동일비료 장기연용에 따른 벼 근권 미생물상의 변화

이계숙 · 이재찬 · 강위금[1] · 박창영[1] · 김창진*

한국생명공학연구원, [1]농촌진흥청 작물과학원 영남농업연구소

Fluctuation of Rhizosphere Microflora in Paddy Rice by Long-Term Fertilization

Gye Suk Lee, Jae-Chan Lee, Ui-Gum Kang[1], Chang-Young Park[1] and Chang-Jin Kim*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, 52 Oeundong, Yusong, Daejeon 305-333, Korea
[1]Yeongnam Agricultural Research Institute,NICS, 1085 Neidong, Milyang 627-803, Korea

Received May 25, 2006; Accepted July 13, 2006

This study was carried out to investigate the change of rhizosphere microflora in paddy soils of long-term application of same fertilizer by single cropping. Treatments consisted of no fertilizer, NPK, PK, NK, NP and NPK + compost and the same fertilizer has been applied to the soil of each treatment for thirty five years. Any remarkable difference of the microbial population structure was not detected from the rhizosphere of Hwayeongbyeo and that of Hwasambyeo. However, slight difference of dominant microbial species in the rhizosphere was recognized between different fertilization practice. The bacterial population in the rhizosphere was steadily reduced over time after rice plant setting out, while actinomycetal population was increased over time. The increase of actinomycetal population was the highest in the NPK + compost treatment, suggesting the effect of organic matters in the change of actinomycetal population. As for the aerobic culturable bacterial diversity, *Bacillus megaterium*, *B. mycoides*, *B. licheniformis* and *B. subtilis* were dominants in genus *Bacillus*, and *Streptomyces spororaveus*, *S. canus*, *S. tauricus* and *S. galbus* in genus *Streptomyces* and genus *Micromonospora* was another dominant in actinomycetes.

Key words: Long-term fertilization, Fertilizer, Rhizosphere microflora, Rice plant

서 론

미생물이 지닌 다양한 기능을 활용하여 농업 생산성을 향상시키기 위해서는 토양의 비옥도 관리방법에 따른 작물별 근권 미생물의 군집 생태를 이해하는 것이 매우 중요하다.[1)] 농업 생산성과 관련된 토양비옥도 요인으로는 토양의 물리성,[2)] 토양 화학성,[3)] 미생물 유래의 뿌리 생장조절 물질[5,6)]을 포함한 토양 미생물[4,5)] 등이 알려져 있다. 이 중 작물의 근권에 서식하는 미생물은 뿌리 신장을 조장하고 양분과 수분의 흡수를 촉진하며, 근권 내 유해미생물의 발생을 억제함으로써 작물의 생육을 촉진시킨다.[8)] 또한 근권 미생물은 병해충의 발생을 억제함으로써 뿌리의 활력과 밀접한 관계를 갖고 있으며,[9-11)] 이것은 이들 미생물의 에너지원으로 사용될 수 있는 유기물 함량과도 상관관계가 높은 것으로 알려져 있다.[12)]

따라서, 본 연구는 3요소 비료와 퇴비 등의 동일비료를 35년간 장기 시용해 온 미사질식양계(微砂質植壤系) 평택통 논토양에 화삼벼 및 화영벼를 단작으로 재배하면서, 비료의 시용에 따른 벼 품종간 근권 세균 및 방선균의 밀도 차이와 어떤 종이 우점하는지를 조사함으로서 벼 재배를 위한 기초자료로 이용하고자 수행하였다.

*Corresponding author
Phone: 82-42-860-4332; Fax: 82-42-860-4595
E-mail: changjin@kribb.re.kr

재료 및 방법

시험토양. 시험된 토양은 경남 밀양에 위치한 토양으로, 0~2% 경사를 가진 배수가 약간 불량한 유효토심 100 cm 미만의 보통 논토양이며 미사질식양토(평택통)로서 토양내의 유기물함량, 인산, 양이온치환용량 등의 화학성분은 Table 1과 같다.

벼 재배용 시비. 벼 재배를 위한 시비처리는 무비구, 화학비료 단용구, 화학비료+퇴비구 등 6개의 처리구로 하여 3반복으로 실시하였다. 화학비료는 3요소(질소 + 인산 + 칼리, NPK)를 기본으로 하여 무질소(-N)는 인산 + 칼리(PK), 무인산(-P)은 질소 + 칼리(NK) 무칼리(-K)는 질소 + 인산(NP)을 처리하였다. 무비구에는 퇴비와 화학비료를 전혀 사용하지 않았으며, 시비구에는 화학비료 N, P_2O_5, K_2O_2 및 퇴비(볏짚)를 성분량으로 각

Table 1. Soil chemical properties before experiment

Treatments	pH (1 : 5)	T-N (g/kg)	O. M. (g/kg)	Av.P_2O_5 (mg/kg)	Ex. Cations ($cmol^+$/kg)		Av. SiO_2 (mg/kg)
					K	Ca	
No-fertilizer	5.4	2.31	35.2	23	0.11	4.17	57
PK(-N)	5.7	2.26	31.1	166	0.24	4.54	51
NK(-P)	5.0	2.23	29.3	6	0.14	4.01	50
NP(-K)	5.7	2.44	30.9	140	0.13	4.97	55
NPK	5.6	2.10	30.0	118	0.13	4.62	51
NPK + Compost	5.4	2.80	34.1	200	0.64	6.22	136

각 15, 10, 10 및 1,000 kg/10a 시용하였다. 3요소 중 질소질 비료는 요소로 3회(기비 : 분얼비 : 수비 = 50 : 30 : 20%) 분시하였고, 인산질 비료는 용성인비를 전량 기비로 시용하였으며, 칼리질 비료는 염화칼리를 2회(기비 : 수비 = 70 : 30%) 분시하였고, 퇴비는 전량 기비로 시용하였다. 그 외의 포장관리는 벼 표준재배법에 준하였다.[13] 벼는 2005년 4월 28일 파종하여 6월 2일에 손이앙(주당 3본) 하였고, 재식거리는 30×12 cm로 하여 7개월간 재배하였다.

벼 품종 및 시료채취. 시험에 사용된 벼는 중생종인 화영벼와 중만생이면서 바이오매스가 많은 화삼벼를 사용하였는데, 이들은 대전 이남 평야지 재배에 적합한 것으로 알려져 있다. 토양시료는 시험전과 시험후로 구분하여 5~10 cm 깊이의 표토를 채취하였으며 대조구는 벼를 재배하지 않은 토양이고 무처리구는 최근 2년 동안 아무런 처리가 없었던 토양이다. 미생물 측정을 위해서는 이앙직후의 뿌리 활착기, 출수기, 등숙기, 그리고 벼 수확후에 벼 뿌리 근처 1 cm 이내의 토양을 채취하여 사용하였다.

토양 중 세균 및 방선균 밀도 측정. 토양내 호기성 세균 계수 및 분리를 위해서는 Nutrient agar(NA) 배지를 사용하였고, 곰팡이의 생육을 억제하기 위하여 cycloheximide(50 μg/m*l*)를[14] 첨가하였다. 토양시료 1 g을 생리식염수 9 m*l*에 현탁한 후 다단계 적정희석하여 0.1 m*l*씩을 평판배지에 접종 도말하고 표면의 수분이 완전히 제거된 후 28°C에서 1주간 배양하였다. 방선균 계수 및 분리를 위해서는 Humic acid 1 g, Na_2HPO_4 0.5 g, KCl 1.71 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, $CaCO_3$ 0.02 g, agar 20.0 g, D.W. 1000 m*l*, pH 7.2의 조성인 부식산 한천배지(Humic acid agar)를 사용하였으며 세균과 곰팡이의 생육을 억제하기 위하여 nalidixic acid(20 μg/m*l*)와 cycloheximide(50 μg/m*l*)를 첨가하였다.[15] 토양시료 1 g을 생리식염수 9 m*l*에 현탁한 후 다단계 적정희석하여 시료를 0.1 m*l* 씩 도말한 다음 28°C에서 1주간 배양하면서 평판상에 나타나는 각 콜로니 수를 측정하였다. 각 시료당 세균 및 방선균의 계수는 3개의 평판상에 나타난 콜로니를 각각 계수한 평균값을 생균수(colony forming unit: cfu/g soil)로 산출하였다.

토양 중 우점하는 세균 및 방선균 분석. 각 처리구에 따른 세균 및 방선균의 우점균 분석을 위해서는 평판상에 나타난 모든 배양가능한 세균 및 방선균을 NA배지 및 벤넷배지(Bennett's agar)에 옮겨 각각 순수분리하여 다시 배양한 다음, 콜로니에서 직접 DNA를 추출하여 16S rDNA를 증폭하고 염기서열을 분석 비교하여 속(genus) 수준에서 동정하였다. 벤넷배지의 조성은 D-glucose, 10 g; yeast extract, 2 g; peptone, 2 g; beef extract, 1 g; D.W. 1000 m*l*이며, 16S rDNA는 두 개의 알려진 universal primer를 사용하여 증폭하였다. Forward primer는 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (*E. coli* 16S rRNA positions 8-27), Reverse primer는 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'(E. coli 16S rRNA positions 1509-1492)[16]를 사용하였다. PCR 증폭은 총 반응액 20 μ*l*로 수행하였으며 이 반응액은 각각의 primer 10 pM, dNTP mixture 10 μM, DNA 10 ng, reaction buffer 10 μ*l*와 Tag DNA polymerase 2.5 U이 포함되도록 하였다. PCR을 위한 각 반응의 온도조건은 DNA의 denaturation을 위해 94°C에서 1분, primer의 annealing을 위해 55°C에서 1분, DNA strand의 합성을 위해 72°C에서 1분의 과정을 30회 반복하는 조건을 사용하였으며 증폭된 16S rDNA는 Automated DNA sequencer ABI Prism 3730(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 염기서열을 결정하였다. 결정된 16s rRNA 염기서열의 유사도 분석은 NCBI의 BLAST 검색방법을 사용하였다.

결과 및 고찰

동일 비료의 장기연용에 따른 토양의 이화학적 특성과 수확량과의 관계에 있어서는 본 연구에서 구체적인 성적을 나타내지는 않았지만 박 등[17]의 연구결과와 유사하게 퇴비 및 규산질 비료를 시용함으로서 토양의 화학적 특성이 개선되는 효과를 나타내었고, NPK + 퇴비구 처리구에서 벼 수확량 또한 가장 높게 나타났으며(결과 미제시), 특히 방선균의 경우 NPK + 퇴비구 처리구에서 가장 높은 균 밀도를 나타내었다. 따라서, 벼 근권에 있어서 처리에 따른 미생물 총 균수의 분포 및 우점균은 동일비료의 장기시용에 의한 토양의 이화학적 특성변화와 함께 다르게 나타남을 알 수 있었다.

세균 및 방선균의 밀도변화. 화삼벼와 화영벼의 근권에 분포하는 세균 및 방선균의 밀도를 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 세균은 10^5~10^6 cfu/g, 방선균은 3.8×10^4~2.5×10^5 cfu/g으로서 세균의 밀도가 방선균 밀도보다 3-4배 정도 높았으며, 벼의 생육이 진전됨에 따라 세균에 비해 방선균 밀도는 증가하는 경향을 나타내었다. 벼 품종간에는 큰 차이를 보이지는 않았으나 세균의 밀도는 화영벼가 높았고, 방선균의 밀도는 화삼벼가 상대적으로 높은 경향이었다. 시용된 비료간에는 3요소 처리구가 무비, 무인산, 무칼리 처리구에 비해 높은 균 밀도를 보였다. 이는 비료에 의한 토양의 이화학성 변화에 기인한 것으로 비료의 성분에 따라 분포상의 차이를 나타내며 뿌리와의 직간접적인

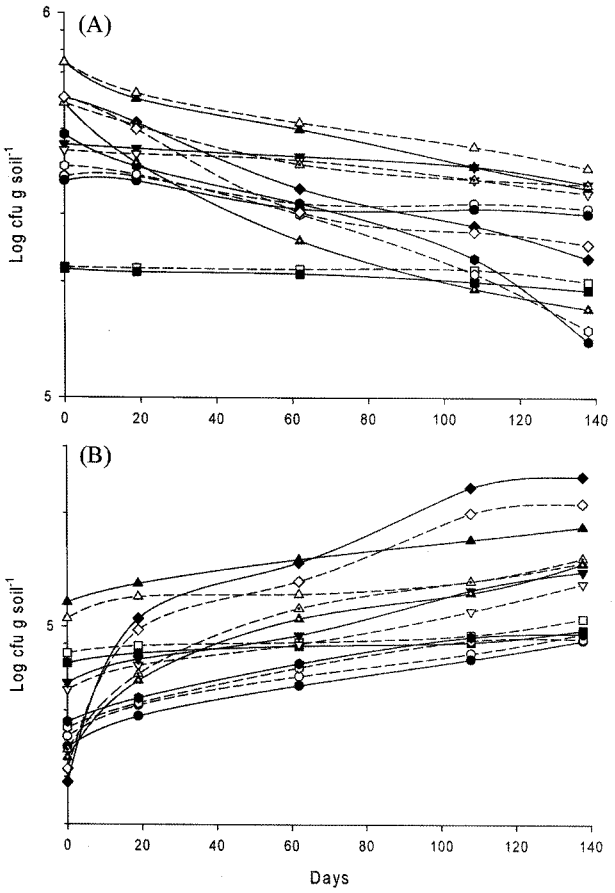

Fig. 1. Changes of the number of bacterial colonies on plates collected from soil samples of rhizosphere treated with different fertilizer [(A) Bacteria (B) Actinobacteria]. Zero day indicates before setting out rice plants and sampling date was June 3rd, August 4th, September 21st and October 21st. ----, Hwayeongbyeo; ——, Hwasambyeo; ○●, Control; □■, No fertilizer; △▲, PK(-N); ⬡⬢, NK(-P); ▽▼, NP(-K); △▲, NPK; ◇◆, NPK + Compost.

상호작용을 통해 벼의 생육에 영향을 주는 것으로 판단된다. 한편, 단백질 함량이 낮고 완전미 비율이 높은 고품질의 쌀생산을 위해서는 질소비료의 감비가 필요한데 무질소(-N) 처리구의 균밀도가 세균과 방선균 모두 높게 나타났다. 특히 근권 미생물의 밀도변화에 영향을 미치는 유기물의 경우, 유기물 중의 탄소 성분이 타급영양 세균의 에너지원으로 작용하는데, 본 연구에서도 시용비료에 따라 균밀도에 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 퇴비를 화학비료와 함께 시용한 3요소 +퇴비 처리구에서의 세균 밀도는 3요소 처리구에서 보다 낮았으나 방선균의 경우는 작물 생육 초기에는 3요소 처리구 보다 낮은 밀도를 보이다가 수확기에는 3요소 처리구보다 높아져 퇴비시용이 방선균의 밀도와 작물 생육에 중요한 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다[18].

근권 내 우점 세균 및 방선균. 화삼벼와 화영벼 근권에서 세균과 방선균의 우점경향은 평판배지상에 나타난 각 균주 콜로니의 16S rDNA의 부분적인 염기서열을 분석하여 판단하였다. 세균의 경우 Table 2에 정리한 바와 같이 *Bacillus*속이 전체적으로 우점하고 있었으며, 품종, 생육시기 및 시용비료에 따라 우점균 속이 조금씩 변하거나 다르게 나타났다. 특히, *Bacillus* 속 중에서는 *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. marisflavi*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. anthracis* 등이 우점하고 있었으며, 그 밖에 *Microbacterium laevaniformans*, *Burkholderia cepacia*, *Phyllobacterium myrsinacearum*, *Kurthia gibsonii*, *Arthrobacter dextranolyticus*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas jandaei*, *Chitinimonas taiwanensis*, *Brevibacillus brevis*, *Caulobacter crescentus*, *Vogesella indigofera* 등 우점종도 발견되었다. 이는 호기성 세균 중 *Bacillus*속 및 *Pseudomonas*속 균주가 유기물 함량이 증가된 토양에서 높은 밀도를 유지한다는 보고와 일치하고 있다[19]. 한편, 이 연구를 수행하는 과정에서 확보된 한 균주가 16S rDNA 분석 등에 의해, 그람음성 세균으로서 *Proteobacteria* β-subclass에 속하는 신속, 신종 균주로 확인되었다(unpublished). 우점 방선균에 있어서는 벼 품종간, 생육시기별 및 시용비료에 따라 큰 영향을 받지 않고 *Streptomyces*속이 우점하는 경향이었고 *Streptomyces*속 중에서는 두 개의 종이 우점하였다. 즉 품종간의 우점종의 차이가 거의 나타나지 않았고, 생육시기에 따라서는 초기에 비교적 다양한 종이 우점 하다가 벼 등숙기와 수확 후 토양에는 몇몇 종이 우점하는 경향으로 바뀌었다. 시용비료에 따라서는 대조구의 경우 이앙직후와 수확 후 토양에서 동일한 종이 우점한 것과 화삼벼의 PK(-N) 처리구에서 비교적 다양한 종이 우점한 것 외에는 별다른 변화가 없었다(결과 미제시). 그러나 방선균의 밀도는 퇴비를 사용함으로써 대조구 토양에 비해 *Streptomyces*속 균주가 크게 증가하였다. *Streptomyces*속 중에서는 *S. spororaveus*, *S. canus*, *S. tauricus*, *S. galbus*, *S. bungoensis*, *S. caviscabies*, *S. olivochromogenes* 등을 중심으로 다양한 우점종을 형성하고 있었으며, 그 밖에 *Micromonospora floridensis* 등이 우점하고 있었다. 우점균의 분포에 있어서 퇴비는 벼의 근권 미생물상에서 발효형 미생물(zymogenous) 군락을 형성시켜 높은 미생물 활동도를 나타내게 하다가 영양분이 고갈되면서 미생물이 급속히 감소 사멸하게 되고 이들에 의해 만들어진 부식질(humus)을 저영양세균(oligotrophic bacteria)이며 토착형 미생물(autochthonous)인 *Arthrobacter* 등이 이용하도록 하여 우위를 차지하게 함으로서 벼의 생육 및 토양의 이화학적 성질에 영향을 주는 것으로 알려져 있다[20].

한편, 본 연구는 배양가능한 호기성 미생물을 대상으로 분석한 것이다. 따라서, 배양이 어려운 난배양성 미생물에 대해서는 분자생물학적인 방법 등을 적용하여 근권미생물의 분포를 연구할 필요가 있으며, 이렇게 함으로써 보다 더 정확한 근권 미생물상과 그 역할을 규명할 수 있을 것이므로 차후 이 부분에 대해서도 보다 면밀하게 검토하고자 한다.

초 록

동일비료를 장기연용한 토양에서 벼를 단작으로 재배하여 비료의 시용에 따른 벼 품종간 근권 세균 및 방선균의 밀도와 우점균을 조사하였다. 비료는 3요소(NPK)를 기본으로 하여 무질소(PK), 무인산(NK) 무칼리(NP) 및 NPK + 퇴비를 처리하였다. 벼의 근권 미생물 밀도는 품종에 따라서는 큰 차이를 보이지

Table 2. Dominant genus of bacteria in paddy-rhizosphere according to the utilization of fertilizer

Treatments		*0 day (6/3)	62 days (8/4)	108 days (9/21)	138 days (10/21)
Control		*Bacillus* *Acidovorax*	*Bacillus*	*Bacillus*	*Bacillus*
Hwasam	No fertilizer	*Bacillus*	*Bacillus* *Phyllobacterium*	*Bacillus* *Paenibacillus*	*Bacillus*
	PK(-N)	*Bacillus* Beta proteobacterium	*Bacillus* *Kurthia*	*Bacillus* *Arthrobacter*	*Bacillus* *Microbacterium*
	NK(-P)	*Bacillus* *Burkholderia*	*Bacillus*	*Bacillus, Rahnella* *Chryseobacterium*	*Bacillus*
	NP(-K)	*Bacillus*	*Bacillus, Aeromonas* *Chryseobacterium*	*Bacillus* *Paenibacillus*	*Bacillus* *Microbacterium*
	NPK	*Bacillus,* *Caulobacter* *Flavobacterium* *Aeromonas*	*Bacillus*	*Bacillus* *Burkholderia*	*Bacillus*
	NPK+Compost	*Bacillus* *Aeromonas*	*Bacillus, Pseudomonas* *Phyllobacterium*	*Bacillus*	*Bacillus*
Hwayeong	No fertilizer	*Bacillus* *Chitinimonas*	*Bacillus* *Phyllobacterium*	*Bacillus* *Arthrobacter*	*Bacillus* *Micrococcineae*
	PK(-N)	*Bacillus* Beta proteobacterium	*Bacillus* *Arthrobacter* *Chryseobacterium*	*Bacillus* *Brevibacillus*	*Bacillus* *Flavibacterium* *Caulobacter*
	NK(-P)	*Bacillus* *Burkholderia*	*Bacillus* *Sphingomonas*	*Bacillus* *Brevibacillus*	*Bacillus*
	NP(-K)	*Bacillus*	*Bacillus* *Pseudomonas*	*Bacillus*	*Bacillus*
	NPK	*Bacillus,* *Caulobacter* *Flavobacterium* *Aeromonas*	*Bacillus* *Areomonas*	*Bacillus* *Aeromonas*	*Bacillus* *Chryseobacterium* *Microbacterium*
	NPK+Compost	*Bacillus* *Aeromonas*	*Bacillus* *Phyllobacterium* *Pandoraea*	*Bacillus*	*Bacillus* *Chryseobacterium*

*Zero day indicates before setting out rice plants

않았고 시용비료에 의해 약간의 차이를 보였는데 세균은 감소하고 방선균은 증가하는 경향을 나타내었다. 근권 미생물의 분포상에는 유기물의 영향이 뚜렷하여 방선균의 경우 NPK+퇴비구 처리구에서 가장 높은 균 밀도를 나타냈다. 배양가능한 호기성 세균에서는 *Bacillus*속의 *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* 등이, 방선균에서는 *Streptomyces*속의 *S. spororaveus*, *S. canus*, *S. tauricus*, *S. galbus* 등과 *Micromonospora*속이 우점하여 분포하였다.

Key words: Long-term fertilization, Fertilizer, Rhizosphere microflora, Rice plant

감사의 글

본 연구는 과학기술부 21세기 미생물프론티어연구개발사업의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Ryu, J. C., Kwon, S. W., Kim, J. S., Suh, J. S., Jung, B. G. and Choi, S. S. (2002) Analysis of microbial community structure in soil and crop root system II. Analysis of soil microbial community structure in different soil environmental conditions by MIDI and DNA analysis. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **35**, 118-126.
2. Hallmark, W. B. and Barrer, S. A. (1981) Root growth and Morphology, Nutrient uptake and nutrient status of soybeans as affected by soil K and bulk density. *Agron. J.* **73**, 779-782.
3. Shoji, S., Saigusa, M. and Takahashi, T. (1980) Plant root growth in the acid andosols from Northern Japan. Soil properties and root growth of Burdock., Barley and Orchard grass. *Soil Sci.* **14**, 53-73.
4. Whang, K. S., Yoo, S. J. and Chang, K. W. (1998) Study on the improvement of soil for high efficient and sustainable agriculture-II Changes of population of soil microorganisms in the fertilized soil with organic materials. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.* **41**, 457-464.
5. Janzen, R. A., Cook, F. D. and McGill, W. B. (1995) Compost extract added to microcosms may stimulate community-level controls on soil microorganisms involved in element cycling. *Soil Biol. Biochem.* **27**, 181-188.
6. Manna, M. C. and Singh, M. V. (2001) Long-term effects of intercropping and bio-litter recycling on soil biological activity and fertility status of sub-tropical soils. *Biores. Technol.* **76**, 143-150.

7. Suh, J. S. and Shin, J. S. (1997) Soil microbial diversity of paddy fields in Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **30**, 200-207.
8. Van Peer, R. and Schippers, B. (1989) Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas* spp. Strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures. *Can. J. Microbiol.* **35**, 456-463.
9. Nitta Tsuneo and Matsuguchi Tatsuhiko (1987) Compost, the effects on root growth by the application of crop residue. *Journal Sci. Soil Manure, Japan* **58**, 653-660.
10. Nitta Tsuneo and Matsuguchi Tatsuhiko (1987) Compost, the effects on root growth and root mycoflora by the application of crop residue. *Journal Sci. Soil Manure, Japan* **58**, 661-670.
11. Nitta Tsuneo and Matsuguchi Tatsuhiko (1988) Organic amendment to upland soil as a conditioner of the rhizosphere ecosystem (Part 4), Relationship between quality of organic materails and the effects on root growth and root mycoflora. *Journal Sci. Soil Manure, Japan* **59**, 12-19.
12. Suh, J. S. and Yeon, B. Y. (1998) Thermophilic *Bacillus* species as a microbial indicator of the history of compost application. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **31**, 285-290.
13. Korea Rural Development Administration (1993) Standard of investigation in farming test research.
14. Dindal, D. L. (1990) Soil sampling and methods of analysis, Soil Biology Guide, Wiley Interscience.
15. Williams, S. T. and Davies, F. L. (1965) Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. *J. Gen. Microbiol.* **38**, 251-261.
16. DeLong, E. F. (1992) Archaea in coastal marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**, 5685-5689.
17. Park, C. Y., Choi, J., Park, K. D., Jeon, W. T., Kwon, H. Y. and Kang, U. G. (2000) Change of physical properties on long-term fertilization of compost and silicate in paddy soils. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **33**, 175-181.
18. Kang, U. G., Park, C. Y., Youn M. T., Choi S. U. and Ha, H. S. (1997) Relatedness of naturalized *Bradyrhizobium japonicum* populations with soil physico-chemical characteristics as affected by paddy-upland rotation. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.* **40**, 438-441.
19. Kwon, J. S., Suh, J. S., Weon, H Y. and Shin, J. S. (1998) Evaluation of soil microflora in salt accumulated soils of plastic film house. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **31**, 204-210.
20. Winogradsky, S. (1925) Etudes sur la microbiologie du sol. I. sur la methode. *Ann. Inst. Pasteur.* **3**, 299-354.