

콩에서 분리한 근류균의 생리, 생화학적 특성

박기선 · 최재을*
충남대학교 농과대학 농학과

Physiological and Biochemical Properties of Isolates of Rhizobia from Soybean

Ki Sun Park and Jae Eul Choi*

Department of Agronomy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

ABSTRACT : Among 140 strains isolated from soybean (*Glycine max* L.) roots, 25 strains (17.9%) and 115 strains (82.1%) were identified as *Rhizobium fredii* and *Bradyrhizobium japonicum*, respectively. The pH for the survival of *R. fredii* ranged from 4.5 to 9.0 and for *B. japonicum* it was 5.5 to 8.0. Fifty-three strains (54%) of *B. japonicum* were classified to group GT I which could not produce indole-3-acetic acid (IAA) and 45 strains (46%) belonged to group GT II. *R. fredii* and *B. japonicum* strains could be divided into 13 biovars based on the acid productivity from carbon sources. These strains also could be divided into 10 groups based on the susceptibility to antibiotics.

Key words : *Rhizobium fredii*, *Bradyrhizobium japonicum*, indole-3-acetic acid, biovar, antibiotic resistance.

질소는 지구상의 대기권 중에 80% 이상을 차지하고 있지만 그 형태로서는 식물이 직접 이용할 수 없고, 화학적인 공정이거나 특정 미생물에 의해 결합태 질소로 전환되어야만 식물이 이용할 수 있다. 콩과 작물과 공생관계를 유지하면서 질소를 고정하는 근류균에 관심이 집중되어 있으며, 우량한 근류균을 개발, 콩과 작물의 질소고정 능력을 극대화시키기 위한 근류균 접종제의 개발 및 이용이 미국, 일본 등의 선진국에서 실용화되어 왔다.

질소고정균인 *Rhizobium*이 1888년 Beijerinck에 의하여 최초로 분리된 이후 콩과작물의 생물학적 질소고정에 관한 연구가 시작되었다(1). 콩과작물과 공생하는 근류균은 기주식물에 대한 친화성에 따라 *Rhizobium*속으로 분류되어 왔으나, 최근에는 yeast mannitol agar(YMA) 배지에서 증식이 빠르고 산을 생산하는 균을 *Rhizobium*속이라고 하고, 증식이 느리고 알칼리를 생산하는 것을 *Bradyrhizobium*속으로 분류하였으며, YM 배지에서 증식이 빠르고 산을 생산하는 것을 *R. fredii*, 증식이 느리고 알칼리를 생산하는 것을 *B. japonicum*으로 명명하였다(2, 3, 4, 7, 8, 9, 13, 16).

甯生 등(4)에 의하면, YMA 배지 상에서 생육 속도가 빠른 *Rhizobium*속은 기주 범위가 좁은데 반하여, 생육 속도가 느린 *Bradyrhizobium*속은 넓은 범위의 콩과식물의 뿌리에 공생하여 근류를 형성한다고 하였으며, *B. japonicum*속은 indole-3-acetic acid(IAA)의 생산 유무에 따라 IAA를 생산하지 않는 Genotype(GT) I과 IAA를 생산하는 Genotype(GT) II로 2개의 그룹으로 분류하였다(14). 우리 나라에 있어서의 근류균에 대한 연구는 1967년 작물시험장에서 수행한 근류균 접종효과 시험이 효시이며, 1970년대 중 후반에 들어서서는 근류균의 생태 연구, 질소고정 능력 측정 방법 및 질소 고정량에 관한 보고 등 연구 내용이 다양화되었다(10, 11). 1980년대 중 후반에 농촌진흥청과 과학기술원이 공동으로 우량균주 R214를 개발한 바 있으나 실용적으로 활용되지 못하고 있다. 이와 같은 현상은 개발된 우량균주에 대한 생리, 생화학적 특성이나 기주와의 친화성 및 기주의 유전적 특이성 등 기초적인 분야의 연구가 동시에 수행되지 못함에도 기인했다고 보며, 이와 같은 기초적인 문제점을 해결하기 위한 연구 노력이 요구되고 있는 시점이다.

따라서 본 연구는 대전 및 충남 지역에서 재배되고 있는 콩의 뿌리로부터 근류균을 분리하여 친화성을 통

*Corresponding author.

한 콩의 생육에 미치는 영향을 검토한 후 우량균주를 선별하기 위한 기초 자료를 얻고자 근류균의 생리, 생화학적 특성 등을 조사한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

근류의 채집 및 분리. 1991년부터 1993년까지 대전 근교와 충남 전역(공주군, 논산군, 당진군, 보령군, 부여군, 연기군, 예산군, 청양군 및 홍성군)에서 개화기 전후의 콩 뿌리로부터 모양이 양호한 근류균을 채집하였고, 채집한 근류균을 95% ethanol에 10 초간, 0.5% sodium hypochlorite 용액에서 2분간 침지한 다음, 멸균수로 세척하여 slide glass에 놓고, 멸균한 나이프로 중앙을 절개하고 백금으로 중심 부분을 가볍게 찍어 YMA(K_2HPO_4 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, NaCl 0.1 g, mannitol 10.0 g, yeast extract 2.0 g, agar 15.0, distilled water 1 L, pH 6.8) 배지에 도말하여 28°C에서 배양하였다. 진탕배양은 YMA 배지에서 agar를 제외한 YM 배지에 근류균을 접종하여, 28°C, 127 rpm 조건에서 수행하였다. 균주는 YMA 사면배지에 증식시킨 후, 액체 paraffin을 3 cm 정도 증층하여 4°C에 보존하였으며, CRS 균주 번호는 분리된 순서에 따라 표기하였다.

근류균의 증식속도 및 최적 pH. 근류균의 증식속도를 측정하기 위하여 250 ml 삼각 플라스크에 100 ml의 YM배지를 넣고, 1 ml의 前배양액을 접종한 후, 28°C, 127 rpm으로 진탕배양하여 시간별로 흡광도(660 nm)를 측정하였고, 총 균수와 흡광도 사이의 상관관계 값에 의하여 작성한 표준곡선으로 증식속도를 조사하였다. 근류균의 증식 최적 pH를 조사하기 위하여 pH가 다른 5 ml의 YM배지에 근류균을 접종하여 28°C, 127 rpm으로 진탕 배양하면서 1~7일 후에 흡광도(660 nm)를 측정하였다.

당으로부터 산생성. 근류균의 산생성 유무를 조사하기 위하여 bacto-peptone(10 g/L)과 bromothymol blue(0.03 g/L)를 첨가한 YM배지(pH 7.0)에 diethyl ether로 멸균시킨 arabinose, glucose, galactose, mannose, rhamnose를 각각 1%가 되도록 첨가하고, 각각의 배지에 근류균을 접종하여 28°C에서 7일간 배양한 후, 배지의 색을 관찰하였다.

IAA 생산성 검정. 근류균의 indole-3-acetic acid (IAA) 생산 유무를 조사하기 위하여, YMA 배지상에서 배양한 single colony를 6 ml의 Tris-YMRT 배지(Tris-HCl 1.21 g, L-tryptophan 0.3 mM, mannitol 10.0 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.15 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 g, yeast extract 0.20 g, casamino acid 1.0 g, distilled water 1 L, pH

6.8)에 접종하여 암소에서 1주일간 배양하였다. 배양액은 5,000 rpm에서 10분간 원심시킨 다음 1 ml의 상정액을 취하여 IAA 반응시약인 Salkowski 용액(0.5 M $FeCl_2$ 와 35% $HClO_4$ 용액을 1:50의 체적비로 사용 전에 희석) 2 ml를 혼합한 후, 30°C에서 30분간, 암소에서 반응시켜 발색 여부(무색 또는 적색)를 조사하였다.

항생물질 내성 검정. 근류균의 항생물질 내성 검정은 kanamycin sulfate, streptomycin sulfate, vancomycin hydrochloride, ampicillin 및 novobiocin sodium salt를 농도별로 첨가한 YM배지에 접종하여 증식 유무를 조사하였다.

결과 및 고찰

생장속도 및 산 생산성에 의한 근류균의 동정. 대전 근교와 충남 지역에서 재배중인 콩 뿌리로부터 분리한 근류균 중에서 수경재배를 통하여 발아 15일 후의 콩에 접종하여 뿌리혹을 형성한 140 균주의 생육 특성을 YMA 배지에서 조사한 결과, YMA 배지에서 1~2일 이내에 colony가 형성되는 균주가 25 균주, 3일 이후에 colony가 형성되는 균주가 115 균주로 분류되었다(Table 1). 생육이 늦은 115균주 중 3~4일 사이에 증식한 근류균은 17개이었고, 5~7일 사이에 증식된 근류균은 98개로 나타났다. YMA 배지에 bromothymol blue 0.4% 용액을 넣어 만든 YMBA(pH 7.0)에 공시 근류균들을 증식시킨 결과, 산을 생성하여 배지의 색이 노란 색으로 반응된 근류균은 25 균주이었고, 산을 생성하지 않아 청색으로 남아 있는 근류균은 115 균주로 나타나 증식속도와 YMBA 배지에서 산 생성과는 일치하였다. 즉 1~2일 이내에 YMA 배지에서 colony를 형성하는 균주는 YMBA에서 산을 생성하였으며, 3~7일 후에 colony가 형성하는 균주는 산을 생성하지 않았다. 생육속도가 빠르며 산을 생산하는 근류균은 *R. fredii*, 생육속도가 느리며 알칼리를 생산하는 근류균은 *B. japonicum*으로 Elkan(3, 8)의 명명한 방법에 의하여 조사하여 본 결과 25 균주는 *R. fredii*, 115 균주는 *B. japonicum*으로 동정되었다.

임의로 9 균주를 YM배지 상에서 배양을 시킨 후, 660 nm의 흡광도로 균의 성장 곡선을 표시한 결과는 Fig. 1과 같다. *R. fredii*에 속하는 CRS91, CRS118, CRS133 균주들은 6시간부터 생육이 시작되어 접종 1일 후에 OD값이 1.13, 0.98 및 1.19로 매우 빠른 성장을 보였으며, *B. japonicum*에 속하는 CRS41, CRS46, CRS49, CRS76, USDA110 균주 등은 생육이 매우 느려서 접종 5일 후에 OD값이 각각 1.05, 0.70, 1.10,

Table 1. Identification of rhizobial isolates by growth rate and acid production on YMBA medium

Strain	Growth rate	Acid production	Identification	Strain	Growth rate	Acid production	Identification
CRS1	+	B ^b	B ^c	CRS51	+	B	B
CRS2	++	B	B	CRS52	+	B	B
CRS3	+	B	B	CRS53	+	B	B
CRS4	++	B	B	CRS54	+	B	B
CRS5	+	B	B	CRS55	+	B	B
CRS6	++	B	B	CRS56	+	B	B
CRS7	+	B	B	CRS57	+	B	B
CRS8	+++	Y	R	CRS58	++	B	B
CRS9	+	B	B	CRS59	+	B	B
CRS10	+++	Y	R	CRS60	+++	Y	R
CRS11	++	B	B	CRS61	+++	Y	R
CRS12	+	B	B	CRS62	+++	Y	R
CRS13	+++	Y	R	CRS63	+++	Y	R
CRS14	+	B	B	CRS64	+++	Y	R
CRS15	+++	Y	R	CRS65	+++	Y	R
CRS16	+	B	B	CRS66	+	B	B
CRS17	+	B	B	CRS67	++	B	B
CRS18	++	B	B	CRS68	+	B	B
CRS19	+	B	B	CRS69	+	B	B
CRS20	+	B	B	CRS70	++	B	B
CRS21	+	B	B	CRS71	+	B	B
CRS22	+	B	B	CRS72	+	B	B
CRS23	+	B	B	CRS73	++	B	B
CRS24	+	B	B	CRS74	++	B	B
CRS25	+	B	B	CRS75	+++	Y	R
CRS26	+++	Y	R	CRS76	++	B	B
CRS27	+	B	B	CRS77	+	B	B
CRS28	+	B	B	CRS78	+	B	B
CRS29	+++	Y	R	CRS79	+	B	B
CRS30	+	B	B	CRS80	+	B	B
CRS31	+	B	B	CRS81	+	B	B
CRS32	+	Y	B	CRS82	+	B	B
CRS33	+	B	B	CRS83	+	B	B
CRS34	+	B	B	CRS84	+	B	B
CRS35	+	B	B	CRS85	+	B	B
CRS36	+	B	B	CRS86	+++	Y	R
CRS37	+	B	B	CRS87	+++	Y	R
CRS38	+	B	B	CRS88	+	B	B
CRS39	+	B	B	CRS89	+++	Y	R
CRS40	+	B	B	CRS90	+++	Y	R
CRS41	+	B	B	CRS91	+++	Y	R
CRS42	+	B	B	CRS92	+++	Y	R
CRS43	+	B	B	CRS93	+++	Y	R
CRS44	+	B	B	CRS94	++	B	B
CRS45	+	B	B	CRS95	+	B	B
CRS46	+	B	B	CRS96	+	B	B
CRS47	+	B	B	CRS97	+	B	B
CRS48	+	B	B	CRS98	+	B	B
CRS49	+	B	B	CRS99	+	B	B
CRS50	+	B	B	CRS100	+	B	B

Table 1. Continued

Strain	Growth rate	Acid production	Identification	Strain	Growth rate	Acid production	Identification
CRS101	+	B	<i>B</i>	CRS121	+	B	<i>B</i>
CRS102	+	B	<i>B</i>	CRS122	++	B	<i>B</i>
CRS103	++	B	<i>B</i>	CRS123	+	B	<i>B</i>
CRS104	+	B	<i>B</i>	CRS124	+	B	<i>B</i>
CRS105	+	B	<i>B</i>	CRS125	+	B	<i>B</i>
CRS106	+	B	<i>B</i>	CRS126	++	B	<i>B</i>
CRS107	+	B	<i>B</i>	CRS127	+	B	<i>B</i>
CRS108	+	B	<i>B</i>	CRS128	+++	Y	<i>R</i>
CRS109	+	B	<i>B</i>	CRS129	+	B	<i>B</i>
CRS110	+	B	<i>B</i>	CRS130	++	B	<i>B</i>
CRS111	+	B	<i>B</i>	CRS131	+	B	<i>B</i>
CRS112	+	B	<i>B</i>	CRS132	+	B	<i>B</i>
CRS113	++	B	<i>B</i>	CRS133	+++	Y	<i>R</i>
CRS114	+	B	<i>B</i>	CRS134	+	B	<i>B</i>
CRS115	+	B	<i>B</i>	CRS135	+	B	<i>B</i>
CRS116	+	B	<i>B</i>	CRS136	+	B	<i>B</i>
CRS117	+++	Y	<i>Y</i>	CRS137	+	B	<i>B</i>
CRS118	+++	Y	<i>Y</i>	CRS138	+	B	<i>B</i>
CRS119	+	B	<i>B</i>	CRS139	+++	Y	<i>R</i>
CRS120	+	B	<i>B</i>	CRS140	+	B	<i>B</i>

- ^a + : Colony appeared after 5~7 days of inoculation on YMA medium. ++ : Colony appeared after 3~4 days. +++ : Colony appeared after 1~2 days.
- ^b B : Color was changed to yellow when the strains produced acid on YMBA plates, whereas color was not changed when the strains produced alkali (B : blue, Y : yellow).
- ^c B and R indicate *Bradyrhizobium* and *Rhizobium*, respectively.
- ^d USDA : United States Department of Agriculture.

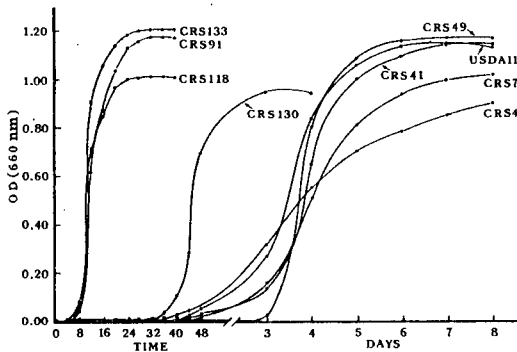


Fig. 1. Growth curves of rhizobial isolates in yeast extract (YM) broth medium.

0.88과 1.03으로 나타나서 YM 배지 상에서의 증식속도와 일치하였다.

근류균의 생육 pH. 근류균의 생육 최적 pH를 YM배지에서 조사한 결과는 Table 2와 같다. 배지의 pH가 3.5일 때에는 공시한 모든 근류균이 증식을 하

지 못하였으며, 4.0에서는 CRS86, CRS133 균주가 약간 증식하였을 뿐 다른 균주에서는 증식을 하지 못하였다. pH 4.5에서는 CRS86, CRS133 균주는 OD값이 1.0 이상으로 정상적인 증식을 보였으나 CRS49, CRS140, CRS76 균주는 약간 증식하였고 CRS41, CRS138, USDA110은 전혀 증식하지 못하였다. 또한 pH 5.0 이상에서는 공시한 모든 근류균의 증식이 가능한 것으로 나타났으나 USDA110 균주는 pH 5.0에서 미미한 증식을 하였다. 대부분의 근류균은 pH 5.5와 8.5 사이에서 증식이 양호한 것으로 나타났으며 그 중에서도 pH 6.5~8.0 사이에서 생육이 가장 양호하였다. 그러나 pH 9.0에서는 CRS41과 USDA110 균주는 증식이 불가능한 것으로 나타났다. *R. fredii*에 속하는 CRS86, CRS133 균주는 pH 4.0에서, *B. japonicum*에 속하는 CRS49, CRS140, CRS76은 4.5 이상에서 증식이 가능하였으나, CRS41 과 USDA110은 4.5에서 증식하지 않았다. 또한 CRS41, CRS138, USDA110은 pH 9.0에서 증식하지 못하거나 미미하게 생육하였다. 이러한 결과는 콩 근류균에 있어서 전형적인 fast

Table 2. Effect of initial pH on growth of rhizobia^a

Strains	pH of YM broth											
	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
CRS41(<i>B.j.</i>) ^b	- ^c	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
CRS49(<i>B.j.</i>)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRS86(<i>R.f.</i>)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRS133(<i>R.f.</i>)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRS138(<i>B.j.</i>)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRS140(<i>B.j.</i>)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
USDA76(<i>B.j.</i>)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
USDA110(<i>B.j.</i>)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

^a Rhizobia strains were cultured on YM broth medium and growth rates were determined by turbidity at 660 nm.

^b (*B.j.*) : *B. japonicum*, (*R.f.*) : *R. fredii*.

^c + : growth, - : no growth.

Table 3. Identification of biovars of rhizobial isolates by the acid production on various carbon sources

Biovar	Ara. ^a	Glu.	Man.	Gal.	Rha.	Strains
1	+ ^b	+	+	+	+	CRS106, CRS117, CRS119, USDA110, USDA122
2	+	-	+	+	+	CRS47
3	+	+	+	-	-	CRS54, CRS66
4	-	+	+	+	-	CRS131, CRS132
5	+	+	-	-	-	CRS55
6	+	-	+	-	-	CRS110
7	+	-	-	+	-	CRS23
8	-	+	-	+	-	CRS113
9	-	-	-	+	+	CRS15
10	+	-	-	-	-	CRS27, CRS36, CRS41, CRS104, CRS105, CRS109, USDA94
11	-	+	-	-	-	CRS133
12	-	-	+	-	-	CRS42
13	-	-	-	-	-	CRS1, CRS5, CRS6, CRS7, CRS10, CRS12, CRS13, CRS16, CRS17, CRS20, CRS28, CRS34, CRS35, CRS45, CRS46, CRS49, CRS50, CRS51, CRS57, CRS63, CRS68, CRS69, CRS71, CRS78, CRS86, CRS87, CRS90, CRS101, CRS108, CRS115, CRS120, CRS121, CRS123, CRS124, CRS126, CRS127, CRS128, CRS129, CRS130, CRS134, CRS135, CRS136, CRS137, CRS138, CRS140

^a Abbreviations for carbon sources are as follows; Ara. : Arabinose, Glu. : Glucose, Man. : Mannose, Gal. : Galactose, Rha. : Rhamnose.

^b + : positive, - : negative.

growth 균주는 slow growth 균주보다도 산에 예민하고 알칼리에서 생육이 가능하다고 보고(5, 15)한 바 있으나 본 실험에서는 산에 있어서도 생육이 더 양호한 균주가 발견되어, 다른 연구자의 결과와 상반되었다. 한편 이(6)에 의하면 우리 나라 밭 토양의 산도가 전체의 34.1%에 해당하는 면적이 pH 5.0~5.4이고 약 70%는 pH 5.9 이하로서 산성이 높은 경향 이어서, 토양 pH가 근류균의 생장에 영향을 미치는 것으로 생각되므로 효율적인 콩의 접종제로 사용하기 위해서는 넓은 pH 범위에서 생육이 양호한 근류균일수록 유리하

다고 생각한다.

당 이용성에 의한 근류균의 biovar 분류. 공시한 근류균들의 탄소원 이용성에 따라 근류균을 분류하면 Table 3과 같이 다양한 양상을 나타냈다. 5종류의 당을 모두 이용하는 biovar 1에 속하는 균주는 CRS106, CRS117, CRS119, USDA110, USDA122, arabinose, galactose, mannose, rhamnose를 이용하는 biovar 2에 속하는 균주는 CRS47, arabinose, glucose, mannose, rhamnose를 이용하는 biovar 3에 속하는 균주는 CRS 54, CRS66 이었으며, 5종류의 당을 모두 이용하지 않

는 biovar 13에 속하는 균주는 CRS1를 비롯하여 45균 주이었다. Keyser 등(9)은 전형적인 fast growth 균주는 slow growth 균주보다 다양하게 당을 이용한다고 하였고, Graham(5)은 slow growth 균주는 대사계가 결핍되어 이당류를 이용할 수 없다고 보고하였으나 본 실험에서는 *R. fredii*, *B. japonicum* 균간에 뚜렷한 경향이 없이 균주에 따라 당의 이용성이 달랐다. 이러한 차이는 앞으로 많은 균주를 사용하여 검토를 요한다고 생

각된다.

Indole-3-acetic acid(IAA) 생성 유무에 의한 근류균의 분류. *B. japonicum*에 속하는 98 균주(생육속도가 5일 이상)에 대하여 IAA 생성 유무를 조사한 결과는 Table 4와 같다. Minamisawa(15)가 *Bradyrhizobium*속 내의 균주를 IAA 생산 유무에 따라 IAA를 생산하지 않는 GT I, IAA를 생산하는 균주를 GT II로 분류한 방법에 따라 공시 균을 분리한 결과 IAA를 생산하여

Table 4. IAA production by the *Bradyrhizobium* species in Tris-YMRT broth

IAA	Group	Strains
- ^a	GT I	CRS3, CRS7, CRS10, CRS13, CRS15, CRS16, CRS22, CRS23, CRS24, CRS25, CRS27, CRS31, CRS33, CRS34, CRS35, CRS36, CRS37, CRS38, CRS39, CRS41, CRS42, CRS46, CRS47, CRS52, CRS53, CRS54, CRS55, CRS56, CRS57, CRS68, CRS69, CRS77, CRS96, CRS98, CRS99, CRS101, CRS102, CRS104, CRS105, CRS106, CRS107, CRS108, CRS109, CRS110, CRS111, CRS112, CRS113, CRS115, CRS116, CRS127, CRS132, CRS138, USDA110, USDA122
+	GT II	CRS1, CRS5, CRS17, CRS19, CRS20, CRS21, CRS28, CRS30, CRS32, CRS40, CRS43, CRS44, CRS45, CRS48, CRS49, CRS50, CRS51, CRS59, CRS66, CRS71, CRS72, CRS78, CRS79, CRS80, CRS81, CRS82, CRS83, CRS84, CRS85, CRS88, CRS95, CRS97, CRS100, CRS119, CRS120, CRS121, CRS123, CRS124, CRS125, CRS131, CRS134, CRS135, CRS136, CRS137, CRS140, USDA76, USDA94

^a + : IAA production by the strains, - : No IAA production by the strains.

Table 5. Grouping of the rhizobial isolates by antibiotic resistance

Group	Antibiotics					<i>R. fredii</i>	<i>B. japonicum</i>
	Kana. ^a	Strep.	Vanc.	Amp.	Nov.		
1	+ ^b	+	+	+	+	CRS117	CRS1, CRS5, CRS6, CRS12, CRS17, CRS20, CRS28, CRS45, CRS49, CRS50, CRS51, CRS66, CRS71, CRS78, CRS119, CRS121, CRS123, CRS124, CRS126, CRS127, CRS129, CRS131, CRS132, CRS134, CRS135, CRS136, CRS137, CRS140, USDA76
2	+	-	+	+	+	CRS86, CRS89, CRS90	CRS7, CRS10, CRS27, CRS34, CRS35, CRS36, CRS42, CRS46, CRS47, CRS68, CRS69, CRS104, CRS105, CRS106, CRS108, CRS109, CRS110, CRS115, CRS138
3	-	+	+	+	+	CRS63, CRS128, CRS133	CRS16, CRS23, CRS41, CRS102,
4	-	-	+	+	+		CRS130
5	+	+	-	-	+		CRS113
6	+	-	+	-	+		USDA94
7	+	-	-	-	+		CRS55
8	+	-	+	-	-		USDA110
9	-	-	+	-	+		CRS13, CRS15, CRS54, CRS57
10	-	-	-	-	-		USDA122

^a Kana. : Kanamycin (25 ppm), Strep. : Streptomycin (100 ppm), Vanc. : Vancomycin (10 ppm), Amp. : Ampicillin (50 ppm), Nov. : Novobiocin (10 ppm).

적색을 나타내는 GT I의 근류균은 53 균주(54%)이었고, IAA를 생산하지 않아 무색을 나타내는 GT II의 근류균은 45 균주(46%)로 나타났으나 수집한 지역간에는 뚜렷한 차이가 없었다.

근류균의 항생물질 내성에 의한 분류. 근류균의 항생물질 내성에 따라 10 종류의 group으로 나누어졌다(Table 5). 공시한 항생물질 전부에 대하여 내성을 보인 1 group에 속하는 균주중 *Rhizobium*속은 CRS 117 균주 뿐이고 그 밖의 29 균주는 *B. japonicum*내의 IAA를 생산하는 GT II group에 속하는 균주이었으며, 2 group은 IAA를 생산하지 않는 GT I group에 속하는 균주로 나타났다. 또한 3 group에 속하는 CRS86, CRS89, CRS90 균주는 *R. fredii* 균주 뿐이었고 그 밖의 5, 6, 7, 8, 9, 10 group에서는 USDA94 균주를 제외하고 모두가 *B. japonicum* 중에서 GT I group에 속하였다. 또한 분류된 균의 특성에 비추어 볼 때 *R. fredii*에서는 kanamycin에서 CRS117균주를 제외하고 모든 균주가 감수성을 보인 반면, vancomycin, ampicillin, novbiocin에 대해서는 대부분이 항생제 내성을 갖고 있었다.

요 약

콩으로부터 분리한 140균주의 근류균은 25균주(17.9%)가 *Rhizobium fredii*로 115 균주(82.1%)가 *Bradyrhizobium japonicum*으로 동정되었다. *R. fredii*에 속하는 분리 균주의 생존 pH 범위는 4.5~9.0이었고 *B. japonicum*의 생육 pH 범위는 5.5~8.0로 비교적 좁게 나타났다. *B. japonicum*에 속하는 98균주 중에서는 53균주(54%)가 IAA를 생산하지 않는 GT I group으로, 45균주(46%)는 IAA를 생산하는 GT II group으로 명확하게 구분되었다. 당 이용성에 따라 13종류의 biovar가 구분되었으며, 항생물질에 대한 내성 유무에 의해 10개의 group으로 구분되었다.

참고문헌

- Burns, R. C. and Hardt, R. W. F. 1975. *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plant*. Springer-Verlag. 189pp.
- Dowdle, S. F. and Bohlool, B. B. 1985. Predominance of fast-growing *Rhizobium japonicum* in a soybean field in the People's Republic of China. *Appl. Env. Microbiol.* 50 : 1171-1176.
- Elkan, G. H. 1984. Taxonomy and metabolism of *Rhizobium* and its genetic relationships. In: *Biological Nitrogen Fixation, Ecology, Technology and Physiology*, pp. 1-38, ed. by M. Alexander. Plenum Press, New York.
- 蒲生卓磨. 1988. マメ科根粒菌の分類. 農及園 63 : 769-774.
- Graham, P. H. 1963. Antigenic affinities of the root-nodule bacteria of legumes. *J. Microbiol. Serol.* 29 : 281-291.
- 한기학, 오재성. 1964. 우리나라 경지의 pH에 관하여. 농진청 농시연보 7 : 13-9148.
- Jordan, D. C. 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32 : 136-139.
- Jordan, D. C. 1984. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9th ed., Vol. 1. Williams and Wilkins, Baltimore/London.
- Keyser, H. H., Bohlool, B. B., Hu, T. S. and Weber, D. F. 1982. Fast-growing rhizobia isolated from root nodules of soybean. *Science* 215 : 1631-1632.
- 金昌鎮, 李潤, 金聖勳, 俞益東, 閔泰益. 1986. 大豆品種과 選拔 *Rhizobium japonicum*간의 宿主親和性. 韓國土壤肥料學會誌 19 : 345-350.
- 金奭東. 1989. 콩의 效率的인 生産을 위한 根瘤菌利用. 韓國콩硏究會誌 6 : 9-21.
- 金聖烈, 崔宇永. 1978. 완두 및 대두根瘤菌의 分離 및 窒素固定能力的 比較. 忠南大 農技研報 5 : 136-144.
- 南澤 究. 1989. 根粒菌의 同定技術. 農及園 64 : 1203-1210.
- Minamisawa, K. and Fukai, K. 1991. Production of indol-3-acetic acid by *Bradyrhizobium japonicum*: A correlation with genotype grouping and rhizobitoxin production. *Plant Cell Physiol.* 32 : 1-9.
- 尹漢大, 趙武濟, 李啓瑚. 1987. 大豆 根瘤菌의 分離 및 特性. 韓國農化學會誌 30 : 153-162.
- 梅谷獻二. 加藤肇. 1990. 農業有用微生物-その利用と展望-. 養賢堂. 東京. 592pp.

1. Burns, R. C. and Hardt, R. W. F. 1975. *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plant*. Springer-Ver-