

매듭풀의 생육과 질소고정 활성에 미치는 환경요인의 영향

송승달 · 박정숙 · 김인숙

경북대학교 자연과학대학 생물학과

Effects of Environmental Factors on Growth and Nitrogen Fixation Activity of *Kummerowia striata*

Song, Seung-Dal, Jung-Sook Park and In-Sook Kim

Department of Biology, Kyungpook National University

ABSTRACT

Effects of environmental factors of N, P, pH, moisture, temperature and oxygen on growth and nitrogen fixation activity of *Kummerowia striata* (Thunb.) Schindler seedling, bearing symbiotic root nodules, were quantitatively analyzed during the growing period. The specific nitrogenase activity (ARA) of nodules showed the maximum value of $187 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 6 weeks after seeds were germinated. The total nitrogenase activities per plant attained as 1.56, 0.85, 0.09 and 4.0, 1.11, $0.04 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ hr}^{-1}$, respectively for the treatments of 1, 3 and 5 mM NO_3^- and NH_4^+ on the 60th day. While the plant grown in N-free media for 20 days after treatments of 5 mM NH_4^+ for 40 days resulted in 30 mg fr wt of nodule formation and exhibited the relative activities of 152% and 162% for total and specific ARA in comparison with those of control plant grown with N-free for 60 days. Total biomass and ARA was by 70% and 86% lower in N and P deficiency, respectively. The N and P deficient plot showed 70% and 86% decreases of total biomass and ARA in comparison with those of control. The plant grown with N-free for 20 days after pretreatment with N and P free media for 40 days showed the relative values of 77%, 118% and 150%, respectively for nodule biomass, total and specific ARA in comparison with those of control. The treatment with acid or alkali gradients resulted in significant decreases of nodule biomass and ARA. The optimum temperature and pO_2 for ARA were 30°C and 40 kPa, respectively. Two peaks of diurnal variation appeared at 11:00 and 23:00 o'clocks by the continuous light condition. The plants with water stress by temporary wilting point resulted in 95 ~ 97% inhibition for nodule respiration, transpiration and specific ARA. Transpiration and ARA were recovered to 88% and 38% of those of water unstressed plants, respectively, 6 hours after the plants were rewatered from water stressed condition.

Key words: Environmental factors, Growth, *Kummerowia striata*, Nitrogen fixation

서 론

콩과식물은 뿌리에서 공생 질소고정세균(*Rhizobium* sp.)의 감염에 의해 근류 조직을 형성하여 공중 질소를 고정하고, 잎에서 광합성 산물을 에너지원으로 공급하여, 성장과 생산성이 증대된다. 한편 근류에서 고정된 질소의 상당한 양은 근권에 방출되어 척박한 토양의 비옥화에 기여한다 (Hesterman *et al.* 1986, Brophy and Heichel 1989, Fyson and Oaks 1990).

근류의 형성과 질소고정 활성은 숙주식물의 생육상태와 환경요인에 의해 지배된다. 근류의 형성량과 엽면적 생장은 높은 상관성을 보이고 (Song and Monsi 1974), 공생 질소고정계에 있어서 빛과 온도의 영향에 대해서는 많은 연구보고가 있다 (Schweitzer and Harper 1980, Williams and Phillips 1980, Sinclair and Weisz 1985). 근권토양에 첨가되는 외부의 질소화합물은 근류의 형성 및 질소고정 활성을 억제하며, 식물의 생장은 시비되는 외부의 질소화합물에 의존하게 된다 (Wong 1980, Bender *et al.* 1985, Streeter 1985, Kim *et al.* 1987). 토양의 산성화는 대부분의 작물에서 영양염의 흡수 효율을 감소시키고 (Sarkar and Wynjones 1982, Fageria *et al.* 1989), 뿌리에 대한 근류균의 부착도를 저하시킨다 (Caetano-Anolles *et al.* 1989). 질소고정 효소계는 산소에 의해 변형되어 활성을 잃게 되나, 근류 조직에서는 효과적인 산소 방어기구를 가짐으로써 호기상태에서 효율적인 에너지공급을 받아 최적의 질소고정 활성을 유지할 수 있다 (Monroe *et al.* 1989). 근권 토양의 수분 스트레스는 잎의 기공 폐쇄를 유발하고, 광합성 및 근류 활성을 저해하는 것으로 알려지고 있다 (Patterson *et al.* 1979, Chen and Sung 1983, Bennett and Albrecht 1984, Guerin *et al.* 1990). 그리고 질소고정 활성의 일변화는 식물의 종류에 따라 그 특성이 다른 것으로 보고되고 있다 (Hogberg and Varnstrom 1982, Rainbird *et al.* 1983a, Weisz and Sinclair 1988).

매듭풀은 초지, 노변의 나지 또는 개간지 등에 널리 자연군락을 이루고 근류를 형성하는 일년생 콩과식물로서, 공생질소고정 능력에 의해 일차생산성을 증가시키고 근권토양의 성질을 개선하여, 군락의 성장과 생태계의 천이에 기여하는 식물로서 주목되고 있다. 매듭풀의 질소고정에 대해서는 Song과 Bae(1992)가 자연군락에서 생육환경의 특성에 따른 근류 활성의 계절변화의 특징을 밝혔으나, 각종 환경의 조절요인에 대하여는 연구된 바가 없다. 이 연구는 매듭풀의 유식물을 사경재배하여 생육 기간중 식물체 각 기관의 생육특성과 근류의 질소고정 활성의 변화를 분석하고, 질소, 인, pH, 산소 및 온도의 구배처리 그리고 수분 스트레스에 의한 성장과 근류의 형성 및 질소고정 활성에 미치는 영향을 정량적으로 분석하였다.

재료 및 방법

식물생육과 환경요인의 처리

야외에서 채취한 매듭풀(*Kummerowia striata* (Thunb.) Schindler)의 종자를 10% H₂O₂와 0.2% HgCl₂로 각각 10분간 처리하여 표면 살균한 뒤, 30℃ 항온기에서 발아시켜, 뿌리가 1.5~2.0 cm 성장한 유식물을 플라스틱 포트(직경 6.5 cm, 높이 8.5 cm)에 5개체씩 이식하고, 생장실(20,000 lux, 명 16시간, 암 8시간, 25℃)에서 Leonard jar 방법으로 사경재배하였다 (Leonard 1944). 근류균의 접종은 야외에서 채취한 신선한 매듭풀의 근류를 표면 살균한 후 파쇄하여 유효 근류균인 *Rhizobium* sp.의 현탁액을 포트당 2 mL (25 mg fr wt nodule/mL)를 이

식시와 이식 1주일 후에 근권 산포하였다.

생육환경 요인의 처리는 질소 및 인의 결핍구와 NH₄Cl과 KNO₃의 각각 1, 3, 5 mM 처리구 그리고 pH구배 처리구의 Hoagland 무기배지를 만들어 각각 광구병에 600 mL씩 넣어 공급하고, 1 주 간격으로 배지를 교환하였다. 배양액의 pH 구배는 인산 완충액에 의해 pH 4, 5, 6, 7, 8 및 9 로 조절하였다. 수분 스트레스의 영향은 Hoagland 무질소 배지로 56일간 생육시킨 뒤 광구병의 배양액을 제거하여, 근권 토양의 함수량 소실에 따라 일시위조점에 이르는 과정과 재급수에 의해 회복되는 과정에 대한 토양과 각 기관별 함수량과 잎의 증산 및 근류의 질소고정 활성의 변화를 비교측정하였다. 온도의 영향은 근류를 vial에 넣고 0℃에서 45℃까지 5℃간격의 각 온도에서 30분간 배양하여 근류 활성을 분석하였다. 산소 구배는 근류를 넣은 vial을 manifold에 의해 험 기처리하여 argon gas로 대체한 후, 산소분압을 0, 4, 8, 12, 16, 20, 30, 40, 50 및 60 kPa 로 조절하여, 30℃에서 30분간 배양후 근류 활성을 분석하였다. 생육 기간중 매 2주 간격으로 식물체의 신장 성장을 측정하고, 각 기관별 시료와 근권 토양의 시료를 채취하여, 생량과 70℃에서 3일 동안 건조한 건량을 측정하고 함수량을 산출하였다. 이상의 측정 및 분석은 각 시료에 대해 3반 복하여 평균치를 구하였다.

질소고정 활성의 측정

근류의 활성은 질소고정 효소에 의한 아세틸렌 환원력(ARA)을 측정하는 방법으로 분석하였다. 각 환경요인으로 처리한 근류를 10 mL vial에 넣고, 실온에서 30분간 전처리하여, 아세틸렌 (C₂H₂)을 vial volume의 10%로 주입하고 1시간 배양한 후, 주사기로 sample 0.5 mL를 채취하여 Porapak R column (182 cm x 0.32 cm)의 gas chromatograph에서 불꽃 이온화 검출기 (FID)에 의해 환원된 에틸렌(C₂H₄)량을 정량하여 질소고정 활성으로 산출하였다 (Fellows *et al.* 1987).

결 과

매듭풀 유식물의 성장과 질소고정 활성

매듭풀 유식물의 신장 성장, 잎과 근류의 현존량 및 질소고정 활성의 변화는 Table 1과 같다.

Table 1. Time trends of height growth, leaf and nodule biomass and nitrogenase activities of *K. striata* seedlings

Growth and nitrogenase activity	Week										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Height (cm)	2.1	3.4	4.6	6.2	10.4	12.2	14.3	18.5	23.7	32.0	32.0
Leaf biomass ¹⁾	0.9	1.5	5.4	18	41	62	86	205	296	580	580
Nodule biomass ¹⁾	0	0	1.0	3.2	6.5	9.4	18	31	54	72	72
SNA ²⁾	0	0	125	158	162	187	163	150	135	120	119
TNA ³⁾	0	0	0.12	0.51	1.05	1.76	2.93	4.65	7.29	8.64	8.57

¹⁾ Unit of biomass is mg fr wt /plant.

²⁾ SNA stands for specific nitrogenase activity with unit of $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt nodule}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

³⁾ TNA stands for total nitrogen fixation activity with unit of $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

초장은 발아후 1주에서 10주 사이에 2.1 cm에서 32.0 cm로 신장하였고, 잎과 근류의 현존량은 각각 0.9와 0 mg fr wt /plant에서 580과 72 mg fr wt /plant로 증가하였다. 매듭풀 유식물에서 근류(X)와 잎(Y)의 현존량간의 상관관계는 $Y=6.97X-0.00057$ ($r=0.95$) 로서 높은 상관을 보였다

유식물의 생육과정에 따른 근류의 질소고정 비활성(SNA)은 발아후 3주째 부터 급격히 증가하여, 6주째에 최대치인 $187 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt nodule}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 에 달하였고, 그 후 감소하여 $120 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt nodule}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 의 수준을 유지하였다. 식물체의 총질소고정 활성(TNA)은 근류형성이 시작되는 3주째에 $0.12 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 에서 6주까지 서서히 증가하였으나, 7주부터 급격히 증가하여 10주후에는 $8.64 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 에 달하였다.

근류 활성에 미치는 환경요인의 분석

질소 결핍구와 NO_3^- 및 NH_4^+ 의 1, 3, 5 mM 처리구에 따른 매듭풀 유식물의 각 기관별 현존량과 근류 형성량 및 질소고정 활성의 변화는 Table 2 와 같다. 근류 형성은 NO_3^- 와 NH_4^+ 각 1, 3, 5 mM 처리구에서 60일째에 각각 9.5, 4.9, 0.7와 25.4, 10.6, 1.4 mg fr wt /plant로서 대조구(질소결핍구)의 $31.5 \text{ mg fr wt /plant}$ 에 대해 각각 30%, 15%, 2%와 80%, 33%, 4%로 감소되었고, 질소고정 활성의 변화는 각각 1.56, 0.85, 0.09와 4.00, 1.11, 0.04 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 로서 대조구($3.5 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$)의 45%, 24%, 2%와 115%, 32%, 1%로 감소되었다.

질소 및 인 결핍구에서 40일간 처리후 질소 결핍으로 20일간 생육(N20D-NP40D)한 매듭풀의 잎, 줄기, 뿌리 및 근류의 현존량은 Table 3에서와 같이 178, 105, 48, 25 mg fr wt /plant로서, 60일간 질소 결핍의 대조구에 비해 각각 58%, 63%, 107% 및 71%로서 60일간 질소 및 인 결핍구의 각각 21%, 24%, 14% 및 15% 보다 현저히 증가하였으며, T/R비와 C/F비는 대조구에 비해 각각 61%와 125%로서 비광합성기관의 증가를 보였다. 또한 식물체당 총 질소고정 활성(TNA)과 근류의 비활성(SNA)은 각각 대조구에 비해 118%와 150%로서, 60일간 질소 및 인 결핍구의 14%와 102% 보다 현저히 증가하였다. 한편, 5 mM NH_4^+ 에서 40일간 배양한 후 20일간 질소 결핍처리(N20D- NH_4^+ 40D)한 매듭풀의 잎, 줄기, 뿌리 및 근류의 현존량은 각각 330, 184, 143 및 30 mg fr wt /plant로서, 특히 뿌리의 생장이 60일간 5 mM NH_4^+ 처리구에 비해 두 배이상으로 증가하였고, 근류는 750%로 크게 증가하였다. 그리고 T/R 비는 질소 결핍구에 비해 46%로 감소하였으나, C/F 비는 142%로 증가하였고, 근류의 질소고정 활성과 비활성은 각각 152%와 162%로 크게 증가하였다.

Table 2. Effects of nitrate and ammonium gradients on nodule biomass and total nitrogen fixation activities (TNA) of *K. striata* seedlings

Biomass and TNA	Growth stage (day)	Control	NO_3^- (mM)			NH_4^+ (mM)		
			1	2	3	1	2	3
Nodule biomass (mg fr wt /plant)	20	3.2	2.4	1.5	0.5	2.8	2.1	0.6
	40	10.2	4.6	2.8	0.6	8.8	4.2	0.9
	60	31.5	9.5	4.9	0.7	25.4	10.6	1.4
TNA ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ plant}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	20	0.32	0.27	0.20	0.02	0.28	0.24	0.01
	40	1.45	0.87	0.32	0.05	1.56	0.53	0.02
	60	3.50	1.56	0.85	0.09	4.00	1.11	0.04

Table 3. Effects of nitrogen and phosphorus deficiencies and 5 mM of NH₄⁺ application on the biomass growth of each organ and nitrogenase activities (ARA) of *K. striata* seedlings

Treatment	Biomass					Relative value (%)			
	Leaf	Stem	Root	Nodule	Total	T/R	C/F	TNA	SNA
N free for 60 days	310	165	45	35	555	100	100	100	100
N, P free for 60 days	65	40	50	5	160	30	187	14	102
5 mM NH ₄ ⁺ for 60 days	500	260	75	(0.004)	835	150	84	0.01	86
N20D-NP40D ⁴⁾	178	105	48	25	356	61	125	118	150
N20D-NH ₄ ⁺ 40D ⁵⁾	330	184	143	30	687	46	142	152	162

⁴⁾ N free treatment for 20 days after N,P free treatment for 40 days

⁵⁾ N free treatment for 20 days after 5 mM NH₄⁺ application for 40 days

질소 및 인의 결핍에 따른 각 기관별 현존량과 근류 형성량 및 질소고정 활성에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 질소 및 인 결핍처리에서는 60일째에 식물체의 현존량이 160 mg fr wt /plant 로서 질소 결핍구 (555 mg fr wt /plant)에 비해 33%로 감소하였으며, 근류 형성량과 질소고정 활성은 생장이 진행됨에 따라 저해가 현저하여, 60일째에 각각 5 mg fr wt /plant와 0.5 μmol C₂H₄ plant⁻¹ h⁻¹로서 질소 결핍구의 35 mg fr wt /plant 및 3.5 μmol C₂H₄ plant⁻¹ h⁻¹에 비해 각각 14% 수준으로 감소되었다. 질소가 결핍된 pH 4, 5, 6, 7, 8 및 9에서 성장시킨 매듭풀 유식물의 총현존량은 60일째에 각각 257, 296, 449, 370, 362 및 162 mg fr wt /plant로 되었고, 근류의 상대활성치는 각각 38, 54, 100, 92, 64 및 0%로서, 산성과 알칼리성으로 갈수록 급격한 감소를 보였다.

Table 4. Effects of 5 mM of NO₃⁻ and NH₄⁺ and pH gradients on standing crops (mg fr wt /plant) and nitrogenase activity (μ mol C₂H₄ plant⁻¹h⁻¹) of *K. striata* seedlings

Biomass and activity	Days of N free treatment			Days of N,P free treatment		
	20	40	60	20	40	60
Biomass						
Leaf	12.8	80	310	8.6	35	65
Stem	4.2	40	165	6.3	28	40
Root	3.4	20	45	5.2	35	50
Nodule	1.2	10	35	1.1	6	5
Total	21.6	150	555	21.2	104	160
TNA	0.2	1.4	3.5	0.3	0.6	0.5
Biomass and activity	pH					
	4	5	6	7	8	9
Biomass						
Leaf	82	106	192	195	160	56
Stem	76	80	105	103	108	45
Root	85	96	128	50	74	57
Nodule	14	14	24	22	20	4
Total	257	296	449	370	362	162
Relative ARA (%)	38	54	100	92	64	0

매듭풀의 생육기간중 수분 공급을 중단하였을 때, 토양과 식물체의 함수량 및 증산량 그리고 근류 활성 및 호흡량의 변화는 Table 5와 같다. 토양 함수량(대조구, 26.8%)은 2일째부터 급격히 감소하여 5일째는 1.2%까지 감소하였다. 식물체의 기관별 함수량의 변화는 잎과 줄기에서는 296~204%와 271~194%의 범위에서 점진적으로 감소하였으나, 뿌리와 근류에서는 441~109%와 595~76%의 범위에서 변화를 보였다. 근류의 비활성은 토양 함수량이 12%로 되는 2일까지는 $143 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt nodule}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 로 상대활성이 93%를 유지하였으나, 토양 함수량 1.2% 이하에서는 상대활성이 3.2%로 급격히 감소하였고, 재급수하였을 때 6시간후에 38%의 활성 회복을 보였으며, 24시간뒤에는 80%로 회복되었다. 근류의 증산량 및 호흡은 유사한 변화를 보여, 토양함수량 1.2%에서 4.3%로 감소하였고, 일시위조점에서 재급수하면 3시간 및 6시간후에는 각각 46% 및 82%로 회복되었으며, 24시간후 100%로 회복되었다.

온도 및 산소의 구배 그리고 일변화에 따른 근류 활성의 변화는 Table 6과 같다. 활성의 최적 온도는 30℃였고, 15℃까지는 완만히 감소하였으며, 10℃이하와 35℃이상에서는 상대활성이 25%이하로 급격히 감소하였다. 근류활성의 최적의 산소분압은 40 kPa였다. 연속광하에서 생육

Table 5. Variations of water content of each organ, respiration, transpiration and nitrogenase activity of *K. striata* seedlings during water stress and rewatering treatments

Water content and activity	Days after water stress						Hours after rewatering				
	0	1	2	3	4	5	0	3	6	24	120
Water content (%)											
Soil	26.5	22.5	12.0	3.3	1.6	1.2	1.2	25.2	26.4	27.1	27.0
Leaf	296	285	280	270	240	204	209	280	290	290	290
Stem	250	271	250	250	220	194	215	220	220	230	230
Root	441	390	340	320	220	109	190	300	350	400	400
Nodule	595	540	455	420	220	76	90	270	280	350	430
SNA	150	155	143	52	22	5	5	42	60	120	120
Respiration ⁶⁾	100	100	87	72	54	4	46	64	86	96	98
Transpiration ⁷⁾	—	—	1.05	0.84	0.26	0.05	0.05	0.48	0.86	1.04	1.05

⁶⁾ Relative respiration (%)

⁷⁾ Unit is $\text{H}_2\text{O mL dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$

Table 6. Effect of temperature and oxygen gradients and diurnal changes on nitrogenase activities of root nodules of *K. striata* seedlings

Treatment	Temperature (°C)									
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Relative TNA (%)	4	11	41	72	77	86	100	48	16	7
Relative TNA (%)	Oxygen (kPa)									
	0	4	8	12	16	20	30	40	50	60
Relative TNA (%)	1	3	11	16	23	31	76	100	79	62
SNA	Hour									
	02:00	05:00	08:00	11:00	14:00	17:00	20:00	23:00		
SNA	160	92	140	214	200	159	180	212		

Table 7. Time trends of TNA of the root nodules of *K. striata* seedlings with different trifoliolate numbers and nitrogen sources

Hour	5 mM NO ₃ ⁻				5 mM NH ₄ ⁺			
	0	6	18	24	0	6	18	24
TNA	6.8	6.8	3.5	2.4	4.6	3.8	1.4	1.2
Hour	6th trifoliolate				7th trifoliolate			
	1	2	3	4	1	2	3	4
TNA	0.8	1.6	1.8	2.1	1.8	3.6	4.2	4.5

한 매듭풀의 질소고정 활성의 일변화는 오전 및 오후 11시에 각각 최대치인 214 및 212 nmol C₂H₄ plant⁻¹ h⁻¹를 나타내었고, 오전 및 오후 5시에 각각 최저치인 92 및 159 nmol C₂H₄ plant⁻¹ h⁻¹로서 12시간 주기로 극대치를 보였다.

매듭풀의 뿌리를 NO₃⁻와 NH₄⁺ 각 5 mM의 배양액으로 처리하여 근류 활성의 변화를 측정할 결과는 Table 7 과 같이 NO₃⁻ 5 mM에서는 18시간후에 활성의 저해를 보였으나, NH₄⁺ 5 mM에서는 1시간후에 급격한 저해를 보였다. 매듭풀 유식물의 지상부를 제거하였을 때, 근류의 질소고정 활성은 2시간까지 유지되었으나, 그후 억제를 보였으며, 개체 또는 생육시기에 따라라도 변이를 보였고, 엽서가 많은 개체에서는 근류내부에 저장되는 에너지원에 의해 예취처리 후보다 장시간 활성을 유지하였다.

고 찰

매듭풀 근류의 질소고정은 최대비활성이 187 μmol C₂H₄ g fr wt nodule⁻¹ h⁻¹로서 (Table 1) 목본성인 싸리 (송 과 김 1992)나 보리수나무 (송 등 1993)의 것보다 높았다. 매듭풀의 질소고정 활성에 대한 질소시비의 저해는 NO₃⁻와 NH₄⁺ 각각 1, 3, 5 mM 처리구에서 60일째에 55%, 76%, 98%와 0%, 68%, 99%였으나 (Table 2), 생육초기에 5 mM NH₄⁺처리 또는 질소 인 결핍 처리 후 질소 결핍처리로 성장한 매듭풀의 질소고정 활성은 촉진효과를 보였다 (Tables 3, 4). Hatfield 등 (1974)은 발아후 2주까지 질소원을 공급한 식물체가 무질소구 보다 근류 형성량이 높았으나, 6주까지 질소원을 공급했을 때는 급격히 근류량이 감소되었다고 보고하였다. 근류의 형성과 질소고정 활성의 촉진은 식물체의 초기 성장 발달이 요구되고, 종류와 성장단계에 따라 다른 것으로 생각된다. Mahon (1977)은 완두에서 질소시비에 의한 근류 활성의 감소가 뿌리와 근류의 호흡 저해에 의한 것이라고 하였으며, Vivo 등 (1989)은 루핀에서 NO₃⁻에 의해 근류내의 leghemoglobin이 감소하여 산소 결핍을 초래함으로써 활성을 저해한다고 보았다. 한편 Fredeen 등 (1989)은 대두에서 인의 결핍에 의한 성장억제의 영향을 보고하였고, Cassman 등 (1980)은 인 결핍이 식물체의 지하부와 지상부에 대한 건물의 분배보다는 뿌리-근류의 평형에 미치는 영향이 크다고 하였다. 산성 또는 알칼리성에서는 매듭풀 유식물의 근류 활성이 급격히 저해되었다 (Table 4). 산성에서는 필수 영양원소들의 용해도가 변화하고, 뿌리를 통한 ion의 수송이 변화됨으로써 뿌리에 상해를 주어 식물생장이 저해되며 (Moore 1974, Sarkar and Wyn-jones 1982), 알팔파와 common bean 은 pH 5.8 과 5.0에서 최대 성장을 보이나 (Fageria *et al.* 1989), *Trifolium* sp.의 생장은 pH 3.5 이하에서는 정지되었다 (Kim *et al.* 1985). French bean은 pH 3.5~8.5의 범위에서 성장을 유지하나 중성에서 최대생장을 보이는 것으로 알려지고 있다

(Islam *et al.* 1980). Caetano-Anolles 등(1989)은 알팔파의 뿌리에 대한 *Rhizobium meliloti*의 흡착이 중성에서 가능하고, pH 6이하에서는 근류균이 뿌리로부터 이탈되며 생존도가 감소한다고 하였다.

근권 토양의 수분 스트레스가 식물체의 함수량, 증산량, 호흡량 및 근류 활성화에 현저한 영향을 미치는 것과 관련하여(Table 5), Huang 등(1975)과 Patterson 등(1979)은 근류 활성화의 감소가 수분 스트레스에 의한 광합성의 저해에 기인한다고 하였고, 재급수하였을 때 근류의 질소고정 활성화의 회복이 식물체의 회복보다 더 지연됨을 보고하였다. Weisz 등(1985)은 수분 스트레스로 근류조직에서 산소 확산이 저해를 받아 호흡 억제에 의해 질소고정 활성화가 저해된다고 보고하였으며, Guerin(1990)은 수분 stress시에 근류 외피에 있는 공간이 축소되는 현상을 보고하였다. Bennett 와 Albrecht(1984)는 잎과 근류의 water potential 사이에 높은 상관성을 밝혔으며, 수분 스트레스에 대한 근류의 질소고정 활성화는 숙주인 식물체의 생장보다 더 민감하게 반응한다고 하였다. 수분 스트레스 기간에 근류에의 sucrose 축적량이 높음에도 불구하고 근류의 활성화가 감소하는 것은 유기물의 공급이 직접적인 원인이 아니라고 보며(Fellows *et al.* 1987), 대두에서는 건조 스트레스에 의해 acetylene 환원이 95% 감소하였을 때도 근류의 호흡은 40%만 감소한다고 하였다(Sprent 1971).

매듭풀 유식물의 근류 활성화에 대한 최적온도와 산소분압은 각각 30℃ 와 40 kPa였으나(Table 6), 카우피의 질소고정 활성화는 15~38℃의 온도 범위에서 높게 유지되었고(Rainbird *et al.* 1983b), French bean에서는 15~30℃의 온도 범위에서 활성을 갖는 것으로 알려지고 있다(Pankhurst and Sprent 1976). Hosoda 등(1978)은 매듭풀의 근류가 5~20 kPa의 산소분압에서 질소고정 활성화가 일정하다고 보고하였다. 질소고정 활성화는 근권의 산소농도에 대해서 감수성이 크고, 낮은 산소 분압에서는 현저히 억제되는 것으로 밝혀졌다(Criswell *et al.* 1976, King *et al.* 1988). Weisz 와 Sinclair(1987)는 산소 결핍에 의한 활성화 억제가 가역적인 것으로서 산소공급에 의해 4~8시간내에 완전히 회복된다고 보고하였다. 매듭풀의 질소고정 활성화의 일변화는 두 개의 극대치를 보였다. Balandreau 등(1974)은 식물의 종류에 따라 1-peak 또는 2-peak의 일변화가 있다고 하였으며, Hogberg 와 Varnstrom(1982)은 *Leucaena leucocephala*에서 오전 6시에 비해 정오에 2배의 활성이 있으며, 맑은 날은 흐리거나 비오는 날보다 활성이 45% 증가된다고 하였다. Hardy 와 Havelk(1976)은 질소고정 활성화의 일변화의 주요 제한요인이 근류에 공급되는 광합성 산물량을 조절하는 일조량이라고 하였고, 대두에서는 광처리에서 활성화의 일변화가 나타나지 않는다는 보고도 있다(Schweitzer and Harper 1980). *Trifolium subterraneum*에서는 광도보다 일중의 온도 변화가 더 큰 영향을 미친다는 보고가 있으며(Eckart and Raguse 1980), Denison 과 Sinclair(1985) 및 Weisz 와 Sinclair(1988)는 토양 온도에 의한 질소고정 활성화의 일변동에 대해 유사한 보고를 하였다. 그러나 Rainbird 등(1983b)은 낮과 밤의 10℃의 온도 차이에서도 질소고정률의 차이가 별로 없다고 하였다.

지상부 예취에 의한 매듭풀 근류의 활성화는 체내의 저장 에너지와 깊은 상관을 보였으나(Table 7), 대두에서는 지상부를 절단한 직후 활성이 감소되어 회복되지 않았으며(Huang *et al.* 1975), 비콩과의 근류 식물인 *Myrica gale*에서는 지상부를 절단하였을 때 활성이 일시 감소하였다가 회복되어 3시간이상 유지된다는 보고가 있다(Tjepkema *et al.* 1988).

적 요

매듭풀 유식물의 생육과정에서 근류 형성과 질소고정 활성에 미치는 환경요인의 영향을 정량적으로 분석하였다. 비활성의 최대치는 발아후 6주째에 $187 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ g fr wt}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 였다. NO_3^- 와 NH_4^+ 각각 1, 3, 5 mM에 대한 60일째의 식물체당 질소고정 활성은 각각 1.56, 0.85, 0.09와 4.0, 1.11 $0.04 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{h}$ 로서 질소결핍의 대조구($3.5 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{h}$)에 대한 상대값은 각각 45%, 24%, 2%와 115%, 32%, 1%였다. 한편, 5 mM NH_4^+ 에서 40일간 처리한 후 질소 결핍배지에서 20일간 생육시켰을 때 근류의 형성량은 $30 \text{ mg fr wt}/\text{plant}$ 로 증가하고, 질소고정 활성과 비활성은 대조구에 비해 각각 152%와 162%로 증가하였다. 질소 및 인의 결핍처리는 질소 결핍구에 비해 총 현존량과 질소고정 활성이 각각 70%와 86% 감소하였다. 질소 및 인 결핍구에서 40일간 처리한 후 질소 결핍구에서 20일간 성장시켰을 때, 근류 형성과 질소고정 활성 및 비활성은 각각 질소결핍의 대조구에 비해 77%, 118% 및 150%로 되었다. 산성과 알칼리성에서는 총현존량과 근류 형성 및 질소고정 활성이 현저히 감소되었고, 질소고정 활성의 최적온도 및 산소분압은 30°C 와 40 kPa 였다. 24시간 연속광하에서 생육한 식물체는 오전 및 오후 11시에 각각 두개의 활성 극대치를 보였다. 수분 스트레스에 의해 일시위조점에서 근류의 호흡량과 증산량 및 질소고정 비활성이 모두 95 ~ 97% 감소되었고, 수분 공급에 의해 6시간 후에 증산량과 질소고정 활성이 각각 82%와 38% 회복되었다.

인용문헌

- 김성준·추연식·송승달. 1987. 대두의 성장 및 질소경제에 미치는 nitrate 구배의 영향. 한국생태학회지 10: 175-182.
- 송승달·김방일. 1992. 싸리(*Lespedeza bicolor* Turcz.)의 공생 질소고정활성과 생육환경요인의 변화. 한국식물학회지 35: 317-322.
- 송승달·배상미. 1992. 매듭풀(*Kummerowia striata* (Thunb.) Schindl.) 개체군의 질소고정활성과 생육특성의 계절변화. 한국생태학회지 15: 377-386.
- 송승달·이경진·박태규·안정선·김준호. 1993. 보리수나무의 질소고정활성에 대한 환경요인의 영향. 한국생태학회지 16: 159-168.
- Balandreau, J.P., C.R. Millier and Y.R. Dommergues. 1974. Diurnal variation of nitrogenase activity in the field. Appl. Microbiol. 27: 662-665.
- Bender, D.A., R.D. Morse, J.L. Neal and D.D. Wolf. 1985. Delayed inoculation and starter nitrogen for enhancing early growth and nitrogen status of *Lespedeza cuneata*. Plant Soil 84: 311-321.
- Bennett, J.M. and S.L. Albrecht. 1984. Drought and flooding effects on N_2 fixation, water relations and diffusive resistance of soybean. Agron. J. 76: 735-740.
- Brophy, L.S. and G.H. Heichel. 1989. Nitrogen release from roots of alfalfa and soybean grown in sand culture. Plant Soil 116: 74-84.
- Caetano-Anolles, G., A. Lagares and G. Favelukes. 1989. Adsorption of *Rhizobium meliloti* to alfalfa roots: Dependence on divalent cations and pH. Plant Soil 117: 67-74.

- Cassman, K.G., A.S. Whitney and K.R. Stockinger. 1980. Root growth and dry matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source. *Crop Sci.* 20: 239-244.
- Chen, C.L. and J.M. Sung. 1983. Effect of water stress on the reduction of nitrate and nitrite by soybean nodules. *Plant Physiol.* 73: 1065-1066.
- Crisweell, J.G., U.D. Havelka, B. Quebedeaux and R.W.F. Hardy. 1976. Adaptation of nitrogen fixation by intact soybean nodules to altered rhizosphere pO_2 . *Plant Physiol.* 58: 622-625.
- Denison, R.F. and T.R. Sinclair. 1985. Diurnal and seasonal variation in dinitrogen fixation (acetylene reduction) rates by field-grown soybeans. *Agron. J.* 77: 679-684.
- Eckart, J.F. and C.A. Raguse. 1980. Effects of diurnal variation in light and temperature on the acetylene reduction activity (nitrogen fixation) of subterranean clover. *Agron. J.* 72: 519-523.
- Fageria, N.K., V.C. Baligar and R.J. Wright. 1989. Growth and nutrient concentrations of alfalfa and common bean as influenced by soil acidity. *Plant Soil* 119: 331-333.
- Fellows, R.J., R.P. Patterson, C.D. Raper and D. Harris. 1987. Nodule activity and allocation of photosynthate of soybean during recovery from water stress. *Plant Physiol.* 84: 456-460.
- Fredeen, A.L, I.M. Rao and N. Terry. 1989. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. *Plant Physiol.* 89: 225-230.
- Fyson, A. and A. Oaks. 1990. Growth promotion of maize by legume soils. *Plant Soil* 122: 259-266.
- Guerin, V., J.C. Trinchant and J. Rigand. 1990. Nitrogen fixation (C_2H_2 reduction) by broad bean (*Vicia faba* L.) nodules and bacteroids under water-restricted conditions. *Plant Physiol.* 92: 595-601.
- Hardy, B.W.F. and U.D. Havelk. 1976. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. *In* P.S. Natmna (Ed.), *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*. Cambridge Univ. Press, New York, pp. 421-439.
- Hatfield, J.L., D.B. Egli, J.E. Leggett and D.E. Peaslee. 1974. Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybeans (*Glycine max* Merr.). *Agron. J.* 66: 112-114.
- 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.
- Hogberg, P. and M.K. Varnstrom. 1982. Nitrogen fixation by the woody legume *Leucaena leucocephala* in Tanzania. *Plant Soil* 66: 21-28.
- Hosoda, N., K.K. Lee and M. Yatazawa. 1978. Effects of carbon dioxide, oxygen, and light on nitrogen fixing activities in Japan clover (*Kummerowia striata* S.). *Soil Sci. Plant*

- Nutr. 24:113-119.
- Huang, C.Y., J.S. Boyer and L.N. Vandrhoef. 1975. Acetylene reduction (nitrogen fixation) and metabolic activities of soybean having various leaf and nodule water potentials. *Plant Physiol.* 56: 222-227.
- Islam, A.K.M.S., D.G. Edwards and C.J. Asher. 1980. pH optima for crop growth: Results of a flowing solution culture experiments with six species. *Plant Soil* 54: 339-357.
- Kim, M.K., D.G. Edwards and C.J. Asher. 1985. Tolerance of *Trifolium subterraneum* cultivars to low pH. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 569-578.
- King, B.J., S. Hunt, G.E. Weagle, K.B. Walsh, R.H. Pottier, D.T. Canvin and D.B. Layzeell. 1988. Regulation of O₂ concentration in soybean nodules observed by *in situ* spectroscopic measurement of leghemoglobin oxygenation. *Plant Physiol.* 87: 296-299.
- Leonard, L.T. 1944. Method of testing bacterial cultures and results of tests of commercial inoculants. U.S.D.A. Circ. N. 703, pp.8.
- Mahon, J.D. 1977. Root and nodule respiration in relation to acetylene reduction in intact nodulated peas. *Plant Physiol.* 60: 812-816.
- Monroe, J.D., T.G. Owens and T.A. LaRue. 1989. Measurement of the fractional oxygenation of leghemoglobin in intact detached pea nodules by reflectance spectroscopy. *Plant Physiol.* 91: 598-602.
- Moore, D.P. 1974. Physiological effects of pH on roots. *In* EW. Carson (Ed.), *The Plant Root and The Environment*. New York. pp.135-151.
- Pankhurst, C.E. and J.I. Sprent. 1976. Effect of temperature and oxygen tension on the nitrogenase and respiratory activities of turgid and water stressed soybean and french bean root nodules. *J. Exp. Bot.* 27: 1-9.
- Patterson, R.P., C.D. Raper Jr. and H.D. Gross. 1979. Growth and specific nodule activity of soybean during application and recovery of a leaf moisture stress. *Plant Physiol.* 64: 551-556.
- Rainbird, R.M., C.A. Atkins and J.S. Pate. 1983a, Diurnal variation in the functioning of cowpea nodules. *Plant Physiol.* 72: 308-312.
- Rainbird, R.M., C.A. Atkins and J.S. Pate. 1983b. Effect of temperature on nitrogenase functioning in cowpea nodules. *Plant Physiol.* 73: 392-394.
- Sarkar, A.N. and R.G. Wynjones. 1982. Effect of rhizosphere pH on the availability and uptake of Fe, Mn and Zn. *Plant Soil* 66: 361-372.
- Schweitzer, L.E. and J.E. Harper. 1980. Effect of light, dark, and temperature on root nodule activity (acetylene reduction) of soybeans. *Plant Physiol.* 65: 968-972.
- Sinclair, T.R. and P.R. Weisz. 1985. Response to soil temperature of dinitrogen fixation (acetylene reduction) rates by field-grown soybeans. *Agron. J.* 77: 685-688.
- 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. III.* 11: 283-332.
- Sprent, J.I. 1971. The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules. I. Effects on the physiology of detached soybean nodules. *New Phytol.* 70: 9-17.

- Streeter, J.G. 1985. Nitrate inhibition of legume nodule growth and activity. I. Long term studies with a continuous supply of nitrate. *Plant Physiol.* 77: 321-328.
- Tjepkema, J.D., C.R. Schwintzer and C.A. Monz. 1988. Time course of acetylene reduction in nodules of five actinorhizal genera. *Plant Physiol.* 86: 581-583.
- Vivo, A., J.M. Andreu, S. de la Vina and M.R. de Felipe. 1989. Leghemoglobin in lupin plants (*Lupinus albus* cv. Multolupa). *Plant Physiol.* 90: 452-457.
- Weisz, P.R., R.F. Denison and T.R. Sinclair. 1985. Response to drought stress of nitrogen fixation (acetylene reduction) rates by field-grown soybeans. *Plant Physiol.* 78: 525-530.
- Weisz, P.R. and T.R. Sinclair. 1987. Regulation of soybean nitrogen fixation in response to rhizosphere oxygen. 1. Role of nodule respiration. *Plant Physiol.* 84: 900-905.
- Weisz, P.R. and T.R. Sinclair. 1988. Soybean nodule gas permeability, nitrogen fixation and diurnal cycles in soil temperature. *Plant Soil* 109: 227-234.
- Williams, L.E. and D.A. Phillips. 1980. Effect of irradiance on development of apparent nitrogen fixation and photosynthesis in soybean. *Plant Physiol.* 66: 968-972.
- Wong, P.P. 1980. Nitrate and carbohydrate effects on nodulation and nitrogen fixation (acetylene reduction) activity of Lentil (*Lens esculenta* Moench). *Plant Physiol.* 66: 78-81.

(1994년 11월 12일 접수)