

## 금오열도의 토양미생물군집의 분포 및 활성도

성 치 남

순천대학교 생물학과

### Distribution and the Activities Soil Microflora of Kumo Archipelago

by

Seong, Chi-Nam

Department of Biology, Suncheon National University

#### Abstract

During the last August 2nd -7th in 1993, the author surveyed three islands of Kumo Archipelago, Chonnam, Korea. Soil samples were collected from 8 representative forests including *Pinus thunbergii*, *Castanopsis cuspidata* and *Camellia japonica* communities. Environmental factors, microbial population size and the distribution of cellulolytic-, lignolytic- and pectinolytic-microorganisms were estimated. Degradation activity and the productivity of the antimicrobial metabolites of the actinomycetes were also determined. The average values of the PH, water content and the organic matter content of the soils were 5.48, 40.2% and 21.7 %, respectively. Soil pHs of *Pinus thunbergii* and *Castanopsis cuspidata* forests were lower than those of *Camellia japonica* and mixed forests. Water and organic matter contents of the sample soils were higher than those of developing ecosystems, particular in those of *Castanopsis cuspidata* communities were as high as those of the soils in the climax state. The population size of soil microorganisms in the surveyed islands were in order of general bacteria, actinomycetes and fungi. Quite a number of bacteria and fungi were able to degrade cellulose in the forest soils, while lignin and pectin degradation was limited to fungi. Actinomycetes were also active in the degradation of organic matter. but the antimicrobial activities of the organisms were extremely rare. It is postulated that the ecosystem of the forest soils in the islands, particularly *Castanopsis cuspidata* and *Camellia japonica* communities was preserved well.

#### 서 론

토양환경에서 미생물은 주로 분해자로서의 기능을 수행한다. 생물 사체의 분해 및 광물화를 촉진시켜 궁극적으로 물질의 순환에 이바지하며, 토양 부식질을 형성시켜 토양 수분 함량을 조절하고, 식물생장에

필요한 무기영양물질 공급하는 등 토양의 비옥화에 기여한다(Dommergues *et al.* 1978). 또한 토양 미생물들은 토양 내의 다양한 종류의 생물들과의 상호 작용을 통하여 안정된 생태계를 유지하려는 기능을 갖게 된다(Atlas and Barth, 1980). 따라서 토양생태계의 안정도, 비옥도 및 향후 토양생태계의 진행 과정을 추정하기 위해서는 토양의 물리화학적 특성과 토양미생물의 다양성, 개체군의 크기 및 그들의 활성을 우선 파악해야 한다(Anderson and Domsch, 1978; Paul and Clark, 1989). 본 조사 연구는 다도해해상국립공원인 금오도지구 3개 도서의 주요 식생인 곰솔(*Pinus thunbergii*), 구실잣밤나무(*Castanopsis cuspidata*)와 동백나무(*Camellia japonica*) 군락을 포함한 8개의 산림토양을 실험대상으로 삼았다. 각 식물군락에 따른 토양의 환경요인과 토양미생물의 개체군 크기와 상호 관련성을 측정하였으며, 토양에 다량 존재하는 고분자 탄소원인 섬유소(Cellulose), 펙틴(Pectin)과 리그닌(Lignin)의 분해 능력을 조사하였다. 또한 토양 내 생물들 간의 상호 작용을 이해하고, 자연서식처에 대한 인위적인 간섭 정도를 파악하기 위해 방선균의 항생물질 생산성 및 분해능을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 조사지역

전남 여천군 남면의 금오도, 안도, 연도 등 3개 도서를 탐사하여 식생이 잘 발달된 지역 8개 지점에서 5cm 미만의 표토층 토양을 채집하여 시료로 사용하였다(Fig. 1, Table 1).

### 2. 토양의 물리화학적 특성

PH: Reed와 Cummings(1945)의 방법에 따라 시료를 비이커에 담고 토양 표면에 막이 생길 때까지 증류수를 첨가하여 1시간 방치한 후 유리전극 PH meter로 측정하였다.

함수율: 2mm 체로 친 토양을 105°C에서 2시간동안 진공 건조시킨 후 상온에서 24시간 방치하여 감소된 무게를 측정 후 증량에 대한 비율로 환산하였다.

총 유기물 함량: Bear(1964)의 방법에 따라 진공건조된 토양시료를 600°C에서 30분간 연소시켜 감소된 무게를 건조중량에 대한 비율로 환산하였다.

### 3. 토양미생물군집의 크기 및 활성

세균: 탄소원으로 glucose(15 g/l)를 첨가한 Knops 무기배지를 일반 세균의 분리 배지로 사용하였다. 섬유소, 펙틴, 그리고 리그닌 분해 세균을 선택적으로 분리하기 위해서 탄소원으로 glucose 대신 Carboxymethyl cellulose(CMC; Sigma Co.), Citrous Pectin(Sigma Co.)과 Lignosulfonate-Ca salt(Carl Roth Co.)를 각각 1% 농도가 되게 첨가하였다. 토양 현탁액 0.1ml를 접종한 후 도말하여 30°C에서 48시간 배양하여 나타난 colony를 계수하였다.

진균: Czapek 최소배지에 sucrose(30 g/l)를 첨가하여 일반 진균의 분리 배지로 사용하였다. 섬유소, 펙틴, 그리고 리그닌 분해 진균을 선택적으로 분리하기 위해서 탄소원으로 sucrose 대신 CMC, Citrous Pectin과 Lignosulfonate-Ca salt를 각각 2% 농도가 되게 첨가하였다. 각 배지에는 세균 억제제인 Chloamphenicol(1500mg/l)을 첨가하였다. 토양 현탁액 0.1ml를 접종한 후 도말하여 24°C에서 7일간 배양하여 나타난 colony를 계수하였다.

방선균: 항 진균제인 Cycloheximide와 Nystatin을 각각 50mg/l의 농도로 첨가한 Starch casein agar(Kuster and Williams, 1964)를 하용하였다. 토양 현탁액을 50°C 수조에서 15분간 전처리한 후 접종, 도말하여 25°C에서 14일간 배양하여 나타난 colony를 현미경으로 관찰하여 계수하였다.

항생물질 생성능 : 순수 분리된 방선균을 Nutrient agar 배지에 접종한 후 30°C에서 2일간 배양한다.

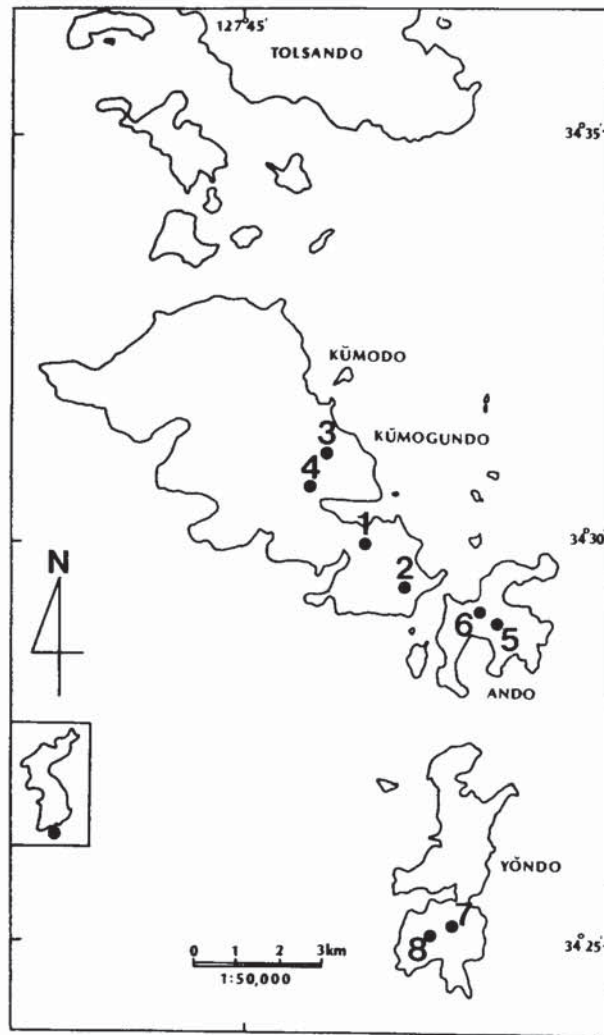


Fig. 1. Map showing the sampling sites

Table 1. Description of the sampling sites

site	Location	Vegetation
1	Shimjang-ri, Kumodo	<i>Pinus thunbergii</i>
2	Shimjang-ri, Kumodo	<i>Camellia japonica</i>
3	Uhwak-ri, Kumodo	<i>Pinus thunbergii</i> - <i>Castanopsis cuspidat</i> mixed forest
4	Uhwak-ri, Kumodo	<i>Castanopsis cuspidata</i> - <i>Camellia japonica</i> mixed forest
5	Ando-fi, Ando	<i>Castanopsis cuspidata</i>
6	Ando-ri, Ando	<i>Pinus thunbergii</i>
7	Yondo-ri, Yondo	<i>Castanopsis cuspidata</i>
8	Yondo-ri, Yondo	<i>Pinus thunbergii</i>

Chloroform으로 균사체를 죽인 후 지표 균주인 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Phytophthora capsizi*, *Saccharomyces cerevisiade*, *Candida albicans*를 pour plate 방법으로 접종하여 30°C에서 2일간 배양한 후 투명환이 생기는지 여부를 관찰하였다.

분해능: 분리된 방선균이 gelatin, urea, starch, casein, RNA을 분해할 수 있는지 조사하였다. Gelation 액화는 Nutrient gelatin agar(Difco Co.)를, 그리고 urea 분해는 Urea broth를 사용하여 시험관에서 실시하였다. 접종한 시험관을 25°C에서 7, 14, 21일간 배양한 후 관찰하였다. Starch 분해능을 Modified Bennett's agar(MBA; Jones, 1949) 배지에 1.0%의 starch를 첨가한 후 25°C에서 1, 14, 21일간 배양한 후 관찰하였다. Casein 분해능을 1.0%의 skim milk를 첨가한 MBA 배지를 사용하여 25°C에서 14, 21일간 배양한 후 투명환이 생기는지 관찰하였다. RNA 분해능은 0.3%의 RNA가 함유된 Tryptone agar (Goodfellow et al., 1979) 배지를 이용하여 25°C에서 14일간 배양한 후 1M HCl을 떨어뜨려 투명환이 생기는지 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 토양의 물리화학적 특성

조사된 금오지구의 산림 토양의 물리화학적 특성은 Table 2와 같다. 조사지역의 식물군락으로는 식재된 곰솔(*Pinus thunbergii*)군락이 발달하였으며, 구실잣밤나무(*Castanopsis cuspidata*)와 동백나무(*Camellia japonica*)군락은 인가 근처나 통제된 지역에 부분적으로 발달하였으며 보존 상태는 양호하였다.

조사지역 토양의 pH는 4.22~6.60의 범위로서 평균 5.48이었다. 이 값은 완도의 6.3(Hong and Chang, 1982), 덕적군도의 6.8(Choi, 1982), 진도의 6.85(Hong and Shin, 1983), 거문도의 6.7(Hong and Jang, 1984)에 비해 매우 낮은 값을 나타냈으나, 백령도의 5.2(Hong et al., 1987), 안마군도의 5.5(Jung and Shin, 1989)와 유사한 값이었다. 특히 단순 곰솔군락(Site 1, 6, 8)의 pH는 5.48, 동백나무군락(Site 2)은 6.60, 구실잣밤나무군락(Site 5, 7)은 4.60이었으며, 혼효림(Site 3, 4)은 5.80이었다. 침엽수림 토양의 pH가 활엽수림의 그것에 비해 낮다(Brandy, 1990)는 것과 유사한 결과라고 생각할 수 있다. 그러나, 구실잣밤나무군락의 pH가 매우 낮은 것은 군락지가 자생지였고 통제된 지역으로 보존 상태가 양호하여 humic acid의 형성이 활발했기 때문이라고 생각할 수 있다.

조사지역 토양의 함수율은 조사지 간에 큰 차이가 없었으며 평균 40.1%로서 완도의 21%(Hong and

Table 2. Physicochemical properties of the soil in Kumdo Archipelago

Site	pH	Water content(%)	Organic matter(%)
1	5.29	32.7	14.9
2	6.60	36.9	18.3
3	6.05	43.5	24.0
4	5.54	42.4	23.5
5	4.97	46.1	25.6
6	5.20	35.7	19.6
7	4.22	42.7	24.9
8	5.96	40.7	21.4
Mean	5.48	40.1	21.7

Chang, 1982), 덕적 군도의 22.1%(Choi, 1982), 거문도의 20.8%(Hong and Jang, 1984)에 비해 매우 높은 값을 나타냈으며, 지리산 피아골의 극상림 토양의 40%(Choi, 1983)와 유사한 값이었다.

토양 내 존재하는 총 유기물의 함량은 14.9~25.6%의 범위로 지역간 큰 차이가 없었으며 평균 21.7%로서 완도의 9.5%(Hong and Chang, 1982), 덕적군도의 10.4%(Choi, 1982) 보다는 훨씬 높고, 거문도의 20.8%(Hong and Jang, 1984)와 유사하였다. 본 조사지 토양의 함수율과 유기물 함량이 과거의 조사지에 비해 상대적으로 높은 이유는 본 조사에서는 5cm 미만의 표토층을 시료로 사용했기 때문이다. 그러나 이상의 결과로부터 금오지구의 산림생태계는 타지역에 비해 안정된 상태에 있으며, 장래의 생태계도 매우 밝은 상태에 놓여 있다고 판단된다.

### 2. 토양미생물의 개체군의 크기

조사대상 8개 지점에서 분리한 토양미생물의 개체군의 크기와 고분자물질 분해 미생물의 분포는 Table 3, 4 및 Fig. 2와 같다. 각 미생물별 개체군의 크기는 평균 일반세균이  $2.53 \times 10^6$ , 방선균이  $1.30 \times 10^6$ , 그리고 진균이  $6.06 \times 10^5$  g dry weight soil로서 세균, 방선균, 진균의 순이었다. 이들 개체군의 크기는 진도(Hong and Shin, 1983), 거문도(Hong and Jang, 1984)에 비해 컸으며, 안마군도(Jung and Shin, 1989)와 덕적군도(Choi, 1982) 등에 비해 다소 작았다. 특이한 것은 식재된 곰솔군락(Site 1, 6, 8)의 토양미생물 개체군의 크기가 구실잣밤나무와 동백나무군락에 비해 상대적으로 작음을 알 수 있었다. 토양의 유기물 함량 및 함수율과 미생물군집의 크기는 뚜렷한 상관관계는 없었으나 대체적으로 유기물의

Table 3. Population size of soil bacter in soils of Kumdo Archipelago(CFU $\times 10^4$ /g dry soil)

site	Total bacteria	Cellulolytic(%)	Lignolytic(%)	Pectinolytic(%)
1	59.5	9.8(16.5)	1.2(4.1)	1.0(3.4)
2	129.0	73.5(56.9)	5.8(4.5)	0.3(0.2)
3	774.0	171.0(22.1)	15.8(2.0)	5.0(0.6)
4	280.0	42.6(15.2)	4.0(1.4)	1.5(0.5)
5	144.0	80.7(56.0)	9.6(6.6)	0.5(0.3)
6	132.0	46.6(35.3)	5.1(3.9)	0.4(0.3)
7	160.0	42.2(26.4)	3.6(2.3)	9.2(5.7)
8	187.0	73.1(39.1)	4.2(2.2)	0.5(0.2)
Mean	253.0	67.4(26.6)	6.2(2.7)	2.3(0.9)

Table 4. Population size of soil fungi in soils of Kumdo Archipelago(CFU $\times 10^4$ /g dry soil)

Site	Total fungi	Cellulolytic	Lignolytic	Pectinolytic
1	5.0	0.6(12.0)	3.1(62.0)	1.1(22.0)
2	29.1	1.5( 5.1)	5.5(19.1)	2.8(9.6)
3	165.0	7.7( 4.7)	41.5(25.2)	28.0(17.0)
4	78.4	19.7(25.1)	43.8(55.9)	22.0(28.1)
5	95.4	6.9( 7.2)	21.9(22.9)	14.4(15.1)
6	15.1	4.5(29.9)	10.1(66.8)	5.3(34.9)
7	71.5	26.7(37.3)	51.8(72.4)	39.8(55.7)
8	24.9	6.3(25.2)	8.6(34.5)	7.2(28.9)
Mean	60.6	10.4(17.2)	23.3(38.4)	15.1(24.9)

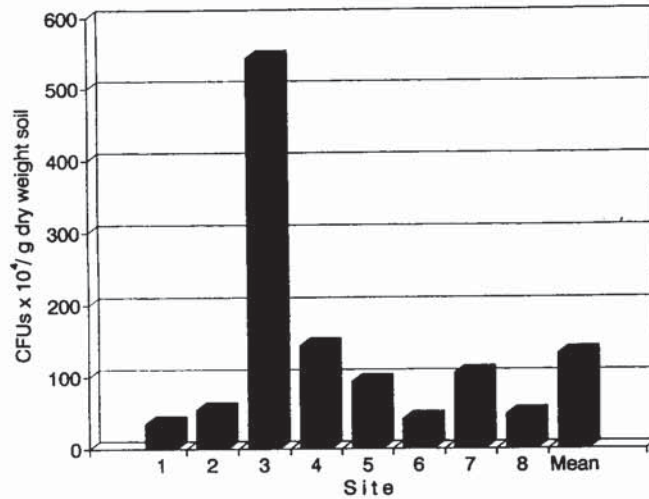


Fig. 2. Enumeration of the actinomycetes isolated from soils of Kumo Archipelago

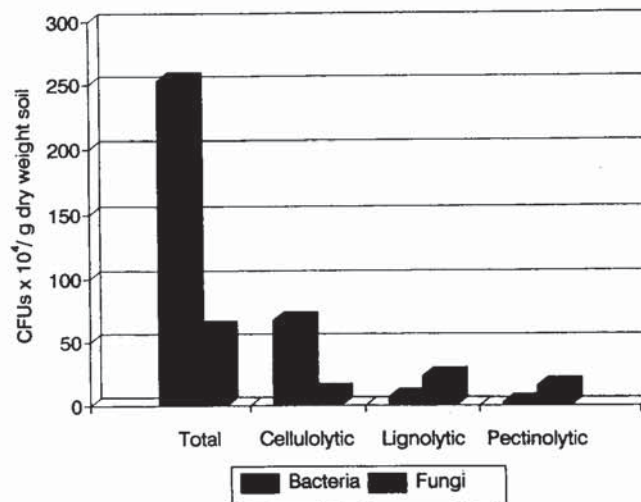


Fig. 3. Distribution of the polymer degrading microorganisms in soils of Kumo Archipelago

함량이나 함습량이 높은 토양일 수록 각 미생물 개체군의 크기가 컸다. 토양 시료에 따라 미생물 개체군 크기의 차이가 심하게 나타났다. 이러한 결과는 토양생태계의 모든 구성 성분에 대한 다각적인 연구가 이루어져야 함을 시사하고 있다.

### 3. 고분자물질 분해 미생물의 분포

본 조사에서는 토양미생물의 분해능을 파악하기 위해 탄소원으로 CMC, Citrous Pectin과 Ligno-sulfonate를 사용하여 분해 미생물의 분포를 측정하였다(Table 3, 4; Fig. 3). 세균의 경우 섬유소 분해능을 지닌 세균들이 총 세균 개체군의 15.2~56.9%의 범위로 평균 26.6%에 달했으며, 리그닌과 펙틴을 이용할 수 있는 세균은 각각 2.7과 0.9%로 매우 미약하였다. 진균의 경우는 리그닌(38.4%), 펙틴(24.9%), 섬

Table 5. Activities of the actinomycetes isolated from the soils of Kumo

Archipelago	
Items	Percent positive
Degradation:	
Casein	60.0
Starch	86.7
Gelatin	40.0
Urea	60.0
RNA	73.3
Antimicrobial activity against:	
<i>Candida albicans</i>	< 1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	20.0
<i>Phytophthora capsizi</i>	< 1.0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6.7
<i>Escherichia coli</i>	6.7

Valuers are the percentage of strains with positive character states.

유소분해균(17.2%)의 순이었다. 이 결과로부터 토양 내 섬유소의 분해는 세균이 진균보다 더 많은 기여를 하고 있으나, 리그닌과 펙틴의 분해는 거의 진균에 의해 이루어지고 있음을 알 수 있었으며, 타지역들의 결과와 유사하였다. 그러나 각 미생물 개체군의 크기가 식생별로 차이가 났던 것과는 달리 고분자물질 분해능에서는 뚜렷한 양상은 나타나지 않았다.

특이한 점은 고분자물질 분해는 세균과 진균이 상호 보완의 관계에 있다는 것을 추정할 수 있었다. 예로서, Site 2와 5의 경우는 이들 고분자 물질의 진균보다는 세균에 의해 이루어지고 있으며, Site 4에서는 진균의 분해능이 세균의 그것에 비해 월등하였다. 이와 같은 각 미생물 개체군간의 상호 작용은 토양서식처의 여러 환경요인에 의해 좌우되므로 이에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

#### 4. 방선균의 분해능 및 항생물질 생성능

방선균은 토양생태계의 주요 구성인자로서 유기물의 분해능과 2차 대사산물의 생성능이 탁월하다고 알려져 있다(Goodfellow and Cross, 1984; Williams *et al.*, 1984). 특히 항생물질 생성과 중금속 등에 대한 내성은 서식처 내의 각 생물 개체군과의 상호 관계를 측정하고 오염을 간접적으로 추정할 수 있는 방법이다(Atlas and Bartha, 1980).

방선균의 개체군 크기는  $1.30 \times 10^6$ /g dry weight soil로서 일반 세균의 50%이상을 차지하고 있었다. 임의로 분리된 60개의 방선균의 분해능과 항생물질 생성능은 Table 5와 같다. 거의 모든 분리균들이 casein과 starch를 분해할 수 있었으며 urea나 RNA는 각각 60%와 73%의 균들이 분해할 수 있었다. 또한 약 40%의 균들이 gelatin을 액화시킬 수 있었다. 이와같이 방선균들은 토양 내의 유기화합물을 분해하는데 상당한 기여를 하고 있음을 알 수 있었다. 토양 내 미생물 개체군간의 antagonism의 한 예로서 항생물질의 생성을 들 수 있는데 일반적으로 자연서식처에서 항생물질 생성 조건은 열악한 편이다(Atlas and Bartha, 1980). 본 연구에서 분리된 방선균의 항생물질 생성능은 매우 낮음을 알 수 있다. 이 결과는 육지의 소나무림 토양에서 분리한 방선균들을 이용한 결과와 매우 유사하였다(Seong, 1992). 한편, 경작지나 석탄광 폐기물과 같은 인위적이거나 혹은 영양원이 극히 빈약한 서식처에서

분리한 방선균의 경우 항생물질 생성능이 우수한 것과 비교해 볼 때, 본 조사지역의 산림 토양은 외부의 영향을 크게 받지 않은 자연 상태로 보존이 되고 있음을 알 수 있었다.

## 적 요

금오열도 3개 도서의 주요 식생별 토양환경과 토양미생물의 분포 및 활성에 대해 분석하였다. 조사지역의 산림토양은 pH가 평균 5.48로서 산성에 가까웠으며 구실잣밤나무군락과 곰솔군락은 동백나무군락이나 혼효림군락에 비해 훨씬 산도가 낮았다. 낮은 pH에 비해 함수율과 유기물의 함량은 매우 높아 기존 조사된 천이과정중의 산림토양에 비해 양호하였다. 특히 구실잣밤나무군락의 토양은 극상림 토양과 유사한 환경이 유지되었다. 토양미생물의 개체군의 크기는 일반세균, 방선균, 진균의 순이었다. 섬유소를 분해할 수 있는 세균과 진균은 토양미생물 중 상당한 비율을 차지하고 있었으나, 리그닌과 펙틴의 분해는 거의 진균에 의해서만 일어나고 있었다. 방선균들의 유기화합물의 분해능은 우수하였으나 항생물질 생성능은 저조하였다. 이상의 실험 결과로부터 조사지역의 산림토양은 식재된 곰솔군락을 제외한 타 군락은 자연서식처로서 상당히 보존 상태가 양호하며 장래 또한 밝다고 할 수 있었다.

## 건의사항

금오도지구의 3개 도서의 산림은 비교적 자연 그대로 보존되고 있으며, 특히 구실잣밤나무군락, 동백나무군락이나 혼효림군락의 보존 상태는 매우 양호하다고 할 수 있다. 따라서, 이들 군락의 지속적인 보존을 위해서는 개발 제한 등의 조치가 시급하다고 할 수 있다.

## 참고문헌

- Anderson, J. P. E. and K. H. Domsch, 1978. A physiological method for the quantitative measurement for microbial biomass in soil. *Soil Biochem.* 10: 210-221.
- Atlas, R. M. and R. Bartha, 1987. *Micorbial Ecology*. 2nd ed. Benjamin/Cummings Publishing Co., Menlo Park.
- Bear, F. E., 1964. *Chemistry of the soil*. Reinhold Publishing Co. N.Y.
- Brandy, N. C., 1990. The nature and properties of soils. 10th ed., p. 47-90. Macmillan Publishing Co., N.Y.
- Choi, Y. K., 1982. Soil and soil microbes in the soil of Deogjeog Archipelago. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 1: 165-178.
- Choi, Y. K. and Y. H. Lee, 1983. The soil microorganism of the forest flora and soil of the climax forest of Piagol valley in Mt. Chiri. *Kor. Assoc. Conserv. Nature.* 21: 179-191.
- Dommergues, Y. R., L. W. Belser, and E. L. Schmidt, 1978. Limiting factors for microbial growth and activity in soil. p.49-104. *In* Alexander, M.(ed.), *Advences in microbial ecology*. Plenum Press, N.Y.
- Goodfellow, M. and T. Cross, 1984. Classification, p. 7-64. *In* Goodfellow, M., M. Mordarski and S. T. Williams (ed.), *Biology of the Actinomycetes*. Academic Press, London.
- Goodfellow, M., G. Alderson and J. Lacey, 1979. Numerical taxonomy of *Actinomadura* and related actinomycetes. *J. Gen. Microbiol.* 112: 95-11.
- Hong, S. W. and K. S. Shin, 1983. Soil microflora and fleshy fungi in islands of Jindo county, Chollanamdo,



- Korea. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 3: 261-289.
- Hong, S. W. and Y. S. Jang, 1984. Soil microflora and fleshy fungi in islands of Komun-do county, Chollanamdo, Korea. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 4: 35-54.
- Hong, S. W. and K. W. Chang, 1982. Soil microflora and fleshy fungi in islands of Jindo county, Chollanamdo, Korea. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 2: 37-52.
- Hong, S. W., Y. S. Jang and K. S. Shin, 1987. Soil microflora and fleshy fungi in the Paengyongdo islands. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 7: 49-71.
- Jones, K. I., 1949. Fresh isolates of actinomycetes in which the presence of sporogeneous aerial mycelia is a fluctuating characteristic. *J. Bacteriol.* 57: 141-146.
- Jung, H. S. and K. S. Shin, 1989. Soil microbial populations and higher fungi of Anma Archipelago. *Kor. Cent. Counc. Nature Preserv.* 9: 71-90.
- Küster, E. and S. T. Williams, 1964. Selection of media for the isolation of actinomycetes. *Nature* 202: 928-929.
- Paul, E. A. and F. E. Clark, 1989. Soil microbiology and biochemistry. Academic Press. San Diego.
- Reed, J. F. and R. W. Cummings, 1945. Soil reaction-glass electrode and colorimetric methods for determining pH values of soil. *Soil Sci.* 59: 97-104.
- Seong, C. N., 1992. Numerical taxonomy of acidophilic and neutrotolerant actinomycetes isolated from acid soil in Korea. Ph. D. thesis, Seoul National University, Seoul.