

식물근권중의 질소고정균 특성에 관한 연구

김형옥 · 유장걸 · 황다리아

Investigations on the characteristics of root-associative nitrogen
fixing bacteria

Hyeong-Ok Kim, Zang-Kwal U, and Daria Huang

Summary

The distribution and characteristics of nitrogen fixing bacteria associated with the rice plant roots were investigated, taking the roots and soil samples from five paddy and six upland fields on Cheju-do.

In the first year, the population density of root associative microorganisms existing in the rice roots and soil was determined using MPN method and correlated with chemical properties of the soils.

In the second year, the N-fixing bacteria (HP, SU, TU) having high acetylene reduction capacity were selected and their physiological characteristics were examined, comparing with *A. brasilense* and *A. lipoferum*. Association of the selected bacteria with the rice roots was confirmed in vitro under the aseptic condition.

1. The population density of microorganisms existing in the paddy rice roots was similar to that of the upland rice roots. The upland soils showed higher MPN on potato agar and Dobereiner media than the paddy soils. On *Azotobacter* media, however, the paddy soils higher MPN than the upland soils.
2. Regardless of sampling sites, and the used media, much more microorganisms (general heterotrophic and N-fixing) were observed in the roots than in the soils.
3. In the paddy rice fields, all the sampling sites gave very similar MPN in both the roots and the soils. In the uplands, however, microorganism densities were varied with the sampling sites; Taeheung, Songdang, and Siheung showed higher MPN in the roots and in the soils, than the other sampling sites.

4. There were highly significant differences in MPN depending on the media. Potato agar media showed the highest MPN, which decreased in the order of Dob.+multivitamin media, Dobereiner media, and Azotobacter media.
5. Statistically significant correlation was found between the population density of microorganisms in the soils (upland and paddy field) and the soil chemical properties such as organic matter, total N, total P, and pH.
6. The physiological characteristics of nitrogen fixing bacteria (HP, SU, TU) selected were similar to those of *A. brasilense*.
7. All of the selected bacteria (HP, SU, TU) made good association with the paddy and upland rice roots, showing better association in the upland than in the paddy rice.
8. The bacteria isolated from the paddy fields made higher acetylene reduction when associated with the paddy rice than with the upland rice while the bacteria from the upland had more acetylene reduction on the upland rice roots than on the paddy rice roots.

1. 서론

우리나라의 총 경작지는 21,682.68 km^2 이며 그 중에서 제주도가 차지하는 면적은 427.17 km^2 이다. 그리고 질소질 비료의 연간 소비량이 전국적으로는 414,187 %인데, 제주도는 15,021 %이다(농수산부, 1986). 이 같은 자료에서 우리나라의 경작지 ha 당 질소질 비료의 소비량을 계산해 보면 188 kg/ha 이 되고, 제주도의 경우는 352 kg/ha 로서 우리나라 평균 소비량보다 거의 두 배나 높다. 한편, 세계적으로 비료를 가장 많이 사용하는 나라로 알려진 농업선진국 네덜란드의 연간 질소비료 사용량은 561 kg/ha 이고, 벨지움이 221 kg/ha , 서독이 207 kg/ha 이며, 일본이 126 kg/ha 이다 (Tisdale, 1985). 따라서 우리나라의, 특히 제주도의 질소질 비료 소비량은 매우 높은 편에 속한다는 사실을 알 수 있다.

질소질 비료의 다량 소비는 궁극적으로 암모니아 합성을 위한 막대한 에너지 자원의 소모는 물론 환경오염 문제까지도 초래케 하는 것이다. 서독, 벨지움, 네덜란드 등 농업선진 제

국에서는 다량의 질소비료 시용에 따른 지하수의 오염문제가 심각하게 대두되고 있는 실정이며, 따라서 질소비료 시용에 의한 환경오염에 관해서 깊은 관심을 갖고 다방면으로 연구 검토되고 있다. 제주도에서는 질소질 비료에 의한 환경오염이 아직 대두되지 않았으나 질소질 비료의 소비량이 점점 증가 추세에 있으므로 앞으로 이와같은 문제가 생길 가능성이 있다고 본다.

생물학적 질소고정은 공생적인 것과 비공생적인 것으로 나눌 수 있는데, 공생적 질소고정이 대부분 두과식물에 한정되어 있는 반면 비공생적 질소고정은 주곡 작물과 기타 여러 식물에서 일어나고 있다. 그렇기 때문에 비공생적 질소고정을 잘 이용하면 인류의 식량작물 생산에 좀더 경제적인 방법이 제시될 수 있을 것이라고 생각된다. 공생적 질소고정균에 대한 연구는 많이 진행되어 온 반면에 비두과 식물 근권중의 질소고정에 대해서는 비교적 최근에 들어와서 연구자들의 관심을 끌게 되었다. 한편, Dobereiner 등 (1976) 에 의해 열대 및 아열대 지역의 목초근권에서 *Azospiril-*

lum 속의 질소고정균이 발견되었는데, 질소 고정균이 식물뿌리 표면에 흡착되어 있으면서 뿌리에서 분비되는 유기물을 탄소원으로써 공급 받는 반면, 공기중의 질소를 환원시켜 암모니움 형태 질소를 만들면 고등식물은 이를 이용하게 된다. Niemann 등(1984), Reinhold 등(1986, 1987)과 Hurek 등(1986)이 Kallar Grass 근권에서 *Azospirillum* 속을 분리하여 그 생리적 특성을 연구하였고, Cohen 등(1980)과 Jain 등(1984)은 옥수수, 밀에서도 근권중의 질소고정균을 분리하였다. Haahtela 등(1981)은 아열대나 열대작물뿐만 아니라 추운 지방의 *Spodosols* 토양에서도 질소고정균을 분리했으며 Matsuguchi (1976)는 태국의 논에서 분리한 질소고정 미생물과 토양의 화학적 성질과의 관계를 연구하였다. Vlassak 등(1978)과 Rannie 등(1983)에 의해 이들 세균의 질소고정능이 식물 종류에 따라 다르다는 것이 밝혀졌고, 또한 Reynder. 등(1982)과 Baldani 등(1983)에 의해서는 균주의 특성에 따라 질소고정능이 다르다는 것이 밝혀졌다.

본 연구는 아열대성 기후에 속하는 제주도의 수도와 육도근권 중에 서식하는 질소고정균의 특성을 알아보고자 수행되었던 바 Most Probable Number (MPN) 방법 (Alexander, 1965; Man, 1975)을 이용하여 도내 질소고정균의 밀도와 분포를 조사하였고, 여기에서 측정된 미생물의 밀도와 토양의 화학적 성질과의 상관관계를 검토하였다.

한편 앞서 분리된 미생물 중 아세틸렌 환원력이 큰 질소고정미생물을 선발하여, 그 생리적 특성 및 식물과의 상호관계를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 1. 제주도내 수도와 육도근권중의 질소고정균의 밀도 및 분포조사

2.1.1. 공시 재료

1987년 9월 5일부터 29일까지 제주도내 11개 지역에서 공시재료를 채취하였다. 수도는 외도, 중달, 강정, 고산, 한림의 5개 지역에서, 육도는 장전, 상가, 시흥, 아라, 태흥, 송당의 6개 지역 (Table 1, Fig. 1)으로부터 벼와 근권토양 (반경 7~10cm, 깊이 15~20cm)을 함께 비닐주머니에 채취하여 실험실로 운반하였다.

2.1.2. 시료의 처리

채취해 온 토양은 즉시 풀고루 섞어서 일부를 취하여 mineral solution 50 ml, detergent 20 ml와 모래 1g이 들어있는 삼각 플라스크에 넣어 무게를 잰 후 1시간 동안 진탕하였다 (70~80 rpm). 벼뿌리는 흐르는 수돗물로 잘라붙어 있는 토양과 불순물들을 제거한 후 100~500 mg 정도를 평량하여 멸균된 mortar에 넣고 모래 2g과 함께 마쇄시킨 후 50ml mess flask에 옮겨 mineral solution으로 채웠다.

2.1.3. MPN 방법을 위한 배지 조제

potato agar 배지 (Table 2)는 감자 200g을 씻어서 0.5cm×0.5cm×0.5cm 크기로 썰은 후 증류수 500ml를 넣어 30분간 삶고 buchner funnel (Toyo No.2)로 여과했다. malate 2.5g과 KOH 2.0g을 증류수 250ml에 녹인 다음 KOH용액을 사용하여 pH 6.8로 맞추고 dextrose 2.5g, biotin 0.1mg, niacinamide 0.04mg을 증류수 150ml로 녹인 후 potato, malate, KOH, 그리고 dextrose 등을 함께 섞어 전체 부피가 1ℓ 되게 한 뒤에 agar를 넣어 autoclave에서 멸균 (120℃, 15psi, 15min.)했다.

dobereiner 배지 (Table 3)는 malate와

Table 1. Description of soil sampling sites.

Sample No.	Location	No. of sampling sites	Soil series	Soil color	Vegetation
1	Jangjeon(nv*)	4	Donggwi	Dark brown	Upland rice
2	Sangga(v*)	4	Ora	Very dark greyish brown	Upland rice
3	Siheung(v)	4	Cheju	Very dark greyish brown	Upland rice
4	Ara(v)	4	Cheju	Very dark greyish brown	Upland rice
5	Taeheung(v)	4	Namwon	Black	Upland rice
6	Songdang(v)	4	Pyeongdae	Black	Upland rice
7	Oedo(nv)	4	Donghong	Dark brown	Paddy rice
8	Jongdal(nv)	4	Nakcheon	Greyish brown	Paddy rice
9	Gangjeong(nv)	4	Ueolpyeong	Grey	Paddy rice
10	Gosan(nv)	4	Gujwa	Very dark greyish brown	Paddy rice
11	Hallim(nv)	4	Gueom	Dark yellow paddy rice	Paddy rice

* nv: non-volcanic ash soil, v: volcanic ash soil

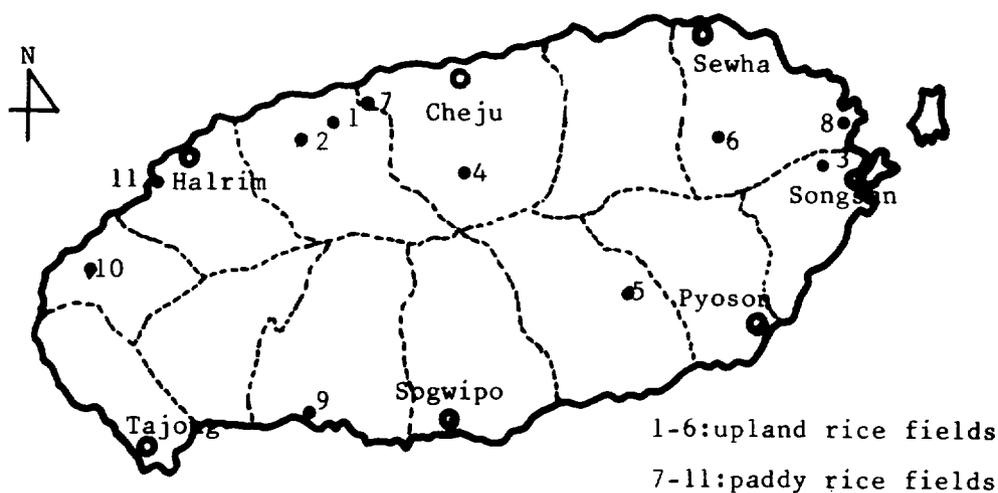


Figure 1. Location of sampling sites in Cheju-do.

Table 2. Composition of the potato agar media for non-selective growth.

Nutrients	Concentrations
Potato	200 g/l
Malate	2.5 g/l
KOH	2.0 g/l
Dextrose	2.5 g/l
Biotin	0.1 mg/l
Niacinamide	0.04 mg/l
Agar	1.5 g/l

Table 3. Composition of the nitrogen-free malate media (Dobereiner media)

Nutrients	Concentrations
Malate	5.0 g/l
KOH	4.5 g/l
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g/l
NaCl	0.1 g/l
CaCl ₂	0.02 g/l
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.002 g/l
MnSO ₄ · H ₂ O	0.09 g/l
Fe-EDTA(1.64 % w/v, aqueous)	4.0 ml/l
Eiotin	0.1 mg/l
K ₂ HPO ₄	0.5 mg/l
Agar	1.5 g/l

KOH를 함께 녹인 stock solution 20 ml, Mg, Ca, Na, Mo, Mn, Fe의 혼합용액 10 ml, 그리고 biotin과 KH₂PO₄ 혼합액 1 ml를 삼각플라스크에 넣고, 증류수로 1 l를 채운 뒤, pH를 6.8로 맞추는 다음 agar를 넣어 멸균했다.

multivitamin을 함유하는 dobereiner 배지 (dob + multivitamin 배지)는 Table 4의 조성 성분대로 평량하여 200 ml의 증류수에

녹인 후 ultramembrane filter (0.45 μm)로 여과한 뒤에 전술한 방법으로 조제된 dobereiner 배지 (단, 증류수는 800 ml만 넣었다)에 넣어 1 l로 만들었다.

azotobacter 배지는 Table 5에 있는 순서대로 sucrose로부터 CaCO₃까지 삼각플라스크에 넣어 500 ml 증류수에 녹이고, P-aminobenzoic acid에서 agar까지는 플라스크에 취하고 증류수 500 ml에 녹인 후

Table 4. Composition of the multivitamin soln. for vitamin enriched Dobereiner media (Dob + multivitamin media)

Vitamins	Concentrations
Panthenate	40 mg/l
Myo-inositol	200 mg/l
Niacinamide	40 mg/l
p-aminobenzoic acid	20 mg/l
Pyridoxin hydrochloride	40 mg/l
Riboflavin	20 mg/l
Thiamine dichloride	4 mg/l

Table 5. Composition of Azotobacter media for diazotrophic Bacillus and Azotobacter

Nutrients	Concentrations
Sucrose	10 g/l
Glucose	10 g/l
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 g/l
NaCl	0.01 g/l
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.015 g/l
NaMo ₄ · 2H ₂ O	1.0 g/l
CaCO ₃	1.0 g/l
p-aminobenzoic acid	0.01 g/l
Biotin	0.005 g/l
KH ₂ PO ₄	0.13 g/l
K ₂ HPO ₄	0.17 g/l
Agar	0.5 g/l

각각 멸균하여 혼합하였다.

mineral solution 은 dobereiner 배지에서 malate, KOH 와 agar 를 제외한 용액이다.

2.1.4. 토양의 화학성 분석 (Yoshida 등, 1972 ; 농업기술연구소, 1974 ; Bremmer 등, 1965)

채취해 온 토양을 균일하게 섞어서 일부를 취하여 100 ~ 110 °C에서 건조시킨 뒤 수분함량을 측정했다.

pH (1 : 5) 는 2 mm 체를 통과한 풍건토양

5 g에 물 25 ml를 가하여 pH meter (METROHM 632)에서 측정하였고, 전 질소는 macro kjeldahl 법으로 정량하였다. 전 인산은 과염소산과 진한 질산을 사용하여 토양을 분해시킨 후 vanado-molybdate 법으로 비색정량 (spectronic 20) 하였으며, 유효 인산은 Bray No. 1 (1 : 7) 으로 침출시킨 후 SnCl₂ 와 ammonium vanadate 용액으로 발색시켜서 비색정량을 하였다.

유기물은 Walkey-Black 법으로 정량하였고, 치환성 염기는 IN-NH₄OAC (pH 7.0) 로 토양을 침출한 후에 원자흡광 광도계

(Perkin-Elmer, MODEL 2380)로 측정하였다.

2.1.5 MPN 법에 의한 근권중 미생물의 밀도 측정 (Alexander ; Brockwell, 1980)

MPN측정은 3 반복 방법으로 수행하였으며 회석배수는 potato agar 배지의 경우 토양과 뿌리 모두 10^{-9} , doberiner 배지는 토양과 뿌리 모두 10^{-7} , dob + multivitamin 배지는 뿌리의 경우 10^{-9} , 그리고 토양은 10^{-7} , azotobacter 배지는 뿌리와 토양 모두 10^{-7} 까지 했다. 이상의 4 가지 배지를 사용하여 일개 지역의 뿌리와 토양에 대한 MPN 값을 측정하는 데 필요한 시험관 총수는,

potato agar 배지 ; 2 (뿌리와 토양) $\times 9 (10^{-1} - 10^{-9}) \times 3$ (반복) = 54

doberiner 배지 ; 2 (뿌리와 토양) $\times 7 (10^{-1} - 10^{-7}) \times 3$ (반복) = 42

dob + multivitamin 배지 ; [1 (뿌리) $\times 9 (10^{-1} - 10^{-9}) \times 3$ (반복)] + [1 (토양) $\times 7 (10^{-1} - 10^{-7}) \times 3$ (반복)] = 48

azotobacter 배지 ; 2 (뿌리와 토양) $\times 7 (10^{-1} - 10^{-7}) \times 3$ (반복) = 42

로 모두 186 이 되는데 한 지역에서 4 포기의 벼와 토양을 채취했기 때문에 결국 744 개의 시험관이 사용되었다.

회석 과정은 뿌리와 토양의 현탁액을 0.5 ml씩 취하여 각 배지의 시험관 (10^{-1})에 접종하여 vortex mixer 로 충분히 섞어준 후 여기에서 0.5 ml를 취하여 다음 회석배수 시험관 (10^{-1})으로 옮기고 이와 같은 조작을 반복하여 최종 회석배수인 10^{-7} 또는 10^{-9} 까지 실시하였다.

이렇게 처리된 시험관을 32~33 °C에서 배양하면서 매일 관찰하여, 더 높은 회석배수로

colony 형성이 진행되지 않는 것을 확인한 뒤에 de man (1975)의 MPN 표에 의해 미생물수를 계산하고 이를 벼뿌리와 토양의 건물 g당으로 환산하여 미생물 밀도를 표시했다. 측정된 미생물 밀도가 지역별, 배지별, 뿌리와 토양, 그리고 수도와 육도간에 차이가 있는지를 알기 위해서 duncan의 다중검정을 실시하여 유의성 검토를 하였다.

여기에서 사용된 배지는 뿌리와 토양 중에 존재하는 총 균수를 알기 위해 potato agar 배지를, azospirillum 속과 같이 질소원이 없는 배지에서 자라는 미생물 수를 측정하기 위해서 doberiner 배지를, 또 특히 vitamin 요구성이 큰 질소고정균을 위해서 dob + multivitamin 배지를, 그리고 azotobacter와 bacillus 속처럼 glucose와 sucrose를 탄소원으로 이용하는 질소고정균을 위해서 azotobacter 배지를 선택했다.

2.2. 실험 2. 질소고정균의 생리적 특성과 식물과의 상호 관계 조사

2.2.1. 질소고정균의 생리적 특성 조사

실험 1에서 분리된 미생물 (HP, SU, TU) (Table 6 참조)의 생리적인 특성을 조사하고자 azospirillum 속의 지표인 온도 (36~38 °C), congo red 염색여부, 탄소원 (glucose, fumarate, malate) 이용 및 biotin 요구도 그리고 pH 9.5와 3% NaCl 처리시 colony 형성 여부를 조사하였다.

2.2.2 벼의 무균배양

약 100여 개의 수도 (섬진)와 육도 (농립나1호) 벼씨를 골라 그 찻질을 벗기고 0.8% nutrient broth가 들어있는 용기로 벼씨를 옮겨 25 °C에서 3시간 진탕배양을 함으

Table 6. Specifications of N-fixing bacteria isolated from the rhizospheres of Cheju paddy and upland rices

Name	Remarks
HP	N-fixing bacteria isolated from Halrim paddy rice field under Dobereiner media
TU	N-fixing bacteria isolated from Taeheung upland rice field under Dobereiner media
SO	N-fixing bacteria isolated from Songdang upland rice field under Dobereiner media containing vitamins

로써 범씨 표면에 부착되어 있는 미생물의 포자를 활성화시켜 주었다.

그 후, 2% streptomycin 용액에서 45분, 다시 0.2% HgCl₂ 용액에서 30분 동안 진탕하면서 범씨의 표면 살균을 실시했다. 그 후 멸균증류수로 범씨에 묻어있는 HgCl₂ 을 세척한 뒤, hoagland 영양액 (Table 7) 이 들어있는 고체배지 (0.8% agar) 에 과종하였다. 발아된 후 growth cabinet (25°C, 50,000 lux) 에서 약 1주일 정도 키운 뒤, 비교적 생장이 양호한 개체만을 골라 hoagland

영양액과 0.5% agar 를 함유한 시험관으로 옮겨 심은 뒤 상기 조건에서 계속하여 생육시켰다.

2.2.3 질소고정균의 뿌리 흡착량 조사

선발된 미생물 (HP, SU, TU) 을 방사능으로 표시시키기 위해 P-32 1 uCi 를 함유하는 45 ml 의 VK 배지 (Table 8) 에 접종하여 32°C 에서 16 시간 동안 진탕배양한 뒤 미생물에 의해 흡수되지 않는 유리 P-32 를 0.8% NaCl 용액으로 세척하기 위해 세 차례 원심분리 (6000 rpm) 하였다. 그 후 세척된 P-

Table 7. Composition of Hoagland solution

Compounds	Concentrations
KCl	0.149 g/l
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.294 g/l
KH ₂ PO ₄	0.054 g/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.197 g/l
H ₃ BO ₃	1.546 mg/l
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.338 mg/l
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.575 mg/l
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.125 mg/l
H ₃ MoO ₄	0.081 mg/l
Fe-EDTA	6.922 mg/l

Table 8. Composition of VK media

Compounds	Concentrations
Malate	5.0 g/l
KOH	4.5 g/l
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g/l
NaCl	0.1 g/l
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.02 g/l
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.002 g/l
MgSO ₄ · H ₂ O	0.09 g/l
Fe-EDTA(1.64 W/V, aqueous)	4.0 mg/l
Biotin	0.1 mg/l
KH ₂ PO ₄	0.5 mg/l
Agar	1.5 g/l

32 표지 bacteria 를 ml 당 3.40×10^8 개의 밀도를 갖도록 0.8 % NaCl 로 희석하여 무균적으로 배양된 수도와 육도의 뿌리 주위에 접종시켰다. 7 시간 후 뿌리를 채취하여 5 분간 수돗물로 씻고 계측병 넣어 액체섬광계수기 (Berthold, BF 8000) 로 방사능을 측정하였다.

한편, 뿌리에 흡착된 박테리아수를 산정하기 위해서 접종전에 방사선 계측기와 박테리아수의 관계를 알아놓았다. 이것을 기준으로 해서 접종된 뿌리의 방사능측정치로부터 박테리아 수를 계산하고 이를 단위건물중(%) 당으로 나타내었다.

2.2.4 질소고정균의 접종 및 아세틸렌 측정

배지중의 질소농도가 질소고정균과 벼뿌리간의 협생에 어떠한 영향을 주는지를 알기 위해서 질소농도를 달리한 (0, 7, 14 ppm) hoagland 영양액과 0.5 % agar 가 들어있는 시험관에 수도와 육도를 옮겨심고 2일 후에 VK 배지에서 배양된 박테리아를 접종시켜 10일간 배양시켰다 (25 °C, 50,000 lux).

그 후, 근권중에 존재하는 질소고정균의 아세틸렌 환원력을 측정키 위해 시험관 용적의 5 %에 해당하는 acetylene 량을 첨가하

여 48 시간 동안 incubation 시킨 뒤 생성된 ethylene 을 gas chromatography 를 이용하여 측정하였다.

이때 기기의 조건은

column and packing material : porapak - N (1 m × 3 mm, L × D)

detector : FID

carrier gas : nitrogen gas

flow rate : 45 ml

이였으며 ethylene peak 의 retention time 은 1.5 min 이내였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 실험 1. 제주도내 수도와 육도 근권중의 질소고정균의 밀도 및 분포 조사

3.1.1. 토양의 화학성

제주도내 수도 및 육도 근권중에 존재하는 미생물의 밀도를 조사하기 위해 채취한 11 개 지역 (논 : 5 개소, 밭 : 6 개소) 토양의 화학적 성질은 Table 9 에서 보는 바와 같다.

Table 9. Chemical properties of sampling site soils in Cheju-do

Sampling sites	pH H ₂ O(1:5)	Organic matter(%)	Total N (%)	Total P* (%)	Avail P (ppm)	Exchangeable bases(me/100g)				Water content (%)
						Ca	Mg	K	Na	
Jangjeon	6.1	2.75	0.36	0.68	16.6	2.16	2.04	0.56	0.15	24.9
Sangga	5.9	9.43	1.05	1.06	7.09	0.64	0.30	0.19	0.48	37.7
Siheung	6.2	12.9	1.38	1.44	9.11	6.05	1.52	0.43	1.11	39.6
Ara	5.4	12.3	1.36	1.15	9.96	0.24	0.14	0.16	0.46	36.9
Taeheung	6.5	23.9	1.68	1.24	3.71	5.49	1.76	0.28	0.57	44.4
Songdang	6.5	13.2	1.61	1.84	8.56	0.38	0.29	0.14	0.31	41.0
Oedo	6.2	4.53	0.47	0.67	5.54	16.0	3.27	0.54	0.43	46.0
Jongdal	7.1	3.24	0.55	0.74	8.23	27.2	6.10	3.36	1.01	45.2
Gangjeong	6.0	5.97	0.61	1.46	24.9	13.0	3.17	0.36	0.53	37.8
Gosan	6.1	3.69	0.51	0.44	4.09	3.75	3.00	0.16	0.13	45.9
Hallim	6.6	5.03	0.75	0.71	10.8	12.7	5.10	0.50	0.33	48.9

* Bray No.1

** IN NH OAc(pH7) extraction

밭 토양의 경우, pH는 5.4~6.5로 약산성이었으며, 유기물 함량은 비화산회토인 장전지역이 2.75%였고, 화산회토인 나머지 지역은 13~24% 정도로 높은 함량을 보였으며, 전질소, 전인산 그리고 수분함량은 화산회토지역이 높은 경향을 띠어 1.1~1.7%N, 1.1~1.8%P 그리고 수분함량은 38~44%이었다. 김(1974), 유 등(1984)이 보고한 대로 화산회토는 인산을 흡착 고정하는 능력이 크므로 유효인산 함량은 비화산회토가 16.6ppm, 화산회토가 7~10ppm으로 나타났다. 반면에 치환성 염기(K, Ca, Mg, Na)의 함량은 지역마다 각각 달랐다.

논 토양의 경우, pH는 6.0~7.1로 중성에 가까웠고, 유기물, 전질소, 전인산, 그리고 유효인산의 함량은 거의 비슷한 수준(평균함량: 유기물 -4.1%, 전질소 -0.57%, 전인산 -0.64%, 유효인산 -7.2ppm)이었으나 강정지역만 다른 곳보다 이들의 함량이 높았다(유기물 -6%, 전질소 -0.7%, 전인산 -1.5%, 유효인산 -25ppm). 치환성 염기는 중달지역이 다른 곳에 비해 높게 나타났는데 이 지역은 바다를 막아 만들었으며, 객토를 많이 했기 때문에 각종 염기가 많은 것으로 생각된다.

3.1.2. 수도 및 육도 근권층의 미생물 밀도(MPN)

수도 및 육도 근권층에 존재하는 미생물의 지역별, 배지별 분포는 Table 10에서 보는 바와 같고, 이 표에서 수도와 육도, 뿌리와 토양, 지역별 그리고 배지별 MPN을 자연 대수로 고치 후 통계 처리하여 비교해 본 결과는 다음과 같다.

3.1.2.1. 수도와 육도의 근권 미생물 밀도(MPN) 비교

수도와 육도에서의 미생물 분포는 Table 11과 같이 육도지역의 MPN은 뿌리와 토양을 막론하고, 사용한 모든 배지(potato agar 배지, dobereiner 배지, dob +

multivitamin 배지, azotobacter 배지)에서 수도보다 높은 값(5%, 1%의 유의성)을 보였다. Matsuguchi(1979)는 태국의 논 토양을 대상으로 수행한 연구에서 질소고정균 밀도가 토양의 유기물 함량, 전질소, 전인산, 유효인산, pH와 높은 정의 상관관계를 갖는다고 보고하였다. 본 실험에서도 육도지역 토양의 유기물, 전질소, 그리고 전인산 함량이 수도지역보다 높았고(Table 9) 따라서 뿌리 및 근권토양층의 미생물 밀도가 높게 나타났는데 이는 식물 근권토양의 유기물, 전질소, 전인산, 유효인산 함량이 미생물의 밀도와 밀접한 관련을 가진 것으로 보인다(Table 15, Table 16).

3.1.2.2. 뿌리와 토양층의 미생물 밀도(MPN) 비교

뿌리층 미생물 밀도는 토양층보다 높게 나타났으며(Table 12) 그 수치를 보면 potato agar 배지에서 뿌리가 2×10^{10} , 토양이 10^{8-9} 이었고, dobereiner 배지에서는 뿌리 층에 10^6 정도, 토양에서는 10^{4-5} 이었으며, dob + multivitamin 배지에서는 뿌리가 10^{10} , 토양이 10^{6-8} 정도였고, azotobacter 배지에서 뿌리는 10^6 , 토양은 10^4 의 분포를 보였다(1%의 유의성). 이 값은 뿌리 혹은 토양의 건물 8당으로 표시된 것으로 뿌리가 토양보다 건물 8당 유기물 함량이 높기 때문에 나타난 결과라고 보며, Boyle 등(1978), Patriquin 등(1978)과 McClung 등(1983)이 spartina alterniflora에서 실험한 결과와 Reinhold 등(1986)이 kallar grass에서 실험한 결과에서도 본 실험과 같은 경향을 나타냈다.

3.1.2.3. 지역별 미생물 밀도(MPN) 비교

각 지역별로 미생물의 분포를 비교해 보면 Table 13과 같다.

수도에서의 지역별 분포는 거의 비슷하여

Table 10. MPN of microorganisms existed in roots and soils, determined on the various media, sampled from the upland and paddy rice fields on Cheju-do.

Sampling sites	(microorganism no. per dry wt. g of root and soil)											
	Potato agar media		Dobereiner media		Dob + multivitamin media		Azotobacter media					
	Root	Soil	Root	Soil	Root	Soil	Root	Soil				
Upland	Jangjeon	4.5×10^8	5.4×10^7	2.3×10^6	3.0×10^4	7.3×10^6	4.7×10^5	8.9×10^6	1.2×10^4			
	Sangga	6.6×10^8	6.7×10^9	6.4×10^4	2.7×10^4	1.3×10^4	1.6×10^6	4.2×10^3	3.2×10^4			
	Siheung	2.0×10^9	6.2×10^9	9.6×10^6	5.6×10^6	2.1×10^9	2.8×10^8	5.0×10^4	7.4×10^3			
	Ara	3.3×10^9	6.7×10^9	8.3×10^4	9.9×10^3	5.0×10^7	1.3×10^7	1.8×10^3	6.3×10^3			
	Taeheung	8.6×10^{10}	1.8×10^{10}	1.5×10^5	1.8×10^4	8.6×10^{10}	1.8×10^8	2.4×10^3	3.2×10^3			
Songdang	3.5×10^{10}	2.0×10^{10}	1.8×10^6	1.5×10^4	7.0×10^{10}	2.8×10^8	2.6×10^5	1.5×10^4				
Paddy	Oedo	1.5×10^9	2.2×10^7	5.7×10^6	3.7×10^4	1.7×10^8	1.0×10^4	1.8×10^6	1.3×10^4			
	Jongdal	1.9×10^9	3.2×10^6	4.7×10^6	7.5×10^4	3.7×10^7	3.1×10^6	6.1×10^6	7.1×10^4			
	Gangjeong	1.9×10^{10}	1.1×10^8	3.0×10^6	4.3×10^4	1.4×10^8	2.0×10^6	7.0×10^5	1.1×10^4			
	Gosan	2.9×10^{10}	4.2×10^8	8.9×10^5	3.4×10^4	1.2×10^{11}	2.0×10^8	3.8×10^5	4.5×10^4			
	Hallim	3.4×10^9	1.1×10^8	5.8×10^5	5.3×10^4	7.5×10^{10}	1.9×10^8	1.8×10^5	1.2×10^4			

Table 11. Comparison of average MPN of the upland and paddy rice fields in various media

(microorganism no. per dry wt. g of root and soil)

		Upland	Paddy
Potato agar media	Root	2.1×10^{10}	1.1×10^{10}
	Soil**	9.6×10^9	1.3×10^8
Dobereiner media	Root	2.3×10^6	3.0×10^6
	Soil*	9.5×10^5	4.8×10^4
Dob + multivitamin media	Root	2.6×10^{10}	3.9×10^{10}
	Soil	1.1×10^8	7.9×10^7
Azotobacter media	Root	1.5×10^6	1.8×10^6
	Soil	1.3×10^4	3.0×10^4

* Significance at 5 %

** Significance at 1 %

Table 12. Comparison of average MPN of roots and soils in various media

(microorganism no. per dry wt. g of root and soil)

	Potato agar media		Dobereiner media		Dob + multi- vitamin media		Azotobacter media	
	root	soil	root	soil	root	soil	root	soil
Upland	2.1×10^{10}	9.6×10^9	2.3×10^6	9.5×10^5	2.6×10^{10}	1.1×10^8	1.5×10^6	1.3×10^4
	a	a	a	a	b**	a	b**	a
Paddy	1.1×10^{10}	1.3×10^8	3.0×10^6	4.8×10^4	3.9×10^{10}	7.9×10^6	1.8×10^6	3.0×10^4
	b**	a	b**	a	b**	a	b**	a

** Significance at 1 %

Table 13. MPN of microorganisms varied with the different sampling sites in upland and paddy rice fields respectively

Sampling sites	(microorganism no. per dry wt. g of root and soil)									
	Potato agar media		Dobereiner media		Dob + multivitamin media		Azotobacter media			
	Root	Soil	Root	Soil	Root	Soil	Root	Soil	Root	Soil
Upland	Jangjeon	4.5×10^8 a*	5.4×10^7 a**	2.3×10^6 ab**	3.0×10^4 a**	7.3×10^6 a**	4.7×10^5 a**	8.9×10^6 a*	1.2×10^4 a*	
	Sangga	6.6×10^8 a	6.7×10^9 b	6.4×10^4 a	2.7×10^4 a	1.3×10^6 a	1.6×10^6 a	4.2×10^3 ab	3.2×10^4 a	
	Siheung	2.0×10^9 ab	6.2×10^9 b	9.6×10^6 b	5.6×10^6 b	2.1×10^9 b	2.8×10^8 b	5.0×10^4 ab	7.4×10^3 a	
	Ara	3.3×10^9 ab	6.7×10^9 b	8.3×10^4 a	9.9×10^3 a	5.0×10^7 b	1.3×10^7 a	1.8×10^3 a	6.3×10^3 a	
	Taeheung	8.6×10^{10} b	1.8×10^{10} b	1.5×10^5 a	1.8×10^4 a	8.6×10^8 c	1.8×10^8 b	2.4×10^3 a	3.2×10^3 a	
Songdang	3.5×10^{10} b	2.0×10^{10} b	1.8×10^6 ab	1.5×10^4 a	7.0×10^{10} c	2.0×10^8 b	2.6×10^5 b	1.5×10^4 a		
Paddy	Oedo	1.5×10^9 a	2.2×10^7 a	5.7×10^6 a	3.7×10^4 a	1.7×10^8 a	1.0×10^4 a	1.8×10^6 a	1.3×10^4 a	
	Jongdal	1.9×10^9 a	3.2×10^6 a	4.7×10^6 a	7.5×10^4 a	3.7×10^7 a	3.1×10^6 a	6.1×10^6 a	7.1×10^4 a	
	Gangjeong	1.9×10^{10} a	1.1×10^8 a	3.0×10^6 a	4.3×10^4 a	1.4×10^8 a	2.0×10^6 a	7.0×10^5 a	1.1×10^4 a	
	Gosan	2.9×10^{10} a	4.2×10^8 a	8.9×10^5 a	3.4×10^4 a	1.2×10^{11} b	2.0×10^8 a	3.8×10^5 a	4.5×10^4 a	
	Hallim	3.4×10^9 a	1.1×10^8 a	5.8×10^5 a	5.3×10^4 a	7.5×10^{10} b	1.9×10^8 a	1.8×10^5 a	1.2×10^4 a	

* Significance at 5 %

** Significance at 1 %

Table 14. MPN of microorganisms affected by various media in root and soil samples respectively

Sampling sites	(microorganism no. per dry wt. g of root and soil)									
	Potato agar media	Dobe-reiner media	Root Dob+ multivitamin media	Azoto-bacter media	Potato agar media	Dobe-reiner media	Soil Dob+ multivitamin media	Azoto-bacter media		
Upland										
Jangjeon	4.5×10^8 a	2.3×10^6 a	7.3×10^6 a	8.9×10^6 a	5.4×10^7 d**	3.0×10^4 b	4.7×10^5 c	1.2×10^4 a'		
Sangga	6.6×10^8 b**	6.4×10^4 a	1.3×10^6 b	4.2×10^3 a	6.7×10^9 c**	2.7×10^4 a	1.6×10^7 b	3.2×10^4 a		
Siheung	2.0×10^9 c**	9.6×10^6 b	2.1×10^9 c	5.0×10^4 a	6.2×10^9 d**	5.6×10^6 b	2.8×10^8 c	7.4×10^3 a		
Ara	3.3×10^9 d**	8.3×10^4 b	5.0×10^7 c	1.8×10^3 a	6.7×10^9 c**	9.9×10^3 a	1.3×10^7 b	6.3×10^3 a		
Taeheung	8.6×10^{10} c**	1.5×10^5 b	8.6×10^{10} c	2.4×10^3 a	1.8×10^{10} c**	1.8×10^4 a	1.8×10^8 b	3.2×10^3 a		
Songdang	3.5×10^{10} c**	1.8×10^6 a	7.0×10^{10} b	2.6×10^5 a	2.0×10^{10} c**	1.5×10^4 a	2.0×10^8 b	1.5×10^4 a		
Paddy										
Oedo	1.5×10^9 b**	5.7×10^6 a	1.7×10^8 a	1.8×10^6 a	2.2×10^7 b	3.7×10^4 a	1.0×10^4 a	1.3×10^4 a		
Jongdal	1.9×10^9 b**	4.7×10^6 a	3.7×10^7 a	6.1×10^6 a	3.2×10^6 b**	7.5×10^4 a	3.1×10^6 b	7.1×10^4 a		
Gangjeong	1.9×10^{10} c**	3.0×10^6 ab	1.4×10^8 b	7.0×10^5 a	1.1×10^8 c**	4.3×10^4 a	2.0×10^6 b	1.1×10^4 a		
Gosan	2.9×10^{10} b**	8.9×10^5 a	1.2×10^{11} c	3.8×10^5 a	4.2×10^8 b*	3.4×10^4 a	2.0×10^8 b	4.5×10^4 a		
Hallim	3.4×10^9 b**	5.8×10^5 a	7.5×10^{10} c	1.8×10^5 a	1.1×10^8 b*	5.3×10^4 a	1.9×10^8 b	1.2×10^4 a		

* Significance at 5 %

** Significance at 1 %

Table 15. Correlation between the chemical properties of the sampled soils and MPN of microorganisms existed in the soils on the different media
(Correlation coefficients)

	Potato agar media	Dobereiner media	Dob.+ multi-vitamin media	Azotobacter media
pH	-0.40	0.18	0.17	0.33
Water content	-0.10	0.05	0.29	0.18
Organic matter	0.80**	-0.03	0.48	-0.69*
Total N	0.89**	0.03	0.59	-0.56
Total P	0.65*	0.12	0.34	-0.44
Available P	-0.28	0.03	-0.43	-0.12
Exchangeable bases				
Ca	-0.80*	0.20	-0.33	0.39
Mg	-0.84**	0.16	-0.13	0.43
K	-0.66*	0.15	-0.20	0.56
Na	-0.04	0.70	0.10	-4.7×10^{-3}

* Significance at 5 % ** Significance at 1 %

Table 16. Correlation between the chemical properties of the sampled soils and MPN of microorganisms existed in the roots on the different media
(Correlation coefficients)

	Potato agar media	Dobereiner media	Dob.+ multi-vitamin media	Azotobacter media
pH	0.08	0.43	0.34	0.46
Water content	0.43	0.02	0.61*	-0.10
Organic matter	0.53	-0.44	0.35	-0.77**
Total N	0.48	-0.41	0.35	-0.77**
Total P	0.39	-4.5×10^{-3}	0.13	-0.37
Available P	-0.13	0.27	-0.35	-0.35
Exchangeable bases				
Ca	-0.13	0.53	-0.09	0.55
Mg	-0.08	0.46	0.12	0.63*
K	-0.26	0.38	-0.27	0.49
Na	-0.14	0.34	-0.17	-0.09

* Significance at 5 % ** Significance at 1 %

potato agar 배지에서 10^6-10^7 , *dobereiner* 배지에서 10^4-6 , *dob + Multivitamin* 배지에서 10^6-10^7 , 그리고 *azotobacter* 배지에서 10^4-6 정도의 밀도를 나타냈다.

한편, 육도에서는 지역별 차이를 보였는데 (5%, 1% 유의성), 다른 지역에 비해 송당, 태흥, 시흥에서의 미생물 밀도가 높았고, 배지별로는 potato agar 배지에서 10^9-10^7 *dobereiner* 배지에서 10^4-6 , *dob + multivitamin* 배지에서 10^8-10^7 , 그리고 *azotobacter* 배지에서 10^3-5 정도를 나타냈다. 이 세 지역의 토양 화학성을 다른 곳과 비교해 보면 pH, 유기물, 전질소, 전인산, 그리고 수분함량이 높는데, 이들 지역의 토양 화학성이 미생물의 밀도를 높이는 인자로 작용했다고 보며, 이는 수도와는 달리 육도를 연작하지 않는 재배방식에서 오는 결과라고 생각된다.

3.1.2.4. 배지별 미생물의 밀도 (MPN) 비교

각 배지별로 미생물의 밀도를 비교해 보았을 때 Table 14에서 보는 바와 같이 육도와 수도, 뿌리와 토양을 막론하고 potato agar 배지에서 가장 높은 밀도 (뿌리: $5 \times 10^8 - 9 \times 10^{10}$, 토양: $3 \times 10^6 - 2 \times 10^{10}$)를 나타냈고, 그 다음은 *dob + multivitamin* 배지 (뿌리: $1 \times 10^6 - 1 \times 10^{11}$, 토양: $1 \times 10^4 - 2 \times 10^8$), 그리고 *dobereiner* 배지 (뿌리: $2 \times 10^5 - 1 \times 10^7$, 토양: $1 \times 10^4 - 6 \times 10^6$), *azotobacter* 배지 (뿌리: $2 \times 10^3 - 9 \times 10^6$, 토양: $3 \times 10^3 - 7 \times 10^4$)의 순서였다 (1% 유의성). McClung 등 (1983)이 식물 뿌리층의 미생물 밀도를 측정 한 결과에 의하면 *spartina alter niflora*에서는 *dobereiner* 배지에서의 미생물 밀도가 *azotobacter* 배지에서보다 10배 높게 나왔고, *sorghum bicolor*와 옥수수에서는 10^4 배까지 높게 나타났는데, 본 실험에서도 벼뿌리층의 미생물 밀

도가 *dobereiner* 배지에서 $10-10^2$ 배 높았다. 또한 *dobereiner* 배지에 *multivitamin*을 첨가한 배지에서 *dobereiner*에서보다 $10-10^4$ 배나 높은 밀도를 보였다. 그리고 Reinhold 등 (1986)은 kalla grass 뿌리 층에 *vitamin* 요구성이 큰 미생물이 2×10^7 존재하고, 토양 중에는 1×10^4 존재한다고 보고했는데, 본 실험에서는 뿌리 층에 $1 \times 10^6 \times 1 \times 10^{11}$, 토양 중에 $1 \times 10^4 - 2 \times 10^8$ 으로 kallar grass 근권층에서보다 10^4 배 높은 밀도를 나타냈다. 이로써 제주도내 수도와 육도근권층에 존재하는 질소고정 미생물은 특히 *vitamin* 요구성이 크다는 것을 알 수 있었다.

3.2. 실험 2. 질소고정균의 생리적 특성과 식물과의 상호관계

3.2.1. 질소고정균의 생리적 특성

제주도내 일원에서 분리된 bacteria 중 아세틸렌 환원력이 큰 질소고정균인 HP (한림수도재배지역), SU (송당 육도재배지역), TU (태흥 육도재배지역) 들에 대한 생리적 특성을 조사하고 이를 Tarrand 등에 의해 연구된 *azospirillum* 속의 특성과 비교하여 보면 Table 17과 같다.

본도에서 분리된 균들은 생육온도, congo red 염색여부, 탄소원의 요구 등의 생리적인 특성에서 *azospirillum* 속과 유사하였고, 특히 biotin이 요구되지 않고 3% NaCl 존재 시에도 colony 성장이 양호한 것으로 보아 *A. Lipoferum* 보다는 *A. Brasilence*에 가까운 특성을 갖고 있었다.

그러나 몇 가지 생리적인 특성이 비슷하다고 하여 동일한 미생물로 단정할 수는 없기 때문에 좀더 구체적인 동정을 하기 위해서는 면역 기술학적인 동정방법 등의 도입이 요망된다.

3.2.2. 질소고정균의 식물과의 상호관계

azospirillum 속의 질소고정균은 kalla grass (Niemann 등 1984), 목초(Dober-

Table 17. Comparison of physiological characteristics of the N-fixing bacteria from Cheju rice fields and two reference Azospirillum

Culture conditions	A. brasiliense*	A. lipoferum*	HP	SU	TU
Temperature(36-38 C)	+	+	+	+	+
Congo red staining	+	+	+	+	+
Carbon sources; Glucose	+	+	+	+	+
Fumarate	+	+	+	+	+
Malate	+	+	+	+	+
Biotin demand	-	+	-	-	-
Growth at pH 9.5	-	-	+	+	+
3 % NaCl	+	-	+	+	+

* Tarrand, Krieg and Dobereiner (1978).

einer 1976) 근권에서 분리된 바 있고, 이들 질소고정 미생물은 식물뿌리 또는 그 주변에 서식하면서 뿌리에서 분비되는 유기물을 공급받고 공기중의 질소를 고정하여 NH_4 로 환원시켜 식물이 이를 이용할 수 있도록 하는 기능을 갖는다고 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 수도와 육도의 근권에서 분리한 질소고정미생물을 시험관내에서 무균적으로 재배한 수도와 육도의 뿌리 주위에 접종했을 때 association이 일어나는지를 확인하기 위해 P-32로 표지된 미생물이 뿌리 표면에 흡착되는 양을 조사하였다.

Fig. 2에서 보는 바와같이 시간이 경과함에 따라 뿌리 표면에 흡착되는 미생물은 증가하여 9시간후 최대치를 보였으며, 그후 감소되었다.

이처럼 감소되는 이유는 9시간 이후에 뿌리 표면에 미생물의 흡착이 포화되어 더 이상 흡착되지 않는 반면에 흡착된 P-32 표지 미생물은 계속 세포 분열을 함으로 해서 그 표지 미생물의 비방사능이 감소되었기 때문이라고 생각된다.

또한, 질소고정미생물(HP, SU, TU)들이 수도 또는 육도뿌리 표면에 흡착되는 정

도를 각각 비교하여 보면 세 가지 미생물 모두 수도보다 육도에서 약간 높은 흡착량을 보였으며 특히 송당의 육도 재배지역에서 분리된 SU는 HP나 TU보다 다소 낮은 흡착량을 보였다 (Table 18 참조.).

한편, 이들이 뿌리 주위에서 계속적으로 증식하고 질소를 고정할 수 있는 능력을 갖게 되는지 그리고 이들이 배지에 함유된 질소량에 의해 어떠한 영향을 받는지를 알아본 결과는 Table 19와 같다.

벼의 뿌리 근처에 질소고정미생물(HP, TU, SU)을 접종시킨 지 2일부터 뿌리표면에 자란 미생물의 colony를 확인할 수 있었으며, 10일 후에는 모든 뿌리표면 주위에 0.5-1mm 두께의 미생물 colony가 관찰되었다. 배지중의 질소농도를 보면 무질소구에서는 불량한 식물생육으로 인하여 미생물의 활성이 저하되었던 것으로 생각되며, 14 ppm에서는 고농도의 질소 때문에 질소고정균의 nitro-genase 활성이 저하되었으며, 7 ppm에서 acetylene 환원능력이 제일 좋았는데 한림의 수도지역에서 분리된 HP는 육도보다는 수도에 접종되었을 때 acetylene 환원력이 더욱 좋았고 태흥의 육도재배지역에서 분

리한 TU는 수도보다 육도에 접종되었을 때가 환원력이 더 우수하였다.

이 결과는 분리된 질소고정균과 식물체뿌리 분비물 사이에 생리적 특이성의 존재를 암

시하는 것으로 수도와 육도의 뿌리 분비물의 상이성을 조사하여 질소고정균의 기질 특성을 연구해야 될 것이라고 생각된다.

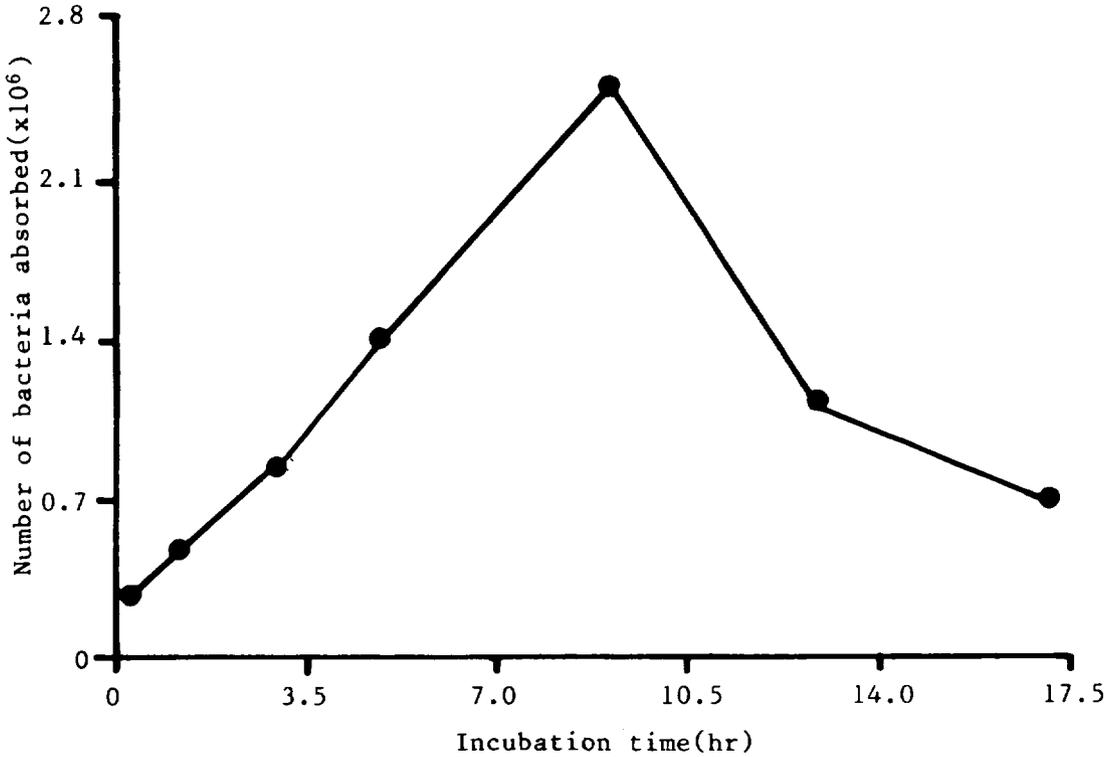


Figure 2. The number of bacteria absorbed according to incubation time.

Table 18. The number of bacteria associated on the rice plant root when inoculated with P-32 labelled bacteria (No./mg DM)

Rice plants	HP	SU	TU
Paddy rice	1.98×10^6	1.20×10^6	1.85×10^6
Upland rice	2.10×10^6	1.75×10^6	1.98×10^6

Table 19. Acetylene reduction assay for the selected bacteria associated with the rice plants grown at the different nitrogen conditions.

N supplied (ppm)	Selected bacteria	Paddy rice plant (ethylene peak)	Upland rice plant (ethylene peak)
0	HP	+	+
	SU	+	+
	TU	+	+
7	HP	++	t
	SU	+	+
	TU	+	++
14	HP	-	+
	SU	+	+
	TU	t	+

t; trace

-; not detectable

+; moderate

++; highly

적 요

본 연구는 아열대성 기후를 가지는 제주지역의 벼의 근권중에 서식하는 질소고정균의 특성을 조사하고자 수행되었다. MPN방법을 이용, 제주도내의 수도재배 5개 지역과 육도재배 6개 지역에서의 질소고정균 밀도와 분포를, 그리고 미생물과 토양의 화학적 성질과의 상호관계를 검토하였고, 한편 이들로부터 질소환원효소 활성이 높은 미생물을 선발하여 그들의 생리적 특성과 식물과의 상호관계에 관한 연구를 수행하였다.

1. 수도 뿌리층의 미생물 밀도는 육도와 비슷한 수준이었다. 그리고 근권토양의 미생물 밀도는 육도지역이 수도지역보다 potato agar 배지와 dobereiner 배지에서 더 높았지만 azotobacter 배지에서는 반대로 논토양이 밭토양보다 미생물 밀도가 더 높았다.
2. 뿌리층의 미생물 밀도는 모든 조사대상 지역에서 토양보다 더 높게 나타났다.
3. 지역간의 MPN 값을 보면 수도에서는 시료 채취지역간에 비슷하였는데, 육도에서는 태흥, 송당, 시흥이 다른 곳에 비해 미생물 밀도가 더 높았다.
4. 사용한 배지에 따른 MPN 값은 뿌리와 토양에 관계없이 potato agar 배지에서 제일 높았고, dob + multivitamin 배지, dobereiner 배지, 그리고 azotobacter 배지의 순서로 낮았다.
5. 이와같은 미생물의 밀도분포는 토양의 화학성 즉, 유기물함량, 전인산, 전질소와 밀접한 정의상관(1% 유의성)을 보였고, 치환성 Ca, Mg, K의 양과는 부의 상관(1% 유의성)을 보였다.
6. 선발된 질소고정미생물(HP, SU, TU)은 탄소원 및 blotin요구도, pH, 8% Na-Cl 배지에서의 성장여부 등 생리적 특성에 있어서 azospirillum brasilence와 유사하였다.
7. 또한, 이들 질소고정미생물은 무균적으로 재배된 벼의 뿌리에 흡착되어 협생할 수 있었고, 흡착정도는 선발된 미생물 모두 비슷한 경향이었으나 수도보다는 육도에 더 잘 흡착되었다.
8. 한편, 식물뿌리에 협생된 미생물의 acetylene 환원력은 수도지역에서 분리된 질소고정 미생물(HP)의 경우 육도보다 수도에서, 육도지역에서 분리된 미생물은 수도보다 육도에서 더 높았다.

참 고 문 헌

- Alexander, M., 1965. Most Probable Number Method for Microbial Populations. pp.1467~1472. *Methods of Soil Analysis Part 2*.
- Baldani, V. L. D., J. I. Baldani, and J. Dobereiner, 1983. Effects of *Azospirillum* Inoculation on Root Infection and Nitrogen Incorporation in Wheat. *Can. J. Microbiol.*, 29 : 924~929.
- Boyle, C. D., and D. G. Patriquin, 1980. Endorhizal and Exorhizal Acetylene-reducing Activity in a Grass (*Spartina alterniflora* Loisel.) Diazotroph Association. *Plant Physiol.*, 66 : 276~280.
- Bremner, J. M., Chemical and Microbiological Properties. 1975. *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy.
- Brockwell, J., 1980. Experiments with Crop and Pasture Legumes-Principles and Nitrogen Fixation. 423~431.
- Cohen, E., Y. Okon, J. Kigel, I. Nur, and Y. Henis, 1980. Increase in Dry Weight and Total Nitrogen Content in *Zea mays* and *Setaria italica* Associated with Nitrogen-fixing *Azospirillum* spp. *Plant Plant Physiol.*, 66 : 746~749.
- De Man, J.C., 1975. The Probability of Most Probable Numbers. *European J. Appl. Microbiol.*, 1 : 67~78.
- Dobereiner, J., 1980. Forage Grasses and Grain Crops. pp.535~555. *Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation*. Wiley and Sons Ltd.
- Dobereiner, J., and J.M. Day, 1976. Associative Symbioses in Tropical Grasses : Characterization of Microorganisms and Dinitrogen Fixing Sites. pp.518~537. In W. E. Newton and C. J. Newton and C. J. Nyman (ed). *Proceedings of the 1st International Symposium on N-fixation*. Washington State Univ. Press, Pullman.
- Haahtela, K., T. Wartiovaara, V. Sundman, and J. Skujins, 1981. Root-Associated N-Fixation (Acetylene Reduction) by Enterobacteriaceae and *Azospirillum* Strains in Cold-Climate Spodosols. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 41(1) : 203~206.
- 한국 비료공업협회, 1985. 비료연감,
- Hurek, T., B. Reinhold, I. Fendrik, and E. G. Niemann, 1986. Root-Zone Specific Oxygen Tolerance of *Azospirillum* spp. Diazotrophic Rods Closely Associated with Kallar Grass. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 53(1) : 163~169.
- Jain, D. K., and D. G. Patriquin, 1984. Root Hair Deformation, Bacterial Attachment, and Plant Growth in Wheat-*Azospirillum* Associations. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 48(6) : 1208~1213.
- 김형욱, 1974. 제주도 화산회 토양의 인산동태에 관한 연구. *제대논집*, 6 : 207~215.
- Matsuguchi, T. 1979. Factors Affecting Heterotrophic Nitrogen Fixation in Submerged Rice Soils. pp.207~221. *Nitrogen and Rice*. International Rice

- Research Institute.
- McClung, C. R., P. van Berkm, R. E. Davis, and C. Sloger, 1983. Enumeration and Location of N-fixing Bacteria Associated with Roots of *Spartina alterniflora* Loisel. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 45(6) : 1914 ~ 1920.
- Niemann, E. G., M. Kloss, K. H. Iwannek, and I. Fendrik, 1984. Investigations on the Physiological Properties of *Azospirillum* spp. (SST 22) Isolated from Rhizosphere of Kallar Grass (*Leptochloa Fusca* L. Kunth) *Proc. Int. Symp. Nitrogen and the Environ.*
- 농업기술연구소, 1974. 토양화학분석법.
- 농수산부, 1986. 농립수산통계연보.
- Rannie, R. J., J. R. Defreitas, A. P. Rushel, and P. V. Vose, 1983. N Isotope Dilution to Quantify Dinitrogen (N) Fixation Associated with Canadian and Brazilian Wheat. *Can. J. Bot.*, 61 : 1667 ~ 1671.
- Reinhold, B., T. Hurek, I. Fendrik, B. Pot, M. Gillis, K. Kersters, S. Thielemans, and J. de Ley, 1987. *Azospirillum Halopraeferens* SP. NOV., a Nitrogen-fixing Organism Associated with Roots of Kallar Grass (*Leptochloa Fusca* (L.) Kunth). *International J. of Systematic Bacteriol.*, 37(1) : 43 ~ 51.
- Reinhold, B. T. Hurek, E. G. Niemann, and I. Fendrik, 1986. Close Association of *Azospirillum* and Diazotrophic Rods with Different Root Zones of Kallar Grass. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 52(3) : 520 ~ 526.
- Reynders, L., and K. Vlassak, 1982. Use of *Azospirillum Brasilense* as Biofertilizer in Intensive Wheat Cropping. *Plant Soil*, 66 : 217 ~ 223.
- Tisdale, S. L., W. L. Nelson, and J. D. Beaton, 1985. *Soil Fertility and Fertilizers*. 4th ed. p.2. Macmillan Publishing Co. New York.
- Turner, G. L., and A. H. Gibson, *Measurement of Nitrogen Fixation by Indirect Means. Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation* pp.111 ~ 131. John Wiley & Sons.
- 유순호, 송관철, 1984. 입지토양의 특성. *아열대 농업연구소지*, 1 : 73 ~ 102.
- Vlassak, K., and J. Reynders, 1978. Associative Dinitrogen Fixation in Temperate Regions. pp.71 ~ 89. In *Isotopes in Biological Dinitrogen Fixation. Proceedings of an Advisory Group Meeting.* International Atomic Energy Agency, Vienna.
- Yoshida, S., D. A. Forno, and J. H. Cook, 1972. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. 2nd ed. The International Rice Research Institute, Philippines.