

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
C12N 1/20

(45) 공고일자 2000년01월 15일

(11) 등록번호 10-0239152

(24) 등록일자 1999년 10월 19일

(21) 출원번호	10-1992-0022543	(65) 공개번호	특 1993-0010176
(22) 출원일자	1992년 11월 27일	(43) 공개일자	1993년 06월 22일
(30) 우선권주장	91-337891 1991년 11월 28일 일본(JP) 91-337892 1991년 11월 28일 일본(JP)		
(73) 특허권자	애그리컬처럴 제네틱스컴퍼니 리미티드 데이비드 제임스 해밀튼		
(72) 발명자	영국 에스지 87알이 하트샤 로이스톤 쓰리 플로우 처치스트리트 잉그리드 아리아스드 윌리엄스 영국에이엘5 2제이큐허스하펜덴로삼스테드 엑스페리멘탈스테이션 조나단데이 영국에이엘5 2제이큐허스하펜덴로삼스테드 엑스페리멘탈스테이션		
(74) 대리인	김종갑, 남계영		

심사관 : 김형준

(54) 브이에이(VA)균근균 접종물의 제조방법

요약

본 발명은 글로무스 속에 속하는 VA 균근균에 감염된 식물을 소성애터펄자이트 또는 소성몬모릴로 나이트를 함유하는 배지에서 재배하여 VA 균근균을 증식시키는 것을 특징으로 하는 VA 균근균접종물의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 방법에 의하면 VA 균근균의 포자밀도가 높고 더구나 활성을 안정적으로 유지할 수 있는 VA 균근균접종물을 싼값에 제조할 수가 있다.

따라서 본 발명의 방법은 농업, 원예, 조경, 종묘산업 등 각종 분야에서 효과적으로 적용될 수 있는 것이다.

명세서

[발명의명칭]

브이에이(VA)균 근균 접종물의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 농업이나 원예등의 분야에서 유용한 VA 균근균(Vesicular Arbuscular Mycorrhizae) 접종물의 제조방법에 관한 것이며, 상세하게는 VA 균근균의 포자밀도가 높고, 더구나 활성을 안정하게 유지할 수 있는 VA 균근균 접종물의 제조방법에 관한 것이다.

VA 균근균은 식물과 공생하고, 여기에 감염된 식물의 생장을 촉진하거나 내병성을 향상시키는 작용이 있는 것이 알려져 있고, (고바야시 저 「VA 균근균과 토양병해에의 이용, 식물방역」 제 42권, 제 5 호 259-266쪽 1988년) 이와같이 자연의 힘을 이용한 식물의 재배가 요망되고 있다.

여기서 VA 균근균을 인공적으로 증식하여 VA 균근균접종물을 제조하는 방법이 각종 제안되어 있다.

예를 들면 토양등으로 증식한 VA 균근균의 포자를 분리회수하여 그 포자를 질석 애터펄자이트(attapulgit)구조토등의 담체에 카르복시메틸셀룰로오스등의 접착물과 함께 혼합하여 입상화시키는 방법(일본국 특개평 1-165369호 공보)이나 목탄과의 혼합물을 사용하는 방법(일본국 특개평 3-103124호 공보)이 제안되어 있다. 그러나 이 방법에 있어서는 VA 균근균의 포자를 분리하는 과정이나 입상화 시키는 과정에서 VA 균근균의 포자에 손상이 주어지고 더구나 입상화시키는 과정에서 강제적으로 건조시키기 때문에 높은 빈도로 포자가 사멸해 버리고 양질의 접종물을 얻는 것은 곤란했다.

목탄과의 혼합물에 있어서는 마찬가지로 건조 처리등에서의 사멸도 많은 것으로 생각된다.

한편 토양을 사용하거나(일본국 특개평 3-58715호 공보, 특개평 3-76572 호 공보)발포시킨 점토 경석등의 다공질구조를 갖는 것을 사용하거나(일본국 특개소 60-237987 호 공보, 특개소 55-118390호 공보)다공성의 양이온 교환체를 포함하는 배양토를 사용하거나 (일본국 특개소 63-87973 호 공보)해서 식물뿌리와 VA 균근균을 공생시켜서 증식시켜 이들 담체에 부착된 VA 균근균을 그대로 접종물로서 사용하는 방법이 제안되어 있다.

그러나 이들 방법에 있어서는 우선 천연의 토양을 사용한 경우에는 병원균에 의한 오염이 문제가 된다.

또 발포시킨 점토 경석등의 다공질구조를 갖는 것을 사용하는 방법의 경우에는 고밀도의 VA 균근균점종 물을 얻을 수가 없다.

다시 또 다공성의 양이온 교환체를 포함하는 배양토를 사용하는 방법의 경우에는 숙주식물이 감자류에 한정됨과 동시에 담체자체가 디에틸아미노 에틸셀룰로오스 등 고가이기 때문에 실용적이지 않다.

본 발명은 이와같은 종래의 결점을 해소하고, VA 균근균의 포자 밀도가 높고, 더구나 활성을 안정적으로 유지할 수 있는 VA 균근균점종물의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

즉 본 발명은 글로무스(glomus)속에 속하는 VA 균근균에 감염된 식물을 소성 애터펄자이트 또는 소성 몬모릴로나이트(montmorillonite)를 포함하는 배지에서 재배하여 VA 균근균을 증식시키는 것을 특징으로 하는 VA 균근균점종물의 제조방법을 제공하는 것이다.

VA 균근균은 토양중에 존재하는 접합균류의 1 종이며 그 균사가 각종식물의 뿌리에 붙어서 균근을 형성하고 양자가 공생하는 것이 알려져 있다.

본 발명에 사용되는 VA 균근균은 글로무스속에 속하는 것이며 다른 속에 속하는 것을 사용하면 본 발명의 목적을 달성할 수 없다.

본 발명에서 사용되는 글로무스속에 속하는 VA 균근균으로서는 보다 구체적으로는 예를 들면 글로무스 패사쿨레이텀(*glomus fasciculatum*)글로무스 모세아에(*glomus mosseae*)글로무스 에투니카텀(*glomus etunicatum*), 글로무스 인트라라디세스(*glomus intraradices*), 글로무스 칼리도눔(*glomus caldonium*) 등을 들 수 있다. 이들 글로무스속에 속하는 VA 균근균은 천연계에서 모온다. (스즈기지의 VA 균근에 관한 제문제 5, 농업 및 원예 제 62권, 제 3 호 28-33 쪽, 1987년), 그외에 영양박막 배양법(일본국 특개소 55-118390 호 공보)이나 기관배양한 뿌리를 사용하는 방법(일본국 특개소 62-49037 호 공보)등에 의해 증식시킨 것을 사용할 수가 있다.

또한 배지로서 소성몬모릴로나이트를 함유하는 배지를 사용하는 경우에는 VA 균근균으로서 글로무스속에 속하는 것 이외의 것을 사용해도 지장은 없다.

이와같은 글로무스속 이외의 VA 균근균으로서는 각종의 것이 있고, 예를들면 기가스포라(*gigaspora*)속, 아카우로스포라(*acaulospora*)속, 엔트로포스포라(*entrophospora*)속, 스클레로시스티스(*sclerocystis*)속, 스커텔로스포라(*scutellospora*)속등에 속하는 미생물에 대해서도 본 발명은 적용할 수 있다.

구체적으로는 예를들면 기가스포라 마르가리타(*Gigaspora margarita*), 아카우로스포라라에비스(*acaulospora laevis*), 엔트로 포스포라인프레퀼렌스(*Entrophospora infrequens*), 스클레로시스티스 다씨(*sclerocystis dussii*), 스커텔로스포라 그레가리아(*scutellospora gregaria*)등에 대해서도 본 발명을 적용할 수가 있다.

또 상기한 바와같은 VA 균근균을 감염시키는 식물, 즉 VA 균근균 증식을 위한 숙주식물로서는 생장이 빠르고, 뿌리가 잘 뻗는 식물로서 또한 VA 균근균이 감염되기 쉬운 식물이면 특히 제한은 없고, 예를 들면 신허묘, 파종해서 육묘후 이식해서 재배하는 것, 영양번식시키는 것, 삽목한 싹, 삽목, 절목, 구근등에 의해 증식 재배되는 것이다.

VA 균근균 증식을 위한 숙주식물로서는 구체적으로는 예를들면 옥수수, 계팍, 수수, 보리, 잔디등의 벼과 식물, 가지, 토마토, 피망, 고추등의 가지과식물, 콩 완두콩등의 콩과식물 파, 양파등의 백합과식물 등을 들 수가 있다.

VA 균근균은 상기와 같이 숙주식물의 발근전 혹은 발근후에 배지에 적용하면 된다.

VA 균근균의 숙주식물체에의 감염은 기지의 방법에 의해 행하면 되고, 예를들면 온도 5-60℃, 바람직하게는 10-45℃ PH4-9.5, 바람직하게는 4.5-7.5의 조건에서 행해진다.

본 발명에서는 상기와 같이 글로무스속에 속하는 VA 균근균에 감염된 식물을 소성애터펄자이트, 또는 소성 몬모릴로나이트를 함유하는 배지에서 재배하는 것을 특징으로 한다.

또한 본 발명에서는 적어도 VA 균근균에 감염된 식물을 소성애터펄자이트 또는 소성몬모릴로나이트를 함유하는 배지에서 재배하면 되고, 필요에 따라 VA 균근균의 감염시에는 별도의 배지를 사용해도 된다.

본 발명에 사용하는 소성애터펄자이트로서는 애터펄자이트를 200-1300℃, 바람직하게는 300-1000℃의 온도에서 소성한 것이 사용된다.

또한 필요에 따라 분말상 애터펄자이트를 알루미늄, 베마이트겔등의 결합제를 사용해서 조립한 소성몬모릴로나이트를 사용할 수도 있으나, 소성후 PH를 5.5-7.5의 범위가 되도록 조정하는 것이 바람직하다.

이소성 몬모릴로나이트의 입자직경은 0.25-10mm, 바람직하게는 입자직경 1-5mm의 것이다.

본 발명에서는 배지로서 상기한 소성애터펄자이트 또는 소성 몬모릴로나이트를 단독으로 사용해도 되지만 다른 배지성분 예를들면 제올라이트 퍼얼라이트, 베어미클라이트(소성)규조토, 경석등의 1종이상과, 병용해도 된다.

또한 소성 애터펄자이트와 다른 배지성분과의 혼합비율 전자 : 후자가 1 : 0-1 : 1(v/v)의 비율 바람직하게는 1 : 0.1 - 1 : 1(v/v)의 비율보다 바람직하게는 1 : 1/6 - 1 : 1/2(v/v)의 비율로 한다.

여기서 다른 배지성분으로서 경석이 바람직하고, 이 경석으로서는 입자직경이 0.5-10mm, 바람직하게는 입자직경이 1-5mm의 범위의 것이 사용된다.

또 소성 몬모릴로나이트와 다른 배지성분과의 배합 비율은 전자 : 후자가 1 : 0 - 1 : 1(v/v)의 비율, 바람직하게는 1 : 0.1 - 1 : 1(v/v)의 비율, 보다 바람직하게는 1 : 1/8 - 1 : 1/3(v/v)의 비율로 한다.

여기서 다른 배지 성분으로서는 경석이 바람직하고 이 경석으로서는 입자직경이 0.5-5mm, 바람직하게는 입자직경 1-3mm의 범위의 것이 사용된다.

숙주식물의 생육에 수반하여 VA 균근균도 증식되지만 통상 2-5개월정도 경과해서 숙주식물의 충분히 생육한때 물등의 공급을 중지하고 잠시 방치하면 VA 균근균은 포자를 형성한다.

즉, 숙주식물의 재배는 통상의 조건에서 행하면 되고, 온도는 통상 5-60℃이며 필요에 따라 물이나 비료를 주면된다.

이상과 같이 해서 형성한 VA 균근균포자가 부착된 배지(VA 균근균접종물)을 회수하면 된다.

이와같이 해서 목적으로하는 VA 균근균접종물을 얻을 수가 있다.

[실시예]

다음에 본 발명의 실시예를 나타낸다.

[실시예 1]

플라스틱 중간화분 8호(직경 240mm × 높이 169mm)에 3mm 메시의 체를 통과하고, 1mm 메시의 체에 남은 소성 애터필자이트(540℃로 소성한 것 입자직경 1-3mm)를 채웠다.

그 중앙에 VA 균근균(글로무스 패시쿨레이텀)의 포자 320개를 깊이 3cm 의 곳이 포자가 물과 함께 아래로 흐르지 않게 화장지로 싸놓았다.

이어서 그위 1cm 의 곳에 옥수수(가네코 종묘사의 골든덴트 DK 649)의 종자는 2알 놓았다.

다음에 중간화분중의 소성애터필자이트 VA 균근균 및 옥수수를 충분히 적신후 비닐로 덮고, 유리온실내로 옮겼다.

유리온실내를 20-25℃로 유지하면서 1주일간 물이 마르지 않게 재배했다.

생육한 묘중 건전한 묘를 남기고, 기타의 묘를 제거했다.

그후 같은 모양으로 유리온실내에서 매일 물을 주면서 재배했다.

재배하고 부터 1개월후부터 주 1 회 피터스(peters) 액체비료 (N : P : K = 20 : 10 : 20)의 1000배액을 살포하여 재배했다.

이조작을 반복하여 다시또 2.5개월간 재배했다.

그 후 물과 액체비료의 살포를 중지하고, 30일간 방치했다.

다음에 중간화분 뒤집어서 옥수수뿌리와 VA 균근균을 포함하는 소성 애터필자이트를 비닐시이트위에 폈다.

옥수수의 굵은 뿌리를 제거하고, 그대로 15℃의 암소에서 건조시켰다.

이렇게 해서 얻어진 배지(옥수수뿌리와 VA 균근균을 포함하는 소성애터필자이트)를 5개소로부터 무작위로 1g의 시료를 채취하여 부착되어 있는 포자수를 계측하고 그 평균치를 배지에 부착한 포자수(개/g)로서 제 1 표에 나타낸다.

[실시예 2]

실시예 1에 있어서 배지로서 소성 애터필자이트 대신에 소성 애터필자이트 6부에 경석 1부의 비율로 혼합한 혼합물을 사용한 것 이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 1 표에 나타낸다.

[비교예 1]

실시예 1에 있어서 배지로서 소성 애터필자이트 대신에 발포점토(브레이 점토 레카단사제, 등록상표 : 레카단)를 분쇄해서 입자직경 1-3mm의 범위의 것으로 한 것을 사용한 것이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착한 포자수로서 제 1 표에 나타낸다.

[비교예 2]

실시예 1에 있어서 배지로서 소성 애터필자이트 대신에 브롬화메틸로 살균후 충분히 가스를 뺀 입자직경 2-4mm의 호박점토를 사용한 것 이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착한 포자수로서 제 1 표에 나타낸다.

[실시예 3]

실시예 1에 있어서 VA 균근균으로서 글로무스 패시쿨레이텀의 포자 320개 대신에 글로무스 칼리도눔의 포자 40개를 사용한 것 이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착한 포자수로서 제 2 표에 나타낸다.

[실시예 4]

실시예 1에 있어서 VA 균근균으로서 글로무스 패시쿨레이텀의 포자 320개 대신에 글로무스 모세아에의 포자 40개를 사용한 것 이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 2표에 나타낸다.

[비교예 3]

실시예 1에 있어서 VA 균근균으로서 글로무스 패시쿨레이텀의 포자 320개 대신에 스킨텔로스포라 그레가리아의 포자 40개를 사용한 것 이외는 실시예 1과 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 2 표에 나타낸다.

[표 1]

	실시예 1	실시예 2	비교예 1	비교예 2
사용한 배지	소성매체 펄자이트	소성매체 펄자이트 + 경석	발포점토	오박점토
VA균근균	글로무스 패시쿨레이텀			
배지에 부착 된 포자수 (개 / g)	87	108	36	44

[표 2]

	실시예 3	실시예 4	비교예 3
사용한 배지	소성매체 펄자이트	소성매체 펄자이트	소성매체 펄자이트
VA균근균	글로무스 갈리도눔	글로무스 에세마에	스킨텔로 스포라 그레가리아
배지에 부착된 포자수 (개 / g)	61	85	8

[실시예 5]

긴화분 5호(직경 150mm × 높이 157mm)에 3mm 메시의 체를 통과하고, 1mm 메시의 체에 남은 소성 몬모릴로나이트 (입자직경 1-3mm 소성온도 600℃)를 채웠다.

그 중앙에 VA 균근균 글로무스 패시쿨레이텀의 포자 250개를 깊이 3cm의 곳에서 화장지로 포자가 물과 함께 아래로 흐르지 않게 해서 놓았다.

이어서 그 위 1cm의 곳에 수단그래스(sudan grass)(다끼이 종묘(주)의 품종 : 베스트 수단)의 종자를 2알 놓았다.

다음에 긴화분종의 몬모릴로나이트, VA 균근균 및 수단 그래스를 충분히 적신후 비닐로 덮고, 유리 온실 내로 옮겼다.

유리온실내를 20-25℃로 유지하면서 1주일동안 물이 마르지 않게 해서 재배했다.

생육된 묘중 건전한 묘를 남기고, 기타의 묘를 제거했다.

그후 같은 모양으로 유리온실내에서 매일 물을 주면서 재배했다

재배하고 부터 1 개월후로부터 주 1 회 피터스 액체비료(N : P : K = 20 : 10 : 20)의 1000배액을 살포하여 재배했다.

이 조작을 반복하여 다시 또 2.5개월간 재배했다.

그후 물과 액체비료의 살포를 중지하고, 20일간 방치했다.

다음에 수단 그래스의 지상부를 절단하고, 긴화분을 뒤집어서 수단그래스의 뿌리와 VA 균근균을 포함하는 소성몬모릴로나이트를 비닐시이트위에 폈다.

수단그래스의 굵은 뿌리를 제거하고, 그대로 15℃의 암소에서 건조시켰다.

이와같이 해서 얻어진 배지(소성 몬모릴로나이트)를 5개소로부터 무작위로 1g의 시료를 채취하여 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수(개/g)로서 제 3 표에 나타낸다.

[실시에 6]

실시에 5에서 배지로서 소성몬모릴로나이트 대신에 소성 몬모릴로나이트 6부에 경석 1부의 비율로 혼합한 혼합물을 사용한 것 이외는 실시예 5와 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 3 표에 나타낸다.

[비교예 4]

실시에 5에서 배지로서 소성 몬모릴로나이트 대신에 발포점토(브레이 점토, 레카단 사제 등록상표 : 레카단)를 분쇄하여 입자직경 1-3mm의 범위의 것을 사용한 것 이외는 실시예 5와 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 3 표에 나타낸다.

[비교예 5]

실시에 5에서 배지로서 소성 몬모릴로나이트 대신에 브롬화메틸로 살균후 충분히 가스를 뺀 입자직경 2-4mm의 호박점토를 사용한 것 이외는 실시예 5와 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 3 표에 나타낸다.

[실시에 7]

실시에 5에서 VA 균근균으로서 글로무스 패시쿨레이텀의 포자 250개 대신에 글로무스 모세아에의 포자 40개를 사용한 것 이외는 실시예 5와 같은 조작을 행하여 배지에 부착되어 있는 포자수를 계측하여 그 평균치를 배지에 부착된 포자수로서 제 3 표에 나타낸다.

[표 3]

	실시예 5	실시예 6	비교예 4	비교예 5	실시예 7
사용한 배지	소성몬모 필로나이트 트	소성몬모 필로나이트 + 경석	발포점토	모 박점토	소성몬모 필로나이트
VA 균근균	글로무스 패시쿨레이텀				글로무스 모세아에
배지에 부착된 포자수 (개/g)	76	88	41	48	61

본 발명의 방법에 의하면 VA 균근균의 포자밀도가 높고, 더구나 활성을 안정적으로 유지할 수 있는 VA 균근균접종물을 싼값에 제조할 수 있다.

따라서 본 발명의 방법은 널리 농업원에 조경 종묘산업등에 있어서 공헌할 수가 있는 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

글로무스속에 속하는 VA 균근균에 감염된 식물을 소성 애터필자이트 또는 소성몬모릴로나이트를 함유하는 배지에서 재배하여 VA 균근균을 증식시키는 것을 특징으로 하는 VA 균근균접종물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 배지로서 소성애터필자이트와 경석을 1 : 0.1 - 1 : 1(V/V)의 비율로 혼합한 것을 사용하는 것을 특징으로 하는 VA 균근균접종물의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 배지로서 소성몬모릴로나이트와 경석을 1 : 0.1 - 1 : 1(V/V)의 비율로 혼합한 것을 사용하는 것을 특징으로 하는 VA 균근균접종물의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, VA 균근균이 적어도 글로무스패시쿨레이텀, 글로무스 모세아에, 글로무스 에투니카툼, 글로무스 인트라라디세스, 글로무스 매니포티스, 및 글로무스 칼리도눔등으로 구성된 군중에서 선택된 1종인 것을 특징으로 하는 VA 균근균접종물의 제조방법.