



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

한라산의 제주조릿대 주변 토양에
분포하는 수지상균근균의 고도별
종다양성



조 영 란

2012년 2월

한라산의 제주조릿대 주변 토양에
분포하는 수지상균근균의 고도별
종다양성

지도교수 엄안흠

이 논문을 교육학 석사학위 논문으로 제출함

한국교원대학교 교육대학원

공통과학교육전공

조영란

2012년 2월

조영란의

교육학석사(공통과학)학위 논문을 인준함

심사위원장 인

심사위원 인

심사위원 인

한국교원대학교 교육대학원

2012년 2월

목 차

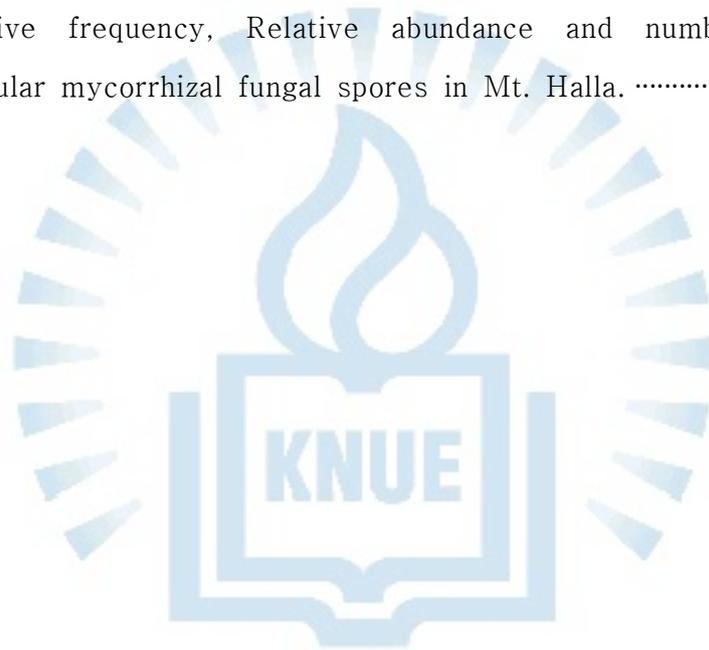
목 차	i
List of Tables	ii
List of Figures	iii
논문 요약	iv
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	6
1. 토양채집	6
2. 트랩배양	6
3. 포자추출	8
4. 포자동정	8
5. 분석방법	10
III. 결 과	13
1. AMF 포자의 동정 및 기재	13
2. AMF 포자의 분포 분석	19
3. 고도별 AMF의 다양성	23
IV. 논 의	26
참고 문헌	29
ABSTRACT	38
Appendix	40

List of Tables

Table 1. Characteristics of primers and polymerase chain reaction (PCR) conditions. 11

Table 2. Confirmed species from molecular identification of arbuscular mycorrhizal fungal spores. 17

Table 3. Relative frequency, Relative abundance and numbers of arbuscular mycorrhizal fungal spores in Mt. Halla. 20



List of Figures

Fig. 1. A map of collection site of soil sample in Mt. Halla.	7
Fig. 2. Primers' position on SSU rDNA and expected DNA length when polymerase chain reaction was carried out with two pairs of these primers.	12
Fig. 3. Morphology of the spores of arbuscular mycorrhizal fungi.	16
Fig. 4. Neighbor-joining phylogram for partial 18S rDNA sequence of arbuscular mycorrhizal fungal spores.	18
Fig. 5. Relative abundance of AM Fungal spores at different elevation.	22
Fig. 6. Number of Species of AM Fungal spores at different elevation.	24
Fig. 7. Species diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi at different elevation.	25

논 문 요 약

한라산의 제주조릿대 주변 토양에 분포하는 수지상균근균의 고도별 종다양성

조 영 관

한국교원대학교 교육대학원 공동과학교육 전공
(지도교수 엄 안 흠)

모든 AMF는 대부분의 육상 식물들과 공생하고 있으며 식물과 AMF의 상호작용은 식물 생장에 많은 도움을 준다. 한라산은 1,800여종의 식물을 보유하고 있으며 해발 고도에 따라 수직분포가 뚜렷한 식생의 보고로 국립공원, 생물권보전지역, 식물다양성지역 및 세계자연유산으로 지정되는 등 생물 다양성의 보고이다. 한라산에서 자생하는 제주조릿대는 고도별로 광범위하게 분포하며 한라산의 식생에 큰 영향을 미치고 있다.

이 연구의 목적은 첫째, 한라산에 분포하고 있는 AMF 포자의 종을 동정한다. 둘째, 제주조릿대 주변에 공생하고 있는 AMF의 분포에 대한 연구를 통하여 한라산의 식생 보존을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

셋째, 식물과 공생하는 균근균의 고도에 따른 다양성 변화를 통해 한라산 자생식물 보존 및 활용가능성을 위한 기초자료를 제공하고자 한다. 따라서 본 연구는 한라산에 자생하는 제주조릿대 주변의 토양을 고도별로 채취하여 AMF를 동정하였고, AMF 포자의 분포를 분석하였으며 고도에 따른 종 다양성 변화를 조사하였다. 한라산의 3군데 탐방로(관음사, 영실, 성판악 코스)를 따라 고도별로 3반복 채집 하여 총 61개의 토양을 채집하여 실험하였다.

한라산에 분포하는 AMF의 다양성을 확인한 결과 *Acaulospora mellea*, *Acaulospora longula*, *Ambispora leptoticha*, *Gigaspora margarita*, *Gomus etunicatum*, *Glomus claroideum*의 총 4속 6종이 동정 되었다.

한라산 전 지역의 AMF 포자를 각 종별로 상대빈도, 상대수도, 포자수를 조사한 결과 상대 빈도는 *Glomus etunicatum*이 가장 높았으며 가장 낮은 것은 *Gigaspora margarita*였다. 상대 수도 또한 가장 높은 것은 *Glomus etunicatum*이며 가장 낮은 것은 *Gigaspora margarita*였다. 이것으로 보아 우점도가 가장 높은 종은 *Glomus etunicatum*이고 가장 낮은 종은 *Gigaspora margarita*임을 알 수 있었다. 포자수 또한 *Glomus etunicatum*이 가장 많고 *Gigaspora margarita*이 가장 적었다.

AMF포자가 고도별로 분포하는 양상을 살펴보면 *Glomus etunicatum*은 700m에서 1800m까지 전 고도에서 두루 나타나며 특히 고도가 높은 곳에서 많은 수가 나타나고 있다. *Glomus claroideum*의 경우는 1200m 그리고 1400m에서 많이 나타난 것을 볼 수 *Acaulospora mellea*은 전 고도에서 두루 나타나고 있으나 특히 900m에서 1200m지점사이에서 많이 나타나며 *Acaulospora mellea*와 같은 속인 *Acaulospora longula*는 주로 1200m이하에서 나타나는 것을 볼 수 있다. *Ambispora leptoticha*는 1200m에서 1600m 사이에서만 나타났으며 *Gigaspora margarita*는 1400m지점 한 군데에서만 나타났다. 즉 AMF 포자의 종 별로 고도에 따라 분포하는 양상이 다르게 나타났다. 하지만 고도가 증가함에 따라 종수와 종 다양성이 감소하거나 증가하는 경향은 나타나지 않았다. 즉 고도에 따른 종수와 종 다양성 변화는 관계가 없었다. 이 연구를 통해 한라산의 식생과 자생식물의 보존 및 활용가능성을 위한 기초자료가 될 것이라 기대된다.

※ 이 논문은 2012년 2월 한국교원대학교 대학원위원회에 제출된 교육학석사(공통과학) 학위 논문임.

I. 서론

1885년 Frank에 의해 육상식물이 균류와 공생한다는 것이 처음으로 발견되었으며 이를 곰팡이(myco-;fungus)와 식물뿌리(-rrhiza; root)의 공생의 의미로 균근(mycorrhiza)이라 하였다(Frank, 1885).

균근은 균의 침투부위에 따라 크게 내생균근(endotrophic mycorrhiza)과 외생균근(ectotrophic mycorrhiza) 그리고 내외생균근(ectendotrophic mycorrhiza)으로 분류된다(Smith and Read, 1997). 이 중 내생균근은 격막이 없는 균사들이 세포내부에서 풍산모양처럼 부풀어 오르는 모양의 소포 형태를 나타내는 vesicle과 나뭇가지 모양처럼 가지가 많이 분지된 형태를 arbuscule을 형성하며, vesicle은 균이 흡수한 무기양분과 식물로부터 전해지는 광합성 산물을 서로 교환하는 장소로 역할을 한다. 이러한 vesicle과 arbuscule을 형성하는 내생균근균을 vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM)이라고 불렀으나 이들 중 *Gigaspora* 속과 *Scutellospora* 속은 식물 체 내에서 vesicle을 형성하지 않는다는 것이 밝혀지면서 arbuscular mycorrhizal fungi(AMF; 수지상균근균)라고 부른다(Morton, 1990; Morton & Benny, 1990).

수지상균근균(Arbuscular Mycorrhizal Fungi, 이하 AMF)은 뿌리의 피층에서 세포내 균사(intraradical hyphae)와 수지상체(arbuscule)를 형성하는 균근균으로 약 4억 6천만년 전 식물의 초기 육상 정착에 중요한 역할을 하며 공동 진화 한 것으로 보고되고 있다(Shwarzott *et al.*, 2001 ; Smith and Read, 2008). 현재 지구상에서 가장 넓게 퍼져있는 공생체로 95%이상의 육상식물과 공생관계를 이루고 있으며, 생태계 천이와 식물계의 군집 변화에 영향을 주고 있다(Smith and Read, 2008).

AMF는 Glomeromycota문으로 분류되며 SSU rRNA 유전자 서열 계통분석으로 이용하여 현재 4개의 목(Glomerales, Diversisporales, Archaeosporales,

Praglomerales), 10개의 과(Glomeraceae, Gigasporaceae, Acaulosporaceae, Entrophosporaceae, Pacisporaceae, Diversisporaceae, Paraglomeraceae, Geosiphonaceae, Ambisporaceae, Archaeosporaceae), 14개의 속(*Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Racocetra*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Pacispora*, *Diversispora*, *Otopora*, *Paraglomus*, *Geosiphon*, *Ambispora*, *Archaeospora*, *Intraspora*)로 분류되고 있다(Schussler and walker, 2010).

AMF는 호기성으로 지표면으로부터 가까운 식물 뿌리에 공생하며, 숙주식물로부터 광합성 산물인 탄소원을 제공 받는 대신 외부 균사를 통해 토양의 영양물질을 흡수하여 숙주식물에게 전달함으로써 식물 성장에 도움을 준다(Smith and Smith, 1990). 보통 AMF의 균사에는 격벽이 없고, 뿌리의 피층 세포 사이에 존재하며 뿌리 안에서 저장 기능을 하는 소낭(vesicle)을 만들거나 뿌리세포에 들어가 세포막과 맞닿은 상태에서 나뭇가지 모양의 수지상체(arbuscule)를 형성한다(Smith and Read, 2008). AMF의 유성생식에 대한 확실한 증거는 아직까지 없으며 포자를 통해서 번식한다(Redecker and Raab, 2006). AMF의 포자는 구형으로 지름이 40~800 μ m 정도로 단단한 막으로 둘러싸여 안쪽에 수백에서 수천 개의 핵을 보호한다(Becard and Pfeffer, 1993; Siqueira *et al.*, 1982). AMF의 외부 균사는 식물의 뿌리가 침투할 수 없는 곳의 무기양분(NO_3^- , PO_4^{4-} , K^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} 등)을 흡수하여 식물에 공급한다(Sanders and Tinker, 1971; Smith and Read, 2008). 특히 토양 속에서 쉽게 녹지 않고 이동이 어려운 인산염(PO_4^{2-})을 흡수하여 인을 제공함으로써 식물의 성장에 도움을 준다(Lamber *et al.*, 1979; Thingstrup *et al.*, 2000). 그리고 AMF는 불리한 환경에서 식물 생존에 도움을 주는 것으로 알려져 있다. 숙주 식물에게 중금속에 대한 저항성(Hildebrandt *et al.*, 2007), 염분스트레스에 대한 저항성(Feng *et al.*, 2002), 수분스트레스에 대한 저항성(Davies *et al.*, 1993; Ruiz0Lozano *et al.*, 2001; Kaya *et al.*, 2003), 병원균 침입에 대한 저항성(Newsham *et al.*, 1995; Abdalla and Abdel-Fattah,

2000) 등을 증가 시킨다. 이러한 점들은 식물 생장에 많은 도움을 주며 이는 결국 식물계의 군집 변화와 생태계 천이 과정까지 영향을 준다(Smith and Read, 2008).

한라산은 행정구역상 제주특별자치도에 속하며 정상 해발고도가 1950m, 면적 약 1820km²로 남한의 최고봉이다(Ko, 2002). 1966년 10월 12일 한라산 지역 중 82km²가 천연보호구역(천연기념물 제 182호)으로 지정 되었으며, 1970년 3월 24일 백록담을 중심으로 약 140km²에 대하여 제7호 국립공원으로 설정되었다. 2002년 12월 UNESCO 생물권보전지역 지정, 2007년 6월 우리나라 최초 UNESCO 세계자연유산으로 등재됨으로서 세계적인 차원에서 보호 및 관리를 받고 있다(Hallasan National Park, 2011; UNESCO Korea, 2011; UNESCO World Heritage Center, 2011).

한라산은 미기록 식물들을 포함하여 167과 77속 1819종 121변종 50품종 1990분류군으로(문명옥 등, 2006) 많은 식물을 보유하고 있으며 해발 고도에 따라 식물 분포가 뚜렷하여 식물의 수직분포대가 나타난다. 특히 한라산의 아고산대는 특산 및 희귀식물이 많이 분포하고 있어 식물의 다양성이나 생태적인 측면에서 관심이 큰 지역이다(이영노와 이명보, 1957; 공우석, 1998). 또한 이 지역은 북방계 극지고산식물의 세계적 남방 한계선으로 식물지리학적으로 매우 중요한 지역이다(공우석, 1998). 고산식물 중 특산식물은 한국특산식물과 제주특산식물을 포함하여 27과 49속 53분류군이며 그 중 한국특산식물은 11과 13속 13종, 제주특산식물은 22과 35속 36분류군이다. 또한 특산식물을 제외한 한라산 천연보호구역의 희귀식물은 총 36과 76속 98종이며, 그 중 양치식물은 5과 11속 14종, 나자식물은 2과 2속 2종, 그리고 피자식물은 29과 63속 82종이다. 한라산 고산식물 중 희귀식물은 모두 주극 고산식물들로서 빙하기의 유존종이었으며, 기후변화 민감 종으로 판단되고 있다(김찬수 등, 2009).

제주조릿대(*Sasa quelpaertensis* Nakai)는 벼과(Poaceae), 대나무아과

(Bambusoideae), 조릿대속(*Sasa*)에 속한다. 제주조릿대는 우리나라에서는 한라산에서만 분포하고 있으며 한라산 특산식물로 제시되어 왔다(이, 1980, 이 1985). 조릿대류 (*Sasa* spp.)는 종자와 근경을 이용하여 번식하기 때문에 벌채와 산불 등에 의해 나지가 된 산지에 침입하거나 경사가 완만한 화산지형에 큰 균락을 형성하며, 산악지의 교목림이나 관목림의 주요 하층식생으로 자라는 등 그 분포 지역이 넓다(Oshima, 1960). 현재 제주조릿대는 해발 600m에서 1900m까지 주로 분포하고 해발 600m 이하 저지대인 일부 오름과 상록활엽수림에서는 제주조릿대가 간헐적으로 분포하며 제주조릿대는 지속적인 확장을 통해 그 영역을 넓혀가고 있는 것으로 조사되었다(김현철, 2009). 제주조릿대의 확산 원인으로서는 지구 온난화로 인하여 기온 상승하여 고지대 성장 환경이 좋아졌으며 80년대 말 이뤄진 한라산국립공원 지역에 대한 말 방목 금지로 인하여 말의 사료로 쓰이던 제주조릿대의 분포가 갑작스럽게 증가하였기 때문으로 추정하고 있다(이상철 등, 2010). 제주조릿대는 한라산 산림지역 주요 하층 식생으로 자리 잡고 있으며, 다른 식물종의 발달을 억제하여 종 다양성을 저하시키고 있다(김, 2002; 김과 고, 2003). 그리하여 최근 확산되는 제주조릿대를 음료수, 화장품, 약용 등 경제적으로 활용함과 아울러 균락지 내의 종 다양성을 증가시키기 위한 다양한 연구가 진행되고 있다(김현철 등, 2009).

모든 AMF는 대부분의 육상 식물들과 공생하고 있으며 거의 모든 육상생태계에 나타나고 있다.(Trappe, 1989). 식물과 AMF의 상호작용은 식물 성장에 많은 도움을 주고 있고 식물의 뿌리에서 공생하고 있는 AMF는 토양 속의 염류 및 인산의 흡수를 증가시키는 등 숙주식물에게 전반적인 이득을 준다는 긍정적인 기능에 대한 증거가 증가하고 있는 추세이다(Bever, 2003; Helgason *et al.*, 1999; Jakobsen *et al.*, 1992; Sanders *et al.*, 1996). 그러나 알려진 식물의 종이 250,000 종이 넘는데 비해 오직 150 여 종만의 AMF가 알려져 있는 실정이므로 AMF와 식물의 상호작용에 대한 많은 연구 기회가 열려 있

는 분야라 할 수 있을 것이다(Heinemeyer & Fitter, 2004; Redecker et al., 2000).

현재 AMF에 관한 연구는 대부분 농업, 임업, 원예, 조경, 간척과 개간, 환경오염 정화, 생태 복원, 자원 개발, 생물방제, 한의약 개발 등의 여러 분야와 관련하여 진행되고 있으며, 이러한 AMF에 대한 연구는 한국에서는 이제껏 내륙에 국한되어 있다. 현재까지 생물 다양성의 보고인 한라산에 분포하는 AMF의 다양성에 관한 연구는 제주도 감귤원 토양에서 분리한 공생 균근균의 동정(이용세, 1998)과 산림의 토양환경 조건에 따른 수지상균근(AM)균 집단의 종 다양성(구창덕, 2000)에서는 제주도와 한라산의 일부분에 대해서만 연구가 이루어졌을 뿐 한라산 전 지역에 관한 연구는 미흡한 실정이며 제주조릿대는 고도별로 광범위하게 분포하며 한라산의 식생에 큰 영향을 미치고 있다. 또한 동물과 식물은 고도가 높아짐에 따라 종의 수가 감소하여 동물과 식물의 다양성이 감소하지만 미생물은 고도에 따른 다양성의 변화가 없다는 결과(Fierer et al., 2011)가 보고되었지만 AMF는 고도에 따른 다양성의 변화에 관한 연구결과가 미흡하다.

따라서 이 연구의 목적은

첫째, 한라산에 분포하고 있는 AMF 포자의 종 동정

둘째, 제주조릿대 주변에 공생하고 있는 AMF의 분포에 대한 연구

셋째, 식물과 공생하는 균근균의 고도에 따른 다양성 변화에 대한 연구이다.

본 연구는 한라산에 자생하는 제주조릿대 주변의 토양을 고도별로 채취하여 AMF를 동정하였고, AMF 포자의 분포를 분석하였으며 고도에 따른 종 다양성 변화를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 토양 채집

토양은 2009년 6월 제주특별자치도에 있는 한라산에서 채집하였다. 한라산은 해발 고도에 따라 식물 분포가 뚜렷하여 식물의 수직분포대가 나타난다. 해발 50m~200m는 난대 식물대, 200m~600m는 초원지대가 있으며, 600~1500m는 활엽수림대, 1500m~1600m는 침엽수림대, 1600m~1900m는 관목대, 1900~1950m는 고산 식물대가 분포하고 있으며, 약 700m~1900m 높이에서 토양을 채집하였다

한라산의 3군데 탐방로(관음사, 영실, 성관악 코스)를 따라 고도별로 3반복 채집(Fig. 1.)하여 총 61개의 토양시료를 얻었으며 채집지의 정확한 위치는 GPS receiver를 이용하여 좌표에 기록하였다(Appendix 1). 숙주식물은 제주조릿대로 제주조릿대의 뿌리 부근에서 야삽을 이용하여 지표면으로부터 15cm 이내의 토양을 채취하고, 채취한 토양이 섞이지 않도록 밀폐 가능한 비닐봉지에 담아 실험실로 운반하였다.

2. 트랩 배양

채집된 토양은 멸균된 모래와 1 : 1로 혼합하여 잘 섞은 다음 플라스틱 재질의 포트(지름 15cm × 깊이 17cm)에서 수수(*Sorghum bicolor*)를 숙주식물로 하여 4개월간 온실조건에서 트랩 배양하였다. 숙주식물은 선행 연구 결과 동일 종자를 확보하기 용이하며 발아와 배양이 쉽고 포자의 증식률이 큰 것으로 알려진 수수를 선정하였다. 배양 중 오염이 발생하지 않도록 주의하면서 수돗물을 이용하여 하루에 두 번씩 포트 밑으로 물이 흘러내릴 정도로 충분히

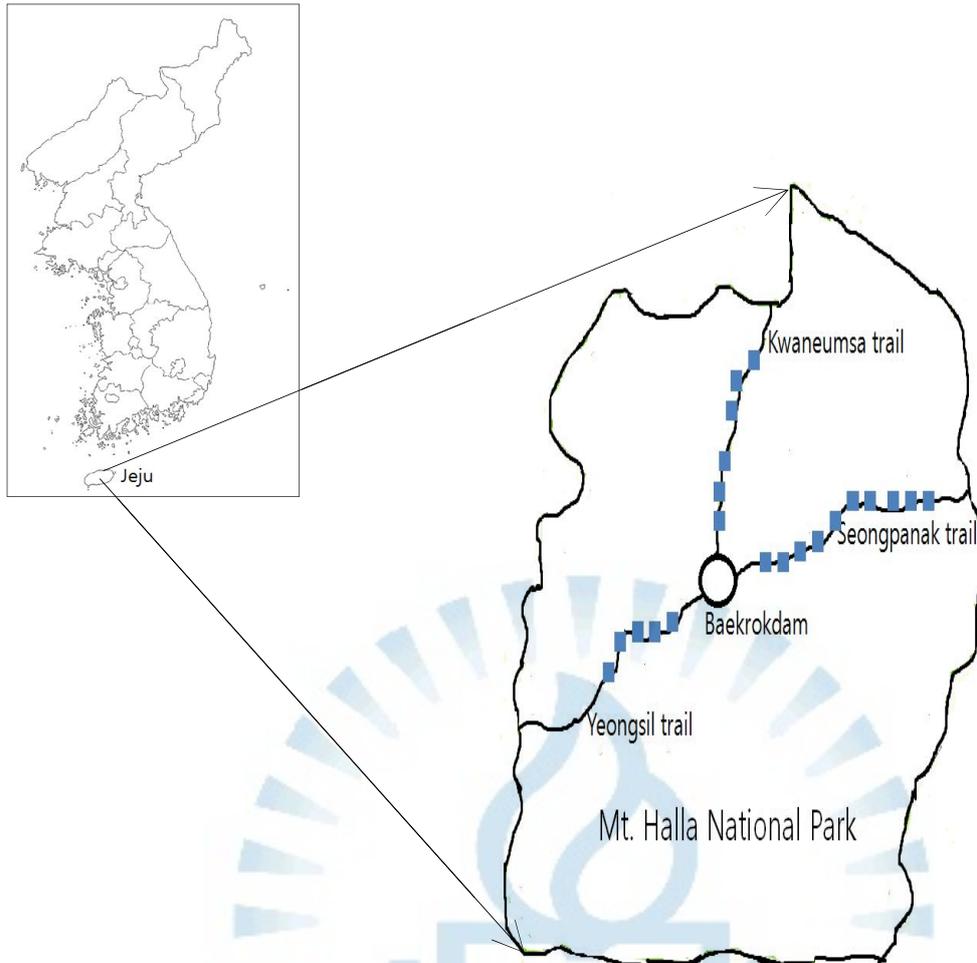


Fig. 1. A map of collection site of soil sample in Mt. Halla.

관수하였다. 무기양분 공급은 10일에 한번씩 Hogland's solution으로 200ml씩 제공하였다(Millner and kitt, 1992). 배양을 끝낸 후에는 2주일간 물과 양분 공급을 중단시켜 포트 속의 토양을 완전히 말린 다음 숙주식물의 지상부를 제거하고 밀폐 비닐봉지에 배양된 숙주식물의 뿌리와 토양을 넣어 4℃에서 냉장 보관 하였다.

3. 포자 추출

냉장 보관 된 토양을 전자저울을 사용하여 10g씩 정량한 후 wet sieving 및 sucrose density gradient centrifugation method(Daniels and skipper, 1982)를 사용하여 포자를 분리하였다. 사용한 망의 크기는 300 μ m, 150 μ m, 90 μ m, 63 μ m로 망을 위에서부터 차례로 겹쳐 놓고 포자를 대략적인 크기별로 분리할 수 있도록 하였다. 각 체에 걸러진 포자는 petri-dish에 담아 해부현미경(SZ-ST, OLYMPUS, Japan)상에서 관찰하였으며 마이크로 피펫을 이용하여 추출하였다. 포자 추출은 채집토양별로 진행하였으며 추출한 포자는 색깔, 크기, 모양 등 형태적인 특징이 비슷한 것끼리 분류한 후 특징을 기록하고 수를 측정하였으며 동정에 이용하였다.

4. 포자 동정

가. 형태 동정

채집토양별로 추출한 포자는 색깔, 크기, 모양 등 형태적 특징이 비슷한 것끼리 모아 마이크로피펫을 이용하여 한 슬라이드글라스에 올려놓았다. 물기가 충분히 마른 다음, PVLG 고정액을 한 방울 떨어뜨린 후 곤충핀으로 적당히 분산시켰다(Schenck and Perez, 1990). 커버글라스를 덮기 전에 약 3~5분정

도 놓아 둔 후 기포가 생기지 않도록 주의하면서 커버글라스를 덮고 커버글라스를 따라 고정액이 고루 퍼지도록 하였다. 지우개가 달린 연필 끝을 이용하여 적당한 힘을 주어 포자를 깨뜨린 후 광학현미경(AXIO Imager. A1, Carl Zeiss, Germany)으로 형태적 특징을 관찰하고 카메라(AXIO Cam, ICc 1, Germany)로 사진촬영 하였다. 해부현미경 상에서 관찰한 포자의 색깔, 크기, 모양 등의 특징과 광학현미경 상에서 관찰한 포자 벽의 수, 모양, 두께 및 부착 구조 등의 특징들을 종합하여 기록하고 INVAM(<http://invam.caf.wvu.edu>)의 종 기재를 참고하여 형태 동정을 하였다.

나. DNA 분석을 통한 동정

1) PCR

형태동정을 한 포자와 동일한 종이라고 생각되는 상대가 양호한 포자를 한 개씩 0.2ml PCR 튜브(PCR-02-C, Axygen Scientific, USA)에 넣고, 90% ethanol과 멸균수로 씻어낸 다음 해부현미경 상에서 곤충핀을 이용하여 튜브 내의 포자를 깨뜨려 PCR 반응에 이용하였다. 이때 DNA 추출에 실패할 경우를 대비하여 한 종당 3개씩 준비하였으며 깨뜨린 포자는 PCR 반응에 DNA시료로 바로 이용하였다.

모든 DNA 시료들은 nested PCR methods(Van Tuinen *et al.*, 1998)에 의해 수행되었다. nested PCR의 첫 번째 단계는 0.2ml PCR 튜브에 추출된 주형 DNA 2 μ l, 진핵생물 universal primer인 NS1/NS4 각 1 μ l씩, 2X Taq premix(SolGent, Korea) 10 μ l, 멸균수 6 μ l를 넣어 총 부피가 20 μ l가 되게 하여 PCR 장치(Applied Biosystems, USA)에서 수행하였다.

이 PCR 반응물은 RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution(iNtRON Biotechnology, Korea)을 첨가한 1.5% agarose gel 에 2 μ l씩 loading 후 전기영동을 하였고, 그 후 UV transilluminator (WUV-L20, DAIHAN Scientific, Korea)에 옮겨 1100bp 밴드를 확인하였다. 남은 PCR 반응물은

멸균수를 이용하여 1/100로 희석한 후 두 번째 단계의 PCR에 주형 DNA로 사용하였다. 두 번째 PCR은 AMF에 특이적인 primer AML1/AML2를 이용하여 첫 번째 단계의 PCR과 같은 방법으로 수행하였다(이재구, 2003). 두 번째 단계의 PCR 반응물도 첫 번째 단계와 동일한 방법으로 전기영동 하여 약 790bp의 밴드를 확인한 후 밴드가 나타난 PCR 반응물의 염기서열 분석을 솔젠트(SolGent, Co. LTD, <http://solgent.com>)에 의뢰 하였다. 사용한 primer에 대한 반응 조건과 특성은 Table 1에 나타냈으며 18S rDNA상의 primer들의 위치는 Fig. 2에 나타내었다.

2) 염기서열 분석

분석된 염기서열(Appendix 2.)은 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)하여 일치도가 가장 높은 종을 확인하였다(Table 2). 확인된 종들에 대한 염기서열을 NCBI로부터 내려 받아 대표적인 AMF 염기서열로 지정하고, 이 염기서열과 실험을 통해 분석된 염기서열들을 MEGA5를 이용하여 alignment 후 계통도로 나타내었다.

5. 분석 방법

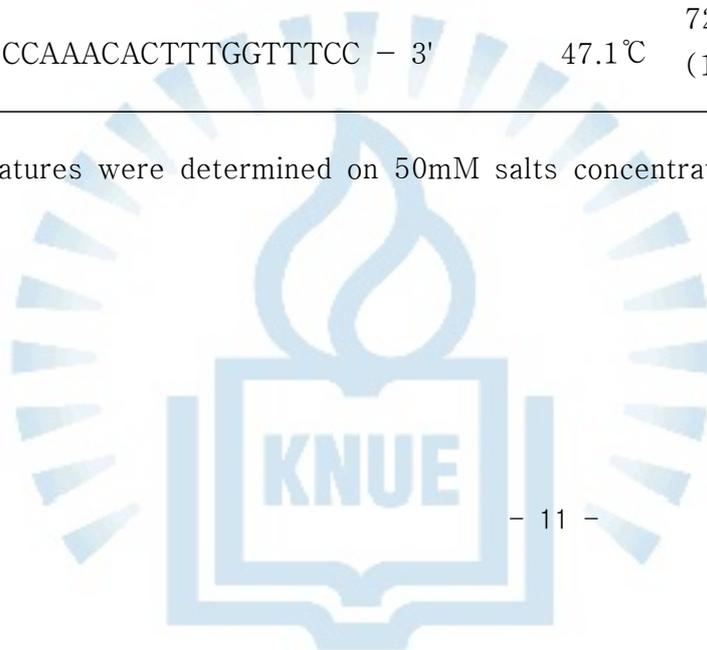
고도별로 제주조릿대와 공생하는 AMF포자는 각 종별로 상대빈도(Relative frequency), 상대수도(Relative abundance), 포자수를 구하였다. 상대빈도는 전체 샘플 중 포자가 나타난 샘플을 백분율로 구하였고, 상대수도는 샘플당 전체 포자수 분의 각 종별 포자의 수를 백분율로 구하였다. 그리고 포자 수는 평균값으로 구하였다.

AMF의 다양성 지수는 Shannon의 다양성 지수로 구하였으며, 고도에 따른 포자의 분포는 회귀분석을 하였다.

Table 1. Characteristics of primers and conditions for polymerase chain reaction(PCR) used in the

Primer		T _m ^a	PCR condition
	Nucleotide sequences		
NS1	5' - GTAGTCATATGCTTGTCTC - 3'	52.4°C	30cycles : 95°C(3min), 40°C(1min) - 1cycle; 95°C(30sec), 72°C(1min, 30sec) - 28cycles; 95°C(30sec), 40°C(1min), 72°C(10min) - 1cycle
NS4	5' - CTTCCGTCAATTCCTTTAG - 3'	53.2°C	
AML1	5' - AACTTTCGATGGTAGGATAGA - 3'	47.2°C	30cycles : 95°C(3min), 47°C(1min) - 1cycle; 95°C(30sec), 72°C(1min) - 28cycles; 95°C(30sec), 40°C(1min), 72°C(10min) - 1cycle
AML2	5' - CCAAACACTTTGGTTTCC - 3'	47.1°C	

^a Melting temperatures were determined on 50mM salts concentration and 1nM oligo concentration



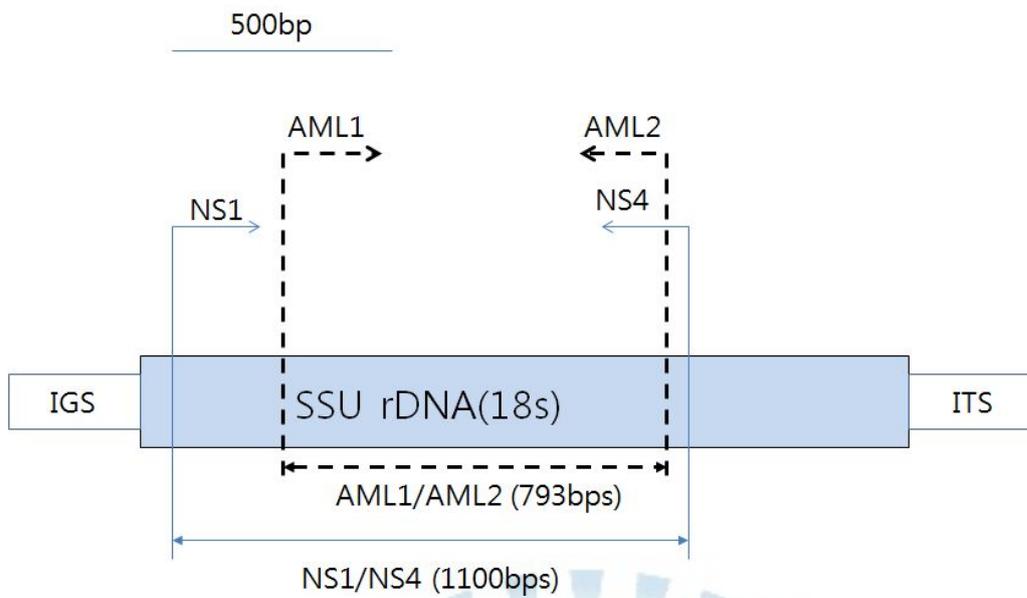
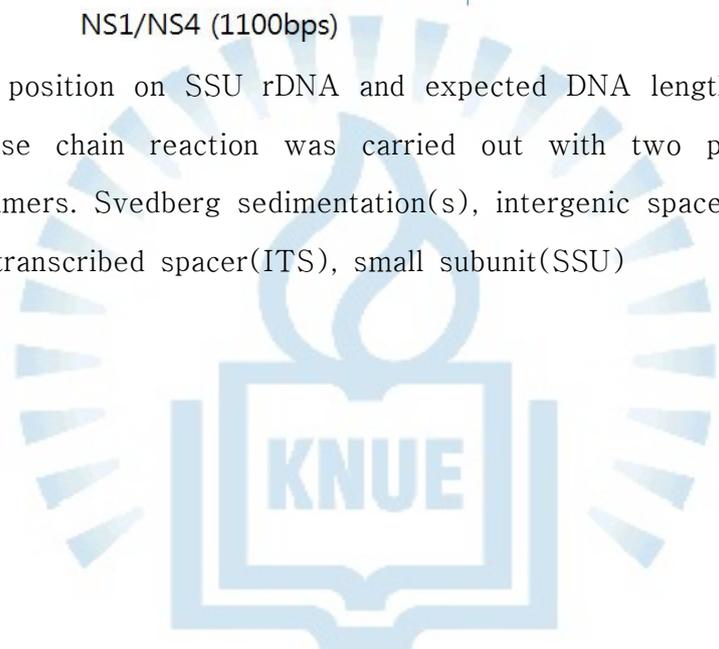


Fig. 2. Primers' position on SSU rDNA and expected DNA length when polymerase chain reaction was carried out with two pairs of these primers. Svedberg sedimentation(s), intergenic spacer(IGS), internal transcribed spacer(ITS), small subunit(SSU)



III. 결 과

1. AMF 포자의 동정과 기재

한라산에서 고도별로 채집하여 온실에서 트랩 배양 및 냉장 보관 된 건조토양 10g에서 나타난 AMF 포자를 형태 분석과 염기서열 분석 한 결과 총 4속 6종이 동정되었다. *Acaulospora*속 2종 (*Acaulospora mellea*, *Acaulospora longula*), *Ambispora*속 1종 (*Ambispora leptoticha*), *Gigaspora*속 1종 (*Gigaspora margarita*), *Glomus*속 2종 (*Glomus etunicatum*, *Glomus claroideum*)이 동정 되었다.

관찰된 AMF포자에 대해서 포자의 형태(Fig. 3)와 특징을 아래에 기술하였다. 이들 종에 대한 염기서열 분석결과를 Table 2에 기록하였으며, Fig. 4에 유연관계 계통도를 제시하였다.

가. *Acaulospora longula* Spain & Schenck

포자는 토양 내에서 구형 또는 타원형의 단일 포자를 형성하였다. 크기는 70- 110 μm 이었으며 색깔은 투명하거나 연한 노란색 계열이었다. 포자 벽은 5개로 구성되었으며 가장 바깥쪽 벽은 점액질이며 잘 벗겨지고 두께는 0.5-3 μm 로 두 번째, 세 번째 벽과 밀착되어 있었다. 네 번째 벽은 0.5-1 μm 로 얇으며 유리처럼 투명했고, 보통 다섯 번째 벽과 붙어 있었다. 0.5-1 μm 두께의 맨 안쪽 벽은 막 구조(membranous)로써 Melzer's reagent에 자주색으로 염색되었다. (Fig. 3 - A, DNA sequences : J-9 in Appendix 2.).

나. *Acaulospora mellea* Spain & Schenck

포자는 크기가 90- 100 μm 로 둥글게 부풀어 오른 hyphal terminus에 균사 끝이 가늘어진 곳의 측면에서 만들어진(Schenck *et al.*, 1984). 포자의 색

은 꿀색 또는 황갈색으로 원형이었으며 크기는 72-126 μm 이었다. 포자벽의 두께는 4-11 μm 였고, 균사가 부착된 지점의 포자벽은 보통 더 두꺼웠다. 포자의 가장 바깥벽은 두께가 2-6 μm 의 laminate층으로 어두운 갈색이나 황갈색을 띄었다. 두 번째 벽은 0.5 μm 두께로 가장 바깥벽과 분리될 수 없다. 세 번째 벽은 밝은 노란색에서 투명한 유리질 색깔로 0.5-1 μm 두께의 막 구조(membranous) 형태였다. 네 번째 벽은 포자가 깨졌을 때 쪼글쪼글해지며 두께는 0.5 μm 였다. 다섯 번째 벽은 Melzer's reagent에서 밝은 보라색으로 염색되었다. (Fig. 3 - B, DNA sequences : J-3, J-5 in Appendix 2.).

다. *Ambispora leptoticha* (Schenck & Smith) Morton & Redecker

포자의 크기는 150-220 μm 정도로 토양 내에서 단일 포자로 형성되었다. 모양은 원형, 난형 또는 다소 불규칙한 타원형을 가졌다. Acaulosporoid와 glomoid spore의 두 가지 형태의 포자가 존재하였다(Walker *et al.*, 2007). 포자의 대부분은 흰색이거나 아이보리 색이며 부착균사가 붙어 있는 것이 관찰되었다. 4개의 벽으로 구성되어 있으며 가장 바깥쪽 벽은 두께가 6-10 μm 로 옅은 주황색을 띄고 충격에 의해 쉽게 벗겨졌다. 그 다음 두 개의 벽은 두께가 3-4 μm 로 규칙적인 불룩한 표면 무늬를 가진 투명하고 단단한 벽이며, 가장 안쪽의 벽은 얇고 투명했다. (Fig. 3 - C, DNA sequences : J-7 in Appendix 2.).

라. *Gigaspora margarita* Becker & Hall

포자는 토양 내에서 260-480 μm 크기의 원형 또는 타원형의 단일 포자를 형성했다. 색깔은 주로 노란색이며 흰색이나 옅은 연두색을 띄는 것도 있었다. 포자 벽은 매끄럽고 유리질이였으며 보통 4-8개이고 드물게는 10개 정도의 lamination을 가지며 나이를 먹음에 따라 lamination의 수가 증가했다. 성숙한 포자의 포자 벽의 두께는 5-24 μm 이었으며 각 lamination 두께는 1.5-4 μm 였

다. 포자의 내용물은 흰색이고 많은 작은 기름방울로 구성되어 있었으며 특히 발아하는 부위에서 나이를 먹음에 따라 큰 덩어리로 합쳐지는 경향이 있었다 (Becker & Hall). 포자를 지탱해주는 지름이 약 $40\mu\text{m}$ 의 bulbous suspensor가 부착되어 있었고 그 아래로 subtending hyphae가 있었다. (Fig. 3 - D, DNA sequences : J-6 in Appendix 2.).

마. *Glomus claroideum* Schenck & Smith

포자는 토양 내에서 구형 또는 타원형의 단일 포자를 형성하였으며 크기는 $80-160\mu\text{m}$ 이었다. 포자의 색깔은 크림색에서 밝은 노란색을 띄었다. 4개의 막으로 구성되어 있었으며 가장 안쪽 막은 두께가 $0.6-1.8\mu\text{m}$ 이고 바깥쪽으로 갈수록 두꺼운 막을 가지며 가장 바깥쪽 막은 두께가 $3\mu\text{m}$ 정도였다. (Fig. 3 - E, DNA sequences : J-11 in Appendix 2.).

바. *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann

포자는 토양 내에서 원형 또는 타원형의 단일 포자를 형성하였으며 크기는 $100-150\mu\text{m}$ 이었다. 포자 벽은 투명하고 거의 부서질 듯 한 바깥쪽 벽과 노란색에서 갈색을 띠는 laminate 벽의 2개 층으로 구성되어 있었다. 짧은 부착균사가 안쪽 막과 연결되어 있었고 포자 안쪽에 또 다시 투명한 얇은 막으로 구성된 내용물이 관찰되는 것도 있었다. (Fig. 3 - F, DNA sequences : J-1, J-2, J-4, J-8, J-10 in Appendix 2.).

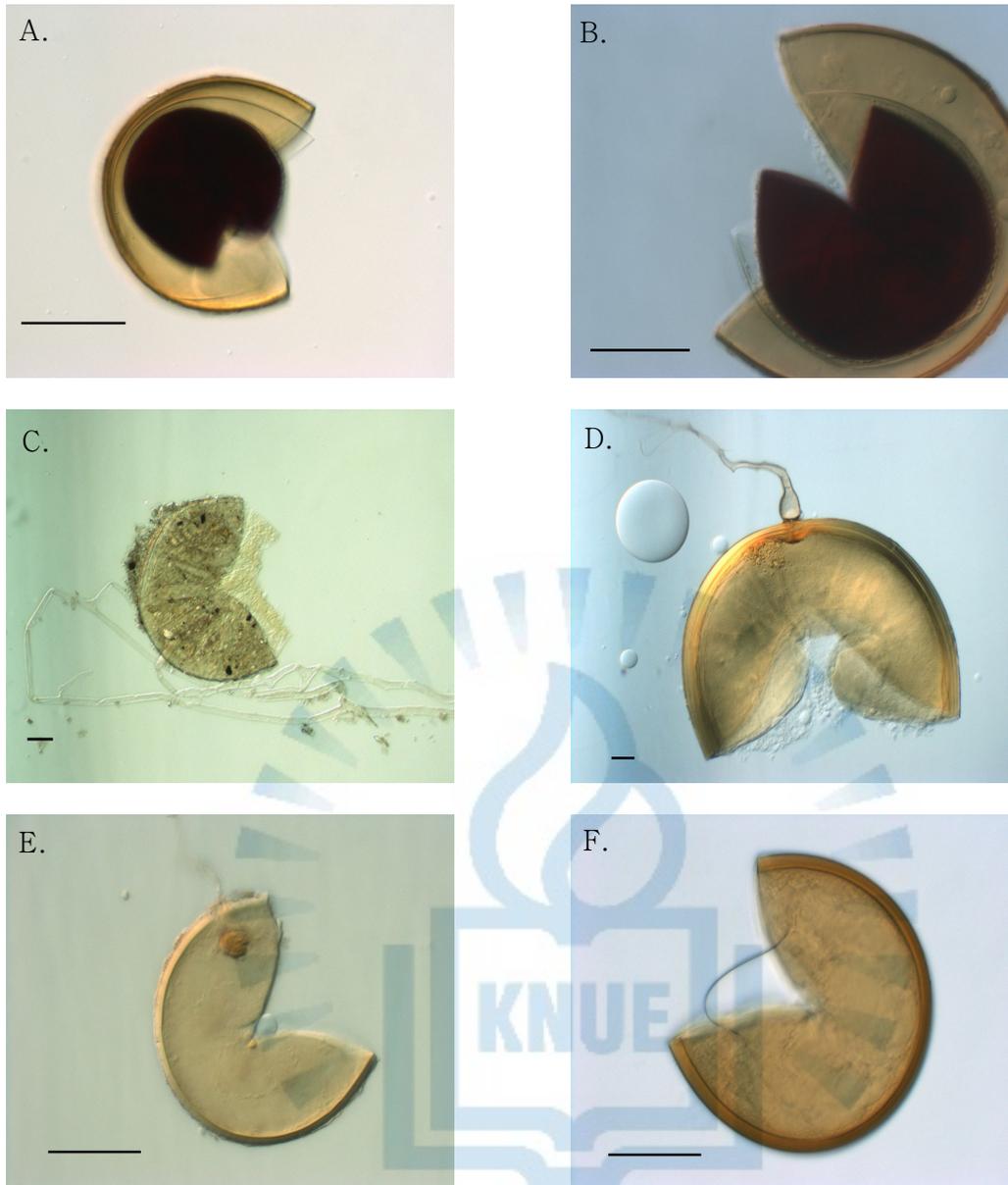


Fig. 3. Morphology of the spores of arbuscular mycorrhizal fungi collected from Mt. Halla. A. *Acaulospora longula*, B. *Acaulospora mellea*, C. *Ambispora leptoticha*, D. *Gigaspora margarita*, E. *Glomus claroideum*, F. *Glomus etunicatum*. Scale bar = 50 μ m.

Table 2. Confirmed species from molecular identification of arbuscular mycorrhizal fungal spores.

Sample ID	Results of BLAST search on NCBI		
	Best Blast Match	Similarity	Accession No.
J-1	<i>Glomus etunicatum</i>	713/715 (99%)	AJ852598
J-2	<i>Glomus etunicatum</i>	712/715 (99%)	AJ852598
J-3	<i>Acaulospora mellea</i>	704/710 (99%)	FJ009670
J-4	<i>Glomus etunicatum</i>	712/715 (99%)	AJ852598
J-5	<i>Acaulospora mellea</i>	705/710 (99%)	FJ009670
J-6	<i>Gigaspora margarita</i>	697/705 (99%)	AJ852605
J-7	<i>Ambispora leptoticha</i>	315/316 (99%)	AB047302
J-8	<i>Glomus etunicatum</i>	712/715 (99%)	AJ852598
J-9	<i>Acaulospora longula</i>	706/709 (99%)	AJ306439
J-10	<i>Glomus etunicatum</i>	712/715 (99%)	AJ852598
J-11	<i>Glomus claroideum</i>	712/714 (99%)	AJ276080

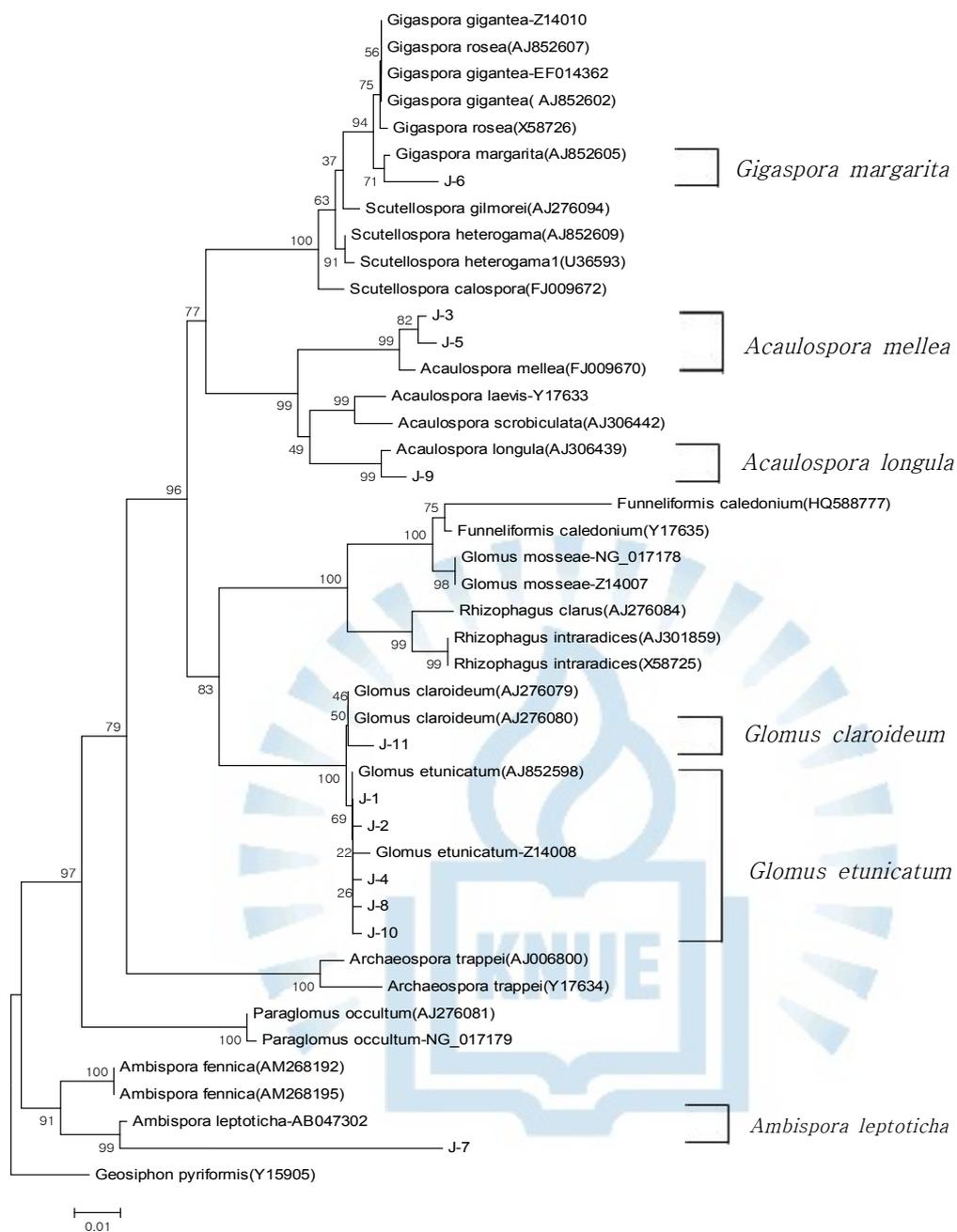


Fig. 4. Neighbor-joining phylogram for partial 18S rDNA sequence of arbuscular mycorrhizal fungal spores. Numbers are nodes indicate percent bootstrap support(1000replicates).

2. AMF 포자의 분포 분석

가. 한라산 AMF의 우점종

한라산에서 자주 출현하는 종과 어떤 종이 우세한지를 알아보기 위해 한라산 전 지역에서 발견한 AMF 포자를 각 종별로 상대빈도, 상대수도 그리고 종수를 나타냈다(Table 3). 상대빈도(Relative frequency)는 전체 샘플 중 포자가 나타난 샘플을 백분율(%)로 나타낸 것이고, 상대수도(Relative abundance)는 전체 포자수 분의 종별 포자의 수를 백분율(%)로 나타낸 것이다. 그리고 포자수는 평균값을 이용하여 나타냈다. 상대 빈도는 *G. etunicatum*이 88%로 가장 높게 나타났으며 *Acaulospora* 속인 *A. longula*와 *A. mellea* 34%로 두 번째로 높게 나타났다. 세 번째는 28%로 *G. claroideum*, 네 번째는 20%로 *Ambispora leptoticha*, 가장 낮은 것은 6%인 *Gigaspora margarita* 이다. 상대 수도 또한 가장 높게 나타난 것은 40.453%인 *Glomus etunicatum*이고 두 번째는 35.502%로 *A. longula*, 세 번째는 16.164%로 *A. mellea*, 네 번째는 8.274%로 *Ambispora leptoticha*, 다섯 번째는 2.899%로 *G. claroideum*, 가장 낮은 것은 0.707%인 *G. margarita* 이다. 이것으로 보아 우점도가 가장 높은 종은 *G. etunicatum*이고 가장 낮은 종은 *G. margarita*임을 알 수 있다. 한라산에 분포하는 포자 수 또한 *G. etunicatum*이 가장 많고 *G. margarita*가 가장 적다.

나. AMF 포자의 고도별 분포

한라산에서 발견된 각 AMF의 고도별 분포를 상대수도를 이용하여 Fig. 5에 나타냈다. *G. etunicatum*은 700m에서 1800m까지 전 고도에서 두루 나타나며 특히 고도가 높은 곳에서 많은 수가 나타나고 있다. *G. claroideum*의 경우는 1200m 그리고 1400m에서 많이 나타난 것을 볼 수 있다. *A. mellea*은 전 고도에서 두루 나타나고 있으나 특히 900m에서 1200m지점 사이에서 많이 나

Table 3. Relative frequency, Relative abundance and numbers of arbuscular mycorrhizal fungal spores in Mt. Halla.

	Relative ^a frequency(%)	Relative ^b abundance(%)	No. spores/ 10g dry soil ^c
<i>Acaulospora longula</i>	34	35.502	10.04
<i>Acaulospora mellea</i>	34	16.164	3.44
<i>Ambispora leptoticha</i>	20	8.274	2.34
<i>Gigaspora margarita</i>	6	0.707	0.2
<i>Glomus claroideum</i>	28	2.899	0.82
<i>Glomus etunicatum</i>	88	40.453	11.44

^a Relative frequency = percentage of the total 50 samples in which the species was observed

^b Relative abundance = (no. spores of species x/total no. spores of all species)×100

^c No. spores/ 10g dry soil = no. spores of species x/total 50 samples

타나며 *A. mellea*와 같은 속인 *A. longula*는 주로 1200m이하에서 나타나는 것을 볼 수 있다. *A. leptoticha*는 1200m에서 1600m 사이에서만 나타났으며 *G. margarita*는 1400m지점 한 군데에서만 나타났다.



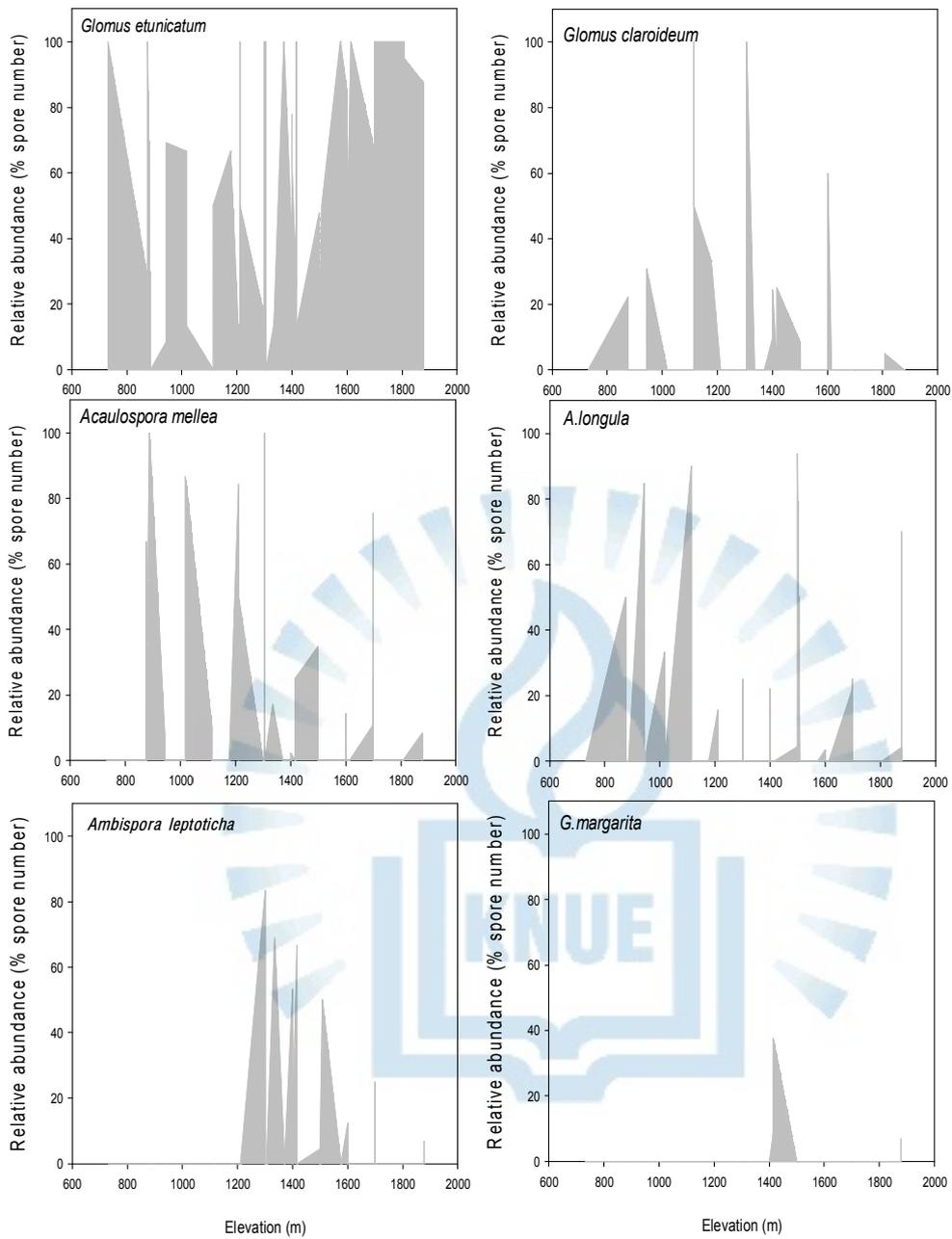


Fig. 5. Relative abundance of AM fungal spores at different elevation.

3. 고도별 AMF의 다양성

고도에 따라 한라산의 제주조릿대와 공생하는 AMF의 종 다양성이 어떻게 차이가 있는지를 알아보기 위해 MVSP를 이용하여 종수와 종 다양성 지수를 Shannon의 다양성 지수로 구하였고 이 값을 이용하여 회귀 분석하여 그래프로 나타내었다. 분석 결과 고도에 따른 종수는 고도가 높아짐에 따라 종수는 아주 조금씩 증가하는 경향이 있으나 $r^2 = 0.041$ 로 고도와 종수와는 관계가 없는 것으로 분석되었다(Fig. 6). 고도에 따른 종 다양성 또한 고도가 높아짐에 따라 종 다양성은 변화가 없는 것으로 분석되었다(Fig. 7). 즉 고도가 증가함에 따라 종수와 종 다양성이 감소하거나 증가하는 경향이 나타나지 않으며 고도에 따라 종수와 종 다양성 변화에는 관계가 없다는 것을 알 수 있었다.



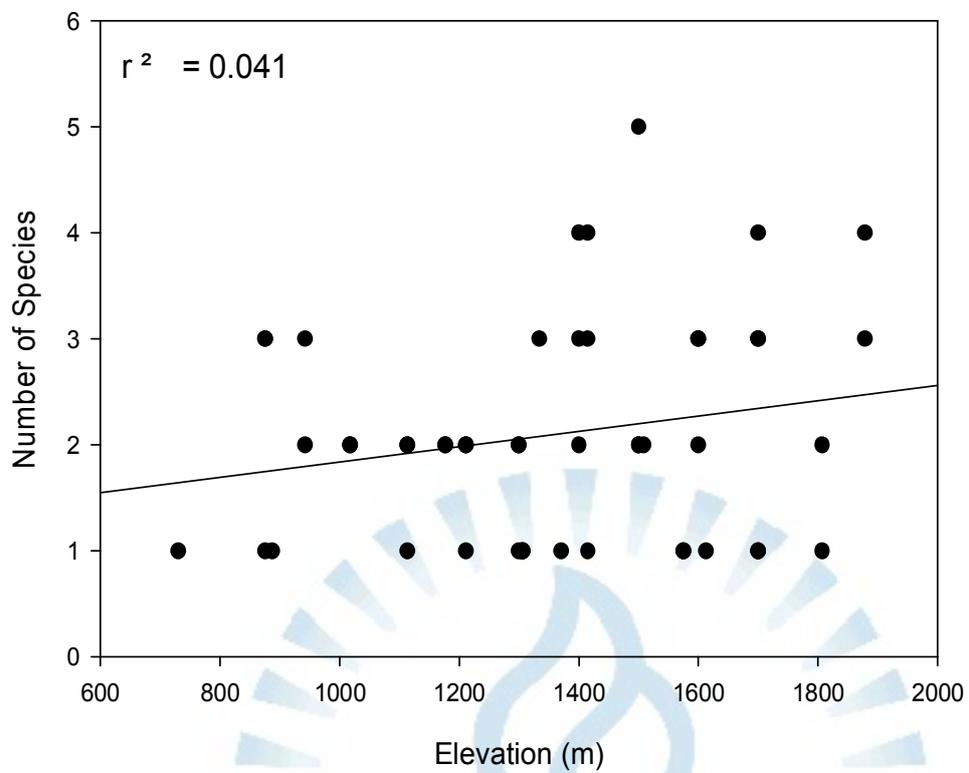


Fig. 6. Number of Species of AM Fungal spores at different elevation.

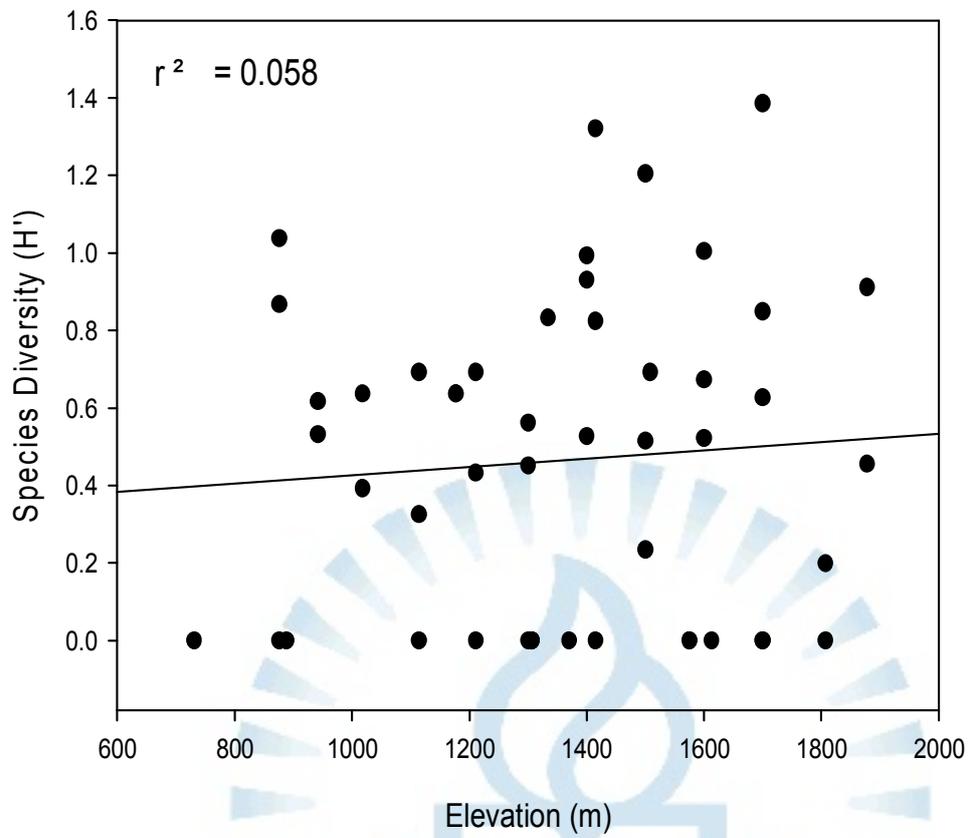


Fig. 7. Species diversity of Abuscular Mycorrhizal Fungi at different elevation.

IV. 논 의

한라산에서 제주조릿대와 공생하는 AMF 포자의 다양성을 형태적 동정 과 AMF에 특이적 primer인 AML1/AML2를 이용한 분자적 동정한 결과 *A. mellea*, *A. longula*, *A. leptoticha*, *G. margarita*, *G. etunicatum*, *G. claroideum* 의 총 4속 6종이 동정 되었다. *A. mellea*는 서울 동대문구 임업연구원(가강현 *et al.*, 1990a), 경기도 고속도로 절개사면(Lee *et al.*, 2009), 경기도 남양주(박상희 *et al.*, 2011)에서 발견된 것이 보고되었으며, *A. longula*는 경북 칠곡(이상선 *et al.*, 1993), 청주 목련공원(이재구, 2003), 충북 청원, 충북 증평, 충남 금산(Cho *et al.*, 2007), 경기도 남양주(박상희 *et al.*, 2011)에서 발견된 것이 보고되었다. *A. leptoticha*는 제주 한라산 1100고지(이재구, 2003), 경기도 남양주(박상희 *et al.*, 2011)에서 발견된 것이 보고되었다. *G. margarita*는 인천광역시 북구 백석동 백석간척지(37° 35'N, 126° 46'E), 경기도 화성시 마도면 청원 3리 마도간척지(37° 10'N, 126° 46'E) (고성덕, 1986) Sin Ga Dong(Gwangju)(Cho, 1989), 충북 청원군 한국교원대학교 주변(엄안흠 and 이상선, 1990) 충남 태안군 태안읍 도내리(가강현 *et al.*, 1990c) 경북 울진, 충북 증원군 충주댐, 충북 청원군 단군신전, 충북 청원군 가스공급소 주변, 경북 칠곡군, 전북 남원군 지리산 뱀사골, 경기도 용인시 도로변 및 산림 주변(안태근 *et al.*, 1992), 충남 태안군 태안읍 도내리(이상선 and 류창년, 1992) 충남 공주시 국립공주대학교 주변(김준태 *et al.*, 1993), 영남일원에 분포하는 고추, 오이, 수박 및 참외의 시설 원예지(박향미 *et al.*, 1999), Paekryung and Daecheong island(Choi *et al.*, 2000), 서귀포 억새(*Miscanthus* sp.) 초원(구창덕, 2000), 충북 (Lee *et al.*, 2003), 충남 태안군 원북면 신두리 사구(고성덕 and 박주영, 2003), 괴산에서 단양까지의 도로변(Eom *et al.*, 2004), 경기도 고속도로 절개사면

(Lee *et al.*, 2009), 경기도 남양주(박상희 *et al.*, 2011)에서 발견된 것이 보고되었다. *G. etunicatum*는 광명바이오텍 원예상점(충북 청원군 내수면), 글록시아(*Sinningia speciosa*)(이상선 *et al.*, 1991), 괴산에서 단양까지의 도로변, 충북 괴산-수수(*Sorghum bicolor*), 메밀(*Fagopyrum esculentum*), 콩(*Glycine max*)가 재배되는 경작지(Eom *et al.*, 2004), 22 different host species in 30 sites of Korea(Lee *et al.*, 2006), Chungbuk Province/Chungnam Province(Cho *et al.*, 2006), organic farming sites and conventional farming sites in Goesan(Lee and Eom, 2009)에서 발견된 것이 보고 되었고, *G. claroideum*는 충남 태안군 원북면 신두리 사구(고성덕 and 박주영, 2003), 22different host species in 30 sites of Korea (Lee *et al.*, 2006)에서 발견된 것이 보고 되었다.

이러한 보고 결과와 비교했을 때 한라산에서 발견된 AMF 종은 모두 한국 내륙의 다른 지역과 경작지에서도 분포하고 있는 종으로 지역적인 특이성이 없다고 생각된다.

한라산에서 상대 빈도와 상대 수도가 가장 높은 종 즉, 우점도가 가장 높은 종은 *G. etunicatum*였고, 가장 낮은 종은 *Gigaspora margarita* 였다. 또한 *Glomus*와 *Acaulospora* 속에 속하는 종들이 *Ambispora* 와 *Gigaspora*속에 속하는 종들 보다 많이 발견 되었으며(Table 3), 고도별로 *Glomus*와 *Acaulospora* 속에 속하는 종들은 전 고도에서 나타났으나 *Ambispora* 속에 속하는 종은 1200m에서 1600m 사이에서만 나타났으며 *Gigaspora margarita*는 1400m지점 한 군데에서만 나타났다. 이러한 결과는 Ahn *et al.*(1992)이 우리나라 65곳의 콩과 식물 주변 토양에서 Arbuscular 내생균은 균의 분포에서 *Glomus* 속이 47.6%, *Gigaspora* 속이 4.8%로 출현 빈도를 보고한 것과 김명곤(1992)이 지리산에서 고도별, 식물별 Abuscular 내생균은 균의 생태적 연구 결과 *Acaulospora*와 *Glomus* 속에 속하는 종들이 *Gigaspora*와 *Scutellospora* 속에 속하는 종들보다 많이 발견된 것과 비슷한 결과이다.

*Gigaspora*속의 종이 낮은 빈도를 나타내는 것은 일반적으로 *Glomus* 나 *Acaulospora* 속에 비해 적은 수의 포자를 생산하기 때문인 것으로 생각된다. *Glomus*나 *Acaulospora* 속의 종들이 다른 속에 비해 높은 빈도를 나타내는 것은 이들이 높은 빈도를 나타냄으로써 이로 인한 종간 경쟁의 결과로 생각할 수 있다. 우리나라의 산림 토양에 있어서는 *Gigaspora*나 *Ambispora* 속에 속하는 종들 보다는 *Glomus*나 *Acaulospora* 속에 속하는 종들이 생존에 더 유리하며 식물에 더 큰 영향을 미치고 있는 것으로 생각된다. 그러나 이들 종이 더 유리한 이유는 본 실험 결과로는 알 수 없으며 이에 관하여서는 앞으로 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

한라산에서 발견한 AMF의 고도에 따른 종수와 종 다양성 변화에는 관계가 없다는 것을 알 수 있다(Fig. 6, Fig. 7). 이것은 미생물은 고도에 따라 다양성의 변화가 없다(Fierer *et al.*, 2011)는 결과와 일치한다. 또한 김명곤 (1992)의 지리산에서 Arbuscular 내생균근의 종 다양도가 각 시기별, 고도별, 식물별에 따라 명확한 경향성이 발견되지 않는다는 결과와도 일치한다. 이러한 결과는 지상부에 있는 숙주식물의 다양성에 비하여 땅속에 있는 AMF의 다양성이 낮으며, AMF의 분포에 있어서 고도 그 외의 다른 물리적인 요인이 서로 상호작용하는 것으로 생각된다(Koske, 1981). 따라서 앞으로 이 분야에 관한 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 가강현, 이상선, 이민웅. 1990. 식물 균락에서 VA 내생균근 발견. 한국균학회지, 18 : 191-197.
- 고성덕, 박주영. 2003. 충남 보령군 신두리 사구의 Arbuscular Mycorrhizal Fungi(AMF)의 종조성과 분포에 관한 연구. 과학교육연구논총, 19: 189-203.
- 고정균. 2000. 한라산 고산식물의 생태생리학적 연구. 제주대학교 박사학위논문.
- 공우석. 1998. 한라산 고산식물의 분포 특성. 대한지리학회지, 33: 191-208.
- 공우석. 1999. 한라산의 수직적 기온 분포와 고산식물의 온도적 범위. 대한지리학회지, 34: 385-393.
- 구창덕. 2000. 산림의 토양환경 조건에 따른 수지상 균근(AM)균 집단의 종 다양성. 한국환경복원녹화기술학회지, 3: 70-79.
- 김명곤. 1992. 지리산의 고도별, 식물별 Arbuscular 내생균근균의 생태적 연구. 한국교원대학교 대학원 석사학위 논문.
- 김준태, 리기현, 정병철, 김종균. 1993. 사구식물과 Arbuscular 내생균근 균의 공생 특성. 한국균학회지, 21: 235-245.
- 김찬수, 김지은, 김진, 변광욱. 2009. 한라산 특산 및 희귀 고산식물 분포 현황. 한국자원식물학회 학술심포지엄, pp. 87.
- 김현철. 2002. 한라산 해발 고도별 제주조릿대의 성장 특성. 한라산연구소 조사보고서, 1: 63-71.

- 김현철. 2009. 제주조릿대의 생태학적 특성 및 관리방안 학술심포지엄자료. pp. 1-39
- 김현철, 고정균. 2003. 한라산 식생유형별 제주조릿대의 생육특성에 따른 종 다양성의 변화. 한라산연구소 조사연구보고서, 2: 97-109.
- 문명옥, 도채화, 김철환, 김찬수, 김문홍. 2006. 한국미기록식물 빌레나무(빌레나무과)와 꼬마냉이(십자화과). 한국식물분류학회지, 36: 153-161.
- 박상희, 어주경, 가강현, 엄안흠. 2011. 문안산의 목본식물과 공생하는 수지상 균근균의 다양성. 한국균학회지, 39: 1-6
- 박향미, 남민희, 강항원, 이재생, 고지연, 강위금, 박경배. 1990. 영남지역 시설재배지에 분포하는 Arbuscular 균근균의 포자 밀도 및 기내조건에서의 포자발아와 균사생장 특성. 1999. 한국토지비료학회지, 32: 203-209
- 안근태, 이민용, 가강현, 이상선. 1992. 두과식물에서 발견된 내생균근 포자들. 한국균학회지, 20: 95-108.
- 엄안흠, 이상선. 1990. 고마리 균락에서 발견된 내생균근. 한국균학회지, 18: 26-41.
- 오순자, 고정균, 고석찬. 2000. 한라산국립공원 지연의 식생과 식물상. 제주대학교 환경연구논문집, 8: 39-49.
- 이경재, 류창희, 최송현. 1992. 한라산 어리목, 영실, 돈내코지역의 식물 균집 구조. 응용생태연구, 6: 25-43.
- 이상선, 가강현, 이석구, 백기엽. 1991. 원예식물 및 재배식물에서 발견된 내생균근. 한국균학회지, 19: 186-202.

- 이상선, 엄안흙, 이운학, 김명곤, 김성일. 1993. 포트배양에 의해 증식된 Arbuscular 내생균근균의 한국 미기록종 기재. 한국균학회지, 21: 85-93
- 이상철, 최송현, 강현미, 조현서, 조재우. .2010.. 한라산국립공원 동사면의 해발고별 식생변화 및 구조. 한국환경생태학회지, 24: 26-36.
- 이영노, 이명보. .1957.. 한라산 화구 내 식물과 토도 식물. 한국약학회지, 4: 21-34
- 이용세, 정종배, 문두길. 1998. 제주도 감귤원 토양에서 분리한 공생균근균의 동정. 한국균학회지, 26: 97-102.
- 이종언, 김현철, 황경준, 박남건, 김남영, 오운영. 2010. 말 방목에 의한 제주 조릿대의 생육특성 및 사료 가치 평가. 초지조사료지, 30: 151-158.
- 이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사. pp. 80.
- 이창복. 1985. 한라산의 특산 및 희귀식물. 한라산천연보호구역 학술조사보고서 pp. 215-242.
- 이재구. 2003. 분자생물학적 방법에 의한 식물뿌리로부터 AM균 종 동정. 한국교원대학교 대학원 석사학위논문.
- 허만규, 노광수. 2005. 한국 내 조릿대의 교배계에 대한 유전학적 연구. *Journal fo Life Science*, 15: 33-37
- Abdallal, M. E., Abdel-Fattah, G. M. (2000). Influence of the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. *Mycorrhiza*, 10: 29-35.
- Ahn, T. K., M. W. Lee, K. H. Ka and S. S. Lee. 1992. Arbuscular

- mycorrhizal spores found from the soils of the leguminous plants in *Kore. Kor. J. Mycol.* 20: 95–108.
- Allen, M. F. 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge Univ. Press.
- Corkidi, L., Rowland, D. L., Johnson, N. C., & Allen, E. B. (2002). Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant & Soil*, 240: 299–310.
- Bécard, G., & Pfeffer, P. E. 1993. Status of nuclear division in arbuscular mycorrhizal fungi during in vitro development. *Protoplasma*, 174: 62–68
- Bécard, G., & Fortin, J. A. 1988. Early events of vesicular–arbuscular mycorrhiza formation on Ri T–DNA transformed roots. *New Phytologist*, 108: 211–218.
- Benabdellah, K., Azcon–Aguilar, C., & Ferrol, N. 1999. Plasma membrane ATPase and H⁺ transport activities in microsomal membranes from mycorrhizal roots. *Journal of Experimental Botany*, 50: 1343–1349.
- Bever, J. D., Morton, J. B., Antonvices, J., & Schultz, P. A. 1996. Host–dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of Ecology*, 84: 71–82.
- Brundrett, M. C., & Abbott, L. K. 1995. Mycorrhizal fungus propagules in the jarrah forest, II. Spatial variability in inoculum levels. *New Phytologist*, 131: 461–469.
- Busse, M. D., & Ellis, J. R. 1985. Vesicular–Arbuscular Mycorrhizal (*Glomus fasciculatum*) Influence on Soybean Drought Tolerance in

- High Phosphorus Soil. *Canadian Journal of Botany*, 63: 2290–2294.
- Choi, K. D., Ka, K. H., Lee, Y. S., Shim, J. O., Lee, S. S., Lee, T. S., Lee, N. W. 2000. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Paekryung and Paecheong Islands. *The Korean Society of Mycology*, 28: 133–141.
- Clapp, J. P., J. P. W. Young, J. W. Merryweather., & A. H. Firrer. 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist*, 130: 259–265.
- Daniels, B. A., & skipper, H. D. 1982. Methods for recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In Schenck, N. C. (Ed.), *Methods and principles of mycological research* (pp. 29–35). Saint Paul, Minnesota : The America Phytopathological Society.
- Davies, F. T., Porter, J. R., Linderman, R. G. 1993. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants: independent of leaf phosphorus concentration, response in gas exchange, and water relations. *Physiol. Plant*, 87: 45–53.
- Dehne, H. W. 1982. Interaction between vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*, 72: 1115–1119.
- Entry, J. A., Rygiewicz, P. T., Watrubb, L. S., Donnelly, P. K. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research*, 7: 123–138.
- Eom, A. H., Hartnett, D. C., & Willson, G. W. T. 2000. Host plant

- species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrassprairie. *Oecologia*, 122: 435–444.
- Eom, A. H., Tea. M. S., Lee, J. K. 2004. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Arable and Natural Soils in Korea. *The Korea Journal of Ecology*, 27: 179–184.
- Fierer, N., McCain, M. C., Meir, P., Zimmermann, M. Rapp, J. M., Silman, M. R., Knight R. 2011. Microbes do not follow the elevational diversity patterns of plants and animals. *Ecology*, 92: 797–804.
- Frank, A. B 1885. Ueber die auf Wuzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutsche Botan Ges*, 3: 128–145
- Frank, D. A., Gehring, C. A., Machut, L., & Phillips, M. 2003. Soil community composition & the regulation of grazed temperate grassland. *Oecologia*, 137: 603–609.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H., & Tas, I. 2003. Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrulus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil*, 253: 287–292.
- Ko, J. G. 2002. Damaged Area Rehabilitation and Vegetation Restoration of the subalpine zone in the Mt. Halla. Research Report on Mt. Hall. Research Institute for Mt. Halla, pp. 1–27
- Koske, R. E. 1981. A preliminary study of interactions between species of vesicular–arbuscular fungi in a sand dune. *Trans. Br. Soc.* 76:

411–416.

- Lee, J. E., Eom, A. H. 2009. Effect of Organic Farming on Spore Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Glomalin in Soil. *The Korean Society of Mycology*, 37: 272–276
- Lee, K. J., Lee, K. H. 2009. Biodiversity, Spore Density and Root Colonization of Arbuscular Mycorrhizal Fungi at Expressway Cut-slopes. *Journal of Korea Forest society*, 98: 539–547.
- Lee, S. J., Hong, S. B., Kim, C. Y. 2003. Contribution to the Checklist of Soil-inhabiting Fungi in Korea. *The Korean Society of Mycology*, 31: 9–18.
- Millner, P. D., & Kitt, D. G. 1992. The Beltsville method for soilless production of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 2: 9–15
- Morton, J. B. 1990. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. *Mycologia*, 82: 192–207
- Morton, J. B., & Benny, G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37: 471–491
- Newsham, K. K., Fitter, A. H., & Watkinson, A. R. 1995. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. *Journal of Ecology*, 83: 991–1000.

- Oshima, Y. 1960. Ecological studies of Sasa community. I. Productive structure of some of the Sasa communities in Japan. *Bot. Mag. Tokyo*, 74 : 208–209
- Redecker, D., & Raab, P. 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98: 885–895.
- Ruiz–Lozano, J. M., Collados, C., Barea, J. M., Azcon, R. 2001. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought–induced nodule senescence in soybean plants. *New Phytologist*, 151: 493–502.
- Schenck, N. C., & Perez, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. Florida: Synergistic Publications.
- Schüßler, A. 2002. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 244: 75–83.
- Schwarzott, D., Walker, C., & Schüßler, A. 2001. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic. *Molecular phylogenetic and evolution*, 21: 190–197
- Smith, S. E., & Read, D. 2008. *Mycorrhizal symbiosis* UK: Academic Press.
- Smith, S. E., & Smith, F. A. 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytologist*, 114: 1–38.

- Thingstrup, I., Kahiluoto, H., & Jakobsen, I. 2000. Phosphate transport by hyphae of field communities of arbuscular mycorrhizal fungi at two levels of P fertilization. *Plant and Soil*, 221: 181–187
- Trappe, J. M. 1981. Mycorrhizae and productivity of arid and semiarid rangelands. In : Advances in food producing systems for arid and semiaridlands. New York : Academic Press.
- Trappe, J. M. 1982. Synoptic keys to the genera & species of Zygomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, 72: 1102–1108.
- Walker, Vestberg, Demircik, Stockinger, Saito, Sawaki, Nishmura, Schußler. 2007. Molecular phylogeny and new taxa in the Archeosporales(Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., *Ambisporaceae* fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycological research*, 3: 137–153.



A B S T R A C T

The Species diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi
distributed in soil of *Sasa quelpaertensis*
at different elevation in Mt. Halla

Jo, Yeong-Ran

Major in Integrated Science Education
Graduate School of Education
Korea National University of Education
Chung-Buk, KOREA

Supervised by Professor Eom, Ahn-Heum, Ph.D.

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) have symbiotic relationships with most land plants, and the interaction between them help the growth of the plants. In Mt. Halla, there are 1800 species of plants with a distinct vertical distribution of plants depending on the elevation. *Sasa quelpaertensis* Nakai native at Mt. Halla, has extensive distribution according to elevation, and is giving a significant impact on the diversity of plants. The purposes of this study was 1) to identify AMF spores from soils distributed around roots of '*Sasa quelpaertensis* Nakai' using morphological and molecular characteristics, 2) to investigate the distribution of AMF species according to the elevation of Mt.Halla, 3) to analyse relationships between species diversity of AMF and elevation of Mt. Halla.

In this study, the surrounding soil of Mt.Halla's native '*Sasa queipaertensis* Nakai', were collected, and the distribution of the spores of AMF and change of diversity of species based on elevation were investigated. As a result of study on the diversity of AMF at Mt.Halla, 6 species in 4 genus were identified; *Acaulospora mellea*, *Acaulospora longula*, *Ambispora leptoticha*, *Gigaspora margarita*, *Gomus etunicatum*, *Glomus claroideum*. The relative frequency, relative abundance, and the number of AMF spores at overall Mt.Halla were analysed. *G. etunicatum* is the highest in relative frequency and *G. margarita* is the lowest. The result for the relative abundance was the same as for the relative abundance. When looking into the aspect of distribution of AMF spores according to an altitude, *G. etunicatum* was found in the soil between 700m and 1800m thoroughly and number of the spores of the species was increased with the elevation. *G. claroideum* appeared in the altitude between 1200m and 1400m. *A. mellea* was found in overall altitude and more especially between 900m and 1200m, and *A. mellea* was found mainly under 1200m of altitude. *A. leptoticha* appears between 1200m and 1600m, and *G. margarita* appears only in 1400m. The different species of AMF showed different pattern of the distribution throughout the elevations. However, number of species and species diversity index showed no significant relationship with the altitude. This study would be a foundational data for the growth, preservation of native plants and the possibility of utilizing them in Mt. Halla.

※ A thesis submitted to the Committee of the Graduate School of Korea National University of Education in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Education(Integrated Science Education) in February, 2012.

Appendix 1. Collection site of soil samples in this study

Soil ID	Sampling site	Altitude (m)	Geographic coordinates
JJ09001	Yeongsil trail, Mt. Halla	1300	N 33° 20'52.4" E 126° 29'56.9"
JJ09002	Yeongsil trail, Mt. Halla	1300	N 33° 20'52.4" E 126° 29'56.9"
JJ09003	Yeongsil trail, Mt. Halla	1300	N 33° 20'52.4" E 126° 29'56.9"
JJ09004	Yeongsil trail, Mt. Halla	1370	N 33° 21'05.0" E 126° 30'01.5"
JJ09008	Yeongsil trail, Mt. Halla	1400	N 33° 21'10.2"E 126° 29.5'58.2"
JJ09009	Yeongsil trail, Mt. Halla	1400	N 33° 21'10.2"E 126° 29.5'57.8"
JJ09010	Yeongsil trail, Mt. Halla	1400	N 33° 21'10.4"E 126° 29' 58.0"
JJ09011	Yeongsil trail, Mt. Halla	1500	N 33° 21'16.1"E 126° 29' 57.8"
JJ09012	Yeongsil trail, Mt. Halla	1500	N 33° 21'16.1"E 126° 29' 57.4"
JJ09013	Yeongsil trail, Mt. Halla	1500	N 33° 21'16.6"E 126° 29' 57.5"
JJ09014	Yeongsil trail, Mt. Halla	1600	N 33° 21'21.2"E 126° 30' 09.4"
JJ09015	Yeongsil trail, Mt. Halla	1600	N 33° 21'21.4"E 126° 30' 09.5"
JJ09016	Yeongsil trail, Mt. Halla	1600	N 33° 21'21.3"E 126° 30' 29.5"
JJ09017	Yeongsil trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'18.1"E 126° 30' 22.6"
JJ09018	Yeongsil trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'18.3"E 126° 30' 22.5"
JJ09019	Yeongsil trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'17.7"E 126° 30' 22.6"
JJ09035	Seongpanak trail, Mt. Halla	876	N 33° 22'45.9"E 126° 36' 18.4"
JJ09036	Seongpanak trail, Mt. Halla	876	N 33° 22'45.9"E 126° 36' 18.4"
JJ09038	Seongpanak trail, Mt. Halla	942	N 33° 22'45.6"E 126° 36' 03.3"
JJ09039	Seongpanak trail, Mt. Halla	942	N 33° 22'45.6"E 126° 36' 03.3"

Appendix 1. continue

Soil ID	Sampling site	Altitude (m)	Geographic coordinates
JJ09040	Seongpanak trail, Mt. Halla	1018	N 33° 22'36.1" E 126° 35'35.6"
JJ09041	Seongpanak trail, Mt. Halla	1018	N 33° 22'36.1" E 126° 35'35.6"
JJ09042	Seongpanak trail, Mt. Halla	1018	N 33° 22'36.1" E 126° 35'35.6"
JJ09043	Seongpanak trail, Mt. Halla	1114	N 33° 22'38.9" E 126° 34'49.5"
JJ09044	Seongpanak trail, Mt. Halla	1114	N 33° 22'38.9" E 126° 34'49.5"
JJ09045	Seongpanak trail, Mt. Halla	1114	N 33° 22'38.9" E 126° 34'49.5"
JJ09046	Seongpanak trail, Mt. Halla	1211	N 33° 22'21.6" E 126° 34'18.5"
JJ09047	Seongpanak trail, Mt. Halla	1211	N 33° 22'21.6" E 126° 34'18.5"
JJ09048	Seongpanak trail, Mt. Halla	1211	N 33° 22'21.6" E 126° 34'18.5"
JJ09049	Seongpanak trail, Mt. Halla	1306	N 33° 22'08.0" E 126° 34'05.0"
JJ09050	Seongpanak trail, Mt. Halla	1306	N 33° 22'08.0" E 126° 34'05.0"
JJ09051	Seongpanak trail, Mt. Halla	1306	N 33° 22'08.0" E 126° 34'05.0"
JJ09053	Seongpanak trail, Mt. Halla	1415	N 33° 22'04.1" E 126° 33'47.5"
JJ09054	Seongpanak trail, Mt. Halla	1415	N 33° 22'04.1"E 126° 33' 47.5"
JJ09055	Seongpanak trail, Mt. Halla	1415	N 33° 22'04.1"E 126° 33' 47.5"
JJ09056	Seongpanak trail, Mt. Halla	1508	N 33° 21'57.4"E 126° 33' 22.9"
JJ09057	Seongpanak trail, Mt. Halla	1508	N 33° 21'57.4"E 126° 33' 22.9"
JJ09058	Seongpanak trail, Mt. Halla	1508	N 33° 21'57.4"E 126° 33' 22.9"
JJ09059	Seongpanak trail, Mt. Halla	1613	N 33° 21'46.2"E 126° 33' 05.9"
JJ09060	Seongpanak trail, Mt. Halla	1613	N 33° 21'46.2"E 126° 33' 05.9"

Appendix 1. continue

Soil ID	Sampling site	Altitude (m)	Geographic coordinates
JJ09061	Seongpanak trail, Mt. Halla	1613	N 33° 21'46.2" E 126° 33'05.9"
JJ09065	Seongpanak trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'40.6" E 126° 32'51.0"
JJ09066	Seongpanak trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'40.6" E 126° 32'51.0"
JJ09067	Seongpanak trail, Mt. Halla	1700	N 33° 21'40.6" E 126° 32'51.0"
JJ09068	Seongpanak trail, Mt. Halla	1807	N 33° 21'32.4" E 126° 32'30.6"
JJ09069	Seongpanak trail, Mt. Halla	1807	N 33° 21'32.4" E 126° 32'30.6"
JJ09070	Seongpanak trail, Mt. Halla	1807	N 33° 21'32.4" E 126° 32'30.6"
JJ09074	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1878	N 33° 21'38.5" E 126° 32'12.1"
JJ09075	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1818	N 33° 21'45.4" E 126° 32'09.2"
JJ09076	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1717	N 33° 21'56.8" E 126° 32'09.6"
JJ09079	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1575	N 33° 21'57.4" E 126° 32'01.3"
JJ09080	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1502	N 33° 22'27.6" E 126° 31'58.8"
JJ09081	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1454	N 33° 22'34.2" E 126° 32'03.8"
JJ09082	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1334	N 33° 22'51.0" E 126° 32'14.2"
JJ09083	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1177	N 33° 23'10.8" E 126° 32'23.5"
JJ09084	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	1068	N 33° 23'27.1" E 126° 32'23.7"
JJ09085	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	888	N 33° 23'49.9" E 126° 32'32.0"
JJ09086	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	803	N 33° 24'18.4" E 126° 32'43.3"
JJ09087	Kwaneumsa trail, Mt. Halla	731	N 33° 23'21.9" E 126° 37'06.4"
JJ09121	Seongpanak trail, Mt. Halla	876	N 33° 22'45.9" E 126° 36'18.4"
JJ09122	Seongpanak trail, Mt. Halla	942	N 33° 22'45.6" E 126° 36'03.3"

Appendix 2. Analyzed sequences from arbuscular mycorrhizal fungi in this study. 'N' represent sites coded as missing.

J-1

AACGGGTAA--GGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCA
CATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGAC
AATAAATAACAATACGGGGCTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAAT
CCCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCT
CCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTCGGGATTG
ACACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CT
GGAGAACCGCGATGCCCTTAATTGGGTGTACGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATA
GGACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAG
TTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGAC
GATGTTAAT

J-2

AACGGGTAA--GGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCA
CATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGAC
AATAAATAACAATACGGGACTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAAT
CCCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCT
CCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTCGGGATTG
ACACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CT
GGAGAACCGCGATGCCCTTAATTGGGTGTACGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATA
GGACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAG
TTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGAC
GATGTTAAT

J-3

TACGGGTAC--GGGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCAATACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATATGGGGCCCTCACGGGTTTCGTAATTGGAATGAGTACCATTTAAATC
TCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC
CAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTCGGAATCTG
TCCGTCGGTCGGGCT--TCACTGTCCGTAAGTGGCGTGG---TGGGTTCTTACCTT-CTG
AATAACCAGCATGCCATTCATTTGGTGCGTTGGGGAAGCAGGACTATTACCTTGAAAAA
ATTAGAGTGCTCAAAGCAGGC-CAGTGCCTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATAG
GACGGCATGGTTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAGT
TGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATTGAAGACTAACT
TCTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGA
TGTTAAT

J-4

AACGGGTAA--GGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCA
CATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCGGACACGGGG-AGGTAGTGAC
AATAAATAACAATACGGGGCTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAAT
CCCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCT
CCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTCGGGATTG
ACACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CT
GGAGAACCGCGATGCCCTTAATTGGGTGTCACGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGTGTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATA
GGACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAG
TTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGAC
GATGTTAAT

J-5

TACGGGTAC--GGGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCAATACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATATGGGGCCCTCACGGGTTTCGTAATTGGAATGAGTACCATTTAAATC
TCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC

CAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTCGGAATCTG
TCCATCGGTCGGGCT--TCACTGTCCGTAAGTGGTGG---TGGGTTCTTACCTT-CTG
AATAACCAGCATGCCATTCACTTGGTGC GTTGGGGAAGCAGGACTATTACCTGAAAA
ATTAGAGTGCTCAAAGCAGGC-CAGTGCCTGAATACATTAGCATGGAATAATAAATAG
GACGGCATGGTTCTATTTTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAGT
TGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAACT
TCTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGA
TGTTAAT

J-6

TACGGGTAC--GGGAATTAGGGTTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGATACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATACAGGGCTCTTATGGATCTTGTAAATGGAATGAGTACAATTTAAATC
CCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC
CAATAGTGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTTGTAGTTAAATTTTCGGGGTTC
TACCGTTGGTTCGGGCA--ATA--GTCTGTACTGGCGTGT---AGAATTTCTACCTT-C
TGGGGAACCATCATGTTATTTATTTAGCGTGGTGGGAAACCAGGACCTTTACCTTGAAA
AAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGC-TTATGTCTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAA
TAGGACGG--TGGTCTGTTTTGTTGGTTTCT-GAATCACCGTAATGATTAATAGGGAT
AGTTGGGG-CATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTA
ACTTCTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGA
TCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGA
CGATGTTAAT

J-7

TACGGGTAAC-GGGGATTAGGGTTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATACAGGGCCCTCACGGTCTTGTAAATGGAATGAGTACAATTTAAATC
TCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC
CAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTGGGTCTGG
CCGGGCGGTCCACCT---TCCGGKKNCCNNNGTCCNAN-NNCNGGSCYWWYCNT-NNG
GNKNNANNGNNTGNCCTTCGCNNGGTGTGTCNGGGAANCMNGRMCMWTACCYTKRAAA
AAWTNAANTGGTNNAANNMRGC-ATTTGNNCCAANANNTTACNNGGAANAANGNAAN
NAGANNC-NNGGNANNANTTTGNTNGNTTYWNGANCNSCNTNATGNNTNANAGGGNT

NNNTNGGGGNNNTNNTANTYNANTNNNNNANGTNNAANTYNTNGNNTTANTNRRANANN
AACNTNNNNNAAANCNTTTNNCNANGNNGKTTTTNNTTNATCAGAACGAAAGTTAGGG
GATCGAAGACGATCAGACGTCGTATCTAACNTAACCATAGACTAGNNNGGCNANTTTATT
CNANNACTCGCCN

J-8

AACGGGTAA--GGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCA
CATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGAC
AATAAATAACAATACGGGGCTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAAT
CCCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCT
CCAATAGCGTATATTTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCCGGATTG
ACACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CT
GGAGAACCGGATGCCCTTAATTGGGTGTACGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATA
GGACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAG
TTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGAC
GATGTTAAT

J-9

TACGGGTAC--GGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCAACACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATATGGGGCCCTTACGGGTTTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATC
TCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTC
CAATAGCGTATATTTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCCGGATTG
TCAGTTGGTTCGGGCT--TAACTGTCCGTATTGACTTGA---TGGATTCTTACCTT-CT
GAGTAACCAGCATGCTATTAATTTAGTGCGTTGGGGAAGCAGA-TCATTACCTTGAAAA
AATTAGAGTGCTTAAAGCGAGC-TAGTGCTTGAATAGATTAGCATGGAATAATAAAAT
AGGACGGCATGGTTCTATTTTGTGGTCTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATA
GTTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTATTGAAGACTAA
CTTCTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGAT
CGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCGGAC
GATGTTAAT

J-10

AACGGGTAA--GGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCA
CATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGAC
AATAAATAACAATACGGGGCTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAAT
CCCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCT
CCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCCGGATTG
ACACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CT
GGAGAACCGCGATGCCCTTAATTGGGTGTCACGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATA
GGACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAG
TTGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATC
GAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGAC
GATGTTAAT

J-11

TACGGGTAC--GGGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCAC
ATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATACCCAATCCCGACACGGGG-AGGTAGTGACA
ATAAATAACAATACGGGGCTCTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATC
CCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTC
CAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCCGGATTGA
CACATCGGTTCGTGCCTTAAGGGGTATGAACTGGTGTAG--TCAATTTCTCACCTT-CTG
GAGAACCGCGATGCCCTTAATTGGGTGTCGCGGGGAACCAGGACCTTTACTTTGAAAAA
TTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTTTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAAAATAG
GACGGCATGATTCTATTTTGTGGTTTCTAGGATCACCGTAATGATTAATAGGGATAGT
TGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTATTGAAGACTAACT
ACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCG
AAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCAGACG
ATGTTAAT