서울大學校 樹木園 硏究報告 18 : 72-86(1988)
Bull. of Seoul Nat'l Univ. Arboretum 18 : 72-86(1998)

器內에서 4種 外生菌根菌의 Cu, Zn, Pb에 의한 生長 沮害와 耐性

李景俊, 韓心熙, 曺德鉉, 尹碩鏞
서울大學校 農業生命科學大學 山林資源學科

Growth Reduction and Tolerance of Four Ectomycorrhizal Fungi against Cu, Zn and Pb *in Vitro*

Kyung Joon Lee, Sim Hee Han, Duck Hyun Cho, and Seok Yong Yoon
Department of Forest Resources, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

Summary

The objective of this study was to test the *in vitro* tolerance of ectomycorrhizal fungi against heavy metals commonly found in mine area. Mycelia of *Pisolithus tinctorius* (Pt), *Laccaria laccata* (Ll), *Suillus bovinus* (Sb), and *Suillus luteus* (Sl) were cultured on MMN medium with 0, 50, 200 ppm of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, and $PbCl_2$. Each fungus was grown for 52 days (in case of Pt for 26 days) in a Petri dish with either Cu, Zn, or Pb. Among the three fungi, Pt showed the fastest growth without any heavy metals. The three fungi showed considerable variations in metal tolerance. In Pb treatment, Sb and Sl showed tolerance at 50 ppm, while Sl and Ll showed tolerance at 200 ppm. Sl accumalated high concentration of Pb at 200 ppm. In Cu treatment, Sl showed tolerance and accumulated high amount of Cu at 50 ppm. However, 200 ppm Cu completely inhibited the growth of Sl, Sb, and Ll, but allowed Pt to grow slowly after several days of lag period. In Zn treatment, Sl and Pt showed tolerance at 50 ppm, while all four fungi showed low tolerance at 200 ppm. Sb accumulated high amount of Zn at 50 ppm, while Sb and Sl contained high Zn at 200 ppm. In conclusion, among the four fungi Sl showed the highest tolerance against three metals tested in this study, and also accumulated high amount of metals in mycelia. Pt showed considerable growth at 200 ppm Cu. The Sl may be used for

revegetation and decontamination of soil polluted by heavy metals. Further inoculation study is needed to verify adaptability of Sl to polluted soil through interaction with ectomycorrhizal host trees.

서 론

중금속은 자연계에 널리 분포하지만, 대부분 생물이 이용할 수 없거나, 낮은 농도로 존재한다. 그러나 광산과 제련소, 공장, 자동차, 농업용 살충제, 쓰레기 등과 같은 인위적인 배출원에 의해 토양내 중금속 농도가 증가되어 사회적으로 문제가 되고 있다.

중금속은 필수 금속 이온의 치환 또는 대체, 효소의 구조적 변화와 변성, 불활성화, 세포와 기관 막 결합의 파괴 등과 같은 독성 효과를 나타난다(Ochiai, 1987). 이러한 독성 증상은 균의 종에 따라서 다르며, 중금속 종류에 따라 매우 다양하게 나타난다(Gadd and White, 1989). 중금속 독성의 간접적인 기작은 free radical과 관련이 된다. 이것은 생물학적인 거대분자들의 파괴와 관련된 연쇄 반응에 관여하여 세포에 손상을 일으키나, 호기성 미생물들은 Superoxide dismutase와 같은 보호 효소가 존재하며, Mn, Fe, Cu, Zn를 포함하고 있는metalloenzyme은 정상적인 대사과정에 의해 radical을 제거한다(Greco *et al.*, 1990; Galiazzo *et al.*, 1991).

균근균은 균사의 표면적이 크고, 중금속 이온과 친화도가 높은 기질과 접촉하고 있기 때문에 토양에 존재하는 중금속 흡수능력이 우수하다(Markert, 1993). 또한 중금속에 대한 내성이 높아 식물의 중금속 스트레스를 감소시켜 기주식물을 보호한다(Morselt *et al.* , 1986; Brown and Wilkins, 1985b). 그러나 중금속 함량이 높은 환경에서는 균근의 형성이 억제되어, 균과 식물의 공생관계에 해를 미칠 수 있다(Jones and Hutchinson, 1986).

균근균의 중금속 저항성은 크게 두가지로 구분된다. 하나는 유기산, extracellular thiols 등과 같은 중금속을 해독하는 물질을 생산하여 중금속을 배척하는 것들이며, 또 하나는 조직내 metallothionein-like proteins 등의 생성을 통해 중금속을 고농도로 축적하면서도 내성을 가지는 것 들이다(Shaw, 1989)

고등식물에서 심한 독성 증상을 보이는 중금속 농도에서조차 균은 어떠한 병징도 나타나지 않는데, 이것은 내성이 있음을 나타내며, 독성이 나타나는 농도가 더 높을 가능성이 있음을 보여준다. 어떤 균근균은 수은광산의 토양에 존재하는 수은 농도의 63배까지 축적한다(Bargagli and Baldi, 1984).

최근 이러한 균근균의 특성을 이용하여 오염지의 식생을 복원하고, 환경오염 정화 특히 중금속 오염지 정화 능력을 증진시키기 위한 연구들이 진행되고 있다(Haselwandter and Bowen, 1996). 그러나 국내에서는 아직까지 이와 관련된 연구가

매우 부족한 상태이다.

따라서 본 연구는 토양 오염지에서 오염물질 제거와 파괴된 오염지의 식생을 복원하는데 균근의 이용 가능성을 제시하기 위하여, 중금속에 대한 균근균의 내성, 축적 특성 및 중금속에 대한 균종별 생장 특성을 파악하고, 향후 환경 오염에 적용할 수 있는 내성 균종의 선발 및 이용을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 共試菌種

본 연구에 사용한 외생균근균은 모래밭버섯(*Pisolithus tinctorius*), 졸각버섯(*Laccaria laccata*), 황소비단그물버섯(*Suillus bovinus*), 비단그물버섯(*Suillus luteus*)으로서 American Type Culture Collection에서 1997년 8월에 도입된 균주를 서울대학교 산림자원학과 수목생리학 연구실에서 계대배양하여 보관해 오던 것을 사용하였다.

2. 菌 培養 및 重金屬 處理

각 균근균의 중금속 내성과 축적 능력을 평가하기 위하여, MMN(Modified Melin-Norkrans) 배지(Marx, 1969)에 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $PbCl_2$ 용액을 0 ppm, 50 ppm, 200 ppm 농도로 첨가하였다. 각 처리는 5 반복으로 실시하였다. MMN 배지의 기본 pH는 5.8이었는데, 앞의 중금속 용액을 첨가한 후의 pH는 변화되지 않았다.

MMN 배지에서 계대배양해 두었던 균주에서 생장이 왕성한 가장자리 부분만을 골라 대략 3×3 mm크기로 절단하고, 직경 9 cm의 Petri dish내 배지의 중앙부에 치상하였다. 배양은 균 치상 후에 24℃에서 52일간 실시하였다.

3. 生長速度 測定과 耐性 指數 計算

균사의 생창속도는 중심에서 부터 4방향으로 길이를 측정하였다. 균사를 치상한 후에 균사가 새로운 배지에 적응할 여유와 생장하는 속도를 고려하여, 모래밭버섯균은 4일째 부터, 황소비단그물버섯균은 9일째부터, 졸각버섯균과 비단그물버섯균은 11일째부터 대략 5일 간격으로 측정하였으며, 각 측정치를 이용하여 colony area를 계산하였다. 계산된 colony area를 이용하여 각 균종별 일일 생장량을 계산하였으며, 대조구와 각 중금속 처리구의 생장량 비를 이용하여 내성지수를 계산하였다(Colpaert and Van Assche, 1987).

$$내성지수(Tolerance\ Index : TI) = \frac{처리구의\ 생장속도}{대조구의\ 생장속도} \times 100$$

각각의 계산된 값을 이용하여 균종별, 중금속 처리별 생장 특성 및 내성특성을 비교 분석하였다.

4. 重金屬 濃度 測定

균사내에 축적된 중금속 농도를 측정하기 위하여, 배양된 균사를 배지로 부터 분리하여 증류수로 세척한 후 건조시켰다. 건조된 균사 0.1 g에 ternary solution(HNO_3 : $HClO_4$: H_2SO_4 가 10 : 4 : 1로 혼합된 분해액) 10 ml를 첨가한 후 200℃의 가열판 상에서 가열 분해하고, 분해액이 무색 투명할 때 분해가 종료된 것으로 하였다. 분해가 완료된 시료는 가열판 상에서 내려 냉각하여 건고시킨 후, 증류수 50 ml를 첨가하여 완전히 용해시키고, 42번 여과지로 여과한 후 원자흡광법(AA6401F SHIMADZU)을 이용하여 중금속 농도를 측정하였다(農林水産技術協議事務局, 1972)

결과 및 고찰

1. 4種 菌根菌의 重金屬 處理別 生長量

Fig. 1은 모래밭버섯균의 중금속 처리별 생장속도를 나타낸 것이다. 이 균은 생장속도가 빠르기 때문에 16일 또는 26일 후에 실험을 종료하였다. 대조구는 처리구에 비해 생장이 좋았으며, 16일간 배양 후의 평균 생장량은 6472 mm^2이었다. 대부분 중금속은 모래밭버섯균의 생장을 저해시켰다. 특히 Cu 200 ppm에서는 최초의 생장이 11일부터 시작되는 생장 지연현상이 나타났으며, 26일까지의 총 생장량은 2050 mm^2로 대조구의 3분의 1수준 이었다.

졸각버섯균은 총 52일간의 배양을 통하여 생장량을 비교하였다(Fig. 2). 졸각버섯균은 Pb에 의한 생장저해를 보이지 않았으며, 생장량이 대조구와 유사하였다. 대조구와 Pb 50 ppm, Pb 200 ppm에서의 생장량은 각각 2082 mm^2, 1847 mm^2, 2332 mm^2이었다. 그러나 Zn와 Cu에 의한 생장 저해는 컸다. Zn의 경우 50 ppm, 200 ppm에서 각각 생장량이 808 mm^2, 994 mm^2으로 나타나 대조구와는 큰 차이를 보여주었으며, 특히 Cu에서는 50 ppm에서 972 mm^2의 생장량을 보여주었고, 200 ppm에서는 생장이 나타나지 않았다.

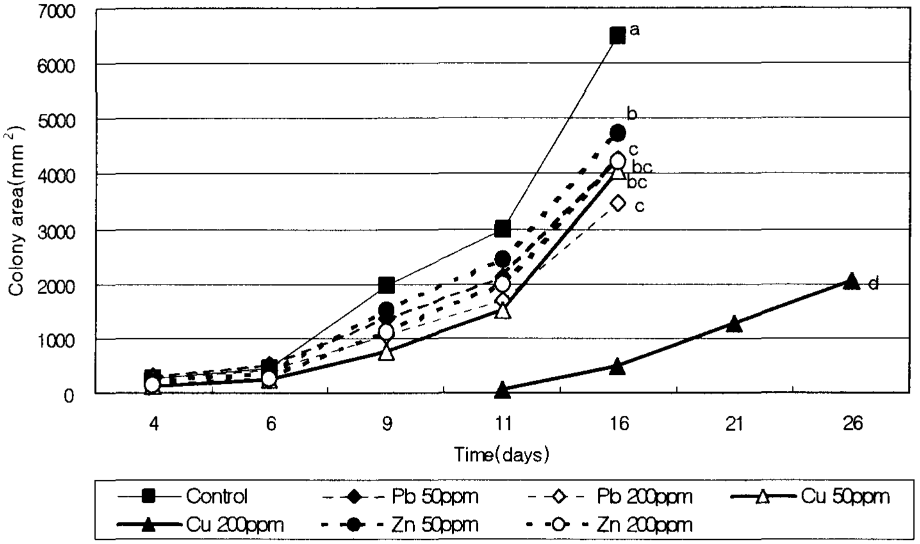

Figure 1. Initial delay and subsequent growth of *Pisolithus tinctorius* at different concentrations of Pb, Cu, and Zn.

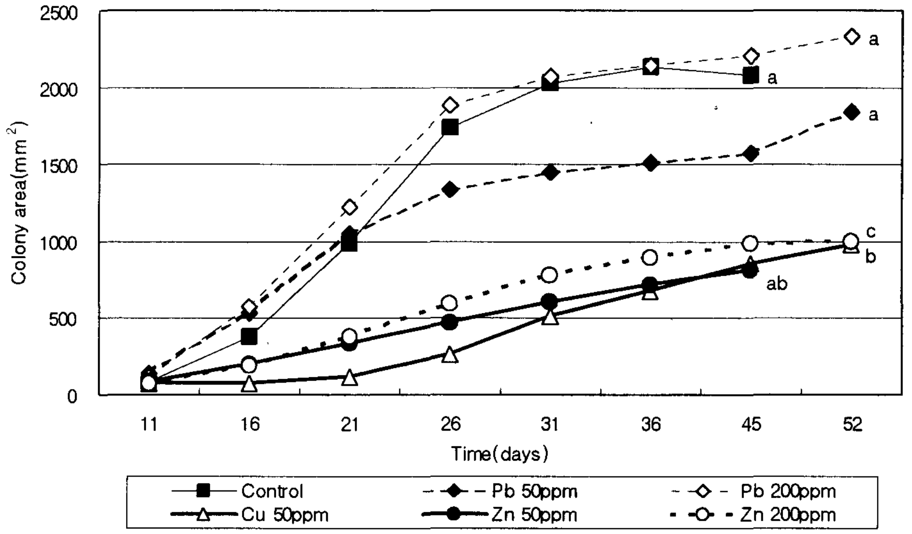

Figure 2. Initial delay and subsequent growth of *Laccaria laccata* at different concentrations of Pb, Cu, and Zn. Growth of *Laccaria laccata* was completely inhibited at 200ppm Cu.

황소비단그물버섯균의 생장량은 중금속 처리별로 다양하게 나타났다(Fig. 3). 대조구의 생장량은 4945 mm^2으로 가장 컸으며, Pb는 50 ppm, 200 ppm에서 각각 4392 mm^2, 3272 mm^2의 생장량을 보여주어 대조구와 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 Zn는 생장이 지연되어 31일부터 생장이 시작되었으며 50 ppm, 200 ppm에서의 생장량은 각각 4665 mm^2, 3263 mm^2으로 단기간내에 Pb처리시와 유사한 정도의 생장을 보였다. Cu는 50 ppm에서 21일부터 생장이 시작되는 지연현상이 나타났으며, 52일 후 총 생장량은 477 mm^2으로 매우 낮았고, Cu 200 ppm에서는 생장이 나타나지 않았다.

비단그물버섯균의 중금속처리에 따른 생장량은 Fig. 4에 나타내었다. 대조구의 생장량은 2278 mm^2로 가장 컸으며, Pb 50 ppm, 200 ppm에서 각각 2070 mm^2, 2027 mm^2으로 대조구와 거의 유사하였으며, Pb 농도에 따른 차이는 나타나지 않았다. Zn의 경우 50 ppm, 200 ppm에서 각각 1440 mm^2, 1460 mm^2으로 대조구와 큰 차이를 보였으나, 농도에 따른 차이는 크지 않았다. 이것은 Zn 50 ppm에서의 생장이 Zn 200 ppm에서 보다 생장이 빨리 정지되었기 때문이다. Cu의 경우는 1420 mm^2로 Zn와 유사한 정도의 생장을 보였으나, Cu 200 ppm에서는 생장이 나타나지 않았다.

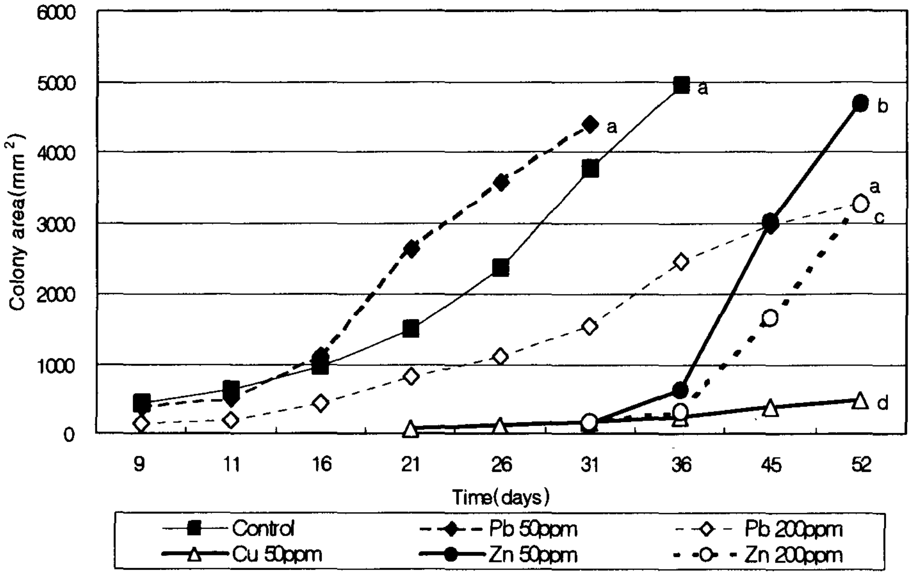

Figure 3. Initial delay and subsequent growth of *Suillus bovinus* at different concentrations of Pb, Cu, and Zn. Growth of *Suillus bovinus* was completely inhibited at 200ppm Cu.

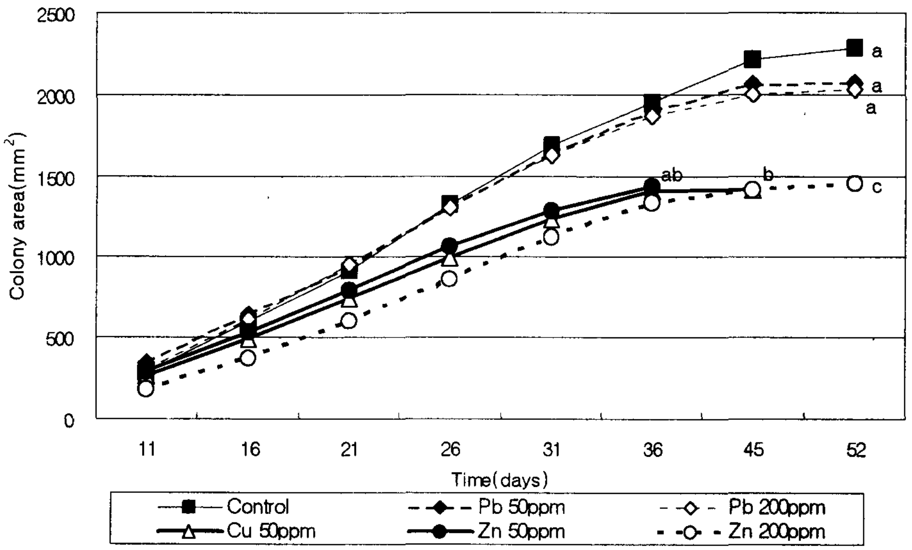

Figure 4. Initial delay and subsequent growth of *Suillus luteus* at different concentrations of Pb, Cu, and Zn. Growth of *Suillus luteus* was completely inhibited at 200ppm Cu.

본 연구 결과와 같이 균사의 생장을 완전하게 저해하는 각각의 중금속 농도는 균종간 다르게 나타나며, Pb는 100 ppm이하에서 모래밭버섯균의 생장을 저해했으나, *Laccaria laccata, Suillus luteus*는 1000 ppm에서는 생장이 저해되지 않았고, 7~21일 정도 균사의 생장이 지연되었다는 보고가 있다(McCreight and Schroeder, 1982).

한천배지를 이용한 연구들은 독성 금속의 농도에 따른 많은 외생균근의 민감도를 결정하기 위해 수행되어 왔으며, 종간에 차이가 있다고 제안하였다(Brown and Wilkins, 1985a; Colpaert and Van Assche, 1987, 1992; Egerton-Warburton과 Griffin, 1995; Jones and Hutchinson, 1988). 예를들면, *Scleroderma flavidum*은 *Lactarius rufus* 보다 Cu와 Ni에 대해 덜 민감하다는 것을 보여주었고(Jones and Hutchinson, 1988), *Amanita muscaria*는 다른 외생균근보다 Cd에 덜 민감하다고 보고하였다(Colpaert and Van Assche, 1992).

2. 重金屬 處理에 따른 菌種間 一日 生長速度

표 1에 세가지 중금속으로 처리한 4종 균근균의 일일 균사생장량을 나타내었다. 무처리구의 경우, 모래밭버섯의 생장이 가장 빠르고, 비단그물버섯의 생장이 가장 저조하였다. 특히 모래밭버섯은 비단그물버섯보다 약 9배 정도 빨리 자랐다.

Pb 처리시의 균의 일일 생장 속도는 모래밭버섯균이 가장 빠른 경향을 보였으며,

생장속도는 50 ppm과 200 ppm에서 각각 238 mm^2/day, 216 mm^2/day이었으며, 비단그물버섯균의 생장이 가장 느린 38 mm^2/day이었다. 졸각버섯균은 Pb 200 ppm에서 Pb 50 ppm보다 생장이 좋은 경향을 보였다. 또한 Cu 50 ppm에서는 모래밭버섯균이 가장 빠른 생장을 보였으며, 황소비단그물버섯균이 가장 느린 생장(9 mm^2/day)을 보였다. Cu 200 ppm에서의 생장은 모래밭버섯균에서만 나타났으며, Cu 50 ppm의 252 mm^2/day의 생장속도보다 매우 느린 78 mm^2/day을 나타내었다. Zn에서의 생장속도도 모래밭버섯균이 가장 빠르게 나타났으며, 50 ppm, 200 ppm에서의 생장속도는 각각 295 mm^2/day, 264 mm^2/day를 보였고, 졸각버섯균의 생장속도는 50 ppm과 200 ppm에서 가장 낮은 각각 20 mm^2/day와 21 mm^2/day의 속도를 나타내었다.

중금속에 대한 효과를 파악하기 위한 실험에 있어, 배지의 조성은 매우 중요한 요인이 된다. 이것은 배지의 조성이 중금속의 독성과 이용도를 변화시킬 수 있기 때문이다(Shaw, 1989).

특히 중금속의 독성은 배지의 pH에 따라 변하는데, *Penicillium nigricans*는 산성 배지에서 Cu, Co, Cr등에 대한 내성이 크게 나타나며(Brown and Hall, 1989), 다른 균은 Cd에 대한 내성이 크게 나타난다. 그러나 많은 균과 actinomycetes는 알칼리 배지에서 Ni과 Pb에 대한 내성이 크게 나타난다(Brown and Hall, 1989).

액체 배지와 한천배지에서의 금속 민감도 연구의 문제점은 배양과정에서 결합 또는 침전되는 이온이 존재한다는 것이다. Phosphate는 토양 내에서 뿐만아니라 인공배지 내에서도 많은 잠재적 독성 금속들과 쉽게 침전물을 형성하며, 균 배지에서의 농도는 일반적으로 높게 나타난다. *Rhizobium* spp.의 Cd 독성에 대한 phosphate의 영향은 2.1 mM phosphate 이상의 농도에서 Cd 독성이 뚜렷하게 감소된 것을 발견했다. 즉, 기내 배양 조건에서 외생균근의 민감성 연구에서 한천 배지를 사용하는데는 다양한 문제가 발생할 수 있는데, 금속은 기질내에서 결합이 일어나며, 이것은 균이 이용할 수 있는 금속의 농도를 변화시킬 수 있기 때문이다(Hartley *et al.*, 1997).

본 연구 결과와 같이 동일 배지내에서도 종에 따라 생장속도는 크게 다르게 나타나며, 중금속 처리시에 각각의 배지 조건에 따라 중금속에 대한 독성의 효과가 달라질 수 있음을 보여준다. 본 연구에서 사용된 모래밭버섯균은 MMN 배지에서 다른 종에 비해 우수한 생장을 보였으며, 중금속의 내성 효과도 이러한 배지의 효과를 무시할 수 없다고 판단된다.

Table 1. *In vitro* radial growth rate ($mm^2 day^{-1} \pm SE$) of four ectomycorrhizal fungi treated with Pb, Cu, and Zn.

Heavy metal / Species	Control	Pb		Cu		Zn	
		50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm
Pisolithus tinctorius	404±7[a*]	238±58[a]	216±53[a]	252±19[a]	79±11	295±32[a]	264±16[a]
Laccaria laccata	57±6[c]	38±5[c]	66±9[b]	18±2[c]	N.G.	20±1[c]	21±4[c]
Suillus bovinus	137±35[b]	141±11[b]	66±4[b]	9±1[c]	N.G.	93±13[b]	60±18[b]
Suillus luteus	44±4[c]	44±4[c]	41±2[c]	35±5[b]	N.G.	40±2[c]	29±3[c]

* Means within the same metal with different letters indicate significant difference at $p \leq 0.05$; N.G. indicates non-growth due to growth inhibition at 200 ppm Cu.

3. 各 菌種別 耐性指數

미생물의 중금속 내성은 내적인 특성이나 독성의 환경적인 변화를 통하여 중금속 독성에서 살아남기 위한 능력으로 정의되며(Gadd, 1992), 생존을 결정하는 내적 특성은 불투과성 세포벽, 세포밖 다당류, 대사물질의 유출, 특히 결합이나 침전에 의한 중금속 해독 능력의 소유라고 볼 수 있다(Gadd, 1993).

중금속 처리에 따른 각 균종별 내성지수는 중금속에 따라 다양하게 나타났다 (Table 2). Pb 50 ppm에서, 황소비단그물버섯균은 내성지수가 103으로 가장 크게 나타났으며, 비단그물버섯도 99의 비교적 큰 내성지수를 나타내었다. 그러나 모래밭버섯균은 58로 낮은 내성지수를 보였다, Pb 200 ppm에서는 졸각버섯이 큰 내성지수인 105를 나타냈으며, 모래밭버섯균과 황소비단그물버섯균이 각각 53, 46으로 매우 낮은 내성지수를 나타내었다. Cu 50 ppm에서는 비단그물버섯균의 내성지수가 78로 가장 컸으며, 황소비단그물버섯균은 6으로 거의 내성을 나타내지 못하였다. Zn에서는 비단그물버섯이 88의 내성지수로 가장 큰 경향을 보였으며, 모래밭버섯균과 황소비단그물버섯균은 각각 73, 67이었으며, 졸각버섯균은 36으로 매우 낮은 내성을 보였다. Zn 200 ppm에서도 모래밭버섯균과 비단그물버섯이 가장 큰 내성지수인 65, 64이었으며, 비단그물버섯과 졸각버섯의 내성지수는 각각 43, 36으로 낮은 경향을 보였다.

Rühling *et al.* (1984)은 졸각버섯이 중금속에 대한 저항성이 비교적 큰 것으로 보고하였고, 중금속 농도가 높은 지역에서 빈도가 증가하는 경향을 보인다고 주장하였으나, 본 연구에서는 Pb 50 ppm을 제외한 모든 중금속 처리구에서 매우 내성이 낮은 것으로 나타났다.

세가지 중금속에 대한 내성의 평균치를 구할 경우, 비단그물버섯의 내성 수치가

가장 높은 84를 보여서 네 균종 중에서 평균 내성이 가장 높은 것으로 보인다.

Table 2. Tolerance indeces of four ectomycorrhizal fungi against Pb, Cu and Zn

Species \ Heavy metal	Pb		Cu		Zn		Average
	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm	50 ppm	200 ppm	
Pisolithus tinctorius	58[b*]	53[b]	62[b]	19	73[b]	65[a]	55
Laccaria laccata	67[b]	105[a]	32[c]	N.G.	36[c]	36[b]	55
Suillus bovinus	103[a]	46[b]	6[d]	N.G.	67[b]	43[b]	53
Suillus luteus	99[a]	91[a]	78[a]	N.G.	88[a]	64[a]	84

* Means within the same metal with different letters indicate significant difference at $p \leq 0.05$. N.G. indicates non-growth due to gorwth inhibition at 200 ppm Cu.

4. 菌種別 重金屬 蓄積 濃度

균은 고등식물에서 보고된 것보다 더 많은 량의 중금속을 축적한다. 이것은 고등균류의 특이한 해부학적, 생리학적 특성, 즉 균사의 큰 표면적 때문이다. 이 균사는 넓은 지역에 퍼져 있으며, 토양과의 접촉 면적을 증가시킨다(Gadd, 1993).

본 연구에서 중금속 축적 농도는 각 균종별 큰 차이를 보여주었다(Table 3). 모래밭버섯균과 졸각버섯균은 Pb 50 ppm에서 가장 높은 1139 ppm과 1227 ppm의 농도를 보여 주었다. 평균 Pb 함량은 균에서 일반적으로 낮게 나타나며, 자실체에서의 Pb 함량은 종 특이성이 적어 종간 균일하게 분포되어 있는 것으로 알려졌으나(Markert, 1993), 본 연구에서 나타난 균사내의 Pb 축적은 종간 차이가 큰 것으로 나타났다. 특히 모래밭버섯균과 졸각버섯은 다른 두 종보다 2배이상 축적을 보였다. 그러나 Pb 200 ppm에서는 모래밭버섯균과 졸각버섯균은 축적이 감소된 반면 황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균은 오히려 축적인 증가되어 종간 차이가 있음을 나타내었다.

Cu의 경우, 황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균은 1355 ppm과 2546 ppm이 각각 축적되어 비교적.높은 농도로 Cu를 축적하는 것으로 나타났으나, 모래밭버섯균과 졸각버섯균은 매우 낮은 축적을 보였다.

Zn는 균에서 필수적인 양료로 Pb와 같은 비필수 요소와는 달리 Zn 농도의 변이는 대부분의 종에서 적게 나타난다. 80종의 균에서 Zn 농도가 50-300 mg/kg였다고 보고했으며, 균의 Zn 농도는 토양 농도와 독립적으로 나타나는데, 이것은 Zn의 흡수에 대한 조절 기작이 있는 것으로 보인다(Markert, 1993).

황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균은 Zn 200 ppm에서 2070 ppm과 2118 ppm을 축적하고 있는 것으로 나타났으며, 모래밭버섯균가 졸각버섯균은 매우 낮은 축적

으로 보였다. Zn 50 ppm에서는 황소비단그물버섯균이 1316 ppm으로 4종 균 중 가장 높은 농도를 나타내었으며, 졸각버섯균은 가장 낮은 농도를 보였다.

본 연구에 사용된 4종 균근 중 황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균은 Zn와 Cu에 대해 높은 축적을 보이며, 모래밭버섯균과 졸각버섯은 낮은 Pb 농도에 대해 높은 축적을 보였다. 즉, 중금속에 따라 종간 축적 특성으로 크게 달라지며, 중금속의 농도에 따라 축적 특성이 변화된다고 볼 수 있다.

Table 3. Pb, Cu, and Zn concentrations(Average±SE) in fungal mycelium of four ectomycorrhizal fungi

(단위:ppm)

Heavy metal / Species	Pb		Cu		Zn	
	50	200	50	200	50	200
Pisolithus tinctorius	1139.3±19.1[b*]	72.3±12.6[d]	177.0±12.0[d]	N.M.	615.3±175.5[b]	396.3±4.5[d]
Laccaria laccata	1227.3±7.4[a]	721.7±19.4[b]	303.3±9.7[c]	N.M.	110.0±1.7[c]	595.3±2.5[c]
Suillus bovinus	532.0±10.1[d]	615.3±20.8[c]	1355.0±12.2[b]	N.M.	1316.6±14.6[a]	2070.3±21.2[b]
Suillus luteus	888.7±32.6[c]	1014.6±29.8[a]	2546.0±11.5[a]	N.M.	503.3±2.5[b]	2118.0±21.7[a]

* Means within the same metal with different letters indicate significant difference at p≤0.05. N.M. indicates no mesurement due to grwoth inhibition of the fungi.

결 론

본 연구는 균근의 중금속에 대한 생장특성, 내성 특성, 축적 특성을 비교 분석하여 내성종 및 축적이 우수한 종을 선발하여, 오염지의 식생복원과 오염지 정화에 균근을 이용하기 위한 기초자료를 마련하고자 실시되었다.

본 연구 결과, 4종 균근균의 중금속에 대한 특성은 매우 다르게 나타났으며, 각 중금속에 따라 또는, 중금속의 농도에 따라 생장특성, 내성특성 및 축적 특성이 다르게 나타났다.

또한 대부분의 균근균은 중금속에 대해 생장 저해를 받는 것으로 나타났으며, 일부는 생장이 지연되며, 일부 균근균은 중금속에 대한 적응 및 내성 기작을 통하여 생장이 회복되는 현상이 나타났다.

황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균은 Pb 50 ppm에서 내성을 나타내었으며, Pb 200 ppm에서는 졸각버섯균과 비단그물버섯균이 내성을 보였다. Pb에 대해 내성을

보였던 비단그물버섯균은 Pb 200 ppm에서 Pb를 높은 농도로 축적하고 있었으며, Pb 50 ppm에서는 Pb에 대한 내성이 비교적 적었던 모래밭버섯균과 졸각버섯균이 Pb를 높은 농도로 축적하고 있었다.

Cu 200 ppm에서는 모래밭버섯균을 제외한 3종 균근이 생장하지 못하여, Cu에 대한 독성이 큰 것으로 나타났으며, 50 ppm에서는 비단그물버섯균의 내성이 높았고, 축적 또한 높은 경향을 보였다.

Zn 50 ppm에서는 모래밭버섯균과 비단그물버섯균이 높은 내성을 보였으며, Zn 200 ppm에 대한 내성은 4종 모두 높지 않았다. Zn는 50 ppm에서 황소비단그물버섯균이 높은 축적을 보였으며, Zn 200 ppm에서는 황소비단그물버섯균과 비단그물버섯균이 높은 축적을 보였다.

결론적으로 비단그물버섯균은 본 연구에 사용된 3가지 중금속에 대한 내성이 가장 우수하며, 중금속의 축적 능력도 좋았다. 그러나 생장이 가장 좋았던 모래밭버섯균은 중금속에 대한 내성이 크지 않았으며, 중금속 축적도 크지 않았다. 따라서 비단그물버섯균은 중금속의 오염지에 대한 식생복원과 오염정화에 이용이 가능하다고 판단된다. 그러나 균의 선발 및 이용에 앞서 균근균이 서식하는 환경 특성이 정확하게 규명되고, 각 중금속에 대한 균별 생리적인 특성에 대한 추가 연구가 지속적으로 이루어져야 한다고 판단된다.

요 약

본 연구는 균근균의 중금속에 대한 생장특성, 내성 특성, 축적 특성을 비교 분석하여 내성종 및 축적이 우수한 종을 선발하여, 오염지의 식생복원과 오염지 정화에 균근을 이용하기 위한 기초자료를 마련하고자 실시되었다. 모래밭버섯(*Pisolithus tinctorius*), 졸각버섯(*Laccaria laccata*), 황소비단그물버섯(*Suillus bovinus*), 비단그물버섯(*Suillus luteus*)의 균사체를 Petri dish 내에서 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $PbCl_2$ 용액, 0 ppm, 50 ppm, 200 ppm이 첨가된 MMN(Modified Melin-Norkrans)배지에서 52일간 배양한 후, 각 균근균의 생장특성, 내성특성 및 중금속 축적특성을 비교 분석하였다. 중금속을 처리하지 않은 무처리구에서는 모래밭버섯균의 생장이 가장 왕성한 반면, 비단그물버섯균의 생장이 가장 저조하였으며, 전자의 생장량이 후자보다 9배 빨랐다. 비단그물버섯균과 황소비단그물버섯균은 Pb 50 ppm에서 내성을 나타내었으며, Pb 200 ppm에서는 바단그물버섯균과 졸각버섯균이 내성을 보였다. Pb에 대해 내성을 보였던 비단그물버섯균은 Pb 200 ppm에서 Pb를 높은 농도로 축적하고 있었으며, Pb 50 ppm에서는 Pb에 대한 내성이 비교적 적었던 모래밭버섯균과 졸각버섯균이 Pb를 높은 농도로 축적하고 있었다. Cu 200 ppm에서는 모래밭버섯균을 제외한

3종 균근이 생장하지 못하여, Cu에 대한 독성이 큰 것으로 나타났으며, 50 ppm에서는 비단그물버섯균의 내성이 높았고, 축적 또한 높은 경향을 보였다. Zn 50 ppm에서는 비단그물버섯균과 모래밭버섯균이 높은 내성을 보였으며, Zn 200 ppm에 대한 내성은 4종 모두 높지 않았다. Zn는 50 ppm에서 황소비단그물버섯균이 높은 축적을 보였으며, Zn 200 ppm에서는 비단그물버섯균과 황소비단그물버섯균이 높은 축적을 보였다. 결론적으로 대부분의 균근균은 중금속에 의해서 생장 저해를 받는 것으로 나타났으며, 일부는 생장이 지연되고, 일부 균근균은 중금속에 대한 적응 및 내성 기작을 통하여 생장이 회복되는 현상이 나타났다. 이 중에서 비단그물버섯균은 중금속에 대한 내성이 가장 우수하였으며, 중금속의 축적 능력도 높았다. 그러나 세가지 중금속 배지 모두에서 생장이 가장 좋았던 모래밭버섯균은 중금속에 대한 내성과 중금속 축적이 크지 않았다. 따라서 비단그물버섯균은 중금속의 오염지에 대한 식생복원과 오염정화에 이용이 가능하다고 판단된다. 그러나 균의 선발 및 이용에 앞서, 기주식물에 접종을 통하여 각 중금속에 대한 균별 내성 특성과 야외적응 시험을 실시할 필요가 있다.

인 용 문 헌

農林水産技術協議事務局. 1972. 土壌および作物体の分析法(3). 日本土肥誌. 43:349-356.

Bargagli, R., and F. Baldi. 1984. Mercury and methyl mercury in higher fungi and their relation with the substrate in a Cinnabar mining area. Chemosphere. 13:1059.

Brown, M. T. and D. A. Wilkins. 1985a. Zinc tolerance of *Amanita* and *Paxillus*. Trans. Br. Mycol. Soc. 84:367-369.

Brown, M. T., and D. A. Wilkins. 1985b. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. New Phytol. 99:101-106.

Brown, M. T., and I. R. Hall. 1989. Metal Tolerance in Fungi. pp 95-104. in Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. A. J. Shaw (ed.). CRC press, Inc, Boca Raton, Florida.

Colpaert, J. V. and J. A. Van Assche. 1987. Heavy metal tolerenace in some ectomycorrhizal fungi. Funct. Ecol. 1:415-421.

Colpaert, J. V. and J. A. Van Assche. 1992. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil 145:237-243.

Egerton-Warburton L. M. and B. J. Griffin. 1995. Differential responses of *Pisolithus tinctorius* isolates to aluminium *in vitro*. Can. J. Bot. 73:1229-1233.

Gadd, G. M. 1992. Metals and microorganisms: a problem of definition. FEMS Microbiology letters 100:197-204.

Gadd, G. M. 1993. Interactions of fungi with toxic metals. New Phytologist 124: 25-60.

Gadd, G. M., and C. White. 1989. Heavy metal and radionuclide accumulation and toxicity in fungi and yeasts. pp. 19-38 in Metal-Microbe Interactions, Poole, R. K., and G. M. Gadd. (eds.) Oxford IRL Press.

Galiazzo, F., M. R. Ciriolo. M. T. Carri, P. Civitareale, L. Marmocchi, F. Marmocchi, G. Rotilio. 1991. Activation and induction by copper of Cu/Zn superoxide dismutase in *Saccharomyces cerevisiae*. European Journal of Biochemistry. 196:545-549.

Greco, M. A., D. I. Hrab, W. Magner, and D. J. Kosman. 1990. Cu, Zn superoxide dismutase and copper deprivation and toxicity in *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Bacteriology. 172:317-325.

Hartley, J., J. W. G. Cairney and A. A. Meharg. 1997. Do ectomycorrhizal fungi exhibit adaptive tolerance to potentially toxic metals in the environment ? Plant and Soil 189:303-319.

Haselwandter, K., and G. D. Bowen. 1996. Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. Forest Ecology and Management 81:1-17.

Jones, M. D., and T. C. Hutchinson. 1986. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper. New Phytologist 102: 429-442.

Jones, M. D., and T. C. Hutchinson. 1988. The effects of nickel and copper on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. Can. J. Bot. 66:119-124.

Markert, B. 1993. Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment. Weinheim, New York, Basel, Cambridge. pp.343-378.

Marx, D. H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic and soil bacteria. Phytopathology 59:153-163.

McCreight, J. D. and D. B. Schroeder. 1982. Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by cadmium, lead, and nickel *in vitro*. Environmental

and Experimetal Botany 22:1-7.

Morselt, A. F. W., W. T. M. Smits, and T. Limonard. 1986. Histochemical demonst- ration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil 96:417-420.

Ochiai, E. I. 1987. General Principles of Biochemistry of The Elements. New York Plenum Press. pp.461.

Rühling, A. E. Bååth, A. Nordgren, and B. Söderström. 1984. Fungi in metal-contaminated soil near the Gusum brass mill, Sweden. Ambio. 13:34-36.

Shaw, A. J. 1989. Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp.95-104.