

# 高温下에서 窒素施肥가 根瘤菌을 接種한 Alfalfa의 生育部位에 미치는 影響에 關하여

金武成 · E. H. Jensen\*

慶熙大學校

## EFFECT OF NITROGEN AND AGE OF ALFALFA (*Medicago sativa* L.) SEEDLINGS ON GROWTH AND NODULATION WHEN GROWN UNDER A HOT ENVIRONMENT

Moo Sung Kim and E. H. Jensen\*

Kyung Hee University, Seoul

### Summary

There are differences in opinion as to whether nitrogen fertilizer should be used when establishing alfalfa (*Medicago sativa* L.). Various reports show that under a hot environment, rhizobia (*Rhizobium meliloti*) are not as effective in fixing atmospheric nitrogen as they are under moderate temperatures. It is also believed that the addition of nitrogen fertilizer inhibits nodulation of alfalfa seedlings. A replicated experiment was conducted under controlled environmental conditions at the University of Nevada-Reno, Reno, Nevada, USA, to determine the effects of nitrogen application on seedling growth and nodulation of alfalfa grown in a hot environment.

Sterile sand was used as the growing media to which a complete nutrient solution minus nitrogen was applied volumetrically to each pot daily. In addition, half of the pots received  $\text{NH}_4\text{-NO}_3$  at the rate of 11.2 kg per ha at seeding and at two and four weeks after planting giving a total nitrogen application rate of 33.6 kg per ha during the seven-week experimental period. Rhizobia inoculant (R-12) consisted of a mixture of strains 171-15a, 1682c and 80 PI 265 of (*Rhizobium meliloti*). Inoculant was applied to the seeds prior to planting and to the sand media at two and four weeks after seeding. Twenty seeds were planted in pots 14.0 cm in diameter and 11.5 cm deep. Plants were thinned to ten plants per pot after emergence and were grown in a controlled environment chamber with a 16-hour light period. Soil temperature at 6 cm depth ranged from 17.4°C to 31.1°C and had a daily mean of 26.5°C. Plants were harvested at weekly intervals for seven weeks. Root, shoot and total length, dry weight, volume and number of nodules per plant were determined.

Root, shoot, and total length were greater in seedlings grown in soil where nitrogen was applied than that grown in soil to which no nitrogen was applied. The average size of the seedlings as determined by volume and weight was more than two times greater where plants were fertilized with nitrogen. Nodule number per seedling was also greater when nitrogen was applied compared to those which received no nitrogen. The differences were greater as the plants became older.

The rhizobia did not fix enough nitrogen for adequate growth of seedlings. This is probably due to high temperature growing conditions that caused the rhizobia to become relatively ineffec-

\*Professor of Agronomy, University of Nevada-Reno, Reno, Nevada, United States of America, 89557.

tive as compared to cooler growing conditions. Data suggests it would be desirable to apply nitrogen at seeding when alfalfa is established under hot conditions that occur in mid- or late summer.

## I. 緒 論

多年生 苜蓿科飼料作物인 Alfalfa는 單播 및 混播 혹은 다른 禾本科作物과 輪作을 할 경우 土壤을 肥沃하게 한다는 사실이 널리 알려지고 있다.<sup>7, 9, 10)</sup>

지난 1世紀동안 Alfalfa는 널리 栽培 되었고 많은 根瘤菌이 開發되었으며 또한 窒素固定量도 확복하게 增加되었었다.<sup>15)</sup>

그리고 溫度變化에 따른 根瘤菌의 活動 및 生育에 미치는 影響에 관한 많은 研究가 발표되었다.<sup>4, 12)</sup> 本 研究는 우리나라의 夏節期溫度와 비슷한 상태에서 Alfalfa에 根瘤菌을 接種한후 窒素 施肥가 作物生育에 미치는 影響에 관하여 糾明하고자 실시하였다.

## II. 材料 및 方法

本 實驗은 美國 University of Nevada-Reno所在 Growth chamber를 使用하여 1985年~1986年에 걸쳐 實施하였다. 土壤은 直徑 14.0cm 높이 11.5cm 원통형 플라스틱 pot에 砂質土壤을 使用 하였으며 Alfalfa 種子는 Vernal (Lot, No. M-48-ML) 品種으로 각 pot에 20個를 播種하여 발아후 건전한 作物 10포기를 남기고 숙아 주었다. 根瘤菌은 1985年 9월에 美國 Illinois州 Urbana Laboratories에서 *Rhizobium meliloti*의 strain인 Lot, No. 171-15a와 1682C 그리고 80PI 265의 3개 strain를 혼합하여 만든 Inoculant (R-12)를 파종후 각 pot의 土壤에 1次 接種을 하였으며 파종후 20일에 2次로 각 pot의 土壤에다 根瘤菌을 接種하였다.

實驗區는 窒素施肥區와 無窒素區로 나누어 分割區 配置에 의하여 4反覆으로 하였다. 施肥는 營養液를 만들어서 播種後 21日 동안은 각 pot에 100cc 播種後 22日~40日 동안은 각 pot에 150cc를 그리고 播種後 41日~49日 동안은 각 pot에 200cc 씩을 주었다.

使用된 營養液은  $\text{CaSO}_4$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  8mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1mM,  $\text{MgSO}_4$ ,  $7\text{H}_2\text{O}$  1mM,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  2mM, KCl 10  $\mu\text{M}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  0.5  $\mu\text{M}$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , 7

$\text{H}_2\text{O}$  0.2  $\mu\text{M}$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $5\text{H}_2\text{O}$  0.05  $\mu\text{M}$ ,  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  0.01  $\mu\text{M}$ , 그리고 Fe EDTA 30  $\mu\text{M}$ 를 혼합하여서 使用하였다. 窒素施肥는 1ha당 33.6kg 비율로 基肥로 播種 2週日後 4, 그리고 播種 4週日後 4씩 3回 施用하였다. 營養液의 pH는 6.3을 유지하였다. Growth chamber內的 溫度는 晝間 16時間 (6時~22時) 동안은 33°C, 그리고 夜間 8時間 (22時~6時) 동안은 17°C로 日平均氣溫 27°C를 유지하도록 設치하였다. Growth chamber內的 光度는 2000 Foot Candles를 유지하였다. Growth chamber內 pot 土壤의 表面溫度와 3cm 깊이, 6cm 깊이, 그리고 9cm 깊이의 土壤溫度를 Campbell Scientific Inc, Logan, Utah에서 제작한 Computer 土壤溫度 測定器인 CR 21 Micrologger (Model 101, Temperature probe)를 使用하여 測定하였으며 그 結果는 Table 1와 같다.

Table 1. Average Temperature of Sand Media in Pots During the Experiment

Temperature	Depth			
	Surface °C	3 cm °C	6 cm °C	9 cm °C
Low	16.8	17.2	17.4	17.3
High	33.1	32.3	31.1	31.1
Daily Average	27.7	27.3	26.5	26.5

使用한 土壤은 1週日 간격으로 作物을 收穫한 後 土壤成分의 變化를 알아보기 위하여 分析을 實施하였으며 그 結果는 Table 2와 같다.

收穫은 1週日 간격으로 7回 收穫하여 草長, 根長, 全長, 容積, 根瘤數와 그리고 乾物收量 등을 調査하였다.

## III. 結果 및 考察

供試된 Alfalfa의 草長, 根長, 全長, 容積, 根瘤菌數, 乾物收量 共히 窒素施肥에 관계없이 7回收穫 過程에서 後期收穫期로 갈수록 增加하였다.

草長生育과 窒素施肥間에는 正(+)의 相關이 있었는데 이들 窒素施肥의 效果(Table 3)는 1, 3 週後의 收穫期에 있어서는 5% 수준에서 그리고 2, 4

**Table 2. Fertility Status of Sand Media During the Experiment**

Measurement	Days After Planting													
	7		14		21		28		35		42		49	
	-N	+N	-N	+N	-N	+N	-N	+N	-N	+N	-N	+N	-N	+N
Salt Hazard (ds/m)	1.6	1.6	2.0	2.9	3.1	3.2	3.3	3.1	2.9	3.0	3.3	3.4	3.0	3.4
Sodium Hazard (SAR)	1.7	1.5	1.0	0.9	0.8	0.6	0.6	0.3	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3
pH	8.0	7.8	7.7	7.6	7.4	7.2	7.2	7.1	7.1	7.1	7.0	6.9	6.6	6.6
Phosphorus (ppm)	4.8	4.8	10.6	12.0	17.8	19.2	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25
Potassium (ppm)	150	171	212	242	274	308	386	360	456	433	565	499	347	498

**Table 3. Summary of Analyses of Variance on Effect of Nitrogen on Alfalfa Seedlings for each Harvest**

	Significance of F						
	Days After Planting						
	7	14	21	28	35	42	49
Shoot Length	*	**	*	**	**	NS	NS
Root Length	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS
Total Length	NS	**	NS	*	**	NS	NS
Plant Volume	*	**	**	**	**	**	*
Nodule No.	NS	NS	NS	NS	*	NS	*
Dry Weight	**	**	**	**	**	**	*

\*, \*\* Significant at the P=0.05 and 0.01 levels, respectively.

5週後와 1~7회 收穫한 全區를 合한 結果에 있어서는 1% 수준에서 有意성을 나타냈으며 그외區는 有意성이 없는 增加현상을 나타냈다. 無窒素 區의 草長(Fig. A)은 播種後 3週까지는 完만한 伸長을 보였고 3週後부터는 빠른 伸長을 나타냈다. 이와 같은 현상은 窒素施肥區는 作物이 發芽이후 必要한 窒素를 安定的으로 供給받은 것으로 生覺되며 無窒素區의 作物은 發芽後 初期生育期에 必要한 窒素의 不足으로 完만한 生育을 하다가 接種한 根瘤菌의 活動이 圓滑한 期間부터 急激한 伸長을 나타낸 것으로 思料된다. Heichel et al<sup>8)</sup>의 報告에 의하면 Alfalfa는 幼植物期間은 作物이 必要로 하는 窒素質을 43%가량 窒素固定으로 中당하고 年間 生育期間 동안 空中窒素固定量은 1ha당 약 148kg 이나 된다고 하였다. 이는 곧 幼植物期에 無窒素區는 窒素의 不足으로 生育이 부진함을 뜻하는 것 같다.

根長(Fig. B)은 全區 共히 播種以後 약 2週間은 急激한 伸長을 나타냈으나 그 이후에는 完만한 成長을 하였다. 深根性인 Alfalfa가 全區 共히 7週間

동안 약 23cm 이내로 生長한 것은 pot의 제한된 容積이 原因으로 생각되며 窒素施肥區의 根長이 播種後 5週까지는 無窒素區의 根長보다 增加하였고 2週後收穫한 根長은 1% 수준의 有意성을 나타냈으며 1, 3, 4, 5週後와 全收穫期를 合한 結果에 있어서는 有意성이 없는 增加현상을 나타냈다. 그리고 6週와 7週後에 收穫한 根長은 오히려 無窒素 區가 窒素施肥區보다 더 큰 根長을 보였으며 有意성은 없었다(Table 3). 全長(Fig. C)은 窒素施肥區가 無窒素區보다 收穫한 全區 共히 增加현상을 나타냈으며 2週 5週後와 全收穫期를 合한 結果에 있어서는 1% 수준에서 그리고 4週後 收穫한 區는 5% 수준에서 有意성이 있는 窒素施肥의 效果를 가져 왔고 그외의 區는 有意성이 없는 伸長을 보였다(Table 3). 植物容積(Fig. D)은 Unifoliolate(單葉)期에서 Trifoliolate가 3개이내로 出現한 期間의 窒素施肥區는 播種後 2週間 동안 그리고 無窒素區는 播種後 3週間 동안은 完만한 伸長을 보였으며 그 이후부터는 全區 共히 急激한 生長을 가져왔다. 全收穫期

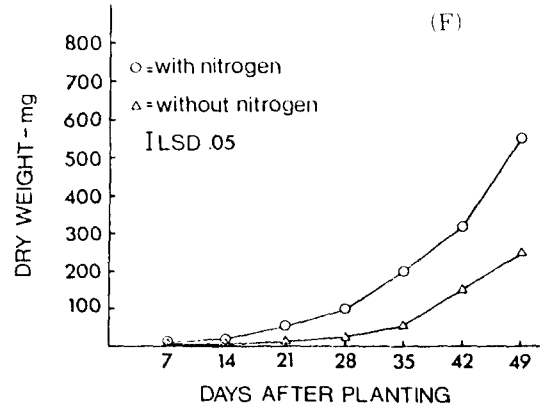
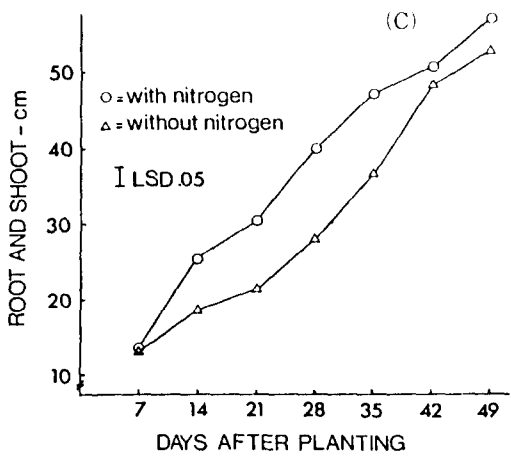
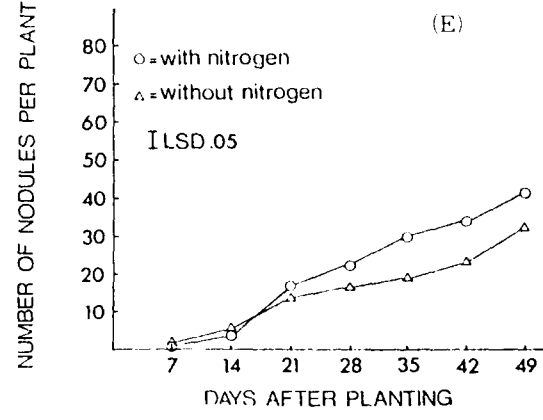
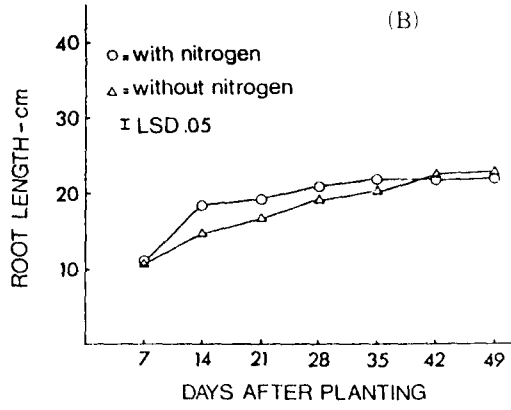
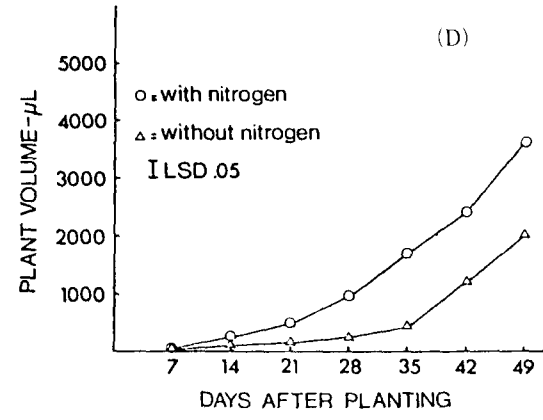
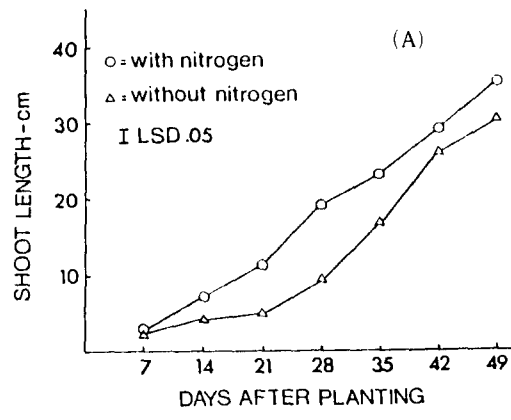


Fig. Effect of Nitrogen and Age of Alfalfa Seedlings on Shoot Length(A), Root Length(B), Total Length of Root and Shoot(C), Plant Volume (D), Nodule Number(E), Dry Weight(F).

에 걸쳐서 窒素施肥區가 無窒素區보다 容積이 伸長됨을 보였고 1週와 7週後의 容積은 5% 수준에서 그리고 그외의 區에 있어서는 1%의 수준에서 有意性이 있는 窒素施肥效果를 나타냈다(Table 3). 根長과 根瘤着生數를 제외한 다른 部分에서는 窒素施肥區가 無窒素區에 비하여 全收穫期에 있어서 窒素施肥의 效果가 나타났지만 根瘤菌着生數(Fig. E)에서는 播種後 2週間의 生育初期에는 無窒素區가 窒素施肥區보다 많았으며 3週後부터 收穫한 區는 窒素施肥區가 無窒素區보다 增加현상을 나타냈다. 이와같은 結果는 cool temperature 下에서도 나타났으며<sup>13)</sup> 作物生育에서 가장 必要로 하는 窒素元을 찾으려는 과정에서 空中窒素를 固定할 能力이 있는 根瘤菌着生을 촉진하여 窒素공급을 원활히 할려는 현상에서 일어난 것으로 生覺된다. 그리고 根瘤着生數가 대체적으로 低温下에서 나타난 結果보다<sup>13)</sup> 적은것은 growth chamber 內的 晝間 16時間 동안의 溫度가 根瘤菌의 生育適溫인 26°C~28°C<sup>16)</sup> 보다 높은 33°C로 유지한 結果에 인한 것으로 思料된다.

Broughton<sup>2)</sup>의 報告에 의하면 일반적으로 30°C 이상의 高温下에서는 豆科作物의 細根의 生育이 저하된다고 하였다. 乾物收量(Fig. F)은 全收穫 期間에 걸쳐서 窒素施肥區가 無窒素區에 비하여 收量이 增加되었으며 7週後 收穫한 窒素施肥區의 乾物收量은 5% 수준에서 그리고 1~6週後와 全收穫量을 統合한 窒素施肥區의 乾物收量の 窒素施肥效果는 無窒素施肥區에 비하여 1% 수준의 高度의 有意性을 나타냈다(Table 3). 本實驗과 유사한 結果로서 Hojjati et al<sup>11)</sup>의 報告에 의하면 1ha당 30kg 비율로 窒素를 施用한 區가 無窒素區에 비하여 作物全體부위에 있어서 有意性있는 增加현상을 나타냈음을 볼 수 있다. Growth chamber에서 使用된 pot 內的 土壤溫度(Table 1)를 측정한 結果를 보면 夜間低温 상태에서는 pot의 6cm 깊이 > 9cm 깊이 > 3cm 깊이 > 土壤表面溫度的 順으로 土壤溫度가 높았으며 晝間高温가 日平均溫度에서는 pot의 土壤表面 > 3cm > 6cm > 9cm 깊이의 順으로 土壤溫度가 높은 현상을 가져왔다.

適한 根瘤菌이 接種된 豆科作物을 栽培할 場合에 窒素質肥料의 施肥가 必要없다는 경우<sup>3, 5)</sup>와 그리고 다소의 窒素質肥料의 施肥는 作物의 初期生育을 촉진시키고 增收를 가져온다는 研究者<sup>6, 11)</sup>의 報

告 등이 있으나 本實驗의 結果로 보아서 Alfalfa를 栽培할 場合에 1ha당 33.6kg 비율로 窒素를 施肥하는 것이 初期生育의 촉진과 收量の 增收를 위하여 바람직 하다고 본다.

#### IV. 摘 要

營養液을 使用한 高温下의 Growth chamber에서 根瘤菌(R-12)을 接種한 Alfalfa의 收穫時期別 作物各部位에 대한 窒素施肥의 影響에 관하여 美國 University of Nevada에서 實驗한 結果들을 要略하면 다음과 같다.

草長과 全長에 대한 窒素施肥의 效果는 높이 認定되었으나 根長에 있어서는 有意性이 없는 다소의 增加를 보였다. 窒素施肥의 作物의 容積과 乾物收量은 無窒素區에 비하여 2배 이상의 增加를 보여 窒素施肥의 높은 效果를 나타냈다. 根瘤의 着生數에 있어서도 窒素施肥의 效果가 認定되었으나 全區 共히 根瘤菌의 活動이 未洽한 것으로 思料된다. 이상의 結果들은 Alfalfa 栽培時 小量의 窒素施肥의 장려를 암시하는 것 같다.

#### V. 引用 文 獻

1. Baldock, J.O., R.L. Higgs, W.H. Paulson, J.A. Jacobs, and W.D. Shrader. 1981. Legume and mineral N effects on crop yields in several crop sequences in the upper Mississippi valley. *Agron. J.* 73:885-890.
2. Broughton, W.J. 1981. Nitrogen fixation. Volume 1: Ecology. Clarendon Press, Oxford. P. 306.
3. Brown, B.A. 1961. Fertilizer experiments with alfalfa (1915-1960). Connecticut Agr. Exp. Sta. Bull. 363.
4. Cralle, H.T., and G.H. Heichel. 1982. Temperature and chilling sensitivity of nodule nitrogenase activity of unhardened alfalfa. *Crop Sci.* 22: 300-304.
5. Doll, E.C. 1962. Nitrogen fertilization of alfalfa and alfalfa-orchardgrass hay. *Agron. J.* 54:469.
6. Ford, W.P., J.W. Burns, D.W. Evans, and R. Parker. 1981. Establishing alfalfa for hay in irrigated

- central washington. Washington State Univ. Coop. Ext. Ext. Bull. 0959. 6 p.
7. Groya, F.L., and C.C. Sheaffer. 1985. Nitrogen from forage legumes: harvest and tillage effects. *Agron. J.* 77:105-109.
  8. Heichel, G.H., D.K. Barnes, and C.P. Vance. 1981. Nitrogen fixation of alfalfa in the seeding year. *Crop. Sci.* 21:330-335.
  9. Heichel, G.H., D.K. Barnes, C.P. Vance, and K.I. Henjum. 1984. N<sub>2</sub> Fixation, and N and dry matter partitioning during a 4-year alfalfa stand. *Crop. Sci.* 24:811-815.
  10. Hesterman, O.B., C.C. Sheaffer, D.K. Barnes, W.E. Lueschen, and J.H. Ford. 1986. Alfalfa dry matter and nitrogen production, and fertilizer nitrogen response in legume-corn rotations. *Agron. J.* 78:19-23.
  11. Hojjati, S.M., W.C. Templeton, Jr., and T.H. Taylor. 1978. Nitrogen fertilization in establishing forage legumes. *Agron. J.* 70:429-433.
  12. Jensen, E.H., M.A. Massengale, and D.O. Chilcote. 1967. Environmental effects on growth and quality of alfalfa. Western Regional Research Publication, Nevada Agric. Exp. Sta. Bull. T-9. 39 pp.
  13. Kim, M.S., and E.H. Jensen. 1986. Effect of nitrogen and age of alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedlings on growth and nodulation when grown under a cool environment. *J. Korean Grassl. Sci.* 6(3):151-156.
  14. Munns, D.N., V.W. Fogle, and B.G. Hallock. 1977. Alfalfa root nodule distribution and inhibition of nitrogen fixation by heat. *Agron. J.* 69:377-380.
  15. Stoskopf, N.C. 1981. Understanding crop production. Reston Publishing Co., Inc. Reston, VA. 433 pp.
  16. Vincent, J.M. 1982. Nitrogen fixation in legumes. Academic Press, Australia. p. 288.