

## 딸기 시설재배에서 Arbuscular 균근균의 분포\*

조 자 용\*\* · 허 북 구\*\*\* · 양 승 렬\*\*\*\*

### Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Greenhouse Strawberry Plants

Cho, Ja-Yong · Heo, Buk-Gu · Yang, Seung-Yul

This study was conducted to investigate into the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the greenhouse soils grown strawberry plants in Damyang and Jangheung districts. Twenty three soil samples were collected from strawberry plants under greenhouse conditions, and mycorrhizal spores in soils were separated using wet-sieving methods. Number of mycorrhizal spores per 30g fresh soil sized over 500 $\mu$ m, 355~500 $\mu$ m, 251~354 $\mu$ m, 107~250 $\mu$ m and 45~106 $\mu$ m were 0.3, 1.0, 4.2, 50.4 and 119, etc. Total number of spores per 30g fresh soil were 173.9. Root infection by vesicles and hyphae were 25% and 4%, respectively. Mycorrhizal root infection by arbuscules was not shown in strawberry roots. Isolated mycorrhizal spores were inoculated into the host plant of sudangrass to identify the genus of arbuscular mycorrhizal fungi, and propagated for 4 months. As a result of identification, mass propagated mycorrhizal spores were *Glomus* sp., *Gigaspora* sp., and *Acaulospora* sp., and so on.

Key words : strawberry, AMF (arbuscular mycorrhizal fungi), spore, hyphae, vesicle

## I. 緒 言

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)는 도관식물 뿌리의 세포조직에 감염하는 균사 (hyphae)를 갖는 Endogonaceae과의 접합균류 (Kormanik 등, 1977)에 속하며, 기주식물과 공생을 하

\* 이 연구는 2004년도 농림기술개발연구과제(현장애로)의 지원에 의해 수행되었음.

\*\* 대표저자, 남도대학 약용자원원에개발과

\*\*\* 원광대학교 생명자원과학대학

\*\*\*\* 순천대학교 식물생산과학부

는 사상균의 일종으로서 지난 수십년 동안 전 세계적으로 많은 연구의 대상이 되어 왔다.

Mycorrhiza (균근균)는 그리스 문자인 mykes에서 유래하며, fungus roots (균근)로서 '버섯'이나 '균 (fungus)'이라는 문자와 '뿌리 (root)'가 합성된 용어이다 (Smith와 Read, 1997). 내생 균근균은 원칙적으로 활물기생을 하는 특성 때문에 절대적으로 공생하는 것으로 인식되고 있으며, 매우 다양한 식물의 중에서 그 효과가 인정되고 있다 (Smith와 Read, 1997).

균근균은 토양 중에서 작물 뿌리와 연결된 폭 넓은 균사를 형성하는데, 이 균사는 식물체 뿌리의 연장 역할을 하여 양분과 수분의 흡수를 도와서 기주식물의 생육을 촉진시킨다 (Rousseau 등, 1994). 또한, 균근균은 기후 등 불량한 환경조건에서도 기주식물의 내성을 증가시키고 (Dixon과 Mark, 1987; Siqueria, 1994), 양분의 흡수를 향상시켜 (Bethlenfalvay 등, 1987; Barea 등, 1993) 전체적인 식물의 성장을 촉진시킨다.

균근균은 공생관계에서 기주식물로부터 탄소원 (carbon source)을 얻으며, 뿌리가 미치지 못하는 토양 중의 무기양분을 기주식물에 공급해 주는 역할을 한다 (Paul과 Ducey, 1981).

본 연구는 담양과 장흥지역의 딸기 시설재배지에서 내생 균근균의 분포를 조사함으로써 유용미생물을 활용한 환경친화적인 농업 개발의 기초 자료로 활용하고자 실시하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 토양시료 채취

전남 장흥군과 담양군을 중심으로 딸기 시설재배농가에서 근권 토양을 채취하였다. 토양 시료는 3반복으로 총 23개 지점의 토양을 채취하였으며, 딸기 뿌리와 근권토양 약 6~7kg 정도를 채취하여 polyethylene bag에 넣어 4℃의 저온저장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 딸기 뿌리에 발생하는 내생 균근균의 감염 여부를 확인하기 위하여 기주식물의 뿌리를 채취한 후 수세하여 FAA 용액 (10ml formaline + 5ml acetic acid + 200ml ethanol)에 고정된 후 보관하여 균근균의 감염 관찰에 사용하였다.

### 2. 균근균 포자 분리

전남 장흥과 담양지역에서 재배하는 딸기에서 균근균의 포자를 분리하기 위하여 사용한 방법은 Fig. 1과 같다.

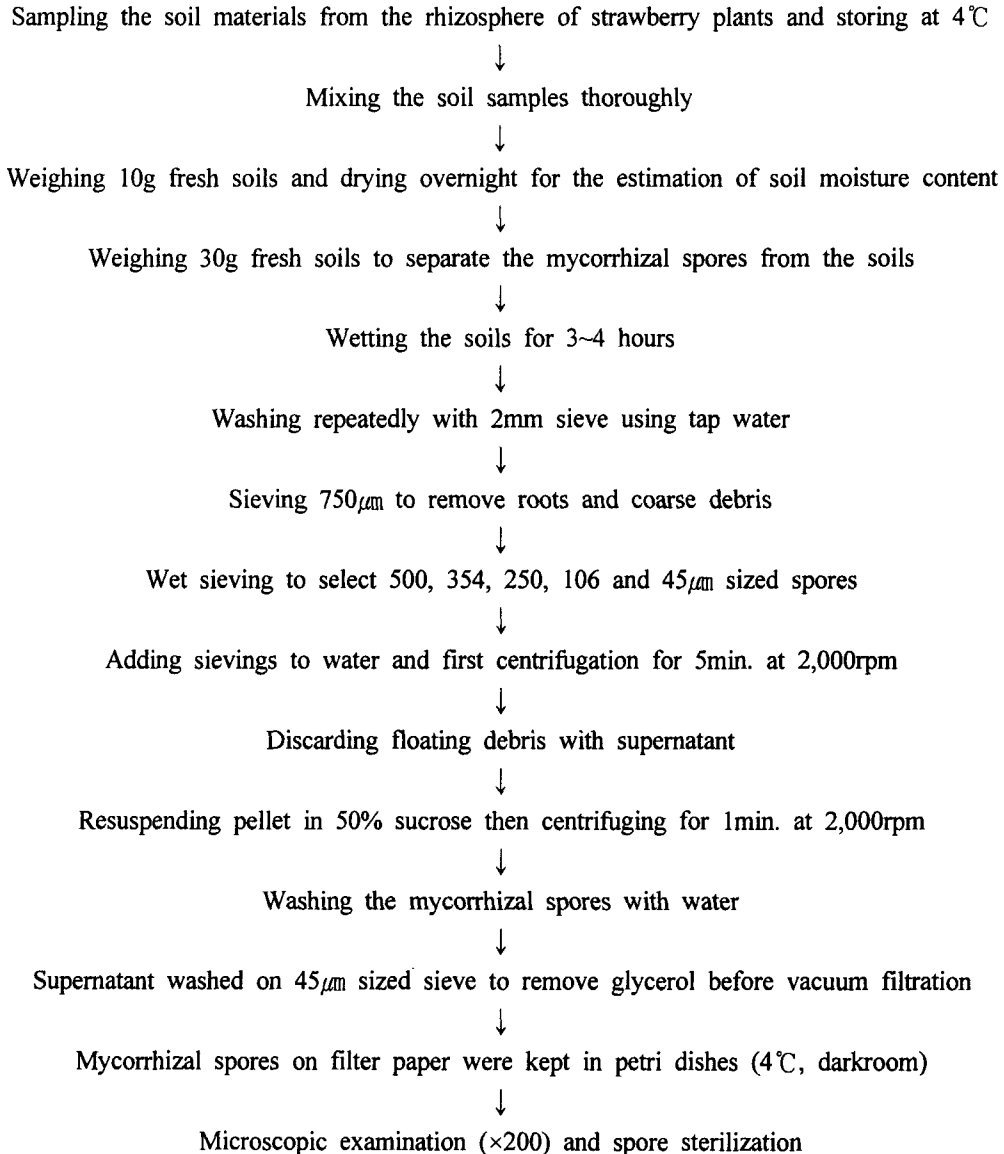


Fig. 1. Isolation of mycorrhizal spores using wet-sieving methods (Daniels와 Skipper, 1982).

딸기 시설재배 농가의 근권에서 채취한 토양을 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 분리하여 4°C에 보관하면서 실체현미경 (Zeiss, Stemi 2000-C)하에서 포자 계수와 포자의 속 분리에 사용하

였다. 분리된 균근균 포자는 병원균의 2차 감염을 방지하기 위하여 일련의 멸균조작을 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. 딸기 뿌리의 균근균 감염 특성

딸기 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 행구어 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

전남 장흥과 담양지역의 딸기 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 딸기에서 발생하는 내생 균근균을 동정하였다 (Fig. 2).

- 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; "Chlamydozspores" produced terminally or laterally on or within fertile hyphae; auxiliary cells not produced ----- **GLOMINEAE(C)**
- C. "Chlamydozspores" formed apically from fertile hyphae ----- **Glomaceae(D)**
- D. Fruiting body of a sporocarp composed of spores will lateral walls adherent to one another; connecting hyphae embedded in a central hyphal plexus; chlamydozspores 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. "lamyospores" 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).

### Ⅲ. 結果 및 考察

#### 1. 토양시료 채취

딸기에서 균근균의 감염 양상을 조사하기 위하여 전남 장흥군과 담양군을 중심으로 딸기 시설재배농가에서 근권 토양을 채취하였다. 총 23개 지점에서 3반복으로 채취한 토양은 약 6~7kg 정도를 polyethylene bag에 넣어 4℃의 저온저장고에 보관하면서 균근균 포자 분리와 균근균 감염 양상 관찰에 사용하였다. 균근균 감염을 관찰하기 위한 시설재배 딸기 뿌리는 수돗물로 깨끗하게 수세한 후 FAA 용액 (10ml formaline + 5ml acetic acid + 200ml ethanol)에 고정하여 사용하였다.

#### 2. 균근균 포자 분리

전남 장흥과 담양지역의 딸기 시설재배지에서 채취한 근권 토양은 균일하게 혼합하였으며 시료 30g을 수돗물에 현탁한 후 500, 354, 250, 106 및 45 $\mu$ m 등의 mesh 별로 사별하여 균근균의 포자를 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다.

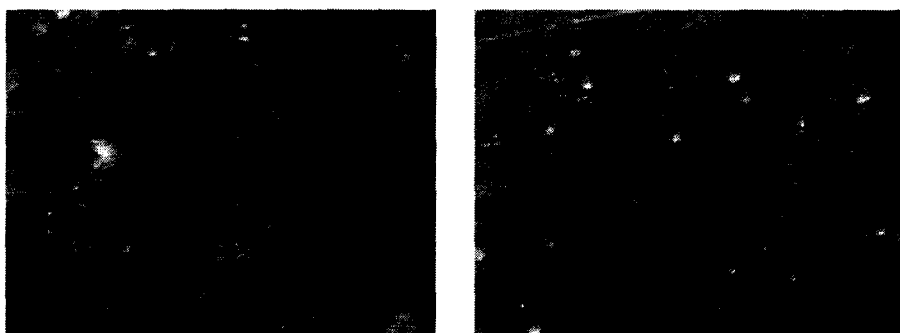


Fig. 3. Spores of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from the soil grown strawberry plants.

분리된 포자는 4°C에 보관하면서 사용하였고, 균근균 포자의 계수는 실체현미경 (Zeiss, Stemi 2000-C)하에서 실시하였는데 그 결과는 Fig. 4와 같다.

딸기 시설재배 토양 30g 당 분리한 균근균의 포자수를 보면 크기가 500 $\mu\text{m}$  이상은 0.3개 정도, 355~500 $\mu\text{m}$ 는 1.0개 정도, 251~354 $\mu\text{m}$ 는 4.2개 정도, 107~250 $\mu\text{m}$ 는 50.4개 정도, 45~106 $\mu\text{m}$ 는 118개 정도로 조사되었다. 포자의 크기별로 보면 100 $\mu\text{m}$  이하 정도가 가장 많았고, 전반적으로 250 $\mu\text{m}$  이하 정도의 크기를 갖는 균근균의 포자인 것으로 조사되었다.

분리된 균근균 포자는 2% Chloramin T 용액으로 10분간 표면살균하고, 100ppm Gentamycin과 200ppm Streptomycin 액으로 15분간 살균한 후 멸균수로 세척하여 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였으며, 수단그라스를 기주식물로 4개월 정도 증식하여 포자의 속 분리에 사용하였다.

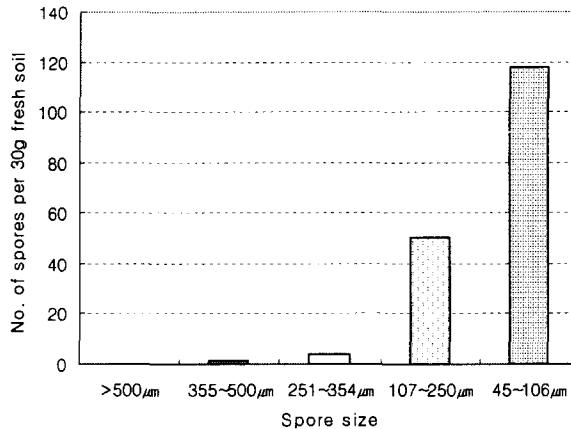


Fig. 4. Mycorrhizal spore density in the greenhouse soil grown strawberry plants.

### 3. 딸기 뿌리의 균근균 감염 특성

딸기 뿌리에 발생하는 내생 균근균의 감염을 Phillips와 Hayman (1970)의 방법으로 처리하여 0.1% Chlorazol black E 염색액 (Brundrett 등, 1984)으로 염색한 후 광학현미경 (Olympus, PM-20)하에서 관찰한 사진은 Fig. 5와 같다.

현미경으로 관찰된 결과를 보면 딸기 뿌리 내부에서 Fig. 5-A와 같은 뿌리 내부 균사가 발견되었으며, 균사 (hyphae)의 관찰은 뿌리 내부 (Fig. 5-A) 뿐만 아니라 Fig. 5-B와 같이 뿌리 외부에서도 조사되었다. 일반적으로 알려진 균근균 균사의 역할은 뿌리의 내부와 외부로 성장하여 뿌리의 생장이 미치지 못하는 근권의 양분을 흡수하여 기주식물의 뿌리로 공급하는 역할을 하고, 뿌리 내부에 있는 균사는 식물로부터 균근균의 생장에 필요한 탄소원을 균근균 전체에 공급하는 것으로 보고되고 있다 (Allen, 1992; Harley와 Smith, 1989). 뿌리

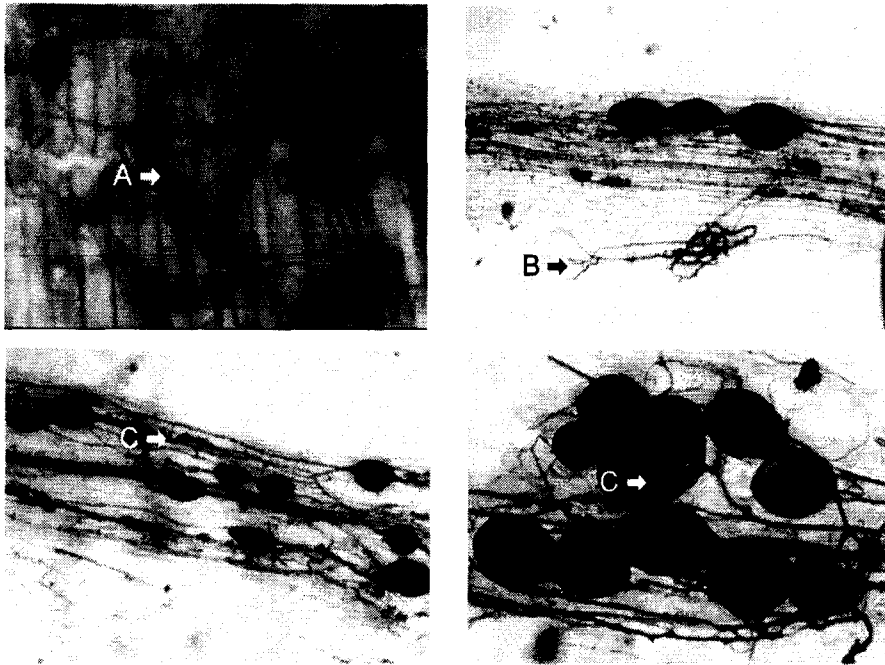


Fig. 5. Mycorrhizal root infection occurred in the roots of strawberry plants (A and B: hyphae, C: vesicle).

체내에서 기주식물과 균근균간의 양수분 공급이 이루어지는 장소는 arbuscule로 보고되고 있는데, 본 연구에서는 arbuscule이 관찰되지 않았다. 또한, Fig. 5-C에서 관찰된 vesicle은 균근감염 식물에서 일반적으로 형성되는 일종의 저장기관으로서 작용한다 (Allen, 1992; Harley 와 Smith, 1989).

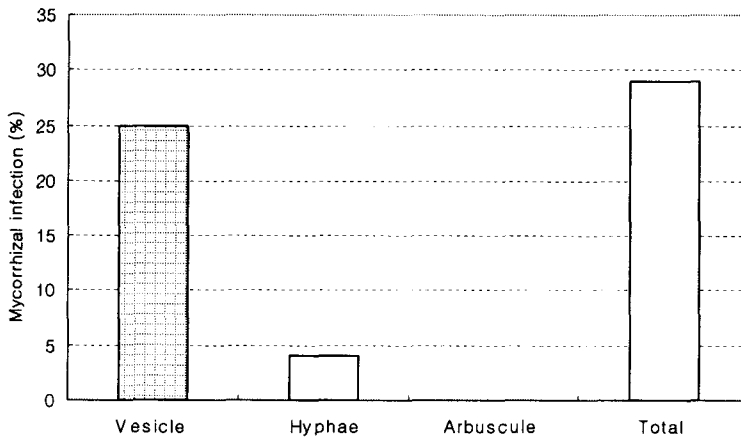


Fig. 6. Mycorrhizal root infection of strawberry plants by hyphae and vesicles.

전남 장흥과 담양지역의 시설재배지에서 채취한 딸기의 뿌리에서 균근균의 감염, 즉 vesicle, hyphae 및 arbuscule 등에 의한 균근 감염율을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다.

딸기 뿌리에서 균근감염 양상을 보면 vesicle 25%, hyphae 4% 및 arbuscule 0% 등 총 29% 정도의 균근 감염율을 보였다. 그러나 이러한 균근 감염 양상은 딸기의 생육단계별로 상이할 것으로 생각되며, 차후 딸기의 생육단계와 계절별 특성 및 토양의 이화학적 등과의 관계를 더 조사할 필요가 있을 것으로 생각되었다.

#### 4. 내생 균근균의 균주 동정

전남 장흥과 담양지역의 딸기재배지에서 균근균 포자를 분리한 후 수단그라스를 기주식물로 하여 4개월 정도 증식시킨 후 균근균의 포자를 재 분리하여 현미경하에서 관찰한 결과는 Fig. 7과 같다.

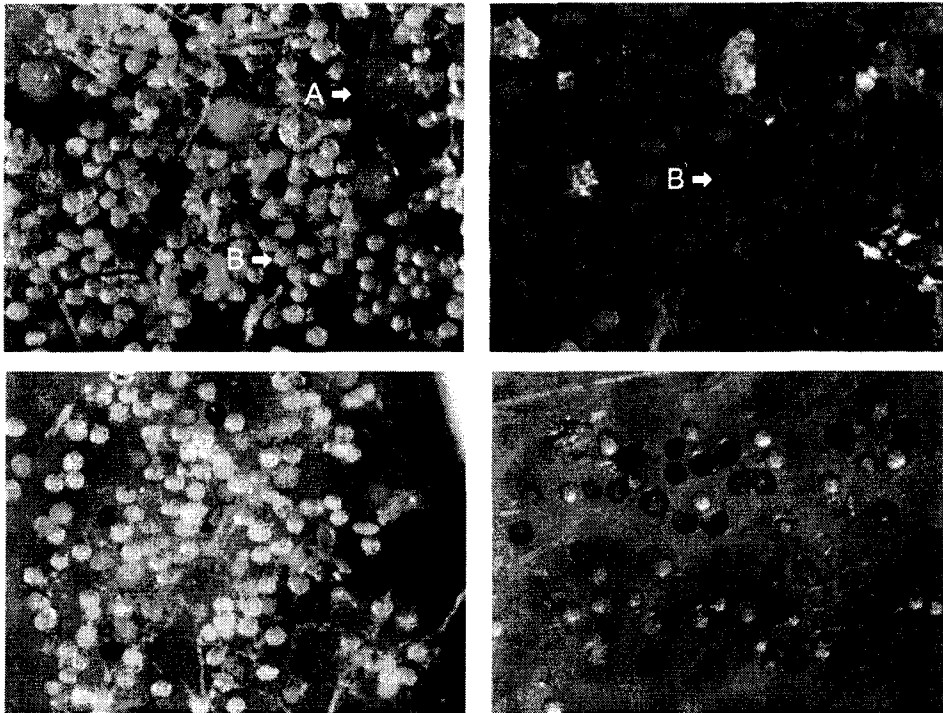


Fig. 7. Photograph of mycorrhizal spores ( $\times 50$ ) isolated from the soil grown strawberry plants. Isolated spores were mass-propagated using the host plant of sudangrass for 4 months.

딸기 근권 토양에서 분리한 포자를 수단그라스를 기주식물로 하여 4개월 정도 배양한 후



Morton과 Benny(1990)의 Glomales 종 분류기준, INVAM Species Guide 및 ETI - Windows Version of Arbuscular Mycorrhizal Fungi 등을 참조하여 동정한 결과 Fig. 7-A는 *Gigaspora* sp., Fig. 7-B는 *Acaulospora* sp., Fig. 7-C는 *Glomus* sp. 등으로 동정되었다. *Glomus* sp.의 특징을 보면 주로 타원형을 이루고, 일부는 구형에서 반구형의 형태를 이루었다. 또한, *Acaulospora* sp.는 백색에서 연노랑의 구형과 반구형의 모양을 이루었으며, 때로는 불규칙한 모양을 이루었다. *Gigaspora* sp.는 *Glomus* sp.와 *Acaulospora* sp. 보다는 더 큰 500 $\mu$ m 이상의 구형으로 관찰되었다.

#### IV. 摘 要

전남 담양과 장흥지역을 중심으로 딸기 시설재배에서 발생하는 내생 균근균 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)의 분포를 조사하였다. 총 23 농가의 근권 토양을 채취한 후 arbuscular 균근균의 포자를 분리하여 계수한 결과 500 $\mu$ m 이상은 0.3개 정도, 355~500 $\mu$ m는 1.0개 정도, 251~354 $\mu$ m는 4.2개 정도, 107~250 $\mu$ m는 50.4개 정도, 45~106 $\mu$ m는 118개 정도였으며, 토양 30g 당 평균 173.9개 정도의 포자밀도로 arbuscular 균근균이 분포하였다. 딸기 뿌리의 균근 감염 양상을 보면 vesicle 25%, hyphae 4% 등 전체적으로 29% 정도의 감염율을 보였으며, arbuscule은 발견되지 않았다. 분리된 arbuscular 균근균 포자를 수단그라스에 재접종하여 4개월 정도 배양하여 arbuscular 균근균의 동정을 실시한 결과 *Glomus* sp., *Gigaspora* sp. 및 *Acaulospora* sp. 등으로 동정되었다.

[논문접수일 : 2005. 3. 30. 최종논문접수일 : 2005. 5. 17.]

#### 参 考 文 献

1. Allen, M. F. 1992. Mycorrhizal functioning. pp. 525. Chapman & Hall, New York, USA.
2. Barea, J. M., C. P. Salamanca, and M. A. Herrera. 1993. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. 59 : 129-133.
3. Bethlenfalvay, G. J., M. S. Brown, K. L. Mihara, and A. E. Stafford. 1987. Glycine-Glomus-Rhizobium symbiosis effects of mycorrhizae on nodule activity and transpiration in soybeans under drought stress. Plant Physical. pp. 85 : 115-119.

4. 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.
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 Gigasporineae, 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. Siqueira, J. O. 1994. Micirruzas. In: Araújo RS, Hungria M (eds) *Microorganismos de importância agrícola.* Embrapa-CNPAF, Embrapa-CNPSO, Embrapa-SPI, Brasilia. pp. 151-194.
14. Smith, S. E. and D. J. Read. 1997. *Mycorrhizal symbiosis.* Academic Press, SanDiego.