

Fusarium 균의 section *Liseola*에 대한 핵형 연구

민병례¹ · 안미선 · 최영길²

¹상명대학교 생물학과, ²한양대학교 생물학과

Fusarium 균 중에서 section *Liseola*에 속하는 8균주에 대하여 CHEF-PFGE를 이용하여 핵형을 분석·비교하였다. 0.75 Mb에서 6.45 Mb 크기의 DNA band가 9~13개로 분리되었고 전체 genome 크기는 38.19 Mb에서 43.22 Mb였으며 중간, 종내에서 염색체 길이 다형성을 볼 수 있었다. *F. moniliforme*로부터 얻은 IGS sequence(2.6 Kb), *Neurospora crassa*의 *chs-2* gene(2.8 Kb)과 *trp-3* gene(3.8 Kb)을 probe로 하여 hybridization을 통하여 이들 gene의 위치를 확인하고자 하였다.

Key words □ CHEF-PFGE, CLPs, electrophoretic karyotype, *Fusarium*, gene localization, section *Liseola*

경제적으로 중요한 여러 종류의 식물에 질병을 일으키는 것으로 알려진 *Fusarium* section *Liseola*에 속하는 균주들은 종과 변종등의 분류가 명확하지가 않다(7). 대부분의 *Fusarium* 균들은 macroconidia의 형태로 종을 분류하지만 section *Liseola*에 속하는 균들은 macroconidia의 형태로 종을 구별할 수 없기 때문이다(19).

그러한 특징 때문에 Synder와 Tousson(25)은 *F. moniliforme* Sheldon 하나만을 section *Liseola*의 균으로 인정하였다. 그 후 Nelson 등(20)은 *F. moniliforme*, *F. anthophilum*(A. Braun) Wollenw., *F. proliferatum*(Matsushima) Nirenberg, *F. subglutinans*(Wollenw. and Reinking) Nelson, Tousson and Marasas와 *F. succisae*(Schroter) Sacc.로 구분하였다. Nirenberg(22)는 *F. anthophilum*, *F. fujikuroi* Nirenberg, *F. proliferatum*, *F. sacchari*(Butler) Gams, *F. succisae*와 *F. verticillioideus*(Sacc)로 구분하였다.

Fusarium 균 분류에 있어 근본적인 문제점은 형태적인 변화를 뿐 아니라 virulence 등과 같은 비형태적인 특징도 매우 다양하다는 점이다. 따라서 형태에 기초를 둔 고전적 분류와 생화학, 유전학, 분자생물학 등의 새로운 기법을 이용하는 분류 사이에 상호 보완이 있어야 함이 강조되고 있다(27). 최근에 *Fusarium*을 포함하는 식물병원성 균의 분류와 phylogenetic의 연구를 위하여 RFLPs(restriction fragment length polymorphisms) 분석, PFGE(pulsed-field gel electrophoresis)를 이용한 electrophoretic karyotyping, PCR(polymerase chain reaction)을 이용한 DNA증폭 등의 방법이 매우 유용한 새로운 기법으로 소개되고 있다(6).

균류의 핵형은 다른 진핵생물의 핵형과는 다르게 동일한 균종이라도 분리균주(isolate)에 따라 크기와 수가 다르며 염색체 길이 다형성(chromosome length polymorphisms)이 있음이 보고되어 있다(12, 15, 30). 이러한 genome 다양성은 식물 병원균

의 특징중의 하나이며 생물체내에서 genome의 재배열이 병원성 변이에 중요한 역할을 하는 것으로 추정되어지고 있다. *Fusarium* 종의 핵형은 여러 학자들(4, 8, 13, 14, 16-19)에 의하여 보고되었으나 대부분이 하나의 종을 중점적으로 하였고, related groups 사이의 관계는 잘 설명되어져 있지 않았다(11).

본 실험에서는 *Fusarium* 균 중에서 section *Liseola*에 속하는 8균주를 대상으로 CHEF-PFGE를 이용하여 핵형을 분석하고 기존에 발표된 핵형과도 비교 검토하고자 한다. 또한 여러 가지 gene을 probe로 이용하여 특정 유전자의 genome 내 위치를 확인하고자 본 실험을 계획하였다. 각종의 형태적인 특징은 Gelach과 Nirenberg(10)의 설명을 참조하였다.

재료 및 방법

실험 균주 및 배양

Fusarium 균주 중 section *Liseola*에 속하는 *F. subglutinans* NRRL 13572, *F. fujikuroi* NRRL 13565, *F. sacchari* var. *elongatum* NRRL 13618, *F. annulatum* NRRL 13614, *F. proliferatum* NRRL 13285, *F. proliferatum* var. *minus* NRRL 13617의 6균주를 NRRL(ARS culture collection, Northern Regional Research Center, Peoria Illinois USA)로부터 분양 받고 호주로부터 분양받은 *F. moniliforme* 7219, 한국에서 banana로부터 분리한 *F. moniliforme* 1 균주 등 모두 8균주이다.

배양은 28°C에서 PDA(Potato Dextrose Agar, Difco)에 5일간 배양한 후 멸균 증류수를 이용하여 분생포자를 취하여 PDB(Potato Dextrose Broth, Difco) 100 ml에서 preculture한 후 새로운 PDB배지에 옮겨 28°C, 180 rpm으로 16시간 진탕배양한 후 사용하였다.

Intact chromosomal DNA추출과 PFGE

Intact한 염색체상 DNA는 Min 등(17)의 방법을 이용하였다. PFGE는 CHEF system(CHEF DR™ Mapper, Bio-Rad)를 이

*To whom correspondence should be addressed
Tel : 02-2287-5151, Fax : 02-396-6133
E-mail : genebang@pine.sangmyung.ac.kr.

용하였고, running buffer와 온도는 Min 등(17)의 방법에 따랐다. CHEF 조건은 크기가 큰 DNA분자의 분리를 위하여 0.7% agarose(Sigma) gel에서 switching interval을 75분에서 5분으로 줄이고 1.3 v/cm 로 228시간 동안 전기영동하였다. 작은 크기의 DNA를 분리하기 위하여 0.9% agarose, switching interval을 1분에서 2분으로 연장하고 5.0 v/cm로 24시간 수행하였다. Standard marker로는 *Schizosaccharomyces pombe*와 *Saccharomyces cerevisiae* (Bio-Rad)를 사용하였고 ethidium bromide로 염색후 1×TBE buffer에서 15분간 탈색하였다. UV transilluminator에서 가시화하였고, 사진 촬영을 한 후 Image Analyzer(Cream, Kpm-En. Tec. Software System)로 분석, 비교하였다.

Probe 준비와 Hybridization

F. moniliforme 7219로부터 Zolan과 Pukkila(29)의 방법에 의하여 genomic DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 IGS (Inter-genic spacer)부분을 얻기 위하여 CNL12와 CN1(2)을 primer로 이용하였다. PCR 반응조건은 먼저 94°C 1분 반응 후에 94°C 1분, 57°C 1분, 72°C 2분에서 30 cycle 반응시키고 92°C에서 7분간 extension시켰다. 1.4% gel에서 10 v/cm로 전기영동하여 2.6 Kb의 IGS 부분을 확인한 후 Easy Trap™ Kit (Takara)로 elution하여 probe로 사용하였다.

*Neurospora crassa*의 chs-2 gene과 trp-3 gene은 Kansas Medical Center(USA)에서 pAB23과 pDBI로 구입하였다. Plasmid map을 참고로 *Kpn*I과 *Eco*RV, *Bam*HI과 *Nru*I를 이용하여 각각 2.8 Kb와 3.8 Kb의 gene fragment를 추출한 후 동일한 방법으로 probe로 사용하였다.

CHEF에 의하여 분리된 DNA 분자는 Hybond-N⁺ nylon membrane(Amersham, U.K)상에 Southern(24)의 방법에 따라 transfer하였다. Hybridization은 ECL direct nucleic acid labelling and detection system(Amersham, U.K)을 이용하였다.

결과 및 고찰

Section *Liseola*에 속하는 *Fusarium* 균주 8종의 chromosomal DNA를 분리하기 위하여 여러 조건하에서 실험하였다. 다른 여러 연구자들에 의하여 보고된 바와 같이(28) 크기가 큰 DNA분자와 작은 분자 사이의 차이가 크기 때문에 어느 하나의 조건으로는 모든 분자를 하나의 gel상에서 분리하는 것은 불가능하였다. 또한 CHEF-PFGE는 매우 민감하기 때문에 다른 연구자들이 설정한 조건을 다른 종에 적용하였을 때 동일한 결과가 나오지 않는다. 따라서 매 균주 실험시 실험조건을 따로 설정하여야만 했다. 본 실험에서도 많은 실험을 반복한 후 2.2 Mb이상의 DNA를 분리하기 위하여 0.7% agarose gel, 1.3 V/cm, switching interval은 75분에서 5분으로 차츰 줄여 가면서 228시간동안 running하였다(Fig. 1A). 실험한 모든 균주에서 가장 위에 있는 band가 doublets으로 추정되었기 때문에 이를 좀 더 분리시키기 위하여 agarose 농도를 0.55%까지 낮추고 running 시간을 좀 더 오래 주었으나 DNA가 diffuse 되어 band의 정확한 크기를 확인할 수가 없었다. 2.2 Mb 이하의 작

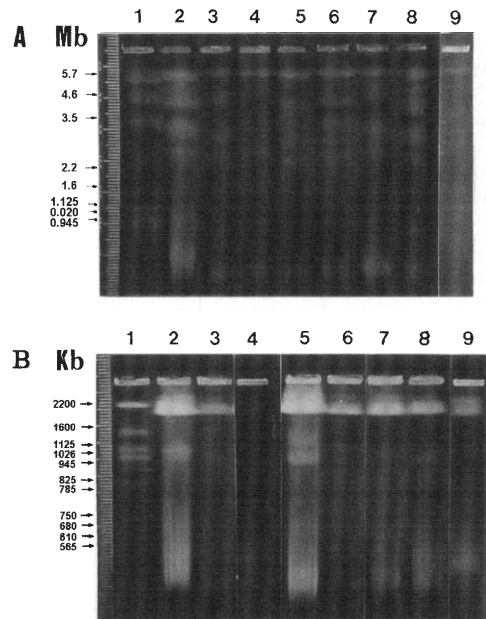


Fig. 1. Electrophoretic karyotypes of *Fusarium* spp.

Panel: A) Electrophoresis was carried out on an 0.7% agarose gel in 1XTBE buffer with 75 min decreasing to 3 min switching intervals, 1.3 V/cm, 228 hrs. Lane 1, *S. pombe* and *S. cerevisiae*; 2, *F. subglutinans* NRRL 13572; 3, *F. fujikuroi* NRRL 13565; 4, *F. sacchari* var. *elongatum* NRRL 13618; 5, *F. annulatum* NRRL 13614; 6, *F. proliferatum* NRRL 13285; 7, *F. moniliforme* (from banana); 8, *F. moniliforme* 7219(from Sydney); 9, *F. proliferatum* var. *minus* NRRL 13617. B). Electrophoresis was carried out on an 0.9% agarose gel with 5.0 V/cm and switching intervals were increased from initially 1 min to 2 min during 24 hrs.

은 크기 DNA는 agarose 농도를 0.9%로 높이고 5.0 V/cm에서 switching interval을 1분에서 2분으로 길게 하면서 24시간 수행하였을 때 작은 크기의 DNA들이 잘 분리되었다(Fig. 1B). *F. annulatum*인 경우는 조건을 달리하여 0.8% gel에서 68시간 동안 전기영동하여 좀 더 나은 결과를 얻을 수 있었다(data not shown). 위의 두 가지 조건과 또한 그 동안 시도하였던 여러 가지 다른 조건으로 분리해낸 결과들을 종합하여 각각의 핵형을 정리하였다(Table 1). Fig. 1A와 B에서 나타난 염색체는 가장 크기가 큰 것부터 임의로 번호를 적었기 때문에 동일한 번호와 하더라도 서로 다른 종에서는 homologous elements를 나타내는 것은 아니다. 실험한 8균주의 핵형은 0.75 Mb에서 6.45 Mb 크기의 DNA가 9-13개로 분리되었으며 전체 genome의 크기는 38.19 Mb에서 43.22 Mb였다. Migheli 등(13)과 Min(16), Min 등(17)에 의해 일부 보고된 다른 균종들과 유사한 결과를 얻었다.

F. subglutinans(Fig. 1A, B lane2)는 0.99에서 6.10 Mb의 11개 band로서 전체 genome크기는 39.39 Mb이고, 첫 번째와 세 번째 band는 doublet로 추정하였다. 이 결과는 Min(16)에 의해 보고된 결과(Table 1e)와 비교했을 때 분리된 양상은 유사했

Table 1. Karyotypes and size estimates (Mb) of *Fusarium* section *Liseola* as determined by CHEF analysis

Chromosome number ^c	Species ^a and their chromosome sizes(Mb)															
	SUB1	SUB2 ^c	FUJ	SAC1	SAC2 ^d	ANN	PRO1	PRO2	PRO3 ^f	PRO4 ^d	MON1	MON2	MON3 ^e	MON4 ^d	MON5 ^d	ANT ^f
1	6.10 ^b	>6.00	6.35 ^b	6.35 ^b	6.40 ^b	5.85 ^b	6.10 ^b	6.45 ^b	5.95 ^b	6.50	6.05 ^b	5.85 ^b	>6.00	5.80 ^b	5.80 ^b	5.85
2	5.05	5.50	5.10	5.70	5.10	4.75	5.05	5.95	4.95	3.90	5.35	5.45	5.30	5.10 ^b	5.40	4.85
3	4.45 ^b	4.80	4.50 ^b	5.15	4.30 ^b	4.00 ^b	4.35 ^b	5.25	4.30	2.40	4.75	4.90	4.80	4.30	4.40 ^b	4.38
4	3.40	3.60	2.95 ^b	4.00	3.10	3.65	3.30 ^b	4.45	3.35	1.70	3.85	3.25	3.60	3.20	3.70	3.90
5	3.08	3.10	2.35	3.30	2.60	3.25	2.85	3.80	3.05	1.50	3.35	2.95	3.00	2.50 ^b	2.60 ^b	3.20
6	2.45	2.60	2.15	2.95	2.30	2.95	2.41	3.40	2.60	1.40	2.40 ^b	2.55	2.60	2.00	1.90	2.76
7	2.25	2.00	0.99	2.52	2.00	2.65	2.25	3.05	2.25	0.70	1.02	2.30	2.00	1.70	1.60	2.40 ^b
8	1.07	1.00		1.75	1.60	2.25 ^b	1.12	2.55	0.94			0.99	0.80		0.60	1.47
9	0.99			1.07	0.80	1.12	0.99	2.10								1.02
10				0.99		0.75		1.15								0.78
11								1.03								
Total size	39.39	>28.60	38.19	40.16	38.90	43.22	42.17	39.18	37.64	18.10	35.02	38.54	28.30	38.00	38.80	26.34
Total chromosomeNo.	11	8	10	11	11	13	12	12	9	7	9	9	8	10	11	11

^aSpecies abbreviation SUB1, *F. subglutinans* NRRL 13572; SUB2, *F. subglutinans* Sydney 1082; FUJ, *F. fujikuroi* NRRL 13565; SAC1, *F. sacchari* var. *elongatum* NRRL 13618; SAC2, *F. sacchari*; ANN, *F. annulatum* NRRL 13614; PRO1, *F. proliferatum* NRRL13285; PRO2, *F. proliferatum* var. *minus* NRRL 13617; PRO3, *F. proliferatum* Sydney 7459; PRO4, *F. proliferatum* (Italy); MON1, *F. moniliforme* Korea; MON2, *F. moniliforme* Sydney 7219; MON3, *F. moniliforme* Sydney 7150; MON4, *F. moniliforme* 912(Italy); MON5, *F. moniliforme* TF4(France); ANT, *F. anthropophilum* Sydney 7481. ^bIndicates doublet. ^cChromosomes were numbered according to their size, starting with the largest.

^dResults of Migheli et al.(13). ^eResults of Min(16). ^fResults of Min et al.(18).

으나 doublet으로 추정된 band를 계산하지 않았기 때문에 전체 genome 크기와 수에서 차이가 났다. *F. subglutinans*는 경제적으로 중요한 *Fusarium* 균주중의 하나로서 알려져 있으며 Booth (5)에 의하여 *F. moniliforme* Sheldon var. *subglutinans* Wollenw. & Reinking으로 분류하였다. 후에 Nirenberg(21)는 *F. sacchari* var. *subglutinans*로 명명하였다가 1983년 Nelson(20)에 의하여 *F. subglutinans*을 *F. moniliforme*와 구분하였다. 또한 *F. subglutinans*는 독성 trichothecene을 형성하나 *F. moniliforme*는 moniliformin 독성을 형성하는 것으로 알려져 있다(1). *Fusarium*균을 분류하는 기준으로 microconidia와 macroconidia와 *Fusarium* conidium의 세 번째 형인 mesoconidia를 분류기준으로 하였을 때, *F. subglutinans* 만이 section *Liseola* 중에서 유일하게 mesoconidia를 형성한다는 보고(23)가 있었다. *F. subglutinans*의 핵형을 *F. moniliforme*의 핵형과 비교했을 때 전체적으로 유사하지만 2.0 Mb 이하의 작은 크기의 염색체에서는 차이가 있음을 알 수 있었다. DNA complementarity를 측정하여 genetic relatedness를 측정한 Ellis의 보고(7)에 의하면 약 50% 혹은 그 이하의 relatedness가 개개의 종을 구별한다고 했을 때 *F. moniliforme*와 *F. subglutinans*는 48-52%의 genetic relatedness를 가지고 있다고 설명하였다.

F. fujikuroi NRRL13565(Fig. 1A, B lane3)는 0.99-6.35 Mb 크기의 band가 10개로 첫 번째, 세 번째, 네 번째 band가 doublet으로 추정되어 전체 genome 크기는 38.19 Mb였다. *F. fujikuroi*는 동일 section에 속하는 *F. proliferatum*과는 형태적으로 매우 유사하지만 기준균사가 cottony 형태이고 sporodochia

가 다량으로 생성되며 polyphialides가 거의 형성되지 않고 pyriform microconidia를 형성하지 않는 등의 차이가 있다. Nirenberg(21)에 의하여 *F. proliferatum*과 따로이 구별하여 명명되었으며 section *Liseola* 내에서 다량의 gibberellic acid를 생성하는 균주로 알려져 있다(10). *F. fujikuroi*와 *F. proliferatum*은 핵형에 있어서도 차이가 있어 중간 크기의 (3 Mb) bands가 분리되지 않았다. 좀 더 정확한 핵형의 차이는 좀 더 많은 수의 균주에 대한 실험이 요구되고 있다.

F. sacchari var. *elongatum*(Fig. 1 A, B lane4)는 0.99에서 6.35 Mb크기의 band가 11개로 가장 큰 band가 doublet으로 총 genome의 크기는 40.16 Mb로 추정되었다. Migheli 등이(13) 밝힌 *F. sacchari*의 핵형과는 염색체 수와 전체 genome의 크기에서는 큰 차이가 없었으나 각각의 염색체 크기에서는 두 균주 간에 차이가 있었다(Table 1d). 그리고 동일 종 내에서의 genome의 변이를 볼 수 있었다.

F. annulatum NRRL13614(Fig. 1 A, B lane 5)의 핵형은 0.75-5.85 Mb 크기의 band가 13개로 그중 첫 번째, 세 번째, 여덟 번째의 band가 doublets로 추정되어 전체 genome의 크기는 43.22 Mb였다. 이 균주의 핵형의 특징은 연구된 8균 종 중에서 가장 많은 염색체 수를 가지고 있고, 2.2 Mb에서 3.25 Mb사이의 중간 크기염색체가 많았다. 가장 작은 크기의 염색체는 *Fusarium* 균의 일부에서 알려진 "B" 염색체로 추정되었다. 이 균주는 심하게 휘어진 독특한 형태의 대포자를 가지고 있으며 (10), 핵형에서도 다른 종과는 다른 분리 양상을 보여주어 2.25 Mb에서 2.95 Mb까지 4개의 band가 있었다.

F. proliferatum NRRL 13285(Fig. 1A, B lane6)의 핵형은 0.99-6.10 Mb 크기의 band가 12개로서 첫 번째, 세 번째, 네 번째가 doublets로 추정되어 전체 genome 크기는 42.17 Mb였다. *F. proliferatum*과 *F. subglutinans*는 간혹 문헌상 *F. moniliforme*로 인용되어 왔는데 1982년 Gerlach과 Nirenberg(10)에 의하여 하나의 독립된 종으로서 구별되었다. 핵형과 형태, 2차 생성물 등에 있어 두 종이 유사하지만 rDNA의 ITS region의 RFLP를 비교했을 때(26) *F. subglutinans*는 type I으로, *F. proliferatum*은 type II로 분리되어 두 종에 차이가 있음이 발표된 바 있다. Min등(18)이 발표한 호주의 *F. proliferatum*의 핵형과 비교하면 NRRL 13285 균주는 1번 염색체의 크기가 조금 차이가 있고 세 번째와 네 번째 band가 doublet이고, 가장 작은 band가 두 개로 분리되었기 때문에 크기와 band 수에서 차이가 있었다. Migheli 등(13)의 결과와는 크게 차이가 났다.

F. proliferatum var. *minus* NRRL 13617은 1.03 Mb에서 6.45 Mb크기의 12개 band로 구성되어있고 첫 번째가 doublet로 구성되어 전체 genome의 크기가 39.18 Mb였다. 또한 *F. proliferatum* var. *minus*는 곤봉모양으로 서로 짧은 chains으로 구성되어 있는 것이 특징이며 잎이 두꺼운 식물에만 기생하는 것이 특징으로 되어 있다. 연구된 8종 중에서 가장 큰 크기의 염색체를 가지고 있었고 *F. proliferatum*과는 염색체 수는 동일하였으나 각각의 크기는 많은 차이가 있어 종과 변종의 차이가 있음을 알 수 있었다.

*F. moniliforme*는 한국에서 추출한 균주로 1.02 Mb에서 6.05 Mb 크기의 9개 band로 분리되었고, 첫 번째, 여섯 번째가 doublet으로 전체 genome의 크기는 35.02 Mb였다. 호주의 *F. moniliforme* 7219는 0.99에서 5.85 Mb 크기의 band 9개로 전체 genome의 크기는 38.54 Mb이었다. 첫 번째 band 만이 doublet 이었고 동일한 호주의 균주인 *F. moniliforme* 7150(17)보다 한국의 바나나에서 얻은 균주와 더 유사한 핵형을 가진 것을 알 수 있었다. Doublet을 계산하지 않았기 때문에 수와 크기에 차이가 있었으나 분리양상은 유사하였고 Migheli 등(13)의 결과와는 2.0 Mb이하의 band에서 차이가 있었다.

Section *Liseola*에 속하는 다른 균주들과 비교를 위하여 *F. anthophilum*의 핵형(18)을 참고로 Table 1(f)에 함께 작성하였다. 전체적으로 보아 section *Liseola*에 속하는 균주들의 핵형은 분리양상은 유사하지만 크기와 수에 있어서 변이가 있었고 이는 형태적인 분류와 거의 일치하고 있었다. 이와 같이 종간의 변이와 종내에서의 CLPs는 균주의 공통된 현상으로(9), 다수의 균류에서 발표된 바 있다. CLPs의 원인으로서는 세포분열과 관계가 있으며 결실, 상호전환, gene conversion 등이 일어나기 위한 교차시의 염색체 불안정이 원인이 된다고 보고되어 있다. 최근에는 CLPs가 다수의 tandem rRNA 염기서열 혹은 반복된 telomeric 염기서열을 포함하는 염색체와 연관이 되어지고 있다는 보고도 있다.

특정 유전자의 위치를 분석하기 위하여 *F. moniliforme* 7219로부터 2.6 Kb의 IGS region을 추출하여 PFGE한 Fig. 1 A gel에 hybridization 시켰다. *S. pombe*의 3.5 Mb, *S. cerevisiae*의 2.2 Mb bands와 실험에 사용된 *Fusarium* 균에도 가장 큰

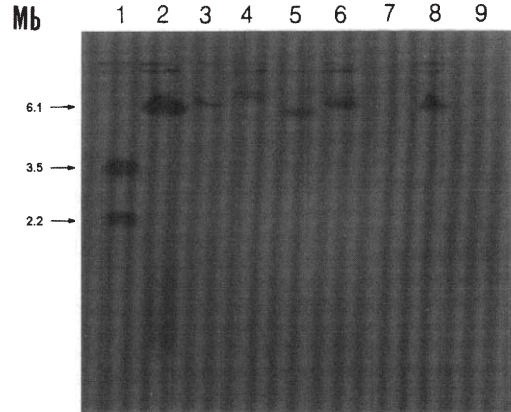


Fig. 2. Chromosome separated by CHEF during 228 hrs (panel A) were blotted and hybridized with IGS from *F. moniliforme* 7219 (from Sydney).

bands에 결합됨을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이러한 결과로 미루어 보아 rDNA는 가장 크기가 큰 doublet 중의 하나에 위치하는 것 같다. *Neurospora*의 *chs-2* gene 과 *trp-3* gene을 probe로 사용하였을 때는 불행하게도 아무런 blot이 형성되지 않았다. Chitin은 균류의 세포벽 구성의 주된 구성성분이므로 *chs-2* gene을 probe로 선택하였으나 hybridization이 일어나지 않았다. 효모인 *Lipomyces starkeyi*의 *trp-1* gene은 9번 염색체에 존재하며 *Saccharomyces cerevisiae*와는 56.4%, *Penicillium chrysogenum*과는 60.5%, *Aspergillus nidulans*와는 59.1%의 nucleotide homology가 있다고 보고된 바 있으나(3) *Nurospora crassa*의 *trp-3* gene과 *Fusarium* gene 사이에는 homology가 낮은 것으로 추정하였다. 또한 Fekete 등(8)은 *Aspergillus nidulans*의 *trpC* gene을 *Fusarium* section *Arthrosporiella*와 *Sporotrichiella*에 속하는 8종에 hybridization시켰을 때 어떤 종에서도 blot이 형성되지 않았음을 보고하였다.

감사의 말

본 연구는 1999년도 상명대학교 자연과학연구소 연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Abbas H.K., C.J. Mirocha, T. Kommedahl, P.M. Burnes, R.A. Meronuk, and R. Gunter. 1988. Toxigenicity and *Fusarium proliferatum* and other *Fusarium* species isolated from corn ears in Minnesota. *Phytopathol.* 78, 1258-1260.
2. Appel, D.J. and T.R. Goddon. 1995. Intraspecific variation within Population of *Fusarium oxysporum* based on RFLP analysis of the intergenic spacer region of the rDNA. *Exper. Mycol.* 19, 120-128.
3. Bignell, G.R., I.J. Bruce, and I.H. Evans. 1996. Electrokaryotype of the amylolytic yeast *Lipomyces starkeyi* and cloning,

- sequencing and chromosomal localization of its TRP1 gene. *Curr. Genet.* **30**, 83-88.
4. Boehm, E.W.A., R.C. Ploetz, and H.C. Kistler. 1994. Statistical analysis of karyotype variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense. *Mol. Plant-Microb. Interact.* **7**, 196-207.
 5. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium* C.M.I. KEW. 237pp.
 6. Cooly, R.N. 1991. The use of RFLP analysis electrophoretic karyotyping and PCR in studies of plant pathogenic fungi. In *Molecular biology of filamentous fungi*. U. Stahl and P. Tudzynski. ed. VCH. pp278. p.13-25.
 7. Ellis, J.J. 1988. Section *Liseola* of *Fusarium*. *Mycologia* **80**, 255-258.
 8. Fekete, C., R. Nagy, A.J. M. Debets, and L. Hornok. 1993. Electrophoretic karyotypes and gene mapping in eight species of the *Fusarium* sections *Arthrosporotrichiella* and section *Sporotrichiella*. *Curr. Genet.* **25**, 500-504.
 9. Gaudet, D.A., J. Gusse, and A. Laroche. 1998. Origins and inheritance of chromosome-length polymorphisms in the barley covered smut fungus, *Ustilago hordei*. *Curr. Genet.* **33**, 216-224.
 10. Gelach, W. and H. I. Nirenberg. 1982. The genus *Fusarium* - a Pictorial Atlas. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft. Institut für Mikrobiologie, Berlin-Dahlem.
 11. Lisile, J.F. 1991. Mating populations in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium* section *Liseola*). *Phytopathol.* **81**, 1058-1060.
 12. Masel, A., K. Btraithwaite, J. Irwin, and J. Manners. 1990. Highly variable molecular karyotype in *Colletotrichum gloeosporioides* pathogenic on *Stylosanthes* spp. *Curr. Genet.* **18**, 81-86.
 13. Migheli, Q., F. Berio, and M.L. Gullins. 1993. Electrophoretic karyotypes of *Fusarium* spp. *Exper. Mycol.* **17**, 329-337.
 14. Migheli, Q., T. Berio, M.L. Gullino, and A. Garibaldi. 1995. Electrophoretic karyotypes variation among pathotypes of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. *Plant Pathol.* **44**, 308-315.
 15. Mills, D. and K. McClusky. 1990. Electrophoretic karyotypes of fungi: The new cytology. *Mol. Plant. Microb. Interact.* **3**, 351-357.
 16. Min, B.R. 1995. Comparison of electrophoretic karyotypes in *Fusarium* *Kor. J. Microbiol.* **33**, 334-338.
 17. Min, B.R., K.A. Kim, and Y.K. Choi. 1998a. Electrophoretic karyotypes of *Fusarium oxysporum* formae speciales. *Kor. J. Microbiol.* **36**, 14-19.
 18. Min, B.R., J.S. Jung, and Y.K. Choi. 1998b. Electrophoretic karyotyping by PFGE in the genus *Fusarium*. *Kor. J. Mycol.* **26**, 35-143.
 19. Nagy, R. and L. Hornok. 1994. Electrophoretic karyotypes difference between two subspecies of *Fusarium acuminatum*. *Mycologia* **86**, 203-208.
 20. Nelson, P.E., T. A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. University park.
 21. Nirenberg, H.I. 1976. Under schungen uker die morphologische und bilogische differenzierung inder *Fusarium* section *Liseola*. Mitt. Bid. Bundesanst. Land-Forstkwirisch, Berlin-Dahlem. **169**, 1-117.
 22. Nirenberg, H.I. 1989. Identification of *Fusaria* occurring in Europe on cereals and potatoes. p.179-193. In *Fusarium* Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity. J. Chelkowskied. Elsevier, New York
 23. Pascoe, I.G. 1990. *Fusarium* morphology II : Experiments on growing conditions and dispersal of mesoconidia. *Mycotaxon* **37**, 161-172.
 24. Southern E.M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments seperated by gel electrophoresisi. *J. Mol. Biol.* **98**, 503-517.
 25. Synder, W.C. and Y.A. Toussoun. 1965. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. *Phytopathol.* **55**, 833-837.
 26. Waalwijk, C., R.P. Baayena, and W. Gams. 1996. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. *Phytopathol.* **55**, 833-837
 27. Windels, C.E. 1991. Current status of *Fusarium* taxonomy. *Phytopathol.* **81**, 1048-1051.
 28. Xu, J.R., K. Yan, M.B. Dickman, and J.F. Leslie. 1995. Electrophoretic karyotypes distinguish the biological species of *Gibberella fujikuroi*(*Fusarium* section *Liseola*). *Mol. Plant-Microbe. Interact.* **8**, 74-84.
 29. Zolan, M.E. and P.J. Pukkila. 1986. Inheritance of DNA methylation in *Corrinus cinereus*. *Mol. Cell. Biol.* **6**, 196-250.
 30. Zolan M.E. 1995. Chromosome-length polymorphism in fungi. *Microbiol. Rev.* **59**, 686-698.

(Received July 8, 1999/Accepted August 10, 1999)

ABSTRACTS : Study of Electrophoretic Karyotypes of *Fusarium* Section *Liseola*

Byung-Re Min¹, Mi-Sun Ahn, and Yong-Keel Choi² (¹Department of Biology, Sangmyung University, ²Department of Biology, Hanyang University, Seoul 110-743, Korea)

CHEF-PFGE(Contour-Clamped Homogeneous Electric field- Pulsed Field Gel Electrophoresis) was used to identify electrophoretic karyotype for eight strains belonging to the *Fusarium* section *Liseola*. Chromosome numbers were nine to thirteen bands, ranging in size from 0.75 to 6.45 Mb. The total genome size was estimated to range from 38.19 Mb to 43.22 Mb and numerous chromosome-length polymorphisms (CLPs) were observed. For the chromosome localization of the gene. IGS sequence(2.6 Kb) of rDNA from *F. moniliforme*, chs-2 gene(2.8 Kb) and trp-3 gene(3.8 Kb) from *Neurospora crassa* were used as probes.