

아까시나무(*Robinia pseudo-acacia* L.)의 공생적 질소고정 활성과 환경요인

홍 성 진·송 승 달
경북대학교 생물학과

Symbiotic Nitrogen Fixation Activity and Environmental Factors of *Robinia pseudo-acacia* L.

Hong, Sung-Jin and Seung-Dal Song
Dept. of Biology, Kyungpook National University

ABSTRACT

The activity of symbiotic N₂-fixation and environmental factors of *Robinia pseudo-acacia* L., bearing root nodules, were quantitatively analyzed during the growing period. Among changes of total nitrogen and phosphorus contents of each organ, leaves showed prominent decreases from the highest quantity of the early growing period to the lowest of the late period. The rhizosphere showed acidic pH and low level of nitrogen, phosphorus and organic matter contents during the growing period. N₂-fixation activity of nodules initiated from April and showed the maximum value of 190 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{g DW/hr}$ in late June and then decreased to 50 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{g DW/hr}$ during the rainy and dry season. Another peak of the activity attained 246 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{g DW/hr}$ in the late growing stage of September. The maximum value of nitrogen fixation activity was observed at the conditions of pH7, 25°C of temperature and 20 Kpa of oxygen partial pressure.

서 론

근류를 형성하는 식물인 많은 콩과식물과 수종의 비콩과식물은 대기질소가스를 고정할 수 있는 *Rhizobium* spp. 또는 *Frankia* spp. 등의 미생물과의 공생에 의해 숙주식물의 광합성작용에서 생산된 탄소화합물을 공급하고, 공생균의 질소고정에서 생산된 필요한 질소화합물을 받아서 에너지원 및 질소원이 부족한 환경에서 효율적으로 생장을 촉진할 수 있다(Beaty *et al.*, 1987 ; Lindström *et al.*, 1985 ; Semu and Hume, 1979). 한편 이들 근류착생 식물의 근권에서는 토양중에 고정된 질소의 분비와 축적에 의해 생태계의 질소순환 및 생산 체계 변화의 중요한 기작이 이루어진다(Högberg, 1982 ; Weaver, 1966).

우리나라의 각지의 산지에는 근류식물로서 아까시나무, 자귀나무, 족제비싸리 및 싸리류 등의 콩과식물과 오리나무, 보리수나무 및 소귀나무 등의 비콩과식물이 널리 분포하고 있고, 이들은 척박한 암석지나 개간지의 목초지나 조립지 등에서 비료목으로써 혼식에 이용하여 생산성 증가 및 토양개선에 효과가 있는 것으로 알려지고 있다(Monk *et al.*, 1981). 콩과식물에 있어서 근류의 형성과 엽면적 성장사이에는 높은 상관성이 있으며(Song and Monsi, 1974), 공생질소고정균에 의한 근류의 형성 및 질소고정활성은 토양에 존재하는 화합태질소(NH_4^+ , NO_3^-)의 함량에 의해 크게 영향을 받고(Gibson and Harper, 1985; Hansen *et al.*, 1987; Hopmans *et al.*, 1983; Streeter, 1985). 기타 산소, 수분 및 엽분농도 등 각종 환경요인에 의해 크게 영향을 받는 것으로 알려졌다(Cassman *et al.*, 1980; Evans *et al.*, 1973; Pandey *et al.*, 1984; Rainbird *et al.*, 1983).

본 실험은 우리나라 각지의 산지에 널리 분포하며, 내한성, 내염성 및 내공해성이 있고 맹아력이 강하며, 다년생의 근류를 형성하여 대기질소를 고정함으로써 척박한 토양에서도 성장속도가 빠른 것으로 알려지고 있는 아까시나무(*Robinia pseudo-acacia* L.)에 대하여 각종 생태계에서 미치는 영향을 밝히기 위하여 계절별 식물체의 함수량, 질소함량, 인함량, 엽록소함량 및 회분함량의 변화와 근권의 토양환경요인의 변화를 분석하며 근류에 의한 질소고정활성의 계절적 변화를 측정하고 온도, pH, 산소구배 등의 환경요인에 의한 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

본 실험은 대구시 수성구 소재의 형제봉(해발 190 m, E128°39'30", N35°51'30") 일대에 군생하는 아까시나무림을 대상으로 하였다. 1989년 4월 부터 9월 까지의 생육기간중 2주간격으로 식물체의 크기가 100-120 cm되는 아까시나무를 임의 3반복으로 추출하여 지상부와 지하부 및 근권의 토양을 각각 sampling하였다.

식물체는 잎, 줄기 및 뿌리의 기관별로 분리하여 생량과 건량을 각각 측정하고, 잎의 엽록소함량과 엽면적비는 각각 DMSO(dimethyl sulfoxide) 법과 비중법으로 측정하였다(Hiscox and Israelstam, 1979). 식물체의 각 기관 및 토양의 총질소함량은 micro-Kjeldahl 개량법으로 측정하였고(Song and Monsi, 1974), 총인의 함량은 식물체와 토양에 대해 각각 ammonium meta-vanadate 법과 ascorbic acid 법으로 비색 정량하였다(Cassman *et al.*, 1980). 토양의 NO_2^- -N 함량과 NH_4^+ -N 함량은 각각 Gries Romjin 법과 Nessler 법을 이용하여 비색정량하였다(Arnold *et al.*, 1985).

질소고정활성의 측정은 현장에서 근류 일정량을 10 ml vial에 넣고 10%의 C_2H_2 가스를 주입하여 1시간 배양한 후 0.5 ml를 sampling하여 환원된 에틸렌량을 gas chromatography(Shimadzu GC-8APF)에 의해 Porapak R column(182 cm×0.32 cm)으로 분리하여 불꽃 이온화 검출기(FID)에서 정량하였다(Evans *et al.*, 1973).

질소고정활성에 미치는 환경요인의 영향은 근류를 일정량씩 넣은 각 vial에, 1) pH 3-9의 구배로 조절된 buffer를 0.5 ml씩 가하여 처리한 것, 2) 5-40°C의 온도구배의 처리를 한 것, 그리고 3) 0-20 Kpa의 산소구배의 처리를 한 것에 대하여 각각 아세틸렌 환원활성의 변화를 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

아카시나무의 엽록소, 질소 및 인산함량의 분석

아카시나무 잎의 엽록소함량의 계절적 변화는 Table 1과 같이 생육기간중 32-42 $\mu\text{g chl/cm}^2$ 의 범위에서 변화하였고, 생육최성기인 7월 하순에 최대치를 보였으며, 생육후기에도 다른 식물에 대한 보고와 비교할때 높은 함량을 나타내었다(Song and Monsi, 1974).

한편 엽면적비는 생육초기(6월)에 최대치 554 $\text{cm}^2/\text{g DW}$ 였고, 생육후기에도 비교적 높은 값을 유지하다가 최소치 187 $\text{cm}^2/\text{g DW}$ (9월)로 감소하였다(Table 2).

Table 1. Seasonal changes of chlorophyll content of *Robinia pseudo-acacia* L.

Date	June		July		Aug.		Sept.
	16	30	14	28	12	28	12
Chlorophyll ($\mu\text{g/cm}^2\text{LA}$)	38	37	37	42	39	35	32

Table 2. Seasonal changes of leaf area ratio of *Robinia pseudo-acacia* L.

Date	June		July		Aug.		Sept.
	30	14	28	12	28	12	
LA Ratio ($\text{Cm}^2/\text{g DW}$)	554	462	451	449	375	187	

아카시나무의 각 기관별 총질소함량의 계절변화는 Fig. 1과 같고, 잎은 생육초기에 55 mg N/g DW 의 최대치에서 점차 감소하여 6월중순 이후에는 30 mg N/g DW 이하로 되었으며, 줄기에서는 평균 12 mg N/g DW 의 낮은 함량이었으나, 뿌리는 평균 30 mg N/g DW 로써 근류를 착생하는 다른 식물에 비하여 두배 정도의 높은 함량이었다(Song and Monsi, 1974). 근류는 평균 60 mg N/g DW 의 가장 높은 농도를 보였고, 생육기간 중 큰 변이가 없었다.

한편 총인함량의 계절적 변화는 Fig. 2와 같고, 잎의 인함량은 생육초기에 4.5 mg P/g DW 로서 최대치를 보였고, 6월중순 이후에는 1.2-1.5 mg P/g DW 로 감소하였으며,

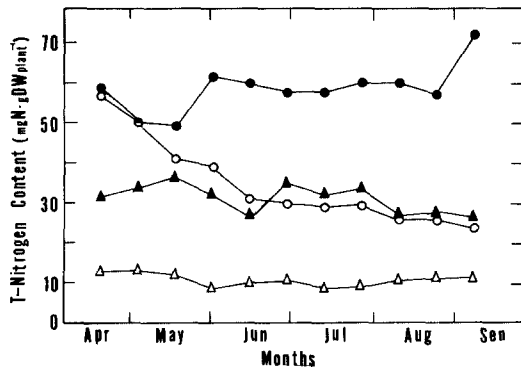


Fig. 1. Seasonal changes of total nitrogen content in each organ of *Robinia pseudo-acacia* L. ●—●, nodule; ○—○, leaf; △—△, stem; ▲—▲, root.

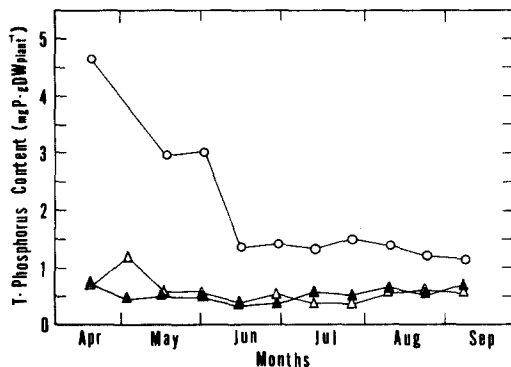


Fig. 2. Seasonal changes of phosphorus content in each organ of *Robinia pseudo-acacia* L. ○—○, leaf; △—△, stem; ▲—▲, root.

줄기에서는 0.4-1.2 mg P/g DW, 그리고 뿌리는 0.3-0.8 mg P/g DW의 범위에서 변이를 보였다.

Fig. 3은 아카시나무의 각 기관별 회분함량의 계절 변화로서, 잎에서는 초기의 7.5%에서 생육최성기에는 9-10%로 증가를 보였으며, 줄기에서는 3-6%의 범위에서 변화를 보였다. 특히, 뿌리에서는 생육초기의 평균 4%에서 생육후기에 급격히 증가하여 9-12%의 최대치를 보였다.

생육기간중 각 기관별 대건량 수분함량의 변화는 Fig. 4와 같다. 잎은 생육초기의 최대치인 250-300%에서 점차 감소하여 8월중순의 건조기에는 최소치인 100-150%로 되었다. 줄기와 뿌리는 각각 50-100%와 100-200%의 범위에서 변화를 보였다.

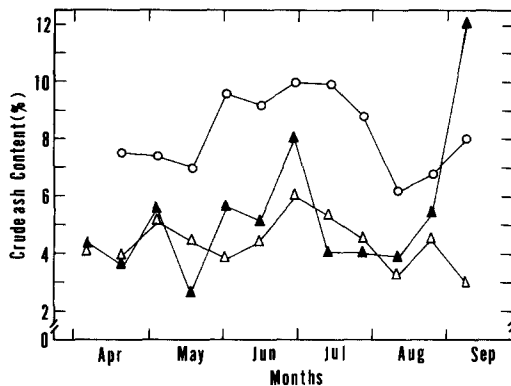


Fig. 3. Seasonal changes of crude ash content(%) in each organ of *Robinia pseudo-acacia* L. ○-○, leaf; △-△, stem; ▲-▲, root.

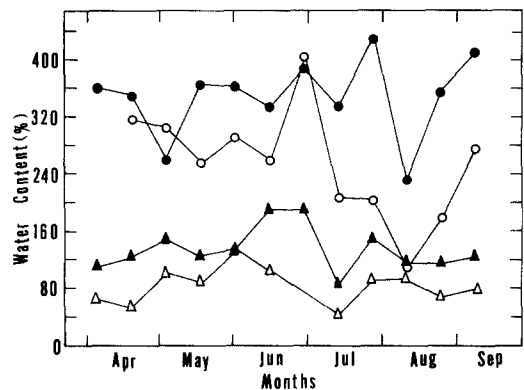


Fig. 4. Seasonal changes of water content(%) in each organ of *Robinia pseudo-acacia* L. ●-●, nodule; ○-○, leaf; △-△, stem; ▲-▲, root.

근류는 기간중 높은 함수량(350-450%)을 유지하였으나, 8월중순의 건조기에는 230% 정도까지 감소하였다.

근권토양환경의 분석

아카시나무 근권의 토양환경의 계절적 변화는 Table 3과 같고, 토양온도는 4월초의

Table 3. Seasonal changes of the environmental factors in the rhizosphere of *Robinia pseudo-acacia* L.

Items	Apr.		May		June			July		Aug.		Sept.
	7	21	4	19	2	16	30	14	28	12	28	12
pH	6.0	5.8	6.4	4.3	4.7	4.2	5.8	5.4	4.6	4.8	5.1	5.4
Temp(°C)	9	12	13	17	20	20	21	22	24	27	23	24
W.C.(%)	25.0	17.0	11.0	14.0	10.0	27.0	16.0	21.0	16.0	6.0	15.0	22.0
O.M.(%)	8	9	10	11	8	9	7	9	7	12	10	9
PO ₄ ³⁻ (μgP/gDW)	12.2	18.6	11.8	5.8	4.1	5.8	3.3	19.1	12.1	4.2	2.1	1.7
NO ₃ ⁻ (ngN/gDW)	114	290	115	248	148	165	155	91	591	56	550	78
NH ₄ ⁺ (μgN/gDW)	9.8	18.6	21.1	12.1	5.6	9.8	24.1	11.3	19.8	10.0	9.0	9.0
T.N.(mgN/gDW)	3.1	2.1	2.6	3.3	2.3	4.8	2.8	2.3	2.1	3.4	3.5	2.3

9°C에서 8월중순의 최고온도인 27°C까지 변화를 보였다.

생육기간중 근권토양의 pH, 수분함수량 및 유기물함량은 각각 4.2-6.4, 6.0-27.0%, 및 7-12%의 범위에서 변화를 보였으며, 토양의 PO_4^{3-} -P함량은 1.7-19.1 $\mu\text{g P/g DW}$, NO_2^- -N함량과 NH_4^+ -N함량은 각각 56-591 $\mu\text{g N/g DW}$ 과 5.6-24.1 $\mu\text{g N/g DW}$, 그리고 총질소함량은 2.1-4.8 mg N/g DW 의 범위에서 변화하여 일반적인 삼림토양에 비하여 척박한 토양이었다(Song and Monsi, 1974).

아카시나무 근류의 질소고정활성의 계절변화

아카시나무 근류의 질소고정활성의 계절변화는 Fig. 5와 같고, 4월말부터 활성을 나타내기 시작하여 6월말에 190 $\mu\text{M} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{g DW/hr}$ 를 나타내었고, *Acacia* 근류의 질소고정활성에 비교할 때 상당히 높은 값이었다(Monk et al., 1981).

장마기인 7월말에는 활성의 급격한 감소를 보였으나(50 $\mu\text{M} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{gDW/hr}$), 생육후기에 다시 높은 활성을 나타내어 9월에는 최대치(246 $\mu\text{M} \cdot \text{C}_2\text{H}_4/\text{gDW/hr}$)를 나타내는 다년생 근류의 특징을 보였다(Högberg, 1982).

근류의 질소고정활성과 환경요인

Fig. 6은 아카시나무 근류의 질소고정활성에 미치는 온도구배의 영향으로써 생육초기와 생육후기에 걸쳐 2회의 측정결과를 같은 경향의 변화를 보였으며, 10°C이하에서는 거의 활성이 없었고, 25°C에서 최대활성을 나타내며, 30°C이상에서는 급격히 활성의 감소를 보였다.

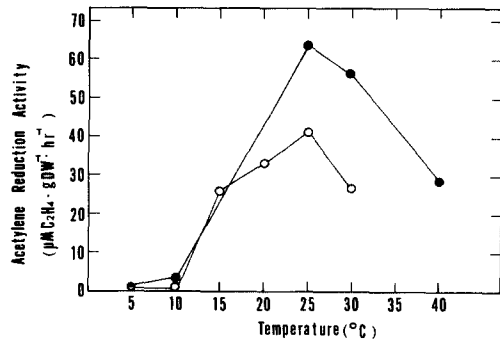
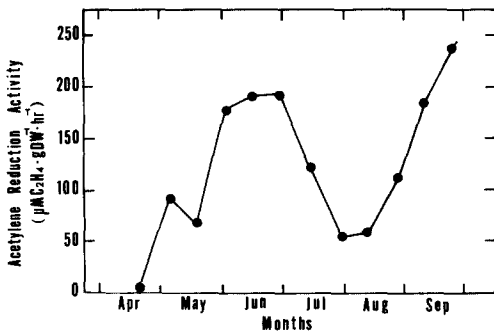


Fig. 5. Seasonal changes of acetylene reduction activity in the root nodules of *Robinia pseudoacacia* L.

Fig. 6. Effect of temperature on the acetylene reduction activity of the root nodules of *Robinia pseudo-acacia* L. ○—○, 21st April; ●—●, 1st September.

pH구배에 따른 근류의 질소고정활성 변화는 Fig. 7과 같다. pH 7에서 최대치를 보였으며, pH 5의 산성에서도 9월에는 90%의 높은 활성을 나타내었고, pH 9 이상의 알칼리성에서는 *Acacia*의 근류에서와 같이 현저히 활성의 저해를 나타내었다(Hansen et al., 1987).

Fig. 8은 산소분압의 구배에 따른 근류의 질소고정활성을 나타낸 것으로서, 일반적으로

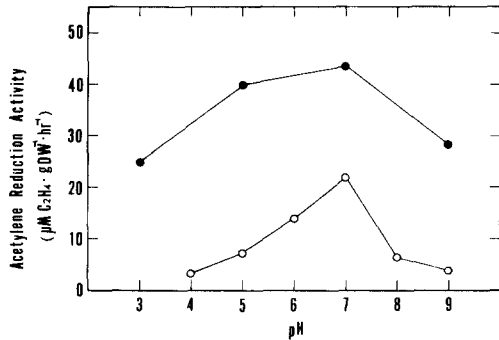


Fig. 7. Effect of pH on the acetylene reduction activity of the root nodules of *Robinia pseudo-acacia* L. ○—○, 21st April; ●—●, 1st September.

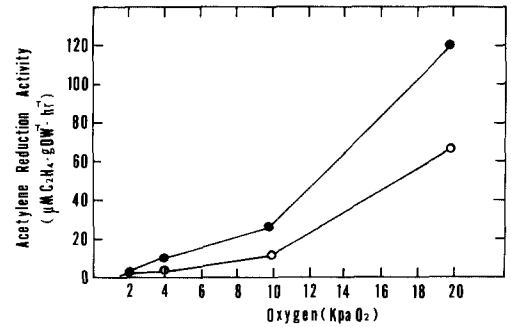


Fig. 8. Effect of oxygen concentration (Kpa) on the acetylene reduction activity of the root nodules of *Robinia pseudo-acacia* L. ○—○, 21st April; ●—●, 1st September.

산소에 대해 감수성이 극단적인 것으로 알려진 질소고정효소 (Hartmann *et al.*, 1985)가 호기성인 *Rhizobium*균에 의한 근류에서는 효율적인 산소 방어기구의 형성을 통해 20 Kpa의 산소분압에서 최대활성을 보였고, 4-10 Kpa에서는 25-10%로 활성이 억제되었으며, 2 Kpa O₂이하에서는 활성이 소실되었다.

적 요

우리나라 각지의 산야지 생태계에 널리 분포하는 아카시나무의 생육기간중 식물체 및 근권환경의 변화와 근류의 질소고정활성의 변화를 정량적으로 분석 검토하였다. 총질소 및 인함량은 근류, 잎, 뿌리 및 줄기의 순으로 변화를 보였으며, 잎에서는 초기에 높은 함량을 나타낸 후 생육과정에 따라 급격한 감소를 나타내었다. 근류토양은 pH 4.2-6.4의 산성이었고, 총질소함량, 총인함량 및 유기물함량은 각각 2.1-4.8 mg N/g DW, 1.7-19.1 µg P/g DW, 및 7-12%의 범위에서 변화를 보였다. 근류의 질소고정활성은 6월 말과 9월 말에 각각 190과 246 µMC₂H₄/g DW/hr의 최대치를 나타내었으며, 장마기 및 건조기에는 현저한 저해를 보였고 (50 µM · C₂H₄/g DW/hr), 일년생 근류에서는 볼 수 없는 제 2의 peak를 생육후기에 나타내었다. 근류의 최대 질소고정활성에 대한 최적의 온도, pH 및 산소 분압은 각각 25°C, pH 7 및 20KpaO₂였고, 생육환경요인의 변화 및 숙주식물의 생육특성에 따라 질소고정활성에 큰 영향을 나타내었다.

인 용 문 헌

- Arnold, E.G., R. R. Trussel and L.S. Clesceri. 1985. Standard methods. 16th Edition, American Public Health Association. pp. 404-450.
- Beaty, E.R., K.H. Tan, R.A. McCreery and J.D. Powell. 1987. Yield and N-content of closely clipped bahiagrass as affected by N treatments. *Agron. J.* 72:56-60.
- Cassman, K.G., A.S. Whistney and K.R. Stockinger. 1980. Root growth and dry matter distribution of soy-

- bean as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source. *Crop Sci.* 20:239-244.
- Evans, H.J., K. Fishbeck and L.L. Boersma. 1973. Measurement of nitrogenase activity of intact legume symbionts *in situ* using the acetylene reduction assay. *Agron. J.* 65:429-433.
- Gibson, A.H. and J.E. Harper. 1985. Nitrate effects on nodulation of soybean by *Rhizobium*. *Crop Sci.* 25:497-501.
- Hansen, A.P., J.S. Pate and C.A. Atkins. 1987. Relationships between acetylene reduction activity, H₂ evolution and N₂ fixation in nodules of *Acacia* spp., experimental background to assaying fixation by acetylene reduction under field condition. *J. Exp. Bot.* 38:1-12.
- Hartmann, A., H. Fu, S.D. Song and R.H. Burris. 1985. Comparison of nitrogenase regulation in *A. brasilense*, *A. liפוferum* and *A. amazonense*, *Azospirillum* III (Klingmüller, ed.) Springer-Verlag, Berlin. pp.116-126.
- Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57:1332-1334.
- Högberg, P. 1982. Nitrogen fixation by the woody legume *Leucaena leucocephala* in Tanzania. *Plant and Soil* 66:21-28
- Hopmans, P., L.A. Douglas and P.M. Chalk. 1983. Nitrogen fixation associated with *Acacia dealbata* Link. seedlings as estimated by the acetylene reduction assay. *Aust. J. Bot.* 31:331-337.
- Lindström, K., M.Sarsa, J. Polknen and P. Kansanen. 1985. Symbiotic N-fixation of *Rhizobium* (Galey) in acid soils and its survival in soil under acid and cold stress. *Plant and Soil* 87:293-302.
- Monk, D., J.S. Pate and H.A. Loneragan. 1981. Biology of *Acacia pulchella* R. Br. with special reference to symbiotic nitrogen fixation. *Aust J. Bot.* 29:579-592.
- Pandey, R.K., W.A.T. Herrera, A.N. Villegas and J.W. Pendleton. 1984. Drought response of grain legumes under irrigation gradient: III, Plant growth. *Agron. J.* 76:557-560.
- Rainbird, R.M., C.A. Atkins and J.S. Pate. 1983. Diurnal variation in the functioning of cowpea nodule. *Plant Physiol.* 72:308-312.
- Semu, E. and D.J. Hume. 1979. Effects of inoculation and fertilizer N₂ levels on N₂ fixation and yield of soybean in Ontario. *Can. J. Plant Sci.* 59:1129-1137.
- Song, S.D. and M. Monsi. 1974. Studies on the nitrogen and dry matter economy of a *Lespedeza bicolor* var. *japonica* community. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sec.* 11:283-332.
- Streeter, J.G. 1985. Nitrate inhibition of legume nodule growth and activity. *Plant Physiol.* 77:321-328.
- Weaver, C.R. 1966. Nodulating and nonnodulating soybean isolines: II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. *Agron. J.* 58:46-49.

(1990年 4月 5日 接受)