

국내 해송에서 분리한 변색균 *Ophiostoma quercus*의 균학적 특성

현민우 · 서동연 · 윤여홍 · 김성환*

단국대학교 미생물학과 및 기초과학연구소

Mycological Characteristics of *Ophiostoma quercus*, a Sap-staining Fungus Isolated from Japanese Black Pine in Korea

Min Woo Hyun, Dong Yeon Suh, Yeo Hong Yun and Seong Hwan Kim*

Department of Microbiology and Institute of Basic Sciences, Dankook University, Cheonan, Chungnam 330-714, Korea

(Received November 26, 2008. Accepted December 24, 2008)

ABSTRACT: One of the sapstain fungal species isolated from the stained sapwood of a Japanese black pine in Korea was characterized. The fungal species is tolerant to cycloheximide and has *Petosum*-like synnema and *Sporothrix* type synanamorph which are found in the anamorphs of the *Ophiostoma piceae* complex group. But the species could not form perithecia on MEA. Based on cultural and morphological properties and analysis of the β -tubulin gene sequence, the fungal species was identified as *Ophiostoma quercus*. Here, we report mycological characteristics of the anamorphic stage of *Ophiostoma quercus* isolated in Korea.

KEYWORDS: Japanese Black Pine, *Ophiostoma piceae* complex, *O. quercus*, β -tubulin gene

목재변색균과 수목병원균을 포함하는 *Ophiostoma* 균류는 분류 지표로 볼 때 자낭균류문(Ascomycota), 각균강(Pyrenomycete), 장경자낭각균목(Ophiostomatales), 오피오스토마과(Ophiostomataceae), 오피오스토마속(*Ophiostoma*)에 속한다. *Ophiostoma*속은 장경자낭각(perithecia; long necked fruiting body)과 분생포자경속(Synnema)의 형태적 특징이 있는 균류이다. 이들 중 *O. piceae* complex 그룹에 속하는 종들은 그 형태가 매우 유사하여 구분이 쉽지 않은 균류중의 하나이다. 이들 간의 형태적 구분은 분생포자경속(synnema)을 갖는 *Petosum*과 균사형의 *Sporothrix*, 분생자분지형(macronematous)을 갖는 *Leptographium* 등 다양한 무성세대의 형태(anamorph)와 더불어 자낭포자(ascospore)의 모양, 크기, 그리고 자낭각의 색, 길이와 넓이, 머릿구멍 균사(ostiolar hyphae)의 유무 등 유성세대의 형태(telemorph)에 의해 이루어진다(Hunt 1956; Upadhyay 1981; Wingfield *et al.*, 1993). *O. piceae* complex 그룹에 속하는 종은 현재 약 13종이 알려져 있는데 이들은 형태적으로 구분이 매우 어려워 ITS rDNA와 β -tubulin gene 등을 분석함으로써 구분하고 있다.

이들 균류는 전 세계적으로 널리 분포하며 나무의 백목질에서 푸른색 또는 어두운 변색을 야기하기 때문에 목재 변색균 또는 청변균으로 알려져 있다. 변색균은 목재의

상업적 가치를 떨어뜨리기 때문에 임목산업에 문제가 되는 중요한 균류이다(De Beer *et al.*, 2003; Chung *et al.*, 2006). 목재변색균에 의한 푸른 얼룩(blue stain)은 감염된 백목질의 도관 수지(resin ducts)와 방사형 유조직 세포로 집중된 곰팡이 균사에 의해 야기된다. 변색은 변색균 균사의 세포벽에 존재하는 멜라닌과 변색균이 분비하는 물질과 목재에 존재하는 물질의 반응에 의해 일어난다. 변색균은 목재에 침입 후 가도관 조직에 집락을 형성한다. 목재변색균은 가도관을 따라 수직으로 자라며 유조직에서 변색을 일으킨다. 세포벽에 직접적인 침투와 인접한 구멍을 통해 점진적으로 변색균이 퍼져가면서 이들 유조직 사이에서 변색이 번지게 된다. 변색의 부위가 넓혀지면 종국에 목재의 질을 떨어뜨리게 된다(Braiser, 1979, 1991; Braiser and Mehorthra, 1995; Harrington, 1993; Lagerberg *et al.*, 1927).

이들 *O. piceae* complex 그룹 균류중 일부는 활엽수에서도 종종 도관마름병을 일으킨다(Seifert, 1993). 이들 균류를 전파하는 매개충으로는 나무좀과 딱정벌레(bark beetles)가 알려져 있다(Wood and Bright, 1992). 도관마름병을 일으키는 균류는 곤충을 매개로 도관에 침입하여 나무의 수분이동을 방해 한다. 그 중 가장 잘 알려진 종으로는 *O. ulmi*와 *O. novo-ulmi*, *O. himal-ulmi*가 있다(Braiser, 1979, 1990). 이들 종은 느릅나무 마름병(Dutch elm disease)의 전염인자로 북유럽과 북미, 아시아 일부에서 발생하여 큰 피해를 주었다. 이는 *O. piceae* complex

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

그룹에 속하는 일부 목재변색균들이 수목병리학적으로도 매우 중요한 의미를 가지고 있음을 보여준다(Braiser, 1979; Wilhelm *et al.*, 2003). 그리고 *O. piceae* complex 그룹 중 침엽수에 푸른 변색을 가져오는 종으로 *O. piceae*, *O. quercus*, *O. floccosum*, *O. canum*, *O. catonianum*, *O. setosum*, *O. subalpinum*, *O. ssiori*, *O. brevisculum*, *O. arduennense* 등이 알려져 있다(Seifert and Grylls, 1990; Schirp *et al.*, 1999; Chung *et al.*, 2006; Carlier *et al.*, 2006).

우리나라에서도 소나무류 목재에서 변색을 일으키는 균류에 대한 발생 보고가 있고, 이를 방제하기 위하여 *O. quercus* 백색변이균주(albino strain)을 이용한 생물학적 방제에 대한 연구도 이루어지고 있다(Lee and Oh, 2000; Cho *et al.*, 2008). 그러나 아직까지 이들 국내에서 분리된 *Ophiostoma* 균류의 균학적인 특성에 대한 보고가 전무하다. 본 연구에서는 2005과 2006년 사이에 우리나라 해송으로부터 분리한 변색균의 하나인 *O. quercus* 균류에 대하여 배양적, 형태적 특성과 함께 유전자분석을 포함한 불완전세대의 균학적 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 배양

균주의 분리를 위해서 2005년과 2006년 8월 사이에 태안의 벌목된 해송(*Pinus thunbergii*)의 줄기로부터 변색된 부분을 디스크형태로 잘라 비닐봉지에 넣어 채집한 후 실험실로 가져와 살균된 정으로 잘게 칩(chip)으로 부수었다. 마른 칩은 3차 증류수에서 1분간 씻어준 후 다시 70% ethanol에서 1분, 90% ethanol에서 1분간 처리 한 후 상온에서 표면을 건조하였다. 표면 살균된 칩은 단백질 합성을 저해하는 항생제 cycloheximide(A.G. Scientific)를 200 mg/l 농도로 포함시킨 2% malt extract agar(BD Sciences, USA)가 담긴 페트리디쉬에 놓인 후 25°C 배양기에서 1주일간 배양되었다. 배양된 칩에서 뻗어 나온 균사의 끝을 취하여 새로운 MEA 배지에 옮김으로서 분리 균주를 얻었다. 분리균주를 10일 이상 배양 후 형성된 포자를 살균수에 현탁하여 포자 현탁액을 조제하였다. 조제된 포자 현탁액을 희석하여 MEA에 다시 도말 접종하고 배양 2일 후 피어난 균층의 균사를 다시 새 배지에 접종 함으로서 단일포자 균주를 얻었다(Braiser, 1981).

배양적 특성 조사 및 cycloheximide 저항성 조사

분리된 변색균의 배양적 특성을 알아보기 위해 cycloheximide(200 mg/l)가 포함된 2% MEA 배지에서 전 배양된 균을 2% MEA(BD Sciences, USA), 2% OMEA(Oxoid, England), PDA(BD Sciences, USA) 배지에 각각 접종하여 20°C에서 7일간 배양 후 집락의 형태와 균사생장을 관찰 비교하였다. 분리된 변색균의 성장을 위한 적

정 온도를 알아보기 위해서는 2% MEA 배지에 접종하여 각각 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C에서 배양하였고 1일마다 균사의 성장을 관찰하였다. cycloheximide에 대한 저항성 조사는 각각 0.05%, 0.1%, 0.5%가 되게 cycloheximide 항생제를 첨가하여 제조한 2% OMEA배지에 접종 후 25°C에서 배양하면서 균사의 성장을 관찰하였다.

형태학적 관찰

분리된 균주들(DKM 0511, DKM 0512, DKM 0513)을 2% Oxoid MEA에 접종하여 25°C에서 7~8일간 배양하면서 그 형태를 관찰하였다. 형태관찰은 위상차 현미경(Karl Zeiss, Axioskop 40, Germany)과 해부현미경(Olympus SZ51, Japan)을 이용하여 관찰 대상 균류가 형성한 분생포자경속, 분생포자, 분생포자경속 상에 분생포자당리의 모양과 색을 관찰하고 이들의 크기를 측정하였다. 그리고 주사전자현미경(SEM, Hitachi 4300, Japan)을 이용하여 분생포자경속의 발달과 무성세대, 분생포자의 미세구조를 관찰하였다.

분자생물학적 방법을 이용한 변색균의 동정

Genomic DNA의 추출. DNA 추출은 2% MEA에 균을 정중하여 25°C 암 상태에서 7일 동안 배양 후 형성된 균주의 포자 100 μ l를 취하여 멸균된 3차 증류수에 부유시킨 다음 멸균된 셀로판(BioRad, USA)을 깔은 2% MEA(Difco, USA) 배지위에 도말하여 25°C에서 3일 동안 배양하였다. 배양 후 균사 0.3 g을 멸균된 2 ml cryogenic vial 튜브에 옮겼던 후 TES buffer(50 mM Tris-HCl[pH 8.5], 50 mM EDTA, 3% sodium dodecyl sulfate) 200 μ l를 첨가 하여 균사를 부유하였다. 부유된 균사는 드릴을 이용하여 얼음 위에서 2분 동안 분쇄하고 2분간 대기 하였다가 다시 2분간 분쇄 하였다(Kim *et al.*, 1999). 그리고 분쇄된 균사에 3 mM sodium acetate(pH 5.2) 150 μ l를 첨가하고, -20°C에서 10분간 보관 후 냉장원심분리기(Sigma, Germany)에서 13,000×g로 10분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 1.5 ml 튜브에 옮긴 후 동량의 phenol:chloroform:isoamylalcohol(25:24:1; Amresco, USA)를 첨가하여 잘 섞고 다시 냉장원심분리기로 5분간 원심분리 하였다. 원심분리된 상층액을 취하여 다시 새 튜브로 옮기고 동량의 isopropanol(Sigma, USA)을 첨가하여 상온에서 5분 동안 처리하였다. 처리된 튜브를 다시 원심분리 하여 DNA를 침전시켰다. 침전된 DNA는 70% ethanol 750 μ l을 첨가하여 표면을 살짝 씻어준 후 4°C 냉장원심분리기에서 13000×g로 5분간 원심분리한 다음 ethanol을 버리고나서 상온에서 건조시켰다. 건조된 침전 DNA에 50 μ l TE buffer(10 mM Tris[pH 8.0], 1 mM EDTA)를 첨가하여 DNA를 용해한 후 UV-VIS spectrophotometer(BIOmate)를 이용하여 DNA양을 정량하였고 PCR 분석에 사용하였다.

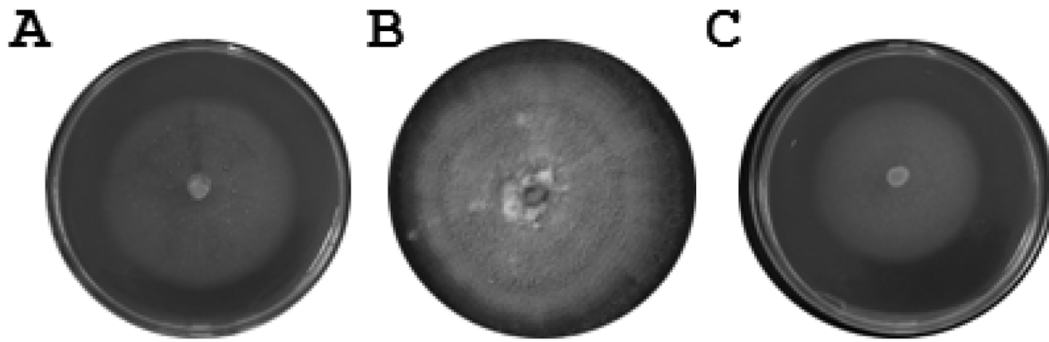


Fig. 1. Colony features of the isolate DKM 0511 grown for 7 days at 20°C on 2% MEA (A), 2% OMEA (B), and PDA (C).

PCR을 이용한 β -tubulin 유전자의 증폭과 염기서열 분석

PCR 반응은 Gene Amp-950 cycler(ABI, USA)를 이용하여 수행하였다. PCR반응을 위한 primer는 Ophiostomatoid 곰팡이와 자낭균류에 특이적으로 부착하는 T10 forward primer(5'-ACGATAGGTTACCTCCAGAC-3')와 BT12 reverse primer(5'-GTTGTCAATGCAGAAGGTCTC-3')을 사용하였다(O'Donnel *et al.*, 1997; Schroeder *et al.*, 2001). PCR 반응물의 조성은 10× reaction buffer 2.5 μ l, 10 mM dNTPs 0.5 μ l, 5× Band doctor 2.5 μ l, 20 pmol primer 각 1 μ l, template DNA 1 μ l(fungal genomic DNA 100 ng/ μ l), 3차 멸균 증류수 17 μ l, 2.5 U EF-Taq polymerase 0.5 μ l(Solgent, Korea)를 첨가하여 총 25 μ l의 반응물을 만든 후 반응하였다. 반응 조건은 초기 변성(initial denaturation)은 94°C에서 5분 실시하였고, 변성(denaturation) 94°C에서 1분, 가열냉각(annealing)은 56°C에서 40초, 증폭(extension)은 72°C에서 1분 30초로 30회 반복하였다. 그리고 마지막으로 72°C에서 5분 동안 증폭한 후 4°C에서 보관하였다. 증폭된 PCR 반응산물은 1% agarose gel상에서 전기영동으로 확인하였고 Gel extraction kit을 이용하여 PCR 반응산물을 정제하였다(Solgent, Daejeon, Korea). 정제된 산물은 pCR2.1-TOPO vector (Invitrogen, USA)에 cloning한 후 Macrogen사(Seoul, Korea)에 염기서열 분석을 의뢰하였다. 염기서열 분석은 ABI PRISM 3700 DNA Sequencer(ABI, USA)을 이용하여 BigDye™ terminator 방법을 사용하여 분석되었다. 결정된 염기서열은 NCBI GenBank database(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)에 등록된 알려진 균류의 염기서열과 상동성을 비교하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서 분리된 3개 변색 균주(DKM0511, DKM0512, DKM0513)에 대한 배양적 특성, 형태적 특성, 유전자 염기서열 구조 특성을 조사한 결과 서로 동일한 양상을 나타내어 이중의 한 균주인 DKM0511을 대표균주로 하여

그 조사된 특성을 아래와 같이 제시하였다.

배양특성 및 cycloheximide 저항성

20°C에서 7일간 배양 후 2% MEA, 2% OMEA, PDA 배지 상에서 나타나는 균총의 형태학적 특징을 관찰한 분리균주는 2% MEA상에서는 균사 색이 투명하였고 분생포자경속을 많이 만들었다(Fig. 1A). 이에 반해 2% OMEA 배지 상에서는 고리 모양의 균총을 만들며 성장하는 것을 관찰 할 수 있었다. 그러나 분생포자경속의 형성은 거의 보이지 않았다(Fig. 1B). PDA 배지 상에서의 균총 역시 분생포자경속 형성이 관찰되지 않았다. 하지만 특이하게 하얀색의 솜털 같은 균사를 많이 만드는 것을 관찰 할 수 있었다(Fig. 1C). 전반적으로 배지 별 성장에 있어서는 2% OMEA와 PDA 보다 2% MEA에서 균사가 활발하게 성장하는 것을 확인 할 수 있었다. 짙은 갈색을 띠는 분생포자경속(synnema)을 형성함에 따라 Ophiostomatoid에 속하는 균류로 추정되었다. 성장을 위한 적정 온도는 7일간 각각 다른 온도에서 배양시키면서 균사의 성장 길이를 측정하였다. 각 온도에서의 성장을 보면 10°C에서는 5 mm 15°C에서는 25 mm, 20°C에서는 30 mm,

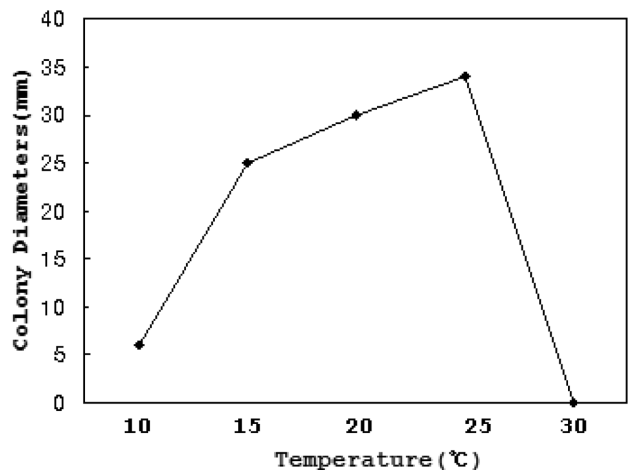


Fig. 2. Mycelial growth of the isolate DKM 0511 grown for 7 days on 2% MEA at different temperatures.

25°C에서는 35 mm의 성장을 보였다(Fig. 2). 그 결과 이 균주의 적정 성장온도는 25°C로 나타났다. 그러나 30°C에서는 균의 생장이 일어나지 않아 고온에 민감한 특성을 보였다. 이러한 성장 특성은 기존에 알려진 대부분의 *Ophiostomatoid* 균류의 성장특성과 매우 흡사하다. *Ophiostomatoid* 균류중 *Ceratocystis* 속에 속하는 균류는 cycloheximide를 첨가한 배지에서 자라지 못하는 특성을 지니고 있다(Harrington *et al.*, 2001). 본 연구에서 분리된 균주는 cycloheximide가 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 첨가된 배지에서

분리되었고 또한 0.5% 첨가된 배지에서조차 자랄 수 있었다. 이것으로 볼 때 본 연구에서 분리된 균주는 *Ceratocystis* 속에 속하는 균이 아닌 것으로 확인되었다. 이에 따라 *Ophiostoma*속에 속하는 균류일 가능성이 있어 이에 대한 자세한 형태적 특성을 조사하였다.

형태학적 특성 및 β -tubulin 유전자 염기서열 분석

Ophiostoma 속에 속하는 균류에 대한 동정과 균의 형태학적 특징을 조사하기 위하여 이 분류군에 전문가인

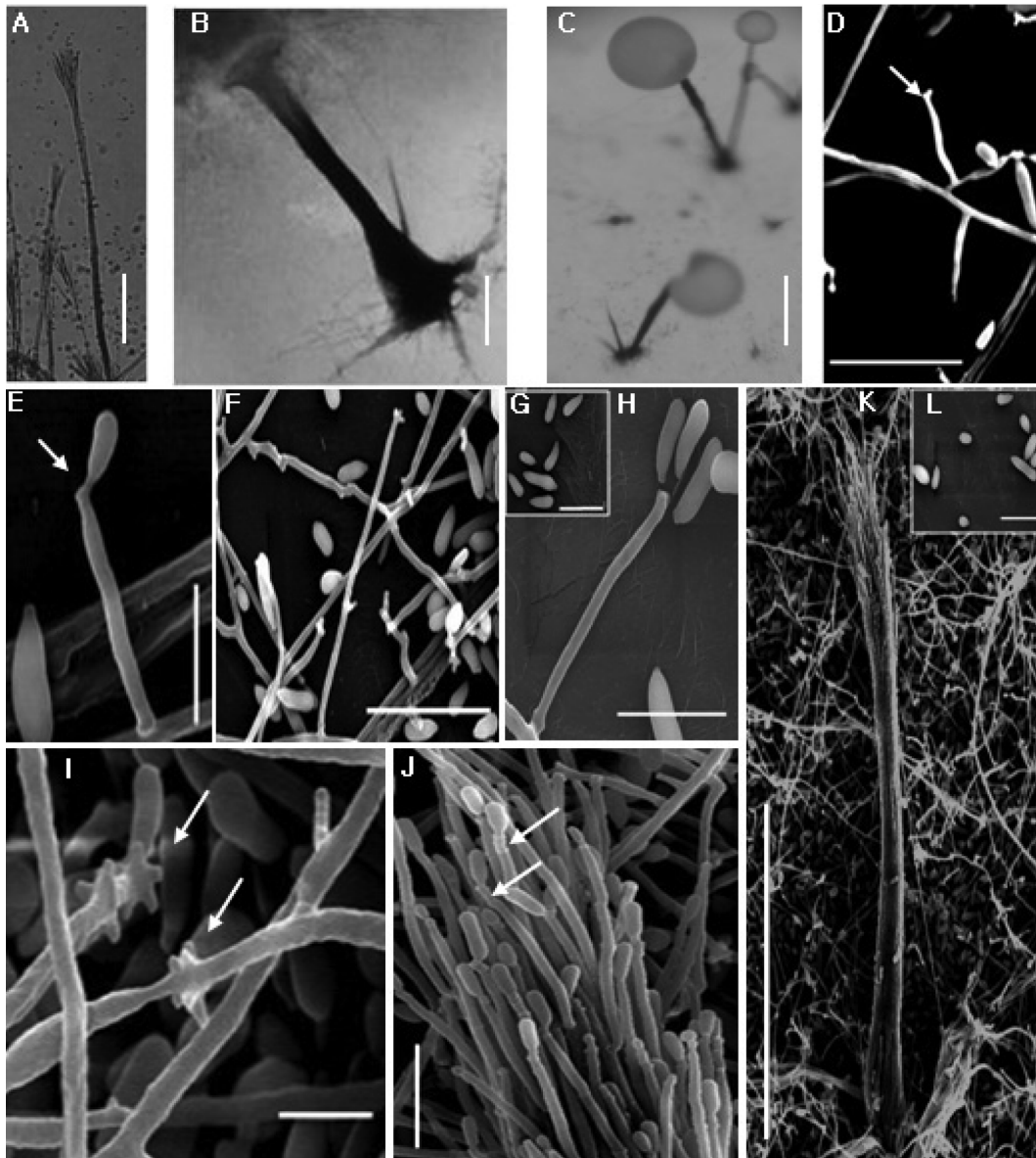


Fig. 3. Anamorphic stages of *Ophiostoma quercus* shown by the isolate DKM 0511. A, mononematous synnema after lactophenol blue staining (scale bar = 50 μm); B, white conidial mass on individual synnema (scale bar = 50 μm); C, *Pesotum*-like synnema (scale bar = 50 μm); D-E, arrows indicate apex of conidiogenous cells with denticles (scale bar = 20 μm and 5 μm); F-H, conidiophores and conidia of *Sporothrix* synanamorph (scale bar = 20 μm , 10 μm , and 10 μm); I, arrows indicate morphogenesis of *Sporothrix* anamorph in the middle of conidiophores (scale bar = 5 μm); J, arrows indicate sympodial and annellidic conidiogenous cells with synnematous conidiophores (scale bar = 10 μm); K-L, *Petosum*-like synnema and conidia (scale bar = 100 μm and 10 μm).

Kirk(2001) 등이 기술한 현미경 관찰법과 Seifert(1993)와 Okada(1998) 그리고 Jacobs와 Wingfield(2001)가 기술한 *Ophiostoma*의 특징과 무성세대의 분류 문헌을 참고하여 관찰하였다. 그 결과 본 연구에서 분리된 균류로부터 *Ophiostoma* 균류의 무성세대로 알려진 *Pesotum*의 형태학적 특징인 단생분생포자경(mononematous synnema)과 어두운 갈색의 분화분생포자경(macronematous synnema)을 관찰하였으며(Fig. 3A, C), 해부현미경을 통해 하얀색을 띠는 둥근 점액질 덩어리 모양을 가진 분생포자 덩어리를 확인하였다(Fig. 3B). 그리고 *Ophiostoma* 균류의 또 다른 무성세대 형태인 *Sporothrix*의 모습도 관찰하였다. 무성세대 이명(synanamorph) *Sporothrix*의 특징인 분생포자경(conidiophore)의 상단 끝에 분생포자와 작은 denticle-like 구조를 형성하는 것을 주사전자현미경 관찰을 통하여 확인하였다(Fig. 3E~H). 특이하게 균사의 중간 부분에서

무성세대 *Sporothrix*의 형태를 형성하는 것도 관찰되었다(Fig. 3I). 형성된 포자의 모양은 원통형(Cylindrical)과 도란형(Obovoid) 모양이 존재하였다(Fig. 3G, L). 무성세대 *Pesotum*이 갖는 분생자병속의 미세적 구조와 분생포자경속을 이루는 각 각의 분생포자경에서 분생포자의 형태형성을 관찰한 결과 분생포자경에서 분생포자의 형태형성이 가축(sympodial)의 환형(annellidic) 모습으로 이루어지는 것을 확인하였다(Fig. 3J, K). 하지만 완전세대 형태(Telemorph)의 특징인 자낭각(perithecium)형성은 관찰하지 못하였다. 이상의 관찰 결과를 토대로 할 때 분리된 균은 전반적으로 *O. piceae* complex 균류의 무성세대 특징을 지니고 있음을 알 수 있었다.

O. piceae complex 균류에 속하는 종으로는 13종 정도가 알려져 있으며 이들에 대한 몇 가지 분류학적 지표를 줄 수 있는 유전자 정보가 NCBI GenBank에 등록되어

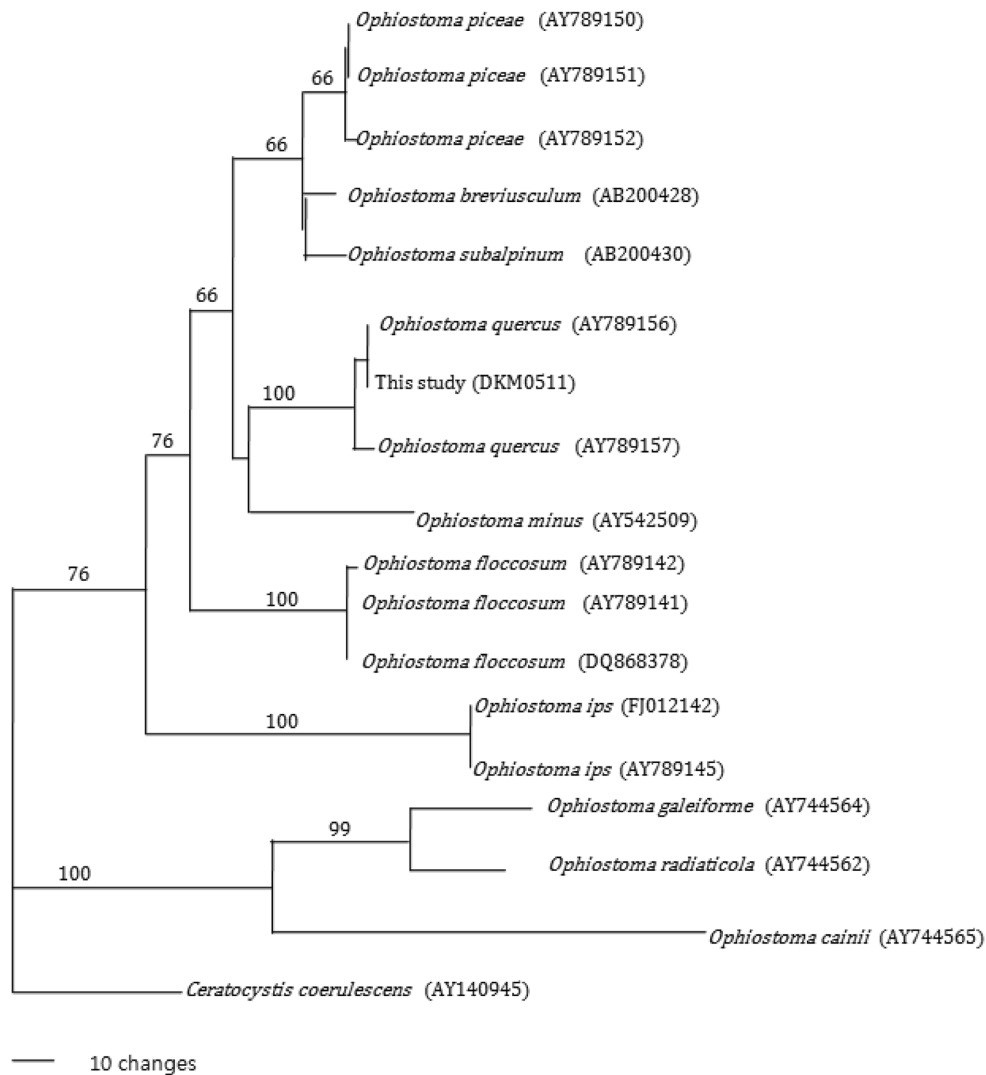


Fig. 4. Phylogenetic relationships of the fungal isolate DKM 0511 to other *Ophiostoma* species. Phylogram based on the analysis of partial nucleotide sequence of the β -tubulin gene was generated from the neighbor-joining analysis. Numbers at nodes represent percentage of bootstrap resampling based on 1000 replicates. *Ceratocystis coerulescens* was used as an outgroup.

Table 1. Morphological and physiological characteristics of *Ophiostoma piceae*, *O. quercus* and the isolate DKM 0511

Characters	<i>O. piceae</i> ^A	<i>O. quercus</i> ^B	present isolate
Colony color	whitish, ageing pale brownish	light to golden brown	light to golden brown
Perithecia length (min-average-max μm)	600-1015-1600	1100-1515-1900	ND
Genus name of anamorph	<i>Pesotum/Sporothrix</i>	<i>Pesotum/Sporothrix</i>	<i>Pesotum/Sporothrix</i>
Color of synnema stipe	Dark brown	Dark brown	Dark brown
Synnema length (μm)	470-1200 (-1500)	(130)350-500(600)	(127)354-510(598)
Shape of conidia on synnema	Cylindrical to Obovoid	Cylindrical to Obovoid	Cylindrical to Obovoid
Conidia size (μm)	2.5-6 \times 1-2.5	(4.6-)2.6 \times 1.7(-2.7)	(4.5-)2.5 \times 1.5(-2.5)
Optimum growth temp. ($^{\circ}\text{C}$)	22	25	25
Maximum growth temp. ($^{\circ}\text{C}$)	≤ 32	≥ 32	≥ 32
Sexual behavior	heterothallic	heterothallic	heterothallic
Synnema conidial mass	White	White	White
Host	Various	Oak and hardwood	Japanese black pine

^{A,B}Data from Harrington *et al.* (2001). ND: No detection.

있는바 본 연구에서 분리된 균의 분자적 동정을 또한 시도하였다. 이에 따라 *O. piceae* complex 균류의 분류에 가장 적절하게 활용되는 유전자인 β -tubulin 유전자 염기서열 분석을 시도하였다. DKM0511, DKM0512, DKM0513 등 3개 균주들의 genomic DNA에 대하여 PCR을 수행하여 증폭된 DNA 밴드를 클로닝하여 염기서열을 분석한 결과 3개 균주 모두 842 bp의 크기의 서로 동일한 염기서열 정보를 가지고 있었다. 이에 따라 DKM0511 균주로부터 얻어진 염기서열정보를 GenBank DNA database 상에서 BlastN 프로그램을 이용하여 상동성을 지닌 균류를 탐색한 결과 *O. piceae* complex에 속하는 13종의 균류 중에서 *Ophiostoma quercus*의 β -tubulin 유전자 염기서열들(Accession number: AY789156, AY789157)과 99~100% 상동성을 보였다. 이에 따라 본 실험에서 DKM0511, DKM0512, DKM0513 균주로부터 얻어진 β -tubulin 유전자의 염기서열을 NCBI GenBank에 등록하였다(DKM0511: Accession number FJ573040, DKM0512: Accession number FJ573041, DKM0513: Accession number FJ573042). 이 결과를 토대로 PAUP* 4.0 프로그램(Swofford, 2003)을 이용하여 다른 *Ophiostoma* 종들의 β -tubulin 유전자염기서열과 비교를 통해 계통분석을 실시하였다. 그 결과 분리주 DKM0511는 *O. quercus*와 함께 계통유전적 관계를 이루는 것으로 나타났다(Fig. 4).

*O. quercus*는 *O. piceae* complex에 속하는 종으로 *O. piceae*와는 형태적으로 구분이 매우 어려운바 Braiser와 Kirk(1993)에 의해 sibling species로 분류되었고 Braiser와 Stephens(1993)에 의해 온도에 따른 생장비교 연구가 이루어졌으며 Harrington(2001)에 의하여 그 형태적 특성이 자세히 비교 정리된바 있다. 이에 따라 본 연구에서 분리된 균의 형태적 특성을 Harrington(2001)이 정리한 *O. piceae*와 *O. quercus*의 형태특성과 비교하여 Table 1에 제시하였다. 본 연구에서 분리된 변색균의 조사된 형태적 특성은 보고된 *O. quercus*의 무성세대에 나타나는 형태적 특성과 거의 일치하였다.

이상의 본 연구에서 분리된 균류에 대한 형태적 특성, 배양특성, 유전자분석 결과를 바탕으로 분리균류는 *O. quercus*의 무성세대인 것으로 동정되었다. *O. quercus*는 주로 활엽수에서 분리되는 변색균류로 알려졌지만 일부 침엽수에서도 분리되고 있다(Schirp *et al.*, 1999). 본 연구에서 사용된 *O. quercus*도 우리나라 해송(Japanese black pine)에서 분리되었고 이전에 국내의 잣나무에서도 분리된 보고(Lee and Oh, 2000)가 있는바, 국내의 서로 다른 침엽수종에 대한 이 변색균의 분포가 다시금 확인되었다. 그러나 아직 국내 활엽수에 존재하는 보고는 없어 이에 대한 조사가 확대되어야 할 것이다. 더불어 국내 분리 *O. quercus*의 완전세대가 지나는 균학적 특성이 아직 밝혀지지 않았으므로 유전적 교배를 통하여 자낭을 형성할 수 있는 다른 극성을 지닌 교배형(mating type) 균주의 발굴 작업도 병행되어야 할 것이다.

적 요

한국에서 해송의 줄기변색 부위에서 분리된 변색균류 중 한 종에 대하여 그 특성을 조사하였다. Cycloheximide에 저항성인 *Ophiostoma piceae* complex 그룹에서 보여지는 무성세대 *Pesotum*의 분생포자경과 또 다른 무성세대 *Sporothrix*의 형태를 지니고 있었다. 그러나 완전세대의 모습인 자낭각을 형성하지 못하였다. 이 균류는 배양적특성, 형태적특성 그리고 β -tubulin 유전자 염기서열 분석을 통하여 *Ophiostoma quercus*로 동정되었다. 본 연구에서는 한국에서 분리된 *O. quercus*의 균학적 특성을 처음으로 보고하고자 한다.

감사의 글

이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R05-2004-000-12579-0).

참고문헌

- Braiser, C. M. 1979. Dual origin of recent Dutch elm disease outbreaks in Europe. *Nature* 281:78-79.
- Braiser, C. M. 1990. China and the origins of Dutch elm disease: an appraisal. *Plant Pathology* 39:5-16.
- Braiser, C. M. 1991. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia* 115:151-161.
- Braiser, C. M. and Kirk, S. A. 1993. Sibling species within *Ophiostoma piceae*. *Mycol. Res.* 97:811-816.
- Braiser, C. M. and Stephens, T. M. 1993. Temperature-growth responses distinguish the OPC and OPH sibling species within *Ophiostoma piceae*. *Mycol. Res.* 97:1416-1418.
- Braiser, C. M. and Mehrotra, M. D. 1995. *Ophiostoma himal-ulmi* sp. nov., a new species of Dutch elm disease fungus endemic to the Himalayas. *Mycol. Res.* 99:205-215.
- Carlier, F. X., Decock, C., Jacobs, K. and Maraite, H. 2006. *Ophiostoma arduennense* sp. nov. (Ophiostomatales, Ascomycota) from *Fagus sylvatica* in southern Belgium. *Mycol. Res.* 110:801-810.
- Cho, B. J., Kim, N. K., Cho, N. S. and Lee, J. K. 2008. Biocontrol of blue stain in pine wood with lyophilized mycelium of *Ophiostoma quercus* albino strain. *Plant Pathol. J.* 24:309-316.
- Chung, W. H., Kim, J. J., Yamaoka, Y., Uzunovic, A., Masuya, H. and Breuil, C. 2006. *Ophiostoma brevisculum* sp. nov. (Ophiostomatales, Ascomycota) is a new species in the *Ophiostoma piceae* complex associated with bark beetles infesting larch in Japan. *Mycologia* 98:801-14.
- De Beer, Z. W., Glen, H. F., Wingfield, B. D. and Wingfield, M. J. 2003. *Ophiostoma quercus* or *Ophiostoma querci* ? *Mycotaxon* 86:211-214.
- Harrington, T. C. 1993. Disease of conifers caused by species of *Ophiostoma* and *Leptographium*. In: Wingfield, M. J., Seifert, K. A. and Webber, J. F., eds. *Ceratocystis* and *Ophiostoma* Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press. pp. 161-172.
- Harrington, T. C., McNew, D., Steimel, J., Hofstra, D. and Farrell, R. 2001. Phylogeny and taxonomy of the *Ophiostoma piceae* complex and the Dutch elm disease fungi. *Mycologia* 93:111-136.
- Hunt, J. 1956. Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. *Lloydia* 19:1-59.
- Jacobs, K. and Wingfield, M. J. 2001. *Leptographium* Species: tree pathogens, insect associates and agents of blue-stain. American Phytopathological Society Press, St Paul, MN.
- Kim, S. H., Uzunovic, A. and Breuil, C. 1999. Rapid detection of *Ophiostoma piceae* and *O. quercus* in stained wood by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:287-290.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C. and Stalpers, J. A. 2001. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi (9th edn), CABI Publishing, Wallingford.
- Lagerberg, T., Lundberg, G. and Melin, E. 1927. Biological and practical researches into bluing in pine and spruce. *Svenska Skogsvards-Foren.* 25:145-272.
- Lee, J. K. and Oh, E. S. 2000. Potentials for biological control of blue stain on woods caused by ophiostomatoid fungi. *Plant Pathol. J.* 16:200-205.
- O'Donnell, K. and Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol. Phylogen. Evol.* 7:103-116.
- Okada, G., Seifert, K. A., Takematsu, A., Yamaoka, Y., Miyazaki, S. and Tubaki, K. 1998. A molecular phylogenetic reappraisal of the *Graphium* complex based on 18S rDNA sequences. *Can. J. Bot.* 74:1495-1506.
- Schirp, A., Farrell, R. L. and Kreber, B. 1999. Effect of New Zealand staining fungi on structural wood integrity of radiata pine. In The 2nd New Zealand Sapstain Symposium, Proceedings of Symposium. Rotorua, New Zealand, 18-19 November (B Kreber, ed.) pp. 99-104.
- Schroeder, S., Kim, S. H., Cheung, W. T., Sterflinger, K. and Breuil, C. 2001. Phylogenetic relationship of *Ophiostoma piliferum* to other sapstain fungi based on the nuclear rRNA gene. *FEMS Microbiol. Lett.* 195:163-167.
- Seifert, K. A. 1993. Sapstain of commercial lumber by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*. In: Wingfield, M. J., Seifert, K. A. and Webber, J. F., eds. *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press. pp. 141-151.
- Seifert, K. A. and Grylls, B. T. 1990. A survey of sapstaining fungi of Canada. Forintek Canada, Ottawa.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods), version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Upadhyay, H. P. 1981. A Monograph of *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis*. The University of Georgia Press: Athens, GA.
- Wingfield, M. J. 1993. *Leptographium* species as anamorphs of *Ophiostoma*: progress in establishing acceptable generic and species concepts. In: Wingfield, M. J., Seifert, K. A. and Webber, J. F., eds. *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, Ecology and Pathogenicity. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press. pp. 43-51.
- Wilhelm de Beer, Z., Wingfield, B. D. and Wingfield, M. J. 2003. The *Ophiostoma piceae* complex in the Southern Hemisphere: a phylogenetic study. *Mycol. Res.* 107:469-476.
- Wood, S. L. and Bright, D. E. 1992. A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera), Part: taxonomic index, Volume A. *Great Basin Naturalist Memoirs.* 13:1-6.