

Genetic Diversity of Endophytic Fungal Strains Isolated from the Roots of Coastal Plants in Ulleung Island for Restoration of Coastal Ecosystem

Miae Kim^{1†}, Young-Hyun You^{1†}, Hyeokjun Yoon¹, Hyun Kim¹, Yeonggyo Seo¹, Irina Khalmuratova¹, Jae-Ho Shin³, In-Jung Lee³, Yeon-Sik Choo² and Jong-Guk Kim^{1*}¹School of Life Sciences and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea²Department of Biology, College of National Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea³School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received August 21, 2012 / Revised October 29, 2012 / Accepted October 29, 2012

Five coastal plant species, *Artemisia fukudo*, *Aster sphathulifolius*, *Plantago camtschatica*, *Sedum oryzifolium*, and *Setaria viridis*, were collected from the coastal region of Ulleung Island (Ulleung-Do, South Korea). Thirty-six endophytic fungi were isolated from the roots of these plants, and all were identified by using PCR with the following specifications: internal transcribed spacer 1 (ITS1), 5.8S rRNA, and ITS2 regions. Phylogenetic analysis indicated that all fungal strains belong to the phylum Ascomycota and comprise four orders (Capnodiales, Eurotiales, Hypocreales, and Pleosporales). Among all the identified species, the Eurotiales species were more abundant than species in the other orders. Nine different genera (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Exserohilum*, *Fusarium*, *Neosartorya*, *Penicillium*, *Phoma*, and *Pyrenochaeta*) in the four orders were confirmed. *Penicillium* and *Aspergillus* species were the most dominant species among the endophytic fungi isolated from the coastal plants. Shannon's diversity index (*H*) ranged from 0.684 to 1.609, and the endophytic fungi in *S. oryzifolium* was more diverse compared to the endophytic fungi in the other plants.

Key words : Endophytic fungi, genetic diversity, coastal plant, Ulleung island

서 론

울릉도는 우리나라의 한반도에서 137 km 떨어진 동해에 자리잡고 있고, 제4기에 화산활동에 의하여 형성되었으며, 면적은 7,268 ha로 오각형의 해양성 화산섬이다. 그리고 지형이 사화산으로 형성되어서 경사가 심하고, 해발 984 m의 성인봉 아래에 위치한 나리분지를 제외하고는 평지가 거의 없으며, 기후는 전형적인 해양성 기후를 보이고 있다. 울릉도의 식생에 관한 식물 분류학적 연구는 1980년대부터 이루어지고 있으며, 현재에는 성인봉지역, 나리분지 등의 산림식생유형과 성장특성 연구 등이 점차적으로 이루어지고 있다[22]. 그러나 울릉도의 해안에 대한 연구 및 해안에 자생하는 식물관련 연구는 거의 이루어져 있지 않으며, 식물에 관련된 미생물상 연구 또한 이루어져 있지 않다.

우리나라의 해안식물은 자갈이나 바위에 자생하는 일반적인 해안식물과, 해안사구지역에 자생하는 해안사구식물(Coastal sand-dune plant) [16,18] 및 해안 염습지(Coastal salt marsh) [41,42]에 자생하는 염생식물(Halophyte) [3]로 분류되고 있다. 최근에는 해안식물의 보호와 환경 보존을 위하여 식

물의 발아, 개화, 성장에 대한 연구와 식물과 공생 및 공존하는 미생물에 대한 연구가 이루어지고 있다[13,14,17,18]. 그리고 내생진균류의 이차대사산물 규명 및 균주의 기술개발 연구 등으로 해안식물의 증식과 성장을 촉진하는 것이 해안환경보호를 위해서 중요하다라는 것이 알려졌다[13,16]. 그러나 해안미생물에 관한 연구로서 토양으로부터 분리된 해안미생물 군집 분석 등이 다소 이루어져 있지만[6], 해안환경에 자생하는 해안식물과 상호관계에 있는 내생진균류(endophytic fungi)에 대한 연구[16,18,20] 및 해양성 곰팡이(Marine fungi)는 최근에 연구되기 시작하여 주목을 받고 있다[4,43].

내생진균은 식물과 공생하며 식물생장에 중요한 역할을 한다고 알려져 있고, 내생진균류 유래 이차대사산물(GA, IAA, ABA)을 생산하는 균주[9,16,19] 및 이를 이용한 연구도 증가하고 있다[15,19]. 그리고 내생진균류는 고온과 건조 및 염분과 같은 식물의 성장을 방해하는 환경인자에 대한 저항성에 기여하고, 항균효과로 인한 면역 활성을 가지는 것으로 알려져 있다[1,25,27,28,35].

본 연구에서는 우리나라의 해양성 화산섬인 울릉도 해안에 자생하는 해안식물과 공생 및 공존하는 내생진균류를 형태적으로 순수 분리하여 동정하였으며, 다양한 해안식물에 따른 내생진균류의 분포 및 다양성을 확인하여 유연관계를 확인하였다.

†Both authors contributed equally to this work.

*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5379, Fax : +82-53-955-5379

E-mail : kimjg@knu.ac.kr

재료 및 방법

식물시료는 경상북도 울릉군 서면 남서리 해안에 자생하고 있는 해안식물을 채집하였다. 식물들은 큰비쭉(*Artemisia fukudo* Makino), 해국(*Aster spathulifolius* Maxim.), 갯질경이(*Plantago camtschatica* Cham.), 땅채송화(*Sedum oryzifolium* Makino), 갯강아지풀(*Setaria viridis* Makino) 등 5종을 채집하여 식물시료로 사용하였다(Table 1).

채집한 해안식물 뿌리의 토양을 제거하였고, 표백제인 과염소산(Perchloric acid, 1%)을 사용하여 10분간 처리하여 살균한 후에 멸균증류수로 세척하였다[39]. 그리고 계면활성제(Tween 80)를 10분간 처리하여 멸균증류수로 세척하였다[41]. 해안식물의 뿌리를 전처리 하였고, 멸균된 수술용 가위를 사용하여 3~4 cm 길이로 뿌리를 절단한 후 수분을 제거하였다. 그리고 내생진균류의 분리 및 배양을 위하여 스트렙토마이신(Streptomycin, 80 ppm)이 함유된 Hagem minimal (HM) 최소배지[33,36]를 사용하여 전처리 된 염생식물의 뿌리를 25°C 조건에서 배양하였다[16,17]. 그리고 배양된 뿌리의 끝 단면에서 뺀어 나온 내생진균류의 균사를 HM 배지에 확산도말법을 이용하여 다시 28°C 조건에서 배양하였다. 그리고 HM 배지에 배양된 내생진균류를 수술용 칼을 사용하여 PDA 배지에 계대 배양하여 순수분리 하였다. 순수 분리된 내생진균류들을 potato dextrose broth (PDB) 배지에 14일 동안, 100 rpm으로 28°C조건으로 진탕배양하였고, 내생진균의 균체를 여과하여 5일 동안 동결건조 하였으며, 동정을 위한 실험재료로 사용하였다[42].

DNeasy Plant mini kit (QIAGEN)를 이용하여 동결건조 된 균체로부터 Genomic DNA를 추출하였다. 중합 효소 연쇄 반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 이용하여 rDNA- internal transcribed spacer (ITS) 영역을 증폭하였으며, Ex-Taq DNA polymerase (Takara, Japan)를 사용하였다[41,42]. PCR 증폭 반응 조건은 predenaturation (1 min: 95°C), 35 사이클의 denaturation (30 sec: 95°C), annealing (1 min: 51-54.5°C), extension (1 min: 72°C), 그리고 final extension (7 min: 72°C)으로 수행하였다[42]. PCR 프라이머는 ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')를 이용하였다[16, 42]. PCR 산물은 전기영동(agarose gel: 1.5%) 후, ethidium bromide (EtBr)을 사용하여

15분간 염색 후, UV transilluminator로 전기영동밴드를 확인하였다. 내생진균류의 rDNA-ITS 영역의 전기영동 단편들은 QIAquick PCR purification kit (Qiagen Inc., Germany)를 사용하여 정제하였다. 염기서열 결정을 위하여 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (PE Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하였다. 그리고 DNA 단편들은 ABI 310 DNA sequencer (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA)를 사용하여 내생진균의 염기서열을 결정하였다[16,42].

해안식물의 뿌리로부터 분리된 분리주의 동정을 위하여 rDNA-ITS 영역의 염기서열을 NCBI의 blastn으로 확인하였다. 그리고 내생진균류의 유연관계 확인을 위하여 ITS영역 염기서열을 ClustalX program으로 다중정렬을 하였고, Lasergene 7 program과 BioEdit program을 사용하여 염기서열을 정렬하였다. 내생진균류의 계통 및 유연관계 분석은 MEGA 4.1 program, neighbor-joining (NJ) 방법의 Kimura 2-parameter model에 따라 분석하여 계통수를 작성하였다[31,42]. 그리고 내생진균류의 다양성 분석을 위하여 각 내생진균류들의 목(Order), 과(Family), 속(Genus)을 확인하였으며, 다양성지수를 확인하기 위하여 Shannon's diversity index (H')를 적용하여[24,41] 각 식물군에 대한 내생진균류의 다양성지수를 분석하였다.

결과 및 고찰

울릉도에 자생하는 5종류의 해안식물로부터 형태학적으로 다른 내생진균류 36주를 분리 및 선별하였다. 분리선별 균주들에서 큰비쭉(Af)으로부터 12주, 해국(As)으로부터 5주, 갯질경이(Pc)로부터 5주, 땅채송화(So)로부터 5주 및 갯강아지풀(Sv)로부터 9주가 분리 및 동정되었다. 내생진균류의 염기서열은 NCBI의 GenBANK에 등록하여 모든 내생진균류에 대한 accession number [JX220233 - JX220268]를 부여받았다(Table 2). 그리고 내생진균류는 식물코드(plant code) Af에서 4속 10종, As에서 3속 5종, Pc에서 3속 5종, So에서 5속 5종, Sv에서 3속 6종에 해당하는 내생진균류를 확인하였다(Table 3).

내생진균류의 계통분석결과 Af에서 자낭균문(Ascomycota), Eurotiales목, Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium*속, *Neosartorya*속, *Aspergillus*속과 *Pleosporales* 목, *Pleosporaceae*과에 속하는 *Pyrenochaeta*속이 확인되었다. As에서는 Ascomycota문, Eurotiales목, Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium*속, *Aspergillus*속과 Hypocreales목, Nectriaceae과에 속하는 *Fusarium*속이 확인되었다. Pc에서는 Ascomycota문, Eurotiales목, Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium*속, *Aspergillus*속과 Capnodiales목, Davidiellaceae과에 속하는 *Cladosporium*속이 확인 되었다. So에서는 Ascomycota문, Eurotiales목, Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium*속, *Aspergillus*속, *Neosartorya*속과 Hypocreales목,

Table 1. Details of coastal plants collected in the study

Scientific name of plant samples	Plant code	Habitat
<i>Artemisia fukudo</i> Makino	Af	Coast
<i>Aster spathulifolius</i> Maxim.	As	Coast
<i>Plantago camtschatica</i> Cham.	Pc	Coast
<i>Sedum oryzifolium</i> Makino	So	Coast
<i>Setaria viridis</i> Makino	Sv	Coast

Table 2. The identification of endophytic fungi isolated in this study

Fungal isolates	Closest relative based on sequence homology	Similarity (%)	GenBank No.
U-Af-1-2	<i>Penicillium pinophilum</i> KUC1758 (HM469418)	100	JX220233
U-Af-1-3	<i>Pyrenochaeta</i> sp. OUCMBI101086 (HQ914829)	100	JX220234
U-Af-1-4-2	<i>Penicillium glabrum</i> 4AC2K (GU372904)	100	JX220235
U-Af-1-5	<i>Neosartorya aureola</i> NRRL 20643 (EF669945)	100	JX220236
U-Af-1-7	<i>Penicillium glabrum</i> KUC1553 (HM469402)	100	JX220237
U-Af-1-7-1	<i>Penicillium spinulosum</i> 8/4 (HQ680956)	99	JX220238
U-Af-1-8	<i>Penicillium thomii</i> song-40 (EU910586)	99	JX220239
U-Af-1-9	<i>Aspergillus izukae</i> NRRL 35046 (EF669596)	100	JX220240
U-Af-1-10	<i>Penicillium meleagrinum</i> KUC1678 (HM469412)	100	JX220241
U-Af-1-11	<i>Penicillium citrinum</i> KUC3084 (HM469428)	100	JX220242
U-Af-1-11-1	<i>Penicillium purpurogenum</i> 119 (DQ681328)	97	JX220243
U-Af-1-11-2	<i>Penicillium</i> sp. 2 JJK-2011 (HM469401)	97	JX220244
U-As-1-3	<i>Fusarium oxysporum</i> BWH-F (JQ301897)	100	JX220245
U-As-1-5	<i>Penicillium sclerotiorum</i> NRRL 2074 (AF033404)	98	JX220246
U-As-1-7	<i>Penicillium canescens</i> NRRL 910 (AF033493)	100	JX220247
U-As-1-8	<i>Aspergillus niger</i> 91718 (JN565296)	100	JX220248
U-As-2-4	<i>Fusarium</i> sp. AJH20 (EU605879)	100	JX220249
U-Pc-1-4	<i>Penicillium ochrochloron</i> KUC1348-1 (HM469394)	99	JX220250
U-Pc-1-5	<i>Penicillium viticola</i> (AB606414)	100	JX220251
U-Pc-2-1	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (FR837924)	100	JX220252
U-Pc-2-3	<i>Penicillium oxalicum</i> NRRL 35183 (DQ123663)	100	JX220253
U-Pc-2-4	<i>Aspergillus tubingensis</i> Uf125-1 (JQ693399)	100	JX220254
U-So-1-1	<i>Fusarium</i> sp. WF157 (HQ130713)	100	JX220255
U-So-1-3	<i>Neosartorya aureola</i> NRRL 20643 (EF669945)	100	JX220256
U-So-2-1	<i>Phoma herbarum</i> M16 (EU082106)	99	JX220257
U-So-2-6	<i>Aspergillus niger</i> MUM05.13 (JF838357)	100	JX220258
U-So-3-1	<i>Penicillium thomii</i> (FR670339)	100	JX220259
U-Sv-1-1	<i>Penicillium oxalicum</i> KUC1674 (HM469410)	100	JX220260
U-Sv-1-2	<i>Penicillium thomii</i> (FR670338)	100	JX220261
U-Sv-1-4	<i>Penicillium pinophilum</i> (AB606412)	100	JX220262
U-Sv-1-5	<i>Penicillium pinophilum</i> NRRL 58691 (GQ337428)	99	JX220263
U-Sv-2-2	<i>Penicillium thomii</i> FRR 2077 (AY373934)	100	JX220264
U-Sv-2-2-1	<i>Penicillium pinophilum</i> KUC1758 (HM469418)	100	JX220265
U-Sv-2-4	<i>Alternaria mali</i> B8 (JF802106)	100	JX220266
U-Sv-2-5	<i>Exserohilum rostratum</i> L3 (JN179081)	100	JX220267
U-Sv-3-1	<i>Penicillium funiculosum</i> NRRL 35431 (GU183120)	100	JX220268

Table 3. Endophytic fungi isolated from the five coastal plants were 36 fungal strains. Coastal plants data present scientific name, plant code, taxon of fungal strain, and fungal isolates, respectively.

Scientific name of plant samples	Plant code	Taxon of fungal strains	Fungal isolates
<i>Artemisia fukudo</i> Makino	Af	4 genera 10 species	12
<i>Aster sphathulifolius</i> Maxim.	As	3 genera 5 species	5
<i>Plantago camtschatica</i> Cham.	Pc	3 genera 5 species	5
<i>Sedum oryzifolium</i> Makino	So	5 genera 5 species	5
<i>Setaria viridis</i> Makino	Sv	3 genera 6 species	9

Nectriaceae과, *Fusarium*속이 확인되었고, Pleosporales목, Didymellaceae과에 속하는 *Phoma*속이 확인되었다. Sv에서는 Ascomycota문, Eurotiales목, Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium*속과 Pleosporales목, Pleosporaceae과에 속하는

*Alternaria*속, *Exserohilum*속이 확인되었다. 그리고 내생진균류 36균주를 목으로 분류하였을 때, 분포 비율은 각각 Eurotiales 78%, Pleosporales 11%, Hypocreales 8%, Capnodiales 3%인 것으로 확인되었고, 속으로 분류하였을 때, *Penicillium*속 61%,

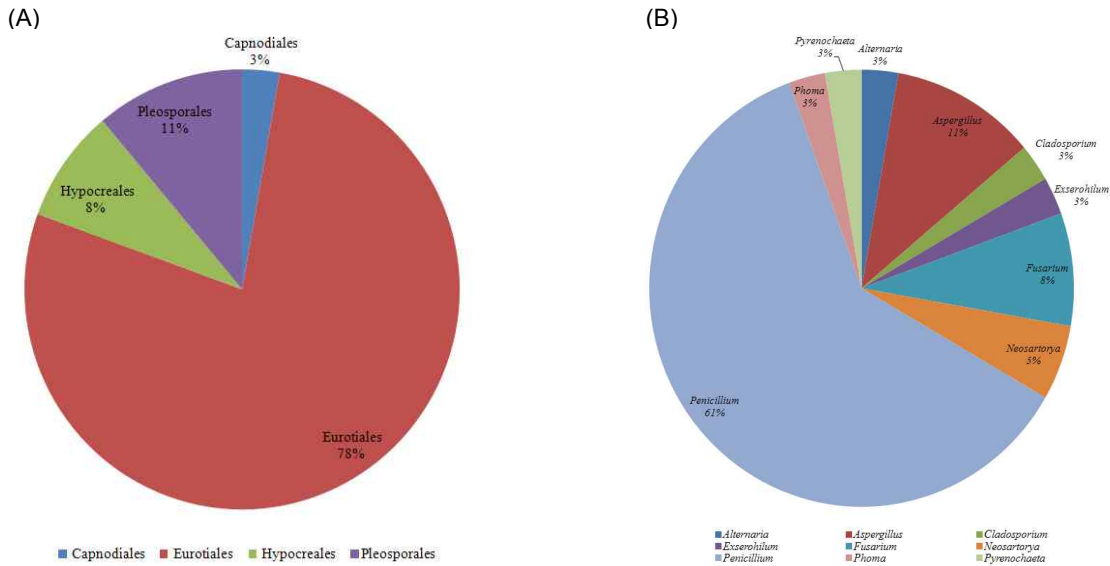


Fig. 1. The graph showed that all isolated endophytic fungi belong to the order and genus level (%). Classification of endophytic fungi isolated from the root of coastal plants naturally growing in Ulleung island. 36 fungal strains belonging to 9 genera were identified from coastal plants in Ulleung island. (A) Fungal taxonomic (Order), (B) Fungal taxonomic (Genus)

*Aspergillus*속 11%, *Fusarium*속 8%, *Alternaria*속 3%, *Cladosporium*속 3%, *Exserohilum*속 3%, *Neosartorya*속 3%, *Pyrenochaeta*속 3% 그리고 *Phoma*속 3%에 해당하는 비율을 나타내었다(Fig. 1).

본 연구는 울릉도 해안에 우점종으로 자생하고 있는 5종의 해안식물로부터 총 9속에 해당하는 내생진균류를 분리 및 동정하였다. *Alternaria* 속의 경우 Sv에서 1 주의 균주만이 분리되었으며, 분리된 *Alternaria mali* 균주는 일반적으로 사과나무의 잎이나 과실의 내생진균으로 사과나무점막엽병을 유발하고 [26] alternariol, altenuene 등 5가지 *Alternaria* 진균독소를 생성하는 것으로 알려져 있다[21]. *Aspergillus* 속은 Sv를 제외한 모든 식물로부터 1 균주씩 분리되었으며, 이 중 *Aspergillus tubingensis*의 경우 식물생장촉진 호르몬을 생산하는 내생진균으로 알려지고 있다[40]. 그리고 *Cladosporium* 속은 Pc에서만 1 균주가 분리되었고, 분리된 *Cladosporium cladosporioides* 균주의 경우 본 연구에서는 적은 비율로 나타났지만 이집트 홍해의 해안가의 염생식물에서는 우점하는 내생진균으로 분리되기도 하였다[5]. *Exserohilum* 속은 Sv에서만 1 균주가 분리되었으며, *Exserohilum rostratum*는 항진균활성을 가지는 monocerin의 유도체인 11-Hydroxymonocerin을 생산하는 것으로 보고되었다[30]. *Fusarium* 속은 As와 So에서 2 균주와 1균주로 각각 분리되었고, 분리된 균주 중 *Fusarium oxysporum*는 일반적으로 식물 병원성 및 내생진균으로 잘 알려져 있다[7]. *Neosartorya* 속은 Af와 So에서 각 한 균주씩 분리되었으며, *Aspergillus* 속의 완전세대를 지칭하며 [10,29], 국내에서 *Neosartorya* 속에 속하는 균주의 분리 및 신종 발견이 홍 등 [11,12]에 의해 이루어졌고, 현재까지 밝혀진 *Neosartorya* 속

중 일부는 탄화수소 및 디젤 등을 분해하는 활성을 가지는 것으로 알려져 있다[2,23,38]. *Penicillium* 속은 모든 식물에 걸쳐 가장 많이 분리되었고, 일반적으로 식물의 뿌리에 우점하는 내생진균으로 알려져 있으며 [39,41,42], *Phoma* 속은 So에서 한 개의 균주가 분리되었고, *Phoma herbarum*은 높은 염농도와 저온의 환경에도 강한 적응력을 가지고 있으며 [34,37], 식물생장촉진 호르몬을 생산 하는 것으로 보고되었다[8]. 그리고 *Pyrenochaeta* 속은 Af에서 1 균주만이 분리되었고, 난초의 뿌리에서 분리한 내생진균의 다양성 연구에서 유서조설란 (*Holcoglossum weixiense*)의 뿌리로부터 1 균주만이 분리된 것과 마찬가지로 *Pyrenochaeta* 속은 내생진균 중 적은 비율을 차지함을 알 수 있었다[32].

울릉도 해안에 자생하는 식물의 뿌리로부터 분리 및 동정된 내생진균류의 계통학적 유연관계를 확인하기 위하여 균류들 간의 계통수를 작성하였고, 전체 내생진균류에 대한 목과 과를 나타내어 분류 및 표기하였다(Fig. 2). 내생진균류의 모든 균주는 자낭균문에 속하며 4목, 5과, 9속에 해당하는 것을 확인할 수 있었고, Eurotiales 목 Trichocomaceae과에 속하는 *Penicillium* 속, *Aspergillus*속이 우점종으로 분포하고 있음을 확인하였다.

해안식물의 뿌리로부터 분리된 내생진균류의 다양성을 확인하기 위하여 Shannon's diversity index를 적용하였다. 그리고 해안식물에 따른 각 내생진균류의 다양성 지수는 Af (0.837), As (1.055), Pc (0.950), So (1.609), Sv (0.684)로 확인되었다(Table 4). Shannon's diversity index (H')는 So에서 분리된 내생진균류의 다양성이 1.609로 가장 높은 지수를 나타내었고, Sv에서 분리된 내생진균류의 다양성지수가 0.684로 가

Table 4. Diversity index of endophytic fungal strains isolated from the roots of coastal plants collected in Ulleung island.

Fungal taxonomic	Af	As	Pc	So	Sv
<i>Alternaria</i>					1
<i>Aspergillus</i>	1	1	1	1	
<i>Cladosporium</i>			1		
<i>Exserohilum</i>					1
<i>Fusarium</i>		2		1	
<i>Neosartorya</i>	1			1	
<i>Penicillium</i>	9	2	3	1	7
<i>Phoma</i>				1	
<i>Pyrenochaeta</i>	1				
Total	12	5	5	5	9
Diversity Index (<i>H'</i>)	0.837	1.055	0.950	1.609	0.684

The Shannon's diversity index (*H'*) on genus level of endophytic fungal strains isolated from the roots of coastal plants collected in Ulleung island were analyzed.

며, 그리고 갯벌유래 자생 균류의 경우에 분류체계가 명확하지 않은 *Epicoccum*속, *Macrophoma*속, *Microsphaeropsis*속, *Phaeomyces*속이 나타나는 것을 비교할 수 있었다. 울릉도 해안 지역에 자생하는 식물과 갯벌에 자생하는 염생식물에 따른 내생진균의 다양성은 숙주와 그 자생환경에 따라 조금씩 다르게 나타났으나, 자낭균문인 *Penicillium*속에 포함되는 균류들이 공통적으로 많은 것을 확인하였으며, *Penicillium*속의 분포 비율이 다른 속에 비해 높은 것을 확인 할 수 있었다.

본 연구는 울릉도 해안에 자생하는 해안식물의 뿌리로부터 내생진균류의 분포 및 다양성을 확인 하였고, 염농도가 높은 해안환경에서의 균류자원 및 미생물 다양성연구에 기초자료가 될 것이라 생각된다.

감사의 글

본 연구는 환경부 '차세대 에코이노베이션 기술개발사업' 및 2012학년도 경북대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사를 드립니다.

References

1. Arnold, E. A., Mejia, L. C., Kyllö, D., Rojas, E., Maynard, Z., Robbins, N. and Herre, E. A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 15649-15654.
2. Chaillan, F., Fleche, A. L., Bury, E., Phantavong, Y., Grimont, P., Saliot, A. and Oudot, J. 2004. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Res. Microbiol.* **155**, 587-595.
3. Chapman, V. J. 1974. Salt Marshes and Salt Deserts of the World. *Ecology of Halophytes*. pp. 3-22, Academic Press, New York.
4. Ding, B., Yin, Y., Zhang, F. and Li, Z. 2011. Recovery and

- phylogenetic diversity of culturable fungi associated with marine sponges *Clathrina luteoculcitella* and *Holoxea* sp. in the South China Sea. *Mar. Biotechnol.* **13**, 713-721.
5. El-Morsy, E. M. 2000. Fungi isolated from the endorhizosphere of halophytic plants from the Red Sea Coast of Egypt. *Fungal Diversity* **5**, 43-54.
6. Gomes, N. C. M., Cleary, D. F. R., Pinto, F. N., Egas, C., Almeida, A., Cunha, A., Mendonça-Hagler, L. C. S. and Smalla, K. 2010. Taking root: enduring effect of rhizosphere bacterial colonization in mangroves. *PLoS ONE* **5**, e14065.
7. Gordon, W. L. 1965. Pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Can. J. Bot.* **43**, 1309-1318.
8. Hamayun, M., Khan, S. A., Khan, A. L., Rehman, G., Sohn, E. Y., Shah, A. A., Kim, S. K., Joo, G. J. and Lee, I. J. 2009. *Phoma herbarum* as a new gibberellin-producing and plant growth-promoting fungus. *J. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 1244-1249.
9. Hamayun, M., Khan, S. A., Khan, M. A., Khan, A. L., Kang, S. M., Kim, S. K., Joo, G. J. and Lee, I. J. 2009. Gibberellin production by pure cultures of a new strain of *Aspergillus fumigatus*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 1785-1792.
10. Hong, S. B., Go, S. J., Shin, H. D., Frisvad, J. C. and Samson, R. A. 2005. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia* **97**, 1316-1329.
11. Hong, S. B., Cho, H. S., Shin, H. D., Frisvad, J. C. and Samson, R. A. 2006. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *Int J Systemat Evol Microbiol.* **56**, 477-486.
12. Hong, S. B., Kim, D. H., Park, I. C., Samson, R. A. and Shin, H. D. 2010. Isolation and Identification of *Aspergillus* Section *Fumigati* Strains from Arable Soil in Korea. *Mycobiology* **38**, 1-6.
13. Hwang, J. S., You, Y. H., Bae, J. J., Khan, S. A., Kim, J. G. and Choo, Y. S. 2011. Effects of endophytic fungal secondary metabolites on the growth and physiological response of *Carex kobomugi* Ohwi. *J. Coastal Res.* **27**, 544-548.
14. Kawaide, H. and Sassa, T. 1993. Accumulation of gibberellin A₁ and the metabolism of gibberellin A₉ to gibberellin A₁ in a *Phaeosphaeria* sp. L 487 culture. *Biosci. Biotech. Biochem*

- 57, 1403-1405.
15. Kawanabe, Y., Yamane, H., Murayama, T., Takahashi, N., and Nakamura, T. 1983. Identification of gibberellin A3 in mycelia *Neurospora Crassa*. *Agric. Biol. Chem* **47**, 1693-1694.
 16. Khan, S. A., Hamayun, M., Yoon, H. J., Kim, H. Y., Suh, S. J., Hwang, S. K., Kim, J. M., Lee, I. J., Choo, Y. S., Yoon, U. H., Kong, W. S., Lee, B. M. and Kim, J. G. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum* *BMC Microbiol.* **8**, 231.
 17. Khan, S. A., Hamayun, M., Kim, H. Y., Yoon, H. J., Lee, I. J. and Kim, J. G. 2009a. Gibberellin production and plant growth promotion by a newly isolated strain of *Gliomastix murorum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 829-833.
 18. Khan, S. A., Hamayun, M., Kim, H. Y., Yoon, H. J., Seo, J. C., Choo, Y. S., Lee, I. J., Kim, S. D., Rhee, I. K. and Kim, J. G. 2009b. A new strain of *Arthrinium phaeospermum* isolated from *Carex kobomugi* Ohwi is capable of gibberellin production. *Biotechnol. Lett.* **31**, 283-287.
 19. Khan, A. L., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., Jung, H. Y., Lee, J. H. and Lee, I. J. 2012. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiol.* **12**, 3.
 20. Kil, Y. J., Eo, J. K. and Eom, A. H. 2009. Molecular identification and diversity of endophytic fungi isolated from *Pinus densiflora* in Boeun, Korea. *Korean J. Mycol.* **37**, 130-133.
 21. Lee, H. B. and Yu, D. H. 1995. Distribution of mycotoxin-producing isolates in the Genus *Alternaria*. *Korean J. Plant Pathol.* **11**, 151-157.
 22. Lee, J. H., Cho, H. J., Lee, B. C., Oh, S. H. and Bae, K. H. 2007. Forest vegetation types and growth characteristics of Seongin-bong in Ulleung Island, Korea. *Korean J. Agric. For. Meteorol.* **9**, 37-48.
 23. Naranjo, L., Urbina, H., Sisto, A. D. and Leon, V. 2007. Isolation of autochthonous non-white rot fungi with potential for enzymatic upgrading of Venezuelan extra-heavy crude oil. *Biocatal. Biotransformation* **25**, 341-349.
 24. Pielou, E. C. 1975. *Ecological diversity*. pp. 165, John Wiley, New York.
 25. Redman, R. S., Sheehan, K. B., Stout, R. G., Rodriguez, R. J. and Henson, J. M. 2002. Thermotolerance conferred to plant host and fungal endophyte during mutualistic symbiosis. *Science* **298**, 1581.
 26. Roberts, J. W. 1914. Experiments with apple leaf-spot fungi. *J. Agr. Res.* **2**, 57-66.
 27. Rodriguez, R. J., Redman, R. S. and Henson, J. M. 2004. The role of fungal symbioses in the adaptation of plants to high stress environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* **9**, 261-272.
 28. Rodriguez, R. J., Henson, J., Van, V. E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., Kim, Y. and Redman, R. S. 2008. Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME J.* **2**, 404-416.
 29. Samson, R. A., Hong, S., Peterson, S. W., Frisvadand, J. C. and Varga, J. 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. *Stud. Mycol.* **59**, 147-203.
 30. Sappapan, R., Sommit, D., Ngamrojanavanich, N., Pengpreecha, S., Wiyakrutta, S., Sriubolmas, N. and Pudhom, K. 2008. 11-Hydroxymonocerin from the plant endophytic fungus *Exserohilum rostratum*. *J. Nat. Prod.* **71**, 1657-1659.
 31. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* **24**, 1596-1599.
 32. Tan, X. M., Chen, X. M., Wang, C. L., Jin, X. H., Cui, J. L., Chen, J., Guo, S. X. and Zhao, L. F. 2012. Isolation and identification of endophytic fungi in roots of nine *Holcoglossum* plants (Orchidaceae) collected from Yunnan, Guangxi, and Hainan provinces of China. *Curr. Microbiol.* **64**, 140-147.
 33. Vazquez, M. M., Cesar, S., Azcon, R. and Barea, J. M. 2000. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Appl. Soil Ecol.* **15**, 261-272.
 34. Vishniac, H. S. 1996. Biodiversity of yeasts and filamentous microfungi in terrestrial Antarctic ecosystems. *Biodivers. Conserv.* **5**, 1365-1378.
 35. Waller, F., Achatz, B., Baltruscha, T. H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D. V., Franken, P. and Kogel, K. H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to saltstress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 13386-13391.
 36. Yamada, A., Takeo, O., Yosuke, D. and Masatake, O. 2001. Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience* **42**, 43-50.
 37. Yang, X. B., Gao, X. D., Han, F. B. and Tan, R. X. 2005. Sulfation of a polysaccharide produced by a marine filamentous fungus *Phoma herbarum* YS4108 alters its antioxidant properties *in vitro*. *Biochim Biophys. Acta. Gen. Subj.* **1725**, 120-127.
 38. Yi, T. W., Lee, E. H., Park, H. R. and Cho, K. S. 2011. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Neosartorya* sp. BL4. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* **46**, 1763-1768.
 39. You, Y. H., Yoon, H., Lee, G. S., Woo, J. R., Shin, J. H., Lee, I. J., Rim, S. O., Choo, Y. S. and Kim, J. G. 2011. Diversity and plant growth-promotion of endophytic fungi isolated from the roots of plants in Dokdo islands. *J. Life Sci.* **21**, 992-996.
 40. You, Y. H., Yoon, H. J., Woo, J. R., Seo, Y. G., Shin, J. H., Choo, Y. S., Lee, I. J. and Kim, J. G. 2011. Plant growth promotion activity of endophytic fungi isolated from the roots of *Calystegia soldanella*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 324-329.
 41. You, Y. H., Yoon, Seo, H. Y., Kim, M., Kang, M. S., Kim, C. Ha, S. C., Cho, G. Y. and Kim, J. G. 2012. Genetic Diversity of Culturable Endophytic fungi Isolated from

- Halophytes Naturally Growing in Muan Salt Marsh. *J. Life Sci.* **22**, 970-980.
42. You, Y. H., Yoon, H., Woo, J. R., Seo, Y., Kim, M., Lee, G. and Kim, J. G. 2012. Diversity of Endophytic Fungi from the Roots of Halophytes Growing in Go-chang Salt Marsh. *Korean J. Mycol.* **40**, 86-92.
43. Zhang, X. Y., Bao, J. G., Wang, H., He, F., Xu, X. Y. and Qi, S. H. 2012. Diversity and Antimicrobial activity of culturable fungi isolated from six species of the South China sea gorgonians. *Microbiol. Ecol.* In press. DOI 10.1007/s00248-012-0050-x.

초록 : 해안 생태계 복원을 위한 울릉도에 자생하는 해안식물의 뿌리로부터 분리된 내생진균류의 유전적 다양성 분석

김미애^{1*} · 유영현^{1*} · 윤혁준¹ · 김 현¹ · 서영교¹ · 할무라토바 이리나¹ · 신재호³ · 이인중³ · 추연식² · 김종국^{1*}
 (¹경북대학교 생명공학부, ²경북대학교 생물학과, ³경북대학교 응용생명과학부)

본 연구에 사용된 해안식물은 울릉도의 해안지역으로부터 채집하였다. 그리고 식물은 큰비쭉, 해국, 갯질경이, 땅채송화, 갯강아지풀 등 5종류의 식물이 채집되었다. 울릉도에서 채집된 해안식물의 뿌리로부터 36주의 내생진균이 분리되었다. 모든 내생진균류는 ITS영역에 의해 분석 및 동정되었다. 그리고 계통분석 결과, 분리된 내생진균류는 모두 자낭균문에 속하고 4종류의 목(Capnodiales, Eurotiales, Hypocreales and Pleosporales)으로 분류되었으며, 이 중 Eurotiales 목이 가장 분포 비율이 높은 것으로 확인되었다. 그리고 내생진균류를 속으로 분류하였을 때, 9종류의 속(*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Exserohilum*, *Fusarium*, *Neosartorya*, *Penicillium*, *Phoma* and *Pyrenochaeta*)으로 분류되었으며, *Penicillium* 속과 *Aspergillus* 속이 가장 우점종으로 확인되었다. 그리고 Shannon's diversity index (H')는 0.684에서 1.609의 분포로 나타났으며, 땅채송화에서 분리된 내생진균류의 다양성이 다른 식물에 비하여 높은 것으로 확인되었다.