

# 친환경적 포도재배를 위한 균근에 관한 연구

이상선\* · 어주경\* · 엄안홍\* · 손인창\*\* · 박재혁\*\* · 김선규\*\* · 강성수\*\*\*

(\*한국교원대학교 생물학과 · \*\*충북대학교 원예학과 · \*\*\*충북대학교 농화학과)

## Studies on Mycorrhizal Fungi for Environment-friendly Viticulture

Lee, Sang-Sun\* · Eu, Ju-Kyoung\* · Eom, Ahn-Heum\* · Son, In-Chang\*\*

Park, Jae-Hyuk\*\* · Kim, Seon-Kyu\*\* · Kang, Seong-Soo\*\*\*

\*Dept. of Biology, Korea National University of Education, Chungbuk 363-791, Korea

\*\*Dept. of Horticulture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

\*\*\*Dept. of Agr. Chem., Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

<sup>1</sup>corresponding author

### 적  요

본 연구는 재배 방법별 vesicular-arbuscular mycorrhizae(VAM)의 분포와 이들이 포도나무의 무기물 흡수에 미치는 영향을 조사하여 친환경적 포도재배를 위한 기초 자료를 얻기 위하여 수행되었다. 유기농법, 무농약, 일반 재배별로 경기도 안성, 대전, 충북 청주, 전북 전주, 경북 김천과 상주지역에서 총 15개의 포도원을 선정하여, 토양 및 식물체를 채취하여 토양 분석과 식물체 분석, 토양내 포자의 검정, 추출 및 동정을 하였고, 감염률을 관찰하였다. 감염종에 대해 DNA추출 및 PCR, Cloning, RFLP 등의 방법으로 동정을 하였다. pH와 유기물함량은 대개 적정 범위 내에 있었으며, 포도원간 차이가 컸으나 일반적으로 유기재배 및 무농약재배에서 치환성 양이온(K, Ca, Mg)의 함량이 많았고 토양 pH가 높았다. 잎내 무기물 함량도 토양과 마찬가지로 포도원간 변이가 컸으며 재배방법별 일정한 경향은 보이지 않았으나, 일반적으로 유기재배→무농약→일반재배로 갈수록 망간의 함량이 높았다. 가지의 무기물함량도 포도원간 변이가 컸으며, 일반적으로 유기재배 및 무농약재배에서 Ca 함량이 많은 경향을 보였고, 잎에서와 같이 유기재배→무농약→일반재배로 갈수록 망간 함량이 높았다. 내생균근의 감염도는 유기농법에서 가장 높았고, 일반 재배 및 무농약 재배에서는 거의 비슷한 값을 나타내었다. 일반 재배와 무농약 재배에서는 포자수가 유기농법보다 유의하게 적었다. 내생균근의 활력과 포자수와 속수의 차이로 볼 때, 유기농법은 포도 재배에 중요하고 내생균근의 활력을 다르게 해주는 무엇이 있는 것으로 보였다. 본 연구에서 얻어진 결과는 매우 의미 있는 것으로 생각되지만, 향후 조절된 환경에서의 다양한 균근 종류를 이용한 지속적인 연구가 친환경적 포도재배법의 확립을 위해 필요한 것으로 판단된다.

### I. 서론

포도는 다른 과수에 비하여 자본회전이 빠르고 생식용과 가공용 등 그 용도가 다양하며 우리나라 기

후에 적합하여 전국적으로 재배되는 등 원예산업에 있어서 중요한 위치를 차지하고 있다. 그러나 재배기술이 어렵고, 생리적인 측면에서 수분부족에 의해 위조 증세와 무기양분의 부족, 광합성의 저해와 광합성산물이 이동하지 않는 등의 생리장애가 발생하기 쉽

다.

포도의 열중 인산함량은 0.15-0.45%로 절대량이 그리 많은 편은 아니나 다른 과수와 비교할 때 상당히 높은 것으로, 이는 인산의 요구도가 다른 작물에 비해 상당히 높다는 것을 알 수 있다(이 등, 1993). 포도에서 수체내의 인산의 작용은 질소와 함께 세포 안에서 핵산이나, 핵단백질, 효소 등 생명 현상의 근본을 이루고 있으며 태양에너지가 화학에너지로 바뀔 때 에너지를 획득, 운반, 공급의 작용을 하고 있으며, 포도의 생육에서 보았을 때 발아, 신초의 신장, 꽃송이의 수, 개화시기, 포도송이의 무게, 당도, 착색 등 전반적인 생육에 상당히 큰 영향을 미치고 있으나 뿌리로의 흡수가 원활하게 이루어지지 않아 문제점이 되고 있다.

균근은 지구상의 거의 대부분의 식물체에 일반적으로 분포하여 상호 관련하여 식물에게 이점을 주는데 (Lindemann, 1988), 수분과 인산을 비롯한 미량원소(철, 구리, 망간)의 흡수를 도와주고 광합성속도를 높여주며(Lee, 1998) 내병성 증진, 식물 호르몬(Cytokinin, ABA, GA) 축적에 영향을 미쳐(Park, 1984) 기주식물의 생장과 수량을 증가시킨다(Gerdemann, 1964).

또 많은 종류의 환경 스트레스를 견디는 내성을 높여주는 역할을 하기도 하는데 Karagiannidis 등(2000)은 균근이 포도 Rozaki 품종의 납과 카드뮴 같은 중금속의 흡수를 감소시키는 것을 보고하였고, Yang과 Goulart(2000)는 고관목성 블루베리의 알루미늄 흡수를 감소시키는 것을 보고하였다.

균근의 주요 유형으로는 수지상균근(arbuscular mycorrhiza: AM)과 외생균근, Arbutoid, Monotropa, 철쭉과식물의 균근, 난과식물의 균근으로 나뉘는데 (Harley, 1989), 특히 이 중에서 수지상균근은 뿌리에 침투하여 식물의 광합성산물을 획득하고 토양에서 흡수한 무기양분을 식물에 공급하며(Deacon, 1996), 이는 균사를 통한 뿌리 확장이 식물의 무기양분흡수 능력증대(Elmes와 Mosse, 1984; Jenson, 1982; Jones와 Hutchinson, 1985)와 뿌리주변의 미생물의 조절(Schenck, 1981) 등에 영향을 준다.

이러한 균근을 원예산업에 이용하여 수량의 증가는 물론, 인산과 같이 수입에 의존하는 화학비료의

사용을 줄여 토양의 황폐화를 막고 좀더 비옥한 토양을 만들 수 있다는 점에서 농업에 유용한 접합균으로 주목받고 있으나(Lindermann, 1988), 현재까지의 연구는 임업과 기내에서의 실험에 그쳤으며, 균근을 원예작물에 이용하여 실용화에 이른 연구는 얼마 되지 않는다(Dighton 등, 1990).

본 연구는 원예작물은 물론 거의 모든 재배 토양에 많은 양이 축적되어 토양과 수질 오염의 한 요인이 되는 인산을 효율적으로 재활용할 수 있게 됨은 물론, 불용태 인산 등의 무기양분과 수분의 흡수를 원활하게 하고 광합성속도를 높여주며 환경스트레스에 내성을 높여주는 vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM)의 재배양식별 분포와 토양-식물체와의 관계, 그리고 이들이 포도의 전반적인 생육에 미치는 영향을 조사하여 친환경적 포도재배를 위한 기초 자료를 제공하기 위하여 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 포도원 선정

재배양식으로 농약은 물론 금비와 제초제를 사용하지 않는 유기농법, 금비는 사용하되 농약과 제초제는 사용하지 않는 무농약, 그리고 일반재배별로 경기도 안성, 대전, 충북 청주, 전북 전주, 경북 김천, 상주 지역에서 1-2 개 포도원, 총 15개소를 선정하였는데, 일반재배농가 중에서도 금비는 사용하되 농약과 제초제는 최소한만 사용하는 저농약재배에 가까운 농가도 있었다(표 1).

### 2. 재배법

모든 실험 포도원은 어느 재배양식으로 재배하든 각 양식별 권장 기준과 관행에 준해 재배되는 독농가급 포도원을 선정하였으며, 공인기관의 확인과 재배가의 주장을 종합하여 판정하였다.

표 1. 재배양식별, 지역별 실험포도원

재배양식	지역	포도원 코드	품종
유기재배	김천 1	KC 1	파오네
	대전 1	DJ 1	캠벨얼리
	상주 1	JUS 1	캠벨얼리
	안성 1	AS 1	캠벨얼리
	안성 2	AS 2	거봉
	전주 1	KHW 1	캠벨얼리
무농약재배	상주 2	SJ 1	캠벨얼리
	청주 1	CJ 1	캠벨얼리
	청주 3	CJ 3	캠벨얼리
일반재배	김천 2	KC 2	캠벨얼리
	대전 2	DJ 2	캠벨얼리
	상주 3	JUS 2	캠벨얼리
	안성 3	AS 3	캠벨얼리
	전주 2	KHW 2	캠벨얼리
	청주 2	CJ 2	캠벨얼리

### 3. 시료채취

토양 및 식물체 채취는 6월 하순부터 시작하였으며, 작형과 지역 간의 생육기 차이와 식물체내 무기성분의 안정을 위하여 9월 9일부터 17일 사이에 채취한 시료를 최종 분석 대상으로 하고 나머지 시료는 표준 작성용 예비실험에 사용하였다. 각 포도원에서 수세가 균일한 캠벨얼리 포도나무 성목 3주씩을 선정하고 토양 표면으로부터 30cm 정도 깊이까지의 뿌리 주변의 토양을 채취하였으며, 잎, 가지 및 뿌리 시료는 채취 후 분석 시까지 저온(3°C) 암소에 보관하였다.

### 4. 토양 및 식물체 분석

#### 가. 토양

채취한 토양은 음지에서 풍건 후 2mm 체를 통과한 것을 분석 시료로 하였으며 토양 화학성은 농업기술연구소(현 농업과학기술원) 토양화학분석법(1988)에 준하여 다음과 같이 분석하였다. pH와 전기전도도(EC)는 토양을 중류수와 1:5의 비율로 혼합하여 30분간 진탕한 혼탁액을 Ion analyzer(Orion model

EA 940)와 Conductivity meter(TPS model 2100)로 각각 측정하였다. 유기물 함량은 Tyurin's method로 분석하였고, 유효인산은 Lancaster법으로 비색정량(Hitachi model U-2000)하였다. NO<sub>3</sub>-N 함량은 토양 5g에 침출액으로 50mL의 0.025M Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>를 넣어 30분간 진탕시킨 후 여과액을 Nitrate 전극과 Double Junction Reference 전극을 이용하여 Ion analyzer(Orion model 960)로 측정하였다. 치환성 양이온(K, Ca, Mg)은 5g의 토양시료에 50mL의 1N-ammonium-acetate(pH=7.0)를 가하여 30분간 진탕하여 No. 2 여지로 여과 후 Atomic absorption spectrometer(Perkin Elmer model AA100)를 이용하여 분석하였다. 전 질소는 Microkjeldahl 법으로 토양시료 2g에 10mL의 전한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 촉매제를 넣고 block digestor(Tecator 2040 Digester)에서 분해시킨 후 Kjeldahl 자동 중류적 정장치(Tecator 1030 Analyzer)를 이용하여 측정하였다.

#### 나. 식물체

식물체 무기이온 분석은 각 처리별 잎과 가지를 70°C로 조절된 건조기에서 3일 건조 후 분쇄기를 이용하여 분쇄하여 분쇄시료를 준비하였다 식물체내 전질소는 시료 0.5g 씩 측정하여 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 10mL씩 넣고 분해촉진제(CuSO<sub>4</sub>:K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>=1:9)를 넣은 다음 360°C에서 2시간 동안 분해한 후 KJEL-AUTO(DTP-3, Mitamura Riken Kogyo, Japan)로 측정하였고, 식물체내 인산, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등 시료를 0.5g씩 평량하여 Ternary solution(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : HNO<sub>3</sub> : HClO<sub>4</sub> = 1 : 10 : 4)을 10mL씩 넣고 360°C에서 2시간 동안 분해하였으며, 인함량은 vanadate법으로 470nm 파장에서 분광광도계(Uvikon-930, Kontron Instruments, Zurich, Switzerland)를 사용하여 측정하였고, 나머지 이온함량 분석은 원자흡광광도계(AA-6701F, Shimadzu, Japan)를 이용하여 측정하였다.

### 5. 균근 검정

#### 가. 토양내 포자의 검정

토양내의 균근을 동정하기 위해 토양 10g을 정량

하여 45 $\mu$ m의 체에 거른 후, 20, 40, 60%의 설탕용액을 주사기를 이용하여 저농도순으로 원심분리용 시험관에 넣어 체 위에 남겨진 토양을 시험관에 넣고 2000rpm으로 2분간 원심분리 후 45, 90, 180, 300 $\mu$ m의 체를 포개놓고 상정액을 뺏고 각각의 체에 걸러진 포자를 분리했다(Gerdemann and Nicolson, 1963). 분리된 포자는 PVL(polyvinyl alcohol lactophenol)로 영구 프레파라트를 만들어 종을 동정하였다.

**뿌리염색 :** 각 식물의 뿌리는 흐르는 물로 깨끗이 세척한 후 Phillips와 Haymann(1970)의 방법을 수정하여 사용하였다(Ka et al., 1990) 처리된 뿌리는 40배 배율 광학현미경을 이용하여 소포체와 균사, 균사망을 관찰하였다.

#### 나. 포자의 추출 및 동정

채집한 토양을 전자 저울을 이용해 100g씩 덜어낸 후. Wet-sieving과 sucrose density gradient centrifugation (Daniels and Skipper, 1982)의 방법을 사용하여 해부현미경에서 포자를 추출하였으며, PVLG(1.66g polyvinyl alcohol, 10mL water, 10mL lactic acid, 1mL glycerin)와 PVLG-Melzer(1:1 v/v)를 mounting한 후 광학 현미경상에서 Trappe(1982)의 Synoptic Key와 schenk and Perez(1988)의 매뉴얼을 기준으로 포자의 색깔, 모양, 표면의 구조와 상태, Melzer(100g chlral hydrate, 1.5g iodine, 5g potassium iodide, 100mL distilled water)용액에 대한 반응상태 등에 근거하여 동정을 하였다.

#### 다. 감염률의 관찰

감염률을 관찰할 뿌리를 물로 깨끗이 씻어 흙을 제거한 다음, 약 1cm정도의 길이로 잘라 test-tube에 넣은 후 2.5% KOH 용액을 식물의 뿌리가 잠길 정도로 넣고 121°C에서 약 10-30분간 가열하였다. Tube에 들어있는 KOH용액을 버리고 alkaline H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액을 버리고 식물의 뿌리가 충분히 잠길 수 있도록 1% HCL용액을 넣어 1-24시간 두었다.

HCL 용액을 버린 후, 뿌리의 염색을 위해 tube에 acidic glycerol을 이용하여 탈색하고(Koske와 Gemma, 1989)현미경 상에서 관찰하였다. 염색된 뿌리를 Petri

dish에 놓은 후 해부현미경(X10-X40)하에서 Gridline intersection 방법(Giovannetti와 Mosse, 1980)에 따라 감염률(%)을 측정하였다.

#### 라. DNA추출

**포자:** 광학 현미경상에서 동정 된 각각의 포자 하나를 1.5mL Microcentrifuge tube에 넣고 멸균수 30 $\mu$ L를 넣은 후 vortex하여 3회 세척 한 후, 20 $\mu$ L의 TE buffer(10mM TrisPC1, 1mM EDTA, pH 8.0)를 넣고 micro-pestles을 이용하여 포자를 갈아 DNA를 추출하고, PCR반응에 직접 Templates로 사용하였다.

**뿌리 속의 내생균균군:** 뿌리에 공생하는 내생균균의 genomic DNA는 포도나무로부터 CTAB (Cetyltrimethyl-ammonium bromide) extraction method(Dellaporta et al., 1983)를 이용하여 추출하였다. 각각의 식물뿌리 1g 쪽을 막자 사발에 넣은 후 액체질소를 넣고, 고운 분말이 될 때까지 간 후, 분말을 50mL pelcon-tube에 옮겼다. 미리 65°C로 테워진 CTAB extraction solution에 2-mercaptoethanol을 최종 농도가 2%(v/v)가 되도록 섞어 준 2-ME/CTAB extraction solution을 4mL 넣은 후, 분말이 충분히 젖도록 섞은 후 65°C에서 60분간 두었다. 동량의 chloroform/isoamyl alcohol(24:1, v/v)을 첨가하여 잘 섞어 준 후 4°C, 10,000rpm에서 5분간 원심 분리하고 상층액을 분리하여 새로운 tube에 옮겼다.

1/10부피의 65°C CTAB/NaCl(10% CTAB/ 0.7M NaCl)용액을 첨가하여 잘 섞어준 후, 동 부피의 PCI (Phenol Chloroform Isoamyl alcohol)용액을 넣어 섞고 원심분리하여 상층액을 새로운 tube에 옮겼다. 여기에 1volume의 CTAB precipitation(1% CTAB, 50mM TrisPC1, 10mM EDTA, pH8.0)용액을 첨가한 후 침전물을 관찰하고, 침전물이 보이지 않으면 혼합물을 65°C에서 30분간 데웠다. 침전물을 관찰한 후, 상층액을 제거하고, high-sat TE buffer(10mM TrisCl, 0.1mM EDTA, 1M NaCl, pH8.0) 1mL을 첨가하여 pellet을 부유시켰다. DNA의 침전을 위해 0.6부피의 isopropanol을 넣고 잘 섞은 후 4°C 10,000rpm에서 15분간 원심분리 하였다.

80% ethanol을 이용하여 pellets을 세척하고, 건조한

후 TE buffer(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0) 200 $\mu$ L를 넣어 pellets을 재부유시켰다. 추출된 genomic DNA 각각을 25 $\mu$ L씩 따내어 975 $\mu$ L의 TE buffer와 섞은 후 Spectrophotometer(MILTON, USA)에서 260nm와 280nm로 OD(observance density)를 측정하고 각각의 농도를 20ng/ $\mu$ L로 맞춘 후 PCR반응에 사용하였다.

#### 마. PCR

PCR은 AccuPower PCR PreMix(Bioneer, 1U Taq DNA polymerase, 250uM dNTP, pH 9.0 10nM Tris-HCl, 40mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub> Stabilizer and tracking dye)에 template DNA 1 $\mu$ L, forward primer NS31(TTG GAG GGC AAG TCT GGT GCC) 1 $\mu$ L(10pmol), reverse primer AM1(GTT TCC CGT AAG GCG CCG AA)1 $\mu$ L(10pmol), 멜균수 17 $\mu$ L를 넣어 전체 부피를 20 $\mu$ L로 하여 반응을 진행하였다. 반응조건은 총 30cycles을 수행하였으며 95°C 1분, 58°C 1분 72°C 2분으로 10cycles, 95°C 30초, 58°C 1분, 72°C 3분으로 19cycles, 95°C 30초, 58°C 1분, 72°C 10분 cycles(Helgason *et al.*, 1999)로 MYGENIE32 THERMAL BLOCK(Bioneer)에서 수행하였다.

#### 바. Cloning

**Insert의 준비 :** 증폭된 PCR 반응물을 1xTAE buffer(40mM Tris-acetate, 1mM EDTA, pH 8.0)를 사용하여 1% agarose gel에서 전기영동한 후, ethidium bromide(EtBr, 0.5 $\mu$ L/mL)용액에서 15분간 염색하고 흐르는 수돗물에서 10분간 탈색한 후 UV trasilluminator에서 밴드를 확인하였다. 약 550bp에 위치한 밴드를 면도칼을 이용하여 오려내어 insert로 사용할 DNA를 정제하였다.

Insert로 사용할 DNA band를 가능한 작게 잘라 1.5mL Microcentrifuge tube에 넣은 후 잘라 낸 agarose gel 부피의 5배에 해당하는 GB buffer(Bioneer)를 넣었다.

Tube를 50°C에서 약 10분간 방치하여 agarose gel이 완전히 녹을 때까지 기다린 후 gel이 녹은 혼합물이 노란색인지를 확인하였다. 혼합물이 오렌지색 혹은 빨간색을 띠고 있으면 3M sodium acetate(pH

5.0)10 $\mu$ L를 혼합물에 넣어 혼합물이 노란색이 되는 것을 확인하였다. Binding column tube에 옮겼다. Binding column tube가 장착된 2mL tube를 13000rpm에서 30초 동안 원심분리 하였다. Binding column tube를 통과한 여과액은 버리고 2mL tube에 Binding column tube를 다시 장착하였다. 남아있을 것으로 생각되는 agarose gel을 완전히 제거하기 위하여 GB buffer 500 $\mu$ L를 Binding column tube에 다시 넣은 후 13000rpm에서 30초간 재원심분리를 하였다. 원심분리 결과 생긴 여과액을 다시 따라 버리고 2mL tube에 Binding column tube를 재장착한 후 W buffer(Bioneer) 750 $\mu$ L를 넣고 13000rpm에서 30초간 원심분리를 하였다. 여과액을 따라 버리고 Binding column tube를 2mL tube에 다시 장착한 후 남아있는 W buffer를 완전히 제거하기 위해 13,000rpm에서 2분간 재 원심분리를 하였다. W buffer가 완전히 제거된 Binding column tube를 1.5mL tube에 옮긴 후 E buffer 30 $\mu$ L를 가능한 Binding column tube의 중앙에 넣은 후 추출의 효과를 높이기 위해서 50°C의 건조기에 약 10분간 두었다. 그리고 13,000rpm에서 1분간 원심분리하여 DNA를 회수하였다. 회수된 DNA중 2 $\mu$ L를 취하여 1 $\mu$ L의 loading dye와 섞어 1% agarose gel에 전기영동 하여 UV tranilluminator에서 DNA band(약 550bp)를 확인하고, maker(100bp ladder)의 농도와 비교하여 DNA농도를 결정하였다.

**Ligation:** 1.5mL Microcentrifuge tube에 정제된 insert DNA(20ng/ $\mu$ L) 3 $\mu$ L, pGEMT Easy Vector 1 $\mu$ L(Promega, 50ng/ $\mu$ L), 2 $\mu$ Rapid Ligation Buffer 5 $\mu$ L, T4 DNA Ligase(3 Weiss units/ $\mu$ L) 1 $\mu$ L 멜균수 10 $\mu$ L를 넣은 후 반응물들을 pipetting하여 잘 섞어 준 후 최종 부피를 20 $\mu$ L로 하여 상온에서 2시간동안 반응시켰다.

**Transformation:** 얼음에 꽂아 둔 1.5mL Microcentrifuge tube에 각각의 ligation 반응액을 2 $\mu$ L씩을 넣고 competent cell(E. coli JM109)의 transformation 효율을 보기 위하여 얼음에 꽂아 둔 또 다른 tube에는 0.1ng의 uncut plasmid를 넣었다 -70°C의 저장고로부터 얼어 있던 JM109 High Efficiency Competent

Cells(Promega)을 꺼내어 얼음에 꽂아 서서히 녹인 후 각각의 ligation 반응액이 들어있는 tube에 50 $\mu$ L의 competent cell을 넣었다. tube를 조심스럽게 손끝으로 쳐서 반응액을 섞은 후 얼음에 20분간 놓아둔 후 42 °C water bath에서 정확히 50초간 열 충격을 주고 곧 바로 얼음에 2분간 꽂아두었다. Recombinant plasmid DNA에 의해 형질전환된 cell을 포함한 tube에는 37°C의 water bath에서 보관중이던 LB medium(10g of NaCl, 10g of Tryptone, 5g of Yeast extract, add water to 1L) 950 $\mu$ L의 unicut plasmid에 의해 형질전환된 cell을 포함한 tube에서 900 $\mu$ L LB medium을 clean bench에서 첨가한 후 37°C water bath에서 1시간 30분간 150rpm의 속도로 배양하였다. LB/ampicillin/IPTG(1M)/X-gal에 각각의 형질전환된 세포 배양액을 200 $\mu$ L씩 도말한 후 37°C incubator에서 overnight(16-24시간) 배양하였다.

#### 사. RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)

추출된 포자와 뿌리 속의 내생균근의 DNA를 구분하는 기준으로 AluI과 Hinfl Enzymes를 사용하였다. 포자는 PCR반응물(8 $\mu$ L)을 곧바로 RFLP에 사용하였으며 뿌리는 insert가 확인된 plasmids를 1ng/ $\mu$ L로 회석하고 AM1과 ns31 primer를 이용하여 PCR한 후 RFLP에 사용하였다. AluI enzyme의 처리는 PCR반응물 8 $\mu$ L, enzyme 1 $\mu$ L(2u/ $\mu$ L), 10x buffer 2 $\mu$ L, sterile, deionized water 9 $\mu$ L를 넣은 후 37°C incubator에서 2시간 동안 반응시켰고, Hinfl의 처리는 PCR 반응물 8 $\mu$ L, enzyme 0.1 $\mu$ L(20u/ $\mu$ L), 10x buffer 2 $\mu$ L sterile, deionized water 9 $\mu$ L 넣어 총 부피를 20 $\mu$ L로 한 후 37°C incubator에서 2시간 동안 반응시켰다. 반응물은 3% agarose gel에서 30분간 전기영동하여 EtBr 용액에 염색한 후 UV transilluminator에서 밴드 패턴을 확인하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 포도원 토양분석

실험을 수행한 포도원의 토양 분석 결과는 표 2와

같다. pH와 유기물함량은 대개 적정 범위 내에 있었다. 토양 pH는 유기재배에서 가장 높아(7.01) 중성을 나타내었으며, 무농약재배에서도 6.71로 우리나라 평균치보다 높았으나, 일반재배에서는 6.25로 조금 낮았는데, 그중 한 포도원은 4.57의 높은 산도를 보였다. 재배형태별로 pH에 차이가 있었으나 적정 범위 내에 있고, 또 우리나라 대부분 토양보다 높았던 것은 어느 재배형태든 독농가급 포도원을 선정했기 때문으로 생각된다. 미국 동부의 300개 'Concord' 포도원에 대한 pH 조사에서 대부분이 5.8 이하였는데, 낮은 pH 조건에서는 수체, 특히 지상부의 생장이 크게 위축된다(Bates 등, 2002). 유기물함량은 재배양식보다는 포도원간 변이가 커서, 유기재배농가 중에서도 유기물 함량이 1.10%에 불과한 경우도 있는 반면 일반재배 농가 중에서도 3.71%로 전체 조사 포도원 중 가장 높았던 경우도 있었다. 전반적으로는 유기재배(2.30%)가 무농약(1.57%)이나 일반재배(2.03%)보다 유기물함량이 많았다.

전질소와 질산태질소 및 인함량은 포도원간 변이가 커서 재배양식별 경향은 나타나지 않았다. 치환성 K는 유기재배(0.93cmol+/kg)가 무농약재배(0.49cmol+/kg)나 일반재배(0.55cmol+/kg)보다 높았으며, 치환성 Ca는 유기재배(6.81cmol+/kg)와 무농약재배(7.92cmol+/kg)가 일반재배(3.82cmol+/kg)보다 높았다. 치환성 Mg는 유기재배에서 2.00cmol+/kg으로 가장 높았고, 무농약재배에서 1.67cmol+/kg이었으며, 일반재배에서는 1.38cmol+/kg로 가장 낮았다. 전반적으로 볼 때, 유기재배 및 무농약재배에서 치환성 양이 온(K, Ca, Mg)의 함량이 높았다.

#### 2. 식물체 분석

##### 가. 잎

재배방법별 실험 포도원 포도의 잎내 무기물함량은 표 3과 같다. 잎내 무기물 함량도 토양과 마찬가지로 포도원간 변이가 컸으며 재배방법별 일정한 경향은 보이지 않았는데, 미국의 무기물함량기준(Pool, 2003) 및 몇몇 실험결과(Candolfi-Vasconcelos 등, 1996; Angyal 등, 2002)와 비교했을 때 적정범위를

나타냈으나, 유기재배 포도원의 Mg함량은 조금 낮은 경향을 나타내었다. 인(P)함량은 재배형태와 포도원에 관계없이 모두 적정 함량을 훨씬 초과하였는데, 우리나라 재배토양에서 인함량이 많다는 것은 이미 잘 알려져 있다. 또 한가지 전반적인 과잉현상을 보인 성분은 구리(Cu)였는데, 평균적으로 적정 범위의 수배 내지 수십배의 함량을 나타내었다. 유기재배에서 무농약, 일반재배로 갈수록 망간(Mn)함량이 높았는데, 일반재배의 함량은 적정 범위를 초과하였다.

#### 나. 가지

가지의 무기물함량도 토양과 마찬가지로 포도원간 차이가 컸으며, 잎에서와 같이 일정한 경향을 보이지 않았으나, 일반적으로 유기재배 및 무농약재배에서 Ca 함량이 많은 경향을 보였고, 잎에서와 같이 유기재배에서 무농약, 일반재배로 갈수록 망간 함량이 높았다(표 4).

토양 pH가 낮은 산성 토양에서는 Mn의 흡수가 활성화되는데, 이로 인한 과잉장애가 우리나라에서 문제가 되고 있다(김 등, 1996). 일반적으로 균근은 N, K, Ca, Mg의 흡수를 조장하는데(Biricolti *et al.*, 1997; Karagiannidis *et al.*, 1995), 본 연구에서도 뚜렷하지는 않았으나 비슷한 경향을 보였다.

### 3. 균근의 동정

#### 가. 균균의 감염률

##### 1) 감염률

내생균근(Arbuscular Mycorrhizae)은 식물의 공생균으로 식물의 무기 영양소인 인산을 공급하여, 식물과 토양에서 영양원을 공급하는 유일한 공생체이다. 다른 난 균근과 진달래 및 콩과의 균근은 식물 뿌리에 공생하여 질소원을 공급함으로 식물들이 살아가는

표 2. 재배방법별 실험 포도원 토양의 화학성

포도원 코드	재배방법	pH (1:5)	전기전도도 dS/m	유기물 %	전질소 g/kg	질산태질소 mg/kg	인 mg/kg	치환성 K	치환성 Ca	치환성 Mg
								-----cmol + /kg-----	-----cmol + /kg-----	-----cmol + /kg-----
AS 1	유기	6.50	1.47	0.59	0.40	31.97	311.00	0.86	3.35	0.84
AS 2	유기	7.60	1.80	1.10	0.66	41.90	489.67	0.68	6.57	1.46
DJ 1	유기	7.23	0.57	3.34	1.87	20.23	1117.33	1.73	8.18	2.85
JUS 1	유기	6.87	0.23	1.75	1.02	7.87	632.33	0.26	4.08	1.28
KC 1	유기	6.53	0.59	2.19	1.28	96.47	914.00	0.80	8.87	2.26
KHW 1	유기	7.33	1.80	4.81	2.49	33.00	1513.33	1.23	9.82	3.33
<b>평균</b>		7.01	1.08	2.30	1.29	38.57	829.61	0.93	6.81	2.00
CJ 1	무농약	6.80	3.27	1.19	1.12	200.17	708.00	0.32	9.05	2.30
CJ 3	무농약	6.57	0.32	1.78	1.15	10.33	911.67	0.70	6.57	0.90
SJ 1	무농약	6.77	0.90	1.74	1.03	47.83	677.33	0.44	8.13	1.81
<b>평균</b>		6.71	1.50	1.57	1.10	86.11	765.67	0.49	7.92	1.67
AS 3	일반	7.30	0.34	1.63	0.95	6.87	792.67	0.39	4.18	2.00
CJ 2	일반	5.97	0.29	1.92	1.19	9.33	1204.33	0.73	4.45	1.02
DJ 2	일반	4.57	0.21	1.43	0.81	4.60	1297.00	0.38	1.04	0.51
JUS 2	일반	6.20	0.17	1.49	0.88	6.00	774.67	0.95	4.75	1.41
KC 2	일반	6.83	0.83	1.99	1.23	11.30	859.33	0.34	3.86	1.62
KHW 2	일반	6.63	0.89	3.71	2.01	84.97	857.33	0.50	4.64	1.73
<b>평균</b>		6.25	0.46	2.03	1.18	20.51	964.22	0.55	3.82	1.38

표 3. 재배방법별 지역별 포도의 염내 무기물 함량

포도원 코드	재배방법	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Cu (ppm)	Mn (ppm)
AS 1	유기	2.15bc	0.86d	1.61c	1.20def	0.22f	49.90e	947.83e
AS 2	유기	1.88e	0.66f	1.47def	1.29def	0.23ef	42.83efg	975.83e
DJ 1	유기	2.10bcd	1.41b	1.41ef	1.07fg	0.33c	266.00s	191.17ij
JUS 1	유기	2.10bcd	0.63f	1.36f	0.94g	0.12h	27.50fg	218.83ij
KC 1	유기	2.18b	0.52g	1.64c	1.25def	0.21f	200.67c	235.17i
KHW 1	유기	2.41a	0.84d	1.49de	1.43cd	0.22f	26.67fg	78.00k
평균		2.14	0.82	1.50	1.20	0.22	102.26	441.14
CJ 1	무농약	1.74f	0.22i	0.98h	1.73ab	0.70a	46.17ef	792.17f
CJ 3	무농약	2.03cd	0.51g	1.41ef	1.54bc	0.12h	42.83efg	315.67h
SJ 1	무농약	2.05cd	0.52g	1.83b	1.38cd	0.21f	1641.33a	768.67fg
평균		1.94	0.42	1.41	1.55	0.34	576.78	625.50
AS 3	일반	1.62g	1.00c	1.48def	1.04fg	0.24ef	89.67d	153.50j
CJ 2	일반	1.99d	0.40h	1.37f	1.36cde	0.12h	38.17efg	701.83g
DJ 2	일반	2.12bc	0.76e	1.58cd	1.19def	0.27de	40.33efg	3294.17a
JUS 2	일반	1.79ef	0.65f	2.10a	1.28def	0.30cd	23.50g	1937.33c
KC 2	일반	2.03cd	2.78a	0.20g	1.85a	0.61b	40.17efg	1320.00d
KHW 2	일반	2.36a	1.01c	2.14a	1.13efg	0.17g	27.50fg	2652.00b
평균		1.99	1.10	1.48	1.31	0.28	43.22	1,676.47

표 4. 재배방법별 지역별 포도 가지의 염내 무기물 함량

포도원 코드	재배방법	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Cu (ppm)	Mn (ppm)
AS 1	유기	0.74d	0.38def	1.32d	0.69bc	0.13bc	90.17a	207.33c
AS 2	유기	0.61f	0.40d	1.41cd	0.57bc	0.13bc	47.17c	90.67g
DJ 1	유기	0.80ab	0.34fg	1.36cd	0.55bc	0.12bc	29.50efg	50.67j
JUS 1	유기	0.58g	0.25h	1.39cd	0.46c	0.10bc	30.17efg	76.17gh
KC 1	유기	0.76c	0.39de	1.86a	0.88ab	0.11bc	42.33cd	58.33ij
KHW 1	유기	0.78bc	0.79a	1.56bc	0.55bc	0.17b	26.17efg	68.17hi
평균		0.71	0.42	1.48	0.62	0.13	44.25	91.89
CJ 1	무농약	0.57g	0.25h	1.27d	0.39c	0.09bc	34.67cde	79.83gh
CJ 3	무농약	0.65e	0.36defg	1.36cd	0.46c	0.07c	38.17cde	78.00gh
SJ 1	무농약	0.66e	0.25h	1.48bcd	1.12a	0.28a	69.50b	187.50d
평균		0.63	0.29	1.37	0.66	0.15	47.45	115.11
AS 3	일반	0.64e	0.34efg	1.39cd	0.52c	0.12bc	38.83cde	73.17hi
CJ 2	일반	0.65e	0.25h	1.41cd	0.68bc	0.11bc	42.17cd	138.83e
DJ 2	일반	0.78c	0.34fg	1.37cd	0.39c	0.10bc	15.17g	443.67a
JUS 2	일반	0.61f	0.32g	1.37cd	0.40c	0.06c	31.50de	195.17cd
KC 2	일반	0.74d	0.45c	1.66b	0.60bc	0.17b	25.83efg	114.83f
KHW 2	일반	0.82a	0.57b	1.44cd	0.52c	0.09bc	16.83fg	310.50b
평균		0.71	0.38	1.44	0.52	0.11	28.39	212.69

영양원을 공급하는 것으로 나타났다. 식물의 종류와 공생체의 종류에 따라서 다르지만, 토양 속에 인산 공급은 주로 내생균근에 의하여 일차적으로 일어나는 것이 최근 연구의 결과이다. 즉 콩과식물의 경우는 일반적으로 질소고정을 하는 것으로 보고되고 있지만, 질소 고정에 앞서 우선적으로 내생균근을 형성하여, 인산 고정을 한 후에 질소 고정을 하는 것으로 보고되고 있다. 이러한 면에서 토양 속에서 식물의 성장에 관련되는 무기 영양원은 다른 미생물과 공생하여 식물들이 하는 것으로 생각하여, 여기서는 중요한 내생균근을 조사하였다. 표 5는 재배방법별 지역별 포도 뿌리의 내생균근 감염률을 나타낸 것이다.

내생균근의 감염도는 유기농법에서 가장 높았고, 일반 재배 및 무농약 재배에서는 거의 비슷한 값을 나타내었다. 유기농법은 화학비료를 사용하지 않고 퇴비나 유기물만으로 재배하는 친환경농법으로, 최근 확산 일로에 있다. 내생균근의 감염은 상한 정도 감염되었으나, 통계적 유의성은 없었다(표 6).

표 5. 재배방법별 지역별 포도 뿌리의 균근균 감염률(%)

포도원 코드	재배방법	1차 검경	2차 검경	3차 검경	평균
AS 1	유기	36.0	33.0	26.3	31.8
AS 2	유기	33.3	30.6	26.0	30.0
DJ 1	유기	26.6	28.6	25.3	26.8
JUS 1	유기	42.0	50.3	54.7	49.0
KC 1	유기	21.0	23.0	11.3	18.4
KHW 1	유기	43.0	42.0	44.7	43.2
<b>평균</b>					33.2
CJ 1	무농약	23.0	26.3	21.0	23.4
CJ 3	무농약	34.0	34.0	32.6	33.5
SJ 1	무농약	22.6	24.0	24.6	23.8
<b>평균</b>					26.9
AS 3	일반	57.0	54.0	43.7	51.6
CJ 2	일반	28.3	22.3	28.3	26.3
DJ 2	일반	22.0	30.7	19.7	24.1
JUS 2	일반	26.6	21.0	26.0	24.4
KC 2	일반	15.7	13.7	15.7	15.0
KHW 2	일반	17.7	13.0	16.0	15.6
<b>평균</b>					26.2

표 6. 재배방법별 지역별 포도 뿌리의 내생균근 감염도, 포자수 및 포자의 속과의 관계

재배방법	감염도 (%)	포자수/토양	
		20g	20g
유기	33.2az	12.67b	2.6b
무농약	26.9a	3.47a	1.6a
일반	26.2a	2.27a	1.4a

<sup>a</sup>95% 신뢰도에서 유의성 있음(n=15).

여기서 나온 자료의 분석에서는 내생균근에서 균체의 뿌리 감염도를 언급하는 것으로 식물의 병원균과 내생균근은 현미경 상으로 동일하게 보이고, 또한 분자생물학적인 PCR 기술과 개발된 primer로 측정한 결과 동일하게 나왔다. 그러나 PCR과 primer 분석으로 관찰하였을 때, primer 사용시는 내생균근이 각 처리에서 많이 관찰되었다. 그러나, primer와 PCR 반응을 보았고, 이들의 band를 분자생물학적인 방법으로 cloning하여 DNA sequence를 확인한 결과 식물 병원균인 Rhizoctonia(뿌리썩음병; Damping off)로 나타났다. 즉 일반 재배 포도원에서는 모두가 식물 병원균인 Rhizoctonia로 나타났고, 유기 농법에서는 한두개가 AM균인 것을 확인하였다. 즉, 내생균근으로 현미경 관찰된 모든 뿌리가 식물뿌리병원균인 Rhizoctonia에 감염된 상태로 관찰되었다.

## 2) 포자수

식물의 뿌리에서 내생균근은 식물의 뿌리와 감염된 균사가 서로 엉켜서 만들어진 식물 조직을 말하고, 엄밀히 말하자면 내생균근의 균사가 식물 뿌리 속에 공생하여 형성된 특수한 구조를 일반적인 식물의 뿌리 속에는 없는 것을 말한다. 포도 재배방법과 내생균근의 포자의 수는 위의 표 6과 비슷한 결과를 나타낸다고 생각되나, 포자 수의 측정은 이러한 것을 파악함으로 내생균근의 성격과 내생균근의 포자와 식물의 상장에 미치는 내생균근의 효과를 파악하기 위함이다.

우선, 일반 재배와 무농약 재배에서는 포자수가 유기농법보다 상당히 적고, 통계 처리 결과 유의성을 나타내었다. 이러한 것은 뿌리 속에 감염된 내생균근

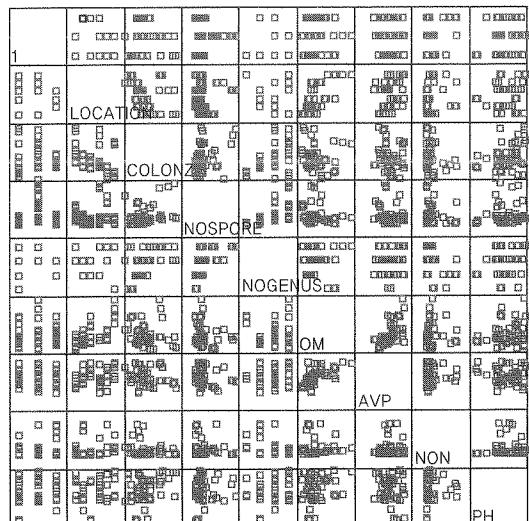
의 차이점을 나타내는 것으로 생각된다. 유기 농법에서는 많은 포자 즉 5-6 배의 포자수를 보이는 것은 비록 표 6에서 보이는 감염도는 비슷하지만, 내용적인 면에서는 상당히 다른 결과를 얻었다. 현미경으로 관찰된 감염도는 병원균과 공생균인 AM균의 감염도가 구별할 수가 없는 것을 보이고, 이는 나중에 분자 생물학적인 방법을 통하여서도 관찰된 것으로 새롭게 확인되었다. 이 자료는 일단 포도 재배지의 토양에서는 유기농법은 다른 재배법과 비교하여 많은 포자수를 가지고 있기 때문에 다른 형태의 형상이 토양 속에서 일어나는 것을 관찰할 수가 있다.

### 3) 포자 종수

내생균근 포자는 재배방법에 따라 다르게 나타났다(표 6). 우선, 전형적인 Glomus속만 확인되었고, 콩과 식물에서 관찰되는 Gigaspora 혹은 Scutellospora는 관찰되지 않았다. 비록 내생균근에 대한 상세한 동정은 하지 않았으나, 일반적으로 Glomus속만 관찰되고, 가끔은 Acaulospora속의 균들이 관찰되었다. 이러한 것은 식물에 따른 내생균근의 속의 종류로 다른 식물에서 관찰되는 내용과 동일한 것이다. 여기서 나온 자료는 농법에 따른 내생생균의 속의 종류가 다르고, 그 수가 다른 것이 통계처리 결과 나타났다. 이러한 것은 일반 재배와 무농약 재배와는 유기 농법이 다른 것을 알 수 있다. 비록 방법과 토양 속의 무기물의 차이점을 배제한 결과에서, 토양 속의 내생균근의 활력을 관찰한 결과에서 보여준 것과 같다.

여기서 나온 자료는 거의 표 6의 포도원 토양 속의 내생균근의 포자수와 일치되는 결과로, 속의 수도 동일한 결과로 반복의 의미가 있다. 중요한 것은 포도의 재배에서 토양의 차이 혹은 농법의 차이점에서 유기 농법은 다른 어떤 재배 방법보다는 다른 것이 나타났다. 최소한 토양 속에 인산과 관련된 내생균근의 활력에서 포자의 수와 속의 차이점에서 보여준 것은 완전히 다른 것을 보여준 것으로, 유기농법은 포도 재배에 중요하고 내생균근의 활력을 다르게 해주는 무엇이 있는 것으로 보인다. 이러한 결과로 포도 생산에 관련된 유기농법은 아직 포도 생산과 관련되어 무엇이라 단정지울 수는 없어도, 토양과 인산

흡수에 관련된 것은 다른 재배법과는 비교되고, 또한 내생균근의 포자의 활력과 관련되는 것으로 보인다.



**그림 1.** 포도의 재배방법(일반, 유기, 무농약재배)과 다른 내생균근의 감염도, 토양 속의 내생균근의 포자 및 속의 수, 인산, 질소 및 유기물(OM)과 pH의 상관관계. 지역(Location)과 내생균근의 감염도( $R = -0.300$ )와 유기물(OM:  $R = .660$ ) 및 인산농도( $R = .308$ )와 상관관계가 있음. 내생균근의 감염도는 내생균근의 포자의 수( $R = .355$ )와 내생균근의 속의 수( $R = .471$ )와 상관관계가 있음. 유기물(OM)은 지역(Location:  $R = .666$ )과 인산농도(AVP:  $R = .585$ )와 상관관계가 있음. 질소함량(NON)은 내생균근의 속의 수(nogenerus:  $R = -.335$ )와 상관관계가 있음. pH(PH)는 내생균근의 감염도(COLONZ:  $R = .330$ )와 상관관계가 있음

포도 재배지에서 3가지 처리로 일반, 유기, 무농약 처리를 수행한 것과 이곳에 나온 생물학적인 자료인 내생균근의 감염도 및 포자 수와 다른 물리화학적인 토양 분석을 비교한 것이다. 우선적으로 물리적인 자료인 지역에 대한 차이점이 많이 나타나고, 이는 물리화학적인 자료인 유기물(OM)과 인산의 농도(AVP)와 큰 관련성이 있게 나타났다. 즉 다른 말로 농법의 처리보다는 다른 지역적인 차이점이 크며, 이는 물리화학적인 자료(OM, 인산, 질소 성분, pH)를 변형시켜서, 다른 토양 환경과 식물의 성장에 영향력을 줄 것

이라는 예측을 할 수가 있다. 토양적인 환경에서 뿌리에 영향력을 주는 내생균근의 감염도는 물리적인 환경에 더욱 지배받고, 농법의 처리에는 관련성이 없다는 것이다. 이러한 것은 농약 혹은 거름의 사용으로 유기물의 침가보다는 토양에서 지역적인 환경에 의존하여 토양이 형성되는 것으로 나타났고, 이는 어떤 처리보다 더욱 효과적인 내용으로 판단된다.

우선, 토양 속의 내생균군의 형성은 지역(Location)과 관련되는 것으로 역 상관관계를 나타내고 있다. 이러한 것은 지역의 물리화학적인 인산 농도와 관련되는 것으로도 나타났다. 인산은 일반적으로 내생균군의 감염도를 떨어뜨리는 것으로 역 상관관계를 나타내는 것으로 보고되고 있다. 또한 감염도는 토양의 pH와 정 상관관계를 나타내고 있어 물리적인 토양 환경과 많은 관련성이 있는 것으로 나타났다. 이러한 것을 볼 때, 지역과 내생균군의 감염도는 내생균군과 관련이 있는 것인지는 판단할 수가 없었다. 여기서, 토양 속에 있는 내생균군의 포자의 수는 내생균군의 감염도와 포자의 속과 관련이 있고, 다른 물리적인 자료와는 관련성이 없었다. 포자의 속의 경우는 뿐만 아니라 내생균군과 같은 생물학적 특성으로는 관계가 없었지만, 토양 환경과는密切한 상관관계를 나타내고 있었다.

의 내생균군의 감염도와 포자 수와는 정상관관계가 있고, 질소 함량(NON)과는 역 상관관계가 있었다.

이러한 자료는 우리가 연구하는 내생균과 자료를 분석하여 볼 때에 내생균의 토양 관련과 포도 재배에서 관련성이 없는 것으로 나타났다. 이는 최소한 유기농법과 무농약 처리는 서로간의 어떤 의미와 상관 관련성이 없지만, 3개의 처리 방법이 포도 생산에 관련성이 있는지는 알 수 없지만, 내생균의 감염도 혹은 포자의 수와는 관련이 없는 것으로 보이고, 이는 나중의 실험인 분자생물학적인 실험 내용에서 상세하게 다루었다. 유기물(OM), 인산과 질소, pH의 자료는 일반적인 물리적인 자료로 3가지의 농법처리에는 큰 차이점을 나타내지 않았고, 지역적인 면에서 차이점을 나타내었다.

#### 4) 내생균군 포자의 플로라

포도 재배지와 재배방법에 따른 내생균군 포자의  
플로라는 표 7과 같다. 유기재배에서 포자수와 종수  
가 많아서 다양성이 높음을 알 수 있었다. 반면, 일반  
재배에서는 다양성이 낮았다.

표 7. 포도 재배지와 재배방법에 따른 내생균군 포자의 플로라

내생균은 우리나라에서도 원예식물을 위시한 광범위한 식물에서 관찰되었으나(김과 이, 1984; 김과 구, 1986; 이 등, 1991), 과수, 특히 포도에 관한 연구는 없다. 기주식물과 균근 종류의 조합이 원예식물에 대한 AMF 접종에 중요한 요인인가 때문에(Kim et al., 2000), 향후 조절된 환경에서의 다양한 균근 종류를 이용한 연구가 친환경적 포도재배법의 확립을 위해 필요하다고 판단된다.

#### 나. 포도 균근의 sequencing

Cloning 후 RFLP 결과 크게 4개의 그룹으로 구분되었다. Sequencing은 유전체(주)에 의뢰하였고, 그 결과 2번(KC-II, 일반재배, 16개의 colony를 얻음)에서는 *Rhizoctonia* sp.가 검출되었고, 10번(CJ-I, 무농약재배, 14개의 colony를 얻음)에서는 포도나무의 DNA와 *Gigaspora gigantean*(공생균)이 검출되었으며, 3가지 효소 AluI, Hinfl, K2091에 나타났다.

#### 2-1: 787 letters

>gi|1377810|dbj|D85646.1|RHZSN2R *Rhizoctonia* sp.

AG-A gene for 18S ribosomal RNA

Length = 1766

Score = 1039 bits(524), Expect = 0.0

Identities = 656/696(94%), Gaps = 3/696(0%)

Strand = Plus / Plus

#### 10-1: 788 letters

>gi|7595573|gb|AF207053.1| *Vitis* sp. Soltis and Soltis

2519 18S ribosomal RNA gene, complete sequence

Length = 1738

Score = 605 bits(305), Expect = e-170

Identities = 317/321(98%)

Strand = Plus / Plus.

#### 10-2: 788 letters

>gi|2742|emb|Z14010.1| GGRDNASS *Gigaspora*

gigantea rDNA for small subunit rRNA

Length = 1680

Score = 1411 bits(712), Expect = 0.0

Identities = 770/788(97%), Gaps = 1/788(0%)

Strand = Plus / Plus

#### 10-3: 787 letters

>gi|7595573|gb|AF207053.1| *Vitis* sp. Soltis and Soltis

2519 18S ribosomal RNA gene, complete sequence

Length = 1738

Score = 1513 bits(763), Expect = 0.0

Identities = 781/787(99%)

Strand = Plus / Plus

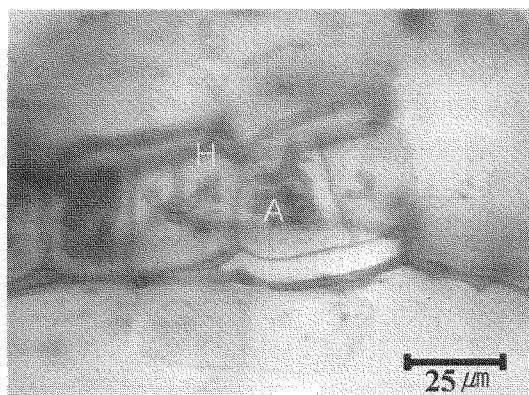
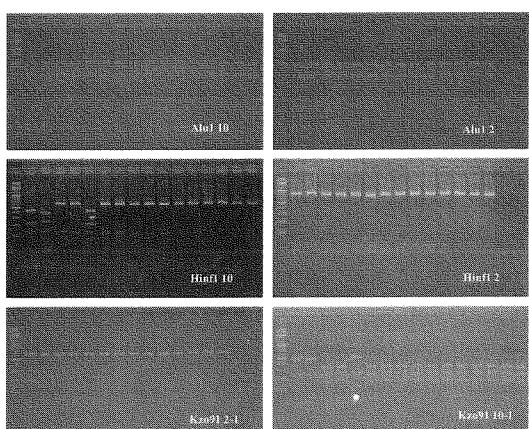


그림 2. 포도 뿌리에서 내생균의 형성

H=균사(hyphae), A=소포(arbuscules)



이 RFLP 및 sequencing 결과는 현재 외국에서 발표된 동종 및 균사종 결과와 국내에서 발표된 균사종 결과와 비교확인 작업중이다.

#### IV. 결론

친환경적 유기농 포도재배에 있어서 기본적인 기준은 있으나, 이를 실제로 적용하는 데는 재배가에 따라 많은 차이가 있고, 일반 재배를 하는 재배가도 유기물을 많이 사용하는 경우도 있어, 분석치만 가지고 결론을 내리기가 매우 어렵다. 따라서 pH와 유기물 함량은 대개 정정 범위 내에 있었으며, 포도원간 차이가 커거나 일반적으로 유기재배 및 무농약재배에서 치환성 양이온(K, Ca, Mg)의 함량이 많았고 토양 pH 가 높은 등 일반적으로 유기재배가 유리했으나, 유기 재배의 가능성은 내생균근의 감염도, 포자수, 포자 종 수의 증가 외에도 아직 밝혀지지 않았지만 분명히 있을 것으로 보이는 잠재성 때문에, 추후 조절된 환경에서 다양한 균근을 이용하여 심도있게 연구하여 친환경적 포도재배법의 기초를 확립할 필요가 있다.

#### 인용 문헌

- Ahn, T.K., Lee M.W., Ka, K.H., Lee, S.S., 1992. V-Arbuscular mycorrhizal spores found form the soils of the leguminous plants in Korea. Korean J. Mycol. 20:95-108.
- Ahn, T.K., Lee, M.W., Lee, S.S., 1992. Ecological study on arbuscular mycorrhizal fungi in the soils around leguminous plants in Korea. Korean J. Mycol. 20:204-215.
- Angyal, M., Lehoczky, E., Kocsis, L., 2002. Examination of the nutrient uptake by the view of grapevines rootstock-scion interaction. Acta Biologica Szegediensis 46(3-4):189-190.
- Bates, T.R., Dunst, R.M., Taft, T., Vercant, M., 2002. The vegetative response of 'Concord' grapevines to soil pH. HortScience 37(6):890-893.
- Bi, Y.L., Li, X.L., Christie, P., Hu, Z.Q., 2003. Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash. Chemosphere 50:863-869.
- Biricolti, S., Ferrini, F., Rinaldelli, E., Tamantini, I., Vignozzi, N., 1997. VAM fungi and soil lime content influence rootstock growth and nutrient content. Am. J. Enol. Vitic. 48(1):93-99.
- Blunden, G., Wildgoose, P.B., Nicholson, F.E., 1979. The effects of aqueous seaweed extract on sugar beet. Botanica Mar. 22:539-541.
- Candolfi-Vasconcelos, M.C., Castagnoli, S., Baham, J., 1996. Choosing rootstocks for Oregon: nutrient uptake efficiency. Proc. Amer. Soc. Enol. Vitic. NW chapter 7 th; annual Meeting, Coeur d' Alene, June 16-18, 1996.
- Eom, A.H., Lee, S.K., Lee, S.S., 1992. Five sporocarpic species of *Glomus* found in Korea. Korean J. Mycol. 20:85-94.
- Gerdemann, J.W., 1964. The effect of mycorrhizas on the growth of Maize. Mycologia 56:342-349.
- Gupta, M.L., Janardhanan, K.K., 1991. Mycorrhizal association of *Glomus aggregatum* with *palmarosa* enhances growth and biomass. Plant and Soil 131:261-263.
- Han, S.H., Lee, K.J., Hyun, J.O., 2001. A study on the Cd accumulation and tolerance of *Pisolithus Tinctorius* in vitro. Jour. Kor. For. Soc. 90(1):83-89.
- Harrison, M.J., 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annu. Rev. Phytopathol. 34:367-386.
- Hattingh, M.J., JW, Gerdeman, J.W., 1975. Inoculation of Brazilian sour orange with endomycorrhizal fungus. Phytopathol. 65:1013-1016.
- Hodge, A., 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. FEMS Microbiology Ecology 32:91-96.
- Ishii, T., Aikawa, J., Naoki, N., Sano, K., 2000. Effect of citrus juice pomace extracts on in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their in vitro infections of citrus Roots. J. Japan. Soc. Hort. Sci 69(1):9-14.

17. Jensen, A.H., 1982. Influence of four vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and growth in barley. *New Phytology* 90:45-50.
18. Ka, G.H., Lee, S.S., Lee, M.W., 1990. Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi found from the soils of Plant communities. *Korean J. Mycol.* 18:191-197.
19. Karagiannidis, N., Nikolaou, N., 2000. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Pb and Cd) uptake, growth, and chemical composition of *Vitis vinifera* L. (cv. Rozaki). *Am. J. Enol. Vitic.* 51:269-275.
20. Karagiannidis, N., Nikolaou, N., Matheou A 1995. Wirkung dreier VA-Mykorrhizapilze auf Ertrag und Nährstoffaufnahme von drei Unterlagen und einer Tafeltraubensorte. *Vitis* 34:85-89.
21. 김종천 외. 1996. 과수원예총론. 4정판. 향문사. p. 264-265.
22. Kim, M.H., Lee, S.W., 1985. Effect of ectomycorrhizae and soil condition on growth of *Pinus rigida* seedlings. *Jour. Kor. For. Soc.* 70:45-54.
23. Kim, Y., Eom, A.H., Tae, M.S., Lee, S.S., 2000. The observation of arbuscular mycorrhizal roots in horticultural plants. *Jour. Kor. For. Soc.* 28(3):115-118.
24. Kim, Y., Eom, A.H., Tae, M.S., Lee, S.S., 2000. The observation of arbuscular mycorrhizal roots in horticultural plants. *Mycobiology* 28(3):115-118.
25. 구창덕, 가강현, 이창근 1995. Inoculation effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi differed depending on the fungal species and soil condition. *한국균학회지*. 56:58.
26. Kuwada, K., Ishii, T., Matsushita, I., Matsumoto I 1999. Effect seaweed extracts on hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and their infectivity on trifoliate orange roots. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68(2):321-326.
27. Kwon, J.S., Suh, J.S., Weon, H.Y., 1998. Effect of salt-induced stress on the fluctuation and rhizosphere colonization of soil microorganisms. *한토비지* 31(3):291-300.
28. Lee, K.J., 1982. Application of mycorrhizal research to agriculture. *Kor. J. Mycol.* 10(1):42-43.
29. Lee, K.J., 1988. Growth stimulation of *Alnus firma* and *Robinia pseudoacacia* by dual inoculation with VA mycorrhizal fungi and nirtogen-fixing bacteria and their synergistic effect. *Jour. Kor. For. Soc.* 77(2):229-234.
30. 이석구, 엄안홍, 이상선. 1992. 환경변화에 따른 내생균군 포자증식의 변화. *한국균학회지* 20(2):134-143.
31. 이상선, 엄안홍, 이석구. 1994. 식물뿌리에서 Arbuscular 내생균군 군의 성장에 작용하는 요인들. *한국균학회지* 22(2):160-171.
32. 이상선, 엄안홍, 이석구. 1994. 화학비료를 사용 한 Arbuscular 내생균군 군의 포자증식에 관한 연구. *한국균학회지* 22(2):172-183.
33. 이상선, 엄안홍, 이운학, 김명곤. 1993. Arbuscular 내생균군 군의 포트배양에 관한 연구. *Kor. J. Mycol.* 21:38-50.
34. 이상선, 가강현, 이석구, 백기엽. 1991. 원예식물 및 재배식물에서 발견된 내생균. *한국균학회지* 19:186-202.
35. Lee, S.S., Lee, K.H., 1992. Identifications and taxonomic groupings of rhizobial species isolated from leguminous plants in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 8:195-203.
36. Lee, S.S., Lee, K.H., 1992. Interactions between legume plants and Korean native rhizobial isolates. *Korean J. Plant Pathol.* 8:254-263.
37. 이상선, 이준기, 이정우, 박소영, 백기엽. 2001. 공생균이 동양란 관음소심과 사계란의 유묘 생장에 미치는 영향. *한원지* 42:223-226.
38. 이상선, 류창년. 1992. 식물뿌리에 내생균군의 공생. *한국균학회지* 20(2):126-133
39. Lindemann, R.G., 1988. Mycorrhizal interactions with

- the rhizosphere microflora: The mycorrhizosphere effect. The American Phytopathological Society 78(3):366-371.
40. Lindemann, R.G., 1988. VA (vesicular-arbuscular) mycorrhizal symbiosis. Plant & Animals 1:183-188.
41. Marx, D.H., 1982. Mycorrhizae in interactions with other microorganisms. B. Ectomycorrhizae, p 225-228 in N, C Schenck (ed.). Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul, Minnesota, 244p.
42. Mohammad, M.J., Hamad, S.R., Malkawi HI 2002. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. Journal of Arid Environment 10:1006-1046.
43. Monticelli, S., Puppi, G., Damiano, C., 2000. Effect of in vivo mycorrhization on micropaginated fruit tree rootstocks. Applied Soil Ecology 15:105-111.
44. NIAST. 1988. Methods for chemical analysis of soil. National Institute of Agricultural Science and Technology.
45. Oh, K.I., Park, W.S., 1990. The effects of soil mixtures, nitrogen levels and ectomycorrhizal inoculation on formation of mycorrhizae and growth of two-year-old black pine seedlings. Jour. Kor. For. Soc. 70(3):309-315.
46. Park, K.H., Kang, S.H., Kim, D.Y., 1984. Gibberellin-like activities produced by mycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius*. J. Kor. Agricultural Chemical Soc. 27(91):40-44.
47. Pool, R.M., 2003. Soil pH and mineral nutrition of *Vitis vinifera* varieties. Cornell Viticulture.
48. Rutto, K.L., Ishii, T., Cruz, A.F., 1999. Effect of lipids on *in vitro* hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 68(2):113-114.
49. Schenck, N.C., 1981. Relationship of mycorrhizal fungi to other microorganisms in the root and rhizosphere. New Jersey Agri. Exp. St. Res. Rep. No. 04400-01-81. 37p.
50. Schenck, N.C., Kinloch, R.A., 1980. Incidence of mycorrhizal fungi to other six field crops in monoculture on a newly cleared woodland site. Mycologia 72:445-456.
51. Schweiger, P.F., Spliid, N.H., Jakobsen, I., 2001. Fungicide application and phosphorus uptake of arbuscular mycorrhizal fungi into field-grown peas. Soil biology & Biochemistry 33:1231-1237.
52. Shrestha, Y.H., Ishii, T., Kadoya, K., 1995. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, photosynthesis, transpiration and the distribution of photosynthates of bearing satsuma mandarin trees. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 64:517-525.
53. Sohn, B.K., Huh, S.M., Kim, K.Y., Kim, Y.W., 2000. Effect of VA mycorrhizal fungi on alleviation of salt injury in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). 한토비지 33(6):482-492.
54. Yang, W.Q., Goulart, B.L., 2000. Mycorrhizal infection reduces short-term aluminum uptake and increases root cation exchange capacity of highbush blueberry plants. HortScience 35:1083-1086.