

옥수수의 생장에 미치는 *Azospirillum amazonense* Y1의 영향

李基培·朴泰圭·宋承達
(慶北大學校 自然科學大學 生物學科)

Effects of *Azospirillum amazonense* Y1 on the Growth of Corn

Lee, Ki Bae, Tae Gyu Park and Seung Dal Song
(Department of Biology, Kyungpook National University, Taegu)

ABSTRACT

In order to clarify the effect of the associative nitrogen fixing bacteria on the growth of corn (*Zea mays* L. Suwon19), we inoculated corn seedlings with *Azospirillum amazonense* Y1, a micro-aerobic and acid-tolerant nitrogen fixer, and analyzed the growth and dry matter production and changes of nitrogen and phosphorus quantity of the plant during the growing period. The inoculation of associative N-fixing bacteria increased the growth of height, leaf area, dry weight and total nitrogen quantity of the plant by 15.4%, 65.4%, 33.7% and 38.0%, respectively, on the day of 56th after sowing. Especially the inoculation of *A. amazonense* Y1 showed two to three-fold accumulation of phosphorus in each organ of plant. The associative bacteria accelerated the growth of the under ground parts more than those of the upper ground parts of corn plant, and caused decreases in T/R ratios.

서 론

최근 식량의 생산성 향상을 위해 급증하는 인공적 질소 비료의 생산과 더불어 야기되는 생태계의 에너지 고갈 및 환경오염의 문제로 인해 각종 농작물 재배에 있어서 생물학적 질소고정의 연구이용의 필요성이 점증되고 있으며, 지난 수년에 걸쳐 많은 연구자들에 의해 주목을 받고 있다.

Döbereiner와 Day(1976)는 초지 근권에서 대기질소를 고정하는 박테리아 중 미호기적(microaerobic)인 *Azospirillum*속과 고등식물간의 공생을 확인하였고, Yoshida와 Ancajas(1971) 및 Dommergues등(1973)은 이들이 식물체의 뿌리로부터 에너지를 공급받고, 대기질소를 고정함으로써 식물체-박테리아 간의 긴밀한 상호 의존성을 가진다고 보고했으며, Hardy등(1973)은 이들을 협생적(associative)공생이라 하였다. 그 후 열대와 아열대기후의 벼과식물인 갯, 귀리, 기장, 밀, 바랭이, 벼, 보리, 수크령, 수수, 옥수수 및 조롱과 같은 고등식물에 *Azospirillum*균

본 연구는 문교부 자유과제 연구비에 의해 진행되었다.

주를 접종하여 생장 및 질소 함량을 증가시켰다는 보고가 있다. 이와 같은 비호기적 및 내산성 (acid-tolerant) 조건에서 협생적으로 공생하는 *Azospirillum* 속에 의한 생산성 증가는 대부분 열대 및 아열대의 초본과 곡류에서 유용한 효과를 나타내었으나, Burris 등(1978)과 Albrecht 등(1980)은 온대성 지역에서 *Azospirillum* 속과 초본류와의 협생으로 유의성 있는 생산성 증가를 보이지 않았다고 보고하였다. 그러나 Mertens 등(1984)은 온대성 식물에서 *Azospirillum* 균주의 접종에 의해 높은 생산성 증가를 보고하였으며, 최근의 보고에서는 *Azospirillum*의 접종에 의한 생육반응은 질소고정에 의한 단독 원인이 아니라 *Azospirillum*의 접종이 식물체로 하여금 생장 촉진물질을 생성하게 하고(Okon and Kapulnik, 1986; Boddey and Döbereiner, 1988), 또한 뿌리로 하여금 무기염류의 흡수를 촉진시켜 숙주식물의 생장에 영향을 미친다고 하였다(Kapulnik et al, 1985; Murty and Ladha, 1988).

본 연구는 온대성 기후구에 속하는 한반도의 경작지 및 초지 생태계의 식물근권에서 협생적으로 질소고정하는 미생물이 1차 생산성 및 식물생장특성에 미치는 영향을 규명하기 위해 각종 벼과식물의 근권에 서식하는 *Azospirillum amazonense* Y1을 옥수수(*Zea mays* L. cv. Suwon 19) 유식물에 접종하여 생육 기간 중 생장해석과 생산성변화 및 질소와 인 함량의 변화를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

종자 발아 경북 농촌진흥원에서 제공받은 옥수수(*Zea mays* L. cv. Suwon19)를 재료로 하여 일정한 크기의 종자(평균 318mg)를 골라 0.1% HgCl₂로 표면살균한 다음, 30°C 항온기에서 발아시켰다.

접종 및 유식물 배양 발아상태가 균등한 종자를 선별하여 직경 20cm의 plastic pot에 10개체씩 파종하고, 각 pot는 다음과 같이 3종류의 처리구로 나누어 사경채배하였다. 멸균구는 대조구로서 80°C 건조기에서 10일간 멸균한 모래에 재배하였고, 접종구는 Burris교수(Wisconsin대학)로부터 분양받은 *A. amazonense* Y1의 균배양액(Burris et al., 1978) 20ml(A₅₄₀=1.20)를 파종시와 파종 1주일 후에 각각 접종시켰다. 대조구와 균접종구에는 질소원을 첨가하지 않은 Boysen-Jensen의 수정배양액(Song and Monsi, 1974)을, 그리고 암모늄처리구에는 NH₄Cl 3mM을 첨가한 Boysen-Jensen배양액을 매일 일정량(20-80ml/pot)을 2회 공급하고 생육 기간 중 자연광 조건에서 배양하였다.

생장 측정 Sampling은 파종 후 매 2주 간격으로 실시하여 초장, 엽면적 및 각 기관별 생량과 건량을 측정하였고, 엽록소 함량 및 질소와 인의 함량을 분석하여 T/R비, F/C비, 상대 생장율(RGR), 순동화율(NAR) 및 각 기관의 물질분배율의 변화를 비교하였다(Blackman, 1919). 엽면적은 planimeter법으로 측정하였으며, 엽록소 함량은 DMSO법(Hiscox and Israelstam, 1979)으로 추출하여 Arnon(1949)의 방법으로 측정하였다. 건량은 80°C 건조기에서 72시간 건조시켜 측정하였고, 총질소함량은 micro-kjeldahl법으로 하였으며(Song and Monsi, 1974), 인의 함량은 vanadomolybdophosphoric acid법으로 측정하여 (Franson, 1976) 각각 3반복으로 정량분석하였다.

결과 및 고찰

생장 분석 각 처리구에 있어서 옥수수의 영양생장 전기의 8주간의 생장과정중 생체량의 변화는 생장 초기에는 큰 차이가 없었으나, 파종 후 28일째부터 급격한 차이를 보여 56일째에 대조구와 *A. amazonense* Y1접종구 및 암모늄시비구에서 각각 평균 5.76, 7.93 및 11.47gFW · plant⁻¹의 변화율 나타냈으며(Fig. 1), 대조구 및 균접종구에서는 파종 후 42일째부터 하부잎의 고사현상이 있었다. 신장생장은 Fig. 2와 같은 변화를 보였고, 56일째에 대조구와 균접종구 및 암모늄시비구에서 각각 평균 63.6, 73.4 및 75.4cm로 되었고, 균접종구는 암모늄시비구보다는 낮았으나 대조구에 비해 15.4%의 증가를 나타내었다. *A. amazonense* Y1의 접종에 따른 옥수수의 각 기관별 건물현존량의 변화는 Table 1에서와 같이 56일째에 잎, 줄기 및 뿌리에서 각각 대조구보다 51.4, 18.2 및 30.1%의 증가를 보였다.

엽면적 및 Chlorophyll함량 변화 옥수수의 생육 기간 중 *A. amazonense* Y1 접종에 따른 엽면적의 변화는 Fig. 3에서와 같이 28일째에 비해 56일째에 23%의 증가를 보였고, 암모늄시비구는 80%의 증가를 나타내었으나 대조구에서는 변화가 없었다. 옥수수잎의 총 chlorophyll함량의 변화는 Fig. 4와 같이 생육 초기(14일째)의 24.7-27.8 μg Chl cm⁻²에서 생육 후기에 균접종구 및 대조구에서 약 50%의 감소를 나타내었으나 암모늄시비구에서는 약 15%의 감소를 보였다.

질소 함량 변화 Table 2는 각 처리구에 있어서 옥수수의 각 기관별 질소 함량의 변화를 나타낸 것으로 평균 질소 함량은 생육 초기에 잎, 줄기 및 뿌리에서 각각 4, 3 및 1%였으나, 균접

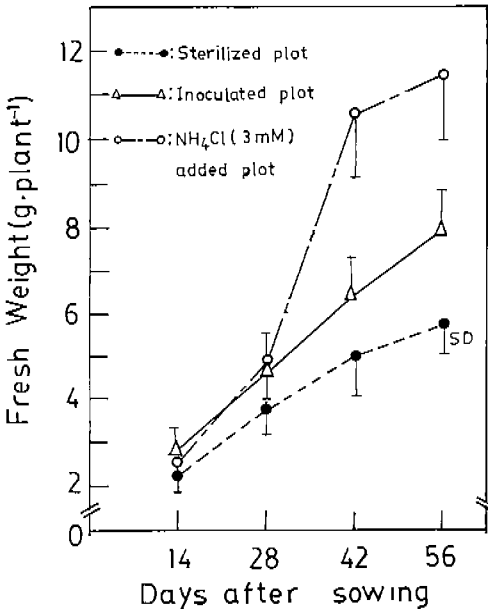


Fig. 1. Changes of fresh weight of each organ of corn plant during growing period

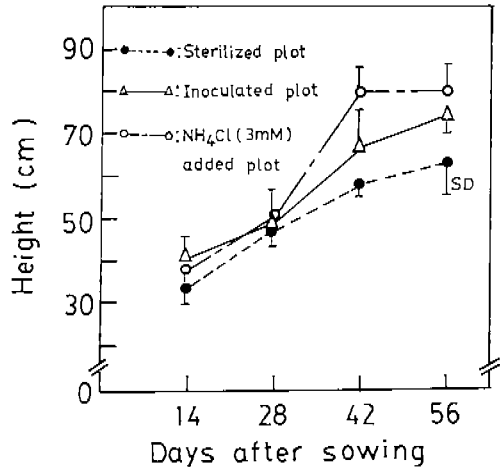


Fig. 2. Changes of height of corn plant during growing period

Table 1. Changes of dry weight of each organ of corn plant treated with *A. amazonense* Y₁(mg DW · plant⁻¹)

Treatment	Organ	Days			
		14	28	42	56
Sterilized plot	Leaf	65.1±10.4	135.8±21.8	177.6±35.5	181.1±32.6
	Stem	36.7± 8.4	69.3±11.8	196.4±37.3	314.1±28.3
	Root	187.3±33.7	312.9±50.3	383.9±76.0	494.2±54.4
	Litter	-	-	79.4±19.1	120.9±25.3
Inoculated plot	Leaf	82.5±19.8	166.4±30.0	221.8±33.3	274.2±16.4
	Stem	35.7± 3.2	98.5±15.8	217.6±19.6	371.4±59.4
	Root	181.3±38.1	433.5±86.7	525.9±99.2	643.3±96.5
	Litter	-	-	82.4±15.7	196.0±45.2
NH ₄ ⁺ added plot	Leaf	81.8±11.5	189.0±32.1	453.5±67.9	431.4±47.4
	Stem	32.1± 2.6	99.6±10.0	381.1±60.7	490.9±68.2
	Root	171.0±23.9	308.5±40.1	483.4±43.5	628.2±106.8
	Litter	-	-	91.2±19.1	162.1±25.9

± : standard deviation

Table 2. Changes of nitrogen content by percentage of dry weight of each organ of corn plant during growing period

Treatment	Organ	Days			
		14	28	42	56
Sterilized plot	Leaf	3.57±0.19	1.85±0.07	1.10±0.04	0.99±0.01
	Stem	3.18±0.22	0.95±0.47	0.55±0.03	0.36±0.02
	Root	1.04±0.04	0.54±0.02	0.66±0.01	0.47±0.01
	Litter	-	-	0.78±0.02	0.56±0.02
Inoculated plot	Leaf	4.21±1.39	1.66±0.03	1.78±0.21	1.09±0.23
	Stem	2.25±0.10	0.88±0.04	0.60±0.02	0.40±0.19
	Root	1.00±0.03	0.65±0.21	0.63±0.12	0.41±0.19
	Litter	-	-	0.92±0.39	0.55±0.22
NH ₄ ⁺ added plot	Leaf	4.49±0.19	2.13±0.05	1.83±0.06	1.88±0.04
	Stem	3.09±0.09	1.23±0.05	0.80±0.33	0.70±0.19
	Root	1.02±0.04	1.07±0.04	0.92±0.03	0.88±0.02
	Litter	-	-	0.93±0.04	0.87±0.04

± : standard deviation

종구와 대조구의 잎과 줄기에서는 점차 감소하여 56일째에 평균 1%와 0.4%로 되었으며 뿌리에서는 평균 0.45%로 되었다. 또한 암모늄시비구는 생육 후기에 잎, 줄기 및 뿌리에서 각각 2.0, 0.7 및 0.9%의 높은 함량을 나타내었다. 식물체의 총질소 함량은 Fig.5와 같이 대조구에서는 거의 변화가 없었으나, 균접종구와 암모늄시비구에서는 56일째에 각각 8.20과 18.46mg N. plant⁻¹로서 생육 초기에 비해 34.9%와 188.4%의 증가를 나타내었다(F=5.84, df=2 and 11, p<0.05).

인 함량 변화 옥수수의 각 기관별 처리구별 생육단계에 따른 인의 함량변화는 Table 3에서

Table 3. Changes of phosphorus content by percentage of dry weight of each organ of corn plant during growing period

Treatment	Organ	Days			
		14	28	42	56
Sterilized plot	Leaf	0.50±0.06	0.43±0.06	0.21±0.03	0.11±0.01
	Stem	0.34±0.04	0.55±0.09	0.28±0.01	0.16±0.02
	Root	0.16±0.01	0.10±0.01	0.15±0.02	0.13±0.02
	Litter	-	-	0.33±0.06	0.21±0.01
Inoculated plot	Leaf	0.78±0.08	0.76±0.10	0.32±0.06	0.19±0.02
	Stem	0.92±0.07	0.93±0.13	0.44±0.05	0.28±0.03
	Root	0.29±0.02	0.22±0.02	0.37±0.03	0.25±0.03
	Litter	-	-	0.97±0.12	0.59±0.09
NH ₄ ⁺ added plot	Leaf	0.42±0.04	0.25±0.04	0.21±0.03	0.16±0.03
	Stem	0.37±0.03	0.21±0.03	0.16±0.03	0.13±0.02
	Root	0.17±0.02	0.11±0.01	0.11±0.01	0.09±0.01
	Litter	-	-	0.27±0.04	0.17±0.02

± : standard deviation

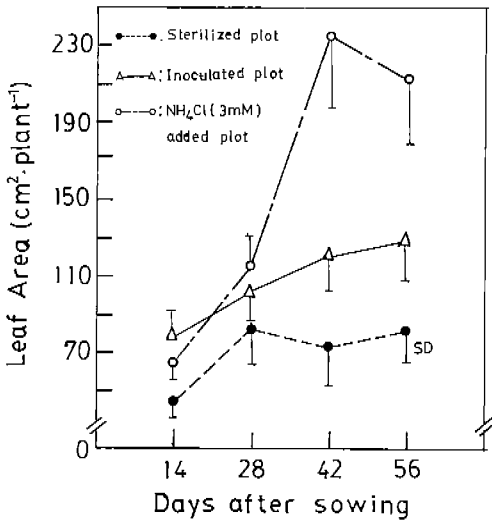


Fig. 3. Changes of leaf area of corn plant during growing period

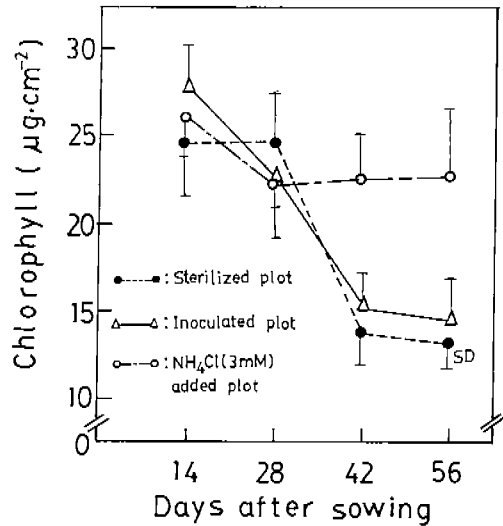


Fig. 4. Changes of chlorophyll of corn plant during growing period

와 같이 생장과 더불어 감소하였고, 대조구와 암모늄시비구에서는 유사한 함량을 나타내었으나, 균접종구에서는 대조구에 비해 잎, 줄기, 뿌리 및 낙엽에서 각각 73, 75, 92 및 181%의 높은 증가를 나타내었다. Fig. 6에서와 같이 총 인의 함량에 있어서도 균접종구에서 현저한 증가를 보여 파종 후 56일째에 4.33 P·plant⁻¹로서 대조구와 암모늄시비구에 비해 각각 172.3%와 102.3%의 높은 유의성의 증가를 나타내었다(F=22.20, df=2 and 11, P<0.01). 또한 질소함량이 높은 암모늄시비구에서는 잎에서 인의 축적 현상을 나타내었으나, 균접종구에서는 뿌리와

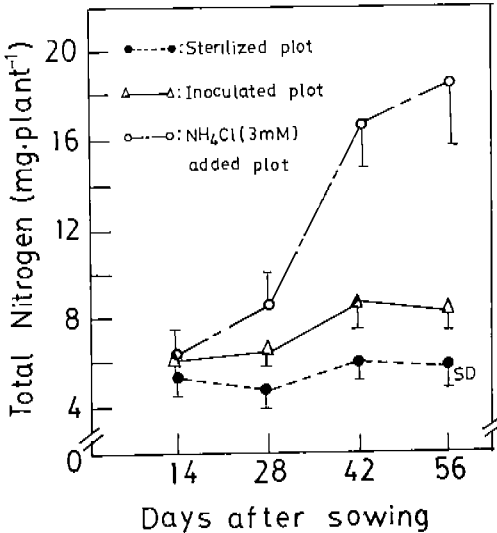


Fig. 5. Changes of total nitrogen quantities of corn plant during growing period

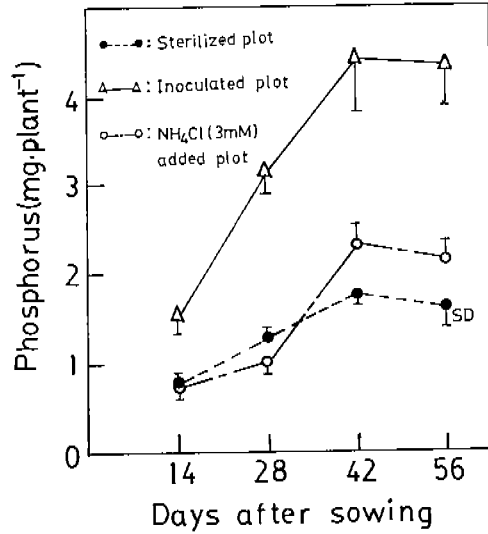


Fig. 6. Changes of total phosphorus quantities of each organ of corn plant during growing period (mg p · plant⁻¹)

줄기에서 현저한 인의 축적 현상을 나타내었다(Table 3).

T/R, RGR 및 NAR 변화 *A. amazonense* Y1의 접종 및 질소시비구에 따른 옥수수 성장과정에 있어서 T/R비는 42일째에 대조구, 균접종구 및 암모늄시비구에서 각각 1.2, 1.0 및 1.9로서 균접종구에서 가장 낮은 값을 나타내었다. 이것은 *A. amazonense* Y1의 접종에 의해 증가된 지하부의 왕성한 생육 때문으로 보여지며 이와 같은 지하부의 왕성한 생육은 무기 염류의 흡수에 크게 기여했다고 생각된다. 질소함량이나 인함량에 있어서는 균접종구 및 암모늄시비구에서 보다 큰 T/R값을 보였으나 생육과정에 따른 변화는 현저하지 않았다. 식물체의 상대생장율(RGR)은 건물량 및 인함량에 있어서는 초기성장 시기에 균접종구에서 높은 증가를 나타내었으나, 총질소 함량에 있어서는 거의 변화를 나타내지 않았다. 생육기간 중의 순동화율(NAR)은 대조구, 균접종구 및 암모늄시비구에서 각각 0.32, 0.47 및 0.56mg DW · cm⁻² · day⁻¹로서 균접종구에서 대조구에 비해 47%의 증가를 나타내었다. 높은 인의 흡수 증가에 대해서 T/R비의 낮은 비율은 인의 축적이 주로 지하부 및 비광합성 기관에서 현저함을 나타내었다. Tien 등 (1979)은 균접종에 의해 식물체는 뿌리생육에 영향을 주는 auxin, gibberellin 및 cytokinin 성 물질을 생성한다고 하였으며, Murty와 Ladha(1988)는 식물체 내의 성장촉진물질의 내부적 균형이 변화하여 T/R비의 감소를 조절한다고 하였다. 그러나 이와 같은 지하부의 높은 생육만으로 현저한 인의 증가를 설명할 수는 없으므로 인의 흡수에 영향을 미치는 어떠한 다른 내부 기작이 존재할 것으로 보며 *Azospirillum* strain의 접종에 의해 야기되는 식물성장 및 물질대사 기작에 대해 앞으로의 연구가 기대되고 있다.

적 요

질소 고정균이 옥수수(*Zea mays* L. cv. Suwon 19)의 생장에 미치는 영향을 규명하기 위하여 벼과 식물의 근권에 내산성 및 미호기적으로 널리 협생하는 *A. amazonense* Y1을 옥수수 유식물의 근권에 접종하여 생육기간 중의 성장해석과 질소 및 인의 변화를 비교분석하였다.

A. amazonense Y1의 접종에 의해 56일째에 신장생장, 염면적, 건물 현존량 및 총질소량은 대조구에 비해 각각 15.4, 65.4, 33.7 및 38.0%의 증가를 나타내어 질소 고정균의 접종에 의한 효과를 나타내었으나, 암모늄시비구에서의 18.6, 171.8, 54.2 및 210.8%증가에 비해 현저하게 낮았다. 특히 인의 함량에 있어서는 암모늄시비가 34.6%의 증가를 나타낸 데 비해 균접종구는 172.3%의 현저한 증가를 나타내어 *A. amazonense* Y1의 접종이 옥수수의 생육에 있어서 질소 고정뿐만 아니라 인의 흡수에 특이적임을 나타내었다. 한편, *A. amazonense* Y1의 접종이 지상부의 생육보다는 지하부의 생육을 촉진하여 낮은 T/R비를 나타내었다.

참 고 문 헌

- Albrecht, S.L., Y. Okon, J. Lonquist and R.H. Burris. 1980. Nitrogen fixation by corn-*Azospirillum* associations in a temperate climate. *Crop Sci.* **21** : 301-306.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **24** : 1-15.
- Blackman, V.H. 1919. The compound interest law and plant growth. *Ann. Bot.* **33** : 353-360.
- Boddey, R.M., and J. Döbereiner. 1988. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent results and perspectives for future research. *Plant and Soil* **108** : 53-65.
- Burris, R.H., S.L. Albrecht and Y. Okon. 1978. Physiology and biochemistry of *Spirillum lipoferum* In: Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics. Basic life sciences. Ed. by J. Döbereiner, R.H. Burris and A. Hollaender. Plenum Press. New York and London. **10** : 303-315.
- Döbereiner, J. and J.M. Day. 1976. Dinitrogen fixation in the rhizosphere of tropical grasses. In: Nitrogen Fixation by free living microorganisms. Ed. by W.D.P. Stewart. Cambridge Univ. Press. **1** : 39-56.
- Dommergues, Y., J. Balandrean, G. Rinaudo and P. Weinhard. 1973. Non-Symbiotic nitrogen fixation in the rhizosphere of rice, maize and different tropical grasses. *Soil Biol. Biochem.* **5** : 83-89.
- Franson, M.A. 1976. Standard methods for the examination of water and wastewater. 14th ed. APHA. Washington, D.C. pp.476-478.
- Hardy, R.W.F., R.C. Burns and R.D. Holsten. 1973. Applications off the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.* **5** : 47-81.
- Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extra Crion of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot* **57** : 1332-1334.
- Kapulnik, Y., M. Feldman, Y. Okon and Y. Henis. 1985. Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the N nutrition of spring wheat in Isracl. *Siol Biol. Biochem.* **17** : 509-515.
- Mertens, I. and D Hess. 1984 Yield increases in spring wheat(*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of temperate region. *Plant and Soil* **82** : 87-99.
- Murty, M.G. and J.K. Ladha. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and

- growth of rice under hydroponic conditions. *Plant and Soil* **108** : 281–285.
- Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and Soil* **90** : 3–16.
- Song, S.D. and M. Monsi. 1974. Studies on the nitrogen and dry matter economy of a *Lespedeza bicolor* var. *japonica* community, *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo. Sec.3.* **11** : 283–332.
- Tien, T.M., M.H. Gaskins and D.H. Hubbell. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet(*Pennisetum americanm* L.). *Appl. Envir. Microbiol.* **37** : 1016–1024.
- Yoshida, Y. and R.R. Ancajas. 1971. Nitrogen fixation by bacteria in the root zone of rice. *Proc. Soil Am.* **35** : 156–157.

(1989, 5, 22 接受)