

Alfalfa 根瘤菌接種劑 生産 및 利用에 關한 研究

I. 根瘤菌劑 生産을 위한 擔體調製 및 選拔

崔基準 · 朴根濟 · 許 燁* · 林英哲 · 朴炳勳

Studies on the Production and Utilization of *Rhizobium* Inoculants for Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

I. Preparation and selection of carriers for *Rhizobium* inoculants

Gi Jun Choi, Geun Je Park, Hoon Heu*, Young Chul Lim and Byung Hoon Park

Summary

To select a carrier as *Rhizobium* inoculants for alfalfa, several *Rhizobium* inoculants were produced by adding or not sub-materials(CaCO₃ and sucrose) to main materials(organic or inorganic materials). The root nodule bacteria, *Rhizobium meliloti* 1061 distributed from KAIST, and Vernal alfalfa was used in this experiment. The *Rhizobium* populations and inoculation effects of the *Rhizobium* inoculants produced in several materials were scrutinized at laboratory and greenhouse in Livestock Experiment Station, RDA from 1993 to 1994.

Moisture contents of the carriers were varied from 32 to 50% on dry weight basis according to material characteristics and the pH ranges of these were varied from pH 4.56 to 10.06 according to raw material characteristics and preparations.

Initial *Rhizobium* numbers of the carriers were higher in organic material-inoculants than in inorganic, and among the inoculants, the inoculant made of Bentonite+Vermiculite(1:3 w/w) was excellent because of high *rhizobium* population(7.8~8.3 × 10⁸/g inoculant) and high *rhizobium* reappearance of inoculant in several different production time.

The root nodules of the alfalfa inoculated with different inoculants were fast formed in the fermented sawdust with cattle dung (FSC) inoculant, and bentonite(B)+vermiculite(V) than others. Plant length of alfalfa was differentiated on 15 days after inoculation but was not nearly different between higher inoculants than *rhizobium* number 10⁷/g inoculant.

Total dry matter of alfalfa was yielded by 20.65, 20.34mg per pot in FSC+sucrose 0.5% and B+V+sucrose 1% inoculants respectively that were higher inoculation effect by 17 times compared with non-inoculation, 1.2 mg per pot.

I. 緒 論

Alfalfa(*Medicago sativa* L.)는 다른 荳科作物과 마찬가지로 알팔과 特異根瘤菌인 *Rhizobium meliloti*와 共生關係를 통하여 空中窒素를 利用하여 生育할 뿐만

아니라 禾本科와 混播時 알팔과가 固정한 窒素를 禾本科作物이 利用할 수 있어 窒素施用量을 節減할 수 있다(Heichel 등, 1981; Faris와 Ta, 1985).

알팔과가 栽培된 적이 없는 地域이나 窒素固定力이 없는 無效菌이 繁盛하여 알팔과 生育이 不良한 곳에서는 알팔과의 空中窒素利用을 期待할 수 없고

畜産技術研究所(Grassland and Forage Crops Division, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon 441-350, Korea)

* 忠北大學校 農科大學(Dept. of Agricultural Biology, Chungbuk National University, Chongju 360-763, Korea)

알팔과品種과根瘤菌 strain간에特異性이 있어 Burton과 Wilson, 1938) 만약 그特異性이 맞지 않으면窒素固定能力이 떨어지기 때문에 알팔과品種에適合한根瘤菌을接種하는 것이 알팔과生産에 중요하다(Hardason 등, 1981, 1982). 또한根瘤菌은荳科作物의뿌리썩음병(*Phytophthora megaserma*)을抑制하고土壤內毒素를破壞하여作物生産에 필요한 좋은 조건을제공한다는 보고(Tu, 1978)가 있어窒素固定外에 알팔과生育에 중요한 역할을 한다.

林 등(1992)은 우리나라山地草地에서 알팔과根瘤菌接種方法是種子接種 보다는有機物이 豊富한土壤에根瘤菌을培養하여 조제한培養土를播種時種子和 함께散布하거나土壤水分이 부족한 경우播種後土壤水分이 충분할때培養土를散布해 주는 것이 가장效果的이라고 보고하였고, Rogers(1982) 등은根瘤菌接種失敗時 가을과중의 경우 모래에根瘤菌을코팅한 것, peat 입제로 된根瘤菌劑 또는根瘤菌 현탁액을 알팔과出現後 4周以內에再接種하면效果的이라고 하여根瘤菌接種方法의多樣化를提示하였으며, Rice와 Olsen(1983)은弱酸性土壤에根瘤菌接種은接種量이 많아야根瘤菌接種效果가 높다고하였다.

우리나라와 같이土壤의酸性이强하고降水量이 여름장마기에 편중된氣候의인特性을 고려할 때 우리나라에서 가장效果的인培養土散布方法에適合한根瘤菌劑를開發하는 것이 필요하다. 현재까지 알팔과 근류균 접종에 따른 알팔과生長反應, 接種效果 및 菌株開發에 관한 연구는 이루어졌으나(강 등, 1989; 이 등, 1973; 김과 Jensen, 1986, 1987) 農家에서 실제 필요한根瘤菌劑生産을 위한 연구는 아직 이루

어지지 않고 있다.

따라서 여러가지 材料를 利用하여 알팔과 근류균제를 調製하고 그 菌劑의 菌密度 및 알팔과 接種效果를 조사하여 均一性이 높고 接種效果가 優秀한 根瘤菌劑 生産을 위하여 本 試驗을 遂行하였다.

II. 材料 및 方法

本 試驗은 1993年 1月부터 1994年 12月까지 水原 畜産技術研究所에서 遂行하였다.

1. 根瘤菌劑 調製

根瘤菌擔體 生産을 위한 材料는 有機質材料인 이탄(peat), 堆肥, 우분발효톱밥과 鑛物質材料인 bentonite, vermiculite를 사용하였고 材料의 物理化學的 特性은 表 1과 같다. 이탄은 경기도 평택에서 採取하여 乾燥後 200 mesh 粉末로 調製하였고 堆肥, bentonite, vermiculite는 市賣品을 土壤物理性資材市場에서 구입하였으며 우분발효톱밥은 우분과 톱밥을 混合하여 강제통풍식 발효조에서 醱酵시킨 것을 사용하였다.

供試 根瘤菌은 *Rhizobium meliloti* 1061을 KAIST에서 分讓받아 사용하였다. 根瘤菌 培養은 YEM(Yeast extract 1g, Mannitol 10g, K₂HPO₄, 0.5g, MgSO₄ 7H₂O 0.2g, NaCl 0.2g, CaCl₂ 0.2g, FeCl₃, 6H₂O 0.01g, 증류수 1,000ml, pH 6.8) 培地(Vincent, 1970)에 無菌的으로 接種하여 28℃ 恒溫에서 5日間 振湯培養하였고 이때 培養液의 根瘤菌 密度는 8.6 × 10⁸/ml 培養液이었다.

Table 1. Physical and chemical characteristics of materials as carriers for *Rhizobium* inoculants

Materials	Moisture content (%)	pH (1:5 H ₂ O)	Organic matter content (%)	Passing sieve size (mm)
Peat	9	4.78	49.4	0.08
Compost	1	7.05	23.5	2.00
FSC*	1	7.92	68.2	2.00
Bentonite	7	10.10	0.0	0.08
Vermiculite	7	6.68	0.0	2.00

* Fermented sawdust with cattle dung.

Table 2. Preparation methods of carriers for *Rhizobium* inoculants

No. of treatment	Preparation method	Moisture content of carriers (%)
11	Peat + Liquid culture (Lc)	45
21	Compost + Lc	35
31	FSC* + Lc	50
41	Bentonite + Vermiculite(1:3 w/w) + Lc.	35
51	Vermiculite + Lc	45
12	Peat + CaCO ₃ 5% + Sucrose 0.5% + Lc	45
22	Compost + Sucrose 0.5% + Lc	35
32	FSC + Sucrose 0.5% + Lc	45
42	Bentonite + Vermiculite(1:3 w/w) + Sucrose 1% + Lc.	35
52	Vermiculite + Sucrose 1% + Lc	45

* FSC : Fermented sawdust with cattle dung.

Table 3. Effects of bentonite(B) and vermiculite(V) mixing ratios on *Rhizobium* viability of produced carriers when stored at 4°C for 6 months

Mixing ratios* B : V	<i>Rhizobium</i> population (cfu × 10 ⁸ /g carrier)						
	days				months		
	0	7	14	28	2	4	6
0 : 1	2.0	1.7	1.7	1.5	1.5	1.1	1.1
1 : 2.3	10.8	10.1	9.2	7.9	10.4	9.0	4.4
1 : 3	9.0	9.1	10.3	7.7	9.5	6.0	7.7
1 : 4	8.2	6.9	6.1	7.5	5.9	5.4	5.2

* Based on weight per weight.

根瘤菌劑 生産을 위한 擔體의 滅菌은 0.03mm polypropylen 봉지에 수분조절을 한 材料를 넣고 밀봉하여 120°C 고압증기멸균기에서 90분간 2회 間歇滅菌한 후 室溫에서 冷却시켰다.

根瘤菌劑 調製方法은 表 2와 같이 接種材料 100g + 蒸溜水 + 菌培養液 25ml를 無菌的으로 接種하여 잘 혼합한 후 28°C 항온기에서 2주일간 배양하였고 이때 接種劑의 水分含量은 材料의 性質에 따라 調節하였다. 또한 bentonite와 vermiculite의 混合材料는 재료의 特性을 고려하여 表 3과 같이 混合比率別 根瘤菌의 密度變化를 調査後 무게비율로 bentonite와 vermiculite를 1:3으로 혼합한 材料를 사용하였다.

조제한 근류균제의 生菌數는 稀釋平板分離法

(dilution plate method)을 利用하여 petridish 上에 나타난 菌叢(colony)數를 調査하여 CFU(colony forming unit)로 표기하였다.

2. 根瘤菌劑別 알팔파 生長反應

알팔파 供試品種은 獎勵品種인 Vernal로 하였다.

根瘤菌劑의 接種效果 究明을 위한 알팔파 재배방법은 溫室에서 vermiculite床土를 利用한 컵포트 養液栽培를 하였고, 이때 養液은 窒素가 없는 nitrogen free medium(농기연, 1988)을 變形한 營養液(K₂HPO₄ 1g, MgSO₄ 7H₂O 0.2g, CaCO₃ 1g, NaCl 0.2g, FeSO₄ 7H₂O 0.1g, Na₂MoO₄ 7H₂O 0.005g, H₃BO₃

0.05g, 증류수 1,000ml, pH 6.8)을 調製하여 使用하였다. 播種密度는 ㎡당 2本, 接種劑 接種量은 ha당 4kg 基準으로 하였고 근류균 接種時期는 葉面적 確保를 위해 播種後 2週에 接種하였다.

根瘤形成速度는 接種後 5, 10, 15日에 根瘤形成個體數를 調査하였고, 草長은 5日間隔으로 收穫때까지 調査하였다. 植物體 乾物 무게는 75℃ 乾燥器에서 48 시간 乾燥 後 30分間 室溫에 放置 後 調査하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

1. 根瘤菌擔體의 理化學的 特性과 菌密度

1) 根瘤菌擔體의 水分含量 및 pH

表 4에서와 같이 조제된 根瘤菌擔體의 水分含量은 이탄을 재료로 調製된 泥炭材劑가 45%, 堆肥材劑가 32%, 우분발효톱밥재제가 50%, 벤토나이트+버미큘라이트 混合材劑가 32%, 버미큘라이트材劑는 45%를 나타내었고 이러한 水分含量의 差異는 好氣性細菌인 알팔파근류균의 生存에 適合한 通氣성과 水分維持를 위해 材料의 性質에 따라 調節되었다. 擔體의 pH는 泥炭에 培養液 만을 吸着시킨 것과 버미큘라이트에 蔗糖 1%를 添加한 處理는 pH가 酸性을

Table 4. Moisture contents and pH of *Rhizobium* inoculants produced

No. of treatments	Moisture content (%)	pH (1:5 H ₂ O)
11	45	4.56
21	32	7.04
31	50	7.60
41	34	10.06
51	45	6.66
12	45	7.45
22	32	7.08
32	50	7.81
42	32	10.02
52	44	5.53

나타내었고 벤토나이트+버미큘라이트 混合材劑는 알칼리성을 나타내었으나 다른 材劑는 中性을 나타내었다. 알팔파근류균의 生存에 가장 중요한 要因인 水分含量과 pH는 原材料의 化學的 性質에 크게 左右되었으나 버미큘라이트에 蔗糖 1% 添加는 特異的인 化學反應이 일어난 것으로 判斷되는데, 버미큘라이트가 中性이었으나 蔗糖을 添加할 경우 材料의 pH가 酸性으로 變化된 것은 추후 檢討되어야 할 것이다.

Table 5. Effects of preparation methods of carriers on the initial *Rhizobium* populations of inoculants produced in several different times

No. of treatment	<i>Rhizobium</i> population (cfu × 10 ⁶ /g inoculant)				C.V. (%)
	Production time			Average	
	1st (May 29, '93)	2nd (Aug. 11, '93)	3rd (Feb. 18, '94)		
11	0	0	0	0	0
21	63.5	52.3	4.8	40.2	68
31	68.0	79.0	23.0	53.3	59
41	7.5	7.6	9.0	7.8	19
51	0.8	1.6	2.0	1.4	37
12	57.3	45.0	4.0	35.4	76
22	32.3	33.8	36.5	34.2	25
32	119.8	80.0	57.3	85.7	45
42	7.1	7.1	10.7	8.3	26
52	0	0	0	0	0
LSD (0.05)	6.0	24.6	23.6	28.3	

2) 調製培養直後 擔體의 菌密度

여러가지 材料로 조제된 根瘤菌擔體는 2年間 3회에 걸쳐 時期가 다르게 調製되었는데, 表 5에서와 같이 調製된 材料에 따라서 多樣하게 나타났다. 泥炭과 버미큘라이트에 蔗糖 1%를 添加한 材料에 菌培養液을 吸着시켰을 때는 擔體의 pH가 酸性을 나타내어 根瘤菌의 生存이 不可能하였고, 다른 處理에서는 根瘤菌의 生存이 可能하였다. 가장 높은 根瘤菌密度를 나타낸 處理는 우분발효톱밥에 自當 0.5%를 添加하여 調製된 菌劑였고 벤토나이트+버미큘라이트재제에서도 接種劑 g當 $7.8-8.3 \times 10^8$ 의 높은 菌密度를 나타내었다. 특히 礦物質材料인 벤토나이트+버미큘라이트재제는 根瘤菌劑 調製時期別 菌密度의 再現性이 다른 有機質材料 보다 높았는데, 벤토나이트+버미큘라이트재제는 균밀도가 높을 뿐만아니라 調製時期別 菌密度의 變異가 작아서 根瘤菌劑의 大量生産에 適合할 것으로 判斷된다.

2. 根瘤菌劑 接種에 대한 알팔파 生長反應

1) 根瘤形成 速度

조제된 根瘤菌劑로 接種된 알팔파의 根瘤形成 速度는 表 6에서와 같이 材劑에 따라서 根瘤形成 速度에 差異가 있었다. 接種後 5日에는 典型的인 근류

Table 6. Effects of different *Rhizobium* inoculants on nodulation of alfalfa

No. of treatment	Nodulation(%) of alfalfa after inoculation		
	5 day	10 day	15 day
00	0	0	0
11	0	0	0
21	31	71	100
31	46	100	100
41	47	82	100
51	0	64	100
12	29	72	100
22	27	78	100
32	38	100	100
42	60	93	100
52	0	0	0

00 : non-inoculation.

모양은 形成되지 않았으나 根組織의 變形이 관찰되었고 이때 우분발효톱밥재제와 벤토나이트+버미큘라이트에 蔗糖 1%를 添加하여 조제된 菌劑가 빠른 根瘤形成을 나타내었다. 接種後 10日에는 典型的인 根瘤가 관찰되었으며 材料의 種類, 調製方法 및 菌劑의 菌密度에 따라서 根瘤形成率에 차이가 있었고 가장 빠른 根瘤形成을 나타낸 處理는 우분발효톱밥재제였고 다음이 벤토나이트+버미큘라이트재제였다. 接種後 15日에는 근류균의 生存이 不可能 했던 두가지 處理를 除外하고는 모든 處理에서 100% 根瘤가 形成되었다. 이러한 結果를 볼 때 根瘤菌擔體의 菌密度의 最少限界는 10^7 정도로 思料되며, 根瘤菌接種後 알팔파의 根瘤形成速度는 菌劑의 菌密度가 높은 것이 빨랐으나 材料의 性質에 따라서도 差異가 있었다.

2) 알팔파 草長變化

여러가지 材料로 調製된 알팔파 근류균제로 接種된 알팔파의 草長變化는 表 7에서와 같이 接種後 10日까지 草長은 1.5cm 정도로 處理別 差異가 없었고 接種後 15日에는 接種劑의 種類 및 菌密度에 따라서 若干의 差異가 있었으나 無接種에 비해 1cm정도 더 컸고 無接種에서는 窒素가 不足하여 더 이상 生育하지 못하였다. 根瘤菌의 密度가 가장 낮았던 버미큘라이트에 培養液을 吸着시킨 處理의 菌密度가 1.4×10^7 g 接種劑였던 것을 勘案할 경우, 根瘤菌劑의 菌密度가 10^7 以上인 것을 ha當 4kg 施用한다면 根瘤菌接種效果는 충분히 기대할 수 있을 것으로 判斷되었다.

3) 알팔파 乾物收量

根瘤菌 接種에 따른 알팔파 乾物收量은 表 8에서와 같이 地上部, 地下部, 根瘤무게로 表示하였는데, 地上部 건물무게는 根瘤菌의 生存이 可能했던 菌劑들 中에서 菌密度가 가장 낮았던 버미큘라이트재제가 가장 적었고 泥炭+탄산칼슘 5%+자당 0.5%, 우분발효톱밥+자당 0.5%, 벤토나이트+버미큘라이트+자당 1% 재제에서 많았으며, 根瘤무게도 같은 傾向으로 나타났다. 알팔파의 總乾物무게는 우분발효톱밥재제와 벤토나이트+버미큘라이트재제 處理가 각각 20.65, 20.34 mg/pot로서 無接種區의 1.2mg/pot와 比較할 때 17倍의 增收效果가 있었다. 알팔파

Table 7. Effect of different *Rhizobium* inoculants on plant length of alfalfa in days after inoculation

No. of treatment	Plant length(cm) in days after inoculation										
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55
00	1.0	1.5	1.6	2.1	2.2	2.2	2.2	2.2	2.0	2.1	2.1
11	1.0	1.5	1.6	2.4	2.9	3.5	8.1	8.1	8.3	10.9	15.5
21	1.0	1.5	2.3	4.5	5.7	7.3	10.9	12.2	16.8	21.3	21.6
31	1.0	1.5	2.4	5.0	6.2	7.7	9.2	11.9	16.0	20.0	21.9
41	1.0	1.5	2.3	4.6	6.3	7.9	9.8	12.8	17.9	22.2	24.3
51	1.0	1.5	2.2	4.2	5.9	7.6	9.4	12.9	17.4	20.6	21.1
12	1.0	1.5	2.3	5.0	6.3	7.7	9.6	13.4	17.6	21.3	22.8
22	1.0	1.5	2.3	4.4	5.9	7.8	9.0	12.1	16.9	20.6	22.1
32	1.0	1.5	2.5	5.3	6.6	7.9	9.8	12.5	18.8	22.0	24.6
42	1.0	1.5	2.4	5.1	6.5	7.5	10.1	14.2	17.0	23.0	23.6
52	1.0	1.5	1.7	2.3	2.3	3.0	2.6	2.3	2.5	2.4	2.4
LSD (0.05)	NS	NS	0.01	0.7	1.1	1.3	1.6	2.0	2.5	3.3	7.5

Table 8. Effects of different *Rhizobium* inoculants on the dry matter yields of alfalfa

No. of treatments	Dry matter yield (mg/pot)			
	Shoot	Root	Nodule	Total
00	0.3	0.9	0.00	1.20
11	3.1	4.1	0.54	7.74
21	7.5	9.4	0.81	17.71
31	8.5	10.4	0.84	19.74
41	8.5	10.3	0.91	19.71
51	7.4	8.7	0.76	16.86
12	9.9	9.8	1.03	19.71
22	9.0	9.5	0.89	19.39
32	9.8	9.8	1.05	20.65
42	9.3	10.1	0.94	20.34
52	0.4	1.2	0.00	1.60
LSD (0.05)	3.1	2.6	-	5.57

의 乾物收量이 根瘤菌의 窒素固定 尺度(West와 Wedin, 1985)라고 할 때 이들 菌劑의 接種效果는 뚜렷하였다. 그리고 根瘤菌의 密度가 낮았던 鑛物質材料들과 균밀도가 높았던 有機質材料들 간에는 統計的 有意性은 認定되지 않아 알팔파 근류균점종제 生産을 위한 擔體調製時 鑛物質材料인 벤토나이트와 버미클라이트재료를 利用하는 것이 有利할 것으로

思料된다.

IV. 摘 要

本 試驗은 優秀한 알팔파 根瘤菌劑를 生産하기 위한 擔體를 選拔하기 위하여 有機質材料和 鑛物質材料를 主材料로 하고 탄산칼슘(CaCO₃)과 蔗糖

(sucrose)을 副材料로 하여 根瘤菌擔體를 調製하였고 이들 材料로 調製된 根瘤菌劑의 菌密度 및 接種效果를 調査하였다. 供試 根瘤菌은 *Rhizobium meliloti* 1061로 하였고 알팔파 品種은 Vernal을 사용하여 1993년부터 1994년까지 遂行한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 根瘤菌擔體의 水分含量은 材料의 特性에 따라 32~50%로 多樣하게 調節되었고 擔體의 pH는 原材料의 特性과 調製方法에 따라서 pH 4.56에서 pH 10.06까지 多樣하게 나타났다.

2. 조제된 根瘤菌擔體의 菌密度는 有機質材劑가 礦物質材劑보다 높았으나 調製時期를 달리하였을 때 菌密度의 再現性은 礦物質材劑가 높았다. 특히 벤토나이트+버미큘라이트(1:3 w/w) 混合材劑는 7.8~8.3 × 10⁶/g 接種劑의 높은 菌密度를 調製時期別 큰 變化 없이 菌密度를 維持하여 優秀한 材料로 評價되었다.

3. 根瘤菌劑 接種에 의한 알팔파 根瘤形成速度는 우분발효톱밥재제와 벤토나이트+버미큘라이트 混合材劑가 다른 것에 비해 빨랐다.

4. 根瘤菌劑 接種에 의한 알팔파 草長의 變化는 接種後 15일부터 處理間 差異가 나타났으나 菌劑의 菌密度가 接種劑 g당 10⁷ 이상인 처리들 간에는 큰 차이가 없었다.

5. 알팔파의 地上部 乾物收量은 泥炭+탄산칼슘 5%+자당 0.5%, 우분발효톱밥+蔗糖 0.5%, 벤토나이트+버미큘라이트+蔗糖 1%로 된 處理에서 많았고 알팔파의 總乾物무게는 우분발효톱밥재제와 벤토나이트+버미큘라이트에 蔗糖을 添加한 處理가 各各 20.65, 20.34 mg/pot로써 無接種 1.2 mg/pot에 비해 17배의 增收效果가 있었다.

V. 引用文獻

- Burton, J.C. and P.W. Wilson. 1938. Host plant specificity among the *Medicago* in association with root-nodule bacteria. J. Agric. Res. 56:293-303.
- Faris, M.A. and T.C. Ta. 1985. Study of nitrogen transfer from alfalfa to associated timothy under field conditions. Proc. of the XV IGC:448-449.
- Hardarson, G., G.H. Heichel, C.P. Vance and D.K. Barnes. 1981. Evaluation of alfalfa and *Rhizobium meliloti* for compatibility in nodulation and nodule effectiveness. Crop. Sci. 21:562-566.
- Hardarson, G., G.H. Heichel, D.K. Barnes, and C.P. Vance. 1982. *Rhizobial* strain preference of alfalfa populations selected for characteristics associated with N₂ fixation. Crop Sci. 22:55-58.
- Heichel, G.H., D.K. Barnes, and C.P. Vance. 1981. Nitrogen fixation of alfalfa in the seeding year. Crop Sci. 21:330-335.
- Rice, W.A., D.C. Penney, and M. Niborg. 1977. Effects of soil acidity on *Rhizobia* numbers, nodulation and nitrogen fixation by alfalfa and red clover. Can. J. Soil Sci. 57:197-203.
- Rice, W.A. and P.E. Olsen. 1983. Inoculation of alfalfa seed for increased yield on moderately acid soil. Can. J. Soil Sci. 63:541-545.
- Rogers, D.D., R.D. Warren, J.r., and D.S. Chamblee. 1982. Remedial postemergence legume inoculation with *Rhizobium*. Agron. J. 74:613-619.
- Tu, J.C. 1978. Protection of soybean from severe phytophthora root rot by *Rhizobium*. Physiol. Plant Pathology 12:233-240.
- Vincent, J.M. 1970. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria, IBP Handbook No. 15: 3-6.
- West, C.P. and W.F. Wedin. 1985. Dinitrogen fixation in alfalfa-orchardgrass pastures. Agron. J. 77: 89-94.
- 姜謂金, 崔柱鉉, 曹康鎭, 鄭鍊泰, 李載生. 1987. 野山 牧草地用 耐酸性 優秀 窒素固定菌注 開發. I. 嶺南地方 牧野地 根瘤菌의 耐酸性 程度. 韓土肥誌 20:369-374.
- 農業技術研究所. 1988. 土壤化學分析法: 402-418.
- 이화선, 한홍전, 양종성, 이종열, 김동암. 1973. 석회 및 붕소시용이 알팔파의 착엽 및 종자생산에 미치는 영향. 농사시험연구보고 제15집 (축산편): 89-93.
- 金武成, E.H. Jensen. 1986. 低溫下에서 窒素施肥가 根瘤菌을 接種한 알팔파의 生育部位에 미치는 影響에 關하여. 한초지 6(3):151-156.

16. 金武成, E.H. Jensen. 1987. 高溫下에서 窒素施肥
가 根瘤菌을 接種한 알팔파의 生育部位에 미치
는 影響에 關하여. 한초지 7(1):25-30.
17. 林英哲, 朴鐘先, 尹世炯, 崔基準, 黃石重. 1992. 山
地草地 Alfalfa 栽培에 關한 研究. I. 山地草地에
서 根瘤菌 接種方法이 알팔파의 初期生育에 미치
는 影響. 農試論文(축산편) 34(2):51-56.