

제주도 감귤원 토양에서 분리한 공생균근균의 동정

이용세* · 정종배 · 문두길¹

대구대학교 자연자원대학

¹제주대학교 원예학과

Identification of Mycorrhizal Fungi Identified on Citrus Orchard Soils in The Island of Cheju

Yong-Se Lee*, Jong-Bae Chung and Doo-Khil Moon¹

College of Natural Resources, Taegu University, Kyongsan-City, Kyongbuk 713-714

¹Department of Horticulture, Cheju National University, Cheju 690-156, Korea

ABSTRACT: VA-mycorrhizal spores were collected from the 14 citrus orchards of different soil textures and locations in Cheju island. Five species and two kinds of spores were identified as based on the morphological characteristics of the spores; *Acaulospora bireticulata*, *Glomus deserticola*, *G. geosporum*, *G. vesiculiferum*, and *Sclerocystis pachycaulis*. Additionally, two kind spores of *Acaulospora* were also observed but difficult to be identified in this moment. *Glomus deserticola* and unidentified spores of *Acaulospora* (brown spores sized 90 to 125 μm in diameter) were most frequently observed in the all soil specimens in Cheju, while the other kinds of spores were rarely observed in the soil of Cheju.

KEYWORDS: Citrus orchard, *Acaulospora bireticulata*, *Glomus deserticola*, *G. geosporum*, *G. vesiculiferum*, *Sclerocystis pachycaulis*, Cheju

토양생태계는 각종 미생물과 소동물 등의 다양한 생물상과 식물의 뿌리 및 무기환경 사이에 유기적 관계로 이루어져 있다. 이중 토양생물상에 존재하는 각종 미생물은 식물체의 근권에서 서식처 및 영양원에 대한 상호 경쟁적 관계, 길항적 관계, 항생관계 및 협력관계 등에 의해 균형된 생태계를 이루고 식물에 유리하게 작용하여, 농업활동을 원활히 하고 있다. A-Mycorrhizae는 대부분의 유관속 식물의 뿌리에 형성되는 접합균(Zygomycetes)과의 공생관계로서 이미 100여년전에 관찰되었으며(Schenck와 Pérez, 1988), 식물이 흡수하기 어려운 토양 내 무기양분의 흡수를 도와 식물의 생육을 촉진시키고 있다(Mosse와 Hayman, 1971); 근권의 수분관계를 조절하고(Graham 등, 1987), 토양중금속, 토양 전염성병원균, 건조 및 높은 지온 등에 대한 저항성을 갖게 하는 등 식물에 유리하게 작용하는 것으로

알려져 있다. 특히 mycorrhizae는 phosphatase나 유기산을 생성하여 토양중의 불용성 인을 가용화시키며 유기태 인의 무기화를 촉진하여 식물이 흡수 이용할 수 있게하므로 척박한 토양이나 인의 고정이 심한 토양에서 식물의 인 흡수를 증대시켜주는 것으로 알려져 있다(George 등, 1992; Li 등, 1991). 이와 같은 mycorrhizae의 식물과의 상호작용은 식물과 mycorrhizae의 종 관계에서는 특이성이 없는 것으로 여겨지나, 생태계와 토성에 따라 특이성이 있는 것으로 알려져 있다(Johnson, 1977), 이러한 의미에서 mycorrhizae를 인위적으로 농업에 유용하게 이용하고자 할 경우, 이용하고자하는 생태계 내에 서식하는 mycorrhizae의 종류, 생태 및 생리적 특성에 관한 연구가 선행되어야 한다.

국내에서 mycorrhizae에 관한 연구는 Koh와 Lee(1984)가 간척지 식물에서의 내생균근을 조사하여 보고한 이후, 현재는 여러 분야에서 연구가 수행되어 5속 50여종이 보고되어 있으며, 생리적 효

*Corresponding author

과에 대한 연구(Mun 등, 1990; Lee and Ryu, 1992; Lee 등, 1992), 분포 조사 및 동정에 관한 연구(Ahn 등, 1992; Eom과 Lee, 1989, 1990; Eom 등, 1992; Ka 등, 1990; Kim과 Kim, 1992; Koo 등, 1992; Sohn과 Kim, 1991) 및 생태적 분석에 관한 연구보고 등이 있다.

제주도 면적의 74%를 차지하고 있는 화산회토는 인산을 고정, 흡착하는 능력이 매우 높기 때문에 감귤원 등 경작지에 다량의 용성인비의 시용이 권장되어 왔으며, 그 결과 토양 중의 인 함량은 계속 증가되어 왔다. 제주도 토양에서 발생하는 이러한 인의 고정 문제를 해결하기 위하여 토양미생물의 이용가능성에 대한 연구가 수행되어 왔으나 아직 효과적인 대책이 없는 실정이며, mycorrhizae의 이용에 관한 연구보고는 없는 상태다. 본 연구에서는 mycorrhizae를 이용하여 제주도 토양에서 야기되고 있는 이러한 문제점을 개선할 수 있는 기초자료를 제공하고자 감귤원 토양에 서식하는 mycorrhizae균을 분류 동정하였다.

재료 및 방법

조사대상지역과 시료채취

제주도 일원 14개소의 감귤원에서 감귤 뿌리를 포함한 토양 시료를 95년 10월에 수집하였다. 표면의 이물질을 제거한 후 뿌리 자람이 왕성한 위치에서 5~15 cm 깊이의 근권토양을 채취하여 습윤상태로 polyethylene bag에 넣어 8°C 저온실에 보관하면서 필요시 실험에 사용하였다.

포자분리 및 관찰

VA균의 포자(azygospore, chlamyospore, sporocarp, zygozspore 등)의 분리는 wet-sieving

and decanting(Gerdemann and Nicolson, 1963)의 방법에 준하였다. 토양시료 50g을 500 ml beaker에 넣고 수돗물로 현탁액을 만든 후 이를 250 μm 와 45 μm 체를 겹쳐두고 통과시켰다. 45 μm 체에 걸러진 부분은 다시 1:1 glycerol 수용액에 현탁시켜 포자를 부상분리하였다. 색깔, 형태 및 크기 등이 다른 포자를 40배 해부현미경하에서 수집하여 0.01 M CaCl_2 용액에 보관하면서 동정에 이용하였다. 60배의 해부현미경하에서 1차 동정하고, 필요에 따라 mountant로 polyvinyl alcohol lactophenol(PVL)을 이용하여 영구 프레파라트를 만들었다. 균주의 동정은 Trappe(1982)의 분류키와 Shenck와 Perez(1988, 1990)의 manual을 사용하였으며 분류체제는 Morton과 Benny(1990)의 방법을 따랐으며 세포벽의 구조는 Walker(1983)의 포자벽층 방법을 참고하였다.

결과 및 고찰

제주도 감귤원 토양에서 분리 조사한 mycorrhizae의 속, 종의 동정 결과는 Table 1과 Fig. 1에서 보는 바와 같다. Morton과 Benny의 분류체제에 따라 *Glomus*속, *Sclerocystis*속 등 2개속 5개 종이 확인되었으며, 2개 종은 미동정되었다. 즉 Fig. 1의 A는 공시 모든 시료토양에서 azygospore만 단일포자형태로 빈도가 높게 관찰된 것으로서, 부착균사는 관찰되지 않았으며, 포자색은 해부현미경과 PVL mount상에서 갈색을 나타내었다. 포자의 크기는 90~125 μm 로 비교적 작았으며, 대부분 구형의 형태로 관찰되었다. 포자벽의 구조와 형태는 명확하게 관찰되지 않았다(Fig. 1, B). 이와같은 특성에 의해 *Acaulospora* sp.로 사료되었으나 Trape(1982)의 분류키와 Shenck와 Perez(1988, 1990)

Table 1. Arbuscular mycorrhizal spores found in the rhizosphere of citrus orchard in Cheju

Species	Spore color in TL	Spore size (μm)	Spore shape
<i>Acaulospora</i> sp.	pale brown to dark brown	90~125	globose to subglobose azygospore
<i>A. bireticulata</i>	light brown	140~150	globose to subglobose azygospore
<i>Glomus deserticola</i>	reddish brown	80~120	globose to subglobose
<i>G. geosporum</i>	brown to dark brown	125~160	globose, bearing of spores
<i>G. vesiculiferum</i>	light yellow	55~80×90~135	clavate vesicle-like spore
<i>Sclerocystis pachycaulis</i>	yellow to yellow brown	25~60×40~80	obovoid to ellipsoid chlamyospore

의 manual 및 Morton과 Benny(1990)의 분류체계 등에 의해 동정이 불가능하였으나, 우리 나라에

서의 다른 연구를 위하여 미분류 균근균의 상세한 사진을 첨가하였다.

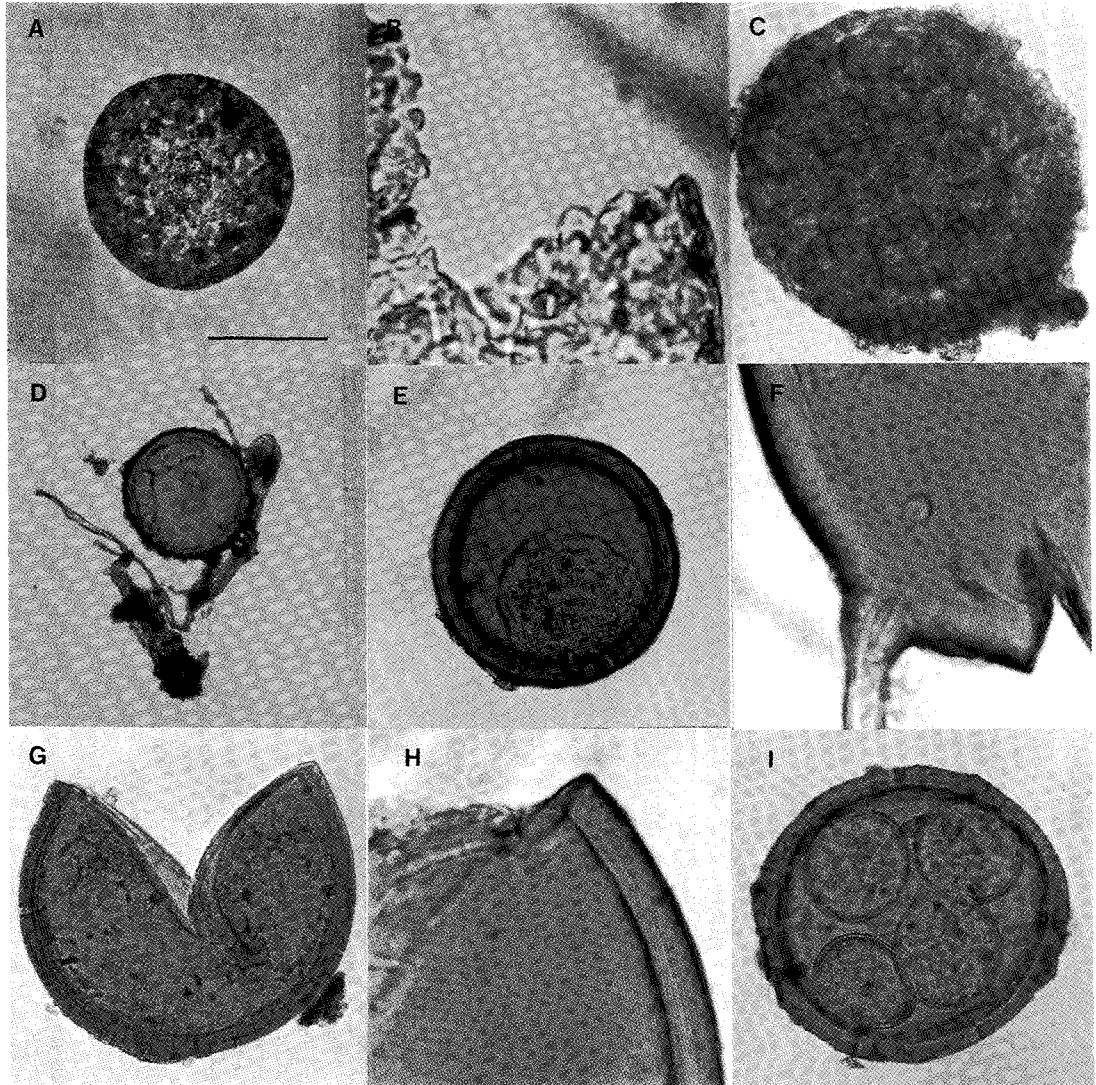


Fig. 1. A-mycorrhizal spores isolated from rhizosphere soils of Citrus Orchard in Cheju. A. Whole spore of unidentified species of *Acaulospora* ($\times 400$). B. The broken spore of unidentified species of *Acaulospora* ($\times 1000$). C. Azygospore of *A. bireticulata* showing the polygonal honeycombed reticulum ($\times 400$). D. The unidentified species of *Acaulospora*, showing the collapsed hyphal remnant of mother cells and azygospore ($\times 200$). E. Whole spore of *Glomus deserticola* ($\times 600$). F. The intact spore and subtending hyphae ($\times 1000$). G. The broken spore with single wall layer ($\times 600$). H. Broken spore showing single wall layer ($\times 1000$). I. *G. geosporum* showing spore contents ($\times 600$). J. Spore of *G. vesiculiferum* ($\times 400$). K. The sporocarp of *Sclerocystis pachycaulis* showing the chlamydospores radiating from a central core of hyphae ($\times 200$). L. Whole chlamydospores of *S. pachycaulis* with subtending hyphae ($\times 600$). M. Chlamydospores of *S. pachycaulis* ($\times 1000$). Bar is 50 μm .

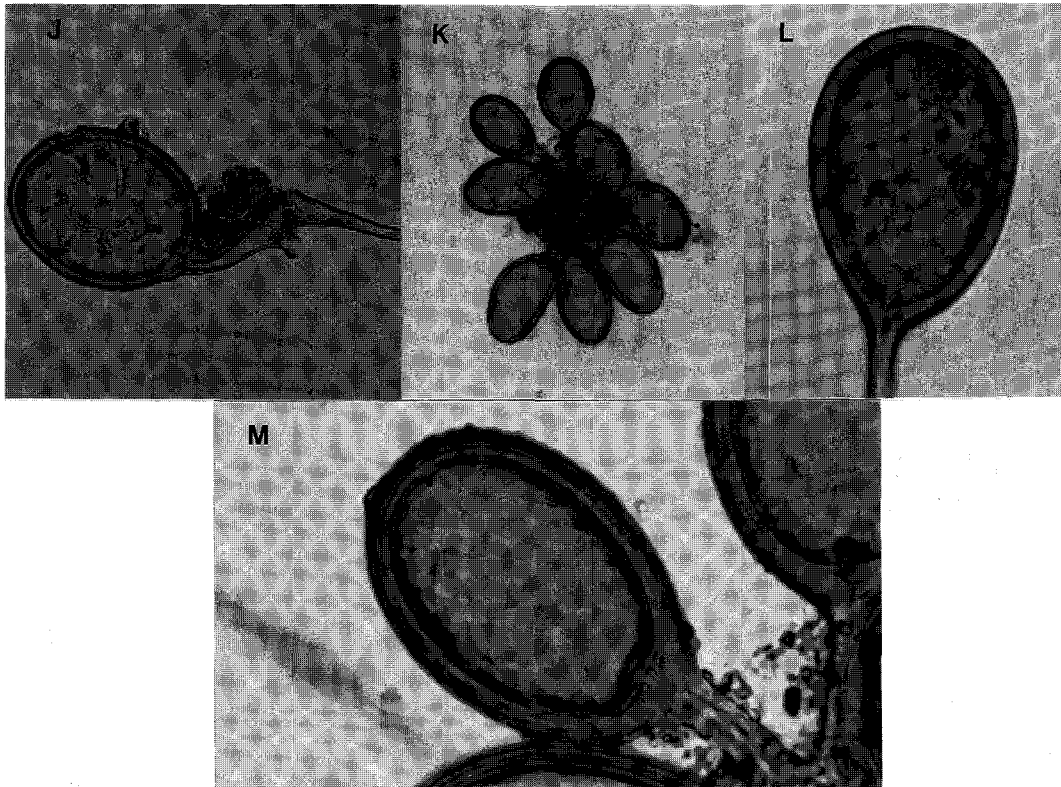


Fig. 1. Continued.

Fig. 1의 C는 azygospore만 단일포자형태로 빈도가 매우 낮게 관찰된 것으로서, 부착균사는 관찰되지 않았으며, 포자색은 해부현미경과 PVL mount상에서 옅은 갈색을 나타내었다. 포자의 크기는 $140\sim 150\ \mu\text{m}$ 였으며, 대부분 구형의 형태로 관찰되었다. 포자표면에는 다각형 형태의 망상구조를 갖고 있어 *A. bireticulata* Rothwell & Trappe로 동정하였다. Fig. 1, D는 공시토양에서 관찰된 것으로서, 노화된 hyphal terminus와 azygospore가 관찰된 것으로 보아 *Acaulospora* sp.로 사료되나 정확히 동정할 수 없었다.

Fig. 1의 E는 거의 모든 시료토양에서 빈도가 높게 관찰되었다. 포자낭과(Sporocarp)는 잘 관찰이 되지 않았으며, 단일 포자로 분리되었다. 포자의 색은 해부현미경과 PVL mount상에서 황색 또는 적갈색을 나타내어 다른 종들과 구별되었다. 포자의 형태는 일반적으로 구형이며 지름은 $80\sim 120\ \mu\text{m}$ 이

고, 표면은 매끈한 형태로 관찰되었다. 포자벽(spore walls)은 1개이며(Fig. 1, F) $5.0\sim 7.5\ \mu\text{m}$ 의 두께를 가진 laminated wall이다(Fig. 1, G). 부착균사는 뚜렷하게 관찰되지 않았으나 recurved 또는 funnel형으로 $5\sim 6.5\ \mu\text{m}$ 의 폭을 나타내며 포자와의 부착부분이 $9\sim 10\ \mu\text{m}$ 로 가장 넓으며 균사의 벽은 $1.0\ \mu\text{m}$ 내외이다(Fig. 1, H). 이상과 같은 특징으로 보아 *Glomus deserticola* Trappe, Bloss & Menge(1984)로 동정하였다.

Fig. 1, I는 단일포자형태로 빈도가 매우 낮게 관찰된 것으로서, 포자색은 갈색을 나타내었다. 포자는 $125\sim 160\ \mu\text{m}$ 의 크기인 구형였으며, 내부에는 구형의 포자를 함유하고 있는 것이 관찰되었다. 이상과 같은 특징에 의해 *Glomus geosporum*으로 사료되었다. Fig. 1, J는 관찰빈도는 높지 않았으며, 단일 포자로 관찰된 것으로서 포자의 색은 해부현미경과 PVL mountant상에서 옅은 황색 또

는 약간 진한 황색으로 관찰되었다. 포자는 clavate형태 또는 불규칙하였으며, $50\sim 80\times 90\sim 135\ \mu\text{m}$ 의 크기로 관찰되었다. 포자벽은 1개이며 $2\sim 4\ \mu\text{m}$ 두께로 laminated wall의 형태를 보였다. 이상과 같은 포자의 형태 및 색 등에 의해서 *Glomus vesiculiferum* Gardemann & Trappe로 동정하였다.

Fig. 1, K는 후막포자가 방사형으로 배열되어 있는 sporocarp으로서 Sclerocystis속에 속한다 (Hall과 Fish, 1979; Schenck과 Pérez, 1990). Sporocarp의 크기는 $180\sim 200\times 200\sim 250\ \mu\text{m}$ 이며, 후막포자가 망상형태로 배열되어 있는 균사 선단부위에 불규칙적으로 부착되어 있었다. 후막포자의 형태는 근봉형(obovoid) 또는 타원형으로서 $25\sim 60\times 40\sim 80\ \mu\text{m}$ 를 나타내었으며 (Fig. 1, L), 포자의 색은 해부현미경과 PVL mountant상에서 황색 또는 황갈색으로 관찰되었다. 포자벽은 하나의 벽층으로 구성되며 여러개의 층이 겹쳐진 형태로 두께는 $2\sim 4\ \mu\text{m}$ 로 관찰되었다. 부착균사의 폭은 포자벽보다 넓은 $4\sim 6\ \mu\text{m}$ 였으며, 포자와의 부착부분이 두껍게 관찰되었고 격막이 관찰되기도 하였다 (Fig. 1, M). 이와 같은 특성으로 보아 *Sclerocystis pachycaulis* Wu & Chen으로 동정되었다.

적 요

제주도 일원 14개소의 감귤원에서 감귤 뿌리를 포함한 토양 시료를 95년 10월에 수집하여 VA균의 포자를 분리하여 관찰 동정하였다. 분리된 공생 균근균은 3속 5종으로서 *Acaulospora bireticulata*, *Glomus deserticola*, *G. geosporum*, *G. vesiculiferum*, *Sclerocystis pachycaulis*였으며, *Acaulospora* sp.로 사료되는 두 가지는 아직 종동정이 되지 않았다. 이중에서 *G. deserticola*와 미동정된 *Acaulospora* sp.는 모든 시료토양에서 빈도가 매우 높게 관찰되어 우점종으로 사료되었으나, 다른 종에 속하는 포자들은 이들 종에 비하여 관찰 빈도가 매우 낮았다.

감사의 글

이 논문은 1995년도 교육부 학술연구조성비(농

업과학: 농-95-23)에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Ahn, T. K., Lee, M. W., Ka, K. H. and Lee, S. S. 1992. Arbuscular mycorrhizal spores found from the soils of the leguminous plants in Korea. *Kor. Mycol.* 20: 95-108.
- Eom, A. H. and Lee, S. S. 1989. Endomycorrhizal fungi identified on the soils in forest and coast areas. *Kor. Mycol.* 17: 14-20.
- Eom, A. H. and Lee, S. S. 1990. Endomycorrhizal fungi found from the soils of the communities of *Persicaria thunbergii* H. Gross. *Kor. Mycol.* 18: 26-41.
- Eom, A. H., Lee, S. K. and Lee, S. S. 1992. Five sporocarpic species of *Glomus* found in Korea. *Kor. Mycol.* 20: 85-94.
- Gardemann, J. W. and Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 234-235.
- George, E., Haussler, K. U., Vetterlein, D., Gorgus, E. and Marschner, H. 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae*. *Can. J. Bot.* 70: 2130-2137.
- Graham, J. H., Syvertsen, J. P. and Smith, Jr. M. L. 1987. Water relations of mycorrhizal and phosphorus-fertilized non-mycorrhizal citrus under drought stress. *New. Phytol.* 105: 411-419.
- Hall, I. R. and Fish, B. J. 1979. A key to the Endogonaceae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* pp.73-270.
- Johnson, P. N. 1977. Mycorrhizal Endogonaceae in a New Zealand forest. *New. Phytol.* 78: 161-170.
- Ka, K. H., Lee, S. S. and Lee, M. W. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi found from the soils of plant communities. *Kor. Mycol.* 18: 191-197.
- Kim, J. T. and Kim, C. K. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi found from the soils around the roots of the leguminous plants. *Kor. Mycol.* 20: 171-182.
- Koh, S. D. and Lee, H. H. 1984. Studies of species and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to salt marsh plants. *Korean Mycol.* 12: 175-181.
- Koo, C. D., Kim, T. J., Yi, C. K., Lee, W. K., Kang, C. H., Lee, B. C. and Lee, S. K. 1992.

- Sporocarp forming arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus* spp. in forest soils of Korea. *Kor. Mycol.* **20**: 29-36.
- Lee, S. K., Eom, A. H. and Lee, S. S. 1992. Population changes of arbuscular mycorrhizal spores in the different soil environments. *Kor. Mycol.* **20**: 134-143.
- Lee, S. S. and Ryu, C. N. 1992. Symbiosis of arbuscular mycorrhizae on the plant roots. *Kor. Mycol.* **20**: 126-133.
- Li, X. L., George, E. and Marschner, H. 1991. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant Soil.* **136**: 41-48.
- Morton, J. B. and Benny, G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (zygomycetes): A new Order, Glomales, two new families Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* **25**: 471-491.
- Mosse, B. and Hayman, D. S. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. In unsterilized field soils. *New. Phytol.* **70**: 29-35.
- Mun, H. T., Kim, C. K. and Choe, D. M. 1990. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth of bell pepper and corn seedlings. *Kor. J. Ecol.* **13**: 1-8.
- Schenck, N. C. and Perez, Y. 1988. Manual for the identification of VA-mycorrhizal fungi (2nd ed.). IVAM. Plant Pathology Department, University of Florida, Gainesville, Florida. p.1.
- Schenck, N. C. and Perez, Y. 1988. Manual for the identification of VA-mycorrhizal fungi, 3rd edition. University of Florida, Gainesville, Florida.
- Sohn, B. K. and Kim, K. S. 1991. Studies on the indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (VAMF) in horticultural crops grown under greenhouse. II. Identification of the indigenous VAMF distributed in greenhouse soil. *J. Soil Fertilizer* **24**: 293-301.
- Trappe, J. M. 1982. Synoptic keys to the genera and species of zygomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology* **72**: 1102-1109.
- Trappe, J. M., Bloss, H. E. and Menge, J. A. 1984. *Glomus deserticolor* sp. nov. *Mycotaxon* **20**: 123-127.
- Walker, C. 1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: Spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon* **18**: 443-455.