

# 모과나무 잔가지에서 분리한 국내 미기록 점균류 *Chaenomeles sinensis* 보고

안금란<sup>1</sup> · 김보영<sup>1</sup> · 윤여홍<sup>1</sup> · 손승렬<sup>1</sup> · 김성환<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>단국대학교 미생물학과, <sup>2</sup>단국대학교 생물다양성연구소

## A Report of an Unrecorded Slime Mold Isolated from a Twig of *Chaenomeles sinensis* in Korea

Geum Ran Ahn<sup>1</sup>, Bo Young Kim<sup>1</sup>, Yeo Hong Yun<sup>1</sup>, Seung Yeol Son<sup>1</sup> and Seong Hwan Kim<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

<sup>2</sup>Institute of Biodiversity, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

**ABSTRACT :** *Chaenomeles sinensis*, called as Chinese quince, belongs to the family Rosaceae and is widely distributed in Korea, China, and Japan. A microorganism was isolated from part of a twig of *C. sinensis* that showed an abnormal appearance. The microorganism was identified as the slime mold *Stemonaria longa* of the division Myxomycota, which was previously unrecorded in Korea. The present study reports the morphological characteristics of the isolated fungus and a phylogenetic relationship based on the  $\beta$ -tubulin gene sequences.

**KEYWORDS :** *Chaenomeles sinensis*, Chinese quince, Slime mold, *Stemonaria longa*

장미과인 모과나무(*Chaenomeles sinensis*)는 중국이 원산지로 우리나라에 도입되어 추위에 약해 중부 이남의 마을 주변에 심고 있는 낙엽 활엽의 큰키나무이다. 해변가나 대기오염이 심한 도시에서도 잘 서식하며 과일은 직접 섭취할 수 없으며 향기가 좋아 방향제 및 차나 술로 활용한다 [1]. 뿐만 아니라 약으로의 효능이 알려져 있는데 간경, 비경, 폐경에 효과가 있고 탄닌이 많이 함유되어 거담, 진통에 효과적이다 [2].

2015년 여름 천안의 모과나무 잔가지에 생겨난 병충처럼 보이는 검은색의 상처 부위에서 시료를 채집하였다(Fig.

1A). 시료의 상처 부위를 해부현미경(SZ61 stereo microscope; Olympus, Tokyo, Japan)으로 관찰(Fig. 1B) 후 부위의 일부를 생물안전작업대에서 멸균된 수술용 칼을 이용하여 1 × 1 cm로 잘랐다. 자른 절편시료를 2% 차아염소산나트륨 용액에 1분, 100% 에탄올에 1분, 멸균된 증류수에 1분씩 처리하였다가 물기를 제거하고 나서 potato dextrose agar (PDA)에 접종하였다. 시료가 접종된 PDA 배지는 25°C 배양기에 3일간 배양하였고 배지에 자라나온 균을 순수분리하였다 [3]. 순수 분리된 균의 미세구조는 광학현미경(Axioskop40; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 관찰하였으며, 분자적 특징을 알아보기 위해 drilling 방법에 따라 genomic DNA를 추출하고 [4], BT12 (5'-GTTGTCAATGCAGAAGGTCTC-3')/T10 (5'-ACGATAGTTCACTCCAGAC-3') [5] 프라이머를 이용하여  $\beta$ -tubulin gene sequence를 polymerase chain reaction (PCR) 방법으로 증폭하였다. PCR 증폭은 94°C에서 5분간 pre-denaturation 한 후, denaturation 94°C 30초, annealing 56°C 30초, elongation 72°C 30초 조건에서 총 30 cycle 진행하고 마지막으로 72°C에서 10분간 final extension하여 수행하였다. PCR 증폭된 DNA 산물은 1% (w/v) 아가로스겔 전기영동을 수행하여 확인한 후 High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Basel, Swiss)를 사용하여 정제하고 마크로젠사

Kor. J. Mycol. 2016 December, 44(4): 342-345  
<https://doi.org/10.4489/KJM.2016.44.4.342>  
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249  
 © The Korean Society of Mycology

\*Corresponding author

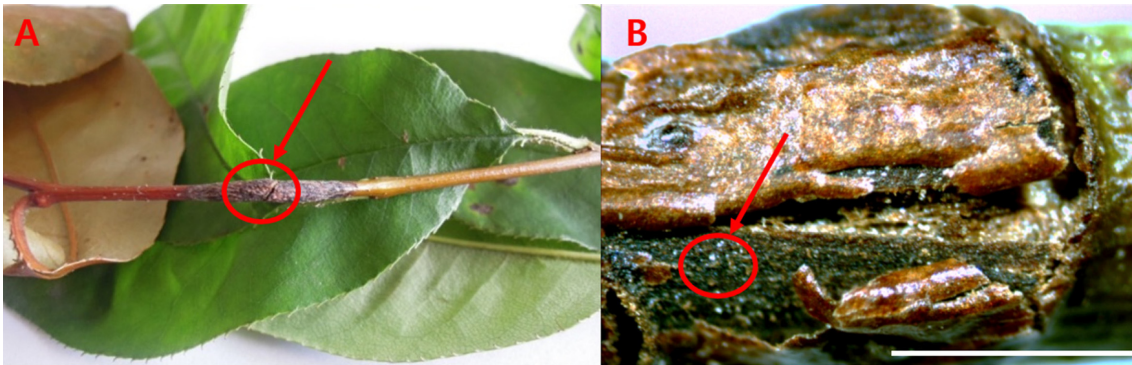
E-mail: piceae@dankook.ac.kr

Received October 24, 2016

Revised November 8, 2016

Accepted November 14, 2016

©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.



**Fig. 1.** Photo of a twig of *Chaenomeles sinensis* with a discolored and slightly protruded region (A) and stereoscopic microscopic image of the region (40×) (B). Arrow indicates sampling point for microorganism isolation (scale bar = 10 μm).

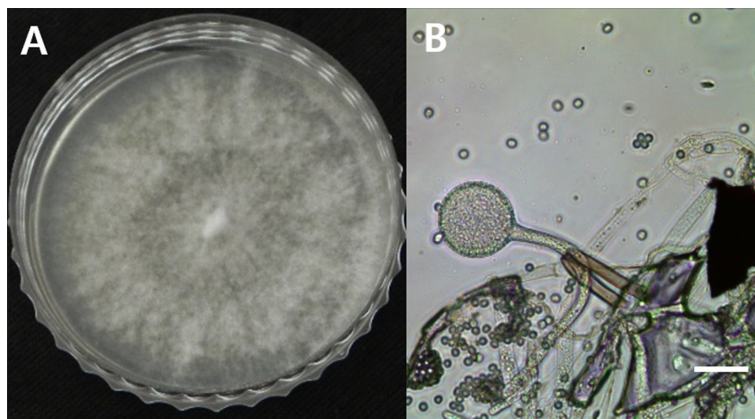
(Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 분석하였다. 분석 균주와 관련된 taxon의 염기서열은 NCBI의 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>)에서 다운받아 사용하였고 MEGA 6 프로그램을 이용하여 염기서열의 유사도 및 phylogenetic analysis를 수행하였다. 계통도는 neighbor-joining 방법 [6]으로 분석하였고 계통도 가지의 clade 신뢰도는 1,000번의 bootstrap resampling을 수행하여 평가하였다. 동정된 균주 DK10-18는 국립생물자원관에 기탁하여 NIBR FGC000146299으로 기탁번호를 받았다.

***Stemonaria longa* DK10-18 (NIBRFGC000146299)**

2015년 여름 충남 천안의 모과나무 잔가지에서 분리되었다. 분리된 균주 DK10-8을 PDA 배지에 25°C 10일간 배양한 결과 균층의 직경은 약 85 mm이고 밀도는 조밀하였으며 표면은 미색 또는 회색이다(Fig. 2A). 포자낭(sporangia)은  $11.6 \pm 0.1 \times 10.8 \pm 0.1 \mu\text{m}$  크기의 타원형의 모양이었다(Fig. 2B). DK10-18 균주는 *Stemonaria longa*의  $\beta$ -tubulin gene sequence (JX681140)와 100% 유사도를 보였다. 국제적으로 아직 점균류에 대한 계통분석학적 연구는 매우 미

비한 실정이므로 GenBank database를 통한 유사도 검색에서 가깝게 나타난 균류들과의 관계를 참고하기 위해 phylogenetic analysis 통해 유연 관계를 본 결과는 Fig. 3에 제시하였다. *Stemonaria longa* (NIBRFGC000146299)와 일치한 균인 *Stemonaria longa* Nann. -Bremek., Y. Ymam. & R. Sharma는 원생동물계(kingdom: Protozoa), 점균문(phylum: Myxomycota), 점균강(class: Myxomycetes), 스테모니티스목(order: Stemonitales), 스테모니티스과(family: Stemonitidaceae)에 속하는 점균류(slime mold) 또는 변형균류(myxomycota)이다[7].

변형균류는 엽록소가 없어 종속 영양생활을 하며 주로 고목, 낙엽, 풀잎, 살아있는 나무껍질 등에서 서식하며 포자로 번식하는 점에서는 균류에 가깝다. 환경이 좋지 않을 때 균핵을 만들고 환경이 좋아지면 발아하여 생활하며 점액물질이 존재하여 점균류라고도 한다[8]. 국내에서 *Stemonaria* 속에 속하는 종이 지금까지 2종이 고목에서 분리 보고되었고, 자주색슬점균 *S. flavogenita* (전북 진안군 운장산)와 *S. fusca* (충북 영동군 민주지산)이다[7]. 본 연구에서 추가로 *S. longa*를 보고함으로써 이제 우리나라에서 총 3종의 *St-*



**Fig. 2.** Colony morphology on potato dextrose agar plate (A) and a light microscopic image (B) of sporangia and sporangiospores of *Stemonaria longa* isolated from *Chaenomeles sinensis* (scale bar = 10 μm).

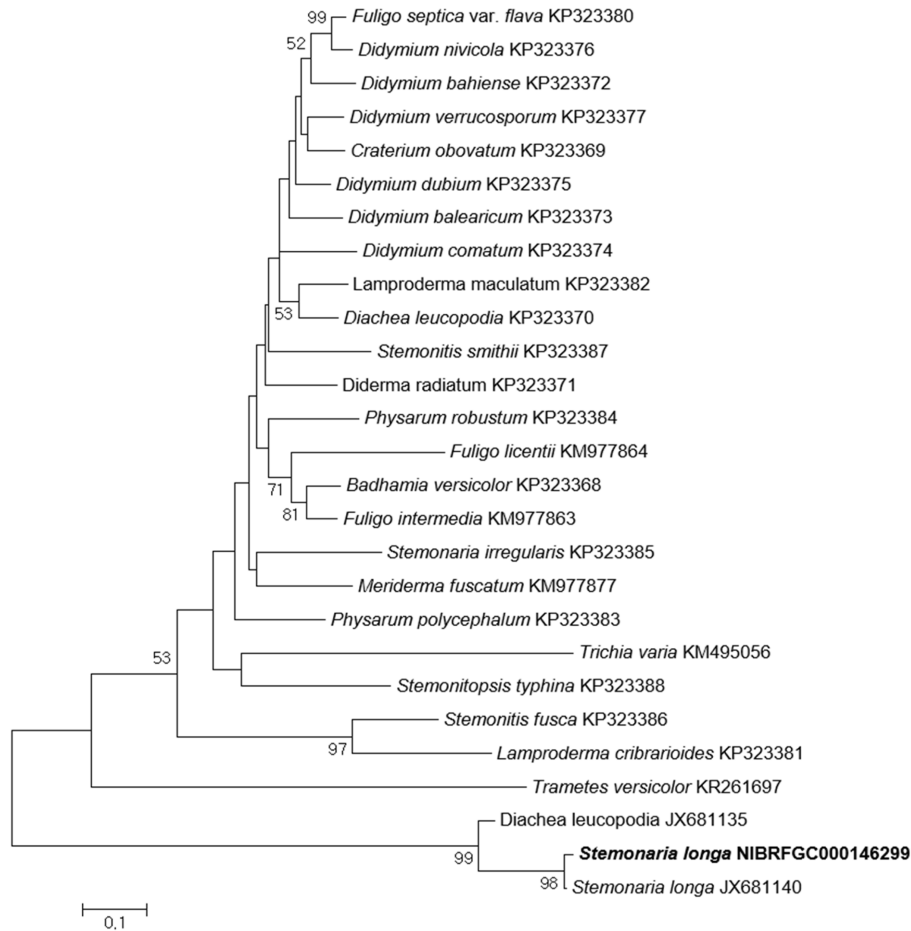


Fig. 3. Phylogenetic relationships of slime molds by the neighbor joining analysis based on the  $\beta$ -tubulin gene sequence data. Bootstrap value is given above/below the node. The Korean isolate is in bold.

*monaria*가 존재함을 알 수 있다.

본 변형균류가 분리된 부위가 가지의 오목하게 가리앉은 이상 증상이 있는 부위였는데 분리 당시 본 변형균류가 생성하는 특징인 갈색이나 암갈색의 자실체는 존재하지 않았다. 또한 가리앉은 부위에서 다른 균은 검출되지 않았다. 따라서 살아 있는 가지에서 분리되었기에 추가적으로 병원성 검증은 진행 예정이다. 더불어 비록 변형균류에 대한 종 보고는 많이 있으나 실험실에서 배양하여 볼 수 있는 균주는 국내는 물론 국외에서도 매우 드문 실정이다. 따라서 앞으로 본 배양이 가능한 균주를 이용하여 다양한 환경과 기질에서 변형하면서 분화하는 형태를 관찰할 수 있을 것으로 기대된다. 이는 아직도 생태적, 생리적, 생화학적, 유전학적 정보가 매우 부족한 *Stemonaria*속 균류의 연구에 매우 귀중한 유전자원으로 활용될 것으로 전망된다.

## 적 요

모과나무 가지의 일부에서 이상 증상이 있는 부위로부터 균을 순수분리하여 균류에 대한 형태적 특성과 더불어  $\beta$ -

tubulin 유전자 염기서열에 기반한 계통학적 분석을 수행하였다. 동정된 균은 점균류에 속하는 *Stemonaria longa*로 확인되었으며 국내 미기록 종임을 확인하였다.

## Acknowledgements

This work was supported by the Project on Survey and Discovery of Indigenous Species of Korea funded by NIBR of the Ministry of Environment (MOE), Republic of Korea.

## REFERENCES

1. Choi MS. *Chaenomeles sinensis*. Landscaping tree 2006;92:19-20.
2. Cho TD. Encyclopedia of Korean herbs. Seoul: Daewonsa; 2006.
3. Hollowell JE, Shew BB, Isleib TG. Evaluating isolate aggressiveness and host resistance from peanut leaflet inoculations with *Sclerotinia minor*. Plant Dis 2003;87:402-6.
4. 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.
5. Kim JJ, Kim SH, Lee S, Breuil C. Distinguishing *Ophiostoma ips* and *Ophiostoma montium*, two bark beetle associated sap-stain fungi. FEMS Microbiol Lett 2003;222:187-92.
  6. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987;4: 406-25.
  7. Nannenga-Bremekamp NE, Yamamoto Y, Sharma R. *Stemonaria*, a new genus in the Stemonitaceae and two new species of *Stemonitis* (Myxomycetes). Proc Kon Ned Akad Wetensch C 1985;87:449-69.
  8. Cho DH. Biodiversity of Korean Myxomycetes (II). Korean J Plant Resour 2003;16:245-50.