

유기농 토양의 화학적 특성 및 미생물상 연구

박광래[†], 須賀有子^{*}, 홍승길, 이초룡, 안민실, 김석철, 橋本知義^{*}

국립농업과학원 농업환경부 유기농업과
일본국립연구개발법인 농업·식품산업기술 종합연구기구 중앙농업연구센터^{*}

Study on Characteristics of Chemical Properties and Microbial Flora of Organic Farming Soil in Korea

Kwang-Lai Park[†], Yuko Suga^{*}, Seung-Gil Hong, Chorong Lee, Minsil Ahn, Seok-Cheol Kim,
Tomoyoshi Hashimoto^{*}

Organic Agricultural Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA
Central Region Agricultural Research Center, Division of Soil Science and Plant Nutrition,
Tsukuba Ibaraki 305-8666, Japan^{*}

(Received: Dec. 1, 2016 / Revised: Dec. 5, 2016 / Accepted: Dec. 7, 2016)

ABSTRACT: The objectives of this study was to investigate the difference between organic-farming and conventional-farming soils relatives to soil chemical properties and microbial flora. Fifteen soil sampling sites were chosen from the certified organic upland farm, considered with its location, crop and application of organic compost types. Soil chemical properties were analyzed by standard methods established by National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration. For the soil chemical properties, the values of pH were ranged from 4.5 to 7.3. The values of electrical conductivity (EC) in the sampling sites were below 2 dS/m of convention cultivation soil. For analyzing the microbial flora, the bacillus(16S rDNA) and cladothricosis(18S rDNA) were analyzed by using PCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) in the soil of 15 sampling sites. Cluster analysis of biodiversity index was performed by using pattern of DGGE. DGGE patterns and clustering analysis of bacterial DNA from soil extracts revealed that the bacterial community was differentiated between less than 5 years and more than 5 years depending on the cultivation history. But there was no consistent tendency between cultivation history and regional trend in the case of molds. Therefore, it would be very effective to analyze bacterial clusters of organically cultivated soils in long - term cultivated soil for more than 5 years.

Keywords: Organic farming, Upland soil, Chemical property, Fungi, Bacteria

초 록: 유기농 밭 토양의 특성을 파악하기 위해 유기농 인증을 받은 국내 15개 선도 농가를 선정하고, 밭 토양의 시료를 채취하여 유기농 인증토양에 대한 토양 이화학성 및 미생물상 조사를 실시하였다. 토양 이화학성중 pH는 4.9~7.3의 범위에서 변동하였다. 대부분의 작물은 6.0~7.0의 범위를 나타냈지만, 전남의 양파와 고구마 재배토양은 pH 4.5, 5.8의 산성을 나타내었으며, 경기의 마늘과 고추 그리고 전북의 대두 재배토양에서는

[†] Corresponding Author (e-mail: frompark@korea.kr)

pH 7.2~7.3을 나타냈다. 이러한 토양의 알칼리화는 시용 자재에 의한 것으로 추정되었다. EC는 대부분의 조사 지역에서 관행 토양의 기준인 2 dS/m 보다 낮은 값을 보였지만, 일부 배추와 고구마 재배 토양에서는 3.9과 3.7을 나타냈다. 유효태 인산 함량은 재배 작물의 종류에 따라 크게 달라 관행 토양의 기준인 300~500mg kg⁻¹에서 크게 벗어난 300~1,894mg kg⁻¹을 나타내었다. 이것은 유기 재배 토양에는 화학 비료 대신 가축분 퇴비를 대량으로 사용하기 때문으로 추정되었다. 미생물 군집 구조 분석은 세균의 16S rDNA 및 사상균의 18S rDNA의 PCR-DGGE 분석을 실시하였다. DGGE 패턴에 기반 클러스터 분석 결과, 재배경력에 따라 5년 이하와 5년 이상으로 구분되어 재배이력이 길어질수록 토양 세균 군집이 차별화 되어 장기 유기농경지의 토양 특성 구분이 가능하였으나 사상균의 경우는 재배이력 및 지역별로 일정한 경향이 나타나지 않았다. 따라서, 유기농경지의 미생물적 특성을 구분할 때 5년 이상된 장기재배 토양을 대상으로 세균의 군집분석을 실시하는 것이 매우 효과적일 것으로 판단된다.

주제어: 유기농업, 발토양, 화학적 특성, 사상균, 세균

1. 서론

유기농업은 생산성 향상을 위해 화학비료와 유기합성농약을 중심으로 토양관리를 하는 관행농업과 달리 환경보전과 안전농산물 생산을 위해 유기물을 중심으로 토양관리가 이루어지므로, 토양 화학성 이외에 생물상을 통한 평가가 이루어질 필요성이 있으나 유기농경지 생물상을 조사한 연구들이 많지 않아 국내 유기농경지를 전국단위로 대표할 만한 자료들은 부족한 실정이다.

1990년대부터 지속가능한 농업형태의 도입으로 유기농업의 재배 면적이 증가하여 왔으나, 현재는 유기농 토양의 관리기준이 마련되어 있지 않아 관행 토양 진단기준으로 유기농경지 토양을 관리하고 있는 실정이다. 최근 들어 국내 유기농재배지의 토양 특성에 관한 연구들이 이루어지고 있지만 그 대부분이 토양의 화학성이나 물리성을 중심으로 수행되어지고 있다.

미생물은 토양 중에서 탄소, 질소, 무기물 등의 양분 순환과 미생물간의 길항작용 등 작물의 생육에 직·간접적으로 밀접하게 관련되어 있으므로 안정적인 친환경 농업 확대를 위해 토양 내 미생물상의 분포 특성을 파악하는 것은 유기농경지 관리를 위해 매우 중요하다. 토양에 시비된 양분은 토양특성, 온도 그리고 토양수분 등의 비생물적 요인과 함께 미생물의 대사능력에 영향을 받는다. 미생물의 활성은 미생물의 밀도, 효소활성, 미생물의 다양성

등 여러 요인의 상호작용을 통하여 나타난다¹⁾

지금까지 유기농경지에 관한 연구들에 따르면, Hu and Cao²⁾는 장기간 포장시험을 통하여 미생물체량과 토양효소의 활성에 따라 토양비옥도를 반영하여 토양질의 중요한 생물지표변화로써 간주될 수 있으며, Urease의 활성은 무비료구 < 화학비료구 < 퇴비구 순으로 감소하였다. 또한, 토양에 유기물을 첨가하면 미생물체량과 Urease 활성이 증가되고³⁻⁴⁾, 유기재배 감귤원에서 미생물의 밀도가 관행구보다 2배가 높았다⁵⁾. Mäder et al.⁶⁾은 유기재배 토양의 미생물이 관행재배지에서 유의적인 수준으로 높다고 보고하였다.

최근에는 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 등 분자생물학적인 방법⁷⁾을 통해 미생물의 생태적 기능 등을 평가하고 있다.

그러므로 본 연구에서는 유기농경지의 적절한 토양관리를 위해 먼저 유기재배 토양의 특성을 파악하고 기초적인 데이터를 축적하기 위한 목적으로 유기농인증을 받은 전국의 노지밭 토양에 대한 토양화학성 및 미생물상 조사를 실시하였다.

2. 재료 및 방법

국립농산물품질관리원에서 추천한 유기인증 농가의 노지밭 중에서, 지역, 작물과 시용 유기물을 고려하여 15개 지점을 선정하고 유기농 인증 이력

을 5년 미만(5점), 5~10년(5점), 그리고 10년(5점) 이상된 토양으로 구분하여 토양시료를 채취하고 토양화학성, 미생물 분포, 군집구조 등을 분석하였다.

토양시료를 채취하여 풍건하여 전처리한 후 농촌진흥청 국립농업과학원의 토양 및 식물체 분석법에 준하여 토양화학성을 분석하였으며, DNA는 토양을 채취하여 20°C로 7일간 배양하고 2 mm의 sieve로 거른 후 0.4 g(습토 중량)에 대해 FastDNA SPIN Kit for Soil(MP-Bio)를 이용하여 DNA를 추출하였다.

토양 화학성의 주성분 분석(Principal Component Analysis, PCA)은 통계 분석 소프트웨어 JUSE-StatWorks version 5.0(일본 과학 기술 연구소)를 이용하여 주성분 분석을 실시했다.

미생물 군집 구조 분석은 Morimoto and Hoshino의 방법⁸⁾에 준하여 세균의 16S rDNA 및 사상균의 18S rDNA의 PCR-DGGE 분석을 실시했다. 전기영동 후 젤을 SYBR Green I (Takara, Japan)를 이용하여 10 분간 염색하고, ChemiDoc Touch(Bio-Rad, UK)를 이용하여 촬영했다. 촬영한 DGGE 젤에 대한 이미지 분석 소프트웨어 BioNumerics version 4.5(Infor-com)을 이용하여 각 DGGE 밴드의 검출 및 Ward 법에 의한 클러스터 분석을 실시했다. 측

정된 각 밴드의 이동도 및 강도 데이터를 이용하여 다양성 지수(Shannon Index) 식을 이용하여 산출하였다:

$$H' = \sum \left(\frac{n_i}{N} \times \ln \frac{n_i}{N} \right) \quad (\text{Eq.1})$$

여기서, n_i 는 피크 높이, N은 피크 높이의 총합을 나타낸다.

또한, DGGE 밴드 강도와 토양 화학성의 데이터를 이용하여 정준위 대응 분석(Canonical Correspondence Analysis, CCA)을 수행하였다. CCA는 Suzuki and Takenaka의 방법⁹⁾에 의해 R(version 3.0.0: The R Foundation for Statistical Computing)을 이용하여 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

유기농 인증농가 중에서 지역, 작물과 유기농 재배경력을 고려한 15개 지점에서 토양을 채취하여 토양의 이화학성을 분석하였다. 토양 pH는 4.5~

Table 1. Chemical properties of organic farming soils

Sample	pH (1:5)	EC (dS/m)	T-N (%)	T-C (%)	CN (%)	Avail.P (mg kg ⁻¹)	Ex.Cation(cmol ⁺ /kg)			
							K	Ca	Mg	Na
1 Jeonam Sweet potato	5.8	0.08	0.05	0.54	11.4	76.80	1.13	9.53	2.05	0.08
1 Gyeonggi Red pepper	7.2	1.13	0.38	3.57	9.30	756.0	3.63	16.02	4.42	0.44
1 Gyeonggi Garlic	7.3	0.60	0.33	3.17	9.68	1033.1	2.94	14.62	4.12	0.34
1 Gyeonggi Potato	6.7	0.12	0.28	1.36	4.90	813.5	0.75	15.88	2.83	0.39
1 Gyeonggi Sweet potato	6.8	0.14	0.36	1.59	4.47	1244.3	2.76	14.24	3.08	0.66
2 Jeonam Sweet potato	6.1	0.23	0.09	0.88	10.3	114.2	0.66	11.22	2.74	0.06
2 Jeonam Onion	4.5	1.05	0.23	2.04	8.96	709.6	0.71	2.05	2.33	0.38
2 Jeonbuk Potato	7.2	5.61	1.13	0.10	10.9	913.5	4.12	7.19	4.20	1.68
2 Jeonbuk Onion	6.9	1.33	2.83	0.30	9.39	2682.2	1.96	11.94	3.25	0.21
2 Jeonbuk SoyBean	6.0	3.81	1.99	0.22	8.88	1006.4	1.56	10.69	2.39	0.19
3 Gyeonggi Sweet potato	7.0	0.44	0.12	1.41	11.5	131.2	0.45	6.49	1.43	0.25
3 Gyeonggi Garlic	7.1	0.15	0.10	1.08	11.3	135.4	0.58	6.84	0.91	0.21
3 Jeonbuk SoyBean	7.2	0.32	1.09	0.10	11.3	198.2	0.78	7.36	2.48	0.11
3 Chungnam Red pepper	7.0	1.83	0.16	1.88	12.1	770.3	1.80	13.38	2.07	0.20
3 Chungnam Potato	7.0	2.97	0.18	2.00	11.3	840.5	1.48	13.72	2.01	0.21

1: Organic cultivation for more than 10 years, 2: Organic cultivation for 5~10 years, 3: Organic cultivation for less than 5 years

7.3의 범위에서 변동하였다. 대부분의 작물은 pH 6.0~7.0의 범위를 나타냈지만, 전남 양파, 전남 고구마 재배토양은 pH 4.5, 5.8의 산성을 나타내었으며, 경기의 마늘과 고추 그리고 전북의 대두 재배토양에서는 pH 7.2~7.3을 나타냈다. 이러한 토양의 알칼리화는 퇴비 시용에 의한 것으로 추정되었다. EC는 대부분의 조사 지역에서 관행 토양의 기준인 2 dS/m 보다 낮은 값을 보였지만, 전북 감자와 대두 토양에서는 5.6과 3.8 dS/m을 나타냈다. 유효태 인산 함량은 재배 작물의 종류에 따라 크게 달라 관행 토양의 기준인 200~300 mg kg⁻¹에서 크게 벗어난 77~2,682 mg kg⁻¹을 나타내었다. 이것은 유기 재배시 화학 비료 대신 가축분 퇴비를 대량으로 사용하기 때문으로 추정되는바, 유기농경지의 건전한 토양관리를 위해서는 가축분 퇴비의 사용량을 줄여야 할 것으로 사료된다.

토양화학성 분석 값을 기준으로 주성분 분석을 실시한 결과, 지역과 유기농 재배경력에 따라 4개의 그룹으로 구분되었다. 즉, Ca²⁺, pH, EC, P 등은 유기토양관리 이력이 길어질수록 상관관계가 높게 나타나는 경향을 보였다. 여기에 토양미생물이 토양 양분 순환에 관여하며, 토양의 탄소순환에 50%, 분해과정에는 100% 관여하고, 질소순환 과정

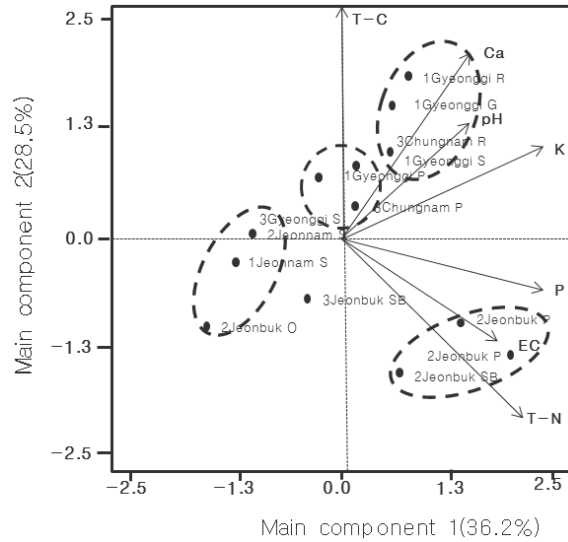


Fig. 1. Canonical Correspondence Analysis based on soil chemical property of organic farming soil.

에는 60%, 인 순환의 경우에는 90%까지 미생물이 기여한다고 보고¹⁰⁾되었고, 또한, Lopes et al.¹¹⁾은 유기농업적인 방법으로 관리된 논에서 세균의 클러스터 구분이 가능하였고, 효소활성 및 pH가 높은 상관성을 보인다고 보고하였다.

토양 중 미생물상은 유기농 인증을 받은 후 재배 기간, 지역, 작물 등을 고려한 15개 지점에 대해

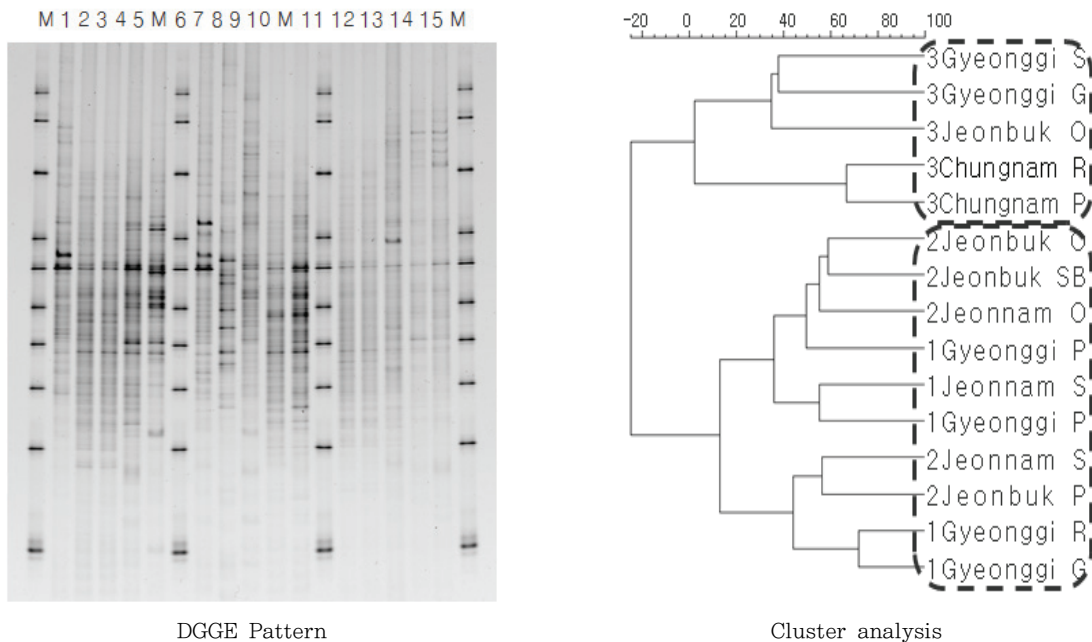


Fig. 2. Analysis of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis(DGGE) pattern and Cluster of soil bacteria.

PCR-DGGE 법을 이용하여 세균 (16S rDNA) 및 사상균 군집 (18S rDNA) 분석을 실시하여 DGGE 패턴과 클러스터 분석을 실시했다.

세균 군집의 경우, 재배경력에 따라 5년 이하와 5년 이상으로 두 개의 그룹으로 구분되며 재배이력이 길어질수록 토양 세균 군집의 특성이 차이가 나타났다. 특히, 유기재배 이력이 10년을 넘게 되면 클러스터가 독립되어 유기토양이 명확하게 구별되었다. 이는, 캐나다 유기감자 재배 토양이 일반 재배 토양에서보다 세균의 함량이 높았다는 Sugiyama et al.의 보고¹²⁾와도 같은 결과를 보이고 있었다. 따라서 5년 이상 장기적으로 유기재배가 계속된 토양의 미생물상의 특성을 구분할 때 세균의 군집분석이 매우 유효하다는 것이 확인되었다.

사상균 군집의 경우, 세균군집 보다는 유기재배 이력에 따른 차이를 뚜렷하게 확인할 수 없었지만 전남지역(고구마, 양파)과 경기지역(고구마, 감자, 고추)에서 유기재배 이력이 5년 이상인 농가의 사상균 군집이 하나의 그룹으로 구분되어 유기농 토양의 미생물적 특성이 반영되는 것을 확인하였다.

그러나 충남(고추, 감자)과 전북(감자, 양파) 그리고 경기지역의 일부 작목에서는 유기농 재배이력 별로 일정한 경향이 확인되지 않았다. 이러한 결과로부터 미생물상 분석을 통한 유기농 토양의 특성

구분에는 사상균보다 세균을 분석하는 것이 효과적이라는 것을 확인하였다.

토마토 재배지를 유기재배와 관행재배로 구분하여 3년간 사상균의 클러스터를 비교한 Urashima et al.¹³⁾의 연구에서도 유의미한 구분이 일어나지 않았는데, 사상균의 경우 유기농 관리 유무보다 토양중 양분의 축적에 민감하게 반응한다고 하였다.

분석된 DGGE 패턴을 사용하여 토양세균과 사상균의 다양성 지수(H')를 산출하여 [Table 2]에 나타내었다.

세균의 다양성 지수의 범위는 1.91~3.39로서 유기재배 이력이 5년 이상인 토양의 다양성 지수가 5년 미만의 토양보다 큰 것으로 확인되었다. 특히, 5년 미만토양에서 재배한 전체 작물의 다양성지수 평균이 2.38로 5년 이상 토양의 3.07보다 22%나 낮았는데, 이는 토양중의 세균은 pH와 높은 상관을 갖으며 유기물의 영향을 받아 다양성지수가 높아진다는 Sugiyama et al.의 보고¹²⁾와 일치하였다.

한편, 사상균의 다양성 지수의 범위는 2.19~3.30이었으며 재배이력별 다양성지수도 5년 미만의 평균이 2.97, 5~10년은 2.74, 10년 이상에서는 2.78을 나타내어 사상균의 경우 세균과 달리 유기재배 이력에 따른 차이를 보이지 않았다.

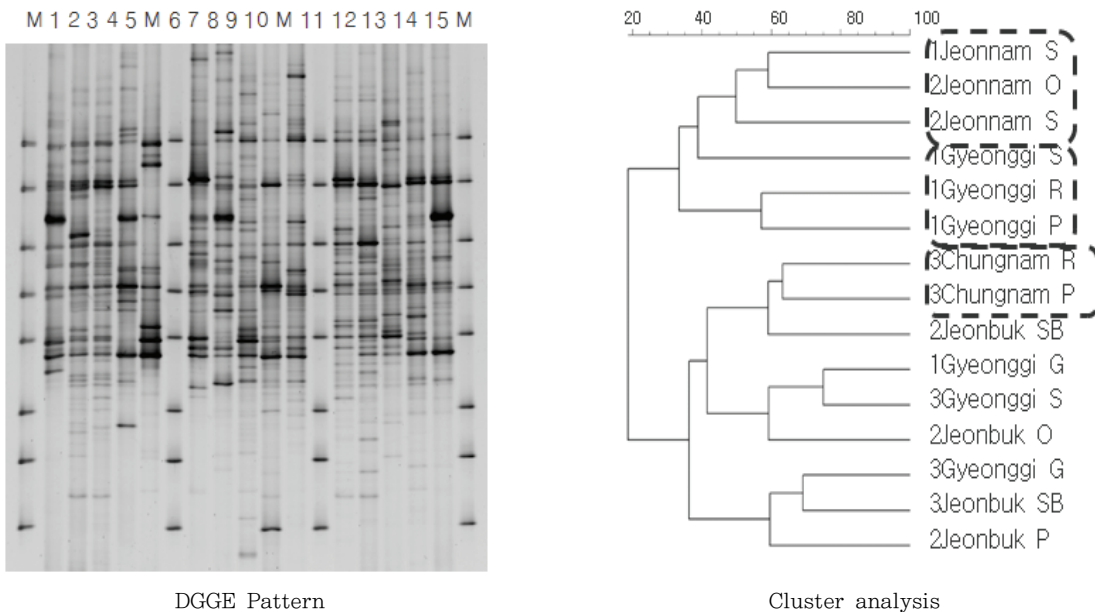


Fig. 3. Analysis of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis(DGGE) pattern and Cluster of soil fungus.

Table 2. Analysis of diversity index in soil bacteria and fungus

Sample	Shannon Index (H')	
	Bacteria	Fungus
1 Jeonam Sweet potato	2.89	2.57
1 Gyeonggi Red pepper	3.35	2.93
1 Gyeonggi Garlic	3.13	3.20
1 Gyeonggi Potato	3.00	2.64
1 Gyeonggi Sweet potato	2.91	2.54
2 Jeonam Sweet potato	2.67	2.78
2 Jeonam Onion	2.90	2.70
2 Jeonbuk Potato	3.39	2.19
2 Jeonbuk Onion	3.08	2.94
2 Jeonbuk SoyBean	3.30	3.07
3 Gyeonggi Sweet potato	2.68	2.95
3 Gyeonggi Garlic	1.91	3.30
3 Jeonbuk SoyBean	2.40	3.28
3 Chungnam Red pepper	2.37	3.16
3 Chungnam Potato	2.53	2.41

1: Organic cultivation for more than 10 years, 2: Organic cultivation for 5~10 years, 3: Organic cultivation for less than 5 years

4. 결론

유기농경지 토양을 재배이력, 지역, 작목으로 구분하여 화학성과 생물상을 분석한 결과, 유기축분 퇴비의 장기간 사용으로 인한 토양중 유효태 인의 과잉축적이 확인되었다. 따라서, 유기농경지의 건전한 토양관리를 위해서는 가축분 퇴비의 경감이 시급히 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

토양에서 추출한 DNA 미생물중 세균의 경우 DGGE 패턴과 클러스터 분석을 통해 재배경력에 따라 5년 이하와 5년 이상으로 구분되어 재배이력이 길어질수록 토양 세균 군집이 차별화 되어 장기 유기농경지의 토양 특성 구분이 가능하였으나 사상균의 경우는 재배이력 및 지역별로 일정한 경향이 나타나지 않았다.

그러므로, 유기재배토양의 미생물적 특성을 구분할 때 5년 이상의 장기재배 토양을 대상으로 세균의 군집분석을 실시하는 것이 매우 효과적일 것으로 판단된다.

사 사

This study was carried with the support of “Research Program for Agricultural science & Technology Development(Project No. PJ010182022016)”, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

1. Muyzer, G., De Waal, E.C., and Uitterlinden, A.G., “Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA”, *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3), pp. 695-700. (1993).
2. Hu, C., and Cao, Z. “Size and activity of the soil microbial biomass and soil enzyme activity in long-term field experiments”, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(1), pp. 63-70. (2007).

3. Dinesh, R., Dubey, R.P., and Prasad, G.S. "Soil microbial biomass and enzyme activities as influenced by organic manure incorporation into soils of a rice-rice system". *Journal of Agronomy and Crop Science*, 181(3), pp. 173-178. (1998).
4. Klose, S., and Tabatabai, M.A. "Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems", *Biology and Fertility of Soils*, 31(3), pp. 191-199. (2000).
5. Joa, J.H., Lee, J.H., Won, H.Y., Han, S.G., and Lim, H.C. "Effect of different soil managements on physical properties and microbial activities in citrus orchard soil", *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 41(5), pp. 279-284. (2008).
6. M der, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., and Niggli, U. "Soil fertility and biodiversity in organic farming", *Science*, 296(5573), pp. 1694-1697. (2002).
7. Hernesmaa, A., Björklöf, K., Kiikkil, O., Fritze, H., Haahtela, K., and Romantschuk, M. "Structure and function of microbial communities in the rhizosphere of Scots pine after tree-felling". *Soil Biology and Biochemistry*, 37(4), pp. 777-785. (2005).
8. Morimoto, S., & Hoshino, Y. T. (2008). Methods for analysis of soil communities by PCR-DGGE (1): Bacterial and fungal communities. *Soil Microorganisms* 62(2), 63-68.
9. Suzuki, C., and Takenaka, M. "Application of canonical correspondence analysis to soil microbial ecology", *Soil Microorganisms*, 63(1), pp. 32-38. (2009).
10. Van Der Heijden, M.G., Bardgett, R.D., and Van Straalen, N.M., "The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems", *Ecology Letters*, 11(3), pp. 296-310. (2008).
11. Lopes, A.R., Cátia, F., Angeles, P.F., Carmen, T.Ce., Célia, M.M., Olga, C.N., "Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming", *Soil Biology & Biochemistry*, 43, pp. 115-125. (2011).
12. Sugiyama, A., Vivanco, J.M., Jayanty, S.S., and Manter, D.K. "Pyrosequencing assessment of soil microbial communities in organic and conventional potato farms", *Plant Dis.*, 94, pp. 1329-1335. (2010).
13. Urashima, Y., Nakajima, M., Kaneda, S., Okada, H., Hasegawa, H., and Murakami, T. "Comparative analysis of the phospholipid fatty acid composition between organic and conventional farming fields", *Soil Microorganic* 63(2), pp. 55-63. (2009).