

## 화산회토 감귤원 토양의 시비관리가 토양미생물활성 및 군집구조에 미치는 영향

좌재호\* · 한승갑 · 원항연<sup>1</sup> · 임한철 · 현해남<sup>2</sup> · 서장선<sup>1</sup>

국립원예특작과학원, <sup>1</sup>국립농업과학원, <sup>2</sup>제주대학교

### Effect of Different Fertilization Management Practices on Soil Microbial Activities and Community Structure in Volcanic Ash Citrus Orchard Soil

Joa Jae-Ho,\* Han Seung-Gap, Won Hang-Yeon<sup>1</sup>, Lim Han-Cheol,  
Hyun Hae-Nam<sup>2</sup>, and Suh Jang-Sun<sup>1</sup>

National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA

<sup>1</sup>National Academy of Agricultural Science, RDA

<sup>2</sup>Major of Plant Resources and Environment, Jeju National University

This study was performed to evaluate effect of different fertilization management practices on soil microbial activities and community structure using soil enzyme activities and PLFA contents in volcanic ash citrus orchard soil. Six experiment plots have differently managed based on the recommended application rate(NPK) of chemical fertilizer and compost for 13 years. Experiment plots were composed of no-fertilization(control), compost only, half amount of NPK with compost (1/2NPK+COM), NPK, NPK with compost(NPK+COM), and 3 times amount of NPK(3NPK). Soil samples collected in early March, May, July, and September 2007. Urease activity was high at NPK+COM in March, May, and September. It was higher in NPK+COM than in NPK. Urease activity decreased according to the order NPK>compost>control in March and May; compost>NPK>control in July and September. Dehydrogenase activity was significantly higher in 1/2NPK+COM(4.3 ug TPF g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup>) than in control(2.4 ug TPF g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup>), May.  $\beta$ -glucosidase activity was significantly higher in NPK and 1/2NPK+COM than in control, May. In March, Total PLFA contents were higher in NPK+COM(349.2 n mol g<sup>-1</sup>) than in 3NPK(228.5 n mol g<sup>-1</sup>). And that were higher in 1/2NPK+COM(237.8 n mol g<sup>-1</sup>) than in 3NPK(133.1 n mol g<sup>-1</sup>), May. Distribution ratio of soil microbial groups by PLFA biomarker were not significantly difference in between seasonal and treatments. Principal component analysis by PLFA profiles showed that microbial community in compost and 3NPK plot were different compared with other treatments in March. But Differences in compost and 3NPK plot were not found in May. Our result showed that the change of microbial community structure affected by fertilization effect and seasonable variation.

**Key words:** Volcanic ash soil, Citrus, PLFA, Urease, Microbial community

## 서 언

감귤은 제주도 1차 산업의 중심작물로 2008년 현재 19,000 ha 정도가 재배되고 있으며 토양비옥도가 낮은 화산회토양 지역에 많이 분포하고 있다. 화산회토양은 용적밀도가 낮고 강우에 의하여 표토와 양분 유실이 쉽게 일어나며 인산의 고정력이 강하여 시비된 인산 비료가 불용화 되기 쉽고 유기물과 allophane이 복합체를 형성, 다량의 알루미늄에 의하여 토양미생물의

활성이 낮다(Tokashiki and Wada, 1975; Henmi et al., 1976; Song, 1990; Masami, 2002; Ugolini et al., 2002). 감귤나무는 격년결과성이 크고 시비반응이 느려 감귤농가에서는 수량위주로 시비 관리를 하여 화학비료 과다시비에 의하여 인산, 칼륨 등의 양분 불균형이 나타나고 있다. 화학비료의 과다시비는 토양을 산성화시키고, 생리장해를 발생시키며, 염류집적에 의하여 감귤나무를 고사시키기도 한다. Han(2005)은 표준시비량의 3배를 8년간 계속 시비하였을 때 표준시비량보다 토양pH가 낮고 균근균 포자밀도가 적었다고 보고 한 바 있다. 토양에 시비된 양분은 토양특성, 온도, 토양수분 등의 비생물적 요인과 아울러 미생물의

접수 : 2009. 5. 14 수리 : 2009. 6. 8

\*연락처 : Phone: +82647412581,

E-mail: choa0313@rda.go.kr

대사능력에 영향을 받는다. 미생물의 활성은 미생물의 밀도, 효소활성, 미생물의 다양성 등 여러 요인의 상호작용을 통하여 나타난다. 장기간 분뇨나 볏짚 같은 유기물을 투입하면 토양미생물의 활성이 증가되며 (Deenik, 2006; Yu et al., 2006), 효소활성의 일시적인 변이는 온도, 수분함량의 환경적 요인, 작물생장과 관련이 있다(Debosz et al., 1999; Sardans et al., 2008). 토양미생물의 개체수와 효소활성은 토양건전성과 질을 평가하는 지표로 사용될 수 있으며 유기물 공급, 운작, 시비, 경운 등 토양관리방법에 의해 영향을 받는다. Hu and Cao(2007)는 장기간 포장시험을 통하여 미생물체량과 토양효소의 활성과 크기는 토양비옥도를 반영하여 토양질의 중요한 생물지표변화로써 간주될 수 있으며, Urease의 활성은 무비료구<화학비료구<퇴비구 순으로 감소하였다고 보고하였다. 토양에 유기물을 첨가하면 미생물체량과 Urease활성이 증가되며(Dinesh et al., 1998; Klose and Tabatabai, 2000), 토양효소활성은 자연적, 인위적 교란에 매우 민감하게 빨리 반응하고(Dick, 1992), 계절적, 장소 특이적인 요인이 재배관리 방법보다 탈수소효소활성에 영향을 준다고 했다(Quilchano and Maranon, 2002). Timothy and Dick(2004)은  $\beta$ -glucosidase는 토양질의 평가지표로서 이용될 수 있으며, Melero et al.(2009)은 식물잔재가 토양표면에 남아 있을 때 토양탈수소효소활성과  $\beta$ -glucosidase 활성이 높았다고 하였다. 토양중의 미생물 개체수는 배양을 통하여 파악할 수 있으나 시료 채취, 배양조건, 배지 종류 등 다양한 요인에 영향을 받는다. 따라서 이러한 요인은 미생물의 종류, 우점도, 활성을 평가하는데 제약요인이 된다. 최근에는 살아있는 미생물에만 존재하는 인지질 지방산 분석이나 DGGE 등 분자생물학적인 방법(Muyzer and Smalla, 1998; Hernesma et al., 2005)을 통해 미생물의 생태적 기능 등을 평가하고 있다. Bossio and Scow(1998)는 PLFA는 토양미생물 군집구조의 지표로 사용될 수 있으며, 토양유형, 시간, 녹비투입 또는 무기질비료 추비, 토양관리, 공간적 변이 등은 미생물 군집에 영향을 주며(Bossio et al., 1998), PLFA는 미생물체량과 군집구성, 생리적, 기능적 미생물특성에 대한 정보를 제공한다고 하였다(Green and Scow, 2008). Baath and Anderson(2003)은 pH가 증가하면 PLFA함량도 증가하며, 토양산성도는 미생물군집의 기능에 영향을 준다고 하였다(Kemmitt, 2006). 시비와 작물의 연작재배는 토양유기탄소함량과 세균군집구조에 영향을 주며(Marschner et al., 2003), 질소비료 시비는 초지와 산림토양에서 미생물 군집구조를 변화시킨다고 하였다(Clegg, 2006; Fredrik et al., 2008). 본 시험은 화산회토 감귤원 토양의 시비관리에

따른 토양효소활성과 인지질 지방산함량을 분석하여 토양미생물활성과 미생물군집구조에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

13년 동안 시비량을 달리하여 관리되고 있는 30년생 온주밀감이 식재된 노지재배 화산회토양에서 시험구는 무비료구, 퇴비구(2,000), 1/2NPK+퇴비구(14-20-14+2,000), NPK+퇴비구(28-40-28+2,000), NPK구(28-40-28), 3NPK구(84-120-84 kg 10a<sup>-1</sup>)를 두고 퇴비와 인산비료는 전량 봄에, 질소와 칼리비료는 봄, 여름, 가을 3회로 나누어 각각 40%, 30%, 30% 비율로 분시 하였다(JARES, 1993). 퇴비는 잘 부숙된 우분퇴비를, 질소는 요소비료, 인산은 용성인비, 칼리는 염화칼리를 이용하였으며, 제초 및 감귤나무 수체관리는 일반적인 감귤원 관리방법을 적용하였다. 2007년 3, 5, 7, 9월초에 처리구별 3-4지점의 토양을 표토 10 cm에서 채취 후 잘 혼합하여 2 mm체를 통과시켜 혼합된 토양시료를 3주 정도 4°C 냉장고에 보관 후 생토로 토양효소활성을 분석하였으며 인지질 지방산함량은 -80°C냉동고에 보관 후 동결건조 시켜 실험을 수행하였다. 토양화학성분은 수채 및 과실생산에 대부분의 양분흡수가 된 후 토양에 잔존하는 양분 함량을 파악하고자 9월 상순에 채취한 토양을 풍건 후 농촌진흥청 표준분석법(1988)에 준하여 분석을 하였다. 지온과 수분함량은 토양 15cm에 측정센서(Watchdog 450)를 설치하여 2시간 간격으로 측정하였다.

**토양효소활성** Urease는 토양 5 g을 각각 50 mL 시험관에 취한 후 20 mL의 Borate buffer(0.1 M, pH 10)을 넣고, 처리구에 2.5 mL의 720 mM Urea용액을 가하고 밀봉을 하여 37°C에서 2시간 동안 배양 후 2 M KCl용액 30 mL를 가하고 30분간 진탕 후 여과하여 Sodium salicylate/Sodium hydroxide 혼합액 5 mL와 39.1 mM Sodium dichloroisocyanide 2 mL를 가한 후 UV-Visible Spectrophotometer(Cary 100, Varian)를 이용하여 660 nm에서 측정하였다. 배양 현탁액을 여과하기 직전에 대조구에 2.5 mL의 720 mM Urea용액과 2 M KCl용액 30 mL를 가하고 30분간 진탕 후 여과하여 Sodium salicylate/ Sodium hydroxide 혼합액 5 mL와 39.1 mM Sodium dichloroisocyanide 2 mL를 가한 후 측정하여 처리구와 대조구의 차로 효소활성을 측정하였다. Dehydrogenase는 풍건토 5g에 CaCO<sub>3</sub> 0.05g와 1 mL의 3% triphenyl tetrazolium chloride 용액을 가하여 잘 혼합한 후 37°C 항온수조에서 24시간 배양하였다. 배양 후 생성된 2,3,5,-Triphenyl formazan에 Methanol을 10 mL씩 2회 추출

하여 No. 6 Filter paper로 여과 후 485 nm에서 UV-Visible Spectrophotometer(Cary 100, Varian)로 흡광도를 측정하여  $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ dry soil } 24\text{h}^{-1}$ 로 나타냈다.  $\beta$ -glucosidase는 토양 1 g을 50 mL 삼각플라스크에 취하고 4 mL의 MUB 완충용액(pH 6.0), 1 mL의 0.025 M p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucoside용액을 가한 후 플라스크에 마개를 하고 37°C에서 1시간 동안 배양 후 1 mL의 0.5 M  $\text{CaCl}_2$ 용액과 4 mL의 0.1 M THAM완충용액(pH 12)을 첨가 한 다음에 여과하여 UV-Visible Spectrophotometer(Cary 100, Varian)를 이용 400 nm에서 흡광도를 측정하였다(RDA, 1988).

**인지질 지방산 분석** 2 mm체로 선별한 토양을 동결건조 후 인지질 지방산(Phospholipid fatty acid, PLFA)함량은 Bligh/Dyer first-phase extraction(Bligh and Dyer, 1959)방법을 이용하여 미생물 세포막 지방산을 추출한 다음 Silicic acid column chromatography를 이용하여 중성지질과 당지질을 순차적으로 제거한 후 인지질을 분획하였다. 분획된 시료는 Methylation 시킨 후 MIDI Sherlock Microbial Identification System(MIDI Inc., Newark, DE)으로 지방산을 정량하였으며 Li et al.(2006)의 방법에 따라 분석된 인지질 지방산을 지방산 분석지표를 이용하여 그래프 양성균은 15:0 iso, 15:0 anteiso, 16:0 iso, 17:0 iso, 17:0 anteiso, 18:0 iso, 그람 음성균은 17:0 cyclo, 18:1 w7c, 방선균은 TBSA 10me18:0, 사상균은 18:2 w6,9c, 18:1 w9c, 균근균은 16:1 w5c(Allison et al., 2005)를 지표 지방산으로 미생물의 분포비율을 분석하였다.

**통계분석** SAS프로그램을 이용하여 처리별 토양 효소활성과 인지질 지방산함량을 비교하기 위하여 던칸의 다중범위 검정(DMRT)으로 유의수준 5%에서 통계분석을 하였고, 인지질 지방산 함량 중 1%이상 점유하는 지방산을 이용하여 주성분 분석을 통하여

처리구별로 미생물군집의 변화를 분석하였다.

## 결과 및 고찰

**시험토양의 화학성** 시험토양의 화학성분 함량은 Table 1과 같다. 토양 pH는 무비료구가 5.8로 가장 낮았고 토양질소 함량은 0.6%로 동일하였다. 질소비료는 토양 pH에 가장 크게 영향을 주는데 3NPK구가 무비료구보다 pH가 약간 높았으나 NPK구보다는 낮아 Han(2005)이 보고한 결과와 일치하였다. 토양유효인산함량은 3NPK구가 423.2 ppm으로 가장 높아 무비료구 70.9 ppm에 비해 6배나 높았으며, 토양의 칼슘함량은 NPK구가  $13.1 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ 로 가장 높았다. 마그네슘 함량은 NPK구가  $3.6 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ 으로 무비료구  $1.0 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ 보다 3배 이상 높았다. 치환성 알루미늄의 함량은 NPK구가 480.7 ppm으로 높게 나타났으며 처리간에 큰 차이는 없었다.

시험기간 동안 지온과 수분함량의 변화는 Fig. 1에 나타났다. 3월에서 8월로 갈수록 지온이 점차 높아지다가 9월에 낮아지기 시작하였으며 강우의 영향으로 토양수분함량은 5월과 9월 상순에는 20 kPa 보다 낮았고 8월에는 100 kPa보다 높게 나타났다.

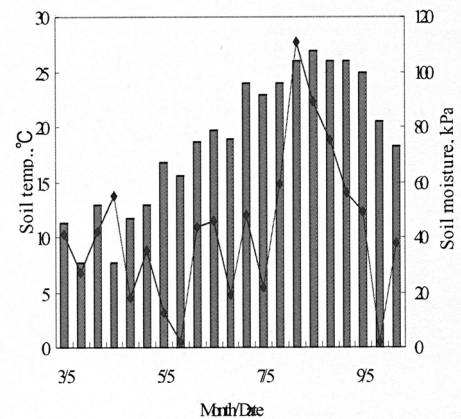


Fig. 1. The seasonal change of soil temperature and moisture content during experiment period.

Table 1. Chemical properties of experimented soil.

Treatments	pH	T-N	Av.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ex. Cations			Exch. Al
				K	Ca	Mg	
		%	ppm	----- $\text{cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$ -----			ppm
Control	5.8±0.3	0.6±0.1	70.9±18.3	0.1±0.0	4.7±1.2	1.0±0.4	425.3±14.1
Compost	6.0±0.2	0.6±0.1	127.2±22.9	0.5±0.3	8.9±3.0	1.8±1.2	450.6±64.6
1/2NPK+Com. <sup>†</sup>	6.2±0.2	0.6±0.0	274.7±53.3	1.1±0.7	12.4±2.6	3.6±0.6	412.8±15.5
NPK	6.3±0.2	0.6±0.1	202.3±25.3	0.8±0.1	13.1±1.1	3.6±0.2	480.7±69.1
NPK+Com.	6.0±0.3	0.6±0.0	189.9±45.7	1.0±0.1	9.9±2.1	3.3±1.0	474.2±11.1
3NPK	6.1±0.5	0.6±0.1	423.2±37.1	1.1±0.4	11.7±3.3	3.6±2.1	432.2±33.2

<sup>†</sup> Com. : Cattle manure compost.

**토양효소 활성의 변화** 시기별 토양의 Urease 활성 변화를 분석한 결과는 Table 2와 같다. Urease는 요소를 CO<sub>2</sub>와 NH<sub>3</sub>로 분해하는데 관여하는 질소분해 효소로서 Deenik(2006)은 토양미생물활동의 결과로서 토양유기물의 유기태질소가 식물이 이용할 수 있는 무기태질소로 전환된다고 하였다. Urease 활성은 7월이 가장 높았으며 3월과 9월은 비슷한 경향을 나타냈다. 7월의 경우 1/2NPK+퇴비구가 1.53 ug NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>으로 무비료구 0.44 ug NH<sub>4</sub>-N g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> 보다 3배 이상 높았으며, NPK+퇴비구>퇴비구>NPK구>3NPK구 순으로 낮아지는 경향이였다. 토양에서 NH<sub>4</sub>-N은 온도가 올라가면서 발생량이 증가하는데, 3월부터 지온은 상승하기 시작하여 7월의 경우 지온이 높아 효소활성이 증가하였으며, 고온이 지속되다가 강우로 토양수분이 많은 9월초에는 효소활성이 낮았던 것으로 생각된다. Urease는 7월을 제외하고 NPK+퇴비구에서 가장 높았으며 화학비료구에서는 NPK구>3NPK구>무비료구 순이었고, 화학비료와 퇴비구에서는 NPK+퇴비구>1/2NPK+퇴비구>퇴비구 순으로 나타났다. 화학비료+퇴비구가 화학비료구보다 높게 나타났고, 3월과 5월은 NPK구>퇴비구>무비료구 순이었으며, 7월과 9월은 퇴비구>NPK구>무비료구 순으로 Hu and Cao(2007)가

장기간 포장시험에서 Urease는 무비료구<화학비료구<퇴비구 순이었다고 보고한 결과와 일치하였다. Andisols은 알루미늄이 많고 인산이 부족하여 미생물의 활성이 높지 않으며(Song, 1990; Masami, 2002; Ugolini et al., 2002), 토양 pH는 토양미생물활성에 상당한 영향을 준다(Kemmitt, 2006)고 보고한 바 있는데 무비료구의 경우 토양 pH와 인산함량이 낮아 미생물의 활성이 낮은 것으로 판단된다. 토양에 유기물을 첨가하면 Urease활성이 증가하고(Dinesh et al., 1998), 토양 Urease활성의 46%가 미생물체량과 관계가 있다(Klose and Tabatabai, 2000)고 하였는데 유기물의 투입은 토양의 미생물밀도를 증가시키고 효소활성을 높이는 것으로 생각된다.

토양 유기물의 분해에 관여하는 Dehydrogenase와 β-glucosidase 활성은 Table 3에 나타내었다. Dehydrogenase활성은 3월에 1/2NPK+퇴비구가 5.5 ug TPF g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup>로 무비료구 보다 높았으나 처리간에 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 5월은 1/2NPK+퇴비구가 4.3 ug TPF g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup>로 무비료구 보다 높았으며 처리간에 통계적 유의성을 나타냈다. 7월에는 NPK구가 4.3 ug TPF g<sup>-1</sup> 24 h<sup>-1</sup>로 높았으며, 9월에는 1/2NPK+퇴비구>NPK+퇴비구>퇴비구>NPK

**Table 2. The seasonal change of urease activity caused by different fertilization management practices.**

Treatments	Urease			
	March	May	July	Sep.
	----- ug NH <sub>4</sub> -N g <sup>-1</sup> 2h <sup>-1</sup> -----			
Control	0.04±0.02 <sup>†</sup>	0.12±0.14	0.53±0.16	0.09±0.04
Compost	0.09±0.02	0.15±0.04	0.93±0.35	0.12±0.12
1/2NPK+Com.	0.12±0.04	0.18±0.03	1.53±0.43	0.13±0.02
NPK	0.13±0.06	0.17±0.05	0.82±0.26	0.07±0.05
NPK+Com.	0.17±0.09	0.21±0.05	1.52±0.49	0.15±0.05
3NPK	0.08±0.10	0.16±0.15	0.71±0.09	0.09±0.02

<sup>†</sup> Mean ± Standard Deviation.

**Table 3. The seasonal change of dehydrogenase and β-glucosidase activity by different fertilization management practices.**

Treatments	Dehydrogenase				β-glucosidase			
	March	May	July	Sep.	March	May	July	Sep.
	----- ug TPF g <sup>-1</sup> 24 h <sup>-1</sup> -----				----- ug PNP g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> -----			
Control	3.2±0.4 <sup>†</sup> a	2.4±0.4b <sup>†</sup>	2.7±0.6a	4.3±1.2a	21.2±3.5c	17.5±3.1b	21.4±1.3a	7.0±0.9a
Compost	5.1±3.2a	3.6±0.8ab	3.2±0.5a	7.2±3.2a	34.4±5.2ab	30.3±10.2ab	30.0±5.5a	13.9±5.2a
1/2NPK+Com.	5.5±1.9a	4.3±0.2a	4.2±1.3a	10.3±5.9a	37.8±2.4a	32.1±2.5a	33.2±2.8a	13.7±6.4a
NPK	4.5±1.2a	3.5±1.6ab	4.3±2.8a	5.6±3.8a	36.5±3.4a	38.2±12.8a	37.2±12.2a	14.6±4.0a
NPK+Com.	4.5±1.3a	3.1±0.5ab	3.4±1.6a	7.5±6.7a	29.2±2.7b	30.4±5.4ab	37.3±11.9a	10.3±4.1a
3NPK	3.9±0.8a	2.8±0.8ab	2.5±0.4a	3.6±0.0a	37.4±6.0a	27.0±6.0ab	30.7±6.0a	14.4±4.9a

<sup>†</sup> See table 2.

<sup>†</sup> DMRT at P=0.05.

TPF : Triphenyl formazan, PNP : p-nitrophenol.

구>3NPK구>무비료구 순으로 나타났으나 처리간에 통계적인 유의성은 없었다. 5월은 처리간에 유의성이 있었으나 3월, 7월, 9월의 경우 처리간 측정값의 편차가 크게 나타난 것은 재배관리 방법보다 계절적, 장소 특이적인 요인(Quilchano and Maranon, 2002)과 토양채취 및 시료조제 과정에서 인위적인 교란이 토양효소활성에 영향을 준 것으로 사료된다(Dick, 1992).  $\beta$ -glucosidase는 토양질의 평가지표로서 토양관리효과를 평가할 수 있는데(Timothy and Dick, 2004),  $\beta$ -glucosidase 활성은 3, 5, 7월이 9월보다 높게 나타났다. 이것은 감귤나무가 겨울을 지나면서 낙엽이 발생하고 이것이 표토에 쌓여 지온이 상승하면서 분해가 이루어지기 때문으로 생각된다(Melero et al., 2009). 3월은 1/2NPK+퇴비구, NPK구, 3NPK구가 NPK+퇴비구와 무비료구 보다 높았고, 5월은 NPK구와 1/2NPK+퇴비구가 무비료구 보다 높았으며 처리간에 유의성을 나타내었다. 7월은 NPK+퇴비구, 9월은 NPK구가 높았으나 처리간에 유의성은 없었다.  $\beta$ -glucosidase 활성은 퇴비구가 무비료구보다 높았으나 지온이 올라 갈수록 점차 감소하는 경향을 나타내 토양온도가 토양효소활성에 영향을 준다는 Sardans et al.(2008)의 보고와는 일치하지 않았다. 이것은 농약의

살포, 토양시료채취의 시간적 차이와 공간적 변이, 감귤나무의 낙엽, 제조작업 등이 토양효소활성에 영향을 준 것으로 생각되며, 토양 유기물 분해효소활성은 5월을 제외하고 처리간에 차이가 없었다.

**Total PLFA 함량의 변화** 인지질 지방산(PLFA)은 살아있는 미생물의 세포막에서 추출되는 것으로 토양 미생물의 활성을 측정하는 biomarker와 토양미생물군집구조의 지표로 사용될 수 있다(Bossio and Scow 1998). 3월에 인지질 지방산 총함량은 NPK+퇴비구가 349.2 n mol g<sup>-1</sup>로 3NPK구 228.5 n mol g<sup>-1</sup>보다 높게 나타났다(Fig. 2). 5월은 NPK+퇴비구가 237.4 n mol g<sup>-1</sup>, 1/2NPK+퇴비구가 237.8 n mol g<sup>-1</sup>로 3NPK구 133.1 n mol g<sup>-1</sup>보다 높았으며, 전체적으로 인지질 지방산함량은 3월보다 낮았다. 그러나 7월과 9월에는 점차 증가하였으며 3NPK구는 가장 낮은 경향을 나타냈다. NPK+퇴비구가 3NPK구보다 인지질 지방산함량이 높게 나타난 것은 3NPK구의 경우 표준시비 3배량의 과다시비로 인해 토양미생물의 활성이 감소된 것으로 판단된다. 토양의 pH는 질소비료의 영향을 많이 받는데 시비 후 토양의 지온이 상승하면서 무기화가 활발하게 진행되는 5월의 경우 3월, 7월, 9월보다 모

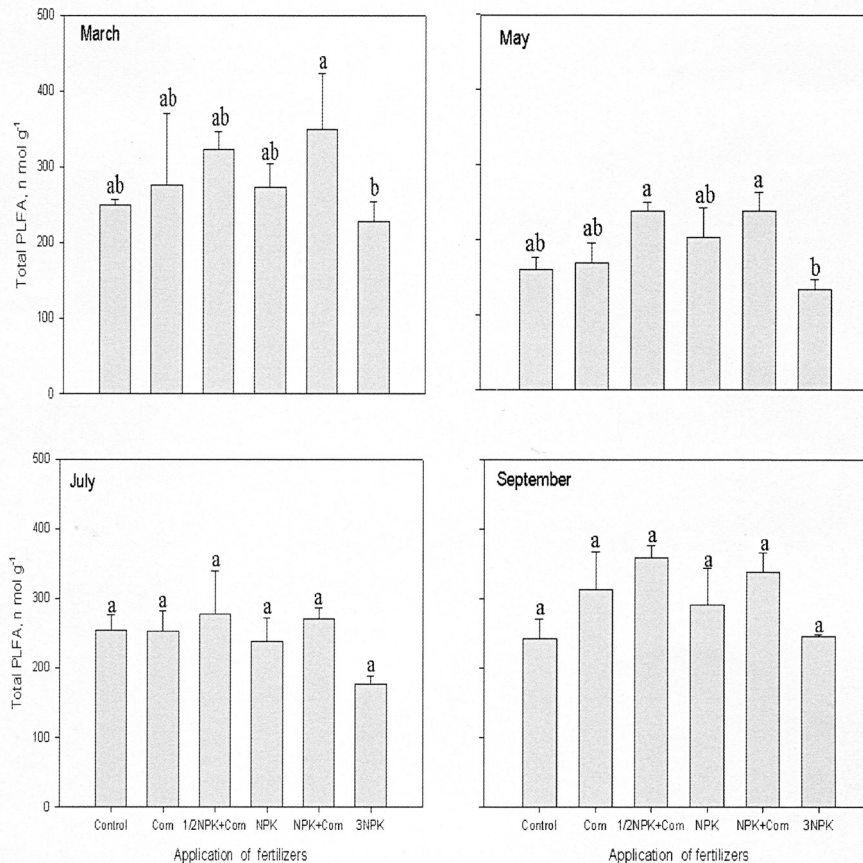


Fig. 2. The amount of phospholipid fatty acid caused by different fertilization management practices.

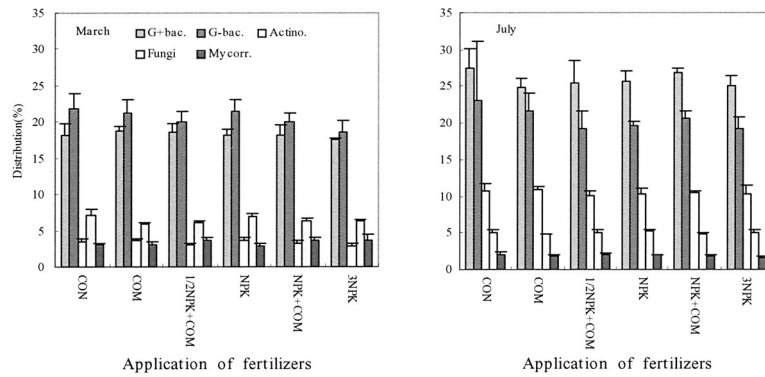


Fig. 3. Distribution ratio of soil microbial groups by PLFA biomarker in different fertilization management practices.

든 처리구에서 인지질 지방산 함량이 낮고, 특히 3NPK구에서 낮은 것은 토양 pH가 낮아졌기 때문으로 생각된다. Baath and Anderson(2003)은 pH가 증가하면 PLFA함량도 증가한다고 하였는데 화학비료의 적정시비와 석회고토비료의 공급, 퇴비 등의 유기물을 시용하면 토양의 pH를 개선시킴으로써 PLFA 함량을 증가시킬 수 있을 것으로 생각된다. 시기별로 PLFA함량 변화는 양분의 무기화, 토양 온도, 수분함량의 변화와 관련되는 것으로 판단된다(Debosz et al., 1999; Sardans et al., 2008). PLFA를 이용한 처리구별 미생물군의 분포비율은 Fig. 3.에 나타내었다. 3월에 처리구별 미생물분포는 처리간에 차이가 없었으나 7월의 경우 3월보다 세균과 방선균의 분포비율이 증가하였고 사상균과 균근균은 감소하는 경향이였다. 그람양성세균은 3월에 그람음성세균보다 낮았으나 7월에는 증가하였으며 무비료구에서 가장 높게 나타났다. 사상균은 3월에 무비료구가 가장 높게 나타났으나 7월에는 처리간에 차이가 나타나지 않았다. 균근균은 시비전 3월보다 시비후 7월에 3NPK구에서 가장 낮게 나타나 표준시비 3배구에서 균근균 포자밀도가 적었다(Han, 2005)는 보고와 일치하였으나 PLFA의 Biomaker에 의한 미생물군들의 분포비율은 조사시기와 처리간에 통계적으로 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다.

**미생물군집의 변화** 인지질 지방산은 미생물체량과 군집구성, 생리적, 기능적 미생물특성에 대한 정보를 제공한다(Green and Scow, 2008). 시기별로 인지질 지방산 함량을 이용하여 처리구별 미생물군집의 변화에 대한 주성분 분석결과는 Fig. 4.에 나타났다. 3월의 경우 퇴비구와 3NPK구가 다른 처리구와 다르게 군집구조를 나타냈으나 5월에는 퇴비구와 3NPK구간에 군집구조의 차이가 나타나지 않았으며, NPK+퇴비구와 NPK구가 하나의 군집구조를 나타냈다. 3월은 제1 주성분이 59.2%, 제2 주성분이 13.3%, 5월은 제1

주성분이 72.9%, 제2 주성분이 19.8%를 설명할 수 있었다. 7월과 9월에는 처리구간에 군집구조의 차이를 나타내지 않았다. 질소비료 시비는 초지와 산림토양에서 미생물 군집구조를 바꾼다(Clegg, 2006; Fredrik et al., 2007)고 하였는데, 퇴비구와 3NPK구가 3월에 미생물군집구조에 차이를 나타내고 5월에 차이가 나타나지 않은 것은 시비전 토양과 시비후 감귤나무의 양·수분 흡수가 시작되는 5월의 지온, 토양수분 등의 토양환경조건이 다르고 시비양분의 가용화 영향 때문이라고 생각된다. 토양유형, 시간, 무기질비료 추비, 토양관리, 공간적 변이는 미생물군집에 영향을 주는데(Bossio et al., 1998), 7월과 9월의 경우 처리간 미생물군집의 차이가 없는 것은 6월의 추비와 시료채취 시기 및 지점의 변이, 농약의 살포, 화산회토양의 특성 등이 미생물 군집형성에 영향을 준 것으로 사료된다. 지방산은 살아있는 세포에만 있고 사멸한 세포에는 없어 경시적으로 미생물군집의 변화 평가에 이용이 가능하나 핵산지문법으로 Denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE)를 이용하면 토양중의 DNA를 추출 후 PCR 증폭을 통해 1bp의 염기 서열 차이도 gel상에서 해석이 가능하여 미생물군집의 종 다양성과 계절적, 환경적 변이에 따른 변화를 모니터링 할 수 있어(Muyzer and Smalla, 1998; Hernesma et al., 2005), 추후 DGGE방법을 이용하여 처리간에 미생물군집의 생태적 변화를 해석할 필요가 있을 것으로 생각된다.

**요 약**

화산회토 감귤원 토양의 시비관리에 따른 토양효소 활성과 인지질 지방산함량을 분석하여 토양미생물활성과 미생물군집구조에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다. 토양은 13년간 시비량을 달리하여 관리되고 있는 무비료구, 퇴비구, 1/2NPK+퇴비구, NPK+퇴비구, NPK구, 3NPK구에서 2007년 3, 5, 7, 9월초에 채

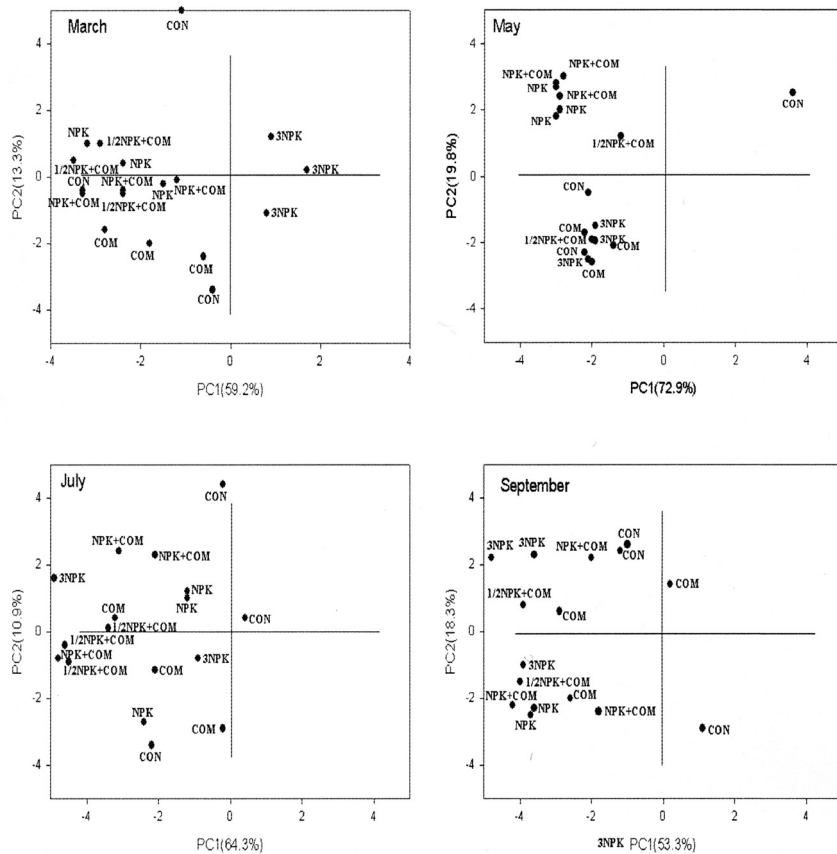


Fig. 4. Principal component analysis of microbial community by PLFA profiles in different fertilization management practices.

취하여 분석하였다. Urease 활성은 3, 5, 9월에 NPK+퇴비구에서 가장 높게 나타났으며, 화학비료+퇴비구가 화학비료구보다 높았고, 3월과 5월은 NPK구>퇴비구>무비료구, 7월과 9월은 퇴비구>NPK구>무비료구 순이었다. Dehydrogenase 활성은 5월에 1/2NPK+퇴비구가  $4.3 \text{ ug TPF g}^{-1} 24 \text{ h}^{-1}$ 로 무비료구  $2.4 \text{ ug TPF g}^{-1} 24 \text{ h}^{-1}$ 보다 높았고 처리간에 통계적 유의성을 나타냈다.  $\beta$ -glucosidase 활성은 5월에 NPK구와 1/2NPK+퇴비구가 무비료구보다 높았으며 처리간에 유의성을 나타내었다. 3월에 인지질 지방산 총함량은 NPK+퇴비구가  $349.2 \text{ n mol g}^{-1}$ 로 3NPK구  $228.5 \text{ n mol g}^{-1}$ 보다 높게 나타났다. 5월은 1/2NPK+퇴비구가  $237.8 \text{ n mol g}^{-1}$ 로 3NPK구  $133.1 \text{ n mol g}^{-1}$ 보다 높았다. PLFA의 Biomaker에 의한 미생물군들의 분포비율은 조사시기와 처리간에 통계적으로 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다. 시기별로 인지질 지방산 함량을 이용하여 처리구별 미생물군집의 변화에 대한 주성분 분석결과 3월의 경우 퇴비구와 3NPK구가 다른 처리구와 다르게 군집구조를 나타냈으나 5월에는 퇴비구와 3NPK구간에 군집구조의 차이가 나타나지 않았으며, 7월과 9월에는 처리구간에 군집구조의 차이가 없었다. 화학비료 시비와 시간적 변이가 미생물 군집구

조 변화에 영향을 준 것으로 판단되었다.

## 인용문헌

- Allison, V. J., Miller, R.M., Jastrow, J. D., Matamala, R., and Zak, D. R. 2005. Changes in Soil Microbial Community Structure in a Tallgrass Prairie Chronosequence. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69:1412-1421.
- Baath, E., and T. H. Anderson. 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biol. Biochem.* 35(7):955-963.
- Bligh, E. G., and W. J. Dyer. 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Bossio D. A., and K. M. Scow. 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Micro. Ecol.* 35:265-278.
- Bossio D. A., Scow K. M., Gunapala N., and K. J. Graham. 1998. Determinants of soil microbial communities: Effect of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Micro. Ecol.* 36:1-12.
- Clegg, C. D. 2006. Impact of cattle grazing and inorganic fertiliser additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. *Appl. Soil Ecol.* 31:73-82.
- Debosz, K., P. H. Rasmussen, and A. R. Pedersen. 1999. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity

- in arable soils : effects of organic matter input. *Appl. Soil Ecol.* 13:209-218.
- Deenik, J., 2006. Nitrogen Mineralization potential in important agricultural soils of Hawai'i. *Soil Crop Manage. SCM-15*: 1-5.
- Dick, R. P., 1992. A review: long-term effects of agricultural systems on soil bio-chemical and microbial parameters. *Agric. Ecosyst. Environ.* 40:25-36.
- Dinesh, R., R. P. Dubey, and G. S. Prasad. 1998. Soil microbial biomass and enzyme activities as influenced by organic manure incorporation into soils of a rice-rice system. *J. Agro. Crop Sci.* 181:173-178.
- Fredrik D., L. O. Nilsson, and E. Baath. 2008. Bacterial and fungal response to nitrogen fertilization in three coniferous forest soils. *Soil Biol. Biochem.*40:370-379.
- Green, C. T., and K. M. Scow. 2008. Analysis of phospholipid fatty acids(PLFA) to characterize microbial communities in aquifers. *Hydrogeo. J.* 8:126-141.
- Han, Seung Gab. 2005. Effects of long-term non-fertilization of nitrogen, phosphorus and potassium on soil chemical properties, three nutrition and productivity of Satsuma Mandarin(Citrus unshiu Marc.). Ph. D. Thesis. Cheju National University. Jeju, Korea.
- Henmi T., and K. Wada. 1976. Morphology and composition of allophane. *Am. Mineral.*61:379-390.
- Hernesma, A., K. Bjorklof, O. Kiikkila, H. Fritze, and K. Haahtela, M. Romantschuk. 2005. Structure and function of microbial communities in the rhizosphere of Scots pine after tree-felling. *Soil Biol. Biochem.*37:777-785.
- Hu, C., and Z. Cao. 2007. Size and activity of the soil microbial biomass and soil enzyme activity in long-term field experiments. *World J. Agri. Sci.* 3(1):63-70.
- JARES. 1993. 수입개방 대응 고품질 생산 감귤원 시비 기준표. p 37.
- Kemmitt, S. J., D. Wright, K. W.T. Goulding, and D. L. Jones. 2006. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 38:898-911.
- Klose, S., and M. A. Tabatabai. 2000. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biol. Fertil. Soils* 31:191-199.
- Li, W. H., C. B. Zhang, H. B. Jiang, G. R. Xin, and Z. Y. Yang. 2006. Changes in soil microbial community associated with invasion of the exotic weed *Mikania micrantha* H.B.K. *Plant Soil.* 281:309-324.
- Marschner, P., E. Kandeler, and B. Marschner. 2003. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biol. Biochem.*35:453-461.
- Masami, N. 2002. Unique properties of volcanic ash soils. *Glob. Environ. Res.* 6(2):99-112.
- Melero, S., K. Vanderlinden, J. C. Ruiz, and E. Madejo. 2009. Soil biochemical response after 23 years of direct drilling under a dryland agriculture system in southwest Spain. *J. Agri. Sci.* 147:9-15.
- Muyzer, G., and Smalla, K. 1998. Application of Denaturing Gradient Gel Electro-phoresis (DGGE) and temprature gradient gel electrophoresis(TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek.* 73:127-141.
- Quilchano, C., and T. Maranon. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol. Fertil. Soils.* 35:102-107.
- RDA. 1988. Methods for chemical analysis of soil. Institute of Agricultural Technology.
- Sardans, J., J. Penuelas, and M. Estiarte. 2008. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Appl. soil ecol.* 39:223-235.
- Song, Kwan Cheol. 1990. Andic properties of major soils in Cheju island. Ph. D. Thesis. Seoul National University. Suwon, Korea.
- Timothy, R. K., and R. P. Dick. 2004. Differentiating microbial and stabilized  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biol. Bioche.* 36:2089-2096.
- Tokashiki T., and K. Wada. 1975. Weathering implications of the mineralogy of clay fractions of two Ando soils. *Kyushu. Geoderma.* 14:47-62.
- Ugolini, F. C., and R. A. Dahlgren. 2002. Soil development in volcanic ash. *Glob. Environ. Res.* 6(2):69-81.
- Yu, G., H. Fang, L. Gao, W. Zhang. 2006. Soil organic carbon budget and fertility variation of black soils in Northeast China. *Ecolo. Res.*21(6):855-867.