

# 춘계답리작 토양에서 두과의 질소고정과 이의 화분과로의 이동

이 효 원

## Nitrogen Fixation of Legumes and Transfer to Grasses in Spring Paddy Soil

Hyo Won Lee

### ABSTRACT

Manure recycle is an emerging issue in agriculture in Korea these days. Farmers are keeping eye on legume mixture with grasses for nitrogen fixation and transfer to companion crops by legumes. We had a trial to investigate the effect of different legume mixtures on nitrogen fixation and transfer in spring soil. The treatment was arranged in a randomized complete block design with three replications. Three different mixtures were used(rye+hairy vetch, Italian ryegrass+crimson clover, oat+pea) and sowed in pots with paddy soil from western part of Korea(Seo Chon County). Pots with rye+vetch were transplanted from field of RDA(rural development administration) in Suwon on 2 February 2007 and other mixture treatments were sowed on early March with different sowing rate(7:3=Italian:crimson, 6:4=oat:pea).  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  solution at 99.8 atom %  $^{15}\text{N}$  was applied to the each pot at the rate of  $2\text{kg N ha}^{-1}$ . Application was done on 6 April at rye+vetch pots and remainder were applied on April 16. Forage were harvested from each pot at ground level in heading stage and separated into legume and grass. Total N content and  $^{15}\text{N}$  value were determined using a continuous flow stable isotope ratio mass spectrometry. DM yield of rye+vetch, Italian+crimson and oat+pea were 6,607, 3,213 and 4,312 kg/ha, respectively. Proportion of N from fixation was 0.73(rye+vetch), 0.42(Italian+crimson) and 0.93(oat+pea). The percentages of N transfer from legume to grass were from 61 % to 24 % in different method by treatment and -35% to 21 % in isotope dilution method.

(Key words : Legume, N transfer, N-difference method,  $^{15}\text{N}$  dilution method)

### I. 서 론

최근 자원순환형 농업에 대한 관심이 고조됨에 따라 혼파두과작물로 헤어리베치나 클로버의 중요성이 새롭게 부각되고 있다(이, 2007). 정부는 자연순환형 농업을 단순히 가축분뇨의 사용을 장려하고 있으나 자연순환은 단지 가축의 퇴구비 뿐만 아니라 자연에 존재하는 모든 자원의 원활한 순환이라는 측면에서 질소고정 능력이 있는 두과의 적극적인 혼작은 그 의미가 크다고 할 것이다. 순환형 농업이 자연생태계의 영속적인 물질순환기능을 활용하여 작물과 가축이 건강하게 자라게 하는 농업(이, 2007)임을 감안할 때 두과작물에 의한 공중질

소의 고정을 통한 물질순환의 중요성은 아무리 강조해도 지나치지 않다.

양질의 조사료 생산이라는 측면과 토양 비옥도 증진이라는 두 가지 면을 동시에 고려할 수 있는 방법이 화곡류와 두과작물을 혼파하는 것이다. 단파에 비해 혼파는 조단백질 함량이 높은 건물생산이 가능하고(Osman 및 Osman, 1982), 도복을 방지하며 단작에 비해 정착율을 향상시킬 수 있는 이점이 있다(Chapman 및 Carter, 1976). 또한 특성이 다른 두 작물의 근계분포 차이로 인해 토양수분이나 양분을 효율적으로 이용할 수 있다. 두과를 작부체계에 포함시킬 때 병충해를 저감시키고, 토양비옥도를 증진시킬 수 있는 장점이 있으며(Drew 등, 2005)

특히 화분과는 질소를 소비만 하는 반면 두과는 대기 중 질소를 고정하여 토양에 공급하기 때문에 공급과 이용이라는 측면에서 합리적이다(Trenbath, 1974). 조사료의 영양학적 측면에서도 에너지를 공급하는 화분과와 단백질을 공급하는 두과가 혼합되어 균형된 양질의 사료를 가축에게 급여할 수 있다.

질소는 작물생산에 있어 가장 큰 영향을 미치는 양분이며, 요구량 또한 가장 많다. 질소의 공급은 토양 중의 유기물 부식이나 화학비료 그리고 두과작물에 공생하는 근류균에 의한 것으로 분류할 수 있다. 특히 초지에서는 두과를 혼파했을 때 화분과는 두과로부터 질소를 공급받으며 특히 장기간 재배시 그 효과는 크다고 알려졌다(Goodman 및 Collison, 1986). 이러한 두과작물에 의한 질소고정은 토양잔존질소가 적을수록 향상된다(Morris 등, 1986)

두과작물에 의한 질소고정능력과 이동률을 측정하는 방법은 켈달법에 의한 질소의 정량이 주로 사용되었다. 그러나 미생물의 질소고정효소(Nitrogenase)가 아세틸렌( $C_2H_2$ )을 에틸렌( $C_2H_4$ )으로 환원하는 작용을 발표한 이래 환원능력을 측정하는 방법으로 이용되고 있으며, 최근에 들어서는 전자수는 같으나 원자의 화학적 성질의 차이를 이용한 안정성 동위원소를 이용한 방법이 적용되고 있다. 동위원소 희석법은 대기 중 질소가  $^{14}N$ 와  $^{15}N$ 로 이루어져 있고  $^{15}N$  존재비는 전체 중 0.3663%이며  $^{14}N$ 가 나머지 99.6336%로 그 구성비율이 일정하게 유지된다는 원리를 이용한 것이다(Griller, 2001). 근류균을 가지고 있는 식물은 식물체 질소의 30-90%가 질소고정에서 유래한다(米山 등, 2002).

본 연구는 논토양을 사용한 포트실험으로서 혼파조합에 따른 두과의 공중질소이용효율과 고정된 질소의 화분과 사료작물로의 이동을 조사코자 수행되었다.

## II. 재료 및 방법

실험에 사용된 토양은 충남 서천의 논토양으로 그 화학적 조성은 Table 1에서 보는 바와 같다.

토양산도는 6.4, 유기물은 25 g/kg, 유효인산은 417 mg/kg로 보통의 논토양의 특성을 유지한 토양이었다. 2006년 2월 화분에(42×32cm)에 논토양을 채워, 서울 종로구 동숭동 소재 한국방송통신대학교로 이송하였다.

시험구 처리는 두과와 화분과 사료작물 조합으로 3처리(헤어리벳치+호밀, 크림손클로버+이탈리안라이그래스, 사초용완두+연맥)로 난괴법 3반복으로 처리하였다. 질소고정량을 측정하기 위하여 대조구로 화분과인 호밀, 연맥, 이탈리안라이그래스를 단파하여 따로 배치하였다.

호밀과 헤어리벳치는 경기도 수원 소재 농촌진흥청 포장의 것을 이식하였다(헤어리벳치 : 호밀 파종비율 = 58 : 42). 파종량은 이탈리안라이그래스 40 kg/ha, 완두 48 kg/ha, 크림손클로버 12 kg/ha로 완두 96 kg/ha를 2007년 2월 21일 파종하였다. 파종비율은 이탈리안라이그래스:크림손클로버 조합은 7:3 비율, 연맥:사초용완두는 6:4이었고 근류균은 종토접종을 하였다. 관수는 2-3일에 1회씩 실시하여 논토양의 조건과 유사한 수분상태가 되도록 하였다. 그러나 2007년 3월부터 6월초까지는 비교적 강수량이 많아 3월 125 ml, 4월 41.1 ml, 5월 137.6 mm을 보여 작물생육이 잘 되었다.

수확은 화분과의 출수기에 수확하여 호밀, 헤어리벳치는 4월 30일, 크림손클로버+이탈리안라이그래스, 연맥+사초용완두는 5월 22일에 수확하여 70℃에 48시간 건조시켜 건물량을 측정하고, 시료는 분쇄하여 분석하였다.

질소고정량을 측정하기 위하여 99.8원자% ( $^{15}NH_4$ ) $_2$ SO $_4$ 를 ha당 2 kg을 1 l의 물에 희석하여 포트의 지표면에 골고루 투입하였다. 식물

Table 1. Chemical characteristics of soil before experiment

pH (1:5)	OM (g/kg)	Availa.P $_2$ O $_5$ (mg/kg)	Exchangeable (Cmol+/kg)				Nutrients availability (Cmol+/kg)	Degree of base saturatyon (%)	Salinity (mmhos/cm)
			K	Ca	Mg	Na			
6.4	25	417	0.34	6.9	5.6	0.1	15.1	85	0.5

체의 질소고정능력 측정을 위한 동위원소분석은 안정성 동위원소 질량분석기 Isoprime\_EA를 이용하였으며, 두과의 공중질소 이용률은 Peoples 등(1988)이 제안한 방법을 적용하였다. 한편 두과에서 화분과로의 이동율은 차이법과 <sup>15</sup>N회석액법을 이용하여 산출하였으며 공중질소이용률 및 계산에 적용된 약자와 계산법 척 등(Chalk, 1996; Chalk, 1998; 이 등 2002; 2005) 것을 이용하였다.

### III. 결과 및 고찰

Fig. 1과 Fig. 2는 시험기간 동안의 식물체 초장 변화를 조사한 것이다. 호밀과 헤어리벳치는 이식한 것이기 때문에 생장이 순조로워 수확시에 호밀이 80cm, 벳치가 30cm정도의 초장을 나타내었다. 이와 같은 결과는 실제 포장의 초장보다 작은 것으로 생각된다. Fig. 2에서 제시한 것에서는 연맥과 이탈리아라이그래스가

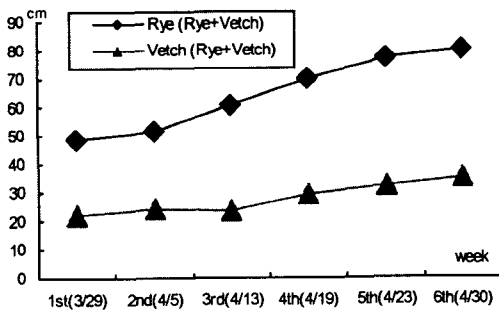


Fig. 1. Changes of plant height of rye and vetch in mixed stand.

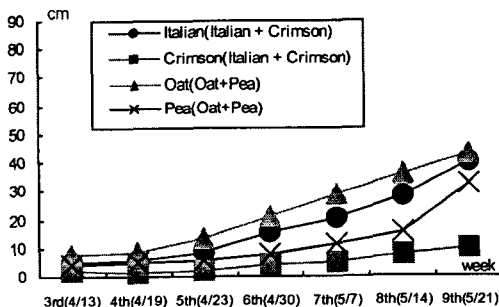


Fig. 2. Changes of plant height of Italian ryegrass, oat, pea and crimson clover.

40cm, 완두가 32cm, 그리고 크림손클로버는 10cm 내외의 초장을 나타냈는데 이는 춘파 및 논토양 때문으로 보여진다.

따라서 봄파종보다는 가을에 파종하는 것이 초장이 더 크고 수량이 더 많을 것으로 생각된다. 즉 밭에 파종하였을 때 초장이 연맥이 70cm 내외 였고 헤어리벳치는 30cm 내외의 초장을 나타내어 헤어리벳치는 초장이 같으나(김 등, 2002) 연맥은 월등히 적다는 것을 알 수 있다. 토양비옥도나 파종시기 그리고 혼파조합에 따라 초장이 달라질 수 있음을 보여주는 것이다.

각 혼파조합처리에 의한 건물 및 질소생산량은 Table 3에서 보는 바와 같다. 특히 헤어리벳치와 호밀 조합에서 그 건물생산량 및 질소생산량이 높다는 것을 알 수 있고 그 다음이 연맥과 완두조합 그리고 이탈리아라이그래스과 크림손 클로버 조합이 가장 낮게 나타났다. 본 실험에서 나타난 헤어리벳치+호밀 조합의 건물생산량은 혼파조합에 따라서 11,000 kg에서 9,418 kg을 나타내었던(김 등, 2002)의 결과보다는 낮았다. 논에서의 수량이고 또 포트에 이식하였을 뿐 아니라 일찍 수확한 때문으로 보인다.

한편 이탈리아 라이그래스의 경우도 밭에서 수량의 30% 수준으로 낮았다. 즉 최 등(2006)은 조숙성 품종을 이용한 실험에서 13,000 kg/ha 내외의 수량을 발표한 바 있다. 그 이유는 논토양이고 냉해에 의한 두과의 고사로 두 번 파종한 것 때문으로 사료된다. 연맥과 완두와의 조합은 4,466 kg/ha의 수량을 나타내었다. 연맥과 완두를 조합한 실험은 없으나 연맥과 헤어리벳치의 실험결과에서는 본 실험과 유사한 4,394 kg의 수량을 나타낸 바 있다(김 등, 2002). 전질소량에 관한 내용은 많지 않고 조단백질량만이 발표되어 전질소량을 표시한 본 시험과 비교할 수는 없었다. Table 3의 p는

$$P=100 \times \left\{ 1 - \frac{(\text{atoms}\%^{15}\text{N excess legume N})}{(\text{atoms}\%^{15}\text{N excess soil delived N})} \right\}$$

에서 산출한 것으로 원자%<sup>15</sup>N초과는 괄호(원자%<sup>15</sup>N시료 - <sup>15</sup>N 공기 N<sub>2</sub>) : (공기 N<sub>2</sub>는 원자

Table 2. Effect of legumes with grasses on DM yield and total N production

Treatment	Grasses			Legume				
	DM Yield (kg/ha)	N (%)	N production (kg/ha)	DM yield (kg/ha)	N (%)	N production (kg/ha)	DM yield (kg/ha)	TN (kg/ha)
Vetch+rye	6,607.1	2.839	186.2	610.1	3.528	21.8	7,217.2	208.0
Ital.+Crimson	3,213.5	1.666	53.1	101.1	1.293	1.2	3,314.4	54.3
Oat+pea	4,321.9	1.123	48.7	144.3	3.510	5.0	4,466.2	53.7

Table 3. Differences in N and its enrichment (<sup>15</sup>N% excess of natural abundance) in legumes and forage grasses in mixed forage crops and the proportion of N derived from fixation

	Mixtures		
	Rye + Hairy vetch	Italian rye grass + Crimson clover	Oat + Pea
<sup>15</sup> N atom% excess N forage grasses	0.2619	0.6035	0.6179
N legume	0.0704	0.3452	0.0398
Proportion of N from N <sub>2</sub> fixation (P)	0.73	0.42	0.93

%<sup>15</sup>N으로서 0.3663이다)의 식으로 계산한 것이다. 토양유래의 원자 %<sup>15</sup>N은 두과와 함께 같은 시기에 자란 비두과 대조식물(화본과)의 원자%<sup>15</sup>N으로부터 산출한 것이다.

Table 3는 헤어리벳치, 크림손클로버, 완두의 공중질소이용비율을 나타낸 것이다. 각 화본과 조합에 따라 달라졌는데, 사료용 완두가 0.93 헤어리벳치가 0.73 그리고 크림손클로버가 가장 낮은 0.42를 나타냈다. 즉 두과목초는 전체 이용 중 이 표에서 제시한 만큼의 질소를 대기 중 질소를 이용하였다는 것을 의미한다.

이와 같은 결과는 m<sup>2</sup>당 0에서 1.5, 3, 4.5 그리고 6.0g의 질소비료를 처리했을 때 공중질소 이용비율은 0.95, 0.91, 0.89, 0.87 그리고 0.83으로 저하하였다고 보고하였는데(Laidlaw 등, 1990) 특히 이탈리아라이그래스+크림손클로버 처리에 낮았고 이는 후술하는 낮은 두과비율에 기인한 것으로 보인다. 한편 또 다른 연구에서 동연구자는 계절에 따라 공중질소이용비율이 다르다는 사실을 보고한 바 있는데, 여름에는 이용질소의 89.5%를 그리고 가을에는 55.9%를 대기 중 질소로 이용하였다고 하였다(Laidlaw 등, 1996). 반면 Chen 등(1998)은 오히려 봄에 공중질소로부터 95~85%정도 이용비율이 높았다고 발표하여 계절과 작물에 따른 질소 이용률에 대한 비교연구가 필요하다는 것을 기존의 연구결과들에서 알 수 있었다. 라이그래스+화

이트 클로버 초지에서 공중질소 이용비율은 2001년에 96%, 2002년에 74% 그리고 2003년에 60%로 해마다 감소하였음을 보고하였고 예취 빈도를 많이 했을 때 그 값은 더 작아졌다(Vinther, 2006)는 보고도 있다.

이 등(2005)은 헤어리벳치+보리 혼파구에서 질소이용수준을 0kg에서 150kg으로 증가시킴에 따라 공중 질소 이용률은 0.95, 0.93, 0.94 그리고 0.84로 저하하여 질소이용수준을 높이면 대기 중 질소고정 이용효율이 떨어진다고 밝힌바 있다.

두과사료 작물에 의해 고정된 질소가 화본과에 이동된 비율과 양에 관한 연구방법은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 즉 첫째는 차이법으로 화본과 단파와 혼파를 비교하여 그 수량에 질소함량을 곱하는 것이다.

차이법과 동위 원소법을 이용한 질소의 화본과로의 이동비율은 혼파초종에 따라서 다양한 결과를 나타내어 베퉀와 호밀구에서 61%(차이법) 및 21%를 나타내었다. 결과적으로 126 kg/ha와 43 kg/ha의 질소가 두과에서 화본과로 이동된 것으로 조사되었다. 그러나 이탈리아라이그래스+크림손클로버구는 차이법에서는 정의(+ )의 이동을 동위원소법에서는 부의(-)의 이동을 나타내었다. 이는 두과의 비율이 상대적으로 적었던 이탈리아라이그래스+크림손클로버와 연맥과 완두구에서 이러한 특성을 보였다. 두

Table 4. Estimate of N transfer from legumes to forage grasses by different and <sup>15</sup>N dilution method

Treatment	Method	Botanical composition (G:L)*	TN**	Transfer rate (%)	Transfer amount (kg/ha)
Rye+Vetch	Difference	92:8	208.0	61	126.9
	<sup>15</sup> N dilution			21	43.7
Itali.+Crimson	Difference	97:3	54.3	24	13.0
	<sup>15</sup> N dilution			- 32	- 17.4
Oat+pea	Difference	97:3	53.7	36	19.3
	<sup>15</sup> N dilution			- 35	- 18.8

\*G : Grass, L : Legume, \*\*TN : Total Nitrogen.  
 The N-difference method.  
 $N_{leg(=>non-leg)} = N_{non-leg(m)} - N_{non-leg(p)} \cdot R(1)$   
 $P_{non-leg(<=leg)} = N_{leg(=>non-leg)} / N_{non-leg(m)}$   
 $= 1 - (N_{non-leg(p)} \cdot R / N_{non-leg(m)})$

<sup>15</sup>N-dilution method.  
 $P_{non-leg(<=atm)} = 1 - (E_{non-leg(m)} / E_{non-leg(p)})$   
 $P_{leg(<=atm)} = 1 - (E_{leg(m)} / E_{non-leg(p)})$

과의 질소고정 특성을 이용코자 한다면 혼파구에서 두과의 식생비율을 높여야함을 보여주는 결과다. 또 두 조사법간의 차이는 앞으로 많은 연구가 필요하다는 것을 시사한다.

한편 같은 방법으로 보리와 헤어리벳치 시험의 결과에 의하면 이동률은 58%에서 39.7%사이였고 대체로 질소소비량이 증가할수록 감소하였으나 150kg 질소처리구에서는 113kg처리구보다 높은 총질소의 49.3% 보리로 이동된 것으로 보고하고 있다(이 등, 2005). 한편 Papastylianou (1988)는 실험결과에 상당한 변이가 있음을 지적한 바 있으며 90kgN/ha는 벼치 - 연맥 또는 완두 - 연맥 그리고 두과 단파구에서 공히 질소고정을 억압한다고 보고 하였다. Chalk(1996)는 여러 학자들의 논문을 비교검토하면서 총질소의 46%에서 13%가 인접한 화본과로 이동되었다고 보고한 바 있다. 한편 Fujita 등(1990)은 본 연구결과와 유사한 질소고정이동률을 발표하면서 차이법에 의한 질소이동추정은 이동량의 과대평가될 가능성이 있다고 보고한 바 있어 분석방법에 따라 질소이동의 추정량에 대한 보정이 이루어져야 함을 지적한 바 있다.

#### IV. 요약

분뇨이용에 대한 관심이 높아지면서 질소고정을 통해 동반하는 작물에 질소를 고정하고 이동하는 두과와 화본과의 혼파가 주목을 받고

있다. 본 연구는 각기 다른 혼파조합이 춘계논 토양에서 두과작물의 질소고정과 이의 이동을 규명하고자 실시하였다. 시험처리는 난괴법 3처리, 3반복이었으면 세 개의 다른 혼파처리는 호밀+벳치, 이탈리아라이그래스+크림손클로버 그리고 연맥+완두였다. 충남 서천의 논토양을 포트에 채워 시험을 하였다. 호밀과 헤어리벳치구는 수원의 진흥청 포장에서 이식하였고 나머지 두 처리는 3월 초에 각기 다른 화본과 두과의 비율로(이탈리아라이그래스:크림손클로버=7:3, 연맥:완두=6:4)포트에 파종하였다. 99.8%의 질소동위원소(<sup>15</sup>NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution at. 99.8 atom%<sup>15</sup>N)는 ha당 2kg의 수준으로 각 포트에 사용하였는데 호밀과 벳치는 4월 6일 그리고 나머지 두 처리는 4월 16일에 처리하였다. 각 포트에서 출수기에 수확하여 화본과와 두과로 분리한 다음 총질소와 <sup>15</sup>N값은 서울대학교부설 나이샘(NICEM)의 매스 스펙트로메트리로 분석하였다. 호밀+헤어리벳치, 이탈리아라이그래스+크림손클로버 그리고 연맥+완두 처리의 건물함량은 각각 6,607kg, 3,212kg 그리고 4,312kg였다. 공중질소에서 기인한 질소의 비는 0.73(호밀+벳치), 0.42(이탈리아라이그래스+크림손클로버) 그리고 0.93(연맥+완두)였다. 두과에서 화본과로의 질소이동비율은 차이법에서 61%에서 4% 사이였고, 동위원소법에서는 12%에서 -32% 범위였다.

## V. 사 사

본 연구는 한국방송통신대학교 2006년도 학술연구비의 지원을 받아 수행된 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

## VI. 인용 문헌

- 김종근, 윤세형, 정의수, 임영철, 서 성, 서중호, 김시주. 2002. 파종방법 및 혼파비율이 호밀-헤어벤티 혼파시 사료가치 및 생산성에 미치는 영향. *한초지* 22(4):233-240.
- 김종근, 정의수, 윤세형, 서 성, 서중호, 박근제, 김충국. 2002. 연백-헤어리벤티 혼파에 의한 사료가치 및 생산성 향상연구. *한초지* 22(1):31-36.
- 이상철. 2007. 자연순환농업의 정책방향. 농림부.
- 이효원. 2007. 자연순환농업 관점에서의 총체보리 재배현실과 대안. 개방화시대 명품한우의 지속성을 위한 차별화 전략과 총체보리이용방안. 농진청 축산과학원.
- 이효원, 김원호, 박형수, 고한중, 김수곤. 2005. 질소이용수준이 베티-보리 혼파 사초의 질소고정 및 베티에서 보리로 질소이동에 미치는 영향. *한초지* 25(1):1-6.
- 이효원, 박형수. 2002. 두과작물의 질소고정과 유기조사로 생산을 위한 작부체계. *한국유기농학회* 제10권 pp. 51-63.
- 최기준, 임영철, 임용우, 성병렬, 김맹중, 김기용, 서 성. 2006. 대한 조축성 이탈리아인 라이그래스 신품종 코그린. *韓草誌* 26(1):9-14.
- Chalk, P.M. 1996. Nitrogen transfer from legumes to cereals in intercropping. *Proceedings of international workshop. JIRCAS.*
- Chalk, P.M. 1998. Dynamic of biologically fixed N in legume-cereals rotation. *Aus. J. Agric. Rec.* 49:303-16.
- Chalk, P.M. 1996. Nitrogen transfer from legumes to cereals in intercropping. *Dynamics of roots and nitrogen in cropping systems of the semi-arid tropics. Japan International Research Center for Agricultural Science.* pp. 45-60.
- Chapman, S.R. and L.P. Carter. 1976. *Crop production principles and practice.* W.H. Ferznan and Co. Francisco. pp. 80-90.
- Chen, D., J. Evans, P.M. Chalk and R.E. White. 1998. Nitrogen fixation and N balance in subterranean clover pasture associated with annual and perennial grasses. *Biological Nitrogen Fixation for 21st century.* pp. 599-604.
- Drew, Elizabeth A., Vadakattu VSR. Gupta and David K. Roget. 2005. Are legumes doing their job? The effect of herbicides on N<sub>2</sub> fixation in Southern Australian agricultural system. *Biological nitrogen fixation, sustainable agriculture and environment. Proceedings of the 14th international nitrogen fixation congress.* pp. 162-164.
- Fujita, I., S. Ogata, T. Matsumoto, G.K. Ofosu-Budu and K. Kuwata. 1990. Nitrogen transfer and dry matter production in soybean and sorghum mixed cropping system at different population densities. *Soil Science and Plant Nitrogen Nutrition.* 36:233-241.
- Goodman, P.J. and M. Collison. 1986. Effect of three clover varieties on growth <sup>15</sup>N uptake and fixation by ryegrass/white clover mixtures at three site in wale. *Grass Forage Sci.* 41:191-198.
- Griller, K.E. 2001. *Nitrogen fixation in tropical cropping systems.* CABI Publishing.
- Laidlaw, A.S., P. Christie and H.W. Lee. 1996. Effect of nitrogen from clover to grass and estimation of relative turnover rates of nitrogen in roots. *Plant and Soil.* 179:234-255.
- Laidlaw, A.S., P. Christie and J.A. Withers. 1990. Comparison between isotope dilution and acetylene reduction method to estimate N<sub>2</sub> fixation rate of white clover in grass/clover swards. *Grass and Forage Science.* 45:295-301.
- Morris, D.R., R.W. Weaver, G.R. Weaver and F.M. Rouquette. 1986. Competition for nitrogen 15 depleted ammonium nitrate between arrowleaf clover and annual ryegrass sown into bermuda-grass sod. *Agron. J.* 78:1023-1030.
- Osman, A.E. and A.M. Osman. 1982. Performance of mixture of cereal and legume forage under irrigation in the Sudan. *T. Agric. Sci. Camb.* 98: 72-71.
- Peoples, M.B., A.W. Faizah, B. Rerkasem and D.F. Herridge. 1988. *Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field(Eds.). ACIAR. Cannberra. Australia.*
- Papastylianou, I. 1988. The <sup>15</sup>N methodology in estimating N<sub>2</sub> fixation by vetch and pea grown in pure stand or in mixtures with oat. *Plant and Soil.* 107:183-198.
- Trenbarth, B.R. 1974. Biomass production of mixtured. *Adv. Agron.* 26:177-210.
- Vinther, F.P. 2006. Effects of cutting frequency on plant production, N-uptake and N<sub>2</sub> fixation in above and below-ground plant biomass of perennial ryegrass-white clover swards. *Grass and Forage Science,* 61:154-163.
- 米山忠克, 林田明雄, 山田 裕. 2002. 土壤-植物系における炭素, 窒素, 酸素, イオウ移動解析のための安定同位體存在比の利用:1994年以後の研究の展開. *日本土壤肥料學雜誌* 第73卷 第3号 pp. 331-342.