

논 토양 인산가용화세균에 대한 개량제 시용효과

서장선 · 노형준 · 권장식

농촌진흥청 국립농업과학원

Effects of Amendments on the Phosphate-solubilizing Bacteria in Rice Paddy Soils

Jang-Sun Suh,* Hyung-Jun Noh, and Jang-Sik Kwon

National Academy of Agricultural Science, RDA Suwon 441-707, Korea

Phosphate solubilized by microbes can be easily absorbed by plant as the element diffuses into soil solution. The microbes related to phosphate solubilizing activity are affected by the soil amendments such as rice straw compost, and lime. This study was performed to evaluate the effect of amendments to phosphate solubilizer in rice paddy soils. Available phosphate concentration was increased with the ratio of phosphate-solubilizing bacteria to aerobic bacteria in the rice paddy soils. The ratio was high in the plots applied with lime, silicate, and rice straw compost. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from the soil were *Aquaspirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* and *Micromonospora*, *Pseudomonas* species. The highest dominant bacterial species was *Pseudomonas*, and *Bacillus* was followed.

Key words : Paddy soil, Phosphate-solubilizing bacteria, Compost, Lime

서 언

토양은 물질 순환과 더불어 식량공급은 물론 생태계를 지속적으로 유지할 수 있게 해주는 중요한 기능을 보유하고 있다. 이러한 기능은 토양의 물리적 특성과 더불어 생물학적 특성 특히 미생물의 작용에 크게 의존한다. 농업생산성을 높이는 가장 중요한 방법 중의 하나가 토양 비옥도 향상이다. 특히 토양 인의 유효도는 무기화작용 및 고정화작용과 같은 생물학적 기능에 의해 크게 영향을 받는다. 토양에 들어있는 총 P는 대략 0.04-0.10%로 추산되지만 이들 인의 1.00-2.50%만이 식물에 흡수될 뿐 대부분의 인은 식물이 흡수할 수 없는 형태로 존재하며(Lin, 1990), 토양용액에 들어있는 농도는 100-400g P ha⁻¹에 불과하다(Wild, 1988). 생물학적 고정화 및 화학적 침전은 유효 인 공급을 고갈시켜 식물에 필요한 유효인산을 거의 남겨놓지 않지만, 많은 종류의 토양미생물은 유기산 분비 대사작용을 통하여 Ca-P 형태의 난용성 인산염을 용해할 수 있다. 미생물에 의해 분비되는 유기산은 인산염을 직접 녹이거나, 혹은 칼슘이온을 킬레이트화 하여 인을 가용화시키는 작용을 한다(Nautiyal et al., 2000).

인산가용화 미생물은 토양에 서식하는 전체 미생물의 몇 퍼센트에 지나지 않지만, 식물근권에서 많이 발견된다(Vassilev et al., 1997). Tricalcium phosphate, dicalcium phosphate, hydroxyapatite 및 rock phosphate 등과 같은 난용성 무기인산염을 가용화하는 세균에는 *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* 및 *Erwinia* 등이 있다(Rodriguez et al., 1999).

인산 가용화를 위해 미생물이 Ca-P와 직접적으로 접촉할 필요가 없는데, 이는 미생물에 의해 분비되는 유기산등의 물질에 의해 인산염이 가용화되어 토양용액 중으로 확산되기 때문이다. 본 연구는 이러한 관점에서 벅짚 퇴비, 석회, 규산 등의 개량제가 논 토양에 서식하는 인산가용화세균의 다양성에 미치는 영향을 구명하고자 수행되었다.

재료 및 방법

공시 토양 본시험은 경기도 수원시 권선구 서둔동에 위치한 작물과학원 포장시험 연구단지내의 1954년도에 조성된 시험포장을 대상으로 하였으며, 공시 토양의 유효토심은 보통이지만 투수성이 빠르고 배수가 약간 양호한 사양질인 강서통이었다. 퇴비 사용량은

접수 : 2008. 9. 1 수리 : 2008. 9. 30
*연락처 : Phone: +82312900369,
E-mail: suhjsun@rda.go.kr

완숙 볏짚 퇴비로서 7.5 Mg ha⁻¹이었으며, 기타성분은 작물 요구량을 기준으로 사용되었다(Yeon 등 2007). 본 시험에 사용된 토양시료는 2004년 비료 및 개량제가 사용되지 않은 담수전의 시기인 4월에 채취하였다.

토양 분석 토양 화학성과 미생물상은 토양 화학 및 토양미생물 분석법을 이용하였다(농촌진흥청 1988, 토양미생물연구회 1992). 인산가용화 세균 계수는 glucose, 10 g; Ca₃(PO₄)₂, 5 g; (NH₄)₂SO₄, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; MgSO₄ · 7H₂O, 0.1 g; KCl, 0.2 g; yeast extract, 0.5 g; MnSO₄ · H₂O, 0.002 g; FeSO₄ · 7H₂O, 0.002 g의 조성을 가진 Pikovskaya (PVK) 배지를 사용하였다(Nautiyal, 1999). 균주 동정은 지방산 조성 및 함량을 data base로 하는 MIDI 분석법을 사용하였다(Suh et al., 2007).

결과 및 고찰

토양 화학성 토양은 영년동일 포장으로 장기간 농업용 자재가 일정하게 사용되어 온 토양으로 무비구(control), 황산암모늄 단용(N), 3 요소구(NPK), 3 요소+석회(NPKL), 3 요소+규산(NPKS), 3 요소+퇴비(NPKC) 및 3 요소+석회+규산+퇴비(NPKLSC)구를 대상으로 하였다. 처리별 논 토양 화학성은 Table 1과 같이 pH는 5.3~6.9, 유기물 함량은 18~32 g kg⁻¹, 유효인산은 13~245 mg kg⁻¹, 규산 함량은 37~285 mg kg⁻¹에 이르렀다. 유효인산 함량은 석회, 퇴비 및 규산+석회+퇴비 시용구에서 높은 경향이였다. 규산은 규산 시용구에서 증가하였다. 연 등(2007)은 1954년부터 2003년까지 50년간 토양 이화학성을 조사한 결과 토양의 pH는 시험전(1954) 5.2에 비하여 모든 처리구에서 높아져, 무비구는 6.00, 유안 단용구 5.40 및 3 요소구 5.93이라 하였다. 한편 유기물 함량은 3 요소구를 비롯한 무비구에서는 20 g kg⁻¹로 큰 변화가 없었으나, 3 요소+퇴비구에서는 22 g kg⁻¹(1973)

에서 33 g kg⁻¹(1995)로 증가하다가 그 이후 2003년까지는 33 g kg⁻¹로 안정화되면서 평형을 이루었다고 하였는데, 본시험의 토양화학성도 이와 유사한 결과를 보였다.

토양 미생물상 질소 단용구의 세균, 중온성 바실러스, 그람 음성균, 방선균, 형광성 슈도모나스 및 인산가용화 세균의 밀도가 무처리, NPK, NPKL, NPKS, NPKC, NPKLSC구에 비해 낮은 경향을 보였고, 방선균과 인산가용화 균의 밀도는 볏짚퇴비가 사용된 NPKC 및 NPKLSC 처리구에서 높았다(Table 2).

토양 미생물 가운데 세균에 대한 중온성 바실러스 및 그람음성균의 비율은 처리간에 큰 차이를 보이지 않았지만 시용 자재별 인산가용화 세균의 분포비율은 Fig. 1과 같이 무시용 및 질소 단용에 비해 석회, 규산, 퇴비를 시용함으로써 호기성 세균에 대한 인산가용화 세균의 비율이 증가하였으며, 특히 석회, 규산 및 퇴비로 종합 개량한 처리구에서 인산가용화 세균의 비율이 크게 증가하는 경향을 보였다.

대조구와 질소 단용구에서는 중온성 바실러스와 그람음성 세균수 비율이 인산가용화 세균수 비율에 비해 약간 높았으나 3 요소구를 비롯한 개량제 시용구에서는 그 반대 현상이 나타났으며, 처리별 인산가용화 세균의 분포 비율도 중온성 바실러스나 그람음성 세균과는 달리 뚜렷이 증가하였다. 이러한 결과는 상대적으로 다른 종류의 미생물이 감소하였다는 것을 의미하는데, 본시험에서는 볏짚퇴비와 같은 유기물 처리에 의해 단위 면적당 인산가용화 세균의 밀도가 증가하여 토양의 인산가용화능이 촉진될 수 있음을 의미한다.

생태계 특성상 미생물의 밀도는 무한정 증가할 수 없기 때문에 유용한 미생물의 밀도를 높여주는 것이 바람직한 토양 관리법이라 할 수 있다. 이러한 측면에서 퇴비 및 석회, 규산 등의 개량제를 사용하는 방법

Table 1. Chemical composition of the rice paddy soils

Treatment	pH	OM	Av.P ₂ O ₅	Av.SiO ₂	Ex. cation		
					K	Ca	Mg
	1:5	g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	----- cmol ⁺ kg ⁻¹ -----		
Control	6.0	18	40	74	0.08	4.5	0.8
N	5.3	18	13	82	0.09	4.4	0.8
NPK	5.6	21	186	37	0.10	4.2	0.8
NPKL	6.0	22	192	53	0.13	5.3	1.2
NPKS	6.6	20	178	226	0.11	7.0	1.0
NPKC	5.7	31	231	66	0.11	5.1	0.9
NPKLSC	6.9	32	245	285	0.12	8.9	1.3

N, ammonium sulfate; P, phosphate; S, silicate; L, lime; C, rice straw compost

Table 2. Microbial population of the rice paddy soils.

Treatment	Microbial population (cfu g ⁻¹ dry soil)							
	AB (×10 ⁵)	MsB (×10 ⁴)	TmB (×10 ³)	GNB (×10 ⁴)	Actino. (×10 ⁴)	FP (×10 ³)	Fungi (×10 ²)	PSB (×10 ⁴)
Control	46.7	18.2	71.4	10.4	23.8	5.8	69.7	3.0
N	15.6	7.7	51.6	2.9	7.4	0.3	9.8	1.9
NPK	166.1	24.9	50.8	33.4	28.4	53.4	22.4	47.3
NPKL	53.3	19.6	58.6	9.7	53.3	52.5	14.9	31.5
NPKS	75.5	25.7	99.5	19.7	48.0	126.1	9.4	38.6
NPKC	58.6	24.4	22.0	20.1	113.6	40.2	61.2	51.6
NPKLSC	19.1	17.2	892.5	10.0	120.4	58.1	1.7	59.8

N, Ammonium sulfate; P, phosphate; S, silicate; L, lime; C, rice straw compost

AB; aerobic bacteria, MsB; mesophilic *Bacillus*, TmB; thermophilic *Bacillus*, GNB; Gram negative bacteria, Actino.; actinomycetes, FP; fluorescent *Pseudomonas*, PSB; phosphate solubilizing bacteria

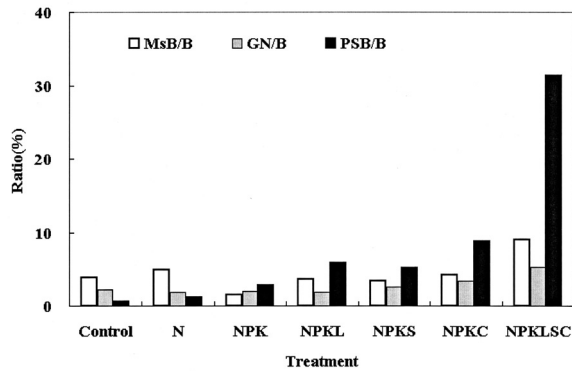


Fig. 1. Ratios of mesophilic *Bacillus*, Gram-negative bacteria and Phosphate-solubilizing bacteria to aerobic bacteria on the each plots of rice paddy soils.

MsB, mesophilic *Bacillus*; GN, Gram negative bacteria; PSB, phosphate solubilizing bacteria; B, aerobic bacteria; N, ammonium sulfate; P, phosphate; K, potassium chloride; S, silicate; L, lime; C, rice straw compost.

은 물리 화학성은 물론 미생물상까지 개선시키는 유효한 방법이 되고 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.

토양의 인산가용화 균 비율과 유효인산 함량 양분 관계를 검토하기 위해서는 작물에 대한 흡수량도 고려해야 하지만, 본 시험에 사용된 토양은 월동한 후 비료 및 개량제가 사용되지 않은 담수전 토양이므로 농경지로서는 가장 안정화된 시기라 할 수 있다. 인산가용화 세균은 토양에 들어있는 난용성 인산염을 용해하기 때문에 토양의 유효인산 농도를 증가시킨다. 따라서 시용자재에 의해 인산가용화 균의 밀도가 변했다면 토양 유효인산 함량도 영향을 받는다고 할 수 있다.

처리별 토양의 유효인산 함량은 Table 1처럼 대조구 40, N구 13, NPK구 186, NPKL구 192, NPKS구 178, NPKC구 231, NPKLSC구 245 mg kg⁻¹로 무처리나 질소단용구에 비해 개량제 시용구에서 높았으며

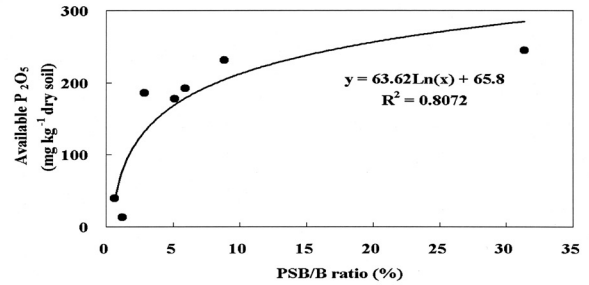


Fig. 2. Relationship between PSB/B ratio and available phosphate content of rice paddy soils. PSB, phosphate-solubilizing bacteria; B, aerobic bacteria.

특히 퇴비시용구와 종합개량구의 토양 유효인산 함량이 크게 증가하는 경향을 보였다.

NPK가 시용된 처리구 가운데 유효인산 함량이 가

Table 3. Distribution ratio of phosphobacterial genus in rice paddy soils.

Genus	Ratio(%)
<i>Bacillus</i>	33.5
<i>Pseudomonas</i>	21.9
<i>Micromonospora</i>	2.1
<i>Cellulomonas</i>	1.8
<i>Paenibacillus</i>	1.8
<i>Arthrobacter</i>	0.7
<i>Brevibacillus</i>	0.5
<i>Streptovorticillium</i>	0.5
<i>Aquaspirillum</i>	0.2
<i>Flavobacterium</i>	0.2
<i>Micrococcus</i>	0.2
<i>Rhodococcus</i>	0.2
<i>Spingobacterium</i>	0.2
<i>Staphylococcus</i>	0.2
<i>Xanthomonas</i>	0.2
No match	11.5
No growth on TSBA medium	14.5
No growth on isolation medium	9.5
Sum	100

장 낮은 규산시용구의 PSB/B 비율이 다른 개량제 시용구에 비해 낮은 것도 인산가용화 균의 영향을 받고 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다. 즉 석회, 규산, 퇴비 등의 시용이 토양의 물리화학적 만 개량하는 것이 아니라 미생물상에도 변화를 주어 토양의 양분 함량까지 영향을 주는 것이라 할 수 있는데, 이러한 관계는 Fig. 2처럼 인산가용화 균의 비율이 증가할 수록 토양의 유효인산 함량이 높아지는 현상을 통해서도 확인할 수 있는데, 본 시험 조건에서는 인산가용화 세균의 호기성 세균에 대한 비율이 약 5%일 때 토양 유효인산 함량이 약 180 mg kg⁻¹에 해당되고 있음을

보여주고 있다.

논 토양 서식 인산가용화 세균 논 토양에서 인산가용화 균의 다양성을 조사하고자 선택배지에 발현한 총 432균주를 분리하여 MIDI를 사용하여 64.6%에 해당하는 세균을 동정하였다. 분리된 인산가용화 세균은 Table 3과 같이 *Aquaspirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Pseudomonas* 등이었으며 이 가운데 *Bacillus*와 *Pseudomonas* 속이 각각 33.5% 및 21.9%로 우점하였다. 배양은 되나 MIDI 라이브러리와 일치하

Table 4. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from rice paddy soils at 10⁻⁴ dilution plates.

Treatment	Isolates	Number of isolates
N	<i>Bacillus megaterium</i>	2
	<i>Bacillus simplex</i>	1
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1
	No growth on TSBA	1
NPK	No isolate	
	<i>Bacillus megaterium</i>	4
	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>	1
	<i>Micrococcus lylae</i>	1
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4
	No match with library	2
	No growth on TSBA	1
	No growth on agar medium	1
	Actinomycetes	1
NPKL	<i>Bacillus megaterium</i>	2
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	4
	No match with library	9
	No growth on TSBA	1
	Actinomycetes	5
NPKC	<i>Aquaspirillum autotrophicum</i>	1
	<i>Arthrobacter agilis</i>	1
	<i>Bacillus pumilus</i>	2
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1
	No match with library	3
	No growth on TSBA	8
	No growth on agar medium	8
Actinomycetes	2	
NPKCLS	<i>Bacillus cereus</i>	1
	<i>Bacillus licheniformis</i>	2
	<i>Bacillus pumilus</i>	1
	<i>Micromonospora carbonucea</i>	1
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3
	<i>Pseudomonas putida</i>	3
	No match with library	1
No growth on TDBA	8	
Actinomycetes	4	

지 않은 균, 일반배지에는 생육하지만 MIDI분석 기본 배지인 tryptic soybean 한천배지에 증식하지 않는 균 등도 많았다.

인산가용화세균의 밀도는 물론 다양성확보도 생태계 관리 측면에서 중요하다. 논 토양에서 자재시용이 인산가용화 세균 다양성에 미치는 영향은 Table 4와 같았다. 무비구와 화학 비료구에 비해 석회 및 퇴비가 시용된 구에서 인산가용화세균의 종류가 증가됨이 확인되었다.

토양에는 유기태 인산가용화 세균은 물론 무기태 인산 가용화 세균이 있다. Tao et al.(2008)은 유기태 인산염 가용화 세균으로 *Bacillus cereus*와 *B. megaterium*을 무기태 인산염 가용화 세균으로 *B. megaterium*, *Burkholderia caryophylli*, *Pseudomonas cichorii* 와 *P. syringae*를 분리하였는데 이러한 결과는 토양에 존재하는 유무기태 인산염에 다양한 종류의 미생물이 작용하지만, 배지에서는 인산 가용화능을 보이지 않지만 토양 환경에서는 인산을 가용화하는 다양한 종류의 비배양성 미생물이 존재함을(Nautiyal, 1999) 뜻한다.

배양이 어려운 미생물도 토양에는 많이 서식하고 있다는 시험 결과는 미생물 선발 및 이용에 어려운 점이 있음을 시사한다. 그렇지만 질소 단용구에 비해 석회·규산 및 벚짚 퇴비를 시용함으로써 보다 다양한 인산가용화 세균이 서식하게 되는 현상은, 미생물 다양성이 자재의 시용에 의해 증가됨을 나타내는 것이므로, 작물재배와 관련하여 시용되는 자재의 선택을 작물 양분학적 측면은 물론 토양에 서식하는 유용 미생물의 활성까지 고려할 필요가 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.

적 요

미생물에 의해 분비되는 유기산에 의해 난용성 인산염이 가용화되어 토양 용액 중으로 확산되면 식물 혹은 다른 미생물이 이용할 수 있게 된다. 본 연구는 논 토양을 대상으로 벚짚 퇴비, 석회, 규산 등의 개량제가 토양 인산 가용화균의 생태에 미치는 영향을 조사하였다.

인산가용화 균의 비율이 증가할 수록 토양의 유효 인산 함량이 높아지는 경향을 보였다. 논 토양 호기성 세균에 대한 인산가용화 세균의 비율은 석회, 규산 및 퇴비를 함께 시용한 처리구에서 크게 증가하였다. 논 토양에서 분리된 인산가용화 세균은 *Aquaspirillum*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*속 등이었으나 가장 많이 분리된 균은 *Bacillus*속이었으며 그 다음으로는 *Pseudomonas*속이 우점하였다.

인용문헌

- Addiscott, T. M., and D. Thomas. 2000. Tillage, mineralization and leaching: phosphate. *Soil Till. Res.* 53: 255-273.
- Dodor, D. E., and M. A. Tabatabai. 2003. Amidohydrolases in soils as affected by cropping systems. *App. Soil Ecol.* 24: 73-90.
- Gijnsman, A. J., A. Oberson, D. K. Friesen, J.I. Sanz, and R. J. Thomas. 1997. Nutrient cycling through microbial biomass under rice-pasture rotations replacing native savana. *Soil Biol. Biochem.* 29: 1433-1441.
- Hargreaves, P. R., P. C. Brookes, G. J. S. Ross, and P. R. Poulton. 2003. Evaluating soil microbial biomass carbon as an indicator of long-term environmental change. *Soil Biol. Biochem.* 35: 401-407.
- Hofman, J., J. Bezchlebova, L. Dusek, L. Dolezal, L. Holoubek, P. Anel, A. Ansorgova, and S. Maly. 2003. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. *Environ. Int.* 28: 771-778.
- Hwangbo, H., R. D. Park, Y. W. Kim, Y. S. Rim, K. H. Park, T. H. Kim, J. S. Suh, and K. Y. Kim. 2003. 2-Ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedius*. *Curr. Microbiol.* 47: 87-92.
- Jeannotte, R., D. W. Sommerville, C. Hamel, and J. K. Whalen. 2004. A microplate assay to measure soil microbial biomass phosphorus. *Biol. Fertil. Soils.* 40: 201-205.
- Kouno, K., H. P. Lukito, and T. Ando. 1999. Minimum available N requirement for microbial biomass P formation in a regosol. *Soil Biol. Biochem.* 31: 797-802.
- Kouno, K., J. Wu, and P. C. Brookes. 2002. Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose and ryegrass. *Soil Biol. Biochem.* 34: 617-622.
- Lin, C. G., 1990. Agricultural chemistry of soil. In: Lin, C.G.(Ed.), *The Holes, structures and cultivable peculiarly of field soil.* Agriculture Press, Beijing, pp. 56-65.
- Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters.* 170: 265-270.
- Rodriguez, H., and R. Fraga, 1999, Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* 17:319-339.
- Schlöter, M., O. Dilly, and J. C. Munch. 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98: 255-262.
- Suh, J. S., S. J. Kim, H. J. Noh, J. S. Kwon, and W. K. Jung, 2007, Long-term compositing and fertilization impact on dehydrogenase-producing bacteria and dehydrogenase activity in rice paddy soil. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 40(4), 229-233.
- Tao, G. C., S. J. Tian, M. Y. Cai, and G. H. Xie. 2008, Phosphate-solubilizing and -Mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere.* 18(4): 515-523.
- Tate, R. L. 1995. *Soil microbiology.* New York: Wiley.
- Vassilev, N., M. Toro, M. Vassileva, R. Azcon, and J. M. Barea, 1997, Rock phosphates solubilization by immobilized cells of enterobacter sp. in fermentation and soil conditions. *Bioresour. Technol.* 61: 29-32.

- Wild, Q. 1988, Plant nutrients in soil: phosphate. In Soil conditions and plant growth, ed. A. Wild, pp 695-742. Longman Scientific and Technical, Essex.
- Yeon, B. Y., H. K Kwak, Y. S. Song, H. J. Jun, H. J. Cho, and C. H. Kim. Changes in rice yield and soil organic matter content under continued application of rice straw compost for 50 years in paddy soil. 2007. Korean J. Soil Sci. Fert. 40(6) 454-459.
- 농촌진흥청. 1988. 토양화학분석법. 삼미인쇄사
- 토양미생물연구회. 1992. 토양미생물실험법. 양현당.