiDi Formamide 20 µl를 첨가하여 95°C에서 2분 동안 열 변성시킨 후 얼음위에서 냉각시켰다. ABI PRISM 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 결정된 ITS 부분 염기서열의 homology는 DDBJ/NCBI/GenBank database의 Blast program을 이용하여 비교하였다. 각 염기서열의 alignment는 CLUSTAL X 알고리즘을 이용하여 병렬로 정렬하였고(23), 근린 결합법에 의거 계통분류학적 위치를 결정하였다(19).

결과 및 고찰

선충포식성 곰팡이 Kan-23 균주의 분리 및 생육 특성

WA배지로부터 순수 분리된 대부분의 선충포식성 곰팡이는 배양 일주일 이내에 분생포자를 관찰할 수 있었으나, 일부 선충포식성 곰팡이는 배양 30일 이상이 경과된 후에 분생포자를 형성

하는 특징을 나타내었다. 본 연구에서는 증식속도가 매우 더딘 선충포식성 곰팡이 Kan-23 균주를 순수 분리하였다.

다양한 배지(CMGYPA; Corn Meal Glucose Yeast Extract Peptone Agar, CMA; Corn Meal Agar, OA; Oatmeal Agar, MEA; Malt Extract Agar, V8A; V8 juice Agar, GPA; Glucose Peptone Agar)를 이용하여 비교적 빠른 속도로 생육하는 선충포식성 곰팡이 *Arthrobotrys*, *Monacrosporium* 속의 균주와 본 연구에서 분리된 Kan-23 균주를 상기의 각 배지에 접종하고 일주일 간 배양하면서 생육속도를 비교 검토한 결과 Kan-23 균주는 모든 배지에서 생육속도가 매우 더딘 특성을 나타내었다(Fig. 1). 곰팡이의 종류에 따라 생육속도와 선충 포식 구조체 발생 양상이 다르기 때문에 Soprunov의 분리법 등 기존의 통상적인 분리법으로는 분리가 곤란한 생육이 매우 더딘 'slow growing nematophagous fungi' 중에는 회귀 선충포식성 곰팡이가 존재할 것으로 판단되었다.

Kan-23 균주의 포식 구조체의 형태학적 특성

참외 경작지 토양으로부터 분리된 'slow growing nematophagous fungi' Kan-23 균주의 포식기관의 형태를 광학현미경(×100)하에서 관찰한 결과 매우 특징적인 수축성 고리(constricting ring) 형태의 선충 포식 구조체를 형성하는 것이 확인되었다(Fig. 2A).

수축성 고리 모양의 포식 구조체 형태변화를 관찰하기 위하여 다양한 배지를 이용하여 관찰한 결과 고리의 크기는 배양 배지에 따라 다양하게 변화하였다. 특히 GPA (Glucose Peptone Agar)배지에서 배양한 결과 CMA (Corn Meal Agar) 배지보다 2배 이상 큰, 대형 수축성 고리(Giant Constricting Ring)를 형성하는 특징이 발견되었다(Fig. 2B).

수축성 고리의 미세구조를 주사전자현미경(SEM, ×2,500)을 이용하여 관찰한 결과 CMA (Corn Meal Agar) 배지에서 수축성 고리의 외지름은 20 μm, 내지름은 12.5 μm이었다. GPA (Glucose Peptone Agar) 배지에서 자이언트 수축성 고리는 외지름이 40.5 μm, 내지름이 25.5 μm를 나타내었으며, 고리를 형성하고 있는 세포의 지름이 7.5 μm로 두꺼웠고, 고리의 세포 격막 부위 지름도 3.5 μm로 일반 수축성 고리보다 2배 이상 두껍게 나타나는 특징을 보여주었다. 수축성 고리형태의 포식구조는 3개의 세포로

구성되어 있었다(Fig. 2C and D).

Kan-23 균주의 균사체, 분생포자병, 분생포자의 형태학적 특징

Kan-23 균주의 균사체(hypha) 형태, 분생포자병(conidiophore)의 모양, 분생포자(conidia)의 모양과 크기, 분생포자 형성 개수, 분생포자 격막의 수와 격막의 위치, 영양배지에서의 휴면포자 형성유무 및 포식기관의 크기와 형태를 Table 1에 나타내었다.

분생포자병과 분생포자 형태를 광학현미경으로 관찰한 결과 분생포자병의 길이는 160~450 μm이었으며, 가지를 형성하며 각 가지마다 5~10개의 분생포자를 형성하였다(Fig. 3A and B). 이들 분생포자병과 분생포자의 미세형태를 SEM (×2,500)으로 관찰한 결과 분생포자병의 말단부는 팽창(swollen)된 형태를 나타내었으며(Fig. 3C), 분생포자는 확장된 타원형으로 크기가 31.3 μm×7.5 μm 이며 1~4개의 격막을 가지는데, 주로 3개의 격막이 형성되었으며 25, 50, 75% 위치에 격막을 형성하였다(Fig. 3D). Kan-23 균주의 형태학적 특징은 Zefen 등이 발표한 논문에서 묘사된

Table 1. Morphological characteristics of *Drechslerella brochopaga* strain Kan-23

Organs		Strain Kan-23
Hypha	Diameter	2.5~5 μm
	Turf	Web-like
	Color	Whitish
	Shape	Branched
	Length	160~450 μm
Conidiophore	Diameter	Base
		Tip
		Sterigmata
		Shape
		Size (length×width)
Conidia	Septum	1~4, mainly 3
	Septum location	25%, 50%, 75%
	Number	5~10
	Form of predaceous organ	Constricting ring

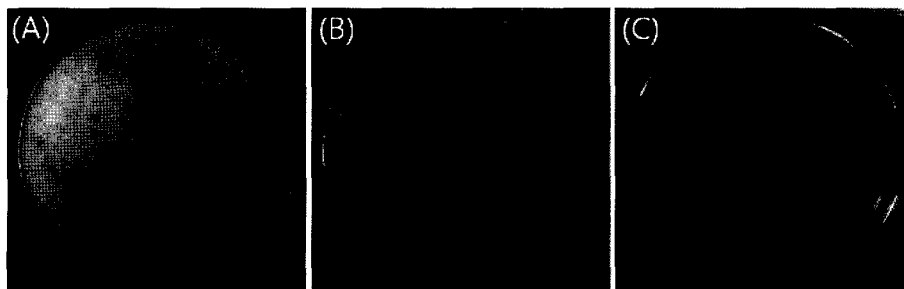


Fig. 1. The comparison of growth for one week on CMGP (Corn Meal Glucose Yeast Extract) medium. (A) *Arthrobotrys* spp. (B) *Monacrosporium* spp. (C) Strain Kan-23.

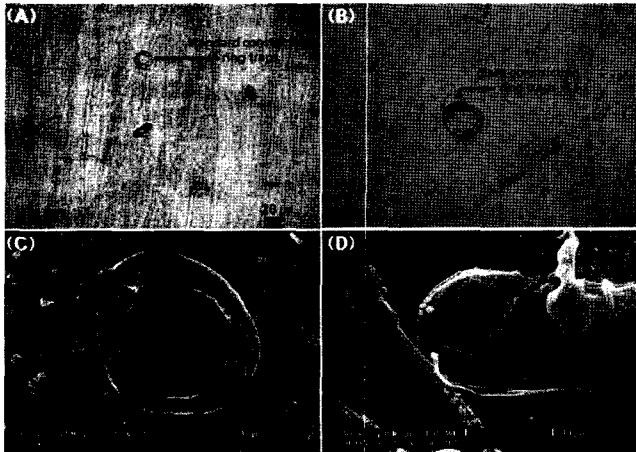


Fig. 2. Observation and structures of predaceous ring of *Drechlerella brochopaga* strain Kan-23 by optical microscope and SEM (A) The standard constricting ring trap. $\times 100$; (B) The giant constricting ring trap. $\times 100$; (C) The standard constricting ring trap. $\times 2,500$; (D) Closure of a standard constricting ring trap. $\times 2,500$.

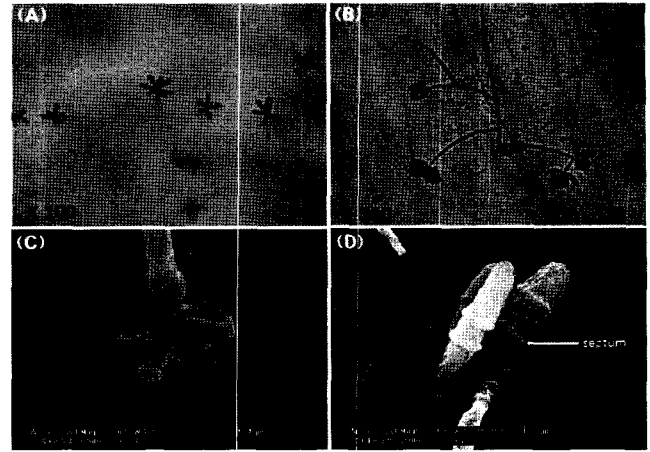


Fig. 3. Observation and structures of conidia and conidiophores of *Drechlerella brochopaga* strain Kan-23 by optical microscope and SEM (A) Straight conidia cluster from medium. $\times 100$; (B) Five branched conidiophores and conidia. $\times 100$; (C) The tip of a conidiophores. $\times 5,000$; (D) The conidia with septum. $\times 3,000$.

*Orbilina (Hyalinia) orientalis*의 무성생식 세대(anamorph)인 *Drechlerella brochopaga*의 형태학적 특징과 일치하였다(26).

Kan-23 균주의 계통학적 위치

수축성 고리형태의 포식 구조체를 형성하는 선충포식 곰팡이

Kan-23 균주의 계통분류학적 위치를 확인하기 위하여 rDNA ITS 영역을 PCR로 증폭하여 염기서열을 해석한 결과, *Drechlerella* spp. 계통군에 속하는 균주임이 확인되었다. 특히 *Drechlerella brochopaga* (U51950)와 99%의 높은 염기서열 유사도를 나타내어 Kan-23 균주는 상기의 형태학적 특징과 계통학

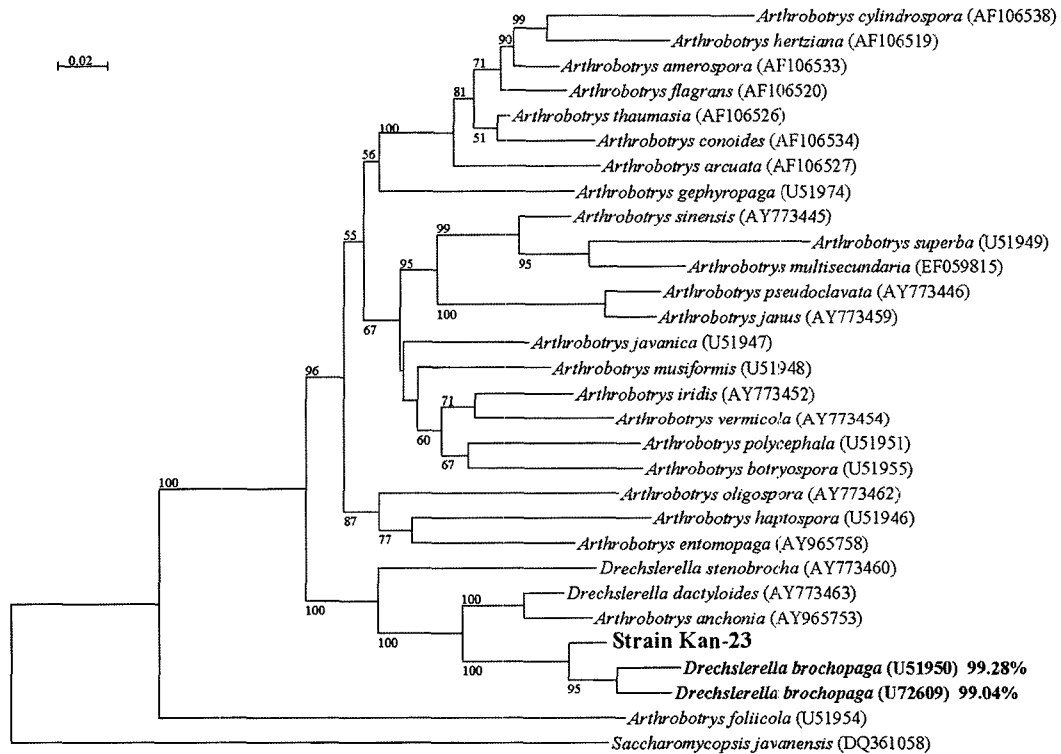


Fig. 4. Phylogenetic tree based on ITS sequence showing the position of strain Kan-23 and related fungal taxa. Numbers at branches are bootstrap values, derived only for the nodes supported by greater than 50% (1,000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per site.

적 유연관계를 바탕으로 *Drechlerella brochopaga*로 동정하였다 (Fig. 4). *Drechlerella brochopaga*는 1999년 Scholler 등에 의해 보고된 바 있으나 국내에서는 처음으로 순수 분리되었다(20).

Kan-23 균주의 선충 포식구조체의 발달 특성

Kan-23 균주는 선충을 포획하면서 균사의 생육속도가 빠르게 향상되었고, 분생포자도 더욱 많이 형성하는 것을 확인하였다. 이는 *D. brochopaga*가 부생성 생물보다는 기생성 생물에 더 근접하다는 것을 잘 나타내는 것으로 *D. brochopaga*가 영양원으로 선충을 더욱 필요로 한다는 결과와 일치 하는 것이다(13).

본 연구에서는 CMA 배지와 OA 배지를 1/100, 1/50, 그리고 1/10로 희석한 저영양배지와 OA (Oatmeal Agar), MEA (Malt Extract Agar), GPA (Glucose Peptone Agar), V8A (V8 juice Agar) 등 다양한 배지를 이용하여 Kan-23 균주의 선충포식 구조체 형태를 비교 검토하였다. GPA 배지의 경우 선충을 투여 하지 않은 상태에서도 대형 수축성 고리(giant constricting ring)를 형성하는 특징을 나타내었다. Turnbull과 Zachariah는 대형 수축성 고리를 형성하는 *Dactylella brochopaga* 돌연변이체 MG-20 균주를 보고한 바 있으나(24, 27), 영양배지에 따라 대형 수축성 고리의 형성 여부에 관해서는 보고된 바 없다. 본 연구를 통해서 밝혀진 수축성 고리의 형성과 영양배지 성분과의 상관관계에 관한 세밀한 연구가 요구된다.

수축성 고리를 이용하여 선충을 포식하는 곰팡이는 끈끈이 그 물구조의 트랩(trap)을 형성하는 선충포식 곰팡이와는 전혀 다른 메커니즘으로 선충을 포식하는 것으로 알려져 있다(13). 선충이 고리 안으로 들어가면 곰팡이 세포에 감지되는 자극으로 인하여 3개 세포로 구성되어 있는 고리 안쪽의 세포막이 팽창하여 세포 부피가 2~3배로 증가하게 되므로 선충이 수축성 고리에 쉽게 포

획된다(Fig. 5A, C, D). 선충포식곰팡이는 선충을 포획한 후, 부착기(appressorium)를 형성하고 세포외효소로 protease를 분비하여 선충내부에 감염균사(infection hyphae)를 형성한다(Fig. 5B).

수축성 고리 표면의 안쪽을 바늘로 건드리거나 열을 가하는 물리적 자극에도 똑같은 현상을 보여주는데 고리의 수축 작용은 매우 빠르게 나타났고, 팽창된 세포는 다시 수축되지는 않는다고 밝히고 있다(13).

지금까지 토양으로부터 분리된 대부분의 선충포식성 곰팡이는 고영양성 영양배지에서 일주일 이내에 신속하게 생육하는 선충포식성 곰팡이를 중심으로 분리되어 왔고 이들 대부분은 *Arthrobotrys*와 *Monacrosporium* 속에 속하는 균주로 토양에 우점을 이루는 것으로 알려져 왔다. 본 연구에서는 WA배지와 같은 저영양배지를 이용하여 3주 이상 장기 배양을 통해 새로운 분리법을 시도함으로써 국내 미기록 종인 *Drechlerella brochopaga* Kan-23 균주를 분리하는데 성공하였다. 농업미생물 유전자원 다양성 확보를 위해서는 다양한 분리 및 배양법에 대한 기초연구가 절실히 요구되어진다.

감사의 말

본 연구는 NURI 바이오산업인력양성사업단 산업체공동과제의 지원에 의해 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahrn, D., B.M. Ursing, and A. Tunlid. 1998. Phylogeny of nematode-trapping fungi based on 18S rDNA sequences. *FEMS Microbiol. Lett.* 158, 179-184.
- Barron, G.L. 1977. The nematode trapping fungi, p. 140. Canadian Biological Publications, Guelph, Ontario, Canada.
- Cho, C.W., D.S. Kang, H.K. Jeon, H.S. Son, and K.S. Whang. 2007. Morphological and phylogenetic characteristics of nematophagous fungi. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 50, 101-106.
- Cooke, R.C. and B.E.S. Godfrey. 1964. A key to the nematode-destroying fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47, 61-74.
- Fresenius, G. 1852. Beitr. Mykol. Heft. No. 1-2, p. 1-80.
- Haard, K. 1968. Taxonomic studies on the genus *Arthrobotrys* Corda. *Mycologia* 60, 1140-1159.
- Kim, D.G. 1997. Nematophagous fungi. *KSM Newsletter* 9, 29-46.
- Kim, D.G., S.G. Bae, and Y.S. Shin. 2001. Distribution of nematophagous fungi under different habitats. *Kor. J. Microbiol.* 29, 123-126.
- Kim, D.G., J.K. Lee, Y.G. Lee, Y.C. Choi, and Y.K. Kim. 1997. Description of five species of *Arthrobotrys* (Corda) Schenck, Kendrick & Pramer in Korea and Their Key. *RDA. J. Crop Protec.* 39, 33-41.
- Li, Y., R. Jeewon, K.D. Hyde, M.H. Mo, and K.Q. Zhang. 2006. Two new species of nematode-trapping fungi: relationships inferred from morphology, rDNA and protein gene sequence analyses. *Mycol. Res.* 110, 790-800.
- Liou, G.Y. and S.S. Tzean. 1997. Phylogeny of the genus *Arthrobotrys* and allied nematode-trapping fungi based on rDNA sequences. *Mycologia* 89, 876-884.
- Meyer, S.L.F., L.K. Carta, and S.A. Rehner. 2005. Morphological

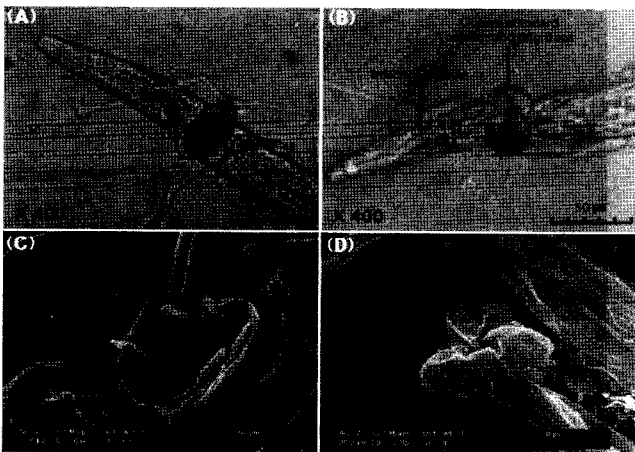


Fig. 5. Observation and structures of captured nematode by *Drechlerella brochopaga* strain Kan-23 by optical microscope and SEM (A) A captured nematode by standard constricting ring trap. $\times 400$; (B) A captured nematode and infection hyphae in captured nematode. $\times 400$; (C) A captured nematode by standard constricting ring trap. $\times 500$; (D) Detail of a captured nematode by standard constricting ring trap. $\times 2,000$.

- variability and molecular phylogeny of the nematophagous fungus *Monacrosporium drechsleri*. *Mycologia* 97, 405-415.
13. Nordbring-Hertz, B., H.B. Jansson, and A. Tunlid. 2006. Nematophagous Fungi. In Encyclopedia of life sciences, John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. [doi:10.1038/npg.els.0004293].
 14. Park, H.C., S.M. Kim, Y.C. Kim, C.Y. Lee, and I.S. Choi. 1997. Isolation and morphological characteristics of nematophagous fungi. *J. Agri. Tech. Dev. Inst.* 1, 77-83.
 15. Park, Y.K. and Y.N. Lee. 1983. Isolation and identification of nematode-trapping fungi. *Kor. J. Microbiol.* 21, 127-134.
 16. Pramer, D. and E.L. Schmidt. 1964. Experimental soil microbiology. p. 20-21. Burgess. Minneapolis, USA.
 17. Rifai, M.A. and R.C. Cooke. 1966. Studies on some didymosporous genera of nematode-trapping hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 49, 147-168.
 18. Saccardo, P.A. 1886. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*, 4th ed. Privately published, Padova, Italy.
 19. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 281-295.
 20. Scholler, M., G. Hagedorn, and A. Rubner. 1999. A reevaluation of predatory orbiliaceous fungi. II. A new generic concept. *Sydowia* 51, 99.
 21. Soprunov, F.F. 1958. Predacious hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes, p. 1-365. Academy of science of the turkmen SSR. Jerusalem, Israel.
 22. Susan, L.F.M., L.K. Carta, and S.A. Rehner. 2005. Morphological variability and molecular phylogeny of the nematophagous fungus *Monacrosporium drechsleri*. *Mycologia* 97, 405-415.
 23. Thomson, J.D., D.G. Higgins, and T.J. Gibson. 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.
 24. Turnbull, J.R. and K. Zachariah. 1978. The induction of giant ring traps and regulation of conidiogenesis in the predacious fungus *Dactylella brochopaga*. *Can. J. Microbiol.* 24, 1182-1189.
 25. Yang, Y. and Z.L. Xing. 2006. A new generic approach to the taxonomy of predatory anamorphic Orbiliaceae (Ascomycotina). *Mycotaxon* 97, 153-161.
 26. Yu, Z.-F., Y. Zhang, M. Qiao, H.-O. Baral, E. Weber, and K. Zhang. 2006. *Drechlerella brochopaga*, the anamorph of *Orbilia (Hyalinia) orientalis*. *Mycotaxon* 96, 163-168.
 27. Zachariah, K. and J.P. Insell. 1979. The nuclei of the giant traps of a mutant of *Monacrosporium bembicodes* (Drechsler) Subram (Dactylella brochopaga Drechsler). *Antonie Van Leeuwenhoek* 45, 141-147.
 28. Zhu, H., F. Qu, and L.H. Zhu. 1993. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride. *Nucleic Acids Res.* 21, 5279-5280.

(Received January 24, 2008/Accepted March 17, 2008)

ABSTRACT : Morphological and Phylogenetic Characteristics of a Nematophagous Fungus, *Drechlerella brochopaga* Kan-23

Chun-Hwi Cho¹, Doo-Sun Kang¹, Yoon-Ji Kim², and Kyung-Sook Whang^{2*}(¹KAFCO Biochemistry Research Institute, ChungBuk 373-831, Republic of Korea and ²Institute of Microbial Ecology and Resources, Mokwon University, Daejeon, 302-729, Republic of Korea)

Strain Kan-23 was extracted from nematophagous fungi, which were isolated from the soil sample of oriental melon field. The strain exhibited the slow-growing characteristic forming conidia after prolonged incubation for 30 days. Morphological features of strain Kan-23 were observed under scanning electron microscope (SEM). It possesses erect conidiophores which contain 2~3 side branches, with each branch producing 5~10 conidia. The size of conidiophores were between 160~450 μm . Conidia were ellipsoidal with three septa[septum] in each conidium. Strain Kan-23 captured nematodes by means of giant constricting rings, which were observed in the glucose peptone agar medium. ITS region of rDNA sequence was analyzed. On the basis of the high sequence similarity of ITS region (99%), the Kan-23 strain was closely related to *Drechlerella brochopaga* (U51950). This is the first report on *Drechlerella brochopaga* as a nematophagous fungus in Korea.