

## 國內 草地土壤에 分布한 *Rhizobium meliloti*의 窒素固定力과 抗菌劑反應 特性

姜渭金 · 河浩成\* · 鄭鍊泰

農村振興廳 嶺南作物試驗場, \*慶尙大學校 農科大學 農化學科

**抄錄：**우리나라 南部地方의 5個 山地 牧草地에 분포한 알팔파根瘤菌 *R. meliloti*의 密度와 窒素固定力, 그리고 抗生劑 反應 特性을 조사하였다. 그 結果, 草地土壤에 분포한 *R. meliloti* 密度는  $1.7 \times 10^2$  cells/g.土壤(慶州市 忠孝洞) 내지  $1.0 \times 10^5$  cells/g.土壤(慶州郡 甘浦面) 水準이었으며, 토양 pH와는 正의 相關을 보였다. 그리고, 草地土壤의 알팔파 接種效果로 본 土着 *R. meliloti*의 窒素固定力은 전반적으로 標準菌株인 TAL 接種劑 보다 低調하였으나, 達城郡 玉浦面 草地에서 分離된 YCKa 539, YCKa 542 2菌株는 비슷하거나 優秀한 窒素固定力を 보였다. 초지토양별로 보면 慶州郡 見谷面의 것이 가장 높았고, 다음으로 達城郡 玉浦 > 慶州市 忠孝 > 達城郡 花園 > 慶州郡 甘浦 菌株 順이었다. 分離菌株들은 抗生劑 Ery(100 µg/ml), Nal(160 µg/ml), Str(10 µg/ml)에 대해 각각 67%, 77%, 80% 정도의 耐性傾向을 보이면서 전체적으로는 14個의 抗生劑 耐性類型으로 分類되었는데, 이들 類型과 菌株의 窒素固定力間에는 뚜렷한 關係傾向을 보이지 않았다. 그리고, 分離菌株 中에서 窒素固定力이 가장 優秀하였던 YCKa 542菌株는 Ery, Nal, Neo, Str 내성인 X番型에 속하였다(1992년 4월 14일 접수, 1992년 5월 15일 수리).

一般的으로 豆科作物 栽培地 토양에는 非栽培地 토양 보다 많은 根瘤菌이 潛息하는 것으로 報告된다.<sup>1,2)</sup> 그러나, 既耕地라 할지라도 토양의 酸度를 비롯한 理化學性이 불량한 지역에서는 根瘤菌의 潛息密度가 낮은 것이 일반적인 경향이다.<sup>3,4)</sup> 國內 土着根瘤菌 중에서는 특히, 알팔파 共生根瘤菌 *Rhizobium meliloti*의 경우 宿主植物이 비교적 肥沃한 山間地에서 局地的으로 栽培된<sup>5)</sup> 탓에, 既耕地에서 주로 재배되는 大豆<sup>1)</sup>나 땅콩 根瘤菌<sup>6)</sup>에 비해 潛息density가 낮을 뿐만 아니라, 窒素固定力 또한 不良<sup>7)</sup>할 것으로 생각된다. 그러나, 特定土壤內에서도 窒素固定力이 優秀한 菌株를 選拔, 利用하면 根瘤菌의 알팔파 共生效料를 크게 期待할 수 있을 것이다.<sup>8,9)</sup> 根瘤菌의 生理에 있어서 抗生劑 反應特性은 窒素固定力이 多樣한 土着根瘤菌의 分類同定에 많이 利用된다.<sup>10~12)</sup> 또한, 根瘤菌의 特定抗生劑 耐性 傾向은 空中窒素固定力과 관계되며,<sup>13~15)</sup> 그 關聯性 程度는 菌株의 種에 따라서 相異한 편이다.<sup>13)</sup> 이러한 觀點에서, 本 研究는 國내 草地土壤에 分포한 알팔파 根瘤菌 *R. meliloti*의 窒素固定力과 抗生劑 反應 特性을 檢討코자 遂行하였다.

### 材料 및 方法

#### 供試 土壤

供試土壤은 Table 1과 같이 慶尙北道 達城郡(玉浦, 1番土壤; 花園, 2番土壤)과 慶州郡(見谷, 3番土壤; 甘浦, 5番土壤) 및 慶州市(忠孝, 4番土壤)에 分포된 5個 山地草地로서 豆科와 禾本科 牧草를 10年 以上 混播栽培한 토양들이었다. 土壤試料는 알팔파 開花期에 알콜로 表面消毒한 鐵製 爪를 이용하여 각 草地當 15 cm 깊이의 表土를 3 M 間隔으로 10個所에서 채취한 후, 비닐봉지에 담아 혼합하여 4 °C 冷藏保管하면서 시험에 사용하였다. 그리고, 供試土壤은 바위(達城郡 2個 草地)나 자갈(慶州市 및 慶州郡 草地)이 있는 土壤로서 15~30%의 傾斜地에 위치하였는데, 土壤 pH는 慶州郡 甘浦草地를 除外한 나머지 草地土壤에서 6.0 以下의 酸性을 나타내었다.

#### 土着根瘤菌 密度 및 窒素固定力 檢定

供試品種으로 알팔파 *Vernal*[*Medicago sativa* (L.)]의 種子를 5% 過酸化 水素水로서 3分間 減菌하여 2% 寒

天培地 위에서 無菌의으로 10 mm 가량 발아시킨 후 본 시험에 사용하였다. 根瘤菌 密度調査는 發芽시킨 알팔파 幼苗 1本를 스폰지로 마개한 試驗管( $\phi 2.4 \times L 19.5$  cm)의 無窒素 Jensen 培地<sup>16)</sup>에 利植하고, 이어서 供試土壤 10 g을 減菌水에 10倍씩 10<sup>7</sup>倍까지 희석시켜 이들의 稀釋倍率別懸濁液 1ml/本을 4反復으로 接種하였다. 이로부터 3週後, 알팔파 뿌리에 根瘤着生與否를 確認하여 Vincent<sup>17)</sup>의 最適確數法(MPN法)으로서 *R. meliloti*의 密度를 調查하였다.

그리고, 土着根瘤菌 接種劑로서 토양의 空中窒素固定力 檢定은 試驗管( $\phi 3.2 \times L 19.3$  cm)에 Vermiculite와 無窒素養液<sup>18)</sup>을 넣고 保溫한 후 알팔파 幼苗 4本를 移植하고(1週後 2本 除去), 供試土壤과 標準接種劑인 Hawaii Niftal Project의 Peat 根瘤菌劑( $1.8 \times 10^9$  cells/g, peat, TAL 380+TAL 1372+TAL 1373)을 蒸溜水에 10倍 稀釋하여 현탁액 1 ml/本을 亂塊法 3反復으로 接種處理하였으며, 시험관의 윗면은 汚染防止를 위해서 바다자갈로 被覆하였다. 이렇게 처리된 알팔파는 溫室條件에서 5週間 栽培後 窒素固定力(Hardy 法<sup>19)</sup>의 아세틸렌還元力, 植物體 乾物重, 窒素含量(Indophenol-Blue法<sup>20)</sup>으로 測定) 分析에 利用되었다.

#### 土着根瘤菌의 알팔파 接種效果

供試土壤의 *R. meliloti* 密度 調査後 알팔파 뿌리根瘤로부터 Vincent法으로 各 土壤當 6菌株씩 分離하여前述한 標準接種劑 菌株 中 窒素固定力이 가장 높은 TAL 1372와 함께 YMB 培地에서  $10^8$  cells/ml 水準으로 培養한 다음, 培養液을 宿主에 5反復 接種하고 5週後 植物體 乾物重과 窒素含量을 調査하였다.

#### 抗生素反應 特性

抗生素 培地는 YEM 培地<sup>17)</sup>를 減菌하여 恒温水槽에서 48 °C로 冷却시킨 다음 Millipore filter(0.45 μm)를 이용하여 培地內 抗生素(Sigma 製品) 濃度가 chloramphenicol(Chl) 60, erythromycin(Ery) 100, kanamycin sulfate

(Kan) 40, nalidixic acid(Nal) 160, neomycin sulfate(Neo) 20, polymyxin B sulfate(Pol) 4, rifampicin(Rif) 5, spectinomycin(Spe) 50, streptomycin sulfate(Str) 10, tetracycline(Tet) 2, Vancomycin(Van) 20 μg/ml로 되게 稀釋하여 1回用 petri dish에 각 抗生素別로 4反復 쪼개 分注하였다. 抗生素別 溶媒는 rifampicin, 麥坦을; chloramphenicol과 erythromycin, 95% 에탄올; nalidixic acid, N-NaOH; 나머지는 減菌水로 하였다. 菌株接種은 YMB 培地에서  $10^8$  cells/ml 水準으로 培養된 培養液 20 μl를 Microplate에 무균적으로 옮긴 후, Josey 等<sup>10)</sup>의 方法에 準하여 48菌株를 同時に 接種할 수 있는 多量接種機(West Coast Scientific, Emeryville, Calif.)로 接種하였다. 그리고, 菌株의 生育反應은 接種한 날로부터 25 °C에서 6日間 培養後 觀察하였다.

## 結果 및 考察

#### 草地土壤의 根瘤菌 密度와 窒素固定力

土壤內 알팔파 根瘤菌 密度는 Table 2와 같이 多樣하였는데, 各 土壤別로 보면 5番土壤이 가장 높은  $1.0 \times 10^5$  cells/g, 토양이었고 다음으로 3番( $1.0 \times 10^4$  cells/g, 토양) > 1番( $1.7 \times 10^3$  cells/g, 토양) > 2番( $3.1 \times 10^2$  cells/g, 토양) > 4番土壤( $1.7 \times 10^2$  cells/g, 토양) 順이었다. 이러한 傾向은 Table 1의 토양 pH 傾向과 類似한 것으로 姜 等,<sup>18)</sup> Damirrgi 等<sup>4)</sup>의 報告와 비슷하였다.

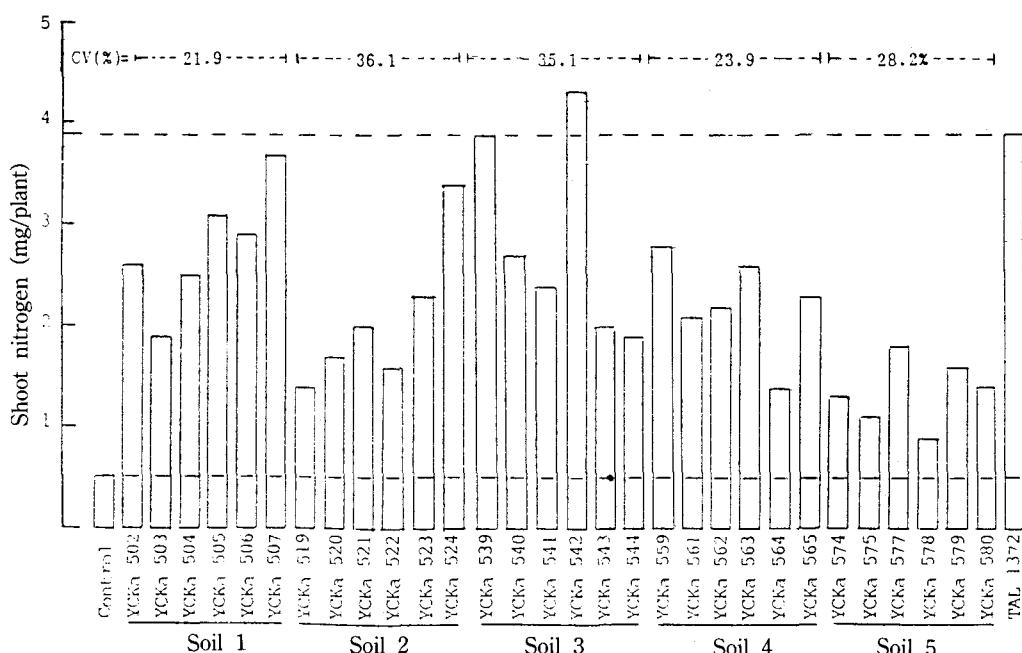
土壤의 窒素固定力은 5個 草地土壤 모두가 標準菌株인 TAL 混合接種劑보다 低調하였다. 土壤試料 中에서는 Total Nitrogenase Activity(T-NA) 즉, 알팔파 뿌리根瘤全體 窒素固定力의 境遇, 根瘤菌 密度가 높았던 5番土壤이 가장 優秀하였고 다음으로 1番 > 3番 > 2番 > 4番土壤 順으로써 根瘤菌 密度에 있어서의 傾向과 비슷한 樣相이었다. 그러나, T-NA를 根瘤무게로 나눈 Specific Nitrogenase Activity(S-NA)는 3番土壤이 우수하였고 반면, 5番土壤은 低調한 値을 나타내었다. 따라서, 이같은 S-NA 傾向을 根瘤菌 하나하나의 窒素固定力과 連繫시켜 볼 때,

Table 1. Characteristics of sampled pasture soils

Soil sample No.	pH (1 : 5)	Soil series	<i>R. meliloti</i> (cells/g·soil)	Location
Soil 1	5.9	Mudeung	$1.7 \times 10^3$	Ogpo-myeon, Dalseong-gun
Soil 2	5.6	Daegu	$3.1 \times 10^2$	Hwaweon-myeon, Dalseong-gun
Soil 3	5.8	Guisan	$1.0 \times 10^4$	Hyeongog-myeon, Kyeongju-gun
Soil 4	5.5	Guisan	$1.7 \times 10^2$	Chunghyo-dong, Kyeongju-si
Soil 5	6.3	Sinjeong	$1.0 \times 10^5$	Gampo-myeon, Kyeongju-gun

Table 2. Symbiotic potentials of *R. meliloti* populations in a 10-fold-diluted ( $10^{-1}$ ) whole-soil inoculum on *M. sativa* cv. Vernal

Soil sample	No. of rhizobia (cells/ml of inoculum)	N <sub>2</sub> ase Act.		Shoot dry wt mg/plant	Shoot N
		T-NA <sup>a)</sup>	S-NA <sup>b)</sup>		
Soil 1	$1.7 \times 10^2$	40.0	2,227	18	3.7
Soil 2	$3.0 \times 10^1$	35.6	1,959	15	3.4
Soil 3	$1.0 \times 10^3$	39.3	2,518	16	3.6
Soil 4	$1.7 \times 10^1$	33.8	2,118	15	5.5
Soil 5	$1.0 \times 10^4$	44.5	2,056	21	3.7
TAL mix <sup>c)</sup>	$1.8 \times 10^8$	50.1	3,923	22	3.7
Control	-	-	-	2	tr

<sup>a)</sup>Total nitrogenase activity, nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/plant/hr<sup>b)</sup>Specific nitrogenase activity, nmol C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/g F.W.nod/hr<sup>c)</sup>Peat inoculum contained equal numbers of strains TAL 380, 1372, 1373.Fig. 1. Effect of *R. meliloti* isolates on shoot nitrogen of *M. sativa* cv. Vernal.

3番土壤에 分布한 根瘤菌이 가장 優秀하였음을 알 수 있었다. 그리고, 植物體 乾物重과 窒素含量으로 본 空中窒素 固定效果는 2番과 4番土壤처럼 稀釋接種劑 中의根瘤菌밀도가 10 cells/ml 水準일 경우 대체로 S-NA의影響을 받는 傾向이나, 3番 및 5番土壤과 같이 生菌數가  $10^3$  cells/ml 以上일 때는 全 根瘤數 혹은 根瘤무게 單位概念을 지닌 T-NA의 影響을 많이 받은 것으로 보였다. 한편, 시험된 5個 草地土壤의 窒素固定力은 모두가 標準菌株로 사용된 TAL 接種劑 보다 低調한 傾向이었으며,

이는 알팔파 草地造成을 위한 根瘤菌 接種劑로서 供試土壤과 같은 草地土壤의 이용이 바람직스럽지 못함을意味하는 것으로 思料되었다.<sup>6,8,9,21)</sup>

#### 土着根瘤菌의 알팔파 接種效果

供試土壤에서 분리한 根瘤菌의 알팔파 接種效果는 Fig. 1 및 Table 3과 같았다. 먼저, 植物體 中의 窒素含量으로 分離菌株들의 窒素固定量을 살펴보면, Fig. 1과 같이標準菌株 TAL 1372보다 優秀하거나(YCKa 542) 비슷한

(YCKa 539) 菌株는 3番土壤에 부분적으로 分布하였고, 나머지 土壤菌株들은 모두가 標準菌株보다 低調한 경향이었다. 특히, 土壤接種效果 成績(Table 2 參照)에서 높은 T-NA 및 植物體 乾物重을 보였던 5番土壤의 分離菌株들은 모두가 低調한 窒素固定力을 지닌 것이 특징이었다. 그리고, 植物體 窒素含量 變異係數로 본 土壤別 分離菌株들의 窒素固定力 差異는 2番土壤에 분포한 菌株(36.1%)에서 가장 큰 편이었으며, 다음으로는 3番(35.1%)>5番(28.2%)>4番(23.9%)>1番土壤菌株(21.9%) 순이었다. 그러나, 各 土壤別 植物體 個體當 窒素含量 平均值는 Table 3에서 나타난 바와 같이, 3番土壤에서 가장 높은 值(2.9

Table 3. Effectiveness of *R. meliloti* isolates on *M. sativa* cv. Vernal

Isolates <sup>a)</sup> from	Shoot length (cm/plant)	Shoot dry wt mg/plant	Shoot N
Soil 1	13.5	66.2	2.8
Soil 2	12.1	58.3	2.1
Soil 3	12.8	74.0	2.9
Soil 4	11.1	62.2	2.2
Soil 5	8.5	38.3	1.4
TAL 1372	16.0	96.4	4.3
Control	2.6	1.6	0.06
LSD(5%) <sup>b)</sup>	—	19.4	0.74

<sup>a)</sup> 6 isolates were tested from each soil.

<sup>b)</sup> Least significant difference among 5 soils.

mg)을 보였고 다음으로 1番(2.8 mg)>4番(2.2 mg)>2番(2.1 mg/株)>5番土壤(1.4 mg) 순이었다. 이같은 傾向은 植物體 乾物重에 있어서도 마찬가지였는데, 전체적으로 보아서 接種效果 傾向은 토양을 根瘤菌 接種別로 사용한 Table 2에서의 S-NA와 매우 유사하였다.

以上의 결과로 볼 때, 1番土壤에서는 窒素固定力이 비교적 높은 菌株들로 優占되었으리라<sup>22)</sup> 짐작되며, 3番土壤에는 YCKa 539, YCKa 542 等과 같이 窒素固定力이 월등히 높은 優秀菌株와 少 低質의 菌株들이 混在해 있는 것으로 判斷되었다.

#### 抗生素 反應 特性

供試 草地土壤에서 분리된 알팔파 根瘤菌의 抗生劑反應은 Table 4와 같았다. 대체로 分離菌株들은 抗生劑 Ery, Nal, Str에 대해 각각 67%, 77%, 80% 정도의 耐性을 보였으나 Pol, Rif에 대해서는 敏感한 편이었다. 各 土壤別 分離菌株가 비교적 耐性傾向을 보인 抗生劑는 1番土壤의 境遇 Ery, Nal, Spe, Van이었고, 2番土壤 菌株에서는 Nal, Van, 3番土壤에서는 Nal, Str, 4番土壤에서는 Ery, Nal, Str, 그리고 5番土壤에서는 Nal, Str이었다. 반면에 敏感한 生育反應을 보인 抗生劑는 1番土壤의 境遇 Kan이었고, 3番土壤은 Pol, Rif, Tet, 4番土壤은 Chl, Pol, Rif, 그리고 5番土壤에서는 Pol이었으며, 2番土壤菌株들은 處理된 抗生劑에 대해 뚜렷이 敏感한 生育反應을 보이지 않았다. 이런 가운데서도 특히, 3番, 4番, 5番土壤의 菌株들은 2 µg/ml의 Pol과 10 µg/ml의 Str에

Table 4. Response of *R. meliloti* isolates from sampled soils to selected antibiotics<sup>a)</sup>

Antibiotics (concentration, µg/l)	Soil 1		Soil 2		Soil 3		Soil 4		Soil 5		Total	
	R <sup>b)</sup>	S <sup>c)</sup>	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
No. of isolates												- % -
Chloramphenicol (60)	2	4	3	0 <sup>d)</sup>	2	1	0	4	0	3	23	40
Erythromycin (100)	4	0	3	0	3	0	5	0	5	0	67	0
Kanamycin sulfate (40)	0	4	3	0	0	0	0	1	1	0	3	17
Nalidixic acid (160)	4	0	4	0	6	0	4	0	5	0	77	0
Neomycin sulfate (20)	2	4	1	0	1	0	0	0	0	0	13	13
Polymyxin B sulfate (2)	2	4	2	3	0	6	0	6	0	6	13	83
Rifampicin (5)	0	3	0	3	0	5	0	4	0	1	0	53
Spectinomycin (50)	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	17	3
Streptomycin sulfate (10)	3	0	3	2	6	0	6	0	6	0	80	7
Tetracycline (0.5)	2	1	2	0	1	5	0	1	0	0	17	23
Vancomycin (20)	6	0	4	0	0	0	0	0	0	0	33	0

<sup>a)</sup> 6 isolates were tested from each soil.

<sup>b)</sup> Resistant reaction, <sup>c)</sup> Sensitive reaction, <sup>d)</sup> Ambiguous reaction.

대해 각각 100%의 敏感性과 耐性을 보이기도 하였다. 國內 알팔과 根瘤菌의 이같은 生育耐性 傾向은 Hagedorn<sup>23)</sup>가 報告한 *R. trifolii*의 平均的인 最低 生育沮止濃度(Average minimum inhibitory concentration, MIC) 인 抗生劑 Kan 42 µg/ml, Neo 66 µg/ml, Spe 63 µg/ml, Tet 8 µg/ml에서 보다 낮은 편이었으나, Ery 53 µg/ml, Nal 42 µg/ml에서는 오히려 높았다. 그리고, Sinclair 等<sup>24)</sup>이 報告한 Cowpea 根瘤菌에 비해서는 Kan 耐性이 강한 편이었고, Josey 等<sup>10)</sup>이 報告한 *R. leguminosarum* 成績에 비해서는 Str에의 耐性이 강한 반면 Ery, Pol에의 耐性은 약한 편이었다.

그리고, 各 抗生劑에 대하여 耐性反應을 보인 供試菌株들은 Table 5와 같이 14個 類型으로 分類되었다. 類型別로 보면, 處理된 11種의 藥劑 중 Nal, Van 等 5種에 대해서만 耐性을 보인 것은 I, V番의 2集團이었고 Chl, Spe, Str 等 4種에 대해서만 耐性을 보인 것은 II, III, IV, VI, VII, IX, X番의 7集團, Ery, Nal 等 3種에 대해서만 耐性菌株는 VIII, XI番의 2集團이었으며, Nal, Str 2種에 대해서만 耐性菌株는 XII番 集團, Nal과 Str 各各에 대해서만 耐性을 보인菌株로 이루어진 XIII番 및 XIV番 集團이었다. 이들 抗生劑 反應類型들은 대부분이 1 내지 2菌株를 포함하고 있었으나, Ery, Nal, Str에 대해서만 耐性을 갖는 XI番 類型에는 3番土壤 1菌株와 4

番土壤 5菌株, 5番土壤 4菌株를 합하여 總 10菌株가 속해 있었다. 分離菌株들의 分布를 보면, 1番土壤의 6菌株는 I(2), V(1), VI(1), VII(1), VIII番(1)의 5個 類型에 散在하였고, 2番土壤 菌株들은 II(1), IV(2), VI(1), XIII番(2)의 4個 類型에, 3番土壤 菌株는 III(2), X(1), XI(1), XII番(2)의 4個 類型에, 4番土壤 菌株는 XI(5), XIV番(1)의 2個 類型에, 그리고 5番土壤 菌株는 IX(1), XI(4), XIV番(1)의 3個 類型에 各各 散在하므로써, 分離菌株의 散在程度는 1番土壤 > 2, 3番土壤 > 5番土壤 > 4番土壤菌株 順으로 높게 나타났다. Pankhurst<sup>13)</sup>는 Lotus 根瘤菌의 抗生劑 Chl, Tet, Str, Spe 耐性 變異誘發은 窒素固定力의 增加 또는 減少를 나타내었고, Schwinghamer<sup>14,15)</sup>는 *R. trifolii*와 *R. leguminosarum*의 Cnl, Str, Tet 耐性變異를 보이면 窒素固定力의 減少가 일어나며, 특히 Van 耐性 變異株는 窒素固定力의 절반을, Neo 耐性 變異株는 窒素固定力의 完全喪失을 보였다고 하였다. 또한, Abdel-Wahab 等<sup>25)</sup>은 *R. trifolii*에 있어서 Chl, Str 耐性이 低調한 窒素固定傾向과 有關하다고 하였다. 그러나, Hagedorn<sup>23)</sup>은 根瘤菌의 育生제 반응특성은 질소고정력과 무관하였음을 보고하였다. 本 試驗의 境遇, 알팔과 莖葉內 窒素固定量平均值로 보아 窒素固定力이 優秀하였던 抗生劑 耐性菌株의 類型은 X番(YCKa 542), II番(YCKa 524), I番(YCKa 504, 507)이었는데, 이들은 各各 抗生劑 Ery, Nal, Neo,

Table 5. Patterns of intrinsic resistance of 30 *R. meliloti* isolates to particular concentration of antibiotics

Resistance patterns <sup>a)</sup> (code no.)	Resistant isolates		
	strains	from soil	fixation N <sup>b)</sup> (mg/plant)
Chl, nal, neo, tet, van (I)	YCKa, 504, 507	S1(2)	3.0
Chl, nal, neo, van (II)	YCKa 524	S2(1)	3.3
Chl, ery, nal, str (III)	YCKa 539, 543	S3(2)	2.9
Chl, pol, tet, van (IV)	YCKa 521, 523	S2(2)	2.1
Ery, nal, pol, spe, van (V)	YCKa 502	S1(1)	2.5
Ery, nal, spe, van (VI)	YCKa 505, 519	S1(1), S2(1)	2.2
Ery, pol, spe, van (VII)	YCKa 506	S1(1)	2.8
Ery, spe, van (VIII)	YCKa 503	S1(1)	1.8
Ery, kan, nal, str (IX)	YCKa 577	S5(1)	1.7
Ery, nal, neo, str (X)	YCKa 542	S3(1)	4.2
Ery, nal, str (XI)	YCKa 544, 559, 561, 562, 563, 564, 575, 578, 579, 580	S3(1), S4(5), S5(4)	1.7
Nal, str (XII)	YCKa 540, 541	S3(2)	2.5
Nal (XIII)	YCKa 520, 522	S2(2)	1.5
Str (XIV)	YCKa 565, 574	S4(1), S5(1)	1.7

<sup>a)</sup> See the full name in Table 4.<sup>b)</sup> Mean value of N fixed by each strain showed in Fig. 1.

Str과 Chl, Nal, Neo, Van, 그리고 Chl, Nal, Neo, Tet, Van에 耐性을 갖는 것들로서 各 類型別로 고른 成績을 보였다. 한편, 低調한 傾向을 보인 類型은 IX番(YCKa 577)과 XIII番(YCKa 520, 522), XIV番型(YCKa 565, 574)으로 各各 Ery, Nal, Kan, Str과 Nal 그리고 Str에 대해서만 耐性을 가지면서 各 類型別 該當 菌株間에 多少의 成績差異를 보였다(Fig. 1 參照). 따라서, 本 試驗에 供試된 알팔과 根瘤菌의 特定抗生素 耐性과 氮素固定力간에는 전반적으로 뚜렷한 關係傾向이 없어 Hagedorn<sup>23)</sup>의 報告와 一致된 결과를 나타내었다. 그리고, 低質의 菌株와 混在됨이 없는 抗生劑 耐性類型을 보인 YCKa 542 菌株는 標準菌株인 TAL 1372 보다 優秀한 氮素固定力を 지녔기에 알팔과 草地 造成時 接種劑로서의 利用 價值가 높을 것으로 생각되었다.

### 參 考 文 獻

1. 姜渭金, P. Somasegaran, 鄭鍊泰 : 韓土肥誌, 23 : 60 (1990)
2. 柳震彰 : 慶尙大學校 大學院 博士學位論文(1986)
3. Bezdicek, D. F. : Soil Sci. Soc. Am. Proc., 36 : 305 (1972)
4. Damirgi, S. M., L. R. Frederick, and I. C. Anderson : Agron. J., 59 : 10(1967)
5. 金正坤, 鄭鍊泰, 孫一銖, 尹乙洙 : 農試論文集(植環·菌群·加工), 28 : 69(1986)
6. 姜渭金, 鄭鍊泰, 朴鎬建, 金日植, 白基俊, 潘文祺 : 農試論文集(土壤肥料篇), 33 : 45(1991)
7. Wood, M., J. E. Cooper, and A. J. Holding : Plant Soil, 78 : 367(1984)
8. Brockwell, J., A. Diatlof, R. J. Roughley, and R. A. Date : Nitrogen fixation in legumes, Academic press, Australia, p. 173, (1982)
9. 姜渭金, 崔柱鉉, 李載生, 鄭鍊泰 : 韓土肥誌, 24 : 219 (1991)
10. Josey, D. P., J. L. Beynon, A. W. B. Johnston, and J. E. Beringer : J. Appl. Bacteriol., 46 : 343(1979)
11. 林善旭, 金敏均 : 韓土肥誌, 22 : 239(1989)
12. Perterson, E. A., J. C. Sirois, W. B. Berndt, and R. W. Miller : Can. J. Microbiol., 29 : 541(1983)
13. Pankhurst, C. E. : Can. J. Microbiol., 23 : 1026(1977)
14. Schwinghamer, E. A. : Can. J. Microbiol., 10 : 221 (1964)
15. Schwinghamer, E. A. : J. Microbiol. Serol., 33 : 121 (1967)
16. Gibson, A. H. : Methods for evaluating biological nitrogen fixation, John Wiley & Sons, New York, p.149(1980)
17. Vincent, J. M. : A manual for the practical study of root nodule bacteria IBP Handbook no. 15, International Biological Programme, London(1970)
18. 姜渭金, 崔柱鉉, 曺康鎮, 鄭鍊泰, 李載生 : 韓土肥誌, 20 : 369(1987)
19. Hardy, R. W. F. : A treatise on dinitrogen fixation, John Wiley & Sons, New York(1979)
20. 農村振興廳 : 土壤化學 分析法(1988)
21. Singleton, P. W. and K. R. Stockinger : Crop Science, 23 : 69(1983)
22. Kang, U. G., P. Somasegaran, H. J. Hoben, and B. B. Bohlool : Appl. Environ. Microbiol., 57 : 1038 (1991)
23. Hagedorn, C. : Soil Sci. Soc. Am. J., 43 : 921(1979)
24. Sinclair, M. J. and A. R. Eaglesham : Soil Biol. Biochem., 16 : 247(1984)
25. Abdel-Wahab, S. N., O. M. Rifaat, K. A. Ahmed, and Y. A. Hamdi : Zbl. Bakt. Abt. II. Bd., 131 : 170 (1976)

---

**Symbiotic effectiveness and intrinsic antibiotic resistance of *Rhizobium meliloti* populated in Korean pasture soils**

Ui-Gum Kang, Ho-Sung Ha and Yeun-Tae Jung(Yeongnam Crop Experiment Station, RDA, Milyang 627-130, Korea, \*Department of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Jinju 660-710, Korea)

**Abstract :** *Rhizobium meliloti* populated in five Korean pasture soils were characterized by symbiotic effectiveness and intrinsic antibiotic resistance using whole-soil inoculum and 11 antibiotics, respectively. Most probable number (MPN) of naturalized rhizobia counted with alfalfa Vernal[*Medicago sativa* (L.)] as a host ranged  $1.7 \times 10^2$  cells/g. soil(Chunghyo, Kyeongju)-  $1.0 \times 10^5$  cells/g. soil(Gampo, Kyeongju) and tended to be positively associated with soil pH. On the whole, the effectiveness of population as compared to TAL mix inoculum (TAL 380+TAL 1372+TAL 1373) was very low. Nevertheless, there were two highly effective strains, YCK 539 and YCK 542, which were not inferior to TAL 1372, from Oggpo, Dalseong among the total of 30 of 6 isolates per each soil. As long as mean N<sub>2</sub> fixing ability of each soil isolate, the isolates from Hyeonggog, Kyeongju were outstanding and the rest were in order of Oggpo, Dalseong>Chunghyo, Kyeongju>Hwaweon, Dalseong>Gampo, Kyeongju. Isolates as a whole were resistant to erythromycin(67%), nalidixic acid(77%), and streptomycin sulfate(80%), which had the concentration of 100 µg/ml, 160 µg/ml, and 10 µg/ml, respectively and divided into 14 patterns of resistance. Association between resistances in each soil was not clear. And there was no relationship of resistance pattern to effectiveness. The best effective strain YCKa 542 exclusively fell into No. X pattern having resistance to erythromycin, nalidixic acid, and neomycin sulfate.