

시설재배 토마토 토양에서 Arbuscular 균근균의 분포*

조 자 용** · 김 진 섭*** · 양 승 렬****

Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Soil grown Tomato Plants under Greenhouse

Cho, Ja-Yong · Kim, Jin-Seop · Yang, Seung-Yul

This study was conducted to examine the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the soil grown tomato plants in Damyang districts. We collected twenty one soil samples from the rhizosphere of tomato plants which were grown under structure. Number of spores/g in the soil sized over 500 μ m, 355~500 μ m, 251~354 μ m, 107~250 μ m and 45~106 μ m were 0.01, 0.02, 0.09, 0.9, and 2.0. Total number of spores/g in the fresh soil were 3.02. Mycorrhizal root infection by vesicles, hyphae and arbuscules were 18.0%, 6.0% and 2.0%. To identify the genus of arbuscular mycorrhizal fungi, isolated mycorrhizal spores from the soil grown tomato plants were inoculated into the host plant of sudangrass and mass propagated for 4 months. As a result of identification, mycorrhizal spores were identified as *Glomus* sp., *Gigaspora* sp. and *Acaulospora* sp.

Key words : tomato, arbuscular mycorrhizal fungi, spore, hyphae, vesicle, arbuscule

I. 서 언

내생 균근균(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)은 도관식물 뿌리의 세포조직에 감염하는

* 이 연구는 2005년도 중기청 산학연 컨소시엄 사업(과제번호 : S0507110-D0550150-05002011)에 의해 수행되었음.

** 대표저자, 남도대학 약용자원원에개발과

*** (주)팜스코리아

**** 순천대학교 식물생산과학부

균사(hyphae)를 갖는 Endogonaceae과의 접합균류(Kormanik 등, 1977)에 속하며, 지구상에 존재하는 전체 식물 중에서 90% 이상의 식물 뿌리에서 광범위하게 공생하는 균류인 것으로 보고되고 있다(Kormanik 등, 1977; Smith와 Read, 1997).

기주식물과 균근균과의 공생관계를 보면, 균근균은 식물로부터 광합성 산물인 탄수화물 등을 영양원으로 얻는 대가로 식물생장에 필수요소인 인 등의 무기물질을 토양으로부터 식물에 직접적으로 전이하여 식물생장을 촉진시킨다(Azcón-Aguilar and Barea, 1997; Conway and Bagyaraj, 1984; Kormanik 등, 1977; Paul과 Ducey, 1981; Rousseau 등, 1994). 뿐만 아니라, 공생하고 있는 식물을 병해충으로부터도 보호해주는 역할을 한다(Dixon과 Marx, 1987).

이러한 균근균을 외국에서는 식물의 유묘에 인위적으로 접종하여 생장을 촉진시키고, 병충해에 대한 내성이 강한 유묘를 생산하여 사막화되고 황폐화된 지역을 효과적으로 녹화하는 것은 물론 농작물에도 접종하여 작물의 수량과 품질을 높이고 있다(Azcón-Aguilar과 Barea, 1997; Whetten과 Anderson, 1992).

그러나, 우리나라에서 균근균에 대한 연구는 아직도 부족한 실정이고, 균근균을 이용한 상품화가 절실한 실정이다. 향후, 외국에서 개발된 AMF 접종원 제품의 국내유입이 대단위로 이루어질 것으로 생각되며, 현재 시설원에 농가에 검증을 거치지 않고 판매되고 있는 일반 미생물 제제와 같은 현상이 조만간 나타날 것으로 보인다.

이런 측면에서 본 연구는 전남 담양지역을 중심으로 토마토 시설재배 농가에서 arbuscular 균근균의 분포 양상을 조사하고, 향후 이에 기초한 균근균 제제 상품개발을 위한 기초 자료로 활용하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 토양시료 채취

토마토를 시설 재배하는 농가에서 arbuscular 균근균의 분포 양상을 분석하기 위하여 8권 토양을 채취하였다. 토양 채취는 전남 담양군을 중심으로 토마토 시설재배농가에서 3반복으로 총 21개 농가의 토양을 채취하였다

즉 토마토 뿌리와 토양 약 6~7kg 정도를 채취하여 polyethylene bag에 넣어 4℃의 저온저장고에 보관하면서 arbuscular 균근균의 분석 실험에 사용하였다. 또한, 토마토 뿌리 내부에 발생하는 내생 균근균의 감염 여부를 확인하기 위하여 기주식물인 토마토의 뿌리를 채취한 후 수세하여 FAA 용액(10ml formaline + 5ml acetic acid + 200ml ethanol)에 고정한 후 보관하여 균근균의 감염 관찰에 사용하였다.

2. 균근균 포자 분리

전남 담양지역에서 채배하는 토마토에서 균근균의 포자를 분리하기 위하여 사용한 방법은 Fig. 1과 같다.

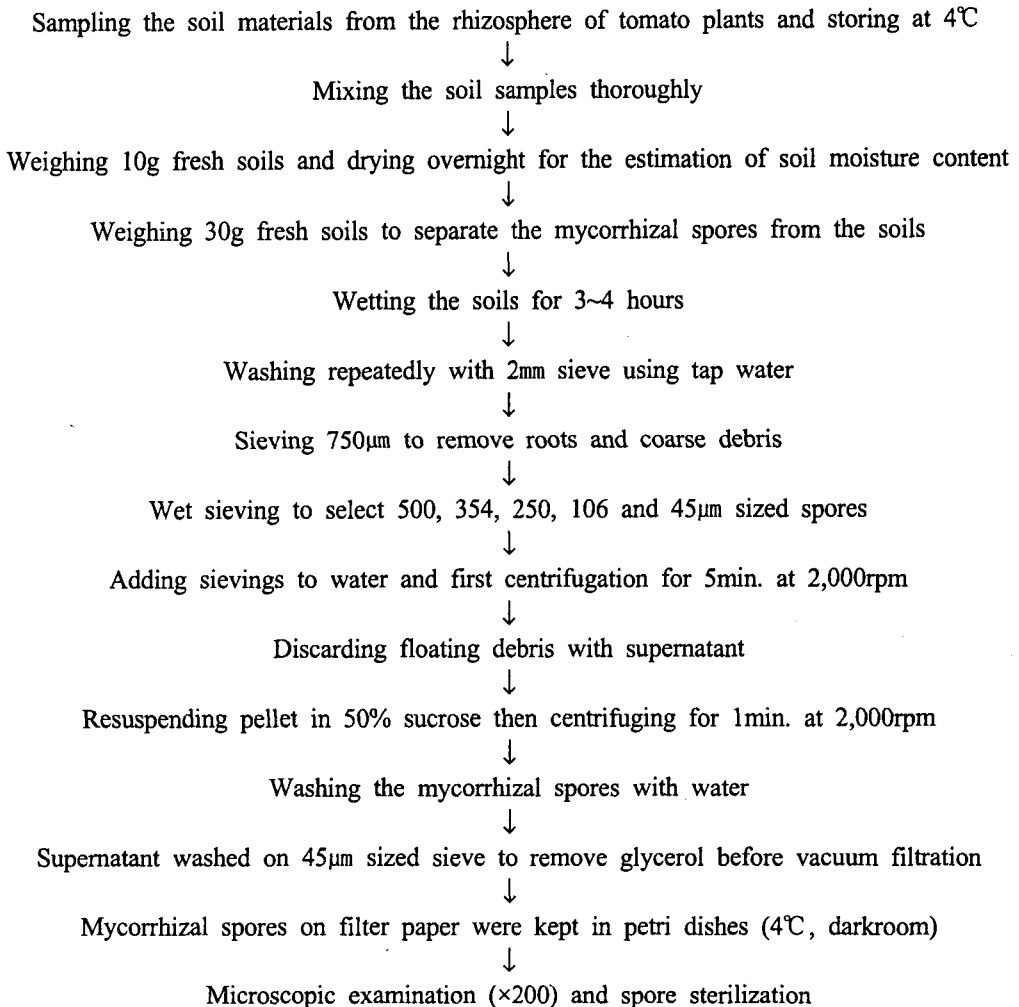


Fig. 1. Isolation of mycorrhizal spores using wet-sieving methods(Daniels와 Skipper, 1982).

전남 담양지역의 토마토 시설재배 농가에서 채취한 토양은 polyethylene bag에 넣어 4°C에 보관하면서 포자분리 실험에 사용하였다. 토양은 균일하게 혼합한 후 토양시료 30g을 수돗물에 현탁한 후 500, 354, 250, 106 및 45µm 등의 mesh 별로 사별하였다. 사별된 잔사는 다시 50% glycerol 용액에 현탁한 후 원심분리(2,000rpm, 5min.)하여 토양과 포자를 분리하

여 4℃에 보관하면서 실체현미경(Zeiss, Stemi 2000-C) 하에서 포자 계수와 포자의 속 분리에 사용하였다. 분리된 균근균 포자는 병원균의 2차 감염을 방지하기 위하여 일련의 멸균 조작을 거쳐서 4℃의 냉장고에 보관하였으며, 균근균 포자의 멸균방법은 2% Chloramin T 용액으로 10분간 표면살균하고, 100ppm Gentamycin과 200ppm Streptomycin 액으로 15분간 살균한 후 멸균수로 세척하여 보관하였다.

3. 토마토 뿌리의 균근균 감염 특성

전남 담양지역의 시설재배 토마토 뿌리에 발생하는 내생 균근균의 감염 조사는 Phillips와 Hayman(1970)의 방법으로 수행하였다. 즉, FAA 용액에 저장하여 보관한 딸기 뿌리를 약 10cm 길이로 자른 후 10% KOH 액으로 90℃의 온도에서 뿌리의 상태에 따라 20~30분 정도 처리하여 수돗물로 3~4회 정도 헹구어 낸 후 alkaline hydrogen peroxide 액으로 표백시키고, 다시 2% HCl로 산성화한 후 0.1% Chlorazol black E 염색액(Brundrett 등, 1984)으로 염색하여 광학현미경(Olympus, PM-20) 하에서 균근균의 감염양상을 조사하였다.

4. 내생 균근균의 균주 동정

- A. Only arbuscular formed in mycorrhizal roots; "Azygospores" produced on the apex of a sporogenous cell of a fertile hyphae; auxiliary cells formed ----- **GIGASPORINEAE**
With a single family ----- **Gigasporaceae(B)**
- B. Germ tubes produced directly through spore wall; inner flexible wall
group absent; auxiliary cells finely papillate or echinulate ----- **Gigaspora**
- BB. Germ tubes from germination shield; inner flexible wall group always present; auxiliary cells
knobby, broadly papillate, or smooth ----- **Scutellospora**
- AA. Arbuscules and vesicles formed in mycorrhizal roots; "Chlamydo spores" produced terminally
or laterally on or within fertile hyphae; auxiliary cells not produced ----- **GLOMINEAE(C)**
- C. "Chlamydo spores" formed apically from fertile hyphae ----- **Glomaceae(D)**
- D. Fruiting body of a sporocarp composed of spores with lateral walls adherent to one another;
connecting hyphae embedded in a central hyphal plexus; chlamydo spores in a single layer
except at the base; base composed of sterile hyphae ----- **Sclerocystis**
- DD. Fruiting structure a sporocarp not formed as in "D" above; spores also produced singly or in
loose to tight aggregates in soil, less commonly in roots ----- **Glomus**
- CC. "lamydo spores" formed from or within the "neck" of a sporiferous saccule
----- **Acaulosporaceae(E)**
- E. Spores arise laterally from the neck of a sporiferous saccule ----- **Acaulospora**
- EE. Spores formed in the neck of the sporiferous saccule ----- **Entrophospora**

Fig. 2. Classification of GLOMALES species(Morton과 Beny, 1990)

전남 담양지역의 토마토 시설재배 농가에서 채취하여 분리한 균근균 포자는 수단그라스를 기주식물로 포트 배양하여 균근균의 속과 종의 동정에 사용하였다. 또한, 분리한 포자는 수단그라스를 기주식물로 하여 4~5개월 정도 배양한 후 Morton과 Benny(1990)의 Glomales 종 분류기준, INVAM Species Guide 및 ETI-Window's Version of Arbuscular Mycorrhizal Fungi 등을 참조하여 토마토에서 발생하는 내생 균근균을 동정하였다(Fig. 2).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. Arbuscular 균근균의 포자 분리 및 동정

토마토를 재배하는 전남 담양지역의 농가에서 채취한 근권 토양을 균일하게 혼합한 후 토양 시료 30g을 수돗물에 현탁하였으며, 500, 354, 250, 106 및 45 μ m 등의 mesh 별로 사별하여 현미경하에서 균근균의 포자를 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다.

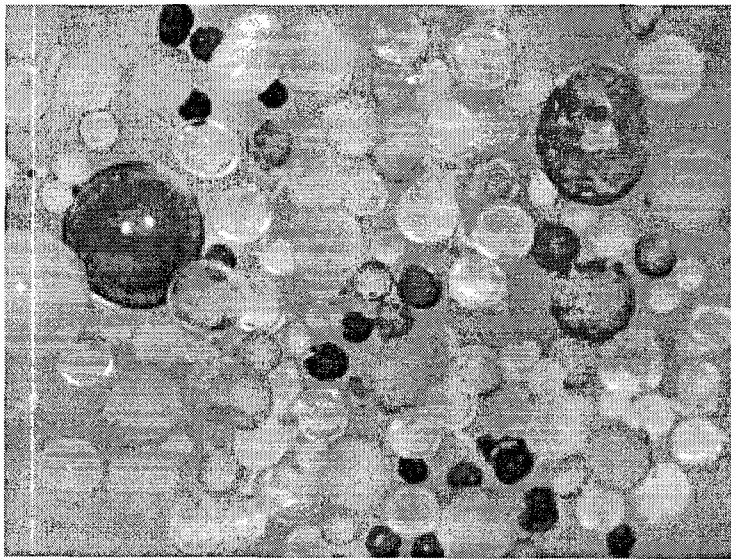


Fig. 3. Photograph of mycorrhizal spores ($\times 50$) isolated from the soil grown tomato plants.

토마토 근권 토양에서 관찰된 균근균 포자를 보면 *Glomus* sp.가 가장 많이 분포하고 있었으며, *Acaulospora* sp.와 *Gigaspora* sp.가 일부 분포하고 있는 양상을 보였다. 토마토 시설재배 토양에서 분리한 균근균 포자의 계수는 실체현미경으로 검정하였는데 그 결과는 Fig. 4와 같다.

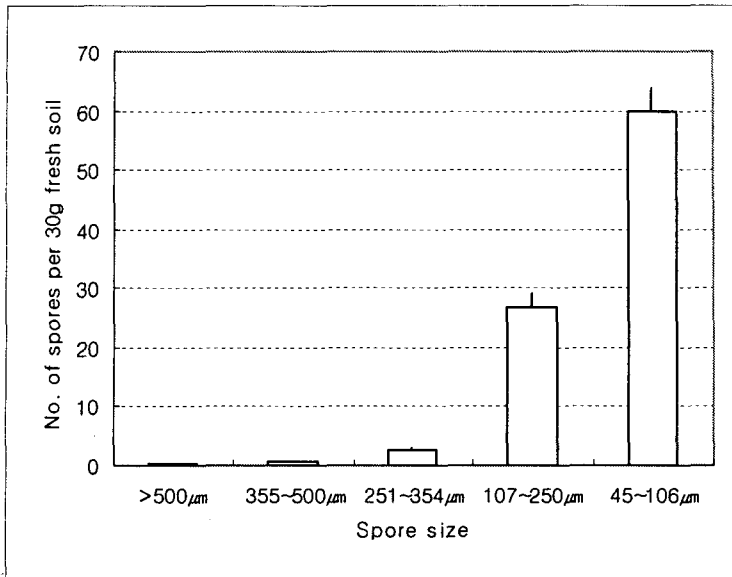


Fig. 4. Mycorrhizal spore density in the soil grown tomato plants.

전남 담양지역의 시설재배 토마토의 근권 토양에서 토양 30g 당 분리한 균근균의 포자수를 보면 크기가 500µm 이상의 포자는 0.2 ± 0.01 개 정도, 355~500µm의 포자는 0.6 ± 0.05 개 정도, 251~354µm의 포자는 2.7 ± 0.15 개 정도, 107~250µm의 포자는 26.9 ± 2.3 개 정도, 45~106µm의 포자는 59.7 ± 4.1 개 정도로 조사되었다. 100µm 이하 정도의 크기를 갖는 균근균 포자가 가장 많았고, 전반적으로 250µm 이하 정도의 크기를 갖는 균근균의 포자인 것으로 조사되었다.

2. 토마토 뿌리의 균근 감염 양상

Phillips와 Hayman(1970)의 방법에 의하여 담양지역의 시설재배 토마토의 뿌리에서 발생하는 내생 균근균의 감염을 조사하였다. 즉, 토마토 뿌리를 0.1% Chlorazol black E 염색액(Brundrett 등, 1984)으로 염색하였으며, 염색된 뿌리를 광학현미경 하에서 관찰한 사진은 Fig. 5와 같다.

전남 담양지역의 시설재배 토마토의 뿌리에서 발생된 균근감염 양상을 현미경으로 관찰한 결과 토마토 뿌리 내부에서 Fig. 5-A와 같은 뿌리 내부 균사가 발견되었다. 이러한 균사(hyphae)의 관찰은 뿌리 내부뿐만 아니라 뿌리 외부에서도 조사되었다(Fig. 5-B).

이러한 뿌리 내부와 외부의 균사는 토마토의 뿌리 생장이 미치지 못하는 근권 지역의 양분을 흡수하여 기주식물의 뿌리로 공급하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Allen, 1992). 또한, 뿌리 내부에 있는 균사는 기주식물로부터 균근균의 생장에 필요한 영양원으로 탄소를 균근균에 공급하는 것으로 보고되고 있다(Harley와 Smith, 1989).

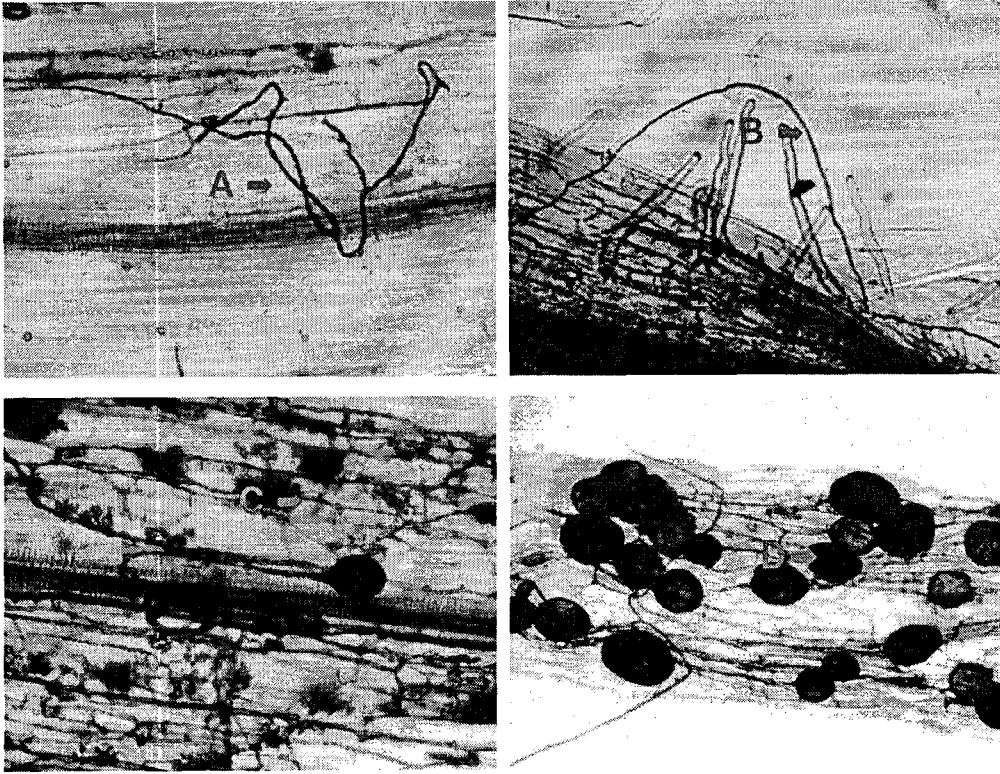


Fig. 5. Mycorrhizal root infection occurred in the roots of tomato plants
(A: internal hyphae, B: external hyphae, C: arbuscules, D: vesicle).

Fig. 5-C는 토마토 뿌리에 형성된 내부 균사와 arbuscules의 사진이다. Arbuscules은 기주 식물과 균근균의 양수분의 교환이 이루어지는 장소로 알려져 있다(Allen, 1992). Fig. 5-D는 현미경 하에서 관찰된 vesicles로서 균근감염 식물에서 일반적으로 형성되는 것으로 알려져 있으며, 일종의 저장기관으로서 작용하는 것으로 보고되고 있다(Harley와 Smith, 1989).

전남 담양지역의 시설재배 토마토의 뿌리에서 vesicle, hyphae 및 arbuscule 등에 의한 균근 감염율을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다.

전남 담양지역의 토마토 시설재배 농가에서 채취한 뿌리에서 균근감염 양상을 보면 vesicle 18%, hyphae 6% 및 arbuscule 2% 등 총 26% 정도의 균근 감염율을 보이는 것으로 조사되었다. 그러나 이러한 균근 감염 양상은 토마토의 생육단계 및 계절별로 상이한 반응을 보일 것으로 생각되며, 향후 토마토의 생육단계와 계절별 특성 및 토양의 이화학성 등과의 관계를 더 조사할 필요가 있을 것으로 생각되었다.

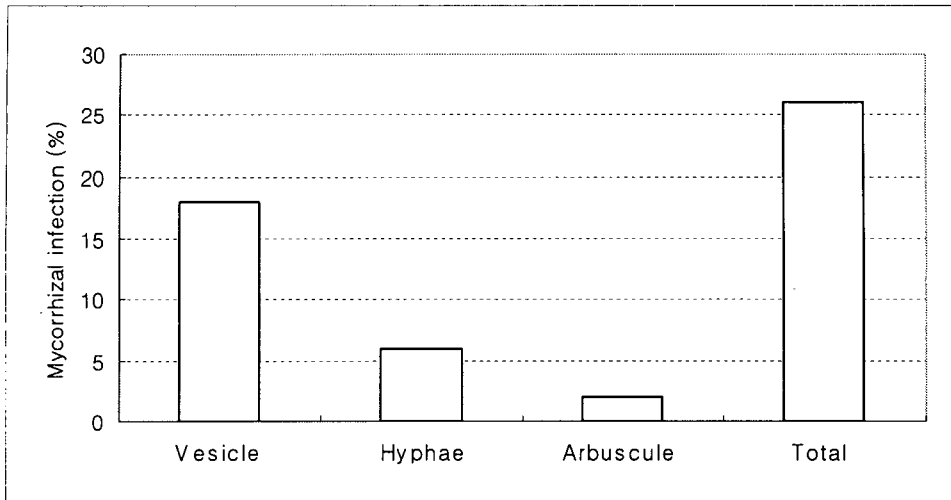


Fig. 6. Mycorrhizal root infection of tomato plants by vesicles, hyphae and arbuscules.

3. Arbuscular 균근균의 동정

토마토 시설재배 토양에서 균근균의 포자를 분리한 후 수단그라스를 기주식물로 하여 4개월 정도 증식시킨 후 균근균의 포자를 재 분리하여 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 7과 같다.

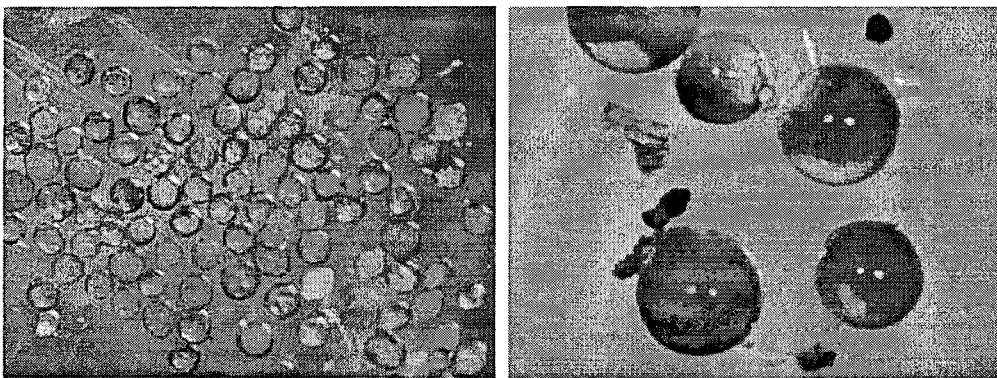


Fig. 7. Photograph of mycorrhizal spores ($\times 50$) isolated from the soil grown tomato plants, and mass-propagated using the host plant of sudangrass for 4 months(A: *Glomus* sp., B: *Acaulospora* sp., C: *Gigaspora* sp.).

수단그라스를 기주식물로 하여 토마토 근권에서 분리한 균근균의 포자를 접종 한 후 4개월 정도 배양하여 Morton과 Benny(1990)의 Glomales 중 분류기준, INVAM Species Guide 및

ETI-Windows Version of Arbuscular Mycorrhizal Fungi 등을 참조하여 균주의 동정을 실시하였다.

균근균을 상기와 같은 방법으로 동정한 결과 Fig. 7의 A는 *Glomus* sp., B는 *Acaulospora* sp., C는 *Gigaspora* sp. 등으로 동정되었다. 균근균의 종류별 특징을 조사한 결과 *Glomus* sp.는 주로 타원형을 이루었는데, 일부 구형과 반구형의 형태를 이루는 포자도 있었다. 또한, *Acaulospora* sp.는 백색에서 연노랑의 구형과 반구형의 모양을 이루었으며, 때로는 불규칙한 모양을 이루었다. *Gigaspora* sp.는 *Glomus* sp.와 *Acaulospora* sp. 보다도 더 큰 500 μ m 이상의 구형으로 관찰되었다.

IV. 적 요

전남 담양지역의 시설재배 토마토에서 발생하는 arbuscular 균근균의 분포를 조사하였다. 총 21 농가의 토마토 재배 토양을 채취한 후 arbuscular 균근균의 포자를 분리하여 계수한 결과 500 μ m 이상은 0.01개 정도, 355~500 μ m는 0.02개 정도, 251~354 μ m는 0.09개 정도, 107~250 μ m는 0.9개 정도, 45~106 μ m는 2.0개 정도였으며, 토양 g 당 평균 3.02개 정도의 포자밀도로 분포하였다. 토마토 뿌리에서 균근 감염 양상을 보면 vesicle 18.0%, hyphae 6.0%, arbuscule 2.0% 등 전체적으로 26.0% 정도의 감염율을 보였다. 분리된 arbuscular 균근균 포자를 수단그라스에 재접종하여 4개월 정도 배양하여 arbuscular 균근균의 동정을 실시한 결과 *Glomus* sp., *Gigaspora* sp. 및 *Acaulospora* sp. 등으로 동정되었다.

[논문접수일 : 2006. 4. 20. 최종논문접수일 : 2006. 6. 5.]

참 고 문 헌

1. Allen, M. F. 1992. Mycorrhizal functioning. pp. 525. Chapman & Hall, New York, USA.
2. Azcón-Aguilar, C. and J. M. Barea. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68: 1-24.
3. Brundrett, M. C., U. Piche and R. L. Person. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Can. J. Bot.* 62: 2128-2134.
4. Conway, C. and D. J. Bagyaraj. 1984. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. Eds. Powell, S. L. and D. J. Bagyaraj. In: VA mycorrhiza. CRC Press, pp. 120-130.

5. Daniels, B. A. and H. D. Skipper. 1982. In: Methods and principles of mycorrhizal research. Ed. by: Shenck. The American Phytopathological Society, St. Paul, M.N. pp. 29-35.
6. Dixon, R. K. and D. H. Marx. 1987. Mycorrhizae. In: Bonga JM, Durzan DF (eds.) Cell and tissue culture in forestry. Forestry Sci. Vol. 2. Nijhoff, Dordrecht.
7. Harley, J. L. and S. E. Smith. 1989. Mycorrhiza symbiosis. Academic Press, New York, USA.
8. Kormanik, P. P., W. C. Bryan and R. C. Schultz. 1977. The role of mycorrhizae in plant growth and development. In: Physiology of root-microorganisms associations. Proc. Symp. S. Sect. Amer. Soc. Pl. Physiol. Atlanta, Georgia, pp. 10.
9. Morton, J. B., and G. L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes) : A new order, Glomales, Two new suborders, Glomineae and Gigasporneae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon 37: 471-491.
10. Paul, E. A. and R. M. N. Ducey. 1981. Carbon flow in plant microbial associations. Science 213: 473-474.
11. Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Translocation of the British Mycological Society 55: 158-160.
12. Rousseau, J. V. D., D. M. Sylvia, and A. J. Fox. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. New Phytol. 128: 639-644.
13. Smith, S. E. and D. J. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, SanDiego.
14. Whetten, R. and A. J. Anderson. 1992. Theoretical considerations in the commercial utilization of mycorrhizal fungi. Handbook of Applied Mycology (Ed. by Arora, D. K., R. P. Elander. and K. G. Mukerji.) 4: 849-879.