

磷酸施肥水準이 알팔파(*Medicago sativa* L.)의 播種初年度 生育, 粗蛋白質含量 및 窒素固定能에 미치는 影響

金昌護 · 李孝遠*

Effect of Phosphatic Fertilizer Application Level on Growth, Crude Protein Content and Nitrogen Fixation Ability of Alfalfa(*Medicago sativa* L.) at Sowing Year

Chang Ho Kim and Hyo Won Lee*

Summary

The experiment was carried out to investigate the effects of phosphate fertilizer level on growth, crude protein content and nitrogen fixation ability of alfalfa(*Medicago sativa* L.) at sowing year. The experimental field was conducted using a randomized block design with three replications according to the phosphate application level (200 and 400kg/ha) in farm of Kongju National University.

Research samples were collected at intervals of 7 days from October 7 to December 9 and nitrogen fixation activity of nodule was measured by using the acetylene reduction method (Hardy *et al.* 1968). The results obtained are summarized as follows :

1. Number of branches, root length and dry matter weight at phosphate fertilizer level of 400kg in sowing year were more increase than those of 200kg/ha. The number of nodules was not significantly difference between phosphate fertilizer level, because of low temperature to be enough to nodulation of alfalfa.
2. The crude protein content of leaf, stem and root were not significantly affected by the phosphate fertilizer level, but that of leaf was increased at 400kg/ha on 72 days after sowing. The crude protein content of each part according to growing stages was increased at 44 days and 72 days after sowing.
3. The dry weight of root was not significantly difference between phosphate fertilizer level from 30 days to 51 days after sowing, but that was increased at phosphate fertilizer level of 400kg/ha from 51 days after sowing.
4. The amount of ethylene in the samples taken 2 hours and calculated amount of nitrogen fixation were increased at phosphate fertilizer level of 400kg/ha from 30 days to 65 days after sowing, but there was *vice versa* from 58 days after sowing.

I. 緒 論

현재 전세계가 低投資 持續的 農業生産(Low input sustainable agricultural production)으로 環境問題에 관심이 집중되어 있으며, 생산증대 위주의 농업에 의한 질소소비량의 과잉시비는 강, 호수, 바다 지표수의 질

소 흐름 증가로 인한 社會問題가 提起되고 있는 실정에서 토양내의 질소수준을 개선하고 질소시비 없이 전체 Biomass 생산량을 높일 수 있는 사료작물로 荳科牧草의 窒素固定에 관해서 많은 학자들의 연구가 이루어지고 있다(Vinther, 1993). 실로 알팔파에 의한 窒素固定량은 일년동안 50~463kg/ha(Vance, 1978) 정

이 연구는 1994년도 한국학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의한 결과의 일부임.

공주대학교 산업과학대학(College of Industrial Science, Kongju Univ., Yesan 340-800, Korea)

* 한국방송통신대학교(Korea Air and Correspondence Univ., Seoul 110-791, Korea)

도이며 지구상의 生物窒素固定量은 化學肥料量의 약 4배 정도에 이른다고 한다(Chatt, 1976). 알팔파는 수량성이 높고 기호성도 좋으며 窒素固定力 또한 우수한 것으로 평가받아(Burton, 1972) 현재 荳科牧草로는 세계적으로 많이 재배되고 있는 사료작물이다. 특히 共生으로 부터의 질소 전환율이 높아 단위면적당 窒素固定量도 많은 것으로 보고되고 있다(Hiechel 등, 1983, 1985). 그러나 이런 좋은 특성을 가지고 있는 알팔파의 가장 큰 短點은 재배가 까다롭다는 점이며 따라서 幼植物의 활력이 높고 耐寒性 및 再生이 빠르며 병해충에 강한 품종이 재배에 유리하다(김, 1983). 이러한 알팔파 재배에 있어서 磷酸施用效果는 幼苗期에 뚜렷이 나타나고(Tesar 등, 1954; Sheaffer 등, 1971) 근계를 강화시켜 주어 정착에 필수적이라 하였다(Ball과 Teneyck, 1980). 특히 磷酸의 효과는 석회와 적절히 混合施用할때와 乾燥土壤에서 그 효과가 크다고 하였다(Corocker 등, 1985).

荳科植物이 어느 정도의 窒素를 共生過程을 통해서 얻느냐 하는 것은 식물의 생육단계, 共生體系에서의 酸度 등에 따라 달라진다. 뿐만아니라 荳科植物의 종류, 土壤肥沃度, 비배관리 그리고 재배환경 등도 관계한다. 알팔파에 있어서의 窒素固定은 토양내의 窒素不足에서 큰 영향을 받고(Munns, 1977) K, Ca 및 Mg 결핍이 窒素固定의 감소를 가져온다고 하였다(Collins와 Duke, 1981, Feigenbaum과 Mengel, 1979, Miller와 Sirois, 1982). 또한 pH 4.5 이상의 酸性土壤에서는 근류형성이 안되어 窒素固定의 감소가 있었고, Ca과 NO₃를 사용함으로써 窒素固定을 향상시킬 수 있었다고 하였다(Munns, 1970).

지온 또한 窒素固定에 影響을 미쳐 30℃ 이상의 고온이나 5~10℃ 이하의 저온에서는 窒素固定의 감소가 있었다(Bulen과 Le Comte, 1966).

최근에 窒素固定을 측정하는 방법은 아세틸렌 환원분석(acetylene reduction assay)과 ¹⁵N 동위원소 희석 기술(isotope dilution technique)이 이용되어지고 있다. 이 두 방법중 生物學的 窒素固定 測定은 ¹⁵N 동위원소에 의한 방법이 더 유리하나 20년 동안 아세틸렌 환원분석법이 많이 이용되어진 것은 實用的이며 經濟性 때문이다. 그리고 아세틸렌 환원분석법의 한 가지 유리한 점은 충분한 반복이 있을때 窒素固定의 분명한 양상 즉 감도가 높은 결과를 얻을 수 있다는데

있다(Witty와 Minchin, 1988).

한편 우리나라에서 알팔파의 영양 및 窒素固定에 대한 연구는 근류균 接種效果(李 等, 1981a, 朴 等 1973, 崔 等 1980, 柳 等 1974), 질소 및 석회사용에 대한 효과(金과 Jense 1978, 柳 等 1974, 金 等 1991, 李 等, 1981b, 李 等, 1993, 朴 等 1995, 金과 金 1990, 金과 閔 1988) 및 붕소에 대한 연구(金 等 1969)가 있고 磷酸施用에 대한 연구는 崔와 金(1994)의 보고가 있을 뿐 포장에서 알팔파의 窒素固定能에 관한 연구는 전무한 편이다.

따라서 본 연구는 우리나라 중서부지역인 충청지역에서의 알팔파의 生育特性, 粗蛋白質 含量 및 窒素固定能을 구명하기 위하여 인산시비량에 따른 播種 初年度의 반응을 검토 분석 알팔파 재배의 基礎資料로 이용하고자 수행하였다.

II. 材料 및 方法

1. 圃場實驗 및 生育特性調査

본 실험은 공주대학교 산업과학대학 실험포에서 1994년 9월 7일에 磷酸施肥량을 ha당 200kg과 400kg을 난괴법 3반복으로 처리하였으며 질소, 칼리 및 석회는 각각 ha당 50kg, 50kg 및 10ton을 기비로 사용하였다. 根瘤菌 接種은 土壤接種을 하였으며 붕소는 결핍현상이 일어나지 않도록 충분히 사용하였다. 각 磷酸施肥量別로 播種 한달후인 10월 7일부터 12월 9일까지 1주일 간격으로 10회에 걸쳐 수확 조사하였으며 播種量은 ha당 20kg이었다. 한 시험구의 면적은 10m²(2×5m)로 生育調査와 窒素固定能 측정 시험구는 별도로 만들었고, 窒素固定能 측정 시험구는 窒素固定量 측정을 위해 부지포트(직경 10cm)를 지하 50cm까지 박고 매 수확시 해체하여 조사하였다.

시험포장의 특성은 表 1과 같이 土壤酸度は 우리나라 밭 평균 pH 5.8 보다 높은 6.5이었고 有機物 및 有效磷酸含量은 각각 우리나라 밭 경지 평균 1.9%와 231ppm 보다도 매우 낮은 편이며, K, Ca, Mg 및 Na 같은 치환성이온도 대체로 낮은 壤土이었다.

연구가 수행된 시험기간중 예산지방의 氣象을 보면(表 2) 氣溫은 서서히 떨어지고 있으며 10월 하순과 11월 하순에는 약 5℃ 정도씩 급격히 낮아지는 傾

向이었다. 日照時數는 降雨가 잦은 관계로 변이가 컸으며 강우는 10월 중순을 제외하고는 平年과 비슷한 조건이었다.

조사항목으로 生育特性은 根長, 分枝數, Nodule數

를 농사시험연구조사기준에 의하여 조사하였으며, 地上部乾物重 및 根乾物重은 75℃ 건조기에 72시간 건조후 측정하였다.

Table 1. Chemical properties of experimental field in 1994

pH (1:5)	OM (%)	Available P ₂ O ₅ (ppm)	Exchangeable(me/100g)				Soil texture
			K	Ca	Mg	Na	
6.59	0.80	70.0	0.19	4.90	1.50	0.08	Loam

OM : Tyurin method, Available P₂O₅ : Lancaster method, Exchangeable cation : 1N-NH₄OAc (pH 7.0).

Table 2. Monthly meteorological data during the experimental period in Yesan area

	September			October			November			December		
	E	M	L	E	M	L	E	M	L	E	M	L
Average air temperature(℃)	24.6	19.9	18.6	16.9	15.4	9.5	9.7	10.9	4.6	3.3	-0.1	2.8
Sunshine hours	31.4	34.5	42.9	26.3	30.8	63.3	52.9	23.5	35.2	29.9	27.1	27.9
Precipitation(mm)	34.5	0	14.0	16.3	171.3	28.0	2.0	15.6	0	18.5	6.5	0

E : Early ten days of the month, M : Middle ten days of the month, L : Late ten days of the month.

2. 粗蛋白質含量 및 窒素固定能 測定

粗蛋白質含量은 試料生重 400g을 엽, 줄기, 뿌리로 분리한 다음 75℃ 건조기에 72시간 건조후 Wiley mill로 20 mesh가 되게 분쇄하여 보관병에 보관하면서 分析에 이용하였다. 켈달법에 의한 窒素含量 측정을 분말시료 0.3g씩 정량 Keltec Auto 1030 Analyzer를 이용하여 분석한 후 牧草의 蛋白質 계수인 6.65를 곱하여 粗蛋白質含量을 구하였다. 窒素固定能力 측정은 아세틸렌 환원법(Hardy 등, 1968)에 의해 1994년 10월 7일부터 일주일 간격으로 무저포트(직경 10cm)를 해체하여 뿌리혹이 떨어지지 않도록 환원병에 넣고 환원병속의 대기 10%를 아세틸렌으로 교환 충전시켜 2시간 동안 숙성(aging)시켰다. 2시간 후에 환원병에서 10ml를 폴리에틸렌제 주사기로 뽑아 진공관인 Vacutainer(Brand Evascuated Blood Collection Tubes, Becton Dickinson, U.S.A.)에 넣어 보관하면서 Hydrogen ionization detector를 갖춘 Gas-Chromatograph(Hewlett 5890 Packard Series 11)를 이용 分析하였다. 分析에 사용한 컬럼은 Porapark-Q(80-100 mesh)

에 2m의 Stainless steal 이었고, Carrier 개스로는 40 Flow rate의 헬륨을 사용하였다. Detector와 Oven의 온도는 각각 80℃와 60℃로 하였다. 표준에틸렌개스를 주입한 후 나타난 Peak 높이를 측정 標準檢量線을 작성하여 에틸렌을 검량한 다음 이론적 전환율에 의해 窒素固定能을 환산하였다.

III. 結果 및 考察

1. 生育特性

荳科牧草는 질소소비량을 줄이면서도 토양내의 有效窒素含量을 높여 생산량 증가를 가져올 수 있다는 이점 이외도 최근에는 環境問題와 관련하여 많은 연구가 이루어지고 있으며 그 중에서도 알팔파는 각광을 받고 있는 荳科牧草 중의 하나이다. 그림 1은 알팔파를 파종한 다음 30일이 경과한 후에 1주일 간격으로 磷酸施肥量에 따른 生育特性의 경시적 변화를 나타낸 것이다. 地上部乾物重은 磷酸을 增施肥에 따

라 200kg/ha 시험구보다 400kg/ha 시험구가 높게 나타났으며 播種後 30~51일 사이는 그 정도가 미세하였으나 播種後 58일경 부터는 생육이 왕성한 시기로 多肥區에서의 地上部乾物重이 월등히 높은 것으로 나타났다. 이 결과는 Sheaffer 等(1971)과 Tesar 等(1954)의 알팔파에 있어서 磷酸施用效果는 幼苗期에 뚜렷하다는 보고와 유사한 것으로 越冬前 生育初期의 乾物重 增加에서 多肥區와 少肥區의 차이가 크게 나타났다. 地上部乾物重의 증가는 播種後 86일경(12월 2일)에 최고치에 달한 것으로 보아 충청중서부 지역에서의 알팔파 생장은 11월말까지 이루어지고 그 이후는 생장이 멈추고 越冬에 들어가는 것으로 思料된다. 이때의 평균기온은 3~4℃이었다. 조사기간동안의 地上部乾物重에 의한 전체적인 生長曲線은 Sigmoid 生長曲線과 같은 경향을 보였다.

磷酸施肥量에 따른 생육단계별 根長은 播種後 30~44일경까지는 오히려 200kg/ha 시험구가 400kg/ha 시험구보다 길었으나 播種後 44일 이후 부터는 400kg/ha 시험구에서의 根長이 월등히 길게 나타났으며 전체 뿌리량도 많았다. 이런 결과는 磷酸施肥가 越冬前 알팔파의 根계를 강화시켜 주어 정착에 좋은 것으로 思料되며 Ball과 Teneyck(1980)이 磷酸을 增施함으로서 根계가 강화되었다는 보고와 일치하였다. 根長이 제일 긴 시기는 播種後 72일경(11월 18일)이었으며 기온이 갑자기 떨어진 播種後 79일경에는 根의 生長이 줄어들었다. 이런 결과는 알팔파에 있어서 氣溫의 영향은 地上部 生育보다 地下部 生育에 더 많은 영향이 미친 것으로 나타났다.

分枝數에 대한 磷酸施用效果는 地上部乾物重과 밀접한 관계가 있어 磷酸을 增施함에 따라 200kg/ha 시험구보다 400kg/ha 시험구가 많게 나타났으며 播種後 58일 이후 부터는 양 시험구의 分枝數 차가 크게 나타났다. 崔와 全(1994)의 弱酸性土壤에서 石灰와 磷酸施用이 알팔파의 生長 및 窒素固定에 미치는 影響에 대한 연구논문에서 地上部乾物重에 대한 石灰施用效果는 나타나지 않고 磷酸施用效果는 磷酸을 增施함에 따라 유의적으로 증가하였다고 하였는데 본 실험에서도 地上部乾物重에 대한 磷酸施用效果는 磷酸施用水準간 유의한 차가 있었으며 그 차는 分枝數가 증가함에 따라 크게 나타난 것으로 보아 播種初年度 월동전 알팔파의 地上部乾物重은 草長과 分枝數

중 어느 것이 더 상관성이 있는지는 차후 실험이 필요할 것으로 思料되었다.

알팔파에 있어서 Nitrogenase의 Activity는 Nodule mass와 Nodule number per plant와 밀접한 관계가 있다는 報告가 있는데(Jessen, 1984, Vinds 등, 1981) 본 실험에서의 Nodule 수는 磷酸施用水準間 별 차이가 없게 나타났으며 생육단계에 따라서도 그 수가 일정하지 못하고 減少와 增加를 반복하는 양상을 보였다. 이것은 알팔파에 있어서 根류의 형성은 온도에 영향을 많이 받아 20~25℃에서 根류형성이 제일 양호하다고 하였는데(Duke와 Doehler, 1981) 조사기간인 播種後 30일인 10월 7일 이후 부터는 충청중서부 지역의 平均氣溫이 表 1에서 보는 바와 같이 20℃ 이하였기 때문에 根류형성이 원활치 못한 것으로 思料되어진다. 특히 10월 말에서 11월초에는 기온이 10℃ 이하로 떨어진 시기로 Nodule 수가 급속히 減少함을 보여주었다. 이런 결과는 崔와 全(1994)의 磷酸施用에 따른 根류의 乾物重이 증가하였다는 報告와 상반된 것으로 播種 및 調査時期가 다르기 때문에 根류형성에 미치는 기온의 차에서 온 결과라고 思料된다.

2. 粗蛋白質含量

磷酸施用水準間 粗蛋白質含量을 잎, 줄기 및 뿌리로 나누어 본 것은 表 3에서 보는 바와 같이 잎, 줄기 및 뿌리 모두 播種後 44일과 72일경에 높았고 잎에서 播種後 72일을 제외하고는 磷酸施用水準間에는 有意的인 차이가 나타나지 않았다.

崔와 全(1994)은 알팔파의 복과종 실험에서 播種後 7주에서는 地下部 및 地上部の 전질소함량에 대한 磷酸施用效果는 나타나지 않았고, 播種後 12주에서는 磷酸을 增施함으로서 地上部 전질소함량은 감소하였고 地下部 전질소함량은 차이가 나타나지 않는다고 하였으나 본 실험에서의 잎의 粗蛋白質含量은 기온이 낮은 播種後 86일과 93일을 제외하고는 400kg 시험구가 200kg/ha 시험구보다 증가하였으며 줄기와 뿌리에서는 생육단계에 따라 磷酸施用水準間 차이가 나타나지 않았다. 이와 같이 잎에서 多肥區가 粗蛋白質含量이 높은 것은 잎과 줄기를 합한 地上部の 粗蛋白質含量을 조사한 것이 아니고 부위별로 조사한 것으로 多肥區의 잎과 줄기의 비율 차이에서 오는 것으로 思料되어진다.

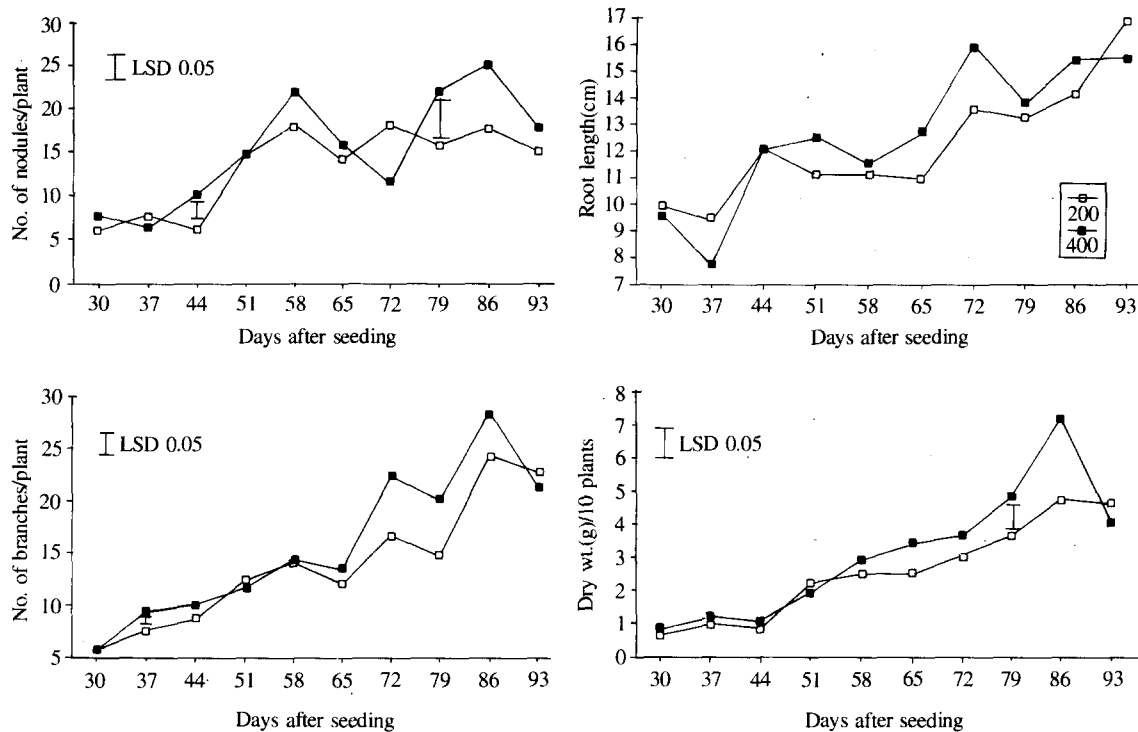


Fig. 1. Change of growth characteristics with two different phosphorous levels(kg /ha) at different growing stages.

Table 3. Crude protein content with two different phosphorous levels at different growing stages

Part	P ₂ O ₅ level (kg/ha)	Days after sowing								
		44	51	58	65	72	79	86	93	
Leaf	200	36.05	31.39	28.07	29.37	30.52	29.51	29.30	28.53	
	400	37.72	33.30	29.04	31.32	33.29	29.63	29.03	28.15	
	LSD .05	NS	NS	NS	NS	2.65	NS	NS	NS	
Stem	200	22.92	21.03	18.30	21.72	24.07	24.67	22.79	24.27	
	400	22.16	20.08	18.69	20.71	23.86	22.98	22.02	23.51	
	LSD .05	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
Root	200	21.04	15.17	16.38	17.98	18.78	18.48	18.17	18.44	
	400	20.65	18.14	16.23	16.72	19.10	17.22	17.54	18.87	
	LSD .05	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

3. 뿌리 乾物重 및 窒素固定能

磷酸施用水準別 뿌리의 乾物重 및 아세틸렌환원력에 의한 窒素固定력을 측정된 것은 表 4와 같다.

Nitrogenase의 Activity는 Nodule mass와 Nodule number per plant의 증가에 의하여 높일 수 있으며 (Jessen, 1984; Vinds 등, 1981) Nodule mass는 뿌리의

측지 및 섬유근 증가에 의하여 증가된다는 報告가 있어(Barnes 등, 1984) 磷酸水準에 따른 뿌리의 乾物重을 조사한 바는 播種後 30~51일 사이에는 200kg 시험

구와 400kg/ha 시험구간에 차가 나타나지 않았으나 播種後 51일 이후 부터는 磷酸을 增施한 400kg/ha 시험구에서 뿌리의 乾物重이 증가하였다.

Table 4. Dry weight of root and amount of N₂-fixation with two different phosphorous levels at different growing stages

	P ₂ O ₅ level (kg/ha)	Days after sowing									
		30	37	44	51	58	65	72	79	86	93
Root (DMg/10 plant)	200	0.20	0.25	0.24	0.56	0.82	0.87	1.10	1.44	1.68	1.86
	400	0.15	0.27	0.21	0.51	0.85	1.00	1.31	1.69	2.29	1.36
N ₂ -fixation (nmol/plant/ha)	200	20.1	89.9	29.2	193.5	1,465.1	743.6	1,645.0	731.1	1,171.2	1,086.0
	400	34.3	276.4	585.1	446.3	1,706.1	1,161.1	698.5	662.8	955.2	629.5
Calculated amount	200	0.03	0.09	0.03	0.21	1.67	0.83	1.84	0.81	1.47	1.31
N ₂ -fixed(kg/ha/day)	400	0.04	0.30	0.65	0.49	1.91	1.40	0.78	0.69	1.07	0.70

磷酸施用水準間 아세틸렌 환원력은 播種後 30~65일까지는 磷酸施用效果가 커서 400kg/ha 시험구가 200kg/ha 시험구 보다 높게 나타났으며 平均氣溫이 갑자기 10℃이내로 떨어진 播種後 58~65일 사이엔 두 시험구 모두 아세틸렌 환원력이 급속히 감소함을 보여주었다. 播種後 65일 이후부터의 아세틸렌 환원력은 오히려 200kg/ha 시험구가 400kg/ha 시험구 보다 높은 傾向이었다. 이런 결과로 보아 알팔파에 있어서 磷酸施用效果는 온도가 높으면 磷酸을 增施함으로써 아세틸렌 환원력이 높아지지만 온도가 낮은 상태에서는 이미 生長된 地上部 및 地下部の 生存을 유지하기 위한 에너지 소모와 磷酸의 不吸收로 오히려 多肥區보다는 少肥區에서 아세틸렌 환원력이 높아지는 것으로 思料되어진다. 平均氣溫이 3~4℃로 떨어진 播種後 79일 이후부터는 두 시험구 모두 아세틸렌 환원력이 급속히 감소하였는데 이는 알팔파에 있어서 5~10℃ 이하의 저온에서는 窒素固定의 감소가 있었다는 報告(Bulen과 Le Comete, 1966)와 일치하였다.

아세틸렌 환원력에 의해 환산한 窒素固定量은 400kg 시험구에서는 播種後 58일경에 하루에 ha당 1.91kg으로 200kg/ha 시험구에서는 播種後 72일경에 1.84kg으로 최고치를 보였다. 이 량은 알팔파의 窒素固定力이 가장 왕성한 온도가 20~25℃(Duke와

Doehler, 1981)임을 감안한다면 상당히 많은 것으로 생각되어진다.

IV. 摘 要

본 실험은 우리나라 中西部 지역인 충청지역에서의 磷酸施肥量에 따른 越冬前 播種初年度에 알팔파의 生育特性, 粗蛋白質含量 및 窒素固定能을 究明하기 위하여 실시되었다. 實驗設計는 磷酸施肥量을 ha당 200kg과 400kg을 난괴법 3반복으로 공주대학교 산업과학대학 실험포장에서 수행하였으며 播種 한달 후인 10월 7일부터 12월 9일까지 1주일 간격으로 10회에 걸쳐 調査하였다. 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 磷酸施肥量에 따른 알팔파의 越冬前 生育에서 地上部乾物重, 根長 및 分枝數는 磷酸施用效果에 차이가 있어 200kg 시험구보다 400kg/ha 시험구가 더 增加하였으나 Nodule수에서는 근류형성에 너무 낮은 온도로 인하여 磷酸施用水準間에 차이가 없었다.

2. 잎, 줄기 및 뿌리의 磷酸施用水準에 따른 粗蛋白質含量은 잎에서 播種後 72일경에 400kg/ha 시험구에서 增加한 것을 제외하고는 모두 磷酸施用水準間에는 有意의인 차이가 없었으며 播種後 44일과 72일경에는 磷酸施用水準에 관계없이 모든 부위에서 높게

나타났다.

3. 越冬前 播種初年度 알팔파의 뿌리 乾物重은 播種後 30~51일 사이에는 磷酸施用水準間 차가 없었고 播種後 51일 이후 부터는 磷酸을 增施한 400kg/ha 시험구에서 增加하였다.

4. 磷酸施用水準間 아세틸렌 환원력 및 窒素固定量은 播種後 30~65일까지는 磷酸施用效果가 커서 400kg 시험구에서 增加하였으며 기온이 떨어진 65일 이후부터는 오히려 200kg/ha 시험구에서 높게 나타났다.

V. 引用文獻

1. Ball, J.A. and G. Teneyck. 1980. Top management of irrigated alfalfa produces top yields. Better Crops Plant Food 64:16-19.
2. Barnes, D.K., G.H. Heichel, C.P. Vance and W.R. Ellis. 1984. A multiple-trait breeding program for improving the symbiosis for N₂ fixation between *Medicago sativa* L. and *Rhizobium meliloti*. Plant Soil 82:303-314.
3. Bulen, W.A. and J.R. Le Comte. 1966. The nitrogenase system from *Azotovacter* two enzyme requirement for N₂ reduction, ATP-dependent H₂ evolution, and ATP-hydrolysis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 56:979-986.
4. Burton, J.C. 1972. Nodulation and nitrogen fixation in alfalfa. p. 229-246. In C.H. Hansen(ed) Alfalfa Science and Technology. Agronomy 15:229-246.
5. Chatt, J. 1976. Nitrogen fixation. Future prospects. Proceeding No. 155. Fertilizer Soc. of London.
6. 崔震龍, 金正教, 賓營鎬. 1980. Effects of two different rhizobium strains on nodulation and growth of lucerne in an acid soil. 韓作誌. 25(2):38-48.
7. 崔基春, 全宇福. 1994. 弱酸性 土壤에서 石灰와 磷酸施用이 Alfalfa의 生長 및 窒素固定에 미치는 影響. 韓草誌 14(2):88-92.
8. Collins, M. and S.H. Duke. 1981. Influence of potassium-fertilization rate and form of photosynthesis and N₂ fixation on alfalfa. Crop Sci. 21:481-485.
9. Crocker, G.J., K.P. Sheridan and I.C.R. Holford. 1985. Lucerne responses to lime and interactions with other nutrients on granitic soils. Aust. J. Exp. Agric. 25:337-346.
10. Duke, S.H. and D.C. Doehlert. 1981. Root respiration, nodulation and enzyme activities in alfalfa during cold acclimation. Crop Sci. 21:489-495.
11. Feigenbaum, S. and K. Mengel. 1979. The effect of reduced light intensity and suboptimal potassium supply on N₂ fixation and N turnover in Rhizobium in infected lucerne. Physiol. Plant. 45:245-249.
12. Hardy, R.W.F., R.O. Holsden, E.J. Jackson and R.C. Burns. 1968. The acetylene-ethylene assay for nitrogen fixation; Laboratory and field evaluation. Plant Physiol. 43:1185-1207.
13. Heichel, G.H., C.P. Vance and D.K. Barnes. 1983. Symbiotic nitrogen fixation of alfalfa, birdsfoot trefoil and red clover. p. 336-339. In J.A. Smith and V.W. Hays(ed) Proc. 14th Int. Grassl. Congr. Westview Press, Boulder. Co.
14. Heichel, G.H., C.P. Vance and K.I. Henjum. 1985. Dinitrogen fixation and N and dry matter distribution during four year stands of birdsfoot trefoil and red clover. Crop Sci. 25:101-105.
15. Jessen, D.L. 1984. Selection for activity of nitrogen and carbon assimilating enzymes in alfalfa (*Medicago sativa* L.) root nodules. Ph.D. thesis, Univ. of Minnesota, St. Paul.
16. 金昌柱, 金炳完. 1990. 대관령지역에 있어서 Alfalfa(*Medicago sativa* L.) 生産에 관한 연구. I. 硼素 및 石灰施用이 Alfalfa의 生育 및 收量에 미치는 影響. 韓畜誌 32(6):345-355.
17. 金東岩, 金吉洙, 朴天緒. 1969. 硼素의 施用이 Alfalfa의 生育 및 收量에 미치는 影響. 농시연보 12:75-82.
18. 金東岩. 1983. 飼料作物. 先進文化社. 서울.
19. 金東岩, 閔斗泓. 1988. 石灰施用 및 Rhizo-Kote에 의한 種子被覆이 Alfalfa의 定着, 殘存 및 收量에 미치는 影響. 韓畜誌 30(1):57-63.

20. 金武成, E.H. Jensen. 1987. 고온하窒素施肥가 근류균을接種한 Alfalfa의生育에 미치는影響에 대하여. 韓草誌 7(1):25-30.
21. 金熙敬, 金東岩, 曹武煥. 1991. Alfalfa의栽培에 관한研究. II. 石灰 및 구비의 사용과 근류균접종이初期生育, 뿌리혹 형성 및 乾物收量에 미치는影響. 韓草誌 11(3):145-152.
22. 李光會, 李浩鎮. 1981a. 근류균의接種方法 차이가 근류형성 및 Alfalfa의 幼苗生長에 미치는影響. 韓作誌 26(2):192-197.
23. _____, _____. 1981b. 酸性土壤에서의 근류균種子接種과 石灰施用이 Alfalfa의 初期生長에 미치는影響. 韓作誌 26(2):198-206.
24. 李錫河, 黃石重. 1993. 窒酸態窒素 供給이 알팔과의 뿌리혹 형성 및 葉中 Nitrate Reductase 활성에 미치는影響. 韓作誌 38(2):196-200.
25. 柳震彰, 尹錫權, 李容錫. 1974. 窒素施用量이 근류균 활동에 미치는影響. 韓土肥誌. 7:221-225.
26. Miller, R.W. and J.C. Sirois. 1982. Relative efficiency of different alfalfa cultivar - *Rhizobium meliloti* stain combinations for symbiotic nitrogen fixation. Appl. Environ. Microbiol. 43:764-768.
27. Munns, D.N. 1970. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture V. Calcium and pH requirements during infection. Plant Soil 32:117-119.
28. Munns, D.N. 1977. Mineral nutrition and the legume symbiosis. p. 353-391. In R.W.F. Hardy and A.H. Gibson(ed) A treatise on dinitrogen fixation, IV: Agronomy and ecology. John Wiley and Sons, New York.
29. 朴根濟, 崔基準, 李弼相, 金英鎮. 1995. Alfalfa-Grass 혼파초지에 대한 3요소 시비 연구. I. 窒素質 肥料의 施用水準이 alfalfa-grass 혼파초지의 乾物 및 養分收量에 미치는影響. 韓草誌 15(3): 169-174.
30. 朴 薰, 金武成, 權恒光. 1973. Alfalfa 品種別 生育 및 養分吸收에 대한 石灰 및 근류균의 接種效果. 韓土肥誌 6(4):245-251.
31. Sheaffer, C.C., G.J. Bradshaw and D.L. Massey. 1971. Phosphorus placement for the establishment of alfalfa and brome grass. Agron. J. 63:922-927.
32. Tesar, M.B., K. Lawton and B. Kawin. 1954. Comparison of band seeding and other methods of seeding legumes. Agron. J. 46:189-194.
33. Vance, C.P. 1978. Nitrogen fixation in alfalfa; An overview. p. 34-41. In Proc. 8th Annu. Alfalfa Symp.
34. Vinds, D.R., D.K. Barnes and G.H. Heichel. 1981. Nitrogen fixation in alfalfa: Response to bidirectional selection for associated characteristics. USDA Tech. Bull. 1643. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
35. Vinther, E.P. 1993. Biological nitrogen fixation(C_2H_2 -reduction) in a yellow medick(*Medicago lupulina* L.) pasture. Soil Sci. (Trends in Agril. Sci.) 1:217-224.
36. Witty, J.F. and F.R. Minchin. 1988. Nitrogen fixation by legumes in mediterranean agriculture. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 331-344.