The Korean Journal of Mycology www.kjmycology.or.kr

RESEARCH ARTICLE

독도의 식물 근권에 분포하는 수지상균근균의 다양성

어주경[1,2*], 박혁[2], 최승세[1], 신현철[1], 송세규[1], 엄안흠[2]

[1]국립생태원 생태연구본부, [2]한국교원대학교 생물교육과

Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Isolated from Dokdo Island

Ju-Kyeong Eo[1,2*], Hyeok Park[2], Seung-Se Choi[1], Hyun-Chul Shin[1], Se-Kyu Song[1], Ahn-Heum Eom[2]

[1]Bureau of Ecological Research, National Institute of Ecology, Seocheon 33657, Korea
[2]Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongju 28173, Korea

*Corresponding author: abiesendo@gmail.com

Abstract

In this study, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were isolated from rhizosphere soils of Dokdo Island. Based on their morphological characteristics and 18S rDNA sequence analysis, eight species belonging to seven genera were identified: *Acaulospora longula*, *A. mellea*, *Claroideoglomus claroideum*, *Diversispora aurantia*, *Funneliformis mosseae*, *Gigaspora margarita*, *Paraglomus occultum*, and *Septoglomus constrictum*. No differences were noted between the AMF isolated from Dongdo and Seodo in Dokdo Island, and all of these AMF have been reported previously in Korea. These results could be useful for diversity and functional analyses of AMF in Korea.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Dokdo, Symbiosis

OPEN ACCESS

Kor. J. Mycol. 2017 December, 45(4): 284-291
https://doi.org/10.4489/KJM.20170036

pISSN : 0253-651X
eISSN : 2383-5249

Received: 13 November, 2017
Accepted: 16 November, 2017

Ⓒ The Korean Society of Mycology

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

수지상균근균(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)은 글로메로균문(Glomeromycota)에 속하는 균류로 약 4억년 전후에 육상식물과 공생관계를 형성하여, 식물의 초기 육상정착에 도움을 준 것으로 추정된다[1]. 현재 지구 상의 관속식물 중 80~90%에 이르는 식물은 AMF와 공생관계에 있다[2]. AMF는 식물로부터 광합성에 의해 생성된 탄소원을 공급 받는 대신에 무기양분, 특히 인의 흡수를 돕는 역할을 한다[3]. 그 밖에도 중금속이나 염분에 대한 저항성 뿐만 아니라 수분스트레스나 식물 병원균에 대한 저항성도 증가시킨다[4].

독도는 천연기념물 제336호로 동도와 서도 및 부속도서로 구성되어 있으며, 신생대 제3기 말의 화산활동에 의해서 형성된 섬이다. 독도는 한반도와는 다른 기후 특성을 가지고 있어서 독특한 식생을 갖고 있다. 섬의 사면은 가파르며, 강한 바람과 높은 강우량에 따른 풍화와 침

식에 의해서 매우 얕은 토양층만 존재한다[5]. 토양은 높은 염분 농도와 산도, 그리고 유기물질이 부족해서 식물이 서식하기에는 척박하다. 따라서 뿌리층이 얕은 초본이 주로 서식하고 있다. 이렇게 척박한 환경에서 서식하는 식물의 생육에 AMF는 중요한 역할을 한다고 생각된다.

독도의 생물상에 대한 조사는 어류나 조류뿐만 아니라 관속식물 등에 이르기까지 다양한 분류군에 대해서 행해졌다[6-8]. Lee 등[6]은 2007년 독도에 서식하는 관속식물상을 조사하여 46종 1아종 1변종을 확인하고 총 48개 분류군을 보고하였는데 조사자들에 따라 식물 종의 수는 차이가 있다. 미생물의 경우 독도의 육상 및 인근 해상에서 세균을 분리하였으며, 토양 및 식물뿌리에서도 균류를 분리하여 국내 미기록종 등을 확인하였다[9, 10]. 그러나 현재까지 독도에서 AMF의 생물상에 대한 조사는 없었다. 따라서 한반도와는 달리 독특하고 척박한 환경에서 서식하는 식물 공생균인 AMF의 다양성을 파악하는 것은 의미 있다. 본 연구에서는 독도를 구성하고 있는 두 개의 섬인 동도와 서도에 분포하는 다양한 식물의 근권에서 토양을 채취하여 AMF를 분리한 후 이들 AMF의 다양성을 조사하였으며, 두 섬에서 나타나는 AMF의 다양성을 비교하였다.

재료 및 방법

시료의 채집

시료의 채집은 2015년 7월 독도의 동도(N37°14', E131°51') 및 서도(N37°14', E131°52') 주변에서 식물 종을 선정하고, 서도와 동도에서 각각 9점씩, 총 18점의 식물체와 토양을 채집하였다. 갯제비쑥(*Artemisia japonica* subsp. *littoricola* (Kitam.) Kitam.), 해국(*Aster sphathulifolius* Maxim.), 흰명아주(*Chenopodium album* L.), 도깨비쇠고비(*Cyrtomium falcatum* (L.f.) C. Presl), 돌피(*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), 왕호장근(*Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) Ronse Decr.), 땅채송화(*Sedum oryzifolium* Makino) 등 총 7종의 식물에서 근권 토양을 채집하였다. 이들 중 해국은 동도에서만, 왕호장근은 서도에서만 채집하였다. 식물군락 내에서 각 식물의 뿌리와 근권 토양을 채집하였으며, 채집된 식물체와 토양은 지퍼백에 넣어 실험실로 운반하였다. 채집된 근권 토양은 건조기(DAIHAN Scientific, Wonju, Korea)를 이용해 50°C에서 72시간 건조하였다.

포자의 분리 및 동정

야외 토양에서 AMF의 포자를 추출하기 위해 건조 토양 10 g을 wet sieving 및 sucrose density gradient centrifugation method [11]에 따라 포자의 크기 별로 분리하였다. 분리된 포자는 해부현미경(SZX9; Olympus, Tokyo, Japan)과 광학현미경(AXIO Imager A1; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) 하에서 포자의 크기, 색깔, 벽의 구조 등을 관찰하여 morphotype으로 구분하였다[12]. Morphotype 중에서 대표적인 포자는 분자적 동정을 위해서 사용하였다. Nested PCR [13] 방법을 이용하여 AMF의 포자를 분자적으로 동정하였다. NS1과 NS4 [14] 프라이머를 사용하여 1차 PCR을 수행하였으며, 2차 PCR은 AMF 특이적 프라이머인 AML1과 AML2 [15]를 사용하였다. 염기서열 분석은 솔젠트(Daejeon, Korea)에 의뢰하였다. 분석된 염기서열은 NCBI (http://www.ncbi.nim.nih.gov/) 상에서 Basic

Local Alignment Search Tool (BLAST)을 이용하여 유사도가 가장 높은 분류군을 선택하였다. 본 연구를 통해 분석된 염기서열과 참고서열 간의 비교를 위해 MEGA7 [16]을 이용하여 neighbor-joining tree를 작성하였다.

결과 및 고찰

야외 토양에서 포자를 분리하여 형태적 특징(Fig. 1)과 18s rDNA 염기서열을 이용한 동정(Fig. 2) 결과 총 8종의 AMF 포자가 확인되었다(Table 1). 이 중 동도에서는 *Acaulospora mellea, Claroideoglomus claroideum, Diversispora aurantia, Gigaspora margarita, Paraglomus occultum, Septoglomus constrictum* 등 총 6종이 나타났으며, 서도에서는 *A. longula, A. mellea, C. claroideum, D. aurantia, Funneliformis mosseae, P. occultum* 등 총 6종이 동정되었다.

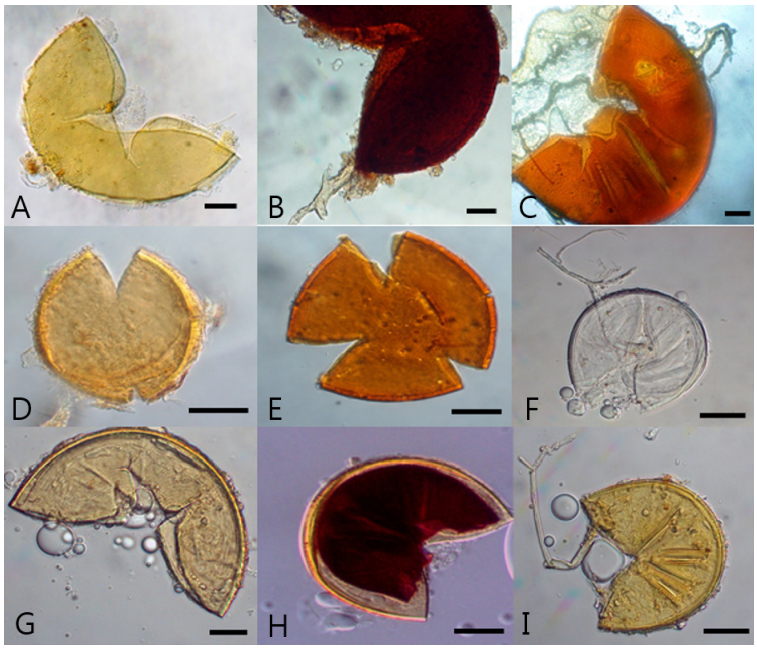

Fig. 1. Morphological characteristics of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) spores. A, *Funneliformis mosseae*; B, *Septoglomus constrictum*; C, *Gigaspora margarita*; D, *Claroideoglomus claroideum*; E, *Acaulospora mellea*; F, *Paraglomus occultum*; G, *Acaulospora longula*; H, I, *Diversispora aurantia* (scale bars = 10 μm).

*C. claroideum*은 동도와 서도 양쪽 모두에서 분리되었으며, 두 지역에서 가장 우점하는 분류군이었다(Table 1). 이 종은 동도와 서도 모두에 분포하는 흰명아주, 서도에만 분포하는 왕호장근을 제외하고 모든 식물의 근권에서 분리되었다. 국내에서는 제천 폐광지 등 한반도의 다양한 토양에서 발견되는 종이다[17]. 그 밖에 *A. mellea, D. aurantia, P. occultum* 등이 동도와 서도 모두에서 분리되었다. *A. mellea*는 땅채송화, 갯제비쑥, 돌피, 해국, 흰명아주, 도깨비쇠고비, 왕호장근의 근권 토양에서 분리되었다. 국내에서는 경기도 산림의 식물 근권에서 처음 기록되었으며[18], pH가 낮은 토양에서 주로 발견되었다[19]. *D. aurantia*은 Lee 등[20]

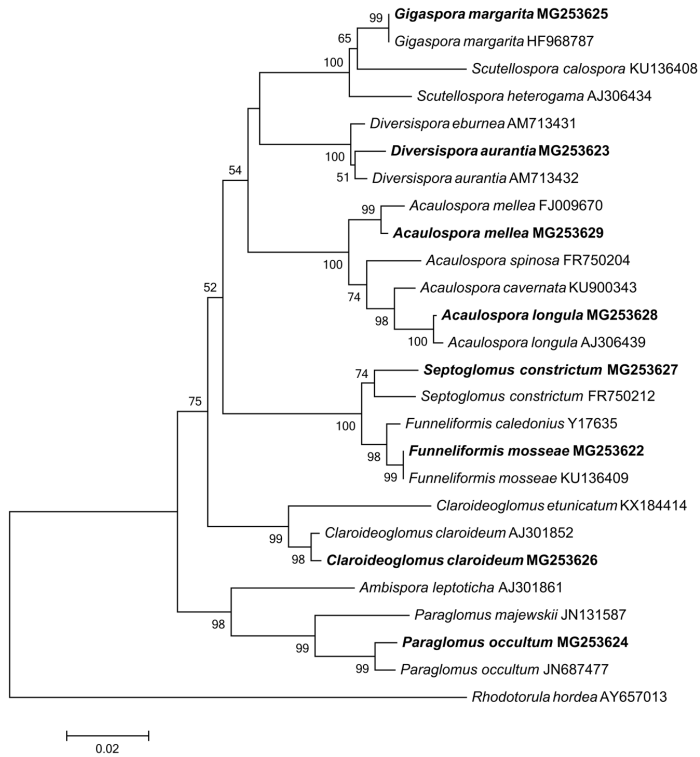

Fig. 2. Phylogenic tree of partial 18S rDNA sequences extracted from arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) spores. Bold characters indicate AMF spores collected in this study. Numbers at nodes represent bootstrap support values (1,000 replicates), higher than 50.

Table 1. Relative abundance and species diversity of AMF spores in this study

AMF species[a]	Relative abundance (mean ± SE)	
	Dongdo	Seodo
*Acaulospora longula**	0	0.19 ± 0.05
Acaulospora mellea	0.21 ± 0.05	0.15 ± 0.04
Claroideoglomus claroideum	0.25 ± 0.06	0.21 ± 0.05
Diversispora aurantia	0.15 ± 0.07	0.10 ± 0.03
*Funneliformis mosseae**	0	0.19 ± 0.04
*Gigaspora margarita**	0.09 ± 0.02	0
Paraglomus occultum	0.21 ± 0.08	0.16 ± 0.04
*Septoglomus constrictum**	0.09 ± 0.02	0
Shannon's index	1.22 ± 0.11	1.35 ± 0.05
Species evenness*	0.85 ± 0.03	0.93 ± 0.01

AMF; arbuscular mycorrhizal fungi
[a]Asterisks indicate that means are significantly different at $p < 0.05$ (n = 11).

에 의해 최근 충남의 도서 지역에서 분리된 기록이 있으며, 동도와 서도의 땅채송화, 갯제비쑥, 돌피, 해국, 흰명아주, 도깨비쇠고비, 왕호장근의 근권 토양에서 분리되었다. 또한, *P. occultum*의 경우, 이전의 국내기록으로는 Eom과 Lee [21]에 의해 동백나무의 근권 토양에서 분리한 기록이 있으며 본 연구에서는 땅채송화, 갯제비쑥, 돌피, 해국, 흰명아주, 도깨비쇠

고비, 왕호장근의 근권 토양에서 발견되었다.

*G. margarita*와 *S. constrictum*은 동도에서만 발견되었다. *G. margarita*는 일반적으로 300 µm 이상의 큰 포자를 형성하는 종으로[22], 국내에서는 Eom과 Lee [23]에 의해 보고되었으며 한반도의 산림토양에서는 발견 빈도가 낮다[6]. 본 연구에서 확인된 포자의 크기는 350~450 µm 정도이며, 동도의 갯제비쑥, 돌피, 해국, 흰명아주, 도깨비쇠고비의 근권 토양에서 발견되었다. 이 종은 염분이 높은 토양에서 식물의 적응을 돕는다는 연구 결과도 있다[24]. 또한 동도의 땅채송화, 갯제비쑥, 돌피, 해국, 흰명아주, 도깨비쇠고비의 근권 토양에서 분리된 *S. constrictum*은 국내의 간척지 토양에서 발견된 기록이 있다[25]. *A. longula*와 *F. mosseae*는 서도에서만 발견되었는데 *A. longula*의 경우, 국내에서는 Lee 등[26]이 보고한 기록이 있으며 한반도의 산림 토양에서 *A. mellea*, *A. leptoticha*와 함께 우점하는 종이다[27]. 본 연구에서는 서도의 갯제비쑥, 돌피, 흰명아주, 왕호장근의 근권 토양에서 분리되었다. *F. mosseae*는 서도의 땅채송화, 갯제비쑥, 돌피, 흰명아주, 도깨비쇠고비의 토양에서 분리되었는데, 일반적으로 초지 및 경작지에서 주로 발견되는 종이다.

종 다양성 지수(H')는 동도와 서도 사이에 유의미한 차이가 없었으나, 서도에서 다소 높게 나타나는 경향을 보였다(Table 1). 종 균등도의 경우에는 서도가 동도 보다 유의미하게 높았다. 두 섬의 AMF 군집 구조는 크게 차이가 나타나지는 않았다(Fig. 3). 이는 두 개의 섬이 물리적으로 분리되어 있으나 기후나 지리적으로 크게 다르지 않으며, AMF가 공생하는 식생의 분포도 크게 차이가 나지 않기 때문인 것으로 생각된다[28].

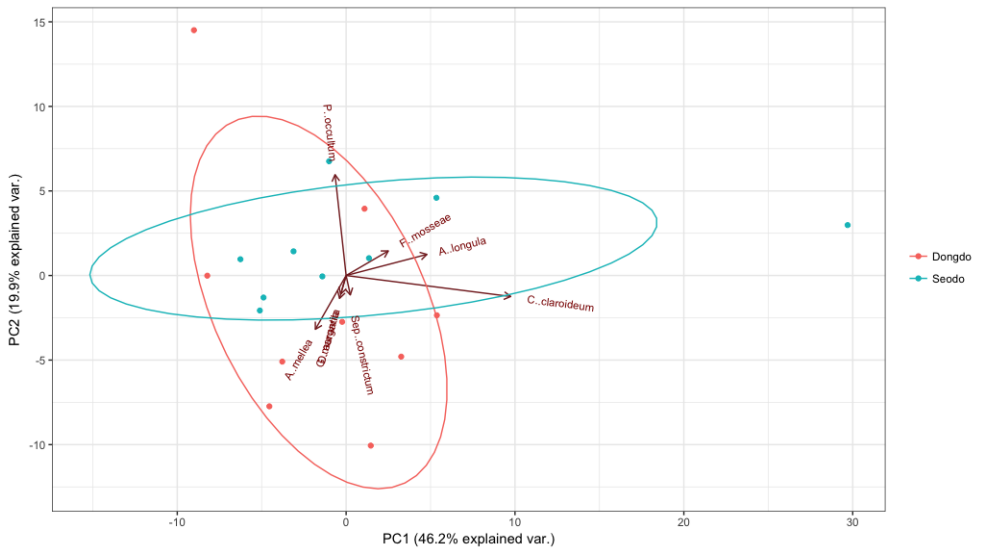

Fig. 3. Principal component analysis (PCA) ordination for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities isolated from rhizosphere soils collected from Dongdo and Seodo in Dokdo. PC1, principal component 1; PC2, principal component 2.

일반적으로 AMF는 숙주식물과의 특이성이 낮은 것으로 알려져 있으나 숙주식물의 종은 토양 내 포자의 다양성에 어느 정도 영향은 미치는 것으로 보인다. 그러나 본 연구에서는 AMF와 숙주식물 사이에 통계적으로 의미 있는 관계를 분석하기에는 각 식물별 샘플의 수가

부족하다는 한계가 있다.

독도 전체에서 분리된 AMF의 경우 7종의 식물과 18점의 토양샘플로부터 총 8종이 분리되었다. 비슷한 환경이나 섬의 크기에서 큰 차이를 보이는 울릉도에서 연구한 결과[29]를 보면 6속 7종의 AMF를 확인할 수 있었는데 울릉도에서 분리된 AMF 중, *Acaulospora, Diversispora, Gigaspora, Funneliformis*속은 독도에서와 동일하게 확인하였다. 그 중 *Funneliformis*속에서만 종 수준에서 동일한 분류군이 존재했다. 이 *F. mosseae*의 경우는 독도에서는 서도에서만 발견되었다. 그러나 한반도에서는 전국적으로 다양한 지역에 분포한다. 분포 유형은 인위적인 간섭이 진행된 간척지나 폐광지 뿐만 아니라 경작지에서도 확인되어 다양한 분포 유형을 띄는 것을 알 수 있다.

독도는 생물지리학적인 관점에서 평가되어야 할 지역이다. 현재 독도의 AMF 다양성은 과거의 지사학적인 역사를 반영하며, 다른 지역에 비해서 보전적이다. 이들이 가지고 있는 유전자 수준에서의 다양성에 대한 비교 연구 등을 통해 초기 정착한 식물과 AMF와의 공진화 역사를 가늠해 볼 수 있을 것이다. 본 연구를 통해 AMF에 대한 생태적 구조를 밝힘으로써 독도에서 AMF의 기능을 규명할 수 있는 단초를 제공할 수 있다.

적 요

본 연구에서는 독도의 근권에 분포하는 수지상균근균을 분리·배양하였다. 형태적 특징과 18s rDNA 염기서열에 의거하여 총 7속 8종의 수지상균근균을 동정하였다; *Acaulospora longula, Acaulospora mellea, Claroideoglomus claroideum, Diversispora aurantia, Funneliformis mosseae, Gigaspora margarita, Paraglomus occultum, Septoglomus constrictum*. 동도와 서도의 종 다양성에는 차이가 없었으며, 한반도에서 발견한 것과 동일한 분류군들을 확인하였다. 본 연구는 독도의 수지상균근균 다양성 연구와 추후 수지상균근균의 기능 규명에 도움을 줄 것으로 판단된다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the National Institute of Ecology (2015 Ecosystem Survey of Dokdo Island), funded by the Ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea.

REFERENCES

1. Redecker D, Morton JB, Bruns TD. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). Mol Phylogenet Evol 2000;14:276-84.
2. Finlay RD. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. J Exp Bot 2008;59:1115-26.
3. Eo JK, Eom AH. The effect of benomyl treatments on ginsenosides and arbuscular mycorrhizal symbiosis in roots of *Panax ginseng*. J Ginseng Res 2009;33:256-9.

4. Smith SE, Smith FA. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. New Phytol 1990;114:1-38.
5. Huh S, Park CH, Yoo HS, Han SJ. Geological structure and depositional environments in the Dokdo Island, East Sea. Geophys Geophys Explor 2005;8:131-5.
6. Lee DH, Cho SH, Pak JH. The analysis of vascular plant species composition in Dok-do Island. Korean J Plant Taxon 2007;37:545-63.
7. Park HS, Park RS, Myoung JG. Vertical distribution of mega-invertebrate and calculation to the stock assessment of commercial species inhibiting shallow hard-bottom in Dokdo, Korea. Ocean Polar Res 2002;24:457-64.
8. Myoung JG. The fish fauna around Dokdo in the East Sea, Korea. Ocean Polar Res 2002;24:449-55.
9. Yoon JH, Kang SJ, Lee SY, Lee MH, Oh TK. *Virgibacillus dokdonensis* sp. nov., isolated from a Korean island, Dokdo, located at the edge of the East Sea in Korea. Int J Syst Evol Microbiol 2005;55:1833-7.
10. You YH, Yoon HJ, Lee GS, Woo JR, Rim SO, Shin JH, Lee IJ, Choo YS, Kim JG. Diversity and plant growth-promotion of endophytic fungi isolated from the roots of plants in Dokdo Islands. J Life Sci 2011;21:992-6.
11. Schenck NC. Methods and principles of mycorrhizal research. St. Paul: APS Press; 1982.
12. Schüßler A, Walker C. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. Richimond: Royal Botanic Gardens, Kew; 2010.
13. van Tuinen D, Jacquot E, Zhao B, Gollotte A, Gianinazzi-Pearson V. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. Mol Ecol 1998;7:879-87.
14. Jacquot E, van Tuinen D, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. Monitoring species of arbuscular mycorrhizal fungi in planta and in soil by nested PCR: application to the study of the impact of sewage sludge. Plant Soil 2000;226:179-88.
15. Lee J, Lee S, Young JP. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. FEMS Microbiol Ecol 2008;65:339-49.
16. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for Bigger Datasets. Mol Biol Evol 2016;33:1870-4.
17. Park H, Lee EH, Ka KH, Eom AH. Community structures of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and plant roots inhabiting abandoned mines of Korea. Mycobiology 2016;44:277-82.
18. Park SH, Eo JK, Ka KH, Eom AH. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of woody plants in Mt. Munan. Kor J Mycol 2011;39:1-6.
19. Maia LC, Trufem SF. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils in Pernambuco State, Brazil. Rev Bras Bot 1990;13:89-96.
20. Lee EH, Lee JY, Eo JK, Ka KH, Eom AH. Notes on some unrecorded species of arbuscular mycorrhizal fungi collected from rhizospheres of plants in Korea. Kor J Mycol 2014;42:306-11.
21. Eom AH, Lee SS. Endomycorrhizal fungi identified on the soils in forest and coast areas. Kor J Mycol 1989;17:14-20.
22. Bentivenga SP, Morton JB. A monograph of the genus *Gigaspora*, incorporating developmental patterns of morphological characters. Mycologia 1995;87:719-31.

23. Eom AH, Lee SS. Endomycorrhizal fungi found from the soils of the communities of *Persicaria thunbergii* H. Gross. Kor J Mycol 1990;18:26-41.
24. Wu QS, Zou YN, He XH. Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. Acta Physiol Plant 2010;32:297-304.
25. Koh SD, Lee HH. Studies of species and distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in relation to salt-marsh plants. Kor J Mycol 1984;12:175-82.
26. Lee SS, Eom AH, Lee OH, Kim MK, Kim SI. Descriptions of some arbuscular mycorrhizal fungi produced under artificial conditions and collected in Korea. Kor J Mycol 1993;21:85-93.
27. Lee EH, Ka KH, Eom AH. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in rhizospheres of *Camellia japonica* and neighboring plants inhabiting Wando of Korea. Kor J Mycol 2014;42:34-9.
28. Kim MH, Oh YJ, Kim CS, Han MS, Lee JT, Na YE. The flora and vegetation distribution in Dokdo. Korean J Environ Agric 2007;26:85-93.
29. Jeong SJ, Eo JK, Eom AH. Identification of spores of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from soils of rhizosphere of Ulleung-do. J Nat Sci 2016;6:11-6.