

碩士學位論文

表土 管理方法이 火山灰土 柑橘園 土壤의
微生物相에 미치는 影響



左 宰 昊

1999年 6月

表土 管理方法이 火山灰土 柑橘園 土壤의
微生物相에 미치는 影響

指導教授 玄海男

左宰昊

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함.



1999年 6月

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

左宰昊의 農學 碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長 _____

委 員 _____

委 員 _____

濟州大學校 大學院

1999年 6月

Effects of Surface Soil Management Practices
on Soil Microflora in Volcanic Ash Soil
of Citrus Orchards

Jae-Ho Joa

(Supervised by professor Hae-Nam Hyun)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF AGRICULTURAL CHEMISTRY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1999. 6

목 차

Summary

I. 서 론	1
II. 연구사	3
III. 재료 및 방법	
1. 토양시료 채취	6
2. 토양의 화학적 성질 분석	7
3. 토양 미생물상 조사	7
4. 사상균 속 동정	7
5. 토양효소 활성 측정	9
6. Microbial biomass C 분석	10
IV. 결과 및 고찰	
1. 감귤원 토양의 화학적 성질	12
2. 표토 관리방법에 따른 감귤원 토양 미생물의 밀도	14
3. 사상균 속 동정	22
4. 미생물상과 pH 및 유기물 함량과의 상관관계	24
5. 토양효소 활성	26
6. Microbial biomass C	33
V. 적 요	35
인용문헌	36

Summary

This study was performed to find out effects of different surface soil management practices on density of soil microflora, genera of soil fungi, soil enzyme activity, and microbial biomass C in soils of open field and P.E. film house citrus cultivation distributed in volcanic ash soil. Soils were collected from 20 different sites of clean cultivation system, 15 sites of grass sward system, and 13 sites of grass mulch system on May and September in open field citrus orchards. Soils were also sampled from 20 different sites of clean cultivation system and 15 sites of grass mulch system on March and May in P.E. film house citrus orchards.

Soil chemical properties showed no difference with surface soil management practices in open field and P.E. film house. However, soil pH and exchangeable cations were higher in soil from P.E. film house than open field. Densities of aerobic bacteria, actinomycetes, and fungi were at 10^6 cfu g⁻¹, 10^5 cfu g⁻¹, and 10^4 cfu g⁻¹, respectively both in open field and P.E. house. Among aerobic bacteria, density of thermophilic *Bacillus* spp. was at 10^5 cfu g⁻¹ and *Pseudomonas* spp., *Rhizobium* spp., and *Pseudomonas* spp. were at $10^5\sim10^6$ cfu g⁻¹. Density of *Xanthomonas* spp. was at $10^4\sim10^5$ cfu g⁻¹. Densities of soil microorganisms were not affected by the surface soil management practices and soil sampling time in open field except of *Xanthomonas* spp. In March, when the soil moisture content was high, densities of soil microorganisms were higher in grass mulch system than in clean cultivation system of P.E. film house. In May, when the soil moisture content was low, densities of soil microorganisms showed no difference with surface soil management practices in P.E. film house, but densities of soil microorganisms decreased in May than in March. Number of identified fungi was more in surface soil than subsoil and *Aspergillus* spp.

and *Penicillium* spp. were predominant. Density of thermophilic *Bacillus* spp. was significantly increased with soil pH in open field, however, was not in P.E. film house. Phosphatase activity have no significant relationship with soil organic matter contents and available phosphate. Cellulase activity was higher in grass sward system and grass mulch system than clean cultivation system in open field. The amount of microbial biomass C was higher in grass mulch system than clean cultivation system and grass mulch system in open field, but in P.E. film house, different system showed no difference in microbial biomass C.

I. 서 론

제주도 1차산업 조수익의 63%를 차지하는 감귤산업은 매년 재배면적이 늘어나 1998년 현재 25,800 ha에 이르고 있으며 그중 시설재배 면적은 637 ha를 차지하고 있다. 감귤원 전체면적의 약 61%가 화산회토에 분포되어 있으며, 양이온치환용량이 높고 인산 흡착량이 큰 화산회토의 특성 때문에 시비 권장량 이상의 비료를 사용하는 농가가 많다.

다량의 시비로 인해 토양중의 인산, 칼리 및 치환성 양이온의 함량이 점차 높아지는 경향을 보이며, 토양 pH도 1960년대의 pH 6.3에서 현재 pH 4.9로 현저히 낮아졌다(제주도 농업기술원, 1998). 화산회토양은 일반토양에 비해 용적밀도가 낮고 공극률이 커서 투수속도가 빠르며, 염기의 용탈이 심하게 일어난다. 또한 유기물함량이 높으나 대부분 AI과 복합체를 형성하고 있어서 분해에 대한 저항성이 크며 오히려 미생물의 활동을 억제시키는 특성을 가지고 있다(송, 1982).

감귤원의 표토관리방법은 그라목손, 스톱프, 마세트, 라쏘 등의 제초제를 사용하여 나지 상태로 관리하는 청경재배가 주를 이루고 있다. 최근에는 제초제를 사용하지 않고 자연상태의 초생을 이용하는 초생재배가 시도되고 있으며, 산야초 또는 방풍수 파쇄물 등을 표토에 피복하는 부초재배법도 이용되고 있다. 청경재배에 비하여 초생 또는 부초재배는 토양침식에 의한 표토의 비료성분 및 토양의 유실이 적을 뿐만 아니라 유기물이 공급되기 때문에 미생물의 활성화와 수에 좋은 영향을 미칠 수 있다.

초생 또는 부초 재배법으로 표토를 관리하는 감귤원은 청경재배 감귤원에 비해 토양의 질 및 건전성이 양호할 것으로 생각되고 있으나 이에 관한 조사가 체계적으로 이루어진 바 없다. 토양의 건전성은 토양의 물리, 화학, 생물적인 측면에서 평가하고 있는데(Pankhurst 등, 1997), 미생물에 의한 토양건전성 평가는 미생물체량, 미생물활성, 미생물수, 미생물기능군, 미생물군락, 토양효소 활성 등이 이용되고 있다(Vance 등, 1987; 堀, 1994).

토양미생물은 토양의 물리화학적인 성질과 외부 환경요인에 영향을 받는다. 이러

한 요인에는 수분함량, 토양의 온도, 공기, pH, 질소와 탄소함량, 농약의 살포 등이 있는데 미생물의 종류, 밀도, 효소활성에 변화를 준다.

청경재배는 나지상태로 관리하기 때문에 표토의 온도 및 수분함량의 변화가 심하며 침식에 의한 식물양분의 유실, 높은 용적밀도에 의해 통기성과 투수성이 불량해질 수 있는 조건을 갖고 있다. 반면에 초생재배는 직사광선이 차단되어 온도와 수분함량의 변화가 작으며 잡초 뿌리가 토양을 침투하므로써 용적밀도가 낮아지고 공극률이 커져서 통기성이 커질 뿐만 아니라 식물뿌리가 죽었을 때 미생물이 이용할 수 있는 유기물이 첨가되므로 미생물의 활성이 높아질 수 있는 환경이 조성될 수 있을 것으로 예상된다. 또한 부초재배도 적절한 수분, 지온의 유지, 미생물이 이용할 수 있는 유기물원이 공급되므로 지온유지가 청경재배와는 다른 미생물 생육조건이 조성되리라고 생각된다. 따라서 표토관리 방법에 따라 미생물의 밀도와 효소활성에 영향을 미칠 수 있으나 이에 관한 연구가 체계적으로 이루어진 바 없다.

이 연구는 화산회토 감귤원 토양에서 미생물의 건전성을 유지할 수 있는 합리적인 표토관리방법을 구명하기 위하여 제주도내 노지와 하우스 감귤원에서 청경재배, 초생재배 및 부초재배 감귤원 등 83개의 감귤원에서 토양을 채취하여 토양의 화학적 성질을 분석하고 토양미생물의 종류별 밀도를 조사하였으며, 층위별로 사상균의 속을 동정하였고, 토양효소활성 및 microbial biomass C량을 측정하였다.

II. 연구사

토양미생물은 토양내 유기 및 무기물질의 순환에 따른 이화학성의 변환, 오염물질의 정화, 부식물의 형성, 유해물질생산 등 토양환경 조정자로서 토양의 건전성에 큰 영향을 미친다. 최근에는 토양의 질 및 토양의 건전성과 관련하여 토양의 물리, 화학, 생물적인 측면에서 다양한 지표가 제시되고 있는데 미생물의 밀도, 호흡량, 효소활성, 미생물체량 등이 토양미생물의 활성을 평가하는 방법으로 이용되고 있다.

우리나라 육지부 밭토양의 평균 미생물 수는 세균 8.9×10^6 cfu g⁻¹, 방선균 30.1×10^5 cfu g⁻¹, 사상균 73.4×10^4 cfu g⁻¹이라고 했다(유 등, 1984). 시설재배지는 노지 토양과는 달리 폐쇄조건하에서 인위적으로 관리되기 때문에 일정한 경향을 찾기는 어렵지만 호기성세균 73.1×10^6 cfu g⁻¹, 방선균 53.2×10^5 cfu g⁻¹, 사상균 16.5×10^4 cfu g⁻¹, 고온성 *Bacillus*속 109.4×10^3 cfu g⁻¹, 형광성 *Pseudomonas* 속 80.7×10^4 cfu g⁻¹으로 분포하고 있다고 보고되었다(서 등, 1996; 서 등, 1998). Flanagan 과 Veum(1974)은 온도, 강수량, 일조등이 토양미생물의 수 및 활성과 관계가 높으며, Doemel 과 Brock(1970)은 근권미생물의 수와 종류는 작물의 종류와 재배방법에 따라서 크게 변화한다고 하였다. 사상균은 작물의 영양생장기보다 생식생장기에 수와 종류가 증가한다고 보고되었으며(Agnihotrudu, 1955), Bull과 Slater(1982)는 토양의 과도한 건조에 의해 토양 미생물상이 크게 변동되어 생태학적 평형을 약화시킨다고 하였다. 또한 토양내 미생물활성과 토양 pH와는 상관이 높다고 보고되었다(유 등, 1984; 권, 1998). 밭토양에서는 pH가 고온성 *Bacillus*속, 형광성 *Pseudomonas* 속, 방선균과 상관이 높으며(서 등, 1996), 유기물함량과 고온성 *Bacillus*속 간에는 고도의 정의 상관이 있어 유기물 시용 내력을 추적하는 하나의 방법으로 제시되고 있다(서 등, 1998).

육지부와는 달리 제주도 토양에서는 10⁵ 회석수준에서 방선균이 검출이 안됐다고 보고 하였으며(박 등, 1975), 이(1986)는 토양중의 난용성 인산염을 가용화 시키는 사상균에 관하여 보고하였다. 이 등(1988)은 제주도 밭토양의 미생물분포는 육지 토양의 미생물수에 비하여 세균은 1/10~1/100배, 사상균수는 1/2배정도 이고 세균과 사상균의 종류는 매우 단순하며 세균중 *Rhizobium* spp. 등이 차지하는 비율이 높다

고 하였다. 김 등(1996)은 화산회토지역의 노지 감귤원 토양의 평균 미생물수는 세균 1.7×10^6 cfu g⁻¹, 방선균 8.5×10^3 cfu g⁻¹, 사상균 4.3×10^4 cfu g⁻¹, 시설감귤 하우스는 세균 2.9×10^5 cfu g⁻¹, 방선균 9.8×10^3 cfu g⁻¹, 사상균 6.4×10^3 cfu g⁻¹였으며 하우스토양의 pH와 방선균은 정의 상관을 나타냈다고 하였다. 감귤원에서 Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae는 토양중의 인의 흡수를 증대시키고 작물의 생육을 촉진시키는 것으로 보고되었다(이, 1986; 정 등, 1997; 김, 1997).

토양 효소활성과 토양 미생물체량은 토양미생물의 활성을 평가하기 위하여 많이 연구 되었다(Bolton 등, 1985; Martens, 1987; Vance 등, 1987). 토양 유기인산을 무기인산으로 전이하는 일차적인 역할은 미생물에 의하여 이루어진다. 여기에 관여하는 물질이 Phosphatase인데 유기인산의 무기화에는 Phosphomonoesterase가 중요하게 작용을 하며 산성토양에서는 산성 Phosphatase의 활성이 높다고 하였다. Phosphatase 활성은 조건에 따라 상이한데 효소활성에 적합한 온도는 25~30°C 라고 하였으며(Bremner 등, 1975), Phosphatase 활성은 토양중의 유기인산 및 유기물 함량과 상관관계가 있다고 하였다(Gerritse과 Dijk, 1978). 또한 Trasar-Cepeda와 Gil-Sotres(1987)은 세균과 사상균의 Phosphatase 활성은 산성토양에서 높아 유기물 함량이 높은 산성 토양에서는 산성 Phosphatase가 중요한 역할을 하여 pH가 5에서 6 사이 일 때 가장 높다고 하였다. Nakas 등(1987)은 미생물의 pH별 Phosphatase는 균 특성에 따라 상이하나 세균에서 활성이 높다고 하였다. 서(1994)는 *Bacillus* spp. 과 *Pseudomonas* spp.이 인산 가용화능이 뛰어나다고 하였다.

효소란 기질 특이성이 있는 물질로서 Cellulase는 유기물의 분해 과정 중에 탄소와 인의 순환에 중요한 역할을 하는데 유기물시용이라는 단일 처리에 의해서 기질 특이성 균주의 군락이 현저히 달라진다고 하였다(Klein과 Koths, 1980), 埴野(1978)는 미생물활성의 지표로서 각종의 유기물분해에 따른 호흡, 효소활성의 크고 작음에 관하여 보고하였다. 김 등(1988)은 제초제 시용직 후의 Cellulase의 활성은 낮아진다고 하였다.

토양에 농약이 투입되면 약제종류에 따라 정도의 차이는 있지만 일차적으로 토양 미생물의 활성에 나쁜 영향을 주어 미생물의 일부는 사멸하여 없어지나 이를 에너지원으로 하는 미생물은 급격히 증식되어 이들 미생물과 관련된 효소 활성이 증가된다고 하였다(김 등, 1987; 김 등 1988). 양(1984)은 살균제 Tetrachloroisophthaloni

trile 시용에 의해 포자형성균, 방선균과 사상균의 수는 감소되나 전 세균 및 그람음성균, 특히 살균제 내성 그람음성균의 수는 증가되고, 살충제 및 살균제 등이 연용될 때는 해당농약을 대사할 수 있는 기능을 가진 세균 군이 토양에 집적된다고 하였다(양, 1985).

토양 유기물에는 식물생육에 필수적인 다량 및 미량원소의 대부분이 복합 화합물 형태로 존재하고 있어 미생물에 의하여 무기화되어 식물에 흡수된다. 유기물의 생물학적 무기화에 의해 생성되는 화합물은 NH_4^+ , PO_4^{-3} , SO_4^{-2} 등이다. 이렇게 생성된 물질의 토양내에서의 순환은 에너지원인 탄소의 미생물에 의한 소비량에 달려있다(Metting, 1992). 토양 미생물체 C의 측정을 위하여는 클로로포름 혼중 배양법(Vance 등, 1987a), 클로로포름 혼중 추출법(Vance 등, 1987b; Inubushi 등, 1991), 호흡 반응법(Van de Werf, 1987), ATP 함량 측정법 등이 이용되고 있다. 미생물체량 C함량은 총 토양탄소의 2~5%에 이르고(Jenkinson 과 Ladd, 1981), 유기물함량과 직선적인 관계를 가지고 있지만 Biomass C/soil C ratio은 기후, 작물경작, 윤작 등에 따라 상이하다고 하였다(Anderson 과 Domch, 1989). 토양 Biomass 량은 토양 산도와도 밀접한 관계를 가지고 있기 때문에 강산성 토양인 경우에는 석회등을 사용하여 개량할 필요가 있는데 pH 4.3~5.4에 이르는 토양에 석회를 사용한 결과 Biomass C량이 약 30% 이상 증가하였다고 하였다(Adams 등, 1983). 서(1999)는 토양중의 미생물체량은 살아있는 유기물이기 때문에 단위면적당 미생물체량이 많은 지역이 생물학적 기능이 높다고 하였다. 오(1982)는 제주도 토양의 Biomass C는 비화산회토양이 화산회토양 보다 높고 9월이 8월 보다 높다고 하였다.

지금까지 토양비옥도 관리측면에서 토양 화학성이나 물리성에 대한 연구는 많이 되었으나 제주도 감귤원 토양의 미생물상 특히 표토 관리방법에 따른 미생물상에 관하여 연구된 바는 없다.

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 토양시료 채취

토양시료는 화산회토 감귤원이 분포된 지역을 대상으로 노지와 하우스에서 표토 관리 방법에 따라 청경재배, 초생재배, 부초재배로 구분하여 채취하였다. 청경재배는 제초제를 사용하여 나지 상태로 관리되는 감귤원, 초생재배는 자연초생을 이용하는 감귤원, 부초재배는 산야초를 이용하여 표토를 관리하는 농가의 감귤원을 택하였다. 노지 감귤원에서는 5월(개화기)과 9월(과실비대기)에 청경재배 감귤원 20개소, 초생재배 감귤원 15개소, 부초재배 감귤원 13개소 등 48지점에서 토양을 채취하였다. 하우스 재배감귤원에서는 3월(개화기)과 5월(과실비대기)에 청경재배 감귤원 20개소와 부초재배 감귤원 15개소 등 35지점에서 채취하였다(Fig. 1).

토양은 10cm의 표토를 채취하여 습토 상태로 2mm체를 통과시켜 폴리에틸렌병에 담아 4℃ 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 층위별 사상균의 속을 동정하기 위해 20~30cm의 심토를 구분하여 채취하였다. 토양의 화학적 성질을 분석하기 위한 토양은 풍건하여 사용하였으며 미생물분석용 토양시료는 습토 상태로 사용하였다

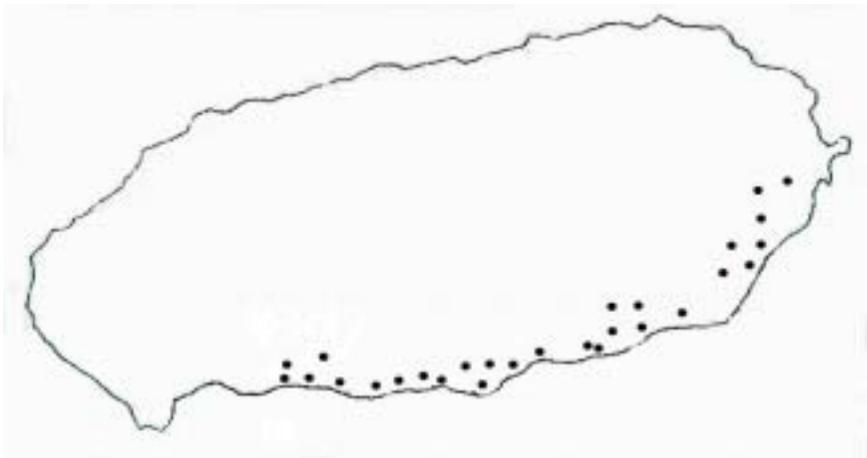


Fig. 1. Sampling sites.

2. 토양의 화학적 성질 분석

토양의 화학적 성질은 농업기술연구소 토양화학분석법(1988)에 준하여 pH는 토양과 증류수의 비율을 1 : 5로 하여 측정하였고, 유기물은 Walkley-Black법, 전질소 함량은 Kjeldahl법, 유효 인산은 Bray. No-1법, 치환성 칼리, 칼슘, 마그네슘 등의 양이온은 1N NH₄OAc(pH 7.0)로 침출하여 원자흡광광도계(Spectra-200, Varian)로 측정하였다.

3. 토양 미생물상 조사

토양 미생물 조사는 토양 미생물 실험법(土壤微生物研究會, 1992)에 준하여, 해당 선택배지를 사용하여 희석 평판법으로 조사하였다. 호기성세균은 Yeast extract-Glucose(YG)배지, 고온성 *Bacillus* spp.은 희석용액을 80℃ water bath에서 10분간 처리한 후 YG배지를 사용하였고, 방선균은 Glucose-Starch-Asparagine(GSA)배지, 사상균은 Rose-Bengal(R-B)배지, *Pseudomonas* spp.는 King B-1(KB-1)배지, *Xanthomonas* spp.은 D-5배지, *Rhizobium* spp.은 Yeast extract-Manitol Agar(YMA)배지를 사용하여 항온기를 이용, 28 ℃에서 각 시료당 3반복으로 호기성 세균과 세균 속은 5~7일, 사상균은 3~4일, 방선균은 10~14일 배양 한 후에 Petri dish상에 나타난 colony를 계수 하였으며 사용된 각각의 배지조성은 표 1 과 같다. 미생물수는 계수 한 후 평균한 값을 생균수(colony forming unit : cfu g⁻¹건 토)로 계산하였다.

4. 사상균 속 동정

사상균의 분류동정은 총수 조사가 끝난 후 Rose-Bengal 한천배지상의 균주를 Hole slide glass에 hanging drop method로 항온기를 이용, 30 ℃에서 PDA배지를 사용하여 2~3일간 배양하였다. 배양 후 광학현미경으로 포자의 형태를 관찰하여 분리 동정을 하였다(Ainsworth 등, 1973).

Table 1. Medium for the soil microbial analysis

(unit: g)

Ingredient	YG	GSA	R-B	KB-1	YMA	D5
Glucose	1.0	5.0	10.0			
K ₂ HPO ₄	0.3	0.5		1.5	0.5	
KH ₂ PO ₄	0.2		1.0			3.0
FeSO ₄ · 7H ₂ O		0.01				
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2	0.5	0.5	1.5	0.2	0.3
Peptone			5.0	20.0		
Rose bengal			0.033			
Yeast extract	3.0	0.5			0.4	
Cycloheximide	0.5	0.05				
Streptomycin			0.03			
Agar	15.0	15.0	20.0	20.0	15.0	15.0
Beef extract		2.0				
Soluble starch		5.0				
Glycerol				15 mL		
Asparagine		0.5				
Manitol					10.0	
NaCl		0.5			0.1	
Cellobiose						10.0
NaH ₂ PO ₄						1.0
NH ₄ Cl						1.0
pH	6.8	7.0	6.8	7.2	6.8	6.8
D · W	1,000 mL					

5. 토양효소 활성 측정

가. 토양중 Cellulase 활성 측정

토양중 cellulase 활성 측정은 2 mm체를 통과한 5 g의 토양시료를 100 mL삼각 플라스크에 취하고 0.5 mL의 toluene을 가하여 교반 한 후 10 mL의 0.2 M 초산 완충용액(pH 5.9)과 1 % CarboxymethylcelluloseNa(CMC) 10 mL를 가한 다음 30℃에서 24시간 배양하였다(서, 1994). CMC대신 10 mL의 증류수를 가한 것을 대조로 하여 같은 조작을 수행하였으며 24시간 후 증류수를 가해서 100mL되게 한 후 배양 기간 중 유리된 환원당의 양을 측정하여 CMC-cellulase 활성치로 하였다.

환원당 측정은 다음과 같은 방법을 사용하였다. 환원당 측정용 시약 I은 16.0 g의 Na_2CO_3 과 0.9 g의 KCN을 1,000 mL의 증류수에 녹이고, 시약 II는 0.5 g의 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 를 1,000 mL에 녹인 후 갈색병에 넣어 보관하였다. 그리고 시약 III은 1.5 g의 $\text{Fe}_2\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.0 g의 $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{SNa}$ 과 4.2 mL의 진한 황산을 50℃의 증류수에 녹여 만들었다.

배양후 여액 1 mL와 시약 I,II를 각각 1 mL씩 시험관에 취한 후 마개를 하여 100℃ 로 끓는 수조에서 정확히 15분간 가열하였다. 가열 후 20℃ 하에서 5분간 냉각시킨 후 시약 III을 5 mL씩 가하여 20℃ 에서 60분간 정치 발색시킨 후 30분 내에 UV-Visible spectrophotometer (HP 8453A, Hewlett Packard)를 이용하여 690 nm에서 흡광도를 측정하였다.

나. 토양중 Phosphatase 활성 측정

Phosphatase(Phosphomonoesterase)는 2 mm체를 통과한 1 g의 토양시료를 50 mL 삼각플라스크에 취한 후 0.2 mL의 toluene, 4 mL의 MUB 완충용액(pH 6.5), 1 mL의 0.025 M p-nitrophenyl phosphate용액을 가하여 교반 후 마개를 하여 37℃에서 1시간 동안 배양하였다(농업기술연구소, 1988). 1시간 후 마개를 제거하고 1 mL의 0.5 M CaCl_2 용액과 4 mL의 0.5 M NaOH용액을 가하여 흔든 후 Whatman No. 2로 여과하여 여액을 UV-Visible spectrophotometer(HP 8453A, Hewlett

Packard)를 이용하여 400 nm에서 측정하였는데 대조구로 1 mL의 0.5 M CaCl₂ 용액과 4 mL의 0.5 M NaOH용액을 가한 후 토양현탁액을 여과하기 직전에 1 mL의 0.025 M p-nitrophenyl phosphate용액을 가한 것을 사용하였다. 0, 10, 20, 30, 40, 50 ug의 p-nitrophenol을 함유하는 표준용액에 1 mL의 0.5 M CaCl₂용액과 4 mL의 0.5 M NaOH용액을 가하여 혼든 후 Whatman No. 2로 여과하여 여액을 400 nm에서 측정하여 얻은 검량선을 가지고 여액 중의 p-nitrophenol 함량을 계산하였다.

6. Microbial biomass C 분석

토양 미생물체량인 Biomass 탄소는 2mm체를 통과한 토양시료를 클로로포름으로 혼증배양한 후 Biomass C를 침출하여 중크롬산 분해법을 이용하여 정량 하였다 (Vance 등, 1987;서 , 1994).

가. 클로로포름 혼증 배양

소형 비이커에 건토 50 g 상당량의 토양을 25 mL의 클로로포름과 비등석이 들어 있는 100 mL의 비이커와 충분한 량의 물이 담긴 용기를 함께 데시케이터에 넣고 밀폐한 후 감압 하였다. 클로로포름이 끓기 시작할 때부터 3분 후에 데시케이터 코크를 잠그고 24시간 25 °C 암소에서 정치 배양한후 데시케이터 코크를 열어 공기로 치환시켜 클로로포름을 완전히 제거하였다.

나. Microbial biomass C의 정량

(1) Microbial biomass C의 침출

혼증배양후의 토양에 4~5배 량의 0.5 M 황산칼륨(K₂SO₄)용액을 가하여 30분간 왕복 진탕시킨 후 여과하였으며 대조구는 비 혼증토양시료를 같은 방법으로 침출 여과하였다.

(2) Microbial biomass C의 분석(중크롬산 분해법)

침출액 8 mL를 250 mL 용량의 둥근바닥 플라스크에 넣고, 2 mL의 66.7 mM 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)용액과 15 mL의 황산-인산(2 : 1) 혼합액을 첨가하고 잘 혼합한 후 클로로포름 유래의 포스겐 등의 영향을 제거하기 위해 70 mg의 산화 수은 [mercury oxide(II), red]와 비등석을 넣고 잘 혼합한 후에 165°C로 30분간 가열 분해하였다. 가열된 혼합액을 식힌후 25 mL 증류수를 가하고 1,10-Phenanthrolineferrous Sulphate용액(25 mM)을 3-5방울 첨가하여 33.3 mM 황산 제일철 암모니움 [$Fe(NH_4)_2(SO_4) \cdot 6H_2O$]용액으로 적정 하였다. 종말점은 녹색색이 담갈색으로 변하는 점으로 하였다. 대조값은 침출액인 황산칼륨 8 mL를 사용하여 동일한 방법으로 가열 냉각 후 적정한 값으로 하였다.

(3) Microbial biomass C 계산

미생물 Biomass C는 식 1 과 같이 K_2SO_4 용액으로 침출한 탄소에 환산계수를 곱하여 계산하였다.



$$\text{미생물 Biomass C}(\mu\text{g/g, 건토}) = E_c \times 2.64(f) \dots\dots\dots(1)$$

여기서 $E_c(\mu\text{g/mL})$ 는 훈증배양시킨 토양에서 침출된 탄소의 함량(μg)으로 대조구인 비훈증 배양시킨 토양에서 침출된 탄소의 함량(μg)을 뺀 값이다. f 는 훈증배양법에 의한 Biomass와 침출된 유기물에 의한 환산계수 값이다.

IV. 결과 및 고찰

1. 감귤원 토양의 화학적 성질

가. 노지재배 토양

시험에서 사용한 노지 청경재배 감귤원 토양의 pH는 3.7~5.9, 유기물함량은 44.9~212.9 g kg⁻¹의 분포를 나타냈다. 질소함량은 평균 6.0 g kg⁻¹이었고 유효인산 함량은 3.5~351.9 mg kg⁻¹으로 감귤원에 따라 다양하였다. K 함량은 평균 1.5 cmol kg⁻¹이었고, Ca 및 Mg 함량은 낮았다(표 2). 초생재배와 부초재배 감귤원 토양의 pH, 유기물함량, 질소함량, 유효인산, 치환성 양이온함량은 청경재배 토양과 비슷한 경향이였다(표 3 및 4). 노지 감귤원 토양의 pH와 치환성 양이온은 낮았는데 이는 석회고토 시비량의 부족과 강우에 의한 염기용탈에 기인한 것으로 생각된다. 송(1982)은 화산회토양은 화산재에 의한 유기물 복합체가 형성되기 때문에 유기물함량이 높다고 하였는데 노지 감귤원 토양은 이와 비슷한 경향을 보였다.

Table 2. Chemical properties of clean cultivated soils in open field

Value	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P (mg kg ⁻¹)	Exch. cation(cmol kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Min.	3.7	44.9	2.7	3.5	0.4	0.6	0.2
Max.	5.9	212.9	9.1	351.9	2.0	11.4	3.0
Ave.	4.7	132.0	6.0	110.4	1.5	3.7	1.1
S.D.	0.4	48.5	1.4	84.3	0.4	2.9	0.7

Table 3. Chemical properties of grass sward cultivated soils in open field

Value	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P (mg kg ⁻¹)	Exch. cation(cmol kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Min.	4.4	65.3	3.6	1.3	0.4	0.5	0.2
Max.	5.7	195.1	8.1	213.4	2.5	10.9	3.1
Ave.	4.9	130.5	5.3	63.4	1.3	4.1	1.4
S.D..	0.4	37.0	1.0	56.6	0.6	2.5	0.9

Table 4. Chemical properties of grass mulch cultivated soils in open field

Value	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P (mg kg ⁻¹)	Exch. cation(cmol kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Min.	3.9	67.0	3.8	7.8	0.4	0.7	0.2
Max.	5.3	221.3	10.2	199.6	3.3	11.7	4.0
Ave.	4.4	158.2	6.4	80.6	1.2	2.4	0.8
S.D.	0.3	42.2	1.4	52.0	0.6	2.1	0.7

나. 하우스재배 토양

청경재배 하우스감귤원 토양의 pH는 4.1~6.7, 유기물함량은 평균 155.2 g kg⁻¹ 이었다. 질소함량은 평균 5.4 g kg⁻¹를 나타냈고 유효인산함량은 평균 63.2 mg kg⁻¹ 이었다. K 함량은 평균 2.3 cmol kg⁻¹이었고, Ca 및 Mg은 각각 8.7 및 4.0 cmol kg⁻¹ 이었다(표 5). 부초재배 감귤원 토양도 유사한 분포를 나타냈다(표 6). 조사지역의 토양 pH와 치환성 양이온 함량은 노지보다 높은 경향이였다. 이것은 비닐피복으로 강우가 차단되어 토양중 염기용탈이 방지되고 표토에 시비한 비료성분이 집적됐기 때문이라고 생각된다.

Table 5. Chemical properties of clean cultivated soils in P.E. film house

Value	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P (mg kg ⁻¹)	Exch. cation(cmol kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Min.	4.1	59.5	1.8	7.4	0.7	1.1	0.4
Max.	6.7	212.3	8.9	216.2	6.0	20.2	15.8
Ave.	5.3	155.2	5.4	63.2	2.3	8.7	4.0
S.D.	0.6	38.3	1.5	52.0	1.3	6.0	3.4

Table 6. Chemical properties of grass mulch cultivated soils in P.E. film house

Value	pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P (mg kg ⁻¹)	Exch. cation(cmol kg ⁻¹)		
					K	Ca	Mg
Min.	4.4	37.2	1.8	0.7	0.9	2.0	0.9
Max.	6.0	120.3	5.8	229.6	2.4	11.1	4.5
Ave.	5.3	108.2	3.9	42.0	1.5	6.0	2.4
S.D.	0.3	41.7	1.4	61.2	0.3	2.3	0.8

2. 표토 관리방법에 따른 감귤원 토양 미생물의 밀도

가. 호기성 세균

노지 감귤원에서 호기성세균은 표토 관리방법 및 채취시기와 무관하게 비슷하였다. 평균 호기성 세균수는 42.1~68.1×10⁵ cfu g⁻¹의 분포를 나타냈으며 육지부 발토양의 세균 수 8.9×10⁶ cfu g⁻¹보다는 적었고(유 등, 1984), 화산회토 노지 감귤원 토양의 세균 수 1.7×10⁶ cfu g⁻¹보다는 많았다(김 등, 1996).

하우스 감귤원에서 호기성 세균의 밀도는 채취시기에 따라 큰차이 없으나 부초재배가 청경재배보다 밀도가 높았으며 5월에는 2배 이상 많았다(그림 2). 이 결과는

지온이 높아져서 유기물을 분해할 수 있는 좋은 조건을 형성하기 때문에 부초재배에서 호기성세균수가 증가하였다고 생각된다. 평균 호기성 세균수는 $36.4 \sim 157.2 \times 10^5$ cfu g⁻¹이었으며 육지부 시설재배지 토양의 세균수 73.1×10^6 cfu g⁻¹ 보다는 적었다(서 등, 1998). 이 등(1988)은 제주도 밭 토양의 세균 수는 육지부 토양보다 10~100배 적다고 하였는데 이와 비슷하였다.

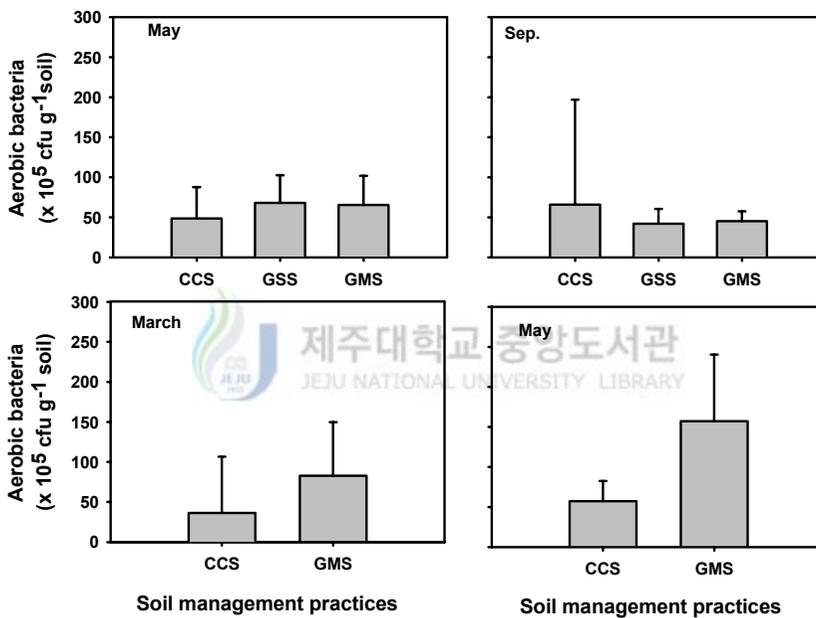


Fig. 2. Densities of aerobic bacteria in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). CCS: Clean cultivation system, GSS: Grass sward system, SMS: Grass mulch system. Vertical bars indicate standard deviation.

나. 방선균

노지 감귤원에서 방선균은 통계적인 유의성은 없었으나 5월이 9월에 비하여 밀도가 높았다. 특히 5월에는 채취 지점간에 밀도의 차이가 컸으며 표토 관리방법에 따라 차이는 없었다. 평균 방선균 수는 5월에는 $7.1\sim 12.8\times 10^4$ cfu g⁻¹, 9월에는 $1.9\sim 3.2\times 10^4$ cfu g⁻¹ 였다. 유 등(1984)은 육지부 밭토양의 평균 방선균수는 30.1×10^5 cfu g⁻¹라고 하였다.

하우스 감귤원에서는 부초재배가 청경재배에 비해서 밀도가 높은 것으로 조사되었으며 3월의 조사에서는 표토 관리방법에 따라 통계적인 유의성이 있었으나 5월에는 나타나지 않았다(그림 3). 평균 방선균 수는 $0.5\sim 12.2\times 10^4$ cfu g⁻¹로서 육지부 시설 재배지 53.2×10^5 cfu g⁻¹보다 적었고(서 등, 1998), 김 등(1996)이 보고한 9.8×10^3 cfu g⁻¹보다는 많았다. 박 등(1975)은 제주도 화산회토양에서 $\times 10^5$ cfu g⁻¹에서 방선균이 검출이 안 된다고 하였으며 김 등(1997)은 감귤 하우스토양에서는 방선균이 검출이 안 되는 곳도 있다고 하였는데 본 조사에서는 검출이 됐다. 이것은 토양 시료 채취 장소, 제조제의 살포, 하우스 시비관리 등의 차이에서 온 것으로 생각된다.



다. 사상균

노지 감귤원에서 5월에 조사한 사상균의 밀도는 초생재배가 청경재배와 부초재배보다 적었으며 9월에는 표토 관리방법에 따라 차이가 없었다. 5월에 사상균수는 청경재배는 69.4×10^3 cfu g⁻¹, 부초재배는 65.9×10^3 cfu g⁻¹로 9월보다 2배 이상 많았다. 유 등(1984)은 육지부 밭토양의 평균 사상균수는 73.4×10^4 cfu g⁻¹라고 하였다.

하우스 감귤원에서 3월은 부초재배가 평균 103.6×10^3 cfu g⁻¹로 청경재배 39.2×10^3 cfu g⁻¹보다 사상균 수가 많았으나 5월에는 밀도가 급격히 낮아졌다(그림 4). 서 등(1998)은 육지부 시설재배지 토양의 사상균수는 16.5×10^4 cfug⁻¹라고 하였으며, 김 등(1996)이 조사한 화산회토 시설감귤원 토양의 사상균수 보다는 많았다. Agnihotrudu(1955)는 작물의 생식생장기에 사상균수가 증가한다고 하였다. 5월에

하우스 재배에서 개체수가 작은 것은 이 시기가 단수시기로서 토양이 건조한 상태가 유지되었기 때문으로 생각된다. Bull과 Slater(1982)는 토양의 과도한 건조에 의해서 토양 미생물상이 크게 변동되며 환경에 유리한 미생물만이 생존하여 특정미생물의 군집이 증감되어 미생물상의 단순화를 가속시키고 미생물 군집 내에서의 개체 상호간의 생태학적 평형을 약화시킨다고 하였다.

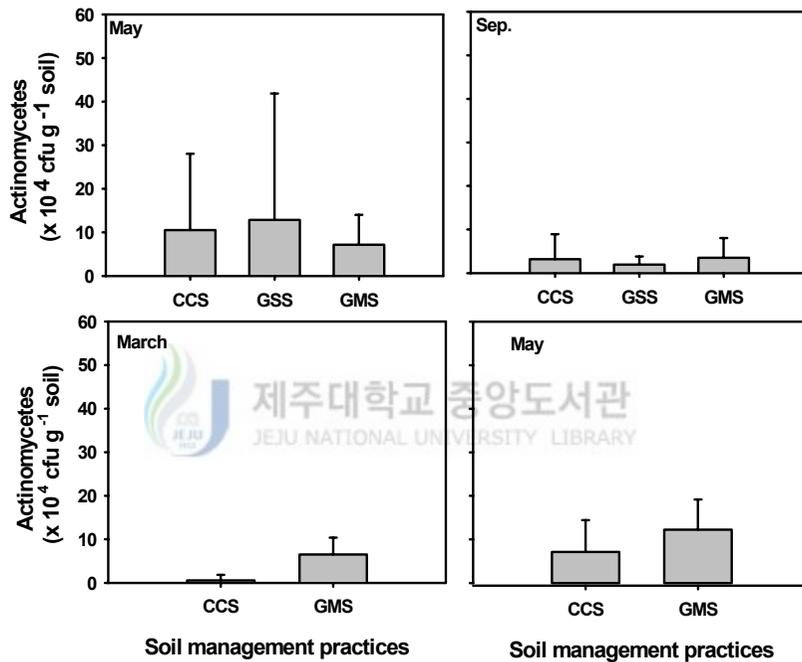


Fig. 3. Densities of actinomycetes in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

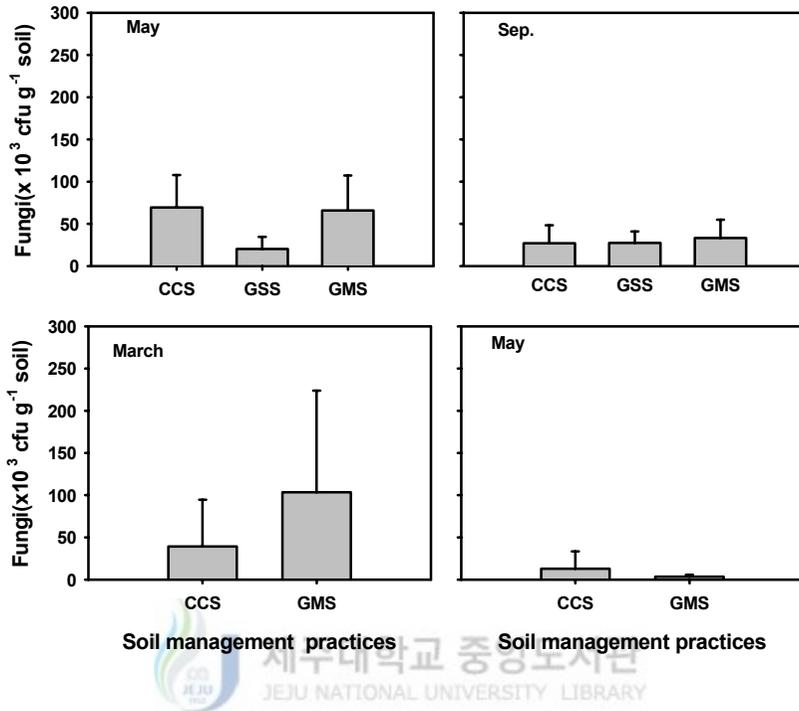


Fig. 4. Densities of fungi in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

라. *Pseudomonas* spp.

노지 감귤원에서 *Pseudomonas* spp.은 5월에 청경재배가 초생재배와 부초재배보다 많았으나 9월에는 차이가 없었다. 시기별로는 5월이 9월보다 많았으며 청경재배는 9월에 개체수가 급격히 감소하였다.

하우스 감귤원에서 3월에 부초재배가 122.3×10^4 cfu g⁻¹으로 청경재배 21.8×10^4 cfu g⁻¹보다 많았으며 통계적인 유의성이 있었다. 5월에는 부초재배에서 감소하였다(그림 5). 노지 감귤원에서 청경재배는 농약의 살포로 밀도가 작아진 것으로 생각되며 하우스 감귤원에서 5월에 *Pseudomonas* spp. 균 수가 적은 것은 이시기에 인위

적으로 단수를 시키기 때문에 토양수분의 부족에서 온 결과라고 생각된다.

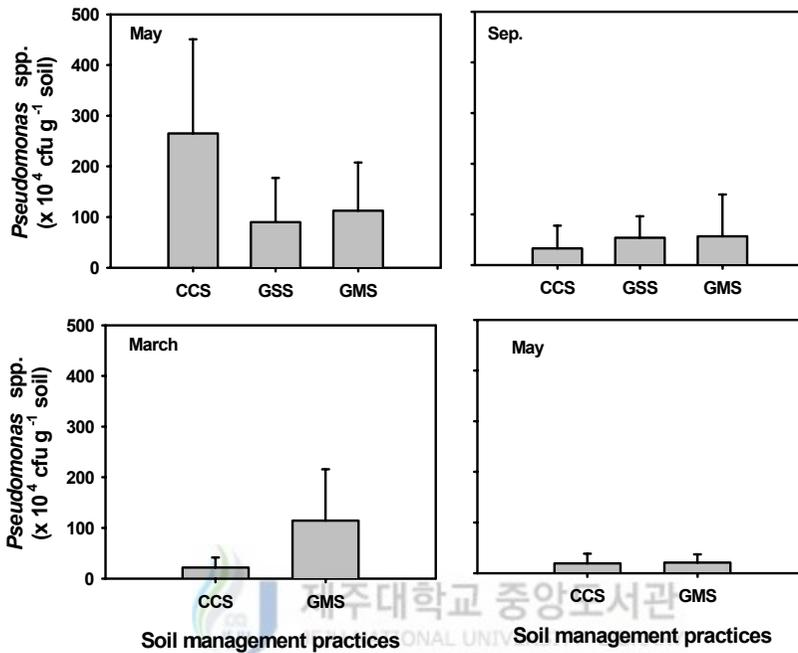


Fig. 5. Densities of *Pseudomonas* spp. in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

마. Thermophilic *Bacillus* spp.

노지 감귤원에서 5월이 9월보다 thermophilic *Bacillus* spp.이 많았으나, 9월에는 표토 관리방법과 상관없이 감소하였으며 통계적인 유의성은 없었다. 평균 thermophilic *Bacillus* spp.은 5월에는 $67.2 \sim 124.3 \times 10^3$ cfu g⁻¹, 9월에는 $40.9 \sim 87.6 \times 10^3$ cfu g⁻¹의 분포를 나타냈다.

하우스 감귤원에서 3월이 5월보다 밀도가 높았으나 표토 관리방법에 따라 차이는 없었다. 평균 thermophilic *Bacillus* spp.은 3월에는 $132.1 \sim 127.2 \times 10^3$ cfu g⁻¹, 5월

에는 $67.4\sim 80.3\times 10^3$ cfu g⁻¹의 분포를 나타냈다(그림 6). 부초재배에 thermophilic *Bacillus* spp.이 많은 것은 유기물의 공급으로 유기물 분해가 활발하기 때문으로 생각된다. 서 등(1996)은 육지부 시설 재배지토양의 thermophilic *Bacillus* spp.은 109.4×10^3 cfu g⁻¹라고 하였으며 토양중의 유기물함량과 높은 상관성이 있다고 하였다(서 등, 1998).

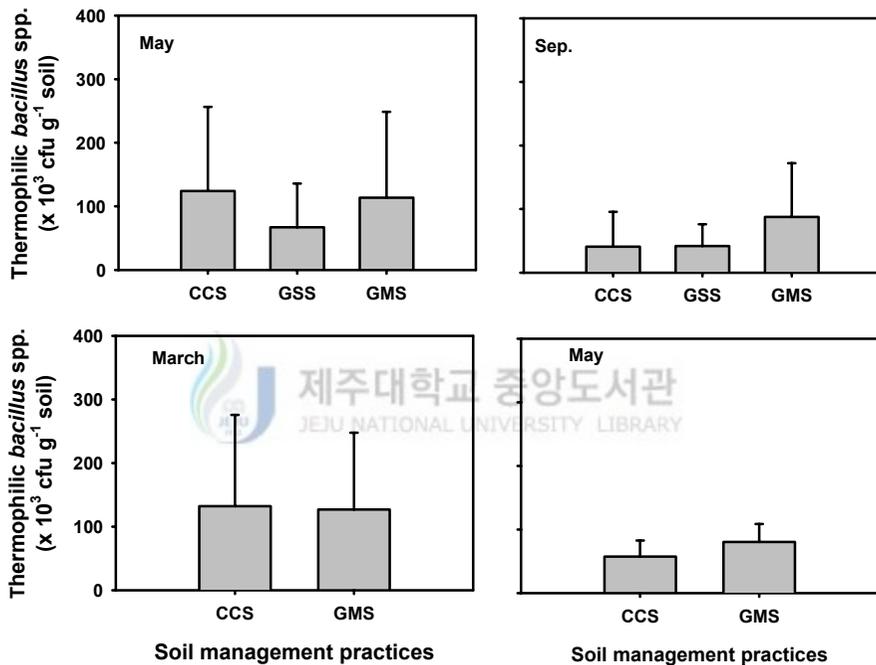


Fig. 6. Densities of thermophilic *Bacillus* spp. in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field (above) and house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

바. *Rhizobium* spp

노지 감귤원은 5월에 평균 $63.0\sim 84.2\times 10^4$ cfu g⁻¹로 표토 관리방법에 따라 차이

가 없었다. 9월에는 5월보다 감소 하였으나 부초재배가 청경재배보다 3배 이상 많았다.

하우스 감귤원은 3월에 부초재배가 평균 114.5×10^4 cfu g^{-1} 로 청경재배 25.9×10^4 cfu g^{-1} 보다 많았다. 5월에는 부초재배는 감소하였으나 청경재배는 증가하였다(그림 7). 노지에서 5월에 *Rhizobium* spp.이 많은 것은 개화기때 뿌리에서 양수분 이동이 미생물의 수를 증가시켰기 때문이며 하우스는 5월에 수분관리로 개체수가 감소한 것으로 생각된다. 이 등(1988)은 제주도 밭양에서는 *Rhizobium* spp.이 우점 하고 있다고 보고하였는데 본 조사와 비슷하였다.

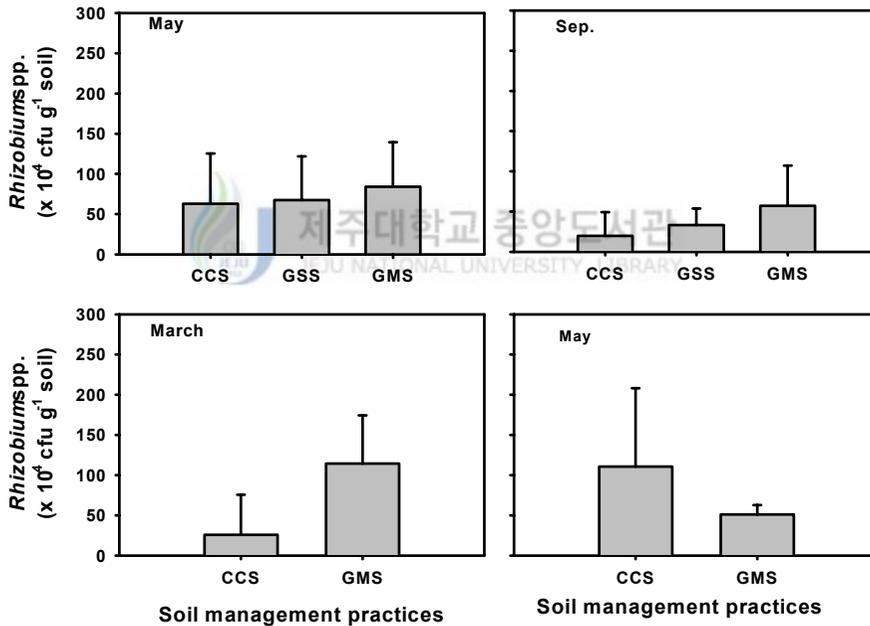


Fig. 7. Densities of *Rhizobium* spp. in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). See Fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

사. *Xanthomonas* spp

노지 감귤원에서 5월에는 청경재배>초생재배>부초재배순으로 개체수가 많았으나 9월에는 반대되는 경향을 나타냈다. 5월에는 $7.3\sim 27.3\times 10^4$ cfu g⁻¹, 9월에는 $1.1\sim 13.9\times 10^4$ cfu g⁻¹의 분포를 나타냈다. 하우스에서는 조사를 하지 못하였다(그림 8). 9월로 갈수록 지온의 상승과 토양중의 유기물의 분해가 잘 이루어져 유기물이 많은 부초재배에서는 개체수가 증가하고 청경재배에서는 살균제 등의 살포로 감소하였다고 생각된다. 이 등(1988)은 화산회토양에서는 *Xanthomonas* spp.이 검출이 안 된다고 보고하였는데 본 조사에서 검출이 된 것으로 보아 감귤과 관련된 병원성 균에 의한 것으로 생각된다.

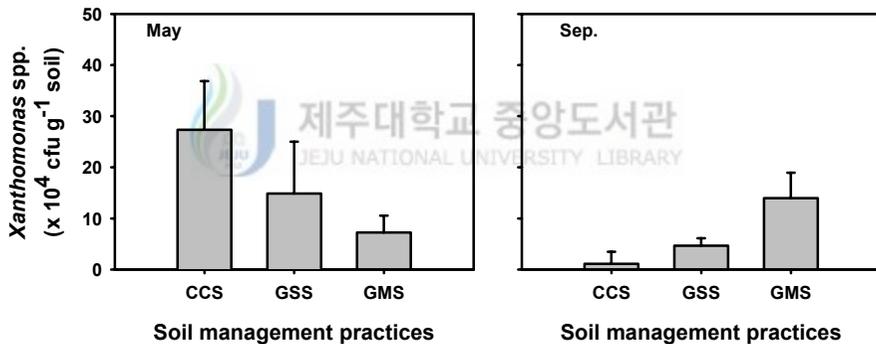


Fig. 8. Densities of *Xanthomonas* spp. in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above) and house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and Vertical bars

3. 사상균 속 동정

개화기때 노지와 하우스 감귤원 토양의 층위별로 사상균 속을 동정한 결과는 표 7과 같다. 사상균수는 노지가 하우스에 비하여 많았고 노지는 초생재배와

부초재배, 하우스는 부초재배에서 많았으나 표토가 심토 보다 많았다. 7개의 사상균 속 중에서 *Aspergillus* spp.과 *Penicillium* spp.이 많았으며 일반적으로 사상균 속은 매우 다양한데 본 조사에서는 7개 속으로 종류는 단순하였다. 이 등 (1988)은 제주도 토양의 사상균의 종류는 주로 *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.이 많고 종류도 단순하다고 했는데 본 조사는 이와 비슷하였다. 따라서 토양중 시용된 유기물들은 주로 이들 사상균에 의하여 분해가 이루어지고 있다고 생각이 되며 토양중에서 사상균 속의 분포가 단순화되고 작은 것은 살균제 (Metting, 1992)사용 때문이라고 생각된다.

Table 7. Number of identified soil fungi under the different surface soil management practices in volcanic ash soil citrus orchards

(No. of soil fungi)

Genera of fungi	Open field						House	
	CCS		GSS		GMS		CCS	GMS
	0~10 ^z	20~30	0~10	20~30	0~10	20~30	0~10	
<i>Aspergillus</i> spp.	15	7	20	10	13	6	10	15
<i>Fusarium</i> spp.	2	1	5	2	2	.	.	1
<i>Penicillium</i> spp.	16	6	20	12	16	10	7	9
<i>Alternaria</i> spp.	1	.	.
<i>Trichoderma</i> spp.	4	1	.	2	6	.	17	3
<i>Rhizopus</i> spp.	.	.	2	.	.	.	1	.
<i>Mucor</i> spp.	5	.	5	.	7	.	1	.
Total	42	15	52	26	44	17	36	28

z Soil depth(cm)

CCS: Clean cultivation system, GSS: Grass sward system, SMS: Grass mulch system.

4. 미생물상과 pH 및 유기물 함량과의 상관관계

토양미생물은 토양의 pH와 유기물함량에 따라 수나 활성이 변한다. 표토 관리방법에 따라 유기물함량 및 pH와 호기성세균, 방선균, 사상균, 호기성 세균 중 *Pseudomonas* spp., 고온성 *Bacillus* spp., *Rhizobium* spp., *Xanthomonas* spp.의 밀도와 상관관계는 표 8 및 9와 같다.

노지 감귤원에서 청경재배 토양의 pH와 고온성 *Bacillus* spp.간에는 정의 상관($r=0.473^{**}$)을 나타냈다. 초생재배 토양의 pH와 고온성 *Bacillus* spp. 및 *Xanthomonas* spp.간에는 각각 $r=0.822^{**}$, $r=0.778^{**}$ 로 상관이 높았으며 유기물 함량과 호기성 세균($r=0.646^{**}$)도 높은 정의 상관을 나타냈다. 부초재배는 pH와 고온성 *Bacillus* spp.간에 $r=0.690^{**}$ 로 높은 상관을 나타냈다(표 8). 밭토양에서는 pH가 고온성 *Bacillus*속과 상관이 높다고 보고한 서 등(1996)의 보고와 같은 경향이였다.

하우스 감귤원에서 청경재배는 유기물함량과 *Rhizobium* spp. ($r=0.798^{**}$), 유기물 함량과 Fungi($r=0.763^{**}$)간에는 상관이 높았으며, 부초재배에서 pH와 유기물함량은 미생물상의 분포와 상관을 나타내지 않았다(표 9). 김 등(1996)은 하우스 감귤원 토양의 pH와 방선균은 상관이 높다고 하였는데 본 조사에서는 상관을 나타내지 않았다. 이는 토양시료의 채취시기, 시비관리 등이 다르기 때문인 것으로 생각된다. 토양의 pH 와 미생물은 서로 높은 상관관계 있다고 하였는데 (Doemel 과 Brock, 1970;유 등, 1984;권 등, 1998) 본 조사에서도 이와 비슷하였다.

Table 8. Correlation coefficients between soil pH or organic matter contents and soil microflora in open field.

	Factor	A.B. ^Y	Act.	Fun.	<i>Pse.</i>	<i>Bac.</i>	<i>Rhi.</i>	<i>Xan.</i>
CCS ^Z (n=40)	pH	0.136	0.088	-0.127	0.356*	0.473**	0.241	0.116
	OM	-0.155	0.146	-0.097	-0.166	-0.329*	-0.114	0.231
GSS (n=30)	pH	0.390*	-0.266	-0.333	0.117	0.822**	0.306	0.778**
	OM	0.646**	-0.345*	0.103	-0.203	0.517**	0.081	0.553**
GMS (n=26)	pH	0.076	-0.582**	0.202	0.286	0.690**	0.335*	0.106
	OM	0.305	0.084	0.412*	0.051	0.030	-0.070	-0.215

*, ** significant $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$

^ZCCS: Clean cultivation system, GSS: Grass sward system, SMS: Grass mulch system. ^YA.B.: Aerobic bacteria, Act.: Actinomycetes, Fun.: Fungi, *Pse.*: *Pseudomonas* spp., *Bac.*: thermophilic *Bacillus* spp., *Rhi.*: *Rhizobium* spp., *Xan.*: *Xanthomonas* spp.

Table 9. Correlation coefficients between soil pH or organic matter contents and soil microflora in P.E. film house.

	Factor	A.B. ^Y	Act.	Fun.	<i>Pse.</i>	<i>Bac.</i>	<i>Rhi.</i>
CCS ^Z (n=40)	pH	0.659**	0.009	0.643**	0.486**	0.293	0.207
	OM	0.113	-0.522**	0.763**	0.505**	0.461**	0.798**
GMS (n=30)	pH	-0.060	-0.076	0.018	0.093	-0.021	-0.091
	OM	-0.084	-0.045	0.243	0.405*	0.165	0.212

*, ** significant $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$

^{Z,Y} See table 8.

5. 토양효소 활성

가. Phosphatase 활성

토양효소는 유기물의 무기화를 촉진하고 토양중에서 식물에게 양분공급을 하는데 있어 중요한 역할을 한다. 토양 유기인산을 무기인산으로 전이하는 일차적인 역할은 미생물에 의하여 이루어진다. 여기에 관여하는 물질이 phosphatase인데 유기인산의 무기화에는 phosphomonoesterase가 중요하게 작용을 하며 산성토양에서는 산성 phosphatase의 활성이 높다고 하였다(Trasar-Cepeda와 Gil-Sotres, 1987). 감귤원 토양의 표토관리 방법에 따른 산성 phosphatase 활성은 그림 9와 같다.

노지 재배에서 5월에 조사한 phosphatase 활성은 청경재배, 초생재배, 부초재배가 각각 20.0, 13.7, 39.5 ugPNP gsoil⁻¹ h⁻¹로서 부초재배가 가장 높았다. 9월에 조사한 phosphatase 활성은 청경재배, 초생재배, 부초재배가 각각 1,326.0, 227.5, 149.6 ugPNP gsoil⁻¹ h⁻¹으로서 청경재배 > 초생재배 > 부초재배 순이었고 5월보다는 높았다. 하우스재배에서 5월에 조사한 phosphatase 활성은 청경재배가 24.0 ugPNP gsoil⁻¹ h⁻¹, 부초재배가 17.0 ugPNP gsoil⁻¹ h⁻¹이었다. phosphatase 효소활성에 적합한 온도는 25~30℃ 부근이라고 하였는데(Bremner 등, 1975), 노지재배에서 9월이 5월보다 높고 청경재배가 초생재배나 부초재배보다 높은 것은 토양 온도가 높기 때문인 것으로 생각된다. 하우스는 5월에 phosphatase 활성이 낮았고 표토 관리방법에 따라 차이가 없었는데 토양수분함량이 낮아 phosphatase 효소를 분비하는 미생물의 개체수가 감소하였기 때문이라고 생각된다.

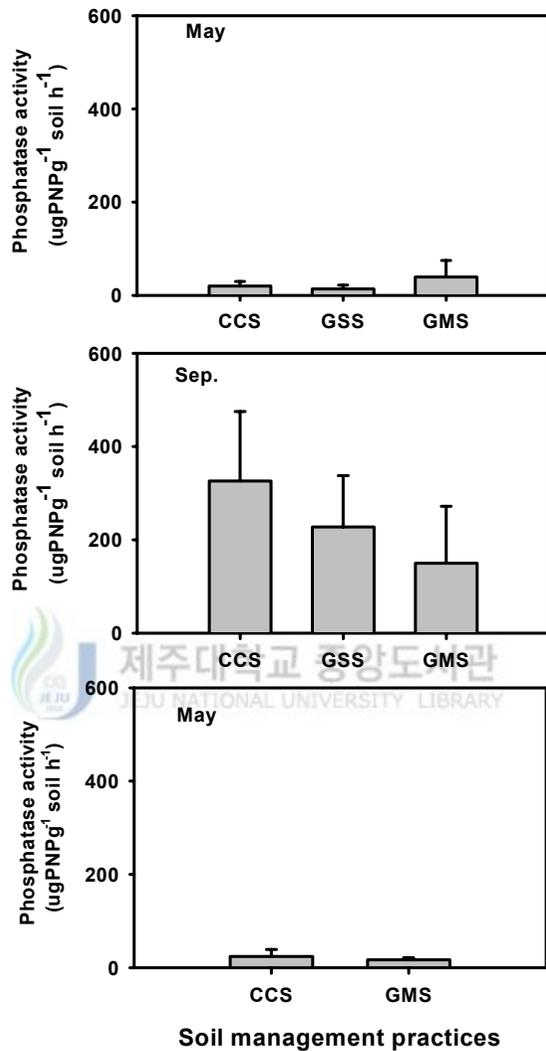


Fig. 9. Phosphatase activity in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices on open field(above, middle) or house(below). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

Phosphatase 활성은 유기물 함량과 상관이 없는 것으로 나타났는데(그림 10), 이는 유기물 함량이 많을수록 phosphatase 활성이 높아진다는 Gerritse와 Dijk(1978)의 보고와 상반된 결과였다. 이것은 화산회토 감귤원 토양의 유기물은 미생물이 이용할 수 있는 유기물이 아니라 Al과 Fe과 결합하여 형성된 난분해성 유기물이기 때문이라고 생각된다.

그림 11는 pH와 phosphatase 활성과의 상관관계를 나타낸 것으로 표토관리 방법에 따라 차이가 없었다. 산성토양에서는 산성 phosphatase(phosphomonoesterase)의 활성이 높다고 하였는데(Trasar-Cepeda와 Gil-Sotres, 1987; Eivazi와 Tabatabai, 1977), 감귤원 토양이 산성화 되면서 인산효소활성은 주로 산성 phosphatase에 기인하는 것으로 생각된다. Nakas 등(1987)은 미생물의 pH별 phosphatase는 균 특성에 따라 상이하나 사상균보다는 세균에서 활성이 높다고 하였다. 서(1994)는 *Bacillus* spp.과 *Pseudomonas* spp.이 인산 가용화가 뛰어나다고 하였는데 감귤원 토양의 phosphatase활성은 이러한 호기성 세균속 들이 중요한 역할을 하고 있다고 생각된다. 이(1986)는 제주도 토양의 사상균을 이용하여 난용성 인산염의 가용화 가능성을 보고 한 바도 있다.

화산회토 감귤원 토양에서 phosphatase 활성은 유효인산 함량과 유의적인 상관을 나타내지 않았는데(그림 11), 이는 토양중의 유기인산이 많을수록 phosphatase 활성이 높아진다는 Gerritse와 Dijk(1978)의 보고와 상반되는 결과로서 화산회토양의 특성에 의한 인산의 고정과 관계가 있다고 생각된다.

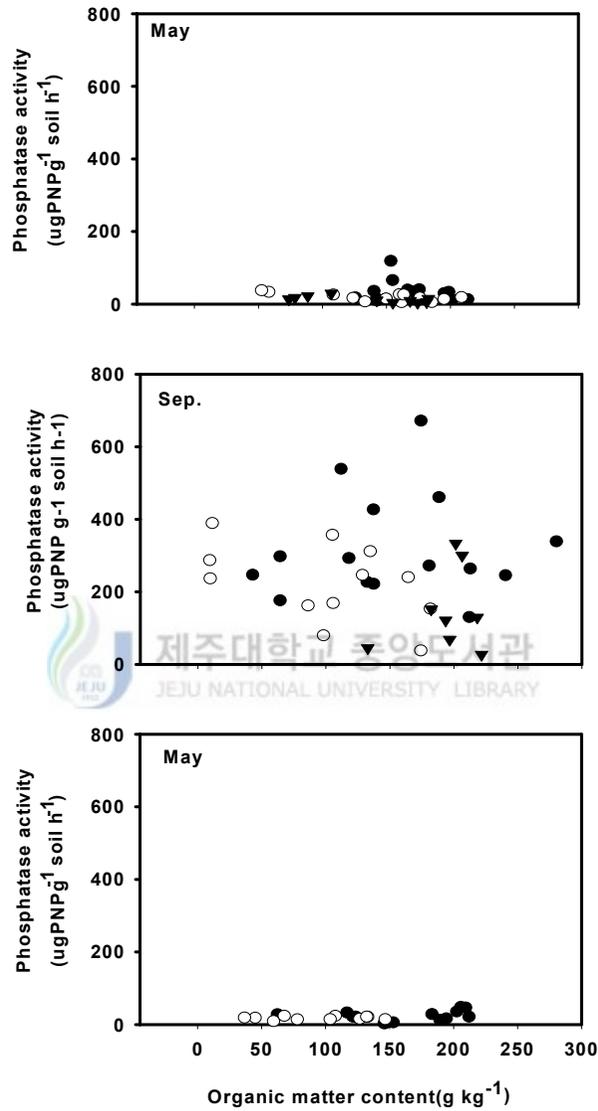


Fig. 10. Relationship between organic matter contents and phosphatase activity in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open fields(above, middle) and house(below). ○: clean cultivation system, ▼: grass sward system, ●: grass mulch system

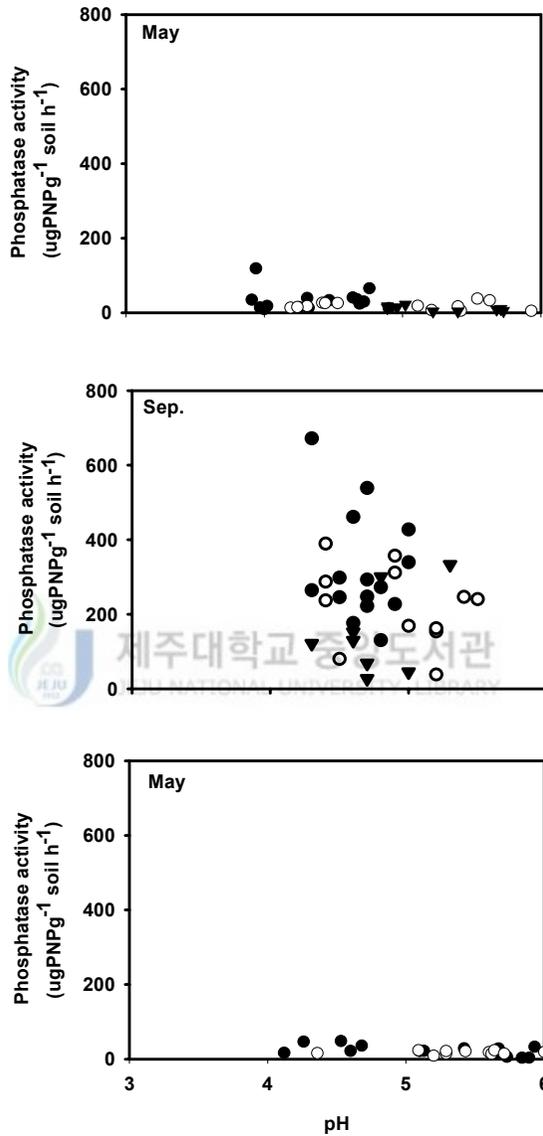


Fig. 11. Relationship between soil pH and phosphatase activity in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above, middle) and house(below). See fig. 10. for the explanation of simbols.

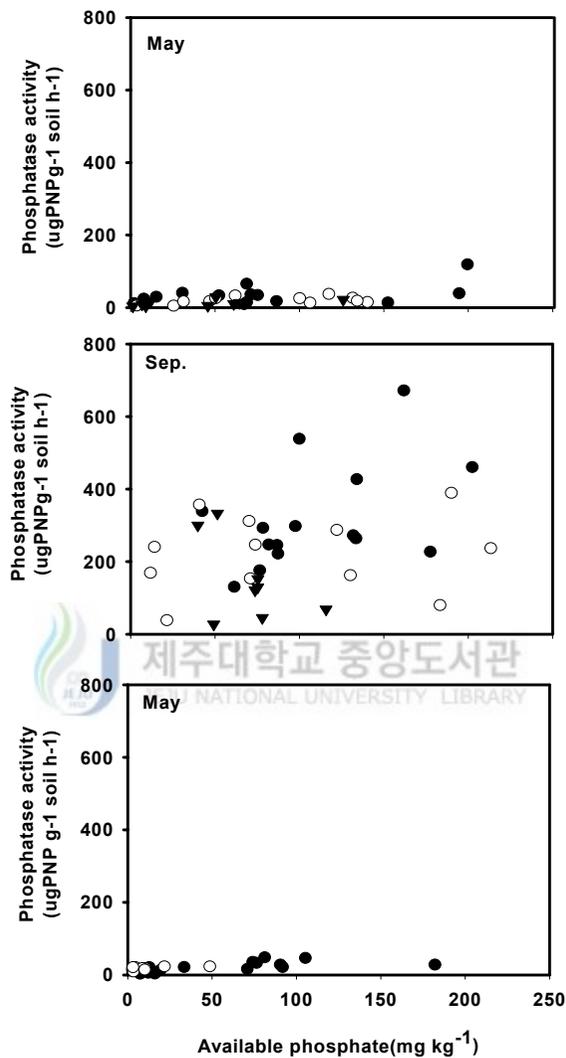


Fig. 12. Relationship between available phosphate contents and phosphatase activity in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(above, middle) and house(below). See fig. 10. for the explanation of symbols.

나. Cellulase 활성

노지 감귤원에서 9월에 조사한 cellulase 활성은 청경재배, 초생재배, 부초재배가 각각 평균 155.3, 546.1, 616.2 $\mu\text{gGE g}^{-1}\text{soil 24h}^{-1}$ 이었으며 부초재배에서 가장 높았다(그림 13). House는 조사를 하지 못하였다. 김 등(1988)은 제초제 사용 직후의 Cellulase활성은 낮아진다고 하였는데 청경재배에서 활성이 낮은 것은 사용된 제초제 등이 토양에 잔류하여 효소 활성에 영향을 주었기 때문이며 부초재배와 초생재배는 제초제의 사용이 적고 토양 중에 분해가 쉬운 유기물이 공급됨에 따라 효소활성이 높은 것으로 생각된다.

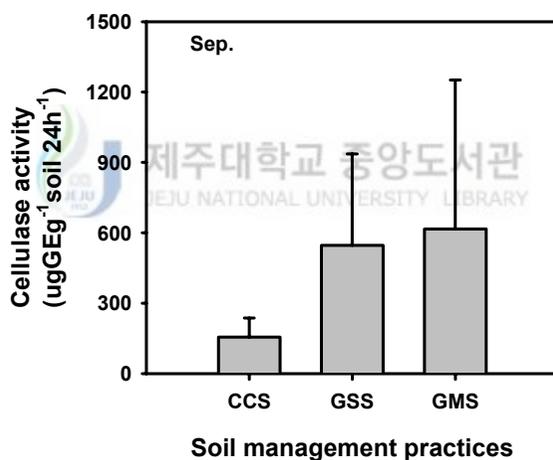


Fig. 13. Cellulase activity in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field. See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars

6. Microbial biomass C

토양 미생물체량(Soil microbial biomass)은 토양 중에서 살아있는 유기물로서 토양의 생화학반응을 촉매 하여 물질순환에 주된 역할을 하며 양분의 저장고인 동시에 공급원의 기능을 하는 등 토양생태계에서 중요한 역할을 하여 토양미생물의 생태와 기능 등을 진단하는 기술로 이용 되고 있다(板本, 1995). 표토 관리방법에 따라 9월에 노지와 5월에 하우스 감귤원 토양의 Biomass C 량을 측정 한 결과는 그림 14와 같다. 노지재배에서 microbial biomass C량의 평균은 청경재배가 54.7 mg kg^{-1} , 초생재배가 41.1 mg kg^{-1} , 부초재배가 266.2 mg kg^{-1} 이었다. 서 등(1997)은 육지부 밭토양의 microbial biomass C량의 최대값은 $1,150 \text{ mg kg}^{-1}$, 평균값은 405 mg kg^{-1} 라고 하였는데 조사한 화산회토 감귤원 토양의 microbial biomass C량은 이보다 작았다.

하우스재배에서 microbial biomass C량은 청경재배가 91.1 mg kg^{-1} , 부초재배가 121.0 mg kg^{-1} 이었으며 부초재배가 청경재배 보다 높았다. 작물, 재배방법, 토성 등이 다르지만 육지부 시설재배지 토양의 microbial biomass C량의 최대값은 713 mg kg^{-1} , 평균값은 204 mg kg^{-1} 라고 하였다(서 등, 1996). Biomass C량은 총 토양탄소의 2~5%에 이르고(Jenkinson과 Ladd, 1981), 기후, 작물경작, 윤작등에 따라 상이하다(Anderson과 Domch, 1989)고 하였다. 오(1982)는 제주도 토양의 microbial biomass C량을 CO_2 법으로 측정한 결과 8월보다는 9월이 높다고 하였는데 본 조사에서는 낮게 나왔다 이는 토양 미생물체량에서 사상균이 큰비중을 차지한다고(Metting, 1992) 하였는데 살균제의 사용증가로 사상균의 수가 작아졌기 때문이라고 생각된다. Adams 등(1983)은 토양 biomass 량과 토양 pH는 상관성이 높아 pH 4.3~5.4에 이르는 토양에 석회를 시용한 결과 biomass C량이 약 30% 이상 증가한다고 하였다. 따라서 microbial biomass C량이 적은 것은 감귤원 토양의 pH가 낮기 때문인 것으로 생각된다. 서 등(1997)은 단위면적당 미생물체량이 많은 지역이 생물학적 기능이 높다고 하였는데 육지부토양에 비해 적은 것으로 보아 미생물활성이 낮다고 생각되며 여기에는 화산회토양의 특성과 농약살포, 과다시비 등에 의한 환경요인이 영향을 미친 것으로 생각된다.

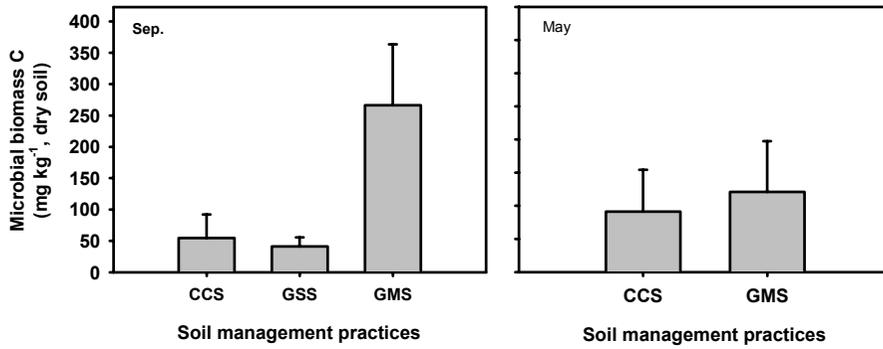


Fig. 14. Microbial biomass C in volcanic ash soil of citrus orchards on the different surface soil management practices at open field(left) and house(right). See fig. 2. for the explanation of labels and vertical bars.

V. 적 요

본 연구는 화산회토에 분포된 노지와 하우스재배 감귤원에서 청경재배, 초생재배 및 부초재배 방법으로 표토를 관리하는 방법이 미생물의 밀도, 사상균의 속, 토양효소활성 및 microbial biomass C에 미치는 영향을 구명하기 위해 수행되었다. 노지재배 감귤원에서 토양시료는 5월과 9월에 청경재배 감귤원 20개소, 초생재배 감귤원 15개소 및 부초재배 감귤원 13개소에서 채취하였으며, 하우스재배 감귤원에서는 3월과 5월에 청경재배 감귤원 20개소와 부초재배 감귤원 15개소에서 채취하였다.

표토 관리방법에 따른 감귤원 토양의 화학적 성질은 큰 차이가 없었으나 하우스재배 토양이 노지보다 pH와 치환성 양이온 함량이 높았다. 노지재배 토양에서 미생물 밀도는 호기성 세균이 10^6 cfu g^{-1} , 방선균이 10^5 cfu g^{-1} , 사상균이 10^4 cfu g^{-1} 수준이었으며, 하우스재배 에서도 비슷하였다. 호기성 세균중 thermophilic *Bacillus* spp.의 밀도는 10^5 cfu g^{-1} , *Pseudomonas* spp.와 *Rhizobium* spp.의 밀도는 $10^5 \sim 10^6$ cfu g^{-1} , *Xanthomonas* spp.의 밀도는 $10^4 \sim 10^5$ cfu g^{-1} 수준이었다. 노지재배 토양에서 미생물의 밀도는 *Xanthomonas* spp.을 제외하고 표토관리 방법과 조사시기에 따라 차이가 없었다. 하우스재배 토양에서 토양수분이 충분한 시기인 3월에 조사한 미생물의 밀도는 부초재배가 청경재배에 비해 높았으나, 토양수분이 건조한 시기인 5월에 조사한 미생물의 밀도는 표토관리 방법에 따라 차이가 없었고 3월에 비해 감소하였다. 사상균은 표토가 심토보다 많았으며, *Aspergillus* spp. 과 *Penicillium* spp.이 우점하였다. 노지재배 토양에서 thermophilic *Bacillus* spp.은 pH가 높은 토양일수록 밀도가 높았으나, 하우스재배에서는 상관이 없었다.

노지재배와 하우스재배 감귤원 토양 모두에서 토양의 phosphatase 활성은 유기물 함량 및 유효인산 함량과 상관이 없었다. 노지재배에서 토양의 cellulase 활성은 초생재배와 부초재배가 청경재배에 비해 높았다. Microbial biomass C는 노지재배에서 부초재배가 청경재배 및 초생재배에 비해 높았으나, 하우스재배에서는 차이가 없었다.

인 용 문 헌

Adams, T.M. and S.N. Adams. 1983. The effects of liming and soil pH on carbon and nitrogen contained in the soil biomass. *J. Agric. Sci. Camb.* 101:553~558.

Agnihotrudu, V. 1955. State in which fungi occur in the rhizosphere. *Naturwissenschaften.* 42:515~516.

Ainsworth, G.C. 1973. *The fungi.* Vol. 4. Academic Press, New York.

Anderson, T.H. and K.H. Domch. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 21:471~479.

Bolton, H., L.F. Elliott, R.I. Papendick, and D. F. Bezdick. 1985. Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: Effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biol. Biochem.* 17(3):297~302.

Bremner, J.M. and M.I. Zantua. 1975. Enzyme activity in soils at subzero temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 7:383~387.

Bull, A.T. and J.H. Slater. 1982. *Microbial interaction and community structure.* Academic Press, London.

제주도 농촌진흥원. 1997. 흙살리기운동기본교재. pp.27~91.

- Doemel. W.N and T.D. Brock. 1970. The upper temperature limited of *Cyanidium caldarium*. *Archiv fur Microbiologie*. 7:326~332.
- Eivazi, F. and M.A. Tabatabai. 1977. Phosphatase in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9:167~172.
- Flanagan P.W. and A.K. Veum. 1974. Relationship between respiration, weight loss, temperature, and moisture in organic residues on tundra. In *soil microorganisms and decomposition in Tundra*. Stockholm. pp249~277.
- Gerritse, R.G. and H. van Dijk. 1978. Determination of phosphatase activities of soils and animal wastes. *Soil Biol. Biochem.* 10:545~551.
- 堀 兼明. 1994. 農耕地における土壌診断の研究ならびに診断指標手法の開発. 3 土壌の微生物特性診断. *日本土壌肥料學會志*. 65(5):578~584.
- 旱野 恒一. 1978. 畑土讓の 酵素活性ついて. *土と微生物*. 20:19~25.
- Inubushi, K., P.C. Brookes, and D.S. Jenkinson. 1991. Soil microbial biomass C, N, and ninhydrin-N in aerobic and anaerobic soils measured by the fumigation-extraction method. *Soil Biol. Biochem.* 23:737~741.
- Jenkinson, D.S. and J.N. Ladd. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. *Soil Biol. Biochem.* 5:415~471.
- 정종배, 문두길, 한해룡, 임한철. 1997. 제주감귤원에서 Arbuscular-Mycorrhizae 형성과 감귤잎 중의 무기양분 조성. *한국환경농학회지*. 16(2):181~186.

- 김광식, 김용웅, 이명철, 김현우. 1987. 농약이 토양 미생물상에 미치는 영향에 관한 연구. I. 살균·살충제가 토양중의 미생물, 토양호흡 및 효소활성에 미치는 영향. 한국토양비료학회지. 20(4):375~385.
- 김광식, 김용웅, 김지애, 김현우. 1988. 농약이 토양 미생물상에 미치는 영향에 관한 연구. II. 제초제가 토양중의 미생물과 효소활성에 미치는 영향. 한국토양비료학회지. 21(1): 61~72.
- 김상엽. 1997. 濟州道 柑橘園의 Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae(VAM)에 관한 研究. 제주대학교 대학원. 석사학위논문.
- 김찬식, 강순선, 오명협, 현해남. 1996. 감귤하우스 토양과 노지토양의 화학적성질과 미생물상. 제주대학교 아열대 농업연구. pp.81~92.
- Klein, T.M. and J.S. Koths. 1980. Urease, Protease, and acid phosphatase in soil continuously cropped to corn by conventional or no-tillage methods. Soil Biol. Biochem. 12: 293~294.
- 권장식, 서장선, 원항연, 신제성. 1998. 염류집적 시설재배지의 토양미생물상 평가. 한국토양비료학회지. 31(2):204~210.
- Martens, R. 1987. Estimation of microbial biomass in soil by the respiration method : importance of soil pH and flushing methods for the measurement of respired CO₂. Soil Biol. Biochem. 19(1):77~81.
- Martin, J.P. and Scott, D.E. 1981. Proc. West Soc. Weed Sci. 34:39.
- Metting, F.B. Jr. 1992. Soil microbial ecology : applications in agricultural and environmental management. Marcel Dekker. New York.

Nakas, J.P., W.D. Gould, and D.A. Klein. 1987. Origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. *Soil Biol. Biochem.* 19:13~18.

농촌진흥청 농업기술연구소. 1988. 토양화학분석법. III. 토양미생물 실험법.

양창술. 1984. 농약이 토양미생물상에 미치는 영향 - 유기염소계 살균제 및 살충제 살포에 따른 발토양 미생물상의 변동. *한국토양비료학회지*. 17(3): 299~304.

양창술. 1985. 農藥이 土壤微生物相에 미치는 影響. - 土壤細菌 flora의 構成變化에 對하여. *한국토양비료학회지*. 18(2):221~226.

오성훈. 1982. 濟州道 火山灰土壤耕地의 土壤微生物 Biomass C에 關하여. 석사학위 논문. 제주대학교 대학원.

유익동, 윤세영, 이명구, 류진창, 허범호. 1984. 우리나라 논, 밭토양의 미생물상에 관한 연구. II. 밭 토양미생물 분포조사. *한국토양비료학회지*. 17:406~414.

이상규, 서장선, 문재현, 송창훈. 1988. 제주도 화산회 토양의 미생물상에 관한 연구. *한국토양비료학회지*. 21(2):135~140.

이신찬. 1986. 제주도 화산회토양에서 내생근균(Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza)이 쪽과의 생육에 미치는 영향과 인산용해성 사상균에 의한 인광석의 비효증진에 관한 연구. 석사학위논문. 제주대학교 대학원.

박훈, 유순호, 홍순범. 1975. 濟州道 柑橘園土壤의 特性과 管理. *한국토양비료학회지*. 8(3):135~152.

Pankhurst, C.R., B.M. Doube, and Gupta, V.V.S.R. 1997. Biological Indicators of soil health. CAB international. pp.419~435.

板本 一憲. 1995. 土壤中の微生物 biomass量 および その呼吸活性に影響する諸因子の解析. 66(3):213~214.

서장선. 1994. 난용성 인산염 가용화 미생물에 의한 토양 축적인산의 미생물학적 이용에 관한 연구. 박사학위논문. 전남대학교 대학원.

서장선, 권장식, 원항연, 신제성. 1996. 농경지 토양미생물 분포조사. 농업과학기술원. 시험연구사업보고서(농업환경부). pp231~237.

서장선, 권장식, 원항연. 1997. 농경지 토양미생물 분포조사. 농업과학기술원. 시험연구사업보고서(농업환경부). pp592~596.

서장선, 연병렬. 1998. 부숙퇴비 시용내력 지표 미생물로서의 고온성 *Bacillus*. 한국토양비료학회지. 31(3):285~290.

송관철. 1982. 濟州道 土壤의 化學的 特性 調査 研究. 석사학위논문. 서울대학교 대학원

Smith, J.L. and E.A. Paul. 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. Soil Biol. Biochem. 6:357~396.

土壤微生物研究會. 1992. 土壤微生物實驗法. 養賢堂. pp. 50~270

Trasar-Cepeda, M.C. and F. Gil-Sotres. 1987. Phosphatase activity in acid high organic matter soils in galicia. Soil Biol. Biochem. 19(3):281~287.

Van de Werf, H. and W. Verstraete. 1987. Estimation of active soil microbial biomass by mathematical analysis of respiration curves : relation to conventional estimation of total biomass. *Soil Biol. Biochem.*19:267~271.

Vance, E.D., P.C. Brookes, and D.S. Jenkinson. 1987a. Microbial biomass measurements in forest soils : the use of the chloroform fumigation incubation method in strongly acid soils. *Soil Biol. Biochem.* 19:697~702.

Vance, E.D., P.C. Brookes, and D.S. Jenkinson. 1987b. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19:703~707.



감사의 글

이 논문이 완성될 수 있도록 많은 충고와 지도를 아끼지 않으신 현해남 지도 교수님께 마음 깊이 감사드립니다. 바쁘신 와중에도 세심하게 논문을 지도해주신 문두길 교수님, 김찬식 교수님께 감사드리며, 항상 관심을 갖고 많은 격려와 조언을 해주신 유장걸 교수님, 고정삼 교수님, 류기중 교수님, 의예학과 조문주 교수님께도 감사드립니다.

토양미생물이라는 학문을 접하게 해주고 뒤에서 많은 격려와 충고를 해주신 감골시험장의 임한철 연구관님, 문덕영 감골시험장 장장님, 실험수행에 도움을 준 감골시험장 환경연구실 직원여러분에게 고마움을 전합니다.

논문을 쓰는 과정 중에 많은 도움을 준 보건환경연구원의 오상실 선배님, 문두경 선배님, 후배 명협, 광섭 그외 제주대학교 토양환경연구실 여러분에게 고마움을 전합니다.

그리고 항상 많은 사랑을 주시는 어머님과 장인, 장모님, 형님 내외분에게 감사드리며 힘든 와중에도 이해하고 용기를 북돋아 준 아내 진숙영과 형제 자매, 처제들에게 고마움과 이 작은 결실을 전합니다.