

소나무류 균근균의 배양적 특성비교 및 인공접종에 의한 해송묘목에의 균근형성*

이종규¹⁾ · 이훈용¹⁾ · 이상용¹⁾

Comparison of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species in cultural characteristics and artificial mycorrhizal synthesis on *Pinus thunbergii* seedlings*.

Jong Kyu Lee¹⁾, Hoon Yong Lee¹⁾ and Sang Yong Lee¹⁾

요 약

소나무류의 뿌리나 토양에서 분리된 균근균의 배양특성 비교와 인공접종에 의한 소나무 묘목에의 균근형성을 시도하였다. 소나무류 균근균은 다양한 생장특성을 지니고 있었는데, 배지별 생장에서 민자주 방망이버섯(*Ln73/92*)은 PDA에서, *Paxillus* sp.는 FDA에서, 알버섯(*FRI91017*)은 Hagem배지에서, 나머지 균근균들은 MP배지에서 생장이 양호하였다. 온도나 pH를 달리한 배양조건에서 대부분의 균근균들은 25℃에서 생장이 양호하였으나 모래발버섯(*FRI91004*와 *Pt1*)은 30℃가 최적온도였고, pH도 균근균의 종류에 따라 약산성에서부터 약알칼리성에 이르기까지 최적 pH가 다양하였다. 생장시에 선호하는 탄소원의 종류도 균근균의 종류에 따라 다양하였으나 탄소원으로 xylose를 첨가한 배지에서는 모든 균근균의 생장이 불량하였다. 질소원은 KNO₃ 또는 asparagine을 선호하는 종류가 많았고 urea를 첨가한 배지에서는 거의 모든 균근균이 생장하지 못하였다. 균근균을 해송묘목에 인공접종하여 균근균을 형성시킨 결과, 모래발버섯인 *Pt1*균주만 3개월만에 성공적으로 균근을 형성하여 외생균근의 전형적인 특징인 두꺼운 균사막으로 덮인 분지된 세균이 관찰되었으며 조직염색법에 의해 처리된 균근형성뿌리의 횡단절단면을 Nomarski interference microscope로 관찰하여 표피세포에 형성된 fungal mantle과 피층세포에 형성된 Hartig net을 확인하였다.

ABSTRACT

This experiment was carried out to compare the cultural characteristics of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species, and to form mycorrhizal association with *Pinus*

1) 강원대학교 산림과학대학 산림자원학부 산림자원보호전공: Forest Resources Protection, Division of Forest Resources, College of Forest Sciences, Kangwon National University, 200-701, Korea.

* 이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단 대학부설연구소 지원연구비에 의하여 수행된 연구결과의 일부분임.

thunbergii by artificial inoculation of these fungi. Mycorrhizal fungi tested showed great variations in cultural characteristics. Most fungal isolates was best grown on MP medium, except PDA for *Lepista* sp.(Ln73/92), Hagem for *Rhizopogon rubescens*(FRI91017), and FDA for *Paxillus* sp.(Pa60/92). Optimum temperature for these fungi was 25°C, except 30°C for *Pisolithus tinctorius* (FRI91004 and Pt1). The range of pH conditions favorable for these fungal isolates were also variable from weak acidic(pH5) to weak alkalic(pH8). Utilization of the carbon sources for these mycorrhizal fungi was different. Fructose, glucose, and maltose were all utilized well, while xylose was not utilized generally. Mycelial growth on the media supplemented with potassium nitrate was better than those on other media with urea, asparagine, or peptone as a nitrogen source, and the poor growth was observed on the media with urea. *Pisolithus tinctorius*(Pt1) among 7 mycorrhizal fungi artificially inoculated for the mycorrhizal synthesis on *Pinus thunbergii* seedlings in the test tube containing a mixture of peat moss-vermiculite(2:1, v/v) formed mycorrhizae successfully after 3 months. *P. tinctorius* formed branched and unbranched roots covered with thick fungal mantle and radiating external hyphae. Mycorrhizal root cross-sectioned by hand, stained, and observed by Nomarski interference microscope showed typical characteristics of ectomycorrhizae: fungal mantle on epidermal cells and thick Hartig net hyphae around cortex cells.

Keywords : ectomycorrhizal fungi, cultural characteristics, *Pinus thunbergii*, mycorrhizal synthesis, *Pisolithus tinctorius*

서 론

균근은 토양곰팡이와 식물체의 뿌리간에 고도로 진화된 상호공생관계를 일컫는 용어로서, 대부분의 육상식물체 뿌리에서 수분과 양분의 흡수능력을 증가시켜 식물체의 성장과 생존을 향상시켜 왔다. 균근형성은 형태적인 특징에 따라 최소한 7가지의 다른 타입으로 구분할 수 있는데, 내생균근(endomycorrhiza - arbuscular mycorrhizae), 외생균근(ectomycorrhiza), orchid 균근, ericoid 균근, 내외생균근(ectendomycorrhiza), arbutoid 균근, monotropoid 균근 등으로 나눌 수 있다. 이 중에서 농업과 임업에 특히 중요한 종류는 내생균근과 외생균근이며 목본식물에는 대부분 외생균근이 형성된다(Brundrett, 1996; Menge, 1983).

균근균은 생리적으로 기주식물체로부터 탄수화

물을 공급받아 생활사를 완성하고 기주식물에는 토양으로부터 흡수한 수분과 양분을 공급한다. 많은 종류의 균근균은 기주식물체의 질소와 인의 흡수에 크게 기여하는 것으로 알려져 있는데(Iwan and Zak, 1979), 토양속에 널리 뻗어있는 균사는 이동성이 적은 인산과 암모니아 형태의 질소 흡수에 매우 효과적이다. 균근균의 종류에 따라서는 토양이 건조할 때 질산태 질소의 흡수에 효과적인 종도 있다. 균근균은 식물체의 수분생리에도 영향을 미쳐서 식물체가 수분스트레스로부터 회복하는데 효과적인 종도 있고(Dixon et al., 1980), 산성우에 대한 내성을 증가시키기도 하며(Stroo and Alexander, 1985), 뿌리병원균의 감염과 고온에 내성을 지니게 하고(Marx, 1971, 1972), 토양독성에 내성을 증가시키기도 한다(Oh and We, 1996).

생태적인 측면에서 균근형성은 기주식물의 종류나 나이에 관계가 있으므로, 균근균은 생태계의 식생발달과 천이에 따라 함께 천이가 일어난다. 또한 담자균류인 외생균근균에 의해 주로 형성되는 버섯은 야생동물 뿐만 아니라 인류에게도 유용한 먹이가 되는 것이 많아서 지구상의 생물 다양성 유지에도 기여하고 있다.

이러한 특징을 지닌 균근균은 농업과 임업에서 생산성 향상을 위하여 다양하게 이용될 수 있다. 균근균에 대한 연구는 인공배지상에서 균사나 자실체의 배양에 어려움이 있지만 농업, 원예업, 임업 등에서는 묘목의 초기활착과 성장증진에 이용될 수 있으며(Abbott and Malajczuk, 1994), 송이버섯이나 덩이버섯, 혼시메지 등의 균근성버섯 생산에도 크게 기여할 수 있다(Ohta, 1994 a,b, 1998). 최근에는 환경오염의 주요한 원인이 되는 이산화탄소나 오존이 균근형성 및 발달에 미치는 영향에 대한 연구가 진행되고 있으며 분자생물학적 기술을 이용하여 기주식물과 균근균과의 상호관계를 이해하려는 노력을 기울이고 있다. 또한 비탈면이나 화산지대 등 식생이 쉽게 정착하지 못하는 척박한 토양에서 효율적으로 비탈면을 안정시키는데 이용하고자 피복자재와 같이 사용하여 녹화시키는 공법에 대한 연구도 사방조림분야에서 수행되고 있다(Ezaki et al., 1997; Okabe et al., 1994, 1997).

국내에서는 1980년대 초기에 목본식물에 자생하는 외생균근균에 대한 조사가 이루어 졌으며

(Lee et al., 1981; Lee and Koo, 1983; Lee and Kim, 1983, 1986, 1987), 모래발버섯과 사마귀버섯 균근균을 소나무류 묘목 또는 삽수묘에(Koo et al., 1982; Lee and Kim, 1994), 모래발버섯을 리기테다 소나무 묘목(Ko and Lee, 1988) 또는 상수리나무 삽수(Kim and Lee, 1990), 조직배양묘 등에 인공접종하여(Lee and Kim, 1994) 성장증진, 인공산성수에 의한 피해 경감, 삽목의 발근을 촉진 및 증가 등의 결과를 확인하였다.

이상에서 언급한 바와 같이 균근균이 수목의 성장에 관련하여 유용한 토양미생물의 역할을 지니고 있으므로, 이 연구는 우리나라에 널리 분포되어 있는 대표적인 수종인 소나무류에 형성되는 균근균들의 배양적 특성비교와 인공접종에 의한 균근의 형성을 통하여 유용한 균근균의 선발과 아울러 소나무 성장에 있어서 균근의 역할 규명을 통한 균근형성 우량 소나무묘목의 대량생산을 위한 기초 연구로 수행되었다.

재료 및 방법

1. 사용균주

소나무류에서 균근을 형성하는 것으로 알려진 7종류의 균근균 균주를 국내 또는 국외로부터 분양받아 사용하였다(Table 1).

Table 1. List of the ectomycorrhizal fungi used in this experiment

Mycorrhizal fungi	Isolate No.	Korean name	Symbiotic species/Collection sites
<i>Lepista nuda</i>	Ln73/92 ^{a)}	민자주방망이버섯	<i>Pinus sylvestris</i> , <i>P. rigida</i> /Sapporo, Japan
<i>Paxillus</i> sp.	Pa60/92	우단버섯	<i>P. strobilus</i> /Asahikawa, Japan
<i>Rhizopogon rbescens</i>	FRI91017 ^{b)}	알버섯	New Zealand
<i>Suillus bovinus</i>	FRI91040	황소비단그물버섯	<i>P. thunbergii</i> /Siga, Japan
<i>Lyophyllum shimeji</i>	FRI91043	혼시메지	Kyoto, Japan
<i>Pisolithus tinctorius</i>	FRI91004	모래발버섯	<i>P. densiflora</i> /Seoul, Korea
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Pt1	모래발버섯	Japan

^{a)} Ln 73/92, Pa60/92, and Pt1 isolates were supplied by the Department of Forest Science, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

^{b)} FRI91017, FRI91040, FRI91043, and FRI91004 were supplied by the Department of Forest Microbiology, Forest Research Institute, Seoul, Korea.

2. 균근균의 배양특성비교

(1) 배양배지별 성장특성 비교

소나무류 균근균의 배양배지별 성장특성을 비교하기 위하여 일반적으로 균근균의 분리 및 배양에 많이 사용되고 있는 7종류의 배양배지에서 배양하면서 성장특성을 비교하였다(Table 2). 각 배지는 멸균된 plastic petri dish에 분주하여 균한 후에, PDA(감자한천배지)에서 배양한 균근균을 직경 5mm의 cork borer로 떼어 내어 각 배지의 중앙에 접종하고 25℃항온기에서 암상태로 배양하면서 10일간격으로 균사생장량을 측정하였으며 각 실험은 처리 당 3반복으로 수행하였다.

(2) 온도 및 pH별 성장특성 비교

온도별 균사생장량은 MP배지에서 배양한 각 균근균의 균사를 포함하는 agar disc를 직경 5mm의 cork borer로 떼어내어, 직경 55mm인 petri dish에 분주하여 균한 MP배지에 접종하

였다. 접종한 균근균들은 각각 10, 15, 20, 25, 30, 35℃로 조정된 항온배양기에서 배양하면서 균사생장량을 측정하였다. pH별 균사생장량도 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 pH4에서 pH9까지 조정된 MP배지에 온도별 실험에서와 동일한 방법으로 균근균들을 접종하고 25℃ 항온기에서 배양하면서 3일마다 측정하였으며 각 실험은 처리 당 3반복으로 수행하였다.

(3) 탄소원과 질소원별 성장특성 비교

탄소원과 질소원의 종류에 따른 균근균의 생장량은 탄소원별 배지의 경우, 질소원으로 peptone (10g/l)을 동일한 양으로 첨가하였고 탄소원으로는 sucrose, maltose, xylose, arabinose, glucose 및 fructose(100g/l)를 사용하였다. 또한 질소원별 배지의 경우에는 탄소원으로 sucrose(100g/l)를 동일한 양으로 첨가하였고, 질소원으로 peptone, urea, potassium nitrate (KNO₃), ammonium sulfate[(NH₄)₂SO₄] 및 asparagine을 사용하였다. 균근균을 접종한 plates

Table 2. Composition of culture media

Culture media	PDA	FDA	Hagem	Hamata	MP	YPGA	MMN
Composition \							
Carbohydrate source(g/L)							
PDA(Difco Co.)	39.0						
dry yeast				5.0			
yeast extract						2.0	
malt extract		5.0	5.0		10.0		3.0
glucose		20.0	5.0	20.0	10.0	10.0	10.0
peptone					1.0	2.0	
Mineral nutrients(g/L)							
NH ₄ Cl		0.5	0.5				
KH ₂ PO ₄		0.5	0.5	1.0		1.0	0.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄						0.25	
MgSO ₄ · 7H ₂ O		0.5	0.5	0.5		0.5	0.15
FeCl ₃				1.5ml (1% sol.)		1.2ml (1% sol.)	
CaCl ₂						0.05	
NaCl						0.025	
Vitamins(μg/L)							
thiamine HCl						0.1	
Agar(g/L)		15	15	15	15	15	15
pH		5.0				5.8	

PDA= Potato Dextrose Agar. FDA= Ferry & Das. MP= Malt extract Peptone Agar. YPGA= Yeast extract Peptone Glucose Agar. MMN= Modified Melin Norkans medium.

는 25°C 항온기에서 배양하면서 접종 후 7일마다 균사생장량을 측정하였다. 직경이 5mm인 cork borer를 사용하여 이미 배양된 균주에서 균사를 포함하는 agar disc를 떼어내어 접종원으로 사용하였으며 각 실험은 처리 당 3반복으로 수행하였다.

3. 균근균의 인공접종에 의한 해송묘목에의 균근형성

(1) 종자소독 및 파종

균근 형성을 위한 종자 소독은 Nordam과 Fortin(1982) 및 Brundrett 등(1996)의 방법에 준하되, 해송 종자에 알맞도록 변형하여 실시하였다. 해송 종자를 1일간 흐르는 수돗물에 수세한 후, 30% H₂O₂에 20분간 처리하고 멸균수로 3회 수세하였다. 직경 90mm의 멸균된 petri dish에 멸균수로 적신 cheese cloth를 깔고 소독한 해송종자를 1개의 plate당 25개씩 파종하여 25°C의 growth chamber에서 발아를 유도하였으며, 광암조건은 12시간씩 반복처리하였다.

(2) 해송 묘목의 생육

종자가 발아하여 약 5-10cm 정도의 크기가 되면 시험관(직경 35mm×길이 20cm)에 이식하였다. 이때 시험관내에 여과지를 높이 10cm가 되도록 말아서 넣고 그 속에 vermiculite와 peat moss를 1 : 2로 섞어 채운 후 솜마개로 막고 멸균하

여 식힌 후에 사용하였다. 멸균한 시험관의 안쪽 면과 여과지 사이를 벌린 후, 발아한 묘목의 뿌리 부분만 그 사이로 넣고 다시 여과지를 안쪽면에 밀착시켰다. 발아시킨 해송 묘목의 뿌리는 이식할 때 주의를 요하므로 조심스럽게 다루었다.

(3) 균근균의 접종

균근균의 접종은 생육중인 해송묘목에 7균주를 접종하였다. 접종은 직경 5mm인 cork borer를 사용하여 균사가 포함된 agar disc를 떼어낸 후, 해송 묘목이 이식된 시험관의 안쪽면과 여과지 사이를 벌리고 해송의 뿌리 근처에 agar disc를 5개씩 넣고 여과지를 다시 밀착시켰다. 접종이 끝난 시험관은 해송 묘목의 뿌리가 광에 노출되지 않도록 aluminum foil로 시험관 외부를 여과지의 상단부분까지 감싸주었다. 접종된 해송은 다시 25°C의 growth chamber에서 광암조건을 12시간씩 번갈아 처리하며 생육시켰으며, pH 6.5로 제조한 식물영양액(Table 3)을 2주일에 5ml씩 각 시험관에 공급하였다.

(4) 균근형성 유무 확인

균근균을 접종한 해송에 균근이 형성되는지를 수시로 육안으로 확인하였으며, 육안으로 균근이 확인된 것은 Brundrett 등(1990, 1996)의 방법에 의하여 염색한 후 현미경하에서 관찰하였다. 균근이 형성된 뿌리와 무처리한 뿌리를 수세하고 토양 및 불순물을 제거한 후에 hand section

Table 3. Composition of plant nutrient solution

macro	g/l	micro	mg/100ml(×1000)
CaCl ₂	0.277	Fe(Sequestrene 330 chelate)	441
K ₂ SO ₄	0.218	KCl	186
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.246	H ₃ BO ₃	77
KH ₂ PO ₄	0.314	CuSO ₄ · 5H ₂ O	6
		MnSO ₄ · 4~5H ₂ O	38
		ZnSO ₄ · 7H ₂ O	29
		(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.9
		Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	1.693

하여 조직박편을 만들고 조직내의 색소 또는 페놀화합물 등을 제거하기 위해 10% KOH 용액에 침지하여 항온수조에서 70℃로 9시간동안 처리하였다. 처리된 시료는 멸균수로 수세한 후, 0.03% chlorazol black E(CBE; H₂O: lactic acid: glycerol = 1 : 1 : 1)용액에 침지하여 항온수조에서 60℃로 3시간 처리하여 염색하였다. 염색이 끝나면 멸균수로 수세하고 50% glycerol에 mount하여 Nomarski interference contrast microscope 하에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 균근균의 배양특성 비교

(1) 배지별 성장특성 비교

균근균의 균사 성장량을 7종류의 균근균 분리 및 배양배지에서 비교한 결과, Ln73/92와 FRI91043은 상대적으로 성장량이 빨라 접종 10일 후의 성장량을 측정하였고, Pt1은 생장이 느려 30일 후에 측정하였으며, 나머지 4균주는 20일 후의 성장량을 측정하였다. 배지별 균사 성장량은 균근균의 종류에 따라 다양하게 나타났는데, Ln73/92는 PDA에서, Pa60/92는 FDA배지에서, FRI91017은 Hagem배지에서 가장 잘 성장하였으며, 나머지는 MP배지에서 가장 잘 성장하였다. 결과적으로 FRI91017을 제외하고는 사용한 균근균 모두가 MP배지에서 양호한 성장을 보이는 것으로 밝혀졌다. 따라서 이후의 모든 실험은 MP배지를 기본으로 사용하였다(Fig.1).

(2) 온도 및 pH별 성장특성 비교

배지별 성장량의 조사에서 얻은 결과에 기초하여 온도 및 pH에 따른 균근균 성장량의 조사에서는 MP배지를 사용하였다. 온도별 성장량에서도 Ln73/92와 FRI91043은 빠른 성장량을 보여 접종 9일 후에 성장량을 측정하였으며 나머지 균근균들은 21일 후에 측정하였다. 균근균의 균사성장량은 배양온도에 따라 많은 차이를 나타내었는데, 대부분의 균주들이 25℃에서 가장 잘 성장하였으며 10℃와 35℃에서는 거의 성장을 하

지 못하였다. 모래발버섯 균주인 FRI91004와 Pt1은 30℃에서 가장 양호한 성장을 하였고 35℃에서도 잘 성장하였다(Fig.2).

pH별 균사성장량의 경우, Ln73/92와 FRI91017은 6일 후에 측정하였고 FRI91043은 9일 후, 나머지 균근균들은 24일 후에 측정하였다. 특이한 것은 Ln73/92와 Pa60/92는 산성보다는 알칼리성을 선호하였고, FRI91043과 FRI91017의 경우 알칼리성에서는 생장이 둔화되었다. 그러나 대부분의 균근균들이 약산성부터 약알칼리성까지 모두 양호하게 성장하였고 모래발버섯 균주인 FRI91004와 Pt1은 중성에서 잘 성장하였다(Fig.3).

(3) 탄소원 및 질소원별 성장특성 비교

탄소원 및 질소원의 종류에 따른 균근균의 균사성장량을 측정하였는데, Ln73/92와 FRI91043은 생장이 빨라 FRI91043은 7일 후에, Ln73/92는 14일 후에 측정하였고, 나머지는 접종 28일 후에 측정하였으며, FRI91040은 실험에서 제외하였다.

탄소원별 배지에서는 glucose와 maltose, fructose를 첨가한 배지에서 전체적으로 양호한 성장을 보였으며 기중균사도 잘 발달하여 특유의 균총색을 나타내었고, 그 외의 배지에서는 균총의 크기가 작고 기중균사도 발달되지 않아 흰색 또는 투명하게 성장하였으며 xylose를 첨가한 배지에서는 생장이 가장 불량하였다. 그러나 FRI91043과 Ln93/92는 모든 배지에서 잘 성장하였다(Fig.4).

질소원별 배지에서의 균사성장량 측정은 탄소원별 배지에서의 균사성장량 측정과 동일한 시기에 실시하였다. 질소원별 측정에서도 FRI91043과 Ln73/92는 질소원의 종류에 상관없이 생장이 양호하였으나 KNO₃, (NH₄)₂SO₄, asparagine, urea는 기중균사가 발달되지 않았다. 다른 균주의 경우 Pa60/92와 FRI91017을 제외하고는 asparagine에서 잘 성장하였고 KNO₃에서는 모두 잘 성장하였으나, 기중균사가 발달되지 않았고 균총의 색도 흰색이나 투명하였다. 특이한 것은 (NH₄)₂SO₄의 경우 기중균사는 발달하지 않았으나 원래의 균총색을 지니고 있던 균주에서는 황갈색으로 성장하였다(Fig.5).

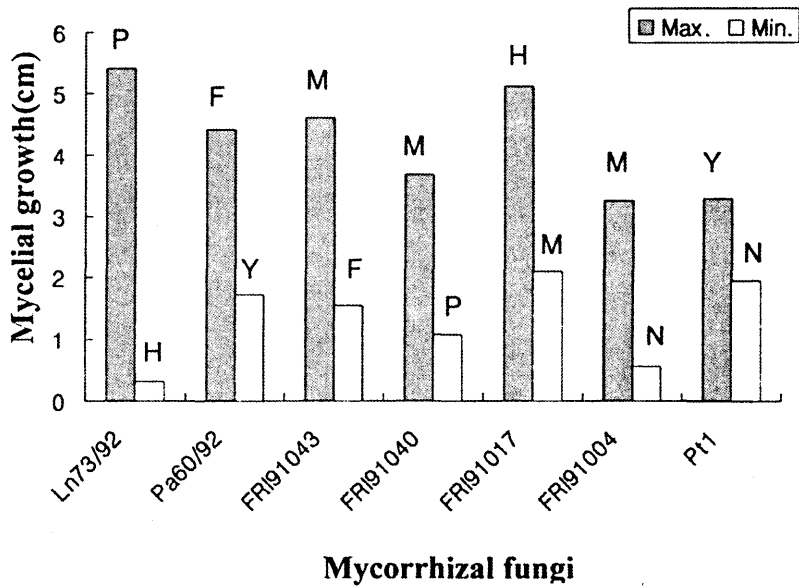


Fig.1. Mycelial growth of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species on various culture media. Abbreviations for culture media are as follows: P=PDA, F=FDA, M=MP, H=Hagem, Y=YPGA, N=MMN. Measurement time of mycelial growth after inoculation: Ln73/92 and FRI91043: 10 days, Pa60/92, FRI91040, FRI91017, and FRI91004: 20 days, Pt1: 30 days.

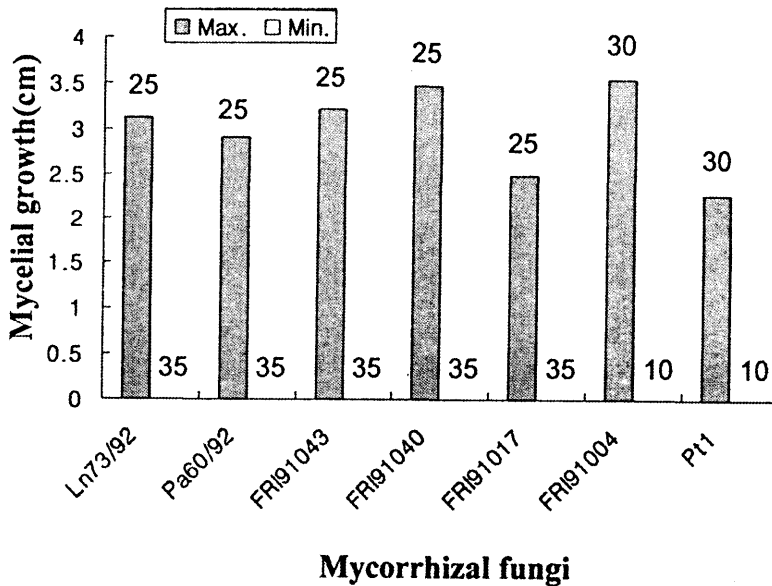


Fig.2. Effects of temperature on the mycelial growth of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species on MP medium. Measurement time of mycelial growth after inoculation: Ln73/92 and FRI91043: 9 days, Pa60/92, FRI91040, FRI91017, FRI91004, and Pt1: 21 days.

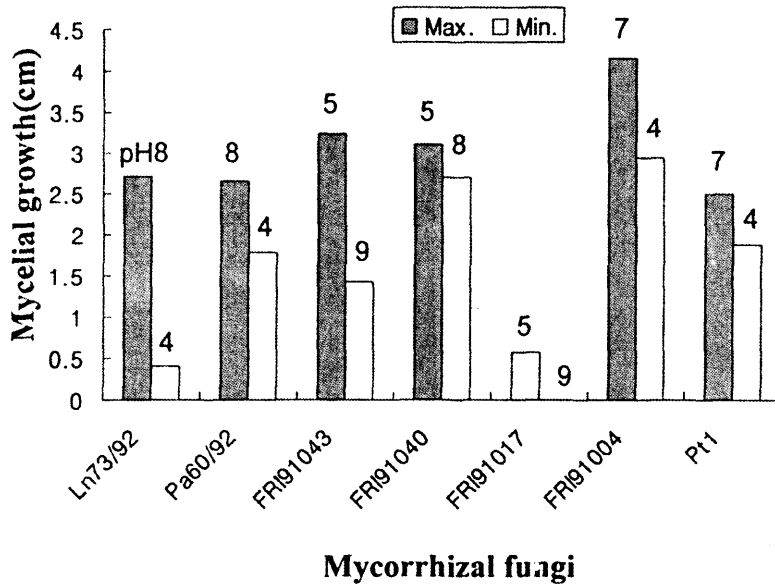


Fig.3. Effects of pH on the mycelial growth of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species on MP medium. Measurement time of mycelial growth after inoculation; Ln73/92 and FRI91017: 6 days, FRI91043: 9 days, Pa60/92, FRI91040, FRI91017, FRI91004, and Pt1: 24 days.

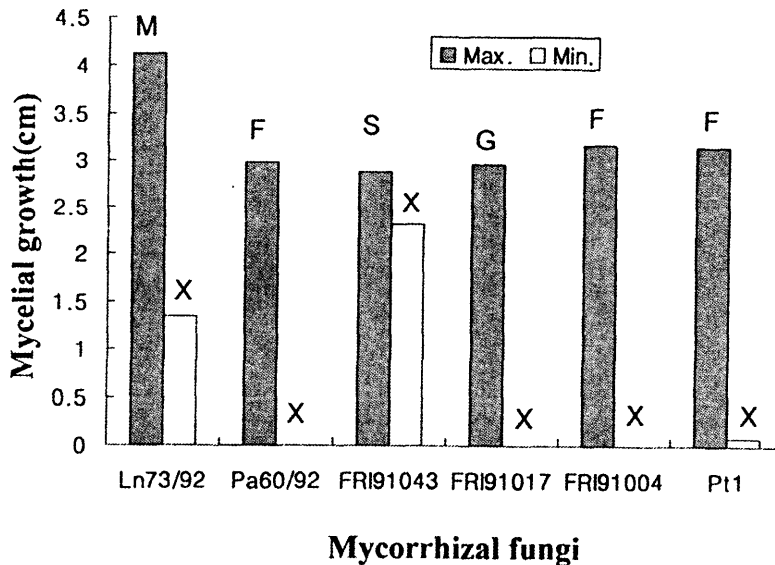


Fig.4. Effects of carbon sources on the mycelial growth of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species on MP medium. Abbreviations for carbon sources are as follows; M=maltose, F=fructose, S=sucrose, G=glucose, F=fructose, X=xylose. Peptone was supplemented as a nitrogen source at the concentration of 10 g/l. Measurement time of mycelial growth after inoculation; FRI91043: 7 days, Ln73/92: 14 days, Pa60/92, FRI91017, FRI91004, and Pt1: 28 days.

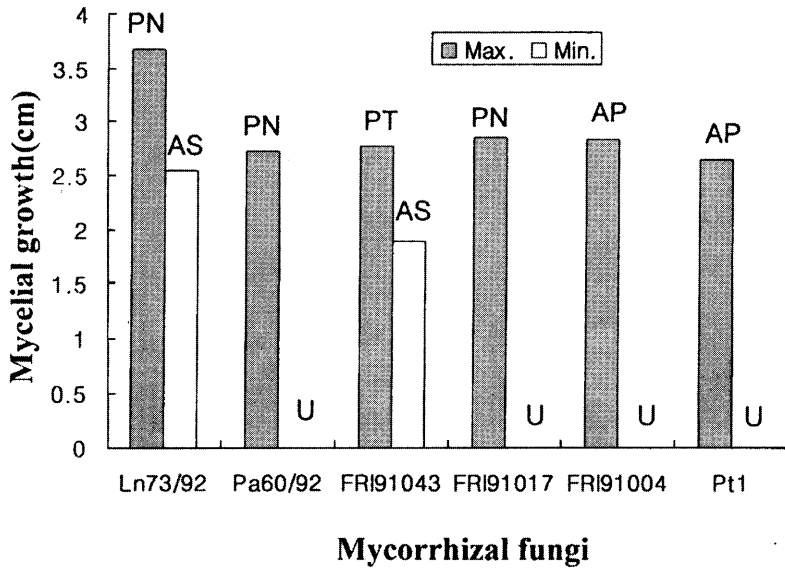


Fig.5. Effects of nitrogen sources on the mycelial growth of mycorrhizal fungi associated with *Pinus* species on MP medium. Abbreviations for nitrogen sources are as follows: PN=potassium nitrate, PT=peptone, AP=asparagine, AS=ammonium sulfate, U=urea. Sucrose was supplemented as a carbon source at the concentration of 100 g/l. Measurement time of mycelial growth after inoculation: FRI91043: 7 days, Ln73/92: 14 days, Pa60/92, FRI91017, FRI91004, and Pt1: 28 days.

2. 인공접종에 의한 해송묘목에의 균근형성

해송 묘목에 7종류의 균근균을 각각 접종하여 생육시킨 결과, 3개월이 지난 후에 모래밭버섯 (Pt1)을 접종한 해송 묘목의 뿌리에서 균근이 형성된 것을 확인할 수 있었다. 형성된 균근은 무처리한 해송뿌리와는 형태적으로 확실히 구분이 되었는데, 해부현미경으로 관찰한 결과, 해송의 세근이 2-3가닥으로 짧게 분지되었고 그 부분에 두꺼운 균사막(fungal mantle)을 형성하여, 주근 옆에 Y자 형태로 된 균근이 다수 존재하였으며(Fig.6A), 균근이 형성된 뿌리의 바깥에는 실모양의 균근균 균사가 방사상으로 널려 있었다(Fig.6B).

또한 균근이 형성된 해송의 세근과 무처리한 해송의 세근을 hand section하여 현미경(Nomarski interference contrast microscope) 하에서 관찰하였는데, cross section의 경우 건전 해송에서는 볼 수 없었던 2가지 특징이 균근

형성 세근에서 발견되었다. 즉, 세근의 표피세포 바깥쪽에 균근균에 의해서 두꺼운 균사층인 fungal mantle을 형성하였고, 표피세포의 사이사이(intercellular)에 균사가 침입하여 Hartig net을 형성한 것을 확인할 수 있었다(Fig.7A). 그러나 균근이 형성되지 않은 뿌리의 세근에서는 이러한 구조적 특징을 전혀 관찰할 수 없었다.

이상의 실험 결과를 종합하면 균근균은 속 또는 종에 따라서, 더구나 종내의 균주간에도 균사생장시에 선호하는 배지의 조성, 온도, pH, 탄소원, 질소원 등의 영양요구성에 큰 차이가 있다는 것이 확인되었으며, 소나무류에서 분리된 균근균이라 할지라도 모래밭버섯중 Pt1균주만이 해송묘목에 균근을 형성하여 균근형성은 기주와 균근균사이에 아주 밀접한 특이성이 있는 것으로 나타났다. 앞으로의 연구는 더욱 다양한 균근균과 기주를 사용한 균근형성의 시도와 아울러, 이 실험을 통하여 균근형성이 확인된 모래밭버섯 균주(Pt1)와 해송의 균근형성실험을 포트와 포장실험

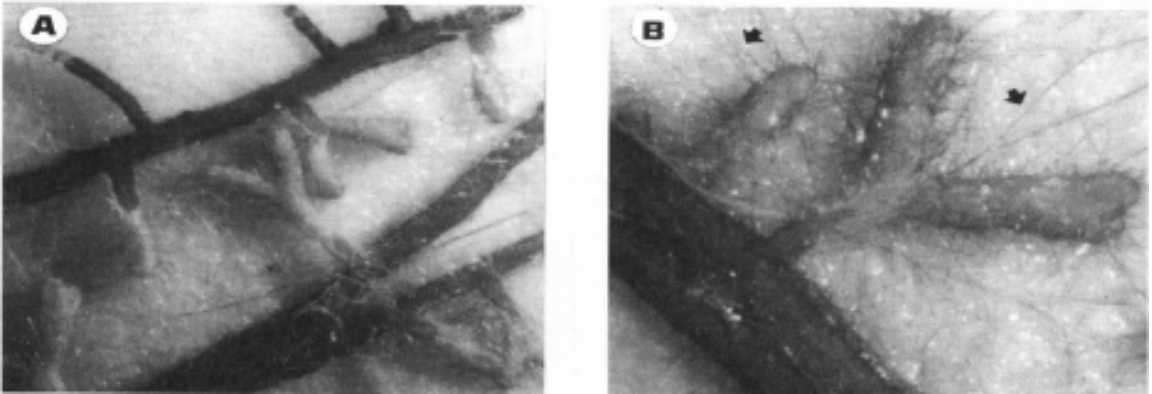


Fig.6. Dissecting microscopy of *Pinus thunbergii* ectomycorrhizal root formed by artificial inoculation of *Pisolithus tinctorius*(Pt1). (A) Branched or unbranched roots. (B) Magnified branched short roots with radiating external hyphae(arrow).

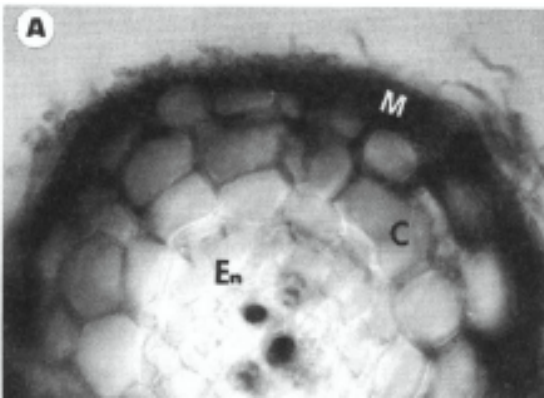


Fig.7. Cleared hand sections stained with Chlorazol black E and observed by Nomarski interference microscopy. (A) *Pinus thunbergii* ectomycorrhizal root cross-section showing the fungal mantle(M) on epidermal cells and thick Haring net hyphae around cortex cells(C). Absence of mycorrhizal fungus in the endodermal cells(En).

단계로 확대하여 균근을 형성시킨 소나무 묘목의 성장증대 및 생육상태를 확인하고 인위적인 균근형성에 의한 우량소나무 묘목의 대량생산을 위한 시험이 수행되어야 할 것이다.

인 용 문 헌

1. 나용준, 신현동, 이종규, 차병진. 1999. 수목병리학. 향문사. 서울. 456 pp.
2. Abbott, L. K. and Malajczuk, N. 1994. Management of mycorrhizae in agriculture, horticulture and forestry. Kluwer Academic Pub., Dordrecht. 238.
3. Brundrett, M., Murase, G. and Kendrick, B. 1990. Comparative anatomy of roots and mycorrhizae of common Ontario trees. Can. J. Bot. 68 : 551-578.
4. Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR, Canberra Australia.
5. Dixon, R. K., Wright, G. M., Behrn, G. T., Teskey, R. O. and Hinckley, T. M. 1980. Water deficits and root growth of ectomycorrhizal white oak seedling. Can. J. For. Res. 10 : 545-548.
6. Ezaki, T., Marumoto, T., Hayakawa, S., Okabe, H., Yamamoto, K. and Chun, K. W. 1997. Forest regeneration

- utilizing mulching sheet and mycorrhizal fungi. *J. Agric. Meteorol.* 52(5) : 617-620.
7. Iwan, H. and Zak, B. 1979. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* 57 : 1203-1205.
 8. Kim, J. J. and Lee, K. J. 1990. Effects of inoculation with mycorrhizal fungi, *Pisolithus tinctorius* and *Glomus* sp. on the rooting of *Quercus acutissima* Carr. cutting at various ortet ages. *J. Kor. For. Soc.* 79(3) : 302-308.
 9. Ko, M. G. and Lee, K. J. 1998. Effects of simulated acid rain on the growth of *Pinus rigida* x *taeda* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi, *Pisolithus tinctorius* and *Suillus luteus*. *J. Kor. For. Soc.* 77(4) : 453-459.
 10. Koo, C. D., Lee, K. J. and Yim, K. B. 1982. Growth stimulation of pines by artificial inoculation with mycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius*. *Kor. For. Soc.* 55 : 22-29.
 11. Lee, K. J. Kim, J. J. 1994. Effects of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizal inoculation on in vitro rooting of tissue-cultured *Quercus acutissima* Carr. and of cutting of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. *J. Kor. For. Soc.* 83(4) : 531-539.
 12. Lee, K. J. and Kim, Y. S. 1983. A comparative study on the composition of ectomycorrhizal fungi in pine and poplar stands. *Kor. J. Mycol.* 11 : 9-13.
 13. Lee, K. J. and Kim, Y. S. 1986. Host range and host specificity of putative ectomycorrhizal fungi collected under ten different artificial forest types in Korea. *Agric. Res. Seoul Nat'l. Univ.* 11(2) : 41-47.
 14. Lee, K. J. and Kim, Y. S. 1987. Host specificity and distribution of putative ectomycorrhizal fungi in pure stands of twelve tree species in Korea. *Kor. J. Mycol.* 15 : 48-67.
 15. Lee, K. J. and Koo, C. D. 1983. Taxonomic distribution of ectomycorrhizae and endomycorrhizae among woody species in Korea. *J. Kor. For. Soc.* 59 : 37-45.
 16. Lee, K. J., Koo, C. D. and Shim, S. Y. 1981. Survey of ectomycorrhizal in the selected woody species in Korea. *J. Kor. For. Soc.* 52 : 50-57.
 17. Marx, D. H. 1972. Ectomycorrhizae as biological deterrent to pathogenic root infection. *Ann. Rev. Phytopathol.* 10 : 429-454.
 18. Marx, D. H. and Bryan, W. C. 1971. Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *For. Sci.* 17 : 31-41.
 19. Menge, J. A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Can. J. Bot.* 61 : 1015-1024.
 20. Nordam, P. and Fortin, J. A. 1982. Comparison of six surface sterilizing agents for axenic germination of *Alnus crispa*(Ait) Pursh. *Can. J. For. Res.* 12 : 1003-1005.
 21. Okabe, H., Ezaki, T., Marumoto, T., Hayakawa, S. and Akama, K. 1994. Application of symbiotic microorganisms to revegetation (I) Management of ectomycorrhizal fungi. *Jpn. Soc. For. Env.* 36 : 55-63.
 22. Okabe, H., Marumoto, T., Ezaki, T. and Yamamoto, K. 1997. Effectiveness of mycorrhizal association in revegetation.

- J. Agric. Meteorol. 52(5) : 609-612.
23. Oh, K. I., We, K. M. 1996. Ectomycorrhizal development and growth of *Pinus thunbergii* seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius*(KJ-1) in copper treated soil. Kor. For. Soc. 85(2) : 329-339
24. Ohta, A. 1998. Culture condition for commercial production of *Lyophyllum shimeji*. Mycoscience 39 : 13-20.
25. Ohta, A. 1994(a). Production of fruit-bodies of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*, in pure culture. Mycoscience 35 : 147-151.
26. Ohta, A. 1994(b). Some cultural characteristics of mycelia of a mycorrhizal fungus, *Lyophyllum shimeji*. Trans. Mycol. Soc. Japan 31 : 323-334.
27. Stroo, H. F. and Alexander, M. 1985. Effect of simulated acid rain on mycorrhizal infection of *Pinus strobus* L. Water Air Soil Pollut. 25 : 107-114.
28. Yamada, A., Katsuya, K. 1995. Mycorrhizal association of isolates from sporocarps and ectomycorrhizas with *Pinus densiflora* seedlings. Mycoscience 36 : 315-323.